

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ SENTEZLENEN GÜMÜŞ KARBEN
BİLEŞİKLERİNİN SİTOTOKSİK VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Neşe BAŞAK

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ İLE ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
ORTAK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Osman ÇİFTÇİ

MALATYA-2014

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ SENTEZLENEN GÜMÜŞ KARBEN
BİLEŞİKLERİNİN SİTOTOKSİK VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Neşe BAŞAK

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Osman ÇİFTÇİ

Ortak Tez Danışmanı: Prof. Dr. Benay Can EKE

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından 2014/17 proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA-2014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Farmasötik Toksikoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı,
Ortak Tez Danışmanı

Prof. Dr. Benay CAN EKE



Danışman

Doç. Dr. Osman ÇİFTÇİ



Üye

Yrd. Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2014 tarih ve 2014/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, düzenlenmesi ve deneylerimin yürütülmesi aşamalarında bilimsel desteğini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Osman ÇİFTÇİ'ye teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez süresince bilimsel bilgi ve desteğini benden esirgemeyen ikinci danışmanım sayın Prof. Dr. Benay Can EKE' ye teşekkür ederim.

Kullandığımız maddelerin sentezlenmesini sağlayan sayın Prof.Dr. Nevin GÜRBÜZ ve öğrencisi Zeynel ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Antimikrobiyal aktivite tayin çalışmalarının gerçekleşmesi ve deneylerin yürütülmesini sağlayan, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen sayın Doç. Dr.İlknur ÖZDEMİR'e ve Yrd.Doç.Dr.Selami GÜNAL'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın istatistik aşamasında bana yardımcı olan sayın Doç.Dr. Cemil ÇOLAK hocama ve Arş. Gör. Şeyma YAŞAR'a teşekkür ederim.

Üniversite hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen babam Mehmet BAŞAK, annem Hanife BAŞAK'a ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP 2014/17 Kodlu Proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığına teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışmada, İnönü Üniversitesi Anorganik Kimya Araştırma laboratuvarında orjinal olarak sentezlenmiş 6 adet benzimidazol grubu gümüş karben komplekslerinin beyin kanseri hücre hattı (SHSY5Y) ve karaciğer kanseri hücre hattı (HEP3B) üzerinde sitotoksik etkisi MTS canlılık testiyle belirlenmiştir. Kontrol grubu olarak sağlıklı fibroblast hücreleri (HF) kullanılmıştır. Toksikite testlerinin sonucu 3 gün süreyle ve 24 saat aralıklarla ELISA cihazında okunmuş ve hücrelerin canlılık oranı spektrofotometrik olarak (490 nm) belirlenmiştir. Test edilen gümüş karbenkomplekslerinden 5 tanesinin beyin ve karaciğer kanserli hücre hatlarında doza bağımlı bir toksisiteye neden olduğu gözlenmiş ve bu hücre hatlarında 3 günlük inkübasyon sonucu %100'e varan hücre ölümleri saptanmıştır. Bununla birlikte her bir kompleks için minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) referans bakteri ve mantar suşlarına karşı denenmiş ve elde edilen sonuçlara göre antifungal etkileri antibakteriyel etkilerine göre daha yüksek bulunmuştur. Tez çalışmasının bulgularına göre, bu çalışmada kullanılan gümüş karbenkomplekslerinin kanserli hücre hatlarında, sağlıklı hücreye zarar vermeden etkin hücre ölümüne sebep olduğunu görülmektedir. Devam eden çalışmalar ile bu moleküllerin mevcut diğer kanser hücre hatları vein-vivo modeller üzerindeki tedavi potansiyelleri araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Gümüş karbenkompleksi, beyin kanseri, karaciğer kanseri MTS, toksisite, antibakteriyel, antifungal

ABSTRACT

INVESTIGATION OF NEW SYNTHESIS SILVER CARBENE COMPOUNDS CYTOTOXIC AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY

In this study, six units of silver carbene complexes, newly synthesized in Inonu University Laboratory, were tested on SHSY5Y (brain cancer cell line) and HEP3B (liver cancer cell line) cell lines for its cytotoxicity by using MTS proliferation assay. Human fibroblast cells were used as control group in the t tests. The results of cytotoxicity tests were monitored in 24 hours intervals for 3 days and the ratio of the viable cells was determined by spectrophotometry as 490 nm absorbance. 5 were tested in the silver carbene complexes in brain and liver cancer cell line caused a dose-dependent toxicity of these cell lines was monitored and the result of the 3-day incubation of cell death was detected up to 100%.

However, for each complex of the minimal inhibitory concentration (MIC) against to reference bacteria and fungi strains are tested and according to the results obtained to antibacterial effects were higher compared to antifungal effects. According to the results of the thesis, this study used silver carbene complexes in cancer cell lines, without harming healthy cells is active cell death is observed. Ongoing studies, we planned to be search on other cancer cell lines and in vivo models therapeutic potential of these molecules.

Keywords: Silver carbene complex, brain cancer, liver cancer, MTS, cytotoxicity, antibacterial, antifungal

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanserin Tanımı ve Önemi	3
2.2. Kanserin Nedenleri.....	4
2.3. Kanser Tanı Yöntemleri.....	5
2.4. Kanser Tedavisi.....	6
2.4.1. Cerrahi.....	6
2.4.2. Radyoterapi	6
2.4.3. Kemoterapi.....	7
2.4.4.Diğer Tedavi Yöntemleri	7
2.5. Kanser Biyokimyası	8
2.6. Metastaz	8
2.7. Karaciğer Kanseri.....	8
2.8. Beyin Kanseri.....	9
2.9. <i>N</i> -Heterosiklik Karbenler (NHC).....	10
2.10. Karbenler ve Kanser.....	10
2.11. Gümüş Komplekslerinin Tıbbi Kullanımları	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	13
3.2. Kullanılan araç ve gereçler.....	13
3.3. Kullanılan Gümüş Karben Komplekslerinin Sentezlenmesi.....	14
3.3.1.Ag-Benzimidazoliden Komplekslerinin Sentezi <i>N</i> -(2,2-dietoksietil) benzimidazol	14

3.4. Hücre kültürü çalışmaları.....	18
3.4.1. Tümör hücre hatları.....	18
3.4.2. Sağlıklı hücre hattı	20
3.4.3. Besiyeri Ortamının Hazırlanması.....	20
3.4.4. Hücrelerin Çoğaltılması	20
3.4.5. Hücrelerin ekimi.....	21
3.4.6. Test maddelerinin konsantrasyonlarının ayarlanması.....	21
3.5. MTS (Sitotoksosite deneyi):	21
3.6. Antimikrobiyal Etki:	22
3.7. İstatistik.....	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. Ag-Karben Komplekslerinin Sentezi	24
4.2. MTS Testi Sonuçları	31
4.3. Ag (I)-NHC komplekslerinin Antimikrobiyal Sonuçları	43
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	51
EKLER.....	58
EK.1: Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge.....	58
ÖZGEÇMİŞ	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DMSO	Dimetilsülfoksit
NHC	N-Heterosiklik Karben
FBS	Fetal Sığır Serum
PBS	Fosfat Tamponu
SHSY5Y	Beyin Kanseri Hücre Hattı
HEP3B	Karaciğer Kanseri Hücre Hattı
HF	İnsan Fibroblast Hücre Hattı
MCF-7	Göğüs Kanseri Hücre Hattı
HCT-15	Kolon Kanseri Hücre Hattı
A-549	Akciğer Kanseri Hücre Hattı
A-375	Melanoma Kanseri Hücre Hattı
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
ROS	Reaktif oksijen türleri
DMEM	Dulbecco'nun modifiye edilmiş hücre besiyeri
RA	Romatoid Artrid
PSA	Penisilin Streptomisin Amfoterisin
PMS	Fenazin Metasülfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
MTS	Tetrazolyum tuzu
ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1.Metal-karbenkompleksi genel şeması	10
3.1. HEP3B hücrelerinin ters mikroskoptaki görüntüsü (10x)- (karaciğer kanseri hücre hattı)	19
3.2.SYSY5Y hücrelerinin ters mikroskoptaki görüntüsü (10x)- (beyin kanseri hücre hattı)	19
3.3.HF hücrelerinin ters mikroskoptaki görüntüsü (10x)-(İnsan fibroblast hücre hattı)	20
3.4.Hücre kültür kapları (T-75 ve T-150)	22
3.5.96 kuyucuklu hücre kültür kabı	22
4.1.Gümüş karbenkomplekslerinin molekül şekilleri	24
4.2.1.Bileşiğe ait ¹ H ve ¹³ C-NMR spektrumları	25
4.3.2.Bileşiğe ait ¹ H ve ¹³ C-NMR spektrumları	26
4.4.3.Bileşiğe ait ¹ H ve ¹³ C-NMR spektrumları	27
4.5. 4. Bileşiğe ait ¹ H ve ¹³ C-NMR spektrumları	28
4.6.5. Bileşiğe ait ¹ H ve ¹³ C-NMR spektrumları	29
4.7.6. Bileşiğe ait ¹ H ve ¹³ C-NMR spektrumları	30
4.8.1.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	34
4.9. 1.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	34
4.10.1.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	35
4.11.2.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	35
4.12.2.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	36
4.13. 2.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	36
4.14.3.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	37
4.15.3.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	37
4.16.3.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	38
4.17.4.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	38
4.18.4.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	39
4.19. 4.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	39
4.20. 5.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	40
4.21. 5.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	40
4.22. 5.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	41

4.23. 6.bileşimin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	41
4.24. 6.bileşimin HEP3B üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	42
4.25. 6.bileşimin HF üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol	42

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
4.1. 1. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri	25
4.2. 2. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri	26
4.3. 3. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri	27
4.4. 4. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri	28
4.5. 5. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri	29
4.6. 6. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri	30
4.7. Ag-NHC Komplekslerinin Etkin Konsantrasyon ve Yüzde Canlılık Değerleri	32
4.8. Gümüş Bileşiklerine Ait Karaciğer, Beyin ve Sağlıklı Hücrelerde Hücre Canlılıkları	33
4.9. Ag-NHC Komplekslerinin Antimikrobiyal Aktivite Verileri ($\mu\text{g/ml}$)	43

1. GİRİŞ

Günümüz tıbbının en önemli sorunlarından olan kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla karakterize invaziv özelliklere sahip bir hastalıktır. Belirtileri köken aldığı dokuya göre değişen kanser, bugün dünyada ölüme neden olan hastalıklar arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır (1-3). Ayrıca kanser görülme sıklığının yanı sıra getirdiği sosyal ve ekonomik yük nedeni ile de önemli bir toplum sorunu olarak görülmektedir (4).

N- heterosiklik karbenler; nötral, metale iki elektron sunabilen, sert ve yumuşak metaller ile güçlü bağ oluşturabilen, sentezi, fonksiyonlaştırılması ve metale bağlanması fosfin ligantlarına göre daha kolay, güçlü ve kararlı bağları olan ligandlardır. İlk karben kompleksinin sentezinden itibaren birçok karben kompleksi hazırlanmıştır (5). Gümüşün kullanılması bu alanda ilk kez 1993 yılında olmuş (6) ve başlangıçta katalitik potansiyellerinin test edilmesi için sentezlenmişlerdir. Ancak bu alanda diğer bileşiklere göre daha düşük potansiyelleri olması sebebiyle farklı biyolojik aktivitelere yönelinmiştir. Son yıllarda metal karben komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri dışında antikanser etkilerinin de olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuş ve bu durum sentezlenen ilgili yeni bileşiklerin kanser tedavisinde insan sağlığı açısından daha etkili ve güvenli kullanılabileceğini düşündürmüştür.

Son yıllarda yapılan çalışmalar yeni sentez çeşitli gümüş bileşiklerinin sağlıklı hücrelerle kıyaslandığında ciddi sitotoksik etkiye sahip olduğunu akciğer (A-549), göğüs (MCF7) ve kolon (HCT-15) kanseri hücre hatlarında *in vitro* olarak göstermişlerdir (7). Ayrıca karben komplekslerinin benzimidazolyum tuzlarının sitotoksik etkisi kolon (HCT116) kanseri hücre hattında (8); imidazalyum türevlerinin etkisi ise melanoma (A375) kanseri hücre hattında denenmiş ve sitotoksik aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (9). Bu sonuçlar, Ag-NHC komplekslerinin kansertipine bağlı olarak, kanser kemoterapisinde yararlı olabileceğini ve farklı gruplu bileşiklerin değişen düzeyde sitotoksik etki gösterebileceğini düşündürmüştür.

Hepatoselüler karsinoma, yılda 500.000 den fazla kişinin ölümünden sorumlu olan ve aflatoksin, hepatit C ve B virüsleri gibi birçok etiyolojik faktörle ilişkili,

dünyada en sık görülen karsinomlardan olup karaciğerin en sık rastlanan primer tümörüdür. Beyin tümörleri ise tüm kanserlerin %1 ini oluşturmakta ve 15-34 yaşları arasındaki kişilerde kansere bağlı ölüm nedenleri arasında 3. sırayı işgal etmektedir (10).

Bu tez kapsamında yeni sentezlenmiş ve daha önce hiçbir çalışmada kullanılmamış benzimidazolyum tuzları içeren 6 adet gümüş-karben kompleksinin SHSY5Y (beyin kanseri hücre hattı), HEP3B (karaciğer kanseri hücre hattı) ve HF (sağlıklı fibroblast hücre hattı) hücre hatlarındaki antikanser etkileri ile antimikrobiyal etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Test maddelerinin kanserli hücreleri sağlıklı hücreye zarar vermeden seçici olarak öldürmesi kemoterapide oldukça önem taşımaktadır. Bu nedenle yeni sentezlenen bu gümüş bileşiklerinin kanserli hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri sağlıklı fibroblast hücreleriyle karşılaştırmalı olarak araştırılmış ve bu çalışmanın antitümör ilaç araştırmasının ilk adımını oluşturması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kanserin Tanımı ve Önemi

Kanseri, gelişimi ve özellikleri açısından bir hastadan diğerine değişkenlik gösteren karmaşık bir hastalıktır. Kanser köken olarak virüs, kalıtım, metabolizma ve birçok etkenin varlığını gerektirir. Kanser terimi tıbbın babası olarak bilinen Yunan fizikçi Hipokrat (MÖ 460-370) tarafından oluşturulmuştur. İmmün sistemin bozulması sonucu diğer dokulara metastaz yapabilen bu hastalık, metabolik ve davranışsal değişiklikleri içeren çok basamaklı bir süreçtir (11). Birikerek tümörleri oluşturan kanser hücreleri iyi ya da kötü huylu olabilir. İyi huylu tümörler diğer dokulara metastaz yapmaz, ancak kötü huylu tümörler sağlıklı dokulara sızabildikleri için, gittikleri yerde tümör kolonileri oluşturup büyümeye devam ederler.

Modern zamanlara has olmayan kanser, yüzyıllardır var olan bir hastalıktır ve veba, kolera, diyabet, kötü beslenme, bebek hastalıkları ve tüberküloz gibi ölümcül hastalıkların kontrol altına alınması ve tedavi edilmesi sayesinde ileri yaşlarda daha sık görülmektedir. Araştırmacılar fosilleşmiş kalıntılarda kansere kanıt olan az sayıda delil bulmuşlarsa da, Mısır mumyalarının analizinde kanserin varlığını açıkça gösteren delillere ulaşmışlardır (12). Yunan, Romalı ve İranlı yazarlarca tanımlanan kanser hakkında, ortaçağda tedavilerini de içeren metinlere yer verilmiştir.

Kanserin bir sürü sebebi olmakla birlikte, en sık görülen kanser türleri yüksek gelir grubu ve orta seviye ülkelerde farklılık göstermektedir. Yüksek gelir grubu ülkelerde akciğer, meme, prostat ve kolorektum kanserleri yaygın iken, orta seviye ülkelerde mide, karaciğer, ağız boşluğu ve serviks kanserleri yaygındır (13, 14). Tüm kanserlerin üçte biri tütün kullanımından, %10'u ise kronik enfeksiyonlardan kaynaklanmaktadır (13).

Türkiyede her yıl yaklaşık 150.000 kişi kansere yakalanmaktadır (15).Bu rakam durumun ciddiyetini göstermekte ve her yıl çeşitli sebeplerle bu risk daha da artmaktadır. Bilim adamlarının üzerinde durduğu sebepler çoğunlukla; ultraviyole ışınları, virüsler, alkol, sigara ve hava kirliliğidir (16). Sebebi kesin bilinmeyen bu hastalığın oluş mekanizması da tam bilinmemektedir. Halk sağlığı açısından sık ölüme sebep olduğu için önemli hastalıklar grubundadır ve tedavi maliyetinin yüksek olması sosyo-ekonomik açıdan toplum adına sorun teşkil etmektedir. Bulaşıcı

hastalık olmayan kanserde önemli olan erken teşhis ve tedavidir. Ancak halkımız bilgi eksikliği, korku ve ihmal gibi sebepler yüzünden hekime başvurmamakta ve maalesef kanser tanısı ve tedavisi de güçleşmektedir. Ülkemizde başta Sağlık Bakanlığı olmak üzere üniversiteler, gönüllü kuruluşlar ve medya tarafından kanserden korunma yöntemleri anlatılmalı ve halk bilinçlendirilmelidir.

2.2. Kanser Nedenleri

Son yıllarda kanser üzerine yapılan çalışmalar, kanserin uzun basamaklı genotipik ve fenotipik düzeyde bir süreç olduğunu göstermiştir. En yaygın somatik genetik bir hastalık olan kanserin, %10'unun kalıtsal olduğu, % 85'inin ise replikasyondaki hatalar, çevresel ve kimyasal faktörler sonucu oluştuğu düşünülmektedir (17). Lösemi ve bazı çocukluk çağı tümörleri genetik özellik gösterse de, kalıtım yoluyla kanser oluşma olasılığı çevresel faktörlere oranla oldukça azdır. İlaçlar, yağlı yiyecekler, aflatoksinler (bazı küfler), yanmış yağları içeren besinler, kırmızı etten zengin diyetler çevresel faktörlerdendir. Sigara, alkol, benzen, naftalin ve asbest ise kimyasal kanser yapıcı etkenlerdir (18).

Köken aldığı dokuya göre değişen kanser bulaşıcı bir hastalık değildir. Birçok kanser tipinin oluşumunda çevresel faktörlerin rol oynadığı düşünülse de genetik faktörlerin de kanser oluşumunda katkısı olduğu bilinmektedir. Öncelikli faktörler şunlardır:

- 1- **İyonize radyasyon:** İyonize radyasyon lösemi ve epitelyal kanserlere yol açmaktadır. Radyasyonun dozu önemlidir ancak yıllar sonra da etkileri görülebilmektedir.
- 2- **Ultraviyole ışınları:** Kontrolsüz şekilde güneş ışığına maruz kalan insanlarda deri kanserine yol açmaktadır.
- 3- **Hava kirliliği:** Akciğer kanserlerinin % 10'unda rolü olduğu bilinmektedir.
- 4- **Kimyasal karsinojenler:** Çalışılan meslek grubuna göre oluşturduğu kanserler değişmektedir. Plastik sanayinde çalışanlarda karaciğer kanseri, katranla uğraşanlarda deri kanserleri, asbestle çalışanlarda ise mezotelyoma görülmektedir.

- 5- **Beslenme faktörleri:** Beslenme ve kanser yakından ilgilidir. Her ne kadar karsinojen olduğu bilinen katkı maddelerinden kaçınılması önerilse de günümüzde bunu yapmak çok titizlik istemektedir. Çünkü yediğimiz her gıda da katkı maddesine rastlamaktayız. Bunun için düşük yağ ve yüksek lif içeren beslenme programları uzmanlar tarafından önerilmektedir.
- 6- **Sigara:** Sigara ve akciğer kanserinin ilişkisi kesin kanıtlanmakla beraber, sebep olduğu diğer kanser türleri larenks, ağız boşluğu, yutak, mesane ve pankreas kanserleridir.
- 7- **Alkol:** Ağız, yutak, yemek borusu ve gırtlak kanserlerinin risk sebebi olan alkolün uzun süreli kullanılması gerçek tehlike arz eder.
- 8- **Virüsler:** Hepatit B virüsünün karaciğer kanseriyle, Ebstein-Barr virüsünün ise Burkitt lenfoma ile ilişkili olduğu bilinmektedir.
- 9- **Genetik faktörler:** Özellikle çocuklarda görülen retinablastom kanser türünde genetik geçiş görülmektedir. Bunun dışında kalın bağırsakta poliplerle giden ailevi hastalık da örnek olarak verilebilir (19, 20).

2.3. Kanser Tanı Yöntemleri

Kanser tanısında ve tedavinin planlanmasında birden çok tanı yöntemleri kullanılır. Bunların başlıcaları aşağıdaki gibi sıralanmıştır:

- 1- Hastanın Hikayesi
- 2- Muayene
- 3- Labaratuar incelemeleri
 - Kan sayımı
 - Biyokimyasal analizler
 - Röntgen incelemeleri
 - Radyoizotop taramalar
 - Endoskopi

- Ultrasonografi
- Bilgisayarlı tomografi
- Magnetik rezonans görüntüleme,
- Sitoloji
- Biyopsi (21)

2.4. Kanser Tedavisi

Kanser günümüzde tedavisi mümkün olmayan bir hastalık olarak görüldüğü için, insanlarda oluşan moral bozukluğu düzenli tedavi uygulamalarını engellemektedir. Kanser birçok dokuyu etkileyen bir hastalık olması sebebiyle, tedavisindeki başarıya cins, yaygınlık ve düzenlilik esas alınarak ulaşılabilir. Kanser tedavisinde uygulanan başlıca tedavi yöntemleri aşağıda verilmiştir.

2.4.1. Cerrahi

Kanser tedavisinde ilk uygulanan tedavidir. Tanısal, önleyici, küratif (hastalığı iyileştirici) ve palyatif (geçici) cerrahi olmak üzere dört amaçla kullanılmaktadır.

- Tanısal cerrahide hastalığın bulunduğu dokudan biyopsi alınır ya da dokunun tamamı çıkartılır.
- Önleyici cerrahide kansere dönüşeceği bilinen dokular çıkartılır.
- Küratif cerrahi uygulamasında kanserli doku ile yayılma olasılığı yüksek komşu dokular çıkartılır.
- Palyatif cerrahide ise hastanın yaşam süresini uzatmak amacıyla, acil problem teşkil edecek bulgular düzeltilir (22).

2.4.2. Radyoterapi

Radyoterapide hastaya X ışınları, gama ışınları ve elektronlar gibi iyonize ışınlar uygulanır. Kullanılan ışınlar geliştirilmiş, lineer akseleratör, betatron ve kobalt-60 gibi özel tedavi üniteleriyle uygulanmaktadır. Son yıllarda ise hastanın sağlam dokularının radyasyonun yan etkilerinden korunması için brakiterapi metot ile sadece kanserli bölgeye uygulama yapılmaktadır (20).

2.4.3. Kemoterapi

Kanserin ilaçla tedavisi olan kemoterapi, sistemik yerleşmiş bir tedavi yöntemidir. Sadece hastalığın başladığı bölgeye değil, belirlenmiş ve saptanamayan tüm hücrelere etki eder. Kemoterapinin başarısının kanıtlandığı kanser türleri; Burkitt lenfoma, Hodgkin hastalığı, meme kanseri, kan kanseri, testis kanseri ve retinablastom gibi kanserlerdir. Kemoterapi kanserli hücreleri durdurmakta ancak bulantı, kusma, baş dönmesi, saç dökülmesi, kemik iliğinin baskılanması ve akyuvar sayısında düşmeler gibi ciddi yan etkileri mevcuttur (20).

Son yıllarda metal bileşiklerinin kanser tedavisinde kullanılmasıyla ilgili oldukça ciddi çalışmalar yapılmaktadır. Günümüzde halen birçok kanser kemoterapisinde kullanılan cisplatin platin metali ile türevlendirilmiş bir komplekstir ve mesane kanserinde tek ajan olarak etkindir. Bunun yanında bir seri yeni platin ve palladyum bazlı metal komplekslerinden iki palladyum bileşiğinin, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalından Prof. Dr. Engin Ulukaya ve ekibi tarafından güçlü derecede anti kanser etkili oldukları bulunmuştur ve halen araştırmaları patent alma yolunda ilerlemektedir. Beytur ve arkadaşları yeni sentezlenen bir tiyosemikarbazon türevinin prostat kanseri hücre kültürleri üzerinde antikanserojenik özelliklerini araştırmışlar ve test ettikleri ajanların antitümör aktivitelerinin olduğunu göstermişlerdir (23). Rutenyum ve altın kompleksleri ile Clarke ve arkadaşları in vitro düzeyde çalışmış ve bileşiklerin antikanser açısından oldukça aktif olduğunu göstermişlerdir (24).Metal kökenli yapılan bu çalışmalar bizim çalışmamıza yol gösteren, umut vaat edici literatürlerdir.

2.4.4.Diğer Tedavi Yöntemleri

-İmmunoterapi

İmmunoterapide vücudun bağışıklık sistemi BCG, interleokin ve interferon gibi biyolojik moleküller kullanılarak uyarılmaktadır.

-Hormon Tedavisi

Meme ve prostat kanseri gibi hormona bağımlı tümörlerde kullanılmaktadır.

-Lazer Tedavisi

Ameliyatlarda faydalı olan tedavi şeklidir. Ancak kanserde henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır.

2.5. Kanser Biyokimyası

Oksijenden oluşan reaktif oksijen türleri olan serbest radikallerin kanser oluşumunun evrelerine etki ederek kanser gelişimine etki ettiği bilinmektedir (25, 26).Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşturduğu hasarı vücudun antioksidan savunma sistemi sağlar. Hücre ölümüne neden olarak kabul edilen serbest radikallerin, vücutta elektrofilik metabolitlere dönüşüp DNA ile kovalent bağlanmak suretiyle reaksiyona girdiği ve bunun sonucu olarak DNA da bozukluklara sebep olduğu hipotezi kabul edilmektedir (27). Bunun yanında 1983 yılında Hassun serbest radikallerin gen programlarını değiştirdiğini göstermiştir (28).

2.6. Metastaz

Metastaz kanserli dokuların kan ve lenf yoluyla çevre dokulara yayılması olarak tanımlanır ve halk arasında ‘yayılma’ olarak bilinir. Birçok kötü huylu kanser dış faktörlere bağımlı olarak ya da kendiliğinden lenf ve dolaşım sistemine karışır ve kanserli hücrelerin çevre dokularda yerleşmesine sebep olur. Birçok kanser hastasının ölmesinin en büyük sebeplerinden biri bu metastazlara bağlı olarak vücudun bağışıklık sisteminin çökmesidir (29).

2.7. Karaciğer Kanseri

Karaciğer kanseri Afrika ve Asya’da tüm kanserlerin %10-50’sini oluşturmaktadır. Karaciğer en sık metastaza uğrayan organ olup, bu organda oluşan kanser malign tümörlerdendir (30, 31). Sebep olduğu faktörler arasında hepatit B ve C virüsleri, nitroza ve aflatoksine maruz kalma, siroz, nitritler, azo bileşikleri, alkol, toksik endüstriyel kimyasallar, hava ve su kirliliği sayılabilir. Bu kanser türü ölümcül statüde olan kanserlerdendir (30-34).Kansere bağlı ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır. En önemli belirtileri karın şişliği, halsizlik, sağ üst kadranda kitle, karaciğerde hassasiyet, ani kilo kaybı, iştahsızlık, ağrı ve sarılıktır. Epidemiyolojik çalışmalara bakıldığında karaciğer kanseri erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir (35, 36). Bu çalışmada kullanılacak olan hepotaselüler

karsinom primer karaciğer kanserlerinin %85-90'ını kapsamaktadır ve bu tür hastalarda da mortalite çok yüksektir (37, 38).

Karaciğer kanseri tanısı ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi, anjiyografi ve biopsi ile belirlenmektedir. Tümör sınırlı bölgede olduğu zaman cerrahi işlem uygulanmaktadır, eğer değilse bölgesel kan damarından kemoterapi verilmektedir. Tanı erken olursa %50 yanıt alınmaktadır.

Karaciğer kanserinin tedavisi hastalığın derecesine ve hastanın yaşına göre farklılık göstermekle birlikte, asıl hedef kanser dokusunu yok etmektir. Eğer bu mümkün değilse kanserin ilerlemesi ve yayılması önlenmeye çalışılır. Kemoterapi uygulamasıyla tümörün küçültülmesi için günümüzde kullanılan hedefe yönelik ilaç sorafenibtir. Bu ilaç kanserin metastazı için gereksinim duyduğu yeni damarların oluşumunu engeller. Bilim adamları bu ilaçla hastanın ömrünü en fazla 3 ay uzatmasını sağlamışlardır. Hastalığın erken evrelerindeki etkileri araştırılmaya devam etmekte olup, karaciğer fonksiyonları zayıf kişilerde araştırma yapılmadığı için ilacın güvenli olup olmadığı net değildir. Bu ilacın en çok görülen yan etkileri; halsizlik, iştah kaybı, ishal, yüksek tansiyon, kaşıntı, kızarıklık, ağrı, şişlik veya avuç içinde veya ayak tabanında su toplamasıdır (39). Karaciğer kanseri kemoterapötik ilaçlara karşı dirençli bir kanser türüdür. Tümörü küçültmek için kullanılan ilaçlar doksorubisin, 5-flurourasil ve sisplatin'dir. Ancak bu ilaçların da sorafenib gibi sebep olduğu yan etkiler fazla olması sebebiyle tedavi yanıtları uzun sürmemektedir.

2.8. Beyin Kanseri

Mortalite oranı 1960'ların sonlarından itibaren artan beyin tümörleri, kanserle ilgili ölümler arasında çok küçük bir orana sahip olmasına rağmen, ölümcül bir tümör türüdür (40). En sık görülen beyin tümörleri beyin metastatik tümörleridir ve özellikle kanserli hastalarda meydana gelmektedir ve bu metastazlar sıklıkla akciğer, meme, melanom ve böbrek tümörlerinden kaynaklanmaktadır (29). Genel kanser nedeniyle ölümler arasında onuncu sırada yer alırken, 20 yaş altı gençlerde lösemiden sonra ikinci sırada yer almaktadır (41).

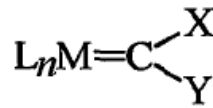
Beyin kanserine sebep olan etiyolojik faktörler arasında; iyonize radyasyon, elektromanyetik alanlar, mesleki maruz kalımlar, beslenme, sigara-alkol kullanımı, nörofibromatozis, tuberoskleroz, bağışıklık sistemi baskılanması, trasnplantasyon

gelmekte; Turcot sendromu gibi kalıtsal hastalıkların seyrinde de, beyin kanserine sebep olan etiyojik faktörler gelmektedir (42).

Bu tümörlerin %90'ı kafa içinde, %10'u omurilik kanalında, çocuklarda ise %70'i beyin yarı kürelerinde görülmektedir (43). Belirtileri; baş ağrısı, bayılma, baş dönmesi, geçici görme kaybı, uzun süren kafa içi basıncın artması, uyku hali, denge kaybı olarak sıralanmaktadır.

2.9. N-Heterosiklik Karbenler (NHC)

N-heterosiklik karbenleri içeren ilk karben kompleksleri Öfele ve Wanzlick tarafından birbirinden bağımsız olarak 1968 yılında sentezlenmiştir (44, 45). Her ikisi de imidazolyum tuzlarının deprotonasyonunu kullanmışlardır. Metal-karben komplekslerinin genel yapıları Şekil 1'de gösterilmiştir. Burada L_n karben dışındaki ligantları, M geçiş metalini, X ve Y alkil, aril, H veya heteroatomları (O,N,S halojenler) gösterir.



Şekil 2.1: Metal-karben kompleksi genel şeması

Yöntemi genişleten Lappert olmuş (46), ancak 1991 yılında Arduengo serbest karbenlerle ilgili verilerini azotlu halka türlerine uygulamış ve elde ettiği karbenlere N-heterosiklik karbenler adını vermiştir (47). N-heterosiklik karbenlerin genel karbenlere göre metal-karbon bağı daha uzun ve bölünmeye karşı kimyasal ve termal olarak daha inerttir ve kararlı oldukları için organik tepkimelerde katalizör olarak kullanılmaktadırlar.

2.10. Karbenler ve Kanser

İmmün sistemin gözetiminden kaçarak zamansız çoğalan hücrelerin sebep olduğu kanser, uzaktaki dokuları da kan ve lenf yoluyla işgal ederek hastayı yengeç gibi kısa süre altına alan tehlikeli bir hastalıktır (48). Bu hastalıkta başlıca tedavi yöntemleri kemoterapi, radyoterapi, cerrahi tedavi, immünoterapi ve bilimsel olmayan tedavilerdir. Bu tedavi çeşitlerinden özellikle cerrahi müdahaledeki başarısızlık metastatik yayılmalara ve tekrarlayan primer tümörlere sebebiyet verir

(49). Farklı tedavi stratejilerindeki ortak amaç metal yapılı ilaçlarda olduğu gibi sitotoksik etkili ilaçlarla tümörün kontrol altına alınarak büyümesinin önlenmesi ya da yok edilmesidir ve bu konuda çok sayıda çalışma yapılmaktadır (50-53).

Gelişen teknolojiye bağlı, kimyasal olarak yeni sentezlenen birçok metal türevi bileşik farmakolojik ve toksikolojik etkileri yönünden incelenmeye başlanmış ve bu bileşiklerin bazıları ilaç olarak kullanıma sunulmuştur (54-57). Genel olarak pozitif yüklü metal ile negatif yüklü biyomoleküllerin (nükleik asitler ve proteinler) kompleks oluşturması sonucu etki gösteren cisplatin gibi metal bileşikleri, son yıllarda kanser başta olmak üzere pek çok hastalığın tedavisi açısından araştırılmaya başlanmıştır (58, 59).

Benzer türevlerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları önceki çalışmalarda ispatlanan karben komplekslerinin sağlıklı hücrelerle beraber denendiği MTS toksisite test sonuçlarına göre akciğer(A-549), göğüs (MCF7),kolon (HCT-15 ve HCT116) (7, 8) ve bu komplekslerin imidazolyum türevleri ise melanoma (A375) kanseri hücre hattında denenmiş ve ciddi sitotoksik aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (9).

2.11. Gümüş Komplekslerinin Tıbbi Kullanımları

Gümüşün kullanımı eski çağlardan bu yana bilinmektedir ve tarihte ilk kez Mısırda kullanıldığı tahmin edilmektedir.1940'lı yıllara kadar dünyada yaygın bir antibiyotik olarak kullanılan gümüşün bu antibiyotik özelliği geniş spektrumludur ve tüm bakterileri, virüsleri ve mantarları öldürme yeteneğine sahiptir. Gümüşün bakterileri öldürmesi, hücre içine girip, oradaki oksijen kazanımından sorumlu olan enzimleri bloke etmesiyle gerçekleşir. Gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi de bulunmaktadır (60). Avustralyalı Courtenay gümüş kullanımı ile ilgili çalışmaları kitap haline getirmiştir (61). Özellikle romatoid artritlerin (RA) tedavisinde kullanım spektrumu çok geniş bir bileşiktir. RA ağrılı bir inflamatuvar hastalık olup, tedavide kullanılan gümüş, antibiyotik özelliği sayesinde hücre çeperindeki peptidoglikan zincirlerini bir arada tutan peptid bağlarının sentezini önleyerek, çeperi zayıflatıp bakteriyi lizis eder ve bu mekanizması sayesinde inflamasyonu engeller (62).

Son yıllardaki teknolojiyle birlikte yeni sentezlenen birçok metal türevi bileşiklerinin toksikolojik etkileri incelenmeye başlanmıştır (54). Bu gümüş bileşikleri metal kökenli bileşikler olması sebebiyle, günümüzde etkin olarak antikanser tedavide kullanılan ve metal olarak platin içeren sisplatin benzeri etki yaptığı düşünülmektedir. Sisplatin yapısındaki metali sayesinde hücre içine girerek protein sentezini bozmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal madde	Firma
MTS (Tetrazolyum tuzu- Cell Titer 96 Aqueous One Solution Assay)	Promega
DMEM (Dulbekko'nun modifiye edilmiş hücre besiyeri)	Sigma
Dimetilsülfoksit	Sigma
Tripsin	Gibco-Invitrogen
PBS (Fosfat tamponu)	Gibco-Invitrogen
Penisilin Streptomisin Amfoterisin	İnvitrogen
FBS (Fetal Sığır serumu)	Gibco-Invitrogen

3.2. Kullanılan araç ve gereçler

Araç Gereç	Firma
İnkübatör	Sanyo
Santrifü	Hettich
Su Banyosu	Memmert
Buzdolabı	Arçelik
Dondurucu (-80)	Glacier
Azot Tankı (-196)	International Cryogenics,Inc.
Steril Kabin	Esco
Serolojik Pipetler	Expiring
Pipetör	Dragon lab

Mikropipet	Rainın
Pipet Ucu	Rainın
Otoklav	Hırayama

3.3. Kullanılan Gümüş Karben Komplekslerinin Sentezlenmesi

Kullandığımız gümüş karben kompleksleri İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Anorganik Kimya araştırma laboratuvarında sentezlenmiştir ve daha önce hiçbir sitotoksisite çalışmasında kullanılmamıştır.

Sentezlenen bazı bileşikler havanın nemine ve oksijene karşı hassas olduklarından dolayı tüm deneyler inert atmosfer ortamında gerçekleştirildi ve tepkimelerde Schlenk tekniği kullanıldı. Tepkimelerde kullanılan cam malzemeler kullanılmadan önce vakum uygulanıp ısıtılarak içerisindeki nem ve oksijen uzaklaştırıldı ve daha sonra argon gazıyla dolduruldu. Çözücüler ve reaktifler kullanılmadan önce literatürde verilen yöntemler esas alınarak kurutulup inert ortamda saflaştırıldı. NMR spektrumları Bruker Ultra Shield 300 MHz NMR'sinde İnönü Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda alındı. Çözücü olarak $CDCl_3$, iç standart olarak TMS kullanıldı.

Sentez yöntemi aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

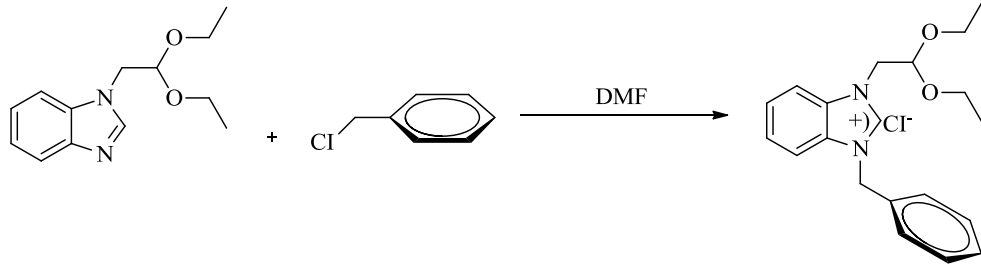
3.3.1. Ag-Benzimidazoliden Komplekslerinin Sentezi *N*-(2,2-dietoksietil) benzimidazol



Havası ve nemi uzaklaştırılan bir schlenke yağı hekzan ile yıkanıp kurutulan sodyum hidrür (1.2 g / 50 mmol) eklendi. Üzerine THF (50 mL) ilave edildi ve çözelti oda sıcaklığında bir müddet karıştırıldı. Sonra benzimidazol (5.90 g / 50 mmol) ilave edildi. Gaz çıkışı bittikten sonra çözeltiyeye bromoasetaldehydediethylacetal (9.85 g / 49,7 mmol) eklendi. Bir gece oda sıcaklığında karıştırılan çözelti daha sonra yağ banyosunda 3 gün refluks edildi. Daha sonra THF vakumla uzaklaştırılarak diklorometan (40 mL) ilave edildi. Çözelti filtreden süzildükten sonra DCM

vakumla uzaklaştırıldı ve geriye kalan yağimsı sarı renkli madde damıtıldı (140-150 °C /0.01 mmHg). Verim: %72.7 (8.5 g)

1-(2,2-Dietoksietil)-3-benzilbenzimidazolyum klorür, 2a

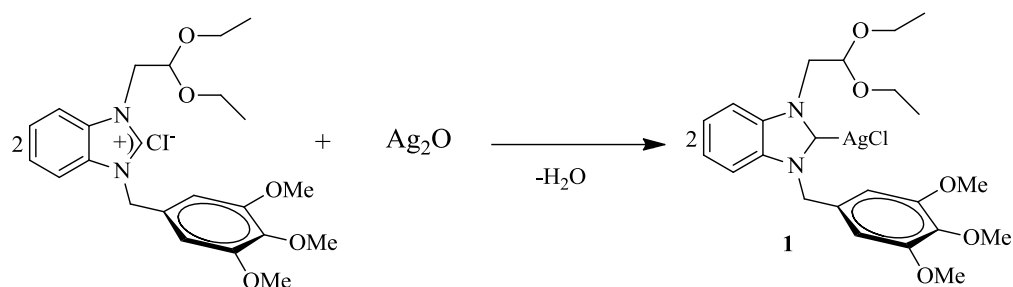


N-(2,2-dietoksietil)benzimidazol (1.5 g; 6.41 mmol) DMF’de çözüldü ve üzerine benzil klorür (0.81 g; 6.42 mmol) ilave edildi. Çözelti 60 °C’de iki gün, 80 °C’de bir gün ve 90 °C’de 3 saat karıştırıldı. Çözeltiye dietil eter (15 mL) eklenerek beyaz katı elde edildi. Beyaz katı filtreden süzülüp dietil eter ile yıkandıktan sonra kurutuldu. Ürün etil alkol / Et₂O karışımında (1:2) kristallendirildi.

Verim: % 92 (2.12 g), e.n.: 160-161 °C, $\nu_{(CN)}= 1558\text{cm}^{-1}$. % Element analizi C₂₀H₂₅N₂O₂Cl: Hesaplanan: C, 66.56; H, 6.98; N, 7.76. Bulunan: C, 66.03; H, 7.2; N, 7.01.

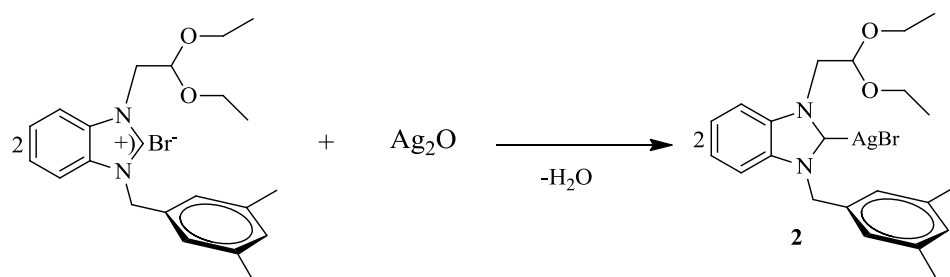
Kullanılan diğer benzimidazolyum tuzları da benzer yöntemle sentezlendi. Bileşiklerin sentezi ve bileşiklere ait ¹H, ¹³C-NMR sonuçları ve elementel analiz verileri İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Zeynel Şahin’in Yüksek Lisans Tezi’nde sunulmuştur.

Kloro-[1-(2,2-dietoksietil)-3-(3,4,5-trimetoksibenzil)benzimidazol-2-iliden]gümüş(I), 1



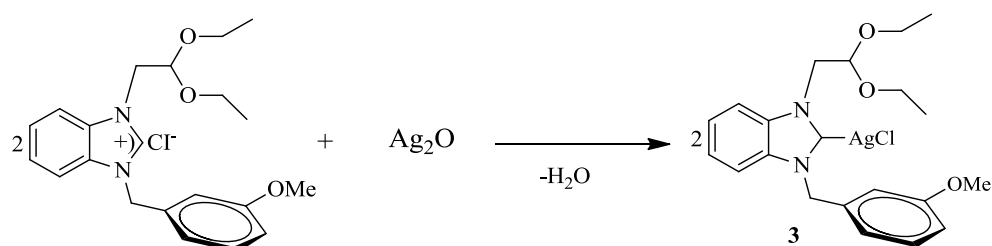
1-(2,2-Dietoksietil)-3-(3,4,5-trimetoksibenzil)benzimidazolyum klorür (1 mmol) ile Ag_2O (0.12 g, 0.55 mmol) üzerine kurutulmuş diklorometan (15 mL) eklendi ve bir gece oda sıcaklığında karıştırıldı. Çökelek süzülerek çözücü vakumda uzaklaştırıldı ve ham ürün $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{Et}_2\text{O}$ 'de kristallendirildi. % Element Analizi $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5\text{ClAg}$: Hesaplanan C: 49.52, H: 5.42, N: 5.02, bulunan C: 49.54, H: 5.41, N: 5.04.

Bromo-[1-(2,2-dietoksietil)-3-(3,5-dimetilbenzil)benzimidazol-2-iliden]gümüş(I), 2



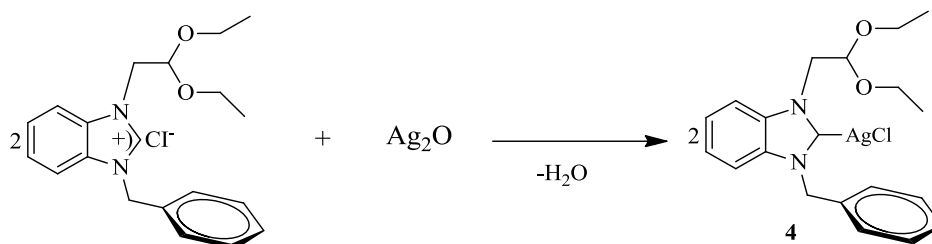
1-(2,2-Dietoksietil)-3-(3,5-dimetilbenzil)benzimidazolyum bromür (1 mmol) ve Ag_2O (0.55 mmol) kullanılarak **1** kompleksinin sentez yöntemi kullanılarak hazırlandı. % Element Analizi $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{BrAg}$: Hesaplanan C: 48.91, H: 5.22, N: 5.19, bulunan C: 48.92, H: 5.21, N: 5.17.

Kloro-[1-(2,2-dietoksietil)-3-(3-metoksibenzil)benzimidazol-2-iliden]gümüş(I), 3



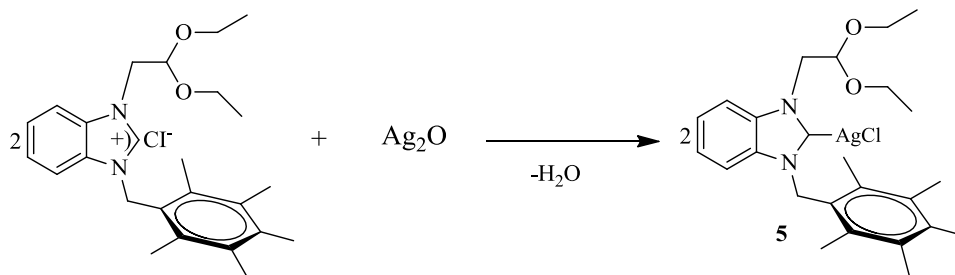
1-(2,2-Dietoksietil)-3-(3-metoksibenzil)benzimidazolyum klorür (1 mmol) ve Ag_2O (0.55 mmol) kullanılarak **1** kompleksinin sentez yöntemi kullanılarak hazırlandı. % Element Analizi $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2\text{ClAg}$: Hesaplanan C: 52.35, H: 5.44, N: 5.81, bulunan C: 52.32, H: 5.46, N: 5.82.

Kloro-[1-(2,2-dietoksietil)-3-benzil]benzimidazol-2-iliden]gümüş(I), 4



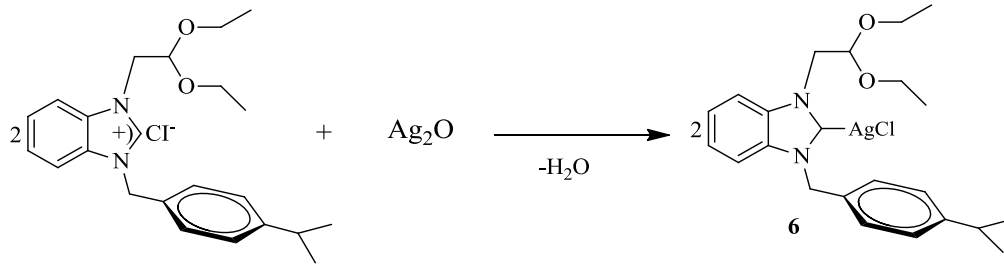
1-(2,2-Dietoksietil)-3-benzilbenzimidazolyum klorür (1 mmol) ve Ag_2O (0.55 mmol) kullanılarak **1** kompleksinin sentez yöntemi kullanılarak hazırlandı. % Element Analizi $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2\text{ClAg}$: Hesaplanan C: 51.36, H: 5.17, N: 5.99, bulunan C: 51.34, H: 5.15, N: 5.97.

Kloro-[1-(2,2-dietoksietil)-3-(2,3,4,5,6-pentametillbenzil)benzimidazol-2-iliden]gümüş (I), 5



1-(2,2-Dietoksietil)-3-(2,3,4,5,6-pentametillbenzil)klorür (1 mmol) ve Ag_2O (0.55 mmol) kullanılarak **1** kompleksinin sentez yöntemi kullanılarak hazırlandı. % Element Analizi $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2\text{ClAg}$: Hesaplanan C: 55.83, H: 6.37, N: 5.21, bulunan C: 55.82, H: 6.35, N: 5.20.

Kloro-[1-(2,2-dietoksietil)-3-(4-*i*-propilbenzil)benzimidazol-2-iliden]gümüş(I), 6

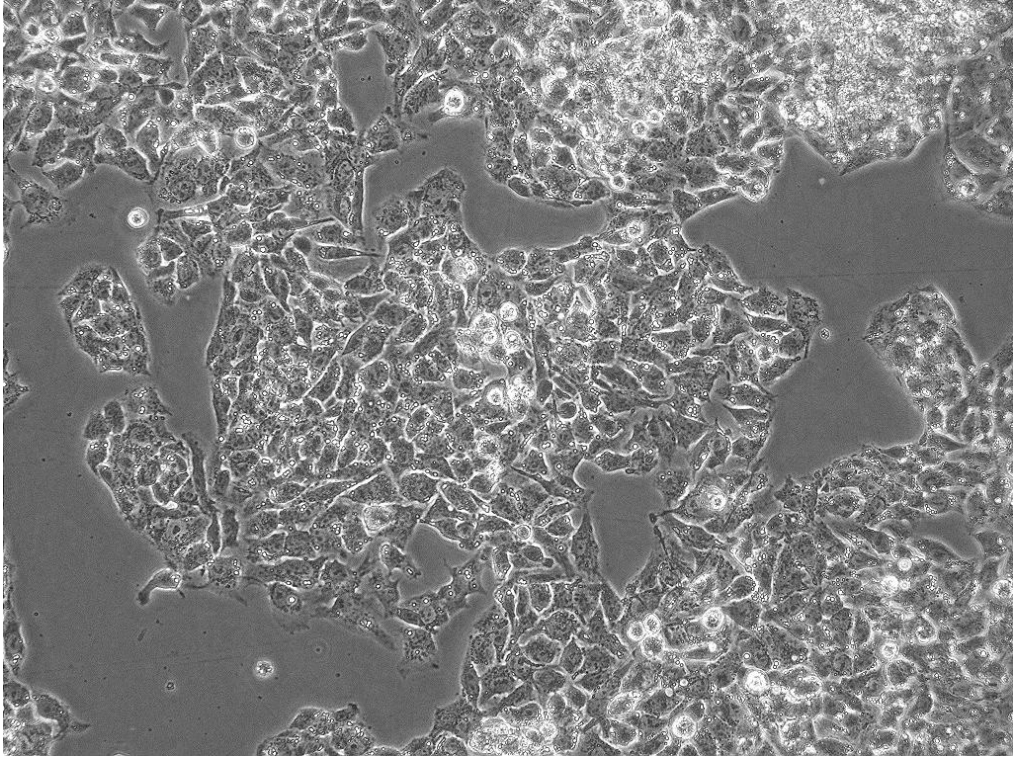


1-(2,2-Dietoksietil)-3-(4-*i*-propilbenzil)klorür (1 mmol) ve Ag_2O (0.55 mmol) kullanılarak **1** kompleksinin sentez yöntemi kullanılarak hazırlandı. % Element Analizi $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{ClAg}$: Hesaplanan C: 54.19, H: 5.93, N: 5.49, bulunan C: 54.16, H: 5.95, N: 5.47.

3.4. Hücre kültürü çalışmaları

3.4.1. Tümör hücre hatları

Beyin kanseri (SHSY5Y) ve karaciğer kanseri (HEP3B) hücre hatları ATCC şirketinden temin edilmiştir. Hücre hatları % 1 nonesansiyel aminoasit, % 1 L-Glutamine, 10 mg/ml penisilin ve % 10 ısı ile inaktive edilmiş sığır serumu eklenen DMEM besiyeri ortamında, 37°C ve % 5 CO_2 'li nemlendirilmiş inkübatörde çoğaltılarak kullanıldı.



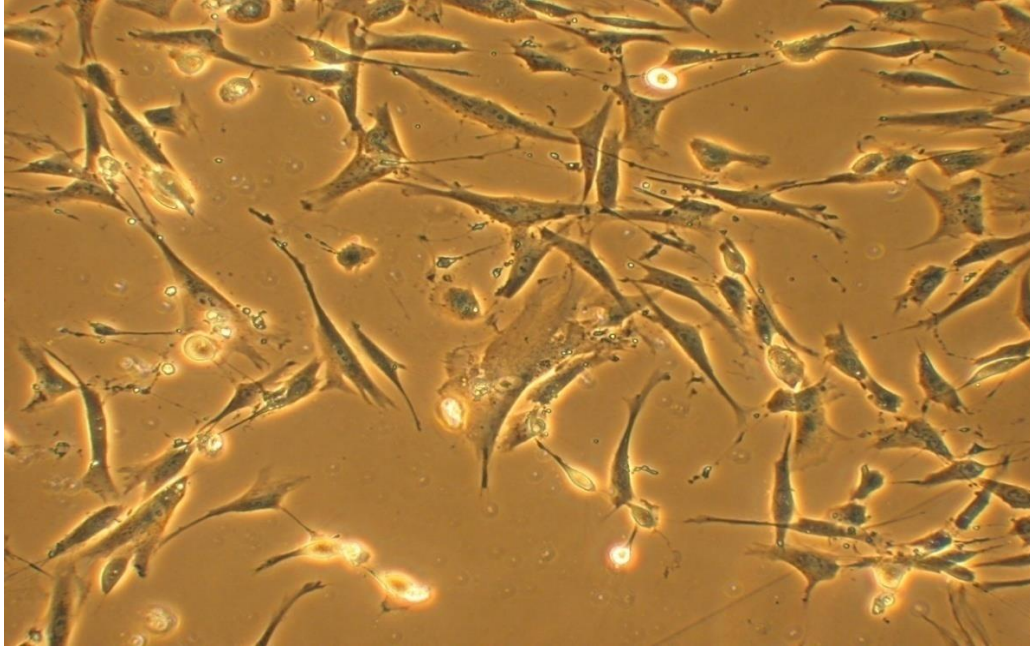
Şekil 3.1. HEP3B hücrelerinin ters mikroskoptaki görüntüsü (10x) (Karaciğer kanseri hücre hattı)



Şekil 3.2. SHSY5Y hücrelerinin ters mikroskoptaki görüntüsü (10x) (Beyin kanseri hücre hattı)

3.4.2. Sağlıklı h¼cre hattı

Bu çalışmada sağlıklı h¼cre hattı olarak insan k¼kenli fibroblast h¼creleri HF (human fibroblast) kullanılmıştır.



şekil 3.3. HF h¼crelerinin ters mikroskoptaki g¼r¼nt¼s¼ (10x) (İnsan fibroblast h¼cre hattı)

3.4.3. Besiyeri Ortamının Hazırlanması

DMEM besiyeri temel aminoasitler, vitaminler, glikoz ve minerallerce zengindir. Bu ortama enfeksiyonu önlemek için penisilin-streptomisin ve büyüme faktörleri içeren sığır serumu eklenmiştir. Enerji ve karbon kaynağı olan L-glutamin ise besiyeri içinde mevcut olarak gelmiştir. H¼crelerin tutunduğu k¼lt¼r kabı yüzeyinden kaldırılmasını sağlamak için %0,25 Trypsin/EDTA ç¼zeltisi, h¼crelerin yıkamasını yapabilmek için de PBS (fosfat tamponu) kullanılmıştır.

3.4.4. H¼crelerin oğaltılması

H¼cre k¼lt¼r işlemleri Esco marka kabin ve ink¼batörde gerçekleştirildi. Sıvı azotta (-196) saklanmış olan HEP3B(karaciğer kanseri h¼cre hattı) ve SYSY5Y (beyin kanseri h¼cre hattı) örnekleri 75 cm²lik h¼cre k¼lt¼r kaplarına steril şartlarda aktarıldı ve üzerine 13 ml besiyeri eklenip h¼creler, 37 °C de % 5 CO₂ ortamında

çoğaltıldı. Her pasaj sırasında deney sürecine göre ortalama 2 milyon hücre, 13 ml besiyeri (% 10 FBS, %1 PSA ve %1 L-Glutamin içerir) konulmuş hücre kültür kaplarına aldı ve günlük olarak ters mikroskopla canlılık, çoğalma, morfoloji ve kontaminasyon açısından takip edildi.

3.4.5. Hücrelerin ekimi

Hücreler 75 cm²kültür kaplarında yeterince (%80) çoğalınca tripsin enzimi kullanılarak kaldırıldı ve hemositometre yöntemiyle sayılarak 96 kuyucuklu petri kaplarına, her bir kuyucukta 5000 hücre olacak şekilde 200 µl besiyeri içerisinde ekildi.

3.4.6. Test maddelerinin konsantrasyonlarının ayarlanması

Gümüş karben kompleksleri DMSO içinde çözülerek önce 10 mM'lık stok konsantrasyon hazırlandı ve hücrelere gönderilecek olan dilüsyonlar ise taze besiyeri kullanılarak yapıldı. Hücrelerde 1 µM, 5 µM, 10 µM, 15 µM ve 20 µM olmak üzere beş farklı konsantrasyon denendi. Dolayısıyla hücrelerin maruz kaldığı DMSO miktarı 1/1000 olarak ayarlandı. Kompleks DMSO içinde çözüldüğü için negatif kontrol olarak 1/1000 oranında DMSO içeren besiyeri, pozitif kontrol olarak ise %20 DMSO kullanıldı ve hazırlanan dozlar +4 °C'de saklandı.

3.5. MTS (Sitotoksite deneyi):

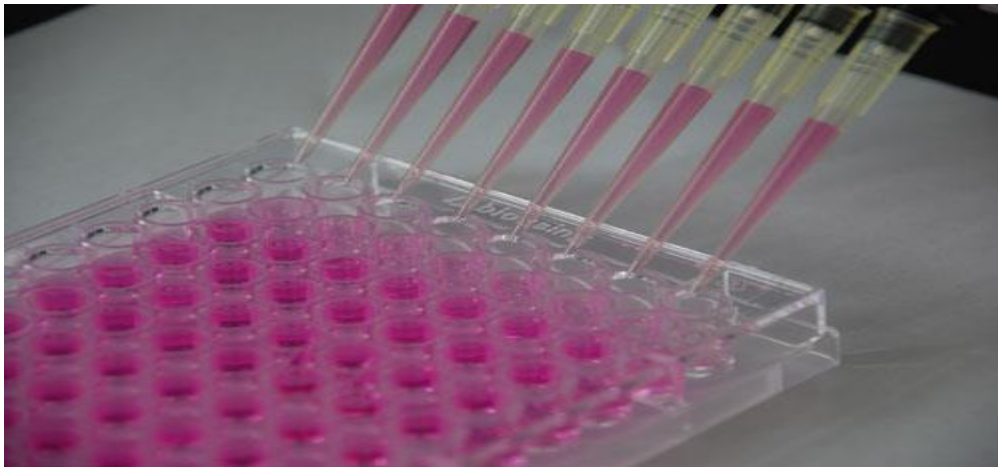
Hücrelerin ekiminin ardından 37 derecede ve %5 CO₂ ortamında 24 saat hücrelerin yüzeye tutunması için inkübe edildi. Bu işlem gerçekleştikten sonra hücreler, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış gümüş karben kompleksleri ile 24-48-72 saat muamele edilip, inkübasyon süresi sonunda besiyerleri uzaklaştırıldı ve mitokondriyal aktiviteye dayalı MTS ölçümü ile sitotoksite deneyi yapıldı.

İçerisinde PMS (Fenazin metosülfat) ajanını içeren MTS bileşeni canlı hücreler tarafından indirgenerek besiyerinde çözünebilir mor renkli formazan ürünlerine dönüşür ve bu formazan ürün miktarı doğrudan canlı hücre sayısı ile orantılıdır. Bu nedenle hücre çoğalması veya ölüm miktarı 490 nm de plaka okuma ile belirlenebilir. Biz çalışmamızda hücre proliferasyonu değerlerimizi, Elisa plaka okuyucusunda negatif kontrollerden elde edilen absorbans değerlerinin, deney gruplarına ait absorbans değerlerine % olarak oranlanmasıyla elde ettik. Kontrollerden (kimyasalla

muamele edilmemiş hücreler) alınan absorpsiyon değeri % 100 hücre canlılığı olarak kabul edildi.



Şekil 3.4. Hücre kültür kapları (T-75 ve T-150)



Şekil 3.5. 96 kuyucuklu hücre kültür kabı

3.6. Antimikrobiyal Etki:

Herhangi bir bileşiğin antimikrobiyal etkinliğini belirlemek için in vitro yöntemler kullanılmaktadır. In vitro yöntemler ile komplekslerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadığı MİK (minimal inhibitör konsantrasyon) ile belirlenir.

Referans olarak kullanılan bileşiklerin ise etkinliği bilinmeli ve çalışılan suşlara karşı inaktif olmamalıdır (63).

Gümüş komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri, standardize edilmiş bir yöntem olan agar dilüsyon yöntemiyle elde edildi. Her bir kompleks için MİK değerleri referans bakteri ve mantar suşlarına karşı denendi.

Mantar suşları olarak, Ege Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı tarafından tanımlanan *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* suşları, Muller Hinton Broth (HiMedia Laboratories Pvt.Ltd.Mumbai-India) besiyerinde üretilirken; bakteri suşları ise Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC) Rockville, MD tarafından elde edilen *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, RPMI 1640 Broth (Sigma-Aldrich Chemie GmbH Taufkirchen, Germany) besiyerinde üretilmiştir. Bütün kompleksler DMSO'da hazırlanmıştır ve sulandırmalar distile su ile yapıldı.

Standart olarak mantarlar için flukonazole; bakteriler için ise ampisilin ve Siprofloksasin kullanıldı. Bakteri ve mantarların ekimi steril halka uçlu öze ile yapıldı ve 35 °C etüvde bakteriler için 16-20 saat, mantarlar için ise 48 saat inkübasyondan sonra değerlendirildi. Bakteri ve mantarların çoğalmasını önleyen en düşük derişimleri MİK olarak belirlendi.

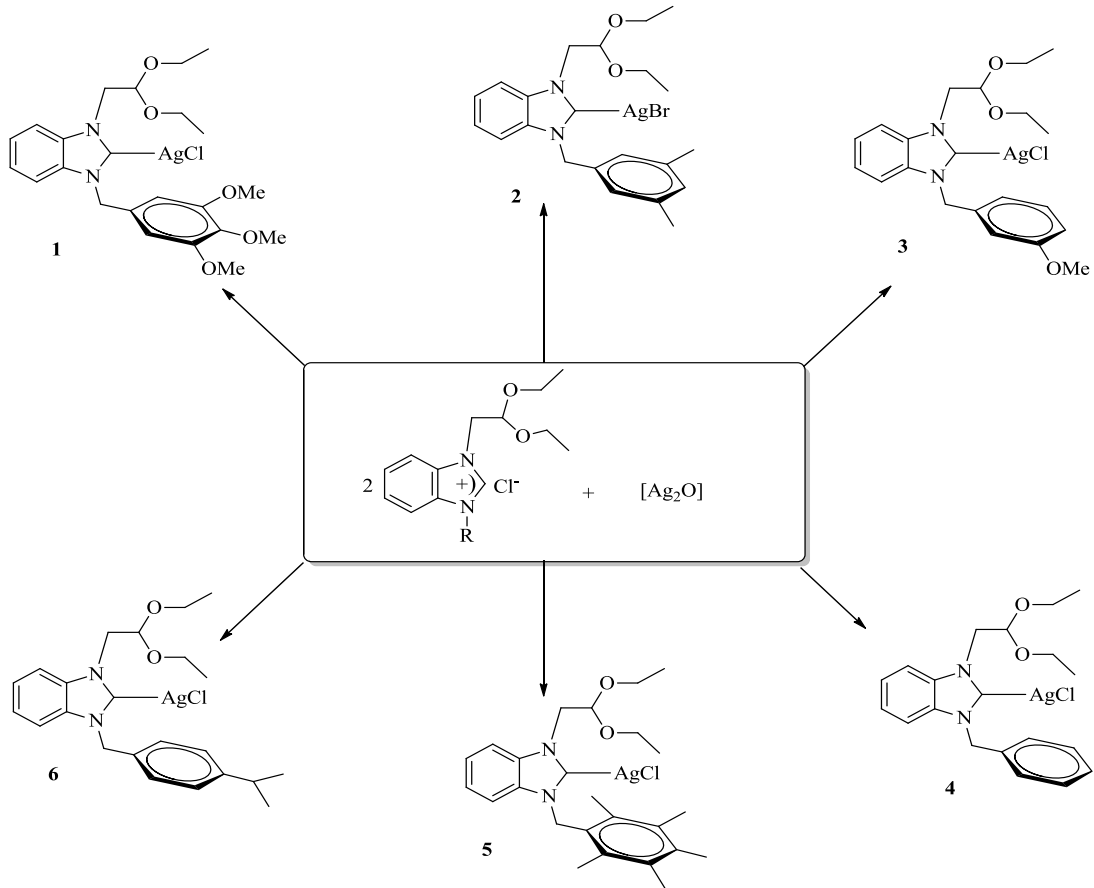
3.7. İstatistik

Veriler ortanca (minimum-maksimum) olarak özetlendi. Grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis-H testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney-U testi kullanıldı. $p < 0,05$ değerleri istatistik olarak anlamlı olarak değerlendirildi. Analizlerde IBAM SPSS Statistics 22.0 for Windows programı kullanıldı.

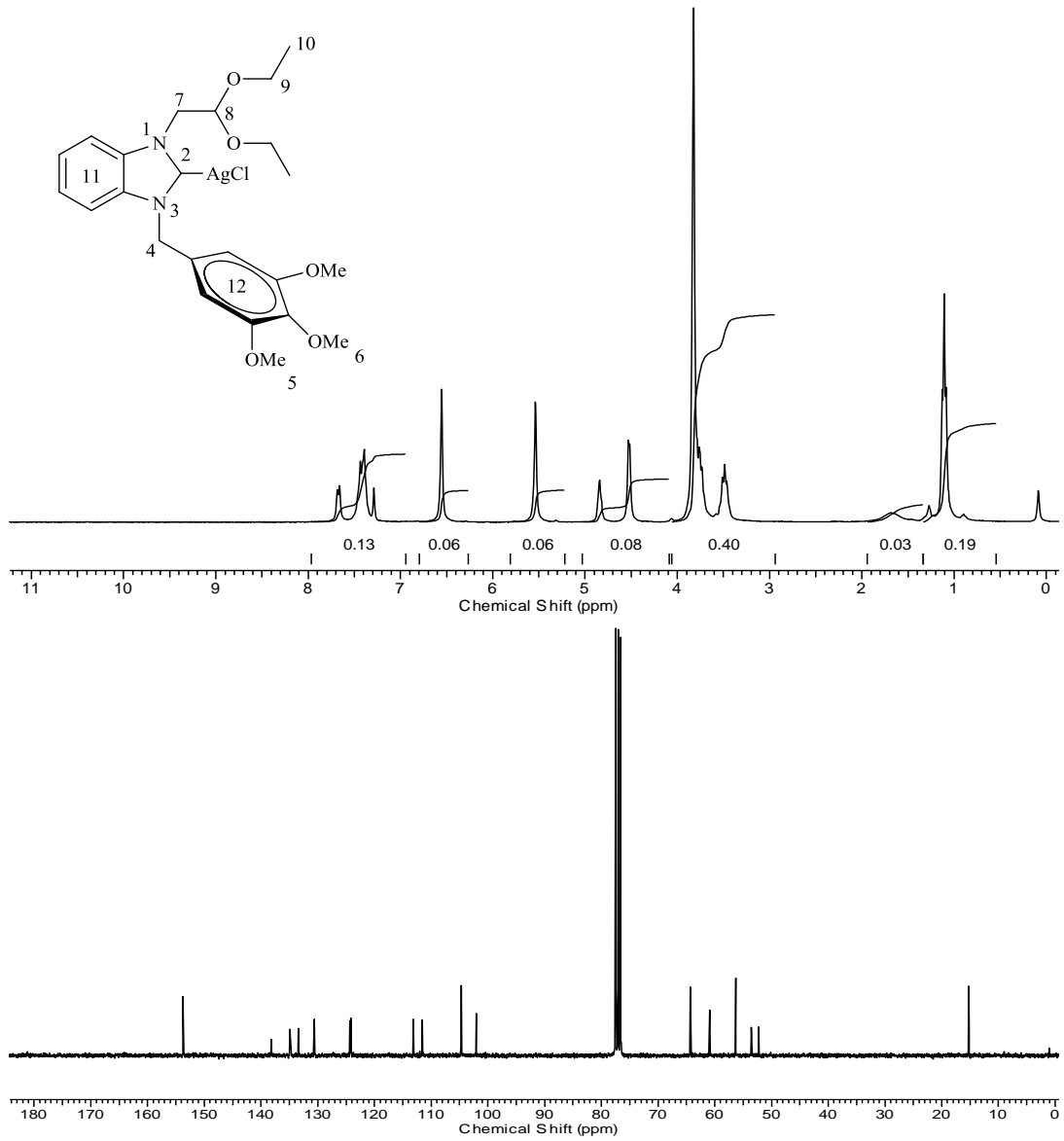
4. BULGULAR

4.1. Ag-Karben Komplekslerinin Sentezi

Benzimidazol tuzlarından yararlanılarak Ag-NHC kompleksleri sentezlendi. Benimidazolyum tuzları diklormetan içerisinde Ag_2O ile karanlık ortamda etkileştirilerek benzimidazolidin (**1-6**) Ag-karben kompleksleri hazırlanmıştır (Şekil 4.1). Sentezlenen komplekslerin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları Şekil 4.2-4.7’de verilmiştir. Bu spektrumlardan elde edilen bilgilere göre bileşiklerin NMR verileri Tablo 4.1-4.6’da sunulmuştur.



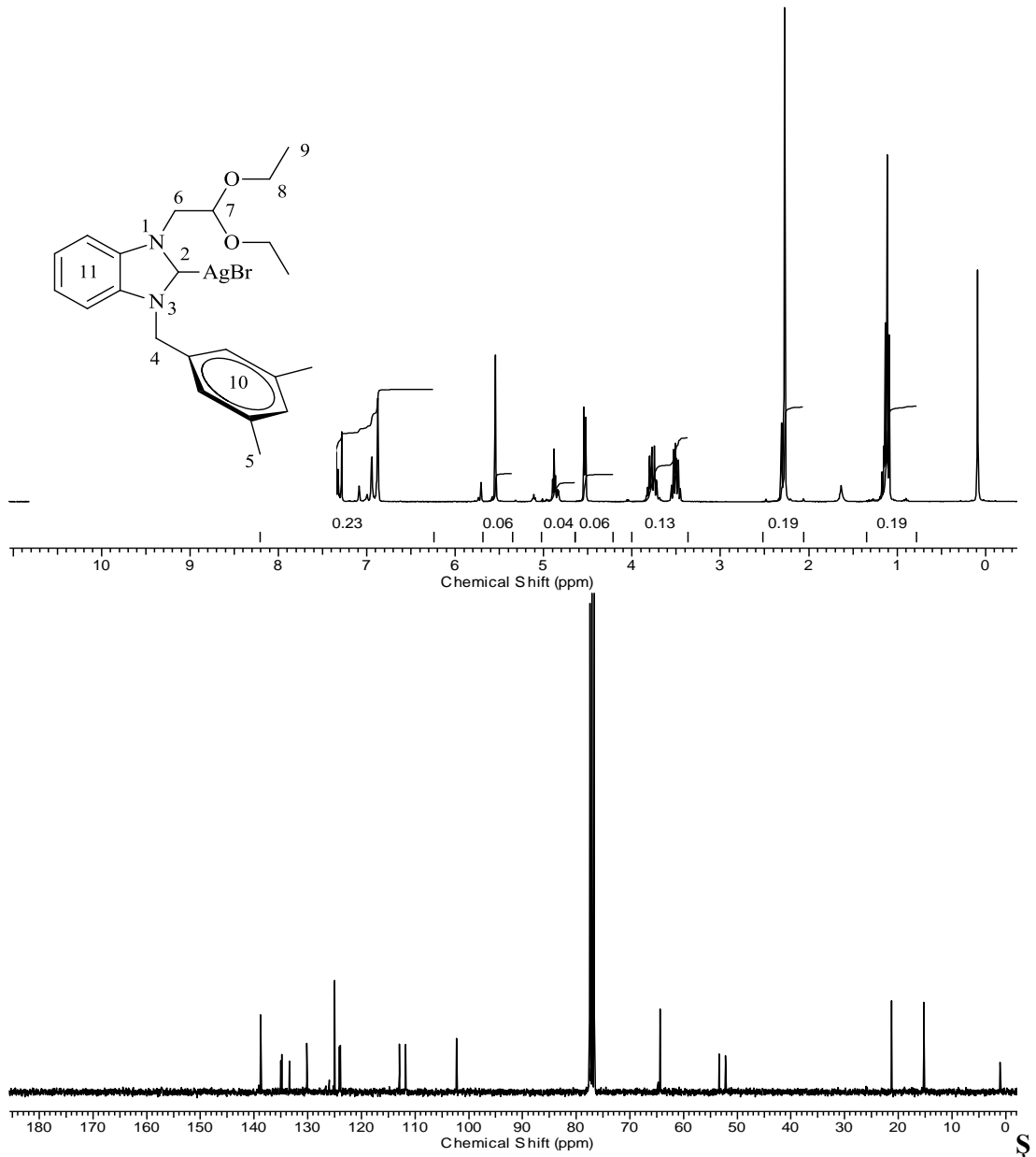
Şekil 4.1. Gümüş karben komplekslerinin molekül şekilleri



Şekil 4.2. 1.Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumları.

Tablo 4.1. 1.Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri.

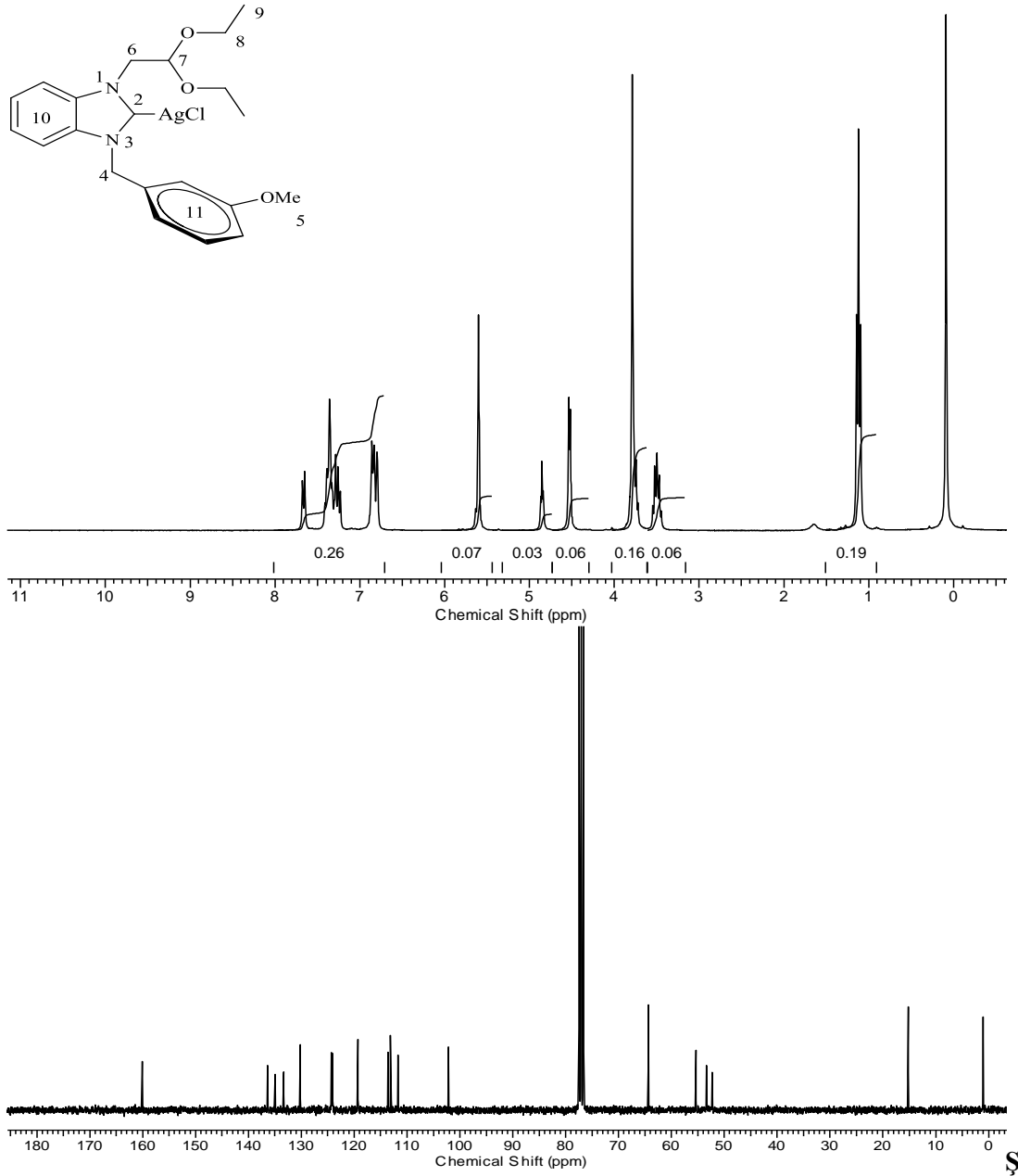
Konum	^1H NMR (δ ppm)	^{13}C NMR (δ ppm)	J (Hz)
2	-	-	-
4	5.54 (s, 2H)	52.3	-
5	3.82 (s, 9H)	60.9	-
6	3.82 (s, 9H)	56.3	-
7	4.52 (d, 2H)	53.6	3.6
8	5.02 (s, 1H)	102.1	-
9	3.49 ve 3.76 (qq, 4H)	64.3	7.5
10	1.11 (t, 6H)	15.1	6.6
11	7.29 ve 7.69 (m, 4H)	111.5, 113.2, 124.2, 124.3, 130.1, 133.4	-
12	6.55 (s, 2H)	104.6, 138.2, 134.9, 153.7	-



ekil 4.3. 2. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumları.

Tablo 4.2. 2.Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri.

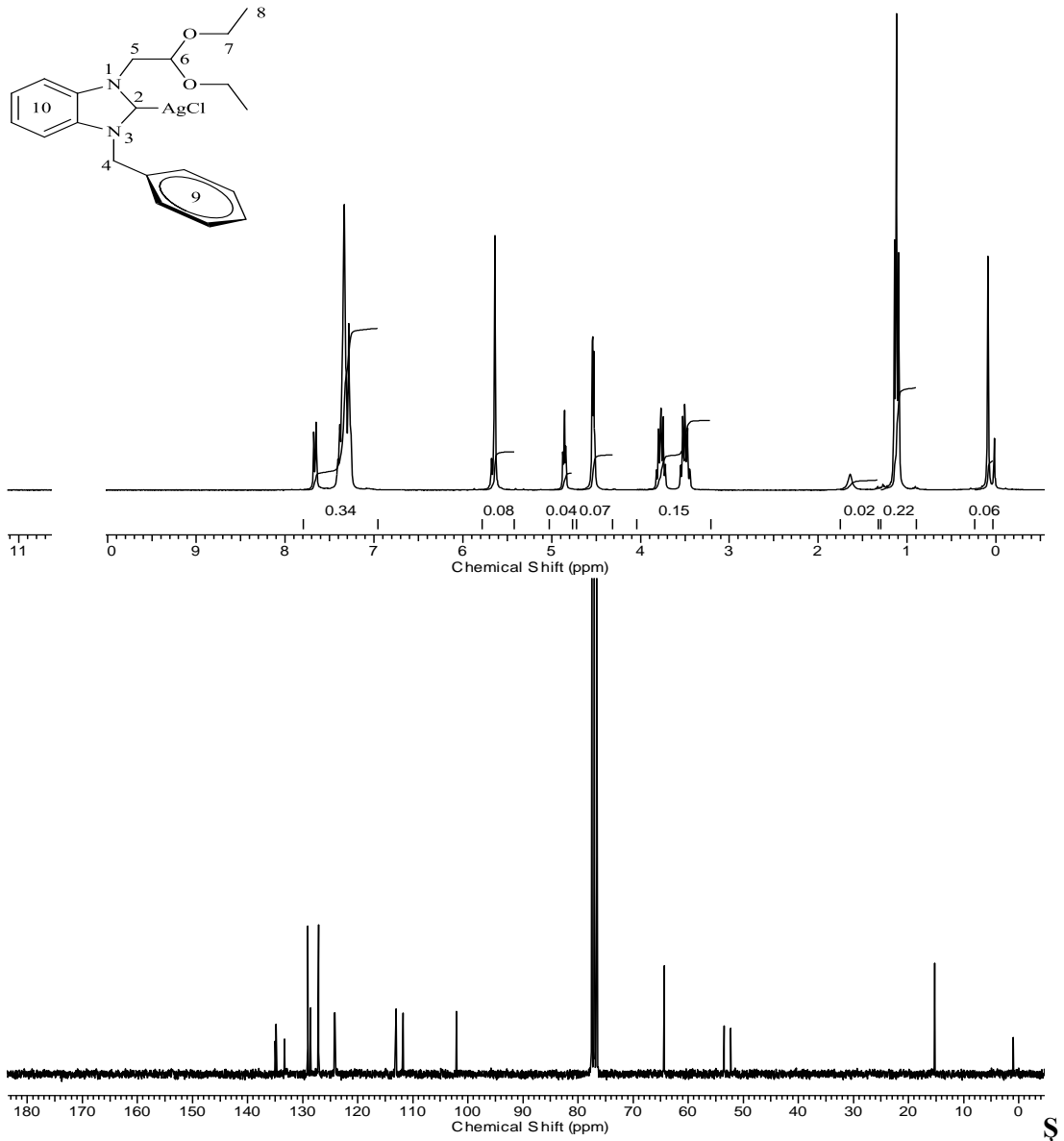
Konum	^1H NMR (δ ppm)	^{13}C NMR (δ ppm)	J (Hz)
2		190.8	-
4	5.45 (s, 2H)	52.2	-
5	2.27 (s, 6H)	21.3	-
6	4.53 (d,2H)	53.3	5.4
7	5.88 (t, 1H)	102.3	5.4
8	3.51 ve 3.77 (qq, 4H)	64.4	7.2
9	1.11 (t, 6H)	15.3	7.2
10	6.88 ve 6.94 (s, 3H)	133.4, 134.8, 138.7, 139.2	-
11	7.30 ve 7.67 (m, 4H)	111.8, 112.9, 123.9, 124.1, 125.0, 130.2	-



ekil 4.4. 3. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumları.

Tablo 4.3. 3. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri.

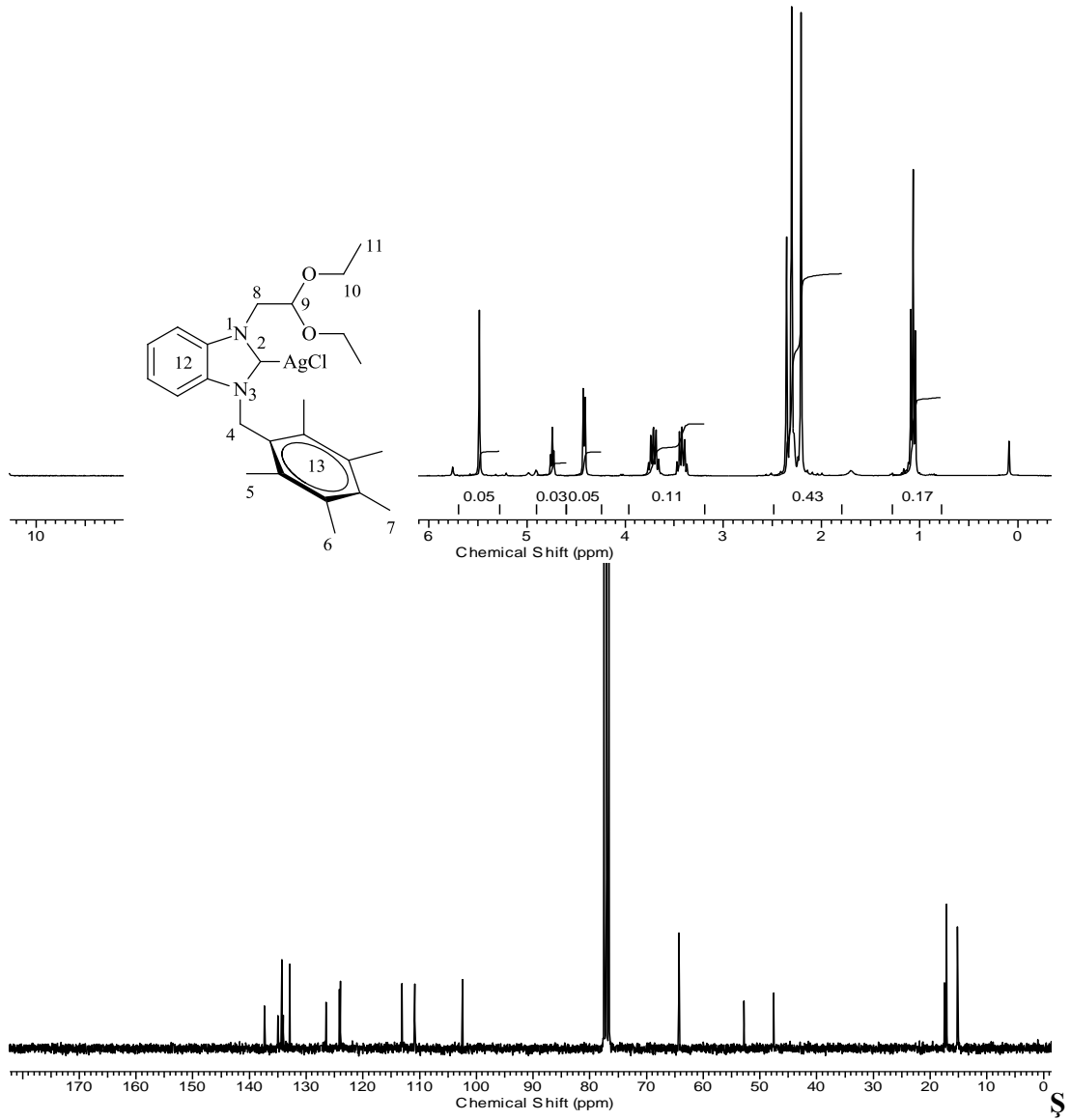
Konum	^1H NMR (δ ppm)	^{13}C NMR (δ ppm)	J (Hz)
2	-	-	-
4	5.78 (s, 2H)	52.3	-
5	3.79 (s, 3H)	55.4	-
6	4.53 (d, 2H)	53.4	5.1
7	4.85 (t, 1H)	102.1	5.1
8	3.51 ve 3.74 (m, 4H)	64.4	-
9	1.12 (t, 6H)	15.2	6.9
10	7.29 ve 7.68 (m, 4H)	11.8, 133.0, 133.6, 119.8, 124.8, 130.2	-
11	6.80 ve 7.26 (m, 4H)	133.4, 134.9, 136.4, 160.3	-



ekil 4.5. 4. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumları.

Tablo 4.4. 4. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri.

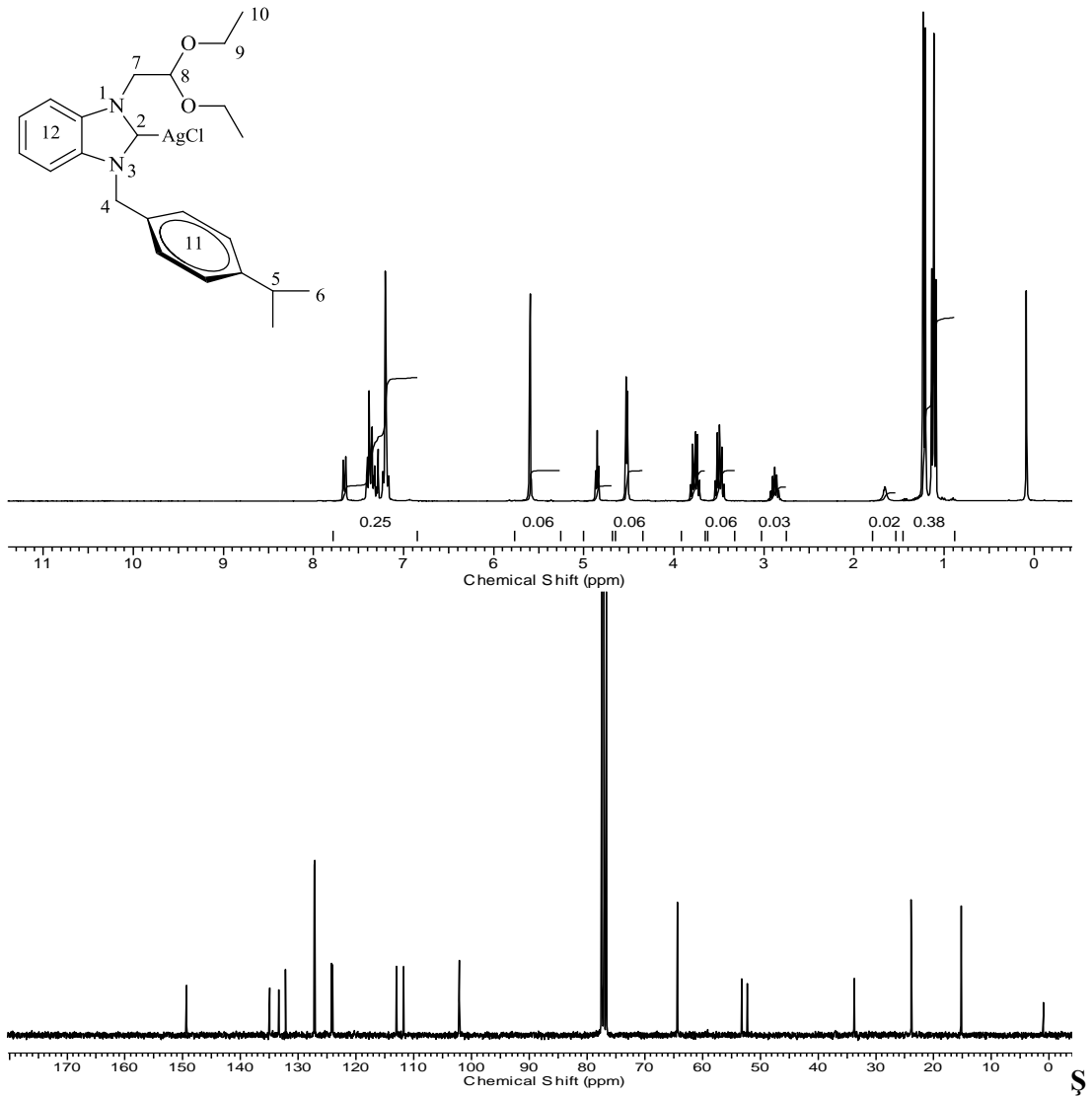
Konum	^1H NMR (δ ppm)	^{13}C NMR (δ ppm)	J (Hz)
2	-	-	-
4	5.64 (s, 2H)	52.3	-
5	4.53 (d, 2H)	55.5	3.9
6	4.86 (t, 1H)	102.1	3.9
7	3.49 ve 3.78 (qq, 4H)	64.4	7.2
8	1.20 (t, 6H)	15.2	6.9
9	7.26-7.68 (m, 9H)	111.8, 113.0, 124.3, 127.1	-
10		128.6, 129.1, 1333.3, 134.8	-



ekil 4.6. 5. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumları.

Tablo 4.5. 5. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri.

Konum	^1H NMR (δ ppm)	^{13}C NMR (δ ppm)	J (Hz)
2	-	181.5	-
4	5.48 (s, 2H)	50.6	-
5	2.20 (s, 6H)	18.8	-
6	2.31 (s, 6H)	18.9	-
7	2.36 (s, 3H)	19.9	-
8	4.42 (d, 2H)	50.9	5.1
9	4.74 (t, 1H)	99.8	5.1
10	3.42 ve 3.72 (qq, 4H)	64.4	6.9
11	1.07 (t, 6H)	15.4	6.9
12	7.41 ve 7.68 (m, 4H)	108.7, 112.8, 113.5, 115.3, 122.6, 122.7	-
13	-	123.8, 132.3, 132.4, 136.3	-



ekil 4.7. 6. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumları.

Tablo 4.6. 6. Bileşiğe ait ^1H ve ^{13}C -NMR verileri.

Konum	^1H NMR (δ ppm)	^{13}C NMR (δ ppm)	J (Hz)
2	-	-	-
4	5.59 (s, 2H)	52.3	-
5	2.87 (h, 1H)	33.8	6.9
6	1.22 (d, 6H)	23.9	6.6
7	4.52 (d, 2H)	53.2	5.4
8	4.85 (t, 1H)	102.1	5.1
9	3.48 ve 3.76 (qq, 4H)	64.3	7.2
10	1.11 (t, 6H)	15.2	7.2
11		132.2, 133.3, 134.9, 149.4	-
12	7.17-7.68 (m, 8H)	111.8, 112.9, 124.6, 124.2, 127.1, 127.2	

Sentezlenen Ag-karben komplekslerinin NMR verileri incelendiğinde komplekslerin oluştuğu gözlenmiştir. Karben öncüllerinin 2-konumundaki asidik

hidrojene ait sinyalin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda gözlenmemesi kompleks oluşumunun kanıtıdır. Ayrıca bazı kompleksler için $\text{Ag-C}_{\text{karben}}$ karbonuna ait piklerde gözlenmiştir.

4.2. MTS Testi Sonuçları

Çalışılan 6 adet gümüş-karben komplekslerinin 2 tanesi düşük konsantrasyonlarda, 4 tanesi ise yüksek konsantrasyonlarda kanserli hücre hatlarında etkili çıkmıştır. Bu tez çalışmasında hücrelerle muamele edilen gümüş karben komplekslerinin sitotoksitesini belirlemek için son yıllarda canlı hücrelerin sayısını belirlemede sıklıkla çalışılan MTS testi kullanılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilmiştir;

-Tümör hücre hatlarından olan SHSY-5Y beyin kanseri hücre hattını, HEP3B karaciğer kanseri hücre hattını, insan fibroblast (HF) ise sağlıklı hücre hattını göstermektedir.

- Şekil 4.1, 4.4, 4.7, 4.10, 4.13 ve 4.16 gümüş karben komplekslerinin SHSY5Y hücre hattı üzerindeki canlılığını; şekil 4.2, 4.5, 4.8, 4.11, 4.14 ve 4.17 ise bileşiklerin HEP3B hücre hattındaki canlılığını göstermektedir. Sağlıklı hücre hattı olarak kullanılan Human fibroblast hücre hattındaki bileşiklerin canlılıkları şekil 4.3, 4.6, 4.9, 4.12, 4.15 ve 4.18' de verilmektedir.

- 1., 2., 3. ve 4. bileşikler 20 uM, 30 uM, 50 uM, 75 uM ve 100 uM da üç hücre hattında denendi ve bu 4 bileşiğin 20 uM, 30 uM ve 50 uM dozları beyin ve karaciğer kanseri hücre hattında toksik çıkarken sağlıklı hücrelere zarar vermemiştir.

-5. ve 6. bileşikler 1 uM, 5 uM, 10 uM, 15 uM ve 20 uM konsantrasyonlarında hücrelerle maruz bırakıldı ve sadece 6. bileşik 15 uM dozunda HEP3B hücre hattında etkili çıkmıştır. 5. bileşiğin üç hücre hattına karşı herhangi bir toksik etkisi olmamıştır.

Tablo 4.7.:Ag-NHC Komplekslerinin Etkin Konsantrasyon ve Yüzde Canlılık Değerleri

Bileşik Adı	Etkin Konsantrasyon (μM)	Yüzde Canlılık (%)	Etkili olduğu Hücre Hattı
1.bileşik	20	6	SYSY5Y
	20	69	HEP3B
	20	119	HF
1.bileşik	30	0	SYSY5Y
	30	27	HEP3B
	30	141	HF
1.bileşik	50	1	SYSY5Y
	50	20	HEP3B
	50	141	HF
2.bileşik	20	8	SYSY5Y
	20	58	HEP3B
	20	125	HF
2.bileşik	30	0	SYSY5Y
	30	40	HEP3B
	30	123	HF
2.bileşik	50	0	SYSY5Y
	50	26	HEP3B
	50	123	HF
3.bileşik	20	1	SYSY5Y
	20	21	HEP3B
	20	123	HF
3.bileşik	30	0	SYSY5Y
	30	21	HEP3B
	30	142	HF
3.bileşik	50	0	SYSY5Y
	50	4	HEP3B
	50	149	HF
4.bileşik	20	8	SYSY5Y
	20	32	HEP3B
	20	127	HF
4.bileşik	30	1	SYSY5Y
	30	9	HEP3B
	30	133	HF
4.bileşik	50	0	SYSY5Y
	50	5	HEP3B
	50	109	HF
6.bileşik	15 μM	72	SYSY5Y
	15 μM	31	HEP3B
	15 μM	82	HF

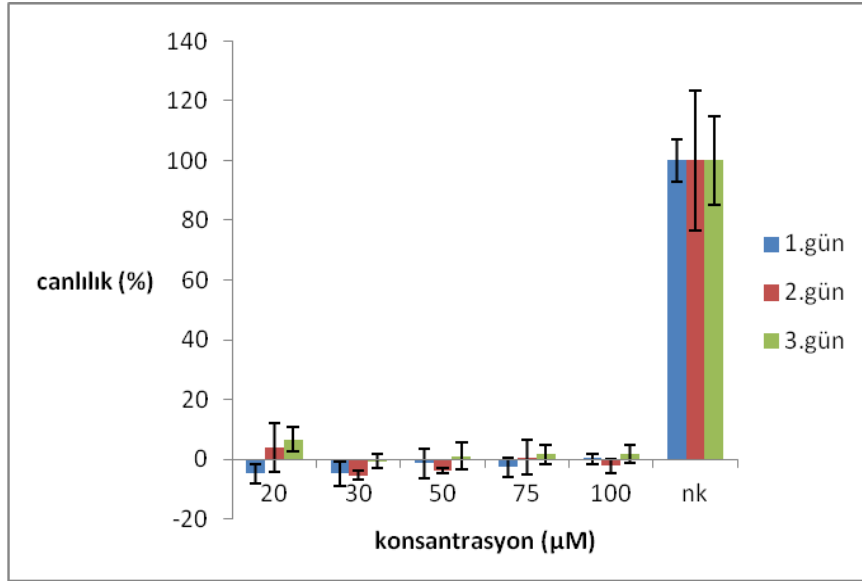
Tablo 4.8. Gümüş Bileşiklerine Ait Karaciğer, Beyin ve Sağlıklı Hücrelerde Hücre Canlılıkları

Değişkenler (Bileşik- Konsan- trasyon)	Gruplar			P
	1	2	3	
1-20	0,81 (0,70 – 0,94) ^a	0,16 (0,1 – 0,19)	0,89 (0,69 – 0,97) ^a	<0,0001
1-30	0,70 (0,38 – 0,91) ^{a,b}	0,15 (0,14 – 0,16)	0,99 (0,65 – 1,13) ^a	<0,0001
1-50	0,50 (0,35 – 0,73) ^{a,b}	0,16 (0,1 – 0,17)	1,00 (0,72 – 1,16) ^a	<0,0001
1-75	0,16 (0,14 – 0,40) ^{a,b}	0,15 (0,14 – 0,17)	0,18 (0,14 – 0,27) ^a	0,191
1-100	0,15 (0,14 – 0,30) ^{a,b}	0,15 (0,14 – 0,17)	0,16 (0,1 – 0,19) ^a	0,783
2-20	0,70 (0,53 – 0,89) ^{a,b}	0,18 (0,1 – 0,27)	0,91 (0,75 – 1,06) ^a	<0,0001
2-30	0,57 (0,49 – 0,71) ^{a,b}	0,15 (0,1 – 0,17)	0,92 (0,7 – 1,02) ^a	<0,0001
2-50	0,45 (0,37 – 0,58) ^{a,b}	0,14 (0,13 – 0,16)	0,95 (0,70 – 1,01) ^a	<0,0001
2-75	0,18 (0,14 – 0,34) ^{a,b}	0,15 (0,13 – 0,18)	0,21 (0,17 – 0,55) ^a	0,001
2-100	0,16 (0,13 – 0,21) ^{a,b}	0,15 (0,14 – 0,18)	0,16 (0,13 – 0,20) ^a	0,377
3-20	0,55(0,36 – 0,70) ^{a,b}	0,15(0,14 – 0,16)	0,88(0,66 – 1,00) ^a	<0,0001
3-30	0,42(0,37 – 0,54) ^{a,b}	0,14(0,13 – 0,16)	0,97(0,74 – 1,16) ^a	<0,0001
3-50	0,22(0,18 – 0,29) ^{a,b}	0,14(0,13 – 0,16)	0,88(0,69 – 1,17) ^a	<0,0001
3-75	0,15(0,14 – 0,17) ^{a,b}	0,15(0,13 – 0,17)	0,14(0,14 – 0,18) ^a	0,834
3-100	0,14(0,14 – 0,16) ^{a,b}	0,15(0,13 – 0,17)	0,14(0,13 – 0,16) ^a	0,518
4-20	0,54(0,47 – 0,81) ^{a,b}	0,25(0,15 – 0,36)	0,95(0,70 – 1,09) ^a	<0,0001
4-30	0,38(0,25 – 0,58) ^{a,b}	0,17(0,14 – 0,18)	0,93(0,72 – 1,10) ^a	<0,0001
4-50	0,28(0,21 – 0,56) ^{a,b}	0,15(0,13 – 0,16)	0,74(0,63 – 0,99) ^a	<0,0001
4-75	0,22(0,17 – 0,54) ^a	0,14(0,12 – 0,17)	0,20(0,15 – 0,43) ^a	<0,0001
4-100	0,20(0,16 – 0,36) ^{a,b}	0,15(0,14 – 0,18)	0,15(0,14 – 0,18)	<0,0001
5-1	1,09(0,75 – 1,17) ^{a,b}	0,47(0,39 – 0,59)	0,70(0,59 – 0,94) ^a	<0,0001
5-5	0,90(0,68 – 1,10) ^{a,b}	0,41(0,39 – 0,54)	0,54(0,37 – 0,77)	<0,0001
5-10	0,43(0,34 – 0,71) ^{a,b}	0,36(0,35 – 0,46)	0,51(0,31 – 0,62) ^a	0,102
5-15	0,33(0,29 – 0,44) ^{a,b}	0,31(0,29 – 0,34)	0,29(0,25 – 0,34) ^a	0,176
5-20	0,27(0,24 – 0,33) ^b	0,29(0,28 – 0,34)	0,19(0,18 – 0,21) ^a	<0,0001
6-1	0,78(0,72 – 0,83) ^a	0,43(0,38 – 0,45)	0,83(0,61 – 0,94) ^a	<0,0001
6-5	0,78(0,70 – 0,83) ^a	0,31(0,30 – 0,33)	0,85(0,62 – 1,06) ^a	<0,0001
6-10	0,40(0,33 – 0,49) ^{a,b}	0,28(0,27 – 0,29)	0,78(0,61 – 0,97) ^a	<0,0001
6-15	0,33(0,31 – 0,38) ^{a,b}	0,28(0,26 – 0,29)	0,61(0,57 – 0,81) ^a	<0,0001
6-20	0,31(0,27 – 0,33) ^{a,b}	0,28(0,27 – 0,34)	0,31(0,23 – 0,39) ^a	0,159

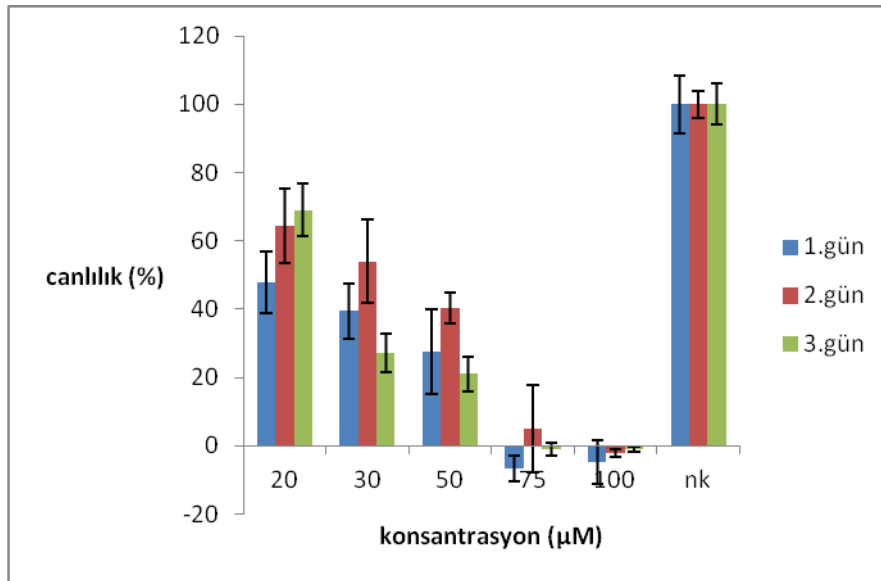
a: Grup 2'ye göre anlamlı (p<0,0016)

b: Grup 3'e göre anlamlı (p<0,0016)

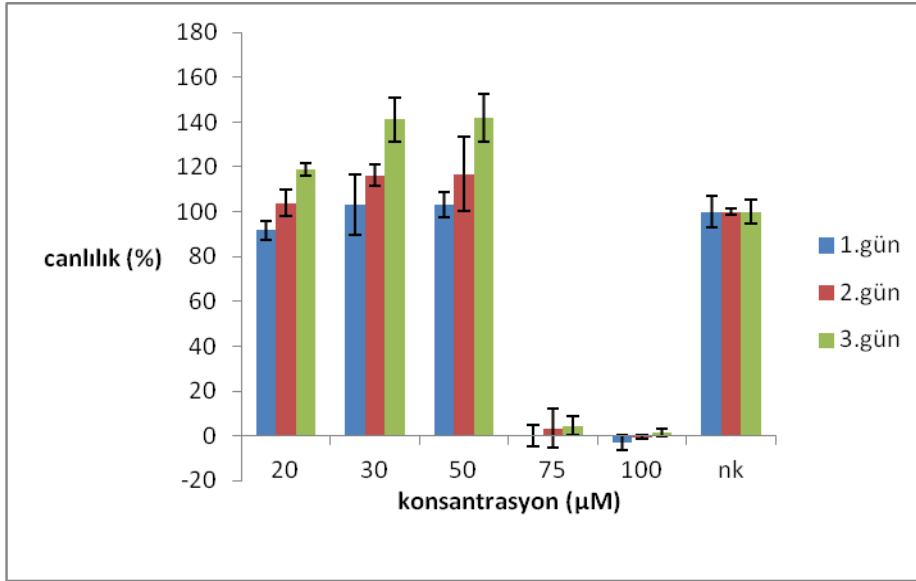
Bileşiklerin üç hücre hattındaki etkileri aşağıdaki şekillerde grafiksel olarak verilmiştir:



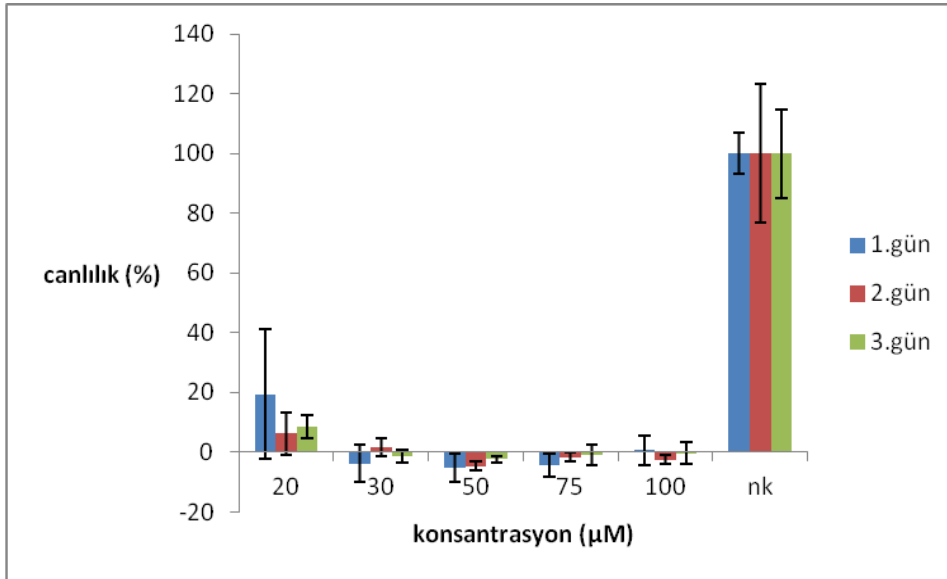
Şekil 4.8. 1.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



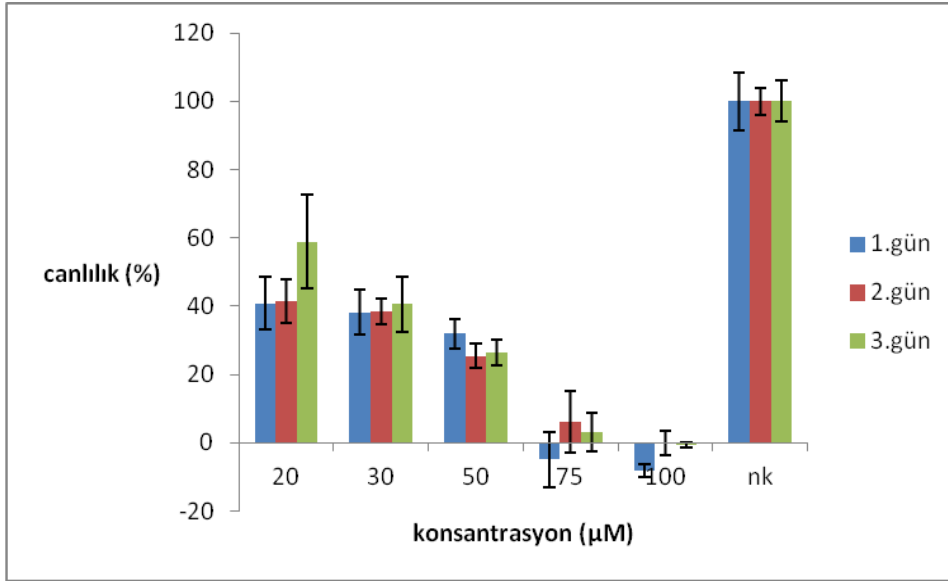
Şekil 4.9. 1.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



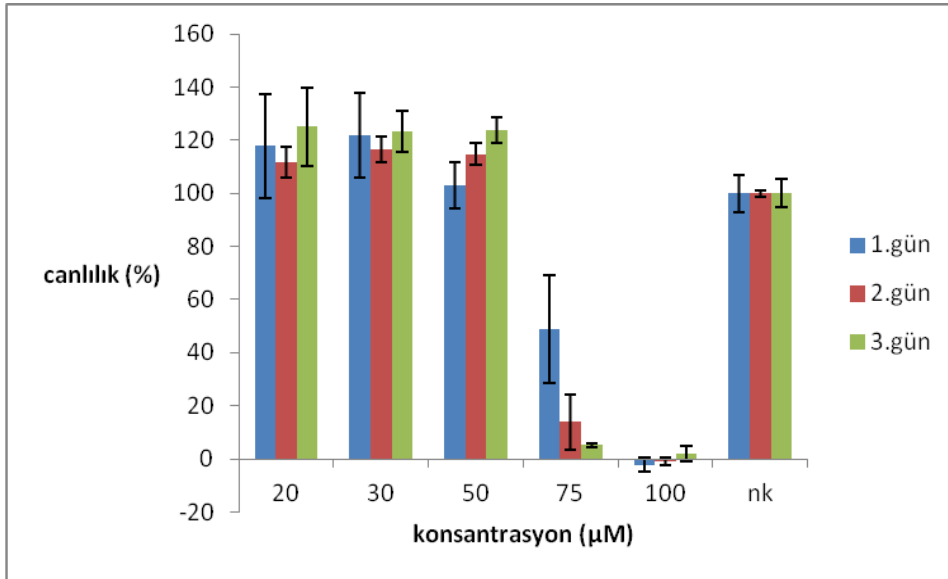
Şekil 4.10. 1.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



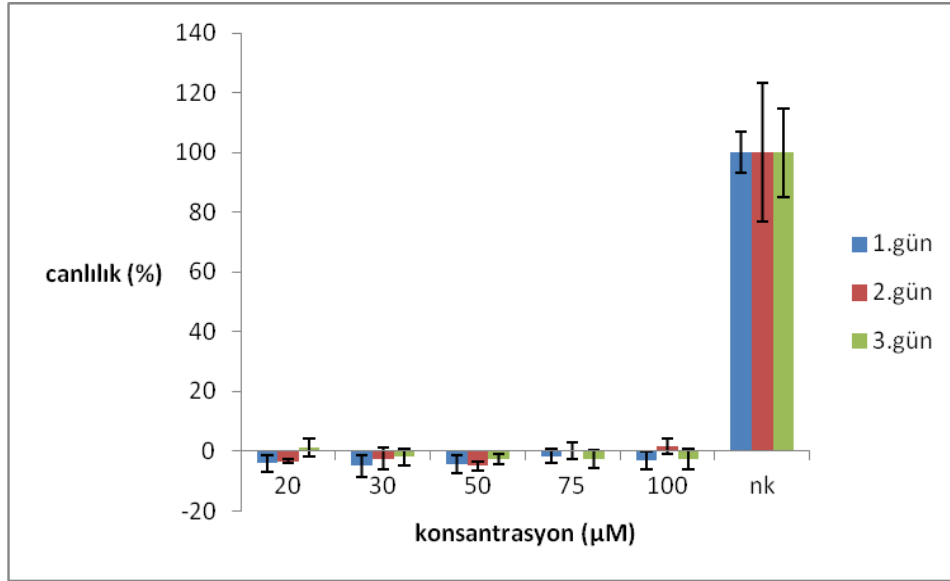
Şekil 4.11. 2.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



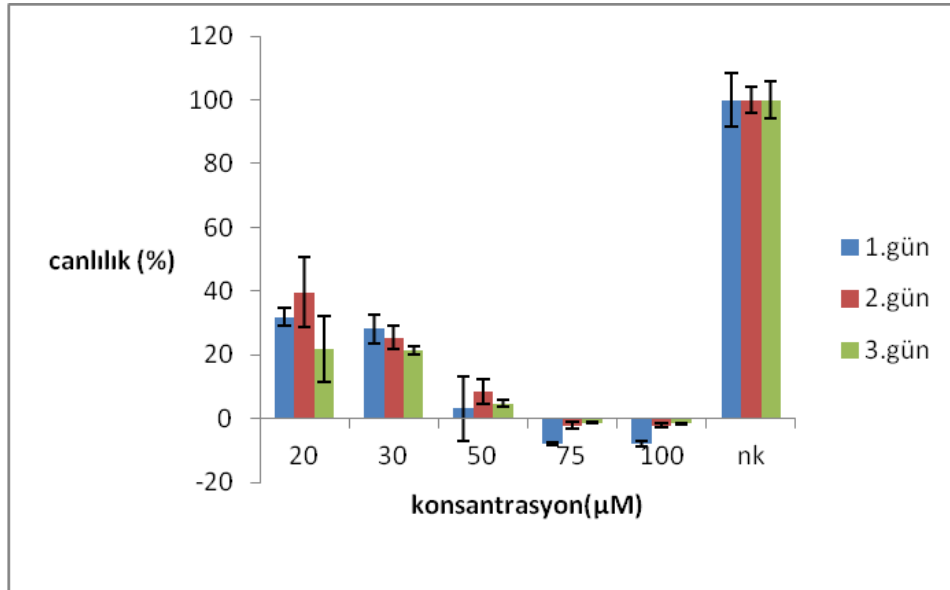
Şekil 4.12. 2.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



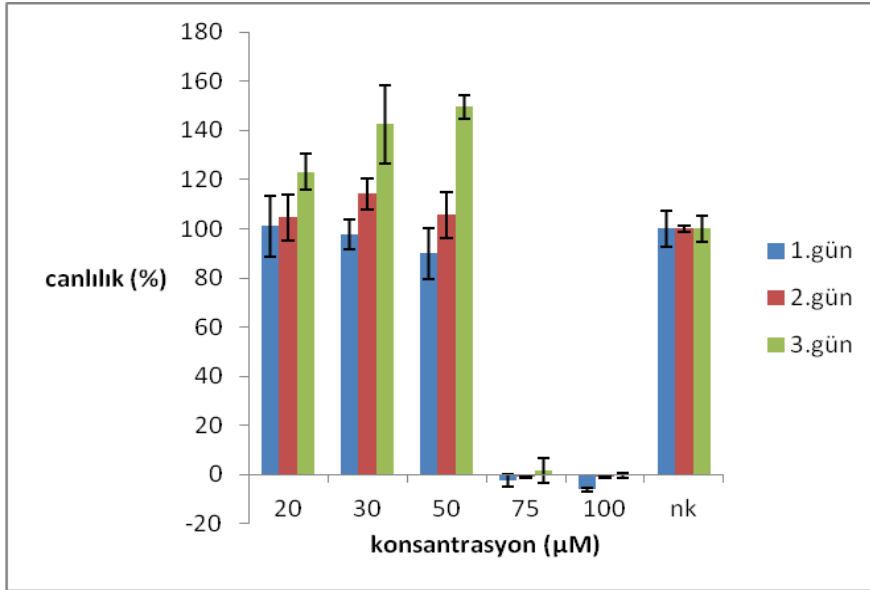
Şekil 4.13. 2.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



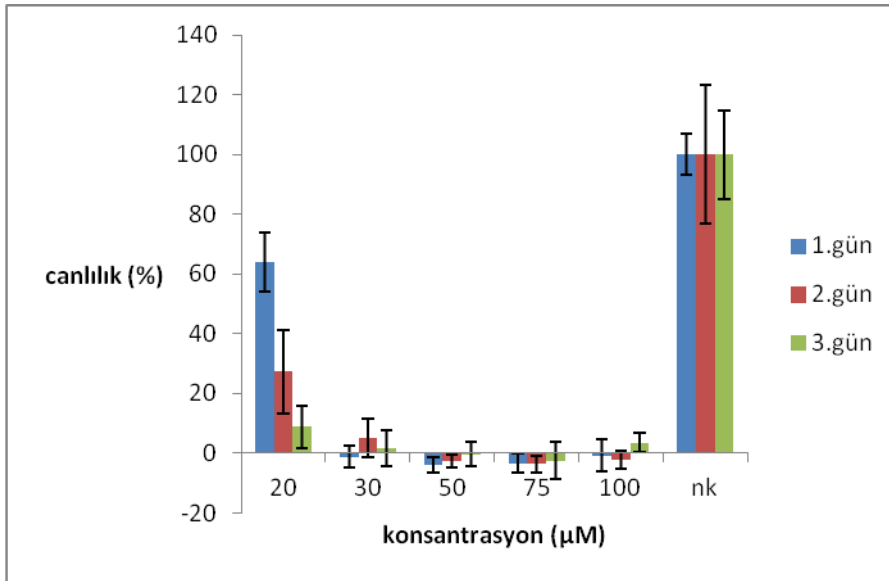
Şekil 4.14. 3.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



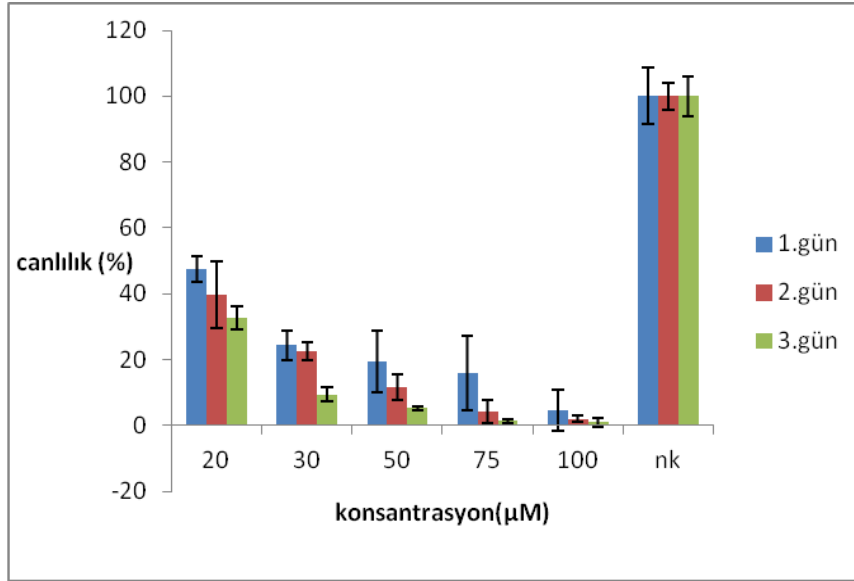
Şekil 4.15. 3.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



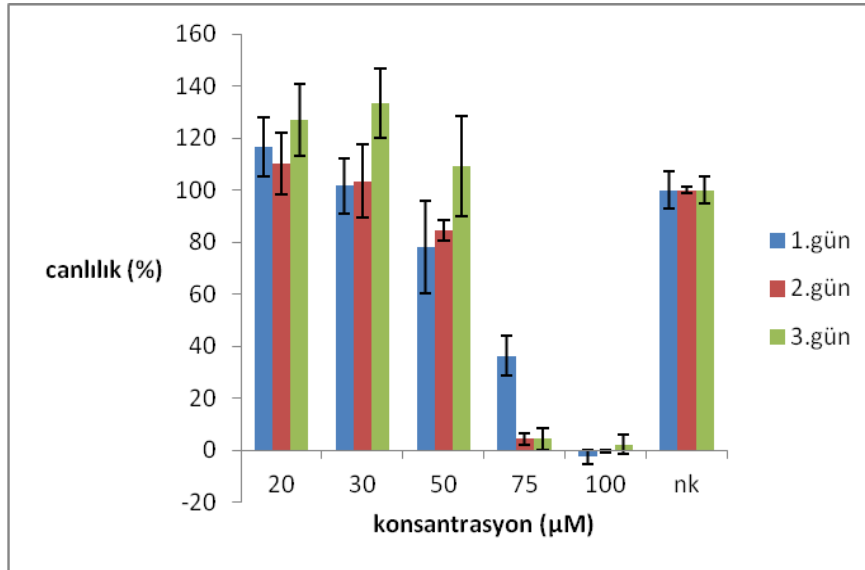
Şekil 4.16. 3.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



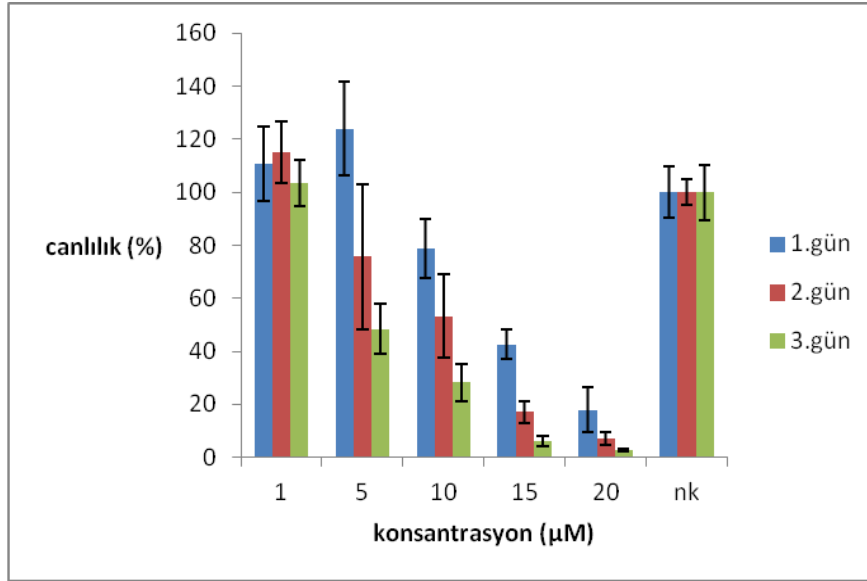
Şekil 4.17. 4. bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



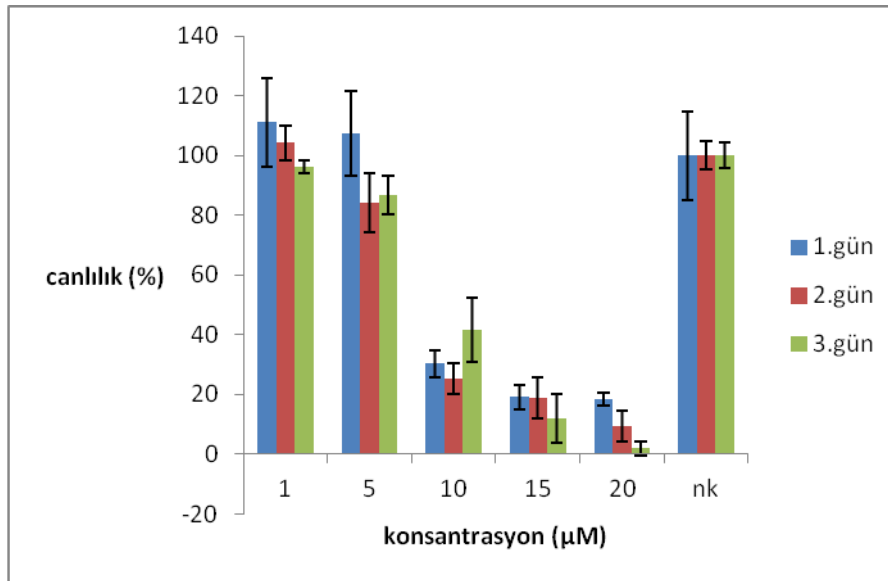
Şekil 4.18. 4. Bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



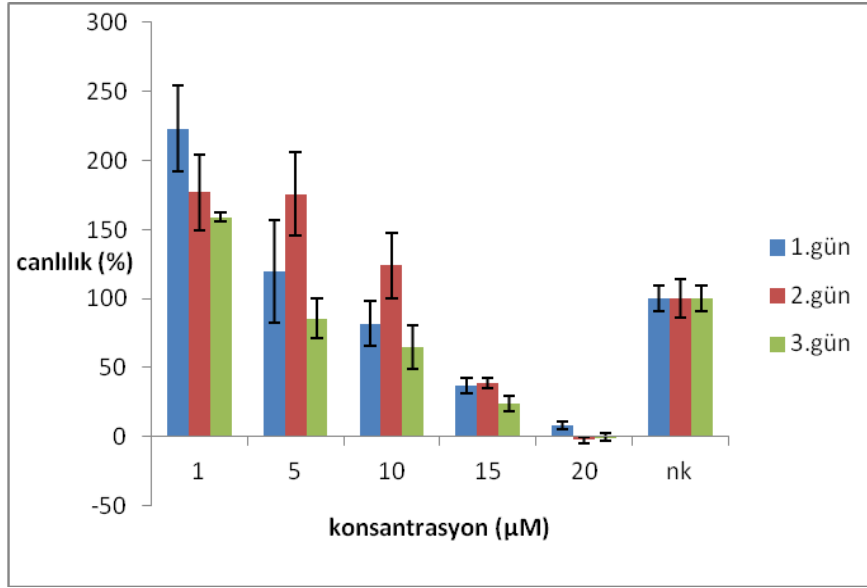
Şekil 4.19. 4.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



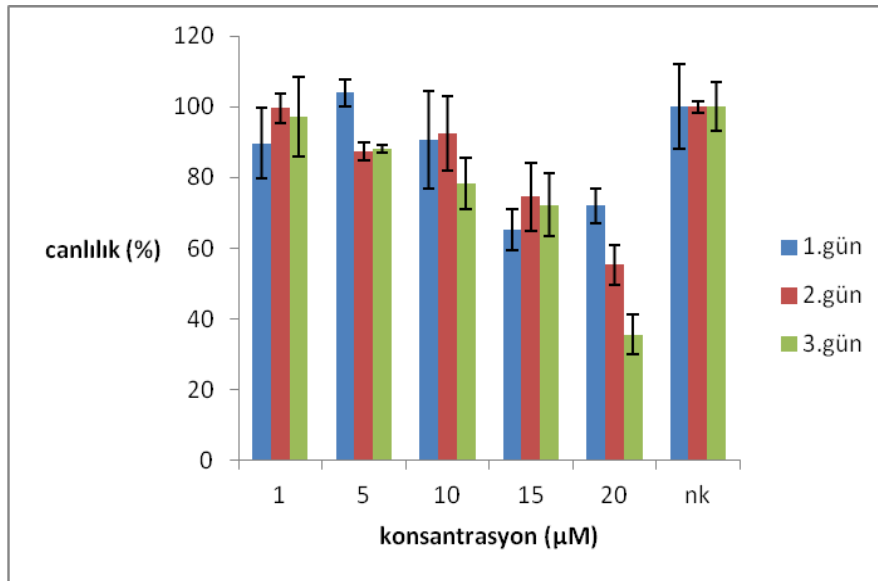
Şekil 4.20. 5.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



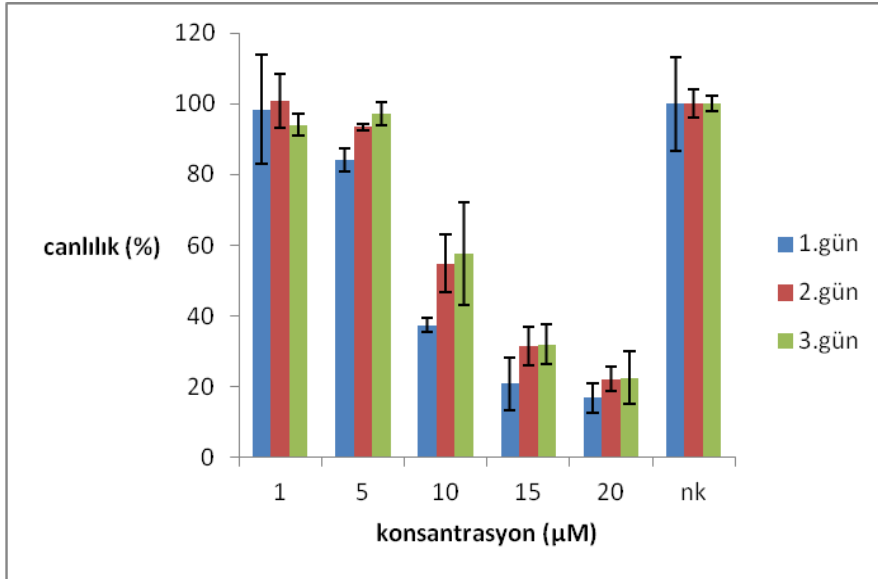
Şekil 4.21.5.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



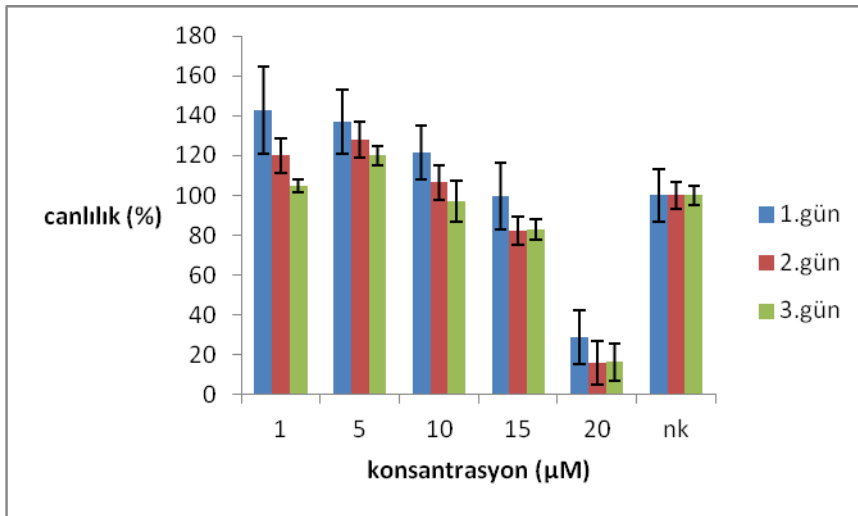
Şekil 4.22. 5.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



Şekil 4.23. 6.bileşiğin SHSY5Y üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



Şekil 4.24. 6.bileşiğin HEP3B üzerindeki etkisi; nk:negatif kontrol



Şekil 4.25. 6.bileşiğin HF üzerindeki etkisi; nk: negatif kontrol

4.3. Ag (I)-NHC komplekslerinin Antimikrobiyal Sonuçları

Sentezlenen Ag komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4.9. Ag-NHC Komplekslerinin Antimikrobiyal Aktivite Verileri ($\mu\text{g/ml}$)

Ag-NHC	E.coli	S.aureus	E.faecalis	P.aeruginosa	C.albicans	C.tropicalis
1.bileşik	50	50	25	25	25	25
2.bileşik	200	200	400	400	100	100
3.bileşik	50	50	50	50	50	25
4.bileşik	50	50	25	25	12.5	6.25
5.bileşik	25	25	25	25	12.5	12.5
6.bileşik	25	25	25	25	25	12.5
Ampisilin	3.12	3.12	1.56	-	-	-
Siprofloksasin	1.56	0.39	0.78	3.12	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	3.12	3.12

Bulunan sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

-Ag karben kompleksleri 12.5-400 $\mu\text{g/ml}$ aralığında MİK değerine sahiptir.

-4. kompleksinin mantarlara karşı daha etkili olduğu gözlenmiştir.

-Bileşiklerin antifungal etkileri antibakteriyel etkilerine göre daha yüksek bulunmuştur (12.5-100 $\mu\text{g/ml}$)

-3, 4 ve 6 nolu bileşiklerin *C.tropicalis*'e karşı etkileri *C.alibicans*'a göre daha fazladır.

-Antifungal etkileri açısından en etkili bileşikler 4, 5 ve 6 numaralı olanlardır.

-Antibakteriyel etkileri açısından en etkili bileşikler 5 ve 6 numaralı olanlardır.

5. TARTIŞMA

Kanser gerek neden olduğu can kayıpları, gerekse yaşam kalitesi ve iş gücü nedeni ile oldukça önemli morbidite ve mortalitesi yüksek endemik ve metastatik bir hastalıktır (4). Dünyada her yıl 11 milyon yeni hasta kanserle mücadele etmekte, bu sayı Türkiye’de yıllık 170 bin yeni vaka olmakta ve bu oran gün geçtikçe artmaktadır. Toplum sağlığı açısından bu nedenli önemli bir hastalığa karşı batı tıbbi ve doğu tıbbi sentetik ve doğal birçok ajanla tedavi protokolleri denemekte; ancak tam anlamı ile başarı sağlanamadığından konuyla ilgili çalışmalar dünya sağlığı açısından önemini korumakta hatta gün geçtikçe önemi artmaktadır.

Günümüze kadar metastatik hücre çoğalmasının önüne geçilmesi amacıyla gerek flavonoid, monoterpen, isoterpen, epotilonlar, takkalonoitler, alkaloitler gibi doğal bileşikler, gerekse de metal bileşikleri gibi sentetik bileşikler denenmiş ve bunlardan Vinkristin ve sislatingibi ilaca dönüşenler olmuştur (21). Ancak hali hazırda bulunan kemoterapotiklerin neden olduğu yan etkiler sebebi ile her geçen gün yeni bileşikler sentezlenerek daha aktif kanser ajanları bulunmaya çalışılmaktadır.

Karben bileşikleri nötral, metale iki elektron sunabilen, sert ve yumuşak metaller ile güçlü bağ oluşturabilen, sentezi, fonksiyonlaştırılması ve metale bağlanması fosfin ligantlarına göre daha kolay, güçlü ve kararlı bağları olan ligant özelliğine sahip bileşikler olup DNA’ya bağlanma ve kanserli hücrede DNA transkripsiyonunu durdurarak hücre ölümüne sebep olmaktadır(64). Antibakteriyel açıdan ise gümüş iyonlarının hücre yüzeyine bağlanarak, hücre duvarı sentezi için protein ve enzimlerin birbirleriyle etkileşmesinde rol oynadığı bilinmektedir (65). Yapılan çalışmalarda rutenyum, altın, palladyum gibi çeşitli karben bileşiklerinin sitotoksik etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir (7,66).

Günümüze kadar gümüş bileşiğinin çeşitli kompleksleri tıbbi açıdan incelenmiş olsada gümüşün düşük çözünürlüğü ve sentezlenmesindeki ekonomik maliyet tıbbi açıdan araştırılmasına engel olmuştur(67). Bu sebeple çalışmada yeni sentezlenmiş ve daha önce hiçbir farmakolojik aktivitesi tespit edilmemiş olan 6 adet gümüş karben bileşiğinin, HEP3B ve SHSY5Y hücre hatlarında, HF hücreleriyle karşılaştırmalı olarak sitotoksik aktiviteleri belirlendi. Ayrıca, mantar ve bakteri

suşları kullanılarak da antimikrobiyal aktivitelerinin tayini yapıldı. Literatür incelendiğinde antitümör aktivite çalışmalarının çoğunun imidazol ligandı içeren NHC kompleksleriyle yapıldığı, benzimidazol ligantıyla ilgili çalışmaların çok sınırlı sayıda olduğu görülmektedir(65,68). Farmakolojik, katalitik ve biyolojik açıdan aktif olan benzimidazol türevleri önemli sentetik bileşiklerdir. Ayrıca benzimidazol halkası üzerinde yapılan farklı süstitüsyonlarla pek çok değişik farmakolojik etkinin ortaya çıkabileceği bildirilmektedir (65). Bu nedenle yapılan çalışmada yeni benzimidazol türevleri sentezlenmiş ve sentezlenmiş olan benzimidazol türevleri denenmiştir.

Denenen altı adet gümüş NHC kompleksinin yan dallarına bağlı olan R (alkil) grupları birbirinden farklı tutuldu. Böyle bir farklılığın aktivitede değişiklik oluşturabileceği düşünüldü ve sonuçta gruptaki farklılığın etkide değişiklik oluşturduğu saptandı. Şöyleki, beyin kanseri hücre hatlarında en aktif olan bileşiğin en düşük konsantrasyon olan 15 μ Mda bile etkin olan 6 nolu bileşik olduğu belirlendi. Bununla birlikte diğer bileşiklerde daha yüksek konsantrasyonlarda beyin kanseri hücre hatlarında etki tespit edildi. Bu durum aktivite açısından benzen halkası üzerinde süstitüent bulunmasının gerekli olduğu ve benzen halkasının aktiviteyi artırdığını göstermektedir. Aynı zamanda süstitüent taşıyan benzen halkaları içinde de orto ve meta konumlarında süstitüent içermeyen türevlerin daha aktif olması(3 ve 6) ve tüm konumları dolu olan 5. numaralı bileşiğin ise inaktif olması, bileşiklerin kanser hücreleriyle etkileşmelerinin orto ve meta konumlarından gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Benzen halkası üzerinde para konumunda dallanmış alkil zinciri içeren 6 nolu bileşiğin en aktif bileşik olması dallanmanın da aktivite üzerinde etkili olabileceğini akla getirmektedir. Bunun aksine gümüş kompleksleri hazırlanan bileşiklerde halojen olarak brom veya klorün kullanılmasının aktivitede herhangi bir değişikliğe sebep olmadığı saptandı.

Tüm bu sonuçlara ek olarak 1,2,3 ve 4 numaralı bileşiklerinde SHSY5Y hücre hattında 50 μ M dozunda % 100'e varan hücre ölümlerine neden olduğu belirlendi. Aynı bileşiklerin 20 ve 30 μ M dozlarında da % 70 hücre ölümü yaptığı çalışma sonuçlarında görüldü. Anılan bileşiklerin beyin kanseri hücre hattındaki en etkin dozunun 50 μ M olduğu tespit edildi. Beyin kanseri hücre hattında gümüş, altın, rutenyum ve diğer metal kompleksleriyle ilgili yapılan antitümöral

çalışmaların literatürde var olduğu ancak, özellikle Ag-NHC bileşikleriyle ilgili beyin kanseri hücre hatlarında yapılan herhangi bir araştırmanın olmadığı bu nedenle çalışmanın sonuçlarının literatürde bir ilk olacağı görüldü.

Yapılan çalışmada HEP3B hücre hattında yeni sentezlenen Ag-NHC bileşiklerinin sitotoksik açıdan aktif olduğu ve kanserli hücrelerde ölüme sebebiyet verdiği belirlendi. Bu hücre hatlarında en aktif bileşiğin 4. bileşik olduğu ve 50 μM dozda hücrelerin % 95 inde ölüm oluşturduğu saptandı. Bununla birlikte diğer bileşiklerinde anlamlı düzeyde sitotoksik etki gösterdiği belirlendi. 4. bileşikten sonra en aktif bileşiklerin 1 ve 2 nolu bileşikler olduğu tespit edildi. Prateek ve arkadaşları (69) nikel ve çinko komplekslerini karaciğer kanseri hücre hattında 10 μM konsantrasyonda sitotoksik etkili olduğunu, göstermişlerdir. Ari ve arkadaşları tarafından platin ve paladyum metalleri, karaciğer kanseri hücre hatlarında daha yüksek konsantrasyon olan 200 μM da etkili olduğu tespit edildi (70). Literatürdeki bu sonuçlar yaptığımız çalışmayla paralellik göstermektedir. Şöyleki denediğimiz 15, 20 ve 50 μM dozların etkinliği yukarıdaki çalışmalarla örtüşmektedir. Karaciğer kanseri hücre hattında Ag-NHC bileşikleriyle ilgili çalışma bulunmaması çalışmamızın özgünlüğü pekiştirmektedir.

Metal karben bileşikleriyle ilgili farklı hücre hatlarında yapılmış çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalar yapılan çalışma ile genellikle paralellik göstermektedir. Muhammed ve arkadaşları, Ag-NHC komplekslerinin (HCT116) insan kolon kanseri hücre hattı ve (HL-60) lösemi hücre hattında 1.5 -100 μM konsantrasyon aralığında sitotoksik etkili olduğunu belirlemişlerdir (67). Aynı şekilde yapılan çalışmada da bileşiklere bağlanılan grupların, yerlerinin sitotoksisiteyi etkilediği tespit edildi. Beyin kanserli hücre hatlarında en etkin bileşik olan 6 nolu bileşiğin orto ve meta konumlarında, yan grupların bulunduğu ve etkinliğin böylece oluştuğu saptandı. Bu sonucu destekler şekilde Iqbal ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da, orto, meta ve para konumlarının sitotoksisiteyi düzenlediği belirlenmiştir (8). Tüm bu sonuçlar ışığında orto, meta ve para konumlarının biyolojik olarak bileşiğin aktivitesini artırdığını iddia edebiliriz.

Gümüş kompleksleriyle ilgili olarak, akciğer (A-549), göğüs (MCF-7), kolon (HCT-15), melanoma (A375), servikal (HeLa) kanser hücre hatlarında yapılan

çalışmada, bakır kompleksleri gümüş kompleksleri ile kıyaslanmış ve bakır komplekslerinin daha etkin olduğu saptanmıştır (7). Aynı çalışma Ag komplekslerinin standart olarak denenen, sisplatine göre daha etkin olduğunu da ortaya koymuştur. Sisplatine göre etkinlik çalışmamızla örtüşmektedir. Bakırın daha etkin bulunması tüm metallerin sitotoksik etkinliği mekanizması olan DNA'ya bağlanmayla ilgili olduğu ve bakırın DNA'ya, gümüşten daha iyi bağlanmasından dolayı bu sonucun çıktığı düşünülmektedir. Ancak gümüş komplekslerinin orto ve meta gruplarında değişiklik yapılmasıyla, gümüşün bakırdan etkili olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Bileşiklerin orto ve meta konumlarındaki değişiklik sitotoksisiteyi doğrudan etkilerken, bileşikteki simetri sitotoksik etkide herhangi bir değişiklik yapmamaktadır. Şöyleki Rosenani ve arkadaşları tarafından 2013 yılında benzimidazol grubu karbenlerin kolon kanseri hücre hatlarında etkili olduğunu ve bu bileşiklerin simetrik olanları ile simetrik olmayanlarının farklılık göstermediği belirlendi (65). Çalışmamızda 6 numaralı bileşiğinde 15 µM konsantrasyonda simetrik olmadığı halde en etkin bileşik olduğu saptandı ve simetrinin sitotoksik etkinlik açısından önemsiz olduğunu destekledi.

Yapılan çalışmalarda (65,71) sitotoksik etkili olan metal bileşiklerinin bu etkilerinin hücre içine metalin transferi sonrası, hücresel solunumun engellenmesi ile ilgili olduğu iddia edilmektedir. Sonuçlarımıza göre kanserli hücrelerin, sağlıklı hücrelere göre metal iyonlarından daha fazla etkilendiği tespit edildi. Bilindiği gibi kanserli hücrelerde mitoz bölünme ve metabolizma normal hücrelere göre daha hızlı olmaktadır. Bu nedenle kanserli hücrelerin hücre membran permeabilitesi sağlıklı hücrelere göre daha fazladır. Metal iyonları permeabilitesi artmış olan bu hücrelere daha kolay ve fazla girmekte, böylece sitotoksik etki oluşturmaktadır. Oluşan sitotoksik etkinin apoptotik olduğu ve düzenli hücre ölümüne sebebiyet verdiği düşünülmektedir. Che ve arkadaşları bu düşüncemizi destekler nitelikte olan ve altın bileşiklerinde yaptıkları çalışmada, altının antitümör aktivitesinin hücre proliferasyonu, tiyoredoksin redüktaz enziminin inhibe edilmesiyle oluştuğunu tespit etmişlerdir (71). Tiyoredoksin redüktaz enzimi tiyoredoksinin indirgenmesini katalizleyen bir flavoenzim olup, sitozol, mitokondri ve testiste bulunur. Adı geçen enzim DNA sentezi, antioksidatif savunma ve apoptozun düzenlenmesinde önemli

fonksiyonlara sahiptir. Che ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada bu enzimin değişimiyle altının apoptotik etkisi ilişkilendirilmiştir. Aynı şekilde Federico ve Arnaud karben bileşiklerinin hücrede mitokondri ve proteinleri etkileyerek kaspaz, tiyoredoksin redüktaz ve apoptozu tetikleyici faktörü, ROS'u ve mitokondriyel dış membran geçirgenliğini değiştirerek sitotoksik etki oluşturduğunu ortaya koymuşlardır (72).

Bununla birlikte hücrenin apoptoza gittiğini net olarak gösterebilmek için apoptotik gen ekspresyonlarının tespiti gerekmektedir. İleride gerçekleştireceğimiz çalışmalarda apoptotik gen düzeyleri tespit edilerek etki yolağı net bir şekilde ortaya konulmaya çalışılacaktır.

Çalışma sonuçları mikrobiyolojik açıdan değerlendirildiğinde Ag-NHC karben bileşiklerinin antimikrobiyal etkili olduğu belirlendi. Ag-NHC bileşiklerinin antibakteriyel ve antifungal etkileri *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* bakteri ve mantar türlerinde saptandı. Yapılan analizler sonucunda 4, 5 ve 6 numaralı Ag-NHC bileşiklerinin antifungal etkili olduğu, bununla birlikte 5 ve 6 numaralı bileşiklerin ise antibakteriyel etkinliğinin daha ön planda olduğu tespit edildi. Benzer şekilde gümüş ve diğer karben komplekslerinin antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğunu gösteren çalışmalar literatürde bulunmaktadır (73, 74). Şöyleki Almoliati ve arkadaşları Ag ve Ag-NHC komplekslerinin *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans* suşlarında antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Buna ilaveten Abdulkareem ve arkadaşları, imidazol grubu taşıyan gümüş karbenlerinde antimikrobiyal etkili olduğunu savunmuşlardır (74). Tarafımızca yapılan çalışmada Ag-NHC bileşikleri benzimidazol grubu taşımakta ve bu açıdan Abdulkareem ve arkadaşlarının çalışmasıyla farklılık arz etmektedir. Bu durum Ag bileşiklerinin antimikrobiyal etkisinin yan gruplarından kaynaklanmadığını, tamamen metalle ilgili olduğunu göstermektedir.

Etki mekanizması kesin olarak ortaya konulmamakla birlikte, Ag-NHC bileşiklerinin hücre duvarında bulunan tiyol (SH) gruplarıyla etkileştiği ve böylece solunum enzimlerini inhibe ederek mikroorganizmaları yok ettiği iddia edilmektedir

(75, 76). Aynı şekilde Liau ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada tiyol grubu içeren ve içermeyen aminoasitlere karşı, Ag iyonlarının bağlanma düzeyleri incelenmiş ve tiyol grubu içerenlere gümüş bileşiklerinin yüksek miktarda bağlandığı ortaya konmuştur (77). Bu durum Ag-NHC komplekslerinin tiyol grupları üzerinden hücre duvarındaki etki mekanizmasını açıklamaktadır.

Çalışmada yapılan tüm sonuçlar değerlendirildiğinde tarafımızca yeni sentezlenen benzimidazol grubu taşıyan Ag-NHC komplekslerinin beyin ve karaciğer kanseri hücre hattında güçlü antitümoral aktiviteye sahip olduğu, ayrıca güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği net bir şekilde ortaya konuldu. Mikrobiyolojik açıdan kimyasal yapıdaki yan dallar etkisizken, yan dalların sitotoksik açıdan büyük önem arz ettiği saptandı. Şöyleki, orto, meta konumlarında süstitüent taşıyan 3 ve 6 numaralı bileşiklerin kimyasal yapı nedeniyle en aktif bileşikler olduğu tespit edildi. Bununla birlikte bileşiklerin brom ve klor taşımasının aktiviteyi değiştirmedeği belirlendi. Sitotoksik etkinin etki şiddeti hariç dokuya özgü olmadığı, bileşiklerin hem karaciğer hem de beyin kanserli hücrelerinde etkili olduğu saptandı. Ancak bu etkinin beyin kanserli hücrelerde daha düşük konsantrasyonlarda açığa çıktığı görüldü. Bu özellikleri nedeniyle Ag-NHC bileşiklerinin insan sağlığında antimikrobiyal ve antineoplastik ilaç geliştirme çalışmalarında araştırılma potansiyelinin olduğu tarafımızca iddia edilmektedir. Bunun için anılan bileşiklerin daha fazla türevlendirilerek in vivo kanser modellerinde denenmesi gelecekteki çalışmalarımızın temelini oluşturacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada,

-Yapısı aydınlatılmış 6 adet gümüş karben kompleksinin beyin ve karaciğer kanserli hücre hatlarında, sağlıklı hücre hattıyla karşılaştırmalı olarak, mitokondriyal aktiviteye dayalı antikanser aktivitesi test edildi.

- Ag-NHC komplekslerinin antimikrobiyal aktivitesi test edildi.

-Yeni sentezlenen 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 numaralı Ag-NHC komplekslerinin antitümoral ve antimikrobiyal etki gösterdiği belirlendi.

Ayrıca;

- 1- Devam edecek çalışmalarda farklı grup bağlanmış gümüş karben kompleksleri, aynı hücre hatlarında ve farklı kanser hücre hatlarında denenecektir.
- 2- Etkili bileşikler bulunduğu in vivo kanser çalışmalarına gidilecektir.
- 3- Farklı grup bağlanmış gümüş karben komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri araştırılacaktır.

KAYNAKLAR

- 1- Çetingöz, R., Kentli, S., Uruk, Ö., Demirtaş, G., Eyiler, F., Kınay, M. (2002). Turkish People's Knowledge of Cancer and Attitudes Toward Prevention and Treatment. *Journal of Cancer Education*, 17, 55-58.
- 2- Turgay, A., Sarı, D., Türkistanlı, Ç. (2004). Knowledge, Attitudes, Risk Factors, and Early Detection of Cancer Relevant to the Schoolteachers in İzmir, Turkey. *Preventive Medicine*, 40, 636-641.
- 3- Tuncer, A. M. (2007). Kanserin Ülkemiz ve Dünyada Önemi, Hastalık Yükü ve Kanser Kontrol Politikaları. Çınide Tunçer, A. M. (Ed.), *Türkiye'de Kanser Kontrolü*. Ankara: T.C Sağlık Bakanlığı Yayınları No: 707.
- 4- Kutluk, T. ve Kars, A. (1994). *Kanser Konusunda Genel Bilgiler*. Ankara: Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları.
- 5- Özdemir, İ. (1995). Azot üzerinde işlevsel grup taşıyan tetraaminoalkenler ve bunlardan türeyen karbon kompleksleri. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi.
- 6- Iqbal, MA., Haque, RA., Budagumpi, S., Ahamed, MBK., Abdul Majid, AMSA (2013). Short metal-metal separations and in vitro anticancer studies of a new dinuclear silver (I)-N-heterocyclic carbene complex of para-xylyl-linked bis-benzimidazolium salt. *Inorganic Chemistry Communications*, 28, 64-69.
- 7- Santini, C., Pellei, M., Papini, G., Morresi, B., Galassi, R. ve diğerleri (2011). 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
- 8- Iqbal, M.A., Haque, RA., Nasri, SA., Majid, AA., Ahamed, MBK., Farsi, E., Fatima T (2013). Potential of silver against human colon cancer: (synthesis, characterization and crystal structures of xylyl (ortho, meta, & Para) linked bis-benzimidazolium salts and Ag(I)-NHC complexes: In vitro anticancer studies. *Chemistry central journal*, 7:27.
- 9- Pellei, M., Gandin, V., Marinelli, M., Marzano, C., Yousufuddin, M., Dias, HVR., Santini, C (2012). Synthesis and biological activity of ester- and Amide-Functionalized Imidazolium and related water-soluble coinage metal N-heterocyclic carbene complexes. *Inorganic Chemistry*, september 4.
- 10- Damek, DM., Hochberg, FH: Clinical aspects of brain tumor. *Current Opinion in Neurology* 1997;10:452-458
- 11- Bartek, J., Lukas, J (2007). DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation (DNA hasar kontrol noktaları: başlangıçtan iyileşmeye ya da adaptasyona). *Curr Opin Cell Biol*, 19: 238-245

- 12- Sant, M., Allemani, C., Berrino, F. (2004).Breast carcinoma survival in Europe and the United States. (Avrupa ve Birlesik Devletlerde meme karsinomunda hayatta kalma) *Cancer*, 100: 715-722.
- 13- Shyyan, R., Sener, SF., Anderson, BO. (2008). Guideline implementation for breast healthcare in lowincome and middle-income countries: Diagnosis resource allocation. (Düsük ve orta gelir grubu ülkelerde meme sağlığı hizmetlerinde kılavuz uygulaması: teshis kaynakları tahsisi).
- 14- Eniu, A., Carlson, RW., Aziz, Z.(2006). Breast cancer in limited-resource countries: treatment and allocation of resources. (Kaynakları kısıtlı ülkelerde meme kanseri: tedavi ve kaynakların tahsisi) *Breast J*,1: S38-S53
- 15- Tuncer, M. (2009).Türkiye’de kanser kontrolü. Ankara.
- 16- Öztürkcan, S., Yurtman, D. Güneş hasarı etki mekanizması. Celal Bayar Üniversitesi Tıp fakültesi dermatoloji anabilim dalı,117, Manisa.
- 17- Futreal, PA., Kasprzyk, A.(2001). Birney E.Mullikin JC. Wooster R. Stratton M. *Cancer and genomics. Nature*6822: 850-2
- 18- Williams, GM. (1985). Genotoxic and epigenetic carcinogens. In: Homburger F, ed. *Safety Evaluation and Regulation of Chemicals 2. Impact of Regulations-Improvement of Methods*. Basel: Karger. 251–6.
- 19- Casciato, DA., Lowitz, BB.(1988). *Manual of Clinical Oncology*, Little Brown and Company, Boston.
- 20- Dinçer, F. (1987). Necati Küçüksu. *Kanser Konusunda Genel Bilgiler. Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu yayınları*, Ankara.
- 21- Devita, VT., Hellman, S., Rosenberg, SA.(1989). *Cancer, Principles and Practice of Oncology*. JB Lippincott Co., Philadelphia.
- 22- Tannock, IF., Hill, Rp. (1987).*The Basic Science of Oncology*, Pergamon Press, Los Angeles.
- 23- Beytur, A., Tekin, S., Keleştimur, T., Ergin, Z., Sandal, S.(2011).Yeni sentezlenen bir tiyosemikarbazon türevinin prostat kanseri hücre kültürleri üzerine antikanserojenik özelliklerinin belirlenmesi:In Vitro Bir Çalışma. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi.
- 24- Clarke, M.J. (2003). Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coord. Chem, Rev.*,236, 209-233.
- 25- Williams, GM. (1992). DNA reactive and epigenetic carcinogens. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 44: 457–64.
- 26- Yokus, B., Akdag, M.Z., Dasdag, S., Cakir, D.U., Kizil, M.(2008). Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields Cause Oxidative DNA Damage in Rats. *International Journal of Radiation Biology*, 8 (10), 789-795.

- 27- Brody, EJ.(1988). The destructive potential of free oxygen radicals. International Herald Tribune, April 2 : p4 – 5.
- 28- Hassun, HM.(1983). Oxygen toxicity and mutagenesis in prokaryotes. In : Cohen G. Greenwald RA., eds. Oxy Radicals and Their Scavenger System. Vol. 1.: New York, Elsevier Biomedical, 198 - 206.
- 29- Delatre, JY., Kro, I G., Thaler, HT., Posner, JB. (1988). Distribution of brain metastases. Arch Neurol, 45:741-44.
- 30- Glauert, HP., Calfee-Mason, K., Stemm, DN., Tharappel, JC., Spear, BT.(2010) Dietary antioxidants in the prevention of hepatocarcinogenesis: A review. Mol Nutr Food Res, 54: 875 -896.
- 31- Parkin, DM., Bray, F., Ferlay, J., Pisani, P.(2005). Global cancer statistics. CA Cancer J Clin, 55: 74-108
- 32- El-Serag, HB., Mason, AC.(2000). Risk factors for the rising rates of primary liver cancer in the United States. Arch Intern Med, 160: 3227-3230.
- 33- Feitelson, MA., Sun, B., Satiroglu, NL., Liu, J., Pan, J., Lian, Z.(2002) Genetic mechanisms of hepatocarcinogenesis. Oncogene, 21: 2593-2604.
- 34- Jayakumar, S., Madankumar, A., Asokkumar, S., Raghunandhakumar, S., Gokula, D.K., Kamaraj, S., Josephine, DMG., Devaki, T. K.(2012). Potential preventive effect of carvacrol against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats. Mol Cell Biochem, 360: 51- 60.
- 35- Bosch, FX., Ribes, J., Diaz, M., Cleries, R.(2004). Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. Gastroenterology, 127 (5 suppl): s5-s16.
- 36- Naugler, WE., Sakurai, T., Kim, S., Maeda, S., Kim, K., Elsharkawy, AM., Karin, M.(2007). Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. Science , 317: 121-124.
- 37- El-Serag, HB., Mason, AC. (1999). Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. N Engl J Med, 340: 745 -750.
- 38- El-Serag, HB., Rudolph, KL. (2007). Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. Gastroenterology, 132: 2557-2576
- 39- Giridharan, L.M., Archana, PR., Shantikumar, N., Manzoor, K.(2014). Transferrin targeted core-shell nanomedicine for combinatorial delivery of Doxorubicin and Sorafenib against Hepatocellular carcinoma Nanomedicine. Nanotechnology, Biology and Medicine.
- 40- Sawaya, R., Alfred Yung, WK. (2007). Tumors Of The Brain And Spine, Springer, 2-21.

- 41- Jemal, A., Murray, T., Ward, E. (2005). Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 55:10–30.
- 42- Wrensch, M., Minn, Y., Chew, T., Bondy, M., Berger, MS. (2002). Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. *Neurooncology*, 4:278–299.
- 43- Bilir, N.(1985). Cancer Incidence Studies in Etimesgut and Çubuk Health Districts. *Kanser, Turkish Journal of Cancer* 15: 39:44.
- 44- Wanzlick, RW., Schoenberr, R.J. (1968). Direct synthesis of a mercury salt carbene complex, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, 7, 141-142.
- 45- Öfele, K. (1968). 1,3-Dimethyl-4-imidazolinylden-(2)-pentacarbonylchrom ein neuer übergangsmetall-carben-komplex, *J. Organomet. Chem*, 12, 42-43.
- 46- Lappert, MF. (1988). The coordination chemistry of electron rich alkenes (enetetramines), *J. Organomet. Chem.*, 358, 185-213.
- 47- Arduengo, AJ., Goerlich, JR., Marshall, WJ. (1995). A stable diaminocarbene, *J. Am. Chem. Soc*, 11027-11028.
- 48- Merlo, LM., Pepper, JW., Reid, BJ. (2006). Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature Reviews Cancer*, 6, 924-935.
- 49- Başak, N. (2010). Schiff Bazı Bakır-Mangan Kompleksinin Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Sitotoksitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
- 50- Seffrin, JR., Hill, D., Burkart, W., Magrath, I., Badwe, RA., Ngoma, T., Mohar, A., Grey, N.(2009). It Is Time to Include Cancer and Other Noncommunicable Diseases in the Millennium Development Goals, *CA Cancer J. Clin*, 59, 282–284.
- 51- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, YP., Xu, J. Q., Thun, MJ. (2009). Cancer Statistics, 20, 2009, *CA Cancer J. Clin*, 59, 225–249.
- 52- Smith, BD., Smith, GL., Hurria, A., Hortobagyi, GN., Buchholz, TA. (2009). Future of Cancer Incidence in the United States: Burdens Upon an Aging, Changing Nation. *J. Clin. Oncol*, 27, 2758– 2765.
- 53- Chen, YL., Lin, SZ., Chang, JY., Cheng, YL., Tsai, NM., Chen, SP., W.L. Chang, W.L., Harn, HJ. (2006). In vitro and in vivo studies of a novel potential anticancer agent of isochailulactone on human lung cancer A549 cells, *Biochem. Pharmacol*, 72, 308-319.
- 54- Sadler, P.J., Li, H., Sun, H. (1999). Coordination chemistry of metals in medicine: target sites for bismuth. *Coord Chem Rev*, 185-186, 689-709.

- 55- Ali, H., van Lier, J.E. (1999). Metal complexes as photo- and radiosensitizers. *Chem Rev*, 99, 2379-2450.
- 56- Louie, A.Y., Meade, T.J. (1999). Metal complexes as enzyme inhibitors. *Chem Rev*, 99, 2711-2734.
- 57- Volkert, W.A., Hoffman, T.J. (1999). Therapeutic radiopharmaceuticals. *Chem Rev.*, 99, 2269-2292.
- 58- Guo, Z., Sadle, P. J. (1999). Metals in Medicine. *Angew. Chem. Int. Ed*, 38, 1512-1531.
- 59- Pinto, H.M., Schornagel, J.H. (1996). Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy 2 (Eds.: H. M. Pinto, J. H. Schornagel). *Plenum*, New York.
- 60- Kim, H., Makin, I., Skiba, J., Ho, A., Housler, G., Stojadinovic, A., Izadjoo, M. (2014). Antibacterial efficacy testing of a bioelectric wound dressing against clinical wound pathogens. *Open Microbiol*, Feb 21;8:15-21. doi: 10.2174/1874285801408010015.
- 61- Keith, F.C. (1997). Colloidal Silver: The Hidden Truths.
- 62- Disaanayake DM, Faoagali J, Laroo H, Hancock G, Whitehouse M. Efficacy of some colloidal silver preparations and silver salts against *Proteus* bacteria, one possible cause of rheumatoid arthritis. (2014). *Inflammopharmacology*, Apr;22(2):73-7 doi: 10.1007/s10787-013-0198-0. Epub 2014 Jan 5.
- 63- Abbasoglu, U. (1996). Antimikrobiyal aktivite araştırma yöntemleri. *fabad j.pharm.sci.*22,111-8
- 64- Valentina, G., Maura, P., Marika, M., Cristina, M., Alessandro, D., Marco, G., Carlo, S. (2013). Synthesis and in vitro antitumor activity of water soluble sulfonate- and ester-functionalized silver(I) N-heterocyclic carbene complexes *Journal of Inorganic Biochemistry*, 129, 135–144.
- 65- Rosenani, A. H., Abbas, W.S., Srinivasa, B., Amirul, A.A., Zena, A., Abdul, H.A., Amin, M. S., Abdul, M. (2013). Silver(I)-N-heterocyclic carbene complexes of bis-imidazol-2-ylidenes having different aromatic-spacers: synthesis, crystal structure, and in vitro antimicrobial and anticancer studies. *Applied organometallic chemistry*, DOI 10.1002/aoc.3008.
- 66- Zhang, J., Li, Luwei., Ma, Lili., Zhang, F., Zhang, Z., Wang, S. (2011). Synthesis, characterization and cytotoxicity of mixed-ligand complexes of palladium (II) with 2,2-biquinoline/ 1,4-diaminobutane and 4-toluenesulfonyl-L-amino acid dianion. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46,5711-5716.

- 67- Muhammad, A.I., Rosenani, A.H., Srinivasa, B., Mohamed, BKA, Amin, M.S., Abdul, M. (2013). Short metal-metal separations and in vitro anticancer studies of a new dinuclear silver (I)-N-Heterocyclic carbene complex of para-xylyl-linked bis-benzimidazolium salt. *Inorganic Chemistry Communications*, 28-64-69.
- 68- Wojciech, S., Jennifer, Cassidy., Frauke, H., Helge, MB.,Francesca, P. (2014). Matthias Tacke Synthesis, cytotoxic and antibacterial studies of p-benzyl-substituted NHC silver(I) acetate compounds derived from 4,5-di-p-diisopropylphenyl-or 4,5-di-p-chlorophenyl-1H-imidazole. *Journal of Organometallic Chemistry*, 749, 88-99.
- 69- Prateek, T., Sulekh, C., B.S. Saraswat ,Prateek Tyagi, Sulekh Chandra, B.S. Saraswat. Ni(II) and Zn(II) complexes of 2-((thiophen-2-ylmethylene)amino)benzamide: Synthesis, spectroscopic characterization, thermal, DFT and anticancer activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 134 (2015) 200–209.
- 70- Ari, F., Aztopal, N., Iysel, C.,Yilmaz, V., Guney, E., Buyukgungor, O., Ulukaya, E.(2013).Synthesis, structural characterization and cell death-inducing effect of novel palladium(II) and platinum(II) saccharinate complexes with 2-(hydroxymethyl) pyridine and 2-(2-hydroxyethyl)pyridine on cancer cells in vitro. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21, 6427–6434.
- 71- Che, C., Zou, T. (2014). Novel gold(III) bis-azolatopyridine complexes containing N-heterocyclic carbene ligands, synthesis, and their applications in cancer treatment and thiol detection, *From PCT Int. Appl.*
- 72- Federico, C., Arnaud, G. (2013). Metal/N-Heterocyclic Carbene Complexes:Opportunities for the Development of Anticancer Metallodrugs. *Angewandte Highlights, Angew. Chem. Int*, 52, 11976 – 11978.
- 73- Almalioti, F., MacDougall, J., Hughes, S., Hasson, MM., Jenkins, RL., Ward, BD., Tizzard, GJ., Coles, SJ., Williams, DW., Bamford, S., Fallis, IA., Dervisi, A. (2013). Convenient syntheses of cyanuric chloride-derived NHC ligands, their Ag(I) and Au(I) complexes and antimicrobial activity. *Dalton Trans*, Sep 14;42(34):12370-80. doi: 10.1039/c3dt51400e. Epub 2013 Jul 16.
- 74- Abdulkareem, M., Ricahard, S.S., Amy, M., Francesco, P., Chrys, W., Claire, A.T., Wiley, J.Y.(2004). Formation of Water-Soluble Pincer Silver (I)-Carbene Complexes: A Novel Antimicrobial Agent. *J.Med.Chem*, 47,973-977.
- 75- Rai, M., Yadav, A., Gade, A. (2009). Silver Nanoparticles as a New Generation of Antimicrobials,*Biotechnology Advances*, 27, p. 76-83.

- 76- Bozoğlu, A., 2010, Türkiye’de Çıkan Doğal Zeolitin Bebek Bezlerinde Antimikrobiyal Madde olarak Kullanılması, Yüksek Lisans Tezi İstanbul Teknik Üniversitesi.
- 77- Liau, SY., Read,DC., Pugh, WJ., Furr, JR., Russell, AD. (1997). Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions. *Lett Appl Microbiol*, 1997 Oct;25(4):279-83.
- 78- Şahin, Z. (2014). Metal Katalizli Sübstitüye Amin Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.

EKLER**EK.1: Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge**

13 nisan 2013 tarih ve 28617 sayı ile T.C. Resmi Gazetede yayınlanan ‘Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik’ in Birinci Bölümünün 2. Maddesinin 1. Fıkrası (Bu Yönetmelik biyoyararlanım ve biyoeşdeğerlik çalışmaları dahil, ruhsat veya izin alınmış olsa dahi insanlar üzerinde yapılacak olan ilaç, tıbbi ve biyolojik ürünler ile bitkisel ürünlerin klinik araştırmaları, klinik araştırma yerlerini ve bu araştırmaları gerçekleştirecek gerçek veya tüzel kişileri kapsar.) gereğince tezimin bir klinik araştırma değil sadece laboratuvar çalışması olması sebebiyle Etik Kurul kararı alınmamıştır.

ÖZGEÇMİŞ

DÜZENLEME TARİHİ	: 10/12/2014
T.C. KİMLİK NO	: 21352592098
ADI SOYADI	: NEŞE BAŞAK
YAZIŞMA ADRESİ	: Gazipaşa mah.Şehit Ali Bakış sok.No:13 ORHANELİ/BURSA
DOĞUM TARİHİ ve YERİ	:27/07/1986 BURSA
TEL : 0 224 817 11 84	GSM: 0 534 222 95 72
E-POSTA :nesebasak86@hotmail.com	nesebasak86@gmail.com

EĞİTİM

ÖĞRENİM DÖNEMİ	DERECE	ÜNİVERSİTE	ÖĞRENİM ALANI
2001-2004	Lise-5.00	Türkan Sait Yılmaz Anadolu Lisesi/Orhaneli	SAYISAL
2004-2008	Lisans-3.68	Süleyman Demirel Üniversitesi/ISPARTA	KİMYA
2008-2010	Yüksek Lisans-3.95	Süleyman Demirel Üniversitesi	BİYOKİMYA
2012-	Yüksek lisans	İnönü Üniversitesi	F.Toksikoloji

Bildiriler:

1) Nese Basak, Mehmet Emir Yalvac, Ömer Faruk Bayrak, İsmail Özmen, Fikrettin Sahin. Potential of some Schiff Base Derivatives as Anti-Cancer Drugs.International

Symposium on Biotechnology, 27-30 September, Middle East Technical University, Ankara, Turkey, 2009.

2) N. Basak, M. E. Yalvac, Ö. F. Bayrak, B. Dede, F. Karipçin, S.Aydın, F. Sahin. Antikanser İlaç Olarak Bazı Schiff Baz Türevlerinin Potansiyeli 16.Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, Antalya, Türkiye, 2009.

3) Tugrak M., Gul H. I., Basak N., Gul M., Sahin F., Cytotoxicities of some 1-aryl-2-(4-methylpiperazine-1-yl-methyl)-2-propene-1-one dihydrochlorides against HEP-3B cells, International Symposium on Drug Research and Development "From Chemistry to Medicine" DRD 2011 and New Horizons and Job Opportunities for Young Scientists, Antalya, May 27-29, 2011

4)T.Sardohan, E.Kır, N.Başak, E.Karakurt, E. Alkan, "Preparation and Characterization of Conducting Polymer Based Composite Membranes",6. Aegean Analytical Chemistry Days, 9-12 October 2008. Denizli-TURKEY-İnternational

5) O.Çiftçi, N.Basak,M.Kaloğlu, F.Şahin,I.Özdemir, 'Potential of novel palladium (II) and silver (I) complexes as anti-cancer drugs on prostate cancer cell line', 5th International Congress on Nutrition and Cancer, September 9-11, 2012 Elazığ/Turkey.

6)Ayşegül Doğan, Neşe Başak, Dilek Telci, Bülent Dede' Erturul Kılıç, Kazım Şahin, Fikrettin Şahin 'Effect of Schiff base combination on liver cancer ' 38th FEBS Congress, Saint Petersburg, Russia, July 6–11, 2013,Volume 280, Pages 1–661.

7) Neşe Başak, Zeynel Şahin, Namık Öztanır, Nevin Gürbüz, Osman Çiftçi,İsmail özdemir,'yeni sentez gümüş, rutenyum ve platin-karben komplekslerinin beyin kanseri hücre hatlarında antikarsinojenik etki potansiyeli' IV.Ulusal veteriner farmakoloji ve toksikoloji Kongresi,Elazığ, 11-14 Eylül 2013

8) Recep Bentli, Osman Ciftci, Asli Cetin, Merve Unlu, Nese Basak, Mahmut Çay '2,3,7,8- Tetraklorodibenzo-p-dioksin (TCDD)' nin neden olduğu inflamatuvar sitokin oluşumu, oksidatif stress ve hepatoksisiteye karşı sitrus flavonlarından hesperidinin koruyucu etkileri' IV.Ulusal veteriner farmakoloji ve toksikoloji Kongresi,Elazığ, 11-14 Eylül 2013

9) M. Namik Oztanir, Osman Ciftci, Aslı Cetin, M.Akif Durak, Neşe Başak, Yener Akyuva. C57BL/J6 fare modelinde serebral iskemi /reperfüzyon modelinde 18b-glycyrrhetic acidin oksidatif ve nöronal hasarı iyileştirici etkileri.14 Eylül 2014 16.Ulusal Anatomi Kongresi Malatya/Türkiye

10) Osman Çiftci, Aslı Çetin, Neşe BAŞAK. Erkek Ratlarda Tiyoasetamide Bağlı Oluşan Üreme Sistemi Hasarına Karşı Krisinin Koruyucu Etkileri.14 Eylül 2014 16.Ulusal Anatomi Kongresi Malatya/Türkiye

11) Osman Çiftçi, Aslı Çetin, Neşe Başak. Ratlarda 2,3,7,8- tetraklorodibenzo-p-dioksin (TCDD) ile Oluşturulan Ovaryum ve Uterus Hasarı Üzerine Montelukastın Koruyucu Etkileri.14 Eylül 2014 16.Ulusal Anatomi Kongresi Malatya/Türkiye

12) Asli Cetin, Osman Çiftçi, Nese BAŞAK. Wistar Albino ratlarda tiyoasetamid ile indüklenen karaciğer hasarına karşı nerolidolün koruyucu etkileri.14 Eylül 2014 16.Ulusal Anatomi Kongresi Malatya/Türkiye

13) Zeynep Özdemir, Neşe Başak, Mehtap Uysal, Osman Çiftçi. Bazı Yeni 6-Sübstitüte-3(2H)-Piridazinon Türevlerinin Sentezleri ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması. 8. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi 4-6 Eylül 2014 Konya.

Yayınlar:

- 1- K. Sahin, M. Tuzcu, N. Basak, B. Caglayan, U. Kilic, F. Sahin, and O. Kucuk, 'Sensitization of Cervical Cancer Cells to Cisplatin by Genistein: The Role of NFκB and Akt/mTOR Signaling Pathways' Journal of Oncology Volume 2012, Article ID 461562, 6 pages. doi:10.1155/2012/461562
- 2- Mehtap Demirel, Bunyamin Aksakal and Nese Basak, pH-Effect on Sinterability, Mechanical Properties and Cytotoxicity of Hydroxyapatite-Based Bone Grafts Applied Mechanics and Materials Vol. 319 (2013) pp 134-139 (2013) Trans Tech Publications, Switzerland doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.319.134
- 3- Recep Bentli, Osman Çiftçi, Aslı Çetin, Merve Ünlü, Neşe Başak, Mahmut Çay, 'Oral administration of hesperidin, a citrus flavonone, in rats counteracts

the oxidative stress, the inflammatory cytokine production, and the hepatotoxicity induced by the ingestion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Eur.Cytokine Netw.* Vol.xx,2013,1-6.

- 4- Oztanir MN¹, Ciftci O, Cetin A, Durak MA, Basak N, Akyuva Y The beneficial effects of 18 β -glycyrrhetic acid following oxidative and neuronal damage in brain tissue caused by global cerebral ischemia/reperfusion in a C57BL/J6 mouse model. *Neurol Sci.* 2014 Feb 20. [Epub ahead of print]
- 5- Kaya K, Ciftci O, Cetin A, Doğan H, Başak N. Hesperidin protects testicular and spermatological damages induced by cisplatin in rats .*Andrologia.* 2014 Sep 13. doi: 10.1111/and.12332. [Epub ahead of print]