

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**5-METHOXY-İSATİN THİOSEMİCARBAZONE
TÜREVLERİNİN DNA İLE ETKİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ
VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Ahmed Ramdan Ali ABUJARIDA

**Danışman
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi**

**Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU
Prof. Dr. Fatma KANDEMİRLİ
Doç. Dr. Musa KAVAS**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI**

KASTAMONU – 2017

TEZ ONAYI

Ahmed Ramdan Ali ABUJARIDA tarafından hazırlanan “**5-Methoxy-İsatin Thiosemicarbazone Türevlerinin DNA İle Etkileşiminin İncelenmesi Ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Fatma KANDEMİRLİ
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Musa KAVAS
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



24/05/2017

Enstitü Müdür V.

Prof. Dr. Temel SARIYILDIZ



TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

İmza

Ahmed Ramdan Ali ABUJARIDA



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

5-METHOXY-İSATIN THİOSEMİKARBAZONE TÜREVLERİNİN DNA İLE ETKİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Ahmed Ramdan Ali ABUJARIDA

Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU

Tiyosemikarbazon ve Tiyosemikarbazidler, çok çeşitli biyolojik uygulamalar için kullanılmaktadır. 5-Metoksi isatin-3-(N-2-Florofenil) Tiyosemikarbazon + Zn (II), 5-Metoksi isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon + Z(II), 5- Metoksi isatin -3-(N-4-Florofenil) tiyosemikarbazon + Zn(II), 5-Metoksi isatin-3- (N-2-Florofenil) tiyosemikarbazon ve 5-metoksi isatin-3 -(N-4-Florofenil) tiyosemikarbazon; 5-Metoksi isatin tiyosemikarbazid türevlerinin reaksiyonu ile yeniden sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin antimikrobiyal etkisi ve CT-DNA ile etkileşimi incelenmiştir. Isatin tiyosemikarbazon türevleri ve bunların metal bileşikleri, *in vitro* koşullarda, 16 farklı bakteri suşu ve bir mantar suşu mukabilinde değerlendirilmiştir. Bütün bileşiklerin *S. aureus* ATCC 25923, *S. hominis* ve *S. aureus* ATCC, *P. vulgaris*, *E. aerogenes* ATCC 13048 ve *S. kentucky* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, tiyosemikarbazonun ligand bileşiklerinin, çinko bileşiklerine göre daha fazla sayıda bakteri suşunu etkilediği de fark edilmiştir. Bu çalışmada isatin tiyosemikarbazon türevlerinin sönümleme katsayısı hesaplanmıştır. Beş bileşiğin tamamının konsantrasyonundaki artışın, bu bileşiklerin absorbans artışına neden olduğu bulunmuştur. Bileşiklerin buzağı timüs DNA'sı ile etkileşimi, UV spektrofotometrisi kullanılarak araştırılmıştır. Beş bileşiğin tümü için Kb değerleri hesaplanmış ve bileşiklerin tümünün CT-DNA ile etkileşime girdiği görülmüştür. CT-DNA 'nın artan konsantrasyonu ile birlikte, 5- Metoksi isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon +Z(II) ve 5-metoksi isatin-3 -(N-4-Florofenil) tiyosemikarbazonun absorbansının artışına neden olduğu görülmüştür. Diğer bileşikler, CT-DNA etkileşim analizi yönünden zıt bir durum göstermişlerdir. Bu bileşikler, mikroorganizmalar ve DNA üzerindeki etkileri temel alınarak, olası ilaçlar veya ilaç katkı maddeleri için kullanılabilirler. Bu bileşiklerin *in vivo* etki şekli ve toksisitesinin değerlendirilmesi için daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: 5-Metoksi-isatin tiyosemikarbazon, antimikrobiyal etki, DNA etkileşimi.

2017, 49 Sayfa
Bilim Kodu: 923

ABSTRACT

MSc. Thesis

IDENTIFICATION OF INTERACTION OF 5-METHOXY-ISATIN THIOSEMICARBAZONE DERIVATIVES WITH DNA AND DETERMINATION OF THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

Ahmed Ramdan Ali ABUJARIDA

Kastamonu University
Institute of Science
Department of Genetics and Bioengineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU

Thiosemicarbazone and Thiosemicarbazides are used for wide range of biological applications. 5-Methoxyisatin-3-(N-2-Fluorophenyl) Thiosemicarbazone + Zn (II), 5- Methoxyisatin-3-(N-4-Nitro phenyl) thiosemicarbazone + Z(II), 5- Methoxyisatin-3-(N-4-Fluoro phenyl) thiosemicarbazone + Zn(II), 5-Methoxyisatin-3- (N-2-Fluoro phenyl) thiosemicarbazone and 5-methoxyisatin-3 -(N-4-Fluoro phenyl) thiosemicarbazone were resynthesized by the reaction of 5-Methoxy isatin thiosemicarbazide derivatives. Antimicrobial activity and interaction of these compounds with CT-DNA were examined. Isatin thiosemicarbazones derivatives and their metal complexes were evaluated in *in vitro* conditions against to 16 different bacteria strains and one fungi strain. All compounds indicated antimicrobial activity against to *S. aureus* ATCC 25923, *S. hominis* and *S. aureus* ATCC, *P. vulgaris*, *E. aerogenes* ATCC 13048 and *S. kentucky*. It was also realized that ligand complexes of thiosemicarbazone affected greater number of bacteria strains than zinc complexes of thiosemicarbazone. Extension coefficient of isatin thiosemicarbazone derivatives was also calculated in this study. It was found that the increase in the concentration of all five compounds caused raising for absorbance of these compounds. The interaction of five compounds with calf thymus DNA were also investigated by using UV spectrophotometry. Kb values of all five compounds were calculated. All five compounds interacted with CT-DNA. 5- Methoxyisatin-3-(N-4-Nitro phenyl) thiosemicarbazone + Z(II) and 5-methoxyisatin-3 -(N-4-Fluoro phenyl) thiosemicarbazone caused an increase in absorbance with increscent concentration of CT-DNA. Other compounds showed opposite situation for CT-DNA interaction analysis. These compounds may be used for potential drugs or drugs additives based on their effects on microorganisms and DNA. Further studies should be required for evaluation of *in vivo* mode of action and toxicity of these compounds.

Key Words: 5-Methoxy-isatin thiosemicarbazone, antimicrobial activity, DNA interaction.

2017, 49 Pages

Science Code: 923

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın başarılı bir şekilde tamamlanmasında en büyük pay sahibi olan Danışmanın Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU'na çalışmanın her aşamasında yaptıkları danışmanlık, rehberlik ve içten yol göstericilikleri ve sağladıkları çok değerli tavsiyeler için özel olarak minnettarlığımı ifade etmek istiyorum. Çalışma boyunca değerli vakitlerini ayırarak bana sağladıkları destek, teşvik ve gösterdikleri sabır için Prof. Dr. Fatma KANDEMİRLİ ve Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU'na teşekkürlerimi sunuyorum. Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nde görev yapanlar başta olmak üzere Kastamonu Üniversitesi'nde görevli tüm Öğretim Elemanlarına teşekkürlerimi sunuyorum. Benim için ayırdıkları zaman, sarf ettikleri emek ve sundukları öneriler için Tez Jürimde yer alan değerli jüri üyelerine saygılarımı sunuyorum. Çalışmalarım için burs desteği sağlayan ülkem Libya'ya ve çalışma boyunca sağladıkları destek, teşvik ve gösterdikleri sabır için başta annem, babam ve eşim olmak üzere tüm aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

Laboratuvar çalışmaları boyunca sağladıkları destek ve yol göstericilikleri için Dr. Mohamed Ganim ve Aisha T. Abdelsalam'a ayrı ayrı teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak, Akademik çalışmalarım boyunca Kastamonu Üniversitesi'nde birlikte zaman geçirdiğimiz ve bana her zaman destek olan okul ve sınıf arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Ahmed Ramdan Ali ABUJARIDA
Kastamonu, Mayıs, 2017

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİL DİZİNİ	x
GRAFİK DİZİNİ.....	xi
FOTOĞRAF DİZİNİ	xii
TABLO DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tiyosemikarbazon Hakkında Genel Bilgi	1
1.1.1. İsatın Tiyosemikarbazon	2
1.1.2. İsatın Tiyosemikarbazon Kompleksi	3
1.1.3. 5-Metoksi-isatin tiyosemikarbazon'un Kimyası.....	3
1.2. DNA'nın Kimyasal Yapısı	5
1.3. Antimikrobiyal Aktivite	10
2. LİTERATÜR İNCELEMESİ.....	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1. Isatin Tiyosemikarbazonların Ligand ve Metal Bileşiklerinin Sentezi ...	15
3.1.1. 4-Nitro Tiyosemikarbazid'in Sentezi	16
3.1.2. 4- Floro Tiyosemikarbazid'in Sentezi	16
3.2. Zn(II) bileşiklerinin sentezi için genel prosedür	17
3.2.1. 5-Metoksi isatin-3-(N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI2FFTSK)2] Sentezi	17
3.2.2. 5-Metoksi isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4NFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI4NFTSK)2] Sentezi)	17
3.2.3. 5-Metoksi Isatin-3-(N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI4FFTSK)2] Sentezi).....	18
3.3. Ligand sentezi için genel prosedür	18

3.3.1. 5-Metoksi isatin -3- (N-2- Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK) Sentezi	18
3.3.2. 5-Metoksi isatin -3-(N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4FFTSK) Sentezi	19
3.4. Mikroorganizma Suşları	19
3.4.1. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	20
3.5. DNA Bağlanma	20
3.5.1. Sönümlleme Katsayısının Hesaplanması.....	22
3.5.2. DNA Etkileşim Deneyi.....	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	23
4.1. Antimikrobiyal Aktivite Testi	23
4.2. UV Kullanılarak Isatin Tiyosemikarbazonun Ligand ve Metal Bileşiklerinin Sönümlleme Katsayısının Hesaplanması.....	29
4.2.1. Metoksi isatin-3-(N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI2FFTSK)2]	29
4.2.2. 5-Metoksi isatin- 3- (N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4NFTSK) + Z(II) [Zn(HMI4NFTSK)2].....	30
4.2.3. 5- Metoksi isatin- 3- (N-4- Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI4FFTSK)2].....	31
4.2.4. Metoksi isatin-3- (N-2- Floro fenil) Tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK)	32
4.2.5. Metoksi isatin-3- (N-4- Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK)	33
4.3. CT-DNA ile Isatin Tiyosemikarbazon Türevlerinin Absorbans Spektrumu	34
5. SONUÇ	40
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Adenin
C	Sitozin
CT-DNA	Buzağı-Timus bezinden elde edilen Deoksiribonükleik asit
DMSO	Dimetilsulfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
G	Guanin
IR	Kızılötesi Spektroskopi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
RNA	Ribonükleik Asit
T	Timin
Tris-HCL	Tris hidroklorür
UV	Ultraviyole

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Tiyosemikarbazon'un yapısı	1
Şekil 1.2. Tiyosemikarbazonların E ve Z stereoizomerleri.....	2
Şekil 1.3. Isatin 3- Tiyosemikarbazon'un yapısı.....	2
Şekil 1.4. (H2MIKT) ligandının olası totomerik formlar ve gaz fazında B3LYP / 6-31G (d, p) hesaplanmış enerjisi	4
Şekil 1.5. 5-Metoksi isatin'in yapısı	4
Şekil 1.6. Pentoz şekeri	5
Şekil 1.7. Pirimidin Halkası ve Pürin Halkası.....	6
Şekil 1.8. Nükleosid ve Nükleotid	6
Şekil 1.9. DNA'nın ayrıntılı yapısı.	7
Şekil 1.10. Nötr kırmızının yapısı	12
Şekil 1.11. Anti kanser ajanların etki yöntemi	13
Şekil 1.12. 4-NitroTiyosemikarbazid'in Kimyasal Yapısı	16
Şekil 1.13. 4- Floro Tiyosemikarbazid'in Kimyasal Yapısı.....	17
Şekil 1.14. Bileşikler için (H2MI2FFK+ZN, H2MI4NFK+ZN, H2MI4FFK+ ZN, H2MI2FFK & H2MI4FFK), <i>K. pneumonia</i> , <i>S.aureus</i> ATCC 25923, <i>S. aureus</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>S. marrescens</i> , <i>S. hominis</i> , <i>E.</i> <i>faecium</i> , <i>S. kentucky</i> , <i>E. aerogenes</i> ATCC 13048, <i>C. albicans</i> ATCC 26555 üzerindeki inhibasyon alanı.....	26

GRAFİK DİZİNİ

	Sayfa
Grafik 4.1. Metoksi isatin- 3- (N-2- Floro fenil) TSK (H2MI2FFTSK) +Zn (II) 'nin artırım katsayısı.....	29
Grafik 4.2. 5- Metoksi isatin- 3-(N-4-Nitro fenil) TSK (H2MI4NFTSK) +ZN (II) 'nin artırım katsayısı.....	30
Grafik 4.3. 5- Metoksi isatin-3 -(N-4- Floro fenil) TSK (H2MI4FFTSK) +Zn (II) 'nin artırım katsayısı.....	31
Grafik 4.4. 5- Metoksi isatin- 3- (N-2- Floro Fenil) TSK (H2MI2FFTSK)'nin artırım katsayısı	32
Grafik 4.5. 5- (Metoksi isatin)-3- (N-4- Floro fenil) TSK (H2MI2FFTSK)'nin artırım katayısı	33
Grafik 4.6. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 1 'in spektral absorbanısı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 1] = 40µM;[CT-DNA] = (0-10-30-50-70-80µM). Siyah ok (); artan CT-DNA konsantrasyonuyla absorban değişimini göstermektedir	34
Grafik 4.7. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 2 'nin spektral absorbanısı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 2] = 40µM; [CT-DNA] = (0-30-40-50-70-80 µM). Siyah ok (↓); artan CT-DNA konsantrasyonuyla absorban değişimini göstermektedir	35
Grafik 4.8. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 3 'ün spektral absorbanısı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 3] = 40µM; [CT-DNA] = (0-10-50-70-80 µM). Siyah ok (); artan CT-DNA konsantrasyonuyla absorban değişimini göstermektedir	36
Grafik 4.9. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 4 'ün spektral absorbanısı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 4] = 40µM; [CT-DNA] = (0-10-30-40-50 µM). Siyah ok (); artan CT-DNA konsantrasyonuyla absorban değişiminigöstermektedir	37
Grafik 4.10. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 5 'in spektral absorbanısı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 5] = 40µM; [CT-DNA] = (0-40-50-70-80 µM). Siyah ok (↓); artan CT-DNA konsantrasyonuyla absorban değişimini göstermektedir	38

FOTOĞRAF DİZİNİ

	Sayfa
Fotoğraf 1.1. (a) UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi, (b) Kuvartz Küvetler	9
Fotoğraf 1.2. (a) UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi, (b) Kuvartz Küvetler	21
Fotoğraf 4.1. (a): <i>S. aureus</i> (b): <i>S. aureus</i> ATCC (c): <i>S. kentucky</i> (d): <i>S. hominis</i> için; isatin tiyosemikarbazonun ligand ve metal bileşiklerinin inhibisyon alanı.....	27
Fotoğraf 4.2. (e): <i>E. aerogenes</i> ATCC 13048 (f): <i>P. vulgaris</i> için isatin tiyosemikarbazonun ligandının inhibisyon alanı	27

TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Sentezlenen Kimyasal Bileşiklerin Listesi.	15
Tablo 3.2. Farklı Bakteri Türlerinin Listesi	20
Tablo 4.1. İncelenen Bileşiklerin Artırım Katsayıları	23
Tablo 4.2. 0.2 M konsantrasyondaki sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal etkinliğin inhibisyon alanları	24

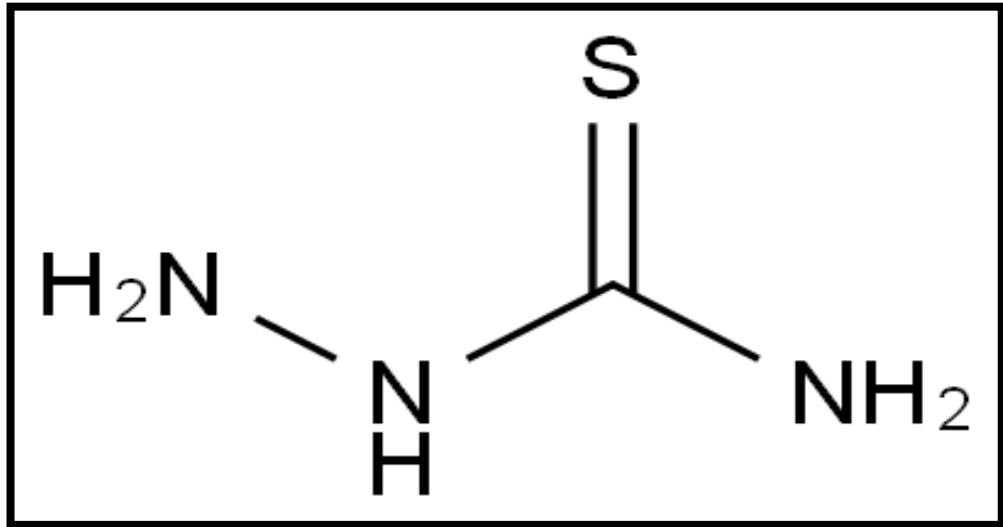


1. GİRİŞ

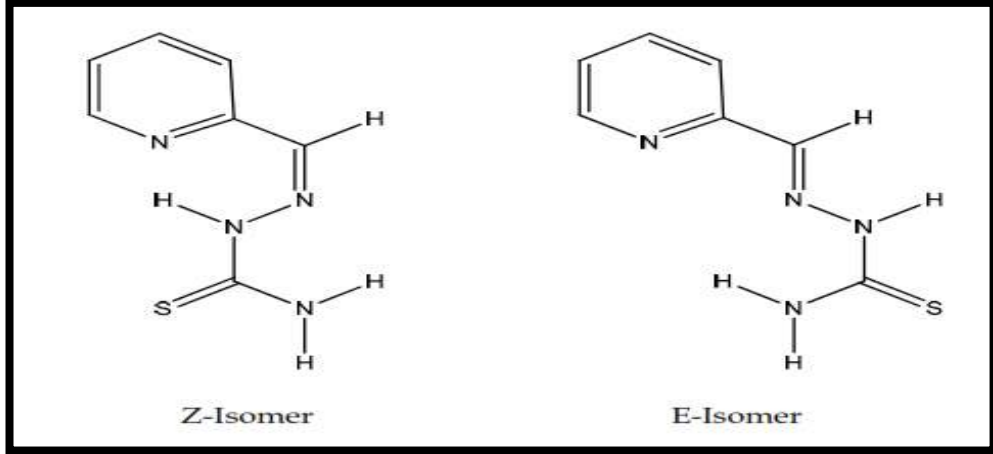
1.1. Tiyosemikarbazon İle İlgili Genel Bilgiler

Araştırmacılar, on yıldan fazla bir zamandır, antibakteriyel, antiviral, mantar önleyici ve antineoplastik etkiler gibi biyolojik uygulamalar yönünden çok çeşitli kullanım alanları nedeniyle tiyosemikarbazonlara bütün dikkatlerini vermişlerdir [1]. Kanseri, tedavi sürecinde yeni ilaçların geliştirilmesine sebebiyet veren ölümcül bir hastalıktır. Tiyosemikarbazonların, ribonükleotid redüktaz (RR) adı verilen bir enzim üzerindeki önleyici etkisi nedeniyle, anti kanser etkisi gösterdiği de düşünülmüştür. Bu enzim, DNA sentezinin hız sınırlayıcı aşamasında yer alan diferrik demir (Fe) merkezini içinde bulundurmaktadır [2,3].

Semikarbazonun bir türevi olan tiyosemikarbazon; aldehit, keton ve semikarbazid arasındaki yoğunlaşma reaksiyonunda yer almaktadır. Temel yapısı $C=N-NN-CS-N'$ den oluşur (Şekil 1.1). Amin türevleri, primer ve terminal NH_2 grupları olarak sınıflandırılmaktadır. Tiyosemikarbazonlar, $C=N$ -bağına sahip olduğu için, E ve Z olarak adlandırılan iki stereoizomerden oluşmaktadır. Termodinamik kararlılığı göz önüne alındığında, bileşimde E formunun baskın olduğu görülmektedir (Şekil 1.2) [4,5].



Şekil 1.1. Tiyosemikarbazon'un yapısı [6].

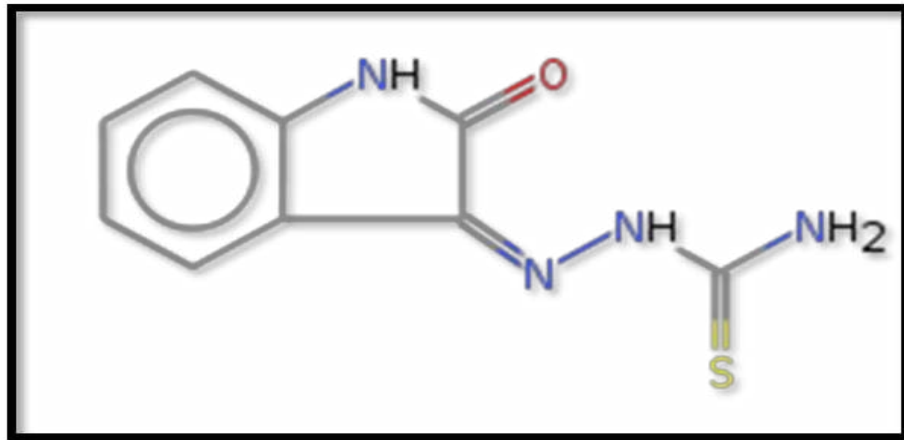


Şekil 1.2. Tiyosemikarbazonların E ve Z stereoizomerleri

1.1.1 İsatın Tiyosemikarbazon

Tiyosemikarbazonlar farklı türevlere sahiptirler. Bunlardan biri, Şekil 1.3 'te gösterilen, isatin 3-tiyosemikarbazondur [4,5]. Tiyosemikarbazon türevlerinin, anti kanser [7], antimikrobiyal [8,9], anti tümör [10], antitüberküler [11], sodyum kanal blokeri [12] gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik etkileri vardır.

Tiyosemikarbazon türevleri, HIV nedeniyle spinal korddaki protein sentezi inhibisyonunu göstermek için test edilmiştir [13]. Isatin- tiyosemikarbazonlar, antimikrobiyal, anti kanser, anti viral, tüberküloz, antiplazmodial, sitotoksik ve enzimatik önlemeyi kapsayan pek çok kemoterapötik özelliği izah eden isatin türevlerinden biridir.



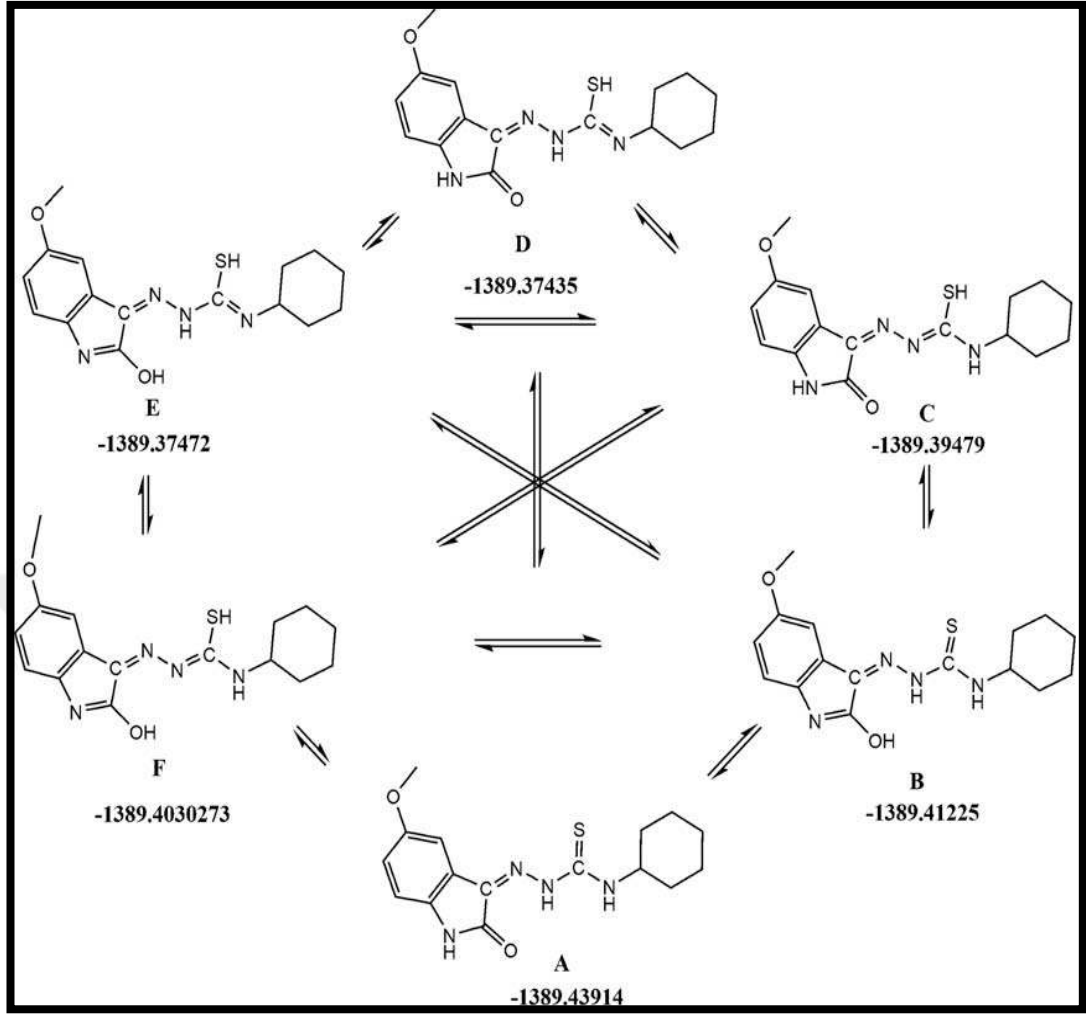
Şekil 1.3. Isatin 3- Tiyosemikarbazon'un yapısı [14].

1.1.2. Isatin Tiyosemikarbazon Bileşikleri

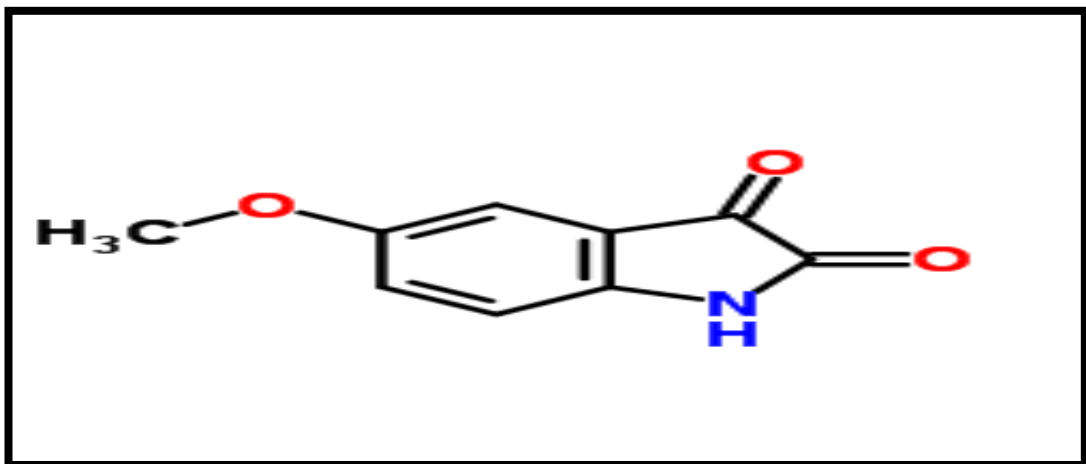
Isatin Tiyosemikarbazon'un bileşikleri ve türevleri önemli bir role sahiptir. Çeşitli farmakolojik özelliklerinden dolayı, antimikrobiyal, antiviral, antineoplastik, antihipertansif, yatıştırıcı ve enzimatik önleme etkileri gibi çeşitli özellikleri vardır. Bu nedenle, birçok araştırmacı için Isatin Tiyosemikarbazon'un bileşikleri ve türevleri cazip bir araştırma konusu olmuştur [15-19]. Organometalik ve organik bileşiklerin birçoğu tiyosemikarbazona sentezlenmiştir. Isatin tiyosemikarbazonlar, molekülleri ligandlara verme yönünden en önemli türlerdir. Tiyosemikarbazon grubuna ait azot ve kükürt verici moleküller ile indol halkalarından gelen oksijen verici atomlar, bu moleküller için birer örnektir [20-23].

1.1.3. 5-Metoksi- Isatin Tiyosemikarbazon'un Kimyasal Yapısı

5-Metoksi Isatin kısmının altı ve beş üyeli halkaları hemen hemen düzlemseldir. Yapısı incelendiğinde, tiyosemikarbazon kısmı, N3AH ve O2 arasında hidrojen bağlanmasının bir sonucu olarak C9@N2 çift bağına takriben Z oluşur ve H2MICT molekülünün 5-metoksi isatin kısmının şu parametrelere sahip olduğu görülebilir: C3AC4 1.397 AA 0, C3AC2 1.384 AA 0, C4AC5 1.381 AA 0, C2AC1 1.389 AA 0, C5AC6 1.377 AA 0, C6AC1 1.393 AA 0, C1AC9 1.452 AA 0, C8AC9 1.515 AA 0. Artırılmış C9AC8 tekli bağı 1.515 AA0 olması haricinde, tüm bağların uzunluğu 5-metoksisatin kısmında normaldir. Bunlar bağlanmamış yalın çift / yalın çift repulsiyonlarına dayandırılmaktadır [24]. Üzerinde çalışılan H2MIKT için 5-metoksi isatin kısmında C8AO2'nin bağ uzunluğunun kristal yapısı 1.211 (3) AA 0 şeklindedir [24]. Hidrojen bağı nedeniyle, C8AO2' nin bağ uzunluklarında bir artış olduğu gözlemlenmektedir. C8AO2' nin bağ uzunluğu, 1.228 AA 0 olduğu tespit edilen 6-31G (d, p) temel kümesi ile B3LYP düzeyinde hesaplanmıştır. Bağ uzunlukları Şekil 1.4'te gösterilmiştir ve LANL2DZ temel kümesi ile hesaplamaya göre H2MIKT kristal yapısı ile daha iyi bir uyum gösteren 6-31G (d, p) temel kümesine bakarak hesaplanmaktadır.



Şekil 1.4. (H2MIKT) ligandının olası totomerik formlar ve gaz fazında B3LYP / 6-31G (d, p) hesaplanmış enerjisi [25].

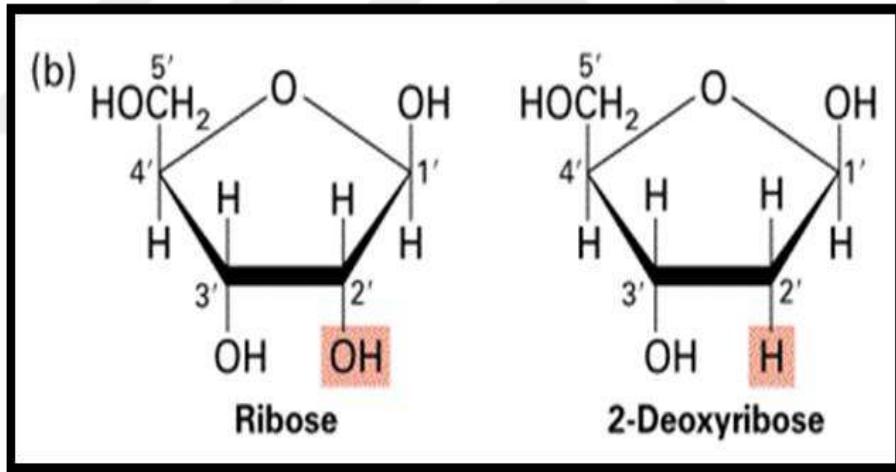


Şekil 1.5. 5-Metoksi isatin'in yapısı.

1.2. DNA'nın Kimyasal Yapısı

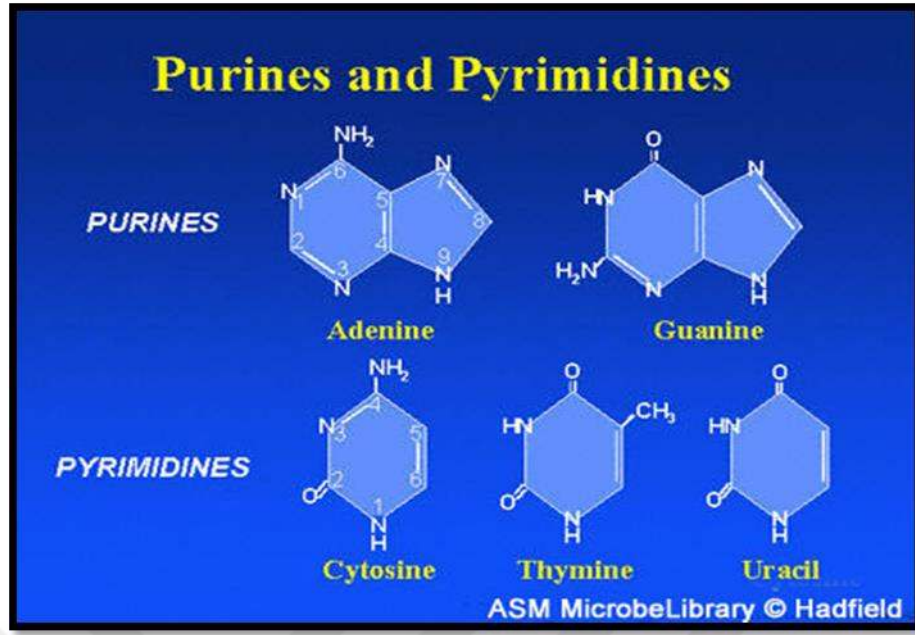
DNA (deoksiribonükleik asit), insanoğlunun ve bazı virüsler gibi neredeyse tüm organizmaların kalıtsal materyalidir. Hücre çekirdeğinde bulunur ve genomik DNA olarak adlandırılır. Buna ek olarak, DNA'nın küçük bir parçası, mitokondride (mitokondriyal DNA veya mtDNA) ve kloroplastta (kloroplast DNA veya cpDNA) bulunabilir. DNA'nın omurga yapısı, beş karbonlu şeker (Deoksiriboz), azotlu bazlar (Adenine: A; Guanine: G; Sitozin: C; Thymine: T) ve fosfat grubundan oluşmaktadır [15].

DNA'nın deoksiriboz denilen pentoz bir şekeri vardır. C-2 pozisyonunda hidrojen atomu içerir. DNA ve RNA'nın pentoz şekeri arasındaki fark, bu hidrojen atomunun varlığıdır. Riboz, RNA pentoz şekeri ve Şekil 1.5'te de görülebileceği gibi, C-2 pozisyonunda hidrojen atomu içermez.



Şekil 1.6. Pentoz şekeri [26].

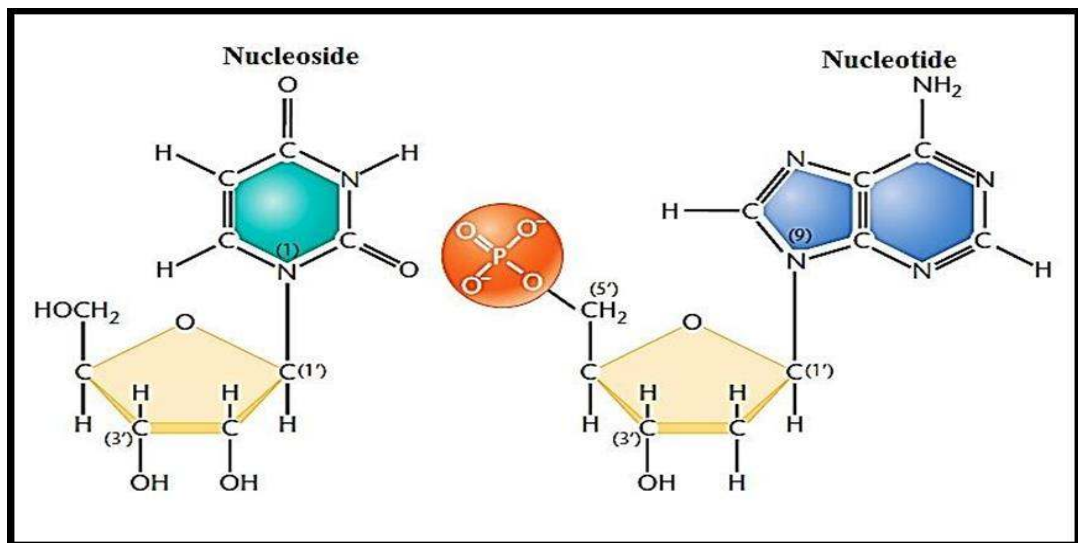
Çift halkalı pürinler ve tek halkalı pirimidinler olarak adlandırılan iki çeşit azotlu baz vardır. Pürinler olarak bilinen azotlu bazlarda, adenin ve guanin bulunmaktadır. Sitozin, timin ve urasil, pirimidinler olarak adlandırılırlar. Azot veya karbon atomları pürin, pirimidin ve pentoz halkalarında da bulunmaktadır. Bu halkalardaki özdeş atomlar farklı şekilde numaralandırılmıştır. Bunlar, Şekil 1.7'de de görülebileceği gibi, pentoz halkalarında öncül sembollerle gösterilirken, pürin ve pirimidindeki azot veya karbon atomları doğrudan öncül sembol olmadan gösterilmektedirler [Şekil 1.7]



Şekil 1.7. Pirimidin Halkası ve Pürin Halkası [27].

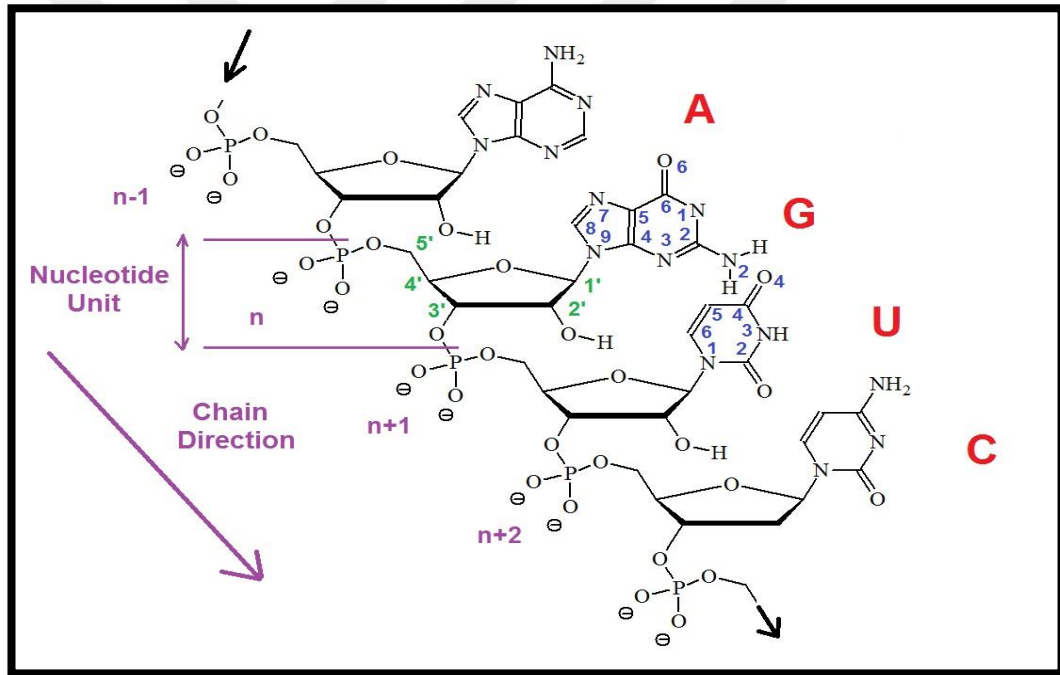
DNA'nın son bileşeni azotlu bazlar ve pentoz şekerleri arasında bir bağ oluşumu sağlayan fosfat gruplarıdır. Pürin veya pirimidin bazları ile deoksiriboz şekeri birlikte bulunurlarsa, bu yapı nükleosid olarak tanımlanır. Eğer bir fosfat grubu nükleoside eklenirse, bu yapıya nükleotid denir. [Şekil 1.8.] [28].

Nükleotidler, DNA molekülünün monomerleridir. Nükleotid monomer kümesi birbirine bağlanır, daha sonra DNA polimeri üretilir.



Şekil 1.8. Nükleosid ve Nükleotid [28].

Ayrıntılı bir şekilde incelenirse; pürin bazlar, deoksiribozun 1'-OH grubu ile pürin bazların 9 nolu azotu arasında bir glikosidik bağ oluşumu yapar. Buna karşın, glikozidik bağ oluşumu, pirimidin bazların 1 nolu azotu ile deoksiribozun 1'-OH grubu arasında oluşur. Fosfat grupları, bazların negatif yüklü oksijen grupları ve şekerin 5 '-OH grubu arasında yer alan bir fosfodiester bağı aracılığı ile pürin ve pirimidin bazlarına deoksiriboz şekeri ile birlikte katılırlar (Şekil 1.8). DNA, kovalent olmayan hidrojen bağı ile bağlanan iki iplikçikten oluşur. DNA iplikçiklerinde seçici bir bağlanma vardır, bu da A ile T ve G ile C' nin her zaman hidrojen bağı olduğu anlamına gelmektedir. Buna ayrıca tamamlayıcı baz eşleştirmesi denir. Bir DNA zinciri diğerini tamamlayıcı niteliktedir. Bu nedenle, ters yönde düzen sağlamaktadırlar.



Şekil 1.9. DNA'nın ayrıntılı yapısı

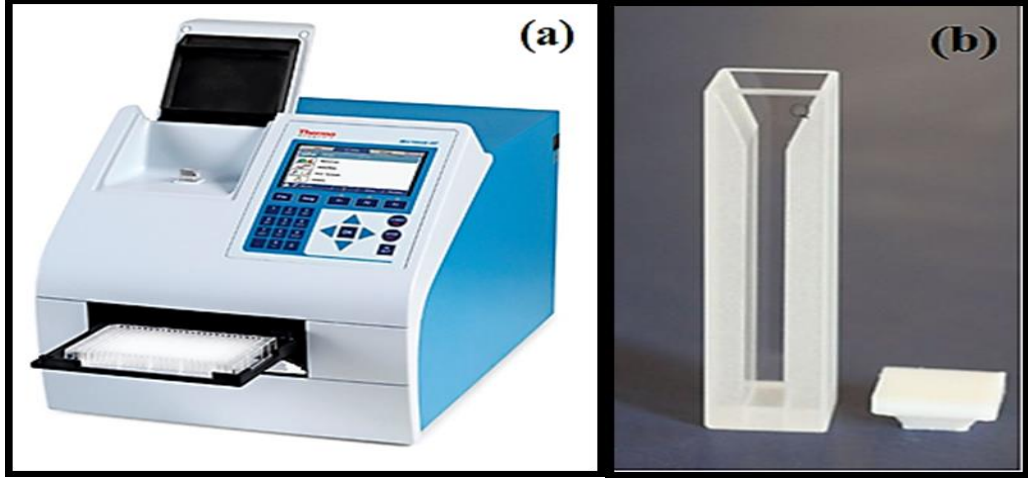
DNA, organizmaların biyoaktivitesi için önemli olan biyolojik bir moleküldür. DNA, protein kodlayan genleri taşır. Genler, hücrede meydana gelen transkripsiyon ve translasyon gibi biyokimyasal reaksiyonlardan sorumludurlar. Buna ek olarak, DNA replikasyonu ve gen ekspresyonunun kontrolü nezdinde hücre yaşamından da sorumludurlar. Antitümör etkisini anlamak için, ilaçlar, DNA ile etkileşim içinde olma ve bağlanmaya yönelik olarak tasarlanmıştır. Bilim adamları bir süredir,

uyuşturucu - DNA etkileşimlerini bulmaya çalışıyorlar ve DNA transkripsiyonu ve replikasyon kaynağı üzerinde çalışarak bu sorunu bu şekilde zşlerdir. Antibiyotik ve antikanser ilaçların mekanizmasını yorumlamışlardır. İlaç DNA ile birleştiğinde, konformasyonel ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler, DNA hasarıyla sonuçlanan tek iplikçiğin kopması, DNA bükülmesi veya sarmal çift dolanması olarak sınıflandırılabilir. Bu tür DNA değişikliklerinin sonucu, DNA transkripsiyonunu ve replikasyonunu engeller. Anestetik ilaçlar, hastalıkları tedavi etmek için DNA temeline göre tasarlanmıştır. DNA'ya bağlanan ilaçlar elektrik alanı ile tespit edilebilirler [29]. Örneğin, kinolonları içeren ilaçlar, topoizomera IV ve DNA giraz inhibitrdrleri ve bu etkisi ile bakteri hücresini yok ederler [30].

1.2.1 Ultraviyole (UV)-Görünür Bölge Absorbsiyon Spektrofotometresi

Absorpsiyon spektrofotometresi olarak da bilinen ultraviyole - görünür bölge spektrofotometresi, bileşiklerin görünür bölge ve UV aralıklarındaki absorbansını ölçen bir cihazdır. Genellikle, moleküler biyoloji analizinde, DNA ve küçük moleküller arasındaki etkileşimin ölçülmesinde ve nükleik asitlerin miktarının belirlenmesinde kullanılmaktadır.

DNA, elektronik kayma oluşumuna neden olan, pürin (AG) ve pirimidin (CT) kısımlarındaki kromoforik kümeleşmeler nedeniyle 260 nm' de en yüksek absorpsiyonu verir [28]. Deoksiribonükleik asit saflığı, A_{260} / A_{280} ve A_{260} / A_{230} 'un absorbans oranları ile ölçülebilir [30]. Bu oranlar 1.8 ile 2.1 arasında olmalıdır. Dolayısıyla, DNA veya RNA molekülünün saflıkları, proteinlerden ya da diğer kimyasallardan kolayca teyit edilebilirler.



Fotoğraf 1.1. (a) UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi, (b) Kuvartz Küvetler.

Ultraviyole - görünür bölge spektrofotometresi ayrıca, görünür bölgedeki ligandlar ve DNA arasındaki etkileşimin analizine yönelik ölçüm yapılmasını sağlar. Bu süreçte, ligandlar bandın pozisyonunu maksimum seviyede değiştirirler. Bu ölçüm, çözeltideki serbest ligand ve DNA ile bağlanan ligandda yapılır ve ligandlar ve yüksek konsantrasyonlu DNA arasındaki etkileşimin sonucunu verir [31,32].

Aromatik kromofor ve deoksiribonükleik asit baz çiftleri meydana getiren DNA ile bileşikler arasındaki etkileşim, istif etkileşimi olarak adlandırılır. Böyle bir bağlanma, DNA'nın ve bileşiklerin, hipokromik ve batokromik olarak bilinen bir kaymaya neden olduğu anlamına gelir [33]. Hipokromizm, molar absorptivite faktörünün azalmasıyla açıklanmaktadır. Bu nedenle, hipokromizmin, ara katkılı bir bileşik ile deoksiribonükleik asit bazları arasındaki mesafeyi azaltarak gerçekleştiği düşünülmektedir [34, 35]. Bununla birlikte, hiperkromik etki, molar absorptivitede bir artış olarak düşünülmektedir. Başka bir deyişle, absorbans artışı, hiperkromizm olarak bilinen DNA konsantrasyonunun yükselmesi ile ilişkilendirilir. Hiperkromik etki, DNA absorbansının azalmasına neden olur. Aslında bu, bileşik ve DNA molekülünün etkileşim süreci boyunca DNA molekülünün yapısının ve düzeninin kaydığını gösterir [36]. Gerçek dışı çizgeler dahilinde, kaymaların önemli değişimleri olmadan güçlü bir etkileşim yoksa, hipokromik veya hiperkromik etkiler ortaya çıkabilir [28-39].

1.2.2. Sönümleme Katsayısı

Birçok farklı ışık absorpsiyonu, sönümleme katsayısı ile ölçülür. Sönümleme katsayısı ve molar sönümleme katsayısı aynı zamanda molar absorptivite katsayısı olarak da adlandırılır. Molar absorptivite katsayısında, kimyasal bileşikler, belirli bir dalga boyundaki şiddetli ışığı azaltır. Bu, canlı türleri için önemli bir özelliktir. $A = \epsilon c \ell$ eşitliğinde; ϵ , o maddenin molar absorptivite katsayısı, c türlerin konsantrasyon miktarı, ℓ ise yol uzunluğudur [40,41].

1.3. Antibakteriyel Etkiler

Tiyosemikarbazonlar yüksek biyolojik ve kimyasal etkileri nedeniyle antibakteriyel, mantar önleyici, antimikrobiyal, antiviral ve anti kanser ajanları olarak kullanılabilen önemli maddelerdir. Her ne kadar tiyosemikarbazonlar; ligandlar ve bunların bileşikleri olarak iyi bilinse de, literatürde amibik etkiye karşı muhaliflikleri, antibakteriyel ve mantar önleyici etkileri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır [42, 43]. Bir çalışmada *in vitro* antibakteriyel etki, isatin-3-tiyosemikarbazon türevlerinin ve bunların metal bileşiklerinin farklı bakteri ve mantar türlerine karşı antibakteriyel etkilerini kontrol etmek için agar plaka yayılım yöntemi ile analiz edilmiştir [44].

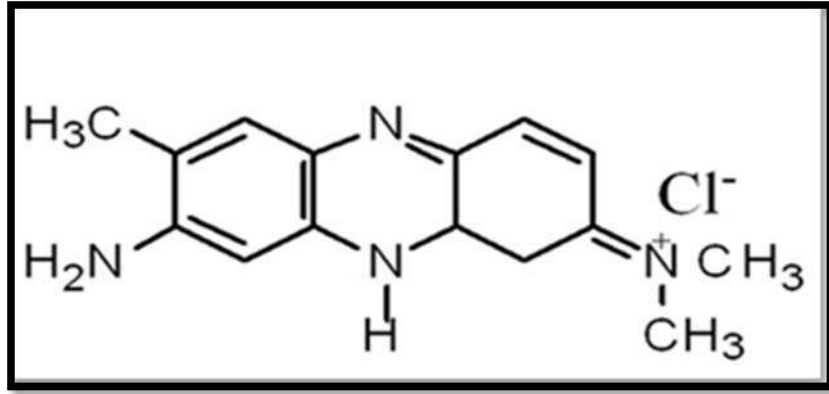
1.3.1. Mikroorganizma Suşları

Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Salmonella kentucky*, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*) ve Gram-pozitif (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Serratia marrescen*, *Staphylococcus aureus* ATCC, *Enterococcus faecium**, *Staphylococcus huminis*, *Staphylococcus edidermis*, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Alfa streptococcus haemolyticua*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25932) bakteriler, 5-Metoksi isatin tiyosemikarbazon türevlerinin antibakteriyel etkisini test etmek için seçilmişlerdir. *Candida albicans* mantarı (ATCC 2655) da 5-Metoksi isatin tiyosemikarbazon türevlerinin mantar önleyici etkisini belirlemek için kullanılmıştır. Standart suşlar, Gazi Üniversitesi ve Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nden sağlanmıştır.

2. LİTERATÜR İNCELEMESİ

Yapılan bir çalışmada, Isatin - β -tiyosemikarbazon (IBT) incelenmiştir ve DNA etkileşimleri konusunda saha çalışmaları ile birlikte regresyon modelleri için önemli kanıtlar elde edilmiştir [45]. Buna göre; IBT ile DNA'nın CTI özel yazılım mekanizmasının, güçlü bir etkileşime sahip olduğu görülmüştür. DNA konsantrasyonu absorpsiyon spektrumu ile arttırıldığında, IBT için yüksek derecede bir hipokromizm spektrumu gözlemlenmiştir. Hipokromizm, dizi çiftleri ve aromatik kromoforlar arasındaki güçlü etkileşimin doğasına dayanmaktadır. Diğer ara ürünün özgün bağlanma sabitinin ($1.03 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)' e benzer olduğu bulunmuştur. IBT ve korunumlu DNA arasındaki reaksiyonda, entalpi grafiğinde ($\Delta H = -49.87 \text{ kJ mol}^{-1}$), Can't Hoff pozitif eğimi hesaplanmıştır ve korunum ve entropi oranları gösterilmiştir ($\Delta S = -75152 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}$). Buna ek olarak, artan miktarda DNA çözeltisine IBT ilavesi, viskozitenin artmasına neden olmuştur [43]. Ayrıca, kirlilik faktörünü göstermek amacıyla yeni tiyosemikarbazid türevleri serilerinin (hidrazin-karbonil iyodin ve hidrazin karboksamid), Gram (-) ve Gram (+) bakterilerindeki antimikrobiyal etkiler kontrol edilmiştir [45].

Farklı çalışmalarda, Nötr floresan kırmızının (NR), kimyasal ve elektrokimyasal özellikler yönünden DNA spektrumlarıyla etkileşime girdiği gösterilmiştir [46-47]. Ayrıca kuversetin-Cu (II) bileşiğinin CT-DNA ile etkileşimi UV - görünür bölge spektrofotometresi, siklik voltametri ve eş zamanlı floresan spektroskopisinde NR kullanılarak incelenmiştir. Kuversetin-Cu (II) bileşiğinin ve NR boyasının DNA oluklarına eklenebildiği bulunmuştur. Aynı zamanda, kuversetin: Cu (II) bileşiği için DNA'ya bağlanma sabiti de gösterilmiştir [48].

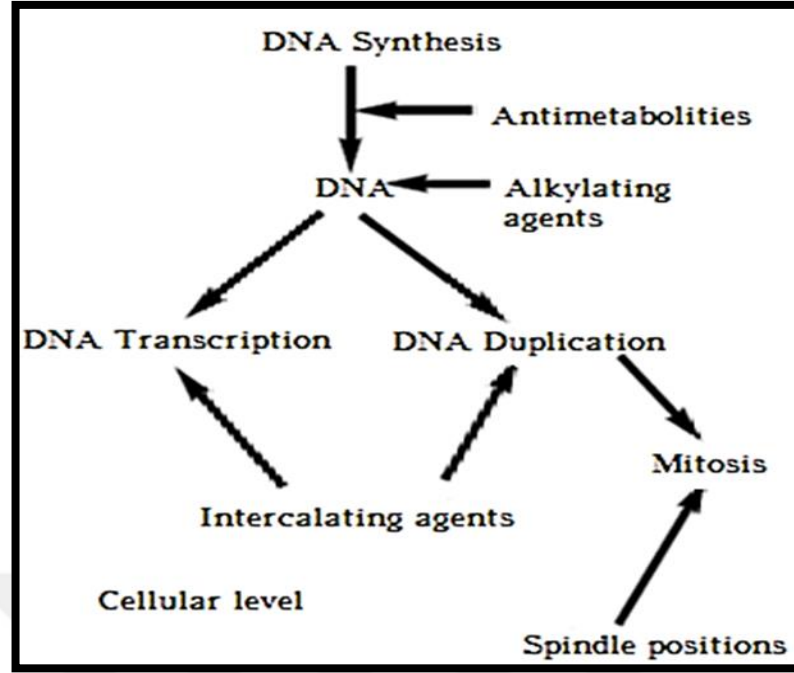


Şekil 1.10. Nötr kırmızının yapısı

Kandemirli ve diğer araştırmacılar tarafından, (2012), Nikel (II) ve Çinko (II), 5-Metoksi Isatin-3- [N- (4-Nitrofenil) -Tiyosemikarbazon, 3- (N-4-Florofenil Tiyosemikarbazon) ve 3- (3- N-2-Florofenil Tiyosemikarbazon) yapısı birleştirilmiş ve kızılötesi, parlaklık ve ¹H-NMR spektroskopileri ve temel inceleme ile tanımlanmıştır. [51].

5-Metoksisatin-3- (N-sikloheksil) tiyosemikarbazon, Ni (II) ve Çinko (II) yapıları birleştirilmiş ve Kızılötesi Spektroskopisi, ¹H Nükleer manyetik rezonans, ¹³C-Nükleer manyetik rezonans, UV ve doğal inceleme yolu ile tanımlanmıştır [51]. Ayrıca, ligand da X-ışınları kırınımı tekniği ile tanımlanmıştır. Yoğunlaşan parçacıkların muhtemel yapısı ve kızılötesi bilgisi, B3LYP / 6-31G (d, p) ve B3LYP/ LANL2DZ stratejileri ile test edilmiş ve kıyaslanmıştır [52].

Arora ve diğer araştırmacıların incelemesine göre, bazı tiyosemikarbazid/ tiyosemikarbazon ve bunların metal bileşikleri, kemoterapötik ajanlar gibi potansiyel sergilemişlerdir. Önemli yapılarından dolayı, biyolojik açıdan aktif molekülleri, anti kanser ajanlara yönelik kullanım sağlamaktadırlar (Şekil 1.10) [53].



Şekil 1.11. Anti kanser ajanların etki yöntemi

Omar H. Al-Obaidi (2012), jel elektroforez ölçümlerinin yanı sıra, morötesi spektrofotometri tekniğini de kullanarak calf tymus DNA' sı ile plazmid DNA' sı (pUC19) arasındaki etkileşimi, her iki ligandı ve metal bileşiklerini analiz etmiştir. Ligand ve metal bileşiklerinin deoksiribonükleik asit ile etkileşimi, jel elektroforezinde DNA miktarı sabitken (10 µl), UV spektrofotometri çalışmasında DNA miktarı sıfırdan 10 µl' ye artırılarak incelenmiştir. Baz çiftlerindeki ligand üzerinden araya ekleme yolu ile DNA' ya bağlı geçiş metalini raporlamışlardır. Ligandların bağlanma etkinliğinin, geçiş metalinin DNA' ya bağlanma etkinliğine nispeten daha düşük olduğu belirtilmiştir. Özellikle, [Cu (L1) (L2) Cl₂] bileşiği, DNA'ya karşı önemli bir bağlanma kabiliyetine sahiptir. Geçiş metali miktarının artması, bantların hareketliliğinde azalmaya neden olmuştur. Bu da, metal iyonunun DNA ile etkileşiminde bir artış olduğunu göstermiştir [54].

Parul ve diğer araştırmacılar (2012), anlaşılır bir metodoloji ile; alifatik, arilik ve siklik aminler ile N4-tiyosemikarbazonları birleştirmişlerdir. Farklı tiyosemikarbazon karışımlarının, belirli bakteriyel ve paraziter patojenlere karşı antimikrobiyal etkisini raporlamışlardır. Belirgin tiyosemikarbazon asırları; *S. epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Moraxella cattarhalis*, *Staph*, *Saprophyticus* ve *Candida albicans*, *Aspergillus*

flavans gibi çeşitli bakteri kültürlerine karşı *in vitro* yöntemi ile değerlendirilmiştir. [55].

Nevagi Reshma ve diğer araştırmacılar (2013), Gram pozitif ve negatif bakteriler mukabilinde, yeni tiyosemikarbazid yardımcılarının eklenme yerlerini ve antibakteriyel gelişimlerini araştırmışlardır. Bu çalışmada, hidrazin- karbotiyoat ve hidrazin-karbotiyoamit, tiyosemikarbazidin türevi karışımı sentezlenmiş ve kullanılmıştır. Bu yeni bileşiklerin karakterizasyonu, spektral verileri ile sunulmuştur. Ardından, antibakteriyel değerlendirme, standart tıpta olduğu gibi Streptomisin kullanılarak sıralı bir şekilde seyreltme işlemi ile gerçekleştirilmiştir. Standart ilaçla karşılaştırıldığında, N, N-bis (4-klorofenil) hidrazin-1, 2-dikarbotiyoamit (3g) bileşiğinin, yüksek bir antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır [56].

Çalışmamızda, morötesi ve kızılötesi spektroskopisi kullanılarak, 5-Metoksi-isatin tiyosemikarbazon türevinin DNA ile etkileşimi açıklanmıştır. Tiyosemikarbazonun nükleik asit bazları ve fosfat gruplarıyla etkileşimi gösterilmiştir. Ek olarak, bu bileşikler, antimikrobik etkileri bakımından, Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizmalar üzerinde analiz edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Isatin Tiyosemikarbazonların Ligand ve Metal Bileşiklerinin Sentezi

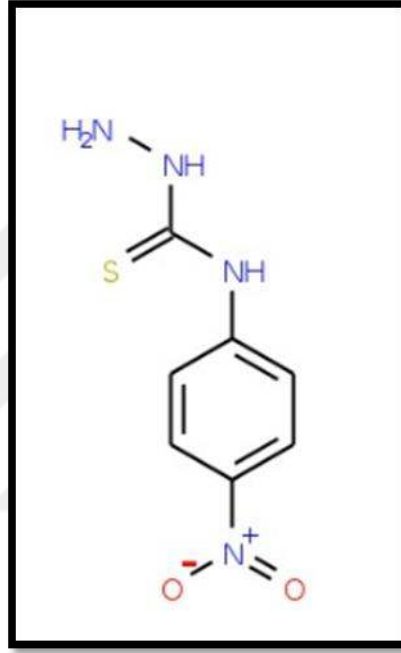
Tüm kimyasal bileşikler, Kastamonu Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Laboratuvarı'nda sentezlenmiştir. Bu çalışma boyunca sentezlenen kimyasallar, Tablo 3.1'de listelenmiştir.

Tablo 3.1. Sentezlenen kimyasal bileşiklerin listesi

Bileşik Numarası	Bileşik İsmi
1	4-Nitro Tiyosemikarbazid Sentezi
2	4-Floro Tiyosemikarbazid Sentezi
3	5-Metoksi Isatin-3- (N-2-Floro fenil) Tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK) + Zn (II)
4	5-Metoksi Isatin-3- (N-4-Nitro fenil) Tiyosemikarbazon (H2MI4NFTSK) + Zn (II)
5	5-Metoksi Isatin-3- (N-4-Floro fenil) Tiyosemikarbazon (H2MI4FFTSK) + Zn (II)
6	5-Metoksi Isatin-3- (N-2-Floro fenil) Tiyosemikarbazon -5 (H2MI2FFTSK)
7	5-Metoksi Isatin-3- (N-4-Floro fenil) Tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK)

3.1.1. 4-Nitro Tiyosemikarbazid Sentezi

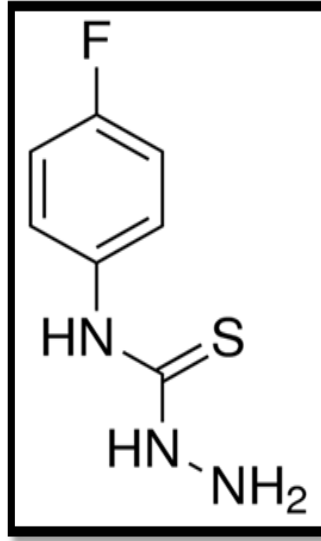
4-Nitro Tiyosemikarbazidin sentezi için, öncelikle, 1 mmol (0.255 g) hidrazin monohidrat 20 ml etanol içinde çözülmüş ve daha sonra 5 mmol (0.90090 g) 4-Nitro fenil izotiyosiyanat yavaşça eklenmiştir. Son olarak, bu karışım 40 ml etanol içinde çözülmüştür. Karışım, buzlu su banyosunda 3 saat boyunca karıştırılarak inkübe edilmiştir. Çözelti süzöldükten sonra, etanol ve dietil eter ile yıkanıp kurutulmuştur.



Şekil 1.12. Tiyosemikarbazid'in Kimyasal Yapısı

3.1.2. 4-Floro Tiyosemikarbazid Sentezi

4-Floro Tiyosemikarbazid sentezinin her adımı, bileşenler dışında, 4-Nitro Tiyosemikarbazid sentezine benzemektedir. Bu durumda, 4-Fluoro Tiyosemikarbazid sentezi için 1 mmol (0.255 g) hidrazin monohidrat ve 0.01 mmol (1.563 g) 4-floro fenil izotiyosiyanat kullanılmıştır [57].



Şekil 1.13. 4- Floro Tiyosemikarbazid'in Kimyasal Yapısı

3.2. Zn(II) bileşiklerinin sentezi için genel prosedür

3.2.1. 5-Metoksi isatin-3-(N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI2FFTSK)2] Sentezi

Çinko içeren 5-metoksi isatin-3- (N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon, 15 ml etanol ve 0.5 mol mol [0.1097 g] çinko (II) asetat içinde, 1 mmol (0.339 g) (H2MI2FFTSK)'ın çözülmesiyle sentezlenmiştir. 15 ml etanol içinde çözüldükten sonra çözeltiye, 6-9 saat boyunca yaklaşık 75-80° C'de geri akım uygulanmıştır. Renk önce kırmızı görülmüştür ve daha sonra kahverengiye dönmeye başlamıştır. Çinko bileşiği, bir gün boyunca karıştırıldıktan sonra çöktürülmüştür. Süzme ile ayırma işlemi yapılmıştır ve yavaşça % 96' lık etanol, dietil eter ile yıkanıp vakumda oda sıcaklığında kurutulmuştur [57].

3.2.2. 5-Metoksi isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4NFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI4NFTSK)2] Sentezi

Çinko ile 5-Metoksi isatin-3- (N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon, 50-55° C arasında, 15 ml etanol ve 0.5 mmol (0.1097 g) çinko (II) asetat dehidrat içerisinde 1 mmol (0.3713 g) (H2MI4NPTSC) + Zn çözülerek sentezlenmiştir. Ardından çözeltiye, 6-9 saat boyunca yaklaşık 75-80° C 'de geri akım uygulanmıştır. Çözeltinin rengi kırmızı

olarak gözlemlenmiştir. Çinko bileşiği bir gün boyunca karıştırıldıktan sonra çöktürülmüş ve süzülerek ayrılmıştır. Daha sonra yavaşça % 95' lik etanol, dietil eter ile yıkanıp vakumda oda sıcaklığında kurutulmuştur [57].

3.2.3. 5-Metoksi Isatin-3-(N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H₂MI₄FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI₄FFTSK)₂] Sentezi

Çinko ile 5-Metoksi isatin-3- (N-4-Floro- fenil) tiyosemikarbazon, 1 mmol (0.3443 g) (H₂MI₄FPTSC) + Zn ve 0.5 mmol (0.1097 g) çinko- (II) asetat'ın 50-55° C' de birbiri içinde çözünmesiyle sentezlenmiştir. Ardından, çözeltiye 6-9 saat boyunca yaklaşık 75-80° C' de geri akım uygulanmıştır. Çözeltinin rengi önce kırmızı görülmüştür ve daha sonra kahverengiye dönmeye başlamıştır. Çinko bileşiği, bir gün boyunca karıştırıldıktan sonra çöktürülüp süzülerek ayrılmıştır. Daha sonra yavaşça % 95' lik etanol, dietil eter ile yıkanıp vakumda oda sıcaklığında kurutulmuştur. [57].

3.3. Ligand sentezi için genel prosedür

3.3.1. 5-Metoksi isatin -3- (N-2- Floro fenil) tiyosemikarbazon (H₂MI₂FFTSK) Sentezi

5-Metoksi isatin-3- (N-2- Floro fenil) tiyosemikarbazon sentezi için, öncelikle, 1.5 mmol (0.2657 g) 5-Metoksi isatin, 50-55° C' de, 15 ml etanol içinde çözülmüş ve bu karışıma, 1.5 mmol (0.2778 g) (2FFTSK) damla damla ilave edilmiştir. 3 dakika karıştırıldıktan sonra, 2-3 damla derişik asetik asit eklenmiştir. Ardından çözeltiye, 3-6 saat boyunca, yaklaşık 75-80° C' de geri akım uygulanmıştır. Kahverengi katı, süzülerek ayrılmış ve yavaşça dietil eter ve % 95' lik etanol ile yıkanmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında, vakum çalıştırılarak kuruyuncaya kadar bekletilmiştir [57].

3.3.2. 5-Metoksi isatin -3-(N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H₂MI₄FFTSK) Sentezi

5-Metoksi isatin -3- (N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazon sentezi için, öncelikle, 1.5 mmol (0.2657 g) 5-Metoksi isatin, 50-55° C ' de, 15 ml etanol içinde çözülmüş ve bu

karışıma 1.5 mmol (0.2778 g) (4FPTSC) damla damla ilave edilmiştir. 3 dakika karıştırıldıktan sonra, 2-3 damla derişik asetik asit eklenmiştir. Ardından çözeltiye, 3-6 saat boyunca yaklaşık 75-80° C' de geri akım uygulanmıştır. Kahverengi katı, süzülerek ayrılmış ve yavaşça dietil eter ve % 95' lik etanol ile yıkanmıştır. Daha sonra, oda sıcaklığında vakum çalıştırılıp kuruyuncaya kadar bekletilmiştir [57].

3.4. Mikroorganizma suşları

Sentezlenen kimyasalın antimikrobiyal analizi için, Gram (+), Gram (-) bakteriler ve bir mantar türü olan *Candida albicans* kullanılmıştır. Çalışmamızda kullanılan bütün bakteri türleri Tablo 3.2' de gösterilmiştir. Tüm mikroorganizma suşları, Gazi Üniversitesi ve Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü' nden sağlanmıştır. Bakteri suşları, stoklardan Agar besi plakalarına taşınarak dinlendirilmiş ve 18 saat boyunca 37° C' de inkübe edilmiştir. Antibakteriyel etkiyi test etmek için Kağıt Disk yöntemi kullanılmıştır [58, 59, 60].

Tablo 3.2. Farklı bakteri türlerinin listesi

Bakteri Türü	Gram (+)	Gram (-)
<i>Klebsiella pneumonia</i>		X
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	X	
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	
<i>Proteus vulgaris</i>		X
<i>Escherichia coli</i>		X
<i>Serratia marrescens</i>		X
<i>Staphylococcus hominis</i>	X	
<i>Staphylococcus edidermis</i>	X	
<i>Alfa streptococcus haemolyticua</i>	X	
<i>Enterococcus faecium</i>	X	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		X
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	X	
<i>Enterococcus faecium</i>	X	
<i>Enterococcus durans</i>	X	
<i>Salmonella kentucky</i>		X
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048		X
<i>Candida albicans</i> ATCC 26555		

3.4.1. Antimikrobik Aktivite Tayini

Antimikrobiyal etkinlik analizi, disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır [60]. Besi ortamı, steril 100 mm Petri kaplarına dökülmüştür. Kimyasal bileşiklerin konsantrasyonu belirlenmiş ve steril 6 mm çaplı kağıt disk içine emprenye edilmiştir. Bakteri süşunun tekli kolonileri, 20 ml' lik sıvı besi yerine aşılanmıştır. Bu ortamlar 24 saat boyunca 37° C ' de inkübe edilmiştir.

Daha sonra, bakteri konsantrasyonu türbiditenin ölçülmesi ile hesaplanmıştır. Bu amaçla, 0.5 McFarland standardına eşdeğer olan çözeltiyi hazırlamak için, bakteri süşansiyonuna % 0.9 steril tuz çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan bakteri süşansiyonu petri kapları üzerine yaydırılmıştır. Disk eklemekten önce 5 dakika boyunca ortasına doğru aşılanmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kontrol diskleri ve kimyasal emprenye edilmiş diskler, özdeş petri kaplarına yerleştirilmiştir. Yüzey aşılanmış ve 24 saat boyunca 37° C' de inkübe edilmiştir. Test organizmalarındaki kimyasalların antimikrobiyal etkinliği, diskin etrafında oluşan inhibisyon alanı ölçülerek belirlenmiştir [61,62,63].

3.5. DNA Bağlanması

UV-görünür bölge absorpsiyon spektrumları, 1 cm genişliğinde ışıklı alanı olan kuvarz küvetler kullanılarak, Multi Scan Go (Thermo Scientific, ABD) cihazı ile incelenmiştir.



Fotoğraf 1.2. (a) UV- Görünür Bölge Spektrofotometresi, (b) Kuvarz Küvetler

Deneyde kullanılan DNA, GE Healthcare Life of Science' dan satın alınmıştır. CT-DNA solüsyonlarının absorbansı 260 ve 280 nm' de ölçülmüştür. CT-DNA' nın konsantrasyonu, 260 nm' de molar absorpsiyon katsayısından ($\epsilon = 6600\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) hesaplanmıştır. Tüm sentezlenen bileşikler, 1000 μM elde etmek için, Tris-HCL: DMSO içerisinde % 35:65 oranında çözünerek hazırlanmıştır [29]. Benesi-Hildebrand eşitliği (3.1) 'ne dayanarak, kimyasalların CT-DNA ile özgün bağlanma sabiti / birleşme sabiti (K) hesaplanmıştır.

$$\frac{[DNA]}{(\epsilon_a - \epsilon_f)} = \frac{[DNA]}{(\epsilon_b - \epsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)} \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte, [DNA]; CT-DNA konsantrasyonunu göstermektedir. ϵ_a , ϵ_f ve ϵ_b , serbest ve tüm kimyasal bileşiklerin (1, 2, 3, 4 ve 5) sönümleme katsayılarını ifade etmektedir. K, kör ve kimyasal bileşiklerin birleşme/bağlanma absorpsiyon sabitidir. Ayrıntılı olarak, ϵ_f ' yi saptamak için, sulu çözeltide sentezlenen tüm kimyasal bileşiklerin bir kalibrasyon eğrisi, Beer yasasına göre çizilmiştir. ϵ_a , ölçülen absorbans oranından ve Aobs/ [bileşikler (1, 2, 3, 4 ve 5)] gibi gösterilebilen kimyasal konsantrasyon oranından hesaplanmıştır. [DNA] / ($\epsilon_a - \epsilon_f$) ile [DNA] grafiğinde, 1 / ($\epsilon_b - \epsilon_f$) eğrisinin y - eksenini kestiği nokta 1 / K_b ($\epsilon_b - \epsilon_f$)' yi gösterir ve K_b , eğimin y-eksenini kestiği noktaya oranıdır [64-66].

3.5.1. Sönümleme Katsayısının Hesaplanması

Sönümleme katsayısının hesaplanması UV spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Aslında bu, molar absorptivite olarak gösterilmektedir. Sönümleme katsayısının hesaplanması için, sentezlenen kimyasal maddeler, moleküler ağırlığına (0.00001 mmol) göre yüklenmiş ve 10 ml dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüştür. Kimyasallar sıralı bir şekilde seyreltilerek 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 ve 50 μl olmak üzere farklı hacimlerde hazırlanmışlardır. Ardından, tüm seyreltme işlemleri DMSO ile 500 μl 'ye kadar ilerletilmiştir. Son olarak, her seyreltiğin absorbansı, A = $\epsilon c l$ eşitliği temelinde bir sönümleme katsayısı hesaplamak için ölçülmüştür.

3.5.2. DNA Etkileşim Deneyi

Yüksek polimerleştirilmiş CT-DNA ve Tris-HCl, distile su ile hazırlanmıştır. Nötr kırmızı doymuş çözeltisi ($1.0 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$), su kristallerinde çözülerek ayarlanmalıdır. Tris-HCl tampon çözeltisi için, pH değeri 7.4' e ayarlanmıştır. CT-DNA' nın DNA doygunluğunun ayarlanması için, 10 mM Tris-HCl çözeltisi hazırlanmıştır. DNA çözeltisi $+4^{\circ} \text{ C}$ ' de saklanabilir ve maksimum 5 gün içinde kullanılmalıdır. Çözeltideki CT-DNA'nın 260 ve 280 nm' deki oranı 1.8' den büyükse, bu, DNA' da protein atığı olduğunu gösterir. Nükleotid konsantrasyonu, UV absorpsiyon spektroskopisi ile molar absorpsiyon katsayısı ($\epsilon = 66000 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanmıştır. IBT doymuş çözeltisi, Tris-HCl tamponu ve DMSO için % 90: % 10 oranında hazırlanmıştır ($1 \times 10^{-3} \text{ M}$). Absorbans ölçümleri için Multi Scan Go spektrometresi kullanılmıştır [67].

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Antimikrobiyal Aktivite Testi

Çalışmamızda beş kimyasal bileşik, antimikrobiyal etkileri ve CT-DNA ile etkileşimleri incelenmek üzere tekrar sentezlenmiştir. Bu tezdeki tüm yeniden sentezlenen kimyasallar Tablo 4.1' de listelenmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan bileşiklerin sönümleme katsayıları aşağıda verilmiştir.

Bileşik No	Bileşiğin İsmi
1-	5-Metoksi isatin-3-(N-2-Floro fenil) Tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK) + Zn (II)[Zn(HMI2FFTSK)2].
2-	5- Metoksi isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4NFTSK) + Z(II)[Zn(HMI4NFTSK)2].
3-	5- Metoksi isatin -3-(N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI4FFTSK)2].
4-	5-Metoksi isatin-3- (N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK).
5 -	5-Metoksi isatin-3 -(N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK).

5-Metoksi isatin tiyosemikarbazonun antibakteriyel etkisi, Gram (-) (*E. coli*, *S. kentucky*, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*) ve Gram (+) (*E. faecium*, *E. durans*, *S. marcescens*, *S. aureus* ATCC, *S. hominis*, *S. edidermis*, *L. monocytogenes* ATCC 7644, Alfa *S. haemolyticus*, *S. aureus* ATCC 25923) suşlarına karşı test edilmiştir. *C. albicans* ATCC 226555 mantarı mantar önleyici etkiyi araştırmak için kullanılmıştır. Disk difüzyon yöntemi antimikrobiyal testte kullanılmıştır ve üç kez tekrarlanmıştır. Bileşikler (1, 2, 3, 4 ve 5), 2×10^{-1} M konsantrasyonda kullanılmıştır. Beş bileşiğin tüm inhibisyon alanları ölçülmüş ve Tablo 4.2' de özetlenmiştir.

Tablo 4.2. 0.2M konsantrasyondaki sentezlenen bileşikler için antimikrobiyal etkinliğin inhibisyon alanları

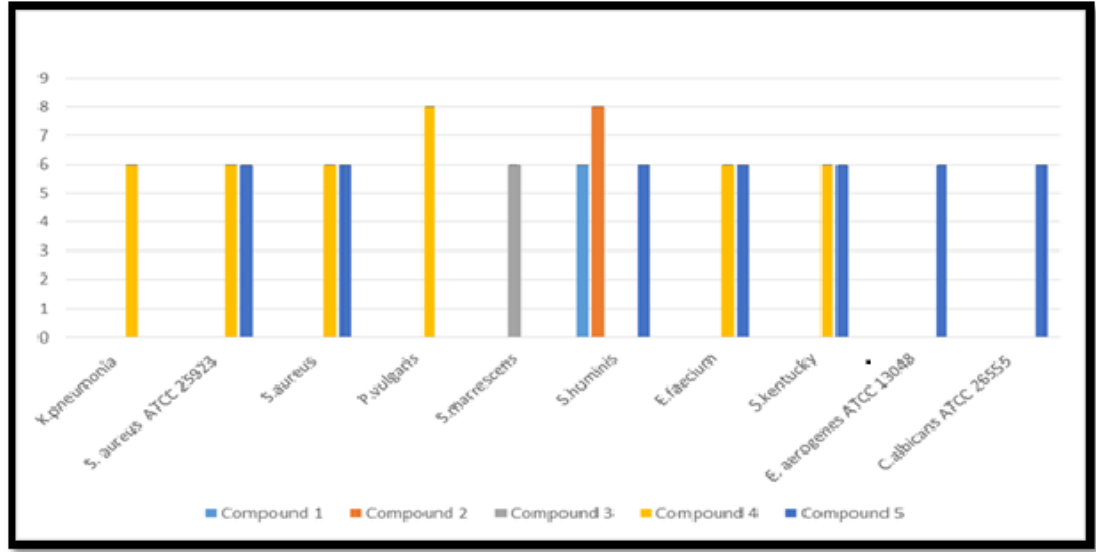
No	Mikroorganizma Türü	H2MI2FFK +ZN	H2MI4NFTK +ZN	H2MI4FFTK +ZN	H2MI2FF TSK	H2MI4F FTSK
1	<i>K. pneumoi</i>	–	–	–	6mm	–
2	<i>S. aureus</i> ATCC	–	–	–	6mm	6mm
3	<i>S. aureus</i>	–	–	–	6mm	6mm
4	<i>P. vulgaris</i>	–	–	–	8mm	–
5	<i>E. coli</i>	–	–	–	–	–
6	<i>S. marcesces</i>	–	–	6mm	–	–
7	<i>S. hominis</i>	6mm	8mm	–	–	6mm
8	<i>S. edidermis</i>	–	–	–	–	–
9	Alfa <i>S. haemolyticus</i>	–	–	–	–	–
10	<i>E. faecium</i>	–	6mm	–	–	–
11	<i>P.aeruginosa</i>	–	–	–	–	–
12	<i>L. monocytogens</i> ATCC 7644	–	–	–	–	–
13	<i>E. durans</i>	–	–	–	–	–
14	<i>S. kentucky</i>	–	–	–	6mm	6mm
15	<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	–	–	–	–	6mm
16	<i>C. albicans</i> ATCC 26555	–	–	–	–	6mm

Bu beş kimyasalın, Gram (-) (*E. coli*, *P. aerogenes* ATCC 13048, *S. kentucky*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*) ve Gram (+) (*S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. durans*, *S. aureus* ATCC, *S. marrescen*, *E. faecium*) bakterileri üzerinde uygulanmasından sonra, hiçbir inhibisyon bölgesinin olmadığı gözlemlenmiştir. Aynı durum, *C. albicans* ATCC 26555 mantar suşu için de gözlemlenmiştir.

Disk difüzyon yöntemi antimikrobiyal testte kullanılmıştır ve üç kez tekrarlanmıştır. Bileşikler (1, 2, 3, 4 ve 5) $[2 \times 10^{-1} \text{ M}]$ konsantrasyonundadır. Yukarıda belirtilen suşların aksine, beş kimyasal bileşik, Gram (+) *S. aureus* ATCC 25923, *S. hominis* ve *S. aureus* ATCC ve Gram (-) *P. vulgaris*, *E. aerogenes* ATCC 13048, *S. kentucky* suşlarından farklı bakteri suşlarına karşı, antimikrobiyal etki göstermişlerdir (Fotoğraf 4.1. ve 4.2.).

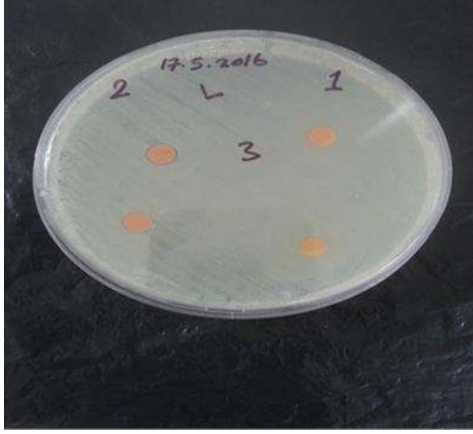
H2MI2FFK + ZN, *S. hominis*' e karşı 6 mm' lik inhibisyon bölgesi ile birlikte orta seviyede antibakteriyel etki göstermiştir. Ne yazık ki, bu ilk bileşiğin, incelenen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliğe sahip olmadığı bulunmuştur. H2MI4NFTK + ZN, *S. hominis* ve *E. faecium*' a karşı antimikrobik etki gösteren ikinci bileşiktir. Bu suş formlarının haricinde, bu bileşiğin, incelenen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliği yoktur. Bileşik 1 gibi, H2MI4FFTK + ZN de *S. marcesces* olan tek bir bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etki göstermiştir (Tablo 4.2).

Ligandlar incelendiğinde, tiyosemikarbazonun (bileşik 4,5) ligand bileşiklerinin, tiyosemikarbazonun çinko bileşiklerinden (bileşik 1,2,3) çok daha fazla sayıda bakteri suşunu etkilediği anlaşılmıştır. Örneğin bileşik 4, H2MI2FFTSK, *K. pneumoi*, *S. aureus* ATCC, *S. aureus*, *P. vulgaris* ve *S. kentucky* diye adlandırılan beş suşa karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Tiyosemikarbazonun diğer bir ligand bileşiği olan H2MI4FFTSK, bütün test edilen kimyasal bileşikler arasında en fazla bakteri suşunu etileyen bileşiktir. *S. aureus* ATCC, *S. aureus*, *S. hominis*, *S. Kentucky* and *E. aerogenes* ATCC 13048' ye karşı antimikrobiyal etki göstermektedir. 5. bileşiğin antimikrobiyal özelliklerine ilaveten, *C. albicans* ATCC 26555' e karşı mantar önleyici etki gösterdiği belirtilmiştir. H2MI4FFTSK, bu çalışmada, mantar önleyici etki gösteren tek tiyosemikarbazon türevi olmuştur (Tablo 4.2). Ayrıca, *S. hominis*, iki çinko bileşiği (H2MI2FFK + ZN ve H2MI4NFTK + ZN) ve bir ligand bileşiği H2MI4FPTSC (Şekil 1.13) de dahil olmak üzere üç farklı tiyosemikarbazon türevi ile etkilenen tek bakteri suşudur.



Şekil 1.14. Bileşikler için (H2MI2FFK+ZN, H2MI4NFK+ H2MI4FFK+ZN, H2MI2FFK & H2MI4FFK), *K. pneumoniae*, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. marrescens*, *S. hominis*, *E. faecium*, *S. kentucky*, *E. aerogenes* ATCC 13048, *C. albicans* ATCC 26555 üzerindeki inhibisyon alanı.

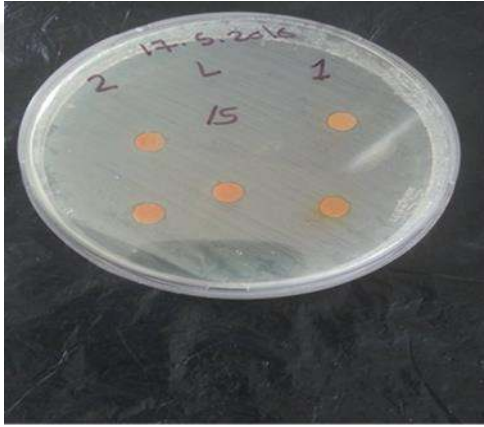
Ayrıca *S. aureus*, *S. kentucky* ve *S. aureus* ATCC 25923 bakteri suşlarından bir fotoğraf çekilmiştir ve inhibisyon alanı bileşik 4 ve 5 için 6 mm ölçülmüştür. Bileşik 4 için, *P. vulgaris*'e karşı, 8 mm' lik bir inhibisyon alanı ile birlikte antimikrobiyal etki gözlemlenmiştir. Ek olarak, bileşik 1 ve 5' in, *S. hominis*'e karşı 6 mm' lik inhibisyon alanı ile birlikte, antimikrobiyal etkiye sahip olduğu görülmüştür (Fotoğraf 4.1). *E. aerogenes* ATCC 13048, 6 mm' lik inhibisyon alanı ile birlikte bileşik 5' ten etkilenmiştir (Fotoğraf 4.2).



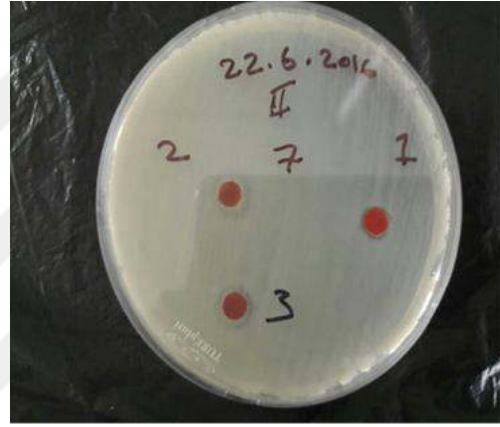
(a)



(b)



(c)



(d)

Fotoğraf 4.1. (a): *S. aureus* (b): *S. aureus* ATCC (c): *S. kentucky* (d): *S. hominis* için; isatin tiyosemikarbazonun ligand ve metal bileşiklerinin inhibisyon alanı



(e)



(f)

Fotoğraf 4.2. (e): *E. aerogenes* ATCC 13048 (f): *P. vulgaris* için isatin tiyosemikarbazonun ligandının inhibisyon alanı

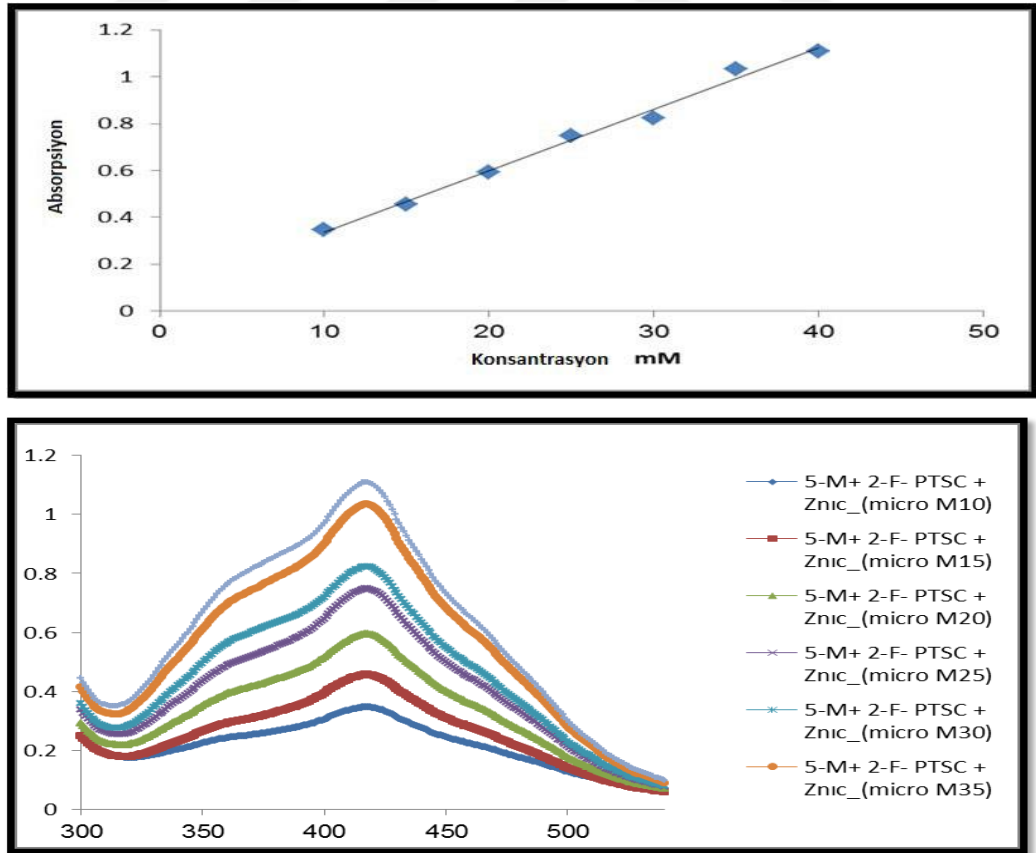
Çalışmamızda, 5-Metoksi isatin tiyosemikarbazonun tüm bileşikleri, en az bir Gram (+) ve Gram (-) bakteri suşunu etkilemiştir. H2MI4FFTSK haricinde, incelenen hiçbir bileşik mantar önleyici etki göstermemiştir. H2MI4FFTSK olarak adlandırılan 5-Metoksi isatin tiyosemikarbazonun ligandı, *C. albicans'* ı etkilemiştir. Sonuç olarak, tiyosemikarbazon türevlerinin antimikrobiyal ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılabilir. Bununla birlikte, gelecekteki çalışmalarda, antimikrobiyal etkinliğin mekanizmalarını anlamak için *in vivo* analizi yapılmalıdır. Tada ve diğer araştırmacılar (2012) tiyosemikarbazonun metal bileşiklerini (Co (II), Cu (II) ve Ni (II)) sentezlemiş ve antimikrobiyal ve mantar önleyici etkilerini kontrol etmişlerdir. Tiyosemikarbazonun bakır (II) ve nikel (II) metal bileşikleri, kobaltdan daha iyi antibakteriyel etki göstermiştir. *E. coli*, *S. epidermidis* ve *S. aureus* da dahil olmak üzere çeşitli bakteri suşlarını çok az miktarda (yaklaşık 30 µg / ml) etkilemişlerdir. Sonuçlarımıza kıyasla, H2MI2FFTSK ve H2MI4FFTSK olarak adlandırılan iki bileşik, *S. aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal etki göstermişlerdir. Bir başka çalışmada, 3-Kloro Vanilin Tiyosemikarbazon'un (3-KVTSK), Cu (II), Ni (II), Co (II) ve Zn (II) bileşikleri, kimyasal olarak sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Ni (II) ve Zn (II) bileşiklerinin *E. coli*, *S. epidermidis* ve *S. aureus*'a karşı daha iyi bir etkinliği olduğu söylenmiştir (69). Bu bileşiklerden en fazla etkilenen bakteri suşu, aynı ligand bileşiklerinden (H2MI2FFTSK ve H2MI4FFTSK) etkilenen *S. aureus'* dur. Sonuçlarımızın aksine, 3-KVTSK (70)'nin Cu (II), Ni (II), Co (II) ve Zn (II) bileşikleri ve tiyosemikarbazonun (69) bakır (II) ve nikel (II) metal bileşikleri, mantar önleyici etkisi göstermiştir. Bununla birlikte, sadece bir türev bileşik (H2MI4FFTSK) mantar önleyici etki göstermiştir. Tiyosemikarbazon türevlerinin antimikrobiyal ve mantar önleyici ilaç katkı maddelerinde kullanılabileceği sonucuna varılabilir. Bazı *in vivo* testler, tiyosemikarbazon türevlerinin ilaç veya ilaç katkı maddeleri olarak kullanılmasına yönelik olarak uygulanmalıdır.

4.2. UV Kullanılarak İsatın Tiyosemikarbazonun Ligand ve Metal Bileşiklerinin Sönümlenme Katsayısının Hesaplanması

İsatın tiyosemikarbazon türevlerinin sönümlenme katsayısı şu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır: $A = \epsilon c \ell$. Burada ϵ , maddenin molar absorpsiyon katsayısını, c , türlerin konsantrasyonunu, ℓ ise yol uzunluğunu göstermektedir.

4.2.1. 5- Metoksi isatin-3-(N-2-Floro fenil) tiyosemikarbzon (H2MI2FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI2FFTSK)2]

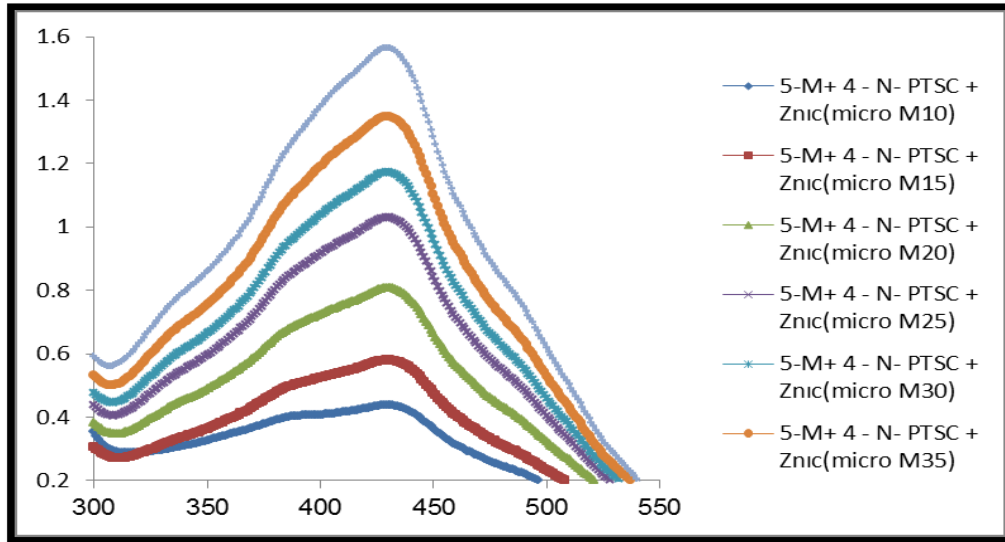
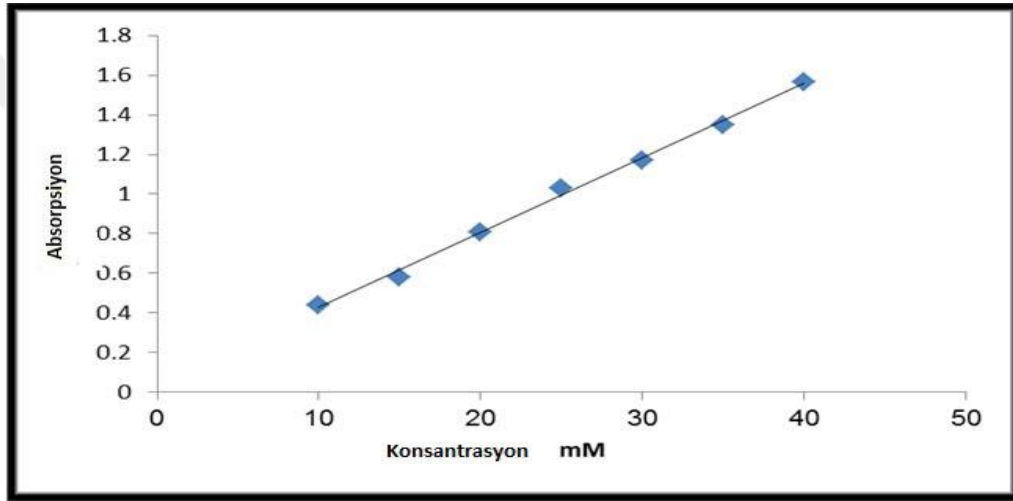
Bileşik 1 (H2MI2FFTSK + Zn (II)), 10-15 - 20 - 25 - 30 - 35 - 40 μ M konsantrasyonlarını elde etmek için DMSO ile seyreltilmiştir. Bu ilk bileşik, 417 nm dalga boyunda maksimum pik vermiştir. Metoksi isatin-3- (N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon + Zn (II) bileşiğinin artan konsantrasyonları ile birlikte absorbans değerinin de arttığı gözlenmiştir (Grafik 4.6)



Grafik 4.1. 5- Metoksi isatin- 3- (N-2- Floro fenil) TSK (H2MI2FFTSK) + Zn (II) 'nin artırım katsayısı

4.2.2. 5-Metoksi isatin- 3- (N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4NFTSK) + Z(II) [Zn(HMI4NFTSK)2]

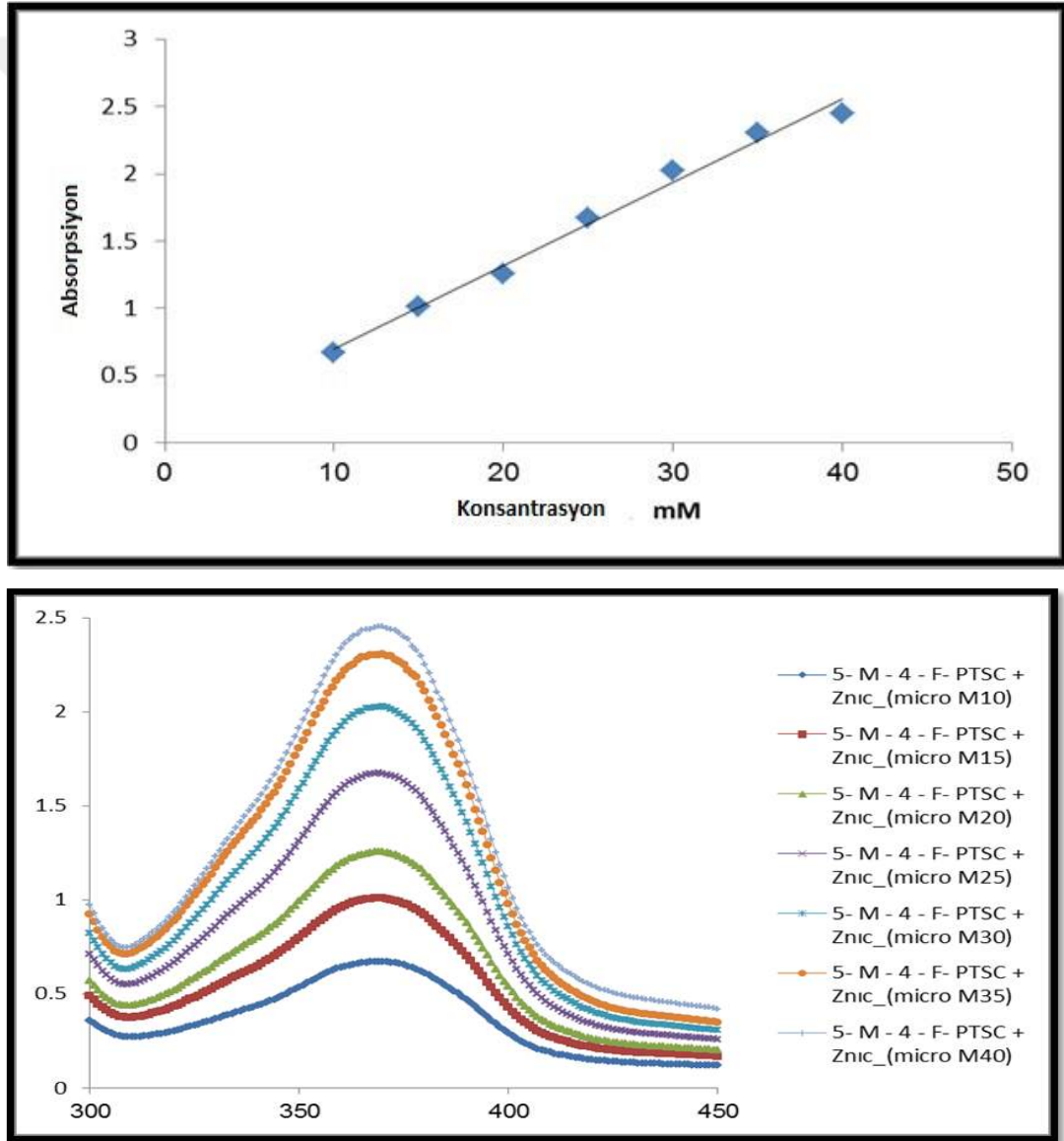
Bileşik 2 ((H2MI4NFTSK) + Z (II)), DMSO içerisinde çözülmüş ve 10-15 - 20 - 25 - 30 - 35 - 40 μ M dahil olmak üzere farklı konsantrasyonlara seyreltilmiştir. Bu ikinci bileşik, UV ışığını 368 nm dalga boyunda absorbe etmiştir. İlk bileşikle benzerlik göstermektedir. Başka bir deyişle, bileşiğin yüksek konsantrasyonu, yüksek absorbans değerleri vermesini sağlamıştır. Konsantrasyonlarla değer artmıştır (Grafik 4.7).



Grafik 4.2. 5- Metoksi isatin- 3- (N-4-Nitro fenil) TSK (H2MI4NFTSK) + ZN(II) 'nin artırım katsayısı

4.2.3. 5- Metoksi isatin- 3- (N-4- Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4FFTSK) + Zn (II) [Zn(HMI4FFTSK)2]

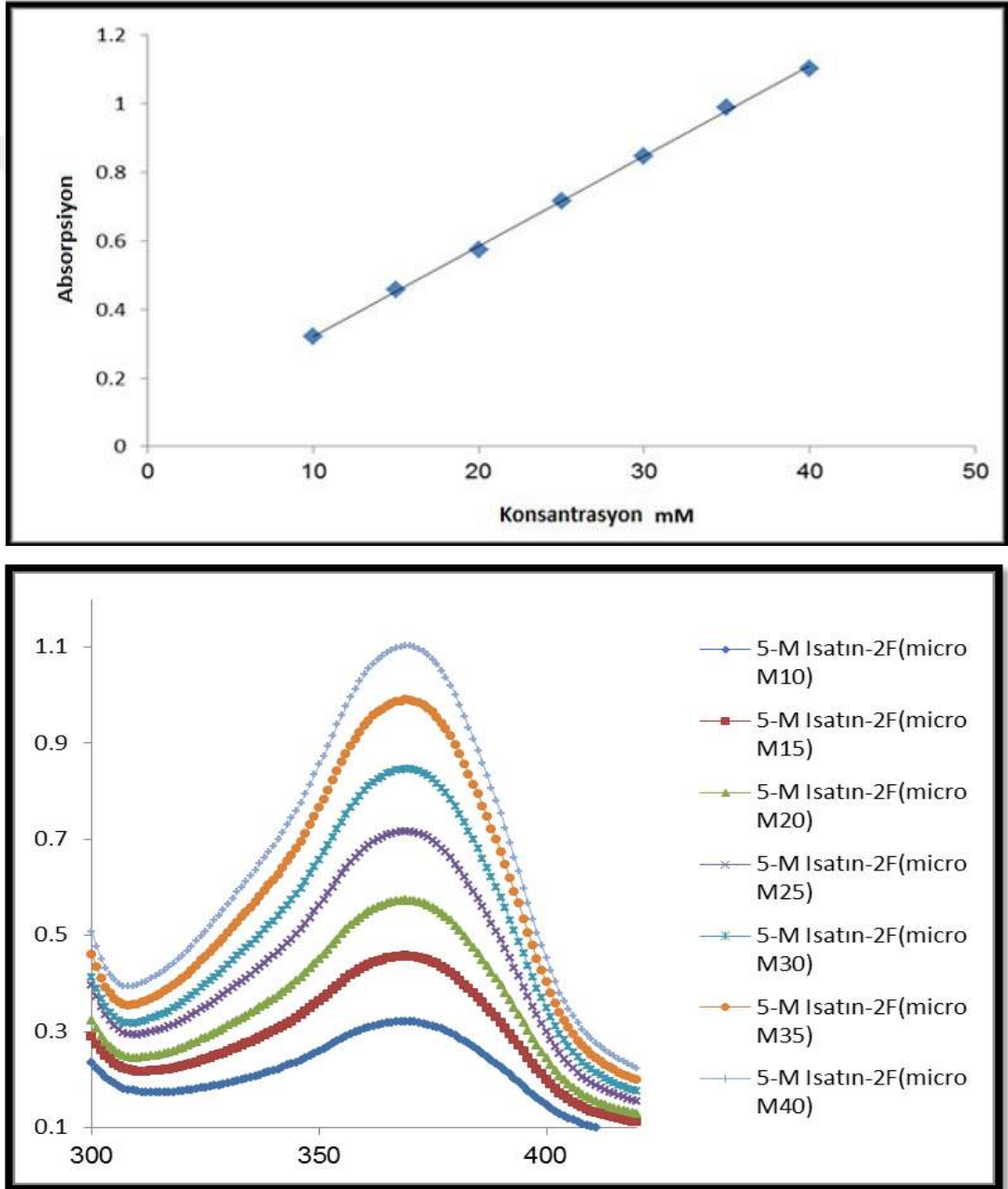
Bileşik 3 ((H2MI4FFTSK) + Z (II)) de DMSO içinde çözülmüş ve daha sonra farklı konsantrasyon noktaları elde etmek için sıralı bir şekilde seyreltmeler (10-15 - 20 - 25 - 30 - 35 - 40 μ M) yapılmıştır. Bu üçüncü bileşik maksimum absorbands yönünden ikinci bileşik ile aynıdır. H2MI4FFTSK + Z (II) de, UV ışığını 368 nm dalga boyunda absorbe etmiştir. Bu bileşiğin konsantrasyonunun arttırılmasının yüksek absorbanda neden olduğu gösterilmiştir (Grafik 4.8).



Grafik 4.3. 5- Metoksi isatin-3 -(N-4- Floro fenil) TSK (H2MI4FFTSK) + Zn (II) 'nın artırım katsayısı

4.2.4. 5- Metoksi isatin-3- (N-2- Floro fenil) Tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK)

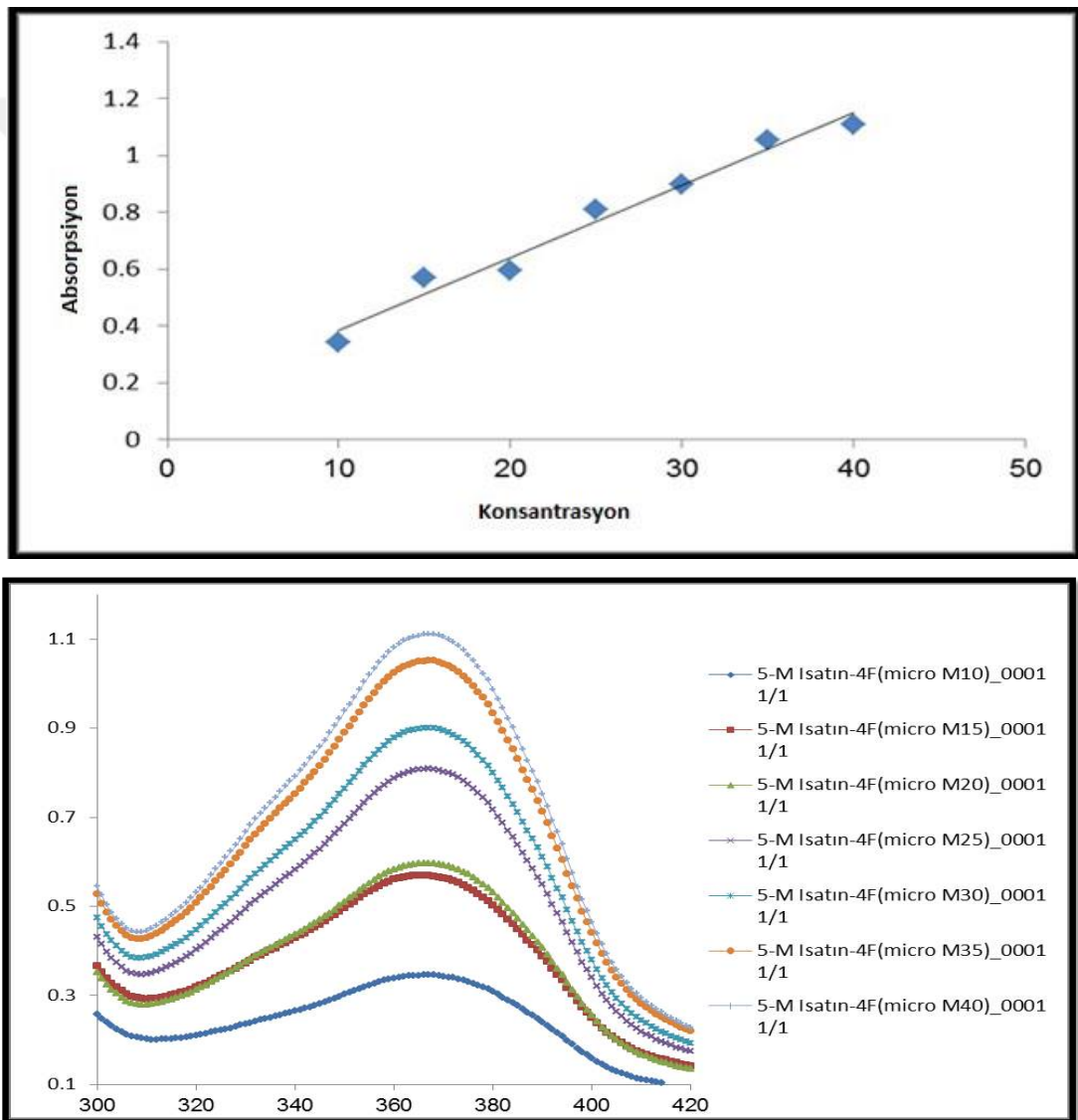
Bileşik 4 olarak tanımlanan H2MI2FFTSK, 10 - 15 - 20 - 25 - 30 - 35 - 40 μ M konsantrasyonlarını elde etmek için DMSO ile seyreltilmiştir. Bu bileşik, UV ışığını 369 nm dalga boyunda absorbe etmiş ve absorbans değeri, artan 5-Metoksi isatin-3- (N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon konsantrasyonu ile birlikte yükselmiştir (Grafik 4.9).



Grafik 4.4. 5- Metoksi isatin- 3- (N-2- Floro Fenil) TSK (H2MI2FFTSK) 'nin artırım katsayısı

4.2.5. 5- Metoksi isatin-3- (N-4- Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK)

Son bileşik (H2MI2FFTSK), DMSO' da çözülmüş ve 10 - 15 - 20 - 25 - 30 - 35 - 40 μ M dahil olmak üzere çeşitli konsantrasyonlarda seyreltilmiştir. Bu beşinci bileşik, UV ışığını 367 nm dalga boyunda absorbe etmiştir. Dördüncü bileşik ile benzer durumlar göstermektedir. 5- Metoksi isatin- 3- (N-4- Floro fenil) tiyosemikarbazonun absorbansı, bu ligandın yüksek konsantrasyonu ile birlikte artmıştır. (Grafik 4.10).



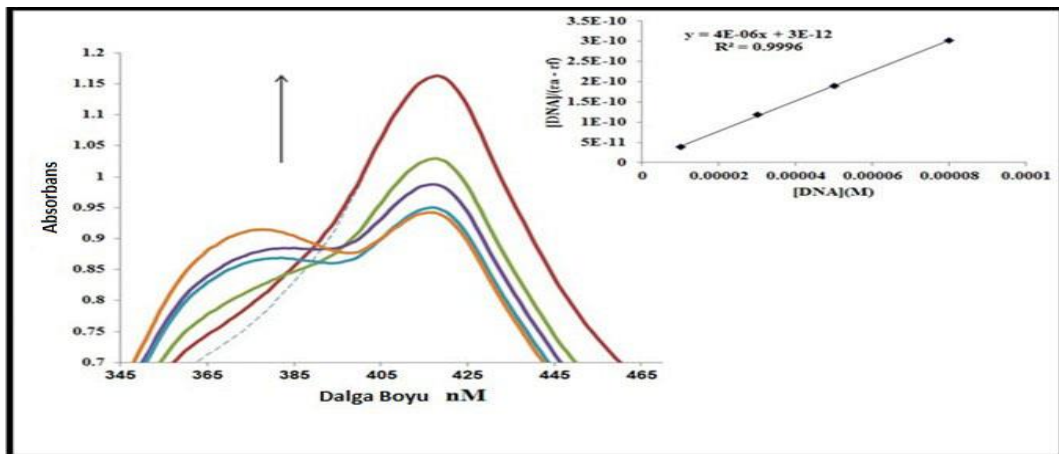
Grafik 4.5. 5- (Metoksi isatin)-3- (N-4- Floro fenil) TSK (H2MI2FFTSK) 'nin artırım katayısı

Sonuç olarak, üç metal bileşiği (H2MI2FFK + ZN, H2MI4NFTK + ZN ve H2MI4FFTK + ZN) ve iki ligand bileşiği (H2MI2FFTSK ve H2MI4FFTSK) de dahil olmak üzere 5-Metoksi isatin tiyosemikarbazonların bütün türevleri, UV ışını farklı dalga boylarında absorbe etmiştir. Bununla birlikte, hepsi aynı grafik deseni göstermişlerdir, bu da beş bileşiğin de konsantrasyonundaki artışın, bu bileşiklerin absorbanlarında yükselmeye neden olduğu anlamına gelmektedir.

4.3. CT-DNA ile Isatin Tiyosemikarbazon Türevlerinin Absorbans Spektrumu

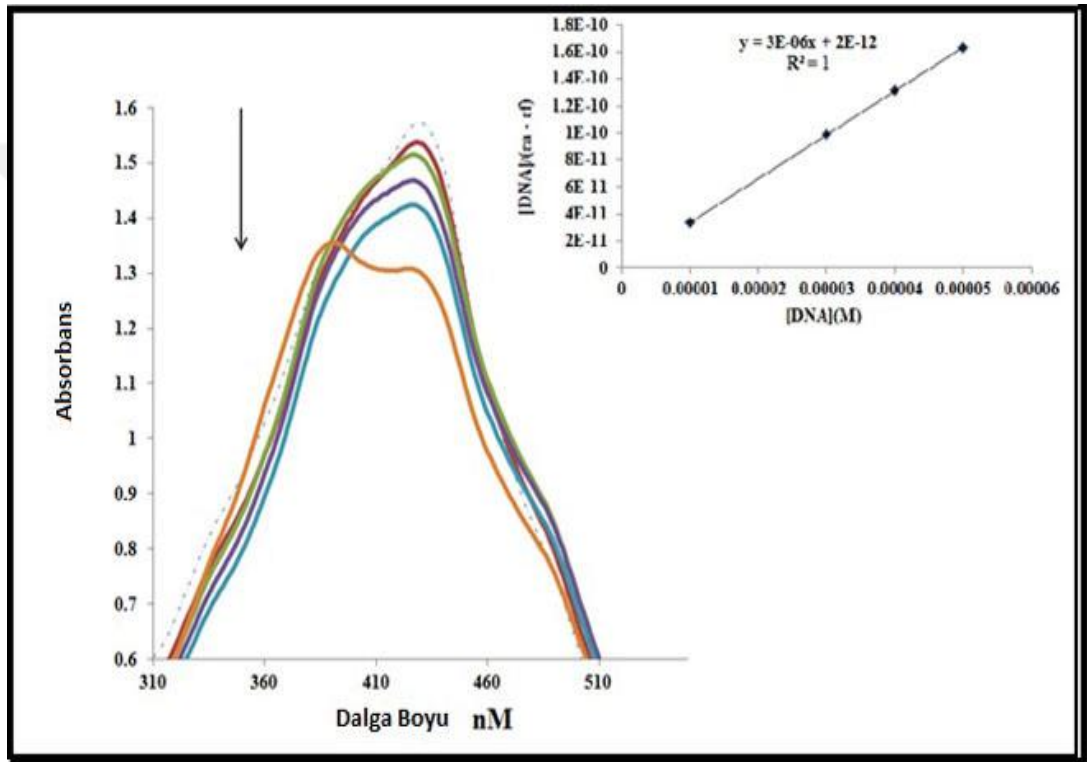
Çalışmamızda, Tablo 4.1 'de verilen beş kimyasal bileşik, ayrıca, CT-DNA ile bu bileşiklerin etkileşimini anlamak için de incelenmiştir. Bileşiklerin UV- Görünür bölge absorpsiyon spektrumları, tüm kimyasal bileşikler için bu etkileşimi analiz etmek adına kullanılmıştır.

Farklı konsantrasyonlara sahip (0-10-30-50-70-80 μ M) CT-DNA ile 40 μ M' lik sabit konsantrasyondaki ilk bileşiğin (5- Metoksi isatin-3- (N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI2FFTSK) + Zn (II)) [Zinc (HMI2FFTSK) 2] etkileşimi incelenmiştir. Bileşik 1 ile CT-DNA arasında negatif bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir. Bu da, bileşik 1 ve CT-DNA bileşiklerinin, CT-DNA' nın artan konsantrasyonu ile birlikte azalan absorbans gösterdiği anlamına gelmektedir (Grafik 4.6).



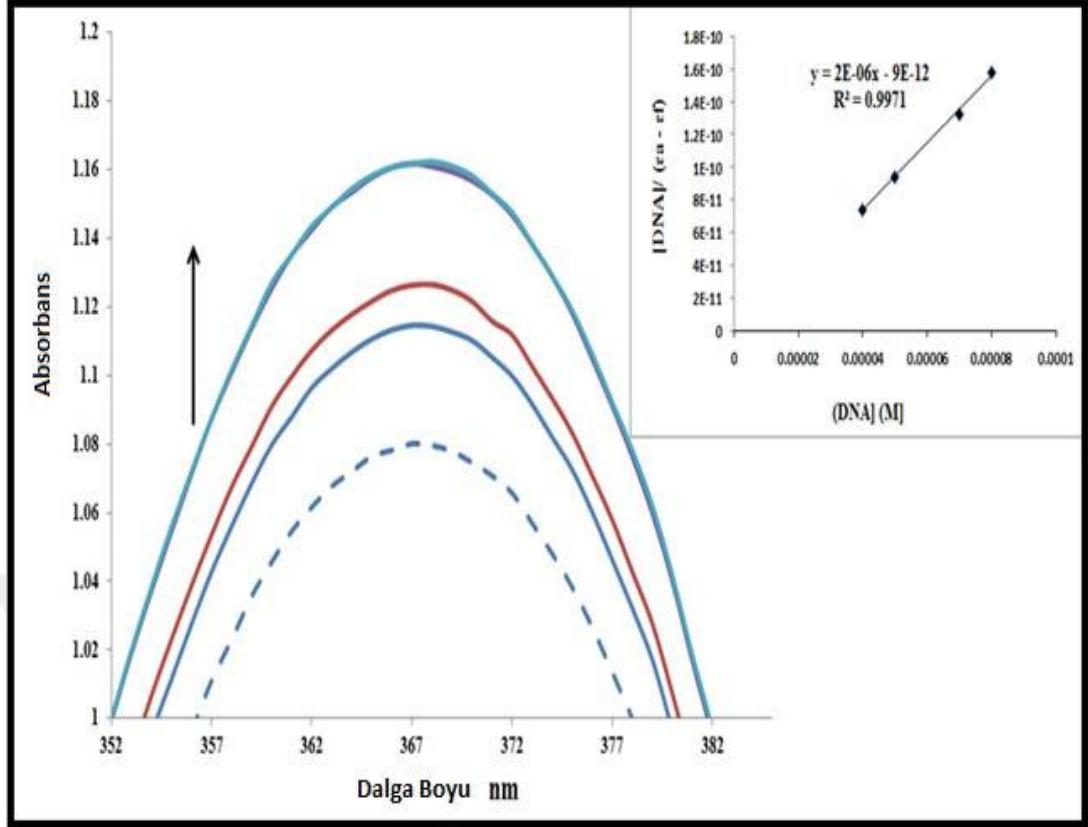
Grafik 4.6. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 1' in spektral absorbansı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 1] = 40 μ M; [CT-DNA] = (0-10-30-50-70-80 μ M). Siyah ok ($\uparrow$); artan CT-DNA konsantrasyonuyla absorbans değişimini göstermektedir.

Farklı CT- DNA konsantrasyonları (0 - 30 - 40 - 50 - 70 - 80 μM) ile 40 μM ' lik sabit konsantrasyona sahip ikinci bileşik olan 5-Metoksi isatin-3- (N-4- Nitro fenil) tiyosemikarbazon (H2MI4NFTSK) + Z (II) [Zn (HMI4NFTSK) 2] 'nin etkileşimi incelenmiştir. CT-DNA ile pozitif korelasyon gösteren, 2 ve 5 olarak numaralandırılan iki bileşik vardır. Bu, CT-DNA konsantrasyonundaki artışın, bileşik 2 ve CT-DNA karışımının absorbansının artırmasına neden olduğu anlamına gelmektedir (Grafik 4.7).



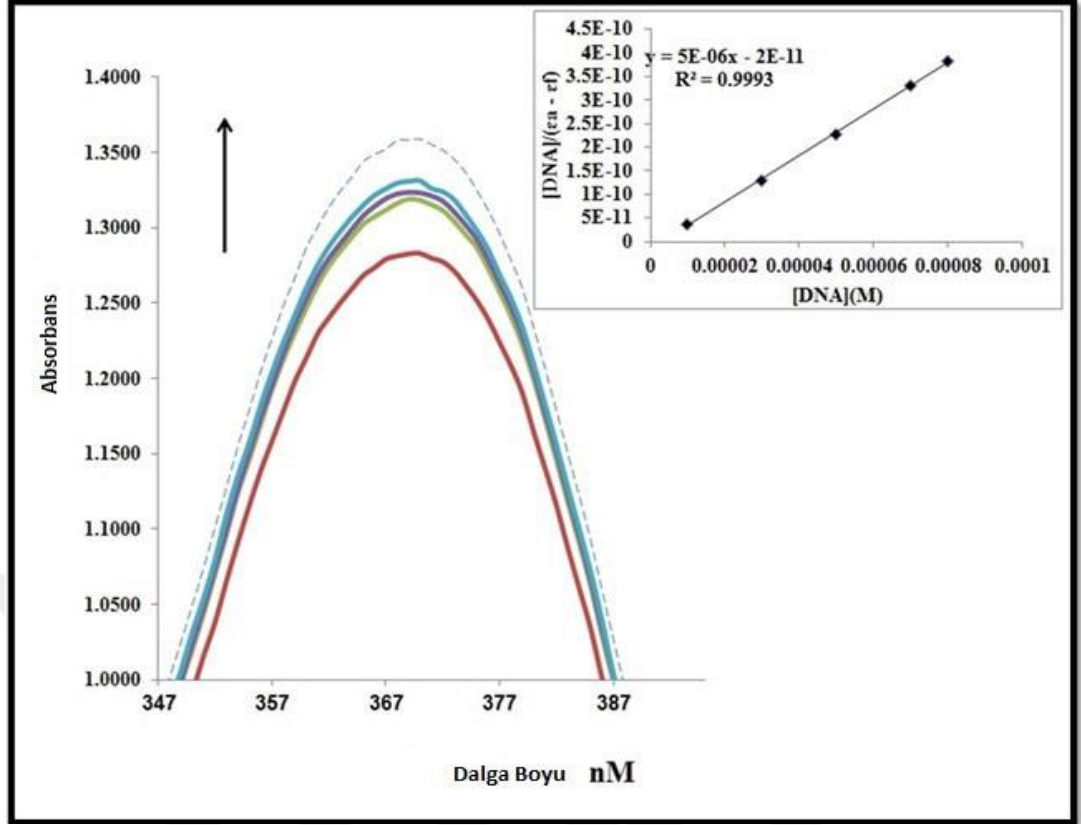
Grafik 4.7. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 2 'nin spektral absorbansı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (_____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 2] = 40 μM ; [CT-DNA] = (0-30-40-50-70-80 μM). Siyah ok (↓); artan CT-DNA konsantrasyonuyla absorbans değişimini göstermektedir.

0-10-50-70-80 μM CT-DNA ile üçüncü bileşik olan 5- Metoksi isatin-3- (N-4- Floro fenil) tiyosemikarbazon Zn (II) (40 μM sabit konsantrasyon)' nin etkileşimi değerlendirilmiştir. Grafik 4.8, bileşik 3 ile farklı CT-DNA konsantrasyonları arasındaki negatif korelasyonu göstermektedir. Bileşik 1 gibi, bileşik 3' ün absorbansı da CT-DNA konsantrasyonunun artması ile birlikte azalmaktadır.



Grafik 4.8. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 3 'ün spektral absorbansı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (_____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 3] = 40 μ M; [CT-DNA] = (0-10-50-70-80 μ M). Siyah ok ($\uparrow$); artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbans değişimini göstermektedir.

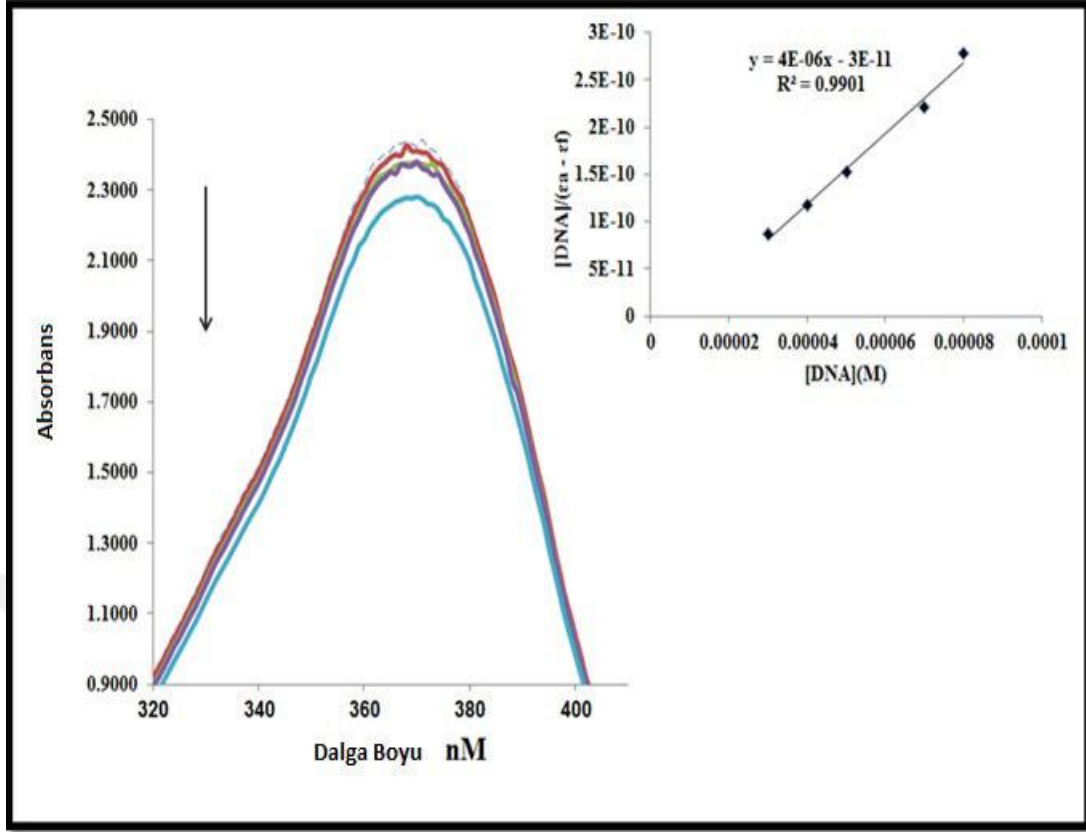
Farklı CT-DNA konsantrasyonları (0-10-30-40-50 μ M) ile 40 μ M sabit konsantrasyondaki bileşik 4 ile belirtilen 5-Metoksisatin-3- (N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazonun (H2MI2FPTSC) etkileşimi incelenmiştir. Grafik 4.9' da da görüleceği gibi, bileşik 4 ile farklı CT-DNA konsantrasyonları arasında ters bir ilişki vardır. Bileşik 4 ile CT-DNA bileşimi absorbansı, CT-DNA konsantrasyonunun azalması ile birlikte artmıştır.



Grafik 4.9. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 4 'ün spektral absorbansı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (_____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 4] = 40 μ M; [CT-DNA] = (0-10-30-40-50 μ M). Siyah ok ($\uparrow$); artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbans değişimini göstermektedir.

Farklı CT-DNA konsantrasyonları (0 - 40 - 50 - 70 - 80 μ M) ile son bileşik olan 5-Metoksisatin-3- (N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazonun (H2MI4FPTSC) 40 μ M sabit konsantrasyondaki etkileşimi araştırılmıştır. Bileşik 2' de olduğu gibi, CT-DNA ile bileşik 5' in absorbansı, CT-DNA'nın konsantrasyonunun artması ile birlikte artmıştır (Grafik 4.10).

Buna ek olarak, bileşik 1-5 için özgün bağlanma sabit değerleri (Kb) sırasıyla; 3.2×10^5 ; 1.2×10^2 ; 2.3×10^2 ; 1.1×10^3 ve 1.8×10^3 olarak bulunmuştur.



Grafik 4.10. CT-DNA miktarının artması ile bileşik 5 'in spektral absorbansı. CT-DNA eksikliği (-----) ve CT-DNA mevcudiyeti (_____) ile gösterilmiştir. [Bileşik 5] = 40 μ M; [CT-DNA] = (0-40-50-70-80 μ M). Siyah ok ($\downarrow$); artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbans değişimini göstermektedir.

Tiyosemikarbazon ve CT-DNA arasındaki etkileşim farklı araştırmacılar tarafından da incelenmiştir. Bir çalışmada, Masoudian ve Pakravan (2015) tarafından IBT (isatin- β - tiyosemikarbazon) ve CT-DNA etkileşimi araştırılmıştır. Nötr Kırmızı boyayı, bir kontrol çubuğu ve UV- Görünür bölge absorpsiyon spektrumu olarak kullanmışlardır (70,71,72). Sonuçlarımız bu çalışmadan elde edilen verilerle tutarlılık göstermektedir. Bileşik 2 ve 5, IBT ve CT-DNA etkileşimi için de gözlemlenen benzer spektrum modelini göstermiştir. Bu sonuç, bu spektral değişikliklerin, 2 ve 5 numaralı bileşiklerin DNA bazlarına ilavesi ile ilişkili olmasına göre açıklanabilir. Bu nedenle, hipokromik etkilerin nedeni, eklenen kromoforun ve DNA baz çiftlerinin elektronik durumunun etkileşiminden kaynaklandığı ileri sürülebilir. Buna ek olarak, Bileşik 2 ve 5' in CT-DNA ile etkileşiminden sonra küçük batokromik kaymalar da gözlenmiştir. Bu, bileşiklerdeki ligandların π ve π^* geçiş enerjisindeki azalma ile açıklanabilir.

IBT 'ye ek olarak, trifeniltin (IV) karboksilat bileşiği [$\text{SnPh}_3 (\text{O}_2\text{CCH}_2\text{SXyl})$] ile DNA arasındaki etkileşimi, Sirajuddin ve Badshah (2013) tarafından da incelenmiştir. Bu çalışmada, bileşiklerin ve artan DNA konsantrasyonlarının etkileşiminden sonra hiperkromizm etkisi gözlenmiştir [72]. Bu sonuçlar bizim çalışma sonuçlarımızla tutarlılık göstermektedir. Bileşik 1, 3 ve 4' ün CT-DNA ile etkileşimi, trifeniltin (IV) karboksilat bileşiğinin incelenmesinde de görüldüğü üzere, hiperkromizm etkinin oluşumuna neden olmuştur. Ayrıca, polimiksin B (PMB) ile DNA arasındaki etkileşim de araştırılmıştır (Kong ve diğer araştırmacılar (2011) [73].) Sirajuddin ve Badshah (2013) çalışmaları gibi, bileşiklerin absorbansı da, bileşik 1, 3 ve 4 için elde edilen sonuçlarla da korelasyon gösteren, artan CT-DNA konsantrasyonları ile birlikte artmıştır.

Kong ve diğer araştırmacılar tarafından yürütülen bir başka çalışmada (2012), insulin ve CT-DNA arasındaki etkileşim, pH değeri 7.4' te, absorpsiyon, floresan ve dairesel dikroizm spektroskopilerine dayanarak incelenmiştir. Karışımın absorbansının, CT-DNA' nın artan konsantrasyonu ile azaldığını bulmuşlardır [74]. Bu çalışmada, Kb değerlerine (bileşik 1 - 5: 3.2×10^5 ; 1.2×10^2 ; 2.3×10^2 ; 1.1×10^3 ve 1.8×10^3) çok yakın olan Kb değerleri 4.8×10^5 , 1.0×10^3 ve 5.4×10^2 bulunmuştur. Çalışmamızda, bileşik 2 ve 5 ile CT-DNA karışımının absorbansı, artan CT-DNA konsantrasyonu ile birlikte azalmıştır. Dolayısıyla, sonuçlarımız, artan DNA konsantrasyonu ile birlikte, insulin ve CT-DNA karışımının absorbansının azaldığını belirten Kong ve diğer araştırmacıların (2012) sonuçları ile tutarlılık göstermektedir.

5. SONUÇ

İlk olarak, 5-Metoksi isatin-3- (N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon + Zn (II), 5-Methoxyisatin-3- (N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbazon + Z (II) Metoksi isatin -3- (N-4-Floro fenil) tiyosemikarbazon + Zn (II), 5-Metoksi isatin-3- (N-2-Floro fenil) tiyosemikarbazon ve 5-Metoksi isatin-3- (N-4- Floro fenil) tiyosemikarbazon olarak belirtilen 5 bileşik yeniden sentezlenmiştir. Daha sonra antimikrobiyal etkileri ve bu bileşiklerin CT-DNA ile etkileşimi incelenmiştir.

Bu tezde, her bir bileşik için antimikrobiyal test için üç kez tekrarlanan disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. *E. coli*, *P. aerogenes* ATCC 13048, *S. kentucky*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*, *S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. durans*, *S. aureus* ATCC, *S. marrescen* ve *E. faecium* gibi bazı bakteri suşları, hiçbir bileşikten etkilenmemiştir. Diğer bir yandan, beş kimyasal bileşiğin hepsi, Gram (+); *S. aureus* ATCC 25923, *S. hominis* ve *S. aureus* ATCC ve Gram (-); *P. vulgaris*, *E. aerogenes* ATCC 13048, *S. kentucky*’ den farklı bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal etkinliğe sahiptir. Ayrıca, tiyosemikarbazon (bileşik 4,5) ligand bileşiklerinin, tiyosemikarbazonun çinko bileşiklerinden (bileşik 1,2,3) çok daha fazla bakteri suşunu etkilediği de anlaşılmıştır. Son olarak *S. hominis*, iki çinko bileşiği (H2MI2FFK + ZN ve H2MI4NFTK + ZN) ve bir ligand bileşiği (H2MI4FFTSK) de dahil olmak üzere, üç farklı tiyosemikarbazon türevi ile etkilenen tek bakteri türüdür.

Bu çalışmada, isatin tiyosemikarbazon türevlerinin sönümleme katsayısı da hesaplanmıştır. Sonuç itibarıyla, üç metal bileşiği (H2MI2FFK + ZN, H2MI4NFTK + ZN ve H2MI4FFTK + ZN) ve iki ligand bileşiği (H2MI2FFTSK ve H2MI4FFTSK) de dahil olmak üzere 5-Metoksi isatin tiyosemikarbazonların tüm türevleri, UV ışınını farklı dalga boylarında absorbe etmiştir. Bununla birlikte bileşiklerin hepsi aynı grafik desenleri göstermişlerdir; bu da bu beş bileşiğin konsantrasyonundaki artışın, bu bileşiklerin absorbansının artmasına neden olduğu anlamına gelmektedir.

Son olarak, bu bileşiklerin CT-DNA ile etkileşimini anlamak için beş kimyasal bileşik de araştırılmıştır. Bileşiklerin UV- Görünür bölge absorpsiyon spektrumları, tüm kimyasal bileşikler için, bu etkileşimi analiz etmeye yönelik olarak kullanılmıştır. Beş bileşiğin Kb değerleri, 3.2×10^5 ; 1.2×10^2 ; 2.3×10^2 ; 1.1×10^3 ve 1.8×10^3 olarak bulunmuştur. CT-DNA'nın artan konsantrasyonu ile birlikte, bileşik 2 ve 5 ile CT-DNA karışımının absorbansının arttığı da rapor edilmiştir. Öte yandan, CT-DNA karışımı ile 1, 3 ve 4 numaralı bileşiklerin absorbansı CT-DNA konsantrasyonunun artması ile birlikte azalmıştır.

Bu bileşikler, mikroorganizmalar ve DNA üzerindeki etkilerine dayanılarak, olası ilaçlar ya da ilaç katkı maddeleri için kullanılabilir. Bu bileşiklerin *in vivo* etki yöntemi ve toksisitesinin değerlendirilmesi için daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kalinowski, D. S., Quach, P., & Richardson, D. R. (2009). Thiosemicarbazones: the new wave in cancer treatment. *Future medicinal chemistry*, 1(6), 1143-1151.
2. Sartorelli, A. C., Agrawal, K. C., & Moore, E. C. (1971). Mechanism of inhibition of ribonucleoside diphosphate reductase by ga-(n)-heterocyclic aldehyde thiosemicarbazones. *Biochemical pharmacology*, 20(11), 3119-3123.
3. Sartorelli, A. C., & Booth, B. A. (1967). Inhibition of the growth of sarcoma 180 ascites cells by combinations of inhibitors of nucleic acid biosynthesis and the cupric chelate of kethoxal bis-(thiosemicarbazone). *Cancer research*, 27(9), 1614-1619.
4. Kandemirli, F., Arslan, T., Karadayı, N., Ebenso, E. E., & K ksoy, B. (2009). Synthesis and theoretical study of 5-methoxyisatin-3-(N-cyclohexyl) thiosemicarbazone and its Ni (II) and Zn (II) complexes. *Journal of molecular structure*, 938(1), 89-96.
5. Karalı, N., G rsoy, A., Kandemirli, F., Shvets, N., Kaynak, F. B.,  zbey, S., & Dimoglo, A. (2007). Synthesis and structure–antituberculosis activity relationship of 1H-indole-2, 3-dione derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(17), 5888-5904.
6. URL_1.The structure of Thiosemicarbazide web sitesi, 30/03/2017 <https://www.google.com.tr/search?> adresinden alınmıştır.
7. Yogeeswari, P., Banerjee, D., Bhat, P., Thomas, A., Srividya, M., Shriram, D. (2011). Novel Isatinyl Thiosemicarbazones Derivatives as Potential Molecule to Combat HIV-TB Co-Infection. *European Journal of Medical Chemistry*, 46, 106-121.
8. Kalyoncuoglu, N., Rollas, S., S r-Altiner, D., Yegenoglu, Y., & Ang,  . (1992). 1-[p-(Benzoylamino) benzoyl]-4-substituted thiosemicarbazides: synthesis and antibacterial and antifungal activities. *Pharmazie*, 47(10), 796-797.
9. Siddiqui, N., Singh, O. (2003). Antibacterial Activity of some 4-N-substituted Thiosemicarbazides and Thiosemicarbazones. *Indian Journal of Pharmaceutical Science*, 65 (4), 423-425E. Silva Maria Joselice, Alves Antonio Jose, Silence C.; *Farmaco*, 1998 ,53(3), 241-243; *Chem. Abstr*, 129, 109012p,1998.
10. Chipeleme, A., Gut, J., Rosenthal, B. P. J., Chibale, K. (2007). Design, Synthesis, and Antimalarial Activity of Structural Chimeras of Thiosemicarbazone and Ferroquine Analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17 (1):6434-6438.
11. Fedorova, O. V., Mordovskoi, G. G., & Rusinov, G. L. (1998). *Khim-farm Zh.* 32 (2), 11-12 (1998). In *Chem. Abstr* (Vol. 129, p. 81555s).

12. Rai, A., Sengupta, S. K., & Pandey, O. P. (2005). Lanthanum (III) and praseodymium (III) complexes with isatin thiosemicarbazones. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(11), 2761-2765.
13. Woodson, B., & Joklik, W. K. (1965). The inhibition of vaccinia virus multiplication by isatin-beta-thiosemicarbazone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 54(3), 946-953.
14. URL_2. The structure of Isatin 3-Thiosemicarbazone web sitesi, 30/03/2017 [Http://www.chemspider.com/ Chemical-Structure isatin 4510345. html.](http://www.chemspider.com/Chemical-Structure/isatin/4510345.html) adresinden alınmıştır.
15. Friedberg, E. C., Walker, G. C., Siede, W., & Wood, R. D. (Eds.). (2005). *DNA repair and mutagenesis*. American Society for Microbiology Press
16. Da Silva, J. F. M., Garden, S. J., Pinto, A. C. (2001). The Chemistry of Isatins: a Review from 1975 to 1999. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12 (3), 273-324.
17. Pandeya, S. N., Smitha, S., Jyoti, M., & Sridhar, S. K. (2005). Biological activities of isatin and its derivatives. *Acta Pharm*, 55(1), 27-46.
18. Vine, K. L., Matesic, L., Locke, J. M., Ranson, M., & Skropeta, D. (2009). Cytotoxic and anticancer activities of isatin and its derivatives: a comprehensive review from 2000-2008. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 9(4), 397-414.
19. Chiyanzu, I., Hansell, E., Gut, J., Rosenthal, P. J., McKerrow, J. H., & Chibale, K. (2003). Synthesis and evaluation of isatins and thiosemicarbazone derivatives against cruzain, falcipain-2 and rhodesain. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 13(20), 3527-3530.
20. Sriram, D., Yogeeswari, P., & Gopal, G. (2005). Synthesis, anti-HIV and antitubercular activities of lamivudine prodrugs. *European journal of medicinal chemistry*, 40(12), 1373-1376.
21. Pirrung, M. C., Pansare, S. V., Sarma, K. D., Keith, K. A., & Kern, E. R. (2005). Combinatorial optimization of isatin- β -thiosemicarbazones as anti-poxvirus agents. *Journal of medicinal chemistry*, 48(8), 3045-3050.
22. Patel, A., Bari, S., Talele, G., Patel, J., & Sarangapani, M. (2010). Synthesis and antimicrobial activity of some new isatin derivatives. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 249-254.
23. Banerjee, D., Yogeeswari, P., Bhat, P., Thomas, A., Srividya, M., & Sriram, D. (2011). Novel isatinyl thiosemicarbazones derivatives as potential molecule to combat HIV-TB co-infection. *European journal of medicinal chemistry*, 46(1), 106-121.

24. Rodríguez-Argüelles, M. C., Sánchez, A., Ferrari, M. B., Fava, G. G., Pelizzi, C., Pelosi, G., & Pinelli, S. (1999). Transition-metal complexes of isatin- β -thiosemicarbazone. X-ray crystal structure of two nickel complexes. *Journal of inorganic biochemistry*, 73(1), 7-15.
25. Kandemirli, F., Arslan, T., Karadayı, N., Ebenso, E. E., & Köksoy, B. (2009). Synthesis and theoretical study of 5-methoxyisatin-3-(N-cyclohexyl) thiosemicarbazone and its Ni (II) and Zn (II) complexes. *Journal of molecular structure*, 938(1), 89-96.
26. URL_3.The Pentose Sugars web sitesi, 30/03/2017 tarihinde <http://pratclif.com/biologie-moleculaire/dna/Sugars.html> adresinden alınmıştır.
27. URL_4.Nitrogenous base web sitesi, 30/03/2017 tarihinde <https://tr.pinterest.com/explore/nitrogenous-base/> adresinden alınmıştır.
28. URL_5.Nucleoside and Nucleotide web sitesi, 30/03/2017 tarihinde <http://bio3400.nicerweb.net/Locked/media/ch10/nucleotide.html> adresinden alınmıştır.
29. Andrews, J. M., & BSAC Working Party on Susceptibility Testing, F. T. (2001). BSAC standardized disc susceptibility testing method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl 1), 43-57.
30. González-Ruiz, V., Olives, A. I., Martín, M. A., Ribelles, P., Ramos, M. T., & Menéndez, J. C. (2011). An overview of analytical techniques employed to evidence drug-DNA interactions. Applications to the design of genosensors. In *Biomedical engineering, trends, research and technologies*. InTech.
31. Gonzalez-Ruiz, V., Olives, A. I., Martin, M. A., Ribelles, P., Ramos, M. T., Menendez, J. C. (2012). An Overview of Analytical Techniques Employed to Evidence Drug–DNA Interactions. Applications to the Design of Genosensors, in: M.A. Komorowska, S. Olszynska-Janus (Eds.). *Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies*. In Tech, 65–90.
32. Benesi, H. A., & Hildebrand, J. H. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703-2707.
33. Sun, H., Xiang, J., Liu, Y., Li, L., Li, Q., Xu, G., & Tang, Y. (2011). A stabilizing and denaturing dual-effect for natural polyamines interacting with G-quadruplexes depending on concentration. *Biochimie*, 93(8), 1351-1356.
34. Bhadra, K., & Kumar, G. S. (2011). Interaction of berberine, palmatine, coralyne, and sanguinarine to quadruplex DNA: a comparative spectroscopic and calorimetric study. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1810(4), 485-496.

35. Liu, J., Zhang, T., Lu, T., Qu, L., Zhou, H., Zhang, Q., & Ji, L. (2002). DNA-binding and cleavage studies of macrocyclic copper (II) complexes. *Journal of inorganic biochemistry*, 91(1), 269-276.
36. Sirajuddin, M., Ali, S., Haider, A., Shah, N. A., Shah, A., & Khan, M. R. (2012). Synthesis, characterization, biological screenings and interaction with calf thymus DNA as well as electrochemical studies of adducts formed by azomethine [2-((3, 5-dimethylphenylimino) methyl) phenol] and organotin (IV) chlorides. *Polyhedron*, 40(1), 19-31.
37. Sirajuddin, M., Ali, S., Shah, N. A., Khan, M. R., Tahir, M. N. (2012). Synthesis, Characterization, Biological Screenings and Interaction with Calf Thymus DNA of a Novel Azomethine 3-((3,5 dimethylphenylimino)methyl)Benzene-1,2-diol Spectrochim. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 94, 134–142.
38. Shahabadi, N., Kashanian, S., Khosravi, M., & Mahdavi, M. (2010). Multispectroscopic DNA interaction studies of a water-soluble nickel (II) complex containing different dinitrogen aromatic ligands. *Transition Metal Chemistry*, 35(6), 699-705.
39. Ashwini Kumar, K., Reddy, K. L., Vidhisha, S., & Satyanarayana, S. (2009). Synthesis, characterization and DNA binding and photocleavage studies of [Ru (bpy) 2BDPPZ] 2+, [Ru (dmb) 2BDPPZ] 2+ and [Ru (phen) 2BDPPZ] 2+ complexes and their antimicrobial activity. *Applied Organometallic Chemistry*, 23(10), 409-420.
40. Technical Resource. *A guide to Understanding Extinction Coefficients, with Emphasis on Spectrophotometric Determination of Protein Concentration..*
41. Pakravan, P., & Masoudian, S. (2015). Study on the Interaction between isatin- β -thiosemicarbazone and calf thymus DNA by spectroscopic techniques. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 111.
42. Da Silva, J. F., Garden, S. J., & Pinto, A. C. (2001). The chemistry of isatins: a review from 1975 to 1999. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12(3), 273-324.
43. Jouad, E. M., Larcher, G., Allain, M., Riou, A., Bouet, G. M., Khan, M. A., & Do Thanh, X. (2001). Synthesis, structure and biological activity of nickel (II) complexes of 5-methyl 2-furfural thiosemicarbazone. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 86(2), 565-571.
44. Prathima, B., Subba Rao, Y., Chalapathi, P. V., Reddy, Y. P., & Varada Reddy, A. (2012). Spectral, structural and biological analysis of cr (iii) complex with Benzyloxybenzaldehyde-4-phenyl-3-thiosemicarbazone. *Int. J. of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 4, 3.
45. Pakravan, P., & Masoudian, S. (2015). Study on the Interaction between isatin- β -thiosemicarbazone and calf thymus DNA by spectroscopic techniques. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 111.

46. Nevagi Reshma, J., & Dhake Avinash, S. Antibacterial activity of thiosemicarbazide derivatives.
47. Huang, C. Z., Li, Y. F., & Feng, P. (2001). A spectrophotometric study on the interaction of neutral red with double-stranded DNA in large excess. *Talanta*, 55(2), 321-328.
48. Heli, H., Bathaie, S. Z., & Mousavi, M. F. (2004). Electrochemical investigation of neutral red binding to DNA at the surface. *Electrochemistry communications*, 6(11), 1114-1118.
49. Ni, Y., Du, S., & Kokot, S. (2007). Interaction between quercetin–copper (II) complex and DNA with the use of the Neutral Red dye fluorophore probe. *Analytica chimica acta*, 584(1), 19-27.
50. Panchenko, T., Evseeva, M., & Ranskiy, A. (2014). Copper (II) and nickel (II) with N, N'-bis (salicylidene) thiosemicarbazide heterometal complex compounds.
51. Kandemirli, F., Saracoglu, M., Bulut, G., Ebenso, E., Arslan, T., & Kayan, A. (2012). Synthesis and Theoretical Study of Zinc (II) and Nickel (II)-Complexes of 5-Methoxyisatin 3-[N-(4-chlorophenyl) thiosemicarbazone]. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*, 44(1), 34-50.
52. Kandemirli, F., Arslan, T., Karadayı, N., Ebenso, E. E., & Köksoy, B. (2009). Synthesis and theoretical study of 5-methoxyisatin-3-(N-cyclohexyl) thiosemicarbazone and its Ni (II) and Zn (II) complexes. *Journal of molecular structure*, 938(1), 89-96.
53. Arora, S., Agarwal, S., Singhal, S. Anticancer Activities of Thiosemicarbazide/Thiosemicarbazone. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6 (9), 34-61.
54. Al-Obaidi, O. H. (2012). Synthesis, Characterization, DNA- Binding Interaction Studies and Antimicrobial Screening Mixed-Lligand Cu (II) and Mn (II) Complexes. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 2 (5), 27-32.
55. Parul, N., Subhangkar, N., & Arun, M. (2012). Antimicrobial activity of different thiosemicarbazone compounds against microbial pathogens. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(5), 351-363.
56. Tomić, M. (2016). *sinteza tiosemikarbazida na bazi kumarina kao potencijalnih antioksidansa* (Doctoral dissertation, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek. Department of biology.).
57. Kandemirli, F., Choudhary, M. I., Siddiq, S., Saracoglu, M., Sayiner, H., Arslan, T., & Köksoy, B. (2012). Quantum Chemical Calculations for some Isatin Thiosemicarbazones. In *Quantum Chemistry-Molecules for Innovations*. InTech.

58. Özkan, O. E., Zengin, G., Akça, M., Baloglu, M. C., Olgun, Ç., Altuner, E. M., & Vurdu, H. (2015). DNA protection, antioxidant, antibacterial and enzyme inhibition activities of heartwood and sapwood extracts from juniper and olive woods. *RSC Advances*, 5(89), 72950-72958.
59. Pakravan, P., & Masoudian, S. (2015). Study on the Interaction between isatin- β -thiosemicarbazone and calf thymus DNA by spectroscopic techniques. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 111.
60. Benesi, H. A., & Hildebrand, J. H. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703-2707.
61. Venkatesha, K., Rayamb, P., Sekha, K. B. C., Mukkantia, K. (2016). Synthesis, Characterization and Biological Activity of Some New Thiosemicarbazide Derivatives and their Transition Metal Complexes. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutica Technology*, 7 (1), 258-266.
62. Sirajuddin, M., Ali, S., & Badshah, A. (2013). Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, 1-19.
63. Kandemirli, F., Choudhary, M. I., Siddiq, S., Saracoglu, M., Sayiner, H., Arslan, T., & Köksoy, B. (2012). Quantum Chemical Calculations for some Isatin Thiosemicarbazones. In *Quantum Chemistry-Molecules for Innovations*. InTech..
64. Wei, C., Wang, J., & Zhang, M. (2010). Spectroscopic study on the binding of porphyrins to (G 4 T 4 G 4) 4 parallel G-quadruplex. *Biophysical chemistry*, 148(1), 51-55.
65. Pakravan, P., & Masoudian, S. (2015). Study on the Interaction between isatin- β -thiosemicarbazone and calf thymus DNA by spectroscopic techniques. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 111.
66. Benesi, H. A., & Hildebrand, J. H. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703-2707.
67. Sirajuddin, M., Ali, S., & Badshah, A. (2013). Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, 1-19.
68. Pakravan, P., & Masoudian, S. (2015). Study on the Interaction between isatin- β -thiosemicarbazone and calf thymus DNA by spectroscopic techniques. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 111.
69. TADA, R. M., MAHETA, T. S., GONDALIYA, M. B., & SHAH, M. K. (2013). Synthesis and Characterization of Cu (II), Ni (II) and Co (II) Based 1, 4-Substituted Thiosemicarbazone Complexes. *ChemSci Trans*, 2(1), 135-40.

70. Pakravan, P., & Masoudian, S. (2015). Study on the Interaction between isatin- β -thiosemicarbazone and calf thymus DNA by spectroscopic techniques. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 111.
71. Benesi, H. A., & Hildebrand, J. H. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703-2707.
72. Sirajuddin, M., Ali, S., & Badshah, A. (2013). Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, 1-19.
73. Kong, L., Liu, Z., Hu, X., & Liu, S. (2011). Interaction of polymyxin B with ds-DNA, and determination of DNA or polymyxin B via resonance Rayleigh scattering and resonance non-linear scattering spectra. *Microchimica Acta*, 173(1-2), 207-213.
74. Kong, L., Liu, Z., Hu, X., Liu, S., & Li, W. (2012). Interaction between insulin and calf thymus DNA, and quantification of insulin and calf thymus DNA by a resonance Rayleigh scattering method. *Microchimica Acta*, 179(3-4), 307-313.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ahmed Ramdan Ali Abujarida
Doğum Tarihi/Yeri : 27.3.1987 Msallatah.Libya
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : Ahmedramdan1987@gmail.com



Eğitim Geçmişi

Lise : Tariq ibn Ziyad
Lisans : Medikal Teknoloji – Msallatah