

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİBİYOTİK VE ANTİOKSİDAN YAPILAR İÇEREN BİYOUYUMLU
POLİHEDRAL OLİGOMERİK SİLSESKİOKSAN (POSS) NANO
KONJUGATLARIN HAZIRLANMASI VE BİYOKİMYASAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

İDİL KARACA AÇARI

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

OCAK 2016

Tezin Başlığı: Antibiyotik ve Antioksidan Yapılar İçeren Biyouyumlu Polihedral Oligomerik Silseskioksan (POSS) Nano Konjugatların Hazırlanması ve Biyokimyasal Aktivitelerinin İncelenmesi

Tezi Hazırlayan: **İdil KARACA AÇARI**

Sınav Tarihi: 15 Ocak 2016

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

Prof. Dr. Turgay SEÇKİN
İnönü Üniversitesi


.....

Prof. Dr. Fikret KARATAŞ
Fırat Üniversitesi


.....

Prof.Dr. İsmet YILMAZ (Danışman)
İnönü Üniversitesi


.....

Prof.Dr. Burhan ATEŞ
İnönü Üniversitesi


.....

Doç. Dr. Süleyman KÖYTEPE
İnönü Üniversitesi


.....

Prof. Dr. Alaaddin ESEN
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Doktora tezi olarak sunduğum “*Antibiyotik ve Antioksidan Yapılar İçeren Biyouyumlu Polihedral Oligomerik Silseskioksan (POSS) Nano Konjugatların Hazırlanması ve Biyokimyasal Aktivitelerinin İncelenmesi* ” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı dūřecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

İdil KARACA AARI

İmza

Küçücük bedeni ve ruhuyla benim doktora eğitimimin yoğunluğuna kimi zaman buğulu gözlerle, kimi zaman tarifsiz özlemle katlanan canımın içi kızım, bu sonsuz sabrın için sana minnettarım...

Hayatımın anlamları olan kızım İDDA ve eşim EYHAN'a ...

ÖZET

Doktora Tezi

ANTİBİYOTİK VE ANTİOKSİDAN YAPILAR İÇEREN BİYOUYUMLU POLİHEDRAL OLİGOMERİK SİLSESKİOKSAN (POSS) NANO KONJUGATLARIN HAZIRLANMASI VE BİYOKİMYASAL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

İdil Karaca Açı

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

114 + xv sayfa

Danışman: Prof.Dr. İsmet YILMAZ

Nanoboyutlu malzemeler üzerine gerçekleştirilen çalışmalar son yıllarda büyük bir gelişme göstermektedir. Bu gelişmeye dahil olmak adına tez kapsamında, antibiyotik ve antioksidanlar için çok daha etkin, biyoyumlu, nano boyutlu formülasyonların ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda kolayca fonksiyonelleştirilebilir, biyoyumlu, nano boyutlu POSS (polihedral oligomerik silseskioksan) yapısı tercih edilmiştir.

Bu tercih doğrultusunda POSS temelli sefotaksim, metronidazol, melatonin ve *N*-asetil-L-sistein (NAC) içeren yeni formülasyonlar sentezlendi. Yapıların karakterizasyonları FTIR, NMR, SEM-EDX ve termal özellikleri DTA, TGA, DSC gibi termal analiz sistemleri ile belirlendi. Antibakteriyel test sonuçlarımızda IC_{50} değerleri *E.coli* bakterisinde POSS-Sefotaksim nano konjugatı ve sefotaksim için sırasıyla $11,51 \pm 3,02$ ve $62,71 \pm 14,30 \mu g/mL$ olarak belirlenmiş, *S.aureus* bakterisinde ise POSS-Sefotaksim ve sefotaksim için IC_{50} değerleri sırasıyla $26,20 \pm 11,14$ ve $144,17 \pm 20,90 \mu g/mL$ olarak belirlenmiştir. POSS-Metronidazol nano konjugatında *E.coli* ve *S.aureus* için IC_{50} değerleri sırasıyla $304,17 \pm 7,2$ ve $260,00 \pm 17,32 \mu g/mL$, metronidazol'de ise *E.coli* için IC_{50} $1933,33 \pm 115,47 \mu g/mL$ ve *S.aureus* için IC_{50} $1416,67 \pm 144,33 \mu g/mL$ olarak belirlenmiştir. POSS-Sefotaksim ve POSS-Metronidazol nano konjugatlarının saf sefotaksim ve metronidazol antibiyotiklerine göre IC_{50} değerlerindeki düşüşler istatistiksel olarak anlamlı olup ($p < 0.05$) istenilen yüksek antibakteriyel etkinlik elde edilmiştir. POSS-Melatonin ve saf melatonin ABTS radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon olarak $41,91 \pm 0,80$ ve $14,05 \pm 0,43$ bulunmuştur ($p < 0.05$). POSS-NAC konjugatında ise radikal süpürme özelliği saf NAC bileşiği ile benzer olarak belirlenmiştir.

Tez kapsamında; tek bir molekülde birden fazla sayıda etkin grup bulundurularak, düşük doz uygulamalarında yüksek düzeyde antibakteriyel ve antioksidan aktiviteye sahip nano konjugat formülasyonları elde edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Polihedral oligomerik silseskioksan, sefotaksim, metronidazol, melatonin, *N*-asetil- L-sistein

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE PREPARATION OF POLYHEDRAL OLIGOMERIC SILSESQUIOXANE NANO CONJUGATES CONTAINING ANTIBIOTIC & ANTIOXIDANT STRUCTURES AND ANALYSIS OF BIOCHEMICAL ACTIVITY

Idil Karaca Acarı

Inonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

114 + xv pages

Supervisor: Prof.Dr. Ismet YILMAZ

Studies carried out on nano-sized materials have been showing a great improvement in recent years. In order to contribute this development, this thesis was aimed to put forward biocompatible nano formulations for more effective antibiotics and antioxidants. For this purpose, easily functionalized, biocompatible nano POSS (polyhedral oligomeric silsesquioxane) structure that could be formulated was preferred.

For this reason, the new formulations including POSS-based cefotaxime, metronidazole, melatonin and *N*-acetyl-L-cysteine (NAC) were synthesized. The structural characterization of materials were determined with NMR, FTIR, SEM-EDX and the thermal properties of structures were determined by thermal analysis systems like DTA, TGA and DSC. According to our antibacterial test results with *E.coli* bacteria, the values of IC₅₀ was measured as 11,51±3,02 and 62,71±14,30µg/mL for POSS-Cefotaxime nano conjugate and cefotaxime, respectively. In addition, from the antibacterial test results with *S.aureus* bacteria, the values of IC₅₀ was found to be 26,20±11,14 and 144,17±20,90µg/mL for POSS-Cefotaxime and cefotaxime. For POSS-Metronidazole nano conjugate, the values of IC₅₀ was measured as 304,17±7,22 and 260,00±17,32µg/mL from the *E.coli* and *S.aureus* bacteria, respectively. Also, for metronidazole, the values of IC₅₀ was measured as 1933,33±115,47 and 1416,67±144,33µg/mL from the *E.coli* and *S.aureus* bacteria, respectively. When compared to pure cefotaxime and metronidazole antibiotics, higher antibacterial activity has been achieved from POSS-Cefotaxime and POSS-Metronidazole nano conjugates with reduced IC₅₀ values, which are statistically meaninful (p<0.05). POSS-Melatonin and pure melatonin ABTS radical scavenging activity was found to be %41,91±0,80 and %14,05±0,43 inhibition (p<0.05). In POSS-NAC conjugate, radical scavenging property was determined to be similar to the NAC pure compounds.

In this thesis; nano conjugated formulations were obtained by taking multiple active groups to one molecule in low dose applications offering relatively high antibacterial and antioxidant activities.

KEYWORDS: Polyhedral oligomeric silsesquioxane, cefotaxime, metronidazole, melatonin, *N*-acetyl-L-cysteine

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgisini, tecrübelerini, önerilerini içtenlikle paylaşan, donanımlı bilim insanı olmanın yanında iyi bir insan olmayı da bize aşılayan, öğrencisi olmaktan onur duyduğum değerli hocam sayın Prof.Dr. İsmet YILMAZ'a,

Kapısını her daim çaldığımda yeni ufuklarla odasından ayrıldığım, bilgi ve görüşlerine son derece saygı duyduğum, laboratuvarını sonuna kadar bizlere açan değerli hocam sayın Prof.Dr. Turgay SEÇKİN'e,

Tez aşamasında mesleki ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, olumlu katkıları unutulmayacak değerli hocam Prof.Dr. Burhan ATEŞ'e,

Doktora eğitim sürecimin tamamında engin bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tezimin her aşamasında bana fedakarca yardım eden, her zaman desteğini hissettiğim değerli hocam Doç.Dr. Süleyman KÖYTEPE'ye,

Çalışmayı felsefe edinmiş, manevi desteğini tüm çalışanlarına sonuna kadar sunan, iyi bir idareci olmanın güzel örneği değerli hocam, Yrd.Doç.Dr. Yunus ÖNAL'a,

Moral ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, hücre kültürü konusunda engin bilgilerini sonuna kadar benimle paylaşan ömürlük dostum Arş.Gör. Ünzile KELEŞTEMUR'a,

Hücre kültürü aşamasında katkıları unutulmayan, bitmek bilmeyen enerjisi, bilim heyecanı ile biyokimya laboratuvarının tatlı cadısı, kardeşim Sevgi BALCIOĞLU'na,

Manevi desteklerini her daim aldığım fizikokimya laboratuvarının güzel yürekli çiçekleri, Büşra AKSOY, İmren ÖZCAN ve Selda SEZER'e,

Araştırmamın antibakteriyel kısmında bakterileri temin ettiğim İnönü Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Laboratuvarına, antibakteriyel çalışmaları öğrenmem ve

donanımlı hale gelmemde yardımlarını esirgemeyen Uzman Biyolog Ayfer SERİNDAG, Dr. Elif ÖZBEY'e, laboratuvarlarını kullandığım değerli hocalarım Prof.Dr. Hikmet GEÇKİL, Prof.Dr. Dilek ASMA, Prof.Dr. Özfer YEŞİLADA ve Doç.Dr. Elif APOHAN'a,

Manevi desteklerini unutmayacağım, yanlarından hep tebessüm ile ayrıldığım değerli dostlarım Uzm. Onur ÖZGÜL, Uzman. Burak KANDİ, Uzm.Dr. Canan GÜRSOY'a,

Her zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemediğim yanımda olan canım BABAM, ANNEM ve KARDEŞLERİM'e,

2009 yılından bu yana hayatıma dahil olan, yüreğini yüreğimde, desteğini hep omuzlarımda hissettiğim değerli eşim Uzm.Dr. CEYHUN AÇARI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmaya 2013/157 nolu “*Antibiyotik ve Antioksidan Yapılar İçeren Biyoyumlu Polihedral Oligomerik Silseskioksan (POSS) Nano Konjugatların Hazırlanması ve Biyokimyasal Aktivitelerinin İncelenmesi*” başlıklı proje ile finansal destek sunan, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nano-Nanoteknoloji	3
2.2. Farklı Tiplerde Nanoparçacıklar	4
2.2.1. Polihedral oligomerik silseskioksan (POSS)	4
2.2.1.1. Polihedral oligomerik silseskioksan (POSS)' un fonksiyonlaştırılması	7
2.2.1.2. Tek fonksiyonlu POSS	7
2.2.1.3. Çok fonksiyonlu POSS	8
2.2.1.4. Polihedral oligomerik silseskioksan (POSS)' un tıp alanındaki uygulamaları	9
2.3. Nano Yapılarla İlaç Tasarımı	10
2.4. Antibiyotikler ve Önemi	11
2.4.1. Antibiyotiklerin sınıflandırılmaları	13
2.4.1.1. Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılmaları	13
2.4.1.2. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmaları	13
2.4.2. Antibiyotik duyarlılık testleri	14
2.4.2.1. Difüzyon testler	14
2.4.2.1.1. Disk difüzyon testi	14
2.4.2.1.2. E-test	14
2.4.2.2. Dilüsyon testleri	15
2.4.2.2.1. Tüp dilüsyon	15
2.4.2.2.2. Mikrodilüsyon testi	16
2.4.3. Sefotaksim (Sefotaksim Sodyum)	17

2.4.4	Metronidazol	19
2.5.	Antioksidanlar ve Önemi	20
2.5.1.	Reaktif oksijen türleri ve oksidatif stres	20
2.5.2.	Antioksidanlar	21
2.5.3.	Antioksidan aktivite tayinleri	23
2.5.4.	<i>N</i> -Asetilsistein (NAC)	24
2.5.5.	Melatonin	25
2.5.5.1.	Melatoninin antioksidan etkisi	27
3.	MATERYAL VE METOD	29
3.1.	Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar	29
3.1.1.	Deneysel çalışmada kullanılan kimyasal maddeler	29
3.2.	Antibakteriyel Aktivite Belirlemede Kullanılan Besiyerleri ve Bakteriler	32
3.3.	Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihazlar	32
3.3.1.	Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FTIR)	32
3.3.2.	Nükleer manyetik rezonans (NMR)	33
3.3.3.	Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	33
3.3.4.	Termogravimetrik analizör (TGA)	33
3.3.5.	Diferansiyel termal analizör (DTA)	33
3.3.6.	Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)	34
3.3.7.	Elisa mikropate okuyucu	34
3.3.8.	Rotary evaporatör	34
3.3.9.	CO ₂ inkübatör	34
3.3.10.	İnvert mikroskop	34
3.3.11.	Laminar flow kabin	34
3.3.12.	Su banyosu	35
3.4.	Sentezler	35
3.4.1.	Klorofonksiyonel POSS yapılarının sentezi (POSS-Cl)	35
3.4.2.	Aminofonksiyonel POSS yapılarının sentezi (POSS-NH ₂)	35
3.4.3.	POSS-Sefotaksim sentezi	36
3.4.4.	POSS-Metronidazol sentezi	37
3.4.5.	POSS-Melatonin sentezi	38

3.4.6.	POSS-NAC sentezi	39
3.5.	Antioksidan Aktivite Testleri	41
3.5.1.	ABTS radikal süpürme aktivitesi tayini	41
3.5.2.	İndirgeme gücü	42
3.6.	Antibakteriyel Aktivite Belirleme	42
3.7.	<i>İn Vitro</i> Biyouyumluluk Özelliklerinin Belirlenmesi	43
3.7.1.	MTT testi	43
3.8.	İstatistiksel Analiz	44
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	45
4.1.	Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim Yapısına Ait Bulgular	46
4.1.1.	Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısal karakterizasyon FTIR sonuçları	46
4.1.2.	Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısal karakterizasyon NMR sonuçları	47
4.1.3.	Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait termal analiz sonuçları	49
4.1.4.	Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait yüzey analiz sonuçları	51
4.1.5	Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait biyokimyasal ve hücre kültürü sonuçları	54
4.1.5.1.	Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait antibakteriyel aktivite sonuçları	55
4.1.5.2.	Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait hücre kültürü sitotoksite sonuçları	56
4.2.	Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol Yapısına Ait Bulgular	58
4.2.1.	Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısal karakterizasyon FTIR sonuçları	58
4.2.2.	Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısal karakterizasyon NMR sonuçları	59

4.2.3.	Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait termal analiz sonuçları	61
4.2.4.	Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait yüzey analiz sonuçları	63
4.2.5.	Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait biyokimyasal ve hücre kültürü sonuçları	66
4.2.5.1.	Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait antibakteriyel aktivite sonuçları	66
4.2.5.2.	Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait hücre kültürü sitotoksite sonuçları	66
4.3.	Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin Yapısına Ait Bulgular	68
4.3.1.	Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısal karakterizasyon FTIR sonuçları	68
4.3.2.	Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısal karakterizasyon NMR sonuçları	69
4.3.3.	Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait termal analiz sonuçları	71
4.3.4.	Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait yüzey analiz sonuçları	73
4.3.5.	Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait biyokimyasal ve hücre kültürü sonuçları	76
4.3.5.1.	Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait antioksidan aktivite sonuçları	76
4.3.5.2.	Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait hücre kültürü sitotoksite sonuçları	77
4.4.	Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC Yapısına Ait Bulgular	78
4.4.1.	Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC Yapısal karakterizasyon FTIR sonuçları	78
4.4.2.	Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısal karakterizasyon NMR sonuçları	79

4.4.3.	Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait termal analiz sonuçları	81
4.4.4.	Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait yüzey analiz sonuçları	83
4.4.5.	Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait biyokimyasal ve hücre kültürü sonuçları	86
4.4.5.1.	Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait antioksidan aktivite sonuçları	86
4.4.5.2.	Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait hücre kültürü sitotoksite sonuçları	87
5.	SONUÇ TARTIŞMA	89
6	BEKLENTİLER	96
7.	KAYNAKLAR	97
	ÖZGEÇMİŞ	109

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Nanoteknoloji’de boyut karşılaştırması	3
Şekil 2.2.	Nanoteknolojinin ticarileştirilmesinde dört kuşak zaman çizelgesi	4
Şekil 2.3.	a) POSS genel yapısı ve b) Üç boyutlu POSS yapısı	5
Şekil 2.4.	Farklı silseskioksan yapıları	6
Şekil 2.5.	Tek fonksiyonlu POSS sentezine genel yaklaşımlar	7
Şekil 2.6.	Çok fonksiyonlu POSS sentezinin bir örneği; (oktakis[dimetil(fenetil)siloksi] silseskioksan, OS-POSS)	9
Şekil 2.7.	Alexander Fleming	11
Şekil 2.8.	Antibiyotiklerin kronolojik keşfi ve ilaca dirençli bakterilerin ortaya çıkması	12
Şekil 2.9.	Disk difüzyon testi	14
Şekil 2.10.	E-test	15
Şekil 2.11.	Tüp dilüsyon şematik gösterim	16
Şekil 2.12.	Mikrodilüsyon işlem basamakları	17
Şekil 2.13.	Sefotaksim moleküler yapısı	18
Şekil 2.14.	Sefalosporinlerin sınıflandırılması	18
Şekil 2.15.	Metronidazol moleküler yapısı	19
Şekil 2.16.	Oksidatif stres	20
Şekil 2.17.	NAC	24
Şekil 2.18.	Akut solunum sıkıntılarında NAC kullanımı	24
Şekil 2.19.	NAC’ın sistein için bir öncül olması ve antioksidan etkisi	25
Şekil 2.20.	Melatonin	25
Şekil 2.21.	Melatonin sentez basamakları	26
Şekil 3.1.	Klorofonksiyonel POSS yapılarının sentezi	35
Şekil 3.2.	Aminofonksiyonel POSS yapılarının sentezi	36
Şekil 3.3.	POSS-Sefotaksim yapılarının sentezi	37
Şekil 3.4.	POSS-Metronidazol sentezi	38
Şekil 3.5.	POSS-Melatonin sentezi	39
Şekil 3.6.	Aminofonksiyonel POSS yapısının azidlenmesi	40
Şekil 3.7.	NAC ile proparjil bromür etkileşmesi	40

Şekil 3.8.	POSS-NAC sentezi	41
Şekil 4.1.	POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim'e ait FTIR spektrumları	46
Şekil 4.2.	POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim'e ait ^1H NMR spektrumları	48
Şekil 4.3.	POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim'e ait TGA termogramları	49
Şekil 4.4.	POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim'e ait DTA termogramları	49
Şekil 4.5.	POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim'e ait DSC termogramları	50
Şekil 4.6.	POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim için farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri	52
Şekil 4.7.	POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim için EDX-elementel haritalama görüntüleri	53
Şekil 4.8.	Sefotaksim, POSS-Sefotaksim IC_{50} değerleri	56
Şekil 4.9.	POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim L-929 fibroblast hücre canlılığı sonuçları ve görüntüleri	57
Şekil 4.10.	POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait FTIR spektrumları	58
Şekil 4.11.	POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait ^1H NMR spektrumları	60
Şekil 4.12.	POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait TGA termogramları	61
Şekil 4.13.	POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait DTA termogramları	61
Şekil 4.14.	POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait DSC termogramları	62
Şekil 4.15.	POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol için farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri	63

Şekil 4.16.	POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol için EDX-elementel haritalama görüntüleri	64
Şekil 4.17.	Metronidazol, POSS-Metronidazol IC ₅₀ değerleri	66
Şekil 4.18.	POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol L-929 fibroblast hücre canlılığı sonuçları ve görüntüleri	67
Şekil 4.19.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin'e ait FTIR spektrumları	68
Şekil 4.20.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin'e ait ¹ H NMR spektrumları	70
Şekil 4.21.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin'e ait TGA termogramları	71
Şekil 4.22.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin'e ait DTA termogramları	71
Şekil 4.23.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin'e ait DSC termogramları	72
Şekil 4.24.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin için farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri	74
Şekil 4.25.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin için EDX-elementel haritalama görüntüleri	75
Şekil 4.26.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin için indirgeme gücü ve ABTS radikal giderme etkileri	76
Şekil 4.27.	POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin L-929 fibroblast hücre canlılığı sonuçları ve görüntüleri	77
Şekil 4.28.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC'a ait FTIR spektrumları	78
Şekil 4.29.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC'a ait ¹ H NMR spektrumları	80
Şekil 4.30.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC'a ait TGA termogramları	81
Şekil 4.31.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC'a ait DTA termogramları	82
Şekil 4.32.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC'a ait DSC termogramları	83
Şekil 4.33.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC için farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri	84

Şekil 4.34.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC için EDX-element haritalama görüntüleri	85
Şekil 4.35.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC için indirgeme gücü ve ABTS radikal giderme etkileri	86
Şekil 4.36.	POSS-NH ₂ , NAC, POSS-NAC L-929 fibroblast hücre canlılığı ve görüntüleri	88

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 2.1.	Antibakteriyel maddelerin etki mekanizması	13
Tablo 2.2.	Antioksidan koruma sistemi	22
Tablo 3.1.	POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol, POSS-Melatonin, POSS-NAC sentezinde kullanılan kimyasallar maddeler	29
Tablo 3.2.	POSS-Melatonin, POSS-NAC antioksidan aktivite belirlemede kullanılan kimyasallar maddeler	31
Tablo 3.3.	POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol, POSS-Melatonin, POSS-NAC'ın hücre kültürü sitotoksikite belirlemede gerekli kimyasallar	32
Tablo 4.1.	Kontrol ve POSS-Cl bakteri canlılığı- konsantrasyon ilişkisi	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
CFU	Koloni oluşturan birim
DMEM	Dulbecco modifiye eagle besiyeri
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamit
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
DTA	Diferansiyel termal analizör
EDX	Enerji dağılımlı X-Ray analizi
FBS	Fetal sığır serumu
FTIR	Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopi
IC ₅₀	%50 inhibisyona neden olan maksimal konsantrasyon
MBK	Minimum bakterisid konsantrasyon
MHB	Müller hinton broth besiyeri
MIK	Minimum inhibitör konsantrasyonu
MTT	Metiltiazol difenil tetrazolyum
NAC	<i>N</i> -asetil-L-sistein
NMR	Nükleer manyetik rezonans
POSS	Polihebral oligomerik silseskioksan
POSS-Cl	Klorofonksiyonel polihedral oligomerik silseskioksan
POSS-NH ₂	Aminofonksiyonel polihedral oligomerik silseskioksan
ROT	Reaktif oksijen türleri
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TGA	Termogravimetrik analizör

1. GİRİŞ

Son yıllarda nanoteknoloji ve nanomalzemeler hayatımızın her alanını kuşatmış ve bizler için vazgeçilmez hale gelmeye başlamışlardır. Bunun en önemli nedeni bir malzemenin nanoboyutta, makroboyuttaki haline göre hem etkinlik hem de yüzey modifikasyonları açısından önemli avantajlar içermesidir. Bu nedenle nanomalzemeler birçok alanda kullanılmakla beraber medikal alanda daha etkin ve verimli ilaç ve formülasyonlarının hazırlanmasında yoğun ilgi görmektedirler. Ayrıca klasik taşıyıcılar yalnızca ilaç moleküllerini genel dolaşıma sunarken, nano yapılarla hazırlanan ilaç formülasyonlarının güçlü yönü, istenilen yüzey modifikasyonları ile parçacıklara belirgin hedef özelliklerin kazandırılabilmesidir (Wilson vd., 2010). Bu bilgiler ışığında ilaçların farklı formülasyonlarla hazırlanması ve etkinliğin artırılması önemli bir çalışma konusu olup bu tez antibiyotik ve antioksidanlar için yeni nesil nano formülasyonları geliştirmeyi hedef almıştır.

Bilinçsiz ilaç kullanımı sonucu giderek artan bir sorun olmaya başlayan çoklu antibiyotik direnci, mikroorganizmalara bağlı gelişen enfeksiyonların tedavisinde önemli sorunlar yaşanmasına neden olmaktadır. Dirençli bakterilerle meydana gelen enfeksiyonlar hastanede yatış süresini uzatmakta, sağlık hizmetleri giderlerini arttırmakta ve en önemlisi morbiditede, mortalitede ciddi artışa yol açmaktadır (Sancak, 2011). Ülkemiz gibi ilaç kullanımının çok yüksek olduğu toplumlarda antibiyotik direncinin gelişme riski daha yüksek olup bu durum yeni antibiyotik dizaynlarına duyulan ihtiyacı beraberinde getirmektedir. Antioksidanların hastalıkların patogeneğinde serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasarın gideriminde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle hastane enfeksiyonlarının neden olduğu ciddi hastalıklarda antibiyotik tedavisi yanında destek antioksidan tedavilerine de ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle hem antibiyotiklerin hem de antioksidanların daha etkin bir şekilde kullanılmasına imkân veren yeni formülasyonların hazırlanması elzemdir.

Bu bilgiler ışığında tez çalışması kapsamında nano boyutta yeni antibiyotik ve antioksidan formülasyonlarının hazırlanması için, taşıyıcı olarak biyouyumlu, kübik kafes yapısına sahip kolayca fonksiyonlaştırılabilir nano boyutta olan polihedral oligomerik silseskioksan (POSS) tercih edilmiştir. Ayrıca POSS yapısının önemli bir özelliği sekiz köşesine bağlanan gruplar birbirlerinden eşit ve sterik olarak maksimum uzaklıkta bulunması nedeniyle işlevselliklerini kaybetmezler. Böylece

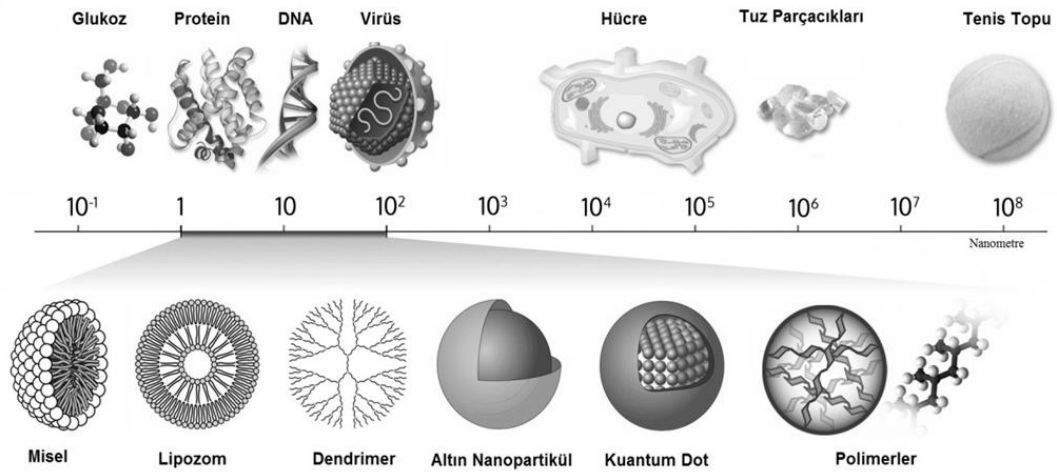
tek bir molekülde birden fazla sayıda etkin grup bulunduran ve işlevsel özelliğini kaybetmeyen etkin antibakteriyel ve antioksidan formülasyonların hazırlanması planlanmıştır. Bu hedef doğrultusunda, POSS temelli sefotaksim, metronidazol antibiyotikleri ve melatonin, *N*-asetil-L-sistein antioksidanları kullanılarak POSS-antibiyotik ve POSS-antioksidan formülasyonları hazırlanmıştır. Tüm formülasyonların kimyasal, termal ve etkinlik bakımından karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen POSS-antibiyotik, POSS-antioksidan formülasyonlar için; yapısal ve termal karakterizasyonlarda FTIR, NMR, TGA, DTA ve DSC teknikleri kullanılmıştır. Yüzey analizleri SEM-EDX cihazı ile belirlenmiştir. *In vitro* sitotoksiteleri MTT testi ile gerçekleştirilmiştir. POSS-antibiyotik yapıların antibakteriyel etkinliklerini belirlemede broth mikrodilüsyon metodu kullanılmıştır. POSS-antioksidan yapıların radikal süpürme aktiviteleri ise ABTS ve indirgeme gücü metodları ile belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nano-Nanoteknoloji

Nano terimi, fiziksel bir büyüklüğün bir milyarda birini ifade etmektedir. Nanometre, 1 metrenin milyarda biridir. Bir nanometre, aşağı yukarı orta büyüklükte bir molekülün, örneğin 60 karbon atomu içeren bir molekülün boyutundadır (Sharifzadeh, 2006; Taylor, 2002; Leary, 2010).



Şekil 2.1. Nanoteknoloji’de boyut karşılaştırması

Nanobilim, 100 nm’den küçük, birkaç nm arasında değişen küçük boyutlara sahip nesnelerin bilimidir (Whitesides, 2005). Nanoteknoloji ise, nano ölçekte yüksek performanslı ürünler yapmak için geliştirilmiş olan teknik ve ekipmanları kullanmayı ifade eder (Bhattacharyya vd., 2009). Nanoteknoloji, malzeme bilimi, matematik, fizik, kimya, biyoloji, eczacılık, tıp, bilgisayar ve elektronik bilimleri gibi bir çok alanı bir araya getirmektedir (Arnall, 2003). Nanoteknoloji ürünlerinin 2020 yılına kadar dört ana evrede ortaya çıkacağı tahmin edilmektedir (Roco, 2005).



Şekil 2.2. Nanoteknolojinin ticarileştirilmesinde dört kuşak zaman çizelgesi

2.2. Farklı Tiplerde Nanoparçacıklar

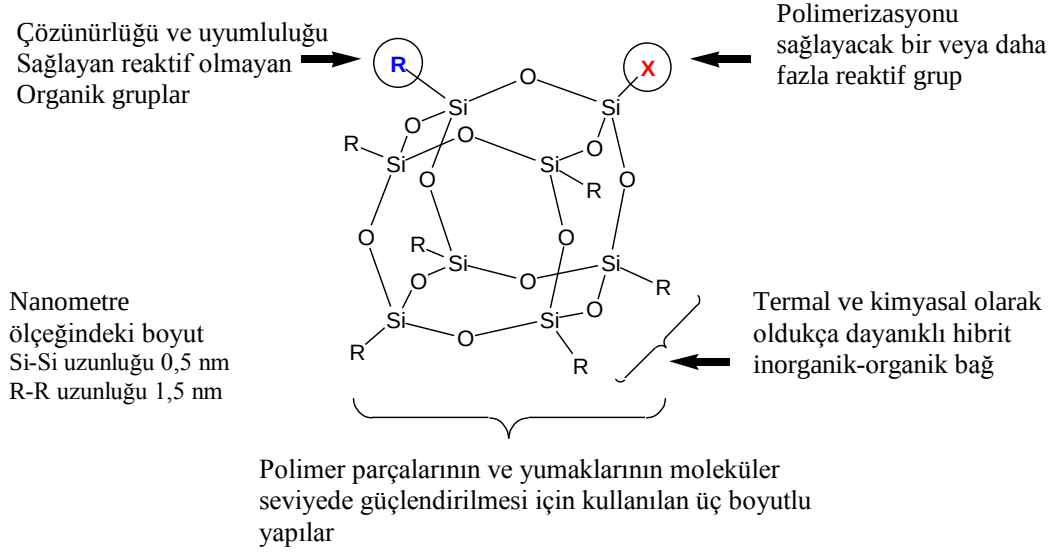
Literatürlerde oldukça yaygın kullanılan nanoparçacıklar aşağıda belirtilmiştir (Deniz, 2012).

- Montmorillonite organokiller (MMT)
- Karbon nanofiberler (CNFs)
- Polihedral oligomerik silseskioksan (POSS)
- Karbon nanotüpler [çok duvarlı (MWNTs), küçük çaplı (SONTs) ve tek duvarlı (SWNTs)]
- Nanosilika (N-silica)
- Nanoalüminyum oksit (Al_2O_3)
- Nanotitanyum oksit (TiO_2)

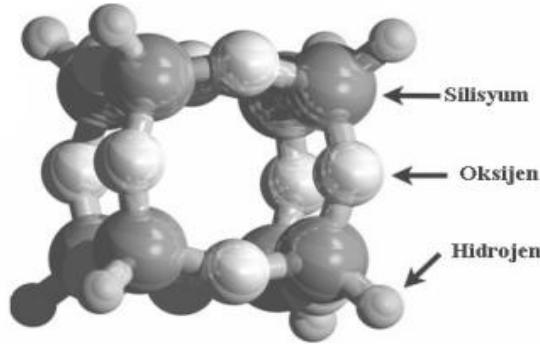
2.2.1. Polihedral oligomerik silseskioksan (POSS)

Üç fonksiyonlu silanların yoğunlaşma ürünleri silseskioksanlardır. Silseskioksan teriminin Latincedeki ön eki olan “sesqui” bir buçuk anlamına gelmektedir. Açılımı polihedral oligomerik silseskioksan (şekil 2.3) olan POSS ($\text{RSiO}_{1.5}$)_n yapısındadır ve silika (SiO_2) ile silikon (R_2SiO) arasındadır (Cordes vd., 2010). Bu yapıya göre her silikon için $\frac{1}{2}$ oksijen mevcuttur. Silseskioksan ailesine ait olan POSS, ilk olarak 1946 yılında sentezlenmiş olup boyutsal olarak

düşünüldüğünde polimer segment ve yumakları ile hemen hemen eşit büyüklüktedir. 50 Å kafes genişliğine sahip olup rombohedral kristal örgüsü göstermektedir (Belot vd., 1991; Baney vd., 1995, Pielichowski vd., 2006, Seçkin vd., 2008).

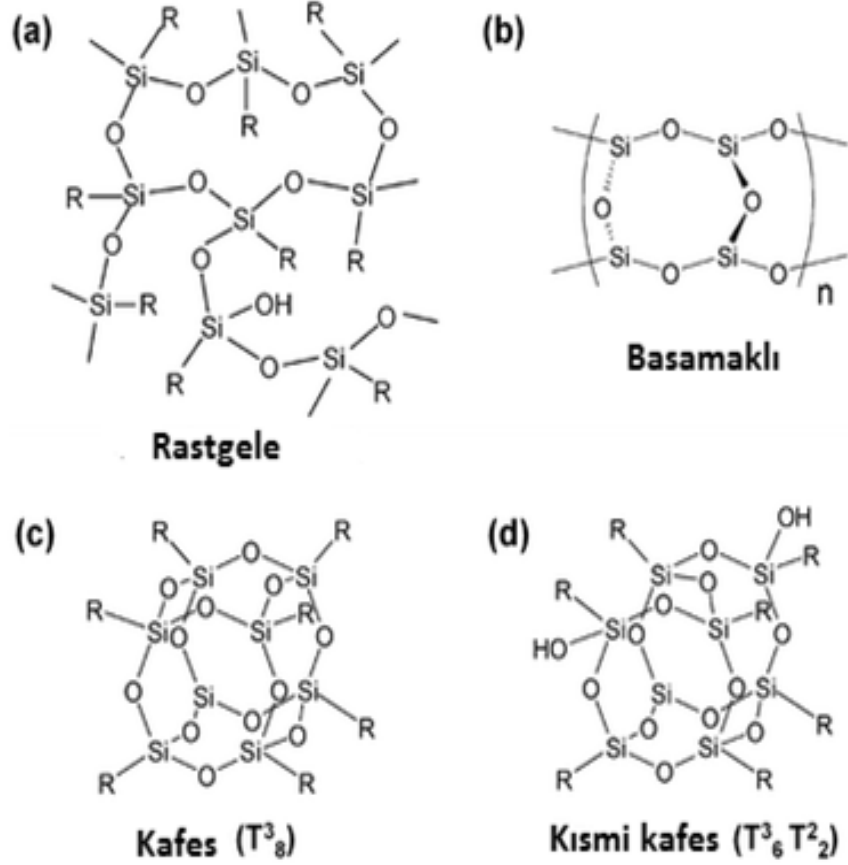


Şekil 2.3. (a) POSS genel yapısı



Şekil 2.3. (b) Üç boyutlu POSS yapısı

Silseskioksan terimi $(\text{RSiO}_{1.5})_n$ genel formülüyle ifade edilen yapı olup, R grubu hidrojen, alkil, aril, arilen veya organa-fonksiyonel alkil, aril veya arilen türevleri olabilmektedir. Silseskioksan farklı yapılarda olabilir örneğin, rastgele yapı içermenin yanı sıra, basamaklı (ladder) ve kafes örgü yapısı veya kısmi kafes yapısı da gösterebilir (Şekil 2.4) (Kanamori ve Nakanishi, 2011).



Şekil 2.4. Farklı silseskioksan yapıları

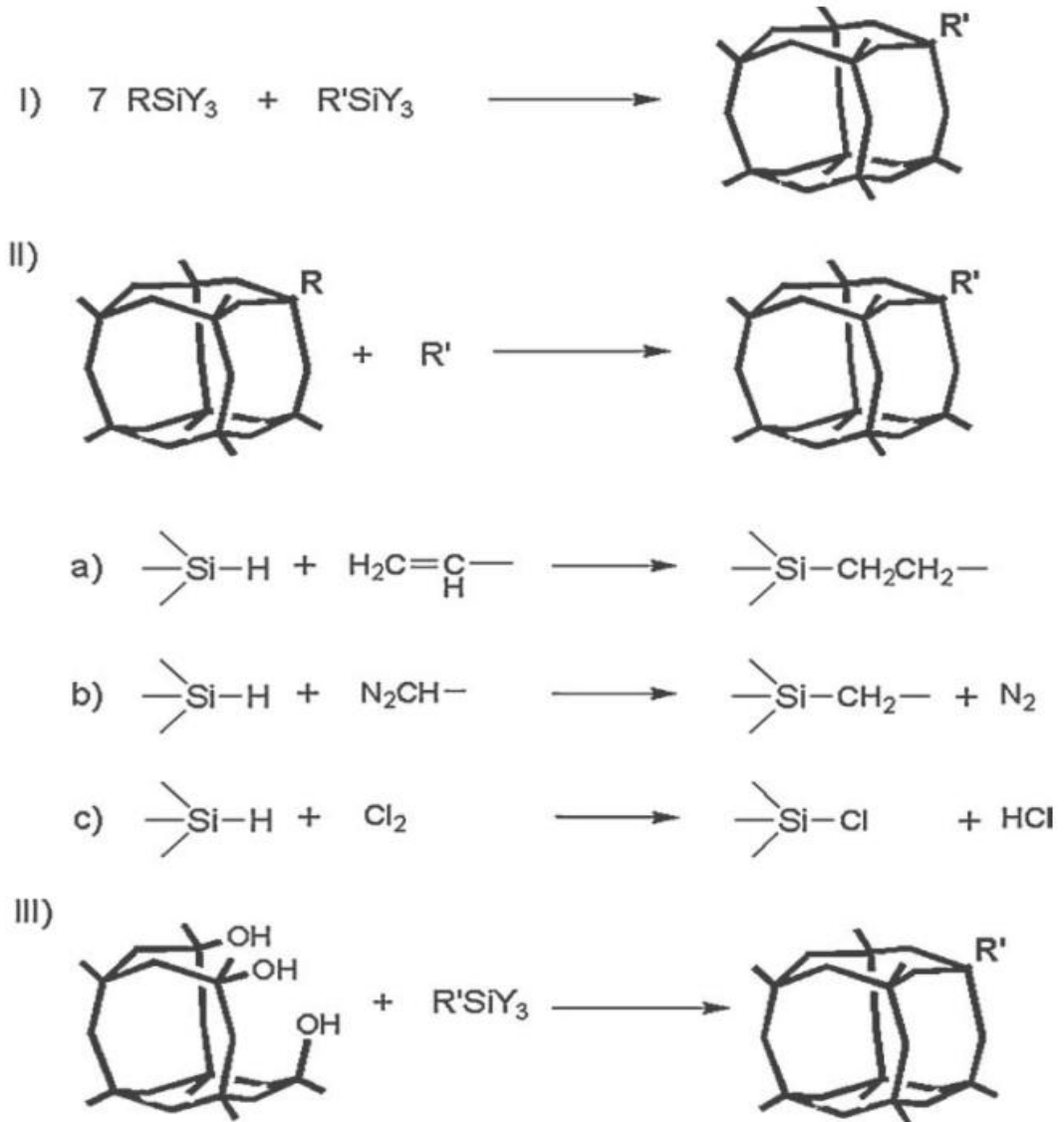
POSS molekülleri silikanın en küçük parçacıkları olarak düşünülebilir. Ancak silika ve modifiye kilden farklı olarak POSS molekülü kovalent bağlı, polimerizasyona ve graft edilmeye uygun fonksiyonel grup içerir (Feher ve Wyndham, 1998; Gravel vd., 1999, Laine, 2005). Birçok polimer siteminde POSS molekülleri reaktif olmayan ama çözünürlüğü ve uygulamada kolaylık sağlayıcı grupları içerir. POSS teknolojisinin kimyasal çeşitliliği monomer olarak oldukça fazladır. POSS monomerleri camı, elastomerik, yarı kristalin ve kristalin polimerler içerisine ilave edilebilecek özelliklere sahip olduğundan sıvı veya çözelti olarak ilave edilebilir. POSS segmentlerinin polimerik yapı içerisinde fiziksel özellikleri değiştirmesi POSS moleküllerinin hareketliliği kontrol etmesi şeklinde olmakta aynı zamanda işlenebilirlik ve mekanik özellikler korunabilmektedir (Li vd., 2001a; Fina vd., 2005, Matisons vd., 2006, Liu vd., 2007).

2.2.1.1. Polihedral oligomerik silseskioksan (POSS)' un fonksiyonlaştırılması

POSS'un kübik yapısının sekiz köşesine farklı gruplar (R = alkil, amin, imid, alkol, tiol, olefin, ester, anhidrit, asit, epoksit vb.) bağlanarak kolayca fonksiyonlaştırılabilirler (Li vd., 2001b; Li vd., 2009).

2.2.1.2. Tek fonksiyonlu POSS

Tek fonksiyonlu POSS türevleri, diğer monomerler ile polimerizasyon ve kopolimerizasyon için en yararlı bileşikler arasında yer almaktadır. Tek işlevli POSS türevlerini sentezlemek için üç genel yaklaşım söz konusudur. Bu yaklaşımlar şekil 2.5'de özetlenmiştir (Marcolli ve Calzaferi, 1999).



Şekil 2.5. Tek fonksiyonlu POSS sentezine genel yaklaşımlar

Üç genel yaklaşıma değinecek olursak;

I) Üç fonksiyonlu organo veya hidroksilanların kohidrolizi

Monomerlerin polikondenzasyonu, silseskioksanların sentezlenmesinde klasik bir yöntemdir. Farklı R gruplarına sahip monomerlerin varlığında bu reaksiyon gerçekleşir. İstenilen mono süstitüe (değişim) ürünleri de içeren hetero süstitüe bileşiklerin karışımları elde edilir.

II) Siloksan kafesin süstitüe reaksiyonları ile korunması

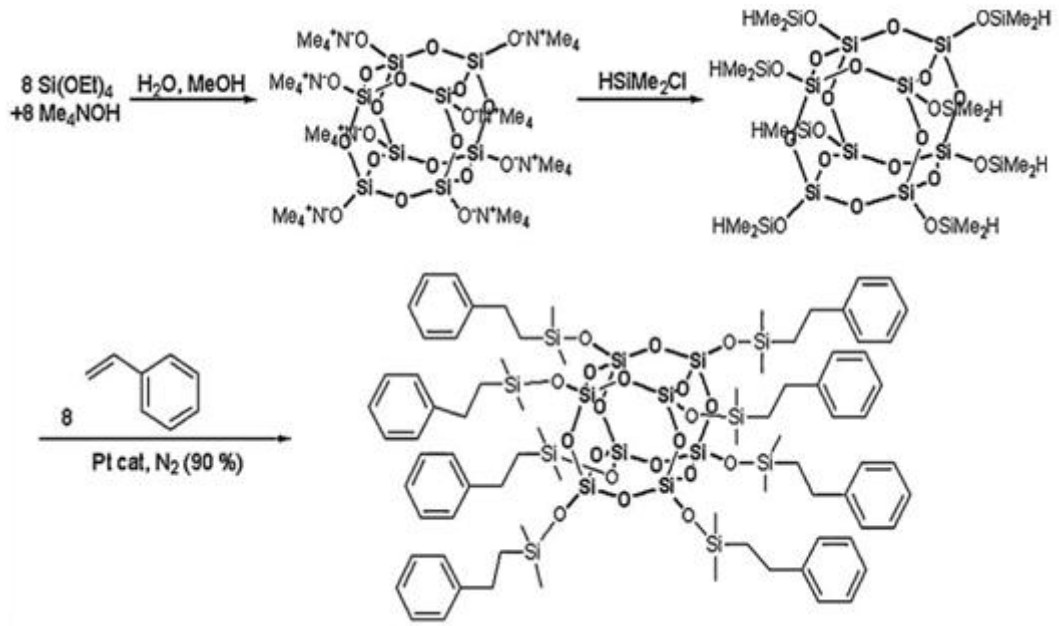
Monosüstitüe silseskioksanları hazırlamak için başlangıç materyali olarak oktahidro-silseskioksan kullanımı başarı ile uygulanmıştır. Reaktiflerin oranı ayarlanarak, istenen mono süstitüe ürün elde etmek mümkündür.

III) Köşe-kapma reaksiyonları

Üçlü silanol grupları, tamamen yoğunlaştırılmış ürünler veren RSiCl_3 'e göre oldukça reaktiftir. Silan üzerindeki R grubu değişimi çeşitli tek fonksiyonel siloksan kafeslerin farklı sentezlerini sağlar. İstenen işlevsellik elde edilene kadar dönüşümler yapılabilir. Dahası, tam olarak yoğunlaştırılmış silseskioksanlar, hetero ve metal-siloksanların üretimi için bir yol sunar. Burada bir hetero ana grup yada bir geçiş metal elementi Si-O çatısı içerisine ilave edilir (Kuo ve Chang, 2011).

2.2.1.3. Çok fonksiyonlu POSS

POSS $(\text{RSiO}_{1,5})_n$ da n değerleri 4, 6, 8, 10 yada 12 değerlerini alır. R grupları hidrojen, alkil, aril ya da inorganik birimlerden oluşur. Benzersiz POSS yapılar ($\text{R}=\text{H}$), trialkoksisilan $[\text{HSi}(\text{OR})_3]$ veya triklorosilan (HSiCl_3) 'ün kondenzasyonu ve hidrolizi yolu ile oluşturulabilir. Çok fonksiyonlu POSS türevleri üretmek için başka bir yaklaşım ise POSS kafeslerine işlevsellik kazandırılmasıdır. Buda örneğin; oktakis (dimetilsiloksi) silseskioksan kafesler ve $(\text{HSiO}_{1,5})_8$ ile alkinler ya da alkenlerin Pt-kataliz aracılığı ile hidrosilasyonudur (Şekil 2.6) (Sellinger ve Laine, 1996; Zhang ve Laine, 2000, Shenn vd., 2008).



Şekil 2.6. Çok fonksiyonlu POSS sentezinin bir örneği; (oktakis [dimetil(fenetil)siloksi] silseskioksan, OS-POSS)

POSS'un fonksiyonlaştırılır olabilmesi malzemeyi oldukça çekici kılmaktadır. Söz konusu yapılar; biyoyumluluğu, kimyasal ve termal stabilitesi gibi özellikleri ile; tıp, havacılık, mekanik ve optoelektronik uygulamalar için yüksek performanslı nanoyapılar haline gelmektedir (Punshon vd., 2005; Wu vd., 2009a).

2.2.1.4. Polihedral oligomerik silseskioksan (POSS)' un tıp alanındaki uygulamaları

POSS'un tıp alanındaki uygulamaları;

- İlaç taşıyım sistemleri (McCusker vd., 2005)
- Diş kompozitleri (Fong vd., 2005)
- Biosensör (Zou vd., 2007)
- Biomedikal ekipmanlar (Sarkar vd., 2009; Ghanbari vd., 2010)
- Doku mühendisliği (Raghunath vd., 2009; Gupta vd., 2009) şeklindedir.

Kardiyovasküler implantlar için POSS nanoyapılar poli karbonat üre (PCU) ile modifiye edilerek POSS-PCU kullanılmıştır (Kannan vd., 2006; Kannan vd., 2007, Motwani vd., 2011). POSS'un oksijen geçirgenliği, dental kaplamada kullanım tercihinin bir nedenidir. Metaakrilat temelli diş kompozitlerine POSS ilavelerle biyoyumluluğun artırıldığı gözlenmiştir (Gao vd., 2001; Kim vd., 2007).

Katyonik POSS nanoyapıların biosensör uygulamaları mevcuttur (Zou vd., 2007). POSS-dendrimer nanoyapılar, ilaç salım sistem uygulamalarında potansiyel bir avantaja sahiptir. Küçük boyutları ve artan yük yoğunluğu nedeniyle, transmembran ve vasküler gözenekler tarafından kolayca aktarılır ve böylece, ilacı hücre ve dokuların alma olasılığı artar (Tanaka vd., 2008). Poly(L-glutamik asit) dendrimerler ile POSS nanoyapıların etkileşimini içeren ilaç taşıyım çalışmaları yapılmıştır (Yuan vd., 2010).

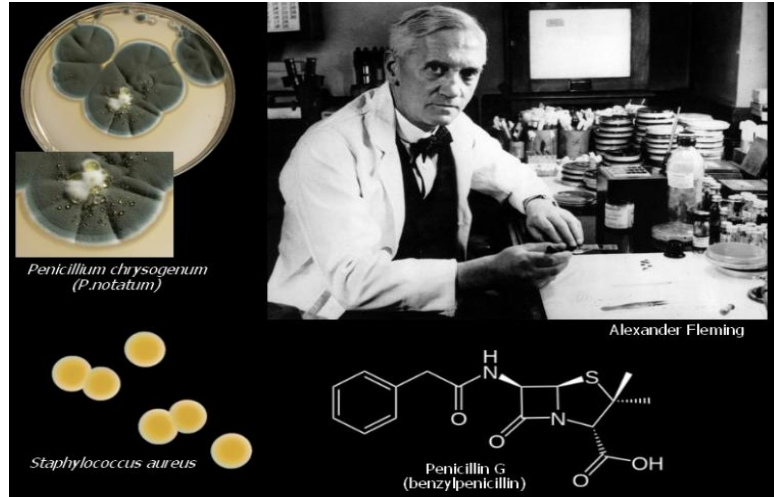
2.3. Nano Yapılarla İlaç Tasarımı

Son yıllarda yapılan çalışmalar, nano yapılarla ilaç taşımanın daha etkin ve verimli sistemler olduğunu göstermektedir. Kaminskas ve ark. nın yapmış olduğu bir çalışmada doxorubicin yüklenmiş dendrimer nanoyapılar ile doxorubicin'in plazmada daha uzun süreli kalımı sağlanmış ve tümör büyümesi belirgin şekilde azaltılmış ve etkin bir tedavi sağlanmıştır (Kaminskos vd., 2012). Mishra ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada ise, klamidyia trakomatis enfeksiyonu için (4 poliamidoamine) PAMAM-dendrimer-azithromycin nano konjugatları kullanarak etkin tedavi sağlamışlardır (Mishra vd., 2011). Vashist ve ark. ise karbon nanotüpleri ilaç ve biyomoleküllerin etkin taşınmasında kullanmışlardır (Vashist vd., 2011). Manyetik nano parçacıklara kemoterapötik ilaç yüklemesi yapılarak kanser tedavilerinde başarılar sağlanmıştır (Alexiou vd., 2011). Wilson ve ark. yeni bir ilaç taşıma sistemi olarak kitozan nanopartiküllerle Alzheimer tedavisinde kullanılan Tacrine ilacını daha etkin hale getirmeyi başarmışlardır (Wilson vd., 2010). Farklı bir çalışmada ise, oral yoldan alınan anti kanser ilaçların etkinliğini arttırmak için kil modifiyeli nano parçacıklar kullanılmıştır (Dong ve Feng, 2005). Klasik taşıyıcılar yalnızca ilaç moleküllerini genel dolaşıma sunarken, nano yapılarla ilaç taşıyımının en güçlü yönü, istenilen yüzey modifikasyonları ile parçacıklara biyotaklit özelliği kazandırılabilmesidir. Bu sayede ilaç taşıyıcıların yalnızca belirli bir bölgede ilaç salımı gerçekleştirilir. İlaç taşıyıcı sistemlerinde özellikle 1µm den küçük olan nanoparçacıkların 1-1000 µm arasında olan mikroparçacıklara göre daha avantajlı olduğu gözlemlenmiştir. İlaç taşıyım için en çok kullanılan nanosistemlerden bazıları; nanokapsüller, misel, nanoküreler, seramik nanoparçacıklar, lipozomlar ve dendritik polimerlerdir (Orive vd., 2005).

Bu bilgiler ışığında ilaçların farklı formülasyonlarla hazırlanması ve etkinliğin artırılması önemli bir çalışma konusudur ve bizim çalışmamızda bu alana yöneliktir.

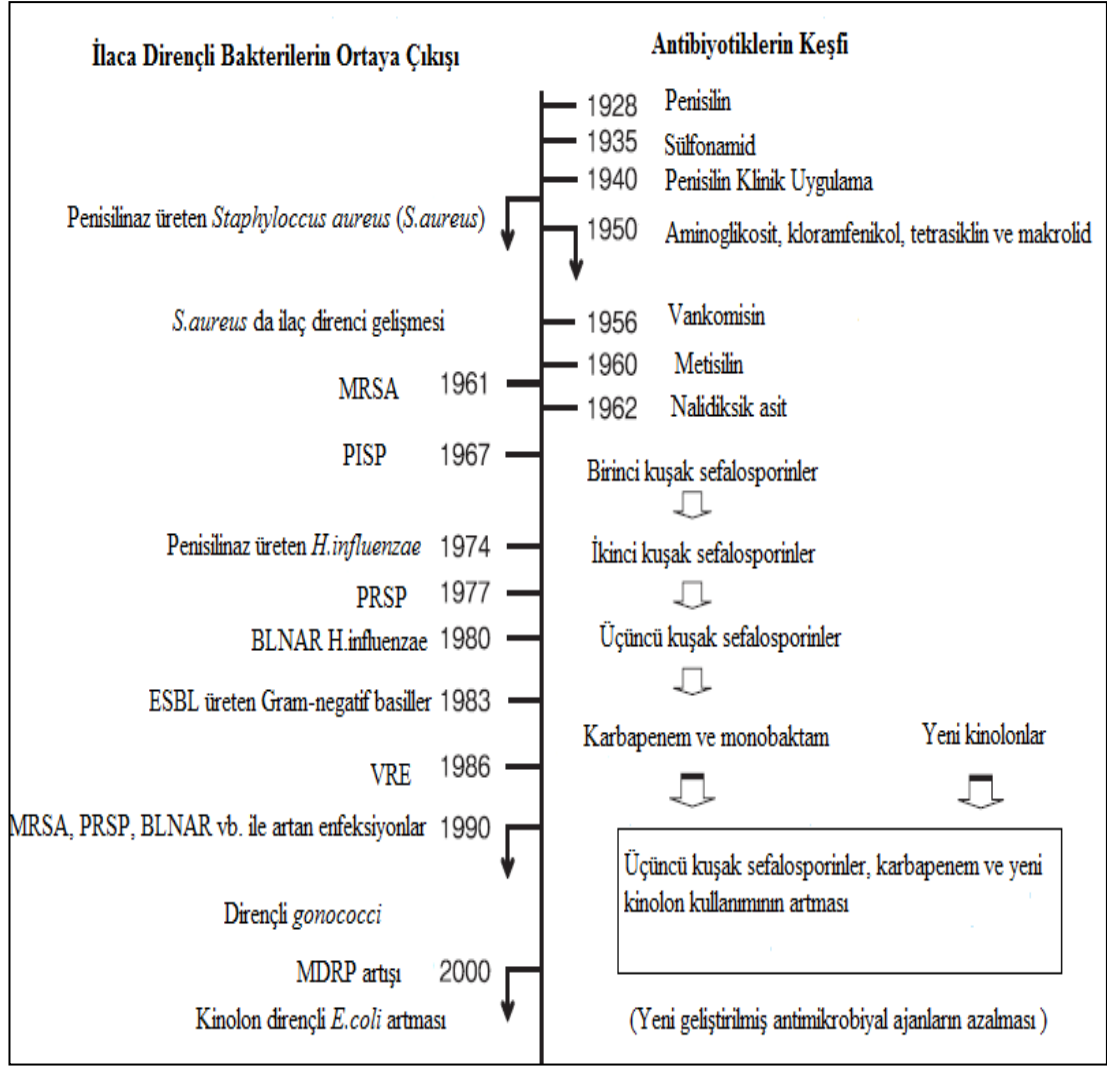
2.4. Antibiyotikler ve Önemi

Antibakteriyel ilaçlar içinde özel bir yer tutan önemli bir ilaç grubu olan antibiyotikler, bakteriler, funguslar ve aktinomisetler gibi çeşitli mikroorganizma türleri tarafından biyosentez edilen ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini önleyen ya da onları öldüren kimyasal maddelerdir (Kayaalp, 2002). Dünyada ilk antimikrobiyal ajan olan salvarsan, 1910 yılında Ehrlich tarafından Frengi hastalığı için sentezlendi. 1928 yılında Alexander Fleming (şekil 2.7.) penisilini keşfetti.



Şekil 2.7. Alexander Fleming

1944 yılında, bir aminoglikozid antibiyotik olan streptomisin toprakta bulunan bir bakteri olan *Streptomyces griseus*' dan izole edildi. Bundan sonra, kloranfenikol, tetrasiklin, makrolid ve glikopeptid (örneğin, vankomisin) toprak bakterilerinden keşfedildi. 1962' de antimikrobiyal ajan olan nalidiksik asit, bir kinolon antimikrobiyal ilaç olarak elde edilmiştir. Çalışmalar yıllarca daha geniş spektrumlu ve yüksek antimikrobiyal aktivite elde etmek için devam etti (Saga ve Yamaguchi, 2009).



Şekil 2.8. Antibiyotiklerin kronolojik keşfi ve ilaca dirençli bakterilerin ortaya çıkması

Farklı formülasyonlarda antibiyotik ilaçların hazırlanması oldukça yaygın araştırma konusudur. Uygun tedavi ve ilaç seçiminde en önemli faktörler etkinlik, güvenilirlik, uygunluk ve maliyet şeklinde sıralanabilir (Akalin, 2000). Bir ilacın etkinliği farmokokinetik ve farmokodinamik özelliklerine bağlıdır. Farmokokinetik özellikler adsorpsiyon, distrübisyon, metabolizma ve eliminasyon (atılım) özellikleridir. Farmokodinamik özellikler ise ilaçların serum konsantrasyonları ile farmakolojik ve toksikolojik etkilerinin ilişkisidir. Genel olarak farmokodinamik özellikler, bakterisidal aktivite, post antibiyotik etki, minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK), paradoks etki ve post antibiyotik lökosit güçlendirme (PALE) etkileridir (Craig, 1998).

2.4.1. Antibiyotiklerin sınıflandırılmaları

2.4.1.1. Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılmaları

Antibiyotikler, vücut sıvılarında oluşturdukları konsantrasyonlarda, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre iki gruba ayrılırlar.

- I. Bakteriyostatikler:** Bunlar bakteri hücrelerinin gelişmesini veya üremesini önlerler. Gelişmesi ve üremesi duran bakteriler, vücudun savunma mekanizmaları tarafından kolaylıkla yok edilirler. Bakteriyostatik etki gücünün göstergesi “Minimum İnhibitör Konsantrasyon = MİK”dur. Örneğin; Tetrasiklinler, makrolitler, sülfonamidler, amfenikoller, linkozamidler, metronidazol, mikonazol.
- II. Bakterisidler:** Bakterisidler bakteri hücrelerini dolaysız olarak yok ederler. Bakterisid etki gücünün göstergesi “Minimum Bakterisid Konsantrasyon = MBK”dur. Örneğin; Beta-Laktamlar; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, vankomisin, rifamisin karbapenemle, Beta-Laktamaz İnhibitörleri; sulbaktam, tazobaktam, klavulanik asid (Kayaalp, 2002).

2.4.1.2. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmaları

Antibiyotikler etki mekanizmalarına göre beş gruba ayrılırlar. Bu sınıflandırma tablo 2.1’de (Tenover, 2006; Byarugaba, 2009) verilmiştir.

Tablo 2. 1. Antibakteriyel maddelerin etki mekanizması

-
- **Hücre duvarı sentezinin önlenmesi**
 - β-Laktamlar: Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar
 - Glikopeptitler: Vankomisin, teikoplanin
 - **Ribozomlardaki protein sentezinin bozulması**
 - 50S ribozomal alt birime makrolidler, kloramfenikol, klindamisin, kinupristin-dalfopristin, linezolid bağlanması
 - 30S ribozomal alt birime aminoglikozidler, tetrasiklinler bağlanması
 - Bakteriyel izolösin-tRNA sentetaz enzimine mupirocin bağlanması
 - **Nükleik asit sentezinin önlenmesi**
 - DNA sentezinin önlenmesi: Fluorokinolonlar
 - RNA sentezinin önlenmesi: Rifampin
 - **Metabolik yolların bozulması**
 - Sülfonamidler, folik asit analogları
 - **Bakteriyel zar yapısının bozulması**
 - Polimiksinler, daptomisin
-

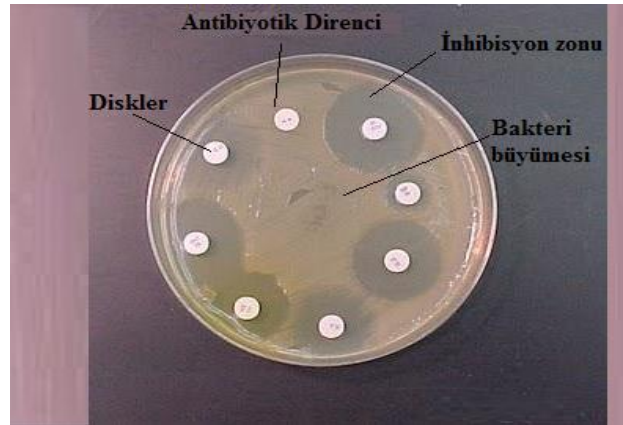
2.4.2. Antibiyotik duyarlılık testleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, bir antimikrobiyal ajanın belli bir bakteri türüne karşı *in vitro* etkinliğini saptamak amacıyla uygulanan testlerdir.

2.4.2.1. Difüzyon testler

2.4.2.1.1. Disk difüzyon testi

Antibiyotik duyarlılığının saptanmasında en sık kullanılan testlerden biridir. Ucuz ve uygulaması basit olan bir yöntemdir. Disk difüzyon testinde (şekil 2.9.), kağıt disklere emdirilen antibiyotığın (bunlar pek çok antibiyotik için hazır standart diskler olarak satılmaktadır) ve/veya duyarlılığı araştırılan örneğin emdirildiği disklerin, uygulandığı besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Bu amaçla; belli miktarlarda antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler ve/veya duyarlılığı araştırılan örneğin emdirildiği diskler, test edilecek olan bakterinin yoğun bir şekilde inoküle edildiği katı besiyerlerine (örn: Müller Hinton agar vb.) yerleştirilir. Diskler belirli bir inkübasyon süresinden sonra bakteri örneğe ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu o kadar geniş olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm şeklinde ölçülür ve duyarlılık durumu belirlenir (Zaidan vd., 2005).

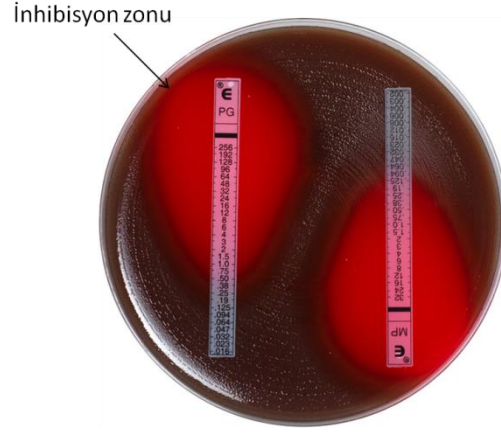


Şekil 2.9. Disk difüzyon testi

2.4.2.1.2. E-test

E-test yönteminde (şekil 2.10.) test edilecek bakteri 0.5 McFarland yoğunluğa getirilip Mueller Hinton agar yüzeyine steril bir eküvyonla yayılır. Sonrasında agar yüzeyine, belli bir antibiyotik yoğunluğu içeren E-test şeritleri yerleştirilir. Plaklar belirli bir süre inkübe edilip (örn: 35 °C de 18 saat, 37 °C de 24

saat gibi) MİK değeri belirlenir. MİK değeri, şerit etrafında oluşan inhibisyon elipsinin şerit üzerindeki ölçekle kesiştiği noktadır (Baker vd., 1991).



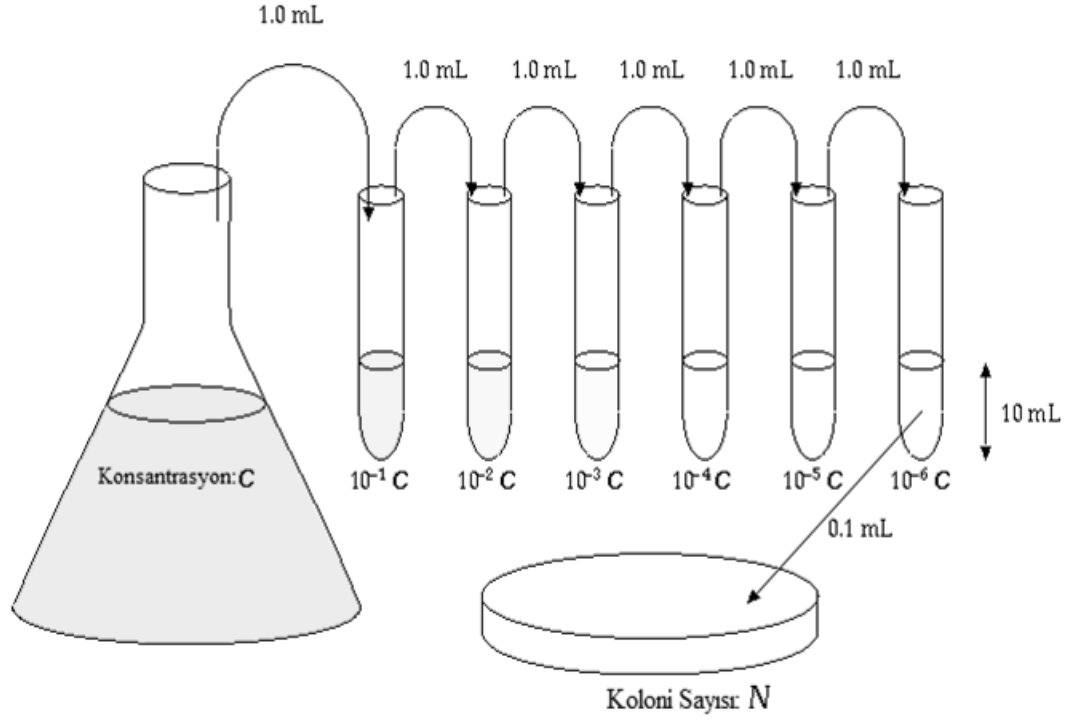
Şekil 2.10. E-test

2.4.2.2. Dilüsyon testleri

Antimikrobiyal bir ajanın istenilen mikroorganizmanın (bakteri, fungus vb.) üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır. Dilüsyon testleri; tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Çalışma kapsamında tüp dilüsyon çeşitlerinden biri olan mikrodilüsyon testi kullanılmıştır.

2.4.2.2.1. Tüp dilüsyon

Makro ve mikro olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Her iki yöntemin de prensibi aynıdır. Makrodilüsyonda test tüpleri, mikrodilüsyonda ise mikropaklar kullanılır. Tüp dilüsyon metodunda besiyeri olarak Mueller-Hinton besiyeri kullanılır. Test edilecek olan örneğin önce solventleri hazırlanır ve takiben bu sıvı besiyerinde iki kat azalan sulandırılmaları yapılır (şekil 2.11). Kullanılacak bakterinin standart bir inokulumu (1×10^5 veya 1×10^6 CFU / ml) hazırlanıp, farklı dilüsyonlarda örnekleri içeren her bir tüpe eşit miktarlarda eklenir. Üremenin göstergesi olan kontrol tüpüne de eklenir. Bakteri inoküle edilmemiş, sadece besiyeri konmuş bir tüp veya çukur da besiyeri kontrolü olarak hazırlanır. Besiyerleri çalışılacak bakterinin özelliğine bağlı olarak 35°C, 37°C gibi sıcaklıklarda bir gecelik inkübasyona bırakılır. Bakteri üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Bakterinin üremesini önleyen, gözle görünür bir bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu, MİK olarak değerlendirilir.



Şekil 2.11. Tüp dilüsyon şematik gösterim

2.4.2.2.2. Mikrodilüsyon testi

Pratik ve uygulanabilir bir test olması nedeniyle rutin kullanılmaktadır. Mikroplak kuyucuklarında uygun bir besiyeri kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi belirlenmek istenen örneğin seri sulandırımı hazırlanır. Sulandırım her kuyucukta, en az 100 µl sıvı olacak şekilde yapılmalıdır. Kullanılan mikroplaklara sırası ile Mueller-Hinton sıvı besiyeri, örnekler ve bakteri süspansiyonu eklenip belirlenen koşullarda inkübe edilmektedir (şekil 2.12). Gözle üreme görülmeyen en düşük antibiyotik konsantrasyonları MİK olarak saptanır (Chitwood, 1969; Jiang, 2011).

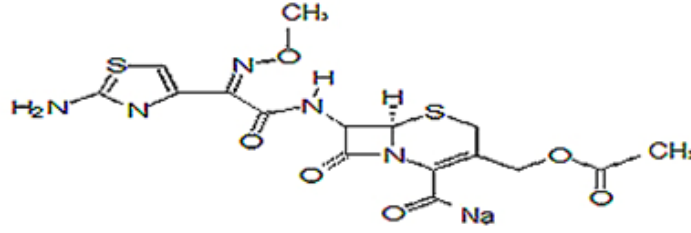


Şekil 2.12. Mikrodilüsyon işlem basamakları

Antibiyotik sonrası etki (post antibiyotik etki) bazı antibiyotiklerde (aminoglikozit, florokinolon, tetrasiklin, makrolit ve rifampin) görülmektedir. Bakteri ilaçla karşılaştıktan sonra antibiyotik ortamdan kaldırılmasına rağmen bakterisidal aktivite devam eder ve bu etki post antibiyotik etki olarak tanımlanmaktadır. Proje kapsamında sentezi gerçekleştirilecek olan POSS temelli antibiyotiklerde aktif gruplar oldukça fazla bulunduğu için daha düşük dozlarda daha hızlı bir tedavi sağlanmış olacaktır. Ayrıca hastalık ve sonrasında oluşacak etkilerin daha çabuk düzeltilmesi için antioksidan gruplar taşıyan POSS yapıları hazırlanacak ve bu yapılar sentezi gerçekleştirilmiş olan antibiyotikler ile birlikte denenecektir. Çalışma kapsamında antibiyotik olarak sefotaksim ve metronidazol denenmiştir. Kullanılan antibiyotiklerin yapı ve özellikleri hakkında kısa bilgi aşağıda mevcuttur.

2.4.3. Sefotaksim (Sefotaksim Sodyum)

Sefotaksim (şekil 2.13) parenteral uygulanan bakterisit etkili, geniş spektrumlu bir 3.kuşak sefalosporin grubu antibiyotiktir (Sache vd., 2011).



Şekil 2.13. Sefotaksim moleküler yapısı

Sefalosporinler ilk kez *Cephalosporium* türü mantar kültürlerinden elde edilmiş β laktam grubu antibiyotiklerdir. Bakteri hücre duvarının sentezini bozarak bakterisid etki yaparlar. Sefalosporinler, antibakteriyel etki spektrumlarına göre dört ana grupta veya kuşakta sınıflandırılabilir (şekil 2.14). Genel olarak, birinci kuşak bileşikler Gram (+) organizmalara karşı daha iyi aktiviteye sahipken, diğer bileşikler Gram (-) aerobik organizmalara karşı daha iyileştirilmiş aktiviteye sahiptir (Williams vd., 2001 ; Nemutlu ve Kır, 2009).



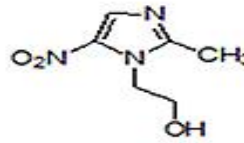
Şekil 2.14. Sefalosporinlerin sınıflandırılması

Sefotaksim sodyum pek çok Gram-pozitif ve Gram-negatif aeroblara bazı anaeroblara karşı da etkilidir. **Gram-pozitif aeroblarda:** *Staphylococcus aureus* (penisilinaz üreten ve üretmeyen suşlar dahil), *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* türleri, *Streptococcus pyogenes* (A Grubu p-hemolitik streptokoklar), *Streptococcus agalactiae* (B Grubu streptokoklar), *Streptococcus pneumoniae* (öncelikle *Diplococcus pneumoniae*). **Gram-negatif aeroblarda:** *Citrobacter* türleri, *Enterobacter* türleri, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* (ampisiline dirençli *H. influenzae* dahil), *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella* türleri (K.

pneumoniae dahil), *Neisseria gonorrhoeae* (penisilinaz üreten ve üretmeyen suşları dahil), *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus inconstans*, B Grubu, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Serratia* türleri ve *Acinetobacter* türleri. **Anaeroblarda:** *Bacteroides* türleri (6. fragilis'm bazı suşları dahil), *Clostridium* türleri (*C. Difficile*'nin birçok suşu dirençlidir), *Peptococcus* türleri, *Peptostreptococcus* türleri ve *Fusobacterium* türleri (*F. nucleatum* dahil).

Sefotaksim; alt solunum yolu enfeksiyonları, ürogenital sistem enfeksiyonları, jinekolojik enfeksiyonlar, bakteriyemi/septisemi, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, intra-abdominal enfeksiyonlar, kemik ve/veya eklem enfeksiyonları, santral sinir sistemi enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (Kayaalp, 2002).

2.4.4. Metronidazol



Şekil 2.15. Metronidazol moleküler yapısı

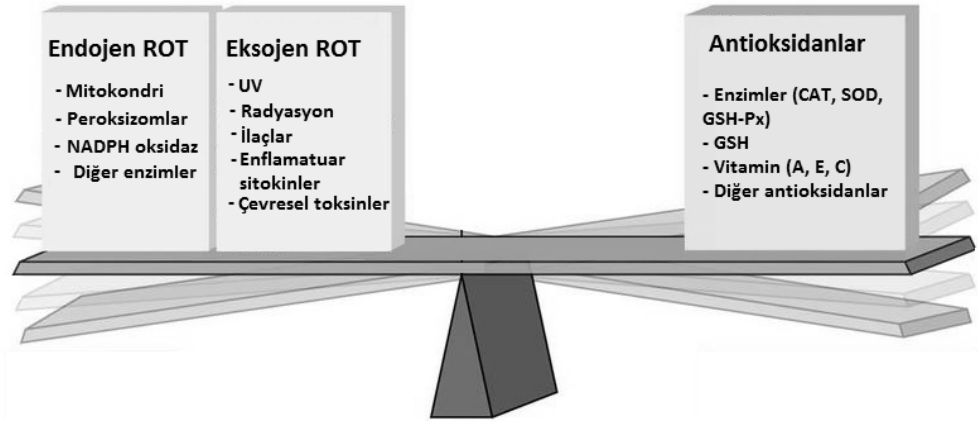
Metronidazol (şekil 2.15) WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından antiamip, antiparazit ve antibakteriyel etkileri ile temel ilaç listesinde sınıflandırılmıştır (Redigueri vd., 2011). Metronidazol; karın içi enfeksiyonlar, deri enfeksiyonları, jinekolojik enfeksiyonlar, bakteriyel septisemi, kemik–eklem enfeksiyonları, santral sinir sistemi enfeksiyonları, alt solunum yolu enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Metronidazolün anaerobik enfeksiyonların tedavisinde klinik olarak etkili olduğu bilinmektedir. Fakat yapılan çalışmalar aerobik organizmalara karşı da nisbeten etkili olduğunu göstermektedir (Ralph ve Clarke, 1978). Nitroimidazollerin nitro grubunu elektron-taşıyıcı proteinler indirgeyerek toksik ara metabolitlere dönüştürürler. Metabolitler bakteri DNA sentezini inhibe ederek bakterisid etki gösterir (Kayaalp, 2002).

2.5. Antioksidanlar ve Önemi

2.5.1. Reaktif oksijen türleri ve oksidatif stres

Oksijen yaşam için vazgeçilmezdir. Fakat yüksek ölçüde reaktif bir atomdur. Serbest radikaller veya reaktif oksijen türleri olarak ifade edilen zararlı moleküllerinde bir parçası olma yeteneğine sahiptir (Percival, 1998). Serbest radikaller elektriksel yüklü moleküller olup eşleşmemiş elektronlara sahiptir. Bu elektronlar kendilerini nötralize etmek amacıyla farklı maddelerin elektronlarını yakalarlar. Böylece başka reaktif oksijen türlerini de oluşturan zincir reaksiyonları da başlamış olur (Bandyopadhyay vd., 2011). Reaktif oksijen türleri (ROT) aerobik organizmaların elektron taşıma zinciri ve aktif fagositoz gibi metabolik yollarında devamlı olarak oluşmaktadır (Lichtenthaler vd., 2003). Bu süreçlerde oluşan başlıca ROS'lar süperoksit anyon (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikal ($HO^\bullet$), peroksil radikal ($ROO^\bullet$), alkoksil radikal ($RO^\bullet$), hipoklorit ($OHCl^-$) ve peroksinitrit ($ONOO^-$)'tir (Aruoma, 1998; Schaneich, 1999).

Oksidatif stres; oksidatif metabolizmanın artması sonucu antioksidanlardan, reaktif oksijen türlerine doğru dengenin kayması olarak ifade edilmektedir. Temsili olarak şekil 2.16'de verilmiştir.



Şekil 2.16. Oksidatif stres

Hücresel düzeyde artan oksidatif stresin başlıca nedenleri arasında alkol, ilaçlar, travma, enfeksiyonlar, kötü beslenme, toksinler, radyasyon, stres, ağır fiziksel aktiviteye maruz kalmak yer almaktadır. DNA, proteinler ve diğer

makromoleküllerde oksidatif hasarın meydana gelmesinin; özellikle kanser, çeşitli kardiyovasküler hastalıklar, beyin işlev bozukluğu vb. ciddi hastalıklarda rol oynadığı bilinmektedir (Halliwell, 1994; Norberg ve Arner, 2001). Normal olarak ROT'lar spesifik enzim sistemleri (süperoksit dismutaz ve katalaz), suda ve lipitte çözünebilen bazı protein yapısında olmayan bileşikler (ürik asit ve tokoferol) tarafından engellenmektedir (Lichtenthaler vd., 2003). ROT'ların antagonistleri vücudun ROT temizleyici antioksidanlarıdır.

2.5.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar küçük miktarlarda, kolayca okside olabilen materyallerin oksidasyonunu büyük ölçüde geciktiren ya da engelleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır (MacDonald-Wicks vd., 2006). Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı bileşenler olabilir. Bu bileşenler şunlardır:

- **Besinsel alınan antioksidanlar;** askorbik asit (vitamin C), tokoferoller ve tokotrienoller (vitamin E), karotenoidler ve lipoik asit, glutatyon gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler.
- **Antioksidan enzimler;** süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz.
- **Metal bağlayıcı proteinler;** ferritin, laktoferrin, albümin ve serüloplazmin. Bu enzimler oksidatif reaksiyonları katalize eden serbest demir ve bakır iyonlarını çekerler (Jacob, 1995). Antioksidan koruma sistemi Tablo 2.2'de detaylı olarak verilmiştir (Percival, 1998).

Tablo 2.2. Antioksidan koruma sistemi

Endojen Antioksidanlar • Bilirubin • Tiyoller örn; glutasyon, lipoik asit, <i>N</i>-asetil sistein • NADPH ve NADH • Ubikinon (koenzin Q10) • Ürik asit • Enzimler: -bakır/çinko ve mangan bağımlı süperoksit dismutaz -demir bağımlı katalaz -selenyum bağımlı glutasyon peroksidaz
Diyetle Alınan Antioksidanlar • Vitamin C • Vitamin E • β- karoten ve diğer karotenoidler ve oksikarotenoidler örn;likopen ve lutein • Polifenoller örn; flavanoidler, flavonlar, flavonoller ve proantosiyanidinler
Metal Bağlayıcı Proteinler • Albümin (bakır) • Seruloplazmin (bakır) • Metallothionein (bakır) • Ferritin (demir) • Miyogloblin (demir) • Transferrin (demir)

2.5.3. Antioksidan aktivite tayinleri

Antioksidan aktivite belirlemede çalışılan örneğin doku olup olmamasına bağlı olarak farklı yöntemler tercih edilmektedir. Bu yöntemlerden yaygın kullanılanları aşağıda sıralanmıştır.

- ***Dokularda antioksidan aktivite tayini***

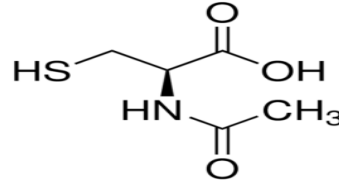
- Katalaz aktivite tayini (Luck, 1963)
- Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini (McCord ve Fridovich, 1969)
- Se-bağımlı glutatyon peroksidaz aktivite tayini (Patel vd., 1998)
- Total glutatyon ölçümü (GSH) (Theodorus vd., 1981)
- NO ölçümü (Bouloumie vd., 1997)
- Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi (Buege ve Aust, 1978)
- Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü (Suzuki vd., 1983)

- ***Diğer örneklerde antioksidan aktivite tayini***

- İndirgeme Gücü (Hwang, 2001)
- DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini (Mathew ve Abraham, 2006)
- ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini (Yen ve Hung, 2000)
- ·OH Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini (Smirnoff ve Cumbes, 1989)
- Toplam Fenolik Bileşik Tayini (Huang vd., 2005)
- H₂O₂ Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini (Zhao vd., 2006)
- β-karoten Beyazlatma Yöntemi (Soobrattee ve Neergheen, 2005)

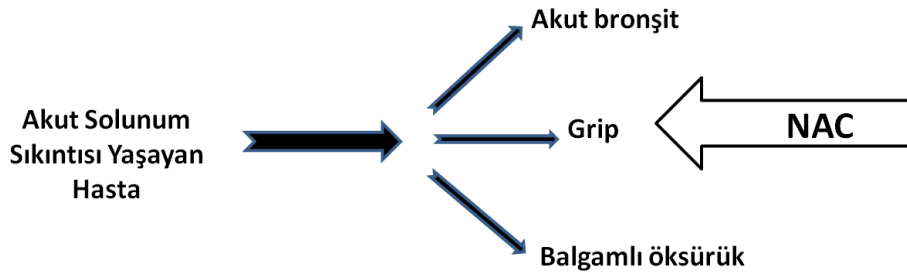
2.5.4. *N*-Asetilsistein (NAC)

N-Asetilsistein (*N*-asetil- L-sistein veya NAC) doğal bir aminoasit olan bir tiol molekül olan L-Sistein 'in *N*-asetillenmiş türevidir.



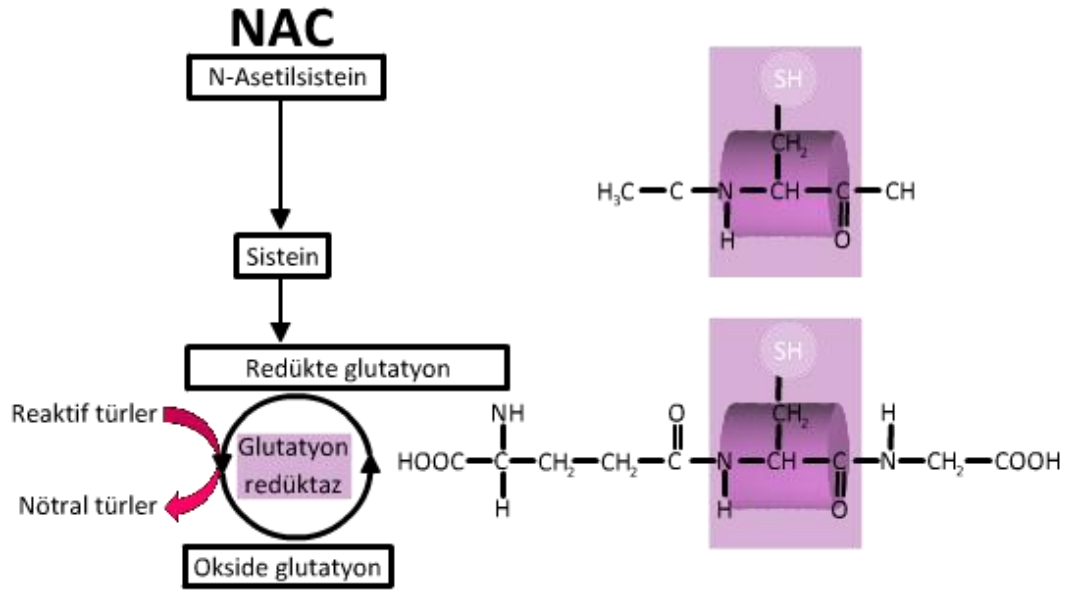
Şekil 2.17. NAC

En bilinen etkisi mukolitik etkisidir. Bu özelliği molekül içerisinde bulunan serbest sülfhidril (-SH) gruplarınca zengin olması ve balgam içerisindeki mukoprotein moleküllerindeki disülfür köprülerini kırmasına ve onları depolimerize etmesi ile ilgilidir (Aruoma vd., 1989; Zafarullah vd., 2003). Dünya çapında pek çok ülkede solunum sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde yaygın kullanılan bir oral mukolitikdir. Akut solunum sıkıntılarında NAC kullanımı şekil 2.17’de gösterilmiştir (Ziment, 1986; Ward, 2005).



Şekil 2.18. Akut solunum sıkıntılarında NAC kullanımı

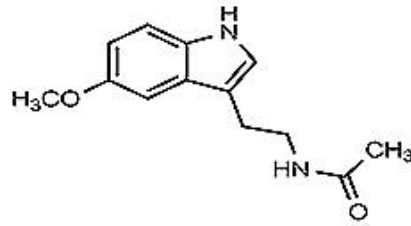
NAC’ın anti-inflamatuar (iltihap önleyici) etkisinin yanında antioksidan etkisi de vardır. Sadece bir antioksidan olarak davranmaz ayrıca antioksidan glutatyonun biyosentezi için bir öncül olarak, dolaylı antioksidan özelliği gösterir (Cotgreave ve Moldeus, 1987; Tomasi, 2004). NAC, GSH sentezinde bir substrat olarak görev alır. Moleküler yapısı ile hücre içine kolayca girer ve burada deasetillenerek *L*-sisteine dönüşür (Şekil 2.19) . *L*-sistein bir glutatyon öncülüdür ve glutatyon sentezini artırır (Aruoma vd., 1989; Zafarullah vd., 2003).



Şekil 2.19. NAC'ın sistein için bir öncül olması ve antioksidan etkisi

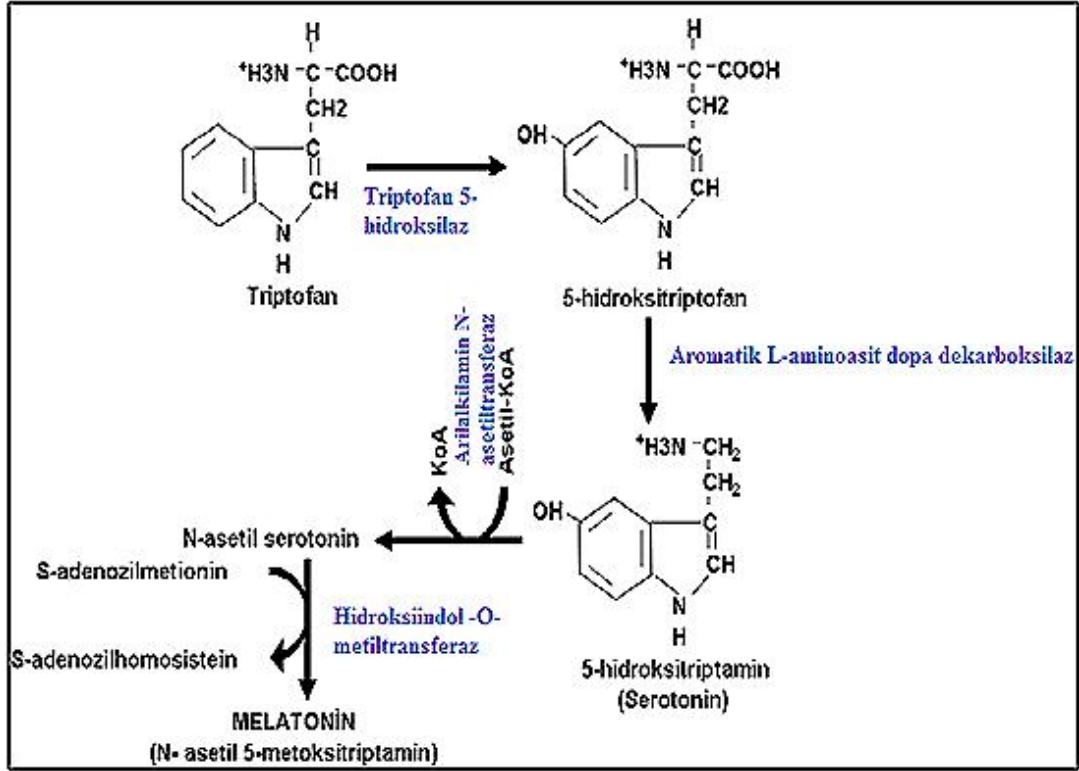
2.5.5. Melatonin

Melatonin (*N*-asetil-5-metoksitriptamin), pineal bezin özellikle karanlık fotoperiyodunda sentezlenen önemli bir hormondur (Bai vd., 2013).



Şekil 2.20. Melatonin

Melatonin pinealositlerde triptofandan sentezlenir. Sentez basamakları (şekil 2. 21) de belirtilmiştir (De Angelis vd., 1998; Zheng ve Cole, 2002).



Şekil 2.21. Melatonin sentez basamakları

5-hidroksitriptofan, serotonin ve melatonin sentezi için ara metabolit görevi yapar ve kan-beyin bariyerini geçebilir. 5-hidroksitriptofan, 5- hidroksitriptamine (serotonin) dönüştüğünde ise kan-beyin bariyerini geçebilme özelliğini kaybeder. Karanlığın başlaması ile fotoreseptörler, hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdeği uyarır. Suprakiazmatik çekirdek memelilerde “*biyolojik sirkadiyen saat*” olarak adlandırılmaktadır. Uyarılar buradan torasik spinal kordun intermediyolateral kolonuna ve buradan da superiyor servikal gangliyona ulaşarak daha sonra postgangliyonik sinirlerle pineal beze iletilir. Bez içindeki postgangliyonik sinir uçlarından salınan norepinefrin ile pinealosit membranındaki $\alpha 1$ ve $\beta 1$ adrenerjik reseptörler uyarılarak hücre içi cAMP yapımı artar. Bu da melatonin yapım hızını düzenleyen ve aktiviteleri gece daha yüksek olan arilalkilamin N-asetiltransferaz (AANAT) aktivitesini artırır. Sonuçta serotonininden melatonin sentezi ve salgılanması artar (Gomes ve Soares-da-Silva, 1999; Boutin vd. 2000, Özçelik vd., 2013).

Melatoninin farklı olumlu bir dizi fizyolojik etkilerinden bahsedebiliriz. Bunlar;

- Antioksidan etki (Reiter ve Maestroni, 1999)
- Sirkadiyen ritim (uyku-uyanıklık, vücut sıcaklığı, hormon düzeyleri ve bir takım bilişsel işlevlerden sorumlu ritim) ayarlanması (Gillette ve Tischkau, 1999)
- Üreme üzerine etkisi (Reiter, 1991)
- Kardiyovasküler sisteme etkisi (Şener vd. 2004a; Reiter vd., 2009)
- Duygudurum-depresyon üzerine etkisi (Potkin vd., 1986)
- Antienflamatuvar etkisi (Maestroni, 1999)
- Yaşlanma üzerine etkisi (Mollaoğlu ve Özgüner, 2005)
- Sindirim sistemi üzerine etkisi (Şener vd., 2004b)
- Kanseri üzerine etkisi (Macchi ve Bruce, 2004)

2.5.5.1. Melatoninin antioksidan etkisi

Melatonin; doğrudan serbest radikalleri gidererek, dolaylı yoldan özgül melatonin reseptörleri aracılığı ile antioksidan enzimleri aktive ederek veya pro-oksidatif enzimleri inhibe ederek koruyucu özellik gösterir (Özçelik vd., 2013). Melatonin, en zararlı radikallerden biri olan $\cdot\text{OH}$ radikalini nötralize ederek ortadan kaldırır. Bu $\cdot\text{OH}$ radikallerinin giderilmesinde, melatoninin indol nükleusunun yan zincirindeki metoksi ve asetil grupları rol oynamaktadır. Melatonin $\cdot\text{OH}$ radikaliyle reaksiyona girerek indolil katyon radikaline dönüşür. Bu bileşik ortamda bulunan süperoksit (O_2^-) radikalini tutarak etki gösterir. Melatoninin süper oksit dismutazın (SOD) mRNA'sını arttırarak da süperoksit radikalini engeller. Ayrıca peroksidaz (POD), glutatyon redüktaz (GR), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesinin

melatonin ile uyarıldığı saptanmıştır. Melatoninin diğer bir etkisi H_2O_2 'nin hücre içi konsantrasyonunu azaltmasıdır (Tan ve Chen, 1993; Reiter, 1998).

Melatonin, pro-oksidatif aktivitesi olmayan ve kolayca oksitlenmeyen bir moleküldür. Ayrıca redoks döngüsüne ve radikal üreten reaksiyonlara girmez. Doğal bir antioksidan olan melatoninin $\cdot OH$ radikalini nötralize etme yeteneği glutatyondan 5 kat, peroksit radikal giderme özelliği ise E vitamininden 2 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (Reiter, 1996; Özçelik vd., 2013). Melatoninin bu antioksidan özelliği, yaşam döngüsünde oldukça önemli olan DNA'yı oksidatif hasardan korumakta ve tümör oluşumunu baskılamaktadır. Bu durum, birkaç mekanizma ile açıklanabilir. Birincisi melatoninin güçlü bir serbest radikal tutucu olmasıdır. Diğer de zehirli ve kimyasal maddeleri uzaklaştıran yolları aktifleştirmesidir. Böylelikle kansere neden olan maddeler DNA'ya bağlanamamakta veya ortaya çıkan zararlı yapılar hücrede birikememektedir. Melatoninin hasarlı DNA'nın onarımını teşvik ettiği de bildirilmektedir. Bilindiği gibi kanser hücrelerinin gelişimi, bölünmesi ve çoğalması için bir enerji kaynağı ve büyüme faktörü olan linoleik asit, vücutta üretilmemekte ve bundan dolayı dışarıdan besinlerle alınmak zorundadır. Bu aşamada melatonin linoleik asitin kanserli hücreye girmesini engellemekte ve metabolize edilmesini baskılamaktadır. Sonuç olarak; melatoninin antioksidan enzimleri uyardığı, lipid peroksidasyonunu engellediği ve beyin dokusunu oksijen kaynaklı serbest radikallerinden koruduğu saptanmıştır (Kerman vd., 2005).

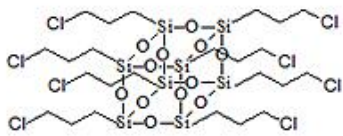
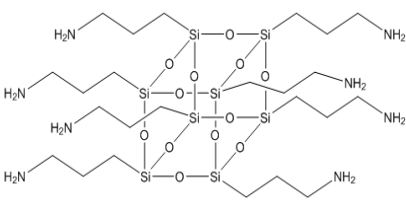
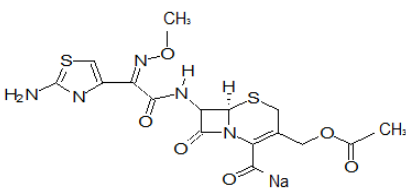
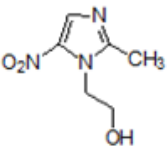
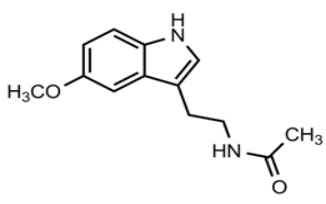
3. MATERİYAL VE METOD

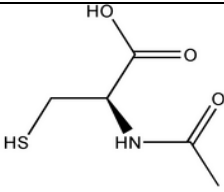
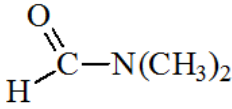
3.1. Deneyisel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar

3.1.1. Deneyisel çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol ve POSS-Melatonin, POSS-N-Asetilsistein (POSS-NAC) sentezinde kullanılan kimyasallar Tablo 3.1. verilmiştir.

Tablo 3.1. POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol, POSS-Melatonin, POSS-NAC sentezinde kullanılan kimyasallar maddeler

Kimyasal Adı	Formül	Kullanım Amacı
POSS-Cl		POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol ve POSS-Melatonin tasarımında kullanılacak olan nano-konjugat
POSS-NH ₂		POSS-NAC tasarımında kullanılacak olan nano-konjugat
Sefotaksim (Eqıtax 1g flakon, Tüm-Ekip İlaç)		Antibiyotik
Metronidazol (Flagyl 500 mg film tablet,Sanofi- Aventis)		Antibiyotik
Melatonin (Alfa Aesar)		Antioksidan

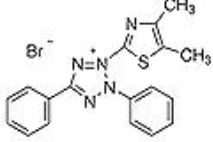
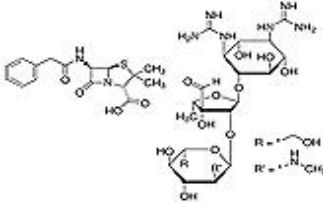
Kimyasal Adı	Formül	Kullanım Amacı
<i>N</i> -Asetil-L-sistein(Sigma)		Antioksidan
Potasyum karbonat (Tekkim Kimya)	K_2CO_3	Katalizör
Dimetil sülfoksit (Carlo Erba)	CH_3SOCH_3	Çözücü
Kloroform (Sigma)	$CHCl_3$	Çözücü
Diklorometan (Sigma)	CH_2Cl_2	Çözücü
Dietil eter (Sigma)	$(CH_3CH_2)_2O$	Çözücü
Hekzan (Merck)	C_6H_{14}	Çözücü
Sodyum azit (Merck)	NaN_3	Klik kimyasının ilk basamağı olan azitleme
Amonyum klorür (Kimetsan)	NH_4Cl	Tuz koordinasyonu
Tetrahidrofuran (Merck)		Çözücü
Proparjil bromür (Fluka)	$HC\equiv CCH_2Br$	Klik kimyasının ikinci basamağı
Potasyum hidroksit (Sigma)	KOH	Reaktif
<i>N,N</i> -Dimetilformamit (Merck)		Çözücü

POSS-Melatonin, POSS-NAC antioksidan aktivite belirlemede kullanılan kimyasallar maddeler Tablo 3.2' de verilmiştir.

Tablo 3.2. POSS-Melatonin, POSS-NAC antioksidan aktivite belirlemede kullanılan kimyasallar maddeler

Kimyasal Adı	Formül	Kullanım Amacı
Disodyum hidrojen fosfat (Merck)	Na_2HPO_4	Fosfat tamponu hazırlama
Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat (Merck)	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Fosfat tamponu hazırlama
Potasyum Ferrisiyanür (Fluka)	$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	İndirgeme Gücü Testinde Fe^{+3} ün Fe^{+2} ye indirgenmesinde
Trikloroasetik asit (Merck)	Cl_3CCOOH	İndirgeme Gücü Testinde reaksiyonun sonlandırılmasında
Demir-3-klorür hekzahidrat (Merck)	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	İndirgeme Gücü Testinde renklendirici ajan olarak
2,2-Azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum (Fluka)	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}_4$	ABTS deneyinde radikal sistemi hazırlanmasında
Potasyum peroksodisülfat (Merck)	$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	ABTS deneyinde radikal sistemi hazırlanmasında
(Troloks) 6-Hidroksil-2,5,7,8-tetrametil kroman-2-karboksilik asit (Sigma)	$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$	Standart, antioksidan sonuçların kıyaslanmasında
Askorbik asit (Sigma)	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	Standart, antioksidan sonuçların kıyaslanmasında

Tablo 3.3. POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol, POSS-Melatonin, POSS-NAC'ın hücre kültürü sitotoksosite belirlemede gerekli kimyasallar

Kimyasal Adı	Formül	Kullanım Amacı
3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) (AppliChem)		Sitotoksosite testinde boyar madde olarak
Fetal Bovine Serum (FBS) (Biowest)	-	Hücrelerin beslenmesinde besiyerinde katkı maddesi olarak
Penicillin-Streptomycin (PAN Biotech)		Sitotoksosite deneylerinin her aşamasında kontaminasyon riskini önlemek için besiyerinde katkı maddesi olarak
DMEM (Capricorn Scientific)	-	Hücreler için besiyeri

3.2. Antibakteriyel Aktivite Belirlemede Kullanılan Besiyerleri ve Bakteriler

POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol nano-konjugatların antibakteriyel analiz aşamasında kullanılan besiyerleri OR-BAK markadır. Çalışma kapsamında kullanılan bakteriler olan *Escherichia coli* (*E.coli*) ATCC: 25922, *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) ATCC: 29213 bakteri suşları İnönü Ünv.Tıp. Fak. Mikrobiyoloji A.B.D 'dan temin edilmiştir.

3.3. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihazlar

3.3.1. Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Tez kapsamında sentezlenen nano-konjugatların yapısal karakterizasyonlarında; İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde bulunan *Perkin Elmer 283 model* Fourier Dönüşüm Infrared Spektrometre cihazı kullanılmıştır. Spektrumlar ise ATR (zayıflatılmış toplam yansıma) tekniği kullanılarak 650-4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında alınmıştır.

3.3.2. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

Tez kapsamında sentezlenen nano-konjugatların yapısal karakterizasyonlarında; İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde bulunan *Bruker 300 model* Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) cihazı kullanılmıştır. Sentezlenen nano-konjugatların kimyasal yapı karakterizasyonu ^1H -NMR spektrumu 13 ppm değerine kadar alınarak, spektrum incelenmesi yapılmıştır.

3.3.3. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Tez kapsamında sentezlenen nano-konjugatların yüzeysel analizine İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde bulunan *Leo EV40 marka* SEM cihazı imkan sunmuştur. Farklı büyütme oranlarında alınan yüksek çözünürlüklü görüntülerin yanında EDX (Enerji dağılımlı X- ışınları) analizi de yapılmıştır. EDX analizi ile numune yüzeyindeki homojenliğin yakalandığı yüzeyden kesit alınarak bir tür haritalandırma yapılmıştır.

3.3.4. Termogravimetrik analizör (TGA)

Tez kapsamında sentezlenen nano-konjugatların termal karakterizasyonunda (termal kararlılıkları, bozunma sıcaklıkları ve bozunma enerjileri) *Shimadzu 50 Termogravimetrik Analizör* ile gerçekleştirildi. Nano-konjugatların %10'luk kütle kaybı değerleri ve 800°C'de kalıntı değerleri sabit hava atmosferinde 10°C/dak ısıtma hızı ile belirlenmiştir. Tüm termogramlar oda sıcaklığı ile 800°C arasında alınmıştır. Tüm termal analizlerde referans örnek olarak $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ kullanılmıştır. Örnek miktarı ise 10 mg alınmıştır.

3.3.5. Diferansiyel termal analizör (DTA)

Tez kapsamında sentezlenen nano-konjugatların termal karakterizasyonunda (termal kararlılıkları, bozunma sıcaklıkları ve bozunma enerjileri) *Shimadzu 50 Diferansiyel Termal Analizör* (DTA) ile gerçekleştirildi. 10 °C/dk ısıtma hızında ve sabit hava atmosferinde gerçekleştirilmiştir. Tüm termogramlar oda sıcaklığı ile 800°C arasında alınmıştır. Tüm termal analizlerde referans örnek olarak $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ kullanılmıştır. Örnek miktarı ise 10 mg alınmıştır.

3.3.6. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)

Tez kapsamında sentezlenen nano-konjugatların termal karakterizasyonunda (yumuşama sıcaklıkları ve faz geçişleri) *Shimadzu 60 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre* (DSC) tekniği ile belirlenmiştir. DSC analizinde 5°C/dk ısıtma hızında, 25 ml/dk dinamik azot atmosferi altında gerçekleştirilmiş olup analizler oda sıcaklığı ile 300 °C arasında gerçekleşmiştir. DSC analizlerinde cihaz kalibrasyonları indiyum ve çinko standartları ile yapılmıştır. Tüm termal analizlerde referans örnek olarak α -Al₂O₃ kullanılmıştır. Örnek miktarı ise 5 mg alınmıştır.

3.3.7. Elisa mikroplate okuyucu

Tez kapsamında sentezlenen POSS-Melatonin, POSS-NAC nano-konjugatların antioksidan aktivite tayininde absorbans takiplerinde *BioTec Eon marka* 96 well-plate lik mikroplate okuyucu kullanıldı.

3.3.8. Rotary evaporatör

Tez kapsamında sentezlerde kullanılan solventlerin gideriminde *IKA* marka rotary evaporatör kullanıldı.

3.3.9. CO₂ inkübatör

Tez kapsamında sentezlenen tüm nano-konjugatların *in vitro* hücre kültür sisteminde biyoyumluluk özelliklerinin belirlenmesi için yapılan deneysel aşamada hücrelerin inkübasyonunda *ESCO* marka CO₂ inkübatör kullanıldı.

3.3.10. İnvert mikroskop

Tez kapsamında sentezlenen tüm nano-konjugatların *in vitro* Hücre Kültür Sisteminde biyoyumluluk özelliklerinin belirlenmesi için yapılan deneysel aşamada hücrelerin görüntülenmesinde *OLYMPUS* marka invert mikroskop kullanıldı.

3.3.11. Laminar flow kabin

In vitro hücre kültür sisteminde tüm deneysel aşamalarda steril ortam olarak *CHEMOCELL LRCX-UV* marka laminar flow kabin kullanılmaktadır.

3.3.12. Su banyosu

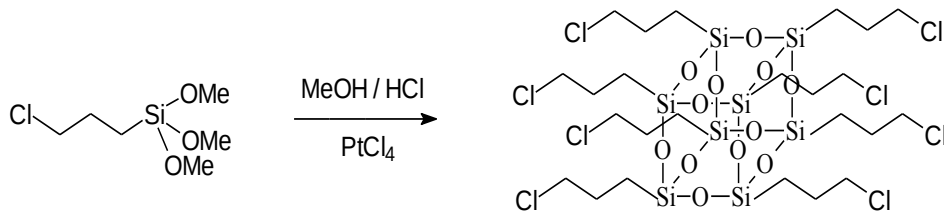
Antioksidan aktivite belirleme metodlarından olan indirgeme gücü metodunda ve hücre kültürü çalışmalarında maddelerin belli bir sıcaklıkta muhafazası için *WISEBATH* marka su banyosu kullanılmıştır.

3.4. Sentezler

Kloro ve Amino fonksiyonel POSS yapıları literatürler (Gültek vd., 2005; Demirel vd., 2014) dikkate alınarak aşağıda belirtilen yöntemle sentezlenmiştir. Tezimizde hedeflediğimiz yeni nesil antibiyotik ve antioksidan yapıları sentezlenirken kloro ve amino POSS yapıları kullanılmıştır.

3.4.1. Klorofonksiyonel POSS yapılarının sentezi (POSS-Cl)

45 mL 3-kloropropiltrietoksisilan 100 mL kuru metanol içerisine ilave edildi. Bu karışımın içerisine 28 mL derişik HCl eklendi ve iki gün oda sıcaklığında karıştırıldı. Argon atmosfer altında katalizör olarak $PtCl_4$ eklendi ve $50^\circ C$ 'ye ısıtıldı. Bu sıcaklıkta bir gün ısıtıldı ve karışım oda sıcaklığına soğutuldu. Beyaz kristalin ürün elde edildi. Reaksiyon şekil 3.1'de belirtilmiştir.

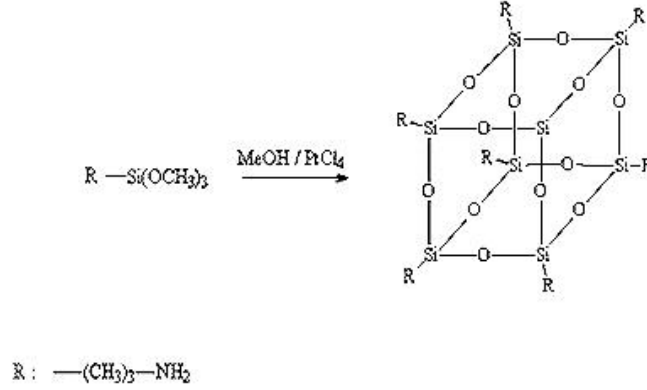


Şekil 3.1. Klorofonksiyonel POSS yapılarının sentezi

3.4.2. Aminofonksiyonel POSS yapılarının sentezi (POSS-NH₂)

Şekil 3.1'deki reaksiyon için; azot atmosferi altında bir erlende, 100 mL kuru metanol içerisine 15 mL amino propiltrietoksi silan ilave edilerek iyice çalkalandı. Üzerine 21 mL derişik HCl ilave edilip karıştırıldıktan sonra buzdolabına bırakıldı. 1-2 hafta sonra dibe çöken beyaz kristaller süzülerek

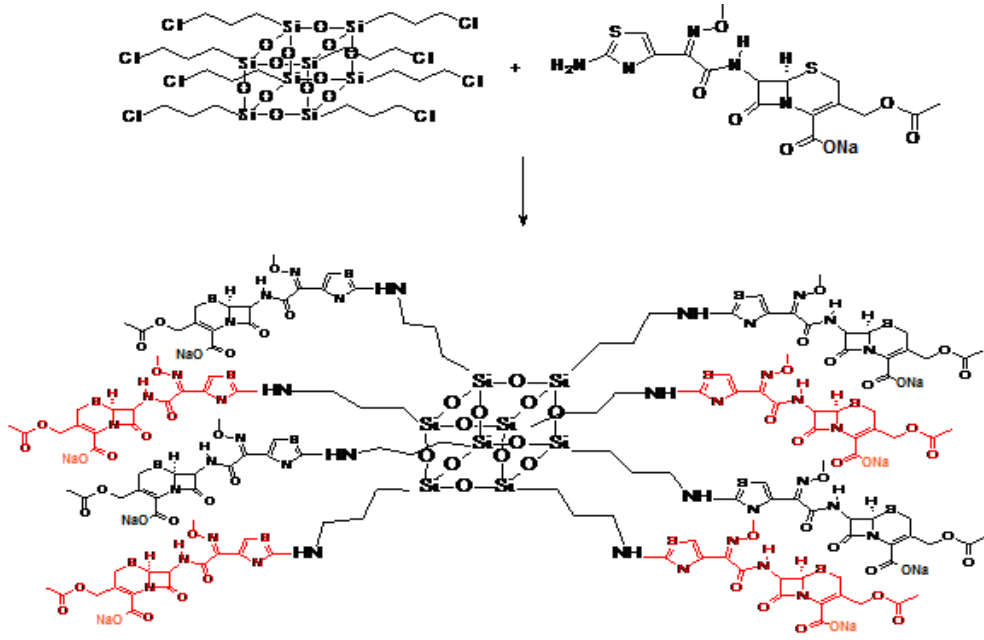
safsızlıkların uzaklaştırılması için metanol ile yıkandı. Yıkama işlemi bittikten sonra süzülerek ayrılan ürün vakumlu etüvde 50 °C’de kurutuldu. Oktaamino POSS bileşikleri kararsız olduklarından tuz şeklinde saklanırlar ve deney esnasında amberlite reçinesinden geçirilerek tuzundan arındırıldı ve saf halde kullanıldı.



Şekil 3.2. Aminofonksiyonel POSS yapılarının sentezi

3.4.3. POSS-Sefotaksim sentezi

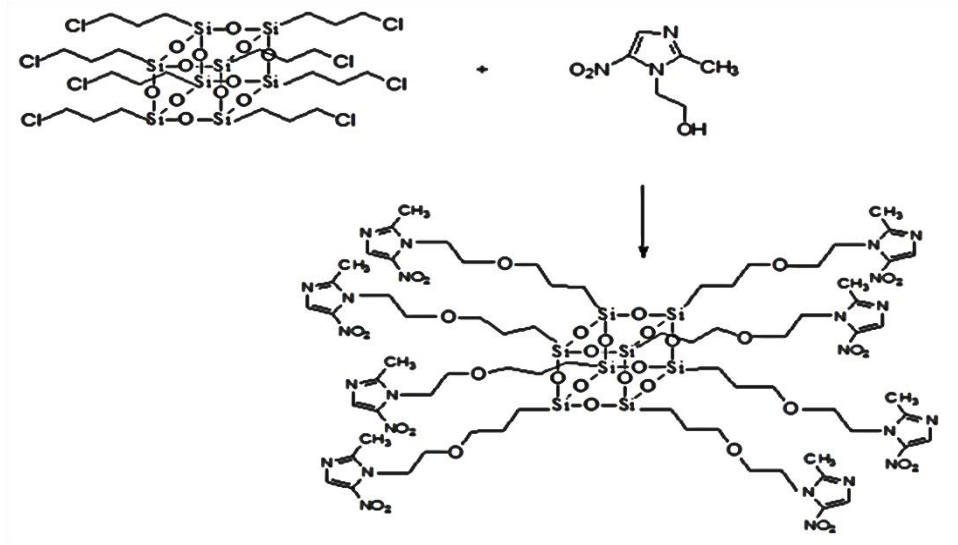
Çalışma kapsamında adları belirtilen antibiyotik yapıları seçilirken farmakofor (ilaç molekülünde biyolojik etkiden sorumlu olduğu düşünülen ve hedef bölge ile en iyi şekilde etkileşerek biyolojik cevabı başlatmak için gerekli özelliklere sahip grup) grupları yanında, serbest bağlanmaya uygun gruplar bulunduran moleküller seçilmiştir. Bu sayede sözkonusu molekül serbest fonsiyonel grup üzerinden POSS yapısına bağlanırken etkin grup üzerinden de etkinliğine devam edecektir. Örneğin sefotaksim üzerinde organik kimyada çok etkin bir metal olan sodyum yer almaktadır. Deneysel aşamada öncelikle stokiometrik olarak POSS/sefotaksim oranı 1/8 olacak şekilde 5 mmol klorofonksiyonel POSS alındı ve 15 mL DMSO içinde çözüldü. Uygun çözünürlük elde edildikten sonra 0,01 g K₂CO₃ eklendi. Ortalama 4 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 40 mmol sefotaksim eklenerek 60°C’de 30 saat refluks edildi. Elde edilen koyu sarı renkli sıvı içerisinde etkin ürün çöktürülerek alındı. Ürün şekil 3.3’de gösterilmektedir. Kloroform ile yıkanan ürün daha sonra eterle de yıkanarak yapısal olarak FTIR ve NMR teknikleri ile karakterize edildi.



Şekil 3.3. POSS-Sefotaksim yapılarının sentezi

3.4.4. POSS-Metronidazol sentezi

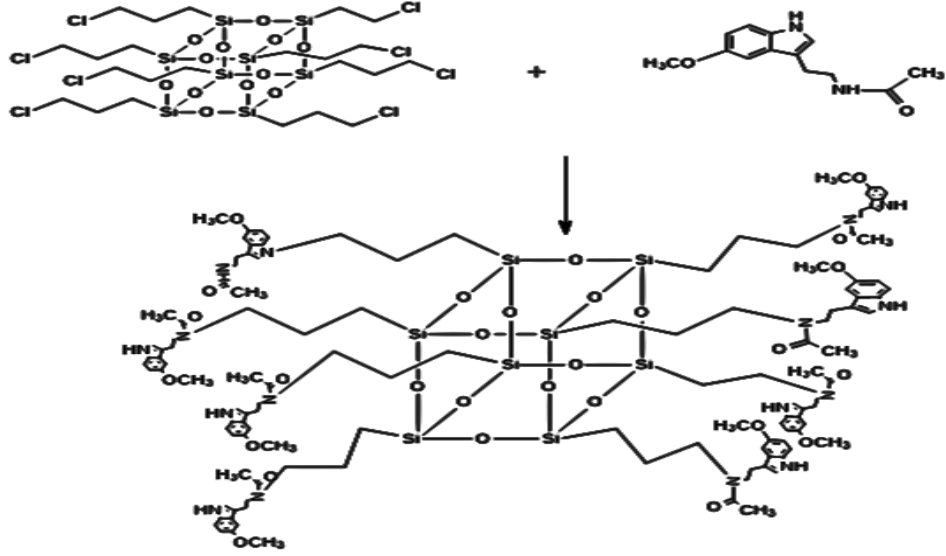
Metronidazol imidazol farmakofor grubu içeren bir bileşiktir. Aynı zamanda yapısında bir adet OH grubu taşımaktadır. Yapılan sentezde molekül bu OH grubu üzerinden POSS yapısına bağlandı ve yapısında imidazol grubu taşıyan yeni bir antibiyotik molekülü elde edildi. Deneyisel aşamada öncelikle stokiometrik olarak POSS/metronidazol oranı 1/8 olacak şekilde 5 mmol klorofonksiyonel POSS alındı ve 15 mL DMSO içinde çözöldü. Uygun çözönlörlük elde edildikten sonra 0,01 g K_2CO_3 eklendi. Ortalama 4 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 40 mmol metronidazol eklenerek $60^\circ C$ 'de 30 saat reflüks edildi. Elde edilen beyaz renkli sıvı içerisinde etkin ürün çöktürölerek alındı. Kloroform ile yıkanan ürün daha sonra eterle de yıkanarak hedef yapı elde edildi. Elde edilen POSS-Metronidazol nano konjugatı şekil 3.4'de açıkça belirtilmiştir.



Şekil 3.4. POSS-Metronidazol sentezi

3.4.5. POSS-Melatonin sentezi

Melatonin yapısında bir adet amin grubu taşımaktadır. Yapılan sentezde molekül bu amin grubu üzerinden POSS yapısına bağlandı. Deneysel aşamada öncelikle stokiyometrik olarak POSS/melatonin oranı 1/8 olacak şekilde 5 mmol klorofonksiyonel POSS alındı ve 15 mL DMSO içinde çözüldü. Uygun çözünürlük elde edildikten sonra 0,01 g K_2CO_3 eklendi. Ortalama 4 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 40 mmol melatonin eklenerek $40^\circ C$ 'de 36 saat refluks edildi. Elde edilen ürün çöktürülerek alındı. Ürünün eterle yıkanması işleminden sonra şekil 3.5'de verilen yapı elde edildi.

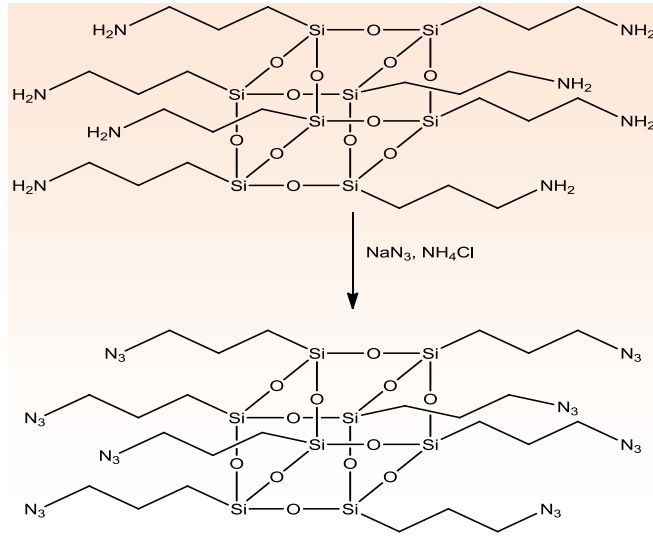


Şekil 3.5. POSS-Melatonin sentezi

3.4.6. POSS-NAC sentezi

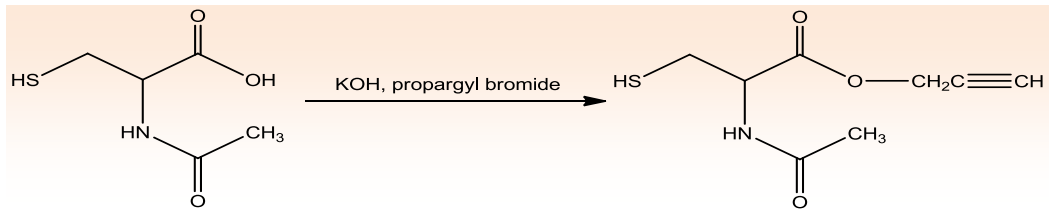
Sentez Huisgen 1,3-dipolar halka katılması reaksiyonları (klik kimyası) ile sağlandı. Huisgen 1,3-dipolar halka katılması reaksiyonları; bir azid ve alkin arasında 1,3-dipolar halkalanması sonucunda 1,2,3-triazole sentezidir. Bu reaksiyonlar yüksek verimlerde gerçekleştirilmeleri, kısa reaksiyon süreleri, seçicilikleri ve birçok fonksiyonel gruba tolerans göstermeleri açısından büyük ilgi görmektedir. Bu reaksiyonlar; lineerden lineer olmayan makromoleküler yapılara kadar pek çok kompozisyon ve topolojiye sahip polimerlerin sentezinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Aydoğan, 2010; Caselli vd.,2015). Sentez III Basamakta gerçekleştirildi.

- I. **Basamak:** Yapılan sentezde öncelikle POSS/sodyum azid (NaN_3) oranı 1/8 olacak şekilde aminofonksiyonel POSS yapısı NaN_3 ile azidlendi. 1 mmol aminofonksiyonel POSS alındı ve 10 mL DMSO içinde çözüldü. NaN_3 8mmol olacak şekilde ilave edildi. Uygun çözünürlük elde edildikten sonra 0,01 g NH_4Cl eklendi. 2 saat 60 °C refluks edildi. Sonrasında tepkime oda sıcaklığında 18 saat daha devam ettirildi. Elde edilen sarı-turuncu renkli sıvı içerisinden etkin ürün çöktürülerek alındı. Ürün eterle yıkanarak yapısal olarak FTIR ve NMR teknikleri ile karakterize edildi. Böylece şekil 3.6'da verilen azidlenmiş POSS yapısı elde edilmiş oldu.



Şekil 3.6. Aminofonksiyonel POSS yapısının azidlenmesi

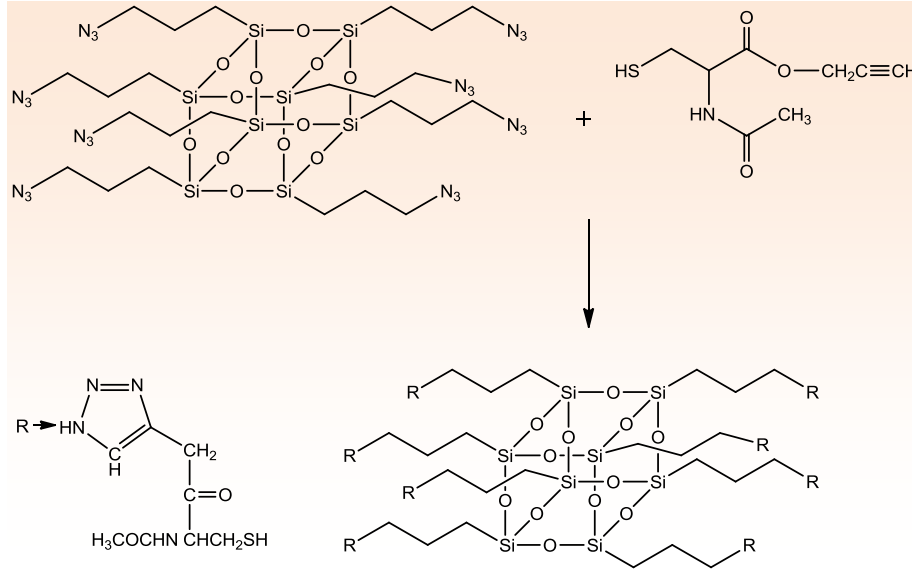
II. Basamak: Burada ise POSS bağlayacağımız antioksidanımız olan NAC proparjil bromür ile etkileştirilerek, azidlenen POSS'a uygun hale getirilmesi sağlandı (Changhai ve Zhong, 2010). Bunun için şekil 3.7'deki reaksiyona göre; NAC- proparjil bromür etkileşmesinden önce, KOH ile nükleofilik atak zemini hazırlandı. Sonra NAC/proparjil bromür oranı 1/1 olacak şekilde 8 mmol NAC ve 8 mmol proparjil bromür 20 mL DMF içerisinde 1 saat 100 °C de refluks edildi. Sonra tepkime 15 saat oda sıcaklığında devam ettirildi. Solvent rotary evaporatör ile uzaklaştırıldı. Ürün CH_2Cl_2 yıkanarak yapısal olarak karakterize edildi.



Şekil 3.7. NAC ile proparjil bromür etkileşmesi

III.Basamak: Son basamağımızda ise I. ve II. basamaklarda elde ettiğimiz ürünler olan; azidlenmiş POSS ve proparjil bromür ile etkileştirilmiş NAC'ı ayrı ayrı 10

mL THF ile homojen hale getirildi. Sonra bu iki homojenat birbirine karıştırılarak 24 saat oda sıcaklığında tepkimeye bırakıldı. THF rotary evaporatör ile uzaklaştırıldı. Ürün eter ile yıkanarak yapısal olarak FTIR ve NMR teknikleri ile karakterize edildi.



Şekil 3.8. POSS-NAC sentezi

3.5. Antioksidan Aktivite Testleri

Tez kapsamında klorofonksiyonel POSS, aminofonksiyonel POSS, sentezlenen POSS-Melatonin, POSS-NAC antioksidan nano-konjugatların ve melatonin, NAC antioksidan yapıların radikal süpürme aktiviteleri oldukça yaygın kullanılan ABTS ve indirgeme gücü metodları ile tayin edildi. Elde edilen sonuçlar askorbik asit ve troloks standart maddeleri ile kıyaslanarak değerlendirildi.

3.5.1. ABTS radikal süpürme aktivitesi tayini

ABTS radikali giderme aktivitesi Re ve arkadaşlarının kullandığı metoda göre belirlendi (Re vd., 1999). ABTS radikali, potasyum peroksodisülfat (6.6 mg) ve ABTS (30 mg)'nin 7.8 mL sulu çözeltisinin 12-16 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmesiyle elde edildi. Kısaca 7mM ABTS çözeltisi ve 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi arasındaki reaksiyonla meydana geldi. Kullanmadan önce absorbansı 734 nm'de 0.7 ± 0.020 olacak şekilde etanolle seyreltilerek ayarlandı. 1mL ABTS çözeltisi, 20 µl örnek ve std çözeltilerine eklendi. 30 dk sonra 734 nm'de absorbans okundu.

Aşağıdaki denkleme göre, % inhibisyon değerleri hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}})] \times 100$$

A_{kontrol} = Kontrolün absorbansı, $A_{\text{örnek}}$ = Örneğin absorbansı

3.5.2. İndirgeme gücü

İndirgeme gücü ölçümünde Hwang'ın kullandığı metoda göre belirlendi (Hwang, 2001). Deney tüplerine bırakılan 25 µl örneğe, 1.25 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH=6.6) ve 1.25 mL %1 lik $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisi eklendi. Karışım su banyosunda 50°C'de 20 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüplere 1.25 mL TCA(%10) ilave edildi ve 3000 devir'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant kısmından 1.25 mL alınarak üzerine 1.25 mL destile su ve 0.25 mL $FeCl_3$ (%0.1) çözeltisi ilave edildi. Renklenen çözeltinin 700 nm'de absorbansı ölçüldü. Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesinin göstergesidir.

3.6. Antibakteriyel Aktivite Belirleme

Tez kapsamında klorofonksiyonel POSS ve sentezlenen POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol nano-konjugatların, equitax (sefotaksim) ve flagyl (metronidazol) isimli antibiyotiklerin antibakteriyel aktiviteleri oldukça yaygın kullanılan broth mikrodilüsyon metodu kullanılarak belirlendi (Jorgen vd., 2009). Bu metoda göre; antibakteriyel çalışmada ilk önce hem çalışılacak alanın ve kullanılacak ekipmanların sterilizasyonu ile başladı. Çalışma tamamlanana kadar bek alevinde tüm deneysel aşamalar gerçekleştirildi. Deneysel aşamayı dört basamakta sıralayabiliriz.

I.Basamak; klorofonksiyonel POSS ve sentezlenen POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol nano-konjugatlar ve antibiyotiklerin 10.000 mg/L stok çözeltileri hazırlandı.

II.Basamak; deneyde kullanılacak bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bunun için besiyerine pasajlanmış çalışılacak bakteriden (*E.coli* ve *S.aureus*) steril eküvyon çubukları ile belli miktarda alınarak steril serum fizyolojik içerisinde standart

olarak İnönü Üniv.Tıp. Fak. mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilen 0.5 McFarland'a göre ayarlama yapıldı.

III.Basamak; 96'lık steril pleytlere (12 kuyucuklu) 100 µl olacak şekilde her kuyucuğa sırası ile sıvı müller hinton broth besiyeri (MHB), örnek ve son olarak bakteri süspansiyonu bırakıldı. Son kuyucuk kontrol olarak seçildi. Pleyt etüvde 37°C ortalama 18-24 saat arası inkübasyona bırakıldı.

IV.Basamak; inkübasyon sonrası alınan pleytten katı MHB besiyerine ekim yapıldı. Ekim sonrası petriler 37°C ortalama 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Sonra sayım işlemi gerçekleştirilerek IC₅₀ değerleri hesaplandı.

3.7. *In Vitro* Biyouyumluluk Özelliklerinin Belirlenmesi

Metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı hücre proliferasyon testlerinde yaygın olarak Metiltiazol difenil tetrazolyum (MTT), 2,3-Bis(2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum (XTT), 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksi metoksi etoksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolyum (MTS), 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolyum (WST1) gibi tetrazolyum tuzları kullanılmaktadır. Çalışma prensibi, temel olarak proliferasyona uğrayan hücrelerin artan dehidrojenaz enzim aktivitesi ile tetrazolyumu (MTT: sarı, WST1: kırmızı) kullanarak formazan (mor) boya üretmesi sonucu görülen renk değişiminin absorbans olarak ELISA okuyucu ya da spektrofotometre ile ölçülmesine dayalıdır (Terzioğlu vd., 2013).

Tez kapsamında klorofonksiyonel POSS, aminofonksiyonel POSS, POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol, POSS-Melatonin, POSS-NAC, Sefotaksim, Metronidazol, Melatonin ve NAC yapılarının sitotoksiteleri L-929 Fibroblast hücrelerinde MTT [(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromide] testi ile belirlenmiştir. Deney protokolü *OLYMPUS* marka invert mikroskobu vasıtasıyla kültüre edilen hücrelerin fotoğrafları çekildi.

3.7.1. MTT testi

MTT testi; hücre canlılığına bağlı olarak sitotoksiteyi ölçmede sıklıkla kullanılan kantitatif spektrofotometrik bir yöntemdir. L-929 fibroblast hücreleri %10 fetal sıgır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin içeren dulbecco modifiye eagle (DMEM) besiyeri ile 37 °C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde

kültürlendi. Kültürlenmiş hücreler yoğunluğu 5000 olacak şekilde 96'lık platelere ekildi ve 24 saat aynı koşullarda inkübe edildi. Örnekler DMSO'da dispers edildi. Daha sonra örnekler hazırlanan stok çözeltilerinden 200, 100, 50, 25, 10 μ M konsantrasyonlarına DMEM besiyeri ile seyreltildi. 96'lık platelere tutunan hücrelerin besiyeri örnek solüsyonları ile değiştirildi. Kontrol kuyucuklarında taze besiyeri ile değiştirme işlemi yapıldı. Hazırlanan örnek-hücre sistemi 24 saat aynı koşullarda inkübe edildikten sonra örnekleri içeren besiyeri kaldırılarak sırasıyla 90 μ L DMEM besiyeri ve 10 μ L MTT (5mg/mL, PBS'de) karışımı hücrelerin üzerine eklendi. 4 saat karanlıkta aynı koşullarda inkübasyondan sonra hücrelerin üzerindeki solüsyon kaldırılarak 100 μ L DMSO eklendi ve 540 nm'de mikropate okuyucuda absorbans ölçümleri gerçekleştirildi. Absorbans sonuçlarından yola çıkarak örneklerin % canlı hücre değeri tespit edildi.

3.8. İstatistiksel Analiz

Deneyisel sonuçlar Graphpad Prism 5 programı kullanılarak anlaşılmıştır. Sonuçlar; ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. Değerlendirme esnasında; istatistiksel p değerleri dikkate alınarak yorumlama yapıldı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Tez kapsamında sekiz fonksiyonel kola sahip amino ve kloro fonksiyonel POSS yapılarının modifikasyonu ile yeni ve etkin antibiyotik ve antioksidan nano-konjugatlar sentezlenmiştir. Proje, bir molekülde farmoko etken grupların birden fazla bulunduğu antibiyotik formülasyonlarının hazırlanması yönüyle bir ilk niteliğindedir. Son yıllarda gelişen antibiyotik direnci yeni antibiyotik formülasyonlara olan gereksinimi beraberinde getirmiştir. Bu uygulama sonucunda fazla antibiyotik kullanımı yerine daha düşük dozlarda aynı etkiyi gösterebilecek antibiyotik formülasyonları elde edilmiştir. Ayrıca fazla doz alımı sonucu ortaya çıkan yan etkiler bertaraf edilmiş olacak ve buna bağlı olarak yatan hastaların yatış sürelerini kısılacak, tedavi maliyeti azalacaktır. Proje antioksidanlar içinde; düşük doz uygulamalarına oldukça yüksek aktivite kazandırma yönü ile yenilikçi bir bakış açısı sunmaktadır. Literatürlerde antioksidanlar için bu tarz herhangi bir formülasyon söz konusu değildir. Projenin; insan sağlığının paha biçilmezliği açısından önemli bir katma değer oluşturacağı aşikârdır.

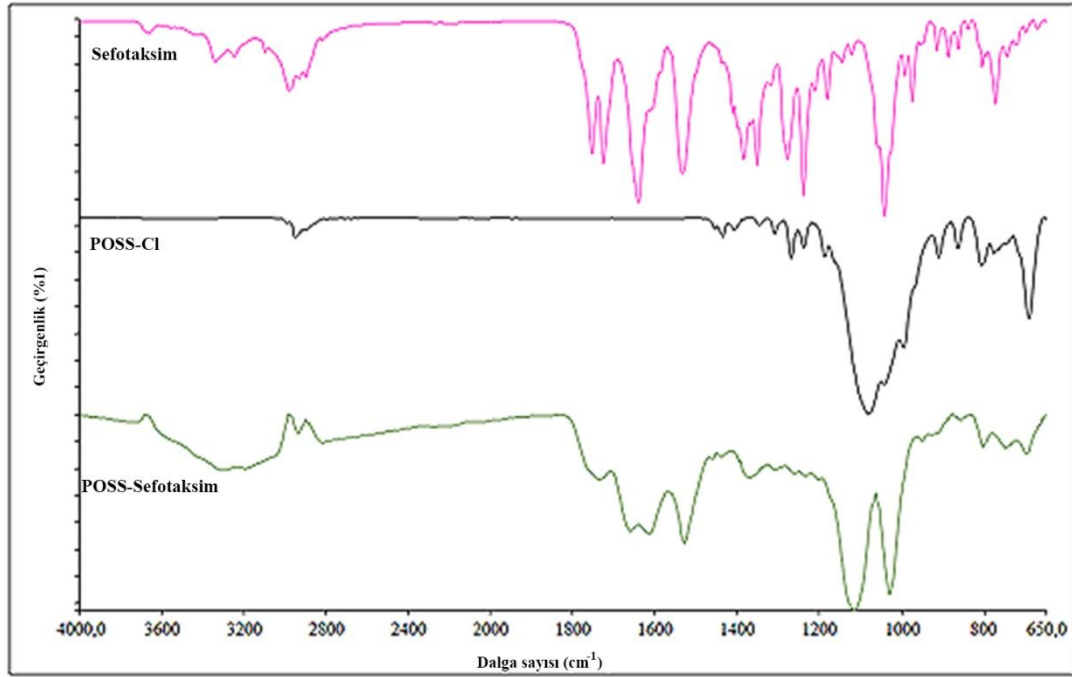
Sentezlenen POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol, POSS-Melatonin, POSS-NAC yapıları FTIR, ¹H NMR, TGA, DTA, DSC yöntemleri ile yapısal olarak karakterize edilmiştir. Sentezlenen nano-konjugatların yüzeysel analizi SEM/EDX-elementel haritalandırma kullanılarak yapılmıştır. POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol, kloro fonksiyonel POSS, sefotaksim, metronidazol yapıların *in vitro* antibakteriyel aktiviteleri oldukça yaygın kullanılan broth mikrodilüsyon metodu ile IC₅₀ değerleri hesaplanarak belirlenmiştir. POSS-Melatonin, POSS-NAC, kloro ve amino fonksiyonel POSS yapılarının radikal süpürme güçleri ise bilinen ABTS, indirgeme gücü yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Tezin hedefi; düşük doz uygulamalarına cevap verebilecek etkili ilaç (antibiyotik, antioksidan) tasarımı olduğu için biyouyumluluk son derece önemlidir. Bu nedenle *in vitro* sitotoksitesi MTT testi kullanılarak yapılmıştır.

4.1. Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim Yapısına Ait Bulgular

4.1.1. Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısal karakterizasyon FTIR sonuçları

Klorofonksiyonel POSS, saf sefotaksim ve POSS temelli bir ilaç yapısında bulunan POSS-Sefotaksim yapısına ait FTIR spektrumları Şekil 4.1’de görülmektedir.



Şekil 4.1. POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim’e ait FTIR spektrumları

Saf sefotaksim yapısında 1050 cm^{-1} ’de eterik yapıdaki C-O ve 1276 cm^{-1} ’de C-O-C eterik gerilme titreşimlerini açıkça görmekteyiz. Ayrıca 1302 cm^{-1} ’de C-S-C ve 1342 cm^{-1} ’de tiyazol halkası üzerindeki C-S=C gerilme titreşimlerini de görmekteyiz. 1440 cm^{-1} ’de C-N gerilme titreşimi hem tiyazol hem de köpri azotu için görülmektedir. 1820 cm^{-1} ’de esterik, 1770 cm^{-1} ’de ise sodyum atomuna bağlı ve 1600 cm^{-1} ’de amidik karboniller görülmektedir. Sefotaksim yapısında bulunan alifatik C-H gerilme titreşimleri ise $2850\text{-}2946\text{ cm}^{-1}$ ’de ve son olarak 3294 cm^{-1} ’de tiyazoldeki $\text{NH}_2\text{-C}$ titreşimi net bir şekilde görülmektedir. POSS yapısında ise alifatik C-H, Si-O-Si ve Si-O gerilme titreşimleri sırası ile $2800\text{-}2914$, 1115 ve 655 cm^{-1} değerlerinde tespit edilmiştir. Sefotaksim gruplarının POSS yapısına bağlanması ile oluşan POSS-sefotaksim bileşiğine ait spektrumda ise 1115 cm^{-1} ’de

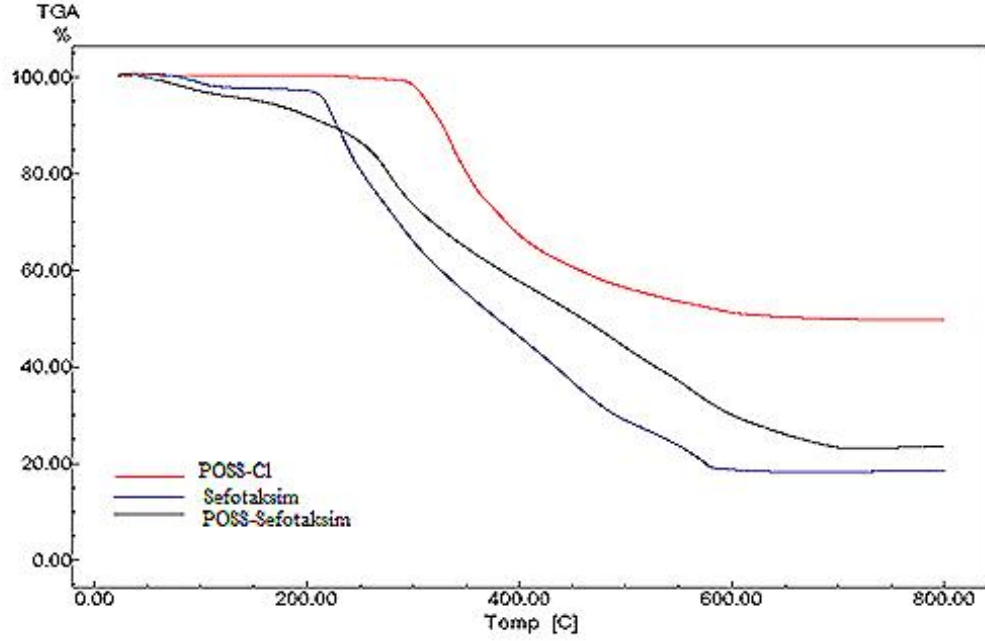
Si-O, 1033 cm^{-1} de Si-O-Si bağlarına ait titreşimler görülmektedir. Ayrıca sefotaksim yapısında görülen titreşim pikleri $1367, 1614, 1533, 952\text{ cm}^{-1}$ de sırası ile C-N, C=O, C=C ve alifatik C-H bağlarına ait titreşim piklerinin sonuç ürün spektrumunda bulunduğunu görmekteyiz. Yine benzer C-H gerilme piklerini 2937 cm^{-1} de karakteristik olarak görüyoruz. Sefotaksim bağlanma sırasında saf sefotaksim yapısındaki $\text{NH}_2\text{-C}$ grubuna ait 3294 cm^{-1} deki pikin kaybolması da istenilen yapının elde edildiğini bize ispatlamaktadır.

4.1.2. Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısal karakterizasyon NMR sonuçları

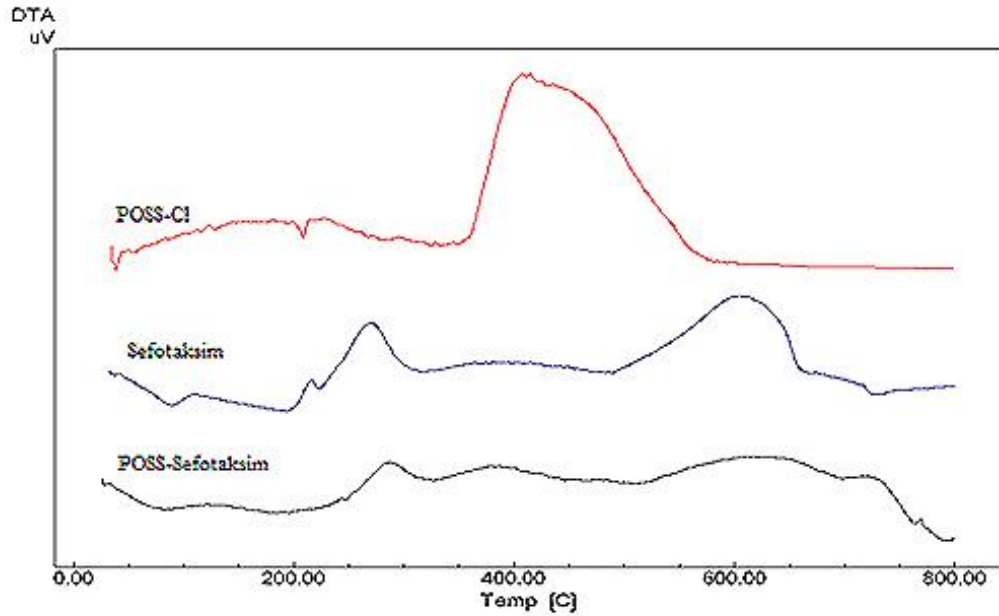
Çalışma kapsamında hazırlanan POSS temelli yapıların kontrolü FTIR tekniği yanında NMR tekniği ile de ayrıca karakterize edildi. Şekil 4.2’de kloro POSS, sefotaksim ve sefotaksim üniteleri taşıyan POSS yapılarının NMR spektrumları görülmektedir. Şekil 4.2 incelendiğinde; klorofonksiyonel POSS yapısına ait NMR spektrumunda; ^1H NMR (δ^a ppm), 2,70 (t, CH_2Cl , 16H); 1,81 (m, SiCH_2CH_2 , 16H); 0,91 (t, SiCH_2 , 16H), saf sefotaksim yapısına ait NMR spektrumunda ise 7,35 ppm de aromatik C-H protonlarını, 5,65 ppm N-H ve 5,01 ppm de NH_2 protonlarını görmekteyiz. Ayrıca alifatik karakterli CH_3 gruplarını 2,01 ppm’de görmekteyiz. Yine alifatik karakterli CH_2 grupları için proton pikleri farklı konumlarda olmak üzere 3,01 ve 3,81 ppm arasında görülmektedir. Aromatik karakterli C-H protonları ise 7,35 ppm’de görülmektedir. Bu saf yapılara ait pikler POSS-Sefotaksim yapısında da görülmektedir. Özellikle aromatik karakterli sefotaksim yapısını karakterize eden 7,35 ppm piki POSS-Sefotaksim NMR spektrumunda açıkça görülmektedir. POSS-Sefotaksim yapısına ait NMR spektrumunda ise POSS’a ait karakteristik 2,01 (m, SiCH_2CH_2 , 16H) ve 1,20 (t, SiCH_2 , 16H) proton pikleri gözlenmektedir. Bunun dışında bağlanmanın bir göstergesi olan 3,01 ppm de CH_2N protonunu görmekteyiz. Bu pikler istenilen POSS-Sefotaksim yapısının elde edildiğini bize ispatlamaktadır.

4.1.3. Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait termal analiz sonuçları

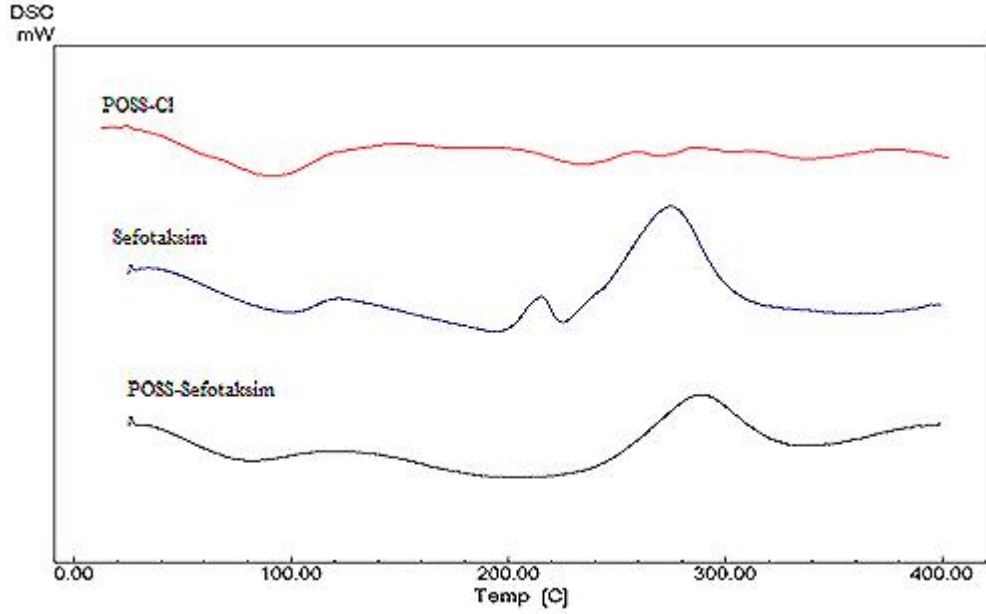
Termal analiz sonuçları TGA, DTA ve DSC teknikleri kullanılarak elde edilmiştir. TGA, DTA ve DSC sonuçları sırası ile şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5’ de verilmiştir.



Şekil 4.3. POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim’e ait TGA termogramları



Şekil 4.4. POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim’e ait DTA termogramları



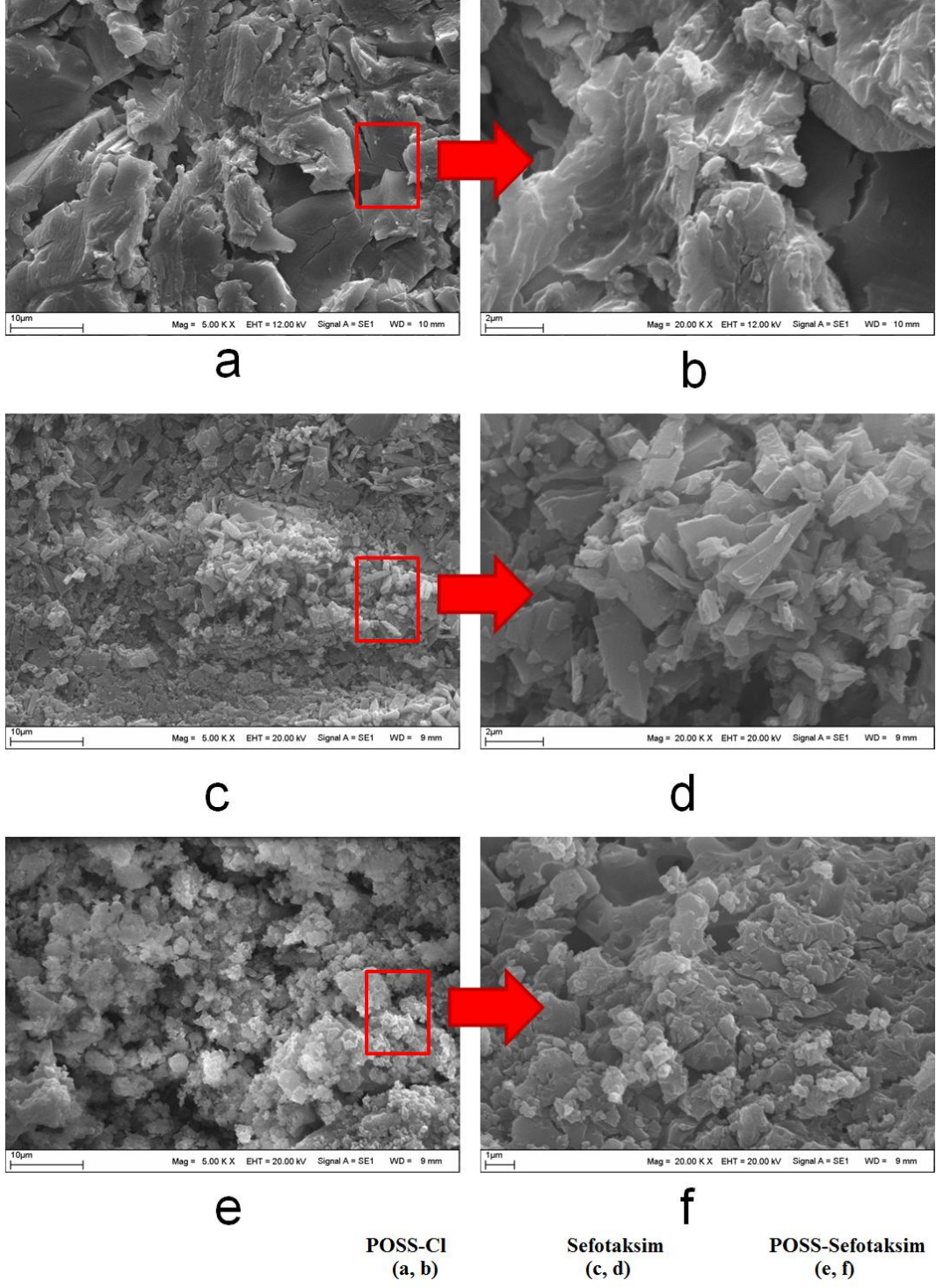
Şekil 4.5. POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim'e ait DSC termogramları

Şekil 4.3'de POSS-Cl, sefotaksim ve POSS-Sefotaksim'e ait TGA termogramları verilmiştir. Bu termogramlarda POSS yapısının termal kararlılığının yüksek olduğu ve 326°C'ye kadar termal dayanıklı olduğu görülmektedir. Bu kübik POSS yapısı için beklenen bir bulgudur. Bu sıcaklık değerinden sonra POSS yapısı üzerinde bulunan organik yapıları yan grupların bozunmaya uğradığı görülmektedir. Toplam kütle kaybı değeri 700°C'de yaklaşık %50 civarındadır. Bu sonuç kübik POSS yapısına sekiz kolunda $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-Cl}$ grupları bulunduğunu göstermektedir. Sefotaksime ait termogram incelendiğinde ise; sefotaksim grubunun kademeli olarak bozunduğunu gözlenmektedir. 105°C civarında yapıdaki nemin uzaklaştığını daha sonra ise üç temel kütle kaybı ile bozunduğunu görmekteyiz. POSS-Sefotaksim yapısında ise yine yapıdaki nemin uzaklaşması 110°C civarında görülmektedir. Genel molekül yapısı 220°C'ye kadar dayanıklıdır. Buradan sefotaksim yapısının POSS gruplarına bağlanması ile termal kararlılığının arttığını görmekteyiz. Bu bulgular DTA ve DSC termogramları ile desteklenmiştir. Şekil 4.4'deki termogramlarda POSS-Cl, sefotaksim, POSS-Sefotaksim'e ait DTA eğrileri verilmiştir. Bu eğrilerde saf POSS yapısının 200°C civarında kristalizasyon geçişini görmekteyiz. Ayrıca organik yapının 350-565°C arasında bozunduğu görülmektedir. Sefotaksim yapısı 200-310 °C arası 310-485°C arası ve 485-655°C arasında üç temel kütle kaybı göstermektedir. Bu kütle kaybı

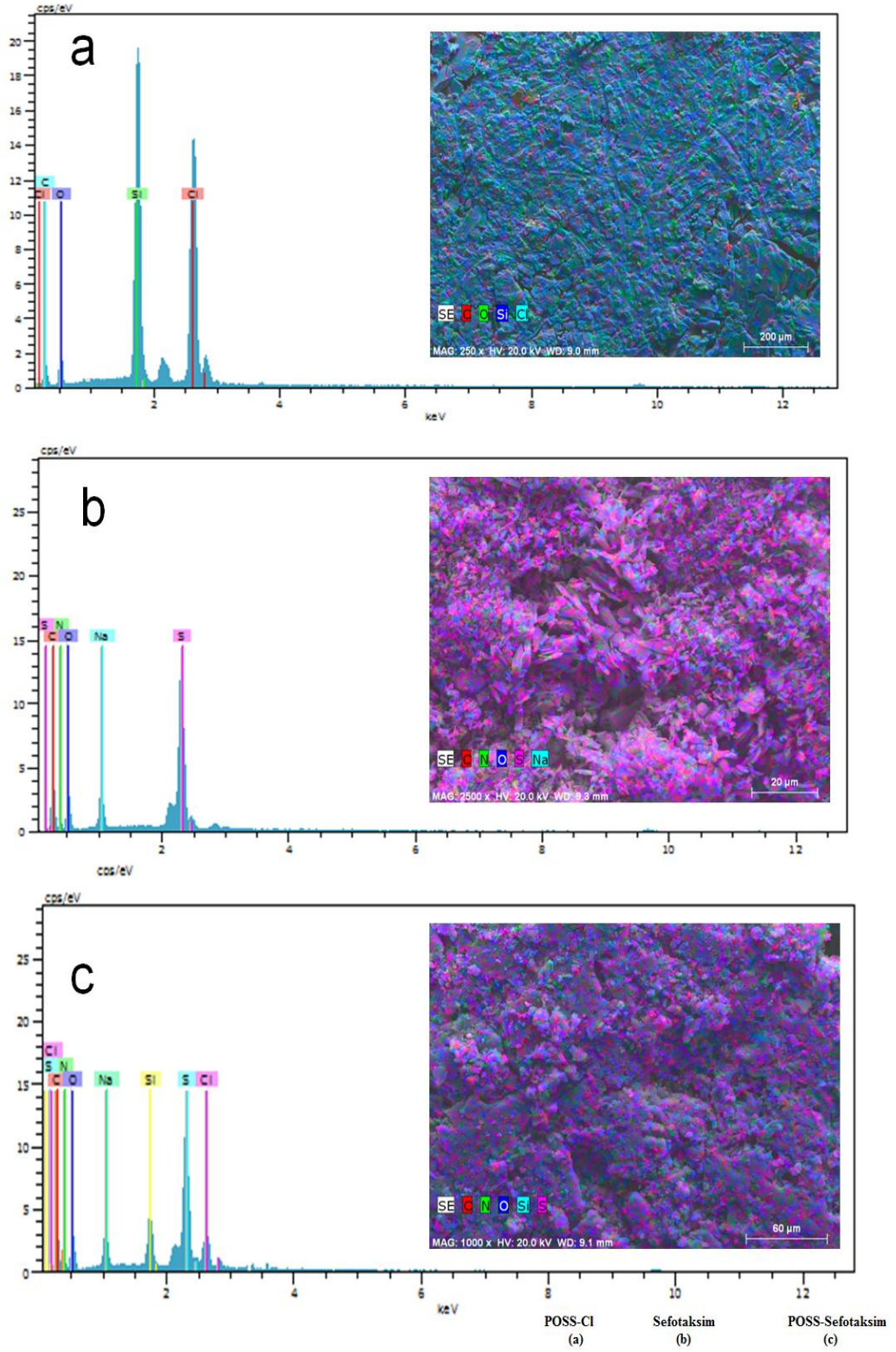
değerleri literatür kayıtları ile uyumlu olarak görülmektedir. Birinci kütle kaybı yan grup olan alifatik $\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$ yapısının degradasyonundan kaynaklanmaktadır. İkinci kütle kaybı beş üyeli halkanın degradasyonundan kaynaklanmaktadır. Son kütle kaybı ise köprülü halkaların termal degradasyonu sonucundadır. Son olarak 650-700°C arasında basit bir termal bozunma piki görülmüştür. POSS-Sefotaksim yapısına ait termogramda yapıya bağlanan sefotaksim gruplarından kaynaklı temel bozulma piklerini direkt olarak görmekteyiz. Öncelikle sefotaksim esterik yan gruplarının bozunma pikini 210-320°C civarında ve yine POSS yan grupları ile beş üyeli sefotaksim halka bozunmasını 320-450°C’de görmekteyiz. Temel köprülü halka bozunma bandını ise 530-680°C arasında net olarak görmekteyiz. DTA termogramları ve TGA termogramları bir arada incelendiğinde POSS yapısı üzerindeki sekiz kolada sefotaksim bağlandığı sonucuna varılabilir. DSC termogramlarında Şekil 4.5’de verilmiştir. Bu termogramlarda POSS yapısında 30-400°C sıcaklık aralığında belirgin bir bozunma piki bulunmaz iken sefotaksim bozunma piki 198°C’de başlamaktadır. Ancak POSS-Sefotaksim yapısının bozunma sıcaklığı 250°C’de başlamaktadır. DSC termogramlarında bu tür bir bağlanmanın sefotaksim molekülünün termal kararlılığını arttırdığı sonucuna varılabilir.

4.1.4. Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait yüzey analiz sonuçları

Yüzey analizleri SEM, EDX-elementel haritalandırma ile yapılmıştır. Sonuçlar şekil 4.6 ve şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.6. POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim için farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri



Şekil 4.7. POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim için EDX-elementel haritalama görüntüleri

Şekil 4.6’da POSS-Cl, saf sefotaksim ve POSS-Sefotaksim yapılarına ait SEM görüntüleri düşük ve yüksek büyütme oranlarında kıyaslamalı olarak verilmiştir. SEM görüntülerinde sonuç ürün yapısı başlangıç maddelerine göre oldukça farklı ve homojen yapıldığı görülmektedir. POSS yapısına ait SEM görüntüsünde fraktal bir yapı sergilemektedir. Özellikle yakın büyütmede yüzey kavitelerinin oldukça büyük olduğu dikkat çekmektedir. Sefotaksim yapısında küçük parçalı bir yapı söz konusu olup yakın büyütmelerde bu parçaların düzlemsel kırıklardan oluştuğu görülmektedir. POSS-Sefotaksim yapısında ise homojen bir toz yapısı hakimdir. Düzlemsel parçalar yok olmuş küçük kaviteler oluşmuştur. Yapıdaki farklılaşma yeni bir yapının oluşumunu ispatlamakla beraber homojen görünüm ürünün saflığını göstermektedir. Şekil 4.7’de POSS-Cl, saf sefotaksim ve POSS-Sefotaksim yapılarına ait EDX spektrumları görülmektedir. POSS-Cl yapısının spektrumunda C, O, Cl ve Si pikleri net olarak görülmektedir. 0,277 keV’da C, 0,523 keV’da O, 1,743 ve 0,092 keV’da Si ve 2,622 keV’da Cl piklerini görmekteyiz. EDX-elementel haritasında ise bu dört elementin homojen yayılımını görmekteyiz. Saf sefotaksim yapısında S, N, C, H ve O elementleri bulunmaktadır. Ancak sefotaksimin ilaç formu kullanıldığından yapısında çözünürlüğünü arttırmak için kullanılan sodyum tuzu da gözlenmektedir. Sefotaksim yapısına ait EDX spektrumunda S, N, O, C ve Na elementlerine ait pikleri görmekteyiz. 0,277 keV’da C, 0,523 keV’da O, 2,307 ve 0,149 keV’da S ve 1,040 keV’da Na piklerini görmekteyiz. POSS-Sefotaksim yapısında hem POSS grubundan hem de sefotaksim molekülünden gelen yapılara ait pikler görülmektedir. 0,277 keV’da C, 0,523 keV’da O, 2,307 ve 0,149 keV’da S, 1,743 ve 0,092 keV’da Si ve 1,040 keV’da Na piklerini açıkça görmekteyiz. Bu sonuç istenilen yapının elde edildiğini doğrular niteliktedir. Ayrıca EDX-elementel haritalandırma görüntüsünde de sonuç ürün yapısının homojenliği görülmektedir.

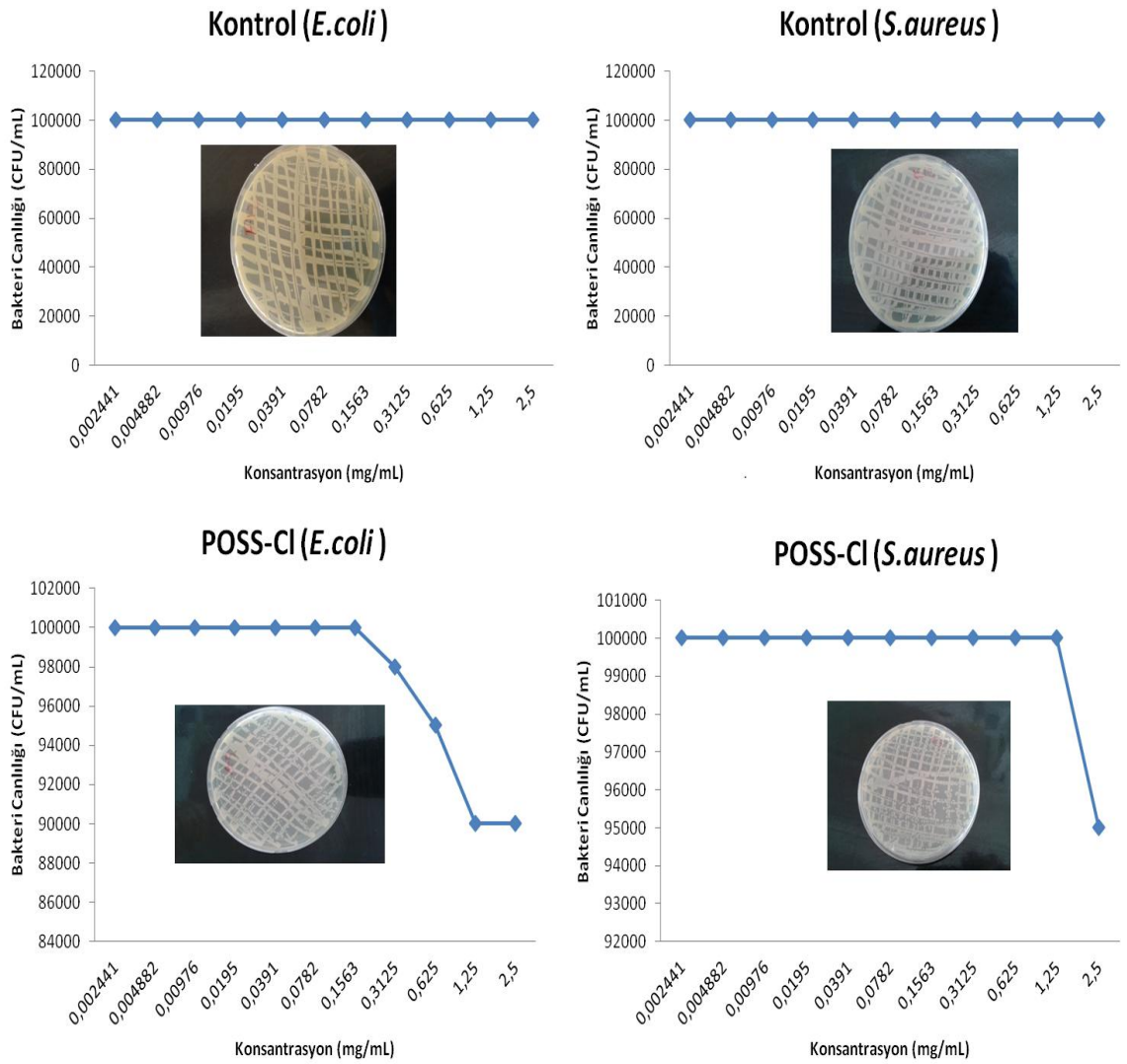
4.1.5. Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait biyokimyasal ve hücre kültürü sonuçları

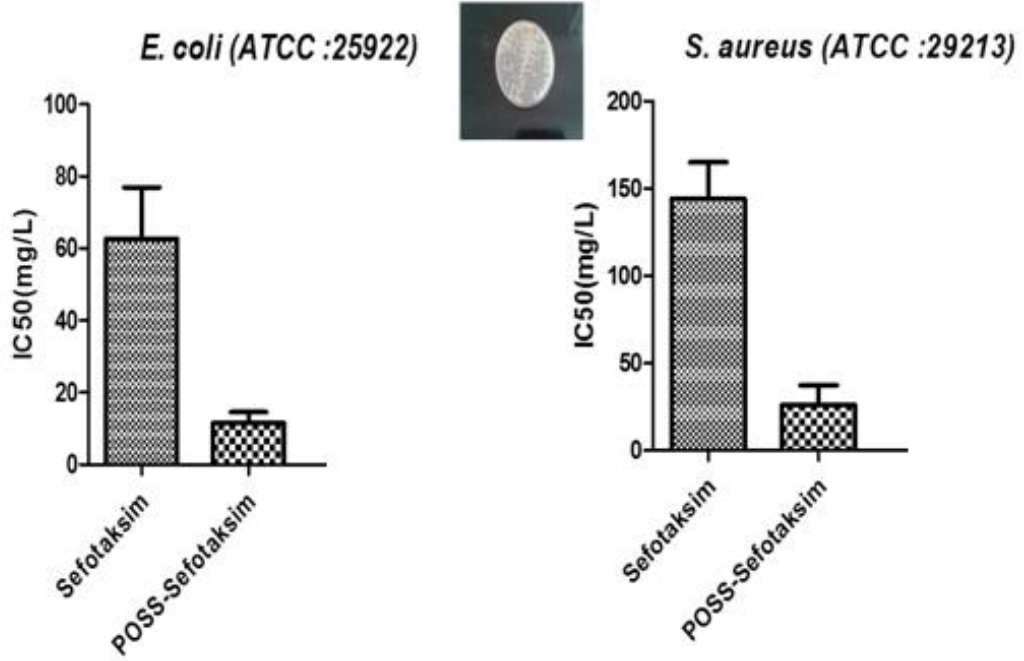
Sefotaksim antibiyotik olduğu için, antibakteriyel aktiviteye oldukça yaygın kullanılan broth mikrodilüsyon metodu ile bakıldı. *İn vitro* sitotoksite testleri ise MTT testi ile gerçekleştirildi.

4.1.5.1. Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait antibakteriyel aktivite sonuçları

Broth mikrodilüsyon metoduna göre antibakteriyel etkinlikleri belirlendi. Sonuçlar IC_{50} (bakterilerin %50 sini inhibe eden konsantrasyon) değeri olarak verildi. Çalışma sonuçlarımıza göre; kontrol, klorofonksiyonel POSS yapıları için hem *E.coli* hem de *S.aureus* bakterileri içeren besiyerlerinde sıvama üreme görüntüleri mevcut olup, antibakteriyel etkinlik gözlenmemiştir. Bu gözlemler Tablo 4.1’de verilmiştir. Bu nedenle sadece antibakteriyel etkinlik gösteren sefotaksim, POSS-Sefotaksim nano konjugatları için kantitatif olan IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Şekil 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Kontrol ve POSS-Cl bakteri canlılığı- konsantrasyon ilişkisi





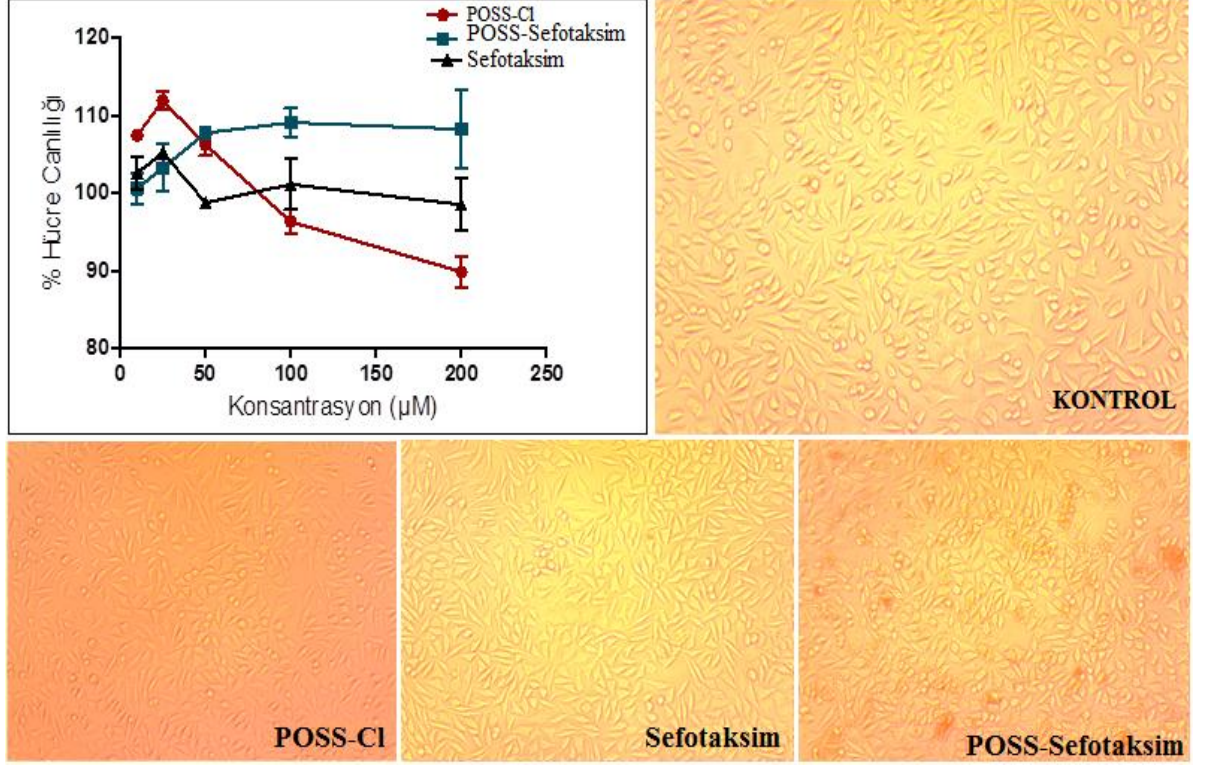
Şekil 4.8. Sefotaksim, POSS-Sefotaksim IC₅₀ değerleri

POSS-Sefotaksim, sefotaksim için antibakteriyel etkinlik şekil 4.8’de verilmiştir. Bu doğrultuda *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerinde, kontrol ve klorofonksiyonel POSS yapılarında antibakteriyel etkinliğin olmadığını, bunlara kıyasla yeni sentezlenen POSS-Sefotaksim formülasyonunun *E.coli* bakterisinde antibakteriyel etkinliğin sefotaksimden istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), *S.aureus* de ise ($p<0,01$) oldukça anlamlı bir artış gösterdiğini görmekteyiz. Hedef sentezlenen POSS-Sefotaksim nano konjugat formülasyonu ortalama beş kat daha fazla antibakteriyel etkinliğe sahiptir. Bu sonuç; tez kapsamında hedeflenen aynı dozda yüksek antibakteriyel etkinliğin başarı ile sağlandığını kanıtlamaktadır.

4.1.5.2. Klorofonksiyonel POSS, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim yapısına ait hücre kültürü sitotoksik sonuçları

Sentezlenen klorofonksiyonel POSS, sefotaksim, POSS-Sefotaksim nano-konjugatın L-929 fibroblast hücreleri ile gerçekleştirilen sitotoksik test sonuçları ve hücre görüntüleri Şekil 4.9’da verilmiştir. Hücre canlılığı sonuçları dahilinde sentezlenen POSS-Sefotaksim formülasyonunun L-929 hücreleri üzerine sitotoksik olmadığı deneysel olarak kanıtlanmıştır. Verilen hücre görüntüleri POSS-Sefotaksim nano konjugatı için en düşük konsantrasyon görüntüleri olup hücre

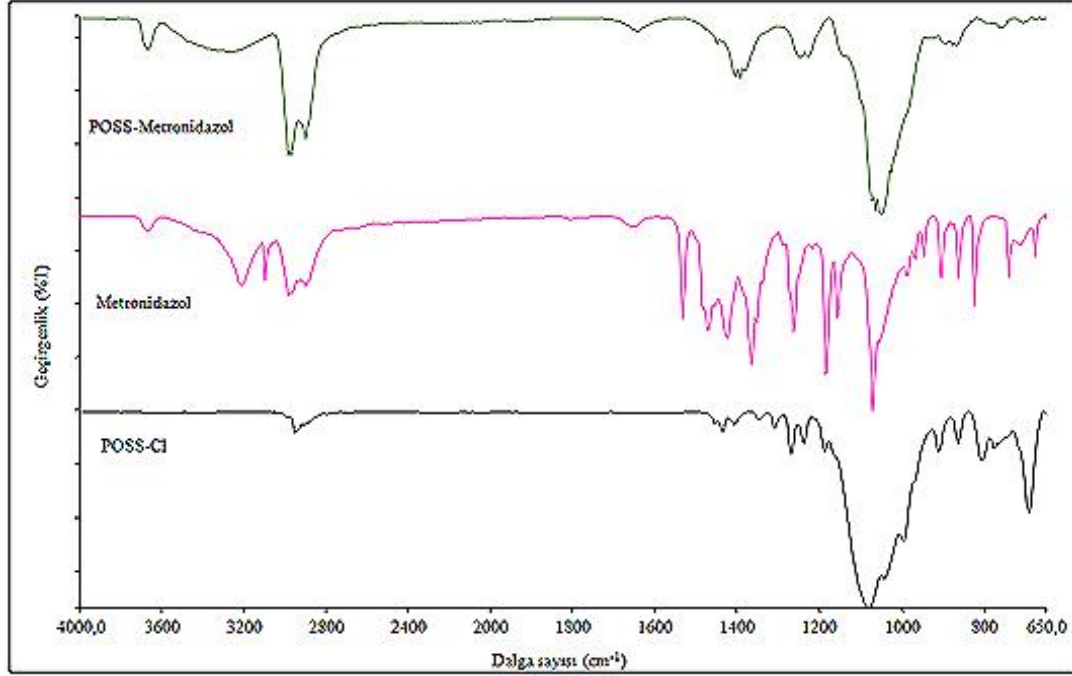
canlılığının kontrole yakın düzeyde olduğu gözlenmektedir. Hatta saf klorofonksiyonel POSS yapısının sefotaksim bağlandıktan sonra var olan hücre canlılığının daha da arttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.9. POSS-Cl, Sefotaksim, POSS-Sefotaksim L-929 fibroblast hücre canlılığı sonuçları ve görüntüleri

4.2. Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol Yapısına Ait Bulgular

4.2.1. Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısal karakterizasyon FTIR sonuçları



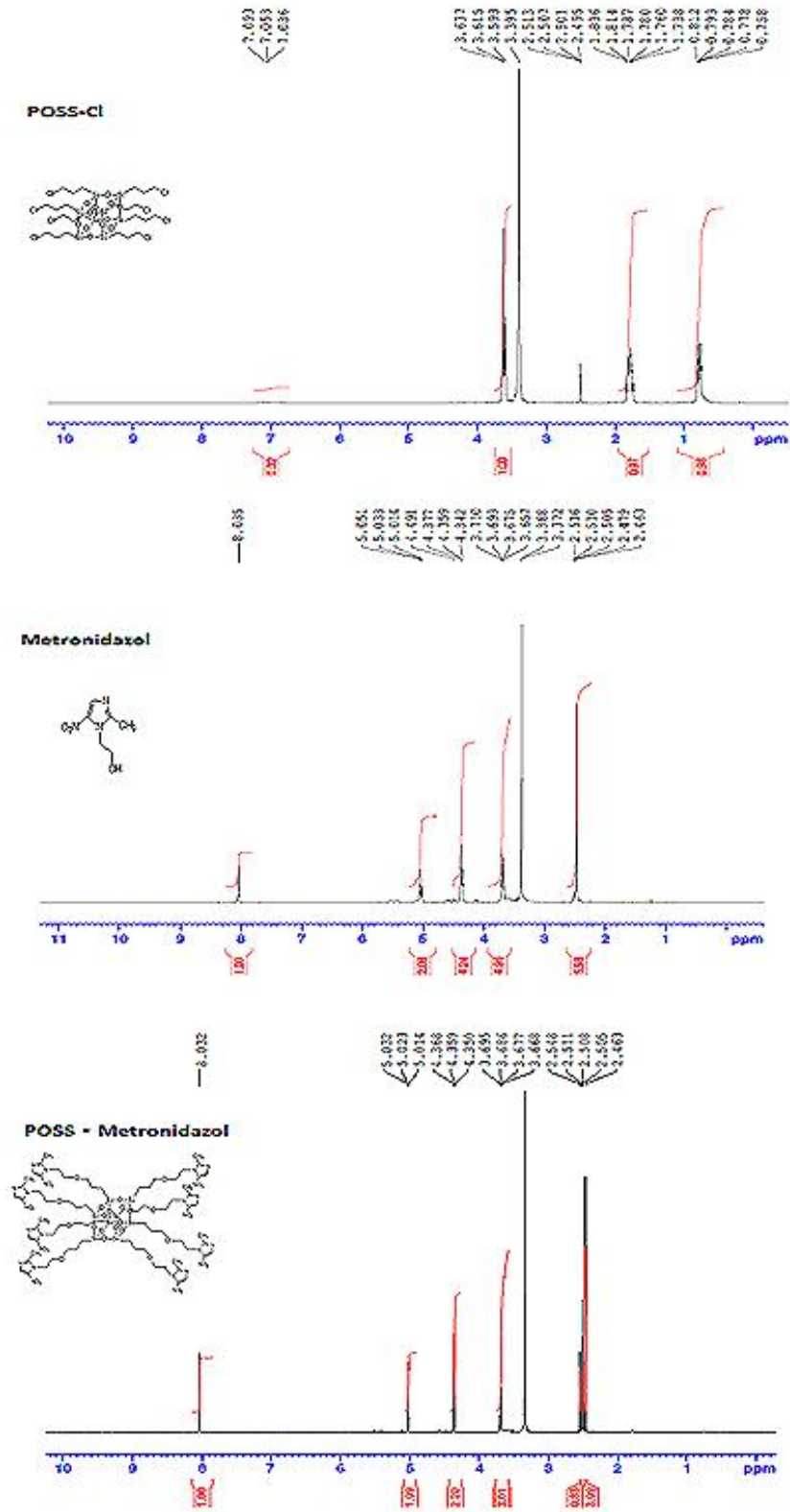
Şekil 4.10. POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait FTIR spektrumları

Metronidazol yapısı ile gerçekleştirilen sentezler kapsamında istenilen yapının kontrolü öncelikle FTIR analizleri ile gerçekleştirildi. Saf metronidazol, kloro fonksiyonel POSS ve metronidazol grupları bağlanmış POSS yapılarına ait FTIR spektrumları şekil 4.10'da verilmiştir. Metronidazol molekül yapısı olarak oldukça küçük bir diazol molekülüdür. Yapısında diazol halkası haricinde bir adet nitro grubu ve alifatik metilenler bulunmaktadır. Ayrıca bir adet hidroksil grubu taşımaktadır. Yapıda bulunan nitro gruplarından kaynaklı olarak asimetrik NO_2 gerilme titreşimi 1505 cm^{-1} ve simetrik NO_2 gerilme titreşimleri 1360 cm^{-1} 'de görülmektedir. 1442 cm^{-1} 'de diazol halkası üzerinde bulunan C-N gerilme titreşimleri ve 925 cm^{-1} 'de alifatik karakterli CH_2 yapısı C-H piklerini görmekteyiz. Yine alifatik karakterde CH_3 yapısındaki metilen grubu C-H gerilme titreşimleri ikili bir pik olarak $2846\text{-}2941\text{ cm}^{-1}$ 'de bulunmaktadır. Çalışma kapsamında saf metronidazol grupları -OH bağı üzerinden bağlanmaktadır. Saf metronidazol yapısında -OH gerilme titreşimi 3217 cm^{-1} 'de görülmesine rağmen POSS metronidazol yapısında bulunmamaktadır. Bu bulgu metronidazolün önerilen biçimde POSS yapısına bağlandığını göstermektedir. POSS-Cl yapısının FTIR

spektrumu incelendiğinde spektrumda 1000-1100 cm^{-1} 'de POSS yapısından kaynaklanan Si-O- bağına ait geniş bandı, 928 ve 770 cm^{-1} 'de Si-O-Si bağı için simetrik gerilme piklerini görmekteyiz. Bu sekiz fonksiyonel POSS yapısına sterik engeli oldukça az olan metronidazol yapısı oldukça yüksek verimle bağlandı ve sonuç üründeki diazol halka pikleri istenilen yapının elde edildiğini ispatlamaktadır. Bu yapıda hem 1092 cm^{-1} 'de Si-O-Si, 750 ve 972 cm^{-1} 'de Si-O gerilme piklerinin olması hem de metronidazol gruplarından kaynaklı 1412 cm^{-1} deki C-N gerilme titreşimlerinin bulunması metronidazol gruplarının yapıya bağlandığını göstermektedir.

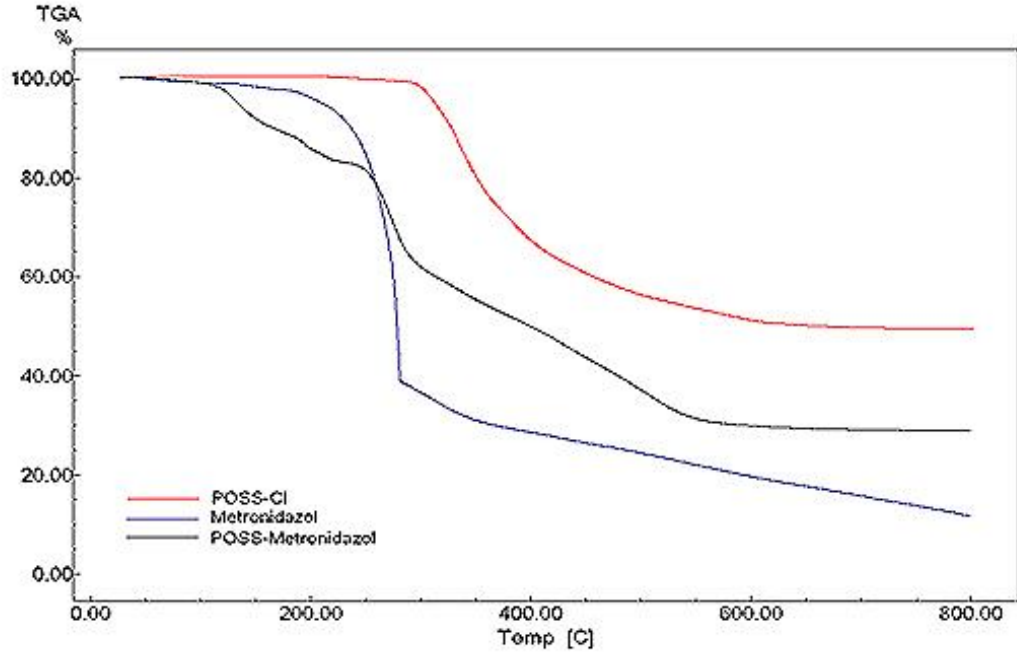
4.2.2. Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısal karakterizasyon NMR sonuçları

Şekil 4.11'de metronidazol ve POSS-Metronidazol yapılarına ait ^1H NMR spektrumları görülmektedir. Bu spektrumları şekil 4.11'de klorofonksiyonel POSS'un spektrumu ile beraber yorumladığımızda, istenilen yapının elde edildiğini görmekteyiz. Bu spektrumlarda POSS yapısı için alifatik karakterde proton grupları görülmektedir. Klorofonksiyonel POSS yapısında kimyasal çevreleri bir birinden farklı 3 temel proton görülmektedir. 2,70 ppm $-\text{CH}_2-\text{Cl}$, 1,81 ppm $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ ve 0,91'de ise $\text{Si}-\text{CH}_2-$ protonlarının pikleri görülmektedir. Saf metronidazol yapısında aromatik halkaya bağlı C-H protonu 8,05 ppm'de görülmektedir. Daha elektronegatif bir grup olan OH grubuna bağlı CH_2 protonları 4,45 ppm'de ve aromatik halka yapısına bağlı olan CH_2 grupları 3,87 ppm'de görülmektedir. Alifatik karakterli CH_2-CH_2 yapısı ise 3,51 ppm'de net bir şekilde görülmektedir. Bu spektrumlarda metronidazol ve POSS' ait tüm protonların POSS-Metronidazol yapısında teorik olarak bulunması gereken kayma değerlerinde bulunduğu görülmektedir. Özellikle 8,01 ppm değerinde aromatik yapıların C-H pikini görmekteyiz. Bu pik tamamen alifatik karakterli POSS yapısının NMR'ında aromatik piklerin görülmesi metronidazol yapısının bağlandığını bize ispatlamaktadır. Bu sonuçlar istenilen sekiz kollu yapıların elde edildiğini göstermektedir. Diğer metronidazol ve POSS pikleri de benzer şekilde bu yapıda yer almaktadır. Özellikle alifatik karakterli CH_2 grupları 2,55, 3,85 ve 4,39 ppm'de görülmektedir. Bu nedenle POSS yapısındaki sekiz kolunda metronidazol yapısı taşıdığı pik değerleri ve integrasyon sonuçlarından anlaşılmaktadır.

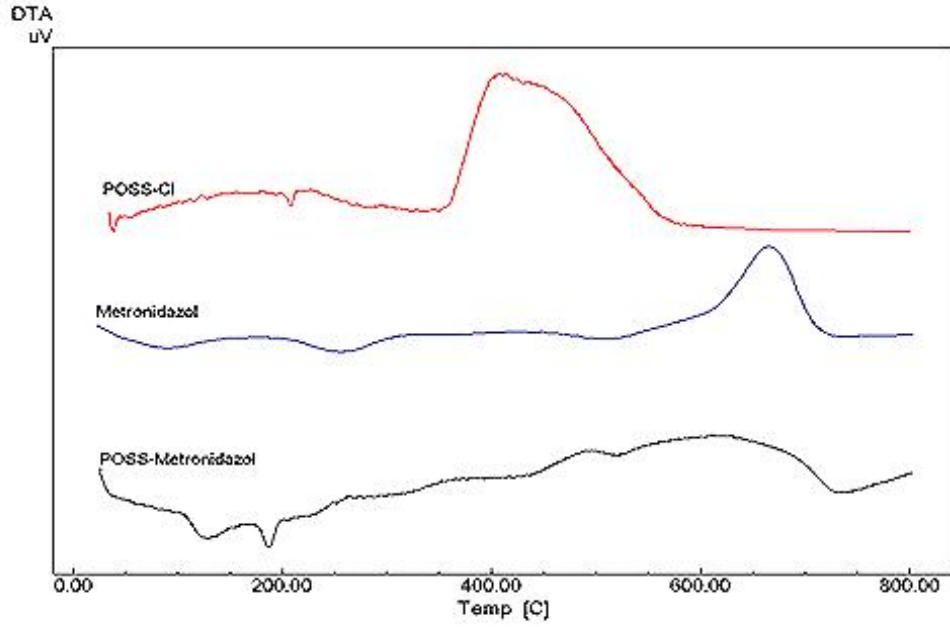


Şekil 4.11. POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait ¹H NMR spektrumları

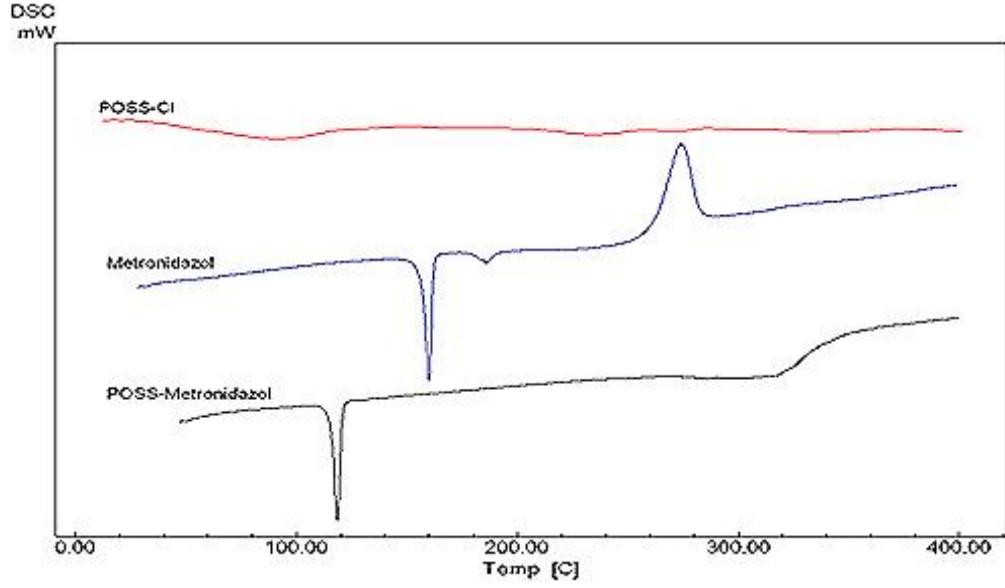
4.2.3. Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait termal analiz sonuçları



Şekil 4.12. POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait TGA termogramları



Şekil 4.13. POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait DTA termogramları



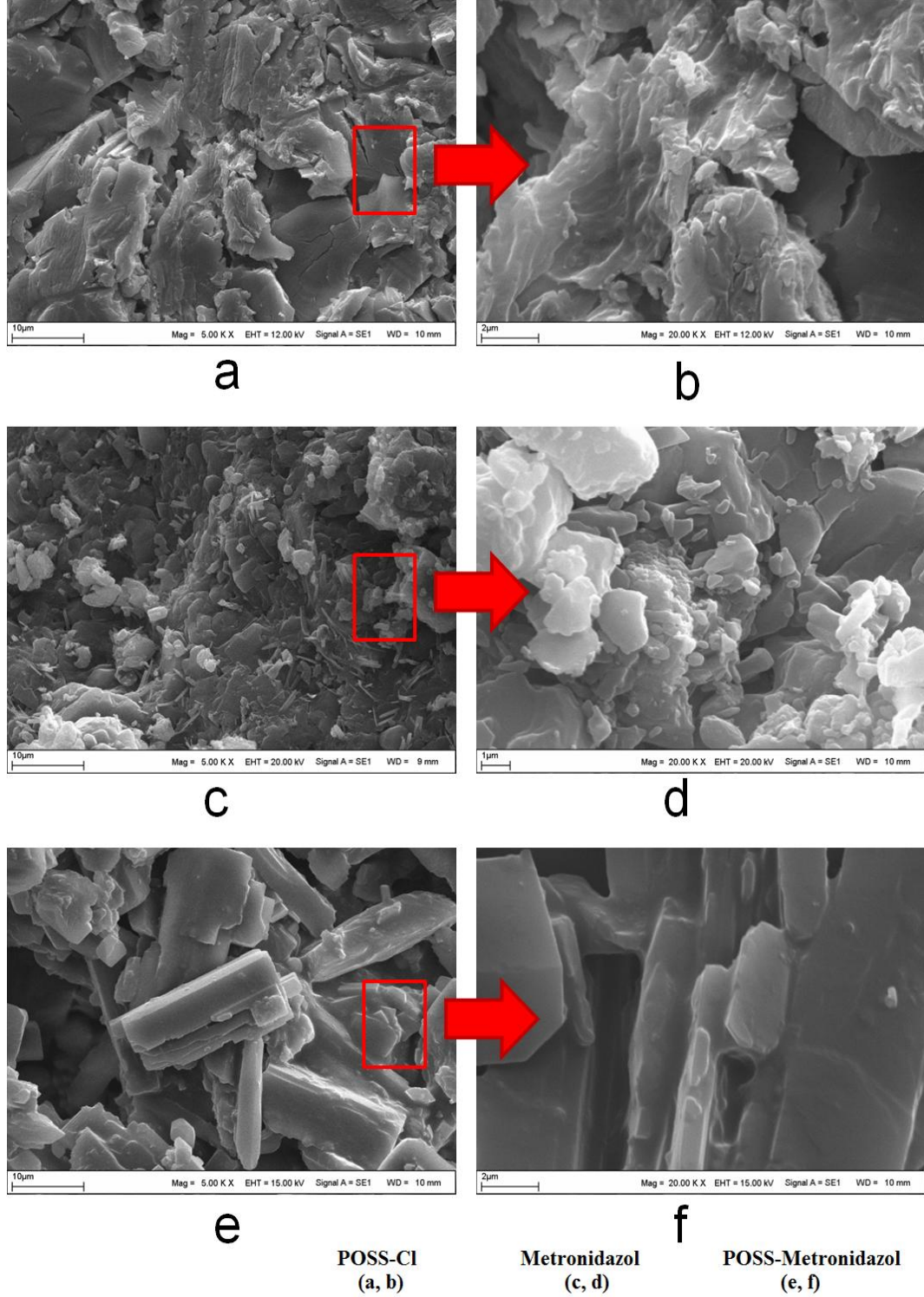
Şekil 4.14. POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait DSC termogramları

Şekil 4.12'de POSS-Cl, metronidazol ve POSS-Metronidazol'e ait TGA termogramları verilmiştir. Bu termogramlar incelendiğinde kloro POSS yapısının toplam bozunma sıcaklığı 325 °C'de başlamıştır. %50 kütle kaybı gerçekleşmiştir. 600°C'de %50 kalıntı kalmaktadır. Metronidazol molekülün bozunma sıcaklığı 170°C'de görülmektedir. Bozunma çok dar bir sıcaklık aralığında gerçekleşmiş ve 225°C'de bitmiştir. POSS-Metronidazol yapısında ise benzer sıcaklık aralığında POSS yapısına bağlanmış olan metronidazol gruplarının bozunma kütle kaybı görülmüştür. İlgili moleküllerin DTA termogramlarında kloropropil yan gruplarının bozunması 350-565°C arasında görülmüştür. Metronidazol molekülü termogramında 100-250°C arasında küçük bir bozunma ve daha sonrasında keskin bir termal bozunma piki görülmüştür. POSS-Metronidazol yapısında ise temel bozunma piki 221°C civarında başlamaktadır. Yapısal bozunma temel bir bant görünümündedir. 235-735°C arasında geniş bir bant görünümündedir.

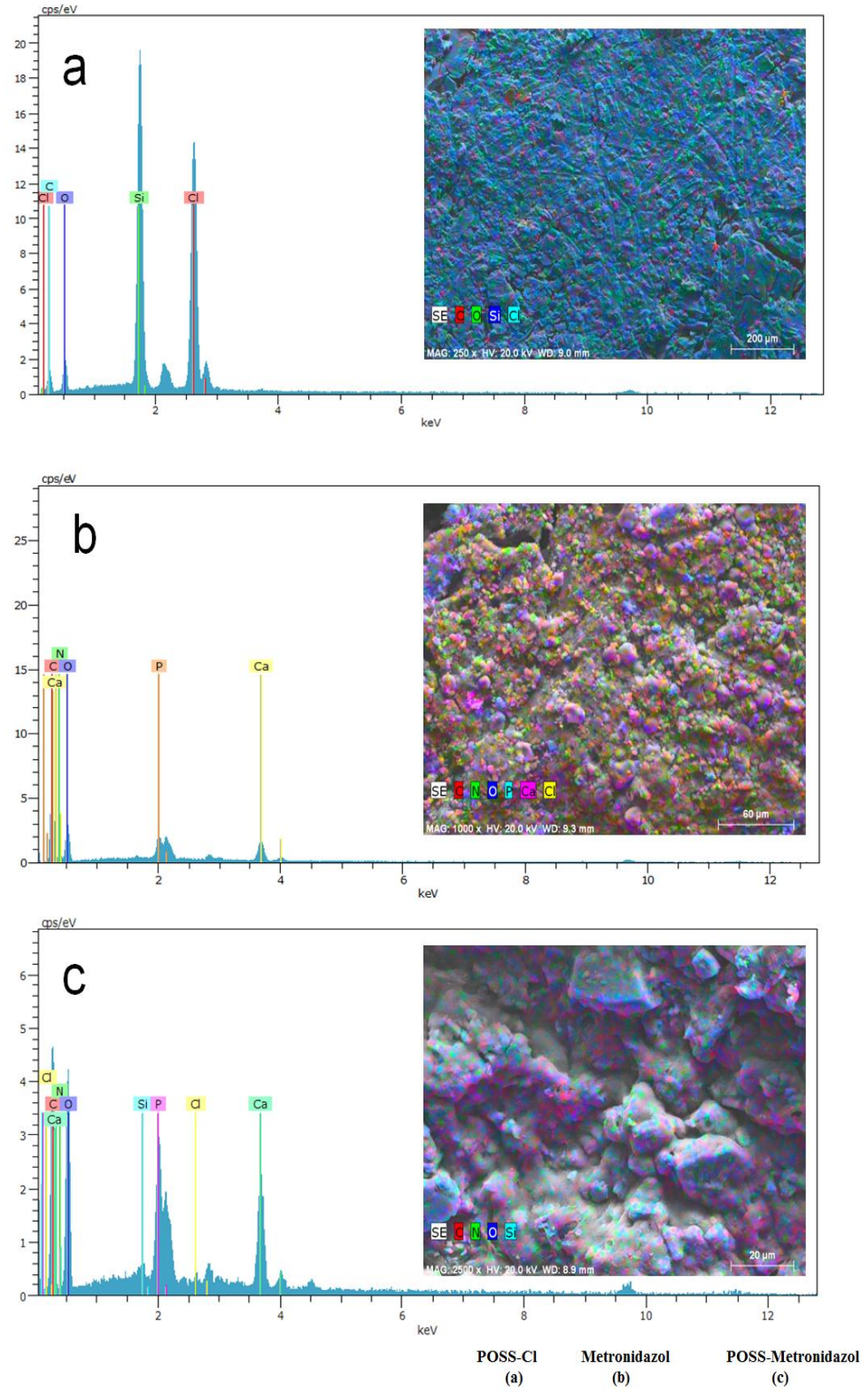
POSS-Cl, metronidazol, POSS-Metronidazol'e ait DSC termogramları şekil 4.14'de verilmiştir. Bu termogramlarda metronidazol yapısının 250-305 °C arasında çok keskin bir pik ile bozunduğu görülmektedir. Ancak POSS yapısına bağlandığında bozunma pik başlangıcı 320°C'ye kadar yükselmektedir. Bu da POSS molekülünün antibiyotik yapısına katkısını göstermektedir. Yine bu termogramlarda metronidazol grubunun erime piki 150°C de görülmektedir. POSS

metronidazol yapısının erime piki 120°C dendir. Bu değerin belirgin olarak değışmesi yapıya bir katkılama değil bağlanma olduğunu gösterir.

4.2.4. Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol , POSS-Metronidazol yapısına ait yüzey analiz sonuçları



Şekil 4.15. POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol için farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri

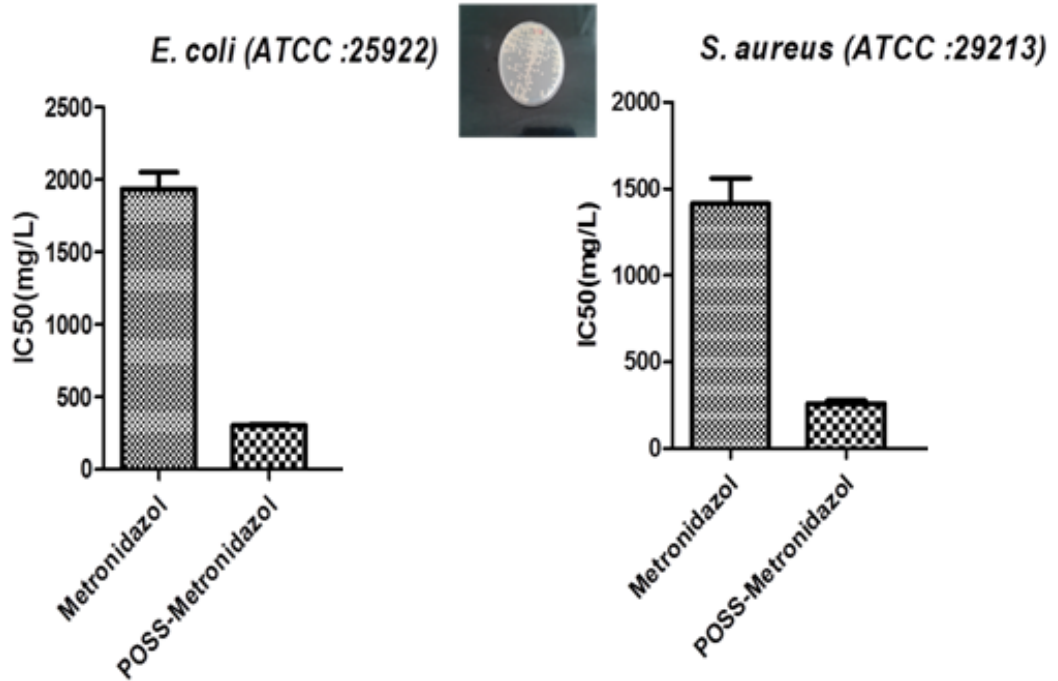


Şekil 4.16. POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol için EDX-elementel haritalama görüntüleri

Şekil 4.15’de POSS-Cl, metronidazol ve POSS-Metronidazol yapılarına ait SEM görüntüleri verilmiştir. Şekil 4.15 a ve b’de POSS-Cl yapısı incelendiğinde fraktal ve homojen bir yüzey görüntüsü görülmektedir. Yüksek büyütmede bu fraktal yapı daha belirgin olarak görülmektedir. Şekil 4.15 c ve d’de metronidazol yapısına ait SEM görüntüleri bulunmaktadır. Bu SEM görüntülerinde metronidazol yapısında POSS yapısındaki gibi fraktal bir yüzeye sahip olduğu görülmektedir. Ancak POSS yapısından farklı olarak daha küçük parçalı bir yapıdadır. POSS-Metronidazol yapısı başlangıç maddelerine göre çok farklı bir yüzey görüntüsü sergilemektedir. Daha kristalin ve düzlemseldir. Tüm yapı homojen olarak görülmüştür. Fraktal yapı yerini kübik kristalin oluşumlara bırakmıştır. Bu değişim yeni bir yapı kurulduğunu bize ispatlamaktadır. Şekil 4.16’ da POSS-Metronidazol yapısının hazırlanmasında kullanılan POSS-Cl, metronidazol yapılarına ait EDX spektrumları ve elementel haritalama görüntüleri, POSS-Metronidazol yapısına ait spektrumlar ile birlikte kıyaslamalı olarak verilmiştir. Şekil 4.16 a’da görünen klorofonksiyonel POSS yapısına ait C, O, Si ve Cl piklerini net bir şekilde görmekteyiz. Özellikle metronidazol gruplarının bağlanacağı klor grubuna ait $K\alpha$ 0,183 keV $K\beta$ 2,622 keV’da görülmüştür. Bu pikin POSS-Metronidazol konjugatında takibi ile POSS yapısındaki sekiz kolada metronidazol kollarının bağlanması sağlandı. Bu pikin şiddetindeki azalma yapıda serbest klor grubu bulunmadığını bize ispatlamaktadır. Özellikle EDX-elementel haritalama görüntülerinde de POSS-Metronidazol yapısında klor bölgeleri görülmemiştir. Sonuç olarak istenilen yapının elde edildiği ispatlanmıştır. Şekil 4.16 b’de metronidazol yapısına ait EDX görüntüsü görülmektedir. Bu spektrumda 0,277 keV da C 0,392 keV’da N 0,523 keV’da O ne ait pikler görülmektedir. Ayrıca konjugatın hazırlanmasında çözünürlük sağlanması amacı ile yapıya dahil edilmiş olan Ca, P elementleri görülmüştür. Benzer şekilde şekil 4.16 c’de C, N, O, Ca, P ve POSS yapısından kaynaklı olarak Si elementlerinin pikleri görülmektedir. Yapıda Si elementinin dahil olması istenilen POSS kafesinin metronidazole bağlandığını göstermektedir.

4.2.5. Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait biyokimyasal ve hücre kültürü sonuçları

4.2.5.1. Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait antibakteriyel aktivite sonuçları



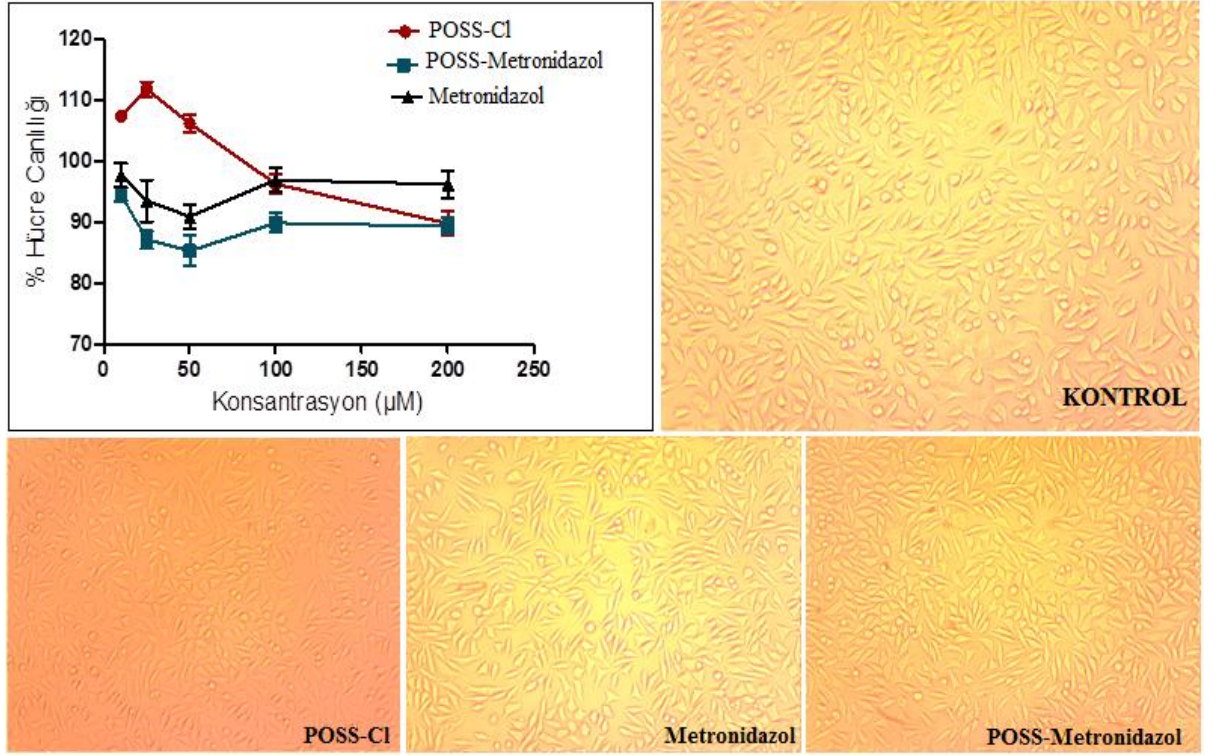
Şekil 4.17. Metronidazol, POSS-Metronidazol IC₅₀ değerleri

POSS-Metronidazol, metronidazol için antibakteriyel etkinlik şekil 4.17’de verilmiştir. Bu doğrultuda *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerinde kontrol ve klorofonksiyonel POSS yapılarında antibakteriyel etkinliğin olmadığını görmekteyiz. Aksine yeni sentezlenen POSS-Metronidazol nano konjugatın metronidazol’e göre istatistiksel olarak hem *E.coli* hemde *S.aureus* bakterilerinde yüksek düzeyde anlamlı ($p<0,001$) bir antibakteriyel artış göstermektedir. POSS-Metronidazol nano konjugat formülasyonu ise şekil 4.17’de görüldüğü gibi ortalama altı kat daha fazla antibakteriyel etkinliğe sahiptir. Bu sonuç; tez kapsamında istenen aynı dozda yüksek etkinliği bir kez daha kanıtlamaktadır.

4.2.5.2. Klorofonksiyonel POSS, Metronidazol, POSS-Metronidazol yapısına ait hücre kültürü sitotoksite sonuçları

Şekil 4.18’de verilen klorofonksiyonel POSS, metronidazol, POSS-Metronidazol nano-konjugatların L-929 fibroblast hücrelerinde sitotoksik olmadığı

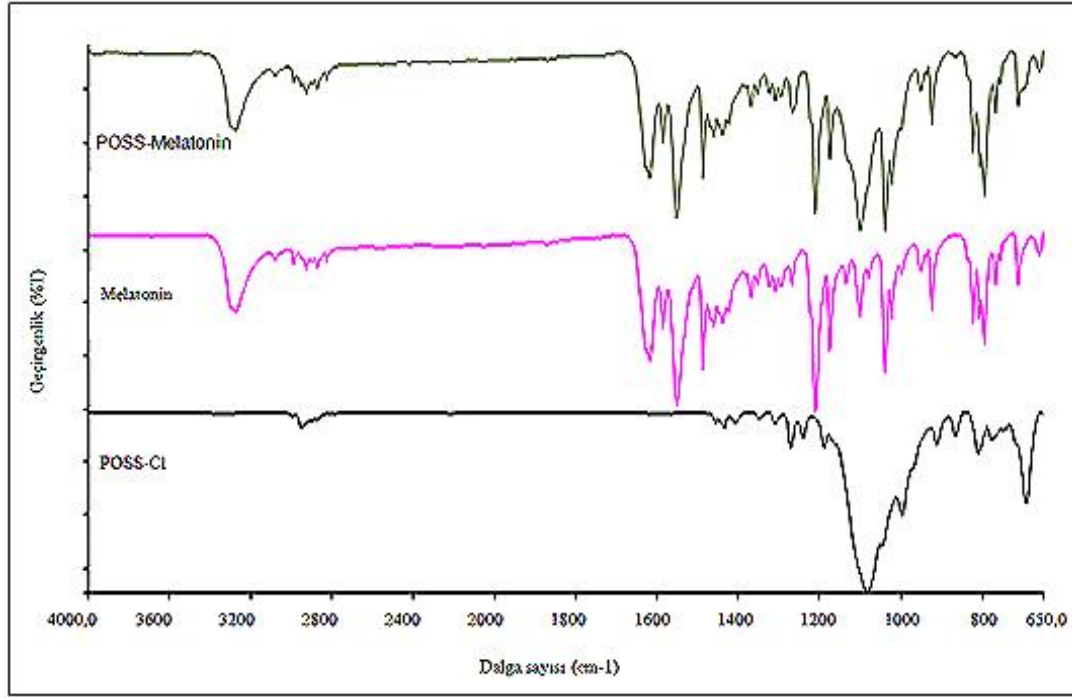
deneysel olarak ispatlanmıştır. Sentezlenen formülasyon biyouyumlu yönü ile tıbbi amaçlara dönük olarak pek çok alanda da kullanılabilir.



Şekil 4.18. POSS-Cl, Metronidazol, POSS-Metronidazol L-929 fibroblast hücre canlılığı ve görüntüleri

4.3. Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin Yapısına Ait Bulgular

4.3.1. Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısal karakterizasyon FTIR sonuçları



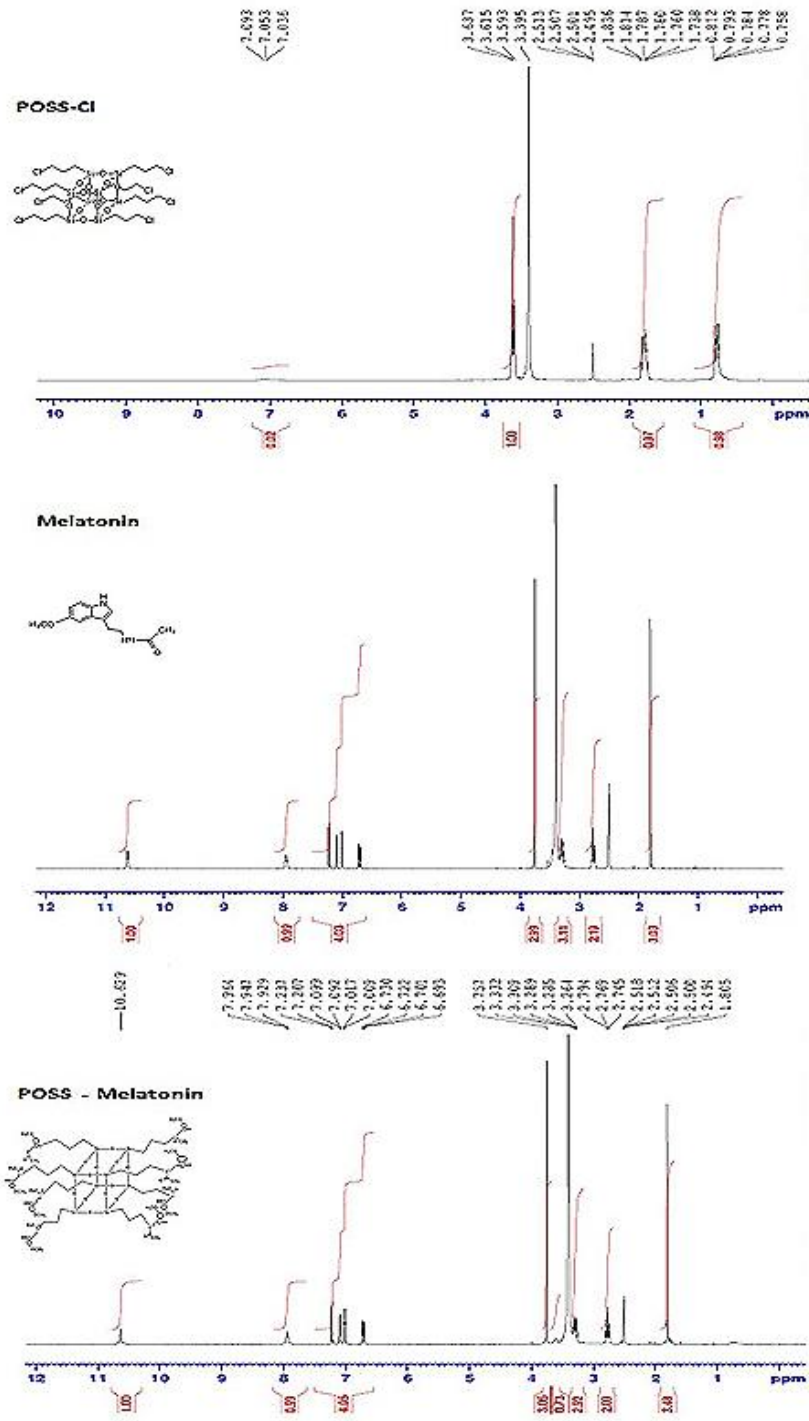
Şekil 4.19. POSS-Cl, Melatonin , POSS-Melatonin'e ait FTIR spektrumları

Çalışma kapsamında antioksidan özelliği açısından önemli bir molekül olan melatonin çoklu etki göstermesi için POSS yapısına bağlandı. Bu katılma reaksiyonu öncelikle FTIR spektrumları ile tespit edildi. FTIR spektrumlarında POSS-Cl, saf melatonin ve POSS-Melatonin bileşiklerinin yapıları aydınlatılarak birlikte yorumlandı. Şekil 4.19'da her üç yapıya ait FTIR spektrumları verilmiştir. Melatonin yapısının FTIR spektrumlarında C-N gerilme titreşimleri 1446 cm^{-1} 'de, 1640 cm^{-1} 'de amit gruplarına ait gerilme piki, ve yine amit N-H gerilme piki ise 1272 cm^{-1} 'de görülmektedir. 1272 cm^{-1} 'de ise eterik $\text{CH}_3\text{-O-C}$ piki yapıyı göstermektedir. POSS yapısı ise $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ 'de aralığında geniş bir bant ile Si-O-Si ve 928 ve 770 cm^{-1} 'de Si-O bağı simetrik gerilme piklerinin yanı sıra alifatik C-H gerilme pikini $2820\text{-}2940\text{ cm}^{-1}$ 'de vermektedir. POSS yapısına melatonin gruplarının bağlanması ile elde edilen sonuç üründe hem POSS merkezinden hem de melatonin gruplarından kaynaklı pikleri bir arada görmekteyiz. Sonuç üründe

POSS yapısından kaynaklı Si-O-Si bandı 1112 cm^{-1} 'de ve Si-O pikleri ise beklenildiği gibi 932 ve 776 cm^{-1} de görülmektedir. Bu yapıdaki melatonin pikleri ise 1440 cm^{-1} 'de C-N gerilme titreşimleri, $2850\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ 'deki alifatik C-H gerilme titreşimleri, 1517 cm^{-1} 'de aromatik C=C gerilme piki ve 1657 cm^{-1} de C=O gerilme titreşimi olarak bulunmaktadır. Ayrıca yine melatonin yapısından kaynaklı 1205 cm^{-1} 'deki eterik C-O-C gerilme piki de melatonin varlığını ispatlamaktadır. Tüm bu piklerin yapısal olarak yorumlanması ile istenilen POSS-Melatonin yapısının elde edildiği net bir şekilde ispatlanmaktadır.

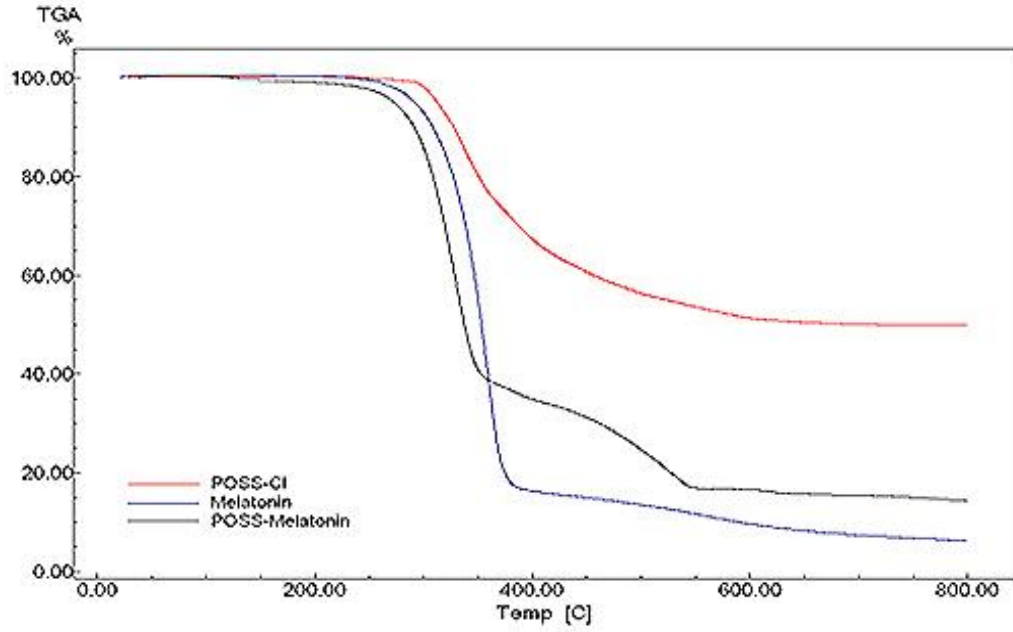
4.3.2. Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısal karakterizasyon NMR sonuçları

Tez kapsamında antioksidan aktivitenin birim molekül başına etkinliğinin artırılması için tercih edilen melatonin, POSS yapısının sekiz koluna bağlanmıştır. İstenilen yapının uygunluğu FTIR spektrumu yanında NMR spektrumları ile de karakterize edildi. Şekil 4.20'de klorofonksiyonel POSS, melatonin ve POSS-Melatonin yapılarına ait NMR spektrumları görmekteyiz. Bu spektrumlardan POSS yapısı için alifatik karakterde proton grupları görülmektedir. Klorofonksiyonel POSS yapısında kimyasal çevreleri bir birinden farklı 3 temel proton görülmektedir. Dublet olarak $2,70\text{ ppm}$ 'de $-\text{CH}_2\text{-N}$, multiyet olarak $1,81\text{ ppm}$ 'de $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ve dublet olarak $0,91\text{ ppm}$ değerinde ise Si- $\text{CH}_2\text{-}$ protonlarının pikleri görülmektedir. Saf melatonin yapısında kimyasal çevreleri farklı 14 proton bulunmaktadır. Bunlar sırası ile $1,66\text{ CH}_3\text{O}$, $3,31\text{ CHN}$, $3,60\text{ CH}_3\text{O}$, $2,68\text{ -CH}_2\text{-}$, $3,80$ amin yapısındaki N-H ve $7,89$ pirol halkasındaki N-H gruplarına ait protonların pikleridir. Ayrıca aromatik halkaya bağlı C-H protonları $6,61$, $6,74$, $6,77$, ve $7,00\text{ ppm}$ civarında görülmektedir. Tüm bu karmaşık spektrum POSS-Melatonin yapısında da görülmektedir. Özellikle POSS yapısındaki alifatik $2,70$, $1,81$ ve $0,69\text{ ppm}$ 'deki CH_2 pikleri ile melatoninin $1,69\text{ CH}_3\text{O}$, $3,21\text{ CHN}$, $3,61\text{ CH}_3\text{O}$, $2,58\text{ -CH}_2\text{-}$, $3,80$ amin yapısındaki N-H ve $7,89$ pirol halkasındaki N-H pikleri sonuç üründe net olarak görülmektedir. Bu sonuçlar istenilen yapının elde edildiğini bize ispatlamaktadır.

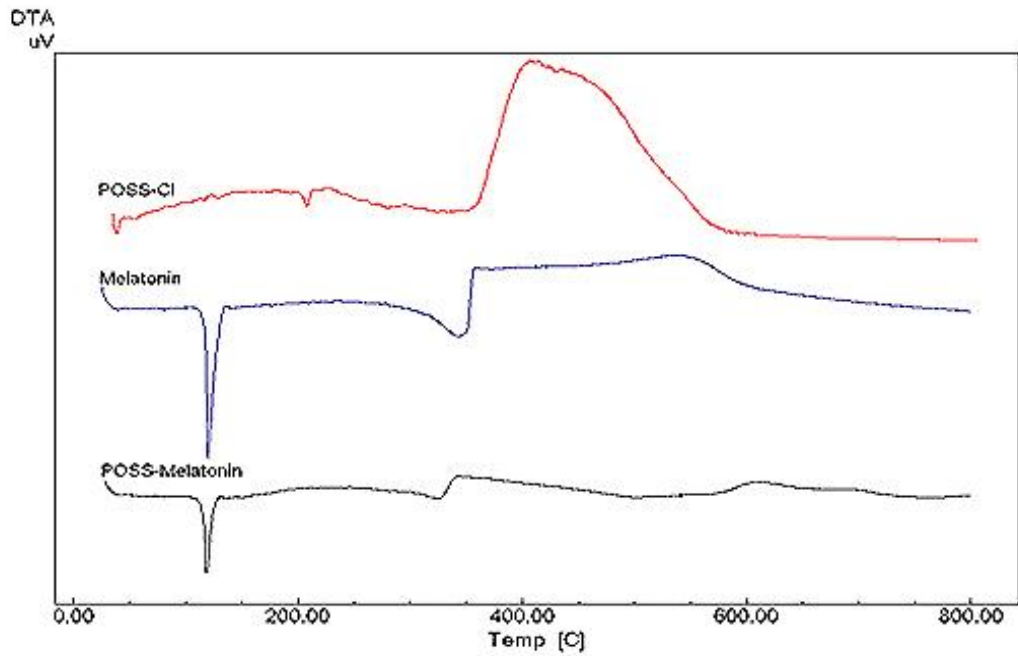


Şekil 4.20. POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin'e ait ^1H NMR spektrumları

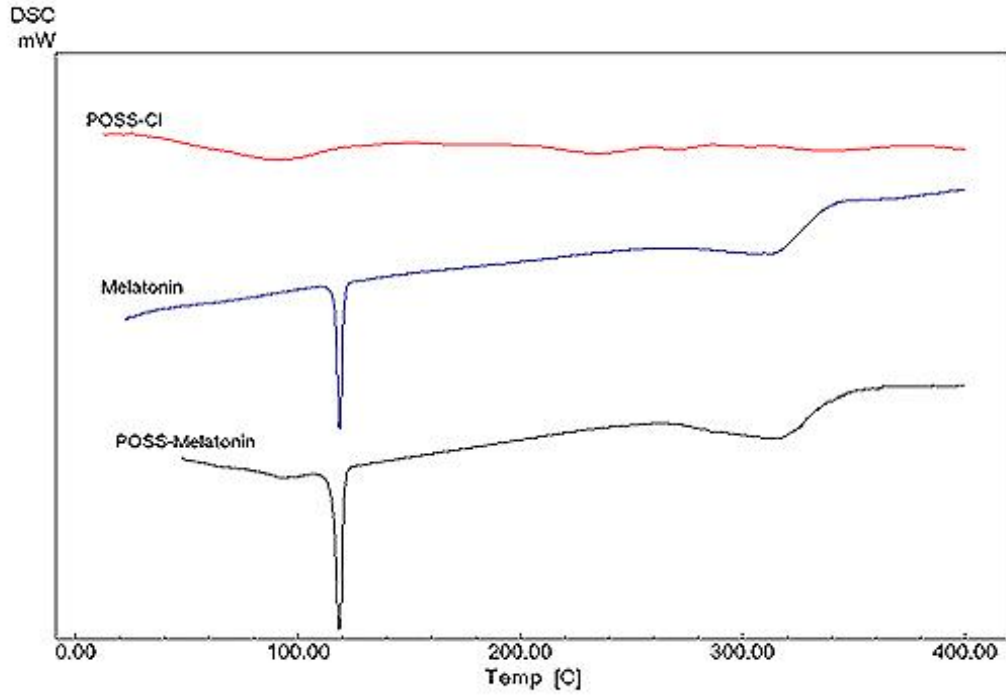
4.3.3. Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait termal analiz sonuçları



Şekil 4.21. POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin'e ait TGA termogramları



Şekil 4.22. POSS-Cl, Melatonin, POSS- Melatonin'e ait DTA termogramları



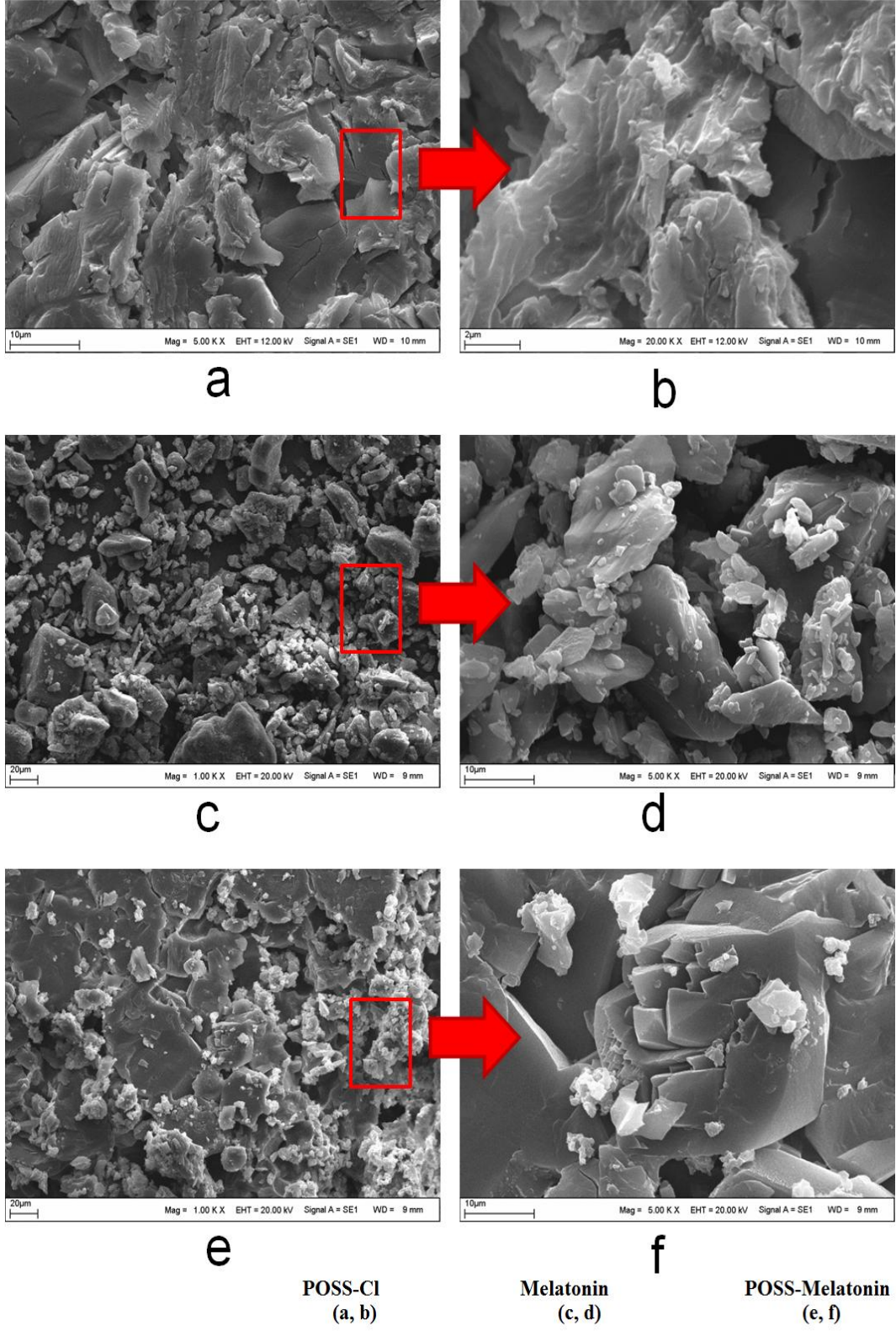
Şekil 4.23. POSS-Cl, Melatonin, POSS- Melatonin'e ait DSC termogramları

POSS-Cl, melatonin ve POSS- Melatonin'e ait TGA termogramları Şekil 4.21'de verilmiştir. Bu termogramlarda POSS-Cl yapısına göre melatonin bağlı yapıların termogramlarının değiştiği görülmektedir. POSS yapısı kloropropil yan gruplarının bozunması 350-565°C arasında iken POSS-Melatonin yapısına ait termogramlarda iki farklı kütle kaybı görülmektedir. Birinci kütle kaybı değeri yan grup olarak bağlanan melatonin yapısından kaynaklanmaktadır. İkinci kütle kaybı değeri ise POSS merkez koruna bağlı olan alifatik CH₂ gruplarının termal bozunmasıdır. Melatoninin termogramı incelendiğinde tek ve oldukça dik bir kütle kaybı görülmektedir. Ancak POSS-Melatoninde kütle kaybı daha geniş bir sıcaklık aralığında görülmektedir. Toplam kalıntı miktarıda saf melatonine göre daha fazladır. POSS-Cl, melatonin, POSS-Melatonin'e ait DTA termogramları Şekil 4.22'de görülmektedir. POSS yapısında bir adet kristalizasyon geçişi ve bir adet termal bozunma piki görülmektedir. Saf melatonin yapısında 100-120°C arasında keskin bir erime piki bulunurken POSS-Melatonin yapısında daha geniş bir erime piki görülmektedir. Bu değer genişlemesi sayıca fazla olan grupların serbest hareketlerinin kısıtlanmasından kaynaklanmaktadır. Benzer yorumlamalar

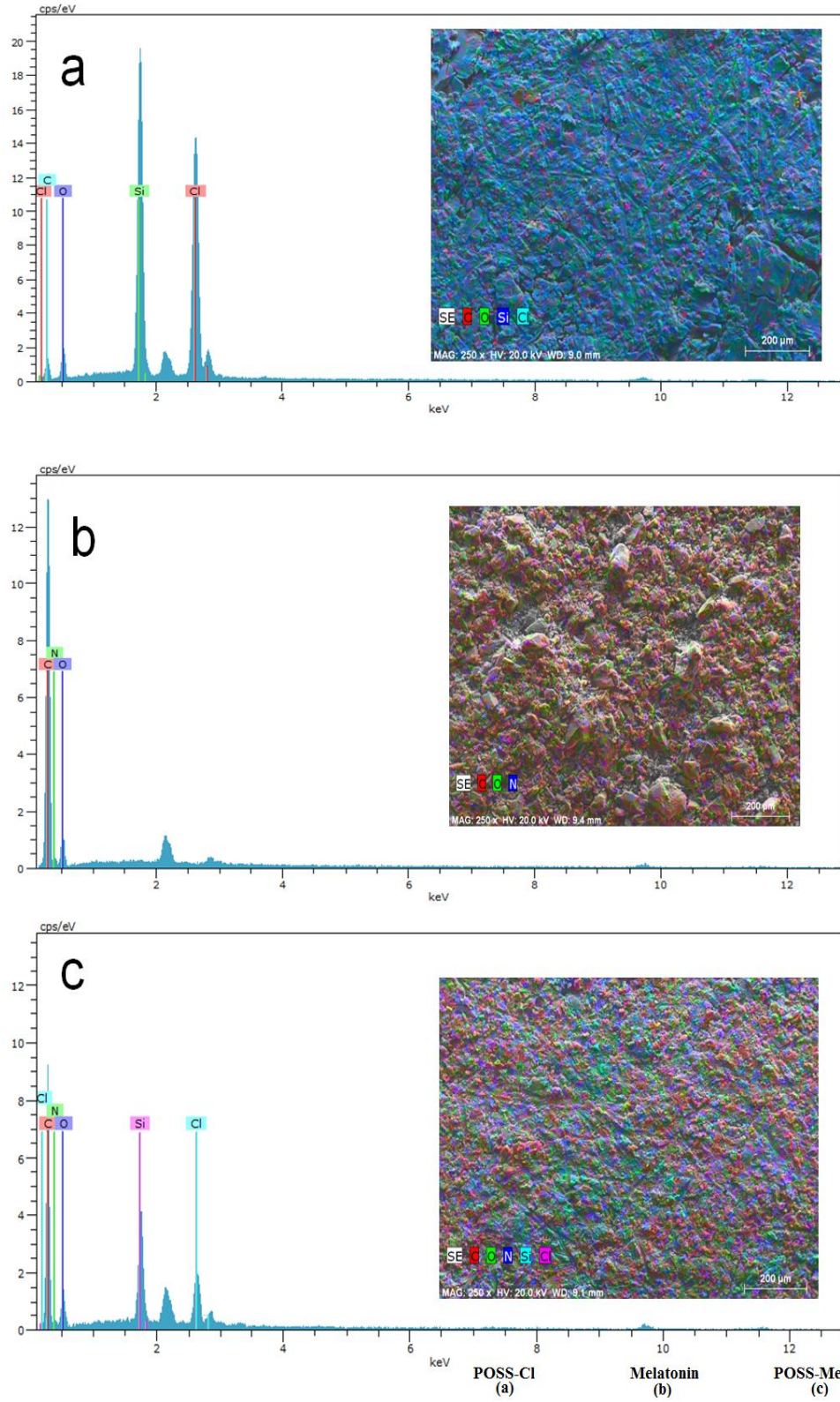
Şekil 4.23’de verilen DSC termogramları içinde yapılabilir. Bu termogramlarda melatonine ait erime piki çok keskin ve dar bir sıcaklık aralığında iken POSS-melatoninde erime piki daha geniş bir sıcaklık aralığında görülmüştür. Termal analiz sonuçları NMR spektrumları ile birlikte değerlendirildiğinde POSS yapısının sekiz kolunada melatoninin bağlandığı anlaşılmaktadır.

4.3.4. Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait yüzey analiz sonuçları

POSS-Cl, melatonin ve POSS-Melatonin yapısına ait SEM görüntüleri şekil 4.24’de verilmiştir. Bu SEM görüntülerinde başlangıç ve sonuç ürün yapısı incelenmiş olup reaksiyon sonrasındaki yapısal değişiklikler tespit edilmiştir. POSS-Cl yapısı iri parçalı ve düzlemsel olmayan bir yapı sergilemiştir. Melatonin yapısı ise partiküler ve homojen bir görünüme sahiptir ancak POSS-Melatonin yapısı daha düzlemsel olup daha sade bir yüzey sergilemiştir. Sonuç olarak ürün yapısı homojen ve saf olarak görülmektedir. Yine SEM görüntülerinden sonuç ürün yapısının başlangıç maddelerinden farklı olduğu görülmüştür. Şekil 4.25’de POSS-Cl, melatonin, POSS-Melatonin yapılarına ait EDX spektrumları ve elementel haritaları verilmiştir. Klorofonksiyonel POSS yapısı atomik olarak 5 temel elementten kurulmaktadır. C, O, Si, Cl, H elementleri içeren POSS yapısı EDX spektrumunda sırası ile 0,273, 0,523, 1,740, 2,622 keV görülürken H elementin sayımı EDX tekniği ile yapılamamaktadır. Melatonin yapısına ait EDX spektrumunda ise 0,274 keV’da C, 0,390 keV’da N, 0,523 keV’da O görülmektedir. Yapı beklenildiği şekilde teorik değerlerle kıyaslandığında C, N, O ni doğrular şekilde görülmektedir. POSS-Melatonin konjugatına ait EDX spektrumu incelendiğinde saf melatonin yapısından farklı olarak 0,092 keV’da ve 1,741 keV da belirgin Si pikleri tespit edilmiştir. Bu da yapıda POSS kafesinin varlığını ispatlamaktadır. Şekil 4.25’deki elementel haritalarında da benzer tesbitler yapılabilmektedir. Özellikle POSS-Melatonin yapısında Si elementi yapıda POSS kafesini temsil etmektedir. Si’un düzenli ve homojen yayılımı yapının bize saflığını da ayrıca göstermektedir.



Şekil 4.24. POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin için farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri



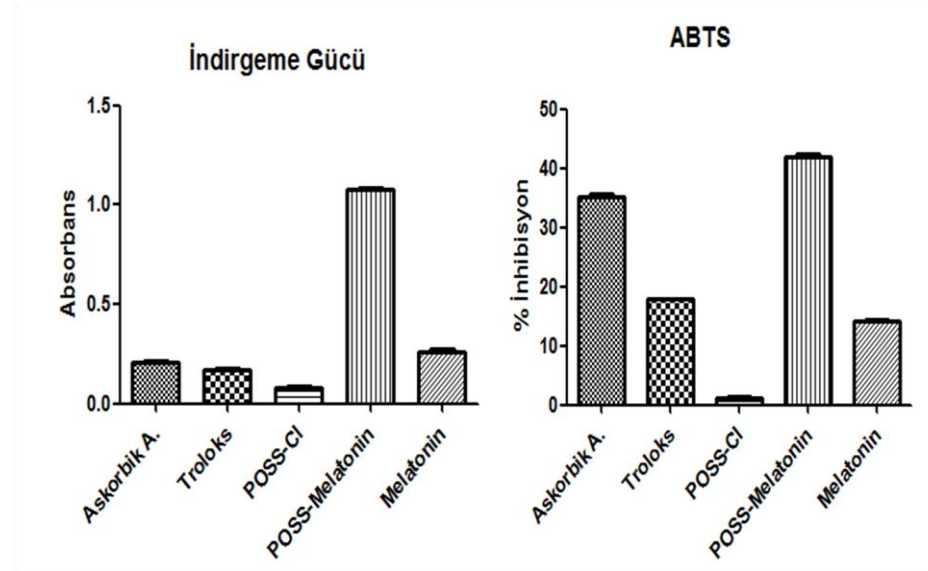
Şekil 4.25. POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin için EDX-elementel haritalama görüntüleri

4.3.5. Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait biyokimyasal ve hücre kültürü sonuçları

Biyokimyasal olarak; antioksidan aktivite tayinleri oldukça yaygın kullanılan indirgeme gücü ve ABTS aktivite ölçüm testleri kullanılarak yapılmıştır. Kantitatif analizlerde standart referans maddeler son derece önem arz etmektedir. Burada standart olarak askorbik asit ve troloks kullanılmıştır. Hücre kültürü sitotoksite sonuçları MTT testine göre verilmiştir.

4.3.5.1. Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait antioksidan aktivite sonuçları

Klorofonksiyonel POSS, melatonin, POSS-Melatonin antioksidan aktivite sonuçları askorbik asit ve troloks standartları ile kıyaslanarak şekil 4.26'da verilmiştir.



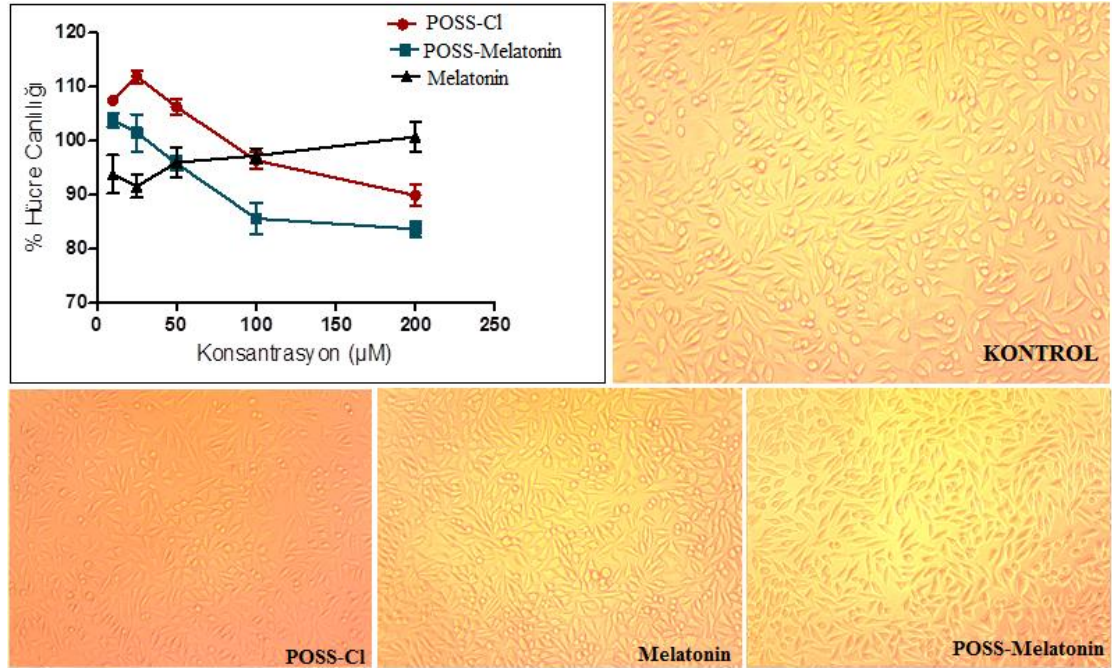
Şekil 4.26. POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin için indirgeme gücü ve ABTS radikal giderme etkileri

İndirgeme kapasitesi tayininde klorofonksiyonel POSS, melatonin ve POSS-Melatonin için 0,44M'lık örneklerden kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. İndirgeme kapasitesi tayininde; klorofonksiyonel POSS yapısının göstermiş olduğu aktivite, askorbik asit ($p<0,001$) ve troloks ($p<0,01$) standartları ile kıyaslandığında yüksek istatistiksel düzeyde daha düşük aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Melatonin ise standart askorbik asit'den ($p<0,05$) anlamlı, troloks'dan ($p<0,01$) ise yüksek istatistiksel anlamlılıkta bir aktivite artışı göstermiştir. Fakat en yüksek aktivite tez kapsamında hedeflenen POSS-Melatonin yapısında gözlemlendi.

POSS-Melatonin nano-konjugatı ise standartların her ikisinden de ($p<0,001$) istatistiksel olarak oldukça yüksek anlamlılıkta aktivite artışı göstermiştir. POSS-Melatonin'in radikal süpürme aktivitesi saf melatonin ile kıyaslandığında ise ($p<0,001$) son derece yüksek bir aktivite artışı söz konusudur. ABTS tayininde 0,44M'lık örneklerden 20 μL kullanılarak deney gerçekleştirilmiştir. Radikal giderme aktivitelerinin sonuçları, indirgeme gücü metodu sonuçlarını destekler niteliktedir. Bu yöntemde de POSS-Melatonin nano-konjugatı saf melatoninden ($p<0,001$) yüksek istatistiksel anlamlılıkta artan bir aktivite göstermektedir. Sonuç olarak POSS-Melatonin nano-konjugat, saf melatoninden ortalama beş kat daha fazla radikal süpürme etkisine sahiptir. Tez kapsamında istenilen hedefe ulaşılmıştır.

4.3.5.2. Klorofonksiyonel POSS, Melatonin, POSS-Melatonin yapısına ait hücre kültürü sitotoksite sonuçları

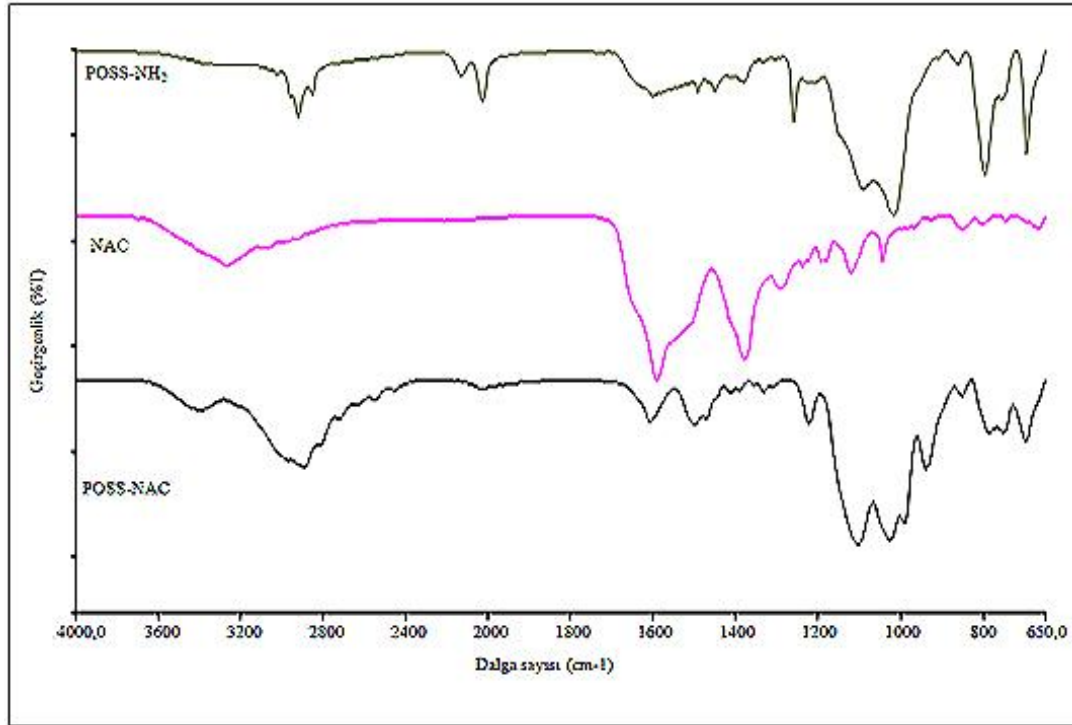
Şekil 4.27'de verilen sonuçlar dahilinde; klorofonksiyonel POSS, melatonin, POSS-Melatonin yapılarının sitotoksik olmadığı gözlenmektedir.



Şekil 4.27. POSS-Cl, Melatonin, POSS-Melatonin L-929 fibroblast hücre canlılığı sonuçları ve görüntüleri

4.4. Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC Yapısına Ait Bulgular

4.4.1. Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısal karakterizasyon FTIR sonuçları



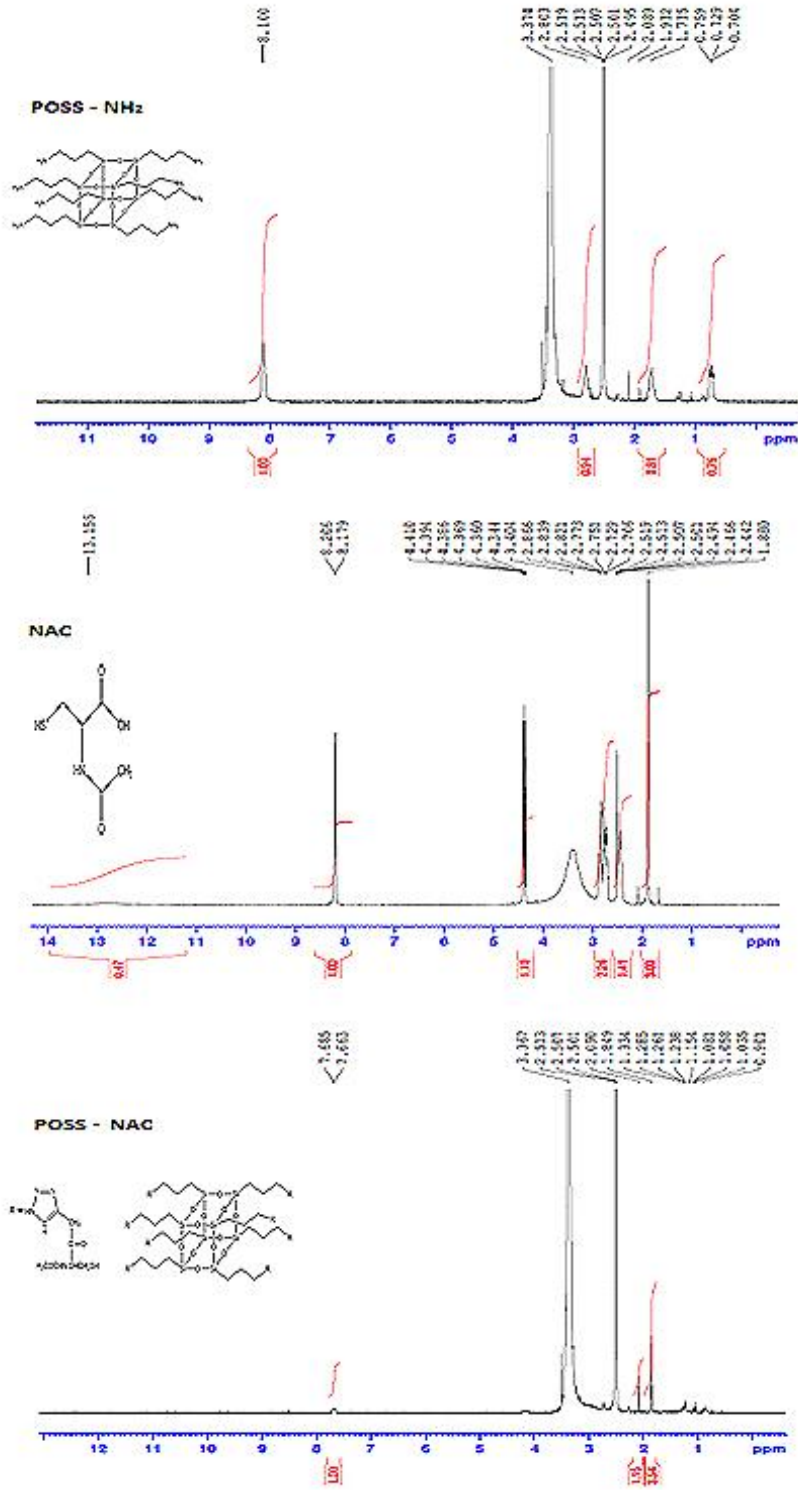
Şekil 4.28. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC'a ait FTIR spektrumları

Antioksidan olarak NAC yapısı kullanılarak etkinliği artırılmış POSS-NAC konjugatı sentezlenmiştir. Sentezlenen POSS-NAC molekül yapısı, saf NAC ile POSS yapılarının FTIR spektrumları kıyaslanarak yorumlanmıştır. Şekil 4.28'de; saf NAC yapısına ait FTIR spektrumunda amit, karboksilik asit ve tiyoalkol gruplarına ait simetrik ve asimetrik gerilme titreşimleri bulunmaktadır. 3100- 3600 cm^{-1} arasında geniş bir bant olarak $-\text{SH}$ grubu görülmektedir. Ayrıca amit pikleri olarak 1560 cm^{-1} 'de amit I ve 1460 cm^{-1} 'de amit II pikleri görülmektedir. Bu amit gruplarına ait karbonil gerilme titreşimi ve karboksilik asit yapısındaki karbonil gerilme titreşimi çakışarak 1600 cm^{-1} 'de geniş bir bant vermiştir. NAC yapısında yine belirgin olarak alifatik C-H gerilme titreşimlerinden, simetrik C-H 2800 cm^{-1} ve asimetrik C-H 926 cm^{-1} 'de görülmüştür. POSS yapısına ait FTIR spektrumlarında üç temel gerilme titreşimi görülmektedir. Bunlar NH_2 grubu CH_2 grupları ve Si-O bağlarıdır. Bunlar sırası ile 3300 cm^{-1} orta şiddette N-H, 2850-2960 cm^{-1} 'de alifatik C-H gerilme titreşimleri ve 1000-1100 cm^{-1} ise Si-O-Si

gruplarının geniş şiddetli bandını görmekteyiz. POSS ve NAC gruplarının bağlanması ile oluşan sonuç üründe ise; hem NAC grupları hemde POSS gruplarının gerilme titreşimlerini görmekteyiz. NAC yapısındaki amit I piki 1560 cm^{-1} ve amit II piki 1425 cm^{-1} 'de görülürken karbonil grupları ise 1604 cm^{-1} 'de bulunmaktadır. Bu yapıda ayrıca POSS yapısından kaynaklı Si-O-Si ve Si-O pikleri 1056 cm^{-1} ve 976 cm^{-1} 'de bulunmaktadır. Sonuç olarak istenilen POSS-NAC yapısının elde edildiği FTIR spektrumları ile ispatlanmıştır.

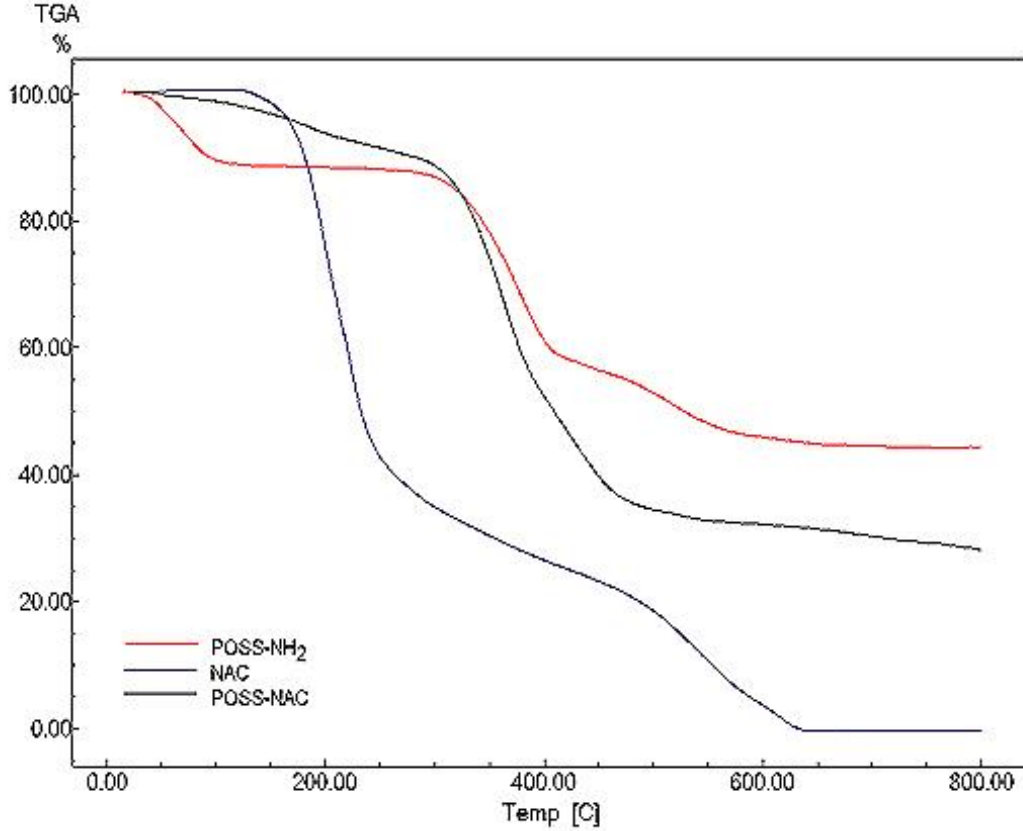
4.4.2. Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısal karakterizasyon NMR sonuçları

Önemli bir antioksidan olan NAC, POSS yapısına aminogrupları üzerinden bağlanmıştır. Bu bağlanma sonrası ürün yapısı NMR spektrumu ile ispatlanmıştır. Şekil 4.29'da aminofonksiyonel POSS, NAC ve NAC üniteleri içeren POSS yapılarının NMR spektrumları görülmektedir. Bu spektrumlarda POSS yapısı öncelikle NH_2 grupları da dahil dört temel pik vermiştir. Bunlar 8,11 ppm'de singlet karakterinde NH_2 , 3,21 ppm'de multiyet yapılı $-\text{CH}_2-\text{N}$, 1,82 ppm'de multiyet olarak $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ ve 0,68 ppm'de yine multiyet yapılı CH_2-Si pikleri görülmektedir. Saf NAC yapısında karakteristik 8,12 ppm'de $-\text{SH}$, 4,52 ppm'de $\text{N}-\text{H}$, 1,98 ppm'de metil grubu $\text{C}-\text{H}$ ve 2,55 ppm'de multiyet yapılı CH_2 grubu $\text{C}-\text{H}$ pikleri görülmektedir. Bir klik reaksiyonu ile elde edilen POSS-NAC yapısında POSS pikleri 3,24, 1,81 ve 0,69'da görülmüştür. Bu piklerin yanında 7,80 ppm'de SH piki yapıya NAC grubunun katıldığını ispatlamaktadır. Şekil 4.29'daki POSS-NAC yapısının pik değerleri ve piklerin integrasyon değerleri incelendiğinde istenilen yapının elde edildiği anlaşılmaktadır.



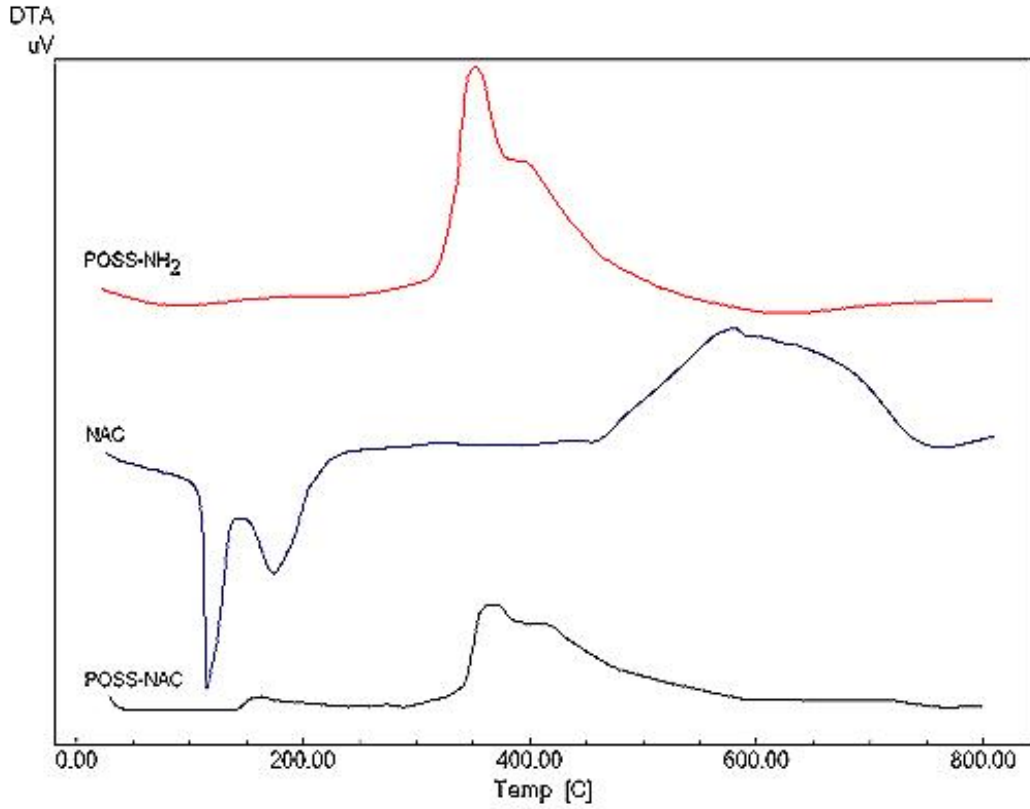
Şekil 4.29. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC'a ait ¹H NMR spektrumları

4.4.3. Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait termal analiz sonuçları



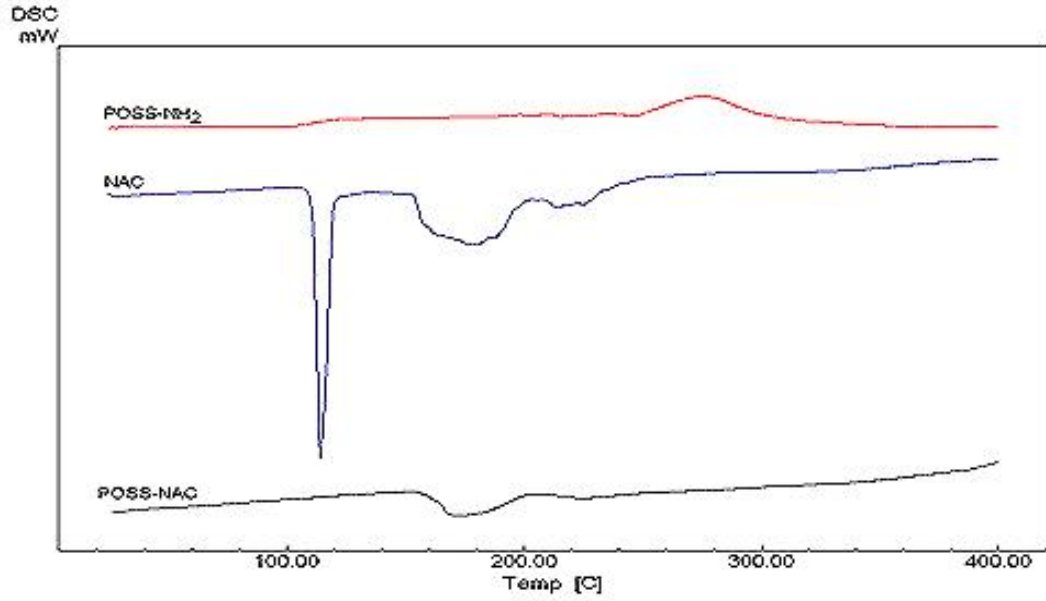
Şekil 4.30. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC'a ait TGA termogramları

POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC'a ait TGA termogramları Şekil 4.30'da verilmiştir. Bu termogramlar incelendiğinde POSS-NH₂'nin termogramında 30-100°C aralığında yapıdaki nemin uzaklaştığı açıkça görülmektedir. Yapısal olarak değerlendirildiğinde POSS-NH₂ molekülünde alifatik CH₂ grupları ve NH₂ yapısı olarak iki temel organik grup bulunmaktadır. Termogram yapısında bu iki grubun bozunma aralıkları 105-410°C ve 410-560°C'de bulunmaktadır. NAC yapısı alifatik yapılu küçük bir molekül olduğu için termal kararlılığı düşüktür. 180-225°C arasında NAC yapısı büyük oranda bozunmakla beraber 225°C'den sonra yapının tamamen degrede olduğu söylenebilir. POSS-NAC yapısı ise saf NAC yapısına oranla çok daha fazla termal dayanım kazanmıştır. Yapı 285°C'de bozunmaya başlar. Bu sıcaklıktan sonra önce bağlı olan NAC ve sonra alifatik CH₂ grupları üzerinden iki kademeli olarak bozunur.



Şekil 4.31. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC'a ait DTA termogramları

POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC'a ait DTA termogramları şekil 4.31'de gösterilmiştir. Bu termogramlar TGA sonuçları ile uyumlu olarak görülmektedir. POSS-NH₂ yapısında iki kademeli bir bozunma bandı görülürken, NAC yapısında öncelikle erime piki daha sonra ise termal bozunma piki bulunmaktadır. POSS-NAC yapısında ise üç temel bozunma bantı görülmektedir. Birinci bant 198-300°C arasında görülmekte olup termal dayanımı düşük triazin halkasından kaynaklanmaktadır. İkinci bant 300-390°C arasındaki NAC gruplarının bozunmasından kaynaklanmaktadır. Son kütle kaybı ise POSS yapısına bağlı olan organik grupların termal degradasyonudur ve 390-580°C sıcaklık aralığında görülmüştür.



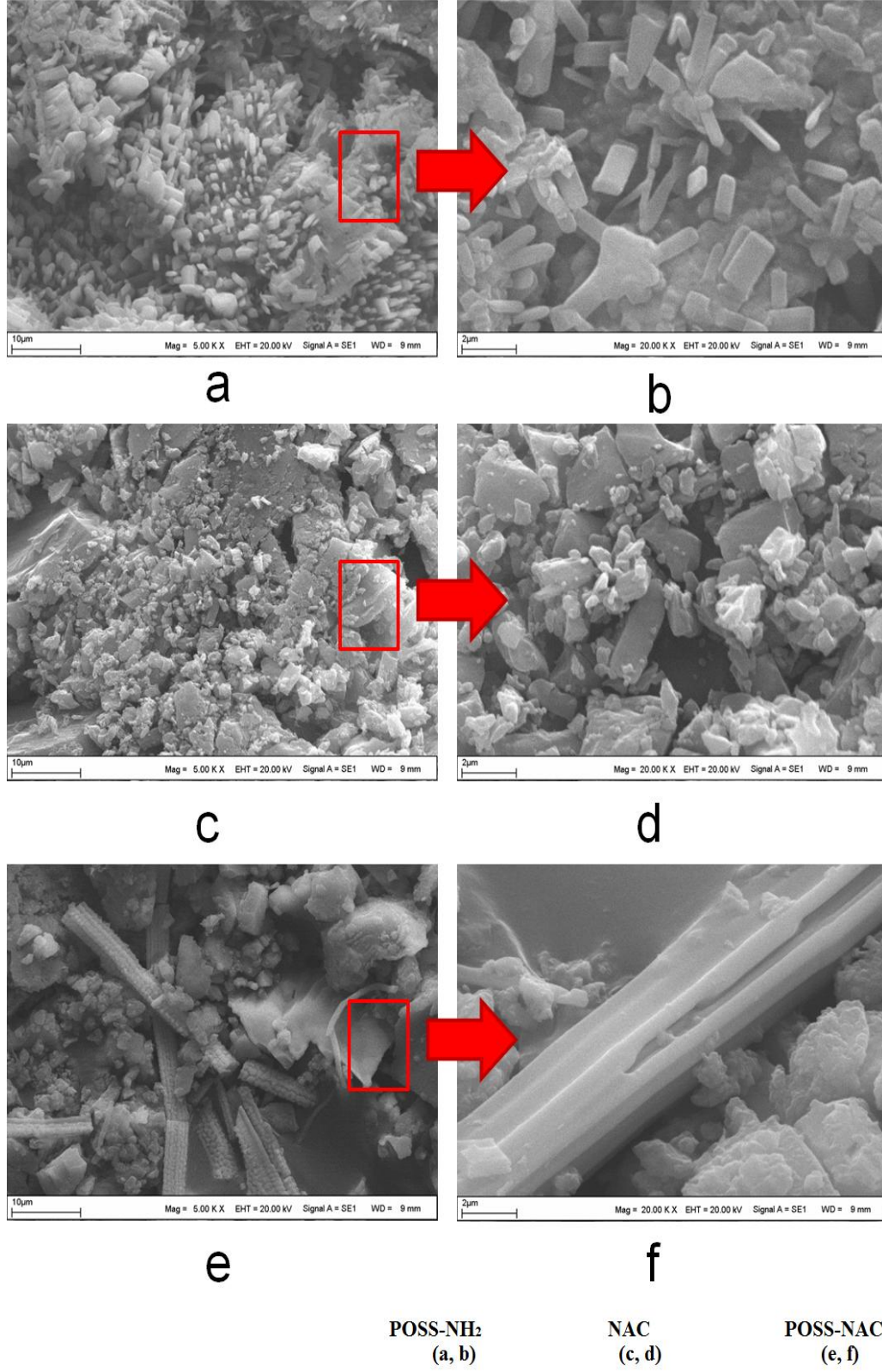
Şekil 4.32. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC’a ait DSC termogramları

POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC’a ait DSC termogramları şekil 4.32’de gösterilmiştir. Bu termogramlarda POSS-NAC yapısında 30–400°C aralığında 100 °C civarında yapıdaki nemin uzaklaşmasından kaynaklanan bir bant bulunurken 300°C civarında organik yan grupların degradasyonu görülmektedir. NAC yapısına ait termogramda 117 °C’de keskin bir erime piki görülmektedir. POSS-NAC yapısında ise tüm termogram farklılaşmıştır. Belirgin bir erime piki bulunmamaktadır. Ayrıca molekülün bozunma sıcaklığı artmış ve 400 °C’nin üzerine çıkmıştır. Bu sonuçlar istenilen POSS-NAC yapısının termal kararlı olarak elde edildiğini bize ispatlamaktadır.

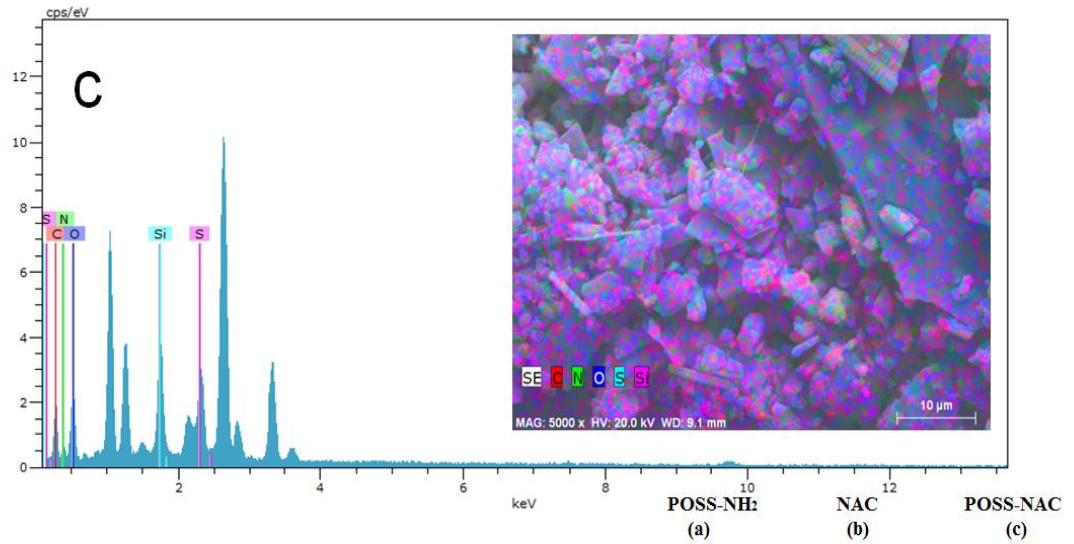
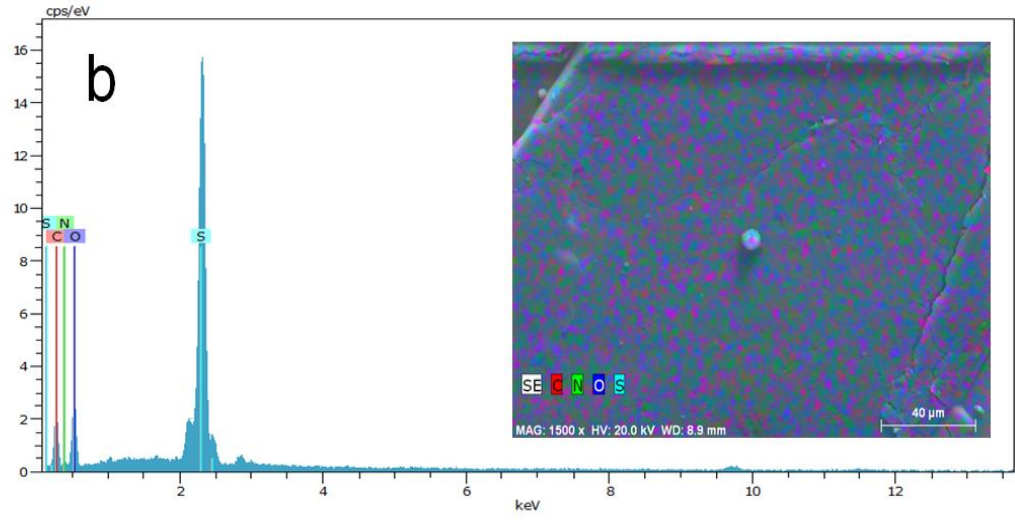
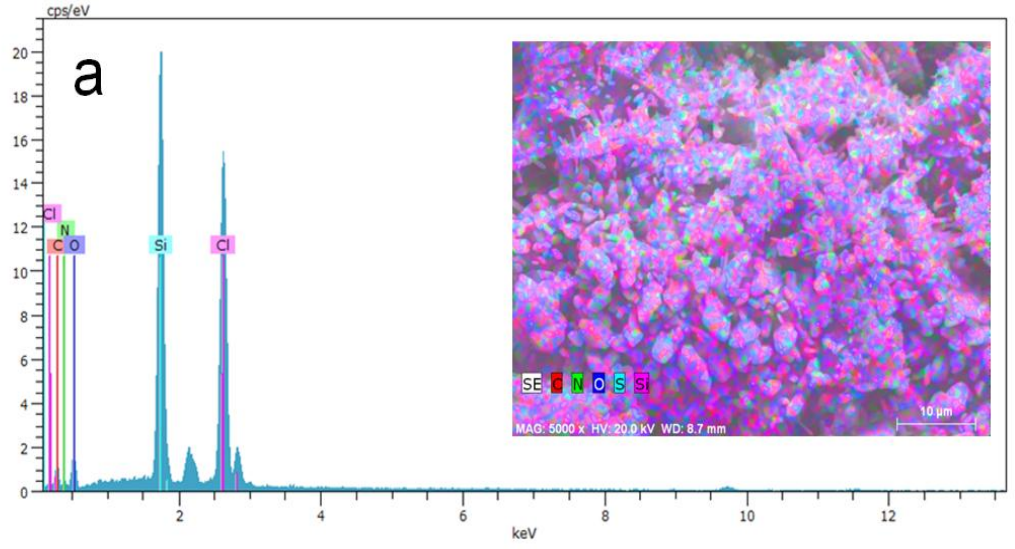
4.4.4. Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait yüzey analiz sonuçları

Çalışma kapsamında bir klik reaksiyonu kullanılarak POSS-NH₂ yapısına NAC molekülü bağlanmıştır. Bu kapsamda öncelikle POSS-NH₂ molekülü azitlenmiş ve daha sonra asetil grubu, eklenmiş olan NAC yapısı ile etkileştirilmiştir. Şekil 4.33. incelendiğinde bu reaksiyon sonrasında elde edilen ürünün SEM görüntülerininin başlangıç yapılarından farklı olduğunu daha kristalin ve düzlemsel olduğunu görebiliriz. POSS-NH₂ yapısı küçük keskin parçalar şeklinde bir morfolojiye sahiptir. NAC yapısı ise partiküler bir morfoloji göstermektedir. Sonuç ürün bu yapılardan farklı ve homojendir. Yapıdaki

farklılaşma yeni bir yapının oluşumunu ispatlamakla beraber homojen görünüm ürünün saflığını göstermektedir.



Şekil 4.33. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC için farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri

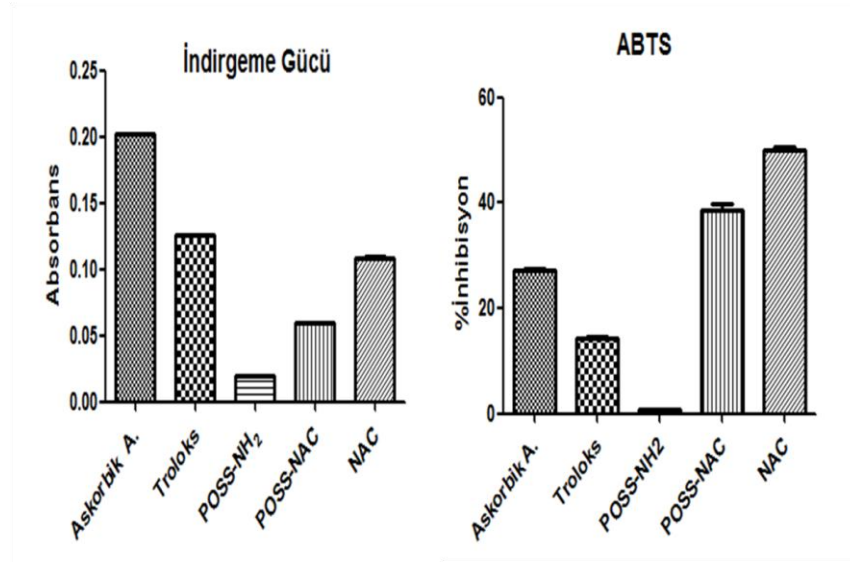


Şekil 4.34. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC için EDX-element haritalama görüntüleri

Şekil 4.34’de aminofonksiyonel POSS, saf NAC ve POSS-NAC yapısına ait EDX spektrumları verilmiştir. POSS amino yapısında ana yapıdan kaynaklı C, N, O ve Si elemntleri bulunurken, uç gruptaki aminlere bağlı karışit anyon olan klor elementinin piklerini de görmekteyiz. Şekil 4.34 b’de saf NAC yapısının EDX spektrumunda 0,270 keV’da C, 0,290 keV da N, 0,523 keV’da O ve 0,149 keV ile 2,307 keV’da S pik vermektedir. Bu pikler POSS-NAC yapısında da belirgin şekilde görülmektedir. POSS-NAC yapısında NAC grubundan kaynaklı 0,271 keV da C, 0,290 keV’da N, 0,524 keV’da O ve 0,150 keV ile 2,307 keV’da S pikleri ve POSS yapısından kaynaklı olarak 0,090 keV ile 1,741 keV’da Si elementinin piklerini görmekteyiz. Bu sonuç istenilen yapının eldesini ispatlamaktadır. Konjugatın EDX haritalandırma görüntülerin de ise başlangıç maddelerine göre oldukça farklı bir yüzey görüntüsü elde edilmiştir. Bu yeni bir molekül oluşumunu bize gösterirken elementlerin homojen dağılımı ile elde edilen yapının saflığının da kanıtıdır.

4.4.5. Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait biyokimyasal ve hücre kültürü sonuçları

4.4.5.1. Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait antioksidan aktivite sonuçları



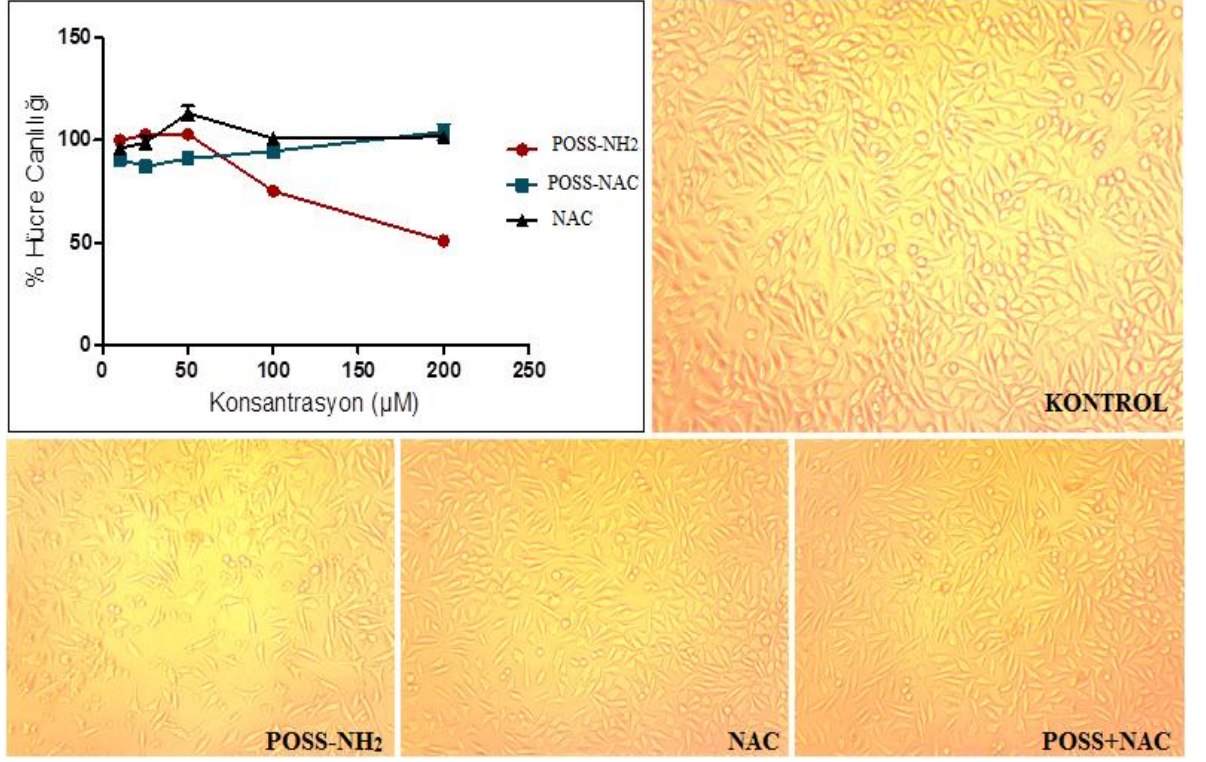
Şekil 4.35. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC için indirgeme gücü ve ABTS radikal giderme etkileri

İndirgeme gücü tayininde aminofonksiyonel POSS, NAC ve POSS-NAC için 0,33M lık örneklerden analiz gerçekleştirilmiştir. İndirgeme gücü yöntemine göre; aminofonksiyonel POSS, NAC ve POSS-NAC yapılarının; standart askorbik asit ve trolokstan ($p<0,001$) daha düşük olduğu belirlendi. ABTS tayininde 0,33M lık örneklerden 20 μ L kullanılarak deney gerçekleştirilmiştir. ABTS radikal giderme aktivite sonuçlarına baktığımızda; hem saf NAC hem de aminofonksiyonel POSS yapısına NAC bağlanması sonucu meydana gelen POSS-NAC yeni formülasyonda, standartlara göre ($p<0,001$) istatistiksel anlamda oldukça yüksek düzeyde radikal giderme etkisinin olduğu belirlendi. Aminofonksiyonel POSS yapısına NAC bağlanarak antioksidatif özellik kazandırıldı. Fakat saf NAC ile POSS-NAC yeni formülasyonu kıyaslandığında tez kapsamında hedefimiz olan düşük dozda yüksek etkiyi sadece bu molekül için elde edilemedi. Bunun nedenlerini sıralayacak olur isek; öncelikle NAC L-sistein aminoasitinin asetilenmiş varyantıdır. Antioksidan etkiyi yapısında bulunan SH grubu sayesinde gerçekleştirmektedir. Bu nedenle yapısında bulunan SH grubunun öncelikle korunması gerekmektedir. Tez kapsamında sefotaksim, metronidazol ve melatonin için başarılı bağlanmalar elde ettiğimiz sentez yöntemi, bu molekül içinde denendi fakat istenilen sonuçlar elde edilemedi. Bununla beraber literatürlerde farklı reaksiyonlar belirlendi, denendi ve sonuç alınamadı. Sadece klik reaksiyonu kullanılarak POSS-NH₂ yapısına NAC molekülü bağlanabildi. Fakat bu yöntemde de verim istenilen oranda elde edilemedi. Bunun nedeni reaksiyonun sadece yüksek sıcaklıklarda (100°C) gerçekleşmesi ve bu esnada önemli bir antioksidan olan NAC'ın fonksiyon gösteren yapısının okside olmasıdır.

4.4.5.2. Aminofonksiyonel POSS, NAC, POSS-NAC yapısına ait hücre kültürü sitotoksite sonuçları

L-929 fibroblast hücrelerinde gerçekleştirilen sitotoksite test sonuçları ve görüntüleri şekil 4.36'da verilmiştir. Şekil 4.36'da aminofonksiyonel POSS yapısının 200 μ M konsantrasyonunda hücre canlılığının %50 lerde olduğunu gözlemlerken, NAC ve POSS-NAC yapılarının tüm çalışma aralığında hücre canlılığının yaklaşık %100 olduğunu görmekteyiz. Tez kapsamında hedeflenen biyouyumlu POSS-NAC yapısı elde edilmiştir. Aminofonksiyonel POSS yapısına NAC bağlandıktan sonra elde edilen POSS-NAC nano-konjugatında ise hücre

canlılığın %100 olduğunu görmekteyiz. Böylece aminofonksiyonel POSS yapısının biyoyoumluluğunun daha da arttırıldığı MTT testi ile kanıtlanmıştır.



Şekil 4.36. POSS-NH₂, NAC, POSS-NAC L-929 fibroblast hücre görüntüleri

5. SONUÇ TARTIŞMA

Antibiyotikler, bakteri kaynaklı pek çok hastalığa karşı kullandığımız güçlü bir silahtır. Fakat son yıllarda bilinçsizce tüketimi antibiyotik dirençliliği, süper bakteri denilen oldukça dirençli bakteriler yaratmıştır. Bu nedenle çok acil yeni tedavi yaklaşımlarının ortaya konması gerekmektedir. Buna ek olarak pek çok hastalığın patogeneğinde reaktif oksijen türleri önemli rol oynar. Örneğin; sağlıklı hücrelerimizde kalıcı oksidatif strese yol açarak kanser gibi son derece ciddi hastalıklara neden olduğu bilimsel çalışmalar ile kanıtlanmıştır. İşte bu noktada sağlıklı hücrelerdeki radikal hasarını önleyecek, farklı tedavileri destekleyici antioksidan içerikli alternatif yeni, etkin tedavilere de ihtiyaç vardır. Proje; bu kapsamda süper etkili nano boyutta antibiyotik ve antioksidan formülasyon geliştirmeyi hedef almıştır. Bu hedef doğrultusunda; $(\text{RSiO}_{1,5})_8$ formülasyonuna sahip kübik kafes yapılı, biyouyumlu, modifikasyonlara yatkınlığı ile oldukça bilinen POSS tercih edilmiştir. Sahip olduğu yapının sekiz köşesine farklı gruplar bağlanarak kolayca fonksiyonlaştırılabilirler. Yapısı nedeni ile bağlanan bu gruplar birbirlerinden eşit ve sterik olarak maksimum uzaklıkta bulunduğu için işlevselliklerini kaybetmezler.

Tez kapsamında; biyouyumlu “POSS-Antibiyotik” ve “POSS-Antioksidan” yapılarının sentezinde sefotaksim, metronidazol antibiyotik olarak, melatonin ve *N*-asetil sistein ise antioksidan olarak tercih edildi. Sentezlerde; klorofonksiyonel POSS yapısı ile sefotaksim, metronidazol, melatonin bileşikleri dimetil sülfoksit ortamındaki kondenzasyonundan, aminofonksiyonel POSS yapısı ile *N*-asetil sistein klik kimyasından yararlanılarak sentezlenmiştir. Sentezlenen nano-konjugatlar yeni, literatürde ilk olma özelliğine sahiptir.

Araştırma bulgularında yapısal karakterizasyonla ilgili detaylı yorumlamalar yapılmıştır. Burada sonuçların birbirlerini nasıl desteklediklerini tartışacak olur isek; sefotaksim gruplarının POSS yapısına bağlanması ile oluşan POSS-sefotaksim bileşiğine ait FTIR spektrumda 1115 cm^{-1} ’de Si-O, 1033 cm^{-1} ’de Si-O-Si bağlarına ait titreşimler görülmesi, ayrıca saf sefotaksim yapısındaki tiyazol halkasındaki $\text{NH}_2\text{-C}$ grubuna ait olan 3294 cm^{-1} deki pikin kaybolması, ^1H NMR’da özellikle aromatik karakterli sefotaksim yapısını karakterize eden 7,35 ppm’de bulunan pikinin, POSS-Sefotaksim spektrumunda açıkça görülmesi bağlanmanın

başarılı bir şekilde olduğunu göstermektedir. Yorumlamalar literatürler ile uyum içerisinde (Gültek vd., 2005; Demirel vd., 2014; Mahmoud vd., 2015). Literatürde ilk kez sentezlenmiş olan POSS-sefotaksim yapısına ait ^1H NMR spektrumunda ise; POSS'a ait karakteristik 2.70 (t, CH_2Cl , 16H); 1.81 (m, SiCH_2CH_2 , 16H) ve 0.91 (t, SiCH_3 , 16H) proton pikleri gözlenmektedir. Bu pikler istenilen POSS-Sefotaksim yapısının elde edildiğini bize ispatlamaktadır. Çalışma kapsamında saf metronidazol yapısında $-\text{OH}$ gerilme titreşimi 3217 cm^{-1} 'de görülmesine rağmen POSS-Metronidazol yapısında bulunmaması fonksiyonel OH grubu üzerinden yapıya bağlandığını, yeni sentezlenen POSS-Metronidazol formülasyonunun ^1H NMR spektrumunda ise $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ 'de Si-O- bağına ait geniş band, 928 ve 770 cm^{-1} 'de Si-O-Si bağı için simetrik gerilme pikleri, diazol halka pikleri tez kapsamında hedeflenen bağlanmanın oldukça yüksek verimle başarıldığını ispatlamaktadır. Klorofonksiyonel POSS ve metronidazol için verilen tüm spektrum yerleri literatürler ile uyum içerisinde (Obaleye ve Lawal, 2007; Atia, A.J., 2009). İstenilen POSS-Melatonin yapısında; hem klorofonksiyonel POSS yapısından kaynaklanan 1112 cm^{-1} 'de Si-O-Si bandı ve Si-O pikleri ise beklenildiği gibi 932 ve 776 cm^{-1} de görülmekte, hem de melatonine ait 1440 cm^{-1} 'de C-N gerilme titreşimleri, $2850\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ 'deki alifatik C-H gerilme titreşimleri, 1517 cm^{-1} 'de aromatik C=C gerilme piki ve 1657 cm^{-1} de C=O gerilme titreşimi pikleri ve 1205 cm^{-1} 'deki eterik C-O-C gerilme pikinin varlığı melatoninin net bir şekilde bağlandığını göstermektedir. Melatonin spektrumları, Bongiorno ve arkadaşlarının, Pavlat ve arkadaşlarının yaptıkları spektrum yorumları ile uyum içerisinde (Pavlat vd., 1999; Bongiorno vd., 2004). Son olarak hedeflenen POSS-NAC nano-konjugatında; saf NAC'a ait olan $3100\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ arasında $-\text{SH}$ grubunun varlığı, aminofonksiyonel POSS yapısına ait olan 1056 cm^{-1} Si-O-Si ve 976 cm^{-1} 'de Si-O pikleri, ^1H NMR'da 7,80 ppm'de SH piki yapıya NAC grubunun katıldığını bize kanıtlamaktadır. NAC ve amino fonksiyonel POSS için yapılan spektrum yorumları literatürler ile uyum içerisinde (Gültek vd., 2005; Oehninger vd., 2013, Demirel vd., 2014). Tez kapsamında hedeflenen yapıların başarı ile sentezlendiğini karakterizasyon sonuçlarının birbirleri ile olan uyumundan anlamaktayız. Elde edilen yeni formülasyonların istenilen antibakteriyel ve antioksidan özellik gösterdiği araştırma bulgularında verilen sonuçlar doğrultusunda istenilen hedeflere ulaşıldığı gözlenmektedir.

Tez kapsamında literatüre POSS temelli sefotaksim, metronidazol, melatonin, NAC formülasyonları bir ilk olarak kazandırılmıştır. Çalışmamıza deneysel anlamda ilk olarak antibiyotik bağlanmaları ile başlandı. Antibiyotikler bakterilere karşı farklı etki mekanizmalarına sahiptir. Tez kapsamında tercih edilen sefotaksim antibiyotiği bakterinin en dışındaki hücre duvarını zarara uğratarak bakteri ölümüne yol açarken metronidazol ise bakterinin DNA sentezinin bozulmasına, bu yolla DNA kontrolündeki RNA sentezinde bozulmasına yol açarak antibakteriyel özelliğini gösterir. Tez kapsamında; klorofonksiyonel POSS yapısına sefotaksim ve metronidazol antibiyotikleri bağlanarak *E.coli*, *S.aureus* bakterilerinde 2500-2,4414 µg/mL aralığında çalışıldı ve antibakteriyel etkinlik IC₅₀ değeri olarak verildi. Bu sonuçlar doğrultusunda klorofonksiyonel POSS yapısında çalışma aralığımızda neredeyse kontrol grubu ile aynı görsel sıvama görüntüsüne sahip bakteri üremesi sonucunda %50 oranında bakteriyi inhibe eden değeri (IC₅₀) olmadığından, bu değer istatistiksel olarak sıfır kabul edildi. Silseskioksanlara baktığımızda kuarterner amonyum grupları ile fonksiyonlaştırılmış silseskioksanlar antimikrobiyal kaplama üretiminde yaygın kullanılmaktadır (Simionesu vd., 2012). Simionesu ve arkadaşları kuarterner amonyum birimleri ile silseskioksan temelli hibrit nanokompozitlerde (Q-POSS) sadece *S.aureus* bakterisinde disk difüzyon yöntemine göre 6 mm çapında inhibisyon zonu gözlemlemişler (Simionesu vd., 2012). Chojnowski ve arkadaşlarının çalışmalarında dimetil-n-oktilamin, okta(3-kloropropilsilseskioksan) tarafından kuarternize edilmiştir. Elde edilen malzeme hem Gram(-) hem Gram(+) bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinliğe sahiptir (Chojnowski vd., 2006). Gong ve arkadaşları tetraetoksi silan ve iki alkoksisilanın hidrolitik kondenzasyonu ile çift fonksiyonel gruplar içeren silika hibrit silseskioksanlarda *Streotococcus mutants*, *Antinomyces naeslundii*, *Candida albians*'da antimikrobial aktiviteleri çalışılmış fakat etkinlik gözlenmemiştir (Gong vd., 2014). Wu ve arkadaşları çalışmalarında, PEG-POSS poliüretan temelli hidrojel yapılara AgNO₃ ilavesi ile antimikrobiyel özellik kalitatif olarak *E.coli* içeren besiyerinde 3-D mikroskop görüntüleri ile belirlenmiştir (Wu vd., 2009b).

Tez kapsamında sefotaksim için; hem *E.coli* hem de *S.aureus* bakterilerinde antibakteriyel aktivite gözlemlendi ve sonuçlar IC₅₀ değeri olarak verildi. Sefotaksim için *E.coli* bakterisinde 62,71±14,30 µg/mL, *S.aureus* bakterisinde 144,17±20,90 µg/mL sonuçları elde edildi. Cockerill ve arkadaşları yaptığı çalışmada sefotaksim

için *E.coli* de MIC değerini 0,25-64 µg/mL aralığını, *S.aureus* için $\leq 8 - \geq 64$ µg/mL olarak belirlemişler (Cockerill vd., 2012). Chaloupka ve arkadaşları POSS-PCU (poly(karbonatüre)üretan) temelli antimikrobiyal biyomedikal ekipmanlar dizayn etmişlerdir. Çalışma kapsamında sefotaksim'in antibakteriyel etkinliği *E.coli* için 55 µg/mL, *S.aureus* için 138,125 µg/mL olarak belirlenmiştir (Chaloupka vd., 2010). Maejima ve arkadaşlarına ait olan makalede, sefotaksimin *S.aureus* için antibakteriyel MIC değerini 12,5- >100 µg/mL aralığında belirlenmiştir (Maejima vd., 1991). Simpson ve arkadaşlarına ait olan makalede, *E.coli* için $\leq 8 - \geq 64$ µg/mL sınırlarını belirlemişlerdir (Simpson vd., 1998). Başka bir çalışmada Georgopapadakou ve Bertso sefotaksimin *E.coli* deki IC₅₀ değerini $\leq 0,1-100$ µg/mL aralığında tesbit etmişler (Georgopapadakou ve Bertso, 1993). Bryskier'in yaptığı çalışmada, sefotaksim için *S.aureus* bakterisinde 0,1-100 µg/mL aralığı antibakteriyel IC₅₀ dir (Bryskier, 1997). Sonuç olarak literatürlerde yaygın olarak kalitatif değerler olan zon çapları ve MIC değerleri verilmiştir. Kantitatif IC₅₀ değeri, zahmetli ve zaman alıcı bir yöntem olduğu için antimikrobiyal kısmı olan makalelerde pek yer almamıştır. Literatürler ile kıyaslandığında antibakteriyel IC₅₀ değerlerimizin oldukça uyumlu olduğunu görmekteyiz. POSS-Sefotaksim nano konjugatında ise *E.coli* bakterisinde 11,51±3,02 µg/mL, *S.aureus* bakterisinde 26,20±11,14 µg/mL IC₅₀ değerleri elde edildi. Bu sonuçlar literatüre bir ilk olarak kazandırılmıştır. Sonuçlara baktığımızda; tez kapsamında hedefimize ulaştığımızı kanıtlamaktayız. POSS-Sefotaksim yapısı saf sefotaksim yapısına göre ortalama 5 kat daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahiptir.

Nitro içeren imidazollerin önemli antibakteriyel etkinlikleri bulunmuştur. Bu tür benznidazol, seknidazol, metronidazol ve ornidazol olarak özellikle anaerobik enfeksiyonları tedavi etmek için klinikte kullanılmaktadır (Khabnadideh vd., 2007). Gentile ve arkadaşları poli (D,L-laktid-ko-glikolid asit) PLGA nano film yüzeylere metronidazol ilavesi ile antibakteriyel özellik kazandırmıştır (Gentile vd., 2015). Xue ve arkadaşları diş alanında kullanılmak üzere alternatif metronidazol içeren poli kaprolakton nanofiberler geliştirmişlerdir (Xue vd., 2014). Bottino ve arkadaşları metronidazollenmiş nano hidroksiapatit partiküller ile peridontal rejenerasyonda yeni gelişmelere yol açmıştır (Bottino vd., 2011). Tez kapsamında metronidazol için IC₅₀ değerleri; *E.coli* bakterisinde 1933,33±115,47 µg/mL, *S.aureus* bakterisinde 1416,67±144,33 µg/mL dir. Prince ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada metronidazol *S.aureus* bakterisinde 2000 µg/mL MIC değerini vermiştir

(Prince vd., 1969). Citron ve arkadaşları *E.coli* bakterisinde metronidazol'un antibakteriyel etkisini MIC olarak 128-1024 µg/mL aralığında vermiştir (Citron vd., 2012). Kalinowska-Lis ve arkadaşları metronidazol'un hem *E.coli* hem de *S.aureus* için MIC değerini ≥ 1168 µg/mL olarak belirlemişlerdir (Kalinowska-Lis vd., 2015). Goldstein ve arkadaşları metronidazol için *S.aureus* bakterisinde MIC değerini >512 µg/mL olarak gözlemlemişlerdir (Goldstein vd., 2013). Sonuçlarımızın literatürlerle uyumluluğu aşıkardır. Literatüre ilk kez kazandırılan POSS-Metronidazol nano konjugatında IC₅₀ değerleri *E.coli* için 304,17±7,22 µg/mL, *S.aureus* için 260±17,32 µg/mL tespit edilmiştir. Ortalama 6 kat saf metronidazol'den daha etkili yeni bir antibakteriyel formülasyonunun başarılı bir şekilde elde edildiği verilen sonuçlarla kanıtlanmıştır.

Tez kapsamında klorofonksiyonel POSS yapısına melatonin ve aminofonksiyonel POSS yapısına NAC gibi oldukça önem arz eden antioksidanlar bağlanmıştır. Detaylı yapılan literatür taramasında tez kapsamında kondenzasyonla sentezlediğimiz POSS-Melatonin, POSS-NAC konjugatları daha önce elde edilmemiştir ve literatürde ilk olma özelliğine sahiptir. Silseskioksanların antioksidan etkinlikleri ile ilgili oldukça sınırlı sayıda yayın mevcut olup burada değinilmiştir. Ihara ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada enzimatik (peroksidaz) sentez ile flavonoid olan kateşini aminofonksiyonel POSS yapısına bağlayarak süperoksit radikal süpürme etkinliğinin ve ksantin oksidaz inhibisyon aktivitelerinin, kateşinden yüksek olduğunu belirlemişlerdir (Ihara vd., 2005). Mendieta-Wejeb ve arkadaşları silseskioksan ailesinin bir türevi olan silikahidrit (SiH-) yapılarının *in vivo* CCl₄'ün neden olduğu toksisitenin giderimi üzerindeki antioksidatif etkinliğini gözlemlemişlerdir (Mendieta-Wejeb vd., 2009).

Melatonin, kimyasal olarak N-asetil-5-metoksitriptamin olan triptofan amino asitinden türetilen bir serotonin türevidir (Dubbels vd., 1995). Pandey ve arkadaşları yaptıkları çalışmada melatonin bağlanmış PLA [poli(D,L-Laktik asit)] ile splenositlerde (dalak hücrelerinde) reaktif oksijen türlerinin azalımını TEM mikroskobu ile kalitatif gözlemlemişlerdir (Pandey vd., 2015). Al-Rasheed ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sıçanlarda TiO₂ nanopartiküllerin kardiyotoksik etkisinin melatonin ve karnitin ile hafifletildiğini rat serumundaki Ig-G (immünglobülin G) düzeyinin $p \leq 0,001$ istatistiksel olarak anlamlı bir azalmasıyla kanıtlamışlardır (Al-Rasheed vd., 2015). Gülçin ve arkadaşları melatoninin indirgeme gücü metoduna göre $p < 0,01$ anlamlıkta güçlü bir antioksidan olduğunu

gözlemlemiştir (Gülçin vd., 2002). Tez kapsamında klorofonksiyonel POSS, melatonin ve POSS-melatoninin radikal giderme etkinlikleri indirgeme gücü ve ABTS metodlarına göre belirlenmiştir. İndirgeme gücü metoduna göre; klorofonksiyonel POSS için $0,083 \pm 0,004$ melatonin için $0,257 \pm 0,02$ POSS-Melatonin konjugatı için ise $1,08 \pm 0,02$ absorbans değerleri tespit edilmiştir. ABTS metoduna göre ise; klorofonksiyonel POSS için $1,29 \pm 0,20$ melatonin için $14,05 \pm 0,43$ POSS-Melatonin konjugatı için ise $41,91 \pm 0,80$ % inhibisyon değerleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda POSS-Melatonin nano-konjugatı, antioksidan özelliği bilinen melatoninden istatistiksel olarak yüksek anlamlılıkta ($p < 0,001$) bir radikal süpürme etkisi göstermektedir. POSS-Melatonin yapısına, saf melatoninden ortalama 4 kat daha fazla antioksidatif özellik başarı ile kazandırılmıştır.

Polisilsekskioksanlara NAC bağlanması ile ilgili herhangi bir makaleye rastlanılmamıştır. Fakat Carmo ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada oktakis (3-kloropropil) silsekskioksanın 4-amino-5-(4-piridil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol ile fonksiyonlaştırılarak elektrokimyasal olarak NAC yapısındaki sülfidril grubu tayin edilmiştir (Carmo vd., 2014a). Navath ve arkadaşları ise PAMAM dendrimer poly(amidoamine) dendrimer ile NAC kullanılarak, dendrimer-NAC konjugatları sentezlenmiştir (Navath vd., 2008). Desai ve arkadaşları ise çalışmalarında poli(DL-laktik-ko-glikolik asit) PLGA içerisine NAC enkapsüle ederek baş ve boyun kanserlerinde kemoprevansiyona (doğal veya sentetik bileşiklerin kanser gelişimini engelleme, geriye çevirme veya önlemesi) destek sağlanmıştır (Desai vd., 2008). Cheng ve arkadaşları tiyol içeren önemli bir antioksidan olan NAC'ı poli(metilmetakrilat) PMMA toksisitesini hafiflettiğini göstermiştir (Cheng vd., 2012). Tez kapsamında POSS-NH₂ yapısına ait ABTS aktivite tayini ile elde edilen NAC bağlanması ile aminofonksiyonel POSS yapısına antioksidatif etkinlik kazandırılmıştır. ABTS radikal süpürme aktivitesi metoduna baktığımızda POSS-NH₂ için $0,88 \pm 0,06$ olan %inhibisyon değeri POSS-NAC yapısında $38,64 \pm 1,80$ değeri elde edilmiştir. Saf NAC için bu değer $49,86 \pm 1,23$ olarak belirlenmiştir. FTIR, NMR, EDX-elementel haritalandırma sonuçları dahilinde aminofonksiyonel POSS yapısına NAC'ın bir klik reaksiyonu sonucu başarı ile bağlandığını fakat bağlanma sonucu ile orantılı aktivitenin olmadığını görmekteyiz. Reaksiyon denenen alternatif yöntemlere cevap vermemiş sadece klik reaksiyonunda beklenen sonuç elde edilmiştir. Klik reaksiyonunun alkinlenme basamağında NAC'ın

proparjil bromür ile olan tepkime sıcaklığının 100°C’de belirli bir sürede gerçekleşmesinden ötürü NAC molekülümüz otooksidasyona uğramıştır. Bu nedenle beklediğimiz altında bir antioksidan aktivite gözlemlendi.

Sentezlenen yeni POSS-Sefotaksim, POSS-Metronidazol, POSS-Melatonin, POSS-NAC formülasyonları L-929 fibroblast hücrelerinde sitotoksite testleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar neredeyse kontrol grubu ile aynı düzeyde çıkmıştır. Sonuçlar doğrultusunda elde edilen formülasyonların toksik olmadığı, biyouyumlu olduğu belirlendi.

Sonuç olarak; tez kapsamında hedeflenen tek bir molekülde birden fazla sayıda etkin grup bulundurularak, antibakteriyel ve antioksidan aktiviteyi arttırmaya yönelik olan POSS temelli formülasyonların başarı ile elde edildiğini görmekteyiz. Kullanılan dört molekül (sefotaksim, metronidazol, melatonin, NAC) için bu formülasyon yaklaşımı literatürde bir ilk olma özelliğine sahiptir. Tez kapsamında elde edilen etkin formülasyonlar, tedavi süresinin kısılmasına bununla beraber hastanede yatış süresi ve maliyetin azalmasına, antibiyotik temelli etkin formülasyonlar ise ayrıca antibiyotik direnci oluşumunun önüne geçilebilmesine imkan sağlaması bakımından önem arz edecektir.

6. BEKLENTİLER

Tez kapsamında POSS temelli sefotaksim ve metronidazol antibiyotik formülasyonları ve POSS temelli melatonin ve NAC gibi antioksidan yapılar içeren formülasyonlar elde edilmiştir. Bu moleküller dışında pek çok farklı antibiyotik, antioksidanlar hatta antiviral, antifungal, antikanser ilaçları ve daha sayamadığımız pek çok ilaç yapısı, POSS ile modifiye edilerek daha etkin formülasyonlar elde edilebilir.

Bunun yanında antibiyotik içerikli etkin formülasyonlar, yüzey kaplama alanlarında özellikle medikal yüzey kaplamalar için uygun olabilir. Antioksidan yapılar antioksidatif ilaç formülasyonları dışında günümüzde oldukça maliyeti yüksek olan yaşlanma karşıtı kozmetik ürünlerde de verimli bir şekilde kullanılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Akalın, H.E. (2000). Antimikrobiyal Tedavide Temel İlkeler. *Ankem Derg.* **14**, 536-541.
- Alexiou, C., Tietze, R., Schreiber, E., Jurgons, R., Richter, H., Trahms, L., Rahn, H., Odenbach, S. (2011). Cancer therapy with drug loaded magnetic nanoparticles—magnetic drug targeting. *J. Magn. Magn. Mater.* **49**, 4077-4097.
- Al-Rasheed, N., Faddah, L., Ibrahim, H., Mohamed, A.M., Al-Rasheed, N., Abdelbaky, N. (2015). Role of carnosine and melatonin in ameliorating cardiotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in the rats. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **58**, 577-586.
- Arnall, A.H. (2003). Future technologys, today's choices. *Greenpeace environmental trust report*. July, London.
- Aruoma, O.I., Halliwell, B., Hoey, B.M., Butler, J. (1989). The antioxidant action of N-acetylcysteine: Its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Rad Biol Med.* **6**, 593-597.
- Aruoma, O. (1998). Free radicals, oxidative stres and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem.* **75**, 199-212.
- Atia, A.J. (2009). Synthesis and Antibacterial Activities of New Metronidazole and Imidazole Derivatives. *Molecules*, **14**, 2431-2446.
- Bai, J., Dong, L., Song, Z. (2013). The role of the melatonin as an antioxidant in human lens epithelial cells. *Free Radical Res.* **47**, 635-642.
- Baker, C.N., Stocker, S.A., Culver, D.H., Thornsberry, C. (1991). Comparison of the E Test to Agar Dilution, Broth Microdilution, and Agar Diffusion Susceptibility Testing Techniques by Using a Special Challenge Set of Bacteria. *J.Clin. Microbiol.* **29**, 533-538.
- Bandyopadhyay, U., Das, D., Banerjee, R.K. (2011). Reactive oxygen species:Oxidative damage and pathogenesis. *Curr. Sci.* **77**, 658-666.
- Baney, R.H., Hoh, M., Sakakibara, A., Suzuki, T. (1995). Silsesquioxanes. *Chem. Rev.* **95**, 1409-1430.
- Belot, V., Corriu, R., Leclerg, D., Vioux, A. (1991). Thermal reactivity of hydrogenosilsesquioxane gels. *Chem. Mater.* **3**, 127-131.
- Bhattacharyya, D., Singh, S., Satnalika, N., Khandelwal, A., Jeon, S.H. (2009). Nanotechnology, big things from a tiny world: a review. *IJUNESST.* **2**, 29
- Bongiorno, D., Ceraulo, L., Ferrugia, M., Filizzola, F., Giordona, C., Ruggirello, A., Liveri, V.T. (2004). ¹H-NMR and FT-IR study of the state of melatonin confined in membrane models: location and interactions of melatonin in water free lecithin and AOT reversed micelles. *Arkivoc.* **5**, 251-262.

- Bottino, M.C., Thomas, V., Janowski, M. (2011). A novel spatially designed and functionally graded electrospun membrane for periodontal regeneration. (2011). *Acta Biomater.* **7**, 216-224.
- Bouloumie, A., Bauersachs, J., Linz, W., Schölkens, B.A., Wiemer, G., Fleming, I., Busse, R. (1997). Endothelial dysfunction coincides with an enhanced nitric oxide synthase expression and superoxide anion production. *Hypertension.* **30**, 934-941.
- Boutin, J.A., Delagrangé, P., Rettori, M.C. (2000). Melatonin: molecular pharmacology and therapeutic applications. *Medicographia.* **22**, 72-80.
- Bryskier, A. (1997). Dual β -lactam-fluoroquinolone compounds: a novel approach to antibacterial treatment. *Exp. Opin. Invest. Drugs.* **6**, 1479-1499.
- Buege, A.J., Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* **52**, 302-310.
- Byarugaba, D.K. (2009). Mechanisms of Antimicrobial Resistance (15-26). Springer Science, London.
- Carmo, D.R., Silvestrini, D.R., Barud, H.S., Dias Filho, N.L., Bicalho, U.O., Soares, L.A. (2014a). A silsesquioxane organically modified with 4-amino-5-(4-pyridyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol: Thermal behavior and HS electrochemical detection of sulfhydryl compounds. *J Nanomater.* **2014**, 1-11.
- Carmo, D.R., Magossi, M.S., Bicalho, U.O., Silvestrini, D.R. (2014b). Synthesis, Characterization and Thermal Properties of Silsesquioxane Organically Modified With 4,5-Diphenyl-2-Imidazolethiol. *Int. J. Chem.* **6**, 22-33.
- Chaloupka, K., Malam, Y., Seifalian, A.M. (2010). Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.* **28**, 580-588.
- Cheng, Y., Yang, H.C., Cho, J.H., Lee, S.H., Lim, B.S. (2012). The effect on N-Acetylcysteine addition on the polymerization behavior of PMMA bone cement. *Macromol Res.* **20**, 928-938.
- Chitwood, N.A. (1969). Tube Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing: Efficacy of a Microtechnique Applicable to Diagnostic Laboratories. *Appl Microbiol.* **17**, 707-709.
- Chojnowski, J.; Fortuniak, W.; Rosciszewski, P.; Werel, W., Lukasiak, J., Kamysz, W., Halasa, R. (2006). Polysilsesquioxanes and Oligosilsesquioxanes Substituted by Alkylammonium Salts as Antibacterial Biocides. *J. Inorgan. Organomet. Polym. Mater.* **16**, 219–230.
- Citron, D.M., Tyrrell, K.L., Merriam, C.V., Goldstein, E.J.C. (2012). In vitro activities of CB-183,315, vancomycin and metronidazole against 556 strains of *Clostridium difficile*, 445 other intestinal anaerobes and 56 enterobacteriaceal species. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **56**, 1613-1615.
- Cockerill, F.R., Wikler, M.A., Alder, J. (2012). Clinical and laboratory standards institute. **32**, 1-184. Pennsylvania, USA.

- Cordes, D.B., Lickiss, P.D., Rataboul, F. (2010). Recent developments in the chemistry of cubic polyhedral oligosilsesquioxanes. *Chem. Rev.* **110**, 2081-2173.
- Cotgreave, I.A., Moldeus, P. (1987). Lung protection by thiol-containing antioxidants. *Bull Eur Physiopathol Respir.* **23**, 275-277.
- Craig, W.A. (1998). Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Parameters: Rationale for Antibacterial Dosing of Mice and Men. *Clin Infect Dis.* **26**, 1-12.
- De Angelis, J., Gastel, J., Klein, D.C., Cole, P.A. (1998). Kinetic analysis of the catalytic mechanism of serotonin N-acetyl-transferase. *J. Biol. Chem.* **273**, 3045-3050.
- Demirel, M.H., Köytepe, S., Gültek, A., Seçkin T. (2014). Synthesis and stimuli-responsive properties of the phenanthroline based metallo-supra molecular polymers. *J Polym Res.* **21**, 345.
- Deniz M. (2012). *Anilin oksidatif polimerleşmesi ile çeşitli takviye malzemeli kompozitlerin sentezi ve karakterizasyonu*. Yüksek Lisans tezi, Hitit Üniversitesi, Çorum.
- Desai, K.G.H., Mallery, S.R, Schwendeman, S.P. (2008). Formulation and characterization of injectable poly(DL-Lactide-co-glycolide)implants loaded with N-Acetylcysteine, a MMP inhibitor. *Pharm Res.* **25**, 586-597.
- Dong, Y., Feng, S.S. (2005). Poly(D,L-lactide-co-glycolide)/montmorillonite nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials.* **26**, 6068-6076.
- Dubbels, R., Reiter R.J., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., Schiwara, H.W., Schloot, W. (1995). Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Pineal Res.* **18**, 28-31.
- Feher, F.J., Wyndham, K.D. (1998). Amine and ester-substituted silsesquioxanes: synthesis, characterization and use as a core for starburst dendrimers. *Chem.Comm.* **3**, 323-324.
- Fina, A., Tabuani, D., Franche, A., Camino, G (2005). Polypropylene-polyhedral oligomeric silsesquioxanes (POSS) nanocomposites. *Polymer.* **46**, 7855-7866.
- Fong, H., Dickens, S.H., Flaim, G.M. (2005). Evaluation of dental restorative composites containing polyhedral oligomeric silsesquioxane methacrylate. *Dental Materials.* **21**, 520-529.
- Gao, F., Tong, Y.H., Schricker, S.R., Culbertson, B.M. (2001). Evaluation of neat resins based on methacrylates modified with methacryl-POSS, as potential organic-Inorganic hybrids for formulating dental restoratives. *Polym. Adv. Technol.* **12**, 355-360.

- Gentile, P., Frongia M.E., Cardellach, M., Stafford, G.P., Legget, G. (2015). Functionalised nanoscale coatings using layer-by-layer assembly for imparting antibacterial properties to polylactide-co-glycolide surfaces. *Acta Biomater.* **21**, 35-43.
- Georgopapadakou, N.H., Bertsso, A. (1993). Mechanism of action of cephalosporin 3'-Quinolone esters, carbamates and tertiary amines in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **37**, 559-565.
- Ghanbari, H., Kidane, A.G., Burrieschi, G., Ramesh, B., Darbyshire, A., Seifalian, A.M. (2010). The anti-calcification potential of a silsesquioxane nanocomposite polymer under in vitro conditions: Potential material for synthetic leaflet heart valve. *Acta Biomaterialia.* **6**, 4249-4260.
- Gillette, M.U., Tischkau, S.A. (1999). Suprachiasmatic nucleus: the brain's circadian clock. *Recent Prog Horm Res.* **54**, 33-58.
- Goldstein, E.J.C., Citron, D.M., Tyrrell, K.L., Merrian, C.V. (2013). Comparative in vitro activities of SMT19969, a new antimicrobial agent, against *Clostridium difficile* and 350 Gram-positive and Gram-negative aerobic and anaerobic intestinal flora isolates. *Antimicrob. Agents.Chemother.* **57**, 4872-4876.
- Gomes, P., Soares-da-Silva, P. (1999). L-Dopa transport properties in an immortalised cell line of rat capillary cerebral endothelial cells, RBE4. *Brain Res.* **829**, 143-150.
- Gong, S., Epasinghe, D.J., Zhang, W., Zhou, B., Niu, L., Ryou, H., Eid, A., Frassetto, A., Yiu, C.K.Y., Arola, D.D., Mao, J., Pashley, D.H., Tay, F.R. (2014). Synthesis of antimicrobial silsesquioxane-silica hybrids by hydrolytic co-condensation of alkoxysilanes. *Polym. Chem.* **5**, 454-462.
- Gravel, M.C., Zhang, C., Dinderman, M., Laine, R.M. (1999). Octa (3-chloroammoniumpropyl) octasilsesquioxane. *Appl.Organometal.Chem.* **13**, 329-336.
- Gupta, A., Vara, D.S., Punshon, G., Sales, K.M., Winslet, M.C., Seifalian, A.M. (2009). In vitro small intestinal epithelial cell growth on a nanocomposite polycaprolactone scaffold. *Biotechnol Appl Biochem.* **54**, 221-229.
- Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E., Oktay, M., Küvrevioğlu, O.İ. (2002). On the in vitro antioxidative properties of melatonin. *J. Pineal Res.* **33**,167–171.
- Gültek, A., Seçkin, T., Adıgüzel, H.İ. (2005). Design and characterization of amino and chloro functionalized rhombohedral silsesquioxanes. *Turk J Chem.* **29**, 391-399.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *The Lancet.* **344**, 721-724.
- Huang, D., Qu, B., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 1841-1856.

Hwang, J.Y. (2001). Antioxidative activity of roasted and defatted peanut kernels. *Food Res Int.* **34**, 639-647.

Ihara, N., Kurisaka, M., Chung, J.E., Uyama, H., Kobayashi, S. (2005). Enzymatic synthesis of a catechin conjugate of polyhedral oligomeric silsesquioxane and evaluation of its antioxidant activity. *Appl Microbiol Biotechnol.* **66**, 430–433.

Jacob, R.A. (1995). The integrated antioxidant system. *Nutr Res.* **15**, 755-766.

Jiang, L. (2011). Comparison of disk diffusion, agar dilution, and broth microdilution for antimicrobial susceptibility testing of five chitosans. A Thesis of Master, Fujian Agricultural and Forestry University, China.

Kalinowska-Lis, U., Felczak, A., Checinska, L., Zawadzka, K., Patyna, E., Lisowska, K., Ochocki, J. (2015). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of water-soluble silver(i) complexes of metronidazole drug and selected counter-ions. *Dalton Trans.* **44**, 8178-8189.

Kaminskas, L.M., McLead, V.M., Kelly, B.B., Sberna, G., Boyd, B.J., Williamson, M., Owen, D.J., Porter, C.J. (2012). A comparison of changes to doxorubicin pharmacokinetics, antitumor activity, and toxicity mediated by PEGylated dendrimer and PEGylated liposome drug delivery systems. *Nanomedicine.* **8**, 103-111.

Kanamori, K., Nakanishi, K. (2011). Controlled pore formation in organotrialkoxy-silane-derived hybrids: from aerogels to hierarchically porous monoliths. *Chem.Soc.Rev.* **40**, 754-770.

Kannan, R.Y., Salacinski H.J., Edirisinghe, M.J., Hamilton, G., Seifalian, A.M. (2006). Polyhedral oligomeric silsesquioxane–polyurethane nanocomposite microvessels for an artificial capillary bed. *Biomaterials.* **27**, 4618-4626.

Kannan, R.Y., Salacinski H.J., Ghanavi, J.E., Narula, A., Odlyha, M., Peirovi, H., Butler, P.E., Seifalian, A.M. (2007). Silsesquioxane Nanocomposites as Tissue Implants. *Plastic & Reconstructive Surgery.* **119**, 1653-1662.

Kayaalp, S.O. (2002). *Tıbbi Farmakoloji*. Hacettepe-Taş Yayınları, Ankara, Türkiye, 186 p.

Kerman, M., Cirak, B., Özgüner, MF., Dağtekin A. (2005). Does melatonin protect or treat brain damage from traumatic oxidative stres?. *Exp Brain Res.* **163**, 406-410.

Khabnadideh, S., Rezael, Z., Khalafi, N.A., Motazedian, M.H. (2007). Synthesis of Metronidazole derivatives as antiangiogenesis agents. *J. Pharm. Sci.* **15**, 17-20.

Kim, S.K., Heo, S.J., Koak, J.Y., Lee, J.H., Lee, Y.M., Chung, D.J., Lee, J.I., Hong, S.D. (2007). A biocompatibility study of a reinforced acrylic-based hybrid denture composite resin with polyhedraloligosilsesquioxane. *J Oral Rehabil.* **34**, 389-395.

Kuo, S.W., Chang, F.C. (2011). POSS related polymer nanocomposites. *Progress in polymer science*. **36**, 1649-1696.

Laine, R.M. (2005). Nanobuilding blocks based on the $[\text{OSiO}_{1.5}]_x$ ($x=6,8,10$) octasilsesquioxanes. *J.Mater.Chem.* **15**, 3725-3744.

Leary, J.F. (2010). Nanotechnology: What is it and why is small so big. *CJO*. **45**, 449-456 .

Li, G.Z., Wang, L., Toghiani, H., Daulton, T.L., Koyama, K., Pittman, C.M. (2001a). Viscoelastic and mechanical properties of epoxy/multifunctional polyhedral oligomeric silsesquioxane nanocomposites and epoxy/ladder like polyphenylsilsesquioxane blends. *Macromolecules*. **34**, 8686-8693.

Li, G.Z., Wang, H.N., Pittman, C.U. (2001b). Polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS) polymers and copolymers. *J Inorg Organomet Polym*. **11**, 123-154.

Li, G.Z., Yamamoto, T., Nozaki, K., Hikosaka, M. (2009). Crystallization of ladder like polyphenyl silsesquioxane (PPSQ)/isotactic polystyrene (i-PS) blends. *Polymer*. **42**, 8435-8441.

Lichtenthaler, R., Marx, F., Kind, O.M. (2003). Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity (TOSC) assay. *Food Res. Technol*. **216**, 166-173.

Liu, L., Hu, Y., Song, L., Nazare, S., He, S., Hull, R. (2007). Combustion and thermal properties of Octa TMA-POSS/PS composites. *Journal of Materials Science*. **42**, 4325-4333.

Luck, H. (1963). Methods of enzymatic analysis. *Verlag Chemie*. 885-888.

Macchi, MM., Bruce, JN. (2004). Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol*. **25**, 177-195.

MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G., Monohar, L.G. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *J. Sci. Food Agric*. **86**, 2046-2056.

Maejima, T., Inove, M., Mitsuhashi, S. (1991). In vitro antibacterial activity of KP-736, a new cephem antibiotic. *Antimicrob. Agents Chemother*. **35**, 104-110.

Maestroni, G.J. (1999). Therapeutic potential of melatonin in immunodeficiency states, viral diseases and cancer. *Adv. Exp. Med. Biol*. **467**, 217-226.

Mahmoud, M.A., Akmal, S.G., Said, M.T. (2015). Spectroscopic and thermal investigation of charge-transfer complexes formed between cefotaxime sodium drug and various acceptors. *Russ J Gen Chem*. **85**, 731-745.

Marcolli, C., Calzaferri, G. (1999). Review monosubstituted octasilsesquioxanes. *Appl Organometal Chem*. **13**, 213-226.

- Mathew, S., Abraham, T.E. (2006). In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem. Toxicol.* **44**, 198-206.
- Matisons, J.G., Constantopoulos, K.T., Simonb, G. (2006). Polyhedral octasilsesquioxanes-new challenges. *Polymer Preprints.* **47**, 1172-1173.
- McCord, J.M., Fridovich, I. (1969). Süperoxide dismutase: An enzymic function for Erythrocuprein (Hemocuprein). *J Biol Chem.* **244**, 6049-6055.
- McCusker, C., Carrol, J.B. Rotello, V.M. (2005). Cationic polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS) units as carriers for drug delivery processes. *Chem. Commun.***8**, 996-998.
- Mendieta-Wejeb, J.E., Rosales, M.C., Correa-Basurto, J., Trujillo-Ferrara, J. (2009). Silica hydride exhibits direct antioxidant capacity and hepatoprotective effect on carbon tetrachloride toxicity in vivo. *FASEB J.* **23**, 718-721.
- Mishra, M.K., Kotta, K., Hali, M., Wykess, S., Gerard, H.C., Hudson, A.P., Whittum-Hudson, J.A., Kannan, R.M. (2011). PAMAM dendrimer-azithromycin conjugate nanodevices for the treatment of Chlamydia trachomatis infections. *Nanomedicine.* **7**, 935-944.
- Mollaoğlu, H., Özgüner, M.F. (2005). Yaşlanma sürecinde melatoninin rolü. *S Demirel Üniv. Tıp Fak Derg.* **12**, 52-56.
- Motwani, M.S., Rafiei, Y., Tzifa, A., Seifalian, A.M. (2011). *In situ* endothelialization of intravascular stents from progenitor stem cells coated with nanocomposite and functionalized biomolecules. *Biotechnol Appl Biochem*, **58**, 2-13.
- Naca, K., Sato, M., Chujo, Y. (2008). Stabilized Spherical Aggregate of Palladium Nanoparticles Prepared by Reduction of Palladium Acetate in Octa(3-aminopropyl)octasilsesquioxane as a Rigid Template. *Langmuir.* **24**, 2719-2726.
- Navath, R.S., Kurtoğlu, Y.E., Wang, B., Kannan, S., Romero, R., Kannan, R.M. (2008). Dendrimers-drug conjugates for tailored intracellular drug release based on glutathione levels. *Bioconjug Chem.* **19**, 2446-2455.
- Nemutlu, E., Kır, S. (2009). Üçüncü ve dördüncü kuşaktan seçilmiş sefalosporinlerin insan kaynaklı biyolojik materyallerden HPLC ile tayinleri. *Hacettepe J of the Faculty of Pharmacy* .**28**, 185-207.
- Norberg, J., Arner, E.S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Bio Med.* **31**, 1287-1312.
- Obaleye, J.A., Lawal, A. (2007). Synthesis, Characterization and Antifungal Studies of Some Metronidazole Complexes. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* **11**, 15-18.

Oehninger, L., Stefanopoulou, M., Alborzinia, H., Schur, J., Ledewing, S., Naikawa, K., Munoz-Castro, A., Köster, R.W., Baumann, K., Wölfl, S., Sheldrick, W.S., Ott, I. (2013). Evaluation of arene ruthenium(II) N-heterocycliccarbene complexes as organometallics interacting with thiol and selenol containing biomolecules. *Dalton Trans.* **42**, 1657-1666.

Orive, G., Hernandez, R.M., Gaskon, A.R., Pedraz, J.L. (2005). Micro and nano drug delivery systems in cancer therapy. *Cancer Therapy*. **3**, 131-138.

Özçelik, F., Erdem, M., Bolu, A. (2013). Melatonin : general features and its role in psychiatric disorders. *Current Approaches in Psychiatry*. **5**, 179-203.

Pandey, S.K., Haldar, C., Vishivas, D.K, Maiti., P. (2015). Synthesis and in vitro evaluation of melatonin entrapped PLA nanoparticles: An oxidative stress and T-cell response using golden hamster. *J Biomed Mater Res*. **103**, 3034-3044.

Patel, M.P., Maincinkeviciene, I., Blanchard, J.S. (1998). Enterococcus faecalis glutathione reductase: purification, characterization and expression under normal and hyperbaric O₂ conditions. *FEMS Microbiology Letters*. **166**, 155-163.

Pavlat, P., Halama, A., Weidlich, T., Fiala, B., Bekarek, V. (1999). Medium effect on ¹H. and ¹³C.NMR spectra of melatonin. *Chemia*. **38**, 59-64.

Percival, M. (1998). Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. **31**, 01-04.

Pielichowski, K., Njuguna, J., Janowski, B., Pielichowski, J. (2006). Polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS)-containing nanohybrid polymers *Adv Polym Science*. **201**, 225-296

Potkin, S.J., Zetin, M., Stamenkovic, V., Kripte, D.F., Bunney, W.E. (1986). Seasonal affective disorder: prevalence varies with latitude and climate. *Clin Neuropsychopharmacol*. **4**, 181-183.

Prince, H.N., Grunberg, E., Titworth, E., Delorenza, W.F. (1969). Effects of 1-(2-nitro-1-imidazolyl)-3-methoxy-2-propanol and 2-methyl-5-nitroimidazole-1-ethanol against anaerobic and aerobic bacteria and protozoa. *Applied Microbiology*. **18**, 728-730.

Punshon, G., Vara, D.S., Sales, K.M., Kidane, A.G., Salacinski, H.J., Seifalian, A.M. (2005). Interactions between endothelial cells and a poly(carbonate-silsesquioxane-bridge-urea)urethane. *Biomaterials*. **26**, 6271-6279.

Raghunath, J., Zhang, H., Edirisinghe, M.J., Darbyshire, A., Butler, P.E., Seifalian, A.M. (2009). A new biodegradable nanocomposite based on polyhedral oligomeric silsesquioxane nanocages: cytocompatibility and investigation into electrohydrodynamic jet fabrication techniques for tissue-engineered scaffolds. *Biotechnol Appl Biochem*. **52**, 1-8.

Ralph, E.D., Clarke, D.A. (1978). Inactivation of metronidazole by anaerobic and aerobic bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* **14**, 377-383.

Rediguieri, C.F., Porta, V., G Nunes, D.S., Nunes, T.M., Junginger, H.E., Kopp, S., Midha, K.K., Shah, V.P., Stavchansky, S., Dressman, J.B., Barends, D.M. (2011). Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: metronidazole. *J Pharm Sci.* **100**, 1618-1627.

Reiter, R.J. (1991). Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev.* **12**, 151-180.

Reiter, R.J. (1996). Functional diversity of the pineal hormone melatonin: its role as an antioxidant. *Exp Clin Endocrinol.* **104**, 10-16.

Reiter, R.J. (1998). Cytoprotective properties of melatonin: presumed association with oxidative damage and aging. *Nutrition.* **14**, 691-696.

Reiter, R.J., Maestroni, J.M. (1999). Melatonin in relation to the antioxidative defense and immune systems: possible implications for cell and organ transplantation. *J Mol Med.* **77**, 36-39.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Korkmaz, A. (2009). The circadian melatonin rhythm and its modulation : possible impact on hypertension. *J Hypertens Suppl.* **27**, 17-20.

Roco, M.C. (2005). International perspective on government Nanotechnology funding in 2005. *J Nanopart Res.* **7**, 707-712.

Sache, N., Baund, O., Pansiot, J., Pham, H., Biran, V., Brunel-Mevnier, N., Bidet, P., Kitzis, M.D., Gressens, P., Bingen, E., Charriaout-Marlangue, C., Bonacorsi, S. (2011). Effect of moxifloxacin combined with cefotaxime-gentamicin combination on prevention of white matter damage associated with. *AAC* . **55**, 3567-3569.

Saga, T., Yamaguchi, K. (2009). History of Antimicrobial Agents and Resistant Bacteria. *JMAJ.* **52**, 103–108.

Sancak, B. (2011). Staphylococcus aureus ve antibiyotik direnci. *Mikrobiyol Bul.* **45**, 565-576.

Sarkar, S., Buriesci, G., Wojcik, A., Aresti, N., Hamilton, G., Seifalian, A.M. (2009). Manufacture of small calibre quadruple lamina vascular bypass grafts using a novel automated extrusion-phase-inversion method and nanocomposite polymer. *J Biomech.* **42**, 722-730.

Schaneich, C. (1999). Reactive oxygen species and biological aging: a mechanistic approach. *Exp Gerontol.* **34**, 19-34.

Seçkin, T., Köytepe, S., Adıgüzel, H.İ. (2008). Molecular design of POSS core star polyimides as a route to low-kappa dielectric materials. *Mater Chem Phys.* **112**, 1040-1046.

Sellinger, A., Laine, R.M. (1996). Silsesquioxanes as Synthetic Platforms. Thermally Curable and Photocurable Inorganic/Organic Hybrids. *Macromolecules*. **29**, 2327-2330.

Sharifzadeh, M. (2006). Nanotechnology Sector Report, Cronus Capital Markets, 1st Quarter

Shenn, Y.C., Lu, C.H., Huang, C.F., Kuo, S.W., Chang, F.C. (2008). Synthesis and characterization of amorphous octakis-functionalized polyhedral oligomeric silsesquioxanes for polymer nanocomposites. *Polymer*. **49**, 4017-4024.

Simionescu, B., Bordianu, I.E., Aflori, M., Doroftei, F., Mares, M., Patras, X., Nicolescu, A., Olaru, M. (2012). Hierarchically structured polymer blends based on silsesquioxane hybrid nanocomposites with quaternary ammonium units for antimicrobial coatings. *Mater. Chem. Phys.* **134**, 190-199.

Simpson, I., Durodie, J., Knott, S., Shea, B., Wilson, J., Machka, K. (1998). Effects of following national committee for clinical laboratory standards and deutsche industrie norm-medizinische microbiologie guidelines, country of isolate origin and site of infection on susceptibility of *Escherichia coli* to amoxicilin clavulanate (Augmentin). *J Clin Microbiol*. **36**, 1361-1365.

Smirnoff, N., Cumbes, Q.J. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*. **28**, 1057-1060.

Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I., Bahorun, T. (2005). Phenolic as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mut. Res.* **579**, 200-213.

Suzuki, K., Ota, H., Sasagawa, S., Sakatani, T., Fujikura, T. (1983). Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Anal Biochem*. **132**, 345-352.

Şener, G., Balkan, J., Cevikbaş, U., Keyer-Uysal, M., Uysal, M. (2004a). Melatonin reduces cholesterol accumulation and prooxidant state induced by high cholesterol diet in the plasma, the liver and probably in the aorta of C57BL/63 mice. *J Pineal Res*. **36**, 212-216.

Şener, G., Paskaloğlu, K., Ayanoğlu, D.G. (2004b). Protective effect of increasing doses of famotidine, omeprazole, lansoprazole and melatonin against ethanol-induced gastric damage in rats. *Indian J Pharmacol*. **36**, 171-174.

Tan, DX., Chen, LD., Poeggeler, B. (1993). Melatonin: A potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J*. **1**, 57-60.

Tanaka, K., Inafuku, K., Naka, K., Chujo, Y. (2008). Enhancement of entrapping ability of dendrimers by a cubic silsesquioxane core. *Org Biomol Chem*. **6**, 3899-3901.

Taylor, M.J. (2002). New dimensions for manufacturing. A strategy for Nanotechnology (pp: 15). *UK Advisory Group on Nanotechnology*, June, London.

Tenover, F.C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Infect Control*. **34**, 3-10.

Theodorus, P., Aberboom, M., Sies, H. (1981). Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol*. **77**, 373-383.

Tomasi, A. (2004). New acquisitions and therapeutic role of N-acetylcysteine in airways diseases caused by cigarette smoke and pollution. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. **8**, 4-28.

Vashist, S.K., Zheng, D., Pastorin, G., Al-Rubeaan, K., Luong, J.H.T., Sheu, F.S. (2011). Delivery of drugs and biomolecules using carbon nanotubes. *Carbon*. **49**, 4077-4097.

Ward, S. (2005). *Role of N-Acetylcysteine in the treatment of acute respiratory disorders*. Wolters Kluwer Health, Roma, Italy, 8p.

Whitesides, G.M. (2005). Nanoscience, Nanotechnology, and Chemistry. *Small*. **2**, 172-179.

Williams, J.D., Nober, K.G., Bryskier, A., Hoby, N., Gould, I.M., Periti, P., Giamarellou, H., Rouveix, B. (2001). Classification of oral cephalosporins. A matter for debate. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **17**, 443-450.

Wilson, B., Samanta, M.K., Santhi, K., Kumar, K.S., Ramasamy, M., Suresh, B. (2010). Chitosan nanoparticles as a new delivery system for the anti-Alzheimer drug tacrine. *Nanomedicine*. **6**, 144–152.

Wu, J., Mather, P.T. (2009a). POSS Polymers: Physical Properties and Biomaterials Applications. *J of Macromolecular Science*. **49**, 25-63.

Wu, J., Hou, S., Ren, D., Mather, P.T. (2009b). Antimicrobial properties of nanostructured hydrogel webs containing silver. *Biomacromolecules*. **10**, 2686-2693

Xue, J., He, M., Liang, Y., Crawford, A., Coates, P., Chen, D., Shi, R., Zhang, L. (2014). Fabrication and evaluation of electrospun PCL–gelatin micro-/nanofiber membranes for anti-infective GTR implants. *J Mater Chem. B*. **2**, 6867-6877.

Yen, G.C., Hung, C.Y. (2000). Effects of alkaline and heat treatment on antioxidative activity and total phenolics of extracts from Hsian-tsao (*Mesona procumbens* Hemsl. *Food Res Int*. **33**, 487-492.

Yuan, H., Luo, K., Lai, Y., Pu, Y., He, B., Wang, G., Wu, Y., Gu, Z. (2010). A novel poly(l-glutamic acid) dendrimer based drug delivery system with both pH-sensitive and targeting functions. *Mol Pharm*. **7**, 953-962.

Zafarullah, M., Li, W.Q., Slyvester, J., Ahmad, M. (2003). Molecular mechanisms of N -acetylcysteine actions. *Cell Mol. Life Sci*. **60**, 6-20.

Zaidan, M.R.S., Noor, R.A., Badrul, A.R., Adlin, A., Norazod, A., Zakiah, I. (2005). *In vitro* screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method. *Trop Biomed.* **22**, 165–170.

Zhang, C., Laine, R.M. (2000). Hydrosilylation of Allyl Alcohol with $[\text{HSiMe}_2\text{OSiO}_{1.5}]_8$: Octa(3-hydroxypropyldimethylsiloxy)octasilsesquioxane and Its Octamethacrylate Derivative as Potential Precursors to Hybrid Nanocomposites. *J Am Chem Soc.* **122**, 6979-6988.

Zhao, G.R., Xiang, Z.J., Ye, T.X., Yuan, Y.J., Guo, Z.X. (2006). Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *panax notoginseng*. *Food Chem.* **99**, 767-774.

Zheng, W., Cole, P.A. (2002). Serotonin N-acetyltransferase: mechanism and inhibition. *Curr Med Chem.* **9**, 1187-1199.

Ziment, I. (1986). Acetylcysteine: a drug with an interesting past and a fascinating future. *Respiration.* **50**, 26-30.

Zou, Q.C., Yan, Q.J., Song, G.W., Zhang, S.L., Wu, L.M. (2007). Detection of DNA using cationic polyhedral oligomeric silsesquioxane nanoparticles as the probe by resonance light scattering technique. *Biosensors and Bioelectronics*, **22**, 1461-1465.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : İdil KARACA AÇARI

Doğum Yeri ve Tarihi: HEKİMHAN-MALATYA/1982

Adres: İnönü Üniversitesi, Kimya Bölümü 44280, Malatya

E-Posta: idil.karaca@inonu.edu.tr

Lisans: İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü (2000-2004)

Yüksek Lisans: : İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı (2006-2009)

Doktora: İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı (2010-2015)

Mesleki Deneyim: (2008-devam ediyor) İnönü Üniversitesi Öğretim Görevliliği (2008-2010) İnönü Üniversitesi Sürgü Meslek Yüksekokulu Müdür Yardımcılığı (2012-devam ediyor) İnönü Üniversitesi Akredite Akaryakıt-Petrol Analiz Laboratuvarı Öğretim Görevlisi

TEZ VERİLERİ İLE GERÇEKLEŞTİRİLEN ULUSAL/ULUSLAR ARASI SUNUMLAR

1. **Karaca Açarı, İ.**, Balcioglu, S., Keleştemur, Ü., Köytepe, S., Ateş, B., Yılmaz, İ., Seçkin, T. “Kemoterapide Sağlıklı Hücre Hasarına Son: Süper Etkili Antioksidan Nano-Konjugat Formülasyonları”, *5.ARGE Proje Pazarı* İstanbul, 2015.
2. **Acarı Karaca İ.**, Balcioglu S., Ates B., Koytepe S., Yılmaz, İ., Seçkin, T. “N-Acetylcysteine conjugate of polyhedral oligomeric silsesquioxane and determination of its antioxidant activity”. *European Polymer Congress*, Dresden, Germany, 2015.

3. **İdil Karaca Açıarı**, , Burhan Ateş, Süleyman Köytepe, İsmet Yılmaz, Turgay Seçkin “POSS-based Antibiotic Nanoparticles for Coating of Medical Devices”, *10th Nanoscience and Nanotechnology Conference of Turkey*, İstanbul, 2014.
4. **İdil Karaca Açıarı**, Burhan Ateş, Süleyman Köytepe, İsmet Yılmaz, Turgay Seçkin“Antibiyotikler için Yeni Nesil İlaç Formülasyonları”, *4. ARGE Proje Pazarı*, İstanbul, 2014.
5. **Karaca Açıarı İ.**, Ates B., Koytepe S., Yılmaz I, Seckin, T. “Synthesis and Antimicrobial Properties of POSS Based Antibiotic Structure”, *European Polymer Congress*, Italy-Pisa, 2013.

YAYIN LİSTESİ

Uluslar Arası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Arabacı, T., Özgül, O., İçen, M.S., **Karaca Açıarı I.**, Balcıoğlu, S., Gürhan, I. “Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oil of *Thymus haussknechtii* Velen from Turkey”, *Asian J. Chem.*, online inpress.<http://dx.doi.org/10.14233/ajchem.2016.19400>
2. Küçükbay, F.Z., **Karaca İ.**, “Simultaneous Determination of Water and Fat-Soluble Vitamins in Pekmez Samples by High Performance Liquid Chromatography Coupled with Diode Array Detection”, *Asian J. Chem.*, 22, 4083-4091 (2010).
3. Küçükbay, F.Z., Kuyumcu E., **Karaca İ.**, Özdemir D., “Determination of Minerals and Trace Elements in Soils and The Relation with its Concentrations in Sugar Beets”, *Asian J. Chem.*, 22, 3691-3704 (2010).
4. Küçükbay, F.Z., Yazlak, H., **Karaca I.**, Şahin, N., Tuzcu M., Cakmak M.N., Şahin, K., “The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions”, *Aquaculture Nutrition* 15, 569-576 (2009).
5. Küçükbay F.Z., **Karaca İ.**, “Levels of some trace elements and minerals in fruit juice concentrates (pekmez) from various fruits grown in Turkey”, *Adven. Food Sci.*, 30, 89-93 (2008).

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler

1. **Acarı Karaca İ.**, Balcioglu S., Ates B., Koytepe S., Yılmaz, İ., Seçkin, T. “N-Acetylcysteine conjugate of polyhedral oligomeric silsesquioxane and determination of its antioxidant activity”. *European Polymer Congress*, 21-26 June 2015, Dresden, Germany.
2. Ates B., Koytepe S., Karaaslan M.G., Kelestemur U., **Acarı I.K.**, Balcioglu S., Gulgen S. Synthesis and Characterization of Boric Acid-Based Antibacterial and Biocompatible Tissue Adhesive, *European Polymer Congress*, 21-26 June 2015, Dresden, Germany.
3. Aksoy B., **Acarı K.I.**, Karaaslan M.G., Koytepe S., Seckin, T. Development of Orthopedic Implants with Biocompatible Polymeric Coatings, *European Polymer Congress*, 21-26 June 2015, Dresden, Germany.
4. **İdil Karaca Açarı**, , Burhan Ateş, Süleyman Köytepe, İsmet Yılmaz, Turgay Seçkin“POSS-based Antibiotic Nanoparticles for Coating of Medical Devices”, *10th Nanoscience and Nanotechnology Conference of Turkey* , İstanbul,2014
5. **Karaca Açarı İ.**, Ates B., Koytepe S., Yılmaz I, Seckin, T. “Synthesis and Antimicrobial Properties of POSS Based Antibiotic Structure”, *European Polymer Congress*, Italy-Pisa, 2013.
6. **Acarı Karaca İ.**, Karaaslan M.G., Balcioglu S., Gulgen S., Ates B., Yılmaz İ. Protective effect of N-Acetylcysteine Amide (NACA), a novel antioxidant, against Paraquat-induced kidney toxicity, *44th World Chemistry Congress*, 11-16 August 2013, Istanbul, Turkey.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler

1. **Karaca Açarı, İ.**, Balcioglu, S., Keleştemur, Ü., Köytepe, S., Ateş, B., Yılmaz, İ., Seçkin, T. “Kemoterapide Sağlıklı Hücre Hasarına Son: Süper Etkili Antioksidan Nano-Konjugat Formülasyonları”, *5.ARGE Proje Pazarı* İstanbul, 2015.
2. **İdil Karaca Açarı**, Burhan Ateş, Süleyman Köytepe, İsmet Yılmaz, Turgay Seçkin“Antibiyotikler için Yeni Nesil İlaç Formülasyonları”, *4. ARGE Proje Pazarı* İstanbul, 2014.

3. Büşra Aksoy, **İdil Açarı**, Burhan Ateş, Erkan Bahçe, Süleyman Köytepe, Turgay Seçkin “Biyoyumlu Polimerik Kaplamalar ile Ortopedik İmplantların Geliştirilmesi”, 4. ARGE Proje Pazarı İstanbul, 2014
4. B.Ateş, S.Köytepe, M.G.Karaaslan, **İ.Karaca Açarı**, S.Balcıoğlu, S.Gülgen “Bor Temelli Mukavemeti Arttırılmış Antibakteriyel Yapıştırıcının Üretimi”, 4. ARGE Proje Pazarı İstanbul, 2014
5. Kadir Yılmaz, Mehmet Kadak, **İdil Karaca Açarı**, Sema Vural, Burhan Ateş, İsmet Yılmaz “Bazı Polifenollerin Nanoboyutta Hazırlanması ve Antioksidan Özelliklerinin Karşılaştırılmalı İncelenmesi” 24. Ulusal Kimya Kongresi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 29 Haziran-2 Temmuz 2010, Zonguldak
6. **Karaca İ.**, Küçükbay F.Z., “*Prunus armeniaca L. Morus Alba L.*, da suda ve yağda çözünen vitamin tayini ”, XXII. Ulusal Kimya Kongresi, Mağusa-K.K.T.C., 2008.
7. **Karaca İ.**, Küçükbay F.Z., “*Prunus armeniaca L. Morus Alba L.*, meyvelerinde mineral ve eser element tayini”, IV. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Elazığ, 2008.
8. Kuyumcu E., **Karaca İ.**, Küçükbay F.Z., “Üretimden tüketime kadarki işlemlerde şeker pancarı örneklerinde ve yetiştiği toprak numunelerinde eser element ve mineral tayini”21. Ulusal Kimya Kongresi, ANL076P, Malatya, 2007.
9. **Karaca İ.**, Küçükbay F.Z., “Çeşitli pekmez örneklerinde mineral ve eser element tayini”, 21. Ulusal Kimya Kongresi, Malatya, 2007
10. Küçükbay F.Z., **Karaca İ.**, Kuyumcu E., “ Çeşitli pekmez örneklerinde suda çözünebilen vitamin seviyelerinin HPLC ile tayini”, XX. Ulusal Kimya Kongresi, Kayseri, 2006.

TEZLER VE SEMİNERLER

1. **Doktora Seminer Konusu:** “Yeni Teknolojiler Yeni Korkular: NANOFOBİ”, İnönü Üniversitesi, , Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011.
2. **Doktora Seminer Konusu:** “Modifiye Edilmiş Nanomateryallerin Biyokimyasal ve Tıbbi Uygulamaları”, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011.

3. **Yüksek Lisans Tezi:** “*Pekmez Örneklerinde Vitamin ve Mineral Tayini,*”, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009.
4. **Yüksek Lisans Seminer Konusu:** “*Okratoksinler*”, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.

KATILDIĞI SEMİNERLER, EĞİTİMLER VE ÇALIŞTAYLAR

1. **“Tıpta İnovasyon Buluşmaları-1”** Katılım Sertifikası, Sanko Üniversitesi, 20-21 Mart 2015, Gaziantep.
2. **“Advanced Technologies on Health Sciences Symposium”** Katılım Sertifikası, Hacettepe Üniversitesi, 15-16 Eylül 2014, Ankara.
3. **“SEM-Agilent Kromatografi ve Spektroskopi Çözümleri”** Eğitim Sertifikası, İnönü Üniversitesi, 15 Mayıs 2014.
4. **“TS EN ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi Temel Eğitimi”** Sertifikası, Türk Standardları Enstitüsü Eğitim Daire Başkanlığı, İnönü Üniversitesi, 13 Ocak 2012.
5. **“TS EN ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi Dökümantasyon Eğitimi”** Sertifikası, Türk Standardları Enstitüsü Eğitim Daire Başkanlığı, İnönü Üniversitesi, 14 Ocak 2012.
6. **“TS EN ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi İç Tetkik Eğitimi”** Sertifikası, Türk Standardları Enstitüsü Eğitim Daire Başkanlığı, İnönü Üniversitesi, 15 Ocak 2012.
7. **“Oksidatif Stres, DNA Hasarı, DNA Onarımı ve Hastalıklarla İlişkisi”** Eğitim Sertifikası, 22-25 Mayıs 2012, İzmir.
8. **“Bilimsel Proje Hazırlama Çalıştayı”** İnönü Üniversitesi, 21-22 Mayıs 2010.
9. **“Klinik Araştırmacı Eğitim Programı”** T.C. Sağlık Bakanlığı ve Boehringer Ingelheim İşbirliği, İnönü Üniversitesi, 17 Mart 2010.
10. **“Avrupa Birliği Hibeleri İçin Uygulamalı Proje Hazırlama Eğitimi”** İnönü Üniversitesi-KÜMİD, 07-08 Nisan 2009.
11. **“Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası”** T.C. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu, 26 Mayıs-6 Haziran 2010, Malatya.

PROJELER

1. “Antibiyotik ve Antioksidan Yapılar içeren Biyouyumlu Polihedral Oligomerik Silseskioksan (POSS) Nano Konjugatların Hazırlanması ve Biyokimyasal Aktivitelerinin İncelenmesi”, Araştırmacı, **Proje No: İnönü Üniversitesi BAP-157/2013**
2. “Pekmez Örneklerinde Vitamin ve Mineral Tayini”, Araştırmacı, **Proje No: İnönü Üniversitesi BAP-05/2007**
3. “Organik ve İnorganik Selenyum Kaynaklarının Alabalıklarda Performans, Oksidatif Stres ve Isı Şok Proteinleri Üzerine Etkisi”, Araştırmacı, **Proje No: İnönü Üniversitesi BAP-33/2006**