

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI SCHIFF BAZI TÜREVLERİ ve METAL KOMPLEKSLERİNİN
ANTIOKSİDAN ve ANTİTÜMÖR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Sibel SELÇUK

Anabilim Dalı: Kimya
Programı: Biyokimya

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

OCAK-2010

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI SCHIFF BAZI TÜREVLERİ ve METAL KOMPLEKSLERİNİN
ANTIOKSİDAN ve ANTİTÜMÖR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sibel SELÇUK
Enstitü No: 08117102

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 28 Aralık 2009

Tezin Savunulduğu Tarih: 18 Ocak 2010

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Memet ŞEKERCİ

Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ

OCAK-2010

ÖNSÖZ

İnorganik ve organometalik bileşiklerin farmakolojik özellikleri ve etki mekanizmalarının kimyasal temellerinin incelenmesi, ilaç araştırmalarının ilk aşamaları için çok önemlidir. Schiff bazları da bu sınıf bileşikler olup, sahip oldukları birçok biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinden dolayı geniş bir şekilde araştırılmaktadır.

Schiff bazlarının biyolojik aktiviteleri in vitro olarak birçok çalışmaya konu olmuştur. İlgili literatürlere dayanarak yaptığımız tez çalışmasında, orijinal Schiff bazları ve metal komplekslerinin in vitro olarak antitümör ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır.

İlgili bilgiler ışığında yapılan bu tezi hazırlamamda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Ayrıca ligand ve komplekslerin sentez ve karakterizasyonunu gerçekleştiren Prof. Dr. Memet ŞEKERCİ ile Arş. Gör. Zuhal ERGİN'e, aynı zamanda antioksidan çalışmalarımızdaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ ve Arş Gör. Serhat KESER'e teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım sırasında bana her türlü desteği veren, çalışmalarım süresince göstermiş oldukları sabır ve desteklerden dolayı aileme ve arkadaşlarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Sibel SELÇUK

ELAZIĞ-2010

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLoların LİSTESİ	VI
SEMBOLLER	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Amacı	2
1.2. Schiff Bazları	2
1.2.1. Schiff bazlarının oluşum mekanizması	3
1.2.2. Schiff bazlarının sentezi	5
1.2.3. Schiff Bazlarının Spektroskopik Özellikleri	6
1.3. Serbest Radikaller	7
1.3.1. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu	7
1.4. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri	8
1.5. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)	8
2. MATERYAL ve METOT	11
2.1. Uygulamalarda Kullanılan Bileşikler	11
2.2. {4-[(4-{[4-(karboksimetil karbamoil) fenilimino] metil} benziliden) amino] benzoilamino} Asetik Asit Ligandının (L), Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) Komplekslerinin Sentezi	12
2.3. Uygulamalarda Kullanılan Hücreler	12
2.4. MCF-7 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi	13
2.5. Kullanılacak hücre sayısı ve madde dozlarının belirlenmesi	14
2.6. In vitro Antioksidan Aktivite Ölçümleri	14
2.6.1. Saccharomyces cerevisiae ile Ölçüm	14
2.6.2. DPPH Radikal İndirgeme Metodu ile Ölçüm	15
2.7. İstatistiksel Değerlendirme	15

3.	BULGULAR.....	17
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	18
4.1.	Sentez ve yapı tayini.....	18
4.2.	Biyolojik Özellikler.....	24
	KAYNAKLAR	28
	ÖZGEÇMİŞ	32

ÖZET

Bu araştırmada, terefaldehitden türetilmiş Schiff bazı ve bunun metal komplekslerinin hücre kültürü ortamına ilave edilmesi ile lipit peroksidasyonunun derecesini gösteren MDA düzeyleri üzerine olan etkisi, in vitro şartlarda antioksidan özelliği ve anti tümör aktivitesi araştırıldı.

Deney grupları arasındaki karşılaştırılmalarda MDA düzeylerinin istatistiksel olarak değiştiği gözlemlendi. Ölçülen parametreler ve deney süresince canlı hücre sayısına bakıldığında ligand ve komplekslerinin MCF-7 hücre tipinde etkili bir anti tümör aktiviteye sahip olduğu görüldü.

Sonuç olarak, ölçülen parametreler bütün maddelerin oksidatif stres oluşturduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: HPLC, Schiff Bazı, MDA, Antioksidan Aktivite, Antitümör Aktivite

ABSTRACT

An Investigation Of Antioxidant And Antitumor Properties Of Derivative Schiff Bases And Metal Complexes

In this research, the effect of tereftalic aldehyde Schiff base derivative and its metal complexes on the MDA concentration which is an indicator of Lipid peroxidation, in vitro antioxidant activity and antitumour activity were investigated in cell culture media.

In the comparison done among groups, it was observed that MDA concentrations were statistically changed. Looking at the measured parameters during the experiment, the number of live cells, the ligand and complexes is seen an effective antitümör activity in the MCF-7 cell types.

In conclusion, the parameters measured here in the show taht all compounds caused a considerable oxidative stres.

Key Word: HPLC, Schiff Base, MDA, Antioxidant Activity, Antitumuor Activity

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Aminlerin karbonil bileşikleriyle verdiği kondenzasyon reaksiyonu	2
Şekil 1.2. Azometin oluşumu	2
Şekil 1.3. İmin oluşumu	3
Şekil 1.4. Schiff bazı oluşumunun birinci basamağı	3
Şekil 1.5. Schiff bazı oluşumunun ikinci basamağı.....	4
Şekil 2.1. {4-[(4-{[4-(karboksimetilkarbamoyl) fenilimino] metil} benziliden) amino] benzoilamino} Asetik Asit Ligandının Yapısı	11
Şekil 2.2. [Cu ₂ L ₂ (AcO) ₂ .(H ₂ O) ₂].2H ₂ O 'nin Yapısı	11
Şekil 2.3. [Zn ₂ L(AcO) ₂] ve [Ni ₂ L(AcO) ₂].3H ₂ O' nin Yapısı	12
Şekil 4.1. 4-[(4-{[4-(karboksimetilkarbamoyl) fenilimino]metil} benziliden) amino] benzoilamino} asetik asit ligandının (L) ¹ H-NMR spekturumu	18
Şekil 4.2. 4-[(4-{[4-(karboksimetilkarbamoyl)fenilimino]metil} benziliden) amino] benzoilamino} asetik asit ligandının (L) IR spekturumu.....	20
Şekil 4.3. Cu kompleksinin karakteristik IR bandları.....	20
Şekil 4.4. Zn(II) kompleksinin karakteristik IR bandları.....	21
Şekil 4.5. Ni(II) kompleksinin karakteristik IR bandları	21
Şekil 4.6. Ligandın Cu(II) kompleksi	23
Şekil 4.7. Ligandın Ni(II) kompleksi.....	23
Şekil 4.8. Ligandın Zn(II) kompleksi	23

TABLULARIN LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar	9
Tablo 1.2. Ligand ve Komplekslerin Bazı Fiziksel özellikleri.....	13
Tablo 3.1. Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerinin süreye ve doza göre canlılık durumları	16
Tablo 3.2 Maddelerle muamele edilmiş <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya hücrelerinin MDA (mg/L) Düzeylerinin Zamana ve Dozlara Göre Ortalama Değerleri	16
Tablo 4.1. Ligand ve komplekslerin karakteristik IR bandları.....	22

SEMBOLLER

SB	: Schiff Bazı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
RR	: Ribonükleotit redüktaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
σ_p	: Hammett Süstitüent Sabiti
MDA	: Malondialdehit
DMF	: Dimetil Formamid
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HClO₄	: Perklorik asit
TCA	: Trikloroasetikasit
DPPH	: 2-2 difenil-1-pikrilhidrazil radikali
TGA	: Termogravimetrik Analiz
DTA	: Differansiyel Termal Analiz

1. GİRİŞ

Koordinasyon kimyasında ligand olarak kullanılan, azometin ($\text{CH}=\text{N}$) grubu içeren ve genel olarak $\text{RCH}=\text{NR}^1$ genel formülüyle gösterilen bileşiklere “Schiff Bazı” denir. Schiff bazları, primer aminler ile karbonil bileşiklerinin kondensasyonundan elde edilen bileşiklerdir. İlk kez 1864'te Schiff tarafından bir primer amin ve bir aktif karbonil grubunun kondensasyonundan elde edilen Schiff bazlarının oluşum mekanizmaları ve kompleks oluşturma özellikleri oldukça geniş çaplı incelenmiştir [1].

Schiff bazı (SB) türevleri antiviral, antineoplastik, antimalariyal, antifungal ve antibakteriyal özelliklerinden dolayı kimya, biyoloji ve farmakolojide büyük ilgi görmektedir [2].

Schiff bazları ve metal kompleksleri, antitümör [3], antiviral [4], antimikrobiyal [5], antineoplastik [6], gibi çeşitli farmakolojik aktivitelerinden dolayı geniş şekilde araştırılmaktadırlar. Schiff bazı bileşiklerinin ve Cu(II) metal komplekslerinin, lipid peroksidasyonunu engelleyerek antioksidatif aktivite gösterdiği de belirtilmektedir [7].

Schiff bazı türevlerinin DNA ve RNA sentezini inhibe edici etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir [8]. Bu etki onların ribonükleotit redüktaz (RR) enzimini inhibe etmelerinden kaynaklanmaktadır [9].

SB türevleri ve bakır komplekslerinin spektrofotometrik davranışlarının süperoksit dismutaz ile mukayesesi yapılan bir çalışmada, bu bileşiklerin geniş spektrumlu biyolojik aktivitelerinin yanı sıra SOD benzeri aktivite gösterdikleri de vurgulanmaktadır [10].

Bölümümüzde yapılan çalışmalarda, bu sınıf bileşiklerin antioksidan prooksidan özellikleri ile çeşitli dokulara olan etkileri araştırılmış ve ratlarda farklı özellikler sergilediği gösterilmiştir [11,12]. Yapılan başka bir çalışmada ise bu tür bileşiklerin antiviral özelliği araştırılmış ve kullanılan bileşiklerin her hangi bir antiviral aktivite göstermediği, ancak çok güçlü sitotoksik etkiye sahip oldukları gözlenmiştir [13].

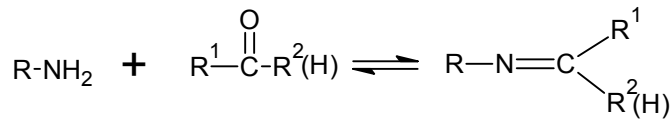
Görüldüğü gibi Schiff bazlarının biyolojik aktiviteleri *in vitro* olarak birçok çalışmaya konu olmuştur. Ligandın yapısı ve konformasyonu ile koordinasyon bileşiklerindeki merkez atomunun redoks potansiyellerinin bu tür bileşiklerin biyolojik aktivitelerini etkilediği belirtilmektedir [10]. Bu gibi çalışmalar daha aktif komplekslerin sentezini veya doğal biyokoordinatif bileşiklerin davranışını anlamaya yardımcı olacaktır.

1.1. Çalışmanın Amacı

İlk aşamada kullanacağımız Schiff bazı türevinin çeşitli metal kompleksleri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir [14,15]. Bu bilgiler ışığında yaptığımız tez çalışmasında orijinal Schiff bazları ve metal komplekslerinin *in vitro* olarak antioksidan ve antitümör özellikleri araştırılmıştır. Burada Schiff bazları ve metal kompleksleri mikroorganizmanın bulunduğu ortama ilave edilerek antitümör aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

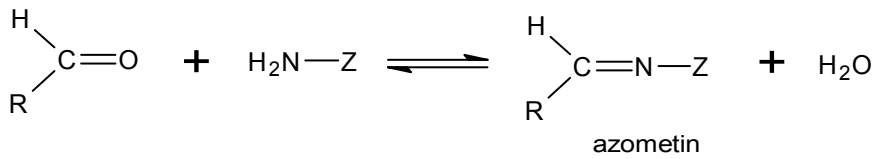
1.2. Schiff Bazları

Primer aminlerin aldehit veya ketonlarla kondensasyon reaksiyonu vermesi sonucu oluşan C=N çift bağı (imin bağı) tanımlanan bileşikler Schiff Bazları olarak adlandırılmaktadır.

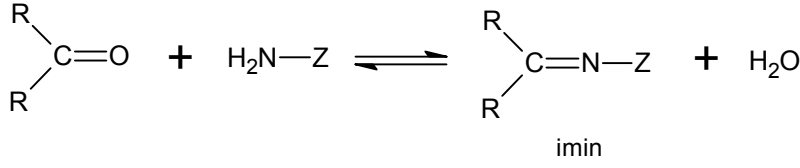


Şekil 1. 1. Aminlerin karbonil bileşikleriyle verdiği kondenzasyon reaksiyonu

Karbonil bileşiği aldehit ise oluşan bağ azometin veya adlimin, keton ise oluşan bağa imin veya ketimin adı verilir [14,15,16]. Reaksiyon oluşumu gösterilmiştir (Şekil 1.2, Şekil1. 3).



Şekil 1.2. Azometin oluşumu



Şekil 1.3. İmin oluşumu

Azometin grubundaki azot atomuna elektron salıcı bir alkil ya da aril grubu bağlandığı takdirde, azometin bileşiğinin kararlılığı artmaktadır. Azot atomunda –OH taşıyan oksimler, –NH taşıyan fenilhidrazon ve semikarbazonlar, alkil ya da aril süstitüentini taşıyan Schiff bazlarına göre hidrolize karşı çok daha dayanıklıdır.

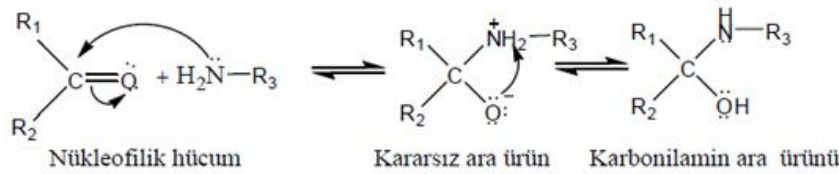
Karbonil bileşikleriyle, primer aminlerin kondensasyonundan oluşan, N-alkil veya N-aril süstitüe imin yapısındaki Schiff bazları, hidrolize karşı pek dayanıklı değildir. Özellikle düşük pH’larda kendisini meydana getiren karbonil ve amin bileşiklerine ayrılır.

1.2.1. Schiff bazlarının oluşum mekanizması

Schiff bazlarının oluşum mekanizması iki basamaklı bir işlemdir. İlk basamak, nükleofilik aminin kısmi pozitif yük taşıyan karbonil karbonuna katılması, sonra azotun bir proton kaybetmesi ve oksijene bir proton bağlanmasıdır.

1. Basamak: Katılma

Birincil amin, azot üzerindeki ortaklanmamış elektron çifti nedeniyle bir nükleofil olarak davranır. Tepkimenin birinci basamağı, karbon-oksijen π bağının ayrılmasıyla karbonil karbonuna nükleofilik bir hücumdur. Bunun sonucu olarak asidik bir amonyum grubuyla bazik alkoksit anyonu içeren kararsız bir ara ürün oluşturur. Bu ara üründe azottan oksijene hızlı bir elektron geçişi olur. Oluşan karbonilamin orta derecede kararlı bir ara üründür.

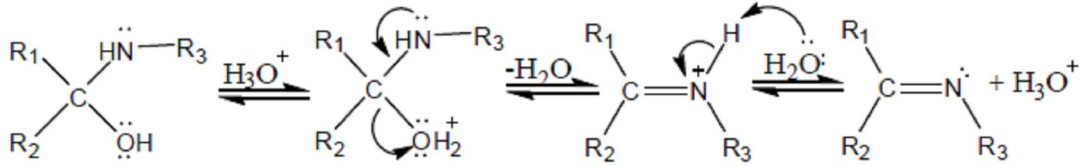


Şekil 1.4. Schiff bazı oluşumunun birinci basamağı

2. Basamak: Ayrılma

İkinci basamakta –OH grubu protonlanır ve sonra su olarak ayrılır. Karbonilamin ara ürününün azot ve oksijen atomu hafifçe baziktir. Oksijenin protonlandırılması ile bir

konjuge asit oluşturulur. Protonlandırılmış karbonilamin iyi bir ayrılan grup olan suyu içerir. Bu nedenle molekülden su ayrılır ve aynı anda azottaki ortaklanmamış elektronlar kullanılarak bir karbon-azot π bağı oluşur. Oluşan protonlandırılmış Schiff bazının hızla bir proton kaybetmesi sonucu tepkime ürünü olarak Schiff bazı meydana gelir.



Şekil 1.5. Schiff bazı oluşumunun ikinci basamağı

Schiff bazının asit katalizliğinde oluşumu pH'a bağımlı bir tepkimedir. Mekanizmanın birinci basamağında (Şekil 1.4.) protonlanmamış serbest amin karbonil grubuna katılır. Çözelti çok asidik olursa amin derişimi ihmal edilecek kadar çok azalır. Bu durumda, normalde hızlı olan katılma basamağı yavaşlar ve tepkime dizisinde hız belirleyici basamak haline gelir [17].

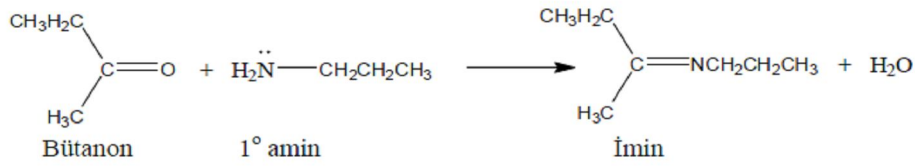
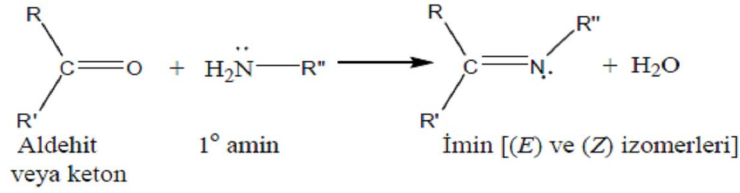
İkinci basamakta (Şekil 1.5.) protonlanmış -OH grubu H_2O olarak ayrılır. İlk basamağın (amin katılmasının) aksine, asit derişiminin artması ikinci basamağın hızını artırır. Çünkü $-OH_2^+$ zayıf bir baz ve kolay ayrılabilen bir grup olup H_2O şeklinde kolayca ayrılabilir [17].

Asitliğin yüksek olması 2. Basamağın daha hızlı, ancak 1. basamağın daha yavaş yürütmesine neden olur. Buna karşılık asitliğin azalmasıyla 1. basamak daha hızlı, 2. basamak ise daha yavaş yürür. En uygun (optimum) pH bu iki aşırı ucun arasındaki pH'tır (pH 3-5 arası). Uygun pH'ta tepkimenin toplam hızı en yüksek olur. Bu pH'da aminin bir kısmı protonlanmıştır ama nükleofilik katılma tepkimesini başlatabilmek için yeterli miktarda serbest amin vardır. Bu pH'da yeterli hızda ayrılmanın gerçekleşebilmesi için de yeterli asit vardır [17].

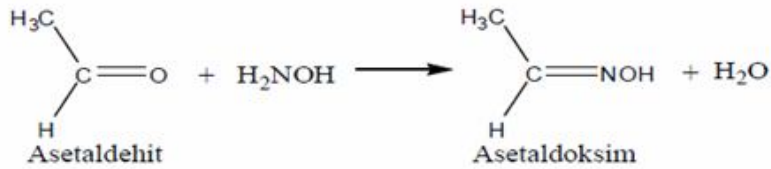
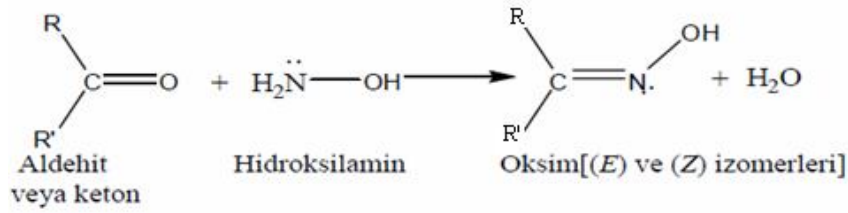
Schiff bazları oluşumunun ultraviyole ışık altında hızlandığı görülmüştür. Bu olayda aldehidin az bir kısmı ışık yardımıyla otooksidasyona uğramakta ve oluşan asit, kondensasyon reaksiyonunda katalizör görevi görmektedir [18].

1.2.2. Schiff bazlarının sentezi

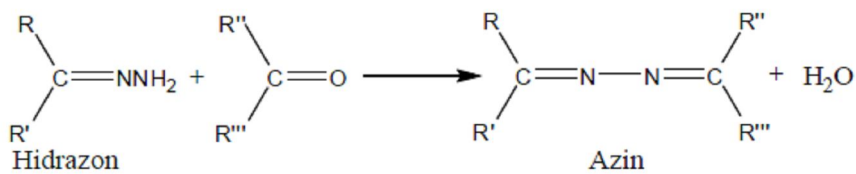
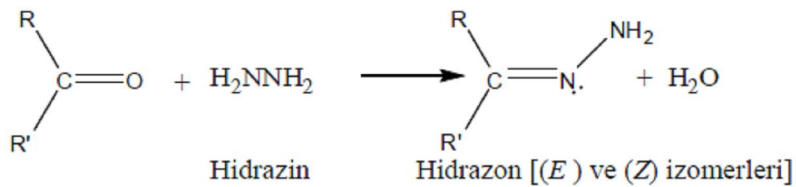
1. Aldehit veya ketonların birincil aminlerle reaksiyonundan

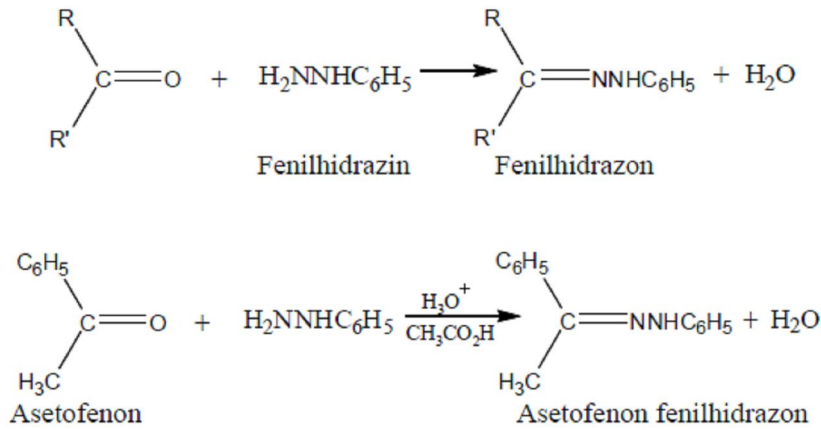


2. Aldehit veya ketonların hidroksilamin ile tepkimesinden

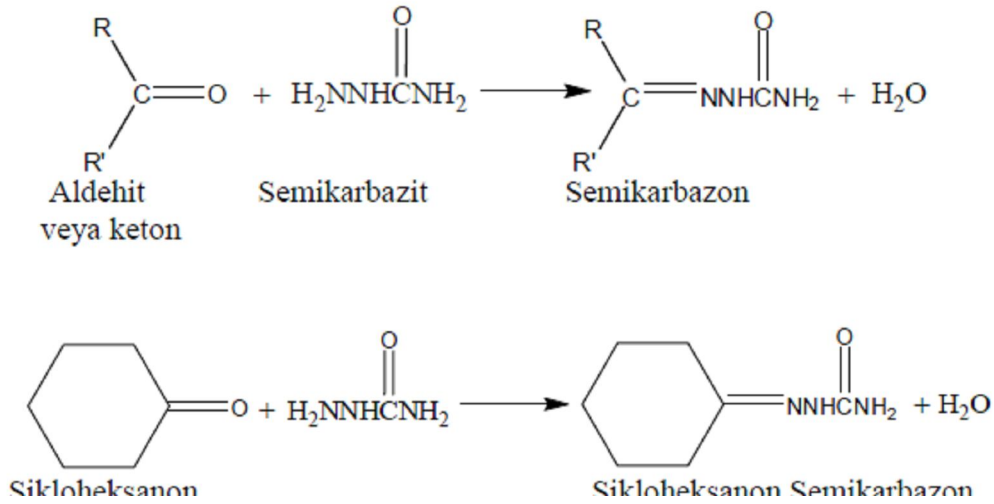


3. Aldehit veya ketonların hidrazin ve fenilhidrazin ile tepkimesinden





4. Aldehit veya ketonların semikarbazit ile tepkimesinden



1.2.3. Schiff Bazlarının Spektroskopik Özellikleri

Schiff bazlarının spektroskopik özelliklerinin ilgi çekmesi onların biyokimya ve aynı zamanda analitik uygulamalardaki öneminden dolayıdır. Aromatik azometinlerin NMR çalışmaları, azot ve hidroksi grubu arasındaki hidrojen bağına yöneliktir. Ancak Hammett, σ p sabiti ile azometin protonunun kimyasal kaymasına substituent etkilerini ilişkilendirmiş ve aldehit halkasındaki para substituentler ile bir ilişkisinin varlığını göstermiştir. Azometinlerin NMR spektrumları, aromatik aldehit halkasında para substitüsyonunun, substituentlerin konjugatif etkisi ile aynı doğrultuda azometin protonunun kimyasal kaymasında değişiklik oluşturduğunu göstermektedir.

Hidroksil grubu içeren Schiff bazlarının FT-IR spektrumları, karakteristik $\nu(\text{C}=\text{N})$ ve $\nu(\text{OH})$ frekanslarının gözlemlenmesi amacıyla alınır. Ayrıca, orto-hidroksi grubu hidrojeni

ile azometin azotu arasındaki muhtemel hidrojen bağı oluşumundan kaynaklanan $\nu(\text{OH})$ frekansındaki kaymalar incelenir. Azometin azotu ile yapılan H bağından dolayı oluşan konjuge-şelat halka sisteminin yaklaşık $2700\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ aralığında bandı gözlenir ve 3500 cm^{-1} in üzerinde π bağında -OH grubuna ait geniş bir band gözlenir. Kompleks oluşumu ile -OH bandı kaybolur.

Schiff bazlarının yapısındaki -N=C- grubunun düzlem içi titreşimlerinden ileri gelen absorpsiyonlar çevresindeki elektronik değişikliklere karşı çok duyarlı olup iminlerde yaklaşık $1640\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ de gözlenmektedir [19].

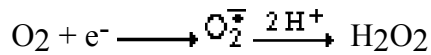
1.3.Serbest Radikaller

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkan çiftleşmemiş elektrona sahip, reaktif ve kısa ömürlü kimyasal bileşiklerdir. Serbest radikallere, oksidan moleküller veya en doğru adlandırma ile "Reaktif Oksijen Partikülleri" de denilmektedir [20].

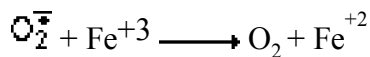
1.3.1.Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu

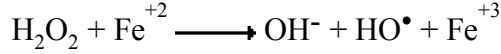
Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler.

Bir serbest radikalın başlangıç ürünü moleküler oksijenin indirgenmesiyle oluşan süperoksit anyon radikalidir ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Bir serbest radikal, çiftleşmemiş elektrona sahip bir atom veya moleküldür. Bu ürün kararsız bir yapıdır ve çevresindeki bir organik veya inorganik yapıya saldırabilir. Peroksit anyonu çözültiden iki proton alarak hidrojen perokside dönüşür.



Canlı sistemlerde oksijen radikalinin zararlı etkilerine dikkat edilmesi ve bu radikallerin oluşumu ile hemen etkilerinin uzaklaştırılması gerekir. Aksi halde bunlar Fe veya Cu gibi iki değerli katyonları katalizleyerek daha etkili bir serbest radikal olan hidroksil radikalini oluştururlar [21].





$\text{HO}^\bullet$ radikali, canlı sistemlere çok zararlı olabilecek çok güçlü bir radikaldir. Birçok hastalıklara sebebiyet verebilecek biyokimyasal değişimleri oluşturulabilir [22].

Serbest radikaller belli miktarlarda hücreler tarafından bazı hücre içi redoks ve sinyal farklılıklarını göstermek gibi fizyolojik faydalar için kullanılabilir [23].

1.4. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar, okside olabilir bir substratla mukayese edildiğinde, düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratın oksidasyonunu önemli derecede geciktiren ya da inhibe eden "herhangi bir substrat" olarak tanımlanmaktadır. Endojen (doğal) ve eksojen (ilaçlar) antioksidanlar olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler [23,24].

1.5. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonu membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserit ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle, başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere yükseltgenebilen tüm hücre elemanları ile etkileşirler [23].

Hücreleri saran membranlar ve hücre organelleri, geniş miktarlarda poliansature yağ asiti ihtiva ederler. Serbest radikaller hücre membranındaki bu poliansature yağ asitlerine saldırır ve lipid peroksitlerin teşekkülüne yol açan lipid radikallerinin oluşumuna sebep olurlar. Lipid peroksidasyonundaki artış serbest radikal aktivasyonunun indirekt bir işaretidir. Biyolojik membranların en önemli unsurları lipid ve proteinlerdir. Lipid peroksidasyonu, lipidler kadar mebran proteinlerini de hasara uğratabilir [25].

Tablo 1.1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar

A- Endojen (Doğal) Antioksidanlar		
I. Enzimler	<i>II. Makromoleküller</i>	III. Mikromoleküller
- Süperoksit dismutaz	- Seruloplazmin	- E vitamini ve analogları
- Katalaz	- Transferrin	- C vitamini
-Glutasyon peroksidaz	- Ferritin	- Tiyol içerenler: GSH
- Glutasyon redükaz	- Hemoglobin	-N-asetil sistein, Metiyonin kaptopril
- Hidroperoksidaz	- Miyoglobin	- A vitamini-β-karoten
- Sitokrom -C oksidaz		- Glikoz
		- Ürik asit
		- Ubikinon
		- Bilirubin
B - Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)		Gıda Antioksidanları
- NADPH oksidaz inhibitörleri		- Bütil Hidroksitoluen (BHT)
-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler		- Bütil Hidroksianisol (BHA)
- Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları		- Sodyum benzoat
- Demir redoks döngüsü inhibitörleri		- Etoksikuin
- Nötrofil adezyon inhibitörleri		- Propilgalat
- Rekombinant h-SOD		
- 21 - Aminosteroidler, Indopamid		
- Sitokinler, Flavonoidler		
- Ksantin oksidaz inhibitörleri		
- Barbitüratlar, Trimetazidin		

Çeşitli patolojik durumlar sırasında birçok hücre tipinde O₂'nin redüksiyonundan oluşan türlerin olağan dışı ve şiddetli üretimiyle karakterize oksidatif stresin meydana geldiği günümüzde iyi bilinmektedir. Bu oksidatif stresin genel bir sonucu, hücre organizasyonunun az yada çok degradasyonu ile sonuçlanan hücre lipidlerinin peroksidasyonudur [23].

Oksijen molekülü lipidlere karşı yüksek afiniteye sahiptir. Bu molekül hemoglobinden ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile eritrosit zarındaki lipidlerde çözünmekte ve daha sonra dokularda kullanılmaktadır. Bu sırada dokularda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijen bağlanması sonucu lipid peroksidasyonu kimyasal reaksiyonu meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonunun zar yapısı ve

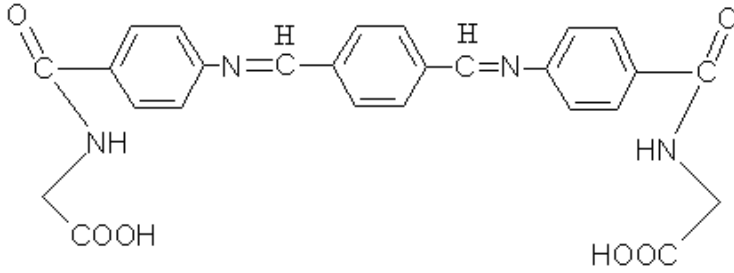
bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerine zararlı etkileri ve son ürünlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden oldukları düşünülmektedir [26].

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehytler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Böylece, birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olurlar. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hem insanlardaki ve hem de doğadaki lipid peroksidasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için antioksidanlar kullanılmaktadır [27].

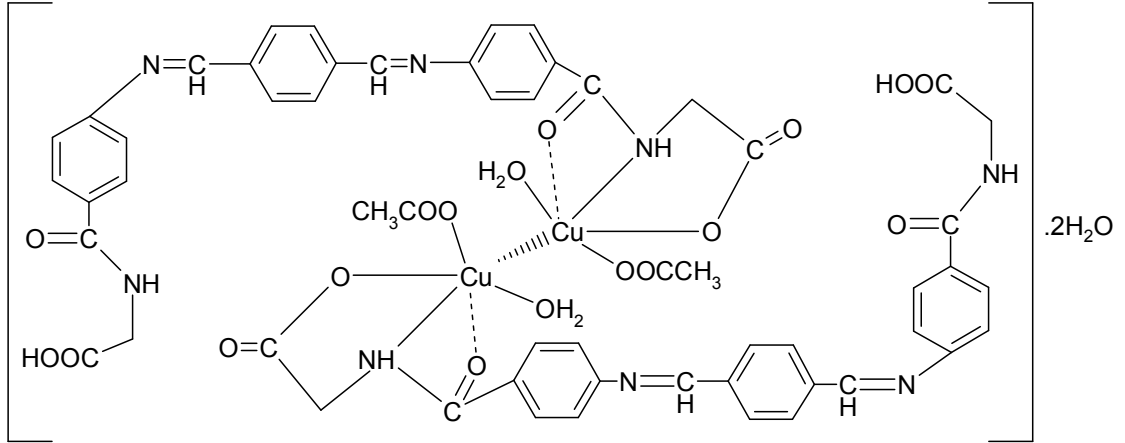
2. MATERYAL ve METOT

2.1. Uygulamalarda Kullanılan Bileşikler

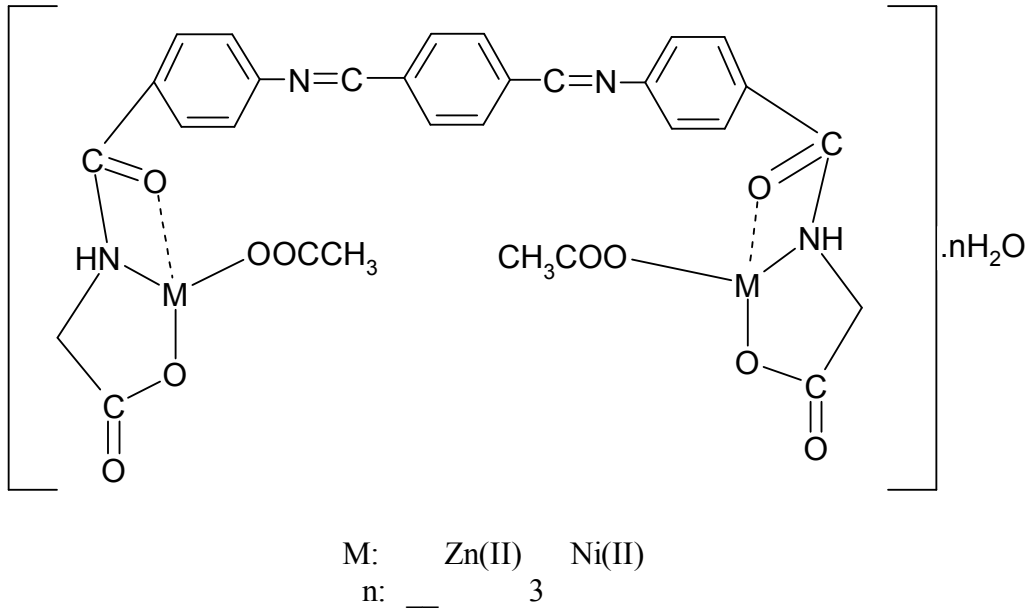
Uygulamalarda, terefaldehit'den türevlendirilmiş Schiff bazı türevi ve metal kompleksleri kullanılmıştır.



Şekil 2.1. {4-[(4-{[4-(karboksimetilkarbamoil) fenilimino] metil} benziliden) amino] benzoilamino} Asetik Asit Ligandının Yapısı



Şekil 2.2. [Cu₂L₂(AcO)₂.(H₂O)₂].2H₂O 'nin Yapısı



Şekil 2. 3. $[Zn_2L(AcO)_2]$ ve $[Ni_2L(AcO)_2] \cdot 3H_2O$ ' nin Yapısı

2.2. {4-[(4-{[4-(karboksimetil karbamoil) fenilimino] metil} benziliden) amino] benzoilamino} Asetik Asit Ligandının (L), Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) Komplekslerinin Sentezi

1.00 g (2.0 mmol) ligand (L) alınıp 20 mL 110 °C'de sıcak DMF'de reaksiyon balonunda çözüldü, çözüldükten sonra yine DMF'de çözünen $[Cu(Ac)_2 \cdot H_2O]$ (0.153 g, 0.7 mmol), $Ni(Ac)_2 \cdot 4H_2O$ (0.190 g, 0.76 mmol) ve $Zn(Ac)_2$ (0.145 g, 0.65 mmol) metal asetatlar ligand çözeltileri üzerine damla damla ilave edildi ve karıştırıldı. Elde edilen çöktürler sıcak DMF ve metil alkolle yıkanarak, çöktürüldü. Bileşiklere ait bazı değerler Tablo 2. 1'de özetlenmiştir.

2.3. Uygulamalarda Kullanılan Hücreler

Antitümör aktivitenin belirlenmesi için MCF-7 Hücre Kültürü (insan göğüs kanseri hücresi) ve antioksidan aktivitenin belirlenmesi için *Saccharomyces cerevisiae* maya hücreleri kullanıldı.

Fungi alemine dahil olan *Saccharomyces cerevisiae* tek hücreli bir mikroorganizmadır. *Saccharomyces cerevisiae* askomisetik bir mayadır. Maya terimi tomurcuklanma ve enine bölünme gibi yöntemlerle aseksüel (eşeysiz) olarak üreyen, bir zigotdan veya partenogenetik olarak tek bir somatik hücreden oluşmuş serbest bir askus içerisinde

askorporlar üreten, dominant olarak tek hücreli bir tollusa sahiptirler. *Saccharomyces cerevisiae* diğer mayalar gibi karbonhidratları fermente eder. Bira yapımı ve fırıncılıkta kullanılır. Mayaların yüksek vitamin içeriği, besin olarak değerlerini artırır. Birçok *Saccharomyces cerevisiae* türü diğer vitaminler yanında özellikle B vitaminini sentezlerler [28]. *Saccharomyces cerevisiae* malt extract broth'da aşılınıp etüvde 25 °C'de inkübe edildi ve eksponensiyel fazda 10⁶ hücre/mL alınarak deneysel çalışmalar gerçekleştirildi. Bu hücreler sıklıkla moleküler düzeyde oksidatif strese metabolizmanın cevabı çalışmalarında bir model olarak kullanılmaktadır [29].

Tablo 2.1. Ligand ve Komplekslerin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Bileşik Formülü	Verim (%)	Mol Ağı (g/mol)	Elementel Analiz % Teorik(Deneysel)			μ (B.M)
			C	H	N	
C ₂₆ H ₂₀ N ₄ O ₆ (L)	67,00	484	64,19 (63,68)	4,54 (4,44)	11,52 (11,52)	—
[Cu ₂ L ₂ (AcO) ₂ .4H ₂ O].4H ₂ O	56,00	1356,7	49,53 (50,78)	4,56 (50,78)	8,25 (9,22)	0,40
[Ni ₂ L ₂ (AcO) ₂].3H ₂ O	64,00	773,2	46,66 (48,69)	4,14 (4,96)	7,25 (8,84)	2,46
[Zn ₂ L ₂ (AcO) ₂]	66,00	732,6	49,14 (48,56)	3,54 (3,59)	7,64 (7,54)	—

2.4. MCF-7 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi

Hücre kültür bankasından (ATCC, ABD) aldığımız donmuş haldeki MCF-7 insan göğüs kanseri hücreleri oda sıcaklığında çözdürülerek 75 ml flask içerisine aktarıldı. Flask'ın içerisine daha önceden hazırlanmış olan DC₅ (25 ml) ilave edildi ve flasklar, Nuaire marka, %5 CO₂ ortamlı inkübatöre (*Playmouth, MN, ABD*) yerleştirildi. Günlük olarak hücrelerin durumu Soif marka (*Soif Optical Inc., Çin*) bir inverted mikroskop kullanılarak kontrol edildi ve üçüncü günün sonunda flasklarda bulunan DC₅ çekilerek tazeyle değiştirildi. Bu işlem üç gün aralıklarla sürekli tekrar edildi.

Sayıları artmaya devam eden hücreler flaskın tabanını tamamen kaplayarak üst üste tabakalar oluşturmaya başladılar. 15. günün sonunda flasklardaki medyum çekildi ve

yerine 3 ml tripsin ilave edilerek inkübatöre yerleştirildi. 2-3 dakikada bir flasklar hafifçe sallanarak hücrelerin yapıştıkları yüzeyden ayrılmaları sağlandı. Tüm hücreler flaskın yüzeyinden ayrıldıktan sonra flaskların içerisine 12 ml DC₅ ilave edildi ve dikkatli şekilde tritürasyon (süspansiyonun pipet içerisine çekilip boşaltılarak yapılan ayrıştırma işlemi) yapılarak hücrelerin homojen olarak solüsyona dağılması sağlandı.

Hücreler bir hemositometre kullanılarak sayıldı. Her flaska 5×10^6 hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu konulup üzerlerine DC₅ ilave edildi (toplam hacim 25 ml olacak şekilde) ve tüm flasklar inkübatöre yerleştirildi. Hücrelerin ekimleri, beslenmeleri ve deneyler steril bir Class II Laminair Flow (Biolaf, Ankara) içerisinde gerçekleştirildi [30,31].

2.5. Kullanılacak hücre sayısı ve madde dozlarının belirlenmesi

MCF-7 göğüs kanseri hücreleri, flasklara tripsin ilave edilerek yerlerinden söküldü ve hücre süspansiyonu 2000 rpm devirde 5 dakika santrifüj edildi. Tüplerdeki tripsin medyum karışımı alınarak yerine DC₅ ilave edildi. Tritürasyon ile hücrelerin *single cell suspension* haline gelmeleri sağlandı. Hemositometre kullanılarak hücreler sayıldı ve hücre sayısı MCF-7 hücre deneyleri için 1×10^6 / ml, hücreye ayarlandı. Dozların belirlenmesinde ön denemeler yapıldı ve aşağı yukarı yöntemi kullanıldı [32].

Hücre süspansiyonundan birer ml deney tüplerine aktarıldı ve üzerine test edilecek ajanlar 7,5 15, 30, 60 μ M, konsantrasyonlarda ilave edildi. Negatif kontrol tüplerine aynı miktarda serum fizyolojik, *Vehicle* tüplerinde aynı miktarda DMSO ilave edildi ve tüpler inkübatöre yerleştirildi. Hücre süspansiyonlarındaki DMSO miktarı %1 den fazla değildi. 24 saat sonra tüpler inkübatörden çıkarılarak tritürasyon yapıldı ve hücre süspansiyonu % 0,4 tryphan blue ile 1:1 (v/v) oranında rasgele seçilen 100 adet hücre hemositometrede sayıldı. Hücre canlılığı yüzde olarak ifade edildi. Aynı işlem 48 saat sonra tekrar edildi ve deney sonlandırıldı [32].

2.6. In vitro Antioksidan Aktivite Ölçümleri

2.6.1. Saccharomyces cerevisiae ile Ölçüm

Antioksidan aktivite için ise geliştirilen hücrelerden her 1 ml sinde farklı sayıda hücre içeren 2 farklı örnek üzerine aktivitesi ölçülecek ligand ve komplekslerden son

konsantrasyonu 50 ve 100 μM olacak şekilde ilaveler yapıldı. Madde ilavesinden 24 saat sonra MDA miktarları ölçüldü. İlgili literatürlerle kıyaslanarak [33,34,35] ml deki hücre sayısının 10^6 hücre/mL olmasına karar verildi. Maddelerin çözünürlüğü de göz önüne alınarak dozlara karar verildi.

Maddelerin antioksidan özelliğinin belirlenmesinde, kromatografik yöntemlerden HPLC kullanıldı. MDA için birer deney tüpüne 2 şer ml hücre içeren çözelti konuldu. Maddeler DMSO da çözülerek belirli konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı ve son derişimler 50 μM ve 100 μM olacak şekilde tüplere ilave edildi. Tüm denemeler için tüplerdeki DMSO miktarı eşit olacak şekilde ilaveler yapıldı. Kontrol grubu olarak eşit hacimde DMSO ilave edilen tüpler kullanıldı. Madde ilavesinden sonra belirli süreler beklendi. MDA analizi için kimyasal maddelerle muamele edilmiş hücrelere %15'lik trikloroasetik asitten 250 μL ve 0.5 M HClO_4 'den 750 μL ilave edilerek çalkalandı. Hücreler küçük parçalara ayrıldı ve lizat 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendikten sonra berrak kısım alınarak HPLC'de analizlendi [36].

2.6.2. DPPH Radikal İndirgeme Metodu ile Ölçüm

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için diğer bir yöntem olan DPPH radikal indirgeme metodu kullanıldı [37]. Metanolde 2,5 mg/L DPPH olacak şekilde hazırlanan çözeltiden 4 ml alınarak her madde için ayrı ayrı tüplere kondu. Derişimleri 4000 μM olarak hazırlanan DMSO'da çözülmüş test maddelerinden her bir grup için öncelikle 1 μL 'lik ilave ile son derişimleri 1 μM olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyonun oluşması için bu karışım oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dk bekletildi. Bu işlem 5 μL 'lik ilave ile son derişimin 5 μM olduğu, 50 μL 'lik ilave ile derişimin 50 μM olduğu, 100 μL 'lik ilave ile derişimin 100 μM olduğu durumlarda da tekrarlandı. Renk açılımına bakılarak 517 nm'de spektrofotometrede okutulup okutulmayacağına karar verildi. Renk açılımı gözlenmediğinden spektrofotometrede okutma yapılmadı.

2.7. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadaki bütün istatistiksel analizler; SPSS istatistik programı ile yapıldı. Deneysel çalışmalar sonunda elde edilen veriler, antitümör özellik için One- way Anova analizi Tukey testi ve MDA analizi için ise LSD testi ile yapılarak değerlendirildi

3. BULGULAR

Elde edilen bulgular parametrelerin her birinde uygulama boyunca grupların kontrol grubu ile kıyaslarını gösterecek tablolar halinde verildi. Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerine ait canlı hücre sonuçları Tablo 3.1 de, yine maddelerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin MDA düzeylerine ait sonuçlar Tablo 3.2 de verilmiştir.

Tablo 3.1. Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerinin süreye ve doza göre % de oranında canlılık durumları

a) 24 Saat				
Grup n=6	7.5 µM	15 µM	30µM	60µM
K	93,00±1,06	90,33±0,56	82,83±1,51	74,50±0,76
Lig	68,00±2,13 ^c	49,00±2,57 ^c	50,66±1,33 ^c	18,17±2,59 ^c
Cu	81,33±1,05 ^c	67,00±1,39 ^c	60,00±2,37 ^c	29,66±1,20 ^c
Zn	39,16±1,95 ^c	30,50±1,18 ^c	30,00±0,82 ^c	9,17±2,68 ^c
Ni	56,33±3016 ^c	5083±4,38 ^c	34,50±1,43 ^c	15,33±1,87 ^c
b)48 Saat				
Grup n=6				
K	83,83±1,05	79,83±1,37	83,16±1,42	71,66±0,76
Lig	49,33±2,82c	36,50±2,23c	34,66±1,89c	11,00±4,16c
Cu	69,83±1,25c	37,17±5,01c	45,66±0,95c	5,00±2,25c
Zn	16,83±1,26c	6,66±2,12c	3,00±1,91c	2,83±1,56c
Ni	34,17±1,22c	27,66±3,36c	13,83±1,54c	0,83±0,54c

a:P<0.05 b:P<0,01 c:P<0.001

Tablo 3.2. Maddelerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin 24 saatlik MDA (mg/2.10⁶ hücre) Düzeylerinin Dozlara Göre Ortalama Değerleri

MDA (n=2)	(50 µM)	(100 µM)
Kontrol	0,62±2,44E ⁻¹	0,62±2,44E ⁻¹
L	1,05±0,79E ^{-1b}	1,15±0,03E ^{-1b}
L-Cu(II)	1,01±0,30E ^{-1a}	1,10±0,29E ^{-1b}
L-Zn(II)	1,13±0,04E ^{-1a}	1,16±0,20E ^{-1b}
L-Ni(II)	1,02±0,58E ^{-1a}	1,04±0,04E ^{-1b}

Not: Bu tablodaki standart sapma değerleri E⁻¹ ile çarpılmış şekilde sunulmaktadır
a:P<0.05 b:P<0,01 c:P<0.001

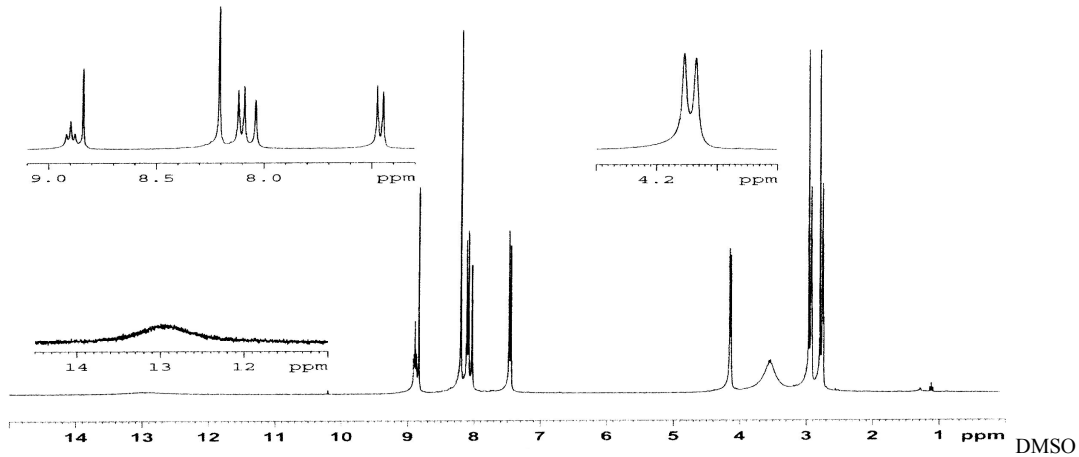
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Sentez ve yapı tayini

{4-[(4-{[4-(karboksimetil karbamoil) fenilimino] metil} benziliden) amino] benzoilamino}asetik asit ligandının (L), Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) kompleksleri sentezlendi. Ligand ve komplekslerin yapıları elementel analiz, magnetik süsseptibilite, TGA, IR, UV, ^1H -NMR teknikleri kullanılarak açıklandı.

4-[(4-{[4-(karboksimetil karbamoil) fenilimino] metil} benziliden) amino] benzoilamino}asetik asit ligandının (L) ^1H -NMR spekturumunda (Şekil 4.1.) 12,2-13,8, 8,86, 7,45-8,21, 4,15, 8,91 ve 3,3-3,8 ppm aralığındaki pikleri sırasıyla $-\text{COOH}$, $\text{CH}=\text{N}$ -, Ar-CH , Alif-CH , CONH ve DMSO-DMF çözücülerinin protonlarını göstermektedir.

Elementel analiz sonuçlarına göre Ni(II) ve Zn(II) kompleksleri oluşurken 1 mol ligand ile 2 mol metalin bağlandığı, Cu(II) da ise sentezlenen ligandın 2 mol ligand ile 2 mol metalin bağlandığı tespit edilmiştir. Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) asetat tuzları ile $[\text{Cu}_2\text{L}_2(\text{AcO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Ni}_2\text{L}(\text{AcO})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ve $[\text{Zn}_2\text{L}(\text{AcO})_2]$ tipinde kompleksler verdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. 4-[(4-{[4-(karboksimetilkarbamoil) fenilimino]metil} benziliden) amino] benzoilamino}asetik asit ligandının (L) ^1H -NMR spekturumu

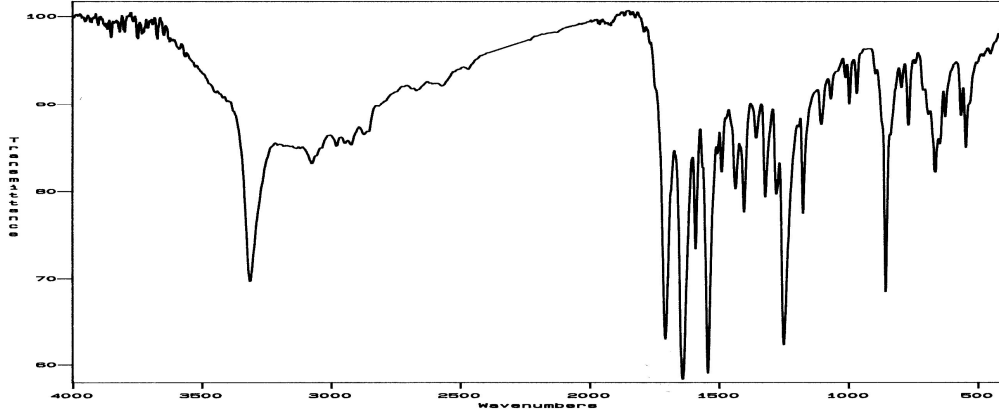
Ligand (L)'in IR spekturumunda 3439 cm^{-1} 'da görülen $-\text{OH}$ gerilme titreşimleri $[\text{Cu}_2\text{L}_2(\text{AcO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Ni}_2\text{L}(\text{AcO})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ komplekslerinde $3350\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ yayvan bir pik olarak gözlenmiştir. Termal analiz sonuçları da göz önüne alındığında komplekslerdeki kristal suyunun $-\text{OH}$ gerilme titreşimi olarak belirlenmiştir. Ligand (L)

deki karboksilik asit grubuna ait $\sim 1698 \text{ cm}^{-1}$ C=O gerilme titreşimi ligandın kompleksleşmesiyle asimetrik titreşim $\nu_{as}(\text{C-O})$ $1543\text{-}1550 \text{ cm}^{-1}$ ve simetrik titreşim $\nu_s(\text{C-O})$ $1296\text{-}1323 \text{ cm}^{-1}$ deki bandlar olarak görülmektedir [38,39]. Liganda 1597 cm^{-1} gözlenen azometin (CH=N) grubuna ait gerilme titreşimi komplekslerde önemli bir değişime uğramamıştır. Komplekslerde $466\text{-}497 \text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen M-O pikleri metal iyonunun oksijen atomu ile koordinasyona girdiğini göstermektedir. Ligand da gözlenen N-H gerilme titreşimleri komplekslerde kaymaya uğramıştır. Ayrıca komplekslerde M-N bağlarının da görülmesi azot atomunun metal ile koordinasyona girdiğini göstermektedir. Ligand da C=O gerilme titreşimi 1626 cm^{-1} de görülürken komplekslerde $5\text{-}10 \text{ cm}^{-1}$ e kayarak metalle koordine kovalent bağ yapmıştır [40].

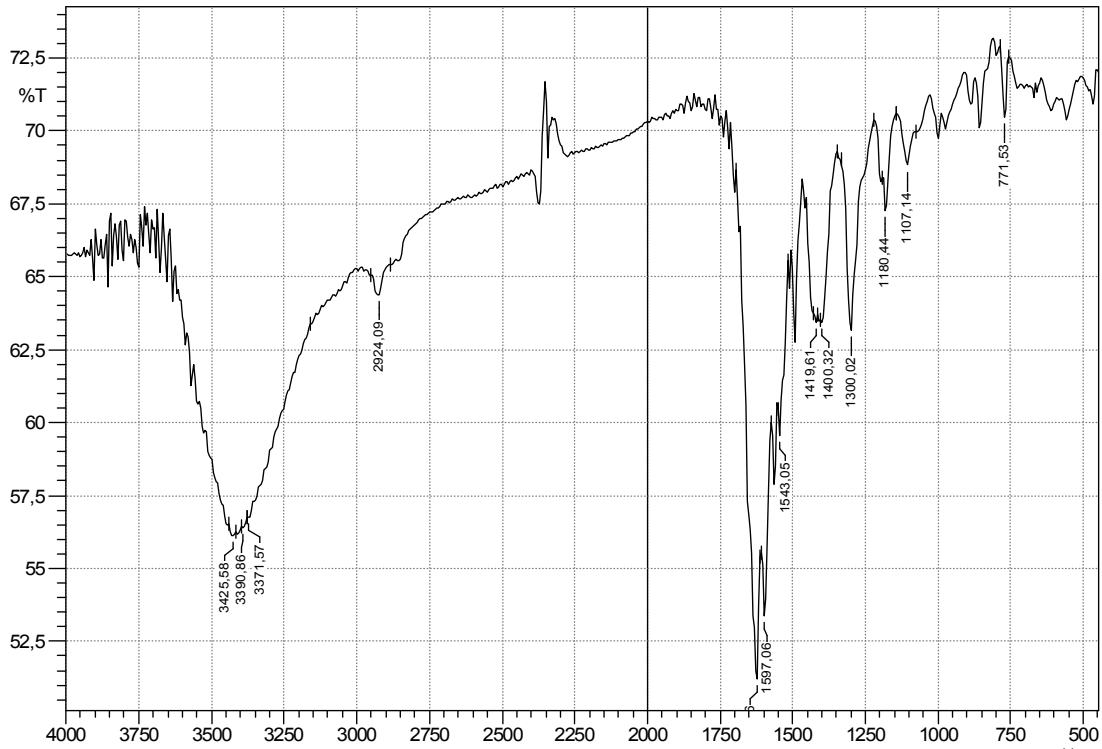
Komplekslerin magnetik süsseptibilite ölçümlerinde Cu(II), Ni(II) komplekslerinin paramagnetik Zn(II) komplekslerinin diamagnetik olduğu görülmüştür. $\text{Ni}_2\text{L}(\text{AcO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin magnetik moment değeri 2.46 B.M olarak ölçülmüştür. Kompleksin UV spektrumunda 350 nm civarlarında liganda ait geçişler bulunmaktadır. $[\text{Ni}_2\text{L}(\text{AcO})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ kompleksi 9100 ve 16400 cm^{-1} bantlar gözlenmiştir bu bantlar ${}^3\text{T}_1(\text{F}) \rightarrow {}^3\text{A}_2(\text{v}_2)$ ve $3\text{T}_1(\text{F}) \rightarrow {}^3\text{T}_1(\text{P})$ (v_3) geçişleridir ve tetrahedral yapıyı desteklemektedir. $[\text{Cu}_2\text{L}_2(\text{AcO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ komplekslerinin magnetik moment değeri 0.40 B.M olarak ölçülmüştür. Magnetik moment değerlerinin düşük çıkmasının nedeni moleküler etkileşimlerden ve/veya Cu(II) iyonları arasındaki güçlü antiferromagnetik etkileşimden kaynaklanmaktadır [41]. $[\text{Cu}_2\text{L}_2(\text{AcO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ kompleksine ait UV geçişleri 17241 cm^{-1} 'de yayvan bir pik gözlenmiştir. Bu pik ${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^3\text{T}_{2g}$ geçişidir ve oktahedral yapıyı göstermektedir. $[\text{Zn}_2\text{L}(\text{AcO})_2]$ kompleksinde 24500 cm^{-1} 'de pikler gözlenmiştir. Bu pik Ligand-metal yük aktarım geçişine aittir.

Komplekslerin termal karalılıkları TGA ve DTA ile incelenmiştir. TGA ve DTA eğrileri $25^\circ\text{C}\text{-}1000^\circ\text{C}$ aralığında N_2 atmosferinde $15^\circ\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızı ile elde edilmiştir. $\text{Zn}_2\text{L}(\text{AcO})_2$ kompleksi 360°C 'ye kadar termal olarak kararlılık göstermiştir. Bozunma bu sıcaklıkta başlamıştır. DTA eğrisindeki endotermik pik ile de desteklenmektedir. Bozunma 4 basamakta gerçekleşmektedir. 1000°C 'de bozunma hala devam etmektedir. $[\text{Ni}_2\text{L}(\text{AcO})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin TGA eğrisinde 35°C 'de bozunma başlamıştır ve %6.95 lik bir kütle kaybı 170°C 'de gerçekleşmiştir. Bu kütle kaybı kompleksteki hidratlaşmış 3 mol suya karşılık gelmektedir. Bozunma 5 basamakta gerçekleşmektedir. DTA eğrilerindeki endotermik piklerle de bu bozunmalar desteklenmektedir. $[\text{Cu}_2\text{L}_2(\text{AcO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin TGA eğrisinde 40°C 'de

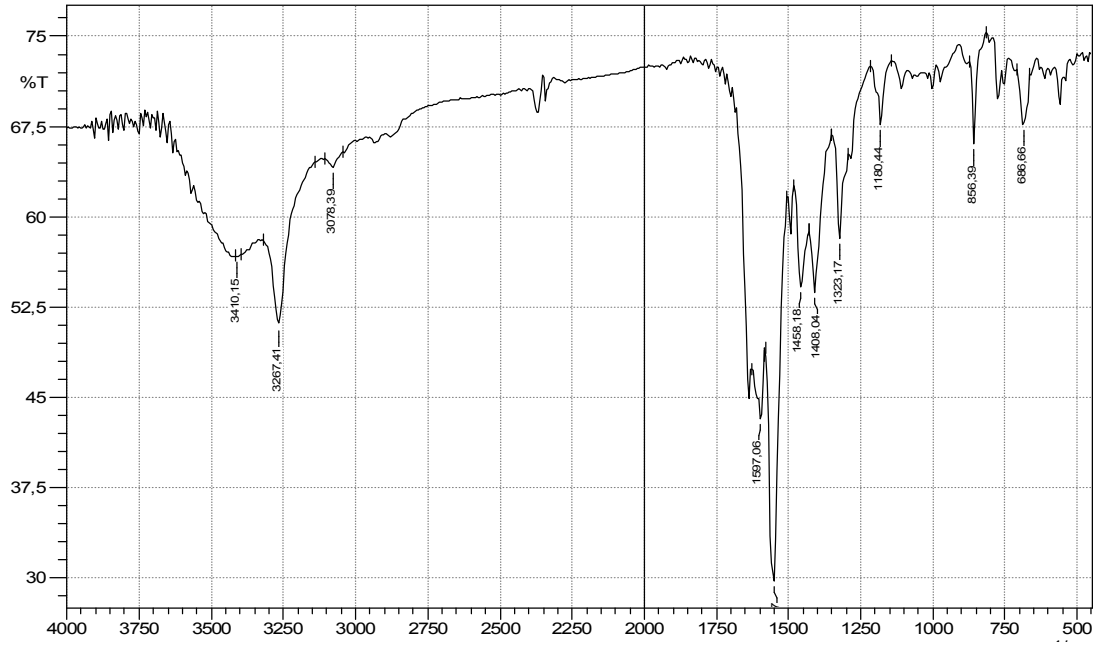
bozunma başlamıştır ve %5.67'lik bir kütle kaybı 195 °C'de gerçekleşmiştir. Bu kütle kaybı kompleksteki hidratlaşmış 4 mol suya karşılık gelmektedir. % 6,07'lik bir kütle kaybı da 250 °C'de gözlenmiştir, bu kütle kaybı kompleksteki 4 mol koordinasyon suyu olarak tespit edilmiştir. UV; IR ve elementel analiz sonuçları da TGA verilerini desteklemektedir. Tüm komplekslerin bozunma eğrileri 1000 °C'de hala devam etmektedir. Komplekslere ait TGA eğrileri aşağıda gösterilmiştir.



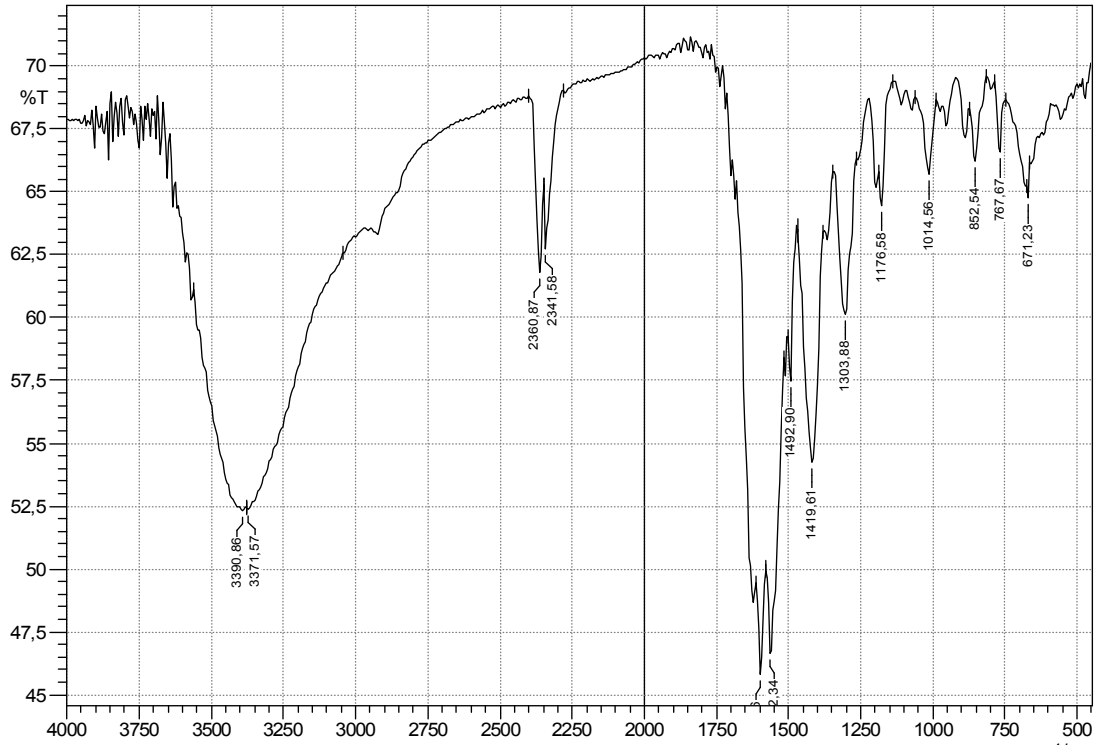
Şekil 4.2. 4-[(4-{[4-(karboksimetilkarbamoyl)fenilimino]metil}benziliden) amino] benzoilamino} asetik asit ligandının (L) IR spekturumu



Şekil 4.3. Cu kompleksinin karakteristik IR bandları

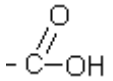


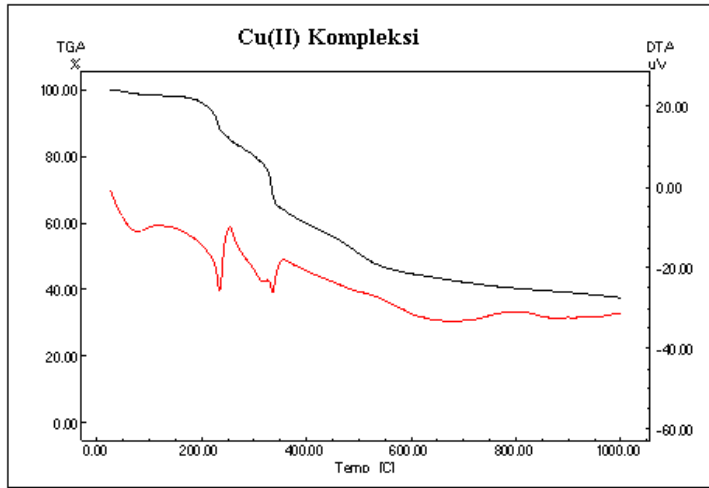
Şekil 4.4. Zn(II) kompleksinin karakteristik IR bandları



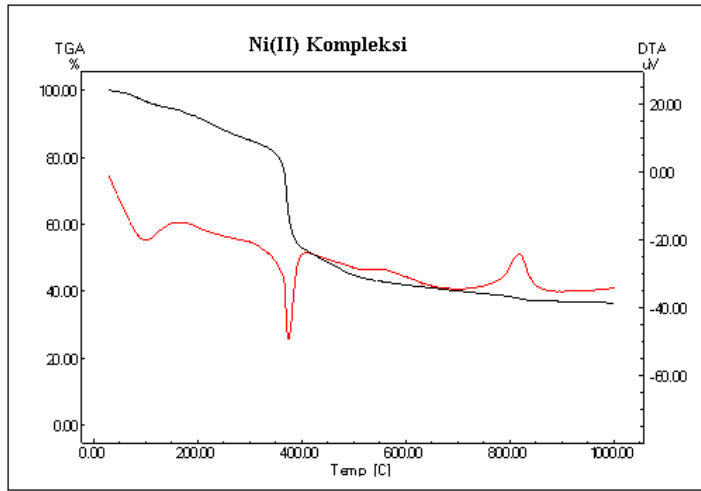
Şekil 4.5. Ni(II) kompleksinin karakteristik IR bandları

Tablo 4.1. Ligand ve Komplekslerin Karakteristik IR Bandları

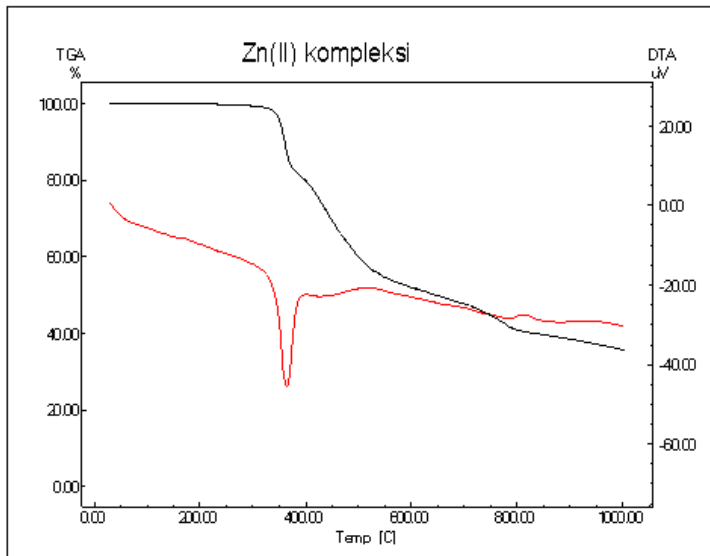
Fonksiyonel Grup		$\nu(\text{N-H})$	Arom. (-CH)	Alif.(- CH)	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=O})$ (COOH)	$\nu_{\text{as}}(\text{C-O})$ (COO ⁻)	$\nu_{\text{s}}(\text{C-O})$ (COO ⁻)	$\nu(\text{M-O})$	$\nu(\text{M-N})$
Ligand (L)	3434	3319	3058	2923	1597	1626	1698	-	-	-	-
[Cu ₂ L ₂ (AcO) ₂ .4H ₂ O].4H ₂ O	3390- 3425	3250-3300	3120	2924	1597	1620	-	1543-1500	1300	466-497	520-525
[Ni ₂ L(AcO) ₂].3 H ₂ O	3352- 3390	3250-3360	3128	2924	1597	1600	-	1543-1547	1296	470-475	506-510
[Zn ₂ L(AcO) ₂]	3410	3267	3078	2924	1597	1610	-	1550	1323	475-480	510-514



Şekil 4. 6. Ligandın Cu(II) kompleksi



Şekil 4. 7. Ligandın Ni(II) kompleksi



Şekil 4.8. Ligandın Zn(II) kompleksi

4.2.Biyolojik Özellikler

Serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok durulan ve araştırılmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücrel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücrel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması ile bu moleküllerin kanser, şeker, kalp hastalıkları gibi birçok hastalıkla ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır [42].

Biyolojik sistemlerde hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de yabancı maddelerin etkisiyle meydana gelen serbest radikaller hücre membranlarına zarar verirler ve değişik hastalıklarda etkilerini gösterirler. Organizmadaki bu bileşiklerin zararlı etkilerine karşı küçük molekül ağırlıklı radikal tutucuları ve enzimlerden oluşan savunma sistemleri bulunmaktadır. Serbest radikallerin reaktif yapıları ve çok kısa ömürlü olmaları doğrudan tayınlarnı güçleştirmektedir. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının ürünleri ve savunma sistemlerinin incelenmesi pek çok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir [43].

Yapılan bir çalışmada tiyosemikarbazon türevi ihtiva eden Schiff bazı türevi ve Cd(II) metal kompleksi ratlara yüksek dozlarda deri altına enjekte edildiğinde, Cd(II) metal kompleksinin oksidatif stres oluşturarak, serumda antioksidan vitaminlerden A ve E'nin düzeylerinde azalma, serum MDA düzeyinde ise yükselme meydana getirdiğı, testis dokusunda ise hasar oluşturduğı görülmüştür (11). Yine başka bir çalışmada, bu Schiff bazı türevi ile Zn(II) ve Cu(II) metal kompleksleri deri altı uygulandığında, ligandın antioksidan parametreleri etkilemediğı, Cu(II) kompleksinin Cd(II) kompleksinde olduğı gibi serum vitamin düzeylerini azaltıp, MDA düzeyini ve ayrıca eritrosit GSH-Px enzim aktivitesini artırdığı gösterilmiştir. Zn(II) kompleksinin ise her hangi bir oksidatif stres oluşturmadığı ve serum E vitamini düzeyinde ise bu vitaminin kullanımını azaltarak artışa neden olup bir antioksidan gibi davrandığı, fakat tüm bileşiklerin serumda metiyonin ve izolösin gibi bazı esansiyel amino asitlerin düzeylerini artırdığı ve karaciğer, böbrek ve adren dokularında her hangi bir hasar oluşturmadığı belirlenmiştir (12).

Yine başka bir çalışmada salisilaldehitden türevlendirilmiş Schiff bazının iki farklı türevi ve metal kompleksleri kullanılmış, bu bileşiklerinde özellikle Cu komplekslerinin MCF-7 hücrelerine karşı düşük dozlarda bile (7,5-15 µM) antitümör aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Ayrıca bu maddelerle muamele edilmiş hücre lizatlarında MDA, vitamin A, E, C düzeyleri ölçülmüş ve genel olarak bu maddelerin hücrelerde oksidatif hasar

oluşturduğu tespit edilmiştir. Özellikle Cu komplekslerinin ortamda oksidatif stres oluşturarak serbest radikal oluşumunu artırdığı görülmüştür. Cu-komplekslerinde Cu(II)'nin indirgenme-yükseltgenme potansiyelinin kompleksin indirgenme-yükseltgenme potansiyelini etkileyerek serbest radikal üretimini tetiklediği daha muhtemel görülmektedir. Burada kullanılan iki tip Cu kompleksinde, birinci tipte, kompleksin yapısına iki molekül ligand girmekte, ikinci tipte ise ligand ve Cu birebir etkileşerek kompleksi oluşturmuştur. Buda aynı konsantrasyonda ikinci tip kompleksde daha az bakır olacağı anlamına gelmektedir. Buradan ligandın yapısının en az bakır toksisitesi kadar etkili olabileceği sonucuna varılmıştır [44].

Bu araştırmada, *in vitro* olarak MCF-7 hücresine uygulaması yapılan Schiff bazı türevi ve metal komplekslerinin süre ve doza bağımlı antitümör aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında farklı etkilere sahip olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada ölçülen parametreler ve deney süresince ölü hücre sayısına bakıldığında Cu, Zn ve Ni komplekslerinin antitümör aktivite göstermiş olduğu görülmektedir.

Cu(II), farklı organların fonksiyonları ve normal gelişim için esansiyeldir. Hipokupremiya(düşük bakır miktarı), erken doğanlarda düşük doğum ağırlığına sebep olmaktadır. Ayrıca bakır lizil oksidaz, sitokrom oksidaz, ürikaz, askorbat oksidaz, trizonaz ve Zn Cu süperoksit dismutaz gibi birçok enzimin fonksiyonu için gereklidir [45].

Cu(II), karaciğerde sentezlenen ve özel bir metaloprotein olan seroplazmin yapısında bulunmaktadır. Seroplazmin konsantrasyonunun ölçülmesi klinikte Wilson hastalığının tanısında kullanılmaktadır. Wilson hastalığı bakırın proteinine bağlanmasını sağlayan enzimin veya taşıyıcı proteinin eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir. Wilson hastalığında plazmanın albumine bağlı bakır konsantrasyonu artmakta, seroplazmin düzeyi ise belirgin olarak azalmaktadır [46].

Zn(II), vücuttaki farklı organların fonksiyonları ve düzenli gelişim için gerekli olan bir eser elementtir. Çinko eksikliği negatif azot dengesi, psikiyatrik semptomlar, organizmanın savunma sisteminde zayıflama, yara iyileşmesinde gecikme ve gelişim bozukluğu ile görülebilir. Araştırmalarda, çinkonun lenfosit hücrelerinin çoğalmasında ve hücre ürünlerinin düzenlenmesinde önemli rol oynadığını göstermiştir [46].

Zn, insülin hormonunun depolaması, salgılanması ve aktivitesinde büyük önem taşımaktadır. Ayrıca asit/baz dengesinde çok büyük önem taşıyan karbonikalkali dehidrogenaz başta olmak üzere karboksipeptidaz, dehidropeptidaz, ürikaz gibi enzimlerin

yapısında bulunmaktadır. Ağır metallerin detoksifikasyonlarında, yangı olaylarının gelişmesinde ve metallotioneinlerin yapısında çinko bulunmaktadır [47].

Yapılan başka bir çalışmada Schiff bazı ve onun Cu(II), Zn(II), komplekslerinin antimikrobiyal sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Cu(II) ve kompleksleri T-lymphoslastic lösemi hücrelerine karşı (CD_{50} 2.20 ve 2.30 $\mu\text{g/ml}$ değeri ile güçlü sitotoksik etki yaparken Schiff bazı (CD_{50} 5,90 μgml^{-1}) değeri ile sitotoksik etki yapmıştır. Aynı zamanda Cu(II) kompleksi kolon kanserine karşıda etkili olmuştur. S- benziltiokarbazat α -tocoferol (vitamin E) ile karşılaştırıldığında da güçlü bir antioksidan olmuştur [48].

Tablo 3.1 'e bakıldığında ligand ve komplekslerinin MCF-7 hücre tipinde etkili bir antitümör aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda 7,5 μM , 15 μM , 30 μM ve 60 μM 'lık konsantrasyonların 24 ve 48 saatlik değerlerine bakıldığında kontrol grubu ve diğer gruplar arasında önemli ölçüde istatistiksel fark gözlemlendiği görülmektedir. İstatiksel farklar göz önüne alındığında ligand ve metal komplekslerin antitümör aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

Bu araştırmada aynı zamanda hücrelere uygulaması yapılan Schiff bazı türevleri ve metal komplekslerinin MDA düzeyleri üzerinde olan etkilerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında farklı etkilere sahip oldukları görülmüştür. Kontrol grubu ile ligand ve metal komplekslerinin kıyaslamalarında MDA düzeylerinde istatistiksel farklılıklar gözlemlendi. Tablo 3.2'ye bakıldığında ligand ve metal komplekslerinin MDA düzeylerinin kontrolden yüksek çıktığı görülmektedir. Bu sonuç kullanılmış olan test maddelerinin lipid peroksidasyonunu artırarak hasar oluşumuna sebep olduğunun göstergesi olabilir.

Schiff bazı ve metal komplekslerinin DPPH indirgeme metoduyla serbest radikal temizleme özelliği incelendi. Bu deneyler sonucunda bileşikler radikal temizleme özelliği göstermediğinden antioksidan aktiviteye sahip olmadıkları söylenebilir.

Ayrıca sahip oldukları antitümör aktivite ve *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde MDA düzeyleri üzerine olan etkilerine bakıldığında, maddelerin hücrelerin canlılık durumuna etkisi ile MDA düzeyleri arasında bir ilişki kurulabilir.

En yüksek antitümör aktiviteye sahip olan L-Zn bileşiğinin yine *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde en yüksek MDA düzeylerinin oluşumunu sağlamıştır.

Bileşiklerin DPPH deneyinde radikal temizleme özelliğine sahip olmayışı ile birlikte bu sonuçlar birbiri ile uyum sağlamak ve maddelerin antitümör aktivitesinin oksidatif hasar oluşturan bir mekanizma ile sitotoksik etki sonucu olabileceği düşüncesine götürebilir.

Sonuç olarak; Schiff bazı bileŖiđi ve metal komplekslerinin araŖtırılan özellikleri sayesinde literatür bilgisine katkıda bulunacağı kanısındaız.

5. KAYNAKLAR

- [1] İkizler, A., 1993. "Organik Kimyaya Giriş". Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi, 3. Baskı, Trabzon. 200-201.
- [2] Liberta, A.E., West, D.X., 1992. Antifungal and Antitumour Activity of Heterocyclic Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes, *Biometals*, 5, 121-126.
- [3] Yang, Z.Y., , R.D., Yang, F.S., Li, K.B., Yu, 2000. Crystal Structure and Antitumor Activity of some Rare Earth Metal Complexes with Schiff Base. *Polyhedron*, 19; 2599-2604.
- [4] Das, A., , M.D., Trousdale, S., Ren, E., J., Lien, 1999. Inhibition of Herpes Simplex Virus Type 1 and Adeno Virus Type 5 by Heterocyclic Schiff Base of Aminohydroxy Guanidine Tosylate. *Antiviral Research*. 44; 201-208.
- [5] Fioravanti, R., , M., Biava, S., Donnaramma, G.,C., Simonetti, A., Villa, A.,P., Puglia, D., Deiddo, C., Maullo, R., Pompei, 1996 Synthesis and Microbiological Evaluations of (N-Heteroaryl)Arylmethamines and their Schiff Base. *IL Farmaco*, 51(10); 643-652.
- [6] Sur, B., Chatterjee, P., Sur, T., Maity, S., Roychoudhury. 1990 Studies on the Antiplasticity of Schiff Bases Containing 5-Nitrofur and Pyrimidine. *Oncology*, 47; 433-438.
- [7] Pires dos Santos M.L., A.F., Alairo, A., S., Mangrich, A.M.,C., Ferreira. 1998 Antioxidant and Prooxidant Properties of some di-Schiff Base Copper(II) Complexes. *J. of Inorg. Biochem.* 71; 71-78.
- [8] Cory, J.G., Cory, A.H., Rappa, G., Lorico, A., Liu, M.C., Lin, T.S., Sartorelli, A.C., 1995, Structure - Function Relationships for a New Series of Prydine-2-Carboxaldehyde Thiosemicarbazones on Ribonucleotide Reductase Activity and Tumour Cell Growth in Culture and in vivo, *Adv. Enz.Regul.*,35,55-68.
- [9] Cory, J.G., Carter, G.L., Bacon, P.E., T'ang, A., Lien, E.J. 1985 Inhibition of ribonucleotide reductase and L1210 cell growth by N-hydroxy-N'-aminoguanidine derivatives. *Biochem. Pharmacol.* 34,1124-1130.
- [10] Durackova, Z., Mendiola, M.A., Sevilla, M.T., Valent, A., 1999. Thiohydrazone Copper (II) Complexes. The Relationship between Redox Properties and Superoxide Dismutase Mimetic Activity, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 48; 109-116.
- [11] Öner H. , M. Karatepe, F. Karatas, J. Öner, İ. Yilmaz, A. Cukurovalı, 2005. "Effects on the Rat Testes of Thiosemicarbazone Derivative Schiff Base (4-(1-Phenyl-Methylcyclobutane-3-yl)-2-(2-Hydroxybenzylidenehydrazino) Thiazole) and its Cadmium (II) Complex." *Cell Biochem. and Function*, 23(6), 427-433.

- [12] **Karatepe, M., F. Karatas,** 2006. Antioxidant, Pro-Oxidant Effect of the Thiosemicarbazone Derivative Schiff Base (4-(1-Phenylmethylcyclobutane-3-Yl)-2-(2 Hydroxybenzylidenedihydrazino) Thiazole) and its Metal Complexes on Rats.” *Cell Biochem. And Function*, 24(6), 547-554.
- [13] **Bulut, H., M. Karatepe, H. Temel, M. Şekerci, M. Koparır,** 2005. “Studies on the Antiviral and Cytotoxic Activity of Schiff bases derived from 1,2-bis-(o-and p-aminophenoxy)ethane and salicylaldehyde,” *Asian Journal of Chemistry*, 14(7), 2793-2796.
- [14] **Brown, W.H,** 1995. Organic Chemistry. Saunders College Publishing., 674–675.
- [15] **Beyer H.,** 1980 Lendburch der Organischen Chemie, S .Hirzel Verlag, 18. Auflage 174–175 Stuttgart.Beyer H., 1980 Lendburch der Organischen Chemie, S. Hirzel Verlag, 18.Auflage 16–17, Stuttgart.
- [16] **Atakol, O.,** Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi; 9-12 Ankara.
- [17] **Fessender, Ralp, J., Fessender, Joan.,** 2001. “Organik Kimya”. 6. Baskı.
- [18] **Aydoğan, F.,** 1993. “Metil-Substitue kinolinkarboksaldehitten Schiff bazlarının sentezi”. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.
- [19] **Kurşunlu, A. N.,** 2008. “Bazı klorlu Schiff bazlarının sentezi ve immobilizasyon uygulamaları”. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Konya.
- [20] **Stoian, I., Oros, A., Moldoveanu, E.,** 1996. Apoptosis and Free Radicals, *Biochem. and Mol. Med.*, 59, 93-97.
- [21] **Wolf, R., Wolf, D., Ruocco, V.,** 1998. Vitamin E : The Radical Protector, *J. of Eur. Academy of Derm. and Ver.*, 10, 103-117.
- [22] **Betteridge, D.J.,** 2000. What is Oxidative Stress?, *Metabolizm*, 49, 3-8.
- [23] **Nordberg, J., Arner, E.S.J.,** 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System, *Free Rad. Biol. and Med.*, 31(11), 1287-1317
- [24] **Repine, J.E.,** 1991, Oxidant - Antioxidant Balance : Some Observation From Studies of Ischemia Reperfusion in Isolated Perfused Rat Hearts, *The Am. J. of Med.*, 91, 45-53.
- [25] **Halliwell, B., Gutteridge, W.M.C.,** 1999. Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford Medicine Press, 246-351.
- [26] **Tamer, L., Polat, G., Eskandari, G., Ercan, B., Atik, U.,** 2000. Serbest Radikaller, Mersin Üniv. Tıp Fak. Dergisi, 1, 52-58.
- [27] **Köse, K., Doğan, P.,** 1992. Lipid Peroksidasyonu, Erciyes Üniv. Tıp Dergisi, Ek 1, 340-350.

- [28] **Biçici, M.**, 1990 Mikrobiyoloji, Çukurova Ü. Ziraat Fak., Adana
- [29] **Herdeiro, R.S., Pereira, M.D., Panek, A.D.**, 2006. Eleutherio, Trehalose protects *Saccharomyces cerevisiae* from Lipid peroxidation during oxidative stres, *Biochimica et Biophysica Acta* 1760, 340–346.
- [30] **Offeing, B.M., Martelli, S.**, 1997. Steochemistry and Antitumour Activity of Platinum Metal Complexes of 2-Acetypyridine Thiosemicarbazones, *Transition Metal Chemistry.*, 22; 263-269.
- [31] **Ferrari, B.M., Capacchi, S., Pelosi, G., Reffo, G., Tarasconi, P., Albertini, R., Pinelli, S., Lungni, P.**, 1999. Synthesis, Structural Charaziation and Biological Activity of Helicin Thisemicarbazone Monohydrate and a Copper (II) Complexes of Salisilaldehydde Thiosemicarbazone, *İnorganica, Chimica Acta.*, 286;134-141.
- [32] **Kumamoto, T., Toyooka, K., Nishida, M., Kuwahara, H., Yashimura, Y., Kawada, J., Kubota, S.**, 1990. Effect of 2,4-Dihydro-3H-1,2,4- Triazole-3 – Thiones and Thiosemicarbazones on Iodide Uptake by The Mause Thyroid , The Relationship Between Their Structure and Antithyroid Activity, *Chem. Pharm. Bull.*, 38(9) ;2595-2596.
- [33] **Esefsi, S. A.**, 2004 Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultured cells exposed to zearalenone, *Toxicology in Vitro* 18 467–474.
- [34] **Shu-Lan Yeh and Miao-Lin Hu**, 2000. Antioxidant and pro-oxidant effects of lycopene in comparison with b-carotene on oxidant-induced damage in Hs68 cells, *J. Nutr. Biochem.* 11:548 –554.
- [35] **Buss, J.L.**, 2004. Oxidative stress mediates of pyridoxal isonicotinoyl hydrazone analogs. *Arc. Of Biochem. And Biophy.*, 421,1-9
- [36] **Karatepe, M.**, 2004. “Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC/UV.” *LC-GC North America.* 22, 362-5.
- [37] **Liyana-Pathirana, C., & Shahidi, F.**, 2005. Optimization of extraction ofphenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, 93, 47-56
- [38] **Refat, M.S., El-Deen, I.M., El-Ghool, S.**, 2006. *Spectrochimica Acta Part A*, 1191.
- [39] **Marzotto, A., Clemente, D.A., Gerola, T., Vale, G.**, 2001. *Polyhedron* 20, 1079.
- [40] **Sönmez, M., Levent, A., Şekerci, M.**, 2004. *Russ. Jour. of Coord. Chem.* 30(9), 655.
- [41] **El-Dissouky, A., Al-Fulij O., and Kandil, S.S.**, 2004 *J. Coord. Chem.* 57, 605.

- [42] **Sudha, K., Ashalatha, V.R., Anjali, R.,** 2001. Oxidative Stres antioxidants in Epilepsy, *Clinica Chimica Acta.*, 303;19-24.
- [43] **Matez, J.M., Gomez, P.C., Casto, N.I.,** 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases, *Clinical Biochemistry.*, 32;595-603.
- [44] **Çakmak., H.,** 1-2-Bis(aminofenoksi)etan Türevi Schiff bazları ve Metal Komplekslerinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Elazığ.
- [45] **Al-Bader, A., Mathew, T.C., Khoursheed, M., Asfar, S., Al-Sayer, H., Dashti, H.M.,** 2000. Thioacetamide Toxicity and Spleen: Histological and Biochemical Analysis, *Anat. Histol. Embryol.*, 29;3-8.
- [46] **Onat T., Kaya, E. I,** 1996. Temel Biyokimya. Saray Medical yayıncılık Bornova/İzmir.
- [47] **Sokol, R.J., Devereaux, M.W., Traber, M.G., Shikes, R.H.,** 1989. Copper Toxicity and Lipid peroxidation in Isolated Rat Hepatocytes: Effect of Vitamin E, *Pediatric Research.*, 25(1); 55-62.
- [48] **Tarafder, M.T.H., Kasbollah, A. Crause, K.A., Ali, A.M., Yamin, B.M., Fun, H.K.,** 2002. Synthesis and Characterization of Zn(II) and Cd(II) Complexes of S-beziyl-β-N(2-pyridyl)methylendithiocarbamate(HHNS) biactivity of HHNS Schiff base and its Zn(II), Cu(II) and Cd(I) Complexes and the X-ray Structure of the [Zn(NNS)₂] Complexes, *Polyhedron.*, 20(18);2363-2370.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimini Elazığ'da tamamladım. 2003 yılında başladığım Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 2007 yılında bitirdim. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Eğitimi Anabilim Dalında Tezsiz Yüksek Lisansa başladım ve bu öğrenimimi 2008 yılında tamamladım. 2008 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında Tezli Yüksek Lisans öğrenimine başladım ve halen bu öğrenimime devam etmekteyim.

