



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SÜLFONAMİD TABANLI İMİN BİLEŞİKLERİNİN BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

GÖZDE TURHAN BİLGİ

Tez Danışmanı

DR. ÖĞR. ÜYESİ NESLİHAN DEMİR

ÇANAKKALE – 2023



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SÜLFONAMİD TABANLI İMİN BİLEŞİKLERİNİN BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

GÖZDE TURHAN BİLGİ

Tez Danışmanı

DR. ÖĞRETİM ÜYESİ NESLİHAN DEMİR

ÇANAKKALE – 2023

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Gözde TURHAN BİLGİ

31/08/2023

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam sũresince bana yœn gœsteren, desteklerini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Dr. Őđretim Őyesi Neslihan DEMİR'e, tez çalışmamda kullanılan bileşikleri sentezleyen ve yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a katkıları için sonsuz teőekkũrlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında benden yardımlarını esirgemeyen değerli Bũřra DALGIÇ ve Sultan SũCũ'ya emeklerinden dolayı teőekkũrũ bir borç bilirim.

Çalışmam sũresince tũm zorlukları benimle gœđũsleyen hayatımın her evresinde bana destek olan eşim Sadi Turgut BİLGİ, kızım Neris BİLGİ ve oğlum Joy'a sonsuz teőekkũrlerimi sunarım.

Gœzde TURHAN BİLGİ
anakkale, Ağustos 2023

ÖZET

SÜLFONAMİD TABANLI İMİN BİLEŞİKLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gözde TURHAN BİLGİ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR

31/08/2023, 77

Bu çalışmada sülfonamid tabanlı Schiff bazları 4-Fluoro-*N*-(2-hydroxy-5-methylbenzylidene)benzensulfonamid (**1**), 4-Fluoro-*N*-(2-hydroxy-5-nitrobenzylidene)benzensulfonamid (**2**) ve 4-Fluoro-*N*-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)benzenesulfonamid (**3**) kullanıldı. Schiff bazları **1**, **2** ve **3**'ün DNA bağlanma ve DNA kırma aktiviteleri sırasıyla UV-Vis spektroskopisi ve agaroz jel elektroforez, antioksidan kapasiteleri DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, süperoksit ve hidroksil radikal süpürme yöntemleri ile *in vitro* olarak araştırıldı. Ayrıca bileşiklerin antibakteriyal, antifungal, antibiyofilm ve topoizomeraz enzim inhibisyon aktiviteleri incelendi.

UV-Vis spektroskopi çalışmaları bileşiklerin dana timus DNA (CT-DNA) ile elektrostatik olarak etkileştiğini gösterdi. Jel elektroforez sonuçlarından bileşik **2** ve **3**'ün plazmid pBR322 DNA'sını farklı konsantrasyonlarda hidrolitik ve oksidatif olarak kırarken, bileşik **1**'in oksidatif olarak kırdığı görüldü. Bileşiklerin antioksidan aktiviteleri standart olarak kullanılan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve askorbik asit ile karşılaştırıldı. Bileşik **1**'in DPPH, ABTS radikal giderme, süperoksit ve hidroksil anyon giderme aktivite sonuçlarına göre en aktif, FRAP ve CUPRAC testlerine göre ise bileşik **3**'ün daha aktif olduğu bulundu. Bileşiklerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) yöntemi ile bakteriler ve maya gelişimi üzerinde etkili olduğu, disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılan antifungal aktivite çalışmasında bileşik **1**'in antifungal aktivite göstermediği, bileşik **2** ve bileşik **3**'ün antifungal aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Ayrıca tüm bileşiklerin kullanılan bakterilere karşı farklı değerlerde antibiyofilm aktivite gösterdiği tespit edildi.

Topoizomeraz enzim inhibisyon aktiviteleri test edilen bileşiklerin hepsinin topoizomeraz I enzimini tam olarak inaktif hale getirdiği, Form I oluşumunu indüklediği ve eş zamanlı olarak gevşemeye izin vermedikleri bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Sülfonamid, DNA, Antibakteriyal, Antifungal, Antioksidan, Topoizomeraz I



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SULFONAMIDE-BASED IMINE COMPOUNDS

Gözde TURHAN BİLGİ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Dissertation in Biological Science

Advisor: Assist. Prof. Dr. Neslihan DEMİR

31/08/2023, 77

In this study, three sulfonamide-based Schiff bases were prepared: 4-Fluoro-*N*-(2-hydroxy-5-methylbenzylidene) benzenesulfonamide (**C1**), 4-Fluoro-*N*-(2-hydroxy-5-nitrobenzylidene) benzenesulfonamide (**C2**) and 4-Fluoro-*N*-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene) benzenesulfonamide (**C3**). DNA binding and cleavage capabilities of the prepared compounds were investigated by UV-Vis spectroscopy and agarose gel electrophoresis respectively. Their antioxidant capacities were investigated *in vitro* by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, superoxide and hydroxyl radical scavenging methods. In addition, the antibacterial, antifungal, antibiofilm and topoisomerase enzyme inhibition activities of the compounds were examined. As a result of UV-Vis spectroscopy studies, compounds were observed to interact electrostatically with Calf Thymus DNA (CT-DNA). From the gel electrophoresis results, **C2** and **C3** cleaved pBR322 plasmid DNA (pDNA) hydrolytically and oxidatively at different concentrations, while **C1** cleaved the DNA oxidatively. The antioxidant capacities of the compounds were compared with standard butylated hydroxytoluene (BHT) and ascorbic acid. **C1** was the most active according to DPPH, ABTS radical scavenging, superoxide and hydroxyl anion scavenging activity results, while **C3** was more active according to FRAP and CUPRAC tests. Compounds were found to be effective on the growth of both bacteria and yeasts by the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) method. In the antifungal activity study using the disk diffusion method, **C1** did not show antifungal activity, while **C2** and **C3** displayed antifungal activity. In addition, all compounds exhibited different levels of antibiofilm activity depending on the bacteria used. It was found that all of the compounds tested for topoisomerase enzyme

inhibition activities completely inactivate the topoisomerase I enzyme, induce Form I formation and do not allow simultaneous relaxation.

Keywords: Sulfonamide, DNA, Antioxidant, Antibacterial, Antifungal, Topoisomerase I



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI	i
ETİK BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

1

GİRİŞ

İKİNCİ BÖLÜM

3

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Schiff Bazları	3
2.1.1. Schiff Bazlarının Sentezi.....	4
2.1.2. Schiff Bazlarının Sentez Yöntemleri.....	5
2.1.3. Schiff Bazlarının Kullanım Alanları	5
2.2. Sülfonamidler	7
2.2.1. Sülfonamidlerin Sentezi	10
2.2.2. Sülfonamidlerin Etki Mekanizması.....	12
2.2.3. Sülfonamidlerin Kullanım Alanları.....	13
2.3. Sülfonamid Schiff Bazları	14
2.4. DNA ile Etkileşimler	15
2.4.1. DNA'ya Bağlanma	15
2.4.2. DNA Kırma	18
2.5. Antioksidan Aktivite.....	20
2.5.1. Antioksidan Aktivitenin Ölçülmesi.....	23

2.5.2.	FRAP (Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi)	23
2.5.3.	DPPH (Serbest Radikal Giderme Aktivitesi)	24
2.5.4.	CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemi).....	24
2.5.5.	ABTS Katyon Radikali Giderme Aktivitesi.....	24
2.5.6.	Hidroksil Radikal Süpürme Aktivitesi	25
2.5.7.	Süperoksit (O ₂ ⁻) Radikal Süpürme Yöntemi (SOD)	25
2.6.	Antimikrobiyal Etki	26
2.7.	Antibiyofilm Aktivitesi.....	29
2.8.	Topoizomeraz	31
2.8.1.	DNA Topoizomeraz I.....	31
2.8.2.	Memeli DNA Topoizomeraz I Zehirleri-Kamptotesin.....	33
2.8.3.	Kamptotesin Olmayan Topoizomeraz I İnhibitörleri	35
2.9.	Sülfonamid Schiff Bazları ile Yapılan Çalışmalar	35

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.	Materyal.....	43
3.1.1.	Sülfonamid Tabanlı İmin Bileşikler	43
3.2.	Yöntem	44
3.2.1.	Bileşiklerin DNA ile Etkileşimlerinin Analizleri.....	44
	Bileşiklerin DNA Bağlanma Aktivitesinin Belirlenmesi	44
	Bileşiklerin DNA Kıırma Aktivitesinin Belirlenmesi	45
3.2.2.	Antioksidan Aktivite Analizleri	46
	DPPH• Radikali Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi	46
	ABTS•+ Katyon Radikali Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi	46
	FRAP (Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi) Aktivitesinin Belirlenmesi	47
	CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemi) Aktivitesinin Belirlenmesi ..	47
	Hidroksil Radikal Süpürme Aktivitesi	47

Süperoksit Anyon Radikalleri Süpürme Aktivitesi (SOD Benzeri Aktivitesinin in vitro Değerlendirilmesi).....	48
3.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Analizleri	48
Broth Mikrodilüsyon Yöntemi	48
Antifungal Aktivitenin Disk Difüzyon Yöntemi ile Belirlenmesi	49
3.2.4. Antibiyofilm Aktivite	49
3.2.5. Topoizomerez I Enzim İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi	49
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM	
ARAŞTIRMA BULGULARI	
4.1. Bulgular	51
4.1.1. DNA Bağlama Aktivitesi Bulguları	51
4.1.2. DNA Kırma Aktivitesi Bulguları	53
4.1.3. Antioksidan Aktivite Bulguları	53
4.1.4. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları	55
4.1.5. Antibiyofilm Aktivitesi Bulguları	57
4.1.6. DNA Topoizomerez I Aktivitesi Bulguları	58
4.2. Tartışma	59
BEŞİNCİ BÖLÜM	
SONUÇ VE ÖNERİLER	
KAYNAKÇA	66
ÖZGEÇMİŞ	I

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
Abs	Absorbans
AMB20	Amfoterisin B 20
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
AZS (NaN ₃)	Sodyum Azid
bç	Baz Çifti
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
BSA	Bovine Serum Albümin
CPT	Kamptotesin
CT-DNA	Dana Timus-Deoksiribonükleik Asit
Dk	Dakika
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
DTT	Ditiyotreitol
EB	Etidyum Bromür
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FRAP	Demir İyonlarını İndirgeyici Antioksidan Gücü
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HCl	Hidroklorik Asit
IC ₅₀	Enzimin %50'sini İnhibe Eden İnhibitörün Molar Konsantrasyonu
Kb	Bağlanma Sabiti
Ki	İnhibisyon Sabiti
L	Litre
M	Molar
MA	Molekül Ağırlığı
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MCZ10	Miconazole 10

mg	Miligram
MHA	Müeller-Hinton Agar
MHB	Müeller-Hinton Broth
MIK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
N	Normalite
NA	Nutrient Agar
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
NB	Nutrient Broth
NBT	Nitro Blue Tetrazolyum
Nm	Nanometre
pH	Hidrojen İyonu Konsantrasyonu
ppm	Milyonda bir
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SDA	Sabouraud Dekstroz Agar
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
TAE	Tris-Asetik asit-EDTA
TE	Tris EDTA
TNE	Tris-HCl, NaCl, EDTA
Topo-I	Topoizomeraz I Enzim İnhibisyonu
TPTZ	2,3,5-Triphenyltetrazolium Klorit
Tris	Tris(hidroksimetil) aminometan
U	Ünite
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole-Görünür Bölge
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Bileşik 1, 2 ve 3'ün kod, ad, kimyasal formül, gerçek ağırlık, moleküler ağırlık, m/z ve elemental analizleri	43
Tablo 2	Bileşik 1, 2 ve 3'ün radikal süpürme aktiviteleri	54
Tablo 3	Bileşik 1, 2 ve 3'ün CUPRAC metal indirgeme ölçümleri (Ortalama absorbans \pm SEM, $\lambda=450$ nm)	54
Tablo 4	Bileşik 1, 2 ve 3'ün FRAP metal indirgeme ölçümleri (Ortalama absorbans \pm SEM, $\lambda=593$ nm)	54
Tablo 5	Test bileşiklerine ait MİK değerleri	56
Tablo 6	Test bileşiklerine ait antifungal aktivite değerleri	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Schiff bazlarının R ₁ , R ₂ ve R ₃ 'ün alkil veya genellikle aril grupları olduğu spesifik yapı fragman özelliği.	3
Şekil 2	Aminlerle karbonil bileşiklerinin yoğunlaşma mekanizması.	4
Şekil 3	Prontosil'in sülfanilamide dönüşümü.	7
Şekil 4	Sülfisoksazol molekül yapısı.	8
Şekil 5	Sülfametoksazol molekül yapısı.	8
Şekil 6	Sülfadoksin molekül yapısı.	9
Şekil 7	Çeşitli sülfonamid antimikrobiyal ilaçların yapıları.	10
Şekil 8	Oda sıcaklığında sulu ortamda sülfonamid sentezinin şematik gösterimi.	11
Şekil 9	PABA ve sülfonamid arasındaki yapısal benzerlik.	12
Şekil 10	Bakterilerin yüzeyde biyofilm oluşturma aşamaları.	29
Şekil 11	Memeli DNA topoizomeraz I reaksiyon mekanizması.	33
Şekil 12	(<i>E</i>)-4-fluoro- <i>N</i> -(2-hydroxy-5-methylbenzylidene)benzenesulfonamide (1).	44
Şekil 13	(<i>E</i>)-4-fluoro- <i>N</i> -(2-hydroxy-5-nitrobenzylidene)benzenesulfonamide (2).	44
Şekil 14	(<i>E</i>)-4-fluoro- <i>N</i> -((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)benzenesulfonamid (3).	44
Şekil 15	Bileşik 1'e ait UV-Vis spektrumu.	52
Şekil 16	Bileşik 2'ye ait UV-Vis spektrumu.	52
Şekil 17	Bileşik 3'e ait UV-Vis spektrumu.	52
Şekil 18	Bileşik 1, 2 ve 3'e ait DNA kırma aktiviteleri.	53
Şekil 19	Bileşik 3'e ait FRAP metal indirgeme aktivitesi deney görüntüsü.	55
Şekil 20	Bileşiklerin antifungal aktivite görüntüleri.	57
Şekil 21	Bileşiklerin biyofilm inhibisyon yüzdesi grafiği.	58
Şekil 22	Bileşiklerin topoizomeraz I inhibisyon aktivitesi.	59

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

İmin bileşikler, antikanser, antifungal, antibakteriyel, antiviral ve anti-parazitik ajanlar olarak biyolojik aktivite sergilemesi ve bunlara ek olarak kimyasal katalizde ve analizlerde, tıp ve eczacılık alanlarında yeni teknolojilerde kullanılabilir olmaları nedeniyle büyük ilgi odağıdır.

Sülfonamidler, selektif olarak etki gösterdikleri için çeşitli hastalıklara karşı koruyucu ve terapötik maddeler olarak sistematik şekilde kullanılabilir ilk ilaçlardır. Bu nedenle, yeni moleküller üzerine yapılan araştırmalar bu moleküllerin DNA ile olan ilgilerine bağlı olarak giderek artış göstermektedir. Sülfonamid bileşikleri ve bunların türevleri, antifungal, antiinflamatuvar ve hipoglisemik ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Canlılık için vazgeçilmez bir biyomolekül olan DNA klinik alanda çoğu ilaç için önemli bir hedeftir. İlaç ile DNA etkileşiminin incelenmesi hem etkileşimin mekanizmasını anlamada hem de yeni DNA hedefli ilaçların tasarlanmasında ve bunlarla ilgili *in vitro* çalışmaların yapılması açısından önemlidir (Mondal vd., 2017). Sülfonamid bileşiklerinden türetilen Schiff bazları biyolojik sistemleri nedeniyle ilgi görmektedir. Canlı hücrelerin sülfonamidlerden elde edilen metabolik ürünlere karşı aşırı duyarlılığı nedeniyle, sülfonamidleri işlevsel hale getiren yeni nesil ilaçların bulunması için dünya çapında çaba sarf edilmektedir. Çalışmamızda yeni sentezlenmiş olan sülfonamid tabanlı imin bileşiklerin biyolojik aktiviteleri araştırılarak üstün özelliklere sahip olup olmadığı belirlenmeye çalışılmaktadır. Mevcut ilaçlardan daha etkili antikanser, antifungal ve antibakteriyel ajanların geliştirilmesine katkı sağlanacağı düşünülmektedir. Sülfonamid tabanlı imin bileşiklerin biyolojik aktiviteleri çeşitli metodlar kullanılarak incelenmektedir. Bu çalışmada sülfonamid tabanlı üç tane Schiff bazı 4-Fluoro-*N*-(2-hydroxy-5-methylbenzylidene)benzenesulfonamide (1), 4-Fluoro-*N*-(2-hydroxy-5-nitrobenzylidene)benzenesulfonamide (2) ve 4-Fluoro-*N*-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)benzenesulfonamide (3) hazırlandı ve karakterize edildi (Tekin vd., 2022). Bu bileşiklere ait DNA'ya bağlanma etkisinin belirlenmesi, antioksidan aktivitesinin belirlenmesi içerisinde serbest radikal giderme aktivitesi (dpph), abts katyon radikali giderme aktivitesi (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit), FRAP (Demir (III) indirgeyici antioksidan güç yöntemi), CUPRAC (Cu(II) iyonu indirgeyici antioksidan

kapasite belirleme yöntemi) testlerine ek olarak Hidroksil radikalleri süpürme aktivitesi ile Süperoksit anyon radikalleri süpürme aktiviteleri, DNA'yı kırma aktivitesi, Antimikrobiyal ve Antibiyofilm aktiviteleri, topoizomeraz I enzim inhibisyon aktivitelerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar tamamlanmıştır.

Son birkaç yıldır, sülfonamid-imin, sülfonamid-azo bileşiklerinin sentezi ve tıbbi aktiviteleri ve toksisitelerinin keşfedilmesi ilgi odağı olmuştur. Yaygın kullanım alanına sahip sülfonamid-iminleri fonksiyonelleştirmenin basit yollarından biri alifatik / aromatik aldehitler / ketonlar ile yoğunlaştırılarak sentezlenmesidir (Mondal vd., 2017). Yeni, orijinal ve hatta daha gelişmiş özelliklere sahip imin bileşiklerin hastalıklarla mücadelede gerek antikanser gerekse antimikrobiyal daha etkili ilaçların geliştirilmesine katkı sağlayacağından sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin incelenmesi planlanmıştır.

İKİNCİ BÖLÜM

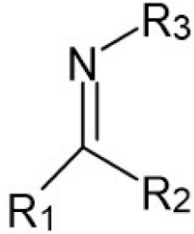
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Schiff Bazları

Schiff bazı terimi, 1864 yılında birincil aminlerin karbonil bileşikleri ile reaksiyonundan kaynaklanan ürünleri tanımlayan ilk kişi olan Alman kimyager Hugo Schiff'in adından türetilmiştir. IUPAC'a uygun olarak, Schiff bazları; nitrojen atomu üzerinde bir hidrokarbil grubu içeren iminler: $R_2C = NR'$ ($R' \neq H$) olarak tanımlanır (Şekil 1). Bu kimyasal bileşikler azometinlerle eşanlamlı olarak kabul edilirler (Raczuk vd., 2022).

Aldehit veya ketonların aminlerle nükleofilik katılma tepkimesi sonucu elde edilen ve karbon azot çifte bağı ($-CH=N-$) içeren bileşiklerdir. Aldehit ile tepkimesi sonucu oluşan bağ azometin ya da aldimin olarak adlandırılırken, keton ile tepkimesi sonucu oluşan bağ imin veya ketimin olarak adlandırılır (Karaca, 2018).

Kararlı ve kolay sentezlenebiliyor olmaları nedeniyle Schiff bazları (iminler) azometin ve diğer gruplar vasıtasıyla birçok metal iyonuyla koordinat bağları oluşturabilir. Bu nedenle kolay oluşumları ve güçlü metal bağlama yetenekleri nedeniyle metal komplekslerinin sentezi için kullanılmaktadırlar.



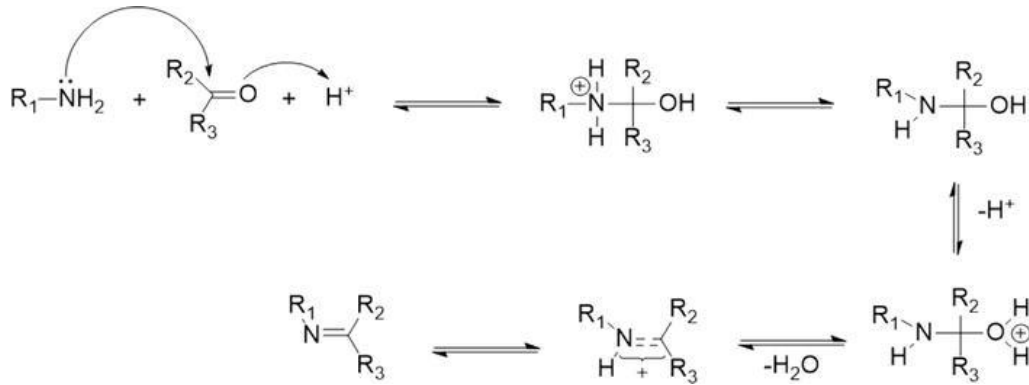
Şekil 1. Schiff bazlarının R_1 , R_2 ve R_3 'ün alkil veya genellikle aril grupları olduğu spesifik yapı fragman özelliği (Raczuk vd., 2022).

2.1.1. Schiff Bazlarının Sentezi

Schiff bazları, çok yönlülüğü çeşitli alkil veya aril süstituentlerini birleştirmek için birçok yoldan üretilen, karbon ve nitrojen atomlarını birbirine bağlayan bir çift bağın varlığıyla karakterize edilen geniş bir bileşik grubudur. Bu tür bileşikler hem doğada bulunur hem de laboratuvarında sentezlenir. Yıllardır, Schiff bazları birçok kimyager ve biyokimyacıya büyük ölçüde ilham kaynağı olmuştur (Raczuk vd., 2022).

Aldehitler, Schiff bazları oluşturmak için birincil aminlerle çok kolay reaksiyona girer, ancak bu işlem ketonlar için o kadar kolay değildir. Ketonlardan Schiff bazları elde etmek için katalizör seçimi, uygun pH aralığı, reaksiyonda oluşacak su ile azeotrop karışım oluşturabilen çözücü seçimi ve uygun reaksiyon sıcaklığı gibi faktörlere dikkat etmek gerekir. Primer aminlerin aldehitlerle tepkimesi sonucu oluşan Schiff bazlarındaki karbon-azot çift bağına azometin veya aldimin, ketonla tepkimesi sonucu oluşan bağa da imin veya ketimin adı verilir (Subaşı, 2022).

Schiff bazlarının hazırlanması için Schiff tarafından keşfedilen en yaygın kullanılan yöntem, alifatik veya aromatik aldehitlerin veya ketonların alifatik veya aromatik birincil aminlerle reaksiyonudur. Karbonil bileşiklerinin primer aminlerle reaksiyonundan elde edilen Schiff bazlarının sentezi iki ana adımda gerçekleşir. Birinci adımda, karbonil grubunun birincil amin ile yoğunlaşmasından bir karbinolamin ara maddesi oluşur ve ikinci aşamada, Şekil 2’de görülen ara maddenin dehidrasyonundan bir Schiff bazı oluşturulur (Subaşı, 2022).



Şekil 2. Aminlerle karbonil bileşiklerinin yoğunlaşma mekanizması (Subaşı, 2022).

Schiff bazının oluşumu pH'a bağlı bir reaksiyondur. Amin düşük pH'ta tuz oluşturacağından serbest amin konsantrasyonu azalır ve hızlı ekleme aşaması yavaşlayarak reaksiyon mekanizmasının hızını belirleyen aşama haline gelir. Asitliğin azalması durumunda, ekleme aşaması daha hızlıdır ve eliminasyon aşaması daha yavaştır. Optimum pH, bu iki uç arasındaki pH'tır (pH 3-4). Bu pH hem nükleofilik katılma reaksiyonunu başlatmak hem de eliminasyon reaksiyonunu yeterli hızda gerçekleştirmek için uygundur (Subaşı, 2022).

2.1.2. Schiff Bazlarının Sentez Yöntemleri

İmin grubuna bağlı sübstitüentlere göre değişen birçok özelliğe sahip Schiff bazları; hidrolize yatkın olmaları nedeniyle sentezleri susuz ortamda gerçekleştirilmektedir.

1. Aldehitlerin ve ketonların birincil aminlerle reaksiyonu
2. Organometalik bileşiklerin nitrillerle reaksiyonu
3. Fenollerin ve fenol eterlerin nitrillerle reaksiyonu
4. Aerobik oksidatif sentez yöntemi
5. Metal amidlerin reaksiyonu

Yöntemleri kullanılarak reaksiyon şartlarının oldukça önemli olduğu, aldehit ve keton miktarına ve yapılarına bağlı olarak çok çeşitli Schiff bazları elde etmek mümkündür.

2.1.3. Schiff Bazlarının Kullanım Alanları

Schiff bazları, bir ligand ailesi olarak güçlü koordinasyon yetenekleriyle bilinirler ve çok yönlüdürler. Asit katalizörleri, indirgeme veya oksidasyon katalizörleri dahil olmak üzere katalizör olarak bir dizi uygulamaya sahiptirler. Katalitik reaksiyonların yanı sıra, kristal mühendisliğinde, foto- veya kemodetektörler olarak biyolojik sistemlerde (örn., Al^{3+} iyonları *in vivo*) ve en yaygın olarak tıpta kullanılırlar (Raczuk vd., 2022).

Antibakteriyel, antifungal (Yıldız vd., 2007) ve anti-tümör aktiviteye (Satyanarayana vd., 2008) sahip Schiff bazları biyolojik, endüstriyel, farmasötik ve diğer birçok bilim alanında uygulamaları olan çok önemli bir bileşik grubunu oluşturur.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda antikanser ve anti HIV ajanları olarak görev yapabilen farklı Schiff bazı türevi bileşikler araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Çok çeşitli Schiff bazının deneysel tümör hücrelerine karşı inhibitör aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Ayrıca Schiff bazı kompleksleri, solunum sistemlerinde oksijen taşınması gibi önemli biyolojik aktiviteleriyle de bilinirler. Fotokromizm özelliğinden dolayı radyasyon yoğunluğunun kontrol edilmesi ve ölçülmesi, görüntü sistemleri ve optik bilgisayarlar gibi farklı alanlarda da kullanılabilirler (Uddin vd., 2020).

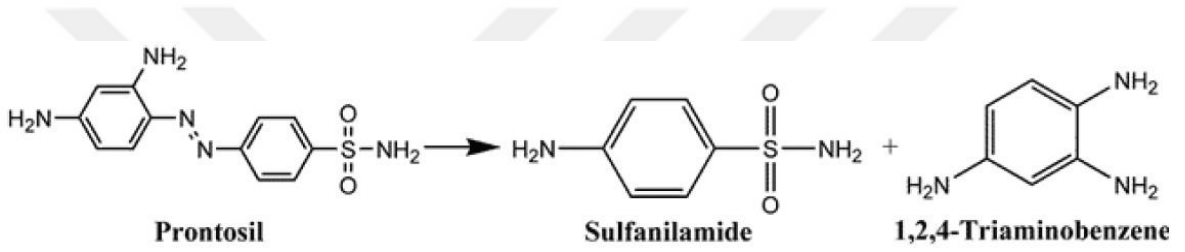
Çok çeşitli Schiff bazı ligandları ve bunların kompleksleri, metal biyosit modellemesi, metaloenzimlerin reaksiyon merkezi modelleri, linear olmayan optik malzemeler, birçok organik reaksiyon için katalizör, asimetrik sentezde etkili katalizör ve lüminesans malzemeleri için kullanılabilir (Sharby vd., 2017). Schiff bazlarının bu kadar geniş bir çalışma alanına sahip olmasının sebepleri aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Schiff bazları, karbonil bileşikleri ve birincil aminler kullanılarak kolayca sentezlenir ve uygun gruplar kullanılarak çok çeşitli şekillerde işlevselleştirilebilir.
- Schiff bazları farklı yöntemlerle elde edilemeyen komplekslerin yeterli saflıkta ve yüksek verimle elde edilmesini sağlayan şablon etkisi ile sentezlenebilir ve prosedür doğrudan tasarlanan kompleksleri verir. Ayrıca bu kompleksler farklı bir metal tuzu ile reaksiyona girdiklerinde transmetalasyon reaksiyonları verebilirler.
- N, O, S ve P gibi ek donör grupları içeren Schiff bazları, hemen hemen tüm metallerle kararlı kompleksler oluşturabilirler. Bu özellikleriyle biyolojik sistemlerde önemli roller üstlenirler.
- Uygun indirgeyici ajanlarla işlendiklerinde daha esnek ve hidrolize karşı daha az duyarlı poliamin türevleri oluşturabilirler. Bu indirgenmiş bileşikler, uygun sentetik prosedürlerle daha fazla işlevselleştirilebilen NH grupları içerir.
- Silika gibi uygun bir desteğe bağlanarak modifiye edilmiş katalizörler ve farklı tasarlanmış yüzeyler elde edilir.
- Taç eter, makrosiklik tiyoeter ve poliaza türevleri gibi bağlayıcı gruplarla, farklı metal iyonlarını bağlama kapasitesine sahip seçici sistemler oluşturmak için özel ligandlar oluşturulabilir.

- DNA sarmalı ile etkileşimleri nedeniyle metal şelatlar tanı ve tedavide yeni modellerin tasarımında kullanılabilirler.

2.2. Sülfonamidler

Sülfonamidler, 1936 yılında prontosilin aktif metaboliti olarak başarıyla sentezlenen ilk antimikrobiyal ilaçlardır. Prontosil (Prontosil rubrum) antimikrobiyal etkisinin keşfi, kemoterapi gelişiminin başlangıcını temsil eder (Mondal vd., 2017). Bu keşif için Gerhard Domagk 1939'da Nobel Tıp Ödülü'ne layık görüldü. Prontosil, sülfonamid yapılı bir azo-boyadır. İnsan vücudunda prontosil, şematik olarak gösterilen hücresel enzimlerin etkisi altında sülfanilamide metabolize edilir (Şekil 3).



Şekil 3. Prontosil'in sülfanilamide dönüşümü (Tačić vd., 2017).

Sülfonamidler, geniş spektrumlu ilaçlar olduğu için Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizmalara karşı yüksek aktivite göstererek uzun süre kullanılmışlardır. Sülfonamidlerin antimikrobiyal etki mekanizması, mikroorganizmaların büyümesini ve çoğalmasını önleyen folik asit sentezinin rekabetçi inhibisyonunu içerir (Tačić vd., 2017). Bu etki mekanizması nedeniyle oldukça geniş antimikrobiyal aktiviteye sahip bakteriyostatik ajanlardır.

Sülfonamidler, başarıyla sentezlenen ilk seçici toksik antimikrobiyal ilaçlardır. Antimikrobiyal aktiviteye sahip sülfonamidler, farklı şekillerde sınıflandırılabilen geniş bir ilaç grubunu temsil eder. Sülfonamidlerin en kapsamlı sınıflandırılması;

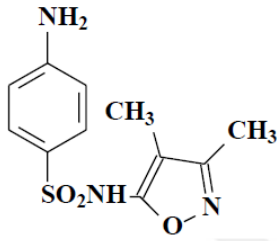
- Absorbe olabilen oral sülfonamidler,
- Absorbe edilemeyen oral sülfonamidler ve
- Topikal sülfonamidler şeklindedir (Tačić vd., 2017).

Oral absorbe olmayan ajan grubu sadece sülfasalazin içerirken, topikal ajanlar sülfasetamid, mafanid ve gümüş sülfadiazin içerir. Bu aromatik amin grubunu içermeyen

sülfonamidler farklı metabolik yollara girerler (Yousef vd., 2018). Absorbe edilemeyen oral sülfonamidler gastrointestinal sistemde, topikal sülfonamidler cilt ve mukoz membran enfeksiyonları ve yanıkların tedavisinde kullanılabilirlerdir.

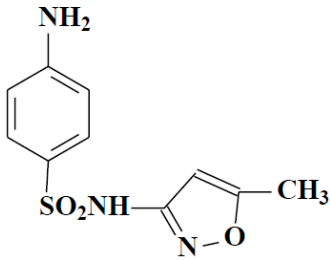
Etki süresi ve yarılanma ömrüne göre absorbe olabilen oral sülfonamidler:

- Kısa etkili sülfonamidler (3-8 saat): Hızlı emilir ve çabuk atılırlar. Sistemik ve üriner sistem enfeksiyonlarında tercih edilir. Bu grupta sülfadiazin, sülfaklorpidazin, sülfametizol, sülfisoksazol (Şekil 4) bulunur.



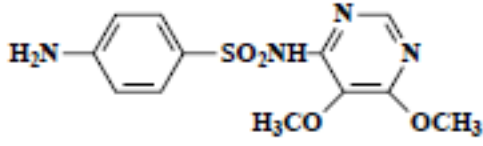
Şekil 4. Sülfisoksazol molekül yapısı.

- Orta etkili sülfonamidler (8-18 saat): Hızlı emilir, fakat yavaş atılırlar. Bu grupta sülfacetidol, sülfametoksazol (Şekil 5) bulunur.



Şekil 5. Sülfametoksazol molekül yapısı.

- Uzun etkili sülfonamidler (>35 saat) (Depo sülfonamidler): Çok yavaş atılırlar. Bu grupta sülfametoksipridazin bulunur. Bu grup sülfonamidler yan etkilerinden dolayı pek kullanılmamaktadır. Sadece kimi zaman sülfadoksin (Şekil 6) kullanılır (Tačić vd., 2017).

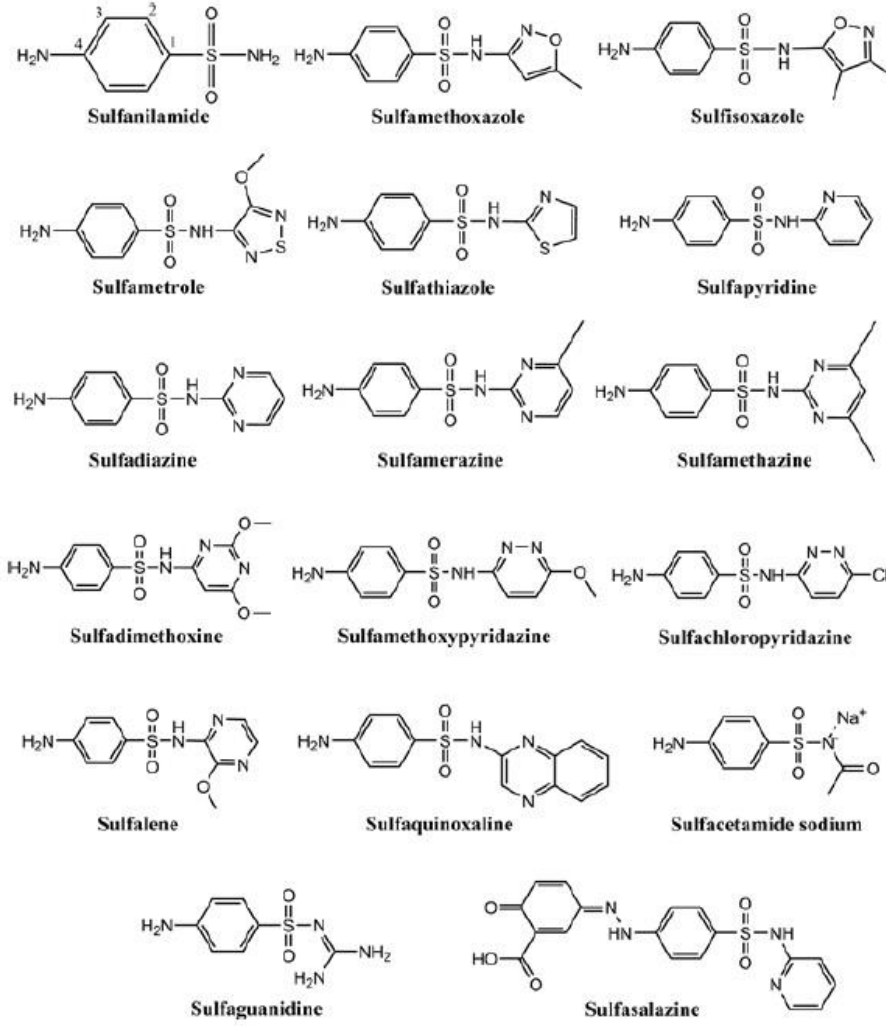


Şekil 6. Sülfadoksin molekül yapısı.

Etkinliklerine göre sülfonamidler ise 3 gruba ayrılırlar;

1. Sistemik etkili sülfonamidler
2. Enterik sülfonamidler: Çok az düzeyde bağırsaktan emililebilen sülfonamidlerdir. Daha çok bağırsak enfeksiyonlarında kullanılır.
3. Özel etkili sülfonamidler: Yanık tedavisinde kullanılan gümüş sülfadiazin ve dermatitlerde kullanılan mafenid (marfanil) sülfasetamid bu grubun örneğini oluşturur.

Temel sülfonamidlerin yapısı, sülfonamid grubunu ve benzen halkasının para pozisyonundaki amino grubunu içerir. Hidrojen atomunun sülfonamid grubunun (N1) nitrojeni ile ikame edilmesiyle çok sayıda sülfonamid türevi elde edilirken, aromatik amino grubunun (N4) nitrojeninin hidrojen atomunun ikame edilmesiyle az sayıda aktif sülfonamid ilacı elde edilebilir. Çeşitli süstitüentlerin eklenmesi, farklı fizikokimyasal, farmakokinetik (bir dereceye kadar protein bağlama, metabolizma, atılım) ve farmakodinamik özelliklere sahip sülfonamidlerin eldesiyle sonuçlanır. Sülfonamid antimikrobiyal ilaçların birkaç önemli temsilcisinin yapıları Şekil 7'de gösterilmektedir.



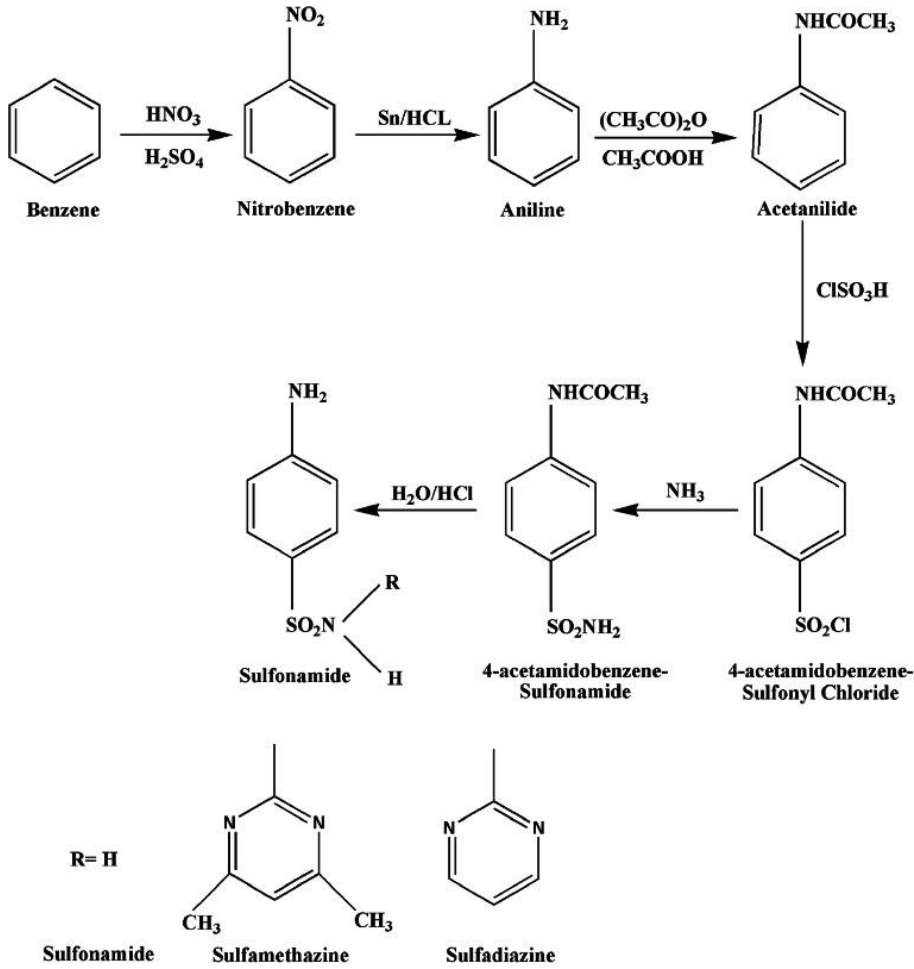
Şekil 7. Çeşitli sülfonamid antimikrobiyal ilaçların yapıları (Tačić vd., 2017).

Ayrıca literatürde sülfonamidler; aromatik bir amin grubu içeren antibakteriyel sülfonamidler ve aromatik bir amin grubu içermeyen anti-bakteriyel olmayan sülfonamidler ile; anti-enflamatuar, anti-hiperglisemi, diüretikler, serotonin antagonistleri veya diğer farklı farmakolojik ajan olarak çalışan maddeleri içeren sülfonamid grupları olarak sınıflandırılırlar (Yousef vd., 2018).

2.2.1. Sülfonamidlerin Sentezi

Sülfonamid sentezinin en yaygın yöntemi, karşılık gelen alifatik veya aromatik sülfonil klorürün amonyak veya yeterli bir amin ile reaksiyonunu içerir. Bu sentez yöntemi, sülfonamid veriminin yüksek olduğu en basit ve doğrudan yolu temsil eder. Çok adımlı bir sülfanilamid sentezi için başlangıç bileşiği nitrobenzendir. Nitrobenzen, indirgeme maddesi

olarak kalay ve sodyum hidroksit kullanılarak anilin'e dönüştürülebilir. Anilinyum iyonunu vermek üzere hidroklorik asit kullanılarak indirgenebilir. Suda çözünmeyen bir bileşik olan asetanilit, sulu ortamda asetilasyon reaksiyonu ile anilinden türetilir. Sentezin bir sonraki adımı, asetanilitin klorosülfonik asit ile reaksiyona girerek 4-asetamidobenzen-sülfonil klorür ara maddesini verdiği elektrofilik aromatik ikamenin reaksiyonudur. Amonyak varlığında oluşan ara ürün 4-asetamidobenzen sülfonamid verir. Asetamid grubu, ikamenin neredeyse tamamen para konumunda olmasına neden olur (Pavia vd., 2011). Sentezin son aşamasında koruyucu asetamid grubu asidik ortamda hidrolize uğrar ve 4-aminobenzen-sülfonamid, sülfanilamid oluşturur (Şekil 8).

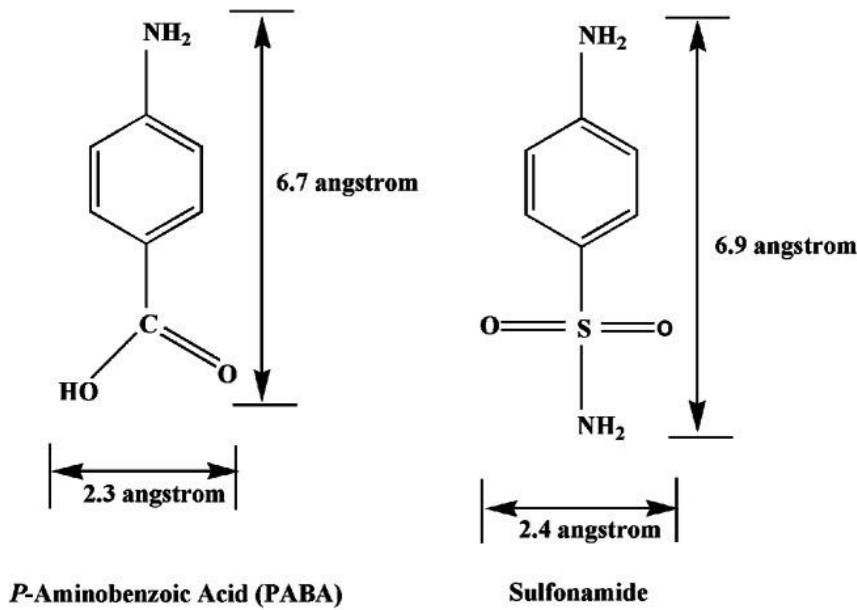


Şekil 8. Oda sıcaklığında sulu ortamda sülfonamid sentezinin şematik gösterimi (Tačić vd., 2017).

2.2.2. Sülfonamidlerin Etki Mekanizması

Sülfonamidler, folik asit sentezi ve dolayısıyla bakteriyel büyüme ve üreme için gerekli bileşik olan p-aminobenzoik asidin (PABA) rekabetçi antagonistleridir. Sülfonamidler, folik asit sentezini geri dönüşümlü olarak bloke ederek bakteriyostatik etki gösterirler.

İnhibitör etkinin temeli, sülfonamid ve PABA yapıları arasındaki benzerliktir. Normal olarak, folik asit sentezinin ilk basamağı olarak sentezlenen, PABA ve pteridin'in enzim dihidropteroat sentetaz varlığında reaksiyonudur. Bu adım sırasında dihidropteroik asit üretilir. Oluşan ara ürün, dihidrofolat sentaz enziminin aktivitesi altında dihidrofolik asit üreten glutamik asit ile reaksiyona girer. Dihidrofolat redüktaz enziminin varlığında, dihidrofolik asit daha sonra bakteriler tarafından metiyonin, pürin ve pirimidin bazlarının sentezinde kullanılan tetrahidrofolik aside dönüştürülür (Mondal vd., 2017). Bununla birlikte, sülfonamidlerin varlığında, dihidropteroat sentaz enzimi bu yapısal PABA analoglarına bağlanır ve bu da sonuçta folik asit sentezi ve pürin bazları ve timidin yapımını sağlayan enzimlerin kofaktörü olan tetrahidrofolat türevlerinin yapımı ve bakterilerde DNA ve RNA sentezi bozulur. Sülfonamidler antimetabolit etkilidirler (Şekil 9).



Şekil 9. PABA ve sülfonamid arasındaki yapısal benzerlik (Tačić vd., 2017).

2.2.3. Sülfonamidlerin Kullanım Alanları

Sülfonamidler, bakteriler üzerinde seçici bir etkiye sahip olan ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı sistemik olarak kullanılabilen ilk ilaçlardır.

Intraperitoneal olarak *Streptococcus pyogene* ile enfekte olmuş farelerin, kimyasal olarak sentezlenen Prontosil rubrum (4-sulfonamide-2',4'-diaminoazobenzene) ile peritonitten korunabileceğini gösteren ilk başarılı deneyler 1932'de Gerhard Domagk tarafından yapılmıştır. Prontosil'in *in vivo* olarak aktif antimetabolit sülfanilamide hidrolize olduğu ortaya çıkarıldıktan kısa süre sonra, sülfonamidler klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır (Domagk ve Hegler, 1942).

70 yılı aşkın bir süre önce sülfonamidin tedaviye girmesinden bu yana, sülfonamid kullanımını baskılayan çok sayıda antimikrobiyal ajan izole edilmiş veya sentezlenmiştir. Terapide daha geniş bir sülfonamid uygulaması, bakteriyel direnç ve sülfonamidlerin yan etkileri nedeniyle sınırlıdır. Bununla birlikte, sülfonamidler hala hastalıkların tedavisi için ilk tercih edilen ilaçları temsil etmektedir.

Serbest bir amino grubuna sahip olup kolaylıkla türetilen sülfonamidler, çok çeşitli biyomedikal uygulamalarda, antimikrobiyal, antikanser, antiinflamatuvar ve antiviral ajanların yanı sıra HIV proteaz inhibitörleri olarak kullanılırlar (Ozbek vd., 2007).

Klinik olarak sülfonamidler, insanlarda gelişen çeşitli idrar yolu ve gastrointestinal enfeksiyonlarda bakteriyel gelişimi kontrol altına almak ve tedavi etmek için kullanılan ilk etkili kemoterapötik ajanlardır. Özellikle patojenik bakterilere ve tümör hücrelerine karşı kullanıldıklarından ilgi görmektedirler. Çoklu ilaca dirençli *Staphylococcus epidermidis*'in neden olduğu enfeksiyonlarda, *Escherichia coli* ve diğer bakterilerin neden olduğu akut veya komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonlarında, *Pneumocystis carinii*'nin neden olduğu enfeksiyonlar ile özellikle AIDS'li hastalarda ve diğer bağışıklığı baskılanmış hastalarda *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu toksoplazmoz durumunda profilaksi ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Absorbe edilemeyen sülfonamidler (ftalilsülfatiazol, süksinilsülfatiazol, salisilazosülfapiridin) bağırsak enfeksiyonları, ülseratif kolit ve enterit tedavisinde kullanılmaktadır. Yanık tedavisinde enfeksiyonun önlenmesinde topikal

sülfonamidler uygulanmaktadır. Gümüş sülfadiazin %1'lik hidrofilik krem şeklinde yanık tedavisinde kullanılabilir ve Gram negatif bakterilere özellikle yanık dokuyu sıklıkla kolonize eden *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı iyi aktivite gösterir (Habeeb Rahuman vd., 2022).

Dünya çapında yeni antikanser ilaçlara her zaman büyük talep vardır ve sürekli farklı doğal veya sentetik bileşikler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Sülfonamid hibritleri, geniş farmakolojik aktivite spektrumları nedeniyle son yıllarda en çekici konulardan biri haline gelmiştir ve çoklu ilaca direnç aktivitesiyle birlikte minimum yan etkiye sahip oldukları bulunmuştur (Rakesh vd., 2018).

Aynı zamanda sülfonamid türevleri iyi birer antimetabolit olarak tanınmaktadır. Bununla birlikte yapılan pek çok çalışma sülfonamid türevli bileşiklerin yüksek antioksidan etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Kausar vd., 2019).

DNA ve RNA hücre içi fonksiyonların kontrolünde rol almaları nedeniyle tedavide kullanılmak için iyileştirilen ilaçların hücre içinde ilk istikameti olduğu görülmektedir. Sülfonamidlerin yapısındaki küçük değişikliklerin biyolojik aktivitede kalitatif ve kantitatif değişikliklere yol açabileceği yapılan çalışmalar tarafından ortaya konulmuştur (Rama ve Ramaswami, 2014).

Bu geniş biyoaktivite aralığı ve çok amaçlı yapısı nedeniyle sülfonamidler; ihtiyaç duyulan alanlarda çeşitli hedeflerde kullanılmak üzere yeni ilaçların tasarlanması veya eski ilaçların yeniden yapılandırılması amacıyla ilgi görmektedir.

2.3. Sülfonamid Schiff Bazları

Schiff bazları azometin grubu içeren bileşiklerdir (-HC=N-). Birincil aminlerin baz katalizi, asit veya ısı altına yerleştirilmiş bir keton veya karbonil bileşikleriyle reaksiyonundan oluşur. Bu bileşikler, koordinasyon kimyasının geliştirilmesinde ve çeşitli biyolojik ve farmakolojik alanlarda çok sayıda potansiyel uygulamada kullanılmaktadır.

Bu bağlamda, $-SO_2NH-$ grubunu içeren sülfonamid ve türevleri, sülfö ilaçlarına ait en basit molekül olarak bilinmektedir. Bu basit bileşikler, Schiff bazı ligandları formunda uygulandıklarında toksikolojik ve farmakolojik aktivitelerde yüksek bir potansiyele sahiptir. Bu potansiyel, yapısal $-SO_2NH-$ özelliğinde değişiklik yapılmadan farklı fonksiyonel grupların değiş tokuşuna atfedilir.

Sülfonamidlerin uzun süreli tüketimi, karaciğer, böbrek, deri, akciğer ve kalbe karşı bazı olumsuz reaksiyonlar gösterir. Bu yan etkiler, yeni nesil ilaçların araştırılması için dünya çapında çaba gösterilmesini gerektirmiştir. Sülfonamid-iminleri sentezlemek için alifatik/aromatik aldehytler/ketonların sülfonamidlerle yoğunlaştırılması gerekir. Azometin ve sülfonamid fonksiyonel gruplarının varlığı, aromatik halkalarda bulunan sübstitüent tipine bağlı olarak değiştirilebilen antimikrobiyal aktiviteden sorumludur.

Sülfonamid bileşiklerinin en az $-NH_2$ grubu ve aldehyt ile yoğunlaştırılması, biyolojik olarak aktif sülfonamid Schiff bazlarının sentezlenmesine neden olur. Sülfonamid Schiff bazı bileşikleri, metal komplekslerinin sentezi için önemli ligandlardır ve çözeltilerdeki metal türleri için analitik ayırma yöntemlerinde şelat ekstraksiyonu olarak kullanılabilirler. Literatür, sülfonamid-iminlerin biyolojik aktiviteleri ve bunların geçiş metali kompleksleri hakkında bazı yayınlar göstermektedir.

2.4. DNA ile Etkileşimler

2.4.1. DNA'ya Bağlanma

DNA'nın farmasötik aktif bileşiklerle bağlanması, yaşam bilimleri ve ilaç tasarım sürecinde DNA hedefli ilaçların etki mekanizmasını belirlemek için çok önemlidir (Pehlivan vd., 2018). Genomun kontrollü manipülasyonu için DNA ile bağlanabilen yeni moleküllerin sentezi, pek çok hastalığın tedavisinde müthiş bir fırsat sağlar. Küçük moleküller ve DNA arasındaki etkili bağlanma modları iki ana grup olarak altında toplanır:

1. Spesifik olmayan elektrostatik etkileşimin dahil olduğu kovalent bağlanma ve
2. İnterkatif ve DNA majör/minör oluk bağlanmalarını içeren kovalent olmayan bağlanma.

Kovalent olmayan bağlanma, küçük moleküller için en etkili bağlanma modudur (Pehlivan vd., 2018). Kovalent olmayan etkileşimler interkalatif, oluğa bağlanma veya elektrostatik etkileşimlerdir. Klinik açıdan önemli bileşiklerin DNA ile interkalatif veya oluğa bağlanma yoluyla bağlandığı bilinmektedir. İnterkalasyon yoluyla DNA'ya bağlanan bileşikler baz çiftleri arasına girerek, kümelenir, heliks yapısını kırmaz ancak yapıyı deforme eder.

Kovalent bağlanmada, kararsız bir ligand, DNA bazlarından oluşan bir nitrojen atomu ile değiştirilir. Bileşiklerden pozitif elektrik yüküne sahip olanlar ve DNA'da bulunan 5 karbonlu şeker ile fosfat grubunun oluşturduğu iskelet arasında elektrik yüklerine bağlı bir alışveriş gerçekleşir. Bu etkileşim kararlı ve sağlam bir DNA oluşumu üzerine etkilidir. İnterkalatif ve oluk bağlanmalarının DNA çift sarmalındaki oluklarla ilişkili olduğu, elektrostatik bağlanmanın ise oluğun dışında veya DNA molekülünün yüzeyinde gerçekleştiği bilinmektedir (Pehlivan vd., 2018).

DNA çift sarmal yapısının özelliklerindeki değişiklikler, hipokromizm ve hiperkromizm spektral özelliklerinin analizi ile belirlenebilir. Hipokromik ve hiperkromik etkiler, DNA'nın çift sarmal yapısındaki bir değişiklik nedeniyle ortaya çıkan iki ana olgudur. Hiperkromizm genellikle DNA'nın sarmal yapısının elektrostatik bağlanması veya kısmen çözülmesi nedeniyle DNA çift sarmal yapısındaki hasarı ifade etmektedir (Güngör vd., 2022).

Metal kompleksi-DNA etkileşim mekanizmasını araştırmak için kullanılan en yaygın yöntem elektronik absorpsiyon titrasyonunda DNA ve küçük moleküller arasındaki etkileşim, spektral konumdaki (batokromik veya hiperkromik) ve yoğunluktaki (hipokromik veya hiperkromik) değişiklikler belirlenerek değerlendirilir (Arshad vd., 2021).

Genel olarak interkalasyon bağlama modunda, molekülün DNA'ya bağlanması üzerinde eşlik eden bir batokromik kayma ile birlikte önemli bir hipokromik etki gözlenir. Bağlayıcı molekülün π^* orbitalinin DNA baz çiftlerinin π orbitaliyle birleşerek π - π^* geçiş enerjisinde azalmaya neden olduğu ve bunun da batokromik bir kaymaya neden olduğu bilinmektedir. Bu arada, π^* -orbitali, geçiş olasılığını azaltmak ve aynı zamanda hipokromisiteye yol açmak için kısmen elektronlarla doldurulur (Long ve Barton, 1990).

Bununla birlikte, elektrostatik bağlanma durumunda, DNA'nın küçük moleküller ile elektrostatik etkileşimi meydana geldiğinde, DNA'nın konformasyon ve yapısındaki karşılık gelen değişiklikleri yansıtan hiperkromik etki gözlemlenebilir. Oluğa bağlamada, hiç veya çok az batokromik kayma ile hipokromik bir kayma gözlemlenebilse de, bu molekülün kromoforunun elektronik durumlarının DNA oluklarındaki nitrojenli bazlarla örtüşmesiyle ilişkilendirilebilir.

Hipokromik etki, absorpsiyon spektrumlarının özelliğidir. Hipokromizm ne kadar güçlüyse bağlanma gücü de o kadar güçlü olacaktır (Liu vd., 2013). Bunun nedeni, DNA ile kovalent olmayan etkileşim yoluyla bağlanan bileşikler veya açıkta kalan DNA'da daha fazla gömülü baz oluşturan bileşiklerle birleşerek DNA çift sarmalının çözülmesidir. Etkileşimli bağlanma modu, interkalasyon olarak tanımlanan aromatik kromofor ve DNA baz çiftleri arasında etkili bir istiflemeyi içerir. Yine komplekslerin aromatik kısmı DNA ile etkileşime girdiğinde, aromatik kısmın π^* orbitalinin absorpsiyon spektrumlarında batokromizm olarak yansıyan DNA baz çiftlerinin π orbitaliyle birleşebilmesi nedeniyle interkalatif bağlanma modu gösterir (Yasmeen vd., 2022).

Ancak, π -orbital eşleşmesi kısmen elektronlar tarafından doldurulduğunda, bu hipokromizmi yansıtır ve yine interkalasyon mekanizmasını tanımlar. Tüm kompleksler için, elektronik absorpsiyon spektrumundaki hipokromizm, bağlanma modunu sonuçlandırmak için çok önemlidir (Singh vd., 2023)

Schiff bazlarının DNA ile etkileşimi üzerine yapılan araştırmalar, yeni ilaçların aranması ve tasarımı için önemlidir. Birçok aldehitin DNA sentezi için potansiyel inhibitörler olduğu bilinmektedir. Bu nedenle sülfonamidlerden türetilen Schiff bazlarının sentezi ve Schiff bazı-DNA etkileşimleri birçok çalışmaya konu olmuştur.

Ligand yapı iskeleleri arasında, $\text{CH}=\text{N}-$ imin bağına sahip Schiff bazları, koordinasyon polimerleri, çift sarmallar ve üçlü sarmallar gibi fonksiyonel malzemelerin tasarımı için özellikle ilgi çekicidir (Afsan vd., 2020).

Sülfonamidler, aromatik halkaları moleküldeki diğer ligandlara doğru yönlendiren bükülmüş senklik konformasyonda buldukları için sarmal yapıların inşası için uygun yapı taşlarını temsil eder (Afsan vd., 2020).

2.4.2. DNA Kırma

Nükleik asitler; Deoksiribonükleik asit (DNA) ve Ribonükleik asit (RNA), hücrede anahtar bilgisel rol oynar. Genetik bilginin taşıyıcısı olarak DNA, çevre koşulları altında tahmini yarı ömrü 200 milyon yıl olan oldukça kararlı bir moleküldür. DNA, fosfodiester bağları ile negatif yüklü fosfat sırt kemiğine bağlanırken, DNA bazları sarmal yapıda gizlidir. Genetik kodu taşıyan çekirdekteki DNA, DNA ve RNA polimerazlar tarafından sıklıkla kopyalanır ve transkribe edilir. Yine çekirdekte kromatin yapısına sarılmış DNA, erişimine ve kullanımına izin vermek için topoizomerazlar ve helikazlar tarafından manipüle edilmelidir. Tümör hücrelerinde RNA, enzim veya protein dahil olmak üzere başka bazı biyolojik hedefler olmasına rağmen, çoğu antikanser, antiviral ve antimikrobiyal terapi için birincil hedefin DNA olduğu genel olarak kabul edilmektedir (Reddy ve Manjula, 2007).

DNA kırma; DNA'nın şeker fosfat omurgasını oluşturan nükleotitler arasındaki kovalent şeker-fosfat bağlarını koparan, genetik materyalin biyoteknolojik manipülasyonunun yanı sıra çeşitli biyolojik süreçleri içeren enzimatik bir reaksiyondur. Bu reaksiyon; enzimatik, kimyasal veya radyasyonla katalize edilir. Kırma, eksonükleolitik (uç nükleotidin çıkarılması veya endonükleolitik (ipliği ikiye bölünme-DNA iplikleri arasındaki fosfodiester bağlarını kırma) şeklinde olabilir. DNA'nın fosfodiester bağları, fizyolojik koşullar altında hidrolize oldukça dirençlidir (Reddy ve Manjula, 2007).

Nükleazlar, nükleik asit moleküllerini kesen, kısaltan veya parçalayan enzimlerdir. Nükleazlar, metal kofaktörleri ve nükleik asit substratları ile geniş temaslar kurarak, fosfodiester hidrolizini 10^{16} 'ya kadar hızlandırabilir, böylece yaşam için gerekli olan olası DNA manipülasyonlarını mümkün kılarlar (Roberts vd., 1993). Bu enzimlerin çoğu laboratuvar kullanımı için kullanılmış olsada, DNA'yı hidrolitik olarak bağlayabilen ve parçalayabilen küçük moleküler makaslar olan yapay nükleazların tasarımına büyük ilgi vardır. Benzersiz polimer tanıma sekanslarına sahip yapay hidrolazların geliştirilmesi, doğal olarak oluşan restriksiyon enzimlerine katkıda bulunabilir. DNA'yı restriksiyon enzimleriyle

manipüle etme yeteneği, genetik mühendisliği ve biyoteknolojinin temel amaçlarından olmuştur (Reddy ve Manjula, 2007).

DNA kırma; hidrolitik veya oksidatif mekanizmaları takip edebilir. Çoğu doğal nükleaz, bir ligaz varlığında daha uzun bir parça oluşturmak için bölünebilen DNA fragmanlarının bağlanabildiği hidrolitik bölünme gerçekleştirir. Hidrolitik DNA kırılmasının tipik bir mekanizması, bir fosfata H₂O veya OH tarafından nükleofilik saldırıdır, bunu 3'-PO'daki fosfodiester bağının kırılması ve alkol grubunun ayrılması izler (Fang ve Liu, 2020). DNA omurgası, biyolojik sistemlerde her yerde bulunan kimyasal bağlar olan fosfodiester bağlarından oluşur. DNA hidrolizi içerdiği kimyasal bağlardan dolayı enzimatik reaksiyonlar içerisinde önemli bir yere sahiptir. DNA hidrolizi aşırı derecede yavaştır ve bu alandaki asıl zorluk hala gerçekten verimli parçalama sistemlerinin geliştirilmesidir. Canlılarda fosfat esterleri üzerindeki nükleofilik yer değiştirme reaksiyonlarının çoğunlukla metaloenzimler tarafından desteklendiği gözlemlerden ilham alınarak, şu anda metal iyonu bazlı hidrolitik katalizörlere dikkat çekilmektedir (Reddy vd., 2004).

DNA, oksidatif kırmaya karşı çok hassastır. Oksidatif kırma, deoksiribozun ve dört nükleobazın tümünün modifikasyonunu (örneğin, pirimidinlerin C5 veya C6 çift bağına ve purinlerin C8'ine bir hidroksil radikalinin eklenmesi) içerir. Oksidatif süreçteki mekanik yollar genellikle şeker hidrojenin çıkarılmasını, elektron transferini, guanin baz oksidasyonunu içerir.

DNA oksidatif bölünmesi foto-ayırıcılar, UV veya görünür ışıkla ışınlamada etkinleştirilebilen bir foto-hassaslaştırıcının varlığını gerektirirken, redoks-aktif "kimyasal nükleazlar", bir indirgeyici ajan veya bir katkı maddesi olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) varlığında DNA'nın etkili parçalayıcılarıdır (Fang ve Liu, 2020).

Yüksek verimliliklerine ve çok yönlülüklerine rağmen, oksidatif parçalayıcı ajanların çoğu bazı önemli uygulamalarda ciddi sınırlamalara tabidir. Aktiviteleri genellikle ışık, oksitleyici veya indirgeyici bir madde gibi bir kofaktöre bağlıdır ve bu özellikle terapötik uygulamalar söz konusu olduğunda *in vivo* kullanımlarını engeller. Ayrıca, bazı durumlarda, bölünmeye, sitotoksik etkilerin yanı sıra istenmeyen ve kontrolsüz hasarlara neden olabilen yayılabilir serbest oksijen veya hidroksil radikalleri aracılık eder ve enzimatik

manipölasyonlar için doğal olmayan DNA fragmanları üretirler. Sonuç olarak, moleküler biyolojide kullanımları sınırlıdır. Bu kısıtlamaların en azından kısmen üstesinden gelmek için son zamanlarda kofaktörlere bağılı olmayan "kendi kendini aktive eden" oksidatif maddelerin üretimine dikkat çekilmiştir, ancak bu tür sistemlerin örnekleri hala oldukça nadirdir (Fang ve Liu, 2020).

Plazmid DNA elektroforeze tabi tutulduğunda genellikle üç farklı biçimi gözlenir; süper sarmal form Form I, nicked form Form II ve lineer form Form III şeklinde gösterilir. Plazmid DNA'nın (pBR322) kesilmemiş hali süper sarmal form (Form I) olarak isimlendirilir ve Form I jel üzerinde en hızlı ilerleyen bantı gösterir. Bir sarmalda bölünme meydana geldiğinde (çentiklenme), süper sarmal yavaş hareket eden açık dairesel bir forma (Form II) dönüşmek için gevşeme gerçekleştirir, oluşan Form II jelde en yavaş ilerleyen formdur. Son olarak, iki DNA zinciri aynı anda kesildiğinde pBR322 Form II ve I arasında yer alan orta hıza sahip doğrusal özellikli Form III'e dönüşür.

2.5. Antioksidan Aktivite

Hücrenin metabolik reaksiyonları esnasında biyokimyasal indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarında meydana gelen serbest radikaller kararsız, aktif ve serbest elektronlara sahip olan atomlar, moleküller ya da iyonlar olarak tanımlanmaktadır. Oksijen, nitrojen ve kükürt olmak üzere üç elementten türetilen serbest radikallerden oksijen merkezli serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (ROT) olarak bilinir ve süperoksit(O_2^-), hidroksil ($HO\cdot$), peroksil ($ROO\cdot$), alkoksil ($RO\cdot$) ve nitrik oksit ($NO\cdot$) içerir.

Oksidatif metabolizma, hücrelerin hayatta kalması için gereklidir. Bu gerekliliğin bir yan etkisi, oksidatif değişikliklere neden olan serbest radikallerin ve diğer reaktif oksijen türlerinin üretilmesidir. Hücre dengesinin devamlılığı için çok önemli olan bu metabolizma organizmalar tarafından bir antioksidan savunma sistemi ile gerçekleştirilir (Huyut vd., 2017).

Hücrelerde serbest radikaller oluştuğunda, bunlar süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz gibi koruyucu enzimleri ile orta düzeyde alt edebilir ancak oksidatif stres aşırı arttığında membran lipitlerini, hücresel proteinleri, DNA ve enzimleri oksitleyerek hücresel

solunumu durdurur, hücre sinyal yollarını etkileyerek yıkıcı ve öldürücü hücresel etkilere neden olabilir. Biyolojik sistemlerde üretilen reaktif oksijen türleri, hidroksil radikali, peroksi radikali ve süperoksit gibi reaktiflerin oluşumuna yol açar. Oksidasyona neden olan bu radikaller önemli biyomoleküllerin (lipid, protein, DNA ve karbonhidrat) özelliklerini kaybetmesine neden olur.

Oksidatif stres, ROT ve antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin bir sonucudur. Aerobik hücrelerde serbest radikallerin en önemli reaksiyonları moleküler oksijen ve onun radikal türevlerini (süperoksit anyonu ve hidroksil radikalleri), peroksitleri ve geçiş metallerini içerir. Hücreler normalde antioksidan savunma sistemi yoluyla oksidatif stresi azaltabilir. Ancak oksidatif stres yüksek seviyelere ulaştığında oksidasyon ürünlerine adaptasyon sağlanamazsa hücrede oksidatif hasar meydana gelebilir.

Hücresel bileşenler ROT'u etkili bir şekilde temizleyemezlerse, serbest radikal zincir reaksiyonlarını uyararak proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi hücresel biyomoleküllere zarar verebilirler ve sonunda hastalık koşullarına yol açabilirler. ROT; kanser, ateroskleroz, diabetes mellitus, Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler olaylar, yaşlanma ve iltihap dahil olmak üzere belirli hastalıkların patofizyolojisinde rol oynar (Akhtar vd., 2016).

Bir bileşiğin antioksidan potansiyeli, bileşiğin oksidatif stresi yavaşlatma kabiliyetini ifade eder. Antioksidan potansiyeli değerlendirmek için, serbest radikal temizleme mekanizması, prooksidan azaltma mekanizması ve prooksidan şelatlama mekanizması olmak üzere üç ana etki mekanizmasından yararlanır (Kanwal vd., 2016).

Aşırı oksidasyonun etkilerine karşı savunma mekanizmaları, çeşitli antioksidanların etkisiyle sağlanır. Antioksidanlar, aynı ortamda "oksitlenebilir substratına kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, o substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya engelleyen madde" olarak tanımlanabilir.

Antioksidanlar geleneksel olarak birincil zincir kırıcı antioksidanlar ve ikincil veya önleyici antioksidanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılmıştır. Birincil antioksidanlar, alfa-tokoferol gibi fenolik bileşikler içerir (Altay vd., 2019) ve eser miktarlarda mevcut

olduğunda, bir lipid radikali ile reaksiyona girerek başlatma adımını geciktirebilir/engellerebilir veya peroksil/alkoksil radikalleri ile reaksiyona girerek yayılma adımını engellerebilir. İkincil veya önleyici antioksidanlar, oksidasyon hızını geciktiren bileşiklerdir. İkincil antioksidanlar, metal iyonlarının bağlanması, reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi, hidroperoksitlerin radikal olmayan türlere dönüştürülmesi, UV radyasyonunun emilmesi veya singlet oksijenin deaktive edilmesi dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla çalışır ve ikincil antioksidanlar, yalnızca ikinci bir minör bileşen mevcut olduğunda antioksidan aktivite gösterirler.

Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemlerin serbest radikallerin eliminasyonunda, metabolik ürünlerin eliminasyonunda, çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve normal hücrel fizyolojinin sürdürülmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Antioksidanlar, koroner kalp ve nörodejeneratif gibi hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki önemleri nedeniyle ilgi çekmeye devam etmektedir. Antioksidan aktivitede önemli bir role sahip olan fenolik bileşikler serbest radikalleri gidererek doku harabiyetini önler. Metabolik açıdan önemli birçok enzimin aktivite artışının oksidatif stresin artmasına neden olabileceği bilinmektedir. Bu nedenle, bu tür enzimler için yeni inhibitörlerin tasarlanması ve geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır (Gulcin, 2020).

Yapay antioksidanların çoğu, yükseltgenmeyi önlemek için gıda ve ilaç katkı maddelerinde oldukça geniş bir skalada kullanılmaktadır. Stres, hastalık yapıcı mikroorganizmaların saldırısı, yaş alma, hücre ölümleri ve nörolojik sağlık bozuklukları gibi durumlarda antioksidanlar, hücreyi olumsuz etkileyen serbest radikallerin aktivitelerini indirger. İnsanlar için antioksidan kaynaklarını diyet ile alınan taze ya da kurutulmuş sebze ve meyveler oluşturmaktadır. Bu gibi gıdalar çok miktarda flavonoid ve antioksidan takviyeleri içerir (Gulcin, 2020).

Son yıllarda sentetik antioksidanların birçok yan etkisi tespit edilmiştir. Bu durumda, güvenli antioksidanların kullanımına yönelik dünya çapında bir eğilim vardır. Bu nedenle, daha güvenilir ve düşük maliyetli antioksidanların sentezlenebilmesi için yeni materyaller bulmak önemlidir.

2.5.1. Antioksidan Aktivitenin Ölçülmesi

Antioksidan aktivite doğrudan ölçülemez, bunun yerine antioksidanın oksidasyon derecesini kontrol etmedeki etkileri ile ölçülebilir. Biyoaktif bileşiklerin ya da gıda bileşenlerinin redüksiyon gücü, elektron aktarma yeteneğini yansıtır ve antioksidan aktivite ile ilişkilidir. Biyoaktif bileşikler antioksidan aktivite özellikleri ile indirgeyici olabilir ve oksidanları inaktive edebilir (Köksal ve Gülçin, 2008). Bir oksidasyonun özellikleri, bir substrat, bir oksidan ve bir başlatıcı, ara ürünler ve nihai ürünlerdir ve bunlardan herhangi birinin ölçümü, antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için kullanılabilir.

Yöntemlerin çoğu aynı prensibi kullanır: sentetik renkli bir radikal veya redoks-aktif bileşik üretilir ve bir biyolojik numunenin radikali temizleme veya redoks aktif bileşimini azaltma kabiliyeti, antioksidan kapasiteyi ölçmek için uygun bir standart uygulanarak spektrofotometre ile izlenir.

2.5.2. FRAP (Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi)

Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesi olabilir (Gulcin vd., 2002). FRAP testi, asidik ortamda antioksidanlar tarafından ferrik iyonlar (Fe^{3+})-ligand kompleksinin yoğun mavi renkli demir iyonları (Fe^{2+}) kompleksine indirgenmesini ölçen tipik bir elektron transferi tabanlı yöntemdir. Başka bir deyişle, bu yöntem pH'nın düşük olduğu ortamda ferrik 2,4,6-tripiridil-s-triazin bileşimini $[Fe^{3+}-(TPTZ)_2]^{3+}$ koyu mavi renkli demir bileşiğine $[Fe^{2+}-(TPTZ)_2]^{2+}$ indirgeme yeteneğini ölçer. Spektrofotometre kullanılarak 593 nm'de artan absorpsiyonun ölçülmesi, bu azalmayı izler ve sonuçlar mikromolar Fe^{2+} eşdeğerleri veya bir antioksidan standardına göre ifade edilir (Benzie ve Strain, 1999). FRAP testinin mekanizması, tamamen elektron transferidir. FRAP değerleri, 593 nm'de absorbans artışı ölçülerek ve bunun bir demir iyonu standart solüsyonu veya bir antioksidan standart solüsyonu ile ilişkilendirilerek hesaplanır. FRAP aslında sadece mekanik ve fizyolojik olarak antioksidan aktivite ile ilgili olmayan ferrik iyonla dayalı indirgeme kabiliyetini ölçer. Daha yüksek absorbans, daha yüksek ferrik indirgeme gücünü gösterir (Gulcin vd., 2002).

2.5.3. DPPH (Serbest Radikal Giderme Aktivitesi)

1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme yöntemi, antioksidan aktiviteyi ölçmek ve enzimatik olmayan antioksidanların radikal süpürme aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan basit, kolay, ekonomik, hızlı ve etkili bir analizdir. DPPH radikali, koyu mor bir renk taşıyan, dimerizasyona uğramaması nedeniyle birkaç kararlı organik nitrojen radikalinden biridir. DPPH radikal çözeltisi, hidrojen atomu verebilen bir antioksidan molekül ile karıştırıldığında bu mor rengin kaybıyla indirgenmiş forma yol açar. DPPH radikalleri, bir antioksidan ile karşılaştığında, radikaller temizlenir ve absorbans değeri düşer (Gulcin, 2009).

Antioksidan potansiyele sahip bileşikler, DPPH'nin tek elektronunun eşleşmesine neden olur ve bu da emilimin azalmasına neden olur.

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

Neokuproin, heterosiklik bir organik bileşik ve şelatlama maddesidir. Cuprac testi, antioksidanlar tarafından Cu^{2+} 'nin Cu^+ 'ya indirgenmesine dayanır. Bu yöntem, kromojenik oksitleyici ajan olarak Cu^{2+} - neokuproin reaktifi ile bileşenin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için kullanılır. Cu^{2+} 'nin neokuproin varlığında bir indirgeme ajanı ile indirgenmesi, 450 nm'de maksimum absorpsiyona sahip bir Cu^+ kompleksini verir. Bu yöntem hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanları glutatyon ve protein olmayan tiyoller gibi tiyol tipi antioksidanları ölçebilir (Apak vd., 2008).

2.5.5. ABTS Katyon Radikali Giderme Aktivitesi

ABTS radikal katyonunun üretilmesi, toplam antioksidan aktivitesini ölçmek için uygulanan spektrofotometrik yöntemlerden birinin temelini oluşturur. Bu analizde, ABTS, oksidanlar tarafından yoğun renkli olan radikal katyonu $ABTS^{\cdot+}$ 'ye oksitlenir ve antioksidan kapasite, test bileşiklerinin doğrudan ABTS radikali ile reaksiyona girerek rengi azaltma yeteneği olarak ölçülür. $ABTS^{\cdot+}$, hem lipofilik hem de hidrofilik bileşikler için geçerlidir. $ABTS^{\cdot+}$ radikalleri, DPPH radikallerinden daha reaktiftir ve DPPH radikali ile hidrojen

atom transferi içeren reaksiyonların aksine, $ABTS^{\cdot+}$ radikalleri ile reaksiyonlar hem hidrojen atom transferini hem de tekli elektron transferini içerir (Okan vd., 2013).

2.5.6. Hidroksil Radikal Süpürme Aktivitesi

Hidroksil iyonlarının (OH^{\cdot}) nötr şeklidir. Bu radikaller oldukça reaktiftir, kolayca hidroksil grubuna dönüşür ve dolayısıyla kısa ömürlüdür. Bu radikal, tahmini yarı ömrü yaklaşık 10^{-9} sn olan en reaktif tür olarak bilinir. Vücut suyunun hemolitik parçalanmasıyla yüksek enerjili ışınlamada veya metal katalizli işlemlerde endojen H_2O_2 'den *in vivo* koşullarda oluşturulabilir. UV ışığı suyu parçalamak için yeterli enerjiye sahip değildir, ancak H_2O_2 'yi parçalayarak iki hidroksil radikali molekülü verebilir. Bu radikalın yüksek reaktivitesi, üretildiği yerde ani reaksiyon anlamına gelir.

2.5.7. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) Radikal Süpürme Yöntemi (SOD)

Süperoksit anyonları ($O_2^{\cdot-}$) zayıf oksidanlar olmalarına rağmen; biyolojik makromoleküllerle reaksiyona girerek doku hasarına neden olma potansiyeline sahip aktif serbst radikallerdir. Lipitlerin peroksidasyonuna neden olan, her ikisi de oksidatif strese katkıda bulunan güçlü ve tehlikeli hidroksil radikalleri (OH^{\cdot}) ve singlet oksijen (O_2) üretirler. Bu radikaller biyolojik açıdan çok toksiktir ve hastalık yapıcı mikroorganizmaları engellemesinde organizmanın koruyucu sistemleri tarafından kullanılır (Gulcin, 2020).

Süperoksit anyon radikali, enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalarla H_2O_2 'ye dönüştürülür (Gardner ve Fridovich, 1992). Süpürme aktivitesinin belirlenmesine yönelik biyoanalitik yöntemler, süperoksit anyon radikali oluşturmak için pH 7.4'te ksantin-ksantin oksidaz sistemini kullanır. Normal dokuda ksantin oksidaz, elektronları nikotinamid adenin dinükleotide (NAD) aktaran bir dehidrojenaz enzimidir. Stres zamanlarında, bu enzim bir oksidaz enzimine dönüştürülerek $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 üretir. Bu nedenle, test tüpünde pH 7.4'te ksantin oksidaz artı hipoksantin (veya ksantin) $O_2^{\cdot-}$ oluşturmak için uygulanabilir. Ksantin oksidaz, substratlarının oksidasyonunu katalize ederken oksijeni azaltır, böylece $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 üretir. Ardından, $O_2^{\cdot-}$ nitroblue tetrazolium (NBT)'ü formazana indirger (Bull vd., 1983) ve formazan oluşumu spektrofotometrik olarak 560 nm'de ölçülebilir (Sánchez-Mareno, 2002). Antioksidan bileşikler, $O_2^{\cdot-}$ için NBT ile rekabet eder ve reaksiyon hızını azaltır.

2.6. Antimikrobiyal Etki

Antimikrobiyal duyarlılık testi, ilaç keşfi, epidemiyoloji ve terapötik sonuçların tahmini için kullanılabilir (Balouiri vd., 2016). 1960'larda önemli antibiyotik gruplarının neredeyse tamamının keşfedilmesi ve kemoterapide devrimin gerçekleşmesinin ardından mikrobiyal direncin artması nedeniyle keşfedilen bileşikler etkilerini kaybetmeye başlamıştır. Günümüzde çoklu ilaç dirençli bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavilerindeki başarısızlıklar çok dikkat çekici olmakla beraber toplum sağlığı için küresel bir endişeye dönüşmektedir (Balouiri vd., 2016).

Bu nedenle, yeni antibiyotiklerin keşfi ya da var olan antibiyotiklerin etkinliklerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Günümüzde yeni ilaçların başlıca kaynaklarından birisi doğal ürünlerdir. Şimdiye kadar keşfedilen antimikrobiyal bileşiklerin büyük bir kısmını mikrobiyal ve bitkisel ürünler oluşturmaktadır (Balouiri vd., 2016).

İnsan ve hayvanlarda bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan doğal kaynaklı antibiyotiklerin yanı sıra sentetik antimikrobiyal ilaç sınıfında geniş spektrumlu olma özelliği ile en önemli yeri sülfonamid türevi sülfonamid ilaçlar almaktadır (Ovung ve Bhattacharyya, 2021).

Sülfonamid yapıları, $-SO_2NH_2$ ve/veya $-SO_2NH-$ grubunu içeren organo-kükürt bileşikleridir ve sülfanilamid grubu ile belirgin bir 6- veya 5-üyel heterosiklik halka yapısıyla karakterize edilirler (Ovung ve Bhattacharyya, 2021). Sülfonamidler biyolojik olarak kolayca parçalanamadıkları için sindirim ve solunum yolları hastalıkları dahil olmak üzere çeşitli olumsuz yan etkilere neden olma potansiyeline sahiptirler. Ancak sülfonamidler Gram pozitif ve belirli Gram negatif bakterilere karşı çok etkili olduklarından, geniş bir aktiviteye sahip önemli bir antibiyotik ilaç grubundandır (Sultan, 2015; Ovung ve Bhattacharyya, 2021).

Lavanya (2017) yapmış olduğu çalışmada, *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli* ve *Enterobacter* sp. türlerinin sülfonamid antibiyotiğine karşı duyarlı

olduğunu, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia* sp. türlerinin ise dirençli olduğunu bildirmiştir.

Antimikrobiyal direnç insan, hayvan ve çevre sağlığı için giderek artan bir tehdit oluşturmaktadır. Antimikrobiyal direncin ana nedeni, bu ilaçların aşırı kullanımınıdır; diğer bir faktör de sorunun üstesinden gelecek yeni ilaçların bulunamamasıdır. Sülfonamid ilaçlarına karşı artan antibiyotik direnci ile birlikte, yeni ve etkili ilaçların geliştirilmesine yönelik önemli çabaların yönlendirilmesi gerekmektedir (Ovung ve Bhattacharyya, 2021).

Bir ekstraktın veya saf bir bileşiğin *in vitro* antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek veya taramak için çeşitli laboratuvar yöntemleri kullanılabilir. En bilinen temel yöntemler, disk difüzyon ve sıvı veya katı besiyeri dilüsyon yöntemleridir (Balouiri vd., 2016).

Sülfonamidler bademcik iltihabı, septisemi, meningokokal menenjit, basilli dizanteri ve birçok idrar yolu enfeksiyonu tedavisinde kullanılmaktadır (Wiedemann vd., 2014). Sülfonamidler ayrıca bazı mantarlara (*Pneumocystis carinii*) ve protozoalara (Toxoplasma, Coccidia) karşı inhibitör aktivite gösterirler (McFarland vd., 2016). Sülfonamid (SN), sülfametazin ve sülfadiazin (SDZ) ilaçlarının antibakteriyel etkisini gösteren birçok yayınlanmış rapor bildirilmiştir. SN ve türevleri, *Nocardia*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'nin neden olduğu bakteriyel enfeksiyonlara karşı kullanıldığında belirgin antimikrobiyal aktivite göstermiştir. SN ilaç grubunun, nitro grubu gibi elektron çekici gruplarla ikame edildiğinde antibakteriyel etkinliğinin arttığı görülmüştür (Ovung ve Bhattacharyya, 2021).

Bakteriler antibiyotik ilaçlara ya endojen dikey evrim ya da eksojen yatay evrim iki farklı şekilde direnç gösterebilir. Dikey evrim, bakteri genomunda kendiliğinden meydana gelen ve daha sonra yavrularına aktarılan mutasyondan direnç kazanmayı ifade ederken, yatay evrim, akraba olmayan bakteriler arasındaki direnç genlerinin transferini tanımlar. SN'ye karşı bakteriyel direnç, bildirilen bazı direnç vakalarının (i) trimetoprim-sülfametoksazole (şiddetli solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde profilaksi olarak kullanılır) *Pneumocystis carinii* direncine bağlı olarak sık sık rapor edilmiştir, (ii) SDZ'ye direnç genleri, *Serratia marcescens* için polimiksin B'ye duyarlılığın olmadığını gösteren

fenotipik dönüşümle sonuçlandığı, (iii) SN'ye karşı dirençli bakteri genlerinin toprakta yayıldığı ve kümes hayvanı çiftlikleri çevresinde tespit edildiği ve (iv) çevrede keşfedilen SN'ye dirençli bakteri genleri ve (v) patojen bakteriler arasında yayılan trimetoprim-SN direncinin geliştiği ortaya çıkmıştır (Lavanya, 2017).

Sülfonamid-Schiff bazı türevlerinin sentezi de dahil olmak üzere bu tür bileşiklerdeki yapısal modifikasyonlar, bakteriyel direncin üstesinden gelmeyi amaçlayan biyoaktivite geliştirme için kullanılmaktadır. Dirençli mikroorganizmalara karşı inhibitör etki sergileyen sülfonamid Schiff bazlarının (Mondal vd., 2017), Stafilokoklar ve mantarlar için aktivite ve seçiciliğe sahip sülfadiazin Schiff bazı türevlerinin, flukonazole dirençli *Candida auris* suşlarına karşı antifungal aktivite sergileyen sülfonamid türevli Schiff bazlarının sentezlenmesi bu bileşiklerin tıpta uygulama potansiyelini desteklemektedir (Krátký vd., 2017).

Güçlü ve etkili antimikrobiyal ilaçların keşfi, yalnızca ciddi enfeksiyonların tedavisinde değil, aynı zamanda kanser kemoterapisi ve cerrahi gibi diğer terapötik modalitelerin bazı enfeksiyöz komplikasyonlarının kontrolünde ve tedavisinde de terapötiklerdeki en önemli gelişmelere işaret etmektedir (More vd., 2014). Tedavi için büyük miktarda antimikrobiyal ilaçların mevcudiyetine rağmen, son yıllarda antimikrobiyal dirençli mikrobiyal suşların ortaya çıkması, yeni antimikrobiyal ajan sınıflarının geliştirilmesi için önemli bir ihtiyaç oluşturmaktadır.

2.7. Antibiyofilm Aktivitesi

Mikroorganizmalar, dağılmış tek hücrelerin saf kültürleri olarak yaşamazlar, bunun yerine filmler, keçeler, floklar, çamur veya 'biyofilmler' gibi polimikrobiyal kümeler oluşturmak için arayüzlerde birikir. Mikrobiyal biyofilmler yaygın olarak üç boyutlu bir yapıda oluşturulmuş yerleşik mikrobiyal konsorsiyum olarak tanımlanır ve en azından kısmen mikrobiyal topluluk tarafından sentezlenen malzemedan oluşan bir matrikse gömülü prokaryotik ve/veya ökaryotik hücrelerden oluşan çok hücreli topluluklardan oluşur (Gün ve Ekinci, 2009).

Biyofilm oluşumu, mikrobiyal yapışma ile başlayan, proteinler, polisakkaritler, hücre dışı DNA ve bazen hücrede yer alan diğer moleküller gibi bir veya daha fazla polimerik maddeden oluşan hücre dışı bir matriksin üretimi ve birikimi ile başlayan çok aşamalı bir süreçtir (Flemming ve Wingender, 2010). Ekstraselüler matriks, polisakkarit, protein, DNA ile sudan oluşur ve biyofilm hücrelerinin tutunmasını sağlar. Sıkıca yüzeye tutunan bakteri burada üreyerek mikrokolonileri, mikrokolonilerde büyüyerek ve genişleyerek biyofilm tabakasını oluşturur (Şekil 10)(Gün ve Ekinci, 2009). Biyofilmlerdeki bakteriler ayrıca salgılanan kimyasal sinyalleri kullanarak hücre-hücre iletişimi yoluyla davranışlarını koordine etmektedirler. Hücre sinyali (Quorum sensing), hücre yoğunluğunu (çekirdek algılama veya QS olarak da adlandırılır) veya çevresel ipuçlarını değerlendirerek, bakterilerin çevrelerini algılamasına ve fenotipik olarak yanıt vermesine olanak tanır (Hall-Stoodley ve Stoodley, 2009).



Şekil 10. Bakterilerin yüzeyde biyofilm oluşturma aşamaları (Gün ve Ekinci, 2009).

Biyofilm oluşumu çok sayıda patojen için kanıtlanmıştır ve açıkça önemli bir mikrobiyal hayatta kalma stratejisidir. Glikokaliks matriksi, besin maddelerini konsantre ederek hücreleri sürfaktanlardan, biyositlerden ve fagositik hücrelerden korur. Hücreler bir biyofilm içinde var olduklarında antimikrobiyal ajanların etkilerine karşı 10-1000 kat daha dirençli hale gelebilirler. Bir ekzopolisakkarit matriksinin veya glikokaliksın üretimi, biyofilmlerin ayırt edici özelliklerinden biridir. Bu matriksin, diğer işlevlerinin yanı sıra, antibiyotiklerin biyofilm içine gömülü bakteri hücrelerine erişimini engellediği bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar biyofilmlerin antibiyotiklere direncinin, normal planktonik hücrelerde görülen antibiyotik direncine kıyasla arttığını göstermektedir. Biyofilmlerin antimikrobiyal ajanlara nasıl ve neden bu kadar dirençli olduğunu belirlemek

için çeşitli model sistemler kullanılmaktadır. Organizmaların sayısı, metabolik durumları ve ekzopolisakkarit glikokaliks tarafından korunmaları gibi etkenler, bir antibiyotiğin bir biyofilmdeki organizmalara nüfuz etme ve organizmaları öldürme yeteneğini etkileyebilir. Azalan antibiyotik duyarlılığına ek olarak, biyofilmler konakçı fagositik savunmalara karşı direnç gösterir. Biyofilm oluşumunun çok sayıda kronik enfeksiyona neden olduğu veya hastalıkları şiddetlendirdiği kabul edilmektedir (Hall-Stoodley ve Stoodley, 2009).

Biyofilmlerin tıp alanında muazzam bir etkiye sahip olduğu giderek daha açık hale gelmektedir. Enfeksiyon hastalıkları ile biyofilm oluşturan mikroorganizmalar arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Biyofilmler, kateterler, yapay kalçalar ve kontakt lensler gibi birçok tıbbi implant üzerinde oluşabilir. Biyofilmler bakterileri nem, ısı ve pH gibi çevresel koşullardaki değişimler ve ultraviyole ışığın zararlarından koruduğu için antimikrobiyal direnç gelişimine neden olur (Gün ve Ekinci, 2009). Antimikrobiyal maddelere karşı artan direnç enfeksiyon tedavilerini zorlaştırmakta böylece tedavi maliyetini ve hasta travmalarını arttırmaktadır. Hastane enfeksiyonlarında biyofilmlerin önemi arttıkça, antimikrobiyal ajanların bu yüzeye bağlı topluluklar üzerindeki etkilerinin araştırılmasına çok fazla zaman harcanmaktadır. Hastalık sayısındaki artış ve artan bakteri direnci ve biyofilm oluşumu, daha fazla umut vaat eden antibakteriyel ajanları keşfetme talebinin artmasına neden olmaktadır. Biyofilm enfeksiyonları için mevcut tedavi stratejilerinin yanı sıra yeni tedavi stratejilerinin iyileştirilmesi için veri sağlayacak çalışmalar araştırma konusu olmaktadır.

2.8. Topoizomeraz

DNA topoizomerazları, DNA'nın fosfodiester omurgasını kırarak ve yeniden birleştirerek DNA'nın topolojik durumunu değiştiren benzersiz bir enzim sınıfıdır. DNA, replikasyon ve transkripsiyon gibi birçok hücrel işlem sırasında konformasyonel ve topolojik değişikliklere uğrar. Topoizomerazlar DNA'daki bu konformasyonel ve topolojik değişiklikleri çözmek için evrimleşmişlerdir. Tüm topoizomerazlar, sarmal ayrılmasını teşvik etmek için kullandıkları bir nükleofilik tirozin içerir. Bu özellik, DNA bölünmesini geçici kovalent bir enzim-DNA eklentisinin oluşumuna bağlar ve bu da kromozoma zarar verebilecek çentikli veya kırık DNA duplekslerinin yanlışlıkla salınmasını önler (Vos vd., 2011).

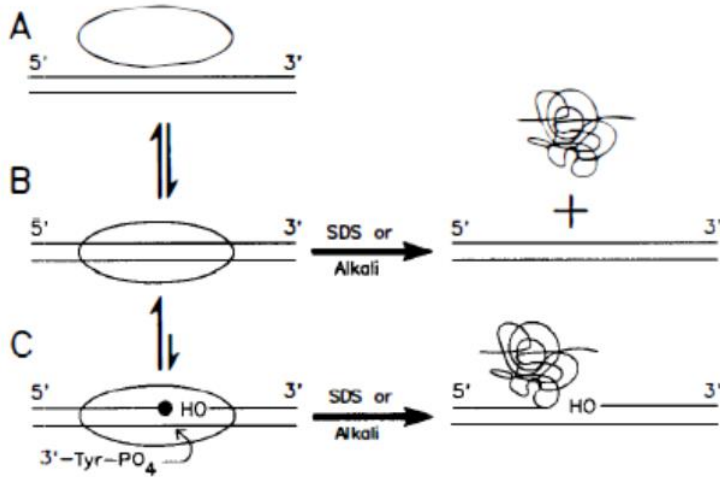
Hem prokaryotik hem de ökaryotik hücrelerden iki tip topoizomeraz bulunmaktadır. Reaksiyon mekanizmalarındaki temel farklılıklara dayanarak, DNA topoizomerazları iki tipte sınıflandırılır. Tip I DNA topoizomerazları, DNA çift sarmalının bir sarmalını geçici olarak kırarak DNA'nın topolojik durumunu değiştirir ve bu nedenle karakteristik olarak DNA'nın bağlantı sayısını birin katları halinde değiştirir. Tip II DNA topoizomerazlar, geçici, enzim köprülü, çift sarmalda kırılmalar yaparak sarmal geçirme reaksiyonunu katalize eder ve sonuç olarak DNA'nın bağlantı sayısını ikinin katları halinde değiştirir. Her iki topoizomeraz türü de memeli hücrelerinden izole edilmiştir. İki topoizomerazdan herhangi biri aşırı sarmal DNA'yı gevşetebilirken, yalnızca DNA topoizomeraz II, sarmal geçirme aktivitesi aracılığıyla iç içe geçmiş iki DNA dairesini ayırabilir. Memeli DNA topoizomerazlarının gevşeme aktiviteleri, muhtemelen replikasyon ve transkripsiyon gibi çeşitli DNA işlemleri sırasında üretilen süper sarmalların gevşemesinde rol oynar (Schoeffler ve Berger, 2008).

2.8.1. DNA Topoizomeraz I

Memeli DNA topoizomeraz I'in ilk örneği olan insan DNA topoizomeraz I (100 kd), insan kromozomu 20q12-13.2 üzerinde yer alan tek kopyalı bir gen tarafından kodlanan bir monomerik proteindir (Liu, 1989). Diğer ökaryotik tip I DNA topoizomerazları gibi, insan topoizomerazı I de gevşemeyi katalize eder. Memeli DNA topoizomeraz I'in varsayılan bir reaksiyon ara maddesi karakterize edilmiştir. Bu ara madde, topoizomeraz I reaksiyonu SDS gibi güçlü bir deterjanla sonlandırıldığında düşük düzeyde de olsa proteine bağlı, tek sarmallı DNA kırılmaları olarak saptanabilmektedir. Topoizomeraz I, bir tirosil fosfat bağı yoluyla kırık DNA zincirinin 3'-fosforil ucuna kovalent olarak bağlı olarak bulunur. Topoizomeraz I-katalizli gevşeme reaksiyonu için basit bir model, Şekil 11'de gösterilmektedir. Memeli DNA topoizomeraz I'in DNA ile hızlı dengede olan en az iki farklı kompleks oluşturduğu bilinmektedir: bölünmeyen kompleks (B) ve bölünebilen kompleks (C). Bölünebilir kompleksdeki iki kırık DNA ucunun bağlı dönüşü, DNA gevşemesine yol açar. Bölünebilir kompleksin SDS veya alkali gibi güçlü bir protein denatüre edici ajana maruz kalması, tek sarmallı DNA kırılmalarına ve topoizomeraz I polipeptit zincirinin, bir fosfotirosil bağı aracılığıyla kırık DNA sarmalının 3'-fosforil ucuna kovalent bağlanmasına neden olur. Kamptotesin bölünebilir kompleksi stabilize eder ve onu üretken olmayan bir üçlü komplekse dönüştürür (Rothenberg, 1997).

Bölünebilir kompleksteki iki kırık ucun görelî dönüşü, aşırı sarmal DNA'nın gevşemesine yol açar. Topoizomeraz I bölünme bölgelerinin sıralama çalışmaları, bölünme bölgesinin 3' ucunda 4 bç'den ve 5' ucunda 1 bç'den oluşan gevşek bir şekilde tanımlanmış 5 bç'lik bir sekansın tercih edildiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, dönme benzeri aktivitesinin DNA replikasyonu, RNA transkripsiyonu ve diğer DNA fonksiyonları için önemlidir. RNA transkripsiyonunda memeli DNA topoizomeraz I'in rolü olduğu bilinmektedir. Spesifik topoizomeraz I zehiri kamptotesin kullanılarak, topoizomeraz I bölünme bölgeleri belirlenmiş ve bunların hem insan ribozomal gen tekrarlarının hem de tirozin aminotransferaz geninin kopyalanan bölgesi ile sınırlı olduğu gösterilmiştir. Topoizomeraz I bölünme bölgelerinin varlığı da transkripsiyon aktivasyonuna paraleldir. Topoizomeraz I'in, transkripsiyon tarafından üretilen kıvrılma dalgalarının modüle edilmesinde rol oynadığını öne sürülmektedir (Rothenberg, 1997).

Tip I topoizomerazlar kendi içerisinde iplikçik bölünmesinin polaritesine göre IA ve IB olmak üzere iki aileye ayrılır. Topo IA, geçici bir 5'-fosfo-tirozin kovalent ara ürünü oluşturur ve serbest bir 3'-OH ipliğini serbest bırakırken, Topo IB, bir 3'-fosfo-tirozin kovalent ara maddesini oluşturur ve serbest bir 5'-OH ipliğini serbest bırakır. Tip IA enzimleri, bozulmamış ipliğin kırık iplikten geçişini desteklerken, tip IB enzimleri, kopmuş ipliği sağlam iplik etrafında dönmesi için serbest bırakır. Topo IA ve Topo IB arasındaki bölünme, bu iki enzim ailesi arasında dizi veya yapısal benzerliğin olmamasıyla desteklenir. Hemen hemen tüm Topo IA ve Topo IB monomeriktir ve tek bir topoizomeraz alanı tarafından oluşturulur. İstisnalar, topoizomeraz alanının helikaz benzeri bir alana kaynaştığı ters girazlar ve topoizomeraz alanının bir DNA onarım benzeri alana kaynaştığı Topo V'dir (Taneja vd., 2006).



Şekil 11. Memeli DNA topoizomeraz I reaksiyon mekanizması (Liu, 1989).

2.8.2. Memeli DNA Topoizomeraz I Zehirleri-Kamptotesin

Biyomedikal tarafta, topoizomeraz inhibisyonunun terapötik müdahale için oldukça çok yönlü ve yararlı bir yaklaşım olduğu kanıtlanmıştır. Topoizomerazları hedef alan küçük moleküllü ajanlar, etki tarzlarına göre iki geniş sınıfa ayrılır: enzim aktivitesini azaltan inhibitörler ve DNA parçalama komplekslerini stabilize eden zehirler (Staker vd., 2002).

Nyssaceae familyasının *Camptotheca acuminata* türünden izole edilen sitotoksik bir bitki alkaloidi olan Kamptotesin, deney hayvanlarında geniş bir antitümör aktivite spektrumuna sahip keşfedilen ilk spesifik topo I inhibitörüdür. Kamptotesin, yüksek oranda faza özgü bir sitotoksik ilaçtır ve S-fazı hücrelerini seçici olarak öldürür. Topoizomeraz II zehirleri gibi, kamptotesin de kardeş kromatid değişimlerini ve kromozomal anormallikleri, kültürlenmiş memeli hücrelerinde hem DNA hem de RNA sentezini güçlü bir şekilde inhibe eder ve kromozomal DNA'nın parçalanmasını indükler (Koster vd., 2007).

Kamptotesin, saflaştırılmış DNA'ya bağlanmaz veya onunla reaksiyona girmez. Kamptotesin, saflaştırılmış RNA veya DNA polimerazlarını da inhibe etmez. Yapılan çalışmalar kamptotesinin memeli DNA topoizomeraz I'in kırılma-yeniden birleşme reaksiyonuna anahtar kovalent reaksiyon ara ürünü olan bölünebilir kompleksi hapsederek müdahale ettiğini göstermektedir (Şekil 11). Başka bir ifadeyle kamptotesin, replikasyon sırasında oluşan normalde geçici bölünebilir DNA-topo I kompleksine bağlanır ve onu stabilize eder (Liu, 1989; Vos vd., 2011).

Bununla birlikte, kamptotesin ile stabilize edilmiş parçalanabilir kompleksler, parçalanamayan komplekslerle hala hızlı bir denge halindedir. İlaçla stabilize edilmiş parçalanabilir komplekslerin güçlü bir protein denatürana maruz kalması, topoizomeraz I'e bağlı, tek sarmallı kırılmalara yol açar. Kamptotesin (CPT)'ler kovalent 3-fosfotirozil ara maddesini bağlar ve spesifik olarak DNA'nın yeniden ligasyonunu bloke ederek topo I'i DNA'ya zarar veren bir ajana dönüştürür. Bu önerilen mekanizmaya dayanarak, kamptotesin bu nedenle bir topoizomeraz I zehiri olarak kabul edilebilir. Kamptotesin ile uyarılan DNA bölünme bölgelerinin çoğu, kamptotesin yokluğunda topoizomeraz I'in arka plandaki bölünme bölgelerine benzer konumlarda meydana gelir (Staker vd., 2002; Vos vd., 2011).

Kamptotesin ile muamele edilmiş hücrelerde hücresel DNA'ya çapraz bağlanan proteinin kimliğinin, topoizomeraz I'e özgü antikorlarla immünoiblotlama yoluyla topoizomeraz I olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, kamptotesinin DNA topoizomeraz I yoluyla DNA'ya zarar verdiğini göstermektedir (Rothenberg, 1997).

Kamptotesin spesifik olarak topoizomeraz I'in kırılma-yeniden birleşme reaksiyonuna, ayrıca enzimi varsayılan bir kovalent reaksiyon ara ürünü olan bölünebilir komplekse hapsederek müdahale eder. Bu ilaca stabilize edilmiş parçalanabilir kompleksler, diğer protein-DNA komplekslerinin aksine, SDS gibi güçlü bir protein denatüran ile işlenerek proteine bağlı DNA kırıklarına dönüştürülebilir. Bununla birlikte, protein denatüranların yokluğunda, parçalanabilen kompleksler, tersine çevrilebilir şekilde parçalanamayan komplekslere dönüştürülebilir. Bu tür geri dönüşümlü DNA hasarı, memeli hücrelerinde yeni bir DNA lezyonu tipini temsil eder. Bu tür ilaçla stabilize edilmiş topoizomeraz parçalanabilir kompleksler, çoğalan hücreler için öldürücüdür ve topoizomeraz zehirlerinin antitümör aktivitesinden sorumludur. DNA metabolizmasına müdahale, diğer birçok antitümör ilacında olduğu gibi, topoizomeraz zehirleri tarafından tümör hücresi öldürmenin ana mekanizmasıdır. Replikasyon çatallarının ilaçla stabilize edilmiş topoizomeraz-DNA parçalanabilir kompleksleri tarafından spesifik olarak durdurulması, DNA topoizomeraz I zehirleri için hücre öldürmenin olası bir mekanizmasıdır (Liu, 1989).

2.8.3. Kamptotesin Olmayan Topoizomeraz I İnhibitörleri

Saintopin, UCE6 ve UCE1022, topo I aracılı bölünmeye neden olan yapısal olarak ilişkili antrakinin antibiyotiklerdir. Saintopin, indol türevi intoplisin gibi, topoizomeraz II aracılı DNA bölünmesini de indükler. Saintopin dirençli hücre hatları, CPT-11 ile çapraz direnç gösterir. Çapraz direncin mekanizması ilaca maruz kalmanın ardından topo I'in hızlı aşağı regülasyonu gibi görünmektedir (Taniguchi vd., 1996).

TAN-1518 A ve B olarak adlandırılan yeni naftasenkarboksamid antibiyotikleri, topo I aktivitesini inhibe eder ve ayrıca kültürde çeşitli murin ve insan tümör hücrelerinin büyümesini baskılar. TAN-1518, topo I ile kamptotesinden oldukça farklı bir şekilde etkileşime girer ve sonuç olarak bazı kamptotesine dirençli hücre hatlarında aktiftir. TAN-1518, bölünebilir kompleksi stabilize etmek yerine doğrudan topo I'in katalitik aktivitesini inhibe eder ve bölünebilir kompleks oluşumunu engeller (Rothenberg, 1997).

2.9. Sülfonamid Schiff Bazları ile Yapılan Çalışmalar

Enantiyomerik bakır (II) Schiff bazı benzensülfonamid eklentili tek boyutlu yeni kiral Cu (II) tabanlı tek boyutlu koordinasyona sahip [LC₂₅H₂₇CuN₃O₆S] (1a) ve [D-C₂₅H₂₇CuN₃O₆S] (1b) polimerleri ile CT-DNA'ya bağlanma modunu ve eğilimini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; yaklaşık 275 ve 407 nm'de yoğun absorpsiyon bantları sergilediği CT-DNA'nın (0.2 × 10⁻⁴ M) kademeli olarak eklenmesi üzerine, 3 ile 5 nm'lik hafif mavi kayma ile hiperkromik bir etki gözlemlendiği kovalent olmayan hidrojen bağı etkileşimleri ile elektrostatik mod aracılığıyla CT-DNA dış yüzeyine bağlandığı belirtilmiştir. 1a'nın karşılaştırmalı DNA bağlanmaları (K_b) ile ölçüldüğü üzere 1b'ye kıyasla terapötik bir ilaç adayı olarak daha iyi beklentiler gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. SOD mimetik aktivite sırasıyla 0,160 ve 0,198 IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. 1a bileşiğinin pBR322 DNA'yı hidrolitik olarak kırdığı ve bileşiklerin topo I inhibitörü olduğu ifade edilmiştir (Afsan vd., 2020).

Benzenesülfonamide türevli bakır (II) Schiff bazı kompleksleri [Cu(L¹)₂] (1) ve [Cu(L²)₂] (2), Schiff bazlı iskele HL¹ ve HL²(E)-4-(2(2-hidroksibenziliden)amino)etil)benzensülfonamid ve (2-hidroksi-3metoksibenziliden)amino)etil)benzensülfonamid ile

yapılan başka bir çalışmada 368–378 nm'de merkezlenmiş intraligand absorpsiyon bandında mavi kayma ile hipokromizm gözlemlendiği, gözlemlenen "hipokromik etki", komplekslerin aromatik kromoforu (ligand iskelesi) ile interkalatif bağlanma modu ile CT-DNA ya bağlandığı bildirilmiştir. Kompleks 2'ye kıyasla kompleks 1'in daha iyi bağlanma eğilimi ile kovalent olmayan interkalatif bağlanma modu ile bağlandığı ve kompleks 1'in DNA'yı, oksidatif olarak kırdığı bulunmuştur. Ayrıca, kompleks 1'in topoizomerez I enzimatik aktivitesinin jel elektroforeziyle gerçekleştirildiği çalışmada, 25 µM'lik düşük bir konsantrasyonda önemli inhibe edici etkiler sergilediği tespit edilmiştir (Afsan vd., 2020).

N-benzillenmiş yeni sülfonamid türevi bileşiklerin DNA bağlanma afinitesi, absorpsiyon spektroskopisi kullanılarak ölçülmüş ve seri boyunca hem hipokromik hemde hiperkromik bağlanma etkileri gözlenmiştir. Ayrıca bileşiklerin antioksidan aktiviteleri FRAP ve DPPH testleriyle araştırılmış ve bileşiklerin konsantrasyonları ve inhibisyon değerleri arasında doğrudan bir korelasyon olduğu belirtilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin DNA ile etkileşiminin zayıf olduğu bulunmuştur (Meşeli vd., 2021).

Yeni köprülü çok bileşenli sülfonamid imidazol Schiff bazı hibritleri yapılan çalışmada UV-Vis spektrumları, DNA'nın maksimum absorpsiyon zirvesinin (260 nm), sabit bir DNA konsantrasyonunda hibrit 4h bileşiği içeriğinin artırılması üzerine hafifçe kırmızıya kaydığını ve hibrit 4h ile DNA arasında zayıf hipokromik etki görüldüğü bulunmuştur. Bazı hedef bileşikler, önemli antibakteriyel etki göstermiştir. Gözlemlenebilir bir şekilde, bütülen hibritleri 4h, klinik MRSA'ya (MİK = 1 µg/ml) karşı kayda değer inhibe edici etkinlik sergilediği ve bileşik 4h'nin MRSA membranına etkili bir şekilde müdahale edebildiği, klinik MRSA suşlarından izole edilen bakteriyel DNA'ya kovalent olmayan bağlanma yoluyla bir supramoleküler kompleks üreterek ekleyebildiğini ve böylece DNA replikasyonunu engelleyerek güçlü antibakteriyel etkinliğini sergileyebildiğini bildirmişlerdir (Hu vd., 2021).

Dört yeni N-ikameli benzensülfonamid bileşikleri ile yapılan çalışmada sentezlenen bileşiklerin (5-8) çözeltilerine DNA eklenmesi sonucu bileşikler (5-8) ve DNA arasındaki etkileşim, bantların pozisyonunda herhangi bir değişiklik olmadan hiperkromizm ile sonuçlandığı, 5-8 bileşiklerin nispeten yüksek bağlanma sabitleri ile interkalatif olmayan bir yolla DNA ile etkileşime girebildiği bulunmuştur. Bu sülfonamid bazlı Schiff bazı

bileşiklerinin, tümör büyümesini önleme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir (Güngör vd., 2021).

Sülfonamid ile yeni bir iki boyutlu bakır (II) koordinasyon kompleksinin DNA bağlanma etkisinin araştırıldığı çalışmada CT-DNA'nın artan konsantrasyonu (yaklaşık 2.9, 4.5, 5.9, 7.5, 8.9×10^{-6} M) varlığında kompleks ve serbest ligandın absorpsiyon spektrumu, hafif bir kırmızı kayma ile önemli miktarda hiperkromizm gösterdiği, spektrumdaki hiperkromizm, çift sarmallı DNA sarmalının, kompleksin DNA molekülleri ile interkalatif bağlanma modu yoluyla hasar görmesinin bir sonucu olabileceği öngörülmüştür (Devi vd., 2012).

Salisilaldehitler ve sülfametizolden elde edilen Schiff bazları *E*-4-(2-hydroxy-3-metoxybenzylideneamino)-*N*-(5-methyl-3,4-thiazol-2-yl)benzen sulfonamid (A) ve *E*-4-(2-hydroxy-5-nitrobenzylideneamino)-*N*-(5-methyl-3,4-thiazol-2-yl)benzen sulfonamid (B) ile yapılan DNA bağlanma deneyinde Schiff bazı B'nin CT-DNA'nın çift sarmalına (hidrofobik etkileşimler için) karıştığı; Schiff bazı A'nın ise CT-DNA ile bağlanmasının elektrostatik bir etkileşim karakterine sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Pehlivan vd., 2018).

Sülfa azo boya bazlı ligand ile yeni homo-binnükleer metal komplekslerinin DNA bağlanma afinitesinin araştırılması üzerine yapılan çalışmada DNA konsantrasyonunun 5–45 μ M aralığında yükseltilmesiyle, 414 nm'de görünen H₂L'nin absorpsiyon bantlarının %23,18'lik bir hipokromizm gösterdiği, komplekslerinin (bileşikler 1-5) ise hiperkromizme maruz kaldığını gösterdiği, sırasıyla 1, 2, 3, 4 ve 5 bileşikleri için 428, 360, 431, 427 ve 429 nm'de H₂L ve 1-5 komplekslerinin DNA'ya interkalasyon oluğa bağlanma modu ile bağlandığı belirlenmiştir. H₂L şelatları 1-5'in *in vitro* antibakteriyel ve antifungal etkinliği, difüzyon agar tekniği uygulanarak tarandığı çalışmada Gram negatif bakteriler için örnek olarak *Salmonella typhimurium* (RCMB 006) ve Gram pozitif bakteriler için *Staphylococcus aureus* (RCMB 010010) türleri seçilmiştir. Ayrıca, maya türü olarak *Candida albicans* (RCMB 005003 (1) ATCC) ve küf türü *Aspergillus fumigatus* (RCMB 002008) kullanılmıştır. Serbest ligandın test edilen tüm organizmalara karşı etkisiz olduğu, Ni (II) kompleksi 3, 11.97 mm'lik inhibisyon bölgesi içinde *S. aureus*'a karşı iyi bir aktivite sergilediği, Co (II) kompleksi 2, 11.13 mm inhibisyon bölgesi içinde *S. typhimurium*'a karşı yüksek etkinlik gösterdiği bulunmuştur (Saad vd., 2019).

Sülfametizolden iki farklı hidroksi benzaldehit türevi Schiff bazı sentezlemiş (2,3-dihydroxy benzaldehyde (DHBA) (1) ve 2,4,6-trihydroxy benzaldehyde (THBA) (2) sentezlenen Schiff bazları ile dana timus DNA'sı (CT-DNA) arasındaki fizyolojik pH'da (7.4) bağlanma özellikleri UV-Vis spektroskopi teknikleri kullanılarak araştırılmıştır. Deneysel sonuçlar, Schiff bazlarının 1:1 stokiyometride elektrostatik mod ile CT-DNA'ya bağlanabileceğini doğrulamıştır. Sentezlenen Schiff bazlarının *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı antifungal aktiviteleri incelenmiş ve minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. DHBA'dan sentezlenen Schiff bazı 1'in MİK değeri, THBA'dan elde edilen Schiff bazı 2'ninkinden daha küçük olduğu, Schiff bazı 2, CT-DNA'ya Schiff bazı 1'den daha yüksek afinite ile bağlansa da *Candida albicans*'a karşı Schiff bazı 1'den daha az etkili olduğu tespit edilmiştir (Biçer vd., 2019).

Sonikasyon ve mikrodalga teknikleriyle sentezlenen Schiff bazı türevleri (3a–b), Sulfathiazole (1)'in benzaldehit türevleri (2a–b) ile reaksiyonu yoluyla sentezlendiği, ardından sentezlenen Schiff bazlarının tiyoglikolik yoluyla siklize edilmesiyle 4-tiyazoledinon (4a–b) türevlerinin FRAP ve DPPH aktivitelerinin test edildiği bileşiklerin iyi indirgeme gücü sergilediğini ve antioksidan aktivitesinin siklizasyon üzerine arttığı bulunmuştur. Bileşiklerin *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Raoultella planticola* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakteri suşlarına karşı ve antifungal aktiviteleri için *Trichophyton mentagrophytes* ve *Aspergillus niger*'e karşı iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve kloro ikameli bileşiklerin muadillerinden daha iyi aktivite sergilemiş olduğu belirtilmiştir (Hassan vd., 2023).

Oksazepin türevlerine dönüştürülmüş sülfonamid Schiff bazlarının antimikrobiyal, antioksidan, *in vivo* sitotoksitate aktiviteleri açısından test edildiği araştırmada; serbest radikal inhibisyonu ve antioksidan aktivite, 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil radikali (DPPH) ve ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP) yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak serbest radikal yakalama aktivitesinin hidroksil grubunun varlığıyla arttığı öne sürülmüştür. Mikrodilüsyon tekniği ile Gram pozitif ve Gram negatif suşlara karşı *in vitro* antimikrobiyal aktivite belirlenmiş, sentezlenen türevlerin önemli antimikrobiyal aktivite sergilediği bulunmuştur (Hassan vd., 2023).

Bir sülfadoksin-salisilaldehit Schiff bazının (SFX-SL) ve yeni dimerik gümüş(I) kompleksinin (AgSFX-SL) sentezlendiği araştırmada, bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri çalışılmış; Gram pozitif *Staphylococcus aureus* (çoklu ilaca dirençli), *S. epidermidis*, *Cutibacterium acnes* ve Gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* ve *Burkholderia cepacia* gibi patojenler üzerinde MİK değerleri ile etkili bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Oliveira vd., 2022).

Sülfonamid parçalı kurkumin iskelesine sahip on iki Schiff bazının sentezlenerek Gram pozitif, Gram negatif bakteri ve fungus türlerine ait 12 mikroorganizma paneline karşı anti-enflamatuar, antinosiseptif aktiviteler açısından test edildiği çalışmada; bileşik 3c, nistatin (MİK=15.63 µg/mL) ile karşılaştırıldığında en iyi antifungal (*Fusarium oxysporum*) aktiviteyi verdiği ayrıca, bileşik 3a'nın antibakteriyel ilaç siprofloksasin ve 3c'nin antifungal ilaç nistatin ile kombinasyonu, tek tek ilaçların kullanılmasına göre kayda değer şekilde daha yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. Siprofloksasinin (0.12 µg/mL) bileşik 3a (7.8 µg/mL) ile kombinasyonu, siprofloksasinin kendisinden 8 kat daha güçlü olan MRSA'nın büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (Ahmed vd., 2019).

5-Arilidinamino-1,3,4-tiadiazol-2-[(N-ikamelibenzol)]sülfonamidlerin sentezlendiği çalışmada tüm bileşikler, istatistiksel olarak anlamlı IC₅₀ değeri gösterdiği belirtilmiştir. Test edilen bileşikler arasında (9c) en düşük IC₅₀ değerine sahip DPPH radikali, nitrik oksit anyonu ve lipid peroksidasyonuna karşı en güçlü bileşik olduğu, (9e) ve (9f) ABTS ve süperoksit anyon radikaline karşı maksimum etkiyi gösterdiği, çalışmada ayrıca (9c), (9d) ve (9f) bileşiklerinin ilgili standartlardan bile daha düşük IC₅₀ değerleri gösterdiğini, bu bileşiklerin standarttan daha güçlü olduğunu ve elektron- -OCH₃ (9c ve 9d) gibi fonksiyonel grup veya serbest radikal (9f) ile bağlanma yeteneğine sahip -OH gibi fonksiyonel grubun sorumlu olduğu bildirilmiştir (Chhajed vd., 2014).

Sülfonamidlerden türetilen bir dizi yeni Schiff bazları ve bunların geçiş metali bileşiklerinin (çinko (II), nikel (II), bakır (II) ve kobalt (II) gibi) sentezlendiği antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada; altı Gram negatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* ve *Shigella dysenteriae*) ve dört Gram pozitif (*Bacillus cereus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes*) bakteri suşlarına karşı ve *in vitro*

antibakteriyel aktivite ve *in vitro* antifungal aktivite (*Trichopyton longifusus*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Microsporium canis*, *Fusarium solani*, *Candida glabrata* türlerine karşı) için kullanılmıştır. Bu çalışmaların sonuçları, metal komplekslerinin, kompleks olmayan Schiff bazlarına kıyasla daha antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Chohan vd., 2005).

Metal bazlı antibakteriyel ve antifungal sülfonamidlerle yapılan çalışmada tüm serbest sülfonamidler, tüm bakterilere karşı orta ila önemli aktivite gösterdiği. Kompleksler (1-16), *E. coli*, *S. flexneri*, *S. typhi*, *S. aureus* ve *B. subtilis*'e karşı genel olarak önemli aktivite sergilediği ve antibakteriyel aktivitenin genel olarak ligandların kompleksleşmesiyle arttığı bulunmuştur (Chohan, 2009).

2-(Hidroksi)naftaldehit ve sülfonamidlerin (sufatiazol (STZ), sülfapiridin (SPY), sülfadiazin (SDZ), sülfamerazin (SMZ) ve sülfaguanidin (SGN)) kondenzasyonundan sentezlenen Schiff bazlarının antimikrobiyal aktiviteleri, dirençli Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) ve Gram negatif (*Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumonia*) patojenlere karşı değerlendirilmiş, dirençli patojenlere karşı Schiff bazının performansı standarda göre daha iyidir ve MİK verileri 32-128 µg/ml iken, ana sülfonamidler etkili bir şekilde inaktif (MİK>512 µg/mL) olduğu tespit edilmiştir (Mondal vd., 2017).

Naftalin bazlı sülfonamid Al³⁺ iyonlarının kullanarak hücre içi görüntülemesi, yapı, ve biyolojik aktivitelerin araştırıldığı çalışmada floresan prob HL, (sülfametoksazolün bir Schiff bazı türevidir), birkaç Gram pozitif (*S. aureus* ATCC 21737, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ve Gram negatif (*E. coli*, ATCC 25922, *S. typhi* MTCC734, *K. pnömoni* ATCC 714) bakteri türlerine karşı orta düzeyde antimikrobiyal aktivite (MİK 32–64 µg/ml) gösterdiği bildirilmiştir (Mondal vd., 2017).

Salisilaldehidin farklı sülfad ilaçlarla kondenzasyonundan türetilen sülfonamid-iminlerin organoboron (III) komplekslerinin toksikolojik etkileri, biyolojik yönleri ve spektral karakterizasyonlarının yapıldığı çalışmada sülfonamid-iminlerin bakteriyotoksisitesinin ve fungitoksisitesinin, fenildihidroksiboran ile şelasyonda önemli ölçüde artabileceği ve komplekslerin iyi antibakteriyel ve orta derecede antifungal aktivite

gösterdiği bildirilmiştir. Kompleksler arasında PhB(L₁) 1.56 µg/L'den başlayarak *S. aureus*'a karşı büyüme inhibisyonu sergilediği, Ha-L₄Ha ligandlarının ve bunların komplekslerinin Gram negatif *E. coli*'ye karşı bakteriyel aktivitesinin 6,25 ile 100 µg/L arasında değişkenlik gösterdiği ancak *E. coli*'nin en az L₅H₂ ligandından etkilendiği (MİK > 100 µg/L) bildirilmiştir. Bununla birlikte, L₂H₂, L₃H₂, L₄H₂ ve L₅H₂ ligandlarının ve bunların organoboron komplekslerinin *Macrophomina phaseolina*'ya karşı aktivitesinde fazla bir değişiklik gözlenmediği ancak L₁H₂ ligandı ve kompleksi, *F. oxysporum* ve *M. phaseolina* karşı 12.5 ila 50 µg/L aralığında daha iyi büyüme inhibisyonu sergilediği saptanmıştır (Nagpal ve Singh, 2004).

Sülfonamid Schiff bazının metal komplekslerinin ve karışık ligand komplekslerinin incelendiği bir çalışmada ana HL Schiff bazı ligandından Gram pozitif bakteri; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Bacillus subtilis* (ATCC 6635), Gram negatif bakteriler *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) ile *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Aspergillus fumigatus* türlerine karşı umut verici antimikrobiyal aktivite göstermekle birlikte antikanser aktivite sergilediği de bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada karışık ligand komplekslerinin metal komplekslerinden daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Sharaby vd., 2017).

Schiff bazlarından 4-kloro-*N*-[2-(hidrazinokarbonil)fenil]benzensülfonamidin çeşitli aldehitlerle ve 2-[[4-klorofenil)sülfonil]amino}benzoat'ın hidrazin ile reaksiyona sokulmasıyla sentezlendiği ve antioksidan aktivitenin DPPH yöntemiyle test edildiği çalışmada, çok iyi antioksidan aktivite gösteren 2, 8 ve 19 dışındaki tüm bileşiklerin orta derecede antioksidan aktivite gösterdiği beklirlenmiştir. Yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin yapılarında -NH₂ ve -OH gruplarının bulunması nedeniyle hidrojen atomlarının antioksidan potansiyel göstermesini sağlamak için iyi aktivite göstermiş olduğu belirtilmiştir (Kausar vd., 2019).

Benzen kaynaşmış monosiklik enediynyl amidler ve Sülfonamidlerle karşılaştırmalı olarak sentez, reaktivite ve DNA-kırma aktivitesinin araştırıldığı çalışmada; 2a-2c amidlerinin plazmid DNA'yı mikromolar konsantrasyonlarda parçalayabildiği ancak sülfonamidlerin, milimolar seviyede herhangi bir DNA-kırma aktivitesi göstermediği belirtilmiştir. DNA-kırma etkinliği, DNA'ya bağlanan akridin parçasını içeren 2c için en

yüksek olduğu, bu nedenle çalışmalarda, organik çözücülerdeki Bergman siklizasyonu kinetiğinin, sulu tamponda yapılan DNA-kırma aktivitesini tahmin etmek için iyi bir kriter olmayabileceğini gösterdiği tespit edilmiştir (Basak vd., 2002)

İki yeni Cu(II) kompleksi, $[Cu(L_1)_2(py)_2(H_2O)](C1)$ ($HL_1=N-(5-(4\text{-metilfenil})-[1,3,4]\text{-tiadiazol-2-il})\text{-naftalinsülfonamid}$) ve $[Cu(HL_2)_4](OH)_2(C2)$ ($HL_2=N-(5-(4\text{-metoksifenil})-[1,3,4]\text{-tiadiazol-2-il})\text{-toluensülfonamid}$) kompleksleri sentezlenerek DNA kırma ve SOD mimetik aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada; 12 μM 'de **C1** ve **C2** komplekslerinin aşırı sarmal DNA'nın açık dairesel formuna kısmi dönüşümünü gerçekleştirdikleri, 18 μM 'de iki bileşik, aşırı sarmal DNA'nın açık dairesel ve doğrusal DNA'ya tamamen bozunmasını indüklediği belirtilmiştir. Aynı koşullar altında CuSO_4 , her iki bileşikten de daha az nükleolitik aktivite sergilediği ve **C1**'in üstün bir nükleaz aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. **C1** ve **C2** komplekslerinin SOD benzeri aktivitelerinde kompleks **C1**'in, **C2**'den daha güçlü, IC_{50} değerleri 0,188 ve 0,295 μM gösterdiği, bu değerlerin doğal Cu_2Zn_2 SOD'den (0.006 μM) daha yüksek, ancak ilgili sülfonamid ligandları ile komplekslerinkine benzer olduğu bildirilmiştir (Hangan vd., 2018).

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

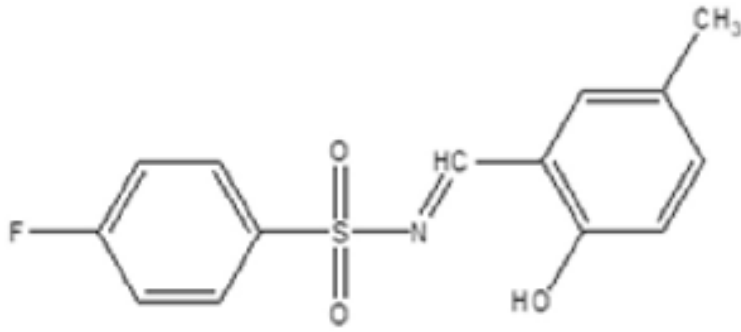
3.1.1. Sülfonamid Tabanlı İmin Bileşikler

Tez çalışması kapsamında sentezlenen ve karakterize edilen bileşikler, ÇOMÜ, Fen Fakültesi, Anorganik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa YILDIZ tarafından temin edilmiştir (Tekin vd., 2022). Sülfonamid tabanlı imin bileşiklerine ait bilgiler Tablo 1, Şekil 12, 13 ve 14’te sunulmuştur.

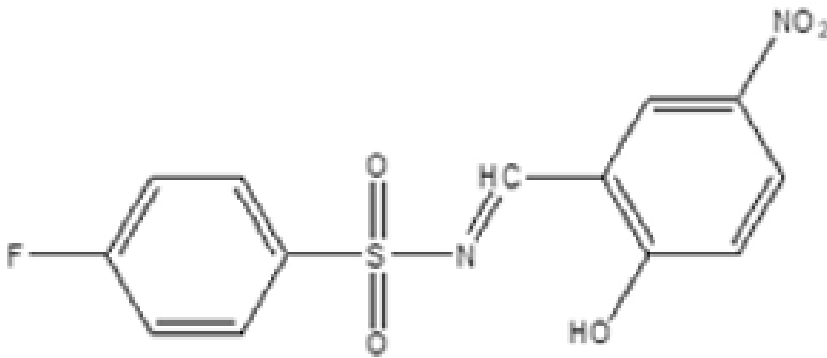
Tablo 1

Bileşik 1, 2 ve 3’ün kod, ad, kimyasal formül, gerçek ağırlık, moleküler ağırlık, m/z ve elemental analizleri

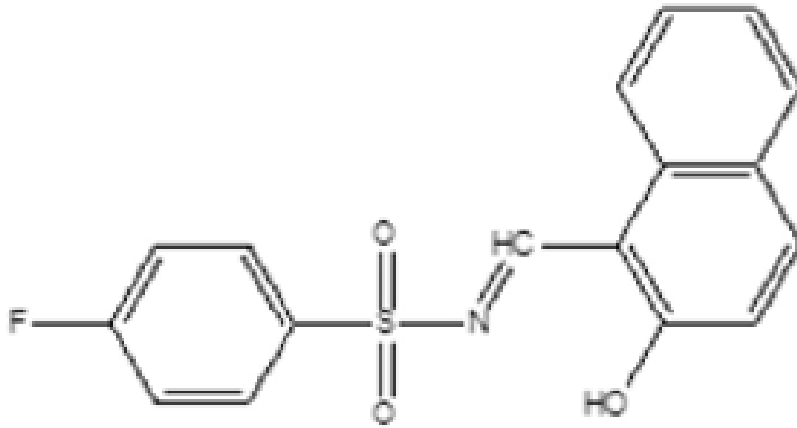
Kod	Bileşik Adı	Kimyasal Formül	Gerçek Ağırlık	Moleküler Ağırlık	m/z	Elemental Analiz
Bileşik 1	(<i>E</i>)-4-fluoro- <i>N</i> -(2-hydroxy-5-methylbenzylidene)benzenesulfonamide	C ₁₄ H ₁₂ FNO ₃ S	293.1	293.3	293.05 (100%), 294.06 (15.4%), 295.05 (4.7%), 295.06 (1.7%), 294.05 (1.2%)	C, 57.33; H, 4.12; F, 6.48; N, 4.78; O, 16.36; S, 10.93
Bileşik 2	(<i>E</i>)-4-fluoro- <i>N</i> -(2-hydroxy-5-nitrobenzylidene)benzenesulfonamide	C ₁₃ H ₉ FN ₂ O ₅ S	324	324.3	324.02 (100%), 325.02 (15.6%), 326.02 (4.7%), 326.03 (2.0%)	C, 48.15; H, 2.80; F, 5.86; N, 8.64; O, 24.67; S, 9.89
Bileşik 3	(<i>E</i>)-4-fluoro- <i>N</i> -((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)benzenesulfonamide	C ₁₇ H ₁₂ FNO ₃ S	329.1	329.3	329.05 (100%), 330.06 (18.6%), 331.05 (4.7%), 331.06 (2.3%), 330.05 (1.2%)	C, 62.00; H, 3.67; F, 5.77; N, 4.25; O, 14.57; S, 9.74



Şekil 12. (*E*)-4-fluoro-*N*-(2-hydroxy-5-methylbenzylidene)benzenesulfonamide (Bileşik 1)



Şekil 13. (*E*)-4-fluoro-*N*-(2-hydroxy-5-nitrobenzylidene)benzenesulfonamide (Bileşik 2).



Şekil 14. (*E*)-4-fluoro-*N*-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)benzenesulfonamid (Bileşik 3).

3.2. Yöntem

3.2.1. Bileşiklerin DNA ile Etkileşimlerinin Analizleri

Bileşiklerin DNA Bağlanma Aktivitesinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan bileşiklerin DNA ile bağlanma etkilerine dana-timus (Calf-Thymus, CT-DNA) kullanılarak bakıldı. DNA'nın artan konsantrasyonlarının her beş dakikada bir TNE (8 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl ve 1 mM EDTA) tamponuna eklenmesiyle bileşiklerin DNA'ya bağlanmaları 200-600 nm dalga boyları arasında UV-Vis spektrofotometrede ölçüm alınarak analiz edildi (T80+ UV/Vis spectrophotometer). Her bir ölçümde elde edilen piklerin absorpsiyonda gözlemlenen değişiklikleri sabitleninceye kadar ölçümler devam etti. DNA ile bileşiklerin bağlanma sabiti (kb) aşağıda verilen formüle göre hesaplandı (3.1).

$$[DNA]/(\epsilon a - \epsilon f) = [DNA]/(\epsilon b - \epsilon f) + 1/kb(\epsilon b - \epsilon f) \quad (3.1)$$

ϵa : ölçülen konsantrasyonun sönüm katsayısı,

ϵb : bağlı bileşiğin sönüm katsayısı,

ϵf : serbest bileşiğin sönüm katsayısı.

Absorbans şiddetinde oluşan değişimlerin yüzde kromisitesi (%H) ise aşağıda verilen formülle hesaplandı (3.2).

$$\%H = [(A_i - A_s) / A_i] \times 100 \quad (3.2)$$

A_i : Bileşiğe ait absorbans değeri,

A_s : Kademeli olarak eklenen DNA'nın en yüksek miktarının absorbans değeri.

Bileşiklerin DNA Kırma Aktivitesinin Belirlenmesi

Agaroz jel elektroforezi yöntemi, bileşiklerin DNA kırma aktivitesinin belirlenmesinde kullanıldı. Ticari olarak temin edilen pBR322 plazmid DNA, bileşiklerin dimetil sülfoksit (DMSO) ile hazırlanan farklı konsantrasyonları (25, 50, 100, 200 ve 400 μ M) ve Tris-HCl tamponu ile muamele edildi. Çalışma hidrolitik ve oksidatif olarak iki aşamalı olarak gerçekleştirildi. Oksidatif aktivite çalışmasında DNA, tampon ve bileşiğe ilave olarak ortama indükleyici ajan olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) eklendi. Karışım 3 saat

37°C’de inkübe edildikten sonra jel yükleme boyası (6X) ile karıştırıldı. %1’lik agaroz jel, elektroforezi yürütme tamponu olarak da kullanılan 1X TAE (400 mM Tris-200 mM asetik asit-10 mM EDTA, pH: 8.2) ile hazırlandı. Agaroz jele yüklenen DNA karışımları 60 V, 1 saatte yürütüldü ve jelde oluşan bant formları UV görüntüleme sistemleri ile görüntüledi ve fotoğraflandı (DNA Bioimaging systems) (Qiao vd., 2011).

3.2.2. Antioksidan Aktivite Analizleri

DPPH• Radikali Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

Serbest radikal giderme aktivitesi analizleri Kim vd. (2012) metodu değişiklikler yapılarak 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) radikali ile yapıldı. Bileşiklerin bu radikal ile reaksiyona girmesinin ardından menekşe moru rengine sahip radikalde meydana gelen renk değişimine göre % inhibisyon değerleri aşağıdaki formül ile hesaplandı (3.3). Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) pozitif kontrol olarak kullanıldı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_k - A_0) / A_k \times 100 \quad (3.3)$$

A_k : Kontrole ait absorbands değeri,

A_0 : Örneğe ait absorbands değeri.

ABTS^{•+} Katyon Radikali Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi analizleri Gulcin (2020) metodunda birkaç değişiklik ile 2,2’-azino-bis(3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit) (ABTS) kullanılarak yapıldı. ABTS yöntemi elektron bazlı bir antioksidan yöntemi olmasıyla ABTS^{•+} radikal katyonu oluşturularak, bu katyonun antioksidanlar tarafından giderilmesi yöntemine dayanmaktadır.

Bu yöntem ABTS’nin potasyum persülfatla (K₂O₈S₂) reaksiyona girmesiyle oluşan mavi/yeşil renge sahip ABTS radikal katyonunun 734 nm’de ölçülmesiyle gerçekleştirildi. 7 mmol ABTS, 2.45 mmol potasyum persülfat ile muamele edildi. Elde edilen karışım daha sonra oda sıcaklığında 16 saat inkübasyona tabii tutuldu. Koyu renkli bu çözelti etanol ile 734 nm dalga boyunda 0.7 absorbandsa sahip oluncaya dek seyreltildi. Seyreltilen bu karışım bileşikler ile muamele edildi (Miller vd., 1993). Karışım 30 dakika kadar tekrar inkübasyona bırakıldıktan sonra 734 nm’de spektrofometre cihazında okumaları alındı ve % inhibisyon

değeri aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplandı (3.4). Pozitif kontrol olarak BHT kullanıldı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_k - A_ö) / A_k \times 100 \quad (3.4)$$

A_k : Kontrole ait absorbands değeri,

$A_ö$: Örneğe ait absorbands değeri.

FRAP (Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi) Aktivitesinin Belirlenmesi

FRAP aktivitesinin belirlenmesinde 10 µg/mL ile 100 µg/mL arasında farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bileşikler FRAP aktivitesinde kullanılan reaktif ile karıştırıldı (Benzie ve Strain, 1996). FRAP Reaktifi için 10:1:1 oranında sırasıyla ilave edilen sodyum asetat tamponu (0,3 M), 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TPTZ) solüsyonu (10 mM) ve FeCl₃ (20 mM) solüsyonu karıştırılarak 37°C'de 15 dk bekletildi. Reaktifin bileşikler ile muamelesinden sonra karışım yaklaşık 30 dk karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı. Pozitif kontrol olarak BHT standardı kullanıldı ve ölçümler reaksiyon sonunda 593 nm dalga boyunda yapıldı.

CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemi) Aktivitesinin Belirlenmesi

Bileşiklerin CUPRAC aktivitesinin belirlenmesi için Apak vd. (2005) yöntemi birkaç modifikasyon uygulanarak gerçekleştirildi. Spektrofotometre kuvvetlerinin her birine CuCl₂ (1,0 x 10⁻² M), neokuproin (7,5 x 10⁻³ M), amonyum asetat (1 M) çözeltilerinden ve 10 µg/mL ile 100 µg/mL arasında farklı konsantrasyonlardaki bileşiklerden 250'şer µL ilave edilerek 1000 µL saf su eklendi. Karışımlar oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dk süresince inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, 450 nm'de alınan absorbands değerleri BHT standartı ile karşılaştırıldı.

Hidroksil Radikal Süpürme Aktivitesi

Bileşiklerin hidroksil radikal süpürme aktiviteleri Zhang vd. (2011) metoduna göre yapıldı. Reaksiyon tüpüne sırasıyla 0.3 mL 20 mM sodyum salisilat, 1 mL 1.5 mM demir sülfat, 10 µg/mL ile 100 µg/mL arasında farklı konsantrasyonlardaki bileşiklerden 1 mL konuldu ve üzerine 0.7 mL 6 mM H₂O₂ ilave edilerek hemen karıştırıldı ve daha sonra karışım 1 saat 37°C su banyosunda inkübe edildi. Spektrofotometrede köre karşı 510 nm'de alınan absorbans değerleri pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit ile karşılaştırıldı. Örneklerin % Hidroksil temizleme yeteneği aşağıda verilen formüle göre hesaplandı (3.5).

$$\text{Hidroksil radikal temizleme yeteneği (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.5)$$

A₀: Numune yokluğunda absorbans değeri,

A₁: Numunelerin varlığında absorbans değeri.

Süperoksit Anyon Radikalleri Süpürme Aktivitesi (SOD Benzeri Aktivitesinin *in vitro* Değerlendirilmesi)

Süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi Gonzalez-Alvarez vd. (2003) metoduna göre yapıldı. 10 µg/mL ile 100 µg/mL arasında farklı konsantrasyonlardaki bileşiklerin 0.1 mL çözeltisi ve 0.1 mL ksantin oksidaz, 0.69 mL potasyum fosfat tamponu (pH = 7.8), 0.025 mL NBT ve 0.085 mL ksantin içeren 0.8 mL'lik bir çözeltiliye ilave edildi ve 560 nm'de spektrofotometrik olarak izlenen nitro blue tetrazolyumun (NBT) (5.6x10⁻⁵ mol/L) mavi formazana indirgenmesi ile tespit edildi.

3.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Analizleri

Broth Mikrodilüsyon Yöntemi

Antimikrobiyal çalışmalar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) dökümanlarında belirtilen prosedüre uygun olarak broth mikrodilüsyon metodu ile gerçekleştirildi. Çalışması kapsamında *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* NRRL B-3704, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 60193

mayası kullanıldı. Bakteriler için Müeller-Hinton agar, maya için ise Sabouraud Dekstroz agar mikroorganizmaların canlandırılması işleminde kullanıldı. Canlandırma işlemi ardından mikroorganizmalar 0.5 McFarland standardına uygun ayarlandı ve deney 96 kuyucuklu U taban plakalarda Müeller-Hinton broth ve RPMI besiyeri sırasıyla bakteriler ve maya için kullanılarak gerçekleştirildi. Bakteriler 37°C’de 24 saat, maya ise 30°C’de 48 saat inkübasyona bırakıldı. MİK değeri hesaplamak için mikroorganizma üremesinin önlenmediği, üremenin gerçekleşmediği ilk kuyucuk dikkate alındı.

Antifungal Aktivitenin Disk Difüzyon Yöntemi ile Belirlenmesi

Azgin (2013) metodu modifiye edilerek *Aspergillus fumigatus* NRRL 163 ve *Penicillium notatum* NRRL 807 türlerine ait küf sporları elde edildi. Antifungal çalışmalar CLSI dökümanlarında belirtilen prosedüre uygun olarak agar disk difüzyon metodu ile gerçekleştirildi. Kontrol antibiyotiği olarak Miconazole 10 (MCZ10) ve Amfoterisin B 20 (AMB20) kullanıldı.

3.2.4. Antibiyofilm Aktivite

Bileşiklerin antibiyofilm aktivite analizleri Deng vd. (2020) metoduna göre birkaç değişiklik yapılarak ‘F’ tabanlı 96 kuyucuklu plakalar kullanılarak gerçekleştirildi. Mikroorganizmaların gelişimi için Tryptic Soy Broth (TSB) besiyeri kullanıldı. Besiyerine ilave olarak %5 glikoz eklendi ve 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılarak biyofilm oluşturmaları sağlandı. İnkübasyon süresinin ardından çalışma TSB ortamında mikropalakalarda seri dilüsyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Tekrar 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılan mikroorganizmaların absorbans değerleri 620 nm’de okutuldu ve değerleri alındı. Aşağıdaki formülde yerine yazıldı ve % inhibisyon değerleri belirlendi (3.6).

$$\% \text{ İnhibisyon} = (\text{Abs}_{\text{pozitif kontrol}} - \text{Abs}_{\text{test bileşiği}}) / \text{Abs}_{\text{pozitif kontrol}} \times 100 \quad (3.6)$$

Test bileşiklerinin biyofilm inhibisyon yüzdelерinin hesaplamaları test mikroorganizmalarının MİK değeri dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Topoizomeraz I Enzim İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi

Topoizomeraz I enzim inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi topoizomeraz I enziminin DNA çift sarmalının bir ucunda hasar oluşturup tekrar onararak hareket ettiği, DNA'nın halkasal yapıdaki Form II' yi ve DNA'nın linear yapıdaki Form I' i açık hale getirmek için DNA'nın süper sarmal yapıdaki Form III' ün relaksasyonuna neden olduğu bilinmektedir (Liu vd., 2013). Bu enzimin katalitik aktivitesinin mevcut olduğu durumlarda, Form I bandının kaybolması ile Form II ve Form III oluşumları için jel üzerinde hareket gerçekleşmektedir. Bu bağlamda test edilen bileşiklerin topoizomeraz I aktiviteleri belirlenmiştir. Literatür taraması ve ön deneylerden elde edilen veriler dikkate alınarak deneylerde 0.20 µg plazmid DNA (pBR322) ve 2 U (ünite) topoizomeraz I enzimi kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak topoizomeraz inhibitörü olan kamptotesin (CPT) kullanılmıştır. Deney 35 mM Tris-HCl (pH:8.0), 72 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 5 mM DTT (ditiyotritol), 2 mM spermidin ve 0.1 mg/ml BSA (bovine serum albumin) tampon çözeltisi ile gerçekleştirilmiştir. Agaroz jel %1'lik olacak şekilde 1X TAE tampon çözeltisi ile hazırlanarak 3 µL Etidyum Bromür (EB) ilave edilmiş ve ultraviyole ışıkta görünürlüğü sağlanmıştır. Bantlar hareketlerinin gerçekleşmesi için 45V, 3 saat elektroforez tankında yürütmenin ardından ultraviyole ışıkta fotoğraflanmıştır.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

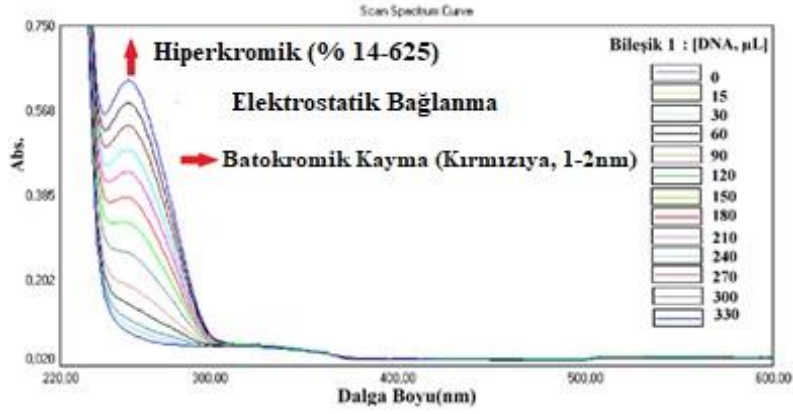
4. 1. Bulgular

4.1.1. DNA Bağlama Aktivitesi Bulguları

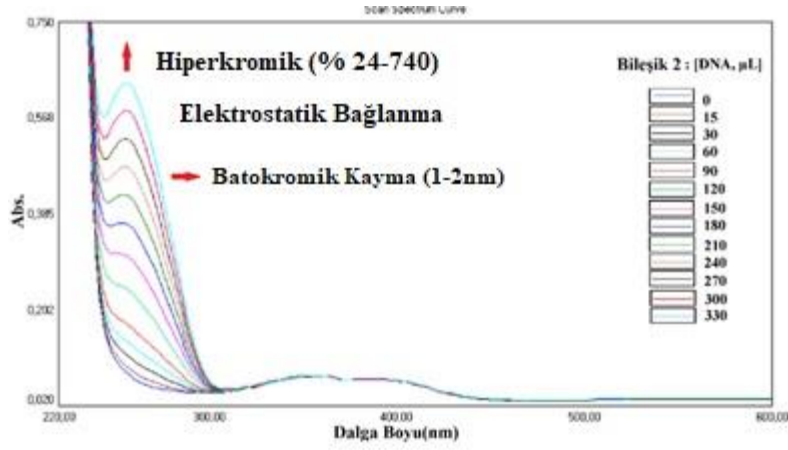
CT-DNA ile bileşik **1**, **2** ve **3** arasındaki bağlanma afinitesi oda sıcaklığında Tris-HCl/NaCl tamponunda literatüre (Yapar vd., 2022) göre UV-Vis spektroskopisi ile çalışıldı. Absorpsiyon spektroskopisi, herhangi bir materyalin DNA üzerindeki etkilerini araştırmak için en çok kullanılan yöntemlerden biridir. DNA'ya karşı interkalasyon etkisi varsa genellikle hipokromik etki görülür. Ancak malzemenin DNA ile etkileşimi elektrostatik veya kısmen interkalatif ise hiperkromik etki gözlenir. Ayrıca, maksimum absorpsiyonların kırmızıya kayması, HOMO ve LUMO enerji seviyeleri arasındaki farkın azaldığını ve malzemenin DNA ile etkileşime girdiğini gösterir. CT-DNA'nın yokluğunda ve varlığında bileşik **1**, **2** ve **3** için absorpsiyon spektrumları Şekil 15, 16 ve 17'de gösterilmektedir.

CT-DNA varlığında, Schiff bazları **1-3** ün absorpsiyon spektrumlarındaki pik yoğunluklarında bir artış gözlenmektedir. Schiff bazlarının absorpsiyon bantlarının şiddetlerindeki artışın yanı sıra absorpsiyonları da kırmızıya kaymaktadır (batokromik; 1-2 nm). Absorpsiyondaki kırmızıya kayma ve hiperkromizm derecesinin genellikle elektrostatik bağlanma kuvveti ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Şekil 15'te görüldüğü gibi, bileşik **1**'e eklenen CT-DNA miktarı ile absorbans değerindeki değişimin %14-625 değerinde hiperkromizm ve 258 nm'deki absorpsiyonda batokromik kayma (kırmızıya, 1-2 nm) gözlenmiştir. Bileşik **2**'de, eklenen CT-DNA miktarı ile absorbans değerindeki değişimin %24-740 değerinde hiperkromizm ve 258 nm'de batokromik kayma (kırmızıya, 1-2 nm) gözlenmiştir. Bileşik **3**'ün UV-Vis spektrumu incelendiğinde, eklenen CT-DNA miktarı ile absorbans değerindeki değişimin %20-600 değerinde hiperkromizm ve 258 nm'de batokromik kayma (kırmızıya, 1-2 nm) gözlenmiştir.

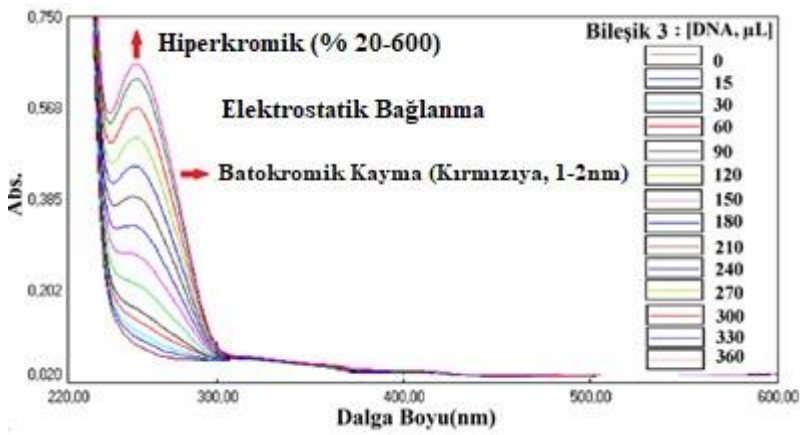
Sonuç olarak, bileşiklerin absorpsiyon spektrumlarında hiperkromisite etkisinin gözlemlenmesi, Schiff bazlarının (**1-3**) DNA ile elektrostatik modla bağlandığını ifade eder.



Şekil 15. Bileşik 1'e ait UV-Vis spektrumu.



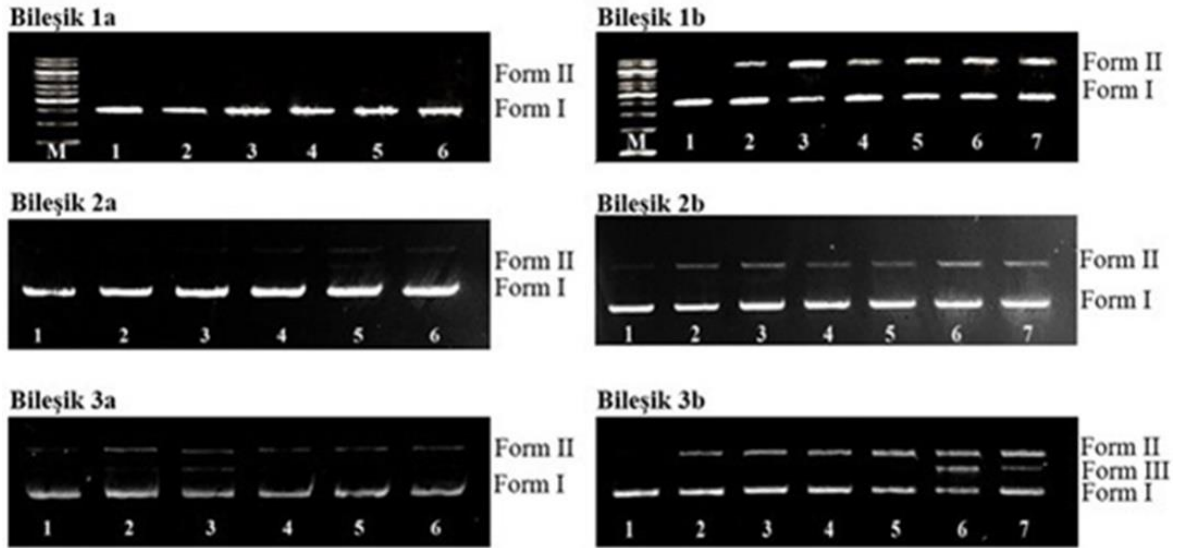
Şekil 16. Bileşik 2'ye ait UV-Vis spektrumu.



Şekil 17. Bileşik 3'e ait UV-Vis spektrumu.

4.1.2. DNA Kırma Aktivitesi Bulguları

Bileşik 1'in hidrolitik olarak aktivite göstermediği ve oksitleyici ajan varlığında (H_2O_2) plazmid DNA üzerinde etkili olduğu, bileşik 2'nin hidrolitik olarak en düşük 100 μM 'lık konsantrasyondan itibaren DNA da tek kırık (Form II) oluşturduğu ve oksitleyici ajan (H_2O_2) varlığında daha etkili olduğu, bileşik 3'ün en düşük 25 μM 'lık konsantrasyondan itibaren hidrolitik olarak DNA da tek kırık (Form II) ve oksitleyici ajan (H_2O_2) varlığında 400 μM 'lık konsantrasyondan itibaren plazmid DNA'da çift kırık (Form III) oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 18).



a: Hidrolitik kırma, M: Marker, 1. Plazmid DNA, 2. DNA + 25 μM , 3. DNA + 50 μM , 4. DNA + 100 μM , 5. DNA + 200 μM , 6. DNA + 400 μM .
b: Oksidatif kırma, 1. Plazmid DNA, 2. DNA + H_2O_2 , 3. DNA + 25 μM + H_2O_2 , 4. DNA + 50 μM + H_2O_2 , 5. DNA + 100 μM + H_2O_2 , 6. DNA + 200 μM + H_2O_2 , 7. DNA + 400 μM + H_2O_2

Şekil 18. Bileşik 1, 2 ve 3'e ait DNA kırma aktiviteleri.

4.1.3. Antioksidan Aktivite Bulguları

Çalışmada kullanılan Schiff bazlarının (1-3) farklı konsantrasyonlarının, doza bağımlı antioksidan aktivite gösterdiği belirlendi. Çeşitli serbest radikallere karşı bileşikler 1-3 ün IC_{50} inhibe edici konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı olup Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1'den görüldüğü üzere bileşik 1'in DPPH ve ABTS radikal giderme, Süperoksit ve Hidroksil anyon süpürme aktivitesinin bileşik 2 ve bileşik 3'e göre daha

yüksek ve kontrollere oldukça yakındır (Tablo 2). Tablo 3 ve 4 incelendiğinde bileşik 3'ün FRAP ve CUPRAC indirgeyici aktivitesinin bileşikler 1 ve 2'ye göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bileşik 3'e ait FRAP metal indirgeme aktivitesi deney görüntüsü Şekil 19'da verilmiştir.

Tablo 2

Bileşik 1, 2 ve 3'ün radikal süpürme aktiviteleri

Bileşikler	DPPH ^a (IC ₅₀ , µg/mL)	ABTS ^a (IC ₅₀ , µg/mL)	Süperoksit anyon (IC ₅₀ , µg/mL)	Hidroksil anyon (IC ₅₀ , µg/mL)
1	4.25 ± 0.05	7.79 ± 0.11	3.54 ± 0.09	5.01 ± 0.13
2	4.68 ± 0.08	9.62 ± 0.12	3.08 ± 0.08	5.32 ± 0.10
3	4.95 ± 0.10	8.44 ± 0.04	8.61 ± 0.31	5.07 ± 0.08
BHT ^c	2.86 ± 0.04	5.73 ± 0.17	-	-
Askorbik Asit ^c	-	-	4.18 ± 0.07	4.00 ± 0.13

ABTS, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit; BHT, Bütillenmiş hidroksitoluen; DPPH, 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil.

Veriler üç paralel ölçümün (n=3) ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (p < 0,05)

^aIC₅₀ değerleri ortalama ± SEM'i temsil eder.

^cStandard antioksidan.

- = hesaplanmadı.

Tablo 3

Bileşik 1, 2 ve 3'ün CUPRAC metal indirgeme ölçümleri (Ortalama absorbans ± SEM, λ=450 nm)

Bileşik miktarı (µg/mL)	Standart (BHT)	Bileşik 1	Bileşik 2	Bileşik 3	
1	10	0.18 ± 0.05	0.10 ± 0.06	0.14 ± 0.03	0.11 ± 0.05
2	20	0.41 ± 0.08	0.10 ± 0.03	0.15 ± 0.06	0.19 ± 0.04
3	40	0.82 ± 0.06	0.13 ± 0.07	0.16 ± 0.05	0.20 ± 0.06
4	60	1.05 ± 0.07	0.14 ± 0.05	0.21 ± 0.05	0.24 ± 0.03
5	80	1.48 ± 0.09	0.15 ± 0.08	0.24 ± 0.04	0.25 ± 0.06
6	100	1.49 ± 0.07	0.16 ± 0.07	0.28 ± 0.08	0.30 ± 0.06

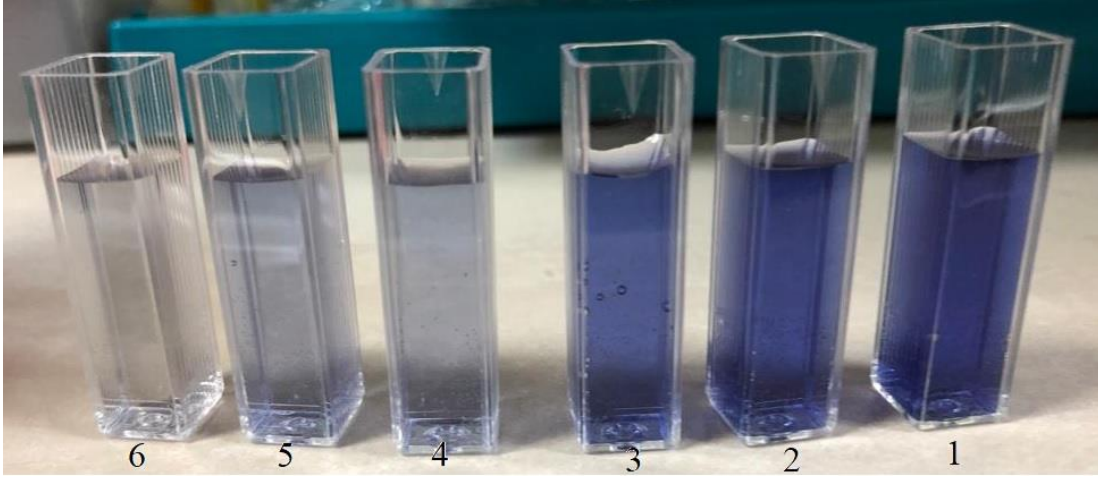
BHT, Bütillenmiş hidroksitoluen.

Tablo 4

Bileşik 1, 2 ve 3'ün FRAP metal indirgeme ölçümleri (Ortalama absorbans ± SEM, λ=593 nm)

Bileşik miktarı (µg/mL)	Standart (BHT)	Bileşik 1	Bileşik 2	Bileşik 3	
1	10	0.25 ± 0.04	0.11 ± 0.03	0.12 ± 0.04	0.32 ± 0.04
2	20	0.37 ± 0.06	0.12 ± 0.04	0.21 ± 0.06	0.32 ± 0.05
3	40	0.52 ± 0.05	0.14 ± 0.03	0.22 ± 0.05	0.33 ± 0.06
4	60	0.59 ± 0.06	0.14 ± 0.04	0.23 ± 0.07	0.33 ± 0.04
5	80	0.97 ± 0.07	0.15 ± 0.05	0.30 ± 0.06	0.39 ± 0.06
6	100	0.99 ± 0.04	0.29 ± 0.07	0.42 ± 0.08	0.44 ± 0.07

BHT, Bütillenmiş hidroksitoluen



Şekil 19. Bileşik 3'e ait FRAP metal indirgeme aktivitesi deney görüntüsü.

Bileşik miktarları: 6, 10 µg/mL; 5, 20 µg/mL; 4, 40 µg/mL; 3, 60 µg/mL; 2, 80 µg/mL; 1, 100 µg/mL

4.1.4. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Çalışmada kullandığımız Schiff bazları 1-3'ün antibiyotik potansiyelini tespit etmek için antimikrobiyal aktiviteleri Gram pozitif *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* ATCC 7644, Gram negatif *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* NRRL B-3704, *E. coli* ATCC 25922, *P. vulgaris* ATCC 13315 ve maya *C. albicans* 60193 karşı MİK değerleri hesaplandı (Tablo 5). Ayrıca bileşiklerin antifungal aktiviteleri *P. notatum* NRRL 807 ve *A. fumigatus* NRRL 163 küflerine karşı disk difüzyon yöntemi ile incelenip inhibisyon zon çapları ölçüldü ve değerlendirildi (Tablo 6).

Tablo 5'te görüldüğü üzere, sentezlenen bütün bileşiklerin (1-3) belirli konsantrasyonlarda bakterilerin gelişmesini engellemektedir. Bileşiklerin MİK değerleri incelendiğinde, bileşik 1 ve 2'nin *P. vulgaris* ATCC 13315 ve *E. faecalis* ATCC 29212 bakterilerine karşı en etkili oldukları, bileşik 3'ün ise *E. coli* NRRL B-3704 bakterisi ile *C. albicans* ATCC 60193 mayası üzerine daha etkili olduğu bulundu. Bileşik 1 ve 2 kıyaslandığında, bileşik 1'in *P. vulgaris* ATCC 13315 ve *E. faecalis* ATCC 29212 bakterilerine karşı daha etkili olduğu görülmektedir.

Tablo 6’da verildiği gibi bileşik 1’in test küflerine karşı antifungal aktivite göstermediği, bileşik 2’nin *P. notatum* NRRL 807 türüne, bileşik 3’ün *P. notatum* NRRL 807 ve *A. fumigatus* NRRL 163 türüne karşı antifungal aktivite gösterdiği bulundu (Şekil 20).

Tablo 5

Test bileşiklerine ait MİK değerleri

Mikroorganizmalar	MİK değerleri (µg/mL)							
	B1	B2	B3	G	A	F		
Bakteriler	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	512	512	512	0.08	2	-	
	Gr-	<i>E. coli</i> NRRL B-3704	512	128	64	0.125	32	-
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	256	128	128	0.125	32	-
	<i>P. vulgaris</i> ATCC 13315	16	64	128	0.125	0.06	-	
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	128	256	256	0.008	0.06	-	
	Gr+	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	512	128	256	1	0.016	-
		<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	32	32	128	1	0.016	-
<i>L.monocytogenes</i> ATCC 7644		256	128	256	1	0.016	-	
Maya	<i>C.albicans</i> ATCC 60193	256	256	128	-	-	0.063	

B1, Bileşik 1; B2, Bileşik 2; B3, Bileşik 3; G, Gentamisin; A, Ampisilin; F, Flukonazol

Tablo 6

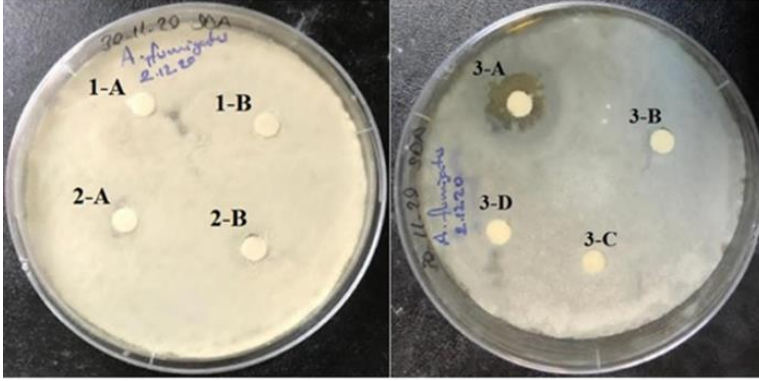
Test bileşiklerine ait antifungal aktivite değerleri

Mikroorganizmalar	Disk zon çapı (mm)				
	B1	B2	B3	Miconazole 10	Amfoterisin B 20
<i>P. notatum</i> NRRL 807	-	8	15	31	32
<i>A. fumigatus</i> NRRL 163	-	-	12	30	32

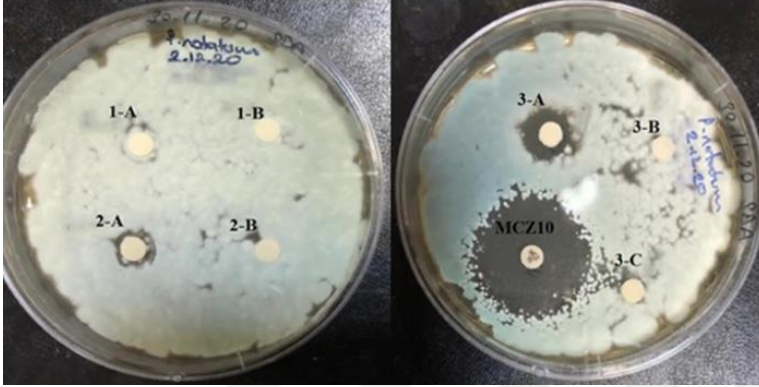
> 14 mm güçlü aktivite; 7–13= mm orta dereceli aktivite; <7mm zayıf aktivite (Chohan vd., 2005)

B1, Bileşik 1; B2, Bileşik 2; B3, Bileşik 3

A. fumigatus



P. notatum

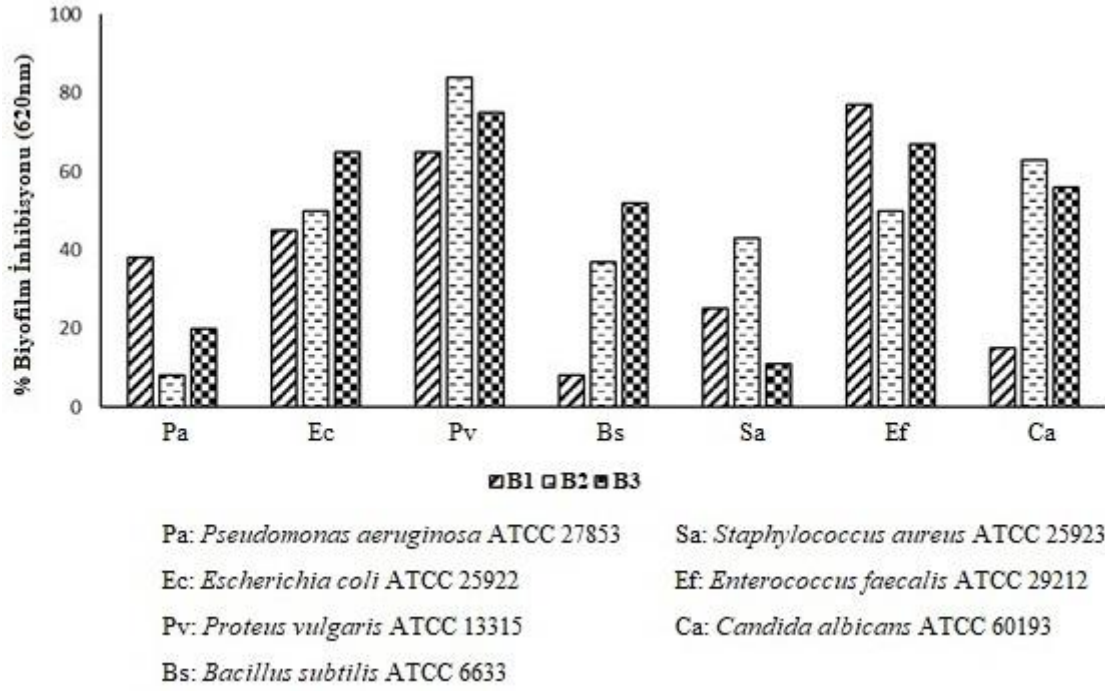


Şekil 20. Bileşiklerin antifungal aktivite görüntüleri.

1: Bileşik 1, 2: Bileşik 2, 3: Bileşik 3, A: 1024 µg/mL, B:512 µg/mL, C:256 µg/mL, D:128 µg/mL, D:64 µg/mL, MCZ10: Miconazole 10µg/mL.

4.1.5. Antibiyofilm Aktivitesi Bulguları

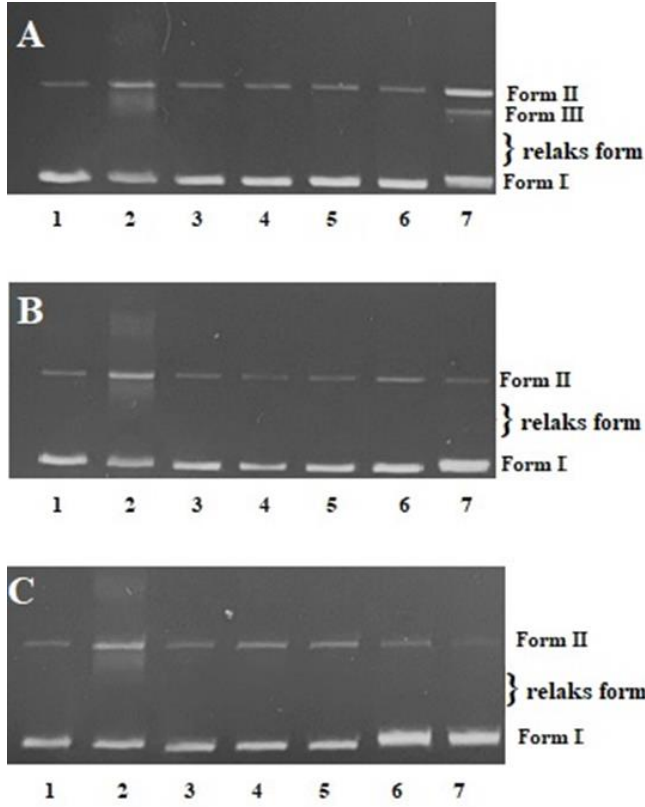
Bileşiklerin biyofilm oluşumunu engelleme etkilerinin belirlenmesi amacıyla, MİK değerlerinin yedi farklı mikroorganizmaya karşılık gelen biyofilm inhibisyon yüzdeleri bulundu (Şekil 21). Buna göre bileşiklerin en yüksek ve en düşük antibiyofilm değerleri hesaplandı. Bileşik 1'in en yüksek antibiyofilm değerinin *E. faecalis* ATCC 29212 (%77), en düşük antibiyofilm değerinin *B. subtilis* ATCC 6633 (%8), bileşik 2'nin en yüksek *P. vulgaris* ATCC 13315 (%84.7), en düşük *P. aeruginosa* ATCC 27853 (%8) ve bileşik 3'ün en yüksek *P. vulgaris* ATCC 13315 (%75.4) ile *C. albicans* ATCC 60193, en düşük *S. aureus* ATCC 25923 (%11) bakterilerine karşı gösterdiği belirlenmiştir. Her üç bileşiğin enterik bakteri türleri (*E. coli*, *P. vulgaris*, *E. faecalis*) üzerine daha iyi antibiyofilm etkinliği göstermiş olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 21. Bileşiklerin biyofilm inhibisyon yüzdesi grafiği.

4.1.6. DNA Topoizomeraz I Aktivitesi Bulguları

Topoizomeraz I enziminin katalitik aktivitesinin mevcut olduğu durumlarda, Form I bandının görünmemesi ile Form II ve Form III oluşumlarının jel üzerinde hareket etmesi beklenmektedir. Enzim aktivitesi durdurulduğunda Form I görüntüsü jelde devam edecektir. Gerçekleştirilen topoizomeraz inhibisyon aktivitesi analizlerinde her üç test bileşiğinin artan konsantrasyonlarıyla ile kontrol reaksiyonu (DNA+Topoizomeraz I) jel görüntüleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak bileşik 1, 2 ve 3'ün artan konsantrasyonlarının topoizomeraz I enzim aktivitesini tam olarak durdurdukları, Form I oluşumunu artırdıkları ve eş zamanlı olarak gevşemeye izin vermedikleri gözlenmiştir. Test bileşiklerinin topoizomeraz I enzim aktivitesini durdurduğu jel görüntüsünde kuvvetli Form I bandının oluşumu ile belirlenmiştir. Sentezlenen ligandların topoizomeraz I aktivitesi jel elektroforez görüntüleri Şekil 22'de verilmiştir.



Şekil 22. Bileşiklerin Topoizomeraz I inhibisyon aktivitesi.

A: Bileşik 1, B: Bileşik 2, C: Bileşik 3, 1: DNA, 2: DNA + topoizomeraz I, 3: DNA + topoizomeraz I + CPT, 4: DNA + topoizomeraz I + 50µL, 5: DNA + topoizomeraz I + 100µL, 6: DNA + topoizomeraz I + 200µL, 7: DNA + topoizomeraz I + 400µL.

4.2. Tartışma

DNA'nın kimyasal maddelerle etkileşme türünün belirlenebilmesi yeni ilaç tasarımlarının geliştirilmesi için oldukça önemlidir. İlaçların DNA üzerindeki etkisinin gözlemlenebileceği yöntemlerden biri DNA'nın veya ilacın absorpsiyonunun değişmesiyle değerlendirilen UV-Vis absorpsiyon titrasyonudur. Bu yöntemde ilacın DNA üzerine olan etkisini anlamak için serbest bulunan molekül ile DNA üzerindeki molekülün en yüksek absorpsiyondaki değişimleri karşılaştırılır. Elektrostatik etkileşimler DNA yüzeyindeki gruplarla gerçekleşen etkileşimleri kapsamaktadır. Bu bağlanma şekli diğer etkileşim türlerine göre daha zayıf olmasına rağmen ilaçların biyolojik etkinliklerinde önemli rol oynamaktadır. Bazı sulfonamid tabanlı Schiff bazlarının elektronik absorpsiyon spektrumları incelenmiş, aromatik halkalar ve azometin gruplarındaki $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ atandığı, geçişler sırasıyla 230–280 nm ve 340–350 nm aralığında gözlenmiştir (Salehi vd., 2018).

Bu çalışmada kullanılan bileşik 1 ve 2'nin UV-Vis spektrumlarında iki bant gözlenmiştir. Bileşik 1'de, aromatik C=C ve imin C=N için $\pi-\pi^*$ ve $n-\pi^*$ geçişleri 260 ve 338 nm'de, bileşik 2'de, 259 ve 315 nm'de gözlemlendi. Bileşik 3 için 259, 316 ve 356 nm'de bulunan ve C=C, C=N, S=O guruplarına atanan $\pi-\pi^*$, $n-\pi^*$ ve $n-\pi^*$ geçişlerine ait üç bant gözlenmiştir. Gözlenen UV-Vis sonuçları ile literatürdeki veriler oldukça uyumludur (Tekin vd., 2022).

Test bileşikleriyle CT-DNA'nın etkileşiminde her üç bileşiğin de DNA'ya bağlanarak hiperkromik etki gösterdiği ve bu sebeple elektrostatik modda bağlandığı, HOMO ve LUMO enerji seviyeleri arasında oluşan farkın azalması ile kırmızıya kayma gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşiklerin elektrostatik bağlanma şekline sahip olması DNA'ya etki edecek ilaçlarda önemli tercih sebeplerinden birisidir.

Bileşiklerin plazmid DNA ile etkileşimleri agaroz jel elektroforezi ile incelendi. Plazmid DNA'nın jeldeki görüntüsünde genellikle üç farklı biçimi gözlenir; süper sarmal form Form I, çentikli form Form II ve lineer form Form III. Süper sarmal form (Form I) kırılmış formdaki plazmid DNA'yı (pBR322) ifade eder ve elektroforez jelinde en hızlı ilerlemeye sahiptir. Eğer kırma plazmid DNA'nın tek zincirinde meydana gelirse, plazmid DNA'nın sıkı sarılmış hali gevşeyerek Form II'ye dönüşür ve jelde en yavaş ilerleyen DNA formudur. İki zincirinde kırıldığı durumda ise plazmid DNA Form II ve Form I arasında bir ilerleme hızına sahip olan Form III'e dönüşür.

Azo ve sülfonamid parçaları içeren N, O-şelatlayıcı Schiff baz ligandı ile bazı geçiş metali komplekslerinin kullanıldığı çalışmada Cu (II) kompleksinin DNA'yı bir oksidanın varlığında ligand ve diğer komplekslerden daha verimli bir şekilde parçaladığı ortaya çıkartılmıştır (Alaghaz vd., 2013). Benzen kaynaşmış monosiklik enediynyl amidler ve sülfonamidlerle karşılaştırmalı yapılan bir çalışmada sülfonamidlerin, DNA'da herhangi bir DNA-kırma aktivitesi göstermediği tespit edilmiştir (Basak vd., 2002). Yeni sentezlenmiş sülfonamid içeren karboksamid ligandı ve metal komplekslerinin araştırıldığı çalışmada test edilen tüm bileşikler (1 hariç), Form I'i (süper sarmal DNA) Form II'ye (çentikli dairesel DNA) ve Form III'e (doğrusal DNA) dönüştürdüğü, karboksamid ligandı (1) ise Form I'i (süper sarmal DNA) II'ye (çentikli dairesel DNA) dönüştürdüğü belirtilmiştir (Güler vd.,

2021). Çalışmamızda literatürle benzer şekilde bileşik 1, 2 ve 3'ün nükleaz aktivitesi sunduğu söylenebilir.

Oksidatif stres, hidroksil radikali, peroksi radikali ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna yol açar. ROT, kanser, ateroskleroz, diabetes mellitus, alzheimer hastalıkları, kardiyovasküler olaylar, yaşlanma ve iltihap dahil olmak üzere bazı hastalıkların patofizyolojisinde rol oynar (Akhtar vd., 2016).

Bir bileşiğin antioksidan potansiyeli, bileşiğin oksidatif stresi yavaşlatma kabiliyetini ifade eder. Antioksidan potansiyeli değerlendirmek için, serbest radikal temizleme mekanizması, prooksidan azaltma mekanizması ve prooksidan şelatlama mekanizması olmak üzere üç ana etki mekanizmasından yararlanır (Kanwal vd., 2016).

DPPH radikali, ABTS radikali, FRAP, CUPRAC, Süperoksit anyon ve Hidroksil anyon radikal süpürme aktiviteleri *in vitro* antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için hızlı ve güvenilir bir parametre olarak kullanılmıştır. Her yöntem, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla hareket eden farklı bir radikalın oluşturulması ve sabit bir zaman noktasında veya bir aralıkta spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile ilgilidir. Antranilik asidin sülfonamid hibrit Schiff bazı bileşiklerinin DPPH aktivitesinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada, çok iyi antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin, antioksidan potansiyel gösterecek hidrojen atomlarını sağlayacak şekilde yapılarında tek bağ -NH₂ ve tek bağ -OH gruplarının bulunması nedeniyle iyi aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir (Kausar vd., 2019). Başka bir çalışmada sentezlenen sülfonamid bileşiklerinin ABTS radikal, lipid peroksidasyon, DPPH radikal, süperoksit anyon ve nitrik oksit anyon radikal süpürme aktivitelerinin değerlendirilmesi sonucunda farklı konsantrasyonların doza bağımlı bir şekilde antioksidan aktivite gösterdiği ve farklı serbest radikallere karşı karşılaştırmalı IC₅₀ (nM/mL) inhibitör konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı IC₅₀ değerleri gösterdiği bulunmuş ve sonuçlar Tablo 1'de sunulmuştur (Chhajed vd., 2014).

Antibiyotikler, mikroorganizmaların büyümesini (mikrobiyostatik) veya öldürülmesini (mikrobiyosidal) inhibe ederek etki eder. Büyüme için gerekli olan bakteri fonksiyonlarını (hücre duvarı sentezi, DNA replikasyonu, RNA transkripsiyonu ve protein sentezi gibi) inhibe ederek hareket ederler. Bununla birlikte, antibiyotiklerin eylemlerinin,

antibiyotiğe dirençli suşların büyümesini teşvik eden seçici bir baskı uyguladığı gösterilmiştir (Sharma vd., 2009). Sonuç olarak, antibiyotik dirençli patojenlerin tehdidini önlemek için antimikrobiyal tedaviler (bakteriyostatik veya bakteriyosidal) geliştirmek üzere çalışmalar yapılmaktadır (More vd., 2014).

Bazı sülfonamid Schiff bazlarının dirençli patojenlere karşı iyi performans gösterdiği ve MİK verilerinin 32-128 µg/mL iken, sülfonamid'in yalnız olarak 32-128 µg/mL arasında inaktif ve MİK >512 µg/mL olduğu bulunmuştur (Mondal vd., 2017). Başka bir çalışmada sülfonamid Schiff bazları ve metal komplekslerinin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri değerlendirilmiş, Schiff bazı metal komplekslerinin, Schiff bazlarına kıyasla daha güçlü antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Chohan vd., 2004). Zerdeçal türevli sülfonamid Schiff bazlarıyla yapılan bir çalışmada zerdeçal türevlerinin çalışmada kullanılan tüm bakteri suşlarına karşı aktivite gösterdiği, bunun nedeninin sülfonamid ve zerdeçal bileşenlerinin sinerjik etkisi olabileceği belirtilmiştir (Ahmed vd., 2019).

Araştırmamızda elde edilen sonuçlar dikkate alındığında bileşik 1, 2 ve 3'ün test bakterileri üzerine 16-512 µg/mL MİK değerleri aralığında antibakteriyel etkiye, test edilen maya kültürü *C. albicans* ATCC 60193 üzerine 128-256 µg/mL MİK değeri aralığında antifungal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca bileşik 2'nin *P. notatum* NRRL 807 türüne, bileşik 3'ün *P. notatum* NRRL 807 ve *A. fumigatus* NRRL 163 türlerine karşı antifungal aktivite göstermesi ile araştırma bulgularımızın önceki çalışmaları destekler nitelikte olduğu gözlenmiştir.

Bakterilerin çoğu, bir quorum sensing (QS) özelliği olan hücre dışı bir matriksin (biyofilm) sentezi sayesinde antibiyotiklere karşı direnç kazanır (More vd., 2014). Tıp sektöründe, ciddi enfeksiyonların nedeni ve tüm insan enfeksiyonlarının %60'ına kadarı biyofilmlerden kaynaklanmaktadır. Bakteriyel biyofilm oluşumu endüstriyel sektörlerde de önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Spoering ve Lewis, 2001). Söz konusu enfeksiyonların engellenmesinde biyofilm oluşumu üzerine etkili yeni nesil ilaçların üretilmesi oldukça önemlidir. Biyofilm oluşumunu önlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiş ve antimikrobiyal özelliğe sahip bileşiklerin kullanımıyla oldukça başarılı sonuçlara ulaşılmıştır. Gümüş kompleksli Sülfonamidlerin *P. aeruginosa* üzerine

antibiyofilm etkinliğinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa* biyofilmini yok ettiği ve pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında biyofilm oluşumunda önemli bir fark oluşturduğunu, altın kompleksli sülfonamidlerin metisilin dirençli *S. aureus* türüne karşı antibiyofilm aktivitesinin araştırıldığı başka bir çalışmada test bileşiklerinin MRSA biyofilm oluşumunu etkili bir şekilde engellediği ifade edilmiştir (Mizdal vd., 2018).

Araştırmamızda elde edilen antibiyofilm değerlerinin bileşik 1'de %77 ile %8, bileşik 2'de %84.7 ile %8, bileşik 3'te %75.4 ile %11 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında *P. aeruginosa* ATCC 27853 türüne karşı antibiyofilm yüzdesinin en yüksek bileşik 1'de (%40), en düşük değer ise bileşik 2'de (%8) olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan test bileşiklerinin farklı mikroorganizma gruplarına karşı antibiyofilm değerlerinin değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.

DNA topoizomerazlar, DNA'nın önemli metabolik süreçleri sırasında kaçınılmaz olarak ortaya çıkan süper sarmalı gevşeterek önemli hücresel rollerini yerine getiren temel enzimlerdir. Topoizomeraz tip I ve II zehirleri olarak sülfonamid parçasına bağlı yeni heterosiklik sentezi gerçekleştirilen bir çalışmada 24 numaralı bileşiğin (5-(4-((4-methylpiperidin-1-yl)sulfonyl)phenyl)isoxazole) topoizomeraz I'in aktivitesini durdurduğunu bildirilmiştir. Aynı çalışmada antikanser değerlendirme verileri dikkate alındığında bileşik 24'ün, sırasıyla 27.8 ve 33.6 μM IC₅₀ değerleri ile topo I ve II aracılı DNA gevşemesi, çentiklenmesi ve bozulmasına önemli ölçüde müdahale ettiği belirlenmiştir (Halawa vd., 2020).

4-(2-Aminoetil)benzensülfonamid uzantılı enantiyomerik bakır(II) Schiff bazlı tek boyutlu koordinasyon polimerlerinin biyolojik aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada kompleks 1 (L-C₂₅H₂₇CuN₃O₆S) ve kompleks 2 (D-C₂₅H₂₇CuN₃O₆S)'nin topoizomeraz I enzimatik aktiviteleri jel elektroforeziyle karşılaştırılmış ve kompleks 1'in 25 μM 'lik düşük bir konsantrasyonda önemli inhibe edici etkiler sergilediği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada jel elektroforez ile kompleks I'in insan topo I üzerindeki etkilerini incelemek için standart bir bölünme tahlili yapılmıştır. Kompleks 1'in yokluğunda topoizomeraz I enzimi ile Form II oluşmuş, kompleks 1'in konsantrasyonundaki artışla Form II sönümlenmiş ve eş zamanlı Form I oluşumu ile toplam inhibisyon gözlenmiştir (Afsan vd., 2020).

Araştırmamızda topoizomeraz I enzim inhibisyonunun jel elektroforezi ile test edilmesi sonucunda her üç bileşiğin de gcl şekilde topoizomeraz I enzim aktivitesini inhibe edici etki sergilemesinin yanı sıra relaks formun söndürülmesi ve Form I oluşumunun gözlenmesi önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.



BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

İlaç geliştirme, terapötik disiplinlerde uygulanan belirgin bir kavram olarak kabul edilir. Önemi biyolojik etkinliğe sahip, yeni ve güvenli bileşiklerin geliştirilmesine ilişkin yenilikçi yaklaşımında yatmaktadır. İlaç tasarımı için gerekli tüm parametreleri göz önünde bulundurarak, geçmişte çok çeşitli antibiyotikler piyasaya sürülmüştür. Minimum yan etkilerle etkinliği geliştirmek için, ana bileşiklerin modifikasyonu ile yapılan araştırmalar hala devam etmektedir. Bu çalışmada sentezlenen sülfonamid-tabanlı Schiff bazlarının DNA bağlanma, DNA kırma, topoizomeras I inhibe edici aktivite, antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bu tür çalışmaların kanser kemoterapisinde daha akılcı bir ilaç tasarımına ve daha iyi stratejilere yol açması muhtemeldir. Genel olarak antibiyotik direncine ilişkin giderek kötüleşen durum göz önüne alındığında, sülfonamidler yeni bileşiklerin sentezlenmesi ve modern yan etkilerinin bilinmesi ile bulaşıcı hastalıkların tedavisinde yeniden ilgi çekebilecek ucuz antibakteriyel ilaçlar olarak değerlendirilebilirler.

Araştırma sonucunda elde ettiğimiz veriler, bu bileşiklerin klinik deneylerinin de gerçekleştirilmesi gereğini ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, çalışmada kullanılan ve benzer bileşiklerin sentezlenerek biyolojik etkinliklerinin daha kapsamlı olarak belirlenebilmesi için *in vivo* ve *in vitro* çalışmalara daha fazla ihtiyaç olduğu söylenebilir.

KAYNAKÇA

- Afsan, Z., Roisnel, T., Tabassum, S. ve Arjmand, F. (2020). “Structure elucidation {spectroscopic, single crystal X-ray diffraction and computational DFT studies} of new tailored benzenesulfonamide derived Schiff base copper (II) intercalating complexes: Comprehensive biological profile {DNA binding, pBR322 DNA cleavage, Topo I inhibition and cytotoxic activity}”. *Bioorganic Chemistry*, 94, 103427. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103427>.
- Ahmed, M., Qadir, M. A., Shafiq, M. I., Muddassar, M., Samra, Z. Q. ve Hameed, A. (2019). “Synthesis, characterization, biological activities and molecular modeling of Schiff bases of benzene sulfonamides bearing curcumin scaffold”. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(1), 41-53. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.11.017>.
- Akhtar, M.S., Ismail, A., Murtaza, S., Tahir, M.N., Shamim, S. ve Rana, U.A. (2016). “Biological and Docking Studies of Sulfonamide Derivatives of 4-Aminophenazone”. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 38(2).
- Alaghaz, A. N. M., Bayoumi, H. A., Ammar, Y. A. ve Aldhlmani, S. A. (2013). “Synthesis, characterization, and antipathogenic studies of some transition metal complexes with N, O-chelating Schiff’s base ligand incorporating azo and sulfonamide Moieties”. *Journal of Molecular Structure*, 1035, 383-399. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.11.030>.
- Altay, A., Tohma, H., Durmaz, L., Taslimi, P., Korkmaz, M., Gulcin, I. ve Koksal, E. (2019). “Preliminary phytochemical analysis and evaluation of in vitro antioxidant, antiproliferative, antidiabetic, and anticholinergics effects of endemic *Gypsophila* taxa from Turkey”. *Journal of Food Biochemistry*, 43(7), e12908. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12908>.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Çelik, S. E. (2008). “Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay”. *Microchimica Acta*, 160, 413-419. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0777-0>.

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Altun, M. (2005). "Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method". *Free Radical Research*, 39(9), 949-961. doi: 10.1080/10715760500210145.
- Arshad, N., Abbas, N., Perveen, F., Mirza, B., Almuahini, A. M. ve Alkahtani, S. (2021). "Molecular docking analysis and spectroscopic investigations of zinc (II), nickel (II) N-phthaloyl- β -alanine complexes for DNA binding: Evaluation of antibacterial and antitumor activities". *Journal of Saudi Chemical Society*, 25(9), 101323. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2021.101323>.
- Azgın, F. (2013). Topraktan İzole Edilen Farklı Bacillus sp. Suşlarının Antifungal Etkinliklerinin Saptanması. Yüksek Lisans tezi. Çukurova Üniversitesi. 73.
- Balouiri, M., Sadiki, M. ve Ibsouda, S. K. (2016). "Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review". *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.
- Basak, A., Mandal, S., Das, A. K. ve Bertolasi, V. (2002). "Benzene fused monocyclic enediynyl amides: synthesis, reactivity and DNA-cleavage activity in comparison to the corresponding sulfonamides". *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12(6), 873-877. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(02\)00029-X](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(02)00029-X).
- Benzie, I. F. ve Strain, J. J. (1999). "[2] Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration". In *Methods in Enzymology*, 299, 15-27). Academic press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5).
- Benzie, I.F. ve Strain, J. J. (1996). "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay". *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Bıçer, E., Pehlivan, V. ve Bekiroğlu, Y. G. (2019). "Synthesis, characterization, in vitro antifungal activities and calf thymus DNA interactions of two different hydroxy benzaldehyde derivative Schiff bases from sulfamethizole: electrochemical, spectroscopic and biological study". *Russian Journal of Electrochemistry*, 55(5), 419-428. DOI: 10.1134/S1023193519050045.

- Bull, C., McClune, G. J. ve Fee, J. A. (1983). "The mechanism of iron EDTA catalyzed superoxide dismutation". *Journal of the American Chemical Society*, 105(16), 5290-5300.
- Chhajed, M., Shrivastava, A. K. ve Taile, V. (2014). "Synthesis of 5-arylidine amino-1, 3, 4-thiadiazol-2-[(N-substituted benzyol)] sulphonamides endowed with potent antioxidants and anticancer activity induces growth inhibition in HEK293, BT474 and NCI-H226 cells". *Medicinal Chemistry Research*, 23, 3049-3064.
- Chohan, Z. H., Mahmood-ul-Hassan, Khan, K. M. ve Supuran, C. T. (2005). "In-vitro antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of sulfonamide—derived Schiff's bases and their metal complexes". *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 20(2), 183-188. <https://doi.org/10.1080/14756360500043257>.
- Deng, Z., Luo, X. M., Liu, J. ve Wang, H. (2020). "Quorum sensing, biofilm, and intestinal mucosal barrier: involvement the role of probiotic". *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 538077. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.538077>.
- Devi, W. B., Singh, R. B., Jasinski, J. P. ve Golen, J. A. (2012). "A new two dimensional copper (II) coordination complex with sulphonamide: Synthesis, crystal structure and DNA binding study". *Inorganic Chemistry Communications*, 21, 163-167. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2012.05.006>
- Domagk, G. ve Hegler, C. (1942). *Chemotherapie bakterieller Infektionen, Band I. Beiträge zur Arzneimitteltherapie*. Leipzig: Verlag von S. Hirzel.
- Fang, R. ve Liu, J. (2020). "Cleaving DNA by nanozymes". *Journal of Materials Chemistry B*, 8(32), 7135-7142. <https://doi.org/10.1039/D0TB01274B>.
- Flemming, H. C. ve Wingender, J. (2010). "The biofilm matrix". *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623-633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>.
- Gardner, P. R. ve Fridovich, I. (1992). "Inactivation-reactivation of aconitase in Escherichia coli. A sensitive measure of superoxide radical". *Journal of Biological Chemistry*, 267(13), 8757-8763. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)50343-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)50343-X).

- Gonzalez-Alvarez, M., Alzuet, G., Borrás, J., del Castillo Agudo, L., Montejo-Bernardo, J. ve García-Granda, S. (2003). "Development of novel copper (II) complexes of benzothiazole-N-sulfonamides as protective agents against superoxide anion. Crystal structures of [Cu (N-2-(4-methylbenzothiazole) benzenesulfonamidate) 2 (py) 2] and [Cu (N-2-(6-nitrobenzothiazole) naphthalenesulfonamidate) 2 (py) 2]". *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 8(1-2), 112-120. <https://doi.org/10.1007/s00775-002-0394-7>.
- Gulcin, I. (2009). "Antioxidant activity of l-adrenaline: A structure-activity insight". *Chemico-biological Interactions*, 179(2-3), 71-80. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.09.023>.
- Gulcin, I. (2020). "Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview". *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>.
- Gulcin, I., Buyukokuroglu, M. E., Oktay, M. ve Kufrevioglu, O. I. (2002). "On the in vitro antioxidative properties of melatonin". *Journal of Pineal Research*, 33(3), 167-171. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079X.2002.20920.x>.
- Güler, S., Soğukömeroğulları, H. G., Özdemir, S., Yalçın, M. S., Sönmez, M. (2021). "New Carboxamid ligand and its metal complexes containing sulfonamide group: Synthesis, Characterization, DNA cleavage and antimicrobial activity". *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 14(2), 724-736. <https://doi.org/10.18185/erzifbed.852416>.
- Gün, İ. ve Ekinçi, F. Y. (2009). "Biofilms: microbial life on surfaces". *GIDA-Journal of Food*, 34(3), 165-173.
- Güngör, S. A., Tümer, M., Köse, M. ve Erkan, S. (2022). "N-substituted benzenesulfonamide compounds: DNA binding properties and molecular docking studies". *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(16), 7424-7438. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1897683>.
- Habeeb Rahuman, H. B., Dhandapani, R., Narayanan, S., Palanivel, V., Paramasivam, R., Subbarayalu, R., Thangavelu, S., Muthupandian, S. (2022). "Medicinal plants mediated the green synthesis of silver nanoparticles and their biomedical applications". *IET Nanobiotechnology*, 16(4), 115-144. <https://doi.org/10.1049/nbt2.12078>.

- Halawa, A. H., Elgammal, W. E., Hassan, S. M., Hassan, A. H., Nassar, H. S., Ebrahim, H. Y., Mehany, A.B.M., El-Agrody, A. M. (2020). "Synthesis, anticancer evaluation and molecular docking studies of new heterocycles linked to sulfonamide moiety as novel human topoisomerase types I and II poisons". *Bioorganic Chemistry*, 98, 103725. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103725>.
- Hall-Stoodley, L. ve Stoodley, P. (2009). "Evolving concepts in biofilm infections". *Cellular Microbiology*, 11(7), 1034-1043. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01323.x>.
- Hangan, A. C., Borodi, G., Stan, R. L., Páll, E., Cenariu, M., Oprean, L. S. ve Sevastre, B. (2018). "Synthesis, crystal structure, DNA cleavage and antitumor activity of two copper (II) complexes with N-sulfonamide ligand". *Inorganica Chimica Acta*, 482, 884-893. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2018.07.045>.
- Hassan, S. A., Aziz, D. M., Abdullah, M. N., Bhat, A. R., Dongre, R. S., Ahmed, S., Rahiman, A.K., Hadda, T.B., Berredjem, M., Jamalis, J. (2023). "Design and synthesis of oxazepine derivatives from sulfonamide Schiff bases as antimicrobial and antioxidant agents with low cytotoxicity and hemolytic prospective". *Journal of Molecular Structure*, 1292, 136121. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136121>.
- Hu, Y., Pan, G., Yang, Z., Li, T., Wang, J., Ansari, M. F., Hu, C., Bheemanaboina, R.R.Y., Cheng, Y., Zhou, C., Zhang, J. (2021). "Novel Schiff base-bridged multi-component sulfonamide imidazole hybrids as potentially highly selective DNA-targeting membrane active repressors against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". *Bioorganic Chemistry*, 107, 104575. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104575>.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş. ve Gülçin, İ. (2017). "Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds". *Biochemistry Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7616791>.
- Kanwal, N., Khan, I. U., Hussain, E. A., Farid, S. ve Şahin, O. (2016). "Efficient syntheses, crystal structure, thermal and biological evaluation of amlodipine 4-chlorobenzoyl, 4-chlorobenzene and 2, 5-dichlorobenzene sulfonamide derivatives". *Comptes Rendus Chimie*, 19(5), 594-603. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2016.01.015>.

- Kausar, N., Muratza, S., Raza, M. A., Rafique, H., Arshad, M. N., Altaf, A. A., Asiri, A.M., Shafqat, S.S., Shafqat, S. R. (2019). "Sulfonamide hybrid schiff bases of anthranilic acid: synthesis, characterization and their biological potential". *Journal of Molecular Structure*, 1185, 8-20. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.02.056>.
- Kim, H. J., Seo, J. Y., Suh, H. J., Lim, S. S. ve Kim, J. S. (2012). "Antioxidant activities of licorice-derived prenylflavonoids". *Nutrition Research and Practice*, 6(6), 491-498. <https://doi.org/10.4162/nrp.2012.6.6.491>
- Koster, D. A., Palle, K., Bot, E. S., Bjornsti, M. A. ve Dekker, N. H. (2007). "Antitumour drugs impede DNA uncoiling by topoisomerase I". *Nature*, 448(7150), 213-217. <https://doi.org/10.1038/nature05938>.
- Köksal, E. ve Gülçin, İ. (2008). "Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.)". *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32(1), 65-78. https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol32/iss1/8?utm_source=journals.tubitak.gov.tr%2Fagriculture%2Fvol32%2Fiss1%2F8&utm_medium=PDF&utm_campaign=PDFCoverPages.
- Krátký, M., Dzurková, M., Janoušek, J., Konečná, K., Trejtnar, F., Stolaříková, J. ve Vinšová, J. (2017). "Sulfadiazine salicylaldehyde-based Schiff bases: Synthesis, antimicrobial activity and cytotoxicity". *Molecules*, 22(9), 1573. <https://doi.org/10.3390/molecules22091573>.
- Lavanya, R. (2017). "Sulphonamides: a pharmaceutical review". *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 6(2), 1-3.
- Liu, L. F. (1989). "DNA topoisomerase poisons as antitumor drugs". *Annual review of biochemistry*, 58(1), 351-375.
- Liu, Y. P., Chen, H. L., Tzeng, C. C., Lu, P. J., Lo, C. W., Lee, Y. C., Tseng, C.H., Chen, Y.L., Yang, C. N. (2013). "TCH-1030 targeting on topoisomerase I induces S-phase arrest, DNA fragmentation, and cell death of breast cancer cells". *Breast Cancer Research and Treatment*, 138, 383-393. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2441-1>
- Long, E. C. ve Barton, J. K. (1990). *Accounts of Chem. Res*, 23(3), 273.

- McFarland, M. M., Zach, S. J., Wang, X., Potluri, L. P., Neville, A. J., Vennerstrom, J. L. ve Davis, P. H. (2016). "Review of experimental compounds demonstrating anti-Toxoplasma activity". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(12), 7017-7034. <https://doi.org/10.1128/aac.01176-16>.
- Meşeli, T., Doğan, Ş. D., Gündüz, M. G., Kökbudak, Z., Bogojevic, S. S., Noonan, T., Vojnovic, S., Wolber, G., Nikodinovic-Runic, J. (2021). "Design, synthesis, antibacterial activity evaluation and molecular modeling studies of new sulfonamides containing a sulfathiazole moiety". *New Journal of Chemistry*, 45(18), 8166-8177. <https://doi.org/10.1039/D1NJ00150G>.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V. ve Milner, A. (1993). "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates". *Clinical Science*, 84(4), 407-412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>.
- Mizdal, C. R., Stefanello, S. T., da Costa Flores, V., Agertt, V. A., Bonez, P. C., Rossi, G. G., Cruz da Silva, T., Soares, F.A.A., de Lourenço Marques, L., de Campos, M. M. A. (2018). "The antibacterial and anti-biofilm activity of gold-complexed sulfonamides against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". *Microbial Pathogenesis*, 123, 440-448. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.002>.
- Mondal, S., Mandal, S. M., Mondal, T. K. ve Sinha, C. (2017). "Spectroscopic characterization, antimicrobial activity, DFT computation and docking studies of sulfonamide Schiff bases". *Journal of Molecular Structure*, 1127, 557-567. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.08.011>.
- More, P. G., Karale, N. N., Lawand, A. S., Narang, N. ve Patil, R. H. (2014). "Synthesis and anti-biofilm activity of thiazole Schiff bases". *Medicinal Chemistry Research*, 23(2), 790-799. <https://doi.org/10.1007/s00044-013-0672-7>.
- Nagpal, P. ve Singh, R. V. (2004). "Toxicological effects, biological aspects and spectral characterization of organoboron (III) complexes of sulfonamide-imines". *Applied Organometallic Chemistry*, 18(5), 221-226. <https://doi.org/10.1002/aoc.610>.

- Okan, O. T., Varlıbaş, H., Mehmet, Ö. Z. ve Deniz, İ. (2013). “Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir odun dışı bazı bitkisel ürünler”. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 13(1), 48-59.
- Oliveira, I. S., Manzano, C. M., Nakahata, D. H., Santiago, M. B., Silva, N. B. S., Martins, C. H. G., Respíndula, F.P., Pereira, D.H., Corbi, P. P. (2022). “Antibacterial and antifungal activities in vitro of a novel silver (I) complex with sulfadoxine-salicylaldehyde Schiff base”. *Polyhedron*, 225, 116073. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2022.116073>.
- Ovung, A. ve Bhattacharyya, J. (2021). “Sulfonamide drugs: Structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions”. *Biophysical Reviews*, 13(2), 259-272. <https://doi.org/10.1007/s12551-021-00795-9>.
- Özbek, N., Katircioğlu, H., Karacan, N. ve Baykal, T. (2007). “Synthesis, characterization and antimicrobial activity of new aliphatic sulfonamide”. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(15), 5105-5109. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.05.037>.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., Engel, R. G. (2011). “Introduction to organic laboratory techniques: A smallscale approach”. Brooks/Cole, a division of Thomson Learning, Inc. Canada, p. 363-370.
- Pehlivan, V., Biçer, E., Bekiroğlu, Y. G. ve Dege, N. (2018). “Electrochemical and spectroscopic studies on the interaction modes of calf thymus DNA with antibacterial Schiff bases obtained from substituted salicylaldehydes and sulfamethizole”. *Int. J. Electrochem. Sci*, 13, 10733-10750. <https://doi.org/10.20964/2019.01.153>.
- Qiao, X., Ma, Z. Y., Xie, C. Z., Xue, F., Zhang, Y. W., Xu, J. Y., Qiang, Z.Y., Lou, J.S., Chen, G.J. ve Yan, S. P. (2011). “Study on potential antitumor mechanism of a novel Schiff Base copper (II) complex: synthesis, crystal structure, DNA binding, cytotoxicity and apoptosis induction activity”. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105(5), 728-737. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.01.004>.
- Raczuk, E., Dmochowska, B., Samaszko-Fiertek, J. ve Madaj, J. (2022). “Different Schiff bases—Structure, importance and classification”. *Molecules*, 27(3), 787. <https://doi.org/10.3390/molecules27030787>.

- Rakesh, K. P., Wang, S. M., Leng, J., Ravindar, L., Asiri, A. M., Marwani, H. M. ve Qin, H. L. (2018). "Recent development of sulfonyl or sulfonamide hybrids as potential anticancer agents: A key review". *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 18(4), 488-505. <https://doi.org/10.2174/1871520617666171103140749>.
- Rama, I. ve Ramaswami, S. (2014). "Synthesis, spectral characterization, thermal and biocidal properties of metal complexes with N-substituted sulfonamides". *J. Indian Chem. Soc.*, 91, 1877-1886.
- Reddy, P. A., Nethaji, M. ve Chakravarty, A. R. (2004). "Hydrolytic cleavage of DNA by ternary amino acid Schiff base copper (II) complexes having planar heterocyclic ligands". *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2004(7), 1440-1446. <https://doi.org/10.1002/ejic.200300514>.
- Reddy, P. R. ve Manjula, P. (2007). "Mixed-Ligand Copper (II)-Phenanthroline-Dipeptide Complexes: Synthesis, Characterization, and DNA-Cleavage Properties". *Chemistry and Biodiversity*, 4(3), 468-480. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200790039>.
- Roberts, R. J., Linn, S. M. ve Lloyd, R. S. (Eds.). (1993). *Nucleases*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Rothenberg, M. L. (1997). "Topoisomerase I inhibitors: review and update". *Annals of Oncology*, 8(9), 837-855. <https://doi.org/10.1023/A:1008270717294>.
- Saad, F. A., El-Ghamry, H. A., Kassem, M. A. ve Khedr, A. M. (2019). "Nano-synthesis, Biological Efficiency and DNA binding affinity of new homo-binuclear metal complexes with sulfa azo dye based ligand for further pharmaceutical applications". *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 29, 1337-1348. <https://doi.org/10.1007/s10904-019-01098-z>.
- Salehi, M., Faghani, F., Kubicki, M. ve Bayat, M. (2018). "New complexes of Ni (II) and Cu (II) with tridentate ONO Schiff base ligand: synthesis, crystal structures, electrochemical and theoretical investigation". *Journal of the Iranian Chemical Society*, 15, 2229-2240. <https://doi.org/10.1007/s13738-018-1412-1>.
- Sánchez-Moreno, C. (2002). "Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems". *Food Science And Technology International*, 8(3), 121-137. <https://doi.org/10.1106/108201302026770>.

- Schoeffler, A. J. ve Berger, J. M. (2008). "DNA topoisomerases: harnessing and constraining energy to govern chromosome topology". *Quarterly Reviews of Biophysics*, 41(1), 41-101. doi:10.1017/S003358350800468X.
- Sharaby, C. M., Amine, M. F. ve Hamed, A. A. (2017). "Synthesis, structure characterization and biological activity of selected metal complexes of sulfonamide Schiff base as a primary ligand and some mixed ligand complexes with glycine as a secondary ligand". *Journal of Molecular Structure*, 1134, 208-216. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.12.070>.
- Sharma, R.N., Xavier, F.P., Vasu, K.K., Chaturvedi, S.C., Pancholi, S.S. (2009). "Synthesis of 4-benzyl-1,3-thiazole derivatives as potential antiinflammatory agents: an analogue-based drug design approach". *J Enzym Inhib Med Chem* 24, 890–897. <https://doi.org/10.1080/14756360802519558>.
- Singh, A., Maiti, S. K., Gogoi, H. P. ve Barman, P. (2023). "Purine-based Schiff base Co (II), Cu (II), and Zn (II) complexes: Synthesis, characterization, DFT calculations, DNA binding study, and molecular docking". *Polyhedron*, 230, 116244. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2022.116244>.
- Spoering, A.L. ve Lewis, K. (2001). "Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials". *J Bacteriol* 183:6746–6751. <https://doi.org/10.1128/jb.183.23.6746-6751.2001>.
- Staker, B. L., Hjerrild, K., Feese, M. D., Behnke, C. A., Burgin Jr, A. B. ve Stewart, L. (2002). "The mechanism of topoisomerase I poisoning by a camptothecin analog". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(24), 15387-15392.
- Subasi, N. T. (2022). "Overview of Schiff Bases. In Schiff Base in Organic". T. Akit (ed). In: *Inorganic and Physical Chemistry*. IntechOpen. 208 DOI: 10.5772/intechopen.108178.
- Sultan, E. A. (2015). *Pathophysiologic mechanisms of immune-mediated drug hypersensitivity reactions to sulfonamides* (Doctoral dissertation, The University of Western Ontario, Canada).
- Tačić, A., Nikolić, V., Nikolić, L. ve Savić, I. (2017). Antimicrobial sulfonamide drugs. *Advanced Technologies*, 6(1), 58-71. DOI: 10.5937/savteh1701058T.

- Taneja, B., Patel, A., Slesarev, A. ve Mondragón, A. (2006). "Structure of the N-terminal fragment of topoisomerase V reveals a new family of topoisomerases". *The EMBO Journal*, 25(2), 398-408. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600922>.
- Taniguchi, K., Kohno, K., Kawanami, K., Wada, M., Kanematsu, T. ve Kuwano, M. (1996). "Drug-induced down-regulation of topoisomerase I in human epidermoid cancer cells resistant to saintopin and camptothecins". *Cancer Research*, 56(10), 2348-2354.
- Tekin, S., Karatay, A., Erdener, D., Yildiz, E. A., Boyacioglu, B., Ünver, H., Yıldız, M., Elmalı, A. (2022). "Colorimetric probe and optical behaviours of new azomethine derivatives of sulfonamide". *Journal of Molecular Structure*, 1253, 132239. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132239>.
- Uddin, M. J., Scoutaris, N., Economidou, S. N., Giraud, C., Chowdhry, B. Z., Donnelly, R. F. ve Douroumis, D. (2020). "3D printed microneedles for anticancer therapy of skin tumours". *Materials Science and Engineering: C*, 107, 110248. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110248>.
- Vos, S. M., Tretter, E. M., Schmidt, B. H. ve Berger, J. M. (2011). "All tangled up: how cells direct, manage and exploit topoisomerase function". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 12(12), 827-841. <https://doi.org/10.1038/nrm3228>.
- Wiedemann, B., Heisig, A. ve Heisig, P. (2014). "Uncomplicated urinary tract infections and antibiotic resistance—epidemiological and mechanistic aspects". *Antibiotics*, 3(3), 341-352. <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030341>.
- Yapar, G., Demir, N., Kiraz, A., Özkat, G. Y. ve Yıldız, M. (2022). "Synthesis, biological activities, antioxidant properties, and molecular docking studies of novel bis-schiff base podands as responsive chemosensors for anions". *Journal of Molecular Structure*, 133530. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133530>.
- Yasmeen, S., Qais, F. A., Rana, M., & Islam, A. (2022). "Binding and thermodynamic study of thalidomide with calf thymus DNA: Spectroscopic and computational approaches". *International Journal of Biological Macromolecules*, 207, 644-655. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.036>.
- Yildiz, M., Kırız, A. ve Dülger, B. (2007). "Synthesis and antimicrobial activity of new crown ethers of Schiff base type". *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(3), 215-224. <https://doi.org/10.2298/JSC0703215Y>.

Yousef, F., Mansour, O. ve Herbali, J. (2018). “Sulfonamides: Historical discovery development (structure-activity relationship notes)”. *In-vitro In-vivo In-silico Journal*, 1(1), 1-15.

