

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SUDA ÇÖZÜNEN POLİETİLENİMİN TÜREVLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Melike SARAÇOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

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

SUDA ÇÖZÜNEN POLİETİLENİMİN TÜREVLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Melike SARAÇOĞLU
Biyoloji Anabilim Dalı
Tezin Sunulduğu Tarih: **05/07/2018**

Tez Danışmanı:
Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR

ÇANAKKALE

Melike SARAÇOĞLU tarafından Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR yönetiminde hazırlanan ve **05/07/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "**Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR ……

Başkan

Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA ……

Üye

Doç. Dr. Mustafa YILDIZ ……

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ
Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:……

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2017-1328.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

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

Melike SARAÇOĞLU

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmalarım süresince bilgilerini benden esirgemeyen ve deneyimleri ile beni yönlendiren saygıdeğer danışman hocam Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR'e, tez kapsamında çalışılan bileşikleri sentezleyen, çalışmalarım süresince fikir ve görüşleri ile ışık tutan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Anorganik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa YILDIZ'a ve jüri üyesi Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmada kullanılan test suşların temin edilmesine yardımcı olan Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Hülya SİVAS'a; bakterilerin ve mayaların temini sağlayan Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa YAMAÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Mehmet Ali YILDIRIM'a, Merve BALLI'ya, çalışmanın farklı aşamalarında vermiş oldukları desteklerinden dolayı arkadaşlarım Ceren FOTO'ya, Kadir ÖZÇAMUR'a, Gözde DURKAN'a, Dicle BULUT'a, Sema ÇAKIR'a, Merve AKALIN'a, Rabia BAKIR'a, Bahar GÖK'e, Pınar GÖK'e, Elif MERDAMERT'e ve Gözde GÜLŞİN'e teşekkür ederim.

Üzerimde fazlasıyla emeği olan saygıdeğer ilkokul öğretmenim Ahmet YILMAZ'a ve Biyoloji öğretmenim Ayşe GÜRPINAR'a teşekkür ederim.

İlgi ve sevgi ve inançlarıyla her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan babam Şükrü SARAÇOĞLU'na, annem Nurten SARAÇOĞLU'na, en büyük destekçim olan kardeşim Şeyma SARAÇOĞLU'na, teyzem Gülten TOPAL'a ve halam Nurten SARAÇOĞLU'na, fiilen yanımda olamamasına rağmen tüm inancını üzerimde hissettiğim ve minnettar olduğum anneannem merhum Zehra TOPAL'a sonsuz teşekkür ederim.

Melike SARAÇOĞLU

Çanakkale, Temmuz 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
Abs	Absorbans
CT-DNA	Calf Thymus-Dana Timus-DNA
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilen diamin tetra asetik Asit
g	Gram
H_2SO_4	Sülfirik Asit
HB	Histidin/Biyotin
HBA	Histidin/Biyotin/Ampisilin
M	Molarite
MA	Molekül Ağırlığı
mg	Miligram
MGA	Minimal Glikoz Agar
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	Mililitre
mM	Milimolar
N	Normalite
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
NPD	4- Nitro-*o*-Fenilendiamin
PEI	Polietilenimin
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medyum
SA (NaN_3)	Sodyum Azid
SDA	Sabouraud dextrose agar
TAE	Tris-Asetik asit-EDTA
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole-Görünür Alan
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

ÖZET

SUDA ÇÖZÜNEN POLİETİLENİMİN TÜREVLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Melike SARAÇOĞLU
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR
05/07/2018, 72

Yapılan tez kapsamında suda çözünebilen polietilenimin türevleri olan 5-nitrosalisaldehit-polietilenimin Schiff bazı (Bileşik **1**) ve 5-hidroksisalisaldehit-olietilenimin Schiff bazı (Bileşik **2**)'nın biyolojik aktiviteleri araştırıldı. Bileşiklerin DNA'yı kesme aktivitesi Agaroz jel elektroforezi yöntemi, DNA'ya bağlanması UV-görünür Alan Absorbsiyon Spektroskopisi, antioksidan özelliği CUPRAC ve DPPH metodu, mutajenik ve antimutajenik aktivitesi Ames/*Salmonella* testi, ve antimikrobiyal aktivitesi minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) metodu ile incelendi.

Bileşik **1** ve bileşik **2'**nin pBR322 plazmid DNA üzerinde doza bağımlı olarak oksitleyici ajan varlığında DNA'yı kestiği görüldü. Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin CT-DNA ile elektrostatik olarak bağlandığı bulundu. Bileşik **2**'nin bileşik **1**'e göre yapılan antioksidan test sistemlerinde daha güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu saptandı. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkisinin olduğu, mutajenik etkilerinin bulunmadığı ve konsantrasyonlardan bağımsız olarak antimutajenik etkilerinin olduğu bulundu.

Anahtar sözcükler: Polietilenimin Türevleri, DNA Bağlanma, DNA Kesme, Antimikrobiyal Aktivite, Antioksidant Aktivite.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF WATER-SOLUBLE POLYETHYLENIMINE DERIVATIVES

Melike SARAÇOĞLU

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biology

Advisor: Assist. Prof. Dr. Neslihan DEMİR

05/07/2018, 72

In this study, the biological activities of water soluble polyethylenimine derivatives investigated using different methods. DNA cleavage activity was determined by agarose gel electrophoresis method, the effect of binding to DNA by UV-Vis absorption spectroscopy, antioxidant activity by CUPRAC and DPPH methods, mutagenic and antimutagenic activities by Ames/Salmonella test, antimicrobial activity by minimal inhibition concentration (MIC) method.

Compound **1** and compound **2** were found to cleavage plasmid DNA pBR322 in the presence of an oxidizing agent dependent to concentrations. Both compounds were assessed electrostatic binding mode to CT-DNA. According to the antioxidant methods, compound **2** was found to have stronger antioxidant properties than compound **1**. The compounds with different concentrations were found to have antimicrobial activity but they did not have the mutagenic activity and the compounds also had antimutagenic activity independent from the concentrations.

Keywords: Polyethylenimine Derivatives, DNA Binding, DNA Cleavage, Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI iii
TEŞEKKÜR iv
SİMGELER VE KISALTMALAR v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
ÇİZELGELER DİZİNİ xii
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 2
2.1. İminler ve Biyolojik Kullanım Alanları 2
2.2. Polietileniminler 2
2.2.1. Polietileniminlerin oluşumu 3
2.3. UV-Vis Absorbsiyon Spektroskopisi 3
2.3.1. Elektrostatik Etkileşim 5
2.3.2. Oluğa Bağlanma Etkileşimi 6
2.3.3. İnterkalasyon Etkileşimi 6
2.3.4. DNA Kesme Aktivitesi 7
2.3.5. Agaroz Jel Elektroforezi 8
2.3.6. Antioksidan Aktivite 10
2.3.6.1. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi (CUPRAC Testi) 11
2.3.6.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH) 12
2.3.7. Antimikrobiyal Aktivite 13
2.3.8. Mutasyonlar 14
2.3.8.1. Kromozom Mutasyonları 14
2.3.8.1.1. Kromozom Sayısındaki Varyasyonlar 14
2.3.8.1.2. Kromozom Yapısındaki Varyasyonlar 15
2.3.8.2. Gen Mutasyonları 15
2.3.8.2.1. Çerçeve Kayması Mutasyonları 16
2.3.8.2.1.2. Baz Değişimi Mutasyonları 16

2.3.9. Mutajenite ve Antimutajenite 16
2.3.9.1. Mutajenite 16
2.3.9.2. Antimutajenite 17
2.3.9.2.1. Ames/*Salmonella* Testi 17
2.4. Polietileniminlerin Biyolojik Aktiviteleri 20
BÖLÜM 3 25
MATERYAL VE YÖNTEM 25
3.1. Test Edilen Polietilenimin Bileşikleri 25
3.2. DNA'yı Kesme Aktivitesinin Belirlenmesi 26
3.2.1. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi 26
3.3. DNA'ya Bağlanma 27
3.3.1. UV-görünür Alan Absorbsiyon Spektroskopisi Yöntemi 27
3.4. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi 29
3.4.1. Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemi (CUPRAC) 29
3.4.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH) 30
3.5. Mutajenik ve Antimutajenik Aktivitenin Belirlenmesi 31
3.5.1. Test Suşları ve Özellikleri 31
3.5.2. Çalışmada Kullanılan Stok Çözeltiler ve Besiyerleri 31
3.5.2.1. Stok Çözeltiler 31
3.5.2.2. Besiyerleri 33
3.5.3. Test Suşlarının Genetik Özelliklerinin Kontrol Edilmesi 35
3.5.3.1. Histidin Gereksinimi Kontrolü 35
3.5.3.2. *rfa* Mutasyonu Kontrolü 35
3.5.3.3. *uvr*B Mutasyon Kontrolü 36
3.5.3.4. R Faktör Kontrolü 36
3.5.4. *Salmonella typhimurium* Mutant Suşların Master Plaklarının Hazırlanması 36
3.5.5. *Salmonella typhimurium* Suşlarının Stoklanması 37
3.5.6. *Salmonella typhimurium* Suşlarının Gecelik Kültürlerinin Hazırlanması 37
3.5.7. Ames Testinin Yapılışı 37
3.5.8. Suşların Pozitif Negatif ve Spontan Kontrolü 38
3.5.9. Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi 38
3.6. Antimikrobiyal Aktivite 39
BÖLÜM 4 41

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 41
4.1. Araştırma Bulguları 41
4.1.1. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin DNA Kesme Aktivitesi Sonuçları 41
4.1.2. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin DNA Bağlanma Sonuçları 42
4.1.3. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin CUPRAC Sonuçları 43
4.1.4. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin DPPH Sonuçları 44
4.1.5. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin Mutajenik/Antimutajenik Aktivite Sonuçları 44
4.1.5.1. Test Suşlarınn Genetik Özelliklerinin Kontrolü 44
4.1.5.2. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite Sonuçları 48
4.1.6. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları 52
4.2. Tartışma 53
BÖLÜM 5 60
SONUÇ VE ÖNERİLER 60
KAYNAKLAR 62
ÖZGEÇMİŞ I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Schiff bazı ve metal kompleksinin oluşumu.....2
Şekil 2.2. Polietilenimin sentezlenmesi 3
Şekil 2.3. UV-Vis spektrumunda gözlemlenen değişimler.....4
Şekil 2.4. DNA ile elektrostatik etkileşim gösteren bipiridin ligandı kompleksi 5
Şekil 2.5. DNA'nın küçük oluğuna bağlanan etidyum bromür 7
Şekil 2.6. Hidrolitik kesme. DNA'nın hidrolizi için önerilen reaksiyon mekanizması.....8
Şekil 2.7. Oksidatif kesme. Nükleobazların oksidasyonu 8
Şekil 2.8. Farklı formlara sahip plazmid DNA'nın agaroz jel elektroforezinde göç hızları..9
Şekil 2.9. pBR322 plazmid DNA haritası……..……..... 10
Şekil 2.10. Serbest radikallerin antioksidanlarla olan elektron alışverişi bazlı ilişkisi.....11
Şekil 2.11. DPPH radikalinin antioksidan madde ile etkileşiminde görülen renk farklılıkları 12
Şekil 2.12. Antimikrobiyal aktivite ölçümlerinde mikrodilüsyon testi 14
Şekil 2.13. Çerçeve kayması mutasyonu 16
Şekil 2.14. Ames testinin uygulanışı ve mutajenite gösteren koloniler.....18
Şekil 3.1. Polietilenimin-5-nitrosalisilaldehit Schiff bazı (Bileşik **1)**.....25
Şekil 3.2. Polietilenimin-5-hidroksisalisilaldehit Schiff bazı (Bileşik **2**) 25
Şekil 4.1. Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin jel elektroforez sonrası UV ışığı yardımı ile görüntülenmesi.....41
Şekil 4.2. Bileşik **1**'in UV-Vis spektrumu.....42
Şekil 4.3. Bileşik **2**'in UV-Vis spektrumu.....43
Şekil 4.4. Bileşik **1** ve Bileşik **2**'nin Cu(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi.....43
Şekil 4.5. Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin serbest radikal giderme aktivitesi 44
Şekil 4.6. (A) HB (B) MGA petrilerin TA98 suşunun üreme durumları.....45
Şekil 4.7. (A) HB (B) MGA petrilerin TA100 suşunun üreme durumları.....45
Şekil 4.8. TA98 ve TA100 suşlarının *rfa* mutasyonu kontrolü 46
Şekil 4.9. TA98 ve TA100 suşlarının *uvr*B mutasyonu kontrolü 46
Şekil 4.10. TA98 ve TA100 suşlarının R faktörü kontrolü 47
Şekil 4.11. Pozitif kontrol 47
Şekil 4.12. Negatif kontrol.....48
Şekil 4.13. Spontan kontrol.....48
Şekil 4.14. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının *Salmonella typhimurium*'un TA98 suşuna karşı mutajenik etkileri…….50
Şekil 4.15. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının *Salmonella typhimurium*'un TA100 suşuna karşı mutajenik etkileri.....51
Şekil 4.16. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının *Salmonella typhimurium*'un TA98 suşuna karşı antimutajenik etkileri.....52
Şekil 4.17. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının *Salmonella typhimurium*'un TA100 suşuna karşı antimutajenik etkileri.....52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Mutajenite testlerinde kullanılan *Salmonella typhimurium* mutant suşlarının genetik özellikleri.....19
Çizelge 3.1. Test kapsamında kullanılan bakteriler, mayalar ve kodları.....40
Çizelge 4.1. *Salmonella typhimurium*'un mutant TA98 ve TA100 suşlarına karşı Polietilenimin bileşiklerinin mutajenik aktiviteleri.....50
Çizelge 4.2. *Salmonella typhimurium*'un mutant TA98 ve TA100 suşlarına karşı Polietilenimin bileşiklerinin antimutajenik aktiviteleri.....51
Çizelge 4.3. Polietilenimin bileşiklerinin MİK değerleri.....53

BÖLÜM 1
GİRİŞ

İmin bileşikleri, yapısal ve biyolojik özellikleri nedeniyle özellikle son zamanlarda daha da önem kazanan kimyasallardır. Kemoterapik özelliğinden dolayı endüstride ve ilaç sanayinde kullanım alanlarının yanı sıra antitümör, antifungal, antibakteriyel gibi biyolojik aktiviteleri olduğu bilinmektedir. Bu kimyasalların son yıllarda kanser terapisindeki farklı uygulama alanlarında kullanılmalarından dolayı, antikanser ilaç, antimikrobiyal, yapay nükleazlar ve DNA probu olarak kullanıma uygunlukları bildirilmiştir.

Polietilenimin (PEI) bileşikleri farklı kullanım alanlarına sahip olmakla beraber son zamanlarda gen terapisinde, nanoparçacıkların tasarımında ve ilaçların kapsüllenmesinde kullanılmaya başlanmıştır (Helmschrodt ve ark., 2016).

Birçok ilacın temel mekanizması DNA etkileşimlerine dayanmaktadır. Bu amaçla DNA etkileşim mekanizmalarının kapsamlı bir şekilde araştırılması için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu sayede DNA'ya bağlanma aktivitesi yüksek veya DNA'yı belirli bir bölgesinden kesebilen bileşiklerin geliştirilmesi yeni ilaç tasarımlarına ışık tutacaktır.

Yeni polietilenimin tabanlı suda çözünebilen imin bileşiklerinin farklı özelliklere ve/veya daha üstün özelliklere sahip olabileceği ve daha etkili antikanser ile antimikrobiyal ilaçların geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşüncesiyle biyolojik aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

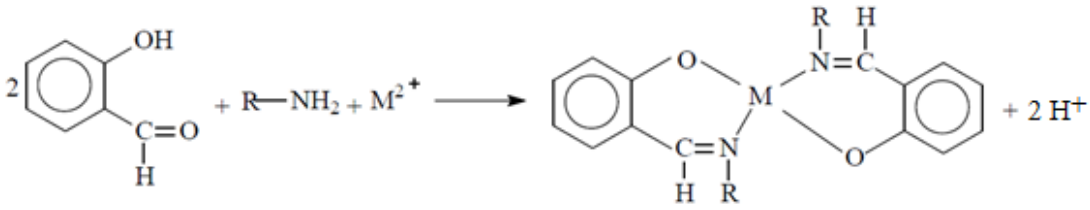
Bu amaçla çalışmada, suda çözünen orijinal polietilenimin türevlerinin biyolojik aktiviteleri farklı metotlar kullanılarak araştırılmıştır. DNA'yı kesme aktivitesi Agaroz jel elektroforezi yöntemi ile, DNA'ya bağlanma etkisi UV-görünür Alan Absorbsiyon Spektroskopisi ile, antioksidan aktivitesi CUPRAC ve DPPH yöntemi, mutajenik ve antimutajenik aktivitenin belirlenmesi Ames/*Salmonella* yöntemi ile, antimikrobiyal aktivitesi ise minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) yöntemi ile incelenmiştir.

BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. İminler ve Biyolojik Kullanım Alanları

İlk kez Alman kimyager H.J. Schiff tarafından sentezlenen Schiff bazları (iminler) ismini keşfi gerçekleştiren kişi tarafından almıştır (Schiff, 1869). İminler, pirimer aminlerin aldehit ya da ketonlarla katılma-ayrılma reaksiyonu sonucunda meydana gelen, yapısında C=N bağı bulunduran bileşiklerdir (Şekil 2.1). İmin bileşikleri aminotiyoller, amino fenoller, α-amino asitler ve aminoalkollere asetil, aseton veya salisilaldehitin katılmasından türetilebilinir.

İminler, organik bileşikler olarak yaygın kullanım alanlarına sahiptir. Boya, pigment, polimer stabilizatörü olarak kullanılmalarının yanında organik sentezlerde katalizör olarak görev alırlar (Dhar ve Taploo, 1982). İminler, aynı zamanda ilaç alanında da kullanılan önemli bileşiklerdendir. Antibakteriyel, antifungal ve antitümör aktivite gösteren alanlarda biyolojik uygulamaları bulunmaktadır (Zhou ve ark., 2000; Sridhar ve ark., 2001; Mladenova ve ark., 2002; Siddiqui ve ark., 2006).



Şekil 2.1. Schiff bazı ve metal kompleksinin oluşumu

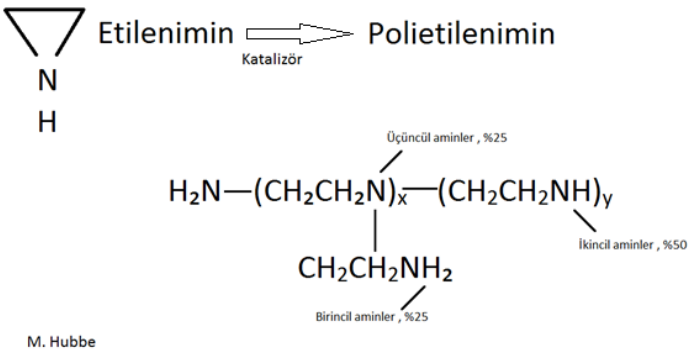
2.2. Polietileniminler

Polietileniminler (PEI), monomerin katılma polimerleşmesiyle elde edilirler. Doğrusal polietileniminler, primer, sekonder ve üçüncül dereceden amino grupları içeren dallanmış PEI'lerin aksine sekonder aminler içerir. Tamamen dallı, dendrimerik formlar da bildirilmiştir (Yemul ve Imae, 2008). PEI, endüstriyel ölçekte üretilir ve genellikle polikatyonik karakterinden türetilen birçok uygulaması mevcuttur (Davidson ve Sittig, 1968).

Doğrusal PEI'ler oda sıcaklığında katı maddeler iken dallanmış PEI'ler sıvı halde bulunurlar. Doğrusal polietileniminler sıcak suda, düşük pH'da, metanol, etanol veya kloroformda çözünürken soğuk su, benzen, etil, eter ve asetonda çözünmezler. Erime noktaları 73-75 °C'dir ve oda sıcaklığında saklanabilirler.

2.2.1. Polietileniminlerin oluşumu

Polietilenimin (PEI) veya poliaziridin, amin grubundan ve iki karbon alifatik CH_2CH_2 ara maddesinden oluşan bir polimerdir (Şekil 2.2).



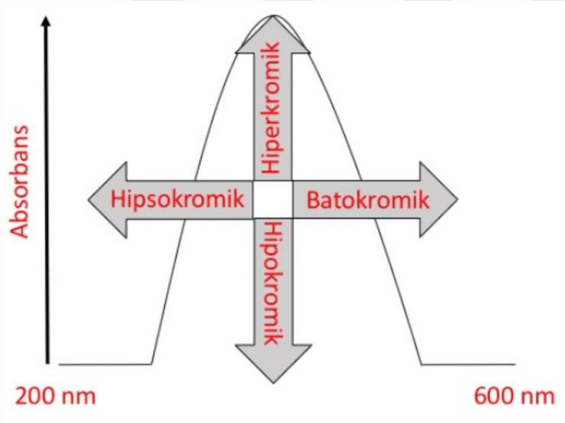
Şekil 2.2. Polietilenimin sentezlenmesi

PEI bileşiklerinin, deterjanlar, yapışkanlar, su arıtma maddeleri ve kozmetik gibi ürünlerde birçok uygulama alanları bulunur. Selüloz liflerinin yüzeyinin değiştirilmesine yeteneği sayesinde, PEI kağıt yapım işleminde bir neme karşı direnç maddesi olarak kullanılır (Wågberg, 2000). Bununla birlikte silisli solüsyonlarla topaklayıcı madde olarak, çinko ve zirkonyum gibi metal iyonlarını kompleks hale getirme kabiliyetine sahip bir bağlama maddesi olarak da kullanıldığı bilinmektedir. Sağlık alanında sıkça kullanılması da antibakteriyel ve antikanser ajan olarak kullanılabileceği konusuna ışık tutmaktadır. Bağlayıcı promotor özelliğinin mevcut olması durumundan dolayı bağlanmayı artırmak için polietileniminler zayıf bağlayıcı hücrelerin, hücre kültüründe kullanılır. Çünkü PEI katyonik bir polimerdir; böylece hücrelerin negatif yüklü dış yüzeyleri, PEI'de kaplanan tabakalara çekilerek hücreler ile plaka arasındaki daha güçlü tutunmayı kolaylaştırır (Madkour ve Tarek, 1999; Wågberg, 2000).

2.3. UV-Vis Absorbsiyon Spektroskopisi

Sağlık sektörü, kozmetik ve boya sanayi gibi çeşitli alanlarda kullanılmak üzere yeni sentezlenen bileşiklerin üretime geçmeden önce belirli testlere tabii tutulması gerekmektedir (Palchaudhuri ve Hergenrother, 2007). Bu deneylerden en yaygın olan UV-Visible absorbsiyon spektroskopisi bu tez çalışmasında da kullanılmıştır. Yaygın kullanımının sebebi ise kolay ve hızlı sonuç elde edilerek zamandan tasarruf sağlamasıdır.

Kalitatif ve kantitatif analizlerde kullanılan UV-Vis absorbsiyon spektroskopisi, DNA'nın küçük moleküller ile etkileşimi sonucunda meydana gelen absorbsiyon değişikliklerini ve stabilitesini belirlemede kullanılan en yaygın tekniktir. Aynı zamanda UV-Vis absorbsiyon spektroskopisi yöntemi kolay olunması ile birlikte hızlı cevap alınan bir yöntem olmasından olayı bileşik-DNA etkileşimlerinin belirlenmesinde sık olarak kullanılan yöntemlerden biri olarak bilinmektedir. Yöntem sayesinde bileşik ile DNA'nın etkileşiminin sonucunda oluşan pik ve pozisyon değişikliklerinin belirlenmesi ile bileşik-DNA arasındaki etkileşim türleri saptanmaktadır. Küçük moleküllerin DNA'ya bağlanması sonucunda oluşan pik ve pozisyon değişimlerinde absorbsiyon şiddetinde artma-hiperkromisite veya azalma-hipokromisite gözlemlenebilir. Bununla birlikte daha uzun nanometredeki dalga boyuna doğru kayma yani batokromik kayma veya kısa nanometredeki dalga boyuna kayma ise hipsokromik kayma şeklinde de gözlemlenebilir. Bileşikler DNA'ya interkalasyon ya da elektrostatik yol ile bağlanabilir. İnterkalasyon yolu ile bağlandığında hipokromik ve batokromik kayma gözlemlenirken, elektrostatik yol ile bağlandığında DNA yapısındaki değişiklikler ise hiperkromik etki olarak tanımlanır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. UV-Vis spektrumunda gözlemlenen değişimler

Canlılardaki yönetici molekül olarak da bilinen DNA, hücrenin protein ve enzim sentezinde rol oynar. Bununla birlikte hücre bölünmesinin ve büyümesinin ana basamaklarında bulunabildiği müdahalelerden dolayı kimyasal-DNA etkileşiminde önemli bir rol oynar. Bu özelliklerinden dolayı ilaç geliştirilme basamaklarında, nükleik asitlerle etkileşim halindeki maddelerin bulunmasına yardımcı olarak araştırılan konuyu aydınlatmaya yardımcı olmaktadır. DNA'ya bağlanabilen bileşiklerin özelliklerinin incelenmesinin en önemli amacı, DNA bağlanma modlarının tespit edilmesidir. Buna

rağmen etkileşimler ile ilgili bilgiler kısıtlıdır (Hajian ve ark., 2009). DNA ile kimyasalların etkileşimlerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biri de UV-Vis Absorbsiyon yöntemidir ve bu alanda sıkça kullanılmaktadır. Bu yöntem, DNA ve kimyasalın etkileşimi sonucunda UV-Vis absorbansındaki değişikliklerin belirlenmesine dayanmaktadır. Absorbans değişiklikleri DNA-kimyasal etkileşim türü hakkında bilgi vermektedir. Bu yöntem test edilecek bileşiğin miktarının sabit tutulması, bu esnada üzerine metodik şekilde DNA eklenerek gerçekleşmektedir. Her DNA eklenmesinin ardından ölçüm yapılarak kimyasalın spektrumdaki absorbansı ve dalga boyundaki değişimleri kaydedilmektedir. Bu etkileşimler, absorbsiyonda artma olarak gözlemleniyorsa hiperkromik, azalma olarak gözlemleniyorsa hipokromik etki olarak adlandırılır. DNA-kimyasal etkileşiminde düşük dalga boyuna kayma hipsokromik kayma (maviye kayma) veya daha yüksek dalga boyuna kayma batokromik kayma (kırmızıya kayma) olarak belirtilir.

Bileşikler DNA ile birbirinden farklı başlıca üç yolla etkileşirler (Braña ve ark., 2001). Bunlar;

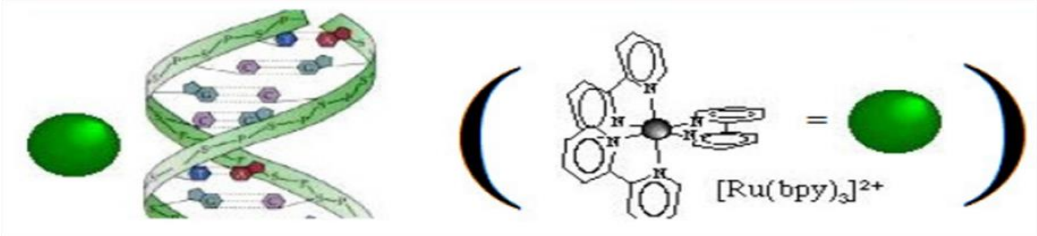
1- Elektrostatik Etkileşim

2- Oluğa Bağlanma Etkileşimi

3- İnterkalasyon Etkileşimi

2.3.1. Elektrostatik Etkileşim

Genel olarak, DNA çift sarmalının dış yüzeyi üzerinde gözlenir. Dış yüzey omurgada şeker-fosfat gruplarının bulunması nedeni ile negatif yük taşıyan DNA, ortamda bulunan ve karşıt iyon olarak adlandırılan pozitif yüklü metal iyonları ile elektrostatik olarak etkileşebilir (Şekil 2.4). Diğer etkileşim türlerine göre zayıf olmalarına rağmen ilaçların biyolojik aktifliklerinde önemli rollere sahiptirler (Anastassopoulou, 2003).



Şekil 2.4. DNA ile elektrostatik etkileşim gösteren bipiridin ligandı kompleksi (Kelly ve ark., 1985)

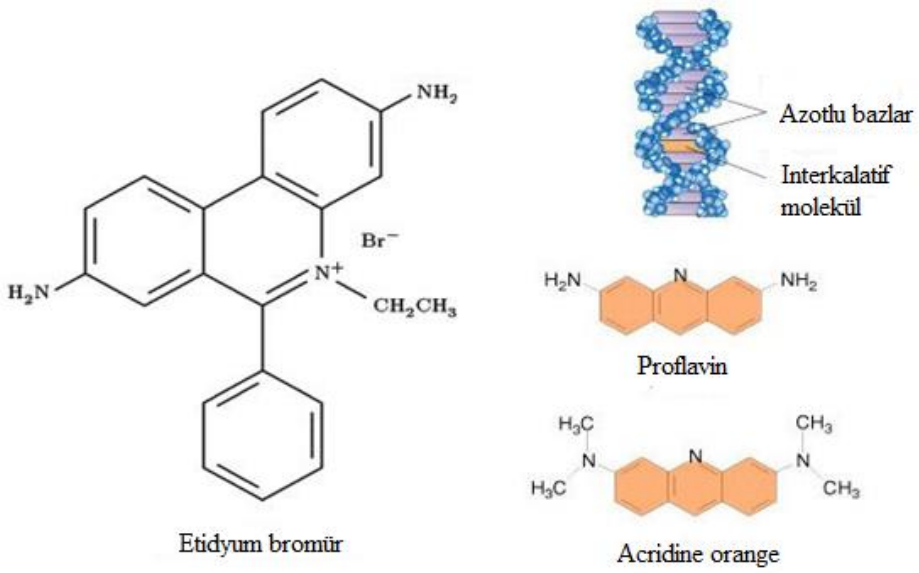
2.3.2. Oluğa Bağlanma Etkileşimi

Oluk bağlayıcıları genel olarak adenin-timin selektifliği sergileyen moleküllerdir. DNA'nın düzenlenmesi sonucunda oluşan küçük ve büyük olukların kendilerine uygun moleküllerle etkileşime girdikleri gözlemlenir. Öyle ki küçük oluklar küçük moleküllerle, büyük oluklar ise büyük hacimli moleküller ile etkileşime girmeyi tercih ederler. Oluğa bağlanma, interkalasyon gibi DNA yapısında belirgin bir değişime yol açmaz. Oluğa bağlanan moleküller genelde DNA'nın küçük oluğuna bağlanan hilal şekline benzer moleküllerdir ve molekül içi etkileşimlerde kararlı kabul edilirler (Palchaudhuri ve Hergenrothee, 2007). Küçük oluğa bağlanabilen moleküller dönebilen özellikte çeşitli aromatik halkalar içerirler. Bu özellik sayesinde uygun kıvrılmalar ile bileşiklerin, suyun oluktan çıkarılmasının sonrasında küçük oluğa girebilmesini sağlar. DNA'nın küçük oluğunda bulunan adenin-timin bölgeleri, guanin-sitozin bölgelerine kıyasla dar yapıdadır. Oluğa bağlayıcıların interkalatörlerden farklı olmalarının bir sebebi de moleküllerin oluk boyunca baz çiftlerine uyum sağlayabilmek için genişleyip bazları yüksek derecede sırası ile spesifik olarak tanıma özelliğinin bulunmasıdır (Blackburn ve Gait, 1996).

2.3.3. İnterkalasyon Etkileşimi

İnterkalasyon yöntemi ile DNA'ya bağlanan moleküller, DNA'daki baz çiftleri arasına girerek etkileşimlerini sağlarlar. Bu moleküllerin DNA'daki baz çiftlerinin arasına girebilmeleri için belirli bir kimyasal yapıya ve belirli bir şekile sahip olmaları gerekmektedir. Bu moleküller DNA'ya tersinir bağlanırlar ve bu sebeple ligand adını almaktadırlar. Ligandlar çoğunlukla çok halkalı, aromatik ve düzlemsel şekillerdedir. Bu sebeple çalışmalarda, nükleik asitlerin boyanmasında sıkça tercih edilirler. Üzerlerinde sıkça çalışılan DNA enterkalatörleri arasında etidyum bromür, proflavin, daunomisin, doksorubisin ve talidomit sayılabilir (Şekil 2.5).

Bir enterkalatörün, baz çiftleri arasına yerleşmesi için baz çiftleri arasında yer açması gerekmektedir. Bunun için DNA'yı bir miktar çözerek baz çiftlerinin arasına yerleşmeyi sağlar. Çözülme miktarı derecesel olarak ölçülür ve her çözünen DNA'nın derecesi enterkalatöre göre değişmektedir. DNA molekülü pozitif süpersarımlı olduğunda enterkalatörlerin DNA'yı çözüp baz çiftleri arasına girmeleri daha güç iken negatif süpersarımlı DNA'ya ise bağlanması daha kolaydır.



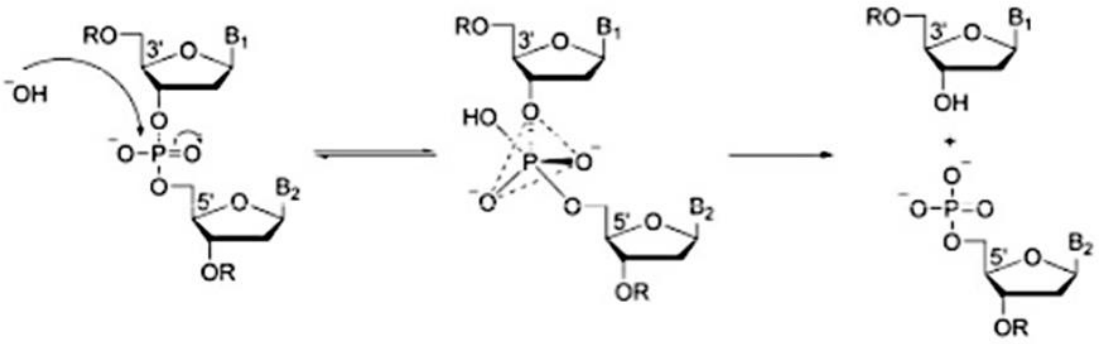
Şekil 2.5. DNA'nın küçük oluğuna bağlanan etidyum bromür

2.3.4. DNA Kesme Aktivitesi

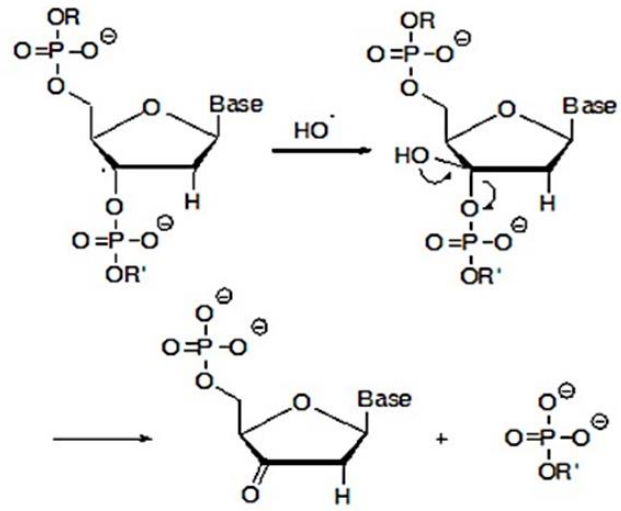
DNA kesme aktivitesi, tüm canlı hücrelerde meydana gelen aynı zamanda hayati öneme sahip bir olay olarak karşımıza çıkmaktadır. Restriksiyon endonükleazı adı verilen enzimler DNA'nın özel nükleotid dizilerini tanıyabilmekte ve her iki zinciri birden kesebilmektedir. Bazı nükleazların yapay olarak geliştirilmesi ilaç, sanayi ve biyoteknoloji dahil olmak üzere pek çok alanda önem arz etmektedir. DNA'nın belirli bölgelerinden kesilebilmesini sağlayan pek çok küçük geçiş metal kompleksleri bu amaç için uygun bileşiklerdir. Schiff bazları ve polietilenimin bileşiklerinin önemli ölçüde biyolojik aktivitelerinin olması yapay olarak geliştirilecek nükleazlar sayesinde gen tedavilerinde, kanser tedavileri dolayısıyla ilaç, sanayi ve biyoteknoloji alanlarında önem arz etmektedir. DNA'ya bağlanma ve kesme mekanizmalarını anlamak etkili antitümör ilaçlarının dizayn edilmesinin en önemli temelidir.

DNA kesme aktivitesi, hidrolitik ya da oksidatif yolla meydana gelebilmektedir. Hidrolitik kesme aktivitesi DNA'da bulunan fosfodiester bağlarının hidrolizi ve zincir kırıkları oluşturması ile gerçekleşirken, oksidatif kesme aktivitesi ise deoksiriboz şekeri ya da nükleobazların oksidasyonu ile gerçekleşir (Şekil 2.6. ve 2.7). Fakat oksidatif kesme aktivitesi hidrolitik kesme aktivitesinden farklı olarak yardımcı reaktiflere ihtiyaç duyar. Oksidatif DNA kesme aktivitesinin gerçekleşebilmesi için ihtiyaç duyulan yardımcı reaktiflerin bazıları hidroksil radikali, hidrojen peroksit, iyonize vb. gibi maddelerdir. (Stuble ve Kozarich, 1987; Murphy, 1995). Genetik materyaldeki fosfodiester bağlarının

birleşerek DNA'nın omurgasını oluşturması sebebiyle hidroliz çok önemli bir enzimatik reaksiyon olarak karşımıza çıkmaktadır. Buna karşın bu reaksiyon oldukça ağır gerçekleşmektedir çünkü DNA molekülü hidrolize karşı fazlasıyla kararlı yapıdadır. Omurgayı oluşturan fosfodiester bağlarının hidrolizini sağlayabilen enzimlerin aktif bölgelerinde genellikle katalitik metal iyonları bulunur. Bu sebeple metal kompleksler fosfodiester bağının hidrolitik yolla kesilmesi için oldukça avantajlı ajanlardır (Neves ve ark., 2001).



Şekil 2.6. Hidrolitik kesme. DNA'nın hidrolizi için önerilen reaksiyon mekanizması



Şekil 2.7. Oksidatif kesme. Nükleobazların oksidasyonu

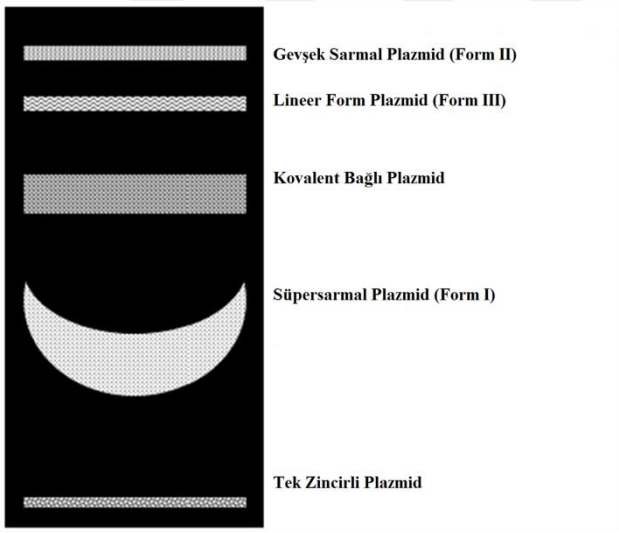
2.3.5. Agaroz Jel Elektroforezi

Elektroforez, bileşiklerin molekül ağırlığına ve/veya molekülde bulunan elektrik yüküne göre elektrik akımı sayesinde agaroz jel içerisinde yükler arası kat ettiği mesafe farklılıklarına göre ayrıştırılmasıdır. Agaroz jel elektroforezi, bu tip ayrıştırılma için sık kullanılan yöntemlerden biridir. Bu ayrıştırma sayesinde DNA'nın jelde ilerleme hızı kat

ettiği mesafeye göre ölçülmektedir.

Agaroz jel elektroforezinde, kullanılan plazmid DNA'nın jel üzerinde gözlemlenebilen üç formu mevcuttur. Bunlar; Form I, II ve III olarak adlandırılmaktadır. Form I, çalışma sırasında bozulmaya uğramayan DNA'nın süpersarmal yapısının korunduğu; Form II DNA'nın süpersarmal yapısının bozulduğu ve halkasal yapıya dönüştüğü; Form III ise Form I ve Form II'nin arasında oluşan DNA'nın yapısının tamamen bozulup tek iplik halini aldığı lineer form şeklidir (Gürcan, 2014) (Şekil 2.8).

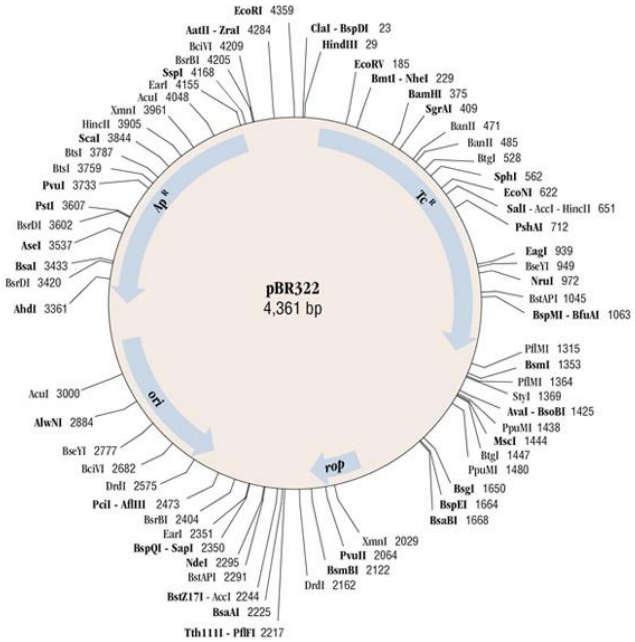
Elektroforez sonucunda süpersarmal yapının yani Form I'in diğer formlara göre daha hızlı hareket ederek ilerlediği gözlemlenir. Bunun sebebinin DNA'nın yükünün çok, ağırlığının hafif olmasından kaynaklandığı bilinmektedir. Test bileşikleri ile muamele gören DNA'da eğer tek zincir kırığı meydana gelirse bu durum DNA'nın Form I'den Form II'ye yani halkasal formu oluşturmak üzere gevşediğini göstermektedir. Eğer çift zincir kırığı meydana gelirse bu durum da Form I ve Form II arasında görülen lineer form yani Form III'ün oluştuğunu göstermektedir. Form III'ün Form I ve Form II'nin arasında kalmasının sebebi yine Form III'ün yük yoğunluğu ve ağırlığının Form I ve Form II'den farklı olması ile açıklanabilir.



Şekil 2.8. Farklı formlara sahip plazmid DNA'nın agaroz jel elektroforezinde göç hızları

Agaroz jel elektroforezinde kullanılan pBR322 plazmid DNA, *Escherichia coli*'den geliştirilmiştir. Klonlanma vektörü olarak, Bolivar ve arkadaşları (1977) tarafından kullanılmaya başlanmıştır. pBR322'nin genel özellikleri; DNA molekülünün 4361 bp uzunluğunda ve molekül ağırlığının $2{,}83 \times 10^6$ olması ile birlikte DNA formunun çift zincirli halkasal yapıda bulunmasıdır. Ayrıca plazmid DNA'nın üzerinde restriksiyon

enzimleri için birden fazla kesim noktası bulunmaktadır (Balbas ve ark., 1986) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. pBR322 plazmid DNA haritası (https://www.neb.com/products/n3033-pbr322-vector#Product%20Information)

2.3.6. Antioksidan Aktivite

İnsan vücudu sürekli olarak oksidatif stres altındadır. Bu oksidatif stres, hücreleri etkiler bununla beraber protein ve DNA zarar görür. Hücrelerin etkilenerek protein ve DNA'nın zarar görmesi birçok hastalığa kapı açmaktadır. Oksidatif stresin yol açtığı hastalıklardan bazıları; kanser, Parkinson, damar tıkanıklığı vb. rahatsızlıklardır. Vücudumuzda bulunan serbest radikallerin çoğalması ile meydana gelen oksidatif stresin artması sonucu homeostatik denge bozulur ve hastalıklar meydana gelir (Holmes, 2013). Serbest radikalleri oluşturan etkilerin birçoğu düzensiz ve sağlıksız beslenmeden ileri gelmektedir. Beslenmenin yanı sıra alkol ve sigara kullanımı da vücudumuzdaki serbest radikalleri arttırarak dengeyi bozmaktadır.

Antioksidanların görevi, vücudumuzda bulunan serbest radikalleri ortadan kaldırmaktır. Vücudumuz antioksidanların bir kısmını kendi üretebilir fakat serbest radikallerin artması durumunda yetersiz kalan antioksidan üretiminden dolayı hasar meydana gelir (Şekil 2.10). Bu noktada vücudumuzun dışarıdan antioksidan desteğine ihtiyacı vardır. Günümüzde birçok antioksidan kaynağı mevcuttur. Bunlar gerek doğal yolla besin olarak gerekse ilaç olarak sentetik olarak alınabilmektedir (https://bilimfili.com/serbest-radikal-nedir/). Son yıllarda yapılan araştırmalara göre

sentetik ilaçların, böbrek ve karaciğer rahatsızlıklarını tetiklediği gözlemlenmiştir. Bu yüzden ilaç yapımında kullanılan maddelerin antioksidan özelliklerinin araştırılması gündeme gelmiştir.

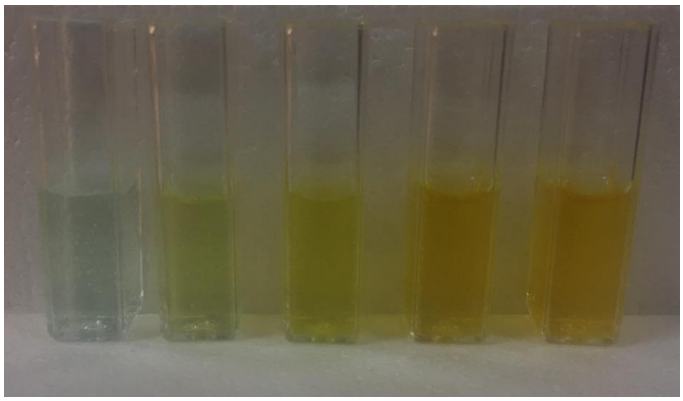
Kimyasallar ve bitkiler üzerinde yapılan birçok antioksidan testi mevcuttur. Bu sayede bitkiler incelenerek doğal antioksidanlar keşfedilebilmekte, ilaç yapımında kullanılacak bileşikler incelenerek antioksidan aktiviteleri aydınlatılabilmektedir.



Şekil 2.10. Serbest radikallerin antioksidanlarla olan elektron alışverişi

2.3.6.1. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi (CUPRAC Testi)

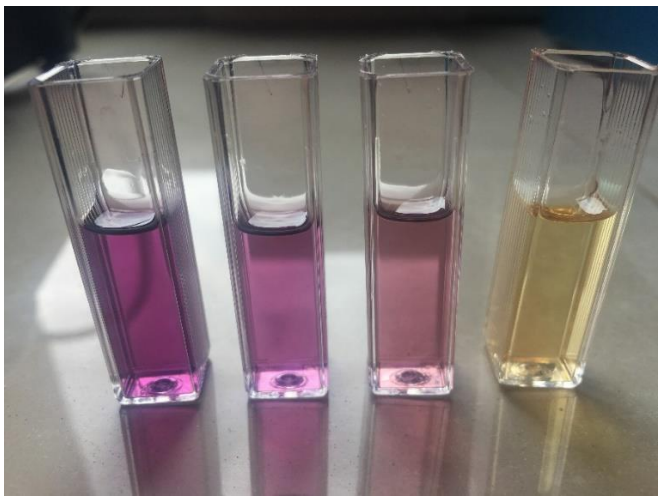
Serbest radikallerin vücutta artması; mutasyon, tümör ve fonsiyonel bozukluklara yol açabilmektedir. Serbest radikallerin oluşmalarını engelleyen antioksidan maddelerin yapay olarak sentezlenip kullanılması ilaç sanayi açısından önem arz etmektedir. Sentezlenen maddelerin antioksidan özellikte olup olmadığını tespit edebilmenin birçok yöntemi vardır. Bu yöntemlerden biri, toplam antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla kullanılan Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite belirleme yöntemidir. Bu yöntemin sıkça kullanılmasının amacı, maliyetinin düşük ve kısa sürede sonuç alınabilmesi açısından avantajlı olmasına dayanmaktadır. Bu yöntemde örneklerdeki antioksidan bileşiklerinin varlığı durumunda Cu(II)-Neokuproin(Nc) kompleksinin indirgenmesinin ardından 450 nm'de absorbansı ölçülmektedir (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Cu(II)-Neokuproin(Nc) kompleksinin madde ile etkileşimi sonrasında indirgenmesi ile görülen renk farklılıkları

2.3.6.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH)

Birçok antioksidan testi olmasına karşın diğer testlerle karşılaştırma yapıldığında maliyetinin düşük olması ve kısa sürede sonuç alım konusunda avantajlı olmasından kaynaklı en az CUPRAC testi kadar sıkça tercih edilen test yöntemlerinden biridir. Yöntemde kullanılan ana madde olan 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) kararlı bir serbest radikal özelliğini taşımaktadır. Bu maddenin rengi kırmızıdır ve spektrofotometrede 517 nm'de absorblanabilme özelliğine sahiptir. DPPH ile bir antioksidan madde karşılaştığında kırmızıdan sarıya doğru bir renk değişimi gözlemlenir (Sreeyan ve Rao, 1996). Meydana gelen değişiklikler 517 nm absorbans değerinde okunarak test edilecek maddelerin radikal yakalama aktivitesi belirlenir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. DPPH radikalinin antioksidan madde ile etkileşiminde görülen renk farklılıkları

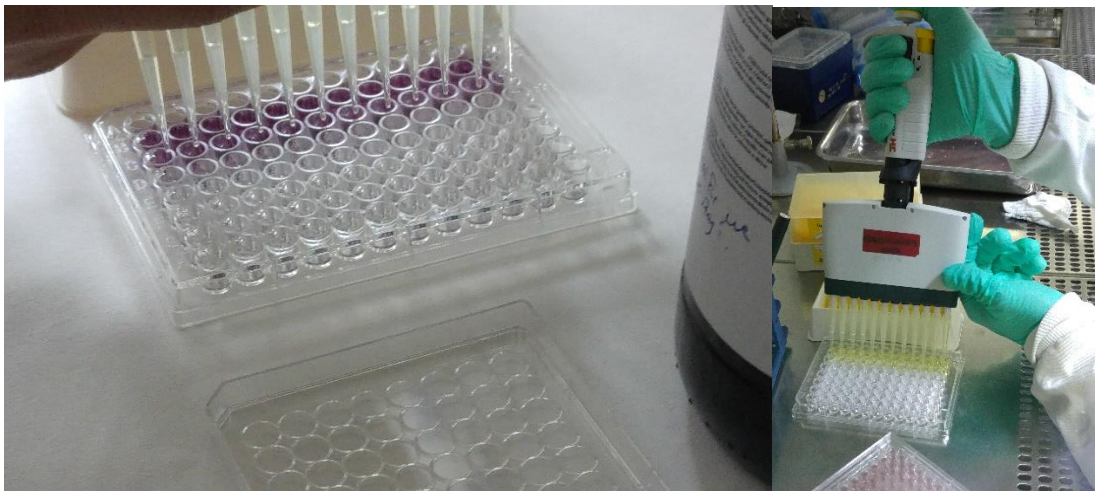
2.3.7. Antimikrobiyal Aktivite

Günümüzde bakteri, virüs, mayaların oluşturduğu ve kolayca bulaşıcı hale gelebilen birçok hastalık bulunmaktadır. Bu hastalıklar halkın sağlığını ciddi boyutlarda tehdit edebilmektedir. Bu mikroplarla savaşmak için birtakım kimyasal veya biyolojik maddeler mevcuttur. Bunlar genellikle dezenfektanlar ve antibiyotiklerdir.

Genel olarak antibiyotik kullanımı halk arasında çok yaygın olsa da her bakteri grubu için ayrı etken madde içeren antibiyotiklerin kullanılması gerektiğinin bilincine varılmalıdır. Üretilen antimikrobiyal ajanlar, patojenler; bakteriler ve virüslerin üremelerini durdurduğu gibi ortadan kaldırma gücüne de sahip olabilirler. Vücudumuzda zararlı bakteriler olduğu gibi yararlı bakteriler de mevcuttur. Yararlı bakterilerin de yok edilmesini sağlayan antibiyotiklerin kullanımı insan sağlığına önemli derecede zarar vermektedir.

Antimikrobiyal ajanlar üretilirken, canlının sınıfına ve hayvan hücreleri ile arasındaki farklılıklardan yararlanılmaktadır. Bu sayede bu patojenlere karşı yüksek derecede toksik, insan sağlığı açısından toksik etkisi bulunmayan kimyasallar üretilmiş olmaktadır. Fakat birçok antimikrobiyal ajan patojenlere karşı yüksek toksik etki gösterirken aynı zamanda insan sağlığını büyük ölçüde etkilediğinden dolayı, yeni ajanların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Antimikrobiyal duyarlılık testleri, belirli bir antimikrobiyal ajanın belli bir bakteri türüne karşı *in-vitro* etkinliğini araştırmak amacı ile yapılmaktadır (http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf).

Antibiyotik duyarlılık testlerinde, difüzyon ve dilüsyon olmak üzere başlıca iki yöntem kullanılmaktadır. En yaygın olanları disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon olan antibiyotik duyarlılık testlerinden broth mikrodilüsyonun en sık kullanılmasının sebebi daha kesin sonuç vermesidir. Disk difüzyon ise maliyet konusunda daha avantajlı bir testtir. Dilüsyon testlerinde, kullanılacak antimikrobiyal ajanın dilüsyonlarını içeren mikroplak kuyucuklarında üreme durumları kontrol edilerek değerlendirme yapılır (Şekil 2.13). Sonuç olarak üremenin meydana gelmediği en düşük antimikrobiyal ajan konsantrasyonu Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenir.



Şekil 2.13. Antimikrobiyal aktivite ölçümlerinde mikrodilüsyon testi

2.3.8. Mutasyonlar

Mutasyonlar, canlıların genetik materyalinde meydana gelen ve vücut hücrelerinde meydana geldiklerinde yalnızca canlıyı etkileyen, üreme hücrelerinde meydana geldiklerinde ise gelecek nesillere aktarılan kalıtsal değişikliklere denir. Mutasyonlar çevresel, kimyasal ve fiziksel etkenler ile oluşabilmektedirler. Mutasyonlar sonucunda canlı populasyonunda çeşitlilik sağlanmakta ve yeni türlerin ortaya çıkması olası hale gelmektedir (Suzuki ve ark., 1989; Cariello ve Piegorsch, 1996). Mutasyonlar, kromozom mutasyonları ve gen mutasyonları olmak üzere iki başlıkta incelenmektedir.

2.3.8.1. Kromozom Mutasyonları

Tüm canlıların genetik materyalini oluşturan kromozomların sayısı canlının kendisine özgüdür. Canlının gelişmişliği ile kromozom sayısı arasında bir orantı bulunmamaktadır. Canlılar arasındaki farklılık ise kromozom sayısı ile değil kromozom üzerindeki dizilim ile meydana gelmektedir. Diploid canlılar, anneden ve babadan gelen iki takım homolog kromozoma sahiptir. Bu kromozomlar bölünme sırasında ayrılamazsa kromozom sayısında anomaliler oluşur. Bunlar, kromozom sayısındaki ve kromozom yapısında varyasyonlar olmak üzere iki başlıkta incelenmektedirler.

2.3.8.1.1. Kromozom Sayısındaki Varyasyonlar

Kromozom sayısındaki varyasyonlar euploidi ve aneuploidi olmak üzere iki başlıkta incelenirler.

Euploidi: Kromozom takımının n veya n'nin katları şeklinde artması

- Monoploid: Tek kromozom takımı bulunması durumu (n)
- Triploid: Üç kromozom takımı bulunması durumu (2n+n)
- Tetraploid: Dört kromozom takımı bulunması durumu (2n+2n)
- Poliploid: Dört ve fazlası kromozom takımı bulundurma durumu

Aneuploidi: Kromozomun belirli parçasında gözlemlenen varyasyon

- Monosomik: Diploid canlıdaki bir çift kromozomun kaybı (2n-1)
- Trisomik: Diploid canlıdaki ekstra bir kromozomun bulunması (2n+1)
- Tetrasomik: Diploid canlıdaki ekstra bir kromozomun homoloğu ile beraber bulunması (2n+2)
- Nullisomik: Diploid canlıdaki ekstra bir kromozomun homoloğu ile birlikte kaybolması (2n+2)

2.3.8.1.2. Kromozom Yapısındaki Varyasyonlar

Kromozom yapısındaki varyasyonlar, translokasyon, inversiyon, delesyon, defisiyens, duplikasyon ve izokromozom olmak üzere altı başlıkta incelenirler (Akı, 2007).

Translokasyon: Kromozomun kopan veya kaybolan parçasının başka kromozoma yapışması

İnversiyon: Kopan bir kromozom parçasının ters dönerek koptuğu yere tekrar bağlanması

Delesyon: Kromozomun bir kısmının ortasından koparak yok olması

Defisiyens: Kromozom segmentinin terminal kısmından kopup kaybolması

Duplikasyon: Kopan bir kromozom parçasının homoloğu olan kromozoma yapışması

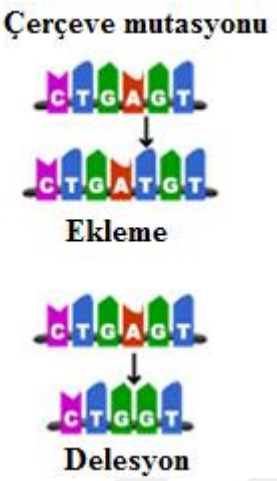
İzokromozom: Kromozomun boyuna değil enine bölünme durumu

2.3.8.2. Gen Mutasyonları

Bu mutasyonlardan bazıları, genlerde bulunan bir çift nükelotitin değişmesi ile ortaya çıkmaktadır. Bu mutasyonlara gen mutasyonları denilmektedir. Bu mutasyonlarda kromozomların yapısında değişiklik görülmez. Gen mutasyonları, çerçeve kayması ve baz değişimi olmak üzere iki şekilde gerçekleşebilir.

2.3.8.2.1. Çerçeve Kayması Mutasyonları

Çerçeve kayması diğer bir adı ile Frameshift mutasyonları, bir genin protein kodlayan kısmına birkaç baz çiftinin girmesi veya protein kodlayan kısımdan birkaç baz çiftinin çıkması ile oluşan mutasyon çeşididir. Bu mutasyon, bazların eksilen ya da eklenen kısımlarından itibaren kodların okuma çerçevesindeki kaymadan dolayı meydana gelir (https://tr.wikipedia.org/wiki/Çerçeve_kayması_mutasyonu) (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Çerçeve kayması mutasyonu (http://slideplayer.com/slide/10572855/)

2.3.8.2.2. Baz Değişimi Mutasyonları

Bu tip mutasyonlarda bazların değişimi transisyon mutasyonları ve transversiyon mutasyonları olmak üzere iki şekilde gerçekleşebilir.

TRANSİSYON	TRANSVERSİYON
➢ Pirimidin (C, T, U) ⟶ Pirimidin	Pirimidin ⟶ Pürin
➢ Pürin (A, G) ⟶ Pürin	Pürin ⟶ Pirimidin

2.3.9. Mutajenite ve Antimutajenite

2.3.9.1. Mutajenite

Günümüzde insanlar, ilaçlar ve gıda katkı maddeleri gibi günlük yaşamda sıklıkla kullanılan ve içeriklerinde çeşitli kimyasallar ve bazen de karsinojenlerin bulunduğu maddelerle karşı karşıya kalmaktadırlar. Mutajenik maddeler, canlıların kalıtsal materyallerinde değişiklik meydana getirecek kadar tehlikeli olmakla beraber beklenenin üzerinde mutasyona sebep olmaktadır. Kalıtsal materyalde meydana gelen değişikliğin nesilden nesile aktarılacak olması mutajenik maddelerin nelere yol açabileceğini

düşündürecek önemli bir sorudur. Mutasyona sebep olan maddeler aynı zamanda genotoksik etki olarak da ifade edilmektedir (Pierce, 2003). Mutajenler kimyasal olabildiği gibi fiziksel etmenlerle de ortaya çıkabilir. Buna güneşten yayılan UV ışınları örnek olarak gösterilebilinir.

2.3.9.2. Antimutajenite

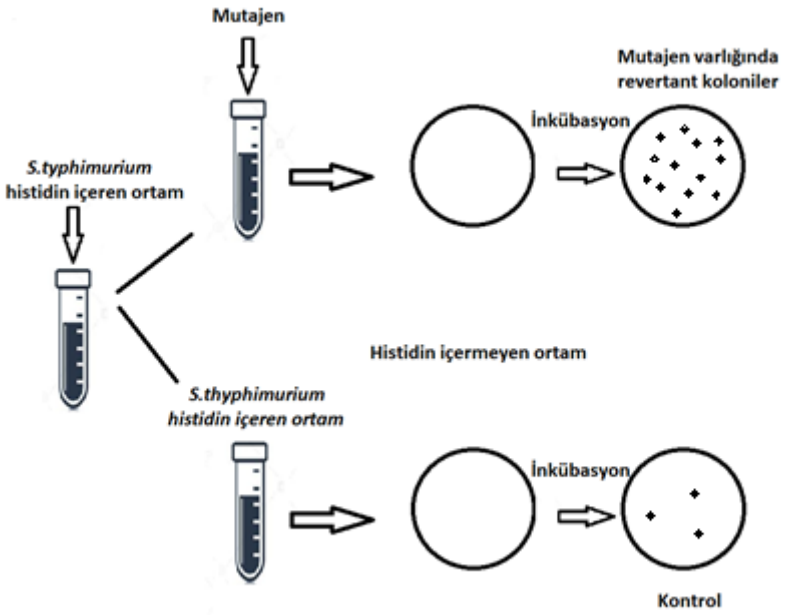
Kalıtsal materyaldeki değişimi tetikleyen maddenin etki değerini engelleyen maddeler antimutajenik olarak karşımıza çıkmaktadır. Antimutajen maddeler mutajen maddeleri inaktif duruma getirerek kalıtsal materyal ile etkileşime girmesini önleyip mutasyon oluşmamasını sağlar. Özellikle kalıtsal materyale zarar veren mutasyonların sonucu oluşan kanser gibi hastalıkların mutasyon türünü belirleyip onarabilmek için yeni antimutajenik ajanların sentezlenip üretilmesi canlılar açısından önem arz etmektedir.

2.3.9.2.1. Ames/*Salmonella* Testi

İlaç, boya, kozmetik ve gıda gibi sektörlerde kullanılan kimyasalların ham maddelerinin, biyolojik-mutajenik aktivitelerinin varlığının araştırılması insan sağlığı ve çevre açısından önemlidir. Bu sebeple testin adını da kendisinden aldığı Dr. Bruce Ames tarafından, *Salmonella typhimurium*'un mutant suşları kullanılarak mutajen ve antimutajen maddelerin aktivitelerini belirlenmesi için kullanılan kısa sürede sonuç alınabilen bir test geliştirilmiştir (Maron ve Ames, 1983).

Salmonella typhimurium LT2 atasal suşunun histidin sentezleme özelliğine sahip geninde oluşturulan mutasyonlar sonucunda elde edilen mutant suşlar bu testte kullanılmaktadır (Maron ve Ames, 1983). Testin ana teması, histidin sentezleyen gende oluşturulan mutasyon sonucunda meydana gelen mutant suşlardan histidin sentezleme özelliğini yitiren suş ve test edilecek madde bir araya getirilerek, yeniden mutasyon geçirip histidin sentezleyebilecek duruma geçmesi esasına dayanmaktadır (Şekil 2.15).

Çeşitli kimyasalların Ames testi ile mutajenitesinin belirlenmesi için histidine ihtiyaç duyan suşlar kullanılmaktadır. Bu suşlar; TA97, TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 ve TA1538'dir (Çizelge 2.1). Ames testinde mutajenik ajanların tespit edilmesinde aşırı duyarlılık gösterdiklerinden TA98 ve TA100 sık tercih edilen suşlardandır (Gatehouse ve ark., 1990). Bu suşlardan TA98 çerçeve kayması, TA100 suşu da baz değişimi mutasyonu ile mutant hale gelmişlerdir (Maron ve Ames, 1983).



Şekil 2.15. Ames testinin uygulanışı ve mutajenite gösteren koloniler

Çizelge 2.1. Mutajenite testlerinde kullanılan *Salmonella typhimurium* mutant suşlarının genetik özellikleri (Venitt ve ark., 1986)

Test Suşları	**Histidin Mutasyonu**	**LPS**	**Onarım**	**pKM 101**	**Mutasyon Niteliği**	**Belirlenecek Sınıflar**
TA97	his D6610	*rfa*	*uvr*B	+	CCC yanına +4	Çerçeve kaymasına neden olan mutajenler
TA98	his D3052	*rfa*	*uvr*B	+	CG yanından -1	Çerçeve kaymasına neden olan mutajenler
TA100	his G46	*rfa*	*uvr*B	+	AT → GC transisyon	Baz çifti yer değiştirmesine neden olan mutajenler
TA102	PA01 his G428/his	*rfa*	+	+	GC → AT	Oksidantlar, X ışınları, UV., mitomisin C...
TA1535	his G46	*rfa*	*uvr*B	-	AT →GC	Baz çifti yer değiştirmesine neden olan mutajenler
TA1537	his C3076	*rfa*	*uvr*B	-	C..…C yanına +	Çerçeve kaymasına neden olan mutajenler
TA1538	his D3052	*rfa*	*uvr*B	-	CG……CG yanından -1	Çerçeve kaymasına neden olan mutajenler

*pKM101: Mutajenlere karşı direnç gösteren plazmid

2.4. Polietileniminlerin Biyolojik Aktiviteleri

Polietileniminler (PEI) sağlık sektörü, deterjanlar, kozmetik ürünleri ve boya sanayi için önemli kimyasallardır. Bu yüzden polietilenimin ve türevlerinin biyolojik aktivitelerinin araştırılması gerek kanser ilaçlarının tasarlanma ve geliştirilmesinde gerekse diğer sektörlerdeki kullanımlarının insan sağlığına olan tehlikesinin araştırılması için önemlidir.

PEI, laboratuvar çalışmalarında, özellikle doku kültüründe farklı kullanımlara sahip olmakla birlikte aşırı kullanıldığı taktirde hücreler için toksiktir. Toksisite iki farklı mekanizma ile oluşur: hücre zarının bozulması, nekrotik hücre ölümüne (derhal) yol açar ve mitokondriyal membranın bozulması ise gecikmiş apoptoza yol açar (Vancha ve ark., 2004; Moghimi ve ark., 2005; Hunter, 2006).

Viral olmayan gen dağıtım sistemlerinde yer alan polietilenimin ve türevleri yüksek pozitif yük yoğunluğu nedeniyle belirgin bir konuma sahiptir (Liu ve ark., 2011). Bununla birlikte, PEI'nin *in vitro* ve *in vivo* transfeksiyon reaktifi olarak kullanılması, sitotoksik etkileriyle ciddi ölçüde sınırlandırılmıştır (Godbey ve ark., 2001). Son zamanlarda, PEI kısmına hidrofilik Polietilen glikol (PEG) eklenmesi ve yüksek pozitif yüklerin korunması yoluyla PEI toksisitesinin azaltılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır (Ahn ve ark., 2002; Petersen ve ark., 2002a, b).

PEI uygulamalarının son örnekleri, gen terapisinde, sulu dispersiyonlarda nanoparçacıkların tasarımında ve ilaçların kapsüllenmesinde görülmüştür (Cheng ve ark., 2006; Tian ve ark., 2007; Sunintaboon ve ark., 2009; Liu ve ark., 2011; Santos ve ark., 2012). Son zamanlarda, viral olmayan vektörler gen terapisi için daha güvenli alternatifler olarak önerilmiştir (Han ve ark., 2000; Cook ve ark., 2000). Viral olmayan vektörler arasında polietilenimin hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda gen aktarımı için başarıyla kullanılmıştır (Remy ve ark., 1998; Godbey ve ark., 1999; Petersen ve ark., 2002a; Bragonzi ve ark., 2004).

İminler, aynı zamanda ilaç alanında kullanılan önemli bileşiklerdendir. Antibakteriyel, antifungal ve antitümör aktivitelerinden biyolojik alanlarda faydalanılmaktadır (Sridhar ve ark., 2001; Mladenova ve ark., 2002; Zhou ve ark., 2000; Siddiqui ve ark., 2006).

Wang ve ark. (2008), Schiff bazının La(III) ve Sm(III) komplekslerini sentezleyerek karakterize etmişler ve Calf Timus DNA ile etkileşimini incelemişlerdir. Çalışmalarında La(III) kompleksinin, Sm(III) kompleksine göre DNA'ya daha yüksek bağlanma yeteneğine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada farklı

geometrik çevreye sahip komplekslerin farklı bağlanma özelliği gösterdiği de belirtilmiştir.

Li ve ark. (2007), Benzoilhidrazin içeren bir Schiff bazının Cu(II) ve Zn(II) kompleksleri sentezleyerek spektroskopik teknikler ile yapılarını karakterize etmişlerdir. UV-Vis spektrofotometre ile DNA bağlanma aktiviteleri belirlenmiştir. Deney sonuçlarında hem ligand hem de komplekslerin DNA'ya bağlanabileceğini ama komplekslerin bağlanma aktivitelerinin ligandtan çok daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Mandal ve ark. (1997), bir seri salen ve bunların Ni(II), Cu(II), Co(II) ve Mn(III) iyonları ile komplekslerini sentezleyerek karakterize etmişlerdir. Merkezdeki metal iyonunun ve ligand yükünün DNA bağlanma ve kesme etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada DNA bağlanma aktivitelerinin salen birimindeki yükün ve merkez atomunun dikkatli seçilmesiyle ayarlanabileceğini rapor etmişlerdir. Net katyonik yüke sahip salenlerin DNA'ya bağlanabildiğini, buna karşılık anyonik salenlerin bağlanmadığını vurgulamışlardır. Yine bu çalışmada, arzu edilen ölçüde DNA kesme aktivitesinin gözlemlenmesi için yüksek konsantrasyonda metallosalene ihtiyaç duyulduğu saptanmıştır.

Devagi ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada, dört yeni NS donör Schiff bazı içeren organometalik rutenyum(II) komplekslerini sentezleyerek DNA kesme aktivitesi incelenmişlerdir. Süper sarmal plazmid DNA kesme aktivitesi çalışmasında, komplekslerin herhangi bir harici ajan ilave edilmeksizin DNA'yı kesme aktivitelerine sahip olduğunu göstermişlerdir.

Bheemarasetti ve ark. (2018) yaptıkları yeni Schiff bazı metal komplekslerinin DNA kesme aktivitesini jel elektroforez yöntemi ile incelemiş ve sentezlenen bileşiklerin herhangi bir harici reaktif içermeyen güçlü bir kesme aktivitesine sahip olduğunu, ancak harici oksitleyici ajan ilave edildiğinde (H_2O_2) kesme aktivitesinin daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir.

Yörür Göreci ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada, yeni sentezlenen amino asit Schiff bazlarının biyolojik yapısını ve DPPH yöntemi ile serbest radikal süpürme aktivitesini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda kullanılan tüm bileşiklerin, konsantrasyona bağlı DPPH radikalini inhibe ederek yüksek derecede serbest radikal temizleme aktivitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Paşa ve arkadaşları (2016), Boronik-imin yapılı bileşiklerin antikanser, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Antioksidan aktiviteleri, 2,2 ' -diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) ve Bakır(II) İyonu İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasite (CUPRAC) yöntemleriyle araştırılmış ve B6 bileşiğinin yapılan antioksidan deneylerinin hepsinde en

yüksek antioksidan aktivite gösterdiği diğerlerine göre daha iyi antioksidan ajan olduğu bildirilmiştir.

Bheemarasetti ve ark. (2018), yaptıkları yeni Schiff bazı metal komplekslerinin antioksidan aktivitesini DPPH yöntemi ile incelemiş, Ni(II) kompleksinin, standart Butil Hidroksi Toluene (BHT) benzer antioksidan aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

Gümrükçüoğlu ve ark. (2013), yeni sentezlenmiş olan triazol türevlerinin anti-bakteriyel, antioksidan etkileri incelenmiştir. Test edilen bileşikler, 1000 µg/mL konsantrasyonda standart BHT'den daha düşük aktivite göstermiştir. İndirgeme yetenekleri ve pozitif kontrol arasında bir korelasyon bulunmuştur. Bu çalışmada yeni bis-1,2,4-triazol türevlerinin antibakteriyel, antiüreaz ve antielastaz aktiviteleri olduğunu göstermiştir. Anti elastaz, antiüreaz ve serbest radikal süpürücü olarak düşünülebilir durumda olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle, bu bileşikler farmasötik, kozmetik ve tarım endüstrisinde antioksidan, antielastaz, antibakteriyel ve antiüreaz kaynağı olarak kullanılabilirliği belirlenmiştir.

Kaya ve ark. (2015), yeni sentezlenmiş bileşikleri, standart referans bileşiği olarak troloksa karşı normal (oda sıcaklığında) ve inkübe edilmiş (50 °C'de) CUPRAC ve toplam antioksidan kapasite (TAC) yöntemleri kullanarak analiz etmişlerdir. Sonuç olarak; kompleksleşmenin, ligand molekülünün karakteristik kimyasal özelliklerini önemli ölçüde değiştirebildiğini ve aktiviteyi genel olarak artırabildiğini görmüşlerdir. Bununla beraber komplekslerin daha yüksek antioksidan aktivitesinin muhtemelen molibdenil katyonlarının etkisi nedeniyle ortaya çıktığı saptanmıştır.

Gönül ve ark. (2016), sentezlenen 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehit ve 2,4-dimetoksianilin ile 2-hidroksi-1-naftaldehitten türetilmiş HL1 ve HL2 Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin (Co(II), Ni(II) ve Cu(II)) CUPRAC yöntemine göre, toplam antioksidan kapasitesini (TAC), 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,1 mg/mL konsantrasyonlarda ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe ederek incelemişlerdir. HL1 ligandı ve komplekslerinin, ligand HL2 ve komplekslerine kıyasla daha iyi antioksidan aktivite gösterdiğini, Schiff bazı ligandları ve bunların metal kompleksleri referans troloksa kıyasla önemli antioksidan aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Sentezlenen HL1 ve HL2 Schiff bazı ligandlarının Co(II), Ni(II) ve Cu(II) geçiş metal komplekslerinin radikal süpürme aktivitelerini DPPH yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda karşılaştırma yaparak incelemişlerdir. Tüm metal komplekslerin, kullanılan standarta (Vitamin C) kıyasla daha az aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. HL1 ve metal kompleksleri, HL2 ve metal komplekslerine göre önemli ölçüde daha yüksek antioksidan aktivitesi göstermiştir.

Ejidike ve ark. (2015), sentezlenen Schiff bazı metal komplekslerinin serbest radikallere karşı elde edilen antioksidan aktivite sonuçları, komplekslerin DPPH ve ABTS ve antioksidan deneylerde gözlemlenen daha düşük IC_{50} değerlerinin, sentezlenmiş komplekslerin radikalleri süpürmek için diferansiyel ve seçici etkiler sergilediğini doğrulamışlardır.

Shanty ve ark. (2016), Schiff bazı bileşiklerinin DPPH radikallerinin oluşumunu durdurmak için etkili olduklarını ve diğer antioksidan deneylerde gözlemlenen daha düşük IC_{50} değerlerinin, bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri için farklı ve seçici etkiler sergilediğini doğrulamışlardır.

Gürkök (2017) yaptığı çalışmada, sentezlenen indol türevi bileşikleri dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde 0,01 M'lık çözeltileri hazırlanarak DPPH aktivitesine bakmıştır. Maddelerin IC_{50} degerleri hesaplanıp melatoninle karşılaştırıldığında ise melatonine oranla yaklasık 20-40 kat daha fazla aktivite gösterdikleri bulunmuştur.

Halikar ve ark. (2017), tiyazolidinon türevlerinin antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon tekniği kullanarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda yeni sentezlenen bileşikler, standart streptomisine karşı 7-18 mm'lik inhibisyon zonu sergilerken, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus substilis*, *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli*'ye karşı 18-22 mm'lik bir inhibisyon zonu gösterdiğini bulmuşlardır. Ayrıca 4b, 4c, 4d türevlerinin de sırasıyla *S. aureus*, *B. substilis*, *S. typhimurium* ve *E. coli*'ye karşı en iyi aktiviteyi gösterdiği sonucuna varmışlardır.

Tahriri ve ark. (2017), sentezlenen sülfonamid Schiff bazı bileşiklerini, Gram-pozitif, Gram-negatif bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivite açısından değerlendirmişlerdir. Her iki bileşiğin de çalışılan tüm Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı orta ila yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Mayalara karşı ise bileşik l'in bileşik 2'den daha aktif olduğunu gözlemlemişlerdir.

Shaabani ve ark. (2017), sentezledikleri Schiff bazlarının [HL = 4-hidroksi-N'-((piridin-2-il) metilen) -benzohydrazide] ve komplekslerinin [Cr (L) (N_3) (OCH_3)] 2 (1), [Mn(HL) 2(N_3)$_2$] (2), ve [Fe(L) (N_3) (OCH_3)] 2 -H_2O(3) antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon yötemi ile araştırmış, HL 1 – 3'ün antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde serbest ligandın Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı aktif olmadığını, fakat kompleksler üzerinde aktivitenin arttığını gözlemlemişlerdir.

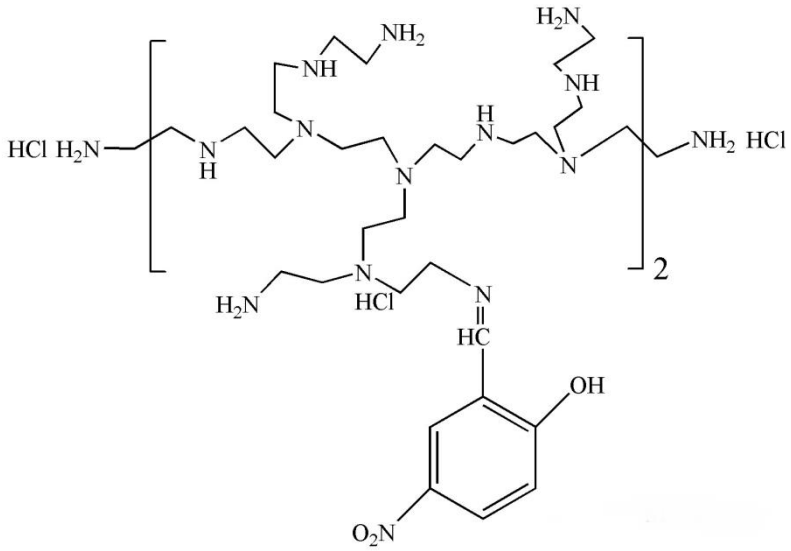
Sabaa ve ark. (2017), Schiff bazı türevlerini ve greftleme kitosanı, *Streptococcus pneumonia* RCMB 010010, *Staphylococcus aureus* RCMB 010028, *Escherichia coli* RCMB 010052, *Aspergillus fumigatus* RCMB 02568, *Candida albicans* RCMB 05036 ve

Geotricum candidum'a RCMB 05097 karşı antifungal ve antibakteriyel aktivitelerini, disk difüzyon tekniği kullanarak incelemişlerdir. Elde edilen veriler neticesinde, greftleme ile modifiye kitosanın, normal kitosandan daha iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiğini kanıtlamışlardır. Ayrıca Schiff bazı türevlerinin greftleme kitosandan daha iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

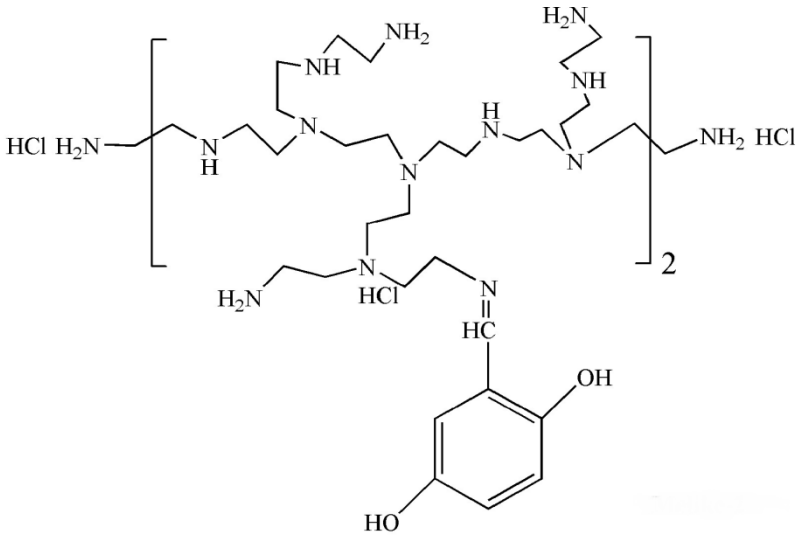
BÖLÜM 3
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Test Edilen Polietilenimin Bileşikleri

Bu çalışmada kullanılan polietilenimin türevleri Doç. Dr. Mustafa YILDIZ (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Anorganik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi) tarafından sentezlenerek yapıları aydınlatılmıştır. Test bileşiklerinin kimyasal yapıları aşağıda verilmiştir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2).



Şekil 3.1. Polietilenimin-5-nitrosalisilaldehit Schiff bazı (Bileşik **1)**



Şekil 3.2. Polietilenimin-5-hidroksisalisilaldehit Schiff bazı (Bileşik **2**)

3.2. DNA'yı Kesme Aktivitesinin Belirlenmesi

3.2.1. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi

Çalışma kapsamında, yeni sentezlenen suda çözünen polietilenimin bileşiklerinin kesme aktivitelerini incelemek için Agaroz jel elektroforez yöntemi kullanıldı. Bu test kapsamında kullanımı en yaygın olan plazmid pBR322 DNA (Thermo Scientific) kullanılmıştır. Polietilenimin bileşiklerinin stok konsantrasyonları suda çözdürülerek hazırlandı. Daha sonra bileşiklerin stok çözeltilerinden 1,25, 2,5, 5, 10 ve 20 μM'lık konsantrasyonlardaki çözeltiler hazırlandı. Test bileşiklerinin DNA kesme özelliği ortama hidrojen peroksit (H_2O_2) ilave edilmeden ve ilave edilerek araştırıldı.

Ortama H_2O_2 ilave edilmeden, yani hidrolitik kesme aktivitesinin belirlenmes için sırası ile eppendorflara 14 μL distile su, 2 μL Tris-HCl tamponu, 2 μL plazmid pBR322 DNA, 2 μL bileşik eklenerek toplam karışım 20 μL yapıldı.Daha sonra karışım 3 saat boyunca 37°C'de inkübasyona tabii tutuldu.

Ortama H_2O_2 ilave edilerek, yani oksidatif kesme aktivitesinin belirlenmesi için eppendorflara 12 μL distile su, 2 μL Tris-HCl tampon, 2 μL plazmid pBR322 DNA, 2 μL bileşik ve 2 μL H_2O_2 (10mM) eklenerek toplam hacim 20 μL olacak şekilde karışım hazırlandı. Elde edilen karışım 3 saat boyunca 37 °C'de inkübasyona tabii tutuldu. İnkübasyon sırasında, görüntülemede kullanılacak %1'lik agaroz jel hazırlandı ve oda sıcaklığında donmaya bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, tanka konulan tamponun ardından jel yerleştirildi. Yukarıda hazırlanan çözeltilerin bulunduğu eppendorfların her birine 2μL 6X agaroz yükleme tamponu eklenerek pipetaj yöntemi ile karışmaları sağlandı ve örnekler jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elektroforez tankı 60 V'da ve 60 dk olacak şekilde ayarlanarak örneklerin yürütülmesi sağlandı. Süre sonunda elde edilen bant görüntüleri Bio-Imaging sysyems cihazında görüntülenerek fotoğraflandı (Qiao ve ark., 2011).

<u>100 mM Tris-HCl tamponunun hazırlanması:</u>

2,42 g Tris

Distile su

HCl

Tris üzerine distile su eklenerek çözdürüldü. Çözdürme işlemi sonrasında HCl ile pH 7,6 olacak şekilde ayarlandı. Son hacmi 200 mL olacak şekilde distile su eklenerek 0,22 μm çaplı membran filtreden geçirildi.

10X TAE yürütme tamponunun hazırlanması:

48,4 g Tris

5,5 mL Glasiyel asetik asit

20 mL EDTA (0,5 M)

Distile su

Tris, glasiyel asetik asit ve EDTA, distile suda çözdürüldü. Çözeltinin pH'ı 8,0'e ayarlanarak karışımın hacmi 1000 mL'ye tamamlandı.

6X Agaroz yükleme tamponunun hazırlanması:

Gliserol

0,5 M EDTA ((Sigma-Aldrich)

Bromofenol mavisi

Ksilen siyanol

%30 gliserol, EDTA, %0,3 bromofenol mavisi ve % 0,3 ksilen siyanol toplam 10 mL olacak şekilde hazır hale getirildi.

% 1'lik Agaroz jel hazırlanması:

1g Agaroz (Sigma-Aldrich)

100 mL 1X'lik TAE

Agaroz üzerine 10X'lik TAE'den seyreltilerek 1X'lik TAE haline getirilen TAE'den 100 mL eklendikten sonra manyetik karışıtırıcıda ısıyla birlikte çözünmesi sağlandı. Çözelti hafif soğuduktan sonra (yaklaşık 60 °C) üzerine 3 µL etidyum bromür eklenerek karıştırıldı.

3.3. DNA'ya Bağlanma

3.3.1. UV-görünür Alan Absorbsiyon Spektroskopisi Yöntemi

Bu çalışmada Calf Timus DNA'sı (CT-DNA) (Sigma-Aldrich) ve tampon olarak ise TNE (10 mM Tris-HCl, 50 mM NaCI ve 1 mM EDTA) pH 7.4 olacak şekilde hazırlanıp kullanıldı. Nükleotid başına DNA konsantrasyonu, absorbsiyon spektroskopisiyle, 260 nm'de molar absorbsiyon katsayısı kullanılarak belirlendi. Her DNA eklendiğinde 5 dk bekletildikten sonra ölçümleri yapıldı. Kontrol olarak, etidyum bromür kullanıldı (Jerrum, 2009).

Çalışmadaki test bileşikleri distile su ile çözülerek konsantrasyonları $5x10^{-3}$ M olacak şekilde stok çözeltileri hazırlandı. Ardından son konsantrasyonları 10-30 mM olacak şekilde TNE tamponu ile seyreltildi. Deneyde bileşiklerin derişimleri sabit tutuldu bununla eş zamanlı olarak CT-DNA'nın derişimi kademeli olarak arttırılarak bileşiklerin

çözeltisine eklendi. Her eklemede 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra sprektrofotometrede (PG Instruments T+80 UV/Vis spectrophotometer) köre karşı 200-600 nm arasında okumalar yapıldı. Kör olarak TNE tamponu kullanıldı. Bu okumalar piklerin en iyi görüldüğü 10-30 μM arsındaki konsantrasyonlarda yapıldı. Aborbsiyonda herhangi bir değişiklik gözlemlenmeyene kadar CT-DNA eklenerek okuma yapılmaya devam edildi.

Okuma sonucunda elde edilen verilerden bileşiklerin CT-DNA'ya bağlanma sabiti (Kb) hesaplandı. Aşağıdaki formül kullanılarak her DNA konsantrasyonuna karşı Kb değerleri grafiğe aktarıldı.

$$[DNA]/(\varepsilon A-\varepsilon f) = [DNA]/(\varepsilon B-\varepsilon f) + 1/Kb(\varepsilon B-\varepsilon f) \quad (3.1.)$$

Absorbans şiddetindeki değişimlerin yüzde olarak hesaplanması için aşağıdaki formül (3.2) kullanıldı. Formül üzerindeki %H; yüzde kromisiteyi, Ai; serbest haldeki bileşiğin absorbans şiddetini, As ise DNA eklenmesinin ardından maksimum konsantrasyondaki bileşiğin absorbans şiddetini göstermektedir.

$$\%H=[(Ai-As)/ (Ai)] \times 100 \quad (3.2.)$$

<u>Calf thymus (CT-DNA) hazırlanması:</u>

Calf thymus DNA (Sigma-Aldrich)

Distile su

CT-DNA distile su ile çözdürülerek saklandı.

<u>TNE tamponu hazırlanması:</u>

0,605 g Tris (Merck)

1,46 g NaCl (Merck)

1mL EDTA (Sigma- Aldrich) (pH:8,0)

HCl (Merck)

Distile su

Tris, NaCl ve EDTA üzerine distile su eklenerek karışımın çözünmesi sağlandı. Ardından HCl eklenerek karışımın pH'ı 7,4'e sabitlenerek üzerine son hacmi 1000 mL olacak şekilde distile su eklendi. Elde edilen bu karışım, sterilizasyon için membran filtreden süzüldü ve çalışma boyunca oda sıcaklığında muhafaza edildi.

3.4. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

3.4.1. Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemi (CUPRAC)

$CuCl_2$ hazırlanması:

0,0852 g $CuCl_2$ (Sigma-Aldrich)

Distile su

$CuCl_2$ üzerine 50 mL distile su eklenerek, çözelti çalışmada kullanılmadan önce karanlık ortamda 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda iyice çözdürülerek hazır hale getirildi.

Neokuproin hazırlanması:

0,078 g Neokuproin (Sigma-Aldrich)

Etanol

Neokuproin üzerine 50 mL etanol eklenerek, çözelti çalışmada kullanılmadan önce karanlık ortamda 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda iyice çözdürülerek hazır hale getirildi.

Amonyum asetat hazırlanması:

3,854 g Amonyum asetat (Sigma-Aldrich)

Distile su

Amonyum asetat 50 mL distile su eklenerek, çözelti çalışmada kullanılmadan önce karanlık ortamda 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda iyice çözdürülerek hazır hale getirildi.

Butil Hidroksi Toluen (BHT) hazırlanması:

0,01 g BHT (Sigma-Aldrich)

Distile su

BHT üzerine 10 mL distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile karışımın çözünmesi sağlandı ve kullanıma hazır hale getirildi.

Polietilenimin türevlerinin toplam antioksidan kapasitesini belirlemek için CUPRAC testi uygulandı (Apak ve ark., 2005). Testte kullanılan 10 mM $CuCl_2$ çözeltisi, 1M amonyum asetat tampon çözeltisi (pH=7,0) ve 7,5 mM neokuproin çözeltisi ayrı ayrı hazırlandı. Pozitif kontrol olarak kullanılacak BHT deneyde kullanılacak numuneler ile aynı dozda olacak şekilde ayarlandı. Öncelikle küvetlere 50, 100, 200 ve 400 µg/µL konsantrasyonlarda hazırlanmış bileşiklerden 250 µL, üzerlerine sırasıyla 250 µL $CuCl_2$, 250 µL neokuproin ve 250 µL amonyum asetat tamponu ve son olarak 1 mL distile su eklenerek küvetlerin toplam hacmi 2 mL olacak şekilde ayarlandı, kimyasalların iyice

karıştırılması sağlandı. Küvetler karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Süre sonunda her bir küvet, 450 nm'deki absorbans değerleri hazırlanan köre karşı (etanol) okundu. Pozitif kontrol olarak BHT ve negatif kontrol olarak bileşik yerine distile su kullanıldı.

3.4.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH)

DPPH hazırlanması:

0,0025 g DPPH (Sigma-Aldrich)

Distile su

DPPH üzerine 10 mL distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak çözüldü. Çözünen bu çözelti karanlık ortamda 6 saat boyunca oda sıcaklığında muhafaza edildi.

BHT hazırlanması:

0,01 g BHT (Sigma-Aldrich)

Distile su

BHT üzerine 10 mL distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak çözüldürülerek kullanıma hazır hale getirildi.

Serbest radikal giderme aktivitesi DPPH testi Blois (1958) metotuna göre 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak yapıldı. Serbest radikal olarak DPPH'ın 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Küvetlere sırasıyla 50, 100, 150, 200 ve 250 µg/µL konsantrasyonlarındaki stok çözeltilerin eklenmesinin ardından toplam hacimleri 3 mL olacak şekilde etanol ile tamamlandı. Ardından her bir örnek küvetine, hazırlanan stok DPPH çözeltisinden 1 mL ilave edilerek, karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra içerisinde yalnızca etanol bulunduran kör örneğe karşı 517 nm'de absorbansları okunarak kaydedildi. Kontrol olarak, 3 mL etanol ve 1 mL DPPH çözeltisinden hazırlanan örnek kullanıldı. Elde edilen absorbans değerlerinden inhibisyon değerleri hesaplandı. Standart olarak BHT kullanıldı. Örneklerin absorbans değerleri (A örnek) negatif kontrole (A kontrol) göre değerlendirildi.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (\text{A kontrol} - \text{A örnek})/\text{A kontrol} \times 100 \quad (3.3)$$

3.5. Mutajenik ve Antimutajenik Aktivitenin Belirlenmesi

3.5.1. Test Suşları ve Özellikleri

Bileşiklerin mutajenite ve antimutajenite aktiviteleri çerçeve kayması mutasyonu için *Salmonella typhimurium* TA98 ve baz çifti değişimi mutasyonu için TA100 mutant suşları kullanılarak belirlenmiştir.

3.5.2. Çalışmada Kullanılan Stok Çözeltiler ve Besiyerleri

3.5.2.1. Stok Çözeltiler

%20 Glikoz çözeltisi hazırlanması:

2 g Glikoz (Merck)

Distile su

Glikoz üzerine 10 mL distile su ilave edilerek çözüldükten sonra otoklavda sterilize edildi. Daha sonra MGA, HB ve HBA plaklarının hazırlanmasında kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Biyotin (%0,05 mM) çözeltisi hazırlanması:

0,01 g D-Biyotin (M_A: 224,3 g/mol) (Sigma-Aldrich)

Distile su

100 mL distile suya 0,01 g D-Biyotin eklenerek çözüldü. Daha sonra çözelti sterilizasyon için membran filtreden (0,22 μm) geçirilerek, HBA plaklarının hazırlanması ve genotip kontrolünde kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Histidin (%0,05 mM) çözeltisi hazırlanması:

0,25g L-Histidin (M_A: 155,15 g/mol) (Sigma-Aldrich)

Distile su

L-Histidin üzerine 50 mL distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözünmesi sağlandı. Daha sonra çözeltinin sterilizasyonunun sağlanması için membran filtreden (0,22 μm) geçirilmesi ardından, HB ve HBA plaklarının hazırlanmasında kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Histidin/Biyotin (0,5 mM) çözeltisi hazırlanması:

0,031 g D-Biyotin (M_A: 224,3 g/mol) (Sigma-Aldrich)

0,024 g L-Histidin.HCl (M_A:191,7 g/mol) (Sigma-Aldrich)

Distile su

100 mL distile su içerisine sırası ile D-Biyotin ve L-Histidin.HCl eklenerek manyetik karıştırıcı yardımı ile tamamen çözdürülmesi sağlandı. Daha sonra çözeltinin sterilizasyonunun sağlanması için membran filtreden (0,22 μm) geçirilmesi ardından top

agar hazırlama sırasında kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Sodyum-Fosfat tamponu hazırlanması:

3 mL 0,2 M Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($NaH_2PO_4.H_2O$) (Merck)

(6,9 g/250 mL) (M_A 137,99 g/mol)

22 mL 0,2 M Disodyum hidrojen fosfat dihidrat ($Na_2HPO_4.2H_2O$) (Merck)

(8,9 g/250 mL) (M_A 177,99 g/mol)

Her iki çözelti de birbirinden ayrı şekilde hazırlandıktan sonra karıştırılıp pH'ı 7,4'e ayarlandı. Hazırlanan karışımın sterilizasyonunun sağlanması için otoklavlanmasının ardından deney sırasında top agara eklenmesinde kullanılmak üzere hazır hale getirildi.

NaOH (0,02 N) çözeltisi hazırlanması:

0,04 g Sodyum hidroksit (NaOH) (M_A: 40g/mol) (Merck)

Distile su

NaOH üzerine 50 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcı ile çözüldü ve ampisilin çözeltisinin hazırlanması için uygun koşullarda saklandı.

Ampisilin (%0,8/0,02 N NaOH) çözeltisi hazırlanması:

25 mL 0,02 N NaOH (Merck)

0,2 g Ampisilin trihidrat ($C_{16}H_{19}N_3O_4S.3H_2O$) (Sigma-Aldrich)

Ampisilin trihidrat üzerine 25 mL 0,02 N NaOH eklenmesinin ardından manyetik karıştırıcı yardımı ile çözünmesi sağlandı. Daha sonra çözeltinin sterilizasyonunun sağlanması için membran filtreden (0,22 μm) geçirilmesinin ardından HBA plaklarının hazırlanması ve ampisiline karşı direnç kontrolü sırasında kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Tuz çözeltisi hazırlanması:

0,9 g NaCl (Merck)

Distile su

NaCl üzerine 100 mL distile su eklenmesinin ardından manyetik karıştırıcı yardımı ile çözünmesi sağlandı. Daha sonra sterilizasyon için otoklavlanarak bakteri kültürlerinin seyreltilmesinde kullanılmak üzere hazır hale getirildi.

4-Nitro-*o*-fenilendiamin (NPD) (0,1μg/μL) hazırlanması:

1 mg 4-Nitro-*o*-fenilendiamin (NPD) (Sigma-Aldrich)

10 mL DMSO (Merck)

NPD üzerine 10 mL DMSO eklenmesinin ardından manyetik karıştırıcı yardımı ile çözünmesinin sağlanmasının ardından sterilizasyon için membran filtreden geçirilerek TA98 suşunun pozitif kontrolü olarak kullanılmak üzere oda sıcaklığında muhafaza edildi.

Sodyum azid (0,01µg/µL) hazırlanması:

0,1 mg Sodyum azid (SA)(NaN_3) (Sigma-Aldrich)

Distile su

Sodyum azid üzerine 10 mL distile su eklenmesinin ardından manyetik karıştırıcı yardımı ile çözünmesinin sağlanmasının ardından sterilizasyon için membran filtreden geçirilerek TA100 suşunun pozitif kontrolü olarak kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

50X Vogel Bonner Medium tuzunun hazırlanması:

1 g Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4.7H_2O$) (Sigma-Aldrich)

10 g Sitrik asit monohidrat ($C_6H_8O_7.H_2O$) (Sigma-Aldrich)

50 g Potasyum fosfat (K_2HPO_4) (Sigma-Aldrich)

17,5 g Sodyum amonyum fosfat tetrahidrat $NaHNH_4(PO_4.4H_2O)$ (Sigma-Aldrich)

Distile su

Distile suyun içerisine sırası ile magnezyum sülfat heptahidrat, sitrik asit monohidrat, potasyum fosfat ve sodyum amonyum fosfat tetrahidrat eklenerek son hacmi 100 mL olacak şekilde distile su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltinin manyetik karıştırıcı yardımı ile çözünmesinin sağlanmasının ardından sterilizasyon için membran filtreden geçirilerek MGA, HB ve master plaklarda kullanılmak üzere oda sıcaklığında saklandı.

Kristal Viyole (% 0,1) çözeltisinin hazırlanması:

0,2 g kristal viyole (Merck)

Distile su

Kristal viyole boyası üzerine 200 mL distile su eklenerek karıştırıldı ve *rfa* mutasyonunun kontrolü sırasında kullanılmak üzere karanlık ortamda +4 ºC'de saklandı.

3.5.2.2. Besiyerleri

Histidin Biyotin Agar (HB) hazırlanması:

0,75 g Agar (Difco)

1 mL 50X VB

5 mL %20'lik glikoz çözeltisi

0,5 mL %0,5'lik histidin çözeltisi

0,3 mL 0,5mM'lık biyotin çözeltisi

Distile su

Agar üzerine distile su eklenerek, sterilizasyon için otoklavlandı. Sonrasında karışıma sırası ile 50X VB, %20'lik glikoz, %0,5'lik histidin ve mL 0,5mM'lık biyotin eklenerek son hacmi distile su ile 50 mL haline getirilip petrilere paylaştırılması sağlandı.

Histidin gereksinimi kontrolünde kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Histidin/Biyotin/Ampisilin Agar (HBA) hazırlanması:

0,75 g Agar (Difco)

1 mL 50X VB

0,5 mL %0,5'lik histidin çözeltisi

0,3 mL 0,5 mM'lık biyotin çözeltisi

0,1575 mL (%0,8/0,02 N NaOH) ampisilin

Distile su

Agar üzerine distile su eklenerek çözelti sterilizasyon için otoklavlandı. Sonrasında karışıma yukarıda listenen kimyasallar eklenerek petrilere eşit miktarda paylaştırılması sağlandı. Suşların ampisiline direçlilik özelliğinin kontrolü ve master plakların hazırlanmasında kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Nutrient Agar (NA) hazırlanması:

1,25 g Nutrient Broth (Oxoid, No:2)

0,75 g Agar

Distile su

Agar ve Nutrient broth üzerine 50 mL distile suyun eklenmesi sonrasında sterilizasyon için otoklavlandı. Hazırlanan besiyerleri petrilere eşit miktarda paylaştırılarak genotip kontrollerinde kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Nutrient Broth (NB) hazırlanması:

2,5 g Nutrient Broth (Oxoid, No:2)

Distile su

Nutrient Broth üzerine 100 mL distile su eklenerek manyetik karıştırıcı yardımı ile çözdürüldü. Çözelti 20 mL olacak şekilde erlenlere paylaştırılarak otoklavlandı. Bakterilerin gecelik kültürde üretilmelerinde kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Minimal Glukoz Agar (MGA) hazırlanması:

1,5g Agar (Difco)

2 mL 50X VB

10 mL %20'lik glikoz (Merck)

Distile su

Agar üzerine distile su eklenmesi sonrasında sterilizasyon için otoklavlandı. Daha sonra karışıma sırasıyla 50X VB ve %20'lik glikoz eklenerek son hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan besiyerleri petrilere eşit miktarda paylaştırılarak hazır hale getirildi. Spontan olarak geri dönüş sıklığı kontrolü, mutajenite/antimutajenite deneyi,

negatif ve pozitif kontrolde kullanılmak üzere +4 ºC'de saklandı.

Top (Üst) Agar hazırlanması:

6 g Agar

5 g Sodyum klorür (NaCl) (Merck)

Distile su

Agar ve sodyum klorür üzerine 1000 mL distile su eklenerek manyetik karıştırıcı yardımı ile çözdürüldükten sonra cam tüplerin her birine 2 mL olacak şekilde eşit olarak paylaştırıldı. Sonrasında tüpler sterilizasyon için otoklavlandı. Otoklavdan çıkan tüpler su banyosuna (42 ºC) konularak çalışma için hazır hale getirildi.

3.5.3. Test Suşlarının Genetik Özelliklerinin Kontrol Edilmesi

Test suşlarının genetik özelliklerinin istenilen şekilde olması çalışmanın güvenilirliğini desteklemektedir. Bunun için test suşlarının genetik özelliklerinin istenilen şekilde olması, orijinal mutasyonlara sahip olup olmadıkları, histidin gereksinimi, *rfa* mutasyonu, *uvr*B mutasyonu ve R faktörü testleri ile sağlandı.

3.5.3.1. Histidin Gereksinimi Kontrolü

Suşların histidin gereksinimi kontrolü için de histidin ve biyotin bulunmayan besiyeri (MGA) kontrol olarak kullanıldı. Bu besiyeri sayesinde, histidin içermeyen bakteriler (his^-) histidine içeren bakterilerden (his^+) ayırt edilebilmektedir. Çalışmada kullanılacak suşlar his^- özelliğinde olduğundan dolayı MGA içeren petrilerde üremeleri gözlenmez. Suşlar histidin ve biyotin varlığında üreyebildikleri için de histidin /biyotin içeren besiyeri yani HB agar içeren petrilerde üremeleri gözlenmektedir. Çalışmada kullanılacak olan suşlar için 12-16 saatlik nutrient broth içeren petrilerde üretilen taze kültür için, bir gece boyunca üretilmiş bakterilerden HB ve MGA petrilerine çizgi ekim yapılarak, 37 °C'de 48-72 saat inkübe edildi.

3.5.3.2. *rfa* Mutasyonu Kontrolü

rfa Mutasyonu *Salmonella typhimurium* mutant suşlarının hücre duvarındaki liposakkarit tabakanın yapımında oluşan genlerde görülen mutasyondur. *rfa* mutasyonu sayesinde daha büyük moleküllerin zardan geçmesi sağlanarak, zar geçirgenliği özelliğini arttırması hedeflenmiştir. Bu mutasyon kontrolünde, test edilecek suşların *rfa* taşıyıp taşımadıklarını saptamak için kristal viyole hassasiyeti testi uygulandı. 12-16 saatlik gecelik kültürleri hazırlanan suşlardan 100 µL alınarak nutrient agar (NA) petrilerine ekim

yapıldı. Petrilerin orta kısmına steril filtre kağıdı disklerden konularak üzerine % 0,1'lik kristal viyole çözeltisinden 10 µL emdirildi. 37 °C'de 24 saat inkübe edilmelerinin ardından petrilere yerleştirilen disklerin etrafında şeffaf inhibisyon zonu olup olmadığı gözlemlendi. Suşların içerisine kristal viyolenin girip etkilemesinden dolayı zon oluşturarak suşların üremesi engellenmektedir. Bu da bize suşların *rfa* mutasyonunu taşıdıkları göstermektedir.

3.5.3.3. *uvr*B Mutasyon Kontrolü

Bu mutasyon, bakterilerde UV ışığı nedeniyle DNA'da ortaya çıkan replikasyon hatalarının onarım mekanizmasının engellenmesini sağlamaktadır. Bu mutasyonun kontrolü ise ultraviyole ışınlarına duyarlılık testi ile tespit edildi. Testte suşlar NA petrilerine öze yardımı ile çizgi ekim yapılarak ekildi. Daha sonra petrilerin yarısı kapatılarak 30 watt'lık germisidal UV ışığına 33 cm yükseklikten, 8 saniye boyunca maruz bırakılmasının ardından 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda petrilerin UV'ye maruz bırakılan bölgesinde üreme görülmezken, UV'ye maruz bırakılmayan kısımda normal oranda üreme gözlemlendi. Bu da test edilen bakterilerin *uvr*B mutasyonu taşıdığını gösterdi.

3.5.3.4. R Faktör Kontrolü

R Faktörü bir diğer adı ile ampisilin direnç faktörü içeren pKM101 plazmidinin korunup korunmadığı R faktörü kontrolü ile gerçekleşmektedir. HBA petrilerine TA98 ve TA100 mutant suşları, pKM101 plazmidi taşıyıp taşımadıklarının kontrolü için ekim yapıldı. 37 ºC'de 24 saat inkübe edilen HBA petrilerinde üreme gösteren TA98 ve TA100 mutant suşların pKM101 plazmidi taşıyan suşlar olarak belirlendi (Ames ve ark., 1973).

3.5.4. *Salmonella typhimurium* Mutant Suşların Master Plaklarının Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak bakteri kültürlerinden HBA plaklarına ekim yapılmasının ardından 37 ºC'de 48 saat inkübasyonu sağlandı. İnkübasyon sonucunda, petride izole halde olan kolonilerden öze yardımı ile alınarak 63 µL ampisilin çözeltisi içeren 20 mL NB'ye ekildi. Daha sonra 37 ºC'de 12 saat inkübasyon sonrasında HBA petrilerine çizgi ekim yapıldı. HBA petrilerine ekilen bakteriler 37 ºC'de 48 saat inkübe edilmesinin ardından petriler 2 ay boyunca +4 °C'de saklandı.

3.5.5. *Salmonella typhimurium* Suşlarının Stoklanması

Çalışmada kullanılan mutant suşların özelliklerini ve canlılıklarını koruyabilmeleri için stoklanmaları gerekmektedir. Stoklama için HBA'da üremiş ve aynı zamanda genetik kontrolleri de yapılmış olan suşlardan izole olan kolonilerinden NB'a alınarak 37 ºC'de 12 saat inkübasyonun ardından eppendorflara 900 µL bakteri kültürü ve 100 µL DMSO eklendikten sonra -80 ºC'de saklanması ile sağlandı. Bu stoklar canlılığını 1-2 yıl koruyabilmektedir.

3.5.6. *Salmonella typhimurium* Suşlarının Gecelik Kültürlerinin Hazırlanması

Gecelik kültürler genellikle önceden hazırlanmış master plaklardan veya -80 ºC'de muhafaza edilen stok kültürlerden elde edildi. HBA plaklarında bulunan suşlardan normal boyutta ve iyi izole olmuş kolonilerinden seçildi. Ardından NB'a 63 µL ampisilin eklendi ve seçilen koloninin ekimi yapılarak 37 ºC'de 16 saat inkübe edildi. Hazırlanan bu kültürün ardından içerisinden 0,5 mL alınarak taze NB ortamına tekrar ekimi yapıldı ve 37 ºC'de 6 saat inkübasyona bırakıldı.

3.5.7. Ames Testinin Yapılışı

Ames testinin amacı, histidin sentezleme yeteneğini kaybetmiş olan mutant suşların üzerinde çalışılacak madde/maddeler sayesinde tekrardan histidin sentezleme özelliği kazanabilmesini incelemektir. Polietilenimin türevlerinin mutajenitesinin belirlenmesi için öncelikle histidin/biyotin çözeltisi içeren top agar tüpleri 42 ºC'deki su banyosu içerisine alındı. Tüplere sırasıyla 500 µL sodyum/fosfat tamponu, 100 µL test edilen polietilenimin türevlerinin belirlenen konsantrasyonlarından ve son olarak 100 µL bakteri kültürü ilave edilip MGA petrilerine homojen olarak dağılımı sağlandı. Dağılımın sağlanmasının sonrasında karışımı içeren MGA petrilerinin bir müddet oda sıcaklığında donması sağlandı. 37 ºC'de 48 saat inkübe edildikten sonrasında geri dönen bakteri kolonileri (his^+) sayıldı.

Polietilenimin türevlerinin antimutajenitesinin belirlenmesi için histidin/biyotin çözeltisi içeren top agar tüplerin 42 ºC'de su banyosu içerisine alınır. Tüperin içerisine sırasıyla 500 µL sodyum/fosfat tamponu, 100 µL test edilen polietilenimin türevlerinin belirlenen konsantrasyonlarından, 100 µL mutajen (TA98 için: NPD, TA100 için: SA) ve son olarak 100 µL bakteri kültürü eklenip MGA içeren petrilere dökülerek homojen olarak dağılımı sağlandı. 37 ºC'de 48 saat inkübe edilmesinin ardından geri dönen bakteri kolonileri (his^+) sayıldı.

Çalışma TA98 ve TA100 suşları için her bir konsantrasyondan 3 petriye ekimi yapılarak 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirildi.

3.5.8. Suşların Pozitif, Negatif ve Spontan Kontrolü

Pozitif kontrol: Mutajenite ve antimutajenite deneylerinde *S. typhimurium* TA98 mutant suşu için NPD mutajeni ve TA100 mutant suşu için SA mutajeni kullanıldı. Öncelikle 42 ºC'de su banyosunda tutulan histidin biyotin çözeltisi içeren top agar tüplerine sırasıyla 500 µL sodyum/fosfat tamponu,100 µL mutajen (TA98 için: NPD, TA100 için: SA) ve son olarak 100 µL bakteri kültürü eklenip MGA petrilerinde 37 ºC'de 48 saat inkübasyonunun sağlanmasının ardından geri dönen bakteri kolonileri (his^+) sayıldı.

Negatif kontrol: Mutajenite ve antimutajenite deneylerinde distile su negatif kontrol olarak kullanıldı. Öncelikle 42 ºC'de su banyosunda tutulan histidin biyotin çözeltisi içeren top agar tüplerine sırasıyla 500 µL sodyum/fosfat tamponu, 100 µL distile su ve son olarak 100 µL bakteri kültürü eklenip MGA içeren petrilere dökülerek homojen olarak dağılımı sağlandı. 37 ºC'de 48 saat inkübasyonunun sağlanmasının ardından geri dönen bakteri kolonileri (his^+) sayıldı.

Spontan kontrol: *Salmonella typhimurium*'un histidin oksotrofu mutant suşları olan TA98 ve TA100 spontan his^- formdan his^+ forma geçebilme özelliklerine sahiptirler. Bu spontan geçiş TA98 ve TA100 mutant suşları için farklı revertant/plak sayısındadır. Bu sayılar TA98 suşu için 20-50 revertant/plak aralığında iken, TA100 suşu için bu sayı 75-200 revertant/plak aralığındadır.

3.5.9. Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Test çalışmasında kullanılan polietilenimin türevlerinin mutajenik özelliğe sahip olup olmadığı negatif kontrol ile karşılaştırılarak belirlendi. Mutajenik aktivitesi araştırılan polietilenimin türevlerinin petrilerdeki revertant koloni sayısının, negatif kontrolün iki katı veya iki katından daha fazla olduğu petrilerde mutajenik aktivitenin varlığından bahsedilmektedir. Kullanılan test bileşiklerinin konsantrasyona bağlı olarak koloni sayılarında artış gözlenmesi durumunda ise zayıf mutajenik aktiviteden söz edilmektedir (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Bu testte kullanılan inhibisyon oranı hesaplaması aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{İnhibisyon Oranı (\%)} = \frac{A-B}{A-C} \text{ X } 100 \qquad (3.4)$$

A: Pozitif kontrolde geri dönen koloni sayısı/plak

B: Test bileşiği ve mutajen varlığında geri dönen koloni sayısı/plak

C: Spontan koloni sayısı/plak

Test çalışmasında kullanılan polietilenimin türevlerinin antimutajenik özelliğe sahip olup olmadığı inhibisyon oranı belirlenerek değerlendirildi.

Antimutajenik aktivitesi araştırılan polietilenimin bileşiklerinin inhibisyon oranı;

İnhibisyon oranı < % 25 antimutajenik özelliği bulunmamaktadır.

İnhibisyon oranı =% 25 - 40 orta dereceli antimutajenik özelliği bulunmaktadır.

İnhibisyon oranı % 40 > güçlü bir antimutajenik özelliği bulunmaktadır.

Her iki çalışma sonucunda da elde edilen mutajenik ve antimutajenik aktivite verilerinin ortalamaları alınarak standart sapmaları hesaplandı.

3.6. Antimikrobiyal Aktivite

Polietilenimin türevlerinin antimikrobiyal aktiviteleri broth mikrodilüsyon yöntemi olan Minimim İnhibisyon Konsantrasyon Testi (MİK Testi) ile araştırıldı (Isenberg, 1998). Bu çalışmada steril 96 kuyucuklu U plaklar kullanıldı. Suda çözünen polietilenimin türevlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin en düşük konsantrasyon değeri MİK olarak kaydedildi. Çalışmada kullanılan bakteriler ve mayalar Çizelge 3.1'de verildi.

Çizelge 3.1. Test kapsamında kullanılan bakteriler, mayalar ve kodları

BAKTERİLER
Gram negatif bakteriler
Escherichia coli (NRRL B-3704)
Escherichia coli (ATCC 25922)
Pseudomonas aerouginosa (ATCC 27853)
Proteus vulgaris (ATCC 13315)
Gram pozitif bakteriler
Staphylococcus aureus (ATCC 25923)
Enterococcus faecalis (ATCC 29212)
Bacillus subtilis (ATCC 6633)
MAYALAR
Candida albicans (ATCC 60198)
*Candida tropicalis (*ATCC 13803)

Çalışmada kullanılan test bileşiklerinin 1-500 µM aralığında konsantrasyonları hazırlanıp Mueller Hinton Broth ile seyreltildi. Öncelikle testte kullanılacak mikroorganizmalar için bakteri kültürleri NA içeren petrilere, maya kültürleri ise sabouraud dextrose agar (SDA) içeren petrilere ekim yapılarak 37 °C'de 20 saat süresince inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda petrilerdeki kolonilerden seçim yaparak serum fizyolojik içerisine konulup, süspansiyon yoğunluğu 0,5 McFarland'la eşit bulanıklık seviyesinde olacak şekilde ayarlandı. Hazırlanan süspansiyonun yoğunluğu 1-2 x 10^8 CFU/mL olarak ayarlandı. Ardından hazırlanan süspansiyondan 2 mL alınıp 38 mL serum fizyolojik'e ilave edilip ve 1:20 oranında dilüsyon olacak şekilde ayarlandı. Her bir kuyucuğa 100 µL Mueller Hinton Broth besiyeri konuldu. Polietilenimin türevleri mikroplakalardaki ilk kuyucuklara 0,1 mL ilave edildikten sonra besiyeri ile karıştırıldı. Test edilen polietilenimin türevlerinin seri dilüsyonları gerçekleştirildi. Bakteriler için Ampisilin ve Gentamisin, mayalar için ise Flukonazol antibiyotiği pozitif kontrol olarak kullanıldı. Bakteri için hazırlanmış mikroplakalar 24 saat mayalar için hazırlanmış mikroplakalar ise 48 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Araştırma Bulguları

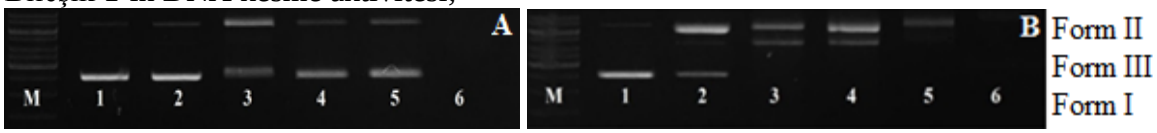
4.1.1. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin DNA Kesme Aktivitesi Sonuçları

Polietilenimin türevleri olan ve çalışma kapsamında kullanılan bileşik **1** ve bileşik **2**'nin DNA kesme aktivitesininin belirlenmesi için farklı konsantrasyonların (1,25, 2,5, 5, 10 ve 20 μM) hazırlanarak hidrolitik ve oksidatif kesme sonucunda agaroz jel üzerinde elde edilen bantların görüntüleri incelendi.

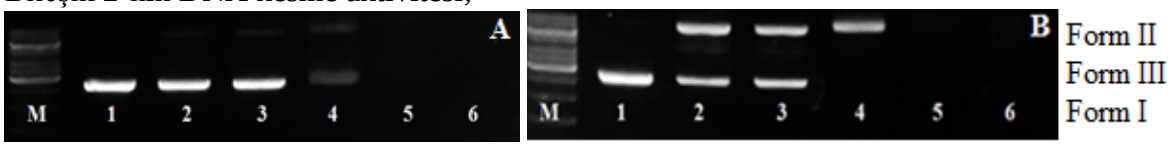
Hidrolitik kesme sonucunda, bileşik **1** ve bileşik **2**'nin hidrolitik olarak artan konsantrasyonlarda pBR322 plazmid DNA'sını kestiği aynı zamanda bileşik **1**'in 20 μM'lık, bileşik **2**'nin de 10 μM'lık konsantrasyonunda DNA'yı tamamen parçaladığı görüldü (Şekil 4.1).

Oksitleyici ajan varlığında (H_2O_2) ise bileşik **1**'in DNA'yı 1,25 μM'lık konsantrasyondan itibaren kırdığı, 1,25 μM'lık konsantrasyonunda tek kırık (Form II) sonraki 2,5, 5 ve 10 μM'lık konsantrasyonlarında çift kırık (Form III) oluşturduğu hatta 10 μM'lık konsantrasyonunda ise DNA'yı tamamen yok ettiği belirlendi. Bileşik **2**'nin ilk iki konsantrasyonunda (1,25 ve 2,5 μM) çift kırık, ve 5 μM konsantrasyonunda tek kırık, son iki konsantrasyonunda ise DNA'yı tamamen parçaladığı bulundu (Şekil 4.1).

Bileşik 1'in DNA kesme aktivitesi;



Bileşik 2'nin DNA kesme aktivitesi;



Şekil 4.1. Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin jel elektroforez sonrası UV ışığı yardımı ile görüntülenmesi

A. Hidrolitik Kesme: M marker, 1. Plazmid DNA, 2. DNA+1,25 μM bileşik, 3. DNA+2,5 μM bileşik, 4. DNA+5 μM bileşik, 5. DNA+10 μM bileşik, 6. DNA+20 μM bileşik
B. Oksidatif Kesme: M marker, 1. Plazmid DNA, 2. DNA+1,25 μM bileşik+H_2O_2, 3.DNA+2,5μM bileşik+H_2O_2, 4. DNA+5μM bileşik +H_2O_2, 5. DNA+10μM bileşik+H_2O_2, 6. DNA+20 μM bileşik +H_2O_2

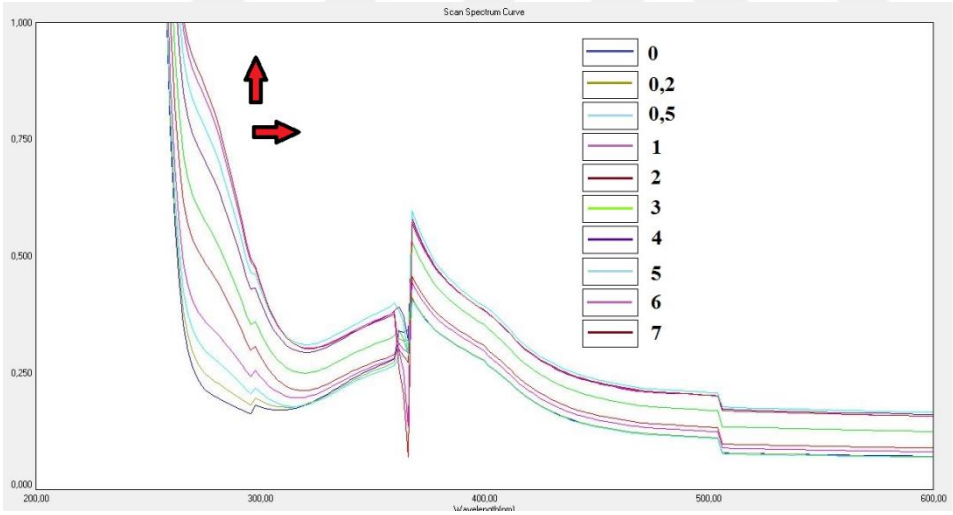
4.1.2. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin DNA Bağlanma Sonuçları

Calf Timus (CT-DNA) DNA ile reaksiyona sokulan polietilenimin türevlerinin arasındaki etkileşimler UV-Vis absorbsiyon spektroskopisi ile incelenmiştir. Bileşikler ile DNA arasındaki etkileşim sonrasındaki değişiklikleri belirlemek için serbest molekül ile DNA'ya bağlanan molekülün maksimum absorbansındaki farklılıklar karşılaştırıldı.

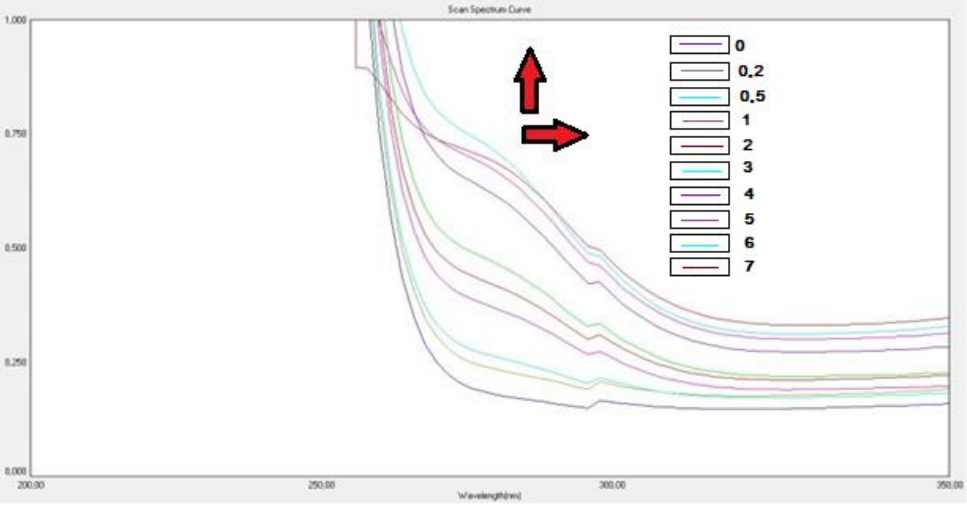
Bileşik **1**'in UV-Vis spektrumu incelendiğinde, kademeli olarak uygulanan CT-DNA konsantrasyonunun artması ile absorbans şiddetindeki değişimin hiperkromizm (artma) yönünde olduğu gözlendi. Bileşik **1**'de % 19-317 hiperkromizm ve 297 nm'de ki absorbsiyonda 1-2 nm'lik batokromik (kırmızıya) kayma görüldü (Şekil 4.2).

Bileşik **2**'nin UV-Vis spektrumu incelendiğinde ise CT-DNA konsantrasyonunun artmasıyla absorbans şiddetindeki değişim bileşik **1**'deki gibi hiperkromizm yönündedir. Bileşik **2**'de % 28-277 hiperkromizm ve 296 nm'de gözlenen absorbsiyonda 1-3 nm'lik batokromik kayma görüldü (Şekil 4.3).

Elde edilen veriler sonucunda; bileşik **1** ve bileşik **2**'nin CT-DNA ile elektrostatik olarak etkileşimde bulunduğu belirlendi (Şekil 4.2, Şekil 4.3).



Şekil 4.2. Bileşik **1**'in UV-Vis spektrumu

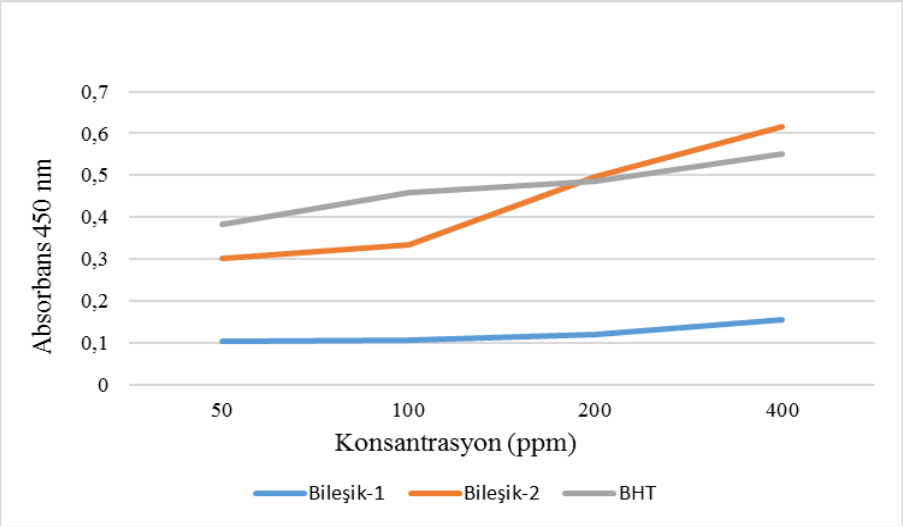


Şekil 4.3. Bileşik **2**'nin UV-Vis spektrumu

4.1.3. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin CUPRAC Sonuçları

Çalışmada bileşik **1** ve bileşik **2**'nin dört farklı konsantrasyondaki (50, 100, 200 ve 400 µg/mL) antioksidan aktiviteleri, Cu(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi (CUPRAC) ile 450 nm'de absorbans değerleri ölçülerek hesaplandı. Pozitif kontrol olarak bütil hidroksi toluen (BHT) kullanıldı.

Bileşiklerin konsantrasyonlarının artması ile birlikte antioksidan aktivitesininde arttırdığı görüldü. Aynı zamanda, bileşik **2**'nin bileşik **1**'e göre daha yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu bulundu. Bununla birlikle bileşik **2**'nin 200 ppm konsantrasyonu ve sonrasındaki antioksidan aktivitesinin, pozitif kontrol olan BHT'den yüksek olduğu görüldü (Şekil 4.4).

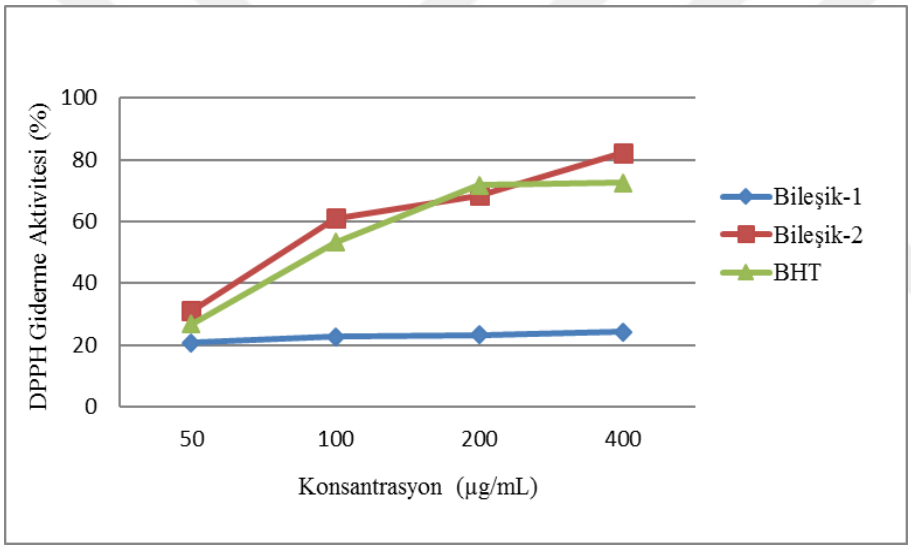


Şekil 4.4. Bileşik **1** ve Bileşik **2**'nin Cu(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi

4.1.4. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin DPPH Sonuçları

Çalışmada bileşik **1** ve bileşik **2**'nin dört farklı konsantrasyonundaki (50, 100, 200 ve 400 µg/mL) antioksidan aktiviteleri, serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH) yöntemi ile 517 nm'de absorbans değerleri ölçülerek hesaplandı. Pozitif kontrol olarak bütil hidroksi toluen (BHT) kullanıldı.

Bileşik **2**'nin konsantrasyon arttıkça DPPH'yi inhibe ederek en iyi antioksidan aktivitesini sergilediği gözlendi. Aynı zamanda en yüksek aktivite bileşik **2**'nin en yüksek konsantrasyonunda (400 µg/mL) görüldü. Bileşiklerin birbirleri ile kıyaslanmasında ise bileşik **2**'nin bileşik **1**'e göre daha yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu bulundu. Bununla birlikte, bileşik **2**'nin 200 ppm ve sonrasındaki konsantrasyonundaki antioksidan aktivitenin, pozitif kontrol olan BHT'den daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin serbest radikal giderme aktivitesi

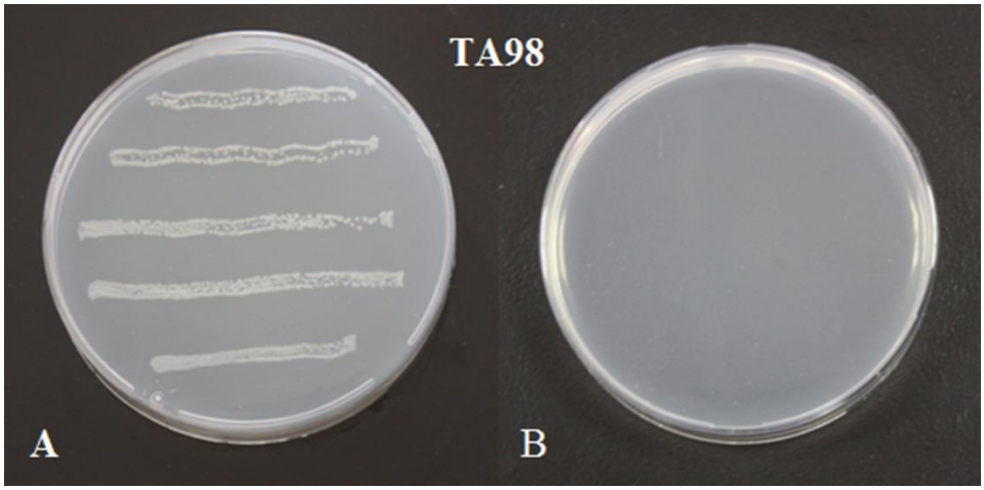
4.1.5. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin Mutajenik/Antimutajenik Aktivite Sonuçları

4.1.5.1. Test Suşlarınn Genetik Özelliklerinin Kontrolü

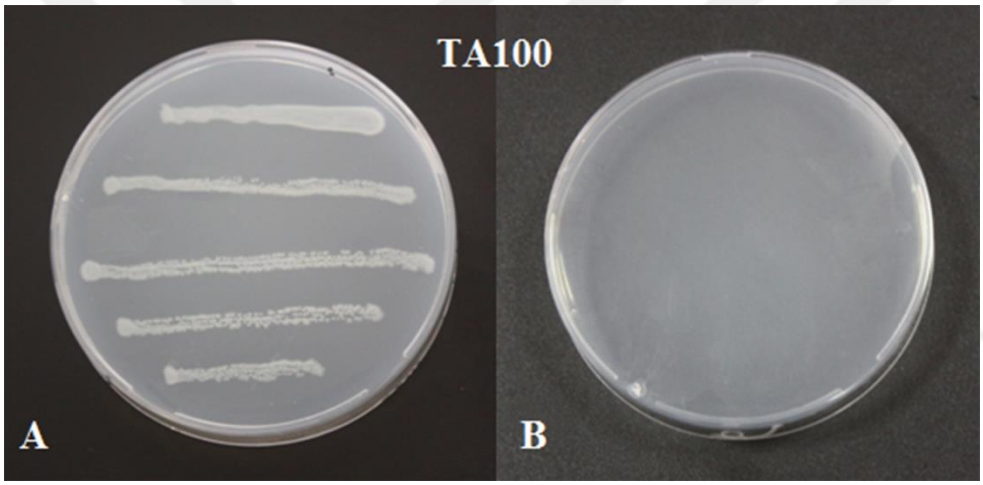
Yapılan mutajenite ve antimutajenite testlerinin sonuçlarının doğruluğundan emin olmak için ilk adım olarak çalışmaya başlamadan önce kullanılacak olan *Salmonella typhimurium*'un TA98 ve TA100 mutant suşlarının genetik kontrolleri yapılarak çalışma için kullanılabilir durumda olup olmadığı test edildi.

Histidin gereksinimi özelliği için çalışma suşlarının, histidin biyotin içeren HB ve histidin/biyotin içermeyen MGA petrilerine ekim yapılmasından sonra HB petrilerinde üreme gösterip MGA petrilerinde üreme göstermemesi ile her iki suşun his^- özellik

gösterdiği doğrulanmıştır (Şekil 4.6 ve 4.7).

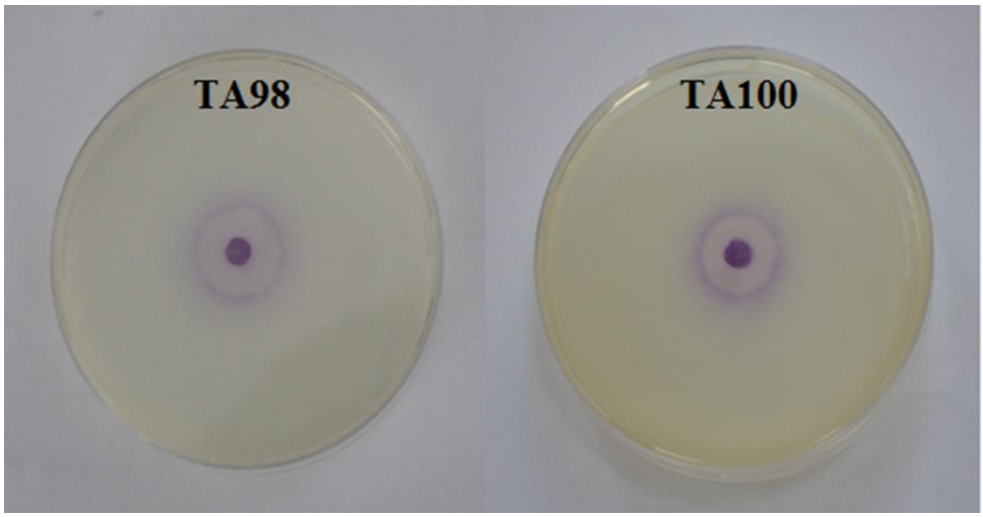


Şekil 4.6. (A) HB (B) MGA petrilerin TA98 suşunun üreme durumları



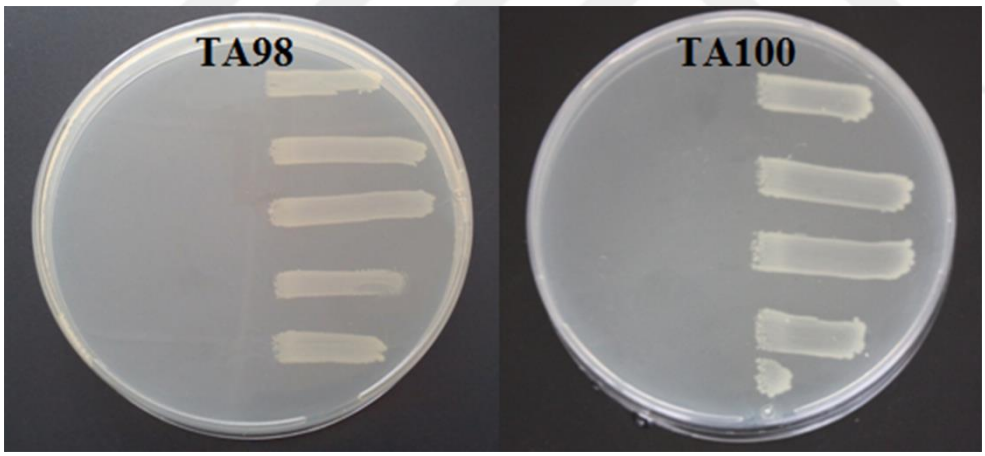
Şekil 4.7. (A) HB (B) MGA petrilerin TA100 suşunun üreme durumları

rfa Mutasyonu için TA98 ve TA100 suşları ile yapılan kristal viyole hassasiyeti testi sonucunda kristal viyole çözeltisi emdirilmiş disklerin etrafında oluşan zonun *rfa* mutasyonu taşıyan özellikteki bakteri hücrelerine girebilmesi ile bu mutasyonun varlığı doğrulandı (Şekil 4.8).



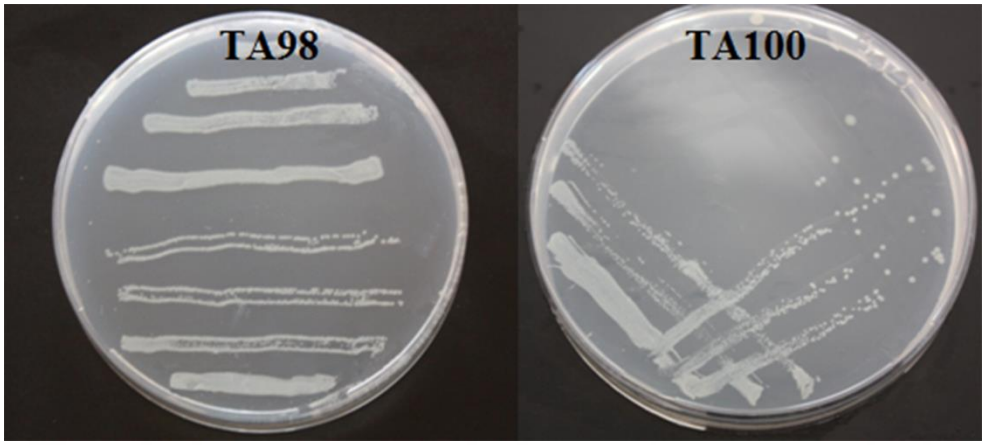
Şekil 4.8. TA98 ve TA100 suşlarının *rfa* mutasyonu kontrolü

*uvr*B Mutasyonu için, suşlar ile yapılan ultraviyole hassasiyeti testi sonucunda petrinin UV'ye maruz kalan bölgesinde üremenin görülmemesi, petrinin UV'ye maruz kalmayan bölgesinde ise üremenin görülmesi TA98 ve TA100 mutant suşlarının *uvr*B mutasyonu özelliği taşıdığı belirlendi (Şekil 4.9).



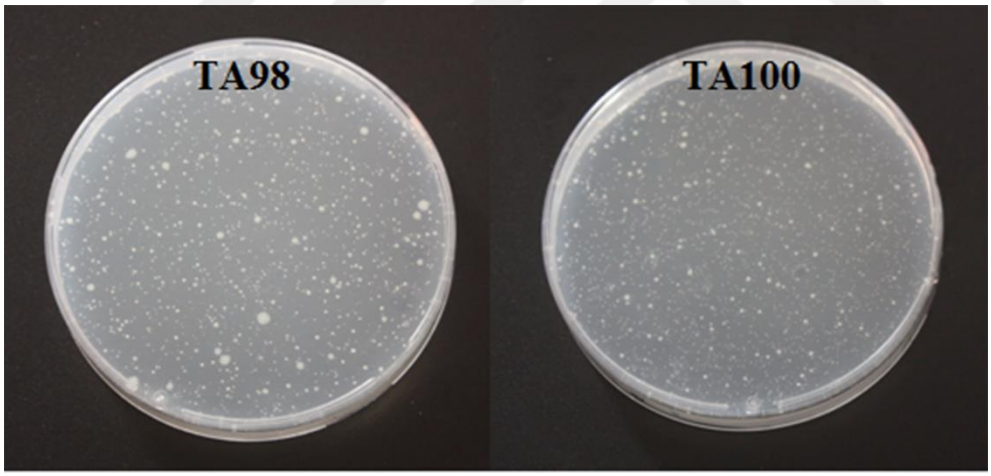
Şekil 4.9. TA98 ve TA100 suşlarının *uvr*B mutasyonu kontrolü

R Faktörü özelliği için, test suşlarının ampisilin içeren HBA petrilerinde üremeleri ile pKM101 plazmidlerin varlığı kanıtlanmıştır (Şekil 4.10).

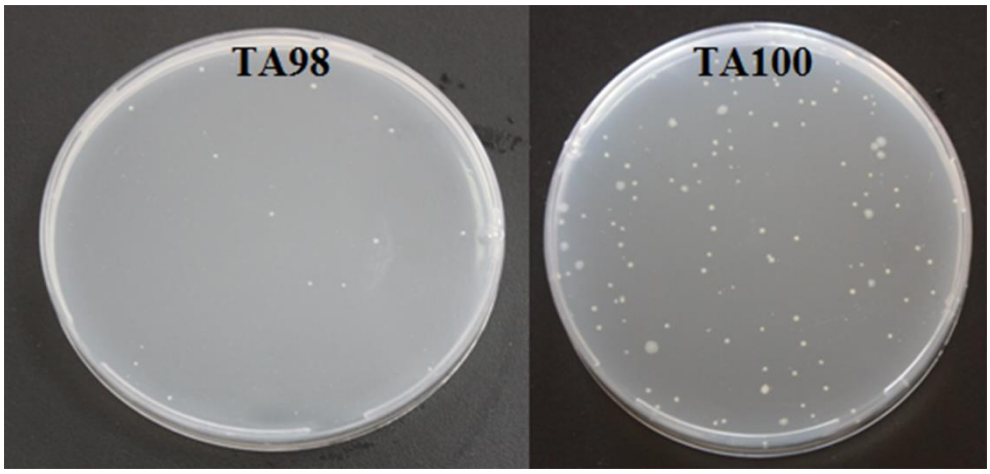


Şekil 4.10. TA98 ve TA100 suşlarının R faktörü kontrolü

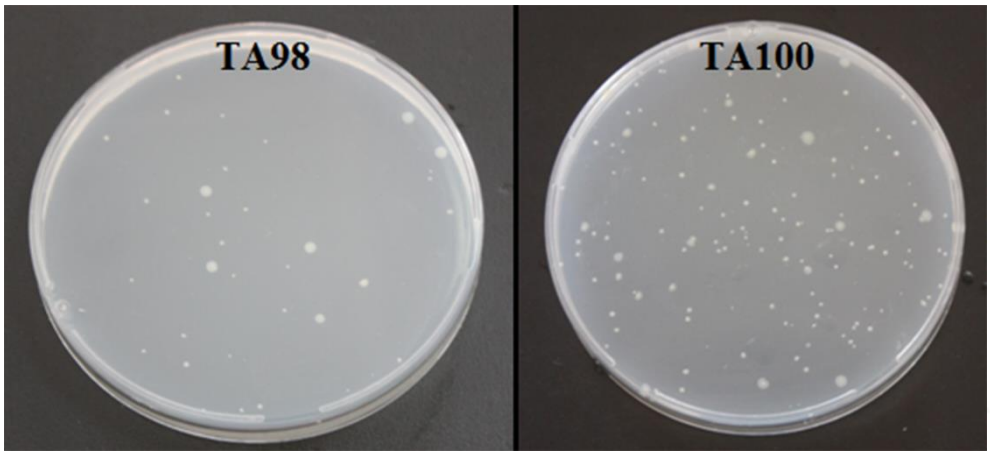
Pozitif, negatif ve spontan kontroller sonucu petrilerin üreme durumları aşağıda verilmiştir (Şekil 4.11., Şekil 4.12., Şekil 4.13.).



Şekil 4.11. Pozitif kontrol



Şekil 4.12. Negatif kontrol



Şekil 4.13. Spontan kontrol

4.1.5.2. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite Sonuçları

Çalışmada, suda çözünen polietilenimin bileşiklerinin mutajenik ve antimutajenik aktiviteye sahip olup olmadıkları Ames/*Salmonella* testi ile araştırıldı. Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin dört farklı konsantrasyonu (0,5, 5, 50 ve 500 ppm) test edildi. Her doz için üç ayrı petriye ekim yapıldı ve çalışmalara paralel olarak pozitif, negatif ve spontan kontroller de yapıldı. Pozitif kontrol olarak TA98 suşu için NPD, TA100 suşu için de SA kullanıldı. Negatif kontrol olarak da bileşiklerin çözücüsü su kullanıldı

Suda çözünen polietilenimin türevi bileşiklerin mutajenik aktivite sonuçlarına bakıldığında, bileşik **1** ve bileşik **2**'nin *S. typhymurium* TA98 ve TA100 suşlarının geri dönen (revertant) koloni sayılarında konsantrasyona bağlı bir ilişki görülmediği tespit edildi ve bununla beraber petrilerde oluşturdukları revertant koloni sayısının, negatif kontrolün iki katı veya iki katından daha fazla olmadığından mutajenik aktivitenin

olmadığı belirlendi (Çizelge 4.1; Şekil 4.14; Şekil 4.15).

Suda çözünen polietilenimin türevlerinin antimutajenik aktivite sonuçlarına bakıldığında, bileşik **1** ve bileşik **2**'nin antimutajenik aktivitelerinin olup olmadıkları inhibisyon yüzdelerine göre tespit edildi. Bu hesaplamalara göre bileşik **1**'in TA98 suşu üzerinde; 0,5 ppm konsantrasyonunda orta antimutajenik aktivite gösterdiği (% 26,11), 5,50 ve 500 ppm konsantrasyonunda güçlü antimutajenik aktiviteye (% 40,17, % 48,13 ve 54,69) sahip olduğu belirlendi.

Bileşik **1**'in TA100 suşu üzerindeki etkilerinin inhibisyon yüzdelerine bakıldığında konsantrasyonun artması ile antimutajenik aktivitenin arttığı gözlemlendi. Bileşik **1**'in TA100 suşu üzerinde ilk üç konsantrasyonunda (0,5, 5 ve 50 ppm) orta dereceli (%36,65, % 37,76 ve % 39,47) antimutajenik aktiviteye sahip olduğu, en yüksek konsantrasyonda (500 ppm) ise güçlü derecede (% 47,55) antimutajenik aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Bileşik **2**'nin TA98 suşu üzerindeki etkilerinin inhibisyon yüzdelerine bakıldığında bileşik **2**'nin TA98 suşu üzerindeki antimutajenik aktiviteleri; 0,5 ppm konsantrasyonunda antimutajenik aktivitenin (% 14,58), 5 ve 50 ppm konsantrasyonlarında orta dereceli (% 27,08, % 29,53) antimutajenik aktivitenin görüldüğü ve 500 ppm konsantrasyonunun orta dereceli antimutajenik aktivite (% 37,72) gösterdiği belirlendi.

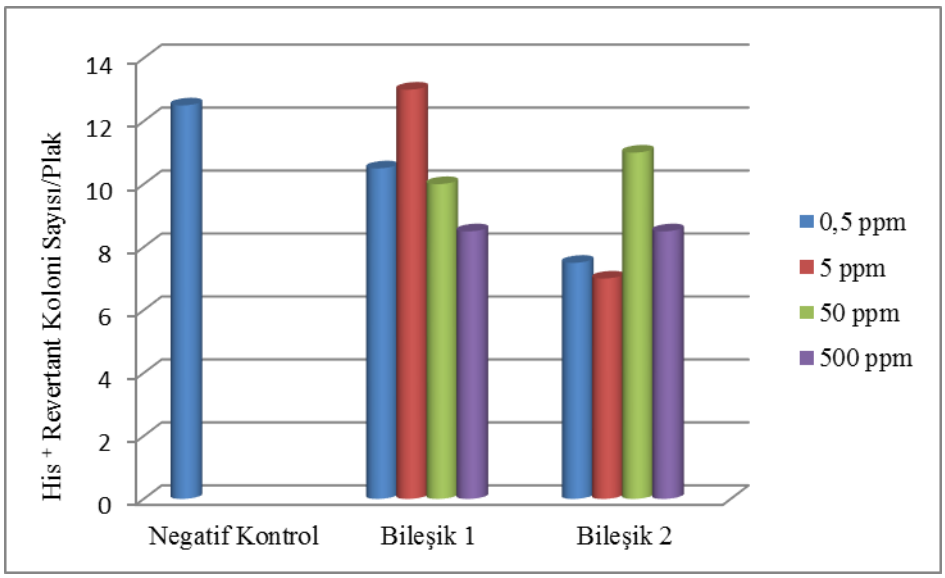
Bileşik **2**'nin TA100 suşu üzerindeki etkilerinin inhibisyon yüzdeleri hesaplandı. Bu hesaplamalara göre bileşik **2**'nin TA100 suşu üzerinde, test edilen dört konsantrasyonun da güçlü (% 53,19, % 52,00, % 52,52 ve % 56,53) antimutajenik aktiviteye sahip olduğu görüldü (Çizelge 4.2, Şekil 4.16, Şekil 4.17).

Böylece bileşik **1** ve bileşik **2**'nin TA98 ve TA100 suşları üzerinde konsantrasyona bağlı olarak antimutajenik aktivitelerinin arttığı gözlemlendi.

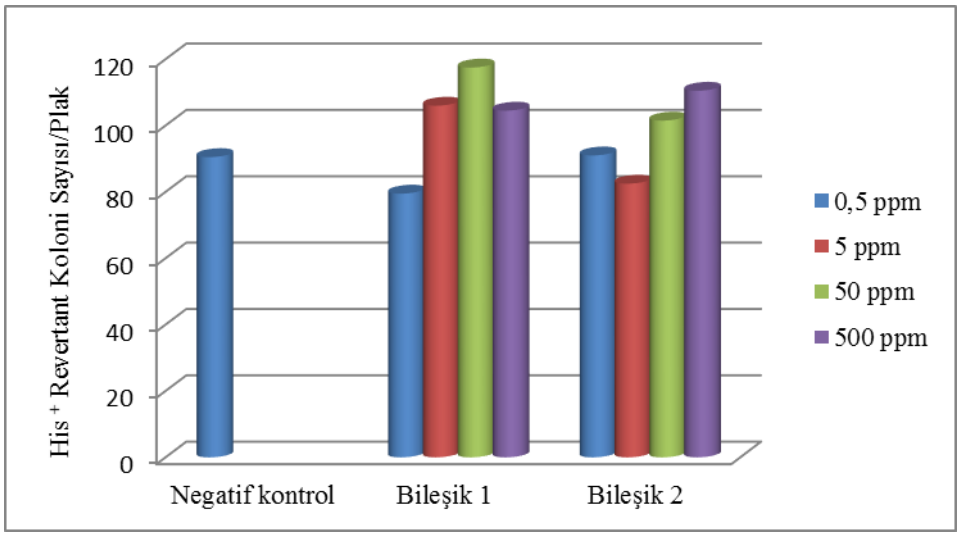
Çizelge 4.1. *Salmonella typhimurium*'un mutant TA98 ve TA100 suşlarına karşı Polietilenimin bileşiklerinin mutajenik aktiviteleri

Uygulama	Konsantrasyon (ppm)	His^+Revertant Koloni Sayısı/Plak	
		TA98	TA100
		Ort±SD	Ort±SD
Bileşik **1**	0,5	10,50 ± 00,70	79,50 ± 07,77
	5	13,00 ± 01,41	106,00 ± 02,82
	50	10,00 ± 01,41	117,50 ± 07,77
	500	08,50 ± 02,12	104,50 ± 07,77
Bileşik **2**	0,5	07,50 ± 00,70	91,00 ± 07,07
	5	07,00 ± 01,41	82,50 ± 09,19
	50	11,00 ± 01,41	101,50 ± 12,02
	500	08,50 ± 00,70	110,50 ± 12,02
Pozitif Kontrol	NPD 10^{-2}	697,00 ± 02,85	
(mg/mL)	SA 10^{-3}		764,50 ± 23,33
Negatif Kontrol (dH_2O)		12,5 ± 00,70	90,50 ± 14,84
Spontan Kontrol		25,00 ± 01,41	90,50 ± 02,12

*NPD: 4-Nitro-*o*-fenilendiamin, SA: Sodyum azid, Ort±SD: Ortalama±Standart Sapma



Şekil 4.14. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının *Salmonella typhimurium*'un TA98 suşuna karşı mutajenik etkileri

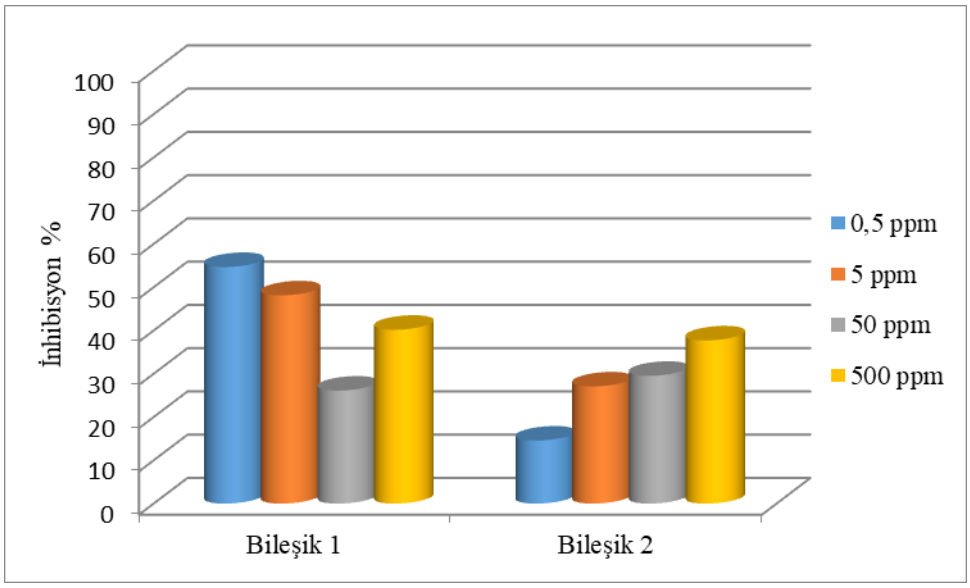


Şekil 4.15. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının *Salmonella typhimurium*'un TA100 suşuna karşı mutajenik etkileri

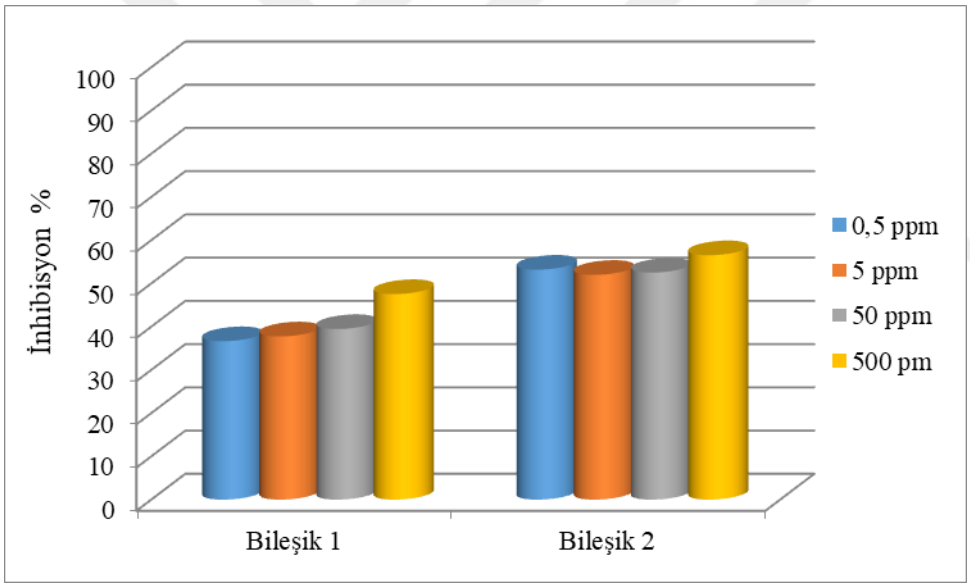
Çizelge 4.2. *Salmonella typhimurium*'un mutant TA98 ve TA100 suşlarına karşı Polietilenimin bileşiklerinin antimutajenik aktiviteleri

Uygulama	Konsantrasyon (ppm)	His$^+$Revertant Koloni Sayısı/Plak			
		TA98 Ort±SD	% İnhibisyon	TA100 Ort±SD	% İnhibisyon
Bileşik **1**	0,5	521,50 ± 17,67	26,11	517,50 ±06,36	36,65
	5	427,00 ± 55,15	40,17	510,00 ± 21,21	37,76
	50	373,50 ± 20,50	48,13	468,50 ± 04,94	39,47
	500	329,50 ± 37,47	54,69	444,00 ± 24,04	47,55
Bileşik **2**	0,5	599,00 ± 18,38	14,58	406,00 ± 05,65	53,19
	5	515,00 ± 24,04	27,08	414,00 ± 11,31	52,00
	50	498,50 ± 20,50	29,53	410,50 ± 03,18	52,52
	500	443,50 ± 72,83	37,72	383,50 ± 10,60	56,53
Pozitif Kontrol (mg/mL)	NPD 10^{-2}	697,00 ± 02,85			
	SA 10^{-3}			764,50 ± 23,33	
Negatif Kontrol (dH_2O)		12,5 ± 00,70		90,50 ± 14,84	
Spontan Kontrol		25,00 ± 01,41		90,50 ± 02,12	

*NPD: 4-Nitro-*o*-fenilendiamin, SA: Sodyum azid, Ort±SD: Ortalama±Standart Sapma



Şekil 4.16. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının *Salmonella typhimurium*'un TA98 suşuna karşı antimutajenik etkileri



Şekil 4.17. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının *Salmonella typhimurium*'un TA100 suşuna karşı antimutajenik etkileri

4.1.6. Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Polietilenimin bileşiklerinin (bileşik **1** ve bileşik **2**) antimikrobiyal aktivite değerlerinin belirlenmesi için kullanılan mikroorganizmalara karşı ölçülen MİK değerleri (µg/mL) Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Polietilenimin türevlerinin MİK değerleri (µg/mL)

	Bakteriler							**Mayalar**	
	***S. aureus* ATCC 25923**	***E. faecalis* ATCC 29212**	***B. subtilis* ATCC 6633**	***E. coli* ATCC 25922**	***E. coli* NRLL B-3704**	***P. aeruginosa* ATCC 27853**	***P. vulgaris* ATCC 13315**	***C.albicans* ATCC 60198**	***C. tropicalis* ATCC 13803**
Bileşikler									
Bileşik **1** (ppm)	256	>256	128	>256	256	>256	256	2	2
Bileşik **2** (ppm)	256	256	32	>256	256	>256	32	2	2

Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda maya ve bakteriler üzerinde etkili olduğu bulundu. Bileşik **1**'in özellikle *B. subtilis* ATCC 6633 ve *P. vulgaris* ATCC 13315 üzerinde etkili olduğu görüldü. Genel olarak bileşik **2**'nin bileşik **1**'den daha etkili olduğu, bileşik **1** ve bileşik **2**'nin gerek *C. albicans* ATCC 60198 gerekse de *C. tropicalis* ATCC 13803 mayaları üzerinde yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğu bulundu. Bununla birlikte bileşiklerin antifungal aktivitesinin antibakteriyal aktivitesinden oldukça yüksek olduğu saptandı (Çizelge 4.3).

4.2. Tartışma

Günümüzde kozmetik, boya, su arıtma sistemleri ve sağlık alanında sıkça kullanıma sahip, Schiff bazı türevi polietilenimin bileşikleri hızla önem kazanmaktadır. Bununla birlikte nanoparçacıkların tasarımı ve gen terapisinde kullanılmaya başlanan PEI ve türevlerinin biyolojik aktivitelerinin araştırılması, sağlık alanındaki çalımalara ışık tutacaktır. Yeni sentezlenen ve suda çözünebilme özelliğine sahip PEI bileşiklerinin yeni ilaç tasarımlarına ışık tutabileceği düşünüldüğünden biyolojik aktiviteleri üzerine çalışılmıştır.

2,4-Dihidroksibenzaldehit ve benzoilhidrazondan elde edilmiş ligandlar ve metal komplekslerinin DNA kesme aktiviteleri, agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda vanadyum kompleksinin diğer kompleksler arasında önemli bir oksidatif kesme aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Aboafia ve ark., 2018).

2-((Furan-2-il)metilimino)metil)-6-etoksifenol Schiff bazı ile Cu(II), Ni(II) ve Co (III) komplekslerinin DNA kesme aktiviteleri incelendiğinde komplekslerin pBR322 DNA'sını oksidatif ve hidrolitik olarak etkili bir şekilde kestiği bulunmuştur (Venkateswarlu ve ark., 2018).

Sentezlenen 2,4-dihidroksibenzaldehid benzoilhidrazon Schiff bazı (H2dhbh) yeni geçiş metal komplekslerinin DNA kesme özellikleri jel elektroforez yöntemi ile incelenmiştir. Araştırmalar sonucunda sadece kompleks 2'nin H_2O_2 varlığında oksidatif DNA kesme aktivitesi sergilediği bulunmuştur (Ghoria ve ark., 2018).

2-hidroksi ve 2-metoksi naphthaldehidden türevlenen Schiff bazları ve ligandlarının DNA kesme aktiviteleri araştırılmış Schiff bazlarının, ligandlarından daha verimli bir şekilde süpersarmal pBR322 DNA'sını (Form I) açık dairesel DNA'ya (Form II) dönüştürebildiği ve bununla birlikte hidrojen peroksit varlığında DNA'nın kesme özelliği de ortaya konulmuştur (Bhai ve ark., 2018).

N_2O_4 donor azo Schiff bazlı ligandları içeren Cu(II) komplekslerinin sentezi sonrasında DNA kesme aktivitesi jel elektroforez yöntemi ile incelenmiş, oksidatif kesme aktivitesinin var olduğu kanıtlanmıştır (Banerjee ve ark., 2018).

Suda çözünebilen polietilenimin Schiff bazı polietileniminhidroklorür (PEI.HCl)'ün DNA kesme aktivitesinin incelenmesi jel elektroforez yöntemi ile yapılarak, PEI.HCl-Schiff bazının herhangi bir harici ajan olmadan DNA'yı başarılı bir şekilde parçalayabildiği gözlemlenmiştir (Yıldız ve ark., 2017)

Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin DNA kesme çalışmaları sonucunda elde edilen hem oksidatif kesme hem de hidrolitik kesme aktivite bulguları yukarıda yapılmış çalışmalar ile örtüşmektedir. Bununla birlikte oksidatif ve hidrolitik kesme aktivitesi özelliklerinden dolayı yapay nükleaz tasarımında önemli bir rol oynayacağı düşünüldü.

Yapılan bir çalışmada Schiff bazı, SF, (SF = N, Np-bis {5-[(trifenilfosfonyum klorür)-metil]salisildini}-o-fenilenediamin) ve suda çözünür kobalt(II) kompleksinin bağlanma etkileşimi CT-DNA ile araştırılmıştır. Sonuçlar bağlanma modlarının farklı olduğunu ortaya çıkararak; SF, DNA baz çiftleri arasında interkalasyon yaparken Co(II) kompleksinin, elektrostatik bağlanma modunda etkileşime girdiğini göstermiştir (Shahabadi ve ark., 2010).

Yeni sentezlenen Schiff bazı, 3-(((lH-1,2,4-triazol-3-il) imino) metil) -4H-kromen-4-on (L) ve Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) ve Pd II) metal komplekslerinin sentezi yapılarak DNA bağlanma modları incelenmiş ve bileşiklerin interkalatif mod aracılığıyla CT-DNA'ya bağlandığını bulmuşlardır (Bheemarasetti ve ark., 2018).

Schiff bazı olarak sentezlenen polietileniminhidroklorür (PEI.HCl) bazlı yeni bir kolorimetrik katyon sensörünün DNA bağlanma modunun belirlenmesi için UV-Vis yöntemi kullanılmıştır. Sonuç olarak, absorbsiyon spektrumlarında hiperkromik etkinin gözlemlenmesi sonucunda, PEI.HCl-Schiff bazının DNA ile elektrostatik modda bağ

oluşturduğunu göstermişlerdir (Yıldız ve ark., 2017).

(*E*)-4-Kloro-2-((piridin-3-ilimino)metil)fenol, 2-aminopiridin 5-klorosalisilaldehit ile reaksiyonu sonucunda sentezlenen Schiff bazının DNA bağlanma modu UV-Vis spektroskopisi yardımı ile incelenmiştir. İnceleme sonucunda yeni sentezlenmiş olan Schiff bazının DNA'ya elektrostatik modda bağlandığı gözlemlenmiştir (Yıldırım ve ark., 2018).

Yeni antrasen bazlı Schiff bazına eklenen Cu(II) komplekslerinin DNA bağlanma modunu UV-Vis yöntemi ile araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda, diğer komplekslerin dışında kompleks 1'in DNA ile elektrostatik mod ile belirgin bağlayıcı özellik gösterdiği belirlenmiştir (Gubendran ve ark., 2018).

Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin DNA bağlanma çalışmaları sonucunda elde edilen elektrostatik mod ile bağlanma etkileşimi, yukarıda yapılmış çalışma bulguları ile örtüşmektedir. Elektrostatik mod ile bağlanma özelliğinden dolayı ilaç dizaynı için uygun olabilecek niteliktedir. Elektrostatik mod, diğer bağlanma türlerine göre daha zayıf olmasına rağmen ilaç tasarımında sıkça tercih edilen bağlanma türüdür. Bunun sebebi, ilaçların biyolojik aktifliklerinde önemli bir role sahip olmalarından kaynaklanmaktadır.

2,6-di-Tert-butilfenol ile birlikte lantanit benzoatların sentezlenmesi sonucunda oluşan bileşiklerin ve komplekslerinin antioksidan özellikleri CUPRAC yöntemi ile incelenmiştir. La kompleksinin, diğer metal komplekslerinden daha anlamlı antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle 2,6-di-tert-butilfenol grubu ile lantanid karboksilatların, potansiyel antioksidanlar olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (Antonenko ve ark., 2017).

İki yeni Schiff bazı ligandı (2-hidroksi-3-metoksibenzaldehid ve 2-hidroksi-1-naftaldehidden 2,4-dimetoksianilin ile türetilmiş HL1 ve HL2) ve komplekslerinin (Co(II), Ni(II) ve Cu(II)) antioksidan aktiviteleri CUPRAC yöntemi ile incelenmiştir. Sentezlenen Schiff baz ligandlarının ve bunların metal komplekslerinin antioksidan kapasitesi referans trolox ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur (Gönül ve ark., 2016).

Sentezlenen 2,6-di-tert-bütilfenol kısımları taşıyan organotin komplekslerinin antioksidan aktiviteleri CUPRAC yöntemine göre incelenmiş ve elde edilen CUPRAC değerlerinin karşılaştırılması sonucu, 2,6-di-tert-bütilnol kısmının Cu^{+2} iyonuna elektron transferinde önemli bir rol oynamasından dolayı antioksidan değerinin var olduğu bu sonuçla desteklenmiştir (Antonenko ve ark., 2018).

Yeni 1,4-bütilen köprülü bis-1,2,4-triazol türevlerinin antioksidan aktiviteleri CUPRAC yöntemi ile araştırılmış ve araştırmalar sonucunda sentezlenmiş bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, çeşitli *in vitro* antioksidan analizleri kullanılarak açıklığa kavuşturulmuştur. Ayrıca CUPRAC testinde yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri bulunmuştur (Karaali ve ark., 2018).

2,2′-{(1*E*,1′*E*)-[1,2-fenilenbis(azanilideniden)]bis(methanyliden)}bis(5-benziloksi) fenolün antioksidan kapasitesi CUPRAC yöntemi ile araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda konsantrasyon artışına bağlı olarak antioksidan kapasitesinin arttığı bulunmuştur (Ghichi ve ark., 2018).

Naringenin ve onun bakır kompleksinden türetilen tiyosemikarbazon Schiff bazını çeşitli yöntemlerle sentezleyerek karakterize etmişlerdir. Bileşikler 0,1 µM, 1 µM, 10 µM, 100 µM konsantrasyonlarında DPPH, ABTS ve FRAP analizleri sonucunda antioksidan etkilerinin olduğu göstermişlerdir (Brodowska ve ark., 2016).

Sentezlenen sulu çözünürlüğe sahip yeni Schiff bazlı tiyosemikarbazon bileşiklerinin çeşitli konsantrasyonlarının DPPH aktiviteleri incelenmiştir. Suda çözünür bir antioksidan bileşiği olan C vitamini (L-askorbik asit) referans olarak kullanılmıştır. Ligandın IC_{50} değeri 5 ppm olan DPPH radikaline kıyasla daha yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bakır, nikel ve çinko komplekslerinin sırasıyla 61, 90 ve 87 ppm'lik IC_{50} değerlerine sahip olan liganda göre daha düşük aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Ligand için IC_{50} değerinin, 41 ppm IC_{50} değere sahip standart (L-askorbik asit) ile karşılaştırıldığında DPPH radikalinin üstün aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır (Hosseini-Yazdi ve ark., 2017).

Schiff bazından türetilmiş ve 2,4-dihidroksibenzaldehit ve benzoilhidrazondan izole edilmiş 6 kompleksin antioksidan aktivitesi DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) radikaline karşı değerlendirilmiş ve oksovandium kompleksinin standart bir antioksidan olan askorbik aside kıyasla en yüksek radikal süpürme gücü gösterdiği bulunmuştur (Aboafia ve ark., 2018).

2-((furan-2-il) metilimino) metil) -6-etoksifenol Schiff bazı ile Cu(II), Ni(II) ve Co(III) komplekslerinin antioksidan aktivitesi DPPH testi ile incelenmiş ve aktiviteleri incelendiğinde DPPH'a karşı önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya çıkmıştır (Venkateswarlu ve ark., 2018).

Yeni sentezlenen azo içeren Schiff bazı rutenyum(II) komplekslerinin antioksidan kapasiteleri DPPH testi ile *in vitro* olarak araştırılmıştır. 7–11 komplekslerinin radikal süpürücü aktivitelerinin, pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, BHA ve Trolox'dan daha

yüksek olduğu bulunarak antioksidan aktivite gösterdikleri saptanmıştır (İnan ve ark., 2018).

İki Schiff bazı ligandı ve bunların metal komplekslerinin sentezlenmesi sonucunda antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile incelenmiştir. Tüm bileşiklerin DPPH radikal süpürücü çalışmalarının IC_{50} değerleri pozitif kontrol olarak kullanılan C vitamini ile karşılaştırılmıştır ve bu bileşiklerden elde edilen HL1 ligandının değeri, C vitamininkine benzer bir antioksidan aktivite göstermiştir (Gönül ve ark., 2016).

Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin CUPRAC ve DPPH çalışmaları sonucunda pozitif kontrol olan BHT'ye yakın değerler bulunduğundan, bu bileşiklerin antioksidan aktivitesinin yukarıda yapılmış çalışmalarla paralel olduğu görüldü. Ayrıca bileşik **2**'nin bileşik **1**'e göre daha yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu yapılan bir başka antioksidan aktivite testi olan CUPRAC yönteminde de bulundu. Bileşik **2**'nin bileşik **1**'den daha yüksek antioksidan özelliğe sahip olmasının nedeni ise, bileşik **2**'nin yapısında OH radikali bulundurmasıdır. OH^- radikalinde bulunan elektronun, serbest radikaldeki eksik elektronu tamamlaması sayesinde sağlıklı hücredeki yapıyı bozmayarak antioksidan özelliği kazanmasıdır.

(*E*)-4-kloro-2-((piridin-3-ilimino)metil)fenol, 2-aminopiridin 5-klorosalisilaldehit ile reaksiyonu sonucunda sentezlenen Schiff bazının antimikrobiyal aktivitesi MİK, broth mikrodilüsyon testi ile değerlendirilmiştir. Bileşiğin, *Candida albicans* ATCC 60193 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 üzerinde yüksek bir antifungal etkiye sahipken, bakteriler üzerinde düşük bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Yıldırım ve ark., 2018).

Sentezlenen bileşikler, antimikrobiyal aktiviteleri için *in vitro* olarak incelenmiş ve bunların bazıları, seçilmiş mikroorganizmalara, özellikle *Bacillus cereus, Streptococcus mutans ve Candida albicans*'a karşı orta düzeyde ve iyi düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Antifungal ve antibakteriyel testlerden elde edilen tüm sonuçları bir arada ele alırsak, metal komplekslerinin antimikrobiyal özellikler sergilediğini bununla birlikte test edilen bileşiklerin Gram-negatif bakterilere göre Gram-pozitif bakterilerden daha aktif oldukları belirlenmiştir (Sevgi ve ark., 2018).

Schiff bazı antimikrobiyal aktivite sonuçlarının *Candida albicans* ATCC 60193 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 üzerinde yüksek bir antifungal etkiye sahip olduğu ve bileşiğin bakteriler üzerinde daha düşük bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Ünver ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmada yeni bir dizi naftalimid bazlı Schiff bazı bileşiklerinin antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre test bileşiklerinin antimikrobiyal olmadıkları bulunmuştur (Nayab ve ark., 2015).

Sentezlenen Schiff bazı (*E*)-N-(4-(Tiyofen-2-ilmetilenamino)Fenilsülfonil) asetamid metal komplekslerinin, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. Test edilen bileşiklerin çoğu, farklı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere aynı zamanda mayalara karşı umut verici bir antibakteriyel aktivite göstermiştirlerdir (Abu-Khadra ve ark., 2018).

Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel ve antifungal çalışmaları sonucunda elde edilen farklı derecelerde antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri, yukarıda yapılmış çalışma bulguları ile örtüşmektedir. Sonuçların birbirinden farklı derecelerde antimikrobiyal aktivite göstermesinin sebebi, bakterilerin gram pozitif ve gram negatif özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu farklılıklar gram pozitif bakterilerin hücre duvarının kalınlığından, gram negatif bakterilerin ise hücre duvarının daha ince olmasından kaynaklanmaktadır. Yüksek antifungal özelliği göstermesi ise, maya hücrelerinin ökaryotik, bakterilerin ise prokaryotik canlılar olması ile açıklanabilir.

Sentezlenmiş olan yeni azo-Schiff bazı ve metal komplekslerinin mutajenik aktivitesinin belirlenmesi için yapılan Ames testinden elde edilen verilere göre, test edilen mbH ligandı, onun 5 geçiş metal kompleksleri ve metabolitlerinin, çerçeve mutasyonunu (TA98) indüklemiş olduğu saptanmıştır. Genel olarak, mbH azo-azometin ligandının ve komplekslerinin TA98 üzerindeki etkisinin, TA100'dekinden daha fazla olduğu görülmüştür (Bal ve ark., 2014).

Bir çalışmada, Anilin benziliden türevlerinin (Schiff bazlarının) antimutajenik özellikleri Ames testi ile TA98 ve TA100 suşları kullanılark araştırılmıştır. Yapılan deney sonucunda bileşiklerin konsantrasyonlarında mutajenik etki görülmediği, ancak konsantrasyona bağlı olarak güçlü antimutajenik etki gösterdikleri saptanmıştır (Gök, 2017).

Glisin metil ester ile salisilaldehit ve 5-bromosalisilaldehit'ten sentezlenen Schiff bazları metil *N*-(2-hidroksibenziliden)glisinat ve metil *N*-(5-bromo-2-hidroksi-3-metilbenziliden)glisinat bileşiklerinin mutajenik ve antimutajenik aktiviteleri Ames/*Salmonella* testi ile araştırılmıştır. Bileşiklerin konsantrasyona bağlı mutajenik etkilerinin olmadığı ve konsantrasyonlardan bağımsız olarak antimutajenik etkilerinin olduğu bulunmuştur (Yıldırım, 2017).

Bileşik **1** ve bileşik **2**'nin mutajenite ve antimutajenite aktivite çalışmaları sonucunda elde edilen mutajenik aktivitesinin olmadığı ancak antimutajenik aktivitesinin konsantrasyona bağlı var olarak arttığı sonucu, yukarıda yapılmış çalışma bulguları ile örtüşmektedir. Bileşik **2**'nin daha kararlı biçimde yüksek antimutajenik aktiviteye sahip olmasının sebebi ise içeriğinde OH^- grubu içeren fenol bileşiği bulundurmasından kaynaklanmaktadır.

BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda ihtiyaçlar sonrasında sürekli artan ve gelişen teknoloji dalları ile birlikte canlılar, birçok kimyasal maddelere dolaylı ya da doğrudan maruz kalmaktadır. Sağlık sektörü başta olmak üretilen ilaçların özellikle içerisindeki sentetik maddelerin insan sağlığına uygun ve karsinojen etkisinin minimum seviyede olması gerekmektedir. Bu yüzden sağlık kozmetik, gıda, tıp, endüstri, farmokoloji vb alanlarda kullanılan maddelerin canlıların sağlığı üzerinde oluşturabileceği olumsuz etkilerin önüne geçebilmek için gerekli çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Buradan yola çıkarak ele alınan bu tez çalışmasında suda çözünebilen polietilenimin bileşiklerinin DNA ile etkileşimlerinin yanı sıra antioksidan, antimikrobiyal ve mutajenik/antimutajenik aktiviteleri araştırıldı.

DNA'ya bağlanma çalışmaları sonucunda bileşik **1** ve bileşik **2**'nin CT-DNA'ya elektrostatik olarak bağlandığı ve ileride yeni ilaç tasarlama konusunda bu bileşiklerin model olarak kullanılabileceği görüldü. DNA kesme aktivitesine baktığımızda bileşik **1** ve bileşik **2**'nin pBR322 plazmid DNA üzerinde konsantrasyona bağlı olarak oksitleyici ajan varlığında ve yokluğunda DNA'yı kestiği görüldü.

Antioksidan aktivitelerinin CUPRAC ve DPPH yöntemi ile incelenmesi sonucunda ise her iki bileşiğin de anitoksidan aktivitesinin bulunduğu, bileşik **2**'nin bileşik **1**'e göre daha güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu saptandı.

Antimikrobiyal aktiviteleri ele alındığında her iki bileşiğin de farklı bakteriler üzerinde antibakteriyel etkisinin olduğu, her iki bileşiğin de yüksek derecede antifungal etkiye sahip olduğu görüldü.

Bileşiklerin antimutajenik özellikleri imcelendiğinde bileşik **1**'in TA98 ve TA100 suşları üzerindeki antimutajenik etkilerine bakıldığında farklı konsantrasyonlarda orta ve güçlü derecede antimutajenik etkiye sahip olduğu belirlendi. Bileşik **2**'nin TA98 ve TA100 suşları üzerinde kullanılan tüm konsantrasyonlarda güçlü antimutajenik etkiye sahip olduğu gözlemlendi. Yapılan çalışma sonrasında elde edilen mutajenite sonuçlarına göre test bileşiklerinin her ikisinin de TA98 ve TA100 suşları mutajenik etkilerinin olmadığı belirlendi.

Tüm bu sonuçlar ele alındığında, tez kapsamında çalışılan yeni sentezlenmiş olan suda çözünen polietilenimin türevlerinin DNA etkileşimlerinin, antioksidan, antifungal ve antimutajenik aktivitelerinin farklı sektörlerdeki kullanım alanlarına ışık tutabileceğinden

dolayı, ileriki çalışmalarda bu maddelerin farklı *in vivo* ve *in vitro* deneylerine de tabii tutulması gerektiği düşünüldü.

KAYNAKLAR

Aboafia S.A., Elsayed S.A., El-Sayed A. K., El-Hendawy A.M., 2018. New Transition Metal Complexes of 2, 4-dihydroxybenzaldehyde benzoylhydrazone Schiff Base (H2 dhbh): Synthesis, Spectroscopic Characterization, DNA Binding/Cleavage and Antioxidant Activity. Journal of Molecular Structure, 1158: 39-50

Abu-Khadra A. S., Afify A. S., Mohamed A., Farag R. S., Aboul-Enein H.Y., 2018. Preparation, Characterization and Antimicrobial Activity of Schiff Base of (*E*)-N-(4-(Thiophen-2-ylmethyleneamino) Phenylsulfonyl) Acetamide Metal Complexes. The Open Bioactive Compounds Journal, 6: 1-10.

Ahn C.H., Chae S.Y., Bae Y.H., Kim S.W., 2002. Biodegradable Poly(ethylenimine) for Plasmid DNA Delivery. Journal of Controlled Release, 80 (1- 3): 273-282.

Ames B.N., Lee F.D., Durston W.E., 1973. An Improved Bacterial Test System for The Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens. Proceedings of the National Academy of Sciences, 70: 782-786.

Antonenko T. A., Shpakovsky D. B., Vorobyov M. A., Gracheva Y. A., Kharitonashvili E. V., Dubova L.G., Shtyrlin Y.G., 2018. Antioxidative Vs Cytotoxic Activities of Organotin Complexes Bearing 2,6-di-tert-butylphenol Moieties. Applied Organometallic Chemistry, e4381.

Antonenko T.A., Shpakovsky D.B., Gracheva Y.A., Balashova T.V., Pushkarev A.P., Bochkarev M.N., Milaeva E.R., 2017. Lanthanide Benzoates with 2,6-di-tert-Butylphenol Moiety: Synthesis, Luminescent and Antioxidant Properties. Inorganica Chimica Acta, 455: 276-282.

Akı C., 2007. Genel Genetik (4. Baskı). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Teksirleri Serisi No:1, Çanakkale. 60-62.

Apak R., Güçlü K., Ozyürek M., Karademir S.E., Altun M., 2005. Total Antioxidant Capacity Assay of Human Serum Using Copper(II)-Neocuproine As Chromogenic Oxidant: The CUPRAC Method. Free Radical Research. 39 (9): 949-961.

Anastassopoulou J., 2003. Metal–DNA Interactions. Journal of Molecular Structure, 651: 19-26.

Balbás P., Soberón X., Merino E., Zurita M., Lomeli H., Valle F., Flores N., Bolivar F., 1986. Plasmid Vector pBR322 and Its Special-Puppose Derivatives-A Review. Gene, 50 (1-3): 3-40.

Bheemarasetti M., Palakuri K., Raj S., Saudagar P., Gandamalla D., Yellu N.R., Kotha L.R., 2018. Novel Schiff Base Metal Complexes: Synthesis, Characterization, DNA Binding, DNA Cleavage and Molecular Docking Studies. Journal of the Iranian Chemical Society, 15(6):1377-1389.

Blois M. S., 1958. Antioxidant Determinations By the Use of A Free Radical. Nature, 181: 1199-1200.

Bolivar F., Rodriguez R.L., Betlach M.C., Boyer H.W., 1977. Construction and Characterisation of New Cloning Vehicles. I. Ampicillin-Resistant Derivatives of Plasmid pMB9. Gene, 2 (2): 75-93.

Braña M.F., Cacho M., Gradillas A., Pascual-Teresa B., Ramos A., 2001. Intercalators as Anticancer Drugs. Current Pharmaceutical Design 7 (17): 1745-1780.

Brodowska K., Sykuła A., Garribba E., Łodyga-Chruścińska E., Sójka M., 2016. Naringenin Schiff base: Antioxidant Activity, Acid–Base Profile, and Interactions with DNA. Transition Metal Chemistry, 41 (2): 179-189.

Blackburn G.M., Gait M.J., 1996. DNA and RNA Structure: Nucleic Acids in Chemistry and Biology. 3rd ed. Blackburn GM, Gait MJ. England: Oxford University Press, 28-39.

Bhai R.D., Girija C.R., Reddy K.R., 2018. Schiff Bases Derived From 2-Hydroxy And 2-Methoxy Naphthaldehyde: Exploration of In Silico Docking, DNA Cleavage, Antibacterial Activities And Sar. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 9 (1): 346-353.

Banerjee S., Ghorai P., Brandão P., Ghosh D., Bhuiya S., Chattopadhyay D., Saha A., 2018. Syntheses, Crystal Structures, DNA Binding, DNA Cleavage, Molecular Docking and DFT Study of Cu(II) Complexes Involving N_2O_4 Donor Azo Schiff Base Ligands. New Journal of Chemistry, 42 (1): 246-259.

Bal M., Ceyhan G., Avar B., Köse M., Kayraldiz A., Kurtoğlu M., 2014. Synthesis and X-ray Powder Diffraction, Electrochemical, and Genotoxic Properties of a New Azo-Schiff Base and Its Metal Complexes. Turkish Journal of Chemistry, 38 (2): 222-241.

Bragonzi A., Boletta A., Biffi A., Muggia A., Sersale G., Cheng S.H., Bordignon C., Assael B.M., Conese M., 1999. Comparison Between Cationic Polymers and Lipids in Mediating Systemic Gene Delivery to the Lungs. Gene Therapy, 6 (12): 1995–2004.

Cariello N.F., Piegorsch W.W., 1996. The Ames Test: The Two-Fold Rulo Revisited, Mutation Research, 369: 23-31.

Cheng W.P., Gray A.I., Tetley L., Hang T.L.B., Schatzlein A.G.and Uchegbu I.F., 2006. Polyelectrolyte Nanoparticles with High Drug Loading Enhance the Oral Uptake of Hydrophobic Compounds. Biomacromolecules, 7 (5): 1509-1520.

Cook S.E., Park I.K., Kim E.M., Jeong H.J., Park T.G., Choi Y.J., Akaike T., Cho C.S., 2005. Galactosylated Polyethylenimine-Graft-Poly(Vinyl Pyrrolidone) as Ahepatocyte-Targeting Gene Carrier. Journal of Controlled Release, 105 (1-2): 151-163.

Çerçeve Kayması Mutasyonu, (b.t), https://tr.wikipedia.org/wiki/Çerçeve_kayması_mutasyon

Davidson R.L., Sittig M., 1968. Water-Soluble Resins. Reinhold Book Corp. ISBN 0278916139.

Demirpek U., (b.t), Antibiyotik Duyarlilik Testleri,

http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf

Devagi G., Dallemer F., Kalaivani P., Prabhakaran R., 2018. Organometallic Ruthenium(II) Complexes Containing NS Donor Schiff Bases: Synthesis, Structure, Electrochemistry, DNA/BSA Binding, DNA Cleavage, Radical Scavenging and Antibacterial Activities. Journal of Organometallic Chemistry, 854: 1-14.

Dhar D.N., Taploo C.L., 1982. Schiff-Bases and Their Applications. Journal of Scientific & Industrial Research, 41(8): 501-506.

Ejidike I. P., Ajibade P. A., 2015. Synthesis, Characterization and Biological Studies of Metal(II) Complexes of (3*E*)-3-[(2-{(*E*)-[1-(2, 4-dihydroxyphenyl) ethylidene] amino} ethyl) imino]-1-phenylbutan-1-one Schiff Base. Molecules, 20 (6): 9788-9802.

Gatehouse D.G., Rowland I.R., Wilcox P., Callander R.D. ve Foster R., 1990. Basic Mutagenicity Ukems Recommended Procedures. In: Kirkland, D.J., Ed. Bacterial Mutation Assay. The Bath Press, Avon, Great Britain, UK.

Ghichi N., Benboudiaf A., DJebli Y., Bensouici,C., Merazig H., 2018. Crystal Structure, Hirshfeld Surface Analysis and Antioxidant Capacity of 2, 2′-{(1*E*, 1′ *E*)-[1, 2-phenylenebis (azanylylidene)] bis (methanylylidene)} bis (5-benzyloxy) Phenol. Acta Crystallographica Section E: Crystallographic Communications, 74 (5): 682-686.

Ghorai P., Saha R., Bhuiya S., Das S., Brandão P., Ghosh D., Saha A., 2018. Syntheses of Zn(II) and Cu(II) Schiff Base Complexes Using N, O Donor Schiff Base Ligand: Crystal Structure, DNA Binding, DNA Cleavage, Docking and DFT Study. Polyhedron, 141: 153-163.

Godbey W.T., Wu K.K., Mikos A.G., 1999. Poly(ethylenimine) and Its Role in Gene Delivery. Journal of Controlled Release, 60 (2-3): 149-160.

Godbey W.T., Wu K.K., Mikos A.G., 2001. Poly(ethylenimine)-Mediated Gene Delivery Affects Endothelial Cell Function and Viability. Biomaterials, 22 (5): 471-480.

Gubendran A., Kumar G.G.V., Kesavan M.P., Rajagopal G., Athappan P., Rajesh J., 2018. New Anthracene Based Schiff Base Ligands Appended Cu(II) complexes: Theoretical Study, DNA Binding and Cleavage Activities. Applied Organometallic Chemistry, 32 (3): e4128.

Gümrükçüoğlu N., Sökmen B.B., Uğraş S., Uğraş H.I., Yanardağ R., 2013. Synthesis, Antibacterial, Antielastase, Antiurease and Antioxidant Activities of New 1, 4-Butylene Bridged bis-1, 2, 4-Triazole Derivatives. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 28 (1): 89-94.

Gönül I., Köse M., Ceyhan G., Serin S., 2016. Methoxy Group Containing Bidentate Schiff Base Ligands and Their Transition Metal Complexes: Synthesis, Structural

Characterisation, Photoluminescence, Antioxidant Capacity and Superoxide Dismutase Activity Studies. Inorganica Chimica Acta, 453: 522-530.

Gürcan N., 2014. Ferrosen Aktif Birimi İçeren Yeni Azin Türevlerinin DNA Bağlanma, DNA Kesim ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Türkiye.

Gürkök A.G., 2007. Biyolojik Önemi Olan Indol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatmaları ve Aktivitelerinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Türkiye.

Gök B., 2017. Anilin Benziliden Türevlerinin Biyolojik Aktivite ve Antimutajenik Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye,

Han S, Mahato R.I., Sung Y.K., Kim S.W., 2000. Development of Biomaterials for Gene Therapy. Molecular Therapy, 2 (4): 302-317.

Hajian R., Shams N., Mohagheghian M., 2009. Study on the Interaction between Doxorubicin and Deoxyribonucleic Acid with the Use of Methylene Blue as a Probe, Journal of the Brazilian Chemical Society, 20 (8): 1399-1405.

Halikar N.K., Sadawrte G.P., Gawande,M.J. 2017. Synthesis and Antimicrobial Activity of Thiazolidinones Derivatives, International Journal of Scientific Research in Science and Technology, 3 (10): 06-08

Helmschrodt C., Bauer A., Höbel S., Schöniger S., Fietz S.A., Aigne, A., Richter F., 2016. Polyethylenimine (PEI) Nanoparticle-Mediated Delivery of siRNA to Silence Neuronal Gene Expression of Alpha-Synuclein in a Mouse Model of Parkinson's Disease. Movement Disorders, 31, S231.

Holmes C., 2013. Review: Systemic Inflammation and Alzheimer’s Disease. Neuropathology Applied Neurobiology, 39: 51-68.

Hosseini-Yazdi S. A., Mirzaahmadi A., Khandar A.A., Eigner V., Dušek M., Mahdavi M., White J., 2017. Reactions of Copper(II), Nickel(II), and Zinc(II) Acetates with a New Water-Soluble 4-phenylthiosemicarbazone Schiff Base Ligand: Synthesis, Characterization, Unexpected Cyclization, Antimicrobial, Antioxidant, and Anticancer Activities. Polyhedron, 124: 156-165.

Hunter A.C., 2006. Molecular hurdles in polyfectin design and Mechanistic Background to Polycation Induced Cytotoxicity. Advanced Drug Delivery Reviews. 58 (14): 1523-1531.

Isenberg H.D., 1998. Essential Procedures for Clinical Microbiology. American Society for Clinical Microbiology, Washingtoon DC, pp. 126-223.

İnan A., İkiz M., Taylan S., Bilgin S., Genç N., Sayın K., İspir E., 2018. Antiproliferative, Antioxidant, Computational and Electrochemical Studies of New Azo-Containing Schiff Base Ruthenium(II) Complexes. New Journal of Chemistry. DOI: 10.1039/C7NJ04420H

Kalp İ., (12 Mart 2017), Serbest Radikal Nedir.

https://bilimfili.com/serbest-radikal-nedir/

Karaali, N., Baltaş, N., Menteşe, E., 2018. Synthesis and Antioxidant, Antiurease and Anti-Xanthine Oxidase Activities of Some New Benzimidazoles Bearing Triazole, Oxadiazole, Thiadiazole and Imin Function. Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 57: 374-384

Kaya Y., Erçağ A., Koca A., 2015. Synthesis, Structures, Electrochemical Studies and Antioxidant Activities Of Cis-Dioxomolybdenum(VI) Complexes of the New Bisthiocarbohydrazones. Journal of Molecular Structure, 1102: 117-126.

Kelly J., Tossi A., McConnell D., Uigin O., 1985. A Study of the Interactions of Some Polypyridyl Rutheniumn(I) Complexes with DNA Using Fluorescence Spectroscopy, Topoisomerisation and Thermal Denaturation. Nucleic Acids Research, 13: 6017-6034.

Li Y., Wang B.ve Yang Z., 2007. Infrared and DNA-Binding on Ultraviolet and Fluorescence Spectra of New Copper and Zinc Complexes with a Naringenin Schiff-Base Ligand, Spectrochimica Acta A, 67 (2): 395-401.

Liu Y., Samsonova O., Sproat B., Merkel O., Kissel T., 2011. Biophysical Characterization of Hyper-Branched Polyethylenimine-Graft-Polycaprolactone-Block-Mono-Methoxyl-Poly (ethylene glycol) Copolymers (hy-PEI-PCL-mPEG) for siRNA Delivery. Journal of Controlled Release, 153 (3): 262-268.

Madkour Tarek M., 1999. Polymer Data Handbook. Oxford University Press, Inc. p. 490. ISBN 978-0195107890.

Mandal S. S., Varshney U., Bhattacharya S., 1997. Role of the Central Metal Ion and Ligand Charge in the DNA Binding and Modification By Metallosalen Complexes. Bioconjugate Chemistry, 8(6): 798-812.

Maron D.R., Ames B.N., 1983. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test Mutation Research, 113: 173-215.

Mladenova R., Ignatova M., Manolova N., Petrova T., Rashkov I., 2002. Preparation, Characterization and Biological Activity of Schiff Base Compounds Derived From 8-hydroxyquinoline-2-carboxaldehyde and Jeffamines ED. European Polymer Journal, 38 (5): 989-999.

Moghimi S.M., Symonds P., Murray J.C., Hunter A.C., Debska G., Szewczyk A., 2005. A Two-Stage Poly (ethylenimine)-Mediated Cytotoxicity: Implications for Gene Transfer/Therapy. Molecular Therapy, 11 (6) :990-995.

Mortelmans K., Zeiger E., 2000. The Ames Salmonella/Microsome Mutagenicity Test. Mutation Research, 455: 29-60.

Murphy J.A., 1995. Reactions of Oxyl Radicals with DNA. Free Radical Biology and Medicine, 18: 1033-1077.

Nayab P.S., Pulaganti M., Chitta S.K., Abid M., Uddin R., 2015. Evaluation of DNA Binding, Radicals Scavenging and Antimicrobial Studies of Newly Synthesized N-substituted Naphthalimides: Spectroscopic and Molecular Docking Investigations. Journal of Fluorescence, 25 (6): 1905-1920.

Neves A., Terenzi H., Homer R., 2001. Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a Dinuclear Iron(III) Complex. Inorganic Chemistry Communications, 4: 388-391.

Pasa S, Aydın S., Kalaycı S., Boğa M., Atlan M., Bingul M., Şahin F., Temel H., 2016. The Synthesis of Boronic-Imine Structured Compounds and Identification of Their Anticancer, Antimicrobial and Antioxidant Activities. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6 (1): 39-48.

Palchaudhuri R., Hergenrother P.J., 2007. DNA as a Target for Anticancer Compounds: Methods to Determine the Mode of Binding and Mechanism of Action. Current Opinion in Biotechnology, 18: 497-503.

pBR322 Vector (b.t),

https://www.neb.com/products/n3033-pbr322-vector#Product%20Information

Petersen H., Fechner P.M., Martin A.L., Kunath K., Stolnik S., Roberts C.J., Fischer D., Davies M.C., Kissel T., 2002a. Polyethylenimine-graft-poly(ethylene glycol) Copolymers: Influence of Copolymer Block Structure on DNA Complexation and Biological Activities as Gene Delivery System. Bioconjugate Chemistry,13 (4): 845-854.

Petersen H, Fechner P.M., Fischer D., Kissel T., 2002b. Synthesis, Characterization, and Biocompatibility of Polyethylenimine-Graftpoly (ethylene glycol) Block Copolymers. Macromolecules, 35 (18): 6867-6874.

Pierce B.A., 2003. Genetics A Conceptual Approach. 4th ed, W.H. Freeman & Company Publishers, USA, 234-265.

Qiao X., Ma Z.Y., Xie C.Z., Xue F., Zhang Y.W., Xu J.Y., Qiang Z.Y., Lou J.S., Chen G.J., Yang S.P., 2011. Study on Potential Antitumor Mechanism of a Novel Schiff Base Copper (II) Complex: Synthesis, Crystal Structure, DNA Binding, Cytotoxicity and Apoptosis Induction Activity. Journal of Inorganic Biochemistry, 105: 728-737.

Remy J.S., Abdallah B., Zanta M.A., Boussif O., Behr J.P., Demeneix B., 1998. Gene Transfer with Lipospermines and Polyethylenimines. Advanced Drug Delivery Reviews, 30 (1-3): 85-95.

Sabaa M.W., Elzanaty A.M., Abdel-Gawad O.F., Arafa E.G., 2017. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Schiff Bases Modified Chitosan-Graft-Poly (Acrylonitrile). International Journal of Biological Macromolecules, 109: 1280-1291.

Santos Kelly de O., Elias W.C., Signori A.M., Giacomelli F.C., Yang H., Domingos J.B., 2012. Synthesis and Catalytic Properties of Silver Nanoparticle-Linear Polyethylene Imine Colloidal Systems. The Journal of Physical Chemistry, 116 (7): 4594-4604

Satyapal S., Filburn T., Trela J., Strange J., 2001. Performance and Properties of a Solid Amine Sorbent for Carbon Dioxide Removal in Space Life Support Applications. Energy & Fuels, 15 (2): 250-255.

Schiff H., 1869. Über die Aldehyd und Amin Reaktionen. Liebigs Annalen der Chemie, 150-197.

Sevgi F., Bağkesici U., Kurşunlu A. N., Güler E., 2018. Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) Complexes of Schiff Bases Based-On Glycine and Phenylalanine: Synthesis, Magnetic/Thermal Properties and Antimicrobial Activity. Journal of Molecular Structure, 1154, 256-260.

Siddiqui H. L., Iqbal A., Ahmad S., Weaver G.W., 2006. Synthesis and Spectroscopic Studies of New Schiff Bases. Molecules, 11: 206-211.

Shahabadi N., Kashanian S., Darabi F., 2010. DNA Binding and DNA Cleavage Studies of a Water Soluble Cobalt(II) Complex Containing Dinitrogen Schiff Base Ligand: The Effect of Metal on the Mode of Binding. European Journal of Medicinal Chemistry, 45 (9): 4239-4245.

Shaabani B., Khandar A.A., Ramazani N., Fleck M., Mobaiyen H., Cunha-Silva L., 2017. Chromium(III), Manganese(II) And Iron(III) Complexes Based on Hydrazone Schiff-Base and Azide Ligands: Synthesis, Crystal Structure and Antimicrobial Activity. Journal of Coordination Chemistry, 70 (4): 696-708.

Shanty A.A., Philip J.E., Sneha E.J., Kurup M.R.P., Balachandran S., Mohanan P.V., 2017. Synthesis, Characterization and Biological Studies of Schiff Bases Derived From Heterocyclic Moiety. Bioorganic Chemistry, 70: 67-73.

Sreeyan N., RAO M., 1996. Free Radical Scavenging Activity of Curcuminoids. Drug Development Research, 46: 169-171.

Sridhar S.K., Saravanan M., Ramesh A., 2001. Synthesis and Antibacterial Screening of Hydrazones, Schiff and Mannich Bases of Isatin Derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry, 36 (7-8): 615-625.

Stubbe J., Kozarich J. W., 1987. Mechanism of Bleomycin-Induced DNA Degradation. Chemical Reviews, 87: 1107-1136.

Sunintaboon P., Duangphet S., Tangboriboonrat P., 2009. Polyethyleneimine-Functionalized Poly (Methyl Methacrylate) Colloidal Nanoparticles for Directly Coating Natural Rubber Sheet. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, A, 350: 114-120

Suzuki D.T., Griffiths A.J.F., Miller J.H., Lewontin R.C., 1989. An Introduction to Genetic Analysis, Fourth Edition, New York, USA.

Tahriri M., Yousefi M., Mehrani K., Tabatabaee M., Ashkezari M.D., 2017. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Two Novel Sulfonamide Schiff Base Compounds. Pharmaceutical Chemistry Journal, 51 (5): 425-428.

Tian H., Xiong W., Wei J., Wang Y., Chen X., Jing X., Zhu Q., 2007. Gene Transfection of Hyperbranched PEI Grafted by Hydrophobic Amino Acid Segment PBLG. Biomaterials, 28: 2899-2907.

Ünver H., Boyacıoglu B., Zeyrek C.T., Yolal D., Yıldız M., Yıldırım N., Elmalı A., 2018. Experimental, DFT Calculation, Biological Activity, Anion Sensing Application Studies and Crystal Structure of (*E*)-4-[(pyridin-3-ylimino) methyl] benzene-1, 3-diol. Journal of Chemical Crystallography, 48: 32-46.

Vancha A.R., Govindaraju S., Parsa K.V., Jasti M., González-García M., Ballestero R.P., 2004. Use of Polyethyleneimine Polymer in Cell Culture as Attachment Factor and Lipofection Enhancer. BMC Biotechnology, 4 (1): 23.

Wågberg L., 2000. Polyelectrolyte Adsorption Onto Cellulose Fibres - A Review. Nordic Pulp & Paper Research Journal, 15 (5): 586–597.

Wang Y., Yang Z., Chen Z., 2008. Synthesis, Characterization and DNA-Binding Properties of Four Zn(II) Complexes with bis(pyrrol-2-yl-methyleneamine) Ligands. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 18: 298-303

Ward H., (b.t), Human Genetic Mutations. 2 Main Types of Mutations 1.) Chromosomal Mutations 2.) Gene Mutations

http://slideplayer.com/slide/10572855/)

Venkateswarlu K., Kumar M. P., Rambabu A., Vamsikrishna N., Daravath S., Rangan K., 2018. Crystal Structure, DNA Binding, Cleavage, Antioxidant and Antibacterial

Studies of Cu(II), Ni(II) and Co(III) Complexes with 2-((furan-2-yl) methylimino) methyl)-6-ethoxyphenol Schiff Base. Journal of Molecular Structure, 1160: 198-207.

Yemul O., Imae T., 2008. Synthesis and Characterization of Poly (ethyleneimine) Dendrimers. Colloid and Polymer Science, 286 (6-7): 747-752.

Yıldırım N., Demir N., Alpaslan G., Boyacıoğlu B., Yıldız M., Ünver H., 2018. DFT Calculation, Biological Activity, Anion Sensing Studies and Crystal Structure of (*E*)-4-chloro-2-((pyridin-2-ylimino)-methyl) Phenol. Journal of the Serbian Chemical Society. 83 (6): 707-721.

Yıldırım M.A., 2017. Glisin Metil Ester Salisiliden Bileşiklerinin Antimikrobiyal, Antimutajenik Aktivite ve DNA İle Etkileşimlerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.

Yıldız M., Demir N., Ünver H., Sahiner N., 2017. Synthesis, Characterization, and Application of a Novel Water-Soluble Polyethyleneimine-Based Schiff Base Colorimetric Chemosensor for Metal Cations and Biological Activity. Sensors and Actuators B: Chemical, 252: 55-61.

Yörur-Göreci Ç., Demir Z., Altaş N., 2016. Green Synthesis of New Amino Acid Schiff Bases and Their Biological Activities. Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry 3 (3): 15-24.

Zhang R., Eggleston K., Rotimi V., Zeckhauser R.J., 2006. Antibiotic Resistance as A Global Threat: Evidence from China, Kuwait and the United States. Global Health, 7: 2-6.

Zhou Y., Zhang L., Zeng X., Vital J.J., You X., 2000. A New Structurally Characterized Organotin/Schiff Base Complex with Approximately Rectangular Molecular Boxes Formed Through Hydrogen Bonds. Journal of Molecular Structure, 553 (1-3): 25-30.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Melike SARAÇOĞLU

Doğum Yeri: İSTANBUL

Doğum Tarihi: 24.01.1992

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü, 2011-2016

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,
Fen Bilimleri Enstitüsü,
Biyoloji Anabilim Dalı, 2016-2018

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce, Makedonca

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI -Diğer

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

Saraçoğlu M., Merdamert E., Demir N., Erduğan H., 2017. Free Radical Scavenging Capacity and DNA Damage Protective Activity of *Sargassum vulgare* C. Agardh 3. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi (IVEK). 26-29 Nisan 2017, İstanbul, Türkiye, p. 702. (poster)

Saraçoğlu M., Demir N., Yıldız M., Yıldırım M.A., 2017. Synthesis, Characterization of 6 Hydroxy-m-anisaldehyde Schiff base and its DNA Binding, DNA Cleavage and Chromogenic Sensing Studies. 3. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi (IVEK). 26-29 Nisan 2017, İstanbul, Türkiye, p. 591. (poster)

Saraçoğlu M., Demir N., 2017. DNA Binding and DNA Cleavage Studies of Polyethylenimine Based Schiff Base. ISEEP-2017 VIII. International Symposium on Ecology and Environmental Problems, Çanakkale, Türkiye, 4-7 Ekim 2017, p.151 (poster)

Saraçoğlu M., Demir N., Erdugan H., 2017. DNA Damage Protective Activity of *Polysiphonia morrowii* (Harvey). ISEEP-2017 VIII. International Symposium on Ecology and Environmental Problems, Çanakkale, Türkiye, 4-7 Ekim 2017, p.152 (poster)

c) Katıldığı Projeler

Suda Çözünen Polietilenimin Türevlerinin Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması, FYL-2017-1328 (Yüksek Lisans Tez Projesi). Araştırmacı, Eylül 2017-Ağustos 2018.

İLETİŞİM

E-posta Adresi: m.saracogluu@gmail.com