

**AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI TƏHSİL NAZİRLİYİ**  
**BAKİ DÖVLƏT UNİVERSİTETİ**

---

*Əlyazması hüququnda*

**AYGÜN ƏLİMƏRDAN qızı İSRAYİLOVA**

**YENİ ANTİMİKROB XASSƏLİ MADDƏLƏRİN TƏDQIQI**

**2414.01 – Mikrobiologiya**

**2422.01 – Biotexnologiya**

Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi  
almaq üçün təqdim olunmuş dissertasiyanın

**AVTOREFERATI**

**BAKİ – 2018**

Dissertasiya işi Bakı Dövlət Universitetinin Mikrobiologiya kafedrasında və Pavia Universitetinin (İtaliya) Molekulyar Mikrobiologiya laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir

Elmi rəhbər: **b.e.d., prof. X.Q.Qənbərov**

Rəsmi opponətlər: **b.e.d., prof. N.M.İsmayilov**  
**b.e.d., prof. Ə.Ə.Nəbiyev**

Aparıcı təşkilat: **AMEA-nın Molekulyar biologiya və Biotexnologiya İnstitutu**

Müdafiə \_\_\_\_\_ 2018-ci il tarixində saat “\_\_\_\_\_” –da BDU-nun Biologiya fakültəsinin nəzdindəki FD.02.194 Dissertasiya Şurasının iclasında keçiriləcəkdir.

Ünvan: AZ 1148, Bakı ş. Z.Xəlilov küç.,23

Dissertasiya ilə Bakı Dövlət Universitetinin Elmi kitabxanasında tanış olmaq olar.

Avtoreferat \_\_\_\_\_ 2018-ci ildə göndərilmişdir.

FD.02.194 Dissertasiya  
Şurasının elmi katibi,  
b.ü.e.d., dos.

**S.Q.Güləhmədov**

## TƏDQIQATIN ÜMUMİ SƏCİYYƏSİ

**Mövzunun aktuallığı.** Patogen mikroorqanizmlər təbiətdə geniş yayılmışlar, bu da onların təkamül prosesində bitki, heyvan və insan orqanizminə uyğunlaşaraq onların hesabına yaşamaq qabiliyyəti qazanması ilə əlaqədardır. Mikroorqanizmlər, onlara qarşı mübarizədə istifadə olunan antibiotiklərə və ya dərman preparatlarına qarşı müxtəlif mexanizmlərlə (mutasiya, çıxarma nasosları və s.) davamlılıq xüsusiyyəti qazanırlar. Mikroorqanizmlərdə antibiotiklərə qarşı rezistentlik xüsusiyyətini daşıyan genlər irsən ötürülə, yaxud sonradan qazanıla bilər [Bazzini et.al.2014; Buroni et.al 2009; Heijenoort 2007].

Son dövrlərdə patogen bakteriyaların və göbələklərin dərman preparatlarına qarşı davamlılıq (rezistentlik) xüsusiyyətinin yaranması ilə bərabər, infeksiya xəstəliklərin sürətlə yayılması yeni antimikrob təbiətli agentlərin (maddələrin) axtarışını daha da aktuallaşdırır. Buna görə də, yüksək aktivliyə malik olan yeni nəsəl antimikrob birləşmələrin sintezi, onların identifikasiyası və təsir mexanizmlərini öyrənmək tədqiqatçıların qarşısına qoyulan əsas problemlərdən biridir.

Bir çox kimyəvi birləşmələr stabil, davamlı, qeyri-toksiki təsirə və yüksək oksidləşmə-reduksiya potensialına malik olub, göbələk, bakteriya və virusların törətdikləri xəstəliklərlə mübarizədə geniş tətbiq olunması məqsədə uyğun hesab olunur [Chohan et al., 2010; Chogan et al., 2010].

Qeyd etmək lazımdır ki, yeni sintez edilən antimikrob təbiətli maddələrin əsas sinifləri mikrob hüceyrəsindəki yalnız dörd prosesə: 1) hüceyrə divarının biosintezinə; 2) zülal sintezinə; 3) DNT-nin replikasiyasına və ya bərpasına; 4) folat koenzimindən asılı timidinin biosintezinə təsir göstərilir. Son illərdə antibiotiklərə qarşı rezistentlik xüsusiyyəti qazanmış patogen bakteriyalarla mübarizə aparmaq üçün, onlara davamlılıq xüsusiyyəti verən çıxarma nasoslarının, həmçinin hüceyrə divarının qurulmasında, hüceyrənin bölünməsində və mərkəzi metabolizmdə vacib rol oynayan enzimlərin aktivliyini tormozlayan inhibitorların axtarışı aparılır [Dzidic et al. 2008; Efthimiadou et al., 2010]. Məlum olmuşdur ki, antibiotiklərin 60%-dən çoxu məhsul bakteriyalarda hüceyrə divarının biosintezinə təsir göstərərək, hüceyrənin asanlıqla lizisə uğramasına səbəb olur. Bakteriya hüceyrəsinin divarı, peptidolikanadan ibarət polimer strukturdur. Hüceyrə səviyyəsində peptidolikanın sintezi üç mərhələdən ibarətdir. Bir çox bakteriyalarda (*E.coli*, *B. subtilis*, *B. anthracis*, *M. tuberculosis* və s.) peptidolikanın biosintezini üçüncü mərhələsini tormozlayan inhibitorlar tapılmışdır [Fisher 2008; Klevenes et al., 2007;

Kotnik et al., 2007].

Yuxarıda qeyd olunanları nəzərə alaraq, infeksiyon xəstəliklərin yayılmasının qarşısını almaq üçün, patogen bakteriyalarda peptidoqlikanın əmələ gəlməsində iştirak edən enzimləri ingibirləşdirən aktiv maddələrin sintezi və identifikasiya olunması daha məqsədə uyğun hesab edilir.

**Tədqiqatın məqsədi və vəzifələri.** Tədqiqatın əsas məqsədi yüksək antimikrob aktivliyə malik olan yeni sintez olunmuş maddələrin skriningini aparmaq, epidemik patogen olan *Burkholderia cenocepacia* J2315 bakteriyasının qlutamat rasemaza enzimini (GR, EC 5.1.1.3) ingibirləşdirən maddələri aşkarlamaq və onların ingibirləşdirmə mexanizmini öyrənmək olmuşdur.

Göstərilən məqsədə nail olmaq üçün qarşıya aşağıdakı vəzifələr qoyulmuşdur:

- 1) Müxtəlif kimyəvi siniflərə aid olan maddələrin antimikrob aktivliyini öyrənmək;
- 2) Kimyəvi maddələrin bakteriyalara təsirinin minimum ingibirləşdirici qatılığını müəyyən etmək və patogen bakteriyaların inkişafını intensiv tormozlayan maddələri seçmək;
- 3) *Burkholderia cenocepaciae* J2315 bakteriyasında qlutamat rasemaza enzimini kodlaşdıran *BCAL2289* genini *E.coli* hüceyrələrinə transformasiya etmək və onun ekspresiyasına nail olmaq ;
- 4) Qlutamat rasemaza enziminin biokimyəvi xüsusiyyətlərini öyrənmək;
- 5) Enzimin aktivliyinə mühit turşuluğunun və temperaturun təsirini öyrənmək;
- 6) Enzimi ingibirləşdirən maddələrin skriningi;
- 7) Mn (III) və Zn (II) metal komplekslərinin enzimin oliqomerik vəziyyətinə təsirini öyrənmək.

**İşin elmi yeniliyi.** Müxtəlif kimyəvi qruplara (metal komplekslər, bishidrazonlar, aren, karbamid və benzofuran törəmələri) aid olan 23 maddənin antiikrob aktivliyi 6 növə aid olan 10 şərti patogen bakteriya ştamarına qarşı öyrənilmişdir. 1,3,5-triazapentadienat Zn (II) və Mn (III) metal kompleksləri, 2-(hikroksibenzaldehyd)-3-izatin bishidrazonu (3N5) digər kimyəvi maddələrlə müqayisədə daha yüksək antibakterial aktivliyə malik olduğu göstərilmişdir. Kimyəvi maddələrin minimum ingibirləşdirici qatılığı 250 – 1000 µg/ ml intervalında dəyişmişdir. Kimyəvi maddələrin təbiətindən və bakteriyaların növündən asılı olaraq, onların antimikrob aktivliyində müəyyən seçicilik qeyd alınmışdır.

*A. baumannii* BDU32 bakteriyası digər bakteriya ştamlarından fərqli olaraq tədqiq edilən bütün kimyəvi maddələrə qarşı yüksək həssaslıq

göstərmişdir.

*Burkholderia cenocepacia* J2315 bakteriyasından qlutamat rasemaza enziminin *BCAL2289* geni klonlaşdırılmış və *E.coli* hüceyrələrində ekspresiya olunmuşdur. Ayrılmış rekombinant enzimin biokimyəvi xüsusiyyətləri öyrənilmişdir. Məlum olmuşdur ki, enzim pH 8.0- 9.0 və temperatur 40-50 °C göstəricilərində yüksək aktivliyə malik olur. Enzimin termostabiliyi öyrənilmiş və göstərilmişdir ki, 40 °C temperaturda 2 saat müddətində enzim aktivliyinin 80%-ni saxlaya bilir.

Enzimin aktivliyini ingibirləşdirmək üçün 196 maddə testdən keçirilmiş və yalnız Mn (III) və Zn (II) metal kompleksləri enzimi ingibirləşdirməyə qabil olmuşlar. Metal komplekslər vasitəsilə qlutamat rasemaza enziminin ingibirləşməsi rəqabətsiz mexanizmlə getdiyi aydınlaşdırılmışdır. *Burkholderia cenocepaciae* J2315 bakteriyasının qlutamat rasemaza enzimi monomerik formaya malikdir. Lakin, Mn (III) və Zn (II) metal kompleksləri enzimin oliqomerik vəziyyətini modullaşdıraraq onun dimer formasının yaranmasına səbəb olur.

**İşin praktiki əhəmiyyəti.** Yüksək antimikrob aktivliyə malik olan tris- (2,4 bis (trixlorometil) -1,3,5-triazapentadienat) – Mn (III) kompleksi antimikrob vasitə kimi patogen və çürüntü törədən bakteriyalarla mübarizədə tətbiq oluna bilər (Patent İ20150065).

Zn (II) və Mn (III) metal kompleksləri qlutamat rasemaza:substrat kompleksinin oliqomerik vəziyyətini modullaşdırmaq üsulu ilə, bakterial infeksiyaların müalicəsində yaranan çətinlikləri aradan götürmək olar.

**Dissertasiyanın aprobasiyası.** Dissertasiya mövzusu üzrə alınan nəticələr aşağıdakı Respublika və Beynəlxalq elmi konfranslarda məruzə edilmişdir: “Müasir Biologiyanın İnnovasiya problemləri” mövzusunda IV beynəlxalq elmi konfransın materialları (Bakı, 2014); “Eksperimental biologiyanın inkişaf prespektivləri” mövzusunda Respublika Elmi konfransının materialları (Bakı, 2014); European biotechnology congress, (Bucharest, 2015); Materials of the 5th international scientific conference on “Innovation Problems of Modern Biology” for young scientists (Baku, 2015).

**İşin nəticələrinin dərci.** Dissertasiya materialları üzrə əsas nəticələr 10 elmi əsərdə (5 məqalə, 4 tezis və 1 patentdə ) öz əksini tapmışdır.

**Dissertasiyanın strukturu və həcmi.** Dissertasiya işi girişdən, ədəbiyyat icmalından (I fəsil), material və metodlardan (II fəsil), eksperimental nəticələrin şərhindən (III, IV və V fəsillər), əsas nəticələrdən və ədəbiyyat siyahısından ibarətdir. Dissertasiya cədvəllər (15) və şəkillər (24), eləcə də ədəbiyyat siyahısı (232 adda) daxil olmaqla 158 səhifədən ibarətdir.

### Müdafiyə təqdim olunan əsas müddəalar:

1. Mn (III) və Zn (II) -1,3,5 –triazapentadienat digər metal komplekslərdən fərqli olaraq şərti patogen bakteriyalara qarşı yüksək antimikrob təsir göstərən maddələrdir.
2. *Acinetobacter baumannii* BDU32 bakteriyası tədqiq edilən kimyəvi maddələrin hamısına (23 maddə) qarşı yüksək həssaslıq göstərən bakteriyadır.
3. *Burkholderia cenocepacia* J2315 bakteriyasının qlutamat rasemaza enziminin substratı onun oliqomerik vəziyyətinə heç bir təsir göstərmir.
4. Mn (III) və Zn (II) metal kompleksləri qlutamat rasemaza enziminin aktiv ingibitorlarıdır.

### MATERIAL VƏ METODLAR

Bakteriya kulturalarının becərilməsi və maddələrin antimikrob təsirinin öyrənilməsi üçün uyğun olaraq “Luria Bertani” və “Müller Hinton” qidalı mühitlərindən istifadə edilmişdir. Bakterial kulturalar 37 °C temperaturda 24 saat ərzində inkubasiya edilmişdir. Lakin, *Burkholderia cenocepacia* J2315 ştammi 72 saat ərzində inkubasiya olunmuşdur.

Bakı Dövlət Universitetinin üzvi kimya kafedrasında sintez olunan müxtəlif törəməli (metal komplekslər, bishidrazonlar, aren və benzofuran) kimyəvi birləşmələrin qram müsbət (*Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *S.aureus* BDU23,) və qram mənfi (*Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* BDU12, *P.seudomonas aeruginosa* PA01, *P.aeruginosa* BDU49, *Acinetobacter baumannii* BDU32, *Klebsiella pneumoniae* k-528, *K.pneumoniae* BDU44 və *Burkholderia cenocepacia* K56-2) bakteriyalarına qarşı antimikrob təsiri iki əsas metodla öyrənilmişdir: agarlı mühitdə oyuq açma və iki dəfə durulaşdırma və ya 96 oyuqlu mikrotaytr metodu [Tirkey V. et al., 2013; Martin A. et al., 2006].

*Burkholderia cenocepacia* J2315 bakteriyasından qlutamat rasemaza enzimini almaq üçün, bu enzimin sintezinə nəzarət edən *BCAL 2289* geni, gen mühəndisliyi metodları ilə *E.coli* kompotent hüceyrələrinə transformasiya edilmiş (klonlaşdırılmış) və onun ekspresiyasına nail olunmuşdur. Qlutamat rasemaza enzimi *Escherichia coli* BL21 bakteriyasından ayrılmış, təmizlənmiş və onun xassələri tədqiq edilmişdir [Sambrook J. et al, 2001].

Rekombinant enzimin ekspresiyası kanamisin antibiotiki (50 µg/ml) əlavə edilmiş “Luria-Bertani” agarlı qidalı mühitində becərilmiş *E. coli* BL21 bakteriyasında aparılmışdır. Enzimin bakteriya hüceyrələrində sintezi 0.5 mM isopropil β-D-1-tiogalaktopiranosid (IPTG) ilə induksiya olunmuşdur. Enzimin təmizlənməsi 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 100 mM

NaCl, 2 mM ditiotreitoldan ibarət bufer ilə balanslaşdırılmış nikel nitriltrioasetat (Ni-NTA, Qiagen) əlavə edilmiş kolonkada aparılmışdır. Təmizlənmiş enzimdən 6-histidini kənarlaşdırmaq üçün presiön enzimindən istifadə edildi. Histidin qlutamat rasemazadan kənarlaşdırıldıqdan sonra ikinci dəfə yuxarıda qeyd olunan qayda ilə təmizlənməmişdir.

Qlutamat rasemazanın (*BcGR*) enzimatik aktivliyi D- qlutamatdan substrat olaraq istifadə etməklə, L-qlutamat dehidrogenaza (Sigma Aldrich) və diaforazanın (Sigma Aldrich) iştirakı ilə spektrofotometrik üsul ilə müəyyən edilmişdir [Bohmer N. et al, 2013].

Qlutamat rasemazanın aktivliyini ingibirləşdirmək üçün 195 müxtəlif təbiətli kimyəvi maddələrin (pirazolprimidindion, piridodiazepin, 8-benzil pteridin-6,7- dion, dipikolin turşusu, 1-H-benzimidazole-2-sulfon turşusu, 2,6- piridindikarboksilat turşusu və 4-hidroksibenzen-1,3- disulfonat və s.) təsiri yoxlanılmışdır. Enzimin aktivliyini əhəmiyyətli dərəcədə ingibirləşdirən birləşmələr üçün  $IC_{50}$  (birləşmənin maksimal ingibirləşdirici qatılığının yarısı)təyin edilmiş və aşağıdakı tənliyə uyğun hesablanmışdır:

$$A_{[I]} = A_{[0]} \times (1 - [I] / ([I] + IC_{50}))$$

[I] – ingibitor;  $A_{[I]}$  – enzimin ingibitorun iştirakı ilə olan aktivliyi;  $A_{[0]}$  – enzimin ingibitorsuz göstərdiyi aktivlik.

Maddənin enzimi ingibirləşdirən qatılığını müəyyən etmək üçün, qlutamat rasemazanın kinetik parametrləri həmin kimyəvi maddənin dəyişən qatılıqlarında ( $5 \pm 100 \mu\text{M}$ ) öyrənilmişdir.

Zn (II) və Mn (III) 1,3,5 – triazapentadienat komplekslərinin *BcGR* enziminin oliqomerik vəziyyətinə təsiri substratların (D,L- qlutamat) iştirakı ilə gel filtrasiya xromotoqrafiyası, mavi nativ gel elektroforezi və kimyəvi çarpaz bağlanma (cross-linking) metodları ilə müəyyən edilmişdir.

Metal komplekslərdə olan sərbəst ionların ( $Zn^{2+}$  və  $Mn^{3+}$ ) təsirinin qarşısını almaq üçün nümunələrə etilendiamintetra sirkəturşusu (EDTA 10 mM) əlavə olunmuşdur. Kimyəvi çarpaz bağlanmanın (cross linking) spesifik olmayan təsirlərinin mümkünlüyünü yoxlamaq üçün lizozim və albumin kontrol kimi götürülmüşdür.

Metal komplekslərin zülalın oliqomerik vəziyyətinə təsir mexanizmi HPLC (yüksək performanslı maye xromotoqrafiyası) və FPLC (sürətli zülal maye xromotoqrafiyası) sistemlərində analiz edilmiş və fraksiyalar toplanmışdır. Tərkibində zülal olan fraksiyalar kimyəvi çarpaz bağlanma və mavi nativ gel elektroforezi (SDS-PAGE (10%)) metodları ilə analiz edilmişdir [Kluger et al., 2004; Sambrook J. et al, 2001].

Bütün təcrübələr 4 təkrarda aparılmış və statistik işlənmişdir [Плохинский, 1998].

## İŞİN ƏSAS MƏZMUNU

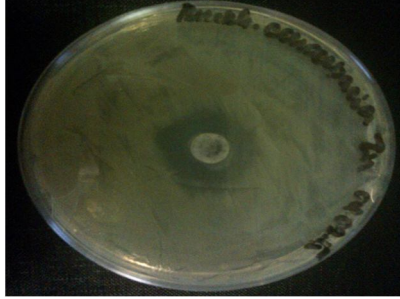
### 1.Yeni sintez olunmuş kimyəvi maddələrin şərti patogen bakteriyalara qarşı antimikrob aktivliyi

Bakı Dövlət Universitetinin üzvi kimya kafedrasında, sintez olunmuş və fiziki – kimyəvi xassələri tədqiq edilmiş 23 kimyəvi birləşmənin 6 müxtəlif patogen və şərti patogen bakteriyalara (*A. baumannii* BDU32, *B. cenocepacia* K56-2, *E. coli* BDU12, *E. coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* BDU44, *K. pneumoniae* k-528, *P. aeruginosa* BDU49, *P. aeruginosa* PA01, *S.aureus* BDU23 və *S. aureus* ATCC 25923) qarşı antimikrob xüsusiyyətləri öyrənilmişdir. Antimikrob xassəsi öyrənilən maddələrə bis-2,4-(bis-trixlormetil)-1,3,5-triazapentadienat [Ni (II), Cu (II), Zn (II), Pd(II)] və tris-2,4-(bis-trixlormetil)-1,3,5-triazapentadienat [Mn (III)] metal komplekslər; katalitik afeinləşmə reaksiyası əsasında sintez olunan 1,1 -diasetilferrosen (ferrosen); izatin monohidrazonu əsasında sintez edilən 2-(hidroksibenzaldehyd)-3-izatin-bishidrazon (3N5), perflüor-(1,4-fenilen) bis (metanililiden) bis (hidrazin-2,1diliden) bis (indolin-2) (3N6), 2-asetilferrosen-3-izatin-bishidrazon (3N7), 2-karbaldehydfuran-3-izatin-bishidrazon (3N11) və izatin monohidrazonu (3N1); karbamid törməli birləşmələrə aid olan benzilkarbamid, nonil karbamid, 1-naftiltiokarbamid, dimetilamin tiokarbamid, üçlübutil karbamid, 1-naftil karbamid, propil-tiokarbamid, 2' metiltiokarbamid benzitiazol; aren törəməli 3-metoksi-propenil-benzol,1-(3-metoksi-1-fenil-propil) morfolin və 1-(3-metoksi-1-fenil-propil) piperidin; və 3-(2-fenilhidrazon) benzofuran -2(3H) olmuşdur [Şixaliyev və b., 2015; Shixaliyev et al., 2013; Shixaliyev et al., 2014].

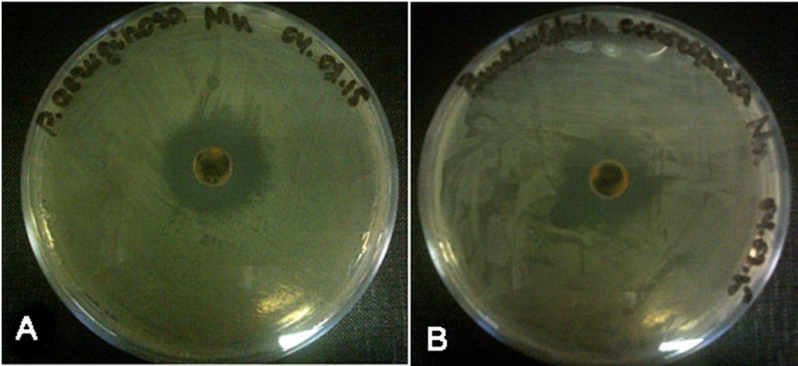
1,3,5-Triazapentadienat törəməli metal komplekslərdən Zn (II) və Mn (III) tərkibli birləşmələrin test kulturalara qarşı aktivliyi, digər metal komplekslərlə müqayisədə yüksək olduğu məlum olmuşdur (şək.1 və şək.2). Metal komplekslərin antimikrob xüsusiyyəti bakteriyaların növündən asılı olaraq fərqli olmuşdur. Belə ki, Ni (II) kompleksinin *A.baumannii* BDU32, *K. pneumoniae* BDU44, *K.pneumoniae* k-528 və *B.cenocepacia* K56-2 bakteriyalarına qarşı, Cu (II) metal kompleksinin *A.baumannii* BDU32, *P.aeruginosa* BDU49 və *P.aeruginosa* PA01 ştamlarına qarşı, Zn (II) metal kompleksinin isə *A.baumannii* BDU32, *S.aureus* BDU23 və *S.aureus* ATCC 25923 test kulturalarına qarşı, Pd (II) kompleksi isə yalnız *A.baumannii* BDU32 bakteriyasına qarşı yüksək antimikrob aktivlik nümayiş etdirmişdir. Tris -2,4-(bis-trixlormetil)-1,3,5-triazapentadienat Mn (III) metal kompleksi bütün test kulturalara qarşı aktivliyi yüksək olmuşdur. Lakin, metal kompleks *A. baumannii* BDU32 bakteriyasına qarşı olan aktivliyi digər bakteriya kulturalarına qarşı olan



aktivliyindən 1.2 – 1.6 dəfə çox olmuşdur. Metal komplekslərin bakteriyaların inkişafını ingibirləşdirmək üçün lazım olan minimum qatılığı 500 µg/ml və ya 1000µg/ml olmuşdur. Lakin, Zn (II) metal kompleksinin *A.baumannii* BDU32, *S. aureus* bakteriya ştamlarına təsir edən minimum qatılığı 250 µg/ml olmuşdur.



**Şək.1.** Bis-2,4-(bis-trixlormetil)-1,3,5-triazapentadienat [Zn (II)] metal kompleksinin 0.2%-li qatılığında *Burkholderia cenocepacia* K56-2 bakteriyasına qarşı antimikrob təsiri



**Şək.2.** Tris-2,4-(bis-trixlormetil)-1,3,5-triazapentadienat [Mn (III)] metal kompleksinin 0.2%-li qatılığında *Pseudomonas aeruginosa* BDU49 (A) və *Burkholderia cenocepacia* K56-2 (B) bakteriyalarına qarşı antimikrob təsiri

1,1'-diasetilferrosen birləşməsinin hər üç qatılıqda maksimum antimikrob aktivliyi *A. baumannii* BDU32 və *P. aeruginosa* BDU49 kulturlarında müşahidə edilmişdir. *S. aureus* BDU23 və *S.aureus* ATCC 25923 bakteriya ştamlarının inkişafını tormozlamaq üçün ferrosen birləşməsinin

lazım olan minimum qatılıq göstəricisi 250 µg/ml olmuşdur.

İzatin monohidrazonu əsasında sintez edilən bishidrazonlardan 3N1 və 3N11 hidrazonlarında *S. aureus* BDU23 və *S.aureus* ATCC 25923 ştamlarına qarşı zəif aktivlik qeyd alınmışdır. 3N7 maddəsinin 0.1%-li qatılığında isə qeyd olunan bakteriya ştamlarına qarşı heç bir antibakterial aktivlik müşahidə edilməmişdir. Lakin, *A. baumannii* BDU32, *B. cenocepaciae* K56-2 kulturalarına qarşı 3N5, *E. coli* BDU23, *E.coli* ATCC 25922 bakteriya ştamlarına qarşı 3N11, *K. penumoniae* BDU44 və *K.pneumoniae* k-528 test kulturalarına 3N5 və 3N11, *P. aeruginosa* BDU49, *P.aeruginosa* PA01, *S. aureus* BDU23 və *S.aureus* ATCC 25923 test kulturalarına qarşı isə müvafiq olaraq 3N1 və 3N6 bishidrazonlarında yüksək aktivlik müşahidə olunmuşdur. 3N5 birləşməsi minimum 250 µg/ml qatılıqda, *A.baumannii* BDU32, *K.penumoniae* BDU44 və *K.pneumoniae* k-528 bakteriyalarının inkişafını tormozladığı halda, 3N6 hidrazonu qeyd olunan qatılıqda yalnız *A.baumannii* BDU32 kulturasının inkişafına təsir göstərə bilmişdir. Digər bishidrazonlarda isə minimum qatılıq 500 µg/ml və ya 1000 µg/ml olduqda test kulturalara qarşı antibakterial təsir qeyd alınmışdır.

Karbamid törəməli birləşmələrin test kulturaların inkişafını ingibirləşdirən minimum qatılığının təyini nəticəsində, bu birləşmələrin zəif antimikrob xüsusiyyətə malik olduqları məlum olmuşdur. Belə ki, test kulturalardan yalnız *P.aeruginosa* bakteriya ştamlarında karabid törəməli birləşmələrin hamısına qarşı müəyyən həssaslıq müşahidə edilmişdir. 1-naftil karbamid maddəsi *E. coli* BDU23 və *E.coli* ATCC 25922, 2' metiltiokarbamid benzitiazol maddəsi isə *P. aeruginosa* bakteriya ştamlarına qarşı minimum 250 µg/ml qatılıqda antimikrob təsir göstərmişdir. *B. cenocepacia* K56-2 kulturası üçün 1-naftil karbamid, propiltiokarbamid və 2' metiltiokarbamid benzitiazol maddələrinin minimum ingibirləşdirici qatılığı 250 µg/ml olmuşdur. Digər bakteriya ştamlarına qarşı isə karbamid törəməli birləşmələr təsir göstərməmiş yaxud minimum 500 və ya 1000 µg/ml qatılıqda test kulturaların inkişafına tormozlayıcı təsir göstərmişlər.

Propenil – benzol maddəsinin əsasında sintez edilən aren törəmələrinin antimikrob xüsusiyyətləri öyrənilmişdir. 3-metoksi-propenil-benzol, 1-(3-metoksi-1-fenil-propil) morfolin və 1-(3-metoksi-1-fenil-propil) piperidin birləşmələrinin yüksək antimikrob aktivliyi, *A.baumannii* BDU32 və *P.aeruginosa* BDU49 bakteriyalarına qarşı olduğu halda, zəif aktivliyi isə *S.aureus* BDU23 bakteriyasına qarşı olmuşdur. Aren törəmələrin *A.baumannii* BDU32 və *P.aeruginosa* BDU49 test kulturalarına qarşı olan antimikrob təsiri *S. aureus* BDU23 kulturasına olan təsirdən 1.05

– 1.8 dəfə çox olmuşdur.

Fenilhidrazon-benzofuran maddəsi 0.1%-li qatılıqda test kulturalara qarşı aktivliyi zəif, 0.2% və 0.5%-li qatılıqlarda nisbətən yaxşı olmuşdur. Benzofuran törəməli bu maddənin maksimum aktivliyi *A. baumannii* BDU32 və *S. aureus* BDU23 bakteriyalarına qarşı olduğu halda, minimum aktivliyi *P. aeruginosa* BDU49 kulturasına qarşı olmuşdur.

## **2. *Burkholderia cenocepacia* J2315 ştamında qlutamat rasemaza enzimini kodlaşdıran genin *E. coli* bakteriyasında klonlaşdırılması**

*B.cenocepacia* J2315 bakteriyasının həyat fəaliyyətində önəmli rol oynayan enzimlərdən biri də qlutamat rasemaza enzimidir ki, bu enzim hüceyrə divarının formalaşmasında iştirak edir. Bu enzimin aktivliyini ingibirləşdirməklə bakteriyani inkişafdən saxlamaq olar [Ciofu et al., 2013; Conti et al., 2011]. Bu səbəbdən *B.cenocepacia* J2315 bakteriyasında qlutamat rasemaza enzimini (BcGR) kodlaşdıran *BCAL2289* geni *E.coli* (Stellar™) bakteriyasına köçürülmüş və klonlaşdırılmışdır. Bunun üçün aşağıdakı praymerlərdən istifadə edilərək gen, polimeraz zəncir reaksiyası (PZR) ilə amplifikasiya edilmişdir:

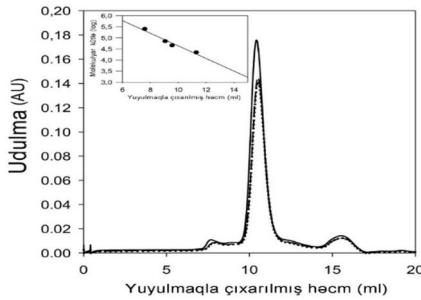
2289\_for(5' ATGGGTCGCGGATCCCTGGAAGTTCTGTTCCAG GGGCCCATGACGAACCCGTCGAC—3')

2289\_rev(5'-CTCGAATTC GGATCCTCAGGCGGTCGCGCAGGC - 3').

Əldə olunmuş PZR məhsulu xüsusi kommersial məhsullarla (kitlərlə) (“NucleoSpin”) təmizlənmişdir. Təmizlənmiş PZR məhsulu restrikt (*Hind*III və *Eco*RI) enzimləri ilə artıq kəsilmiş pET-28a (+) daxil edilmiş və pET28a\_*BcGR* rekombinant vektor molekulu əldə olunmuşdur. Rekombinant vektor molekulu *E. coli* (Stellar™) kompotent hüceyrələrinə (genetik transformasiyaya qabil) transformasiya olunmuş və *BCAL2289* genini daşıyan yeni klonlar əldə edilmişdir. pET28a\_*BcGR* vektorunun uğurla transformasiya olunduğu klonu tapmaq üçün ilk olaraq, koloniya PZR metodundan istifadə edilərək, lazım olan fraqmentin yerləşdiyi klon aşkar edilmişdir. Daha sonra həmin klon çoxaldılmış və onun plazmidini xüsusi kitle (“QIAGEN”) hüceyrədən ayırmış və nukleotid ardıcılığı oxunaraq, fraqmentin vektora düzgün transformasiya olunduğu yoxlanılmışdır. Rekombinant zülalın ekspresiyası *E.coli* BL21 (DE3) bakteriya hüceyrələrində aparılmış və qlutamat rasemaza enzimi alınmışdır.

Müəyyən edilmişdir ki, qlutamat rasemazanın (*BcGR*) substratları (D – qlutamat və L-qlutamat) onun oliqomerik vəziyyətinə heç bir təsir göstərməmişdir. Belə ki, substrat əlavə olunmuş və əlavə olunmamış

hallarda enzim monomerik formada olmuşdur (şək.3).



**Şək.3.** Qlutamat rasemaza enziminin (*BcGR*) analitik gel filtrasiya xromatoqrafiyası.

“ – “ substrat əlavə olunmadıqda, “---“ substrat əlavə olunduqda.

*In silico* şəraitində qlutamat rasemaza enziminin (*BcGR*) struktur modeli hazırlanmışdır. Belə ki, struktur modelin üzərində aparılan analizlər nəticəsində məlum olmuşdur ki, müsbət və mənfi yüklərin enzimin səthində fərqli şəkildə paylanması onun oliqomerik vəziyyətinə təsir göstərir.

### 3. Qlutamat rasemaza enziminin biokimyəvi xüsusiyyətləri

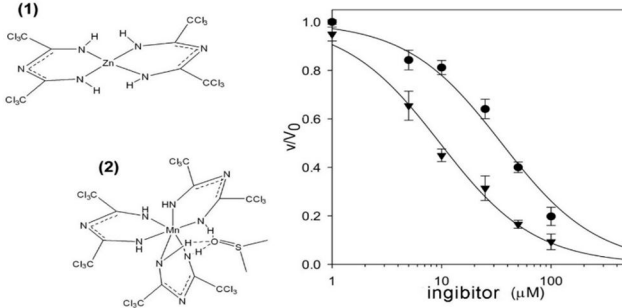
Rekombinant enzimin (qlutamat rasemaza) (*BcGR*) əsas biokimyəvi xüsusiyyətləri, D-qlutamata L-qlutamata çevirə bilmə xüsusiyyətinə görə öyrənilmiş və kinetik parametrləri təyin edilmişdir ( $K_{cat} = 1.5 \pm 0.3 \text{ min}^{-1}$ ,  $K_m = 13.89 \pm 0.61 \text{ mM}$ ). Enzim optimal aktivliyə pH 8.0 və 37 °C temperaturda malik olmuşdur. Qlutamat rasemaza 40 °C temepartura qədər aktivlik göstəridiyi halda, çox yüksək temperaturda öz aktivliyini itirdiyi qeydə alınmışdır. Mühitin turşuluğundan (pH) asılı olaraq qlutamat rasemaza enziminin aktivliyinin öyrənilməsi nəticəsində məlum olmuşdur ki, pH yüksək olduqda qlutamat rasemaza (*BcGR*) öz aktivliyini itirmir. Enzim pH 8.0 və 9.0 olduqda maksimum aktivlik göstərir. Qlutamat rasemazanın termal və pH sabilliyi də tədqiq edilmişdir. Məlum olmuşdur ki, enzimin sabilliyi, pH 6.0 dan aşağı olduqda və ya 9.5 dən yuxarı olduqda çox sürətlə aşağı düşür. Enzimin termal sabitliyi pH 8.0 olan buferdə tədqiq edilmişdir. Belə ki, qlutamat rasemaza enzimi (*BcGR*) 40 °C temperaturla qədər 2 saat inkubasiya olunduqdan sonra belə öz aktivliyini saxlamışdır.

*Burkholderia cenocepacia* J2315 ştamından təmiz şəkildə ayrılmış qlutamat rasemazanın (*BcGR*) aktivliyini ingibirləşdirmək üçün müxtəlif təbiətlə 195 kimyəvi birləşmələrdən istifadə olunmuşdur. Müəyyən edilmişdir ki, dipikolin turşusu qlutamat rasemazanın zəif də olsa ingibir-

ləşdirir. Lakin, qlutamat rasemazanın aktiv mərkəzinin 149-cu mövqeyində valin amin turşusu qalığı olduqda yuxarıda adları qeyd olunan maddələr enzimə heç bir ingibirləşdirici təsir göstərmir.

Beləliklə, qlutamat rasemazanın (*BcGR*) aktiv mərkəzinin 157-ci mövqeyində valin amin turşusu qalığı yerləşdiyindən, 1 H-benzimidazol-2-sulfon, 4 – hidroksibenzen -1,3-disulfon və (2*R*)-2-amin-4-benzilpentandion kimyəvi birləşmələrinin enzimin aktivliyinə heç bir ingibirləşdirici təsir göstərməmişlər.

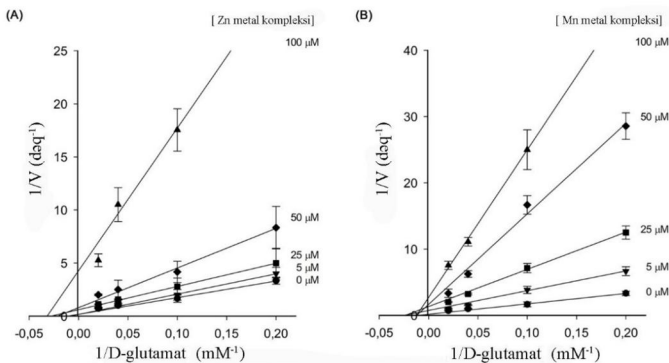
Bütün kimyəvi maddələr 100 µM qatılıqda yoxlanılmış, onlar arasından yalnız Zn (II) və Mn(III) 1,3,5-triazapentadienat metal komplekslərinin demək olar ki, bütünlüklə qlutamat rasemazanı (*BcGR*) ingibirləşdirdikləri sübut olunmuşdur. Zn (II) və Mn (III) kompleksləri üçün IC<sub>50</sub> göstəriciləri uyğun olaraq, 35.3 ± 4.0 µM, və 10.0 ± 0.8 µM olmuşdur (şək.4.).



**Şək.4.** Qlutamat rasemazanın aktivliyinin Zn (II) və Mn (III) metal kompleksləri tərəfindən ingibirləşməsi. Bis(2,4-bis(trixlorometil)-1,3,5-triazapentadienat)-sink (II) (●), və tris(2,4 bis(trixlorometil)-1,3,5-triazapentadienat)-Mn(III) (▼). Təcrübələr zamanı substrat kimi D-qlutamat (20 mM) istifadə edilmişdir

Aparılan təcrübələr nəticəsində, maddələr tərəfindən enzimin aktivliyi, rəqabətsiz ingibirləşmə tipi ilə tənzimləndiyi məlum olmuşdur (şək.5).

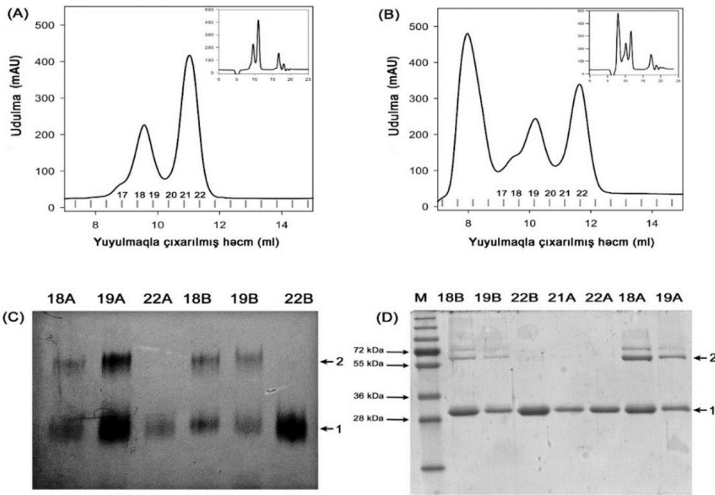
Hər iki kimyəvi birləşmənin mərkəzi metal ionlardan ibarət olduğundan, sərbəst ionların enzimatik aktivliyə təsirini kənarlaşdırmaq üçün etilendiamintetra sirkə turşusundan (EDTA) istifadə olunmuşdur. Belə ki, enzimin aktivliyi ingibitorun qatılığından 100 dəfə çox olan EDTA-nın iştirakı ilə müəyyən olunmuşdur. EDTA-nın iştirakı ilə gedən ingibirləşmə reaksiyalarında IC<sub>50</sub> göstəriciləri yalnız 2 dəfə artmışdır. Bu nəticələrə əsasən enzimin ingibirləşməsi kimyəvi birləşmələrin sərbəst ionlardan daha çox ligandlarla əlaqəli olduğu sübut olunmuşdur.



**Şək.5.** Metal komplekslərin müxtəlif qatılıqlarında qlutamat rasemazanın (*BcGR*) kinetik analizi. (A) Zn (II) metal kompleksi; (B) Mn (III) metal kompleksi. Enziminin aktivliyi D-qlutamatın (5-50 mM) dörd, metal komplekslərin (0-100  $\mu\text{M}$ ) isə beş müxtəlif qatılıqlarında təyin edilmişdir.

Bundan əlavə, qlutamat rasemazanın (*BcGR*) aktivliyinə müxtəlif divalent ionların ( $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  və  $\text{Zn}^{2+}$ ) təsirini öyrənmək üçün xlorid duzlarından istifadə olunmuşdur.

Müəyyən edilmişdir ki,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  ionları qlutamat rasemazanın aktivliyinə təsir göstərmişdir və bütün hallarda EDTA –nın əlavə olunması ilə enzimin ingibirləşməsi tamamilə aradan qalxmışdır. Həmçinin test edilən digər metal ionları da enzimin aktivliyinə heç bir təsir göstərməmişlər. Qlutamat rasemazanın (*BcGR*) metal kompleksləri tərəfindən ingibirləşmə mexanizmini aydınlaşdırmaq üçün, Zn (II) və Mn (III) metal komplekslərinin iştirakı ilə enzimin oliqomerik vəziyyəti xromotoqrafiya (gel filtrasiyası) metodu ilə öyrənilmişdir. Metal komplekslər müxtəlif qatılıqlarda qlutamat rasemaza enzimindən və substratdan ibarət olan qarışığa əlavə olunaraq inkubasiya olunmuşdur. Hazırlanmış nümunələri gel filtrasiya metodu ilə analiz etdikdə, xromotoqrammada molekulyar çəkisi təxminən 70 kDa bərabər olan əlavə pik əmələ gəlmişdir. Beləliklə, xromotoqrammada qeydə alınan əlavə pik metal komplekslərin substratın iştirakı ilə enzimin dimerləşməsini göstərir (şək.6A və 6B). FPLC (sürətli zülal maye xromotoqrafiyası) sistemində toplanmış fraksiyalar mavi nativ gel elektroforezi və kimyəvi çarpaz bağlanma (cross linking) metodları ilə yoxlanılmışdır (şək.6C və 6D).



**Şək.6.** Metal komplekslərin qlutamate rasemazanın (*BcGR*) oliqomerik vəziyyətinə təsiri. (A) Zn metal kompleksi; (B) Mn metal kompleksi; (C) gel filtrasiyasından yaranan piklərə uyğun fraksiyaların mavi nativ gel elektroforezində və (D) kimyəvi çarpaz bağlanma ilə analizi. 1- enzimin monomer; 2- enzimin dimer formada olduğunu göstərir

Xromotoqrammada formalaşan və molekulyar çəkisi 70 kDa bərabər olan pik enzimin dimerik formasının mövcudluğunu bildirdiyi halda, enzimin monomerik forması molekulyar çəkisi 30 kDa bərabər olan pik ilə müəyyən olunmuşdur. Müşahidə olunan dimerləşmənin yalnız *BcGR* üçün spesifik olduğunu müəyyən etmək məqsədilə heç bir əlaqəsi olmayan iki, lizosim və albumin (BSA) enzimləri kontrol kimi istifadə edilmişdir. Bütün hallarda, hər iki enzim monomerik formada olmuşdur. Bununla da, metal komplekslərin qeyri-spesifik çarpaz əlaqə xüsusiyyəti istina edilmişdir. Beləliklə, 1,3,5- triazapentadienat Zn (II) və Mn (III) metal kompleksləri qlutamat rasemaza enziminin aktivliyini, onun oliqomerik vəziyyətini dəyişdirməklə ingibirləşdirildiyi sübut olundu.

Yeni identifikasiya olunmuş metal tərkibli birləşmələrin enzim: substrat kompleksinin oliqomerik vəziyyətini modifikasiya etmək üsulu, bakterial infeksiyaların müalicəsində yaranan çətinliklərin aradan götürülməsində istifadə oluna bilər.

## ƏSAS NƏTİCƏLƏR

1. Kimyəvi yolla sintez edilmiş 23 üzvi maddənin (metal komplekslər, bishidrazonlar, karbamid, aren və benzofuran törəmələri) 10 şərti patogen bakteriya ştamlarına qarşı antimikrob xüsusiyyətlərinin öyrənilməsi sayəsində Mn (III) və Zn (II) 1,3,5-triazapentadienat metal komplekslərinin qram müsbət və qram mənfi bakteriyalara qarşı yüksək aktivliyə malik olması göstərilmiş, Mn (III) kompleksi yeni antimikrob vasitə kimi seçilmişdir ( Patent İ20150065).
2. Tədqiq edilən maddələrin antimikrob aktivliyində müəyyən seçicilik müşahidə edilmişdir. *A. baumannii* BDU32 bakteriyası Cu, Zn və Mn komplekslərinə, 3N5 və 1,1'-diasetilferrosen bishidrazonlarına, propenil benzol birləşməsinə qarşı, *B. cenocepacia* K56-2 kulturası Ni, Zn və Mn komplekslərinə, 3N5 bishidrazonlarına qarşı, *E. coli* BDU12 və *E.coli* ATCC 25922 bakteriya ştamları Zn, Mn və 3N11 hidrazonuna qarşı, *K. pneumoniae* BDU44 və *K.pneumoniae* k-528 ştamları Ni, Mn və Zn komplekslərinə, 3N5 və 3N11 bishidrazonlarına, *P.aeruginosa* BDU49 və *P.aeruginosa* PA01 ştamları Zn kompleksinə, 3N1 və 1,1'-diasetilferrosen bishidrazonlarına qarşı, *S. aureus* BDU23 və *S.aureus* ATCC 25923 bakteriyaları isə Zn, Mn komplekslərinə və fenilhidrazon-benzofuran birləşməsinə qarşı yüksək həssaslıq göstərmişlər.
3. *Acinetobacter baumannii* BDU32 şərti patogen bakteriyası digər bakteriyalardan fərqli olaraq, tədqiq edilən bütün (23) kimyəvi maddələrə qarşı yüksək həssaslıq nümayiş etdirmişdir.
4. Təmiz şəkildə alınmış qlutamat rasemaza enziminin aktivliyinin optimal parametrləri tapılmış və müəyyən edilmişdir ki, onun yüksək aktivliyi pH 8.0 və 9.0, temperatur 40 – 50 °C göstəricilərdə özünü göstərir. Enzimin termostabiliyi 40 °C temperaturda 2 saat ərzində 80% olmuşdur.
5. Qlutamat rasemaza (*BcGR*) enzimini inqibirləşdirmək üçün müxtəlif kimyəvi siniflərə aid olan 195 maddə yoxlanılmış, onlardan tris(2,4-bis(trixlormetil)-1,3,5-triazapentadienat)-Mn(III) və bis (2,4-bis(trixlormetil)-1,3,5-triazapentadienat)- Zn (II) kompleksləri inqibirləşdirici təsirə malik olduğu göstərilmişdir.
6. Mn (III) və Zn (II) metal komplekslərinin enzimin aktivliyini rəqabətsiz inqibirləşmə tipi ilə tənzimlədiyi müəyyən edilmiş və həmin komplekslər üçün IC<sub>50</sub> göstəricisi müvafiq olaraq, 10.0 ± 0.8 µM və 35.3 ± 4.0 µM olmuşdur.
7. Müəyyən edilmişdir ki, Mn (III) və Zn (II) metal kompleksli birləşmələr qlutamat rasemaza enziminin aktiv olmayan dimer formasını əmələ gətirməklə onun aktivliyini inqibirləşdirir.



## Dissertasiya işinə aid dərc olunmuş əsərlərin SİYAHISI

1. İsrayılova A.Ə. Yeni antimikrob xassəli maddələr. “Müasir Biologiyanın İnnovasiya problemləri” mövzusunda IV beynəlxalq elmi konfransının materialları. Bakı, 2014, s.197-198.
2. İsrayılova A.Ə., Yusifli A.M., Şıxəliyev N.Q., Qənbərov X.Q., Məhərrəmov A.M. *Pseudomonas aeruginosa* T3 bakteriyasının inkişafına 1,3,5- triazopentadien komplekslərinin təsiri. “Eksperimental biologiyanın inkişaf perspektivləri” mövzusunda Respublika Elmi konfransının materialları, Bakı, 2014,s.226 -227.
3. İsrayılova A., Ganbarov Kh., Shikhaliyev N., Maharramov A. Antimicrobial activity of halogen bonded bis-(2,4-bis (trichloromethyl) -1,3,5-triazapentadienato)- Me (II) [Ni,Cu] complexes. (European biotechnology congress Bucharest) Journal of Biotechnology, 2015, v.208, p.S27.
4. Ganbarov Kh.G., İsrayılova A.A. Metal nanoparticles and ligand complexes as new antimicrobial agents. Transaction of the Institute of Microbiology of Azerbaijan National Academy of Sciences. Bakı, 2015, v.13, №1, p.29-37
5. İsrayılova A.A. Glutamate racemase from *Burkholderia cepacia*. Materials of the 5th international scientific conference on “Innovation Problems of Modern Biology” for young scientists. Bakı, 2015, p.96-97.
6. İsrayılova A., Buroni S., Forneris F., Scoffone, V. C., Shıxaliyev N.Q., Riccardi G., and Chiarelli L.R. Biochemical Characterization of Glutamate Racemase, a new candidate drug target against *Burkholderia cenocepacia* infections. PLoS One, 2016, 11.
7. Məhərrəmov A.M., Qənbərov X.Q., Şıxəliyev N.Q., İsrayılova A.Ə., S.C.Heydərova, 1,1’Diasetil ferrosen bis –hidrazonun bakteriya və göbələklərə qarşı antimikrob aktivliyi. Bakı Universiteti Xəbərləri, Təbiət elmləri seriyası . 2016, №1, s.50-55.
8. Məhərrəmov A.M., Qənbərov X.Q., Şıxəliyev N.Q., İsrayılova A.Ə. Tris – (2,4-bis (trixlormetil))-1,3,5-triazapentadienato Mn(III) kompleksi yüksək antimikrob vasitə kimi. Patent (ixtira), 2016, №20150065.
9. Maharramov A.M., İsrayılova A.A., Allahverdiyev M, Agayeva N.A, Yılmaz F.O.,Huseynova F.M., Ganbarov Kh.G Antimicrobial activity of carbamide derivatives against gram-positive and gram –negative

bacteria. Микробные Биотехнологии: Фундаментальные и прикладные аспекты, Минск, Беларусь, 2017, т.9, с.86-92.

10. Israyilova A.A., Mukhtarova S., Asgerova U., Shikhaliyev N.Q, Ganbarov Kh.G., Maharramov A.M. Antibacterial Screening of the Synthesized (Z) -3- (2-phenylhydrazono) benzofuran-2 (3H) against Gram positive and Gram negative bacteria. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 2017, v.6, p.21191 – 21195.

## ИСРАИЛОВА АЙГЮН АЛИМАРДАН

### ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

#### *Резюме*

Основной целью диссертации был скрининг новых синтезированных органических веществ с высокой антимикробной активностью и поиск новых эффективных соединений для ингибирования фермента глутамат рацемазы (GR, EC 5.1.1.3) из *Burkholderia cenocepacia* J2315 и изучение механизма ингибирования этих соединений.

Антимикробные свойства 23 органических соединений (комплексы металлов, бисгидразоны, карбамид, арены и производные бензофурана) изучались против 10 условно патогенных бактериальных штаммов (*E.coli* BDU12, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* BDU23, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* BDU49, *P.aeruginosa* PA01, *K. pneumoniae* BDU 44, *K. pneumoniae* k-528, *A. baumannii* BDU32, *B.cenopcepacia* K56-2, *B.cenopcepacia* J2315). Установлено, что комплексы металлов Mn (III) и Zn (II) 1,3,5-триазапентадиената, 2 (гидроксибензальдегид) - 3-изатин бисгидразон (3N5) обладают более высокой антимикробной активностью против бактериальных штаммов по сравнению с другими соединениями. Из этих соединений комплекс Mn (III) определяется как новый антимикробный агент. Антимикробное действие соединений было различным в зависимости от вида микроорганизмов.

Глутаматная рацемаза является важным ферментом для биосинтеза стенки бактериальных клеток. Нами показано, что Zn (II) и Mn (III) 1,3,5-триазапентадиената эффективно ингибируют активность глутаматной рацемазы из *Burkholderia cenocepacia* J2315. Используя множество биохимических подходов, показано, что комплексы металлов влияют на активность фермента путем связывания с фермент-субстратным комплексом и способствуют образованию димерной формы фермента.

# ISRAYILOVA AYGUN ALIMARDAN

## THE INVESTIGATION OF NEW ANTIMICROBIAL COMPOUNDS

### *Summary*

The main purpose of the dissertation was to screen new synthesized substances with high antimicrobial activity and find new effective compounds for inhibiting glutamate racemase (GR, EC 5.1.1.3) from *Burkholderia cenocepacia* J2315 and was to study the inhibition mechanism of these compounds.

Antimicrobial properties of 23 synthesized organic compounds (metal complexes, bishidrazones, carbamide, arene and benzofuran derivatives) were studied against 10 bacterial strains (*E.coli* BDU12, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* BDU23, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* BDU49, *P. aeruginosa* PA01, *K. pneumoniae* BDU 44, *K. pneumoniae* k-528, *A. baumannii* BDU32, *B.cenocepacia* K56-2, *B.cenocepacia* J2315) of opportunistic pathogens. It has been established that Mn (III) and Zn (II) 1,3,5-triazapentadienate metal complexes, 2 (hydroxybenzaldehyde) -3-isatin bishidrazone (3N5) has antibacterial activity against bacterial strains and compared to other compounds. From these compounds Mn (III) complex is defined as the new antimicrobial agent. The antimicrobial effect of compounds was different depending on the species of microorganisms.

Glutamate racemase is an essential enzyme for the biosynthesis of the bacterial cell wall. We have shown that Zn (II) and Mn (III) 1,3,5-triazapentadienate effectively inhibit the activity of glutamate racemase from *Burkholderia cenocepacia* J2315. Using multiple biochemical approaches, the metal complexes have been shown to affect the enzyme activity by binding to the enzyme-substrate complex and promoting the formation of an inhibited dimeric form of the enzyme.



**МИНИСТЕРСТВА ОБРАЗОВАНИЯ  
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ  
БАКИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

*На правых рукописи*

**Айгюн Алимардан кызы Исраилова**

**ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ  
СОЕДИНЕНИЙ**

**2414.01 – Микробиология**

**2422.01 – Биотехнология**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**диссертации, представленной на соискание ученой  
степени доктора философии по биологии**

**БАКУ - 2018**