



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FENİL AZO GRUBU İÇEREN SCHIFF BAZI ve
BAKIR(II) KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ,
ANTİKANSER AKTİVİTELERİ**

SEVGİ KAHRAMAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2017

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FENİL AZO GRUBU İÇEREN SCHİFF BAZI ve
BAKIR(II) KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ,
ANTİKANSER AKTİVİTELERİ**

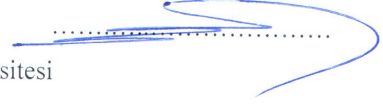
SEVGİ KAHRAMAN

**Bu tez,
Kimya Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.**

KAHRAMANMARAŞ 2017

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Sevgi KAHRAMAN tarafından hazırlanan “**FENİL AZO GRUBU İÇEREN SCHİFF BAZI ve BAKIR(II) KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ, ANTİKANSER AKTİVİTELERİ**” adlı bu tez, jürimiz tarafından 24/05/2017 tarihinde oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mükerrerem KURTOĞLU (DANIŞMAN)
Kimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi



Doç. Dr. Muhammet KÖSE (ÜYE)
Kimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

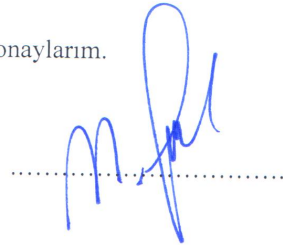
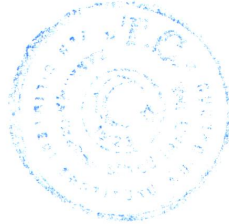


Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ (ÜYE)
Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep Üniversitesi



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Doç. Dr. Mustafa ŞEKKELİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sevgi KAHRAMAN



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**FENİL AZO GRUBU İÇEREN SCHİFF BAZI ve BAKIR(II) KOMPLEKSLERİNİN
SENTEZİ, ANTİKANSER AKTİVİTELERİ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

SEVGİ KAHRAMAN

ÖZET

Bu çalışma, yeni azo-azometin ligandlarının (2-{(E)-[(4-etilfenil)imino]metil}-4-[(E)-fenildiazenil]fenol, HL¹ ve 2-{(E)-[(3-etilfenil)imino]metil}-4-[(E)-fenildiazenil]fenol, HL²) ve bunların Cu(II) komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu ve antikanser özellikleri üzerinedir ([Cu(L¹)₂] and [Cu(L²)₂]). Ligandlar ve kompleksler elementel ve thermal analiz, IR, ¹H ve ¹³C NMR ve kütle gibi spektroskopik teknikler ile karakterize edildi. Ligandların moleküler yapıları X-ışınları kırınım analizi ile aydınlatıldı. Moleküler yapılar birbirine benzemekle beraber, etil gruplarının pozisyonu ve aromatik halkalar arasındaki dihedral açılar başlıca farklılıklardır. X-ışınları verileri hem HL¹ hem de HL² yapılarının katı fazda fenol-imin tautomer yapısında olduğunu göstermektedir. İnamoleküler fenol-imin hidrojen bağı (O1...N1) her iki bileşik için S(6) hidrojen bağ yapısı gözlemlendi. Her iki bileşiğin moleküler paketlenmesi π-π etkileşimleri ile belirlendi. Sentezlenen komplekslerin mononükleer yapıda olduğu ve ligandların iki fenolik oksijen ve azometin grubunun iki azotu ile Cu(II) iyonlarının koordinasyonu ile olduğu gözlemlendi. Sentezlenen ligandların ve Cu(II) komplekslerinin iki hücre hatlarına karşı (sağlıklı: HUVEC) ve beyin glioma (kanser: C6) biyolojik aktiviteleri değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler : Azo-azometin, Bakır(II) kompleksler, Kristal yapı, Antikanser aktivite

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Mayıs / 2017

Danışman: Prof. Dr. Mükerrrem KURTOĞLU

Sayfa sayısı: 56

**SYNTHESIS OF SCHIFF BASE CONTAINING PHENYL AZO GROUP AND
THEIR COPPER(II) COMPLEXES, ANTICANCER ACTIVITIES
(M.Sc. THESIS)**

SEVGİ KAHRAMAN

ABSTRACT

This study describes the synthesis, characterization and the anticancer properties of novel azo-azomethines (2-{(E)-[(4-ethylphenyl)imino]methyl}-4-[(E)-phenyldiazenyl]phenol, HL¹ and 2-{(E)-[(3-ethylphenyl)imino]methyl}-4-[(E)-phenyldiazenyl]phenol, HL² ligands) and their Cu(II) complexes ([Cu(L¹)₂] and [Cu(L²)₂]). The dyes and complexes were characterized by elemental and thermal analysis, spectroscopic techniques such as IR, ¹H and ¹³C NMR, and mass. Molecular structures of the ligands were examined by X-ray diffraction analysis. The molecular structures are mostly similar, differing mainly in the position of the ethyl group and dihedral angles between aromatic rings. X-ray data revealed that both HL¹ and HL² favor phenol-imine tautomer in the solid state. An intramolecular phenol-imine hydrogen bond (O1...N1) were observed in both compounds resulting in a S(6) hydrogen bonding motif. Molecular packing of both compounds are determined by π - π interactions. The synthesized complexes observed to be mononuclear and the coordination of the ligands to the Cu(II) ions occurs through two phenolic oxygens and two nitrogens of the azomethine group of the ligand. The synthesized ligands and their Cu(II) complexes are evaluated for their biological activities against two cell lines namely; human umbilical vein endothelial cells (healthy: HUVEC) and brain glioma (cancer: C6) cell lines.

Key words: Azo-azomethine, Copper(II) complexes, Crystal structure, Anticancer activity

University of Kahramanmaraş Sütçü İmam
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry, May / 2017

Supervisor: Prof. Dr. Mükerrrem KURTOĞLU

Page Numbers: 56

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin bütün aşamaları boyunca, büyük bir ilgi ve titizlikle çalışmalarımı yönlendiren her zaman destek veren danışmanım Sayın Prof.Dr. Mükerrerem Kurtoğlu'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın yapı analizlerini gerçekleştiren Sayın Doç.Dr. Muhammed Köse'ye, çalışmalarımın analizlerinde olanaklarından yararlanma imkanı veren Loughborough Üniversitesi'ne (İngiltere), bu üniversitede görev alan Prof.Dr. Vickie Mckee'ye ve çalışanlarına teşekkürlerimi borç bilirim.

Bu çalışmada sentezlenen maddelerin antikanser özelliklerini inceleyen Gaziantep Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Işık Didem Karagöz'e teşekkür ederim. Azo-azometin ligandlarının *Journal of Molecular Structure* dergisinde yayınlanması için katkılar sunan Cumhuriyet Üniversitesi öğretim elemanı sayın Ar.Gör.Dr. Koray Sayın ve Gaziantep Üniversitesi öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Huseyin Zengin'e teşekkür ederim.

Sosyal hayatımda ve akademik alanda, tezimin her safhasında yanımda olan bizzat ilgilenen ve çalışmalarına en büyük yardımda bulunan çok kıymetli sevgili eşim Gaziantep Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet KAHRAMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tüm okul hayatım boyunca her zaman destek olan aileme saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

SEVGİ KAHRAMAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Azo Bileşikleri	1
1.1.1. Azo bileşiklerinin sentezi.....	2
1.1.2. Diazonyum tuzunun oluşumu	2
1.1.3. Diazolama	3
1.1.4. Kenetleme	3
1.2. Azo Boyaları	4
1.3. Schiff Bazları	5
1.3.1. Schiff bazlarının özellikleri.....	7
1.3.2. Schiff bazı sentezi	8
1.3.3. Schiff bazlarının metal kompleksleri	8
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	10
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Kullanılan Kimyasallar	19
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	20
3.3. Metot	21
3.3.1. 2-hidroksi-5-[(<i>E</i>)-fenildiazenil]benzaldehyd sentezi (nx)	21

3.3.2. 4-((E)-fenildiazenil)-2-((E)-(4-etilfenilimin)metil)fenol (HL ¹) sentezi	23
3.3.3. 4-((E)-fenildiazenil)-2-((E)-(3-etilfenilimin)metil)fenol (HL ²) sentezi	24
3.3.4. HL ¹ ve HL ² 'nin bakır komplekslerinin sentezi	25
3.3.5. Sentezlenen bileşiklerin antikanser aktiviteleri	28
3.3.5.1. Hücre kültürü çalışmaları	28
3.3.5.2. Hücre soylarının yetiştirilmesi ve pasajlanması	29
3.3.5.3. Kullanılan besiyerinin hazırlanması	29
3.3.5.4. Hemositometre ile hücrelerin sayımı	29
3.3.5.5. MTT canlılık metodu	30
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	32
4.1. NMR Spektroskopisi	32
4.2. X-Işınları Yapısı	34
4.3. FT-IR Spektroskopisi	38
4.4. UV-Görünür Bölge Spektroskopisi	40
4.5. Kütle Spektroskopisi	43
4.6. Elementel Analiz	46
4.7. Termal Analiz	46
4.8. Antikanser Aktiviteleri	48
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Anilinin diazolanması.....	3
Şekil 1.2. Antikanser aktivite gösteren Schiff bazı kompleksi.	6
Şekil 1.3.Schiff bazı oluşumu.	8
Şekil 2.1. Sentezlenen azo içeren ligand ve metal komplekslerinin şematik gösterimi.	11
Şekil 2.2. Schiff bazı ligandları ve ligandların Co(II) ve Cu(II) kompleksleri.....	11
Şekil 2.3. Sentezlenen metal komplekslerin yapısı.....	13
Şekil 2.4. Sentezlenen metal komplekslerinin olası yapısı.....	13
Şekil 2.5. Sentezlenen komplekslerin olası yapısı.....	14
Şekil 2.6. Sentezlenen bakır kompleksinin kristal yapısı.	15
Şekil 2.7. Sentezlenen azo-azometin ligandı ve onun metal kompleksleri.....	15
Şekil 2.8. Mononükleer Cu(II) komplekslerin önerilen yapısı.	16
Şekil 2.9. Sentezlenen ligand ve onun metal kompleksleri.	17
Şekil 2.10. Mononükleer rutenyum(III) Schiff baz komplekslerinin yapıları.	17
Şekil 2.11. Schiff baz komplekslerinin sentezi ve yapıları.....	18
Şekil 3.1. Azo aldehit sentezinin şematik gösterimi.....	22
Şekil 3.2. HL ¹ ligandının sentezinin şematik gösterimi.	23
Şekil 3.3. HL ² ligandının sentezinin şematik gösterimi.	24
Şekil 3.4. Sentezlenen HL ¹ ligandın bakır kompleksinin olası yapısı.	26
Şekil 3.5. Sentezlenen HL ² ligandın bakır kompleksinin olası yapısı.	27
Şekil 3.6. MTT'nin reaksiyon şeması.	30
Şekil 4.1. HL ¹ ligandının ¹ H NMR spektrumu.....	32
Şekil 4.2. HL ¹ ligandının ¹³ C NMR spektrumu.....	33
Şekil 4.3. HL ¹ ve HL ² azo-azometin ligandlarının atom numarasıyla verilen moleküler yapıları.	35

Şekil 4.4. HL ¹ ligandının π - π istiflenme etkileşimleri.....	36
Şekil 4.5. HL ² ligandının π - π istiflenme etkileşimleri.....	37
Şekil 4.6. HL ¹ ligandının paketlenme diyagramı.....	37
Şekil 4.7. HL ² ligandının paketlenme diyagramı.....	38
Şekil 4.8. Nx, HL ¹ ve HL ² 'nin FT-IR spektrumları.	38
Şekil 4.9. Sentezlenen HL ¹ ligandının ve bakır kompleksinin FT-IR spektrumları.	39
Şekil 4.10. Sentezlenen HL ² ligandının ve bakır kompleksinin FT-IR spektrumları.	40
Şekil 4.11. Sentezlenen ligandların (HL ¹ ve HL ²) DMF içerisindeki absorbanz spektrumları.	41
Şekil 4.12. Sentezlenen HL ¹ ligandının ve bakır kompleksinin DMF içerisindeki absorbanz spektrumları.	42
Şekil 4.13. Sentezlenen HL ² ligandının ve bakır kompleksinin DMF içerisindeki absorbanz spektrumları.	42
Şekil 4.14. Sentezlenen ligandlardan (HL ¹ ve HL ²) elde edilen kütle spektrumları.	43
Şekil 4.15. HL ¹ ligandının olası kütle parçalanma ürünleri.....	44
Şekil 4.16. Sentezlenen bakır komplekslerinden elde edilen kütle spektrumları.	45
Şekil 4.17. Sentezlenen komplekslere ait TG/DTG grafikleri.....	47
Şekil 4.18. HL ¹ ligandı ile muamele edilen C6 ve HUVEC hücre hatları.....	48
Şekil 4.19. HL ² ligandı ile muamele edilen C6 ve HUVEC hücre hatları.....	49
Şekil 4.20. [Cu(L ¹) ₂] kompleksi ile muamele edilen C6 ve HUVEC hücre hatları.....	50
Şekil 4.21. [Cu(L ²) ₂] kompleksi ile muamele edilen C6 ve HUVEC hücre hatları.....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 4.1. HL ¹ ve HL ² için kristalografik veriler.....	34
Çizelge 4.2. HL ¹ ve HL ² için hidrojen bağ parametreleri (Å ve °)	35
Çizelge 4.3. Sentezlenen ligandların seçilen bağların uzunlukları ve açıları (Å ve °).....	36
Çizelge 4.4. Sentezlenen maddelerin elementel analiz sonuçları.	46



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

FT-IR	: Fourier Transform Infrared
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
XRD	: X-Ray Difraksiyonu
g	: Gram
mg	: Miligram
cm	: Santimetre
kg	: Kilogram
°C	: Santigrat derece
°	: Derece
Å	: Angstrom
L	: Litre
mL	: Mililitre
m	: Metre
µm	: Mikrometre
µM	: Mikromolar
nm	: Nanometre
mmol	: Milimol
Min	: Minimum
%	: Yüzde
ppm	: Milyonda bir
C	: Karbon
H	: Hidrojen
O	: Oksijen
N	: Azot

Cu	: Bakır
HL¹	: 2-{(E)-[(4-etilfenil)imino]metil}-4-[(E)-fenildiazenil]fenol
HL²	: 2-{(E)-[(3-etilfenil)imino]metil}-4-[(E)-fenildiazenil]fenol
[Cu(L¹)₂]	: Bis[4-((E)-fenildiazenil)-2-((E)-(4-etilfenilimin)metil)fenolato]bakır(II)
[Cu(L²)₂]	: Bis[4-((E)-fenildiazenil)-2-((E)-(3-etilfenilimin)metil)fenolato]bakır(II)



1. GİRİŞ

Azo bileşiklerine ve fizikokimyasal özellikleri geniş bir uygulama alanına sahip olan bu azo bileşiklerinin geçiş metal komplekslerine çok büyük ilgi vardır [Karipcin ve ark., 2010]. Azo bileşikleri çok eski ve en geniş endüstriyel alanda sentezlenen organik boyalardır. Kullanım alanlarından, tekstil iplerinin boyanmaları, biyomedikal çalışmalar, sentezlenen organik maddelerin ileri uygulamaları ve ileri teknolojik alanlar (lazerler, elektro-optik cihazlar ve yazıcılarda) bulunmaktadır. Azo boyalarının şu anki dünya çapındaki oranı yaklaşık 3000 kadardır. Bu bileşiklerin çoğu mono azo bileşiğidir [Odabaşoğlu ve ark., 2007]. Mono azo bileşikleri (R-N=N-R) iki aromatik halka içeren azo bileşiklerdir. Azo boyaların en büyük tüketicisi tekstil endüstrisidir. Fakat bazı azo boyaları toksik olduğundan yaklaşık 10 kadar azo bileşiğinin ilaç ve kozmetik sektöründe kullanılmasına izin verilmiştir [Marmion, 1991]. Azo bileşiklerinin ilaç endüstrisi için önemi literatürde yoğun bir şekilde yer almaktadır. [Garg ve Sharma, 1996]. Azo bileşiklerinin indirgenme-yükseltgenme özelliği olmasından dolayı biyolojik sistemlerde önemli rolleri vardır [Ravindranath ve ark., 1983]. Azo-azometinler olağanüstü boyama özelliklerine sahip olduklarından yünler, deriler ve sentetik kumaşların boyanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [Odabaşı ve ark., 2007].

Koordinasyon kimyasında ligand olarak kullanılan, azometin ($-CH=N$) grubu içeren ve genel olarak $R-CH=NR$ formülü ile gösterilen bileşiklere Schiff bazı denir. Schiff bazıları adını 1864 yılında bu bileşikleri ilk defa sentezleyen Schiff'den almıştır. Schiff bazıları aminotiyoller, o-aminofenoller, α -aminoasitler, aminoalkollere asetil aseton veya salisilaldehit katılmasıyla türetilebilir.

Yüksek Lisans kapsamında hazırlanan tezin bu kısmında azo, Schiff bazı ve azo-Schiff bazı hakkında bilgi verilmektedir.

1.1. Azo Bileşikleri

Molekül yapısında azo grubu ($-N=N-$) bulunan organik bileşikler azo bileşikleridir. Sanayi açısından büyük değer taşıyan ve ticari boyar maddelerin yarısından fazlasını oluşturan azo bileşiklerinde, azot atomlarına bağlı olan bu organik grup, benzen grubu ya da türevleri iken (aromatik azo bileşikleri) normalde bu azot atomlarına bağlı atom grupları herhangi bir organik sınıfta da olabilir.

Çoğu aromatik azo bileşikleri, diazonyum tuzu ile kolay ayrılabilen hidrojen atomları içeren bir organik bileşiğin tepkimelerinden elde edilir. Oksijen giderici ayıraçlarla nitrobenzeni işleyerek gerçekleştirilen azobenzen bileşimi de, bakışumlu azo bileşiklerinin üretiminde oldukça sık uygulanan yöntemin tipik bir örneğidir.

Genellikle hidrazinden (N_2H_4) üretilen ve yapısında $-HN-NH-$ grubu bulunan hidrazo bileşiklerinden hidrojenin giderilmesiyle, azot atomlarına bağlanmış alifatik organik gruplar içeren azo bileşikleri elde edilir. Isı etkisiyle azot ve serbest kökler halinde ayrışmaları alifatik azo bileşiklerinin önemli tepkimelerindendir ve bu kökler genellikle polimerleşme tepkimelerini başlatmakta kullanılır.

1.1.1. Azo bileşiklerinin sentezi

Azo bileşiklerinin elde edilmesinde en önemli yöntem, diazolan aromatik aminlerin kenetlenme tepkimeleridir. Bazı az sayıda azo bileşiklerinin sentezinde başka yöntemler kullanılır. Bu bölümde diazolama ve kenetlenme tepkimelerine ilişkin bilgiler verilmektedir.

1.1.2. Diazonyum tuzunun oluşumu

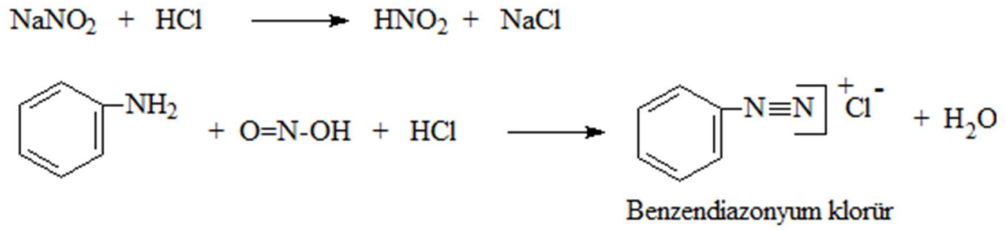
İlk defa diazolama reaksiyonu 1858 yılında Peter Griess tarafından gerçekleştirilmiştir. Yine Peter Griess tarafından 1876 yılında diazolama reaksiyonu azo bileşik kimyasında naftalin türevlerinin sentezinde uygulanmıştır. Bir hidrojenin yerinde, aromatik bir sistemde azotlar arasında üçlü bağa sahip fonksiyonel grup ($-N\equiv NX$) içeren bileşiklere diazonyum tuzları denir. Bu diazonyum tuzlarının adlandırılmasında önce amino grubunun bağlandığı hidrokarbonun adı, sonra diazonyum kelimesi en sonunda da anyon söylenir. Örnek olarak Benzen diazonyum klorür: $C_6H_5-N_2Cl$ adlandırılması verilebilir. Diazonyum bileşiklerinin anyon kısımları renksiz olduğunda diazonyum tuzları renksizdir. Çözeltinin pH'sına bağlı olarak aromatik diazonyum tuzlarının yapısı değişir.

Diazonyum tuzları hazırlanırken, önce amin 2.5-3 kat fazla (genellikle HCl veya H_2SO_4 kullanılır) asitte çözülür ve $0\text{ }^\circ C$ 'ye kadar soğutulur. Bu çözeltiliye sürekli karıştırılarak $NaNO_2$ 'in derişik ve soğuk çözeltisi damla damla ilave edilir. Gerçekleşen reaksiyon ekzotermik bir reaksiyondur. Elde edilen diazonyum katyonunun bozunmaması için sıcaklık $5\text{ }^\circ C$ 'nin üzerine çıkmamalıdır. $NaNO_2$ 'in damlatma hızı ortam sıcaklığına göre ayarlanır.

Diazolama işleminde iki eşdeğer gram asit alınmalıdır. Biri aromatik amin ile tuz meydana getirirken, ikincisi NaNO_2 'den nitroz asit oluşturur. Sentez yapılırken, 2,5-3 kat fazla asit alınmasının sebebi, reaksiyon sonuna doğru çözeltinin nötralliğe yaklaşarak, henüz reaksiyona girmemiş olan aminin kenetlenme reaksiyonu vermesini önleyebilmektir [Zollinger, 1961].

1.1.3. Diazolama

Azo bileşiklerinin sentezinde iki tepkime basamağının birincisini, primer aromatik aminin diazolanması oluşturur. Bu birincil aromatik aminin sulu çözeltisi, 0-5 °C'de bir asit varlığında NaNO_2 ile diazonyum iyonuna dönüşür (Şekil 1.1). Tepkime oluşması için en az 2,5 eşdeğer gram mineral asit gerekmektedir. Bu, tepkime mekanizmasının çeşitli asit-baz dengelerinden kaynaklanmaktadır. Zayıf bazik aminlerin diazolanma işlemlerinde daha derişik asitler kullanılır. 1958 yılında Huges tarafından aromatik aminlerin diazolama tepkimelerinin mekanizması aydınlatılmıştır. Diazolama tepkimelerinde temel basamak aminin nitrozolanmasıdır. Bu basamakta ikincil alifatik ya da aromatik aminlerle tepkime durur. Birincil aminlerle, oluşan nitrozaminler hızla diazonyum iyonuna dönüşür. Ortamın asitliğine bağlı olarak nitrozolama türü değişir. Protonlanan nitroz asitten, sadece derişik H_2SO_4 gibi çok kuvvetli asidik ortamda nitrozyum katyonu (NO^+) oluşur.



Şekil 1.1. Anilin diazolanması.

1.1.4. Kenetleme

Azo kenetlenme tepkimeleri, diazonyum katyonlarının bir nükleofilik substratla verdiği aromatik yer değiştirme tepkimeleridir. Kenetlenme bileşeni nükleofilik substrattır. Diazonyum katyonları göreceli olarak zayıf elektrofiller olduğundan $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$ gibi elektron veren grupları içeren aromatik bileşikler kenetlenme bileşenleri olarak kullanılırlar. Azo kenetlenme tepkimelerinde sadece diazo bileşiklerinin dengesi değil kenetlenme bileşenlerinin de dengeleri dikkate alınmalıdır. Fenolat iyonu ve serbest

aminin, fenol ve amonyum iyonundan daha hızlı tepkime vermesi, bazlık arttıkça nükleofilik substratın etkinliğinin artmasından kaynaklanır. Ortamın pH'sı daha da etkin türlerin oluşumunu etkiler.

Kenetlenme tepkimeleri, kenetlenme bileşeni ile diazonyum iyonuna göre fenolat anyonu, enolat anyonu veya aromatik amin yönüne doğru olmalıdır. Aromatik aminler için ortam pH aralığı 4-9 arası, enoller için ortam pH aralığı 7-9, fenoller için ise ortam pH aralığı 9 civarındadır [Zollinger, 1991]. Bu kenetlenme mekanizması, ilk kez 1955 yılında Zollinger tarafından bir seri azo kenetlenme tepkimelerinin kinetik araştırmalarıyla doğrulanmıştır.

1.2. Azo Boyaları

Azo boyar maddeler olarak da bilinen azo boyaları, molekül yapılarında azo kromofor grubu ($-N=N-$) içeren, birleşim yoluyla üretilmiş (sentetik) organik boyar maddeler sınıfıdır. Sanayi endüstrisinde kullanılan boyar maddelerin çoğu bu sınıfa girmektedir. Boyar maddeler, kimyasal özelliklerine bağlı olarak en iyi sonucun alındığı elyafın cinsine ve uygulama işlemine göre çeşitli gruplara ayrılır.

Azo boyalarıyla pamuk boyanmasında kullanılan eski yöntem, birbirleriyle tepkimeye girerek, boyar maddenin elyafın içinde veya yüzeyinde tutunmasını sağlayacak olan iki kimyasal bileşenli çözeltinin art arda birkaç kez elyafa uygulanmasına dayanır. Primulin kırmızısı, geliştirilen boyalar grubunun en iyisi olarak 1880'lerde piyasaya sürülmüştür.

Uygulama olarak en basit grup, süstantif boyalar olarak bilinen azo boyalarıdır. Bu boyaların bileşiminde bulunan ve suda çözünmelerini sağlayan kimyasal grupların varlığı, çözelti içindeki boyar maddenin pamuk tarafından kolayca emilimini sağlar. Kongo kırmızısı süstantif boyaların ilk örneğidir ve bir zamanlar çok kullanılmış sonradan yerini, asitlerden etkilenmeyen ve kolay solmayan diğer boyalara bırakmıştır.

Yün ve ipekte iyi sonuç veren asit azo boyaları temel olarak süstantif boyalar gibi uygulanır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan, ilk kez 1884'te bulunan tartrazin sarı renkte bir asit azo boyasıdır.

Diğer azo boyalar, metal iyonlarını bağlayan kimyasal gruplar içerir. Azo boyalarla kullanılan çeşitli metal tuzları arasında en yaygını krom ve bakır tuzlarıdır; çoğu kez metal

iyonu da lifle birleşerek boyanın yıkanmaya karşı olan direncini (sabitliğini) artırır. Fakat, metal tuzlarının varlığı bazen rengin tonunu büyük ölçüde değiştirir.

Tekne boyaları olarak bilinen antrakinon ile dağılımlı boyalardan bazıları da azo bileşikleridir. Bu dağılımlı boyalar suda çözünmez, ancak sabunlu suda asıltı oluşturabilir. Asıltı halde bulunan boyar madde de selüloz asetat liflerinin yüzeyinde tutunabilir [http://www.eokul-meb.com/azo-boyalari-nedir-ozellikleri-38165/].

1.3. Schiff Bazları

Schiff tarafından ilk kez 1864'te bir primer amin ($R-NH_2$) ve bir aktif karbonil (CHO veya (RCOR) grubunun kondenzasyonundan meydana gelen ve azometin grubu içeren bileşiklere "Schiff Bazları" denir [Orgel, 1960]. 1831 yılında ilk defa Pfeiffer ve arkadaşları tarafından, içinde azometin grubu bulunan bu tür bileşikler ligand olarak kullanılmıştır. Bu grup, farklı Schiff bazı yapısında ligandlar ve bu ligandların bakır komplekslerini elde etmeyi başarmışlardır.

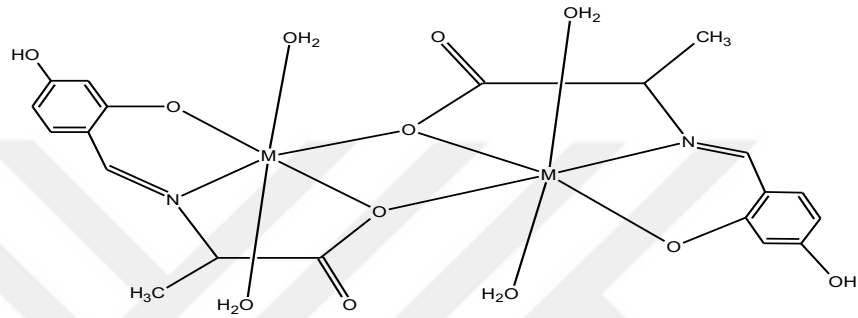
Schiff bazları iyi bir azot donör ligandı ($-C=N-$) olarak da bilinmektedirler. Bu ligandlar, koordinasyon bileşikler oluştururken metal iyonuna bir veya daha çok elektron çifti vermektedirler. Azometin grubuna oldukça yakın, yer değiştirebilir hidrojen atomuna sahip ikinci bir fonksiyonel grubun bulunmasıyla schiff bazları kararlı 4, 5 ya da 6 halkalı kompleksler oluşturabilirler. Schiff bazı oluşum tepkimesi kondenzasyon (nükleofil katılma-ayrılma) tepkimesidir ve fonksiyonel grup tercihen hidroksil ($-OH$) grubudur.

Birçok bilim adamı çeşitli metal kompleksleri elde etmek için koordinasyon bileşiklerinin sentezinde schiff bazlarını ligand olarak kullanmışlardır. Bunlardan oluşturulan ve boya endüstrisinde özellikle tekstil boyanmasında pigment olarak kullanılan metal kompleksleri, schiff bazlarının yapılarında bulunan gruplardan dolayı renkli maddelerdir. Tıp dünyasında da önemi giderek artan schiff bazı komplekslerinin antikanser aktivitesi göstermesi ve kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılması araştırılmaktadır [Scovill ve ark., 1982; West ve Pannell, 1989].

Schiff bazları ve onların metal kompleksleri ile ilgili bugüne kadar olan sürede birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda kompleks bileşiklerin, endüstriyel ve biyolojik önemde oldukları belirlenmiştir [Çelikel ve Sönmez, 2009; Castamagna, 1998]. Geçiş metal iyonlarının koordinasyon yapılarını anlamada schiff bazlarının ve metal komplekslerinin önemli rolleri vardır [Çelik ve ark., 2002]. Üzerinde çalışılan Schiff bazları ve metal kompleksleri sentezleriyle oluşan yapılarda antibakteriyel, analjezik, antifungal,

antikanser, anti-inflamatuar, anti-HIV, anti-candida (bir mantar çeşidi), antimalaryal, ülserojenik, iletkenlik vs. gibi özellikler görülmesi Schiff bazları ve metal kompleksleriyle olan çalışmalarını daha da artırmaktadır [Nirmal ve ark., 2010; Patil ve ark., 2010; Pandeya ve ark., 1999]

Antikanser aktivitesi göstermelerinden dolayı schiff bazı komplekslerinin tıp dünyasındaki önemi gittikçe artmaktadır ve kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılması araştırılmaktadır [West ve ark., 1989]. Aşağıda verilen koordinasyon bileşikler, Schiff bazı grubu koordinasyon bileşiklerine örnek verilebilir. (Şekil 1.2)



Şekil 1.2. Antikanser aktivite gösteren Schiff bazı kompleksi.

Koordinasyon bileşikler biyolojik sistemlerde büyük bir öneme sahiptir. Biyolojik olarak hemoglobin ve klorofil örneklendirilebilir. Hemoglobinin oksijen taşınmasındaki fonksiyonu ve klorofilin yeşil bitkilerdeki oksijen üretimindeki fonksiyonunun ciddi önem taşıdığı bilinmektedir. Hemoglobinde bulunan Fe^{2+} iyonu porfirin ile kompleks oluşturur [Keskin, 1975].

Schiff bazları oldukça geniş çalışma alanlarına sahiptir. Schiff bazı bileşiklerinin metal kompleksleri renkli olduğundan, boya sanayisinde özellikle tekstil boyanması uygulamalarında pigment boyar maddesi olarak kullanılmaktadır [Serin ve Gök, 1988].

Geçiş metallerinin çoğu ile kolay ve kararlı kompleksler oluşturabilen schiff bazları ligand oluşumu ve çeşitli yönlülüğünden dolayı yaygın kullanılan ligandlardır. Koordinasyon kimyasının gelişmesinde bu ligandların önemli bir yeri vardır. Bazı biyoinorganik kimya, kataliz ve mıknatıs kimyası içeren disiplinler arası bir dizi potansiyel ilgidenden dolayı, schiff bazı metal kompleksleri geniş bir yer tutar.

Kimya endüstrisinde schiff bazı bileşiklerine olan ilginin artması ve bunların geniş uygulama alanına sahip olması, schiff bazları ile 3d metal komplekslerinin ayrıntılı bir

şekilde araştırılmasına neden olmuştur. Amino asitlerin sentezinde katalizör olarak kullanılan malzemeler, bu komplekslerin kendilerine has olan manyetik özellikleri ile maddelerin oluşması için başlangıç olarak foto ve elektro malzemelerdir. Çeşitli fiziksel metotlarla ulaşılan sonuçların bu bileşiklerin çalışılmasında faydalı kimyasal, fiziksel ve biyolojik farklılıkları ile yeni materyaller aramaya uygun hale gelmiştir. Oluşan bu Schiff bazı komplekslerinin özellikleri metal, ligand cinsine ve ikisinin konformasyonel özelliklerine bağlı olduğu belirtilmiştir [Tverdova ve ark., 2012].

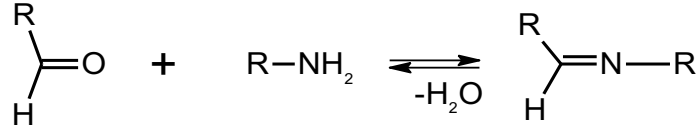
Aromatik Schiff bazı ve bu Schiff bazlarının metal kompleksleri katalizör reaksiyonlarının oksidasyon, hidrojenerasyon, elektro dönüşüm ve ayrışma reaksiyonudur. Dört koordineli Co(II) Schiff bazı şelat kompleksi alkenlerin oksidasyonu ile katalitik aktivasyon göstermektedir. Basit bir bakır kompleksine göre, bazı amino asitler ile türetilen bir bakır kompleksi hidroliz hızını daha fazla arttırmaktadır. Karışık sentetik demir Schiff bazı oksijenin elektro-dönüşümüne karşı katalitik aktivite gösterir. Bir polimere bağlı Schiff bazı ve onun bazı metal kompleksleri askorbik asit ve hidrojen peroksit üzerinde oksidasyon bozunma katalitik aktivite gösterirler.

Koordinasyon bileşiklerinin, günümüzde endüstride ve biyolojik sistemlerdeki önemi giderek artış göstermektedir. Schiff bazlarının boya endüstrisinde özellikle tekstil boyacılığında pigment boyar madde olarak kullanılması, Schiff bazlarının yapılarındaki gruplarından elde edilen metal komplekslerinin renkli maddeler olduklarından kaynaklanmaktadır [Zishen, 1990]. Bunun yanında boyar madde ve polimer teknolojisinde, ilaç sanayinde, tıpta, tarım alanında, roket yakıtı hazırlanmasında, biyolojik olayların açıklanmasında ve daha çok alanda bu Schiff bazı bileşiklerinden oldukça fazla yararlanılmakta ve yeni sentezlerin yapılmasına dair çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.

1.3.1. Schiff bazlarının özellikleri

Azometin bileşiğinin kararlılığı, azometin grubundaki azot atomuna elektron salıcı bir alkil ya da aril grubu bağlandığında artmaktadır. Azot atomunda OH taşıyan oksimler, -NH taşıyan fenilhidrazon ve semikarbazonlar, hidrolize karşı alkil ya da aril süstitüentini taşıyan Schiff bazlarına göre çok daha dayanıklıdır. Oluşumu karbonil bileşikleriyle, primer aminlerin kondensasyonundan olan N-alkil veya N-aril süstitüe imin yapısı içeren Schiff bazları, hidrolize karşı pek dayanıklı değildirler. Bu Schiff bazları özellikle düşük pH'larda kendisini meydana getiren karbonil ve amin bileşiklerine ayrılır. İki yönlü olan

reaksiyonda denge genellikle hissedilir bir hızla gerçekleşir. Reaksiyonun tek yönlü olması, azot atomunda en az bir tane çiftleşmemiş elektron içeren elektronegatif atom bulunan aminlerle (hidroksilamin, semikarbazit, hidrazin vb.) reaksiyon yapılmasına bağlıdır. Reaksiyon ürünü bu durumda kolay hidrolize uğramadığından yüksek bir verimle izole edilebilir [<http://tez.sdu.edu.tr/Tezler/TF01093.pdf>].



Şekil 1.3.Schiff bazı oluşumu.

1.3.2. Schiff bazı sentezi

Schiff bazları sıcakta veya soğukta aldehit veya ketonların eşdeğer miktarı kadar primer aminlerle çözücü ortamında yada çözücü kullanmadan etkileştirilmesi sonucu sentezlenebilirler. Ketonların genellikle, aldehitlere göre daha yavaş tepkimeye girmelerinden dolayı ısıtma işleminde çinko klorür (ZnCl_2) ve toryum dioksit (ThO_2) gibi ısıtılmış bir katalizör üzerinden buhar fazındaki reaktantların geçirilmesiyle tepkime gerçekleştirilir [<http://library.cu.edu.tr/tezler/7726.pdf>]. Primer amin ile aldehit etkileştirilmesinde, ilk olarak bir hidroksilamin, daha sonra suyun uzaklaşması ile Schiff bazı oluşur. Hidroksilamin oluşmadan su kaybı kendiliğinden meydana gelir. Amin Schiff bazlarının sentezinde fazla kullanılırsa, alkiliden-bisamin $\text{RR}'\text{C}(\text{NHR}'')_2$ oluşumuna neden olur. Bu oluşan bisamin kararlı olmadığından amini kaybeder, aldehitte etkileşerek Schiff bazına dönüşür [Kırk ve Othmer, 1954; Karaer, 1997].

1.3.3. Schiff bazlarının metal kompleksleri

$\text{C}=\text{N}$ grubunun en kendine özgü karakteristik özelliklerinden biri metallerle kompleks teşkil etmesidir. Bir diğer özellik de metal iyonlarıyla kararlı kompleks teşkil edecek kadar yeterli bazlığa sahip olmamasıdır. Dolayısıyla kararlı kompleksler oluşturabilmek için molekülde kolaylıkla hidrojen atomu verebilecek ilave bir grubun bulunması gerekmektedir. Bu grup tercihen bir hidroksil grubu olmalıdır ki metal atomu ile beş veya altılı şelat halkası meydana getirebilsin. Karbonil bileşiğinin primer aminlerle

kondense olarak yaptığı bileşiklerle metal iyonları etkileşerek reaktantları bir kompleks teşkil edecek şekilde bir araya getirirler.

Metal komplekslerinin sentezlerinde üç farklı yöntem kullanılabilir. Bu yöntemler, metal tuzu ile Schiff bazının doğrudan etkileşmesi (Fernández ve ark., 2001), aldehit, amin ve metal tuzunun template olarak kondensasyonu (Krygowski ve ark., 1997) ve aldehit komplekslerinin aminlerle kondenzasyonudur. Metal asetatlar, alkoldeki çözünürlüklerinden ve ortamda zayıf asit tuzu oluşturduklarından dolayı en uygun reaktantlardır. Metal nitrit ve klorürlerinin kullanımı, ligandın önce NaOH veya KOH ile etkileştirilmesinden sonra mümkün olmaktadır. En etkili bilinen yöntemlerden biri ligandı sentezleme ve izole etmekle başlar.

Genel olarak iki değerlikli metal iyonları (başlıca Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} ve VO^{+2}) kullanılır. Schiff bazları en uygun metal tuzlarıyla metanol veya etanol çözeltisi içinde tepkimeye girerler.

Schiff bazlarının ligand olarak kullanılmasıyla sentezlenen koordinasyon bileşikleri konusu birçok bilim adamının ilgisini çekmiş ve çeşitli kompleksler elde etmişlerdir. Schiff bazlarının yapılarında oksokrom grupların bulunması, bunlardan elde edilen metal komplekslerin renkli maddeler olmalarını ve boya endüstrisinde özellikle tekstil boyacılığında pigment boyar maddesi olarak kullanılmalarını sağlamıştır. Ayrıca birçok alanda kullanılan Schiff bazı komplekslerinin anti kanser aktivitesi göstermesinden dolayı tıp dünyasında önemi giderek artmakta ve kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılması araştırılmaktadır.

Geçiş metali Schiff bazı komplekslerinin, literatürde oldukça geniş bir çalışma alanına sahip olduğu görülmektedir. Amin ve/veya karbonil bileşikleri beşli veya altılı şelat oluşturabilecek bir yapıda iseler, metal iyonuyla kararlı bileşik oluşturabilirler. Metal-şelat birleşimi birçok önemli biyolojik işlevlerde yer almaktadır. Komplekslerde kullanılan ligand ve metal iyonuna bağlı olarak bileşiklerinin özellikleri değişiklikler göstermektedirler. Kompleks meydana getirilirken kullanılan metal iyonunun büyüklüğü, yükü ve iyonlaşma gerilimi kompleksin kararlılığını etkilemektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

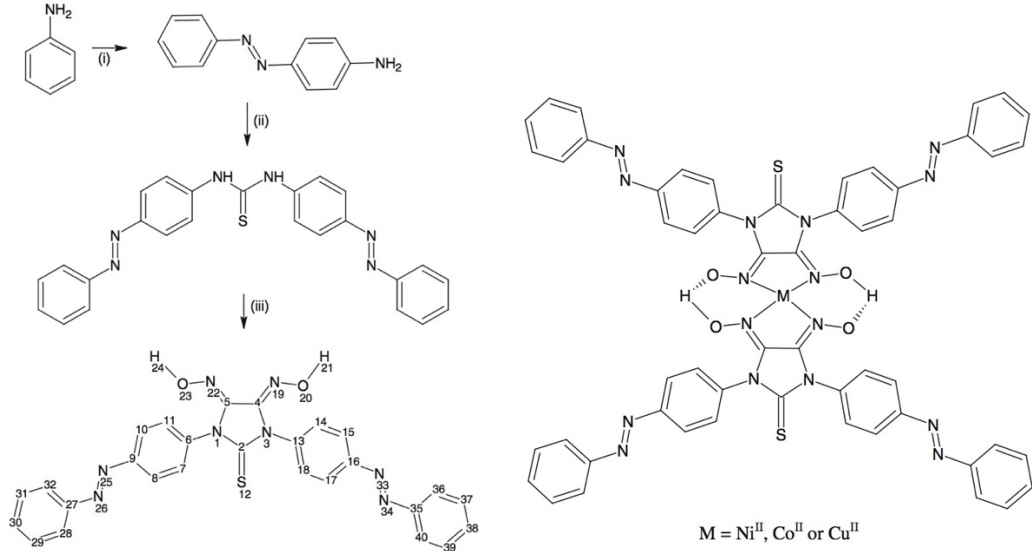
Literatüre bakıldığında azo ve azometin ligandlarının ve metal komplekslerinin sentezi ile ilgili çalışmaların bir çok uygulaması olduğundan bu ligandların kullanılması giderek yaygınlaşmaktadır. Yapılan çalışmalara bakıldığı zaman çok farklı uygulamalarda kullanıldığı görülmektedir. Yapılan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Refat ve ark. (2006), Cu(II), Mn(II), Ni(II) ve Zn (II) metal kompleksleri 5-fenil azo-salisilaldehit ve o-amino benzoikasitten türeyen heterosiklik Schiff bazları ile sentezlenmiştir. Sentezlenen ligandlar ve kompleksler elementel analiz, elektronik, IR ve ¹H NMR spektroskopileri ile karakterize edilmiştir. Ayrıca termal özellikleri ve yüzey özellikleri de incelenmiştir. Yapılan karakterizasyon sonucunda metal ligand oranı 1:1 olarak şelat oluşturduğu bulunmuştur.

Nejati ve ark. (2007), azo içeren Schiff bazları ile Cu kompleksleri sentezleyerek, sentezlenen komplekslerin termal özelliklerini incelemişlerdir. Sentezlenen bileşikler karakterize etmek için IR, NMR, kütle spektroskopileri ve elementel analiz kullanılmıştır. Termal özellikleri incelendiğinde komplekslerin serbest ligandlara göre daha kararlı ve kompleksteki ligand türüne bağlı olarak da termal özelliklerin değiştiği gözlemlenmiştir.

Odabaşoğlu ve ark. (2007), polihidroksi azo ve azometin ligandlarını sentezleyerek ve bu ligandların antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Sonuç olarak ligandın türüne bağlı olarak antimikrobiyal aktivitelerinin değiştiğini gözlemlemişlerdir.

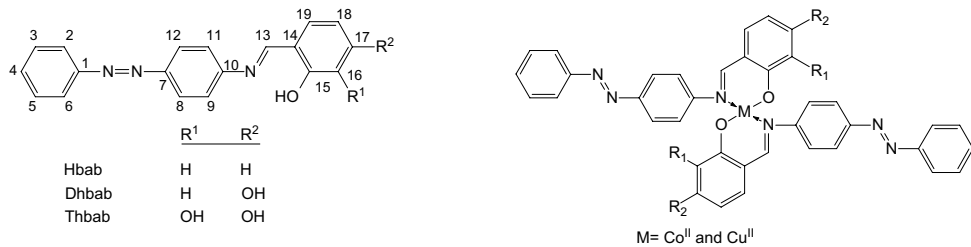
Kurtoğlu ve ark. (2008), azo ve tiyon kromofor grupları içeren *vic*-dioksim ligandları ve bu ligandların Ni(II), Cu(II) ve Co(II) komplekslerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen ligand ve kompleksler elementel analiz, iletkenlik ölçümleri, FT-IR ve elektronik spektral çalışmalarla karakterize edilmiştir. Sentezlenen ligandların ve komplekslerin biyolojik aktiviteleri çeşitli bakteriler ve mayalar kullanılarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen azo içeren ligand ve metal komplekslerinin şematik gösterimi Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Sentezlenen azo içeren ligand ve metal komplekslerinin şematik gösterimi.

Khanmohammadi ve Darvishpour (2009), yaptıkları çalışmada azometin grubu içeren yeni ligandlar ve bu ligandların Cu(II) komplekslerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşikler elementel analiz, termal analiz, IR, UV-vis, NMR ve kütle spektroskopileri ile karakterize edilmiştir. Ayrıca farklı polariteye sahip olan organik çözücüler kullanılarak ligandların spektral özellikleri incelenmiştir.

İspir (2009), yaptığı çalışmada azo grubu içeren 3 farklı yeni Schiff baz ligandları ve bu ligandların mononükleer Co(II) ve Cu(II) komplekslerini sentezlemiş ve IR, ¹H NMR, UV-vis spektroskopileri, elementel analiz, manyetik duyarlılık ve iletkenlik ölçümleriyle karakterize etmiştir. Ayrıca elektrokimyasal karakterizasyonu ve antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sentezlenen ligandların ve olası metal komplekslerinin yapısı Şekil 2.2’de gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Schiff bazı ligandları ve ligandların Co(II) ve Cu(II) kompleksleri.

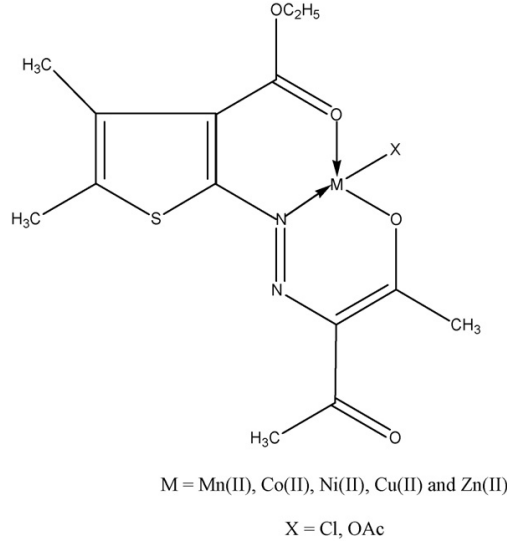
Nejati ve ark. (2009), 4 dişli iki farklı yeni azo içeren Schiff bazı ligandları ve bu ligandların Cu(II), Ni(II) ve VO⁺² komplekslerini sentezlemiştir. Sentezlenen ligand ve kompleksleri çeşitli enstrümental yöntemlerle karakterize edilmiştir. Ayrıca sentezlenen bileşiklerin termal özellikleri detaylı bir şekilde incelenmiş ve komplekslerin termal özelliklerinin ligandlara göre daha kararlı olduğu gözlemlenmiştir. Komplekslerin termal özelliklerinin ise ligandların ve metallerin türlerine bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir.

Alghool ve ark. (2010), azo içeren yeni Schiff bazı ligandı ve bu ligandın Co(II), Cr(III) ve Sr(II) metal komplekslerini sentezlemiştir. Sentezlenen bileşikler çeşitli yöntemlerle karakterize edilmiştir. Sentezlenen ligand ve metal komplekslerinin biyolojik aktiviteleri çeşitli bakteri türleri (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) kullanılarak test edilmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda metal komplekslerinin serbest liganda göre daha yüksek aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir.

Karipcin ve ark. (2010), tarafından azo içeren 4-(2-thiazolylazo)resorcinol ligandı ve bu ligandın Mn(II), Co(II) ve Ni(II) kompleksleri sentezlenerek UV-vis, IR spektroskopileri, elementel analiz, elektroiletkenlik ve manyetik duyarlılık yöntemleri karakterize edilmiştir. Ayrıca elektrokimyasal davranışları dönüşümlü voltametri tekniği ile belirlenmiştir.

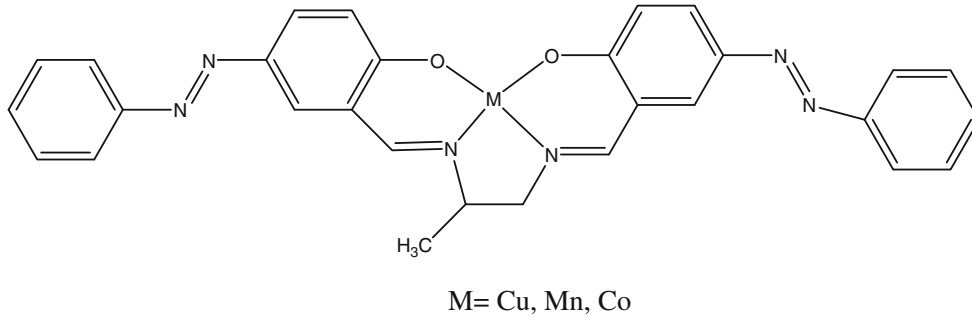
Dinçalp ve ark. (2010), salisilaldimin bazlı ligandlar içeren bir grup azo boyaları sentezlemiş ve karakterize etmişlerdir. Sentezlenen azo boyalarının optik ve fotovoltatik özelliklerini incelemişlerdir.

Sujamol ve ark. (2010) yeni heterosiklik azo türevi ve bu türevin Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) komplekslerini sentezleyerek karakterize etmişlerdir. Karakterizasyon sonucunda metal ligand oranının 1:1 olduğu gösterilmiştir. Ayrıca Cu(II) kompleksinin hem termal hem de elektrokimyasal özellikleri incelenmiştir. Sentezlenen metal komplekslerinin önerilen yapısı Şekil 2.3'te gösterilmektedir.



Şekil 2.3. Sentezlenen metal komplekslerin yapısı.

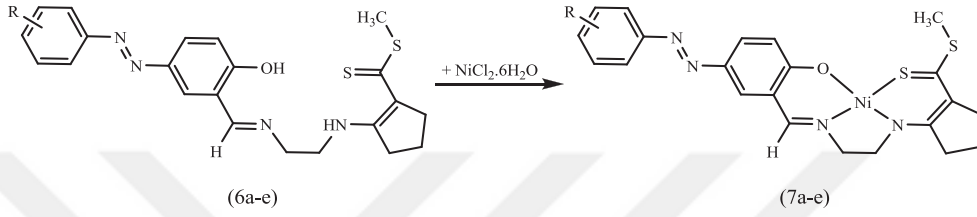
Lashanizadegan ve Zareian (2011), yaptıkları çalışmada azo Schiff bazı içeren Mn(II), Co(II) ve Cu(II) metal kompleksleri sentezlenerek sikloheksanın ter-bütül hidroperoksit (TBHP) ile oksidasyon reaksiyonunda katalizör olarak kullanmışlardır. Ayrıca Cu(II) kompleksi zeolit üzerine tutturulup heterojen katalizör olarak kullanmışlardır. Cu(II) kompleksinin oksidasyon verimini artırdığı gözlemlenmiştir. Sentezlenen metal komplekslerinin şematik gösterimi Şekil 2.4'te gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Sentezlenen metal komplekslerinin olası yapısı.

Ahmadi ve Amani (2012), yaptıkları çalışmada üç azo grubu içeren Schiff bazı ligandları ve bu ligandların Cu(II) kompleksleri sentezlenmiş ve sentezlenen bileşikler FT-IR, UV-vis, ¹³C, ¹H NMR, elementel analiz ve termogravimetrik analiz ile karakterize edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir.

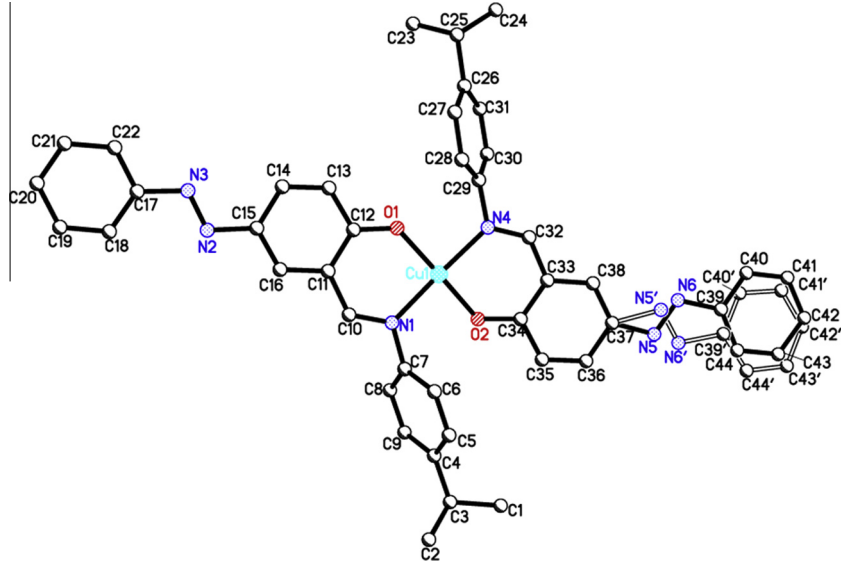
Menati ve ark. (2013), yapmış oldukları çalışmalarda azo-azometin ligandları ve bu ligandların Ni(II) kompleksleri sentezlenerek karakterize edilmiştir. Karakterizasyon FT-IR, UV-vis, ¹H NMR ve dönüşümlü voltametri teknikleri kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca X ışınları kristalografisi kullanılarak komplekslerin geometrisi belirlenmiştir. Deney sonucunda komplekslerin kare düzlem yapıda olduğu ve Ni(II) metal kompleksi oluştururken iki azot atomu üzerinden, bir sülfür atomu üzerinden bir de oksijen atomu üzerinden koordine olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Sentezlenen komplekslerin olası yapısı.

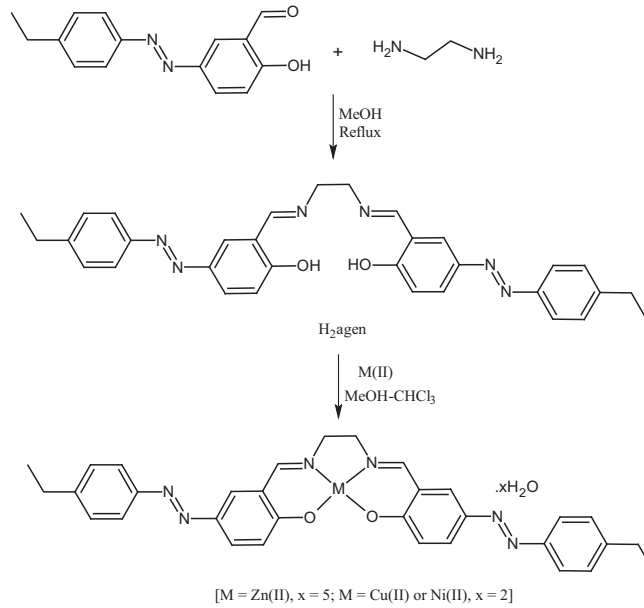
Kurtoğlu ve ark. (2014), yaptığı çalışmada yeni Schiff bazı içeren Co(II) ve Cu(II) kompleksleri sentezlenmiş ve analitik spektroskopik tekniklerle karakterize edilmiştir.

Eren ve ark. (2015), yapmış oldukları çalışmada yeni azo-azometin ligandı ve bu ligandın Cu(II) kompleksini sentezleyerek çeşitli analitik tekniklerle (FT-IR, UV-vis, ¹H NMR, Kütle) karakterize etmişlerdir. Ayrıca ligandın ve kompleksin molekül yapıları tek kristal X ışınları kırınımı ile belirlenmiştir. Yapılan termogravimetrik analizlerde Cu(II) kompleksinin azo-azometin ligandına göre daha kararlı olduğu belirlenmiştir. Sentezlenen kompleksin kristal yapısı Şekil 2.6'da gösterilmektedir.



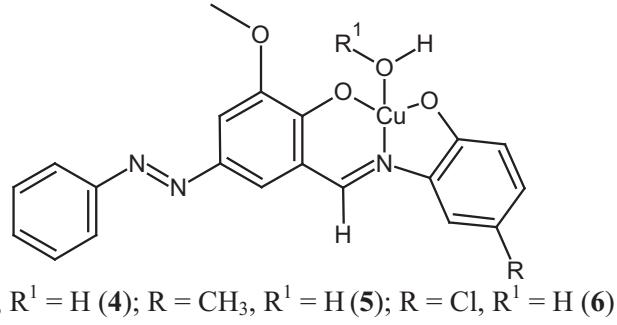
Şekil 2.6. Sentezlenen bakır kompleksinin kristal yapısı.

Özkan ve ark. (2015), Salen tipli azo-azometin ligandı ve bu ligandın Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) kompleksi sentezlenmişlerdir (Şekil 2.7). Sentezlenen yapılar çeşitli spektroskopik ve analitik metodlarla karakterize edilmiştir. Sentezlenen Cu(II) kompleksinin molekül yapısı tek kristal X ışınları kırınımı tekniği ile kare düzlem olduğu bulunmuştur. Bu yapıda Cu(II) iyonları iki fenolik oksijen atomuyla ve iki azo-azometin üzerindeki nitrojen atomlarıyla koordine olmuştur.



Şekil 2.7. Sentezlenen azo-azometin ligandı ve onun metal kompleksleri.

Sarigul ve ark. (2015), çalışmasında üç yeni azo-azometin ligandları ve bu ligandların Cu(II) kompleksleri sentezlenmiş ve çeşitli analitik metodlarla karakterize edilmiştir. Sentezlenen komplekslerin, mononükleer yapıda olduğu ve iki fenolik oksijen ve azometin grubu üzerindeki nitrojen atomu yardımıyla şelat oluşturduğu görülmüştür (Şekil 2.8).

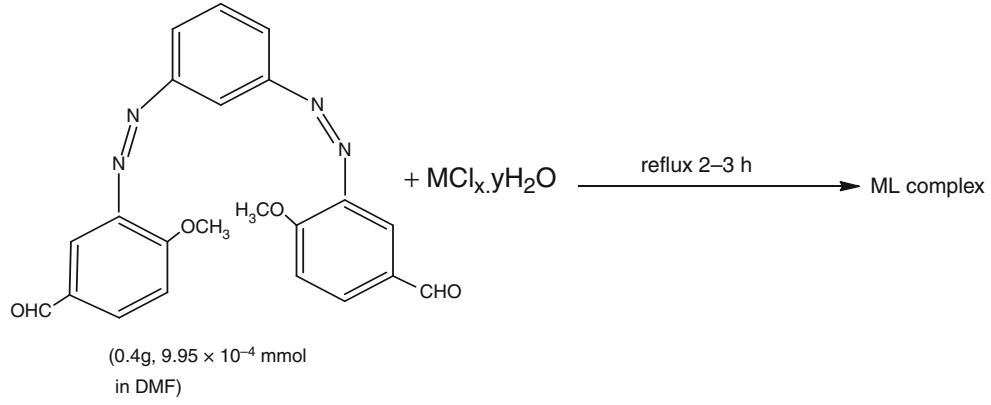


Şekil 2.8. Mononükleer Cu(II) komplekslerin önerilen yapısı.

Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında azo ve azometin ligandları ve komplekslerinin antikanser aktiviteleri üzerine çalışmalar giderek yaygın hale gelmektedir.

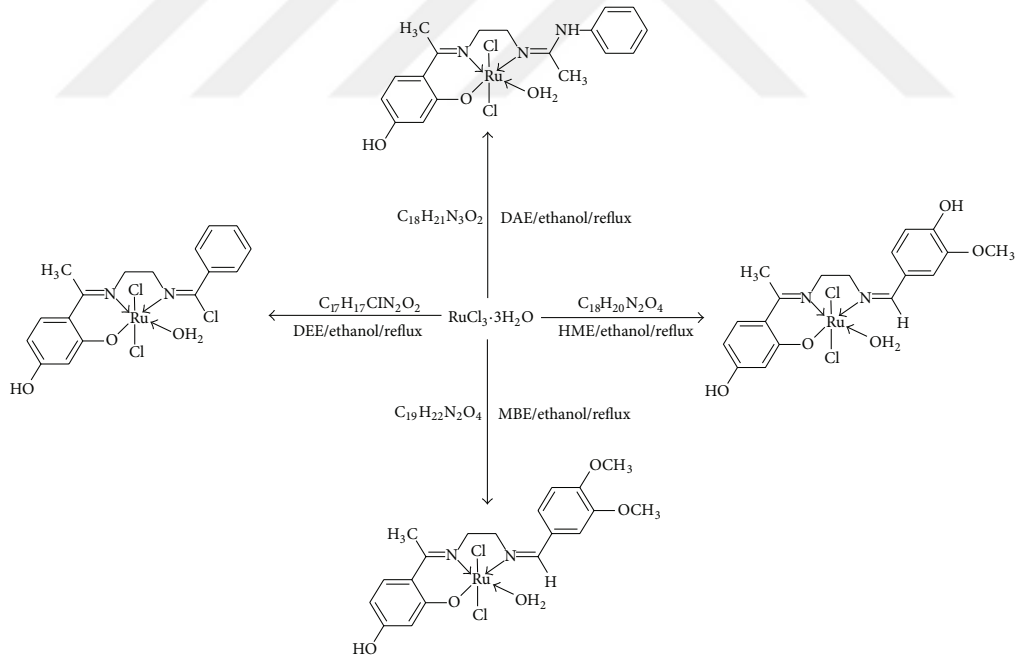
Mahmoud ve ark. (2016), azo ligandı ve bu ligandın çeşitli metal komplekslerini sentezleyerek hem antimikrobiyal hem de antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Antikanser çalışmalarını yapmak için standart göğüs kanser hücre hatları (MCF7) kullanmışlardır. Yapılan deneyler sonucunda hem ligandın hem de bazı metal komplekslerinin [Co(II), Zn(II), Fe(III)] antikanser aktivitesinin yüksek olduğu saptanmıştır.

Antikanser çalışmalarını yapmak için standart göğüs kanser hücre hatları kullanan Mahmoud ve ark. (2016), çift dişli azo ligandı ve bu ligandın çeşitli metal komplekslerini sentezleyerek antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan deneyler sonucunda sentezlenen bazı metal komplekslerinin (Mn(II), Ni(II), Zn(II)) serbest liganda göre antikanser aktivitesinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Sentezlenen ligand ve onun metal kompleksleri.

Yapılan farklı bir çalışmada ise cilt, böbrek ve göğüs kanseri hücre hatları kullanan Ejidike ve Ajibade (2016), üç dişli Schiff bazını kullanarak sentezledikleri mono nükleer Ru(III) komplekslerinin (Şekil 2.10) antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan deneyler sonucunda sentezlenen bileşiklerin ligand türüne bağlı olarak aktivitesinin değiştiği ve hücre hatları çeşidine göre de farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

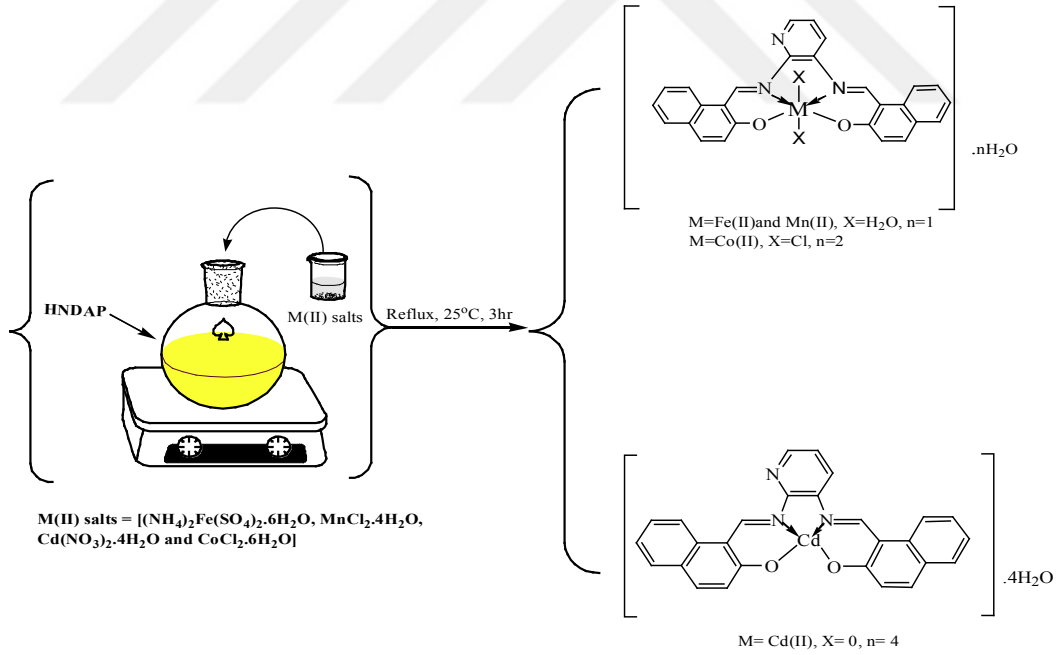


Şekil 2.10. Mononükleer rutenyum(III) Schiff baz komplekslerinin yapıları.

Rafi ve ark. (2016), üç dişli Schiff bazını kullanarak piridazin bazlı bi-nükleer Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal komplekslerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin göğüs kanser hücre hattını (MDA-MB-231) kullanarak antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Deneyler sonucunda sentezlenen bileşiklerin standart ilaç olan cis-platin ile karşılaştırıldığında daha yüksek antikanser aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Rezaei-Seresht ve ark., (2017), yapmış olduğu çalışmada bir grup yeni azo bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser aktiviteleri MCF-7, HeLa ve HEK293 hücre hatları kullanılarak MTT testi ile araştırılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda sentezlenen tüm türevlerin tamoksifen den daha toksik olduğu görülmüştür.

Abdel-Rahman ve ark. (2017), dört dişli ONNO Schiff bazı ligandı ve bu ligandların Mn(II), Fe(II), Co(II) ve Cd(II) komplekslerini sentezlemişlerdir (Şekil 2.11). Sentezlenen bu bileşikler kolon kanseri (HCT-116) ve karaciğer kanseri (Hep-G2) hücre hatlarını kullanarak antikanser aktiviteleri araştırmışlardır. Deneyler sonucunda komplekslerin serbest ligandlara göre daha fazla antikanser aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2.11. Schiff baz komplekslerinin sentezi ve yapıları.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Sodyum nitrit (NaNO_2): Diazonyum tuzu sentezinde kullanılmış olup Merck firmasından satın alınmıştır.

Hidroklorik asit (HCl): Diazolama reaksiyonunda kullanılmış olup Merck firmasından satın alınmıştır.

Salisilaldehit ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$): Azo-aldehit sentezinde kullanılan bu madde Merck firmasından satın alınmıştır.

DMF (*N,N*-dimetilformamit) :Çözücü olarak kullanılan bu madde Merck firmasından temin edilmiştir.

THF (tetrahidrofuran): Çözücü olarak kullanılan bu madde Merck firmasından temin edilmiştir.

DMSO (dimetilsülfoksit): Çözücü olarak kullanılan bu madde Merck firmasından temin edilmiştir.

Etil alkol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$): Çözücü olarak kullanılan bu madde Merck firmasından temin edilmiştir.

Metil alkol (CH_3OH): Çözücü olarak kullanılan bu madde Merck firmasından temin edilmiştir.

Sodyum hidroksit (NaOH): Kenetleme reaksiyonunda kullanılmış olup, Merck firmasından temin edilmiştir.

Anilin ($\text{C}_6\text{H}_7\text{N}$): Azo sentezinde kullanılan bu madde, Merck firmasından temin edilmiştir.

4-Etil anilin: Azo sentezinde kullanılan bu madde, Merck firmasından satın alınmıştır.

3-Etil anilin: Azo sentezinde kullanılan bu madde, Merck firmasından satın alınmıştır.

Kloroform (CHCl_3): Çözücü olarak kullanılan bu madde Merck firmasından satın alınmıştır.

Bakır(II)klorürdihidrat [$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]: HL^1 ve HL^2 adlı ligandlarının Cu(II) komplekslerinin sentezlerinde kullanılan bu madde Merck firmasından temin edilmiştir.

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid): Sigma firmasından satın alınmıştır.

Fetal siğır serumu (FBS): Pan Biotech firmasından satın alınmıştır.

Penisilin-Streptomisin Solüsyonu (10.000U/ml penisilin,10mg/ml streptomisin): Pan Biotech firmasından satın alınmıştır.

Fosfat tuz tamponu (PBS): Pan Biotech firmasından satın alınmıştır.

Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM): Pan Biotech firmasından satın alınmıştır.

0,05% Tripsin-Etilen Diamin Tetraasetik Asit (Tripsin-EDTA): Sigma firmasından satın alınmıştır.

Dimetil sülfoksit (DMSO): Sigma firmasından satın alınmıştır.

Triton X-100: Roth firmasından satın alınmıştır.

Tripan mavisi(%0,5): Roche firmasından satın alınmıştır.

SDS: Roth firmasından satın alınmıştır.

HCl: Tekkim firmasından satın alınmıştır.

L-Glutamin: Pan Biotech firmasından satın alınmıştır.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

UV/GB Spektrofotometresi: Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan Thermo Scientific 201 marka cihaz kullanılmıştır.

Elementel Analiz: Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan Thermo Flash EA 2000, CHNS marka cihaz kullanılmıştır.

Erime Noktası Tayin Cihazı: KSÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan Elektrothermal LTD 9200 cihazı kullanılmıştır.

¹H Nükleer Magnetik Rezonans Spektrofotometresi: Loughborough Üniversitesi Leicestershire, UK Kimya Bölümünde bulunan Bruker Advance 400 MHz Spectrometer marka cihaz kullanılmıştır.

¹³C Nükleer Magnetik Rezonans Spektrofotometresi: Loughborough Üniversitesi Leicestershire, UK Kimya Bölümünde bulunan Bruker Advance 400 MHz Spectrometer marka cihaz kullanılmıştır.

X-Işınları Çalışmaları: Loughborough Üniversitesinde bulunan BrukerApexII CCD cihazı kullanılmıştır.

Infrared (IR) Spektrofotometresi: Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan Perkin Elmer (4000-400cm⁻¹) 100 FTIR Spectrometer marka cihaz kullanılmıştır.

TG/DTA Termogravimetrik Analiz: Gaziantep Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde bulunan Perkin Elmer marka cihaz kullanılmıştır.

Kütle Spektrometresi: Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan ESI- MS (AB SCIEX 3200 QTRAP) ve MALDI-TOF MS (Bruker Microflex LT) ve marka cihazlar kullanılmıştır.

Kriyostat: KSÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan Polyscience 9105 cihazı kullanılmıştır.

Hücre çalışmalarında kullanılan ve aşağıda listelenen cihazlar Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden kullanılmıştır.

Spektrofotometre: Thermo Scientific, Multiskan Go Type 1510

CO₂ inkübatörü: Heal Force, HF-90)

Steril kabin: Thermo Scientific, MSC- Advantage)

Inverted mikroskop: Nikon, ECLIPSE TS-100)

Santrifüj Cihazı: HETTICH, 320R

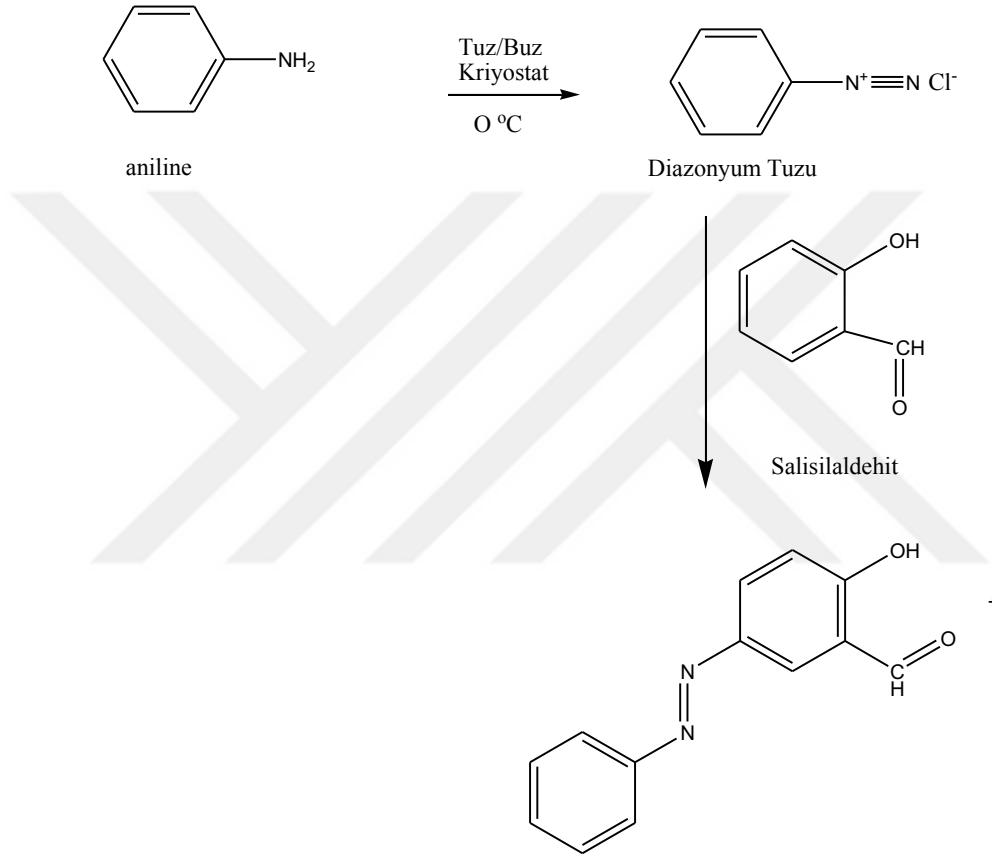
3.3. Metot

3.3.1. 2-hidroksi-5-[(E)-fenildiazenil]benzaldehyd sentezi (nx)

0.93 g (10 mmol) anilin 50 mL su içerisinde süspansiyon haline getirilir. Bu süspansiyona çözünme gerçekleşinceye kadar HCl (yaklaşık 2.5 mL) ilave edilir. Çözeltinin daha iyi çözünebilmesi için bir süre karıştırılmaya devam edilir. Diğer taraftan diazolama işlemini gerçekleştirebilmek için bir behere 0.96 g (1.4 mmol) NaNO₂ alınır ve üzerine 2,5 mL saf su ilave edilerek çözünmesi sağlanır. Tuz-buz banyosunda hazırlanan bu NaNO₂ çözeltisi -5 °C'ye kadar soğutulur. Diazolama reaksiyonu için ise kriyostad sıcaklığı 0 °C'ye ayarlanır ve yarım saat süre içerisinde NaNO₂ çözeltisi, anilinin su içerisindeki çözeltisine damla damla ilave edilir. Böylece diazonyum tuzu hazırlanmış olur (Şekil 3.1).

Azo-aldehyt eldesinde ise; diazonyum tuzu çözeltisi üzerine 1.22 g (10 mmol) salisilaldehytin, %10'luk NaOH ve 20 mL saf su ile hazırlanan ve pH = 9'a ayarlanan

çözültüsü bir saat süre ile ilave edilir. Reaksiyonun tamamlanması ile sarı renkli çökelek elde edilir. Elde edilen çökelek süzülür saf su ile yıkanır ve vakum etüvünde 70-80 °C'de kurutulur. Sentezlenen bu maddenin saf suda hiç çözünmediği, EtOH'de ısıtılarak çözüldüğü ve MeOH, Kloroform, DCM, CHCl₃, DMSO ve DMF gibi çözücülerde ise tam çözüldüğü gözlemlenmiştir. 5-[(E)-fenildiazenil]-2-hidroksibenzaldehid (nx) bileşiğinin sentez reaksiyonu aşağıda verilmektedir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Azo aldehit sentezinin şematik gösterimi.

Renk: Sarı

E.N: 124-126 °C

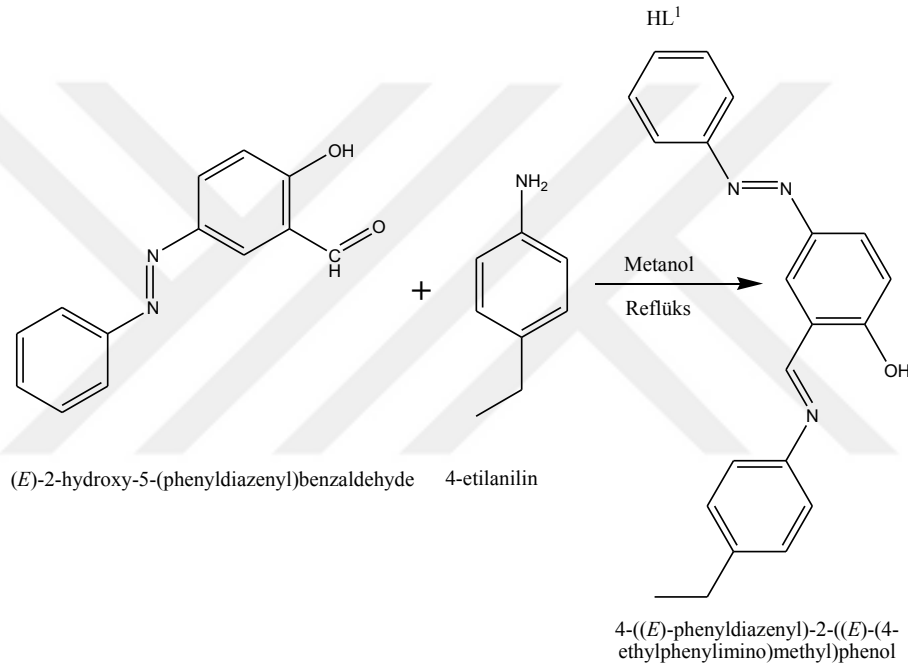
Verim: %82

Molekül Ağırlığı (g/mol): 226,23

Kapalı Formül: C₁₃H₁₀N₂O₂

3.3.2. 4-((E)-fenildiazenil)-2-((E)-(4-etilfenilimin)metil)fenol (HL¹) sentezi

0,226 g (1mmol) (nx) 10 mL MeOH içerisinde çözüldü. Turuncu renkteki berrak çözelti üzerine 0,121g (1mmol) 4-etilanilin metil alkol içerisindeki çözeltisi ilave edildi. Karışım geri soğutucu altında 2 saat süreyle kaynatıldı. Oluşan portakal sarısı renkli çökelek süzüldü. MeOH ile yıkanarak ve vakum etüvünde 80-90 °C’de kurutuldu. Parlak portakal sarısı renkli ürün, MeOH/CHCl₃ (1:1)’de kristallendirildi. Sentezlenen bu maddenin EtOH ve MeOH da ısıtılarak çözüldüğü, suda hiç çözünmediği ve DCM, CHCl₃, DMSO ve DMF gibi çözücülerde ise çözüldüğü gözlemlendi. Şekil 3.2’de sentezlenen HL¹ ligandının sentez şeması görülmektedir.



Şekil 3.2. HL¹ ligandının sentezinin şematik gösterimi.

Renk: Portakal sarısı

E.N. : 124-125 °C

Verim: 0,27 g (%86)

Molekül ağırlığı (g/mol) : 329,4

Kapalı Formül: C₂₁H₁₉N₃O

Elementel Analiz (%) : Hesaplanan(Bulunan) C: 76,57(76,45); H:5,81(5,74); N:12,76(12,76).

UV/GB (λ max, DMF, nm): 335 (π - π^*) 461 (n - π^*)

IR (ATR, cm^{-1}): 3431, 2957, 1618, 1569, 1508, 1432, 1280, 1102.

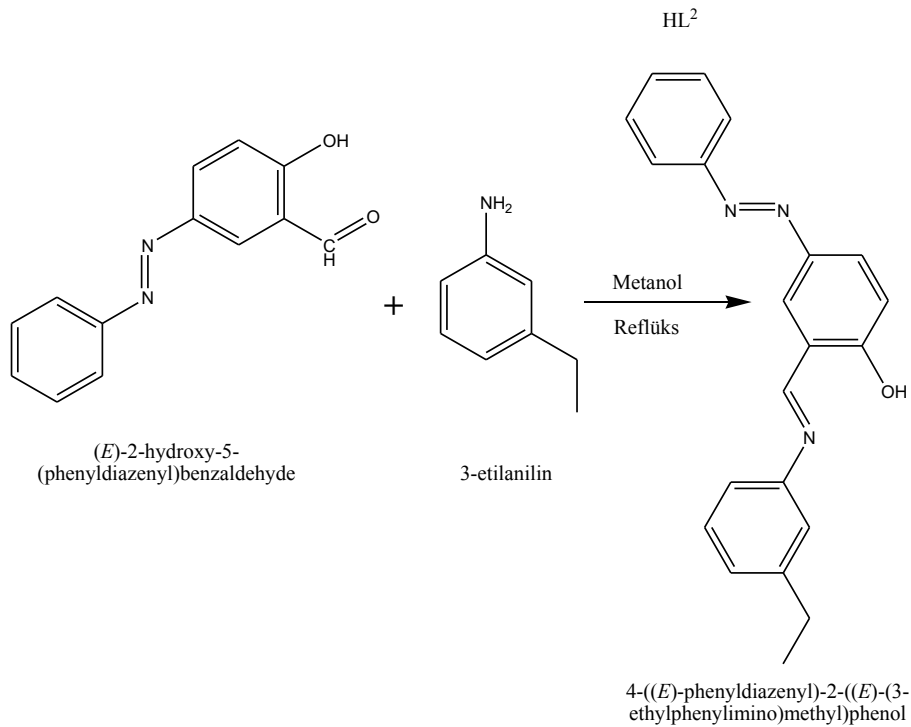
NMR (CDCl_3 çözücü, δ ppm):

^1H : 14,06 (s, 1H, fenolik OH), 8,77 (s, 1H, CH=N), 7,15-8,07 (m, 11H, aromatik CH), 2,75-2,70 (q, 2H, etil CH_2), 1,13-1,28 (t, 3H, etil CH_3).

^{13}C : 164,18 (C=N), 161,15 (C-OH), 118,17-152,64 (aromatik C), 29,52 (etil CH_2), 15,62 (etil CH_3).

3.3.3. 4-((E)-fenildiazenil)-2-((E)-(3-etilfenilimin)metil)fenol (HL^2) sentezi

0,226 g (1mmol) (nx) 10 mL MeOH içerisinde çözüldü. Turuncu renkteki berrak çözelti üzerine 0,121g (1mmol) 3-etilanilin metil alkol içerisindeki çözeltisi ilave edildi. Karışım geri soğutucu altında 2 saat süreyle kaynatıldı. Oluşan turuncu renkli çökelek süzüldü. MeOH ile yıkanarak ve vakum etüvünde 80-90 °C’de kurutuldu. Parlak turuncu renkli ürün, MeOH/ CHCl_3 (1:1)’de kristallendirildi. Sentezlenen bu maddenin EtOH ve MeOH da ısıtılarak çözüldüğü, suda hiç çözünmediği ve DCM, CHCl_3 , DMSO ve DMF gibi çözücülerde ise çözüldüğü gözlemlendi. Şekil 3.3’te sentezlenen HL^2 ligandının sentez şeması görülmektedir.



Şekil 3.3. HL^2 ligandının sentezinin şematik gösterimi.

Renk: Turuncu

E.N : 74-75 °C

Verim: 0,20 g (%82)

Molekül ağırlığı (g/mol): 329,4

Kapalı Formül: C₂₁H₁₉N₃O

Elementel Analiz (%): Hesaplanan (Bulunan) C: 76,57(76,53); H: 5,81(5,88); N:12,76 (12,74).

UV/GB (λ max, DMF, nm): 340 (π-π*) 462 (n-π*)

IR (ATR, cm⁻¹): 3415, 2961, 1620, 1569, 1436, 1305, 1277, 1105.

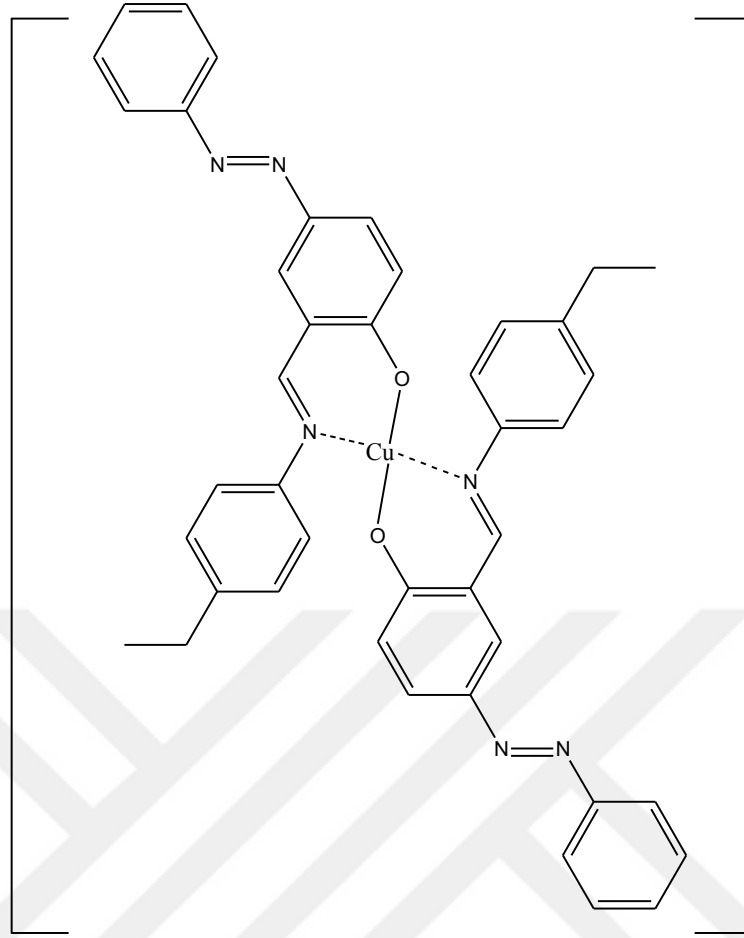
NMR (CDCl₃ çözücü, δppm)

¹H: 13,94 (s, 1H, fenolik OH), 9,17 (s, 1H, CH=N), 7,14-8,30 (m, 11H, aromatik CH), 2,69-2,66 (q, 2H, etil CH₂), 1,25-1,22 (t, 3H, etil CH₃).

¹³C: 164,41 (C=N), 163,12 (C-OH), 118,51-152,44 (aromatik C), 28,57 (etil CH₂), 15,97 (etil CH₃)

3.3.4. HL¹ ve HL²'nin bakır komplekslerinin sentezi

Ligand ile kompleks oluşturmak için CuCl₂·2H₂O tuzundan 0.043 g (0.25 mmol) alınarak bir beherde 10 mL metanol içerisinde çözülür ve (HL¹) ligandından ise 0.165 g (0.5 mmol) alınarak bir beherde 25 mL kloroform ve 50 mL metanol içerisinde çözülür. Balon içerisine alınan ligand çözeltisinin içerisine beherde çözülen metal tuzu çözeltisinden damla damla ilave edilir ve geri soğutucu takılarak 3 saat karıştırılır. Bu sırada portakal sarısı renkli liganddan ilave sonrası koyu kahverengi renk gözlemlendi. Daha sonra ısıtıcı üzerinde 1 saat çözücü uzaklaştırılır. Oda şartlarında 30 dakika kadar kendi halinde soğumaya bırakılan koyu kahverengi çökelek süzgeç kağıdı ile süzülür. Süzgeç kağıdında toplanan çökelek vakum etüvünde 50-60 °C' de kurutulur. Sentezlenen bu maddenin suda çözünmediği, EtOH, MeOH, CHCl₃, DCM, ACN, DMSO, DMF ve THF gibi çözücülerde ise tam çözündüğü gözlemlenmiştir. [Cu(L¹)₂] kompleksinin sentez reaksiyonu Şekil 3.4'te verilmektedir.



Şekil 3.4. Sentezlenen HL¹ ligandın bakır kompleksinin olası yapısı.

Renk: Kahverengi

E.N.(Bozunma) : >210 °C

Verim: 0,136 g (%75,5)

Molekül ağırlığı (g/mol): 720,32

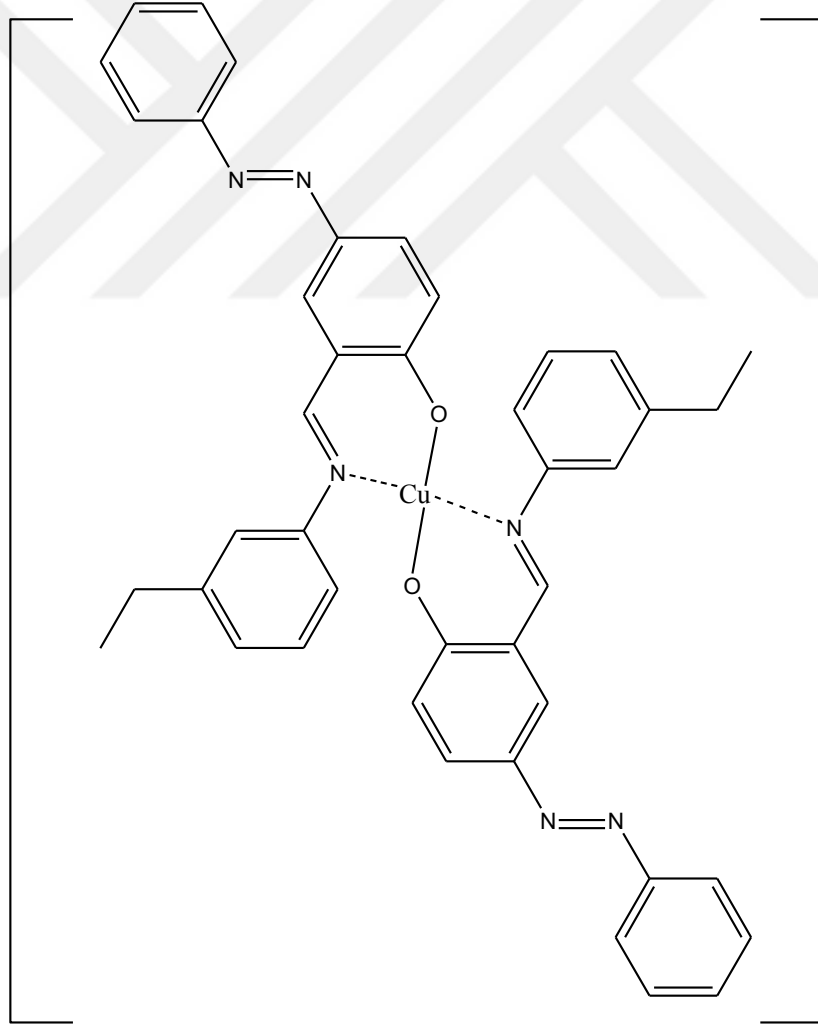
Kapalı Formül: C₄₂H₃₆CuN₆O₂

Elementel Analiz (%): Hesaplanan(Bulunan) C: 70,03 (69,99) ; H: 5,04 (5,05) ; N:11,67 (11,50)

UV/GB (λ max, DMF, nm) : 386

IR (ATR, cm⁻¹) : 2963, 1609, 1590, 1470, 1379, 1108, 836, 586, 506, 436

Ligand ile kompleks oluşturmak için $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tuzundan 0.043 g (0.25 mmol) alınarak bir beherde 10 mL metanol içerisinde çözülür ve (HL^2) ligandından ise 0.165 g (0.5 mmol) alınarak bir beherde 25 mL kloroform ve 50 mL metanol içerisinde çözülür. Balon içerisine alınan ligand çözeltisinin içerisine beherde çözülen metal tuzu çözeltisinden damla damla ilave edilir ve geri soğutucu takılarak 3 saat karıştırılır. Bu sırada turuncu renkli ligandan ilave sonrası koyu kahverengi renk gözlemlendi. Daha sonra ısıtıcı üzerinde 1 saat çözücü uzaklaştırılır. Oda şartlarında 30 dakika kadar kendi halinde soğumaya bırakılan koyu kahverengi çökelek süzgeç kağıdı ile süzülür. Süzgeç kağıdında toplanan çökelek vakum etüvünde 50-60 °C’ de kurutulur. Sentezlenen bu maddenin suda çözünmediği, EtOH, MeOH, CHCl_3 , DCM, ACN, DMSO, DMF ve THF gibi çözücülerde ise tam çözündüğü gözlemlenmiştir. $[\text{Cu}(\text{L}^2)_2]$ bileşiğinin sentez reaksiyonu Şekil 3.5’te verilmektedir.



Şekil 3.5. Sentezlenen HL^2 ligandın bakır kompleksinin olası yapısı.

Renk: Kahverengi

E.N.(Bozunma) : >220 °C

Verim: 0.145 g (%80,5)

Molekül ağırlığı (g/mol): 720,32

Kapalı Formül: C₄₂H₃₆CuN₆O₂

Elementel Analiz (%): Hesaplanan (Bulunan) C: 70,03 (69,76) ; H: 5,04 (5,01) ; N: 11,67 (11,48)

UV/GB (λ max DMF, nm) : 385

IR (ATR, cm⁻¹) : 2964, 1594, 1575, 1470, 1379, 1105, 831, 588, 529, 504, 452

3.3.5. Sentezlenen bileşiklerin antikanser aktiviteleri

Sentezlenen maddeler stok çözeltisi 10 mM olacak şekilde hazırlandı. Molekülün M_A'sına göre 1-2 mM stok çözeltilerin 1 mL DMSO ile çözümleri sağlandı. Bu çözülmüş bileşikler daha sonra 2 mL'lik bju tüplere; 200 µM olacak şekilde alikotlandı ve +4 °C'de saklandı. Çalışmalar için gerekli seyreltmeler ise besiyeri ile yapıldı.

3.3.5.1. Hücre kültürü çalışmaları

Hücre kültürü, hücrelerin kontrollü şartlar altında yetiştirilmesi sürecidir. Ticari olarak ATCC'den alınan HUVEC ve C6 Glioma hücre soyları kriyovial tüpler içerisinde -80 °C dolaplarda saklandı. Kullanılan hücre soylarının özellikleri aşağıda belirtilen şekildedir:

HUVEC Hücre Soyu: ▶Onkojenik değildir

- ▶Koloni yaparlar
- ▶Adherenttirler
- ▶Faktör VIII (+)

C6 Glioma Hücre Soyu: ▶Diploid

- ▶S-100 (somatotropin) (+)
- ▶Yüksek mitotik aktivite
- ▶Nükleer Polimorfizm

3.3.5.2. Hücre soylarının yetiştirilmesi ve pasajlanması

Deneyleerde kullanılan hücre soyları, flask yüzeyini tamamen kapladıklarında flask içerisindeki besiyeri aspire edildi. Hücrelerin serumdan arındırılması için 25 cm²'lik flask içerisine 3-4 mL 1X PBS (Pan Biotech) ilave edildi ve hücrelerin yüzeylerinin hafifçe yıkanması sağlandı. PBS ortamdan aspire edilerek uzaklaştırıldıktan sonra flask yüzeyine yapışan hücrelerin yüzeyden ayrılması için 0,5 mL %0,05 Trypsin-EDTA (Sigma) solüsyonu kullanıldı ve hücreler 37 °C'de %5 CO₂'li ortamda 4 dk. inkübe edildi. Mikroskopla bakıldığında flask yüzeyinden ayrıldığı kabul edilen hücrelere, tripsinin inhibe edilmesi için 2 mL kadar besiyeri ilave edildi. Böylece tripsinin hücreleri yüzeyden ayırdıktan sonra hücre membranlarına zarar vermeye başlaması engellenmiş oldu.

Flask içerisindeki hücre süspansiyonu, içerisinde 5 mL besiyeri bulunan 15 mL'lik falkon tüp içerisine alındı. 800 rpm'e 5 dk. santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant kısım aspire edildi ve elde edilen hücre pelleti 2 mL hücre besiyerinde çözüldükten sonra içerisine 10 mL besiyeri bulunan 75 cm²'lik flaslara alınarak 37 °C'de, %5 CO₂ içeren ortamda inkübasyona bırakıldı. Bu şekilde hücreler istenilen sayıya gelene kadar çoğalmaları sağlandı.

3.3.5.3. Kullanılan besiyerinin hazırlanması

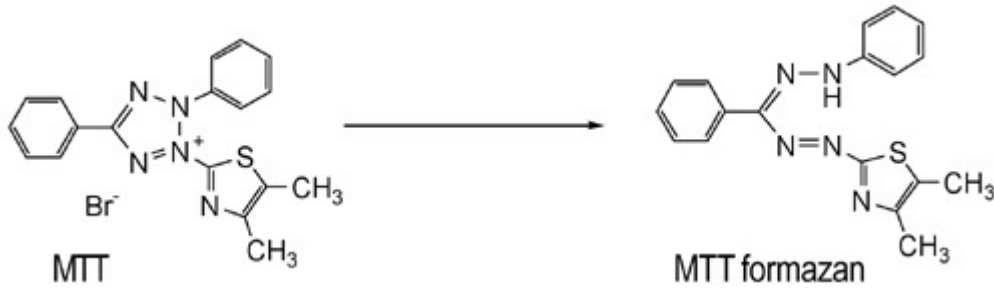
HUVEC ve C6 Glioma hücre soylarında kullanılan besiyeri ortamı için ; %10 FBS (Pan Biotech), %1 penisilin-streptomisin (Pan Biotech) ve %1 L-glutamin (Pan Biotech) içeren 5 mL DMEM: Ham's F12 (1:1) (Pan Biotech) besiyeri içerisinde yetiştirilerek pasajlamalar yapıldı.

3.3.5.4. Hemositometre ile hücrelerin sayımı

Hücreleri sayabilmek amacıyla tripsinizasyon işlemi sonucunda elde edilen hücre süspansiyonundan 10 µL alınarak 0,5 endorf tüpünün içine konuldu ve üzerine 10 µL %0,5 tripan mavisi (Roche) konarak iyice karışması sağlandı. Hafifçe pipetaj yapılarak yaklaşık 10 µL thoma lamına damlatıldı ve mikroskopta bu lam üzerinde alt ve üst şeklinde olmak üzere beş alanda hücre sayımı yapıldı. Her iki alanda sayılan hücreler rakamsal olarak birbirine yakın değerlerde olduğundan hesaplamaya geçildi (aradaki fark en fazla 10-12 olmalı). Bulunan sayı sulandırma katsayısı ile çarpılarak 1 mL besiyerinde ne kadar hücre olduğu hesaplandı.

3.3.5.5. MTT canlılık metodu

MTT yöntemi, ilk kez Mosmann ve ark. tarafından 1983 yılında belirlenmiştir ve hücre kültüründe büyütülen hücrelerdeki mitokondriyel dehidrogenaz enzim aktivitesinin kolorimetrik ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Mossmann ve ark., 1983). Bu enzim aktivitesi yaşayan hücrelerde gözlenirken, ölen hücrelerde ise gözlenmemektedir. Ortama konulan bileşiğe yanıt olarak eğer hücreler ölürse enzim aktivitesinin azaldığı veya kaybolduğu görülmektedir. Bu nedenle hücreler mitokondriyel dehidrogenaz enziminin değişime uğrattığı MTT maddesine (tetrazolyum (3-(4,5-dimetiltiyazol -2)-2,5-difenil tetrazolyum bromid) maruz bırakılırlar. MTT, sarı renkli suda çözünebilir tetrazolium tuzu olup canlı hücreler tarafından alınır ve mitokondriyel süksinat dehidrogenaz enzimleri tarafından suda çözünmeyen koyu mavi-mor renkli formazan kristallerine dönüştürülür. Dolayısıyla indirgenme ve formazan kristallerinin oluşum bölgelerinin mitokondri olduğu kabul edilmektedir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. MTT'nin reaksiyon şeması.

Sitotoksik bileşiklerin hücrelere zarar vermesi MTT tetrazoliumun formazana indirgenmesini azaltmaktadır. Sonuç olarak; canlı ve mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücreler mavi-mor renkte boyanmakta, ölü veya mitokondri fonksiyonu bozulmuş hücreler ise boyanmamaktadır. Daha sonra oluşan bu formazan kristalleri %10'luk SDS (25 g sodyum duodesil sülfat + 250 mŞ steril distile su + 207,5 µL %37 HCl) kullanılarak suda çözünür hale getirilir ve oluşturdukları renk şiddeti 570 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülür. Sonuç olarak; başlangıçta aynı sayıda ekilmiş hiç ilaç uygulanmamış kontrol hücrelerindeki (MO) renk şiddeti ile ilaca maruz bırakılmış hücrelerdeki renk şiddeti oranlanarak ilaca maruz bırakılmış hücrelerdeki canlılık oranı (yüzdesi) hesaplanmış olur.

0,32 g HL¹ ve HL²; 0,72 g [Cu(L¹)₂] ve [Cu(L²)₂] tartılmış ve 1 mL DMSO içinde tamamen çözüldükten sonra 4 mL besiyeri ilave edilmiştir. C6 ve HUVEC hücre hatlarının thoma lamında sayımı yapıp 100 mL hücre solüsyonu içeren 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına 5.000 hücre/ kuyucuk olacak şekilde ekilip 24 saat 37°C %5 CO₂' li ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, HL¹, HL², [Cu(L¹)₂] ve [Cu(L²)₂] maddeleri hazırlanarak kontrol kuyucukları hariç her bir kuyucuk içine 3 tekrarlı olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda (100, 50, 25 12,5 ve 6,25 µL) olacak şekilde yükleme yapılmıştır. Kuyucuklar 48 saat 37 °C % 5 CO₂' li ortamda inkübe edildikten sonra tüm kuyucuklara 40µL MTT ilave edilmiştir (MTT kimyasalı, 5mg/ml PBS tamponu içerisinde pH=7,2 olacak şekilde stok olarak hazırlandı). 4 saat inkübasyonun ardından oluşan formazan kristalleri 80 µL %10'luk SDS çözeltisi ilave edilerek çözdürüldü. 18 saat inkübasyondan sonra kuyucuklarda oluşan renk şiddeti spektrofotometre ile 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Ortalama absorbans değerleri alınarak HL¹, HL², [Cu(L¹)₂] ve [Cu(L²)₂] muamele edilmiş kuyucuklar kontrol grubu ile kıyaslanarak % canlılık değerleri hesaplanmıştır.

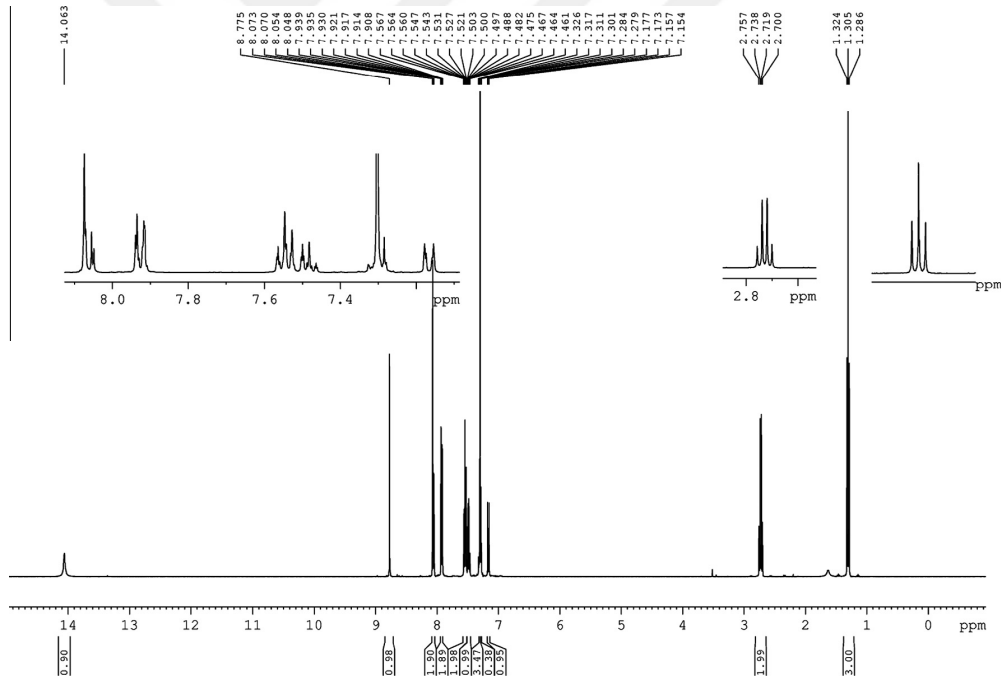
%Canlılık=[100×(Bileşik ile muamele edilen hücre absorbansı ortalaması-kör ortalama)/(Kontrol hücre absorbansı ortalaması-kör ortalama)]olarak hesaplandı.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada iki azo-azometin türü ligand (4-((E)-fenildiazenil)-2-((E)-(4-etilfenilimin)metil)fenol, 4-((E)-fenildiazenil)-2-((E)-(3-etilfenilimin)metil)fenol) ve bunların Cu(II) metal kompleksleri () sentezlendi. Sentezlenen bu ligandlar ve bakır(II) kompleksleri daha sonra çeşitli enstrümantal analiz yöntemleri kullanılarak karakterize edildi. Kullanılan tekniklerden elde edilen veriler aşağıda detaylı bir şekilde yorumlanmaktadır.

4.1. NMR Spektroskopisi

Ligandlar (HL¹ ve HL²) başlangıç maddesinden (nx) yola çıkılarak sentezlendi. Sentezlenen yeni azo (N=N) ve azometin (C=N) grubu içeren liganların ¹H ve ¹³C NMR spektrumları alınarak karakterize edildi. Şekil 4.1'de örnek olarak HL¹ ligandından elde edilen ¹H spektrumu görülmektedir.

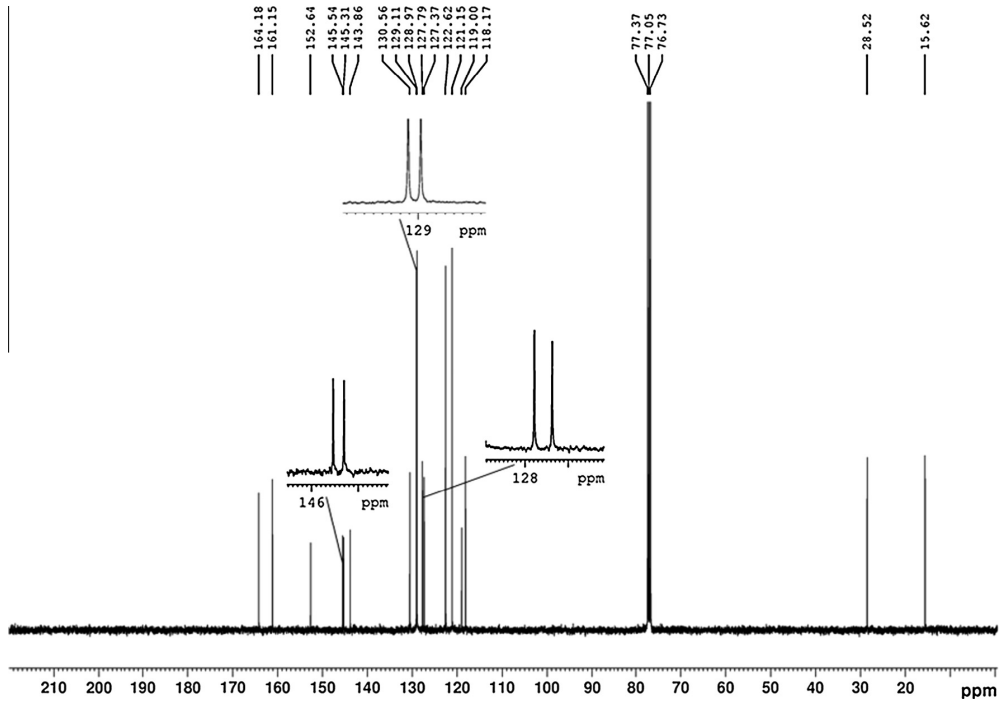


Şekil 4.1. HL¹ ligandının ¹H NMR spektrumu.

HL¹ ligandındaki azometin grubundaki singlet proton, 8,77 ppm iken, HL² ligandındaki azometin grubundaki singlet H, 8,77 ppm'de gözlemlendi. Sentezlenen her iki ligandlarda da bulunan 3 halkadaki aromatik protonlar HL¹ çoklu olarak 8,07-7,15 ppm'de gözlenir iken, HL² de çoklu olarak 8,30-7,14 ppm'de gözlemlendi. Sentezlenen

ligandların OH protonu HL¹ için 14,06 ppm iken, HL² için 13,94 olarak gözlemlendi. 1,32-1,28 ppm'de triplet olarak elde edilen HL¹ ligandı için aromatik halkaya bağlı CH₃ grubundaki protondan kaynaklanmaktadır. HL² için bu pik 1,25-1,22 ppm de yine triplet olarak gözlemlendi. 2,75-2,70 ppm'de quartet olarak elde edilen HL¹ ligandı için aromatik halkaya bağlı CH₂ grubundaki protondan kaynaklanmaktadır. HL² için bu pik 2,69-2,66 ppm'de yine quartet olarak gözlemlendi.

Sentezlenen ligandların ayrıca ¹³C NMR spektrumları alındı. HL¹ için elde edilen NMR spektrumu Şekil 4.2'de verilmektedir.



Şekil 4.2. HL¹ ligandının ¹³C NMR spektrumu.

Alınan NMR spektrumları incelendiğinde sentezlenen ligandların hedeflenen moleküller olduğunu desteklemektedir. Beklenen C sayısı elde edilen spektrumlarla uyusmaktadır. Ligandlarda bulunan CH=N gruplarının C piki HL¹ de 164,18 pmm iken HL² de 164,41 ppm'de gözlemlendi. Fenolik karbondaki C atomunun piki HL¹ de 161,15 pmm iken HL² de 163,12 ppm'de gözlemlendi. Aromatik halkalardaki C atomlarının pikleri kimyasal çevresine bağlı olarak 152-118 ppm aralığında gözlemlendi. Aromatik halkaya bağlı etil grubundaki (Ar-CH₂-CH₃) C pikleri HL¹ için 28,52 ppm (CH₂) 15,62 ppm (CH₃) olarak ve HL² için ise 28,57 ppm (CH₂) 15,97 ppm (CH₃) olarak gözlemlendi.

Elde edilen NMR sonuçları (^1H ve ^{13}C) bileşiklerin hedeflenen moleküller olduğunu ve önemli derece safsızlık içermediğini göstermektedir.

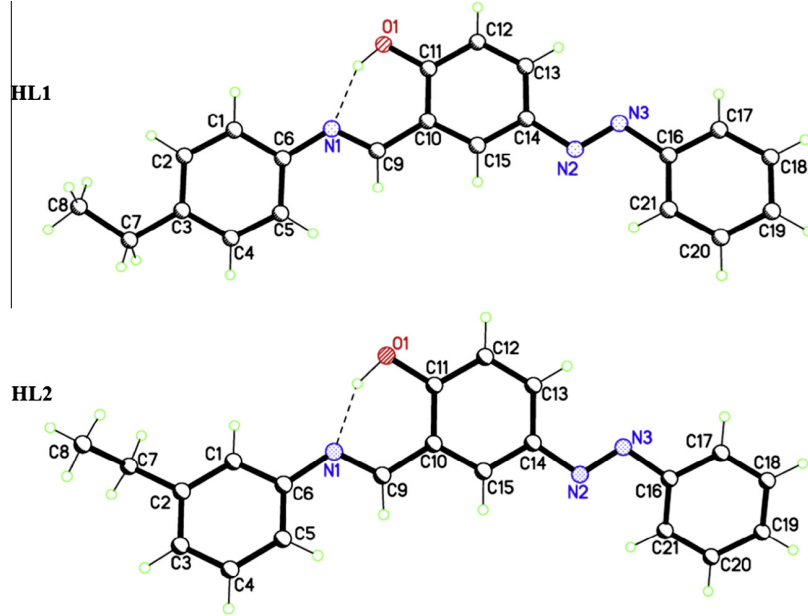
4.2. X-Işınlari Yapısı

HL^1 ve HL^2 ligandlarının moleküler yapısı, X-ışınları kristalografi metodu ile belirlendi. Değerlendirilen X-ışınları verileri Çizelge 4.1’de verilmektedir.

Çizelge 4.1. HL^1 ve HL^2 için kristalografik veriler.

Özellik	HL^1	HL^2
Empirik formül	$\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$	$\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$
Formül ağırlığı	329.39	329.39
Kristal ölçü(mm^3)	$0.57 \times 0.25 \times 0.09$	$0.67 \times 0.28 \times 0.09$
Kristal rengi	Sarı	Turuncu
Kristal sistem	Monoklinik	Monoklinik
Uzay grup	$P2/c$	$P2(1)/n$
Birim hücre		
a(Å)	12.4546(17)	7.1885(7)
b(Å)	6.5006(9)	6.4536(7)
c(Å)	21.408(3)	36.892(4)
α (°)	90	90
β (°)	100.482(2)	90.306(2)
γ (°)	90	90
Hacim(Å ³)	1704.4(4)	1711.5(3)
Z	4	4
Abs.kat. (mm^{-1})	0.081	0.081
Toplanan yansıma	14,486	14,430
Bütünlük için $\theta=28.02^\circ$	99.6	99.5
Bağımsız yansıma.[R_{int}]	3506[0.0347]	3493[0.0206]
$R1$, $wR2$ [$I > 2\sigma(I)$]	0.0396, 0.0961	0.0362, 0.0938
$R1$, $wR2$ (tüm data)	0.0587, 0.1064	0.0439, 0.0986
CCDC No	1034612	1034613

Elde edilen verilerden sentezlenen her iki ligandında kristal büyüklüğünün farklı olduğu ve kristal sisteminin Monoklinik olduğu görülmektedir. Ligandlardan X-ışınları yapıları numaralandırılmış atomlarıyla Şekil 4.3'te görülmektedir.



Şekil 4.3. HL¹ ve HL² azo-azometin ligandlarının atom numarasıyla verilen moleküler yapıları.

HL¹ ve HL² için hidrojen bağı parametreleri Çizelge 4.2'de görülürken iken, seçilmiş bağı açılı ve uzunlukları da Çizelge 4.3'te görülmektedir. Her iki yapıdaki moleküle ait bağı uzunlukları ve bağı açılı normal değerler arasında olduğu görüldü.

Çizelge 4.2. HL¹ ve HL² için hidrojen bağı parametreleri (Å ve °)

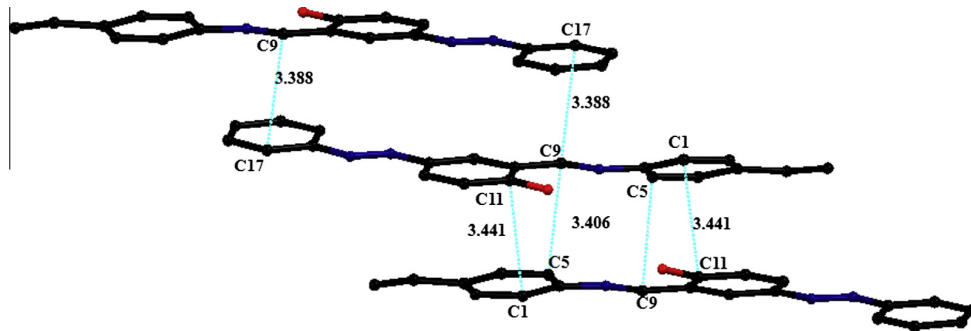
	<i>D</i> —H··· <i>A</i>	<i>D</i> —H	H··· <i>A</i>	<i>D</i> ··· <i>A</i>	<i>D</i> —H··· <i>A</i>
HL ¹	O(1)—H(1A)···N(1)	0.933(17)	1.749(18)	2.5957(15)	149.4(15)
HL ²	O(1)—H(1A)···N(1)	0.930(18)	1.755(18)	2.6035(14)	150.2(16)

Çizelge 4.3. Sentezlenen ligandların seçilen bağların uzunlukları ve açıları (Å ve °).

	HL ¹	HL ²
N(1)–C(9)	1,2860(16)	1,2864(16)
C(11)–O(1)	1,3456(16)	1,3451(15)
N(2)–N(3)	1,2558(15)	1,2574(14)
C(6)–N(1)	1,4185(16)	1,4191(15)
C(14)–N(2)	1,4292(18)	1,4196(16)
N(3)–C(16)	1,4294(18)	1,4260(17)
C(6)–N(1)–C(9)	121,43(12)	120,18(11)
N(3)–N(2)–C(14)	114,41(12)	114,05(11)
N(2)–N(3)–C(16)	112,71(12)	113,90(11)

Her iki ligand için C10-C15 fenol halkasının aromatikliğini değerlendirmek için aromatiklik indeksi (HOMA-harmonic oscillator model of aromaticity) hesaplandı. HOMA indeksi 0,900-0,990 olduğunda halkanın aromatik olduğunu ve 0,500-0,800 olduğunda ise halkanın aromatik karakterden uzaklaştığını göstermektedir. C10-C15 fenol halkası için HOMA indeks değerleri HL¹ için 0,939 ve HL² için ise 0,944 olarak bulundu. Bu değerlerin C10-C15 halkasının her iki ligand içinde aromatik halka olduğunu göstermektedir. Ligandlarda var olan azometin grubu (-C9=N1) bağ uzunlukları HL¹ ve HL² için sırasıyla 1,2860(16) Å ve 1,2864(16) Å olarak elde edildi. Diazenil (-N2=N3-) için bağ uzunlukları HL¹ ve HL² için sırasıyla 1,2558(15) Å ve 1,2574(14) Å olarak elde edildi. Azo grubuna (-N=N-) bağlı olan aromatik halkalar (C10-C15) ve (C16-C21), azo çifte bağına göre trans konfigürasyondadır ve HL¹ ve HL²'nin C(14)–N(2)–N(3)–C(16) için bağ açıları sırasıyla 178,99(10)° ve 179,89(9)°'dir. Her iki ligand için moleküllerde intramoleküler fenol-imine hidrojen bağı (O1...N1) gözlemlendi.

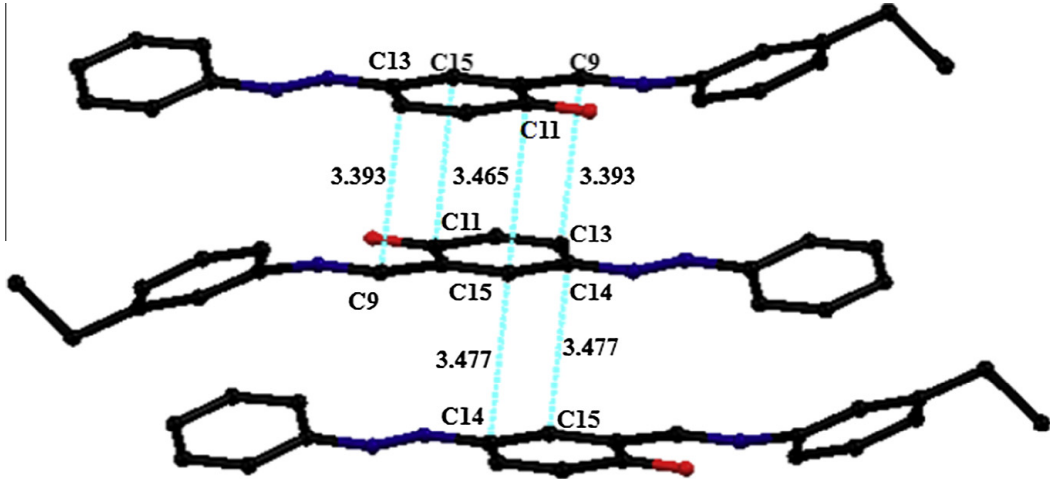
HL¹ ligandı için yapıda iki adet π - π istiflenme etkileşimleri vardır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. HL¹ ligandının π - π istiflenme etkileşimleri.

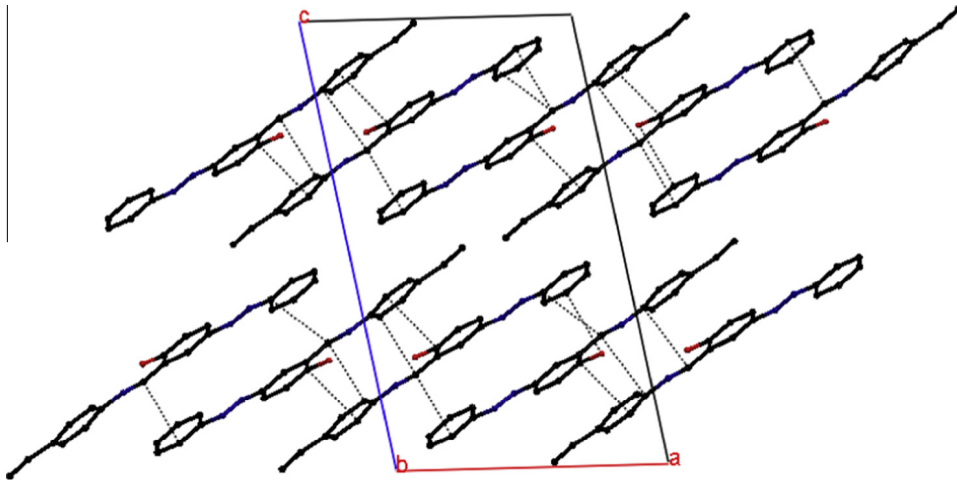
Şekilde görüldüğü gibi birinci istiflenme etkileşimi C1-C11 arasında olup 3,441 Å ve C5-C9 arasında olup 3,406 Å ile birbirinden ayrılmaktadır. İkinci istiflenme etkileşimi ise C9-C17 arasında olup 3,388 Å ile birbirinden ayrılmaktadır.

HL² ligandı için yapıda yüz-yüze ve köşe-köşe fenil-fenil istiflenme etkileşimleri görüldü (Şekil 4.5)

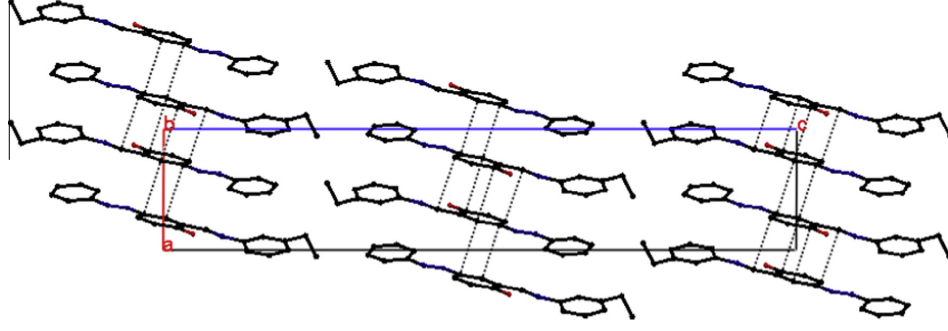


Şekil 4.5. HL² ligandının π - π istiflenme etkileşimleri.

Şekil 4.6 ve 4.7’da sentezlenen ligandların paketlenme diyagramları görülmektedir.



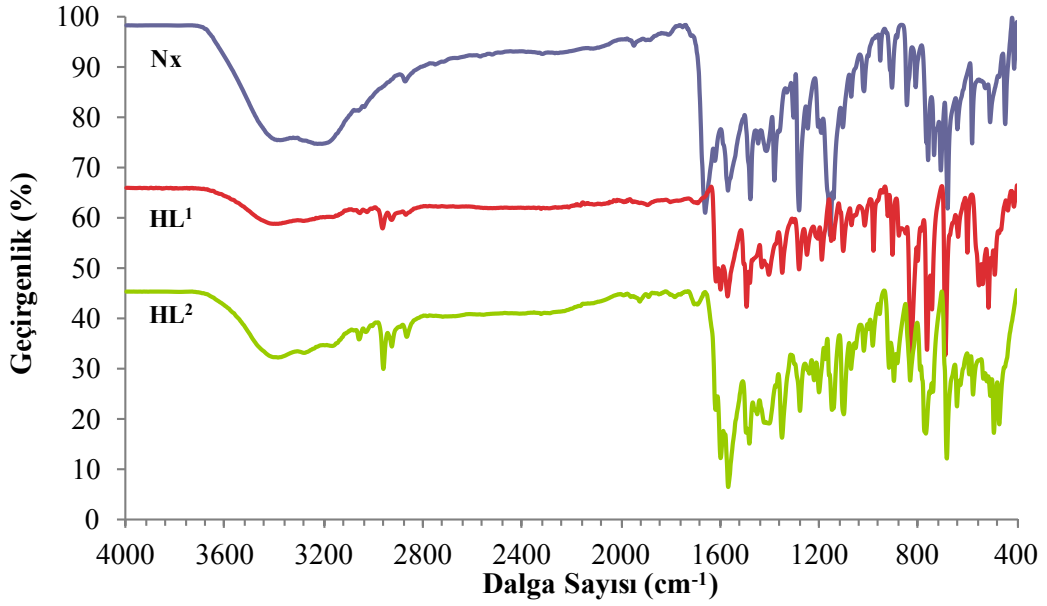
Şekil 4.6. HL¹ ligandının paketlenme diyagramı.



Şekil 4.7. HL² ligandının paketlenme diyagramı.

4.3. FT-IR Spektroskopisi

Sentezlenen başlangıç maddesinin (Nx), ligandların (HL¹ ve HL²) ve bakır(II) komplekslerin [Cu(L¹)₂] ve [Cu(L²)₂] karakterizasyonu için ATR modu ile FT-IR spektrumları alındı. Şekil 4.8’de başlangıç maddesinin ve sentezlenen ligandların FT-IR spektrumları karşılaştırmalı olarak verilmektedir.

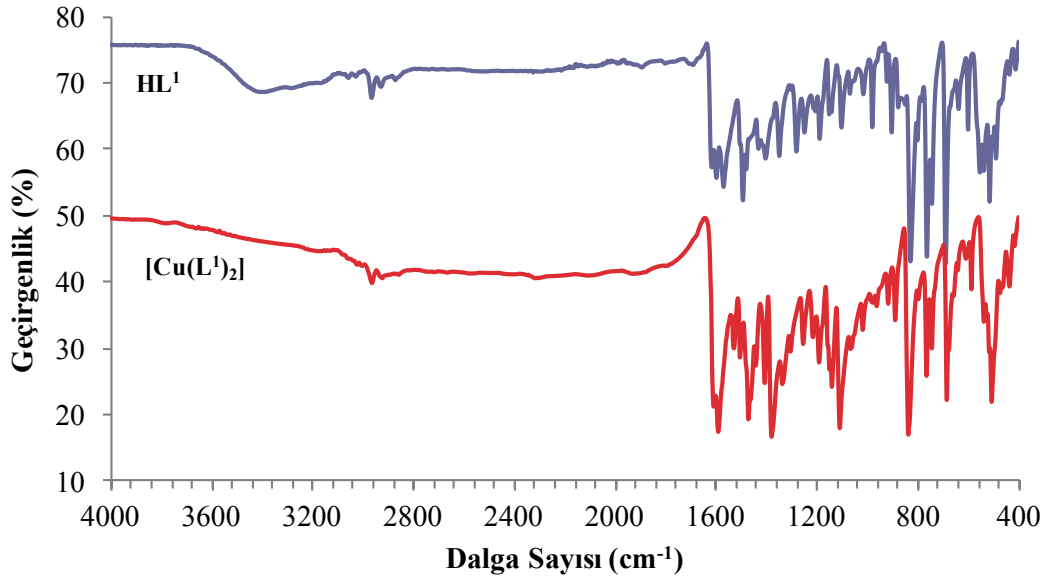


Şekil 4.8. Nx, HL¹ ve HL²'nin FT-IR spektrumları.

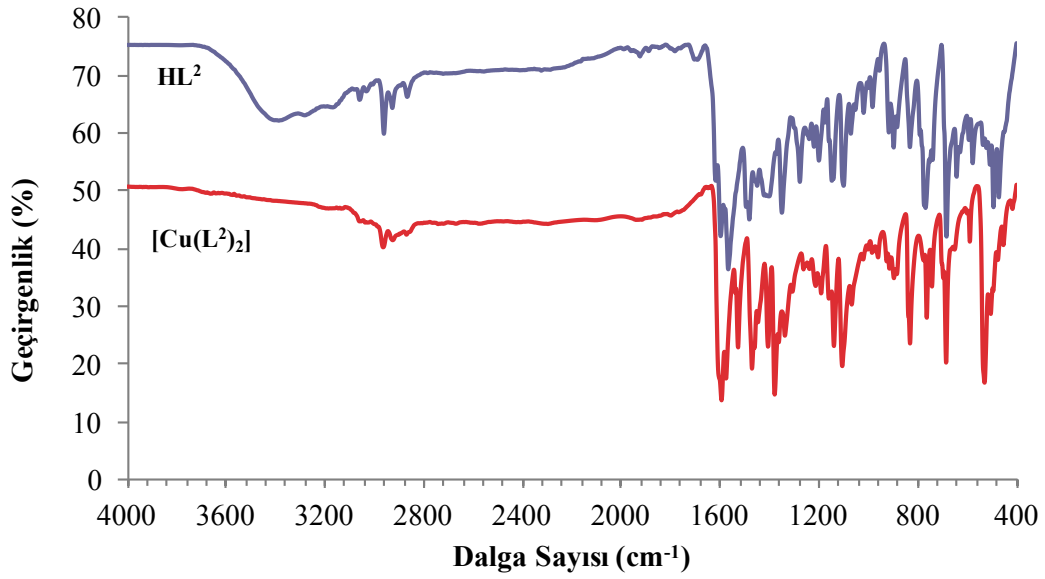
Alınan IR spektrumdaki başlangıç maddesinden (Şekil 3.1) elde edilen 3404 cm⁻¹ band fenolik OH'tan kaynaklanmaktadır. 1661 cm⁻¹ elde edilen şiddetli band pik C=O grubunu işaret etmektedir. Başlangıç maddesinde var olan azo grubu (N=N) ise 1568 cm⁻¹'de gözlemlendi. Başlangıç maddesinden yola çıkılarak sentezlenen HL¹ ve HL² ligandlarından elde edilen spektrumlara bakıldığında başlangıç maddesinden bazı titreşim

bandlarının kaybolduğu ve yeni titreşim bandlarının gözlemlendiği görölmektedir (şekil 4.8). Öncelikle başlangıç maddesinde var olan C=O grubu (1661 cm^{-1}) ligand oluşturduğu zaman mevcut olan C=O grubu azometin grubu (C=N) oluşturduğundan dolayı titreşim bandı kaybolduğu gözlemlendi. Oluşan yeni C=N bağının titreşim bandları spektrumda HL^1 için 1618 cm^{-1} ve HL^2 için ise 1620 cm^{-1} olarak gözlemlendi. Ayrıca ligandlarda var olan C–N bağlarının titreşim bandı HL^1 ve HL^2 ligandları için sırasıyla 1280 cm^{-1} ve 1277 cm^{-1} olarak gözlemlendi. Ligandlar sentezlenirken kullanılan anilin türevlerinde var olan alifatik C–H titreşim bandları da sentezlenen ligandlarda yeni titreşim bandları olarak $2850\text{--}2965\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlemlendi (şekil 4.8). Ligandlarda var olan azo gruplarının (N=N) titreşim bandları spektrumda her iki ligand için de 1569 cm^{-1} olarak gözlemlendi. Elde edilen FT-IR spektrumlarının sonucu her iki ligandın da başarı ile sentezlendiğini göstermektedir.

Sentezlenen ligandların bakır kompleksleri sentezlendi ve yine FT-IR spektrumları alınarak karakterize edildi (şekil 4.9 ve 4.10).



şekil 4.9. Sentezlenen HL^1 ligandının ve bakır kompleksinin FT-IR spektrumları.

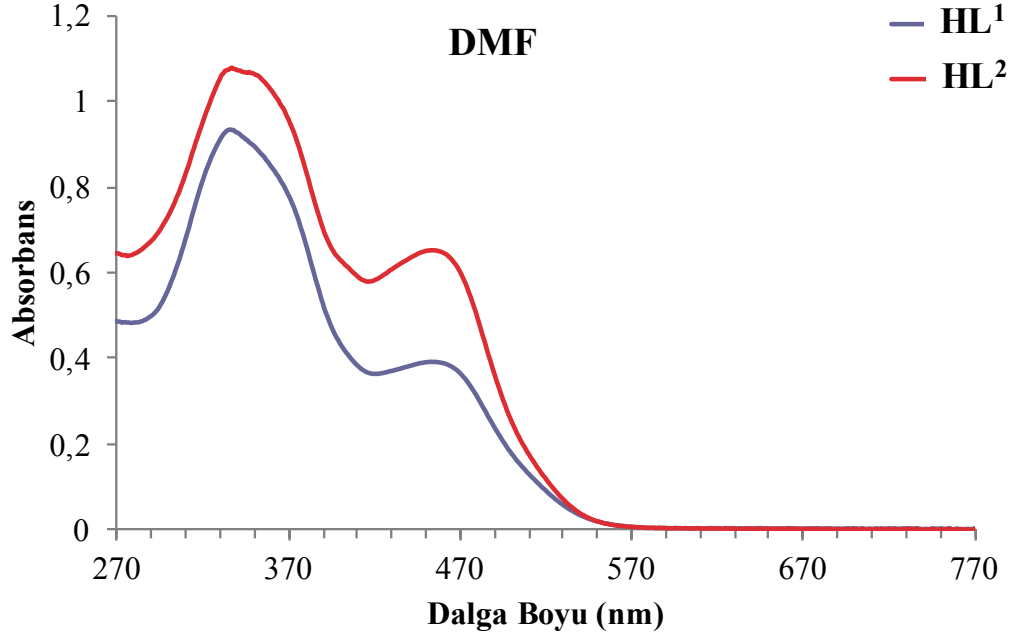


Şekil 4.10. Sentezlenen HL^2 ligandının ve bakır kompleksinin FT-IR spektrumları.

Elde edilen FT-IR spektrumlarında kompleks oluştuğu zaman bazı titreşim bandlarının kaybolduğu, kaydığı ve açığa çıktığı görülmektedir. Öncelikle ligandlarda var olan OH titreşim bandlarının kompleks oluştuğu zaman kaybolduğu görülmektedir. Ligandlarda var olan C=N bağına ait titreşim bandları ise bakır iyonlarının azot ile koordinasyonundan dolayı daha düşük dalga sayılarına kaydığı görülmektedir. HL^1 ligandı kullanılarak sentezlenen komplekste C=N bağının titreşim bandı 1618 cm^{-1} 'den 1609 cm^{-1} 'e kaydığı görülmektedir. HL^2 ligandı kullanılarak sentezlenen komplekste ise C=N bağının titreşim bandı 1620 cm^{-1} 'den 1594 cm^{-1} 'e kaydığı görülmektedir. Bu kaymalar metal iyonlarının azot üzerinden koordinasyona girdiğinin bir göstergesidir. Ayrıca kompleks oluştuğu zaman ligandlarda var olmayan Cu-O ve Cu-N titreşim bandlarının var olduğu görülmektedir. $[Cu(L^1)_2]$ kompleksi için Cu-O ve Cu-N titreşim bandları sırasıyla 586 cm^{-1} ve 436 cm^{-1} iken $[Cu(L^2)_2]$ kompleksi için Cu-O ve Cu-N titreşim bandları sırasıyla 588 cm^{-1} ve 452 cm^{-1} olarak gözlemlendi.

4.4. UV-Görünür Bölge Spektroskopisi

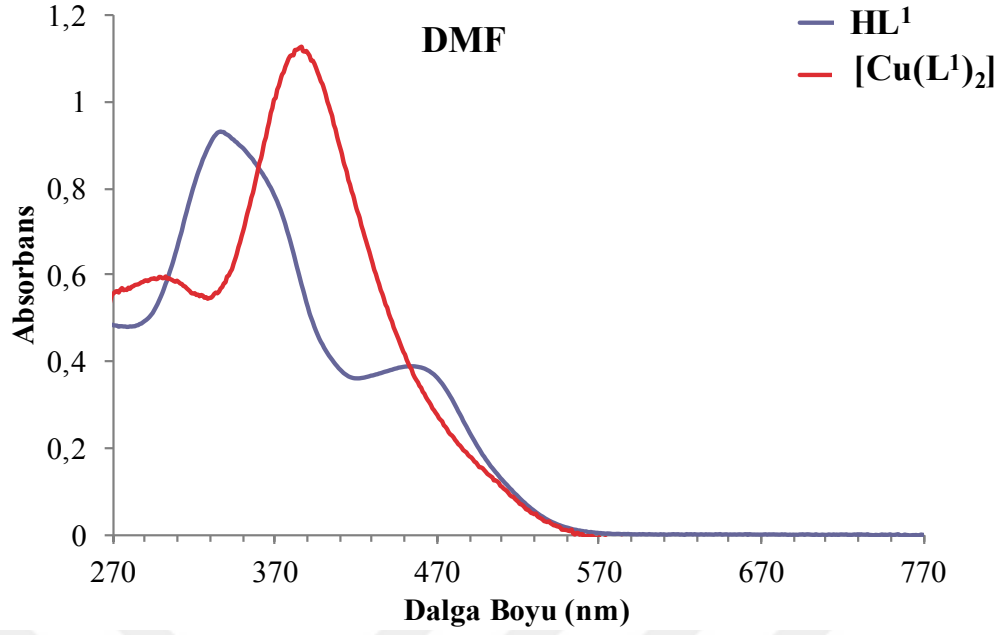
Sentezlenen ligandlar ve metal komplekslerini karakterize etmek için 270-770 nm aralığında DMF içerisinde absorban spektrumları alındı. Ligandlardan elde edilen absorban spektrumları Şekil 4.11'de verilmektedir.



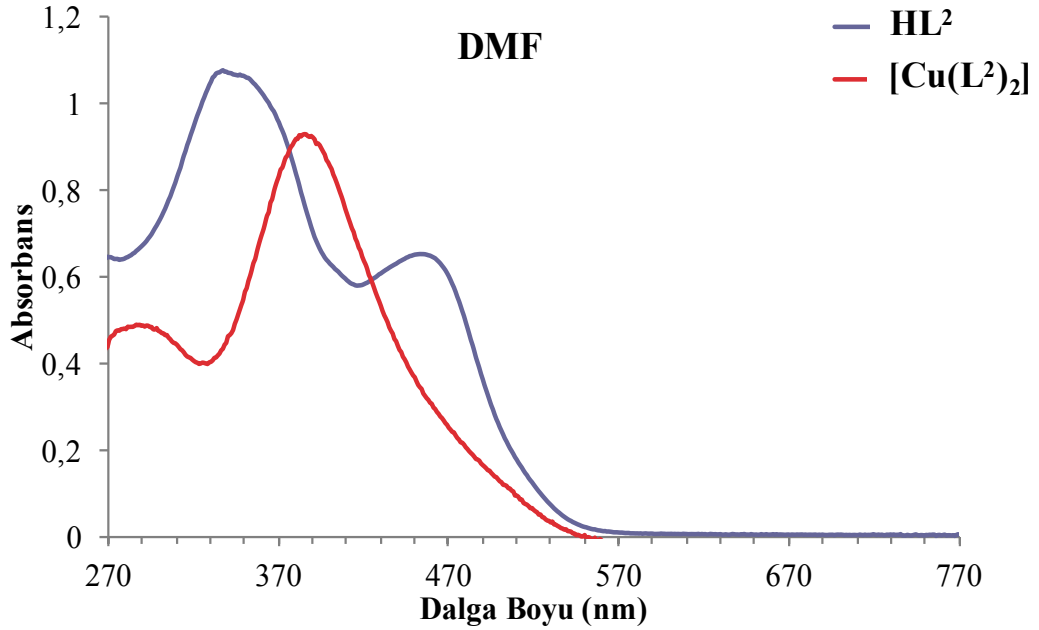
Şekil 4.11. Sentezlenen ligandların (HL¹ ve HL²) DMF içerisindeki absorbanans spektrumları.

DMF içerisinde çözünen ligandlardan elde edilen spektrumlarında iki maksimum absorbanans değeri elde edildi. İlk maksimum değerler HL¹ için 335 nm, HL² için ise 340 nm olarak ölçüldü. Bu absorbanans değerleri sentezlenen ligandlarda var olan azometin grubu (–HC=N–) ve azo grubu (–N=N–) π - π^* geçişlerinden kaynaklanmaktadır. İkinci maksimum absorbanans değerleri ise HL¹ için 461 nm, HL² için ise 462 nm olarak ölçüldü. Bu absorbanans değerlerinin sentezlenen ligandlarda var olan azometin grubu (–HC=N–) ve azo grubu (–N=N–) n - π^* geçişlerinden yapısından kaynaklanmaktadır.

Şekil 4.12 ve 4.13'te sentezlenen ligandların (HL¹ ve HL²) ve bunların bakır kompleksleri [Cu(L¹)₂] ve [Cu(L²)₂] elde edilen absorbanans spektrumları karşılaştırılmalı olarak verilmektedir.



Şekil 4.12. Sentezlenen HL¹ ligandının ve bakır kompleksinin DMF içerisindeki absorbans spektrumları.



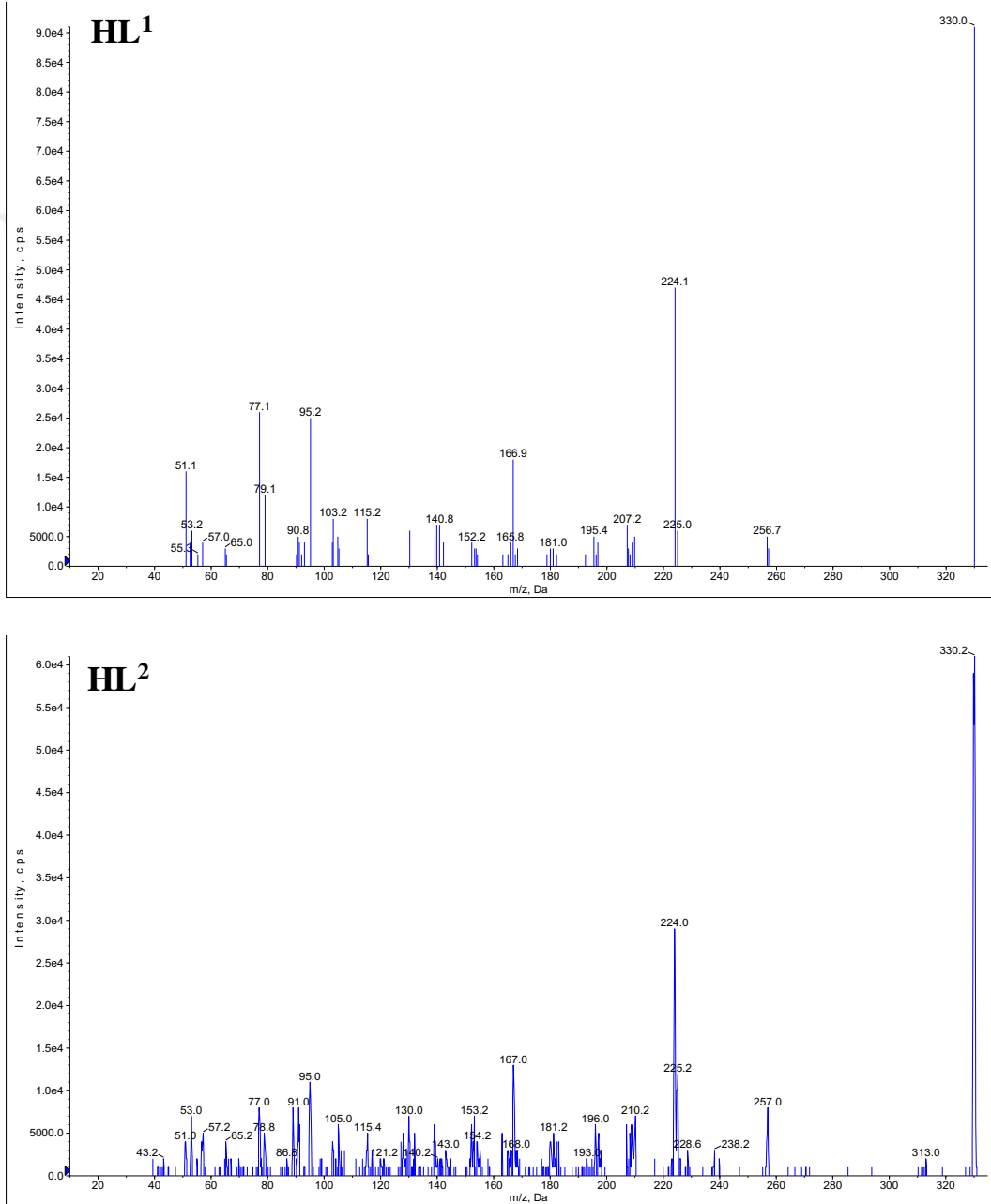
Şekil 4.13. Sentezlenen HL² ligandının ve bakır kompleksinin DMF içerisindeki absorbans spektrumları.

Ligandların bakır kompleksleri sentezlendiğinde iki maksimum absorbans değerleri olan ligandların aksine tek maksimum absorbans değerleri ölçüldü. [Cu(L¹)₂] için 386 nm ve [Cu(L²)₂] için 385 nm olarak ölçüldü. Bu absorbans değerlerinin M-L yük geçişlerinden

ve π - π^* geçişlerinden kaynaklanmaktadır. Komplekslerde d-d geçişleri düşük enerjili olduğundan absorbands bandları elde edilemedi.

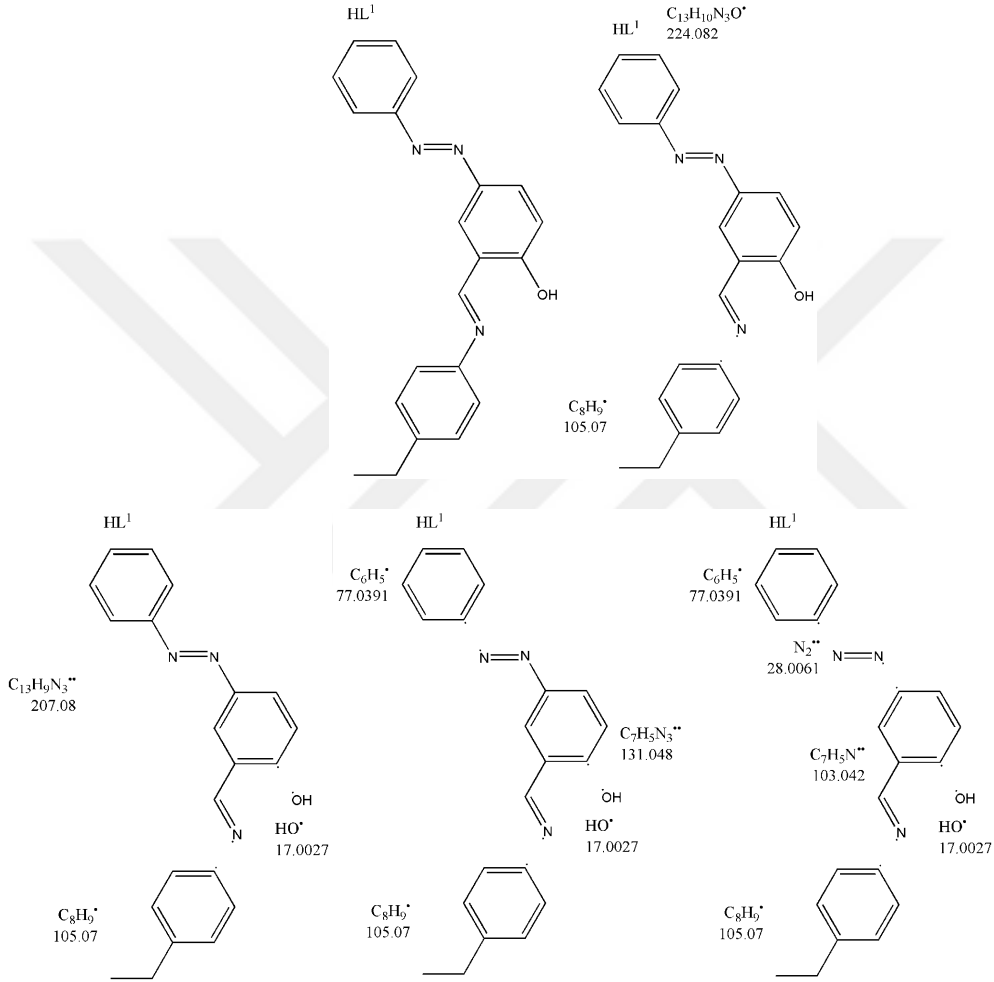
4.5. Kütle Spektroskopisi

Sentezlenen ligandlar ve komplekslerin kütle spektrumları alınarak karakterize edildi. Ligandlar için ESI-MS kullanılırken kompleksler için ise MALDI-TOF MS kullanıldı. Şekil 4.14'te ligandlardan elde edilen kütle spektrumları görülmektedir.



Şekil 4.14. Sentezlenen ligandlardan (HL¹ ve HL²) elde edilen kütle spektrumları.

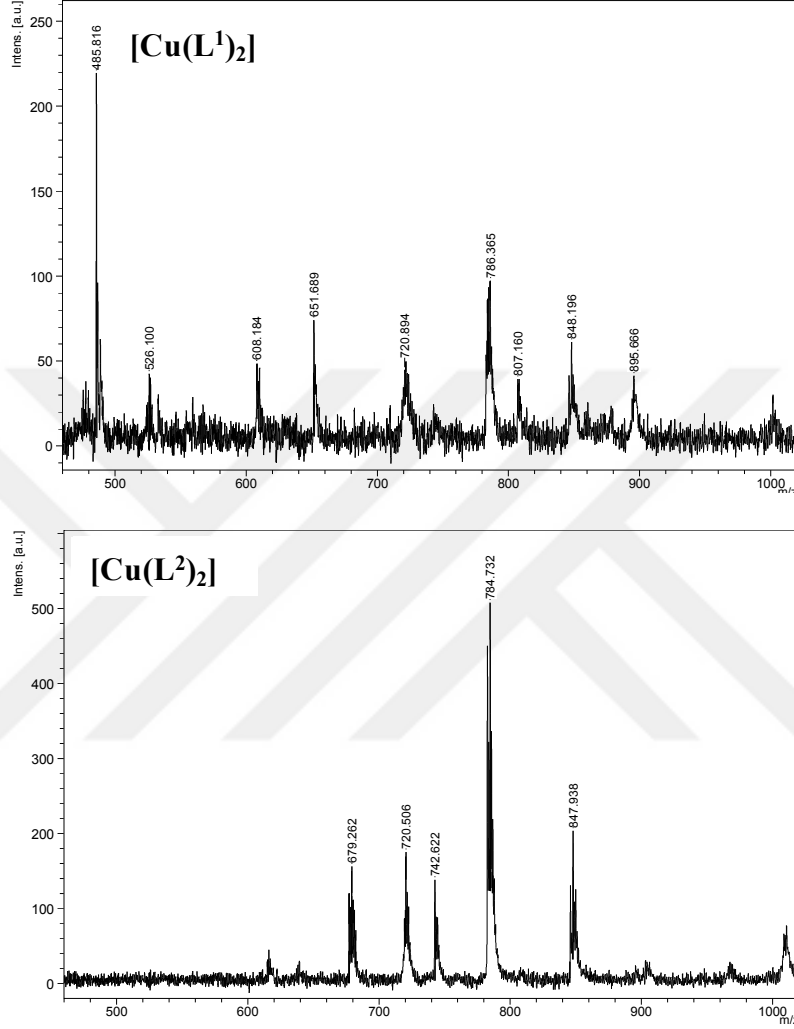
Kullanılan iyonlaştırma kaynağı (ESI) yumuşak olduğundan moleküler iyon piki elde edildi. Sentezlenen ligandların moleküler kütlesi 329,4 g/mol'dür. Elde edilen spektrumlarda temel pik olarak yaklaşık 330 m/z elde edildi. Elde edilen bu pik moleküler iyon $[M]^+$ pikidir. Sentezlenen ligandların olası parçalanma ürünleri ve m/z oranları örnek olarak HL^1 için Şekil 4.15'te görülmektedir.



Şekil 4.15. HL^1 ligandının olası kütle parçalanma ürünleri.

Olası parçalanma ürünlerine bakıldığında spektrum üzerinde parçalanmış ürünlerin m/z oranlarıyla örtüştüğü görülmektedir (Şekil 4.14).

Sentezlenen kompleksler ESI-MS ile analiz edilmeye çalışıldıysa da ancak kompleksler iyonlaşırılmadığı için kütle spektrumları elde edilemedi. Bu nedenle komplekslerin kütle spektrumları MALDI-TOF MS kullanılarak yapıları aydınlatıldı (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Sentezlenen bakır komplekslerinden elde edilen kütle spektrumları.

Spektrumlar incelendiğinde her iki kompleks için m/z 720 olarak elde edilen piklerin $[M]^+$ iyon piki olduğu görüldü. Bu da metal ligand oranının (M:L) 1:2 olarak kompleks oluştuğu göstermektedir.

Alınan hem ESI-MS hem de MALDI-TOF MS sonuçları dikkate alındığında ligandların ve komplekslerin başarı ile sentzlendiğini göstermektedir.

4.6. Elementel Analiz

Sentezlenen hem ligandların hem de bakır komplekslerinin % karbon (C), hidrojen (H) ve azot (N) oranları belirlendi. Elde edilen sonuçlar ve hesaplanan değerler Çizelge 4.4'te verilmektedir.

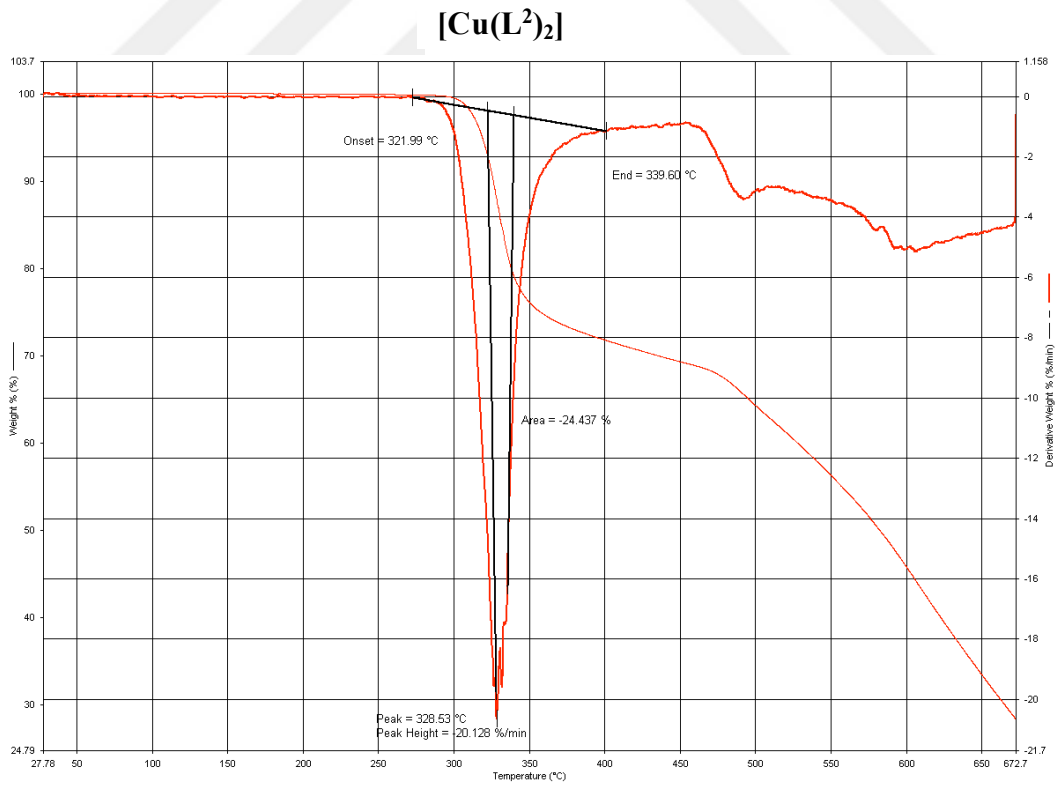
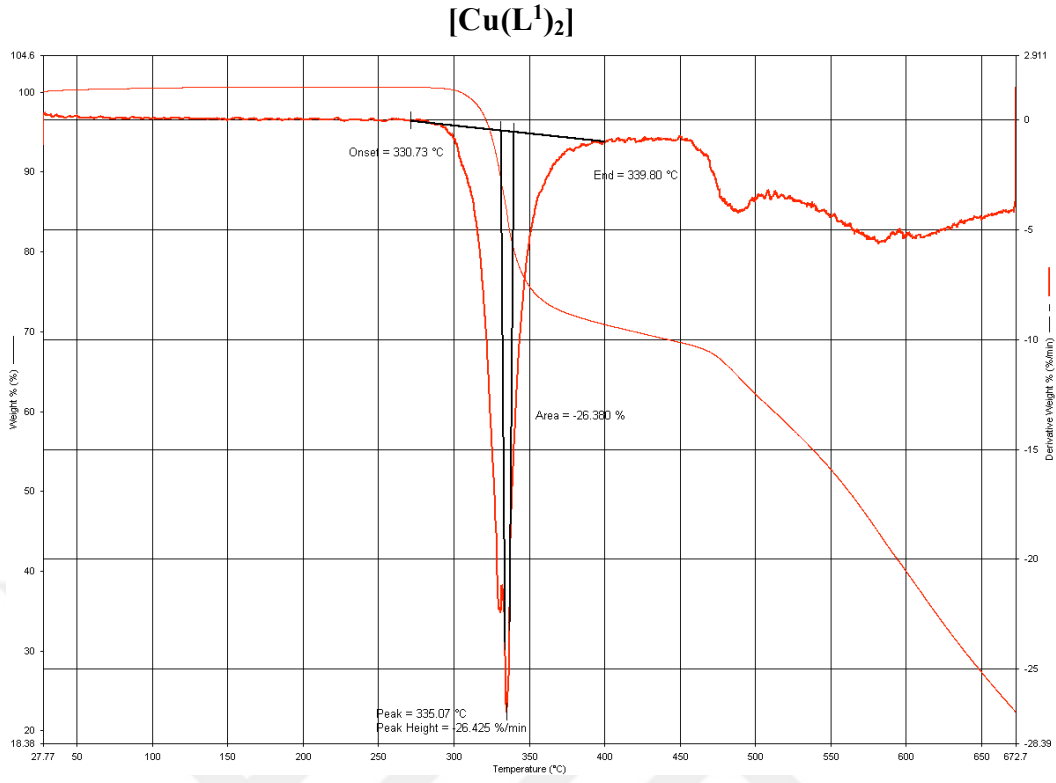
Çizelge 4.4. Sentezlenen maddelerin elementel analiz sonuçları.

Bileşikler	Hesaplanan (%)			Bulunan (%)		
	C	H	N	C	H	N
HL ¹	76,57	5,81	12,76	76,45	5,74	12,76
HL ²	76,57	5,81	12,76	76,53	5,88	12,74
[Cu(L ¹) ₂]	70,03	5,04	11,67	69,99	5,05	11,50
[Cu(L ²) ₂]	70,03	5,04	11,67	69,76	5,01	11,48

Çizelgedeki değerlere bakıldığında teorik olarak hesaplanan sonuçlar ile deneysel olarak bulunan analiz sonuçları birbirine yakındır. Bu da sentezlenen ligandların ve komplekslerin önerilen yapıda olduğunu desteklemektedir.

4.7. Termal Analiz

Sentezlenen [Cu(L¹)₂] ve [Cu(L²)₂] komplekslerin termal analizleri yaparak hem kompleks yapısında su molekülü bulunup bulunmadığı hem de termal özellikleri incelendi. Şekil 4.17'de komplekslerden elde edilen TG ve DTG grafikleri görünmektedir.

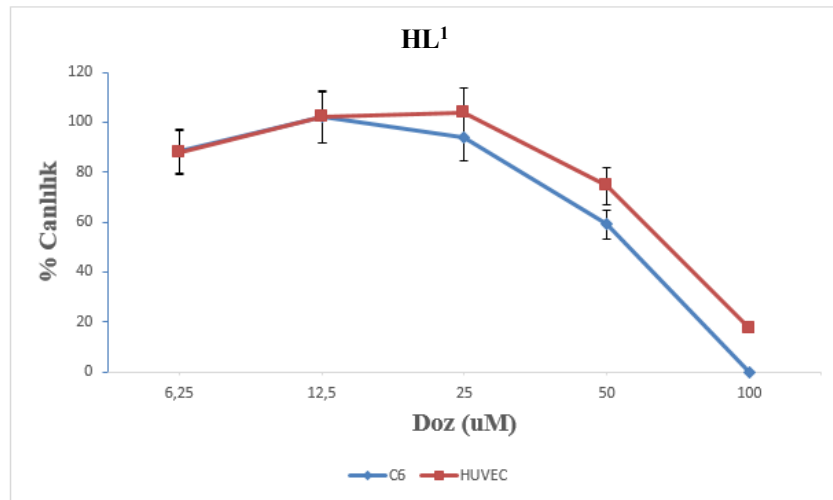


Şekil 4.17. Sentezlenen komplekslere ait TG/DTG grafikleri.

Grafiklerde görüldüğü gibi her iki kompleks yaklaşık 300 °C’de karardır. [Cu(L¹)₂] kompleksinin ilk parçalanma basamağı 330-339 °C aralığında olup DTG piki 335 °C’dir. İlk basamakta deneysel olarak % 26,38 (hesaplanan %25) kütle kaybı olmaktadır. Bu kütle kaybı komplekste var olan azo benzen moleküllerinden kaynaklanmaktadır (C₁₂H₈N₂). [Cu(L²)₂] kompleksinin ilk parçalanma basamağı 321-339 °C aralığında olup DTG piki 338 °C’dir. İlk basamakta deneysel olarak % 24,43 (hesaplanan %25) kütle kaybı olmaktadır. Bu kütle kaybı komplekste var olan azo benzen moleküllerinden kaynaklanmaktadır (C₁₂H₈N₂). Her iki komplekste 300 °C’ye kadar kararlı olduğundan sentezlenen komplekslerde ne hidrat ne de kristal suyu olmadığı sonucuna varıldı. Termal analiz sonuçları, sentezlenen komplekslerin 4 koordinasyonlu bir bileşik olduğu ve koordinasyon oluşurken iki fenolik oksijen iki azometin azotunun koordinasyona girdiğini göstermektedir. En son komplekslerin parçalanma ürünü ise CuO’tir.

4.8. Antikanser Aktiviteleri

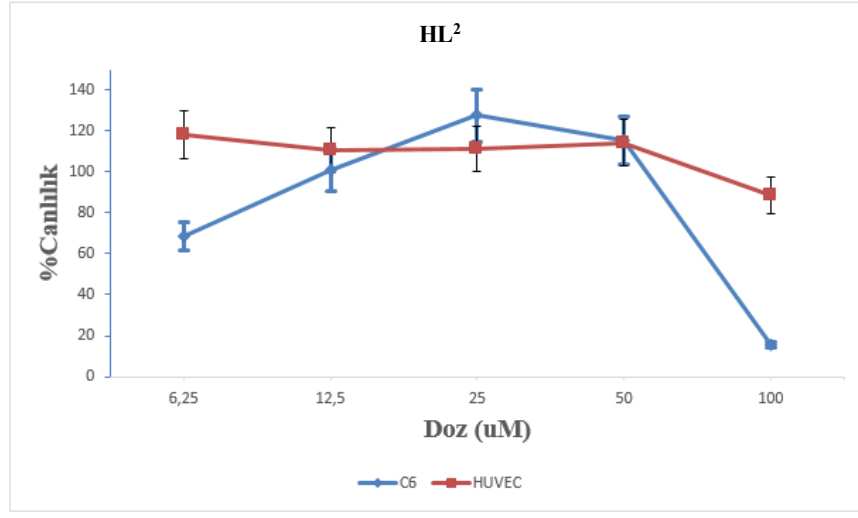
HL¹ ligandının değişen konsantrasyonlarda (6.25, 12.5, 25, 25, 50 ve 100 µM) C6 ve HUVEC hücreleri üzerine uygulanmış ve sitotoksik aktiviteleri MTT canlılık metoduna göre belirlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. HL¹ ligandı ile muamele edilen C6 ve HUVEC hücre hatları.

48 saatlik HL¹ ligandına maruz bırakılmış C6 ve HUVEC hücrelerinde yüksek dozlarda (50 ve 100 µM) sitotoksik etki görülmüştür. 100 µM dozdaki HL¹ ligandı uygulanan C6 hücrelerinin tamamen yok olduğu tespit edilmiştir.

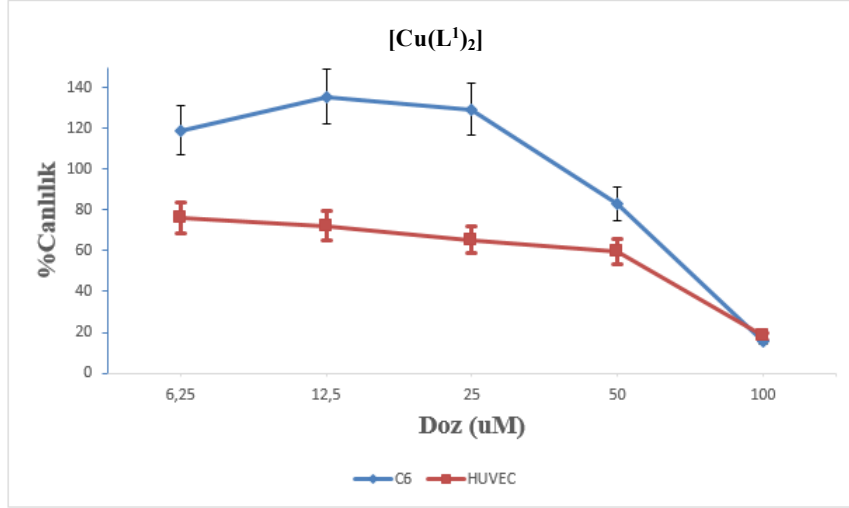
HL² ligandının yine değişen konsantrasyonlarda (6.25, 12.5, 25, 25, 50 ve 100 µM) C6 ve HUVEC hücreleri üzerine uygulanmış ve sitotoksik aktiviteleri MTT canlılık metoduna göre belirlenmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. HL² ligandı ile muamele edilen C6 ve HUVEC hücre hatları.

48 saatlik HL² ligandına maruz bırakılmış C6 ve HUVEC hücrelerinin canlılık değerlerinde, C6 hücreleri 6.25 ve 100 µM dozda sitotoksik etki göstermiştir. HUVEC hücrelerine HL² ligandı uygulandığında çok az etki gösterdiği tespit edilmiştir.

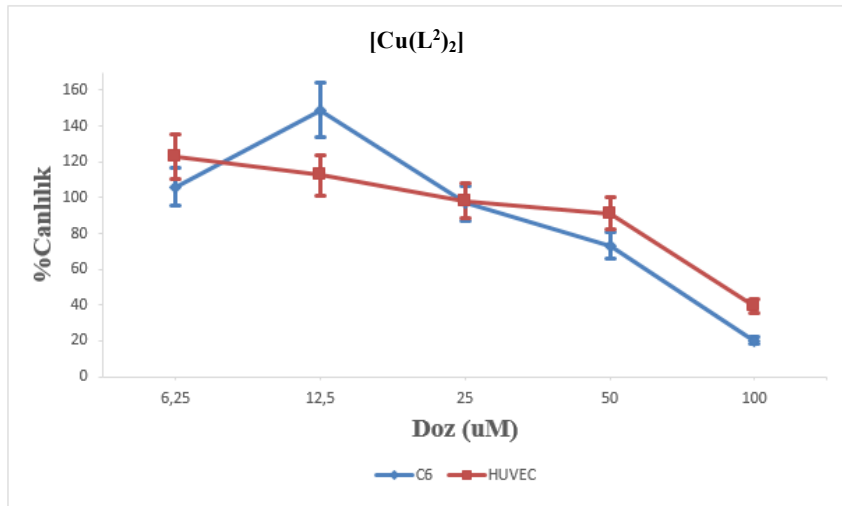
[Cu(L¹)₂] maddesi değişen konsantrasyonlarda (6.25, 12.5, 25, 25, 50 ve 100 µM) C6 ve HUVEC hücreleri üzerine uygulanmış ve sitotoksik aktiviteleri MTT canlılık metoduna göre belirlenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. $[\text{Cu}(\text{L}^1)_2]$ kompleksi ile muamele edilen C6 ve HUVEC hücre hatları.

48 saatlik $[\text{Cu}(\text{L}^1)_2]$ komplekse maruz bırakılmış C6 ve HUVEC hücrelerinin canlılık değerlerinde, HUVEC hücrelerinde hemen hemen tüm dozlarında fakat en fazla 100 μM dozda, C6 hücrelerinde ise yüksek dozlarda (50 ve 100 μM) sitotoksik etki gözlenmiştir.

$[\text{Cu}(\text{L}^2)_2]$ kompleksinin değişen konsantrasyonlarda (6.25, 12.5, 25, 25, 50 ve 100 μM) C6 ve HUVEC hücreleri üzerine uygulanmış ve sitotoksik aktiviteleri MTT canlılık metoduna göre belirlenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. $[\text{Cu}(\text{L}^2)_2]$ kompleksi ile muamele edilen C6 ve HUVEC hücre hatları.

48 saatlik $[\text{Cu}(\text{L}^2)_2]$ kompleksine maruz bırakılmış C6 ve HUVEC hücrelerinin canlılık değerlerinde, C6 hücrelerinin yüksek dozlarında (50 ve 100 μM) sitotoksik aktivite görülürken, HUVEC hücrelerinin 100 μM dozunda sitotoksik etki görülmüştür.



KAYNAKLAR

- Ahmadi, R. A., Amani, S. 2012. Synthesis, Spectroscopy, Thermal Analysis, Magnetic Properties and Biological Activity Studies of Cu(II) and Co(II) Complexes with Schiff Base Dye Ligands. *Molecules*, 17: 6434-6448.
- Alghool, S., El-Halim, H. F. A., Dahshan, A. 2010. Synthesis, spectroscopic thermal and biological activity studies on azo-containing Schiff base dye and its Cobalt(II), Chromium(III) and Strontium(II) complex. *Journal of Molecular Structure*, 983: 32-38.
- Castamagna, J., Barroso, N. P., Matsuhira, B., Villagran, M., 1998. Copper(II) Complexes with AminoSugar Derived Schiff Bases as Ligands. *Inorganica Chimica Acta*, 273: 191-195
- Çelik, C., Tumer, M., Serin, S., 2002. Complexes of Tetradentate Schiff Base Ligands with Divalent Transition Metals. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 32: 1839-1854
- Çelikel H. G., Sönmez M.. 2009. Pirimidin Halkalı Schiff Bazı ve Metal Komplekslerinin Sentezi. Gaziantep Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep, Türkiye.
- Dinçalp, H., Yavuz, S., Haklı, Ö., Zafer, C., Özsoy, C., Durucasu, İ., İçli, S. 2010. Optical and photovoltaic properties of salicylalimine-based azo ligands. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 210 : 8-16.
- Ejidike, I. P., Ajibade, P. A. 2016. Synthesis, Characterization, Anticancer, and Antioxidant Studies of Ru(III) Complexes of Monobasic Tridentate Schiff Bases. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Article ID 9672451: 11 pages
- Eren, T., Kose, M., Kurtoglu, N., Ceyhan, G., McKee, V., Kurtoglu, M. 2015. An azo-azomethine ligand and its copper(II) complex: Synthesis, X-ray crystal structure, spectral, thermal, electrochemical and photoluminescence properties. *Inorganica Chimica Acta*, 430: 268-279.
- Fernández-G, J. M., Portilla, F.R., Garcı́a, B. Q., Toscano, R. A., Salcedo, R. 2001. The structures of some ortho-hydroxy Schiff base ligands. *Journal of Molecular Structure*, 561: 197-207.
- Garg, H. G. ve Sharma, R. A. 1996. Potential antineoplastics. I. 2-Amino-4,6-dimethyl-5-arylazopyrimidines and 1-thiocarbamoyl-3,5-diphenyl-4-arylazopyrazoles. *Journal of Medicinal Chemistry*, 12: 1122-1124.
- İspir, E. 2009. The synthesis, characterization, electrochemical character, catalytic and antimicrobial activity of novel, azo-containing Schiff bases and their metal complexes. *Dyes and Pigments*, 82:13-19.
- Karaer, H., 1997. Schiff Bazlarına Diazonyum Tuzlarının Kenetlenmesi ile Oluşan Bazı Azo-Azometin Boyarmaddelerinin Sentezi ve Yapılarının Spektroskopik Tekniklerle İncelenmesi. OMÜ., Doktora Tezi, Samsun, 94s.

- Karipcin, F., Dede, B., Ozkorucuklu, S. P., Kabalcilar, E. 2010. Mn(II), Co(II) and Ni(II) complexes of 4-(2-thiazolylazo)resorcinol: Syntheses, characterization, catalase-like activity, thermal and electrochemical behaviour. *Dyes and Pigments*, 84: 14–18.
- Keskin, H., 1975. Gıda Kimyası, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3. Baskı, İstanbul.
- Khanmohammadi, H., Darvishpour, M. 2009. New azo ligands containing azomethine groups in the pyridazine-based chain: Synthesis and characterization. *Dyes and Pigments*, 81:167–173.
- Kirk, R. E., Othmer, D. F., 1954. Encyclopedia of Chemical Technology. ABD, Vol. 12
- Krygowski, T. M., Woźniak, K., Anulewicz, R., Pawlak, D., Kolodziejcki, W., Grech, E. Szady, A. Through-Resonance Assisted Ionic Hydrogen Bonding in 5-Nitro-N-salicylideneethylamine. *J. Phys. Chem. A*, 101: 9399–9404.
- Kurtoglu, G., Avar, B., Zengin, H., Kose, M., Sayin, K., Kurtoglu, M. 2014. A novel azo-azomethine based fluorescent dye and its Co(II) and Cu(II) metal chelates. *Journal of Molecular Liquids*, 200: 105–114.
- Kurtoğlu, M., Purtas, F., Toroğlu, S. 2008. A new vic-dioxime ligand containing two azo substituents and its mononuclear nickel(II), cobalt(II), and copper(II) complexes; synthesis, characterization, spectroscopic and biological studies. *Transition Met Chem*., 33: 705–710.
- Lashanizadegan, M., Zareian, Z. 2011. Heterogeneous Catalytic Activity of Azo-Linked Schiff Base Complexes of Mn(II), Cu(II) and Co(II). *Catal Lett.*, 141:1698–1702.
- Mahmoud, W. H., Sayed, F. N., Mohamed, G. G. 2016. Synthesis, characterization and in vitro antimicrobial and anti-breast cancer activity studies of metal complexes of novel pentadentate azo dye ligand. *Appl. Organometal. Chem.*, 30: 959–973.
- Mahmoud, W. H., Omar, M. M., Sayed, F. N. 2016. Synthesis, spectral characterization, thermal, anticancer and antimicrobial studies of bidentate azo dye metal complexes. *J Therm Anal Calorim*, 124:1071–1089.
- Marmion, D.M., 1991, Handbook of U.S. Colorants, third ed., Wiley, New York, p.23.
- Menati, S., Azadbakht, A., Azadbakht, R., Taeb, A., Kakanejadifard, A. 2013. Synthesis, characterization, and electrochemical study of some novel, azo-containing Schiff bases and their Ni(II) complexes. *Dyes and Pigments*, 98: 499-506.
- Nejati, K., Rezvani, Z., Seyedahmadian, M. 2009. The synthesis, characterization, thermal and optical properties of copper, nickel, and vanadyl complexes derived from azo dye. *Dyes and Pigments*, 83 : 304–311.
- Nejati, K., Zolfaghar, Z., Massoumi, B. 2007. Syntheses and investigation of thermal properties of copper complexes with azo-containing Schiff-base dyes. *Dyes and Pigments*, 75 : 653-657.

- Nirmal, R., Prakash, C. R., Meenakshi, K., Shanmugapandiyan, P. 2010. Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel Schiff Base Analogues of 3-(4-amino) phenylimino) 5-fluoroindolin-2-one. *Journal of Young Pharmacists*, 2: 162-168.
- Odabaşoğlu, M., Albayrak, Ç., Özkanca, R., Aykan, F. Z., Lonecke, P. 2007. Some polyhydroxy azo–azomethine derivatives of salicylaldehyde: Synthesis, characterization, spectroscopic, molecular structure and antimicrobial activity studies. *Journal of Molecular Structure*, 840: 71–89.
- Orgel, L. E., 1960. An Introduction to the Transition-Metal Chemistry Ligand Field. 300s
- Ozkan, G., Kose, M., Zengin, H., McKee, V., Kurtoglu, M. 2015. A new Salen-type azo–azomethine ligand and its Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes: Synthesis, spectral characterization, crystal structure and photoluminescence studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 150 : 966–973.
- Pandeya, S. N., Sriram, D., Nath, G., De Clercq, E. 1999. Synthesis, Antibacterial, Antifungal and Anti-HIV Activities of Schiff and Mannich Bases Derived From İsatın Derivatives and N-[4-(4'-chlorophenyl)thiazol-2-yl] Thiosemicarbazide. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9: 25-31.
- Patil, M., Hunoor, R., Gudasi, K. 2010. Transition metal complexes of a new hexadentate macroacyclic N₂O₄-donor Schiff base: inhibitory activity against bacteria and fungi. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45: 2981-2986.
- Rafi, U. M., Mahendiran, D., Haleel, A. K., Nankar, R. P., Doble, M., Rahiman, A. K. 2016. New pyridazine-based binuclear nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes as prospective anticancer agents. *New J. Chem.*, 40 : 2451-2465.
- Rahman, L. H. A., Ismail, N. M., Ismael, M., Dief, A. M. A., Ahmed, E. A. H. 2017. Synthesis, characterization, DFT calculations and biological studies of Mn(II), Fe(II), Co(II) and Cd(II) complexes based on a tetradentate ONNO donor Schiff base ligand. *Journal of Molecular Structure*, 1134 : 851-862.
- Ravindranath, L. K., Ramadas, S. R., Rao, S. B., 1983. Polarographic behaviour of arylazo pyrazoles. *Electrochim. Acta*, 28: 601-603.
- Refat, M. S., El-Deen, I. M. , Ibrahim, H. K., El-Ghool, S. 2006. Synthesis and spectroscopic studies of some transition metal complexes of a novel Schiff base ligands derived from 5-phenylazo-salicylaldehyde and o-amino benzoic acid. *Spectrochimica Acta, Part A* 65: 1208–1220
- Sarigul, M., Devenci, P., Kose, M., Arslan, U., Dagi, H. T., Kurtoglu, M. 2015. New tridentate azo–azomethines and their copper(II) complexes: Synthesis, solvent effect on tautomerism, electrochemical and biological studies. *Journal of Molecular Structure*, 1096 : 64–73.
- Scovill, P., Klayman, D., Franchino, F. 1982. Acetylpyridine Thiosemicarbazones. 4. Complexes with Transition Metals as Antimalarial and Antileukemic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 25: 1261.

- Seresht, E. R., Mireskandari, E., Kheirabadi, M., Cheshomi, H., Seresht, H. R., Aldaghi, L. S., Synthesis and anticancer activity of new azo compounds containing extended π -conjugated systems. *Chem. Pap.*, DOI 10.1007/s11696-017-0140-9.
- Serin, S., Gök, Y. 1988. Hidroksi Schiff Bazı Metal Komplekslerinin Tekstil Boyamacılığında Kullanılabilirliğinin İncelenmesi. *Doğa*. 2: 325-331.
- Sujamol, M. S., Athira, C. J., Sindhu, Y., Mohanan, K. 2010. Synthesis, spectroscopic characterization, electrochemical behaviour and thermal decomposition studies of some transition metal complexes with an azo derivative. *Spectrochimica Acta Part A*, 75: 106–112.
- Tverdova, N. V., Pelevina, E. D., Giricheva, N. I., Girichev, G. V., Kuzmina, N. P., Kotova, O. V. 2012. Molecular Structures of 3d Metal Complexes with Various Schiff Bases Studied by Gas-phase Electron Diffraction and Quantum-chemical Calculations. *Journal of Molecular Structure*. 1012:151-161.
- West, D. X., Pannell, L. K. 1989. Transition- Metal Ion Complexes of Thiosemicarbazones Derived from 2-Acetrypyridine N-Oxide 2. the N-4-Dimethyl Derivative. *Transition Met. Chem.*, 14: 457-462.
- Zishen, W., Zigi, G., Zhenhuan, Y. 1990. Synthesis, Characterization and Anticancer Activity of L-alanin Schiff Base Complexes of Copper(II), Zinc(II), Nickel(II) and Cobalt(II). *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.*, 20: 335-344.
- Zollinger, H. 1961. Methods of Preparing Diazo Compounds. Azo and Diazo Chem., Interscience. Publ., London-New York.
- Zollinger, H. 1991. Color Chemistry: Syntheses, Properties and Application of Organic Dyes and Pigments (2nd ed.) VCH, Weinheim.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Sevgi KAHRAMAN
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 24.05.1981 Kahramanmaraş
Medeni hali : Evli
e-posta : svgsrp46@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	KSÜ /Kimya Anabilim Dalı	2017
Lisans	KSÜ/ Kimya Bölümü	2005
Lise	Kahramanmaraş Y.D.A. Lisesi	1999

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. **Sevgi Eskikanbur**, Koray Sayin, Muhammet Kose, Huseyin Zengin, Vickie McKee, Mukerrem Kurtoglu, “Synthesis of two new azo-azomethines; spectral characterization, crystal structures, computational and fluorescence studies” **Journal of Molecular Structure**, 1094 (2015)183–194.