



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI SENTETİK KİMYASAL MADDELERİN
VE DOĞAL EKSTRAKTLARIN
ANTİMİKROBİYAL VE ANTİ-QUORUM
SENSİNG AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Sanaz HAMIDI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

TRABZON-2015



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI SENTETİK KİMYASAL MADDELERİN
VE DOĞAL EKSTRAKTLARIN
ANTİMİKROBİYAL VE ANTİ-QUORUM
SENSİNG AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Sanaz HAMIDI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

TRABZON-2015

ONAY

Bu Tez Yüksek Lisans Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Prof. Dr. Faruk AYDIN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

.....

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Sanaz HAMIDI'nı hazırladığı "Bazı Sentetik Kimyasal Maddelerin ve Doğal Ekstraktların Antimikrobiyal ve Anti-Quorum Sensing Aktivitelerinin Araştırılması" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak Kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

.....

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

.....

Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ

.....

Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK

.....

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun.../.../.... tarih ve

Sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

28/08/2015

Sanaz HAMIDI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarımın her aşamasında bana yardımını, desteğini ve anlayışını esirgemeyen çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Ali O. KILIÇ'a, eğitimim süresince bilgi ve önerileriyle bana yol gösteren Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Faruk AYDIN'a bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım çok değerli hocalarım Prof. Dr. İlknur TOSUN, Prof. Dr. Neşe KAKLIKKAYA, Doç. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU ve Doç. Dr. Kurtuluş BURUK'a teşekkür ederim.

12922 numaralı projeyi destekleyerek bu tezin yapılmasına katkı sağlayan Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç Dr. Seyhan ULUSOY'a çalışmada sağladığı bakteri suşları için teşekkür ederim. Destekleri ve samimiyetlerini esirgemeyen Anabilim dalımızdaki arkadaşlarıma teşekkür ederim. Tez yazımında bana yardımcı olan ve destekleyen arkadaşım Sana Tabbouche'e teşekkür ederim.

Hayatımın anlamı olan ve her zaman arkamda duran sevgili anneme ve babama, sevgileri ile yanımda olan ablama ve kardeşlerime teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Yüksek Lisans Öğrencisi

Sanaz HAMIDI

İTHAF

Bu tezi sevgili anne ve babama ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İç Kapak Sayfası	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İTHAF	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xiii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	3
3. GİRİŞ ve AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Antibiyotikler	7
4.1.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması ve Etki Mekanizmaları	8
4.1.2. Antibiyotiklere Karşı Direnç	8
4.2. Quorum Sensing	9
4.2.1. QS Sinyal Molekülleri	11
4.2.2. QS Sinyal Mekanizmaları	12
4.2.2.1. <i>LuxI-LuxR</i> Sistemi	13
4.2.2.2. Oligopeptid Sistemi	13
4.2.2.3. Hibrit Sistemi	14
4.2.3. Bakterilerin Kontrolünde QS İnhibisyonu	15
4.2.3.1. Sinyal Molekül Üretiminin Önlenmesi	15
4.2.3.2. QS Moleküllerinin Yıkımı	16
4.2.3.3. Sinyal Moleküllerinin Alımının Önlenmesi	16
4.2.4. QSI Çalışmalarında Kullanılan İndikatör Bakteriler	16
4.2.4.1. <i>Chromobacterium violaceum</i>	16
4.3. Antimikrobiyel Türevler	17

4.3.1. β -laktamlar	17
4.3.1.1. Penisilin Türevleri	18
4.3.1.2. Sefalosporin Türevleri	19
4.3.2. Piperazin Türevleri	19
4.3.3. Kinolonlar	19
4.3.4. Morfolin Türevleri	20
5.GEREÇ ve YÖNTEM	21
5.1. Gereç	21
5.1.1. Kullanılan Cihazlar	21
5.1.2. Kullanılan Malzemeler	21
5.1.3. Kullanılan Bakteri ve Maya Suşları	21
5.1.4. Besiyerleri	22
5.1.5. Çözeltiler	22
5.2. Yöntem	28
5.2.1. Besiyerlerin Hazırlanması	28
5.2.1.1. Katı ve Sıvı Besiyerlerinin Hazırlanması	28
5.2.2. Bakteri Suşlarının Üretilmesi ve Stoklanması	28
5.2.3. Çözeltilerin Hazırlanması	28
5.2.3.1. Kimyasal Stokların Hazırlanması	28
5.2.3.2. Doğal Ekstraktların Hazırlanması	28
5.2.3.3. Sinyal Molekülleri Çözeltilerinin Hazırlanması	29
5.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Testleri	29
5.2.5. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Testi	29
5.2.6. Quorum Sensing İnhibisyon Testi	30
5.2.6.1. Agar Kuyucuk Yöntemi	30
5.2.6.2. Spektrofotometrik Yöntem	31
6. BULGULAR	32
6.1. Antimikrobiyal Aktivite Test Bulguları	32
6.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Test Bulguları	33
6.3. Quorum Sensing İnhibisyon Test Bulguları	35
6.3.1. Agar Kuyucuk Test Sonuçları	35

6.3.2. Spektrofotometrik Test Sonuçları	36
7. SONUÇLAR	48
8. TARTIŞMA	49
9. KAYNAKLAR	53
10. ÖZGEÇMİŞ	62

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Sentetik kimyasal maddelerin listesi	22
Tablo 2. Doğal madde ekstraktları	27
Tablo 3. Test mikroorganizmalarının agar-kuyucuk difüzyon testi ile inhibisyon zon çapları	32
Tablo 4. Test mikroorganizmaların MİK test sonuçları	34
Tablo 5. <i>C.violaceum</i> suşlarının QS test sonuçları	35
Tablo 6. <i>C.violaceum</i> ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B28 maddesinin etkisi	36
Tablo 7. <i>C.violaceum</i> ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B29 maddesinin etkisi	37
Tablo 8. <i>C.violaceum</i> ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ Z50 maddesinin etkisi	38
Tablo 9. <i>C.violaceum</i> ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ Z51 maddesinin etkisi	39
Tablo 10. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B28 maddesinin etkisi	40
Tablo 11. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B29 maddesinin etkisi	41
Tablo 12. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ Z50 maddesinin etkisi	42
Tablo 13. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ Z51 maddesinin etkisi	43
Tablo 14. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B48 maddesinin etkisi	44
Tablo 15. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ² M1 maddesinin etkisi	45
Tablo 16. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ² M2 maddesinin etkisi	46

Tablo 17. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine M3 maddesinin etkisi	47
---	----

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Quorum-sensing	10
Şekil 2. Oto indükleyici moleküller	12
Şekil 3. Gram negatif bakterilerde <i>LuxI-LuxR</i> sistemi	13
Şekil 4. Gram pozitif bakterilerdeki quorum sensing mekanizması	14
Şekil 5. <i>Vibrio harveyi</i> 'nin hibrit quorum sensing sistemi	15
Şekil 6. Penisilin türevlerinde ortak olan halka sistemleri	19
Şekil 7. Florokinolonların moleküler modifikasyonları	21
Şekil 8. Agar-kuyucuk difüzyon testi	35
Şekil 9. <i>P. aeruginosa</i> MİK testi	37
Şekil 10. Yumuşak agar yöntemi ile QS testi	38
Şekil 11. <i>C.violaceum</i> ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B28 maddesinin etkisi	39
Şekil 12. <i>C.violaceum</i> ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B29 maddesinin etkisi	39
Şekil 13. <i>C.violaceum</i> ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ Z50 maddesinin etkisi	40
Şekil 14. <i>C.violaceum</i> ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ Z51 maddesinin etkisi	41
Şekil 15. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B28 maddesinin etkisi	42
Şekil 16. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B29 maddesinin etkisi	43
Şekil 17. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ Z50 maddesinin etkisi	44
Şekil 18. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ Z51 maddesinin etkisi	45
Şekil 19. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹ B48 maddesinin etkisi	46

Şekil 21. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ² M2 maddesinin etkisi	48
Şekil 22. <i>C.violaceum</i> ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ² M3 maddesinin etkisi	49

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ**Kısaltmalar**

ATCC	American Type Culture Collection
MİK	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
MHA	Mueller Hinton Agar
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
nm	Nanometre
AHL	Açıl Homoserin Lakton
HHL	N-hekzanoyil-L-homoserin lakton
OdDHL	N-(3-okzododekanoyil)-L-homoserin lakton
QS	Quorum Sensing
LB	Luria Bertani
OD	Optik Dansite
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
ÜSİ	Üriner sistem infeksiyonları

1. ÖZET

Bazı Sentetik Kimyasal Maddelerin ve Doğal Ekstraktların Antimikrobiyal ve Anti-Quorum Sensing Aktivitelerinin Araştırılması

Antibiyotiklerin insan sağlığında çok önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi yanında, alternatif olarak bakterilerin üreme, adherans, biyofilm, spor oluşturma ve virulans faktörlerini sentezleme gibi birçok faaliyetini düzenleyen quorum sensing (QS: çevreyi ve çoğunluğu algılama) sinyal sistemlerinin çeşitli moleküller ile bloke edilerek patojen bakterilerin kontrol altına alınmasını hedefleyen çalışmalar da son yıllarda önem kazanmıştır. Literatürde, birçok doğal ve sentetik kimyasal maddenin bakteriler arasındaki QS mekanizmasını bloke ettiği bildirilmiştir.

Bu çalışmada, Norfloksasin, Siprofloksasin, Piperazin, Penisillanik asit, Sefalosporinik asit, Morfolin, Triazol, Nitro Benzoil klorür, Tiyomorfolin, İmidazol, Piridin, Nitropiridin, Sinnamaldehit ve Dihidropiridin türevi 176 sentetik madde ile yeşil çay, vanilya, üzüm çekirdeği ekstraktı ve propolis gibi 7 doğal ekstraktların antimikrobiyal ve anti-quorum sensing aktiviteleri araştırıldı.

Test materyallerinin antimikrobiyal aktiviteleri agar-well difüzyon ve minimal inhibisyon konsantrasyonları mikrodilüsyon broth yöntemleri kullanılarak *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella Typhimurium*, *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis* türleri ile, anti-quorum sensing aktiviteleri ise agar-well difüzyon yöntemi ve spektrofotometrik olarak *Chromobacterium violaceum* indikatör suşları kullanılarak gerçekleştirildi.

Test edilen sentetik maddelerden üç tiyomorfolinve iki siprofloksasin türevinin test edilen bütün bakterilere 0.09-3.12 µg/ml ve 0.04-3.12 µg/ml konsantrasyonlarda etkili olduğu saptandı. İki piperazin ile sekiz norfloksasin türevinin test edilen bakterilerin çoğunluğuna 0.02-3.12 µg/ml ve 0.09-6.25 µg/ml konsantrasyonlarda ve bir sefalosporinik asit türevinin ise sadece *Proteus mirabilis*'e 3.12 µg/ml konsantrasyonda inhibitör etki gösterdiği saptandı. Test edilen sentetik ve doğal ekstraktların hiçbirinin *Candida* türlerine etkisi gözlenmedi.

Anti-quorum sensing aktivite yönünden test edilen sentetik ve doğal maddelerden üç cumin, iki Sefalosporinikasit, iki Tiyomorfolin ve bir Penisillanik asit türevinde etki saptandı.

Bu çalışmada kullanılan sentetik ve doğal maddelerden 16'sının antimikrobiyal ve 8'inin anti QS aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar, aktivite gözlenen maddelerin yeni antibakteriyel ve anti QS türevlerin geliştirilmesinde potansiyel moleküller olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Antimikrobiyal aktivite, anti-quorum-sensing aktivite, quorum sensing inhibitörleri, sentetik kimyasal türevler

2. SUMMARY

Investigation of Antimicrobial and Anti-quorum Sensing Activities of Some Synthetic Chemicals and Natural Extracts

Antibiotics play an important role for the human health. Therefore, discovery of new antibiotics and development of new therapeutic strategies to combat infectious diseases is of paramount importance. One of these approaches involves the inhibition of the quorum sensing system of bacteria, which is responsible for growth, adherence, biofilm and spore formation, and synthesis of virulence factors using various compounds. A number of natural and synthetic molecules that inhibited bacterial quorum sensing have been reported in the literature.

In this study, derivatives of some synthetic Norfloxacin, Ciprofloxacin, Piperazine, Penicillanic acid, Cephalosporinic acid, Morpholine, Triazole, Nitro-Benzoyl Chlorid, Thiomorpholine, Imidazole, Pyridine, Nitro-pyridin, Cinnamaldehyde, and Dihydropyridine, and some natural substances such as green tea, vanilla, grape seed extract, and propolis are tested for their antimicrobial and anti-quorum sensing activities.

Antimicrobial activity is determined using the agar-well diffusion method against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella Typhimurium*, *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis* and anti-qorum sensing activity is investigated using agar-well diffusion and spectrophotometric methods against the *Chromobacterium violaceum* indicator strains.

Among all the tested derivatives, three thiomorpholine, and two ciprofloxacin derivatives showed inhibitory activity against all bacteria tested with the concentrations ranging from 0.09-3.12 µg/ml, and 0.04-3.12 µg/ml, respectively. Two piperazine and eight norfloxacin derivatives showed inhibitory activity against most bacteria tested at concentrations ranging from 0.02-3.12 µg/ml and 0.09-6.25 µg/ml, respectively, and one cephalosporinic acid derivative showed inhibitory activity against only *Proteus mirabilis* at 3.12 µg/ml concentration. None of these derivatives exhibited anti-yeast activity.

Three semi-synthetic cumin, two cephallosporinic acid, two thiomorpholine, and one penicillanic acid derivative showed anti-quorum sensing activity.

Among the synthetic and natural molecules that have been used in this study, 16 and 8 were found to have antimicrobial and anti-QS activity, respectively. These results showed that the activity observed agents might have the potential to be used in the development of new antibacterial and anti-QS molecules.

Key words: Anti-quorum-sensing activity, antimicrobial activity, quorum sensing inhibitors, semi-synthetic chemical derivatives

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Bakteriler bulundukları çevreye kolay uyum sağlama yeteneğinde olan mikroorganizmalardır. Antibiyotiklerin tedavi amaçlı kullanıma girdiği 1940'lı yıllardan günümüze kadar bakteriler pek çok antibiyotiğe dirençli hale gelmişlerdir (1). Bu direnç giderek mevcut antibakteriyel ilaçların etkinliğini sınırlamakla kalmamış aynı zamanda bakterilerde çoklu direncin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Son yıllarda patojenik bakterilerin %70'inden fazlasında mevcut antibakteriyellerin en az birine karşı direnç geliştiği belirtilmiştir (2).

Ciddi enfeksiyonlara neden olan bakterilerin antibiyotiklere karşı gösterdikleri direnç 21. yüzyılda büyük bir küresel sağlık sorunu haline gelmiştir (3). Günümüzdeki antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli bakteri izolatları hızlı bir şekilde artış göstermektedir. Bu nedenle, antibiyotiklere direnç gösteren bakterilere karşı daha etkili yeni ajanların geliştirilmesine ve keşfedilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (4, 5).

Antibiyotiklerin aşırı ve kontrolsüz kullanımları sonucu bakterilerde direnç gelişimini indükledikleri ve direnç genlerinin bakteriler arasında yayılmasına yol açtıkları bilinmektedir. Aşırı ve yanlış antibiyotik kullanımı sonucunda bakteriler arasında antibiyotik direncinin hızla artmasıyla pek çok patojen bakteri çoklu antibiyotik dirençli hale gelmiştir ve bu nedenle pek çok antibiyotik kullanım dışı kalmıştır. Bu nedenle, antibiyotiklerin uygulanacakları konak ve hedef mikroorganizma dikkate alınarak seçilmesive enfeksiyon seyrine göre kullanılmaları gerektiği vurgulanmaktadır (5). Özellikle gram negatif bakterilere karşı kullanılabilecek etkili yeni antibiyotiklerin sayısı oldukça azdır. Bu nedenle, enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi ve alternatif tedavi stratejilerinin ortaya koyulması büyük önem arz etmektedir (6).

Son yıllarda bakterilerin birbirleri ve çevreleri ile olan iletişimlerinin keşfedilmesi ile bu mikroorganizmalara karşı mücadelede yeni yaklaşım yöntemleri de gündeme gelmiştir. Bu iletişim bakterilerin bulundukları çevre veya besiyeri ortamında salgıladıkları sinyal molekülleri ile gerçekleşmektedir. Bakterilerin bu sinyal moleküllerinin diğer mikroorganizmalar tarafından algılanması olayına çoğunluğu algılama veya quorum sensing (QS) adı verilmektedir (7). Bu sistem hücre yoğunluğuna bağlı olarak sinyal molekülleri ile çalışmakta olup bakterilerde sporulasyon, biyofilm

oluşumu ve virölans faktörlerini sentezleme gibi pek çok metabolik faaliyetlerin gerçekleşmesinde rol oynamaktadır. Bakterilerin neden olduğu enfeksiyon hastalıklarıyla mücadele etmek amacı ile yapılan yeni çalışmalarda antibiyotiklere alternatif olarak mikroorganizmalar arasındaki bu iletişim sisteminin engellenmesinin hedeflendiği görülmektedir (8).

Bu çalışmada, çeşitli sentetik kimyasal madde türevleri ile ilaç olarak kullanılan madde türevleri ve yeşil çay, vanilya, propolis, üzüm çekirdeği, zeytin yaprağı yağı ekstraktı gibi doğal ekstraktların bazı patojen bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin, *Chromobacterium violaceum* indikatör suşlarına karşı anti-quorum sensing aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

4.GENEL BİLGİLER

4.1. Antibiyotikler

Antibiyotikler mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ve profilaksisinde kullanılan sentetik veya doğal ilaçlardır. Bu ilaçlar bazı bakteri ve mantarlar tarafından üretilen, hedef bakterilerin çoğalmasını önleyen (bakteriyostatik) ya da öldüren (bakterisid) maddelerdir (9).

Alexander Fleming 1928 yılında stafilokok varyantları üzerine yaptığı çalışmalar esnasında tesadüfen kültür ortamında üreyen bir küf mantarının çevresinde stafilokokların üremediklerini görmüş ve bu mantarın kültür filtratının birçok bakteriye karşı deneysel olarak etki gösterdiğini saptamıştır. Fleming bu maddeye *Penicillium* türü bir mantar tarafından sentezlendiği için penicillin adını vermiştir (10). Bu antibiyotik daha sonra saflaştırılarak 1940'li yılların başından itibaren pek çok enfeksiyonun tedavisinde kullanılmaya başlanarak tıp alanında yeni bir sayfa açılmasını sağlamıştır.

Aynı yıllarda Gerhard Domagk, sülfonamidleri keşfetmiş ve prontosil adlı antibiyotiği geliştirerek bu buluşu ile 1939 yılında Nobel ödülünü almıştır. Sülfonamidler çağı hızlı bir şekilde gelişmiş ve 10 yıl süresince 5400 değişik sülfonamid türevi sentezlenmiş ve büyük bir kısmı klinikte denenmiştir. Sülfonamidler antibakteriyel kemoterapinin en etkili ilacı olarak, penisilinin klinikte ilk denendiği 1942 yılına kadar yaygın şekilde kullanılmıştır (10).

Selman Abraham Waksman ve arkadaşları 1939-1943 yılları arasında *Actinomyces* sp. türleri üzerine yaptıkları çalışmalarda *Streptomyces griseus* kültüründen streptomisin maddesini izole etmişlerdir. Streptomisin 1944 yılında tedavi amaçlı birçok gram pozitif ve gram negatif bakteri ile birlikte *Mycobacterium*'lara karşı da etkili bir antibiyotik olarak kullanılmıştır (11).

İkinci dünya savaşının sonlarında penisilin ve streptomisine ilave olarak kloramfenikol ve klortetrasiklin keşfedilmiştir ve günümüze kadar pek çok yeni antimikrobiyal madde tıp dünyasına kazandırılmıştır (11). Ancak antibiyotik kullanımının giderek artması ve kontrolsüz kullanımı bakterilerde direnç gelişimine neden olmuş ve bu da antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen enfeksiyon hastalıklarının

artışı ile sonuçlanmıştır. Ayrıca bu moleküllerin kullanımıyla birlikte direnç gelişimi de ortaya çıkmış ve dolayısıyla yeni moleküllere ihtiyaç duyulmuştur. Araştırmaların devam etmesine rağmen son 30 yıldır yeni antibiyotik grubu bulunmamıştır (12). Günümüzde var olan antimikrobiyel moleküllerden yeni sentetik türevler sentezlenmekte ve bu çalışmalar devam etmektedir (13).

4.1.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması ve Etki Mekanizmaları

Antimikrobiyaller etki mekanizmalarına göre genel olarak beş sınıf altında toplanırlar (14). Bunlar;

1. Hücre duvar sentezi inhibitörleri

- a. Beta-laktamlar (penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları)
- b. Glikopeptidler (vankomisin, teikoplanin)
- c. Diğerleri (fosfomisin, sikloserin, basitrasin, ristosetin, ramoplanin, mersasidin, moenomisin)

2. Protein sentezi inhibitörleri

- a. Ribozomal 50S alt üniteye bağlanarak etki gösterenler (makrolidler, ketolidler, linkozamidler, streptograminler, kloramfenikol, oksazolidinonlar)
- b. Ribozomal 30S alt üniteye bağlanarak etki gösterenler (aminoglikozidler, tetrasiklinler, glisilsiklinler)
- c. Diğerleri (mupirosin, nitrofurantoin)

3. Nükleik asit sentez inhibitörleri (kinolonlar, metronidazol)

4. Antimetabolitler (trimetoprim-sülfametoksazol, para amino salisilik asit)

5. Sitoplazmik membran bütünlüğünü bozanlar

- a. Peptid antibiyotikler [polipeptid antibiyotikler (basitrasin, gramisidinS, polimiksinler), lineer katyonik peptidler (defensinler, maganinler), ribozomal peptidler (lantibiyotikler), diğerleri (pirokorisin, drosodoin, apiadesin)]
- b. Siklik lipopeptidler (daptomisin)

4.1.2. Antibiyotiklere Karşı Direnç

Antibiyotiklerin klinik kullanımlarına başladıktan kısa bir süre sonra bakterilerde direnç ortaya çıkmaya başlamış ve kullanıma geçen her yeni antibiyotiğin

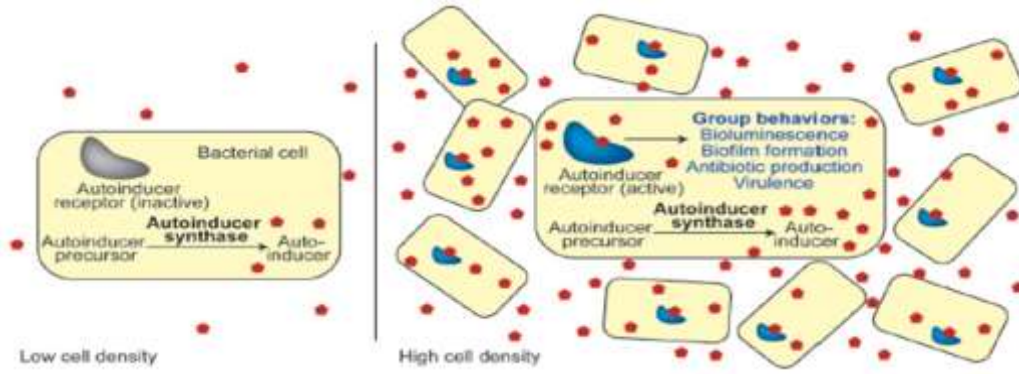
yanı sıra direnç oluşumu da gelişmiştir. Antibiyotiklerin aşırı ve bilinçsiz kullanılması dirençli bakterilerin hızla yaygınlaşmasına neden olan en önemli faktörlerden biridir (15).

Dünyada ve ülkemizde antibiyotiklere karşı direnç çok ciddi düzeylere ulaşmıştır. Bunun yanında yeni antibiyotik keşfi de son yıllarda oldukça azalmıştır. Bu nedenle antibiyotik direncinin her geçen gün artışı etkili, yeni antimikrobiyal maddelere olan ihtiyacı artırmaktadır (12, 16).

4.2. Quorum Sensing

Bakteriler sosyal organizmalar olup hem kendi aralarında hem de bulundukları çevre ile iletişim yeteneğine sahiptirler (17). Bu iletişim bakterilerin ortama salgıladıkları sinyal molekülleri ile gerçekleşmektedir (18). Bu sinyal molekülleri tür içi ve/veya türler arasında farklılık göstermektedir (19).

Quorum sensing (QS) kavramı ilk kez 1970 yılında Gram negatif bir bakteri olan *Vibrio fischeri* (*V. fischeri*)’de tanımlandı (7). Bu olay bakteri popülasyon büyüklüğüne bağlı bir olay olduğu için çoğunluğu algılama olarak da bilinmektedir. *V. fischeri*’nin düşük hücre yoğunluğunda serbest halde yaşarken lusiferaz enzimi üretmediği için ışık vermediği tespit edilmiştir. Ancak mürekkep balığının fotoforuna yerleştikten sonra hücre yoğunluğunun belirli bir eşik değeri üzerine ulaşması sonucu *lux* genleri tarafından kodlanan lusiferaz enzimi üretiminin indüklendiği ve biyoluminesans ışık üretildiği gözlenmiştir. Ancak bakteri yoğunluğu düşünce enzim sentezinin baskılanması sonucu ışık üretiminin durduğu tespit edilmiştir (Şekil 1) (20, 21).



Şekil 1. Quorum-sensing. Her hücre otoindükleyici (kırmızı) üretimi için otoindükleyici sentez ve sinyal iletimi için otoindükleyici reseptör içerir. Düşük hücre yoğunluğunda (solda), otoindükleyici reseptör otoindükleyiciye bağlanmaz. Yüksek hücre yoğunluğunda (sağda), otoindükleyicinin eşik değer konsantrasyonu aşıldığında, otoindükleyici kendi reseptörüne bağlanarak, mavi renkte listelenen örnekler dahil, yoğunluğa-bağımlı fonksiyonların ekspresyonunu tetikler. Otoindükleyici reseptör sitoplazmik veya membran-bağımlı olabilir (22).

Eberhard ve ark. (23) tarafından ilk kez *V. fischeri*'nin ürettiği molekül 1981 yılında izole edilmiş ve acyl-homoserine lactone ve N-(3-oxohexanoil)-homoserine lactone olarak tanımlanmıştır (24).

Karbapenem antibiyotiği üretmeyen mutant bir suş olan *Erwinia carotovora* ile 1990'lı yılların başında yapılan çalışmalarda bu suşun aynı türe ait fakat farklı genleri mutant suşlarla birlikte üretildiğinde karbapenem üretebilen bakterilerin salgıladığı sinyal molekülleri sayesinde bu antibiyotiği sentezlediği tespit edilmiştir (25). Bu olayda QS sinyal moleküllerinin rol oynadığı gösterilmiştir.

Daha sonra yapılan çalışmalarda quorum sensing özelliğinin sadece deniz vibriyoları ile sınırlı olmadığı içlerinde insan patojenlerinin de bulunduğu 20'den fazla bakterinin farklı moleküller kullanarak bu özelliği taşıdığı tespit edilmiştir. Bunlardan bazıları *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Serratia marcescens*, *Aeromonas hydrophila*, *Brucella melitensis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus subtilis* ve *Enterococcus faecalis*'dir(8).

Sinyal molekülleri ile çalışan ve hücre yoğunluğuna bağlı olan bu sistem bakterilerin bulunduğu ortam koşullarına göre üreme, beslenme, spor oluşturma, antibiyotiklere direnç gelişime ve biyofilm oluşumu, kültürlerde biyokütlenin kontrolü, çeşitli virulans genlerinin ekspresyonu gibi birçok fenotipik ve metabolik değişiklikler quorum sensing molekülleri sayesinde gerçekleşmektedir (19).

Laurance Rahme tarafından yapılan bir çalışmada (26) *Pseudomonas aeruginosa*'daki *lasI* ve *rhII* genleri kontrol eden *gacA* geni mutasyonu ile bakteri süşunun patojenitesin de azalma tespit edilmiştir. Aynı şekilde, *Pseudomonas aeruginosa* üzerine yapılan farklı bir çalışmada bakteriler arasındaki iletişim sisteminin bozulması ile bakterilerin koordineli hareket edemeyerek virulanslarının azaldığı bildirilmiştir (27). Bakteriler arasındaki iletişim sisteminin bozulmasına veya engellenmesine Quorum Sensing İnhibisyonu (QSI) veya Quorum Quenching (QQ) adı verilmektedir (28).

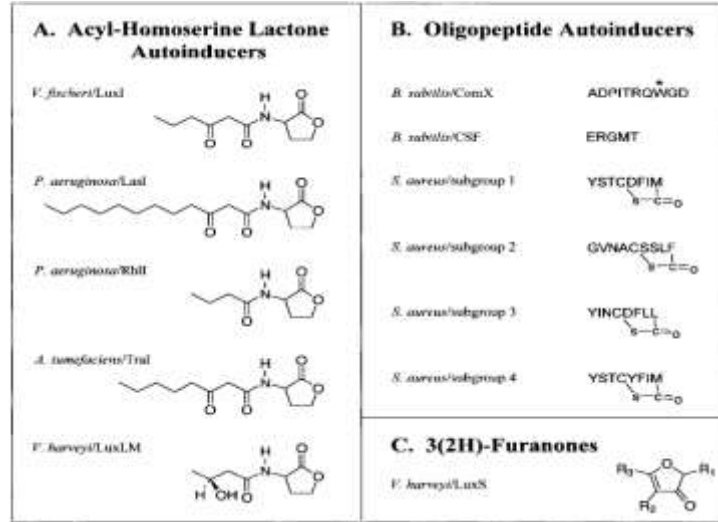
Kistikfibroz, implant ve yara enfeksiyonları gibi birçok biyofilm enfeksiyonunda, bakterilerin aderans, kolonizasyon, biyofilm oluşturma ve virulans faktörlerinin üretiminin QS sinyal molekülleri aracılığı ile kontrol edildiğinin bildirilmesinden sonra bu alanda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu araştırmaların önemli amaçlarından biri de QS sistemi aracılığı ile hücreler arası sinyal iletişimini bozarak mikroorganizmaların elimine edilmesi veya kontrol altında tutulmasıdır (29, 30).

4.2.1. Quorum Sensing Sinyal Molekülleri

QS moleküllerine, üretildikleri hücrenin metabolizması üzerinde düzenleyici etki göstermelerinden dolayı autoinducer (autoinducer) (AI) adı verilmektedir (31).

Quorum sensing sinyal molekülleri kimyasal yapı olarak çeşitlilik gösterir.Çoğu quorum sensing sinyal molekülü 1000 Dalton'dan küçük organik yapıda olabilecekleri gibi 5-20 aminoasit'lik peptid yapıdadır (32, 33). Bu moleküller başlıca 3 tip sinyal molekülünden oluşmaktadır; (a) Autoinducer (AI), (b) N-Acyl Homoserine Lactones (AHL) ve (c) Autoinducer-2 (AI-2)'dir (18). Bu sinyal molekülleri türler arasında değişiklik göstermektedir.AHL sinyal molekülleri gram negatif bakteriler tarafından kullanılırken, oligopeptid yapıdaki autoinducer (AI) sinyal molekülleri gram pozitif bakteriler tarafından kullanılmaktadır. Autoinducer-2 (AI-2) sinyal molekülleri ise hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler tarafından kullanılmaktadır (Şekil 2) (21).

Bakteriler bu şekilde kendilerine özgü genlerinin aktivasyonu sonucu popülasyonlarını dengeleme, rakip mikroorganizmalara karşı savunma, beslenme, çevresel şartlara direnç gibi birçok özelliklerini kullanmaktadırlar.



Şekil 2. Oto indükleyici moleküller (21).

4.2.2. QS Sinyal Mekanizmaları

QS sinyal moleküllerinin algılanması iki şekildedir. Birincisi hedef hücrede basit difüzyonla ve ikincisi sinyal molekülünün hücre içine alınmadan hücre zarındaki reseptörlerle etkileşimi sonucu olmaktadır (23).

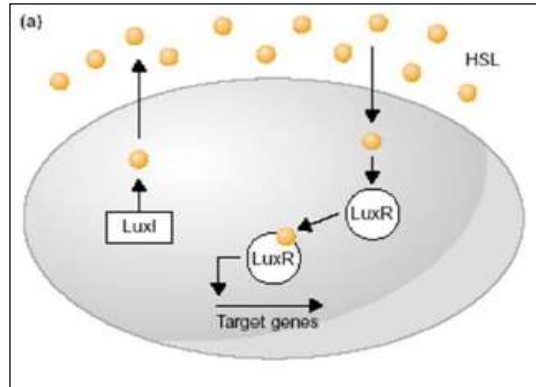
Bakterilerde serbest difüzyonla dağılan bu küçük moleküller bakterinin kendisi ve çevrede bulunan diğer bakterilerin reseptörleri tarafından algılanmaktadır. Bu reseptörler ya kendileri DNA'ya bağlanarak regülatör olur ya da başka regülatörleri aktif hale getirirler. Böylece QS kontrolündeki genler aktive edilir ya da kapatılır, bunun sonucu olarak bakteri topluluğunun koordineli hareket etmesi sağlanır ve böylelikle bakteriler arasında toplumsal bir yaşam düzenlenmiş olur (34).

Quorum sensing de sinyal moleküllerinin bakteriler tarafından algılanma mekanizması üç şekilde sınıflandırılmaktadır; (a) LuxI/LuxR sistemi, (b) Oligopeptid sistemi ve (c) Hibrit sistem.

LuxI/LuxR sistemi gram negatif bakteriler, oligopeptid sistemi gram pozitif bakteriler, hibrit sistem ise hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler tarafından kullanılmaktadır (18, 35).

4.2.2.1. *LuxI-LuxR* Sistemi

Gram negatif bakterilerin kullandığı quorum sensing mekanizmasıdır. En iyi bilinen ve anlaşılan quorum sensing mekanizmasıdır. Bu sistemde gram negatif bakteriler için temel sinyal molekülü olan N-acyl homoserine lactone (AHL)'lar kullanılır. Bunun yanında, *luxI* ve *luxR* genleri tarafından sentezlenen LuxR ve LuxI gibi proteinler görev yapar. Bu sistem AHL sinyal moleküllerinin sentezlenmesinin yanı sıra geri alınmasında dayanmaktadır. Bu sistem iki aşamalı bir sistemdir. İlk aşamada LuxI proteini AHL sinyal molekülünün sentezlenmesinden, ikinci aşamada ise LuxR proteini AHL sinyal moleküllerine bağlanarak bu moleküllerin alınmasından sorumlu olmaktadır. LuxI proteininin sentezlediği AHL sinyal molekülleri difüzyonla ortama yayılır. Popülasyon yoğunluğunun artması ile çevrede biriken AHL sinyal molekülleri difüzyonla hücre içine alınarak LuxR proteinine bağlanır. Bu sinyal molekülü LuxR transkripsiyon aktivatöre bağlanır ve bu molekül kompleksi hedef genin transkripsiyonunu aktive ederek bir yandan ışık üreten genleri aktive ederken diğer yandan daha fazla AHL sinyal molekülü oluşması için LuxI proteininin üretilmesini sağlayan genleri aktive eder. Bu sistem normalde bir popülasyonda bakteriler arasında yapılırken Şekil 3’de bir bakteri üzerinde açıklanmaktadır (36, 37).

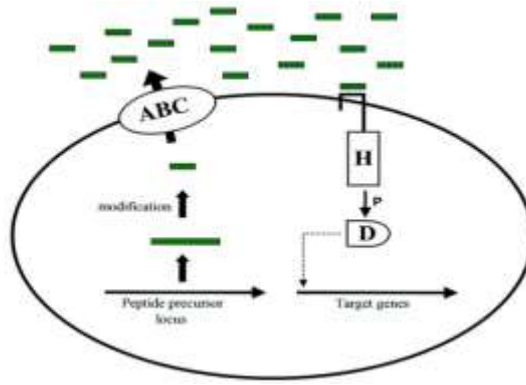


Şekil 3. Gram negatif bakterilerde *LuxI-LuxR* sistemi (38).

4.2.2.2. Oligopeptid Sistemi

Oligopeptid sinyalizasyonu gram pozitif bakteriler tarafından kullanılan quorum sensing mekanizmasıdır. Bu sistem gram negatif bakteriler tarafından kullanılan sistemden daha gelişmiş ve daha farklıdır. Bu sistemde ilk olarak oligopeptid yapıdaki sinyal molekülü öncü peptid olarak sentezlenir. Daha sonra hücre içinde modifiye

edilerek olgun oligopeptid autoinducer molekül haline getirilir. Olgun hale getirilen bu sinyal molekülleri ATP-Binding Casette (ABC) taşıyıcı kompleksinin yardımı ile ortama salınır (Şekil 4). Hücre sayısındaki artışla birlikte dışarıdaki oligopeptid sinyal molekül miktarı artarak kritik eşik değere ulaşması sonucunda, sinyal molekülü algılama mekanizmasındaki bileşenleri, bu molekülleri tanımlar. Bu bileşenlerin birincisi protein yapısında hücre zarına yerleşmiş reseptör görevinde olan histidinkinazlar (H) iken ikincisi histidinkinazın aktive ettiği transkripsiyon faktörü (D) denilen protein yapılardır. Sinyal molekülleriyle etkileşen histidinkinazlar hücre içine doğru fosforile olurlar. Daha sonra fosforile olan bu histidinkinazlar ilişkili oldukları TF'yi fosfatlayarak aktive ederler. Aktive olan bu TF'ler ilgili genleri aktive edip ekspresyonlarını sağlarlar. Böylece bakteri türüne özgü olan quorum sensing davranışları ortaya çıkar (23, 35).



Şekil 4. Gram pozitif bakterilerdeki quorum sensing mekanizması (38).

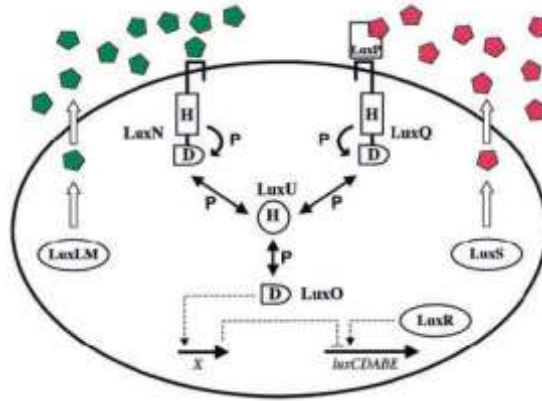
4.2.2.3. Hibrit Sistemi

Bu sistem özellik bakımından hem gram negatif bakterilerdeki LuxI/LuxR sisteminin hem de gram pozitif bakterilerdeki oligopeptid sisteminin özelliklerini taşımaktadır. Bu sistemde AHL sinyal moleküllerinin yanısıra ikinci sinyal molekülü olarak autoinducer-2 (AI-2)'ler kullanılmaktadır (35).

Bu autoinducer-2 (AI-2) tip sinyal molekülü ilk kez *V. harveyi*'de tanımlanmış olup gram negatif ve gram pozitif birçok bakteri tarafından üretilen *luxS* geninde kodlanmaktadır (18). Bu sinyal molekülünün 3(2H)-furanone yapısında olduğu tespit edilmiş olup daha sonra *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Neisseria meningitidis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Shigella flexneri*, *Salmonella Typhimurium* gibi birçok mikroorganizmanın süpernatantlarında gözlenmiştir (39).

Vibrio harveyi'deki hibrit sistemde AHL sinyal molekülleri kullanıldığından dolayı gram negatiflerdeki LuxI/LuxR sistemi ile benzerlik gösterirken çevredeki sinyal moleküllerinin iki bileşenli protein sistemlerinde algılanmasıyla da gram pozitif bakterilerdeki oligopeptid sistemi ile benzerlik gösterir (35).

Bu sistemde AHL sinyal moleküllerinin sentezi gram negatif bakterilerde olduğu gibi LuxI proteinlerine bağlı olarak salgılanmaz. Burada LuxLM proteinlerinde AHL molekülleri (AI-1) sentezlenir ve LuxN proteini tarafından algılanır. LuxS proteinlerinde AI-2 sinyal molekülleri sentezlenir ve LuxP, LuxQ iki proteinin birlikte fonksiyonu ile de algılanır. LuxN ve LuxQ hücre membranına bağlı histidinkinaz (H) olarak görev yaparlar ve aldıkları sinyalleri hücre içine fosforilasyon basamakları ile iletirler. Daha sonra sistemin diğer basamaklarının çalışması sonucu ilgili genler aktive olur ve QS mekanizmasına bağlı türe özgü davranış meydana gelir (Şekil 5) (35, 39).



Şekil 5. *Vibrio harveyi* 'nin hibrit quorum sensing sistemi (35). AI-1 sinyal molekülleri (yeşil), AI-2 sinyal molekülleri (kırmızı)

4.2.3. Bakterilerin Kontrolünde QS İnhibisyonu

Quorum quenching mekanizması ile bakterilerin arasındaki toplumsal etkileşim araştırmacılar tarafından üç farklı yöntem ile kontrol edilmektedir. Bunlar: (a) Sinyal molekül üretiminin önlenmesi, (b) QS moleküllerinin yıkımı (c) Sinyal ve moleküllerinin alımının önlenmesi (39, 40).

4.2.3.1. Sinyal Molekül Üretiminin Önlenmesi

AHL sentezlenmesinde ara molekül olarak görev alan enoyl-ACP redüktaz triklozan tarafından inhibe edilmektedir (41). Böylece AHL sinyal moleküllerini sentezi

engellenmektedir. Bazı makrolid grubu antibiyotiklerde benzer etkiler göstermektedir. Makrolid grubundan olan eritromisin hedef hücrede sinyal molekül sentezini ribozomal düzeyde inhibe etmektedir (19). Ayrıca azitromisinin *P. aeruginosa* izotlarında sinyal moleküllerini kodlayan genlere etki ederek QS mekanizmasını bloke etmektedir (40).

4.2.3.2. QS Moleküllerinin Yıkımı

AHL molekülleri ortama salındıktan sonra AHL laktonaz ve AHL acylase S52 tarafından yıkılmaktadır (18). AHL sinyal molekülünün stabilitesi ortamın pH'sına oldukça duyarlıdır. Bu molekülün lakton halkası ortamın pH'sı 7'den büyük olduğu durumlarda açılır (laktonoliz) ve molekülün yıkımına yol açar (42).

4.2.3.3. Sinyal Molekülleri Alımının Önlenmesi

Bu yöntem AI reseptörlerinin bloke edilmesi esasına dayanmaktadır. Genellikle AHL moleküllerinin modifiye edilmesi ile elde edilen AHL analogları hedef hücrede QS sinyal molekülü reseptörüne bağlanmak için AHL molekülleri ile yarışır. Bunun neticesinde sinyal molekülünün reseptör düzeyinde etkisi engellenmiş olur. Örnek olarak kırmızı bir makroalg olan *Delisea pulchra*'nın ürettiği furanon bileşikler yapısal olarak AHL sinyal molekülü analogu olup, AHL sinyal molekülü reseptörü olan LuxR proteinine bağlanarak AHL'nin reseptöre bağlanmasını engellediği ve *P. aeruginosa*'nın yoğunlaşarak üremesini inhibe ettiğitespit edilmiştir (43).

4.2.4. QSI Çalışmalarında Kullanılan İndikatör Bakteriler

4.2.4.1. *Chromobacterium violaceum*

Bakteriler alemi, *Proteobacteria* şubesi, *Betaproteobacteria* sınıfı, *Neisseriales* takımı, *Neisseriaceae* ailesi, *Chromobacterium* cinsi, *Chromobacterium violaceum* türü olarak tanımlanmaktadır (44).

C. violaceum gram negatif basil, fakültatif anaerob, oksidaz pozitif, glukozu fermente eden, laktozu fermente etmeyen ve hareketli bir bakteridir. Bu bakteri viyolasin adı verilen mor renkli antioksidan bir pigment üretir. Bu bakteriler pürüzsüz, konveks, parlak ve koyu mor renkli koloni yapısındadır. Üremeleri için özel besiyerine ihtiyaç duymazlar (45, 46).

Bu bakteri ilk kez 1881’de tanımlanmıştır. Patojen olma potansiyeli ilk kez Woolley tarafından 1905’de tanımlanmıştır ve fırsatçı enfeksiyonlara yol açarak ciddi sorunlara neden olabilirler (47). Tropikal ve subtropikal bölgelerde sudan ve topraktan izole edilebilirler (48).

4.3. Antibiyotikler

Hızla gelişen antibiyotik direnci araştırmacıları daha etkili ve daha geç direnç kazanan yeni ajanlar geliştirme amacı ile çalışma yapmaya yöneltmiştir ve mevcut ilaçlardan yola çıkarak farklı yapılarda yeni moleküller geliştirerek direnç gelişiminin önlenmesinde çok sayıda araştırma yapılmaktadır (49, 50).

Antibiyotik molekülleri farklı yollardan sentezlenmektedir; doğal olarak çeşitli bitkilerden veya mikroorganizmalardan üretilir veya semisentetik olarak doğal maddelerden sentezlenebilir, ayrıca sentetik olarak tamamen kimyasal bileşiklerden de sentezlenebilir (13).

Bakteri yapısı, ilacın vücuda uygulanma yolu ve antibiyotik maddenin bakteri üzerindeki etki mekanizması, ilaç tedavisinde başarıyı etkileyen önemli faktörlerdir. Antimikrobiyal kemoterapinin tarihçesi dikkate alındığında, enfeksiyon hastalıklarının tedavilerinde kullanılan ilaçlara karşı hızla gelişen direnç nedeniyle gelecekte bu enfeksiyonların daha zor tedavi edilebileceği ortaya çıkmıştır. Bakterilerde direnç gelişimini önlemek için geliştirilen yöntemlerden biri, kendisi antibakteriyel olmayan ancak antibiyotiklere karşı dirençli olan patojen bakterileri duyarlı hale getirebilecek özellikte bileşiklerin sentezidir (51, 52).

4.3.1. β -laktamlar

Bu grubun 1928 yılında ilk üyesi olan penisilin Fleming tarafından izole edilmiştir ve Florey 1940 yıllarında ilk kristalize penisilini elde etmiştir. Günümüzde ise çok sayıda β -laktam türevi bileşik elde edilmiştir ve çeşitli bakteri enfeksiyonlarına karşı kullanılmaktadır (10, 52).

Bu gruptaki antibiyotikler β -laktam halkası olarak adlandırılan kimyasal yapısı ile ön plana gelen ve günümüzde yaygın bir şekilde kullanılan antibiyotik grubudur. Kimyasal yapılarına göre 4 ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar;

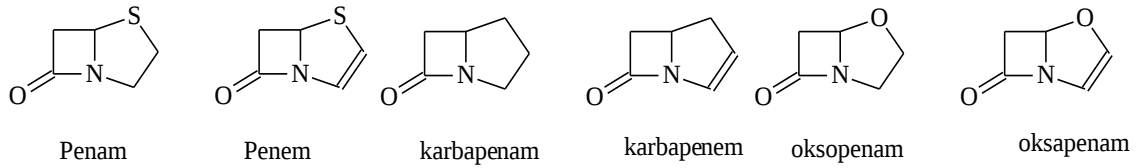
a. Penisilinler

- b. Sefalosporinler
- c. Karbapenemler
- d. Monobaktam olarak adlandırılmaktadır (53).

Bakteriler, β -laktamaz enzimlerini üreterek bu gruptaki antibiyotiklerin β -laktam halkalarını hidroliz etmekte ve klinik etkinliklerini azaltmaktadır. Ticari olarak hazır bulunan β -laktamaz inhibitörleri genelde β -laktamaz enzimlerine karşı etkili olarak bulunmaktadır. Ancak beta-laktamazların hızlı mutasyonu bu gruptaki penisilin ve sefalosporinlerin etkinliğinin azalmasına neden olmaktadır bu nedenle yeni β -laktamaz inhibitörlerin sentezi gerekmektedir (53).

4.3.1.1 Penisilin Türevleri

Beş üyeli bir tiazolidin halkasından oluşan 6 aminopenisilanik asit (6-apa) çekirdekli biyosentetik bileşiklerdir, bu halka sistemi penam olarak da bilinmektedir (Şekil 6).



Şekil 6. Penisilin türevlerinde ortak olan halka sistemleri

Penisilinler nötral ortamda uzun süre kararlı olmalarına rağmen asidik veya bazik ortamlarda hızla hidrolize uğrarlar. Ayrıca 6 aminopenisilanik asit, penisilin amidaz ve penisilinaz enzimleri ile hidroliz olduğunda penisilanik asit ve penilik asit gibi ürünlere dönüşür (52).

En eski antibiyotikler olarak bakterisidal aktiviteleri, toksisitelerinin az olması, tüm vücuda dağılım gösteren farmakokinetik özellikleri, bakteriyel enfeksiyonlarda etkili sonuçlar göstermesi ve ucuz olması gibi özelliklere sahip olduğu için tıp alanında yaygın kullanılan antibiyotiklerdir (52, 54).

Bakterilerin hücre duvar sentezi sırasında transpeptidasyon aşamasını inhibe eden penisilin grubu antibiyotikler, penisilin bağlayan proteinlere bağlanarak sentez aşamasında enzimi baskılar. Bu durum hücre duvarındaki sağlam peptidoglikan monomerlerinin eklenmesini engeller ve duvar bütünlüğünü bozar ve bakterinin dış ortama karşı direncinin kaybına sebep olur (55).

4.3.1.2. Sefalosporin Türevleri

Sefalosporinler 1940’larda keşfedilmiş, 7-amino sefalosporinik asit çekirdeğinden üretilmiş β -laktam grubu antibiyotiklerdir.

Sefalosporinler gram negatif basillere karşı etki spektrumlarına göre sınıflandırılmışlardır;

- a. Birinci kuşak sefalosporinler dar spektrumludur ve gram pozitif koklara karşı etkili olmaktadır. Ayrıca *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* gibi bazı gram negatiflerde etki göstermektedir.
- b. İkinci kuşakta yer alan sefalosporinler gram pozitiflere karşı etkili olmakla birlikte gram negatiflere karşı da etkisi artırılmıştır.
- c. Üçüncü kuşak sefalosporinler gram negatif bakterilere çok etkili olmasına rağmen stafilokoklara etkileri azalmıştır.
- d. Dördüncü kuşak sefalosporinler gram negatif bakteriler ve gram pozitif koklarda etkileri bildirilmiştir (55).

4.3.2. Piperazin Türevleri

Piperazin halkası önemli farmakoforlardan biri olarak çeşitli biyoaktivitelere sahiptir ve çok sayıda önemli ilacın yapısında yer almaktadır ve günümüzde piperazin grubundan türetilen yeni moleküller ilaç geliştirme çalışmalarında denenmektedir (57, 58).

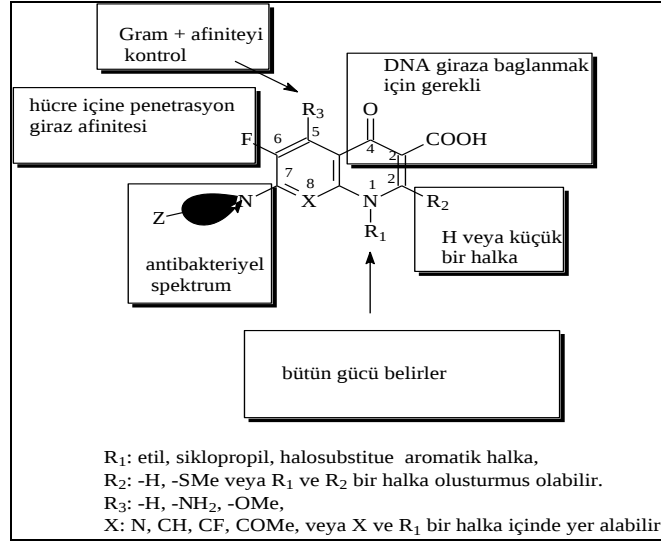
Piperazin türevlerinin insandaki farmakokinetik özellikleri hakkında elde edilen bilgilerin az olmasına rağmen bu grubun gastrointestinal sistemden hızla emilmesi, oral kullanımlarının yaygın olması, damar içi uygulamalarının nadir olması bilinmektedir (59).

4.3.3. Kinolonlar

İlk kinolon olarak 1962 yılında nalidiksik asit kullanıma girmiş, nalidiksik asidin yapısında modifikasyon ile ilk florokinolon olarak norfloksasin geliştirilmiştir ve nalidiksik aside göre gram negatiflerde etkisi artmış olsada kullanımı yinede üriner sistem infeksiyonlarında (ÜSİ) sınırlı kalmıştır ve 1980 yılında kinolonlar siprofloksasin ile ÜSİ dışında kullanılmaya başlanmıştır (60, 61).

Bu grup altında olan antibakteriyel bileşiklerde norfloksasin ve siprofloksasin en fazla türevi hazırlanan iki bileşik olarak çalışılmaktadır (62). Florokinolonların içerdiği

substituentlerin ve onların yapabileceği moleküler modifikasyonları Şekil 7’de açıklanmıştır (63).



Şekil 7. Florokinolonların moleküler modifikasyonları(64)

Bu gruptaki bileşikler önemli biyolojik aktiviteleri, hızlı bakterisidal etkileri ve dirençteki düşük eğilimlerinden dolayı üzerinde çok çalışma yapılan bileşik sınıflarından sayılmaktadır. Ancak gram pozitif bakterilerde ve metisilin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) da sınırlı aktivite göstermesi ve bazı yan etkilerinin olması dezavantajları olarak bilinmektedir. Bu nedenle yeni kinolon türevlerinin sentezine daha iyi özelliklere sahip olma suretiyle ihtiyaç duyulmaktadır (63).

4.3.4. Morfolin Türevleri

Morfolin halkası, önemli farmakofor gruplarından biri olarak antimikrobiyel aktiviteye sahip çok sayıda bileşiğin yapısında bulunmaktadır (65). Bu halka yapısal özelliklerinden dolayı daha ileri kimyasal sentezlerine yol açmaktadır. Morfolinden başlayarak farklı substitusyon reaksiyonlar azot üzerinde yapılarak çok sayıda antimikrobiyel, antiürez ve/veya antilipaz aktiviteye sahip bileşik sentezlenmiştir (66,67).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereç

5.1.1. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada başlıca etüv (Memmert BM 600, Almanya), biyogüvenlik kabini (Class II Safety Cabinet, Powtech, Türkiye), buzdolabı (KLEO, Türkiye), -20°C derin dondurucu (Arçelik, Türkiye), UV spektrofotometre (Eppendorf, ABD), -80°C derin dondurucu (New Brunswick Scientific, ABD), pastör fırını (Nüve, Türkiye), vorteks (Heidolph, Almanya), 30°C'lik etüv (Nüve, Türkiye), dikey model otoklav (Kermanlar, Türkiye), çalkalayıcı su banyosu (Memmert GFL 1086, Almanya), çalkalayıcı su banyosu (Nüve, Türkiye), pH metre (Hanna, Romanya), manyetik karıştırıcı (Stuart, Türkiye), mikrodalga fırın (Beko, Türkiye), buz makinesi (Scotsman AF 80, İtalya), hassas terazi (Sartorius Laboratory, Almanya) ve distile su cihazı (GFL, Türkiye) gibi cihazlar kullanıldı.

5.1.2. Kullanılan Malzemeler

Eppendorf tüpleri, metanol (Chromanorm, Avusturya), etanol (Tıbbi Alkol, KTÜ Tıp Fakültesi), etil asetat (MerckKGaA, Darmstadt, Almanya), DMSO (Santa Cruz Biotechnology, ABD), cam biyokimya tüpleri, balon joje, erlenmayer, eldiven, eppendorf tüpleri, petri plakları, pipet ucu (10µl, 100µl, 1000µl), otomatik pipet (20µl, 100µl, 1000µl), çok kanallı otomatik pipet(100µl), 0.45 µm'lik filtreler, 96 kuyucuklu mikroplyt, deney tüpleri, mezür, distile su, cam pipet, pipetman (ISOLAB, Almanya), 250-1000 ml'lik mezür, drigalskispatlü, bek alevi, n-hexanonyl-DL- homoserinlakton, n-heptanonyl-DL-homoserin lakton ve n-dodecanonyl-DL-homoserin lakton sinyal molekülleri (Sigma, ABD) kullanıldı.

5.1.3. Kullanılan Bakteri ve Maya Suşları

Çalışmada *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212, *B. subtilis* ATCC 6633, *A. haemolyticus* ATCC 19002, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *L. monocytogenes* ATCC 43251, *P. mirabilis* ATCC 7002, *S. Typhimurium* ATCC 10708 türleri antibakteriyal, *C. albicans* ATCC 10231, *C. parapsilosis* ATCC 22019 türleri antifungal ve *C. violaceum* ATCC 12472, *C. violaceum* VIR07, *C. violaceum* CV026, *C. violaceum*

ATCC 31532 türleri QS inhibisyon testleri için kullanıldı. *C. violaceum* suşları Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç Dr. Seyhan ULUSOY'dan sağlandı, diğer suşlar Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı stoklarından temin edildi.

5.1.4. Besiyerleri

Çalışmada test mikroorganizmalarının üretilmesinde Tryptic Soy Broth (TSB), Müller Hinton Agar (MHA), Luria Bertani (LB) Agar, LB yumuşakagar (% 0.3 w/v), Luria Bertani Broth, ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerleri kullanıldı.

5.1.5. Çözeltiler

Çalışmada kullanılan sentetik kimyasal maddeler Tablo 1'de listelendi.

Tablo 1. Sentetik kimyasal maddelerin listesi

Sıra No	Madde Kodu	Çözücü	Mol Ağırlığı (MW)	Kapalı Formül	Türevi
1	¹ A1	DMSO	278.35	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₃	Piperazin
2	¹ A2	DMSO	264.32	C ₁₃ H ₂₀ N ₄ O ₂	Piperazin
3	¹ A3	DMSO	399.51	C ₂₀ H ₂₅ N ₅ O ₂ S	Piperazin
4	¹ A4	DMSO	381.50	C ₂₀ H ₂₃ N ₅ OS	Piperazin
5	¹ A5	DMSO	383.45	C ₂₀ H ₂₅ N ₅ O ₃	Piperazin
6	¹ A7	DMSO	351.46	C ₁₆ H ₂₅ N ₅ O ₂ S	Piperazin
7	¹ A8	DMSO	724.84	C ₃₈ H ₄₁ FN ₈ O ₄ S	Piperazin
8	¹ A9	DMSO	712.83	C ₃₇ H ₄₁ FN ₈ O ₄ S	Piperazin
9	¹ B16	DMSO	230.26	C ₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	Piperazin
10	¹ B18	DMSO	379.48	C ₁₆ H ₂₅ N ₅ O ₃ S	Piperazin
11	¹ B19	DMSO	361.46	C ₁₇ H ₂₃ N ₅ O ₂ S	Piperazin
12	¹ B24	DMSO	533.69	C ₂₈ H ₃₅ N ₇ O ₂ S	Piperazin
13	¹ B25	DMSO	419.50	C ₁₉ H ₂₅ N ₅ O ₄ S	Piperazin
14	¹ B26	DMSO	514.04	C ₂₅ H ₂₈ ClN ₅ O ₃ S	Piperazin
15	¹ B27	DMSO	361.46	C ₁₇ H ₂₃ N ₅ O ₂ S	Piperazin
16	¹ B32	DMSO	444.55	C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₃ S	Piperazin
17	¹ B33	DMSO	272.32	C ₁₀ H ₁₆ N ₄ O ₃ S	Piperazin
18	¹ B34	DMSO	347.44	C ₁₆ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	Piperazin
19	¹ B38	DMSO	405.47	C ₁₈ H ₂₃ N ₅ O ₄ S	Piperazin

20	¹ B39	DMSO	406.44	C ₂₀ H ₂₆ ClN ₅ O ₃ S	Piperazin
21	¹ B40	DMSO	347.44	C ₁₆ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	Piperazin
22	¹ B41	DMSO	302.37	C ₁₂ H ₂₃ N ₅ O ₃ S	Piperazin
23	¹ B42	DMSO	299.39	C ₁₂ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	Piperazin
24	¹ B43	DMSO	500.01	C ₂₄ H ₂₆ ClN ₅ O ₃ S	Piperazin
25	¹ B44	DMSO	299.39	C ₁₂ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	Piperazin
26	¹ NF6	DMSO	348.42	C ₁₅ H ₂₀ N ₆ O ₂ S	Piperazin
27	¹ NF7	DMSO	410.49	C ₂₀ H ₂₂ N ₆ O ₂ S	Piperazin
28	¹ Y11	DMSO	474.54	C ₂₃ H ₃₁ N ₆ O ₄ F	Piperazin
29	¹ Y12	DMSO	504.62	C ₂₄ H ₃₃ N ₆ O ₃ SF	Piperazin
30	¹ Y13	DMSO	456.54	C ₂₂ H ₂₅ N ₆ O ₂ SF	Piperazin
31	¹ Y14	DMSO	474.54	C ₂₃ H ₃₁ N ₆ O ₄ F	Piperazin
32	¹ Y15	DMSO	490.60	C ₂₃ H ₃₁ N ₆ O ₃ SF	Piperazin
33	¹ Y16	DMSO	442.55	C ₁₉ H ₃₁ N ₆ O ₃ SF	Piperazin
34	¹ B6	DMSO	276.36	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ OS	Morfolin
35	¹ B45	DMSO	159.19	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₂	Morfolin
36	¹ B46	DMSO	294.34	C ₁₃ H ₁₈ N ₄ O ₂ S	Morfolin
37	¹ B50	DMSO	464.63	C ₂₅ H ₃₂ N ₆ OS	Morfolin
38	¹ B51	DMSO	294.37	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ OS	Morfolin
39	¹ B52	DMSO	290.38	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ OS	Morfolin
40	¹ B53	DMSO	201.25	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	Morfolin
41	¹ B54	DMSO	348.42	C ₁₆ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	Morfolin
42	¹ B55	DMSO	228.31	C ₉ H ₁₆ N ₄ OS	Morfolin
43	¹ B56	DMSO	286.35	C ₁₁ H ₁₈ N ₄ O ₃ S	Morfolin
44	¹ B57	DMSO	380.89	C ₁₇ H ₂₁ ClN ₄ O ₂ S	Morfolin
45	¹ Y10	DMSO	538.04	C ₂₇ H ₂₅ N ₅ O ₂ ClSF	Morfolin
46	¹ B21	DMSO	645.75	C ₂₈ H ₃₅ N ₇ O ₇ S ₂	Sefalosporinik asit
47	¹ B29	DMSO	555.61	C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₆ S ₂	Sefalosporinik asit
48	¹ B36	DMSO	631.72	C ₂₇ H ₃₃ N ₇ O ₇ S ₂	Sefalosporinik asit
49	¹ B48	DMSO	560.65	C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₆ S ₂	Sefalosporinik asit
50	¹ S18	DMSO	427.45	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₇ S ₂	Sefalosporinik asit
51	¹ B22	DMSO	692.80	C ₃₄ H ₄₁ FN ₈ O ₅ S	Norfloksazin
52	¹ B30	DMSO	603.61	C ₂₇ H ₃₄ FN ₇ O ₆ S	Norfloksazin
53	¹ B37	DMSO	678.78	C ₃₃ H ₃₉ FN ₈ O ₅ S	Norfloksazin
54	¹ B49	DMSO	621.73	C ₃₁ H ₃₆ FN ₇ O ₄ S	Norfloksazin
55	¹ N16	DMSO	504.91	C ₂₄ H ₂₃ ClF ₂ N ₄ O ₄	Norfloksazin
56	¹ N19	DMSO	522.59	C ₂₆ H ₂₇ FN ₆ O ₃ S	Norfloksazin
57	¹ Y32	DMSO	381.79	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₄ FCI	Norfloksazin

58	¹ Y33	DMSO	665.74	C ₃₂ H ₃₆ N ₇ O ₆ FS	Norfloksazin
59	¹ Y34	DMSO	623.68	C ₃₁ H ₃₈ N ₇ O ₆ F	Norfloksazin
60	¹ Y35	DMSO	757.82	C ₃₉ H ₄₄ N ₇ O ₈ F	Norfloksazin
61	¹ Y37	DMSO	660.72	C ₃₅ H ₃₈ N ₆ O ₅ F ₂	Norfloksazin
62	¹ Y18	DMSO	366.46	C ₁₇ H ₁₄ N ₆ S ₂	Triazol
63	¹ Y19	DMSO	677.54	C ₂₉ H ₁₈ N ₈ O ₄ Cl ₂ S ₂	Triazol
64	¹ Y20	DMSO	538.64	C ₂₅ H ₂₆ N ₆ O ₄ S ₂	Triazol
65	¹ Y21	DMSO	510.59	C ₂₁ H ₂₂ N ₁₀ O ₂ S ₂	Triazol
66	¹ Y22	DMSO	844.60	C ₃₅ H ₂₈ N ₁₀ O ₂ Br ₂ S ₂	Triazol
67	¹ Y23	DMSO	824.59	C ₃₅ H ₂₆ N ₁₀ O ₂ Cl ₄ S ₂	Triazol
68	¹ Y24	DMSO	844.60	C ₃₅ H ₂₈ N ₁₀ O ₂ Br ₂ S ₂	Triazol
69	¹ Y26	DMSO	650.86	C ₃₁ H ₄₂ N ₁₀ O ₂ S ₂	Triazol
70	¹ Y27	DMSO	430.54	C ₁₉ H ₂₂ N ₆ O ₂ S ₂	Triazol
71	¹ Y28	DMSO	394.51	C ₁₉ H ₁₈ N ₆ S ₂	Triazol
72	¹ Y29	DMSO	746.86	C ₃₇ H ₃₄ N ₁₀ O ₄ S ₂	Triazol
73	¹ Y30	DMSO	710.92	C ₃₉ H ₃₈ N ₁₀ S ₂	Triazol
74	¹ Y31	DMSO	594.75	C ₂₇ H ₃₄ N ₁₀ O ₂ S ₂	Triazol
75	¹ Y38	DMSO	584.71	C ₂₉ H ₂₈ N ₈ O ₂ S ₂	Triazol
76	⁴ YY1	Etanol	310	C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O	Triazol
77	⁴ YY2	Etanol	344.41	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O	Triazol
78	⁴ YY3	Etanol	302.39	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ OS	Triazol
79	⁴ YY4	Etanol	288.37	C ₁₄ H ₁₆ N ₄ OS	Triazol
80	⁴ YY5	Etanol	282.34	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O	Triazol
81	⁴ YY6	Etanol	374.44	C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₂	Triazol
82	⁴ YY7	Etanol	206.24	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O	Triazol
83	⁴ YY8	Etanol	360.43	C ₁₆ H ₂₀ N ₆ OS	Triazol
84	⁴ YY9	Etanol	495.62	C ₂₃ H ₂₅ N ₇ O ₂ S ₂	Triazol
85	⁴ YY10	Etanol	536.64	C ₁₈ H ₂₈ N ₁₄ O ₂ S ₂	Triazol
86	⁴ YY11	Etanol	502.56	C ₂₇ H ₃₀ N ₆ O ₄	Triazol
87	⁴ YY12	Etanol	724.91	C ₂₈ H ₃₂ N ₁₄ O ₂ S ₄	Triazol
88	⁴ YY13	Etanol	358.41	C ₁₇ H ₁₈ N ₄ O ₃ S	Triazol
89	⁴ YY14	Etanol	400.45	C ₁₉ H ₂₀ N ₄ O ₄ S	Triazol
90	⁴ YY15	Etanol	430.48	C ₂₀ H ₂₂ N ₄ O ₅ S	Triazol
91	⁴ YY16	Etanol	282.32	C ₁₁ H ₁₄ N ₄ O ₃ S	Triazol
92	⁴ YY17	Etanol	488.54	C ₂₆ H ₂₈ N ₆ O ₄	Triazol
93	⁴ YY18	Etanol	738.83	C ₄₃ H ₄₂ N ₆ O ₆₁	Triazol
94	⁴ YY19	Etanol	282.32	C ₁₁ H ₁₄ N ₄ O ₃ S	Triazol
95	⁴ YY20	Etanol	488.54	C ₂₆ H ₂₈ N ₆ O ₄	Triazol

96	⁴ YY21	Etanol	738.83	C ₄₃ H ₄₂ N ₆ O ₆	Triazol
97	¹ B28	DMSO	500.59	C ₁₉ H ₂₈ N ₆ O ₆ S ₂	Penisillanik asit
98	¹ B35	DMSO	575.20	C ₂₅ H ₃₃ N ₇ O ₅ S ₂	Penisillanik asit
99	¹ B47	DMSO	518.65	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₄ S ₂	Penisillanik asit
100	¹ Z1	DMSO	244.31	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S	Penisillanik asit
101	¹ Z2	DMSO	244.31	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S	Penisillanik asit
102	¹ Z3	DMSO	628.61	C ₂₈ H ₂₈ N ₄ O ₁₁ S	Penisillanik asit
103	¹ Z6	DMSO	524.12	C ₂₅ H ₂₄ N ₄ O ₅ S ₂	Penisillanik asit
104	¹ Z17	DMSO	625.21	C ₃₁ H ₃₅ N ₃ O ₉ S	Penisillanik asit
105	¹ Z18	DMSO	524.12	C ₂₅ H ₂₄ N ₄ O ₅ S ₂	Penisillanik asit
106	¹ Z20	DMSO	724.87	C ₃₆ H ₃₂ N ₆ O ₅ S ₃	Penisillanik asit
107	¹ Z25	DMSO	482.662	C ₂₂ H ₃₄ N ₄ O ₄ S ₂	Penisillanik asit
108	¹ Z4	DMSO	288.72	C ₁₅ H ₁₃ ClN ₂ O ₂	Nitrobenzoil klorür
109	¹ Z5	DMSO	423.29	C ₂₃ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O ₂	Nitrobenzoil klorür
110	¹ Z10	DMSO	344.81	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ O ₂ S	Nitrobenzoil klorür
111	¹ Z11	DMSO	290.77	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ OS	Nitrobenzoil klorür
112	¹ Z12	DMSO	270.78	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ OS	Nitrobenzoil klorür
113	¹ Z13	DMSO	274.05	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ O ₂	Nitrobenzoil klorür
114	¹ Z14	DMSO	328.75	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ O ₃	Nitrobenzoil klorür
115	¹ Z29	DMSO	242.05	C ₁₀ H ₁₁ FN ₂ O ₂ S	Tiyomorfolin
116	¹ Z33	DMSO	415.13	C ₂₀ H ₂₂ FN ₅ S ₂	Tiyomorfolin
117	¹ Z34	DMSO	175.08	C ₆ H ₁₃ N ₃ OS	Tiyomorfolin
118	¹ Z35	DMSO	324.11	C ₁₄ H ₂₀ N ₄ OS ₂	Tiyomorfolin
119	¹ Z36	DMSO	364.1	C ₁₆ H ₂₀ N ₄ O ₂ S ₂	Tiyomorfolin
120	¹ Z37	DMSO	458.1	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₄ OS ₂	Tiyomorfolin
121	¹ Z38	DMSO	306.1	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ S ₂	Tiyomorfolin
122	¹ Z39	DMSO	306.1	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ S ₂	Tiyomorfolin
123	¹ Z42	DMSO	276.1	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ OS	Tiyomorfolin
124	¹ Z43	DMSO	217.03	C ₇ H ₁₁ N ₃ OS ₂	Tiyomorfolin
125	¹ Z45	DMSO	405.17	C ₁₉ H ₂₇ N ₅ OS ₂	Tiyomorfolin
126	¹ Z46	DMSO	562.18	C ₂₅ H ₃₁ FN ₆ O ₄ S ₂	Tiyomorfolin
127	¹ Z47	DMSO	2403.19	C ₂₀ H ₂₉ N ₅ S	Tiyomorfolin
128	¹ Z49	DMSO	405.17	C ₁₉ H ₂₇ N ₅ OS ₂	Tiyomorfolin
129	¹ Z50	DMSO	590.14	C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₅ S ₃	Tiyomorfolin
130	¹ Z51	DMSO	534.15	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₃ S ₃	Tiyomorfolin
131	¹ Z53	DMSO	621.25	C ₃₁ H ₃₆ FN ₇ O ₄ S	Tiyomorfolin
132	¹ Z54	DMSO	609.25	C ₃₀ H ₃₆ FN ₇ O ₄ S	Tiyomorfolin
133	¹ Z55	DMSO	402.15	C ₂₀ H ₂₃ FN ₄ O ₂ S	Tiyomorfolin

134	¹ Z56	DMSO	373.14	C ₁₈ H ₂₀ FN ₅ OS	Tiyomorfolin
135	¹ Z57	DMSO	411.15	C ₂₁ H ₂₂ FN ₅ OS	Tiyomorfolin
136	¹ Z58	DMSO	309.11	C ₁₄ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	Tiyomorfolin
137	¹ Z59	DMSO	293.12	C ₁₄ H ₁₉ N ₃ O ₂ S	Tiyomorfolin
138	¹ Z60	DMSO	264.1	C ₁₂ H ₁₆ N ₄ OS	Tiyomorfolin
139	¹ Z61	DMSO	302.12	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ OS	Tiyomorfolin
140	¹ Z62	DMSO	263.11	C ₁₃ H ₁₇ N ₃ OS	Tiyomorfolin
141	¹ Z63	DMSO	398.42	C ₁₈ H ₂₂ N ₈ O ₃	İmidazol
142	¹ Z65	DMSO	346.32	C ₁₅ H ₁₅ FN ₆ O ₃	İmidazol
143	¹ Z66	DMSO	293.33	C ₁₃ H ₁₉ N ₅ O ₃	İmidazol
144	¹ Z71	DMSO	203.8	C ₉ H ₉ N ₅ O	Piridin
145	¹ Z72	DMSO	289.12	C ₁₃ H ₁₅ N ₅ O ₃	Piridin
146	¹ Z73	DMSO	275.11	C ₁₁ H ₁₃ N ₇ O ₂	Piridin
147	¹ Z76	DMSO	393.15	C ₁₉ H ₁₉ N ₇ O ₃	Piridin
148	¹ Z77	DMSO	379.14	C ₁₈ H ₁₇ N ₇ O ₃	Piridin
149	¹ Z78	DMSO	409.4	C ₁₉ H ₁₉ N ₇ O ₄	Piridin
150	¹ Z79	DMSO	390.16	C ₁₉ H ₁₈ N ₈ O ₂	Piridin
151	¹ Z80	DMSO	284.13	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ O ₂	Nitropiridin
152	¹ Z84	DMSO	429.16	C ₂₄ H ₂₃ N ₅ OS	Nitropiridin
153	¹ Z85	DMSO	411.33	C ₂₂ H ₂₀ Cl ₂ N ₄	Nitropiridin
154	¹ Z86	DMSO	358.18	C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O	Nitropiridin
155	¹ Z87	DMSO	429.4	C ₂₃ H ₁₆ FN ₅ O ₃	Sinnamaldehit
156	¹ Z88	DMSO	319.14	C ₁₈ H ₁₇ N ₅ O	Sinnamaldehit
157	¹ Z89	DMSO	290.12	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O	Sinnamaldehit
158	¹ B23	DMSO	704.81	C ₃₅ H ₄₁ FN ₈ O ₅ S	Siprofloksasin
159	¹ B31	DMSO	615.68	C ₂₈ H ₃₄ FN ₇ O ₆ S	Siprofloksasin
160	¹ B20	DMSO	589.73	C ₂₆ H ₃₅ N ₇ O ₅ S ₂	6-apa
161	¹ S17	DMSO	326.82	C ₁₃ H ₁₁ ClN ₂ O ₂ S ₂	Sülfon
162	¹ Z-82	DMSO	340.41	C ₁₉ H ₂₄ N ₄ O ₂	piperazin ve piridin
163	¹ Z-83	DMSO	512.06	C ₂₉ H ₂₆ ClN ₅ S	piperazin ve piridin
164	¹ 7ACA	DMSO	-	-	Aminsefalosporinik asit
165	¹ B10	DMSO	-	-	-
166	² C11	Etanol	386.00	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₄	Dihidropiridin
167	² G10	Etanol	419.00	C ₁₅ H ₂₉ O ₂ N	Dihidropiridin
168	² A8 (M)	Etanol	397.00	C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₄ F	Dihidropiridin

169	² H7	Etanol	333.00	C ₁₃ H ₂₃ O ₅ N	Dihidropiridin
170	² M1	Metanol	-	EMg9	Semi-sentetik cumineekstraktı
171	² M2	Metanol	-	CFe7	Semi-sentetik cumineekstraktı
172	² M3	Metanol	-	CCu2	Semi-sentetik cumineekstraktı
173	³ 4N-3,4M-30	Metanol	387.42	C ₂₄ H ₂₁ NO ₄	-
174	³ 2-ket-PTSCI-2M	Metanol	407.48	C ₂₃ H ₂₁ NO ₄ S	-
175	³ GFF-22-H	Metanol	257.25	C ₁₅ H ₁₂ FNO ₂	-
176	³ FOH-32-Etanol	Metanol	256.275	C ₁₅ H ₁₃ FN ₂ O	-

¹ KTÜ Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Neslihan Demirtaş'dan temin edilmiştir.

² KTÜ Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Münevver Sökmen'den temin edilmiştir.

³ KTÜ Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Nurettin Yaylı'dan temin edilmiştir.

⁴ KTÜ Kimya Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Yasemin Ünver'den temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan doğal madde ekstraktları Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Doğal madde ekstraktları

Sıra No	Türü
1	² Yeşil çay ekstraktı
2	^{\$} Üzüm çekirdeği ekstraktı (Kalextract®, Turkey)
3	^{\$} Zeytin yaprağı ekstraktı (Kalextract®, Turkey)
4	^{\$} Vanilla ekstraktı (McCormick®, ABD)
5	^{\$} Redpanax Ginseng ekstraktı (Prince of Peace®, China)
6	^{\$} Propolis (Fanus®, Trabzon)
7	³ Isırgan ekstraktı

² Karadeniz Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Münevver Sökmen'den temin edilmiştir.

³ KTÜ Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof.Dr. Nurettin Yaylı'dan temin edilmiştir.

^{\$} Ticari olarak temin edilmiştir.

5.2. Yöntem

5.2.1. Besiyerlerin Hazırlanması

Tüm besiyerlerinin hazırlanmasında distile su kullanılmıştır ve 121°C’de 15 dakika sterilizasyon işlemi otoklavda gerçekleştirilmiştir.

5.2.1.1. Katı ve Sıvı Besiyerlerinin Hazırlanması

LB, TSA, MHA ve SDA besiyerleri üretici firmaların talimatlarına göre cam şişelerde hazırlanmış ve otoklavlandıktan sonra 55°C’ye kadar soğutulup sterilpetri plaklara yaklaşık 4 mm kalınlığında dökülerek oda sıcaklığında bırakılmıştır. Daha sonra kullanmak üzere +4°C’ye buzdolabında saklanmıştır. Bu besiyerleri QS testi ve antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılmıştır.

TSB, MHB ve LB sıvı besiyerleri üretici firma talimatına göre cam şişelerde hazırlandı ve otoklavlandıktan sonra oda ısısında steril dolapta kullanmak için muhafaza edildi. Bu besiyerleri suşların stoklanmasında, MİK ve QS testlerinde kullanıldı.

5.2.2. Bakteri Suşlarının Üretilmesi ve Stoklanması

Çalışmada kullanılan suşların uzun süreli muhafazası için TSB ve LB sıvı besiyerlerine (bakteri suşuna özel) tek koloni ekilmiş ve üremeleri için 37°C (*Chromobacterium* için 30°C) sıcaklığa ayarlanmış etüvde bir gece inkübe edilmiştir. Kültüre toplam hacminin %10’u kadar gliserol (steril) ilave edilmiş ve vorteks yapıldıktan sonra -80°C’de saklanmıştır.

5.2.3. Çözeltilerin Hazırlanması

5.2.3.1. Kimyasal Stokların Hazırlanması

Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler 100 µg/mL konsantrasyonunda ilgili çözücülerde (DMSO, etanol veya metanol) steril şartlarda çözüldükten sonra kullanıldı.

5.2.3.2. Doğal Ekstraktların Hazırlanması

Çalışmada kullanılan doğal ekstraktlar sıvı halde bulunan ticari veya KTÜ Kimya bölümünden temin edildi. Çözücü olarak su kullanılan ekstraktlar 0.45 µm’lik filtrelerden geçirilip steril edildi ve kullanıma hazır halde +4°C’de buzdolabında muhafaza edildi. Tüm ekstraktlar 100 µg/ml konsantrasyonunda kullanıldı.

5.2.3.3. Sinyal Moleküllerin Çözeltilerinin Hazırlanması

C6-AHL 2 mg/ml, C7-AHL 2.1 mg/ml, C12-AHL 2.8 mg/ml konsantrasyonlarında DMSO ve etil asetat içerisinde ayrı ayrı hazırlandı. Hazırlanan bu stok solüsyonlarından 10 katlı dilüsyonlar halinde çalışma solüsyonları hazırlandı. Çalışma solüsyonlarının hazırlanmasında çözücü olarak DMSO ve etil asetat kullanıldı (68).

5.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Testleri

Test edilen mikroorganizmalara karşı test materyallerinin antimikrobiyal aktiviteleri agar kuyucuk difüzyon metodu ile test edildi. Test edilen sentetik kimyasal maddeler 100 µg/ml konsantrasyonunda DMSO, etanol, metanol veya distile su yardımı ile çözüldü. Fizyolojik tuzlu su (FTS) içinde 0.5 Mc Farland'a ayarlanan bakteri süspansiyonlarından bakteriler için hazırlanan MHA, maya için ise SDA plaklarına 10 µl (10^6 olmak üzere) inoküle edilip, drigalskispatülü ile yayma ekim gerçekleştirildi. Besiyerleri üzerine 4-6 mm çapında kuyucuklar açıldı. Bir kuyucuğa negatif kontrol olarak çözücü madde bir kuyucuğa pozitif kontrol olarak ampicilin, gentamisin veya amfoterisin B ilave edildi. Diğer kuyucuklara ise test materyallerinden 50 µl eklendi. Bu işlem tüm test mikroorganizmaları için ayrı ayrı tekrar edildi. *C. violaceum* indikatör suşları 30°C'de ve diğer test mikroorganizmaları 37°C'de 24-48 saatlik inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda kuyucukların etrafında oluşan inhibisyon zon çapları değerlendirildi (69,70).

5.2.5. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Testi

Mikroorganizma üremesinin engellendiği en düşük konsantrasyona minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) denir. Birim olarak mg/l ile ifade edilir. Antibakteriyel etki gösteren test maddelerinin MİK değerleri test mikroorganizmaları için Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI M7-A7 vol. 26 No. 2 Replaces M7-A6 vol. 23 No. 2) tarafından bildirilen mikrodilüsyon yöntemi esas alınarak TSB besiyerinde belirlendi.

MİK belirleme işlemi 96 kuyucuklu mikropleytler kullanılarak gerçekleştirildi. Mikropleytin tüm kuyucuklarına 100 µl MHA eklenildi. Mikropleytin bir kuyucuğuna sterilite kontrolü için sadece MHA, bir kuyucuğuna da üreme kontrolü için sadece MHA ve 5×10^5 CFU/ml konuldu. Mikropleytin ilk kuyucuğuna 100 µl test materyali ilave edildi. İlk kuyucuktan itibaren 1/2 oranında seri dilüsyonlar yapıldı ve son

kuyucuktan alınan 100 µl sıvı dışarı atıldı. McFarland 0.5'e ayarlanmış bakteri süspansiyonlarından her bir kuyucuğa 5 µl (5×10^5 CFU/ml) ilave edildi. Bu işlem bütün bakteri türleri için ayrı ayrı tekrarlandı. Test mikroorganizmaları 37°C'de *C. violaceum* suşları ise 30°C' de 24 - 48 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi (71).

5.2.6. Quorum Sensing İnhibisyon Testi

Test edilen sentetik kimyasallar ve doğal ekstraktların QS sinyallerini bloke etmeleri *C. violaceum* ATCC 12472, *C. violaceum* VIR07, *C. violaceum* CV026, *C. violaceum* ATCC 31532 biyosensör suşları kullanılarak agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile test edildi. *C. violaceum* ATCC 12472 ve *C. violaceum* ATCC 31532 yabani tip suşları quorum sensing kontrolünde viyolasin isimli mor bir pigment üretmektedir. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun viyolasin genine (*cvlI*) mini-Tn5 (kanamisin direnç geninin) insersiyon yapılarak viyolasin pigmenti üretemeyen mutant *C. violaceum* CV026 suşu geliştirilmiştir. Benzer olarak, *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun viyolasin genine (*cvlI*) kanamisin direnç geninin tekli rekombinasyonu ile mutant VIR07 suşu geliştirilmiştir. Mutant olan CV026 suşu viyolasin pigmentini üretebilmesi için dışarıdan kısa zincirli AHL (C4-C8) ilavesine gerek duymaktadır. Bir diğer mutant suş olan VIR07'nin viyolasin pigmentini üretebilmesi için dışarıdan uzun zincirli AHL (C10-C16) ilavesine ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle bu suşlar QS inhibitörlerinin tespitinde indikatör bakteriler olarak kullanılmaktadır.

5.2.6.1. Agar Kuyucuk Yöntemi

Luria Bertani Broth içerisinde bir gece üretilmiş *C. violaceum* ATCC 12472, *C. violaceum* ATCC 31532 kültürlerinden 5 ml'lik erimiş LB (% 0.3 w/v) agar içerisine 50 µl inoküle edildi. Daha sonra bu agar solüsyonu LB agar plağının üzerine döküldü ve katılaşan plak üzerine 4-6 mm çapında kuyucuklar açıldı. Bazı kuyucuklar pozitif ve negatif kontrol olarak kullanılırken diğer kuyucuklara ise test materyalleri ilave edildi. Her bir kuyucuğa 50 µl örnekinoküle edildi. Bir gecelik 30°C'de inkübasyon sonunda kuyucuklar değerlendirildi. Kuyucuk etrafında pigment oluşumunu engelleyen (renksiz) fakat bakteri üremesini etkilemeyen madde QS inhibitörü olarak değerlendirildi (18,72).

C. violaceum CV026 ve VIR07 suşları LB sıvı besiyerinde 30°C'de, 120 rpm çalkalayıcıda bir gece üretildi. Bir gecelik kültürlerden 50 µl alınarak her biri 5 ml hacminde 50°C su banyosunda tutulan LB yumuşak agar içerisine ilave edildi. CV026

iin agar solüsyonuna C6-AHL ve C7-AHL, VIR07 iin ise C12-AHL kùltür-bakteri karışımına 25 µl 1 mM AHL ilave edildi, iyice vortekslendikten sonra LB agar plaklarının üzerine döküldü. Dökülen yumuşak agar donduktan sonra 4-6 mm apında kuyucuklaraıldı. Birkuyucua pozitif kontrol olarak 50 µl son konsantrasyonu 10 mg/ml olan vanilya ekstraktı ve diğerk kuyucuklara 50 µl hacminde son konsantrasyonları 100 µg/ml olan kimyasal maddelerden ilave edildi (73).

5.2.6.2. Spektrofotometrik Yöntem

Kalitatif yöntem ile QS inhibisyon etki gösteren maddelerin MIK değerkleri elde edildikten sonra, bu değerklerin altında olmak şartıyla bakterilerin üremesini engellemeyen ancak pigment üremesini inhibe eden derişim miktarını bulmak ve ayrıca en düşük ve en etkili olan derişimlerin varlığında bakteri konsantrasyonu ile pigment miktarı arasındaki değerişimi tayin etme amacıyla yapılan bir yöntemdir.

C. violaceum ATCC 12472 ve *C. violaceum* ATCC 31532 suşları 30°C’de alkalamalı etüvde bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Her suş iin örnekler ve kontrole ayrı erlenmayerlere 25 ml LB sıvı besiyeri koyuldu, her örnekten sub-MIK konsantrasyonundan başlamak üzere ½ dilüsyonlar ile 4 konsantrasyon hazırlandı. Son olarak erlenmayerlere bir gecelik bakteri kùltüründen 500 µL ilave edildi. Erlenmayerler 120 rpm de 30°C’de alkamalı etüve inkübasyona bırakıldı.

Bu yöntemde bakteri yoğunluğuna paralel olarak pigment yoğunluğunda elde etmek amacıyla her saat başı ayrıca pigment tayini de yapılmıştır. Bakteri miktarının 600 nm okuma işlemini bittikten sonra küvetlerdeki kùltürler ependorflara aktarılmış ve 13.000 rpm’de 10 dk. santrifüj yapıldıktan sonra ependorftaki üst faz atılarak alt kısımda kalan pelet üzerine 1 ml DMSO ilave edilmiştir ve pipetleme ile karıştırıldıktan sonra vorteks yapılmıştır. Daha sonra tekrar 13.000 rpm’de 10 dk. santrifüj yapılmıştır. Oluşan supernatant spektrofotometre küvetine alınarak 585 nm’de okunmuş ve değerkler kaydedilmiştir (74).

6. BULGULAR

6.1. Antimikrobiyal Aktivite Test Bulguları

Sentetik kimyasal ve doğal ekstraların antimikrobiyal aktiviteleri *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *A. haemolyticus*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *P. mirabilis*, *S. Typhimurium*, *C. violaceum* ATCC 12472, *C. violaceum* ATCC 31532, *C. albicans* ve *C. parapsilosis* suşları kullanılarak agar-kuyucuk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Test edilen 183 sentetik ve doğal maddelerden antimikrobiyal etki gösteren 16 sentetik maddenin inhibisyon zon çapları milimetrik olarak bir cetvelle ölçülerek Tablo 3'te sunulmuştur ve ayrıca örnek 2'ye uygulanan antibakteriyel testi şekil 8'de gösterilmiştir. Testler en az 2 kez tekrarlanmış ve sonuçlar bu testlerin aritmetik ortalaması alınarak verilmiştir.

Test edilen hiçbir maddenin *C. albicans* ve *C. parapsilosis* suşlarına antifungal etki göstermediği saptanmıştır.

Tablo 3. Test mikroorganizmalarının agar-kuyucuk difüzyon testi ile inhibisyon zon çapları (mm)

Madde kodu	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>A.haemolyticus</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>L.monocytogenes</i>	<i>P.mirabilis</i>	<i>S.Typhimurium</i>	<i>C.violaceum</i> ATCC 12472	<i>C.violaceum</i> ATCC 31532
¹ A8	26	37	27	22	34	29	31	33	24	24	34	39	45
¹ A9	24	34	21	16	28	17	30	31	-	-	30	35	38
B22	22	30	19	-	22	16	30	30	-	-	28	38	35
¹ B30	20	28	19	-	24	12	31	28	-	-	27	38	35
¹ B37	25	28	20	-	25	17	29	30	-	-	28	42	32
¹ B49	23	30	21	-	23	17	29	29	-	-	26	42	35
¹ N16	-	-	-	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-
¹ N19	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-
¹ Y32	-	18	-	-	24	-	-	-	-	-	18	24	22
¹ Y33	-	14	-	-	-	-	-	-	23	-	16	23	23
¹ S18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	-

Tablo 3. (Devam)

¹ Z46	28	39	23	23	31	27	32	35	28	27	35	43	40
¹ Z53	29	41	25	23	30	27	33	35	29	30	37	43	40
¹ Z54	25	35	18	18	26	14	32	31	-	-	31	42	38
¹ B23	28	37	25	19	31	26	31	33	28	27	37	39	46
¹ B31	30	39	27	23	32	24	34	32	28	28	36	36	47
Amp	36	-	-	29	20	-	-	-	-	-	-	-	-
Gen	-	25	22	-	-	24	24	24	-	-	22	18	19
Tet	-	-	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-	-
Sef	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	-	-	-

Amp; Ampisilin, Gen; Gentamisin, Tet; Tetrasiklin, Sef; Sefotaksim, - ; zon yok



a



b

Şekil 8. Agar-kuyucuk difüzyon testi. a) *S. aureus*'un test edilen bazı kimyasallara duyarlılığının gösterilmesi: +; Ampisilin, 1; ¹B48, 2; ¹S18, 3; ¹B22, 4; ¹B3
b) *C. violaceum* ATCC 31532'un test edilen bazı kimyasallara duyarlılığının gösterilmesi: G; Gentamisin, 1; ¹Z46, 2; ¹Z53, 3; ¹Z54, 4; ¹B23

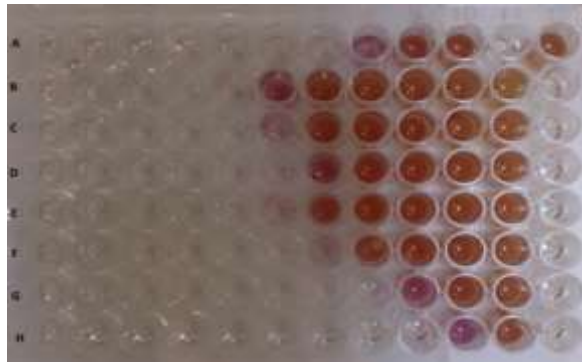
6.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu Test Bulguları

S. aureus, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *A. haemolyticus*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *P. mirabilis*, *S. Typhimurium*, *C. violaceum* ATCC 12472 ve *C. violaceum* ATCC 31532 suşlarında antimikrobiyel etkili maddelerin MİK test sonuçları Tablo 4'de sunulmuştur ve örnek bir MİK testi Şekil 9'da gösterilmiştir.

Tablo 4. Test mikroorganizmaların MİK test sonuçları (µg/ml)

Madde kodu	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>A. haemolyticus</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>C.violaceum</i> ATCC 12472	<i>C.violaceum</i> ATCC 31532
¹ A8	0.78	0.02	0.39	1.56	0.09	0.19	0.09	0.09	0.39	0.39	0.09	0.19	0.19
¹ A9	3.12	0.09	3.12	6.25	3.12	3.12	0.78	1.56	-	-	0.19	3.12	3.12
¹ B22	1.56	0.09	3.12	-	0.78	3.12	0.19	0.78	-	-	0.19	1.56	0.78
¹ B30	0.78	0.09	3.12	-	0.78	3.12	0.19	0.78	-	-	0.19	0.78	0.78
¹ B37	1.56	0.09	3.12	-	0.78	3.12	0.19	0.78	-	-	0.19	0.78	0.78
¹ B49	0.78	0.09	1.56	-	0.78	1.56	0.19	0.78	-	-	0.09	0.78	0.39
¹ N16	-	-	-	-	0.78	-	-	-	-	-	-	-	-
¹ N19	-	-	-	-	1.56	-	-	-	-	-	-	-	-
¹ Y32	-	1.56	-	-	0.39	-	-	-	-	-	3.12	1.56	0.78
¹ Y33	-	3.12	-	-	-	-	-	-	6.25	-	6.25	12.5	12.5
¹ S18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.12	-	-	-
¹ Z46	0.78	0.04	0.78	3.12	0.19	0.19	0.09	0.09	0.19	0.19	0.09	0.19	0.19
¹ Z53	0.39	0.04	0.39	0.78	0.09	0.09	0.04	0.19	0.09	-	0.04	0.19	0.19
¹ Z54	1.56	0.09	1.56	3.12	0.78	1.56	0.19	1.56	-	0.19	0.09	0.78	0.78
¹ B23	0.78	0.04	0.39	3.12	0.19	0.39	0.04	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.39
¹ B31	0.78	0.04	0.39	3.12	0.09	0.39	0.19	0.09	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19

- : inhibisyon yok



Şekil 9. *P. aeruginosa* MİK testi: A; ¹A8, B; ¹A9, C; ¹B22, D; ¹B30, E; ¹B37, F; ¹B49, G; ¹Z46, H; ¹Z53. Madde konsantrasyonları soldan sağa birinci kuyucukta 50 µg/ml olmak üzere devam eden kuyucuklarda, 25 µg/ml, 12.5 µg/ml, 6.25µg/ml, 3.12 µg/ml, 1.56 µg/ml, 0.78 µg/ml, 0.39 µg/ml, 0.19 µg/ml, 0.09 µg/ml, 0.04 µg/ml ve 0.02 µg/ml olacak şekilde iki kat sulandırıldı. Takip eden son iki kuyucuk üreme ve sterilit kontrolü olarak kullanıldı. A11 ve B12-H12

kuyucukları maddeler ve besiyeri sterilite kontrolü, A12 bakteri üreme kontrolü (maddesiz) olarak kullanıldı.

6.3. Quorum Sensing İnhibisyonu Test Bulguları

6.3.1. Agar Kuyucuk Test Sonuçları

C. violaceum suşlarında sentetik kimyasallar ve doğal ekstraktların QS sinyallerini bloke etmeleri yumuşak (soft) agar yöntemi ile test edilmiştir ve sonuçlar Tablo 5’de sunulmuştur ayrıca 2’nin örnek yumuşak agar testi şekil 10’da gösterilmiştir.

Tablo5. *C. violaceum* suşlarının QS test sonuçları

Madde Kodu	<i>C. violaceum</i> VIR07	<i>C. violaceum</i> CV026		<i>C. violaceum</i> ATCC 12472	<i>C. violaceum</i> ATCC 31532
	C ₁₂	C ₆	C ₇		
¹ B29	+	+	+	+	+
¹ B48	-	+	+	-	+
¹ B28	+	+	-	+	+
¹ Z50	+	+	-	+	+
¹ Z51	+	+	+	+	+
² M1	-	+	+	-	+
² M2	-	+	+	-	+
² M3	-	+	-	-	+

C₆, C₇ ve C₁₂: *C. violaceum* CV026 ve VIR07 suşlarına dışarıdan verilen farklı AHL QS sinyal molekülleri



a



b

Şekil 10. Yumuşak agar yöntemi ile QS testi. a) *C. violaceum* ATCC 31532 QS testi: 1; ⁴YY17, 2; ⁴YY18, 3; ⁴YY19, 4; ⁴YY20, 5; ⁴YY21, 6; ¹B28, 7; ¹B35, 8; vanilya, 9; DMSO. Şekilde görüldüğü gibi sadece pozitif kontrol (8.kuyucuk) ve ¹B28 (6.kuyucuk) etrafında pigment üretimi inhibe olmaktadır.

b) *C. violaceum* VIR07 QS testi: C12 AHL molekülünde (1: ¹B29, 2: ¹B28, 3: ¹Z50, 4: ¹Z51, +: vanilya) kuyucukların hepsinin etrafında inhibisyon görülmektedir.

6.3.2. Spektrofotometrik Test Sonuçları

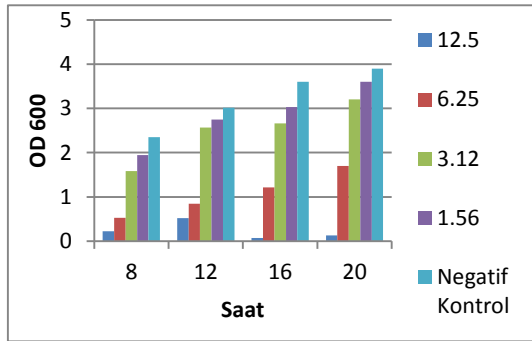
C. violaceum ATCC 12472 ve *C. violaceum* ATCC 31532 suşlarında kalitatif yöntem ile tespit edilen QS etkili maddeler kantitatif (spektrofotometrik) yöntem ile test edilmiştir ve sonuçlar Tablo 6-17 ve şekil 11-22’de gösterilmiştir.

Tablo 6. *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B28 maddesinin etkisi. ¹B28 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*’un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

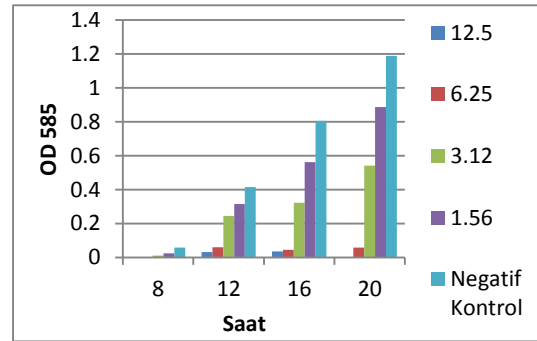
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 12472 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	B28 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	B28 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.223	0.525	1.583	1.941	2.351	8	0	0	0.011	0.023	0.057
12	0.521	0.846	2.556	2.748	3.018	12	0.031	0.06	0.245	0.314	0.415
16	0.071	1.216	2.657	3.031	3.6	16	0.035	0.045	0.322	0.562	0.805
20	0.127	1.695	3.2	3.6	3.9	20	0	0.058	0.54	0.886	1.188

a

b



a



b

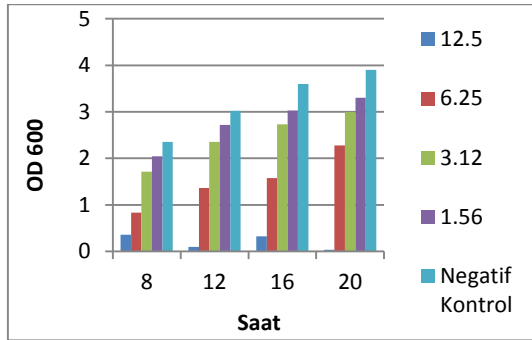
Şekil 11. *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B28 maddesinin etkisi. ¹B28 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*’un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 7. *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B29 maddesinin etkisi. ¹B29 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

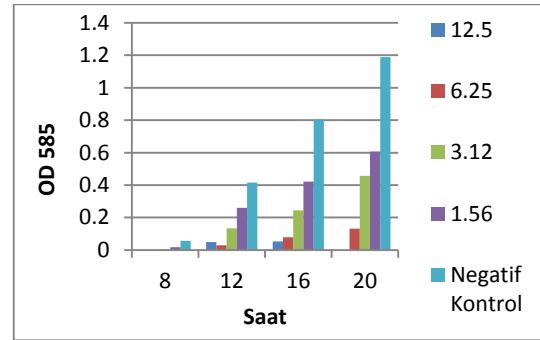
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 12472 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	B29 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	B29 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.36	0.834	1.714	2.04	2.351	8	0	0	0.003	0.017	0.057
12	0.97	1.359	2.356	2.718	3.018	12	0.049	0.029	0.134	0.259	0.415
16	0.322	1.576	2.73	3.03	3.6	16	0.052	0.078	0.244	0.422	0.805
20	0.032	2.279	2.992	3.3	3.9	20	0	0.131	0.457	0.606	1.188

a

b



a



b

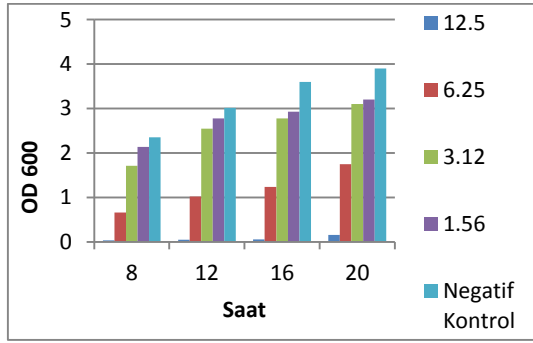
Şekil 12. *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B29 maddesinin etkisi. ¹B29 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 8. *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹Z50 maddesinin etkisi. ¹Z50 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

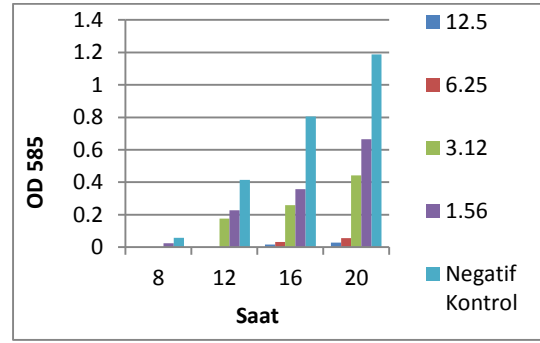
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 12472 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	Z50 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	Z50 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.034	0.662	1.711	2.139	2.351	8	0	0	0	0.023	0.057
12	0.048	1.019	2.548	2.775	3.018	12	0	0	0.175	0.227	0.415
16	0.056	1.234	2.781	2.926	3.6	16	0.017	0.032	0.259		0.805
20	0.157	1.744	3.1	3.2	3.9	20	0.028	0.056	0.442		1.188

a

b



a



b

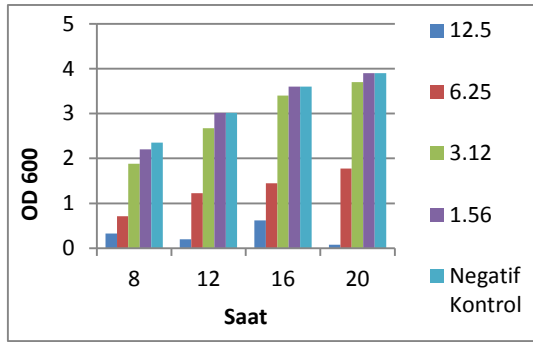
Şekil 13. *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹Z50 maddesinin etkisi. ¹Z50 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 9. *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹Z51 maddesinin etkisi. ¹Z51 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

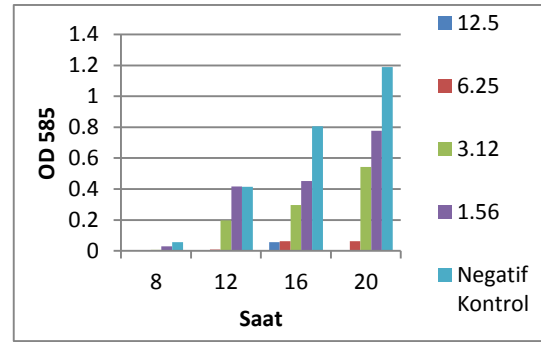
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 12472 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	Z51 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	Z51 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.327	0.713	1.885	2.206	2.351	8	0	0	0.006	0.03	0.057
12	0.202	1.225	2.675	3.012	3.018	12	0.003	0.009	0.198	0.417	0.415
16	0.621	1.449	3.4	3.6	3.6	16	0.057	0.062	0.296	0.451	0.805
20	0.08	1.778	3.7	3.9	3.9	20	0	0.062	0.544	0.776	1.188

a

b



a



b

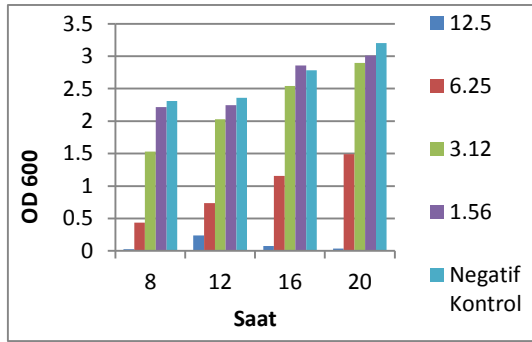
Şekil 14. *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹Z51 maddesinin etkisi. ¹Z51 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 10. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B28 maddesinin etkisi. ¹B28 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

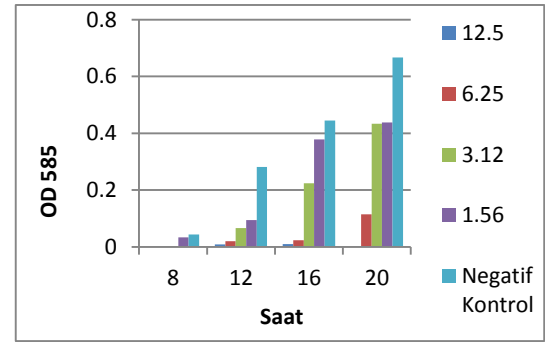
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 31532 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	B28 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	B28 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.026	0.434	1.532	2.216	2.308	8	0	0	0	0.034	0.044
12	0.238	0.736	2.03	2.243	2.361	12	0.009	0.02	0.066	0.094	0.281
16	0.074	1.158	2.543	2.856	2.783	16	0.01	0.023	0.224	0.379	0.445
20	0.038	1.491	2.895	3.01	3.2	20	0	0.115	0.434	0.438	0.667

a

b



a



b

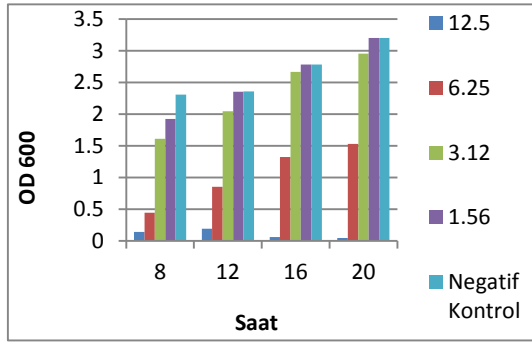
Şekil 15. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B28 maddesinin etkisi. ¹B28 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 11. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B29 maddesinin etkisi. ¹B29 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

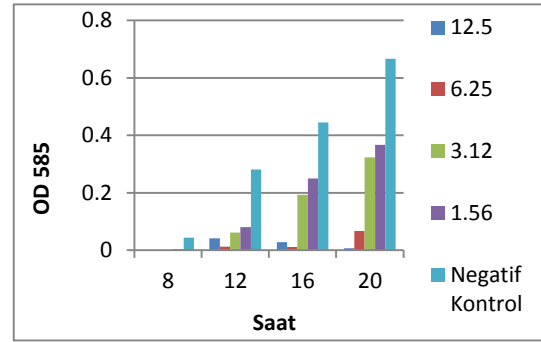
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 31532 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	B29 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	B29 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.141	0.445	1.613	1.924	2.308	8	0	0	0	0.004	0.044
12	0.192	0.855	2.047	2.355	2.361	12	0.141	0.013	0.062	0.08	0.281
16	0.06	1.323	2.666	2.783	2.783	16	0.028	0.012	0.193	0.25	0.445
20	0.048	1.531	2.956	3.2	3.2	20	0.007	0.067	0.323	0.367	0.667

a

b



a



b

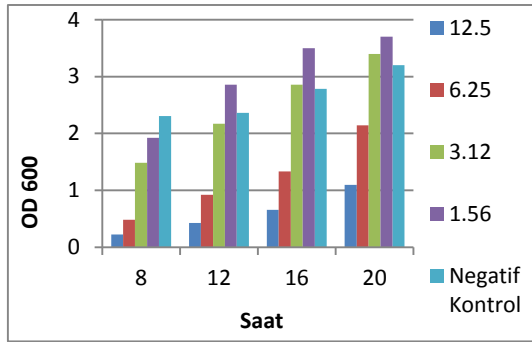
Şekil 16. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B29 maddesinin etkisi. ¹B29 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo12. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹Z50 maddesinin etkisi. ¹Z50 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

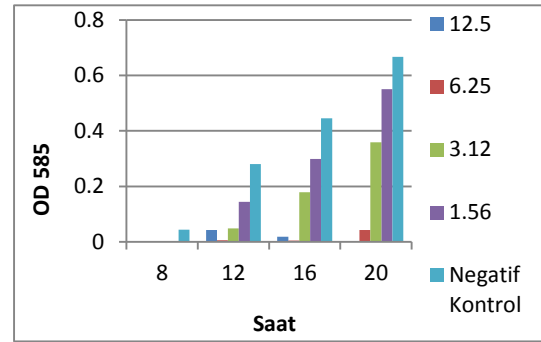
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 31532 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	¹ Z50 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	¹ Z50 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.225	0.48	1.486	1.926	2.308	8	0	0	0	0	0.044
12	0.428	0.922	2.169	2.856	2.361	12	0.043	0.006	0.049	0.144	0.281
16	0.658	1.33	2.855	3.5	2.783	16	0.018	0.004	0.179	0.299	0.445
20	1.095	2.143	3.4	3.7	3.2	20	0	0.043	0.359	0.551	0.667

a

b



a



b

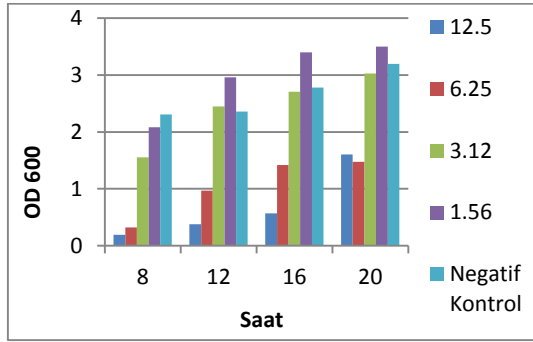
Şekil 17. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹Z50 maddesinin etkisi. ¹Z50 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 13. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹Z51 maddesinin etkisi. ¹Z51 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

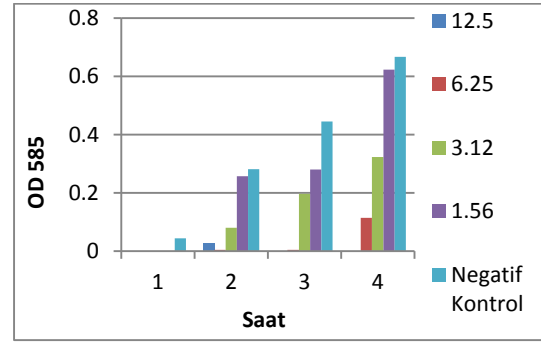
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 31532 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	¹ Z51 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	¹ Z51 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.195	0.321	1.555	2.081	2.308	8	0	0	0	0	0.044
12	0.376	0.967	2.448	2.959	2.361	12	0.026	0.004	0.08	0.257	0.281
16	0.57	1.419	2.71	3.4	2.783	16	0	0.004	0.197	0.28	0.445
20	1.604	1.476	3.03	3.5	3.2	20	0	0.114	0.323	0.623	0.667

a

b



a



b

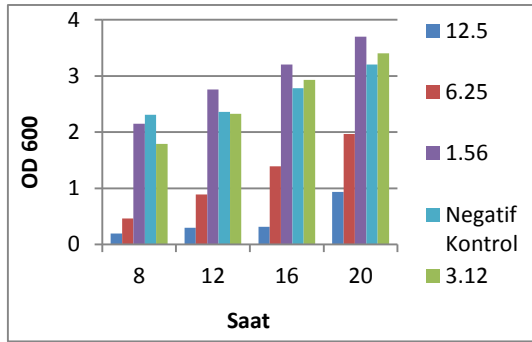
Şekil 18. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹Z51 maddesinin etkisi. ¹Z51 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 14. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B48 maddesinin etkisi. ¹B48 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

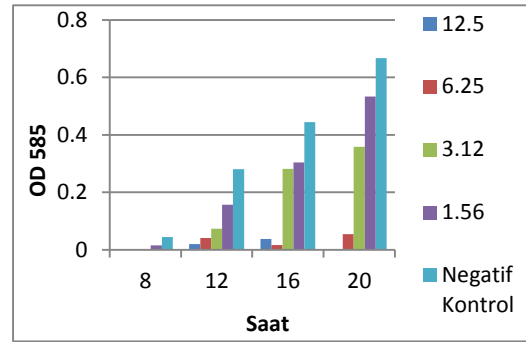
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 31532 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	¹ B48 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	¹ B48 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.197	0.461	1.788	2.147	2.308	8	0	0	0	0.016	0.044
12	0.301	0.889	2.324	2.761	2.361	12	0.02	0.041	0.073	0.157	0.281
16	0.314	1.391	2.927	3.2	2.783	16	0.038	0.017	0.282	0.304	0.445
20	0.937	1.968	3.4	3.7	3.2	20	0	0.054	0.359	0.534	0.667

a

b



a



b

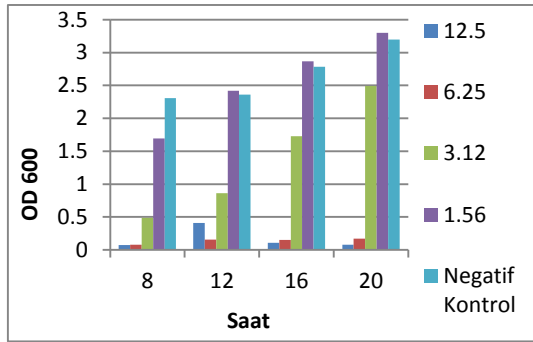
Şekil 19. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ¹B48 maddesinin etkisi. ¹B48 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 15. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ²M1 maddesinin etkisi. ²M1 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

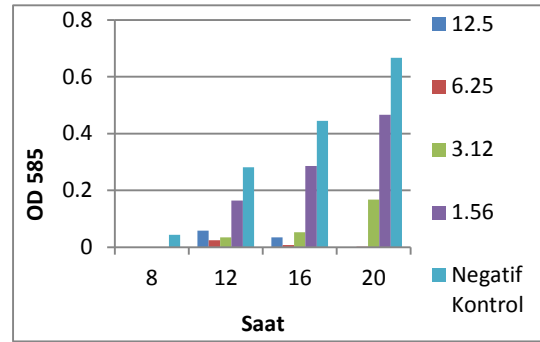
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 31532 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	² M1 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	² M1 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.073	0.078	0.488	1.692	2.308	8	0	0	0	0	0.044
12	0.41	0.156	0.86	2.419	2.361	12	0.058	0.024	0.035	0.164	0.281
16	0.106	0.153	1.726	2.868	2.783	16	0.034	0.007	0.052	0.286	0.445
20	0.077	0.169	2.492	3.3	3.2	20	0	0.002	0.168	0.466	0.667

a

b



a



b

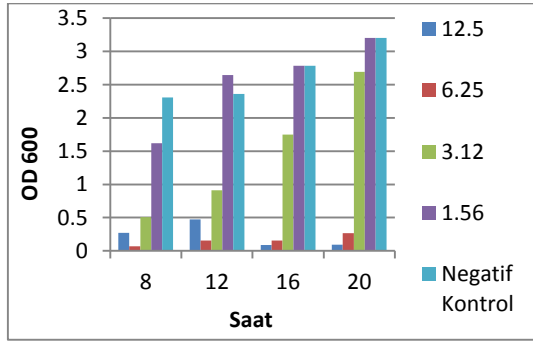
Şekil 20. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ²M1 maddesinin etkisi. ²M1 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 16. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ²M2 maddesinin etkisi. ²M2 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

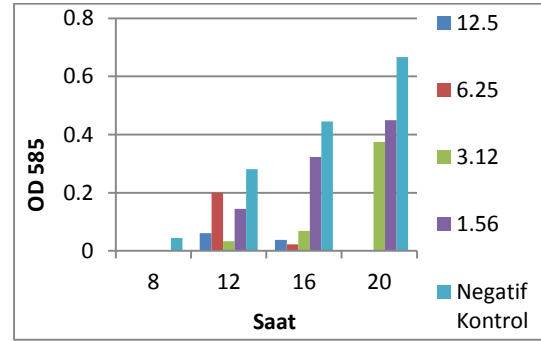
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 31532 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	² M2 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	² M2 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.27	0.068	0.506	1.618	2.308	8	0	0	0	0	0.044
12	0.474	0.155	0.91	2.641	2.361	12	0.061	0.2	0.033	0.144	0.281
16	0.09	0.154	1.746	2.782	2.783	16	0.038	0.022	0.069	0.323	0.445
20	0.094	0.266	2.693	3.2	3.2	20	0.001	0	0.375	0.45	0.667

a

b



a



b

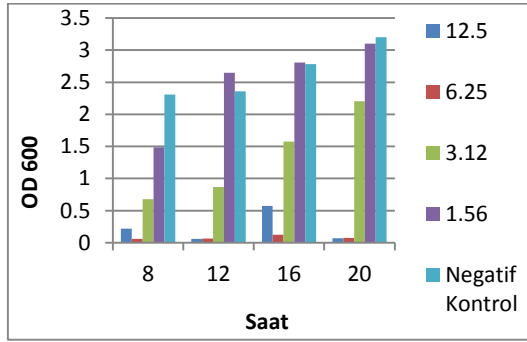
Şekil 21. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ²M2 maddesinin etkisi. ²M2 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

Tablo 17. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ²M3 maddesinin etkisi. ²M3 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üreme değerleri (b) viyolasin üreme değerleri

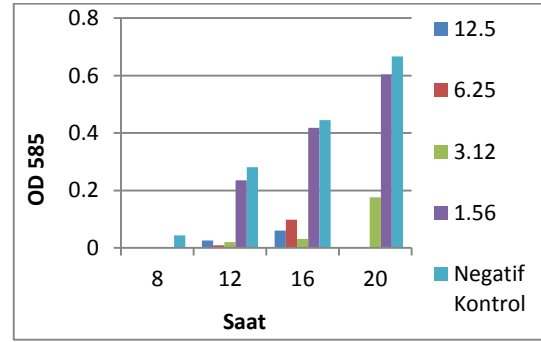
OD 600 nm (<i>C. violaceum</i> ATCC 31532 üremesi)						OD 585 nm (Viyolasin konsantrasyonu)					
saat	² M3 konsantrasyonu (µg/ml)					saat	² M3 konsantrasyonu (µg/ml)				
	12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol		12.5	6.25	3.12	1.56	Negatif Kontrol
8	0.219	0.058	0.676	1.485	2.308	8	0	0	0	0	0.044
12	0.06	0.063	0.867	2.648	2.361	12	0.026	0.009	0.021	0.235	0.281
16	0.574	0.125	1.573	2.806	2.783	16	0.061	0.099	0.032	0.418	0.445
20	0.066	0.072	2.206	3.1	3.2	20	0	0	0.176	0.604	0.667

a

b



a



b

Şekil 22. *C. violaceum* ATCC 31532 suşunun üremesine ve viyolasin üretimine ²M3 maddesinin etkisi. ²M3 kodlu maddenin 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 µg/ml konsantrasyonlarında (a) *C. violaceum*'un üremesine etkisi (b) viyolasin üretimine etkisi

7. SONUÇLAR

Eylül 2014 - Haziran 2015 tarihleri arasında 15 bakterive 2 maya suşu üzerine 176 sentetik kimyasal madde ve 7 doğal ekstraktın antimikrobiyal ve anti quorum sensing aktivitelerini belirlemek amacı ile yaptığımız çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Piperazin, norfloksasin, tiyomorfolin ve siprofloksasin türevi 14 maddenin *B. subtilis*'e, 13 maddenin *E. coli*, *S. Typhimurium*, *C. violaceum* ATCC 12472 ve *C. violaceum* ATCC 31532 suşlarına, 11 maddenin *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. haemolyticus*, *E. aerogenes*, ve *K. pneumoniae*'ye karşı antibakteriyel aktivitesi tespit edildi.
2. Piperazin, tiyomorfolin ve siprofloksasin türevi 7 maddenin *E. faecalis*'e, piperazin, norfloksasin, tiyomorfolin ve siprofloksasin türevi 6 maddenin *L. monocytogenes* ve piperazin, sefalosporin, tiyomorfolin ve siprofloksasin türevi 6 maddenin *P. mirabilis*'e karşı antibakteriyel aktivitesi tespit edildi.
3. Test edilen kimyasal türevlerin hiçbirisi *C. albicans* ve *C. parapsilosis* suşlarına karşı anti maya etkisi göstermedi.
4. Test edilen doğal ekstraktların hiçbirinde antimikrobiyal aktivite saptanmadı.
5. Sefalosporin, penisilanik asit ve tiyomorfolin türevi 4 maddede *C. violaceum* ATCC 12472 suşuna karşı anti QS aktivite saptandı.
6. Sefalosporin, penisilanik asit ve tiyomorfolin türevi 5 maddede vesemi-sentetik cumin ekstresi 3 maddede *C. violaceum* ATCC 31532 suşuna karşı anti QS aktivite gözlemlendi.
7. *C. violaceum* ATCC 12472 ve *C. violaceum* ATCC 31532 suşlarında bir doğal ekstraktın (vanilya) anti-QS aktivitesi belirlendi.
8. *C. violaceum* VIR07 suşunda C12 AHL molekülü varlığında 4 kimyasal sefalosporin, penisilanik asit, tiyomorfolin türevli maddede anti QS aktivitesi gözlemlendi.
9. *C. violaceum* CV026 suşunda C6 molekülü varlığında 8 madde ve C7 molekülü varlığında 5 sefalosporin, penisilanik asit, tiyomorfolin, semi-sentetik cumine ekstraktı türevli maddede anti QS aktivitesi tespit edildi.

8. TARTIŞMA

Günümüzde antibiyotiklere karşı gelişen direnç dünyada önemli bir sorun olmaktadır. Ayrıca ilaçlara karşı kazanılan dirençle gelişen hastane enfeksiyonları hastanelerde kalış süresini artırmakla birlikte ölüm oranını da artırmaktadır ve ayrıca fazla ek maliyete neden olmaktadır (75).

Doğru ve uygun antibiyotik seçimi tedavinin en etkili temelidir. Bu nedenle klinik duruma göre enfeksiyon etkeni mikroorganizmaya en yüksek etkinliği olan ve bunun yanı sıra en az yan etki gösteren, en ucuz ve dar spektrumlu ilacın seçilmesi amaçlanmalıdır (76).

Antibiyotiklere karşı gelişen direncin her geçen gün artışı ile beraber bu direnci önlemek için tıp uygulamaları ve özellikle antimikrobiyal duyarlılık testlerin uygulanması klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının önemli faaliyetleri arasında yer almaktadır.

Bu çalışmada farklı türevlerden olan kimyasal maddelerin ve doğal ekstraktların test mikroorganizmalarında antimikrobiyal ve anti QS aktivite testleri yapıldı ve piperazin, sefalosporinik asit, norfloksasin, penisilanik asit, tiyomorfolin, siprofloksasin türevlerinden ve semisentetik cumin ekstraktlarından olan maddelerin bazılarında önemli ölçüde aktivite görüldü.

Piperazin bir kimyasal madde olarak yıllardır farklı antihelmint ilaçlarda ve piperacillin ve oxazolidinone gibi antibiyotiklerde önemli bir bileşik olarak kullanılmaktadır (77, 78). Bu maddenin MİK değeri *E. coli* suşu için EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) tarafından 2 µg/ml olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada piperazin türevinden olan ¹A8 maddesi 0.02 µg/ml ve ¹A9 maddesi 0.09 µg/ml MİK değerleriyle *E. coli* ATCC 25922 suşunda daha iyi bir antibakteriyel etki göstermiştir.

Bu maddenin MİK değeri *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *S. Typhimurium* suşları için EUCAST tarafından 8 µg/ml olarak kabul edilmektedir (79). Bu çalışmada ise ¹A8 maddesi bu bakterilerde 0.09 µg/ml MİK değeriyle önemli bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Kharb ve ark. (77) 7-[4-(5-amino-1,3,4 thiadiazole-2-sulfonyl)]-1-piperazinyl fluoroquinolonic türevlerini sentezlemişler ve gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Gram negatiflerde etki saptamamışlardır fakat gram pozitiflerde *S. aureus*, *E. faecalis* ve *Bacillus sp.* türlerine karşı 1-5 µg/ml MİK değerleri ile pozitif etki bulmuşlardır. Bu çalışmada, bu türevden olan ¹A8 ve ¹A9 maddelerinde hem gram negatiflerde hem de gram pozitiflerde antibakteriyel etki bulunmuştur. Ayrıca ¹A8 maddesi *B. Subtilis* ATCC 6633 suşunda 0.09 µg/ml MİK değeriyle daha iyi bir etki göstermiştir.

Tiyomorfolin bir kimyasal bileşik olarak gram pozitif bakterilere karşı linezolid gibi antibakteriyal ilaçlarda bulunmaktadır (80). Ancak bu çalışmada bu türevden olan maddeler hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilerde antibakteriyal etki göstermiştir. Kardile ve ark. (81) tiyomorfolinin farklı türevlerini sentezlemişler ve *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* ve *A. niger*'e karşı antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Onların sonuçları ile karşılaştırıldığında bizim sonuçlarımız hem *S. aureus* hem de *E. coli* için daha geniş bir spektrum göstermektedir.

Norfloksasin bir florokinolon türevinden, gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı kullanılan antibiyotik olarak tanımlanmaktadır (82). Bu çalışmada bu türevden olan maddelerde benzer şekilde gram negatif ve gram pozitif bakterilerde antibakteriyel etki saptanmıştır.

Siprofloksasinde norfloksasin gibi florokinolonların bir türevi olarak gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı kullanılmaktadır (82). Bu çalışmadaki değerler EUCAST tarafından sunulan MİK değerleri ile karşılaştırıldığında *E. coli* suşu hariç diğer suşlarda benzer sonuçlar bulunmuştur.

İnfeksiyon oluşumunda, mikroorganizmaların patojenisitesinde QS sinyallerinin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Sistemik bakteri infeksiyonlarında yapılan araştırmalarda QS moleküllerinin etkilerinden dolayı terapötik bir hedef olarak değerlendirilmesi önem taşımaktadır (83). Bu nedenle alternatif yol olarak QS mekanizması, bakterileri öldürmeksizin onların patojenik özelliklerini kontrol altına almakla, yeni antimikrobiklerin gelişimine yol açmaktadır.

Klasik ilaçlarla yapılan tedavilere göre QS yoluyla oluşan inhibisyon daha avantajlı olabilmektedir. Bu yolla bakteri üzerine yapılan mutasyonlar seleksiyon

oluşturmaktadır ve ilaç direncini azaltabilmektedir. Ayrıca konakta olan diğer bakteri florasına zarar vermeden spesifik olarak sadece tek bir bakteri popülasyonunda etkili olmaktadır. Bu çeşit yaklaşımda bakteri direk öldürülmeyecektir belki ölü bakterilerden salınan toksik lipopolisakaritlerin ortama salınması önlenecektir (84).

Martinelli ve ark. (85) *Streptomyces antibioticus* tarafından üretilen furanonların, *C. violaceum* CV026 suşunda etkili olduğu ve violasin üretiminin %20 oranında azalttığını bulmuşlardır. Bu çalışmada *C. violaceum* CV026 suşunda ¹B29, ¹B48, ¹B28, ¹Z50, ¹Z51, ²M1, ²M2, ²M3 maddeleri anti-QS aktivitesi göstermiştir ve viyolasin üretiminin önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir.

Choo ve ark. (86) yaptıkları çalışmada *C. violaceum* CV026 suşunda vanilya ekstraktının anti-QS aktivitesini spektrofotometrik olarak araştırmışlar ve bu maddenin viyolasin üretiminin azalmasında etkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

Bodini ve ark. (87) sarımsağın anti QS aktivitesini *C. violaceum* suşunda araştırmışlar ve sonuç olarak bu maddenin QS mekanizmasını inhibe ettiğini ve yüksek konsantrasyonda toksik olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada *C. violaceum* ATCC 31532 suşunda ¹B29, ¹B48, ¹B28, ¹Z50, ¹Z51, ²M1, ²M2, ²M3 maddelerinde QS inhibisyonu saptanmıştır. Fakat bu maddelerin hiçbirinde antibakteriyel aktivite gözlenmemiştir.

Truchado ve ark. (88) *C. violaceum* CECT 494 suşuna karşı değişik floralarından kaynaklanan 15 tür balın QS etkisini araştırmışlar ve balın en düşük konsantrasyonunda bile anti QS etkisini gözlemlemişlerdir. Ancak konsantrasyon azalmasına bağlı olarak balın anti QS etkisinde azaldığını saptamışlardır. Bu çalışmada *C. violaceum* ATCC 12472 ve *C. violaceum* ATCC 31532 suşlarında bala benzer madde konsantrasyonuna bağlı olarak viyolasin üretiminin azaldığı görülmüştür.

Musthafa ve ark. (89) *Ananas comosus*, *Musa paradisiaca*, *Manilkara zapoda*, *Ocimum sanctum* bitki türlerini *C. violaceum* ATCC 12472, *C. violaceum* CV026 suşlarında test etmişler ve sonuç olarak bu ekstraktların hiçbirinde antibakteriyel aktivite tespit etmemişlerdir. Ancak *O. sanctum*, *A. comosus*, *M. paradisiaca* ve *M. zapoda* türlerinin sırasıyla % 94.98, % 89.22, 89.54 ve % 90.28 oranlarında viyolasin üretimini azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışmada benzer şekilde *C. violaceum* ATCC

12472 ve *C. violaceum* ATCC 31532 maddelerin hiçbirinde antibakteriyel aktivite tespit edilmeden sadece viyolasin üretiminde azalmasıyla QS inhibisyonları gözlenmiştir.

Eriş ve ark. (18) yaptıkları araştırmada *C. violaceum* ATCC 12472, *C. violaceum* VIR07, *C. violaceum* CV026 suşlarında çevreyi algılama sistemi ile üretimi kontrol edilen viyolasin pigmenti üzerine gül suyu, gül yağı, absölüt örneklerinin QS etkisini araştırmışlar ve gül yağı ve absölütün bu suşlarda çevreyi algılama inhibitörü olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada *C. violaceum* ATCC 12472, *C. violaceum* VIR07 suşlarında ¹B29, ¹B28, ¹Z50, ¹Z51 maddelerinin anti QS aktivitesi bulunmuştur. Ayrıca *C. violaceum* CV026 suşlarında ¹B29, ¹B48, ¹B28, ¹Z50, ¹Z51, ²M1, ²M2, ²M3 antibakteriyel aktivitesi olmaksızın sadece pigment üretiminin engellendiği ortaya çıkmıştır.

Çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, bazı maddelerin düşük MİK değerlerinden dolayı yeni antibakteriyel maddelerin geliştirilmesinde kullanıma potansiyelleri mevcuttur. Ayrıca, bu çalışmada anti QS etkileri ilk kez ortaya konan maddelerin de ileride yapılacak çalışmalarda değerlendirilmesi önerilmektedir.

9. KAYNAKLAR

1. Hancock REW (2007). The end of an era? Nat. Rev. Drug Discov6:26.
2. Katz ML, Mueller LV, Polyakov M, Weinstock SF (2006). Where have all the antibiotic patents gone? Nat. Biotechnol 24: 1529–1531.
3. Alanis AJ (2005). Resistance to antibiotics: a rewe in the post-antibiotic era? Archives of Medical Research 36: 697-705.
4. Tanış H, Aygan A, Dıgrak M (2009). Antimicrobial Activity of Four Nigella Species Grown in Southern Turkey. International Journal of Agriculture & Biology11: 771-774.
5. Saran B, Karahan ZC (2010). Antimikrobiyal ajanlara genel bakış. Türk Üroloji Seminerleri1: 216-220.
6. Koç Türkoğlu F (2008). Pediatri Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi ve Tutumlarının Araştırılması. Uzmanlık tezi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, İstanbul.
7. Fuqua C, Winans SC, Greenberg EP (1994). Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of celldensity-responsive transcriptional regulators. The Journal of Bacteriology 176: 269–275.
8. Akova M (2005). Bakteriler arası iletişimin engellenmesi: umut vadeden yeni bir antibakteriyel tedavi yaklaşımı. Ankem Dergisi 19(Ek 2): 126-128.
9. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi. (2015) [online]. Available from: <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeKardes.aspx?F6E10F8892433CFFA79D6F5E6C1B43FF10CC3F7A155F5A36>
10. Aktuğlu Y (1997). Pratikte Antibiyotik Kullanımı. Sempozyum dizisi yayın No: 1, s; 11–53.
11. Chambers FH (2001). Antimicrobial Agents. Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th ed. Çeviren: Goodman LS and Gilman A. Mc Graw-Hill Company, USA, 1143-1169.
12. World Health Organization (2014). Antimicrobial Resistance Global Report on surveillance; available from: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>

13. Demain AL, Sanchez S (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The Journal of Antibiotics* 62: 5–16.
14. Walsh CT, Wencewicz TA (2014). Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective. *The Journal of Antibiotics* 67: 7–22.
15. Özgüneş İ(2005). Akılcı Antibiyotik Kullanımında Hastane Pratiğinde Sorunlar. *Ankem Dergisi*, 19(Ek 2): 185-189.
16. Akalın H (2011). Antimikrobiyal direnç ve önleme politikaları. *Ankemdergisi* 25 (3): 190-195.
17. Rasmussen TB, Givskov M (2006). Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology* 152: 895-904.
18. Eriş R (2011). Gül(*Rosa Damascena* Mill.) Yağı Absolutü Ve Gül Suyunun *Chromobacterium Violaceum* ATCC 12472, CV026 ve CVIR07 Suşlarının Çevreyi Algılama Sistemleri (Quorum Sensing) Üzerine Etkisinin Araştırılması. Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
19. Açıkgöz E (2012). Quorum Quenching. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi* TR. 2: 27.
20. Göze EY (2009). Çeşitli Bitki Ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa*'da Çevreyi Algılama Sistemi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
21. Miller MB, Bassler BL (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 55: 165-199.
22. Taga ME (2007). Bacterial Signal Destruction. *ACS Chemical Biology* 2(2): 89–92.
23. Avcı MK (2008). *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*' a Ait Quorum Sensing Sinyal Moleküllerinin *Lactococcus lactis*'in Nisin Üretimi Üzerine Etkisi (Quorum Sensing Cross-Talk Analizi). Yüksek lisans tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Fakültesi, Gebze.
24. Eberhard A, Burlingame AL, Eberhard C, Kenyon GL, Nealson KH, Oppenheimer NJ (1981). Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. *Biochemistry* 20(9): 2444-9.

25. McGowan S, Sebahia M, Jones S, YB, Bainton N, Chan PF, Bycroft B, Stewart GS, Williams P, Salmond GP (1995). Carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora* is regulated by CarR, a homologue of the LuxR transcriptional activator. *Microbiology* 141: 541-50.
26. Rahme LG, Cao FM, Drenkard E, Goumnerov BC, Lau GW, Miklos SM, Plotnikova J, Tan MW, Tsongalis J, Walendziewicz CL, Tompkins RG (2000). Plants and animals share functionally common bacterial virulence factors. *PNAS* 97(16): 8815–8821
27. Gooderham WJ, Hancock REW (2008). Regulation of virulence and antibiotic resistance by two-component regulatory systems in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Rev* 33: 279–294
28. Uroz S, Dessaux Y, Oger P (2009). Quorum sensing and Quorum Quenching: The Yin and Yang of Bacterial Communication. *Chem Biochem* 209: 205-216.
29. Finch RG, Pritchard DI, Bycroft BW, Stewart GS (1998). Quorum sensing- A novel target for antiinfective therapy. *Antimicrob Chem* 42: 569-571.
30. Zhao Ge, Usui ML, Lippman SI, James GA, Stewart PS, Fleckman P, Olerud JE (2013). Biofilms and inflammation in chronic wounds. *Advances in wound care*: 2(7).
31. Tepeli EÇ (2009). *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Biyofilm Yapımının ve Quorum Sensing’de Rol Alan Genlerin Araştırılması. Uzmanlık tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
32. Lazazzera BA (2001). The intracellular function of extracellular signaling peptides. *Peptides* 22: 1519–1527.
33. Williams P, Winzer K, Chan W, Camara M. (2007). Look who’s stalking: communication and quorum sensing in the bacterial world. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 362: 1119–1134.
34. Engin ED (2008). Antibiyotik Etki Mekanizmalarında "Quorum Sensing"’in Rolü. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
35. Schauder S, Bassler BL (2001). The languages of bacteria. *Genes & Development* 15: 1468-1480.

36. Nurcan N (2010). Bazı Gram-Negatif Bakteriyel Balık Patojenlerinde Çevreyi Algılama Sisteminin İncelenmesi. Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
37. Czajkowski R, Jafra S (2009). Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. *Acta Biochimica Polonica* 56: 1-16.
38. Xavier KB, Bassler BL (2003). LuxS quorum sensing: more than just a numbers game. *Current Opinion in Microbiology* 6: 191–197.
39. Saraçlı MA (2006). "quorum sensing": mikroorganizmalar iletişim mi kuruyor?. *Gülhane Tıp Dergisi* 48: 244-250.
40. Rasmussen TB, Bjarnsholt T, Skindersoe ME, Hentzer M, Kristoffersen P, Kote M, Nielsen J, Eberl L, Givskov M (2005). Screening for quorum-sensing inhibitors (qsi) by use of a novel genetic system, the qsi selector. *J Bacteriol* 187: 1799-1814.
41. Hoang TT, Schweizer HP (1999). Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* enoyl-acyl carrier protein reductase (FabI): a target for the antimicrobial triclosan and its role in acylated homoserine lactone synthesis. *Journal of bacteriology* 181(17): 5489–5497.
42. Yılmaz Z (2012). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Çeşitli Antibiyotiklerin "Quorum Sensing'e Ve Virulans Faktörleri Üretimine İnhibitör Etkisinin Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
43. Givskov M, Rocky DE NYS, Manefield M, Gram L, Maximilien R, Eberl L, Molin S, Steinberg PD, Kjelleberg S (1996). Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. *Journal of bacteriology* 178(22): 6618–6622.
44. Consortium U (2015). Taxonomy- *Chromobacterium violaceum* [online]. Available from: <http://www.uniprot.org/taxonomy/243365>[Erişim:02.02.2014].
45. Antony M, Ashiq M, Salim S, PA S, Nair IC, Jayachandran K (2013). Inhibition of violacein synthesis in *chromobacterium violaceum* dsts-1 mutant. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research* 4: 151-157.

46. Yang CH, Li YH (2011). *Chromobacterium violaceum* infection: A clinical review of an important but neglected infection. Journal of the Chinese Medical Association 74: 435-441.
47. Karthik R, Pancharatnam P, Balaji V (2012). Fatal *Chromobacterium violaceum* septicemia in a South Indian adult. *J Infect Dev Ctries* 6(10): 751-755.
48. Campbell JI, Lan NPH, Qui PT, Dung LT, Farrar JJ, Baker S (2013). A successful antimicrobial regime for *Chromobacterium violaceum* induced bacteremia. *BMC Infectious Diseases* 13: 4.
49. Özdemir A, Turan-Zitouni G, Kaplancıklı ZA, İşcan G, Khan S, Demirci F (2010). Synthesis and the selective antifungal activity of 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a] pyridine derivatives. *Eur J Med Chem* 45: 2080–2084.
50. Fang B, Zhou CH, Rao XC (2010). Synthesis and biological activities of novel amine-derived bis-azoles as potential antibacterial and antifungal agents. *Eur J Med Chem* 45: 4388-4398.
51. Roy B, Chakraborty A, Ghosh SK, Basak A (2009). Design Synthesis and Bioactivity of Catechin / Epicatechin and 2-Azetidinone Derived Chimeric Molecules. *Bioorg Med Chem Lett* 19: 7007–7010.
52. Akgün H, Balkan A, Bilgin AA, Çalış Ü, Gökhan N, Dalkara S, Erdoğan H, Erol D, Ertan M, Özkanlı F, Palaska E, Saraç S, Şafak C, Tozkoparan B (2004). *Farmasötik Kimya. Hacettepe Üniversitesi Yayınları*.
53. Aktuğlu Y (2002). Geçmişten Günümüze Antibiyotikle. *Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar*. 31: 9-22.
54. Blizzard TA, Chen H, Kim S, Wu J, Young K, Park YW, Ogawa A, Raghoobar S, Painter RE, Hairston N, Lee SH, Misura A, Felcetto T, Fitzgerald P, Sharma N, Lu J, Ha S, Hickey E, Hermes J, Hammond M (2010). Side chain SAR of bicyclic β -lactamase inhibitors (BLIs). Discovery of a class C BLI for combination with imipinem, *Bioorg Med Chem* 20: 918–921.
55. Çetin ET (1986). Betalaktam antibiyotikler. *Kükem Derg* S104-112.
56. Montesissa C, Villa R, Anfossi P, Zanoni R, Carli S (2003). Pharmacodynamics And Pharmacokinetics Of Cefoperazone And Cefamandole In Dods Following Single Dose Intravenous And Intra muscular Administration 166(2): 170-6.

57. Das B, Rudra S, Yadav A, Ray A, Rao AVSR, Srinivas ASSV, Saini S, Shukla S, Pandya M, Bhateja P, Malhotra S, Mathur T, Arora S K, Rattan A , Metha A (2005). Synthesis and SAR of novel oxazolidinones: Discovery of ranbezolid. *Bioorg Med Chem* 15: 4261-7.
58. Cecchetti V, Schiaffella F, Tabarrini O, Fravolini A (2000). (1,4-Benzothiazinyloxy) alkyl piperazine derivatives as potential anti hypertensive agents. *Bioorg Med Chem* 10(5): 465-8.
59. Austin H, Monasterio E (2004). Acute psychosis following ingestion of 'Rapture'. *Australas Psychiatry* 12(4): 406-8.
60. Blondeau JM (1999). A review of the comparative in-vitro activities of 12 antimicrobial agents, with a focus on five new respiratory quinolones. *J Antimicrob Chemother* 43 suppl B:1-11.
61. Davis R, Makham A, Balfour JA (1999). Therapeutic efficacy and tolerability. ciprofloxacin: an update review of its pharmacology, 51: 1019.
62. Maruyama T, Yamamoto Y, Kano Y, Kurazono M, Shitara S, Iwamatsu K, Atsumi K (2009). Synthesis of novel di- and tricationic carbapenems with potent anti-MRSA activity. *Bioorg Med Chem Lett* 19: 447–450.
63. Foroumadi A, Emami S, Hassanzadeh A, Rajaee M, Sokhanvar K, Moshafib MH, Shafiee A (2005). Synthesis and antibacterial activity of N-(5-benzylthio-1,3,4-thiadiazol-2-yl) and N-(5-benzylsulfonyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl) piperazinyl quinolone derivatives. *Bioorg Med Chem* 15 (20):4488-4492.
64. Foroumadi A, Emami S, Mehni M, Moshafic MH, Shafieea A (2005). Synthesis and anti bacterial activity of N-[2-(5-bromothiophen-2-yl)-2-oxoethyl] and N-[(2-5-bromothiophen-2-yl)-2-oximinoethyl] derivatives of piperazinyl quinolones. *Bioorg Med Chem* 15: 4536-4539.
65. Dixit PP, Patil VJ, Nair PS, Jain S, Sinha N, Arora SK (2006). Synthesis of 1-[3-(4-benzotriazol-1/2-yl-3-fluoro-phenyl)-2-oxo-oxazolidin-5-ylmethyl]-3-substituted-thiourea derivatives as antituberculosis agents. *Eur J Med Chem* 41: 423-428.

66. Başoglu S, Yolal M, Demirbaş A, Bektaş H, Abbasoglu R, Demirbaş N (2012). Synthesis of linezolid-like molecules and evaluation of their antimicrobial activities. *Turk J Chem* 36: 37-53.
67. Bektaş H, Ceylan Ş, Demirbaş N, Karaoğlu A, Sökmen B (2013). Antimicrobial and anti urease activities of newly synthesized morpholine derivatives containing an azole nucleus. *Med Chem Res* 22: 3629–3639.
68. Torres M, Romero M, Prado S, Dubert J, Tahrioui A, Otero A, Llamas I (2013). N-acyl homoserine lactone degrading bacteria isolated from hatchery bivalvelarval cultures. *Microbiological Research* 168: 547-554.
69. Clinical and Laboratory Standards Institute (2013). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M 100-S23, Wayne, PA/USA.
70. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2014). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameter. [online]. Available from: <http://www.eucast.org>. 3.
71. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A7, Wayne, PA/USA.
72. McLean RJC, Pierson LS, Fuquac C. (2004). A simple screening protocol for the identification of quorum signal antagonists. *Journal of Microbiological Methods* 58: 351– 360.
73. Hoonkoh K, Them FY (2009). Screening of traditional chinese medicinal plante for quorum-sensing inhibitors activity. Department of Natural Sciences and Science Education, Nanyong Technological University, Singapore, Singapore.
74. Choo JH, Rukayadi Y, Hwang JK (2005). Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract. *Letters In Applied Microbiology* 42: 637-642.
75. Candevir A (2005). Hastanemiz Yoğun Bakımlarında Gelişen Bakteriyemilerde Etkenler ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana.
76. Ulusoy S (1999). Antibiyotikler. Solunum sistemi enfeksiyonları. *Toraks Dergisi Yayınları*, s.125-163.

77. Kharb R, Bansal K, Sharma AK (2012). A valuable in sight in to recent advances on antimicrobial activity of piperazine derivatives. *Der Pharma Chemica*, 4(6): 2470-2488 [online]. Available from : <http://derpharmachemica.com/archive.html>.
78. Doktor sitesi. (2015) [online]. Available from:<http://www.doktorsitesi.com/ilac-rehberi/piperazin-ve-turevleri>.
79. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2015) Break point tables for interpretation of MICs and zone diameters [online]. Available from: <http://www.eucast.org>
80. Yana SH, Millera MJ, Wencewicza TA, Möllmannb U (2010). Syntheses and antibacterial activity studies of new oxazolidin ones from nitro so Diels–Alderchemistry. *Bioorg Med Chem Lett*. 1: 20(3): 1302. [online]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X0901419X#>
81. Kardile DP, Kalyane NV (2010). Synthesis and biological evaluation of thiomorpholine derivatives used as a potent biological agents. *International Journal of Biopharmaceutics* 1(2): 92-99.
82. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2015). [online]. Available from: <http://www.eucast.org/documents/rd/>
83. Özkütük A (2007). Mantarlarda “Quorum Sensing” molekülleri ve biyofilmler. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
84. Ni N, Li M, Wang J, Wang B (2009). Inhibitors and Antagonists Of Bacterial Quorum Sensing. *Med Res Rev* 29:65-124.[online]. Available from:<http://dx.doi.org/10.1002/med.20145> PMID:18956421
85. Martinelli D, Grossman G, Sequin U, Brand H, Bachofen R (2004). Effects of Natural and Chemically Synthesized Furanones On Quorum Sensing In *Chromobacterium violaceum*. *BMC Microbiology* 4: 25, 1-10.
86. Choo JH, Rukayadi Y, Hwang JK (2006). Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract. *Letters in Applied Microbiology* 42: 637-641.
87. Bodini SF, Manfredini S, Epp M, Valentini S, Santori F (2009). Quorum sensing inhibition activity of garlic extract and p-coumaric acid. *Letters in Applied Microbiology* 49: 551-555.

88. Truchado P, Lopez-Galvez F, Gil MI, Tomas-Barberan FA, Allende A (2009). Quorum Sensing Inhibitory and Antimicrobial Activities of Honeys And The Relationship With Individual of Phenolics. Food Chemistry 115: 1337-1344.
89. Musthafa KS, Ravi AV, Annapoorani A, Pacikavathy SV, Pandian SK (2010). Evaluation of anti-quorum sensing activity of edible plants and fruits through inhibition n-acyl-homoserine lactone system in *chromobacterium violaceum* and *pseudomonas aeruginosa*. Chemotherapy 56: 333-339.

10. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı :HAMIDI, Sanaz
Uyruğu : İran
Doğum tarihi ve yeri :06/09/1989
Medeni hali : Bekar
E-posta : sanazhamidi99@gmail.com
Yazışma adresi : KTÜ SABE Tıbbi Mikrobiyoloji AD

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurum Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	KTÜ SABE Tıbbi Mikrobiyoloji AD	2015
Lisans	Lahijan Azad İslami Üniversitesi	2011
Lise	Farhang Lisesi	2006
Yabancı Dil	İngilizce	