

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİDROKSİÜRE TÜREVİ SCHIFF BAZI VE BAZI METAL
KOMPLEKSLERİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİTÜMÖR
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Işıl YILDIRIM

Tez Yöneticisi:
Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

ELAZIĞ, 2009

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİDROKSİÜRE TÜREVİ SCHIFF BAZI VE BAZI METAL KOMPLEKSLERİNİN
ANTIÖKSİDAN VE ANTİTÜMÖR ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Işıl YILDIRIM

Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı

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

Danışman: Doç. Dr Mustafa KARATEPE

Üye:

Üye:

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

TEŞEKKÜR

Bu tezi hazırlamamda her türlü yardımı esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr Mustafa KARATEPE'ye teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Ayrıca sentez çalışmalarını gerçekleştiren Prof. Dr. Memet ŞEKERCİ ve Arş Gör. Zuhale ERGİN'e de sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hücre kültürü çalışmalarımızda desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Süleyman SANDAL'a teşekkürlerimi sunarım

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
METERYAL METOT.....	10
BULGULAR.....	19
TARTIŞMA.....	21
KAYNAKLAR.....	27
ÖZGEÇMİŞ.....	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA NO

1.Şekil 2.1.1. Aminlerin karbonil bileşikleriyle verdiği kondenzasyon reaksiyonu	3
2. Şekil 2.1.2. Azometin oluşumu	3
3. Şekil 2.1.3 .İmin oluşumu	3
4. Şekil 2.1.4 .Oksidan ve Antioksidan denge	5
5. Şekil 3.7.1. Schiff bazı ligandının IR spekturumu	12
6.Şekil 3.7.2. Bakır kompleksinin IR spekturum	12
7.Şekil 3.7.3. Mangan kompleksinin IR spekturumu	13
8.Şekil 3.7.4. Çinko kompleksinin IR spekturumu	13
9.Şekil 3.7.5. Kobalt kompleksinin IR spektumu	14
10.Şekil 3.7.6. Nikel kompleksinin IR spekturumu	14
11.Şekil 3.7.7. Nikel kopleksinin UV spekturumu	15
12.Şekil 3.7.8. Kobalt kompleksinin UV spekturumu	15
13.Şekil 3.7.9. Bakır Kompleksinin UV spekturumu	16

TABLÖLER LİSTESİ

SAYFA NO

1. Tablo2.1 Endojen ve Eksojen Antioksidanlar	7
2. Tablo 4.1. Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerinin süreye ve doza göre canlılık Durumları	13
3. Tablo 4.2. Maddelerle muamele edilmiş ratların serum MDA, antioksidan vitaminler A, E C Düzeyleri	14

SİMGELER

SAYFA NO

1.(O ₂ ⁻): SÜPEROKSİTANYON RADİKALİ.....	5
2.HO [•] : HİDROKSİ RADİKALİ	5
3. LO [•] : ALKOKSİL RADİKALİ	5
4. (LOO [•]): PEROKSİT RADİKALİ	5
5. (H ₂ O ₂): HİDROJENPEROKSİT	5
6. (LOOH):LİPİTHİDROPEROKSİTLER	5
7. (HOCL): HİPOKLORİK ASİT	5

KISALTMALAR

SAYFA NO

1. HPLC: YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMOTOGROFİSİ.....16
2. (MDA): MALONDİALDEHİT16

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

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

Işıl YILDIRIM

Fırat Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

2009, Sayfa:34

Bu çalışma iki basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta [(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] ve metal komplekslerinin sentezi yapıldı. Elde edilen ligand (LH) ve komplekslerin yapıları Elementel Analiz, Magnetik Süsseptibilite, IR, ¹H-NMR, UV-VIS teknikleri ile aydınlatılmıştır. Önerilen yapılar [(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] (LH) ligandının Co(II), Mn(II) ve Zn(II) komplekslerinin oktahedral, Cu(II) ve Ni(II) komplekslerinin karedüzlem ve tetrahedral yapılarında olduğu belirlenmiştir.

Daha sonra elde edilen ligand ve komplekslerinin deri altı enjeksiyonu ile ratların, lipid peroksidasyon'un derecesini gösteren serum malondialdehit (MDA) konsantrasyonu ve serum antioksidan A, E, C, vitaminlerinin düzeyleri üzerine etkisi ve *in vitro* anti tümör özellikleri araştırıldı.

Sonuç olarak; ölçülen parametreler ve deney süresince canlı hücre sayısına bakıldığında ligand ve komplekslerinin MCF-7 hücre tipinde etkili bir anti tümör aktiviteye sahip olduğu görüldü.

Yapılan çalışmada kontrol grubu ile ligand ve metal kompleksler'inin kıyaslamalarında MDA, vitamin A, E, C düzeylerinde istatistiksel farklılıklar gözlenmedi.

Anahtar kelimeler: HPLC, Hidroksiüre, Schiff Bazı, Antioksidan Vitaminler, MDA antitümör aktivite

ABSTRACT

Master Thesis

THE INVESTIGATION OF ANTITUMOR AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF HYDROXYUREA DERIVATIVE SCHIFF BASE AND ITS METAL COMPLEXES

Işıl YILDIRIM

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

2009, Page 34

This study has been occurred in two stages. In the first stage, we have synthesized [(2-hydroksybenzylidene)-3-methylurea] and its metal complexes. The structures of ligand (LH) and its metal complexes were characterized by using IR, ¹H-NMR spectra, elemental analysis, magnetic susceptibility, UV-Vis. The suggested structures for the LH complexes of Mn(II), Co(II) and Zn(II) are octahedral, for the Ni(II) complex is tetrahedral and for the Cu(II) complex is square-planar.

Then the ligand and metal complexes on the serum MDA concentration which is an indicator of lipid peroxidation, serum antioxidant vitamins A, E, C levels in rats which is injected subcutaneously and *in vitro* antitumour activity were investigated.

In the comparison 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.

Key Word: HPLC, Hydroxyurea, Schiff Base, Antioxidant Vitamins, MDA, Antitumor activity

1.GİRİŞ

Schiff bazları, aldehit ve keton bileşiklerinin primer aminlerle reaksiyonundan elde edilen kondenzasyon ürünleridir. Reaksiyon sonunda oluşan C=N çift bağına, azometin bağı denir.

Schiff bazları ve metal kompleksleri çeşitli farmakolojik aktivitelerinden dolayı kimya, biyoloji ve farmakoloji bilim dallarında büyük ilgi görmektedir [1]. Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin antitümör [2], antiviral [3], antimikrobiyal [4], antineoplastik [5], özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, Schiff bazı bileşiklerinin ve Cu(II) komplekslerinin, lipid peroksidasyonunu engelleyerek antioksidatif aktivite gösterdiği de bildirilmektedir[6].

Schiff bazı türevlerinin DNA ve RNA sentezini inhibe edici etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir [7]. Bu etki onların ribonükleotit redüktaz (RR) enzimini inhibe etmelerinden kaynaklanmaktadır [8].

Schiff bazları'nın bilim çevrelerinde gördüğü ilgi ve pratik hayatımız açısından önemi günden güne artmaktadır. Son yıllarda sıvı kristal teknolojisinde kullanılabilecek pek çok Schiff bazı bulunmuştur [9]. Özellikle son on yılda N₂O₂ dört dişli Schiff bazları'nın metal şelatlarına olan ilgi bu komplekslerin değişik uygulama alanlarından dolayı artmıştır [10]. Bunun sebebi Schiff bazı metal şelatlarının molekül yapılarıdır. Bundan başka elektron çekici grup içeren ligandların metal komplekslerinin biyolojik aktivitelerinin fazla olduğu, bütün bakır komplekslerinin antibakteriyel aktivite gösterdiği, özellikle hidroksi süstitüe Schiff bazı ve komplekslerinin daha fazla aktivite gösterdiği bulunmuştur [11].

Ayrıca bazı Schiff bazı kompleksleri değişik uygulama alanları bulmaktadır. Örneğin platin komplekslerinin antitümör aktivite göstermesi [12], kobalt komplekslerinin oksijen ayrılması ve taşınması reaksiyonları için, oksijen taşıyıcı model olarak kullanılması [13,14,15], fenollerin [16] ve olefinlerin [17] oksidasyonu gibi katalitik reaksiyonlarda kullanılması, Mn ve Ru komplekslerinin suyun fotolizini katalizlediği [18], demir komplekslerinin katodik oksijen indirgenmesinde katalizör olarak kullanıldığı bilinmektedir [11]. Schiff bazı komplekslerinin geçiş metal iyonlarıyla yaptıkları komplekslerin bazı endüstriyel ve biyokimyasal olaylarda göstermiş oldukları katalitik aktivite de oldukça ilgi uyandırmıştır [19,20]. Örneğin Cu⁺² ve Gd⁻² komplekslerinin pozitron emisyon tomografisi ve görüntülemeye kullanıldığı bilinmektedir [21,22]. Ayrıca Schiff bazları'nın yapılarında bulunan gruplardan dolayı bunlardan elde edilen metal kompleksleri renkli maddeler olduğundan tekstil boyacılığında pigment boyar maddesi olarak kullanılmaktadır [23].

Yine başka bir çalışmada, bu Schiff bazı türevi ile Zn(II) ve Cu(II) metal kompleksleri ratlara 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 adrenal dokularda her hangi bir hasar oluşturmadığı belirlenmiştir [24].

Yapılan başka bir çalışmada bu tür bileşiklerin herhangi bir antiviral aktivite göstermediği ancak güçlü bir sitotoksik etkiye sahip oldukları gözlenmiştir [25].

Schiff bazı türevleri ve bakır kompleksler'inin spektrofotometrik davranışlarının süperoksit dismutaz (SOD) ile mukayese yapılan çalışmada bu bileşiklerin geniş spektrumlu biyolojik aktivitelerinin yanı sıra SOD benzeri aktivite gösterdikleri belirlenmiştir [26].

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.

Çalışmanın Amacı

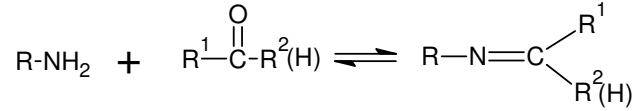
Çalışmada iki amacımız vardır. İlk aşamada Hidroksiüre türevi yeni bir Schiff bazı bileşiği ve bunun metal komplekslerini sentezlendi ve karakterize edildi. İkinci aşamada ise bunların biyolojik etkilerini incelendi. Bunun için, bileşikler ratlara deri altı enjekte edildikten sonra, alınacak kan ve doku örneklerinde HPLC cihazı ile A, E, C vitaminlerini ve MDA analizleri yapılarak *in vivo* olarak antioksidan özellikleri İkinci olarak ta *in vitro* antitümör etkileri incelendi.

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) 'ın 1700 nolu projesi ile desteklenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

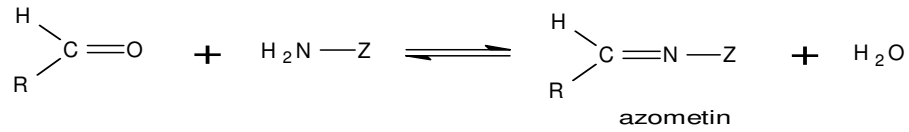
2.1. Schiff Bazları

Primer aminlerin aldehit veya ketonlarla kondenzasyon reaksiyonu vermesi sonucu oluşan C=N çift bağı (imin bağı) tanımlanan bileşikler Schiff Bazları olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.1.1).

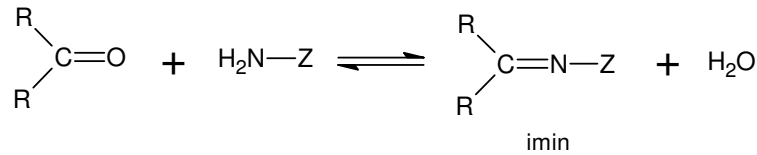


Şekil 2.1.1. Aminlerin karbonil bileşikleriyle verdiği kondenzasyon reaksiyonu

Karbonil bileşiği aldehit ise oluşan bağ azometin veya adlimin, keton ise oluşan bağa imin veya ketimin adı verilir [27,28,29]. Reaksiyon oluşumu gösterilmiştir (Şekil 2.1.2, Şekil2.1.3).



Şekil 2.1.2. Azometin oluşumu



Şekil 2.1.3. İmin oluşumu

Bununla birlikte amin veya karbonil bileşiklerin 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 atomların türü ve sayısının yapısı ve çeşitliliği üzerine etkisi büyüktür. Ayrıca ligandın reaksiyona girdiği metal tuzu ve metal tuzunun oranı gibi etkenler kompleks'in yapısı üzerine etki edebilmektedir. Biyokimyasal reaksiyonların ara basamaklarında da metal-ligand kompleksler'inin oluştuğu da bilinmektedir. Bu yüzden biyokimyasal reaksiyonların açıklanmasın da N,S,O donör atomları içeren ligandların çeşitli metallerle verdiği kompleksler seçilmekte ve bunların koordinasyon geometrileri, metal-donor atom bağ uzunlukları ve karalılıkları

incelenmektedir. Vücut içerisinde pek çok metal-ligand kompleks'inin varlığı bilinmektedir. Bu komplekslerden biri olan miyoglobin, kandaki oksijen basıncının düştüğü durumlarda depoladığı oksijeni serbest bırakarak gerekli ihtiyacı karşılar. Miyoglobin yapısı incelendiğinde merkezdeki demir atomu etrafına yerleşmiş polipeptit zincirinden oluştuğu görülür. Bununla birlikte hemoglobin, B12 Vitamin (kobalamin) gibi pek çok kompleks içinde hayati öneme sahiptir [30].

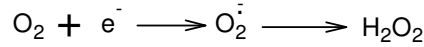
2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal reaksiyonları ile ortaya çıkan çiftleşmemiş elektrona sahip, reaktif ve kısa ömürlü bileşiklerdir. Serbest radikallere, oksidan moleküller veya en doğru adlandırma ile "Reaktif Oksijen Partikülleri" de denilmektedir [31].

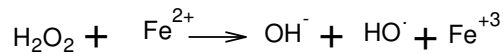
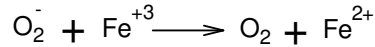
2.2.1. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu

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^-). Bir serbest radikal, çiftleşmemiş elektrona sahip bir atom yada moleküldür. Bu ürün kararsız bir yapıdadır ve çevresindeki bir organik ya da inorganik yapıya saldırabilir. Peroksit anyonu çözültiden iki proton alarak hidrojen perokside dönüşür.

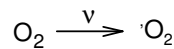


Canlı sistemlerde oksijen radikalının zararlı etkilerine dikkat edilmesi ve bu radikallerin hemen etkilerinin uzaklaştırılması gerekir. Aksi halde bunlar Fe veya Cu gibi iki değerlikli katyonları katalizleyerek daha etkili olan hidroksil radikalini oluşturur [32].



$HO^\cdot$ radikali, canlı sistemlerde çok zararlı olabilecek çok güçlü bir radikaldir. Birçok hastalığa sebep verebilecek biyokimyasal değişimleri oluşturabilir [33]. Serbest radikaller belli miktarda hücre tarafından hücre içi redoks ve sinyal farklılıklarını göstermek için fizyolojik faydalar için kullanılabilir [34].

Oksijenin diğer bir metaboliti singlet oksijendir (1O_2). Bu molekül oksijenin enerji yakalamasıyla şekillenir.



Singlet oksijen serbest radikal değildir [35]. Ancak biyokimyasal olaylarda önemlidir ve doku hasarına yol açabilir. Bu zararların ortadan kalkışı vitamin A ve diğer retinoidler veya β - karoten ve

diğer karoteinler gibi antioksidanların kimyasalı değışmeksizin enerji absorbe eden bileşikler olarak singlet oksijeni biyolojik sistemlere zarar vermeden O₂'ye dönüşmesiyle olur [36].

Bu açıklamalara göre oksidanlar, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküller ile kolayca elektron alışverişı yapabilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde başka moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde bileşenler (non-radikaller) olmak üzere iki grupta toplanır [37].

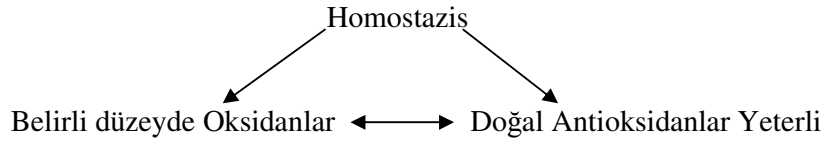
1.Radikaller

- Süperoksit (O₂[•])
- Hidroksil radikali HO[•]
- Alkoksil radikali (LO[•])
- Peroksit radikali (LOO[•])

2.NonRadikaller

- Hidrojen peroksit (H₂O₂)
- Lipit hidroperoksitler (LOOH)
- Hipoklorik asit (HOCL)

Oksidanlar, organizmada başlıca glukozun oksidasyonu sırasında olmak üzere tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırası ve sonrasında sürekli bir oluşum ve “endojen antioksidanlar” adı verile moleküller tarafından sürekli etkisizleştirme süreci içindedirler. Sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları dengeleştirme gücü bir denge (Hemostazis) içindedir [38].



Şekil 2.1.4. Oksidan ve antioksidan denge

Kanser, romatoid artrit, katarak, Parkinson, şeker hastalığı ve yaşlanma süreci oksidan moleküllerin etkin olduğu kabul edilen hastalıklar arasında sayılmaktadır [39].

Oksidan moleküller, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipit karbohidrar, nükleik asitler ve yaralı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar [34].

2.2.2. Lipit Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)

Lipit peroksidasyonu membranda bulunan fosfolipit, 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 lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere yükseltgenen tüm hücre elemanları ile etkileşirler [34].

Hücreleri saran membranlar hücre organelleri, geniş miktarda poliansature yağ ihtiva ederler. Serbest radikaller hücre membranındaki bu poliansature yağ asitlerine saldırır ve lipit peroksitlerin teşekkülüne yol açan lipit radikallerin oluşumuna sebep olurlar. Lipit peroksidasyonundaki artış serbest radikal aktivasyonun indirekt bir işaretidir. Biyolojik membranların en önemli unsurları lipit ve proteinlerdir. Lipit peroksidasyonu, lipitler kadar membran proteinlerini de hasara uğratabilir [37].

Çeşitli patolojik durumlar arasında birçok hücre tipinde O_2 'nin redüksiyonundan oluşan türlerin oğlan dışı ve şiddetli üretimiyle karakterize oksidatif stresin meydana geldiği günümüzde iyi bilinmektedir. Bu oksidatif stresin genel bir sonucu, hücre organizasyonun az ya da çok degradasyonu ile sonuçlanan hücre lipid peroksidasyonudur [34].

Oksijen molekülleri lipitlere karşı yüksek afiniteye sahiptir. Bu molekül hemoglobinin ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile eritrosit zarındaki lipitlerde çözünmekte ve daha sonra dokularda kullanılmaktadır. Bu sırada dokulara da bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijen bağlanması sonucu lipit peroksidasyon kimyasal reaksiyonu meydana gelmektedir. Lipit peroksidasyonun zar yapısı ve bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerinde zararlı etkileri ve son ürünlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden oldukları düşünülmektedir [40].

Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehytlere üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından difüze 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 deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinogenetik olduğunu açıklar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hem insandaki hem de doğadaki lipit peroksidasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için antioksidanlar kullanılmaktadır [41].

2.2.3. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşum ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “Antioksidan Savunma Sistemleri” veya antioksidanlar olarak bilinirler.

Antioksidanlar, okside olabilir bir substratla mukayese edildiğinde, düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratın oksidasyonunu önemli derecede geciktiren yada inhibe eden “ herhangi bir

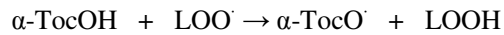
substrat” olarak tanımlanmaktadır. Endojen (doğal) ve eksojen (ilaç) antioksidanlar olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılırlar. Hücrelerin hem sıvı hemde membran kısımlarında bulunabilirler [34, 38]

Tablo2.1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar

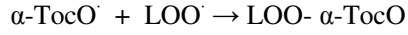
A-Endojen (Doğal) Antioksidanlar		
I.Enzimler	II. Makromoleküller	III. Mikromoleküller
-Süperoksit dismutaz	-Seruplazmin	-E vitamin ve analogları
-Katalaz	-Transferin	-C vitamini
-Glutasyon peroksidaz	-Ferritin	- Tiyol içerenler:GSH
-Glutasyon redüktaz	-Hemoglobin	-N-Asetil sistein, Metiyonin kaptopril
-Hidroperoksidaz	Miyoglobin	-A vitamin- β- karoten
-Sitokrom C oksidaz		-Glikoz
		-Ürik asit
		-Ubikinon
		-Bilurubin
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
-Rekombinat h-SOD		-Propilgalat
-21- Aminosteroidler, İndopamid		
-Sitokinler, Flavonoidler		
-Ksantin oksidaz inhibitörleri		
-Barbitüratlar, Trimedizidin		

2.2.4. E Vitaminin Antioksidan Etkisi

E vitamin yağda çözünen vitamin olduğu için hem selüler hem de subsellüler membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur. Membranda oksijen radikallerin ana temizleyicisidir. En aktif formu α-tokoferoldür. Zincir kırıcı antioksidan olarak fonksiyon görür. Hidrofobik kısmına hidrojenin kolaylıkla verebilen –OH grubu bağlıdır. Bu yüzden lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidi yerine α-tokoferole birleşerek reaksiyon zinciri kırılmış olur. Ve çok zayıf ve etkisiz bir radikal olan tokoferoksil radikalini oluşturur.[34, 42–46].



Oluşan tokoferoksil radikali ikinci bir radikalle reaksiyona girerek radikal olmayan bir ürün olan LOO-TocO'yi oluşturur.



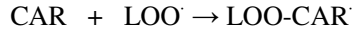
Böylece her tokoferol molekülü lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kırmış olur ve sonuçta zincir reaksiyonu durur. Zincir reaksiyonlarını önlemesi ile E vitamini antioksidan etki göstermiş olur [32].

Ayrıca E vitamini diğer biyolojik moleküllerden daha fazla peroksit radikali ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunu önler ve hücre yapısını koruyarak güçlü bir antioksidan etki gösterir [34].

2.2.5. A Vitaminin Antioksidan Etkisi

A vitaminleri görme, üreme büyüme ve epitel dokunun sağlamlılığı için gerekli olan bir grup bileşiktir. Diyetteki retinolün oksidasyonu sonucu oluşan retinoik asit retinoidlerin görme dışında diğer etkilerinin çoğuna aracılık eder. α -tokoferollerle karóúlaótúróldóπúnda oldukça zayıf bir antioksidandır[47].

Ayrıca Karotenoitler, lipit peroksidasyon 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. B- karotenin (CAR) peroksil radikali ile direkt olarak reaksiyona girebileceği ve karbon merkezli radikal oluşturarak rezonans kararlı hale geleceği belirtilmektedir [48].



Karotenoitler α -tokoferollerde görüldüğü gibi iki peroksil radikali ile reaksiyona girebilir [49].

Ayrıca rezonans karalığı ile bir karoten molekülü, karbon merkezli radikaller oluşturarak iki peroksil radikaline daha etki eder.

B- karoten ile peroksil radikalinin reaksiyonundan oluşan ürünlerin bazıları son zamanlarda ESR ile tarif edilmiştir. Ürünler bazı epoksitler ile B- karotenin karbonil türevleridir [48,50].



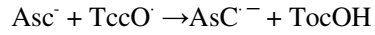
2.2.6. C Vitaminin Antioksidan Etkisi

Askorbik asid; moleküler oksijen, nitrat sitokrom a ve c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olan ve sulu ortamda serbest radikallerle reaksiyona girebilme kabiliyetinde olan suda eriyen bir vitamindir. Plazmada oksidanajana karşı ilk antioksidan sefansı oluşturur. LDL kolestolünün oksidasyonunu önleyerek aterosleroza karşı korumada yardımcı olur. Kolljen sentezinde, tirozin yıkımında, epinefrin sentezinde, safra oluşumunda ve pek çok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak rol alır. Süperoksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girip onları temizleyen bir

antioksidan olmasının yanı sıra tokoferoksil radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar. Bu esnada kendisi dehidroaskorbata okside olur. C vitamini yetersizliği durumlarında oluşan tokoferoksi radikalleri tokoferole dönüşmek için GSH ile reaksiyona girerek hücredeki GSH miktarını azaltır. Yine plazma C vitamin düşük (0.2 mmol/L'den düşük) olduğu zaman oksidan etki gösterebilir. Ayrıca plazma düzeyi düşük olduğu zaman Fe fenton reaksiyonuna uygun hale getirir ve süperoksit oluşumuna katkıda bulunur [45,40–44].

C vitamini kollojenin prolin ve lizin birimlerinin hidroksilasyon reaksiyonlarında koenzim olarak görev alır. Suda çözünebilen vitaminlerden olan askorbik asit bağırsaklarda kolayca emilir ve kana karışır [51-52].

C vitaminin etkili bir singlet oksijen olduğu da belirtilmektedir [35]. Ayrıca C vitamini askorbat radikali oluşturarak, radikalik tokoferollerin yenilenmesini sağlar [33].



3. METARYAL- METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Hidroksiüre, Salisil aldehit, Metil alkol, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tuzları.

3.2. Schiff Bazı Ligandının Sentezi

0.1 mol hidroksiüre 10 ml metil alkolde çözüldürülerek reaksiyona bırakıldı. 0.1 mol salisilaldehit 10 ml metil alkolde çözülerek reaksiyon ortamına ilave edildi ve reaksiyon bir süre devam ettikten sonra 5 damla asetik asit ilave edilerek pH ayarlaması yapıldı. Reaksiyon, 5 saat geri soğutucu altında reflaks edildi. Buharlaştırma işlemi yapılarak çözücü uzaklaştırıldı ve polimer yapıda kırmızı renkli çökelek oluşumu gözlemlendi.

3.3. Cu(II) kompleksinin sentezi

2 ml salisilaldehit 10 ml metil alkolde çözülerek reaksiyon ortamına bırakıldı. 1 gram hidroksiüre sıcak metanolde çözülerek reaksiyon ortamına eklendi. Reaksiyon bir süre devam ettikten sonra 5 damla asetik asit ilave edilerek pH ayarlaması yapıldı. 1 gram bakır klorür tuzu sıcak metanolde çözülerek reaksiyon geri soğutucu altında reflaks edildi. 3-4 saat sonra yeşil renkli çökelek oluşumu gözlemlendi. Süzülerek çökelen kısım alındı ve etüvde kurutuldu.

3.3. Ni(II) kompleksinin sentezi

2 ml salisilaldehit 10 ml metil alkolde çözülerek reaksiyon ortamına bırakıldı. 1 gram nikel klorür tuzu sıcak metanolde çözülerek reaksiyon ortamına eklendi. Reaksiyon bir süre devam ettikten sonra 1 gram hidroksiüre sıcak metanolde çözülerek reaksiyon ortamına eklendi. Bir süre reaksiyon devam ettikten sonra 5 damla asetik asit ilave edilerek pH ayarlaması yapıldı. Reaksiyon geri soğutucu altında reflaks edildi 3-4 saat sonra kahverengi renkli çökelek oluşumu gözlemlendi Süzülerek çökelen kısım alındı ve etüvde kurutuldu.

3.4. Co(II) kompleks'inin sentezi

2 ml salisilaldehit 10 ml metil alkolde çözülerek reaksiyon ortamına bırakıldı. 1 gram hidroksiüre sıcak metanolde çözülerek reaksiyon ortamına eklendi. Reaksiyon bir süre devam ettikten sonra 5 damla asetik asit ilave edilerek pH ayarlaması yapıldı. 1 gram kobalt klorür tuzu sıcak metanolde çözülerek reaksiyon 6 saat geri soğutucu altında reflaks edildi. Buharlaştırma işlemi yapılarak çözücü uzaklaştırıldı ve siyah renkli çökelek oluşumu gözlemlendi.

3.5. Mn(II) kompleks'inin sentezi

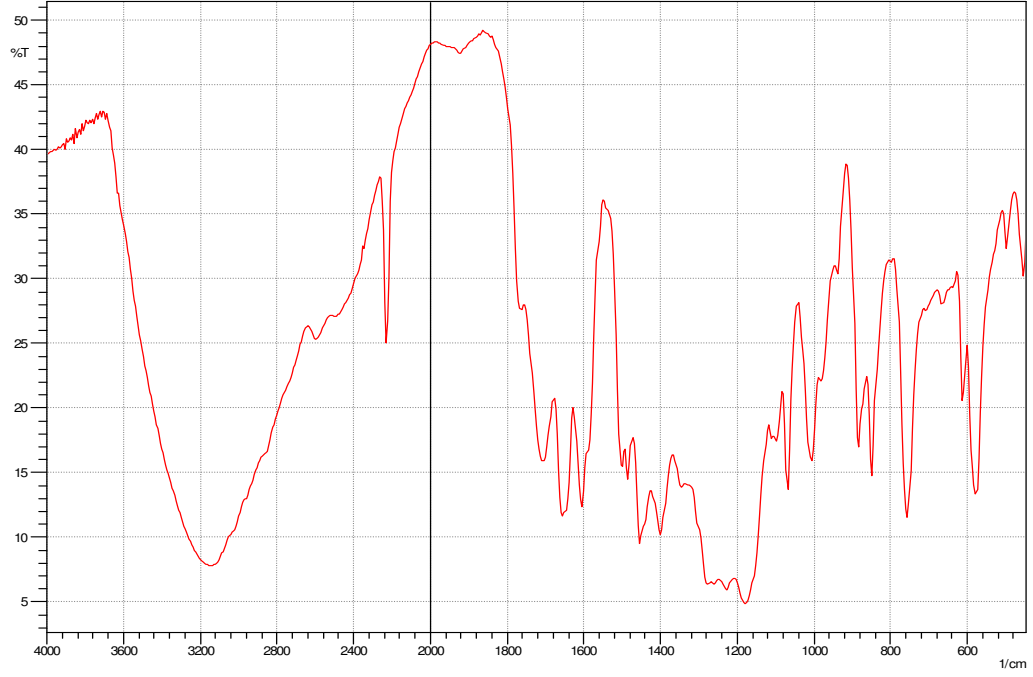
2 ml salisilaldehit 10 ml metil alkolde çözülerek reaksiyon ortamına bırakıldı. 1 gram hidroksiüre sıcak metanolde çözülerek reaksiyon ortamına eklendi. Reaksiyon bir süre devam ettikten sonra 5 damla asetik asit ilave edilerek pH ayarlaması yapıldı. 1 gram mangan klorür tuzu sıcak metanolde çözülerek reaksiyon geri soğutucu altında 6 saat reflaks edildi. Buharlaştırma işlemi yapılarak çözücü uzaklaştırıldı. Elde edilen ürün dietileter ile çöktürüldü ve yeşil renkli çökelek oluşumu gözlemlendi.

3.6. Zn(II) kompleks'inin sentezi

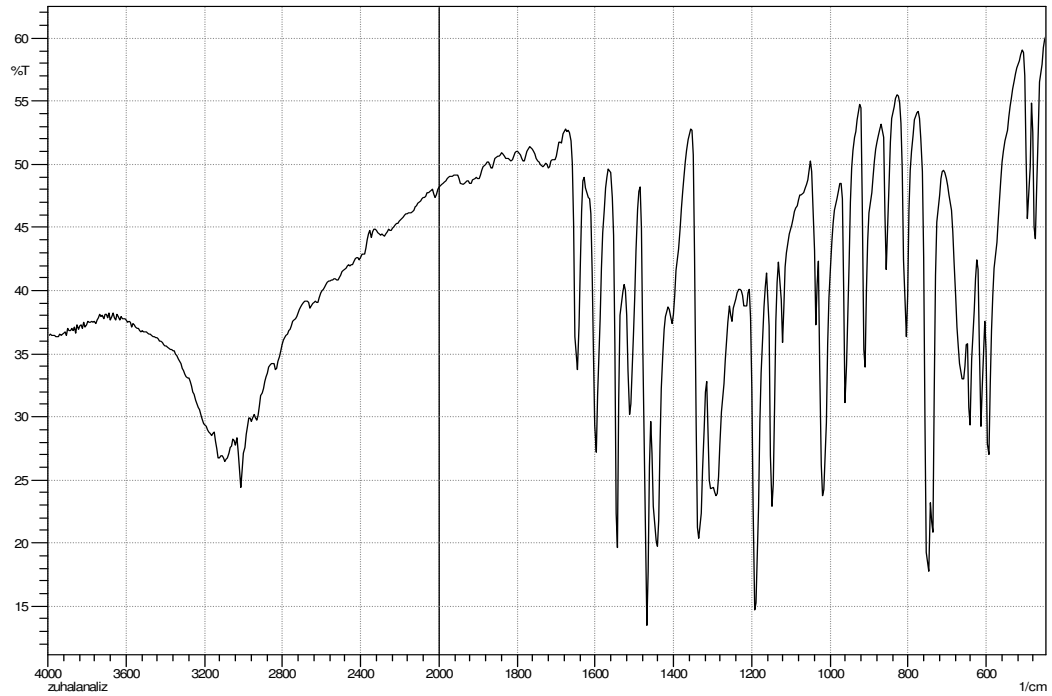
2 ml salisilaldehit 10 ml metil alkolde çözülerek reaksiyon ortamına bırakıldı. 1 gram hidroksiüre sıcak metanolde çözülerek reaksiyon ortamına eklendi. Reaksiyon bir süre devam ettikten sonra 5 damla asetik asit ilave edilerek pH ayarlaması yapıldı. 1 gram çinko klorür tuzu sıcak metanolde çözülerek reaksiyon geri soğutucu altında 6 saat reflaks edildi. Buharlaştırma işlemi yapılarak çözücü uzaklaştırıldı. Elde edilen ürün dietileter ile çöktürüldü ve koyu sarı renkli çökelek oluşumu gözlemlendi.

3.7. Ligand ve komplekslerin IR spekturumları

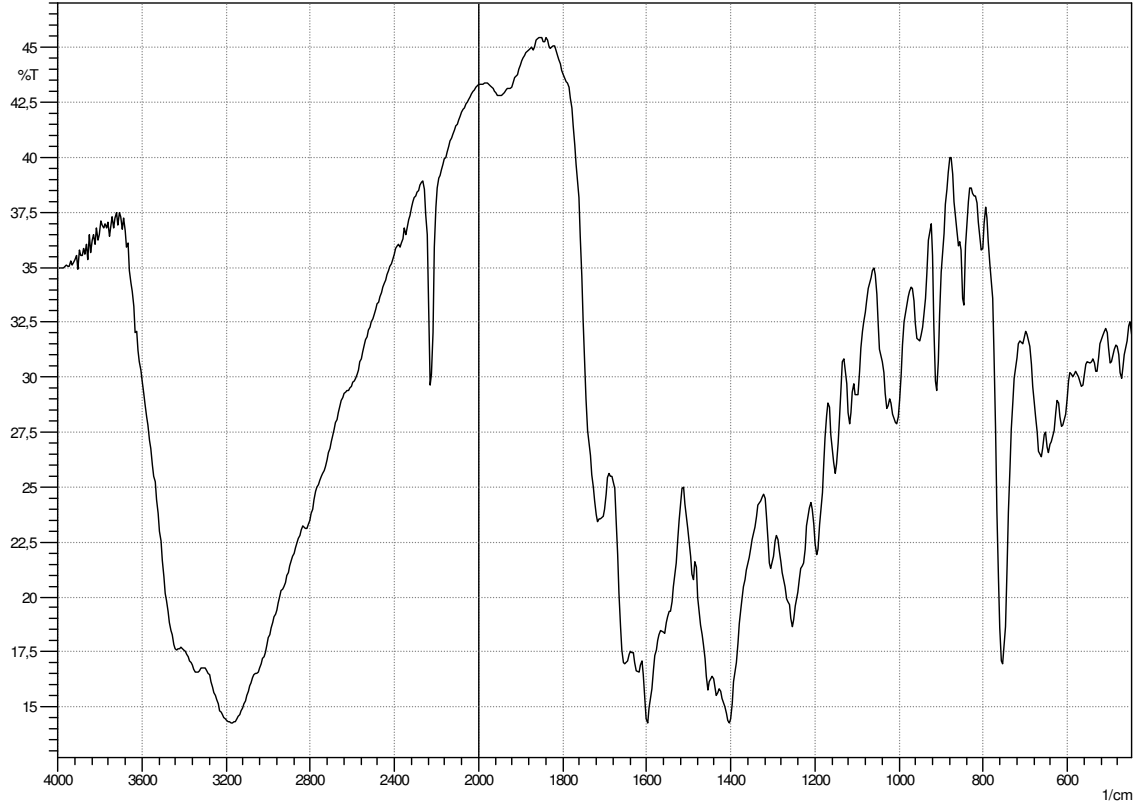
Şekil 3.7.1. Ligandın IR spekturumu



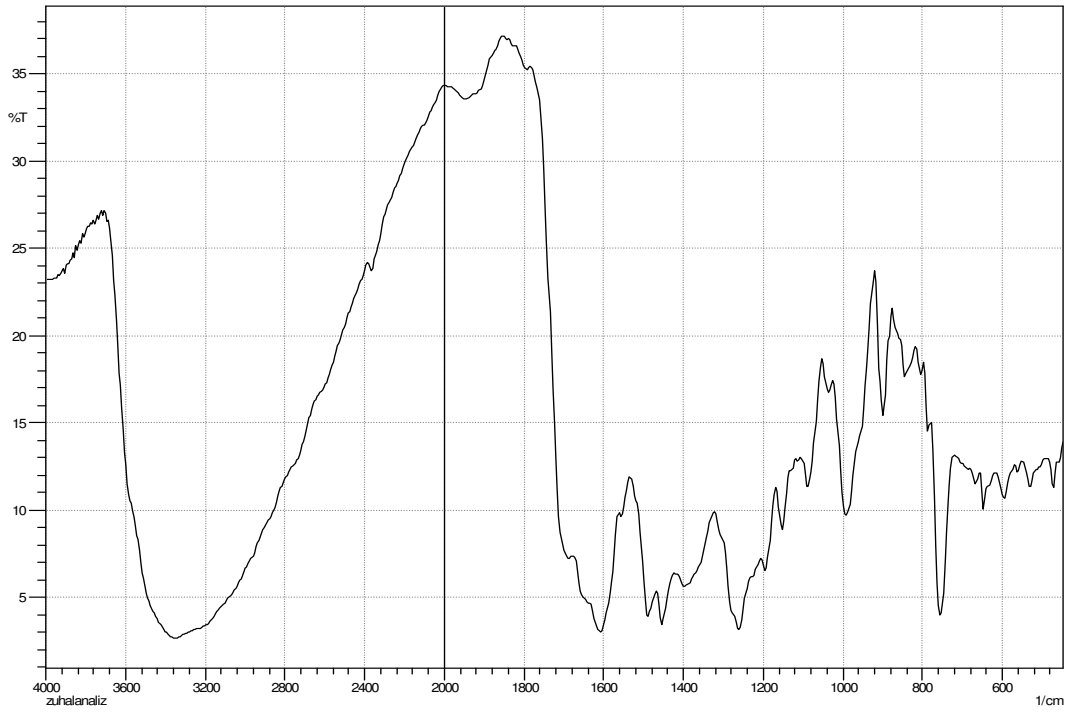
Şekil 3.7.2. Bakır kompleksinin IR spekturumu



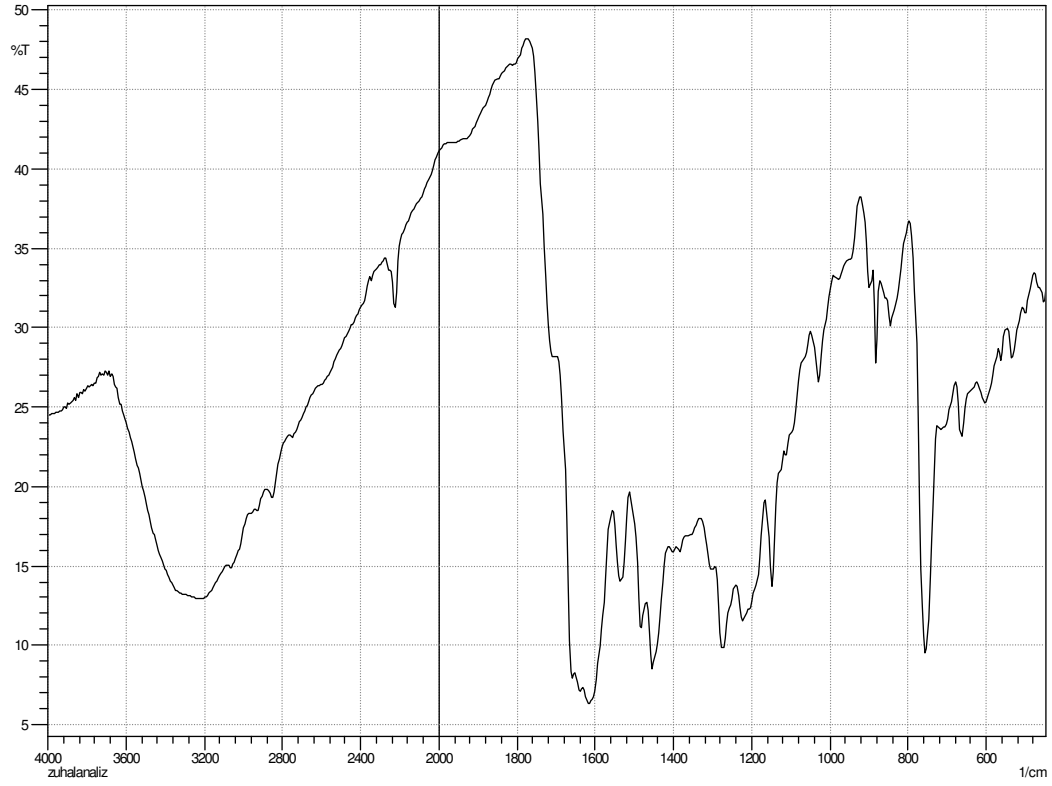
Şekil 3.7.3. Mangan kompleksinin infrared spekturumu



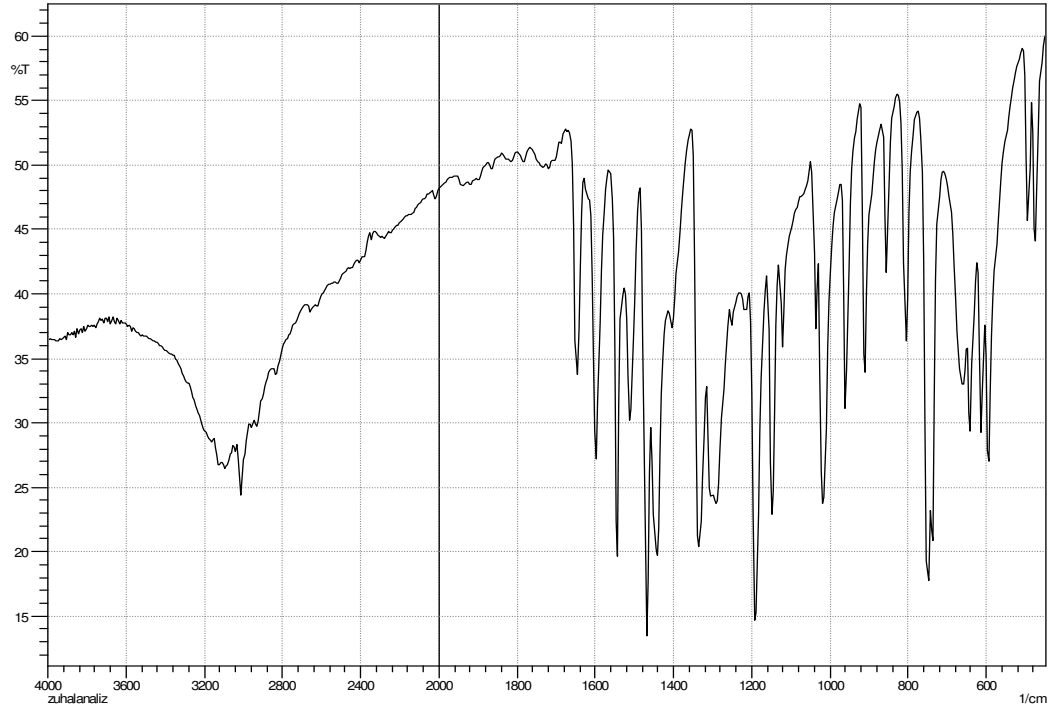
Şekil 3.7.4. Çinko kompleksinin infrared spekturumu



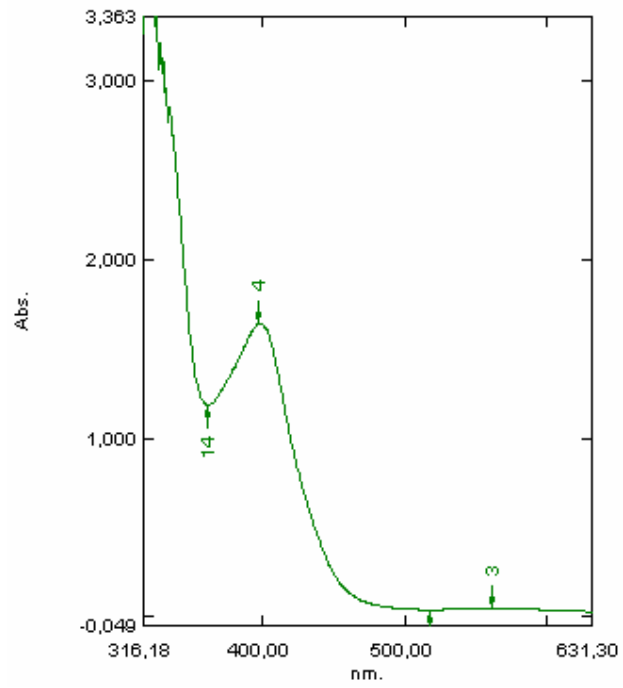
Şekil3.7.5. Kobalt kompleksinin IR spekturumu



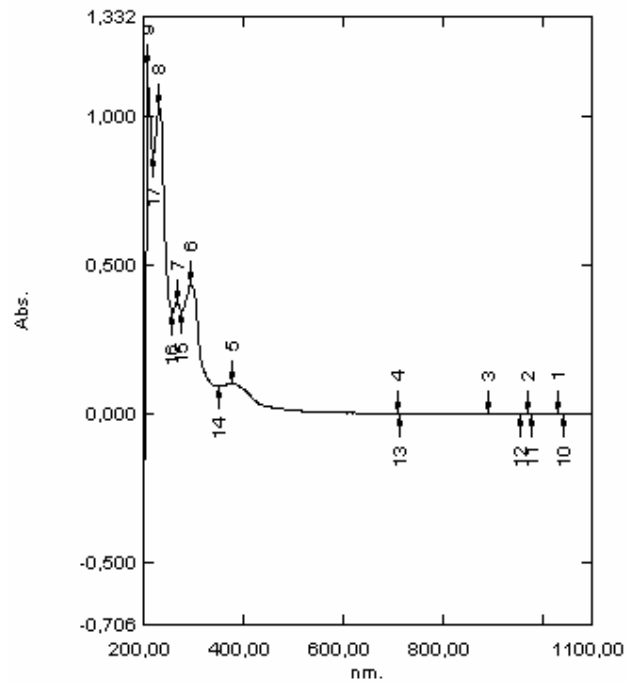
Şekil 3.7.6. Nikel kompleksinin infrared spekturumu



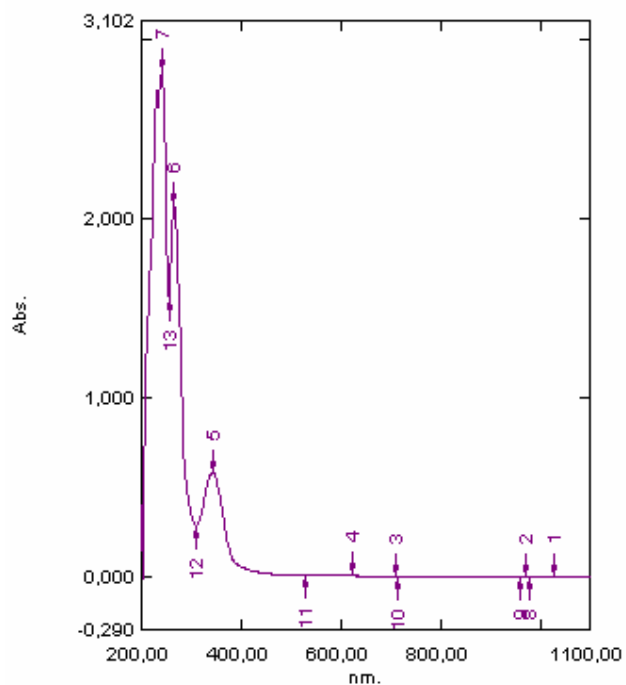
Şekil 3.7.7. Nikel kompleksinin UV spekturumu



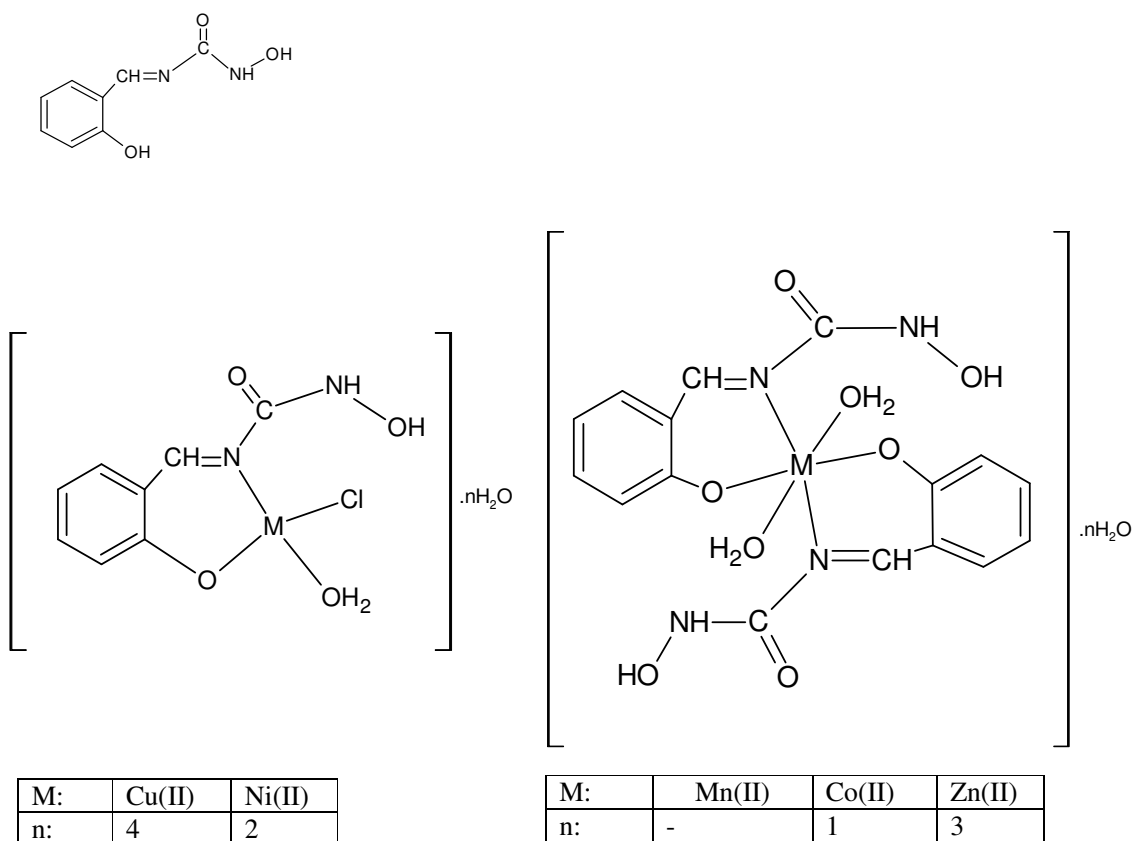
Şekil 3.7.8. Kobalt kompleksinin UV spekturumu



Şekil 3.7.9. Bakır kompleksinin UV spekturumu



Şekil 3.7.10. [(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] (LH) ligandının ve komplekslerin yapısı



3.2. Uygulamada Kullanılan Hücreler

Bu çalışmada MCF-7 hücresi (insan göğüs kanseri hücresi) kullanıldı.

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

Hücre kültür bankasında (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 (25ml) ilave edildi ve flasklar, Nuair marka bir %5 CO₂-%95 O₂ inkübatörüne (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 aralıklı sürekli tekrar edildi.

Sayıları artmaya devam eden hücreler flaskın tabanını tamamen kaplayarak üst üste tabaklar 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 ayrıştırma işlemi) yapılarak hücrelerin homojen olarak solüsyona dağılması sağlandı.

Hücreler bir hemositometre kullanılarak sayıldı. Her flaskta 5×10^6 hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu konulup üzerlerine DC₅ ilave edildi (toplam hacim 25ml olacak şekilde) ve tüm flasklar inkübatöre yerleştirildi. Hücrelerin ekimleri beslenmeleri ve deneyler steril bir Class II Laminar Flow (Biolaf, Ankara) içerisinde gerçekleştirildi. [53,54].

3.4. 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 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 1×10^6 / ml, hücreye ayarlandı. Dozların belirlenmesinde ön denemeler yapıldı ve aşağı yukarı yöntemi kullanıldı [54].

Hücre süspansiyonundan birer ml deney tüplerine aktarıldı ve üzerine test edilecek ajanlar 7,5 15 µM, 30, 60 µM, konsantrasyonlarda ilave edildi. Negatif kontrol tüplerine aynı miktarda serum fizyolojik, *Vehicle* tüplerinde aynı miktarda DMSO ilave edildi ve tüpler inkübatöre yerleştirildi. Hücre süspansiyonlarındaki DMSO miktarı %1 den fazla değildi. 24 saat sonra tüpler inkübatörden

çıkarılarak tritürasyon yapıldı ve hücre süspansiyonu % 0.4 tryphan blue ile 1:1 (v/v) oranında rasgele seçilen 100 adet hücre hemositometrede sayıldı. Hücre canlılığı yüzde olarak ifade edildi. Aynı işlem 48 saat sonra tekrar edildi ve deney sonlandırıldı [55].

3.5. Örneklerin Analizleri

3.5.1. C Vitamini ve MDA Analizi

Serum örneğinden 0,3 ml alınıp üzerine 0,3 ml 0.5 M HClO₄ ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Daha sonra bu karışım vortekslelendikten sonra üzerine saf su ilave edilerek toplam hacim 1 ml tamamlandı. Karışım 15 dakika santrifüjlendikten (2500 devir /dak) sonra örneklerin üzerindeki berrak kısımdan dikkatlice 20µl alınarak HPLC’de analiz edildi. Askorbik asit ve MDA Karatepe (2004) ‘e göre HPLC’ de analiz edildi [56]. C vitamini için geri kazanım %95, MDA için geri kazanım %98,8 olarak bulundu.

3.5.2. A ve E Vitaminlerinin Analizi

Derin dondurucudan alınan serum örnekleri çözünme işlemi yapıldıktan sonra 0,3 ml serum örneği üzerine %1 ‘lik H₂SO₄ ihtiva eden etil alkolden 0,3 ml ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Karışım vortekslelendikten sonra 2500 devirde 5 dakika santrifüjlendi. Sonra örnekler üzerine 250 µl n-hegzan ilave edildi. Hegzan ilavesiyle ortamdaki yağda çözünen vitaminler hegzan fazına ekstakte edildi. Hegzan ilave edildikten sonra tekrar vortekste karıştırıldı ve tüpler santrifüjlendi Santrifüj sonunda hegzan fazı dikkatli bir şekilde ayrılarak cam tüpe alındı. Örnek üzerine 250 µl n hegzan ilave edilerek karıştırılıp santrifüjlendi ve n-hegzan fazı cam tüpteki hegzan fazı ile birleştirildi. Ekstrakte edilen hegzan, kuru azot altında dikkatlice uzaklaştırıldı. Kalıntı 100 µl metanolde çözüldü [57]. HPLC ‘analiz edildi. Örnekteki E vitamini 296 nm ve A vitamini 326nm dalga boyunda İnertsil 5µ C-18 (15x4.6 mm) kolonu ve Asetonitril metanol: diklormetan: kloroform: hegzan (60:10:15:10:5) hareketli fazında akış hızı 1 ml/dak olacak şekilde analizlendi [58]. A vitamini için geri kazanım %92, E vitamini için ise %96 olarak bulundu [58].

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadaki bütün istatistiksel analizler; SPSS istatistik programı ile yapıldı. Deneysel 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 hücrelesine ait canlı hücre sonuçları Tablo4.1 de Tablo 4.2 de, yine maddelerle muamele edilmiş ratların serum MDA, antioksidan vitaminler C, A, E düzeylerine ait sonuçlar Tablo 4.3 Tablo 4.4 de maddelerle muamele edilmiş ratların doku MDA, antioksidan vitaminler C, A, E düzeylerine ait sonuçlar da verilmiştir.

Tablo 4.1.1. Maddelerle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerinin süreye ve doza göre canlılık durumları.

a)24 Saat

Grup n=6	24 saat 7.5 µM	24 saat 15 µM	24 saat 30µM	24 saat 60µM
K	77,33±1,45	77,33±1,45	77,33±1,45	77,33±1,45
I-Lig	66,75±1,31 ^a	66,66±0,08 ^a	65,33±1,45 ^a	50,33±2,90 ^a
I-Cu	56,50±2,39 ^b	35,66±7,26 ^b	57,00±2,30 ^b	18,33±4,40 ^b
I-Co	66,00±2,47 ^a	51,66±7,26 ^b	64,00±3,05 ^a	21,50±3,50 ^b
I-Ni	63,00±1,47 ^a	42,50±5,50 ^b	50,25±4,58 ^c	20,66±6,88 ^b
I-Zn	60,00±2,84 ^a	46,50±6,13 ^b	52,20±1,59 ^b	18,00±1,52 ^b
I-Mn	64,28±1,21 ^a	51,33±4,63 ^b	51,33±2,96 ^b	16,66±0,88 ^b

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

b)48 Saat

Grup n=6	48saat 7.5 µM	48saat 15 µM	48saat 30 µM	48saat 60 µM
K	67,00±5,19	67,00±5,19	67,00±5,19	67,00±5,19
I-L	57,00±5,85	42,00±6,65 ^a	53,75±2,83 ^a	20,00±1,0 ^b
I-Cu	47,25±4,98	25,00±3,05 ^c	27,00±3,10 ^b	3,33±1,66 ^c
I-Co	66,66±0,88	25,66±5,60 ^c	24,66±0,66 ^b	7,00±2,00 ^c
I-Ni	52,00±36,65	34,25±2,01 ^b	33,75±1,75 ^b	9,00±3,78
I-Zn	45,00±12,00	26,66±5,23 ^c	29,50±2,10 ^b	6,33±1,85 ^c
I-Mn	67,5±1,5	57,75±1,53 ^a	34,00±2,58 ^b	9,66±2,02 ^c

Tablo 4.2. Maddelerle muamele edilmiş ratların serum MDA, antioksidan vitaminler A, E,C düzeyleri

Maddeler n=5	Vitamin E (mg/L)	Vitamin A (mg/mL)	Vitamin C (mg/mL)	MDA (mg/L)
K	1,39±0,08	0,06±0,10 E ⁻²	30,14±0,58	0,73±0,08
I-lig	1,77±0,11	0,10±0,025 E ⁻²	29,45±0,33	0,72±0,08 E ⁻²
I-Cu	1,27±0,05	0,54±0,09 E ⁻²	28,40±0,29	0,69±0,06 E ⁻²
I-Co	1,39±0,08	0,56±0,05 E ⁻²	29,12±0,53	0,68±0,08 E ⁻²
I-Ni	1,52±0,21	0,84±0,09 E ⁻²	29,08±0,62	0,70±0,03 E ⁻²
I-Mn	1,50±0,35	0,74±0,07 E ⁻²	30,50±0,20	0,69±0,03 E ⁻²
I-Zn	1,82±0,48	0,70±0,07 E ⁻²	29,38±0,65	0,73±0,34

Not: Bu tablodaki ortalama±standart sapma değerleri E⁻² ile çarpılmış şekilde sunulmaktadır.

5. TARTIŞMA

Sentez ve yapı tayini

Bu çalışmada; hidroksiüre ile salisilaldehit reaksiyona sokularak [(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] (LH) ligandı sentezlendi. Sentezlenen bu ligandın Co(II), Ni(II), Cu(II), Mn(II) ve Zn(II) metallerinin klor tuzlarıyla kompleksleri hazırlandı. Hazırlanan bileşiklerin yapıları Elementel Analiz, Magnetik Süsseptibilite, IR, ¹H-NMR, UV-VIS teknikleri ile aydınlatılmıştır.

[(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] (LH) ligandının IR Spektrumu incelendiğinde 1636 cm⁻¹'de gözlenen keskin bandın azometin (CH=N) grubuna ait gerilme titreşimini ve 1371 cm⁻¹'de gözlenen absorpsiyon bandı ise fenolik O-H eğilme titreşimini göstermektedir [59]. Bu bandların varlığı Schiff bazının sentezinin gerçekleştiğini göstermektedir.

[(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] (LH) ligandının ¹H-NMR spektrumunda 9.80 ppm'de aromatik O-H protonları, 8.10 ppm'de azometin (CH=N) grubu protonları, 6.98-7.39 ppm'de aromatik protonlar ve 2.74'da -CH₃ grubuna ait protonlar gözlenmiştir. Ligandın Elementel Analiz sonuçları da yukarıdaki düşünciyi desteklemektedir [60].

Bu komplekslerin IR spektrumları incelendiğinde [(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] (LH) ligandının IR spektrumunda 1636 cm⁻¹'de gözlenen azometin (CH=N) grubuna ait titreşim bandı komplekslerde kayma göstermiş ve Cu(II) kompleksinde 1647 cm⁻¹'de, Ni(II) kompleksinde 1621 cm⁻¹'de, Cu(II) kompleksinde 1649 cm⁻¹'de, Zn(II) kompleksinde 1654 cm⁻¹'de, Mn(II) kompleksinde 1654 cm⁻¹'de gözlenmiştir. Bu kayma azometin (CH=N) grubundaki azot atomunun M-N bağının oluşumunda yer aldığını göstermektedir [61]. Yani azot atomu sahip olduğu ortaklanmamış elektronları metal iyonuna vererek metal ile koordine kovalent bağ yapmıştır. Schiff bazı ligandının IR spektrumu incelendiğinde 3379 cm⁻¹'de fenolik OH gerilme titreşimi kompleks bileşiklerde gözlenmemektedir [62]. Yine fenolik C-O gerilme titreşimlerinin kompleks moleküllerde (1297-1253 cm⁻¹) daha düşük enerjili bölgeye kaymaları kompleks oluşurken metal atomunun oksijen atomu yoluyla koordinasyona girdiğini göstermektedir

Komplekslerin IR spektrumlarında metal-oksijen (M-O) bağlarına ait bandlar da gözlenmiştir. Bu bandlar Co(II) kompleksinde 474 cm⁻¹'de, Ni(II) kompleksinde 467 cm⁻¹'de, Cu(II) kompleksinde 466 cm⁻¹'de, Zn(II) kompleksinde 463 cm⁻¹'de, Mn(II) kompleksinde 472 cm⁻¹'de gözlenmiştir[63].

Komplekslerin IR spektrumlarında metal-azot (M-N) bağlarına ait titreşim bandları da gözlenmiştir. Bu bandlar Co(II) kompleksinde 581 cm⁻¹'de, Ni(II) kompleksinde 520 cm⁻¹'de, Cu(II) kompleksinde 570 cm⁻¹'de, Zn(II) kompleksinde 533 cm⁻¹'de, Mn(II) kompleksinde 530 cm⁻¹'de gözlenmiştir[64].

[(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] (LH) ligandının Co(II), Ni(II), Cu(II), Mn(II) ve Zn(II) komplekslerinin Magnetik Süsseptibilite ölçümleri sonucuna göre Co(II) kompleksinin paramagnetik olduğu ve magnetik momentinin 3.30 B.M. olduğu saptanmıştır [65]. Cu(II) kompleksinin yine

paramagnetik olduğu ve magnetik momentinin 1.53 B.M. olduğu bulunmuştur [66]. Ni(II) ve Mn(II) komplekslerinin paramagnetik olduğu ve magnetik momentlerinin 2.35 ve 5.80 B.M olduğu saptanmıştır [67,68]. Zn(II) kompleksinin de diamagnetik olduğu tespit edilmiştir.

Elementel Analiz ve Magnetik Süsseptibilite değeri göz önüne alınarak [(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] (LH) ligandının Cu(II) ve Ni(II) komplekslerinin karedüzlem ve tetrahedral [69], Co(II), Mn(II) ve Zn(II) komplekslerinin oktahedral yapılarında olduğu belirlenmiştir.

[(2-hidroksibenziliden)-3-metilüre] ligandının Co(II), Ni(II), Cu(II), Mn(II) ve Zn(II) komplekslerin UV-VIS spektrumları sonuçlarına göre; [Co(LH)₂.2H₂O].H₂O kompleksinde elektronik absorpsiyon bandı 260-710 nm aralığında gözlenmiştir. Co(II) kompleksinde 301-436 nm bölgesinde gözlenen absorpsiyon bandları yük aktarım geçişlerini ve $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerini göstermektedir. 479-500 nm’de $^4T_{1g}(F) \rightarrow ^4T_{1g}(P)$ ve 703-710 nm’de $^4T_{1g}(F) \rightarrow ^4A_{2g}(F)$ geçişi düşük orbital katkılı yüksek spin oktahedral geometriyi desteklemektedir [70].

[Ni(LH)Cl.2H₂O].2H₂O kompleksinde 328-354 nm dolayında gözlenen absorpsiyon bandı $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerini, 433-477 nm’deki absorpsiyon bandı ise yük aktarım geçişlerini göstermektedir. 600 nm dolayında $^3T_1(F) \rightarrow ^3T_1(P)$ geçişi tetrahedral geometriyi desteklemektedir [71].

[Cu(LH)Cl.H₂O].4H₂O kompleksinin elektronik absorpsiyon spektrumunda 641 nm ve 450 nm’deki absorpsiyon bandları $^2B_1 \rightarrow ^2A_1$ ve $^2B_1 \rightarrow ^2E$ geçişlerini göstermektedir [72].

[Co(LH)₂.2H₂O].3H₂O ve [Mn(LH)₂.2H₂O] komplekslerinde UV spektrumunda 280 nm’de $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi, 377-460 nm dolayındaki absorpsiyon bandları ise L $\rightarrow$ M yük aktarım geçişleri olup oktahedral yapıya sahip komplekslerde görülmektedir.

Biyolojik özellikler

Serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok durulan ve araştırılmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücrel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücrel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması ile bu moleküllerin kanser, şeker, kalp hastalıkları gibi bir çok hastalıkla ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır [39].

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 [73].

Bu araştırmada, *in vitro* olarak MCF-7 hücresine uygulaması yapılan Hidroksiüre türevi Schiff bazı ve metal komplekslerinin süre ve doza bağımlı antitümör aktivitesi ile ratların bazı serum

antoksidan ve lipid peroksidasyon düzeyleri üzerinde olan etkilerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında farklı etkilere sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 4.1'e bakıldığında Ligand ve metal komplekslerinin antitümör aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada ölçülen parametreler ve deney süresince canlı hücre sayısına bakıldığında özellikle Cu, Zn ve Ni kompleksleri daha çok antitümör aktivite göstermiştir.

Cu(II), farklı organların fonksiyonları ve normal gelişim için esansiyeldir. Hipokupremiya(düşük bakır miktarı), erken doğarlarda 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 [74].

Bakır, potansiyel bir hepatoksin olarak bilinmektedir. Karaciğer hasarı oluşturması ve membran yağ asitlerinin dâhil edilebileceği lipid peroksidasyon göstergesi olabilir. Cu(II) diğer mekanizmalar ile birlikte hemoglobin(Hb) ile etkileşim ve Haber Weiss reaksiyonunda ferik demirin süstitüsyonu ile lipid peroksidasyonu başlatmaya sebep olan reaktif oksijen türlerinin oluşumunu katalizleyebilir [75].

Cu(II), karaciğerde sentezlenen ve özel bir metaloprotein olan seroplazmin yapısında bulunmaktadır. Seroplazmin konsantrasyon'unun ölçülmesi klinikte Wilson hastalığının tanısında kullanılmaktadır. Wilson hastalığı bakırın proteinine bağlanmasını sağlayan enzimin veya taşıyıcı proteinin eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir. Wilson hastalığında plazmanın albumine bağlı bakır konsantrasyonu artmakta, seroplazmin düzeyi ise belirgin olarak azalmaktadır [76]

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. Deney hayvanlarında, çinko eksikliğinin lenf dokusunda önemli etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. Yapılan araştırmalar, çinkonun lenfosit hücrelerinin çoğalmasında ve hücre ürünlerinin düzenlenmesinde önemli rol oynadığını göstermiştir [76].

Zn, insülin hormonunun depolaması, salgılanması ve aktivitesinde büyük önem taşımaktadır. Ayrıca asit / baz dengesinde çok büyük önem taşıyan karbonikalkali dehidrogenaz başta olmak üzere karboksipeptidaz, dehidropeptidaz, ürikaz gibi enzimlerin yapısında bulunmaktadır. Ağır metallerin detoksifikasyonlarında, yangı olaylarının gelişmesinde ve metallotioneinlerin yapısında çinko bulunmaktadır [75]

Yapılan bir çalışmada Salisilaldehit türevi Schiff bazının iki farklı türevi ve metal kompleksleri kullanımı, bu bileşiklerde özellikle Cu komplekslerinin MCF-7 hücrelerine karşı düşük dozlarda (7,5mM) bile 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 [77].

Yapılan başka bir çalışmada Schiff bazı ve onun Cu(II), Zn(II), Cd(II) komplekslerinin antimikrobiyal sitotoksik ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Sonuçta ligand ve komplekslerin hiçbir patolojik mikroorganizmaya karşı hiçbir şekilde etkili olmamıştır. Cu(II) ve Cd(II) kompleksleri T-lymphoslastic lösemi hücrelerine karşı (CD_{50} 2.20 ve 2.30 $\mu\text{g/ml}$ değeri ile güçlü sitotoksik etki yaparken Schiff bazı (CD_{50} 5,90 μgml^{-1}) değeri ile sitotoksik etki yapmıştır. Aynı zamanda (Cu(II) ve Cd(II) kompleksleri kolon kanserine karşıda etkili olmuştur. S- benziltiokarbazat α -tocoferol (vitamin E) ile karşılaştırıldığında da güçlü bir antioksidan olmuştur [78].

Jeon ve diğerleri (2002) antioksidan özellik gösteren maddeleri (naringin ve probukol) diyet ile tavşanlara verdiklerinde bu maddelerin plazma MDA ve A vitamini düzeyinin etkilemediğini, E vitamini düzeyini ise kullanımını azaltarak yükselttiğini gözlemişlerdir [79]

Brand ve diğerleri(1997) sürekli stres altındaki ratların plazma vitamin A düzeyini ölçmüşler ve on günlük süreç içerisinde vitamin A düzeylerinin $p<0,001$ düzeyinde azaldığını gözlemişlerdir [80]

Vitamin PP bileşiğine bağlı tetradente alifatik Schiff Bazı ve Co(III) kompleksleri sentezlenmiş ve in vivoda antitümör etkisi incelenmiştir. Bu amaçla ROS oluşumu olan hayvanların organizma içindeki değişiklikleri hücrel ve moleküler düzeyde incelenmiştir. Sonuçta ROS tümör hücrelerinin (özellikle lipit proteini ve DNA gibi biyomoleküllerine saldırdığı ve diğer dokulara zarar verdiğini Co(III) kompleks'inin ise normal doku ve organları dikkate alarak seçici tümör hücrelerinin olduğu alanda hasarı önlemek için azaldığı belirlenmiştir. Kompleksin seçici etkisinin tümör hücrelerinin *mikroenvirment* spesifik özelliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir [81].

Hidroksiaminoguanidin ile salisilaldhitten Schiff bazı türetilmiştir. Ve bu yeni bileşiğin fare hepatit virusu olan *Coronavirüs* (MHV) enfeksiyon'nuna karşı test edilmiş, antioksidan ve antitümör etkileri incelenmiştir. Çok aktif bir bileşik olan bu yeni maddenin MHV karşı hidroksiguanidinden 376 kez aktif olduğu ve $TCID_{50}$ değeri ile karşılaştırıldığında ise 564 kez daha çok aktif olduğu belirlenmiştir [82].

Salisilaldehit ve β -alanin türevi Schiff bazı ve onun Cu(II) ve Zn(II) kompleksleri sentezlenmiş ve antioksidan ve antidiabetik etkileri incelenmiştir. Sonuçta Cu (II) kompleks'inin antioksidan ve antidiabetik aktiviteye yarar sağladığı Zn (II) kompleksinin ise *in vitro* da trozin nitrasyonuna karşı önemsiz derecede koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir [83].

Hidroksi üre aynı zamanda hidroksikarbamit olarak adlandırılır ve aynı zamanda lösemi türlerine karşı kemoterapi olarak orak hücre anemisi için ise yatıştırıcı ilaç olarak kullanılır Doza bağımlı olarak kullanımında trombosit sayımı ve beyaz kan hücrelerine katılma ile birlikte kemik iliğinin sindirimi, kemiklerde acı ve yaygın olarak da kansızlık gibi yan etkilerinin olduğu, nükleosit analogları gibi benzer antiviral ilaçlarla kullanıldığı zaman önemli ölçüde toksisite birikimini artırdığı, ayrıca yine doza bağımlı olarak mide bulantısı kusma deride islik oluşumu gibi yan etkilerinin olduğu, bazı hastalarda ise böbrek fonksiyonlarında geçici azalma ve karaciğer enzimlerinde yükselme gibi zararlı etkilerinin olduğu belirtilmiştir [84].

Hidroksi karbamit olarak bilinen hidroksi ürenin sedef hastalığının tedavisinde yarar sağladığı kronik kan kanseri, servikal kanser ve diğer malignite ve miyeloproliferatif hastalıkların iyileştirmesinde çok etkili olduğu, orak hücre anemisi ve HIV enfeksiyonuna karşı yararlı olduğu, buna karşın serbest radikal nitrokside dönüşerek epidermis bazal hücreler içinde DNA replikasyonunu azalttığı ve aynı zamanda sitotoksik bir ajan olduğu belirtilmiştir [85].

Epitel hücrelerin hem S fazında hemde mitozda olduğunu anlamak için fare tümörlerinde hidroksi ürenin senkronizasyonuna karşı etkisi araştırılmıştır. Bunun için özellikle doğal şartlar altında çok sayıda hücrenin günlük azalıp çoğalmasına izin verilmiştir. *In vivo* da senkronizasyon sonucu çok sayıda hücrenin değişikliğe uğradığı ve ratlarda senkronizasyonu değiştirdiği belirlenmiştir [86].

Kan nakli olmayan RBC membranında oksidatif stresi anlamak için düşük dozda hidroksi üre terapisi uygulanmıştır. Ardışık 90 günlük uygulama da günlük doz miktarı 30 ppm olarak uygulanmıştır. Spektrin ve MDA düzeyi, fatal hemoglobin (Hbf) ve hemoglobin(Hb) düzeyleri ölçülmüştür. 90 günlük hidroksiüre terapısından sonra Hbf düzeyinde önemli artış olduğu RBC membranının da MDA düzeyinin azaldığı Hb ve spektrin düzeyinin ise değişmediği belirlenmiştir [87].

Hidroksiüre; hücre içi deoksiribonükleotitlerin miktarının azalması sonucu çevredeki kan lenfositlerini DNA sentezinde aktive ettiği için ve insan bağışıklık yetersizliği sonucu oluşan virus tip1(HIV-1)'i inhibe edici etkisinden dolayı antiviral ilaç olarak önerilmiştir [88].

Hidroksiüre DNA sentezinde ribonükleotit redüktazın çok etkili bir inhibitörü olduğu için önemli bir anti kanser ve antiviral ajan olduğu önerilmiştir [89].

Yapılan bir çalışmada hidroksiüre intraperitoneal olarak ratlara enjekte edilmiş beyin ve beyinciklerinde enzim aktiviteleri incelenmiştir. Sonuçta hidroksiürenin timidin kinaz aktivitesini inhibe ettiğini ancak aynı şartlar altında DNA metabolizması ile ilgili (DNA polimeraz ve asit ve alkali DNAaz) diğer enzim aktivitelerini inhibe etmediği belirlenmiştir [90].

Orak anemisi olan hastalarda deri ve tırnak mukozalarında hidroksiürenin yan etki geliştirip geliştirmediği belirlemek amacıyla yapılan çalışmada hidroksi üreye bağlı olarak gelişen yan etkilerin şiddetli olmadığı belirtilmiştir [91].

Yapılan bir çalışmada hidroksiüre'nin insan servikal karsinoma hücre dizisi üzerindeki sitotoksik, antiproliferatif, apoptiz indükleyici etkileri araştırılmıştır. Sonuçta hidroksiürenin doza bağımlı olarak sitotoksik ve antiproliferatif etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca konsantrasyon'a bağlı olarak hidroksiüre'nin hücre içi p53 ve p21 seviyelerini artırdığı ve DNA fragmentasyonunu indüklediği saptanmıştır [92]

Yapılan çalışmada kontrol grubu ile ligand ve metal kompleksler'inin kıyaslamalarında MDA, vitamin A, E, C düzeylerinde istatistiksel fark gözlenmedi.

Tablo 4.1 'e bakıldığında ligand ve komplekslerinin MCF-7 hücre tipinde etkili bir antitümör aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmanın 24 saat'in 7,5 µM'lık değerlerine bakıldığında kontrol grubu ve diğer gruplar arasında önemli ölçüde istatistiksel fark gözlenmedi.

24 saat'in 15 μM 'lık değerlerine bakıldığında ligand ile kontrol grubu ve metal kompleksler'inin kıyaslanmasında önemli istatistiksel farklılıklar gözlemlendi. Metal kompleksleri arasında istatistiksel fark gözlemlenmedi.

24 saat'in 30 μM değerlerine bakıldığında; Ni grubu ile diğer grupların ve kontrolün kıyaslanmasında önemli ölçüde istatistiksel fark gözlemlendi. Diğer grupların birbir ve kontrol ile kıyaslanmasında ise istatistiksel fark gözlemlenmedi.

Yapılan çalışmanın 24 saatlik 60 μM değerlerine bakıldığında gruplar arasında önemli ölçüde istatistiksel fark gözlemlendi. gözlemlendi Metal grupların birbiri ile kıyaslanmasında istatistiksel fark gözlemlenmezken kontrol grubu ile kıyaslanmalarında istatistiksel fark gözlemlendi.

Yine tablo 4.1.'e bakıldığında 48 saatin 7,5 μM 'lık değerlerine bakıldığında gruplar arasında fark gözlemlenmedi.

Ayrıca 48 saat'in 15 μM lık değerlerine bakıldığında istatistik fark gözlemlendi. Cu, Co, Zn gruplarının diğer gruplarla arasında önemli ölçüde istatistiksel fark görüldü.

Yine Tablo 4.1 'nin 48 saatin 30 μM 'lık değerlerine bakıldığında gruplar arasında önemli ölçüde istatistiksel fark gözlemlendi.

Ayrıca 48 saat'in 60 μM lık değerlerine bakıldığında; Ligandın ve kontrol grubu ve diğer gruplar ile arasında anlamlı istatistik fark gözlemlendi. Metal grupları arasındaki kıyaslamada herhangi bir istatistiksel fark gözlemlenmezken kontrol grubu ve ligand ile kıyaslandıklarında önemli farklılıklar görüldü.

Schiff bazı ve metal komplekslerinin serum antioksidan vitamin ve MDA düzeylerinde herhangi bir istatistiksel fark gözlemlenmemesi uygulanan dozda oksidatif hasar oluşturmadağı anlamına gelebilir. *in vitro* çalışmalarda ise bileşiklerin hepsinin belirli bir aktiviteye sahip olduğı söylenebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Liberta, A.E., West, D.X., 1992. antifungal and antitumour activity of Heterocyclic Thiosemicarbazones and Their Metal complexes *Biometals.*, 5;121-126.
2. Yang, Z, Y., Yang, R. D., Li, F. S., Yu, K. B, 2000, Crystal Structure and antitumour Activity of some Rare Earth Metal Complexes with Schiff base *Polyhedron.*, 19; 2599-2604.
3. Das, A., Trousdale, M. D., Ren, S., Lien, E. J., 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.
4. Fioravanti, R., 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.
5. Sur, B., Chatterjee, S.,P., Sur, P., Maity, T., Roychoudhury, S. 1990. Studies on the Antiplasticity of Schiff bases Containing 5- Nitrofur and pyrimidine *Oncology.*, 47; 433–438.
6. Pires dos Santos, M. L., Alairo, A. F., Mangrich, A. S., Ferreira, A. M. C., 1998. Antioxidant and Prooxidant Properties of some Di Schiff Base Copper(II) Complexes *Journal of Inorganic Biochemistry.*, 71; 71–78.
7. 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 Pyridine-22 Carboxaldehyde Thiosemicarbazones on Ribonucleotide Reductase Activity and Tumour Cell Growth in Culture and *in vivo* *Adv.Enz.Regul.*, 35;55;68.
8. Cory, J.G., Carter, G.L., Bacon, P.E., Tang, A., Lien, E.J. 1985, Inhibition of Ribonucleotide Reductase and L1210 Cell Growth by N-hydroxy-N'-aminoguanidine derivatives *Biochem. Pharmacol.*, 34;1124-1130 .
9. Li, C. and Chang T. C. 1990. Studies on the Thermotropic Liquid Crystalline Polymer-1 Synthesis and Properties of Poly(Azomethine-Ether), *Journal. of Polymer. Science.: Part A: Polymer Chemistry.*, 28, 3625-3628.
10. Li, C., and Chang, T. C., Eur. 1991. Studies on the Thermotropic Liquid Crystalline Polymers-2 Synthesis and Properties of Poly (Azomethine-Ether), *Polymer. Journal*, , 27, 1, 35–39.
- 11- Gaber, M. and Issa, R. M. 1989. Studies of Ti(IV) Chelates with N₂O₂ Schiff Base of Hydroxy-1 naphthalaldehyde with Aromatic Diamines, *Thermochimica. Acta.*, 155; 309-31
12. Reddy, K. H., and Lingappa, Y. 1994. Synthesis and Properties of the Binuclear Vanadium(III) and Oxovanadium(IV) Chelates with Tetradentate Schiff Bases, *Indian Journal of Chemistry.*, A(33); 919-923.
13. Kuduk, J. 1994. synthesis and characterization of copper(II) Complexes of Physiologically Active Schiff Bases, *Indian Journal of Chemistry.*, Transition Metal Chemistry, A(33), 19; 296-298

14. Chen, D., Martel, A. E., Sun, Y. 1989. New Synthetic Cobalt Schiff Bases Complexes as Oxygen Carriers, *Inorganic Chemistry*, 28, 2647–2652.
15. Isse, A. A., Vianello, A. E. 1991. *Journal of Molecular Catalysis*, 70; 197.
16. Felicio, R. C., Cavaleiro, E. T. G., Dockal, E. R. 2001. Preparation Characterization and Thermogravimetric Studies of [N,N'-Cis-1,2-Cyclohexylene Bis(Salicylideneaminato)] Cobalt(II) [N,N'-(+/-)-trans-1,2-Cyclohexylene Bis(Salicylideneaminato)], *Polyhedron*, 20; 261-268.
17. Eichhorn, E., Reicker, A., Speise, B., Stahl, H. 1997. Electrochemistry of Oxygenation Catalysts. 3. Thermodynamic Characterization of Electron Transfer and Solvent Exchange Reactions of Cobalt(II) Complexes With Homochiral Ligands, *Inorg. Chem.*, 36; 3307.
18. Salman, S. R., Farant, R. D., Lindon, J. C. 1991. *Spectroscopy Letters*, 1991, 24, 9; 1071–1078.
19. Xu, D., Chen, B. K., Cheng, C. K., Miki, N., *Bull. 1989. Chemistry. Society. Japan*, 62; 2384.
20. Wu, Z. Y., Xu, D. J., Feng Z. X. 2001. Synthesis and Catalytic Properties of a Ni(II) Complexes with Tetraglycol Aldehyde Bis (Methionine) Schiff Base, *Polyhedron*, 20; 281-284.
21. Blower, P.J., 1998, Small Coordination Complexes as Radiopharmaceuticals for cancer targeting, *Transition Metal Chemistry*, 23;109-112.
22. Reicherdt, D.E., Lewis, J. S., Anderson, C.J, 1999. Metal Complexes as Diagnostic Tools, *Coordination Chemistry Review*, 184;3-66.
23. Köksal, H., 1999, Yeni imin-oksim ligandlarının ve metal komplekslerinin sentezi ve aydınlatılması, Fırat üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elazığ.
24. Karatepe, M., Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, 2002. Elazığ.
25. Bulut, H., Karatepe, M., Temel, H., Şekerci, M., Koparır, M., 2005. Studies on the Antiviral and Cytotoxic Activity of Schiff Bases Derivative from 1,2bis-(o-and p-aminophenoxy)ethane and salicylaldehyde, *Asian Journal of Chemistry*, 14(/);2793-2796.
26. Durackova Z, Mendiola, M.A., Sevilla, M.T., Valent, A., 1999. Thiohydrazone Copper (II) Complexes. The relationship between Redox Properties and Super Oxide Dismutase Mimetic Activity, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 48; 109–116.
27. Brown, W.H., 1995 *Organic Chemistry*. Saunders College Publishing., 674–675.
28. Beyer H., 1980 *Lehrbuch der Organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag, 18. Auflage 174–175 Stuttgart.
- Beyer H., 1980 *Lehrbuch der Organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag, 18. Auflage 16–17, Stuttgart.
29. Atakol, O., Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi;9-12 Ankara
30. Marchetti, F., Pettinari, C., Pettinari, R., Cingolani, A., Leonesi, D., Lorenzotti, A., 1999. Group 12 metal complexes of tetradentate N₂O₂ Schiff base ligands incorporating pyrazole: Synthesis, characterization and reactivity toward S-donors, N-donors, copper and tin acceptors. *Polyhedron*, 18(23);3041-3050.

31. Stoian, I., Oros, A., Moldevaanu, E., 1996. Apoptosis and Free Radicals, , Biochemistry and Medicinal., 59;93-97.
32. Wolf, R., Wolf, D., Ruocco, V., 1998. Vitamin E: The Radical Protector, Journal of Europa Academy of Derm and Ver., 10;103-117.
33. Betteridge, D.J., 2000. What is Oxidative Stress?, Metabolism., 49;3-8.
34. Nordberg, J., Arner, E.s.j., 2001. Reactive oxygen Species, Antioxidant and the Mammalian Thioredoxin System, free Radical, Biology and Medicinal., 31(11); 1287-1317.
35. Kılınc, K., 1985, Oksijen Radikalleri, Üretilmeleri, Fonksiyonları, Toksik etkileri, Biyokimya Dergisi., 10;60-89.
36. Diplock, A.t., 1991, Antioksidant Nutrients and Disease Prevention, An Overview, Am. J. Chim. Nutr., 53;1895-1935.
37. Halliwell, B., Gutteridge, W:M:C., 1999, Free Radicals in Biology and medicine, Oxford Medicine Pres., 246-351.
- 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.
38. Sudha, K., Ashalatha, V.R., Anjali, R., 2001. Oxidative Stress antioxidants in Epilepsy, Clinica Chimica Acta., 303;19-24.
39. Sudha, K., Ashalatha, V.R., Anjali, R., 2001. Oxidative Stress antioxidants in Epilepsy, Clinica Chimica Acta., 303;19-24.
40. Tamer, L., Polat, G., Eskandari, G., Ercan, B., Atik, U., 2000. Serbest Radikaller ,Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dergisi., 1;52-58.
41. Köse, K., Doğan, P., 1992, Lipit peroksidasyonu, Erciyes Üniversitesi, Tıp Dergisi, Ek1; 340-350.
42. Chao, J.C., Huang, C.H., Wu, S.J., Yang, S.C., Chang, N.C., Shieh, M.J., Lo, P.N., 2002 Effect of beta-carotene, Vitamin C and E on Antioxidant Status in Hyperlipidemic Smokers, Journal of Nutrition Biochemistry., 13; 427-434.
43. Seinberg, F. M., Chait, A., 1998, Antioxidant Vitamin Supplementation and Lipid Peroxidation in Smokers, 68;319-327.
44. Jialal, I., Grundy, S.M., 1993. Effect of Combined Supplementation with alpha- tocopherol ascorbate and beta carotene on low- density Lipoprotein oxidation, Circulation., 88; 2780-2786.
45. Van Haften, R.I., Evelo, C.T., Penders, J., Eijwachter, M.P., Haenen, G.R., Bast, A., 2001. Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha tocopherol derivatives, Biochemical Biophysical Acta., 1548; 23-28.
46. Singh, U., Jialal, I., 2004. Antiinflammatory effects of alpha-tocopherol, Ann N Y Acad Science., 1031;195-203.
47. Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C., 2005. Potential markers of Oxidative Stress in Stroke, Free Radical Biology & Medicine., 39;841-852.

48. Nicolai, E.P., Tatyana, V.L., Tatyana, A.K., Lowll, P.K., 2001. Caratonoids as Scavengers of Fre Radicals in a Fenton Reaction:Antioxidant or Prooxidants? Free Radical Biochemistry and Medinical., 31(3); 398–404.
49. Young, I.S., Woodside, J.V.,2001. Antioxidants in Healt and Disease, Journal of Clinical Patholgy., 54(3);176-186.
50. Kennedy, T.A., Liebler, D.C., 1991. Peroxyl Radical Oxidation of β carotone: formation of β carotone Epoxides, Chem. Res. Toxicol., 4; 290-295.
51. Tüzün, C.,1997. Biyokimya, 3 baskı, Palme Yayıncılık., 151-187, Ankara.
52. Emerk, K., Onat, T., 1997. Temel Biyokimya, 2.baskı, Saray Medikal :Yayıncılık ve tic. Ytd. Şti., İzmir.
53. Offeing, B.M., Martelli, S., 1997. Steochemistry and Antitumour Activity of Platinum Metal Complexes of 2- Acetypyridine Thiosemicarbazones, Transition Metal Chemistry., 22; 263-269.
54. 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.
55. Kumammoto, 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.
56. Karatpe, M., 2004. Simultaneous Detemination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC/UV. LC-GC North America, 22; 362-365.
57. Çetinkaya, N., Özcan, H., 1991. Investigation of seasonal Variations in Cow serum Retinol and β - Carotene by High Performance Liquid Chromatographic Method, Comp. Biochem. Physiol., 100(4); 1003-1008.
58. Catignani, G.L., 1983. Simultancous determination of Retiol and α -Tocopereol in Serum of Plazma by Liquid Chromatograph, Clinical Chemistry, 2914;708-712.
59. Tümer, M., Erdoğan, B., Köksal, H., Serin, S., and Nutku Y., 1998, Preparation Spectroscopic Characterization and Thermal Analysis Studies of The Cu(II), Pd(II) and Vo(IV) Complexes of some Schiff Base Ligands, Snth. Rect. Inorg. Met.-Org. Chem., 28 (4), 529-542.
60. Biroder, N. S. And Kulkarni, V. H., 1971, A. Spectroscopic Study of Tin(IV) Complexes with Bidentate Schiff Base, J. Inorg. Nucl. Chem., 33, 2451-2547.
61. Kolawole, A., and Patel, K. S., 1981, The Stereochemistry of Oxovanadium(IV) Complexes Drived from Salicylaldehyde and Polymetlylenediamines, J. Cehm. Soc. Dalton Trans., 1241-1245.
62. Lin, C., 1993. Synthesis and Caharacterization of Some Indium(III) Complexes of Schiff Bases, Synth. React. Inorg. Met-Org. Chem., 23 (7), 1097-1106.

63. Temel, H., İlhan, S., Şekerci, M. And Ziyadanoğulları, R., 2002, The synthesis and spectral characterization of new Cu(II), Ni(II), Co(III) and Zn(II) complexes with Schiff Base. *Spectroscopy Letters*, 35 (2) 219-228 (2002).
64. Temel, H., İlhan, S., Şekerci, M., 2002, Synthesis and Characterization of a new bidentate schiff base and its transition metal complexes, synthesis and reactivity in inorganic and metal-organic cehm. vol. 32, No. 6, pp. 1625-1634.
65. Nakamoto, K., 1986, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, Wiley-Interscience, New York.
66. Akbar Ali, M., Edwards A. A. and Tuah J., 1998, New nickel(II), copper(II), platinum(II) and palladium(II) complexes of a multidentate sulfur-nitrogen chelating agent, *Transition Met. Chem.*, 23, 41-48.
67. Maradiya, H. R., Patel V. S., 2002, Thiadiazole-based monomeric and polymeric dyes for cellulose triacetate fiber, *International Journal of Polymer Anal. Charact.*, 7: 314-330,
68. Pooja, T., Udai, P.S., 2009, Chloro and azido bonded manganese complexes: synthesis, structural, and magnetic studies, *J. Of Coord. Chem.*, 62(10), 1613-1622.
69. Kopel, P., Kamenicek, J., Petricek, V., Kurecka, A., Kalinska, B. and Mrozinski, J., 2006 xx-xx, Synthesis and study on nickel and copper complexes with 1,3,5-benzenetricarboxylic acid. crystal and molecular structure of $[\text{Cu}_3(\text{mdpta})_3(\text{btc})](\text{ClO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, *Polyhedron* 26, 535-541.
70. Hosny, M. W., 1997, Synthesis and equilibrium studies of the metal complexes of 4-amino-N-(2,6-dimethyl-4-pyrimidinyl)-benzenesulfonamide (sulphadimidine), *Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem.*, 27(2), 197-220.
71. *Inorganic Electronic Spectroscopy (Second Edition)* A.B.P. LEVER, 1984, Department of Chemistry, Faculty of Science, York University.
72. Öztürk, Ö. F., Şekerci, M. and Özdemir, E., 2006, Preparation of complexes of 1-amino-6,7-0-cyclohexylidene-4-azaheptane with transition metal acetates, *Russian Journal of General Chemistry*, Vol. 76, No. 1, pp. 33-36.
73. Matez, J.M., Gomez, P.C., Casto, N.I., 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases, *Clinical Biochemistry*, 32;595-603.
74. 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.
75. 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.
76. Onat T., Kaya .E., 1, 1996. Temel Biyokimya.Saray Medical yayıncılık168 sok.No:7 Bornova/İzmir.
77. Çakmak., H., 1-2-Bis(aminofenoksi)etan Türevi Schiff bazları ve Metal Komplekslerinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi, Fen Bilimleri enstitüsü Yüksek lisans tezi Elazığ.

78. 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(II) Complexes and the X-ray Structure of the [Zn(NNS)₂] Complexes, Polyhedron., 20(18);2363-2370.
79. Jeon, S.M., Bok, S.H., Jang, M.K., Kim, Y.H., Nam, K.H., Jeong, T.S., Park, Y.B., Choi, M.S., 2002. Comparison of Antioxidant Effect of Naringin and Probucol in Cholesterol-Fed Rabbits, Clin.Chimica Acta., 317;181-190.
80. 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 Toxicology., 35; 459-463.
81. Osinsky, S.P., Levitin, I.Y., Sigan, A.L., Bubnovskaya, L.N., Ganusevich, I.I., Campanella, L., and Warman, P., 2003. Redox-Active Cobalt(II) Complexes as Promising Antitumour Agents, Russian Chemical Bulletin, International Edition., 52(12); 2636-2645.
82. Wang, P.H., Keck, J.G., Lien, E.J., and Lai, M.C., 1990. Design, Synthesis, Testing and Quantitative Structure- Activity Relationship Analysis of Substituted Salicylaldehyde Schiff bases of 1- Amino 3 Hydroxyguanide Tosylate as New Antiviral Agents Against Coronavirus, Journal of Medicinal chemistry., 33; 608-614.
83. J., Marek, J., Travnický, Z., Racanská, E., Musselík, J., Svajlenová, O., 2008. Synthesis, Characterization and Antiradical and Antidiabetic Activity of Copper(II) and Zinc(II) Schiff Base Complexes Derived from Salicylaldehyde and β-alanine, Journal of Inorganic Biochemistry., 102;595-605.
84. On- Line 1998. Hydroxyurea, AIDS Medical Glossary.,
85. Oakley, A., 2008. Hydroxyurea, New Zealand Dermatological Society.1-2.
86. Demskii, V.I., 1976. The Synchronizing action of Hydroxyurea, Experimental Biology and Medicine., 81(6); 944-947.
87. De, M., Banerjee, N., Taludar, G., Bhattacharya, D.K., 2000.The effect of low dose of Hydroxyurea therapy on Oxidative Damage of RBC Membrane in non-transfused Eβ thalassaemia, Journal of Clinical Biochemistry., 15(1); 56-59.
88. Lori, F., Malykh, A., Cara, A., Sun, D., Weinstein, J.N., Lisiewicz, J., Gallo, R.C., 1994. Hydroxyurea as an inhibitor of human Immunodeficiency virus-type 1 Replication, Advancing Science Serving Society., 266;801-805.
89. Sneed, J.L., Loeb, L.A., 2004. R2 Subunit of Ribonucleotide Reductase that Confer Resistance to Hydroxyurea, Journal of Biol. Chem., 279(39);279.
90. Prabhakar, V., Rao, K.S., 1988. Effects of Hydroxyurea *in vitro* of the Enzymes Activity, Journal of Biosciences., 13(11); 117.

91. Serarslan, G., Kaya, H., Gali, E.,2007. Orak Hücreleli Aneminin Deri Bulguları ve Hidroksiürenin Derideki Yan Etkileri, Türkiye Klinikleri Dermatoloji., 17;228-230.
92. Akça, H., Özeş, O.N., 2002. Hydroxyurea Induces p53 Accumulation and Apoptosis in Human Cervical Carcinoma Cells, Turk J.Biol., 145-150.

8. ÖZGEÇMİŞ

19.08.1983 tarihinde Elazığ'ın Maden İlçesinde doğdum. 1989 da Maden Fatih Mehmet İlkokulu, 1994 de Mezre Ortaokulu, 1998 de Mehmet Aki Ersoy Lisesi 2001 de F.Ü Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde eğitime başladım ve 2006 yılında ise F.Ü Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü bitirdim.

2007 yılında F.Ü Fen Bilimleri Estitüsünde Kimya (Biyokimya) Ana Bilim Dalında Yüksek lisans Eğitimine başladım.