

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HETEROHALKALI SALİSİLALDİMİNLER VE BAKIR  
KOMPLEKSLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVELERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Şaduman ERSÖZ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA**

**2021**

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	4
2.1.Schiff Bazları .....	4
2.1.1.Schiff bazlarının tanımı .....	4
2.1.2.Schiff bazlarının sentez ve mekanizması .....	6
2.1.3.Schiff bazlarının kullanım alanları .....	11
2.1.4.Schiff bazlarının metal kompleksleri .....	15
2.2.Antimikrobiyal Aktivite .....	19
2.2.1. Schiff bazlarının antimikrobiyal etkileri .....	20
2.3.Schiff bazlarının antibakteriyel aktiviteleri .....	23
2.4.Antimikrobiyal ajan araştırılmasında kullanılan yöntemler .....	25
2.4.1. Difüzyon testleri .....	25
2.4.1.1. Disk difüzyon testi .....	25
2.4.1.2. E-Test .....	26
2.4.2. Dilüsyon testleri .....	27
2.4.2.1. Tüp dilüsyon .....	27
2.4.2.2. Agar dilüsyon .....	28
2.5. Çalışmamızda kullanılan bakteri türleri .....	28
2.5.1. <i>Escherichia coli</i> .....	28
2.5.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	28
2.5.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	30
3.1 Materyal .....	30
3.1.1.Kimyasal bileşikler .....	30
3.1.2.Bakteri suşları .....	34
3.1.3. Besiyerleri .....	34
3.1.4. Mc Farland standardı .....	34
3.1.5. MTT boyası .....	35
3.2. Yöntem .....	35
3.2.1. Bileşiklerin analizlere hazırlanması .....	35
3.2.1.1. Bileşiklerin sterilizasyonu .....	35
3.2.1.2. Bileşiklerin doz ayarlaması .....	35
3.2.1.3. Kültür plaklarının hazırlanması .....	36
3.2.2. Bakteri kültürü .....	36
3.2.3. MTT uygulaması .....	37
3.3. İstatistiksel analizler .....	38
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	39
4.1. Araştırma Bulguları .....	39
4.1.1. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>E. coli</i> üzerinde antibakteriyel etkileri .....	39
4.1.1.1. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri .....	40
4.1.1.2. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri .....	41
4.1.1.3. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri .....	43
4.1.1.4. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri .....	44
4.1.2. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>P. aeruginosa</i> üzerinde antibakteriyel etkileri .....	45
4.1.2.1.Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu .....	47
4.1.2.2.Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu .....	48
4.1.2.3. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu .....	49
4.1.2.4.Bileşik 7 ve Bileşik 8' nin <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu .....	50

4.1.3. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>S.aureus</i> üzerinde antibakteriyel etkileri .....	52
4.1.3.1. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin <i>S.aureus</i> ile inkübasyonu sonucu .....	53
4.1.3.2. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün <i>S.aureus</i> ile inkübasyonu sonucu .....	54
4.1.3.3. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın <i>S.aureus</i> ile inkübasyonu sonucu .....	55
4.1.3.4. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in <i>S.aureus</i> ile inkübasyonu sonucu .....	57
4.2. Tartışma.....	59
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	63
5.1. Sonuçlar .....	63
5.2. Öneriler .....	64
KAYNAKLAR .....	65



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### HETEROHALKALI SALİSİLALDİMİNLER VE BAKIR KOMPLEKSLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Şaduman ERSÖZ

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ

Yıl: 2021: Sayfa:72

Günümüzde özellikle antibiyotiklere dirençli bakterilerin meydana getirdiği enfeksiyonlardan dolayı mortalitede önemli ölçüde artış gözlenmektedir. Antimikrobiyal ilaçlara dirence bağlı olarak, her yıl yaklaşık binlerce kişi hayatını kaybetmektedir. Bu nedenle ilaç direnci gelişimi ve bu gelişimden kaynaklanan ölümcül hastalıklara istinaden yeni antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda, ilaç direncine alternatif antimikrobiyal ajanlar geliştirmek amacıyla Schiff bazlarından, 4 adet salisilaldimin ligandı ve bu ligandların bakır komplekslerinin *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri test edilmiştir. Çalışmada, salisilaldimin Ligandları (1,1,7,7-Tetra-Metil-Jululidin-N-Pentil-Salisilaldimin, N-Hekzil, N-Heptil, N-Oktil heterohalkalı salisilaldiminler) ve bunların bakır (Cu (II)) kompleksleri (**Bileşik1-8**) kullanılmıştır. Bileşiklerin antibakteriyel etkilerinin belirlenmesinde MTT testi kullanılmıştır. *E. coli* üzerine Bileşik 8 ile (MİK değeri 33.93 µM), *P. Aeruginosa* üzerine Bileşik 8 ile (MİK değeri 35.60 µM) ve *S. aureus* üzerine en güçlü antibakteriyel etki Bileşik 2 ile (MİK değeri 4.21 µM) elde edilmiştir. Schiff bazı ligandlarına göre bakır komplekslerinin daha güçlü antibakteriyel etkiler gösterdiği dikkati çekmiştir. Test edilen bileşiklerden,1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-pentil-salisilaldimin (Cu (II)) kompleksinin *S. Aureus* ile meydana gelen enfeksiyonların tedavisi için antibakteriyel ajan adayı olabilme potansiyeline sahip olduğu ve bu bileşik ile daha ileri araştırmaların yürütülmesinin önemli olabileceği düşünülmektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Antimikrobiyal, Schiff bazları, Salisilaldimin, Bakır kompleksi, Bakteri.

## ABSTRACT

MSc Thesis

### INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF HETEROCYCLIC SALISILADIMINES AND COPPER COMPLEXES

Şaduman ERSÖZ

Harran University  
Graduate School of Applied and Natural Science  
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ

Year: 2021, Page:72

Mortality is also important today due to infections caused by antibiotics resistant bacteria. Due to resistance to antimicrobial drugs, nearly thousands of people die each year. Therefore, new antimicrobial agents are needed for drug resistance development and fatal diseases resulting from this development. In our study, in order to break drug resistance and develop alternative antimicrobial agents, 4 salicylaldimine ligands of Schiff bases and copper complexes of these ligands were used. Ligands of salicylaldimine (1,1,7,7-Tetra-Methyl-Jululidin-N-Pentyl-Salicylaldimine, N-Hexyl, N-Heptyl, N-Octyl heterocyclic salicylaldimines) and their copper (Cu (II)) complex compounds in the study, Antimicrobial activity on *E. Coli*, *P. Aeruginosa* and *S. Aureus* bacteria were tested. The MTT test was used to determine the antibacterial effects of the compounds. The strongest antibacterial effect on *E. Coli*, *P. Aerogeniosa* and *S. aureus* was achieved with Compound 2 (MIC value 4.21 µM), Compound 8 (MIC value 33.93 µM) Compound 8 (MIC value 35.60 µM) respectively. It was noted that copper complexes exhibited stronger antibacterial effects than some Schiff ligands. It is thought that among the tested compounds, 1,1,7,7-tetra-methyl-jululidin-N-pentyl-salicylaldimine (Cu (II)) complex has the potential to be an antibacterial agent candidate for the treatment of infections with *S. aureus* and it may be important to carry out further studies with this compound.

**KEY WORDS:** Antimicrobial, Schiff bases, Salisilaldimine, Cupper complex, Bacteria.

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca her anlamda beni yönlendiren, yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın her alanında yardımcı olan MSc. Bestoon SHEKHANY ve Öğr. Görevlisi Fatma ÖZER'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Ayrıca, hayatımın her alanında bana maddi manevi her türlü desteği sağlayan biricik aileme sonsuz teşekkür ederim.



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Schiff bazlarının genel yapısı.....	4
Şekil 2.2. Schiff bazlarının oluşum mekanizması .....	6
Şekil 2.3. Azometin oluşumu .....	6
Şekil 2.4. İmin oluşumu .....	6
Şekil 2.5. Aldehit veya ketonların birincil aminler ile reaksiyonu .....	6
Şekil 2.6. Aldehitlerin veya ketonların hidrazin ve fenilhidrazin ile reaksiyonu .....	7
Şekil 2.7. Schiff bazı sentezi birinci kademe .....	9
Şekil 2.8. Schiff bazı sentezi ikinci kademe.....	9
Şekil 2.9. Schiff bazlarının sınıflandırılması .....	10
Şekil 2.10. Schiff bazları NO, ONO, N2O2, ONS, NS tipi ligandlar .....	10
Şekil 2.11. Schiff bazı bakır kompleksi dimer hali .....	16
Şekil 2.12. İnhibisyon zonu.....	26
Şekil 2.13. E Test yöntemi .....	27
Şekil 2.14. Tüp dilüsyon yöntemiyle MİK.....	27
Şekil 3.1. Bileşik 1'in açık formülü .....	30
Şekil 3.2. Bileşik 2'nin açık formülü .....	31
Şekil 3.3. Bileşik 3'ün açık formülü .....	31
Şekil 3.4. Bileşik 4'ün açık formülü .....	32
Şekil 3.5. Bileşik 5'in açık formülü .....	32
Şekil 3.6. Bileşik 6'nın açık formülü .....	33
Şekil 3.7. Bileşik 7'nin açık formülü .....	33
Şekil 3.8. Bileşik 8'in açık formülü .....	34
Şekil 3.9. Kültür plakları hazırlanmasına dair örnek.....	36
Şekil 4.1. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri .....	40
Şekil 4.2. Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri .....	41
Şekil 4.3. Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri.....	42
Şekil 4.4. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri .....	43
Şekil 4.5. Bileşik 7 ve Bileşik 8'in <i>E.coli</i> ' üzerine antibakteriyel etkileri .....	45
Şekil 4.6. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>P.aeruginosa</i> üzerine antibakteriyel etkileri .....	46
Şekil 4.7. Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin <i>P.aeruginosa</i> üzerine antibakteriyel etkileri.....	47
Şekil 4.8. Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün <i>P.aeruginosa</i> üzerine antibakteriyel etkileri.....	49
Şekil 4.9. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın <i>P.aeruginosa</i> üzerine antibakteriyel etkileri.....	50
Şekil 4.10. Bileşik 7 ve Bileşik 8'in <i>P.aeruginosa</i> üzerine antibakteriyel etkileri.....	51
Şekil 4.11. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>S.aureus</i> üzerine antibakteriyel etkileri.....	52
Şekil 4.12. Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin <i>S.aureus</i> üzerine antibakteriyel etkileri .....	54
Şekil 4.13. Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün <i>S.aureus</i> üzerine antibakteriyel etkileri.....	55
Şekil 4.14. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın <i>S.aureus</i> üzerine antibakteriyel etkileri .....	56
Şekil 4.15. Bileşik 7 ve Bileşik 8'in <i>S.aureus</i> üzerine antibakteriyel etkileri .....	57

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa No

Çizelge 4.1. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>E. coli</i> ile inkübasyonu sonucu.....	39
Çizelge 4.2. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin <i>E. coli</i> ile inkübasyonu sonucu .....	40
Çizelge 4.3. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün <i>E. coli</i> ile inkübasyonu sonucu .....	42
Çizelge 4.4. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın <i>E. coli</i> ile inkübasyonu sonucu .....	43
Çizelge 4.5. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in <i>E. coli</i> ile inkübasyonu sonucu .....	44
Çizelge 4.6. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu.....	46
Çizelge 4.7. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu .....	47
Çizelge 4.8. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu .....	48
Çizelge 4.9. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu .....	49
Çizelge 4.10. Bileşik 7 ve Bileşik 8' nin <i>P.aeruginosa</i> ile inkübasyonu sonucu .....	51
Çizelge 4.11. Gentamisin ve Siprofloksasinin <i>S.aureus</i> üzerine antibakteriyel etkileri .....	52
Çizelge 4.12. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin <i>S.aureus</i> ile inkübasyonu sonucu.....	53
Çizelge 4.13. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün <i>S.aureus</i> ile inkübasyonu sonucu .....	54
Çizelge 4.14. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın <i>S.aureus</i> ile inkübasyonu sonucu.....	56
Çizelge 4.15. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in <i>S.aureus</i> ile inkübasyonu sonucu.....	57
Çizelge 4.16. MİK değerlerinin birlikte görünümü .....	58

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

$\mu$ l	Mikro Litre
$\mu$ M	MikroMolar
A549	İnsan Akciğer Karsinoma
BGC823	İnsan Gastrit Kanseri Hücre
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EAC	Ehrlich Ascites Karsinoma
ELİZA	Enzim İşaretli İmmün Tepki Testi
HepG2	Hepatoselüler Karsinoma
HT-29	KolonKarsinoma
MCF-7	İnsan GöğüsAdeonakarsinoma
MCT-7	Meme Kanseri
MDR	Multidrug Resistance
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MTT	Thiazolyl Blue TetrazoliumBromide
OD	OptikDansite
PDR	Pandrug Resistance
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
RR	Ribonükleotit Redüktaz
UV-Vis	Ultraviyole ve Görünür Işık Absorpsiyon Spektroskopisi
WHO	Dünya SağlıkÖrgütü

**1. GİRİŞ**

Bakteriler çeşitli yapısal organizasyonlar sayesinde kendilerini zararlı bileşiklerin etkilerinden korumayı büyük oranda başarmışlardır. Bu mekanizmalar, günümüzde patojen bakterilerle savaşta kullanılan antibiyotiklere karşı da mikroorganizmalar tarafından kullanılmakta olup çoklu ilaç direnci gelişimi bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde güçlükler neden olmaktadır. Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi dünya çapında sağlığı tehdit eden önemli bir klinik ve epidemiyolojik sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yapılan çalışmalarda, bakterilerin tedavi sırasında maruz kaldığı ilaca karşı direnç kazandığını ispat edilmektedir (Barbosa ve Levy, 2000). İlaç direncine karşı; kombinasyon tedavileri, kolistin gibi eski antibiyotiklerin yeniden gündeme gelmesi yönündeki birçok tedavi yaklaşımına rağmen, henüz ilaç direncinin üstesinden gelmek için etkin bir yol bulunamamıştır. Bu nedenle, ilaç direncine karşı etkin antimikrobiyal ajan arayışları günümüzde devam etmektedir (Paul ve ark., 2018)

Son yıllarda üçüncü kuşak karbapenemler, aminoglikozidler ve sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının artması, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* gibi bakteri türlerinde çoğul antibiyotik direncinin de artmasına sebep olmaktadır. Bu direnç özellikle antibiyotik kullanımının ve hasta sayısının yüksek olduğu birçok serviste enfeksiyon tedavisinde ciddi sorunlar meydana gelmektedir. Bakterilerde direnç mekanizmalarından birkaçı bir araya gelerek, kliniklerde sıklıkla karşılaşılan türlerde çoklu antibiyotik dirençli (multidrug resistance, MDR) ve direnç mekanizmalarından hepsinin bir araya gelmesiyle de, bütün antibiyotiklere dirençli (pandrug resistance, PDR) suşların gelişmesine neden olmaktadır (Oikonomou ve ark., 1996).

Schiff bazları, aldehit veya ketonların primer aminle verdiği kondenzasyon sonucu oluşan ürünlerdir (Ermiş ve ark., 2005). Schiff bazlarının başta geçiş metalleri (Al, Cu, Cd, Zn, Cr, Mn, Co gibi) olmak üzere birçok metal ile sağlam kompleksler oluşturması sebebiyle, Schiff bazları metallerin tayininde iyi bir azot donör ligandı olarak da tercih edilmektedirler (Klayman, 1983; Scovill, 1984).

Pek çok alanda kullanılan Schiff bazları ve metal komplekslerinin tüm kimyasal özelliklerinin belirlenmesi araştırmaları devam etmektedir (Kim ve Lee, 1992; Mirabelli, 1987; Patel, 1989).

Schiff bazları ve metal kompleksleri ile ilişkili çeşitli çalışmalar yapılmakta ve farklı alanlarda kullanılmaktadır (Amirkhanov, 1999). Schiff bazlarının özellikle tıp ve biyolojik sistemdeki önemi giderek artmaktadır. Son zamanlarda Schiff bazları ve bazı metal komplekslerinin teşhis ve tedavisinde, biyolojide ve ilaç sanayinde önemi artmaya başlamıştır. Bunlara ek olarak, Schiff bazları ve bazı metal komplekslerinin organizmalar için önemli olan ve protein sentezinde rol alan  $\alpha$ -aminoasitlerin elde edilmesindeki önemi, sahip olduğu antimikrobiyal ve antitümör ve aktiviteleri sebebiyle biyolojik öneme de sahiptirler (Grabaric, 1993).

Yapılan çalışmalar ile Schiff bazı ve komplekslerinin antikanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir ve bu yüzden tıp dünyasında önemi giderek artmakta, kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılmak için yeni araştırmalar yapılmaktadır (Mutterties, 1979). Fareler üzerinde yapılan bir *in vivo* araştırmada ise Schiff bazı komplekslerinin *Ascites Carcinoma* Virüsüne karşı güçlü antikanser aktivitesinin gösterdiği rapor edilmiştir (Patel, 1989).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) insan sağlığı için ciddi tehdit oluşturan dirençli bakterilerin bir listesini belirlemiştir ve acilen bu bakteriler için yeni antimikrobiyal ajan gerektiğini bildirmişlerdir. Listenin başında bulunan yüksek seviyede riskli ve en dirençli olarak gösterilen üç bakteri, hastane mikrobu olarak bilinmektedir ve özellikle hastane ve bakım evleri gibi yerlerde bulunmaktadır. Bunlardan *E. coli*, *P. Aeruginosa* ve *S. aureus* ve listenin üst sıralarında yer almaktadır.

İkinci seviyede riskli olan bakteriler; Tedavi edilmemesi durumunda kansere sebep olan *Helicobacter pylori*, ishale yola açan *Salmonella* ve bel soğukluğuna neden olan *Neisseria Gonorrhoeae* ve ishale yola açan *Salmonella*' dır. Üçüncü derece riskli olanlar listesinde ise, penisiline dirençli olduğu bilinen ve zatürreye sebep olan *Streptococcus pneumoniae* yer almaktadır.

Bu tez çalışmasında ilaç direncine karşı alternatif antimikrobiyal ajanlar geliştirmek amacıyla Schiff bazlarından, 4 adet salisilaldimin ligandı ve bu ligandların bakır komplekslerinin antibakteriyel özelliklerinin araştırılması planlanmıştır. Bileşiklerin antibakteriyel etkileri ilaç direnci açısından önem taşıyan patojen bakteriler üzerinde yeni antimikrobiyal ajan olabilme yeteneklerinin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

Çalışmamızda salisilaldimin Ligandları (1,1,7,7-Tetra-Metil-Jululidin-N-Pentil-Salisilaldimin, N-Hekzil, N-Heptil, N-Oktil heterohalkalı salisilaldiminler) ve bunların bakır (Cu (II)) kompleks bileşiklerinin antimikrobiyal özellikleri test edilmiştir. *E. Coli*, *P.aeruginosa* ve *S. Aureus* bakterileri üzerinde antimikrobiyal özellikleri test edilen bileşiklerin bu etkenlerle meydana gelen hastalıkların tedavisi için antimikrobiyal potansiyelleri belirlenmiştir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Schiff bazları

#### 2.1.1. Schiff bazlarının tanımı

Schiff Bazları aldehit veya ketonların, uygun şartlarda primer aminlerle kondenzasyon reaksiyonu sonucu elde edilen karbon-azot çift bağı ve azometin bulunduran bileşiklerdir (Schiff, 1869). Genellikle yapılarında karbon-azot çifte bağı bulunan bileşiklere azometin bileşikleri ve bu karbon-azot çift bağından oluşan fonksiyonel gruba ise azometin grubu denir (Gündüz, 1994). Schiff bazları  $RCH=NR'$  genel formülüyle gösterilmekle beraber bu gösterimde R ve R' aril veya alkil sübstitüentleridir.

Schiff bazları ilk defa Alman kimyager Hugo Schiff tarafından 1860 yılında elde edilmiştir (Schiff, 1869). Bu bileşiklerin koordinasyon kimyasında ilk defa ligand olarak kullanılması ise 1930'lu yılların başında Pfeiffer ve ark., tarafından gerçekleştirilmiştir (Pfeiffer ve ark., 1932). Schiff bazlarında reaksiyon iki taraflı ve dengeli olup çok hızlı bir şekilde meydana gelmektedir.



Primer amin + Aldehit / Keton = Schiff bazı + su

Şekil 2.1. Schiff Bazlarının genel yapısı

İmin bağı aynı zamanda çok yönlü kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir ve iminler biyolojik sistemde de önemli rol oynarlar. C=N bağı kararsız, hidrolizlenebilir ve tekrar biçimlenebilir. C=N gerilme frekansındaki yükselme ise genellikle Lewis asitleri reaksiyonuyla veya iminlerin protonlanmasıyla olur (Wang ve Poirier, 1997).

Schiff Bazları ligandlarının koordinasyon kimyasında da önemi oldukça büyüktür. Schiff bazları; sentezlerinin kolay olması, stereo-elektronik yapılarının kolay ayarlanabilmesi, koordinasyon özellikleri, maliyetlerinin düşük ve ulaşılabilir olması ve çok geniş uygulama alanları olması nedeniyle etkili ve çok tercih edilen ligandlar haline gelmişlerdir. Genellikle bu ligandlar aldehit ve ketonların primer aminlerle oluşturdukları kondenzasyon sonucu meydana gelirler. Bilinen bu ligandların sayısı fazla olmasına rağmen metal ile birleşebilen donör atomlar yeterli sayıda değildir. Bunların en çok bilinenleri ve geniş skalada incelenmiş olanları ise azot, oksijen ve kükürttür. Bu ligandların en iyi bilinen ve araştırılanları azot, kükürt ve oksijendir. Schiff bazlarının iyi bir ligand oldukları bilinmekle beraber yeni ligand araştırmaları da devam etmektedir.

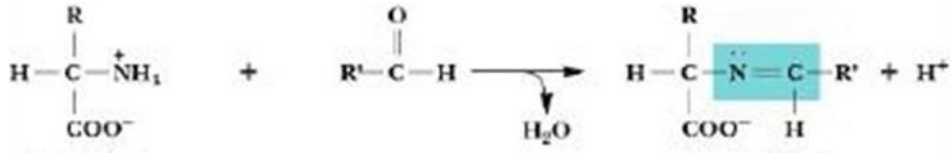
Schiff bazlarının kararlı 4, 5 veya 6 halkalı kompleksler oluşturabilmesi için azometin grubuna olabildiğince yakın olması ve yer değiştirebilir hidrojen atomuna sahip bir fonksiyonel grubun bulunması gerekmektedir. Bundan dolayı hidroksil grubu olarak tercih edilmektedir (Patai, 1970; Köksal, 1999).

Schiff bazı ve kompleksleri, tarım, biyolojik, kataliz, tıp ve optikelektronik diğer endüstri uygulamalarındaki heyecan verici ve önemli özellikleri nedeniyle son yıllarda yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Schiff bazları metal iyonları komplekslerinin çoğu yüksek katalitik aktivite göstermekte, verim ve ürün seçiciliğini arttırmada önemli rol oynamaktadırlar.

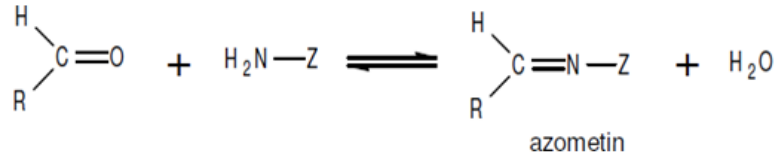
Schiff bazlarının üzerinde O, S ve N donör atomları bulunmasından dolayı rahatlıkla kompleks yapısı oluşturabilmektedirler. Bu donör atomlarının sayıları ve türlerinin kompleks yapı ve çeşitlilik üzerindeki etkisi büyüktür ama oluşan kompleks yapı sadece donör atomlarına bağlı olarak şekillenemez. Reaksiyona giren ligand, metal tuzun molar oranı ve ligandın reaksiyona girdiği metal tuzu gibi etkenler de kompleksin şekli ve yapısı üzerine etki edebilmektedir.

### 2.1.2. Schiff bazlarının sentez ve mekanizması

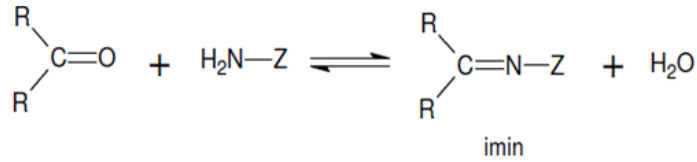
Kondenzasyon ile elde edilen ve karbon- azot arasındaki çift bağ (C=N) azometin bağı veya imin bağı olarak adlandırılır (Schiff, 1869). Aldehit ile karbonil bileşiği bağ yaparsa azometin ya da aldimin, keton ile karbonil bileşiği bağlanırsa imin ya da ketimin olarak adlandırılır (Şekil 2.2, Şekil 2.3, Şekil 2.4).



Şekil 2.2. Schiff bazlarının oluşum mekanizması



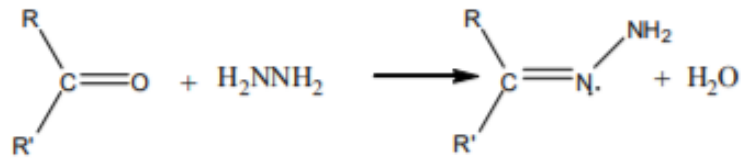
Şekil 2.3. Azometin oluşumu



Şekil 2.4. İmin oluşumu

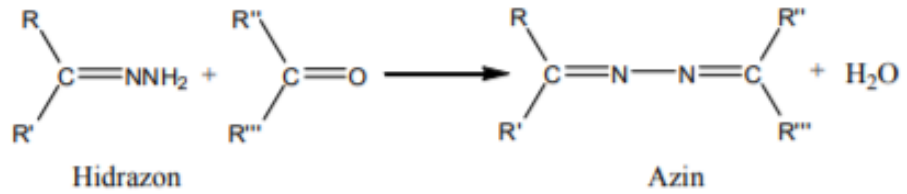
Şekil 2.5. Aldehit veya ketonların birincil aminler ile reaksiyonu

➤ Aldehit veya ketonların hidrazin ve fenilhidrazin ile tepkimesinden



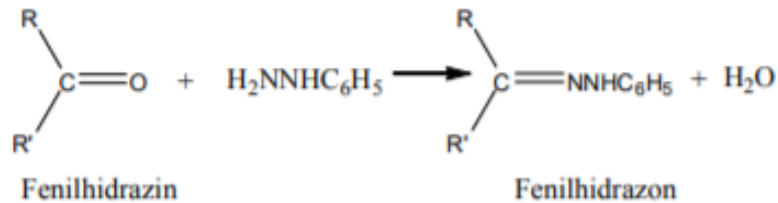
Hidrazin

Hidrazon [(E) ve (Z) izomerleri]



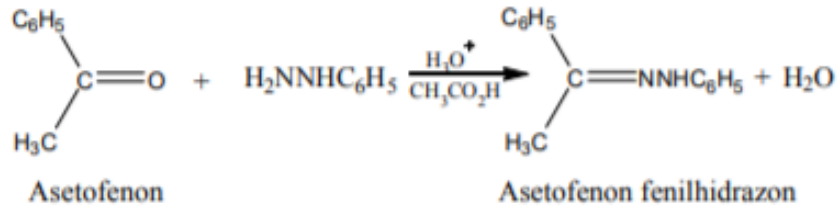
Hidrazon

Azin



Fenilhidrazin

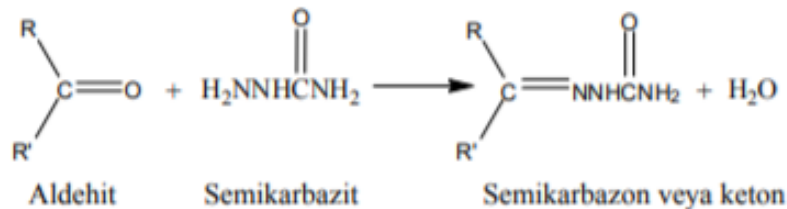
Fenilhidrazon



Asetofenon

Asetofenon fenilhidrazon

➤ Aldehit veya ketonların semikarbazit ile tepkimesinden (Solomons, 2002)

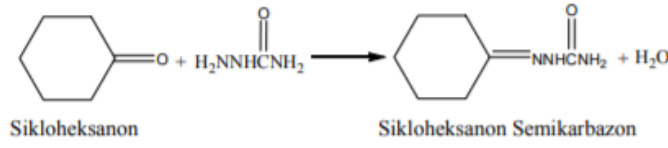


Aldehit

Semikarbazit

Semikarbazon veya keton

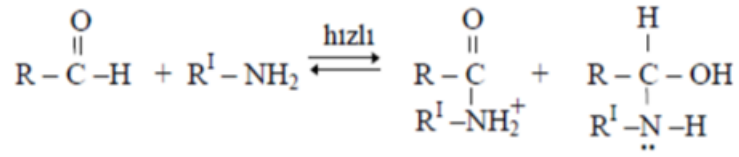
Şekil 2.6. Aldehitlerin veya ketonların hidrazin ve fenilhidrazin ile reaksiyonu



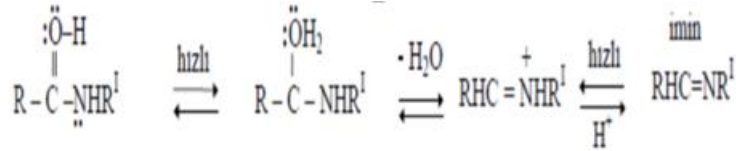
Schiff bazlarının reaksiyonu ketonlar için oldukça zor olabilmektedir. Ketonlardan Schiff bazı elde etmek için reaksiyon esnasında açığa çıkan su ile azeotrop oluşturabilen bir çözücü seçilmesi, uygun reaksiyon sıcaklığının belirlenmesi, katalizör seçimi ve uygun pH aralığı gibi çok sayıda faktöre dikkat etmek gerekir (Uçan, 2002). Özellikle aromatik olan ketonlardan Schiff bazını elde etmek için katalizör, uzun reaksiyon süresi ve yüksek sıcaklık gerekmektedir (Bilman, 1958; Patai, 1970). Schiff bazları aldehitler ile reaksiyonu ise kolay gerçekleşir. Aromatik aldehitler normal şartlar altında düşük sıcaklıklarda uygun çözücü ile yüksek verimli reaksiyon verirler. Aromatik aldehitlerle aromatik aminlerin kondenzasyon reaksiyonlarında, elektron çekebilen bir grubun amin grubunda para- pozisyonda olması ile reaksiyonun hızı yavaşlarken aldehit grubuna parapozisyonda olması ile reaksiyonun hızı artar (Obalı, 2010).

Schiff bazları ya da iminler, primer aminlerle aldehit veya ketonların Kondenzasyon reaksiyonu sonucu oluşan ürünleridir ve bunlar metal komplekslerinin hazırlanmasında önemli rol oynamaktadırlar. Bu ligandlar, iki yönlü optik verileri depolamak amaçlı potansiyel uygulamalarıyla beraber farklı foto fiziksel özelliklere de sahiptir (Rix, 2005).

Schiff bazları ya da diğer adıyla imin oluşumu, primer aminler ve karbonil bileşiklerin tepkimesi sonucu iki ana kademedede sentezlenmektedir. Birinci kademedede, primer âminle karbonil grubun kondenzasyon reaksiyonu sonucu karbonil âmin ara bileşiği meydana gelmektedir. İkinci kademedede ise Schiff bazının meydana gelmesi karbonil amin ara bileşiğinin dehidratasyonu sonucu olmaktadır.



Şekil 2.7. Schiff bazı sentezi birinci kademe

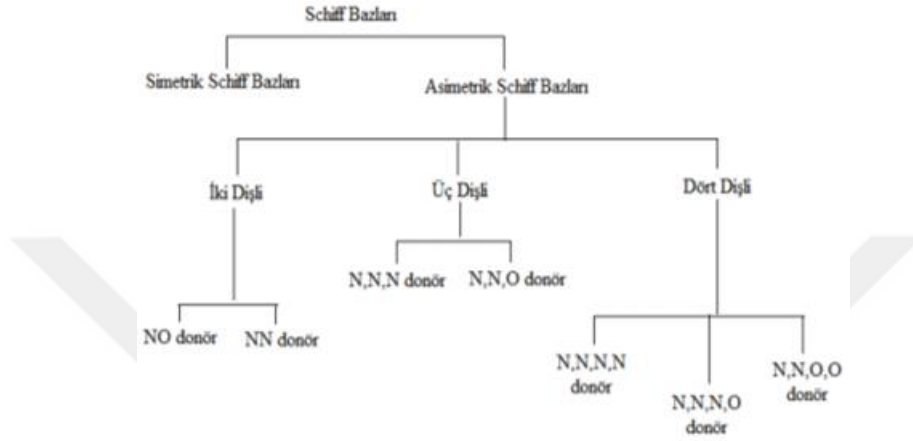


Şekil 2.8. Schiff bazı sentezi ikinci kademe

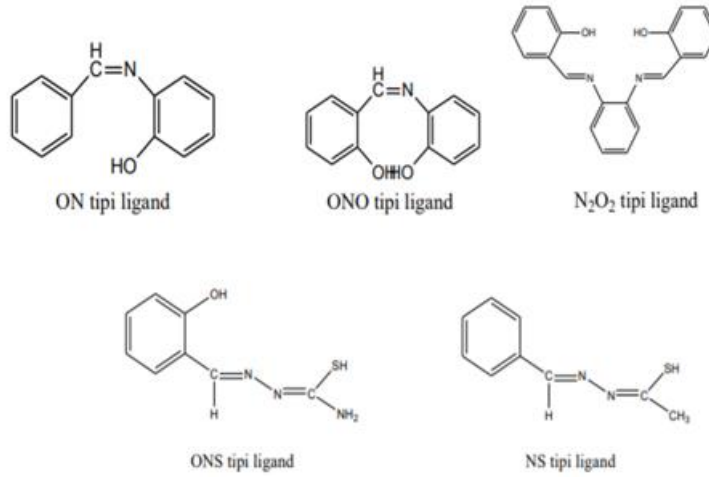
Schiff bazı sentezi ya da imin oluşumu pH' ya bağımlı olan bir tepkimedir. pH <3 olması durumunda aminin tuzu oluşarak serbest amin derişimi ciddi ölçüde düşer. Bu durumda, normalde hızlı devam eden katılma basamağı yavaşlayarak tepkime mekanizmasında hızı belirleyecek basamak olur. Asitliğin azalması durumunda ise birinci kademe daha hızlı ikinci kademe ise daha yavaş yürür. Sentez için en uygun olan pH, bu iki ucun arasındaki pH'dır (pH=3-4 arası).

Schiff bazları reaksiyon sırasında kolayca hidroliz olabilirler bu yüzden sentezlerinin susuz ortamda gerçekleştirilmesi çalışma için daha verimli olacaktır. Reaksiyonda sonunda meydana gelen su, azeotrop olan karışım oluşturacağı bir çözücü ile uzaklaştırılmalıdır (Hasanoğlu, 2009). Aldehit ve amin çeşitliliği sayesinde çok sayıda Schiff bazı elde edilebileceği açıktır. Ancak elde edilen her Schiff bazının da iyi bir ligand olmadığı yapılan çalışmalar ile görülmektedir. Örnek olarak Ph-CH=N-Ph, Ph-CH=N-R fonksiyonel grubu olarak sadece imin grup ihtiva eden Schiff bazları ve türevleri içindeki en iyi ligandlar, imin gruba orto durumunda -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -OCH<sub>3</sub> gibi gruplar ihtiva edebilenlerdir (Koç, 2006).

Schiff bazlarının Diaminler ile elde edilmesi simetrik ve asimetrik (simetrik olmayan) Schiff bazları olmak üzere iki ana başlıkta toplanabilir. Bu iki ana başlık Schiff bazlarının buldukları donör atomlarının sayısı ve türüne bağlı olarak NO, N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ONO ligand olarak tekrar bölümlere ayrılmaktadır (Choudhary ve ark., 2006).



Şekil 2.9. Schiff bazlarının sınıflandırılması



Şekil 2.10. Schiff bazları NO, ONO, N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ONS, NS tipi ligandlar

**2.1.3. Schiff bazlarının kullanım alanları**

Schiff bazları oldukça geniş kullanım ve çalışma alanına sahiptirler. Polimer üretimi, bazı ilaçların hazırlanması, plastik sanayinde sıvı kristal teknolojisi, elektronik endüstrisi, kozmetik, analitik kimya ve boyar maddelerin üretimi gibi birçok alanda gittikçe önemi artan maddelerdir.

Schiff bazları iyi bir kemoterapik aktivite gösterdiklerinden dolayı endüstri ve ilaç sanayisinde kullanma alanının olduğu bilinmektedir. Eser elementlerle yaptıkları şelatlardan dolayı biyolojik sistemde oldukça önemli rol oynarlar. Buna bağlı olarak geniş farmakolojik etkiye de sahiptirler.

Schiff bazları uygun olan aldehit ya da ketonun primer aminle olan kondenzasyon sonucunda çok kolay elde edilebilirler. Genellikle katı, saydam ve renksiz olmasına rağmen renkli olarak da bulunabilen Schiff bazları bu özellikleri sayesinde boya endüstrisinde kullanılmaktadır (fenilin mavisi ve naftol mavisi gibi). Parfüm ve ilaç sanayisi gibi çeşitli alanlarda da karşımıza çıkmaktadır. Schiff bazı türevlerinden bazıları Likit kristal yapımında kullanılır. Ayrıca Schiff bazları ve metal kompleksleri radyofarmostik madde olarak radyoloji alanında da kullanılır.

Schiff bazları ve bazı metal kompleksleri, radyoaktif maddelerin zenginleştirilmesinde, kalitatif ve kantitatif tayinlerde ve plastik sanayi gibi birçok alanda önemli rol oynamaları nedeniyle özellikle son on yılda pek çok Schiff bazının sentezlenmesi ile ilgili yapılan araştırmalar oldukça artmıştır (Yaşar, 2016). Metal merkezine bağlı kolayca ligand değişimi yapabilmesini sağlayan, bazı metal komplekslerinin hidrofilik ve lipofilik özelliklerini dengeleyebilen fonksiyonel ligandlardır (Galanski ve ark., 2005).

Schiff bazları koordinasyon bileşik sentezinde ligand olarak kullanılırlar. Biyolojik sistemde önemli olan aminoasit, askorbik asit, katekol ve Serbest oksijen atomu gibi moleküllerin oksidasyonunda görev almaktadırlar (Niederhoffer, 1984; Karlin, 1993).

1930'lu yılların başlarında Schiff bazlarının bakır komplekslerine yönelik bir ilgi ortaya çıkmıştır. Günümüzde ise neredeyse her alanda Schiff bazı koordinasyon bileşikleri görülebilmektedir.

Schiff bazlarının biyokimya, analitik kimya ve koordinasyon kimyasında da önemi her geçen gün biraz daha artmaktadır. Enzimatik reaksiyonlarda ara ürün oluşturması, bazı bileşiklerde oksijen taşıyıcısı olması gibi özelliklerine ek olarak bazı metal iyonlarına karşı reaksiyon vererek spektrofotometrik reaktif olarak kullanımları da özellikle analitik kimyada önem taşımaktadır. Meydana gelen Schiff bazları keskin erime noktalarına sahiptirler. Metallerle kompleks verebilmeleri sayesinde karbonil bileşiklerinin tanınmasını sağlamaktadırlar ve bu özellik metal miktarlarının tayininde kullanılmaktadır (Ramesh ve Maheswaran, 2003). Ek olarak Schiff bazları ve türevlerinden bazıları böcek öldürücü ilaçlarda ve fungusid ilaçların bileşiminde de kullanılabilirler (Nath ve Goyal, 1995).

Schiff bazları metal deaktivatör olarak gaz yağı içerisinde kullanılır. PVC ve Polisikloksan için stabilazyonda disalisitidenpropilendiamin kullanılmaktadır. Ayrıca bu Schiff bazlarının nikel şelatının da termoplastik reçineler için ışık stabilizatörü olarak kullanılabilceği rapor edilmiştir.

Cory ve ark., Schiff bazı ve türevlerinin DNA ve RNA sentezlerini durdurucu etkisi olduğunu bu etkiyi ribonükleotit redüktaz enzimini inhibe ederek gerçekleştirdiklerini gözlemlemişlerdir (Cory ve ark., 1985). Bulut ve ark., ise Schiff bazlarının antimikrobiyal etkilerini araştırırken çok güçlü sitotoksik etkiye sahip olduklarını keşfetmişlerdir (Bulut ve ark., 2005).

2012’de Osowole ve ark., Schiff bazlarının bazı metal komplekslerinin antikanser ve antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. *In vitro* şartlarda gerçekleştirilen bu çalışmada (Pd (II)) metal kompleksinin MCF-7 hücre serisi üzerinde (insan göğüs adenokarsinoma) çok güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Yapılan başka bir çalışma ile *in vitro* ortamda Schiff bazlarının bazı metal komplekslerinin antimikrobiyal ve antikanser aktiveleri araştırılmış ve (Pd (II)) ve (Cu (II)) metal komplekslerinin MCF-7 (insan göğüs adenokarsinoma) hücrelerine karşı, (Pd (II)) metal kompleksinin de HT-29 (kolon karsinoma) hücrelerine karşı büyük ölçüde etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Osowole ve Akpan, 2012).

2008’de yapılan bir çalışmada azot ihtiva eden bazı Schiff bazı ve türevlerinin K562 (insan kronik myeloid lösemi) hücreleri ile Jurkat (insan T lenfosit karsinoma) hücrelerine karşı önemli ölçüde antitümör aktivite gösterdiği gözlenmiş ve bazı Schiff bazı metal komplekslerinin, CDP (6-(cyclohexylamino)-1,3-dimethyl-5(2-pyridyl)furo[2,3-d]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione) ligand kullanımı ile birlikte antikanser aktivite göstermişlerdir. Bu araştırma sonucu ile kemoterapi için yeni bir umut ışığı ortaya çıkmıştır (Shabani ve ark., 2008).

Schiff bazlarının üçlü bakır komplekslerinden salisilaldehit-amino bileşikleri ile yapılan çalışmada, BGC823 (insan gastrit kanser hücre) üzerinde apoptozisi uyatarak etkili olduğu ve hücre döngüsünde bazı değişikliklere sebep olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmacılar çalışmanın *in vivo* şartlarda da devam edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Guo ve ark., 2009).

Mohsin Ali ve ark., tarafından 2012’ de yapılan araştırma ile vanillin semikarbazon’ un EAC (ehrlich ascites karsinoma)’ lı ortalama 6 haftalık Swiss albino fareleri üzerinde büyük oranda antikanser aktivite özelliğinin olduğu görülmüştür.

Koordinasyon kimyasında önemli rol oynayan ve bileşiklerinde sentezinde ligand olarak kullanılan Schiff bazları; katekol, serbest oksijen ve aminoasit gibi biyolojik açıdan önemli moleküllerin oksidasyonunda büyük rol oynamaktadır (Vinusha ve ark., 2019).

Jesmin ve ark., 2010 yılında, 6-8 haftalık Swiss albino farelerle, PDH [N-(1-phenyl-2-hydroxy-2-phenyl ethyldine)-2', 4' dinitrophenyl hydrazine], PHP [N-(1-phenyl, 2-hydroxy-2-phenyl ethylidene)-2' hydroxy phenyl imine] ve HHP [N-(2-hydroxy benzyldine)-2' hydroxy phenyl imine], schiff bazı bileşiklerinin yaptıkları çalışmalar ile bu Schiff bazlarının güçlü bir antitümör ajan olabileceklerini bildirilmişlerdir.

Yılmaz ve ark., Schiff bazı kompleksi olan 4 -(1-fenil-1-metil siklobütül-3-il)-2-(2-hidroksibenzilidenhidrazino) tiyazol ve çinko-bakır komplekslerinin oksidatif stres üzerine etkileri üzerinde çalışmışlar ve çinko-ligand kompleksinin bir antioksidan gibi davrandığını, ligandın bir oksidatif stres oluşturmadığını, bakır-ligand kompleksinin ise oksidatif stres oluşturduğunu rapor etmişlerdir (Yılmaz ve ark., 2003).

Vanco ve ark., 2004'de bazı Schiff bazları kompleksleri ve tıyoüre ile pürivik asitten türemiş olan (Cu(II)) metal komplekslerini elde etmişlerdir. Bileşiklerin antiradikal aktivitelerini *in vitro* ve *in vivo* şartlarda da incelemişlerdir.

Schiff bazlarının, özellikle kükürt içeren bazı metal komplekslerinin antikanser etki sağlaması kanıtlandıktan sonra bu metal komplekslere gösterilen alaka daha da artmaya başlamıştır (Klayman ve ark., 1983; Scovill ve ark., 1982; Mirabelli ve ark., 1987; Patel ve ark., 1989). Aldehitler oldukça kolay bir şekilde primer aminlerle reaksiyona girerken, ketonların aminler ile reaksiyonu kolay değildir.

Ketonlardan Schiff bazı elde etmek için kabul edilebilecek pH değeri, uygunkatalizör seçimi, reaksiyon sonucunda ortaya çıkan su ile azeotrop oluşturacak çözücü belirlenmelidir. Ayrıca reaksiyon için gerekli sıcaklık faktörlerinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Aromatik aminler ve aldehitlerden oluşan Schiff bazları, alifatikaminlerle aldehitlerden oluşmuş olan Schiff bazlarından çok daha kararlıdır (Mülazımoğlu, 2009).

Schiff bazı ve ligandlarının şelat geçiş metallerine karşı gösterdikleri kimyasal ve farmakolojik özellikleri ile kuvvetli eğilimleri; antitümör, antiviral, antineoplastik ve antiinflamatuvar ajanları olarak potansiyel uygulamalarından dolayı büyük dikkat çekmiş ve bu nedenle geniş çapta araştırmalar yapılmıştır (Singh ve Kumar, 2006).

#### **2.1.4. Schiff bazlarının metal kompleksleri**

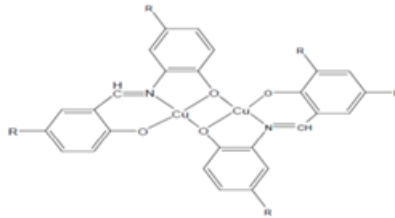
Schiff bazlarının bilinen en karakteristik özelliklerinden biri metaller ile kompleks teşkil edebilmesidir. Bu gruba ait bir başka özellik ise metal iyonları ile kararlı kompleks oluşabilecek kadar yeterli bazlığa sahip olmamasıdır. Bu yüzden kararlı kompleksler oluşturabilmek için molekülde kolayca hidrojen atomu verecek bir ilave grubun bulundurulmasına ihtiyaç vardır. Bu tercihen bir hidroksil grubu olmalıdır ki metal atomu ile beş ya da altılı şelat halkası meydana getirebilsin.

Schiff bazlarının koordinasyon bileşikleri sentezlerinde ligand olarak kullanılmasından dolayı birçok bilim insanı bu alanda araştırma yaparak çeşitli komplekslere ulaşmışlardır. Schiff bazlarının yapılarında oksokrom grupları bulunması durumunda bunlardan meydana gelecek olan metal kompleksler renkli olduklarından boya ve tekstil endüstrisinde boya maddesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Schiff bazı ve metal komplekslerinin güçlü antikanser aktivitesi göstermesinden dolayı kanserle mücadele de reaktif olarak kullanılmakta ve tıp dünyasındaki önemi de giderek artmaktadır.

Geçiş metal komplekslerinin sentezleri, metotları ve yapı-özellik ilişkilerinin incelenmesi ile ilgili çalışmalar 1960'lı yılların başında başlayarak geniş kapsamlı incelenmiştir (Sacconi ve ark., 1962; Kogan ve ark., 1963).

Salisilaldiminler genellikle koordinasyon kimyasında en fazla çalışılan bileşiklerdir. Bunun nedeni; salisilaldimin ligandlarının kolay sentezlenebilmesi, farklı türlerinin (iki-, üç-, dört-, beş- dişli) bulunması, metallerle kolaylıkla tek ve iki çekirdekli ve değişik klaster tipi kompleksler oluşturabilmesive ayrıca bu bileşiklerde süstitüentlerin, salisilaldiminatlar ve elektronik etkileri ile onların hem fiziksel hem de kimyasal özellikleri arasında ki yapı-özellik bağlantılarının daha belirgin incelenebilmesinden kaynaklanmaktadır (Yamada ve Takeuchi, 1982; Carbondro ve ark., 2000).

5-süstitüe salisilaldehit ve ansüstitüe o-aminofenol ve süstitüe türetilen Schiff bazlar ile geçiş metal iyonları incelenmesi durumunda, (Cu(II)) metalkompleksinin yapısının dimer olduğu görülmektedir.



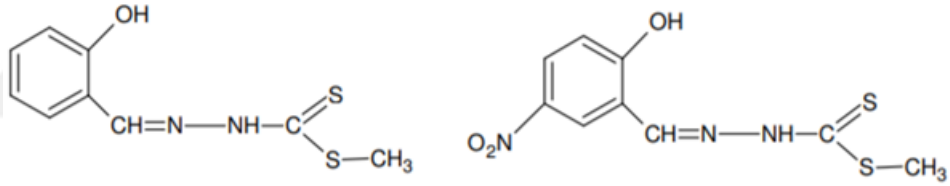
Şekil 2.11. Schiff bazı bakır kompleksi dimer hali

Yapılan bir araştırma ile yeni polidenter Schiff bazları ve (Cd(II)) ve (Cu(II)) metal komplekslerini sentezleyerek elde edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri, potansiyometrik ölçümlerini ve kararlılıklarını incelemiştir (Gölcü ve ark., 2005).

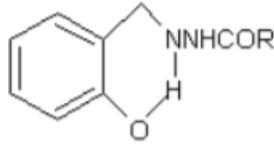
Schiff bazlarının metal komplekslerinin sentezlenmesi, bilinen üç yöntem ile yapılmaktadır. Bunlar; Schiff bazı ve metal tuzun doğrudan etkileşmesi (March ve ark., 1972), Metal tuz, aldehit ve aminin template olarak kondenzasyonu (Fernández ve ark., 2001), Aminler ve aldehit komplekslerinin kondenzasyonu (Krygowski ve ark., 1997)' dur.

En çok bilinen Schiff bazlarından biri bis(salisilaldehit)etilendiamin'dir. Bu ligand, dört dişli (2N,2O) veasidik (iki OH)'den meydana gelmektedir. Diğer Schiff bazları ise mono, di, tri ya da tetra fonksiyonlu olabilmektedir. Mononükleer, binükleer ve polimerik türlerin oluşumunun kompleks türlerine örnek olarak verebiliriz.

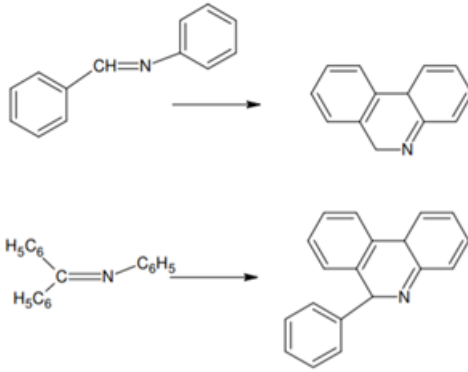
S-metilditiyokarbazit ile Salisilaldehit(ya da asetilaseton) kondenzasyon reaksiyonu sonucu meydana gelen Schiff bazları;



Salisilaldehit (ya da asetilaseton) ile mutlak etanolde arilhidrazon'un kondenzasyon reaksiyonu sonucu meydana gelen Schiff bazları;



Halkalı yapıya örnek olan Schiff bazları;



Schiff bazlarının (Mn (II)) kompleksi, birçok mikroorganizmalarda, hayvan ve bitkilerin enzim sistemlerinde katalizör görevindedir. Aynı zamanda birçok yükseltgenme basamağına da sahiptir. (Mn (III)) iyonu ile yapılan çalışmalar artmaktadır (Ağır, 2011).

Spektroskopik yolla elde edilen Schiff bazı nikel şelatı, nikel-(II) N -(2-Hidroksiasetofenon) olarak karakterize edilmiştir. Yapılan bu araştırma ile çalışılan Schiff bazının MDR'nin üstesinden gelebilen ve büyük ölçüde etki gösterebilen antikanser ajanı olduğu kanıtlanmıştır (Banerjee, 2017).

Yapılan bir çalışmada yeni schiff bazı ligandı olan 7-hidroksi-3-formilkromonu fenil semikarbazon ile yoğunlaştırılarak hazırlanır. Bu ligand (Cu (II)) iyonun ile kompleksleştirilmesi sonucunda insan akciğer karsinom (A549) ve meme kanseri (MCT-7) hücre hatları üzerinde yüksek düzeyde antiproliferatif etkisinin olduğu belirlenmiştir (Kalıncı ve ark., 2018).

Uzun zamandır tıbbi kimya, organik kimya, kozmetik ve gıda sektöründe kullanılan kumarin türevleri, geniş çapta antikoagülan olarak da kullanılmaktadır. Özellikle antitümör ve antibakteriyel aktiviteleri ile hayati önem kazanmaktadır. Schiff bazlarının poliferatif inhibitör olarak birçok insan tümör hücreleri üzerinde etki gösterdiği bilinmektedir (Ling ve ark., 2012).

Schiff bazlarının metal kompleksleri; indirgeme, epoksitleşme karbonilleme hidroformilasyon ve yükseltgenme ve gibi katalizör olarak kullanılmaları sebebi ile, ilgili çalışmalar daha fazla önem taşımaktadır.

## **2.2. Antimikrobiyal aktivite**

Mikroorganizmaların gelişmesini belirli miktarlarda engelleyebilen antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı doğal maddeler (inhibitörler) bulunurlar. Antimikrobiyal maddeler biyolojik kökenli, mikroorganizma gelişimini engelleyen maddelerdir. Mikroorganizmalar tarafından üretilen ve doğal ürünler olan antimikrobiyaller; seçici toksisiteye sahip olmaları nedeniyle çok düşük konsantrasyonlarda bile mikroorganizmalara zarar verebilirler (Schlegel, 1992; Demain, 1999).

Günümüzde özellikle antibiyotiklere dirençli bakterilerin meydana getirdiği enfeksiyonlardan dolayı mortalitede önemli ölçüde artış gözlenmektedir. Antimikrobiyal ilaçlara dirence bağlı olarak, her yıl yaklaşık binlerce kişi hayatını kaybetmektedir.

Özellikle immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanan, majör ameliyatlı, kanser tedavisi gören, AIDS'li, organ ya da hematopoetik kök hücre transplantasyonu geçirmiş olanlar ve yaşlılar risk altındadırlar (Nucci ve Marr, 2005). Bu nedenle ilaç direnci gelişimi ve bu gelişimden kaynaklanan ölümcül hastalıklara istinaden yeni antimikrobiyal ajanlara acil ihtiyaç duyulmaktadır.

### 2.2.1. Schiff bazlarının antimikrobiyal etkileri

Schiff bazları ve metal komplekslerini neredeyse her alanda karşımıza çıkmaktadır. Schiff bazlarının kolay sentezlenmesi, birçok metal ile kompleks oluşturabilmesi, antiviral, antimikrobiyal, antibakteriyel gibi pekçok özelliğinden dolayı yeni ilaç araştırmalarında en sık çalışılan kimyasallardandır. Diğer bir yandan dirençli mikroorganizmalarla ilgili antimikrobiyal ilaç kullanımında en verimli sonuca varmak için, klinik üzerinde antimikrobiyal aktivitelerin belirlenmesi gerekli hale gelmiştir.

Schiff bazı ve komplekslerinin birçok alanlar ile birlikte antibakteriyel ajanlar olarak da umut vaat ettiği önceki çalışmalar ile rapor edilmiştir (Karthikeyan ve ark., 2006; Shi ve ark., 2007). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile Schiff bazlarının bazı bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (İspir, 2005).

Vanilin Schiff bazı (Cu(II)) kompleksi ile yapılan çalışmada bileşiklerin antifungal aktivitelerinin maya suşlarına karşı ve antibakteriyel aktivitelerinin gram (+) ve gram (-) bakteri suşlarına karşı araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlar ile bileşiklerin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere ve mayalara karşı büyük ölçüde antimikrobiyal etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. *C. albicans* ve *A. niger* suşlarına karşı [Cu(HL)(phen)(OAc)] kompleksinin önemli derecede antifungal aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Tabassum ve ark., 2013).

2014' de Shebl yaptığı çalışma ile *E. coli*, *C. albicans* ve *S. aureus* suşlarına karşı, yeni asimetric Schiff bazı ligandı olarak (Cu(II)), (Fe(II)), (Ni(II)), (Co(II)) ve VO<sup>2+</sup> komplekslerinin antibakteriyel ve antifungal özelliklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucu ile Schiff bazı ve birçok kompleksinin antifungal ve antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları ve komplekslerin ise ligandlara göre daha fazla etki gösterdikleri belirtilmiştir.

Yaptıkları çalışmada, anilin ve 3,5-bis(triflorometil)anilinden elde edilen yeni bir Schiff bazı ligandının antimikrobiyal ve DNA'ya bağlanma özelliklerini broth mikrodilüsyon ve UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi yöntemi ile incelemiştir. Bileşik için artan DNA konsantrasyonu ile birlikte 278 ve 310 nm'deki absorpsiyonun sırası ile %133,5 ve %46 hipokromizm ile beraber 19 nm ve 1 nm batokromik kayma olduğunu ve bileşiğin DNA'ya elektrostatik olarak ve interkalasyonla bağlanabildiğini rapor etmişlerdir. Bu antimikrobiyal aktivite araştırma sonucunda ligandın test edilen mikroorganizmalara karşı 32-128 µg/µl konsantrasyon aralığında etkili olduklarını gözlemlemiştir (Yıldız ve ark., 2015).

Kiran ve ark., (2015), sentezlenen yeni Schiff bazı (Cu(II)) metal kompleksinin (4a4h) sitotoksik ve antimikrobiyal aktivitelerini, DNA'ya bağlanma özelliklerini araştırmışlardır. DNA'ya bağlanma özellikleri viskozite ölçümleri ve UV-Vis absorpsiyonu ile incelenmiş ve DNA'ya interkalasyon yaparak bileşiklerin bağlandığını göstermişlerdir.

Bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri agar difüzyon metodu ile çalışılmış ve test edilen Gram (+) ve Gram (-) bakteriler ile mayalara karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını gözlemlemiştir. Bileşiklerin sitotoksiteleri için MTT metodu ile çalışılmış ve insan kanser hücre hattı olan hepatoselüler karsinoma (HepG2)'ya karşı incelenmiş, 4d ve 4h komplekslerinin yüksek sitotoksik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Schiff bazlarının (Cd(II)) ve (Cu(II)) komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış ve *C.tropicalis* ile *B.megaterium* karşı etkili oldukları görülmüştür (Gölcü ve ark., 2005). Choudhary ve ark., (2006) tarafından yapılan bir çalışmada Schiff bazlarının bazı platin komplekslerinin antitümoral aktivite gösterdiğini, halo ve nitro ve türevlerinin de antimikrobiyal ve antimütörel aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Mahadevan ve Palaniandavar yaptıkları bir çalışma ile Schiff bazı metal komplekslerinin ligandlara göre daha güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduklarını saptamışlardır. Bu etkiyi ise Şelasyon teorisi olarak açıklamışlardır. Merkezdeki metal atomun şelatlama etkisi ve molekülde azometin grubunun varlığı antimikrobiyal aktiviteyi artırır. Metal iyonu ligand ile şelatlanırsa, ligand orbitalin çakışması ve donör gruplarıyla metal iyonu kısmi paylaşımı sebebiyle polaritesinde önemli ölçüde düşüş olacaktır. Bunlara ek olarak, halkalaşma ile meydana gelen delokalizasyonunu artması sonucunda metal komplekslerinin lipofilitesi artacaktır.

Sonuç olarak, metal kompleksleri mikroorganizma enzimlerinin metal bağlanma bölgelerini engelleyebilir ve lipid membranına kolaylıkla nüfuz edebilir. Ayrıca, bu metal kompleksleri hücrenin respirasyon aşamalarına etki ederek protein sentezini durdurabilir ve organizmanın büyümesini sınırlayabilir (Padjama ve ark., 2012).

Schiff bazlarının antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde yapılan bir çalışmada; farklı çözücülerde çözülmüş olan, belirli potansiyel patojenler üzerinde etki gösteren 4-aminobenzoik asit türevi Schiff bazının 4-[(3-nitrobenzylidene) amino]benzoic acid (JP6)), 4-[(4-hydroxy-3-methoxybenzylidene)amino]benzoic acid (JP5) , (4-[(2-klorobenzi-lidin)amino] benzoik asit (JP1), 4[(2-hydroxybenzylidene) amino] benzoik asit (JP4), 4-[(furan-2-ylmethylene)amino] benzoik asit (JP2), 4-[(3-phenylallylidene)amino]benzoik asit (JP3) ve 4[(2-hydroxybenzylidene) amino] benzoik asit (JP4); *S. typhimurium* ATCC 23564, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* NCIM 8313, *A. faecalis* ATCC 8750, *S. aureus* ATCC 25923, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* NCIM 2719 ve *E. coli* ATCC 25922 üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çözücü olarak DMSO ve 1,4-dioxane kullanılmış ve 1,4-dioksanda çözülen Schiff bazlarının, DMSO' da çözülen Schiff bazlarından daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdikleri görülmüştür (Parekh, 2005).

### 2.3. Schiff bazlarının antibakteriyel aktiviteleri

Bakteri direnci dünya çapında sağlığı tehdit eden önemli bir sorundur. Birçok çalışma bakterilerin tedavi esnasında maruz kaldığı ilaca karşı direnç kazandığını ispatlamıştır. İlaç direnci tedavisinde; yeni antibiyotik üretilmesi, kolistin gibi eski antibiyotiklerin yeniden gündeme gelmesi ve kombinasyon tedavileri, gibi birçok tedavi yöntemi kullanılmasına rağmen henüz etkin bir ajan bulunamamıştır. Bu nedenle yeni ve etkin antimikrobiyal ve antibakteriyel ajan arayışı devam etmektedir. Yapılan birçok çalışma ile Schiff bazlarının güçlü antibakteriyel, antimikrobiyal ve antitümörül aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır.

Yapılan başka bir çalışma ile 8-hidroksikinolin- 2-karboksaldehit ve uçlarda amin grubuna bağlı olan polieter (Jeffamin ED) reaksiyonu ile elde edilen polimerik Schiff bazının antifungal ve antibakteriyel aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Mledenova ve ark., 2002).

Gaballa ve ark., (2007), o-fenilendiamin ve p-fenilendiamin ile salisilaldehit'in, o-fenilendiamin ve p-fenilendiamin ile 2-furaldehit'in reaksiyon sonucunda sentezledikleri Schiff bazı ve (Pt(II)) kompleksinin yapısını; termal analiz, IR, UV-Vis ve elemental analiz, ile karakterize etmişlerdir. Bu ligand ve metal komplekslerinin *E. coli*, *P. aereuginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* bakterileri, *S. cervisiae*, *A.niger*, *C. albican*, *A. Fluves* mantarlarına karşı antibakteriyel etkilerini test etmişlerdir. Bazı komplekslerin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerini belirlemişlerdir. Bir numaralı kompleksin *S. aureus* ve *B. subtilis*'a karşı MİK değeri 75 µmol mL<sup>-1</sup>, *A. fluves* ve *A. niger*' a karşı MİK değeri 100 µmol mL<sup>-1</sup> olarak belirlemişlerdir.

Yapılan bir çalışmada 1,2-diaminoetan ile salisilaldehit reaksiyonu sonucunda N,N'-etilenbis(salisilidenimin) ligandı sentezlenmiştir. Bu Schiff bazının, (Ti(IV)), (Co(II)), (Cu(II)) ve (Ni(II)) komplekslerini sentezleyerek bu bileşiklerin UV-Vis, elemental analiz ile yapılarını aydınlatmışlardır.

Sentezlenen metal komplekslerin *Alternaria* ve *Fusarium* karşısında antifungal aktivitelerini test etmişlerdir (Temel ve ark., 2004). Çalışma sonucu ile Schiff bazlarının bazı komplekslerinin antifungal aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Akbar ve ark., (2002) tarafından S-methyl ve S-benzylidithiocarbazate aseton Schiff bazlarının platinum(II) ve palladium(II) komplekslerinin antimikrobiyal etkileri; *Aspergillus ochraceous*, *Saccharomyces cerevisiae* (20341), *Bacillus subtilis*, *Candida lyptica* (2075), metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), *Candida albicans* ve *P. aeruginosa*, üzerinde test edilmiş ve platinum(II) ve palladium(II) kompleksleri test mikroorganizmalarının çoğunda etki göstermemekle beraber, platinum(II) kompleksine karşı *P. aeruginosa*'nın yüksek hassasiyet gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin L-lymphoblastic leukomia kanser hücrelerine karşı çok düşük sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir. Buna rağmen palladium(II) bileşiklerinin, standart bir kanser ilacı olan tamoxifen'den daha az sitotoksik etki gösterdiği göz ardı edilmemelidir.

Yapılan başka bir çalışma ile Schiff bazlarının *Mycobacterium tuberculosis* üzerindeki etkisi hem *in vitro* hem de fareler üzerinde *in vivo* olarak test edilmiş ve düşük toksisite, yüksek aktivite özellik gösterdiği belirtilmiştir (Hearn ve Cynamon 2003).

Aminoasit Schiff bazları üzerinde yapılan pek çok araştırma ile birçok aminoasit Schiff bazının hem bakteri hem de mantarlar üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir (Köksal, 2001). Şakıyan ve ark., (2004) tarafından yapılan çalışmada aminoasit Schiff bazlarının mantarlar üzerindeki etkilerinin bakteriler üzerindeki etkilerden daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Gölcü ve ark., (2005) tarafından yapılan çalışma ile polydentate Schiff bazı ligandlarının (Cu(II)) ve (Cd(II)) bileşiklerine karşı antibakteriyel aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir.

Rao ve ark., (1990) tarafından yapılan çalışmada ise tridante ligandlarının bazı bakteriler üzerinde antibakteriyel aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Sentezlenen yeni nötral Schiff bazları ve (Zn(II)), (Co(II)) ve (Cu(II)) komplekslerinin *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* bakterileri ve mantar *Rhizoctonia bataicola*, *Aspergillus niger* üzerindeki aktiviteleri çukur difüzyon metodu ile test edilmiş ve çalışma sonucunda metal komplekslerin, serbest ligandlardan daha fazla etki gösterdiği görülmüştür (Raman ve ark., 2005).

## **2.4. Antimikrobiyal Ajan Araştırılmasında Kullanılan Yöntemler**

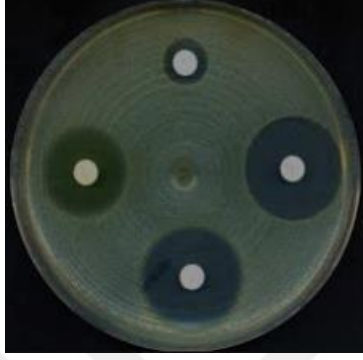
Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde başlıca 2 metod kullanılmaktadır. Bunlar "difüzyon" ve "dilüsyon" yöntemleridir.

### **2.4.1. Difüzyon testleri**

#### **2.4.1.1. Disk difüzyon testi**

KirbyBauer tarafından geliştirilen ve bu isimle de anılan Disk difüzyon testleri ucuz ve uygulaması basit olduğundan dolayı laboratuvarlarda en sık kullanılan antibiyotik duyarlılık testi olarak bilinmektedir. Disk difüzyon testi; antibiyotik emdirilmiş olan kağıt disklerle, duyarlılığı araştırılmak istenen organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze edilmesi temeline dayanmaktadır. Bu amaçla, belirli miktarlarda antibiyotik emdirilmiş olan kağıt diskler, test edilmek istenen mikroorganizmanın yoğun bir şekilde inoküle edildiği katı besiyerlerine yerleştirilir. Bir süre sonra diskler çözünüp agara doğru difüze olmaya başlarken, inoküle edilmiş olan mikroorganizma da çoğalmaya başlar. İlacın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde belirli bir inkübasyon süresinden sonra üreme görülmez.

Mikroorganizma ilaca karşı ne kadar duyarlı olursa, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu da o kadar geniş olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm cinsinden ölçülerek, standart zon Çizelgelerine göre değerlendirmeler yapılır ve mikroorganizmanın kullanılan antimikrobik ajanlara karşı duyarlılık durumu belirlenir.



Şekil 2.12. İnhibisyon Zonu

#### **2.4.1.2. E-test**

Katı besiyerinde, difüzyon yolu ile MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerlerinin belirlenmesi imkan sağlayan yöntemler de bulunmaktadır. E-test yöntemi ise bu prensibe dayalı bir yöntemdir. MİK, patogenin üremesine mani olan en düşük ilaç konsantrasyonu ifade eder.

Bu yöntemde; bakteri 0.5 McFarland yoğunluğa getirilerek Mueller-Hinton agara steril bir eküvyonla yayılır. Agar yüzeyine, belli bir antibiyotik gradienti içeren E-test şeritleri yerleştirilir. Plaklar 18-24 saat süre ile 35°C' de inkübe edilerek MİK değeri belirlenir.



#### 2.4.2.2. Agar dilüsyon

Agar dilüsyon yöntemini tüp dilüsyon yönteminden ayıran tek belirgin fark; agar dilüsyon yönteminde antibiyotik sulandırmalarının agar içine konulması ve petri plaklarına dökülmesidir. Böylelikle her plakta antibiyotik farklı konsantrasyonlarda bulunur.

### 2.5. Çalışmamızda Kullanılan Bakteri Türleri

#### 2.5.1. *Escherichia coli*

*Enterobacteriaceae* familyasından olan *Escherichia Coli*; çubuk şeklinde, hareketli, sporsuz, gram negatif, anaerob bakteriler ve önemli fırsatçı patojenlerdir. Önceki yıllarda zararsız gibi görünen *E. coli* için sadece enteropatojenik suşlarından bahsedilmiştir. Daha sonar ise *E. coli'* nin enterotoksijenik ve patojenik özellik gösterdiği ve çeşitli virulens faktörler içerdiği gözlemlenmiştir. Optimum 37°C – Maksimum 44 °C' de ürerler. Gliserol, maltoz, mannitol ve parçalanabilirler.

#### 2.5.2. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonadaceae* familyasına bağlı olan *Pseudomonas aeruginosa*; sporsuz, genellikle kapsülsüz, hareketli, gram negatif, aerobik veya fakültatif bakterilerdir *P. aeruginosa* genellikle 30-37°C arasında kolaylıkla üreyebilirler. Glikozu ve bazı karbonhidratları oksidasyon yolu ile parçalayarak asit oluştururlar. *Pseudomonas aeruginosa'* nın proteolitik enzim ve enterotoksin özellikli hücre dışı salgılarının olması ve fırsatçı patojen özelliklerinin bulunması ile çeşitli hastalıkların oluşmasına sebep olurlar. Solunum sisteminde, infeksiyon deride, iç organlarda nodul ve ülserlerin meydana gelmesi ile karakterize olurlar. Zoonoz bir hastalıktır.

### 2.5.3. *Staphylococcus aureus*

İnsan ve hayvanlar için fırsatçı patojen olan *Staphylococcus aureus*; kapsülsüz, sporsuz, ve gram pozitif koktur. İnsan vücudunda farklı yerlerde kolonize olabılırlar. Başta burun mukozası olmak üzere, deri, daha az bağırsak ve diğer mukuzaların normal florasında bulunabilen bakterilerdir. İnsan ve hayvanlarda piyojenik enfeksiyon gıda zehirlenmesi yapabilen bir stafilokoktur. Bu bakteriler %10 ve daha az NaCl içeren ortamda üreyebilirler. Başta glikoz olmak üzere çeşitli karbonhidratları fermantatif olarak parçalayıp son ürün olarak laktik asit yaparlar.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

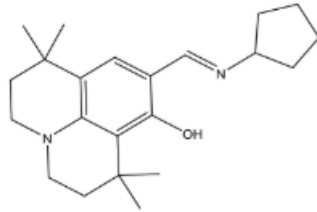
#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kimyasal bileşikler

Salisilaldimin Ligandları(1,1,7,7-Tetra-Metil-Jululidin-N-Pentil-Salisilaldimin, N-Hekzil, N-Heptil, N-Oktil heterohalkalı salisilaldiminler) ve bunların (Cu (II)) kompleks bileşikleri (**Bileşik 1-8**) Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya Anabilim Dalı' ndan temin edildi. Kimyasallar 10 mM dozunda alkolde çözüldükten sonra şırınga tip 20 nM por çaplı filtrelerden geçirilerek sterilize edildi.

**Bileşik 1:** 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-pentil-salisilaldimin

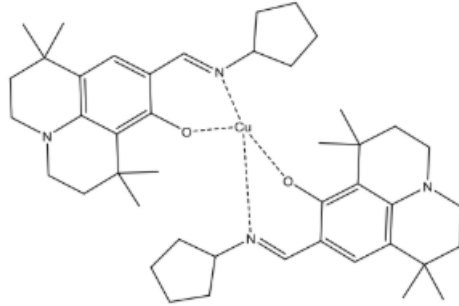
**MA:** 340,50 g/mol (Abacıoğlu, 2018)



Şekil 3.1. Bileşik 1' in açık formülü

**Bileşik 2:** 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-pentil-salisilaldimin (Cu (II)) kompleksi

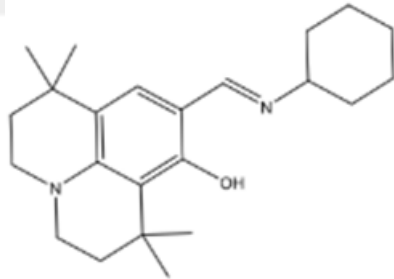
**MA:** 742,55 g/mol (Abacıoğlu, 2018)



Şekil 3.2. Bileşik 2' nin açık formülü

**Bileşik 3:** 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-hekzil-salisilaldimin

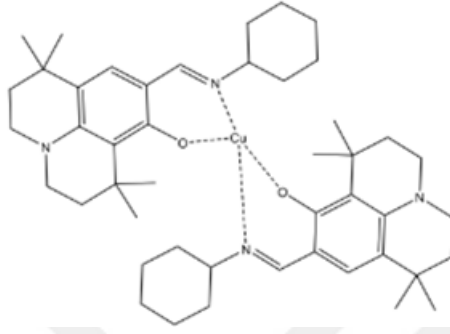
**MA:** 354,53 g/mol (Abacıoğlu, 2018)



Şekil 3.3. Bileşik 3' ün açık formülü

**Bileşik 4:** 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-hekzil-salisilaldimin (Cu (II)) kompleksi

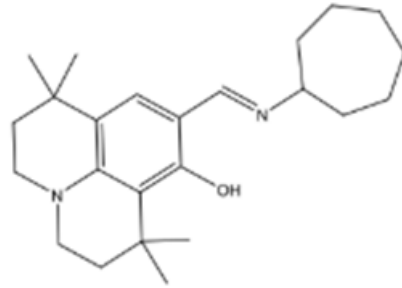
**MA:** 770,59 g/mol (Abacıoğlu, 2018)



Şekil 3.4. Bileşik 4' ün açık formülü

**Bileşik 5:** 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-heptil-salisilaldimin

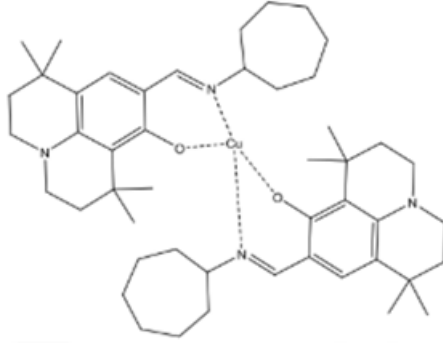
**MA:** 368,56 g/mol (Abacıoğlu, 2018)



Şekil 3.5. Bileşik 5' in açık formülü

**Bileşik 6:** 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-heptil-salisilaldimin (Cu (II)) kompleksi

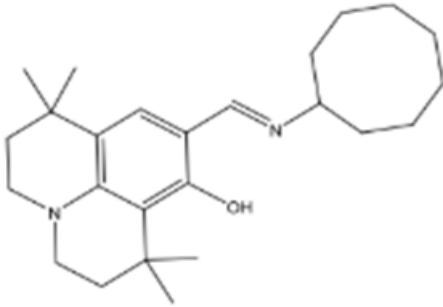
**MA:** 798,64 g/mol (Abacıoğlu, 2018)



Şekil 3.6. Bileşik 6' nin açık formülü

**Bileşik 7:** 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-oktil-salisilaldimin

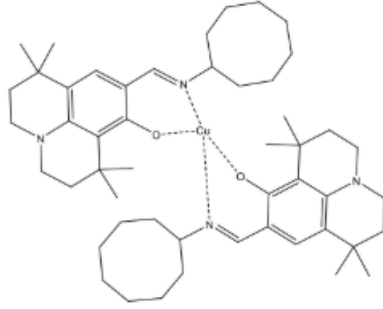
**MA:** 382,58 g/mol (Abacıoğlu, 2018)



Şekil 3.7. Bileşik 7' nin açık formülü

**Bileşik 8:** 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-oktil-salisilaldimin (Cu (II)) kompleksi

**MA:** 826,69 g/mol (Abacıoğlu, 2018)



Şekil 3.8. Bileşik 8' in açık formülü

### 3.1.2. Bakteri suşları

Çalışmada *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) liyofilize bakteri suşları kullanıldı. Bu bakteri suşları Bu bakteri suşları dünyada ve ülkemizde en çok direnç geliştiren bakteri suşlarından olup hastane enfeksiyonlarına neden olduğu için kullanıldı.

### 3.1.3. Besiyeri

Bakterilerin aktifleştirilmesi için ve antibakteriyel etki testlerinde MüllerrHinton Broth (Merck) (Ek 1) besiyeri kullanıldı.

### 3.1.4. Mc Farland standardı

Besiyerlerine 0.5 Mc Farland eşdeğerliğinde bakteri ( $0.5 \times 10^6$  CFU / mL) sayısının ölçümü için Mc Farland standartı hazırlandı.

### 3.1.5. MTT boyası

Çalışmamızda bakterilerin canlılığını saptamak için MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) boyası kullanıldı (Katalog numarası: M6494). MTT boyası 250 µM olacak şekilde hazırlandı.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Bileşiklerin analizlere hazırlanması

Salisilaldimin Ligandları (1,1,7,7-Tetra-Metil-Jululidin-N-Pentil-Salisilaldimin, N-Hekzil, N-Heptil, N-Oktil heterohalkalı salisilaldiminler) ve bunların (Cu (II)) kompleks bileşiklerinin molar çözeltileri, molekül ağırlıklarına göre 1 mM konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide (Sartorius) tartıldı.

#### 3.2.1.1. Bileşiklerin sterilizasyonu

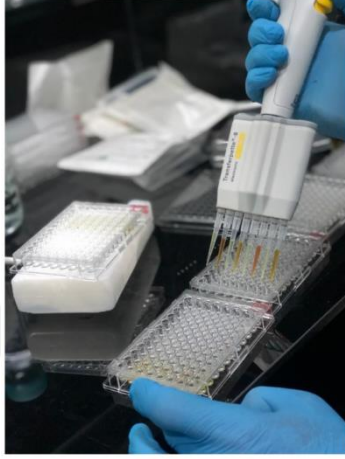
Alkol içerisinde çözülen bileşikler 1mM olacak şekilde 20 µM por çaplı enjektör tipi filtreden (Minisart®, Biotech, USA) geçirilerek steril edildi.

#### 3.2.1.2. Bileşiklerin doz ayarlaması

Salisilaldimin Ligandları (1,1,7,7-Tetra-Metil-Jululidin-N-Pentil-Salisilaldimin, N-Hekzil, N-Heptil, N-Oktil heterohalkalı salisilaldiminler) ve bunların (Cu (II)) kompleks bileşikleri, 1 µM, 10 µM, 100 µM, 1000 µM olarak alkolde çözüldükten sonra stok solüsyonları hazırlandı.

### 3.2.1.3. Kültür plaklarının hazırlanması

Bileşikler; 1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, ve 1000  $\mu$ M olacak şekilde 96 kuyucuklu kültür plaklarına 10  $\mu$ L hacimlerde, üçlü düzende (triple) eklendi. Çözücü olarak kullanılan alkol kontrol kuyucuklarına 10  $\mu$ L hacimlerde eklendi.



Şekil 3.9. Kültür plakları hazırlanmasına dair örnek

### 3.2.2. Bakteri kültürü

Bu yöntem ile lifofilize bakteri suşlarının ilk kültürleri başlatıldı. Temin edilen liyofilize formdaki bakterilerin için canlandırma ortamı hazırlandı. Bakteri canlandırmak için, 100 mL erlende 50 mL olacak şekilde hazırlanan canlandırma mediumu 121 °C de 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edildi. Sterilize edilen canlandırma ortamına (ilk hacim 5-7 mL, çözündükten sonra 50 mL ye transfer) liyofilize formdaki bakteri kültürü aseptik koşullarda aktarıldı. Bu canlandırma ortamları 35 °C ve 120 rpm' de dairesel hareketle çalkalayan inkübatörde 24 saat bekletilerek, bakteri kültürünün canlandırılması sağlandı. 24 saat sonra canlandırma ortamından alınan bakteri kültürü, petri kaplarında hazırlanmış katı besi yerine (müller hinton agar, 39 g/L) aktarıldı ve 37 °C de 48 saat inkübatörde bekletilerek, bakterinin katı besi yeri yüzeyinde çoğalması sağlandı. 48 saat sonucunda inkübatörden alınan petri kapları, daha sonraki uygulamalar da kullanılmak üzere +4 °C' de muhafaza edildi.

Mikrodilüsyon amacıyla, sıvı besiyeri içeren kuyucuklara 100' er µl eklendikten sonra bileşikler değişen dozlarda (1, 10, 100 ve 1000 µM) triple düzende eklendi. Bileşiklerin ekilmiş olduğu her kuyucuğa, bakteri suşları  $0.5 \times 10^6$  CFU/mL miktarında eklenecek ve 37 °C' de 24 saat inkübe edildi.

### 3.2.3. MTT uygulaması

Sarı renkli bir tetrazolium tuzu olan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) dehidrogenaz aktiviteleriyle suda çözünmesi çok zor olan mavi-mor renkli formazan tuzları oluşturmaktadır (Langdon, 2004; Korkmaz, 2002). Bakteri sayısının oranını oluşturan formazan tuzları ile hesaplanmaktadır (Holst ve ark., 2005). Formazan kristalleri DMSO, izopropanol veya formazan ürünlerini çözülebilen uygun çözücüler ile çözüldükten sonra spektrofotometrik olarak değerlendirilmektedir (Barile, 1994; Subhashini, 2005).

Heterohalkalı salisilaldimin ligandlarının ve bunların bakır komplekslerinin eklendiği 96 kuyucuklu kültür plaklarında bakterilerin 24 saatlik inkübasyonu sonucunda, kültür ortamındaki canlı ve ölü bakterilerin oranını belirlemek amacıyla MTT testi uygulandı. Bu amaçla 250 µM dozundaki MTT solüsyonu her bir kültür kuyucuğuna 10 µL eklendi ve aynı kültür ortamında 4 saat daha inkübe edildi. Bu esnada MTT kültür kuyucuklarında canlı bakteriler tarafından MTT-formazana çevrilerek kültür kuyucuklarında MTT' den kaynaklanan sarı renk, mor renkli tetrazolium tuzlarına dönüştürüldü.

Inkübasyon sonrası meydana gelen MTT-formazanın çözülmesi için dimetilsülfoksit (DMSO) her bir kuyucuğa 100 µL dozunda eklendi. DMSO etkisiyle kültür kuyucuklarında çözünen MTT-formazanın miktarıyla ilişkili olarak renk şiddetinde de artış gözlemlendi. Sonuçlar spektrofotometrede kolormimetrik olarak analiz edilmek üzere ELİZA plak okuyucuya (ThermoScientific) yüklenen kültür plakları optimum absorbansın elde edileceği 570 nM dalga boyunda okutuldu.

Kültür kuyucuklarından elde edilecek optik dansite (OD) değerleri her bir bileşik ve pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiklere ait MİK değerlerinin belirlenmesinde kullanıldı.

### 3.3. İstatistiksel analizler

Elde edilen veriler ortalama ve standart sapma (SD) olarak ifade edildi. MTT testinden elde edilen OD değerlerinden Homojenite testi yapılarak, test kuyucuklarından elde edilen verilerin güvenilirliği test edildi. MİK değerlerinin hesaplanmasında Lineer regresyon analizi kullanıldı. Test kuyucukları ve kontrol ile elde edilen OD değerlerinden, solvent körü kuyucuklarının OD değerleri ortaya çıkarılmıştır. Pozitif kontrol ile çalışmamızda kullanılan bileşiklerin oluşturduğu sitotoksik etki düzeyleri gösterilen formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Bakterisid etki} = 100 - \frac{\text{Ortalama OD test kuyucukları}}{\text{Ortalama OD kontrol kuyucukları}} \times 100$$

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

## 4.1. Araştırma Bulguları

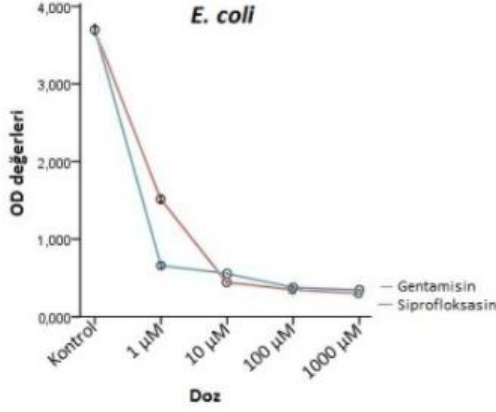
4.1.1. Gentamisin ve Siprofloksasinin *E. coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.1.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.1. Gentamisin ve Siprofloksasinin *E. coli* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar ( $\mu$ M)					Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
Genta	OD değeri	3.681 $\pm$ 0.0	1.498 $\pm$ 0.0	0.426 $\pm$ 0.0	0.334 $\pm$ 0.0	0.284 $\pm$ 0.0	P=0.014
		6	5	1	1	1	
	Antibakteriyel etki		% 59.3	% 88.4	% 90.9	% 92.3	
Sipro	OD değeri	3.681 $\pm$ 0.0	0.642 $\pm$ 0.0	0.539 $\pm$ 0.0	0.359 $\pm$ 0.0	0.330 $\pm$ 0.0	P=0.005
		6	3	0	2	0	
	Antibakteriyel etki		%82.6	%85.4	%90.2	%91.0	

*E. coli*' nin Gentamisin ve Siprofloksasin ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.1.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.1. Gentamisin ve Siprofloksasinin *E.coli*' üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Gentamisin'in *E. coli* üzerindeki MİK değeri 2.53 µM bulunmuşken, Siprofloksasin'in MİK değeri 2.36 µM olarak bulunmuştur.

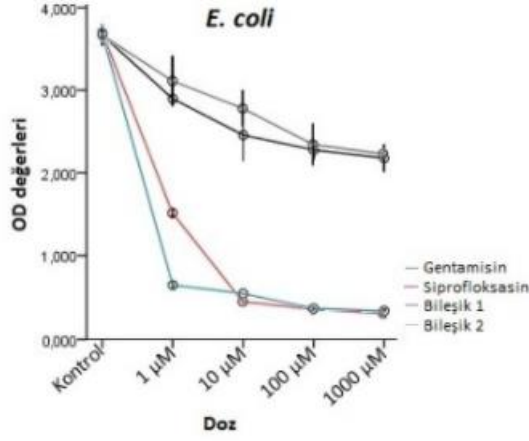
#### 4.1.1.1. Bileşik 1 ve Bileşik 2 nin *E. coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.2.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.2. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin *E. coli* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar (µM)					Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
<b>B 1</b>	OD değeri	3.681±0,0	2.913±0.0	2.472±0.1	2.293±0.0	2.195±0.0	P=0.174
		6	2	5	6	8	
	Antibakteriyel etki		% 20.9	% 32.9	% 37.7	% 40.4	
<b>B 2</b>	OD değeri	3.681±0.0	3.128±0.3	2.796±0.2	2.359±0.2	2.245±0.0	P=0.069
		6	2	3	6	2	
	Antibakteriyel etki		%15.0	%24.1	%35.9	%39.0	

*E. coli*' nin Bileşik 1 ve Bileşik 2 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.2.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.2. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin *E. coli*' üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 1' in *E. coli* üzerindeki MİK değeri 39.93 µM bulunmuşken, Bileşik 2' nin MİK değeri 104.30 µM olarak bulunmuştur.

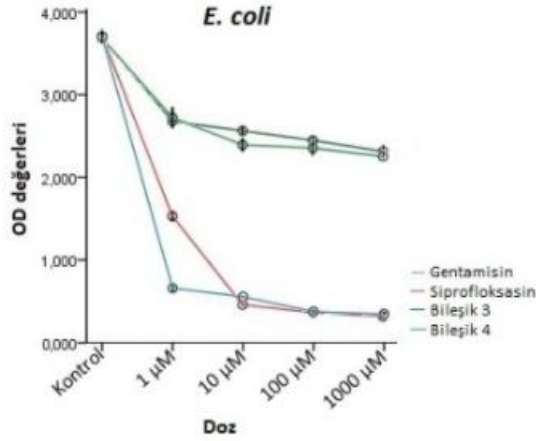
#### 4.1.1.2. Bileşik 3 ve Bileşik 4 ün *E. coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.3.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.3. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün *E. coli* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar ( $\mu\text{M}$ )					Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
<b>B 3</b>	OD değeri	3.681±0.0	2.679±0.0	2.562±0.0	2.447±0.0	2.312±0.0	P=0.581
		6	8	5	4	7	
	Antibakteriyel etki		% 27.2	% 30.4	% 33.5	% 37.2	
<b>B 4</b>	OD değeri	3.681±0.0	2.722±0.1	2.392±0.0	2.354±0.0	2.253±0.0	P=0.145
		6	3	8	9	2	
	Antibakteriyel etki		%26.1	%35.1	%36.1	%38.8	

*E. coli*' nin Bileşik 3 ve Bileşik 4 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.3.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.3. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün *E. coli* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 3' ün *E. coli* üzerindeki MİK değeri 58.11  $\mu\text{M}$  bulunmuşken, Bileşik 4' ün MİK değeri 38.47  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.

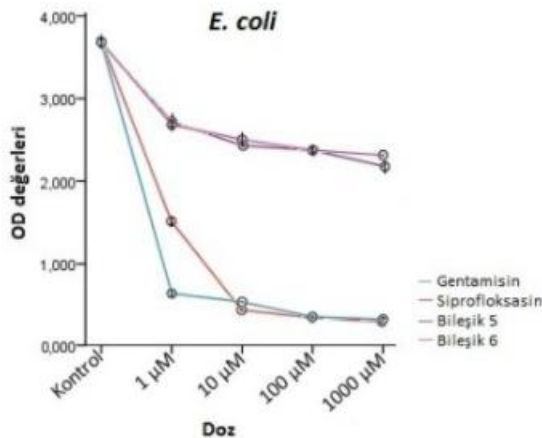
4.1.1.3. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın *E. coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.4.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.4. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın *E. coli* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar ( $\mu$ M)					Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
<b>B 5</b>	OD değeri	3.681 $\pm$ 0.0	2.725 $\pm$ 0.1	2.444 $\pm$ 0.0	2.385 $\pm$ 0.0	2.192 $\pm$ 0.0	P=0.355
		6	0	2	7	8	
	Antibakteriyel etki		% 26.0	% 33.6	% 35.2	% 40.4	
<b>B 6</b>	OD değeri	3.681 $\pm$ 0.0	2.684 $\pm$ 0.0	2.504 $\pm$ 0.0	2.374 $\pm$ 0.0	2.316 $\pm$ 0.0	P=0.368
		6	6	8	6	1	
	Antibakteriyel etki		%27.1	%32.0	%35.5	%37.1	

*E. coli*'nin Bileşik 5 ve Bileşik 6 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.4.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.4. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın *E. coli*' üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 5' in *E. coli* üzerindeki MİK değeri 38.29  $\mu\text{M}$  bulunmuşken, Bileşik 6' nın MİK değeri 48.3  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.

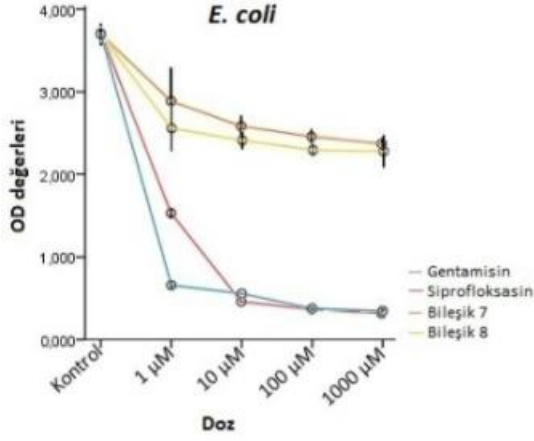
#### 4.1.1.4. Bileşik 7 ve Bileşik 8 in *E. coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.5.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.5. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in *E. coli* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar ( $\mu\text{M}$ )				Homojenite testi	
		Kontrol	1	10	100		1000
<b>B</b> <b>7</b>	OD değeri	3.681 $\pm$ 0.0	2.871 $\pm$ 0.2	2.566 $\pm$ 0.0	2.441 $\pm$ 0.0	2.352 $\pm$ 0.0	P=0.006
		6	0	6	4	3	
	Antibakteriyel etki		% 22.0	% 30.3	% 33.7	% 36.1	
<b>B</b> <b>8</b>	OD değeri	3.681 $\pm$ 0.0	2.554 $\pm$ 0.1	2.409 $\pm$ 0.0	2.293 $\pm$ 0.0	2.279 $\pm$ 0.1	P=0.152
		6	3	5	3	0	
	Antibakteriyel etki		%30.6	%34.6	%37.7	%38.1	

*E. coli*' nin Bileşik 7 ve Bileşik 8 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.5.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.5. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in *E.coli*' üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 7' nin *E. coli* üzerindeki MİK değeri 79.92 µM bulunmuşken, Bileşik 8' in MİK değeri 33.93 µM olarak bulunmuştur.

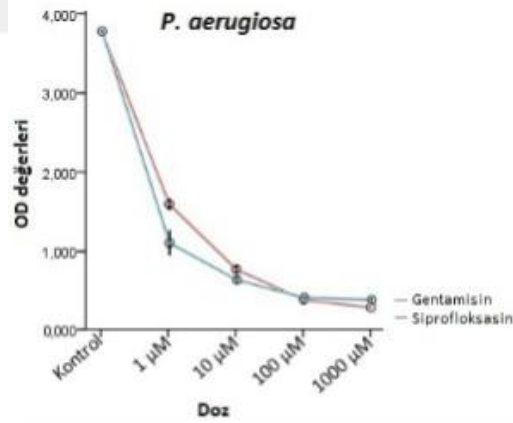
#### 4.1.2. Gentamisin ve Siprofloksasinin *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.6. 'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.6. Gentamisin ve Siprofloksasinin *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

	Kontrol	Dozlar ( $\mu\text{M}$ )				Homojenite testi	
		1	10	100	1000		
Genta	OD değeri	3.715 $\pm$ 0.0	1.532 $\pm$ 0.0	0.706 $\pm$ 0.0	0.324 $\pm$ 0.0	0.228 $\pm$ 0.0	P=0.012
		1	7	5	1	1	
	Antibakteriyel etki		% 58.8	% 81.0	% 91.3	% 93.9	
Sipro	OD değeri	3.715 $\pm$ 0.0	1.042 $\pm$ 0.1	0.575 $\pm$ 0.0	0.349 $\pm$ 0.0	0.323 $\pm$ 0.0	P=0.001
		1	3	4	2	1	
	Antibakteriyel etki		%71.9	%84.5	%90.6	%91.3	

*P.aeruginosa*' nin Gentamisin ve Siprofloksasinle 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.6.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.6. Gentamisin ve Siprofloksasinin *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Gentamisinin *P.aeruginosa* üzerindeki MİK değeri 2.63  $\mu\text{M}$  bulunmuşken, Siprofloksasinin MİK değeri 2.50  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.

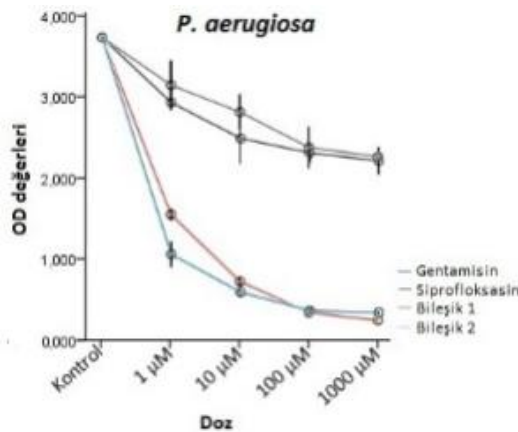
4.1.2.1. Bileşik 1 ve Bileşik 2 nin *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.7.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.7. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar ( $\mu$ M)					Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
<b>B 1</b>	OD değeri	3.715 $\pm$ 0.0	2.913 $\pm$ 0.0	2.472 $\pm$ 0.1	2.293 $\pm$ 0.0	2.195 $\pm$ 0.0	P=0.087
		1	2	5	6	8	
	Antibakteriyel etki		% 21.6	% 33.5	% 38.3	% 40.9	
<b>B 2</b>	OD değeri	3.715 $\pm$ 0.0	3.128 $\pm$ 0.3	2.796 $\pm$ 0.2	2.359 $\pm$ 0.2	2.245 $\pm$ 0.0	P=0.041
		1	2	3	6	2	
	Antibakteriyel etki		%15.8	%24.7	%36.5	%39.6	

*P.aeruginosa*'nin Bileşik 1 ve Bileşik 2 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.7.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.7. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 1' in *P.aeruginosa* üzerindeki MİK değeri 40.83  $\mu$ M bulunmuşken, Bileşik 2' nin MİK değeri 92.78  $\mu$ M olarak bulunmuştur.

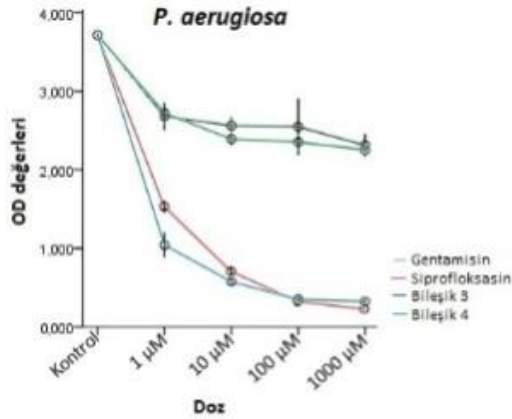
#### 4.1.2.2. Bileşik 3 ve Bileşik 4 ün *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.8.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.8. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar ( $\mu$ M)				Homojenite testi	
		Kontrol	1	10	100		1000
<b>B</b> <b>3</b>	OD değeri	3.715 $\pm$ 0.0	2.679 $\pm$ 0.0	2.562 $\pm$ 0.0	2.547 $\pm$ 0.1	2.312 $\pm$ 0.0	P=0.032
		1	8	5	8	7	
	Antibakteriyel etki		% 27.9	% 31.0	% 31.4	% 37.8	
<b>B</b> <b>4</b>	OD değeri	3.715 $\pm$ 0.0	2.722 $\pm$ 0.1	2.392 $\pm$ 0.0	2.354 $\pm$ 0.0	2.253 $\pm$ 0.0	P=0.046
		1	3	8	9	2	
	Antibakteriyel etki		%26.7	%35.6	%36.6	%39.3	

*P.aeruginosa*' nin Bileşik 3 ve Bileşik 4 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.8.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.8. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 3' ün *P.aeruginosa* üzerindeki MİK değeri 73.92 µM bulunmuşken, Bileşik 4' ün MİK değeri 39.30 µM olarak bulunmuştur.

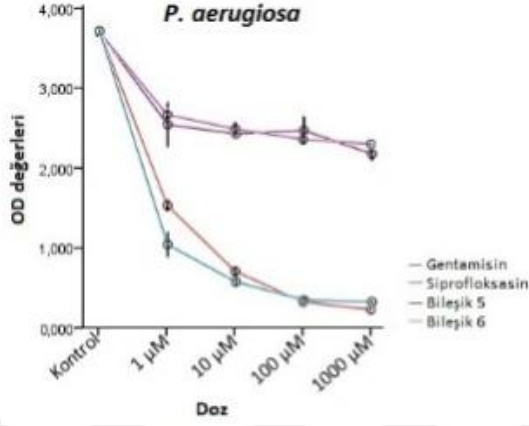
#### 4.1.2.3. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.9.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.9. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar (µM)					Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
<b>B5</b>	OD değeri	3.715±0.0	2.559±0.2	2.444±0.0	2.485±0.1	2.192±0.0	P=0.037
		1	9	2	8	8	
	Antibakteriyel etki		% 31.1	% 34.2	% 31.1	% 33.1	
<b>B6</b>	OD değeri	3.715±0.0	2.684±0.0	2.504±0.0	2.374±0.0	2.316±0.0	P=0.206
		1	6	8	6	1	
	Antibakteriyel etki		%27,8	%32.6	%36.1	%37.6	

*P.aeruginosa*' nin Bileşik 5 ve Bileşik 6 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.9.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.9. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 5' in *P.aeruginosa* üzerindeki MİK değeri 39.66 µM bulunmuşken, Bileşik 6' nın MİK değeri 49.60 µM olarak bulunmuştur.

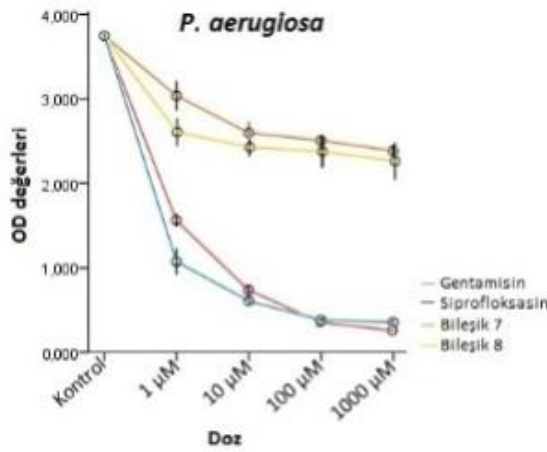
#### 4.1.2.4. Bileşik 7 ve Bileşik 8 in *P. aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.10.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.10. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Kontrol	Dozlar (µM)				Homojenite testi
			1	10	100	1000	
<b>B7</b>	OD değeri	3.715±0.0	3.004±0.0	2.566±0.0	2.474±0.0	2.352±0.0	P=0.027
		1	9	6	2	3	
	Antibakteriyel etki		% 19.1	% 30.9	% 33.4	% 36.7	
<b>B8</b>	OD değeri	3.715±0.0	2.587±0.0	2.409±0.0	2.360±0.0	2.246±0.1	P=0.107
		1	8	5	9	1	
	Antibakteriyel etki		%30.4	%35.1	%36.5	%39.5	

*P.aeruginosa*' nin Bileşik 7 ve Bileşik 8 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.10.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.10. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 7' nin *P.aeruginosa* üzerindeki MİK değeri 83.39 µM bulunmuşken, Bileşik 8' in MİK değeri 35.60 µM olarak bulunmuştur.

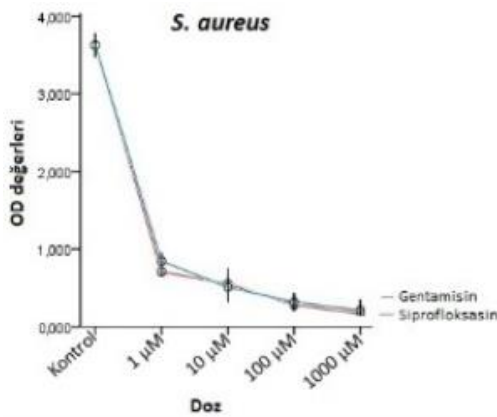
#### 4.1.3. Gentamisin ve Siprofloksasinin *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.11.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.11. Gentamisin ve Siprofloksasinin *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

	Kontrol	Dozlar ( $\mu$ M)				Homojenite testi	
		1	10	100	1000		
Genta	OD değeri	3.627 $\pm$ 0.0	0.707 $\pm$ 0.0	0.552 $\pm$ 0.0	0.279 $\pm$ 0.0	0.167 $\pm$ 0.0	P=0.074
		8	2	9	3	3	
Sipro	Antibakteriyel etki		% 80.5	% 84.8	% 92.3	% 95.4	P=0.703
	OD değeri	3.627 $\pm$ 0.0	0.843 $\pm$ 0.0	0.511 $\pm$ 0.0	0.318 $\pm$ 0.0	0.209 $\pm$ 0.0	
		8	5	9	6	7	
Sipro	Antibakteriyel etki		%76.8	%85.9	%91.2	%94.2	

*S.aureus*' nin Gentamisin ve Siprofloksasinle 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.11.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.11. Gentamisin ve Siprofloksasinin *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Gentamisin'in *S.aureus* üzerindeki MİK değeri 2.21 µM bulunmuşken, Siprofloksasin'in MİK değeri 2.28 µM olarak bulunmuştur.

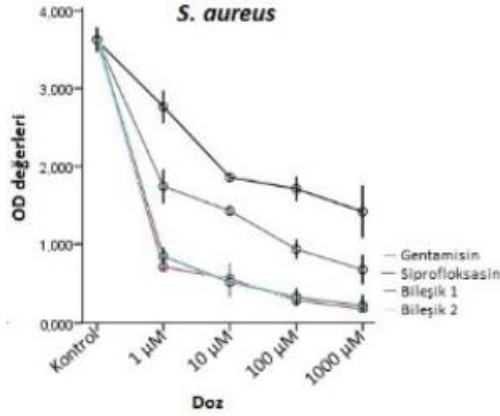
#### 4.1.3.1. Bileşik 1 ve Bileşik 2 nin *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama ± SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.12.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.12. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar (µM)				Homojenite testi	
		Kontrol	1	10	100		1000
<b>B</b> <b>1</b>	OD değeri	3.627±0.0	2.779±0.1	1.873±0.0	1.725±0.1	1.432±0.2	P=0.098
		8	8	5	4	9	
	Antibakteriyel etki		% 23.4	% 48.3	% 52.4	% 60.5	
<b>B</b> <b>2</b>	OD değeri	3.627±0.0	1.742±0.1	1.426±0.0	0.933±0.1	0.671±0.1	P=0.267
		8	9	5	1	6	
	Antibakteriyel etki		%52.0	%60.7	%74.3	%81.5	

*S.aureus*' nin Bileşik 1 ve Bileşik 2 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.12.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.12. Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 1' in *S.aureus* üzerindeki MİK değeri 9.01 µM bulunmuşken, Bileşik 2' nin MİK değeri 4.21 µM olarak bulunmuştur.

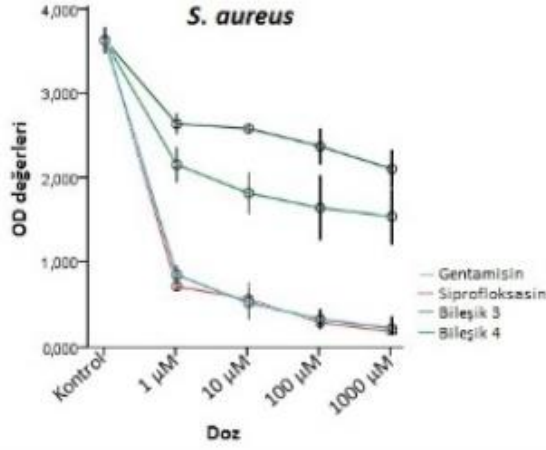
#### 4.1.3.2. Bileşik 3 ve Bileşik 4 ün *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.13.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.13. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar (µM)					Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
<b>B 3</b>	OD değeri	3.627±0.0	2.637±0.1	2.579±0.0	2.369±0.1	2.100±0.19	P=0.088
		8	1	4	8		
	Antibakteriyel etki		% 27.3	% 28.9	% 34.7	% 42.1	
<b>B 4</b>	OD değeri	3.627±0.0	2.167±0.1	1.829±0.2	1.653±0.3	1.550±0.2	P=0.342
		8	8	1	3	9	
	Antibakteriyel etki		%40.2	%49.6	%54.4	%57.3	

*S.aureus*' nin Bileşik 3 ve Bileşik 4 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.13.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.13. Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 3' ün *S.aureus* üzerindeki MİK değeri 22.83 µM bulunmuşken, Bileşik 4' ün MİK değeri 8.67 µM olarak bulunmuştur.

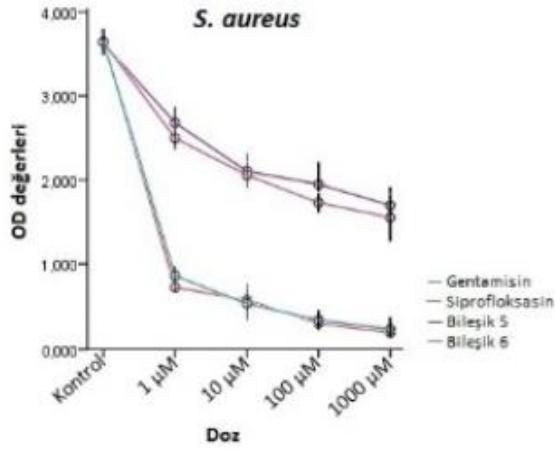
#### 4.1.3.3. Bileşik 5 ve Bileşik 6 nın *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.14.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.14. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Dozlar ( $\mu\text{M}$ )					Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
<b>B 5</b>	OD değeri	3.627 $\pm$ 0.0	2.680 $\pm$ 0.1	2.103 $\pm$ 0.1	1.948 $\pm$ 0.2	1.696 $\pm$ 0.1	P=0.580
		8	6	8	2	9	
	Antibakteriyel etki		% 26.1	% 42.0	% 46.3	% 53.2	
<b>B 6</b>	OD değeri	3.627 $\pm$ 0.0	2.481 $\pm$ 0.1	2.041 $\pm$ 0.1	1.712 $\pm$ 0.1	1.537 $\pm$ 0.2	P=0.388
		8	1	2	0	4	
	Antibakteriyel etki		%31.6	%43.7	%52.8	%57.6	

*S.aureus*'nin Bileşik 5 ve Bileşik 6 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.14.'te sunulmaktadır.



Şekil 4.14. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 5'in *S.aureus* üzerindeki MİK değeri 13.31  $\mu\text{M}$  bulunmuşken, Bileşik 6'nın MİK değeri 9.32  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.

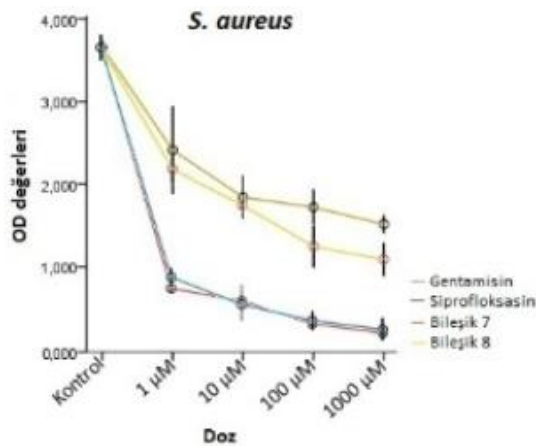
4.1.3.4. Bileşik 7 ve Bileşik 8 in *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

MTT testinden elde edilen OD ölçümlerinin ortalama  $\pm$  SD değerleri ve homojenite analizleri ile, bileşiklerin % antibakteriyel etkileri Çizelge 4.15.' de sunulmaktadır.

Çizelge 4.15. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu elde edilen OD değerleri ve bu değerlerden hesaplanmış % antibakteriyel etkileri.

		Kontrol	Dozlar ( $\mu$ M)				Homojenite testi
			1	10	100	1000	
<b>B7</b>	OD değeri	3.627 $\pm$ 0.0	2.383 $\pm$ 0.4	1.810 $\pm$ 0.2	1.689 $\pm$ 0.1	1.484 $\pm$ 0.0	P=0.026
		8	6	2	9	9	
	Antibakteriyel etki		% 34.3	% 51.0	% 53.4	% 59.1	
<b>B8</b>	OD değeri	3,627 $\pm$ 0.0	2.185 $\pm$ 0.1	1.750 $\pm$ 0.0	1.259 $\pm$ 0.2	1.104 $\pm$ 0,1	P=0.184
		8	5	5	2	7	
	Antibakteriyel etki		%39.8	%51.7	%65.3	%69.5	

*S.aureus*' nin Bileşik 7 ve Bileşik 8 ile 16 saatlik kültür sürecinde inkübasyonu sonucunda uygulanan MTT testi ile elde edilen OD değerlerine ait grafik Şekil 4.15.' te sunulmaktadır.



Şekil 4.15. Bileşik 7 ve Bileşik 8'in *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkilerinin kontrol grubu antibiyotiklerin gösterdikleri antibakteriyel yanıtla karşılaştırılması.

MTT testinden elde edilen OD değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizinde, Bileşik 7' nin *S.aureus* üzerindeki MİK değeri 8.86  $\mu$ M bulunmuşken, Bileşik 8' in MİK değeri 6.10  $\mu$ M olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.16. MİK değerlerinin birlikte görünümü

Bileşikler	MİK değerleri (uM)		
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Gentamisin	2.5	2.6	2.6
Siprofloksasin	2.3	2.4	2.2
Bileşik 1	39.9	40.8	9.0
Bileşik 2	104.3	92.7	4.2
Bileşik 3	58.1	73.9	22.8
Bileşik 4	38.4	39.3	8.6
Bileşik 5	38.2	39.6	13.3
Bileşik 6	48.3	49.6	9.3
Bileşik 7	79.9	83.3	8.8
Bileşik 8	33.9	35.6	6.1

## 4.2. Tartışma

Çalışmamızda enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde başarıyı arttıracak ve ilaç direnci gelişimi riskine karşı alternatif antibakteriyel ajan adaylarının belirlenmesi için son zamanlarda tıptaki kullanımıyla dikkat çeken Schiff bazı türevleri ve bunların metal komplekslerinin antibakteriyel etkileri *E. Coli*, *P. Aeruginosa* ve *S. aureus* üzerinde test edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenen ve ilaç direnci bakımından ciddi tehlike arz eden bakteriler listesinin en başında *E. Coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* ilk sıralarda yer almaktadır.

Schiff bazı ligand ve metal komplekslerinin, antimikrobiyal ve antikanser etkileri ile tıp dünyasındaki önemi gittikçe artmaktadır (Mutteties ve ark., 1979). Çalışmamıza benzer olarak, 2- hidroksiasetofenon ile 3,3'-diaminobenzofenon'un reaksiyonu sonucu meydana gelen ibis(3-(1-2-hidroksifenil)etilidenamino)fenil)metanon'un *C. albicans*'a karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK)  $>100 \mu\text{g mL}^{-1}$ , *E. coli*'ye karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK)  $>100 \mu\text{g mL}^{-1}$  ve *S. aureus*'a karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK)  $100 \mu\text{G mL}^{-1}$  olarak belirlenmiştir (Jalbout ve ark., 2006). Bu MİK değerleri bizim çalışmamızda elde ettiğimiz MİK değerlerine göre oldukça yüksektir.

Aldehit veya amin gruplarının seçilmesine göre farklılık gösterebilen ve pekçok türde sentezlenebilen Schiff bazlarının tıbbi olarak antikanser antimikrobiyal ve antifungal etkilere sahip olduğu görülmüştür (Chen ve ark., 2003; Panneerselvam, 2005). L-alanin ve 4-hidroksi salisilaldehitten oluşan Schiff bazının kobalt(II), nikel (II), bakır(II), çinko(II) kompleksleri *E. Coli*, *P.Aeruginosa* ve *S. aureus* üzerinde test edilerek antibakteriyel etkileri incelenmiş ve serbest Schiff bazlarına kıyasla daha fazla etki gösterdikleri görülmüştür (Chohan, 2002). Çalışmamızda benzer olarak, Schiff bazı metal komplekslerinin antimikrobiyal etkileri ligandlara göre daha yüksek gözlenmiştir.

Abacıoğlu ve arkadaşları tarafından 2018’ de yapılan çalışma ile; salisilaldimin Ligandları (1,1,7,7-Tetra-Metil-Jululidin-N-Pentil-Salisilaldimin, N-Hekzil, N-Heptil, N-Oktil heterohalkalı salisilaldiminler) ve bunların bakır (Cu (II)) kompleksleri A549 hücreleri üzerinde MTT yöntemi ile test edilmiştir. Bileşiklerden A549 hücreleri üzerine en güçlü sitotoksik etki, 8 nolu bileşik olan 1,1,7,7-tetrametil-jululidin-N-oktil-salisilaldimin (Cu(II)) kompleksiyle elde edilmiştir.

Panneerselvam ve çalışma ark., (2005)’nın yaptığı araştırmada; 4-(4-aminofenil)morfolin türevi olan Schiff bazlarının *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Micrococcus luteus* ve *Bacillus cereus* bakterilerine karşı çok yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini; *A. niger*, *C. albicans*, mantarlarına karşı orta derecede antifungal aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir. Jianhua ve ark., (2003) tarafından yapılan çalışmada Schiff bazlarının metal komplekslerinin büyük oranda antiviral etkisi gösterdiklerini ortaya koymuşlardır. Ayrıca bu metal komplekslerinin serbest Schiff bazlarına göre daha güçlü aktiviteye sahip olduklarını belirtmişlerdir. Glisin ve ninhidrin türevi Schiff bazı metal (Zn(II),(Ni(II)),(Co(II)) kompleksleri ile yapılan çalışma sonucunda bileşiklerin oktahedral stereokimya özellik gösterdiklerini ve Schiff bazlarının mono bazik tridante ligand gibi davrandıkları rapor edilmiştir. Bu özelliklerden dolayı bu metal komplekslerin *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *S. faecalis* ve *S. aureus* üzerinde etkili oldukları görülmüştür (Rao ve Reddy 1990). Bu çalışmalarda Schiff bazı ligandları ve komplekslerinin yapısal özelliklerinin de onların biyolojik davranışlarını etkilediği gözlenmektedir.

Metal komplekslerin elektron çekici grup içeren ligandlarının biyolojik aktivitelerinin yüksek olduğu ve özellikle bakır komplekslerinin antibakteriyel aktivite gösterdiği, buna ek olarak hidroksisüstitüe Schiff bazı ve komplekslerinin daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Reddy ve ark., 1994).

Yapılan bir çalışmada 3-carboxylidene-DL-glycine, Indole-3-carboxylidene-DL-valine, 3-carboxylidene-DL-alanine aminoasit Schiff bazlarının antifungal ve antibakteriyel özellikleri incelenmiş, üç Schiff bazının da etkili olduğu fakat 3-carboxylidene-DL-valine'nin diğer iki Schiff bazına göre daha yüksek etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Sharma ve Dubey., 1994).Yapılan bir çalışma ile, nitrofenol Schiff bazlarının bazı metal komplekslerinin antimikrobiyal ve antikanser etkileri incelenmiştir.

*In vitro* şartlarda gerçekleştirilen bu çalışma ile (Pd (II)) kompleksinin, MCF-7 hücre serisinde (insan göğüs adenokarsinoma) ciddi antikanser aktivite gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Osohole ve ark., 2012). Yapılan bir başka çalışma ile ise Schiff bazlarının bazı metal komplekslerinin *in vitro* ortamda antimikrobiyal ve antikanser aktiviteleri araştırılmış olup , (Cu (II)) ve (Pd (II)) komplekslerinin MCF-7 hücrelerine, (Pd (II)) kompleksinin ise HT-29 (kolon karsinoma) hücrelerine büyük ölçüde etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Osohole ve Akpan., 2012).

Çalışmamızda, heterohalkalı salisiladimin ligandları ile birlikte bu Schiff bazı türevi bileşiklerinin (Cu (II)) komplekslerinin de yer alması önem taşımaktadır. Bileşiklerin (Cu (II)) komplekslerinin daha etkin antibakteriyel etkilere sahip olması, bu bileşiklerin yukarıda belirtilen çalışmada olduğu gibi kanser hücreleri üzerinde de etkili olabileceği fikrini akla getirmektedir.

Fioravanti ve ark., tarafından bir çalışmada (N-heteroaryl)arylmethanamines Schiff bazlarının antiviral ve antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Bileşiklerin gram negatif ve gram pozitif bakterilere ve Herpes simplex virus tip 2'ye karşı aktivite göstermediği belirlenmiştir. Aynı çalışma ile (N-heteroaryl)arylmethanamines Schiff bazlarının *Cryptococcus neoformans*ve poliovirus Sabin tip 1' e karşı düşük bir etki gösterdiği ve *Candida* türlerine karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Pandeya ve ark., yaptıkları bir çalışma ile isatin'in 5-kloro ve 5-Bromo derivatları N-[4-(4'-chlorophenyl)thiazol-2-yl]thiosemicarbazide reaksiyona eklenerek Schiff bazı meydana getirerek agar dilüsyon metodu ile Human Influenza Virus (HIV)'a, 8 patojenik mantara ve 28 patojenik bakteriye karşı etkisini incelemişlerdir.

Çalışma sonucu ile; bileşiklerden özellikle 1'-[4''-(p-chlorophenyl)thiazol-2''-yl]thio semicarbazide ve 1- [N Ndimethylaminomethyl]- 5-bromoisatin'in bazı mantar ve bakteri türleri üzerinde farklı oranlarda etki gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Bazı  $\alpha$ -amino asitlerin meydana gelmesine Schiff bazları ve bazı metal komplekslerinin rolü, antimikrobiyal ve antitümör faaliyetlerinden dolayı büyük öneme sahiptir (Grabaric ve ark., 1993). Yapılan bir çalışma ile antibiyotiklerin yapay sentezinde kullanılan 1,5-dien-3-ol'lerin antibakteriyel etkilerinin, Schiff bazlarının etkilerinden daha yüksek olduğunu belirtilmiştir. Bu etkinin ise kullanılan konsantrasyonun farklı olması ve 1,5-dien-3-ol'lerin yapısında alkol bulunmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Dığrak ve ark., 1997). Çalışmamızda da, Schiff bazlarının antibakteriyel etkilerinin kendi aralarında yapısal farklılıklardan etkilendiği çalışmamızda gözlenmiştir.

Çalışmamızda Schiff bazlarınınbakır komplekslerinin bakteriler üzerinde daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Genel olarak izlenebileceği gibi, Schiff bazları ve bakır kompleksleri ile birçok araştırmanın sonucunda bu bileşiklerin antimikrobiyal etkiler ibirçok bakteri üzerinde denenerek doğrulamaktadır.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Bu tez çalışmamız ile 4 adet Schiff bazı ligandı ve bu ligandların dört adet bakır kompleksinin *E. Coli*, *P. Aeruginosa* ve *S. Aureus* üzerindeki antimikrobiyal etkileri kullanılarak test edilmiştir.

Bileşiklere ait en güçlü antibakteriyel etkiler; *E. coli* üzerine Bileşik 8(1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-oktil-salisilaldimin (Cu (II)) kompleksi ) ile (MİK 33.93 µM) *S. aureus* üzerine Bileşik 2 (1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-pentil-salisilaldimin (Cu (II)) kompleksi) ile (MİK 4.21 µM), *P. aerogenosa* üzerine Bileşik 8 ile (MİK 35.60 µM) elde edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan Gentamisin ve siprofloksasinin antibakteriyel etkileri ile Bileşiklerin etkilerinin karşılaştırılması durumunda ise, sadece *S. aureus* üzerine; Bileşik 2' nin ve Bileşik 8' in antibakteriyel etkileri dikkate değer olduğu gözlemlenmiştir.

*S. aureus* üzerinde büyük ölçüde antibakteriyel etki gösteren Bileşik 2 ve Bileşik 8'in ortak yönlerinin her ikisinin de heterohalkalı salisilaldimin Schiff bazı ligandlarından türetilmiş (Cu(II)) kompleksi yapısında olmasıdır. Bileşiklerin ligand ve metal kompleksi formlarının farklı antibakteriyel etkiler gösterdiği ve çalışmamızda güçlü antibakteriyel etkilerin genel olarak ligandlara göre daha metal komplekslerle elde edildiğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızın sonucu olarak, bir Schiff bazı metal kompleksi olan 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-oktil-salisilaldimin (Cu (II)) ve 1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-pentil-salisilaldimin (Cu (II)) bileşiklerinin, *Staphylococcus aureus* üzerinde dikkate değer düzeyde antibakteriyel ve antimikrobiyal etkiye sahip olduklarını söyleyebiliriz.

Bu Schiff bazı metal kompleksleri üzerinde yapılacak daha ileri (*in vitro* ve *in vivo*) araştırma yapılması durumunda, bu bileşiklerin ilaç direnci tedavisinde kullanılmak üzere alternatif antimikrobiyal ajan adayı olabileceğini düşünmekteyiz.

## 5.2. Öneriler

***Tez çalışmamızdan elde edilen veriler ışığı altında şu önerileri sunabiliriz:***

Çalışmamızda kullanılan Schiff bazı ligandları ve bakır kompleksleri alkolde çözünen yapıdadır. Bu bileşiklerin suda çözünebilir tuzları sentezlenerek ve deneyin tekrar test edilmesi durumunda antimikrobiyal etkilerinin yeniden incelenmesi ile daha farklı sonuçlar doğurabileceği unutulmamalıdır.

Çalışmamızda kullanılan MTT yöntemi, sitotoksisite belirlemede kolorimetrik bir yöntem olarak pekçok çalışmada başarıyla kullanılmasına karşın, çalışmanın ATP-TCA gibi renk indeksinden bağımsız bir çalışma ile desteklenmesi halinde kullanılan kimyasalların kendi renklerinden doğabilecek olan sapmaları önleme bakımından önem taşımaktadır.

Çalışmamızda kullanılan *E.Coli*, *P. Aeruginosa* ve *S. Aureus* bakterileri dışında başka bakteriler üzerine bileşiklerin sitotoksik ve antibakteriyel aktivitelerinin test edilmesinin faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kullanılan Schiff bazı metal kompleksleri dışında başka metal komplekslerinin (Pd, Pt gibi) *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde antimikrobiyal ajan olma potansiyelinin araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

- ABACIOĞLU, E., 2018. Heterohalkalı salisilaldiminler ve bakır komplekslerinin A549 akciğerkarsinom hücre hattı üzerine antikanser etkilerinin araştırılması. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa,67s.
- AĞIR, H., 2011. Bazı Schiff Bazları ve Mn(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Komplekslerinin Nükleolitik Aktivitelerinin İncelenmesi. Rize Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Rize,70s.
- BANERJEE, K., BISWAS, M. K. and CHOUDHURI, S. K., 2017. A newly Synthesized Nickel Chelate Canselectively Target and Overcome Multidrug Resistance in Cancer Through Redox Imbalance both In vivo and In vitro. *J Biol Inorg Chem*, 22(8): 1223-1249.
- BARBOSA, T. M., & LEVY, S. B. (2000). The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. *Drug resistance updates*, 3(5), 303-311.
- BARILE, F. A., 1994. Introduction to in vitro cytotoxicology mechanisms and methods. CRCres, Florida, USA, 240s.
- BILMAN, J. H. and TAI, K. M., 1958. Reduction of Schiff bases, II. Benzhydrylamines and structurally related compounds. *The Journal of Organic Chemistry*, 23(4): 535-539.
- BULUT, H., KARATEPE, M., TEMEL, H., ŞEKERCİ, M. ve KOPARIR, M., 2005. Studies onthe Antiviral and Cytotoxic Activity of Schiff bases derived from 1,2-bis-(o-and paminophenoxy) ethane and salicylaldehyde. *Asian Journal of Chemistry*, 17(4): 2793.
- CARBONARO, L., LIANG, G. G., ISOLA, M., and SENATORE, L., 2000. Kinetic Study of Ligand Release Prometed by Ammonium Ion on Bis(NAlkylsalicilaldiminato) Zinc(II) complexes in Aprotic Solvent. *Inorganica Chimica Acta*, 303(1): 40-46.
- CHEN, A. S., TAGUCHI, T., AOYAMA, S., SUGIURA, M., HARUNA, M., WANG, M. W. and MIWA, I., 2003. Antioxidant activity of a Schiff base of pyridoxal and aminoguanidine. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(11):1392-1403.
- FAROOQ, M. A., SCOZZAFAVA, A. and SUPURAN, C. T., 2002. Antibacterial Schiff basesof oxalyl-hydrazine/daimide incorporating pyrrolyl and salicylyl moieties and of their zinc(II) complexes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 17(1): 1-7.
- CHOHAN, Z. H., RAU, A., NOREEN, S., SCOZZAFAVA, A. and SUPURAN, C. T., 2002. Antibacterial cobalt(II), nickel(II) and zinc(II) complexes of nicotinic acidderived Schiff bases. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 17(2): 101-106.
- CHOUDHARY, D., PAUL, S., GUPTA, R. and CLARK, J. H., 2006. Catalytic Properties OfSeveral Palladium Complexes Covalently Anchored Onto Silica For The Aerobic Oxidation Of Alcohols. *Green Chemistry*, 8(5): 479-482.
- DIĞRAK, M., SELVI, S., AHMEDOV, M.A. ve BAĞCI, E., 1997. 1,5-dien-3ol'lerinantimikrobiyal etkilerinin incelenmesi. XII. Ulusal Kimya Kongresi, Y.Y Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Van, 677s.

- FERNÁNDEZ-G, J. M., DEL RIO-PORTILLO, F., QUIROZ-GARCÍA, B., TOSCANO, R. A. and SALCEDO, R., 2001. The Structures of Some Ortho-Hydroxy Schiff Base Ligands. *Journal of Molecular Structure*, 561(1-3):197-207.
- FIORAVANTI, R., BIAVA, M., DONNARUMMA, S., PORRETTA, G. C., SIMONETTI, N., VILLA, A., PORTAPUGLIA, A., DEIDDA, D., MUALLA, C. and POMPEI, R., 1996. Synthesis and microbiological evaluations of (N-heteroaryl) arylmethanamines and their Schiff bases. *Farmaco*, 51(10): 643-52.
- GABALLA, A. S., ASKER, M. S., BARAKAT, A. S. and TELEB, S. M., 2007. "Synthesis, characterization and biological activity of some platinum(II) complexes with Schiff bases derived from salicylaldehyde, 2-furaldehyde and phenylenediamine". *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 67(1):114-121.
- GALANSKI, M., JAKUPEC, M. A. and KEPPLER, B. K., 2005. Update of the Preclinical Situation of Anticancer Platinum Complexes: Novel Design Strategies and Innovative Analytical Approaches. *Current Medicinal Chemistry*, 12(18): 2075-2094.
- GÖLCÜ, A., DOLAZ, M. ve DAĞCI, E., K., 2005. Synthesis of binuclear copper (II) complex of the antihypertensive drug pindolol. *KSU J Sci Eng*, 8: 4-9.
- GUO, A. J., XU, X. S., HU, Y.H., M. Z. WANG., and TAN, X., 2010. Effects of ternary complexes of copper with salicylaldehyde amino acid Schiff base coordination compounds on the proliferation of BGC823 cells. *Chinese Journal of Cancer*, 29(3): 277-282.
- HASANOĞLU, E., 2009. Koordinasyon Kimyası. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Niğde, 12s.
- HEARN, M. and CYNAMON, M., 2003. In vitro and in vivo activities of acylated derivatives of isoniazid against *Mycobacterium tuberculosis*. *Drug Design and Discovery*, 18 (4):103-108.
- HOLST, C. M. and OREDSSON, S. M., 2005. Comparison of three cytotoxicity tests in the evaluation of the cytotoxicity of a spermine analogue on human breast cancer cell lines, *Toxicology in Vitro*, 19(3): 379-387.
- İSPIR, E., 2005. Si İçeren Schiff Bazları ve Metal Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 88s.
- JALBOUT, A. F., JARRAHPOUR, A. A., BRUNEL, J. M., SALMI, C., REZAEI S. and TRZASKOWSKI B., 2006. Synthesis, Physical Characterization, Antibacterial and Antifungal activities of a novel bis(3-((E)-1-(2-hydroxyphenyl) ethylideneamino)phenyl) methanone". *Molbank*, M484.
- JESMIN, M., ALI, M. M., and KHANAM, J.A., 2010. Antitumour activities of some schiff bases derived from benzoin, salicylaldehyde, amino phenol and 2,4 dinitrophenyl hydrazine. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34(1): 20-31.
- JIANHUA, W., WEN, L. and YUANLIANG, W., 2003. "The new Progress in the studies on antibacterial properties of Schiff bases and its metal complexes". *Taylor&Francis*, 178(12): 2563-2579.

- KALAIARASI, G., REX J. S., DHARANI, S., RATH, N. P. and RABHAKARAN, R., 2018. Mar New Cationic and Neutral Copper (II) Complexes Containing hydroxy-4-oxo-4[H]-Chromene Derived ONO Pincer Ligands: Synthesis Karakterization and In vitro Biological Evaluations. *J Photochem Photobiol*, 180:77-88.
- KARTHIKEYAN, M. S., PRASAD D. J., POOJARY B., BHAT K. S., HOLLA B. S. and KUMARIN. S., 2006. Synthesis and Biological Activity of Schiff and Mannich Bases Bearing 2,4- dichloro-5-fluorophenyl Moiety. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(22): 7482- 7489.
- KIRAN, T., PRASANTH V. G., BALAMURALI, M. M., VASAVI, C. S., MUNUSAMI P., SATHIYANARAYANA K. L. and PATHAK M., 2015. Synthesis, Spectroscopic Characterisation and in vitro Studies of New Heteroleptic Copper(II) Complexes Derived From 2-hydroxy Naphthaldehyde Schiff's Bases and N, N Donor Ligands: Antimicrobial, DNA Binding and Cytotoxic Investigations. *Inorganica Chimica Acta*, 433: 26-34.
- KLAYMAN, D. L., SCOVILL, J. P., BARTOSEVICH, J. F. and BRUCE, J., 1983. 2-ethylpyridine Thiosemi Carbazones. 5.1-(1-(2-Pyridyl) Ethyl )-3-Thiosemicarbazides As Potential Antimalarial Agents. *Journal of medicinal chemistry*, 26(1): 35-39.
- KOÇ, Z. E., 2006. Tripodal Schiff Bazlı Ligandların Sentezi ve Metal Komplekslerinin İncelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, 196s.
- KOGAN, V. A., OSIPOV, O. A., MINKIN, V. I. and GORELOV, M. I., 1963. Dipole Moments and the Structure of the Internally Complex Connections of Copper with the Aromatic Schiffovyimi Bases. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 153(3): 594-596.
- KÖKSAL, H., DOLAZ, M., TÜMER, M. ve SRIN, S., 2001. Copper (II), Cobalt (III), Nickel (II), Palladium (II) and Zinc (II) complexes of the Schiff Base Ligands derived from 2,6-diacetylpyridine and phthalaldehyd. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 31(7):1141-1162.
- KRYGOWSKI, T. M., 1997. Benzenoid hydrocarbon aromaticity in terms of charge density descriptors. *Canadian journal of chemistry*, 75(9): 1174-1181.
- LANGDON, S. P., 2004. *Cancer Cell Culture, Methods and Protocols*, Humana Press. New Jersey, 360.
- LING, J., RONG, M. and ZHANG, M., 2012. Qiu. Photo-stimulated self-healing polyurethane containing dihydroxyl coumarin derivatives. *Polymer*, 53(13):2691-2698.
- MAHADEVAN, S. and PALANIANDAVAR, M., 1998. Spectroscopic and Voltametric Studies on Copper Complexes of 2,9-Dimethyl-1,10-phenanthrolines Bound to Calf Thymus DNA. *Inorganic Chemistry*, 37 (4): 693-700.
- MÜLAZIMOĞLU, A. D., 2009. Bazı Schiff bazlarının sentezi, antibakteriyel aktivitelerinin ve elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, 172s.
- MUETTERTIES, E. L., RHODIN, T. N., BAND, E., BRUCKER, C. F. and PRETZER, W. R., 1979. Clusters and surfaces. *Chemical Reviews*, 79(2): 91-137.

- NATH, M., & GOYAL, S. (1995). Spectral studies and bactericidal, fungicidal, insecticidal and parasitological activities of organotin (IV) complexes of thio schiff bases having no donor atoms. *Metal-Based Drugs*, 2(6), 297-309.
- NIEDERHOFFER, E. C, TIMMONS, J. H. and MARTEL, A. G., 1984. Thermodynamics Of Oxygen Binding In Natural And Synthetic Dioxygen Complexes. *Chemical Reviews*, 84(2):137-203.
- NUCCI, M. and MARR, K. A., 2005. Emerging fungal diseases. *Clinical Infectious Diseases*, 41(4): 521-526.
- OBALI, A., 2010. Değişik Uçlu Schiff Bazların Salen/Saloph Metal Komplekslerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya,130s.
- OIKONOMOU, O., LIAKOPOULOS, A., PHEE, L. M., BETTS, J., MEVIUS, D., & WAREHAM, D. W. (2016). Providencia stuartii isolates from Greece: co-carriage of cephalosporin (bla SHV-5, bla VEB-1), carbapenem (bla VIM-1), and aminoglycoside (rmtB) resistance determinants by a multidrug-resistant outbreak clone. *Microbial drug resistance*, 22(5), 379-386.
- OSOWOLE, A. A. and AKPAN, E. J., 2012. Synthesis, spectroscopic characterisation, in-vitro anticancer and antimicrobial activities of some metal (II) complexes of 3-(4, 6-dimethoxy pyrimidinyl) iminomethyl naphthalen-2-ol. *Eur. J. Appl. Sci*, 4: 14-20.
- OSOWOLE, A. A., OTT, I. and OGUNLANA, O. M., 2012. Synthesis, Spectroscopic, Anticancer, and Antimicrobial Properties of Some Metal(II) Complexes of (Substituted) Nitrophenol Schiff Base. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Inorganic Chemistry*, 206417: 6.
- PADJAMA, M., PRAGATHI J., ANUPAMA B. and KUMARI C. G., 2012. Synthesis, Spectral Characterisation, Molecular Modeling, and Antimicrobial Studies of Cu(II), Ni(II), Co(II), Mn(II), and Zn(II) Complexes of ONO Schiff Base. *Journal of Chemistry*, 9 (4): 2145-2154.
- PANDEYA, S. N, SRIRAM, D., NATH, G. and DECLERCQ, E., 1999. Synthesis, antibacterial antifungal and anti-HIV activities of Schiff and Mannich bases derived from isatin derivatives and N- [4-4'-chlorophenyl]thiazol-2-yl] thiosemicarbazide. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(1):25-31.
- PANNEERSELVAM, P., NAIR R. R., VIJAYALAKSHMI G., SUBRAMANIAN E. H. and SRIDHAR S. K., 2005. "Synthesis of Schiff bases of 4-(4-aminophenyl)-morpholine as potential antimicrobial agents". *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40(2): 225-229.
- PAREKH, J., INAMDHAR, P., NAIR, R., BALUJA, S. and CHANDA, S., 2005. Synthesis and antibacterial activity of some Schiff bases derived from 4-aminobenzoic acid. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 70(10): 1155-1162.
- PATAI, S., 1970. *Chemistry Of The Carbon-Nitrogen Double Bond*. Wiley, New York, 238p.
- PATEL, V. K., VASANWALA, A. M. and JEJURKAR, C. R., 1989. Synthesis of mixed Schiff base complexes of Cu (II) and Ni (II) and their spectral, magnetik and antifungal studies. *Indian Journal of Chemistry*, 28(A): 719-721.

- PAUL, M., DAIKOS, G. L., DURANTE-MANGONI, E., YAHAV, D., CARMELI, Y., BENATTAR, Y. D., ... & LEIBOVICI, L. (2018). Colistin alone versus colistin plus meropenem for treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: an open-label, randomised controlled trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(4), 391-400.
- PFEIFFER, P., BREITH, E., LÜBBE, E. and TSUMAKI, T., 1932. Thcylische orthokondesierteNebervalenzringe. *Annalen Der Chemie*, 492: 81-127.
- RAMAN, N. and RAVICHANDRAN, S., 2005. New neutral Schiff base and its metal complexes derived from mannich base, N-(1-Morpholinobenzyl) acetamide. *Polish Journal of Chemistry*, 79(7): 1107-1114.
- RAMAN, N., KULANDAISAMY, A. and JEYASUBRAMANIAN, K., 2002. Synthesis, structura characterization, redox and antimicrobial studis of Schiff base copper(II), nickel(II), cobalt(II), manganase(II), zinc(II) and oxovanadium(II) complexes derived from benzil and 2-aminobenzyl alcohol. *Polish Journal of Chemistry*, 76(8): 1085-1094.
- RAMAN, N. and THANGARAJA, C., 2005. Synthesis, structural characterization, cyclicvoltammetric and antibacterial studies of tetraaza 13-membered macrocyclic copper(II), nickel(II), cobalt(II) and zinc(II) complexes derived from the Schiff base 3-salicylidene– 2,4-di (imino-4'- ntipyrinyl) pentane and o- phenylenediamine. *Polish Journal of Chemistry*, 79(7): 1123-1134.
- RAMESH, R., & MAHESWARAN, S. (2003). Synthesis, spectra, dioxygen affinity and antifungal activity of Ru (III) Schiff base complexes. *Journal of inorganic biochemistry*, 96(4), 457-462.
- RAO, N. S. and REDDY, M. G., 1990. Studies on the synthesis, characterisation and antimicrobial activity of new Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of Schiff base derivedfrom ninhydrin and glycine. *Biology of metals*, 3(1): 19-23.
- REDDY, K. H. and LINGAPPA, Y., 1994. Synthesis and characterization of copper(II)complexes of physiologically active tridentate Schiffd bases. *Ind. J Chem.*, A(33): 919-923.
- RIX, C., GAKIAS, S., FOWLESS, A., WILLS-JOHNSON, G., LATHAM, K. and WHITE, J., 2005. A Comparison of The Intramolecular and Intermolecular Hydrogen Bonding of N,N'- Ethlenebis(Aminobenzylidene) In The Solid State With Its Salen Analogue, *Journal of molecular structure*, 737(1): 69-74.
- SACCONI, L., CIAMPOLINI, M., MAGGIO, F., and REDEL, G., 1962. Studies in Coordination Chemistry the Dielectric Polarization of Some Metal Complexes of N- alkylsalicylaldimine.*J. Amer. Chem. Soc*, 82(4):815-818.
- ŞAHİN, M., 2007. Kitosanın Schiff Baz Türevlerinin Sentezi ve Metal Komplekslerinin İncelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya,213s.
- SCHIFF, H., 1864. Mittheilungen aus dem Universitätslaboratorium in Pisa: Eine neue Reiheorganischer Basen. *Annalen der Chemie*, 131(1), 118-119.
- SCHLEGEL, H., 1992. Produktion Sekundärer Metabolite. *Allgemeine Mikrobiologie*, Georg-Thieme Verlag, 362-371.

- SHABANI, F ., GHAMMAMY, S., MEHRANI, K., TEİMOURI, M. B., SOLEİMANİ, M., and KAVİANİ, S., 2008. Antitumor Activity of 6-(cyclohexylamino)-1, 3-dimethyl-5(2-pyridyl)furo[2,3-d]pyrimidine-2, 4(1H,3H)-dione and Its Ti(IV), Zn(II), Fe(III), and Pd(II) Complexes on K562 and Jurkat Cell Lines. Hindawi Publishing Corporation Bioinorganic Chemistry, 2008: 501021.
- SHARMA, P. K., and DUBEY, S. N., 2002. Synthesis and structural studis of iron (II) complexes with N-salicylidene-and N-(2-hydroxy-1-naphthylidene) amino acids. Ind. J.Chem., 33A, 1113- Shebl M., 2014. Synthesis, Spectroscopic Characterisation and Antimicrobial Activity of Binuclear Metal Complexes of A New Asymmetrical Schiff Base Ligand: DNA Binding Affinity of Copper(II) Complexes. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 117: 127-137.
- SINGH, P. K. and KUMAR, D. N., 2006. Spectral studies on cobalt (II), nickel (II) and copper (II) complexes of naphthaldehyde substituted aryl hydrazones Spectrochimica Acta Part A, 64(4): 853-858.
- TABASSUM S., AMIR, S., ARJMAND, F., PETTINARI, C., MARCHETTI, F., MASCHIOCCHIN., LUPIDI G. and PETTINARI R., 2013. Mixed-Ligand Cu(II)-Vanilin Schiff Base Complexes; Effect of Coligands on Their DNA Binding, DNA Cleavage, SOD Mimetic and Anticancer Activity. European Journal of Medicinal Chemistry, 60: 216-232.
- UÇAN, Y. S., 2002. İminoksimli Schiff Bazlarının Sentezi ve Geçiş Metal Komplekslerinin İncelenmesi. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Niğde, 110s.
- VANCO, J., SVAJLENOVA, O., RACANSKA, E., MUSELIK, J. and VALENTOVA, J., 2004. Antiradical activity of different copper (II) Schiff base complexes and their effect on alloxan-induced diabetes. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18(2): 155-161.
- VINUSHA, H. M., KOLLUR, S. P., REVANASIDDAPPA, H. D., RAMU, R., SHIRAHATTI, P. S., PRASAD, M. N., BEGUM, M. (2019). Preparation, spectral characterization and biological applications of Schiff base ligand and its transition metal complexes. Results in Chemistry, 1, 100012.
- WANG, Y. and POIRIER, R. A., 1997. Factors That Influence the C=N Stretching Frequency in Imines. The Journal of Physical Chemistry A, 101(5): 907-912.
- YAMADA, S., and TAKEUCHI, A., 1982. The Conformation and Intereconversion of Schiff Base Complexes of Nickel(II) and Copper(II), Coord. Coordination Chemistry Reviews, 43: 187-204.
- YAŞAR, S., 2016. Yeni Nesil Kanser İlaçları: Rutenyum Komplekslerinin Kansерli Hücrelerdeki Etkileri. Türkiye Kimya Derneği, 2: 8.
- YILDIZ, M., TAN E., DEMİR, N., YIDIRIM, N., ÜNVER, H., KIRAZ, A. RAMAN, N., KULANDAISAMY, A. and JEYASUBRAMANIAN, K., 2002. Synthesis, structural characterization, redox and antimicrobial studis of Schiff base copper(II), nickel(II), cobalt(II), manganese(II), zinc(II) and oxovanadium(II) complexes derived from benzil and 2-aminobenzyl alcohol. Polish Journal of Chemistry, 76(8):1085-1094.

- MESTAV B., 2015. Synthesis and Spectral, Antimicrobial, Anion Sensing and DNA Binding Properties of Schiff Base Podants and Their Metal Complexes. Russian Journal of General Chemistry, 85 (9): 2149-2162.
- YILMAZ, İ., 2003. Synthesis, characterization and anti microbial activity of the Schiff bases Derived from 2,4-disubstituted thiazoles and 3-methoxysalicylaldehyde, and their cobalt (II), copper (II), nickel (II), and zinc (II) complexes. Transition Metal Chemistry, 28(4):399-404.

