

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**YENİLEBİLİR BAZI MAKROMANTAR ÖZÜTLERİNİN VE OKSİM TİPİ
LİGAND KOMPLEKSLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ülkü TERZİ

TEMMUZ 2009

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**YENİLEBİLİR BAZI MAKROMANTAR ÖZÜTLERİNİN VE OKSİM TİPİ
LİGAND KOMPLEKSLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

Kimyager Ülkü TERZİ

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“Yüksek Lisans (Kimya)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 18.06.2009
Tezin Savunma Tarihi : 09.07.2009**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ahmet ÇOLAK
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Sevgi KOLAYLI
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Faik Ahmet AYAZ**

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Salih TERZİOĞLU

Trabzon 2009

ÖNSÖZ

“Yenilebilir Bazı Makromantar Özütlerinin ve Oksim Tipi Ligand Komplekslerinin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi” adlı bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Lisans Üstü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Lisans eğitimimde kendisinden ders dinleme, engin bilgi ve tecrübelerinden faydalanma şansım olduğu, her zaman hatırlayacağım değerli hocam, merhum Prof. Dr. Saadettin GÜNER’i saygı ve rahmetle anarım. Tez çalışmamın planlanıp hayata geçirilmesinde çok büyük katkıları olan, değerli eleştiri ve önerileri ile tez çalışmamı yönlendiren danışman hocam, sayın Doç. Dr. Ahmet ÇOLAK’a teşekkürü bir borç bilirim. Tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocam Yrd. Doç. Dr. Nagihan SAĞLAM ERTUNGA’ya, Prof. Dr. Faik Ahmet AYZAZ’a ve Doç. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU’na teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında kullandığımız komplekslerin sentezlenmesi ve teminini sağlayan Prof. Dr. Serdar KARABÖCEK’e, mantarların toplanmasında ve tanımlanmasında yardımcı olan sayın Prof. Dr. Ertuğrul SESLİ’ye, tezin geliştirilmesinde büyük katkıları olan Arş. Gör. Melek ÇOL’a, Arş. Gör. Hülya TORUN’a ve Öğr. Gör. Dr. Yakup KOLCUOĞLU’na teşekkür ederim.

Çalışmalarımı yapmam için gerekli ortamı sağlayan Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (KTÜ-BAP) ve Kimya Bölümü çalışanlarına teşekkür ederim.

Emeğini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme ve Dr. Deniz EKİNCİ’ye sonsuz minnet duygularımı sunuyorum.

Ülkü TERZİ
Trabzon 2009

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	V
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER DİZİNİ	X
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Biyolojik Sistemlerde Serbest Oksijen Radikalleri.....	3
1.2.1. Süperoksit Radikali.....	3
1.2.2. Peroksit Radikali	3
1.2.3. Hidroksil Radikali.....	4
1.3. Oksijen Radikallerinin Biyomoleküllerdeki Hasarları.....	4
1.4. Biyosistemlerde Oksijen Radikallerinden Kaynaklanabilecek Hasarların Engellenmesi	5
1.4.1. Radikal Gideren Enzimler	6
1.4.2. Küçük Molekül Ağırlıklı Doğal Antioksidanlar.....	7
1.4.3. Sentetik Antioksidanlar.....	8
1.5. Nükleik Asitler.....	9
1.5.1. Nükleik Asitlerin Yapı Elemanları ve Özellikleri	9
1.5.2. DNA Yapıları.....	10
1.6. DNA ile Küçük Moleküllerin Etkileşimi	10
1.6.1. İnterkalasyon Etkileşimleri	11
1.7. Antimikrobiyal Maddeler.....	13
1.8. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri	14
1.9. Mantarlarla İlgili Biyolojik Aktivite Çalışmaları	15
1.10. Komplekslerle İlgili Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	18
1.11. Çalışmanın Amacı ve Pratik Önemi	21
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	22

2.1.	Kullanılan Cihazlar ve Materyaller.....	22
2.1.1.	Cihazlar	22
2.1.2.	Çözeltiler ve Tamponlar	22
2.1.3.	Kimyasallar	23
2.1.4.	Kullanılan Suşlar	23
2.1.5.	Kullanılan Mantarlar	24
2.2.	Sıvı ve Katı Besiyerleri	24
2.2.1.	Antimikrobiyal Çalışmalarda Kullanılan Besiyerleri	24
2.2.1.1.	Mueller Hinton Agar (MHA) Besiyeri	24
2.2.1.2.	Mueller Hinton Broth (MHB) Besiyeri.....	24
2.2.1.3.	Potato Dekstroz Agar (PDA) Besiyeri	25
2.2.1.4.	Yeast Ekstrakt Broth (YEB) Besiyeri	25
2.2.2.	DNA İzolasyonu Çalışmalarında Kullanılan Besiyerleri.....	25
2.2.2.1.	Lauria-Bertani (LB) Besiyeri	25
2.2.2.2.	Lauria-Bertani Agar (LBA) Besiyeri	26
2.3.	Gece kültürlerinin Hazırlanması	26
2.4.	Plazmid DNA İzolasyonu	26
2.5.	DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi	27
2.6.	Ekstraksiyon.....	27
2.6.1.	Metanol ile Soxhlet Ekstraksiyonu	27
2.6.2.	Etilasetat ile Soxhlet Ekstraksiyonu.....	28
2.6.3.	Su ile Ekstraksiyon	28
2.7.	Mantar Özütlerinde Toplam Madde Konsantrasyonunun Belirlenmesi	28
2.8.	Antioksidan Madde ve Aktivite Tayinleri	29
2.8.1.	Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	29
2.8.2.	Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi	29
2.8.2.1.	Mantar Özütlerinin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	29
2.8.2.2.	Komplekslerin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	30
2.8.3.	Komplekslerin Süperoksit Dismutaz Benzeri Aktivitesi	30
2.9.	Antimikrobiyal Çalışmalar.....	31
2.9.1.	Mantar Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi	31
2.9.2.	Komplekslerin Antimikrobiyal Aktivitesi	32
2.9.3.	Misel Gelişiminin İnhibisyonu Aktivitesi.....	32

2.9.4.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Tayini.....	33
2.10.	Kompleks- DNA Etkileşiminin İncelenmesi	33
3.	BULGULAR.....	35
3.1.	Antioksidan Madde ve Aktivite Tayinleri	35
3.1.1.	Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	35
3.1.2.	Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi	37
3.1.2.1.	Mantar Özütlerinin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	37
3.1.2.2.	Komplekslerin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	39
3.1.2.3.	Komplekslerin Süperoksit Dismutaz Benzeri Aktivitesi	41
3.2.	Antimikrobiyal Çalışmalar.....	41
3.2.1.	Mantar Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi	42
3.2.2.	Komplekslerin Antimikrobiyal Aktivitesi	43
3.2.3.	Misel Gelişiminin İnhibisyonu Aktivitesi.....	44
3.3.	Kompleks- DNA Etkileşiminin İncelenmesi	44
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	50
5.	ÖNERİLER.....	56
6.	KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ		

ÖZET

Hıdırnebi yaylasından (Trabzon) rastgele örnekleme yöntemine göre toplanan, *Boletus edulis* Bull. Fr., *Boletus erythropus* Pers., *Tricholoma saponaceum* var. *saponaceum* (Fr.) P. Kumm., *Agaricus arvensis* Schaeff., *Cantharellus cibarius* Fr. var. *cibarius*, *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke, *Russula rosea* Pers., *Leucopaxillus giganteus* (Sowerby) Singer ve *Helvella elastica* Bull. yenilebilir mantarlarının su, % 80'lik metanol ve % 99.9'luk etilasetat özütlerinin antioksidan ve patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesi incelendi. Mantar özütlerinde toplam fenolik madde miktarının 6.620-163.0 mg Gallik Asit Ekvivalent /g özüt arasında olduğu belirlendi. Bu özütlerde en yüksek fenolik madde içeriğın *Agaricus arvensis* Schaeff. mantarının metanol özütünde olduğu tespit edildi. Özütlerin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi IC₅₀ olarak ifade edildi ve 0.014- 13.600 mg/ml aralığında olduğu belirlendi. *Boletus edulis* Bull. Fr: mantarının etilasetat özütü en yüksek DPPH serbest radikali giderme aktivitesi sergiledi. Çalışılan özütlerin hiçbirinin önemli derecede antimikrobiyal aktivite sergilemediği görüldü. Çalışmada ayrıca (2E,3E)-[6-{{(1E,2E)-2-(hidroksiimino)-1-metilpropiliden}amino} pridin-2-il)imino]bütan-2-on oksim ligandının homo dinükleer bakır (II), hetero dinükleer bakır (II) -nikel (II), mononükleer bakır (II) ve 2-(hidrosiimino)-1-metilpropilidenaminofeniliminobütan-2-on oksim ligandının mononükleer bakır (II), hetero dinükleer nikel (II) –bakır (II), homo dinükleer bakır (II), homo trinükleer bakır (II) ve hetero dinükleer bakır (II) -nikel (II) komplekslerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ile kompleks-DNA interkalasyon etkileşimleri incelendi. Komplekslerin antimikrobiyal aktivite ve DNA- interkalasyon etkileşimine sahip oldukları belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Makromantar, Oksim, Antioksidan, Antimikrobiyal, İnterkalasyon

SUMMARY

Investigation of Biological Activities of Some Edible Mushroom Extracts and Oxim Ligand Complexes

The antioxidant and antimicrobial activities (against pathogen microorganisms) of edible mushroom extracts (water, 80 % methanol, and 99.9 % ethyl acetate), incorporating *Boletus edulis* Bull. Fr., *Boletus erythropus* Pers., *Tricholoma saponaceum* var. *saponaceum* (Fr.) P. Kumm., *Agaricus arvensis* Schaeff. , *Cantharellus cibarius* Fr. var. *cibarius*, *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke, *Russula rosea* Pers., *Leucopaxillus giganteus* (Sowerby) Singer and *Helvella elastica* Bull. were investigated. The mushrooms were collected from Hidirnebi high plateau (Trabzon) according to randomized sampling method. The amount of total phenolic compounds in the extracts ranged from 6.620 to 163.0 mg Gallic Acid Equivalent/ g extract. The highest amount of phenolic compounds was found in methanol extract of *Agaricus arvensis* Schaeff. mushroom. DPPH free radical scavenging activities of the extracts were expressed in IC₅₀ values and calculated to range from 0.014-13.600 mg/ml. Ethyl acetate extract of *Boletus edulis* Bull. Fr: mushroom exhibited the highest free radical scavenging activity. It was observed that non of the extracts exhibited significant antimicrobial activity. Besides, antioxidant, antimicrobial and DNA-intercalation activities of complexes of (2E,3E)-3-[(6- {[(1E,2E)-2-(hydroxyimino)-1-methylpropylidene]amino}pyridin-2-yl)imino]butan-2-one oxime ligand with mononuclear copper (II), homo dinuclear copper (II), hetero dinuclear copper (II) -nicel (II), and complexes of 2-(hydroxyimino)-1-ethylpropylideneaminophenyliminobutan-2-one oxime ligand with mononuclear copper (II), homo dinuclear copper (II), hetero dinuclear nicel (II) – copper (II), homo trinuclear copper (II) , hetero dinuclear copper (II) –nicel (II) were investigated. The complexes were determined to have antimicrobial activity and DNA-intercalation property.

Key Words: Mushroom, Oxim, Antioxidant, Antimicrobial, Intercalation

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.	Çalışmada kullanılan mantarların fruktifikasyon organları.....	17
Şekil 2.	Komplekslerin ve ligandların açık kimyasal yapıları.....	20
Şekil 3.	K1 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu	44
Şekil 4.	K2 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu	45
Şekil 5.	K3 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu	45
Şekil 6.	K4 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu	46
Şekil 7.	K5 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu	46
Şekil 8.	K6 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu	47
Şekil 9.	K7 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu	47
Şekil 10.	K8 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu	48
Şekil 11.	L1 ligandının 0.3 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu.....	48
Şekil 12.	L2 ligandının 0.3 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu.....	49

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Reaktif oksijen türleri	2
Tablo 2. Moleküler oksijenin bazı türevleri.....	2
Tablo 3. Mantarların sınıflandırması	17
Tablo 4. Kullanılan cihazlar.....	22
Tablo 5. Mantarların su, metanol ve etilasetat özütlerinin toplam fenolik madde içeriği	36
Tablo 6. Mantarların farklı çözücülerde hazırlanan özütlerinin DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması.....	37
Tablo 7. Mantarların su, metanol ve etilasetat özütlerinin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi için IC ₅₀ değerleri	38
Tablo 8. Komplekslerin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi için IC ₅₀ değerleri.....	39
Tablo 9. Komplekslerin SOD benzeri aktivitesi için IC ₅₀ değerleri	40
Tablo 10. Metanol özütlerinin disk difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal aktivite deneyinde besiyerinde oluşturdukları inhibisyon çapları	41
Tablo 11. Etilasetat özütlerinin disk difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal aktivite deneyinde besiyerinde oluşturdukları inhibisyon çapları	42
Tablo 12. Komplekslerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK)	43

SEMBOLLER DİZİNİ

ABTS	: 2,2-azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sulfonik asit)
DMF	: Dimetilformamid
DMPD	: N,N-dimetil-p-fenilendiamin
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
E.C.	: Enzim kod numarası
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ETOAC	: Etilasetat
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
rpm	: Revolution per minute (Dakikada devir sayısı)
Tris	: Tris (hidroksimetil) aminometan
Trolox®	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
W	: Watt
µM	: Mikromolar
µl	: Mikrolitre

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Oksidasyon, canlı organizmalar için çok önemli bir süreçtir. Oksijen ise hem yaşamın hem de ölümün molekülü olarak bilinmektedir. Oksijen insanların hayatlarını devam ettirebilmeleri için çok önemli bir moleküldür. Oksijen anaeroblar için gelişimi durdurucu ya da öldürücü etkiye sahiptir. *Bacteroides fragilis* gibi bazı anaeroblar düşük oksijen konsantrasyonunda yaşayabilirlerken *Clostridia* gibi türler ancak oksijensiz ortamlarda yaşayabilirler. Oksijenin anaeroblar üzerine zararlı etkisi, anaerobların önemli hücre bileşenlerinin oksijen ile oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Ayrıca oksijenin eksik indirgenmesi, reaktif oksijen türlerinin de (ROS) oluşmasına sebep olmaktadır. Antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda, hücreye zarar veren bu reaktif oksijen türleri hücre ölümlerine sebep olmaktadır. Oksijenin bu yükseltgeyici özelliğinden anaerobların beraberinde aeroblar da zarar görmektedirler. %40'lık oksijen konsantrasyonunda, protein agregatları birikimi, proteaz aktivitesi artışı ve yaşlanmada hızlanma görülmüştür (Davies, 2000).

Moleküler oksijenin oksidasyon yeteneği süperoksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin aktivitesine göre nispeten düşüktür. Yüksek oksijen konsantrasyonunda, bu reaktif türleri uzaklaştıracak sistemler yetersiz kalmakta ve bilhassa doymamış yağ asitleri oksidasyona uğramaktadır. Dolayısıyla yüksek lipid içeriğine sahip olan sinir ve membran dokuları yüksek oksijen konsantrasyonunda kolayca oksidatif hasara uğramaktadırlar (Sohal, 2002).

Vücutta reaktif oksijen türlerinin yanı sıra bazı reaktif azot türleri (RNS) de meydana gelmektedir. Tablo 1'de gösterilen reaktif oksijen türleri, oksidatif strese en çok sebep olan faktörlerdendir (Aruoma ve Cuppett, 1997).

Reaktif oksijen türlerinden bazıları insan metabolizmasının vazgeçilmez bir parçasıdır ve normal olmayan şartlarda konsantrasyona bağlı olarak artış görülebilir. Bunun yanı sıra bazı reaktif türler ise insan vücudunda çok az üretilir ya da hiç üretilmez, dış kaynaklı olarak alınabilir. Sigara dumanı, radyasyon, serbest geçiş metali iyonları, hava kirliliği, pestisitler gibi iç ya da dış kaynağa bağlı olarak reaktif türler meydana gelebilir (Gülçin vd., 2003).

Tablo 1. Reaktif oksijen türleri

Radikaller	Formülü	Nonradikaller	Formülü
Süperoksit	$O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksi	$OH\cdot$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksi	$ROO\cdot$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksi	$RO\cdot$	Ozon	O_3
Hidroperoksi	$HOO\cdot$	Singlet oksijen	$^1\Delta_g \ ^1O_2$

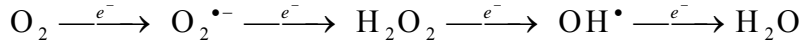
Reaktif oksijen türlerinin (Tablo 2) zararlı etkilerinin temel sebebi radikal olmaları, radikal oluşumuna sebep olabilmeleri veya yükseltgeme potansiyellerinin daha yüksek olmalarıdır. Oksidatif stres sürecinde oluşan reaktif oksijen türleri nükleik asitleri, proteinleri ve lipitleri oksitleyebilir (Stadtman, 2002). Reaktif oksijen türleri ile biyomoleküller arasındaki reaksiyon, radikalik zincir reaksiyonu şeklinde olduğundan oksidatif hasar da zincirleme şeklindedir. Bu zincirleme reaksiyon yeni reaktif türleri oluşturmakta ve bunlar da başka biyomoleküllere zarar vermektedir. Bu durum, organizmada ilerleyen dönemlerde, daha belirgin bir hal almaktadır. Oksidatif stres süresince oluşan reaktif türlerin yaşlanmaya sebep olduğu da bilinmektedir. Çünkü yaşlanmayla beraber reaktif oksijen türlerinin biyomoleküller üzerindeki oksidatif hasarında artış söz konusudur (Berlett ve Stadtman, 1997; Szveda vd., 2002; Stadtman, 2002; Sohal, 2002; Grune vd., 2004).

Tablo 2. Moleküler oksijenin bazı türevleri

Oksijen Türü	Formülü	Basit Elektronik Yapısı	En Dış Elektronların Spin Durumu
Triplet oksijen	3O_2	$\cdot O-O\cdot$	$\uparrow\uparrow$
Singlet Oksijen	1O_2	$\cdot O-O\cdot$	$\uparrow\downarrow$ veya $\downarrow\uparrow$
Süperoksit radikali	O_2^-	$\ddot{O}-O\cdot$	$\uparrow\downarrow$
Peroksit	O_2^{-2}	$\ddot{O}-\ddot{O}$	$\uparrow\downarrow$

1.2. Biyolojik Sistemlerde Serbest Oksijen Radikalleri

Canlılardaki elektron akışı serbest enerjinin elde edildiği birçok basamağı takip eder ve bu akış son olarak oksidatif fosforilasyonda, O₂ molekülünde durur. Çünkü ortamda indirgenme potansiyeli daha yüksek bir bileşiğin varlığı söz konusu değildir. Normal olarak işleyen bir sistemde O₂ suya kadar indirgenir.



Genellikle biyolojik sistemlerde moleküler oksijene iki elektron ilavesi ile H₂O₂ oluşurken, dört elektron ilavesi ile H₂O oluşur.

1.2.1. Süperoksit Radikali

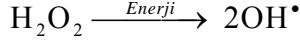
Reaktif oksijen türlerinin temel kaynağının süperoksit radikali olduğu, onun da temel kaynağının mitokondri olduğu düşünülmektedir (Stadtman, 2002; Nohl vd., 2003). Çünkü mitokondride oksijene her seferinde yalnızca bir elektron transfer edilebildiğinden, elektron transferi sırasında süperoksit radikali oluşumu kaçınılmazdır. Süperoksit, dismutasyon reaksiyonu ile diğer reaktif oksijen türü olan H₂O₂'i oluşturur. Hidrojen peroksit ise toksik özelliğinden ziyade geçiş metalleri varlığında aktivitesi yüksek olan OH• radikali oluşturma potansiyeline sahip olmasından dolayı önemlidir. Yaş ilerledikçe mitokondride O₂^{•-} ve H₂O₂ üretim hızı artar (Sohal, 2002).

1.2.2. Peroksit Radikali

Reaktif bir tür olan H₂O₂ suda kolayca çözünebilen ve mekanizması bilinmemesine rağmen hücre membranından su gibi rahatlıkla geçebilen bir moleküldür. Genellikle 50 µM ve üzeri konsantrasyonlardaki H₂O₂, muamele süresine ve fizyolojik şartlara bağlı olarak birçok hayvan, bitki ve bakteri hücre kültürü üzerinde toksik etkiye sahiptir. Bundan dolayı H₂O₂'in *in vivo* olarak çok toksik olduğu ve hızlı bir şekilde uzaklaştırılması gerektiği düşünülmektedir. Bu da peroksidaz ve katalaz enzimleri tarafından yapılmaktadır (Gutteridge, 1989; Aruoma, 1998; Halliwell vd., 2000).

1.2.3. Hidroksil Radikali

Hidrojen peroksitteki O-O bağı nispeten zayıf olduğu için kolayca parçalanabilir. Bu bağı homolitik parçalanmasıyla aktivitesi çok yüksek olan OH· radikali oluşur.



1.3. Oksijen Radikallerinin Biyomoleküllerdeki Hasarları

Reaktif oksijen türlerinden en çok etkilenen moleküllerin, hücre membranının ana bileşeni olan lipidler olduğu düşünülmektedir. Organizmada yeterli miktarda reaktif atom ya da molekül bulunması durumunda lipid peroksidasyonu kolaylıkla başlar. Oksijenin sebep olduğu lipid oksidasyonu tipik bir radikalik zincir reaksiyonudur (Aruoma ve Cuppett, 1997; Köksal, 2007) ve lipid peroksidasyonu hücrenin hayati fonksiyonları için de zararlıdır (Davies, 2000).

Lipidler gibi proteinler de oksidatif stresten etkilenirler. Proteinlerin oksidasyonu genellikle OH· tarafından başlatılır ve sürecin gidişatı oksijen, süperoksit ya da onun protonlanmış hali olan HO₂· tarafından belirlenir (Berlett ve Stadtman, 1997). Ayrıca diğer reaktif türler de protein oksidasyonunda yer alabilirler (Dalle-Donne vd., 2003). Reaktif oksijen türleri amino asit birimlerinin yan zincirlerini de oksitleyebilir. Böylece istenmeyen protein-protein etkileşimleri oluşabilir ve proteini parçalayabilecek şekilde protein iskeletini oksitleyebilirler. Benzer şekilde oksidatif hasarlar serbest geçiş metal iyonlarının varlığında da olmaktadır (Berlett ve Stadtman, 1997; Stadtman, 2002).

Reaktif oksijen türlerinin hücrelerdeki karbohidratlar üzerine etkisi, çeşitli şekillerde ortaya çıkmaktadır. Bilhassa mannitol ve bazı sakkarit türevleri hidroksil radikalleri ile reaksiyon vermektedir. Monosakkaritlerin yükseltgenmesiyle oluşan çeşitli peroksit türevleri ve oksialdehitler, nükleik asit ve protein gibi diğer makromoleküllerle etkileşerek ve daha sonra bu moleküller üzerinde çapraz bağlar oluşturarak bu moleküllerin yapısını bozabilmektedirler. Böylelikle oluşacak hasar hücre yaşlanması ya da kanserle sonuçlanabilmektedir (Davies, 1993).

Hücrelerde DNA hasarına sebep olan endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Reaktif oksijen türlerinin her birinin DNA üzerine

etkileri farklıdır. Örneğin, süperoksit ve hidrojen peroksit neredeyse DNA bazları ile hiç reaksiyon vermez. Bunun yanı sıra, hidroksil radikalleri DNA bazlarının dördüyle de çok çeşitli ürünler verirler. Reaktif oksijen türleri mitokondriyal DNA'ya da hasar verebilmektedir ve bu hasarlar yaşlanma ve çeşitli hastalık durumlarında gözlenmiştir (Wiseman ve Halliwell, 1996; Köksal, 2007).

1.4. Biyosistemlerde Oksijen Radikallerinden Kaynaklanabilecek Hasarların Engellenmesi

Aeroblar, reaktif türlerin yukarıda bahsedilen olumsuz bazı etkilerine karşılık, bu etkileri önleyecek ya da tolere edecek sistemlere sahiptir. Oksidatif hasarın önündeki en önemli engel, dokulardaki oksijen konsantrasyonu (30 mmHg) ile atmosferdeki oksijen konsantrasyonu (150 mmHg) arasındaki büyük farktır. Bu avantaja ilaveten endojen antioksidan sistemler ve ekzojen olarak alınan antioksidanlar da mevcuttur (Mavi, 2005).

Bu reaktif oksijen ve azot türlerine karşı özellikle aeroblar çeşitli savunma sistemlerine sahiptirler. Bu sistemler yaygın olarak “Antioksidan Sistem” olarak bilinirler. Organizmada, sürekli, reaktif oksijen ve azot türleri (ROS ve RNS) üretilmekte, fakat antioksidan sistem tarafından istenilmeyen bu etkiler giderilmektedir. Bu durum bir denge halinde ve süreklidir. Bu dengenin oksidanlar lehine bozulması durumu ise “Oksidatif Stres” olarak değerlendirilir.

Oksidatif stres durumunda reaktif oksijen ve azot türlerinin miktarında artış olur ve bu ürünlerin reaksiyon hızları artar. Başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere metabolizmadaki birçok sistem bu durumdan olumsuz etkilenir (Lambeth, 2004). Olumsuz etkilenen bu sistemler, diğer periferik sistemleri de etkilerler ve bu durum zincirleme olarak devam eder. Bu durum radikalik zincir reaksiyonu, antioksidan sistem tarafından sonlanıncaya kadar devam eder. Aksi durumda bu reaktif türler hücrenin direkt ya da dolaylı olarak ölümüne sebep olurlar (Moldovan ve Moldovan, 2004).

Bitki ve hayvan hücrelerinde pek çok savunma ve korunma mekanizması mevcuttur. Bu mekanizmalar organizmanın normal oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı kendisini koruması için gereklidir (Fridovich, 1976; Meal, 1976). Bu açıdan biyolojik sistemlerde antioksidan savunma mekanizmasının araştırılması ile ilgili çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Çünkü oksidatif hasarın radikalik mekanizmaya sahip olması,

yaşlanmaya sebep olan en önemli faktörlerden biridir (Ramarathnam vd., 1988; Köksal, 2007).

Canlılarda oksidan etkiye karşı iki farklı savunma sistemi mevcuttur. Bunlar endojen ve ekzojen antioksidan etkilerdir. Endojen antioksidan sistem; antioksidan enzimler, tamir sistemleri, hasarlı molekülleri uzaklaştıran sistemler (proteazlar ve fosfolipazlar), metal bağlayıcılar (hemoglobin, miyoglobin, ferritin, seruloplazmin) ve yeni bileşikleri sentezleyen sistemler gibi alt sistemlerden oluşur. Ayrıca, ürik asit ve glutatyon gibi vücut içi küçük molekül kütleli bileşikler de birer antioksidan olarak görev yaparlar.

1.4.1. Radikal Gideren Enzimler

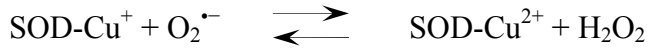
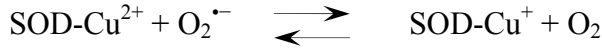
Yukarıda bahsedilen oksidan maddelere karşı canlı organizmadaki antioksidan savunma sisteminde glutatyon peroksidaz (GPOD), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi “Primer Antioksidan Enzimler” büyük öneme sahiptir.

SOD (E.C.1.15.1.1, süperoksit-süperoksit oksidoredüktaz) ilk olarak 1968’de tanımlanmıştır (Mc Cord ve Fridovich, 1968). Oksijen elektronların teker teker eklenmesi ile indirgenmektedir. Çünkü bir çift elektronun doğrudan taşınması sonucu oksijenin indirgenmesi çok yavaş gerçekleşen bir olaydır. Bir oksijen molekülünün suya indirgenmesi için dört elektron gereklidir. Oksijenin böyle indirgenme sürecinde bazı ara ürünler oluşmaktadır ki bunlar hücre bileşenleri için son derece zararlıdır. Süperoksit radikali ve hidrojen peroksit bunların en önemlileridir. Her iki tür de, birçok biyomolekülün dönüşümsüz zarar görmesine yol açabilecek kadar reaktiftirler. Aerobik hücrelerde bulunan süperoksit dismutaz enziminin, süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürebileceği, Fridovich ve arkadaşlarının çalışmaları sonucu anlaşılmıştır (Mc Cord ve Fridovich, 1968; Mc Cord ve Fridovich, 1969).



SOD enzimlerinin aktif bölgesinde Mn, Fe ve Cu-Zn gibi geçiş metallerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Fridovich, 1995). Hücrenin antioksidan savunmasını artırmak için katalitik aktiviteleri Mn, Fe ve Cu-Zn bağlı olan SOD proteinleri ve bu proteinlerin Mn, Fe ve Cu-Zn’ye bağlı mimikleri kullanılmaktadır (Liu vd., 1994). Biri mitokondri

diğeri sitozolde olmak üzere SOD iki şekilde bulunur. Karakteristik Mn^{2+} içeriği ve aminoasit diziliği bakımından ökaryotlardaki mitokondriyal SOD birçok bakterininkine benzer. Sitozoldeki SOD ise Cu^{2+} ve Zn^{2+} iyonları ihtiva eder ve tamamen farklı bir yapıya sahiptir. Cu, Zn –SOD’ların her birinde bir elektron taşınmak üzere, süperoksit radikalleri ile olan etkileşim mekanizması iki basamakta gerçekleşir. Bu mekanizmada öncelikle, aktif bölgedeki Cu^{2+} iyonu, süperoksit radikaliyle etkileşimi sonucu Cu^+ ’e indirgenir ve moleküler oksijen oluşur. Bir sonraki aşamada ise ikinci süperoksit radikali, indirgenen metal merkezden bir elektron ve ortamdan da iki proton alarak hidrojen peroksiti oluşturur. Böylece enzimin aktif bölgesindeki metal merkez ilk haline dönmüş olur (Lippard ve Berg, 1994; Kaval, 2000).



1.4.2. Küçük Molekül Ağırlıklı Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar bitkilerin bütün kısımlarında bulunurlar. Bunlar flavonoidler, glutatyon karotenoidler, vitaminler, fenoller ve endojen metabolitleri içerir. (Larson, 1988). Meyve ve sebzeler de pek çok antioksidan içerirler (Cao vd., 1996). Doğal antioksidan bileşikler; sebzelerde, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda ve kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır (Pratt vd., 1990). Bu sebeple bol miktarda sebze ve meyve tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azalttığı gibi kanser ve ölüm oranında düşüş meydana getirmektedir (Ames vd., 1993). Doğal antioksidanların en önemlileri arasında tokoferoller, karotenoider, askorbik asit, ve skualen sayılabilir. Askorbik asit, bitkiler ve pek çok memeli tarafından karaciğerde glukozdan sentezlenir. Askorbik asit, bazı enzimlerde kofaktör olarak da görev yapar (Padayatty vd., 2003; Arrigoni ve De Tullio, 2002).

Diğer bir önemli antioksidan, E vitamini dir. Tokoferoller, E vitamini olarak da bilinir. Tokoferoller içerisinde biyolojik açıdan en önemli olanı, α -tokoferoldür. Tokoferoller, gıda maddelerinin bozulmasını önleyen ve uzun ömürlü olmalarında rol oynayan önemli bir doğ al antioksidan gruptur (Ruiz-Lopez vd., 1995).

Bir başka antioksidan olan β -karoten bitkilerde bulunan ve α -tokoferol gibi peroksil ve alkoksil radikalleri ile reaksiyona girebilen bir moleküldür. Bu sebeple lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu engelleyebilir. Bunun yanı sıra iyi bir singlet oksijen söndürücüdür (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Flavonoidler ise bitkiler tarafından sentezlenen fenolik yapıdaki bileşiklerdir. Fenolik yapılarından dolayı antioksidan özellik göstermektedirler ve hücreleri reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerinden etkin bir şekilde korur (Groot ve Rauen, 1998). Flavonoidler antioksidan özelliğe sahiptir ve koroner kalp hastalıkları gibi pek çok hastalığı önleyen önemli bir doğal bileşik grubudur. Bitkilerden elde edilen flavonoidlerin UV ışınlarını absorblama özellikleri ve antioksidan aktivitelerinden dolayı kanser tedavisinde kemoprotektif etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Hertog vd., 1995).

Yirminci yüzyılın başlarından beri maliyet nedeniyle doğal kaynaklı antioksidanlar yerine sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen olabileceğinin ortaya konulduğu çalışmalar sonucunda bazı ülkelerde kullanılmalarına dair ciddi sınırlama veya yasaklar getirilmiştir (Haigh, 1986; Van Esch, 1986). Sentetik antioksidanlar hakkındaki şüpheler doğal antioksidanlara olan eğilimi arttırmış ve bu alandaki çalışmalar bitki kaynaklı antioksidanlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Doğal kaynaklı E ve C vitamini uzun yıllardır besinlerde sinerjistik etkiden dolayı birlikte veya ayrı ayrı antioksidan olarak kullanılmaktadır. Ancak, tokoferol ve askorbik asidin antioksidan aktivitesi kısmen sentetik antioksidanlardan daha düşüktür (Nishina vd., 1991). Birer doğal antioksidan olan α -tokoferol ve askorbik asit sentetik antioksidanlara göre düşük aktivite göstermelerine karşın, besin maddelerinin üretim ve muhafazasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Osawa ve Namiki, 1981; Nishina vd., 1991).

1.4.3. Sentetik Antioksidanlar

Doğal antioksidanların yanı sıra sentetik antioksidanlar da mevcuttur. Doğal antioksidanlar genellikle gıda sektöründe, gıdaların raf ömrünün uzatılması amacı ile kullanılırlar. Gıda maddelerinde, peroksidasyon sürecini geciktirmek ya da önlemek ancak antioksidan bileşiklerin ilavesiyle mümkün olabilir ve pahalı bir metottur. Yıllardır gıda maddelerinin bozulmalarını engellemek için sentetik antioksidan olarak bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyerbütillhidrokinon (TBHQ) kullanılmaktadır. Fenolik bileşik olmaları, onların etkili birer antioksidan olmalarını sağlar.

Dış kaynaklı olarak alınan antioksidanlar vücut içi antioksidan sisteme destek olur. Doğal ve sentetik olmak üzere dışarıdan alınan antioksidanlar iki grupta incelenebilir. Sentetik olarak kullanılan antioksidanlar BHT, BHA, TBHQ, propil galat (PG), troloks ve diğer sentetik antioksidanlardır (Mavi, 2005). En yaygın olarak kullanılan bu sentetik antioksidanların bazı istenmeyen etkilere sahip olduğu bildirilmektedir. Bunun neticesinde tüketiciler bunların sağlık açısından güvenilirlikleri hakkında ciddi endişeler taşımaktadır. Sentetik antioksidanlar geniş bir kullanım alanına sahip olmasına rağmen, son zamanlarda bu istenmeyen yan etkilerinden dolayı kullanımları ciddi bir şekilde sınırlandırılmıştır (Köksal, 2007).

1.5. Nükleik Asitler

1.5.1. Nükleik Asitlerin Yapı Elemanları ve Özellikleri

Nükleik asitler, biyolojik moleküller içerisinde fonksiyonları açısından oldukça önemli biyopolimerlerdir (Güner, 2007). Canlı sistemlerde hücresel ortamda bulunan nükleik asitler, proteinler, metal iyonları ve bu iyonların kompleksleri, küçük organik moleküller, su ve diğer kimyasal türlerin büyük bölümü ile geri dönüşümlü olarak etkileşirler (Blackburn ve Gait, 1997; Yoshimasu vd., 2002). Tüm bu kimyasal türler arasında, nükleik asitlerle proteinler arasındaki etkileşimler, DNA'nın replikasyonu, rekombinasyonu ve translasyonu gibi pek çok biyokimyasal süreçte önemli bir rol oynar (Luo vd., 2004). Bu biyokimyasal süreçlerde önemli enzimlere bir örnek olan nükleazlar, DNA omurgasını oluşturan, biyolojik sistemlerde de çoğu zaman karşılaşılan ve kimyasal bağlar arasında en kuvvetli bağlar olan, şeker ve fosfat grupları arasındaki fosfodiester bağlarının kesilmesi reaksiyonlarının katalizinden sorumludurlar (Neves vd., 2001; Nishino ve Morikawa, 2002).

Enzimler, biyolojik sistemlerde kimyasal reaksiyonları kolaylaştıran ve geleneksel olarak proteinler olarak bilinen biyokatalizörlerdir. Ancak, proteinler katalitik aktiviteye sahip yegane moleküller değildirler. Son yıllarda birkaç DNA ve RNA molekülünün benzer aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Protein ve DNA ya da RNA'ya ilaveten birkaç molekülün (bleomisin, fenantrolin ve diğerleri gibi) de nükleolitik özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Enzim benzeri katalitik aktivite gösteren kimyasal reaktifler ya da küçük moleküller "kemzim" (chemzymes) olarak isimlendirilmişlerdir. Bu nükleazlar ise

“yapay nükleazlar ” ya da “kimyasal nükleazlar” olarak isimlendirilmişlerdir (Neves vd., 2001; Çekirge, 2008).

1.5.2. DNA Yapıları

Basitçe deksiribonükleik asit (DNA), deksiribonükleotid monomerlerinden oluşan çift zincirli polimerik yapıdadır. Bu zincirlerdeki purin ve pirimidin bazlarının sırası genetik kod olarak tanımlanan bir kodu oluşturur.

Polinükleotidlerdeki baz dizisinin oluşturduğu birincil (primer) yapı ile belirlenmiş düzenli katlanmalar ikincil yapı olarak tanımlanır ve bu ikincil yapı sarmal veya katlanmış tabaka olarak ortaya çıkar. İki zincirli polinükleotid sarmallarının üç farklı konformasyona sahip olabileceği gözlenmiş ve DNA çift sarmalı için bu konformasyonlar; A- DNA, B- DNA ve Z-DNA olarak adlandırılmıştır. Bu konformasyonlar değişik geometrik özellikleri ile farklılıklar gösterirler ve her üç konformasyondaki sarmalın yüzeyleri de farklıdır. B sarmalında iki farklı oluk (yiv) bulunur ki bunlar büyük oluk ve küçük oluk şeklinde tanımlanır. A-sarmalında ise bu oluklar derinlik açısından birbirine oldukça benzer. Su ortamında B-DNA formu daha baskın olup su molekülleri, bu küçük oluklara yerleşerek hidrojen bağları ile B-formunun daha kararlı olmasını sağlar. Su molekülleri uzaklaştığında ise A formu daha baskın olur. Bu konformasyonlardan farklı olarak Z-DNA sarmalında deoksiriboz halkalarına göre bazların oryantasyonunda farklılıklar vardır. A- ve B-DNA’da bazlar deoksiriboz halkasına göre anti-oryantasyonda iken Z-DNA’da pirimidinler *anti-* ve purinler ise *syn-*konumuna sahiptir (Güner, 2007).

1.6. DNA ile Küçük Moleküllerin Etkileşimi

Son yıllarda çoğu araştırmacılar küçük moleküllerin DNA ile etkileşimine odaklanmışlardır. DNA, genelde anti kanser ilaçlarının hücre içi hedeflerinde birincil olarak önemlidir. Bu yüzden küçük moleküller ve DNA arasındaki etkileşim kanser hücrelerinin bölünmesinin engellenmesi ve kanser hücrelerinde DNA hasarına hücre ölümünün yol açabilir (Tan vd., 2009). DNA kalıbının spesifik bölgeleri boyunca protein-nükleik asit etkileşimleri için reaktif modeller olarak etkileşen küçük moleküllerle çalışmak, kemoterapik ajanların geliştirilmesi, çözültide DNA yapısı için kimyasal problemler

olarak kullanılması ve genetik sistemleri incelemek amacıyla moleküler biyoloji araştırmalarında araç olarak kullanılmasını sağlar (Hirohama vd., 2005) .

Adrinamisin gibi doğal ve amsakrin gibi yapay, nükleik asitlerle etkileşebilen antibiyotikler, neoplastik hastalıkların türlerinin klinik tedavisinde geniş ölçüde kullanılmıştır. Yüksek sıra özgünlüğüne sahip potansiyel nükleazlar, sentetik oligopeptidler ve nükleotidler ve nükleik asit tanıyan ilaçlar gibi yeni ilgi çekici olanaklar sunar. Nükleik asitlerle küçük moleküllerin arasındaki ilişki, nükleik asit bağlanma özgünlüğü, ligand indüklü konformasyonel değişimler, bağlanmadaki kooperativitenin moleküler esasları, aminoasit yan zincirlerinin nükleik asitlerle olan etkileşimleri ve diğer nükleik asit etkileşimlerinin ve kimyasının kritik özellikleri hakkında bilgi edinilmiştir (Blackburn ve Gait, 1997; Çekirge, 2008).

Küçük moleküller, DNA ile kovalent olmayan 3 yolla etkileşebilirler:

- İnterkalasyon,
- Oluğa bağlanma,
- Dış statik elektronik etkiler.

Bu etkileşimler arasında bileşimin antitümör aktivitesiyle ilişkili olan interkalasyon en önemli DNA-bağlanma şeklidir (Tan vd., 2009).

1.6.1. İnterkalasyon Etkileşimleri

Lerman,1960'ların başlarında, düzlemsel aromatik katyonlarla DNA'nın etkileşimleri üzerine bir takım çalışmalara rehberlik etti ve kendisinin "interkalasyon" olarak isimlendirdiği bir süreçle düzlemsel aromatik moleküllerin DNA'ya dik bir şekilde yaklaşarak kovalent bağlar oluşturmaksızın bağlanabileceğini açıkladı (Braña vd., 2001; Martinez ve Garcia, 2005). İnterkalasyon sürecinde aromatik bileşimin bazlar arası boşluğa uymasını sağlamak için şeker-fosfat bağlarına ait bükülme (torsiyonel) açılarında değişiklikler meydana gelir.

Klasik interkalatörler, halka sistemlerinde ve/veya yan zincirlerinde pozitif yükle yüklenmiş bitişik halkalı aromatik moleküllerdir. Karakteristik örnekleri proflavin klorür içeren akridinyum tuzları, fenatridinum tuzları, etidiyum bromür ve propidium iyodürdür. İnterkalasyonun baz çiftlerinin hidrojen bağlarına engel olmadan gerçekleştiği bilinmektedir. İnterkalasyonun oluşumunda, baz çiftleri arasına giren düzlemsel liganda bir

kavite oluşturmak üzere DNA baz çifti 3.4 Å ayrılır. B-form DNA'nın normal bir dönüşü 36°'dir ve ligandı oluğa sığdırmak için bu dönüşte bir azalma meydana gelir.

Son zamanlarda yeni tedavi edici ajanlar olarak uygulamaları ve onları DNA yapı ve konformasyonunun potansiyel problemleri yapabilecek fotokimyasal özellikleri bakımından geçiş metal komplekslerinin, DNA ile bağlanması üzerine yoğun ilgi vardır. Komplekslerin interkalasyon kabiliyetinde ligandın düzlemselliği, koordinasyon geometrisi, ligand donör atom tipi ve metal iyon tipi rol oynar (Tan vd., 2009). Metal interkalatörlerinin bağlanma gücü etkileşen aromatik halkanın büyüklüğü ve elektron yoğunluğuna olduğu kadar hidrofobik ve hidrofilik etkileşimlerin birleşmiş etkisine de bağlıdır. İnterkalasyon yapan ligandın koordine aromatik halkalarının düzlemselliği ve istiflenmesi, hidrojen bağlanması ve elektrostatik etkileşimler arasındaki kooperativite ile sağlanan ilave kararlılıklar DNA bağlanma ilgisini etkiler (Shabadi vd., 2009).

Değişken yapıları, redoks davranışları ve fizikokimyasal özellikleri bakımından geçiş metal kompleksleri oldukça hassas tanısal ajan olarak kullanışlıdır ve komplekslerdeki metaller veya ligandlar farklı uygulamalarda yararlanmak için kolayca kontrol edilebilen bir yolla değiştirilebilir. Bu tür fonksiyonel moleküllerin DNA'yı tanımlarını yöneten prensipleri izah etmek yani DNA baz sırası için komplekslerin ilgi ve özgülüklerini belirleyen faktörler için metal komplekslerinin DNA'ya bağlanma şeklinin anlaşılması gerekmektedir (Hirohama vd., 2005). Metal kompleksleri ile DNA etkileşimini incelemek için birçok teknik uygulanmaktadır. Bunlar UV spektrofotometri, floresans ve CD spektroskopisi gibi moleküler spektroskopi yöntemleri ve X-ray difraksiyonu, dinamik viskozite ölçümleri ve HPLC gibi diğer tekniklerdir. Bunların arasından UV spektrofotometri çalışması tercih edilmektedir çünkü, küçük moleküllerle DNA etkileşimi deneysel olarak spektroskopik pik cevaplarının pozisyonu ve yoğunluğundaki değişikliklerle izlenebilir (Shabadi vd., 2009).

Komplekslerin DNA'ya bağlanması klasik olarak absorpsiyon titrasyonu ile karakterize edilmiştir (Tan vd., 2009). 'Hiperkromik etki' ve 'hipokromik etki' DNA'nın çift sarmal yapısı ile ilgili spektrum özellikleridir. Bu spektrum değişiklikleri ilacın DNA'ya bağlanmasının ardından DNA'nın konformasyonunda ve yapısındaki değişiklikleri yansıtır. Hipokromizm DNA'nın sarmal eksenini boyunca büzülmesinden olduğu kadar DNA'nın konformasyonundaki değişikliklerden de kaynaklanır. Hiperkromizm ise DNA çift sarmal yapısının bozulmasından kaynaklanır (Zhou vd., 2007).

1.7. Antimikrobiyal Maddeler

Antibiyotik direnci günümüzde giderek artan önemli bir sağlık sorunu haline gelmektedir. 1930’larda sülfonamidlerin keşfi, sonraki yıllarda penisilin ve diğer antibiyotiklerin bulunması ile antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların çoğu kontrol altına alınabilmıştır. Ancak mikroorganizmalar bu savaşta yenilgiyi kabullenmemiş ve her yeni çıkan antibiyotiğe değişik yollarla direnç oluşturmuşlardır. Bu durum, daha geniş etkili ve daha az toksik antibiyotiklerin bulunmasına yönelik çalışmaları artırmıştır. Mikroorganizmalar ile olan bu savaş günümüzde de bütün şiddet ve önemiyle sürmektedir (URL-1, 2009). Günümüzde enfeksiyonlara karşı antibiyotikler kullanılmaktadır. Bunların esas etkileri patojen mikroorganizmaların faaliyetlerinin engellenmesi üzerine olsa da, bu uygulamadan bazı yararlı mikroorganizmalar da etkilenmektedir. Ayrıca, antibiyotiklerin sıkça kullanımı patojen mikroorganizmaların direnç kazanmasına ve antibiyotiklerin etkilerinin giderek azalmasına neden olmaktadır (URL-2, 2009).

Bugünlerde özellikle Gram pozitif ve ilaca karşı dirençli bakterilere ve bazı mantarlara karşı etkili yeni sınıf antibakteriyal ve antifungal ajanların sentezi çok acil ihtiyaçtır. Çünkü bu tip mikroorganizmalar, hastanelerin akut ve uzun dönem bakım ünitelerindeki bazı enfeksiyonlardan sorumludurlar (Güven vd., 2007).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde bu bitkisel zenginlik; ülkemizin üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orjin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu, muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşu nedenlerine dayanmaktadır. Yurdumuzda 9000’e yakın farklı doğal bitki türü bulunmaktadır ve bunların %30’u endemiktir. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (URL-3, 2009).

Makromantarların antimikrobiyal aktivitelerini saptamak amacıyla yapılan araştırmalarda değişik çözücülerde hazırlanan özütlerinin, değişik test mikroorganizmalarına karşı farklı tipte antagonistik etki oluşturdukları bildirilmektedir.

Makromantarların antimikrobiyal etkileri; fungal yapıda sentezlenen ve çoğunlukla organizmaya özgü bazı fenolik bileşikler, pürinler, pirimidinler, kinonlar, terpenoidler ve fenil propanoid türevi gibi antagonistik maddelerden kaynaklanmaktadır (URL-2, 2009).

1.8. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Genel olarak kullanılan teknikler agar difüzyon ve sıvı-broth-dilüsyon yöntemleridir. Bu metotlar dışında inhibisyon çaplarını belirlemek üzere son yıllarda kullanılan diğer bir yöntemde disk difüzyon metodudur. Dilüsyon teknikleri, bir mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılığını tayin etmek için geliştirilmiştir. Ancak bitki özütleri veya uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Bu metotta, ticari olarak geliştirilmiş, 80, 96 veya daha fazla kuyucuğa sahip plaklar kullanılmaktadır. Bu kuyucuk serilerinde madde dilüsyonları hazırlanmakta ve belli bir miktarda kültürün ilavesiyle, madde ve mikroorganizma etkileştirilmektedir. İnkübasyondan sonra test edilen antimikrobiyal maddenin, kullanılan mikroorganizmaya karşı hangi konsantrasyonda etkili olduğu üremenin varlığına veya yokluğuna göre belirlenmektedir. Üremenin varlığı ya da yokluğu bulanıklık tayiniyle yapılmakta ve üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon değeri, minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değeri olarak tanımlanmaktadır.

Antimikrobiyal testlerde kullanılan bir diğer metod da agar difüzyon metodudur. Kalitatif ve yarı kantitatif bilgiler bu metodla ortaya çıkarılabilmektedir. Agar difüzyon tekniğinde, içinde test edilecek olan maddenin bulunduğu bir çukur sistemiyle, test organizmasının bulunduğu uygun bir besiyeri kullanılmaktadır. Besiyeri üzerine, belirli çapta açılan kuyulara homojen olarak çözülmüş uçucu yağ karışımı ya da özüt koyulmaktadır. Kullanılan maddenin yapısal özelliği, difüze olma yüzdesini veya süresini etkileyebilmekte, bu durum da deney sonuçlarında etkili olabilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda, kullanılan madde etkili ise çukurların etrafında belirgin biçimde üremenin olmadığı inhibisyon zonları oluşmaktadır. Oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek kaydedilmekte ve değerlendirilmektedir. Kuyucuklara koyulan maddenin artan ya da azalan konsantrasyonlarıyla, aktivite sonucu oluşan inhibisyon zonu çaplarının doğru orantılı olarak artması ya da azalması beklenmektedir (URL-4, 2009).

1.9. Mantarlarla İlgili Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Son yıllarda tıbbi amaçlarla kullanılan bitkilerin antimikrobiyal etkileri üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. *Bunium paucifolium* var. *paucifolium* DC. var. *paucifolium*'un tuberleri idrar yolları iltihabı için yenilmektedir. *Taraxacum revertens* G. Hagl. infüzyon halinde (%5) müshil, idrar ve safra arttırıcı; *Linum nodiflorum* L.'nin petalleri ülsere karşı; *Centauria kurdicra* Reichart.'nın kapitulumları sinir gevşetici; *Echium italicum nodiflorum* L.'nin çayı idrar arttırıcı terletici ve yatıştırıcı; *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Frey & Barnma) Barnma yaprakları haricen yara iyi edici ve çayı içecek olarak; *Thymus kotschyanus* (Boiss & Hohen) var. *Glabrescens* Boiss'in kurutulmuş çiçekli ve yapraklı dalları baharat, çayı mideyi, yatıştırıcı, antiseptik, kurt düşürücü, kan dolaşımını düzenleyici olarak; *Verbascum varians* (Frey & Sind) çiçekleri balgam sökücü ve göğüs yumuşatıcı, çayı ise dahilen basura karşı; *Rheum ribes* L.'nin kusmayı önleyici, kabız, sindirimi kolaylaştırıcı, şeker hastalığına, nefes darlığına ülser ve böbrek hastalıklarına karşı kullanılmaktadır (Kırbağ ve Zengin, 2006).

Günlük hayatta taze olarak tüketilen pek çok mantar (Elmastaş vd., 2007) ve bitkinin antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Yaygın bir şekilde kullandığımız brokoli (Gülçin vd., 2004a), anason (Gülçin vd., 2003), nane (Elmastaş vd., 2005), kızılıçık (Gülçin vd., 2005), defne (Elmastaş vd., 2003), reyhan (Gülçin vd., 2007), lavanta (Gülçin vd., 2004b), rezene (Oktay vd., 2002) ve karabiber (Gülçin, 2005) bu bitkiler arasında sayılabilir.

Besleyici değerlerine ek olarak pek çok yenilebilen mantar türünün uzun zamandan beri dünyanın birçok ülkesinde tıbbi amaçlarla da kullanıldığı belirtilmektedir (URL-3, 2009). Mantarlar doğu kültürlerinde uzun zamandan beri güzel koku ve dokuları sebebiyle gıda ve çay olarak kullanılmaktadır. Doğru tedavilerinde medikal mantarların tespit edilen geleneksel kullanım tarihi vardır. Hala Japonya, Çin, Kore ve diğer Asya ülkelerinde, modern klinik uygulamalarda mantarlardan hazırlanan ilaçlara güvenilmeye devam edilmektedir (Türkoğlu vd., 2007). Yeni teröpatik seçenekler araştıran bilim çevreleri, pek çok mantar türü üzerinde çalıştı ve araştırma sonuçları biyolojik aktiviteleri olduğunu ispatladı (Barros vd., 2008). Mantarların immünolojik ve antikanser özelliklerinin yanı sıra antioksidan, antihipertansif, kolesterol düşürücü, karaciğer koruyucu, antifibrotik, antidiyabetik, antiviral, antimikrobiyal (URL-2, 2009), anti-enflamatuvar ve immunosupresör etkileri olduğu belirtilmektedir. Asya kültüründe yaygın olarak tüketilen

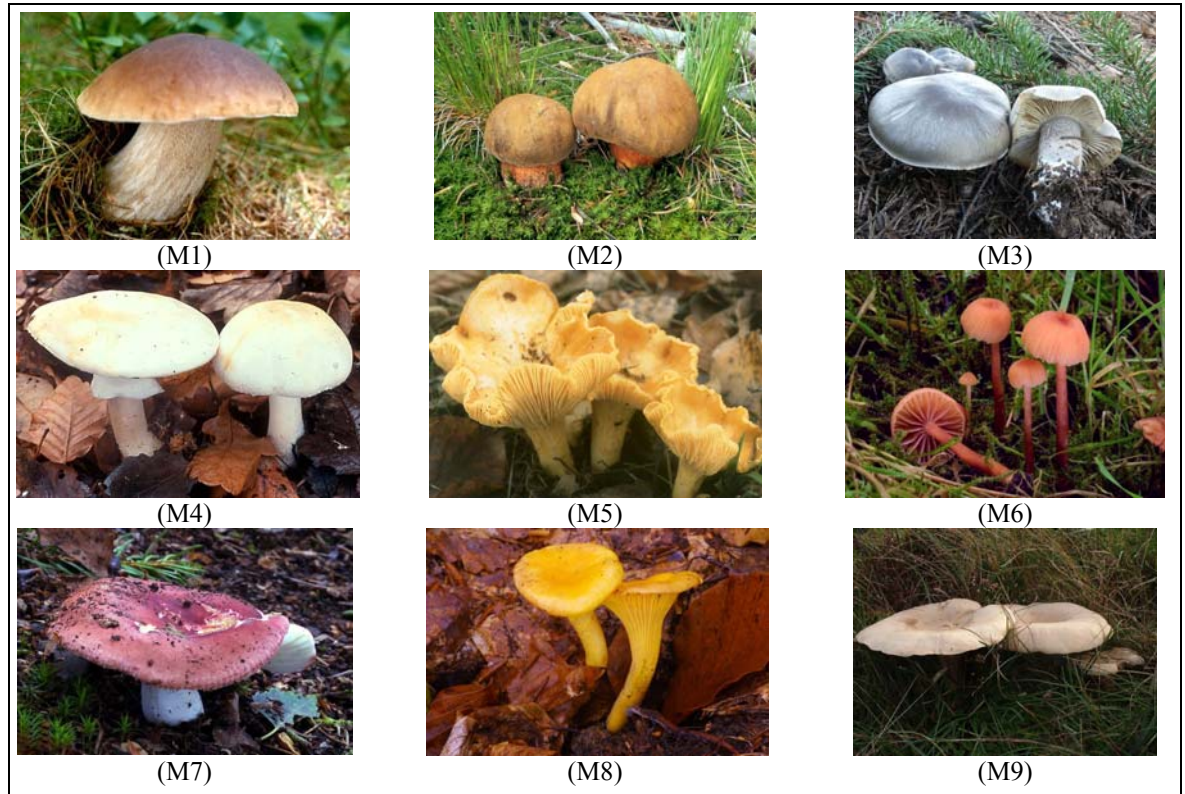
bazı bilinen yenilebilir mantarların, toplam fenolik madde içeriği ile ilişkili olarak antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya konuldu. Son zamanlarda mantarların çok iyi protein, variegatik asit ve dibokinon gibi fenolik antioksidan kaynağı olduğu düşünülmektedir (Türkoğlu vd., 2007).

Dictyophora indusiata (Vent. Ex Pers.), *Grifola frondosa* (Dickson: Fries) Gray, *Hericium erinaceus* (Bulliard: Fries) Persoon ve *Tricholoma giganteum* Masee özel mantar türlerinin antitümör, immunomodülatör ve kronik bronşitite karşı etkisi (Mau, 2002); *Phellinus rimosus* (Berk.) Pilat. (Hymenochaetaceae)'in antioksidan, nefroproktetif, anti-enflamatuar ve antitümör aktiviteleri; *Ganoderma lucidum* (Curt:Fr.) P. Kast. (Ganodermataceae)'nin antitümör, anti-enflamatuar, antioksidan ve analjezik etkisi (anti-nociceptive) (Sheena, 2003); *Hypsizigus marmoreus* (Peck) Bigelow (Tricholomataceae)' in antitümör, antifungal, anti-proliferatif ve radikal giderme aktivitesi bildirilmiştir (Lee, 2008).

Bu çalışmada bazı biyolojik aktivitelerini incelenen ve Hıdırnebi yaylasından (Trabzon) rastgele örnekleme yöntemine göre seçilen, *Boletus edulis* Bull. Fr: (M1), *Boletus erythropus* Pers. (M2), *Tricholoma saponaceum* var. *saponaceum* (Fr.) P. Kumm. (M3), *Agaricus arvensis* Schaeff. (M4), *Cantharellus cibarius* Fr. var. *cibarius* (M5), *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke (M6), *Russula rosea* Pers. (M7), *Leucopaxillus giganteus* (Sowerby) Singer (M8) ve *Helvella elastica* Bull. (M9) yenilebilir mantar türlerine ait örnekler Prof. Dr. Ertuğrul SESLİ (K.T.Ü. Fatih Eğitim Fakültesi Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Anabilim Dalı Biyoloji Eğitimi Bölümü) tarafından toplanmış ve tanımlanmıştır. Mantarların tümü Fungi alemindedir. Ascomycota bölümünde olan M9 haricinde diğerleri Basidiomycota bölümündedir. Ait oldukları sınıf, takım, aile, cins ve türler ise Tablo 3'de verilmektedir.

Tablo 3. Mantarların sınıflandırması (URL-6, 2009).

	Sınıf	Takım	Aile	Cins	Tür
M1	Basidiomycetes	Boletales	Boletaceae	Boletus	<i>Boletus edulis</i> Bull.Fr.
M2	Agaricomycetes	Boletales	Boletaceae	Boletus	<i>Boletus erythropus</i> Pers.
M3	Agaricomycetes	Agaricales	Tricholomataceae	Tricholoma	<i>Tricholoma saponaceum</i> var. <i>saponaceum</i> (Fr.) P. Kumm.
M4	Agaricomycetes	Agaricomycetidae	Agaricales	Agaricaceae	<i>Agaricus arvensis</i> Schaeff.
M5	Agaricomycetes	Cantharellales	Cantharellaceae	Cantharellus	<i>Cantharellus cibarius</i> Fr. var. <i>cibarius</i>
M6	Agaricomycetes	Agaricomycetidae	Agaricales	Hydnangiaceae	<i>Laccaria laccata</i> (Scop.) Cooke
M7	Agaricomycetes	Incertae sedis	Russulales	Russulaceae	<i>Russula rosea</i> Pers.
M8	Agaricomycetes	Agaricomycetidae	Agaricales	Tricholomataceae	<i>Leucopaxillus giganteus</i> (Sowerby) Singer
M9	Pezizomycetes	Pezizomycetidae	Pezizales	Helvellaceae	<i>Helvella elastica</i> Bull.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan mantarların fruktifikasyon organları (URL-5, 2009).

1.10. Komplekslerle İlgili Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Bakır, yaşlılık ve kanserle ilişkili olan endojen oksidatif DNA hasarında rol oynayan fizyolojik olarak önemli bir metal elementidir (Kumar vd., 2008). Oksim ligandlı nikel ve bakır kompleksleri son zamanlarda yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Okzalat, oksimat ve fenolat gibi köprüleyici sistemli bakır (II) dinükleer komplekslerinin paramanyetik merkezler arasındaki güçlü eşleşmelere arabulucuk yaptığı belirtilmiştir. Metaloproteinlerin fonksiyon ve aktif bölgelerini taklit etmek için düşük molekül ağırlıklı komplekslerin dizayn edildiği bir çalışmada, salisilat, aminoasit, porfirinler veya schiff bazı türevleri gibi ligandlarla, bu ligandların paramanyetik bakır veya manganez kompleksleri hazırlanmıştır. Bu kompleksler süperoksit dizmutaza benzer şekilde redoks reaksiyonuna maruz kalmışlar ve bu yüzden süperoksit radikallerini bertaraf etmede etkili bulunmuşlardır. Dahası, SOD'un bu mimikleri, dokuların oksidatif hasara karşı korunmasında faydalı etkiler göstermiştir Çünkü süperoksidin dismutasyonunu katalizlemiştir. Ancak çoğu *in vivo* aktivitesini kaybetmiştir. Hemosiyanin ve tirozinaz gibi bakır ihtiva eden metaloproteinleri taklit eden model bakır komplekslerinin hazırlanması ve özelliklerine ilişkin birçok rapor mevcuttur (Karaböcek vd., 2006). Bakır proteinlerinin iki dikkate değer özelliği 600 nm civarında şiddetli absorpsiyon bandı ve nispeten yüksek bakır (II)/bakır (I) indirgeme potansiyelleridir. Birçok doğal oksijen transport sisteminde ve mono- ve di- oksijenazlarda, tersinir bağlanma ve oksijen aktivasyonunu izah edebilmek ve bunların aktivitesini taklit edebilmek için metaloenzimler ve dinükleer metalomerkez ihtiva eden metaloproteinler arasındaki ilişkiye odaklanılmıştır (Karaböcek vd., 2006). Şimdiye kadar keşfedilen bakır kompleksleri arasında yüksek nükleofilik etkinliği ve antitümör, antikandida, antimikrobiyal aktivite gibi birçok biyolojik aktivitesinden dolayı dikkatler genellikle bakır (II)'nin 1,10-fenantrolin ligandıyla olan kompleksi üzerine çekilmiştir. Son zamanlarda 1,10-fenantrolin içeren bir binükleer bakır (II) kompleksi ve di-(2-pikolil)- amin içeren trinükleer bakır (II) kompleksinin DNA'ya kuvvetli bir şekilde bağlandığı ve bunların DNA'yı monomerik komplekslerinden daha etkili bir şekilde kestikleri açıklanmıştır. Bis-(phen) bakır kompleksinin bir fenantrolin halkasıyla kısmi interkalasyonla DNA'ya bağlandığı önerilmiştir. Burrows ve arkadaşları (1995) tarafından belirtilen rapor, azot donör ligandlarıyla metal komplekslerinin dizaynını savunmaktadır. Bu rapora göre, bu tür kovalent olmayan etkileşmelerden kaynaklanan kooperatif etkinin, biyomoleküler hedefleri yüksek seçicilikle tanıyan yeni metal tabanlı

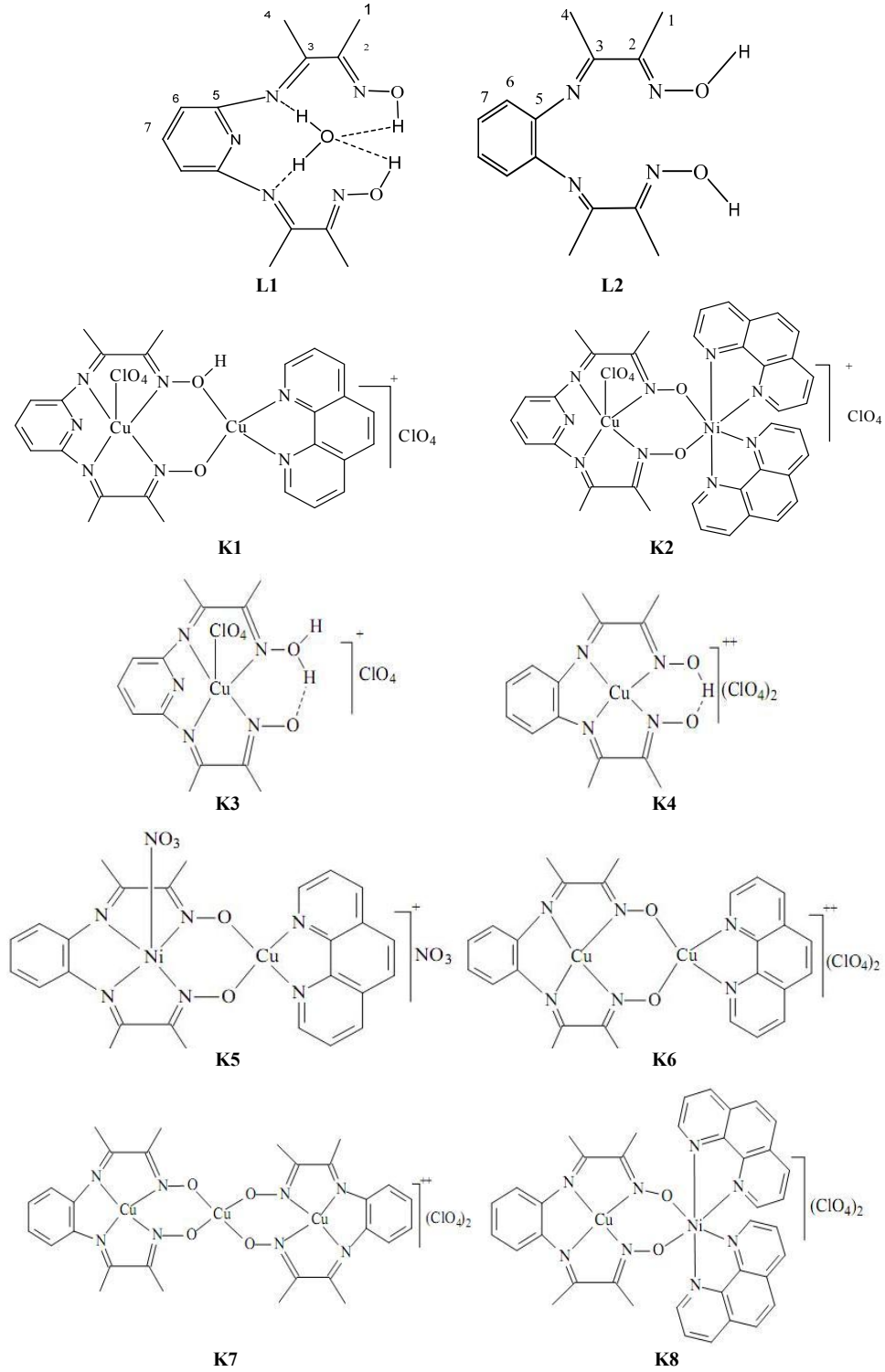
probların geliştirilmesi için kıymetli bir prensip olduğunu düşünölmektedir. İlaç polimer konjugatlarının, antikanser ajanlarının tümör dokusuna seçici olarak dağıtımını için potansiyel adaylar olduğu tespit edilmiştir ve ilaç-polimerlerin antikanser ilacı olarak kullanıldığını belirten çok az açıklama mevcuttur (Kumar vd., 2008).

Organotin (IV) komplekslerinin önemli bir sınıfını, azot ve oksijen donör atomlarını ihtiva eden ligandlardan türetilenler oluşturur. Özellikle, organotin (IV) protonu giderilmiş schiff bazı kompleksleri bilinmektedir. Son zamanlarda özellikle antitümör, antibakteriyal, antifungal gibi biyolojik özelliklerinden dolayı Organotin (IV) kompleksleri çok önem kazanmıştır (Öztaş vd., 2009).

Çinko biyolojik olarak çok ilgilenilen bir elementtir. İnsan vücudunda ikinci en yaygın iz elementidir. Çinko eksikliği büyüme etkileri ve merkezi sinir sistemi bozukluklarına yol açabilir. Birçok biyolojik sistemde ve hücre sürecinde kritik rol oynar ve hücre metabolizmasında düzenleyici temel iyondur. Literatürde birçok biyolojik aktif çinko kompleksleri belirtilmiştir. Fakat sadece Alzheimer tedavisinde kullanılan ilaçlarla çinko kompleksleri ve antibakteriyal, antikonvülzan, antidiyabetik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve çoğalmayı önleyici özellik gösterenler karakterize edilmiştir. Kinolinler, 4-okso-1,4-dihidrokinolin iskeletine sahip sentetik antibakteriyal ajanlardır. Antibakteriyal ilaç olarak ve birçok enfeksiyonun tedavisi için kullanılırlar. Kinolinlerin hedefi tip II topoizomerazlar ve topoizomeraz IV' dür ve DNA replikasyonunu etkili bir şekilde inhibe ederler. Kinolinlerin biyolojik özellikleri ile ilgili çalışmalar, DNA ile etkileşim, çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyal aktivite testleri, sitotoksisite ve potansiyel antitümör aktivite üzerine yoğunlaşılmıştır. Kinolin metal kompleksleri çalışmaları genellikle çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyal aktiviteleri, DNA ile etkileşim ve bazı durumlarda potansiyel antitümör aktivitesinden oluşmaktadır. Birinci jenerasyon bir kinolin antimikrobiyal ilaç olan oksolinik asit, üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisi için kullanılan antibakteriyal aktivitesi ile bilinir (Tarushi vd., 2009).

Bu tezde, *in vitro* çalışmalarda kullanılan (2E,3E)-[6-{{(1E,2E)-2-(hidroksiimino)-1-metilpropiliden}amino}pridin-2-il)imino]bütan-2-on oksim ligandının (L1) homo dinökleer bakır (II) (K1), hetero dinökleer bakır (II) –nikel (II) (K2), mononökleer bakır (II) (K3) ve 2-(hidrosiimino)-1-metilpropilidenaminofeniliminobütan-2-on oksim ligandının (L2) mononökleer bakır (II) (K4), hetero dinökleer nikel (II) –bakır (II) (K5), homo dinökleer bakır (II) (K6), homo trinökleer bakır (II) (K7) ve hetero dinökleer bakır (II) –nikel (II)

(K8) kompleksleri (Şekil 2) Prof. Dr. Serdar KARABÖCEK'in (K.T.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü) araştırma grubu tarafından sentezlenmiştir.



Şekil 2. Komplekslerin ve ligandların açık kimyasal yapıları

1.11. Çalışmanın Amacı ve Pratik Önemi

Oksidatif stres durumunda reaktif oksijen ve azot türlerinin miktarında artış olur ve bu ürünlerin reaksiyon hızları artar. Başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere metabolizmadaki birçok sistem bu durumdan olumsuz etkilenir. Dış kaynaklı alınan doğal ya da sentetik antioksidanlar vücut içi antioksidan sisteme destek olur. Meyve ve sebzeler de pek çok doğal antioksidan içerirler. Bu sebeple bol miktarda sebze ve meyve tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azalttığı gibi, kanser ve ölüm oranında düşüş meydana getirmektedir. Yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanların ise bazı istenmeyen etkilere sahip olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, mevcut antimikrobiyal ilaçlara karşı mikroorganizmalar direnç kazanmakta ve doğal kaynakların antimikrobiyal etkileri yoğun olarak araştırılmaktadır. Makromantarların antimikrobiyal etkileri; fungal yapıda sentezlenen ve çoğunlukla organizmaya özgü bazı fenolik bileşikler, pürinler, pirimidinler, kinonlar, terpenoidler ve fenil propanoid türevi gibi antagonistik maddelerden kaynaklandığı da bilinmektedir. Bunun yanı sıra, DNA genelde anti kanser ilaçlarının hücre içi hedeflerinde birincil olarak önemlidir ve çoğu araştırmacılar küçük moleküllerin DNA ile etkileşimine odaklanmışlardır. Yeni tedavi edici ajanlar olarak uygulamaları ve onları DNA yapısı ve konformasyonunun potansiyel problemleri yapabilecek fotokimyasal özellikleri geçiş metal komplekslerinin DNA ile bağlanması üzerine yoğun ilgi vardır.

Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada:

- Yenilebilir dokuz mantar türünün antioksidan özellikleri ve antimikrobiyal özellikleri,
- Bazı oksim tipi ligandların Cu ve Ni komplekslerinin antioksidan özellikleri ve antimikrobiyal özellikleri,
- Bazı oksim tipi ligandların Cu ve Ni komplekslerinin DNA ile etkileşip etkileşmediği incelenmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Materyaller

2.1.1. Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Model	Firma
Spektrofotometre	UV 2	Unicam
Rotary Evaporatör	Labarota 400-Efficient	Heildolph
Soxhlet Cihazı	250 ml	İldam
Santrifüj	Rotina 35 R	Hettich Zentrifugen
Kuru Havalı İnkübatör	EN400	Nüve
Saf Su Cihazı	Arium 611UV	Sartorius
Su Banyolu Çalkalayıcı	WNB 7-45	Memmert
Hava Banyolu Çalkalayıcı	MaxQ Mini 4450 Shaker	Barnstead/ Lab-Line
Otoklav	SS-325	Tomy
Vorteks	Type 37600 Mixer	Thermolyne
Terazi	Pioneer	Ohaus
Steril Kabin	—	Tezsan

2.1.2. Çözeltiler ve Tamponlar

Bütün çözelti ve tamponlar bidestile su (dd H₂O) kullanılarak aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlandı.

- Na₂CO₃ çözeltisi (%2 w/v): 2.0 g Na₂CO₃ saf suda çözüldü ve son hacmi 100 ml’ye tamamlandı.
- Folin-Ciocalteu çözeltisi (%50 v/v): Folin-Ciocalteu reaktifi 1:1 oranında saf su ile karıştırılarak 100 ml hacimde hazırlandı.

- AlCl₃ çözeltisi (%10 w/v): 10.0 g AlCl₃ saf suda çözüldü ve son hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- NaNO₂ çözeltisi (%5 w/v): 5.0 g NaNO₂ saf suda çözüldü ve son hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- Na₂CO₃ çözeltisi (1 M): 10.6 g Na₂CO₃ saf suda çözüldü ve son hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- Gallik asit çözeltisi (0.1 mg/ml stok): 10.0 mg gallik asit son hacim 100 ml olacak şekilde % 80'lik metanolde çözüldü.
- Trolox® çözeltisi (0.033 mg/ml stok): 3.33 mg Trolox® son hacmi 100 ml olacak şekilde metanolde çözüldü.
- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) çözeltisi (0.054 M): 3.33 mg DPPH son hacmi 100 ml olacak şekilde metanolde çözüldü.
- Riboflavin çözeltisi (2 µM): 9.5 mg riboflavin saf suda çözümlenip son hacmi 250 ml tamamlandı.
- SOD aktivitesi tayininde kullanılan çözelti (50 mM KH₂PO₄-K₂HPO₄ tamponu içinde 13 mM metiyonin, 0.1 mM EDTA ve 75 µM nitroblue tetrazolium (NBT)): 2.17 g K₂HPO₄ ve 1.70 g KH₂PO₄ 200 ml saf suda çözüldü. 0.485 g metiyonin, 0,075 g EDTA ve 0.015 g NBT ilave edilip çözüldü. pH 7.8'e ayarlanıp, son hacmi 250 ml'ye tamamlandı.
- Tris-HCl Tamponu (5 mM): 0.151 g Tris 200 ml saf suda çözüldü ve pH 7.2'ye ayarlanıp, son hacmi 250 ml'ye tamamlandı.

2.1.3. Kimyasallar

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup, Merck, Sigma ve Fluka adlı firmalardan satın alınmıştır.

2.1.4. Kullanılan Suşlar

Antimikrobiyal aktivite tayini için kullanılan *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenosa* ATCC 13048, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 43288, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,

Enterococcus faecalis ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* ATCC 43251, *Bacillus cereus* 702 Roma, *Candida glabrata* 66032, *Candida tropicalis* ATCC 13803 ve *Aspergillus niger* RSKK 4017 kontrol suşları Hifzissihha Refik Saydam Enstitüsü'nden (Ankara) temin edildi.

In vitro çalışmalarda kullanılan *Eshericha coli* JM 101 suşu NEW ENGLAND BIOLABS'dan temin edildi.

2.1.5. Kullanılan Mantarlar

Çalışmada kullanılan *Boletus edulis* Bull. Fr. (M1), *Boletus erythropus* Pers. (M2), *Tricholoma saponaceum* var. *saponaceum* (Fr.) P. Kumm. (M3), *Agaricus arvensis* Schaeff. (M4), *Cantharellus cibarius* Fr. var. *cibarius* (M5), *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke (M6), *Russula rosea* Pers. (M7), *Leucopaxillus giganteus* (Sowerby) Singer (M8) ve *Helvella elastica* Bull. (M9) mantarları Hıdırnebi yaylasından (Trabzon) toplandı ve kaba kirlerinden arındırıldı. Buz kabı içerisinde laboratuvara taşınan mantarlar, çalışmalarda kullanılacağı zamana kadar – 20 °C'de muhafaza edildi.

2.2. Sıvı ve Katı Besiyerleri

2.2.1. Antimikrobiyal Çalışmalarda Kullanılan Besiyerleri

2.2.1.1. Mueller Hinton Agar (MHA) Besiyeri

Ticari olarak temin edilen Merck firmasınınca hazırlanan besiyeri kullanıldı. Üretici firmanın önerdiği üzere, 37.0 g tartılıp bir magnet yardımıyla 1 L saf suda çözüldü. 121 °C'de 1.1 atm basınçta 15 dakika otoklavda steril edildi. Daha sonra steril petrilere 4 mm kalınlığında döküldü ve kullanılacağı süreye kadar kapalı kutularda +4 °C'de bekletildi.

2.2.1.2. Mueller Hinton Broth (MHB) Besiyeri

Ticari olarak temin edilen Merck firmasınınca hazırlanan besiyeri kullanıldı. Üretici firmanın önerdiği üzere, 1 L distile su için 21.0 g tartıldı. Mavi kapaklı şişelerde manyetik

karıştırıcı yardımıyla çözüldü ve bir kısmı 3'er ml olarak tüplere dağıtıldı. 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Daha sonra komplekslerin ve özütlerin minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerlerinin belirlenmesinde ve inhibisyon testleri için maya süspansiyonlarının hazırlanmasında kullanıldı.

2.2.1.3. Potato Dekstroz Agar (PDA) Besiyeri

Ticari olarak temin edilen Merck firmasınca hazırlanan besiyeri kullanıldı. Üretici firmanın önerdiği üzere, besiyerinden 1 L hazırlamak için 39.0 g tartıldı ve 1 L distile suda bir magnet yardımıyla çözüldü. Otoklavda 1.1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika steril edildi. Besiyerinin sıcaklığı 70-80 °C'ye getirildikten sonra steril petri kaplarına 4 mm yükseklik olacak şekilde döküldü. Hazırlanan besiyerleri kullanılacakları süreye kadar kapalı kutularda +4 °C'de bekletildi.

2.2.1.4. Yeast Ekstrakt Broth (YEB) Besiyeri

Ticari olarak temin edilen Merck firmasınca hazırlanan besiyeri kullanıldı. Üretici firmanın önerdiği üzere, 10.0 g glukoz, 3.0 g maya özütü, 3.0 g malt özütü, 5.0 g pepton 1 L saf suda bir magnet yardımıyla çözüldü, mavi kapaklı şişelerde otoklavda 1.1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika steril edildi. Mayaların sıvı besiyerinde üretiminde ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) deneylerinde kullanıldı.

2.2.2. DNA İzolasyonu Çalışmalarında Kullanılan Besiyerleri

2.2.2.1. Lauria-Bertani (LB) Besiyeri

10.0 g bakto-tripton, 5.0 g maya özütü ve 5.0 g NaCl yaklaşık 990 mL saf suda çözüldükten sonra pH'sı 1 N NaOH ile 7.5'e ayarlandı. Daha sonra çözeltinin hacmi 1 L'ye tamamlanarak, 121 °C'de ve 1 atm basınç altında 20 dakika bekletildi ve steril edildi (Maniatis vd.,1989).

2.2.2.2. Lauria-Bertani Agar (LBA) Besiyeri

10.0 g bakto-tripton, 5.0 g maya özütü, 5.0 g NaCl ve 15.0 g agar yaklaşık 990 mL saf suda çözüldükten sonra pH'sı 1 N NaOH ile 7.5'e ayarlandı. Daha sonra çözeltinin hacmi 1 L'ye tamamlanarak, 121 °C'de ve 1 atm basınç altında 20 dakika bekletildi ve steril edildi (Maniatis vd.,1989).

2.3. Gece Kùltürlerinin Hazırlanması

pUC 18 plazmidini içeren *E. coli* JM 101 suşundan bir koloni alınıp 50 µg/ml oranında ampicilin içeren LB besiyerinin 3 ml'sine ekildi ve 200 rpm'de çalkalayıcılı su banyosunda 37 °C'de 12-16 saat inkübasyonla büyütüldü.

2.4. Plazmid DNA İzolasyonu

Çalışmada kullanılan pUC 18 plazmid DNA izolasyonu "Wizard Plus SV Minipreps DNA Purification System" (Promega) kiti kullanılarak izole edildi. Bu amaçla öncelikle pUC 18 plazmidini içeren *E. coli* JM101 hücrelerinden LB besiyerine ekim yapılarak gece kùltürü hazırlandı.

- 1-5 ml gece kùltürü 5 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatanı uzaklaştırıldı.
- Üzerine 250 µl Hücre Süspansiyon Çözeltisi (Cell Resuspension Solution) ilave edilip vorteksle pelletin tamamen çözünmesi sağlandı.
- 250 µl Hücre Lizis Çözeltisi (Cell Lysis Solution) ilave edildi ve tüp 4 kere alt-üst edilerek karıştırıldı. Hücre süspansiyonu berraklaşana kadar tüp yaklaşık 4 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 10 µl Alkali Proteaz Çözeltisi (Alkaline Protease Solution) ilave edildi ve tüp 4 kere alt-üst edildi. Oda sıcaklığında 4 dakika bekletildi.
- 350 µl Nötralizasyon Çözeltisi (Neutralization Solution) ilave edildi ve tüp derhal 4 kere alt-üst edilerek karıştırıldı.
- Elde edilen bakteriyal lizat 13.000 rpm'de oda sıcaklığında 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatan minikolon (SV Minicolumn) içine aktarılarak 13.000 rpm'de

- Minikolona 750 µl Kolon Yıkama Çözeltisi (Column Wash Solution) ilave edildi ve 13.000 rpm'de oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj edildi. Toplama kabına gecen sıvı uzaklaştırıldı.
- Minikolon bir kez daha 250 µl Kolon Yıkama Çözeltisi (Column Wash Solution) ile yıkandı.
- Minikolon temiz bir mikrosantrifüj tüpüne alındı ve 100 µl Nükleaz İçermeyen Su (Nuclease-Free Water) ilave edildi. Minikolon 13.000 rpm'de oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj edilerek DNA'nın çözeltiliye geçmesi sağlandı. Elde edilen plazmid DNA çözeltisi -20 °C'de saklandı.

2.5. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Plazmid DNA çözeltisinin konsantrasyonu, nükleotidlerin heterosiklik halkalarının 260 nm dalga boyundaki ışığı maksimum absorplama özelliğinden yararlanılarak ölçüldü (Temizkan ve Arda, 2004). DNA çözeltisi 1/50 oranında sulandırılarak 260 nm'de optik yoğunluk (dansite) ölçüldü. 1 OD (Optik Dansite) çift iplikli DNA için 50 µg / ml'ye karşılık gelmektedir. DNA miktarının belirlenmesinde aşağıdaki eşitlikten yararlanıldı.

$$\text{DNA } (\mu\text{g} / \text{ml}) = 260 \text{ nm'deki OD} \times \text{sulandırma oranı} \times \text{katsayı (50)}$$

2.6. Ekstraksiyon

2.6.1. Metanol ile Soxhlet Ekstraksiyonu

Mantar numunelerinden 10'ar g tartılarak alındı. Alınan numuneler porselen bir havanda öğütüldü ve hazır kartuşlara konuldu. İçleri öğütülmüş mantarla dolu olan kartuşlar Soxhlet düzeneğine yerleştirildi ve yaklaşık 250 ml %80'lik metanol ilave edilip, gömlekli ısıtıcıda 60 °C'de yavaşça kaynatılarak ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon, Soxhlet düzeneğindeki çözelti renksiz oluncaya kadar, yaklaşık 3 saat sürdürüldü. Elde

edilen metanol özütü süzgeç kağıdından süzüldü. Süzülen özütlerden metanol evaporatörde 40 °C’de uzaklaştırıldı.

2.6.2. Etilasetat ile Soxhlet Ekstraksiyonu

Mantar numunelerinden 10’ar g tartılarak alındı. Alınan numuneler porselen bir havanda öğütüldü ve hazır kartuşlara konuldu. İçleri öğütülmüş mantarla dolu olan kartuşlar Soxhlet düzeneğine yerleştirildi ve yaklaşık 250 ml %99.9’luk etilasetat ilave edilip, gömleklili ısıtıcıda 60°C’de yavaşça kaynatılarak ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon, Soxhlet düzeneğindeki çözelti renksiz oluncaya kadar, yaklaşık 3 saat sürdürüldü. Elde edilen etilasetat özütü süzgeç kâğıdından süzüldü ve süzülen özütlerden etilasetat evaporatörde 40°C’de uzaklaştırıldı.

2.6.3. Su ile Ekstraksiyon

Su özütlerinin hazırlanması literatürde belirtildiği gibi yapıldı (Gülçin, 2005). Mantar numunelerinden 10’ar g tartılarak alındı ve 1 L’lik ağzı kapalı beherde numunenin yirmi katı saf su ilave edilerek (200 ml) manyetik karıştırıcıda ve suyun kaynama sıcaklığında on dakika boyunca karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığına getirilerek soğutuldu, tülbent bezinden süzüldü ve kaba atıklar uzaklaştırıldı. Daha sonra elde edilen ham çözelti adi süzgeç kağıdından süzüldü. Elde edilen süzüntü 500 ml’lik balona aktarıldı ve derin dondurucuda (-20 °C) bir gece boyunca dondurulduktan sonra liyofilizatörde bütün suyu uzaklaştırılıncaya kadar liyofilize edildi.

2.7. Mantar Özütlerinde Toplam Madde Konsantrasyonun Belirlenmesi

Metanol ve etilasetat özütlerindeki toplam madde konsantrasyonu, belli bir hacimde alınan özütlerin ard arda ikişer kez evaporasyonu sonucunda balon cidarında kalan maddenin ağırlığı ile boş balonun ağırlığının farkı kullanılarak hesaplandı. Sulu özütlerin konsantrasyonları ise liyofilizatörde uçurularak şişenin cidarında kalan maddenin ağırlığı ile boş şişenin ağırlığının farkı kullanılarak hesaplandı. Daha sonra bu özütler 10 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde ayrı ayrı %80’lik metanol, %99.9’luk etilasetat ve saf suda

çözülerek stok çözeltiler hazırlandı. Stok çözeltiler çalışmalarda kullanılacağı zaman kadar -20 °C’de saklandı.

2.8. Antioksidan Madde ve Aktivite Tayinleri

2.8.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Mantarların su, metanol ve etilasetat özütlerinde bulunan toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi ile belirlendi (Hung ve Yen, 2002). Mantar özütlerinin stok çözeltilerinden alınan 0.1 ml hacimdeki numuneler saf suyla 1 ml’ye tamamlandı ve bu karışım üzerine 0.1 ml %50’lik Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilip 3 dakika boyunca karıştırıldı. Daha sonra karışım üzerine %2’lik Na₂CO₃ çözeltisinden 2 ml ilave edildi. Karışım 30 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra numunelerin absorbansı 750 nm’de saf sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Toplam fenolik madde miktarı mg GAE (Gallik Asit Ekvivalent)/g özüt olarak verildi.

2.8.2. Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi

2.8.2.1. Mantar Özütlerinin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi literatürde bildirildiği şekilde belirlendi (Türkoğlu vd., 2007). Serbest radikal olarak DPPH’ın 0.054 M’lık çözeltisi kullanıldı. 1 ml DPPH çözeltisinin absorbansı (A_{Numune}) 517 nm’de kaydedildi. Daha sonra farklı konsantrasyonlarda 1 ml özüt çözeltisi DPPH çözeltisine ilave edildi. Oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta inkübe edildikten sonra 517 nm’de absorbansları ($A_{Kontrol}$) kaydedildi. Özütlerin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

$$\text{DPPH serbest radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(1 - A_{Numune} / A_{Kontrol}) \times 100]$$

Burada A_{Numune} DPPH çözeltisine özüt ilavesinden sonra bulunan absorbands değerini, A_{Kontrol} ise sadece DPPH çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbands değerini ifade etmektedir.

2.8.2.2. Komplekslerin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi literatürde bildirildiği şekilde belirlendi (Türkoğlu vd., 2007). Serbest radikal olarak DPPH'ın 0.054 M'lık çözeltisi kullanıldı. 1 ml DPPH çözeltisinin absorbandsı (A_{Numune}) 517 nm'de kaydedildi. Daha sonra, komplekslerinin farklı konsantrasyonlarda 1 ml çözeltisi DPPH çözeltisine ilave edildi. Oda sıcaklığında, 30 dakika karanlıkta inkübe edildikten sonra 517 nm'de absorbandsları (A_{Kontrol}) kaydedildi. Komplekslerin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

$$\text{DPPH serbest radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(1 - A_{\text{Numune}} / A_{\text{Kontrol}}) \times 100]$$

Burada A_{Numune} DPPH çözeltisine kompleks ilavesinden sonra bulunan absorbands değerini, A_{Kontrol} ise sadece DPPH çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbands değerini ifade etmektedir.

2.8.3. Komplekslerin Süperoksit Dismutaz Benzeri Aktivitesi

Komplekslerinin süperoksit anyon radikallerini giderme etkisi, nitroblue tetrazolium (NBT) ürünün spektrofotometrik ölçümüyle belirlendi (Beauchamp, C. ve Fridovich, I., 1971). Çalışılan komplekslerin farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri 50 mM pH'sı 7.8 olan fosfat tamponu ile hazırlandı. Kompleks içeren tampon çözeltiliye sırasıyla riboflavin, metiyonin ve NBT'den 1.33×10^{-5} M, 384.46×10^{-5} M ve 8.15×10^{-8} M konsantrasyonlarında olacak şekilde ilave edildi. Oluşan reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 10 dakika boyunca 20 W'lık floresan ışığı ile uyarıldı. Yapılan işlemler beş farklı kompleks konsantrasyonu için tekrarlandı. Karışımların absorbandsı, tampondan oluşan köre karşı 560 nm'de kaydedildi. Süperoksit radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

$$\text{Süperoksit radikali giderme aktivitesi (\%)} = [(1 - A_{\text{Numune}} / A_{\text{Kontrol}}) \times 100]$$

Burada A_{Numune} riboflavin/metiyonin/NBT çözeltisine kompleks ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri, A_{Kontrol} ise sadece riboflavin/metiyonin/NBT çözeltisi içeren kontrolün absorbans değerini ifade etmektedir.

2.9. Antimikrobiyal Çalışmalar

Bu çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Hifzissihha Refik Saydam Enstitüsü'den (Ankara) elde edilmişti. Mantar özütlerinin 10 mg/ml konsantrasyonundaki çözeltileri ve komplekslerin ise DMF içerisindeki 10 mg/ml konsantrasyonundaki çözeltileri kullanıldı.

2.9.1. Mantar Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Mantar özütlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesinde disk difüzyon metodu kullanıldı (Perez vd., 1990; Ahmad vd., 1998). Test edilecek bakterilerin Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerinde, 35 °C de, bir gecelik kültürleri hazırlandı ve bu kültürden yine MHB içinde yaklaşık olarak 10^6 cfu/ml (koloni oluşturan birim =colony forming unit) olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı. Bu dilüsyonlar kullanılarak önceden hazırlanmış Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri üzerine eküvyon çubuğu yardımıyla ekimleri yapıldı. Mayalar için de, yine bir gecelik maya kültürlerinden Yeast Ekstrakt Broth (YEB) besiyeri kullanılarak 10^7 cfu/ml olacak şekilde dilüsyonları hazırlandı ve bu dilüsyonlar kullanılarak önceden hazırlanmış Potato Dekstroz Agar (PDA) besiyerlerine eküvyon çubukları yardımıyla maya ekimleri yapıldı. 5 mm çapında disklere 250 µg/25 µl konsantrasyonda mantar özütü emdirildi. Daha sonra bu diskler ekimleri tamamlanan besiyerleri üzerine aralarında 2 cm olacak şekilde yerleştirildi. Bakteri ihtiva eden petriyerler 24 saat, maya ihtiva eden petriyerler ise 48 saat 35 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra bir cetvel yardımıyla oluşan inhibisyon çapları ölçüldü. Standard kontrol ilaç olarak bakteriler için ampisilin (10 µg), mayalar için flukonazol (5 µg) ve standart çözücü kontrolü için su, %80'lik metanol ve etilasetat kullanıldı.

2.9.2. Komplekslerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Komplekslerinin antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesinde agar kuyucuk difüzyon metodu kullanıldı (Perez vd., 1990; Ahmad vd., 1998). Test edilecek bakterilerin bir gecelik kültürlerinden Mueller Hinton Broth (MHB) besiyeri içinde yaklaşık olarak 10^6 cfu/ml (koloni oluşturan birim = colony forming unit) olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı. Bu dilüsyonlar kullanılarak önceden hazırlanmış Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerleri üzerine eküvyon çubuğu yardımıyla bakteri ekimleri yapıldı. Mayalar için, Yeast Ekstrakt Broth (YEB) besiyeri kullanılarak 10^7 cfu/ml olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı ve bu dilüsyonlar kullanılarak önceden hazırlanmış Potato Dekstroz Agar (PDA) besiyerlerine maya ekimleri yapıldı. Ekimleri tamamlanan besiyerleri üzerinde, steril cam boru yardımıyla 5.5 mm çaplı kuyucuklar açıldı ve komplekslerin stok çözeltilerinden 100 µl damlatıldı. Bakteri ihtiva eden petripler 24 saat, maya ihtiva eden petripler 48 saat 35 °C’de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra bir cetvel yardımıyla inhibisyon çapları ölçüldü. Standard kontrol ilaç olarak bakteriler için ampisilin (10 µg), mayalar için flukonazol (5 µg) ve standart çözücü kontrolü için DMF kullanıldı.

2.9.3. Misel Gelişiminin İnhibisyonu Aktivitesi

Mantar özütlerinin misel gelişiminin inhibisyonu tayini için ilk olarak, Potato Dekstroz Agar (PDA) besiyerinde, bir hafta ve 30 °C’de *Aspergillus niger* (küf mantarı) üretilti (NCCLS, 1993; NCCLS, 2002). PDA hazırlanıp 3 ml olacak şekilde tüplere dağıtıldı ve otoklavlandıktan sonra 48 °C’de su banyosunda bekletildi. İçerisine test edilecek her bir mantarın su, metanol ve etilasetat özüt çözeltilerinden 1 mg/ml olacak şekilde ilave edilip, bir magnet yardımıyla karıştırıldı ve 3 cm çaplı plaklara döküldü. Besiyeri donduktan sonra 5 mm çaplı silindir delici yardımıyla steril koşullarda petri ortasında delik açıldı. Her bir mantar özütü için aynı işlem uygulandı. Aynı delici yardımıyla bir haftalık *Aspergillus niger* kültüründe bloklar kesilerek önceden açılan özüt içerikli plakların bloklarına yerleştirildi ve üçüncü günden itibaren bir hafta boyunca 30 °C’de, inkübasyon takip edildi. Plakta küf gelişimi önlenmesi miktarının ölçümü ise, mantar özütü içermeyen kontrol petri plağı ve su, %80’lik metanol ve %99.9’luk etilasetat içeren petri plaklarıyla karşılaştırarak yapıldı.

2.9.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Tayini

Komplekslerinin antimikrobiyal aktivite olarak etkin dozun belirlenmesinde “Minimum İnhibisyon Konsantrasyon” (MİK) yöntemi, “National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS)”ın belirlediği gibi uygulandı (NCCLS, 1993; NCCLS, 2002). Bu amaçla kullanılan besiyerleri; bakteriler için Mueller-Hinton Agar (MHA) ve Broth (MHB) besiyerleri, mayalar için ise Yeast Ekstrakt Broth (YEB) ve Potato Dekstroz Agar (PDA) besiyerleri kullanıldı.

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu deneyi için kullanılan bakteriler MHA, maya ise PDA besiyerlerine ekimleri yapılarak bir gece, 37°C de bekletildi. Bu kültürlerden NCCLS’inin belirttiği kriterlere göre bakteri ve maya dilüsyonları hazırlandı. Dilüsyonların bulanıklıkları, bakteriler için 0.5 Mac Farland bulanıklığına eşdeğer olarak OD₆₂₅ 0.8-1 ve mayalar için ise 1.0 Mac Farland bulanıklığına eşdeğer olarak OD₆₂₅ 1.5 olarak ayarlandı. Test için steril ELİSA plakları kullanıldı ve 96 kuyucuğun tümüne 100 µl besiyeri dağıtıldı. Daha sonra ilk kuyucuklara test edilecek komplekslerden 100 µl ilave edildi ve 100 µl’si geri alınarak bir sonraki kuyucuğa aktarıldı ve daha sonraki kuyucuklar içinde bu işlem tekrarlanarak, maddelerin besiyeri içinde dilüsyonları tamamlandı. Son kuyucuğa madde konmayıp besiyeri ve kültürlerin kontrolleri yapıldı. Son olarak mikroorganizma süspansiyonlarından 0.02 µl şeklinde ilk kuyucuk dışındaki tüm kuyucuklara ilave edildi. Plaklar 37°C de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra MİK değerinin tespiti için mikrodilüsyon kuyucuklarındaki mikroorganizmanın üremesini tamamen engellenmiş olan ve bu durumun çıplak gözle belirlenebildiği kuyucuklardaki kompleks konsantrasyonu esas alındı. Bu kuyucuktaki kompleks miktarı, en düşük antimikrobiyal kompleks konsantrasyonu olarak µg/ml cinsinden belirlendi. Standart kontrol ilaç olarak bakteriler için ampisilin, mayalar için flukonazol ve standart çözücü kontrolü olarak da DMF kullanıldı.

2.10. Kompleks- DNA Etkileşiminin İncelenmesi

Komplekslerin ve ligandların pH’sı 7.2 olan 5 Mm Tris-HCl/50 mM NaCl tamponu içerisinde hazırlanan uygun konsantrasyonlardaki çözeltileri ve konsantrasyonu bilinen pUC 18 plazmid DNA kullanılarak spektroskopik çalışmalar gerçekleştirildi. İlk olarak 200-400 nm aralığında komplekslerin ve ligandların maksimum absorpsiyon yaptığı dalga

boyu tespit edildi. Her bir kompleks ve ligand için maksimum absorbans yaptığı dalga boyları ve absorbans değerleri kaydedildi. 100 μM kompleks ve ligand çözeltilerinin 500 μl 'si kullanılarak absorpsiyon spektrumu elde edildikten sonra kompleks ve ligand çözeltilerine sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μM DNA çözeltisi ilave edildi ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda komplekslerin ve ligandların DNA ile etkileşimlerine bağlı olarak daha önce taranan dalga boyu aralığında absorbanstardaki değişimler ve dalga boylarındaki kaymalar kaydedildi (Wang vd., 2009).

3. BULGULAR

Çalışmada, *Boletus edulis* (M1), *Boletus erythropus* (M2), *Tricholoma saponaceum* var. *saponaceum* (M3), *Agaricus arvensis* (M4), *Cantharellus cibarius* var. *cibarius* (M5), *Laccaria laccata* (M6), *Russula rosea* (M7), *Leucopaxillus giganteus* (M8) ve *Helvella elastica* (M9) yenilebilir mantarın antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelendi.

Ayrıca, (2E,3E)-[6- {[(1E,2E)-2-(hidroksiimino)-1-etilpropiliden] amino} pridin-2-il imino] bütan-2-on oksim ligandının (L1) homo dinükleer bakır (II) (K1), hetero dinükleer bakır (II) –nikel (II) (K2), mononükleer bakır (II) (K3) ve 2-(hidrosiimino)-1-metilpropilidenaminofeniliminobütan-2-on oksim ligandının (L2) mononükleer bakır (II) (K4), hetero dinükleer nikel (II) –bakır (II) (K5), homo dinükleer bakır (II) (K6), homo trinükleer bakır (II) (K7) ve hetero dinükleer bakır (II) –nikel (II) (K8) komplekslerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ile DNA interkalasyon etkileşimi incelendi.

3.1. Antioksidan Madde ve Aktivite Tayinleri

3.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Mantarların su, metanol ve etilasetat özütlerinde bulunan fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu reaktifi ile oluşturdukları renkli kompleksin 750 nm’de maksimum absorbansı ölçüldü (Hung ve Yen, 2002). Özütlerde bulunan toplam fenolik madde miktarı mg GAE (Gallik Asit Ekvivalent) /g özüt olarak verildi (Tablo 5).

Tablo 5’ de görüldüğü gibi mantarların su özütlerinde en yüksek toplam fenolik madde miktarı M2 mantarında, 70.98 mg GAE olarak bulundu. Diğer mantarların su özütlerindeki toplam fenolik bileşik miktarı değerlerinin karşılaştırılması ile $M1 > M7 > M5 > M4 > M9 > M6 > M3 > M8$ sıralaması belirlendi.

Metanol özütlerinde en yüksek toplam fenolik madde miktarı M4 mantarında 163.0 mg GAE olarak bulundu. Diğer mantarların metanol özütlerindeki toplam fenolik madde miktarı değerlerinin karşılaştırılması ile $M9 > M2 > M7 > M5 > M1 > M6 > M3 > M8$ sıralaması belirlendi.

Etilasetat özütlerinde ise en yüksek toplam fenolik madde miktarı M7 mantarında, 63.38 mg GAE olarak bulundu. Diğer mantarların etilasetat özütlerindeki toplam fenolik madde miktarı değerlerinin karşılaştırılması ile $M9 > M1 > M2 > M5 > M3 > M4 > M8 > M6$ sıralaması belirlendi.

Tablo 5. Mantarların su, metanol ve etilasetat özütlerinin toplam fenolik madde içeriği

Mantar Türü	Özüt Türü	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g özüt)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g taze ağırlık)
M1	H ₂ O	38.04 ± 0.3	4.25 ± 0.10
	MeOH	42.68 ± 0.2	4.77 ± 0.16
	ETOAC	36.30 ± 0.2	4.06 ± 0.20
M2	H ₂ O	70.98 ± 0.4	1.69 ± 0.03
	MeOH	127.7 ± 0.4	3.05 ± 0.11
	ETOAC	31.43 ± 0.2	0.75 ± 0.04
M3	H ₂ O	12.46 ± 0.2	0.56 ± 0.05
	MeOH	29.51 ± 0.3	1.33 ± 0.18
	ETOAC	09.61 ± 0.2	0.40 ± 0.05
M4	H ₂ O	29.97 ± 0.2	0.64 ± 0.08
	MeOH	163.0 ± 0.4	3.46 ± 0.12
	ETOAC	09.03 ± 0.2	0.19 ± 0.03
M5	H ₂ O	30.00 ± 0.3	0.09 ± 0.02
	MeOH	73.42 ± 0.4	2.00 ± 0.09
	ETOAC	29.65 ± 0.3	0.80 ± 0.05
M6	H ₂ O	13.00 ± 0.3	0.80 ± 0.04
	MeOH	34.44 ± 0.3	2.14 ± 0.11
	ETOAC	06.62 ± 0.2	0.41 ± 0.03
M7	H ₂ O	32.71 ± 0.2	0.38 ± 0.04
	MeOH	87.27 ± 0.3	1.01 ± 0.06
	ETOAC	63.38 ± 0.4	0.74 ± 0.02
M8	H ₂ O	07.28 ± 0.2	0.29 ± 0.03
	MeOH	26.86 ± 0.3	1.06 ± 0.16
	ETOAC	08.79 ± 0.2	0.34 ± 0.05
M9	H ₂ O	19.77 ± 0.2	0.29 ± 0.04
	MeOH	139.4 ± 0.4	2.05 ± 0.13
	ETOAC	38.99 ± 0.3	0.50 ± 0.02

3.1.2. Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi

3.1.2.1. Mantar Özütlelerinin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Mantarların su, metanol ve etilasetat özütlelerinin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayininde öncelikle DPPH radikalinin 517 nm'deki maksimum absorbans değeri ölçüldü (Tükoğlu vd., 2007). Daha sonra DPPH çözeltisine özütle çözeltileri ilave edildi ve DPPH'tan kaynaklanan mor rengin şiddetindeki azalma, buna bağlı olarak da absorbanstaki düşüş, 517 nm'deki absorbans ölçülerek belirlendi. DPPH konsantrasyonunu yarıya düşüren özütle miktarı mg/ml cinsinden belirlendi ve IC₅₀ değeri olarak ifade edildi.

Her bir mantarın 100 µg/ml konsantrasyonundaki su, metanol ve etilasetat özütlelerinin DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri karşılaştırmalı olarak Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Mantarların farklı çözücülerde hazırlanan özütlelerinin DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırılması

Mantar Türü	Özütlelerin Karşılaştırmalı Olarak DPPH Serbest Radikali Giderme Aktiviteleri (%)		
	H ₂ O	MeOH	ETOAC
M1	46	76	100
M2	17	41	24
M3	7	66	0
M4	4	100	15
M5	5	35	0.66
M6	14	53	3
M7	4	14	0.4
M8	4	6	0.6
M9	4	6	26

Standart antioksidan olarak kullanılan Trolox®'un 0.004 mg/ml konsantrasyonda DPPH radikali giderme aktivitesi %50 olarak hesaplandı. Çalışmada kullanılan mantarlarından elde edilen her üç özütle Trolox® ile benzer DPPH serbest radikali giderme aktivitesi sergilediği gözlemlendi. Mantarların 100 µg/ml konsantrasyonunda, M1 mantarının etilasetat özütle ile M4 mantarının metanol özütleünün en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesi gösterdiği tespit edildi. Söz konusu mantar özütlelerinin DPPH'in 0.054 M'lık çözeltisinde serbest radikalleri %100 oranında giderdiği gözlemlendi. M3

mantarının etilasetat özütünün ise bu konsantrasyonda radikal giderici aktivite sergilemediği belirlendi.

Tablo 7. Mantarların su, metanol ve etilasetat özütlerinin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi için IC₅₀ değerleri

Mantar Türü	Özüt Türü	IC ₅₀ (mg/ml)
M1	H ₂ O	0.110
	MeOH	0.070
	ETOAC	0.014
M2	H ₂ O	0.198
	MeOH	0.137
	ETOAC	2.116
M3	H ₂ O	1.465
	MeOH	0.072
	ETOAC	13.60
M4	H ₂ O	1.420
	MeOH	0.034
	ETOAC	2.045
M5	H ₂ O	2.053
	MeOH	0.137
	ETOAC	7.300
M6	H ₂ O	0.937
	MeOH	0.087
	ETOAC	1.960
M7	H ₂ O	1.900
	MeOH	0.770
	ETOAC	12.00
M8	H ₂ O	1.700
	MeOH	0.950
	ETOAC	4.342
M9	H ₂ O	1.800
	MeOH	0.440
	ETOAC	0.325
Trolox®		0.004

M3, M4, M5, M7, M8 ve M9 mantarlarının su özütleri, M5, M8, M6 ve M7 mantarlarının etilasetat özütleri ve M8 ile M9 mantarlarının metanol özütlerinin %10'dan daha düşük oranda radikal giderici aktivitesi olduğu görüldü. Genel olarak tüm mantarların metanol özütlerinin daha etkili radikal giderici aktiviteye sahip olduğu, her bir mantarın her üç özütü dikkate alındığında DPPH serbest radikali giderme etkinliği açısından M1

mantarının en yüksek, M3 ve M7 mantarlarının ise en düşük potansiyele sahip olduğu gözlemlendi.

3.1.2.2. Komplekslerin Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Komplekslerinin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayininde öncelikle, DPPH radikalinin 517 nm'deki maksimum absorban değeri ölçüldü (Tükoğlu vd., 2007). Daha sonra DPPH çözeltisine kompleks çözeltileri ilave edildi ve DPPH'tan kaynaklanan mor rengin şiddetindeki azalma, buna bağlı olarak da absorbanstaki düşüş, 517 nm'deki absorban ölçülerek belirlendi. DPPH konsantrasyonunu yarıya düşüren kompleks miktarı μM cinsinden belirlendi ve IC_{50} değeri olarak ifade edildi (Tablo 8).

50 μM kompleks konsantrasyonunda DPPH radikali giderme aktiviteleri şu şekilde sıralanmaktadır: K6 (%61) > K7 (%41) > K2 (% 34) > K4 (%31) > K1 = K3 (%26) > K5 (%3) > K8 (%2). Standart antioksidan olarak kullanılan Trolox®'un 0.051 μM konsantrasyonda DPPH serbest radikali giderme aktivitesi %50 olarak hesaplandı. Tüm kompleksler Trolox® ile benzer DPPH serbest radikali giderme aktivitesi sergiledi.

Tablo 8. Komplekslerin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi için IC_{50} değerleri

Kompleks Türü	IC_{50} (μM)
K1	200
K2	158
K3	*
K4	67
K5	*
K6	42
K7	139
K8	*
Trolox®	0.051

* Komplekslerin renkli olması sebebiyle IC_{50} değeri tespit edilemedi.

3.1.2.3. Komplekslerin Süperoksit Dismutaz Benzeri Aktivitesi

Çalışılan komplekslerin SOD-benzeri aktivitesi tayini deneyinde riboflavin ve metiyonin sistemi tarafından üretilen süperoksit radikallerinin NBT'nin indirgenmesini

önlemesi ve buna bağı olarak da absorbanstaki düşüş 560 nm'deki absorban ölçülerek belirlendi (Beauchamp ve Fridovich, 1971). Radikaller varlığında NBT'nin indirgenip mavi renkli formazon oluşturma reaksiyonu spektrofotometrik olarak 560 nm'deki absorban değişimleri olarak görüldü. Böyle bir ortamda NBT ile birlikte kompleksler, radikalleri gidermek için yarışacağı ve NBT'den daha etkin olmaları durumunda kompleksler radikalleri tutacağından, formazon oluşumu engellenmiş olacaktır ve böylece absorbansta azalma ortaya çıkacaktır.

Komplekslerin SOD-benzeri aktivitesi, süperoksit radikallerinin 560 nm'deki NBT'nin indirgenmesini %50 önlemesi için gerekli konsantrasyon olarak tanımlandı ve IC_{50} değeri olarak ifade edildi. IC_{50} değeri ise μM cinsinden belirlendi.

Kompleks daha etkin oldukça NBT indirgenmesini önleme veya diğer bir deyişle radikallerle etkileşme kapasitesi yüksek ve gerekli konsantrasyonu da o kadar düşük olacaktır. Komplekslerin beş farklı konsantrasyonunun NBT indirgenmesinin önlenmesi değerlerine karşılık çizilen grafikten elde edilen %50 inhibisyona karşılık gelen IC_{50} değerleri Tablo 9'de verilmektedir.

Tablo 9. Komplekslerin SOD benzeri aktivitesi için IC_{50} değerleri

Kompleksler	IC_{50} (μM)
K1	44
K2	57
K3	23
K4	420
K5	117
K6	102
K7	235
K8	2037

Çalışılan kompleksler içerisinde K3 kompleksi en düşük IC_{50} ve K8 kompleksi ise en yüksek IC_{50} değeri nedeniyle süperoksit radikali giderme etkinliği açısından sırasıyla en yüksek ve en düşük potansiyele sahip kompleksler olarak belirlendi.

3.2. Antimikrobiyal Çalışmalar

3.2.1. Mantar Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Mantarların su özütlerinin disk difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal aktivite tayini deneyinde test edilen tüm mikroorganizmalara karşı besiyerinde inhibisyon çapı oluşturmadıkları yani antimikrobiyal aktivite göstermedikleri gözlemlendi.

Metanol özütlerinin disk difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal aktivite tayini deneyinde sadece *S. aureus* suşuna karşı kısmi antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlendi. Tüm özütlerin *S. aureus* suşunun ekildiği besiyerinde meydana getirdikleri inhibisyon çapı Tablo 10’da verilmiştir. *S. aureus* suşuna karşı en etkili metanol özütünün M1 ve M4 mantarlarına ait olduğu ve 12 mm inhibisyon çapı oluşturdukları gözlemlendi. Daha sonra 10 mm inhibisyon çapı oluşturan M7 mantarının kısmi antimikrobiyal aktivitesi olduğu gözlemlendi.

Tablo 10. Metanol özütlerinin disk difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal aktivite deneyinde besiyerinde oluşturdukları inhibisyon çapları

Mantar Türü (250µg/25µl)	Mikroorganizmalar ve İnhibisyon Çapları (mm)									
	Gram (-)			Gram (+)					Maya	
	Ec	Ea	Yp	Pa	Sa	Ef	Li	Bc	Ca	Ct
M1	(—)	(—)	(—)	(—)	12	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
M2	(—)	(—)	(—)	(—)	8	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
M3	(—)	(—)	(—)	(—)	5	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
M4	(—)	(—)	(—)	(—)	12	(—)	(—)	5	(—)	(—)
M5	(—)	(—)	(—)	(—)	8	(—)	(—)	5	(—)	(—)
M6	(—)	(—)	(—)	(—)	8	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
M7	(—)	(—)	(—)	(—)	10	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
M8	(—)	(—)	(—)	(—)	7	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
M9	(—)	(—)	(—)	(—)	5	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
%80’lik MeOH	(—)	(—)	(—)	(—)	5	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
Boş	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
Ampisilin*	25	25	25	25	25	25	25	25	(—)	(—)
Flukanazol**	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	25	25

Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, Ea: *Enterobacter aeruginosa* ATCC 13048 Yp: *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, Pa: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 43288, Sa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ef: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Li: *Listeria monocytogenes* ATCC 43251, Bc: *Bacillus cereus* 702 Roma, Cg: *Candida glabrata* 66032, Ct: *Candida tropicalis* ATCC 13803, (—): Aktivite yok.

*Antibakteriyal

**Antifungal

Mantarların etilasetat özütlerinin disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal aktivite tayin deneyinde, sadece M1 mantarının etilasetat özütünün, *S. aureus* ve *B. cereus* suşlarına karşı kısmi antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve *S. aureus* suşunun ekili olduğu besiyerinde 7 mm, *B. cereus* suşunun ekili olduğu besiyerinde ise 5 mm inhibisyon çapı oluşturduğu gözlemlendi (Tablo 11).

Tablo 11. Etilasetat özütlerinin disk difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal aktivite deneyinde besiyerinde oluşturdukları inhibisyon çapları

Mantar Türü (250µg/25µl)	Mikroorganizmalar ve İnhibisyon Çapları (mm)									
	Gram (-)			Gram (+)					Maya	
	Ec	Ea	Yp	Pa	Sa	Ef	Li	Bc	Ca	Ct
M1	(-)	(-)	(-)	(-)	7	(-)	(-)	5	(-)	(-)
M2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M9	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
ETOAC	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Boş	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Ampisilin*	25	25	25	25	25	25	25	25	(-)	(-)
Flukonazol**	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	25	25

Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, Ea: *Enterobacter aeruginosa* ATCC 13048 Yp: *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, Pa: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 43288, Sa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ef: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Li: *Listeria monocytogenes* ATCC 43251, Bc: *Bacillus cereus* 702 Roma, Cg: *Candida glabrata* 66032, Ct: *Candida tropicalis* ATCC 13803, (-): Aktivite yok.

*Antibakteriyal

**Antifungal

3.2.2. Komplekslerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Agar difüzyon metoduyla antimikrobiyal aktivitesi açısından test edilen komplekslerin her biri test edilen mikroorganizmalardan en az birine karşı antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu, bununla birlikte genel olarak Gram (+) mikroorganizmalara karşı daha etkili olduğu görüldü (Tablo 12). Sonuçların değerlendirilmesinde çözücü olarak kullanılan DMF'nin ½ dilüsyonunda antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu dikkate alındı. Komplekslerden yalnızca K4, K6, K7 ve K8 test edilen mayalara karşı etkili bulundu.

Bunlar arasında *C. glabrata*'nın K4 ve K8 komplekslerine karşı en duyarlı mikroorganizma olduğu belirlendi. K1, K4, K5, K6, K7 ve K8 komplekslerinin test edilen tüm Gram (+) bakterilere karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, en iyi etkinliği ise K6 kompleksinin Gram (+) *S. aureus* ve *B. cereus* suşlarına karşı gösterdiği tespit edildi. K6 kompleksinin test edilen tüm bakterilere karşı 62.5-125 µg/100 µl konsantrasyonlarda etkili iken, K8 kompleksinin ise hem bakteri hem de mayalara karşı 15.62-125 µg/100 µl konsantrasyon aralığında antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görüldü.

Tablo 12. Komplekslerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK)

Kompleksler (µg/100µl)	Mikroorganizmalar ve MİK Değerleri									
	Gram (-)			Gram (+)					Maya	
	Ec	Ea	Yp	Pa	Sa	Ef	Li	Bc	Cg	Ct
K1	-	-	500	-	125	125	125	500	-	-
K2	-	-	500	62.5	-	-	125	-	-	-
K3	-	500	-	-	250	250	-	-	-	-
K4	500	-	-	62.5	62.5	250	62.5	62.5	<3.90	31.25
K5	62.5	125	125	125	62.5	62.5	62.5	62.5	-	-
K6	62.5	-	500	-	7.81	125	62.5	7.81	62.5	32.25
K7	-	-	-	250	125	250	62.5	250	62.5	31.25
K8	31.25	62.5	31.25	62.5	62.5	125	31.25	31.25	15.62	31.25
Ampisilin*	10	>128	18	>128	35	10	10	15	-	-
Flukonazol**	-	-	-	-	-	-	-	-	<8	<8

Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, Ea: *Enterobacter aeruginosa* ATCC 13048 Yp: *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, Pa: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 43288, Sa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ef: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Li: *Listeria monocytogenes* ATCC 43251, Bc: *Bacillus cereus* 702 Roma, Cg: *Candida glabrata* 66032, Ct: *Candida tropicalis* ATCC 13803, (—): Aktivite yok.

*Antibakteriyal

**Antifungal

3.2.3. Misel Gelişiminin İnhibisyonu Aktivitesi

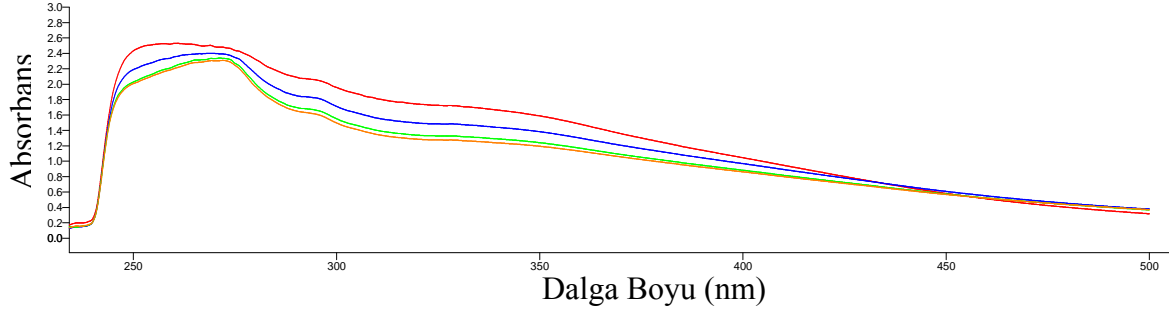
Misel gelişiminin inhibisyonu tayininde mantarlardan elde edilen su, metanol ve etilasetat özütlerinin, *Aspergillus niger* (küf mantarı)'e karşı antimikrobiyal aktivitesinin olmadığı tespit edildi. Ayrıca, kontrol amaçlı kullanılan mantar özütü içermeyen kontrol

petri plağı ve su, % 80'lik metanol ve % 99.9'luk etilasetat içeren petri plaklarında da üreme olduğu gözlendi.

3.3. Kompleks- DNA Etkileşiminin İncelenmesi

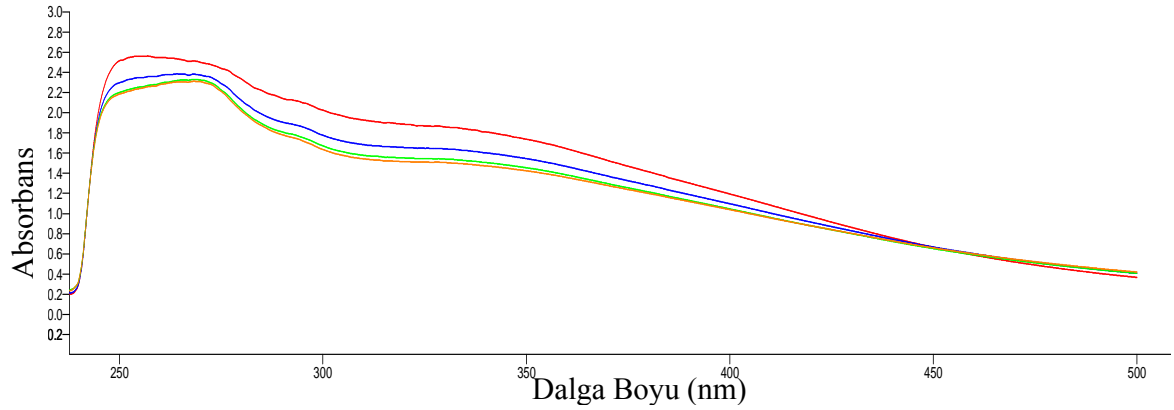
DNA ile kompleks ve ligandların etkileşimini incelemek için spektroskopik çalışmalar yapıldı (Wang vd, 2009). Ayrı ayrı K1, K2, K3, K4, K5, K6, K7 ve K8 komplekslerinin belirli konsantrasyondaki çözeltilerine DNA'nın ilavesi ile çözeltilerin absorpsiyon spektrumlarındaki ve absorbanslarındaki değişimler tespit edildi.

K1 kompleksine artan konsantrasyonda DNA ilavesiyle komplekse ait 260 nm'deki sinyalin dalga boyunda sırasıyla, 8.86, 10.88 ve 11.29 nm'lik kırmızıya kayma ve kompleksin bu dalga boyunda ki absorbansında sırasıyla, 0.171, 0.287 ve 0.319 absorbans birimi kadar azalma (hipokromizm) gözlendi (şekil 3).



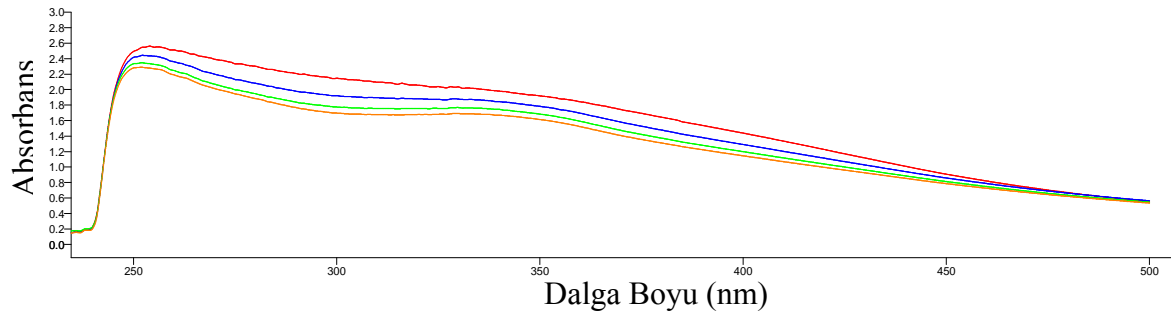
şekil 3. K1 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 µM DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

K2 kompleksine artan konsantrasyonda DNA ilavesiyle komplekse ait 257 nm'deki sinyalin dalga boyunda sırasıyla, 7.21, 11.39 ve 12.88 nm'lik kırmızıya kayma ve kompleksin bu dalga boyunda ki absorbansında sırasıyla, 0.214, 0.311 ve 0.326 absorbans birimi kadar azalma (hipokromizm) gözlendi (şekil 4).



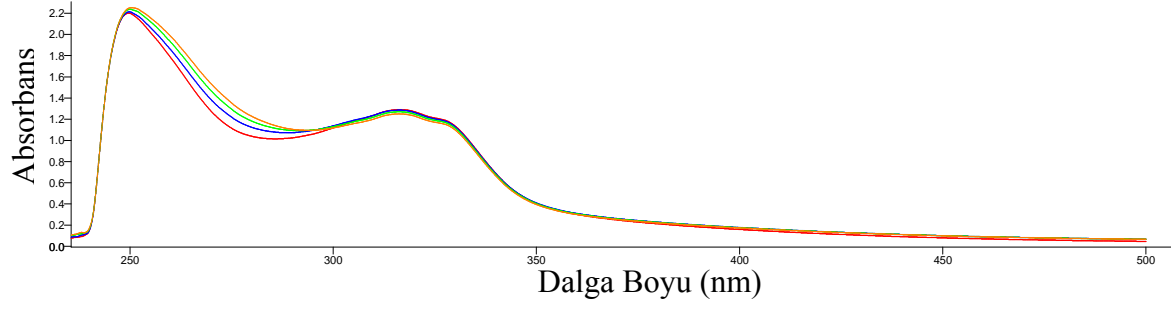
Şekil 4. K2 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

K3 kompleksine artan konsantrasyonda DNA ilavesiyle komplekse ait 254 nm'deki sinyalin dalga boyunda sırasıyla 1.78, 1.97 ve 2.06 nm'lik maviye kayma ve kompleksin bu dalga boyunda ki absorpsiyonunda sırasıyla 0.125, 0.226 ve 0.283 absorpsiyon birimi kadar azalma (hipokromizm) gözlemlendi (Şekil 5).



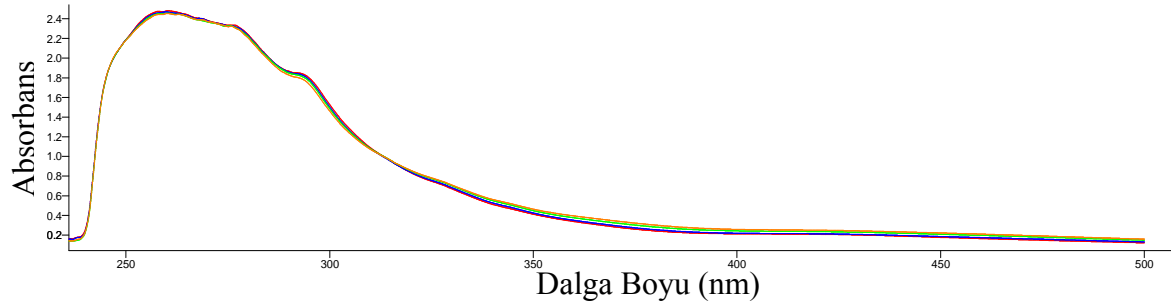
Şekil 5. K3 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

K4 kompleksine artan konsantrasyonda DNA ilavesiyle komplekse ait 249 nm'deki sinyalin dalga boyunda sırasıyla, 0.16, 0.63 ve 0.68 nm'lik kırmızıya kayma gözlenirken, DNA ilavesiyle kompleksin bu dalga boyunda ki absorpsiyonunda önemli bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 6).



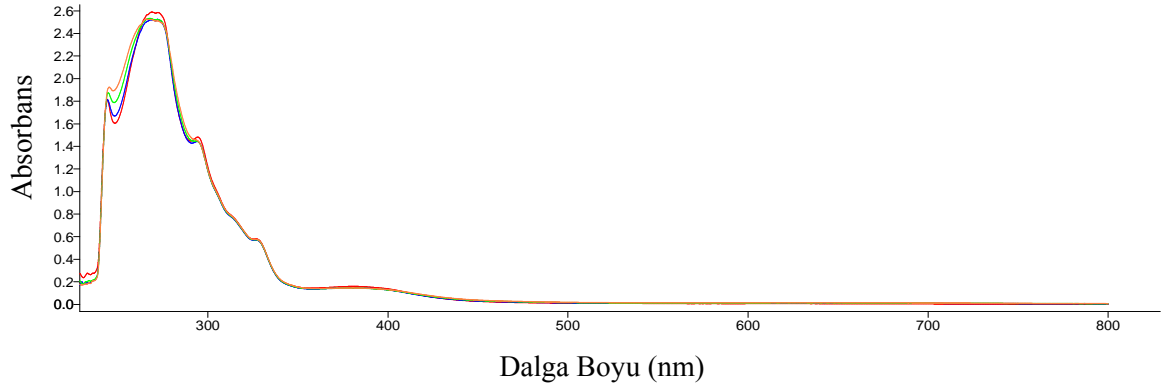
Şekil 6. K4 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μM DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

K5 kompleksine artan konsantrasyonda DNA ilavesiyle komplekse ait 260 nm'deki sinyalin dalga boyunda kırmızıya ya da maviye doğru bir kayma ve kompleksin bu dalga boyundaki absorpsiyonunda önemli bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 7).



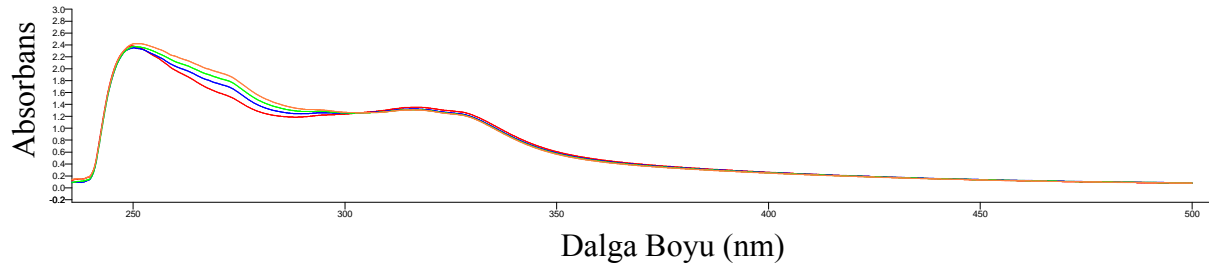
Şekil 7. K5 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μM DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

K6 kompleksine artan konsantrasyonda DNA ilavesiyle komplekse ait 250 nm'deki sinyalin dalga boyunda sırasıyla 0.20, 0.68 ve 1.12 nm'lik maviye kayma gözlenirken, DNA ilavesiyle kompleksin bu dalga boyunda ki absorpsiyonunda değişiklik gözlenmedi (Şekil 8).



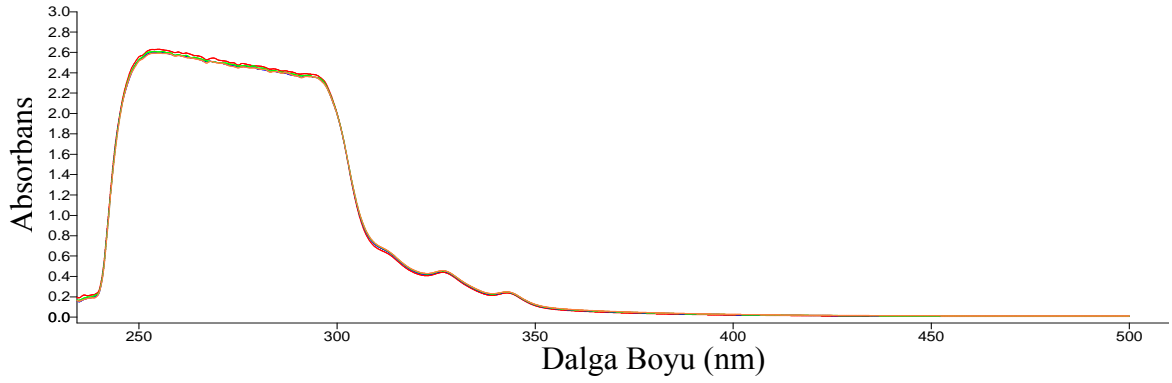
Şekil 8. K6 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μM DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

K7 kompleksine artan konsantrasyonda DNA ilavesiyle komplekse ait 250 nm'deki sinyalin dalga boyunda sırasıyla 0.59, 0.65 ve 1.73 nm'lik kırmızıya kayma gözlenirken, DNA ilavesiyle kompleksin bu dalga boyunda ki absorpsiyonunda önemli bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 9).



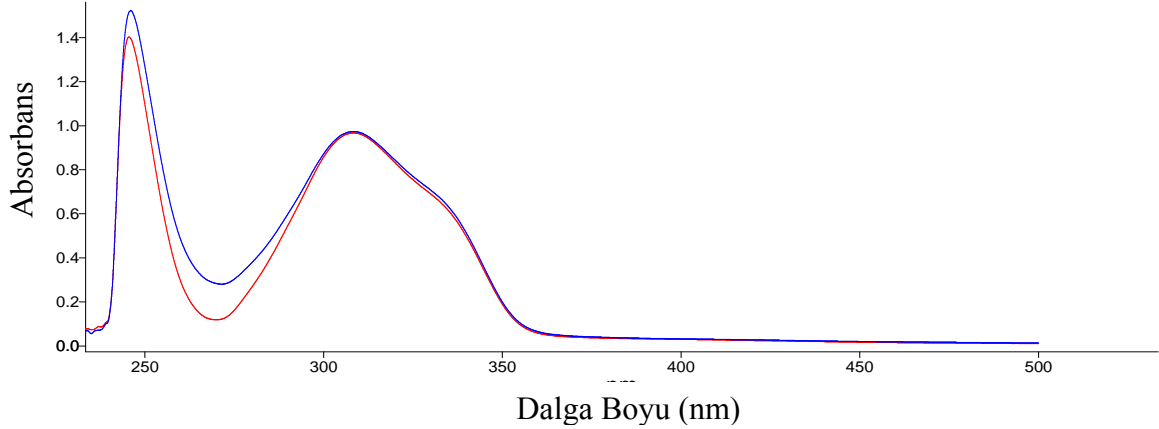
Şekil 9. K7 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μM DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

K8 kompleksine artan konsantrasyonda DNA ilavesiyle komplekse ait 255 nm'deki dalga boyunda kırmızıya ya da maviye doğru bir kayma ve kompleksin bu dalga boyundaki absorpsiyonunda önemli bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 10).



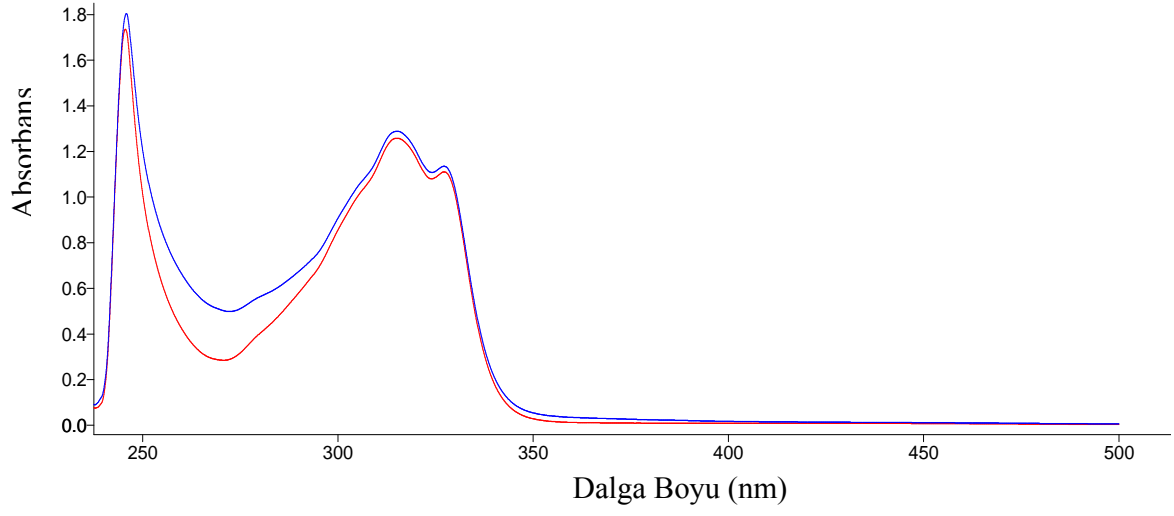
Şekil 10. K8 kompleksinin sırasıyla 0.3, 0.6 ve 0.9 μM DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

L1 ligandı için, 0.3 μM DNA ilavesiyle liganda ait 254 nm'deki sinyalin dalga boyunda sırasıyla 0.68 nm'lik kırmızıya kayma ve DNA ilavesiyle ligandın bu dalga boyunda ki absorpsiyonunda 0.113 absorpsiyon birimi kadar artış (hiperkromizm) gözlemlendi (Şekil 11).



Şekil 11. L1 ligandının 0.3 μM DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

L2 ligandı 0.3 μM DNA ilavesiyle komplekse ait 250 nm'deki sinyalin dalga boyunda sırasıyla 0.23 nm'lik kırmızıya kayma gözlenirken, DNA ilavesiyle kompleksin bu dalga boyunda ki absorpsiyonunda önemli bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 12).



Şekil 12. L2 ligandının 0.3 μ M DNA ilavesi sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmanın ilk aşamasında, Hıdırnebi yaylasından (Trabzon) rastgele örnekleme yöntemine göre toplanan *Boletus edulis* (M1), *Boletus erythropus* (M2), *Tricholoma saponaceum* var. *saponaceum* (M3), *Agaricus arvensis* (M4), *Cantharellus cibarius* var. *cibarius* (M5), *Laccaria laccata* (M6), *Russula rosea* (M7), *Leucopaxillus giganteus* (M8) ve *Helvella elastica* (M9) yenilebilir mantar türlerinin su, %80'lik metanol ve %99.9'luk etilasetat özütlerinin toplam fenolik madde içerikleri, DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmanın diğer aşamasında ise (2E,3E)-[6-{{(1E,2E)-2-(hidroksiimino)-1-metilpropiliden}amino}pridin-2-ilimino]bütan-2-on oksim ligandının (L1) homo dinükleer bakır (II) (K1), hetero dinükleer bakır (II) –nikel (II) (K2), mononükleer bakır (II) (K3) ve 2-(hidrosiimino)-1-metilpropilidenaminofeniliminobütan-2-on oksim ligandının (L2) mononükleer bakır (II) (K4), hetero dinükleer nikel (II) –bakır (II) (K5), homo dinükleer bakır (II) (K6), homo trinükleer bakır (II) (K7) ve hetero dinükleer bakır (II) –nikel (II) (K8) komplekslerinin DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri, Süperoksit Dismutaz benzeri aktiviteleri, DNA interkalasyon etkileşimleri ve antimikrobiyal aktiviteleri incelendi.

İnsan ve diğer organizmalar, kendilerini oksidatif hasarlara karşı koruyan farklı antioksidan savunma ve tamir sistemlerine sahip olmalarına rağmen, bu sistemler her zaman tam olarak başarılı değildirler. Bu nedenle, endojen savunma sistemlerine yardımcı olmak için antioksidan aktivite gösteren doğal ürünlerin kullanımına ilgi giderek artmaktadır. Bu açıdan, insan vücudundaki oksidatif hasarı azaltmaya yardım etmek için muhtemel koruyucu ajanlar olarak insan diyetindeki antioksidanlar ilgi çekmektedir. Son zamanlarda, birçok doğal antioksidan farklı bitki materyallerinden izole edilmiştir. Ayrıca, mantarlar fonksiyonel yiyecek, ilaç ve nütrosötik olarak ilgi çekmeye başlamıştır (Barros vd., 2007a). Çünkü mantarlar genellikle, polisakkaritler ve polifenoller gibi geniş bir serbest radikal giderici molekül sınıfı içerirler (Cui vd., 2005). Fenolik bileşikler, arterioskleroz ve kanserin önlenmesi ile ilgili en önemli besin bileşenlerinden biridir (Williams ve Iatropoulos, 1997; Türkoğlu vd., 2007). Mantarların şelatlama, lipoksigenaz ve serbest radikal giderme yeteneği biyoaktif fenoliklerle ilişkilidir (Decker, 1997; Türkoğlu vd., 2007). Fenoller, hidroksil grupları ile radikal giderme aktiviteleri olduğundan önemli bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteyle direkt ilişkili

olduğu ve lipid peroksidasyonunun stabilizasyonunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Yen vd., 1993 ; Elmastaş vd., 2007).

Mantarların su, metanol ve etilasetat özütlerinin fenolik bileşik içeriği Folin-Ciocalteu reaktifi ile oluşturdukları renkli kompleksin 750 nm'deki absorbansı ölçülerek ve gallik asit standart olarak kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar mg GAE/g özüt olarak verildi (Tablo 5). Özütlerde 6.620-163.0 mg GAE /g özüt değerleri arasında önemli miktarda fenolik madde tespit edildi. Genellikle metanol özütleri daha yüksek miktarda fenolik madde içerdiği, en yüksek fenolik madde içeriğinin M4 mantarının metanol özütünde, en düşük içeriğin ise M6 mantarının etilasetat özütünde olduğu tespit edildi.

Yenilebilir mantarlarla yapılan benzer çalışmalar literatürde mevcuttur. *Hypsizigus marmoreus* (Peck) Bigelow (Tricholomataceae) mantarının toplam fenolik içeriği su özütünde 10.01, etanol özütünde ise 6.89 mg GAE/g özüt olarak (Lee vd., 2008); *Agaricus brasiliensis* Wasser & Didukh mantarının toplam fenolik içeriği genç safhadaki metanol özütü için 29.64, olgun safhadaki için ise 28.82 mg GAE/g özüt olarak (Soares, vd., 2009) bildirilmiştir. Ayrıca, *Agaricus bisporus* Turk 1920, *Polyporus squamosus* Turk 1470, *Pleurotus ostreatus* Turk 1950, *Lepista nuda* Turk 2104, *Russula delica* Turk 930, *Boletus badius* Turk 1832 ve *Verpa conica* Turk 2152 mantarlarının metanol özütlerinde toplam fenolik madde sırasıyla 13.1, 13.9, 12.1, 7.7, 26.0, 17.5, 17.2 mg GAE/g özüt (Elmastaş vd., 2007) olarak; *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, *Agaricus silvaticus* Schaeff., *Agaricus silvicola* (Vittad.), *Boletus edulis* Fr., *Calocybe gambosa* (Fr.) Donk, *Cantharellus cibarius* L. ex Fr., *Craterellus cornucopioides* Pers. ve *Marasmius oreades* (Bolt.ex Fr.) Fr. mantarlarının metanol özütlerindeki toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 4.49, 8.94, 6.18, 5.03, 1.70, 0.88, 2.13 ve 3.20 mg GAE/g özüt (Barros vd., 2008) olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Hu ve arkadaşları (2009) ise *Inonotus obliquus* mantarının etanol özütünün toplam fenolik içeriğini 91.5 mg GAE/g özüt, su özütlerindeki toplam fenolik içeriği (50, 70 ve 80 °C'de ekstraksiyon için) ise 39.3, 40.4, ve 40.7 mg GAE/g özüt olarak bildirmiştir.

Boletus edulis (M1) ile *Cantharellus cibarius* (M5) mantarları Barros ve arkadaşları (2008) tarafından daha önce çalışıldı. Trabzon bölgesinden toplanan M1 mantarının metanol özütünde toplam fenolik madde miktarı 42.68 mg GAE/g özüt olarak tespit edilirken, Barros ve arkadaşları (2008) tarafından çalışılan ve Braganca (Kuzeydoğu Portekiz) bölgesinden toplanan mantarlarda ise bu miktar 5.03 mg GAE/g özüt olarak tespit edildi. Aynı şekilde M5 mantarının metanol özütünde için toplam fenolik madde

miktarı çalışmada 73.42 mg GAE/g özüt olarak tespit edilirken, Barros ve arkadaşları (2008) tarafından 0.88 mg GAE/g özüt olarak tespit edildi. Çalışmada kullanılan M1 ve M5 mantar özütleri Barros ve arkadaşlarının (2008) belirttiğinden daha yüksek fenolik içeriğe sahiptir. Benzer sonuçlar literatürde farklı çalışmalar için de görülmektedir. *Agaricus bisporus* mantarında fenolik madde miktarını Elmastaş ve arkadaşları (2007) 13.1 mg GAE/g özüt olarak bildirirken Barros ve arkadaşları (2008) 4.49 mg GAE/g özüt olarak bildirmiştir. Bu sonuçlar, aynı mantar türü için, mantarın yetiştiği iklim, çevre şartları ve hasat zamanının mantarın kimyasal yapısını belirlediği gerçeğini ortaya koymaktadır (Zeiger, 2002).

Özütlerin hidrojen atomu verme kabiliyeti DPPH'nin serbest radikal olarak kullanıldığı spektrofotometrik yöntemle belirlendi ve özütlerin DPPH'nin mor renkli metanolik çözeltisinin rengini ağartması ölçüldü. DPPH konsantrasyonunu yarıya düşüren özüt miktarı mg/ml cinsinden belirlendi ve IC₅₀ değeri olarak ifade edildi (Tablo 6). Standart olarak Trolox® kullanıldı. (Türkoğlu vd, 2007).

Çalışılan mantar özütlerinin Trolox® benzeri DPPH serbest radikali giderme aktivitesi gösterdiği tespit edildi. Özütlerin IC₅₀ değeri 0.014-13.600 mg/ml aralığında, standart olarak kullanılan Trolox®'un ise 0.004 mg/ml olarak belirlendi. Genel olarak, çalışılan tüm mantarların metanol özütlerinin daha etkili radikal giderici aktivitesi olduğu, çalışılan tüm mantarlarda M1 mantarının tüm özütlerde ise M1 mantarının etilasetat özütünün en yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edildi.

Daha önceki çalışmalarda özütlerin IC₅₀ değeri ile fenol içeriği arasında negatif lineer bir ilişki olduğu yani en yüksek fenolik içerikli özütün daha yüksek aktivite ve daha düşük IC₅₀ değerine sahip olduğu bildirildi (Barros vd., 2007). Çalışmada kullanılan mantarların her üç özütü dikkate alındığında genellikle metanol özütlerinin daha yüksek toplam fenolik içeriğe ve daha iyi DPPH serbest radikali giderici aktivitesine sahip olduğu görüldü.

Makromantarların antimikrobiyal aktivitelerini saptamak amacıyla yapılan araştırmalarda değişik çözücülerde hazırlanan özütlerinin değişik test mikroorganizmalarına karşı farklı tipte antagonistik etki oluşturdukları bildirilmektedir. Makromantarların antimikrobiyal etkileri, fungal yapıda sentezlenen ve çoğunlukla organizmaya özgü bazı fenolik bileşikler, pürinler, pirimidinler, kinonlar, terpenoidler ve fenil propanoid türevi gibi antagonistik maddelerden kaynaklanmaktadır (URL-2, 2009).

Mantar özütlerinin büyük bölümü, test edilen Gram (+) ve Gram (-) bakteri ile maya ve küf mantarlarına karşı etkin antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı tespit edildi

(Tablo 10 ve Tabol 11). Bazı özütlerin ise kısmi aktivite gösterdiği görüldü. Çalışılan mantarların metanol özütleri (5-12 mm inhibisyon çapı) ile M1 mantarının etilasetat özütü (7 mm inhibisyon çapı) *Staphylococcus aureus* suşunun; M4 ve M5 mantarlarının metanol özütleri (5 mm inhibisyon çapı) ile M1 mantarının etilasetat özütü (5 mm inhibisyon çapı) *Bacillus cereus* şusunun büyümesini inhibe ettiği tespit edildi. Literatürde, mantarlarla yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar mevcuttur. Türkoğlu ve arkadaşları (2007) *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill'in metanol özütünün bazı Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı kısmi aktivite (4.5 -9 mm inhibisyon çapı) gösterdiğini bildirirken; İsviçre'de Keller ve arkadaşları (2002) 57 farklı tür mantarın diklorometan, metanol ve su özütlerinin %79 kadar önemli bir kısmı için test edilen mikroorganizmalara karşı önemli bir aktivite sergilemediklerini bildirdiler. Keller ve arkadaşları (2002) bu çalışmada kullanılan M1 mantarını da çalıştı ve diklorometan, metanol ve su özütlerinin test edilen mikroorganizmalara karşı etkisiz olduğunu bildirdi. Ayrıca Barros ve arkadaşları (2007b) *Sarcodon imbricatus* (L.) P. Karst. ve *Tricholoma portentosum* (Fr.) Qu'el. mantarlarının metanol özütlerinin *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* suşlarına karşı etkisiz olduğunu bildirdi.

Oksim tipi ligand kompleksleri önemli araştırma ve eleştirilere konu olmuştur. Geçtiğimiz on yılda oksimlerin, sentez, karakterizasyon çalışmaları ile mono-nükleer, homo- ve hetero-polinükleer ve polimerik metal komplekslerin hazırlaması çalışmaları gerçekleştirilmiştir ve biyolojik özellikleri incelenmiştir (Kurtoğlu vd., 2008).

Çalışmada kullanılan oksim tipi ligand komplekslerinin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi çalışmaları sonucunda tüm komplekslerin aktivite sergilediği görüldü. Komplekslerin 50 µM konsantrasyondaki DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin karşılaştırıldığında sıralamanın şu şekilde olduğu görülmektedir: K6 (%61) > K7 (% 41) > K2 (%34) > K4 (%31) > K1 = K3 (%26) > K5 (%3) > K8 (%2). Standart olarak kullanılan Trolox® ise 0.051 µM konsantrasyonda %50 aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Bulgulardan anlaşıldığı gibi kompleksler Trolox®'a göre çok düşük aktiviteye sahiptir. Bu durum, komplekslerin büyük halkalı yapılara sahip olmasına ve sterik engelden dolayı DPPH radikale hidrojen sunamamış olmasına atfedilebilir.

Çalışılan komplekslerin SOD-benzeri aktivite deneyinde riboflavin ve metiyonin sistemi tarafından üretilen süperoksit radikallerinin, NBT'nin indirgenmesini önlemesi ve buna bağlı olarak da absorbanstaki düşüş 560 nm'deki absorbans ölçülerek belirlendi (Beauchamp ve Fridovich, 1971). Çalışılan tüm komplekslerin artan konsantrasyonları ile

riboflavin, metiyonin ve NBT'nin belirli konsantrasyonlarında, NBT indirgenmesinin %50 önlemesi aktivitesi sırasıyla şu şekildedir: K3 (23 μM) > K1 (44 μM) > K2 (57 μM) > K6 (102 μM) > K5 (117 μM) > K7 (235 μM) > K4 (420 μM) > K8 (2037 μM) (Tablo 9). Çalışılan kompleksler içerisinde etkin SOD benzeri aktivitenin K3 kompleksi tarafından sergilendiği belirlendi. K1 kompleksi en etkili NBT indirgenmesini önleme aktivitesi gösteren K3'ün, yaklaşık 2 katı, K2'nin 2.5 katı konsantrasyonda bu etkiyi gösterdiği tespit edildi. K4 kompleksi K3'e göre 17 kat daha düşük aktivite sergilerken K7 kompleksinde bu oran çok daha yüksek ve K3'ün 89 katı daha düşük aktivite sergilediği tespit edildi. Komplekslerin SOD benzeri aktivite sergilediği, ancak çok yüksek konsantrasyonlarda bu etkiyi göstermiş oldukları tespit edildi. Komplekslerin oldukça yüksek konsantrasyonlarda bu aktiviteyi göstermelerinin sebebinin komplekslerin büyük halka yapılarına sahip olmaları ve sterik engellerin olabileceği düşünülmektedir. Makrosiklik bakır (II) komplekslerinde makrohalkanın sterik engellemesi sonucu düşük SOD-benzeri aktivitenin olabileceği bildirilmiştir (Fernandes vd., 2007). Benzer çalışmalarda, Ferrer ve arkadaşları (2007) ksantin/ksantin oksidaz sistemi kullanarak bakır kompleksleri için IC_{50} değerlerini 40.7 μM ve 34.7 μM olarak, Suksrichavalit ve arkadaşları (2009) bakır kompleksleri için IC_{50} değerlerini 49-130 μM olarak bildirdi.

DNA ile komplekslerin etkileşimini incelemek için spektroskopik çalışmalar yapıldı (Wang vd., 2009). Hiperkromik etki ve hipokromik etki, DNA'nın çift sarmal-heliks yapısıyla ilgili spektrum özellikleridir. Bu spektral değişiklikler DNA'nın yapı ve konformasyonundaki değişiklikleri gösterir. Hipokromizmin DNA'nın konformasyonundaki değişiklikler sonucu heliks aksisindeki kısalmasından ve hiperkromizmin DNA çift sarmal-heliks yapısının zarar görmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Zhou vd., 2007).

Yapılan bu çalışmada, K1 ve K2 komplekslerinde DNA ilavesiyle hipokromizm ve kırmızıya kayma, K3 kompleksinde ise hipokromizm ve maviye kayma gözlemlendi. Tian ve arkadaşları (2007) binükleer kobalt (II) kompleksinin, Selim ve arkadaşları (2007) heterometalik nitrozil kompleksinin, Hirohama ve arkadaşları (2005) fenantrolin ligandının bakır kompleksinin spektroskopik DNA etkileşimi çalışmalarında, DNA ilavesiyle spektrumdaki hipokromizm şeklindeki değişimin çalışılan komplekslerin DNA ile interkalasyonu sonucunda olabileceğini bildirmişlerdir. K5 ve K8 komplekslerine DNA ilavesiyle, komplekslerin maksimum absorbans yaptığı dalga boylarında kayma ve bu dalga boylarındaki absorbanslarında değişiklik gözlenmedi. K4 ve K7 kompleksleri ile L2

ligandına DNA ilavesiyle komplekslerin ve ligandın maksimum absorban yaptığı dalga boylarında kırmızıya kayma gözlenirken, maksimum absorban yaptığı dalga boylarındaki absorbanlarında değişiklik gözlenmedi. K6 kompleksinde ise dalga boyunda maviye kayma gözlenirken, absorbansta değişiklik gözlenmedi.

L1 ligandına DNA ilavesiyle hiperkromizm ve kırmızıya kayma gözlendi. Benzer şekilde, Zhou ve arkadaşları (2007) poliamin-bakır (II) kompleksinin, Kumar ve Arunachalam (2009) fenantrolin ve fenilalanin liganlarının polimer-bakır (II) komplekslerinin spektroskopik DNA etkileşimi çalışmalarında DNA ilavesiyle spektrumdaki hiperkromizm şeklindeki değişimin, çalışılan komplekslerin DNA ile interkalasyonu sonucunda olabileceğini bildirmiştir. Bu bilgilere göre, K1, K2 ve K3 kompleksleri ile L1 ligandının DNA ilavesi sonucu oluşan spektral değişiklikleri göre DNA ile interkalasyon etkileşimi yapabildiği söylenebilir.

Antimikrobiyal çalışmalar sonucunda komplekslerden yalnızca K4, K6, K7 ve K8 kompleksleri test edilen mayalara karşı etkili bulundu (Tablo12). Bunlar arasında *Candida glabrata*'nın K4 ve K8 komplekslerine karşı en duyarlı mikroorganizma olduğu belirlendi. K1, K4, K5, K6, K7 ve K8 komplekslerinin test edilen tüm Gram (+) bakterilere karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, en iyi etkinliği ise K6 kompleksinin *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* suşlarına karşı gösterdiği tespit edildi. K6 kompleksi test edilen tüm bakterilere karşı 62.5-125 µg/100 µl konsantrasyonlarda etkili iken, K8 kompleksinin ise hem bakteri, hem de mayalara karşı, 15.62-125 µg/100 µl konsantrasyon aralığında antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görüldü. Komplekslerin farklı aktivite göstermeleri hücre zarının geçirgenliğine ve mikrobiyal hücredeki ribozomların farklılığına bağlıdır (Kurtoğlu vd., 2008). Çalışmada kullanılan komplekslerin hemen hepsi, Gram (+) ve Gram (-) bakterilere ve mayalara karşı yapılan benzer çalışmalarda *vic*-dioxim ligandının mononükleer nikel (II), kobalt (II) ve bakır (II) kompleksleri (Kurtoğlu vd., 2008) ile fenantrolin ve fenilalanin ligandının polimer-bakır (II) komplekslerinden (Kumar vd., 2009) çok daha iyi aktivite sergilediği belirlendi.

5. ÖNERİLER

Oksidatif stres süresince oluşan reaktif oksijen türlerinin yaşlanmaya sebep olduğu bilinmektedir. Çünkü yaşlanmayla beraber reaktif oksijen türlerinin biyomoleküller üzerindeki oksidatif hasarında artış söz konusudur. Fenollerin, hidroksil grupları nedeni ile radikal giderme aktivitesi vardır ve arterioskleroz ve kanser gibi hastalıkların önlenmesi açısından fenoller besinlerin önemli bir bileşenidir. Çalışmada kullanılan yenilebilir mantarların önemli miktarda fenolik bileşik içerdiği tespit edildi. Bu mantarların günlük besin tüketiminde payının artırılması oksidatif stres ve söz konusu hastalıkları önlemede etkili olabilecektir.

Çalışmada, mantarların DDPH serbest radikalini giderme aktivitesi ile komplekslerin DDPH serbest radikalini giderme aktivitesi ve SOD benzeri aktivitesi incelendi. Daha ileriki çalışmalarda bu çalışmada kullanılan mantarların ve komplekslerin DMPD giderme aktivitesi, ABTS giderme aktivitesi, demir indirgeme aktivitesi gibi antioksidan özellikleri de araştırılabilir. Böylelikle incelenen mantar ve komplekslerin antioksidan özellikleri daha ayrıntılı ortaya konabilir.

Son yıllarda çoğu araştırmacılar küçük moleküllerin DNA ile etkileşimine odaklanmışlardır. DNA genelde anti kanser ilaçlarının hücre içi hedeflerinde birincil olarak önemlidir. Bu yüzden küçük moleküller ve DNA arasındaki etkileşim kanser hücrelerinin bölünmesinin engellenmesi ve kanserli hücrelerde DNA hasarına yol açarak hücre ölümüne sebep olabilir. Bu çalışmada K1, K2 ve K3 komplekslerinin DNA ile interkalasyon etkileşimi yapabildiği tespit edildi. İleriki çalışmalarda, bu komplekslerin antikanser ilaç olabilme potansiyeli açısından DNA ile bağlanma modelleri ve antitümör özellikleri araştırılabilir.

Mevcut ilaçlara mikroorganizmaların direnç geliştirmesi sebebiyle yeni antimikrobiyal ilaçlara ihtiyaç vardır. Çalışmada komplekslerin DMF içerisindeki çözeltilerinin patojen Gram (+) ve Gram (-) bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edildi. Komplekslerin suda çözünebilen formları tasarlanarak antimikrobiyal ajan olarak kullanımları ayrıca araştırılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Ahmad, I., Mehmood, Z. ve Mohammed, F., 1998. Screening of Some Indian Medicinal Plants for Their Antimicrobial Properties, Journal of Ethnopharmacology, 62, 183-193.
- Ames, B. M., Shigena, M. K. ve Hagen, T. M., 1993. Oxidants, Antioxidants and The Degenerative Diseases of Ageing Proceedings of National Academy of Sciences, USA, 90, 7915–7922.
- Arrigoni, O. ve De Tullio, M. C., 2002. Ascorbic Acid: Much More Than Just An Antioxidant, Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects, 1569,1-3, 1-9.
- Aruoma, O. I. ve Cuppett, S. L., 1997. Antioxidant Methodology *In vivo* and *In vitro* Concept, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Aruoma, O. I., 1998. Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease, Journal of The American Oil Chemists Society, 75, 199–212.
- Barros, L., Baptista, P., Estevinho, L. M. ve Ferreira I. C. F. R., 2007a. Bioactive Properties of The Medicinal Mushroom *Leucopaxillus giganteus* Mycelium Obtained in The Presence of Different Nitrogen Sources, Food Chemistry, 105, 179-186.
- Barros, L., Calhella, R. C., Vaz, J. A., Ferreira, I. C. F. R., Baptista, P. ve Estevinho, L. M., 2007b. Antimicrobial Activity and Bioactive Compounds of Portuguese Wild Edible Mushrooms Methanolic Extracts, Eur. Food Res. Technol, 225,151–156.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M. ve Ferreira I. C. F. R., 2008. Wild and Commercial Mushrooms as Source of Nutrients and Nutraceuticals, Food and Chemical Toxicology, 46, 2742–2747.
- Beauchamp, C. ve Fridovich, I. 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assays and An Assay Applicable to Acrylamide Gels, Anal. Biochem., 44, 276-287.
- Berlett, B. S. ve Stadtman, E. R., 1997. Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stres, The Journal of Biological Chemistry, 272, 33, 20313–20316.
- Blackburn G. M. ve Gait, M. J., 1997. Nucleic Acids in Chemistry and Biology, 2. Baskı, Oxford Univ. Pres, Oxford, U.K.
- Braña, M. F., Cacho, M., Gradillas, A., Teresa, B. P. ve Ramos, A., 2001. Intercalators as Anticancer Drugs, Current Pharmaceutical Design, 7, 1745-1780.

- Burrows, A. D., Chan, C. W., Chowdhry, M. M., Mc Grady J. E. ve Mingos, D. M. P., 1995. Multidimensional Crystal Engineering of Bifunctional Metal Complexes Containing Complementary Triple Hydrogen Bonds, Chem. Soc. Rev., 24, 329- 339.
- Cao, G., Sofic, E. ve Prior, R. L., 1996. Antioxidant Capacity of Tea and Common Vegetables, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44, 3426–3431.
- Çekirge, E., 2008. Oksim Tipi Ligandların Mono-, Di-, Tri, Homo ve Heteronükleer Cu(II) ve Ni(II) Komplekslerinin Nükleolitik Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Cui, Y., Kim, D. ve Park, K., 2005. Antioxidant Effect of *Inonotus obliquus*, Journal of Ethnopharmacology, 96, 79-85.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A. ve Colombo, R., 2003. Protein Carbonyl Groups as Biomarkers of Oxidative Stress, International Journal of Clinical Chemistry and Diagnostic Laboratory Medicine, 329.
- Davies, K. H., 1993. Protein Modification by Oxidants, Biochem. Soc. Trans., 21, 346-352.
- Davies, K. J. A., 2000. Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems, International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life, 50, 279-289.
- Decker, E. A., 1997. Phenolics: Prooxidants or Antioxidants? Nutrition Reviews, 55, 396–407.
- Elmastaş, M., Gülçin İ., Öztürk L., Işıldak, Ö. ve İbaoğlu G., 2003. Defne (*Laurus nobilis* L.) Yaprağının Antioksidan Özelliğinin İncelenmesi, XVII Ulusal Kimya Kongresi, Eylül, İstanbul, Bildiri Kitabı, 279.
- Elmastaş, M., Işıldak, Ö., Türkekul İ., ve Temur, N., 2007. Determination of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds in Wild Edible Mushrooms, Journal of Food Composition and Analysis, 20, 337–345.
- Elmastaş, M., Gülçin, İ., Öztürk, L. ve Gökçe, İ., 2005. Investigation of Antioxidant Properties of Spearmint (*Mentha spicata* L.), Asian Journal of Chemistry, 17, 137–148.
- Ferrer, E. G., Tevez, L. L., Baeza, N., Correa, M. J., Okulik, N., Lezama, L., Rojo, T., Castellano, E. E., Piro, O. E. ve Williams, P. A. M., 2007. Molecular Structure, Bioavailability and Bioactivity of [Cu(o-phen)₂(cnge)](NO₃)₂.2H₂O and [Cu(o-phen)(cnge)(H₂O)(NO₃)₂] Complexes, Journal of Inorganic Biochemistry, 101, 741–749.
- Fernandes, A. S., Gaspar, J., Cabral, M. F., Caneiras, C., Guedes, R., Rueff, J., Castro, M., Costa, J. ve Oliveira, N. G., 2007. Macrocyclic Copper (II) Complexes: Superoxide Scavenging Activity, Structural Studies and Cytotoxicity Evaluation, Journal of Inorganic Biochemistry, 101, 849–858.

- Fridovich, I., 1995. Superoxide Radical and Superoxide Dismutases, Annu. Rev. Biochem., 64, 97-112.
- Fridovich, I., 1976. In Free Radical in Biology, Pryor, W.A., Ed; Academic: New York, 1, 239–271.
- Groot, H. ve Rauen, M., 1998. Tissue Injury by Reactive Oxygen Species and The Protective Effects of Flavonoids, Fundamental Clinic Pharmacology, 12, 249–255.
- Grune, T., Jung, T., Merker, K. ve Davies, K. J. A., 2004. Decreased Proteolysis Caused by Protein Aggregates, Inclusion Bodies, Plaques, Lipofuscin, Ceroid, and ‘Aggresomes’ During Oxidative Stress, Aging, and Disease, The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 36, 2519-2530.
- Gutteridge, J. M. C., 1989. Iron and Oxygen: A Biologically Damaging Mixture, Acta Paediatrica Scandinavica Suppl., 361, 78–85.
- Gülçin, İ., Şat, İ. G., Beydemir, Ş. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2004a. Evaluation of The *In vitro* Antioxidant Properties of Extracts of Broccoli (*Brassica oleracea* L.), Italian Journal of Food Sciences, 16,1, 17-30.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Şat, İ. G. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2005. Evaluation of Antioxidant Activity of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.), Acta Alimentaria , 34, 2, 193-202.
- Gülçin, İ., Elmastaş, M. ve Aboul-Enein, H. Y., 2007. Determination of Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Basil (*Ocimum basilicum*) Assayed by Different Methodologies, Phytotherapy Research, 21, 4, 354–361.
- Gülçin, İ., Şat, İ. G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2004b. Comparison of Antioxidant Activity of Clove Buds (*Eugenia caryophyllata* Thunb) and Lavender (*Lavandula stoechas* L.), Food Chemistry, 87, 393-400.
- Gülçin, İ., 2005. The Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Black Pepper (*Piper nigrum*) Seeds, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 56, 491-499.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2003. Screening of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Anise (*Pimpinella anisum* L.) Seed Extracts, Food Chemistry, 83, 371–382.
- Güner, S., 2007. Biyokimya-1, K.T.Ü. Basımevi, Trabzon.
- Güven, Ö., Erdoğan, T., Göker, H. ve Yıldız, S., 2007. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel Phenyl and Benzimidazole Substituted Benzyl Ethers, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 17, 2233–2236.
- Haigh, R., 1986. Safety and Necessity of Antioxidants: EEC Approach, Food and Chemical Toxicology, 24, 1031–1036.

- Halliwell, B. ve Gutteridge J. M. C., 1989. Free Radicals in Biology and Medicine, Clarendon Press, Oxford.
- Halliwell, B., Clement, M. V. ve Long, L. H., 2000. Hydrogen Peroxide in The Human Body, FEBS Letters, 486, 10–13.
- Hertog, M. G. L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B. S., Toshima, H., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H. ve Katan, M. B., 1995. Flavonoid Intake and Long-term Risk of Coronary Heart Disease and Cancer in The Seven Countries Study, Archives of Internal Medicine, 155, 381-386.
- Hirohama, T., Kuranuki, Y., Ebina, E., Sugizaki, T., Arai, H., Chikira, M., Selvi, T. P. ve Palaniandavar, M. 2005. Copper (II) Complexes of 1,10-phenanthroline-derived Ligands: Studies on DNA Binding Properties and Nuclease Activity, Journal of Inorganic Biochemistry, 99, 1205-1219.
- Hu, H., Zhang, Z., Lei, Z., Yang, Y. ve Sugiura, N., 2009. Comparative Study of Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect of Hot Water and Ethanol Extracts from The Mushroom *Inonotus obliquus*, Journal of Bioscience and Bioengineering, 107, 1, 42–48.
- Hung, C. ve Yen, G., 2002. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona procumbens* Hemsl., J. Agric. Food Chem., 50, 2993-2997.
- Karaböcek, N., Armutçu A. ve Karaböcek S., 2006. Synthesis and Structural Studies of (2E,3E)-3-[(6-{{[(1E,2E)-2-(hydroxyimino)-1-methylpropylidene]amino} pyridin - 2- yl) imino] butan-2-one oxime, Ligand and Its Mono-, Di- and Trinuclear Copper (II) Complexes, Transition Metal Chemistry, 31, 938–942.
- Kaval, N., 2000. Çeşitli Metal-Kompleksleri ile Süperoksit Dismutaz Etkinliği Az Olan Mutantlarının Baskılanması (Supresyon), Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Keller, C., Maillard, M., Keller J. ve Hostettmann, K., 2002. Screening of European Fungi Antibacterial, Antifungal, Larvacidal, Molluscicidal, Antioxidant and Free-radical Scavenging Activities and Subsequent Isolation of Bioactive Compounds, Pharmaceutical Biology, 40, 7, 518-525.
- Kırbağ, S. ve Zengin, F., 2006. Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri, Tarım Bilimleri Dergisi, 16, 2, 77-88.
- Köksal, E., 2007. Karnabahar (*Brassica oleracea* L.) Peroksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu, Antioksidan ve Antiradikal Aktivitesinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kumar, R. S. ve Arunachalam, S., 2009. DNA Binding and Antimicrobial Studies of polymer-copper (II) Complexes Containig 1,10-phenantroline and L-phenylalanine Ligands, European Journal of Medicinal Chemistry, 44, 1878-1883.

- Kumar, R. S., Arunachalam, S., Periasamy, S. V., Preethy, C. P., Riyasdeen, Anvarbatcha ve Akbarsha, M. A., 2008. DNA Binding and Biological Studies of Some Novel Water-soluble polymer–copper(II)–phenanthroline Complexes, European Journal of Medicinal Chemistry, 43, 2082-2091.
- Kurtoğlu, M., Purtaş, F. ve Toroğlu, S., 2008. A New *Vic*-dioxime Ligand Containing Two Azo Substituents and Its Mononuclear Nicel (II), Cobalt (II), and Copper (II) Complexes; Synthesis, Characterization, Spectroscopic and Biological Studies, Transition Met. Chem., 33, 705–710.
- Lambeth, J. D., 2004. Nox Enzymes and The Biology of Reactive Oxygen, Nature Reviews Immunology, 4, 3, 181–189.
- Larson, R. A., 1988. The Antioxidants of Higher Plants, Phytochemistry, 27, 969–978.
- Lee Y., Jian S., Lian P. ve Mau J., 2008. Antioxidant Properties of Extracts from A White Mutant of The Mushroom *Hypsizigus marmoreus*, Journal of Food Composition and Analysis, 21, 116-124.
- Lee, Y., 2008, Antioxidant Properties of Extract from A White Mutant of The Mushroom *Hypsizigus marmoreus*, Journal of Food Composition and Analysis, 21, 116–124.
- Lippard, S. J. ve Berg, J. M., 1994. Principles of Bioinorganic Chemistry, University Science Books, USA.
- Liu, Z. X., Robinson, G. B. ve Gregory, E. M., 1994. Preparation and Characterization of Mn-salophen Complex Superoxide Scavenging Activity, Arch. Biochem. Biophys., 315, 74-81.
- Lu, X., Wang, L., Liu, H., Wang, R. ve Chen, J., 2007. Studies on The Interaction Between Antibiotics and DNA, Talanta, 73, 444-450.
- Luo, S., Li, Y., Qiang, W., Abe, H., Nemoto, T., Qin, X. R. ve Nakanishi, H., 2004. Detection of Specific Noncovalent Interaction of Peptide with DNA by Malditof, American Society for Mass Spectrometry, 15, 28-31.
- Maniatis, T., Fritsch, E. F. ve Sambrook, J., 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
- Martinez, R.ve Garcia, L. C., 2005. The Search of DNA-Intercalators as Antitumoral Drugs: What It Worked and What Did Not Work, Current Medicinal Chemistry, 12, 127-151.
- Mau., J., Lin, H. ve Song, S., 2002. Antioxidant Properties of Several Specialty Mushrooms, Food Research International, 35, 519–526.
- Mavi, A., 2005. İnsan Eritrosit ve Lökositlerinden Süperoksit Dismutaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı İlaçların Enzim Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Meal, J. F., 1976. In Free Radical in Biology; Pryor, W.A., Ed; Academic, New York.
- Moldovan, L., ve Moldovan, N. I., 2004. Oxygen Free Radicals And Redox Biology of Organelles, Histochemistry and Cell Biology, 122, 395-412.
- Mc Cord, J. M. ve Fridovich, I., 1969. Superoxide Dismutase; An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocytin), J. Biol. Chem., 244, 6049-6055.
- Mc Cord, J. M. ve Fridovich, I., 1968. The Reduction of Cytochrome C by Milk Xanthine Oxidase, J. Biol. Chem., 244, 5760-5763.
- NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standard, 1993. Document M7- A3, 13, 25, Willanova, PA.
- NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002. Reference Method For Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard NCCLS Document M27-A2. Wayne, PA.
- Neves, A., Terenzi, H., Horner, R., Horn J. A., Szpoganicz, B. ve Sugai, J., 2001. Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by A Dinuclear Iron (III) Complex, Inorganic Chemistry Communications, 4, 388-391.
- Nishina, A., Kubota, K., Kameoka, H. ve Osawa, T., 1991. Antioxidizing Component, Musizin in *Rumex japonicus* Houtt, Journal of the American Oil Chemists Society, 68, 735-739.
- Nishino, T. ve Morikawa, K., 2002. Structure and Function of Nucleases in DNA Repair: Shape, Grip and Blade of The DNA Scissors, Oncogene, 21, 9022-903.
- Nohl, H., Gille, L., Kozlov, A. ve Staniek, K., 2003. Are Mitochondria A Spontaneous and Permanent Source of Reactive Oxygen Species? Redox Report, 8, 135-141.
- Oktay, M., Gülçin, İ. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2002. Rezene (*Foeniculum vulgare*) Tohumlarının Antioksidan Kapasitesi, XVI. Ulusal Kimya Kongresi, Eylül, Konya, Bildiri Kitabı, 457.
- Osawa, T. ve Namiki, M. A. 1981. A Novel Type of Antioxidant Isolated from Leaf Wax of Eucalyptus Leaves, Agricultural and Biological Chemistry, 45, 735-739.
- Öztaş, A. N., Yenişehirli G., Ancın, N., Öztaş G. S., Özcan Y. ve İde S., 2009. Synthesis, Characterization, Biological Activities of Dimethyltin (IV) Complexes of Schiff Bases with ONO-type Donors, Spectrochimica Acta Part A, 72, 929-935.
- Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y. H., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H., Chen, S. L., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S. K. ve Levine, M., 2003. Vitamin C As An Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention, Journal of the American College of Nutrition, 22, 18-35.

- Perez, C., Pauli, M. ve Bazerque, P., 1990. An Antibiotic Assay by The Well Agar Method, Acta Biologia et Medicine Experimentalis, 115, 13-15.
- Pratt, D. E. ve Hudson, B. J. F., 1990. Natural Antioxidants Not Exploited Commercially in Food Antioxidants, Hudson B. J. F. Ed, Elsevier, Amsterdam.
- Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. ve Kawakishi, S., 1988. Chemical Studies on Novel Rice Hull Antioxidants, Isolation, Fractionation, and Partial Characterization, Journal Agricultural Food Chemistry, 36, 732-737.
- Ruiz-Lopez, M. D., Artacho, R., Pinena, F. M. A., Lopez, G., Serrana, H. ve Lopez, M. C., 1995. Stability of α -tocopherol in Virgin Oil Durin Microwave Heating, Lebensm WissTechnol, 28, 644-646.
- Selim, M., Chowdhury, S. R. ve Mukherjea, K. K., 2007. DNA Binding and Nuclease Activity of One-dimensional Heterometallic Nitrosyl Complex, International Journal of Biological Macromolecules, 41, 579- 583.
- Shahabadi, N., Kashanian, S. ve Purfoulad, M., 2009. DNA Interaction Studies of A Platinum (II) Complex, PtCl₂(NN) (NN = 4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline), Using Different Instrumental Methods, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 4, 757-761.
- Sheena, N., Ajith, T. A., Mathew, A. T. ve Janardhanan, K. K., 2003. Antibacterial Activity of Three Macrofungi, *Ganoderma lucidum*, *Navesporus floccosa* and *Phellinus rimosus* Occurring in South India, Pharmaceutical Biology, 41, 564-56.
- Soares, A. A., Souza, C. G. M., Daniel, F. M., Ferrari, G. P., Costa, S. M. G. ve Peralta, R. M., 2009. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Agaricus brasiliensis* *Agaricus Blazei* (Murril) in Two Stages of Maturity, Food Chemistry, 112, 775-781.
- Sohal, R. S., 2002. Role of Oxidative Stress and Protein Oxidation in The Aging Process, Free Radical Biology and Medicine, 33, 37-44.
- Stadtman, E. R., 2002. Importance of Individuality in Oxidative Stress and Aging, Free Radical Biology and Medicine, 33, 597-604.
- Suksrichavalit, T., Prachayasittikul, S., Nantasenamat, C., Isarankura-Na-Ayudhya, C. ve Prachayasittikul, V., 2009. Copper Complexes of Pyridine Derivatives with Superoxide Scavenging and Antimicrobial Activities, European Journal of Medicinal Chemistry, 44, 3259-3265.
- Szweda, P. A., Friguets, B. ve Szweda, L. I., 2002. Proteolysis, Free Radicals, and Aging, Free Radical Biology and Medicine, 33, 29-36.
- Tan, J., Wang, B. ve Zhu, L., 2009. DNA Binding, Cytotoxicity, Apoptotic Inducing Activity, and Molecular Modeling Study of Quercetin Zinc (II) Complex, Bioorganic and Medicinal Chemistry, 15, 614-620.

- Tarushi, A., Psomas G., Raptopoulou C. P. ve Kessissoglou D. P., 2009. Zinc Complexes of The Antibacterial Drug Oxolinic Acid: Structure and DNA–Binding Properties, Journal of Inorganic Biochemistry, 6, 898-905.
- Temizkan, G. ve Arda, N., 2004. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Nobel Tıp Kitapevleri, Genişletilmiş 2. Baskı, İstanbul.
- Türkoğlu, A., Duru M. E., Mercan N., Kıvrak İ. ve Gezer K., 2007. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, Food Chemistry, 101, 267–273.
- URL-1 <http://www.klimik.org.tr/pdfs/14.2/14.2.03.pdf>, 20 Mart 2009.
- URL-2 http://web.firat.edu.tr/ffmu/19-4/1_Demirhan.pdf, 01 Mayıs 2009.
- URL-3 <http://fmd.ksu.edu.tr/sayi/92/92.%2012-20.pdf>, 18 Şubat 2009.
- URL-4 <http://www.gidabilimi.com/forum?func=view&id=879&catid=43>, 15 Mart 2009.
- URL-5 <http://www.biolib.cz>, 23 Ocak 2009.
- URL-6 <http://www.indexfungorum.org>, 11 Nisan 2009.
- Van Esch, G. J., 1986. Toxicology of Tert-butyl-hydroquinone (TBHQ), Food and Chemical Toxicology, 24, 1063–1066.
- Wang, J., Yang, Z., Yi, X. ve Wang, B., 2009. DNA Binding Properties Studies and Spectra of A Novel Fluorescent Zn (II) Complex with A New Chromone Derivative, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 201, 183-190.
- Williams, G. M. ve Iatropoulos, M. J. 1997. Anticarcinogenic Effects of Synthetic Phenolic Antioxidants in Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals, USA.
- Wiseman, H. ve Halliwell, B., 1996. Damage to DNA by Reactive Oxygen and Nitrogen Species Role in Inflammatory Disease and Progression to Cancer, Biochem. J., 313, 17-29.
- Yen, G. C., Duh, P. D. ve Tsai, C. L., 1993. Relationship Between Antioxidant Activity and Maturity of Peanut Hull, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41, 67–70.
- Yoshimasu, M., Honda M., Mikawa, T., Shibata, T. ve İto Y., 2002. NMR Approaches to Investigate Protein-Protein and Protein-Nucleic Acid Complexes, Riken Review, 46, 32-35.
- Yu, L., Halley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. ve Qian, M., 2002. Free Radical Scavenging Properties of Wheat Extracts, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 1619–1624.

Zeiger, T., 2002. Plant Physiology, Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.

Zhou, C., Zhao, J., Wu, Y., Yin, C. ve Yang, P., 2007. Synthesis, Characterization and Studies on DNA-binding of A New Cu (II) Complex With N¹,N⁸-bis(1-methyl-4-nitropyrrole-2-carbonyl)triethylenetetramine, Journal of Inorganic Biochemistry, 101, 10-18.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 2000 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nde Lisans öğrenimine başladı ve 2003 yılında KTÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim dalında lisans programına yatay geçiş yaptı. 2005 yılında bu programdan Kimya Bölüm İkincilik derecesi ile mezun oldu. 2007 yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. Ocak 2001 ile Haziran 2008 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı'nın farklı birimlerinde hemşire olarak görev yaptı. Temmuz 2008 tarihinden itibaren Sağlık Bakanlığı Merkez Teşkilatı'nda kimyager olarak görev yapmaktadır. Ülkü TERZİ iyi derecede İngilizce bilmektedir.