

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİDROKSİÜRE TÜREVİ SCHİFF BAZI VE BAZI METAL KOMPLEKSLERİNİN
ANTIOKSİDAN VE ANTİTÜMÖR ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ünzile KELEŞTEMUR

Anabilim Dalı: Kimya
Programı: Biyokimya

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

AĞUSTOS-2010

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİDROKSİÜRE TÜREVİ SCHİFF BAZI VE BAZI METAL
KOMPLEKSLERİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİTÜMÖR ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ünzile KELEŞTEMUR
(08117101)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih:

Tezin Savunulduğu Tarih:

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

Diğer Jüri Üyeleri:

AĞUSTOS-2010

ÖNSÖZ

Farklı ligandlarla geçiş metallerinin oluşturduğu kompleks bileşiklerinin, uygulama alanlarının geniş olması nedeniyle yapı ve özelliklerinin incelenmesi son derece önemlidir. Son yıllarda koordinasyon bileşiklerinin incelenmesinde en fazla yeri Schiff bazı ligandlı geçiş metal kompleksleri almıştır. Schiff bazı ve kompleksleri farmakolojik ve fizyolojik özellikleri sebebiyle ilgi merkezi olmuşlardır. Hastalık tedavisi, biyokimyasal reaksiyon ve biyolojik regülatör gibi çok çeşitli alanlarda önemli uygulama alanları bulunmaktadır. Bu sebepten Schiff bazı ve kompleksleri biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin sentezinde önemli bir yere sahiptir.

Schiff bazlarının biyolojik aktiviteleri *in vitro* olarak birçok çalışmaya konu olmuştur. İlgili literatürlere dayanarak yaptığımız tez çalışmasında, orijinal Schiff bazı 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 komplekslerin sentez ve karakterizasyonunu gerçekleştiren Prof. Dr. Mehmet ŞEKERCİ ile Arş. Gör. Zuhal ERGİN'e, aynı zamanda antioksidan çalışmalarımızdaki yardımlarından dolayı Arş Gör. Serhat KESER'e teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım sırasında bana her türlü desteği veren, çalışmalarım süresince göstermiş olduğu sabır ve desteklerden dolayı arkadaşım doktora öğrencisi Sibel SELÇUK'a, benim her konuda destekçim olan sevgili annem Fatma KELEŞTEMUR ve babam Bedrettin KELEŞTEMUR'a teşekkürlerimi sunarım.

Ünzile KELEŞTEMUR

ELAZIĞ-2010

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET.....	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çalışmanın Amacı.....	2
1.2. Schiff Bazları	2
1.2.1. Schiff Bazlarının Özellikleri	4
1.2.2. Schiff Bazlarının Oluşum Mekanizması	6
1.2.3. Schiff Bazlarının Sentezi	7
1.2.4. Schiff Bazlarının Spektroskopik Özellikleri.....	9
1.3. Serbest Radikaller	10
1.3.1. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu	10
1.4. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri	11
1.5. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA).....	12
2. MATERYAL ve METOT	14
2.1. Kullanılan Kimyasal Bileşikler	14
2.2. Uygulamalarda Kullanılan Hücreler	15
2.3. MCF-7 L1210 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi	15
2.4. Kullanılacak Hücre Sayısı ve Madde Dozlarının Belirlenmesi	16
2.5. <i>In vitro</i> Antioksidan Aktivite Ölçümleri	16
2.5.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ile Ölçüm	16

2.5.2.	DPPH Radikal İndirgeme Metodu ile Ölçüm	17
2.6.	İstatistiksel Değerlendirme	17
3.	BULGULAR.....	18
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	21
	KAYNAKLAR.....	25
	ÖZGEÇMİŞ.....	29

ÖZET

Bu araştırmada, hidroksiüre türevi Schiff bazı metal komplekslerinin hücre kültürü ortamına ilave edilmesi ile lipit peroksidasyonunun derecesini gösteren MDA konsantrasyonu, DPPH radikal temizleme özelliği ve *in vitro* antitümör özellikleri araştırıldı.

Deney grupları arasındaki karşılaştırılmalarda MDA düzeylerinin istatistiksel olarak çinko kompleksi dışında değişmediği gözlemlendi. Kompleksler oldukça yüksek DPPH radikali indirgeme aktivitesi sergiledi.

Bununla beraber, Schiff bazı metal komplekslerinin *in vitro* antitümör aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

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

SUMMARY

The Investigation of Antitumor and Antioxidant Properties of Hydroxyurea Derivative Schiff Base and Its Metal Complexes

In this research, the effect of hydroxyurea derivative Schiff base metal complexes on the MDA concentration which is an indicator of lipid peroxidation, DPPH radical reduction method and antitumor activity in cell culture media were investigated.

In the comparison done among groups, it was observed that level of MDA were statistically unchanged complex of Zn. According to results of studies of the complexes showed high DPPH radical reduction activity.

In addition, cell viability experiments show that metal complexes have effective *in vitro* antitumor activity.

Key Word: Schiff Base, MDA, Antitumor Activity, Antioxidant Activity

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1 : Aminlerin karbonil bileşikleriyle verdikleri kondenzasyon reaksiyonu.....	3
Şekil 1.2 :Azometin oluşumu.....	3
Şekil 1.3 :İmin oluşumu	3
Şekil 1.4. :Bazı Schiff bazlarında görülen molekül içi hidrojen bağları	4
Şekil 1.5. : Schiff bazının oluşum mekanizması.....	7
Şekil 2.1 :Cd, Mn ve Cu kompleksinin yapısı	14
Şekil 2.2 :Ni ve Zn kompleksinin yapısı	14
Şekil 3.1 :DPPH giderme aktivitesi	19

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1: Bazı aromatik Schiff bazlarının C=N grubuna ait IR spektrumları	5
Tablo 1.2: Endojen ve Eksojen Antioksidanlar	11
Tablo 3.1: Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerinin süreye ve doza göre % oranında canlılık durumları	18
Tablo3.2: Maddelerle muamele edilmiş <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya hücrelerinin 24 saatlik MDA (mg/2.10 ⁶ hücre) düzeylerinin dozlara göre ortalama değerleri	19
Tablo 3.3: % DPPH = Kontrol Absorbansı - Numune Absorbansı / Kontrol Absorbansı x 100	20

KISALTMALAR

DNA	:Deoksiribonükleik asit
RNA	:Ribonükleik asit
RR	:Ribonükleotit redüktaz
SOD	:Süperoksit dismutaz
EA	:Ehrlich ascites
MDA	:Malondialdehit
DMSO	:Dimetil Sülfoksit
HPLC	:Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HClO₄	:Perklorik asit
TCA	:Trikloroasetikasit
DPPH	:2-2 difenil-1-pikrilhidrazil radikali

1. GİRİŞ

Koordinasyon bileşiklerindeki sentezinde ligand olarak kullanılan Schiff bazları konusuyla birçok bilim adamı ilgilenmiş ve çeşitli kompleksler elde etmişlerdir. Aminlerin aldehit veya ketonlara katılmasıyla oluşan aldiminlerin genel adı olan Schiff bazları boya, ilaç ve plastik sanayi gibi pek çok sanayi dalında çeşitli amaçlar için kullanılmasının yanı sıra birçok biyolojik reaksiyonda rol oynamaktadır [1].

Schiff bazları ve metal kompleksleri çeşitli farmakolojik aktivitelerinden dolayı kimya, biyoloji ve farmakoloji bilim dallarında büyük ilgi görmektedir [2]. Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin antitümör [3], antiviral [4], antimikrobiyal [5], antineoplastik [6] özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, Schiff bazı bileşiklerinin ve Cu(II) komplekslerinin, lipid peroksidasyonunu engelleyerek antioksidatif aktivite gösterdiği de bildirilmektedir [7].

Schiff bazı komplekslerinin antikanser aktivite göstermesi özelliğinden dolayı tıp dünyasındaki önemi giderek artmaktadır ve kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılması araştırılmaktadır [8]. Aromatik aminlerin Schiff bazı kompleksleri özellikle kemoterapi alanında [9] bazı kimyasal reaksiyonlarda çeşitli substratlara oksijen taşıyıcı olarak [10] kullanılmaktadır.

Schiff bazı türevlerinin DNA ve RNA sentezini inhibe edici etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir [11]. Bu etki onların ribonükleotit redüktaz (RR) enzimini inhibe etmelerinden kaynaklanmaktadır [12].

Schiff bazı türevleri ve bakır komplekslerinin spektrofotometrik davranışlarının süperoksit dismutaz (SOD) ile mukayesesi yapılan çalışmada bu bileşiklerin geniş spektrumlu biyolojik aktivitelerinin yanı sıra SOD benzeri aktivite gösterdikleri belirlenmiştir [13].

Schiff bazları çoğunlukla ligandlarla ilişkilidir. Ayrıca çoğu metal komplekslerinin büyük bir kısmını oluşturmak için kullanılmıştır [14].

Son yıllarda, Schiff bazlarını içeren geçiş metali bileşiklerine olan ilgi giderek artmaktadır [15]. Bu tür bileşiklerin sentez ve karakterizasyonuna olan ilgi, birçok tepkimede katalitik ve biyolojik aktivite göstermelerinden kaynaklanmaktadır. Oksijen ve azot donör Schiff bazlarını içeren geçiş metali kompleksleri eşsiz konfigürasyon ve yapısal labillliğe sahiptirler [16].

Çalışmalar Schiff bazı ve onların metal komplekslerinin bazı tiplerinin potansiyel antifungal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [17].

Bir çalışmaya göre, 4-hidroksisalisilaldehit ve amino asitlerin kobalt (II), nikel (II) ve bakır (II)'den türeyen Schiff bazı komplekslerinin *Ehrlich ascites* (EA) tümörüne karşı güçlü bir antikanser aktiviteye sahip olduğu tanımlanmıştır [18].

Bölümümüzde yapılan çalışmalarda, bu sınıf bileşiklerin antioksidan, prooksidan özellikleri ile çeşitli dokulara olan etkileri araştırılmış ve ratlarda farklı özellikler sergilediği gösterilmiştir [19, 20]. Yapılan başka bir çalışmada ise bu tür bileşiklerin antiviral özelliği araştırılmış ve kullanılan bileşiklerin herhangi bir antiviral aktivite göstermediği, ancak çok güçlü sitotoksik etkiye sahip oldukları gözlenmiştir [21].

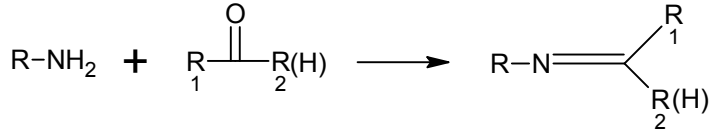
Görüldüğü gibi Schiff bazlarının biyolojik aktiviteleri *in vitro* olarak birçok çalışmaya konu olmuştur. Ligandın yapısı ve konformasyonu ile koordinasyon bileşiklerindeki merkez atomunun redoks potansiyellerinin bu tür bileşiklerin biyolojik aktivitelerini etkilediği belirtilmektedir [13]. Bu gibi çalışmalar daha aktif komplekslerin sentezini veya doğal biyokoordinatif bileşiklerin davranışını anlamaya yardımcı olacaktır.

1.1. Çalışmanın Amacı

Çalışmamızda kimya bölümümüzde sentezi yapılmış ve karakterize edilmiş olan hidroksiüre türevi yeni bir Schiff bazı bileşiği metal komplekslerinin *in vitro* olarak antioksidan ve antitümör özellikleri araştırılmıştır [22]. Burada Schiff bazı metal kompleksleri, mikroorganizmanın bulunduğu ortama ilave edilerek antitümör aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

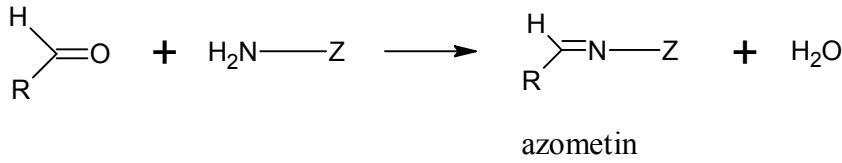
1.2. Schiff Bazları

Primer aminlerin aldehit veya ketonlarla kondenzasyon reaksiyonu vermesi sonucu oluşan C=N çift bağı (imin bağı) tanımlanan bileşikler Schiff Bazları olarak adlandırılmaktadır (Şekil 1.1).

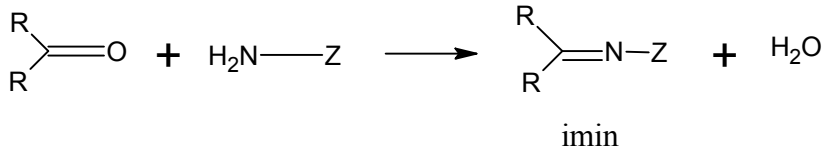


Şekil 1. 1. Aminlerin karbonil bileşikleriyle verdikleri kondenzasyon reaksiyonu

Karbonil bileşiği aldehit ise oluşan bağ azometin veya adlimin, keton ise oluşan bağa imin veya ketimin adı verilir [23, 24, 25]. Reaksiyon oluşumu gösterilmiştir (Şekil 1..2, Şekil 1.3.).



Şekil 1. 2. Azometin oluşumu



Şekil 1. 3. İmin oluşumu

Bununla birlikte amin ve karbonil bileşiklerinin yapılarına ve molar oranlarına bağlı olarak birbirinden farklı yapıda çeşitli Schiff bazı elde etmek mümkündür.

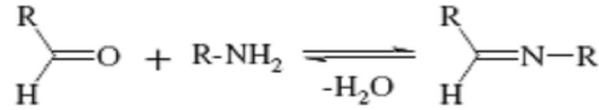
Schiff bazları üzerinde bulunan N, S, O donör vasıtasıyla rahatlıkla kompleks yapısı oluşturabilmektedir. Sözü edilen donör atomlarının türü ve sayısının yapısı ve çeşitliliği üzerine etkisi büyüktür. Ayrıca ligandın reaksiyona girdiği metal tuzu ve metal tuzunun oranı gibi etkenler kompleksin yapısı üzerine etki edebilmektedir. Biyokimyasal reaksiyonların ara basamaklarında da metal-ligand komplekslerinin oluştuğu da bilinmektedir. Bu yüzden biyokimyasal reaksiyonların açıklanmasında N, S, O donör atomları içeren ligandların çeşitli metallerle verdiği kompleksler seçilmekte ve bunların koordinasyon geometrileri, metal-donör atom bağ uzunlukları ve kararlılıkları incelenmektedir. Vücut içerisinde pek çok metal-ligand kompleksinin varlığı bilinmektedir. Bu komplekslerden biri olan miyoglobin, kandaki oksijen basıncının

düştüğü durumlarda depoladığı oksijeni serbest bırakarak gerekli ihtiyacı karşılar. Miyogloblin yapısı incelendiğinde merkezdeki demir atomu etrafına yerleşmiş polipeptit zincirinden oluştuğu görülür. Ayrıca bu komplekslerden, hemoglobin ve B12 vitamini (kobalamin) gibi pek çok kompleks de hayati öneme sahiptir [26].

1.2.1. Schiff Bazlarının Özellikleri

Azometin grubundaki azot atomuna elektron salıcı bir alkil ya da aril grubu bağlandığında 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 [27].

Karbonil bileşikleriyle, primer aminlerin kondenzasyonundan 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 [27].



Reaksiyon iki yönlüdür ve denge genel olarak hissedilir bir hızla gerçekleşir. Reaksiyon azot atomunda en az bir tane çiftleşmemiş elektron içeren elektronegatif atom bulunan aminlerle (hidroksilamin, semikarbazit, hidrazin vb.) yapıldığı takdirde tek yönlüdür. Bu durumda reaksiyon ürünü kolay hidrolize uğramadığından yüksek bir verimle izole edilebilir [27].

Hidrolize yatkın olmaları nedeniyle Schiff bazlarının elde edilmesinde daha çok susuz ortamda çalışılır. Reaksiyon sonucu meydana gelen su, azeotrop oluşturan bir çözücü ile uzaklaştırılır. Diaril ve alkil-aril ketonlardan Schiff bazı elde edilirken, reaksiyon suyunun uzaklaştırılması gerekli olduğu halde, aldehit ve dialkil ketonlardan Schiff bazı sentezinde suyun uzaklaştırılmasına ihtiyaç duyulmamaktadır. Buradan diaril ve alkilaril ketiminler hidrolize karşı aldiminlerden ve dialkil ketiminlerden daha az dayanıklı olduğu sonucu çıkarılabilir [27].

Aromatik aldehitler düşük sıcaklıkta ve uygun bir çözücü ortamında aminlerle reaksiyona girerler. Aromatik aldehitlerin aromatik aminlerle kondensasyonunda, para

pozisyonunda elektron çekici bir sübstitüentin aldehitte bulunması halinde reaksiyon hızının arttığı, aminde bulunması halinde ise reaksiyon hızının azaldığı anlaşılmıştır [27].

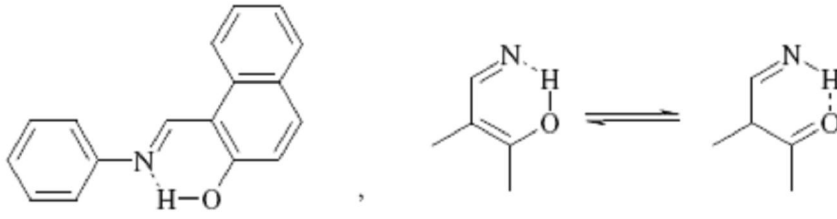
Aldehitler primer aminlerle kolayca Schiff bazı verebildikleri halde, ketonlardan Schiff bazı elde edilmesi oldukça zordur. Ketonlardan Schiff bazı elde edebilmek için reaksiyon sırasında açığa çıkan su ile azeotrop oluşturan bir çözücü seçilmesi, katalizör seçimi, uygun pH aralığı ve uygun reaksiyon sıcaklığının seçimi gibi çok sayıda faktörün dikkate alınması gerekir. Özellikle aromatik ketonlardan Schiff bazlarını elde edebilmek için, yüksek sıcaklık, uzun reaksiyon süresi ve katalizör gereklidir [28].

Ar-CH=N-Ar tipindeki bileşiklere son zamanlarda ilgi artmıştır. Bu moleküllerin absorpsiyon spektrumlarında $1627\text{-}1626\text{ cm}^{-1}$ de pikler görülür. Clougherty, Sousa ve Wyman, on iki anilin bileşiğini incelediğinde dalga sayılarını $1631\text{-}1613\text{ cm}^{-1}$ bulmuşlardır (Tablo 1.1) [29].

Tablo 1. 1. Bazı aromatik Schiff bazlarının C=N grubuna ait IR spektrumları

Bileşikler	cm^{-1}
N-benzildinanilin	1631
N-(2-hidroksi)benzildinanilin	1622
N-(4-hidroksi)benzildinanilin	1629
N-(4-metoksi)benzildinanilin	1630
N-(2-nitro)benzildinanilin	1621
N-(4-asetilamino)benzildinanilin	1629
N-(4-dimetilamino)benzildinanilin	1626
N-benzildinanilin-2-aminofenol	1629
N-benzildin-N'-dimetil-4-fenildiamin	1627
N-(2-hidroksi)benzildin-2-aminofenol	1624
N-(4-dimetilamino)benzildin-2-aminofenol	1613
N-N'-dibenzildin-4-fenildiamin	1628

Schiff bazlarında bulunan molekül içi hidrojen bağları hakkında Chearetti, polar çözücülerde molekül içi hidrojen bağı oluşmasının ve molekül içi hidrojen bağı açılmasının mümkün olduğunu açıklamıştır (Şekil 1.4). Burada temel olarak naftalin ve fenantrolin türevleri örneklendirilmiştir. Bu moleküllerin özellikle sıcaklık ve çözücü değişiminde NH/OH tautomerik dengesinin önemli oranda etkilendiği belirtilmiştir [29].



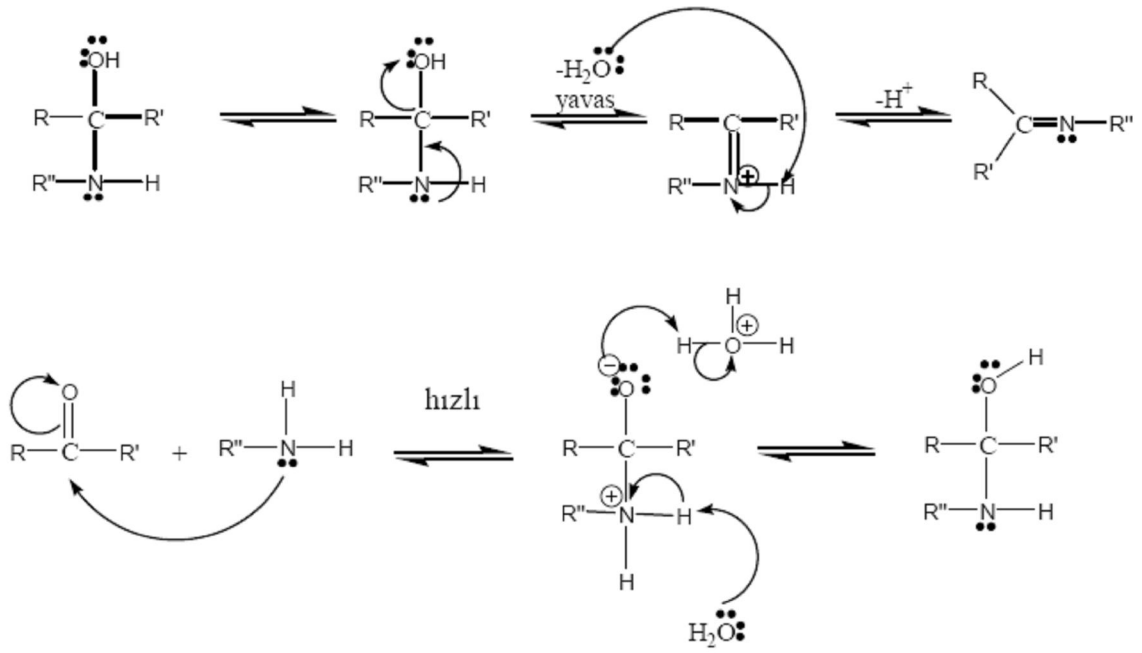
Şekil 1.4. Bazı Schiff bazlarında görülen molekül içi hidrojen bağları

1.2.2. Schiff Bazlarının Oluşum Mekanizması

Schiff bazı oluşum reaksiyonları iki basamaklı bir mekanizma üzerinden meydana gelir. Birinci basamak, aldehitteki karbonil grubuna protonlanmamış amino grubunun katılmasıyla bir tetrahedral karbonil amin ara ürünü oluşmasıdır. İkinci basamak ise azotun bir proton kaybetmesi ve oksijene bir proton bağlanmasıdır.

Birinci basamak, genellikle asidik çözeltilerde hız belirleyen basamaktır. İkinci basamak bazik ve nötral çözeltilerde meydana gelir. Bu nedenle imin eldesi ortam pH'sına bağımlı bir reaksiyondur. Çözelti çok asidik olursa, amin derişimi ihmal edilecek kadar azalır. Böyle olduğunda, normalde hızlı olan katılma basamağı yavaşlar ve tepkime dizisinde hız belirleyen basamak haline gelir.

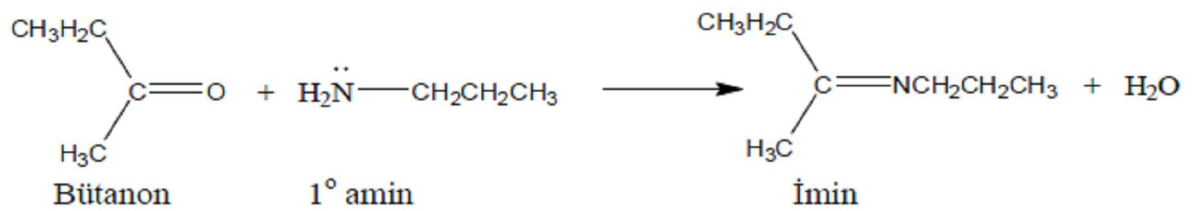
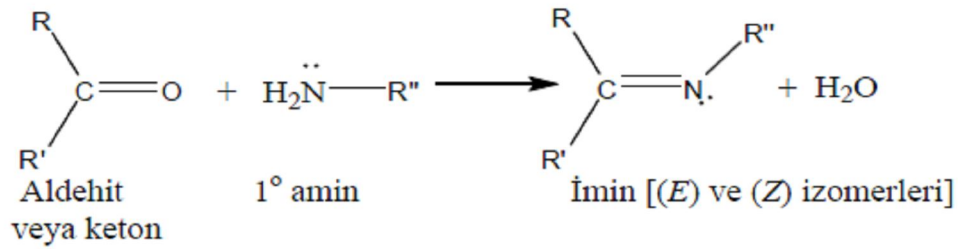
Sekonder aminlerle aldehitler arasında gerçekleşen reaksiyon sonucunda da imin elde edilebilmektedir. İminler primer aminlerle oluşan Schiff bazlarından daha az kararlıdır. Bunlar kuarterner (dördüncül) azot atomu içerdiğinden iminyum tuzları olarak da isimlendirilirler [30] (Şekil 1.2.2.1).



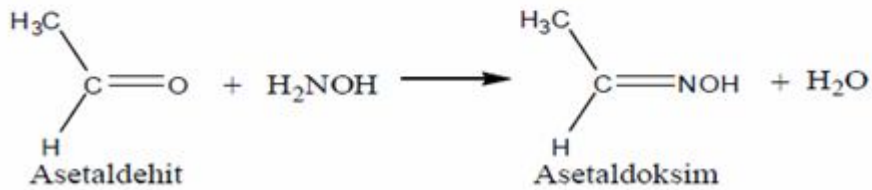
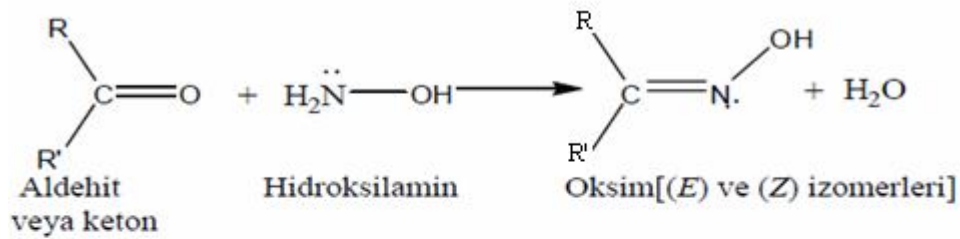
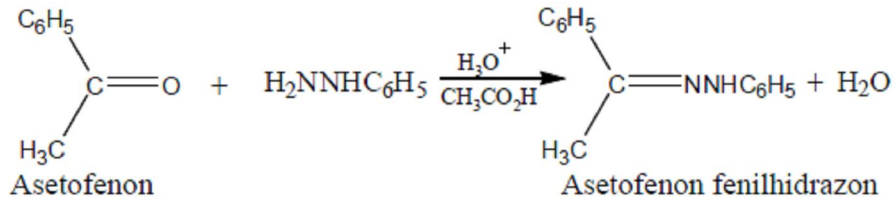
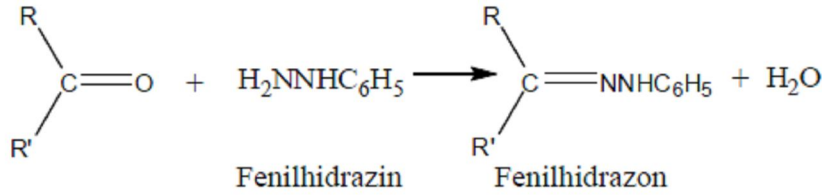
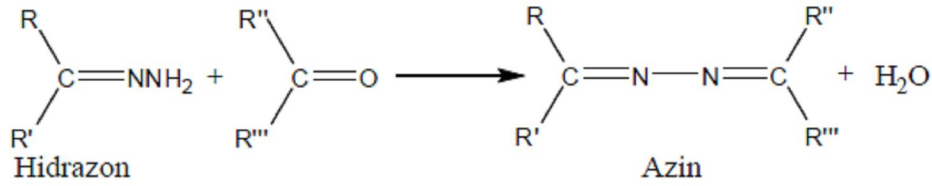
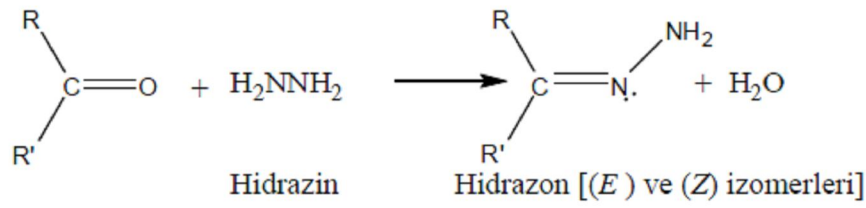
Şekil 1.5. Schiff bazının oluşum mekanizması

1.2.3. Schiff Bazlarının Sentezi

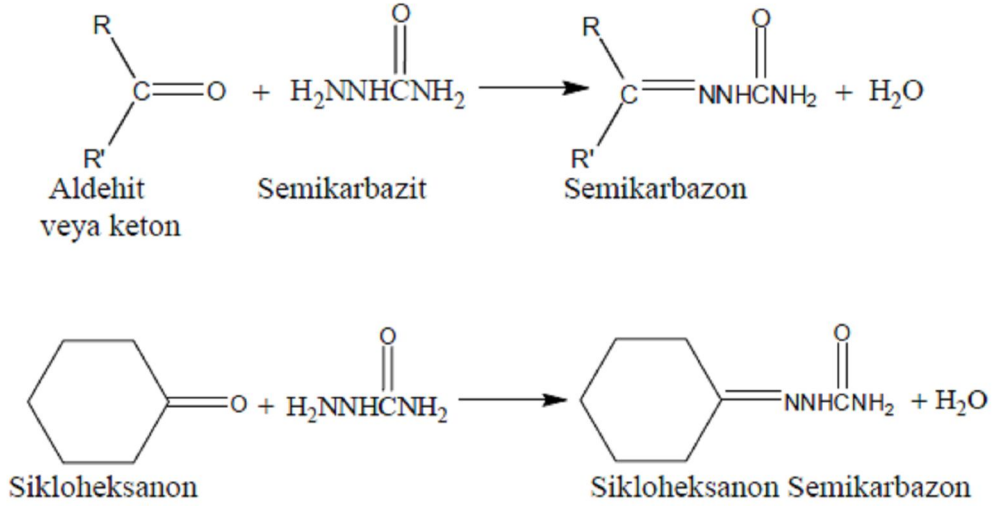
1. Aldehit veya ketonların birincil aminlerle reaksiyonundan



2. Aldehit veya ketonların hidroksilamin ile tepkimesinden



3. Aldehit veya ketonların hidrazin ve fenilhidrazin ile tepkimesinden
4. Aldehit veya ketonların semikarbazit ile tepkimesinden



1.2.4. 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 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 [31].

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 [31].

Schiff bazlarının yapısındaki $-N=C-$ grubunun düzlem içi titreşimlerinden ileri gelen absorpsiyonlar çevresindeki elektronik değişikliklere karşı çok duyarlı olup iminlerde yaklaşık $1640-1630\text{ cm}^{-1}$ de gözlenmektedir [31].

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 [32].

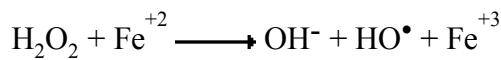
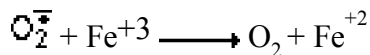
1.3.1. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu

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 ($O_2^{\cdot-}$). Ayrıca bir serbest radikal, çiftleşmemiş elektrona sahip bir atom veya moleküldür. Bu ürün kararsız bir yapıdır ve çevresindeki organik veya inorganik bir 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 [33].



HO• radikali, canlı sistemlere çok zararlı olabilecek çok güçlü bir radikaldir. Birçok hastalıklara sebebiyet verebilecek biyokimyasal değişimleri oluşturulabilir [34].

Serbest radikaller belli miktarlarda hücreler tarafından bazı hücre içi redoks ve sinyal farklılıklarını göstermek gibi fizyolojik faydalar için kullanılabilir [35].

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 tanımlanmaktadırlar. Endojen (doğal) ve eksojen (ilaçlar) antioksidanlar olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılırlar (Tablo 1.1). Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler [35, 36].

Tablo 1.2: 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	- Tiyol içerenler: GSH
- Glutasyon redükaz	- Hemoglobin	-N-asetil sistein, Metiyonin kaptopril
- Hidroperoksidaz	- Miyogloblin	- A vitamini-β-karoten
- Sitokrom-C oksidaz		- Glikoz
		- Ürik asit
		- Ubikinon
		- Bilirubin
B - Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)		Gıda Antioksidanları
- NADPH oksidaz inhibitörleri		- Bütıl Hidroksitoluen (BHT)
-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler		- Bütıl 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		

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 [35].

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 [37].

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 [35].

Oksijen molekülü lipidlere karşı yüksek afiniteye sahiptir. Bu molekül hemoglobinden ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile eritrosit zarındaki lipidlere 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 yapı 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 [38].

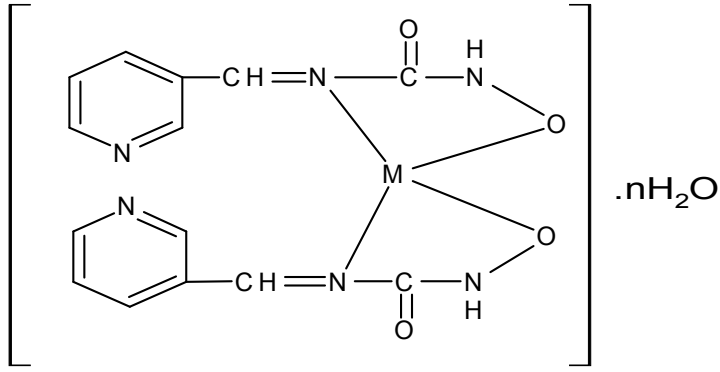
Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine 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 [39].

2. MATERYAL ve METOT

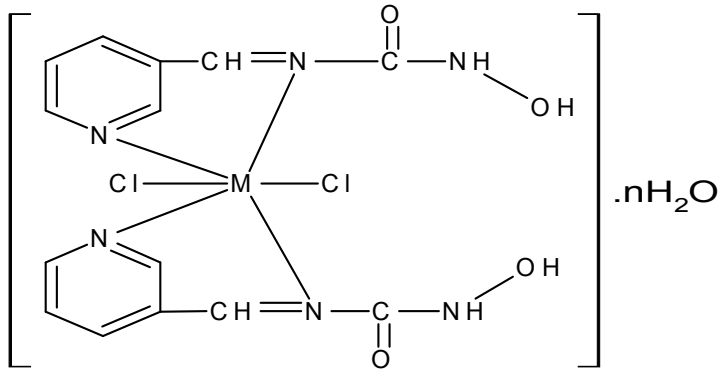
2.1. Kullanılan Kimyasal Bileşikler

Çalışmalarda Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya bölümü öğretim üyelerinden Mehmet Şekerci ve grubu tarafından sentezlenen hidroksiüre türevi schiff bazı metal kompleksleri kullanılmıştır [22]. Komplekslerin yapısı Şekil.2.1 ve Şekil.2.2 de verilmiştir.



M: Cd Mn Cu
n: 2 - 3

Şekil. 2. 1. Cd, Mn ve Cu kompleksinin yapısı



M: Ni Zn
n: 2 -

Şekil. 2.2. Ni ve Zn kompleksinin yapısı

2.2. Uygulamalarda Kullanılan Hücreler

Uygulamalarda MCF-7 hücresi (insan göğüs kanseri hücresi) antitümör aktivite belirlenmesinde kullanıldı. *Saccharomyces cerevisiae* maya hücreleri de antioksidan aktivite belirlenmesinde 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 askosporlar 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 [40]. *Saccharomyces cerevisiae* malt extract broth'da aşılınıp etüvde 25 °C'de inkübe edildi ve eksponansiyel fazda 10^6 hücre/mL alınarak deneysel çalışmalar gerçekleştirildi. Bu hücreler sıklıkla moleküler düzeyde oksidatif strese metabolizmanın cevabı çalışmalarında bir model olarak kullanılmaktadır [41].

2.3. MCF-7 L1210 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. Flaskın içerisine daha önceden hazırlanmış olan DC₅ (25 mL) ilave edildi ve flasklar, Nuaire marka bir %5 CO₂ ortamlı inkübatöre (Plymouth, MN, ABD) yerleştirildi. Günlük olarak hücrelerin durumu Soif marka (Soif Optical Inc., Çin) bir invert 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 ayrılmaları sağlandı. Tüm hücreler flaskın yüzeyinden ayrıldıktan sonra flaskın içerisine 12 mL DC₅ ilave edildi ve dikkatli bir

şekilde tritürasyon (süspansiyonun pipet içerisine çekilip boşaltılarak yapılan ayrıştırma işlemi) yapılarak hücrelerin homojen olarak solüsyona dağılmaları sağlandı.

Hücreler bir hemositometre kullanılarak sayıldı. Her flaska 5×10^6 hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu konulup üzerlerine DC_5 ilave edildi (toplam hacim 25 mL olacak şekilde) ve tüm flasklar inkübatöre yerleştirildi. Hücrelerin ekimleri, beslenmeleri ve deneyler steril bir Class II Laminar Flow (Bolaf, Ankara) içerisinde gerçekleştirildi [42, 43].

2.4. 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 DC_5 ilave edildi ve 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 [44].

Hücre süspansiyonundan birer mL deney tüplerine aktarıldı ve üzerine test edilecek ajanlar 7.5 ve 15 μ M konsantrasyonlarda ilave edildi. Negatif kontrol tüplerine aynı miktarda serum fizyolojik, *Vehicle* tüplerine de aynı miktarda dimetil sülfoksit (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 [44].

2.5. *In vitro* Antioksidan Aktivite Ölçümleri

2.5.1. *Saccharomyces cerevisiae* ile Ölçüm

Antioksidan aktivite için ise geliştirilen hücrelerden her 1 mL sinde farklı sayıda hücre içeren 2 farklı örnek üzerine aktivitesi ölçülecek komplekslerden son konsantrasyonu 50 ve 100 μ M olacak şekilde ilaveler yapıldı. Madde ilavesinden 24 saat sonra MDA miktarları ölçüldü. İlgili literatürlerle kıyaslanarak [45, 46, 47] mL deki hücre sayısının

2.10⁶ 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 asit (TCA)'dan 250 µL ve 0.5 M HClO₄ (perklorik asit)'den 750 µL ilave edilerek çalkalandı. Hücreler küçük parçalara ayrıldı ve lizat 4500 devirde 45 dakika santrifüjlendikten sonra berrak kısım alınarak HPLC'de analizlendi [48].

2.5.2. DPPH Radikal İndirgeme Metodu ile Ölçüm

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için diğer bir yöntem olan DPPH radikal indirgeme metodu kullanıldı [49]. Metanolde 35 mg/L DPPH olacak şekilde hazırlanan çözeltiden 4 mL alınarak her madde için ayrı ayrı tüplere kondu. Derişimleri 4000 µM olarak hazırlanan DMSO'da çözünmüş test maddelerinden her bir grup için öncelikle 250, 500, 750, 1000 µL'lik ilave ile son derişimleri 250, 500, 750, 1000 µM olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Reaksiyonun oluşması için bu karışım oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dk bekletildi ve renk açılımına bakılarak 517 nm'de spektrofotometrede okutma yapılarak absorbans değerleri ölçüldü.

2.6. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadaki bütün istatistiksel analizler; SPSS/PC paket programı kullanılarak yapılmıştır. Aktiviteler arasındaki istatistiksel farklılıkları ortaya koymak için sonuçlara varyasyon analizi uygulandı ve 0.05'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Deneysel çalışmalar sonunda elde edilen veriler, antitümör özellik için One-way Anova analizi, Tukey testi ve MDA analizi için ise LSD testi 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 ve DPPH radikal indirgeme metodu sonuçları Tablo 3.3 ve Şekil 3.1 de verilmiştir.

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

a)24 Saat

Grup n=6	7.5 µM	15 µM
Kontrol	87.17 ± 1.14	86.83 ± 1.58 ^c
L-Mn	56.17 ± 1.49 ^c	41.83 ± 1.83 ^c
L-Cd	52.67 ± 1.09 ^c	40.17 ± 0.54 ^c
L-Zn	52.33 ± 1.31 ^c	35.17 ± 1.42 ^c
L-Cu	50.17 ± 0.83 ^c	40.17 ± 0.54 ^c
L-Ni	52.67 ± 3.33 ^c	36.17 ± 1.54 ^c

b)48 Saat

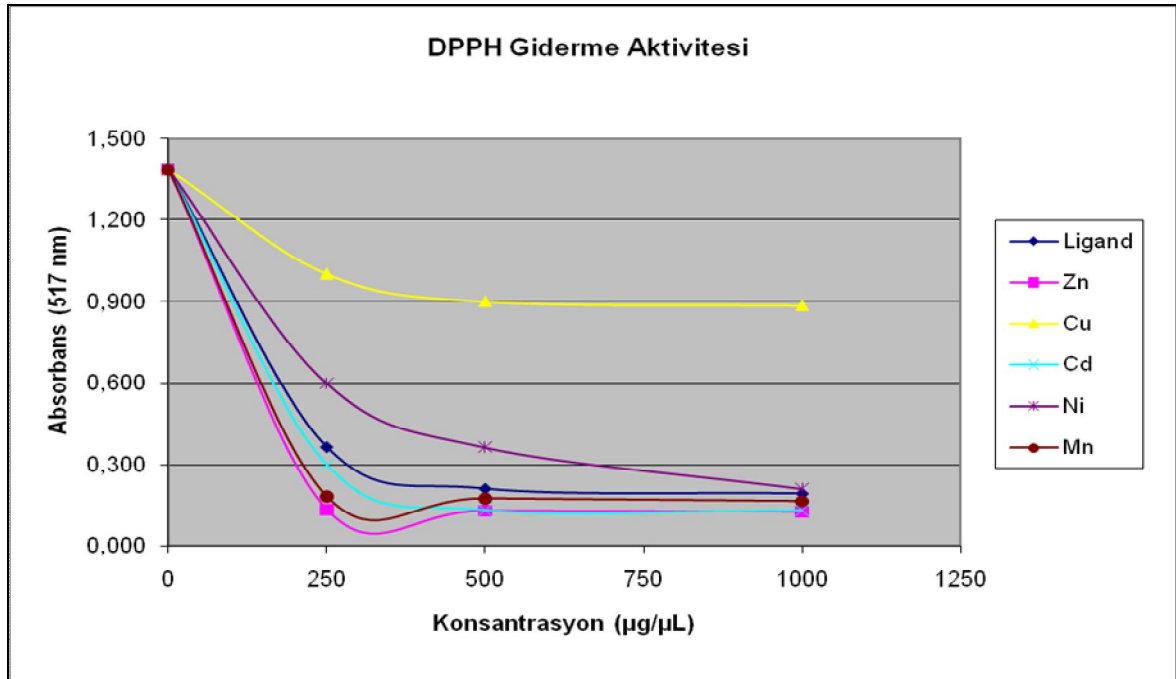
Grup n=6	7.5 µM	15 µM
Kontrol	84.67 ± 1.76	83.83 ± 2.57
L-Mn	23.00 ± 2.41 ^c	8.33 ± 0.61 ^c
L-Cd	24.83 ± 1.05 ^c	9.00 ± 0.45 ^c
L-Zn	17.00 ± 1.84 ^c	7.67 ± 0.61 ^c
L-Cu	16.67 ± 2.81 ^c	3.67 ± 0.80 ^c
L-Ni	19.00 ± 2.05 ^c	5.33 ± 0.33 ^c

Not: 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	0.53 ± 0.08	0.53 ± 0.08
L-Cu	0.48 ± 0.067	0.54 ± 0.075
L-Mn	0.56 ± 0.0015	0.46 ± 0.00075
L-Zn	0.36 ± 0.012 ^a	0.53 ± 0.02
L-Cd	0.40 ± 0.013	0.52 ± 0.22
L-Ni	0.44 ± 0.003	0.51 ± 0.014

a:p<0.05 b:p<0.01 c:p<0.001



Şekil 3.1. DPPH giderme aktivitesi

Tablo 3.3. % DPPH = Kontrol Absorbansı - Numune Absorbansı / Kontrol Absorbansı x 100

Madde (1000 µg/µL)	Yok Edilen DPPH (%)
L-Zn	90.90
L-Cu	36.02
L-Cd	90.54
L-Ni	84.69
L-Mn	88.08

4. SONUÇLAR VE 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 [50].

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 tayinlerini güçleştirmektedir. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının ürünleri ve savunma sistemlerinin incelenmesi pek çok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir [51].

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 [19]. 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 herhangi 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 herhangi bir hasar oluşturmadığı belirlenmiştir [20].

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 μ M) 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. Bu da aynı konsantrasyonda ikinci tip kompleksde daha az bakır olacağı anlamına gelmektedir. Buradan ligandın yapısının en az bakır toksisitesi kadar etkili olabileceği sonucuna varılmıştır [52].

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

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 [53].

Cu(II), karaciğerde sentezlenen ve özel bir metaloprotein olan seruplazmin yapısında bulunmaktadır. Seruplazmin konsantrasyonunun ölçülmesi klinikte Wilson hastalığının tanısında kullanılmaktadır. Wilson hastalığı bakırın proteinine bağlanmasını sağlayan enzimin veya taşıyıcı proteinin eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir. Wilson hastalığında plazmanın albümine bağlı bakır konsantrasyonu artmakta, seruplazmin düzeyi ise belirgin olarak azalmaktadır [54].

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. Yapılan araştırmalar, çinkonun lenfosit hücrelerinin çoğalmasında ve hücre ürünlerinin düzenlenmesinde önemli rol oynadığını göstermiştir [54].

Zn, insülin hormonunun depolanması, 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 [55].

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 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ değeri ile) güçlü sitotoksik etki yaparken Schiff bazı (CD_{50} 5.90 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ 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 [56].

Tablo 3.1'e bakıldığında Schiff bazı ligandlı komplekslerin MCF-7 hücre tipinde, 7.5 ve 15 μM konsantrasyonlarda 24 ve 48 saatlik değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak fark gözlendiği ve etkili bir antitümör aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada aynı zamanda *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerine uygulaması yapılan hidroksiüre türevi Schiff bazı metal komplekslerinin MDA düzeyleri üzerine olan etkileri kontrol grubu ile kıyaslandığında sonuçların birbirine yakın çıktığı görülmüştür. Kontrol grubu ile metal komplekslerinin kıyaslamalarında, MDA düzeylerinde çok büyük istatistiksel farklılıklar gözlenmemiştir. Tablo 3.2'ye bakıldığında metal komplekslerin MDA düzeylerinin kontrol grubu değerlerine yakın çıktığı görülmektedir. Bu sonuç kullanılmış olan test maddelerinin, oksidatif hasar oluşturmadığı ve lipid peroksidasyonuna önemli bir etkisinin olmadığı bir göstergesi olabilir.

Schiff bazı ligandlı metal komplekslerin DPPH indirgeme metoduyla serbest radikal temizleme özelliği incelendi. Antioksidan maddelerin antioksidan özelliklerinden bir tanesi de, ortamda oluşan radikalleri süpürmeleridir. Birçok antioksidan aynı zamanda anti-radikaldir. Bu antioksidanlar radikallerin eşleşmemiş elektronlarını eşleyerek onları etkisiz hale getirirler. Komplekslerimizin anti-radikal özelliklerinin olup olmadığını anlamak için, 517 nm'de maksimum absorban veren DPPH radikali kullanılmıştır. DPPH konsantrasyonu azaldıkça absorban da azalmaktadır. Bu sebeple antioksidan maddeler, 517 nm'de DPPH absorbanında azalmaya sebep olurlar. Bu deneyler sonucunda metal komplekslerde yüksek DPPH radikal giderme aktiviteleri gözlenmiştir. Bu sebepten dolayı metal komplekslerinin antioksidan aktiviteye sahip oldukları söylenebilir.

Komplekslerin *in vitro* antioksidan ve prooksidan özellikleri ile ilgili sonuçlara bakıldığında, bu maddelerin iyi bir antioksidan aktiviteye sahip oldukları söylenebilir.

İn vitro antitümör aktivite sonuçlarına bakıldığında ise, sahip oldukları aktivitenin serbest radikal oluşumunu arttırarak oksidatif hasar sonucu antiproliferatif bir etki olmadığı, bu etkilerini başka bir mekanizma ile gösterdikleri anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak; Schiff bazı bileşiği metal komplekslerinin araştırılan özellikleri sayesinde literatür bilgisine katkıda bulunacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Mark, H.F., 1980. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.
2. Liberta, A.E., West, D.X., 1992. *Biomet.*, 5, 121-126.
3. Yang, Z.Y., Yang, R.D., Li, F.S., Yu, K.B., 2000. *Polyhedron*, 19, 2599-2604.
4. Das, A., Trousdale, M.D., Ren, S., Lien, E.J., 1999. *Antiviral Res.*, 44, 201-208.
5. Fioravanti, R., Biava, S., Donnaramma, G.C., Simonetti, A., Villa, A.P., Puglia, D., Deiddo, C., Maullo, R., Pompei, 1996. *IL Far.*, 51(10), 643-652.
6. Sur, B., Chatterjee, S.P., Sur, P., Maity, T., Roychoudhury, S., 1990. *Oncology*, 47, 433-438.
7. Pires dos Santos, M.L., Alairo, A.F., Mangrich, A.S., Ferreira, A.M.C., 1998. *J. of Inorg. Biochem.*, 71, 71-78.
8. Scovill, J.P., Klayman, D.L., Franchino, C.F., 1982. 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones 4. Complexes with Transition-Metals as Antimalarial and Antileukemic Agents. *J. Med. Chem.*, 25(10), 1261-1264.
9. Singh, D.P., Rana, V.B., 1986. Dinuclear Trivalent Chromium, Manganese, Iron and Cobalt Complexes Bridges by Aromatic Diamines. *Transition Met. Chem.*, 11(1), 23-26.
10. Trafder, M.T.H., Miah, M.A.L., 1986. Novel Peroxo Complexes of Zirconium Containing Organic-Ligands. *Inorg. Chem.*, 25(13), 2265-2268.
11. 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 Growht in Culture and in vivo, *Adv. Enz.Regul.*, 35, 55-68.
12. 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.
13. 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.
14. Subasi, E., Temel, H., Sentürk, O.S., et al., *Journal of Coordination Chemistry*, 2006. 59(16), 1807-1811.
15. Klement, R., Stoch, F., Elias, H., et al., *Polyherdron*, 1999. 18(27), 3617-3628.

16. Atakol, O., 1986. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 9-12 Ankara.
17. Fessender, Ralp, J., Fessender, Joan., 2001. "Organik Kimya". 6. Baskı.
18. Zishen, W., Zhiping, L., Zhenhuan, Y., 1993. Trans. Met. Chem. 18, 291.
19. Öner, H., Karatepe, M., Karatas, F., Öner, J., Yilmaz, İ., Cukurovalı, A., 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.
20. Karatepe, M., Karatas, F., 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.
21. Bulut, H., Karatepe, M., Temel, H., Şekerci, M., Koparır, M., 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.
22. Şekerci, M., Ergin, Z., Keleştemur, Ü., Karatepe, M., "Synthesis and Characterization of Hyroxyurea Derivatives and Its Complexes" Spectroscopic Letters, (hakemde).
23. Brown, W.H., 1995. Organic Chemistry. Saunders College Publishing., 674-675.
24. Beyer, H., 1980. Lendburch der Organischen Chemie, S. Hirzel Verlag, 18. Auflage 174-175 Stuttgart.
25. Atakol, O., Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 9-12 Ankara.
26. Ferrari, M.B., Capacchi, S., Pelosi, G., Reffo, G., Tarasconi, P., Albertini, R., Pinelli, S., Lunghi, P., 1999. Inorg. Chemistry Acta. 286, 134-141.
27. Pratt, E.F., Kamlet, M.J., 1961. Reaction Rates by Distillation. IX. The Condensation of Anilines with Benzaldehydes. *J. Org. Chem.*, 26(10), 4029-4031.
28. Billman, J.H., Tai, K.M., 1958. Reduction of Schiff Bases. II. Benzhydrylamines and Structurally Related Compounds. *J. Org. Chem.*, 23(4), 535-539.
29. Patai, S., 1970. The Chemistry of Carbon-Nitrogen Double Bond. Interscience Publisher, 360, London.
30. Fessenden, Ralph, J., Fessenden, Joan, S., 1990. Organic Chemistry, 610.
31. Kurşunlu, A.N., 2008. "Bazı klorlu Schiff bazlarının sentezi ve immobilizasyon uygulamaları", Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

32. **Stoian, I., Oros, A., Moldoveanu, E.,** 1996. Apoptosis and Free Radicals, *Biochem. and Mol. Med.*, 59, 93-97.
33. **Wolf, R., Wolf, D., Ruocco, V.,** 1998. Vitamin E : The Radical Protector, *J. of Eur. Academy of Derm. and Ver.*, 10, 103-117.
34. **Betteridge, D.J.,** 2000. What is Oxidative Stress?, *Metabolizm*, 49, 3-8.
35. **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.
36. **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.
37. **Halliwell, B., Gutteridge, W.M.C.,** 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford Medicine Press, 246-351.
38. **Tamer, L., Polat, G., Eskandari, G., Ercan, B., Atik, U.,** 2000. Serbest Radikaller, *Mersin Üniv. Tıp Fak. Dergisi*, 1, 52-58.
39. **Köse, K., Doğan, P.,** 1992. Lipid Peroksidasyonu, *Erciyes Üniv. Tıp Dergisi*, Ek 1, 340-350.
40. **Biçici, M.,** 1990. *Mikrobiyoloji*, Çukurova Ü. Ziraat Fak., Adana.
41. **Herdeiro, R.S., Pereira, M.D., Panek, A.D., Eleutherio, E.C.A.,** 2006. Trehalose protects *Saccharomyces cerevisiae* from Lipid peroxidation during oxidative stres, *Biochimica et Biophysica Acta* 1760, 340–346.
42. **Offeing, B.M., Martelli, S.,** 1997. Steochemistry and Antitumour Activity of Platinum Metal Complexes of 2-Acetypyridine Thiosemicarbazones, *Transition Metal Chemistry.*, 22, 263-269.
43. **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.
44. **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.
45. **Esefsi, S.A., et. all.,** 2004. Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultured cells exposed to zearalenone, *Toxicology in Vitro* 18, 467–474.

46. **Shu-Lan, Y., Miao-Lin, H.,** 2000. Antioxidant and pro-oxidant effects of lycopene in comparison with β -carotene on oxidant-induced damage in Hs68 cells, *J. Nutr. Biochem.*, 11, 548 – 554.
47. **Buss, J.L., et. all.,** 2004. Oxidative stress mediates of pyridoxal isonicotinoyl hydrazone analogs. *Arc. Of Biochem. And Biophy.*, 421, 1-9.
48. **Karatepe, M.,** 2004. “Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC/UV.” *LC-GC North America.*, 22, 362-5.
49. **Liyana-Pathirana, C., & Shahidi, F.,** 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, 93, 47-56.
50. **Sudha, K., Ashalatha, V.R., Anjali, R.,** 2001. Oxidative Stress antioxidants in Epilepsy, *Clinica Chimica Acta.*, 303, 19-24.
51. **Matez, J.M., Gomez, P.C., Casto, N.I.,** 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases, *Clinicals Biochemistry*, 32, 595-603.
52. **Çakmak, H.,** 1-2-Bis(aminofenoksi)etan Türevi Schiff bazları ve Metal Komplekslerinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
53. **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.
54. **Onat, T., Kaya, E.,** 1996. Temel Biyokimya, Saray Medical yayıncılık, Bornova/İzmir.
55. **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.
56. **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-benzyl- 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 Ortaöğretim Fen ve Mat. Alanları Eğitimi Bölümünde 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.