

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİYADİAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLER VE METAL KOMPLEKSLERİNİN
ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Muhammet Fatih TOPÇU

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

(Bu Yüksek Lisans Tezi 104T363 nolu TUBİTAK projesiyle desteklenmiştir)

ELAZIĞ, 2008

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİYADİAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLER VE METAL KOMPLEKSLERİNİN
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Muhammet Fatih TOPÇU

Tez Yöneticisi

Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

(Bu Yüksek Lisans Tezi 104T363 nolu TUBİTAK projesiyle desteklenmiştir)

ELAZIĞ, 2008

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİYADİAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLER VE METAL KOMPLEKSLERİNİN
ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Muhammet Fatih TOPÇU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez, 07/03/2008 tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile başarılı olarak değerlendirilmiştir.

İMZA

Danışman	:	Doç. Dr. Mustafa KARATEPE	
Üye	:	Prof.Dr. Sait ÇELİK	
Üye	:	Doç. Dr. Sevda KIRBAĞ	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, yürütülmesinde ve çalışmalarım süresince destek ve ilgisini esirgemeyen bilgi, tecrübe ve hoşgörülerinden yararlandığım Sayın Hocam Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışması süresince verdikleri desteklerden dolayı Prof.Dr. Mehmet ŞEKERCİ, Dr. Süleyman SANDAL, Muammer BAHŞİ, Işıl YILDIRIM, Zuhale ERGİN, Nevin TURAN, A. Evren PARLAK ve Bölüm Şefimiz Mehmet ORHAN'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Ayrıca yaptığım tez çalışmaları boyunca manevi desteklerini esirgemeyen eşim Seval TOPÇU'ya ve oğlum Musab Emir'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Muhammet Fatih TOPÇU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Tiyadiazol Türevi Bileşikler ve Metal Komplekslerinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi

Muhammet Fatih TOPÇU

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

2008, Sayfa: 44

Bu araştırmada, iki farklı tiyadiazol türevi içeren Schiff bazı ve bunların metal komplekslerinin deri altına enjeksiyonu ile ratların, lipid peroksidasyonunun derecesini gösteren serum MDA konsantrasyonu, antioksidan A, E, C vitaminlerinin düzeyleri üzerine olan etkisi ve antitümör özellikleri araştırıldı.

Deney grupları arasındaki karşılaştırmalarda serum MDA, A, E, C vitamin düzeylerinin istatistiksel olarak değişmediği gözlemlendi. Fakat her iki maddenin ve metal komplekslerinin in vitro antitümör aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

*: Bu çalışma 104T363 nolu TÜBİTAK projesiyle desteklenmiştir.

ABSTRACT

Master Thesis

AN INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES TIADIAZOLE DERIVATIVE AND METAL COMPLEXES.

Muhammet Fatih TOPÇU

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

2008, Page: 44

In this research, the effect of two tiadiazole derivative containing Schiff base and its metal complexes on the MDA concentration which is an andicator of Lipid peroxidation, antioxidant vitamins A, E, C levels in serum of rats which is injected subcutaneously and antitumour activity in cell culture media were investigated.

In the comparision done among groups, it was observed that MDA, Vitamins A, E and C concentrations were not statistically changed. But, cell viability experiments show that all compounds have considerable antitumour activity.

*: This study was supported by numbers 104T363 with TUBİTAK Project.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	VII
TABLoların LİSTESİ.....	IX
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Tiyadiazol Türevi Bileşikler ve Schiff Bazlarının Biyolojik Özellikleri.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....	4
2.1.1.Serbest Radikaller	4
2.1.2.Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu.....	4
2.1.3. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Kaynakları:.....	8
2.1.4. Artmış Reaktif Oksijen Partiküllerinin Zararları:	9
2.2. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA).....	9
2.3. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri	11
2.3.1. Serbest Radikallerle Antioksidan İlişkisi	12
2.3.2. E Vitamininin Antioksidan Etkisi	12
2.3.3. A Vitamininin Antioksidan Etkisi.....	13
2.3.4. C Vitamininin Antioksidan Etkisi	14
2.4. Çalışmanın Amacı.....	14
3. MATERYAL ve METOD	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Hayvan Materyali	15
3.1.2. Grupların Oluşturulması ve Uygulamalar	15
3.1.3. Kan örneklerinin Alınması	16
3.2. Uygulamalarda Kullanılan Bileşikler.....	16
3.3. Uygulamalarda Kullanılan Hücreler	18
3.4. MCF-7 ve L1210 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi	19

3.5. Kullanılacak hücre sayısı ve madde dozlarının belirlenmesi	19
3.6. Örneklerin Analizleri	20
3.6.1. C Vitamini ve MDA Analizi	20
3.6.2. A ve E Vitamini Analizi.....	20
3.7. İstatistiksel Değerlendirme.....	21
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA.....	24
6. KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞİM	34

TABLoların LİSTESİ

Tablo 1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar.....	11
Tablo 2. Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerin süreye ve doza göre canlılık durumları.....	22
Tablo 3. Maddelerle muamele edilmiş L1210 hücrelerin süreye ve doza göre canlılık durumları.....	22
Tablo 4. Maddelerle muamele edilmiş ratların serum MDA, antioksidan vitaminler C, A, E düzeylerine ait sonuçlar	23

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1. Oksijen atomunun orbital yapısı ve Oksijen molekülünden türeyen oksidan molekülleri	3
Şekil 2. Oksidan ve antioksidan denge	7
Şekil 3. Uygulamalarda kullanılan bileşikler.....	18

1. GİRİŞ

1.1. Tiyadiazol Türevi Bileşikler ve Schiff Bazlarının Biyolojik Özellikleri

İnorganik ve organometalik bileşiklerin farmakolojik özellikleri ve etki mekanizmalarının kimyasal temellerinin incelenmesi, ilaç araştırmalarının ilk aşamaları için çok önemlidir (1).Tiyadiazol türevleri ve Schiff bazları da bu sınıf bileşikler olup, sahip oldukları bir çok biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinden dolayı geniş bir şekilde araştırılmaktadır.

Tiyadiazol bileşikleri ve metal kompleksleri antikonvulsant (2,3), antiviral (4), antimikrobiyal (5,6,7), antifungal (8), antitüberküloz (9), antikanser (10) ve antibakteriyel (11), gibi çeşitli farmakolojik aktivitelerinden dolayı kimya ve biyolojide büyük ilgi görmektedir. Beş üyeli bir bileşik olan tiyadiazollerde bir kükürt ve iki azot atomu vardır. Wasfy ve diğ., biyolojik aktif bileşikler elde etmek amacıyla tiyadiazol parçası içeren piridazinlerin yeni serilerini sentezlemişlerdir (12). 1,3,4-tiyadiazol türevlerinin $-N=C-S-$ gruplarından dolayı biyolojik aktivite içerdiği bilindiğinden, Vashi ve diğ., sentezledikleri 2,5-disüstitüye-1,3,4- tiyadiazol türevlerinin biyolojik aktivitelerini incelemişlerdir (13). Ayrıca bu tür bileşiklerin lokal anestezik aktiviteleri (14), sakinleştirici etkileri (15), sitotoksiste ve *in vitro* antitüberküloz aktiviteleri araştırılmıştır (16).

Yine, bu tür bileşiklerin sülfonamit türevlerinin çarpıntı giderici etkileri araştırılmıştır (17).

Schiff bazı türevleri (SB) antiviral, antineoplastik, antimalariyal, antifungal ve antibakteriyel özelliklerinden dolayı kimya, biyoloji ve farmakolojide büyük ilgi görmektedir (18).

Schiff bazları ve metal kompleksleri, antitümör (19), antiviral (20), antimikrobiyal (21), antineoplastik (22), gibi çeşitli farmakolojik aktivitelerinden dolayı geniş şekilde araştırılmaktadırlar. Ayrıca, Schiff bazı bileşiklerinin ve Cu(II) metal komplekslerinin, lipid peroksidasyonunu engelleyerek antioksidatif aktivite gösterdiği de belirtilmektedir (23).

Schiff bazı türevlerinin DNA ve RNA sentezini inhibe edici etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir(24). Bu etki onların ribonükleotit redüktaz (RR) enzimini inhibe etmelerinden kaynaklanmaktadır (25).

Schiff bazı türevleri ve bakır komplekslerinin spektrofotometrik davranışlarının süperoksit dismutaz (SOD) ile mukayesesi yapılan bir çalışmada, bu bileşiklerin geniş spektrumlu biyolojik aktivitelerinin yanı sıra SOD benzeri aktivite gösterdikleri de vurgulanmaktadır (26).

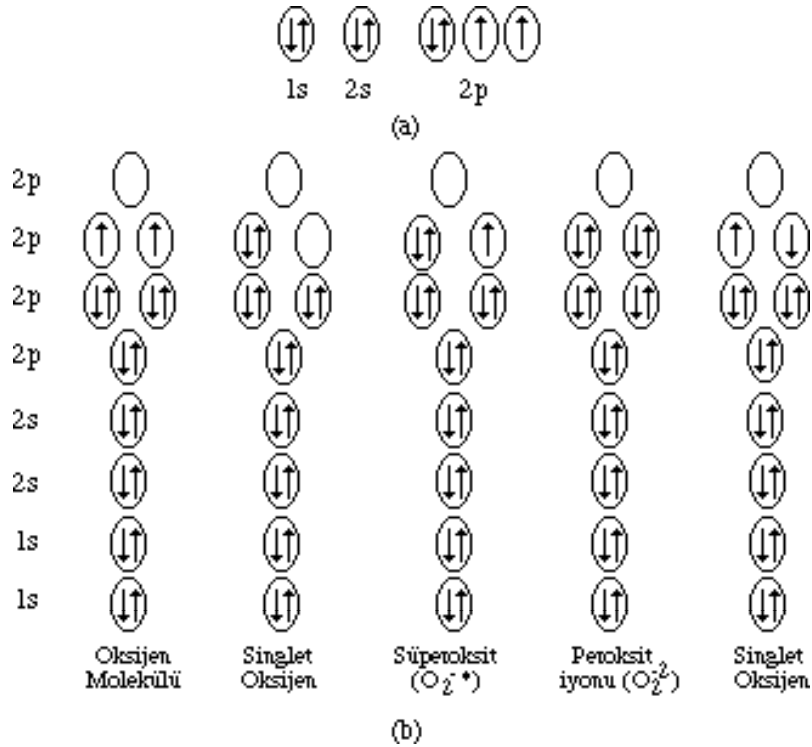
Yapılan çalışmalarda, tiyadiazol türevleri , Schiff bazı türevleri ve bunların çeşitli metal kompleksleri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir (27), fakat tiyadiazol türevlerinin antioksidan, prooksidan ve biyolojik aktiviteleri incelenmemiştir. Schiff bazı türevlerinin antioksidan prooksidan özellikleri ile çeşitli dokulara olan etkileri araştırılmış ve ratlarda farklı özellikler sergilediği gösterilmiştir (28,29). 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 (30).

Görüldüğü gibi tiyadiazol bileşiklerinin ve Schiff bazlarının biyolojik aktiviteleri *in vivo* ve *in vitro* olarak bir çok çalışmaya konu olmuştur. Ligandın yapısı ve konformasyonu ile koordinasyon bileşiklerindeki merkez atomunun redoks potansiyellerinin bu tür bileşiklerin biyolojik aktivitelerini etkilediği belirtilmektedir (26). Bu gibi çalışmalar daha aktif komplekslerin sentezini veya doğal biyokoordinatif bileşiklerin davranışını anlamaya yardımcı olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Atomun yapısı, bir çekirdek ve çevresinde bulunan değişik sayıda elektronlardan oluşmaktadır. Enerji düzeylerine göre belirli bir düzende yerleşen elektronlar, orbital adı verilen yörüngelerde hareket etmektedirler. Her orbitalde yerleşik iki elektron, birbirine zıt yönde kendi eksenini etrafında dönmektedir. Buna uygun olarak her bir orbitale bir tane aynı yönde dönen elektron yerleşmekte ve atom numarasına göre sayıları artan aynı sıra ile ters yönde dönecek şekilde orbitale yerleşmektedir.

Oksijen atomunun atom numarası 8, elektron sayısını vermektedir. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p orbitali önem taşımaktadır. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron bir orbitalden diğerine geçtiğinde veya farklı orbitallerde farklı yönde döndüğünde singlet oksijen oluşmaktadır. Orbitallerden birine veya ikisine ters dönüşlü bir veya ters dönüşlü iki elektron yerleştirilmesi ile radikal elde edilmektedir. Doğal oksijen molekülünde çeşitli oksidan molekülleri meydana gelmektedir (Şekil.1) (31).



Şekil 1. (a) Oksijen atomunun orbital yapısı, (b) Oksijen molekülünden türeyen oksidan moleküller

2.1. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

2.1.1. Serbest Radikaller

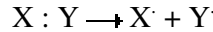
Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkan , atomik veya moleküler yapılarında çiftleşmemiş elektrona sahip, reaktif ve kısa ömürlü kimyasal bileşiklerdir. Serbest radikallere, oksidan moleküller veya en doğru adlandırma ile "Reaktif Oksijen Partikülleri" de denilmektedir (32).

2.1.2. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu

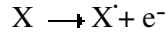
Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler.

Serbest radikaller başlıca üç şekilde oluşabilmektedir.

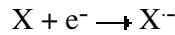
1. Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik kopması sonucu eşlenmiş elektronlardan herbirinin ayrı parçada kalması ile meydana gelebilmektedir.



2. Bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu oluşabilmektedir.



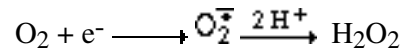
3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile elde edilebilmektedir.



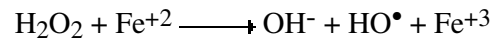
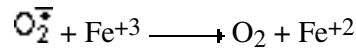
Negatif yüklü elektron sayısının çekirdekdeki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküller oldukları için dayanıklı olmayan serbest radikaller, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükle dengelemeleri gerektiğinden çok reaktiftirler. Tek elektronunu bir başka moleküle verebilen bu radikaller, bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilmektedirler. Sonuçta radikal olmayan bir yapı, radikal şekline dönüşebilmektedir (31).

Oksijenin dış moleküler yörüngesine bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektronların eklenmesi yaygın şekilde bulunan bu molekülü güçlü bir toksine, bir serbest oksijen radikaline dönüştürür. Serbest radikallere yaygın birkaç örnek olarak merkezinde oksijen bulunan süperoksit anyonu (O_2^-), kükürt bulunan tiyil ($RS^\cdot$), karbon bulunan triklorometil (CCl_3) ve çiftleşmemiş elektronun her iki atom arasında delokalize olduğu nitrikoksit (NO) verilebilir. (33)

Bir serbest radikalın başlangıç ürünü moleküler oksijenin indirgenmesiyle oluşan süperoksit anion radikalidir (O_2^-). 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 çözeltiden iki proton alarak hidrojen perokside dönüşür.



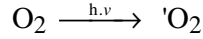
Canlı sistemlerde oksijen radikalinin zararlı etkilerine dikkat edilmesi ve bu radikallerin oluşumu ile hemen etkilerinin uzaklaştırılması gerekir. Aksi halde bunlar Fe veya Cu gibi iki değerli katyonları katalizleyerek daha etkili bir serbest radikal olan hidroksil radikalini oluştururlar (34).



Ferrik demir (Fe^{+3}) önce süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek ferröz demire (Fe^{+2}), ardından da hidroksi radikali oluşturmak için yeniden H_2O_2 ile oksitlenmektedir. Bu iki basamaklı reaksiyon süperoksit ile oluşan Fenton Reaksiyonu olarak bilinir (35)

$HO^\cdot$ radikali, canlı sistemlere çok zararlı olabilecek çok güçlü bir radikaldir. Birçok hastalıklara sebebiyet verebilecek biyokimyasal değişimleri oluşturulabilir (36). Serbest radikaller belli miktarlarda hücreler tarafından bazı hücre içi redoks ve sinyal farklılıklarını göstermek gibi fizyolojik faydalar için kullanılabilir (37).

Oksijenin diğ er bir metaboliti de singlet oksijendir ('O₂). Bu molekül oksijenin enerji yakalamasıyla şekillenir.



Singlet oksijen serbest radikal değıildir (38). Ancak biyokimyasal olaylarda önemlidir ve doku hasarlarına yol açabilir. Bu zararlarının ortadan kalkışı vitamin A ve diğ er retinoitler veya  -karoten ve diğ er karotenoitler gibi antioksidanların kimyasal değıışmeksizin enerji absorbe eden bileşikler olarak singlet oksijeni biyolojik sistemlere zarar vermeden O₂'ye dönüştürmesiyle olur (39).

Bu açıklamalara göre oksidanlar, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküller ile kolayca elektron alı veri i yapabilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde başka moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde bileşenler (non-radikaller) olmak üzere 2 grupta toplanırlar (40).

1. Radikaller

- Süperoksit radikali (O₂⁻)
- Hidroksil radikali (HO•)
- Alkoksil radikali (LO•)
- Peroksit radikali (LOO•)
- Semikinon radikal (HQ•)
- Hemoproteine bağılı serbest radikaller

2. Non-Radikaller

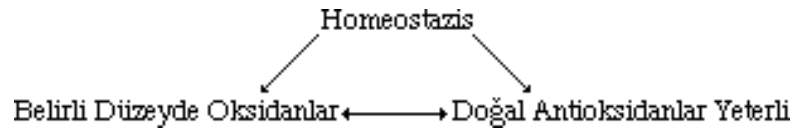
- Hidrojenperoksit (H₂O₂)
- Lipid hidroperoksitler (LOOH)
- Hipoklorik asit (HOCl)
- Hipohal z asid (HOX)
- N-halojenli aminler (R-NH-X)
- Singlet oksijen (O₂)
- Ozon (O₃)
- Azot dioksit (NO₂)

Serbest radikaller organik ya da anorganik yapıli molekülleler olabilir. Stabil olmayıp sisteme yoğun bir kararsızlık veren yük dengesizliklerini gidermek için yani elektron konfigürasyonlarını pozitif yüke dengeleyebilmek için oldukça aktif bir yapı özelliğı gösterirler. Radikallerin aktif olma özelliğı başlıca difüzyon mesafesi ile ilişkilidir. Ancak hidroksi ($\cdot\text{OH}$) radikali son derece yüksek aktif özellikte olduğundan meydana geldiğı hücre bölümünden daha uzağı difüzyona gerek kalmadan oluştuğı yerde derhal reaksiyona girer. Buna karşılık süperoksit radikali, hidroksi radikalinden daha az reaktif olduğ u için açığı çıktığı hücre bölümünden daha uzak noktalara rahatlıkla diffüze olabilir. Ancak bu difüzyon hücre içindeki SOD'ın yüksek konsantrasyonu ile sınırlıdır. Hidrojen peroksit ise mitokondriyal membranlar, peroksizomal membranlar ve plazma membranından kolayca difüze olarak toksik etkisini açığı çıktığı noktadan daha uzak hücre bölümlerinde gösterebilir (41).

Çok kısa yaşam süreleri olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliğine sahiptirler.

Serbest radikaller hücrenin tüm fonksiyonlarında oluşabilme özelliğindedir. Radikal oluşumu hücre tiplerine göre değışiklik göstermesine rağmen tüm aerobik hücrelerde belirli düzeylerde radikal oluşturmaktadır (42).

Oksidanlar, organizmada başlıca glukozun oksidasyonu sırasında olmak üzere tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırası ve sonrasında sürekli bir oluşum ve "endojen antioksidanlar" adı verilen molekülleler tarafından sürekli etkisizleştirilme süreci içindedirler. Sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge (homeostazis) içindedir (43).



Şekil 2. Oksidan ve antioksidan denge

Kanser, romatoid artrit, katarakt, parkinson, şeker hastalığı ülseratif kolon iltihabı ve yaşlanma süreci oksidan moleküllerin etkin olduğu kabul edilen hastalıklar arasında sayılmaktadır (44).

Oksidan moleküller, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (37).

2.1.3Reaktif Oksijen Partiküllerinin Kaynakları:

I - Normal biyolojik işlemler

- 1 - Oksijenli solunum
- 2 - Katabolik ve anabolik işlemler

II - Oksidatif stres yapıcı durumlar

- 1 - İskemi - hemoraji - travma - radyoaktivite intoksikasyon
- 2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi
 - a-) İn hale edilenler
 - b-) Alışkanlık yapan maddeler
 - c-) ilaçlar
- 3 - Oksidan enzimler
 - a-) Ksantin oksidaz
 - b-) İndolamin dioksigenaz
 - c-) Triptofan dioksigenaz
 - d-) Galaktoz oksidaz
 - e-) Siklooksigenaz
 - f-) Lipooksigenaz
 - g-) Monoamino oksidaz
- 4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
- 5 - Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma
- 6 - Uzun süreli metabolik hastalıklar
- 7 - Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara (45).

2.1.4. Artmış Reaktif Oksijen Partiküllerinin Zararları:

- Hücre organelleri ve membrandaki lipid ve protein yapısını bozarlar,
- Hücre içi yararlı enzimleri etkisizleştirirler,
- DNA'yı tahrip ederler,
- Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar,
- Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz, indolamin dioksigenaz, triptofan dioksigenaz, galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive ederler,
- Hücresinin potasyum kaybını arttırırlar,
- Trombosit agregasyonunu arttırırlar,
- Dokulara fagosit toplanmasını kolaylaştırırlar,
- Hücre dışındaki kollagen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar (45).

2.2. 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, aldehytler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle, başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere yükseltgenen tüm hücre elemanları ile etkileşirler (37).

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. Hayvan hücre membranlarında dominant lipidler, gliserol içeren fosfolipidlerdir, ancak bazı membranlar özellikle plazma membranları önemli oranlarda sfingolipidleri ve hidrofobik molekül olan kolesterolü de içerirler(40)

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 (37).

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 (46).

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 (47). MDA (malondialdehit), biyolojik sistemde lipidlerin oksidasyonu sonucunda oluşmaktadır. Radikaller hücre membranına zarar vererek oksidatif stres oluştururlar. Radikallerin hücrede oluşturduğu lipid oksidasyonu sonucunda da hücrede MDA oluşmaktadır (48). 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 (47).

2.3. 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 tanımlanmaktadırlar. Endojen (doğal) ve eksojen (ilaçlar) antioksidanlar olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (37 ,43).

Tablo 1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar

A- Endojen (Doğal) Antioksidanlar		
I. Enzimler	II. Makromoleküller	III. Mikromoleküller
- Süperoksid dismutaz	- Seruloplazmin	- E vitamini ve analogları
- Katalaz	- Transferrin	- C vitamini
-Glutasyon peroksidaz	- Ferritin	- Tiyo içerener: 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		

2.3.1. Serbest Radikallerle Antioksidan İlişkisi

Son yıllarda antioksidanların birçok hastalığa karşı önemi son derece artmıştır. Serbest radikallerin keşfiyle kanser, diyabet, kalp hastalıkları, otoimmün hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar v.b. birçok hastalık ilişkisi belirtilmiştir. Tıbbi bitkilerde antioksidan özellikli maddelerin keşfiyle sağlık alanında kullanımı artmıştır ve birçok hastalığın tedavisinde kullanımı belirtilmiştir.

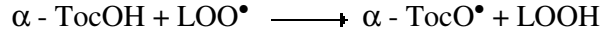
Serbest radikaller son derece reaktif moleküller olup oksidatif strese sebep veren maddelerdir (49). Oksidatif stres hücrede lipitlere, proteinlere, enzimlere, karbonhidratlara ve DNA'ya zarar verir. DNA moleküllerine, enzimlere ve proteinlere bağlanarak proteinlerin parçalanması sonucunda hücre büyük zarar görür (50). Bunun sonucunda da hastalıklar ortaya çıkar.

İnsan antioksidan savunma sisteminde enzimatik savunma sistemleri dediğimiz süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz enzimleri vardır. Bunların yanında hidrofilik savunuculardan askorbat, ürat, glutatyon ve flavonoidler vardır. Lipofilik radikal savunucularından ise tokoferoller, karotenoidler ve ubiquinon vardır. Metabolizma sistemi için sentezlenen maddelerin yanında dışarıdan diyetle alınan önemli antioksidan türevli maddeler vardır. Bunlar içerisinde en önemli olanları askorbik asit, lipoik asit, polifenoller ve karotenoidlerdir. Hastalıkların oluşumunda ROS karşı savunma zayıf olursa oksidatif hasarın artışıyla hücrede tahribatlar meydana gelir. Bu durumda dışarıdan alınan bu antioksidanlar oksidatif stresin oluşturduğu hasarları azaltmakta kullanılmaktadır. Epigallocatechin-3-o-gallate (EGCG), likopen, quersetin, genistein, ellagik asit, ubiquinon ve indole-3-karbinol, askorbik asit, vitamin E önemli antioksidanlar olarak bilinir. Bu maddeler hastalıkların engellenmesi için de kullanılmaktadır (51).

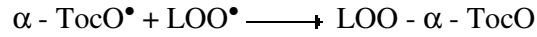
2.3.2. E Vitamininin Antioksidan Etkisi

E vitamininin normal fizyolojik süreçlerde ve farklı hastalık durumlarındaki rolü sürekli olarak araştırılmıştır. E vitamini diğer biyolojik moleküllerden daha fazla peroksit radikalleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu önler ve hücre yapısını koruyarak güçlü bir antioksidan etki gösterir (37). Lipid peroksidasyonunda oluşan

peroksit radikalleriyle reaksiyona girerek çok fazla zayıf ve etkisiz bir radikal olan tokoferoksil radikalini oluşturur.



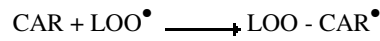
Daha sonra tekrar ikinci bir radikalle reaksiyona girerek radikal olmayan bir ürün olan LOO - TocO'yi oluşturur.



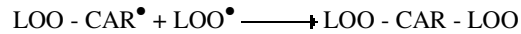
Böylece her tokoferol molekülü, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını önleyerek antioksidan etkisini gösterir (34).

2.3.3. A Vitamininin Antioksidan Etkisi

Konjuge polienlerin büyük kısmı benzer biyolojik aktiviteye sahiptir. Karotenoitler, lipid peroksidasyonu esnasında ortaya çıkan radikalleri önlemede etkilidir ve aktif oksijen çeşitlerini durdurmada etkili olan pigmentler olarak görülürler. Karotenoitlerin uzun, konjuge, çift bağlı sistemleri radikal saldırılarına karşı onları üstün hale getirmektedir. β - karotenin (CAR) peroksil radikali ile direkt olarak reaksiyona girebileceği ve karbon merkezli radikal oluşturarak rezonans kararlı hale geleceği belirtilmektedir (52).



Karotenoitler α - tokoferollerde görüldüğü gibi iki peroksil radikali ile reaksiyona girebilir (53).



Bununla birlikte bu antioksidan etki burada bitmez. Aşağıda gösterildiği gibi çoklu rezonans kararlılığı ile bir karoten molekülü, karbon merkezli radikaller oluşturarak iki peroksil radikale daha etki eder.



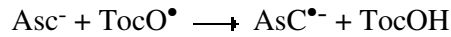
β - karoten ile peroksil radikalinin reaksiyonundan oluşan ürünlerin bazıları son zamanlarda ESR ile tarif edilmiştir. Ürünler bazı epoksitler ile β - karotenin karbonil türevleridir (52, 54).

2.3.4. C Vitamininin Antioksidan Etkisi

C vitamini bir ketolaktondur. Kollajenin prolin ve lizin birimlerinin hidroksilasyon reaksiyonlarında koenzim olarak görev alır. Suda çözünebilen vitaminlerden olan askorbik asit bağırsaklarda kolayca emilir ve kana karışır (55, 56).

C vitamini güçlü indirgeyici aktiviteye sahip olduğundan güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onların temizlenmesinde rol oynar (57,58). C vitamininin etkili bir singlet oksijen temizleyicisi olduğu da belirtilmektedir (38).

Ayrıca C vitamini askorbat radikali oluşturarak, radikalik tokoferollerin yenilenmesini sağlar (34).



2.4. Çalışmanın Amacı

Tiyadiazol türevi bileşikler ve Schiff bazlarının çeşitli türevleri; ve bunların metal kompleksleri antineoplastik, antiviral, antimikrobiyal, antimalarial gibi biyolojik fonksiyonlarından dolayı kimya, biyoloji ve farmakoloji bilim dallarında büyük ilgi görmektedir. Bu bileşiklerin sahip oldukları biyolojik etkilerin değişimi sentezlenen bileşiğin yapısına, farklı sübstitüentlerin konumuna ve komplekslerinde kullanılan metal atomunun özelliğine göre farklılaşmaktadır.

Yapılan literatür taramalarında bu bileşiklerin *in vivo* antioksidan özellikleriyle ilgili çok fazla araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada iki farklı Tiyadiazol türevi içeren Schiff bazı ve bu bileşiklerin Co(II), Mn(II) ve Ni(II) komplekslerinin *in vivo* antioksidan prooksidan özellikleri ve *in vitro* antitümör aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada 12-14 haftalık ortalama 250 g ağırlığında erişkin Wistar cinsi erkek ratlar kullanıldı. Deneysel çalışmada kullanılan erişkin Wistar cinsi erkek ratlar, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜTDAM)’nden temin edildi ve aynı yerde deneysel uygulama gerçekleştirildi. Ratlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler, özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki rat yemleriyle beslendi. Ratların deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Deney süresince herhangi bir ağırlık değişimi gözlenmemiş olup hiçbir nedenle denek ölümü yaşanmadı.

3.1.2. Grupların Oluşturulması ve Uygulamalar

Araştırmada kullanılacak ratlar 1. kontrol (enjeksiyon yapılmayan), 2. kontrol (yalnızca DMSO+yağ) ve 8 uygulama grubundan oluşturuldu ve her grupta 5’er denek olmak üzere toplam 50 rat yer aldı.

İlgili literatür taramasından sonra (59;60) ligand ve komplekslerinin molekül yapıları (büyüklük) göz önüne alınarak uygulamaların kontrol ve denek grupları için 0. gün, 3. gün, 6. gün, 9. gün olacak şekilde 3 gün ara ile yapılmasına karar verildi ve 15 gün uygulandı.

Uygulama maddelerinin dozları literatürden faydalanılarak kararlaştırıldı ve şartlara uygun olarak 25 mg/kg vücut ağırlığı (61) olacak şekilde önce DMSO (Dimetil sülfoksit)'da çözüldü ve DMSO miktarı % 10'un altında olacak şekilde mısır özü yağı ile seyreltikten sonra hayvanlara deri altından uygulandı.

Kontrol gruplarına, DMSO miktarı % 10'un altında olacak şekilde yağ hazırlanarak 0.5 ml çözelti deri altına enjekte edildi. Uygulama gruplarına ise 0.5 ml çözelti içerisindeki ligand ve metal kompleksleri derişimi 25 mg/kg vücut ağırlığı dozunu ihtiva edecek şekilde hazırlanan çözeltiler deri altına enjekte edildi (60).

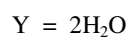
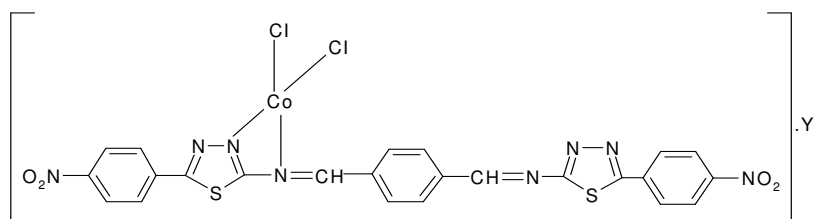
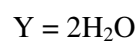
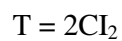
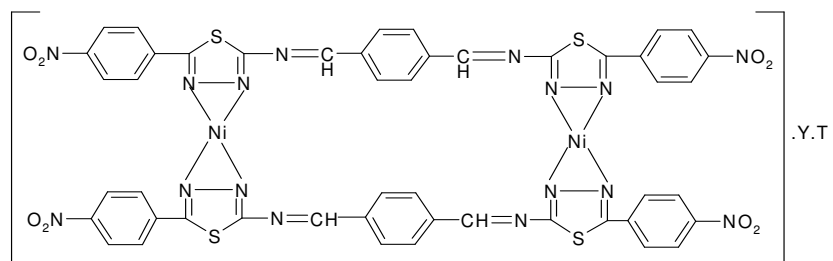
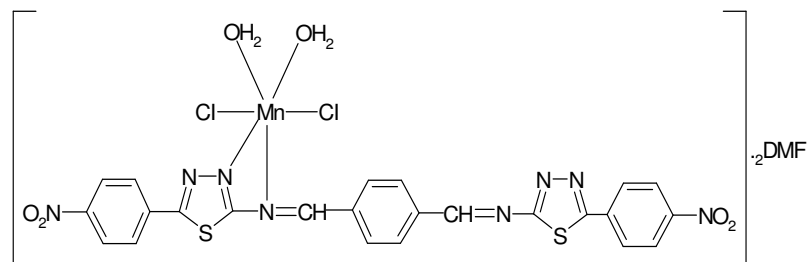
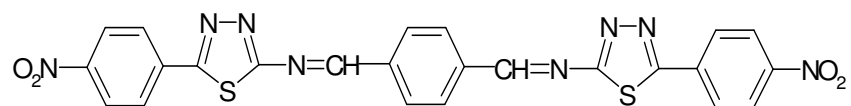
3.1.3. Kan örneklerinin Alınması

Uygulama sürelerinin sonunda hayvanlar eter ile anesteziye alınarak göğüs kafesleri açıldı ve kalplerinden yeterli miktarda (4-8 ml) kan alındı. Alınan kan örnekleri safrifüjlenerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar en geç üç gün içerisinde analizlendi. Analiz anına kadar serum örnekleri -20°C'de bekletildi.

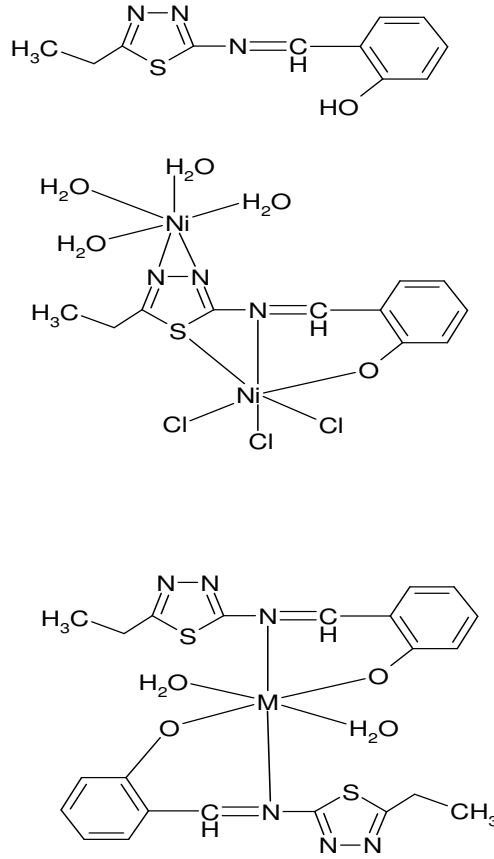
3.2. Uygulamalarda Kullanılan Bileşikler

Uygulamalarda, tiyadiazol içeren Schiff bazlarının iki farklı türevi ve metal kompleksleri kullanılmıştır.

Bu ligandların ve Co, Mn, ve Ni metal kompleksleri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir (62). Ligandların ve komplekslerinin yapısı aşağıdadır.



a)



b)

Şekil 3. Uygulamada kullanılan bileşikler a) N,N'-bis[5-(4-nitrofenil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]tereftalaldehitdiimin (Y) ve metal kompleksleri. b) N-(5-etil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)salisilaldehit imin (O) ve metal kompleksleri.

3.3. Uygulamalarda Kullanılan Hücreler

Bu çalışmada MCF-7 (insan göğüs kanseri) ve L1210 (mürin lösemi) hücreleri kullanıldı.

3.4. MCF-7 ve L1210 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi

Hücre kültür bankasından (ATCC, ABD) aldığımız donmuş haldeki MCF-7 (insan göğüs kanseri hücreleri) ve L1210 hücreleri oda sıcaklığında çözündürülerek 75 ml flask içerisine aktarıldı. Flask'ın içerisine daha önceden hazırlanmış olan DC₅ (25 ml) ilave edildi ve flasklar, Nuair marka bir %5 CO₂ - %95 O₂ inkübatörüne (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 taze siyle 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 ayrılmalari 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 5x10⁶ 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 (63,64).

3.5. Kullanılacak hücre sayısı ve madde dozlarının belirlenmesi

MCF-7 göğüs kanseri hücreleri ve L1210 hücreleri , flasklara tripsin ilave edilerek yerlerinden söküldü ve hücre süspansiyonu 2000 rpm devirde 5 dk. santrifüj edildi. Tüplerdeki tripsin-medyum karışımı alınarak yerine DC₅ ilave edildi ve tritürasyon ile hücrelerin *single cell suspension* haline gelmeleri sağlandı. Hemositometre kullanılarak hücreler sayıldı ve hücre sayısı MCF-7 hücre deneyleri için 1x10⁶ / ml, L1210 hücre deneyleri için 1x10⁵ / ml hücreye ayarlandı. Dozların

belirlenmesinde ön denemeler yapıldı ve aşağı yukarı yöntemi kullanıldı (65). Bu şekilde dozların 7,5 ,15 ve 30 μ M olmasına karar verildi.

Hücre süspansiyonundan birer ml deney tüplerine aktarıldı ve üzerine test edilecek ajanlar (O , Y ve metal kompleksleri) 7,5 μ M, 15 μ M, 30 μ M konsantrasyonlarda ilave edildi. Negatif kontrol tüplerine aynı miktarda serum fizyolojik, *vehicle* tüplerine de 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 karıştırılarak rasgele seçilen 100 adet hücre hemositometrede sayıldı. Hücre canlılığı oranı yüzde olarak ifade edildi. Aynı işlem 48 saat sonra da tekrar edildi ve deney sonlandırıldı..

3.6. Örneklerin Analizleri

3.6.1. C Vitamini ve MDA Analizi

Serum örneğinden 0.3 ml alınıp üzerine 0.2 ml 0.5 M HClO₄ ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Daha sonra bu karışım vortekslendikten sonra üzerine saf su ilave edilerek toplam hacim 1 ml'ye tamamlandı. Karışım 5 dakika santrifüjlendikten (4500 devir/dak) sonra örneklerin üzerindeki berrak kısımdan dikkatlice 20 μ l alınarak HPLC'de analiz edildi. Askorbik asit ve MDA Karatepe(2004)'e göre HPLC 'de analiz edildi (66).

Analizler hareketli faz olarak 30 mM KH₂PO₄ - metanol (% 82,5 – 17,5; pH : 4) karışımında 250 nm'de İnertsil 5 μ C-18 (15 cm x 4.6 mm) kolonu kullanılarak akış hızı 1 ml/dk yapıldı. C vitamini için geri kazanım % 95, MDA için geri kazanım % 98.8 olarak bulundu.

3.6.2. A ve E Vitamini Analizi

Derin dondurucudan alınan serum örnekleri çözünme işlemi yapıldıktan sonra 0.5 ml serum örneği üzerine % 1'lik H₂SO₄ ihtiva eden etil alkolden 2 ml ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Karışım vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendi, sonra örnekler üzerine 0.3 ml n-hekzan ilave edildi. Hekzan

ilavesiyle ortamdaki yağda çözünen vitaminler hekzan fazına ekstrakte edildi. Hekzan ilave edildikten sonra tekrar vorteksde karıştırıldı ve tüpler santrifüjlendi. Santrifüj sonunda hekzan fazı dikkatli bir şekilde ayrılarak cam tüpe alındı. Örnek üzerine tekrar 0.3 ml n-hekzan ilave edilerek karıştırılıp santrifüjlendi ve n-hekzan fazı cam tüpteki hekzan fazı ile birleştirildi. Ekstrakte edilen hekzan, kuru azot altında dikkatlice uzaklaştırıldı. Kalıntı 100 µl metanolde çözüldü (67). HPLC'de analiz edildi. Örneklerdeki E vitamini 296 nm ve A vitamini 326 nm dalga boyunda İnertsil 5µ C-18 (15 cm x 4.6 mm) kolonu ve asetonitril : metanol : diklormetan: kloroform: hegzan (60 : 10 : 15: 10: 5) hareketli fazında akış hızı 1 mL/dak. olacak şekilde analizlendi (68). A vitamini için geri kazanım % 92, E vitamini için ise % 96 olarak bulundu. (68).

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadaki bütün istatistiksel analizler, SPSS istatistik program ile yapıldı. Deneyisel çalışmalar sonunda elde edilen veriler One-way Anova analizi Tukey testi yapılarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Elde edilen bulgular parametrelerin her birinde uygulama boyunca grupların kontrol grubu ile kıyaslarını gösterecek tablolar halinde verildi. Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücreleri ve L1210 hücrelerine ait canlı hücre sayımı sonuçları Tablo 1 ve 2’de, yine maddelerle muamele edilmiş ratların serum MDA, antioksidan vitaminler C, A, E düzeylerine ait sonuçlar Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 2. Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerin süreye ve doza göre canlılık durumları

Gruplar n=6	24saat 7,5µM	24 saat 15µM	48 saat 7,5µM	48 saat 15µM	24saat 30µM
K	3,83 ±0,87	3,83 ±0,87	2,33±0,42	2,33±0,42	3,83±0,87
Y	24,17±2,45 ^a	45,83 ±2,78 ^c	78,83 ±3,97 ^c	*	55,66 ±3,70 ^c
Y-Ni	22,33±1,64 ^a	36,66 ±2,60 ^c	67,16 ±2,30 ^c	*	49,83 ±1,01 ^c
Y-Co	29,33±0,33 ^b	32,83 ±2,78 ^b	52,66 ±4,15 ^c	*	46,33 ±2,77 ^c
Y-Mn	22,00±1,50 ^a	45,00 ±3,74 ^c	64,16 ±2,19 ^c	*	47,00 ±3,45 ^c
0	39,83±3,94 ^c	59,33 ±9,96 ^c	63,66 ±3,60 ^c	*	*
O-Ni	39,50±4,37 ^c	24,66 ±2,70 ^a	78,66 ±2,23 ^c	*	*
O-Co	50,16±11,81 ^c	41,33 ±8,91 ^c	64,83 ±3,69 ^c	*	*
O-Mn	32,33±2,40 ^b	36,66 ±2,55 ^c	81,50 ±5,97 ^c	*	*

a: P< 0.05; b: P< 0.01; c: P< 0.001; *: Sayılacak hücreye rastlanmadı

Tablo 3. Maddelerle muamele edilmiş L1210 hücrelerin süreye ve doza göre canlılık durumları

Gruplar n=6	24saat 7,5µM	24 saat 15µM	48 saat 7,5µM	48 saat 15µM	24saa t 30µM
K	22,83±1,32	22,83±1,32	26,00±4,89	26,00±4,89	24,66±4,67
Y	29,00±4,24	57,75±11,78 ^c	62,50±7,77 ^c	68,50±3,53 ^b	27,25±4,85
Y-Ni	43,00±5,29 ^b	51,25±5,90 ^c	65,00±4,24 ^c	67,50±19,09 ^b	33,00±1,41
Y-Co	44,25±8,42 ^c	59,50±4,93 ^c	74,50±3,53 ^c	66,25±13,54 ^c	36,00±5,59a
Y-Mn	41,25±2,36 ^b	37,75±9,53 ^a	52,50±4,94 ^c	72,50±0,70 ^c	37,00±4,97b
0	48,50±13,47 ^c	68,25±5,73 ^c	59,00±2,82 ^c	66,00±4,24 ^b	38,00±4,24a
O-Ni	52,00±3,74 ^c	48,25±9,70 ^c	63,00±4,24 ^c	73,00±2,82 ^c	34,50±4,94
O-Co	24,50±6,36	60,75±7,27 ^c	69,50±6,36 ^c	76,00±1,41 ^c	32,50±0,70
O-Mn	53,25±5,12 ^c	55,50±2,51 ^c	70,50±0,70 ^c	81,00±7,07 ^c	33,00±1,41

a: P< 0.05; b: P< 0.01; c: P< 0.001;

Tablo 4. Maddelerle muamele edilmiş ratların serum MDA, antioksidan vitaminler A, E, C düzeyleri

Maddeler (n=5)	vitamin E (mg/lt)	vitamin A (mg/lt)	vitamin C (mg/lt)	MDA (mg/lt)
K1	1,686±0,364	0,163±1,95E-2	26,54±1,119	0,863±0,203
K2	1,864±0,253	0,138±3,52E-2	26,48±0,851	0,884±0,175
Y	1,814±0,193	0,124±5,11E-2	26,25±0,953	0,862±6,907E-2
Y-Co	1,890±0,242	0,133 ±2,14E-2	26,95±1,371	0,812±8,643E-2
Y-Ni	1,840±0,275	0,112±9,47E-2	27,09±1,101	0,832±5,762E-2
Y-Mn	1,826±0,221	0,165±1,43E-2	26,65±1,675	0,830±8,276E-2
O	1,856±0,134	0,148±1,34E-2	26,77±1,040	0,954±0,136
O-Co	1,810±0,216	0,157±1,10E-2	27,24±1,532	0,942±0,104
O-Ni	1,734±0,119	0,144±2,59E-2	26,69±1,532	0,980±0,128
O-Mn	1,774±0,137	0,159±1,20E-2	26,73±1,277	0,860±6,403E-2

5. TARTIŞMA

Serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok durulan ve araştırmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücresel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücresel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması ile bu moleküllerin kanser, şeker, kalp hastalıkları gibi birçok hastalıkla ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır (44).

Biyolojik sistemlerde hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de yabancı maddelerin etkisiyle meydana gelen serbest radikaller hücre membranlarına zarar verirler ve değişik hastalıklarla etkilerini gösterirler. Organizmada 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 tavinlerini güçleştirmektedir. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının ürünleri ve savunma sistemlerinin incelenmesi pek çok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir (69).

Bu araştırmada, MCF-7 ve L1210 hücrelerine uygulaması yapılan tiyadiazol türevi içeren Schiff bazı bileşikleri ve metal komplekslerinin süre ve doza bağımlı antitümör aktivitesinin ve ratların serum antioksidan ve oksidan parametrelerin düzeyleri üzerinde olan etkilerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında farklı etkilere sahip oldukları görülmüştür.

Tablo 1 ve 2' ye bakıldığında, Y ve O maddelerinin ve metal komplekslerinin her iki hücre tipinde de etkili bir antiümör aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmada kontrol grubu ile ligandlar ve metal komplekslerinin kıyaslamalarında MDA, antioksidan vitaminler C, E, A düzeylerinde istatistiksel farklılıklar gözlenmedi (Tablo 4).

Ölçülen biyokimyasal değerlere bakıldığında deneylerde kullanılan tiyadiazol türevi içeren Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin verilen dozlarda (25 mg/kg) her hangi bir etki göstermediği görülmektedir.

Serbest radikal oluşumundaki artış MDA düzeyi ve GSH-Px enzim aktivitesinde artmaya, E vitamini düzeyinde ise azalmaya neden olur (39,70,71).

Jeon ve diğ. (2002) antioksidan özellik gösteren maddeleri (naringin ve probukol) diyet ile tavşanlara verdiklerinde bu maddelerin plazma MDA ve A vitamini düzeyini etkilemediğini, E vitamini düzeyini ise, kullanımını azaltarak yükselttiğini gözlemişlerdir (72).

Brandt ve diğ. (1997) sürekli stres altındaki ratların plazma vitamin A düzeylerini ölçmüşler ve on günlük süreç içerisinde vitamin A düzeylerinin $p<0.001$ düzeyinde azaldığını gözlemişlerdir (73).

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 getirdiği, testis dokusunda ise hasar oluşturduğu görülmüştür (28). Yine başka bir çalışmada, bu Schiff bazı türevi ile Zn(II) ve Cu(II) metal kompleksleri deri altı uygulandığında, ligandın antioksidan parametreleri etkilemediği, Cu(II) kompleksinin Cd(II) kompleksinde olduğu 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 (29).

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 tesbit edilmiştir (74).

Bu çalışmada, ölçülen parametreler ve deney süresince hücrelerin canlılık durumlarına bakıldığında, özellikle Y ve O bileşiklerinin ve metal komplekslerinin 15 μM , 48 saatlik sürede ve 30 μM konsantrasyonun 24. saatinde MCF-7 hücrelerine karşı yüksek aktivite sergilediği görülmektedir. Hatta bu süre ve konsantrasyonlarda ortamda hiçbir hücre yapısına rastlanmamıştır. Aynı dozlarda ve srelerde L1210 hücrelerine karşı bu denli güçlü bir aktivite sergilememişlerdir.

Tiyadiazol türevi içeren Schiff bazı bileşiklerinin araştırılan birçok farmakolojik özelliklerine ilave olarak araştırdığımız bu parametrelerinde literatür bilgisine katkıda bulunacağı kanısındaız.

6. KAYNAKLAR

- 1- R., Bakhtiar, E., Ochiai. 1999 Pharmacological application of inorganic complexes. General Pharm. 32; 525-540.
- 2- M.Dimri, ve S.S. Parmar, 1978 J. Het. Chem., 15, 335-336.
- 3- H.N., Doğan, S., Rollas, H., Erdeniz, 1998 IL Farmaco, 53, 462-467.
4. M., Kritsanida, A., Mouroutsou, P., Marakos, M., Pouli, S.P., C., Pannecouque, M., Witvrouw, E.D., Clerca, 2002 IL Farmaco, 57, 253-257.
5. S., Rollas, Ş., Karakuş, B.B., Durgun, M., Kiraz, H., Erdeniz, 1996 IL Farmaco, 51, 811- 814.
6. N.S., Habib, R., Soliman, F.A., Ashour, W., El-Taiebi, 1997 Pharmazie, 52, 844-847.
7. M.H., Zuhair, A.A., Al-Temam, et. all., 1992 Eur. J. of Med. Chem. 27, 93-99.
8. M., Ertan, H.G., Ayyıldız, N., Yulug, 1991 Arzn.-For/ Drug Res. 41, 1182-1185.
9. S., Karakuş, S., Rollas, 2002 IL Farmaco, 57, 577-581
10. Chou, J. Y.; Lai, S. Y.; Pan, S. L.; Jow, G. M.; Chern, J. W.; Guh, J. H., 2003 Biochem. Pharmacol. 66, 115.
11. V.K., Ahluwalia, K.K., Arora, K., Gurvinder, 1986 Synt. React. Inorg. Met.-Org. Chem., 16, 127-136.
12. A.A.F., Washy, S.A., Nassar, A.M.F., Eissa, 1996 Ind. J of Chem., 35, 1218-1220.
13. B.S., Vashy, D.S., Mehta, Y.H., Shah, 1996 Ind. J of Chem., 35, 111-115.
14. G., Mazzone, R., Pignatello, S., Mozzone, et all, 1993 IL Farmaco, 48, 1207-1224.
15. E., Plaksa, G., Şahin, P., Kehcen, N.T., Durlu, G., Altınok, 2002 IL Farmaco, 57, 101-107.

16. A., Foroumadi, M., Mirzaei, A., Shafiee, 2001 *IL Farmaco*, 56, 621-623.
17. E.E., Chufan, J.C., Pedregosa, O.N., Baldini, L.B., Bruno, 1999 *IL Farmaco* 54, 838-841.
18. Liberta, A.E., West, D.X., 1992 Antifungal and Antitumour Activity of Heterocyclic Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes, *Biometals*, 5, 121-126.
- 19- Z.,Y., Yang, 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.
- 20- A., Das, 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.
- 21- R., Fioravanti, 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.
- 22- B., Sur, S.,P., Chatterjee, P., Sur, T., Maity, S., Roychoudhury. 1990 Studies on the Antiplasticity of Schiff Bases Containing 5-Nitrofur and Pyrimidine. *Oncology*, 47; 433-438.
- 23- M.,L., Pires dos Santos, 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.
- 24- 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.

- 25- 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.
26. Z., Durackova, M.A., Mendiola, M.T., Sevilla, A., Valent. 1999 Thiohydrazone Copper (II) Complexes. The Relationship between Redox Properties and Superoxide Dismutase Mimetic Activity, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 48; 109-116.
27. M., Polat, 1,3,4-Tiyadiazol'den elde edilen Schiff bazının değişik metal komplekslerinin sentezi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, 2004.
- 28- 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.
- 29- Karatepe, M., F. Karatas, (2006) Antioxidant, Pro-Oxidant Effect of the Thiosemicarbazone Derivative Schiff Base (4-(1-Phenylmethylcyclobutane-3-Yl)-2-(2 Hydroxybenzylidenehydrazino) Thiazole) and its Metal Complexes on Rats." *Cell Biochem. And Function*, 24(6), 547-554.
- 30- 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.
- 31- Onat, T., Emerk, K., 1997, Temel Biyokimya, Bassaray Basımevi, İzmir.
- 32- Stoian, I., Oros, A., Moldoveanu, E., 1996, Apoptosis and Free Radicals, *Biochem. and Mol. Med.*, 59, 93-97.
- 33- Elstner, E.F., 1991, Oxygen Radicals - Biochemical Basis For Their Efficacy, *Clin. Wochen.*, 69, 949-956.

- 34- Wolf, R., Wolf, D., Ruocco, V., 1998, Vitamin E : The Radical Protector, J. of Eur. Academy of Derm. and Ver., 10, 103-117.
- 35- Southoin, P.A., Powis, G., 1988, Free Radical in Medicine I, Chemical Nature and Biologic Reactions, Mayo Clin. Proc., 63, 381-389.
- 36- Betteridge, D.J., 2000, What is Oxidative Stress?, Metabolizm, 49, 3-8.
- 37- 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.
- 38- Kılınç, K., 1985, Oksijen Radikalleri, Üretilmeleri, Fonksiyonları, Toksik Etkileri, Biyokimya Dergisi, 10 : 60-89.
- 39- Diplock, A.T., 1991. Antioxdant Nutrients and Disease Prevention: An Overview, Am. J. Chim Nutr., 53: 1895-1935.
- 40- Halliwell, B., Gutteridge, W.M.C., 1999, Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford Medicine Press, 246-351.
- 41- a. Aust, S.D., Svingen, B.A., 1982, Free Radical Biology, Academ. Press., 5, 1-28;
b. Guemouri, L., Lves, A., Herbert, B., 1991, Biological Variability of SOD, GSH-Px and CAT in Blood, Clin. Chem., 37/11, 1932-1937.
- 42- Heribert, W., 1987, Singlet Oxygen in Biological Systems, J. Electroanal. Chem., 232, 91-104.
- 43- 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.
- 44- Sudha, K., Ashalatha, V.R., Anjali, R., 2001, Oxidative Stress and Antioxidants in Epilepsy, Clinica Chimica Acta, 303, 19-24.
- 45- Çavdar, C., Sifil A., Çamsarı T., 1997, Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association. 3-4, 92-95.

- 46- Tamer, L., Polat, G., Eskandari, G., Ercan, B., Atik, U., 2000, Serbest Radikaller, Mersin Üniv. Tıp Fak. Dergisi, 1, 52-58.
- 47- Köse, K., Doğan, P., 1992, Lipid Peroksidasyonu, Erciyes Üniv. Tıp Dergisi, Ek 1, 340-350.
- 48- Vattem, D.A., Randhir, R., Shetty, K., 2005, Cranberry phenolics-mediated antioxidant enzyme response in oxidatively stressed porcine muscle Process, Biochemistry, 40: 2225-2238.
- 49- Sies, H., 1997, Oxidative stress: oxidants and antioxidant, Exp. Physiol. 82 ,291-295.
- 50- Becman, K.B., Ames, B.N., 1998, The free radical theory of aging matures, Physiol. Rev., 78 , 547-581.
- 51- Gilgun-sherki, Y., Melamed, E., Offen, D., 2001, Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier, Neuropharmacology 40 , 959-975.
- 52- Nikolai, E.P., Tatyana, V.L., Tatyana, A.K., Lowell, P.K., 2001, Carotenoids as Scavengers of Free Radicals in a Fenton Reaction : Antioxidants or Pro - Oxidants? Free Rad. Bio. and Med., 31(3), 398-404.
- 53- Young, I.S., Woodside, J.V., 2001, Antioxidants in Health and Disease, J. Clin. Pathol., 54 (3), 176-86
- 54- Kennedy, T.A., Liebler, D.C., 1991. Peroxyl Radical Oxidation of β -Carotene: Formation of β -Carotene Epoxides, Chem. Res. Toxicol., 4: 290-295.
- 55- Tüzün, C., 1997, Biyokimya, 3. Baskı, Palme Yayıncılık, 151-187, Ankara.
- 56- Emerk, K., Onat, T., 1997, Temel Biyokimya, 2. Baskı, Saray Medikal Yayıncılık ve Tic. Ytd. Şti., İzmir - Türkiye.
- 57- Akkuş, İ., 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.

- 58- Granado, F., Olmedilla, B., Gil-Martinez, E., Blanco, I., Millan, I., Rojas-Hidalgo, E., 1998, Carotenoids, Retinol and Tocopherols in Patients with Insulin - Dependent Diabetes Mellitus and Their Immediate Relatives, Clin. Sci. (Colch)., 94, 2, 189-195.
- 59- Chapman, J.M., Delucy, P., Wong, O.T., Hall, I.H., 1990, Structure Activity Relationship of Imido N-Alkyl Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Acethydrazones as Hypolipidemic Agents in Rodents, Lipids, 25 (7), 391-397.
- 60- Papageorgiou, Z., Iakovidou, D.M., Mioglou, E., Boutis, L., Kotsis, A., Demertzi, D.K., Domopoulou, A., West, D.X., Demertzis, M.A., 1997, Antineoplastic and Cytogenetic Effects of Complexes of Pd (II) with 4N-Substituted Derivatives of 2-Acetyl-Pyridine-Thiosemicarbazone, Anticancer Research, 17, 247-252.
- 61- Liu, C.M., Lin, T.S., Sartorelli, A.C., 1992, Synthesis and Antitumor Activity of Amino Derivatives of Pyridine-2-Carboxaldehyde Thiosemicarbazone, J. Med. Chem., 35, 3672-3677.
- 62- Turan, N. Doktora Tezi F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü 2008.
- 63- Offing, E.O., Martelli, S., 1997, Stereochemistry and Antitumour Activity of Platinum Metal Complexes of 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones, Transition Metal Chem., 22, 263-69.
- 64- Ferrari, B.M., Capacchi, S., Pelosi, G., Reffo, G., Tarasconi, P., Albertini, R., Pinelli, S., Lungni, P., 1999, Synthesis, Structural Characterization and Biological Activity of Helicin Thiosemicarbazone Monohydrate and a Copper (II) Complex of Salicylaldehyde Thiosemicarbazone, Inorganica, Chimica Acta, 286, 134-141.
- 65- 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 Mouse Thyroid; The Relationship Between Their Structure and Antithyroid Activity, Chem. Pharm. Bull., 38 (9), 2595-6.

- 66- Karatepe, M. (2004) "Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC/UV." LC-GC North America. 22, 362-5; April.
- 67- Çetinkaya, N., and Özcan, H., 1991. Investigation of Seasonal Variations in Cow Serum Retinol and β -Carotene by High Performance Liquid Chromatographic Method, Comp. Biochem. Physiol., Vol. 100 A, No: 4, pp. 1003-1008.
- 68- Catignani, G.L., 1983. Simultaneous Determination of Retinol and α -Tocopherol in Serum of Plasma by Liquid Chromatography, Clin. Chem., 2914, 708-712.
- 69- Matez, J.M., Gomez, P.C., Casto, N.I., 1999, Antioxidant Enzymes and Human Diseases, Clin. Biochem., 32, 595-603.
- 70- Bott, A.B., Green, M.A., 1991, Effect of Glutathione Depletion on The Biodistribution of Cu (PTSM) in Rats, Int. J. Rad. Appl. Inst. B., 18 (18), 865-9
- 71- Novelli, E.L., Silva, A.M., Monteiro, J.P., Sacomani, L.B., Novellif, J.L., 1997, Free Radical Production by Azomethine H : Effects on Pancreatic and Hepatic Tissues, Free Radic. Res., 26 (4), 319-324.
- 72- Jeon, S.M., Bok, S.H., Jang, M.K., Kim, Y.H., Nam., K.T., Jeong, T.S., Park, Y.B., Choi, M.S., 2002, Comparison of Antioxidant Effects of Naringin and Probucol in Cholesterol-Fed Rabbits, Clin. Chimica Acta, 317, 181-190.
- 73- Brandt, R.B., Doyle, B.A., Chan, W., Poland, J.L., Seibel, H.R., 1997, The Effect of Running Stress on Plasma Vitamin A Levels in Rats, Food and Chemical Tox., 35, 459-463.
- 74- Çakmak, H. 1,2-Bis(P-Aminofenoksi)Etan Türevi Schiff Bazları Ve Metal Komplekslerinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi Yüksek Lİsans Tezi F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü 2008.

ÖZGEÇMİŞİM

24.01.1975 tarihinde Elazığ' da doğdum. 1986 'da Murat İlköğretim Okulu, 1989' da Mezre Orta Okulu, 1992' de Mehmet Akif Ersoy Lisesi , 1996'da F.Ü. Sağlık Hizmetleri M.Y.O. Tıbbi Laboratuvar Bölümü, 1999 yılında dikey geçişle İ.Ö.Ü. Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde eğitime başladım. 2000 yılında yatay geçişle F.Ü Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde eğitimime devam ettim ve 2003 yılında ise F.Ü. Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü bitirdim.

2005 yılında F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsünde Kimya (biyokimya) ana bilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başladım. 2004 yılında Sağlık Bakanlığı bünyesinde çalışmaya başladım. Halen T.C. Sağlık Bakanlığı Elazığ Karakoçan Devlet Hastanesi Laboratuvar biriminde çalışmaktayım. Evli ve 1 çocuk babasıyım.

Muhammet Fatih TOPÇU