



## AZƏRBAYCAN ELM FONDU

**Azərbaycan Elm Fondunun  
2022-ci il üçün ƏSAS qrant müsabiqəsinin  
(AEF-MCG-2022-1(42)) qalibi olmuş  
layihənin yerinə yetirilməsi üzrə aralıq  
(rüblük olaraq 6-cı mərhələ)**

### ELMİ-TEXNİKİ HESABAT

Layihənin adı: **2D materiallarla modifikasiya edilmiş yeni heterotsiklik əsaslı agentlərin bioloji və in siliko tədqiqatları**

Layihə rəhbərinin soyadı, adı və atasının adı: **Həsənova Ülvyyə Əliməmməd qızı**

Layihənin nömrəsi: **AEF-MCG-2022-1(42)-12/11/4-M-11**

Müqavilənin imzalanma tarixi: **04 aprel 2023-cü il**

Qrant layihəsinin yerinə yetirilmə müddəti: **24 ay**

Layihənin icra müddəti (başlama və bitmə tarixi): **01 may 2023-cü il - 01 may 2025-ci il**

*Layihənin VI mərhələ üzrə (rüb) məbləği:*

Hesabatda aşağıdakı məsələlər işıqlandırılmalıdır:

<b>1</b>	<p>Layihənin həyata keçirilməsi üzrə cari rübdə yerinə yetirilmiş <b>elmi işlər</b></p> <p>Son zamanlar dərmana davamlı patogen mikroorqanizmlərin meydana çıxması və yoluxucu xəstəliklərin sürətlə yayılması, həmçinin şişlərin xərçəng dərmanlarına qarşı müqaviməti mikrob və xərçəng əleyhinə təbiətə malik yeniagentlərin (maddələrin) axtarışını daha da aktuallaşdırır.</p> <p>Bu səbəbdən layihə çərçivəsində sintez olunan 6 müxtəlif dihidropirimidin-xalkon törəmələrinin (1SM, 2SM, 3SM, 4SM, 5SM, 6SM) antibakterial aktivlik xüsusiyyətləri bu mərhələdə təyin olunmuşdur. Sintez olunan birləşmələrin bioloji aktivlik xüsusiyyəti ESKAPE (<i>Enterococcus faecium</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Acinetobacter baumannii</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> və <i>Escherichia coli</i>) qram müsbət və qram mənfi bakteriyalarına qarşı aqarda oyuq açma və iki dəfə durulaşdırma metodu ilə təyin olunmuşdur. Belə ki, ilkin olaraq kimyəvi birləşmələrin 0.05% qatılıqda antibakterial aktivlik xüsusiyyətlərinin skrinqi oyuq açma və ya disk diffuziya metodu ilə öyrənilmişdir. Aktivlik nümayiş etdirən birləşmələr üçün bakteriyaların inkişafını minimum hansı qatılıqda ingibirləşdirdiyi təyin olunmuşdur.</p> <p>Aqarlı mühitdə oyuq açma metodu ilə maddələrin antimikrob təsirini yoxlamaq üçün ilk olaraq, qidalı mühit hazırlanmış və avtoklavda (121°C, 20 dəq.) sterilizasiya olmuşdur. Təxminən 30 ml həcmində «Muller-Hinton» aqarlı qidalı mühiti steril petri qablarına əlavə olunmuş və otaq temperaturunda 24 saat müddətində saxlanılmışdır. Petri qablarının belə şəraitdə saxlanmasının əsas səbəbi təcrübə zamanı baş verəcək çirklənmələrin öncədən qarşısını almaqdır. Bu müddət ərzində antibakterial təsiri</p>
----------	--

öyrəniləcək kimyəvi birləşmələrin müəyyən olunmuş qatılıqları (0.1% və 0.05%) hazırlanmışdır. Kimyəvi maddələrin həll olma xüsusiyyətindən asılı olaraq dimetil sulfooksidə, spirtə və suda lazım olan qatılıqda məhlulları hazırlanmışdır. Test orqanizmlər 2 ml «Muller Hinton» duru qidalı mühitdə 24 saat müddətində inkubasiya olunmuşdur. Təcrübə zamanı 24 saatlıq bakteriya kulturalarının optik sıxlığı 0.5 McFarland ( $1 \times 10^8$  KƏV/ml) olana qədər tənzimlənmişdir. Durulaşdırılmış kulturalardan 100 µl miqdarında əvvəlcədən aqarlı qidalı mühit əlavə edilmiş petri qablarına əkilmişdir. Daha sonra petri qablarında olan aqarlı qidalı mühit üzərində steril dəmir çubuqla diametri 8 mm olan oyuqlar açılmışdır. Lazım olan qatılıqda hazırlanmış kimyəvi maddə 150-200 µl həcmində həmin oyuqlara əlavə edilmişdir. Qeyd edək ki, bütün maddələr üçün təcrübələr 4 təkrarda qoyulmuşdur.

Kimyəvi maddələrin test kulturaları minimum ingibirləşdirici qatılığı 2 dəfə durulaşdırma metodu ilə müəyyən olunmuşdur. Təcrübə zamanı «Luria Bertani» və ya «Muller Hinton» duru qidalı qidalı mühitlərindən və 96 oyuqlu steril planşetlərdən istifadə edilmişdir. Bakteriya hüceyrələri ( $10^5$  KƏV/ml), qatılığı 1000 µg/ml – 7.8 µg/ml arasında dəyişən maddələrdən ibarət olan oyuqlara əlavə edilmiş və mikrotayterlər 37 °C temperaturda 24 saat müddətində inkubasiya olunmuşdur. Bakteriya hüceyrələrinin inkişafı resazurin metodu ilə müəyyən olunmuşdur. Belə ki, steril distillə suyunda həll olmuş 0.01%-li natrium resazurin duzu (Sigma Aldrich) 30 µl miqdarında hər bir oyuğa əlavə edilmiş və 37 °C temperaturda 4 saat müddətində inkubasiya olunmuşdur. Test maddələrin minimum ingibirləşdirici qatılığı, mavi rəngdən çəhrayı rəngə çevrilməyə mane olan ən az qatılığı hesab olunur. Belə ki, çəhrayı rəng mikroorqanizmin inkişafını, mavi rəng isə mikroorqanizmin inkişaf etmədiyini bildirir. Sintez olunan dihidropirimidin-xalkon törəmələrinin test kulturalarına qarşı təsirinə öyrənilməsi göstərdi ki, 3SM və 4SM birləşmələri *Staphylococcus aureus* bakteriyasının inkişafına güclü tormozlayıcı təsir göstərir. Kimyəvi birləşmələrin 0.1%-li qatılıqda antibakterial təsirinə nəticələrinə görə, *Staphylococcus aureus* ştamına maksimum antimikrob təsiri 3SM və 4SM birləşmələri göstərdiyi halda, minimum təsir isə 1SM kompleksinə məxsus olmuşdur. Birincinin təsiri ikincinin təsir dərəcəsindən çox az fərqlənməklə 1.12 dəfə çox olmuşdur.

*Escherichia coli* və *Klebsiella pneumoniae* kulturalarında qarşı kimyəvi birləşmələr yüksək həssaslıq qeydə alınmamışdır. Belə ki, qeyd olunan test kulturalar ampisillin antibiotikinə qarşı rezistent olduqlarından kimyəvi birləşmələrin yüksək aktivlik nümayiş etdirməməsi gözlənilən nəticə idi. 4SM metal kompleksinin maksimum və minimum təsiri müvafiq olaraq, *Acinetobacter baumannii* və *P.aeruginosa* bakteriyalarına qarşı qeydə alınmışdır. *A.baumannii* bakteriyasına 2SM kompleksinin antibakterial təsiri ştamına qarşı olan təsirdən 1.31 dəfə *E.coli* və *P.aeruginosa* ştamlarına olan təsirdən çox olmuşdur. Sintez edilmiş yeni xalkon törəmələrin şərti patogen bakteriyalara qarşı antibakterial təsir dərəcəsi yuxarıda qeyd olunduğu kimi ilk olaraq aqarlı mühitdə oyuq açma metodu ilə öyrənilmişdir. Daha sonra müəyyən aktivliyə malik olan bu kimyəvi birləşmələrin test kulturaları minimum ingibirləşdirici qatılıqları durulaşdırma metodu ilə təyin edilmişdir. Xalkon törəmələrinin bakteriyalara göstərdikləri antimikrob təsire nəzər yetirdikdə, onların *A.baumannii* bakteriyasına *Klebsiella pneumoniae* və *Escherichia coli* bakteriyalarla müqayisədə, daha yüksək təsir göstərdikləri məlum olmuşdur.

Beləliklə, test olunan bakteriyaların növündən asılı olaraq 0.1%-li qatılıqda olan kimyəvi birləşmələrin təsirdə müəyyən seçicilik müşahidə olunmuşdur. Belə ki, *S.aureus* BDU23, *S.aureus* ATCC 25923 və *A.baumannii* BDU32 bakteriyaları 3SM birləşməsinə, *E.coli* BDU12, *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* BDU44 və *K.pneumoniae* k-528, *Pseudomonas aeruginosa* bakteriya ştammları 4SM birləşməsinə, qarşı yüksək həssaslıq göstərmişdilər.

Xalkon törəmələrin 0.1%-li qatılıqda test kulturalarına qarşı yüksək antibakterial təsir göstərdiyindən kimyəvi birləşmələrin 0.05%-li qatılıqda da antimikrob təsirinin tədqiq olunması məqsədə uyğun hesab edildi. Belə ki, xalkon törəmələrinin 0.1%-li qatılıqda antibakterial təsirinin nəticələrinə görə, bütün kimyəvi birləşmələr *Staphylococcus aureus* bakteriyasının inkişafına güclü tormozlayıcı təsir göstərmişlər. Belə ki, maksimum antibakterial təsirə 3SM, minimum təsirə isə 1SM və 2SM kimyəvi birləşmələri malik olmuşdur. 1SM xalkon törəməsinin təsir dərəcəsi 1SM və 2 SM birləşmələrinin təsir dərəcəsindən 1.04-1.13 dəfə çox olmuşdur. Alınan nəticələrdən məlum oldu ki, *Klebsiella pneumoniae* və *Pseudomonas aeruginosa* bakteriyalarının inkişafına bütün dihidroprimidin xalkon törəmələrinin (1SM, 2SM, 3SM, 4SM, 5SM, 6SM) eyni minimum qatılıqda (256µg/ml) ingibirləşdirici təsir göstərilir. Kontrol olaraq götürülən, ampicillin antibiotiki ilə müqayisədə qeyd olunan törəmələr daha yaxşı aktivlik göstərmişlər. *Staphylococcus aureus* bakteriya kulturasının inkişafını ən az qatılıqda 3SM kimyəvi birləşməsi tormozlamışdır. Belə ki, *S.aureus* bakteriya ştamını inkişafdan saxlamaq üçün 3SM törəməsinin qatılığı kompleksinin qatılığı 1SM və 5SM birləşmələrinin qatılığından 4 dəfə, 2 SM kompleksinin qatılığından isə 2 dəfə az olmuşdur.

Kimyəvi birləşmələrin ayrı-ayrı bakteriyaların inkişafını tormozlayan minimum ingibirləşdirici qatılığına nəzər yetirdikdə, onların təsirinin səmərəliliyini görmək mümkündür. Belə ki, 1SM və 2SM komplekslərinin ən az qatılıqda (512µg/ml) antimikrob təsiri *Pseudomonas aeruginosa* və *Klebsiella pneumoniae* bakteriya ştamlarında müşahidə olunub. 1SM və 2SM törəmələrinin *P.aeruginosa* bakteriyasının ştamlarının inkişafını tormozlayan minimum qatılığın miqdarı, digər test kulturaları inkişafdan saxlamaq üçün lazım olan minimum qatılığın miqdarından 4 dəfə az olmuşdur.

3SM kimyəvi birləşməsi isə öz növbəsində ən az qatılıqda (64 µg/ml) *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ştamlarının inkişafını ingibirləşdirdiyi müşahidə olunmuşdur. 3SM birləşməsinin qeyd olunan bakteriyaların inkişafını tormozlayan minimum qatılığı, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* k-528 bakteriyalarını inkişafını tormozlamaq üçün lazım olan minimum qatılıqdan 2 dəfə az olmuşdur.

4SM digər törəmələrdə olduğu kimi bakteriyanın növündən asılı olaraq ingibirləşdirici qatılığa da fərqli olmuşdur. Belə ki, bu kompleks 32 µg/ml qatılıqda *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 ştamlarının inkişafına tormozlayıcı təsir göstərmişdir. Qeyd olunan test kulturalarının inkişafını tormozlamaq üçün 4SM kompleksinin minimum ingibirləşdirici miqdarı *Pseudomonas aeruginosa* test kulturasının inkişafdan saxlamaq üçün lazım olan qatılıqdan 2 dəfə az, *Klebsiella pneumoniae* BDU44 və *Acinetobacter baumannii* BDU32 bakteriyalarının inkişafını tormozlamaq üçün isə lazım olan minimum ingibirləşdirici qatılıqdan 4 dəfə az olduğu müşahidə edilmişdir.

5 SM və 6 SM törəmələrinin antibakterial aktivlik göstəricisi demək olarki bütün hallarda eyni olmuşdur. Belə ki, bu kompleks birləşmələr 128 µg/ml qatılıqda *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 ştamlarının inkişafına tormozlayıcı təsir göstərmişdir. Qeyd olunan test kulturalarının inkişafını tormozlamaq üçün 4 SM kompleksinin minimum ingibirləşdirici miqdarı *Pseudomonas aeruginosa* test kulturasının inkişafdan saxlamaq üçün lazım olan qatılıqdan 4 dəfə çox, *Klebsiella pneumoniae* BDU44 və *Acinetobacter baumannii* BDU32 bakteriyalarının inkişafını tormozlamaq üçün isə lazım olan minimum ingibirləşdirici qatılıqdan 2 dəfə çox olduğu müşahidə edilmişdir.

Beləliklə, *Acinetobacter baumannii* BDU32, *Staphylococcus aureus* BDU23 və *S.aureus* ATCC 25923 bakteriyalarının inkişafını ən az qatılıqda tormozlayan 3SM və 4SM törəmələri, ən yüksək qatılıqda ingibirləşdirən isə 1SM, 5SM və 6 SM kimyəvi birləşmələr olmuşdur. *Escherichia coli* bakteriya

kulturasının ştamplarının inkişafına digər törəmələrlə müqayisədə aşağı minimum qatılıqda təsir edən 2SM kompleksi olmuşdur. *Klebsiella pneumoniae* bakteriya ştamplarının inkişafını tormozlamaq üçün lazım olan minimum qatılığın miqdarı (256 µg/ml) bütün törəmələrdə eyni olmuşdur.

Daha sonra *Staphylococcus aureus* bakteriya kulturasına yüksək aktivlik nümayiş etdirən 3SM birləşməsinin zaman asılı olaraq minimum ingibirləşdirici qatılığı təyin olunmuşdur. *S.aureus* bakteriyasının 3SM birləşməsinə qarşı böyümə əyrisi əvvəllər təsvir olunduğu kimi turbidimetrik üsulla həyata keçirilmişdir. Beləliklə kimyəvi birləşmənin böyümə əyrisinə təsirini müəyyən etmək üçün törəmənin MİQ (4 µg/ml) 0,5xMİQ, 1xMİQ, 2xMİQ müxtəlif qatılarından istifadə edilmişdir. Təxminən  $1 \times 10^5$  k.ə.v/ml Lyekun konsentrasiya əldə etmək üçün Mueller hinton qidalı mühitinə (25 ml) bakteriya kulturasının 16 saatlıq kulturası ilə əkilmişdir. Kulturalar müvafiq konsentrasiyada (8, 16 və 32 µq/ml) 3SM kimyəvi birləşməsi ilə birlikdə inkubasiya olundu. Müvafiq olaraq DMSO və ampisilin (16 µq/ml) kontrol kimi istifadə edildi. Kulturalar silkələnən inkubatorada 37 °C-də inkubasiya edilmişdir. Bakterial suspensiyaların yeddi müxtəlif saatlarda (0, 2, 4, 6, 8, 10, 24 saat) optik sıxlığı (OD) 600 nm-də spektrofotometrle ölçüldü. Alınan nəticələr əsasında böyümə əyrisi quruldu.

Kultura seyreltmələri hər zaman 0.8 faizli fizioloji məhlulunda aparılmışdır. Serial seyreltmələr (üç nüsxədə) koloniya əmələ gətirən vahidlərdəki koloniyaların sayını müəyyən etmək üçün bir gecədə TSA mühitində yetişdirildi (cfu/ml). Zamanla öldürmə əyriləri, hər ml –də (Şaquli ox) zamana (üfüqi ox) qarşı koloniya əmələ gətirən vahidlərin log 10-u tərtib etməklə yaradılmışdır. Bir millilitrdə koloniya əmələ gətirən vahidlərin ümumi sayı ilkin nümunədə 99,9 % azalıb ki, bu da bakterisid aktivliyi göstərir. Bakteristatik aktivliyin ya ilkin inokulumdakı koloniyaların ümumi sayının (cfu/ml) 99,9%-dən ( $\leq 3 \text{ Log}10$ ) az olduğu və ya inokulumun konsentrasiyasını saxlamaq üçün göstərilmişdir. Bakterisid təsir orijinal inokulumdakı hüceyrələrin ümumi sayının 99,9%-nin ( $\geq 3 \text{ Log}10$ ) azalması kimi müəyyən edilmişdir.

Beləliklə, birləşmənin yüksək qatılıqlarında bakterial hüceyrələrin ölüm sürəti tədricən artır, hüceyrələrin böyümə əyrisində daha aydın şəkildə görmək mümkündür.

Birləşmənin zamandan asılı olaraq bakteriyaların böyüməsinə təsirini müəyyən etmək üçün 37 °C-də 24 saat inkubasiya zamanı MİQ dəyərinin 0,5x və 2x misli arasında dəyişən 3SM birləşməsinin təsirinə məruz qalmış bakterial hüceyrələr üçün böyümə əyrisi aparılmışdır. *Staphylococcus aureus* üçün əldə edilmiş MİQ dəyəri 16 µg/ml olmuşdur. 3SM kimyəvi birləşməsinin müxtəlif qatılıqlarında sınaqdan keçirildikdə *Staphylococcus aureus*-un böyümə əyrilərində əhəmiyyətli fərqlər aşkar edilmişdir. Optik sıxlıq (OD) dəyəri nümunədəki ümumi bakteriya kütləsini təmsil edir. Müalicə olunmamış bakteriya hüceyrələri ilə müqayisədə minimal dəyişiklik 0, 5 x MİQ-də müşahidə edilmişdir. OD dəyərindəki fərq 4 saatlıq inkubasiyadan sonra daha aydın görünürdü. 3SM kimyəvi birləşməsinin *Staphylococcus aureus* hüceyrələrinə qarşı inhibitor təsiri hətta böyümə əyrisinin başlanğıcında 2 x MİQ konsentrasiyasında daha aydın idi. Məlum olduğu kimi, bakterianın böyümə mərhələsi həssaslıq profillərinə təsir göstərə bilər.

*S.aureus* bakteriya kulturasını 3SM birləşməsinin 0,5 x MİQ dəyərindəki qatılıq ilə inkubasiyası bakteriyaların hüceyrə sayına təsir göstərməmişdir. 1 x MİQ dəyərində bərabər olan 3SM kimyəvi birləşməsi ilə bakteriya hüceyrələrinə təsir etdikdə onların sayının sabit qaldığı müəyyən edilmişdir. Bakterisid effekt bakteriyaları 3SM birləşməsinin 2 x MİQ dəyərində inkubasiya edildiyi zaman əldə edilmişdir ki, bu da inokulyasiyadan 6 saat sonra canlı bakteriya hüceyrələrinin sayının azalması ilə nəticələnmişdir.



2	Layihənin həyata keçirilməsi üzrə planda nəzərdə tutulmuş işlərin yerinə yetirilmə dərəcəsi (cari rüb üçün, faizlə qiymətləndirməli) 100%
3	Hesabat dövründə alınmış <b>elmi nəticələr</b> , onların yenilik dərəcəsi İlk dəfə olaraq, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 bakteriyasına qarşı 3SM dihidroprimidin xalkon törəməsinin ampisillinlə müqayisədə daha yaxşı aktivlik nümayiş etdirdiyi məlum olmuşdur.
4	Layihənin yerinə yetirilməsi zamanı istifadə olunan üsul və yanaşmalar Layihə çərçivəsində bakteriya kulturalarına qarşı antimikrob aktivliyi ilk olaraq oyuq açma metodu ilə müəyyən edilmişdir. Aktivliyə malik olan birləşmələr üçün minimum ingibirləşdirici qatılığı təyin etmək üçün iki dəfə durulaşdırma metodu istifadə olunmuşdur. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 bakteriya ştamının inkişaf eyrisi spektroskopiya üsulu ilə ölçü aparılaraq Graphad Prism 10.1 proqramında qurulmuşdur.
5	Layihə üzrə elmi nəşrlər (məqalələr, monoqrafiyalar, icmallar, konfrans materialları, tezislər) (dərç olunmuş, çapa qəbul olunmuş və çapa göndərilmişləri ayrılıqda qeyd etməklə) ( <i>surətlərini əlavə etməli!</i> ) 1. Amrahov, N. R., Aghazada, G. A., Alizada, S. R., Mehdiyeva, G. V., Mammadova, R. B., Alizade, S. A., & Mammadov, Z. M. (2024). The involvement of phytohormones in plant-pathogen interaction. <i>Regulatory Mechanisms in Biosystems</i> , 15(3), 527-542. <a href="https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/1023">https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/1023</a>
6	İxtira və patentlər, səmərələşdirici təkliflər (burada doldurmalı)
7	Layihə üzrə ezamiyyətlər (burada doldurmalı)
8	Layihə üzrə elmi ekspedisiyalarda iştirak (burada doldurmalı)
9	Layihə üzrə digər tədbirlərdə iştirak (burada doldurmalı)
10	Layihə mövzusu üzrə elmi məruzələr (seminarlar, konfranslar, dəyirmi masalar və s. çıxışlar) (burada doldurmalı)
11	Layihə üzrə əldə olunmuş cihaz, avadanlıq və qurğular, mal və materiallar (burada doldurmalı)
12	Yerli həmkarlarla əlaqələr <i>prof.Eldar Qasimov - Azərbaycan Tibb Universiteti</i>
13	Xarici həmkarlarla əlaqələr <i>Prof. Cassandra L.Quave – Emori Universiteti, ABŞ</i>

	<i>Dosent Silvia Buroni – Pavia Universiteti, İtaliya</i>
<b>14</b>	Layihə mövzusu üzrə kadr hazırlığı (burada doldurmalı)
<b>15</b>	Sərgilərdə iştirak (burada doldurmalı)
<b>16</b>	Təcrübəartırmada iştirak və təcrübə mübadiləsi (burada doldurmalı)
<b>17</b>	Layihə mövzusu ilə bağlı elmi-kütləvi nəşrlər, kütləvi informasiya vasitələrində çıxışlar, yeni yaradılmış internet səhifələri və s. (burada doldurmalı)

Layihə rəhbərinin imzası \_\_\_\_\_ Həsənova Ülvyyə Əliməmməd qızı

Tarix \_\_\_\_\_

QEYD: bütün hallarda uyğun olan bəndlər doldurulmalıdır.