



**2-PİRİDİL-SİKLOTRİFOSFAZENLERİN VE TUZLARININ
ANTİMİKROBİYAL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİ VE DNA
ETKİLEŞİMLERİ**

Pelin ÖZBEDEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2018

Pelin ÖZBEDEN tarafından hazırlanan “2-PİRİDİL-SİKLOTRİFOSFAZENLERİN VE TUZLARININ ANTİMİKROBİYAL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİ VE DNA ETKİLEŞİMLERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Leyla AÇIK

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Başkan: Prof. Dr. Zeynel KILIÇ

Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

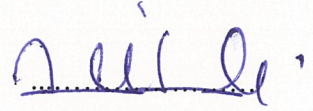
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye: Prof. Dr. Ali DIŞLI

Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye: Doç. Dr. Burçin Aşkım GÜMÜŞ

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

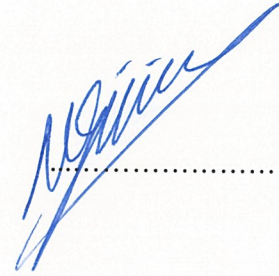
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye: Doç. Dr. Nuran ASMAFİLİZ

Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 08/05/2018

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

.....
Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Pelin ÖZBEDEN

08/05/2018

2-PİRİDİL-SİKLOTRİFOSFAZENLERİN VE TUZLARININ ANTİMİKROBİYAL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİ VE DNA ETKİLEŞİMLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Pelin ÖZBEDEN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2018

ÖZET

Yapılan çalışmada sentezlenen 2-piridil-siklotrifosfazen bileşikleri ve tuzlarının patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivitesi, sağlıklı L929 fibroblast ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında sitotoksik aktivitesi ve plazmit DNA ile etkileşimi araştırıldı. Bileşiklerin antimikrobiyal etkilerini incelemek için çeşitli insan patojeni bakteri ve maya suşları agar kuyu difüzyonu yöntemi ile incelendi. Antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK), minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK), minimal fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri mikrodilüsyon methodu ile belirlendi. Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile tespit edildi. Bileşiklerin DNA ile etkileşimlerinde DNA'ya bağlanıp bağlanmadığı ve DNA'ya bağlanıyor ise hangi nükleotitlerden bağlandığı *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile kesilerek belirlendi. Sitotoksik aktivitesi için sağlıklı L929 fibroblast ve MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri üzerine maddelerin etkisi WST-1 yöntemi ile araştırıldı. Antimikrobiyal aktivitesi en yüksek olan bileşikler GT16 (zon çapı 30 mm) ve GT11 (zon çapı 30,67 mm) olarak tespit edildi. Bileşiklerin MİK değer aralığının 62,5-2000 µM arasında değiştiği gözlemlendi. Bileşiklerin minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK)/ minimal fungisidal konsantrasyon (MFK) değeri 125 ile 2000µM arasında bulundu. Bileşiklerin MDA-MB-231 meme kanseri ve L929 fibroblast hücrelere konsantrasyona bağlı olarak sitotoksik aktivite gösterdiği bulundu ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında sitototoksik aktivitesi en yüksek olan bileşik GT8 olarak belirlendi. Bileşiklerin plazmit DNA ile olan etkileşimlerinde bazı bileşiklerin DNA'ya bağlandığı, bazı bileşiklerin de DNA üzerine kesim etkisi olduğu tespit edildi.

Bilim Kodu : 20326

Anahtar Kelimeler : 2-piridil-siklotrifosfazenler, fosfazenyum tuzları, antimikrobiyal aktivite, DNA, sitotoksiste

Sayfa Adedi : 100

Danışman : Prof. Dr. Leyla AÇIK

ANTIMICROBIAL and CYTOTOXIC ACTIVITIES AND DNA INTERACTIONS OF 2-PYRIDIYL-CYCLOTRIPHOSHAZENES
ANTIMICROBIAL AND CYTOTOXIC
ACTIVITIES AND DNA INTERACTIONS OF 2-PYRIDIYL-
CYCLOTRIPHOSHAZENES AND SALTS

(M.Sc. Thesis)

Pelin ÖZBEDEN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL NATURAL AND APPLIED SCIENCES

May 2018

ABSTRACT

In this study, 2-pyridyl-cyclotriphosphazene compounds and their salts on pathogenic microorganisms, cytotoxic activity in healthy L929 fibroblast and MDA-MB-231 breast cancer cell line with plasmid DNA interactions. Antimicrobial activities of the compounds were examined by agar well diffusion method by using various human pathogenic bacteria and yeast strains. Minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), minimum fungicidal concentration (MFC) values of compounds showing antimicrobial activity were investigated by microdilution method. In this study, the interactions of the compounds with plasmid DNA were investigated by agarose gel electrophoresis method. In the interactions of the compounds with the DNA, the enzymatic cutting assay was performed with *Bam*HI and *Hind*III to see if it was bound to the DNA and if so, which nucleotides were bound. For cytotoxic activity healthy L929 fibroblast and MDA-MB-231 breast cancer cells, were investigated by the WST-1 method. The compounds with the highest antimicrobial activity were GT16 (zone diameter 30 mm) and GT11 (zone diameter 30,67 mm). The minimal inhibitory concentration (MIC) values of the compounds range between 62,5-2000 μ M. MBC/MFC values were also changed from 125 to 2000 μ M. The highest cytotoxic effective was found to be in the MDA-MB-231 breast cancer cell line with GT8. It has been found that compounds interact with DNA in their interaction with plasmid DNA.

Science Code : 20326

Key Words : 2-pyridyl-cyclotriphosphazenes, phosphazanium salts, antimicrobial activity, DNA, cytotoxicity

Page Number : 100

Supervisor : Prof. Dr. Leyla AÇIK

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bana yol gösteren, yardımcı olan, desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Leyla AÇIK'a çok teşekkür ederim. Tez konumun maddelerini sentezleyen Prof. Dr. Zeynel KILIÇ, Doç. Dr. Aytuğ OKUMUŞ ve Araştırma Görevlisi Dr. Gamze ELMAS EGEMEN'e çok teşekkür ederim. Her zaman yanımda olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme teşekkür ederim. Tez çalışmamda bana yardımcı olan Araştırma Görevlisi Dr. Betül AYDIN'a teşekkür ederim. Tez çalışmamda bana yardımcı olan laboratuvar ekibi arkadaşlarım Merve ÇAM, Hande KAYALAK ve Süheyla Pınar ÇELİK'e çok teşekkür ederim. Bu tez 210z105 nolu TÜBİTAK projesidir. TÜBİTAK'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Fosfazen Bileşikleri.....	3
2.2. Enfeksiyon Hastalıklar ve Enfeksiyon Etkeni Mikroorganizmalar.....	4
2.2.1. Bakteriler	6
2.2.2. Mayalar.....	8
2.3. Antimikrobiyal Maddeler	9
2.3.1. Antibakteriyel ilaçlar	9
2.3.2. Antifungal ilaçlar.....	12
2.3.3. Antimikrobiyal direnç	13
2.4. İnsanlarda Patojen Mikroorganizmaların Oluşturduğu Enfeksiyonlar.....	16
2.4.1. Patojen bakteriler.....	16
2.4.2. Patojen mayalar	20
2.5. Kanser ve Etkenleri	21
2.5.1. Kanser hücreleri ve tümör	24
2.5.2. Kanser oluşum süreci	26

	Sayfa
2.5.3. Meme kanseri	33
2.5.4. Kanser insidansı	37
2.5.5. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar	39
2.6. DNA	43
2.6.1. DNA molekülünün yapısı.....	43
2.6.2. DNA ile interaksyona giren ilaçların etki mekanizması	46
3. MATERYAL VE METOD	51
3.1. Materyal	51
3.1.1. Kullanılan bileşikler	51
3.1.2. Kullanılan mikroorganizmalar	54
3.1.3. Kullanılan hücre hatları	55
3.1.4. Biyolojik aktivite çalışmaları için kullanılan çözeltiler	55
3.1.5. Kullanılan malzemeler, aletler, cihazlar	56
3.1.6. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması.....	56
3.2. Yöntem	57
3.2.1. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi	57
3.2.2. Bileşiklerin DNA ile etkileşiminin belirlenmesi	58
3.2.3. Bileşiklerin sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi	59
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	61
4.1. Bileşiklerin Antimikrobiyal Aktiviteleri	61
4.3. Bileşiklerin DNA Üzerindeki Etkisi	69
4.4.Bileşiklerin Sitotoksik Aktivitesi	71
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR	85
ÖZGEÇMİŞ	99

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. İnsanlarda bazı mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar	5
Çizelge 2.2. Antifungal ajanlar ve etki mekanizmaları	12
Çizelge 2.3. Vücut hücrelerinde kanser gelişimi	22
Çizelge 2.4. Apotoz ve nekroz arasındaki farklar.	32
Çizelge 2.5. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar ve etki mekanizmaları	40
Çizelge 3.1. Biyolojik aktivite çalışmasında kullanılan mikroorganizmalar.....	54
Çizelge 4.1. Bileşiklerin Gram pozitif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivite zon çapları (mm)	61
Çizelge 4.2. Bileşiklerin Gram negatif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivite zon çapları (mm)	63
Çizelge 4.3. Bileşiklerin mayalar üzerindeki antimikrobiyal aktivite zon çapları (mm)	66
Çizelge 4.4. Bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (µM)	67
Çizelge 4.5. Bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki MBK/MFK değerleri (µM). .	68

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. (A) Siklotrifosfazen ve (B) siklotetrafosfazen bileşiklerin genel yapısı.....	4
Şekil 2.2. Kontaminasyon döngüsü ve taşınım yolları	5
Şekil 2.3. Bakterilerin çeşitli morfolojileri.....	6
Şekil 2.4. Peptidoglikan tabakanın yapısı	7
Şekil 2.5. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapısı	8
Şekil 2.6. Antibiyotiklerin etki mekanizması (THF: tetrahidrofolat; DHF: dihidrofolat)	10
Şekil 2.7. Kanseri risk faktörleri	24
Şekil 2.8. Hücre döngüsünün evreleri	27
Şekil 2.9. Hücre döngüsü ve kontrol noktaları.....	28
Şekil 2.10. <i>Ras</i> geni etki mekanizması	30
Şekil 2.11. Memeinin makroskopik görüntüsü	33
Şekil 2.12. <i>BRCA I</i> ve <i>BRCA II</i> genlerinin kromozomdaki yerleşimi	36
Şekil 2.13. <i>BRCA I</i> proteini.....	37
Şekil 2.14. Erkeklerde en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standartize edilmiş hızları tipleri (Dünya standart nüfusu, 100 000 kişiye).....	38
Şekil 2.15. Kadınlarda en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standartize edilmiş hızları tipleri (Dünya standart nüfusu, 100 000)	39
Şekil 2.16. <i>Vinka</i> alkaloidi ile mikrotübül depolimerizasyonu.....	42
Şekil 2.17. Deoksiriboz şekeri yapısı.....	43
Şekil 2.18. DNA’da bulunan pürin ve pirimidin bazlarının yapısı	44
Şekil 2.19. DNA molekülünde baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları.....	44
Şekil 2.20. Watson-Crick DNA modeli	45
Şekil 2.21. Nükleik asit zinciri.....	46
Şekil 2.22. DNA-cisplatin ilişkisi	47

Şekil	Sayfa
Şekil 2.23. Azot hardalı ve bağlanma yapısı. (A) Azot hardalı ($R=CH_3$), (B) Azot hardallarının neden olduğu çapraz bağlanma.....	48
Şekil 2.24. Etidyum Bromürün B-DNA'ya interkalasyonu.....	49
Şekil 2.25. Polisiklik aromatik halkalardan oluşan bazı DNA interkalatörleri	50
Şekil 3.1. Bileşiklerin açık yapısı.....	52
Şekil 4.1. Bileşiklerin 12,5-200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılan L929 fibroblast hücrelerinin % canlılıkları.....	72
Şekil 4.2. Bileşiklerin 12,5-200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılan MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin % canlılıkları.....	72

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisinin elektron mikroskobu görüntüsü	17
Resim 2.2. <i>Bacillus cereus</i> bakterisinin elektron mikroskobu görüntüsü	18
Resim 2.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i> bakterisinin elektron mikroskobu görüntüsü	20
Resim 4.1. Plazmit DNA ile etkileşmiş bileşiklerinin 24 saat inkübasyon sonunda agaroz jeldeki görüntüsü. (P): bileşikler ile etkileşmemiş plazmit DNA. (1-4): 4000, 2000, 1000, 500 µM. Form I: Kapalı halkasal plazmit DNA; Form II: Açık halkasal plazmit DNA; Form III: Doğrusal plazmit DNA....	70
Resim 4.2. Bileşiklerle muamele edilmemiş plazmit DNA'nın ve bileşiklerin <i>Bam</i> HI ve <i>Hind</i> III enzimleri ile kesimi. (A) GT1, GT2, GT3, GT4, GT5, GT6, GT7, GT8. (B) GT9, GT10, GT11, GT12, GT13, GT14, GT15, GT16. (B) <i>Bam</i> kontrol, (H) <i>Hind</i> kontrol. Form I: Kapalı halkasal plazmit DNA; Form II: Açık halkasal plazmit DNA; Form III: Doğrusal plazmit DNA	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla aşağıda verilmiştir.

Simgeler

Açıklamalar

%	Yüzde işareti
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
g	Gram
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
V	Volt
µg	Mikrogram

Kısaltmalar

Açıklamalar

AIDS	Edinsel bağışıklık yetmezliği sendromu
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
DMEM	Dulbecco Modifikasyonlu Eagle Besiyeri
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
FCS	Fetal Sığır Serum
GC	Guanin-Sitozin
LPS	Lipopolisakkarit tabaka
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MFK	Minimum Fungisidal Konsantrasyon
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NRRL	Northern Regional Research Laboratory
RNA	Ribonükleik asit

1. GİRİŞ

Yapılan araştırmalar sonucunda fosfazen bileşiklerinin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu kanıtlamıştır. Fosfazen bileşikleri yapılarında fosfor ve azot atomu arasında çift bağ bulunduran bileşiklerdir. Fosfazen bileşikleri organik çözücülerde çözündükleri için organik karakter ve yapılarında $P=N$ grubu bulundurduklarından anorganik karakter taşırlar. Fosfazenler düz ve halkalı yapıda bulunabilirler. Bu bileşiklerden siklofosfazenler inorganik halka sistemlerinin önemli bir ailesidir ve bu bileşikler fosfor ve azot atomu bulundururlar [1, 2]. Bileşiklerin en önemli özelliği yapılarındaki Cl (klor) atomları ile gerçekleştirdikleri yer değiştirme reaksiyonlarıdır. Bu reaksiyon ile fosfazen bileşikleri kendisine bağlanan yan gruplara göre farklı özellikler kazanabilirler. Yapılan bilimsel çalışmalarda çeşitli fosfazen türevlerinin antimikrobiyal, antikanser ve antitüberküloz gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri olduğu belirlenmiştir [3].

Önemli halk sağlığı sorunlarından biri mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyon hastalıklarıdır. Enfeksiyon hastalıklarının bilim ve tıptaki gelişmelere rağmen görülme sıklığı artmaya devam etmektedir. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için yeni antibiyotikler geliştirilmiştir. Ancak mikroorganizmalar mevcut antibiyotiklere karşı kolayca direnç kazanmaktadır [4]. Bu direncin kazanılmasının sebebi özellikle insan sağlığında kullanılan antibiyotiklerin bilinçsizce kullanımıdır. Antibiyotik miktarı ile direnç mekanizması arasında yakın bir ilişki vardır [3, 5]. Sadece bir mikroorganizma bile çok sayıda farklı direnç mekanizmasına sahip olabilir. Bu mekanizmalar antibiyotiğin doğasına, konaktaki hedef bölgeye, bakteri türüne ve plazmit ya da kromozomal mutasyonla ilişkili olup olmadığına bağlı olarak etki gösterirler [6]. Mikroorganizmaların kazanmış olduğu bu direnç sebebiyle antibiyotiklerin çoğu etkisiz kalmaktadır. Bu nedenle enfeksiyonlar ile mücadele edebilmek için mikroorganizmalar üzerinde etkili olacak etkili antimikrobiyal ajanlar geliştirilmelidir [4].

Enfeksiyon hastalıklardan başka önemli halk sağlığı sorunlarından biri de kanserdir. Kanser tedavisinde etkili yöntemlerden biri de antikanser ilaçların kullanımıdır. Çeşitli yapıdaki bileşikler antikanser ajan olarak araştırmacılar tarafından sürekli olarak araştırılmaktadır [4]. Antikanser ilaçların çoğu sitotoksik etki gösterip kanserli hücrelerin gelişimini engelleyerek ölümüne neden olur. Etkili bir tedavi vücuttaki tüm kanserli

hücrelerin öldürülmesi ile olur. Bu şekilde bir tedavi ne yazık ki halen piyasada bulunan ilaçlar ile sağlanamamaktadır [7].

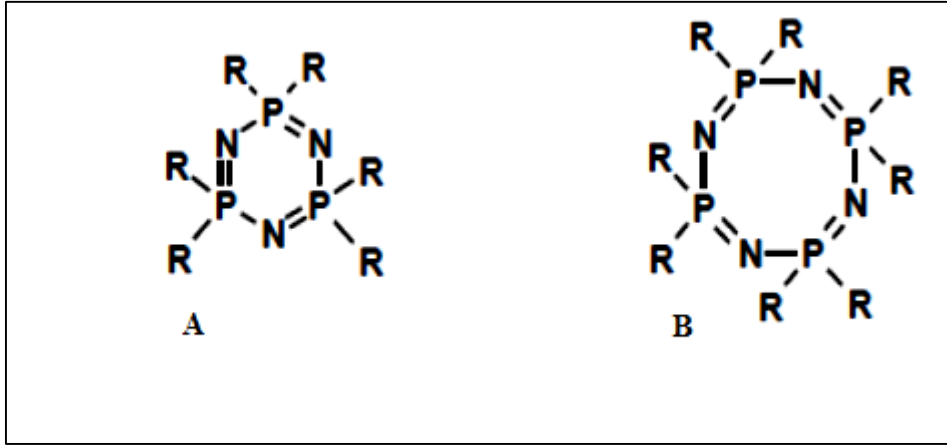
Bu tez çalışması kapsamında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarlarında sentezlenmiş olan 2-piridil-siklotrifosfazen bileşikleri ve tuzlarının antimikrobiyal aktivitesini tespit etmek için *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 2912, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* RSKK 96029, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida tropicalis* NRRL Y-12968 mayaları üzerinde antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Agar kuyu difüzyonu yönteminde her üç kuyuda da antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerin minimal inhibitor konsantrasyon (MİK), minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimal fungisidal konsantrasyon değeri (MFK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Bu bileşiklerin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı ve sağlıklı L929 fibroblast hücre hatlarında olan sitotoksik aktivitesini araştırmak için WST-1 yöntemi kullanılmıştır. Bileşiklerin plazmit DNA üzerindeki etkilerini araştırmak için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır ve bileşiklerin plazmit DNA'ya hangi nükleotitlerden bağlandığını belirlemek için *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleriyle endonükleaz kesimi yapılmıştır. Yapılan bu çalışma 2-piridil-siklotrifosfazen ve tuzları ile yapılan ilk biyolojik aktivite çalışmasıdır. Bu çalışma sonucunda elde edilecek verilerin çeşitli enfeksiyon hastalıkları ve kanser tedavisinde kullanılabilecek antimikrobiyal ve antikanser ilaç tasarlama çalışmalarına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Fosfazen Bileşikleri

Hekzaklorosiklotrifosfazen ($N_3P_3Cl_6$) sentezlenen ilk fosfazen bileşiğidir. Bu bileşik amonyumklorür ve fosforpentaklorür arasındaki reaksiyon sonucu oluşturulmuştur. Bu bileşik ilk kez Liebig ve Wohler adlı araştırmacılar tarafından elde edilmiştir [9]. 1897’de Stokes adlı araştırmacı yapmış olduğu çalışmalar sonucunda $(NPCl_2)_n$ yapısına sahip bu bileşikler polimerleşme derecelerine ($n=4, 5, 6$ ve 7) göre ayırarak bunların halkalı yapıda olduğunu keşfetmiştir. 1924 yılında Schenk ve Römer adlı araştırmacılar tarafından $(NPCl_2)_3$ ve $(NPCl_2)_4$ ’ ün elde edildiği sentez yöntemi geliştirilmiştir [10]. 1965 yılında Allcock ve Kugel adlı araştırmacılar ise ilk defa düz zincirli poli (diklorofosfazen) bileşiğini sentezlemişlerdir [11].

Fosfazenler $[(N=PR_2)_n]$, $(P=N)_n$ yapısından oluşan, her bir fosfor atomunda organik, anorganik veya organometalik iki yan grup (R) içeren, düz zincirli, halkalı ya da polimerik yapıda bileşiklerdir. Fosfazenler düz zincirli (doğrusal), halkalı (siklofosfazen) ve polimerik (polifosfazen) olmak üzere üç farklı yapıda bulunurlar. Bu bileşiklerden genel formülleri $(PNCl_2)_n$ olan halkalı fosfazen bileşikler bilimsel olarak ayrıca önemlidir [12]. Fosfazenler hem organik hem de inorganik karakterde bileşiklerdir. Bu bileşikler organik çözücülerde çözünmelerinden dolayı organik karakterde, $P=N$ bağlarına sahip olduğu için ise inorganik karakterdedir. Bu bileşikler farklı gruplarla süstitüsyon (yer değiştirme) reaksiyonu verirler. Bu reaksiyon sonucu fosfazen bileşiği bağlanan yan gruplara göre önemli özellikler kazanır [13, 14]. Şekil 2.1’de halkalı fosfazen bileşiklerinin yapısı verilmiştir.

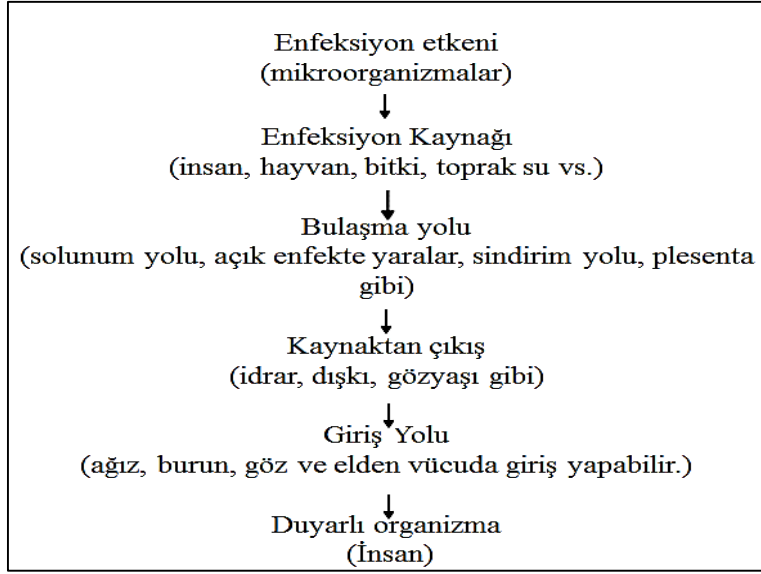


Şekil 2.1. (A) Siklotrifosfazen ve (B) siklotetrafosfazen bileşiklerin genel yapısı [20]

Bu bileşikler nükleofilik reaksiyonlar sonucu kazandığı özelliklerle metal, cam, seramik yapıştırıcısı, esnek film, aleve dayanıklı kumaş, gaz sensör özelliği taşıyan malzeme yapımında, biyoaktif ve biyoinaktif madde olmak üzere çeşitli kullanım alanlarına sahiptirler [15]. Fosfazenler bu kullanım alanlarının yanında endüstriyel ve tıbbi alanlarda da kullanılırlar. Fosfazen türevlerinin yağlayıcılar [16], yanıcı tekstil lifleri ve elastomerler [17,18], teknolojik ve tıbbi önemi [17,19] olan birçok alandaki kullanımı bu bileşiklere olan ilgiyi arttırmıştır. Ayrıca bu bileşiklerin üreaz aktivitesi, biyobozunur karakter gibi çeşitli özelliklere sahip olması bakımından önemlidir.

2.2. Enfeksiyon Hastalıklar ve Enfeksiyon Etkeni Mikroorganizmalar

İnsan sağlığını olumsuz yönde etkileyen hastalık yapıcı mikroorganizmalara patojen mikroorganizmalar adı verilir [21]. Bu mikroorganizmalar insanlarda hastalık oluşturabilmektedirler (Çizelge 2.1). Patojen mikroorganizmalar insan, hayvan ve bitkilerde ölüm veya hasar oluşturmak için eski çağlardan beri kullanılmıştır. Günümüzde ise biyolojik savaş kapsamında değerlendirilmektedirler [22]. Bu mikroorganizmaların hastalık oluşturmak için insan vücudunda hastalık yapmasına enfeksiyon denir. Bu mikroorganizmalar insanlara genel olarak bir kontaminasyon döngüsü ile bulaşır. Bu kontaminasyon döngüsü solunum yolu, açık enfekte yaralar, atık sular gibi çeşitli yollardan gerçekleşebilir (Şekil 2.2) [21].



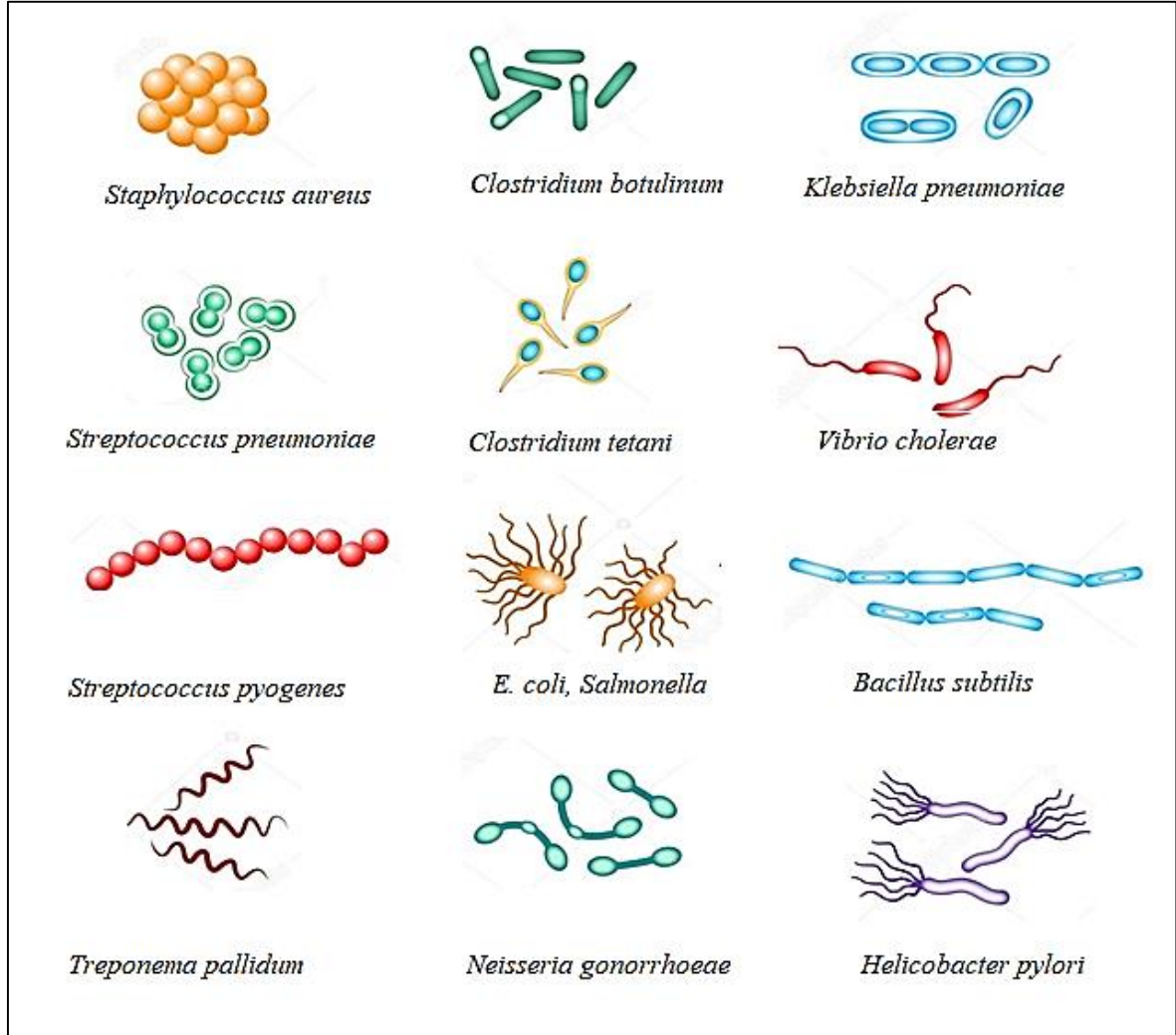
Şekil 2.2. Kontaminasyon döngüsü ve taşınım yolları [21]

Çizelge 2.1. İnsanlarda bazı mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar [21]

Hastalık	Mikroorganizma
Tetanoz	<i>Clostridium tetani</i>
Difteri	<i>Corynebacterium diptheriae</i>
Zatüre	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Şarbon	<i>Bacillus anthracis</i>
Tüberküloz	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Menenjit	<i>Neisseria meningitidis</i>
Tifo	<i>Salmonella typhimurium</i>
Kolera	<i>Vibrio cholerae</i>
Bel soğukluğu	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

2.2.1. Bakteriler

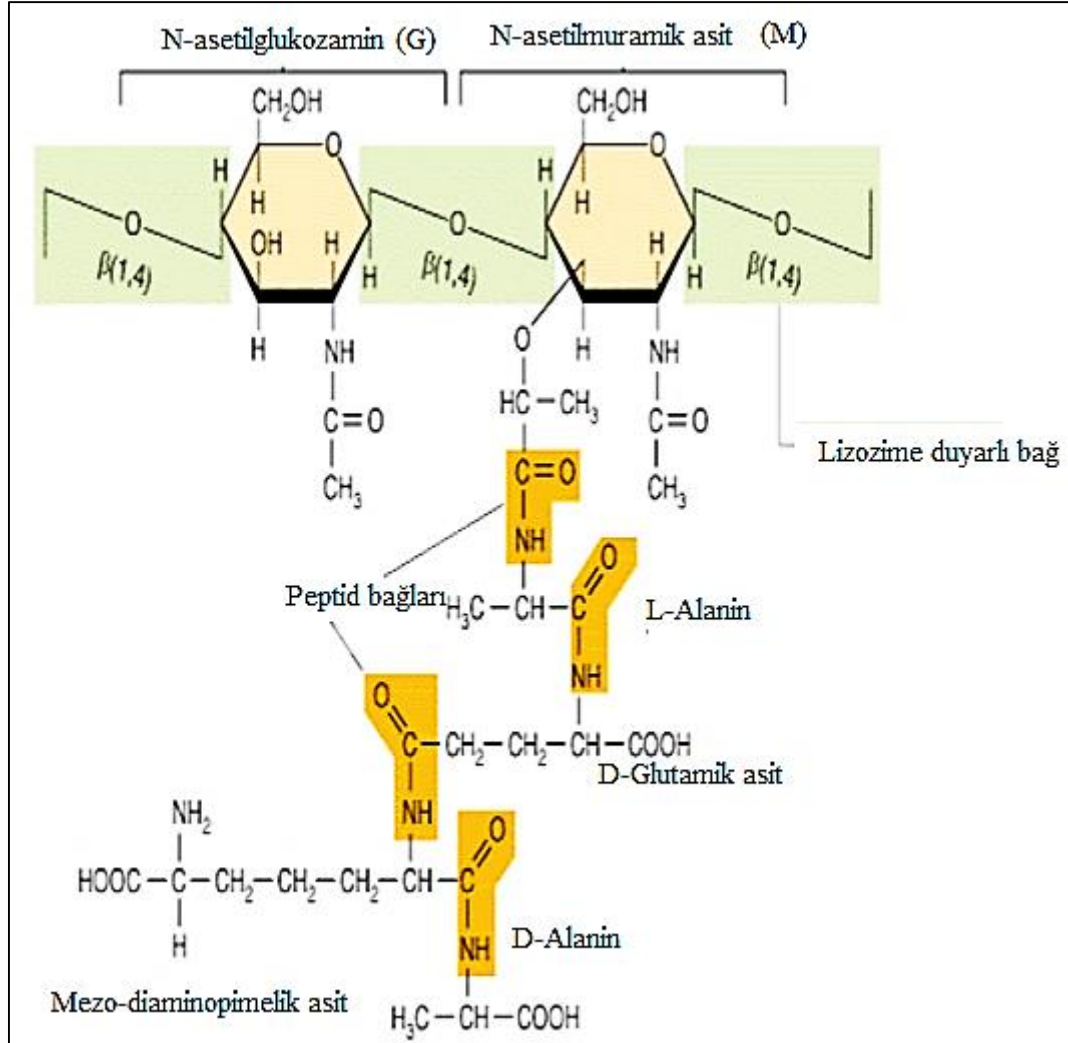
Bakteriler prokaryotik yapıda olan mikroskopik canlılardır. Bakteriler genel olarak koklar, düzgün çomaklar, spiral şekilli çomaklar gibi çeşitli morfolojilerde bulunabilirler (Şekil 2.3) [23].



Şekil 2.3. Bakterilerin çeşitli morfolojileri [23]

Prokaryotik yapıya sahip olan bakterilerde zarla çevrili organeller bulunmaz. DNA molekülü sitoplazmada yer alır. Bunun yanında sitoplazma içerisinde sayıları çokça olan ekstra kromozomal DNA parçacıkları denilen plazmitler bulunur. Sitoplazma, bir sitoplazma zarı ile çevrilidir ve bu zarla permeazlar, salgısal ve sinyal proteinleri bulunur. Sitoplazma zarının dışında ise koruyucu işleve sahip olan ve mureinden oluşan hücre duvarı bulunur. Çoğu bakteride koruyucu işleve sahip kapsül yapısı da bulunur. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde hücre duvarı yapısı farklılık gösterir [24]. Gram

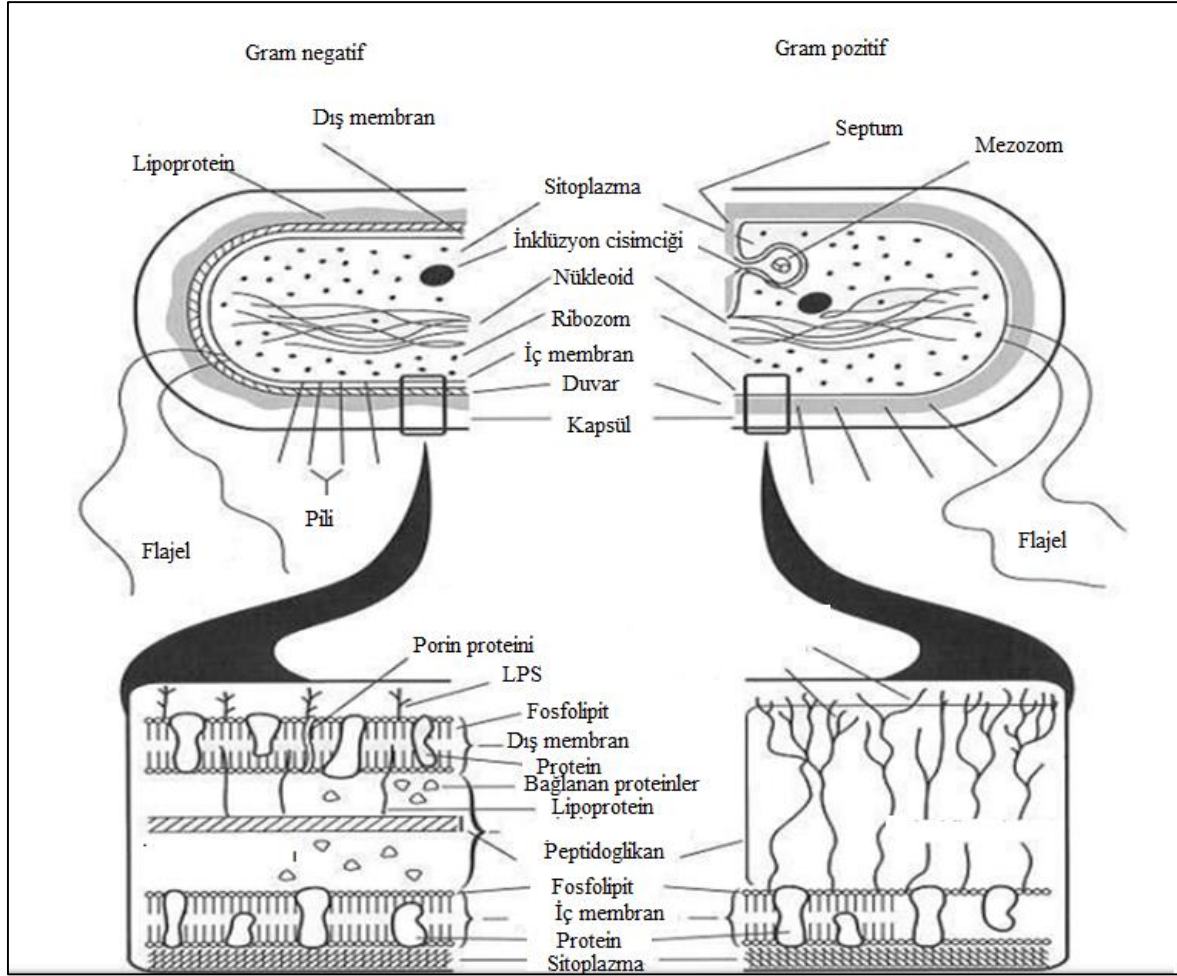
pozitif bakterilerde hücre duvarında yer alan murein (peptidoglikan) tabaka çok sayıda karbonhidrat ve aminoasitlerden oluşur. Murein, N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit bileşenlerinin bir araya gelmesiyle oluşan polisakkarit zincirinden meydana gelir. Bu iki bileşen arasındaki bağ β -1,4 glikozitik bağdır. Bunlara bağlı ayrıca D-alanin, L-alanin gibi aminoasitler yer alır. Şekil 2.4'te murein (peptidoglikan) tabakanın yapısı verilmiştir.



Şekil 2.4. Peptidoglikan tabakanın yapısı [23]

Teikoik asitler sadece Gram pozitif hücre duvarı yapısında olan asidik moleküllerdir. Bu moleküller içerdikleri fosfat gruplarından dolayı hücreye negatif özellik kazandırır. Gram negatif bakterilerde ise sitoplazmik zar ve dış zar olmak üzere iki farklı zar bulunur. Bu zarlar arasında peptidoglikan tabaka ve ayrıca Gram pozitif bakterilerde olmayan periplazmik boşluk bulunur. Bu boşlukta su, besin maddeleri, sindirim enzimleri ve proteinler bulunur. Peptidoglikan tabaka Gram pozitif bakterilere göre daha ince yapıdadır.

Dış zar peptidoglikan tabakanın üzerindedir ve çift katlı zar yapısındadır. Bu zarın iç kısmında lipitler ve proteinler dış kısmında ise lipopolisakkaritler (LPS) yer alır. LPS bakterilerin savunmasında, biyofilm oluşturmada ve bakteri için zararlı maddelerin hücreye geçişini engeller. Şekil 2.5'te Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapısı verilmiştir [25].



Şekil 2.5. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapısı [23]

2.2.2. Mayalar

Mayalar funguslar içinde yer alan hücre duvarı, hücre zarı olan ve elips şeklinde yapıya sahip olan tek hücreli ökaryotik canlılardır. Mayaların hücre yapısı hücre duvarı, periplazmik bölge, plazma membranı, sitoplazma, organeller ve çekirdekten oluşur. Mayaların hücre duvarları yarı sert bir kılıf özelliğinde ve genel olarak polisakkarit yapıdadır [26]. Hücre duvarı glukanlar, mannoproteinler ve kitinden oluşur. Yapıda ana bileşen glukanlardır. Bu glukanlardan β -1,3 glukan veya β -1,6 glukan ya da her ikisi birden

bulunabilir. Glukanlar hücre duvarının dayanıklı olmasını sağlar ve mikrofibriller yapıda şekillenmiştir. Hücre duvarı β -1,3 glukan ve kitin tabakası halindedir ve bu tabakanın dış yüzeyinde mannoproteinler yer alır. Mannoproteinler hücre geçirgenliğinde önemlidir ve bazen yapısal proteinler gibi davranarak da görev yapabilirler. Kitin N-asetilglukozamin polimeridir ve mayalarda hücre duvarının %2-4 kadarını oluşturur. Bazı yalancı hif gelişimi gösteren mayalarda (*Candida albicans* gibi) kitin kalındır ancak bazı mayalarda ise kitin yoktur [27]. Mayalarda hücre duvarı ve sitoplazma arasındaki bölgeye periplazmik bölge denir. Bu bölgede invertaz gibi hücre faaliyeti için gerekli çeşitli enzimler yer alır. Plazma membranı çift tabakalı bir lipid özelliği göstermektedir ve lipid içerisinde dağınık olarak proteinler bulunur. Lipitler fosfolipit ve steroldür. Hücre zarında yer alan proteinlerin bir kısmı glikoproteindir. Enzim görevi yapan bir takım proteinler hücre duvarı oluşumunda glukan ve kitin üretir. Plazma membranı ve çekirdek arasındaki boşluğa sitosol denir ve sitoplazma kısmında bulunur. Glikoliz ve fermentasyon için gerekli olan enzimleri içerir. Sitoplazmada bulunan organeller ribozom, endoplazmik retikulum, vaküol (hücre metabolitleri, aminoasitler, hidrolaz, proteazları bulundurur) ve mitokondridir [26].

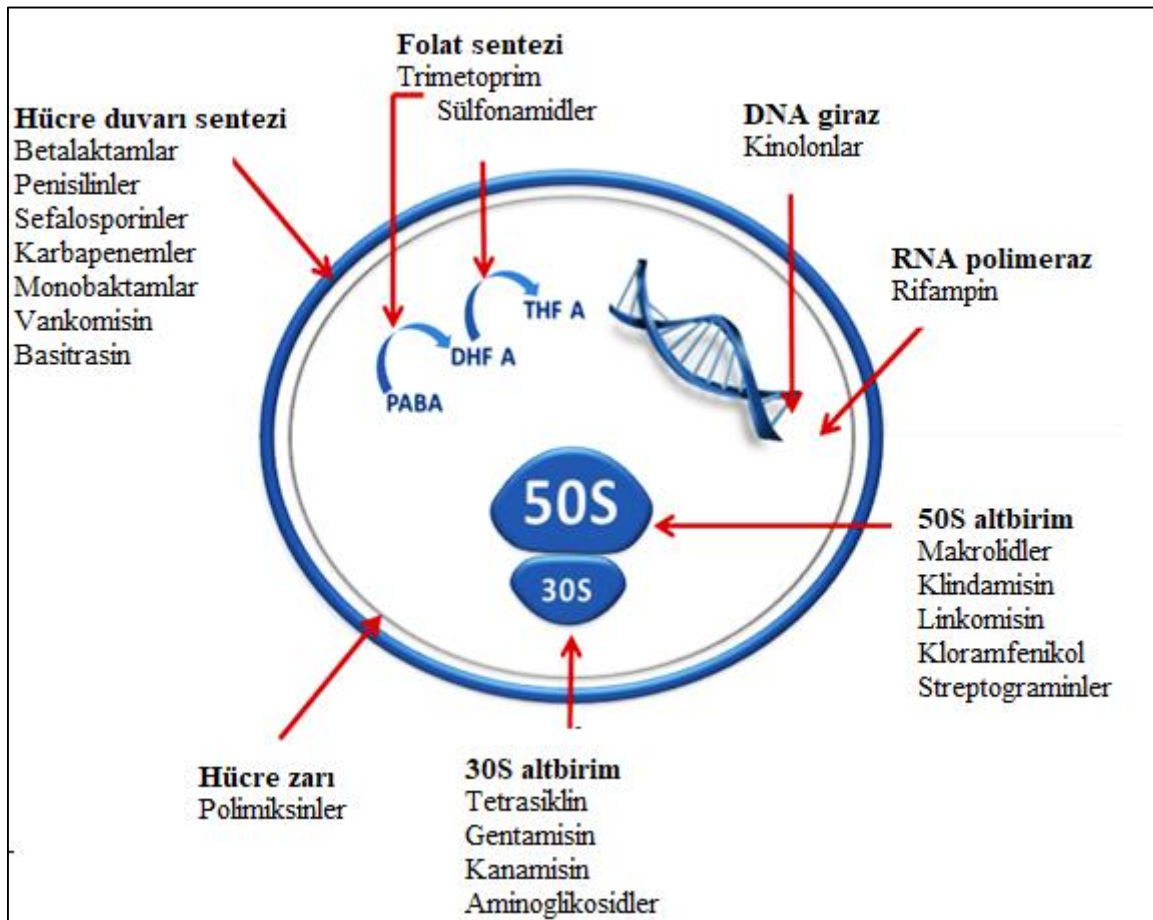
2.3. Antimikrobiyal Maddeler

Çok az konstrasyonda mikroorganizmaların gelişimini engelleyici veya durdurucu etki gösteren doğal veya sentetik maddelere ‘antimikrobiyal maddeler’ denir. Antimikrobiyal maddeler mikroorganizmalar üzerinde çeşitli etkiler gösterir. Bu etkiler mikroorganizmanın çoğalmasını engelleyen ‘bakteriostatik’ veya ‘fungustatik’ olabilirler ya da mikroorganizmaların ölmesini sağlayan ‘bakterisit’ veya ‘fungusit’ gibi maddeler de olabilirler [28, 29]. Antimikrobiyal maddeler 19. yüzyılın sonuna doğru tedavi amaçlı kullanılmaya başlanmıştır. Antimikrobiyal maddeler hangi mikroorganizma türünün gelişimini inhibe ediyor veya engelliyorsa buna göre antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal ve antiviral ajanlar olarak adlandırılırlar [31].

2.3.1. Antibakteriyel ilaçlar

Antibakteriyel ilaçlar genel olarak antibiyotik olarak adlandırılır. Antibiyotikler tüm dünyada en çok kullanılan ilaç grubudur. Antibiyotiklerin gereksiz ve uygun olmayan biçimde kullanımı antibakteriyel direncin artmasına neden olur. Bu durum da tedavinin başarısız olması ile sonuçlanır [45, 46]. Son yıllarda mikroorganizmaların antibiyotiklere

karşı direnci giderek artmıştır [47]. Bazı kimyasal maddelerin enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmasını ilk kez Paul Ehrlich ortaya atmıştır. 1928 yılında Alexander Flemming penisilini bularak antibiyotik çağını açmıştır. *Penicillium notatum* türü mantarın çevresinde *Staphylococcus* cinsi bakterilerin üreyememesi dikkat çekmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda penisilin G geliştirilerek klinik kullanıma sunulmuş ve sonraki yıllarda geliştirilen yeni β laktam (betalaktam) türü antibiyotiklerin tümü ortak molekül olan β laktam halkasına bağlı aminoasitler üzerine yapılan çeşitli modifikasyonlar sonucunda şekillenmiştir. 1941’de penisilin insanlarda kullanılmaya başlanmıştır [30, 40]. Mikroorganizmalar tarafından oluşturulan mikroorganizmaların ve başka canlıların gelişimini durduran veya öldüren doğal ya da doğal olmayan maddelere antibiyotik denir [32]. Antibiyotiklerin çeşitli etki mekanizmaları bulunmaktadır. Bu etki mekanizmaları aşağıda verilmiştir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Antibiyotiklerin etki mekanizması (THF: tetrahidrofolat; DHF: dihidrofolat) [33]

Hücre duvarı sentezini inhibe edenler

Hücre duvarı sentezini inhibe eden maddelerin tümü peptidoglikan sentezinin farklı basamaklarını etkiler. Hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotiklerin büyük bir kısmını β (beta) laktam grubu antibiyotikler oluşturur. Bu antibiyotikler bakterisidal etki gösterir. Peptidoglikan yapı çapraz bağlı zincirlerle güçlenmiştir. Bu çapraz bağlar N-asetil muramik asitin yapısında olan D-alanin moleküllerinin transpeptidasyonu sonucu birleşmeleri ile oluşur. Murein yapısı ise hücre duvarının ana maddesidir. Bu gruptaki antibiyotikler murein sentezinde peptidoglikan yan zincirlerini çapraz bağlayan transpeptidaz enzimlerine bağlanarak inhibe eder ve hücre duvarı sentezi engellerler. Bunun sonucunda bakteri lizise uğrayarak ölür [34].

Sitoplazma geçirgenliğini bozanlar

Bu gruptaki antibiyotikler deterjan özelliğine sahiptir. Bu grup antibiyotikler sitoplazma geçirgenliğini artırarak hücrenin önemli bileşiklerinin dışarıya çıkmasına yol açar. Bakterisit etki gösterirler. Memeli hücresi ile bakteri hücresi sitoplazma zar fonksiyonları benzerdir. Bu yüzden bu ilaçların seçici toksik etkileri azdır. Bu yüzden organizma için oldukça toksiktirler. Bu gruba polimiksinler, nistantin örnek verilebilir [35].

Protein sentezini engelleyenler

Bu gruptaki antibiyotikler bakteri ribozomları üzerinde etki gösterirler. Bakteriler 70 S memeliler ise 80 S ribozomal alt birime sahiptir. Bu özellik bu grup antibiyotiklere seçici toksik özellik katar. Bakteriyel ribozomlarda protein sentezi başlama (inisiasyon), uzama (elongasyon), sonlanma (terminasyon) olmak üzere üç aşamadan oluşur. Bu aşamalarda çeşitli proteinler üretilip ribozomlara geçici olarak bağlanırlar. Başlama kısmını inhibe edenler 30 S olan kısma bağlanır. Uzamayı inhibe edenler ise 30 S veya 50 S 'den birine bağlanır. Bu tip antibiyotikler geniş spektruma sahiptirler [34,35]. Bu gruba örnek olarak aminoglikozidlerden streptomisin ribozomun 30 S alt birimine geri dönüşümsüz bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Sonra mRNA'nın taşıdığı genetik kodun yanlış okunmasına neden olur. Ancak diğer aminoglikozidler ise ribozomun 50 S alt birimine bağlanarak etki gösterirler [36].

Nükleik asit sentezini engelleyenler

Bu gruba dahil olanlar DNA sentezini veya mRNA sentezini bozarak etki gösterirler. Aktinomisinler veya rifamisinler DNA'ya bağımlı RNA polimeraz enzimini inhibe ederek mRNA sentezini önler. Kinolonlar (nalidiksik asit, fluorokilonlar) DNA giraz enzimini inhibe ederek bakterinin ölümüne neden olurlar. Mitomisinler DNA zincirini alkilleyerek DNA moleküllerinin birbirinden ayrılmasını önleyerek DNA replikasyonunu durdurur.

Antimetabolik etki gösterenler

Bu grubun en bilineni sülfonamidlerdir. Bunlar yapı olarak PABA (p-aminobenzen sülfonamid)'ya benzerler. PABA folik asit sentezi için gereklidir. Sülfonamidler PABA'nın yerine geçerek nükleik asit sentezini engellerler. Bu şekilde bakterilerin üreme ve gelişimleri durur. Bakteriyostatik olarak etkilidirler [37,38].

2.3.2. Antifungal ilaçlar

Mantarlar da insan hücreleri gibi ökaryotiktir. Bu yüzden fungal hücreler için seçici toksik etkili ajan bulunması güçtür. Bu sebeple fungal enfeksiyonların tedavisi daha zordur. İnsan hücrelerine zarar vermeden maya hücrelerini inhibe eden antifungal ilaçlar geliştirilmiştir. Antifungal ilaçlar genel olarak etkilerini hücre duvarı, ergosterol, nükleik asit sentezi ve mikrotübül oluşumunu engelleyerek gösterirler (Çizelge 2.2) [39].

Çizelge 2.2. Antifungal ajanlar ve etki mekanizmaları [39]

Antifungal ajanlar	Etki mekanizması
Poliyenler (Nistatin, amfoterisin B, AB Lipit kompleks (ABLC), Lipozomal AB)	Mantar hücre duvarı ergosterolüne bağlanarak hücre duvarı geçirgenliğini artırır. Özellikle hücre içi K ⁺ (potasyum) kaybı hücrenin canlılığını yitirmesine neden olur.
Azoller (ketokonazol, flukonazol, vorikonazol)	Lanosterol 14 α demetilaz inhibisyonu.
Allilamin ve tiyokarbamatlar (naltifin, terbinafin, tolnaftat)	Oksidoskualen siklaz inhibisyonu.
Morfolin, amorolfen	Sterol 14 redüktaz ve 7- 8 izomeraz inhibisyonu.
Pirimidin (Flusitozin)	5- florourasile dönüşerek RNA'nın, timine dönüşerek ise DNA'nın yapısını bozar.
Ekinokandinler	1- 3 beta D-glukan sentetaz inhibitörü.
Polioksinler (Polioksin A, Polioksin B)	Hücre duvarında kitin sentez inhibitörü.

2.3.3. Antimikrobiyal Direnç

Mikroorganizmaların göstermiş olduğu antimikrobiyal direnç insanlarda ciddi sağlık problemlerine yol açmaktadır. Bu direnç antibakteriyel direnç ve antifungal direnç olmak üzere ikiye ayrılır.

Antibakteriyel direnç

Antimikrobiyal maddeler duyarlı bakterilerin ölmesini baskılar veya ölmesini sağlar. Böylece direnç geliştirebilen mikroorganizmalar popülasyona hakim olurlar. Dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi zorlaşırken hastalık süreci ve hastanın bulaştırıcı olduğu dönem uzar. Böylece dirençli bakteriler daha çok yayılır. Bakterilerde iki tip direnç mekanizması bulunur;

1-Doğal Direnç: Bir türün bütün suşlarının bazı antibiyotiklerden etkilenmemesine ‘intrinsik direnç’, ‘doğal direnç’ ya da ‘duyarsızlık’ denir. [48]. Doğal direnç ana hücreden yavru hücreye dikey gen transferi ile geçer. Tek bir bakteri türü birkaç direnç mekanizmasına sahip olabilir. Bu mekanizmalar çeşitli bakteri türleri arasında birkaç tip etki gösterirler. Bu etkiler şunlardır:

- Antibiyotiğin doğasına,
- Konaktaki hedef bölgeye,
- Bakteri türüne,
- Plazmit ya da kromozomal mutasyonla ilişkili olup olmadığına bağlı olarak etki gösterirler [6].

Bu direnç yapısal ve biyokimyasal özellikler ile bakterinin doğasına bağlı oluşur. Bu dirence sahip bakteriler antibiyotiklerin bağlanma bölgesini içermeyebilir ya da antibiyotiklerin kimyasal yapısındaki farklılıklar ile bunlara karşı düşük seviyede geçirgenlik gösterir. Örneğin penisilin antibiyotiğinin hedefi hücre duvarıdır. Hücre duvarı olmayan bakterilerde etki gösteremez. Bunun yanında antibiyotiklerin etki edeceği bakteri hücresine girememesi sonucunda direnç gelişir ve etkileri sınırlı olur. Örneğin; makrolidler sitoplazmik hedefe ulaşmak ve hücre duvarından geçmek için çok büyüktürler ve Gram negatif bakteriler makrolidlerin aktivitesine karşı doğal olarak dirençlidirler.

2-Kazanılmış Direnç: Doğal şekilde antibiyotiklere duyarlı olan bakterilerin çeşitli yollar ile antibiyotiklerden etkilenmeyecek hale gelmelerine kazanılmış direnç denir. Kazanılmış direnç ana hücreden yavru hücreye aktarılabildiği gibi farklı türdeki bakteriler arasında da aktarılabilir [49]. Biyokimyasal ve genetik kaynaklı kazanılmış direnç olmak üzere ikiye ayrılır. Biyokimyasal kaynaklı dirençte kendi içinde antibiyotik inaktivasyonu sonucu gelişen direnç, hedef molekülün değişmesi sonucu gelişen direnç, aktif pompa sistemleri ve hücre duvarı permeabilite sonucu değişimi sonucu gelişen direnç ve diğer mekanizmalar ile gelişen direnç olmak üzere 4'e ayrılır.

Antibiyotik inaktivasyonu sonucu gelişen dirençte, antibiyotik inaktivasyonu; hidrolitik enzimler, grup transferi ve redoks mekanizması ile gerçekleşir. β laktam antibiyotikler ve kloramfenikol enzimatik olarak antibiyotiğin yıkımı ya da inaktivasyonu ile direnç kazanılan en önemli antibiyotik gruplarıdır. β laktamazlar birçok bakteri tarafından üretilir. Örneğin, Gram negatif bakteriler tarafından üretilen betalaktamazlar hücre duvarı porlarından geçen antibiyotiği inaktive ederek sitoplazma zarında yer alan penisilin bağlayıcı proteinlere bağlanmalarını engellerler [41].

Hedef molekülün değişmesi sonucu oluşan direnç tipine enterokoklarda vankomisin ve ampisiline karşı direnç gelişimi örnek olarak verilebilir. Vankomisin benzeri glikopeptitler başta enterokoklar olmak üzere Gram pozitif bakterilerde hücre duvarı gelişimini inhibe ederler. Bu etki peptidoglikan tabakadaki asil-D-alanil-D-alanin'in C (karbon) ucuna bağlanarak olur. Direnç ise bu hedef bölgede D-ala-D-ala'nın D-alanil-D-laktat ya da D-alanil-D-serin'e dönüşümü ile olur. Bu şekilde vankomisinin bağlanması engellenir. Böylece vankomisinin bu bölgeye afinitesi 100 kat daha azalır. Gram pozitif koklarda glikopeptid direnci dağılımı bakteriyel seviyede replikonlar veya transpozon gibi genlerde oluşur. Vankomisin gibi glikopeptitlere direnç doğal veya kazanılmış olabilir [42].

Aktif pompa sistemleri ve hücre duvarı permeabilite değişimi sonucu gelişen direnç genel olarak tetrasiklinler, makrolidler gibi birçok antibiyotiği etkilemektedir. Bakterilerdeki pompa sistemleri substratları olan antibiyotiklerden herhangi birisinin kullanımı ile uyarılarak tüm substratlara karşı direnç gelişimine neden olabilir. Aktif pompa sistemi üretimini düzenleyen elementlerdeki mutasyonlar antibiyotik direnci artışına neden olur. Örneğin; *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinde MexAB-OprM eflüks pompası ilaç varlığını pozitif yönde düzenler. MexR'de oluşan mutasyonlar MexAB-OprM 'nin aşırı

üretimine neden olarak β laktam gibi antibiyotiklere direnci arttırır [43]. Diğer mekanizmalar sonucu gelişen tip dirençte bazı bakteriler antibiyotiklere karşı enzimlerini ya da metabolizmalarındaki kimyasal reaksiyon dizilerini değiştirerek spesifik antibiyotiklere dirençli hale gelebilirler. Bu tür etki birok trimetoperim ve süfonamid dirençli bakterilerde görülür [44].

Genetik kaynaklı olan direnç tipinde ise kromozom veya kromozom dışı maddelere bağlı olabilir. Kromozomal direnç bakterilerde spontan mutasyonlar sonucu oluşur. Spontan mutasyonlar çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler ile oluşabilir. Bunun sonucunda bakteri hücrelerinde birtakım yapısal değişimlere neden olur. Bunun sonucunda hücrenin ilaca karşı olan geçirgenliği azalabilir veya hücrede ilacın hedefinde değişimler oluşabilir. Ekstrakromozomal direnç plazmit, integron ve transpozon adı verilen genetik elemanlara bağlıdır.

Plazmitler, bakterilerde kromozomdan bağımsız olarak replike olan ekstrakromozomal DNA parçalarıdır. Direnç faktörleri bir veya birkaç antimikrobiyal ilaca karşı direnç genlerini taşıyan plazmitlerdir. Plazmit genleri antibiyotikleri inhibe eden enzimlerin üretiminden sorumludur [50, 51]. Transpozonlar bakteri genomunun farklı yerlerine yerleşebilen plazmitten plazmite, plazmitten bakteriyofaja veya DNA'ya aktarılabilen, kendi kendine replike olamayan DNA dizileridir. Plazmitler bir bakteriden diğer bakteriye transdüksiyon, transformasyon, konjugasyon, transpozisyon gibi mekanizmalar ile aktarılırlar [50, 52, 53]. Konjugasyon iki bakteri hücresi arasında temas sonucu genetik eleman aktarımıdır. Transformasyon, ortamda serbest olarak bulunan DNA'nın bakteri hücrelerine entegrasyonu ile direnç genlerinin aktarımıdır. Transdüksiyon ise direnç genlerinin bakteriyofaj aracılığı ile transferidir [50, 54]. Kromozom veya plazmit üzerindeki antibiyotik direnç genlerinin birbirleri ile bağlantılı olduğu ve başlangıç bölgesinin yakınında özel integrasyon birimleri bulunduğu gözlemlenmiştir. Bunlara integron adı verilmektedir. İntegronlar rekombinasyonun çok sık görüldüğü sıcak noktaları oluştururlar [50].

Antifungal direnç

Fungal enfeksiyonların artmasına bağlı olarak antifungal ajanların yaygın olarak kullanılması bu ajanlara dirençli türlerin ortaya çıkmasına neden olur. Günümüzde sıklıkla

kullanılan antifungal ilaç sınıfları poliyenler, azoller, alilaminler, 5-flusitozin, ekinokandinler bulunur. Terbinafin gibi alilaminler ergosterol biyosentezini hedef alırlar. Amfoterisin B gibi poliyenler plazma zarındaki ergosterole bağlanır ve porlar oluşturur. Böylece membran geçirgenliğini bozarlar. 5-Flusitozin primidin metabolizması ve DNA sentezini engellerler. Ekinokandinler ise β -1,3 gluklan sentezini inhibe ederek hücre duvarı yapısını bozarlar [55]. *Candida* cinsine dahil maya mantarları; ilaçların hücre içinde birikimini azaltarak (1), antifungal hedef proteinlerin yapısını ve yoğunluğunu değiştirerek (2), hücre içindeki sterol bileşimini değiştirerek (3) antifungal ilaçlara direnç geliştirirler [56]. 5-Flusitozine karşı direnç oluşumu ya hücre içine ilacın alınımının azaltılması ya da 5-flusitozinin 5-fluorourasile ya da 5-fluorourasilin 5-fluoroüridin monofosfata dönüşmesini sağlayan enzimlerle olur [57]. Azol dirençli ilaçlarda ise çeşitli *Candida* türlerinin bu ilaçlara karşı direnç kazandığı anlaşılmıştır. En sık rastlanılan mekanizmalar *MDR* veya *CDR* genleri ile kodlanan atılım pompalarının aşırı işlenmesi ve hedef enzimi (*ERG11*) kodlayan gende bir nokta mutasyonu oluşumudur [57, 58]. *Candida* türleri içinde azoller veya ekinokandinlere karşı primer direnç en çok *Candida glabrata* mayasında görülür [59].

2.4. İnsanlarda Patojen Mikroorganizmaların Oluşturduğu Enfeksiyonlar

Mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyon hastalıklar gün geçtikçe artmaktadır. Son 15-20 yıl içinde Gram pozitif bakterilere ait enfeksiyonlar baskın hale gelmiştir [60, 61]. Gram pozitif bakterilere ait enfeksiyonların görülme sıklığı 1970'lerin ortalarında %20 iken 1990'ların ortalarında %50'ye yükselmiştir. Bu epidemiyolojiden bazı faktörler sorumludur. Bu faktörlerden en önemlisi çeşitli kateterlerin kullanımına bağlı olan enfeksiyon artışlarıdır (santral, venöz, arteriyel, periferik). Ayrıca Gram negatif patojenlere karşı baskın antimikrobiyal ajanların kullanılması bu patojenlerin insidansını azaltır [62]. İnsanlarda hastalık etkeni olan bazı mikroorganizmaların özellikleri aşağıda verilmiştir.

2.4.1. Patojen bakteriler

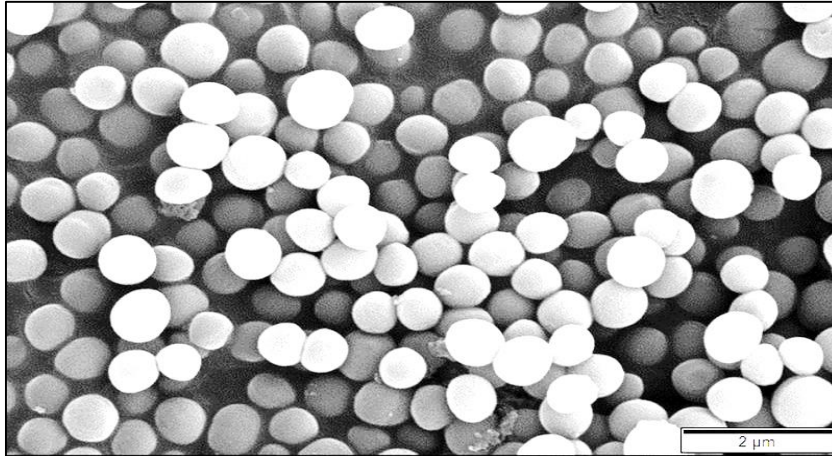
Salmonella typhimurium

Salmonella cinsine ait bakteriler *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan, Gram negatif, çubuk şeklinde, sporsuz, fakültatif aerob bakterilerdir. *Salmonella* üyelerinin çoğu

flagella içerir ve hareketlidirler. Laktozu fermente edemezler. Optimum sıcaklıkları 37 °C (santigrat derece)'dir. Optimum pH 6,5-7,5 arasındır. Bu cinsteki bakteri türleri düşük pH, düşük su, yüksek yağ içeriğine sahip gıdalarda sıcaklığa dirençlidirler. Esas olarak insanların ve hayvanların bağırsaklarında bulunurlar. *Salmonellalar* genel olarak insanlarda gastroenterit ve tifoya neden olurlar. *Salmonella typhimurium* insan, sığır, kanatlılar, koyun, domuz, atlarda hastalık etkenidir [64, 65].

Staphylococcus aureus

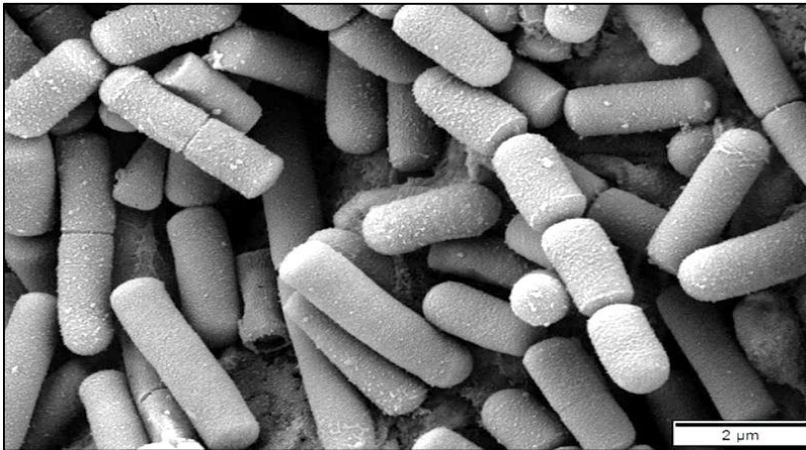
Staphylococcus cinsine dahil bakteriler *Micrococcaceae* familyasına ait, Gram pozitif, 0,5-1,5 µm çapında, kok şeklinde, sporsuz, hareketsiz, katalaz pozitif, fakültatif anaerob bakterilerdir. Bu mikroorganizmalar 30-40 °C ve pH 7-7,5 aralığında optimum gelişim gösterir [66]. Resim 2.1'de *Staphylococcus aureus* bakterisinin elektron mikroskobu görüntüsü verilmiştir. *Stafilokoklar* insan ve hayvanlarda hastalık etkenidir. Deride iltihaplı yaralar, lohusa humması, menenjit, sepsis, gıda zehirlenmelerine de neden olur. *Stafilokoklar* sağım yerlerinde hijyenik koşullara uyulmayarak çalışılınca süt ve süt ürünlerinden geçebilir. Çok fazla ürettikleri enterotoksin sayesinde gıda zehirlenmeleri ile beraber diyareye neden olur. Hayvan bakıcıları ile bu mikroorganizmalar direkt olarak insanlara geçebilir. *Staphylococcus aureus* özellikle sütçülük açısından önemlidir. [67].



Resim 2.1. *Staphylococcus aureus* bakterisinin elektron mikroskobu görüntüsü [68]

Bacillus cereus ve *Bacillus subtilis*

Bacillus cinsine dahil bakteriler *Bacillaceae* familyasına ait, Gram pozitif, santral veya subterminal yapıda elips şeklinde sporlara sahip, peritrik flagellalı, hareketli, aerobik bakterilerdir. Optimum gelişim sıcaklığı 28-35 °C arasındadır. Optimum pH'sı 7,0'dır. *Bacillus cereus* toprak ve bitki örtüsü üzerinde yaygın bir halde bulunur [69]. Resim 2.2'de *Bacillus cereus* bakterisinin elektron mikroskobu görüntüsü verilmiştir. *Bacillus* türleri spor oluşturur. Spor oluşumunu tetikleyen en önemli faktör besin yetersizliğidir. Ortamda besin olarak karbon, azot veya bazı durumlarda fosfor kaynağı yokken *Bacillus* türlerinin büyüyen hücreleri spor oluşturmaya başlar. Spor oluşumu aynı zamanda aşırı yüksek ya da düşük sıcaklıklar ile mineral madde, tuz ve şeker gibi hipertonic ortam şartlarında bile oluşabilmektedir. Sporlar dormant (hareketsiz) halde bulunup ısı, radyasyon, kurutma, pH, toksik kimyasallar gibi ekstrem şartlara dayanıklılık gösterir. *Bacillus* türleri antimikrobiyal maddelerin yanında salgıladıkları vitamin ve enzimler ile yararlı etki sağlayabilmektedir. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışmalarda *Bacillus subtilis* (natto) suşunun ürettiği katalaz ve subtilisin aracılığı ile *Lactobacillus* türlerinin gelişimini ya da canlılığını arttırdığını tespit etmişlerdir [70]. *Bacillus subtilis* toprak, bitki, süt ve sularda bulunur. Besin zehirlenmesi, göz yangınları, sepsis gibi hastalıklara neden olur [72].



Resim 2.2. *Bacillus cereus* bakterisinin elektron mikroskobu görüntüsü [68]

Enterococcus faecalis ve *Enterococcus hirae*

Enterokoklar laktik asit bakterileri olan bakteri grubundadır. Tekli, ikili veya kısa zincirli hallerde olan, fakültatif anaerob, katalaz negatif, Gram pozitif, kok şeklinde olan bakterilerdir. Yüksek ısıya dayanıklı, birtakım antiseptiklere karşı dirençli olmaları

nedeniyle hastane enfeksiyonlarında büyük önem taşımaktadırlar [73, 74]. *Enterokoklar* genel olarak bir patojeniteye sahip değildir. Ancak kronik hastalığa sahip yaşlı kişilerde ya da immün sistemi baskılayan hasta kişilerde hastalığa neden olurlar. En çok üriner sistem enfeksiyonlarına ve bundan başka endokardit, endometrit, peritonit, menenjitte de neden olurlar [75, 76]. *Enterokoklar* geniş konakçı aralığına sahiptirler ve hayvanların sindirim sisteminde yer alan doğal flora bakterileridir. Özellikle hayvanlarda sağım hijyenine dikkat edilmediği durumlarda memelileri kolayca infekte ederek tek başlarına ya da genellikle *streptokoklar* ile mastisitite neden olurlar. *Enterokokların* patojenitelerine çok sayıda virulans faktörleri etki etmektedir. Bu virulans faktörlerinden enterokokal yüzey proteini bakterinin konak immün sisteminden kaçmasını kolaylaştıran hücre duvarı ile ilgili proteindir. Jelatinaz ise hemoglobin ve diğer biyoaktif maddeleri parçalayan proteazdır [77].

Klebsiella pneumoniae

Enterobacteriaceae familyası içerisinde yer alan *Klebsiella* cinsine dahil olan bakteriler toprak ve su, insan ve hayvanların bağırsakları ile üst solunum yollarında bulunur. Gram negatif, kapsüllü, sporsuz, aeorop ve fakültatif anaeorop çomakçıklardır. Optimum üreme sıcaklıkları 37 °C ve optimum pH'ları 7'dir. Bu bakteriler insanlarda pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, sepsis, karaciğer apsesi gibi enfeksiyonlara neden olurlar [78]. İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan etkenler arasında *Enterobacteriaceae* üyelerinin payı %70'in üzerindedir. Hastane dışı kaynaklı enfeksiyonlara genel olarak *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* türleri neden olurken, hastane kaynaklı enfeksiyonlara *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *stafilokoklar* ve diğer enterik bakteriler, *Pseudomonas aeruginosa* ve *enterokoklar* sebep olur. *Klebsiella pneumoniae* üriner sistem ve nazokomiyal enfeksiyonlara yaygın olarak neden olan bakteriler arasında *Escherichia coli*'den sonra ikinci sırada yer almaktadır. Piyelit, piyelonefrit ve sistit şeklinde oluşan enfeksiyonların antibiyotiklerle yapılan tedavilerde yüksek oranda dirençli oldukları görülmüştür. Bu bakteri türünün neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde çoğunlukla sefalosporin ve aminoglikozid grubu antibiyotikler tercih edilmektedir. Bu bakterinin genellikle birçok antibiyotiğe direnç kazanmasının yanı sıra ampisilin ve karbenisiline doğal olarak dirençli olduğu bildirilmiştir [79]. Resim 2.3'te *Klebsiella pneumoniae*'nin elektron mikroskobu görüntüsü verilmiştir [68].



Resim 2.3. *Klebsiella pneumoniae* bakterisinin elektron mikroskobu görüntüsü [68]

Proteus vulgaris

Enterobacteriaceae familyasına ait proteus cinsleri hareketli, Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz bakterilerdir. Toprak, su ve insan kolon florasında bulunurlar. Bakteriyolojik boyalar ile iyi boyanır ve genel üretim besiyerlerinde iyi ürerler. Genellikle üriner enfeksiyonlarda, böbrek taşı oluşumunda etkileri vardır. Hastahane enfeksiyonlarında hastanın kendisinin ya da başka hastaların dışkı florasından bulaşabilirler [76].

2.4.2. Patojen mayalar

Patojen mayalardan en çok bilineni *Candida* cinsine dahil olan mayalardır. *Candida* türleri 4-6 µm (mikrometre) çapında, tek hücreli, tomurcuklanarak çoğalan hiflere sahip ökaryotik hücre yapısında olan mikroorganizmalardır. Doğada, gastrointestinal sistemde, deride normal flora elemanı olarak bulunurlar. Kandidalar 200'den fazla türe sahiptirler. Bu türlerden *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida lusitaniense* gibi türlerin patojen olduğu bilinmektedir [80]. Aşağıda bazı patojen *Candida* türleri ve özellikleri verilmiştir.

Candida albicans

İnsanda hastalık yapan kandida türlerinin içinde en çok hastalığa neden olan *Candida albicans*'tır (%50-%70) [81]. Pamukçuk, yayılmış kandidaz ve kronik mukokutanöz gibi enfeksiyonlara neden olur [82]. Ayrıca bu maya türü hamilelerde anneden fetusa da

geçebilir [81]. *Candida albicans* maya-hif dönüşümü göstermesi, hidrolitik enzimler yapması nedeni ile virülansı en yüksek türdür. *Candida albicans* epitel yüzeyine yapışmayı sağlayan adhezyon molekülü taşıdığı ve aspartil proteinaz ve hif oluşumu ile epitele tutunur. Patojen *Candida* türlerinin salgılamış olduğu hücre dışı proteinazlar, doku harabiyeti ile kandidalarının yayılımını sağlar ve mukozada devamlı kalmasını sağlayarak maya hücrelerini konağın savunma sistemine karşı korur. *Candida albicans* için önemli virülans faktörlerinden biri de fosfolipaz enzimidir. Bu enzim konak hücreyi lizise uğratar ya da hücrenin yüzey özelliklerini değiştirir. Bu şekilde mantarın adezyon ve penetrasyonuna yardımcı olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber hücre duvarında polisakkarit yapıda olan β glukanın T lenfositlerde sitokin yapımını baskıladığı ve konak savunmasını zayıflattığı bildirilmektedir [83, 84].

Candida tropicalis

Virülansı *Candida albicans*'a benzer. Daha çok yetişkin bireylerde görülmektedir. Nötropenik hastalarda diğer kandida türlerine nazaran yüksek miktarda disemine enfeksiyona neden olur [123]. Bunun yanında lösemi, diyabet ve lenfomalı bireylerde septisemiye neden olur [85].

Candida krusei

Virülansı *Candida albicans*'a göre daha düşüktür. Bu candida türüne bağlı enfeksiyonlar genellikle hematolojik malignite, kemik iliği transplantasyonu, flukonazol profilaksisi olan hasta bireylerde daha çok görülür. Yetişkinlerde daha çok rastlanılır [86].

2.5. Kanser ve Etkenleri

Kanser kardiyovasküler hastalıklardan sonra dünyada ikinci ölüm nedenidir. Günümüzde milyonlarca kanser hastalığı, erken tanı ve tedaviden dolayı insan ömrünü uzatmaktadır. Kanser yeni bir hastalık değildir. Kanser kelimesi Doktor Hippocrates tarafından karsinom tümörlerini tanımlamak için Yunanca bir kelime olarak kullanılan 'karkinos' kelimesinden gelmiştir. İnsan kemik kanserine ilişkin en eski kanıtlardan bazıları Mısırda bulunan mumyalarda ve eski el yazmalarında yaklaşık 1600'lü yıllara aittir [87]. 1800'lü yıllarda modern mikroskobun keşfi sonrasında, hücre patolojisinin de kurucusu olarak bilinen

Rudolf Virchow, kanserin patolojik incelenmesinin temellerini atmıştır. Hem Morgagni hem de Virchow bilimsel onkolojiye olan katkıları ile kanser patolojisinin daha iyi anlaşılması, daha doğru tanı konulması ve kanser cerrahisinin gelişmesinde önemli adımlar atılmasına yardımcı olmuştur [88]. 1915 yılında ise Katsusaburo Yamagiwa ve Koichi Ichikawa tavşan derisine kömür katranı sürerek ilk defa laboratuvar ortamında deney hayvanlarında kanser oluşturmuş, böylelikle kanserin etiyolojisinin çözülebilmesi adına önemli bir adım atmışlardır [88, 89].

Hücre, kalıtım materyaline zarar verebilecek kanserojen maddelere maruz kaldığında hücrenin bir takım kötü huylu transformasyonlar sonucu genetik değişikliğe uğramasına karsinogenez denir. Karsinogenezin nedeni endojen ve ekzojen kaynaklı olabilir. Endojen kaynaklı nedenlerin en önemlileri kalıtsal bozukluklar ve bozuk immün fonksiyonlardır. Ekzojen nedenlerin en önemlileri ise iyonize ve ultraviyole ışınlar, kimyasal karsinojenler ve onkogenik virüsler olarak sınıflandırılabilir [90]. Tüm dünyada kanser sıklığı hızlı bir artış göstermektedir. Artmış kanser sıklığının nedenleri tümüyle yaşlanma yaşının artması, tarama tekniklerinin gelişmesi ve yaşam biçimiyle ilişkilendirilemez. Kanser gelişiminde yaşam biçimiyle ilişkili faktörlere ek olarak çevresel faktörlerde beklenenden fazla rol oynayabilir ve kanser sıklığının artmasına katkıda bulunabilir. Çevresel faktörler bireyin etrafında yer alan fiziksel, biyolojik, kimyasal ajanlar olarak tanımlanmaktadır (Çizelge 2.3).

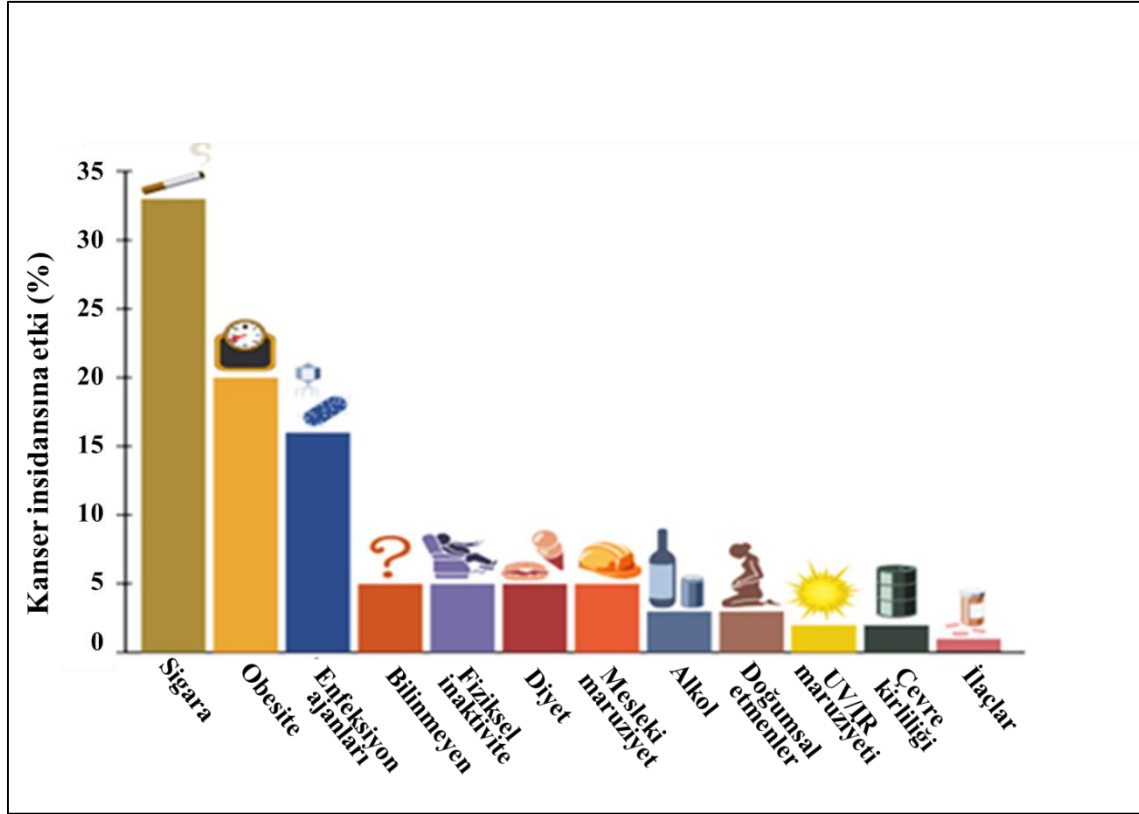
Çizelge 2.3. Vücut hücrelerinde kanser gelişimi [92]

Hasar Etkeni Türü	Hasar Etkeni	Kanser Türü
Fiziksel	Mor ötesi ışınlar	Deri kanseri, Melanoma
	Radyasyon	Tiroid kanseri, lösemi
	Benzopren	Akciğer kanseri
Kimyasal	Aflatoksin	Karaciğer kanseri
	Oksidatif stres	Yaşlılık kanserleri
Biyolojik	Hepatit B virüsü	Karaciğer kanseri

Karsinojenler hücre DNA'sını etkileyerek kansere yol açan kimyasal, fiziksel ve biyolojik etmenlerdir. Çevresel karsinojenler mikroorganizmalar (virüsler), radyasyon, kimyasallar olarak incelenebilir. İnsan papilloma virüsleri (servikal kanser ve deri kanserleri), Epstein-

Bar virüsü (nazofaringeal karsinoma, Burkitt's lenfoma), kapoksi sarkoma ile ilişkili herpes virüsler, Hepatit B ve Hepatit C virüsü (karaciğer kanserleri) insanda kanserle ilişkili başlıca virüslere dendir. Virüslere ek olarak *Helicobacter pylori* gibi bazı mikroflora bakterileri (gastrik neoplazma), bazı parazitler *Schistoma haemobotium* (mesane kanserleri) bazı onkojenik toksinlerde (aflatoksinle ilişkili küfler) kanser oluşumunda risk faktörleridir. Radyasyona maruz kalınması sonucunda DNA'da birtakım hasarlar oluşabilir. Örneğin X ve UV gibi ışınlar hücrede su moleküllerini iyonlaştırarak hidroksil radikallerini oluşturur. Bu radikaller DNA ile etkileşerek DNA'da hasar veya kırıklara neden olur. DNA kırıklarının tamir edilmesi kolay değildir. Bu kırıklar DNA'da nokta mutasyonları, kromozom translokasyonlarına neden olarak kansere yol açar. Kimyasal kanserjenlere ise etidyum bromür örnek verilebilir. Bu molekül çift iplikli DNA molekülündeki bazlar arasına girerek molekülün şeklini bozar ve transkripsiyon gibi olayları etkileyerek mutasyona sebep olur [91].

Ülkemizde 2014 yılı itibariyle genç nüfusun %16,8'i, yetişkin nüfusun ise %27,1'i halen (14,8 milyon kişi) tütün ürünü kullanmaktadır [94]. Sigara kullanımı (özellikle larenks, akciğer ve mesane kanserlerinin oluşumunda), obezite, enfeksiyon ajanları (bakteriler, virüsler ve parazitler gibi), mesleki maruziyet (asbestos, ağır metaller, arsenik, benzen vb.), UV ve radyasyona maruz kalma gibi faktörler kanserle ilişkili risk faktörleri olarak gösterilmektedir (Şekil 2.7) [93] .



Şekil 2.7. Kanser risk faktörleri [93]

2.5.1. Kanser hücreleri ve tümör

Kanser hücreleri

Kanser hücrelerinin sağlıklı hücrelerden birtakım farklılıkları bulunur. Bu farklılıklar şunlardır:

- Kanser hücreleri apoptozdan kaçarak ve hücre ölümüne uğramayarak kontrolsüz çoğalırlar. Bu kontrolsüz çoğalan hücreler invazyon yaparlar ve organizmanın organlarını hasara uğratırlar.
- Normal hücreler sınırlı sayıda bölünürken kanser hücreleri telomeraz aktivitesine sahip olduklarından sınırsız sayıda bölünürler.
- Kanser hücreleri besin ve oksijen almak için yeni kan damarları oluşturabilirler (anjiyogenez).
- Kanser hücreleri normal hücrelerden farklı olarak beslenebilmek için aerobik glikolizden gelen enerjiyi kullanırlar.

- Kanser hücreleri belli organlara metastaz yapabilirler [94, 95]. Örneğin; mide kanseri karaciğere, meme kanseri kemik ve akciğere, kemik tümörleri akciğere metastaz yaparlar [96].

Tümör

Normal dokuların gelişmesini aşan normal dokulara uyum göstermeyen ve kendisini oluşturan uyarının yok olması durumunda bile büyümeye devam eden anormal doku kitlesine tümör adı verilir [97]. Tümör ilerlemesinin gen amplifikasyonu gibi diğer genetik değişikliklerin yanında gen ifadesinin değişimi ile sonuçlanan epigenetik değişikliklerden kaynaklanan onkogenin spesifik mutasyonlarına veya tümör baskılayıcı genlerin kaybına yol açan genetik istikrarsızlıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Karsinojenler, çevresel etkiler sonucu hipoksi ve besin eksikliği gibi yerel faktörler tümör gelişimine neden olabilir [98]. Tümörler benign ve malign tümör olmak üzere ikiye ayrılır. Bir tümör mikroskobik ve makroskobik olarak çevre dokuya yayılmıyor ve bulunduğu yerde lokalize oluyorsa buna benign (iyi huylu) tümör denir. Eğer tümör çevre dokulara invazyon yapabilir, zarara uğratabilir ve uzak bölgelere kan ve lenf yollarıyla yayılarak (metastaz) ölüme neden oluyorsa buna malign (kötü huylu) tümör adı verilir [99]. Çoğalan tümör hücrelerinin oluşturduğu doku belli bir boyuta ulaştığı zaman kanser hücrelerinin bir kısmı bu dokudan ayrılır (ayrılma) ve doku içinde ilerlemeye (invazyon) başlar. Daha sonra hücre bir damar ile karşılaştığında bu damarın duvarını eriterek damarın içine girer ve daha sonra damar içindeki kanla vücutta dolaşır. Bu sırada tümör hücreleri belli organlarda damar yüzeyine tutunurlar. Bu hücre tutunduğu sırada damar duvarını eritip hedef dokuya yerleşerek çoğalmaya devam eder [100, 101]. Kanserin isimlendirilmesi hangi organ ve dokudan köken aldığına göre gerçekleşir [102].

En sık görülen kanser türleri ise deri, akciğer, meme, sindirim ve üreme sistemlerinden kaynaklanan kanserlerdir [103]. Kanserin karsinomlar, sarkomlar, lösemiler ve lenfomalar olmak üzere dört tipi vardır. İnsan kanserlerinin yaklaşık % 90'ı iç organlar, bezler ve vücut boşluklarının deri veya epitel dokuda ortaya çıkan karsinomlardır. Karsinomların en çok görüldüğü dokular meme, akciğer, prostat ve cilttir. Sarkomlar karsinoma göre daha az yaygındır ve kıkırdak, kemik, kas veya yağ gibi bağ dokusunda hücrelerin dönüşümü kapsar. Lenfomalar ise lenfatik sistem kanserleridir [102].

2.5.2. Kanser oluşum süreci

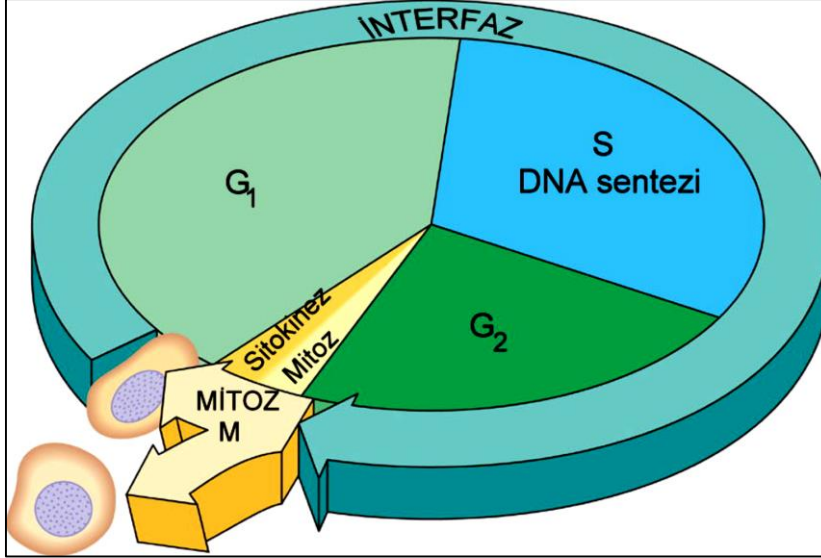
DNA’da oluşan mutasyonlar birçok bazı etkileyerek genomdan bir DNA parçası koparır veya bu parça genomda herhangi bir yere entegre olabilir. Böylece bu şekilde yeni oluşan genler anormal protein sentezine yol açar. Mutasyonlar sonucu oluşan bir gen önemli bir proteinin az ya da çok sentezlenmesine, işlevini kaybetmiş bir proteinin üretilmesine veya bu proteinin hiç sentezlenmemesine neden olabilir [104]. Örneğin *K-ras* genlerinde oluşan bir mutasyon, hücre zarının hemen içinde bulunan küçük bir proteinin hücre büyümesinin sinyalini artıran bir protein halini almasına neden olur. *K-ras* geni mutasyonları akciğer gibi kanser tiplerinde yaygındır [105]. DNA molekülünün bazıları, şekerleri ile reaksiyona giren ve kromozomların yapısında bulunan proteinler ile çapraz bağlar yapan karsinojenler DNA’da delesyonlar, zincir kırıkları, inversiyon gibi yapısal değişimler denilen mutasyonlara neden olur. Bu mutasyonlar sonucu DNA’nın replikasyonu, transkripsiyonu, translokasyonu veya aktivasyonunda bir takım değişimler olur. Bu değişimler sonucu ekspresyonlarının bozularak kanser oluşumunu sağlayan genlere *onkogen* denir. Bu genler mutasyon veya başka etkiler ile işlev kazanarak otozomal dominant etki gösterirler. Normal hücrelerin kontrollü bir şekilde çoğalmasını sağlayan bir hasar gördüğünde veya ortadan kalktığında hücrenin kontrolsüz çoğalmasını sağlayan otozomal çekinik genlere de *tümör supresör gen* denir. *Onkogenlerin* aktivasyonu ve *tümör supresör gen* inaktivasyonları, hücrenin kontrolsüz çoğalması, kontakt inhibisyonun kaybolması, invazyon ve metastaz yeteneği kazanması gibi malign özellikler kazanmasına yol açar. Kanseri oluşumu genel olarak hücrenin en hassas dönemi olan hücre döngüsü esnasında gerçekleşir [106, 107].

Hücre döngüsü

Hücre döngüsü aşamalarında hücre dışı büyüme sinyalleri, hücrenin boyutu ve DNA bütünlüğü önemli rol oynar ve çeşitli kontrol noktaları ile desteklenir [108]. Hücre döngüsü (Şekil 2.8) 4 evrede gerçekleşir:

- S Evresi (Sentez): DNA replikasyonu, kromozom çiftlenmesi, RNA ve protein sentezi gerçekleşir.
- G1 Evresi: İlk bölünmede oluşan eş hücrelerin tekrar hücre bölünmesine girmeden S evresine hazırlandığı evredir. DNA replikasyonu gerçekleşmez ancak RNA ve protein sentezi devam eder.

- G2 Evresi: DNA replikasyonu olmaz, RNA ve protein sentezi devam eder.
- M Evresi (Mitoz): Mitoz ve sitokinez gerçekleşir.



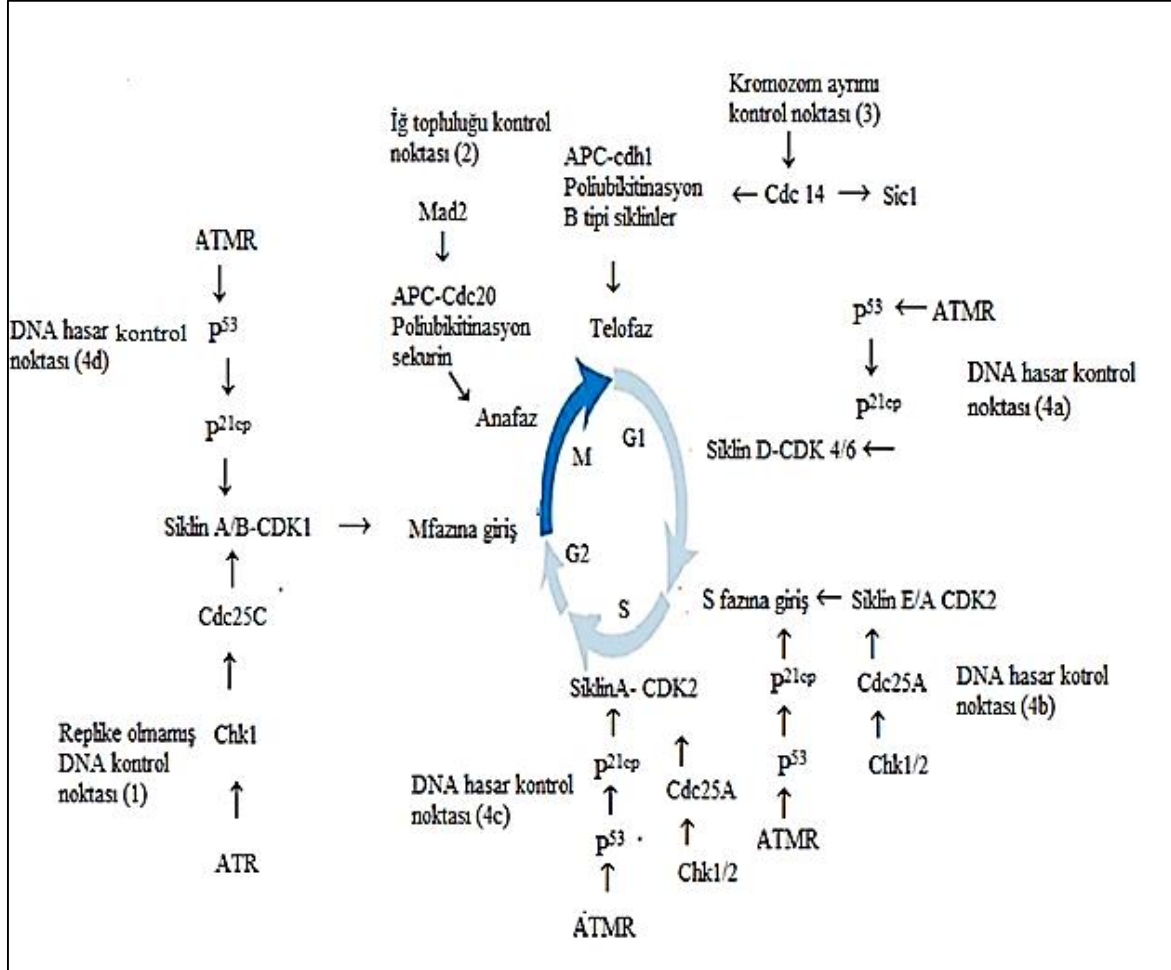
Şekil 2.8. Hücre döngüsünün evreleri [109]

Mitozdan sonra G1 evresine geçen hücreler ya bölünmeye devam etmekte ya da bölünmeleri durmaktadır. G1 ve S evresi arasındaki G0 evresi son farklılaşmasını tamamlayan hücrelerin dinlenme evresidir. G0 evresindeki hücre tekrar bölüneceği zaman hücre döngüsünün G1 evresinden girer. Hücre döngüsünün kontrol altında olduğu noktalar G1, G2 evreleri ve M evresinin son aşamalarında bulunur. Hücre döngüsünü kontrol noktalarında gerçekleşen değişimler kansere neden olabilir. Hücre döngüsünde görevli siklinler ve siklin bağımlı kinazlar *tümör baskılayıcı genler* üzerinde hücre çoğalmasına bazen de hücrelerin ölümüne neden olabilir [110]. Hücre döngüsü çoklu protein kompleksleri tarafından katalizlenen protein fosforilasyonu ile kontrol edilir. Bir CDC (hücre bölünme döngüsü) kinaz, bir siklinle çalışınca buna CDK protein (siklin bağımlı kinaz proteini) adı verilir. CDK'lar siklinlerle birleşir ve aktifleşerek aktif SİKLİN-CDK komplekslerini oluştururlar. Bu kompleks hedef proteinleri fosforile ederek hücre döngüsünün devamlılığını sağlar [111].

Hücre döngüsünün kontrol noktaları

Herhangi bir kusur oluşması halinde hücre döngüsünü durduran noktalardır. Bu kontrol noktaları (1) Replike olmamış DNA kontrol noktası, (2) iğ topluluğu kontrol noktası, (3)

kromozom ayrımı kontrol noktası, (4) DNA hasarı kontrol noktası ((4a) G1 kontrol noktası (Siklin D-CDK4/6) , (4b) S fazına giriş kontrol noktası (Siklin E/A-CDK2), (4c) S fazı kontrol noktası (Siklin A-CDK2), (4d) mitoz giriş kontrol noktası (Siklin A/B-CDK1))'dır. Şekil 2.9'da hücre döngüsü ve kontrol noktaları gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Hücre döngüsü ve kontrol noktaları [112]

Replikasyon olmamış DNA kontrol noktasında (1) siklin A-CDK1 ve siklin B-CDK1 aktivasyonunu sağlayan Cdc25C proteinini fosforilleyerek inaktif yapan ATR-Chk1 protein kinaz kaskadı sayesinde egelleme olur ve mitoz girişini engeller. İğ topluluğu içindeki kontrol noktası (2) Mad2 ve diğer proteinler sekurinin poliyubikitinasyonu için gerekli APC spesifik faktörün aktivasyonu için inhibe eder ve anafaza girişini engeller. Kromozom ayrımı kontrol noktasında (3) serbest kalan Cdc 14 fosfataz, APC spesifik faktörün (Cdh1) aktivasyonunu engelleyerek döngüyü durdurur. APC spesifik faktör (Cdh1) hem B tipi siklinlerin poliyubikitinasyonu için hem de Sic1'in indüksiyonu için gereklidir. DNA hasarı kontrol noktasında (4) ATM veya ATR protein kinazlar aktive

edilir. Aktif kinazlar iki yolağı tetikler. Bunlar: Chk-Cdc25A yolağı (4b ve 4c) S fazı girişinde ya da geçişinde engellenir ve P53-P21CIP yolağı G1, S ve G2'nin (4a-4b) durdurulmasında öncü rolü oynar [112].

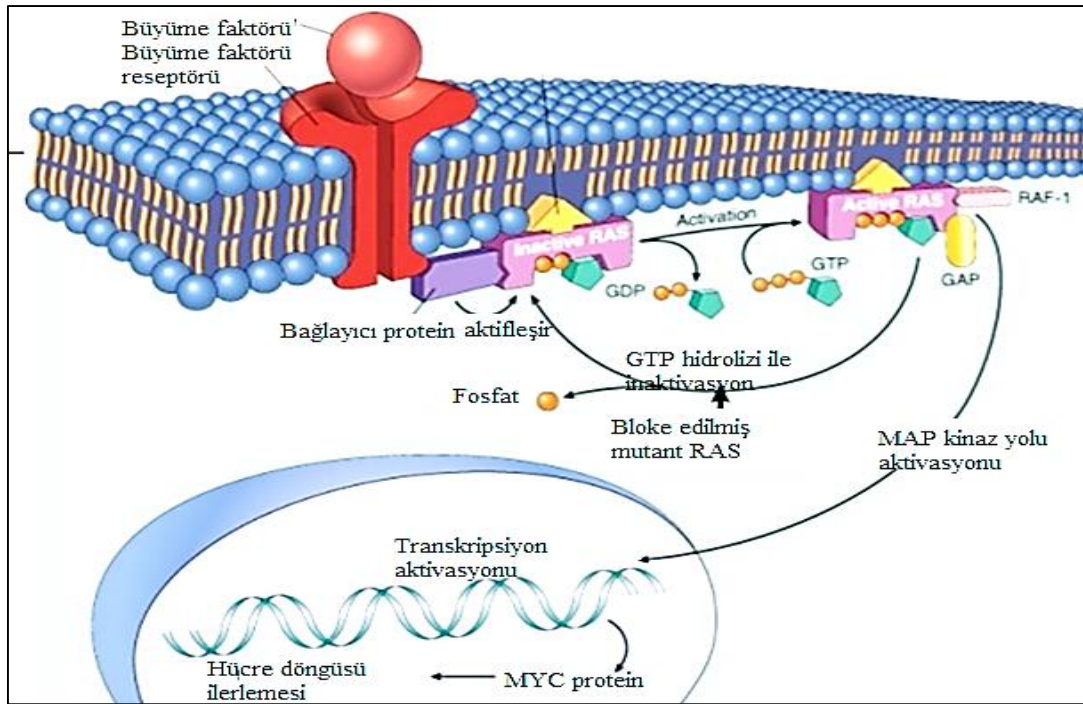
Protoonkogenler ve Onkogenler

Protoonkogenler hücrelerin sinyal iletim mekanizmasında rol alan birçok proteinin sentezinden sorumlu olan genlerdir. Hücre büyümesinde işlev gören proteinler protoonkogen ve onkogenler tarafından sentezlenmektedir. Hücrenin sinyal iletim yollarındaki proteinleri kodlayan *protoonkogenler* mutasyon uğrarsa büyüme faktörlerinin çok fazla üretimi, transkripsiyon faktörlerinin aşırı sentezlenmesi, hücrenin kontrolsüz bölünmesi gibi sonuçlara neden olur. *Protoonkogenlerin onkogenlere* dönüşmesi sonucunda hücre büyümesinin kontrol mekanizması bozulur ve kanser hücreleri kontrolsüz çoğalır ve büyümeye başlar. Büyüme ve farklılaşmanın biyokimyasal yollarında yer alan enzimlerin aktivitesini bozan mutasyonlar onkogenezin aktivasyonuna neden olabilir [113, 114, 115].

Normal koşullarda transformasyon oluşturmayan protoonkogenler; delesyonlar, gen amplifikasyonları, nokta mutasyonları, DNA yeniden düzenlemeleri ve translokasyonlar gibi genetik değişimlerle aktifleşerek mutasyon oluşturabilirler. Başlarda *onkogenler*, tümör oluşturan virüsler olarak tanımlanmışlardı. Sonradan bu genlerin konakçı memelide bulunan hücresel genlerin mutasyona uğramış formu olduğu gösterilmiştir. Bu hücresel genler ilk kez retrovirusların genomunda tanımlanmıştır. Bu retrovirusların genomlarında transformasyona neden olan özel bir dizilim belirlenmiştir (v-onc). Bu dizilim transforme olmayan retrovirus genomlarında yoktur. *Onkogenler* viral enfeksiyonlara bağlı olarak da oluşabilirler. *Retroviral onkogenlerin* virüsle enfekte konakçı hücre DNA'sına virüs ile aktarıldığı belirtilmiştir. Virüsün kendi genomuna kopyaladığı *protoonkogen* enfeksiyonun herhangi bir evresinde gen kesilmesi veya mutasyon ile hasarlı olabilmektedir. Tekrar eden enfeksiyon esnasında kendi proteinini sentezleyen bu *viral onkogen*den oluşan anormal protein normal hücre büyümesini etkileyerek tümör oluşumuna neden olur [114, 116, 117].

Ras geni mutasyonu

Ras geni uyarı iletim sistemlerinde bilinen en iyi protoonkogenlerden biridir. *Ras* geni mutasyonu kanserlerde %10 ile %20 arasında görülmektedir. Hücre yüzeyinde etkili protoonkogen reseptör ailesinden en önemlisi GF (büyüme faktörü) reseptörleridir. GF ile indüklenen mitogenezi olaylarında *Ras* önemli bir rol oynar. *Ras* blokajı GF'lerin proliferatif cevabını önler. Hücrede *Ras* GF ile aktive olunca GDP'den GTP'ye dönüşerek aktifleşir ve raf'ı aktifleştirir. Raf MAP kinaz yolunu uyararak mitogenezi başlatır. *Ras*'ın düzenli olarak işlemesi GDP ile GTP arasındaki birtakım enzimatik olaylara bağlıdır. [112, 114, 118, 119] (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. *Ras* geni etki mekanizması [120]

Normal ras proteininde GTPaz aktivitesi ile GTP hidrolizi olursa protein etkisiz haline döner. Aktif ras proteinin GTPaz aktivitesi ise bu enzimi aktivite eden proteinlerle (GAP) artar. GAP'ın fonksiyonu ras aktivitesinin kontrol edilemeyen hareketini önlemektir. Eğer ras mutasyonu olursa GAP'ın önleyici etkisi ortadan kalkar ve GTP aşırı olur ve mitojenik sinyaller artar (Şekil 2.10) [112, 114, 118, 119, 121].

İnsan tümörlerinde en yaygın bulunan genlerden biri de *myc* genidir. Bu gen sinyal ulaştığında hücreyi hızla bölünmeye götürür. Normalde *myc* düzeyi hücre döngüsü

başlamadan önce bazal düzeye yaklaşır. Buna karşın, *onkogenik myc* geni ise sürekli olarak üretilince hücrede sürekli bir proliferasyona neden olur [112, 114, 117].

Bir başka kanser oluşumuna katkı sağlayan genler *tümör baskılayıcı genlerdir*. Bu genler büyüme inhibitör yolunun değişik bileşenlerini kodlar. Hücre bölünmesini baskılayan mutasyon tümöre neden olur. *Tümör baskılayıcı genler* onkogeneze fonksiyon kayıpları ile katkı sağlar. *Tümör baskılayıcı genlere* bağlı kontrolsüz hücre çoğalması genetik açıdan resesiftir ve etkili olması için her iki kromozom çiftinde defektif geni içermesi gereklidir. Kromozom çiftlerinden biri sağlamsa hastalık ortaya çıkmaz ancak bu bireyin her hücresinde genin bir hasarlı kopyası bulunur. pRB, p⁵³ veya P21 proteinini kodlayan genlerin her iki kopyasında oluşan mutasyonun hücre büyümesinin baskılanmasının engellemesi sonucu tümör oluşmaktadır. Tümör baskılayıcı genler ilk kez kalıtsal kanserlerde tanımlanmıştır. İlk bulunan kanser baskılayıcı gen, *retinoblastoma (rb)* genidir. Rb lokusunda heterozigot olan hücre normaldir ve normal Rb genindeki heterozigotluğun kaybı kanser gelişimine yol açar. Rb geni normal kopyalarının her ikisinin kaybı ile neoplastik değişimle ortaya çıktığından, bu ve diğer kanser genleri *resesif kanser genleri* olarak adlandırılır [114, 116, 122]. Rb geni gibi bir mutant p53 alelinin kalıtımla geçmesi bireyi malign tümör gelişimine duyarlı hale getirir. DNA hasarında ilk olarak çekirdekte etkili olan p53 etkili olmaktadır. P21 gen transkripsiyonun artmasıyla pRb (Rb proteini) fosforilasyonu oluşmaz ve hücre G1 fazında bekletilir. Böylece DNA hasarının onarımı için zaman kazanılır. Eğer hasar onarılamazsa hücreler apoptoza gider. P⁵³ kaybı ya da mutasyonu olarak hücrelerde DNA onarımı gerçekleşmez ve hasarlı hücreler çoğalarak tümör dokusu oluşturur. Birçok tümör baskılayıcı genler farklı dokularda çeşitli mekanizmalarla görev alır. Bu mekanizmalar hücrenin proliferasyona veya farklılaşmaya yönelişi arasındaki seçimi belirler. Bu mekanizmalar ise, DNA replikasyonun başlangıcı, belli genlerin ekspresyonunun belirlenmesi, hücrelerin haberleşmesi gibi işlemlerdir [123].

Çeşitli çevresel iç ve dış etkenler hücrede değişim yapıp hücrenin hasarına neden olarak hücrenin fonksiyonlarını bozar. Bu değişimlerin bir kısmı şartlar düzelince geriye döner. Bunlara ‘geri dönüşümlü değişim’ denir. Bir kısmı ise eski haline dönemez, buna ise ‘geri dönüşümsüz değişim’ denir. Hücre ölümü apoptoz ve nekroz olmak üzere iki tipte gerçekleşir. Apoptozda hücre ölümü çevreye rahatsızlık vermeksizin gelişir. Bazen apoptoz dolaylı olarak çevre dokuda nekrozu başlatabilir ya da tam tersi nekroz apoptoz

gelişmesine yol açabilir [124]. Apoptoz sürecinde belli başlı üç anahtar bileşen vardır. Bunlar;

- 1- Bcl-2 ailesi proteinleri,
- 2- Kaspazlar ve
- 3- Apaf-1 proteinidir.

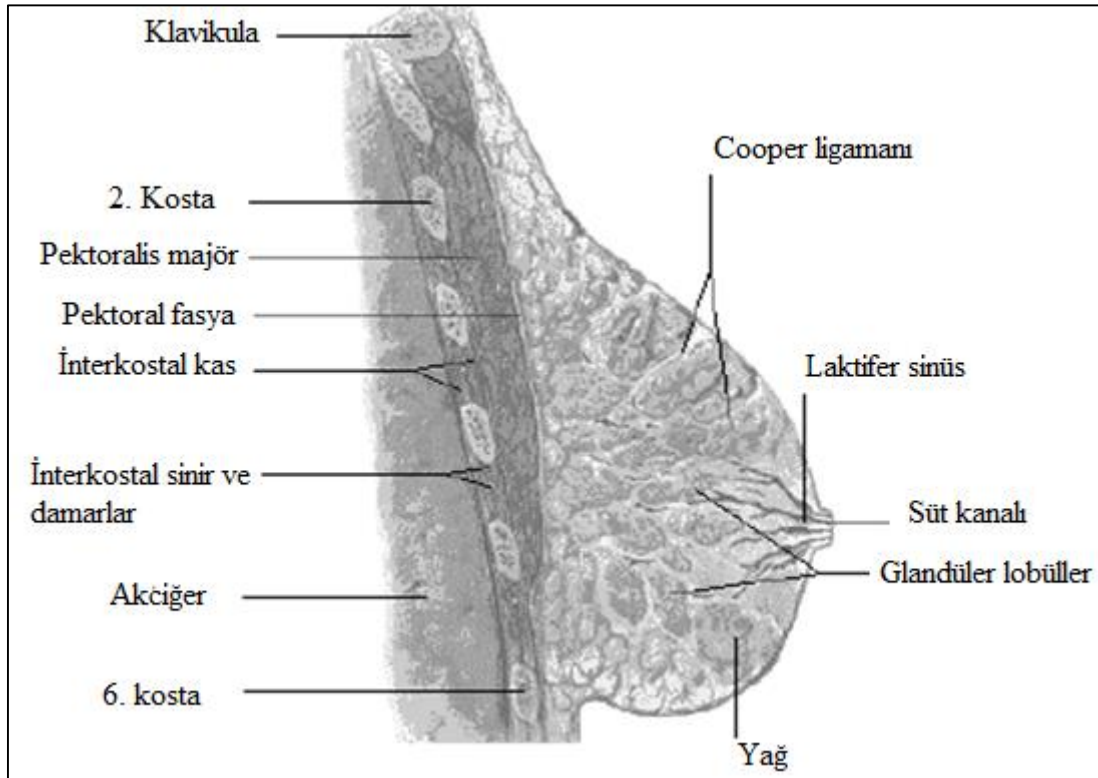
Bu bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılması, DNA fragmentasyonu, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik cisimlerin şekillenmesi gibi morfolojik değişikliklerden sorumludur [125]. Canlı organizma içinde (doku ve organ) ışık mikroskopi ile saptanan, hücre ölümü sonucu ortaya çıkan morfolojik değişikliklere “nekroz” denir. Nekrozdaki morfolojik görünüm, aslında aynı anda oluşan iki olayın sonucu olabilir: Hücrenin enzimatik yıkımı (organellerin parçalanması) ve makromoleküllerin denatürasyonu (proteinlerde yapı değişiklikleri). Bir hücrenin enzimatik sindirimi, kendi lizozomal enzimlerinden kaynaklanıyorsa “otoliz” olarak tanımlanır. Hücre kendi kendini sindirir. Otoliz sonucu nekroz oluşur. Çevreye gelen bakteri ve lökosit lizozomlarından türeyen hidrolitik (katalitik) enzimlerle olan sindirime de “heteroliz” denir. Bu şekilde de hücre dıştan gelen enzimatik etki ile nekrotik olur. Hücre ölümünün temel işaretleri çekirdekte bulunur. Nekrotik hücrelerde çekirdek tamamen kaybolur, sitoplazmik değişimler görülür. Sonuçta, nekrotik hücrede çekirdek tümüyle kaybolur. Bu arada sitoplazmik değişiklikler de görülür. Sitoplazmada homojenizasyon ve belirgin eozinofili artışı vardır. Artık bu safhada nekrotik hücre; çekirdeği olmayan asidofilik bir atığa dönmüştür [126]. Çizelge 2.4’de apoptoz ve nekroz arasındaki farklılıklar verilmiştir.

Çizelge 2.4. Apotoz ve nekroz arasındaki farklar [127].

Özellik	Nekroz	Apoptoz
Hücre Boyutu	Genişleme (Şişme)	Küçülme (Büzülme)
Nükleus	Piknoz, karyoreksis, karyolizis	Fragmentasyon
Hücre Zarı	Bütünlüğü bozuk	Korunmuş, yapısal bozukluk
Hücre İçeriği	Enzimatik sindirim	Korunmuş
İnflamasyon	Sık	Yok
Fizyolojik veya patolojik	Patolojik	Fizyolojik, patolojik olabilir.

2.5.3. Meme kanseri

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en çok görülen kanser türüdür ve tüm kanserlerin yaklaşık olarak %30'unu oluşturmaktadır. Türkiyede ise meme kanseri kadınlarda görülen en yaygın kanser türü olarak ifade edilmektedir [128]. Meme kanserinin 30 yaşından önce görülme ihtimali az olup bu yaştan sonra görülmesi artar. Özellikle menopoz döneminden sonra görülmesi artar. Meme kanseri görülme sıklığı ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Örneğin Hawaii, Kaliforniya ve Kanada'da yılda yüz binde 80-90 oranında görülürken aynı değer Japonyada sadece yüz binde 12-15 arasındadır. Erişkin bir kadında meme bezi genellikle ön göğüs duvarının yüzeysel pektoral fasyasının yüzeysel ve derin tabakaları arasında bulunur. Memenin çapı yaklaşık olarak 10-12 cm (santimetre) ve santral bölgede maksimum kalınlığı 5-7 cm'dir. Laktasyonda olmayan bir memenin ağırlığı 150-200 gr (gram), laktasyonda ise 400-500 gr'dır [129]. Memenin hemen orta kısmında meme başı areola bulunur. Bu kısım daha fazla pigment içerdiğinden koyu renklidir. Bu renk koyuluğu östrojen seviyesinin yükselmesiyle artar [130]. Şekil 2.11'de meme organının kısımları verilmiştir.



Şekil 2.11. Memenin makroskopik görüntüsü [131]

Meme gelişimi ve fonksiyonu birçok farklı hormonun etkisi ile olur. Bu hormonların en önemli olanları östrojen, progesteron, prolaktin, oksitosin, tiroid, kortisol ve büyüme hormonudur. Bu hormonlar meme üzerinde östrojen duktus gelişimini başlatır, prolaktin ve progesteron lobül ve asinüs gelişimini kontrol eder ve prolaktin süt salgısını oluşturur [132].

Meme kanserinde etkili olan risk faktörleri şunlardır:

- Demografik özellikler (cinsiyet, yaş, ırk vb.)
- Reprodüktif öykü (doğum yapma ve sayısı, ilk tam dönem hamilelik yaşı, menapoz yaşı, laktasyon, infertilite, düşük yapma)
- Ailesel/genetik faktörler (aile öyküsü, bilinen ya da şüphe duyulan *BRCA1/2*, *p53* veya meme kanseri ile alakalı gen mutasyonları)
- Çevresel faktörler (hormon tedavisi, alkol kullanımı, sosyoekonomik düzey vb.)
- Diğer faktörler (Kişisel meme kanseri öyküsü, meme biyopsi sayısı, atipik hiperplazi sayısı vb.)

Meme kanseri 3 yolla yayılım gösterir:

- 1) Lokal yayılım: Bu şekilde direkt meme içine, meme cildine ve pektoral kaslara bazı durumlarda ise toraks duvarına yayılır.
- 2) Lenfatik yayılım: Çoğu tümör genellikle duktuslardan çıkar ve fasya boyunca yayılım göstererek meme yağ dokusuna ulaşır. Lenfatik kanallar yoluyla periferik lenfatiklere yayılır. Aksiller, internal mammarian, supraklavikuler lenf nodları olmak üzere üç lenf alanına yayılım gösterir. Erken evre dışındaki hastalarda, özellikle üst dış kadranda yerleşen tümörlerde aşama I, aşama II ve aşama III olmak üzere tanımlanan üç düzeyde sırasıyla azalan oranda metastaz görülür [133]. Aksillaya yayılım operabl meme kanserinde en önemli prognostik faktörlerden biridir. Üst dış kadranda tümörleri aksiller nodları daha çok invaze ederler. Tümör ne kadar büyük ise aksiller tutulum insidansı o kadar yüksektir. Aksiller tutulum seviyesi ne kadar yüksekse, prognoz o ölçüde kötüdür [134].
- 3) Hematojen yayılım: İskelet sistemi, akciğer, karaciğer, beyin, yumurtalıklar, böbreküstü ve hipofiz bezine yayılım yapar. Meme kanserinin iskelet sistemine metastazı sonucu kemikte osteolitik, osteoplastik veya her iki türden değişime neden olabilir. Bazen de yayılım memeden ayrılan lenfatikler ve cilt lenfatikleri ile göğüs duvarına oradan ise plevra ve akciğerlere yayılır. Primer lenf nodu büyüklüğü, tutulan aksiller lenf nodu

sayısı ve diğer biyolojik özellikler göz önüne alınarak mikroskobik uzak metastaz riski büyük oranda hesaplanabilir [128].

Meme kanseri oluşumunda rol alan genler

Meme kanseri oluşumunda birçok gen grubu önemli rol oynamaktadır. Bu genler genel olarak onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdir. Bu genler aşağıda açıklanmıştır:

Epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR): EGF (Epidermal büyüme faktörü) ve EGFR (Epidermal büyüme faktör reseptörü)'nin meme ve çeşitli kanser tiplerinde önemli bir role sahip olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Meme kanserlerinin %16-36'sında EGFR'nin aşırı ifade edilmesi söz konusudur.

CerbB-2 (HER-2neu): HER-2neu (insan büyüme faktör reseptörü) bir protoonkogendir. Kromozomun 17q21 bölgesinde lokalizedir. Sinyal iletiminde görevli 185 kilodaltonluk bir transmembran proteinini kodlar. HER2-neu proteini normal hücre proliferasyonunda önemli bir rol üstlenir. Bu proteinin aşırı ifade edilmesi meme kanserinde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.

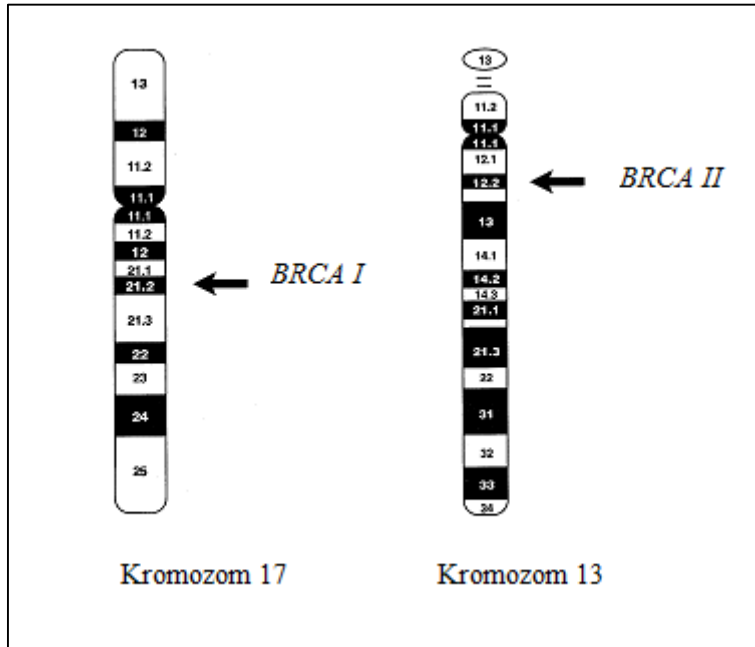
Ras (Rat sarkoma virüsü onkogeni): Bir protoonkogen ürünü olup plazma membranından çekirdeğe sinyal iletiminde görev alır. Bu gendeki mutasyonlar malign transformasyona öncülük eder [135].

C-Myc (Myelomatosi virüsü onkogeni): Bir protoonkogen olup kromozom 8q24.1'de bulunur. Hücre proliferasyonu ve apoptozda görevli olan genlerin transkripsiyonunu düzenler. Bu gen meme tümörlerinin %15-25'inde aşırı ifade edilmektedir.

P⁵³ (protein53, TP53, Tümör protein 53): P⁵³ geni 17. Kromozomun p13-1 bandında bulunur. Moleküler ağırlığı 13 kilodaltonluk bir proteini kodlamaktadır. UV ışık, karsinojenler gibi etkenlerin DNA'da oluşturduğu hasarı ortadan kaldırmak için aktifleşir. Hasar düzeltilemezse hücreler apoptoza yönlendirilir. Meme kanserlerinde bu gendeki bozukluklar olması veya bu genin her iki koldaki kaybı kötü prognozla ilişkilendirilmiştir [135, 136].

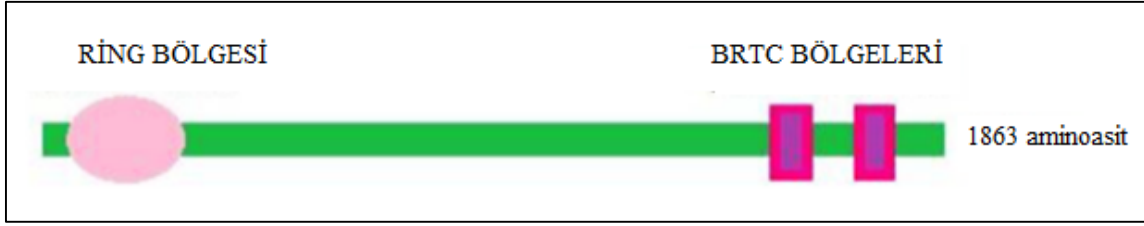
ATM (Mutant ataksi-telanjiyektazi): Resesif kalıtlı ve kromozom 11’de bulunur. Meme kanserlerinin %2-7 oranlık kısmından bu gen sorumludur [135].

BRCA I ve *BRCA II* genleri: Bu genler kalıtsal meme kanserlerinde sıkça gözlenmektedirler. Bu genlerden *BRCA I* geni 17q21 kromozomu üzerinde yer alır ve 24 eksona sahiptir. *BRCA II* geni ise 13q12.3 kromozomunda yer alır ve 27 eksondan oluşur [138, 139] (Şekil 2.12). Bu genler genomik stabilitenin sağlanmasında, DNA hasarında hücresel cevapta, transkripsiyonel düzenlemede ve hücresel proliferasyonda görevlidirler [137, 140].



Şekil 2.12. *BRCA I* ve *BRCA II* genlerinin kromozomdaki yerleşimi [141]

BRCA I geninin ürünü olan *BRCA I* proteini hücre çekirdeğinde bulunur ve hücre döngüsüne bağlı olarak fosforile olarak bulunur. Çekirdekte ekspresyon ve fosforilasyonu hücre döngüsünün geç G1 ve S fazlarında artmaktadır. Mitoz esnasında ise en yüksek seviyeye ulaşır. *BRCA I* proteini N terminalde çinko bağlayan yaklaşık 100 aminoasitlik özel bir RING bölgesi ve C terminalde ise yaklaşık 90 aminoasitlik BRTC (meme kanseri karboksil terminali) tekrar bölgeleri içermektedir. *BRCA I*'in tümör baskılayıcı özelliğinde bu iki bölge önemlidir [137, 139] (şekil 2.13).



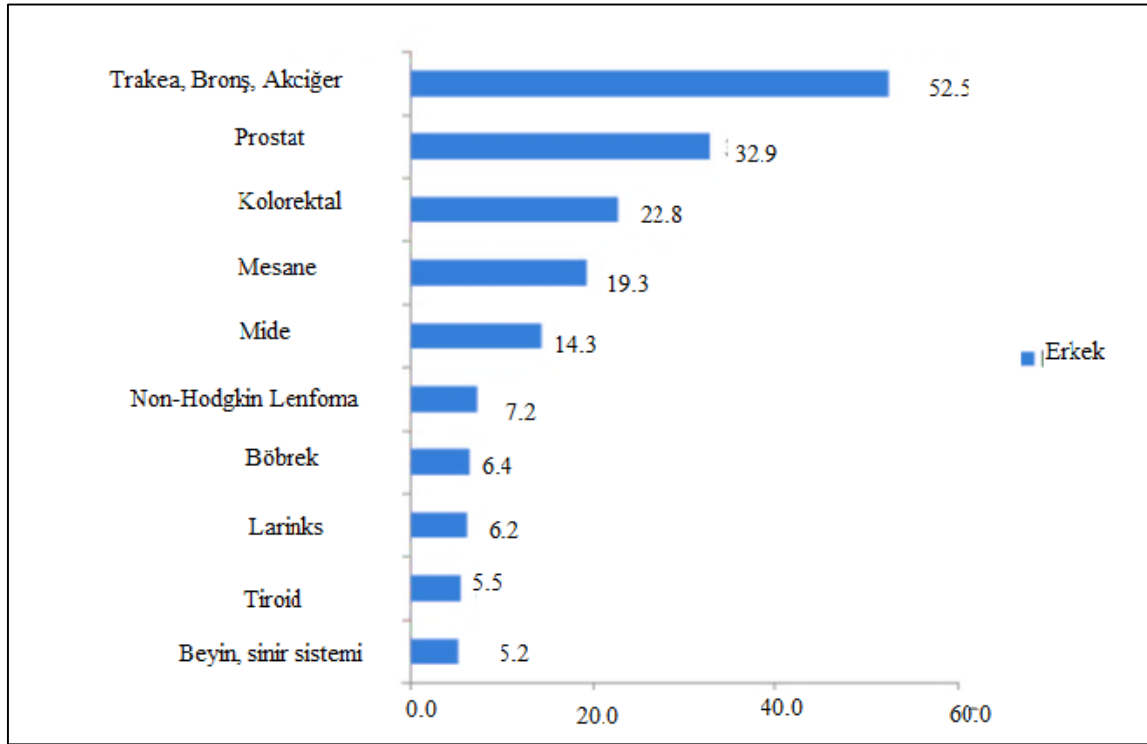
Şekil 2.13. BRCA I proteini [137]

Ring bölgesi, BRCA I proteinin N terminal bölgesine bitişik çinko parmak dizisi vardır. Bu dizi sistein ve histidin rezidüleri içerir ve RİNG domaini olarak bilinmektedir. Bu bölgenin DNA ile etkileşimde önemli çalışmalar olduğu gösterilmiş ve heterokromatini korunması, spermatogenez ile ilgili görevleri olduğu bildirilmiştir [88,46]. BRTC bölgeleri fosforilasyondan bağımsız protein etkileşimleri, DNA bağlanma ve polimeraz bağlanma bölgeleri vardır. Bu genin BRTC bölgesindeki kanser oluşturan mutasyonlar transkripsiyonel aktivasyonun kaybedilmesiyle RNA polimeraz II enziminin bağlama yeteneğinin kaybedilmesine yol açar [146]. *BRCA* gen mutasyonlarının çoğu tam sentezlenmeyen protein sentezine neden olur. *BRCA I*'in C ucunun eksik sentezlenmesine neden olan mutasyonların meme kanseri oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir. *BRCA II* geninin amino ya da C uçlarında yer alan mutasyonlar meme kanseri gelişimine neden olmaktadır. *BRCA II* az oranda genellikle cilt melanomları, safra kesesi ve bilierduktus tümörleri ve fallop tüp karsinomları için risk taşır. *BRCA II* mutasyonlarının erkek meme kanseri riskini arttırdığı gözlenmiştir [138].

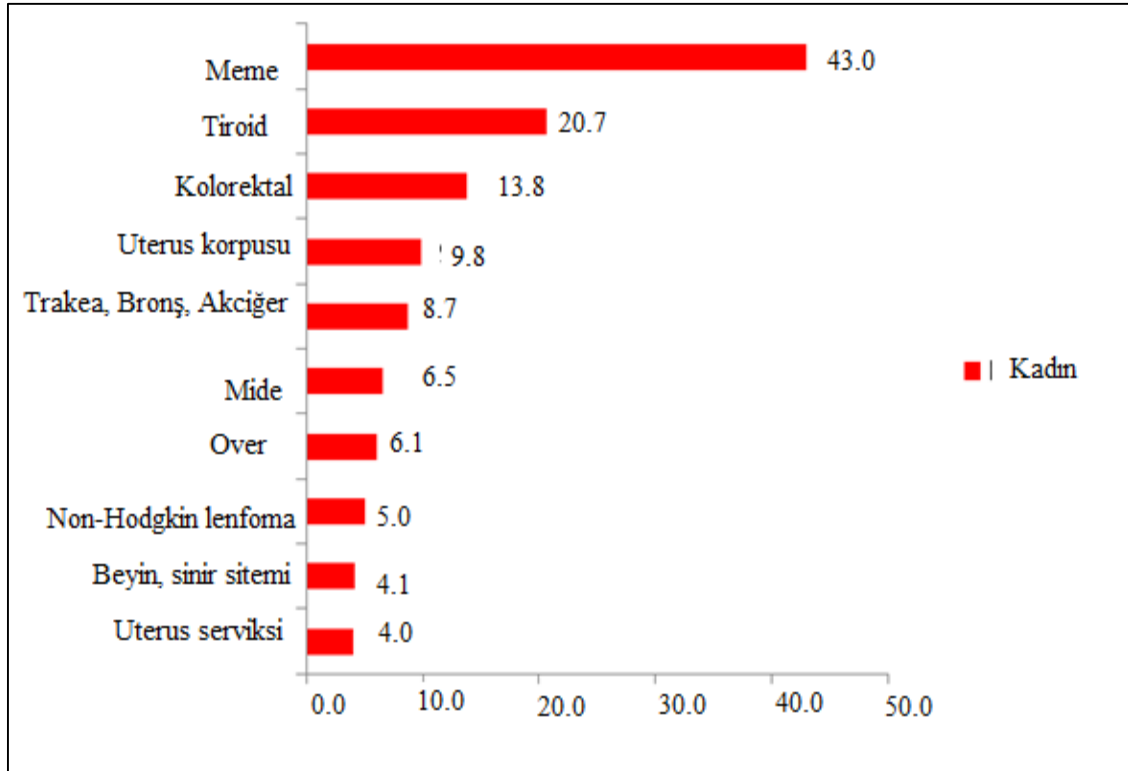
2.5.4. Kanser insidansı

Dünyada ölüm nedenlerinin %13'ü kanser kaynaklıdır. Yaş ilerledikçe kanser olma riski artmaktadır. Kanser dünyadaki ölümlerin önemli bir nedeni olmaya devam etmektedir [139,140]. Birçok kanser için insidans hızları gelecekte önemli ölçüde artacaktır. 2020'de gelişmekte olan ülkelerin çoğunda 15 milyondan fazla kanser vakası olacaktır [141]. Kanser dünyadaki tüm toplulukları etkilemektedir ancak toplumlar arasında kanser prevalansında ve tipinde farklar vardır. Toplam kanser yükü varlıklı toplumlarda en yüksek seviyede kalırken, az gelişmiş ülkeler bu boşluğu çok hızlı kapatmaktadır. Gelişmekte olan ülkeler gelişmiş ekonomilere benzer yaşam tarzlarını yakalamayı başardıklarında özellikle göğüs, kolon, prostat kanseri gibi kanser oranlarının çok daha yüksek olmasına neden olacaktır [142].

Sağlık Bakanlığı Kansere Savaş Dairesi Başkanlığı, ülkemizde ortaya çıkan kanser olgularının erken saptanması ve kanser ölümlerini azaltmak için Kansere Erken Teşhis Tarama ve Eğitim Merkezlerini (KETEM) kurmuştur. Bu amaç doğrultusunda bu merkezlerde meme, serviks, prostat ve kolorektal kanserlerin taramaları yapılmaktadır. Kansere taramalarında 2013 yılında KETEM’lerde her üç kansere karşı toplamda 500 bin kanser taraması ile 800 bin kadın ve erkeğe de kolorektal kanser taraması yapılmıştır [143]. Yeni yayımlanan Dünya Kansere İstatistiklerine göre ölüm nedenleri arasında kanser ilk sırada yer almaktadır. Dünyada toplam 14,1 yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kansere bağlı ölüm olmuştur. Kansere seyirleri benzer devam ederse 2030 yılına gelindiğinde yıllık 22 milyon yeni vaka ortaya çıkması beklenmektedir. 2014 Yılı erkeklerde (Şekil 2.14) ve kadınlarda (Şekil 2.15) en sık görülen kanser türlerinin yaşa bağlı değişimi aşağıda gösterilmiştir [144].



Şekil 2.14. Erkeklerde en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standartize edilmiş hızları tipleri (Dünya standart nüfusu, 100 000 kişide) [145]



Şekil 2.15. Kadınlarda en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standartize edilmiş hızları tipleri (Dünya standart nüfusu, 100 000) [145]

2.5.5. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar

Kanser kemoterapisinin amacı kanserli hastaların normal hücrelerine zarar vermeden kanserli hücrenin çoğalmasını durdurmak veya bu hücreleri yok etmektir. Antineoplastik ilaçların kanser hücresine karşı olan seçiciliği, antibiyotiklerin bakteri hücresine karşı seçiciliklerinden daha azdır. Çünkü malign hücre ile normal insan hücresi arasında kalitatif açıdan fazla fark yoktur. Fark daha çok kantitatif yöndedir. Antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi hızlı çoğalan normal hücreleri de yok eder. İşte bu yüzden birçok kanser ilacının normal hücre ve kan dokusu üzerinde yan etkisi vardır [146]. Çizelge 2.5'te bazı kemoterapötik ajan ve etki mekanizmaları verilmiştir.

Çizelge 2.5. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar ve etki mekanizmaları [147]

Sınıf/Etki Mekanizması	Kemoterapötik Ajanlar
Alkilleyici Ajanlar Hücre siklusuna özgü değillerdir. DNA'nın çift sarmalını parçalarlar. RNA, protein ve DNA sentezini baskılar.	Busulfan Chlorambucil Cyclophosphamide Cisplatin Carboplatin
Antimetabolitler Hücrenin S fazına etkilidirler. DNA sarmalını kırarak veya prematür zinciri solandırarak DNA sentezi için gerekli enzimlerin üretimini baskılar.	Cytarabine Capecitabine Gemcitabine Floxuridine
Antitümör Antibiyotikler Hücre siklusuna özgü değillerdir. Nükleik asit sentezi ve işlevini değiştirerek RNA ve DNA sentezini baskılar.	Bleomycin Dactinomycin Plicamycin
Nitrosurealar Hücre siklusuna özgü değillerdir. DNA replikasyonu ve onarımını engellerler.	Streptozocin Carmustine Lomustine
Antitübülin ajanlar Hücrenin M fazına etkilidirler. RNA ve protein sentezini baskılar.	Vinblastine Topotecan Docetaxel
Hormonlar Tümörü doğrudan etkilerler ya da tümörü besleyen vücut hormonlarını baskılar.	Androjen Östrojen Kortikosteroidler
Sınıflandırılmayanlar Hücrenin S fazına etkilidir.	Amsacrine Hydroxyurea

Antineoplastik (sitotoksik) ajanlar

Moleküler olaylar sonucunda çeşitli makromoleküllerin sentezlenememesi ile hücrenin yapı ve fonksiyonlarında hasar oluşmasına sitotoksikite denir [148, 149, 150]. Kanser ilaçlarının çoğu, etkilerini kanser hücresinin proliferasyon ve bölünme fazlarını etkileyerek gösterirler. Bazı kemoterapi ajanları, bazı spesifik kanser hücrelerine etkiliyken diğer kanser hücrelerinde etkileri sınırlı olabilir. Bu nedenle farklı sitotoksik maddelerin, farklı hücrelerdeki etkilerinin tam olarak aydınlatılması oldukça önemlidir. Her sitotoksik

maddenin etki alanı ve mekanizması da farklıdır [151]. Antikanser ilaçlar genel olarak etki mekanizmalarına göre alkilleyici ajanlar, antitübülin ajanlar, antimetabolitler, moleküler hedefli ajanlar, hormonlar, monoklonal antikörler olarak ayrılırlar.

Antimetabolitler

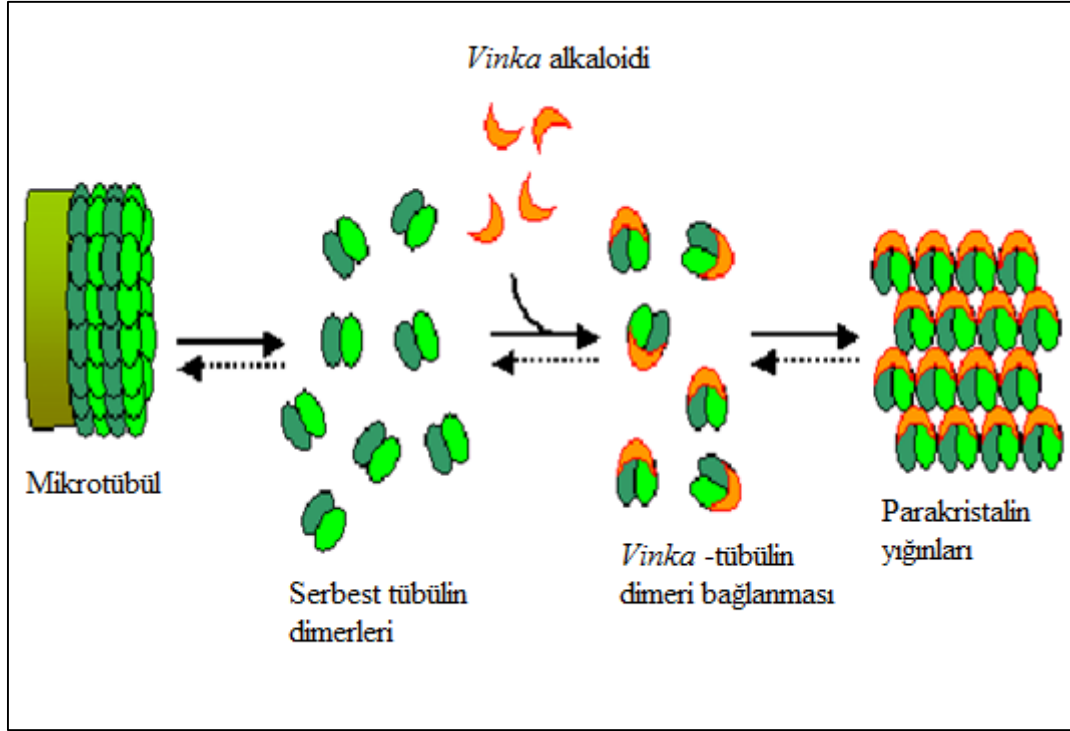
Antimetabolitler DNA, RNA ve diğer hücre bileşenlerinin sentez zincirinde farklı basamaklarında substrat ya da koenzim olarak rol alan farklı metabolitlerin analoglarıdır. Bu yüzden substratı kullanan enzimler üzerinde kendilerine özgü bağlanma noktalarına karşı onlarla yarışarak bağlanmalarını inhibe ederler. Bazıları da substratla katalitik noktaya karşı yarışa girmeden sadece düzenleyici doğal metabolit ile enzimin allosterik bölgesine karşı yarışır. Diğerleri ise herhangi bir yarışma olmadan direk aktif noktalara kovalent olarak bağlanır metabolit sentezi ile ilgili geri dönüşümsüz olarak inhibe ederler. Antimetabolitler döneme özgüdürler ve çoğalma fraksiyonu yüksek tipteki tümörlerde etkilidirler [152].

Antitümör antibiyotikler

Bu grupta çeşitli mikroorganizmalardan elde edilen antibiyotik niteliğinde antineoplastik ilaçlar bulunur. Hücre siklusuna uygun olmayan ilaçlar olarak kabul edilmektedirler ve DNA, RNA ve protein sentezini etkilerler. Farklı malign tümörlerin tedavisinde kullanılırlar [153].

Antitübülin ajanlar

Bu ajanlara en iyi örnek olarak *Vinca* alkaloidi örnek olarak gösterilebilir. Bu alkaloidler *Catharanthus roseus*'lardan üretilirler. Bu grubun ana üyeleri vinblastin, vinkristin ve vindesindir. Bu etki mekanizmasında ilaçlar tübüline bağlanarak mikrotübüllerin polimerizasyonlarını durdudurular. Sonra hücre bölünmesinin metafaz fazında ortaya çıkan iğ oluşumunu durdururlar. Buna ek olarak lökosit fagositozu, kemotaksisi ve nöronlardaki aksonal iletim gibi diğer hücresel aktivitelere de etki ederler [153]. Şekil 2.16'da *vinca* alkaloidinin tübülin dimerine bağlanması ile mikrotübül depolimerizasyonu verilmiştir.



Şekil 2.16. *Vinka* alkaloidi ile mikrotübül depolimerizasyonu [154]

Hormonlar

Hormon üreten dokulardan (meme, uterus, prostat bezi) kaynaklı tümörler hormon bağımlı olabilirler. Bunlar hormon antagonistleri ile önlenebilirler. Hedef dokuda inhibitör etkiye sahip hormonlar bu dokuların tedavisinde kullanılabilir. Bu hormonlar tek başlarına nadir olarak etki ederler ancak tümörün büyümesini geciktirici etkileri vardır [153]. Uzun süreli kullanılan hormonlar karsinojenik özellikte olabilirler. Özellikle menapoz sonrası dönemde yaygın olarak östrojen kullanımının endometrial kanserle ilişkili olduğu bilinmektedir [155].

Monoklonal antikorlar

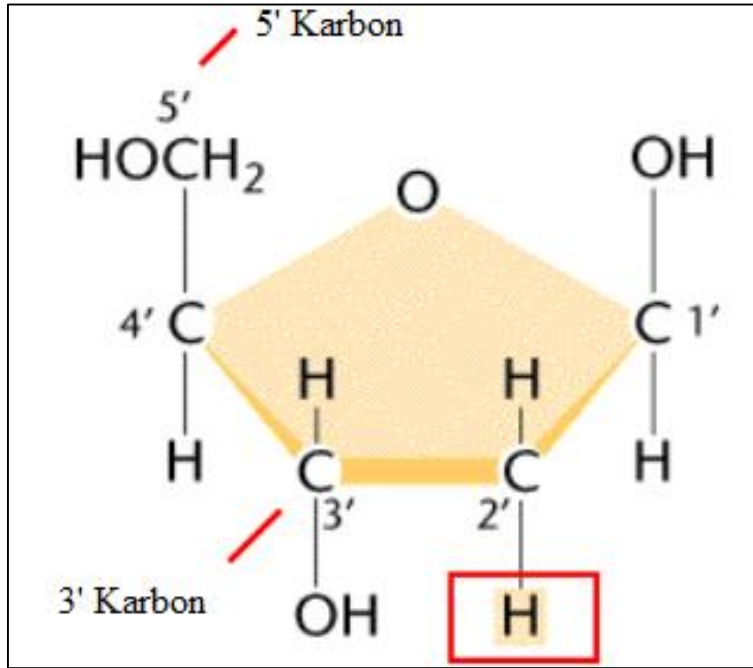
Kültürlerde hibridoma hücreleri tarafından üretilirler ve kanser hücresi olarak tanımlanan hedef hücrelerle reaksiyona giren molekül tiplerinden biridir. Bazı olgularda antikor hedefiyle bağlanarak konağın immün mekanizmasını aktive eder ve lizis ya da T hücreleri tarafından öldürülür. Bunların dışında olan başka monoklonal atikorlar kanser hücrelerindeki inaktif büyüme faktörüne bağlanarak apoptozu başlatırlar. Geleneksel ilaçlar ile kombine olarak kullanılırlar [153].

2.6. DNA

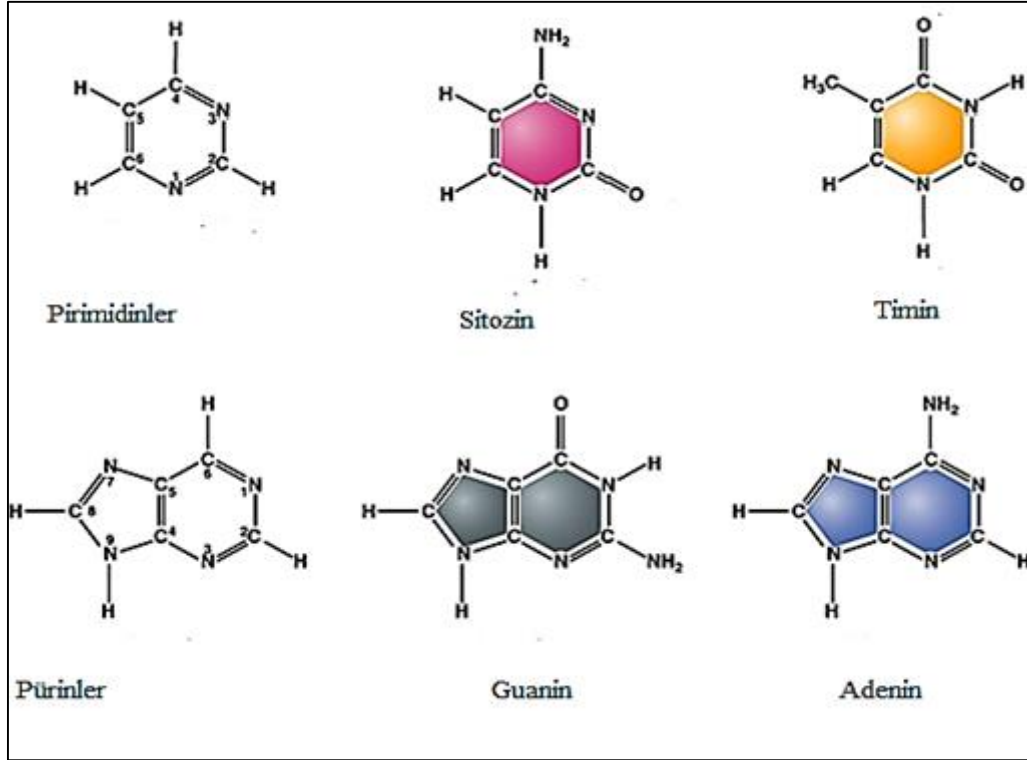
2.6.1. DNA molekülünün yapısı

DNA hücrede beslenme, solunum, üreme gibi temel biyolojik faaliyetleri yöneten yönetici moleküldür. Gelişmiş canlılarda çekirdekte bulunurken ilkel canlılarda ise sitoplazmada bulunur. DNA molekülünde kalıtsal özelliklerimizi belirleyen genler yer almaktadır ve bir DNA molekülü çok sayıda nükleotitten oluşur. Nükleotitler genleri, genler DNA'yı ve DNA ise kromozomları oluşturur [156].

DNA'nın yapısı 1953 yılında James Watson ve Francis Crick tarafından açıklanmıştır. Bu molekülün yapısında beş karbonlu bir şeker (deoksiriboz) (Şekil 2.17), fosfat grubu ve azotça zengin baz olan pürin (A:Adenin, G:Guanin) ve pirimidin (T:Timin, C:Sitozin) bazlarından oluşur (Şekil 2.18).

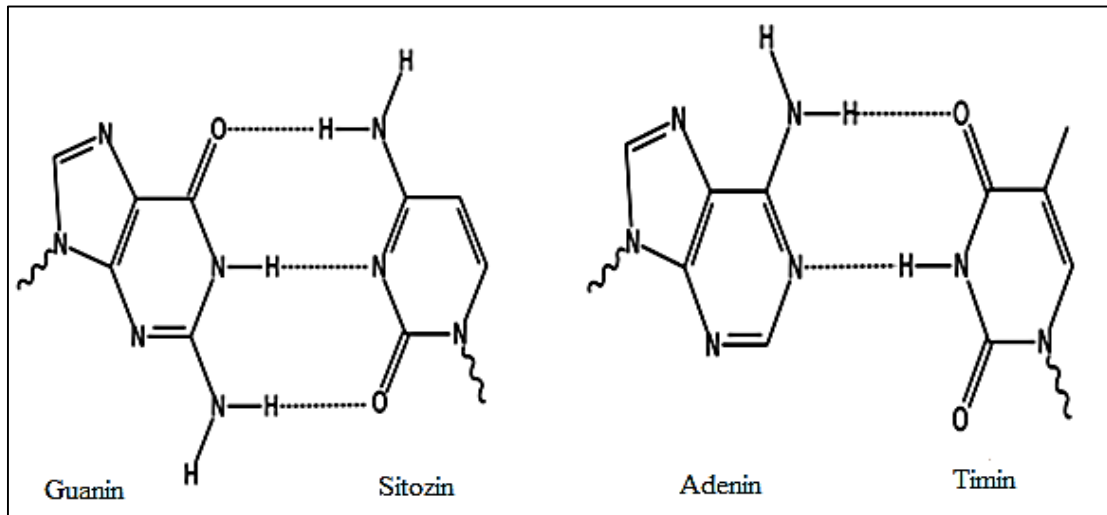


Şekil 2.17. Deoksiriboz şekeri yapısı [157]



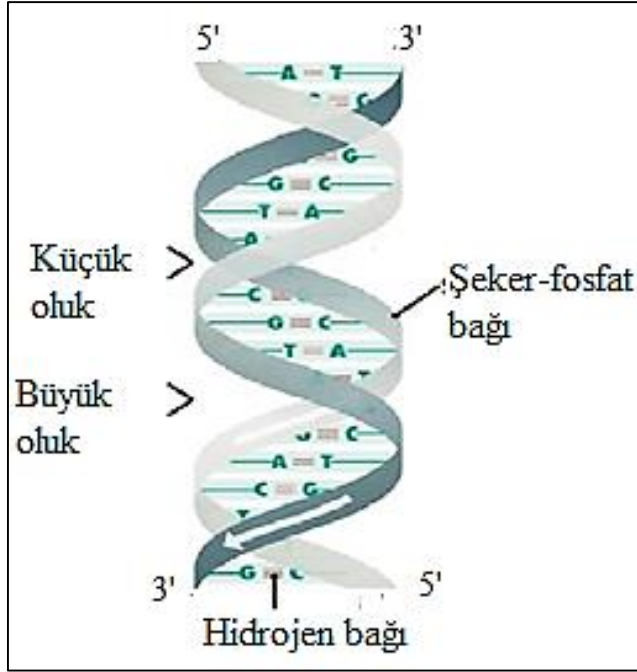
Şekil 2.18. DNA’da bulunan pürin ve primidin bazlarının yapısı [157]

DNA molekülleri 5’ ucundan 3’ ucuna doğru şeker-fosfat omurgasından oluşan iki zincirin birbiri eksenini etrafında antiparalel olarak sarılmasıyla oluşan çift sarmal yapıdır. Bir DNA zincirinde adenin bazı karşı zincirdeki timinle, guanin bazı ise karşı zincirdeki sitozin molekülü ile hidrojen bağı yapar. Adenin ve timin arasında iki tane hidrojen bağı oluşurken guanin ve sitozin bazı arasında üç tane hidrojen bağı oluşur (Şekil 2.19).



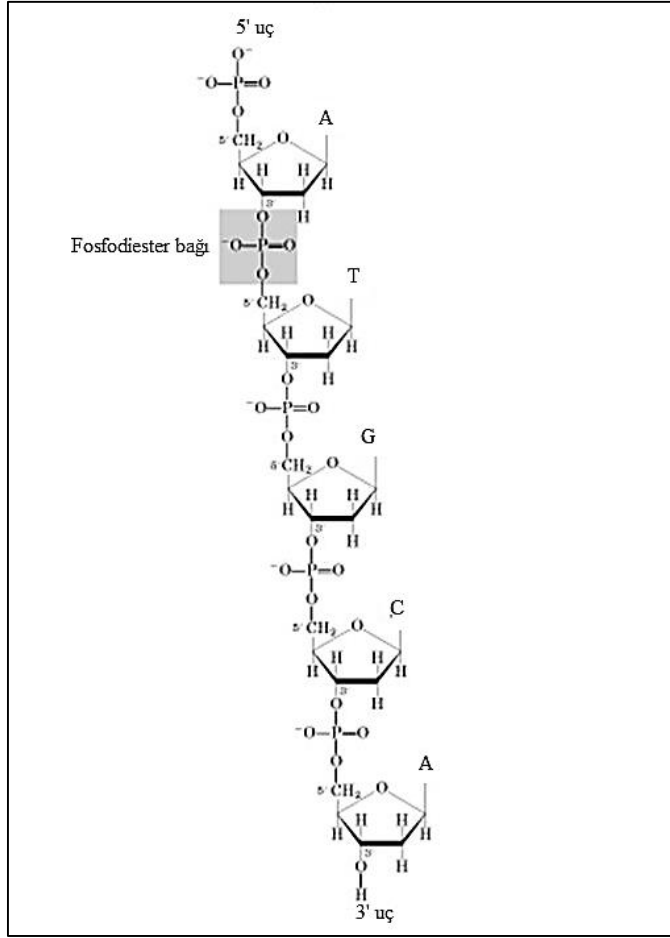
Şekil 2.19. DNA molekülünde baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları [158]

DNA molekülünün farklı formları vardır. Ancak en sık rastlanan formu B DNA'dır. Burada molekülün hidrofilik kısmında şeker ve fosfat molekülleri bulunurken, hidrofobik kısmında ise azotlu bazlar heliks eksenine dik olarak yerleşmiş bir halde bulunur. Bu yerleşim molekülde büyük (majör) ve küçük (minör) olukları ortaya çıkarır [158]. (Şekil 2.20)



Şekil 2.20. Watson-Crick DNA modeli [157]

Bir DNA zinciri oluşurken ilk önce şekerin 1' karbonuna baz kovalent olarak bağlanır ve nükleositi oluşturur. Sonra bu şekerin 5' karbonuna fosfat grubu kovalent olarak bağlanınca nükleosit nükleotit adını alır. Nükleotitler kondensasyon reaksiyonları ile polimerleşerek bir zincir oluşturur. Bir nükleotiddeki şekerin 3' karbonunda bulunan hidroksil grubu diğer nükleotitin fosfat grubu ile birleşerek ester bağı oluşturur. Yan yana bu iki nükleotidi bağlayan bu bağa fosfodiester bağı denir (Şekil 2.21) [156].



Şekil 2.21. Nükleik asit zinciri [157]

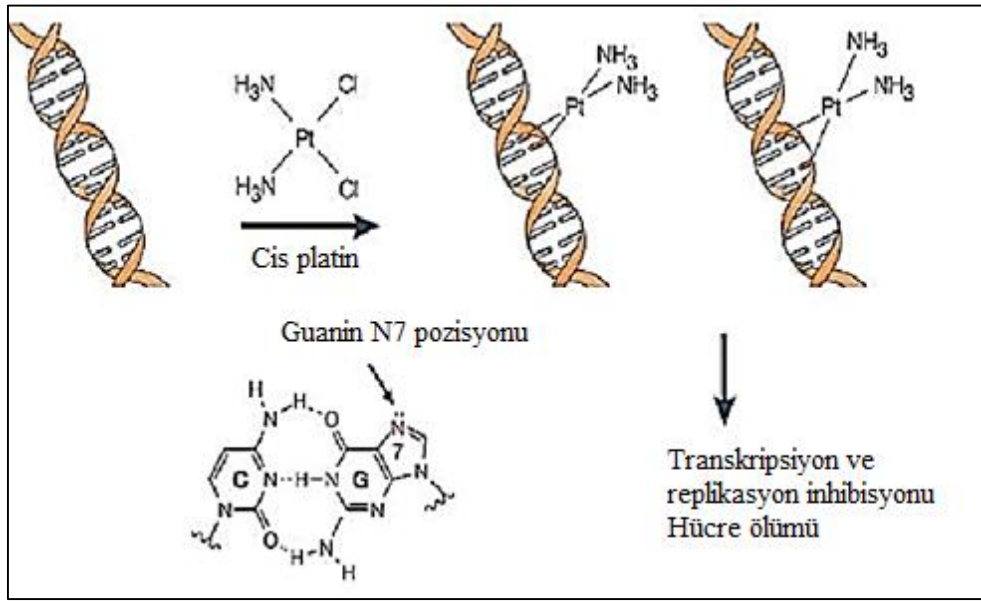
2.6.2. DNA ile interaksiyona giren ilaçların etki mekanizması

İlaçların DNA ile etkileşimi, ilaç keşfi ve farmasötik geliştirme süreçlerinde biyolojik çalışmaların en önemli yönü arasındadır. DNA bağlarının tanınması farklı etkileşimli kuvvetlerin karmaşık bir ilişkisini içerir [159, 160]. Ortaya çıkan ilaç-DNA etkileşim kompleksi bir takım kovalent olmayan (van der Waals etkileşimleri, hidrofobik kuvvetler ve hidrojen bağları gibi) ve kovalent etkileşimlerle (cis-platin) dengelenir. İlaç gibi küçük moleküller DNA ile etkileşime girebilir veya DNA ile bağlanabilir ve bu etkileşimler, etki mekanizmaları ile sınıflandırılabilir. [161].

Kovalent etkileşimler ile bağlanma

Bu tip bağlanmada moleküller DNA'ya geri dönüşümsüz olarak bağlanırlar ve DNA'nın replikasyon, transkripsiyon, DNA, RNA, protein sentezi gibi işleyiş süreçlerinin tümünü bozarak hücreyi ölüme götürürler [162, 163]. Cis-platin (cis-diaminokloroplatinum,

CCDP) bilinen en iyi kovalent bağlayıcı antikanser ilaçlardır. Cis-platin hücrede DNA molekülüne bağlanırken DNA üzerinde nükleofilik alanlar ile reaksiyona giren pozitif yüklü platin kompleksleri oluşumuna neden olur. Oluşan bu kompleksler DNA’da iplik içi veya iplikler arası çapraz bağ yaparlar ve DNA molekülüne kovalent olarak bağlanırlar. Oluşan bu çapraz bağların büyük bir kısmı zincir içinde ve iki guanin molekülü arasında olmaktadır (Şekil 2.22). İleri düzeydeki formları sonucu oluşan zincirler arası çapraz bağları ise DNA’da bükülmelere neden olur [164, 165].



Şekil 2.22. DNA-cisplatin ilişkisi [166]

Alkilleyici ajanlar

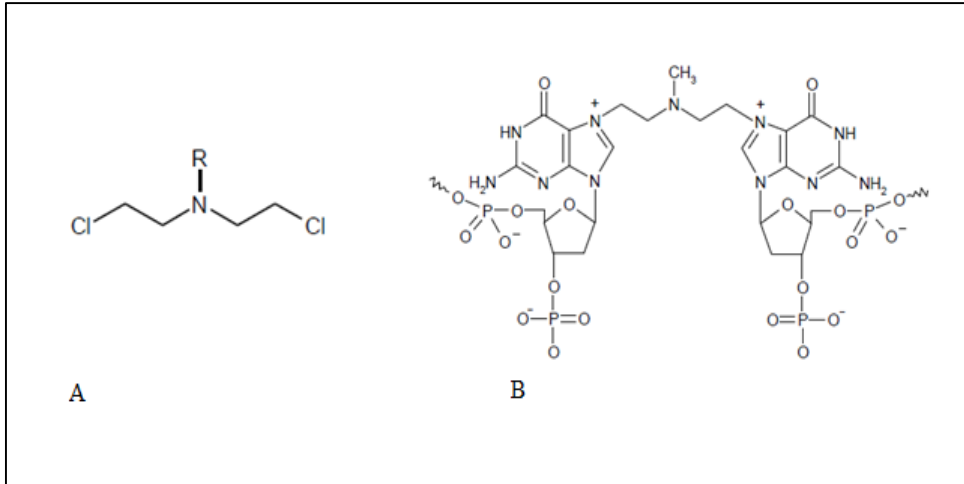
Bu ajanların en önemli farmakolojik etkisi, DNA sentezini ve hücre bölünmesini bozarak hücre çekirdeğini, DNA ve RNA sentezini etkilemesidir. Bu ilaçların hızlı bölünen dokularda DNA bütünlüğü ve fonksiyonlarına etki etme ve hücre ölümünü uyarma kapasiteleri bu ajanların tedavi edici ve toksik özelliklerinin temelini oluşturur [167].

Alkilleyici ajanlar üç mekanizma ile etki gösterirler:

1. DNA bazlarına alkil grupları bağlayarak DNA’yı parçalarlar.
2. DNA çift sarmalı ve atomları arasındaki bağları parçalayarak DNA’nın bağlanma bölgelerine sahip alkilleyici ajan iki bazın yeniden birbirine bağlanmasına yol açar. Kimyasal bileşiklerin çoğu alkilleyici ajan olarak davranarak antitümör özellik gösterirler.
3. Yanlış eşleşen nükleotitler mutasyona yol açar.

Bu ajanlar DNA'ya kovalent olarak alkil grubu bağlar ve DNA'da yapısı bozulan hücrelerin apoptoza gitmesini sağlayarak etki gösterirler. Tüm alkilleyici ajanlar kemik iliği fonksiyonlarını baskılayarak gastrointestinal rahatsızlıklara neden olurlar. Uzun süreli kullanımda gametogenezin baskılanmasıyla özellikle erkeklerde kısırlık, non-lenfositik lösemi riski artar [168].

Kanser tedavisinde en önemli alkilleyici ajanlar azot hardalları, etilaminler, metanosülfonik asit esterleri ve platin kompleksleridir. Azot hardalları bisfonksiyonel alkilleyici ajanlardır. Yani iki tane elektrofilik kısımları vardır. DNA bazlarını zincir içi veya zincirler arası bağlayabilirler. Azot hardalları komşu iki guanin bazını N-7 pozisyonundan alkilleyerek iki zinciri birbirine bağlayabilirler (Şekil 2.23) [153].



Şekil 2.23. Azot hardalı ve bağlanma yapısı. (A) Azot hardalı ($\text{R}=\text{CH}_3$), (B) Azot hardallarının neden olduğu çapraz bağlanma [168]

Kovalent olmayan etkileşimler ile bağlanma

Bu tip bağlanmalar DNA ile geri dönüşümlü olarak bağlanırlar. DNA'nın konformasyonu ve torsiyon potansiyelini değiştirirler, protein-DNA etkileşimi engellerler. Böylece DNA sarmallarını kırarak gen yapısında deformasyona yol açarlar [169]. Kovalent olmayan bağlanmalar büyük ve küçük oluğa bağlanma, interkalasyon ve elektrostatik etkileşimler olmak üzere üçe ayrılır:

DNA oluklarına bağlananlar

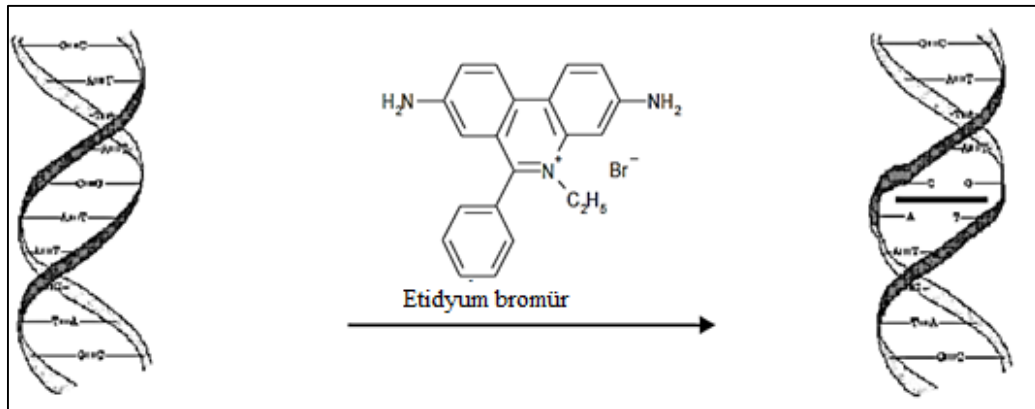
DNA sarmalının büyük ve küçük olukları ile etkileşen moleküller genellikle bu olukları tamamlayacak hilal şeklindedirler ve buraya van der Waals bağı ile bağlanırlar. Adenin N3 ve Timinin ise oksijen atomları ile hidrojen bağı oluştururlar. Örnek olarak bazı sentetik leksitropin ve imidazol-pirol poliamit türevleri verilebilir. Genellikle küçük moleküller DNA'nın küçük oluğuna bağlanırlar. Duocarmycin, Netropsin ve Distamycin DNA oluğuna bağlanan antikanser antibiyotiklerdir [170].

Elektrostatik etkileşimler

Bu tip bağlanma şeklinde elektrostatik yapı ön plandadır. Nükleik asitin negatif yüklü olan şeker-fosfat omurgasına molekülün elektrostatik bir şekilde bağlanmasıdır. Örnek olarak Rutenyum (II) 'nin DNA'ya bağlanması verilebilir. Bu bağlanma spesifik bir bağlanma değildir [170] .

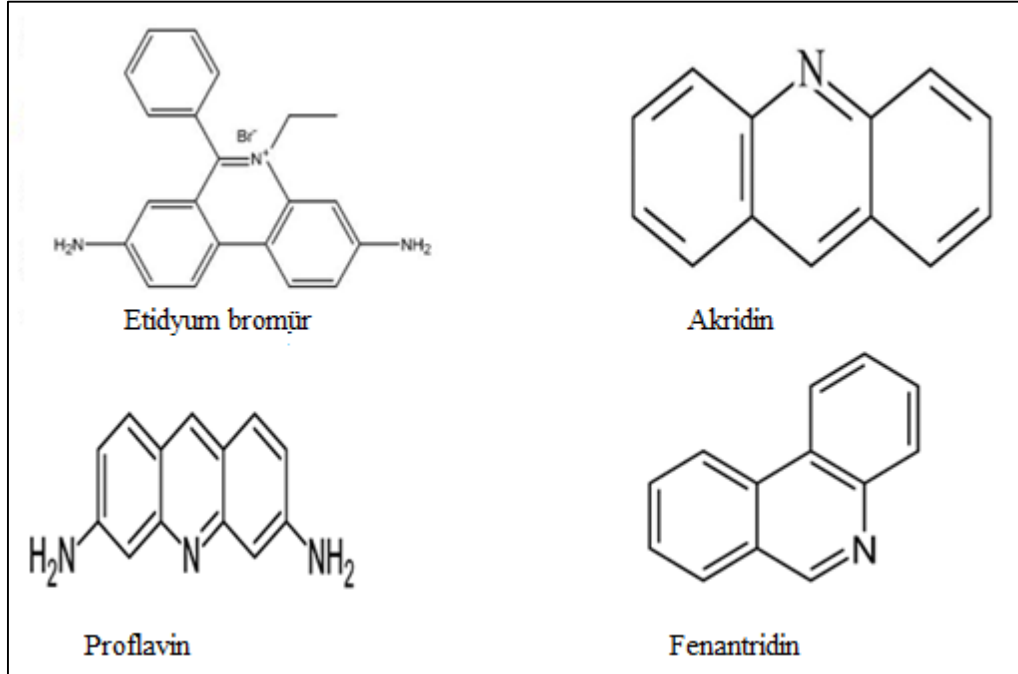
Araya girme (interkalasyon)

Bir molekül veya grubun iki molekül veya grup arasına tersinir halde girmesine interkalasyon adı verilir. Bu etkileşim tipi DNA'da zincir kırıkları oluşturur ve DNA sentezini ve DNA'ya bağımlı RNA sentezini engeller. Eğer molekülün şekli ve kimyasal yapısı uygunsa DNA'nın baz çiftleri arasına girer (Şekil 2.24) ve DNA'ya tersinir bağlandığından ligand denir.



Şekil 2.24. Etidyum Bromürün B-DNA'ya interkalasyonu [170]

İnterkalasyon yapan ligandlar genellikle çok halkalı, aromatik ve düzlemseldirler. Bu sebeple nükleik asitlerin boyanmasında kullanırlar. Etidyum bromür, proflavin, akridin, fenantridin örnek verilebilir (Şekil 2.25) [170].



Şekil 2.25. Polisiklik aromatik halkalardan oluşan bazı DNA interkalatörleri [171]

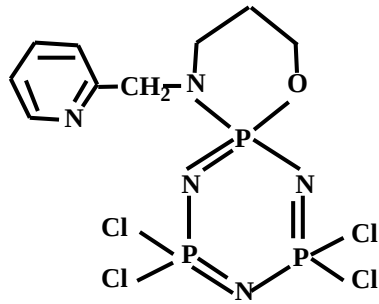
İnterkalatörlerle biyolojik moleküllerin etkileşimi sonucunda oluşan fiziksel değişiklikler UV, floresans gibi yöntemlerle görüntülenmesi bu moleküllerin yapı ve fonksiyonlarının belirlenmesinde önemli olmuştur. Özellikle DNA'ya interkalasyon ile bağlanan floresans interkalatörler DNA'yı görüntülemekte ve interkalatör temelli ilaç tasarlamada önemlidirler. Kovalent olmayan interaksiyonlar ile DNA'ya bağlanan floresans interkalatörler tümör hücrelerinin etrafında toplanırlar ve onların çoğalmalarını engellerler [171].

3. MATERYAL VE METOD

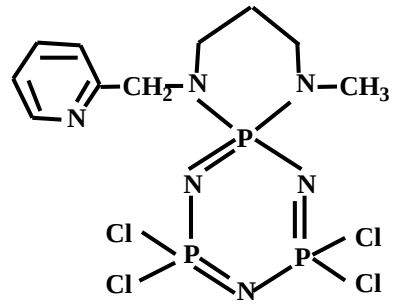
3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan bileşikler

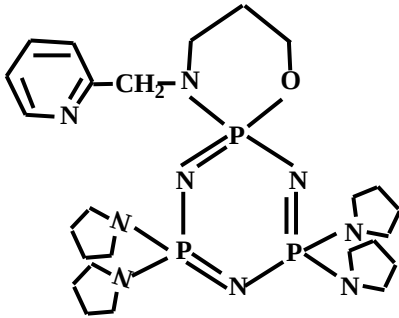
Araştırma materyali olarak kullanılan trimerik fosfazen bileşikleri Ankara Üniversitesi Kimya Bölümünde Prof. Dr. Zeynel KILIÇ ve Araş. Gör. Dr. Gamze EGEMEN ELMAS tarafından sentezlenmiştir. GT1, GT2, GT3, GT4, GT5, GT6, GT7, GT8, GT9, GT10, GT11, GT12, GT13, GT14, GT15, GT16 kodlu 16 farklı fosfazen bileşiği sentezlenmiştir. Bu bileşikler çalışmaya başlanmadan önce 4000 μ M konsantrasyon olacak şekilde Dimetil Formamit (DMF) içerisinde çözülmüş ve 0,2 μ m (mikrometre) por çaplı enjektör ucu filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Çalışmada kullanılan bileşiklerin açık kimyasal yapısı aşağıda verilmiştir (Şekil 3.1).



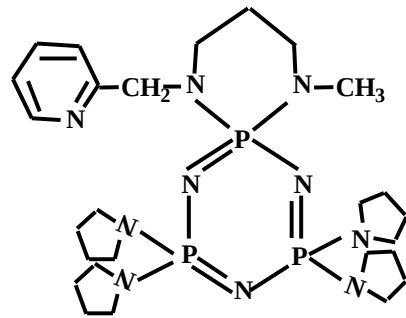
NO donörlü kısmen süstitüe trimerik fosfazen (GT1)



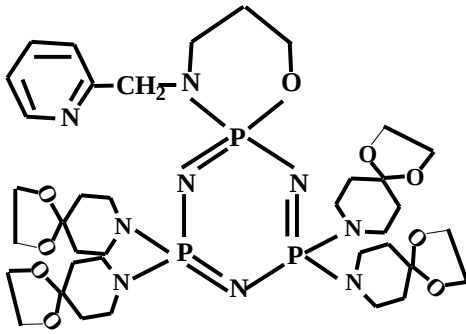
NN donörlü kısmen süstitüe trimerik fosfazen (GT2)



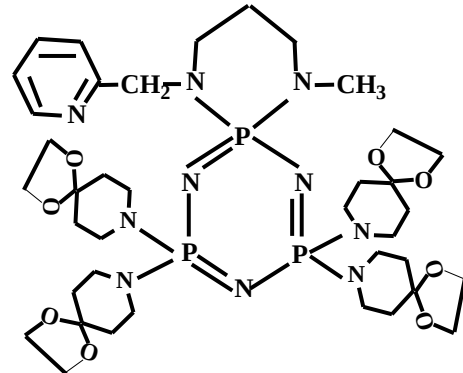
NO donörlü tamamen pirolidin süstitüe trimerik fosfazen (GT3)



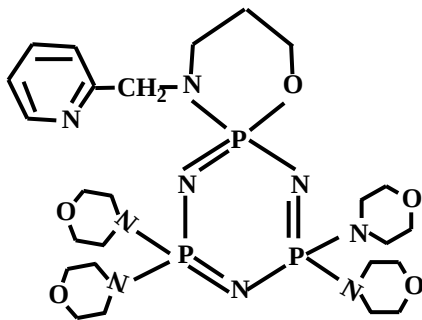
NN donörlü tamamen pirolidin süstitüe trimerik fosfazen (GT4)



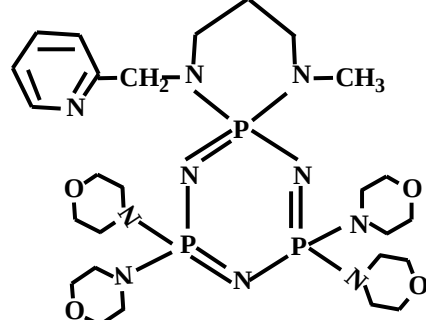
NO donörlü tamamen DASD süstitüe trimerik fosfazen (GT5)



NN donörlü tamamen DASD süstitüe trimerik fosfazen (GT6)

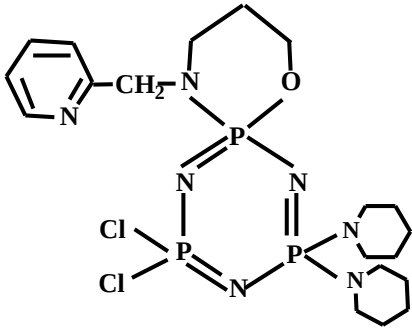


NO donörlü tamamen morfolin süstitüe trimerik fosfazen (GT7)

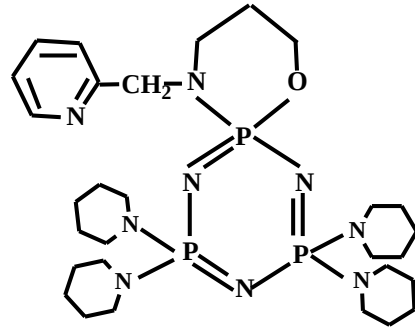


NN donörlü tamamen morfolin süstitüe trimerik fosfazen (GT8)

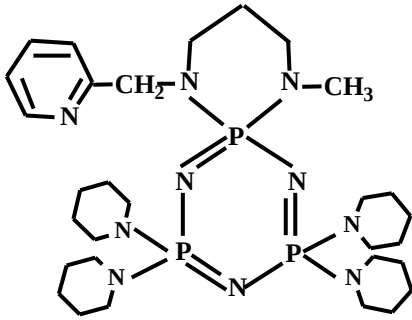
Şekil 3.1. Bileşiklerin açık yapısı



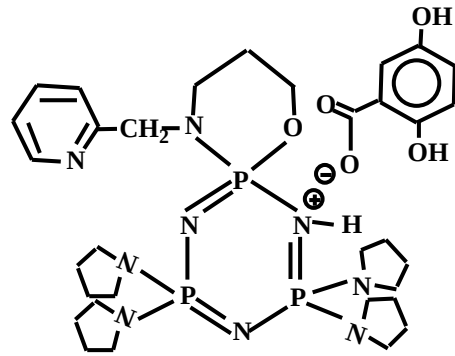
NO donörlü kısmen piperidin süstitüe trimerik fosfazen (GT9)



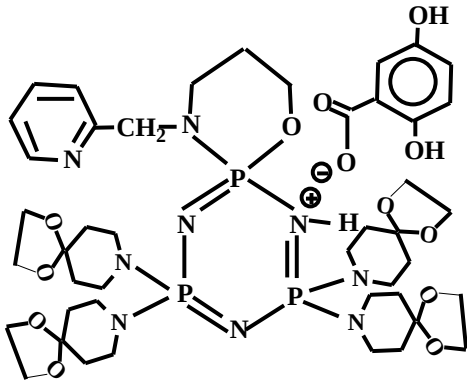
NN donörlü tamamen piperidin süstitüe trimerik fosfazen (GT10)



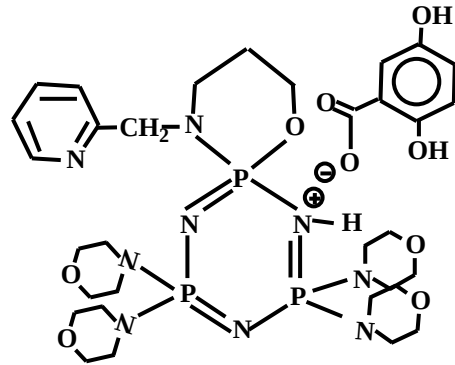
NN donörlü tamamen piperidin süstitüe trimerik fosfazen (GT11)



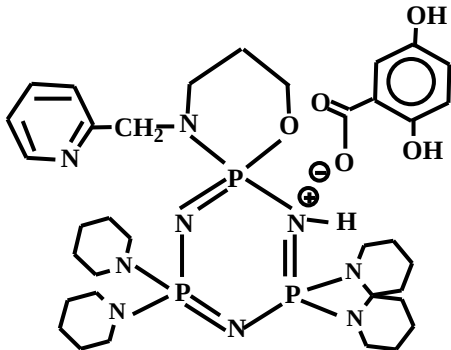
NO donörlü tamamen pirolidin süstitüe gentisik asit fosfazenyum tuzu (GT12)



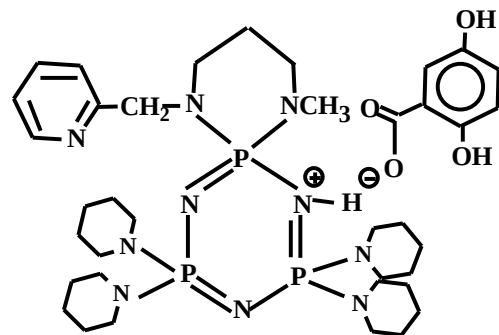
NO donörlü tamamen DASD süstitüe gentisik asit fosfazenyum tuzu (GT13)



NO donörlü tamamen morfolin süstitüe gentisik asit fosfazenyum tuzu (GT14)



NO donörlü tamamen piperidin süstitüe gentisik asit fosfazenyum tuzu (GT15)



NN donörlü tamamen piperidin süstitüe gentisik asit fosfazenyum tuzu (GT16)

Şekil 3.1. (devam) Bileşiklerin açık yapısı

3.1.2. Kullanılan mikroorganizmalar

Yapılan çalışmada kullanılan patojen bakterilerden *Bacillus cereus* NRRL-B 3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 2912, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 Gram pozitif bakterilerdir. *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* RSSK 96029, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Gram negatif bakterilerdir. Patojen mayalar olarak *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida tropicalis* NRRL Y-12968 kullanıldı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Biyolojik aktivite çalışmasında kullanılan mikroorganizmalar

Mikroorganizma	Besiyeri	Sıcaklık	Durumu
<i>Bacillus cereus</i> NRRL-B-3711 (G+)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 (G+)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 (G+)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790 (G+)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 13883 (G-)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Proteus vulgaris</i> RSSK 96090 (G-)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (G+)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 (G-)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Proteus vulgaris</i> RSSK 9690 (G-)	Nutrient agar	37 °C	Patojen
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Sabouraud dekstroz agar	30°C	Patojen
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	Sabouraud dekstroz agar	30°C	Patojen
<i>Candida tropicalis</i> NRRL Y-12968	Sabouraud dekstroz agar	30°C	Patojen

3.1.3. Kullanılan hücre hatları

MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi; L929 fibroblast hücre hatları ise ŞAP Enstitüsü hücre kültürü bankasından temin edilmiştir.

3.1.4. Biyolojik aktivite çalışmaları için kullanılan çözeltiler

Bileşiklerin stok çözeltisi hazırlanırken sentezlenen GT1,GT2, GT3,GT4, GT5, GT6, GT7, GT8, GT9, GT10, GT11, GT12,GT13, GT14, GT15, GT16 bileşikleri 11 mililitre DMF (dimetil formamit) içinde çözülerek 4000 μ M (mikromolar) stok çözeltileri hazırlandı.

Antimikrobiyal aktivite için kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

- Muller Hilton Agar (Merck),
- Malt Extract Agar (Merck),
- NaCl (Sodyum klorür) (Merck),
- Distile su,
- DMF (Dimetil formamit) kullanılır.

DNA- madde etkileşimi için kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

- Tris (Merck)
- Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) (Merck)
- TE tamponu
- Agaroz (Appllichem)
- TAE (Tris asetat tamponu)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Etanol (Merck)
- Sükroz (sigma)
- Bromfenol mavi (Merck)
- Ksilen siyanol (Merck)

Sitotoksik aktivite için kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

- DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium)
- %10 L-glutamin
- Fetal calf serum (FCS)

- %1 antibiyotik içeren besiyeri
- Tripsin-EDTA
- DMSO (Dimetil sülfoksit)

3.1.5. Kullanılan malzemeler, aletler, cihazlar

Petri kapları (90x15mm) (LP Italiana), mikropipet uçları (LP Italiana), mikrosantrifüj tüpleri (LP Italiana), şırınga ucu filtre (0,45 µm) (sartorius), hücre kültür kapları (corning), erlen, beher, mezür, drigalski spatülü, halka uçlu öze, pamuk, 10 cc şırınga, 96 kuyucuklu mikrolaka, farklı hacimlerde mikropipetler, otoklav, etüv, kit saklama dolabı (+4 °C) (Sanyo), derin dondurucu (-30 ve -80 °C) (sanyo), jel görüntüleme cihazı (Biometra), güç kaynağı, steril kabin, santrifüj, yatay elektroforez sistemi, vorteks, lateks eldiven, mikrodalga fırın (vestel).

3.1.6. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Serum fizyolojik: %0,09 oranında NaCl distile su içinde çözülerek hazırlandı ve 121 °C ve 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklavda steril edildi.

Besiyerleri: Üretici firmanın önermiş olduğu miktarda besiyerleri distile su içinde çözülerek 121 °C’de ve 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Otoklavdan çıkan katı besiyerleri 45 °C’ye kadar soğutulduktan sonra aseptik koşullarda 15-20 mL hacmindeki steril petri kaplarına döküldü. Besiyeri katılaştıktan sonra 1 gece etüvde bekletilerek sterilizasyon kontrolü yapıldıktan sonra çalışmada kullanıldı.

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

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

Agaroz jel: %1 oranında agaroz 1 X TAE içine alınır ve mikrodalga fırında agaroz eriyene kadar kaynatıldı. Sonra bir süre jelin soğuması beklenerek jel tabağına dökülür ve jelin donması beklenir.

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

Etidyum bromür: 10 mg/mL derişimde hazırlanmış ve koyu renkli şişelere konuldu.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için agar kuyucuk difüzyon yöntemi; MİK (minimal inhibitör konsantrasyon), MBK (minimal bakterisidal konsantrasyon) ve MFK (minimal fungusidal konsantrasyon) değerlerinin belirlenmesi için mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı.

Kuyu difüzyon yöntemi

Bileşiklerin çeşitli patojen mikroorganizmalar gösterdiği antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için kuyu difüzyonu yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde mikroorganizmalar kendileri için uygun besi ortamında aktifleştirilerek steril serum fizyolojik içinde MacFarland 0,5 bulanıklılık standartına ayarlandı. İçinde 20 mL besiyeri olan (bakteriler için nutrient agar, mayalar için sabouraud dektroz agar) petrilere 100 µl (mikrolitre) mikroorganizma eklenerek yayma ekim yapıldı. Steril delgeçle besiyerinde 6 mm çapında kuyular açıldı. Daha sonra bu kuyulara 4000 µM konsantrasyondaki bileşiklerden 50 µl eklendi. Petriler, bakteriler için 37 °C 'de 24 saat ve mayalar için 25°C'de 48 saat etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda kuyular etrafında oluşan zon çapları ölçülerek sonuçlar mm cinsinden kaydedildi.

Mikrodilüsyon yöntemi

Kuyu difüzyon yönteminde her üç kuyuda da antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), minimum fungusidal konsantrasyon (MFK), minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. Bu yöntemde mikroorganizmalar 96 kuyulu mikropatlara bakteriler için nutrient broth ve mayalar için sabouraud dekstroz broth kullanılarak 2000-15,6 µM aralığında 8 farklı konsantrasyonda seyreltilti. MacFarland 0,5 bulanıklılık standartına

ayarlanan mikroorganizmalar serum fizyolojikle 1/10 oranında seyreltilerek kuyucuklara aktarıldı ve mikropipler inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda mikroorganizmaların gelişiminin durduğu konsantrasyon MİK değeri, mikroorganizmaların tamamen canlılığın durduğu konsantrasyon ise bakteriler için MBK ve mayalar için MFK değeri olarak kaydedildi.

3.2.2. Bileşiklerin DNA ile etkileşiminin belirlenmesi

4000 µM konsantrasyonda hazırlanan bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimi araştırılmıştır. Bunun için öncelikle 4 konsantrasyon olacak şekilde 4000, 2000, 1000, 500 mikromolar konsantrasyonundaki her bir bileşik plazmit DNA ile etkileşime sokularak 37 °C 'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bileşikler ile etkileşmemiş plazmit DNA jelde ilk kuyucuğa konulmuştur. İnkübasyon süresi sonunda jelde oluşan bantlar incelendi. Bunun için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanıldı.

Agaroz jel elektroforez yöntemi

İnkübasyona bırakılan bileşiklerin her biri mikropipet ile bromofenolblue boyası ile muamele edilerek 10 mikrolitre olacak şekilde %1'lik agaroz jeldeki kuyucuklara yüklenir. Daha sonra tankın kapağı kapatılarak 70 voltta 120-180 dakika yürümeye bırakılır. Daha sonra jel tanktan çıkarılarak etidyumbromür ile 2-3 dakika boyanır. En son olarak UV ışık altında BioDoc Analyze (Biometra) DNA görüntüleme cihazında görüntülenir ve JPEG formatında kaydedilir.

Restriksiyon enzimleri ile kesim yöntemi

Bu yöntemde *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile restriksiyon analizi gerçekleştirildi. Bu enzimlerden *Bam*HI DNA'nın 5'-G/GATCC-3' bölgesine bağlanırken; *Hind*III enzimi ise 5'-A/AGCTT-3' bölgesine bağlanır. Bileşiklerin DNA'ya hangi nükleotitlerden bağlandığını belirlemek için bileşik ve plazmit DNA karışımı 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile kesim için 2 saat 37 °C'de etüve inkübasyona konuldu. Daha sonra kesilmiş DNA'lar %1'lik agaroz jelle yüklenerek elektroforez işlemi TAE içinde 70 V (volt) akımda 3 saat gerçekleştirildi. Elektroforez sonucunda jel 2-3 dakika etidyumbromür ile muamele edilerek UV (ultraviyole) ışık

altında BioDoc Analyze (Biometra) DNA görüntülenme cihazında görüntülendi ve JPEG formatında kaydedildi.

3.2.3. Bileşiklerin sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi

Sitotoksik aktivitenin belirlenmesi için WST testi kullanıldı.

Fibroblast ve MDA-MB-231 hücreleri için hücre kültürlerinin hazırlanması

Normal L929 fibroblast hücreleri ve MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium) besiyeri ile L-glutamin, %10 FCS (fetal calf serum) ve %1 antibiyotik içeren flasklara konularak %5'lik CO₂ içeren karbondioksit inkübatöründe 24 saat inkübasyona bırakıldı. Hücrelerin toplanabilmesi için hücre kültürü ortamdan çıkarılır. Daha sonra hücreler tripsin-EDTA ile muamele edildi. Sonra hücreler 15 mL'lik endorf tüplerine konularak 2.500 rpm'de 2 dakika santrifüj edilir. Santrifüj edildikten sonra tüpten süpernatant kısmı uzaklaştırılarak hücreler çalışmada kullanıldı.

Sitotoksik aktivitenin belirlenmesi için WST testi yöntemi

L929 fibroblast (kuyucuk başına 5×10^3 hücre) ve MDA-MB-231 hücreleri (kuyucuk başına 5×10^3 hücre) L-glutamin ve %1 antibiyotik içeren DMEM besiyeri ile süspanse edilerek 96 kuyucuklu mikrolaklara konuldu. Sonrasında bileşiklerin 200 ve 125 µg/mL arasında değişen konsantrasyonları sağlıklı ve kanserli hücrelere uygulandı. Bu şekilde mikrolaklara %5 CO₂ içeren karbondioksit etüvünde 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa WST-1 (suda çözünür tetrazolyum tuzu) reaktifi (5 ul) ilave edildi. Bu şekilde 4 saat inkübe edildikten sonra microplate Elisa Microplate Reader'da (BioTek, ABD) 440 nm (nanometre) dalga boyunda okundu. Her bir grubun hücre yaşayabilirliği yüzdesi, kontrol hücresi yaşayabilirliğinin tanımına göre %100 olarak hesaplandı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bileşiklerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

4000 μ M konsantrasyonda sentezlenen bileşiklerin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Enterococcus faecalis* ATCC 2912 (G+), *Enterococcus hirae* ATCC 9790 (G+), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+) (Çizelge4.1) ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-) bakterilerine (Çizelge4.2.) ve *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı antimikrobiyal aktivite sonucu (Çizelge4.3) aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir.

Çizelge 4.1. Bileşiklerin Gram pozitif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivite zon çapları (mm)

	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 2912 G (+)	<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790 G (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 G (+)	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 G(+)	<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711 G (+)
Amp	27 $\pm$ 0	9 $\pm$ 1	44 $\pm$ 1	23 $\pm$ 1	-
C	20 $\pm$ 0	22 $\pm$ 1	24 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1	-
GT-1	-	-	-	10,5 $\pm$ 0,5	10 $\pm$ 1
GT-2	-	-	-	-	-
GT-3	13 $\pm$ 0	-	-	-	14,67 $\pm$ 0,94
GT-4	-	-	-	-	13 $\pm$ 0,81
GT-5	11 $\pm$ 0	-	13 $\pm$ 0	12,5 $\pm$ 0,5	13,67 $\pm$ 1,24
GT-6	12 $\pm$ 0	-	-	-	15 $\pm$ 0
GT-7	-	-	-	12,5 $\pm$ 0,5	14 $\pm$ 1,41
GT-8	-	-	-	10 $\pm$ 0	15 $\pm$ 2,16
GT-9	-	-	-	10,33 $\pm$ 1,41	11 $\pm$ 0,94
GT-10	-	-	10,67 $\pm$ 0,47	20 $\pm$ 0	14 $\pm$ 1,24
GT-11	-	-	15,33 $\pm$ 0,47	30,33 $\pm$ 0,47	30,67 $\pm$ 1,69
GT-12	-	-	-	17 $\pm$ 0,81	17,33 $\pm$ 0,47
GT-13	-	-	-	19 $\pm$ 1,63	17 $\pm$ 2,16
GT-14	-	-	16,5 $\pm$ 0,5	20,33 $\pm$ 0,94	15 $\pm$ 0,81
GT-15	-	-	11,5 $\pm$ 0,5	18,67 $\pm$ 1,24	13 $\pm$ 0
GT-16	-	-	11 $\pm$ 0	30 $\pm$ 0	19,33 $\pm$ 1,88

Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol

Bütün bileşikler, sadece *Enterococcus hirae* ATCC 9790 (G+) bakterisine karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. GT1 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı 10 ± 1 mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı $10,5 \pm 0,5$ mm çapında bir zon oluşumuna neden olurken *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (G+) ve *Enterococcus hirae* ATCC 9790 (G+) ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+) bakterilerine karşı herhangi bir zon oluşumuna neden olmamıştır. GT2 maddesi bu gram pozitif bakterilerden hiçbirine karşı zon oluşturmamıştır. GT3 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı $14,67 \pm 0,94$ mm, *Enterococcus faecalis* ATCC 2912 (G+)’e karşı 13 ± 0 mm çapında bir zon oluşturuken *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+) ve *Enterococcus hirae* ATCC 2912 (G+) bakterilerinde zon oluşumuna neden olmamıştır. GT4 maddesi sadece *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+) bakterisine karşı $13 \pm 0,81$ mm çapında bir zon oluşumuna sebep olup diğer bakterilere karşı bir zon oluşumuna neden olmamıştır. GT5 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+) bakterisine karşı $13,67 \pm 1,24$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı $12,5 \pm 0,5$ mm ve *Enterococcus faecalis* ATCC 2912 (G+)’e karşı 11 ± 0 , *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+)’ a karşı 13 ± 0 mm çapında bir zon oluşumuna neden olmuştur. *Enterococcus hirae* ATCC 2912 (G+) bakterisinde bir zon oluşumuna neden olmamıştır. GT6 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı 15 ± 0 mm, *Enterococcus faecalis* ATCC 2912 (G+)’e karşı 12 ± 0 mm çapında bir zon oluşumuna neden olurken *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+) ve *Enterococcus hirae* ATCC 2912 (G+) bakterilerine karşı bir zon oluşumu göstermemiştir. GT7 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı $14 \pm 1,41$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı $12,5 \pm 0,5$ mm çapında bir zon oluşturmıştır. GT8 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı $15 \pm 2,16$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı 10 ± 0 mm çapında bir zon oluşturmıştır. GT9 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı $11 \pm 0,94$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı $10,33 \pm 1,41$ mm çapında zon oluşumu gerçekleştirmiştir. GT10 maddesi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+)’a karşı $10,67 \pm 0,47$ mm, *Bacillus cereus* ATCC 6633 (G+)’e karşı $14 \pm 1,24$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı 20 ± 0 mm çapında zon oluşumu neden olmuştur. GT11 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı $30,67 \pm 1,69$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı $30,33 \pm 0,47$ mm, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+)’a karşı $15,33 \pm 0,47$ mm çapında zon oluşturmıştır. GT12 maddesi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı $17,33 \pm 0,47$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı $17 \pm 0,81$ mm çapında zon oluşturmıştır. GT13 maddesi *Bacillus*

cereus NRRL B-3711 (G+)’e karşı $17 \pm 2,16$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 663 (G+)’e karşı $19 \pm 1,63$ mm çapında zon oluşturmıştır. GT14 maddesi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+)’a karşı $16,5 \pm 0,5$ mm, *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı $15 \pm 0,81$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı $20,33 \pm 0,94$ mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT15 maddesi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+) ‘a karşı $11,5 \pm 0,5$ mm, *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı 13 ± 0 mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı $18,67 \pm 1,24$ mm çapında zon oluşturmıştır. GT16 maddesi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+)’a karşı 11 ± 0 mm, *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+)’e karşı $19,33 \pm 1,88$ mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+)’e karşı 30 ± 0 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.2. Bileşiklerin Gram negatif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivite zon çapları (mm)

	<i>Proteus vulgaris</i> RSSK 96029 G (-)	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 G (-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883 G (-)
Amp	-	19 ± 1	-
C	32 ± 1	38 ± 1	31 ± 1
GT-1	$11,33 \pm 0,47$	14 ± 1	12 ± 0
GT-2	$15 \pm 2,16$	-	-
GT-3	$16,5 \pm 1,5$	14 ± 0	17 ± 0
GT-4	$18,33 \pm 1,24$	14 ± 0	$16,5 \pm 0,5$
GT-5	19 ± 0	$14,67 \pm 1,24$	-
GT-6	-	15 ± 0	$22,67 \pm 4,49$
GT-7	$15,33 \pm 0,47$	14 ± 1	16 ± 0
GT-8	14 ± 1	-	-
GT-9	15 ± 0	-	17 ± 0
GT-10	-	14 ± 0	$10,33 \pm 0,94$
GT-11	$20,33 \pm 0,47$	-	19 ± 0
GT-12	15 ± 0	-	-
GT-13	$21,67 \pm 0,94$	15 ± 0	20 ± 0
GT-14	$16,67 \pm 2,35$	$16 \pm 0,81$	$23 \pm 0,81$
GT-15	$15,5 \pm 0,5$	17 ± 0	19 ± 0
GT-16	16 ± 0	$17,33 \pm 1,24$	$16 \pm 1,41$

Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol

GT1, GT2, GT3, GT4, GT6, GT7, GT8, GT9, GT12, GT13 maddeleri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+)’ a karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir (Çizelge 4.1). GT2, GT5, GT8, GT12 maddeleri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. GT2, GT8, GT9, GT11, GT12 maddeleri *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. GT6 ve GT10 maddeleri *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-)’a karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

GT1 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-) bakterisine karşı 12 ± 0 mm, *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-) $11,33 \pm 0,47$ mm, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı 14 ± 1 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT2 maddesi *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-)’a karşı $15 \pm 2,16$ mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur.

GT3 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı 17 ± 0 mm, *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-)’a karşı $16,5 \pm 1,5$ mm, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı 14 ± 0 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT4 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı $16,5 \pm 0,5$ mm, *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-)’a karşı $18,33 \pm 1,24$ mm, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı 14 ± 0 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT5 maddesi *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-)’a karşı 19 ± 0 , *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı $14,67 \pm 1,24$ mm zon oluşumuna neden olmuştur.

GT6 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883’e karşı $22,67 \pm 4,49$ mm, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı 15 ± 0 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT7 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı 16 ± 0 mm, *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-)’a karşı $15,33 \pm 0,47$ mm, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı 14 ± 1 mm çapında zon oluşturmıştır.

GT8 maddesi sadece *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-)’ta 14 ± 1 mm çapında zon oluşturmıştır. GT9 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı 17 ± 0 mm, *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-)’a karşı 15 ± 0 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT10 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı $10,33 \pm 0,94$ mm, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı 14 ± 0 mm çapında zon oluşumuna

neden olmuştur. GT11 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı 19 ± 0 mm, *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-)’a karşı $20,33 \pm 0,47$ mm çapında zon oluşturmıştır. GT12 maddesi sadece *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-)’a karşı 15 ± 0 mm çapında zon oluşturmıştır. GT13 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı 20 ± 0 mm, *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-)’a karşı $21,67 \pm 0,94$ mm, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı 15 ± 0 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur.

GT14 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı $23 \pm 0,81$ mm, *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-)’a karşı $16,67 \pm 2,35$ mm ve *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı $16 \pm 0,81$ mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT15 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı 19 ± 0 mm, *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-)’a karşı $15,5 \pm 0,5$ mm ve *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı 17 ± 0 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur.

GT16 maddesi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-)’e karşı $16 \pm 1,41$ mm, *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-)’a karşı 16 ± 0 mm ve *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)’e karşı $17,33 \pm 1,24$ mm çapında zon oluşturmıştır (Çizelge 4.2).

GT11, GT13, GT14, GT15, GT16 maddeleri hiçbir mayada zon oluşumuna neden olmamıştır. GT7 maddesi *Candida albicans* ATCC 10231’e karşı 11 ± 0 mm ve *Candida krusei* ATCC 6258’e karşı 12 ± 0 mm çapında zon oluşturmıştır.

GT3 maddesi *Candida krusei* ATCC 6258’e karşı $14,5 \pm 0,5$ mm çapında zon oluşturmıştır. GT5 maddesi *Candida krusei* ATCC 6258’e karşı 16 ± 0 mm çapında zon oluşturmıştır. GT6 maddesi *Candida krusei* ATCC 6258’e karşı 11 ± 0 mm, *Candida tropicalis* NRRL Y-12968’e karşı 11 ± 0 mm çapında zon oluşturmıştır.

GT8 maddesi *Candida krusei* ATCC 6258’e karşı $12 \pm 0,81$ mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT9 maddesi *Candida krusei* ATCC 6258’e karşı $10,67 \pm 0,5$ mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur. GT10 *Candida tropicalis* NRRL Y-12968’e karşı $11 \pm 0,94$ mm çapında zon oluşturmıştır. GT12 maddesi *Candida krusei* ATCC 6258’e karşı 14 ± 0 mm ve *Candida tropicalis* NRRL Y-12968’e karşı 15 ± 0 mm çapında zon oluşumuna neden olmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Bileşiklerin mayalar üzerindeki antimikrobiyal aktivite zon çapları (mm)

	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Candida tropicalis</i> NRRL-Y- 12968	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258
Keto	11 ±1	34 ±2	18 ±1
GT-1	-	-	-
GT-2	-	-	-
GT-3	-	-	14,5 ±0,5
GT-4	-	-	-
GT-5	-	-	16 ±0
GT-6	-	11 ±0	11 ±0
GT-7	11 ±0	-	12 ±0
GT-8	-	-	12 ±0,81
GT-9	-	-	10,67 ±0,5
GT-10	-	11 ±0,94	-
GT-11	-	-	-
GT-12	-	15 ±0	14 ±0
GT-13	-	-	-
GT-14	-	-	-
GT-15	-	-	-
GT-16	-	-	-

Keto: Ketokonazol

Antimikrobiyal aktivitede kullanılan kuyu difüzyon yönteminde her üç kuyudada antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerin minimal inhibitör konsantrasyon analizi (MİK) yapılmıştır. Bu bileşiklerden *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6623 (G+), *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-) bakterilerinin ve *Candida tropicalis* NRRL Y-12968 mayasının MİK değerleri aşağıda verilmiştir. Bileşiklerin MİK (minimal inhibitör konsantrasyon) aralığı 2000-62,5 µM arasında değişmektedir (Çizelge 4.4). Bileşiklerin MBK (minimal bakterisidal konsantrasyon) değeri 2000-125 µM arasında değişmektedir. MFK (Minimal fungisidal konsantrasyon) değeri ise *Candida tropicalis* NRRL Y-12968 mayasında 125 µM' dır (Çizelge 4.5).

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

	<i>Salmonellatyphimurium</i> ATCC 14028 G (-)	<i>Proteus vulgaris</i> RSKK 9690 G (-)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 G (+)	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 G (+)	<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711 G (+)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883 G (-)	<i>Candidatropicalis</i> NRRL Y-12968
Amp	<19,5 µM	1250 µM	<19,5 µM	<19,5 µM	156 µM	1250 µM	
C	156 µM	1250 µM	156 µM	78 µM	156 µM	625 µM	
Keto							78 µM
GT-2		125 µM					
GT-4		125 µM					
GT-6					2000 µM	250 µM	
GT-7		250 µM					
GT-8					2000 µM		
GT-9				2000 µM	2000 µM		
GT-10			250 µM	2000 µM	2000 µM		62,5µM
GT-11		125 µM	250 µM	2000 µM	2000 µM		
GT-12				2000 µM	2000 µM		
GT-13		125 µM		2000 µM	2000 µM		
GT-14	250 µM	125 µM		2000 µM	2000 µM	500 µM	
GT-15				2000 µM			
GT-16	250 µM	125 µM		2000 µM	2000 µM	250 µM	

Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol

GT2 maddesinin *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-) üzerindeki minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri 125 µM, GT4 maddesinin *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-) üzerindeki MİK değeri 125 µM, GT7 maddesinin maddesinin *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-) üzerindeki MİK değeri 250 µM'dır. GT11, GT13, GT14, GT16 maddelerinin *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-) üzerindeki değerleri 125 µM'dır. GT14 ve GT16 maddelerinin *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-) bakterisi üzerindeki MİK değerleri 250 µM'dır. GT10 ve GT11 'in *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+) bakterisi üzerindeki MİK değeri 250 µM'dır. GT9, GT10, GT11, GT12, GT13, GT14, GT15 ve GT16 maddelerinin *Bacillus subtilis* ATCC 25922 (G+) bakterisi üzerindeki MİK değerleri 2000 µM'dır. GT2, GT6, GT7, GT8, GT9, GT10, GT11, GT12, GT14 maddelerinin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+) bakterilerindeki MİK değeri 2000 µM'dır. GT6, GT16 maddelerinin *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-) bakterisi

üzerindeki MİK değeri 250 μ M ve GT14'te ise 500 μ M'dır. GT10 maddesinin *Candida tropicalis* NRRL T-12968 mayası üzerindeki MİK değeri 62,5 μ M'dır (Çizelge 4.4).

Bileşiklerin *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+) bakterilerine karşı (Çizelge 4.6) ve *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC (G-) 13883 bakterileri ve *Candida tropicalis* NRRL Y-3711 mayasına karşı olan minimal bakterisidal konsantrasyon/minimal fungisidal konsantrasyon (MBK/MFK) değerleri aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki MBK/MFK değerleri (μ M)

	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 G (-)	<i>Proteus vulgaris</i> RSSK 96029 G (-)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 G (+)	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 25922 G (+)	<i>Bacillus cereus</i> NRRL-B-3711 G (+)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883 G (+)	<i>Candida tropicalis</i> NRRL Y-12968
Amp	<19,5 μ M	2500 μ M	<19,5 μ M	<19,5 μ M	2500 μ M	1250 μ M	
C	1250 μ M	2500 μ M	2500 μ M	78 μ M	1250 μ M	2500 μ M	
Keto							1250 μ M
GT-2		250 μ M					
GT-4		250 μ M					
GT-6					2000 μ M	500 μ M	
GT-7		500 μ M					
GT-8					2000 μ M		
GT-9				2000 μ M	2000 μ M		
GT-10			500 μ M	2000 μ M	2000 μ M		125 μ M
GT-11		250 μ M	500 μ M	2000 μ M	2000 μ M		
GT-12				2000 μ M	2000 μ M		
GT-13		250 μ M		2000 μ M	2000 μ M		
GT-14	500 μ M	250 μ M		2000 μ M	2000 μ M	500 μ M	
GT-15				2000 μ M			
GT-16	500 μ M	250 μ M		2000 μ M	2000 μ M	500 μ M	

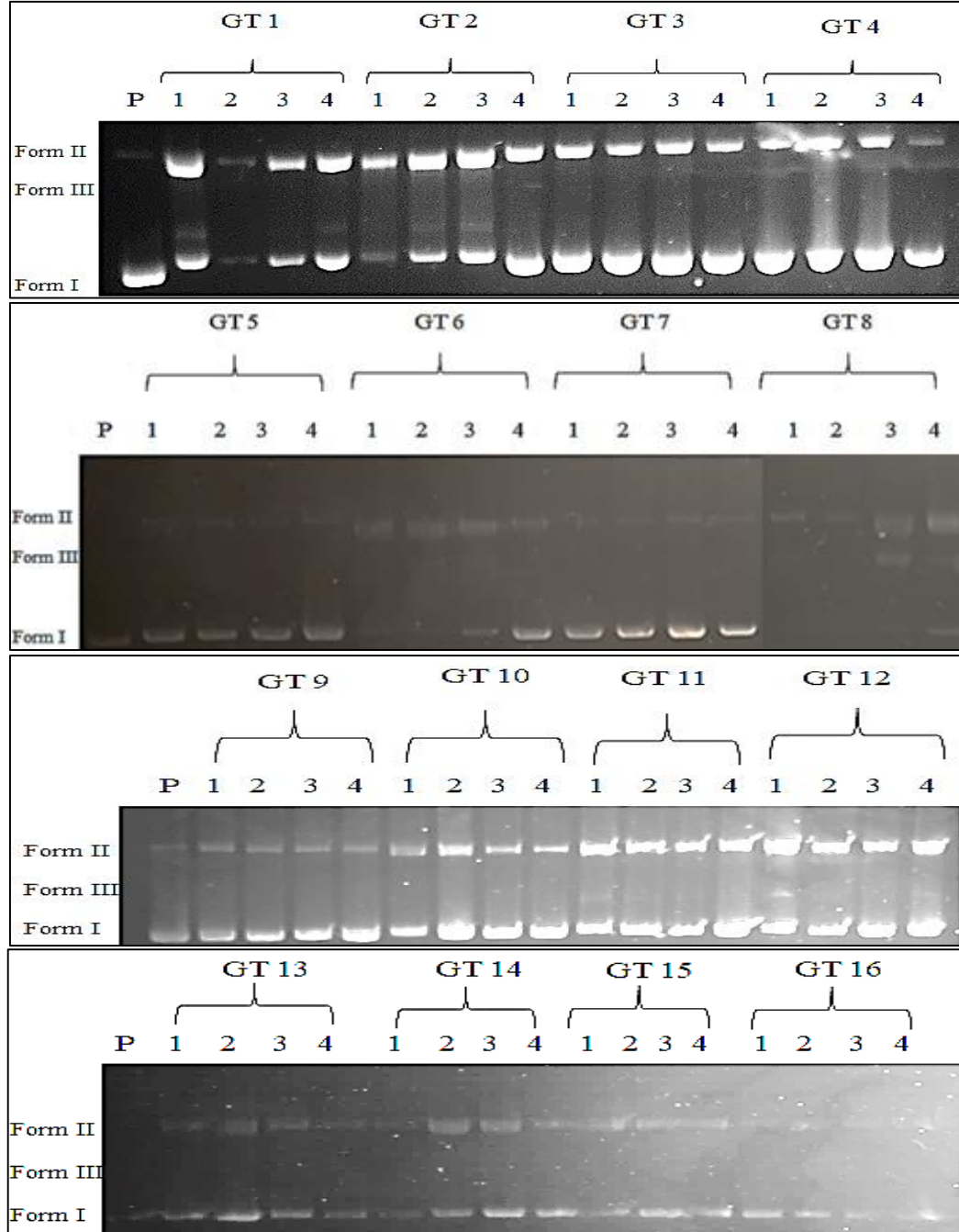
Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol

4.3. Bileşiklerin DNA Üzerindeki Etkisi

DMF (Dimetilformamit) içinde çözölen 4000 μM konsantrasyonda hazırlanan bileşiklerin azalan konsantrasyona göre 4000, 2000, 1000, 500 μM olmak üzere 4 farklı konsantrasyonda plazmit DNA ile etkileşimleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelenmiştir (Resim 4.1 ve Resim 4.2). 24 Saatlik inkübasyon sonucunda bileşiklerden GT1 ve GT2’de her üç formda DNA oluşumu gözlemlenmiştir.

GT1’de azalan konsantrasyona göre Form I DNA’nın hareketliliği azalmıştır. GT3 ve GT4’te Form I ve Form II DNA’ların hareketliliği azalmıştır. GT4’te azalan konsantrasyona göre Form I DNA hareketliliği azalmıştır. GT5’te azalan konsantrasyonuna bağlı olarak Form I ve FormII DNA hareketliliğinin azaldığı görölmüştür. GT6 ve GT7 bileşiklerinin azalan konsantrasyonlarına bağlı olarak Form I ve Form II DNA hareketliliği azalmıştır.

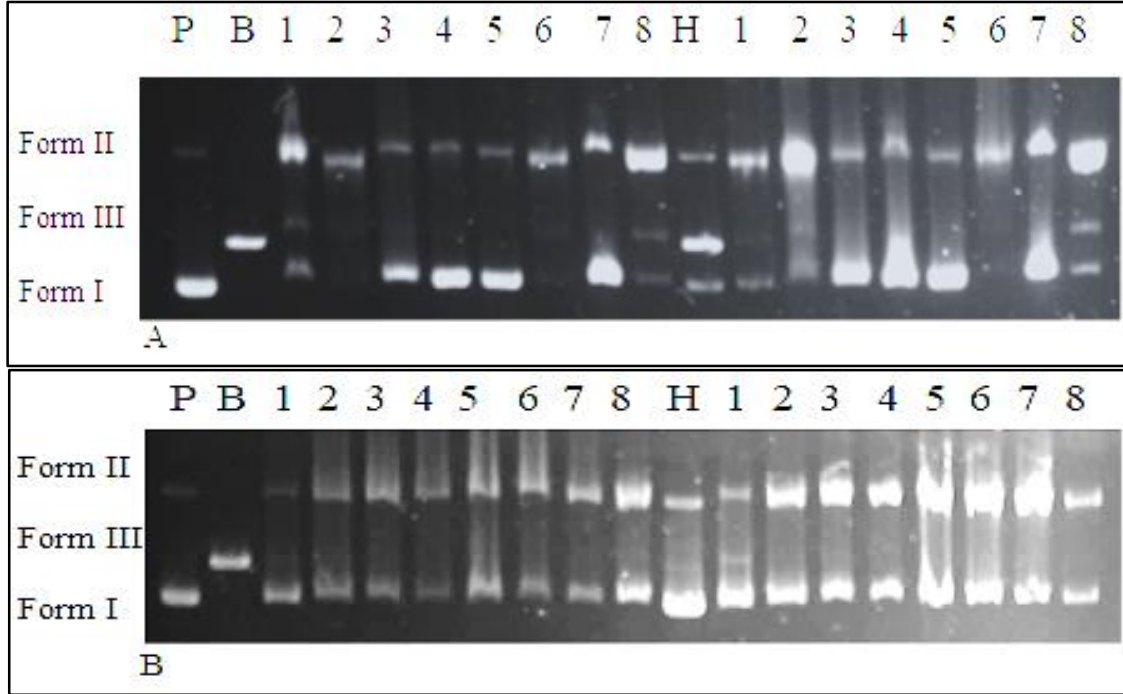
GT8 bileşiğinde en düşük iki konsantrasyon olan 3 ve 4. (1000 ve 500 μM) konsantrasyonlarda her üç tipteki Form DNA’lar görölmüştür. Bileşiklerden GT9, GT10, GT11, GT12, GT13, GT14, GT15, GT16 bileşikleri plazmit DNA’nın hareketliliğini çok fazla etkilememiştir (Resim 4.1).



Resim 4.1. Plazmit DNA ile etkileşmiş bileşiklerinin 24 saat inkübasyon sonunda agaroz jeldeki görüntüsü. (P): bileşikler ile etkileşmemiş plazmit DNA. (1-4): 4000, 2000, 1000, 500 μ M. Form I: Kapalı halkasal plazmit DNA; Form II: Açık halkasal plazmit DNA; Form III: Doğrusal plazmit DNA

Bileşiklerin DNA'ya bağlanıp bağlanmadığını belirlemek amacıyla en yüksek konsantrasyona *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile restriksiyon analizi gerçekleştirilmiştir. *Bam*HI enzimi DNA'ya 5'-G/GATCC-3' nükleotit dizisinden bağlanır. *Hind*III enzimi DNA'ya 5'-A/AGCTT-3' nükleotit dizisinden bağlanır. Bileşiklerin *Hind*III enzimi ile

muamele edilmesi sonucunda sadece GT8 bileşiği kesilmemiştir. Yani GT8 bileşiği DNA'ya 5'A/AGCTT-3' nükleotit dizisinden bağlandığını gösterir (Resim 4.2).

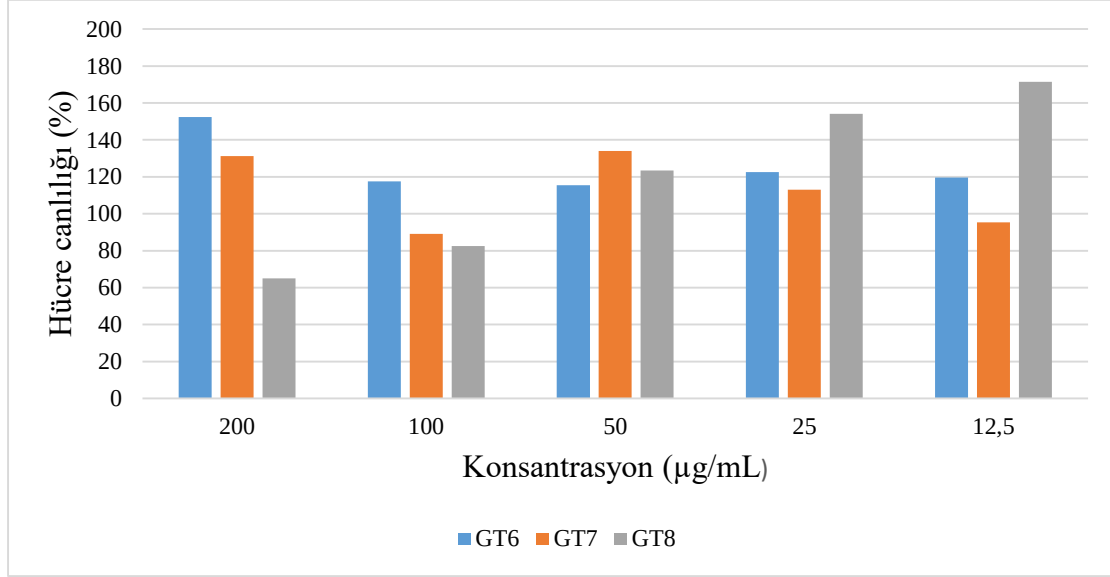


Resim 4.2. Bileşiklerle muamele edilmemiş plazmit DNA'nın ve bileşiklerin *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile kesimi. (A) GT1, GT2, GT3, GT4, GT5, GT6, GT7, GT8. (B) GT9, GT10, GT11, GT12, GT13, GT14, GT15, GT16. (B) *Bam* kontrol, (H) *Hind* kontrol. Form I: Kapalı halkasal plazmit DNA; Form II: Açık halkasal plazmit DNA; Form III: Doğrusal plazmit DNA

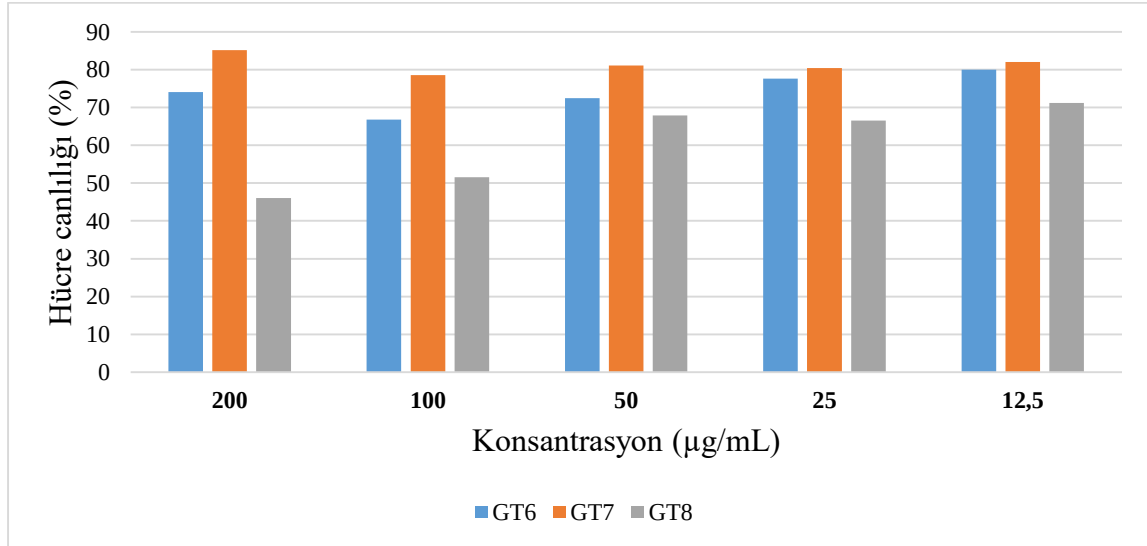
4.4.Bileşiklerin Sitotoksik Aktivitesi

Konsantrasyonları 200-12,5 μ g/mL arasında değişen bileşiklerin L929 fibroblast ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları üzerindeki GT6, GT7 ve GT8 kodlu bileşiklerin sitotoksik aktivitesi WST-1 yöntemi ile araştırıldı. Bileşiklerin L929 fibroblast hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri Şekil 4.1'de; MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri ise Şekil 4.2'de gösterilmiştir. GT7 bileşiğinin L929 sağlıklı fibroblast hücre hattı üzerine düşük konsantrasyonda (12,5 μ g/mL) en yüksek sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu konsantrasyonda GT8 bileşiği en az derecede sitotoksik etki gösterirken GT6 bileşiği orta derecede sitotoksik etki göstermiştir. MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında en yüksek sitotoksik etkiyi GT8 bileşiği göstermiştir. Bu hücre hattına orta derecede sitotoksik etki gösteren GT6 bileşiği, en az toksik etki yapan GT8 ve en çok sitotoksik etki gösteren bileşik ise GT7 olduğu bulunmuştur (12,5

$\mu\text{g/mL}$). Her üç bileşimin de seçici toksisiteye sahip olduğu görülmektedir. Yani bileşiklerin sağlıklı L929 fibroblast hücre hattındaki hücrelerin yüzde (%) canlılık oranları yüksek iken, MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattındaki hücrelerin yüzde (%) canlılık oranları daha düşüktür.



Şekil 4.1. Bileşiklerin 12,5-200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılan L929 fibroblast hücrelerinin % canlılıkları



Şekil 4.2. Bileşiklerin 12,5-200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılan MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin % canlılıkları

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sentetik kimya son zamanlarda ilaç keşfinde çok popüler olmuştur. Doğal ürünler, onların yarı sentetik analogları ve diğer küçük moleküller izole edilmekte ya da sentezlenmekte ve bu maddelerin hastalıklara mesela kanser, diabet, mikrobiyal hastalıklar ve kalp hastalıklarına etkisi çalışılmaktadır [172]. Ancak ilaçlara tolerans ilaç adayları sentezlendikten sonraki en önemli problemlerden biridir. Doğal ürünler ilaç sentezlemede oldukça fazla kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda fosfazenler önemli biyolojik aktiviteleri tespit edilmiştir. Bu aktiviteler arasında tüberküloza iyi geldiği ve bazı biyomateriyallerin yapımında da başarılı bir şekilde kullanıldığı belirtilmiştir [173].

Moleküler biyoloji ve ilaç geliştirmede nükleik asit kesme aktivitesi potansiyel uygulama alanları nedeniyle ilaç tasarlayıcılara oldukça cezbedici hale gelmiştir [174]. DNA'nın fosfodiester bağları oldukça kararlıdır. DNA hidrolizinin yarı ömrü katalize olmamış şartlarda 200 milyon yıl olarak tahmin edilmektedir [175]. Fozfozenlerle ilgili yapılan çalışmalarda DNA kesim aktivitesine rastlanmıştır. Fakat ilaç olarak kullanımı üzerine sınırlı çalışma vardır. Fozfozenlerin ilaç olarak kullanımını yaygınlaştırmak amacıyla uzun yıllardır Kılıç ve arkadaşları maddeler sentezlemekte ve biyolojik aktivite çalışmaları yürütmektedir [176]. Bu amaçla yapılan çalışmada sentezlenen 2-piridil-siklotrifosfazen bileşikleri ve tuzlarının antimikrobiyal, sitotoksik aktivitesi ve DNA ile etkileşimleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivitesi en yüksek olan bileşikler GT11 (NN donörlü tamamen piperidin sübstitüe trimerik fosfazen) ve GT16 (NN donörlü tamamen piperidin sübstitüe gentisik asit tuzu) olarak bulunmuştur. Sitotoksik aktivite de ise GT8 (NN donörlü tamamen morfolin sübstitüe trimerik fosfazen) etkili bulunmuşken DNA üzerine ise GT1 (NO donörlü kısmen sübstitüe trimerik fosfazen), GT2 (NN donörlü kısmen sübstitüe trimerik fosfazen), GT6 (NN donörlü tamamen DASD sübstitüe trimerik fosfazen), GT7 (NO donörlü tamamen morfolin sübstitüe trimerik fosfazen) ve GT8 (NN donörlü tamamen morfolin sübstitüe trimerik fosfazen) en etkili maddeler olarak tespit edilmiştir. Maddelerin DNA kesim aktivitesi olduğu DNA'nın konformasyonunu değiştirdiği gözlenmiştir.

Bu bileşiklerle ilgili araştırmacılar geçmiş yıllarda biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Bu yapılan çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Akbaş ve diğerleri (2016) fosfazenyum tuzlarının biyolojik aktivitelerini araştırmışlardır. DLD-1 kolon kanseri hücre hattında farklı konsantrasyonda bileşiklerle sitotoksik aktivitesini araştırmışlardır. 125 μ M konsantrasyonda 11a, 13a, 14a, 15a bileşiklerinin hücre canlılığını % 40'a kadar düşürdüğünü bulmuşlardır. En yüksek konsantrasyon olan 1259 μ M'da ise tüm bileşiklerin yüksek sitotoksik etkisinin olduğunu görmüşlerdir. Bu tez çalışmasında ise MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında en yüksek sitotoksik etkiye sahip bileşiğin 12,5 μ g/ml konsantrasyonda GT8 bileşiği olduğu görülmüştür. Daha sonra araştırmacılar bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerine bakmışlar ve tüm bileşiklerin Gram pozitif bakteri olan *Bacillus subtilis* (G+)’e karşı etkili olduğunu; *E.coli* ATCC 35218 (G-), *E. faecalis* (G+) ve *S. typhimurium* (G-) bakterilerine karşı herhangi bir etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında ise bileşiklerden G2, GT3, GT4, GT6 hariç diğer bileşiklerin *Bacillus subtilis* (G+)’e karşı etkili olduğu, bileşiklerden GT3, GT5, GT6’nın *Enterococcus faecalis* (G+)’e karşı etkili olduğu ve bileşiklerden GT2, GT8, GT11, GT12 bileşikleri hariç diğer bileşiklerin *Salmonella typhimurium* (G-)’a karşı antimikrobiyal etkisi olduğu görülmüştür. Araştırmacılar tetrapiperidino fosfazenyum tuzları olan 13a, 14a, 15a bileşiklerinin *C. albicans*, *C. kruzei*, *C. tropicalis* mayalarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğinin tespit etmişlerdir. Ayrıca bileşiklerin MİK, MBK ve MFK değer aralığının bakteriler (MBK) için 312,5 ile 1250 μ M ve mayalar (MFK) için ise <19,5 ile 156 μ M arasında olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise MİK değer aralığının bakteriler (MBK) için 250 μ M ile 2000 μ M arasında değiştiği görülürken, mayalar (MFK) için sadece *C. tropicalis* mayasında 125 μ M olduğu görülmüştür [177].

Yıldız ve arkadaşları (2007), sentezledikleri yeni amino fosfazen bileşikleri ve polimerlerinin bakteri ve maya kültürlerine karşı antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Polimer bileşiklerinin monomerlere göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini bulmuşlardır. Ayrıca antimikrobiyal aktivitenin Gram pozitif bakterilerde Gram negatif bakterilere göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında ise genel olarak Gram negatif antibakteriyel aktivitenin Gram pozitif antibakteriyel aktiviteden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu açıdan bu çalışma ile farklılık göstermektedir. Bu farklılığının ise bakterilerin membran yapılarının farklı

olmasından kaynaklandığını bulmuşlardır. Bunun yanında bakterilere karşı bazı bileşiklerin referans antibiyotiklerden daha etkili bulmuşlardır. Bu nedenle bu bileşiklerin iltihap hastalıkları için farmakolojik testlerde potansiyel ilaç olarak seçilebileceğini belirtmişlerdir [178].

Işıklan ve arkadaşları (2010), yeni sentezledikleri N/O spirosiklik fosfazen türevlerinin biyolojik aktivitelerini araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda bileşiklerin güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Pirolidin substitüente sahip spirosiklikfosfazenlerin, mono- ve bisferroseniltetrapirrolidinofosfazenlere göre daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimi sonucunda DNA hareketliliğinde etkili olduğu ve yapılan restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu *Bam*HI ve *Hind*III enzim kesimini engellediği tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında ise bileşiklerin plazmit DNA'nın hareketini etkilemesi ve bileşiklerin *Hind*III enzimi ile muamele edilmesi sonucu GT8 bileşiğinin kesilmemiş olması açısından benzerlik göstermektedir [179].

Asmafiliz ve arkadaşları (2012), yeni sentezledikleri N/O spirosiklotrifosfazenlerin biyolojik aktivitelerini ve DNA etkileşimlerini araştırmışlardır. Bu bileşikleri bazı bakteri maya suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Ancak güçlü bir etki gözlemlememişlerdir. Bunun nedeninin bileşiklerin hücreye girememesi ya da girdikten sonra hücreden atılması veya hücrenin bileşiğin etkisini inaktive eden bir enzim salgılayan olması gibi nedenleri tartışmışlardır. Bileşiklerin plasmit DNA ile etkileşimi sonucunda her bir bileşiğin konsantrasyona bağlı olarak DNA hareketliliğini değiştirmede az da olsa bir etki gösterdiği sonucuna varmışlardır [180]. Bu tez çalışmasında çalışılan bileşiklerde siklotrifosfazen kökenlidir ve yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmasında çok yüksek bir antimikrobiyal aktivite gözlenememiştir. Bu bağlamda Asmafiliz ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışma bu açıdan benzerlik göstermektedir.

Yıldırım ve arkadaşları (2012), antikanser ajanlar olarak siklotrifosfazen türevlerini inceledikleri araştırmalarında, sentezlemiş oldukları siklotrifosfazen bileşiklerinin yeni dispirobino ve dispiroansa spermin türevlerinin antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Bu bileşikleri Gram pozitif (*S.aureus*), Gram negatif (*E.coli*, *P.aeruginosa*) bakterilerine karşı antibakteriyal etkilerini ve *C.albicans*'a karşı antifungal etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak önemli ölçüde bir antimikrobiyal etki gözlemleyememişlerdir. Bu tez

çalışmasında kullanılan bileşiklerin de çok yüksek bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı görülmüştür [181].

Tümer ve diğerleri (2015) NN (1-3) veya NO (4 ve 5) spiro-siklik monoferrosenil siklotrifosfazenlerin 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit (potasyum vanillinat) ile kademeli CI yer değiştirme reaksiyonları sonucunda mono (1a-5a), geminal (*gem*-1b-5b), non-geminal (*cis*-5b ve *trans*-1b-4b), tri (1c,3c-5c) ve tetra-vanillinato-substitüe fosfazenleri (1d-5d) elde etmişler ve bunların antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri, DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Bileşiklerden 2d, 5d, *cis*-5b, 5-50 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlara HeLa kanser hücre hattı ile 24 saat muamele edilmiş ve 2d bileşiğinin antikanser etkisi olmadığı görülmüştür. 5000 µM konsantrasyonda sentezlenen 2a, 3a, 4a, *gem*-1b, *cis*-5b, 3c, 4c ve 1d-5d bileşiklerinin *S. aureus* (G+), *P. aeruginosa* (G-), *E. coli* (G-), *B. subtilis* (G+), *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlar. Bunun sonucunda 3a, *gem*-1b, 3c, 4c, 3d ve 4d bileşiklerinin orta derece etkisinin olduğunu ve MİK değerlerinin 4,88 ile 625 µM arası değiştiğini ve *P. aeruginosa* (G-), *E. faecalis* (G-), *C. albicans*'ın bileşiklere duyarlılık göstermediğini tespit etmişlerdir. Bileşiklerden 2a, 3a, 4a, *gem*-1b, *cis*-5b, 3c, 4c ve 1d-5d bileşikleri plazmit DNA ile etkileşime bırakılarak plazmit DNA'da oluşan değişimleri araştırmışlardır. Bileşiklerden 3a, 3c, 2d ve 4d bileşiklerinin DNA'nın hareketini az miktarda etkilediğini ve 4a, 4c'nin yüksek konsantrasyonunun DNA'yı kestiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile yapılan analizinde *Hind*III enziminin DNA'yı kesmediğini ve bu enzimin bağlanma bölgesi olan Adenin/Adenin bölgesinden bağlandığını belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise bileşiklerden GT8'in yüksek konsantrasyonunun *Hind*III enzimi ile olan kesiminde kesim gerçekleşmemiştir ancak diğer bileşiklerin hem *Bam*HI hem de *Hind*III enzimi ile kesimi gerçekleşmiştir. Yani bu bileşik plazmit DNA'ya Adenin/Adenin nükleotit dizisinden bağlanmaktadır. Bu açıdan yapılan bu çalışmayla paralellik göstermiştir [182].

Okumuş ve diğerleri (2015), mono (4-nitrobenzil) alkidaminlerin heksaklorosiklotrifosfazen, $N_3P_3Cl_6$ ile reaksiyonları sonucunda kısmen substitüe mono (4-nitrobenzil) spiro-fosfazen türevleri (4-6) sentezlemişlerdir. Kısmen sübstitüe spiro-fosfazen bileşiklerinin pirolidin, piperidin, 1,4-dioksa-8azaspiro [4,5] dekan (DASD) ve morfolinin aşırısı ile reaksiyonundan kısmen ve tamamen amin sübstitüe mono (4-nitrobenzil) siklotrifosfazen türevleri elde etmişlerdir (4a-6d). Tamamen amin sübstitüe

fosfazen bileşiklerinin antibakteriyel aktiviteleri ve DNA ile etkileşimleri incelemişlerdir. Tetraklorofosfazenlerin (4-6) plazmit DNA üzerinde oldukça etkili olduğunu ve enzim kesim deneylerinde ise amin süstitüe fosfazen bileşiklerinin Guanin/Guanin ve Adenin/Adenin nükleotitlerinin olduğu bölgeden DNA'ya bağlandığı belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında ise sadece bileşiklerin plazmit DNA ile restriksiyon analizi sonucunda GT8 bileşiği hariç diğer bileşiklerin DNA'ya bağlanmadığı görülmüştür. Bu yönden yapılan çalışma ile farklılık göstermektedir. Bu bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri ve apoptotik etkileri göğüs kanseri (MDA-MB-231), hela rahim ağzı kanseri ve L929 fibroblast hücrelerine karşı incelenmiş ve bu bileşiklerin hela rahim ağzı, göğüs kanseri ve L929 fibroblast hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu tez çalışmasındaki siklotrifosfazen bileşikleri ile yapılan çalışmada L929 fibroblast ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında sitotoksik aktivitesine bakılmış ve sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu açıdan yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir [183].

Elmas ve diğerleri (2016), 4-florobenzilspiro (N/O) siklotrifosfazen bileşikleri ve bunların tuzlarını sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi ve DNA ile etkileşimini araştırmışlardır. Bileşiklerden 3c ve 4c'nin *E. faecalis* (G+) 'e karşı diğer bileşiklerden daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Serbest bazlar ve tuzlardan ise tuzların serbest bazlara göre *C.albicans* mayası ve *K.pneumoniae* (G-) bakterisine karşı etkisinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Buldukları sonuca göre tuz formunun antimikrobiyal aktiviteyi arttırdığını söylemişlerdir. Serbest bazlar ve bunların tuzlarının plazmit DNA ile etkileşimlerinin agaroz jel elektroforezi ile incelemişlerdir. Buna göre bileşiklerden 3d hariç diğer bileşiklerin benzer aktiviteye sahip olduğunu; maddenin konsantrasyonu azaldıkça Form I DNA'nın hareketinin az miktarda arttığını belirlemişlerdir. *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile yapılan endonükleaz kesiminde 3a, 3b, 3c, 4b ve 4c, 4b bileşiklerinin ise *Hind*III enziminin tanıma bölgesi olan Adenin/Adenin nükleotitlerine bağlandığını bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında ise *E. faecalis* (G+) 'e karşı GT4 bileşiğinin diğer bileşiklere göre daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği görülmüştür. Bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimine bakıldığında ise maddelerin konsantrasyonu azaldıkça genel olarak Form I DNA'nın hareketliliğinin azaldığı görülmüştür. Bu yönden bu çalışma ile farklılık göstermektedir. Bileşiklerin *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile kesiminde ise sadece GT8 bileşiği *Hind*III enzimi ile kesimi sonucu kesilmemiştir. Yani bu bileşik DNA'ya *Hind*III enziminin bağlandığı bölge

olan Adenin/Adenin nükleotit dizisinden bağlandığı görülmüştür. Bu yönden ise bu çalışma ile benzerlik göstermiştir [184].

Berberoğlu ve diğerleri (2016) spiro-ansa-spiro ve spiro-bino-spiro tetramerik fosfazen türevlerinin antimikrobiyal aktiviteleri, DNA etkileşimleri ve sitotoksik aktivitesini araştırmışlardır. Bileşik 13 ve bileşik 16'nın fibroblast ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerinde yüksek oranda sitotoksik etkisinin olduğunu ve IC₅₀ değerlerinin bir kanser ilacı olan sis-platinden daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Bu iki bileşiğin sis-platin kadar etkili olduğunu söylemişlerdir. Bileşiklerin on bakteri veya üç maya suşu üzerinde antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Bunun sonucunda bileşik 16 hariç diğer bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesinin düşük olduğunu bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında ise bileşiklerden GT16 hariç diğer bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesinin düşük olduğu görülmüştür. Bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimlerine bakmışlar ve bileşiklerden 12, 13, 14, 18'in DNA'nın hareket ve yoğunluğunu etkilediklerini belirtmişlerdir [180-5].

Asmafiliz ve diğerleri (2016) spiro-bino-spiro trimerik fosfazen bileşiklerinin biyolojik aktivitesini araştırmışlardır. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi bileşik 9 *B. cereus* (G+), *B. subtilis* (G+), *P. vulgaris* (G-), *E. faecalis* (G+) bakterileri ve *C. tropicalis* mayası üzerinde göstermiştir. Bu tez çalışmasında ise bileşiklerden GT11 *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 (G+) ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+) üzerinde ve GT16 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+) üzerinde, GT3 bileşiği *Candida krusei* ATCC 6258 üzerinde yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bileşiklerin sitotoksik aktivitelerine L929 fibroblast hücreleri ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında bakmışlardır. En yüksek sitotoksik aktiviteyi ise bileşik 9'un gösterdiğini bulmuşlardır. Bu tez çalışmasındada sitotoksik aktivite aynı hücre hatları üzerinde çalışılmıştır ve en yüksek aktiviteyi GT8 bileşiği göstermiştir. Bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimlerine bakmışlardır. Bütün bileşiklerin plazmit DNA'nın hareket ve yoğunluğunda değişimlere neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bileşiklerin *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile endonükleaz kesimini araştırmışlardır. Kesim sonucunda 5-15 bileşikleri ile muamele edilen plazmit DNA'nın kesildiğini, 16-20 bileşikleri ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın ise kesilmediğini bulmuşlardır [186].

Koran ve diğerleri (2013) hezaklorosiklotrifosfazen (1) ile 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehitinreaksiyonu sonucu hezakis [(4-formil-2-metoksi) fenoksi]

siklotrifosfazen (2) bileşiğini elde etmişler, piridin içindeki hidroksilamin hidroklorid ile heksakis[(4-formil-2-metoksi) fenoksi] siklotrifosfazenin (2) reaksiyonu sonucunda yeni bir oksim-fosfazen olan heksakis[(4-(hidroksiimino) 2-metoksi)] siklotrifosfazen (3) bileşiğini sentezlemişlerdir. Bu üç bileşiğin farklı alkil ve açıl halojenler ile reaksiyonu sonucu bileşik 4 ve bileşik 13'ü elde etmişlerdir. Bu bileşiklerin (4-13) iki Gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*), iki Gram negatif bakteri (*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*) ve fungal suşlar (*Aspergillus niger* ve *Candida albicans*) üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. 3 numaralı bileşiğin benzil klorid ile reaksiyonundan 4; asetil klorid ile reaksiyonundan 5; alil bromid ile reaksiyonundan 6; benzoil klorid ile reaksiyonundan 7; propanoil ile reaksiyonundan 8; 4-metoksibenzoil klorid ile reaksiyonundan 9; 2-klorobenzoil reaksiyonundan 10; kloroasetil klorid ile reaksiyonundan 11; metil iodid ile reaksiyonundan 12; tiofen 2-karbonil ile reaksiyonundan 13 bileşiğini sentezlemişlerdir. Antimikrobiyal aktivitelere baktıklarında bileşiklerden 7 ve 13'ün 27-30 mm'lik zon çapıyla *E. coli* (G-) ve *E. faecalis* (G+) bakterilerine standart antibiyotik olan spirofloksasin kadar etkili olduğunu; 3, 6, 9, 12 bileşiklerinin 27-30 mm'lik değişen çapta zon oluşumu ve 4, 5, 10, 11 bileşiklerinin 18-23 mm arasında bir zon çapı ile antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Ayrıca bu çalışmadaki bileşiklerin antifungal aktivitesinin antibakteriyel aktiviteye göre düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında da antifungal aktivitenin antibakteriyel aktiviteden düşük olduğu bulunmuştur. Bu yönden bu çalışma ile benzerlik göstermektedir [187].

Okumuş ve diğerleri (2011) $N_3P_3Cl_6$ bileşiğinin klorid ile yer değiştirme reaksiyonu sonucu spirosiklik mono (1a ve 2a) ve bis(4-florobenzil) monospirosiklikfosfazenleri (3a-5a); 1a-5a'nın pirolidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan (DASD) ile reaksiyonu sonucu tam süstitüe mono(4-florobenzil) (1b-2d) ve bis(4-florobenzil) (4b, 4d-5d) monospirosiklofosfazenleri; kyanayan THF içindeki morfolin ve DASD ile reaksiyonu sonucunda ise monoklorobis(4-florobenzil) monospirosiklofosfazenler 4e ve 4f'yi sentezlemişlerdir. Bu fosfazen bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerini ve DNA ile etkileşimlerini araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda 1b ve 4b bileşiklerinin Gram pozitif bakteriler üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ve 4b bileşiğinin *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* üzerinde güçlü antifungal aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında ise GT2 bileşiği hariç diğer bileşiklerin Gram pozitif bakteriler üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. Bileşiklerin plazmit

DNA ile etkileşimlerini araştırmışlar ve bileşiklerin plazmit DNA'nın hareketi ve şeklini değiştirdiğini bulmuşlardır. Bileşiklerden 4a, 5a, 2a, 3a, 4e, 4f'nin DNA'yı diğer bileşiklere göre daha yüksek oranda kestiğini belirlemişlerdir. Bu kesim analizi sonucunda bileşiklerin DNA'ya A/A nükleotitlerinden bağlandığını bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında yapılan DNA etkileşimi ve restriksiyon analizi sonucunda ise bileşiklerin genel olarak plazmit DNA'nın hareketliliği ve yoğunluğu üzerinde etkili olduğu görülmüş; restriksiyon analizlerinde ise sadece GT8 hariç diğer bileşikler DNA'ya Adenin/Adenin ve Guanin/Guanin bölgesinden bağlanmadığı görülmüştür [188].

Bilim ve tıp alanındaki tüm gelişmelere rağmen günümüzde enfeksiyon hastalıkları giderek artmaktadır. Özellikle bu hastalıklar tüm dünya ile birlikte gelişmekte olan ülkelerde de ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için çok sayıda antimikrobiyal ilaç üretilmektedir. Ancak her geçen gün patojen mikroorganizmalar bu ilaçlara kolayca direnç kazanabilmektedirler. Bu direncin önüne geçebilmek için araştırmacılar sürekli çalışmalar yapmaktadırlar. Bu çalışmalar esnasında fosfazen bileşiklerinin keşfiyle antimikrobiyal aktivite gibi biyolojik aktivite çalışmaları önem kazanmıştır ve bu bileşiklerin çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu tez çalışmasında sentezlenen fosfazen bileşiklerinin mayalar üzerinde çok fazla bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmaması ancak bazı bakteriler üzerinde yüksek antimikrobiyal aktivite göstermesi bileşiklerin enfeksiyon hastalıkları için ilaç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Bu tez çalışmasında 2-piridil-siklotrifosfazen ve tuzlarının antimikrobiyal aktivitesini araştırmak insan patojeni olarak *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Enterococcus faecalis* ATCC 25923 (G+), *Enterococcus hirae* ATCC 9790 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-) bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida tropicalis* NRRL Y-12968 mayaları kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre patojen bakteriler arasında en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olan bileşiklerin GT11 (NN donörlü tamamen piperidin sübstitüe trimerik fosfazen) ve GT16 (NN donörlü tamamen piperidin sübstitüe gentisik asit tuzu) olduğu görülmüştür. Bu bileşikler bakterinin üremesini engelleyici etki yapmıştır.

En düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olan bileşik GT1 (NO donörlü kısmen süstitüe trimerik fosfazen) bileşigidir. Patojen mayalar arasında en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olan bileşik GT5 (NO donörlü tamamen DASD süstitüe trimerik fosfazen) bileşigidir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ayrıca Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilere göre daha yüksek aktivite gösterdiği görülmüştür. Patojen mayalar arasında en düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olan bileşik ise GT6 (NN donörlü tamamen DASD trimerik fosfazen) bileşigidir. Bu sonuçlara göre antibakteriyel aktivitenin antifungal aktiviteye göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

GT1 bileşigi *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-) mikroorganizmalarına karşı, GT2 bileşiginin sadece *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-) 'a karşı, GT3 bileşiginin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür. GT4 bileşiginin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G+), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-), *Candida krusei* ATCC 6258'e karşı, GT5 bileşiginin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (G+), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-), *Candida krusei* ATCC 6258'e karşı, GT6 bileşiginin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Enterococcus faecalis* ATCC 2912 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-), *Candida krusei* ATCC 6258'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür. GT7 bileşiginin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-), *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı, GT8 bileşiginin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G+), *Candida krusei* ATCC 6258'e karşı, GT9 bileşiginin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSKK 96029 (G-), *Candida krusei* ATCC 6258'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. GT10 bileşiginin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-) 'e

Candida tropicalis NRRL Y-12968'e karşı, GT11 bileşiğinin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+)'e karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu görülmüştür. GT12 bileşiğinin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-), *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida tropicalis* NRRL Y-12968'e karşı, GT13 bileşiğinin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-) ve *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-)'e karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu görülmüştür. GT14, GT15 ve GT16 bileşiklerinin *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (G+), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (G-), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (G-), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+), *Proteus vulgaris* RSSK 96029 (G-)'e karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu görülmüştür.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında ayrıca minimal inhibitör konsantrasyonuna bakılmıştır. Bu değerde ayrıca bakteriler için minimal bakterisidal (MBK) ve mayalar için minimal fungisidal (MFK) konsantrasyonlarda hesaplanmıştır. Bu değerler araştırma açısından önemlidir. Çünkü minimal inhibitör konsantrasyon bakteri veya mayanın üremesinin engellendiği konsantrasyondur. Bu değerlere göre antimikrobiyal aktivitesi yüksek olan bileşikler sonraki süreçte eğer ilaç olarak kullanılacaksa o ilaç için uygun doz olarak kullanılabilir. Bileşiklerin MİK değer aralığının 62,5 μ M ile 2000 μ M arasında değiştiği görülmektedir. Bakteriler için olan MBK değer aralığı 250 μ M ile 2000 μ M arasında değiştiği görülmüştür. Mayalarda ise MFK değeri sadece *Candida tropicalis* NRRL-Y-12968 mayasında görülmüştür ve bu değer 125 μ M'dır.

Hücrede hedef moleküllerin etki ettiği moleküllerden en önemlilerinden birisi DNA molekülüdür. Hücrede ortaya çıkan bir anormallik aslında DNA'da ya replikasyonda ya da transkripsiyonda bir etkinin olduğunun göstergesidir. Bunun için bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi araştırılırken DNA ile etkileşimi de incelenebilir. Bu çalışmada bileşiklerin 4 farklı konsantrasyonda (4000, 2000, 1000, 500 μ M) plazmit DNA ile etkileştirilerek 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu inkübasyon sonunda plazmit DNA'da olan etkilerine bakılmıştır. Bileşiklerin DNA ile etkileşimi araştırılırken agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde temel prensip agaroz jele yüklenen DNA'lar kendi molekül ağırlıklarına göre hareket ederler. DNA'ların bu şekilde hareketi

esnasında 3 tipte form oluşur. Bunlardan ilki Form I olan süper sargılı olan DNA formudur. Bu yapıdaki form jelde hızlı hareket ederek yavaş hareket eden tek çentikli süper sarmal form denilen Form II DNA'yı oluşturur. DNA enzimle kesildiği zaman Form I ve Form II DNA'ları arasında göç eden bir Form III DNA ortaya çıkar [189].

Bu tezde çalışılan 2-piridil-siklotrifosfazen ve tuzlarının azalan konsantrasyona bağlı bir şekilde plazmit DNA'nın hareketliliği üzerine kesme, parçalama şeklinde etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bileşiklerin DNA'ya bağlanıp bağlanmadığını ve bağlandı ise hangi nükleotitlerinden bağlandığını belirlemek amacıyla *Bam*HI ve *Hind*III enzimleriyle restriksiyon analizi yapılmıştır. Restriksiyon enzimlerinden *Bam*HI DNA'nın 5'-G/GATCC-3' nükleotit bölgesine bağlanırken *Hind*III enzimi ise DNA'nın 5'-A/AGCTT-3' nükleotit bölgesine bağlanır. *Bam*HI enzimiyle yapılan kesim sonucunda bileşiklerin hepsinin DNA'ya bağlanmadığı görülmüştür. Bu enzim kesiminde sadece *Hind*III ile yapılan kesimde GT8 bileşiği kesilmemiştir. Yani DNA'ya Adenin/Adenin nükleotit dizisinden bağlanmıştır. Bu çalışmada DNA'da etkili olan bazı bileşiklerden GT6, GT7, GT8 bileşiklerinin sitotoksik aktivitesi sağlıklı L929 fibroblast hücre hattı ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında araştırılmıştır. Sitotoksik aktivite sonuçlarına göre L929 sağlıklı fibroblast hücre hattında düşük konsantrasyonda (12,5µg/mL) en yüksek sitotoksik etkiyi GT7 bileşiği göstermiştir. Çünkü sağlıklı hücrelerin yüzde canlılık oranını azaltmıştır. Bu konsantrasyonda orta derecede sitotoksik etki gösteren bileşik GT6'dır. En az sitotoksik etki gösteren bileşik ise GT8'dir. Bu bileşik hücre canlılık oranını arttırmıştır. En düşük konsantrasyonda (12,5µg/mL) MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında en yüksek sitotoksik etkiyi GT8 bileşiği göstermiştir. Kanser hücresi canlılığını önemli ölçüde azaltmıştır. Bu hücre hattına orta derecede sitotoksik etki gösteren GT6 bileşiğidir. En az sitotoksik etki yapan bileşik ise GT7 bileşiğidir. Çünkü bu konsantrasyonda kanser hücre canlılığını önemli ölçüde arttırmıştır. Her üç bileşik de seçici toksisite göstermiştir. Yani genel olarak bileşikler sağlıklı L929 fibroblast hücrelerinde hücre canlılığını önemli bir ölçüde azaltmazken, MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında kanserli hücrenin canlılık oranını önemli ölçüde düşürmüştür. Kanser tedavisinde de asıl istediğimiz zaten sağlıklı hücreye çok fazla zarar vermemekle birlikte kanser hücresinin bölünmebirliğini yani yaşam oranını azaltmasıdır. Bu şekilde olması çalışmanın amacı ile örtüştüğünü göstermektedir.

Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamında 2-piridil-siklotifosfazen ve tuzları ile gerçekleştirilen ilk biyolojik aktivite çalışmasıdır. Bu çalışmada kullanılan siklotrifosfazen bileşiklerinin farklı patojen ve mayalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesine bakılmış ve besiyerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları ölçülmüş ve genel olarak bileşiklerin göstermiş olduğu antifungal etkinin antibakteriyel etkiden daha düşük olduğu görülmüştür. Antimikrobiyal aktiviteye sahip olan bileşiklerin MİK, MBK, MFK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemle bileşiklerin mikroorganizmaları inhibe ettiği veya öldürdüğü konsantrasyon belirlenmiştir. Bunların yanında bu bileşiklerin başka mikroorganizmalar üzerinde de antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması önerilmektedir. Bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelenmiştir. Bunun sonucunda bileşiklerden bazılarının plazmit DNA'nın hareketini önemli ölçüde yavaşlattığı, hızlandırdığı, parçaladığı şeklinde etkileri gözlemlenmiştir. Bunun yanında *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile yapılan restriksiyon analizi sonucunda sadece GT8 bileşiğinin *Hind*III enzimi ile kesimi hariç diğer bileşiklerin DNA'yı kestiği belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre GT16 (NN donörlü tamamen piperidin sübstitüe gentisik asit fosfazyum tuzu) ve GT11 (NN donörlü tamamen piperidin sübstitüe trimerik fosfazen)'in iyi bir antibakteriyel ajan olabileceği ve GT8 (NN donörlü tamamen morfolin sübstitüe trimerik fosfazen) bileşiğinin antikanser ajan olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu maddelerin antimikrobiyal, sitotoksik aktiviteleri ve DNA ile etkileşimlerinin yanında antiproliferatif, antitüberküloz, antioksidan gibi daha çok çeşitli biyolojik aktivitelerine bakılarak çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Chandrasekhar, V., Thilagar, P. and Pandian, B. M. (2007). Cyclophosphazene-based multi-site coordination ligands. *Coordination chemistry reviews*, 51(9), 1045-1074.
2. Biswas, R., Keshav, K., Kumar, D. and Elias, A. J. (2014). Reactions of allyzinc bromide with ethynylferrocene derived fluorinated cyclophosphazenes. *Journal of Organometallic Chemistry*, 768, 157-162.
3. Bovin, J.O., Galy, J., Labarre, J.F. and Sournies, F. (1978). Cyclophosphazenes as novel potential antitumor agents: x-ray crystal structure of the octapyrrolidino cyclo tetra phosphazene, N₄P₄ (NC₄H₈) 8. *Journal of Molecular Structure*, 49(2), 421-423.
4. Walsh, C. (2003). Antibiotics: actions, origins, resistance, *American Society for Microbiology Press*, 48(1), 376-378.
5. Korhonen, J. (2010). Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria. Publication of the University of Eastern Finland, *Dissertations in Forestry and Natural Sciences*, Dept of Biosciences.
6. Sharma, P., Tomar, S.K., Goswami, P., Sangwan, V. and Singh, R. (2014). Antibiotic Resistance among Commercially Available Probiotics A Review. *Food Research International*, 57, 176-195.
7. Çetin, A. (2007). Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak Glutatyon S-Transferazlar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27(2), 139-164.
8. Greenwood, N.N. and Earnshaw, A. (1997). Chemistry of The Elements, Second Edition, Butterworth- Heinemann, Oxford, 489-546.
9. Allcock, H.R., Cook, W.J. and Mack, D.P. (1972). Phosphonitrilic compounds. XV. High molecular weight poly [bis (amino) phosphazenes and mixed-substituent poly (aminophosphazenes). *Inorganic Chemistry*, 11, 2584-2590.
10. Tümer, Y., Şehirli, E. and Ataol, Y.Ç. (2017). Syntheses and structural characterizations of first paraben substituted ferrocenyl phosphazene compounds. *Journal of The Turkish Chemical Society*, 4(1), 299-312.
11. Allcock, H.R. and Kugel, R.L. (1965). Synthesis of high polymeric alkoxy and aryloxyphosphonitriles. *Journal of the American Chemical Society*, 87, 4216-4217.
12. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A. and Clark, D.P. (2012). *Brock Biology of microorganisms*. London: Person.
13. Allcock, H.R. (1985). İnorganic Macromolecules. *Chemical & Engineering News*, 18, 22-36.
14. Shaw, R.A. (1998). Synthesis of phenoxy-substituted spiro-ansa phosphazene derivatives. *Pure and Applied Chemistry*, 52, 1063-1097.

15. Allen, C.W. (1962), The sunspot-activity in the years 1610-1960: M. Waldmeier Zurich Schulthess Zurich 1961. *Planetary and Space Science*, 9, 7-68.
16. Brandt, K. and Jedlinski, Z. (1980). Synthesis of spiro derivatives from dinucleophiles and cyclophosphazenes. *Inorganic Chemistry*, 14, 2831-2837.
17. Bullen, G.J. (1971). An improved determination of the crystal structure of hexachlorocyclotriphosphazene. *Journal of Chemical Society*, (A), 1450-1453.
18. Allcock, H.R., Napierala, M.E., Cameron, C.G. and O'connor, S.J.M. (1996). *Macromolecules*, 29, 1951.
19. Allcock, H.R. (2003). Chemistry and Applications of Polyphosphazenes, *John Wiley and Sons*, 20 (1), 165-178.
20. Greenwood, N.N. and Earnshaw, A. (1997). The Elements, Second Edition, Butterworth- Heinemann, Oxford, 489-546.
21. Dinç, G., Doğanay, M. and İzgür, M. (2015). Pet hayvanlarından insanlara bulaşan önemli bakteriyel enfeksiyonlar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72(2), 163-174.
22. İnternet: Tunalı L. *Biyolojik Savaş*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.bilkent.edu.tr%2F%7Ebilheal%2Faykonu%2FAy2003%2Fmarch03%2Fbiyolojiksilahlar.html&date=2018-05,15>, Son Erişim Tarihi: 17.12.2017
23. Ortora, G., Funke, B.R. and Case, C.L. (2004). 8th ed., Pearson Benjamin Cummings, San Francisco. *Microbiology An Introduction*, 25-46.
24. Küçüker, M.A., Tümbay, E. ve Erturan, Z. (2002). *Tıbbi Mikrobiyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri,
25. Talaro, K.P. (2005). Mc Graw Hill Education, fifth edition, *Foundations in Microbiology*, 36-48.
26. Gow, N. A., Latge, J. P. and Munro, C. A. (2017). The fungal cell wall: structure, biosynthesis and function. *Microbiology spectrum*.
27. Molina, M., Gil, C., Pla, J. and Arroyo, J., Nombela, C. (2000). Protein localization approaches for understanding yeast cell wall biogenesis. *Microscopy Research and Technique*, 51, 601-612.
28. Schlegel, H. (1992). Produktion Sekundärer Metabolite, Allgemeine Mikrobiologie, Georg- Thieme Verlag 's, 362-371.
29. Demain, A.L. (1999). Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 52, 455-463.
30. Aktuğlu, Y. (1989). *Klinikte Antibiyotik Kullanımı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayını, 156, 1-71.

31. Nester, E.W., Anderson, D.G., Roberts, C.E. and Nester, M.T. (2009). *Microbiology: A Human Perspective*, (Sixth Edition). New York: The McGraw-Hill Companies, 469-493.
32. Poole, K. (2001). Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *P. aeruginosa* and related organisms. *Journal Molecular Microbiology Biotechnology*, 3(2), 255-64.
33. Walsh, C. (2003). Where will new antibiotics come from. *Nature Reviews Microbiology*, 1(1), 65-69.
34. Wright, D.G. (2003). Mechanisms Of Resistance To Antibiotics, *Current Opinion in Chemical Biology*, 7, 563-569.
35. Kiraz, N. (2006). *Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Yayınları, 67-121.
36. Sağduyu, H. (1989). Aminoglikozid Antimikrobikaller, *Kökem Dergisi* 9(1), 85-88.
37. Rogers, K. (2011). *Infectious Diseases*. United States: Britannica Educational Publishing.
38. Doğruman, A.F. (2000). *Çeşitli klinik örneklerden izole edilen kandida türlerinin tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılığının belirlenmesinde standart makrodilüsyon ile test yöntemlerinin karşılaştırılması*. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.
39. Bottone, E.J. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 23(2), 382-398.
40. Klein, N.C. and Cunha, B.A. (1995). The third generation cephalosporins. *Medical Clinics of North America*, 79(4), 705-19.
41. Courvalin, P. (2005). Genetics of glycopeptide resistance in gram-positive pathogens. *International Journal of Medical Microbiology*, 294(8), 479-86.
42. Öner, M. (1992). *Genel Mikrobiyoloji*. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, 231-245.
43. Happi, C.T., Gbotosho, G.O., Folarin, O.A., Akinboye, D.O., Yusuf, B.O. and Ebong, O.O. (2005). Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* dhfr and dhps genes and age related in vivo sulfaxinepyrimethamine resistance in malaria-infected patients from Nigeria. *Acta Tropica*, 95(3), 183-93.
44. Güven, G.S. and Uzun, O. (2003). Principles of good use of antibiotic in hospitals. *Journal Hospital Infection*, 53, 91-6.
45. Mc Gowan, J.E. and Gerding D.N. (1996). Does antibiotic restriction prevent resistance. *New Horizons*, 4, 370-6.

46. Maleki, D.S., Mennati, A., Jafari, S., Khezri, K. and Adibkia, K. (2015). Antimicrobial activity of carbon-based nanoparticles. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5, 19-23.
47. Kontoyiannis, D.P. and Lewis, R.E. (2002). Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *The lancet*, 359(9312), 1135-1144.
48. Madhavan, H.N. and Sowmiya, M. (2011). Mechanisms of development of antibiotic resistance in bacteria among clinical specimens. *Journal of Clinical and Biomedical Sciences*, 1, 42-48.
49. Yüce, A. (2001). Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 14(2), 41- 46.
50. Elmer, J.J., Christensen, M.D. and Rege, K. (2013). Applying horizontal gene transfer phenomena to enhance non-viral gene therapy. *Journal of Controlled Release*. 172, 246-257.
51. Sümerkan, B. (2003). Yoğun bakım ünitesinde gram-negatif mikroorganizmalar ve direnç sorunu, *Yoğun Bakım Dergisi*, 3(2), 129-134.
52. Devirgilis, C., Coppola, D., Barile, S., Colonna, B. and Perozzi, G. (2009). Characterization of the tn916 conjugative transposon in a food-borne strain of *lactobacillus paracasei*, *Applied an Environmental Microbiology*, 75, 3866-3871.
53. Devirgilis, C., Barile, S., Caravelli, A., Coppola, D. and Perozzi, G. (2010). Identification of tetracycline and erythromycin resistant gram-positive cocci within the fermenting microflora of an italian diary food product, *Journal of Applied Microbiology*, 109, 313-323.
54. Shao, Y., Zhang, W., Gou, H., Pan, L., Zhang, H. and Sun, T. (2015). Comparative studies on antibiotic resistance in *lactobacillus casei* and *lactobacillus plantarum* food control, *Frontiers in Microbiology*, 50, 250-258.
55. Şenol, E. (2005). Antifungal tedavide kombine kullanım, *Flora*, 10(3), 103-107.
56. Perlin, D.S., Shor, E. and Zhao, Y. (2015). Update on antifungal drug resistance. *Curr Clinical Microbiology Rep*, 2, 84-95.
57. Cuenca-Estrella, M. (2014). Antifungal drug resistance mechanisms in pathogenic fungi: from bench to bedside, *Clinical Microbiology Infection*, 20, 9-54.
58. Kanafani, Z.A. and Perfect, J.R. (2008). Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact, *Clinical Infection Diseases*, 46, 8-120.
59. Wang, E., Farmakiotis, D. and Yang, D. (2015). The ever-evolving landscape of candidaemia in patients with acute leukaemia: non-susceptibility to caspofungin and multidrug resistance are associated with increased mortality, *Journal Antimicrobial Chemother*, 70, 8-62.

60. Viscoli, C., Van der Auwera, P. and Meunier, F. (1988). Gram-positive infections in granulocytopenic patients: an important issue. *Jornal Antimicrobial Chemother*, 21, 56-149.
61. Rolston, K.V.I., Raad, I., Whimbey, E. and Bodey, G. P. (1997). The changing spectrum of bacterial infections in febrile neutropenic patients, *Klastersky Journal*, 2(2), 8-53.
62. Cruciani, M., Rampazzo, R. and Malena M. (1996). Prophylaxis with fluoroquinolones for bacterial infections in neutropenic patients, *Clinical Infection Diseases*, 23, 795–805.
63. Kanjee, U. and Houry W.A. (2013). Mechanisms of acid resistance in *Escherichia coli*. *Annual review of microbiology*, 67, 65-81.
64. Alakomi, H.L. and Saarela, M. (2009). Salmonella importance and current status of detection and surveillance methods. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 1(3), 142-152.
65. Gibson, D.L., White, A.P., Snyder, S.D., Martin, S., Heiss, C. and Azadi, P. (2006). *Salmonella* produces an O-antigen capsule regulated by AgfD and important for environmental persistence. *Journal of Bacteriology*, 188, 7722–7730.
66. Demiret, N.N. ve Karapınar, M. (2000). *Süt Ürünlerinde Staphylococcus aureus. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri 6. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı*. Tekirdağ: Rebel yayıncılık, 78-85.
67. Tunail, N. ve Köşker, Ö. (1989). *Süt Mikrobiyolojisi*. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 116, 13.
68. Tong, S.Y., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L. and Fowler, V.G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 603-661.
69. Sekin, Y. ve Karagözlü, N. (1997). *Gıda Mikrobiyolojisi Gıda Endüstrisi İçin Temel Esaslar ve Uygulamalar* (4. Basımdan Çeviri). Ankara: Literatür Yayıncılık.
70. Setlow, P. (2003). Spore germination. *Current Opinion in Microbiology*, 6, 550-556.
71. Murray, R.P., Baron, J.E., Jorgensen, J.H., Landry, L.M. and Pfaller, A.M. (2009). *Klinik Mikrobiyoloji*, (Ed. Başustaoğlu, A.) Ankara: Atlas Kitapçılık, 455-737.
72. Konuray, G., Erginkaya, Z. and Koç, G. (2017). *Bacillus* türlerinin et ürünlerinde probiyotik olarak kullanımları. *Çukurova Tarım Gıda Bilim Dergisi*, 32(2), 47-60.
73. Ruoff, K.L., De La Maza, L., Murragh, M.J., Spargo, J.D. and Ferraro M.J. (1990). Species Identities of *Enterococci* isolated from Clinical Specimens. *Journal of Clinical Mikrobiology*, 28, 435-437.
74. Çelik, Ü. and Alhan, E. (2008). Pediatrik enfeksiyonlarda zorlu patojen *Enterokoklar*. *JournalPediatri Infection*, 3, 58-66.

75. Moellering, R.C. (1981). Infections due to group D streptococci. *Infectious Diseases Rewiev* 6, 1–7.
76. Krieger, J.N., Kaiser, D.L. and Wenzel, R.P. (1983). Urinary tract etiology of bloodstream infections in hospitalize patients. *Jornal Infecious Diseases*, 148, 57 – 62.
77. Herkmen B.T. ve Türkyılmaz S. (2016). Mastisitli sığırlardan izole edilen *Enterococcus faecium* izolatlarında gel E, esp ve efaAfm genlerinin varlığının incelenmesi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 9(2), 54-60.
78. Bilgehan, H. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları*, (10. Baskı), İzmir: Barış Yayınları, 59-69.
79. Şihca, S. ve Demirdöğen, E., Dığrak, M. (2012). Kahramanmaraş'ta kliniklere başvuran hastalardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi. *Karaelmas Science and Engineering Journal*, 2(1), 47-52.
80. Tümbay, E. (2009). *Candida, Cryptococcus* ve tıbbi önemi olan diğer mayalar, Klinik Mikrobiyoloji, (Cilt 2), (9. Baskı). (Ed. Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldiran ŞT, Tanyüksel M), Ankara: Atlas kitapçılık, 1762-1764.
81. Sav, H., Demir, G., Atalay, M. ve Koç, N.A. (2013). Klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 70(4), 175-180.
82. Levinson, W. (2008). Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 106-507.
83. Gültekin, A., Koç, N.A. ve Atalay, A.A. (2013). *Candida* türlerinin tanımlanmasında kromojenik besiyerinin değerlendirilmesi. *Journal of Health Sciences*, 22(1), 24-30.
84. Nakagawa, Y., Ohno, N. and Murai, T. (2003). Suppression by *Candida albicans* beta-glucan of cytokine release from activated human monocytes and from T cells in the presence of monocytes. *Journal Infectious Diseases*, 187(4), 3-710.
85. Kothavade, R.J., Kura, M.M., Valand, A.G. and Panthaki, M.H. (2010). *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole, *Journal of Medical Microbiology*, 59, 873–880.
86. Krcmery, V.Jr. (1999). Candidemia in cancer patients: Risk factors and outcome in 140 episodes from a single cancer institution. *Acta Chemotherapy*, 5, 133-145.
87. Sudhakar, A. (2009). History of cancer, ancient and modern treatment methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 1(2), 1-2.
88. İnternet: *The History of Cancer*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.cancer.org%2Fcancer%2Fcancerbasics%2Fthehistoryofcancer%2Findex%3Fsitearea%3A+American+Cancer+Society&date=2018-05-15> Son Erişim Tarihi: 10.12.2017

89. Lonardo, A., Nasi, S. and Pulciani, S. (2015). Cancer: We should not forget the past. *Journal of Cancer*, 6(1), 29-39.
90. Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A.A., Çalı, G.Ü., Dalkara, S., Erdoğan, H., Demir, D., Ertan, M., Gökhan, N., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S. ve Tozkoparan, B. (2004). *Farmasötik Kimya-Temel Kavramlar*, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
91. Daşdağ, S. (2010). İyonlaştırıcı Radyasyonlar ve Kanser. *Dicle Tıp Dergisi*, 37(2), 177-185.
92. Ekmekçi, A., Konaç, E. ve Önen, H.İ. (2008). Gen Polimorfizimi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medical Journal*, 21(3), 282-295.
93. Clavel, J. (2007). Progress in the epidemiological understanding of gene-environment interactions in major diseases: cancer. *Comptes Rendus Biologies*, 330(4), 306-17.
94. Güven, S. (2014). Türkiyede Sağlık Sosyolojisi Çalışmaları. *Sosyoloji Dergisi*, 3(29): 127-153.
95. Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57-70.
96. Chan, G.C., Chan, W.K. and Sze, D.M. (2009). The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. *Journal of Hematology Oncology*, 2, 25.
97. Kaneno, R., Fontanari, L.M., Santos, S.A., Di Stasi, L.C., Rodrigues Filho, E. and Eira, A.F. (2004). Effects of extracts from Brazilian sun-mushroom (*Agaricus blazei*) on the NK activity and lymphoproliferative responsiveness of Ehrlich tumor-bearing mice. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 909–916.
98. Nowell, P.C. (1986). Mechanisms of tumor progression. *Cancer Research*, 46, 7-2203.
99. Türkçapar, N. ve Özden, A. (2005). Tümör Markırları ve Klinik Önemi. *Güncel Gastroenteroloji*, 9(4), 271-281.
100. Kaptan, H., Kasımcı, Ö. ve Çakıroğlu, K. (2008). Spinal tümörler. *Sinir Sistemi Cerrahi Dergisi*, 1, 59-66.
101. Merlo, L.M., Pepper, J.W., Reid, B.J. and Maley, C.C. (2006). Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature Reviews Cancer*, 6, 924-935.
102. Almeida, C.A. and Barry, S.A. (2010). Cancer: Basic Science and Clinical Aspects. *Chichester*, 1-23.
103. Siegel, R., Ward, E., Brawley, O. and Jemal, A. (2011). Cancer statistics, The impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61, 212–236.
104. Enger, E.D., Ross, F.C. and Bailey, D.B. (2012). *Concept in Biology* (Fourteenth Edition). New York: The Mc Graw-Hill Companies, 167-185.

105. Boyle, P. and Levin, B. (2008). World Cancer Report 2008, International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, 11-39.
106. Ringer, D.P. and Schnipper, L.E. (2001). Principles of Cancer Biology. İn: Lenhard RE, Osteen RT, Gansler T;eds. *Clinical Oncology Atlanta: American Cancer Society*, 21-35.
107. Dalay, N. (2000). *Kanser Biyolojisi*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları, 48-53.
108. Park, M.T. and Lee S.J. (2003). Cell cycle and cancer. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 36(1), 60-5.
109. Molinari, M. (2000). Cell cycle check points and their activation in human cancer. *Cell Proliferation*, 33, 261-74.
110. Otto, T. and Scinski, P. (2017). Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 17(2), 93-115.
111. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P. (2002). *Molecular biology of the cell*, New York: Gerlande Science.
112. Çoğullu, Ö., Alpman, A., Durmaz, B., Özkinay, F. (2007). Mitoz ve mayozun moleküler temelleri. *Journal of Medical Sciences*, 27, 725-735.
113. Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E.Y. (2002). *İnsan Biyokimyası*. Ankara: Palme yayıncılık, 75-569.
114. Scriver, C. R., Beaudet, A.L., Sly, W.S. and Valle, D. (2001). *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. New York: Mc Graw-Hill, 613-74.
115. Pazarbaşı, A. and Kasap, M. (2003). Kanser Genetiği. *Dergi Park*, 12, 328-330.
116. Kopnin, P. (2000). Targets of onkogenes and tümör suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. *Biochemistry (Mosc)*, 1, 2-27.
117. Liu, D. and Wang, L. (1994). Onkogenes, Protein Tyrosine Kinases, and Signal Transduction. *Journal Biomedical Science*, 2, 65-82.
118. Loeb, K.R. and Loeb, L.A. (2000). Significance of multiple mutations in cancer. *Carcinogenesis*, 21, 85-379.
119. Felsher, D.W. (2004). Reversibility of oncogene-induced cancer. *Current Opinion in Genetics Development*, 14(1), 37-42.
120. Kumar, S. and Raman, T. (2013). Ras and Ras mutations in cancer. *Central European Journal of Biology*, 8(7), 69-624.
121. Williams, G.M. (2001). Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology*, 14, 3-10.

122. Almasan, A., Yin, Y., Kelly, R., Lee, E., Bradley, A., Bertino, J. and Wahl, G. (1995). Deficiency of retinoblastoma protein leads to inappropriate S-phase entry, activation of E2F-responsive genes, and apoptosis. *Proceedings of the National Academy Sciences USA*, 92(54), 36–40.
123. Su, Z., Yang, Z., Xu, Y. and Chen, Y. (2015). Apoptosis, autophagy, necroptosis and cancer metastasis. *Molecular cancer*, 14(1), 48.
124. Öktem, S., Özhan, M.H. and Özol, D. (2001). Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2 (1), 91-95,
125. Staley, K., Blaschke, A.J. and Chun, J. (1997) Apoptotic DNA fragmentation is detected by a semiquantitative ligation-mediated PCR of blunt DNA ends. *Cell Death and Differentiation*, 4, 66 -75.
126. Akşit, H. and Bildik, A. (2008). Apoptozis. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(1), 55-63.
127. Dinçel, Ç.G. and Kul, O. (2016). Patolojik Apoptozis ve Tanı Yöntemleri. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(1), 86-108.
128. Hossfeld, D.K., Sherman, C.D., Love, R.R. and Bosch, F.X. (1990). Manuel of Clinical Oncology (5 th ed). *Union for International Cancer Control Genova*, 236-248.
129. Vaz, J.A., Ferreira, I.C.F.R., Tavares, C., Almedia, G.M., Martins, A. and Vasconcelos, M.H. (2012). Suillus collinitus methanolic extract increases p53 expression and causes cell cycle arrest and apoptosis in a breast cancer cell line. *Food Chemistry* 135, 596–602.
130. Kopuz, C. (2008). Göğüs Ön ve Yan Duvarlarının Anatomisi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 42-51.
131. Yalav, O. (2009). *Erken Evre Meme Kanseri Hastalarında Sentinel Lenf Nodu Biyopsisinin Yeri, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Adana.*
132. Narod, S.A. (2006). Modifier of risk of hereditary breast cancer. *Oncogene*, 25(43), 5832-6.
133. Donegan, W. L. (1992). Evaluation of palpable breast mass. *New England Journal of Medicine*. 327, 937-939.
134. Bomford, C.K., Kunkler, I.H. and Sherriff, S.B. (1993). *Walter and Miller's Textbook of RT, Radiation Physics, Therapy and Oncology*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 383-394.
135. Sezgin E. (2009). *PCR-RFLP Yöntemi İle Meme Kanseri Olgularına Ait Parafin Blok Doku Kesitlerinde HER-2/neu Gen Polimorfizminin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara.

136. Erhan, Y. (1995). Meme Kanserinde Onkogenler ve Tümöt Süpresör Genler. *Türkiye Ekopatoloji Dergisi*, 1(2), 24-28.
137. Cannazik, Y. (2012). *Meme Kanseri Olgularında BRCA1 Geni Metilasyon Paterninin MS-HRM Yöntemi İle İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir.
138. Dalay N. (2003). *Meme Kanserlerinde Moleküler Genetik Ve Kalıtsal Meme Kanserleri*, Kalıtsal Hastalıklara Moleküler Tıp Açısından Bakış Sempozyumu, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, İstanbul, 73-86.
139. Zeren, S., Sobutay, E., Ağca, B. and Sarı, K. (2011). Erkek Meme Kanseri. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 27(2), 110-113.
140. Sener, S.F. and Grey, N. (2005). The global burden of cancer. *Journal of Surgical Oncology*, 92, 1–3.
141. Salminen, E., Izewska, J. and Andreo, P. (2005). IAEA's role in the global management of cancer-focus on upgrading radiotherapy services. *Acta Oncology*, 44, 816–824.
142. Shay, J.W. (2016). Role of telomeres and telomerase in aging and cancer. *Cancer discovery*, 6(6), 584-593.
143. Tuncer, M., Özgül, N., Olcayto, E., Gültekin, M. ve Dede, İ. (2008). KETEM (Kanser Erken Teşhis, Tarama ve Eğitim Merkezi) El Kitabı, TC. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı, Ankara.
144. İnternet: Ferlay, J., Soerjomataram, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D. M., Forman, D. and Bray., F. (2012). *Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2F%2F%2Fglobocan.iarc.fr&date=2018-05-15>, Erişim Tarihi:16.01.2017.
145. Harvey, K.F., Zhang, X. and Thomas, D. M. (2013). The Hippo pathway and human cancer. *Nature Reviews Cancer*, 13(4), 246-257.
146. Kintzel, P.E. (2001). Anticancer drug-induced kidney disorders. Incidence, prevention and management. *Drug Safety*, 24, 19-38.
147. Can, G. (2005). Side Effects of Antineoplastic Drugs and Nursing Approaches. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi*, 2(2), 8-15.
148. Aldridge, W.N. (1993). The biochemical principles of toxicology. *Experimental Toxicology*, 5, 56-78.
149. Murray, P.E., García Godoy, C. and Godoy, F. (2007). How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated. *Medicina Oral Patologia Oral Cirugia Bucal*, 12(3), 58-66.

150. Tuncer, S. and Demirci, M. (2011). Dental materyallerde biyoyumluluk değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diř Hekimlięi Fakóltesi Dergisi*, 21(2), 141-149.
151. Oktar, N. (2009). *K562 Hücre Dizisinde Fosfin Bileşiklerinin Sitotoksik Etkisinin Mtt (3-[4,5-dimethylthiazole-2yl]-2,5-diphenyltetrazolium Bromide; Thiazolyl Blue) ile Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
152. Kayaalp, S.O. (1998). *Tıbbi Farmakoloji* (8. Baskı), Ankara: Hacettepe Kitapcılık, 376-411.
153. Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. and Flower, R.J. (2012). Henderson G, Rang and Dale's Pharmacology, *New York*, 673-688.
154. Can, G. (2005). Antineoplastik İlaçların Yan Etkileri ve Hemşirelik Yaklaşımları. *Hemşirelik Eğitim ve Araştırma Dergisi*, 2(2), 8-15.
155. Roghani, T. and Omoto, M.K. (1996). *Kanserlerin önlenmesi ve kanser riskinin azaltılması. Amerikan Kanser Birliği Hemşireler için Kanser El kitabı*, Ankara: Akşam Sanat Okulu Matbaası.
156. Watson, J.D. and Crick, F.H. (1953). Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 171, 737-738.
157. Klug, W.S., Cummings, M.R. and Spencer, C.A. (1997). *Concepts of genetics*. New York: Prentice Hall Englewood Cliffs.
158. Wing, R., Drew, H., Takano, T., Broka, C., Tanaka, S., Itakura, K. and Dickerson, R. (1980). Crystal structure analysis of a complete turn of B-DNA. *Nature*, 287, 755-758.
159. Li, H., Mei, W.J., Xu, Z.H., Pang, D.W., Ji, L.N. and Lin, Z.H. (2007). Electrochemistry of a novel monoruthenated porphyrin and its interaction with DNA, *Journal Electroanal Chemistry*, 600, 243–250.
160. Li, C., Liu, S. L. and Guo, L. H. (2005). A new chemically amplified electrochemical system for DNA detection in solution, *Electrochemistry Communications*, 7, 23–2.
161. Hasanzadeh, M. and Shadjou, N. (2016). Pharmogenomic study using bio and nanobioelectrochemistry: Drug-DNA interaction. *Materials Science and Engineering C*, 1003-1004.
162. Mc Evoy, G.K. (2004). *AHFS 2004 Drug Information*. Bethesda. Maryland: American Society of Health-System Pharmacists. 929-945.
163. Chabner, B.A. and Longo, D.L. (2001). Cancer chemotherapy and biotherapy. *Lippincott Williams & Wilkins*, 453-459.
164. Leonard, B.J., Eccleston, E., Jones, D. and Todd, P. (1971). Walpoles A: Antileukemic and nephrotoxic properties of platinum compounds. *Nature*, 234, 43-45.

165. Fuertes, M.A., Alonso, C. and Perez, J.M. (2003). Biochemical modulation of Cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. *Chemistry Review*, 103(3), 645-62.
166. Sirajuddin, M., Ali, S. and Badshah, A. (2013). Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry Photobiology*, 124, 1-19.
167. Schulz, W.A. (2005). *Molecular biology of human cancer*. Germany: Springer Science, Business Media.
168. Yunus, G., Srivastava, S., Kuddus, M. and Gupta, V. (2013). Drug DNA interaction: A theoretical study on the binding of thionine with DNA's of varying base composition. *Current Applied Physics*, 13, 322-326.
169. Alberti, E., Zampakou, M. and Donghi, D. (2016). Covalent and non-covalent binding of metal complexes to RNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 163, 278-291.
170. Rajendiran, V., Palaniandavar, M., Periasamy, V. and Akbarsha, M. (2012). New [Ru(5,6-dmp/3,4,7,8-tmp)2(diimine)]²⁺ complexes: Non-covalent DNA and protein binding, anticancer activity and fluorescent probes for nuclear and protein components. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 116, 151-162.
171. Top, M., Er, O., Congur, G., Erdem, A. and Lammrecht, F. (2016). Intracellular uptake study of radiolabeled anticancer drug and impedimetric detection of its interaction with DNA. *Talanta*, 160, 157-163.
172. Newman, D.J. and Cragg, G.M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, 70, 461-477.
173. Akbaş, H., Karadağ, A., Aydın, A., Destegül, A. and Kılıç, Z. (2017) Synthesis, structural and thermal properties of the hexapyrrolidinocyclotriphosphazenes- based protic molten salts: Antiproliferative effects against HT29, Hela and C6 cancer cell lines. *Journal of Molecular Liquids* 230:482-495.
174. El-Sonbati, A.Z., Shoair, A.F., El-Bindary, A.A., Diab, M.A. and Mohamed, A.S. (2015) Synthesis, characterization, DNA binding and catalytic activities of Ru(III) complexes. *Journal of Molecular Liquids*, 209, 635-647.
175. Sigman, D.S., Mazumder, A. and Perrin, D.M. (1993). Chemical nucleases. *Chemical Review*, 93, 2295-2316.
176. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, Y., Açık, L., Süzen, Y. and Öner, Y. (2013) Phosphorus-nitrogen compounds: Part 26. Syntheses, spectroscopic and structural investigations, biological and cytotoxic activities, and DNA interactions of mono and bisferrocenylspirocyclotriphosphazenes. *Inorganica Chimica Acta*, 400, 250261.
177. Akbas, H., Okumuş, A., Kilic, Z., Hokelek, T., Suzen, Y., Koc, L. Y., Acik, L. and Celik, Z. B. (2013). Phosphorus-nitrogen compounds part 27. Syntheses, structural characterizations, antimicrobial and cytotoxic activities, and DNA interactions of

- new phosphazenes bearing secondary amino and pendant (4-fluorobenzyl)spiro groups. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 70, 294-307.
178. Yildiz, M., Yilmaz, S., Dölger, B. (2007). Synthesis, spectral properties, and antimicrobial activity of 2-aryl-amino-2,4,4,6,6-pentachloro-1,3,5,2λ⁵,4λ⁵,6λ⁵-triazatriphosphines and poly[bis(4-fluorophenylamino)phosphazene]. *Russian Journal of General Chemistry*, 77(12), 2117-2122.
 179. Işıklan, M., Asmafiliz, N., Özalp, E. E., İlter, E. E., Kılıç, Z., Çoşut, B., Yeşilot, S., Kılıç, A., Öztürk, A., Hökelek, T., Bilir, L. Y. K., Açık L. and Akyüz, E. (2010). Phosphorus–Nitrogen Compounds. 21. Syntheses, Structural Investigations, Biological Activities, and DNA Interactions of New N/O Spirocyclic Phosphazene Derivatives. The NMR Behaviors of Chiral Phosphazenes with Stereogenic Centers upon the Addition of C, *Inorganic Chemistry*, 49(15), 7057-7071.
 180. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hayvalı, Z., Açık, L., Hökelek, T., Dal, H. and Öner, Y. (2012). Phosphorus–nitrogen compounds. Part 23: Syntheses, structural investigations, biological activities, and DNA interactions of new N/O spirocyclo-triphosphazenes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 86, 214-223.
 181. Yıldırım, T., Bilgin, K., Çiftçi, Y., Eçik, E. T., Şenkuytu, E., Uludağ, Y., Tomak, L. and Kılıç, A. (2012). Synthesis, cytotoxicity and apoptosis of cyclotriphosphazene compounds as anticancer, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 52, 213-220.
 182. Tümer, Y., Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hökelek, T., Soltanzade, H., Açık, L., Yola, M. and Solak, A.O. (2015). Phosphorus-nitrogen compounds: part 30. Syntheses and structural investigations NN or NO spirocyclic monoferrocenyl cyclotriphosphazenes. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 20(1), 165-178.
 183. Okumuş, A., Akbaş, H., Kılıç, Z., Koç, L., Y., Açık, L., Aydın, B., Türk, M., Hökelek T. and Dal, H. (2016). Phosphorus-nitrogen compounds part 33: in vitro cytotoxic and antimicrobial activities, DNA interactions, syntheses, and structural investigations of new mono (4-nitrobenzyl) spirocyclo-triphosphazenes. *Research on Chemical Intermediates*, 42(5), 4221-4251.
 184. Elmas, G., Okumuş, A., Kılıç, Z., Gönder, L.Y., Açık, L. and Hökelek, T. (2016). The syntheses and structural characterizations, antimicrobial activity and in vitro DNA binding of 4-fluorobenzylspiro (N/O) cyclotriphosphazenes and their phosphazanium salts. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 3(3), 25-46.
 185. Berberoğlu, İ., Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, L.Y., Açık, L., Türk, M., Soltanzade, H. and Dal, H. (2016). Phosphorus nitrogen compounds: Part 34. Syntheses, structural investigations, cytotoxic and biological activities of spiro-ansa-spiro tetrameric phosphazene derivatives. *Inorganica Chimica Acta*, 446, 75-86.
 186. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Civan, M., Avcı, O., Gönder, L. Y., Açık, L., Aydın, B., Türk, M. and Hökelek, T. (2016). Phosphorus-nitrogen compounds. Part 36.

- Syntheses, Langmuir-Blodgett thin films and biological activities of spiro-bino-spiro trimeric phosphazenes. *New Journal of Chemistry*, 40(11), 9609-9626.
187. Koran, K., Ozkaya, A., Özen, F., Cil, E. and Arslan, M. (2013). Synthesis, characterization and biological evaluation of new oxime-phosphazenes. *Research on Chemical Intermediates*, 39(3), 1109-1124.
188. Okumuş, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Dal, H., Açıık, L., Öner, Y. and Koç, L.Y. (2011). Phosphorus-nitrogen compounds part 22. Syntheses, structural investigations, biological activities and DNA interactions of new mono and bis (4-fluorobenzyl) spirocyclophosphazenes. *Polyhedron*, 30(17), 2896-2907.
189. G. Enjun, L. Lei and Z., Mingchang, W. (2009). *Chinese Journal of Chemistry*, 27, 1285-1290.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖZBEDEN, Pelin
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 11.10.1993, Rize
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 05437821427
 e-mail : plnozbeden@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Moleküler Biyoloji	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji	2015
Lise	İnönü Anadolu Lisesi	2011

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016	Türk Telekom Anadolu Lisesi	Stajer Öğretmen
2014	Türkiye Halk Sağlığı Kurumu	Stajer Mikrobiyolog

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Asmafiliz N., İşcan Ö., Açık L., Özbeden P. and Hökelek T. (2018, 26-27 April). *Synthesis, spectroscopic and crystallographic properties, and biological activities of partly- and fully- substituted monospiro-4-chlorobenzylaminophosphazenes*. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences kongresinde sunuldu, Ankara.

Özbeden P., Açık L., Elmas G. and Kılıç Z. (2017, 22-25 May). *Investigations of Antimicrobial Activities and DNA Interactions of NN and NO donor typed (2-pyrdyl) Spiro-Cyclotriphosphazenes*. In the 6th International Congress of Molecular Medicine kongresinde sunuldu, İstanbul.

Hobiler

Yürüyüş yapmak, kitap okumak, müzik dinlemek.



GAZİ GELECEKTİR..