

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**PERİLENDİİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞAFAK YAĞAN

BALIKESİR, OCAK 2014

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**PERİLENDİİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞAFAK YAĞAN

BALIKESİR, OCAK 2014

KABUL VE ONAY SAYFASI

Şafak YAĞAN tarafından hazırlanan "**PERİLENDİİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYALAKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI**"adlı tez çalışmasının savunma sınavı 20.01.2014 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Funda YÜKRÜK



Üye

Prof. Dr. Gülhan VARDAR ÜNLÜ



Üye

Yrd. Doç. Dr Arzu GÜMÜŞ PALABIYIK



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu tez BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Cihan Özgür

Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından 2012/54 ve 2009/40 nolu projeler ile desteklenmiştir.

ÖZET

**PERİLENDİİMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ŞAFAK YAĞAN
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: YRD. DOÇ. DR. FUNDA YÜKRÜK)
BALIKESİR, OCAK 2014**

Perilen ve türevlerinin kimya endüstrisindeki rolü ve farklı kanser türleri üzerindeki terapötik etkinlikleri dışında antimikrobiyal etkilerinin de olduğu çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu çalışmada kullanılan perilendiimidlerin antimikrobiyal aktivite göstermesi, daha önce hedefe özgün ilaç tasarım ve geliştirilmesinde kansere karşı aktifliğinin ispatlanmış olmasından dolayı oldukça önemlidir.

Bakterilerde artan antibiyotik direnci, yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. Bu amaçla 1,7-Dibromo-N,N'-(L-glutamikasit t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid (SY3), 1,7-Dibromo-N,N'-(L-alanin t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid (SY4), N,N'-(L-alanin t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid (SY5) ve N,N'-(L-glutamikasit t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid (SY6) türevli dört farklı perilen bileşiği sentezlendi.

Sentezlenen dört farklı perilendiimid türevinin antimikrobiyal aktiviteleri, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213 ve *Candida albicans* ATCC 90028 kullanılarak, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile saptandı. Ayrıca minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri belirlendi.

Perilendiimidlerin *S. aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 29213 bakterileri üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu bakteriler üzerinde en çok etkiyi SY3 ve SY4 kodlu perilendiimid türevleri göstermiştir.

S. aureus ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 bakterileri üzerinde SY3 kodlu perilendiimid türevinin minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerinin 3.9 µg/ml ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerinin 7.8 µg/ml olduğu, SY4 kodlu perilendiimid türevinin ise MİK değerinin 31.25 µg/ml ve MBK değerinin 62.5 µg/ml olduğu saptanmıştır.

Sentezlenen ve biyoaktivitesi gösterilen perilendiimid türevleri ile ilgili toksik özelliklerin de belirleneceği ileri çalışmalar gerekmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Perilendiimid, antimikrobiyal aktivite, bakteri

ABSTRACT

THE SYNTHESIS OF PERYLENE DIIMIDE DERIVATIVES AND DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

MSC THESIS
ŞAFAK YAĞAN

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
CHEMISTRY

(SUPERVISOR: ASSIST. PROF. DR. FUNDA YÜKRÜK)
BALIKESİR, JANUARY 2014

Some studies have shown that perylene and its derivatives have antimicrobial activities in addition to their role in the chemical industry and therapeutic potentials on many different types of cancer. Antimicrobial activity of perylene diimides synthesized and tested in this study is very important since perylene derivatives has been proven to have anticancer activity in target specific drug design and developed previously.

Increasing antibiotics resistance in bacteria necessitates the development of new antimicrobial agents. Therefore, four diverse perylene compounds, 1,7-Dibromo-N,N'-(L-glutamic acid t-butyl ester) - 3,4:9,10 - perylene diimide (SY3), 1,7-Dibromo-N,N'-(L-alanine t-butyl ester) - 3,4:9,10 - perylene diimide (SY4), N,N'-(L-alanine t-butylester) - 3,4:9,10-perylenediimide (SY5) ve N,N'-(L- glutamic acid t-butylester) - 3,4:9,10 - perylene diimide (SY6) were synthesized.

Antimicrobial activities of four diverse perylene diimide derivatives synthesized were determined by using disc diffusion and microdilution methods against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213 and *Candida albicans* ATCC 90028 strains. Minimum bactericidal concentrations were also determined.

Perylene diimides have shown effect antimicrobial activity on *S. aureus* ATCC 25923 and *S. aureus* ATCC 29213 bacteria. Maximum antimicrobial activity on these bacteria have been shown by SY3 and SY4 encoded perylene diimide derivatives.

Minimum Inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of SY3 perylenediimide derivative for *S. aureus* ATCC 29213 and *S. aureus* ATCC 25923 were determined as 3.9 µg/ml and 7.8 µg/ml, respectively. MIC and MBC of SY4 perylenediimide derivative for *S. aureus* ATCC 29213 and *S. aureus* ATCC 25923 were determined as 31.25 µg/ml and 62.5 µg/ml, respectively.

Further studies are required to determine details features including toxicity for these synthesized compounds having antimicrobial activity.

KEYWORDS: Perylenediimide, antimicrobial activity, bacteria

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET, ANAHTAR KELİMELER	i
ABSTRACT, KEYWORDS	iii
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ	xi
SEMBOL LİSTESİ	xii
ÖNSÖZ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1 Perilenler	1
1.1.1 Perilen Pigmentlerinin Başlangıç Maddelerinin Hazırlanması	3
1.1.2 Perilen Pigmentlerinin Kimyası ve Üretimi	3
1.1.3 Perilen Pigmentlerinin Özellikleri	5
1.1.4 Perilen Pigmentlerinin Uygulamaları	5
1.2 Perilen Türevleri ve Özellikleri	6
1.2.1 Perilen-3,4:9,10-Tetrakarboksilikasit Dianhidrid (PTCDA)	6
1.2.2 Perilendiimidler	7
1.2.2.1 Perilendiimidlerin Uygulama Alanları	9
1.2.3 Perilenbisimidler	10
1.2.4 Perilenmonoimidler	11
1.2.5 Perilenpoliimidler	12
1.3 Perilen Türevlerinin Biyolojik Özellikleri	13
1.3.1 DNA G-Dörtlü Yapının Stabilizasyonu ve Telomeraz Enzim İnhibisyonu	13
1.3.2 Perilendiimid Türevlerinin Fotosensitizer Olarak Kullanılması	15

	<u>Sayfa</u>
1.3.3 Glutasyon S-Transferaz ve Src Tirozin Kinaz Enzim İnhibisyonu	17
1.4 Mikrobiyoloji	21
1.4.1 Mikrobiyolojik Tanımlar	21
1.4.2 Mikroorganizmalar ile İlgili Genel Bilgiler	22
1.4.2.1 Escherichia coli	23
1.4.2.2 Staphylococcus aureus	25
1.4.2.3 Candida albicans	26
1.4.3 Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizması	27
1.4.4 Antimikrobiyal Maddelerin Etkinliğini Etkileyen Faktörler	27
1.4.5 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesindeki Yöntemler	27
1.4.5.1 Disk Difüzyon Yöntemi	28
1.4.5.2 Mikrodilüsyon Yöntemi	28
1.4.5.2.1 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)	29
1.4.5.2.2 Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK)	29
1.4.6 Perilen Türevlerinin Antimikrobiyal Özellikleri	29
2. MATERYAL ve YÖNTEM	32
2.1 Materyaller	32
2.1.1 Perilendiimid Türevlerinin Sentezi	32
2.1.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
2.1.2 Antimikrobiyal Aktivite Saptaması	32
2.1.2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
2.1.2.2 Kullanılan Mikroorganizmalar	32
2.1.2.3 Kullanılan Besiyerleri	33
2.1.2.4 Kullanılan Malzemeler	33

	<u>Sayfa</u>
2.1.3 Kullanılan Alet ve Cihazlar	33
2.1.3.1 Sentez Aşamasında Kullanılan Alet ve Cihazlar	33
2.1.3.2 Antimikrobiyal Aktivite Tayininde Kullanılan Alet ve Cihazlar	34
2.2 Yöntemler	34
2.2.1 Perilendiimid Türevlerinin Sentezinde Kullanılan yöntemler	34
2.2.1.1 1,7 - Dibromo-3,4:9,10-Perilentetrakarboksilikasit Dianhidrit Sentezi (SY2)	34
2.2.1.2 1,7 – Dibromo - N,N' - (L-glutamikasit t-butilester) 3,4:9,10-Perilendiimid Sentezi (SY3)	35
2.2.1.3 1,7 - Dibromo - N,N' - (L-alanin t-butilester) -3,4:9,10-Perilendiimid Sentezi (SY4)	36
2.2.1.4 N,N' -(L-alanin t-butilester)-3,4:9.10-perilendiimid Sentezi (SY5)	37
2.2.1.5 N,N' -(L-glutamik asit t-butilester)-3,4:9.10-perilendiimid Sentezi (SY6)	38
2.2.2 Antimikrobiyal Aktivite	39
2.2.2.1 Perilendiimid Türevlerinin Hazırlanışı	39
2.2.2.2 Disk Difüzyon Yöntemi	39
2.2.2.3 Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK)	40
2.2.2.4 Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK)	40
2.2.3 Perilendiimidlerin pH Tayini	40
3. BULGULAR	41
3.1 SY3 Maddesinin Spektrum Verileri	41
3.1.1 SY3 Maddesinin ¹ H-NMR Spektrumu	41
3.1.2 SY3 Maddesinin ¹³ C-NMR Spektrumu	42
3.1.3 SY3 Maddesinin Kütle Spektrumu	43

	<u>Sayfa</u>
3.1.4 SY3 Maddesinin UV Spektrumu	44
3.2 SY4 Maddesinin Spektrum Verileri	45
3.2.1 SY4 Maddesinin ¹ H-NMR Spektrumu	45
3.2.2 SY4 Maddesinin ¹³ C-NMR Spektrumu	46
3.2.3 SY4 Maddesinin Kütle Spektrumu	47
3.2.4 SY4 Maddesinin UV Spektrumu	48
3.3 SY5 Maddesinin Spektrum Verileri	49
3.3.1 SY5 Maddesinin ¹ H-NMR Spektrumu	49
3.3.2 SY5 Maddesinin ¹³ C-NMR Spektrumu	50
3.3.3 SY5 Maddesinin Kütle Spektrumu	51
3.3.4 SY5 Maddesinin UV Spektrumu	52
3.4 SY6 Maddesinin Spektrum Verileri	53
3.4.1 SY6 Maddesinin ¹ H-NMR Spektrumu	53
3.4.2 SY6 Maddesinin ¹³ C-NMR Spektrumu	54
3.4.3 SY6 Maddesinin Kütle Spektrumu	55
3.4.4 SY6 Maddesinin UV Spektrumu	56
3.5 Disk Difüzyon Yöntemi ile Elde Edilen Bulgular	57
3.6 MİK ve MBK Bulguları	58
3.6.1 MİK ve MBK Yöntemi ile Perilendiimid Türevlerinin S. aureus ATCC 29213 zerindeki Etkileri	59
3.6.2 MİK ve MBK Yöntemiyle Perilendiimid Türevlerinin S. aureus ATCC 25923 zerindeki Etkisi	61
3.7 Perilendimid Türevlerinin pH Verileri	63
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
5. KAYNAKLAR	68

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 : a) Perilen molekülünün 2D yapısı b) Diklorometan içerisinde çözülmüş perilen molekülünün UV ışıktaki görünümü	2
Şekil 1.2 : Benzen içerisinde çözülmüş perilen molekülünün absorpsiyon ve emisyon spektrumu	2
Şekil 1.3 : PTCDA 'nın eldesi	3
Şekil 1.4 : Perilendiimidlerin farklı sentezi	4
Şekil 1.5 : PTCDA'nın sübstitüent bölgeleri	6
Şekil 1.6 : Perilendiimidlerin basit eldesi	8
Şekil 1.7 : PTCDA'dan yola çıkarak perilenmonoimid ve asimetrik perilendiimid sentezi	12
Şekil 1.8 : PDT yöntemiyle tedavi şematizesi	15
Şekil 1.9 : Fotodinamik terapide fotosensitizer olarak kullanılan bazı perilendiimid türevleri	17
Şekil 1.10 : Glutasyonun (GSH) ksenobiyotiklere Glutasyon Transferaz (GST) katalizli reaksiyonu	18
Şekil 1.11 : Protein yapısındaki tirozinlerin protein tirozin kinazlar tarafından fosforilasyonu	19
Şekil 1.12 : Hiperisin ve Calphostin C 'nin kimyasal yapısı	21
Şekil 1.13 : Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvar karşılaştırılması	23
Şekil 1.14 : <i>E. coli</i> kolonisinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	24
Şekil 1.15 : <i>S. aureus</i> kolonisi taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	25
Şekil 1.16 : <i>C. albicans</i> kolonisi taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	26
Şekil 1.17 : HA (Hypocrellin A) ve HB (Hypocrellin B) kimyasal yapısı	30
Şekil 2.1 : 1,7-dibromo-3,4:9,10-perilentetrakarboksilikasit dianhidrit sentezi (SY2)	34
Şekil 2.2 : 1,7-dibromo-N,N'-(L-glutamikasit t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid sentezi (SY3)	35
Şekil 2.3 : 1,7-dibromo-N,N'-(L-alanin t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid sentezi (SY4)	36
Şekil 2.4 : N,N'-(L-alanin t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid sentezi (SY5)	37
Şekil 2.5 : N,N'-(L-glutamikasit t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid Sentezi (SY6).	38

Sayfa

Şekil 3.1	: SY3 maddesinin ¹ H-NMR spektrumu	41
Şekil 3.2	: SY3 maddesinin ¹³ C-NMR spektrumu	42
Şekil 3.3	: SY3 maddesinin kütle spektrumu	43
Şekil 3.4	: SY3 maddesinin UV spektrumu	44
Şekil 3.5	: SY4 maddesinin ¹ H-NMR spektrumu	45
Şekil 3.6	: SY4 maddesinin ¹³ C-NMR spektrumu	46
Şekil 3.7	: SY4 maddesinin kütle spektrumu	47
Şekil 3.8	: SY4 maddesinin UV spektrumu	48
Şekil 3.9	: SY5 maddesinin ¹ H-NMR spektrumu	49
Şekil 3.10	: SY5 maddesinin ¹³ C-NMR spektrumu	50
Şekil 3.11	: SY5 maddesinin kütle spektrumu	51
Şekil 3.12	: SY5 maddesinin UV spektrumu	52
Şekil 3.13	: SY6 maddesinin ¹ H-NMR spektrumu	53
Şekil 3.14	: SY6 maddesinin ¹³ C-NMR spektrumu	54
Şekil 3.15	: SY6 maddesinin kütle spektrumu	55
Şekil 3.16	: SY6 maddesinin UV spektrumu	56
Şekil 3.17	: Disk Difüzyon Yöntemi ile perilendiimid türevlerinin antimikrobiyal aktivite tayini 1) DMSO 2) SY3 3) SY4 4) SY5 5) SY6 6) Gentamisin	58
Şekil 3.18	: MİK yöntemiyle Perilendiimid Türevlerinin <i>S. aureus</i> ATCC 29213 üzerindeki etkileri A) DMSO B) SY3 C) SY4 D) SY5 E) SY6	59
Şekil 3.19	: MBK yöntemiyle perilendiimid türevlerinin <i>S. aureus</i> ATCC 29213 üzerindeki etkileri	60
Şekil 3.20	: MİK yöntemiyle Perilendiimid Türevlerinin <i>S. aureus</i> ATCC 25923 üzerindeki etkileri A) DMSO B) SY3 C) SY4 D) SY5 E) SY6	61
Şekil 3.21	: MBK yöntemiyle perilendiimid türevlerinin <i>S. aureus</i> ATCC 25923 üzerindeki etkileri	62
Şekil 3.22	: Perilendiimid türevlerinin pH değerleri	63
Şekil 4.1	: Disk difüzyon metodu sonuçlarının karşılaştırılması	65
Şekil 4.2	: MİK metodu sonuçlarının karşılaştırılması	66
Şekil 4.3	: MBK metodu sonuçlarının karşılaştırılması	66

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1 : Perilendiimid türevlerinin bakterilerde oluşturduğu inhibisyon zon çapları	57
Tablo 3.2 : Perilendiimid türevlerinin <i>S. aureus</i> ATCC 29213 için MİK ve MBK değerleri	59
Tablo 3.3 : Perilendiimid türevlerinin <i>S. aureus</i> ATCC 25923 için MİK ve MBK değerleri	61

SEMBOL LİSTESİ

I₂	: Iyot
Br₂	: Brom
H₂SO₄	: Sülfürik Asit
H₂O	: Su
C₄H₁₀O	: n-Bütanol
C₆H₁₅N	: Trietilamin
CHCl₃	: Kloroform
CH₃OH	: Metanol
CDCl₃	: Deuterated Kloroform
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
CLSI	: Clinical and Laboratory Standarts Institute
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Test
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
MHA	: Mueller Hilton Agar
MHB	: Mueller Hilton Broth

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesi, düzenlenmesi ve deneylerimin yürütülmesi aşamalarında bilimsel desteğini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Funda YÜKRÜK'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Antimikrobiyal aktivite tayin çalışmalarının gerçekleşmesi ve deneylerin yürütülmesini sağlayan, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Gülhan VARDAR ÜNLÜ'ye teşekkür ederim.

Üniversite hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen babam Hasan YAĞAN, annem Sevim YAĞAN ve halam Laşer TOPAL'a sonsuz teşekkürler.

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca desteğini her an hissettiğim, daima yanımda olan hayat ve yol arkadaşım Özge YILDIRIM'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP 2012/54 ve 2009/40 Kodlu Proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Balıkesir Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığına teşekkür ederim.

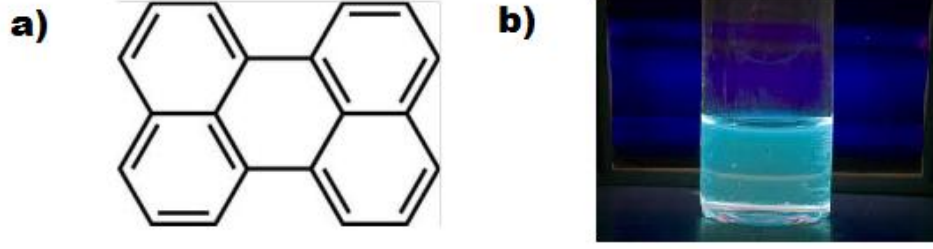
1. GİRİŞ

1.1 Perilenler

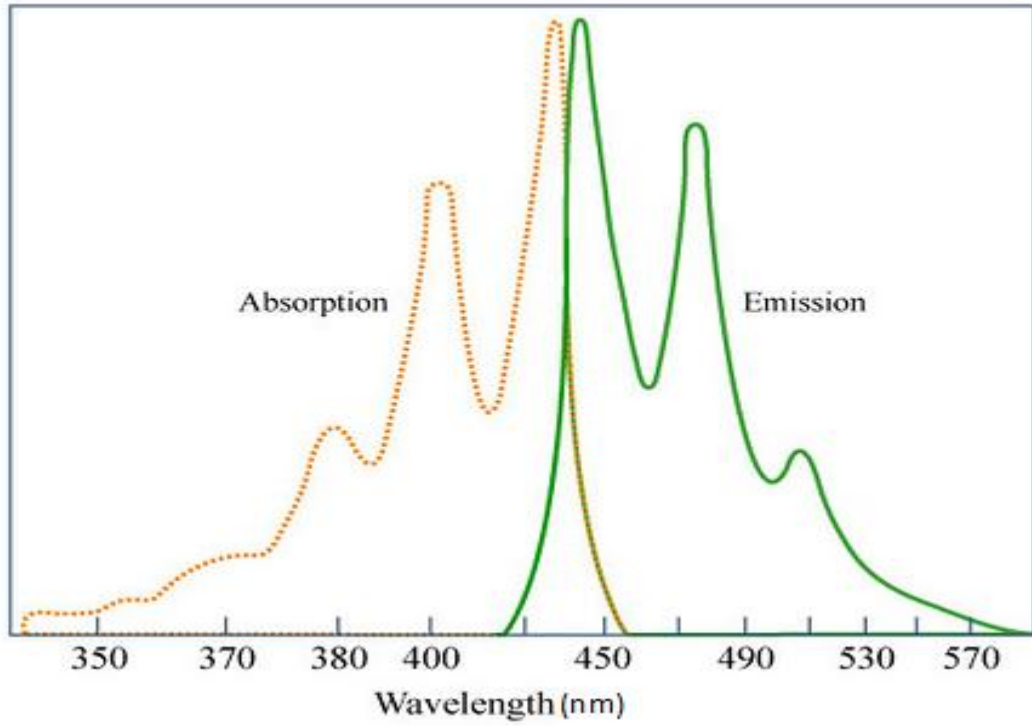
Perilenler 1913'te Kardos tarafından keşfedilmiştir. İlk uygulama alanı tekstilde varil boyaları, daha sonraki dönemlerde temelde koyu kırmızı ve menekşe pigment şeklinde yüksek performanslı pigmentler olarak kullanılmışlardır. Bu boyaların düşük çözünürlüklere sahip olması, pigment uygulamaları için gerekli olmasına karşın diğer kimyasal uygulamalar için engel oluşturan bir özelliktir. Bu pigmentlerin güçlü floresans özellikleri 1940 yılında Giessler ve Remy tarafından gözlemlendi. Bu boyaların düşük çözünürlüklere sahip olması diğer pratik uygulamalarda kullanılmamasının nedeni olmuştur [1].

Perilenler kimyasal yapı olarak aromatik halka içermesinden ötürü floresans özellikleri gösterir. Perilen molekülü sikloheksan, toluen veya benzen çözücüsünde mor ve yakın-UV ışıkla uyarılmış; perilen molekülü temel hale döndüğünde 480 nm dalgaboyunda turuncu ve sarı ışık yaymıştır. Emisyon spektrumları floroforların kimyasal yapılarına ve çözücü içerisinde çözünmesine göre değişiklik göstermektedir [2].

Temel bir pentasiklik aromatik bileşik olan perilenler güçlü floresans özelliğinden dolayı organik elektronikte özellikle organik ışık yayan diyotlar, organik alan etkili transistörler ve boya lazerleri gibi birçok elektronik cihazlarda kullanım alanı bulmuştur. Perilen boyalar, termal ve kimyasal kararlılıklarının yanı sıra mükemmel fotofiziksel özellikleri nedeniyle fotovoltajiklerde fotoreseptör olarak kullanılmıştır [3,4]. Perilenlerin di-, tri -, tetra- karboksilli asit esterleri ışık haslığı iyi olan sarıdan kırmızıya kadar değişebilen renklerdeki floresans kromoforlardır. Perilen türevlerinden olan perilen-3,4;9,10 tetrakarboksilli asitlerin diimidleri yüksek floresans verimliliğe sahip, ışığa ve havaya karşı oldukça dayanıklı floresans boyalardır. Bu boyaları suda çözünebilir hale getirebilmek için imid bölgelerindeki azot atomuna sülfonik asit substitüenti bağlanmasıyla elde edilebilir [5].



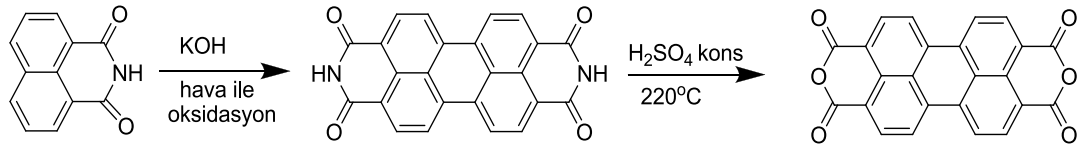
Şekil 1.1 : a) Perilen molekülünün 2D yapısı b) Diklorometan içerisinde çözülmüş perilen molekülünün UV ışıkta görünümü.



Şekil 1.2 : Benzen içerisinde çözülmüş perilen molekülünün absorpsiyon ve emisyon spektrumu.

1.1.1 Perilen Pigmentlerinin Başlangıç Maddelerinin Hazırlanması

Perilen pigmentleri, perilen tetrakarboksilik asitin diimidleridir. Sübstitüe edilmemiş bileşikler, varil boyası olarak kullanılmamalarına rağmen, bu sınıfın bilinen en eski üyeleridir. Zaman içerisinde perilen tetrakarboksilik asit diimidin bir türü başlangıçta yalnızca tekstilde varil boyası olarak kullanılmıştır. Perilen bileşiklerinin pigment olarak kullanımı, 1950 yılından sonraya rastlar. Çok sayıda perilen pigment serileri endüstriyel ölçekte üretilmeye başlanmıştır. Perilen türevlerinin genel başlangıç maddesi dianhidrit, tek başına pigment olarak kullanılabilir. Bu anhidrit molekülünün sentezi ise 1,8-naftalin dikarboksilik asit imidin 190-220°C'de kostik alkalilerle (sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, sodyum asetat) erimesiyle hazırlanır. Eriyen karışım hava ile oksidasyonu veya sulu hidrolizi izler. Reaksiyonun sonunda ilk olarak perildimid (bisimid) oluşur. Sonrasında 220°C'de konsantre sülfürik asitle hidroliz ile dianhidrit formu oluşur [1, 6, 8, 9].



Şekil 1.3 : PTCDA'nın eldesi.

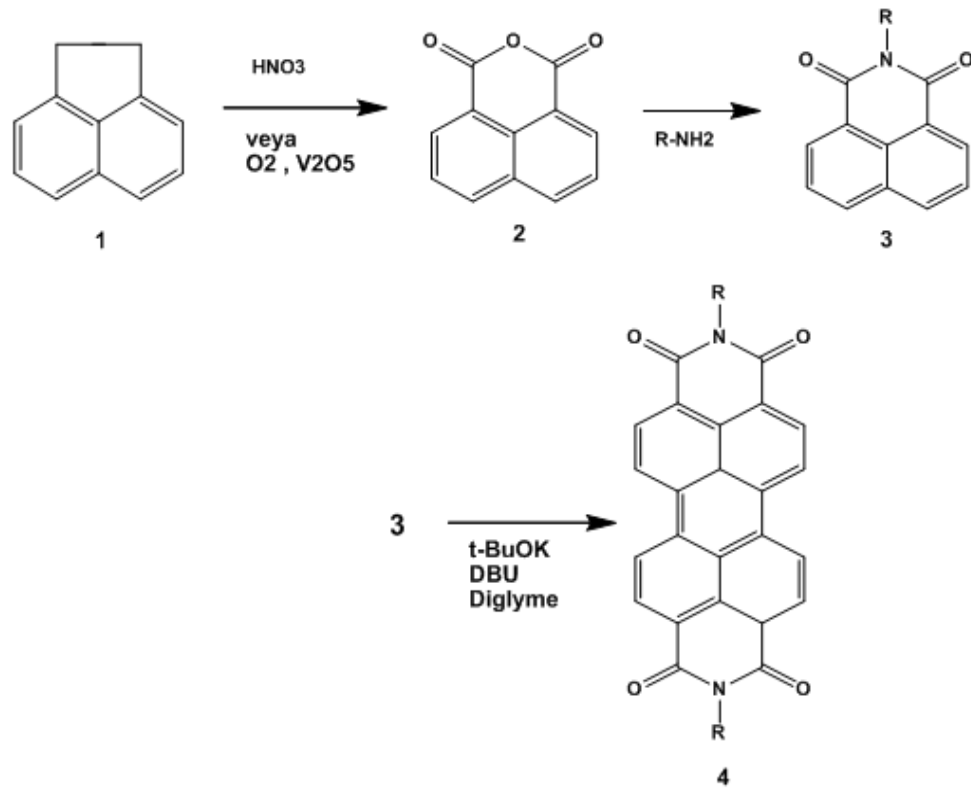
1.1.2 Perilen Pigmentlerinin Kimyası ve Üretimi

Simetrik olmayan, sübstitüe perilen pigmentler son dönemlerin en ilginç yapılarındandır. Perilen-tetrakarboksilik asitin tetra sodyum tuzunun seçimli olarak protonlanması, yüksek verimde perilentetrakarboksilik monoanhidritin mono sodyum tuzunu verir. Sonraki adımda aminlerle reaksiyonu sonucu simetrik olmayan sübstitüe perilen pigmentler elde edilir [6].

Ham ürünü, endüstriyel olarak kullanışlı pigmentlere çeviren çok sayıda teknik mevcuttur. Önemli metodlar arasında; sülfürik asitte yeniden çöktürme,

öğütme ve çözüden yeniden kristallendirme bulunmaktadır. Optimize edilmiş sonuçlar elde edebilmek için bu metodlar uygun şekilde birleştirilmelidir. Saydam olmayan perilen pigment türleri tipik olarak metil etil keton, izobütanol, dietilen glikol, N-metil pirolidon gibi çözüenlerde ve hatta su varlığında, 80-150°C'ye kadar ısıtılabilir [6].

Perilen pigmentlerinin üretimi temel başlangıç maddesi dianhidrit formunun sentezi ile başlar. Bu başlangıç maddesinin aromatik veya alifatik aminlerle reaksiyonu sonucu perilen pigmentleri elde edilir. Farklı bir yöntemle perilen pigment türevleri sentezlenebilir. Reaksiyon başlangıçta asenaften, vanadyumoksit veya nitrik asit ile atmosfer oksijenin oksidasyonu ile 1,8 naftalin dikarboksianhidrit elde edilir. Daha sonra alifatik veya aromatik aminlerle dimerizasyon sonucu oluşan ürün, azot atmosferi altında potasyum tersiyer bütül oksit, diglim ve diazobisiklo[5,4,0]undek-7-en (DBU) reaksiyonu sonucu perilen pigment türevleri oluşur [9].



Şekil 1.4 : Perilendiimidlerin farklı sentezi.

1.1.3 Perilen Pigmentlerinin Özellikleri

Grup olarak perilen pigmentleri, yüksek renk verme özelliği gösterirler. Perilen pigmentler geniş bir renk aralığında bulunabilirler; kırmızı, bordo, mor, kahverengi ve siyaha yakın renk tonu verebilirler. Kinakridon pigmentlerinden güçlü oldukları bulunmuştur [6].

Bu pigmentler mükemmel çözücü kararlılığı, plastiklerde oldukça iyi göç kararlılığı, boya kaplamacılığında oldukça uzun ömürlülük, yüksek kimyasal inertlik ve olağanüstü termal kararlılık gösterirler. Sadece temel bileşiği olan tetrakarboksilik asit dianhidrit, alkali içinde dayanıklı değildir. Bununla birlikte perilen pigmentleri ışık ve havaya karşı mükemmel dayanıklılık gösterirler. Bu özellik aşağı yukarı kinakridon pigmentlerinin performansına denktir [6].

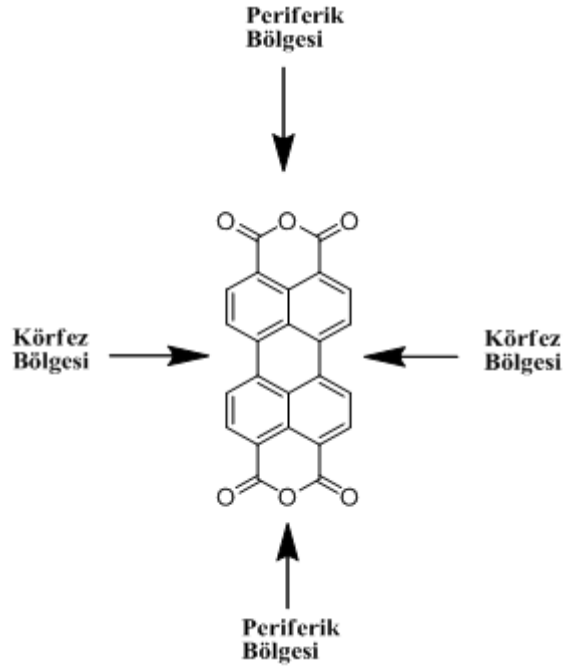
1.1.4 Perilen Pigmentlerinin Uygulamaları

Perilen pigmentlerinin çoğu endüstriyel boya olarak, özellikle orjinal otomotiv sektöründe kullanılır [7]. Farklı özelliklere sahip pigmentler bulmak mümkündür. Bazı türleri özellikle ısıya karşı mükemmel bir termal kararlılık gösterdiğinden, plastiklerde ve spin boyama ürünlerinde kullanılırlar. Bununla birlikte perilen pigmentleri, sterik aminlerle kararlı hale getirilmiş poliolefin yapılarında nadiren kullanılır. Yüksek pigment konsantrasyonu taşıyan ortamda, kararlılığı sağlayıcı bu aminler, ışığa maruz kaldıklarında aktivite özellikleri durur ve hatta bozunabilirler. Bu durumda poliolefin sistemler hızlıca kırılğan yapılar dönüşür. Oldukça uygun partikül boyutları, spesifik yüzey alan özellikleri ve mükemmel saydam türlerden; küçük partiküllü türleri özellikle metalik ve saydam boyacılıkta kullanılırken; saydam olmayan türleri, inorganik ve diğer organik pigmentlerle karıştırılarak farklı gölgeli boyaların oluşturulmasında kullanılır [6].

1.2 Perilen Türevleri ve Özellikleri

1.2.1 Perilen-3,4,9,10-Tetrakarboksilikasit Dianhidrid (PTCDA)

Perilen-3,4,9,10-tetrakarboksilik dianhidrit, perilen türevleri sentezi için iyi bir başlangıç materyalidir. Yapısal olarak modifiye uğrayacak iki bölge içermektedir. Periferik bölge dış çevresel kenar, körfez bölge ise merkez kısımdır. Bu iki kısımdan disüstitüe veya tetrasüstitüe uğrayarak farklı özelliklerde perilen türevleri elde edilir. Periferik bölgedeki yapısal modifikasyonu dianhidritlerin N-substitüent içeren imid gruplarına dönüştürülmesi ve körfez bölgesinde 1, 6, 7 ve 12 kısımlarına imid gruplarıyla süstitüe olması ile gerçekleştirilir [11].



Şekil 1.5 : PTCDA ' nin süstitüent bölgeleri.

Perilen-3,4,9,10-tetrakarboksilli dianhidritin kristali, organik yarı iletkenler arasında en yüksek elektron mobilitesine sahip maddelerden birisidir. İyi düzenlenmiş filmlerdeki dizilme doğrultusu $1 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ değerini aşmasından dolayı perilen-tetrakarboksilli dianhidrit molekülü, organik molekül esaslı elektronik sistemlerin üretiminde önemli bir yapıdır. Yapıyı perilen çekirdeği ve iki anhidrid fonksiyonel grubu olarak ayırdığımızda, özellikle C1s ve O1s seviyelerinin spektroskopisini daha rahat gözlemlemiş oluruz. Perilen çekirdeği ve anhidrid

gruplar hesaba katıldığında, kimyasal olarak birbirine eşdeğer olmayan 7 farklı karbon atomu göze çarpar. PTCDA, iyonik boyutları sırasıyla $a= 6.79 \text{ \AA}$ ve $b= 11.47 \text{ \AA}$ ve Van der Waals yarıçapı ise sırasıyla 9.2 \AA ve 14.2 \AA olan düzlemsel organik bir moleküldür. PTCDA istiflenmiş moleküler yapraklar şeklinde kristallenir. Her düzlem kristal diğerleriyle zayıf Vander Waals kuvvetleri ve elektrostatik güçlerle bağlanırlar [12].

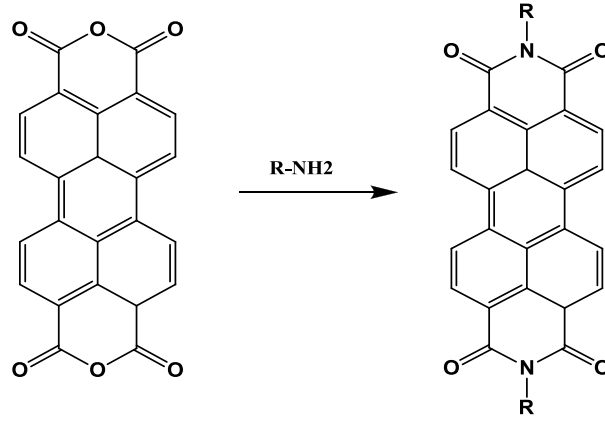
PTCDA molekülerinin simetrik özelliklerinden dolayı, hacimli kristaller yüksek anizotropi özellikler gösterirler ve taşıyıcı mobiliteleri, çakışma doğrultusuna dik doğrultuda 10^{-5} - $10^{-4} \text{ cm}^2/\text{Vs}$ değerine denk gelir. Substratın arayüzeye yük injeksiyon verimi, adsorplanan molekülün yönelimine ve geometrisine bağlıdır. PTCDA'nın Au(III) gibi soymetal yüzeylerine tutunması ve moleküllerin düzenlenmesi, sıcaklığa bağlı olarak karakterize olur. PTCDA molekülleriyle yapılan fotoemiyon çalışmaları sonucu, bu moleküllerin reaktif metal yüzeyine ve yarı iletken yüzeylere kuvvetlice bağlandığı görülmüştür. Moleküller eşzamanlı olarak farklı yönelimler ile yüzeylere bağlanırlar. Yüzey üzerinde etkide oluştururlar veya kısmende ayrılabilirler. Moleküller, yüksek aktivitelerinden dolayı anhidrid grubu üzerinden adsorplanırlar. Sadece Ag (III) gibi oldukça inert substratlar ile son derece düzenli istiflenme oluşturur. Çünkü bu yüzeyde moleküller yüksek hareketliliğe sahiptirler [12].

1.2.2 Perilendiimidler

PTCDA'ten çıkılarak sentezlenen perilendiimid türevleri, yüksek kimyasal dayanıklılık gibi benzersiz özellikleri ve yüksek fotokararlılığı nedeniyle multikromoforların sentezi için cazip yapıtaşlarıdır. Çok yönlü bir bakış açısıyla perilendiimidler; yüksek fonksiyonlu kuantum verimleri [13,14], yüksek molar absorpsiyon katsayısı [14,15], görünür ışık irradyasyonu altında yüksek fotokararlılıkları ve termal kararlılıkları [16], yüksek kimyasal kararlılıkları, ayarlanabilir absorpsiyon özellikleri kolaylığına sahip olmaları nedeniyle çok dikkat çekmiş ve geniş kullanım alanı bulmuştur [1,17,18].

Perilendiimid moleküllerinin genel sorunu çözünürlüklerinin düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Çözünürlüğü arttırmak için perilendiimid yapısına

farklı grupların bağlanmasıyla sağlanmıştır. Sentetik nedenlerden dolayı N atomları içeren moleküller bu iş için en uygun olanlardır. Burada farklı R gruplarıyla süstitüe olmuş azotlu bileşiklerin perilen-3,4:9,10-tetrakarboksilik dianhidrit ile birleşmesiyle çözünürlüğü artırılmış perilendiimid molekülleri elde edilir [1].



Şekil 1.6 : Perilendiimidlerin basit eldesi.

Perilendiimidlerde düzlemsel aromatik halkaya bağlı yan zincirlerin etkisiyle organik çözücülerde çözünürlük artırılabilir. Perilen halkasının körfez ve periferik bölgelerine N atomu içeren farklı fonksiyonlu gruplarla çözünürlük artırılır [19-22]. Tetra bütül gruplarının perilendiimid molekülünde N atomundan bağlanmasıyla çözünürlüğün oldukça arttığı gözlemlendi. Daha az hacimli bu grupların eklenmesiyle, organik çözücülerde yeterli çözünürlük sağlanmış ve molekülü sentezlenmiştir. Ancak bu tip boyaların hazırlanmasında da oldukça ağır şartlar gerekmektedir. Çözünürlük artışı perilendiimid molekülündeki N atomlarının alifatik substitüentlerle kolayca başarılabilir. Ayrıca alkillenmiş aromatik substitüentlerle çözünürlük artısında daha iyi sonuçlar alınır [1].

Dallanmamış alkil grupları çözünürlük üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Küçük sikloalkil gruplarının çözünmeye etkisi azdır. Sadece beş üyeli halkalarda çözünürlüğe etki biraz artar. Çözünürlük orta büyüklükteki halkalarda düşüktür. Ancak orta büyüklükteki halkalardan büyük halka yapılarına gidildikçe çözünürlük artar [1].

1.2.2.1 Perilendiimidlerin Uygulama Alanları

Perilendiimidler fotodinamik terapiden elektronik teknolojiye birçok kullanım alanına sahiptir. Isısal ve foto-kararlılığı, yüksek soğurma kabiliyetleri ve 1'e yakın veya eşit floresans quantum verimleri nedeniyle ilgi çekmeye devam etmektedirler [23,24]. Düşük potansiyelerde indirgenebilmeleri, bu moleküllerin n-tipi yarı iletken olarak değişik organik elektronik sistemlerde kullanılabilir hale getirmiştir [25]. Hem simetrik hem de asimetrik perilendiimid türevleri boya duyarlı güneş hücrelerinde [26-29], organik ışık yayan diyotlarda [30,31], organik alan etkili transistörlerde [32,33], sıvı kristal ekranlarda (LCD) [34,35], boya lazerlerde [36,37], kimyasal oksidasyonlarda fotosensitizer olarak fotodinamik terapide [38] ve pH duyarlı kromojenik kimyasal sensör olarak kullanılır [39].

Perilendiimidler elektron transfer katalizörü olarak kullanılırlar. UV ışık ya da güneş ışığı radyasyonu altında moleküler oksijen tarafından organik bileşiklerinin fotouyarımlı oksidasyonu organik yapılarının oluşumunda ve sanayi ürünlerinin yapımında önemli rol oynayan ürünlerdir. Bu çalışmalardan perilendiimidlerin yoğun güneş radyasyonu altında bile oldukça yüksek fotokararlılığı olduğu tespit edilmiştir. Perilendiimidler, singlet fotosensitizer olarak bilinirler. Bu özelliklerinden dolayı perilendiimidler, fotooksidasyonlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntem iki çeşit yolla uygulanmaktadır. Birincisi, enerji transfer yoluyla; ikincisinde elektron transfer yoluyla uygulanır. Enerji transfer yolunda triplet oksijenden ($^3\text{O}_2$), singlet oksijen oluşturulur. Oluşturulan singlet oksijenin substratlarla etkileşime girmesi sağlanır. Elektron transfer fotouyarılmış oksidasyonda genellikle elektron değişiminden yararlanılır. Bu oksidasyonda oksijen moleküler halden, super oksit anyon radikaline (O_2^-) dönüşüm ile sağlanmaktadır [40].

Süper oksit anyon radikalleri de katyonik alken radikalleriyle tepkimeye girerek yükseltgenme ürünlerini oluştururlar [40]. Güneş ışığından yararlanarak elde edilen kimyasalların üretimi fotokimyasal açıdan oldukça önemlidir. Ancak güneş ışığının kısa süreli olmasından güneş ışığıyla yapılan fotosentezler güvenilirlik teşkil etmez. Perilendiimidlerin oldukça yüksek fotokararlılıkları olduğu bilinir. Fotokimyasal işlemler konsantre güneş ışınlarında daha hızlı ilerler. Sadece inorganik fotouyarıcıların konsantre güneş ışığında yapılan uygulamalarda, fotokararlılığının yüksek olduğu bilinir. Diğer bir yandan laboratuvar koşullarında

bazı organik fotouyarıcıların kullanılmasıyla başarılan birçok fotosentez vardır. Bu fotouyarıcılardan bir tanesinde perilendiimidlerdir [41]. Simetrik ve asimetrik perilendiimidler, fotodinamik terapideki önemli ligantlardan biridir ve kanser hücrelerinde telomeraz enziminin G-quadrupleks kararlılığını ve inhibisyonunu sağlaması nedeniyle de yüksek teknolojik uygulamalarda kullanılmaktadır [42-45].

Perilendiimidlerin mükemmel termal ve foto kararlı uyarıcılar olduğu bilinir. Görünür bölgedeki absorpsiyonu (450-530nm) onların solar uygulamalarda kullanılmasını sağlamıştır. Çözelti fazındaki perilendiimidlerin incelenmesi sonucu, onların hem elektron çekici hemde elektron verici özelliğe sahip oldukları gözlenmiştir [46,47]. Bu uygulamaların yanında elektrofotografik cihazlarda [48] ve anti-sahtecilik çalışmalarda banknot ve ürün yazılmalarında perilendiimid türevleri fotokromik materyaller olarak kullanılmaktadır [49].

1.2.3 Perilenbisimidler

Kromoforlar maddelerin rengini veren ve tekstil boyları, pigmentler ve mürekkepler gibi çoğu boya uygulamalarının temelini oluştururlar. Boyaların birçok uygulama alanı çalışmalarla arttırılabilir. Daha önemli uygulamalar için geliştirilen ve son dönemde " fonksiyonel boyalar " adı verilen grup boyalarla çalışmalar yapılmaktadır. Bu nedenle yapılacak uygulamanın gerekliliğine göre yeni moleküller tasarlanmaktadır [1].

3,4;9,10-perilentetrakarboksilik asit bisimidler düşük ışık ve termal solma oranları, yüksek lüminesans etkileri, optoelektronik özelliklere sahip olmasından dolayı geniş kullanım alanları bulmuştur [50,51]. Ancak çoğu perilenbisimid molekülleri katı halde bile yakın IR ışığı absorplamaz. Bu nedenle yakın IR ışığı absorplayan, yüksek ışık ve termal stabilitesi, yüksek lüminesans kuantum verimlerine sahip yeni perilenbisimid kromoforları sentezlenerek ispatlanmıştır. Perilenbisimidlerin imid gruplarıyla kimyasal modifikasyonu, imid grupların azot atomundaki HOMO ve LUMO orbitallerinden dolayı bu kromoforların ışık ve elektronik özelliklerini önemli derecede değiştirmez [52].

Fakat perilen molekülünün körfez bölgesine elektron alıcı ve verici grupların süstitüsüyonu ile şiddetli bir şekilde bu özelliklerde artış görünmektedir. Bu tür

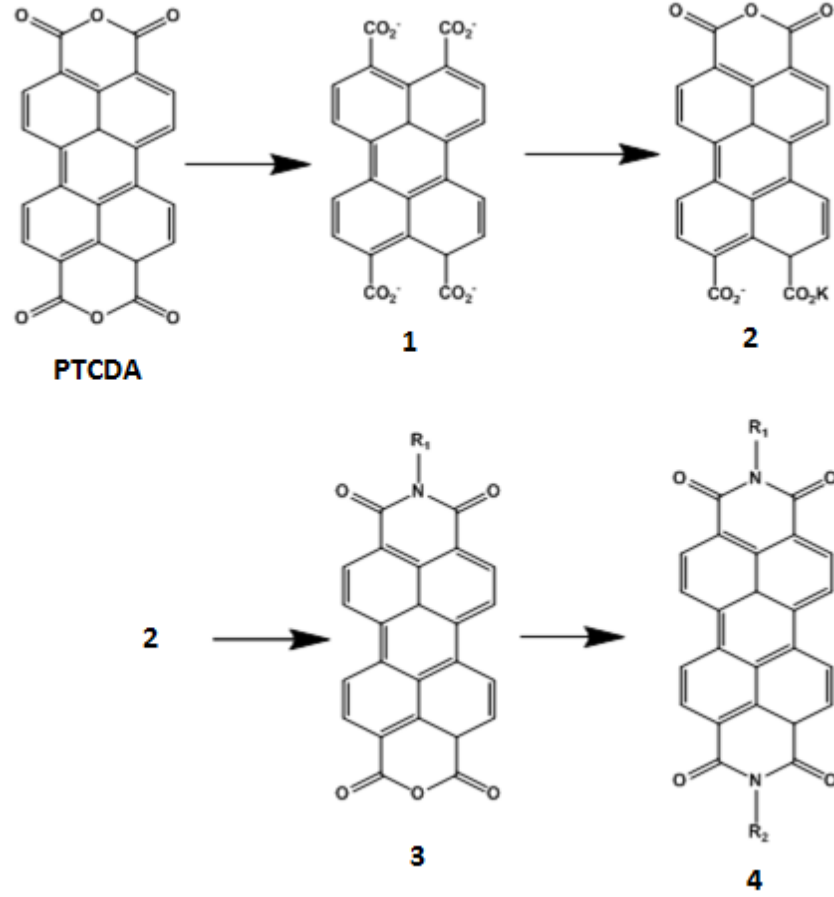
perilen boyaları yakın IR boyalar olarak adlandırılır (NIR) ve bu boyalar büyük stokes kaymalara, mükemmel fotokimyasal, termal ve kimyasal kararlılık özelliklerine sahip olması reprografik proseslerde, güneş hücrelerinde, fotovoltaiik cihazlar, biyoanaliz uygulamalarda gibi birçok kullanım alanında kullanılmasını sağlamıştır [53-55].

1.2.4 Perilenmonoimidler

Monofonksiyonel boyalar, çoklu kromoforik grupların sentezi için gerekmektedir. Ayrıca 1 no'lu yapının aynı anda iki farklı aminle tepkimeye sokulmasıyla simetrik olmayan yapılarda elde edilebilir. Ancak her iki aminde benzer reaktiviteye sahipse arzu edilen verime ulaşılabilir.

Reaksiyon sonunda meydana gelebilecek iki farklı simetrik imid yapısının, istenen ürün olan simetrik olmayan imid yapısından ayrılması gerekir. Suda çözünür aminlerin kondenzasyonu ile simetrik olmayan süstitüe boyaların elde edilmesi için bir alternatif yol ortaya çıkar. Teknik özellikteki PTCDA yapısı KOH ile tepkimeye girdiğinde kolaylıkla suda çözünür tetrapotasyum tuzu olan **1** yapısı elde edilir . Bunun sodyum tuzunun çözünürlüğü daha düşüktür. pH değerinin düşmesiyle monoanhidrid monopotasyum tuzu olan **2** yapısı çöker. **2** no'lu yapı uygun asit (asetikasit, fosforikasit) eklenmesi sonucu pH'ın azaltılmasıyla oldukça saf olarak elde edilir. **2** no'lu yapının sulu fazda primer aminlerle etkileşimi sonucu perilen imid anhidrid **3** yapısı oluşur. Daha sonra ise oluşan ürünün primer aminlerle etkileşimiyle de simetrik olmayan **4** türevi elde edilir. Ancak bu etkileşim sadece suda çözünür aminler için geçerlidir. Hidrofobik olan, uzun zincirli, çözünebilir *sec*-alkilaminler bu tip reaksiyonları vermezler [56-58].

Bazı perilenmonoimid türevlerinin sentezi tek basamaktadır gerçekleştirilir. Özellikle sikloalkanların perilen halkasına sterik etkisinin az olması nedeniyle tek basamakta bu sentez başarılmaktadır ve güçlü flurosans emisyon özelliklerine sahip olurlar. Bu sentezlenen molekül, nanofiber uygulamalarda [59,60], bunun yanı sıra perilenmonoimidler ışık, elektro- ve optoelektronik cihazlarda kullanılmaktadır [58].



Şekil 1.7 : PTCDA'dan yola çıkarak perilenmonoimid ve asimetrik perilendiimid sentezi.

1.2.5 Perilenpoliimidler

Poliimidler yüksek sıcaklıklara dayanıklı önemli moleküller sınıfına girmektedir. Onlar yüksek termal kararlılık, düşük dielektrik sabiti, iyi planarizasyon, yüksek voltaj kırınımı, düşük ısı genleşme, mükemmel mekanik özelliklere sahip moleküllerdir. Mikroelektronik, mikromekanik, fotelektronik, havacılık, sıvı hizalama tabakalar, kristal ekranlar, gaz ayırıcı-membranlar gibi birçok farklı endüstriyel uygulamalarda kullanılmak üzere poliimidlere farklı özellikler kazandırmak gerekir [64]. Perilen-3,4:9,10-tetrakarboxilikasit dianhidrit, poliimidler ile birleştirilmesiyle poliperilenimidler elde edildi. Bu moleküllerde yüksek çözünürlük, sıvı kristal hizalama tabakalar, ışık yayan elektrokimyasal hücreler [61], lüminesans materyaller [62], elektrokromik materyaller gibi uygulamalarda kullanılabilirliği için istenilen anahtar özelliktir. Buda perilen

halkasının körfez bölgesine belli grupların süstitüsyon olması halkalar arasındaki π etkileşimleri azaltarak yada periferik bölgelere daha farklı poliimid gruplar takılarak, organik çözücülerde çözünlüğü sağlanmaktadır [63]. Kopolimer içeren perilenler iki farklı redoks durumunda anahtar rolü oynama, film formunda radikal anyon- nötr-dianyon formlarında dönüşümlü olarak renk değiştirme (kırmızı – mavi- mor) özelliklerine sahiptir [64]. Perilen polimerler peroksit oksidatif koşullar altında kararlı ve kemilüminesans özelliğine sahip önemli floroforlardır. Yük-enerji transferi ve dönüşümünü sağlayarak fotovoltaiik cihazlarda ve güneş hücrelerde kullanım alanı bulmuştur. Renkleri sarıdan kırmızıya dönüşen iyi çözünlük ve yüksek termal kararlılığa sahiptir. Bütün bu özellikleri yapısında barındırması fotonik, elektronik ve sensor uygulamalar için uygun bulunup nanoteknoloji ve biyoteknoloji gelişiminde önemli yer tutmaktadır [65].

1.3 Perilen Türevlerinin Biyolojik Özellikleri

1.3.1 DNA G-dörtlü Yapının Stabilizasyonu ve Telomeraz Enzim İnhibisyonu

G-dörtlü yapısı dört guanin biriminden oluşur, bu yapı sekiz Hoogsteen hidrojen bağıyla yassı bir tabaka şeklinde bir arada bulunur. Bu tabakalar birbiri üzerinde istiflenerek kararlı bir G-dörtlü yapı oluştururlar. Bu yapısıyla G-dörtlü DNA çift sarmal DNA'dan oldukça farklıdır. G-dörtlü DNA yapısının oluşumu, tümör hücrelerinin ölümsüzlüğüne sebep olan (telomerin uzamasına katkı sağlayan) telomerazın aktivitesini hücre içi ve dışında durdurduğu rapor edilmiştir. Son yıllarda kanser araştırmalarında, anti-kanser ilaç tasarımı için önerilen G-dörtlüsü hedef olarak araştırmacılar tarafından oldukça ilgi görmektedir [66]. Telomerler doğrusal kromozomların uçlarıdır ve binlerce kez tekrarlanan kısa DNA dizileri (insanda TTAGGG) içerirler. Telomerler, kromozom uçlarının parçalanmasını veya diğer kromozomlarla kaynaşmasını engelleyerek, kromozomların yapısal bütünlüğünün korunmasını sağlarlar. Telomerleri sentezleyen ve koruyan telomeraz enzimidir. RNA içeren bu olağanüstü enzim, telomerik DNA dizilerini doğrusal kromozomların uçlarına ilave eder. Her replikasyon (yenileme) sonrası kromozom kısalır; çünkü

DNA polimeraz ana zincirinde, 3' ucunda yeni bir DNA sentezini başlatamaz. Telomeraz, bu "uç-replikasyon" problemini de çözmüştür. Enzim, sayısız telomerik tekrar dizilerini kromozomun 3' ucuna takarak kromozomun kısalmasını engeller [67,68].

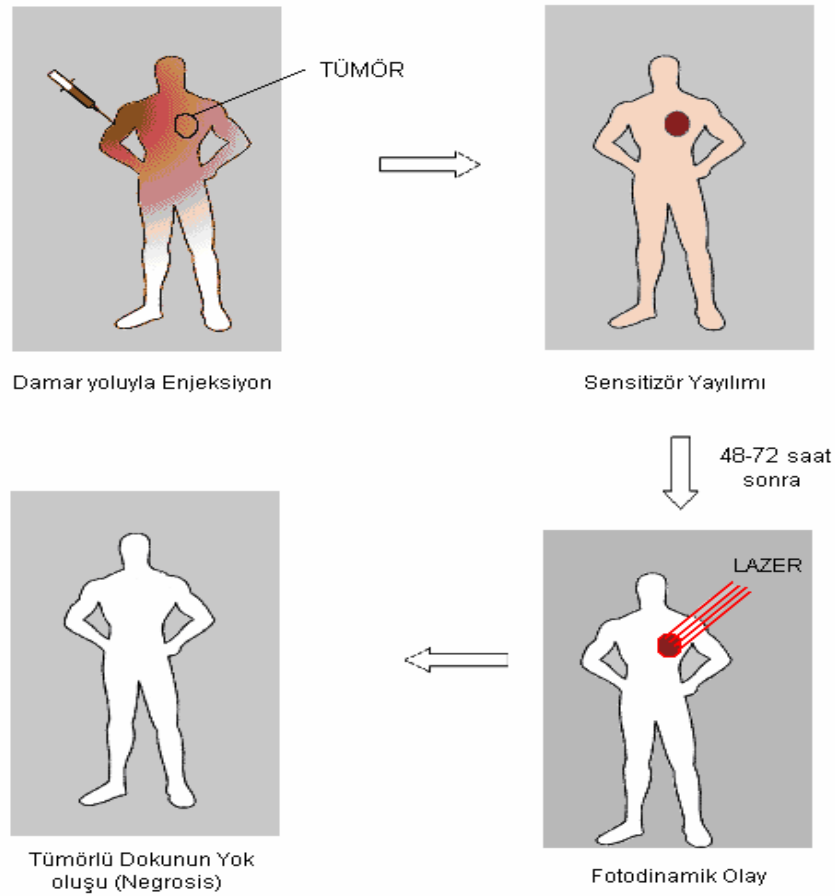
Ne yazık ki, normal yaşam hücrelerinde telomeraz dinamiği negatif olup, her hücre çevriminde kaybedilen telomerik DNA miktarı, yeniden sentezlenen telomerik DNA miktarından fazladır. Normal bir hücrenin her bölünüşünde, telomer boyu yaklaşık 100 baz çifti kadar kısalır. Normal hücreler özgül sayıdaki hücre bölünmesinden sonra yaşlanırken, kanser hücrelerinde durum böyle değildir. Kanserli hücrelerde telomeraz enzim aktivitesi yüksek olup yavaşlama durmakta ve ölümsüzlük kazanmaktadır. Son birkaç yıldır, telomerazın kansere karşı kullanılan ilaçlar için ideal bir hedef olabileceği görülmüştür. Telomeraz aktivitesini engelleyen ilaçlar, telomer boylarını kısaltır ve kanser hücrelerini yaşlandırarak öldürür. İnsan normal hücrelerinin (somatik hücreler) çoğunda telomeraz aktivitesi bulunmadığı için böyle bir tedavi, kanser hücrelerine özgüdür [69].

Günümüzde kullanılan geleneksel kanser ilaçlarından daha az yan etkisinin olacağı saptanmıştır. Telomerlerde G-dörtlü DNA yapılarının bulunması ve bu yapının oluşumunun telomerlerin uzamasını engellediği kanıtlandıktan sonra, G-dörtlü DNA'yı kararlı kılan bileşikler kanser tedavisinde ilgi çekmeye başlamıştır. Bu ilaçlarla muamele edilen tümör hücreleri telomerik dizilerini kaybettiği ve yaklaşık 25 hücre bölünmesinden sonra öldüğü bildirilmiştir [69]. Bu ligandların G-dörtlüsüne karşı seçicilik ve ilgisinin yüksek olması anti-kanser ilacı olarak kullanılmasında önemli etkindir.

Perilendikarboksiimidler, G-dörtlü yapıları ile etkileşirerek farklı G-dörtlü yapılarının oluşumu için iyi bir eğilim gösterirler. Bu yapıların telomerazın aktifliğinin durdurması ve dörtlü yapıyı kararlı kılması imid azotuna bağlı olan yan zincirin bazikliğine ve uzunluğuna bağlıdır. Birçok ligand şimdiye kadar literatürde G-dörtlü yapıları kararlı kılan ve antitelomeraz ligandlar olarak önerildiği yapılardan bir tanesinde perilendiimid türevleridir [70-72].

1.3.2 Perilendiimid Türevlerinin Fotosensitizer Olarak Kullanılması

Fotodinamik etkiler olarak isimlendirilen, fotodinamik terapi, sensörlü reaksiyonlar ile oluşturulan, oksijenin reaktif formları ile biyolojik materyallerin oksidatif parçalanmasına dayanır. Fotodinamik olarak uyarılan aktif türler sensörden oksijen molekülüne enerji transferi ile singlet oksijen ($^1O^-(^1\Delta g)$) oluşur. Elektron transferi ile daha az miktarda süperoksit (O_2^-) elde edilir. Bu fotodinamik etki, kanser ya da damar hastalıklarının (atherosclerosis) fotodinamik tedavisinde (PDT), bazı bakteri, virüs ve böceklerin inaktivasyonunda kullanılmaktadır. En güçlü çalışma alanı tümörlerin fotodinamik terapisi. Bu yöntemde genellikle, sensör, damardan enjekte edilir ve bir süre tümör üzerine tutunması için zaman verilir ve görünür ışıkla tümörlü hücrelerin parçalanması sağlanır. Bu yolla singlet oksijen ve diğer reaktif partiküller tümör üzerinde direkt oluşur ve içerden onu parçalayarak yok eder [73-75].

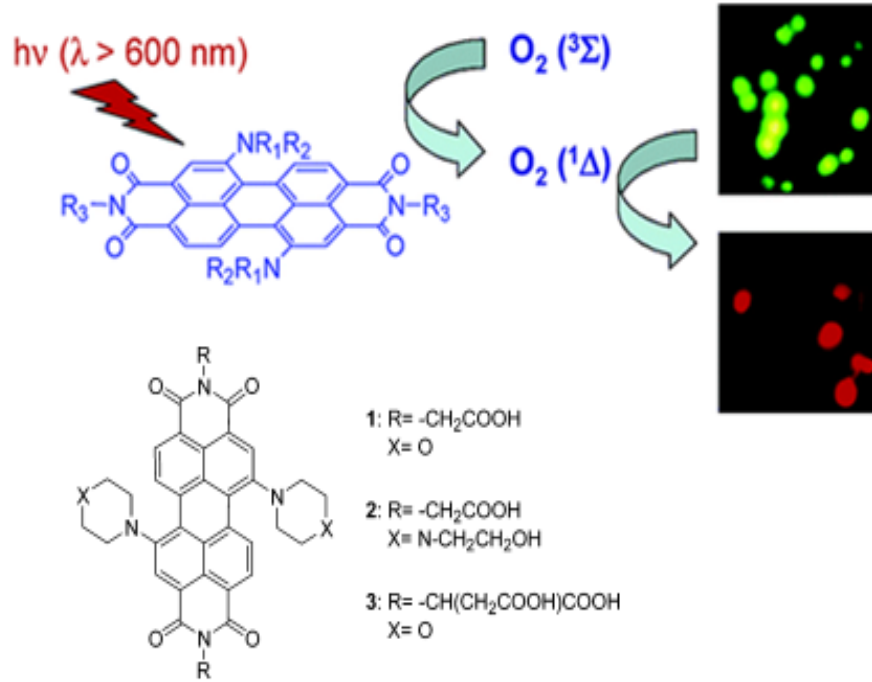


Şekil 1.8 : PDT yöntemiyle tedavi şematizesi.

PDT için uygun sensörler, spesifik gereklilikleri karşılamak zorundadır. Bu fotosensitizerler;

- Maksimum absorpsiyonu 600-800 nm bölgesinde, minimum absorpsiyon 400-600 nm bölgesinde gerçekleşmelidir.
- Yüksek $^1\text{O}_2$ (singlet oksijen) kuantum verimine sahip olmalıdır.
- Fotokararlılık: Bir sensör, fotodegradasyona karşı, $^1\text{O}_2$ ve ortamda oluşan diğer reaktif oksijen türleri tarafından oksidayona karşı kararlı olmalıdır.
- Zehirsizlik: Sensörlerin, karanlık ortamda zehirsiz olmaları istenir, bunun nedeni ise karanlıkta sensörün, organizma üzerinde istenmeyen etkisinden kaçınmak içindir.
- Sağlıksız doku üzerinde tutunma: Sağlıksız dokuda sensörün spesifik tutunması, sağlıksız (zararlı) ve sağlıklı dokudan taşınan sensörün farklı kinetikleri sonucudur.
- Saf madde kullanımı: Çok iyi tanımlanmış madde, sensör biyopolimer etkileşiminin güvenli değerlendirilmesi için gereklidir.
- Floresans: Sensörün floresansı, canlı organizmada (*in vivo*) yayılmış sensörün tespitini olanaklı kılar.
- Çözünürlük: Sulu ortamda sensörün yeterli çözünürlüğü direkt damar uygulamaları ve planlanan hedefe taşınması için önemlidir. Hidrofobik çözünmeyen sensörler, suda çözünür taşıyıcılar tarafından taşınabilir [73,74].

Perilendiimid türevleri çok yüksek kuantum verimlerine sahip kırmızımsı boyalardır. Aynı zamanda uzun dalga boyuna sahip değildirler. Perilen körfez bölgesine tek veya çift amin süstitüsüyonuyla bu boyaların hem maksimum absorpsiyonun 750 nm'ye kaymasını hemde suda çözünürlüğünün artması sağlanır. Bu tarz çalışmalar için sentezlenen madde, suda çözünür yeşil perilendiimid molekülleridir. Kırmızı ışık uyarımı ile, bu boyaların singlet oksijen verimi jeneratör etkisi yaparak hücre kültür ortamında, insan erythro leukemia hücre dizinine (K-562) önemli ışık etkisiyle sitotoksik etki gösterirler [38].



Şekil 1.9 : Fotodinamik terapide fotosensitizer olarak kullanılan bazı perilendiimid türevleri.

1.3.3 Glutasyon S-Transferaz ve Src Tirozin Kinaz Enzim İnhibisyonu

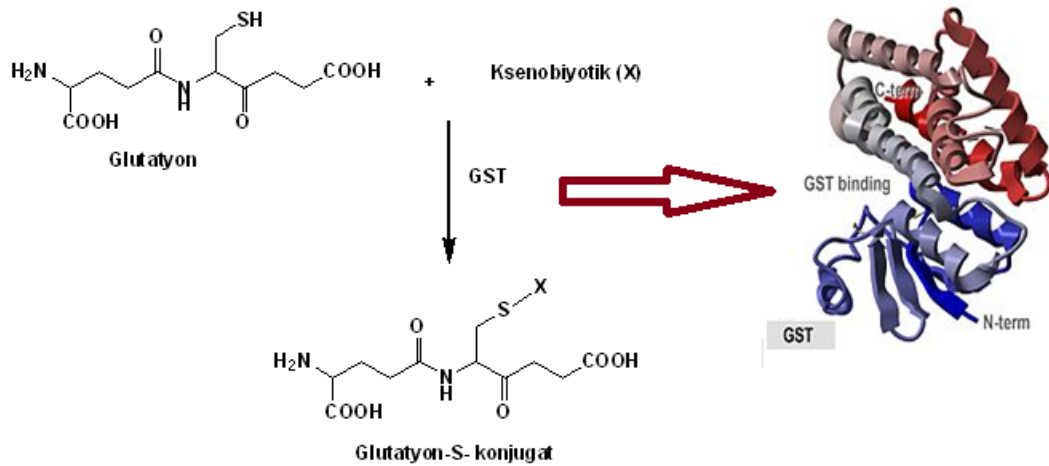
Glutasyon S-transferazlar (GSTs) endojen ve ekzojen kaynaklı ksenobiyotik bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlayan Faz II enzim ailesidir. Glutasyon(GSH) transferaz aktivitesi gösteren bu enzimler sitozolik, mitokondriyal ve mikrozomal (membran bağlı-MAPEG) olmak üzere üç gruptan oluşmaktadır. Sitozolik GSTs aminoasit dizi benzerlikleri, substrat spesifisiteleri, immünolojik reaktivitelerine bağlı olarak günümüze kadar 7 sınıf (alfa, mü, omega, pi, sigma, teta, zeta) olarak tanımlanmıştır [77,78].

Sitotoksik ajanlara karşı kanser hücrelerinin direnç geliştirmesinde çeşitli mekanizmalar söz konusudur. Bunlar içerisinde hücre siklusu, proliferasyon, detoksifikasyon, ilaç transportu (influks, efluks, retansiyon) gibi biyokimyasal mekanizmalar ve DNA replikasyonu ve tamiri gibi mekanizmalar rol oynamaktadır [79].

Tümör hücresine antikanser ajanın girmesiyle birlikte hücre içinde GSH düzeyinde ve GST enziminin ifadesinde artış olmaktadır. GSH hücre içinde en bol bulunan protein yapısında olmayan ve tiyol grubu içeren bir tripeptiddir. Bu bileşik GST enziminin fizyolojik substratı olarak görev yapmaktadır [80,81].

Enzim, GSH yardımıyla ksenobiyotiklerin (örneğin; antikanser ilaçlar) protein yapısındaki çeşitli pompalar yardımıyla dışarı atılmasına neden olmaktadır. Artan GST aktivitesi ile birlikte ilacın hücre içinde uzun süre kalması bu nedenle zorlaşmaktadır. Kaldı ki, enzime paralel olarak bu dışarı pompalama proteinlerinin [MultiDrug Resistance Proteins (MRPs)] ifadesinde de artış gözlenmektedir.

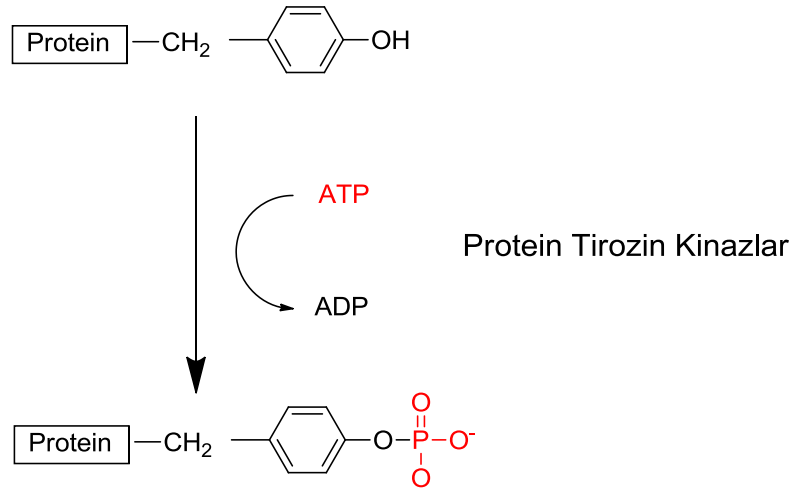
Son yıllarda yapılan çalışmalar, tümör hücrelerinde GSH'ın yüksek düzeylere ulaşmasının ve GST'nin aşırı ekspresyonunun çoklu ilaç direnci (MDR) gelişimi ile paralel geliştiği yönündedir [82,83]. Çeşitli insan kanser ve prekanser dokularında en fazla oranda üretimi olan GST P1-1 izozimidir. Ulusal Kanser Enstitüsü İlaç Tarama Programı tarafından yapılan taramada kullanılan 60 tümör hücre dizisinin hemen hepsinde GST P1-1'in dominant izozim olduğu saptanmıştır. Bu nedenle de farklı kanser tiplerinde sitostatik ilaçlara karşı gelişen klinik direnç için önemli bir belirteç olarak kullanılmaktadır [84,85].



Şekil 1.10 : Glutatyonun (GSH) ksenobiyotiklere Glutatyon-Transferaz (GST) katalizli reaksiyonu.

Normal şartlar altında hücreler zamanı geldiğinde ölmelidirler. Bunu sağlayan fizyolojik işlem programlı hücre ölümü, yani apoptozisdir. Kanserli hücrelerde bu işlev bozulmaktadır. Bu duruma neden olan faktörlerden biride GST'nin apoptotik yolda üstlendiği roldür. Apoptotik yolların işleminde, yani sinyal iletiminde düzenleyici proteinler görev almaktadır. Sinyal iletiminde meydana gelen değişimler ile hücrenin çoğalma veya yaşama işlevleri kontrol altında tutulmaktadır. Bunlar içerisinde yer alan mitojenle aktive olmuş protein kinazlar (MAPK) hücre membranından çekirdeğe bilgi aktarımında rol oynamaktadır [86]. Birçok antikanser ilacın GSH konjugatlarının oksidatif stres ve ksenobiyotik varlığında oluşması, bunların hücresel stresin indikatörleri olarak kullanılmasını akla getirmektedir. Gerçektende GSH konjugatlarının GST izoenzimleri aracılığıyla stresle aktive olmuş sinyal yolağını düzenledikleri bulunmuştur [87].

Tirozin kinazlar, hücre çoğalması, farklılaşması ve taşınması gibi biyolojik olayların gerçekleşmesini sağlayan hücresel sinyal iletiminde rol alan önemli düzenleyicilerdir [88]. Sinyal iletimi sırasında proteinin fosfatlanmasını sağlarlar. Tirozin kinazlar, reseptör tirozin kinazlar (RTK) ve non-reseptör tirozin kinazlar (NRTK) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. İnsan genomunda tanımlanmış 90 tirozin kinazın 58'i reseptör tirozin kinazlara, 32'si ise non-reseptör tirozin kinazlara aittir [89].



Şekil 1.11 : Protein yapısındaki tirozinlerin protein tirozin kinazlar tarafından fosforilasyonu.

RTK'lar hücre dışı sinyallerin sitoplazmaya iletilmesini sağlarken, NRTK'lar ise hücre içi sinyal iletiminde rol alırlar. Tirozin Kinazların aktivasyonu beraberinde birçok sitoplazmik sinyal iletim yolağını da aktif hale getirir. Bu yolaklardaki hücre içi mediyatörler aracılığıyla, sinyaller membran reseptörlerden sitoplazmaya oradan da çekirdeğe kadar taşınır. Sonuçta hücre büyümesi, farklılaşması ve ölümü gibi çeşitli biyolojik işlemler için gerekli olan DNA sentezi gerçekleşir [90]. Non-reseptör tirozin kinazlardan olan Src ailesi kinazlar (Src family kinase, SFK), hücre büyümesi, farklılaşması, motilitesi, kanser oluşumu ve immün hücre fonksiyonu gibi çeşitli düzenlemelerde rol oynarlar. Src tirozin kinazların biyolojik olayları düzenlemedeki bu geniş spektrumlu rolü, bu enzimlerin çok sayıda farklı reseptörleri ve hücrel hedefleri etkileme yeteneğine bağlıdır [91].

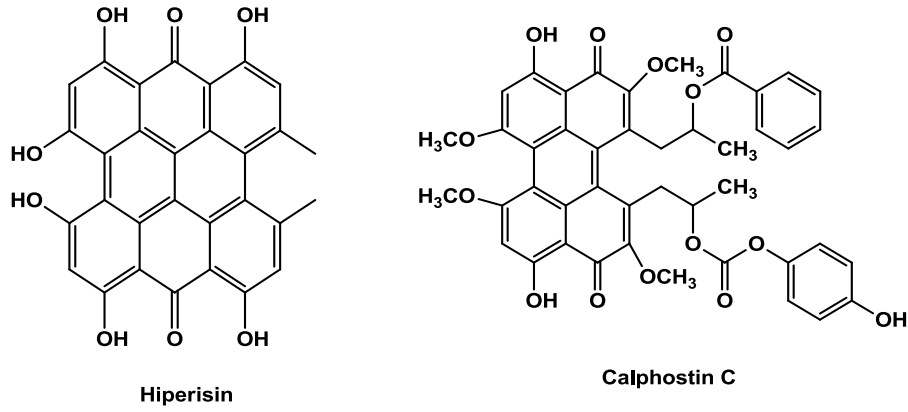
Bugüne kadar 75'den fazla tirozin kinaz reseptörü (RTK) saptanmıştır ve bunların çoğu onkogenezis ile ilişkilidir. Bazı RTK'lar protoonkogendir ve reaktif oksijen radikalleri (ROS)'nde değişiklikler, sinyal ileti moleküllerinin aktivasyonu, hücrel proliferasyon, migrasyon ve hücrenin yaşam süresi gibi parametrelerde değişiklikler yaparak, hücrenin çoğalmasına ve metastaza neden olurlar [92].

Bu nedenle RTK'lar, antikanser tedavide, hedef moleküllerden biridir. Tirozin kinazların kanser oluşumundaki rolünün anlaşılması, antikanser ilaç geliştirme çalışmalarının tirozin kinazlar üzerine yoğunlaşmasını sağlamıştır. Tirozin kinazlar farmakolojik olarak çeşitli mekanizmalarla inhibe edilebilir [93]. Tirozin kinaz enziminin inhibisyon bir takım yollarla gerçekleştirilebilir:

- RTK aktivasyonunda ligand-reseptör etkileşmesinin bloke edilmesi,
- Reseptör dimerizasyonunun önlenmesi,
- Kinaz bölgesinin otofosforilasyonunun önlenmesi,
- Adaptör proteinlerin hedef proteinlere bağlanmasının önlenmesi,
- Hücre içi sinyal iletim yollarının inhibisyonu,
- Çekirdeğe giriş ve çekirdek translokasyonunun önlenmesi,
- DNA ve RNA sentezinin önlenmesi [94].

Bir perilen bileşiği olan hiperisin'in (7,14-dione-1,3,4,6,8,13-hexahydroxy 10,11-dimethyl-phenanthrol[1,10,9,8-opgra]perylene) reseptör tirozin kinazlar üzerine etkisinin olduğunun gösterilmesiyle perilen türevlerinin bugüne dek bilinen

indol türevlerine ek olarak özel bir kinaz inhibisyonu yapabildiği gösterilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda hiperisinin reseptör protein tirozin kinazlara özgü inhibisyon yaptığı ve reseptörsüz protein tirozin kinazlar üzerine etkili olmadığı gösterilmiştir [95]. Perilen quinone'un (Calphostin C) protein kinaz C (PKC) inhibisyonu yaptığı bilinmekte olup diğer perilen türevlerinin kinazlar üzerine olan etkinlikleri halen çalışılmaktadır [96].



Şekil 1.12 : Hiperisin ve Calphostin C ' nin kimyasal yapısı.

Src Tirozin Kinaz ve Glutasyon S-Transferaz enzimlerinin kanserli hücrelerin oluşumuna ve gelişimine büyük katkı sağladığı birçok çalışmayla ortaya konulmuştur. Özellikle antikanser ilaç dizayn çalışmalarında bu enzimlerin inhibisyonu hedef alınarak bir dizi perilendiimid türevli maddeler sentezlenmiştir. Bu enzimler üzerinde inhibisyon analizleri yapılmış olup çeşitli perilen türevlerinin gerek Glutasyon S-Transferaz gerekse Src Tirozin Kinaz enzimini inhibe ettiği ortaya konulmuştur [97].

1.4 Mikrobiyoloji

1.4.1 Mikrobiyolojik Tanımlar

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından bedensel, ruhsal ve sosyal yönden tam bir iyilik hali olarak tanımlanan "sağlık" kavramını etkileyen üç temel unsur;

insan, hastalık yapıcı etmenler ve çevredir. İnsanın dışındaki herşey olarak nitelendirilen, içinde yaşadığımız çevre, hastalıklara yol açan en önemli etkenlerin başında gelen mikroorganizmalar ile her an temasta bulunduğumuz ortamdır [98]. Günümüzde yaşam koşullarının değişmesi ve bireylerin zamanlarının çoğunu ev dışında geçirmeleri, değişen beslenme alışkanlıkları ve ulaşım olanakları, uluslararası ziyaretler gibi faktörler, mikroorganizmaların, toplu yaşam alanlarında kolayca bireyden bireye geçişine ve bulaşıcı hastalıkların artmasına neden olmaktadır. Mikroorganizmalar kişisel ve çevresel özelliklere bağlı olarak değişik şiddetlerde bulaşıcı hastalıklara hatta salgınlara yol açabilmektedir. Toplumun sağlıklı olabilmesi için toplumu oluşturan bireylerin sağlıklarının korunması gerekmektedir. Bu nedenle, yaşadığımız mekanlarda, çalıştığımız ortamlarda ve kullandığımız ürünlerde hijyenin sağlanması, yani hastalık oluşturabilecek mikroorganizmalardan arındırılması günlük yaşamımızda giderek önem kazanmaktadır [99].

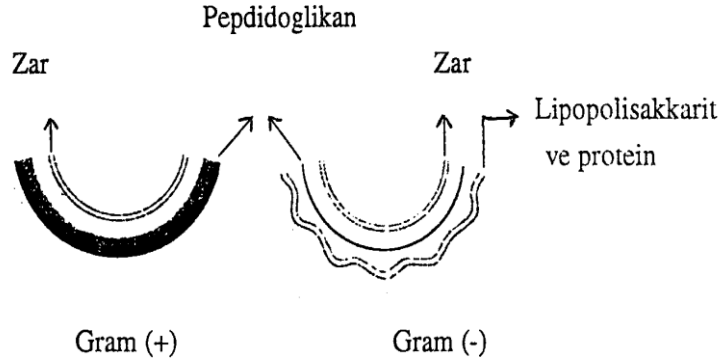
Günümüzde ticari olarak piyasada bulunan antimikrobiyal ajanların yanlış ve aşırı kullanılması nedeniyle çoklu ilaç dirençli bakterilerin ortaya çıkmaktadır. Enfeksiyon hastalıklara karşı mücadele zorlaşmaktadır. Bu nedenle, alternatif ajanlar halen aranmaktadır.

1.4.2 Mikroorganizmalar ile İlgili Genel Bilgiler

Bakteriler DNA'sı bir zarla çevrili olmayıp, sitoplazma içinde dağınık vaziyette bulunan mikrocanlılardır. Bu canlılar enleri 0.5 µm, boyları 1-3µm ebatlarında yuvarlak, çubuk yada spiral şekildedir. Doğada binlerce cins ve türleri bulunur. Mikroorganizmalar çok çeşitlidir. Bu tanımlama bakterileri, mantarları, arkeaları, protistleri, mikroskopik bitkileri, plankton, planarya ve amoeba gibi mikro hayvanları da içine almaktadır. İnsan ve hayvanlarda pekçok hastalıklara neden olup yeryüzünde kutuplar, ekvator, bataklık, tüm sular, insan, hayvan ve bitkilerde barınırlar. Dünyada bulunmadıkları yer yoktur [100].

Mikroorganizmalar insan ve hayvanlarda , boğaz , alt solunum yolları, beyin, sindirim sistemi, idrar yolları, genital organlar, deri ve yumuşak doku, göz, kulak, yüz sinüsleri enfeksiyonlarına ve savunma eksikliği olanlarda da çeşitli enfeksiyonlara sebep olmaktadır [101,103].

Bakteriler Gram boyama, özelliklerine, şekillerine göre sınıflandırılırlar. Gram boyama tekniği mikrobiyolojide çok kullanılan bir yöntemdir. Gram boyama sonucunda mor görülen mikroorganizmalar Gram pozitif, pembe görülenlerse Gram negatif olarak değerlendirilir. Bakterilerin yapısının ışık mikroskopunda görülmesinin zor olmasına rağmen mikrobiyologlar Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin yapılarındaki bu farklılığı elektron mikroskop ile belirlemişlerdir [101].



Şekil 1.13 : Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvar karşılaştırılması.

Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı tek kattan oluşmuş ve çok ince, Gram negatif bakterilerin hücre duvarları tamamen kompleks ve çok katlı bir yapıya sahiptir. Gram pozitif bakterilerde hücre duvarının %90'ını peptidoglikanlar oluşturur. Fakat teikonik asitin öğeleride az miktarda bulunur. Gram negatif bakterilerin hücre duvarının ancak %5-20'sini peptidoglikanlar oluşturur. Hücre duvarını oluşturan diğer öğeler ise; lipitler, polisakkaritler ve proteinlerdir. Gram pozitifleri negatiflerinden ayırmada büyük önem taşıyan kısas en dış katmandaki lipopolisakkaritler ve proteinlerdir. Çünkü bu tabaka oldukça karmaşık ve koruyucu özellik taşır [101,103].

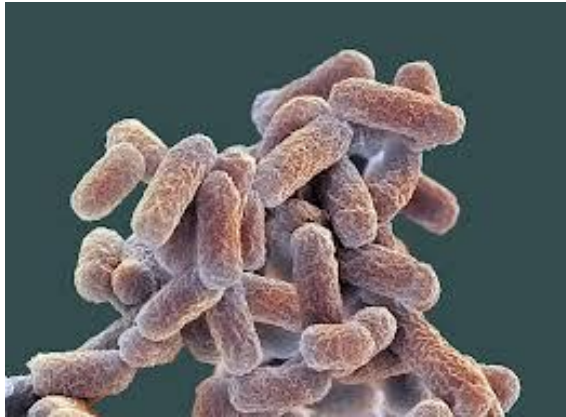
1.4.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia cinsi, *Enterobacteriaceae* ailesinin tanımlamalarına uygun olarak hareketli ve hareketsiz bakterilerden oluşmaktadır. *E.coli*, 2-6 µm boyutunda Gram negatif bakterilerdendir ve altı *Escherichia* türü içinde genellikle insan örneklerinden izole edilen türdür [102].

Bağırsak florasının normal bir üyesi olan *E. coli* ile konak organizma arasında uyumlu bir ilişki olduğundan bakteri normalde hastalık yapmaz. Ancak, ortama geçmesi halinde, ki bu aynı organizmada başka bir organ olabilir (idrar yolu enfeksiyonu ile mesaneye geçmek gibi) veya başka bir konak organizmanın bağırsağı olabilir, *E. coli* bir hastalık etmeni olabilir. Bu hastalıklar arasında başlıca ishalli hastalıklar olmakla beraber idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, peritonit, mastit, sepsis ve pnömonide sayılabilir [103].

İdrar yolu enfeksiyonlarının %90'ının nedenidir. Bu *E.coli* tipleri idrar yolu epitel hücrelerine özellikle bağlanabilen fimbriumlara sahiptir. Kadınların üretrasının erkeklerinkinden daha kısa olması nedeniyle bu enfeksiyon kadınlarda daha sıkça görülür. Dışkıdan gelen bakteri genelde cinsel ilişki sonucu idrar yoluna girer, bakteriler üretrayı tırmanıp mesaneye ulaşırlar. Mesane enfeksiyonuna sistit denir, tedavi edilmediğinde böbrek yangısına (piyelonefrit) dönüşebilir. [104].

Tanımlanmış en az beş diyarejenik *E. coli* kategorisi vardır: Shiga-toksin(ST) üreten *E.coli* (STEC)(enterohemorajik *E.coli* [EHEC] olarak bilinir), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), entroagregatif *E. coli* (EAEC) ve enteroinvaziv *E.coli* (EIEC) [103].



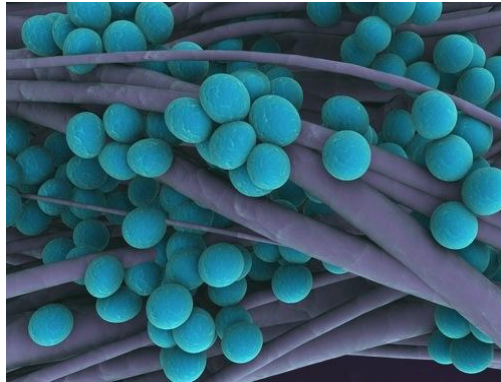
Şekil 1.14 : *E. coli* kolonisinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.

1.4.2.2 *Staphylococcus aureus*

Micrococcaceae familyasının bir üyesi olan *S. aureus*, 0.5-1.0µm çapında, küresel, Gram pozitif, sporsuz mikroorganizmadır. Mikroskop görüntülerinde tek tek koklar şeklinde, ikili koklar şeklinde, tetrat yada düzensiz kümeler halinde veya üzüm salkımı şeklinde kümeler, bazen de kısa zincirler oluşturabilen bakterilerdir [103].

Staphylococcus aureus, hastane ve toplumsal kaynaklı enfeksiyonların başlıca nedenlerinden birisidir. Bireylerin derisinde ve burun deliklerinde kolonize olabilen ve popülasyonda önemli oranlarda taşınabilen *S.aureus*, deri ve yumuşak dokuda selulit, impetigo ve yumuşak doku apseleri gibi morbidite ve mortalitesi yüksek değişik enfeksiyonlara neden olmaktadır [102].

Staphylococcus aureus aerobik şartlarda daha hızlı, çabuk büyürler. *Stafilokok*'ların yaygın olmayan bazı alt türleri iyi bir büyüme için karbondioksit varlığında olması gerekir. *Stafilokok* enfeksiyonları ; deri ve mukoza da oluşan enfeksiyonlar ki bunlar; abseler, fronkül (kan çıbanı), sikozis (sakal ve kıl kökü iltihabı), panaris (dolama), hidradenit (ter bezi iltihabı), biefarit (göz kapağı iltihabı), bademciklerin iltihaplanması, farenjitler, peritonsiller abse ve anjinler sayılabilir. Deri döküntülü hastalık olarak toksik şok sendromu görülebilir. Sepsis, endokardit, pnömoni, gıda zehirlenmesi ve enteritler yaptıkları diğer hastalıklardır [103].



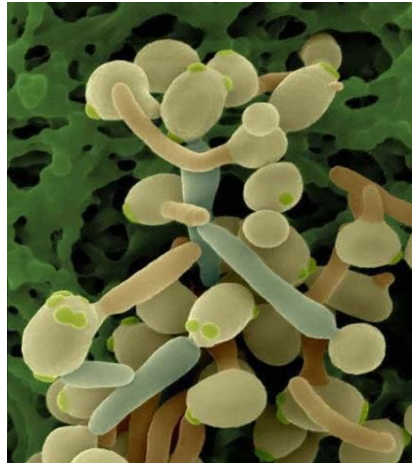
Şekil 1.15 : *S. aureus* kolonisi taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.

1.4.2.3 *Candida albicans*

Candida cinsi mantarlar *Cryptococcoceae* familyasında yer alan 2-3, 4-6 µm boyutlarında, oval tomurcuklanan bir mantardır. Normal kişilerin deri mukoz membranlarının normal florasında yer almasına rağmen organizmanın doğal direnci zayıfladığında, kütanöz, oportunistik (fırsatçı) ve sistemik infeksiyonlar yapar [105].

İnsanda hastalık yapan *candida* maya türünün başında *C.albicans* gelir. *C.albicans*; boğaz, üst solunum yolları, gastrointestinal kanal ve vajenin normal florasının üyesidir. Herhangi bir nedenle buldukları bölgedeki miktarları artarsa veya florasız bölgelere ulaşırsa endojen tipte hastalık oluşturabilirler. Anneden fetusa geçişi de mümkündür [105].

Candida cinsi mantarlar bifaziktir. Maya fazında tek hücreli konağa girdiğinde basit tomurcuklanma ile oluşan blastosporlar ile ürerler. Yaptığı hastalıklara genel olarak kandidiyaz ismi verilir. *Candida*'ların sebep olduğu kandidiyaz; ağız, vajina, deri, tırnaklar, bronş veya akciğerlerde lezyonlar oluşturabilen, daha az olarak septisemi, menenjit ve endokardite sebep olabilen akut veya subakut bir infeksiyondur [106].



Şekil 1.16: *C. albicans* taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.

1.4.3 Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizması

Antimikrobiyal maddeler genellikle mikroorganizmaları öldüren ya da üremesini durduran maddelerdir.

Antimikrobiyal sistemler etkilerini beş mekanizmada gösterirler:

- Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu,
- Hücre membran fonksiyonunun inhibisyonu,
- Enzim aktivitesinin inhibisyonu,
- Nükleik asit sentezinin inhibisyonu,
- İntermediyer metabolizmayı bozması şeklindedir [103].

1.4.4 Antimikrobiyal Maddelerin Etkinliğini Etkileyen Faktörler

Antimikrobiyal maddelerin etkinliği, antimikrobiyal maddelerin uygulanaşına ve mikroorganizmalara bağlı olarak değişebilir. Antimikrobiyal maddelerin kimyasal özelliği, derişimi, uygulama sıcaklığı, uygulama süresi, ortam pH'ı ile mikroorganizmaların yaşı, cinsi antimikrobiyal maddelerin etkinliği üzerine etkili olabilir. Antimikrobiyal maddelerin pek çoğu yüksek derişimde mikrobisid, düşük derişimlerde mikrobiyostatik etkiye sahiptir. Ancak derişim artışı ile antimikrobiyal etki arasında sürekli ve doğrusal bir ilişki yoktur. Belli bir derişiminden sonra antimikrobiyal maddelerin antimikrobiyal aktivitesinde herhangi bir değişim görülmez. Yüksek derişimde antimikrobiyal madde kullanımının insanda toksik etki oluşturması, uygulandığı yüzeye zarar vermesi, yüzeyde kalıntı sorunu yaratması gibi sakıncaları olabilir [107].

1.4.5 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesindeki Yöntemler

Yeni antimikrobiyal ilaçların etkinliğini saptamak amacıyla yapılan araştırmalarda duyarlılık testlerinde değişik yöntemlerden yararlanılabilir. Bunlardan disk difüzyon ve mikrodilüsyon araştırmamızda kullanılacaktır. Her iki testten elde edilecek sonuçlar birbiri ile bağlantılıdır [108,109].

Tüm antimikrobiyal duyarlılık testlerinin doğru ve güvenilir olması için referans kökenleri olarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) veya The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) dökümanlarında belirlenen mikroorganizmalar kullanılmaktadır. *E. coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923 (disk difüzyon için) ve *S. aureus* ATCC 29213 (minimum inhibisyon konsantrasyonu için) suşlar örnek verilebilir [108,109].

1.4.5.1 Disk Difüzyon Yöntemi

Test edilecek olan antimikrobiyal ilacın belirli miktarı kağıt disklere emdirilir. Bakterinin inoküle edildiği petri plağı içerisindeki besiyerinin yüzeyine yerleştirilir. Kağıt içerisindeki madde besiyerine yayılır. Diskten uzaklaştıkça antimikrobiyal madde konsantrasyonu azalır. Besiyeri üzerine ekim yapılan mikroorganizma disk çevresinde yayılan antimikrobiyal maddenin inhibitör konsantrasyonu dışında kalan bölgede üreyebilir. Diğer bir deyişle disk çevresindeki antimikrobiyal madde konsantrasyonunun yüksek olduğu alanda bakteri üremesi engellenir ve inhibisyon zonu oluşur. Bu yöntemle kullanımda olan birçok antibiyotik test edilen mikroorganizmalara etkisi inhibisyon zon ölçümleri okunur. CLSI veya EUCAST dökümanlarına göre her antimikrobiyal ilaç duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilir. Bu yöntemin avantajları uygulaması basit, kullanılan malzemelerin maliyeti düşüktür. Dezavantajı ise bazı antimikrobiyal maddelerin besiyerine difüz edememesi ve kantitatif minimum inhibitör konsantrasyonunu vermemesidir [103].

1.4.5.2 Mikrodilüsyon Yöntemi

Sıvı ve agar dilüsyon yöntemleri antimikrobiyal ilaçların mikroorganizmaları üremelerini durduran ve öldüren minimal konsantrasyonu miligram/ mililitre cinsinden belirlemede çok kullanılan testlerdir. Bu yöntemler antimikrobiyal maddelerin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) saptanır [108,109]. Sıvı mikrodilüsyon tek kullanımlık plastik mikrodilüsyon plakları kullanılarak yapılan duyarlılık testleri için uluslararası

referans yöntemidir. CLSI ve EUCAST dökümanları kullanılarak test ve değerlendirme yapılmaktadır [108,109].

1.4.5.2.1 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Antimikrobiyal maddeler genellikle iki kat seri dilüsyon yapılarak test edilir. Gözle görülen üremeyi önleyen en düşük antibiyotik konsantrasyon değeri minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) olarak tanımlanmaktadır. MİK belirlemek için sıvı ya da katı agar ortamında antimikrobiyal dilüsyonlarının hazırlanması sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır [110,111]. Bir antimikrobiyal için minimum inhibisyon konsantrasyon değeri mikroorganizma, inkübasyon sıcaklığı ve inokulum miktarı gibi analiz koşullarına bağlı olmaktadır [103].

1.4.5.3 Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK)

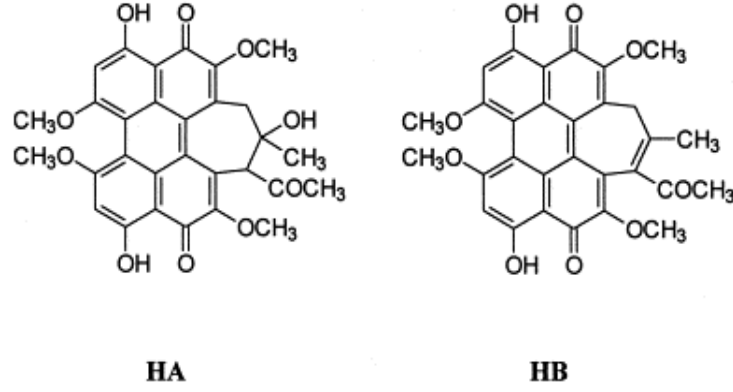
MİK değeri mikroorganizmaların statik aktivitesini yani mikroorganizmaların üremesini durduran konsantrasyon değerini belirtirken, bakterisit terimi mikroorganizmaları öldüren konsantrasyon değeri olarak ifade edilir. Bu yöntemde üremenin olmadığı kuyucuklarından belli miktarda (10 µl) alınan bakteri süspansiyonları koyun kanlı agara ekim işleminden sonra 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası üremenin gerçekleşmediği konsantrasyon değeri bakterilerde MBK değerini verir [102, 103].

1.4.6 Perilen Türevlerinin Antimikrobiyal Özellikleri

Perilen türevlerinin antiviral, antidepresan, antitümör, antibakteriyal aktivite özellikler göstermesi birkaç çalışmayla ispatlanmıştır. Hiperisin, perilen kinolin, gibi perilen türevleri bu mükemmel özelliklerinden dolayı tekstilde, boya ve gıda sektöründe birçok uygulama alanı bulmuştur [112,113].

Hiperisin, hypocrellin A ve hypocrellin B molekülünün antibakteriyal aktivitesi Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ve mantarlar üzerinde disk difüzyon,

minimum inhibisyon ve minimum bakterisidal konsantrasyon yöntemleri kullanılarak antibakteriyal özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir [114-116].



Şekil 1.17 : HA (Hypocrellin A) ve HB (Hypocrellin B) kimyasal yapısı.

Perilen türevi olan hiperisin molekülünün antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş olduğu bir çalışmada, hiperisinin altı çeşit bakteri (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Hiperisin molekülü bu altı bakteriden *S. aureus* ATCC 29213 (64 µg/ml) ve *S. epidermidis* ATCC 12228 (64 µg/ml) bakterilerine karşı etkili olduğu *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 19433, *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 karşı etki saptanmamıştır. Aynı zamanda hiperisinin etkili olduğu *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228'in minimum bakterisidal konsantrasyonuna (MBK) bakılmış fakat bakterisidal etki gözlenmemiştir [115].

Başka bir perilen türevi olan hypocrellin A ve hypocrellin B moleküllerinin antimikrobiyal aktivitesinin incelenmiş olduğu bir çalışmada, hypocrellin A ve hypocrellin B *Staphylococcus aureus*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Mycobacterium intracellulare* bakterileri üzerinde bakteriyostatik ve bakterisidal etkilerine bakılmış, sadece hypocrellin A molekülü *M. intracellulare* (22.5 ± 3.5) karşı bakteriyostatik etki göstermiştir. Bununla birlikte hypocrellin A ve hypocrellin B moleküllerinin antifungal aktivitesine bakılmış olup

C.albicans (1.41 ± 0.22 ve 22.0 ± 3.5) üzerinde her iki molekülünde etkili olduğu ispatlanmıştır [116].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyaller

2.1.1 Perilendiimid Türevlerinin Sentezi

2.1.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan L-glutamik asit di-tert-butil ester hidroklorit, 1-butanol Sigma-Aldrich Co. LLC'den; silikagel, brom, 3,4:9,10-perilenetetrakarboksilik 3,4:9,10-dianhidrit, sülfürik asit, trietilamin, asetik asit, trifluora asetik asit Merck Chemicals'dan; kloroform ve metanol Tekkim Kimya San. Ve Tic. Ltd. Şti'den satın alınmıştır

2.1.2 Antimikrobiyal Aktivitenin Saptanması

2.1.2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda sentezlenen maddelerin çözücüsü olarak Dimetil Sülfoksit Merck chemicals'dan temin edilmiştir.

2.1.2.2 Kullanılan Mikroorganizmalar

E.coli ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Candida albicans* ATCC 90028'dir.

2.1.2.3 Kullanılan Besiyerleri

Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan bakterilerin üremesi için Mueller Hilton Agar (MHA) (Oxoid) ve Mueller Hinton Broth (MHB ; Buyyon) (Oxoid) kullanıldı.

2.1.2.4 Kullanılan Malzemeler

Aktivite tayininde enjektör iğnesi, yuvarlak ve iğne uçlu öze, silgiç, Petri kabı, mikrodilüsyon plakları (150-200 mm), steril boş diskleri, gentamisin (Oxoid-10µg) ve pH İndikator (Merck) 0-14 kullanıldı.

2.1.3 Kullanılan Alet ve Cihazlar

2.1.3.1 Sentez Aşamasında Kullanılan Alet ve Cihazlar

Evaporatör (Buchi Rotavapor R-200)

Isıtma Banyosu (Buchi Heating Bath B-490)

Isıtma Mantosu (Wisetherm Heating Mantle)

Manyetik Karıştırıcı (Heidolph MR-3001K)

Manyetik Karıştırıcı (DragonLab MS-H-S)

Vakum Pompası (Rocker 300)

Buzdolabı (Siemens KD40NV-03-NE)

Hassas Terazı (Mettler Toledo XS64)

UV Spektrometresi (T80 UV/VIS Spectrometer PG Instruments Ltd.)

UV El Lambası (UVGL-58 Handheld UV Lamp)

NMR Spektrometresi (Bruker Instruments Avance Series-Spectrospin DPX-400 Ultra Shield (400 MHz) High Performance Digital NMR Spectrometer)

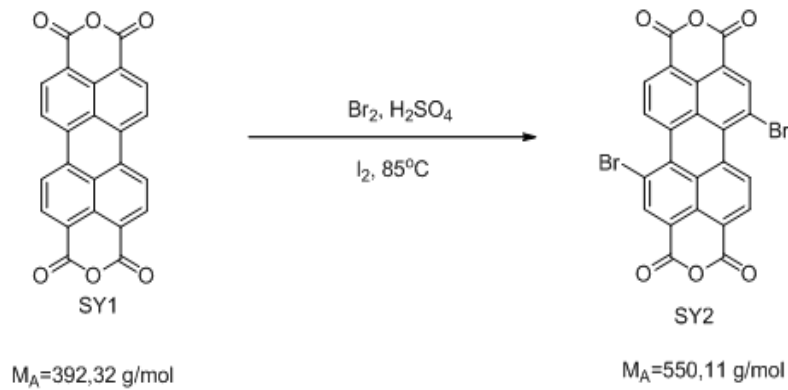
2.1.3.2 Antimikrobiyal Aktivite Saptanmasında Kullanılan Alet ve Cihazlar

Deneyisel çalışmalarda aktivite tayinlerde inkübatör (Memmert), Mikropipet (Axygen 20-200µl), Vortex (Stuart) karıştırıcı ve bunzen beki kullanıldı.

2.2 YÖNTEMLER

2.2.1 Perilendiimid Türevlerinin Sentezi

2.2.1.1 1,7-Dibromo-3,4:9,10-perilentetrakarboksilikasit dianhidrit Sentezi (SY2)



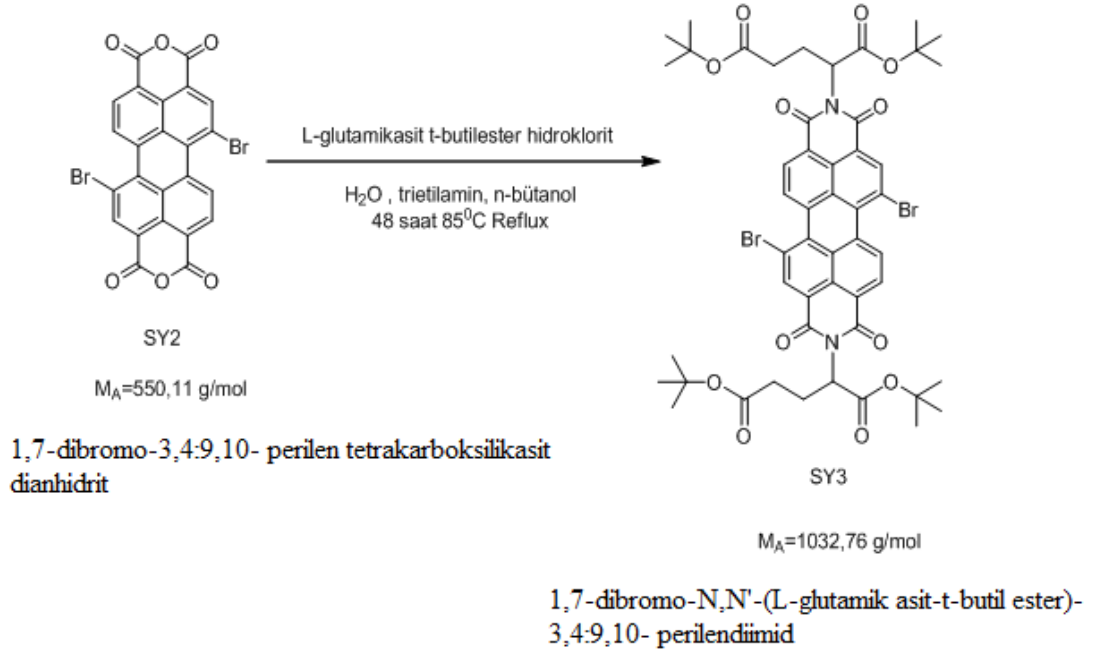
3,4:9,10-perilen tetrakarboksilikasit dianhidrit 1,7-dibromo-3,4:9,10-perilen tetrakarboksilikasit dianhidrit

Şekil 2.1 : 1,7-dibromo-3,4:9,10-perilen tetrakarboksilikasit dianhidrit sentezi (SY2).

1,47 g ($3,74 \times 10^{-3}$ mol) SY1, 12,01 ml H_2SO_4 ve 0,032 g I_2 ($5,73 \times 10^{-4}$ mol) 24 saat boyunca basınç tüpünde karıştırıldı. 30 dakika $85^\circ C$ 'de ısıtıldı ve oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra 10 ml Br_2 eklenerek 24 saat boyunca karıştırıldı. Karışım $85^\circ C$ 'ye kadar ısıtıldı ve 4 ml Br_2 eklenerek 24 saat boyunca karıştırıldı. H_2SO_4 konsantrasyonu düşürmek için 1,67 ml saf su 200 µl halinde yaklaşık 7 dakika aralıklarla eklendi. Oda sıcaklığına gelen karışım 15 ml %86'lık

H₂O- H₂SO₄ karışımı ile filtrelili cam hunide yıkandı. Daha sonra çökelti 25 ml saf su içinde konarak 30 dakika karıştırıldı ve filtre kâğıdından geçirilerek kurutuldu.

2.2.1.2 1,7-Dibromo-N,N'-(L-glutamik asit t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid Sentezi (SY3)



Şekil 2.2 : 1,7-dibromo-N,N'-(L-glutamikasit t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid sentezi (SY3).

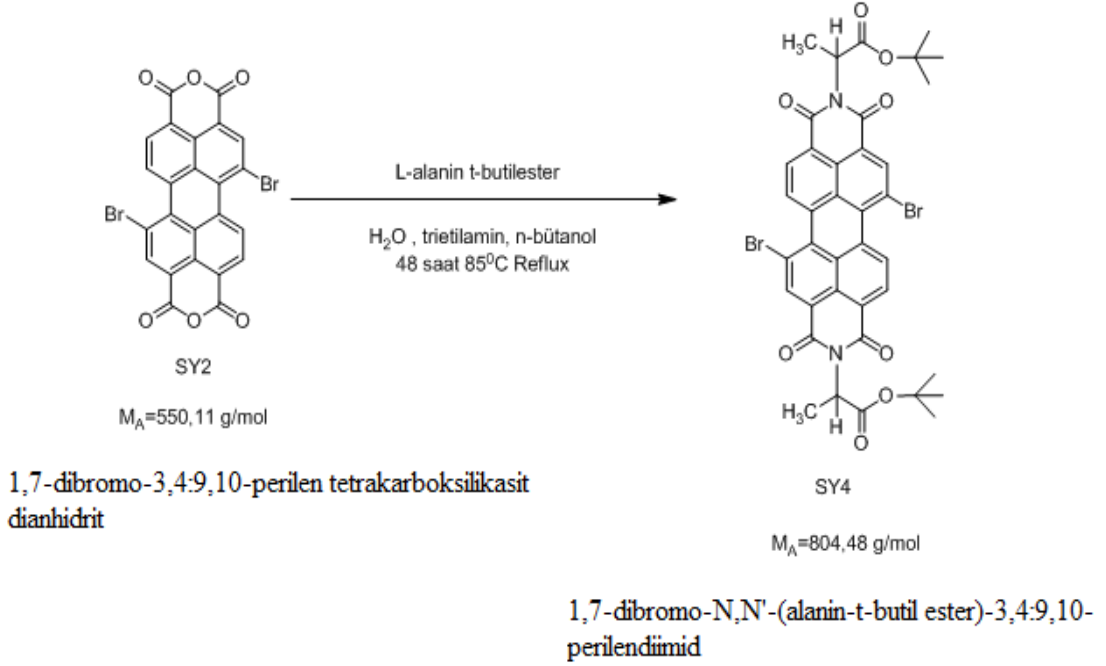
0,5 g SY2, 0,537 g L- glutamik asit di-ter butilester hidroklorit tuzu, 10 ml n-butanol, 10 ml H₂O ve 3 ml trietilamin balonda 48 saat boyunca 85⁰C'de reflux yapıldı. Oluşan madde evaporatörde kurutuldu ve CHCl₃/CH₃OH (98:02) sistemi ile kolon yapılarak saflaştırıldı. Çözücü vakum altında uçuruldu. Saf madde kurutulduktan sonra CDCl₃ içinde NMR analizleri yapıldı. Kütle spektrumu alındı.

(1) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) , δ[ppm], 1,36 (s, 36H, -C-CH₃), 2,3 (m, 2H, 2H,-CH₂), 2,7 (m, 2H, 2H,-CH₂), 5,6 (t, 2H, N-CH), 8,7 (d, J=8,16 Hz, 2H, CH-arom), 8,9 (s, 2H, CH-arom), 9,5 (d, J=8,16 Hz, 2H, CH-arom) (Şekil 3.1)

(2) ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) , δ[ppm], 29,26; 30,18; 32,31; 45,30; 80,51; 127,45; 130,18; 137,04; 138,12; 144,26; 167,59; 168,73; 171,38 (Şekil 3.2)

(3) ESI-MS (m/z) ; 1032,1830 (Şekil 3.3)

2.2.1.3 1,7-Dibromo-N,N'-(L-alanin t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid Sentezi (SY4).



Şekil 2.3 : 1,7-dibromo-N,N'-(L-alanin t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid sentezi (SY4).

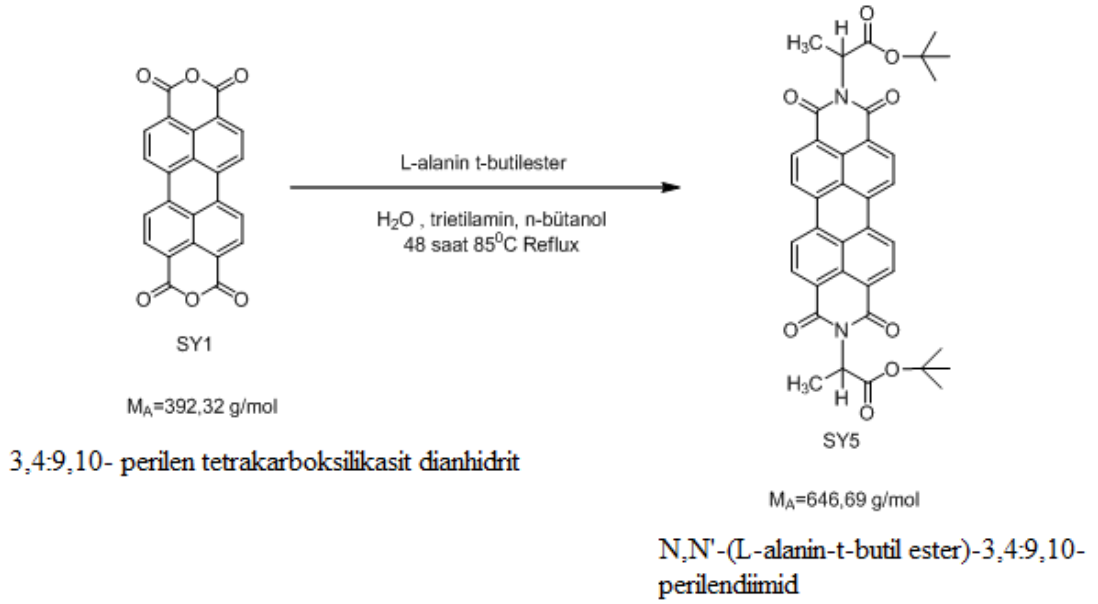
1 g SY2, 0,660 g L- alanin t-butilester hidroklorit tuzu, 10 ml n-butanol, 10 ml H₂O ve 3 ml trietilamin balonda 48 saat boyunca 85°C'de reflux yapıldı. Oluşan madde evaporatörde kurutuldu ve CHCl₃/CH₃OH (95:05) sistemiyle kolon yapılarak saflaştırıldı. Çözücü vakum altında uçuruldu. Saf madde kurutulduktan sonra CDCl₃ içinde NMR analizleri yapıldı. Kütle spektrumu alındı.

(1) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) , δ[ppm], 1,49 (s, 18H, -C(=O)O-C), 1,67 (d, J=7,09 Hz, -CH₃), 5,22 (multiplet, 2H, N-CH), 8,71 (d, J=8,161 Hz, 2H, CH-arom), 8,92 (s, 2H, CH-arom), 9,5 (d, J=8,16 Hz, 2H, CH-arom) (Şekil 3.5)

(2) ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) , δ[ppm], 24,06; 29,74; 60,74; 81,11; 117,82; 123,18; 128,43; 132,84; 138,05; 168,30; 184,64 (Şekil 3.6)

(3) ESI-MS (m/z) ; 804,0496 (Şekil 3.7)

2.2.1.4 N,N'-(L-alanin t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid Sentezi (SY5)



Şekil 2.4 : N,N'-(L-alanin t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid sentezi (SY5).

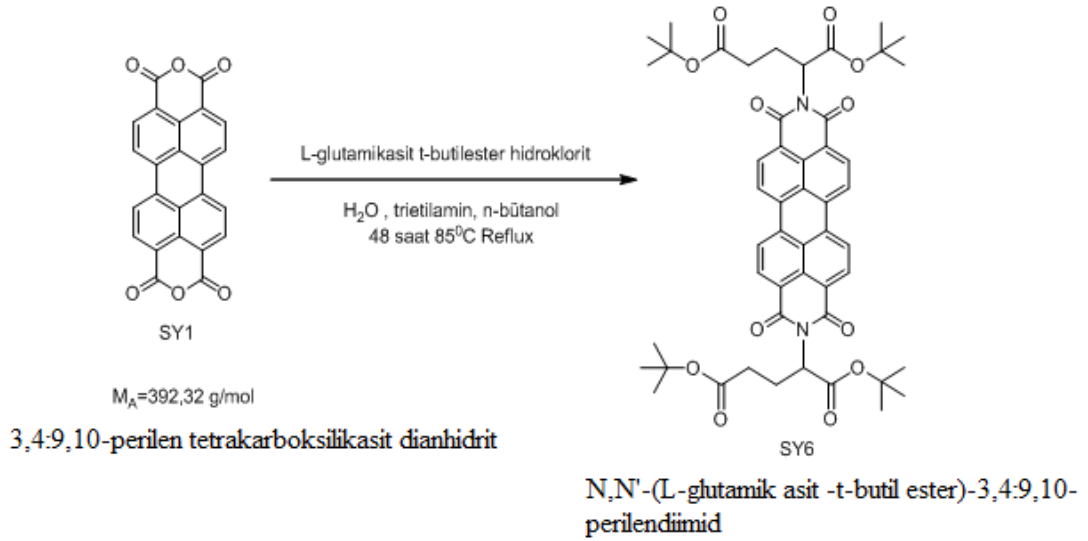
1 g SY1, 0,460 g L- Alanin tert-butilester hidroklorit tuzu, 10 ml n-butanol, 10 ml H_2O ve 2 ml trietilamin balonda 48 saat boyunca $85^{\circ}C$ 'de reflux yapıldı. Oluşan madde evaporatörde kurutuldu ve $CHCl_3/CH_3OH$ (98:02) sistemiyle kolon yapılarak saflaştırıldı. Çözücü vakum altında uçuruldu. Saf madde kurutulduktan sonra $CDCl_3$ içinde NMR analizleri yapıldı. Kütle spektrumu alındı.

(1) 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) , δ [ppm], 1,52 (s, 18H, $-C(=O)O-C$), 1,71 (d, $J=7$ Hz, $-CH_3$), 5,68 (multiplet, 2H, N-CH), 8,35 (d, $J=8,08$ Hz, 4H, CH-arom), 8,49 (d, $J=7,96$ Hz, 4H, CH-arom) (Şekil 3.9)

(2) ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) , δ [ppm], 14,79; 27,96; 50,15; 81,47; 122,72; 125,99; 129,10; 131,20; 134,17; 162,15; 168,57 (Şekil 3.10)

(3) ESI-MS (m/z) ; 646,2279 (Şekil 3.11)

2.2.1.5 N,N'-(L-glutamikasit t-butilester)-3,4:9,10-perilendiimid Sentezi (SY6)



Şekil 2.5 : N,N'-(L-glutamikasit t-butilester)-3,4:9,10-perilenediimid sentezi (SY6).

0,5 g SY1, 0,377 g L- glutamik asid di-ter butilester hidroklorit tuzu, 10 ml n-butanol, 10 ml H_2O ve 2 ml trietilamin balonda 48 saat boyunca 85°C'de reflux yapıldı. Oluşan madde evaporatörde kurutuldu ve $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (95:05) sistemiyle kolon yapılarak saflaştırıldı. Çözücü vakum altında uçuruldu. Saf madde kurutulduktan sonra CDCl_3 içinde NMR analizleri yapıldı. Kütle spektrumu alındı.

(1) ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) , δ [ppm], 1,39 (s, 36H, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{C}$), 2,36 (m, 4H, $-\text{CH}_2$), 2,65 (m, 4H, $-\text{CH}_2$), 5,65 (t, 2H, N-CH), 8,45 (d, $J=8,12 \text{ Hz}$, 4H, CH-arom), 8,55 (d, $J=9,6 \text{ Hz}$, 4H, CH-arom) (Şekil 3.13)

(2) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) , δ [ppm], 24,13; 27,97; 32,4; 76,88; 81,71; 122,96; 126,22; 129,36; 131,45; 134,41; 162,59; 167,97; 171,49 (Şekil 3.14)

(3) ESI-MS (m/z) ; 874,3666 (Şekil 3.15)

2.2.2 Antimikrobiyal Aktivite

2.2.2.1 Perilendiimid Türevlerinin Hazırlanışı

SY3, SY4, SY5 ve SY6 kodlu perilendiimid türevleri 1mg'ı 200 µl DMSO'da çözüldü. Hazırlanmış perilendiimid çözeltilerinden 20 µl disk difüzyon yöntemi, 50 µl minimum inhibisyon ve 10 µl minimum bakterisidal konsantrasyon yöntemi için kullanıldı.

2.2.2.2 Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntem perilendiimid türevlerinin mikroorganizma üzerine etkili olup, olmadığı saptamak için uygulandı. Antimikrobiyal aktivite için saklanan mikroorganizmalar (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Candida albicans* ATCC 90028) silgiç yardımıyla saklama besiyerinden (gliserinli buyyon) kanlı agara pasaj çekildi ve 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası plaklardan öze yardımıyla birer koloni mikroorganizma örneği alınarak MHB'a ekim yapıldı ve bulanıklık derecesi 0.5 McFarland'a ayarlandı. Eküvyon ile MHB'dan alınan her bir mikroorganizma örneği MHA'a tam saha olacak şekilde homojen şekilde yayıldı.

Her bir perilendiimid türevinden ve saf DMSO'dan 20 µl alınarak steril disklerle emdirildi. Hazırlanmış bu diskler (çapı 6 mm) her bir mikroorganizmanın ekiminin yapıldığı MHA'a eşit aralıklarla yerleştirildi. Kontrol olarak da petri plağının ortasına gentamisin içeren (Oxoid-10 µg) disk yerleştirilerek 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda diskler çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları petri plağının alt yüzeyinden cetvel yardımıyla ölçüldü. Bu deney her bakteri için üç defa yapılarak zonların aritmetik ortalamaları alındı.

2.2.2.3 Minumum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK)

Minumum inhibisyon konsantrasyon tayini için disk difüzyon yönteminde inhibisyon zonu oluşturan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakterileri kullanıldı. Mikroplağın kuyucuklarına 50µl buyyon (MHB) mikropipet ile eklendi.

Hazırlanan perilendiimid türevlerinin herbirinden 50 µl alınarak 12. kuyucuğa kadar 1/2 seyreltme işlemi gerçekleştirildi. Kontrol amaçlı hazırlanan perilendiimid türevlerinin çözücüsü DMSO içinde aynı seyreltme işlemi yapıldı. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland bulanıklık derecesine ayarlanarak 1×10^8 bakteri / ml olacak şekilde hazırlandı ve 1/100 oranında sulandırılarak bakteri sayıları 10^6 bakteri / ml olarak ayarlandı. Bakteri süspansiyonlarından 50 µl, mikroplak kuyucuklarına eklendi ve son konsantrasyonu 5×10^5 bakteri/ml oldu. Mikroplak üstü kapatılarak 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı [108]. Bu işlem sonucu kuyucuklardaki perilendiimid türevlerinin son konsantrasyonu sırasıyla 62.5 - 31.25 - 15.6 - 7.8 - 3.9 - 1.95 - 0.98 - 0.49 - 0.24 - 0.12 - 0.06 - 0.03 µg/ml'dir. MİK değerlerinin tespiti için kullanılan mikrodilüsyon işlemi birbirinden bağımsız iki defa tekrarlandı.

2.2.2.4 Minumum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK)

MİK sonrası, üremenin gözle saptanamadığı mikroplak kuyucuklarından 10µl alınarak kanlı agara sırasıyla ekim yapıldı ve 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. Bu yöntemle kuyucuklardan alınan örneklerde bakterilerin üremesinin gerçekleşmediği konsantrasyon MBK değeri olarak belirlendi.

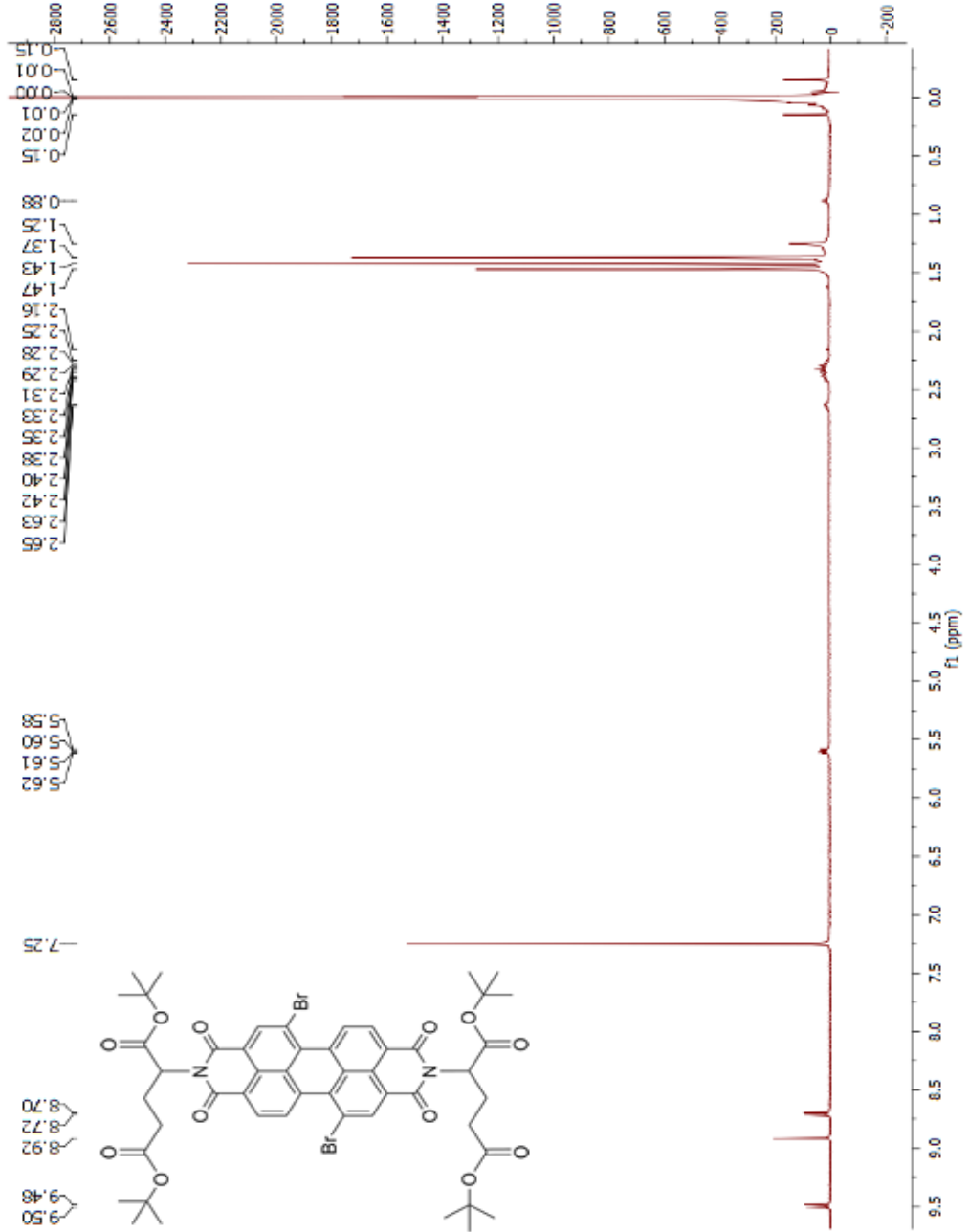
2.2.3 Perilendiimidler'in pH Tayini

Perilendiimid türevlerinin pH değerini saptamak için pH belirteci (0-14) kullanıldı. DMSO'da çözdüğümüz maddelerin içine pH kağıdını koyarak pH kağıdında renk değişimleri gözlemlendi. Bu renk değişimleri pH paper ölçeğinde karşılaştırılarak pH değerleri saptandı.

3. BULGULAR

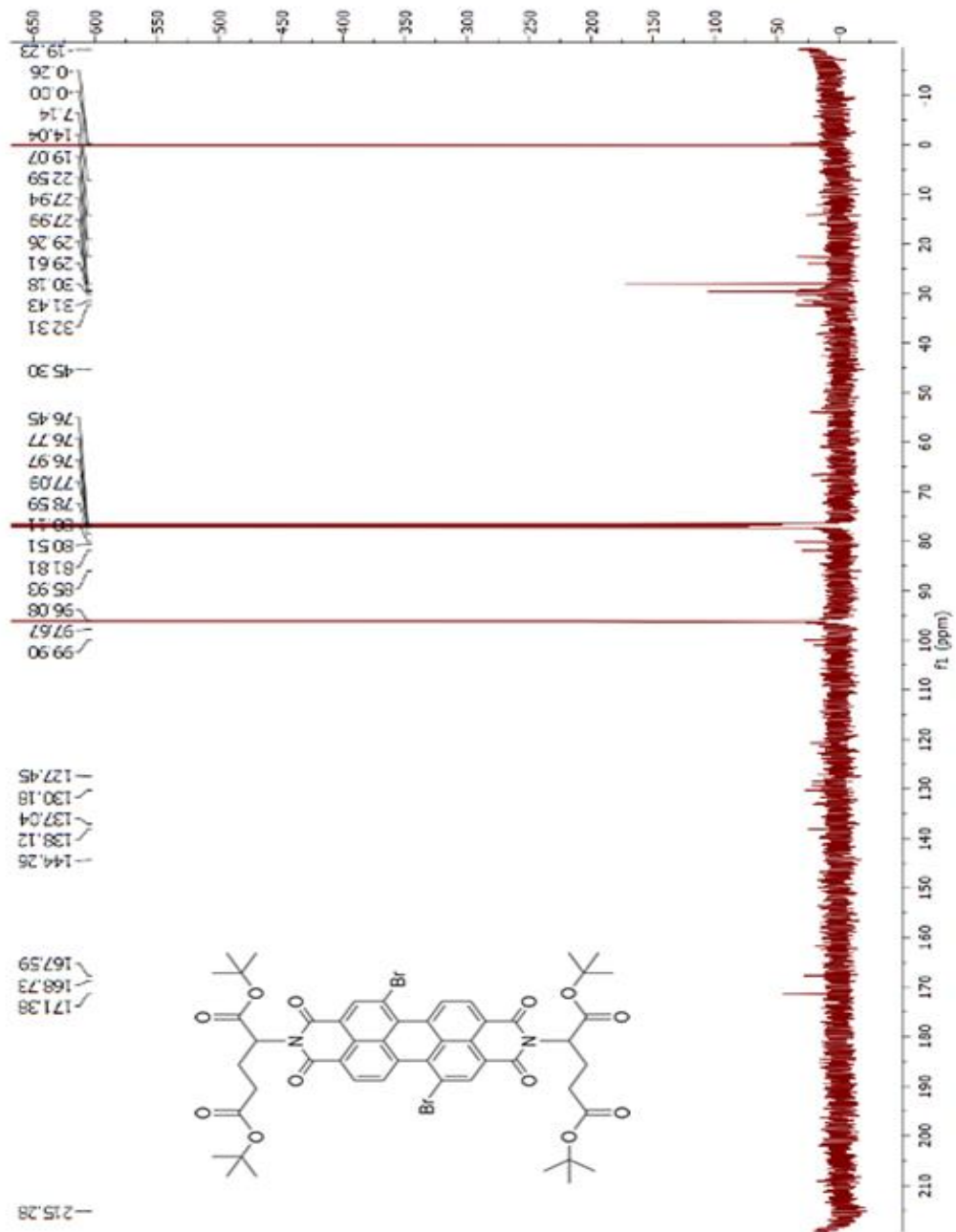
3.1 SY3 Maddesinin Spektrum Verileri

3.1.1 SY3 Maddesinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



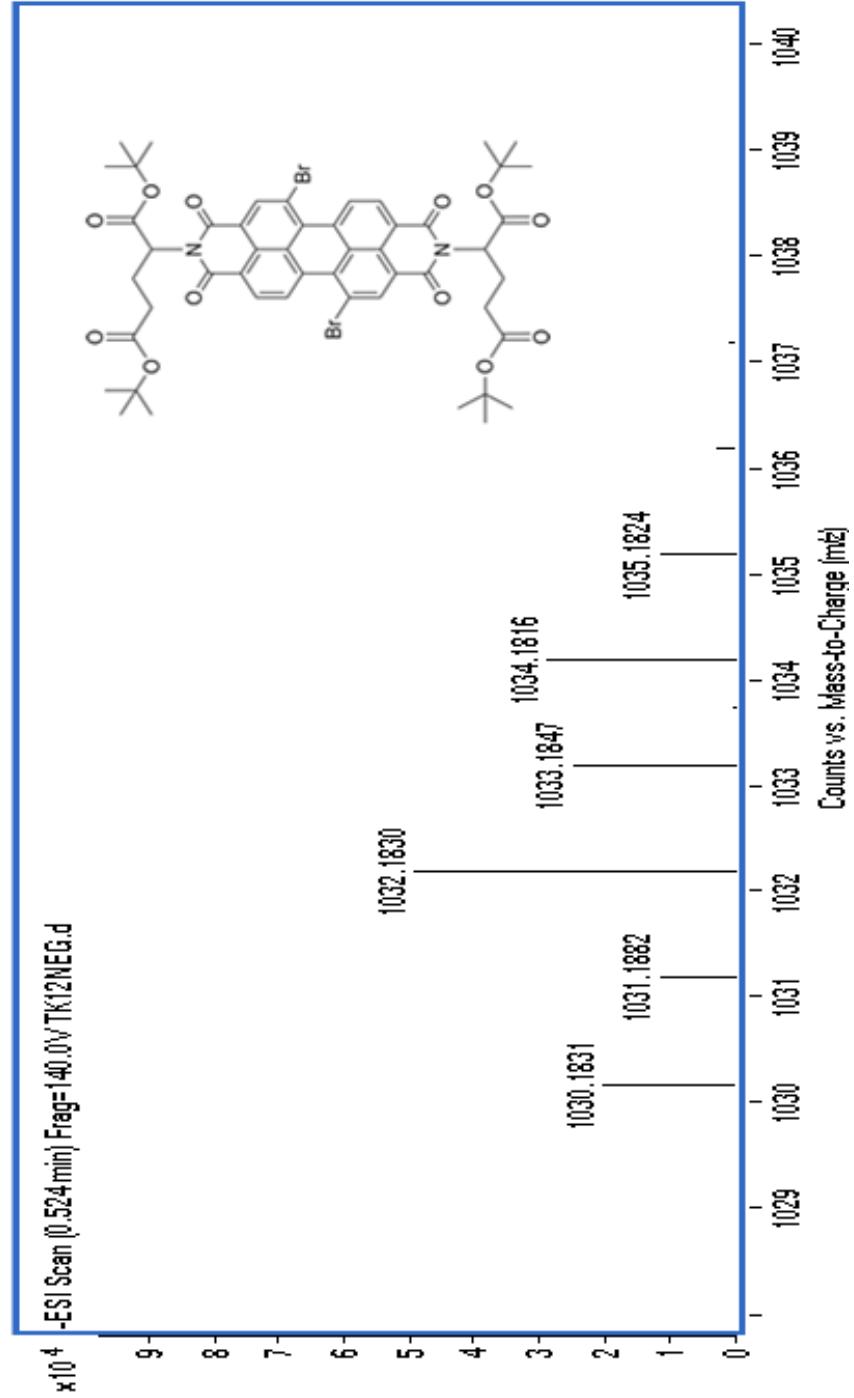
Şekil 3.1 : SY3 Maddesinin CDCl_3 içinde $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu.

3.1.2 SY3 Maddesinin ^{13}C -NMR Spektrumu



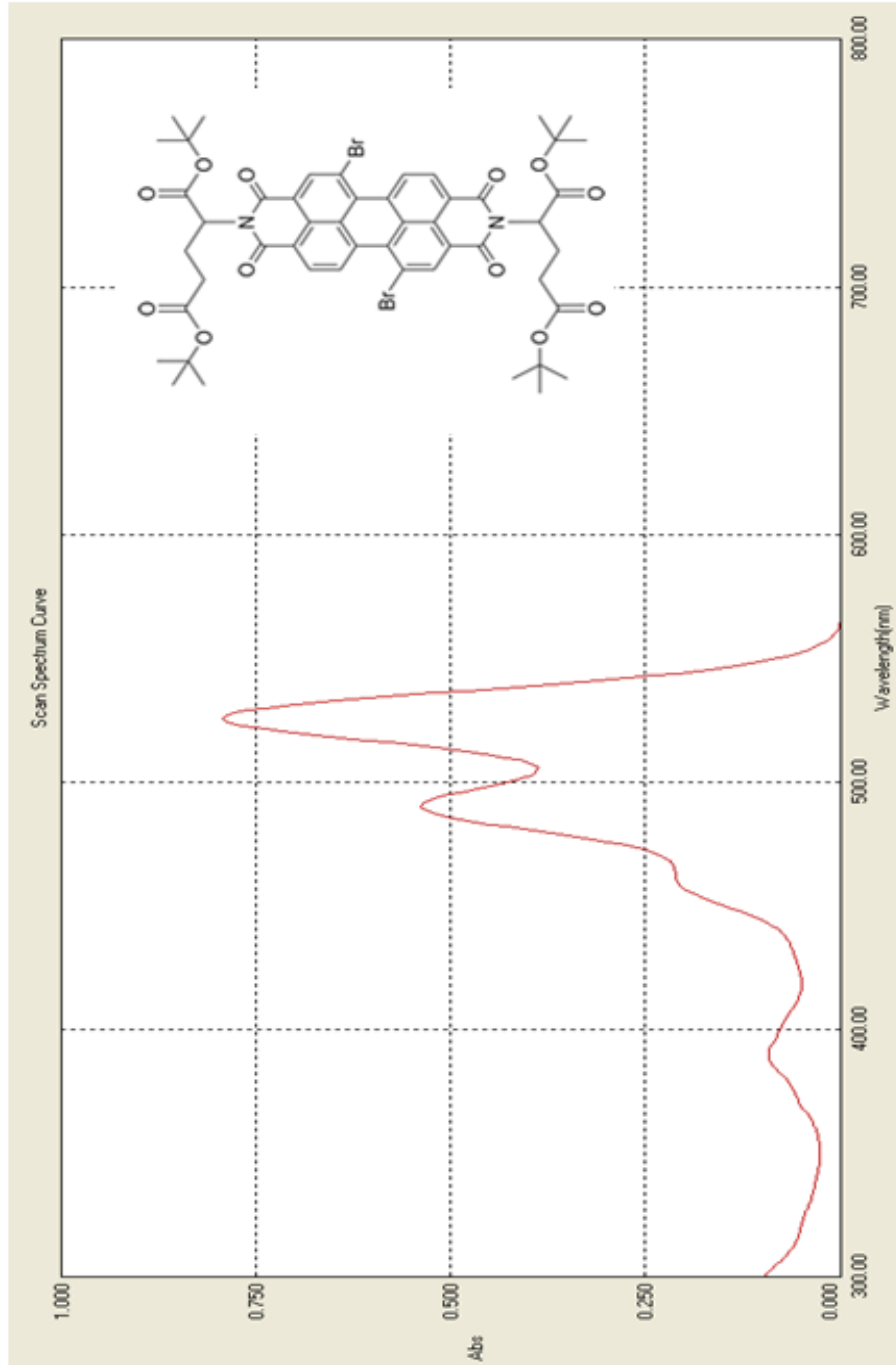
Şekil 3.2 : SY3 Maddesinin CDCl_3 içinde ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.1.3 SY3 Maddesinin Kütle Spektrumu



Şekil 3.3 : SY3 Maddesinin Kütle Spektrumu.

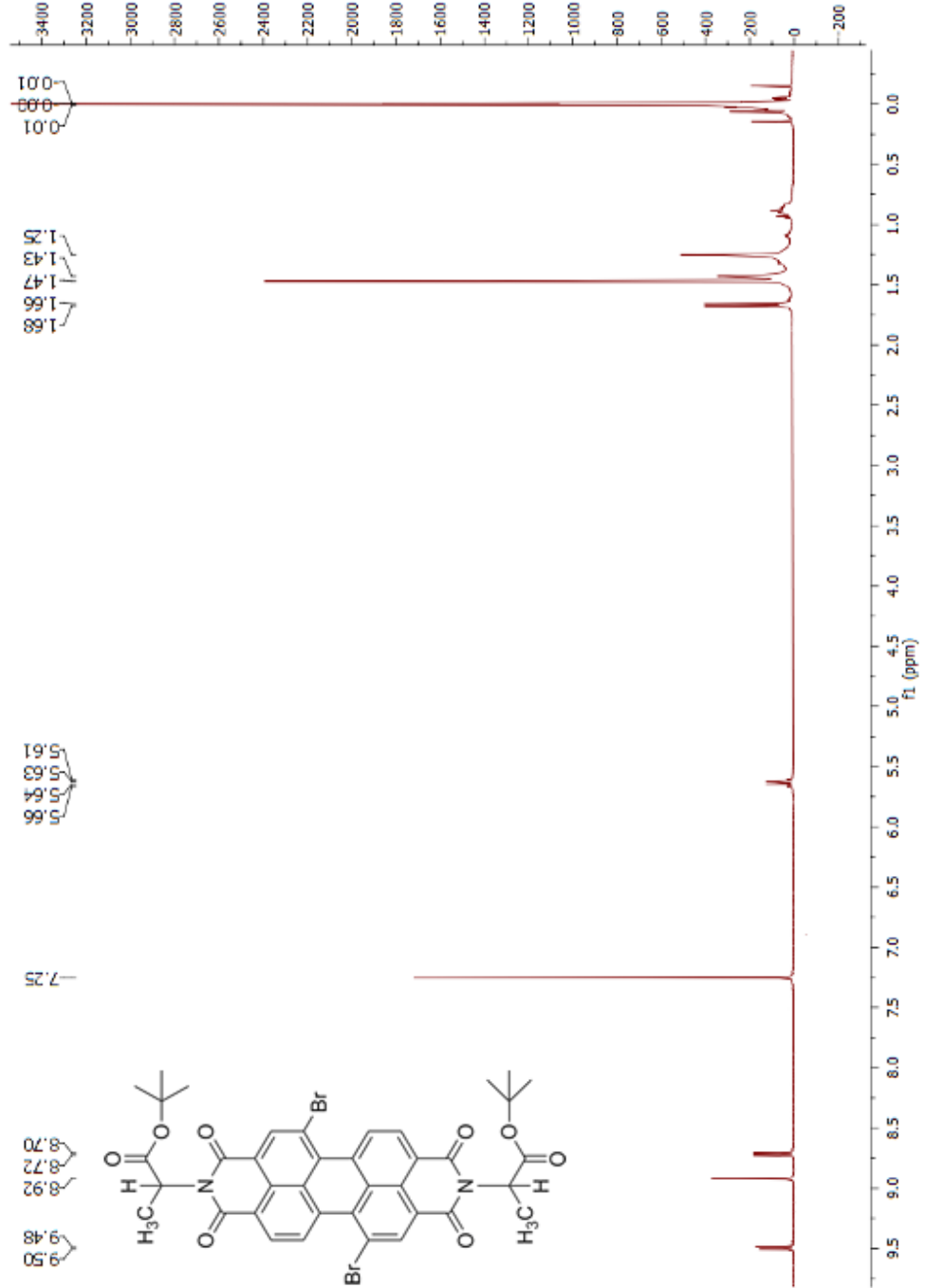
3.1.4 SY3 Maddesinin UV Spektrumu



Şekil 3.4 : SY3 Maddesinin UV Spektrumu.

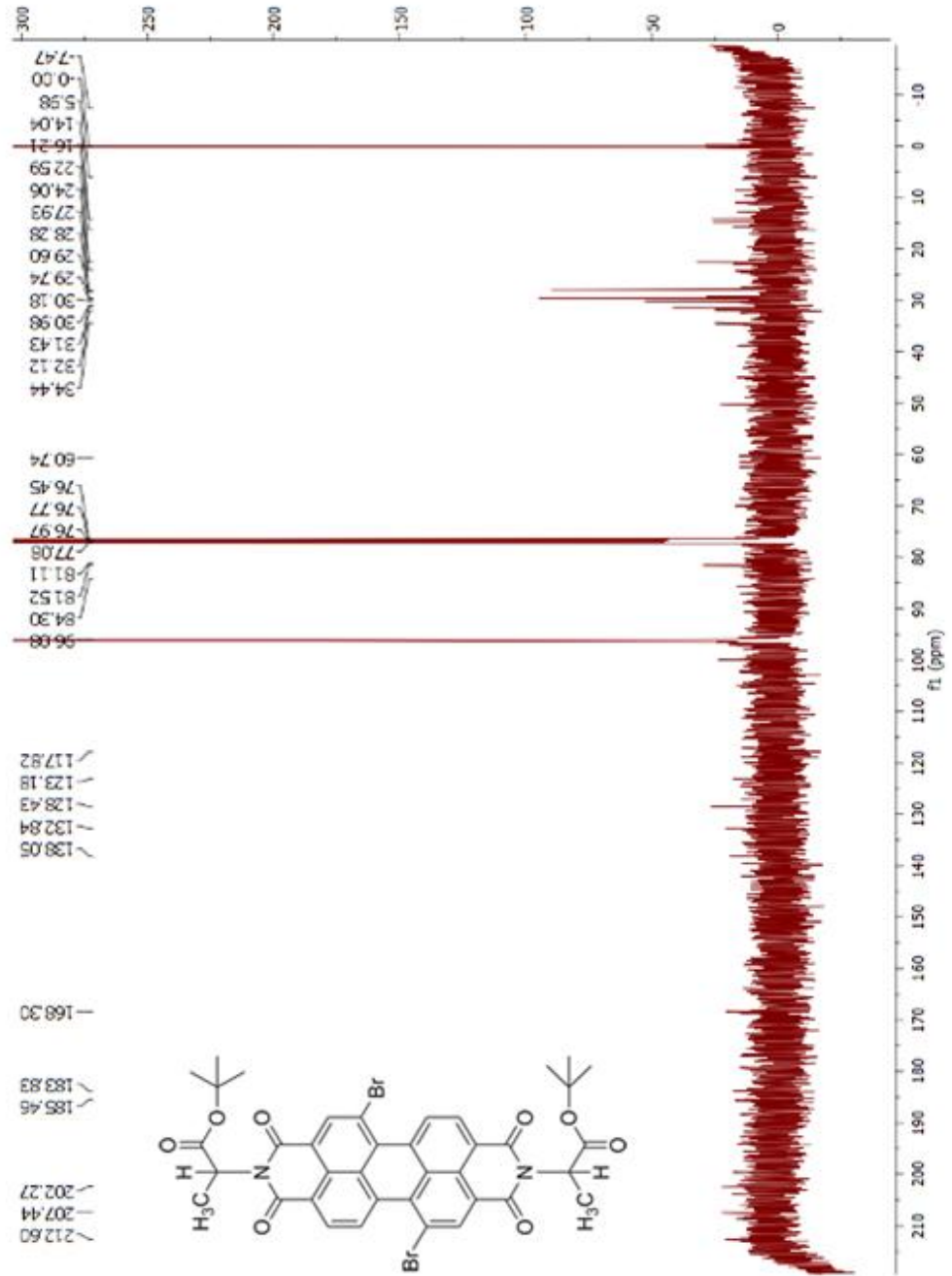
3.2 SY4 Maddesinin Spektrum Verileri

3.2.1 SY4 Maddesinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



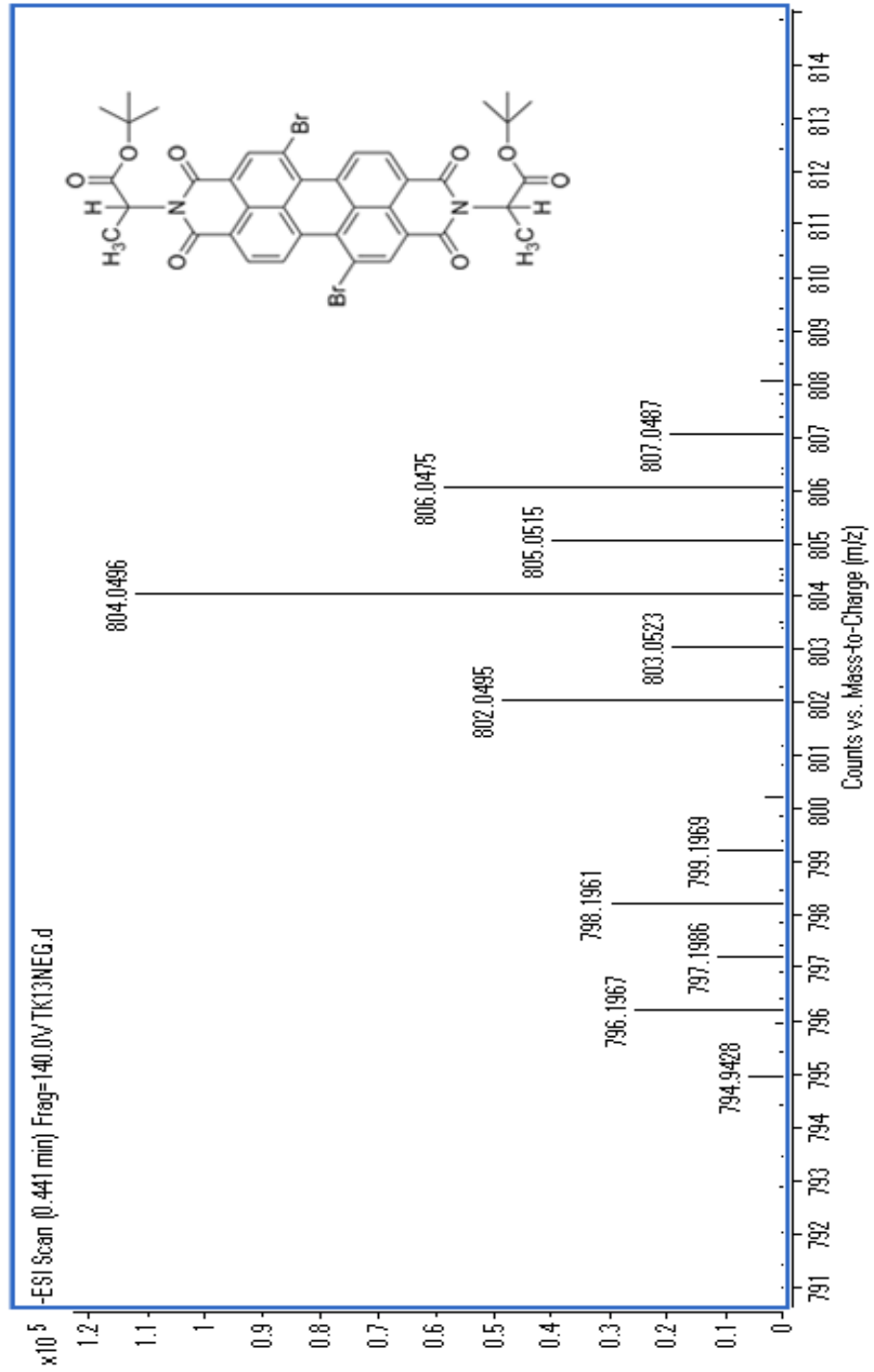
Şekil 3.5 : SY4 Maddesinin CDCl_3 içinde $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu.

3.2.2 SY4 Maddesinin ^{13}C -NMR Spektrumu



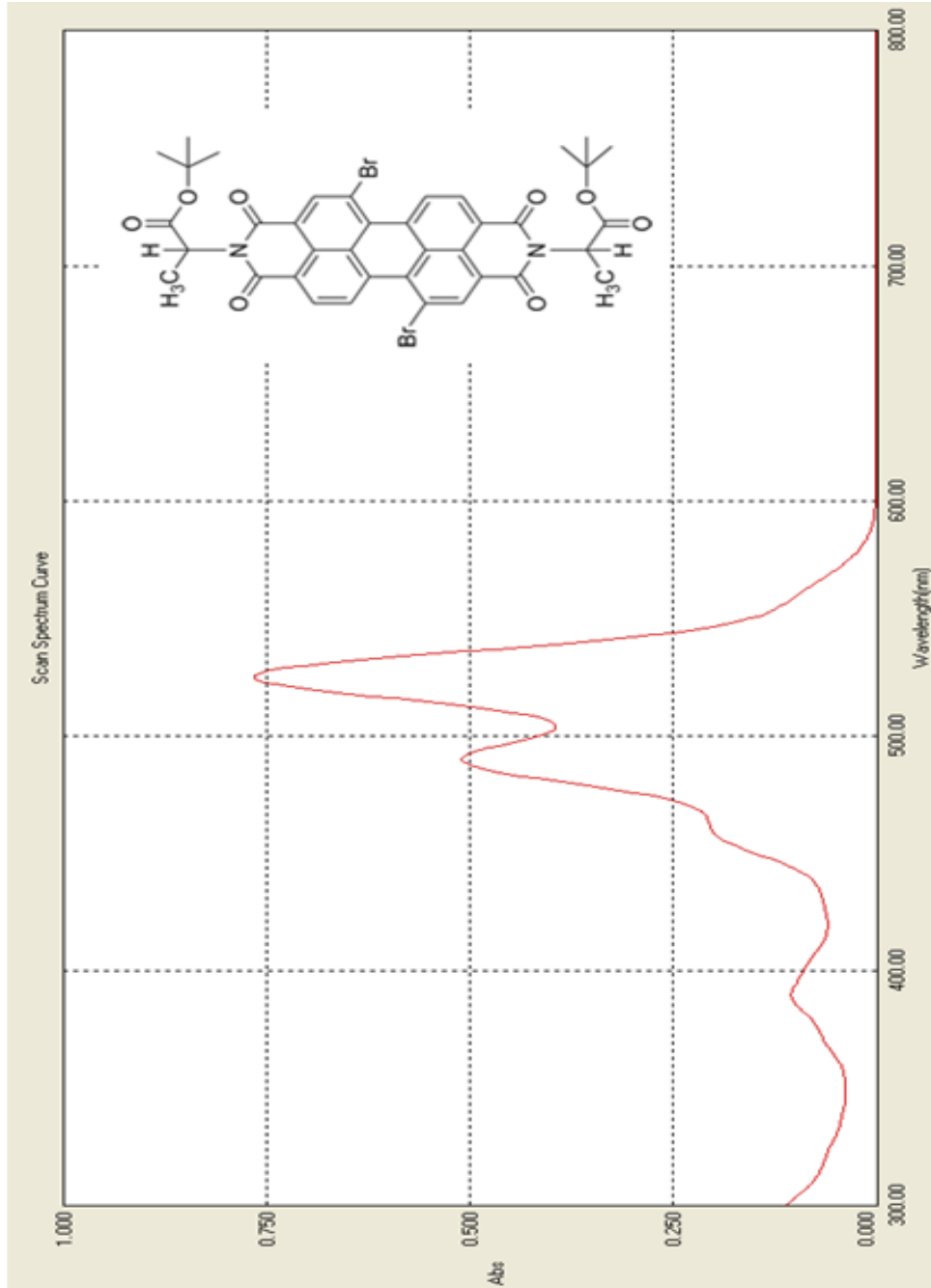
Şekil 3.6 : SY4 Maddesinin CDCl_3 içinde ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.2.3 SY4 Maddesinin Ktle Spektrumu



Şekil 3.7 : SY4 Maddesinin Ktle Spektrumu.

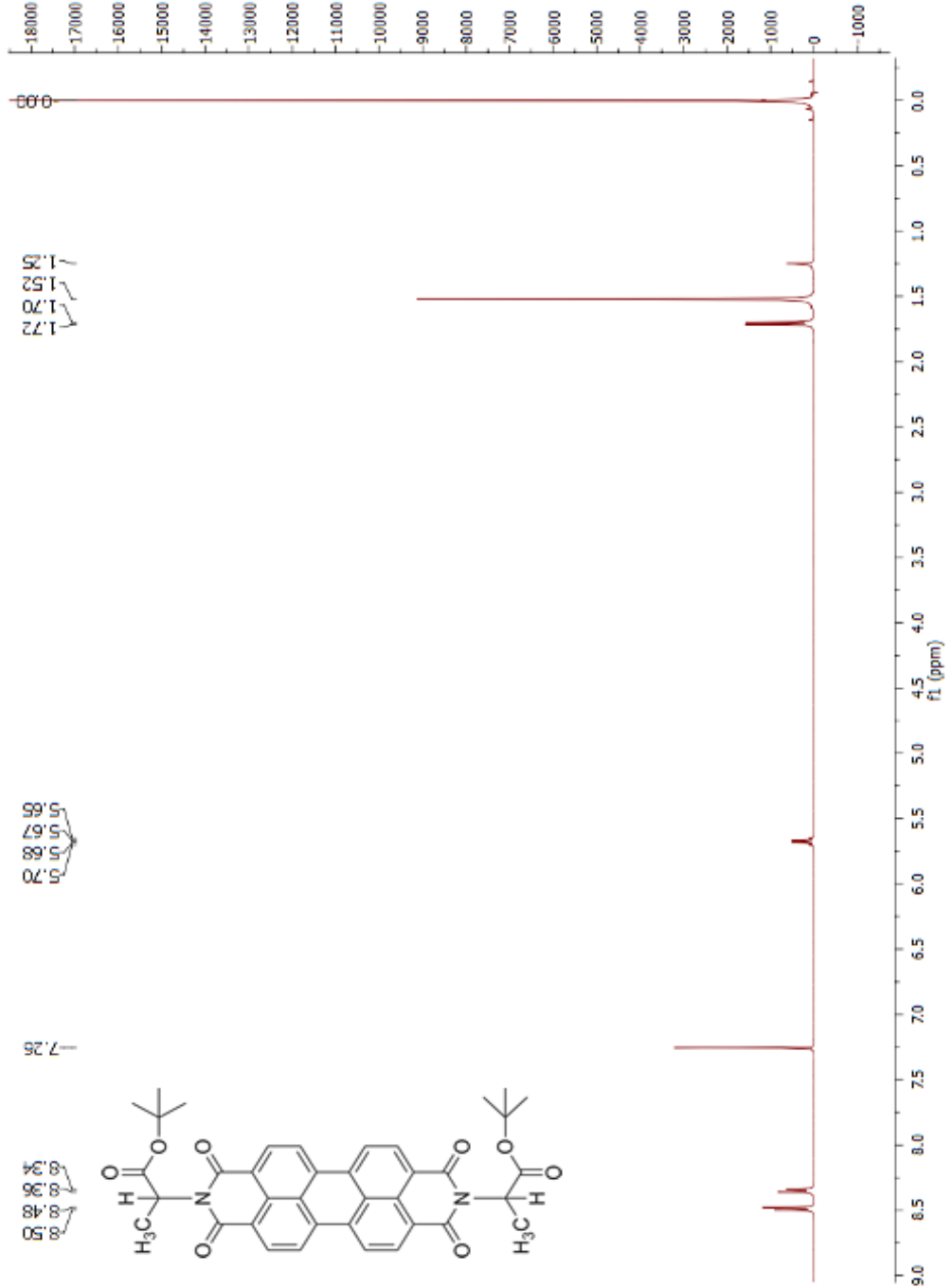
3.2.4 SY4 Maddesinin UV Spektrumu



Şekil 3.8 : SY4 Maddesinin UV Spektrumu.

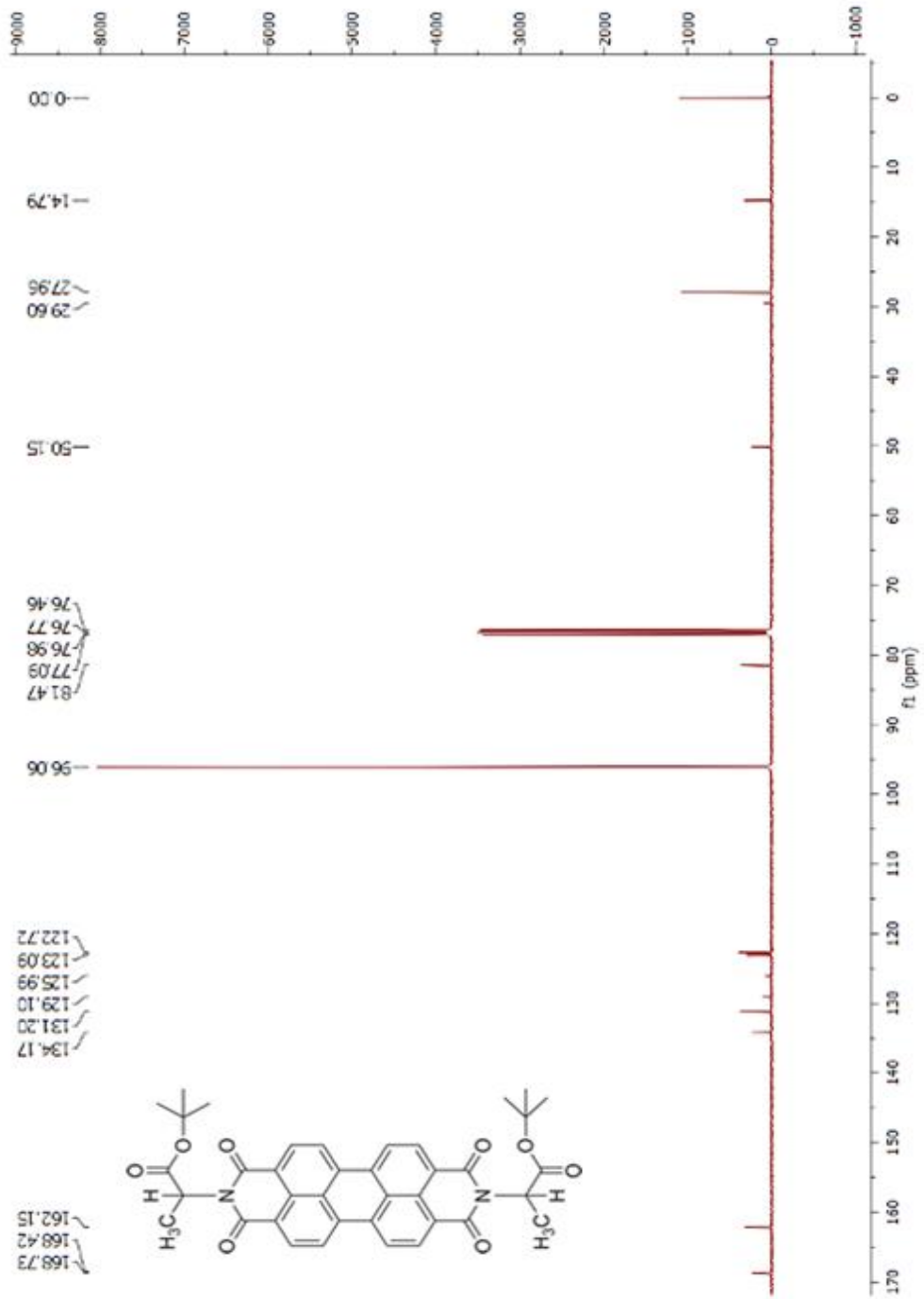
3.3 SY5 Maddesinin Spektrum Verileri

3.3.1 SY5 Maddesinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



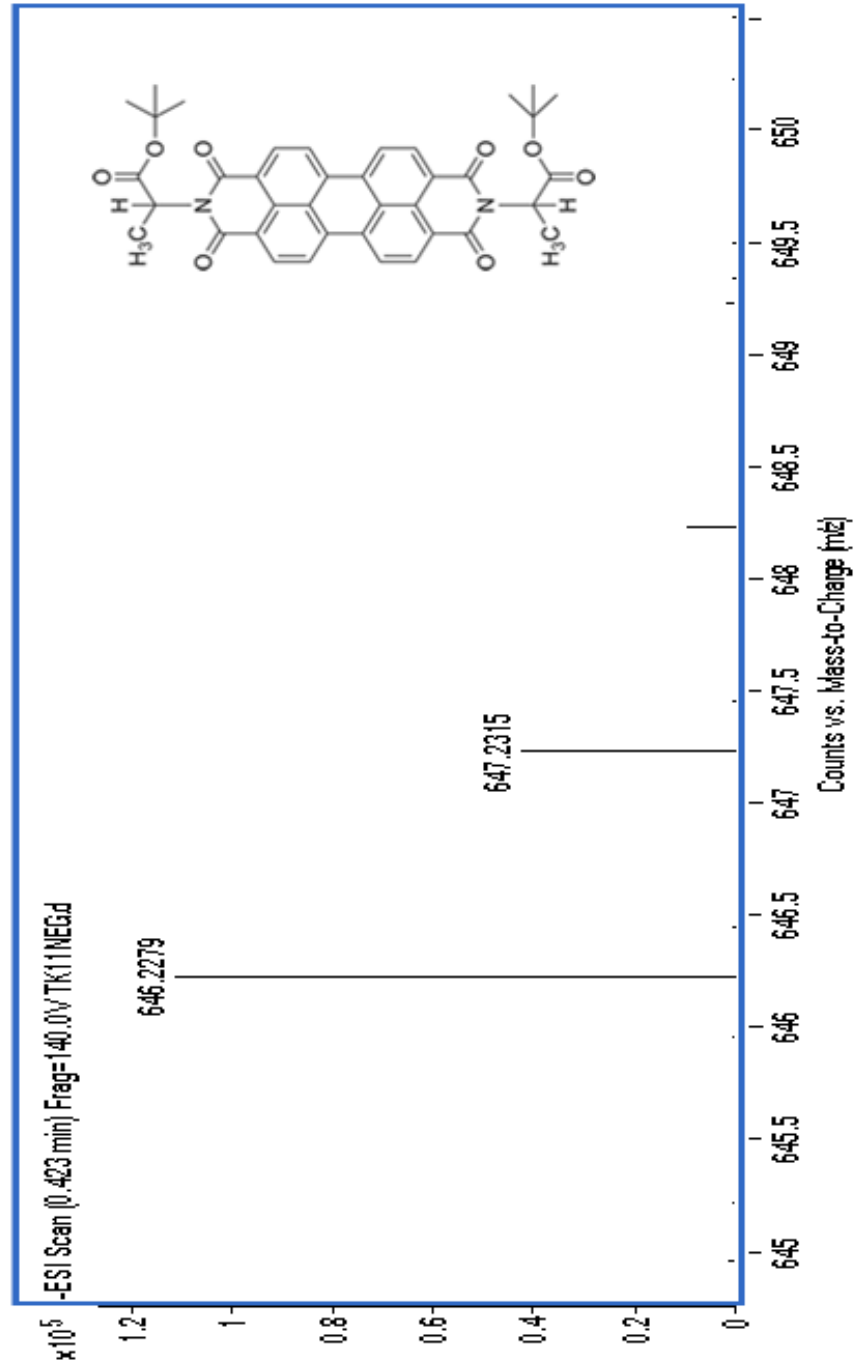
Şekil 3.9 : SY5 Maddesinin CDCl_3 içinde $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu.

3.3.2 SY5 Maddesinin ^{13}C -NMR Spektrumu



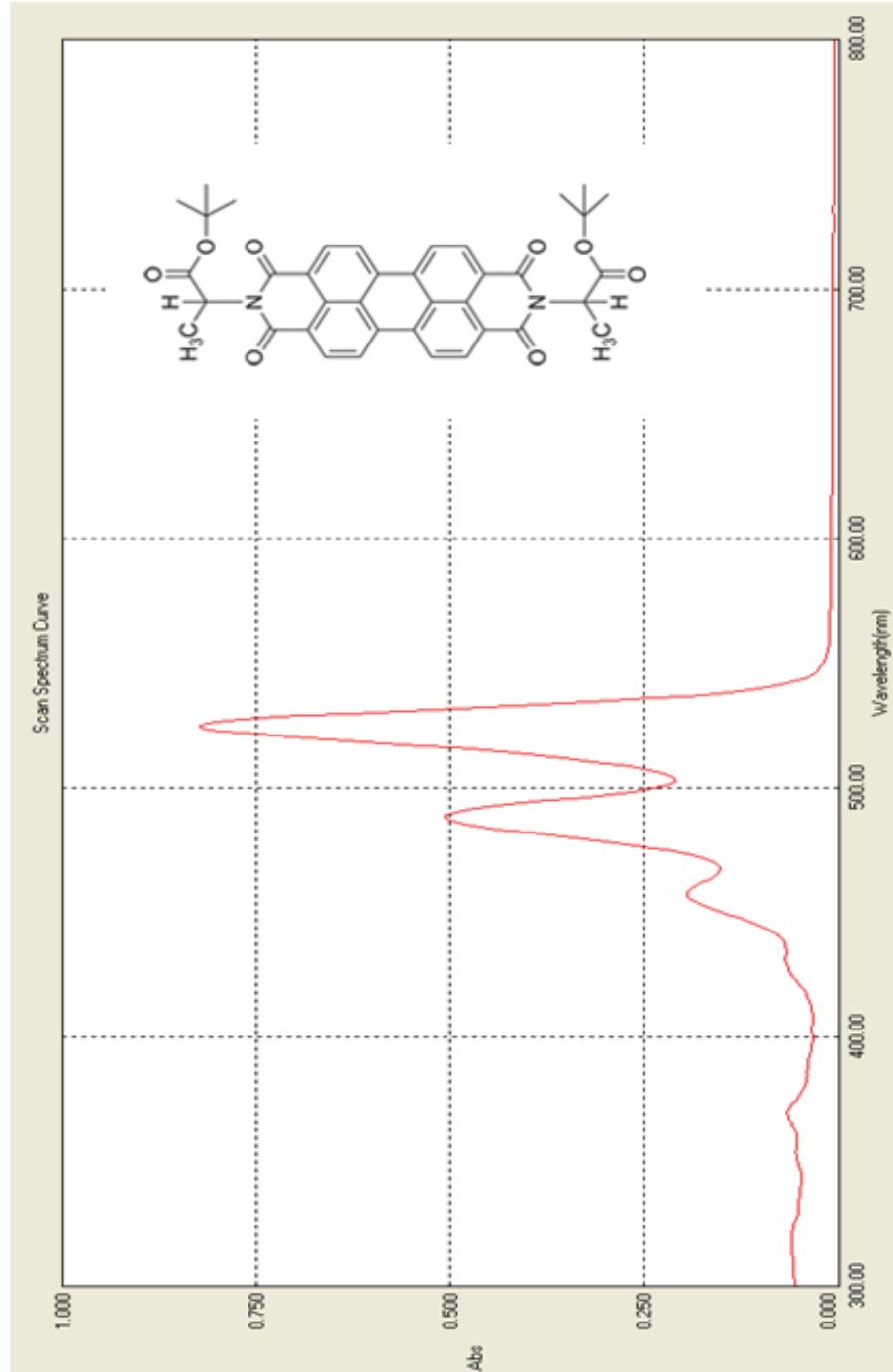
Şekil 3.10 : SY5 Maddesinin CDCl_3 içinde ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.3.3 SY5 Maddesinin Kütle Spektrumu



Şekil 3.11 : SY5 Maddesinin Kütle Spektrumu.

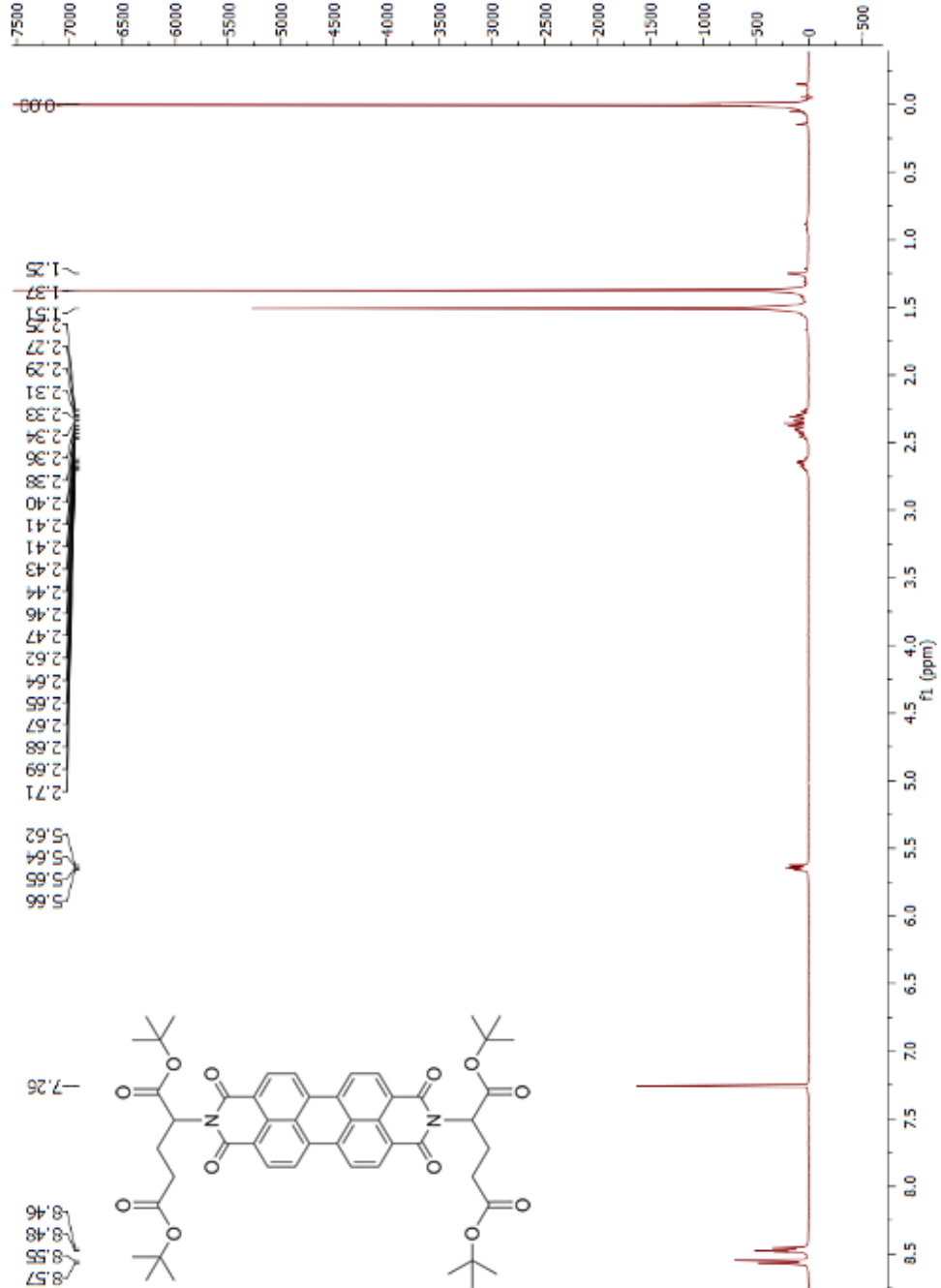
3.3.4 SY5 Maddesinin UV Spektrumu



Şekil 3.12 : SY5 Maddesinin UV Spektrumu.

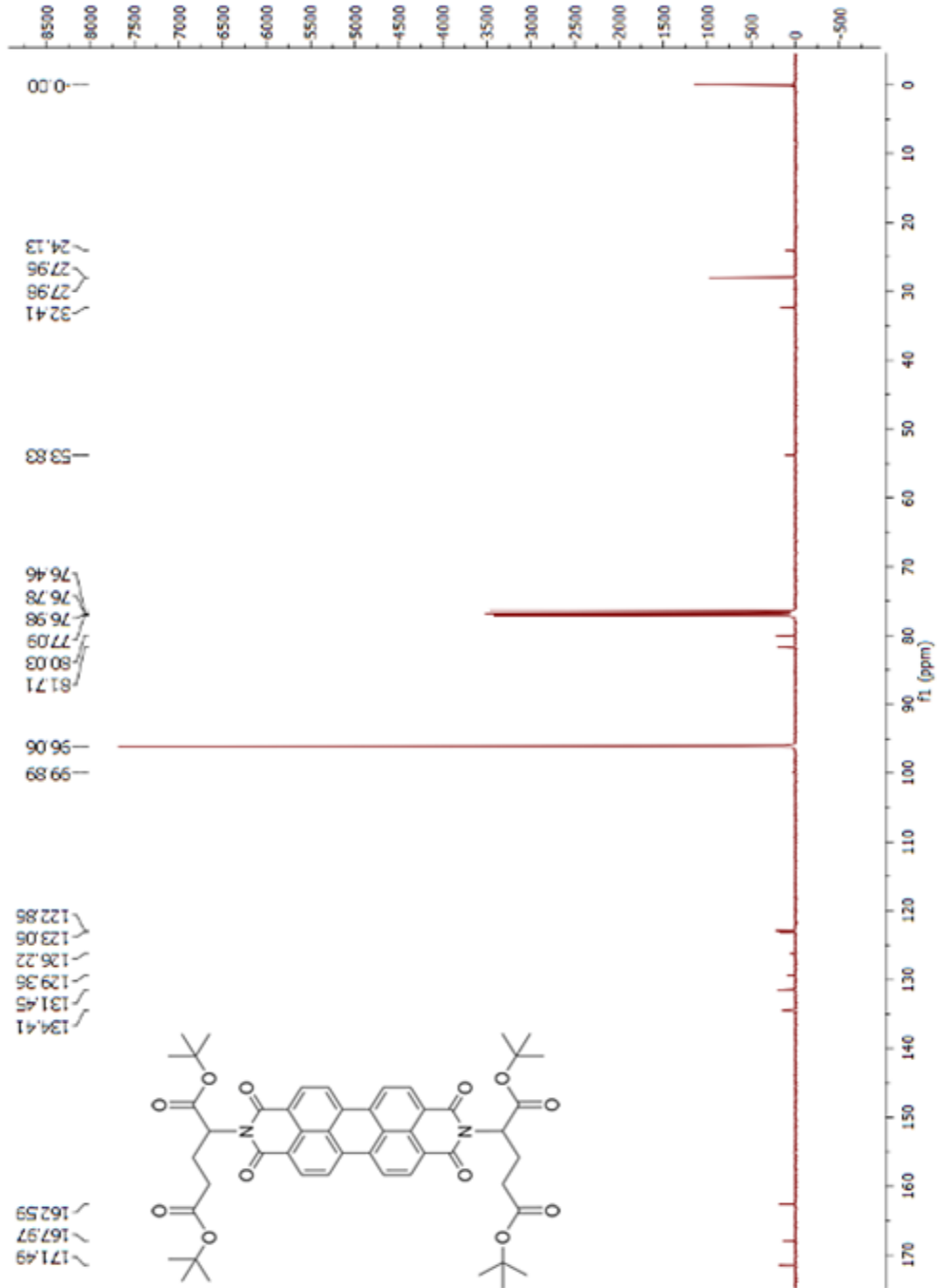
3.4 SY6 Maddesinin Spektrum Verileri

3.4.1 SY6 Maddesinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



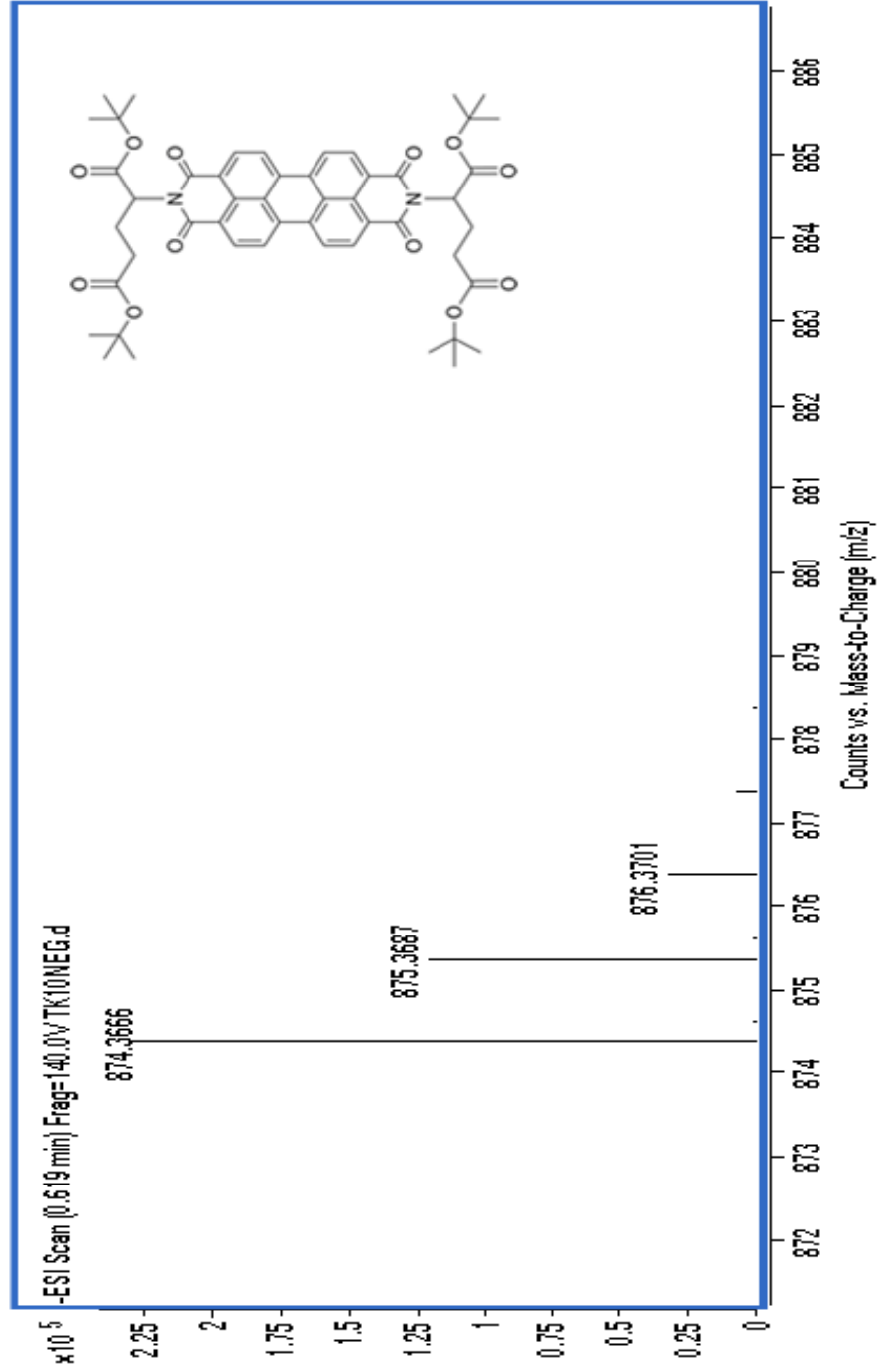
Şekil 3.13 : SY6 Maddesinin CDCl_3 içinde $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu.

3.4.2 SY6 Maddesinin ^{13}C -NMR Spektrumu



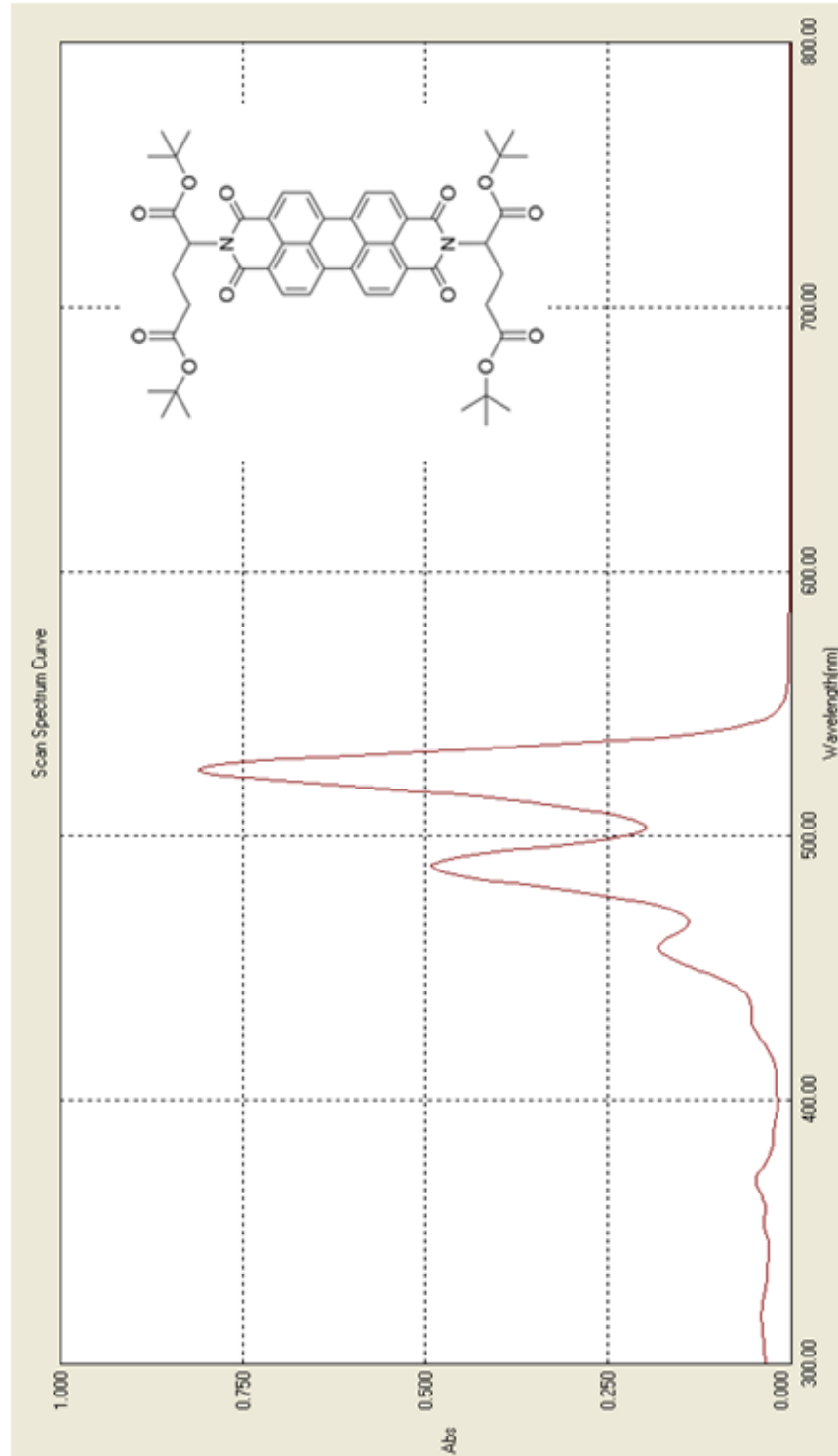
Şekil 3.14 : SY6 Maddesinin CDCl_3 içinde ^{13}C -NMR Spektrumu.

3.4.3 SY6 Maddesinin Kütle Spektrumu



Şekil 3.15 : SY6 Maddesinin Kütle Spektrumu.

3.4.4 SY6 Maddesinin UV Spektrumu



Şekil 3.16 : SY6 Maddesinin UV Spektrumu.

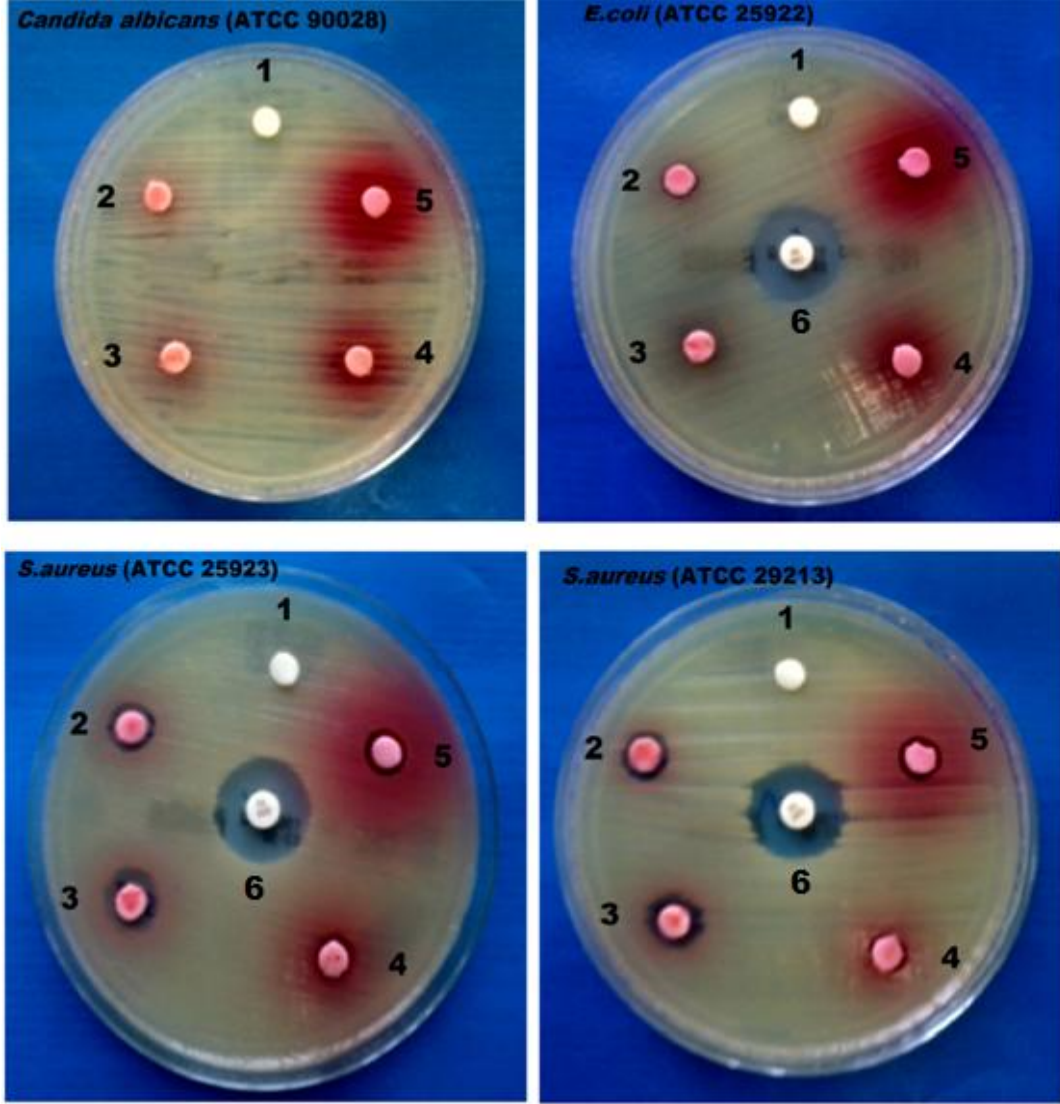
3.5 Disk Difüzyon Yöntemi ile Elde Edilen Bulgular

Tablo 3.1 : Perilendiimid türevlerinin bakterilerde oluşturduğu inhibisyon zon çapları.

<u>Mikroorganizmalar</u>	<u>Zon çapı (mm)</u>					
	Gentamisin	DMSO	SY3	SY4	SY5	SY6
<i>E. coli</i> ATCC 25922	18.2	–	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	18.8	–	10.0	11.0	6.0	6.0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	19.0	–	10.0	10.6	6.2	7.0
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	*	–	–	–	–	–

(* *Candida albicans*, ökaryotik mikroorganizma olmasından dolayı gentamisin denenmedi.)

Bu yöntem ile elde edilen verilere bakıldığında sentezlediğimiz perilendiimid türevlerinin *S.aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 29213 bakterilerine karşı etki göstermiştir. Özellikle zon çaplarına bakıldığında SY3 ve SY4 maddelerinin *S. aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 29213 bakterisine karşı daha büyük inhibisyon etkiye sahip olduğunu gördük.

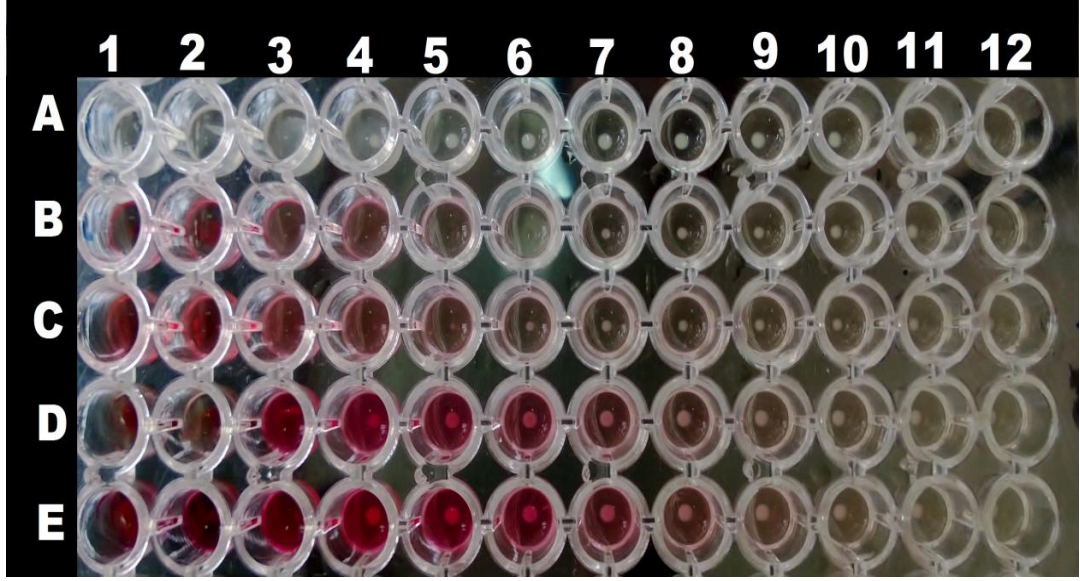


Şekil 3.17 : Disk difüzyon yöntemi ile perilendiimid türevlerinin antimikrobiyal aktivite tayini 1) DMSO 2) SY3 3) SY4 4) SY5 5) SY6 6) Gentamisin.

3.6 MİK ve MBK Bulguları

Perilendiimid türevlerinin *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 25923 bakterileri üzerindeki etkisi mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak, üremenin gözle görülmediği kuyucuk konsantrasyonu MİK değeri olarak alındı. Kuyucuklardan alınan örnekler bakterilerinin üremesinin gerçekleşmediği konsantrasyonda MBK olarak tespit edildi.

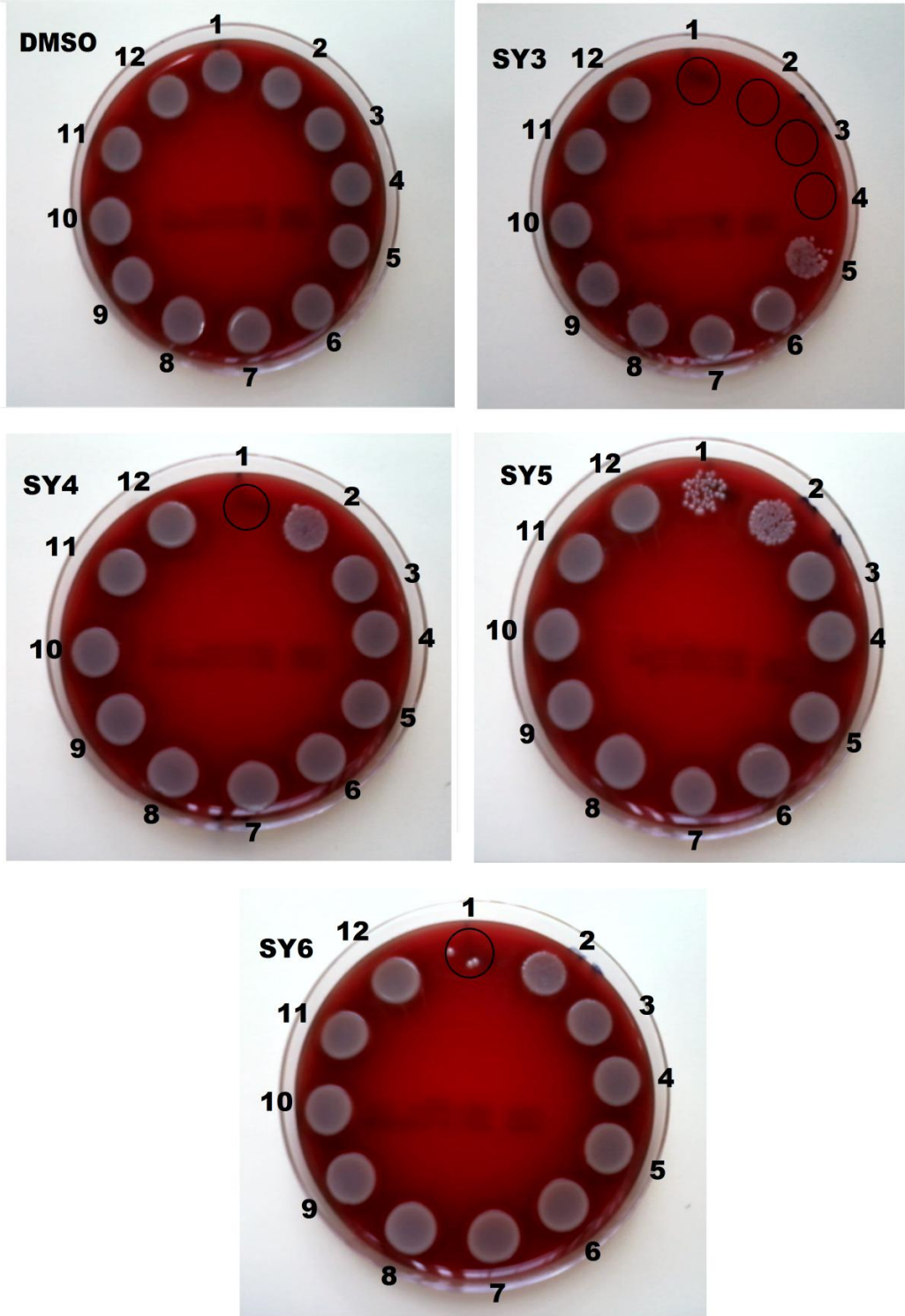
3.6.1 MİK ve MBK Yöntemi ile Perilendiimid Türevlerinin *S.aureus* ATCC 29213 Üzerindeki Etkisi



Şekil 3.18 : MİK yöntemiyle Perilendiimid Türevlerinin *S.aureus* ATCC 29213 üzerindeki etkileri A) DMSO B) SY3 C) SY4 D) SY5 E) SY6.

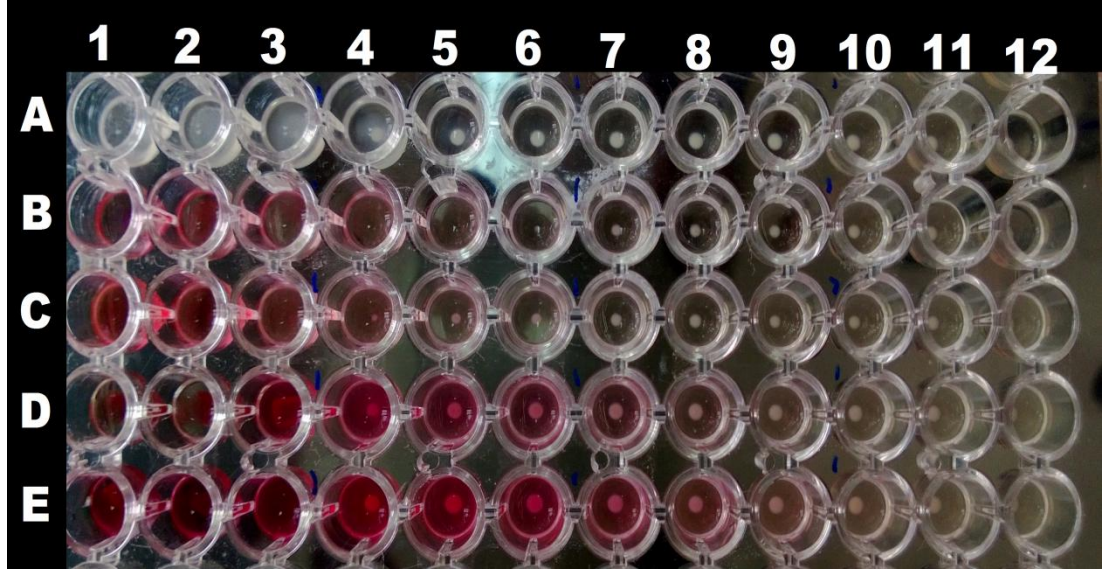
Tablo 3.2 : Perilendiimid türevlerinin *S.aureus* ATCC 29213 için MİK ve MBK değerleri.

<u>Mikroplak Sırası</u>	<u>Madde İsmi</u>	<u>MİK (µg/ml)</u>	<u>MBK (µg/ml)</u>
A	DMSO	> 62.5	> 62.5
B	SY3	3.9	7.8
C	SY4	31.25	62.5
D	SY5	62.5	> 62.5
E	SY6	62.5	> 62.5



Şekil 3.19 : MBK yöntemiyle perilendiimid türevlerinin *S.aureus* ATCC 29213 üzerindeki etkileri.

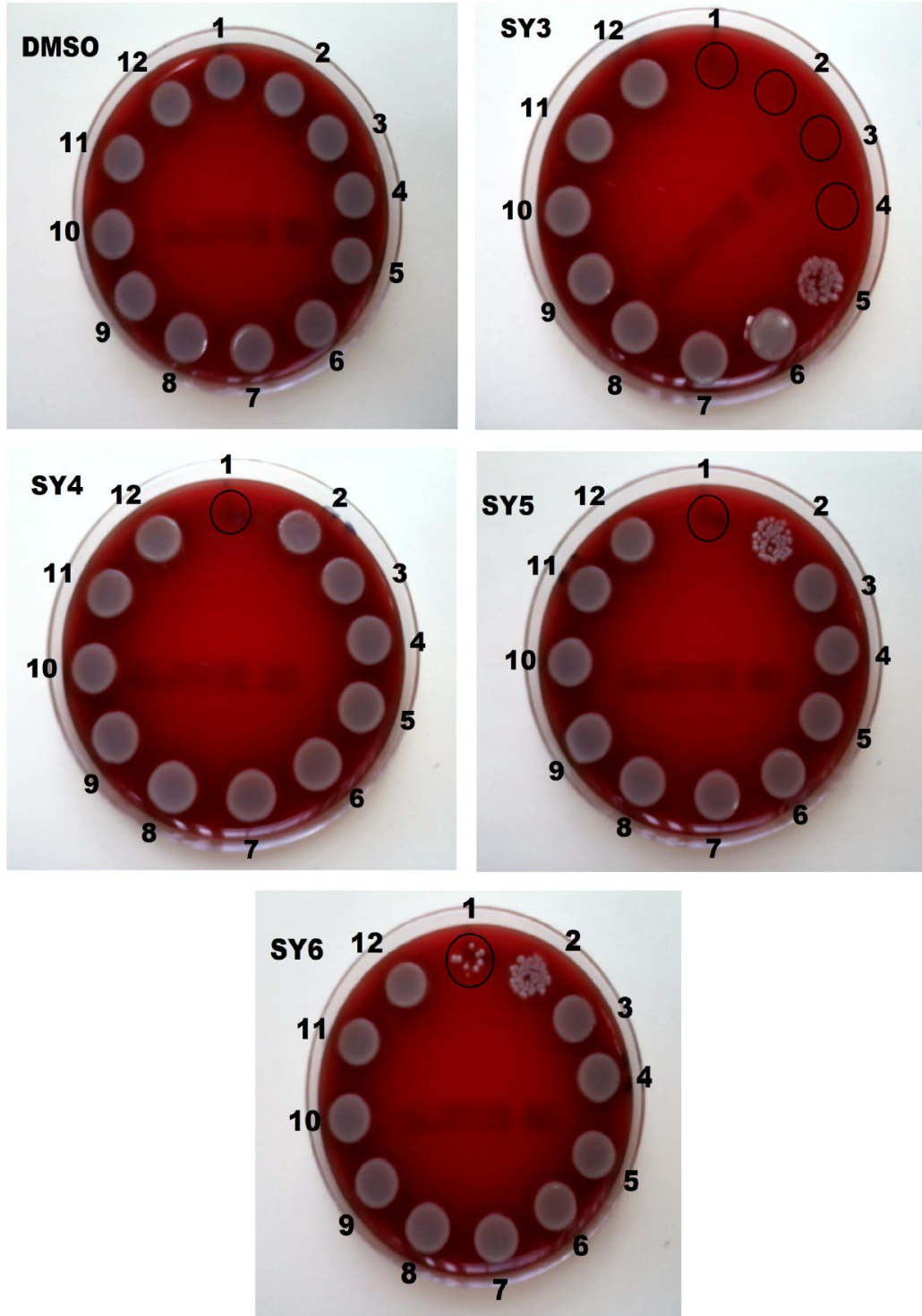
3.6.2 MİK ve MBK Yöntemi ile Perilendiimid Türevlerinin *S.aureus* ATCC 25923 Üzerindeki Etkisi



Şekil 3.20 : MİK yöntemiyle perilendiimid türevlerinin *S.aureus* ATCC 25923 üzerindeki etkileri A) DMSO B) SY3 C) SY4 D) SY5 E) SY6.

Tablo 3.3 : Perilendiimid türevlerinin *S.aureus* ATCC 25923 için MİK ve MBK değerleri.

<u>Mikroplak Sırası</u>	<u>Madde İsmi</u>	<u>MİK (µg/ml)</u>	<u>MBK(µg/ml)</u>
A	DMSO	> 62.5	> 62.5
B	SY3	3.9	7.8
C	SY4	31.25	62.5
D	SY5	31.25	62.5
E	SY6	62.5	> 62.5

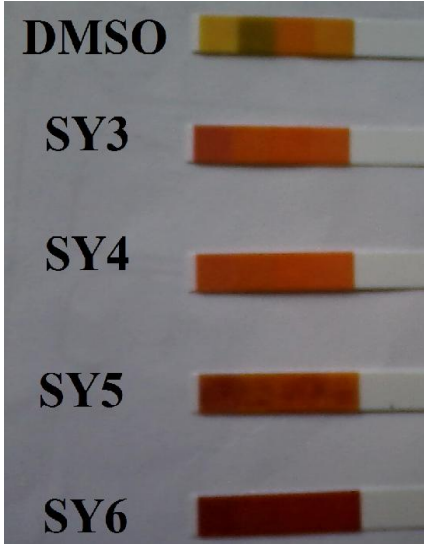


Şekil 3.21 : MBK yöntemiyle perilendiimid türevlerinin *S.aureus* ATCC 25923 üzerindeki etkileri.

3.7 Perilendiimid Türevlerinin pH Verileri

Antimikrobiyal aktivitesine bakılan perilendiimid türevlerinin pH aralığına merck pH kağıdı ile bakıldı.

	pH Değerleri
DMSO	7
SY3	3
SY4	4
SY5	3
SY6	2

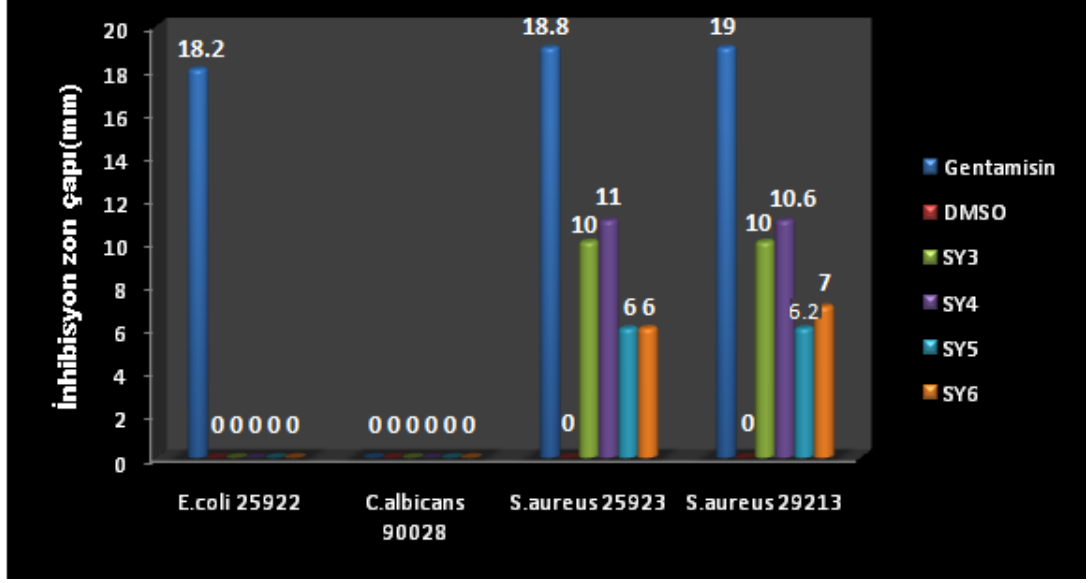


Şekil 3.22 : Perilendiimid türevlerinin pH değerleri.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız kapsamında SY3 (1,7-Dibromo-N,N'-[L-glutamikasit t-butil ester] - 3,4:9,10 - perilendiimid), SY4 (1,7-Dibromo-N,N'-[L-alanin t-butilester]-3,4:9,10-perilendiimid), SY5 (N,N'-[L-alanin t-butilester]-3,4:9,10-perilendiimid) ve SY6 (N,N'-[L-glutamikasit t-butilester]-3,4:9,10-perilendiimid) kodlu dört farklı perilendiimid türevi sentezlendi. Elde edilen moleküllerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve Kütle spektrumları ile aydınlatılmıştır. Sentezlenen dört farklı perilendiimid türevinin antimikrobiyal aktiviteleri, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213 ve *Candida albicans* ATCC 90028 kullanılarak, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile saptandı. Ayrıca minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri belirlendi.

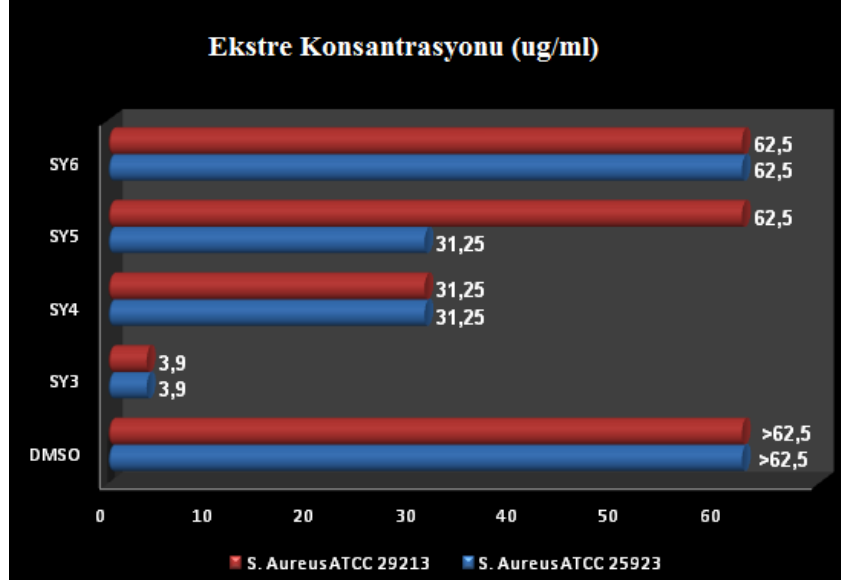
Disk difüzyon sonuçları incelendiğinde saf DMSO'nun *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213 ve *C. albicans* ATCC 90028 mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmadı. SY3, SY4, SY5 ve SY6 kodlu maddelerin *E.coli* ATCC 25922 ve *C.albicans* ATCC 90028 mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir etkisi görülmedi. SY3 maddesinin *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 üzerindeki inhibisyon zonu 10 mm'dir. SY4 maddesinin *S. aureus* ATCC 25923 üzerindeki inhibisyon zonu 11.0 mm iken *S. aureus* ATCC 29213 bakterisinde 10.6 mm inhibisyon zonu oluşturdu. SY5 maddesinin *S. aureus* ATCC 25923 bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu 6.0 mm iken *S. aureus* ATCC 29213 bakterisinde 6.2 mm inhibisyon zonu oluşturdu. SY6 maddesinin *S.aureus* ATCC 25923 bakterisinde 6.0 mm inhibisyon zonu oluştururken, *S. aureus* ATCC 29213 bakterisi üzerinde 7.0 mm inhibisyon zonu oluşturdu. Kontrol amaçla konulan gentamisin *E. coli* ATCC 25922 18.2 mm, *S. aureus* ATCC 25923 18.8 mm, *S. aureus* ATCC 29213 19.0 mm inhibisyon zonu oluştururken *C. albicans* ATCC 90028 ise ökaryotik mikroorganizma olmasından dolayı uygulanmadı.



Şekil 4.1 : Disk difüzyon metodu sonuçlarının karşılaştırılması.

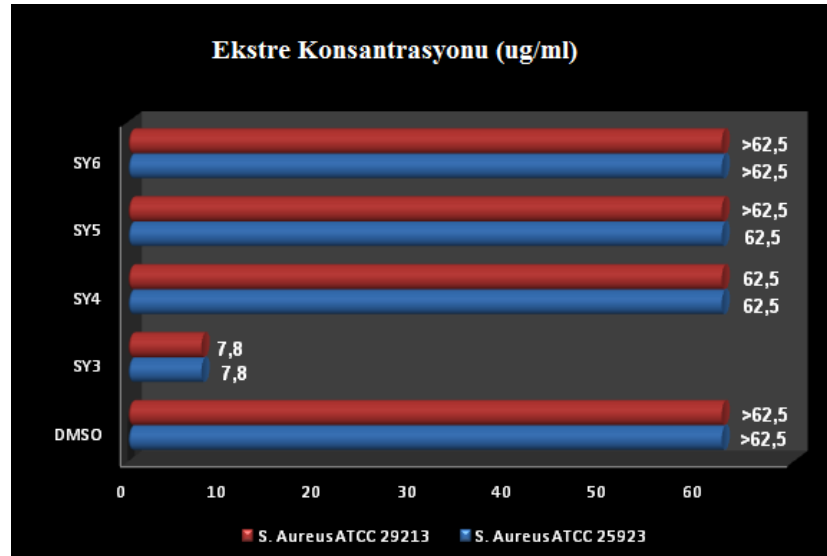
Mikrodilüsyon yöntemiyle perilendiimid türevlerinin antimikrobiyal aktivitesi belirlendi. MİK değerleri, disk difüzyon yönteminde inhibisyon zonu oluşturan *S.aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 29213 bakterileri kullanılarak saptandı. Kontrol olarak perilendiimid türevlerinin çözücüsü olan DMSO'nun hem *S. aureus* ATCC 25923 hem de *S. aureus* ATCC 29213 üzerinde herhangi bir inhibisyon etkisi görülmemiştir.

SY3 maddesi, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 üzerindeki etkisi aynı olup inhibisyon değeri 3.9 µg/ml iken SY4 maddesi, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 üzerindeki etkisi aynı olup inhibisyon değeri 31.25 µg/ml olduğu görüldü. SY5 maddesi, *S. aureus* ATCC 25923 üzerindeki inhibisyon değeri 31.25 µg/ml, *S. aureus* ATCC 29213 üzerindeki inhibisyon etkisi ise 62.5 µg/ml olarak saptandı. SY6 maddesi, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 üzerindeki etkisi aynı olup inhibisyon değeri 62.5 µg/ml olduğu belirlendi.



Şekil 4.2 : MİK metodu sonuçlarının karşılaştırılması.

Minumum bakterisidal konsantrasyon sonuçlarına bakıldığında; SY3 maddesinin, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 üzerindeki bakterisidal konsantrasyonu her ikisi içinde 7.8 µg/ml olduğu görülmüştür. SY4 maddesinin *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 üzerindeki bakterisidal konsantrasyonu 62.5 µg/ml ve SY5 maddesinin *S. aureus* ATCC 25923 üzerindeki bakterisidal konsantrasyonu 62.5 µg/ml olarak saptandı. SY5 maddesinin *S. aureus* ATCC 29213 bakterisi üzerinde, SY6 maddesinin *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 üzerinde bakterisidal etkisi 62.5 µg/ml'den büyük bir değerdir.



Şekil 4.3 : MBK metodu sonuçlarının karşılaştırılması.

Çalışmamız önceden yapılan çalışmaların [115,116] sonuçlarıyla kıyaslandığında *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* ATCC 29213 bakterileri üzerindeki bakteriyostatik (MİK) ve bakterisidal (MBK) etkilerinin daha büyük ve daha anlamlıdır. Aktivitesinin belirlediğimiz maddelerin bu denli etkili olması yapısındaki Br, karboksil grupları ve dallanmış grup içermelerinden kaynaklanabilir.

Şekil 4.2 ve 4.3 incelendiğinde Gram pozitif bakteriler üzerinde SY3, SY4, SY5 ve SY6 maddelerinin etkileri karşılaştırılmış olup dört maddede üreme inhibisyonu göstermiştir. Özellikle SY3 maddesinin *S.aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 29213 bakterilerine karşı gerek minimum inhibisyon konsantrasyonu gerekse minimum bakterisidal konsantrasyon açısından en iyi sonuçları vermiştir. Disk difüzyon yöntemi ile SY3 ve SY4 maddeleri *S. aureus* ATCC 25923 ve ATCC 29213 bakterilerinde etkili olurken, *E. coli* ATCC 25922 ve *C.albicans* ATCC 90028 mikroorganizmalarında etkili olmamıştır.

Bu sonuçlardan yola çıkarak sentezlediğimiz maddelerin in vitro toksisitesine bakılabilir ve farklı mikroorganizmalarda denenerek daha iyi bakteriyostatik, bakterisidal ve fungusit değerleri saptanabilir. Ayrıca yapılan bu çalışmanın daha ileri bir aşaması olarak bakteriyostatik ve bakterisit etki gösteren maddeler mikroorganizmaların hangi etki mekanizmalarını bozarak veya durdurarak bu etkileri gösterdiği araştırılabilir. Perilen türevlerinin henüz piyasada varolan antibakteriyeller ile birlikte kullanıldığı zaman mikroorganizmalardaki etkilerine bakılabilir. Perilendiimidlerin başlangıç maddesi olan perilen-3,4;9,10-tetrakarboksilik dianhidrit süstitüent bölgelerine farklı gruplar takılarak elde edilecek yeni perilendiimid türevlerin Gram pozitif ve negatif bakterilerde, maya kültürlerinde denenerek daha iyi sonuçlar elde edilebilir ve de hastalıkların tedavileri ve antibiyotik direnci artırmak için ilaç tasarımlarında kullanılabilir.

Özetle dört farklı perilendiimid türevleri sentezledik ve etkili antimikrobiyal aktivite sonuçlarını karakterize ettik. Bu sonuçlar hedefe özgün ilaç tasarım ve geliştirmede etkilerinin olabileceğini yani *S.aureus* bakterilerin rol oynadığı hastalıkların farklı şekillerde kontrol altına alınmasına ve yok edilmesine olanak sağlayacağını göstermektedir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Langhals, H., " Control of the interactions in multichromophores : Novel concept. Perylene bisimides as components for larger functional units ", *Helvetica Chimica Acta.*, 88(6), 1309-1349, (2005).
- [2] Ünal, A.A., "Inhibited Spontaneous Emission of Perylene Dye Molecules Embedded in Nanocavities ", M.Sc.Thesis, *Natural Sciences*, University of SABANCI, Istanbul, 19-21, (2005).
- [3] Cormier, R.A. and Gregg, B.A., " Synthesis and characterization of liquid crystalline perylene diimides ", *Chemistry of Materials*, 10(5), 1309-1319, (1998).
- [4] Edvinsson, T., Li, C., Pschirer, N., Schöneboom, J., Eickemeyer, F. and Sens, R., Boschloo, et al., " Intramolecular Charge-Transfer Tuning of Perylenes: Spectroscopic Features and Performance in Dye-Sensitized Solar Cells ", *The journal physical chemistry letter*, 111(2), 15137-15140, (2007).
- [5] Bamfield, B., " Chromic Phenomena: Technological applications of color chemistry ", *The Royal Society Of Chemistry Publishing*, Cambridge, 169-184, (2001).
- [6] Herbst, H. and Hunger, K., *Industrial Organic Pigment*, WILEY VCH, 3rd edition Weinheim, 474-477, (2004).
- [7] Miaojedomes, A., Kazlauskas, K., Armonaite, G., Valiyoveetil, S., Grazulevicius, J.V. and Jursenas, S., " Concentration effects on emission of bay-substituted perylene diimide derivatives in a polymer matrix ", *Dyes and Pigments*, 92, 1285-1291, (2012).
- [8] Rademacher, A., Maerke, S. and Langhals, H., " Soluble perylene fluorescent dyes with high photostability ", *Chemische Berichte*, 115(8), 2927-2934, (1982).
- [9] Langhal, H., " Dyes for fluorescent solar collectors ", *Technic and Laboratorium*, 28, 716, (1980).
- [10] Sakamoto, T. and Pac, C., " A green route to perylene dyes : direct coupling reactions of 1,8 naftalimide and related compounds under mild condition using a new base complex reagent, t - BuOK / DBN ", *Journal Organic Chemical*, 66(1), 94-98, (2001).
- [11] Kaur, B., "Development of IR-reflective pigments for coatings and polymers ", Doctor of philosophy, *Environmental and Chemical Engineering RMIT University*, Melbourne, Australia, 33-36, (2012).

- [12] Baudek, G., " Study of structural and electronic properties of thin metallic and organic film", Ph.D Thesis, *University of Ljubljana Mathematics and Physics Department of Physics*, Kranj, 101-103, (2006).
- [13] Dubey, R.K., Efimov, A. and Lemmetyinen, H., "1,7 and 1,6 Regioisomers of Diphenoxy and Dipyrrolidinly Substituted Perylene Diimides: Synthesis, Separation, Characterization and Comparison of Electrochemical and Optical Propertie ", *Chemical Materyal*, 23, 778-788, (2011).
- [14] Dinçalp, H., Aşkar, Z., Zafer, C. and İçli, S., "Effect of side chain substituents on the electron injection abilities of unsymmetrical perylene diimide dyes ", *Dyes and Pigments* , 91, 182-191, (2011).
- [15] Refiker, H. ve İcil, H., " Amphiphilic and Chiral unsymmetrical perylene dye for solid state dye sensitized solar cell ", *Turkey Journa. Chemical*, 35, 847-859, (2011).
- [16] Zollinger, H., " *Color Chemistry: Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments* ", Weinheim VCH (3rd edition), 34-46, (2003).
- [17] Wurthner, F., " Perylene bisimide dyes as versatile building blocks for functional supramolecular architecture ", *Chemical Communications*, 14, 1564-1579, (2004).
- [18] Huang, L., Zhu, F., Liu, C., Wang, L., Geng, Y. and Yan, D., " Heteroepitaxy growth high performance films of perylene diimide derivatives ", *Organic Electronics*, 11, 195–201, (2010).
- [19] İcli, S. and İçil, H., " A thermal and photostable reference probe for Q_i measurements: chloroform soluble perylene 3,4,9,10-tetracarboxylic acid-bis-N,N'-dodecyldiimide ", *Spectroscopic. Letters*, 29, 1253-1257, (1996).
- [20] Segura, J.L., Gómez, R., Remold, E., Bauerle, P., " Synthesis and electro polymerization of perylenebisimide functionalized 3,4-ethyIene dioxothiophene EDOT; derivative ", *Org. Lett.*, 7, 2345-2348, (2005).
- [21] Langhals, H., " Cyclic carboxylic imide as structure elements of high stability. Novel developments in perylene dye chemistry ", *Heterocycles*, 40, 477–500, (1995).
- [22] Gómez, R., Segura, J.L., Martin, N., " Highly efficient light-harvesting Organofullerenes ", *Organic. Letters*, 7, 717-720, (2005).
- [23] Liu, O.M., Tai, C.H. and Hu, A.T., " The fluorescent and photoelectric conversion properties of phthalocyanine-peryene tetracarboxylic complexes ", *Journal of Photochemistry and Photobiology A : Chemistry* , 165, 193-200, (2004).
- [24] Chen, K.Y., Fang, T.C. and Chang, M.J., " Synthesis , photophysical and electrochemical properties of 1-aminoperylene bisimides ", *Dyes and Pigments*, 92, 517-523, (2011).

- [25] Lin, L., Geng, H., Shuai, Z. and Luo, Y., " Theoretical insights into the charge transport in perylene diimides based n-type organic semiconductors ", *Organic Electronics*, 13, 2763-2772, (2012).
- [26] Jin, Y., Hua, J., Wu, W., Ma, X. and Meng, F., " Synthesis, characterization and photovoltaic properties of two novel near-infrared absorbing perylene dyes containing benzo[e]indole for dye-sensitized solar cells " , *Synthetic Metals*, 158, 64-71, (2008).
- [27] Mikroyannidis, J.A., Stylianakis, M.M., Roy, M.S., Suresh, P. and Sharma, G.D., " Synthesis, photophysics of two new perylene bisimides and their photovoltaic performances in quasi solid state dye sensitized solar cells " , *Journal of Power Sources*, 194(2), 1171-9, (2009).
- [28] Aich, R., Ratier, B., Tran-van, F., Goubard, F. and Chevrot, C., " Small molecule organic solar cells based on phthalocyanine-perylene-carbazole donor - acceptor couple " , *Thin Solid Films*, 516, 7171-7175, (2008).
- [29] Zafer, C., Kus, M., Turkmen, G., Dincalp, H., Demic, S., Kuban, B., et al., " New perylene derivative dyes for dye-sensitized solar cells " , *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 91, 427-431, (2007).
- [30] Chiu, T.L., Chuang, K.H., Lin, C.F., Ho, Y.H., Lee, J.H., Chao, C.C., et al. , " Low reflection and photo-sensitive organic light-emitting device with perylene diimide and double-metal structure " , *Thin Solid Films*, 517, 3712- 3716, (2009).
- [31] Oner, I., Varlıklı, C. ve İcli, S., " The use of a perylenediimide derivative as a dopant in hole transport layer of an organic emitting device " , *Applied Surface Science*, 257, 6089-94, (2011).
- [32] Singh, T.B., Erten, S., Güneş, S., Zafer, C., Turkmen, G., İcli, S., et al., " Soluble derivatives of perylene naphthalene diimide for n-channel organic field-effect transistors " , *Organic Electronic*, 7, 480-489, (2006).
- [33] Yang, H. and Chen, K.Y., " 1,7-Diaminoperylene bisimides : Synthesis, optical and electrochemical properties " , *Dyes and Pigments*, 96(2), 319-327, (2013).
- [34] Corien, W.S., Alexander, B.S., Jarno, E.S., Marinus, V.D., Kimkes, P. and Sudhölter, E.J.R., "Liquid crystalline perylene diimides : Architecture and charge carrier mobilities " , *Journal of the American Chemical Society*, 122, 11057-11066 , (2000).
- [35] Wurthner, F. and Thalacker, C., " Liquid Crystalline 3,4:9,10-perylene tetracarboxylic Acid Diimides " , *United States Patent*, 10, 344-68, (2004).
- [36] Turkmen, G., Erten-Ela, S. ve İcli, S., " Highly soluble perylene dye: Synthesis, photophysical and electrochemical characterization", *Dyes and Pigments*, 83, 297-303, (2009).

- [37] Sadrai, M., Hadel, L., Sauers, R.R., Husain, S., Jespersen, K.K., Westbrook, J.D., et al., "Lasing action in a family of perylene derivatives: singlet absorption and emission spectra, triplet absorption and oxygen quenching constants, and molecular mechanics and semiempirical molecular orbital calculations ", *Journal of Physical Chemistry*, 96, 7988–7996, (1992).
- [38] Yukruk, F., Dogan, A.L., Canpinar, H., Guc, D. and Akkaya, E.U., "Water-soluble green perylenediimide (PDI) dyes as potential sensitizers for photodynamic therapy " , *Organic Letters*, 7(14), 2885-2887, (2005).
- [39] Yukruk, F. and Akkaya, E.U., " Modulation of internal charge transfer (ICT) in a bay region hydroxylated perylenediimide (PDI) chromophore: a chromogenic chemosensor for pH " , *Tetrahedron Letters*, 46, 5931-5933, (2005).
- [40] Dinçalp, H. and İçli, S., " Photoinduced electron transfer-catalyzed processes of sulfoamino perylene diimide under concentrated sun light " , *Solar Energy*, 80, 332-333, (2006).
- [41] Dincalp, H. ve Icli, S., " Photosynthesis of rose oxide by concentrated sunlight in the absence of singlet oxygen " , *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 141, (2001).
- [42] Karn, J.T. and Karmin, S.M., " The Aggregation and G-Quadruplex DNA Selective of Charged 3,4:9,10-Perylenetetracarboxylic Acid Diimides " , *Bioorganic Chemistry & Medicinal Letters*, 12, 3395-3398, (2002).
- [43] Lian, A.D., Lacroix, L., Douarre, C., Smaali, N.T., Riou, J.F. and Mergry, J.L. et al., " Targeting telomeres and telomerase " , *Biochimie*, 90, 131-155, (2008).
- [44] Kermin, S.M., Chen, G., Kern, T.J. and Thomas, P.W., " Perylene Diimide G-Quadruplex DNA Binding Selectivity is Mediated by Ligand Aggregation " , *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12, 447-450, (2002).
- [45] Dinçalp, H., Avcıbaşı, N. and İçli, S., " Spectral properties and G-quadruplex DNA binding selectivities of a series of symmetrical perylene diimides " , *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 185, 1-12, (2007).
- [46] Guo, X., Zhang, D., Zhang, H., Fan, Q., Xu, W. and Ai, X., " Donor -acceptor -donor triad incorporating tetrathiafulvalene and perylene diimide units: synthesis, electrochemical and spectroscopic studies " , *Tetrahedron Letter*, 59, 4843-4850, (2003).
- [47] Manikowski, H., Wrobel, D., Lewandowska, K. and Graja, A., " Charge transfer in PDI-derived systems studied with light induced electron spin resonance " , *Synthetic Metals*, 157, 363-367, (2007).

- [48] Sopagouos, V.J., Gaidelis, V., Kovalevski, V. and Undzenos, A., " 3,4:9,10-Perylenetetracarboxylic acid derivatives and their photophysical properties ", *Dyes and Pigments*, 71,178-187, (2006).
- [49] Tan, W., Li, X., Zhang, J., and Tian, H., " A photochromic diarylethene dyad based on perylene diimide ", *Dyes and Pigments*, 88, 260-265, (2011).
- [50] Krasovitskii, B.M. and Bolotin, B.M., *Organic Luminescent Materials* , New York, VCH : Weinheim, 148-150, (1988).
- [51] El-Daly, S.A., Awad, M.K., Abdel-Halim, S.T. and Dowidar, D.N., " Photophysical properties and semiempirical calculations of perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic tetramethylester (PTME) ", *Spectrochimica Acta Part A* 71, 1063–1069, (2008).
- [52] Würthner, F. Thalacker, C. and Sautter, A., " Hierarchical Organization of Functional Perylene Chromophores to Mesoscopic Superstructures by Hydrogen Bonding and Interactions. ", *Adv. Mater*, 11, 754–758, (1999).
- [53] Fan, L., Xu, Y. and Tian, H., " 1,6-Disubstituted perylene bisimides: concise synthesis and characterization as near-infrared fluorescent dyes " , *Tetrahedron Letters*, 46, 4443-4447, (2005).
- [54] Gao, B., Li, Y. and Tian, H., "Synthesis and near infrared characterization of novel perylenebisimides dyes bay-chromophore ", *Chinese Chemical Letters*, 18, 283-286, (2007).
- [55] Zhao, Y. and Wasielewski, M.R., " 3,4:9,10 Perylene bis(dicarboximide) chromophores that function as both electron donors and acceptors ", *Tetrahedron letters*, 40, 7047-7050, (1999).
- [56] Asir, S., Demir, A.S. and İçil, H., "The synthesis of novel , unsymmetrically substituted, chiral naphthalene and perylene diimides: photophysical, electrochemical chiroptical and intramolecular charge transfer properties " , *Dyes and Pigments*, 84, 1-13, (2010).
- [57] Nagao , Y., " Synthesis and properties of perylene pigments ", *Progress in Organic Coatings*, 31, 43-49, (1997).
- [58] Paşaoğulları, N., İçil, H. and Demuth, M., "Symmetrical and unsymmetrical perylene diimides Their synthesis photophysical and electrochemical properties", *Dyes and Pigments*, 69, 118-127, (2006).
- [59] Huang, H., Che, Y. and Zag, L., " Direct synthesis of highly pure perylene tetracarboxylic monoimide " , *Tetrahedron Letters*, 51, 6651-6653 , (2010).
- [60] Yan, P., Chowdhury, A., Holmen, M.W. and Adams, D.M., " Self Organized perylenediimide Nanofibers " , *Journal of Physical Chemistry*, 109, 724-730, (2005).

- [61] Raj, M.R., Ananden, S., Solomon, R.V., Venuvanalingam, P., Lyer, S.K. and Ashokkumar, M., " Synthesis of conjugated perylene diimide-based copolymer with 5,5'-bis(4-aminophenyl)-2,2'-bifuryl moiety as an active material for organic photovoltaics ", *Journal of Photochemistry and Photobiology, A : Chemistry*, 217, 52-62, (2012).
- [62] Park, J.S., Lee, C.W. and Gang, M.S.," Preparation and chemiluminescent properties of perylene - containing polyimides as polymeric red fluorophores ", *Synthetic Metals*, 132(2), 177-184, (2003).
- [63] Ko, H.C., Lim, D.K., Kim, S.H., Choi, W. and Lee, H.," Light emitting electrochemical cells based on polyimide containing perylene and tri(ethylene oxide) moieties " , *Synthetic Metals*, 144, 177-181, (2004).
- [64] Balcerzak, E.S., Iwan, A., Zajac, M., Podgarna, M. and Janeczek, H., " Characterization liquid crystalline behaviour, optical and electrochemical study of a new aliphatic-aromatic polyimide with naphthalene and perylene subunits ", *Synthetic Metals*, 161, 1660-1670, (2011).
- [65] Jagadeesh, B.B. and İçil, H., " Highly soluble perylenediimide and oligomeric diimide dyes combining perylene and hexa (ethylene glycol) units:Synthesis, characterization, optical and electrochemical properties " , *Dyes and Pigments*, 79, 224-235, (2008).
- [66] Han,H. and Hurley, L.H., " G-quadruplex DNA: a potential target for anti-cancer drug design ", *Elsevier Science*, 21, 136-141, (2000).
- [67] Buseman, C.M., Wright, W.E. and Shay, J.W., " Is telomerase a viable target in cancer " , *Mutation Research*, 730, 90-97, (2012).
- [68] Hastie, N.D. and Allshire, R.C., "Human telomere : fusion and interstitial sites " , *Trends and Genetics*, 5, 326-330, (1989).
- [69] Miroğlu, Y.Y., Diraman, E. ve Eren, Z., "Telomer ve Telomeraz " , *Türkiye Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 412, 41-48, (2011).
- [70] Dinçalp, H., Kızılok, Ş., Birel, H. and İçli, S., " Synthesis and G-quadruplex binding study of a novel full visible absorbing perylene diimide dye " , *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* " , 235, 40-48, (2012).
- [71] Samudrala, R., Zhang, X., Wadkins, R.M. and Mattern, D.L., " Synthesis of a non-cationic, water – soluble perylenetetracarboxylic diimide and its interaction with G-quadruplex forming DNA " , *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15, 186-193, (2007).
- [72] Rossetti, L., Franceschin, M., Schirripa, S., Bianco, A., Ortaggi, G. and Savino, M., " Selective interactions of perylene derivatives having different side chains with inter- and intramolecular G-quadruplex DNA structures.A correlation with telomerase inhibition " , *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15, 413-420, (2005).

- [73] Philips, D., " Chemical mechanisms in photodynamics therapy with phthalocyanines ", *Progree in Reaction Kinetics*, 22, 175-300, (1997).
- [74] Lang, K., Mosinger, J. and Wagnerová, D.M., " Photophysical properties of porphyrinoid sensitizers non-covalently bound to host molecules; models for photodynamic therapy ", *Coordination Chemistry Reviews*, 248, 321-350, (2004).
- [75] Barr, H., MacRobert, A.J., Tralau ,C.J., Boulos, P.B. and Bown, S.G., " The significance of the nature of the photosensitizer for photodynamic therapy: quantitative and biological studies in the colon ", *British Journal of Cancer*, 62(5), 730–735, (1990).
- [76] Atılgan, S., "Water soluble di-styryl boradiazaindacene as an efficient photosensitizer for photodynamic therapy ", M.Sc. Thesis, *Middle East Technical University, Chemistry Department*, (2006).
- [77] Mannervik, B., Board, P.G., Hayes, J.D., Listowsky, I. and Pearson, W.R., " Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases.", *Methods Enzymol* , 401, 1-8, (2005).
- [78] Aksoy, Y., " Catalytic mechanism and structure of Glutathione-transferases and significance at detoxification. ", *Klinik Laboratuvar Araştırma Dergisi*, 2(9), 67-72, (2005).
- [79] Young, A.M., Allen, C.E. and Audus, K.L., " Efflux transporters of the human placenta. ", *Advanced Drug and Gene Delivery*, 55(1), 125-32, (2003).
- [80] Aksoy, Y., " The role of Glutathione in antioxidant mechanism.", *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences.*, 22(4), 442-448, (2002).
- [81] Sau, A., Pellizzari, T.F., Valentino, F., Federici, G. and Caccuri, A.M., " Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance. ", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 500(2), 116-22, (2010).
- [82] Ogus, H., Balk, M. , Aksoy, Y., Muftuoğlu, M. ve Ozer, N., "The effects of oxidative stress on the redox system of the human erythrocyte Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants ", *Pathological and Physiological Significance. 1st ed. NATO ASI Series A, Life Sciences*, New York: Plenum Press, 25-37, (1998).
- [83] Franco, R. and Cidlowski, J.A., " Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant. ", *Cell Death Differentiation*, 16(10), 1303-14, (2009).
- [84] Tew, K.D., Barone, L., Akerman, G., Montali, J.A. et al., "Glutathione associated enzymes in the human cell lines of the National Cancer Institute Drug Screening Program", *Molecular Pharmacology*, 50(1), 149-159, (1996).

- [85] Lewis, A.D., Hickson, I.D., Robson, C.N., Harris, A., Hayes, J.D., Griffiths, S.A. et al., " Amplification and increased expression of alpha class glutathione S-transferase-encoding genes associated with resistance to nitrogen mustards. ", *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 85(22), 8511-5, (1988).
- [86] Laborde, E., "Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death. ", *Cell Death Differentiation*, 17(9), 1373-1380, (2010).
- [87] Adler, V., Yin, Z., Fuchs, S.Y., Benerza, M., Rosario, L., Tew, K.D. et al., " Regulation of JNK signaling by GSTp. ", *Embo Journal*, 18(5), 1321-1334, (1999).
- [88] Paul, M.K. and Mukhopadhyay, A.K., " Tyrosine kinases - role and significantcancer " , *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(2), 101-115, (2004).
- [89] Roskoski, R.J.R., " Src kinase regulation by phosphorylation and dephosphorylation " , *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1, 331, (2005).
- [90] Arora, A. and Scholar, E.M., " Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy " , *Perspectives in Pharmacology*, 315(3), 971-979,(2005).
- [91] Hu, G., Place, A.T. and Minshall, R.D., " Regulation of endothelial permeability by src kinase signaling : vascular leakage versus transcellular transport of drugs and macromolecules " , *Chemico-Biological Interactions*, 171, 177-189,(2008).
- [92] Yang, Y., Wislez, M. and Fujimoto, N., " A selective small molecule inhibitor of c-Met, PHA-665752, reverses lung premalignancy induced by mutant K-ras " , *Molecular Cancer Therapeutics*, 7(4), 952-960, (2008).
- [93] Bennisroune, A., Gardin, A., Aunis, D., Crémel, G. and Hubert, P., " Tyrosine kinase receptors as attractive targets of cancer therapy " , *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 50, 23-38, (2004).
- [94] Kılıç, Z., " İndol Türevi Bazı Bileşiklerin Sentezleri Ve Anti-Kanserojen Etkilerinin Araştırılması " , Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi*, (2008).
- [95] Kocanova, S., Laigle A., and Miskovsky P., " Inhibition of protein kinase C activity in 3T3 mouse fibroblasts by photoactive drug hypericin: Fluorescence Imaging Study " , *Laser Physics*, 13(1), 30–34, (2003).
- [96] Bruns, R.F., Miller, F.D., Merriman, R.L., Howbert, J.J, Heath W.F. and Kobayashi, E., " Inhibition of protein kinase C by calphostin C is light-dependent " , *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 176(1), 288-293, (1991).

- [97] Keskin,T., Isgor, B.S., Isgor, Y.G. ve Yukruk, F., "Evaluation of Perylenediimide Derivatives for potentials Therapeutic Benefits on Cancer Chemotherapy ", *Chemical biology & drug design*, 80, 675-681, (2012).
- [98] Akdur, Col, M. ve Isık, A.et al., *Çağdas Sağlık ve Sağlık Hizmetleri Kavramları, Bu Kavramlara Etki Eden Dinamikler "* , Ankara , Antıp Aş Tıp Kitapları Ve Bilimsel Yayınları, 10, (1998).
- [99] Uçışık, H.A., *Klinik Gelişim* , İstanbul Tabip Odası, 12, 3375-3378, (1994).
- [100] Erganiş, O., *Mikrobiyoloji ve Immunoloji*, Sağlık Bakanlığı, Konya Sağlık Eğitim Enstitü Yayınları, Konya, 17-87, (1994).
- [101] Lewinson, W.," *Review of Medical Microbiology and Immunology*", San francisco/ California, 112-130, (2010).
- [102] Murrey, R.P., Baron, E.J. and Jorgensen, H.J.," *Klinik Mikrobiyolojisi I* ", 9. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 390-688, (2009).
- [103] Brooks, G.F., Carroll, K.C. and Butel, J.S., " *Tibbi Mikrobiyoloji* ", Noel Tıp Kitabevi, 24 ed., 161-229, (2009).
- [104] Bettelheim, K.A., Balows, A. ,Truper, H.G., Dworkin, M. and Schleifer, K.H., *The genus Escherichia-The prokaryotes* , 2nd, Springer-Verlag KG, Berlin, Germany, 2696-2736 (1992).
- [105] Murrey, R.P., Baron, E.J. and Jorgensen, H.J.," *Klinik Mikrobiyolojisi II* ", 9. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 1762-1789, (2009).
- [106] Topçu, A.W., Söyletir, G. ve Doğanay, M., " *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji* ", Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2411-2427, (2008).
- [107] Temiz, A., *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri* , Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 291, (2000).
- [108] *Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI)*. Anti-mikrobik duyarlılık testleri için uygulama standartları. On dokuzuncu Bilgi Eki, M100-S23. Ankara: Bilimsel Tıp Yayın-evi, (2013).
- [109] *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Test (EUCAST)*, breakpoint tables for interpretation of MIC's and zone diameters – Version 3.0, (2013).
- [110] Qurbanov, A.İ. and Attar, A., " Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığına antioksidanların etkisinin incelenmesi ", *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji dergisi*, 64(2), 14-20, (2007).
- [111] Lambert, R.J.W. and Pearson, J., " Susceptibility testing : accurate and reproducible minimum inhibitory concentration(MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. ", *Journal of Applied Microbiology*, 88, 784-790, (2000).

- [112] Kubin, A., Wierrani, F., Burner, U., Alth, G. and Grunberger, W., " Hypericin – the facts about a controversial agent. ", *Current Pharmaceutical Design.*, 11, 233–253, (2005).
- [113] Krishnamoorthy, G., Webb, S.P., Nguyen, T. and Gordon M.S. et al., " Synthesis of hydroxy and methoxy perylene quinones, their spectroscopic and computational characterization, and their antiviral activity ", *Photochemistry and Photobiology*, 81, 924–933, (2005).
- [114] Karioti, A. and Bilia, A.R.," Hypericins as Potential Leads for New Therapeutics ", *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 562-594, (2010).
- [115] Feyzioğlu, B., Demircili, M.E., Özdemir, M., Doğan, M., Baykan, M. and Baysal, B., " Antibacterial effect of hypericin ", *African Journal of Microbiology Research*, 7(11), 979-82, (2013).
- [116] Ma, G., Khan, S.I., Jacob, R., Tekwani, B.L., Zuqiang, L., Pasco, D.S. et al., " Antimicrobial and Antileishmanial Activities of Hypocrellins A and B ", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48, 4450–4452, (2004).