



T.C.
OSMANIYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aysel TUFAN

SCHİFF BAZI ALTIN
KOMPLEKSLERİNİN TrxR ENZİM
İNİBİTÖR ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI

KİMYA ANABİLİM DALI

OSMANIYE - 2019

**T.C.
OSMANİYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SCHİFF BAZI ALTIN KOMPLEKSLERİNİN TrxR
ENZİM İNHİBİTÖR ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**



Aysel TUFAN

**KİMYA
ANABİLİM DALI**

**OSMANİYE
AĞUSTOS-2019**

TEZ ONAYI

SCHIFF BAZI ALTIN KOMPLEKSLERİNİN TrxR ENZİM İNHİBİTÖR ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Aysel TUFAN tarafından Öğr. Gör. Dr. Burcu SAYGIDEĞER DEMİR danışmanlığında Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya** Anabilim Dalı'nda hazırlanan bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği/çokluğu ile **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Öğr. Gör. Dr. Burcu SAYGIDEĞER DEMİR
Kimya Anabilim Dalı, OKÜ

Üye: Doç. Dr. Bahri Devrim ÖZCAN
Ziraat Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, ÇÜ

Üye: Doç. Dr. Makbule BAYLAN
Su Ürünleri Temel Bilimler Anabilim Dalı, ÇÜ

Yukarıdaki jüri kararı Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Coşkun ÖZALP
Enstitü Müdürü, **Fen Bilimleri Enstitüsü**

Bu çalışma OKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: OKÜBAP-2014-PT3-024

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, bu çalışma sonucunda elde edilmeyen her türlü bilgi ve ifade için ilgili kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını ve bu tezin Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

İmza
Aysel TUFAN



ÖZET

SCHIFF BAZI ALTIN KOMPLEKSLERİNİN TrxR ENZİM İNHİBİTÖR ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Aysel TUFAN

Yüksek Lisans, Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Öğr. Gör. Dr. Burcu SAYGIDEĞER DEMİR

Ağustos 2019, 50 sayfa

Kanserli hücrelerde hücrenin dayanıklılığının artması ve ilaçlara karşı direncin oluşmasına sebep olan faktörlerden biri TrxR enziminin aktivitesinin kanserli hücrelerde artmış olmasıdır. Bu enzimin inhibisyonu kanser tedavisinde önem arz etmektedir. Bu çalışmada daha önce TrxR inhibitör rolü araştırılmamış olan bazı Schiff bazı altın komplekslerinin TrxR inhibitörü rolü oynayıp oynamayacağı araştırılmıştır. Bu sayede bu bileşiklerin antikanser alanında ilaç olarak kullanılabilirliğine yaklaşımda bulunulacaktır. Çalışmada sentezlenen 2-metoksi-6-((o-triflorometilimino)metil) fenol (L1) ligandı % 98,75 oranında inhibe etmiştir. Benzer etkiyi bu liganttan sentelenen 2-metoksi-6-((o-triflorometilimino)metil) fenol-altın kompleksi (M1) de göstermiştir. (metoksi)-6-((o-tolilimino)metil) fenol (L2) ligandı ise 4662,77 μ M IC50 değeri ile TrxR inhibisyonu sağlamıştır. Bu ligandın altın kompleksi olan 2-(metoksi)-6-((o-tolilimino)metil)fenol-altın kompleksi (M2) için ise IC50 değeri 1519,91 μ M olarak hesaplanmıştır. M2 kompleksi tümörle mücadelede TrxR inhibitörü olarak değerlendirilebilir bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: TrxR, Schiff bazı, fosfin, altın kompleksi, enzim inhibisyonu, kanser

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE TrxR INHIBITOR ROLE OF SCHIFF BASE GOLD COMPLEXES

Aysel TUFAN

M.Sc., Department of Chemistry

Supervisor: Lecturer Dr. Burcu SAYGIDEĞER DEMİR

August 2019, 50 pages

Increasing the cell resistance in cancer cells, and one of the factors that led to the emergence of resistance to drugs is increased in cancer cells of the enzyme activity of TrxR. The inhibition of this enzyme is important in the treatment of cancer. In this study, gold complexes of some Schiff base will play a role in inhibitory role TrxR previously unexplored. This will be approximated to the availability of these compounds as pharmaceuticals for the anticancer area. In this study, 2-methoxy-6 - ((o-triflorometilimino) methyl) phenol (L1) ligand inhibited TrxR the rate of 98.75%. Similar effect of this ligand 2-methoxy-6 - ((o-triflorometilimino) methyl) phenol-gold complexes (M1) also showed. (Methoxy) -6 - ((o-toliimino) methyl) phenol (L2) ligand provided by the TrxR inhibition via giving 4662.77 μM IC50. Gold complex of this ligand is 2-(methoxy) -6 - ((o-toliimino) methyl) phenol-gold complex (M2) to the IC50 value was calculated as 1519.91 μM . M2 in the fight against tumors has been regarded as the TrxR is Inhibitors.

Key Words: TrxR, Schiff base, phospine, gold complex, inhibition of enzyme, cancer



Aileme ve emeđi geen herkese...

TEŞEKKÜR

Tez alıőmamda bana sevgi ve anlayıőla yaklaşan ve yardımlarını esirgemeyen sevgili danışman hocam Öğr. Gör. Dr. Burcu SAYGIDEĞER DEMİR'e, yardımlarıyla çalıőmalarımı kolaylaőtıran değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Bahri Devrim ÖZCAN'a ve Doç.Dr. Mustafa KELEŐ'e, teknik desteklerinden dolayı değerli hocam Arş. Gör. Mustafa Kemal YILMAZ'a ve bana destek olan, emeği geçen tüm arkadaőlarıma ve hocalarıma sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca sabırla, sevgiyle ve anlayıőla yanımda olan, bana maddi manevi destek olan biricik aileme ve eőim Mahmut Özgür ULAŐ'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	
TEZ BİLDİRİMİ	
<u>ÖZET</u>	iv
<u>ABSTRACT</u>	v
<u>TEŞEKKÜR</u>	vii
<u>İÇİNDEKİLER</u>	viii
<u>ÇİZELGELER DİZİNİ</u>	x
<u>ŞEKİLLER DİZİNİ</u>	xi
<u>SİMGELER VE KISALTMALAR</u>	xii
<u>1. GİRİŞ</u>	1
<u>1.1. Antioksidan Sistem</u>	1
<u>1.2. Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)</u>	2
<u>1.3. Doğal (Endojen) Antioksidanlar</u>	2
<u>1.4. Enzim Olmayanlar</u>	3
<u>1.5. Enzimler</u>	3
<u>1.5.1. Tiyoredoksin Redüktaz (TrxR, EC 1.6.4.5)</u>	4
<u>1.6. Kanser Nedir ve Nasıl Oluşur?</u>	6
<u>1.7. Kanser Tedavisi</u>	8
<u>1.8. Kanser Tedavisinde Organometalik Bileşikler</u>	8
<u>1.8.1. Antioksidan Enzim İnhibitörleri Olarak Organometalik Bileşikler</u>	8
<u>1.9. Schiff Bazları (İminler)</u>	10
<u>1.9.1. Schiff Bazlarının Fiziksel Özellikleri</u>	10
<u>1.9.2. Schiff Bazlarının Kimyasal Özellikleri</u>	11
<u>1.9.3. Schiff Bazlarının Önemi</u>	12
<u>1.9.4. Schiff Bazlarının Metal Kompleksleri</u>	13
<u>1.9.4.1. Schiff Bazlarının Metal Komplekslerinin Genel Özellikleri</u>	14
<u>1.9.4.2. Schiff Bazı Komplekslerinin Kullanım Alanları</u>	14
<u>1.10. Çalışmanın Amacı</u>	15

<u>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</u>	17
<u>3. MATERYAL VE METOD</u>	21
<u>3.1. Materyal</u>	21
<u>3.2. Metod</u>	22
<u>3.2.1. Ligandların Hazırlanması</u>	22
<u>3.2.1.1. 2-metoksi -6-((o-triflorometilimino)metil) fenol sentezi (L1)</u>	22
<u>3.2.1.2. 2-(metoksi)-6-((o-toliimino)metil)fenol sentezi (L2)</u>	23
<u>3.2.2. Metal Komplekslerinin Hazırlanması</u>	23
<u>3.2.2.1. 2-metoksi-6-((o-triflorometilimino)metil) fenol-altın kompleksinin (M1) hazırlanışı</u>	23
<u>3.2.2.2. 2-(metoksi)-6-((o-toliimino)metil)fenol-altın kompleksinin (M2) hazırlanışı</u>	24
<u>3.2.3. L1 ligandının ve altın kompleksinin (M1) farklı konsantrasyonlarının hazırlanması</u>	25
<u>3.2.4. L2 ligandının ve altın kompleksinin (M2) farklı konsantrasyonlarının hazırlanması</u>	26
<u>3.2.5. Enzim inhibisyon çalışmaları</u>	26
<u>3.2.5.1. Reaksiyon karışımının hazırlanması</u>	26
<u>3.2.5.2. TrxR enzim aktivitesinin tayini</u>	26
<u>3.2.5.3. Ligand ve metal komplekslerinin TrxR aktivitesine etkisinin incelenmesi</u>	27
<u>4. BULGULAR VE TARTIŞMA</u>	28
<u>4.1. Sentez Çalışmaları</u>	28
<u>4.2. Enzim çalışmaları</u>	31
<u>4.2.1. TrxR enzim aktivitesinin hesaplanması</u>	31
<u>4.2.2. L1 ligandının TrxR enzim aktivitesine etkisi</u>	32
<u>4.2.3. M1 kompleksinin TrxR enzim aktivitesine etkisi</u>	33
<u>4.2.4. L2 ligandının TrxR enzim aktivitesine etkisi</u>	34
<u>4.2.5. M2 kompleksinin TrxR enzim aktivitesine etkisi</u>	36
<u>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</u>	39
<u>KAYNAKLAR</u>	40
<u>ÖZGEÇMİŞ</u>	46
<u>EKLER</u>	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge 4.1. L1 varlığında TrxR enzim aktiviteleri ve inhibisyon yüzdeleri</u>	32
<u>Çizelge 4.2. M1 kompleksi varlığında TrxR enzim aktiviteleri ve inhibisyon yüzdeleri</u>	33
<u>Çizelge 4.3. L2 varlığında TrxR enzim aktiviteleri ve inhibisyon yüzdeleri</u>	35
<u>Çizelge 4.4. M2 kompleksi varlığında TrxR enzim aktiviteleri ve inhibisyon yüzdeleri</u>	37



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil: 1.1. Radikallerin yol açtığı hücre hasarı (Akkuş, 1995)</u>	1
<u>Şekil 1.2. TrxR'nin hücredeki reaksiyonları ve fonksiyonları</u>	6
<u>Şekil 3.1. M1 kompleksinin sentezi</u>	24
<u>Şekil 3.2. M2 kompleksinin sentezi</u>	24
<u>Şekil 3.3. M1 metal kompleksinin sentezinde renk değişiminin izlenmesi</u>	25
<u>Şekil 3.4. M2 metal kompleksinin sentezinde renk değişiminin izlenmesi</u>	25
<u>Şekil 4.1. L1 ligandının FT-IR spektrumundan bir kesit</u>	28
<u>Şekil 4.2. M1 kompleksinin FT-IR spektrumundan bir kesit</u>	29
<u>Şekil 4.3. L2 ligandının FT-IR spektrumundan bir kesit</u>	30
<u>Şekil 4.4. M2 kompleksinin FT-IR spektrumundan bir kesit</u>	30
<u>Şekil 4.5. L1 konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyonu</u>	33
<u>Şekil 4.6. M1 kompleksi konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyonu</u>	34
<u>Şekil 4.7. L2 konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyonu</u>	35
<u>Şekil 4.8. Düşük inhibisyon yüzdelerinin ihmalıyla elde edilen inhibisyon grafiği</u> ..	36
<u>Şekil 4.9. M2 kompleksi konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyonu</u>	37

SİMGELER VE KISALTMALAR

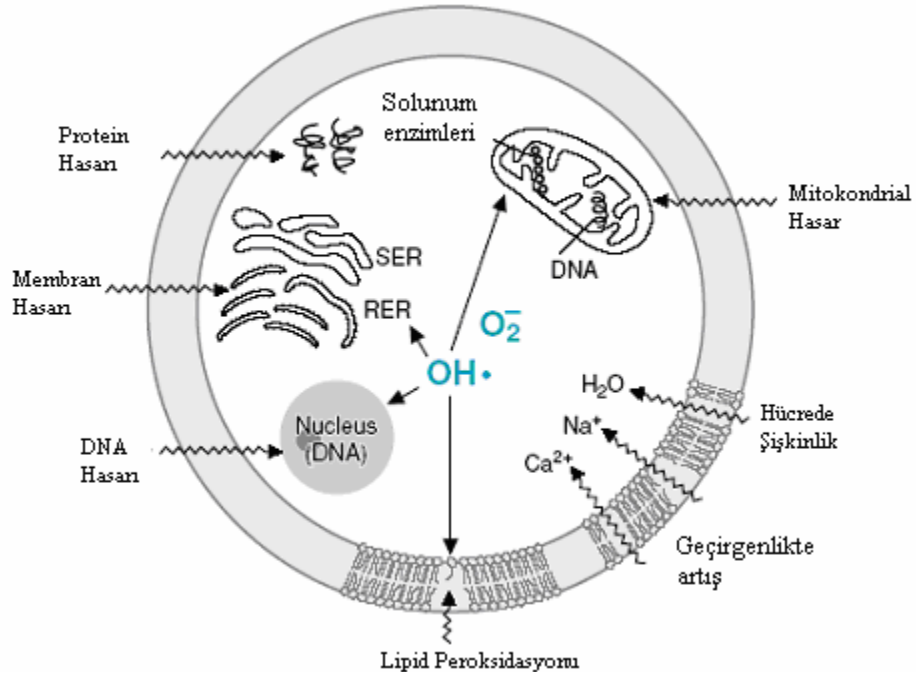
A549	: Akciğer adenokanseri hücre hattı
Abs	: Absorbans
BSA	: Sığır serum albumini
C	: Konsantrasyon
cm	: Santimetre
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DTNB	: Ditiyobis trinitro benzoik asit
DTNB	: 5,5'- ditiobis(2-nitrobenzoik asit)
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
Eto-Ac	: Etil Asetat
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
g	: Gram
GSH	: Glutasyon
hTrxR	: İnsan Tiyoredoksin redüktazı
IC50	: Hücre büyümesinin %50 inhibisyonu
K562	: Miyeloid lösemi hücre hattı
kDa	: Kilo dalton
Kg	: Kilogram
L	: Litre
L1	: 2 – metoksi -6-((o-triflorometilimino)metil) fenol
L2	: 2-(metoksi)-6-((o-toliimino.)metil)fenol
LDH	: Laktat dehidrojenaz
M	: Molarite
M1	: 2 – metoksi -6-((o-triflorometilimino)metil) fenol metal kompleksi
M2	: 2-(metoksi)-6-((o-toliimino.)metil)fenol metal kompleksi
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
MTT	: (3-[4,5-Dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Thiazolyl blue)

N	: Normal
NADPH	: Nikotin adenin di nükleotid fosfat
nm	: Nanometre
°C	: Santigrat derece
Ort	: Ortalama
PBS	: Phosphate Buffered Saline (Fosfat tamponu)
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TrxR	: Tiyoredoksin redüktaz
U	: Ünite
UV	: Ultraviyole (mor ötesi) spektroskopisi
δ	: Kimyasal kayma
ϵ	: Molar ekstinksiyon katsayısı
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar

1. GİRİŞ

1.1. Antioksidan Sistem

Organizma içindeki radikaller, geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açan birçok tepkimeye neden olurlar (Şekil 1.1.). Süperoksit ve hidroksil radikalleri hücre, mitokondrial, nükleer ve endoplazmik zarlarda lipit peroksidasyonunu başlatırlar. Geçirgenlikteki artış mitokondrial hasara neden olan Ca^{+2} 'nin hücreye akın etmesine neden olur.



Şekil 1.1. Radikallerin yol açtığı hücre hasarı (Akkuş, 1995)

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilir gibi serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları

etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (Akkuş, 1995).

1.2.Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)

- Ksantin oksidaz inhibitörleri: Tungsten, allopürinol, oksipürinol, folik asit, pterin aldehid.
- Soya fasulyesi inhibitörleri: Ksantin dehidrojenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler.
- NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, cetiedil, difenilin iodonyum, rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-c: e vitamini analogudur.
- Endojen antioksidan aktiviteyi arttıran maddeler: Glutasyon Peroksidaz aktivitesini arttıran ebselen, asetilsistein.
- Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol, albumin, DMSO.
- Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin, serulplazmin
- Nötrofil adezyon inhibitörleri
- Sitokinler: TNF ve İnterlökin-I
- Barbitüratlar
- Demir şelatörleri
- Gıda antioksidanları: Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), sodyum benzoat, ethoxyquin, propylgalate, (Akkuş, 1995).

1.3.Doğal (Endojen) Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar enzim olan ve enzim olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır.

1.4.Enzim Olmayanlar

Enzim yapısında olmayan doğal antioksidanlar lipid fazda ve sulu fazda bulunan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir.

a) Lipid fazda bulunanlar

- α - tokoferol (E vitamini)
- β - karoten

b) Sulu fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar

- Askorbik asit
- Melatonin
- Ürat
- Sistein
- Serulplazmin
- Transferin
- Laktoferrin
- Miyoglobin
- Hemoglobin
- Ferritin
- Metionin
- Albumin
- Bilirubin
- Glutasyon

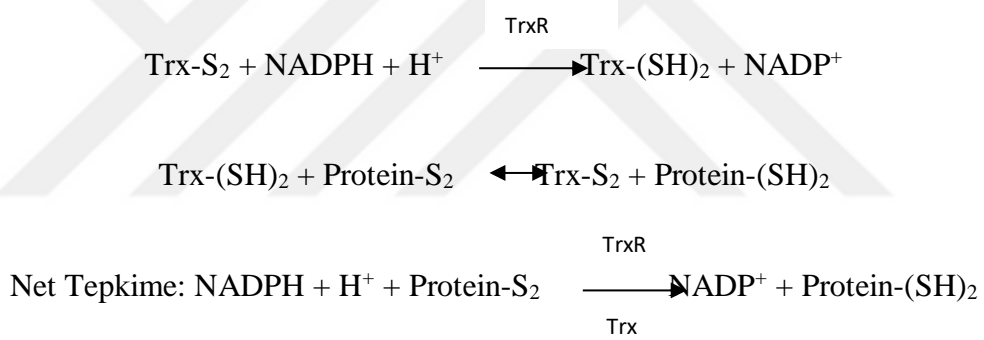
1.5.Enzimler

- Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz Sistemi
- Süperoksit Dismutaz
- Katalaz
- Glutasyon Peroksidaz
- Glutasyon Redüktaz
- Glutasyon-S-transferaz
- Hidroperoksidaz

- Tiyoredoksin sistem (Trx-TrxR)

1.5.1. Tiyoredoksin Redüktaz (TrxR, EC 1.6.4.5)

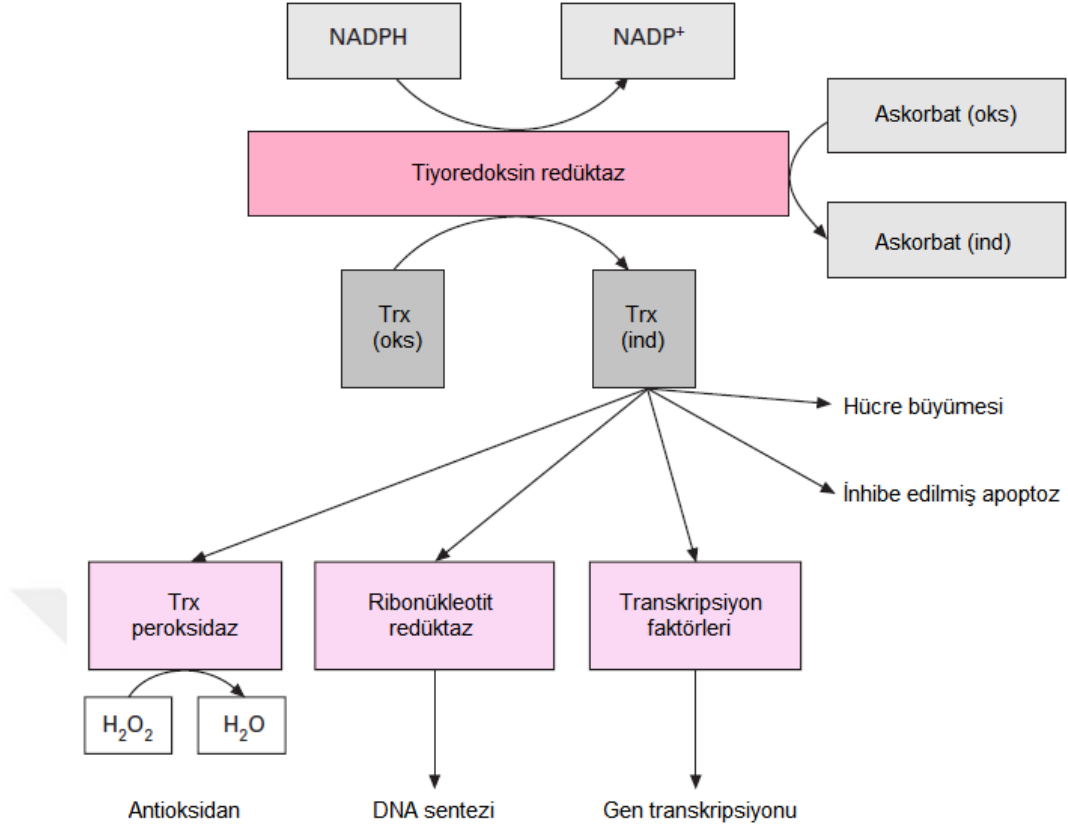
Tiyoredoksin redüktazlar, Cys-Val-Asn-Val-Gly-Cys katalitik bölümü ve nikodinamid adenin dinükleotid fosfat-oksidaz (NADPH) bağlanma bölümü olan flavoproteinlerdir. Ayrıca katalitik bölge ile etkileşime giren ve redoks aktivitesi için gerekli olan C-terminal selenosistein sırasından oluşurlar ve selenyum içerirler. TrxR aktivitesi Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ile üretilen NADPH tarafından düzenlenir. Tiyoredoksinler ise Trp-Cys-Gly-Pro-Cys-Lys katalitik bölümü olan 12 kDa luk bir protein ailesidir. Bu proteinlerin iki sistein grubu geri dönüşümlü oksitlenme/indirgenme ye uğrar. Trx'in indirgenmiş ditiol formu [Trx-(SH)₂] disülfid grubu içeren oksidize protein substratlarını indirger, oksidize disülfid formu [Trx-(S-S)] ise TrxR tarafından düzenlenen NADPH bağımlı bir yolla döngüye geri katılır.



Memeli canlılarda bu enzimin 3 izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar, Sitoplazmada bulunan TrxR1 (54kDa), mitokondride bulunan TrxR2 (56kDa) ve spesifik olarak testislerde bulunan tiyoredoksin glutatyon redüktaz (TrxR3 ya da TGR). Normal insan hücrelerindeki TrxR1 enzimi redoks döngüsü ve oksidatif zararın önlenmesi için oldukça gereklidir. Birçok hücrede antioksidan savunma, redoks ve hücre büyüme düzenlenmesi ile gerçekleşmektedir, aynı zamanda TrxR1 selenoenziminin aktivitesiyle ilişkili olan selenyum metabolizması da antioksidan savunmada önemli rol oynamaktadır (Urig ve Becker, 2006). Ancak kanser hücre hatlarındaki aşırı miktardaki TrxR1, Trx proteininin miktarının ve aktivitesinin artmasına yol açarak mürin tümörleri indüklemektedir. Birçok kanser ilacının metabolik etkisi de enzim inhibisyonuna dayanmaktadır. Bu nedenle bu tür ilaçlarla ilgili çalışmalar son zamanlarda artmıştır. TrxR1 enzimi de birçok antikanser ajanının hedefi olmaktadır. Moleküler hedef olmasında birçok sebep bulunmaktadır. Örneğin, esnek C-Terminal

kolu üzerinde Selenosistein bulunan bir selenoenzim olması nedeniyle kataliz sırasında enzime çok iyi ulaşılabilir. Birçok elektrofilik bileşik seçici ve geri dönüşümsüz olarak enzimin aktif bölge aminoasidinde modifikasyona yol açar. Kemoterapiye dirençli hücrelerde TrxR1 enziminin oldukça yüksek seviyelerde bulunduğu tespit edilmiş ve enzimin apoptotik direnç ile ilişkisi olduğu ortaya konmuştur (Yokomizo ve ark., 1995).

Teorik olarak tiyoredoksin/tiyoredoksin redüktaz sistemi kanser hücrelerinde normalden fazla salınarak ribonükleotid redüktaz enzim sistemlerine elektron vericiliği yapar ve mutajenik, dengesiz deonükleotid protein yapılarının artmasına neden olur. Bu durumun belirgin genetik değişimlere yol açarak doku büyüme kontrolünün tamamen kaybı ve kanser tedavisine direnç gelişimi ile sonuçlandığı düşünülmektedir. Trx salınımının, muhtemelen protein yapı ve fonksiyonlarındaki değişikliklere bağlı olarak, akciğer, kolorektal, servikal, hepatik ve pankreas kanseri gibi birçok insan kanser türlerinde arttığı gösterilmiştir (Powis ve ark., 1998, Kakolyris ve ark. 2001, Welsh ve ark., 2002). Trx salınım yokluğu ise bu kanser türlerinde, lenf nod negatifliği ve daha iyi klinik sonuç ile birliktelik göstermiştir. Bu sonuçlar, bazı kanserlerdeki Trx in büyüme artırıcı rolünü desteklemektedir. Aynı zamanda kanser hücrelerinde TrxR katalitik aktivitesi fonksiyonel olarak artsa da, enzim salınımı artmayabilir (Kemerdere, 2008).



Şekil 1.2. TrxR'nin hücredeki reaksiyonları ve fonksiyonları (Mustacich ve Povis, 2000)

1.6. Kanser Nedir ve Nasıl Oluşur?

Organizma/organ/doku gelişimi, hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını içerdiği gibi hücre ölümlerini de sağlar. Hasarlı dokuların onarımı somatik hücrelerin ve destek dokunun çoğalması ile gerçekleşmektedir.

Hücre büyümesi, farklılaşması ve çoğalmasında rolü olan proto-onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar tümör gelişimine, tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar ise hücre siklusunun inhibisyonunu engelleyerek anormal hücre büyümesine neden olur.

Homeostasis, hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptoz (programlı hücre ölümü) ile sürdürülmektedir. Hücre büyümesi ve ölüm arasındaki dengenin bozulması hiperplazi veya neoplaziye neden olur. Pozitif veya negatif uyaranlar genetik lezyona yatkın hücrelerde, malign çoğalmaya neden olabilir. Malign gelişimi en aza indirmeye

yardımcı mekanizmalardan birisi nekrozdur. Nekroz (kontROLSÜZ hücre ölümü) hücre şişmesi ve hızlı dejenerasyon olarak tanımlanır. Apoptoz, nekrozdaki farklı olarak fizyolojik koşullarda meydana gelen ve doku homeostazisini sağlayan ölüm şeklidir. Programlı hücre ölümü apoptozun normal hücre döngüsünde ve fizyolojik süreçlerde rolü vardır. Apoptotik hücrelerde hücre büzülmesi, kromatinin kondense olması, sitoplazmik tomurcuklar ve apoptotik cisimciklerin oluşumu gibi morfolojik değişimler meydana gelir. Makrofajlar apoptotik hücre ve cisimciklerini fagosite eder. Doku zedelenmesinde ilk etmen reaktif oksijen türevleridir. Reaktif oksijen türevlerinin hedefleri plazma zarında ve diğer hücre kompartmanlarında bulunan proteinler, lipidler, karbohidratlar ve nükleik asitlerdir (Cabadak, 2008).

Son yıllarda nekrozun da programlanmış olabileceği ve organizma homeostasis mekanizmalarının bir parçası olduğu yönünde görüş oluşmakla birlikte daha yaygın olarak nekroz indüklenmesi olası tedavi mekanizması olarak değerlendirilmektedir. Nekrozda ölen hücrelerden HMGB1 (High mobility group protein B1) ve HDGF (hepatoma derived growth factor) gibi moleküllerin salınımının immün cevabı uyardığı veya yara onarımını aktive ettiği düşünülmektedir (Cabadak, 2008).

Apoptoz, normal hücre ölümünün yanı sıra mutant hücre çoğalmasını önleyen önemli bir yoldur. Hücre siklusu ve apoptozda çok sayıda protein ikili rol oynar. Çevresel faktörlerle meydana gelen DNA hasarı hücre siklus kontrol mekanizmalarının bozulmasına neden olur. Pek çok kanser tipinde hücre siklus kontrol noktalarında mutasyonlar belirlenmiştir. Büyümenin durdurulması, DNA onarımı ve apoptozun engellenmesi kanser gelişiminde kritik yolaklardır. Tümör baskılayıcı genlerde mutasyonlar hasarlı hücrelerin hücre sikluslarının ilerlemesine ve tümör gelişimine neden olur. Genomun gardiyanı olarak da tanımlanan p53 proteini karmaşık etkinliklere sahip, hücre döngüsünü düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Birçok organizmada kanserin baskılanmasında rolü olan çok önemli bir proteindir. p53 proteini hücre büyümesinin durdurulması, programlanmış hücre ölümü, hücre farklılaşması ve DNA tamir mekanizmasının başlatılmasında da rol alır. p53, mutant hücre çoğalmasına karşı genomun korunmasında önemli rol oynar (Cabadak, 2008).

1.7.Kanser Tedavisi

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, invazif nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren ve halen gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan öldürücü bir hastalıktır. Genel olarak bakıldığında erişkin kanser hastalarında sağkalım 1960'larda % 39 iken bu oran 1990'larda % 60'a ulaşmıştır. Sağkalım oranlarında görülen bu artış, kombine tedavi yaklaşımının bir sonucudur. Günümüzde kanser tedavisi cerrahi, kemoterapi ve radyoterapinin kombinasyonu şeklinde uygulanmaktadır. İlkinde amaç tümörlü doku veya organın uzaklaştırılması, son ikisinde ise kanser hücrelerinin öldürülmesidir. Antikanser ilaçların çoğu sitotoksik etkileri ile malign hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını önlerler ve onların ölümüne yol açarlar. Radikal bir tedavi vücutta tek bir malign hücre kalmaksızın tüm hücrelerin yok edilmesi ile mümkündür. Ancak böyle bir durum az sayıdaki istisnalar dışında halen varolan ilaçlarla sağlanamamaktadır (Tozkoparan ve ark., 2007).

1.8. Kanser Tedavisinde Organometalik Bileşikler

1.8.1.Antioksidan Enzim İnhibitörleri Olarak Organometalik Bileşikler

Bazı kanser hücreleri, kanser ilaçlarına ve TNF (Tümör nekroz faktörleri)' ye karşı direnç göstermekte ve bu durum tedaviyi olumsuz etkilemektedir. Bu direncin sebeplerinden birinin metabolik enzimlerin fazla salgılanması sonucu ilacın inaktivasyonunda artma olduğu düşünülmektedir. Bazı sitotoksik kanser ilaçları, serbest radikaller oluştururlar ve antioksidan enzimler bu radikalleri bloke ederek ilaç direncine katkıda bulunurlar. Bu nedenle bu tür enzimlerin kanserli hücrelerde artmış olan aktivitelerinin azaltılması ya da inhibisyonu tedavi açısından önemli bir yaklaşım olacaktır.

İnsan tiyoredoksinredüktaz (hTrxR) enzimi antioksidan savunma ve redoks döngüsü gibi birçok metabolik olayda yer almaktadır. İnsan kanser hücrelerinde hTrxR seviyeleri çok yüksek bulunmaktadır. Apoptoz düzenleyici protein olan p53 proteini ile bu enzimin ilişkisi olduğu belirlenmiş ve kanser hücrelerinin çoğalması hTrxR enzimi ile de ilişkisi olduğu ortaya konmuştur. Bu da kanser ilaçlarının yeni hedefinin bu

enzimin inhibisyonu olmasını sağlamıştır (Urigo ve Becker, 2006, Trunen ve ark., 2004, Ueno ve ark.,1999). Altın(I) kompleksleri Au(I) in yüksek elektrofilik özellik göstermesi ve selenosistein artıklarını tercih etmesi nedeni ile bu enzimi inhibe edici özellik göstermektedir. Örneğin fosfol-Au(I) kompleksleri de hTrxR ve glutatyonredüktaz enzimlerini inhibe etmektedir (Urigo ve ark., 2006). Kobalt içeren komplekslerin tümör metastazına yol açan enzimlerin seçici inhibisyonunu sağladıklarını ortaya koymuşlardır. (Failes ve ark., 2007).

Enzim inhibisyonu çalışmalarında en çok Tiyoredoksin redüktaz enzimi üzerinde durulmuştur. Örneğin, [bis (1,2-Benzisoselenazol-3) (2H)-keton]etan bileşiğinin A549, Hela Bel-7402, BGC823 ve KB hücre hatlarında tiyoredoksin redüktaz enzimini inhibe ettiğini ortaya konulmuştur (Zhao ve ark. 2006). Mitokondrial ve sitosolik tiyoredoksin redüktazın inhibisyonu, redoks dengesini ve mitokondrial membran geçirgenlik koşullarını değiştirerek proapoptotik (apoptoz öncesi) faktörlerin salınımı ile sonuçlanır (Marzano ve ark. 2007). Fosfin Altın(I) komplekslerinin TrxR inhibitörü olarak antikanser ajanı rolü oynadığı ortaya konmuştur (Gandin ve ark. 2010). Hidrofilik alkil fosfin ligandlarının suda çözünebilir Cu(I), Ag(I) ve Au(I) komplekslerinin akciğer, meme, serviks, cilt ve kolon kanserinin bazı türlerinde TrxR inhibitörü olarak rol oynadıkları belirlenmiştir (Santini ve ark. 2011). Arsenik trioksit de artık kanser hücrelerinde en iyi bilinen TrxR inhibitörüdür (Lu ve ark. 2007). Bazı, quinollerin, indolequinonların, ve terpiridinlerin çeşitli kanser türlerinde TrxR inhibitörleri olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur (Chev ve ark. 2008, Yan ve ark., 2009, Becker ve ark. 2000). Bir çalışmada flavanollerin, flavanonların, antosiyanidinlerin ve izoflavonların da memeli TrxR inhibitörü rolü oynadığı ortaya konmuştur (Lu ve ark. 2006). Tüm bu çalışmalara göre organometalik bileşiklerin TrxR inhibitörü olarak etki gösterebildikleri sonucu ortaya çıkmaktadır. Metal komplekslerinde metalin yanındaki grupların (ör: Cl) ayrılması suretiyle TrxR ve GPx enzimlerinin aktif bölgesinde bulunan sistein ve selenosistein artıklarına koordine olması ile inhibisyonun gerçekleştiği olası bir yaklaşımdır (Scarborough ve ark., 2012). Katalaz enziminde ise metal komplekslerinin ya aktif bölgedeki histidin aspartik asit fenil alanin gibi aminoasitlere metal üzerinden koordine olduğu ya da enzimin aktif bölge dışındaki farklı bir bölgesindeki aminoasitlerle koordine olup, enzimin üç boyutlu yapısında değişikliklere sebep olarak inhibisyonun gerçekleştiği düşünülmektedir (Putnam ve ark., 2000).

1.9. Schiff Bazları (İminler)

Schiff bazları karbonil bileşiklerinin primer aminlerle reaksiyonundan elde edilen kondensasyon ürünleridir. Reaksiyon sonunda oluşan $C=N$ çift bağına, azometin bağı denir. Schiff bazı ligandları, yapısında bulunan donör atomlarının sayısına bağlı olarak çok dişli (polidentant) ligand olarak hareket edebilirler. $N_2S_2O_2$ altı dişli ve N_2S_2 dört dişli schiff bazlarının metal şelatlarına ilgi bu komplekslerin değişik uygulama alanlarından dolayı artmıştır. (TEZ)

İlk defa 1864 yılında H. Schiff tarafından primer aminlerle ($R-NH_2$) aldehit ve ketonların reaksiyonundan elde edilen ve o zamandan beri Schiff bazları (imin) ($RCH=NR$) adı ile bilinen azometin bileşiklerinin oluşum mekanizmaları ve bu ligandların kompleks oluşturma özellikleri epeyce incelenmiştir (Schiff, 1869, Morley, 1977). İmin bileşikleri ile ilgili ilk çalışma, Anselmino tarafından Berichte'de yayınlanmıştır. Anselmino bu çalışmada, Schiff bazlarının izomerisini açıklamıştır. Moore ve Gale, bu bileşikler üzerine ilk çalışmalarını yayınlamışlardır (Moore ve Gale, 1908). Salisilaldehit'in kullanıldığı ilk çalışmalar, etil p-aminobenzoat ile arasındaki kondensasyon reaksiyonlarının sonuçlarının Manchot ve Furlong tarafından Berichte'de yayınlanmasıyla başlamıştır. Bogert, Beal ve Amend Columbia Üniversitesinde ilk heterohalkalı imin bileşiklerini sentezlemişlerdir (Bogert ve ark., 1910). Bu bileşikler ile ilgili çalışmalar, Shepard ve Ticknor'un imin bileşiklerinin farmakolojik aktivitelerinden bahsettikleri çalışmanın yayınlanmasından (Shepard ve Ticknor, 1916) sonra güncelliğini koruyarak devam etmektedir.

1.9.1. Schiff Bazlarının Fiziksel Özellikleri

Karbon-azot çift bağı etrafındaki dönmenin karbon-karbon çift bağındakine göre kolay olması stereoizomerlerin birbirine dönüşebilmesini sağlar. Bunun nedeni ise; daha elektronegatif olan azotun azometin bağında polarizasyona neden olmasıdır. Fakat Schiff bazlarının stereoizomerlerinin aralarında çok az enerji farkı olması nedeniyle birkaç istisna dışında izole edebilmek mümkün değildir. Eğer azometin grubundaki azot atomunda elektronegatif bir grup var ise (oksimler ve hidrazonlardaki gibi) elektronegatif grubun azot atomunun negatif yüklerini karbona doğru itmesi, polarizasyonun azalmasına, dolayısıyla kovalent çift bağ karakterinin artmasına neden

olur. Azot atomunda elektronegatif bir grubun bulunması durumunda azometin bağı etrafındaki dönme kolaylığını azaltır ve böyle stereoizomerler izole edilebilirler (Öztürk, 1988).

Schiff bazları azot atomunda hidrojen içermedikleri için karardır. Salisilaldimin bileşiminin *o*-pozisyonundaki hidroksil grubunun protonunun ayrılması sonucu hidrojen üzerindeki yük anyonik bir uç meydana getirir. Bu fenolik oksijen, bağı bulunduğu benzen halkasıyla kısmi bir çift bağ özelliği göstererek rezonansa girer ve halkayı elektronca zenginleştirir. Bu durum, aromatik halka üzerinde elektron veren veya çeken süstitüentleri de rezonans nedeniyle etkiler. Bu nedenle bir elektron çifti bulunan azot üzerinde de negatif yük birikimi oluşur (Gavranic ve ark., 1996).

1.9.2. Schiff Bazlarının Kimyasal Özellikleri

Azot atomunda elektronegatif bir süstitüent bulunduğu taktirde azometin bileşiminin karardılığı artmaktadır. Örnek olarak; azot atomunda hidroksil grubu taşıyan oksimler ile -NH grubu taşıyan fenilhidrazon ve semikarbazonlar, azot atomunda alkil ya da aril süstitüent taşıyan Schiff bazlarına göre hidrolize çok daha dayanıklıdır. Schiff bazları mutlak olarak alkalilere karşı karardlı oldukları halde özellikle düşük pH aralıklarında hidrolize olurlar ve kendisini oluşturan karbonil ve amin bileşimine ayrılırlar. Bu reaksiyon iki yönlüdür. Eğer azot atomunda en az bir tane çiftleşmemiş elektron içeren elektronegatif atom bulunan aminler kullanılırsa reaksiyon tümüyle tamamlanır ve hidroliz gerçekleşmeyeceği için yüksek verimle izole edilebilirler. Ayrıca azometin grubunun reaktivitesine etki eden faktörlerden biri de indüktif etkidir. Orto ve para süstitüe diaril ketiminler hidrolize karşı daha dayanıklıdır. Bunun nedeni fenol-imin, keto-imin tautomerizmidir. Keto-amin halindeki *o*- ve *p*- süstitüe ketiminlerin hidroliz hızının yavaş olması, keto halinin hidrolize dayanıklı olmasından kaynaklanmaktadır. Orto ve para metoksi süstitüentli diaril ketiminlerde oldukça yavaş hidrolizlenirler. Bu bileşiklerin 3 tautomerleşmesi mümkün değildir. Rezonans yapabildikleri için hidrolize karşı dayanıklıdır.

Alifatik β -diketonların monoazometinle türevleri, keto-imin, keto-enamin ve enol-imin olmak üzere üç tautomer formülüne sahiptirler. Azometin bileşiklerinin hidrolize karşı dayanıklılıklarında sterik etkilerin de rolü vardır. Orto pozisyonundaki bir

substituent *m*- ve *p*- pozisyonlarında bulunduğu konumlara göre yapıyı hidrolize karşı dayanıklı kılmaktadır. Azometin grubunun içerdiği azotun nükleofil oluşu nedeniyle Schiff bazlarında oldukça immobil bir tautomerizm ortaya çıkar. Bu tautomerleşmede bir karbondaki proton diğer karbona aktarılır. Bu şekilde tautomerizm, pridoksal ve α -aminoasitler arasındaki transaminasyon ile aynı olduğundan biyolojik bir öneme sahiptir (Öztürk, 1988).

1.9.3. Schiff Bazlarının Önemi

Schiff bazları bazı ilaçların hazırlanmasında, boyar maddelerin üretiminde, elektronik endüstrisinde, plastik sanayinde, kozmetik, polimer üretiminde, analitik kimyada ve sıvı kristal teknolojisi gibi çeşitli dallarda gittikçe artan öneme sahip maddelerdir. Schiff bazları biyolojik ve yapısal önemleri yüzünden üzerinde çok çalışılan bileşiklerdir (Helmut, 1976, Bush, 1967, Patai, 1970, Metzler ve ark, 1980). Ayrıca salisilaldehit ile alkil ve aril aminlerin kondensasyonundan oluşan N-R ve N-Ar salisilidenaminler çok komplike bir sistem olan pridoksal ve B1 vitaminlerinin yapısının anlaşılması için uygun ve faydalı bir modeldir (Murthy ve Reddy 1981).

Kemoterapik özelliği nedeniyle ilaç sanayinde ve endüstride kullanma alanının olduğu bilinmektedir. Özellikleri arasında en çok durulanı biyolojik sistemlerdeki aktiviteleridir. Biyolojik aktivitelerinin nedeni eser elementlerle yaptıkları şelatlardan kaynaklanmaktadır. Buna bağlı olarak çok geniş farmokolojik aktiviteye sahiptirler (Öztürk, 1988, Ansell, 1982).

Schiff bazları genelde renkli ve saydam katılardır. Bu özelliklerinden yararlanılarak boya endüstrisinde kullanılabilir. Ayrıca parfüm ve ilaç endüstrisinde de oldukça fazla kullanılabilir. Bunun yanında özellikle biyokimya ve analitik kimya açısından da gittikçe artan öneme sahip maddelerdir. Bu bileşiklerin sentetik oksijen taşıyıcı, enzimatik reaksiyonlarda ara ürün oluşturucu, antitümör oluşturucu gibi özelliklerinin yanında bazı metal iyonlarına karşı seçici ve spesifik reaksiyon vererek spektrofotometrik reaktif olarak analitik kimyada kullanımları da önem taşımaktadır (Ansell, 1982, Erturan ve ark., 1997).

Bunun dışında elektronik gösteri sistemleri içinde sıvı kristal olarak, kauçuk hızlandırıcı olarak da kullanılabilir. Schiff bazları kesin erime noktalarına sahip oldukları için karbonil bileşiklerinin tanınmasında ve metallerle kompleks verebilme özelliklerine sahip olmaları nedeniyle metal miktarlarının tayininde kullanılmaktadırlar. Ayrıca Schiff bazları fungusid ve böcek öldürücü ilaçların bileşiminde de bulunabilmektedir (Öztürk 1988).

Salisilaldehitin etilendiamin ve propilendiamin gibi alkilen diaminlerle kondensasyonu sonucu meydana gelen Schiff bazları metal deaktivatörü olarak kullanılır. Polysiloksan ve PVC'nin kararlılığı için disalisilidenpropilendiamin kullanılmaktadır ve aynı zamanda bu Schiff bazının nikel şelatının termoplastik reçineler için ışık stabilizatörü olarak kullanılmasının uygun olduğu rapor edilmiştir (Orthmer, 1968).

1.9.4. Schiff Bazlarının Metal Kompleksleri

1.9.4.1. Schiff Bazlarında Metal-Şelat Komplekslerinin Sentezi MN_2O_2 veya MN_4 koordinasyon küresini içeren metal-şelat komplekslerinin sentezinde üç yöntem kullanılabilir. Bunlar:

1. Metal tuzu ile Schiff bazının direkt etkileşmesi
2. Aldehit, amin ve metal tuzunun template kondensasyonu
3. Aldehitato komplekslerinin aminlerle reaksiyonu şeklinde ifade edilebilir.

Ayrıca, metallerin susuz ortamda anodik yükseltgenme temeline dayanan elektrokimyasal yöntemle de kompleksler sentezlenebilmektedir. Bu yöntemle birçok Salisilaldiminato bis-şelat kompleksleri hazırlanmıştır. Metal asetatlar, alkoldeki 10 çözünlüklerinden ve ortamda zayıf asit tuzu oluşturduklarından dolayı en uygun reaktantlardır. Metal nitrat ve klorürlerinin kullanımı, ligand çözeltisi önce NaOH veya KOH ile muamele edildikten sonra mümkün olmaktadır (Garnovskü ve ark., 1993, Işıklan 1997). Schiff bazlarının sentezinde genellikle çözücü olarak; mutlak alkol, aseton, asetonitril, eterler, tetrahidrofur ve çözücü karışımları kullanılır.

1.9.4.1. Schiff Bazlarının Metal Komplekslerinin Genel Özellikleri

Ligandlar; merkezi atoma elektron çiftleri verebilen Lewis bazlarıdır. İmin bağındaki azot atomu çiftleşmemiş elektron bulundurduğu için elektron verici olup bazik karakterdedir. Azometin azotu olarak da tanımlanabilen bu atom bir Schiff bazı için öncelikli koordinasyon noktasıdır. Azot atomunun bir çift bağ ile bağlanmış olduğu azometin sistemi de π orbitalleri sayesinde geri bağlanmaya uygun d-metal iyonları için koordinasyon bölgesi olabilir. Sonuçta; azot atomunun da bulunduğu bu grup hem donör hem de π donör akseptör fonksiyonu gösterebilmektedir. Bu durum, Schiff bazlarının oluşturduğu metal komplekslerinin yüksek kararlılıklarının bir nedenidir.

Azometin grubunun ligand olarak kararlı kompleksler oluşturabilmesinde ikinci önemli faktör; molekülde hidrojen atomunun kolay uzaklaştırılabildiği azometin bağına yakın bir fonksiyonel grup (tercihen fenolik OH grubu) bulunmasıdır. Böylece meydana gelen beşli veya altılı şelat halkaları ortaya çıkar ki, bu kompleksler metalin kantitatif bağlandığı yapılardır (Öztürk, 1988). Schiff bazı-metal kompleksleri ile ilgili ilk çalışmalar spektrofotometrik olarak yapılmıştır (Metzler ve ark., 1980).

Potansiyometrik olarak incelenmesi ise Leussing ve arkadaşlarının çalışmaları ile başlamıştır. Bu çalışmalar incelendiğinde Schiff bazlarının metal iyonları ile 1:1 ve 1:2 oranlarında kompleksler oluşturduğu görülür (Helmut, 1976). Amin veya karbonil bileşikleri beşli veya altılı şelat halkası oluşturabilecek bir yapıya sahip iseler, metal iyonuyla kararlı bileşik yapabilirler (Bush, 1967). Kompleks bileşiklerinin özellikleri kullanılan ligand ve metal iyonuna bağlı olarak değişmektedir. Kompleks oluşumunda kullanılan metal iyonunun büyüklüğü, yükü ve iyonlaşma gerilimi kompleksin kararlılığını etkilemektedir (Çelik, 1999). Schiff bazlarının iki değerlikli metal iyonlarıyla oluşturdukları komplekslerin yapıları düzlemsel, tetragonal, tetrahedral veya oktahedral geometrilerde olabilmektedir.

1.9.4.2. Schiff Bazı Komplekslerinin Kullanım Alanları

Süstitue *o*-hidroksi anilinin salisilaldehit ile elde edilen Schiff bazı ligandının Zr kompleksinin tekstil materyali boyayabilme özelliği incelenmiştir. Kompleksin termal kararlılığının iyi derecede olduğu görülmüştür. Polistiren reçinelerin boyanmasında sarı yada turuncu renk elde edilmiştir. Boyanmış reçine üzerindeki boyanın ISI ve ışığa

karşı dayanıklılığının iyi olduğu belirlenmiştir. Salisilaldehitin etilendiamin ve propilendiamin gibi alkilen diaminlerle kondensasyonu sonucu meydana gelen Schiff bazlarının nikel şelatlarının termoplastik reçineler için ışık stabilizatörü olarak kullanılmasının uygun olduğu rapor edilmiştir (Orthmer, 1968). Schiff bazının silisyum kompleksinin termal kararlılığının zirkonyuma göre çok daha iyi derecede olduğu görülmüştür (Öztürk, 1988). 2-Hidroksi-1-naftaldehit ile 2-amino-5-nitrofenolün glikol yada glikoleter içerisindeki reaksiyonundan oluşan Schiff bazının Cr^{+3} kompleksi boya sanayinde çok kullanılmaktadır (Sharma ve ark., 1996). N-2-hidroksi-1-naftilmetiliden-2-hidroksi-5-R-süstitüe anilinin silisyum ve titan kompleksleri (ML_2) tekstil boyası olarak kullanılır. Silisyum kompleksinin termal kararlılığı Titanyumdan çok daha iyi seviyededir (Öztürk, 1988). Schiff bazlarının yapılarında oksokrom gruplar bulunduğu taktirde, bunlardan elde edilen metal kompleksleri renkli maddeler olduklarından boya endüstrisinde özellikle tekstilde boyar madde olarak kullanılmaktadır. Schiff bazı komplekslerinin antikanser aktivite göstermesi özelliğinden dolayı tıp dünyasındaki önemi giderek artmaktadır ve kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılması araştırılmaktadır (Scovill ve ark., 1982, West ve Pannel, 1989). Aromatik aminlerin Schiff bazı kompleksleri özellikle kemoterapi alanında (Singh ve Rana, 1986, Tarafder ve Miah, 1986) kullanılmaktadır. Ayrıca bunların kompleksleri tarım sahasında (Smith ve ark., 1990) polimer teknolojisinde polimerler için antistatik madde olarak (Allan ve ark., 1992) ve bazı metal komplekslerinde görülen sıvı kristal özelliğinden yararlanılarak uçak sanayiinde, televizyon ve bilgisayar ekranlarında, dijital saatlerin göstergelerinde (Öztürk, 1988). ve daha birçok sanayi dalında kullanılırlar.

1.10. Çalışmanın Amacı

Bazı malign tümör hücrelerinde antioksidan ve TrxR enzimlerin aktivitelerinin çok fazla olduğu bilinmektedir ve bu istenmeyen bir özelliktir. Antioksidan ve TrxR enzimlerinin aktivitesinin fazla olması hücrelerin kanser ilaçlarına karşı direnç göstermesi anlamına gelmektedir. Günümüzde antikanser özellik gösteren birçok koordinasyon bileşiği, fosfin bileşiği ve Schiff bazları sentezlenmekte ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Sentezi yapılan fosfin Schiff bazı-altın komplekslerinin, ve ligandların hücre dışı TrxR enzime inhibisyon etkisi olup olmadığı araştırılacak, böylece bu enzimin inhibisyonu yoluyla antikanser özellik gösterip göstermedikleriyle

ilgili ilk kez bir fikir ortaya konulacaktır. Aynı zamanda dolaylı yoldan, bu ligand ve komplekslerin hücre ölümünde apoptotik yola etki edip etmediği belirlenmiş olacaktır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Lu ve ark., 2006. Bu çalışmada TrxR ve Trx seviyelerinin birçok agresif tümör hücresinde artış göstermesinden yola çıkarak, flavanoidlerin TrxR inhibisyonuna etkisini incelemişler. Mirisetin ve kuersetin memeli TrxR enzimlerinde çok kuvvetli inhibitör etki göstermiştir. TrxR enzim inhibisyonu için IC₅₀ değerleri sırasıyla; 0,62 ve 0,97 µmol/L olarak bulunmuş ve bu konsantrasyonlarda NADPH oksidaz enzim aktiviteleri; 0,0120, 0,0024 ΔA₃₄₀/dk olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, bu iki flavanolün A549 hücrelerinde potansiyel inhibitör olduklarını, Trx sistemin inhibisyonu ile hücre büyümesini engellediğini ortaya koymuşlardır.

Omata ve ark., 2006. Bu çalışmada Altın bileşiklerinin (auronofin, altın sodium tiomlat, sodium aurotiyosülfat, trifenil fosfin altın klorür ve altın asetat) memeli tiyoredoksin redüktaz enzimlerine inhibisyon etkilerini incelemişler. Tüm altın bileşikleri TrxR1'i 5-4000 nM (IC₅₀) konsantrasyon aralığında inhibe etmişlerdir. Altının oksidasyon basamağının bu inhibisyonda önemli olmadığını fakat ligand konfigürasyonunun önemli olduğunu vurgulamışlardır. Üzerinde sitotoksik etkisi denenilen THP1 ve OSC2 hücrelerine karşı en fazla sitotoksik etki gösteren Au(I)-fosfin bileşikleridir (Trifenil fosfin (IC₅₀ 100nM), altın (III) klorür (IC₅₀ 75nM), ve auronofin).

Chew ve ark., 2008. Bu çalışmada heteroaromatik sübstitüye 4-hidroksi sikloheksa-2,5-dienonlar (kuinoller) (Şekil 2.6.) kanser hücrelerinde hücre dışı çalışmalarda hücre çoğalmasını durdurucu, hücre içi çalışmalarda ise antikanser aktivite göstermiştir. Bu durumun mekanizmasına çözüm getirebilmek için, kuinollerin TrxR inhibisyonuna etkisi incelenmiştir. 5 ve 6 no'lu bileşiklerin HCT 116 kanser hücreleriyle 1 saat inkübasyonu sonucu çok kuvvetli inhibitör etki gösterdiği (IC₅₀ 2,9 ve 2,7µM), apoptozu indüklediği ve bunu çok küçük dozlarda bile başardığını ortaya koymuşlardır. 3 ve 4 no'lu bileşikler 1 saatlik inkübasyonun ardından sırasıyla IC₅₀ 104,3 ve 76,1 µM değerinde TrxR inhibitör özelliği göstermiştir.

Yan ve ark., 2009. Bu çalışmada daha önce pankreas kanserinde antikanser ajanı olarak kullanılabileceğini tespit ettikleri indolekuinonların (Şekil 2.8.) TrxR inhibitörü olarak etki edip etmediklerini araştırmışlardır. Pankreatik kanser hücre hatları PANC-

1, MIA Paca-2 ve BxPC-3 hücrelerinde indolekuinonların değişik konsantrasyonlarda 4 ve 72 saat inkübasyonu ile sitotoksik etkisini incelemişler. BxPC-3 pankreatik hücrelerinde her üç tip indolekuinon için benzer sitotoksosite sonuçları alınmıştır. 2 tip indolekuinon kaspaza dayalı apoptozu indüklemiş, bu üç hücre hattında da oksidatif stres ve redoks döngüsünü etkilememişlerdir. Sonuç olarak indolekuinonların potansiyel hedefinin TrxR inhibisyonu ile antikanser etki göstermek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Zhong ve ark., 2006. Bu çalışmada 2,3-bütanedion ve tiyosemikarbazid türevi Schiff bazı geçiş metal komplekslerinin (Cu, Zn, Mn, Co, Ni) HL-60, Spca-1, Tb, MGC ve K562 hücrelerinde sitotoksosite (MTT) çalışmasıyla antitümör aktivitelerini incelemişlerdir. Komplekslerle 48 saat inkübasyonun ardından en etkili sitotoksosite bakır kompleksinde görülmüştür (HL-60 $IC_{50}=1,01 \mu M$, Spca-1 $IC_{50}=5,167 \mu M$, Tb $IC_{50}=7,18 \mu M$, MGC $IC_{50}=9,06 \mu M$ ve K562 $IC_{50}=9,917 \mu M$). Zn kompleksi hemen hemen tüm hücrelerde aynı etkiyi göstermiştir. (ortalama $IC_{50}=30 \mu M$) Bakır ve çinko dışındaki kompleksler K562 hücresinde $100 \mu M$ 'dan büyük IC_{50} değeri göstermişlerdir. $100 \mu M$ çalıştıkları aralığın dışında kaldığı için veri olarak ($100 \mu M <$) vermişlerdir.

Lu ve ark., 2007. Bu çalışmada promiyelostik lösemi ve diğer bazı hücre hatlarında tiyoredoksin redüktaz (TrxR) enzimini hedef alarak arsenik trioksit (ATO) ile kanser tedavisini amaçlamışlardır. Tiyoredoksin sistem NADPH, TrxR ve tiyoredoksinde oluşmakta, glutatyon sistem NADPH, Glutatyon redüktaz ve GSH destekli glutaredoksinde oluşmaktadır ve bu her iki elektron donör sistem hücresel çoğalma, yaşama ve programlı hücre ölümü (apoptoz) nü kontrol eder. ATO MCF-7 hücrelerinde TrxR enzimini geri dönüşümsüz inhibisyona uğratmış ($IC_{50}=0,25 \mu M$) Bu inhibisyon, GSH tarafından baskılanmıştır. BOS uygulanarak GSH in tüketilmesi, ATO-indüklü hücre ölümünü artırmıştır. Bazı kanser hücrelerinin DNA replikasyonunun bloke edilmesi, oksidatif stresin indüklenmesi, yani bu iki sistemin (Trx ve GSH) inhibisyonu kanser tedavisi stratejisi olarak gösterilmiştir.

Prast-Nielsen ve ark., 2010. Bu çalışmada Pt, Pd ve Au komplekslerinin TrxR inhibisyonunu incelemişler. A549, H23 ve HeLa hücre hatlarındaki TrxR enzim aktivitelerine bakılmıştır. Au ve Pt TrxR'yi inhibe etmiş, fakat Pd bu amaç için daha

önce denenmemiş ancak bu çalışmada rekombinant TrxR1 enzimini Pd ve Au metallerinin Pt'ye göre daha fazla inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Au komplekslerinden Aurofin çok küçük etki göstermiş, KAuCl_4 ise kuvvetli inhibisyon etkisi göstermiştir. Cisplatin eklendiğinde TrxR enzimiyle ve aynı zamanda Trx1 ya da TRP14 ilişkili proteinleriyle de kovalent kompleks oluşturduğunu kütle spektrumlarıyla ve western blot tekniğiyle kanıtlamışlardır. Çalışılan komplekslerin hiçbirisi Glutathion redüktaz enzimi için inhibitör etkisi göstermemiştir.

Santini ve ark., 2011. Bu çalışmada 3 farklı alkil fosfin ligandının (L: thp= tris(hydroxymethyl)phosphine, L: PTA=1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane, L: thpp =tris(hydroxypropyl)phosphine)) suda çözünebilir Cu(I), Ag (I) ve Au(I) komplekslerinin hücre içi antikanser özelliklerini incelemişler (Şekil 2.10). A549, MCF-7, HCT -15, HeLa, A375, C13*, 2008 hücre hatlarını kullanmışlardır. $[\text{M}(\text{L})_4]\text{PF}_6$ türleri Au(I) ve Ag(I) komplekslerinin TrxR enzimini hedef aldıklarını, Cu(I) komplekslerinin ise, sitotoksik etkisi aracılığıyla proteozomu inhibe ettiğini ispatlamışlardır. Sitotoksik etkilerine bakmış oldukları metal komplekslerini bilinen antikanser ajanı olan Cisplatin ile kıyaslamışlar, metal-thp bileşiklerinin en iyi sitotoksik etkiyi gösterdiğini, metal-thpp olanlarının ise bakırlı bileşiklerinin nispeten iyi sitotoksik etki gösterdiklerini ortaya koymuşlardır. A549 hücresinde aynı ligandın kompleksleri 2 ve 3 ($\text{IC}_{50}=18,22$ ve $17,40 \mu\text{M}$) benzer sitotoksik etki gösterirken 1 no'lu bileşikten ($\text{IC}_{50}=9,11 \mu\text{M}$) 2 kat daha düşük sitotoksik etki göstermişlerdir. En iyi sitotoksik etkiyi Cu-PTA bileşiği (4) gösterirken ($\text{IC}_{50}= 7,31 \mu\text{M}$), en az sitotoksik etkiyi 6,8 ve 9 no'lu bileşik göstermiştir ($\text{IC}_{50}=50,32, 55,64$ ve $79,53 \mu\text{M}$). TrxR aktiviteleri ise nM seviyelerde PTA-Au ve PTA-Ag bileşikleri için %100, PTA-Cu bileşiği için % 70 azalmıştır.

Wetzel ve ark., 2011. Bu çalışmada difosfin türevi ligandların suda çözünebilir altın (I) komplekslerinin $\{\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{PR}_2$ R= 1-metilimidazol-2-yl (1), tiazol-2-yl (5)}, $\{\text{RPhP}(\text{CH}_2)_2\text{PRPh}$ R= 1-metilimidazol-2-yl (3)} $\{\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_3\text{PR}_2$ R= 1-metilimidazol-2-yl (2)} A2780, K562, Hct116 hücre hatlarındaki sitotoksik etkisini incelemişlerdir. A2780 hücresinde altın (I) bileşikleri $0,4-40 \mu\text{M}$ arasında IC_{50} değerleri göstermişlerdir. Tiazol ve asimetrik imidazol ligandları cisplatin'e göre daha yüksek sitotoksik aktivite göstermişlerdir. $[(5)_2\text{Au}]\text{Cl}$ kompleksi tüm hücre hatlarına sitotoksik etki göstermiş, $[(3)_2\text{Au}]\text{PF}_6$ ise en iyi A2780 hücrelerine karşı sitotoksik

iken K562 hücresine hiçbir sitotoksik etkide bulunmamıştır. $[(1)_2\text{Au}]\text{Cl}$, $[(2)_2\text{Au}]\text{Cl}$ ve $[(5)_2\text{Au}]\text{Cl}$ bileşikleri aynı zamanda TrxR enzimine karşı güçlü inhibitör özellik göstermişlerdir. $[(3)_2\text{Au}]\text{PF}_6$ ve $[(5)_2\text{Au}]\text{Cl}$ kopleksleri hem GR enzimini hem de TrxR enzimini iyi inhibe etmişlerdir. $[(3)_2\text{Au}]\text{PF}_6$ A2780 hücresine karşı çok iyi sitotoksik etki göstermesine rağmen TrxR enzimini çok az inhibe etmiştir. TrxR enzimi için IC_{50} değerleri 0,12-1,22 μM aralığında değişmiştir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

- NaAuCl₄.2H₂O: Altın(I) kompleksinin sentezinde kullanıldı. Sigma firmasından temin edildi.
- Fosforik asit: Tampon çözelti hazırlanırken kullanıldı. Sigma firmasından temin edildi.
- NADPH: TrxR enzim aktivitesi için kullanılmıştır. Sigma firmasından temin edildi.
- DTNB (5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoik asit)): TrxR enzim aktivitesi için kullanıldı. Sigma firmasından temin edildi.
- EDTA: TrxR enzim aktivitesi için kullanılmıştır. Sigma firmasından temin edildi.
- BSA: TrxR enzim aktivitesi için kullanılmıştır. Sigma firmasından temin edildi.
- TrxR Enzimi: Sıçan karaciğerinden izole edilmiş, Sigma-aldrich firmasından temin edildi.
- Etanol: Metal kompleksleri için çözücü olarak kullanıldı. Merc firmasından temin edildi.
- DCM (diklorometan): Sigma firmasından temin edildi.
- Sodyum hidroksit: Fosfat tamponunun hazırlanışında kullanıldı. Merc firmasından temin edildi.
- 3-metoksisalisil aldehit: Ligand sentezinde çıkış maddesi olarak kullanıldı. Sigma firmasından temin edildi.
- Hekzan: Çözücü olarak kullanıldı. Sigma firmasından temin edildi.
- Eto-Ac (Etil Asetat): Çözücü olarak kullanıldı. Sigma firmasından temin edildi.
- 2- hidroksi-3-metil benzaldehit: Ligand sentezinde çıkış maddesi olarak kullanıldı. Sigma firmasından temin edildi.
- TLC plaka: Reaksiyon takibinde kullanıldı. Sigma firmasından temin edildi.

Cam Malzeme, Alet ve Cihazlar:

- Magnetik ve mekanik karıştırıcılar: Metal kompleksi sentezinde kullanılmıştır.
- Ceketli ve düz ısıtıcılar: Isıtma işlemlerinde kullanılmıştır.
- Döner buharlaştırıcı (evaporatör) (IKA HB10 digital): Destilasyon işlemlerinde kullanılmıştır.
- Hassas Terazi (Ohaus): Tartımlarda kullanılmıştır.
- Otomatik Pipetler (Socorex, Bio-Rad, Brand, Eppendorf) Çözeltilerin ölçülü transferlerinde kullanılmıştır.
- pH metre (Bio-rad) Tampon çözelti hazırlarken kullanılmıştır.
- UV-Visible Spektrofotometre (Shimatzu UV-1601): Enzim aktivitesi tayininde kullanılmıştır.
- Vakum Etüvü (EV 018): Sentezlenen komplekslerin kurutulmasında kullanıldı.

Kullanılan cihazlar Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya ve Biyoloji bölümleri laboratuvarlarından temin edilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Ligandların Hazırlanması

3.2.1.1. 2-metoksi -6-((o-triflorometilimino)metil) fenol sentezi (L1)

3 gram 3-metoksisalisil aldehitin 25 mL etanol içerisinde çözeltisi üzerine bir seferde 2,08 mL 2-metil anilin ilave edildi. Karışım ısıtıldı ve geri soğutucu altında kaynatılmaya başlandı. Karışım ilave işleminden hemen sonra koyu kırmızı hale dönüştü. Yapılan TLC analizinde (1/5 EtoAc/hekzan) reaksiyonunun büyük oranda gerçekleştiği gözlemlendi. Reaksiyona devam edildi. 2 saat daha karıştırıldıktan sonra reaksiyon sonlandırıldı ve çözücü uçuruldu. Geride kalan koyu kırmızı renkteki yoğun sıvı etanolde çözülerek buzdolabında kristallendirildi. Ancak büyük hacimli (hafif) katılar oluştu (kırmızımsı- sarı(turuncu)). Katı çok görünmesine rağmen süzülürken miktar olarak azdı. Elde edilen katılar vakum etüvünde kurutuldu.

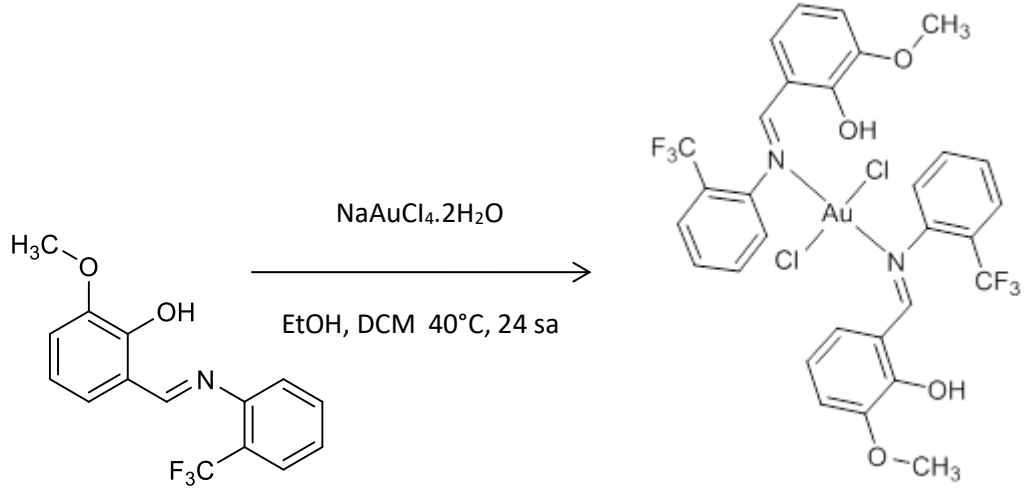
3.2.1.2. 2-(metoksi)-6-((o-toliimino)metil)fenol sentezi (L2)

2- hidroksi-3-metil benzaldehitin 20 mL etanol içerisinde çözeltisi üzerine bir seferde 2,08 mL 2-metil anilin ilave edildi. Karışım ısıtıldı ve geri soğutucu altında kaynatılmaya başlandı. Karışım ilave işleminden hemen sonra koyu kırmızı hale dönüştü. Yapılan TLC analizinde (1/5 EtoAc/hekzan) reaksiyonunun büyük oranda gerçekleştiği gözlemlendi. Reaksiyona devam edildi. 2 saat daha karıştırıldıktan sonra reaksiyon sonlandırıldı ve çözücü uçuruldu. Geride kalan koyu kırmızı renkteki yoğun sıvı etanolde çözülerek buzdolabında kristallendirildi. Ancak büyük hacimli (hafif)katılar oluştu (kırmızımsı-sarı(turuncu)). Elde edilen katılar vakum etüvünde kurutuldu. E.N:50 °C (literatürde belirtildiği gibi)

3.2.2. Metal Komplekslerinin Hazırlanması

3.2.2.1. 2-metoksi-6-((o-triflorometilimino)metil) fenol-altın kompleksinin (M1) hazırlanışı

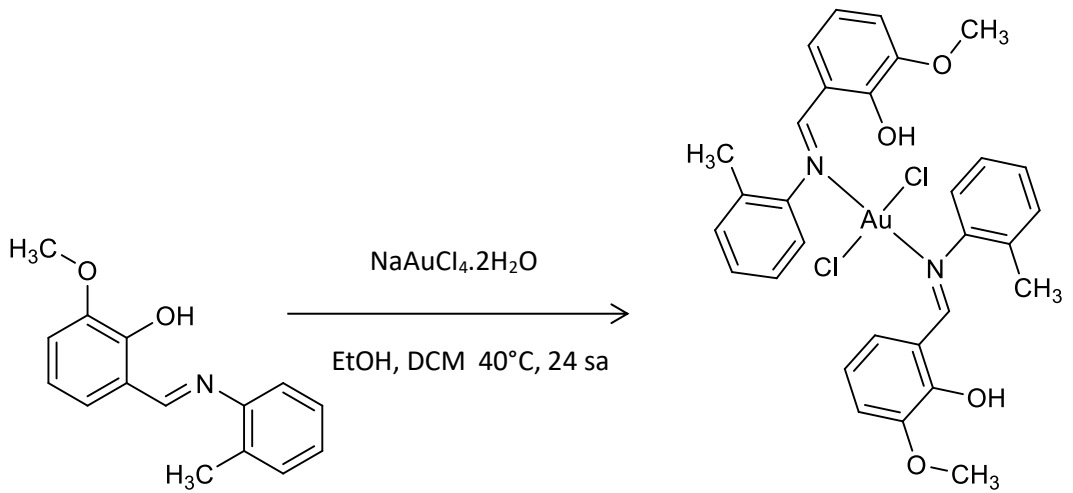
0,0744 gr L1 4,2mL DCM ve 1,7 mL etanol karışımında çözüldü. 0,0509 gr NaAuCl₄.2H₂O 4 ml etanolde çözülüp 5 dakika karışan ligand çözeltisine kontrollü bir şekilde damla damla eklendi. Manyetik karıştırıcı ve oda sıcaklığında 5 dakika daha karıştırıldı. Geri soğutucuya bağlanıp sıcaklık 40 °C ye ayarlandı. Reaksiyon 24 saat devam etti. Bir günün sonunda renk koyu kahverengiye dönüştü. TLC de (3:1 hekzan) yürütüldü. Eter içinde 72 saat buzdolabında bekletildikten sonra katılar süzülüp vakum etüvünde kurutuldu.



Şekil 3.1. M1 kompleksinin sentezi

3.2.2.2. 2-(metoksi)-6-((o-toliimino)metil)fenol-altın kompleksinin (M2) hazırlanışı

0,0632 gr L2 4,2 mL DCM ve 1,7 mL etanol karışımında çözüldü. 0,0509 gr $\text{NaAuCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4 ml etanolde çözümlenip 5 dakika karışan ligand çözeltisine kontrollü bir şekilde damla damla eklendi. Oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile 5 dakika daha karıştırıldı. Geri soğutucuya bağlanıp sıcaklık 40 °C ye ayarlandı. Reaksiyon 24 saat devam etti. Bir günün sonunda renk koyu kahverengi ye dönüştü. TLC de (3:1 hekzan) yürütüldü. Eter içinde 72 saat buzdolabında bekletildikten sonra katılar süzülüp vakum etüvünde kurutuldu.



Şekil 3.2. M2 kompleksinin sentezi



Şekil 3.3. M1 metal kompleksinin sentezinde renk değişiminin izlenmesi



Şekil 3.4. M2 metal kompleksinin sentezinde renk değişiminin izlenmesi

3.2.3. L1 ligandının ve altın kompleksinin (M1) farklı konsantrasyonlarının hazırlanması

0.0147 g ligand ve 0.0430 g metal kompleksi tartılmıştır. Üzerlerine 10 mL su ilave edilerek stok çözeltiler hazırlanmıştır.

- 1) Stok çözeltilerden 1 ml alınarak su ile 10 mL'ye,
- 2) (1).deney tüpünden 1 ml alındı su ile 10 mL'ye,
- 3) (2).deney tüpünden 2 ml alındı su ile 10 mL'ye,
- 4) (3).deney tüpünden 1 ml alındı su ile 10 mL'ye,
- 5) (4).deney tüpünden 5 ml alındı su ile 10 mL' ye tamamlanmıştır.

5000 μM , 2500 μM , 1000 μM , 500 μM , 250 μM konsantrasyonlarda derişikten seyreltiğe doğru (seri dilüsyon ile) ligand ve metal kompleksi çözeltileri hazırlanmıştır.

3.2.4. L2 ligandının ve altın kompleksinin (M2) farklı konsantrasyonlarının hazırlanması

0.0120 g ligand ve 0.0376 g metal kompleksi tartılarak deney tüplerine eklenmiştir. Üzerlerine 10 ml su ilave edilerek stok çözeltiler hazırlanmıştır.

- 1) Stok çözeltiden 1 ml alınarak su ile 10 mL'ye,
- 2) (1).deney tüpünden 1 ml su alındı su ile 10 mL'ye,
- 3) (2).deney tüpünden 2ml alındı su ile 10 mL'ye,
- 4) (3).deney tüpünden 5 ml alındı su ile 10 mL'ye
- 5) (4).deney tüpünden 1 ml alındı su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

5000 μM , 2500 μM , 1000 μM , 500 μM , 250 μM konsantrasyonlarda derişikten seyreltiğe doğru (seri dilüsyon ile) ligand ve metal kompleksi çözeltileri hazırlanmıştır.

3.2.5. Enzim inhibisyon çalışmaları

3.2.5.1. Reaksiyon karışımının hazırlanması

Bir behere 4 mL pH 7.4 sodyum fosfat tamponu, 800 μL EDTA, 3200 μL DTNB, 400 μL BSA, 31.400 μL su, 200 μL NADPH ilave edilerek karışım hazırlanmıştır.

3.2.5.2. TrxR enzim aktivitesinin tayini

Ticari TrxR enziminin çalışmanın yapıldığı koşullardaki ve kullanılan yöntemdeki aktivitesini görmek için. Saf enzimin aktivitesi ölçülmüştür.

Kör: Her kuvete 500 mikrolitre reaksiyon karışımı ve 100 mikrolitre su olacak şekilde üç paralel kör hazırlanmıştır.

Örnek: Her kuvete 500 µL reaksiyon karışımı,90 µL su,10 µL enzim olacak şekilde üç paralel örnek hazırlanmıştır. Örneklerin absorbanları sırasıyla 1 dk aralıklarla 37°C’de 412 nm de UV spektrofotometrede okunmuştur.

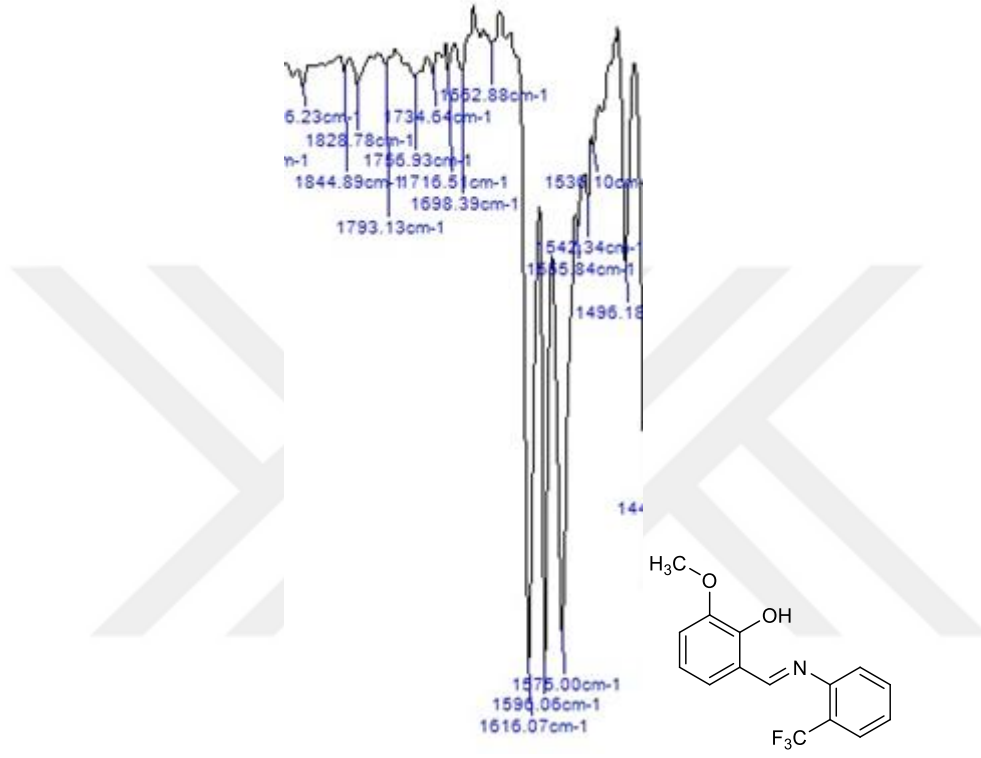
3.2.5.3. Ligand ve metal komplekslerinin TrxR aktivitesine etkisinin incelenmesi

5000 µM, 2500 µM, 1000 µM, 500 µM, 250 µM konsantrasyonlarındaki L1, L2 ligandları ve M1, M2 kompleksleri olmak üzere dört grup bileşiğin TrxR enzim aktivitesine etkisi incelenmiştir. Her birinin bu beş farklı konsantasyonu için üçer paralel örnek çalışılmıştır. Her kuvete 500µL reaksiyon karışımı,8 µL su,10µL enzim ilave edilmiştir. Hazırlanan ligand ve metal kompleksi çözeltileri (4 grup bileşik ayrı ayrı çalışılmıştır) her kuvete 10µL ilave edilmiştir. Örneklerin, 1 dk aralıklarla UV spektrofotometrede 412 nm’de absorbanları okunmuştur. Her örnek ayrı spektrofotometre küvetinde (plastik, 1cm, tek kullanımlık) çalışılmıştır.

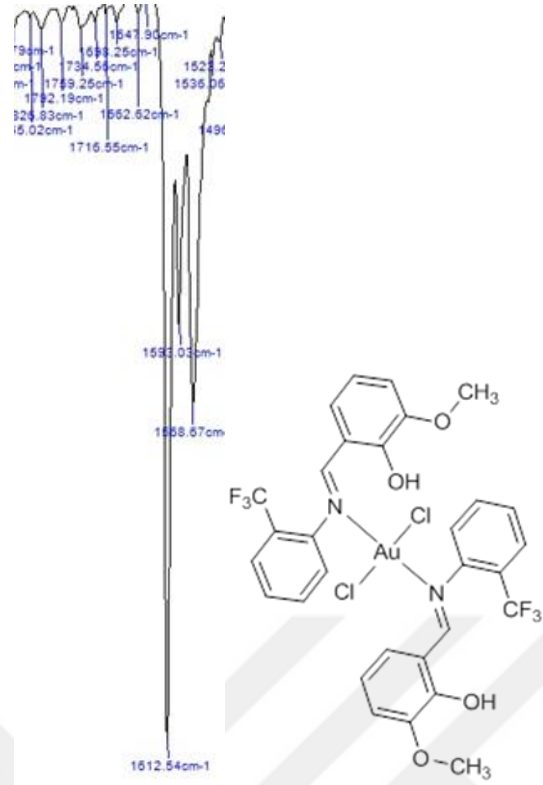
Ticari enzimle metal kompleksi ile muamele edilmiş enzim arasındaki aktiviteler, % inhibisyon değerleri ve IC50 (%50 inhibitör konsantrasyonu) kıyaslanarak. Enzimin inhibisyonuna dair yaklaşımlarda bulunulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sentez Çalışmaları

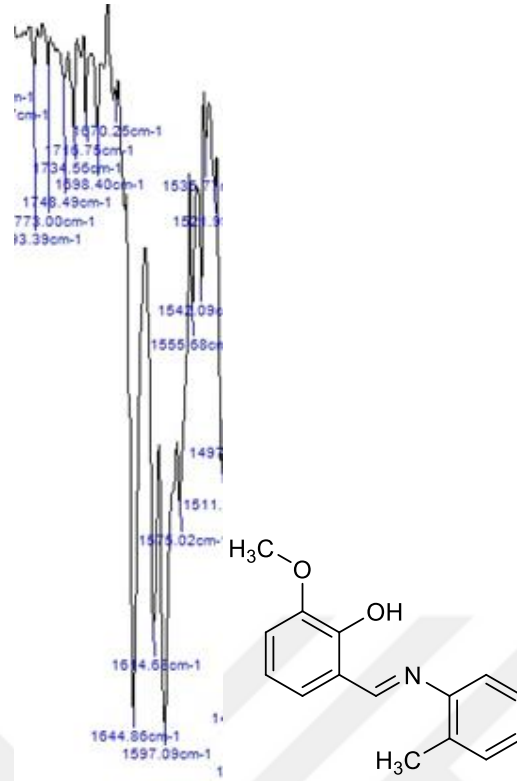


Şekil 4.1. L1 ligandının FT-IR spektrumundan bir kesit

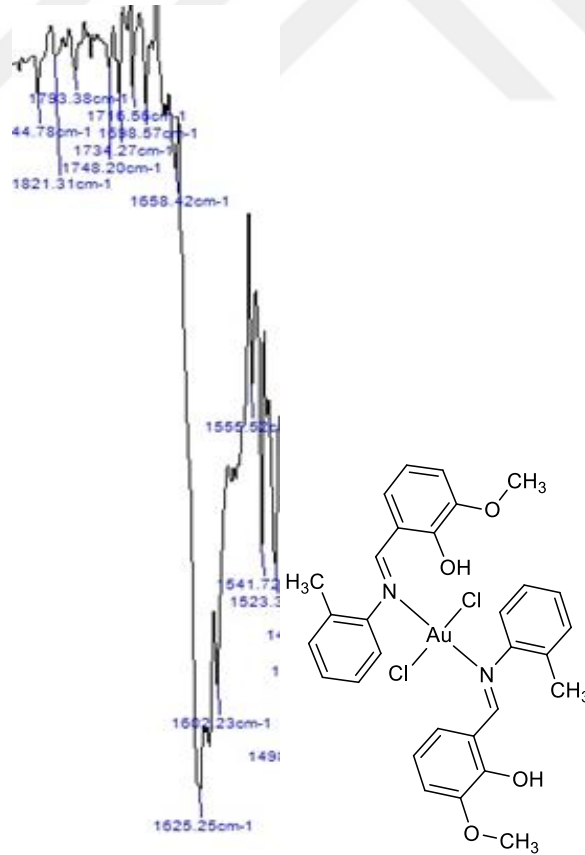


Şekil 4.2. M1 kompleksinin FT-IR spektrumundan bir kesit

L1 ligandının FT-IR spektrumunda 1600 cm^{-1} ' lerde görülmesi gereken C-N piki 1616 cm^{-1} frekansında keskin bir pik olarak görülmektedir (Şekil 4.1., Ek 1.1.). Sentezlenen metal kompleksinde ise altının seçici olarak azota bağlanacağı tahmin edilmektedir. Altın bağlandıktan sonra C-N bağına ait pikin frekansında düşüş beklenir. M1 kompleksinin FT-IR spektrumunda ise bu pik 1612 cm^{-1} 'e kaymıştır (Şekil 4.2., Ek 1.2.). Bu durum altının azot üzerinden yapıya bağlandığını desteklemektedir.



Şekil 4.3. L2 ligandının FT-IR spektrumundan bir kesit



Şekil 4.4. M2 kompleksinin FT-IR spektrumundan bir kesit

L2 ligandına ait C-N piki FT-IR spektrumunda 1644 cm⁻¹ frekansında keskin bir pik olarak görülmektedir (Şekil 4.3., Ek 1.3.). Sentezlenen metal kompleksinde ise altın bağlandıktan sonra C-N bağına FT-IR spektrumundaki pikin frekansının 1625 cm⁻¹'e kaydığı şekil 4.4.de büyütülmüş kesit olarak ve Ek 1.4'te görülmektedir. Bu durum altının azot üzerinden yapıya bağlandığını desteklemektedir.

4.2. Enzim çalışmaları

4.2.1. TrxR enzim aktivitesinin hesaplanması

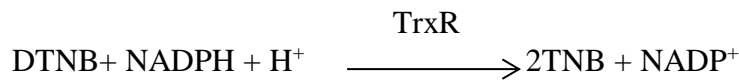
TrxR enzim aktivitesi, biri DTNB aktivitesi diğeri NADPH aktivitesi olmak üzere iki farklı şekilde hesaplanabilir. Spektrofotometrede ölçülen absorbans değerlerinden DTNB aktivitesi hesabı ticari olarak Sigma-Aldrich firmasından alınan rat liver TrxR msds formuna göre aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\frac{\text{IU}}{\text{mL}} = \frac{\frac{\Delta A(412)}{dk} \cdot \text{seyreltme faktörü} \cdot 0,6}{\text{Enzim hacmi}} \quad (4.1.)$$

Formül 4.1. ile hesaplanan DTNB aktivitesi kullanılarak Formül 4.2. ile NADPH aktivitesi hesaplanmıştır.

$$\frac{\text{IU}}{\text{mL}} (\text{NADPH}) = \frac{\frac{\text{IU}}{\text{mL}} (\text{DTNB})}{2 \cdot 13,6} \quad (4.2.)$$

Sarı renkli TNB bileşiğinin molar ekstinksiyon katsayısı 13,6'dır. 412 nm dalga boyunda absorbans verir. Her bir mol NADP⁺ ye karşılık 2 mol TNB reaksiyonda yer aldığı için ekstinksiyon katsayısı 2 ile çarpılmaktadır.



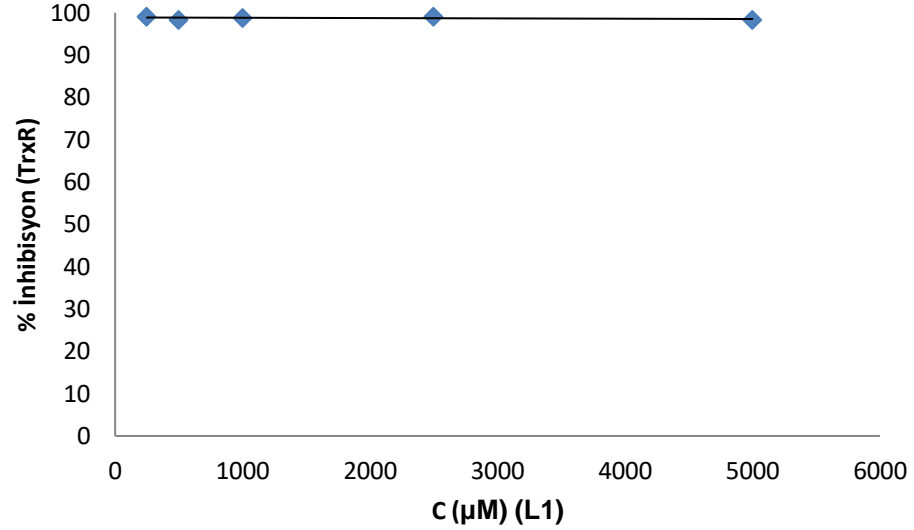
4.2.2. L1 ligandının TrxR enzim aktivitesine etkisi

L1 bileşiminin beş farklı konsantrasyonda (5000 μ M, 2500 μ M, 1000 μ M, 500 μ M, 250 μ M) TrxR enzimi ile muamelesi sonucu ölçülen aktiviteleri hem DTNB hem de NADPH aktivitesi cinsinden Çizelge 4.1.'de görülmektedir. Kontrol olarak ifade edilen değerler, L1 eklenmeden, yalnızca ticari TrxR enzimini barındıran örneğe ait bulgulardır. Enzimin DTNB aktivitesi 12,00 IU/mL olarak, NADPH aktivitesi ise $14,40 \times 10^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1.). Kontrole ait inhibisyon değeri 0 kabul edildiğinde L1'in diğer konsantrasyonlarına ait inhibisyon değerleri kontrole göre bağlı % inhibisyon değerleri cinsinden verilmektedir.

Çizelge 4.1. L1 varlığında TrxR enzim aktiviteleri ve inhibisyon yüzdeleri

L1 derişimi (mg/mL)	DTNB Aktivitesi (IU/mL)	NADPH Aktivitesi (IU/mL)	% İnhibisyon (%)
Kontrol (0)	12.00	4.40×10^{-1}	0
5000	0.20	7.35×10^{-3}	98.34
2500	0.10	3.68×10^{-3}	99.17
1000	0.15	5.51×10^{-3}	98.75
500	0.20	7.35×10^{-3}	98.34
250	0.10	3.68×10^{-3}	99.17

L1 ligandı denenen bütün konsantrasyonlarda TrxR enzimini ortalama % 98,75 oranında inhibe etmiştir. L1 konsantrasyonu 5000 μ M iken, DTNB aktivitesi 0,20 IU/mL'ye düşmüştür ve L1'in azalan konsantrasyonlarına karşılık TrxR aktivite değerleri neredeyse stabildir (Çizelge 4.1.). Doza bağımlı olmaksızın L1 ligandı, TrxR enzimini inhibe etmiştir (Şekil 4.5.). Kanserde ilaç geliştirme çalışmalarında doza bağımlı etki önemli bir faktördür. İlaç konsantrasyonu arttıkça inhibisyonun ve dolayısıyla ölen hücre sayısının artması, ve insan deneklerine geçmeden önce IC50 dozunun (ilacın hücrelerin %50 sini öldürdüğü doz, veya enzim inhibitörü ise enzimin % 50 sini inaktive ettiği doz) belirlenmesi gerekmektedir. L1 ligandının denenen tüm konsantrasyonlarında TrxR enzimini neredeyse % 100 inhibe etmesi yani oldukça düşük konsantrasyonlardaki bu doza bağımlı olmayan yüksek inhibisyon, L1 ligandının kanser çalışmaları için uygun olmadığı anlamına gelmektedir.



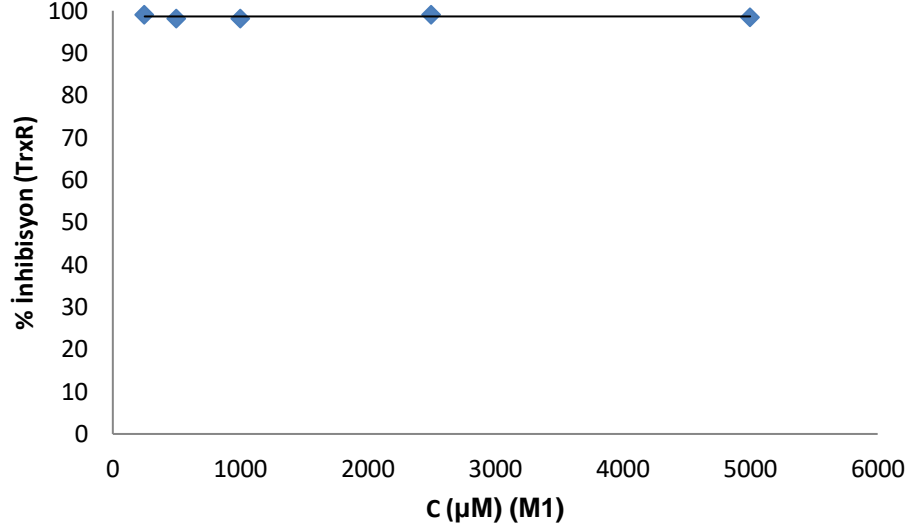
Şekil 4.5. L1 konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyonu

4.2.3. M1 kompleksinin TrxR enzim aktivitesine etkisi

M1 kompleksinin de L1 ligandında olduğu gibi beş farklı konsantrasyonda (5000 µM, 2500 µM, 1000 µM, 500 µM, 250 µM) TrxR enzimi ile muamelesi sonucu ölçülen aktiviteleri hem DTNB hem de NADPH aktivitesi cinsinden Çizelge 4.2.'de görülmektedir. Ayrıca TrxR enziminin % inhibisyon değerleri de çizelgede yer almaktadır.

Çizelge 4.2. M1 kompleksi varlığında TrxR enzim aktiviteleri ve inhibisyon yüzdeleri

M1 derişimi (µM)	DTNB Aktivitesi (IU/mL)	NADPH Aktivitesi (IU/mL)	% İnhibisyon (%)
Kontrol (0)	12.00	4.40×10^{-1}	0
5000	0.18	6.62×10^{-3}	98.50
2500	0.10	3.68×10^{-3}	99.17
1000	0.21	7.72×10^{-3}	98.25
500	0.10	3.68×10^{-3}	98.17
250	0.10	3.68×10^{-3}	99.17



Şekil 4.6. M1 kompleksi konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyonu

L1 ligandına altın bağlanması ile elde edilen M2 kompleksi de L1 ligandında olduğu gibi TrxR enzimini neredeyse % 100 inhibe etmiştir. Literatür verilerine bakıldığında, metallerin TrxR enziminin inhibisyonunu artırdığı açıktır. Bu kompleksin ligandı zaten % 100 inhibisyon yaptığı için, inhibisyon oranını artırması söz konusu değildir. L1 ligandı ile M1 kompleksinden aynı sonuç elde edilmiştir (Şekil 4.5.) (Çizelge 4.1.).

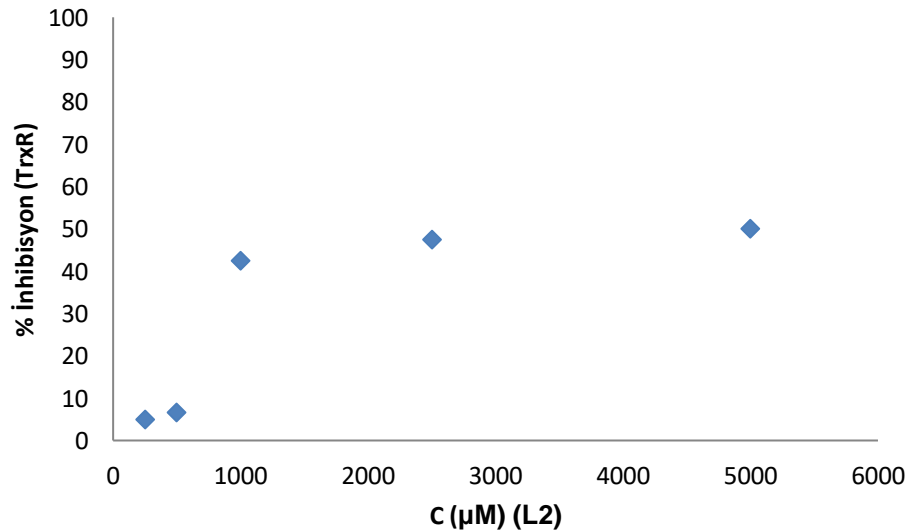
4.2.4. L2 ligandının TrxR enzim aktivitesine etkisi

L2 ligandının beş farklı konsantrasyonda (5000 µM, 2500 µM, 1000 µM, 500 µM, 250 µM) TrxR enzimi ile muamelesi sonucu ölçülen aktiviteleri hem DTNB hem de NADPH aktivitesi cinsinden Çizelge 4.3.'de görülmektedir. Ayrıca yine TrxR enziminin % inhibisyon değerleri de çizelgede yer almaktadır.

Çizelge 4.3. L2 varlığında TrxR enzim aktiviteleri ve inhibisyon yüzdeleri

L2 derişimi (μM)	DTNB Aktivitesi (IU/mL)	NADPH Aktivitesi (IU/mL)	% İnhibisyon (%)
Kontrol (0)	12.00	0.44	0
5000	6.00	0.22	50.00
2500	6.30	0.23	47.50
1000	6.90	0.25	42.50
500	11.20	0.41	6.67
250	11.40	0.42	5.00

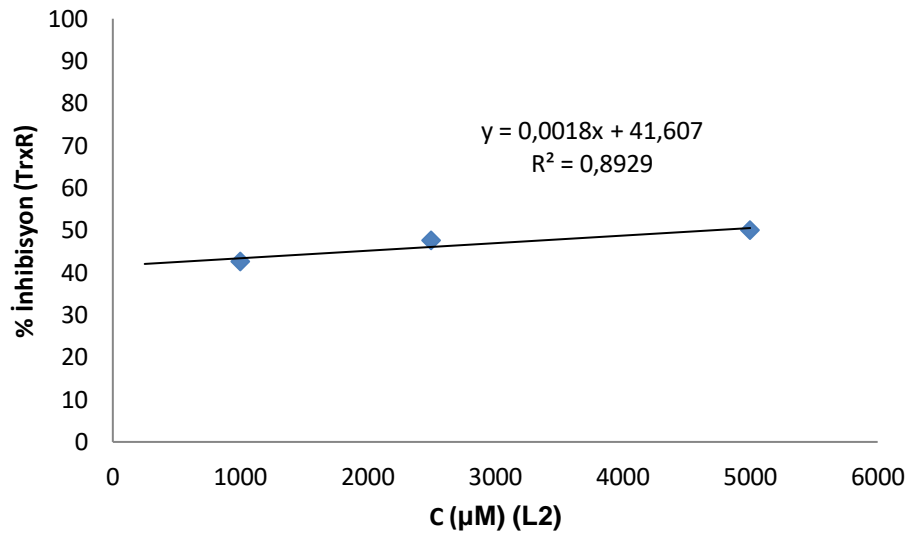
TrxR enziminin DTNB aktivitesi, L2 ligandının 5000 μM konsantrasyonunda 12,00 IU/mL'den 6,00 IU/mL ye düşmüştür (Çizelge 4.3.). % 50'lik bu inhibisyon değeri 2500 μM konsantrasyonda % 47,5 1000 μM da ise % 42,5 olmuştur. Konsantrasyonlar arasındaki büyük farka rağmen % inhibisyon değeri sırasıyla % 2,5 ve % 5 gibi az farklarla değişmiştir. 5000 μM 'dan 1000 μM 'a toplam % 7,5 inhibisyon farkı söz konusudur. Konsantrasyon 500 μM ' a daha sonra da 250 μM ' a indiğinde ise TrxR inhibisyonu sırasıyla % 6,67 ve % 5,00'a düşmüştür. Bu ani inhibisyon yüzdesi düşüşü şekil 4.7.'den de görülmektedir. L2 ligandı düşük konsantrasyonlarda terapötik amaçlı TrxR inhibitörü olarak kullanılamayacak düzeyde bir inhibisyon sağlamıştır. % 5-7 lik bu inhibisyon ihmal edilebilir düzeydir.



Şekil 4.7. L2 konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyonu

Şekil 4.7.'de L2 konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyon yüzdeleri grafiği görülmektedir. Grafik genel olarak değerlendirildiğinde doğrusal olmadığı

görülmektedir. İhmal edilen 500 μM ve 250 μM konsantrasyonları ve karşılık gelen inhibisyon yüzdeleri grafikten çıkarıldığında doğrusallık göze çarpmaktadır (Şekil 4.8.). Denenen konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda inhibisyon yüzdeleri doğrusal olarak artış gösterebilirdi. Çizelge 4.3.'de %50 lik TrxR inhibisyonu elde edilen L2 konsantrasyonunun denenen en yüksek konsantrasyon (5000 μM) (IC50) olduğu görülmektedir. Ancak sapan değerler çıkarılarak elde edilen grafikten IC50 değeri 4662,77 μM olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Düşük inhibisyon yüzdelerinin ihmalıyla elde edilen inhibisyon grafiği

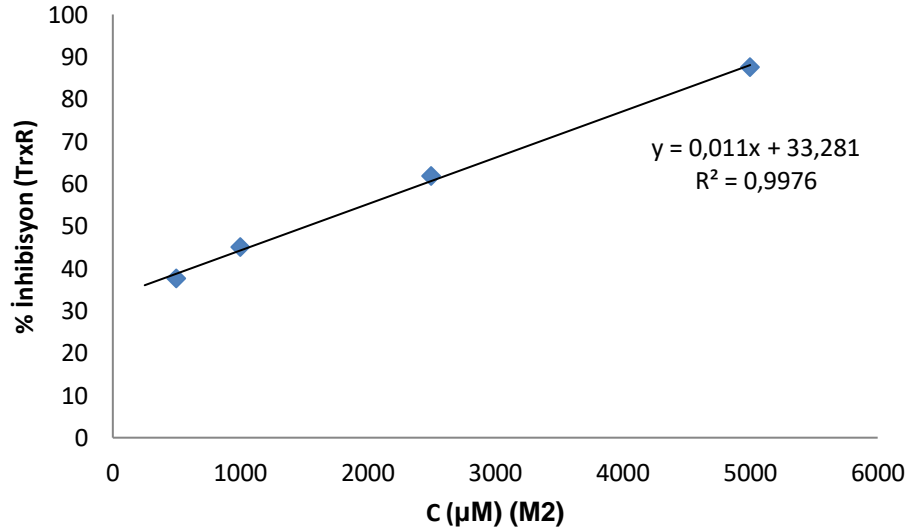
4.2.5. M2 kompleksinin TrxR enzim aktivitesine etkisi

L2 ligandının kompleksi olan M2 kompleksinin de 5000 μM , 2500 μM , 1000 μM , 500 μM , 250 μM konsantrasyonlarında, TrxR enzimi ile muamelesi sonucu ölçülen aktiviteleri hem DTNB hem de NADPH aktivitesi cinsinden Çizelge 4.4.'de görülmektedir. Ayrıca TrxR enziminin % inhibisyon değerleri de çizelgede görülmektedir.

Çizelge 4.4. M2 kompleksi varlığında TrxR enzim aktiviteleri ve inhibisyon yüzdeleri

M2 derişimi (mg/mL)	DTNB Aktivitesi (IU/mL)	NADPH Aktivitesi (IU/mL)	% İnhibisyon (%)
Kontrol (0)	12.00	0.44	0
5000	1.50	0.06	87.50
2500	4.60	0.17	61.70
1000	6.60	0.24	45.00
500	7.50	0.28	37.50
250	10.20	0.38	15.00

En yüksek M2 konsantrasyonunda (5000 μM) %87,50 TrxR inhibisyonu gözlenmiştir. En düşük konsantrasyondaki (250 μM) inhibisyon yüzdesi ise %15 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). M2'nin azalan konsantrasyonlarına bağlı TrxR inhibisyon yüzdeleri doğrusal bir azalma göstermiştir. L2 ligandına altın bağlanması ile doza bağımlı iyi bir inhibisyon grafiği elde edilmiştir (Şekil 4.9.). Altının yapıya girmesiyle gözlenen bu inhibisyon artışı, altının yüksek elektrofilik özelliği nedeniyle TrxR enziminin aktif bölgesindeki selenosistein artıklarını tercih etmesinden kaynaklanabilir.



Şekil 4.9. M2 kompleksi konsantrasyonuna bağlı TrxR inhibisyonu

Şekil 4.9.'deki grafiğin denkleminde hesaplanan IC_{50} değeri 1519,91 μM olarak hesaplanmıştır. Altın kompleksleri ile yapılan bir çalışmada $[\text{L}(\text{AuCl})_2]$ ve $[\text{L}_2\text{Au}]\text{X}$

türü komplekslerin in vivo TrxR inhibisyonu incelenmiş ve 0,12 μ M ile 1,22 μ M arasında IC50 değerleri kaydedilmiştir (Wetzel, 2011). Altın kompleksleri ile yapılan bir diğer çalışmada ise denenen komplekslerin TrxR inhibisyonunda IC50 değerleri 0,28 μ M ile 1.42 μ M olarak değişmiştir (Rigobello ve ark., 1998, Gromer ve ark., 2004). Sıçan Karaciğerinde TrxR enziminin iki farklı altın kompleksiyle inhibe edildiği bir çalışmada IC50 değerleri 0,14 ve 0,27 μ M olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada 0,18 U TrxR enzimi ile çalışılmıştır. (Ott ve ark., 2009). Bu çalışmada ise yaklaşık 1-3 U TrxR enzimi ile çalışılmıştır. Literatürdeki çalışmalara göre yüksek IC50 değerleri elde edilmiştir. Sonuç olarak, M2 kompleksi in vitro ve hücre dışı olarak sıçan karaciğeri TrxR enzimini doza bağımlı olarak inhibe ettiği açıktır. Aynı kompleks hücre kültürü çalışmalarında daha düşük konsantrasyonlarda inhibisyon sağlayabilir yani M2 kompleksinin ileri antikanser çalışmaları için değerlendirilebilir bir kompleks olduğu söylenebilir. Schiff bazlarının metal kompleksleri ile yapılan bir sitotoksite çalışmasında Schiff bazlarının Cu, Zn, Co, Mn komplekslerinin antitümör özellik gösterdiği kanıtlanmıştır. Fakat bu çalışma antitümör etkinliği TrxR inhibisyonu açısından ele alınmış, komplekslerin farklı hücre hatlarında sitotoksitelerini incelemiştir (Zhong, 2006). Literatürde metalin bağlanmış olduğu yapıların liganda göre daha iyi TrxR inhibitörü olduğu kanıtlanmıştır (Santini, 2011). Bu, durum metallerin TrxR aktif bölgesindeki selenosisteinler arasındaki disülfür (S-S) bağını seçerek bağlanması ile açıklanabilir. Bu çalışma da bu kanıyı doğrulamaktadır. Bulgulara göre M2 kompleksi de L2 ligandına göre daha iyi TrxR inhibisyonu sağlamıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada sentezlenen L2 ligandı ve M2 metal kompleksi sıçan karaciğerinden izole edilmiş olup ticari olarak satın alınan TrxR enzimini sırasıyla 4662,77 μ M ve 1519,91 μ M IC50 değerlerinde inhibe etmiştir. Özellikle M2 kompleksinin bu etkin konsantrasyondaki TrxR inhibitör özelliği, kanserli hücrelerde aktivitesi artan TrxR enzimlerini inhibe edecek olması anlamına gelmektedir. Böylece hem L2 ligandı hem de M2 kompleksi kanserle savaşta rol oynaması bakımından ileri düzey antikanser çalışmaları için önerilebilir.

Bu çalışmanın devamı olarak TrxR inhibitörü özelliği gösteren bu iki bileşiğin çeşitli kanser hücre hatlarında denenmesi gerekmektedir. Daha gerçeğe yakın sonuçlar alınabilirliği açısından bu çok önemlidir. Bu çalışma kanserde kemoterapik ajanlara direnç gelişimine karşı TrxR enzimi inhibisyonu yoluyla adeta kansere savaş açmak adına bir ön çalışma niteliğindedir. Sentezlenen bu bileşiklerin etkinliğinin hücre kültürü çalışmalarıyla kanıtlanması durumunda hayvan deneyleriyle geliştirilmesi de bilim ve insanlık adına faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Allan, J.R., Gardner, A.R., McCloy, B., Smith, W.E., Structural and thermal studies of the chloro complexes of cobalt, nickel and copper with 2,6-diaminopyridine and an assessment of their suitability as anti-static additives for polyethylene, *Thermochimica Acta.*, 208, 125-131, 1992.
- Ansell, B.A., 1982. ADIS Health Science Press., 186.
- Becker, K., Herold-Mende, C., Park, J.J., Lowe, G., Schirmer, R. H., Human thioredoxin reductase is efficiently inhibited by (2,2' :6',2' -terpyridine)platinum (II) complexes. Possible implications for a novel antitumor strategy, *Journal of Medicinal Chemistry*, 44: 2784-2792 2001.
- Bogert, M.T., Beal, G.D., Amend, C.G., Researches On Quinazolines (Twenty-Sixth Paper). The Synthesis Of Some Stilbazoles, Hydrazones And Schiff Bases In The 4-Quinazolone Group, *J. of American Chemical Society*, 32,1654- 1664, 1910.
- Bush, D.H., 1967. *Helvetica Chimica Acta.* 171.
- Cabadak, H., Hücre siklusu ve kanser, *ADÜ Tıp f-Fakültesi Dergisi*, 9(3): 51-56, 2008.
- Cai W., Zhang L., Song Y., Wang B., Zhang B., Cui X., Hu G., Liu Y., Wu J., Fang J., Small molecule inhibitors of mammalian thioredoxin reductase. *Free Radical Biology & Medicine*, 52, 257–265, 2012.
- Chew, E. H.; Lu, J., Bradshaw, T. D., Holmgren, A., Thioredoxin reductase İnhibition by antitumor quinols: a quinol pharmacophore effect correlating to antiproliferative activity. *FASEB J.* 22:2072–2083,2008.
- Chew, E. H.; Lu, J.; Bradshaw, T. D.; Holmgren, A. Thioredoxin reductase İnhibition by antitumor quinols: a quinol pharmacophore effect correlating to antiproliferative activity. *FASEB J.* 22:2072–2083,2008.
- Çelik, C., Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1999.
- Erturan, S., Yalçın, M., Cankurtaran, H., Kunt G., Determination of Stability Constants of Proton and Cu(II) Complexes of 2-(4-Dimethylaminocinnamalamino) Phenol in Binary Solvent Mixtures by Potentiometric Method”, *Revue Roumaine de Chimie*, Nr. 8, 2004.

- Failes, Tw, Cullinane, C, Diakos, Ci, Yamamoto, N, Lyons, Jg, Hambley, T. W.,
Studies of a cobalt(III) complex of the MMP inhibitor marimastat: A potential
hypoxia-activated prodrug, *Chem Eur J.*, 13:2974-2982, 2007.
- Garnovski, A.D., Nivorozhkin, A.L., Minkin, V.I., Ligand environment and the
structure of Schisff base adducts and tetracoordinated metal-chelates,
Coordination Chemistry Review, 126(1-2), 1-69, 1993.
- Gromer S, Arscott L.D, Williams Jr C.H., Schirmer R.H., Becker K., Human placenta
thioredoxin reductase. Isolation of the selenoenzyme, steady state kinetics, and
inhibition by therapeutic gold compounds. *Journal of Biological Chemistry*
1998;273:20096–101.
- Helmut, S., *Metal Ions in Biological Systems*, Marcel Dekker Inc.5, 2-50. 1976.
- Işıklan, M., Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 149,
1997.
- Kakolyris, S., Giatromanolaki, A., Koukourakis, M., Powis, G., Souglakos, J., Divridis,
E., Et al , Thioredoxin expression is associated with lymph node status and
prognosis in early operable nonsmall cell lung cancer, *Clin Cancer Res.*, 7:
3087-91, 2001.
- Kemerdere, R., Glial tümörlerde tiyoredoksin redüktaz değerleri, Cerrahpaşa
Üniversitesi Nöroşirürji Anabilimdalı Uzmanlık Tezi, 1-61, 2008.
- Lu J., Papp L. V., Fang J., Rodriguez-Nieto S., Zhivotovsky B., Holmgren A.,
Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by some flavanoids:
Implications for myricetin and quercetin anticancer activity, *Cancer
Research*, 66: 4410-4418, 2006.
- Lu J., Papp L. V., Fang J., Rodriguez-Nieto S., Zhivotovsky B., Holmgren A.,
Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by some flavanoids:
Implications for myricetin and quercetin anticancer activity, *Cancer
Research*, 66: 4410-4418, 2006.
- Lu, J., Chew E., Holmgren A., Targeting thioredoxin reductase is a basis for cancer
therapy by arsenic trioxide, *PNAS*, 104: 12288-12293, 2007.
- Lu, J., Chew E., Holmgren A., Targeting thioredoxin reductase is a basis for cancer
therapy by arsenic trioxide, *PNAS*, 104: 12288-12293, 2007.
- Marzano C., Gandin V., Folda A., Scutari G., Bindoli A., Rigobello M. P., 2007.
Inhibition of thioredoxin reductase by auranofin induces apoptosis in

- cisplatin-resistant human ovarian cancer cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 42: 872-881.
- Metzler, C. M., Cahil, A., Metzler, D.E., J., Equilibriums and absorption spectra of Schiff bases. *Journal of American Chemical Society* 102 (19), 6075-6082, 1980.
- Moore, F.J., Gale, R.D., *The Colored Salts Of Schiff's Bases. A Contribution to Our Knowledge of Color as Related to Chemical Constitution. The Journal of American Chemical Society*, 30, 394-404, 1908.
- Morley, J., Mechanism of action of aspirin in inflammation. *Proc. R. Soc. Med.* 7, 32, 1977.
- Murthy, A.S.N., Reddy, A.R., 1981. *Proc Indian Acad. Chem. Sci.*, 90, 519.
- Mustacich, D., Powis, G., Thioredoxine Reductase Review article, *Biochem J.* 346: 1-8, 2000.
- Omata, Y., Folan, M., Shaw, M., Messer, R. L., Lockwood, P. E., Hobbs, D., Bouillaguet, S., Sano, H., Lewis, J. B., Wataha, J. C., Sublethal concentrations of diverse gold compounds inhibit mammalian cytosolic thioredoxin reductase (TrxR1). *Toxicology in Vitro*, 20: 882-890, 2006.
- Omoto, Y., Folan, M., Shaw, M., Messer, R.L., Lockwood, P.E., Hobbs, D. Sublethal concentrations of diverse gold compounds inhibit mammalian cytosolic thioredoxin reductase. *Toxicology in Vitro*, 20, 882-890, 2006.
- Orthmer, K., 1968. A Gold(I) Phosphine Complex Containing a Naphthalimide Ligand Functions as a TrxR Inhibiting Antiproliferative Agent and Angiogenesis Inhibitor. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 16, 795-804.
- Ott I., Qian X., Xu Y., Vlecken D. H. W., Marques I. J., Kubutat D., Will J., Sheldrick W. S., Jesse P., Prokop A., Bagowski C.P., 2008, *J. Med. Chem.* 2009, (52): 763-770.
- Öztürk, N.S., Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1998. Gavranic, M., Kaitner, B., Mestrovic, E., *Journal of Chemical Crystallography*, 26 (1), 23-28, 1996.
- Patai, S., *Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond.* 238-247, 1970.
- Powis, G., Kirkpatrick, D.L., Angulo, M., Baker, A., Thioredoxin redox control of cell growth and death and the effects of inhibitors, *Chem-Biol Interact*, 111-112: 23-34, 1998.

- Prast-Nielsen.S., Marcus,C., Irina, P., Arner Elias,S.J.,Noble metal targeting of thioredoxin reductase covalent complexes with thioredoxin and thioredoxin – related protein of 14 KDA triggered by cisplatin, *Free radical Biology*, 1765-1778, 2010.
- Prast-Nielsen.S.,Marcus,C.,Irina,P.,Arner Elias,S.J.,Noble metal targeting of thioredoxin reductase covalent complexes with thioredoxin and thioredoxin – related protein of 14 KDA triggered by cisplatin, *Free radical Biology*, 1765-1778,2010
- Rackham O., Nichols S. J., Leedman P. J., Berners-Price S. J., Filipovska A.,2007. A gold(I) phosphine complex selectively induces apoptosis in breast cancer cells: Implications for anticancer therapeutics targeted to mitochondria. *Biochem. Pharma.*, 74: 992-1002.
- Rigobello M.P., Messori L., Marcon G., Cinellu M.A., Bragadin M, Folda A, et al. Gold complexes inhibit mitochondrial thioredoxin reductase: consequences on mitochondrial functions. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2004 (98):1634–41.
- Santini, C., Pellei, M., Papini, G., Merresi, B., Galassi, R., Ricci, S., Tisato, F., Porchia, M., Rigobello, M. P., Gandin, V., Marzano, C., In vitro antitumor activity of water soluble Cu(I) Ag(I) and Au(I) complexes supported by hydrophilic alkyl phosphine ligands, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105: 232-240, 2011.
- Santini, C., Pellei, M., Papini, G., Merresi, B., Galassi, R., Ricci, S., Tisato, F., Porchia, M., Rigobello, M. P., Gandin, V., Marzano, C., In vitro antitumor activity of water soluble Cu(I) Ag(I) and Au(I) complexes supported by hydrophilic alkyl phosphine ligands, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105: 232-240, 2011.
- Scarborough, P. M., Mapuskar, K. A., Mattson, D.M., Gius, D., Watson, W.H., Spitz, D. R., Simultaneous inhibition of glutathione- and thioredoxin-dependent metabolism is necessary to potentiate 17AAG-induced cancer cell killing via oxidative stress, *Free Radical Biology and Medicine*. 52: 436-443, 2012.
- Schiff, H., Über die Aldehyd und Amin Reaktionen. *Liebigs Annlen der Chemie, Ann. Chem.*, 150, 193-200. 1869.

- Scovill, J.P., Klayman, D.L., Franchino, C.F., 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 4. Complexes with transition metals as antimalarial and antileukemic agents, *Journal of Medicinal Chemistry*, 25 (10), 1261-1264, 1982.
- Sharma, P.K., Handa, R.N., Dubey, S.N., Synthesis and Characterization of Some Transition Metal Complexes of N-(2-Hydroxy-1-Naphtylidene) Amino Acids, *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 26(7), 1219-1230, 1996.
- Shepard, N.A., Ticknor, A.A., Researches On Amines. The Formation Of Schiff Bases From B-Phenylethylamine And Their Reduction To Alkyl Derivatives Of This Amine. [Fifth Paper.] *Researches on Amines*, 38, 381-387, 1916.
- Singh, D.P., Rana, V.B., Dinuclear trivalent chromium, manganese, iron and cobalt complexes bridged by aromatic diamines, *Transition Metal Chemistry*, 11 (1), 23-26, 1986.
- Smith, K., Hammond, M.E.W., James, D.M., Ellison, L.J., Hutchings, M.G., Regiospecific Synthesis of 1-Substituted 1,2,4-Triazoles by Reaction of 1,2,4-Triazole with Aldehydes, *Chemistry Letters*, 3, 351-354, 1990.
- Tarafder, M.T.H.; Miah, M.A.L., Novel Peroxo Complexes of Zirconium Containing Organic-Ligands, *Inorganic Chemistry*, 25 (13), 2265-2268, 1986
- Tozkoparan, B., Aytaç, S. P., Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak Glutatyon-s transferazlar, *Hacettepe Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 27(2): 139-164, 2007.
- Trunen, N., Karihtala, P., Mantyniemi, A., Sormunen, R., Holmgren, A., Kinnula, V.L., Thioredoxin is associated with proliferation, p53 expression and negative estrogen and progesterone receptor status in breast carcinoma, *Apmis.*, 112: 123-32, 2004.
- Ueno, M., Masutani, H., Arai, R.J., Yamauchi, A., Hirota, K., Sakai, T., Thioredoxin-dependent redox regulation of p53-mediated p21 activation, *J Biol Chem.*, 274: 35809-15, 1999.
- Urig, S, Fritz-Wolf, K, Reau, R, Herold-Mende, C, Toth, K, Davioud-Harvet, E, Becker, K., Undressing of phosphine gold(I) complexes as irreversible inhibitors of human disulfide reductases, *Angew Chem Int Ed.*, 45:1881-1886, 2006.

- Urig, S., Becker, K., On the potential of thioredoxin reductase inhibitors for cancer therapy, Elsevier Ltd Seminars in Cancer Biology , 16, 452-465, 2006.
- Welsh, S.J., Bellamy, W.T., Briehl, M.M., Powis, G., The redox protein thioredoxin 1 (trx1) increases hypoxia-inducible factor 1 α protein expression: Trx-1
- West, D.X., Pannell, L.K., Transition Metal Ion Complexes of Thiosemicarbazones Derived from 2-acetylpyridine N-Oxide.II. The ⁴N-dimethyl Derivative, Transition Metal Chemistry, 14 (6), 457-462, 1989.
- Wetzel, C., Kunz, P. C., Kassack, M. U., Hamacher, A., Bohler, P., Watjen, W., Ott I., Rubbiani, R., Spingler, B., Gold(I) complexes of water-soluble diphos-type ligands: Synthesis, anticancer activity, apoptosis and thioredoxin reductase inhibition. Dalton transaction, 40: 9212-9240, 2011.
- Yan, C., Shieh, B., Reigan, P., Zhang, Z., Colucci, M. A., Chilloux, A., Newsome, J.J., Siegel, D., Chan, D., Moody, C. J., Ross, D., Potent Activity of indolequinones against human pancreatic cancer: Identification of thioredoxin reductase as a potential target, Molecular Pharmacology, 76: 163-172, 2009.
- Zhong X., Yi J., Sun J., Wei H.-L., Liu W.-S., Yu K.-B., Synthesis and crystal structure of some transition metal complexes with a novel bis-Schiff base ligand and their antitumor activities. European journal of medicinal Chemistry, 41: 1090-1092, 2006.

ÖZGEÇMİŞ

1. Adı Soyadı :Aysel TUFAN
2. Doğum Tarihi :01.01.1990
3. Ünvanı :Kimyager
4. Öğrenim Durumu :Lisans

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Bitirme Yılı
Lisans	Kimya	Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi	2013
Yüksek Lisans			

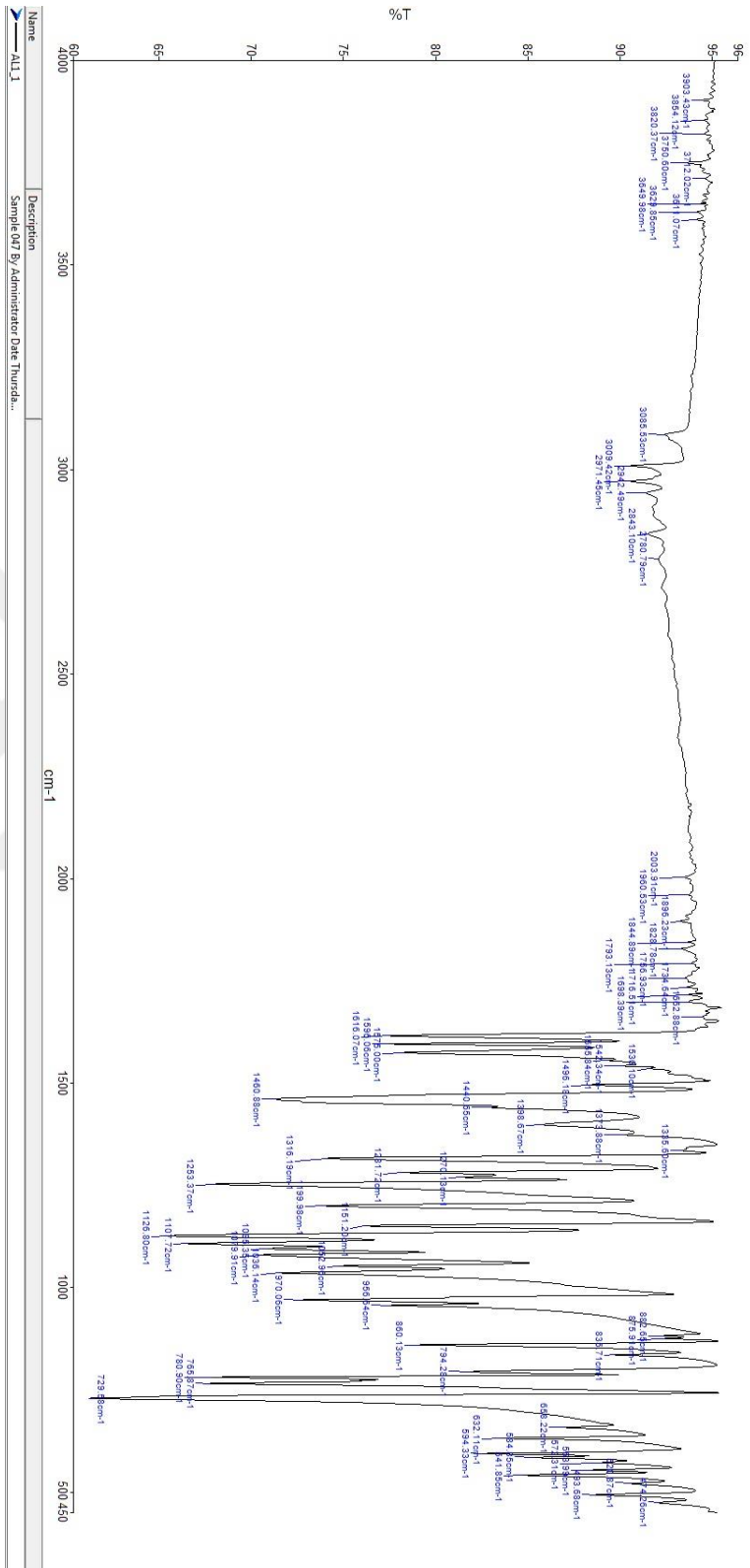
5. Akademik Ünvanlar:

Görevi	Bölümü	Kurumu	Yıl

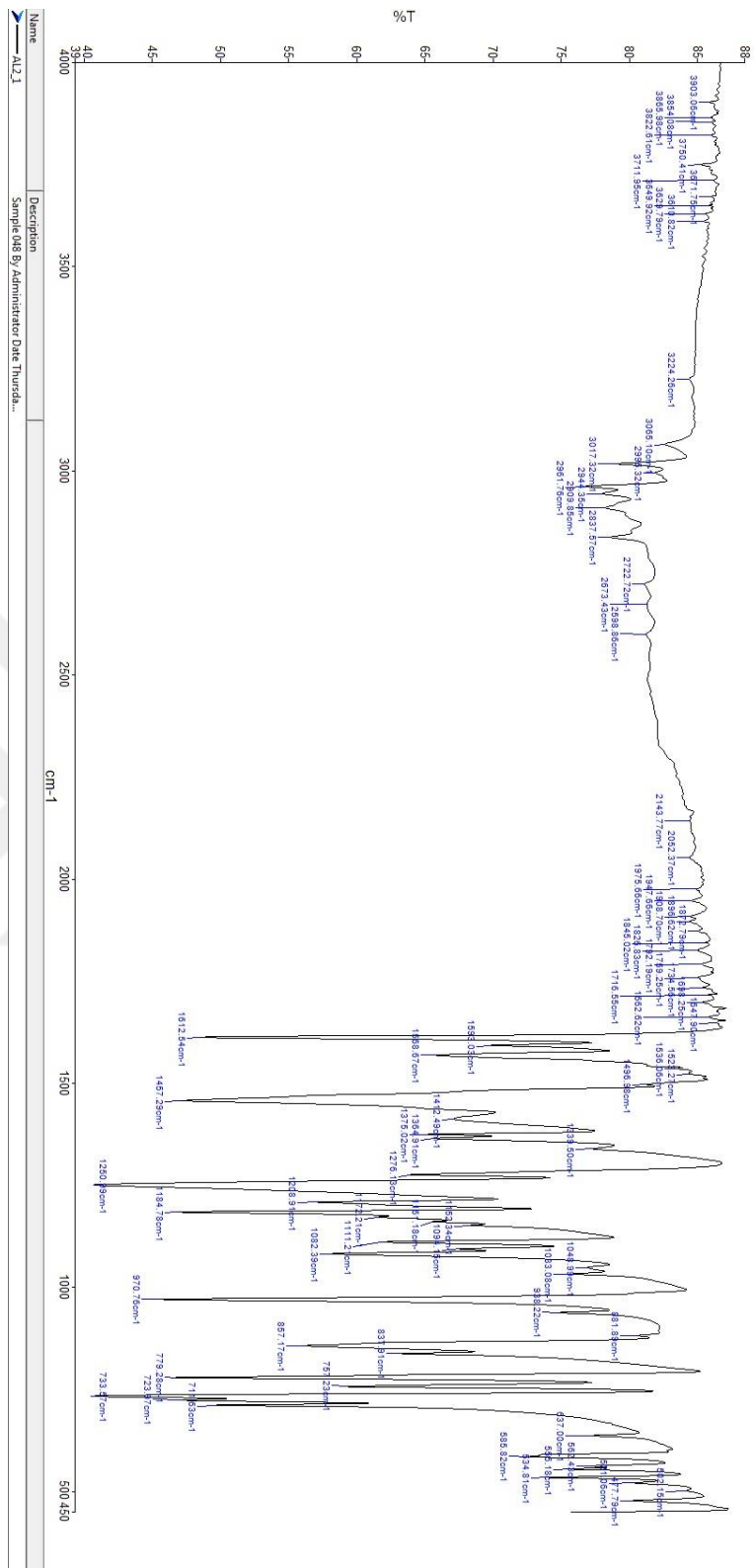
6. İş Tecrübesi:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl

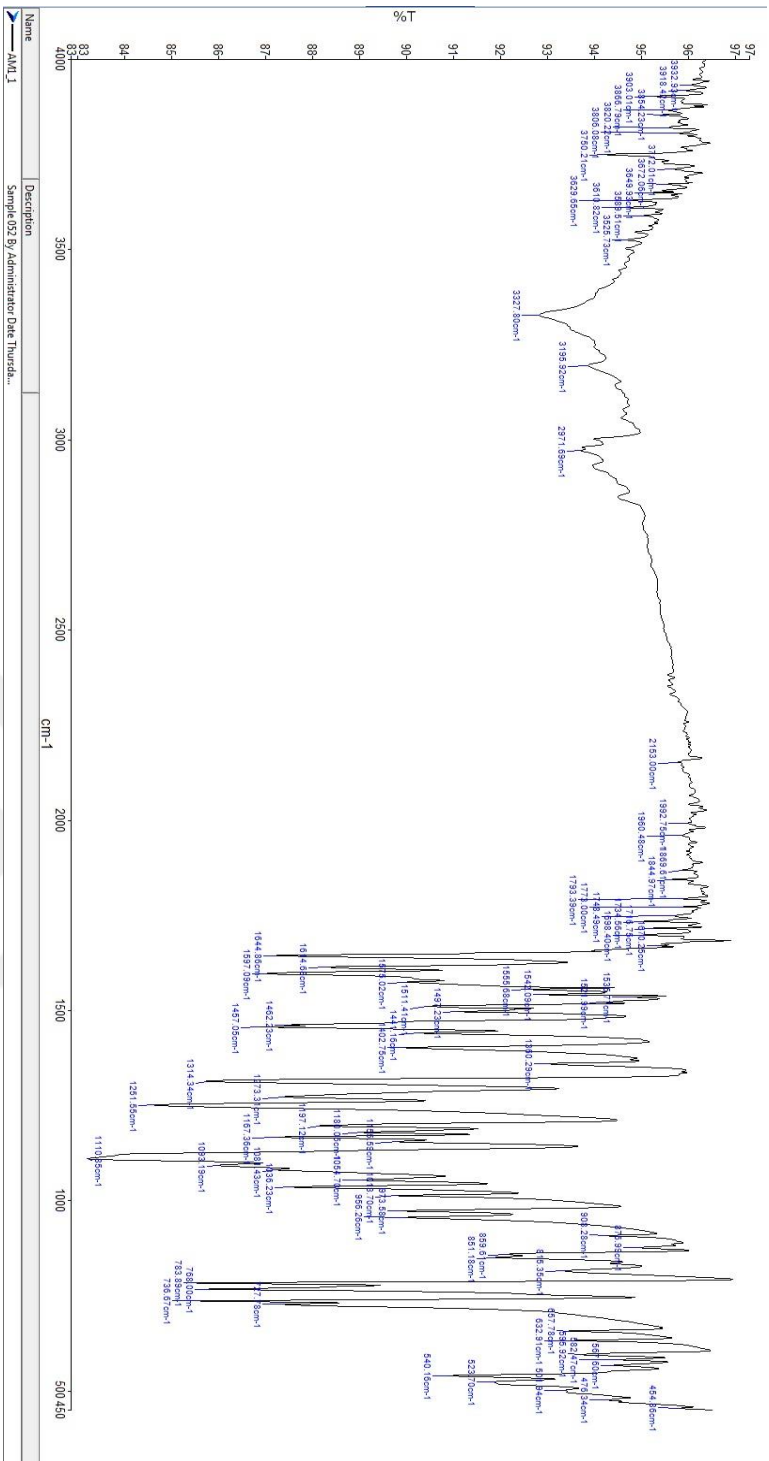
EKLER



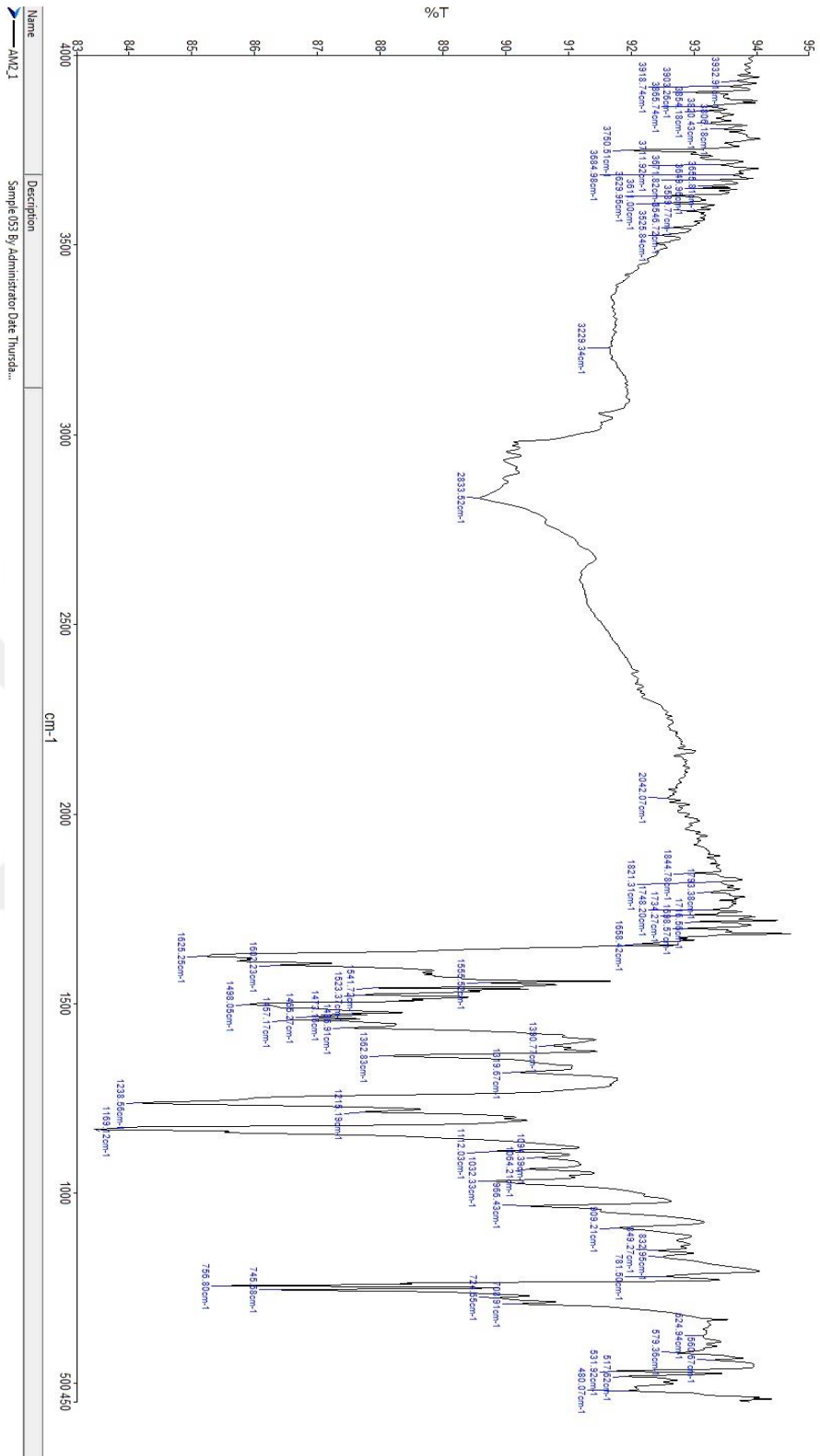
Ek 1.1. L1 ligandının FT-IR spektrumu



Ek 1.2. M1 kompleksinin FT-IR spektrumu



Ek 1.3. L2 ligandının FT-IR spektrumu



Ek 1.4. M2 kompleksinin FT-IR spektrumu



OSMANIYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

OSMANIYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 29/08/2019

Tez Başlığı / Konusu: SCHİFF BAZI ALTIN KOMPLEKSLERİNİN TrxR ENZİM İNHİBİTÖR ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Özet ve Abstract, c) Giriş, d) Ana bölümler ve e) Sonuç, f) Kaynakça kısımlarından oluşan toplam 52 sayfalık kısmına ilişkin, 29/08/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme tiplerinden biri uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 30 'dur.

Filtreleme Tip 1 (maksimum %30)

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç,
- 3- Alıntılar dahil,
- 4- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç.

Filtreleme Tip 2 (maksimum %10)

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç,
- 3- Alıntılar hariç,
- 4- 5 Kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç.

Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Adı Soyadı: AYSEL TUFAN
Öğrenci No: 13KM007
Anabilim Dalı: KİMYA
Programı: KİMYA
Statüsü: Y.Lisans Doktora

Tarih ve İmza
29.08.2019

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Öğr. Gör. Dr. Burcu SAYGIDEĞER DEMİR
(Unvan, Ad Soyad, İmza)

RAPORU DÜZENLEYEN

Arş. Gör. Barış
KAVASOĞULLARI