

**T.C  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**STERİK ENGELLİ FENOL TÜREVLİ SCHİFF BAZLARININ KANSER  
HÜCRELERİ ÜZERİNE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Fatma TÜMEN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA**

**2013**



**T.C  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**STERİK ENGELLİ FENOL TÜREVLİ SCHİFF BAZLARININ KANSER  
HÜCRELERİ ÜZERİNE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Fatma TÜMEN**

**BIYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA**

**2013**

Doç. Dr. Faruk SÜZERGÖZ' ün danışmanlığında, Fatma TÜMEN'in hazırladığı "Sterik Engelli Fenol Türevli Schiff Bazlarının Kansere Hücreleri Üzerine Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması" konulu bu çalışma 09/07/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Faruk SÜZERGÖZ

Üye: Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜK

Üye: Doç. Dr. Fatih ASLAN

**Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım**

**Prof. Dr. Seyit TEMİR**

**Enstitü Müdürü**

**Bu çalışma hübak tarafından desteklenmiştir.**

**Proje no: 12162**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildiriŐleri,  izelge, Şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	I
ABSTRACT .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	V
SİMGELER DİZİNİ .....	VI
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	3
2.1. Kanser Nedir?.....	3
2.2. Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler.....	4
2.2.1. Radyoterapi .....	4
2.2.2 Cerrahi .....	4
2.2.3. Kemoterapi.....	4
2.3. Kanser ve Kemoterapi.....	5
2.4. Kemoterapi Çeşitleri .....	6
2.5. Kemoterapötik İlaçlar ve Özellikleri.....	7
2.5.1. Hücre siklusuna bağımlı ilaçlar .....	7
2.5.1. Hücre siklusuna bağımsız ilaçlar .....	8
2.5.3. Kimyasal yapıları ve hücre aktivitesine göre kemoterapötik ilaçlar.....	8
2.6. Kemoterapide Sınırlayıcı Faktörler.....	9
2.6.1. İlaç direnci (Drug resistance).....	9
2.6.1.1. Çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein ailesi (MRP 1-9).....	10
2.6.1.2. Meme kanseri direnç proteini .....	11
2.6.1.3. Akciğer direnç proteini .....	11
2.6.1.4. P-glikoprotein.....	11
2.6.1.5. Çoklu ilaç direncinin inhibisyonu .....	12
2.6.2. Toksikite .....	12
2.6.3. Tümör ilaç etkileşmesi ile ilgili faktörler .....	13
2.6.4. İlaç Farmakokinetiği ve Farmakolojisi ile ilgili faktörler.....	13
2.6.5. Hasta ile ilgili faktörler .....	14
2.7. Schiff Bazlarının Genel Özellikleri.....	14
2.8. Sitotoksikite Çalışmalarında Kullanılan Yöntemler .....	19
2.8.1. Tripan mavisi ile boyama .....	19
2.8.2. MTT testi.....	19
2.8.3. Cisplatinin sitotoksik etkileri.....	20
2.8.4. Sitotoksikite çalışmalarında kullanılan K562 hücre dizisi .....	20
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	23
3.1. Kimyasal Bileşikler.....	23
3.1.1. Bileşiklerin tartımı .....	26
3.1.2. Bileşiklerin sterilizasyonu .....	26
3.1.3. Bileşiklerin doz ayarlaması .....	26
3.2. Kültür Plaklarının Hazırlanması .....	26
3.3. Hücre Kültür Ortamının Hazırlanması .....	27
3.4. MTT Testi .....	28
3.4.1. Kültür plakları kuyucuklarının görüntülenmesi.....	29
3.5. İstatistiksel Analizler.....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	30
4.1. Araştırma Bulguları .....	30
4.1.1. Kontrol grubunun OD değerleri.....	30

4.1.2. Cisplatinin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri.....	30
4.1.3. Bileşik 1' in K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri.....	32
4.1.4. Bileşik 2' nin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri.....	35
4.1.5. Bileşik 3' in K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri.....	38
4.1.6. Bileşik 4' in K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri.....	41
4.2. Tartışma .....	45
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	50
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ .....	58
ÖZET.....	59
SUMMARY .....	60

## ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

### STERİK ENGELLİ FENOL TÜREVLİ SCHIFF BAZLARININ KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma TÜMEN

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Faruk SÜZERGÖZ  
Yıl: 2013: , Sayfa: 60

Kanser, ölüm nedenleri arasında ön sıralarda yer almakta ve tedavisinde de ciddi güçlüklerle karşılaşmaktadır. Kanser tedavi yöntemlerinin en önemlilerinden biri kemoterapi olmakla birlikte henüz kesin bir tedavi metodu bulunmamaktadır. Bu nedenle yeni kemoterapotik ajan arayışları hızla devam etmektedir. Bu çalışmada, yeni kemoterapotik ajan arayışlarına katkıda bulunmak amacıyla sterik engelli fenol türevli Schiff bazlarından olan (2,4-di-tert-butil-6-{{(2,5-dimetilfenil)imino}metil}-fenol), (2,4-di-tert-butil-6-{{(3,4-metilfenil)imino}metil}-fenol), (2,4-di-tert-butil-6-{{(2,3-dimetilfenil)imino}metil}-fenol), (2,4-di-tert-butil-6-{{(3,5-dimetilfenil)mino}etil}-fenol) bileşiklerinin miyeloid kanser hücre soyu olan K562 hücre serisi üzerindeki sitotoksik etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bileşiklerin gösterdiği sitotoksikite düzeyleri kolorimetrik MTT yöntemiyle belirlenmiştir. Test edilen bileşiklerden gözlenen sitotoksik etki düzeyleri incelendiğinde bu bileşiklerin kemoterapotik ajan olabilmek için yeterli düzeyde etkinliğe sahip olmamakla birlikte farklı kanser türleri üzerinde test edilmesinin yararlı olabileceği fikrine varılmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Schiff bazları, Kemoterapotik ajan, K562, MTT,

## ABSTRACT

MSc Thesis

### INVESTIGATION OF CYTOTOXIC EFFECT OF STERIC HINDRANCE PHENOL DERIVATE SCHIFF BASES ON CANCER CELLS

Fatma TÜMEN

Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ

Year: 2013, Page: 60

Cancer is a leading cause of death and serious difficulties are encountered during treatment of cancer. Chemotherapy is one of most significant treatment methods of cancer but still there is not a definite treatment method. That's why new chemotherapeutic agent researches continue at a fast pace. In this study, with the aim of contributing new chemotherapeutic agent researches, it was aimed to determine cytotoxic effect of Schiff bases (2,4-di-tert-butyl-6- {[ (2,5 - dimethylphenyl )imino] methyl } - phenol), (2,4-di-tert-butyl-6- { [ (3,4-methylphenyl) imino] methyl } - phenol), (2,4-di-ter-butyl-6- {[ 2,3 dimethylphenyl) imino]methyl}-phenol), (2,4-di-tert-butyl-6- {[ [ (3,5-dimethylphenyl)mino] ethyl}-phenol) which are sterically hindered and derived from phenol, on K562 cell line of myeloid cancer cell strain. Cytotoxicity levels of compounds was determined by colorimetric MTT method. When the observed cytotoxic effect levels of tested compounds are investigated, it is decided that however these compounds don't have sufficient level of activity to be a chemotherapeutic agent, it will be useful to test them on different types of cancer.

**KEY WORDS:** Schiff bases, Chemotherapeutic agent, MTT, K562



## TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen danışmanım Sayın Doç. Dr. Faruk SÜZERGÖZ' e saygılarımı sunarım.

Çalışmada kullandığımız kimyasalları sentezleyen Harran üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Veli KASIM' a saygılarımı sunarım. Laboratuvarımızın kuruluşunda katkıda bulunan Rıfat CAN' ı rahmetle anıyoruz.

İstatistiksel analizlerde desteğini esirgemeyen Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Elif OĞUZ ve Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümünden Sayın Fatma KOCABAŞ' a teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Zehra GÖKDOĞAN, Emine KAYA ve Hasret ATLAN' a sevgilerimi sunarım. Laboratuvar çalışma arkadaşlarım Hatice ÇALIŞ, Yusuf VARIŞ, Meryem K. DOĞAN ve Tuğba ÇOLAK' a teşekkürlerimi sunarım. Her zaman yanımda olan aileme saygılarımı sunarım.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. Schiff bazı sentezi .....	15
Şekil 2.2. K562 hücre serisi.....	21
Şekil 3.1. Pozitif kontrol cisplatin.....	23
Şekil 3.2. Bileşik 1 .....	24
Şekil 3.3. Bileşik 2 .....	24
Şekil 3.4. Bileşik 3 .....	25
Şekil 3.5. Bileşik 4.....	25
Şekil 3.6. Kimyasalların kültür plağına ekimi .....	27
Şekil 3.7. Thoma lamındaki canlı ve ölü hücreler .....	27
Şekil 3.8. MTT eklendikten 4 saat sonra canlı hücrelerde oluşan MTT formazan.....	29
Şekil 4.1. MTT sonrası Cisplatin' nin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri .....	31
Şekil 4.2. Cisplatin eklenerek sürdürülen kültürlerde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT- formazana ait OD ve sitotoksisite değerleri .....	31
Şekil 4.3. Bileşik 1 K562 hücrei MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması.....	33
Şekil 4.4. Bileşik 1 eklenerek sürdürülen kültürde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT - formazana ait OD değerleri ve sitotoksisite değerleri.....	33
Şekil 4.5. Bileşik 1 korelasyon grafiği .....	35
Şekil 4.6. Bileşik 2 K562 hücrei MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.7. Bileşik 2 eklenerek sürdürülen kültürde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT - formazana ait OD değerleri ve sitotoksisite değerleri.....	36
Şekil 4.8. Bileşik 2 korelasyon grafiği .....	38
Şekil 4.9. Bileşik 3 K562 hücrei MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması.....	39
Şekil 4.10. Bileşik 3 eklenerek sürdürülen kültürlerde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT- formazana ait OD ve sitotoksisite değerleri .....	39
Şekil 4.11. Bileşik 3 korelasyon grafiği .....	41
Şekil 4.12. Bileşik 4 K562 hücrei MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması.....	42
Şekil 4.13. Bileşik 4 eklenerek sürdürülen kültürlerde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT- formazana ait OD ve sitotoksisite değerleri .....	42
Şekil 4.14. Bileşik 4 korelasyon grafiği .....	44
Şekil 4.15. Tüm bileşiklerin sitotoksik etkilerinin karşılaştırılması .....	44

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 3.1. Cisplatin Sitotoksitesisi.....	32
Çizelge 3.2. Bileşik 1' nin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	34
Çizelge 3.3. Bileşik 2' nin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	37
Çizelge 3.4. Bileşik 3' nin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	40
Çizelge 3.5. Bileşik 4' nin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri.....	43

## SİMGELER DİZİNİ

DMSO	:	Dimetilsülfoksit
FCS	:	Fetal Calf Serum
IC <sub>50</sub>	:	İnhibisyon konsantrasyonu
IUPAC	:	International Union of Pure and Applied Chemistry
MA	:	Molekül ağırlığı
ml	:	Mililitre
mM	:	Millimolar
MTT	:	[3-(4,5-Dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Thiazolyl blue]
OD	:	Optik Dansite
PBS	:	Phosphate Buffered Saline
µm	:	Mikrometre
µM	:	Mikromolar

## **1. GİRİŞ**

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile karakterize edilen düzen bozukluğudur. Kanser, sürekli çoğalarak aşırı miktarda artan hücre sayısının, normal olarak gerçekleşen hücre kaybıyla dengelenmemesi sonucu oluşur. Bu hücreler invazyon ve metastaz yaparak organların hasara uğramasına neden olurlar. Kanser hücreleri köken aldıkları normal hücrelere göre daha az yaşarlar fakat yeni hücre oluşumunun çok hızlı olması, hücre sayısında devamlı bir artış görülmesine neden olmaktadır. Kanser hücrelerindeki artış genetik anormalliklerden ve organizmanın bu hücreleri tanıyıp yok etmedeki başarısızlığından kaynaklanmaktadır (Casciato, 2008).

Kanser tedavileri arasında kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemleri bulunmaktadır. Kemoterapi ilaçlarla yapılan tedavi şekli olup, cerrahi operasyon öncesi, sonrası ya da malignite gerçekleşmiş hastalarda uygulanan bir yöntem olduğundan kanser tedavisi için büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle birçok bilim insanı için kemoterapi önemli bir araştırma alanıdır (Johnson ve ark., 1997).

Kemoterapide kullanılan kimyasal ve bitkisel kökenli birçok ajan bulunmakla birlikte yeni ajan arayışları devam etmektedir. Kemoterapide kullanılan ilaçların etki mekanizması farklılık göstermektedir. Bunların çoğu, etkilerini kanser hücresinin proliferasyon ve bölünme fazlarını etkileyerek gösterirler. Bazı kemoterapötik ajanlar, bazı spesifik kanser hücrelerine etkiliyken diğer kanser hücrelerinde etkileri sınırlı olabilmektedir. Bundan dolayı kemoterapötik ajan olabileceği düşünülen bileşiklerin, farklı hücrelerdeki etkilerinin aydınlatılması gerekmektedir.

Kemoterapide kullanılan ilaçların etkinliği sınırlayan birçok etmen vardır. Bunların başında ilaç direnci, toksisite, tümör ilaç etkileşmesi ile ilgili faktörler, ilaç farmakokinetiği ve farmakolojisi ile ilgili faktörler ve hasta ile ilgili faktörler yer almaktadır (Cingi ve Erol, 1996; Akyol, 2004; Avcu, 2008).

Kemoterapide kullanılan ajanların çoğunun kimyasal kökenli olması birçok yan etkinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bunların başında kemik iliğinde baskılanmaya bağlı lökopeni, trombositopeni şeklinde, gastrointestinal sistemde mukozit, stomatit, bulantı, kusma, diyare ya da saçlı deride alopesi karşımıza çıkmaktadır (Akyol, 2004).

Bu nedenle kanser tedavisinde kullanılacak ve yan etkileri en aza indirilmiş olan yeni ajan arayışları devam etmektedir. C=N bağıyla karakterize edilen ve aminotiyoller, oaminofenoller, a-amino asitler, aminoalkollere asetil aseton veya salisilaldehit katılmasından türetilen Schiff bazları son zamanlarda bir çok antikanser araştırmada incelenmekte ve sitotoksik etkilerin olduğu görülmektedir. Özellikle metal kompleksli Schiff bazların etkinliğinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Şener, 1999).

Antikanser etkisi olabilecek yeni bileşiklerin hücre kültürü ile sitotoksitelerine bakılması, antikanser ilaçların belirlenmesinde ilk basamaktır. MTT yöntemi hücre kültüründe kullanılan en yaygın yöntemlerdendir. Bu yöntemde MTT canlı hücreler tarafından MTT formazana dönüştürülmekte ve sonuçlar klorometrik olarak ölçülmektedir.

Daha önce yapılan birçok antikanser çalışmada Schiff bazlarının sitotoksik etkilerinin saptanması bu bileşiklerin kemoterapotik ajan olma potansiyelinin olabileceğini göstermektedir.

Çalışmada sterik engelli fenol türevli Schiff bazlarının miyeloid lösemının blastik kriz evresinden kaynaklanan K562 hücre serisi üzerindeki sitotoksik etkisi MTT yöntemi ile belirlenmesi hedeflenmiştir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Kanser Nedir?

Kanser, değişime uğramış hücrelerin; gerek köken aldığı dokuda gerek diğer dokularda kontrolsüz olarak çoğalmaları sonucu oluşan malign kitlelerdir. Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, invazif nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren ölümcül bir hastalıktır. Ölüm nedenleri arasında kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Son yıllarda ortaya konulan tedavi metotları kanserde sağ kalım oranlarında (1960'larda % 39 iken bu oran 1990'larda % 60'a ulaşmıştır) önemli ölçüde artış sağlamıştır. Sağ kalımda elde edilen başarının arka planında kombine tedavi yaklaşımının önemi büyüktür (Akyol, 2004).

Kanser hücreleri normal hücrelerden farklı olarak bazı özelliklere sahiptir. Bu özellikler;

- Büyüme faktörü üretiminde kendi kendilerine yeterlilik,
- Büyüme inhibitörü uyarılarına duyarsızlık,
- Apoptozize direnç,
- Sınırsız replikasyon özelliği,
- Tümör anjiogenezis,
- Doku invazyonu
- ve metastaz şeklinde sıralanabilir (Hardman ve Limbird, 2006).

## **2.2. Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler**

Günümüzde kanser tedavisinde yalnız başına veya kombine olarak cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi yöntemler kullanılmaktadır.

### **2.2.1. Radyoterapi**

Radyoterapi ışınla yapılan tedavi yöntemidir. Uygun dozda radyoaktif ışın uygulayarak kanser hücrelerinin öldürülmesi sağlanmaktadır. Radyoterapide normal hücreler de zarar görebilir fakat bunlar tekrar iyileşme gösterebilmektedir (Anonim, 2013).

### **2.2.2 Cerrahi**

Kanserli organın, dokunun tümü ya da bir kısmının ameliyatla alınmasıdır. Kanserli dokuyla birlikte etrafındaki sağlam dokunun bir kısmı da alınabilmektedir. Cerrahiden sonra radyoterapi ve/veya kemoterapi ile kombine tedavilere gidilerek kısmen başarı sağlanmaktadır (Anonim, 2013).

### **2.2.3. Kemoterapi**

Kemoterapi, kanser hücrelerini yok edilmesi ve bu hücrelerin büyümesini kontrol altına almak için antineoplastik ilaçlar kullanılarak yapılan tedavi şeklidir ( Anonim, 2013 ).



### 2.3. Kanser ve Kemoterapi

Kemoterapi ilk defa 1940' lı yılların sonunda kanserle ilişkilendirilmiştir. İlk kemoterapi uygulaması, I. Dünya savaşında kullanılan hardal gazının kemik iliği üzerine depresif etkilerinin dikkate alınıp tedavi amaçlı olarak lenfomalı hastalarda denenmesi ile gerçekleştirilmiştir (Fırat ve Hayran, 1995). 20.yy' ın ortalarında İngiltere' de kemoterapi amacıyla kullanılmaya başlanan klorambusil, melfalan busulafan ve bazı alkilleyici ajanlar myeloma, lenfoma ve bazı lösemilerin tedavisinde halen kullanılmaktadır (Arslan, 2007). Kemoterapide kullanılan ilaçların çoğunun sentetik kaynaklı olması bu ilaçların bazılarında yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Azırak, 2007).

Kemoterapi, hastanın normal hücrelerine zarar vermeden tümör hücresinin çoğalmasını durdurmaya ve yok etmeye yönelik seçici öldürücü etkileri olan doğal veya sentetik kimyasal, biyolojik ajanlar ve hormonlarla yapılan tedavi şeklidir (Akyol, 2007 ). Kemoterapi ajanlarının antineoplastik etki gösterebilmesi için, ya hücre bölünmesini durdurması ya da apoptozu indükleyerek hücre ölümüne yol açması gerekmektedir (Beker, 2007).

Kemoterapi ile malign hücrelerin çoğalması önlenip, invazyonu yavaşlatılarak hastalığın kontrol altına alınmasını sağlar. Bununla birlikte hastalığa bağlı şikayet ve belirtiler ortadan kaldırılarak kişinin yaşam kalitesinin yükseltilmesi sağlanmaktadır. Kemoterapi, cerrahi veya radyoterapi öncesinde uygulandığında yapılacak lokal tedavileri kolaylaştırmayı, sonra uygulandığında ise hastalık nüksünü azaltmayı amaçlamaktadır.

Kemoterapide başarı sağlanması için toksik düzeylere çıkmayacak kadar yeterli ilaç dozlarının hedef dokulara ulaştırılması gerekmektedir. İlaçların etkisinin vücutta

ortaya çıkış hızını, ilaç etkisinin şiddetini ve ilacın etki süresini kontrol eden dört temel mekanizma olduğu bilinmektedir.

İlaç ;

- Uygulanış bölgesinden emilip plazmaya geçer,
- Kan dolaşımını geriye dönüşümlü olarak terk eder, hücreler arası ve hücre içi sıvıya dağılır,
- Karaciğer, böbrekler veya diğer dokular tarafından metabolize edilir,
- Ve son olarak ilaç ve metabolitler idrar, feçes veya safra yoluyla vücuttan atılır (Başar, 2006).

#### 2.4. Kemoterapi Çeşitleri

- **Adjuvan kemoterapi:** Cerrahi ve radyoterapi sonrası uygulanır. Adjuvan kemoterapi etkisini, hızla proliferen olan yüksek fraksiyonlu tümör hücrelerinde, tümörün uygun şekilde çıkarılması ve radyoterapiyi takiben etkisini olduğu bilinmektedir. Tümör çıkarılması ile ilaca karşı direnç gelişim riskini de azaltmaktadır (Akyol, 2004).
- **Neoadjuvan kemoterapi:** Önce kemoterapi, sonra cerrahi ve/veya radyoterapi verilerek uygulanan tedavi seklidir. Kemoterapi lokalize tedaviden önce, tümör kitlesini küçültmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle daha az radikal cerrahi veya radyoterapi gereksinimi duyulacağından mikro metastatik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Akyol, 2004).
- **Konkomitan kemoterapi:** Eş zamanlı uygulanan kemoterapi seklidir. Yani radyoterapi ve kemoterapi birlikte uygulanmaktadır.

- **Kombine kemoterapi:** İleri evrelerde ve metastaz dönemde, tedavide birden fazla ilacın kullanılmasıdır (Gökdere, 2003). Bu sayede hastalığın yönetiminde daha geniş olanaklar sunmaktadır. Kombine kullanım, hastanın tolere edebileceği toksisite sınırında maksimum kanserli hücrenin ölmesini sağlamaktadır. Birbirinden farklı genetik tümör popülasyonunda, ilaç ve tümör hücresi arasındaki etkileşimin artmasına neden olmakta ve ilaca karşı direnç geliştirmeyi azaltmakta veya ortadan kaldırmaktadır (De Vita, 2004).

Kombine kemoterapide kullanılan ilaçların genel özellikleri;

- Her bir ilaç tek başına uygulandığında da etkili olmalıdır,
- Hücre siklusunun değişik fazlarına etki etmelidir,
- İlaçlar birbirlerini etkilerini yok etmek yerine birlikte etki göstermelidir,
- Mümkün olduğunca aynı organda toksisite oluşturmamalıdır,
- Aynı organda toksisiteye neden olacaklarsa değişik zamanlarda etki etmelidir (Yalman ve ark., 2001).

## 2.5. Kemoterapötik İlaçlar ve Özellikleri

Kemoterapötik ilaçları etkilerine göre iki grupta inceleyebiliriz.

### 2.5.1. Hücre siklusuna bağımlı ilaçlar

- **S fazına dönük ilaçlar (Antimetabolitler):** Hücre metabolizmasını ve DNA sentezini bozarak etki ederler. Methotrexate, 5-Flourouracil, Cytarabine, Procarbazine, 6 Tyoguanin, 6 Mercaptopurine gibi.
- **M fazına dönük ilaçlar (Bitki alkaloidleri):** Ana hücreden iki yavru hücre oluşmasını engellerler. Vincristine, Vinblastine bu gruptandır.
- **G2 fazına dönük ilaçlar (Antitümör antibiyotikler):** RNA, DNA ve protein sentezini etkilerler. Bleomisin, Acyctinomycin-D, Daunorubisin vb.

### 2.5.1. Hücre siklusuna bağımsız ilaçlar

- **Alkilleyici ajanlar:** Hücre çekirdeğini, DNA ve RNA sentezini etkilerler. Hızlı çoğalan hücrelerin ölümüne yol açarlar. Nitrojen mustard, Cisplatin, Cyclophashamide, Procarbazine gibi.
- **Hormonlar:** Tümör ortamını değiştirerek büyüme ve çoğalmayı engellerler, protein sentezini bloke ederler. Estrojenler, Kortikosteroidler vb.
- **Antibiyotikler:** DNA replikasyonunu bozarlar. Adriamisin gibi.

### 2.5.3. Kimyasal yapıları ve hücre aktivitesine göre kemoterapotik ilaçlar

- **Alkilleyici ajanlar:** Bünyelerindeki elektrofilik alkil kökü ile hedef makromoleküllerin nükleofilik parçasının geri dönüşümsüz bir kombinasyon yapması ile sitotoksik etki göstermektedir. Bu gruptaki ilaçlar arasında, Busulfan, Carboplatin, Carmustine, Clorambusil, Cyclophashamide, Dacarbazine, İfosfamide, Lomustine, Melphalan, Nitrojen mustard, Procarbazine, yer almaktadır (Akyol, 2004).
- **Antimetabolitler:** Hücrenin normal metabolitleri ile benzerlik gösterdiklerinden onların yerine, enzimlere benzerlik gösterdiklerinden metabolitlerin yerine geçer veya aynı rolü alarak aktiviteyi bloke eder, azaltır ya da makromoleküllerin içine girerek, fonksiyonu olmayan bir makromolekül oluştururlar. Bu grupta; Cytrabine, Methotexate, yer almaktadır (Akyol, 2004).
- **Bitki alkaloidleri:** Podofilotoksinler'den ve vinca alkaloidlerinden semisentetik olarak elde edilen ilaçlardır. Hücre bölünmesini mitoz safhasında durdururlar. Bu grupta; Vincristine, Vinblastine, Etoposide, Teniposide yer almaktadır (Akyol, 2004).

- **Antitümör antibiyotikler:** Hücrede DNA ve RNA transkripsiyonunu durdurup, dokularda uzun süre kaldıklarından DNA sentezi boyunca hücre ölümüne yol açarlar. Radyasyonla birlikte verildiklerinde toksisiteyi arttırırlar. Actinomycin- D, Adriamycin, Bleomycin, Epirubicin, İdarubicin bu gruptadırlar (Akyol, 2004).

## 2.6. Kemoterapide Sınırlayıcı Faktörler

### 2.6.1. İlaç direnci (Drug resistance)

Klasik olarak direnç, ekstrinsik ve intrinsik olarak ikiye ayrılmaktadır. Ekstrinsik direnç ilaçların tümör hücresine ulaşamamasından, intrinsik direnç ise tümör hücrelerinin özelliğinden kaynaklanmaktadır. İntrinsik direnç in vitro olarak gözlenmekte olup 2 gruba ayrılır;

- Basit direnç, hücrelerin tek bir ilaca karşı direnç göstermesi
- Çoklu ilaç direnci (Multi drug resistance, MDR), hücrelerin farklı biyokimyasal hedeflere sahip kemostatik ilaçlara karşı çapraz direnç göstermesidir (Türköz, 2009).

İlaç direncini açıklayan birçok hücrel mekanizma karakterize edilmiştir. Bu mekanizmalar, insan multi-drug rezistans ilişkili protein (MRP) tarafından ilaçların artan atılımı, DNA topoizomerez II gibi ilaç hedeflerindeki değişimleri ve bileşiklerin artan detoksifikasyonunu içermektedir. MDR'nin klasik formu ise, bir transmembran ilaç atılım pompası olarak fonksiyon gören P-glikoproteini (P-gp) kodlayan MDR1 geninin aşırı ekspresyonu sonucu ortaya çıkmaktadır (Türköz, 2007).

MDR;

- Hücre içi ilaç birikiminde,
- İlaç-hedef ilişkisinde azalma,
- Detoksifikasyon işlevinde artış,
- İlaç dağılımında değişiklik şeklinde gözlenebilmektedir (Avcu, 2008).

### 2.6.1.1. Çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein ailesi (MRP 1-9)

MRP ailesi ilk defa 1992 yılında tanımlanmış olup, şu ana kadar dokuz MRP tanımlanmıştır. ATP bağımlı taşıyıcı proteinlerin şimdiye kadar bilinen en büyük protein grubudur. MRP'ler organik anyonik taşıyıcılardır.

**MRP-1:** MRP-1 aşırı ekspresyonu sonucu vinka alkaloidleri, epipodofilotoksinler, doksorubisin, mitoksantrona karşı belirgin direnç oluşturmakta, daunorubisin ve epirubisine karşı da oldukça yüksek oranda direnç oluşturabilmektedir.

**MRP-2:** Kanaliküler multispesifik organik anyon taşıyıcısı olarak da bilinen MRP-2, karaciğerden organik anyonların sekresyonunu sağlar. Genellikle direnç mekanizmasında MRP-1 gibi rol oynarken, MRP-2 aşırı salınımı daha çok direnç oluşturmaktadır.

**MRP-3:** Organik anyonların taşınmasını sağlar.

**MRP-4:** Nükleozid analoglarına karşı direnç oluşmasında rolü vardır. Ayrıca HIV ilaçlarına karşı da [azidotimidin monofosfat ve 9-(2-fosfonilmetoksietil)adenin] direnç oluşmasında rol oynamaktadır.

**MRP-5:** MRP-4 gibi nükleozid analoglarına karşı direnç oluşmasında rolü vardır.

**MRP-6:** Dirençli tümör hücrelerinde MRP-1 ile birlikte MRP-6'nın da aşırı ekspresyonu izlenmektedir.

**MRP-7:** Glutasyon S-konjugatları ile ilgili ilaçlara karşı birlikte direnç oluşturmaktadır.

**MRP-8 ve MRP-9:** MRP-8'in %40'ı, MRP-9'un %42'si MRP-5 ile identiktir ve diğer MRP'lerden yapısal olarak daha küçüktür. Fonksiyonel olarak da nükleozid analoglarına karşı direnç oluşmasında rol almaktadır (Avcu, 2008).

### 2.6.1.2. Meme kanseri direnç proteini

BCRP (Breast Cancer Resistance Protein)'de P-gp ve MRP'ler gibi ATP bağımlı taşıyıcı protein ailesinden olup, bu proteinin aşırı ekspresyonu hücre içi ilaç konsantrasyonunu azaltır ve dolaylı olarak ilaç direncine sebep olur. BCRP ekspresyonunda artış sonucu hematolojik malignite tedavisinde kullanılan metotreksat, mitoksantron, topoizomeraz I inhibitörlerine karşı direnç oluşturmaktadır (Avcu, 2008).

### 2.6.1.3. Akciğer direnç proteini

İlk defa Scheper ve arkadaşları tarafından 1993 yılında çoklu ilaç direnci saptanan akciğer kanseri hücre dizisinde varlığı ispatlanan LRP (Lung Resistance Protein), taşıyıcı proteinlerin bir üyesidir. ATP bağımlı taşıyıcı protein ailesinden değildir (Avcu, 2008).

### 2.6.1.4. P-glikoprotein

MDR-1 (Multi Drug Resistance-1) geni tarafından kodlanmakta olan P-gp (P-glikoprotein), enerjiye bağımlı olarak çalışır. P-gp hücre içine giren ilacın dışarı pompalanmasını sağlayarak, hücre içi ilaç konsantrasyonunu azaltmaya çalışır (Avcu, 2008).

İlk olarak 1976 yılında tanımlanmış olan P-glikoprotein; hücre membranında bulunan protein yapısında ve iki ayrı bölümden membrana bağlıdır (Şenses, 2008).

P-gp, ilaçları modifiye olmamış formuyla taşımaktadır. İlaçların hücre dışına akışını artırarak, hücre içi konsantrasyonunu düşürmekte ve sonuçta birçok sitotoksik antikanser ilaca karşı bir direnç oluşturmaktadır (Türköz, 2009).

Kemoterapide kullanılan bazı ajanların P-gp' e daha fazla duyarlı olduğu bilinmektedir. Bunlar içerisinde antitümör antibiyotikler, epipodophylotoxinler,

doxorubicine, bleomycine ve vinca alkaloidleri yer almaktadır. Kemoterapi planlarken ve kemoterapi protokolü geliştirirken ilaç direnci dikkate alınmalıdır (Akyol, 2004).

#### 2.6.1.5. Çoklu ilaç direncinin inhibisyonu

Çoklu ilaç direnç mekanizmalarının tanımlanması ile birlikte, oluşan direncin azaltılmasına yönelik çalışmalar da yoğunluk kazanmıştır. Bu konuda özellikle anti MDR-1 oligonükleotidleri ile P-gp ekspresyonu ve fonksiyonunun azaltılması veya staurosporin gibi protein kinaz C inhibitörleri ile MDR-1'in ekspresyonunun azaltılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Kalsiyum kanal blokerleri, kalmodulin inhibitörleri, immunosupressif ajanlar, kinolonlar, indol alkaloidleri, deterjanlar, steroidler, ve antiöstrojenler gibi birçok toksik olmayan ilaçlar ile Pgp' nin pompalama görevi inhibe edilerek sitostatik ilaçların hücre içinde birikme fonksiyonlarının geri döndürülebildiği gösterilmiş, bazıları tedavide kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca çoklu ilaç direncinden sorumlu genlerin hematopoetik kök hücrelere aktarılması sağlanarak daha dirençli hücre özelliği kazandırılmıştır. Gen tedavisinde özellikle mutant dihidrofolat redüktaz geni ve MDR-1 geni aktararak hematopoetik kök hücrelerin yüksek doz sitostatik ilaçlara karşı dirençli hale gelmesi sağlanmıştır (Avcu, 2008).

#### 2.6.2. Toksikite

Kanserli hastaların izlenmesi ve tedavisi süresince hem hastalığın kendisi, hem de uygulanan tedaviler ve kullanılan ilaçlar yan etkilere ve değişik sorunların yaşanmasına yol açmaktadır. Tedavi süresince kanserli hücreler yok edilmeye çalışılmakta ancak, normal vücut hücreleri de zarar görmekte ve çeşitli yan etkiler ortaya çıkmaktadır (Baysal, 2004). Toksikiteler, sıklıkla ilaçlarda dozu sınırlamakta, hasta yaşamını tehdit etmekte ve yaşam kalitesini bozmakta olup kısa veya uzun süreli olabilmektedirler. En sık gözlenen toksisiteler kemik iliğinde baskılanmaya



bağlı lökopeni, trombositopeni şeklinde, gastrointestinal sistemde mukozit, stomatit, bulantı, kusma, diyare ya da saçlı deride alopesi olarak görülmektedir (Akyol, 2004).

Yan etkilerin derecesi ve görülme sıklığı bazı etmenlere bağlıdır. Bu etmenler arasında kemoterapinin cinsi, dozu, uygulama şekli ve süresi, tedavi aralıkları ve hastanın kişisel özellikleri yer almaktadır. Yan etkiler kontrol altına alınmadığı takdirde tedaviye uyumu güçleştirmekte ve yaşam kalitesini etkilemektedir (Aslan, 2003).

Yapılan bir çalışmada (Kav, 2003), kemoterapi sonrası en sık yaşanan yan etkiler saç dökülmesi (%97.4), halsizlik (%89.5), bulantı (%76.3), kusma (%34.2) ve kabızlık (%39.5) olduğu, bunun yanında az sıklıkla tat değişikliği, ağızda yara ve baş ağrısı yaşandığı gözlemlenmiştir.

### **2.6.3. Tümör ilaç etkileşmesi ile ilgili faktörler**

İlaçlar tümör hücrelerinde belirli bir oranda azalma yaparlar, oysa tümörün ortadan kaldırılması için tüm malign hücrelerin öldürülmesi gerekmektedir. Çünkü bir hücre bile canlı kalsa, hızla çoğalarak tümörü yeniden oluşturur. İlaç etkisinin hücre siklusunun dönemine özgü olması başarıyı sağlar, olmaması ise ilacın etkinliğini kısıtlar. Tümör hücrelerinin çoğalma hızı, ilaçların etkinlik derecesini değiştirir. Hızlı çoğalan tümör hücreleri, yavaş çoğalan hücelere oranla antineoplastik ilaçlara karşı daha duyarlıdır. Ayrıca, tümör büyüdükçe ilaca karşı duyarlılık azalmaktadır (Cingi ve Erol, 1996).

### **2.6.4. İlaç Farmakokinetiği ve Farmakolojisi ile ilgili faktörler**

İlacın etki yerindeki konsantrasyonunun yeterli derecede olması, ilacın farmakokinetik özellikleri ve veriliş yoluna bağlıdır. Antineoplastik ilaçların çoğunun etki yeri hücre içindedir. Malign hücre membranının ilaca geçirgen olmaması ilacın etkinliğini azaltır. Örneğin osteojenik sarkom hücrelerine

metotreksatın girmesi zordur, bu nedenle yüksek konsantrasyonda verilmesi gerekmektedir. Antineoplastik ilaçların terapötik etkinliğinin artırılmasını kısıtlayan önemli bir faktör olan toksisite, doz kısıtlayıcı olmaktadır. Çünkü tümör hücrelerinin yapısı ve biyokimyasal özellikleri ile normal hücreler arasında pek fark yoktur ve ilaçların seçiciliği düşüktür (Cingi ve Erol, 1996).

#### 2.6.5. Hasta ile ilgili faktörler

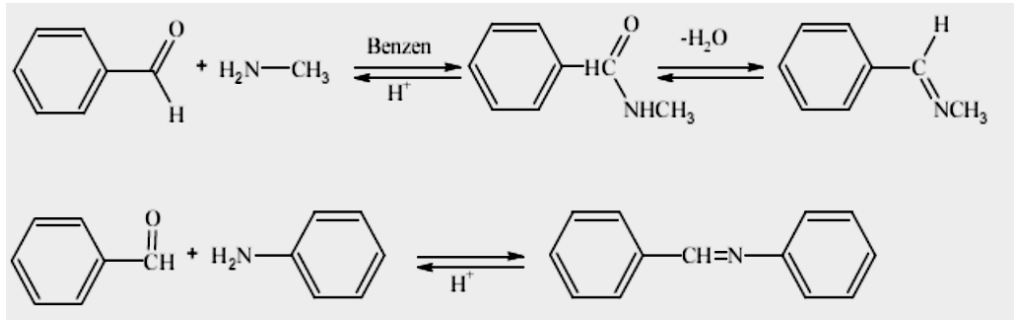
- Hastanın genel aktivitesi: Günlük aktivite kemoterapide önemlidir. Günlük aktivitesini sürdürebilen hastalarda kemoterapi daha etkili olduğu görülmektedir.
- Hastanın immün durumu: İmmünitesi normal olan hastaların, immün yetmezliği olan hastalara oranla, kemoterapiye daha iyi cevap verdikleri görülmektedir. Antineoplastik ilaçlar immün sistemde bozukluk yapmaktadır ve bu nedenle ilaçlar düzenli zaman aralıklarıyla uygulanmalıdır. Hastaya daha önce kemoterapi ve radyoterapi uygulanmış olması immün bozukluğun gelişmesine yol açabilmekte ve verilen ilaçların etkinliğini azaltabilmektedir. Hastanın yaşı, cinsiyeti, ırkı, organlarının durumu, başka bir hastalık halinin var olması da antineoplastik ilaçların etkinliğini değiştiren faktörlerdendir (Cingi ve Erol, 1996).

#### 2.7. Schiff Bazlarının Genel Özellikleri

İlk kez 1864'te Schiff tarafından bir primer amin ve bir aktif karbonil grubunun kondensasyonundan elde edilen ve azometin grubu içeren ligandlara "Schiff Bazları" denmektedir. Bu bileşiklerin sentez mekanizmaları ve kompleks oluşturma özellikleri geniş çaplı incelenmiştir. Schiff bazları aminotiyoller, oaminofenoller, a-amino asitler ve aminoalkollere asetil aseton veya salisilaldehit katılmasından türetilmektedir (Şener, 1999).

Schiff bazları iyi bir azot verici ligandı (-C=N-) olarak da bilinmektedir. Bu ligandlar koordinasyon bileşiğinin oluşumu sırasında metal iyonuna bir veya daha çok elektron çifti vermektedir. Schiff bazlarının oldukça kararlı 4, 5 veya 6 halkalı kompleksler oluşturabilmesi için, azometin grubuna mümkün olduğu kadar yakın ve yer değiştirebilir hidrojen atomuna sahip ikinci bir fonksiyonel grubun (tercihen hidroksil grubu) bulunması gereklidir (Patai, 1970).

Schiff bazları  $RCH=NR^I$  genel formülüyle gösterilebilir, bu formülde R ve R<sup>I</sup> alkil veya aril sübstitüentleridirler. Aldehitlerin primer aminlerle reaksiyona girmesiyle oluşan N-sübstitüe iminler kararsızdırlar. Ancak azometin veya Schiff bazları denilen ve aromatik aldehitlerden oluşan N-sübstitüe iminlerde ikili bağ içeren karbon atomu üzerinde bir veya iki aril grubu bulunduğundan, bu bileşikler rezonans nedeniyle kararlıdırlar. Azot atomu üzerinde alkil grubu yerine aril grubu içeren azometinler daha da kararlıdırlar (Oskay, 1990).



Şekil 2.1. Schiff bazı sentezi

Şekil 2.1' de Schiff bazının sentezi verilmiştir (Kurşunlu, 2008).

Schiff bazları primer amin grubu içeren bileşiklere aromatik veya alifatik aldehit bileşiklerinin katılarak su ayrılması sonucu elde edilebilir. Örneğin aminotioller, o-aminofenoller,  $\alpha$ -amino asitler ve amino alkollere asetofenon veya benzaldehit ve benzerlerinin katılması ile elde edilebilir.

Amonyak ile elde edilen Schiff bazları dayanıklı değildir ve bekletildiğinde polimerleşebilir. Ancak amonyak yerine primer aminler kullanıldığında daha dayanıklı bileşikler elde edilmektedir (Kurşunlu, 2008).

Aromatik aminlerin Schiff bazları kemoterapi alanında, bazı kimyasal tepkimelerde oksijen taşıyıcı olarak, polimer teknolojisinde antistatik madde olarak ve yapılarındaki bazı grupların özellikleri nedeniyle boyar madde endüstrisinde kullanılmaktadır (Serin ve ark., 1988). Jack-Bean üreaz enzimi ve bazı hidrojenaz enzimleri içerisinde çok az miktarda Schiff bazı Ni(II) kompleksine rastlanmıştır (Costmagna, 1992). Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin kullanım sahası oldukça geniştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bazı bakterilere karşı anti mikrobiyal aktivitelerinin olduğu Mn ve Ru şelatlarının özel koşullar altında suyun fotolizini katalizlediği, Fe(II) iyonunun Schiff bazı şelatları katalizör olarak katodik oksijen indirgenmesinde başarı ile kullanılabilmesi tespit edilmiştir (Birbiçer, 1998).

Jiang ve çalışma arkadaşları (2000) 8-hidroksikinolinden başlayarak hem suya hem de yağa duyarlı (amfilik) özelliğe sahip N- heksadesil-5-iminometil-8-hidroksikinolin bileşiğini sentezlemişlerdir. Aromatik yapılu Schiff bazı polimerlerinin yüksek ısıya dayanıklı olduklarını ve elektronik konjugasyonun fazlalığı nedeniyle çok yüksek derecede iletken özelliklerinin olduğu belirtilmiştir (Catanescu ve ark., 2001) ve yüksek ısıya dayanıklı Schiff bazı polimerlerinin poliamitler gibi gaz kromatografisinde sabit faz olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Khuhawar ve ark., 2004).

Mledenova ve arkadaşları (2002) 8-hidroksikinolin- 2-karboksaldehit ve uçlarında amin grubu bağlı polieter (Jeffamin ED) reaksiyonundan elde ettikleri polimerik Schiff bazının antibakteriyel ve antifungal özelliklerinin olduğu bildirmişlerdir.

ATP nin oksitlenmesinden elde edilen ve Schiff bazı türündeki yapının P2X7 reseptörüne karşı kullanılmıştır (Di Virgilio, 2003). Antikanser ilaçların yan etkisinden kaynaklanan kalp kası bozukluklarına karşı pridoksal (Vitamin B6) ve

izonikotinic asit hidrazidin Schiff bazı reaksiyonundan elde edilen piridoksal izonikotinoil hidrazon bileşiğinin kalp kası bozukluğunu önleyici etkisinin olduğu (Simunek ve ark., 2005) ve 1,2,4 triazol türevlerinden elde edilmiş bazı Schiff bazlarının kanser önleyici etkileri olduğunu bildirmiştir (Holla ve ark., 2003).

Benzilidin - ( 4- (5- benzilsulfanil-4H- (1,2,4) triazol – 3 - il)- fenil) - amin türevlerinin antibakteriyel , antikonvulsan ve antitüberkülotik özellikleri olduğunu ve incelenen yapıların bir çoğunun sinir sistemi üzerinde zararlı etkilerinin olmadığını bildirmiştir (Küçükgül ve ark., 2004). Keto-enol tautomerizmi gösterebilen Schiff bazlarının ısı ve ışığa göre renk değiştirdikleri görülmüştür. Elektromanyetik radyasyon değişimini ortaya koyan bu durum yapıyı da değiştireceği için önemli olduğu bildirilmiştir (Hadjoudis ve ark., 2004).

Bazı Cd(II), Cu(II) kompleksli Schiff bazlarının antimikrobiyal özellikleri bakılmıştır ve *B.megaterium* ve *C.tropicalis* karşı etkili oldukları görülmüştür (Gölcü ve ark., 2005). Bazı Schiff bazları (4-(4-aminofenil) morfolin türevi olan) özellikle *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* , *Micrococcus luteus* , *Escherichia coli* bakterilerine karşı iyi derecede antimikrobiyal ve *Candida albicans* , *Aspergillus niger* mantarlarına karşı orta derecede antifungal özellikler gösterdiği bildirilmiştir (Panneerselvam ve ark., 2005).

Schiff bazı türevlerinin DNA ve RNA sentezini durdurucu etkilerinin olduğu ve bu etkilerini ribonükleotit redüktaz enzimini inhibe ederek gerçekleştirdikleri bildirilmiştir (Cory ve ark., 1985). Schiff bazlarının antiviral özelliği araştırılan diğer bir çalışmada ise Schiff bazı bileşiklerin antiviral aktivite göstermediği, ancak çok güçlü sitotoksik etkiye sahip oldukları gözlemlenmiştir (Bulut ve ark., 2005).

Shabani ve arkadaşları 2008’de yaptıkları bir çalışmada azot ihtiva eden bazı Schiff bazlarının K562 (insan kronik myeloid lösemi) hücreleri ve Jurkat (insan T lenfosit karsinoma) hücrelerine karşı antitümör aktivite gösterdiği tespit edilmiş ve metal kompleksli Schiff bazları ve CDP (6-(cyclohexylamino)-1, 3-dimethyl-5(2-pyridyl)furo[2,3-d]pyrimidine-2, 4(1H,3H)-dione) ligandı kullanımı ile kemoterapi için umut ışığı olabilecek yeni bulgular ortaya çıkarmışlardır.

Guo ve arkadaşları 2009' da yaptıkları bir çalışmada üçlü bakır kompleksli salisilaldehit-amino Schiff bazı bileşiklerinin BGC823 (insan gastrit kanser hücre serisi) hücrelerinin proliferasyonu üzerinde etkili olduğu, apoptozisi uyardığı ve hücre siklusunda değişikliklere sebep olduğu ortaya konulmuştur. Araştırmacılar çalışmanın çeşitli deney hayvanları üzerinde *in vivo* şartlarda sürdürülmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Jesmin ve arkadaşları (2010) ehrlich asit tümörlü 6-8 haftalık Sweiss albino farelerle gerçekleştirdikleri bir çalışmada, PDH [N-(1-phenyl-2-hydroxy-2-phenyl ethyldine)-2', 4' dinitrophenyl hydrazine], PHP [N-(1-phenyl, 2-hydroxy-2-phenyl ethylidene)-2' hydroxy phenyl imine] ve HHP [N-(2-hydroxy benzyldine)-2' hydroxy phenyl imine], Schiff bazı bileşiklerin antitümör ajan olabilecekleri bildirilmiştir.

Osovole ve arkadaşları 2012'de bazı metal kompleksli nitrofenol Schiff bazlarının antikanser ve antimikrobiyal etkilerini araştırmışlar. *In vitro* şartlarda gerçekleştirilen bu araştırmada Pd (II) kompleksinin MCF-7 hücre serisi üzerinde (insan göğüs adenokarsinoma) güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Yapılan diğer bir çalışmada (Osovole ve Akpan., 2012) bazı metal kompleksli Schiff bazlarının *in vitro* ortamda antikanser ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış ve Pd (II) ve Cu (II) komplekslerinin MCF-7 (insan göğüs adenokarsinoma) hücrelerine karşı, Pd (II) kompleksinin de HT-29 (kolon karsinoma) hücrelerine karşı önemli ölçüde etki gösterdiği bildirilmektedir.

Vanillin semikarbazon' un EAC (ehrllich asit tümörlü)' lı Swiss albino fareleri (5-7 haftalık) üzerinde dikkate değer antikanser etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Mohsin Ali ve ark., 2012).

Yapılan birçok çalışmada Schiff bazlarının özellikle antimikrobiyal ve antikanser özelliği olduğu görülmüştür.

## 2.8. Sitotoksisite Çalışmalarında Kullanılan Yöntemler

### 2.8.1. Tripan mavisi ile boyama

Tripan mavisi yöntemi ile canlı hücre yüzdesi belirlenmektedir. Hücreler canlılıklarını kaybetmemişlerse membran bütünlükleri ve permeabiliteleri bozulmadığı için boyanmamaktadırlar. Membran bütünlüğü bozulduğu için ölü hücreler ise boyayı içine alarak mavi renkte görünmektedir. Bu özelliklerine dayanarak boyanmış ve boyanmamış hücre oranı ile hücre canlılığı yüzde olarak hesaplanabilmektedir (Şencan, 2006).

### 2.8.2. MTT testi

MTT yöntemi ile bir hücre topluluğundaki canlı hücreler kolorimetrik ve kantitatif olarak saptanabilmektedir. Bu yöntem sağlam mitokondrinin MTT boyasının tetrazolyum halkasını parçalaması ilkesine dayanmaktadır (Genç ve ark., 2002).

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) sarı renkli bir tetrazolyum tuzu olup sağlam mitokondrilerde süksinatdehidrojenaz enzimine spesifik olarak bağlandığında suda çözünmeyen mavi-mor formazan tuzları oluşturulmaktadır (Langdon, 2004; Korkmaz, 2002). Oluşan formazan tuzlarının miktarı direkt olarak hücre sayısının oranını göstermektedir (Holst ve ark., 2005).

Formazan kristalleri DMSO, izopropanol ya da formazan ürünlerini çözülebilen uygun çözücülerde çözüldükten sonra spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (Barile, 1994; Subhashini, 2005).

### 2.8.3. Cisplatinin sitotoksik etkileri

Cisplatin, 1970'li yıllardan sonra kanser tedavisinde kullanılan en önemli antineoplastik ilaçlardan biridir. Erişkin çağda görülen pek çok tümörün yanı sıra, nöroblastom, Wilms tümörü, hepatoblastom, beyin tümörleri, germ hücreli tümör, osteosarkom gibi pek çok çocukluk çağı tümörünün tedavisinde yer alan cisplatin, kemoterapide oldukça önemlidir. Cisplatinin biyolojik özellikleri 1960'lı yıllarda biyofizikçi Barnett Rosenberg tarafından tesadüfen keşfedilmiştir. 1968 yılında sarkomlu bir farede intraperitoneal cisplatin uygulaması sonucunda tümör boyutunda belirgin bir gerileme olduğu gözlemlenmiştir (Kelland, 2007).

Cisplatin uzun yıllardır başarı ile kanser tedavisinde kullanılmasına rağmen biyokimyasal etki mekanizması henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. İlacın sitotoksik özelliklerini nükleer DNA'ya bağlanıp transkripsiyon ve DNA replikasyonunu bozarak ve çeşitli sinyal iletim yollarını aktive ederek sağladığı düşünülmektedir. Cisplatin hücre mitokondrisine zarar verir, hücre siklusunu duraklatır, ATPaz aktivitesini engeller, hücresel transport sistemlerini değiştirir ve sonuç olarak apoptoz, inflamasyon, nekroz ve hücre ölümüne sebep olur (Kelland, 2007; Wang ve ark., 2005). Cisplatinin hücre içine alınmasına yönelik mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılan ilk çalışmalarda cisplatinin pasif difüzyon ile hücre içine girdiği öne sürülmüştür. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ise bakır transport proteini olan 'copper transporter 1'in (CTR1) cisplatinin hücre içine aktif olarak alınmasında etkili olduğunu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2005; Holzer ve ark., 2004).

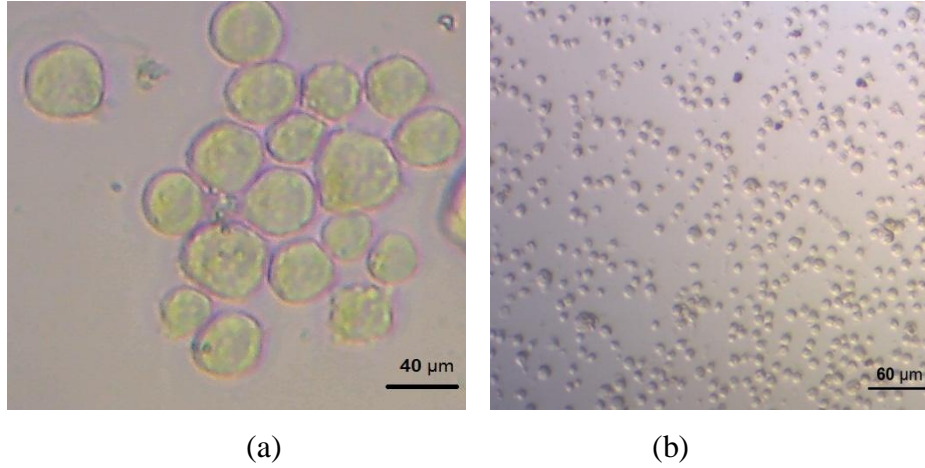
### 2.8.4. Sitotoksikite çalışmalarında kullanılan K562 hücre dizisi

Kronik miyeloid lösemi, diferansiyasyonun her basamağındaki miyeloid elemanların proliferasyonu ve yapışkan özelliklerinin kaybı ile karakterize klonal bir hematopoetik kök hücre malignitesidir. K562 hücreleri kronik miyeloid lösemisinin



blastik kriz evresinden kaynaklanan miyeloid seri hücre dizileridir (Lozzio ve ark., 1975).

İlk olarak 19. yüzyılda tanımlanmıştır. 3 farklı klinik evre ile karakterizedir. Birinci evre (kronik) olgunlaşma gösteren miyeloid hücrelerin artışıdır, zamanla miyeloid farklılaşma azalarak akselere faza ve sonra blastik krize geçiş gözlenir (Klein ve ark., 1976). Elektron mikroskopunda bakıldığında K562 hücreleri kolay bağıntılı, düzgün şekilli, kısa mikrovillüslü, farklılaşmış lösemik hücrelerine benzer şekilde görülmektedir (Klein ve ark., 1976). Giemsa ile hazırlanmış preparatlarda K562 hücreleri yaklaşık 20  $\mu\text{m}$  çapında iki ya da daha fazla parçalı nükleuslu farklılaşmamış blast hücreleri olarak tanımlanabilir. Bazofilik sitoplazmaları hiç granül içermez (Klein ve ark., 1976; Koeffler ve ark., 1980).



Şekil 2.2. K562 hücre serisi

Şekil 2.2. (a)' da seri pasajlar halindeki K562 hücreler görülmektedir. Şekil 2.2. (b)' de ise taze medium eklenmiş ve ekim için kullanılacak olan K562 hücre dizisi görülmektedir (Harran üniversitesi kök hücre ve kanser araştırma laboratuvarı, 2013).

K562 lösemi hücreleri kendini yenileme özelliklerine sahiptirler ve bu özellikleriyle hemopoetik pluripotent hücrelere benzemektedirler. K562 hücre dizilerinde, B hücrelere ait immunoglobulinler, Epstein-Barr virus genomu ve

nükleer antijenine karşı reseptörler yoktur (Anderson ve ark., 1979). Miyeloid lösemi hücreleri normal hücelere göre daha yavaş proliferasyon ve büyüme hızına sahiptir. Lösemi hücreleri olgunlaşmadıkları sürece bölünmezler yani olgunlaşma ve proliferasyon birbiriyle ilişkili olaylardır (Koeffler ve ark., 1980).

Kültür mediumunda süspansiyon olarak büyüyen K562 hücrelerinin iki kat artma süreleri ortalama 12 saattir (Lowry ve ark., 1951; Singhal ve ark., 1999). K562 hücrelerinde, normal kromozom sayısının yaklaşık 1,5 katı kromozom bulunur. K562 hücreleri apoptosise karşı dirençlidirler (Saydam ve ark., 2003). Normal hücrelerin uzun süre kültürde tutulması oldukça zordur. Bu nedenle hücre kültüründe kolayca çoğaltılabilen K562 hücrelerinin sitotoksosite ve apoptosise çalışmaları için kullanımı yaygındır. Kültürde spontan olarak apoptozise gitmeyen K562 hücrelerinde farklı maddelerle apoptosise indüklemek başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlar (Şencan, 2006).

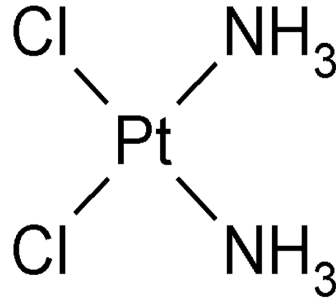
### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Kimyasal Bileşikler

Çalışmada kullanılan sterik engelli fenol türevli Schiff bazları Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Veli KASIM tarafından sentezlenmiştir.

**Cisplatin:** [Cl<sub>2</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>Pt ]

MA: 300 g/mol



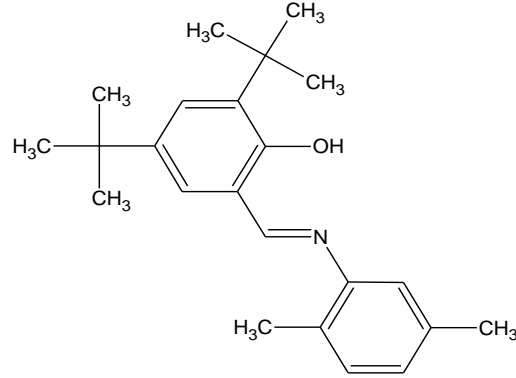
Cis-diamminedichloroplatinum

Şekil 3.1. Pozitif kontrol cisplatin

Cisplatin' in açık formülü, IUPAC isimlendirmesi ve molekül ağırlığı şekil 3.1' de görülmektedir.

**Bileşik 1: C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>NO**

MA: 337.5 g/mol



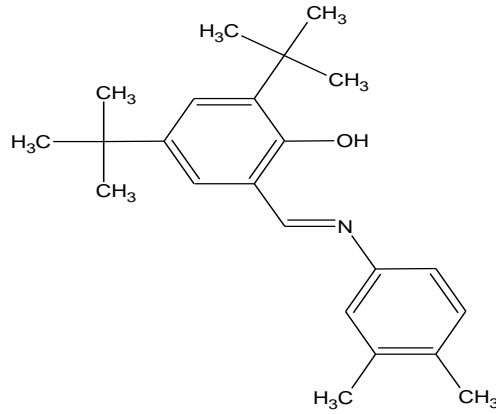
2,4-di-tert-butil-6-[(2,5-dimetilfenil) imino] metil-fenol

Şekil 3.2. Bileşik 1

Bileşik 1' in açık formülü, IUPAC isimlendirmesi ve molekül ağırlığı şekil 3.2' de görülmektedir.

**Bileşik 2: C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>NO**

MA: 337.5 g/mol



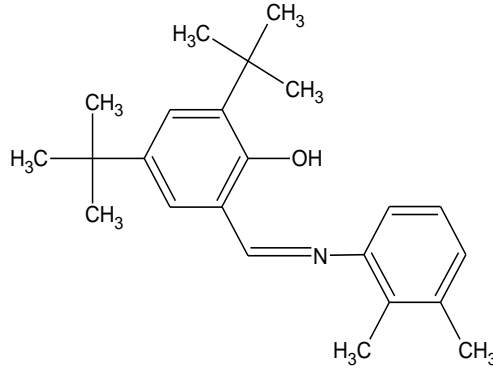
2,4-di-tert-butil-6-[(3,4-metilfenil) imino] metil-fenol

Şekil 3.3. Bileşik 2

Bileşik 2' ün açık formülü, IUPAC isimlendirmesi ve molekül ağırlığı şekil 3.3' te görülmektedir.

**Bileşik 3: C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>NO**

MA: 337. 5 g/mol



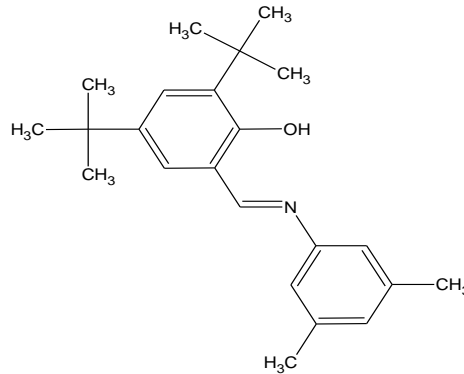
2,4-di-tert-butil-6-[[2,3-dimetil fenil] imino] metil}-fenol

Şekil 3.4. Bileşik 3

Bileşik 3' ün açık formülü, IUPAC isimlendirmesi ve molekül ağırlığı şekil 3.4' te görülmektedir.

**Bileşik 4: C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>NO**

MA: 337. 5 g/mol



2,4-di-tert-butil-6-[[3,5-dimetilfenil] imino] metil}-fenol

Şekil 3.5. Bileşik 4

Bileşik 4' ün açık formülü, IUPAC isimlendirmesi ve molekül ağırlığı şekil 3.5' te görülmektedir.

### **3.1.1. Bileşiklerin tartımı**

Bileşiklerin moleküler ağırlıklarına göre hassas terazide tartım işlemi gerçekleştirildi. Tartım işleminden sonra kimyasallar 1mM olacak şekilde alkolde çözüldü. Pipetaj yapılarak bileşiklerin çözünmesi sağlandı.

### **3.1.2. Bileşiklerin sterilizasyonu**

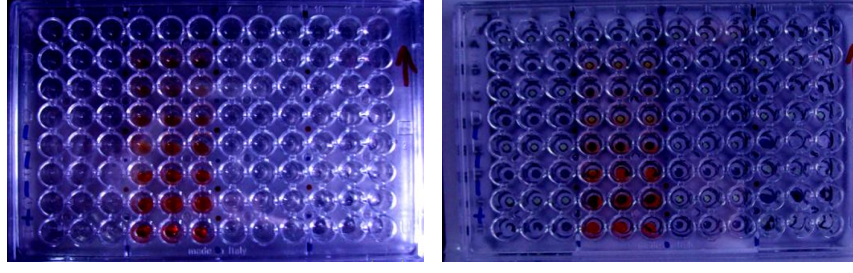
Bileşikler 1mM olacak şekilde alkol içerisinde çözüldükten sonra 20 µm por çaplı enjektör tipi filtre ile (Minisart®, Biotech, 16534, USA) sterilize edilmiştir.

### **3.1.3. Bileşiklerin doz ayarlaması**

Pozitif kontrol olarak kullanılan Cisplatin ve Schiff bazlarının 15.6 µM, 31.2 µM, 62.5 µM, 125 µM, 250 µM, 500 µM, 1000 µM olacak şekilde alkolde çözülerek stok solüsyonları hazırlandı.

## **3.2. Kültür Plaklarının Hazırlanması**

96 kuyucuklu kültür plaklarının ilk sırasına sadece çözücü olarak kullanılan alkol eklenmiştir. Pozitif kontrol ve bileşikler 15.6 µM, 31.2 µM, 62.5 µM, 125 µM, 250 µM, 500 µM ve 1000 µM olacak şekilde 10 µl hacimlerde (final hacim 100 µl) üçlü düzende (triple) eklendi.

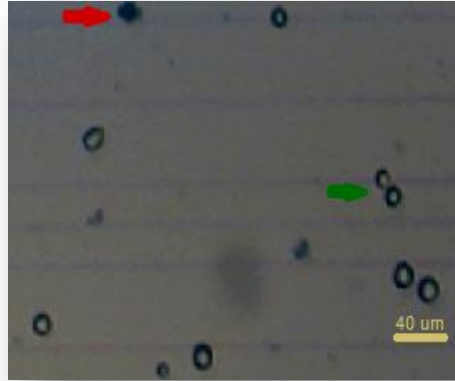


Şekil 3.6. Kimyasalların kültür plağına ekimi

Şekil 3.6’ da farklı dozlardaki kimyasalların kültür plağına ekilmiş hali görülmektedir.

### 3.3. Hücre Kültür Ortamının Hazırlanması

Seri pasajları yapılan K562 kronik myeloid lösemi hücre dizisi kültürlerinden alınan örnekler 2000 rpm 10 dakika santrifüj edildikten sonra üst sıvı atılarak hücreler % 10 fetal dana serumu (FCS) ve antibiyotik içeren RPMI-1640 içerisinde yeniden süspanse edildi.



Şekil 3.7. Thoma lamındaki canlı ve ölü hücreler

Şekil 3.7’ de kırmızı ok, canlılığı kaybolmuş ve içine boyayı alan hücreyi göstermektedir. Yeşil ok ise canlı olup boyayı almayan hücreleri göstermektedir (Harran Üniversitesi Kanser ve Kök Hücre Araştırma Laboratuvarı).

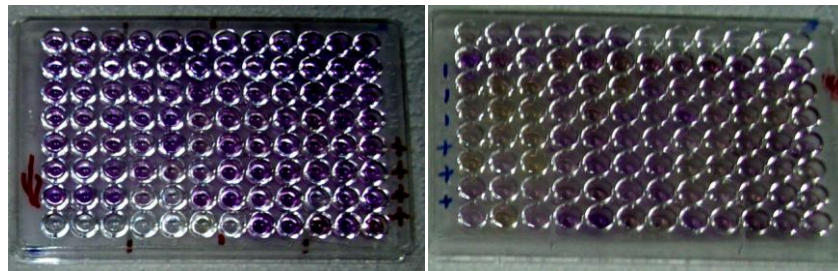
Hücrelerin canlılığını test etmek için “Trypan Blue Exclusion Test” uygulandı. Bu amaçla 100 µl hücre süspansiyonu 100 µl Tripan mavisinde (%10) sulandırılıp thoma lamında sayıldı. Boya almayan canlı hücrelerin oranı % 97 olarak belirlendi. Sayım işleminden sonra kültür plağına ekim için hücreler  $10^5$  hücre/ml olacak şekilde RPMI-1640 medyum ile sulandırılmıştır.

### 3.4. MTT Testi

Triple düzende cisplatin ve bileşiklerin değişen dozlarda (15.6 µM, 31.2 µM, 62.5 µM, 125 µM, 250 µM, 500 µM ve 1000 µM) ekilmiş olduğu 96 kuyucuklu kültür plaklarına K562 hücre süspansiyonu her bir kuyucuğa  $10^4$  hücre / 90 µl gelecek şekilde dağıtıldı.

Kültür flakları 37 °C’ de % 5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde (Heal Force, HF 212 UV, Çin), nemli ortamda 72 saat inkübasyona bırakıldı. Kültürün 72. saatinde % 0.5’ lik MTT solüsyonu ([3- (4,5-dimetiltiyazol-2yl) -2,5-difenil tetrazolium], Sigma, M2128-1G, USA) solüsyonundan her bir kültür kuyucuğuna 10 µl eklenip 4 saat daha inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda kültür plakları 3000 rpm de 10 dk. santrifüj edildikten sonra üst sıvı atıldı.

Canlı hücreler tarafından MTT’ nin MTT formazana çevrilmesiyle meydana formazan kristallerini çözmek için kültür kuyucuklarının her birine 100 µl izopropanol eklendi. Çözünen MTT-formazan miktarının belirlenmesi amacıyla kültür plakları ELİZA mikropalak okuyucuda (MD Spectramax, M5, USA) 570 nm dalga boyunda okutuldu.





Şekil 3.8. MTT eklendikten 4 saat sonra canlı hücrelerde oluşan MTT formazan

Şekil 3.8’ de canlı hücreler tarafından MTT’ nin MTT formazana dönüştürülmesiyle oluşan renk değişimi görülmektedir.

Kontrol ve test kuyucuklarından elde edilen optik dansite (OD) değerlerinden solvent körü kuyucuklarının OD değerleri çıkarılmıştır. Pozitif kontrol ve çalışmamızda kullandığımız bileşiklerin gösterdiği sitotoksik etki düzeyleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ sitotoksosite} = 100 - \frac{\text{ortalama OD (test)}}{\text{ortalama OD (kontrol)}} \times 100$$

#### 3.4.1. Kültür plakları kuyucuklarının görüntülenmesi

MTT ile inkübasyon sonunda kültür plaklarının kuyucukları invert mikroskopta (Motic, AE31, ÇİN) incelenerek, hücreler sitoplazmalarında MTT-formazan kristalleriyle görüntülendi.

#### 3.5. İstatistiksel Analizler

Elde edilen OD değerleri ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. Cisplatin ve Schiff bazlarının IC<sub>50</sub> değerleri Graphpad (demo) Prism version 6 for Windows kullanılarak non-lineer regresyon, doz inhibition analizi ile hesaplandı. Verilerin değerlendirilmesinde cisplatin (pozitif kontrol) ve Schiff bazlarının (bileşik 1-4) sitotoksik etkilerinin karşılaştırılması ANOVA testi ile gerçekleştirilmiştir. ANOVA testi anlamlı bulunan cisplatin ve Schiff bazlarının sitotoksik etkilerinin doz bağımlı karşılaştırılması ‘post hoc’ testlerden ‘TUKEY’ testi ile gerçekleştirildi. Schiff bazlarının pozitif kontrol olan cisplatinle karşılaştırılmasında pearson korelasyonu kullanıldı. “p” değerinin 0.05 ten küçük bulunması durumunda veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Araştırma Bulguları

Çalışmada sterik engelli fenol türevli Schiff bazlarının K562 kanser hücre serileri üzerindeki sitotoksik yanıtları cisplatin pozitif kontrol olarak cisplatin baz alınıp incelenmiştir.

#### 4.1.1. Kontrol grubunun OD değerleri

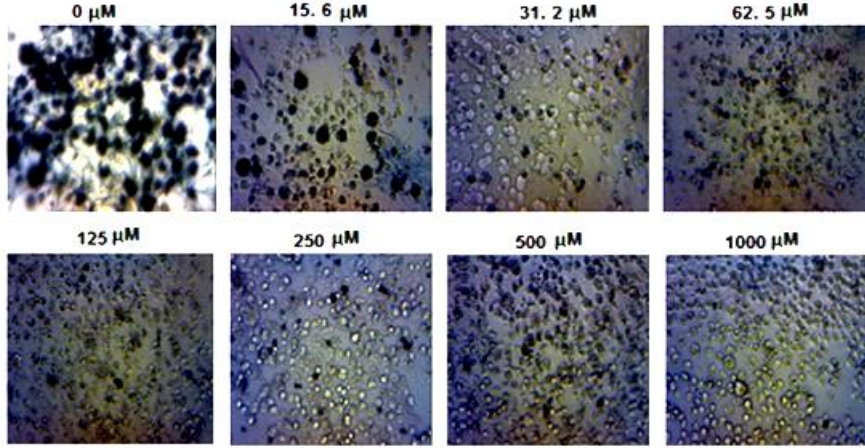
Çözücü olarak kullanılan alkolün eklendiği kontrol kuyucuklarının OD değeri  $0,521 \pm 0,012$  olarak belirlenmiştir.

#### 4.1.2. Cisplatinin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri

Cisplatinin değişen dozları ( $15.6 \mu\text{M}$ , -  $1000 \mu\text{M}$ ) kullanılarak gerçekleştirilen kültürlerinden elde edilen ve canlı hücreler tarafında oluşturulan MTT-formazana ait görüntüler Şekil 4.1' de sunulmaktadır.

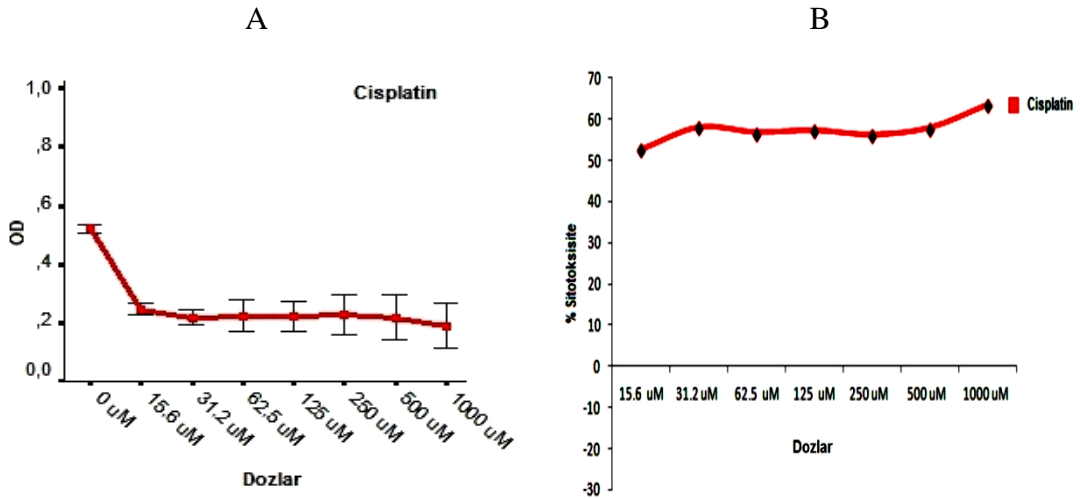
Cisplatinin  $15.6 \mu\text{M}$ ,  $32.1 \mu\text{M}$ ,  $62.5 \mu\text{M}$ ,  $125 \mu\text{M}$ ,  $250 \mu\text{M}$ ,  $500 \mu\text{M}$ ,  $1000 \mu\text{M}$  dozlarına karşılık gelen kültürlerden elde edilen OD değerleri ve bunların kontrol OD değerleri ile karşılaştırması sonucu elde edilen istatistiksel anlamlılık düzeyleri sırasıyla;  $0,246 \pm 0,017$  [ $p < 0,001$ ],  $0,218 \pm 0,022$  [ $p < 0,001$ ],  $0,224 \pm 0,044$  [ $p < 0,001$ ],  $0,222 \pm 0,046$  [ $p < 0,001$ ],  $0,227 \pm 0,059$  [ $p < 0,001$ ],

0,218±0,064 [p<0,001], 0,190±0,065 [p<0,001], (ANOVA; p<0,000) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. MTT sonrası Cisplatinin kültür ortamında K562 hücreleri üzerine etkileri

Cisplatin' nin değişen dozlarda K562 hücreleriyle 76 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri (Şekil 4.2 A) ve elde edilen OD değerlerinin kontrol grubu OD değerleri ile karşılaştırılması sonucu gözlenen % sitotoksosite değerleri (Şekil 4.2 B) grafikler halinde sunulmuştur.



Şekil 4. 2. Cisplatin eklenerek sürdürülen kültürlerde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT-formazana ait OD ve sitotoksosite değerleri.

Cisplatinin K562 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelendiğinde en yüksek sitotoksik etkinliğin 1000  $\mu\text{M}$  dozunda uygulanmasıyla % 63.5 olarak ve en düşük sitotoksik etkinin 15.6  $\mu\text{M}$  dozunda uygulanmasıyla % 52.7 elde edildiği Çizelge 3. 1 de gözlenmektedir.

Çizelge 3.1. Cisplatinin sitotoksitesi

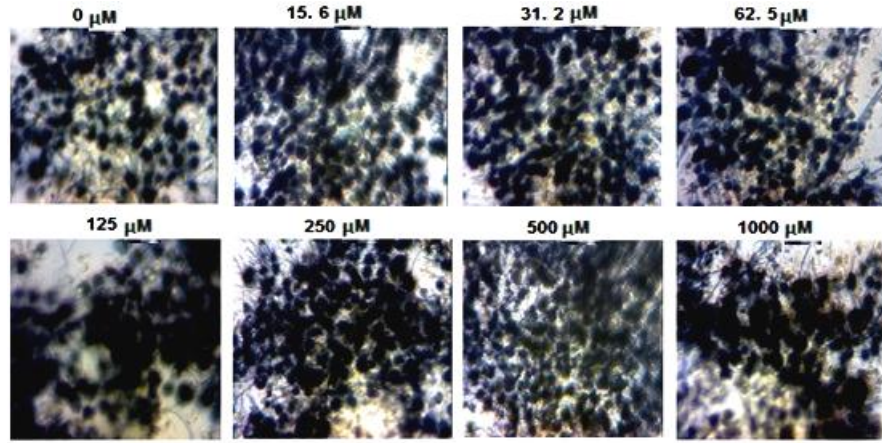
Kimyasal Dozları ( $\mu\text{M}$ )								
	15.6	31.2	62.5	125	250	500	1000	
% sitotoksosite	52,7	58,1	56,9	57,4	56,3	58,0	63,5	ANOVA 0,000
<b>IC<sub>50</sub>: 1.22 <math>\mu\text{M}</math></b>								

Elde edilen optik dansite değerlerinden hesaplanan sitotoksik yanıtların doz bağımlı olarak değerlendirilmesi ile cisplatin IC<sub>50</sub>: 1.22  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.

#### 4.1.3. Bileşik 1' in K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri

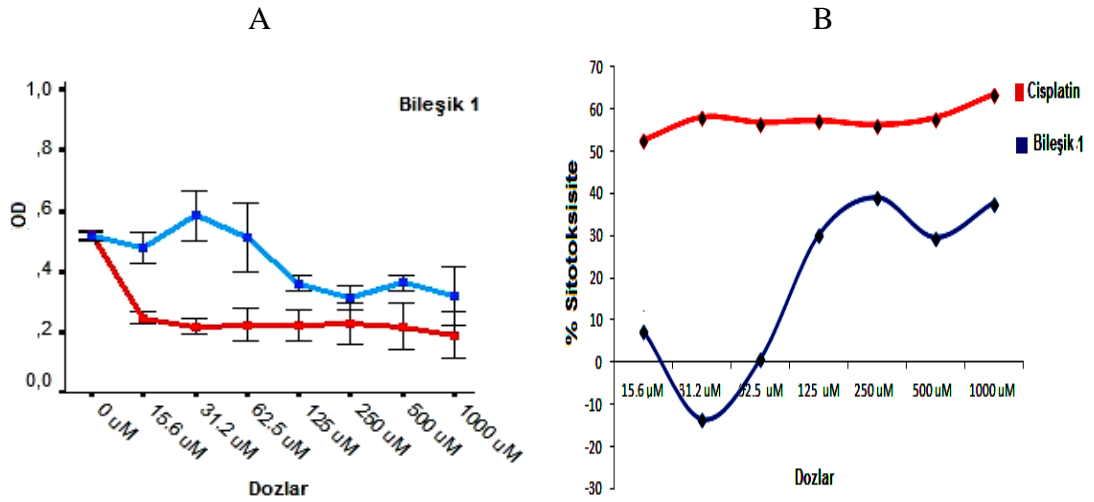
Bileşik 1' in değişen dozları (15.6  $\mu\text{M}$ , - 1000  $\mu\text{M}$ ) kullanılarak gerçekleştirilen kültürlerinden elde edilen ve canlı hücreler tarafından oluşturulan MTT-formazana ait görüntüler Şekil 4.3' de sunulmaktadır.

Bileşik 1'in 15.6  $\mu\text{M}$ , 32.1  $\mu\text{M}$ , 62.5  $\mu\text{M}$ , 125  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$ , 1000  $\mu\text{M}$  dozlarına karşılık gelen kültürlerden elde edilen OD değerleri ve bunların kontrol OD değerleri ile karşılaştırması sonucu elde edilen istatistiksel anlamlılık düzeyleri sırasıyla; 483±0,044 [p<0,990], 0,591±0,071 [p<0,803], 0,517±0,098 [p<1,000], 0,364±0,022 [p<0,065], 0,317±0,035 [p<0,010], 0,367±0,023, [p<0,072], 0,324±0,085 [p<0,013], (ANOVA p<0,000) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Bileşik 1 K562 hücreleri MTT Formazan OD değerlerinin karşılaştırması

Bileşik 1' in değişen dozlarda K562 hücreleriyle 76 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri (Şekil 4.4 A) ve elde edilen OD değerlerinin kontrol grubu OD değerleri ile karşılaştırılması sonucu gözlenen % sitotoksisite değerleri (Şekil 4.4 B) grafikler halinde sunulmuştur.



Şekil 4. 4. Bileşik 1 eklenerek sürdürülen kültürlerde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT-formazana ait OD ve sitotoksiste değerleri

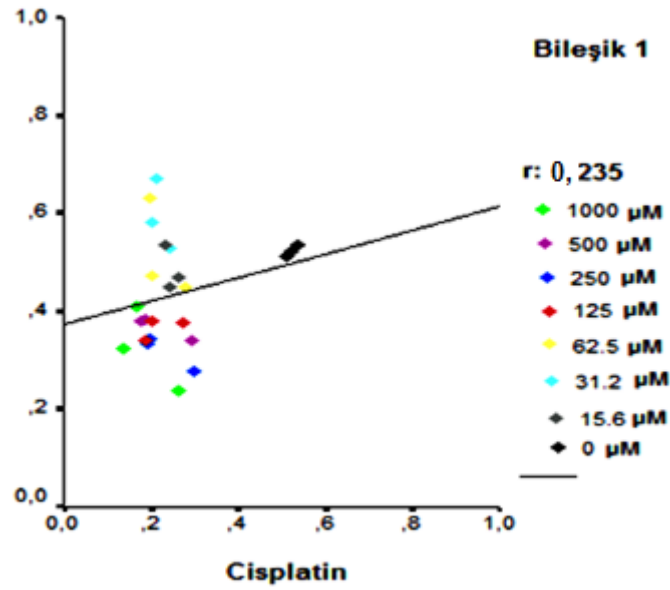
Bileşik 1 K562 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelendiğinde en yüksek sitotoksik etkinliğin 250  $\mu$ M dozunda % 39.0 olarak ve 31.2  $\mu$ M dozunda ise sitotoksik etki görülmeyip % 13.6'lık proliferasyon olduğu Çizelge 3.2 de görülmektedir.

Çizelge 3.2. Bileşik 1' in K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

	Kimyasal Dozları ( $\mu$ M)							ANOVA
	15.6	31.2	62.5	125	250	500	1000	
% sitotoksosite	7.3	-13.6	0.8	30.1	39.0	29.5	37.8	0,0001
<b>IC<sub>50</sub>:745 <math>\mu</math>M</b>								

Elde edilen optik dansite değerlerinden hesaplanan sitotoksik yanıtların doz bağımlı olarak değerlendirilmesi ile bileşik 1' in IC<sub>50</sub>: 745  $\mu$ M olarak bulunmuştur.

Pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatin ile Bileşik 1' den elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılmasıyla elde edilen korelasyonu gösteren grafik Şekil 4.5' te sunulmaktadır.



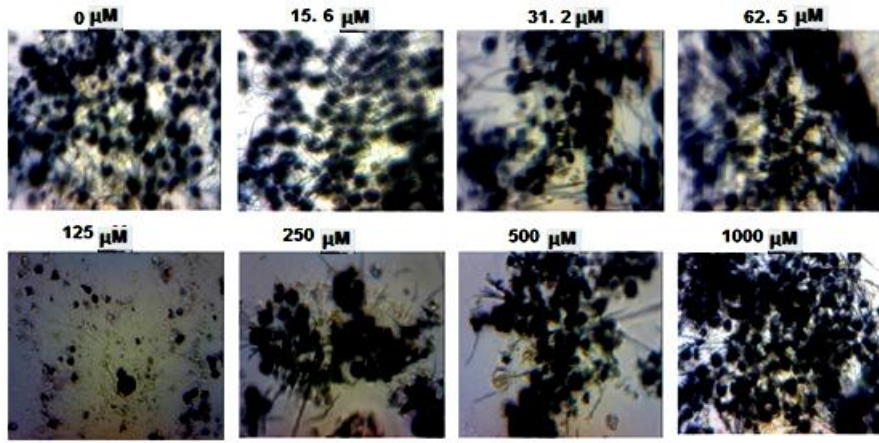
Şekil 4.5. Bileşik 1 korelasyon grafiği

Bileşik 1 ile pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatin arasında doz-yanıt ilişkisi açısından zayıf pozitif bağıntının bulunduğu ( $r: 0.235$ ,  $p>0.5$ ) gözlenmiştir.

#### 4.1.4. Bileşik 2' nin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri

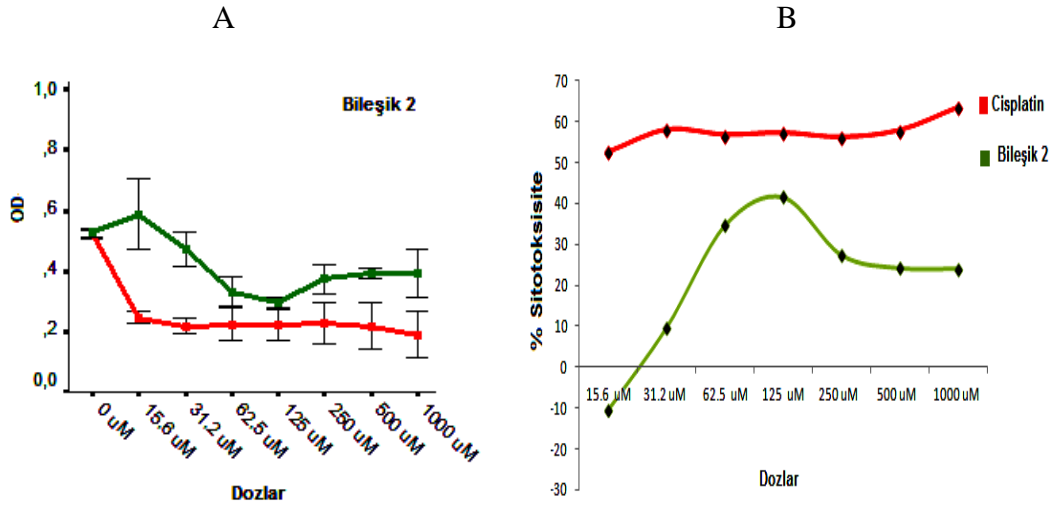
Bileşik 2' nin değişen dozları ( $15.6 \mu\text{M}$ , -  $1000 \mu\text{M}$ ) kullanılarak gerçekleştirilen kültürlerinden elde edilen ve canlı hücreler tarafında oluşturulan MTT-formazana ait görüntüler Şekil 4.6' da sunulmaktadır.

Bileşik 2' nin  $15.6 \mu\text{M}$ ,  $32.1 \mu\text{M}$ ,  $62.5 \mu\text{M}$ ,  $125 \mu\text{M}$ ,  $250 \mu\text{M}$ ,  $500 \mu\text{M}$ ,  $1000 \mu\text{M}$  dozlarına karşılık gelen kültürlerden elde edilen OD değerleri ve bunların kontrol OD değerleri ile karşılaştırması sonucu elde edilen istatistiksel anlamlılık düzeyleri sırasıyla;  $0,576 \pm 0,093$  [ $p < 0,843$ ],  $0,470 \pm 0,045$  [ $p < 0,884$ ],  $0,340 \pm 0,037$  [ $p < 0,005$ ],  $0,304 \pm 0,013$  [ $p < 0,001$ ],  $0,378 \pm 0,037$  [ $p < 0,034$ ],  $0,395 \pm 0,013$  [ $p < 0,076$ ],  $0,396 \pm 0,064$  [ $p < 0,080$ ], (ANOVA  $p < 0,000$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Bileşik 2 K562 hücreleri üzerindeki MTT formazan OD değerlerinin karşılaştırılması

Bileşik 2' nin değişen dozlarda K562 hücreleriyle 76 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri (Şekil 4.7 A) ve elde edilen OD değerlerinin kontrol grubu OD değerleri ile karşılaştırılması sonucu gözlenen % sitotoksikite değerleri (Şekil 4.7 B) grafikler halinde sunulmuştur.



Şekil 4.7. Bileşik 2 eklenerek sürdürülen kültürlerde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT-formazana ait OD ve sitotoksikite değerleri



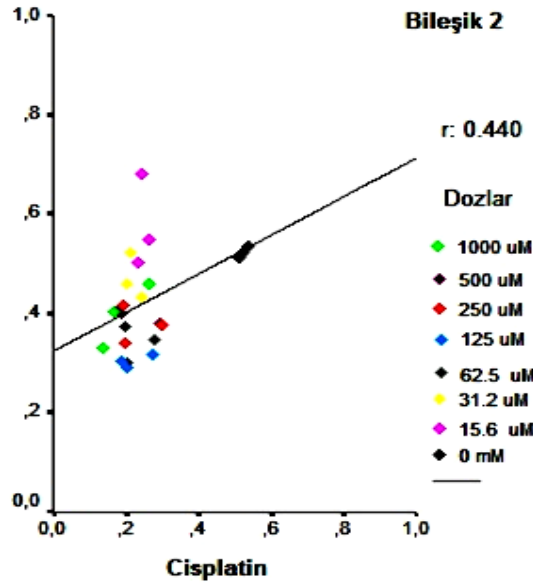
Bileşik 2 K562 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelendiğinde en yüksek sitotoksik etkinliğin 125 µM dozunda % 41.6 ve 15.6 µM dozunda ise sitotoksik etki görülmeyip % 10.5 lik proliferasyon Çizelge 3.3' de görülmüştür.

Çizelge 3.3. Bileşik 2' nin K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

Kimyasal Dozları (µM)							
	15.6	31.2	62.5	125	250	500	1000
% sitotoksosite	-10.5	9.7	34.7	41.6	27.4	24.2	24.0
ANOVA 0,000							
IC <sub>50</sub> : 1300 µM							

Elde edilen optik dansite değerlerinden hesaplanan sitotoksik yanıtların doz bağımlı olarak değerlendirilmesi ile bileşik 2' nin IC<sub>50</sub>: 1300 µM olarak bulunmuştur.

Pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatin ile bileşik 2' den elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılmasıyla elde edilen korelasyonu gösteren grafik Şekil 4.8' de sunulmaktadır.



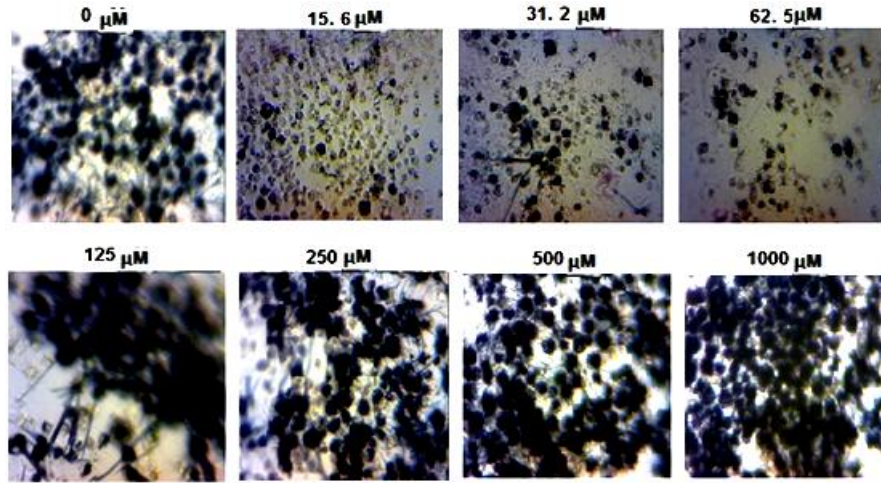
Şekil 4.8. Bileşik 2 korelasyon grafiği

Bileşik 2 ile pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatin arasında doz-yanıt ilişkisi açısından orta derecede bir pozitif bağımtının bulunduğu ( $r: 0.440$ ,  $p < 0.05$ ) gözlenmiştir.

#### 4.1.5. Bileşik 3' ün K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri

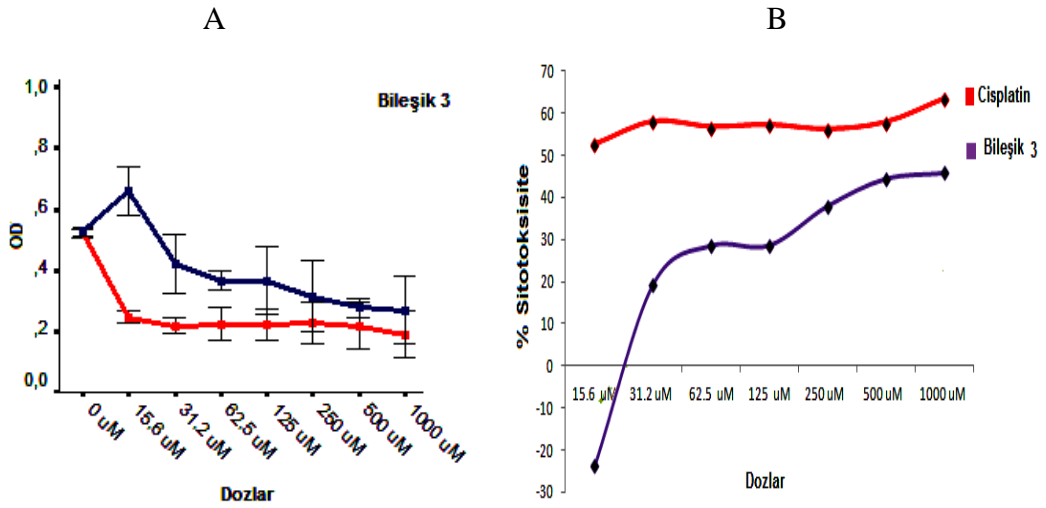
Bileşik 3' in değişen dozları (15.6  $\mu\text{M}$ , - 1000  $\mu\text{M}$ ) kullanılarak gerçekleştirilen kültürlerinden elde edilen ve canlı hücreler tarafında oluşturulan MTT-formazana ait görüntüler Şekil 4.9' da sunulmaktadır.

Bileşik 3' ün 15.6  $\mu\text{M}$ , 32.1  $\mu\text{M}$ , 62.5  $\mu\text{M}$ , 125  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$ , 1000  $\mu\text{M}$  dozlarına karşılık gelen kültürlerden elde edilen OD değerleri ve bunların kontrol OD değerleri ile karşılaştırması sonucu elde edilen istatistiksel anlamlılık düzeyleri sırasıyla;  $0,645 \pm 0,065$  [ $p < 0,376$ ],  $0,420 \pm 0,077$  [ $p < 0,614$ ],  $0,372 \pm 0,023$  [ $p < 0,191$ ],  $0,372 \pm 0,090$  [ $p < 0,191$ ],  $0,323 \pm 0,092$  [ $p < 0,039$ ],  $0,289 \pm 0,025$  [ $p < 0,012$ ],  $0,282 \pm 0,090$  [ $p < 0,009$ ], (ANOVA  $p < 0,000$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.9. Bileşik 3 K562 hücreleri MTT Formazan OD değerlerinin karşılaştırması

Bileşik 3' ün değişen dozlarda K562 hücreleriyle 76 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri (Şekil 4.10 A) ve elde edilen OD değerlerinin kontrol grubu OD değerleri ile karşılaştırılması sonucu gözlenen % sitotoksisite değerleri (Şekil 4.10 B) grafikler halinde sunulmuştur.



Şekil 4.10. Bileşik 3 eklenerek sürdürülen kültürlerde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT-formazana ait OD ve sitotoksisite değerleri

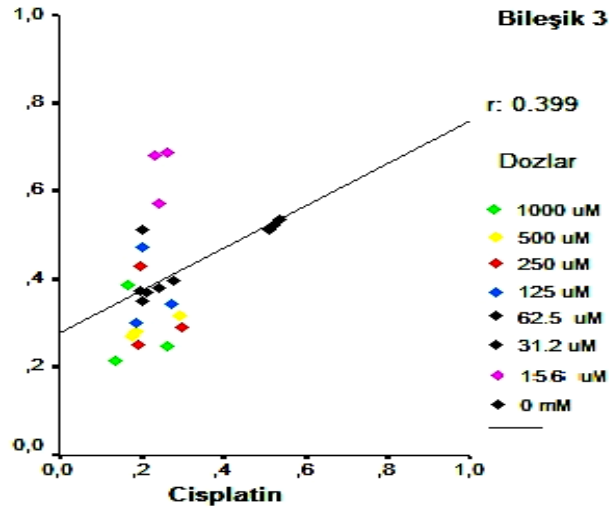
Bileşik 3' ün K562 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelendiğinde en yüksek sitotoksik etkinliğin en yüksek sitotoksik etki 1000  $\mu\text{M}$  dozunda % 45.8 görülmüştür. 15.6  $\mu\text{M}$  dozunda ise sitotoksik etki görülmeyip % 23.8 lik proliferasyon olduğu Çizelge 3.4' de görülmektedir.

Çizelge 3.4 . Bileşik 3' ün K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

Kimyasal Dozları ( $\mu\text{M}$ )								
	15.6	31.2	62.5	125	250	500	1000	
% sitotoksosite	-23.8	19.4	28.6	28.7	38.0	44.5	45.8	ANOVA 0,000
<b>IC<sub>50</sub>: 770.9 <math>\mu\text{M}</math></b>								

Elde edilen optik dansite değerlerinden hesaplanan sitotoksik yanıtların doz bağımlı olarak değerlendirilmesi ile bileşik 3' ün IC<sub>50</sub>: 770.9  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.

Pozitif kontrol olarak kullanılan cispaltin ile bileşik 3' den elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılmasıyla elde edilen korelasyonu gösteren grafik Şekil 4.11' de sunulmaktadır.



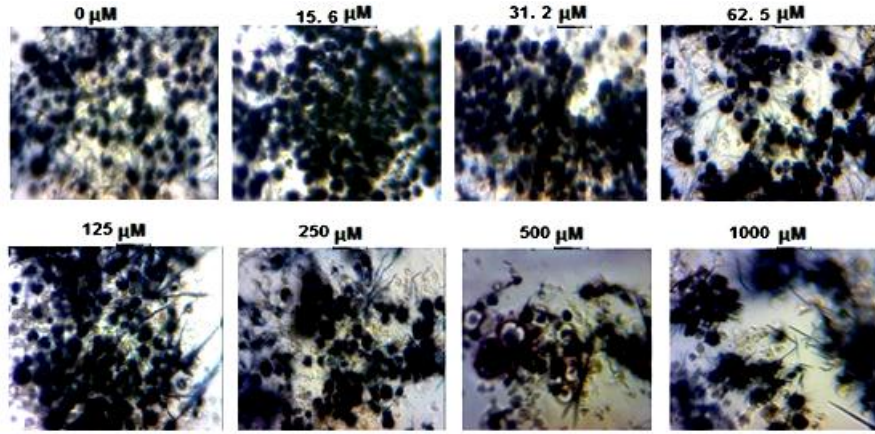
Şekil 4.11. Bileşik 3 korelasyon grafiği

Bileşik 3 ile pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatin arasında doz-yanıt ilişkisi açısından zayıf bir pozitif bağıntının bulunduğu ( $r: 0.399$ ,  $p>0.05$ ) gözlenmiştir.

#### 4.1.6. Bileşik 4' ün K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri

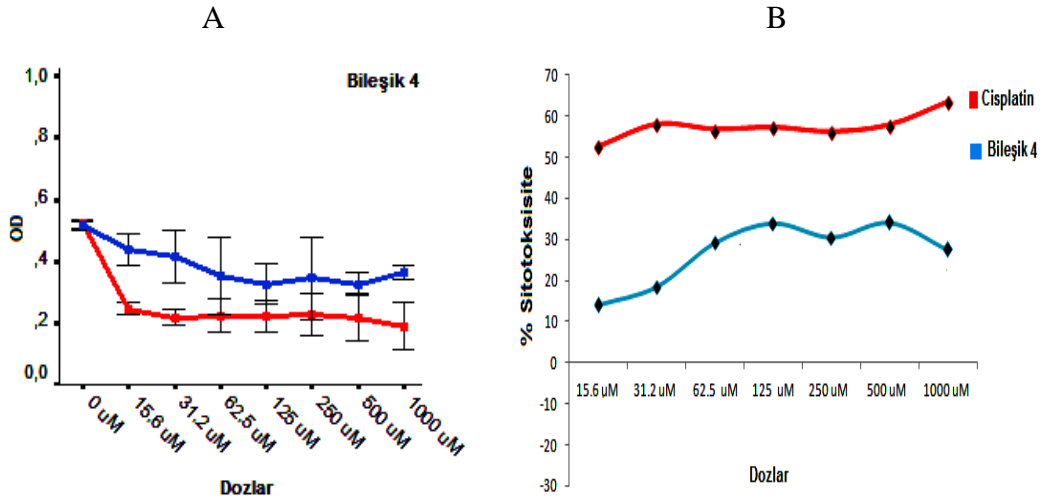
Bileşik 4' ün değişen dozları (15.6  $\mu$ M, - 1000  $\mu$ M) kullanılarak gerçekleştirilen kültürlerinden elde edilen ve canlı hücreler tarafında oluşturulan MTT-formazana ait görüntüler Şekil 4.12' de sunulmaktadır.

Bileşik 4' ün 15.6  $\mu$ M, 32.1  $\mu$ M, 62.5  $\mu$ M, 125  $\mu$ M, 250  $\mu$ M, 500  $\mu$ M, 1000  $\mu$ M dozlarına karşılık gelen kültürlerden elde edilen OD değerleri ve bunların kontrol OD değerleri ile karşılaştırması sonucu elde edilen istatistiksel anlamlılık düzeyleri sırasıyla;  $0,449\pm 0,040$  [ $p<0,850$ ],  $0,426\pm 0,068$  [ $p<0,607$ ],  $0,369\pm 0,101$  [ $p<0,132$ ],  $0,344\pm 0,051$  [ $p<0,055$ ],  $0,362\pm 0,108$  [ $p<0,104$ ],  $0,344\pm 0,030$  [ $p<0,054$ ],  $0,378\pm 0,017$  [ $p<0,177$ ], (ANOVA  $p<0,039$ ) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.12. Bileşik 4 K562 hücreleri MTT Formazan OD değerlerinin karşılaştırması

Bileşik 4' ün değişen dozlarda K562 hücreleriyle 76 saat inkübasyonu sonunda hücrelerin ürettiği MTT formazana ait OD değerleri (Şekil 4.13A) ve elde edilen OD değerlerinin kontrol grubu OD değerleri ile karşılaştırılması sonucu gözlenen % sitotoksisite değerleri (Şekil 4.13 B) grafikler halinde sunulmuştur.



Şekil 4.13. Bileşik 4 eklenerek sürdürülen kültürlerde K562 hücreleri tarafından üretilen MTT-formazana ait OD ve sitotoksisite değerleri

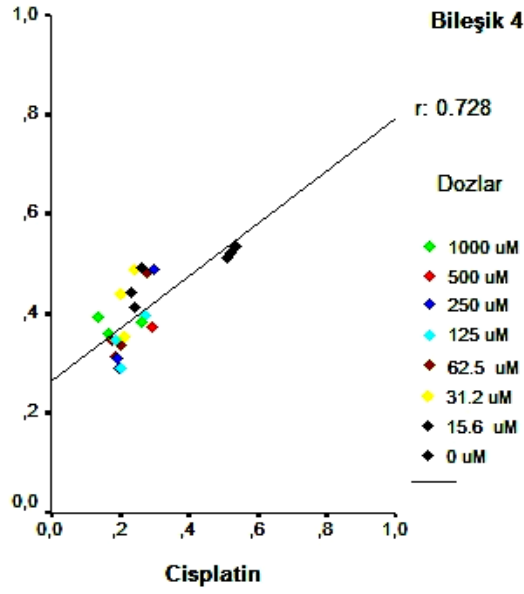
Bileşik 4' ün K562 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelendiğinde en yüksek sitotoksik etki 500 µM dozunda % 34.0 en az sitotoksik etki ise 15.6 µM dozunda % 13.8 görülmüştür Çizelge 3.5' de görülmektedir.

Çizelge 3.5. Bileşik 4' ün K562 hücreleri üzerine % sitotoksik etkileri

Kimyasal Dozları (µM)							
	15.6	31.2	62.5	125	250	500	1000
% sitotoksosite	13.8	18.3	29.1	33.9	30.4	34.0	27.6
ANOVA 0,039							
IC <sub>50</sub> : 2074µM							

Elde edilen optik dansite değerlerinden hesaplanan sitotoksik yanıtların doz bağımlı olarak değerlendirilmesi ile bileşik 4' ün IC<sub>50</sub>: 2074 µM olarak bulunmuştur.

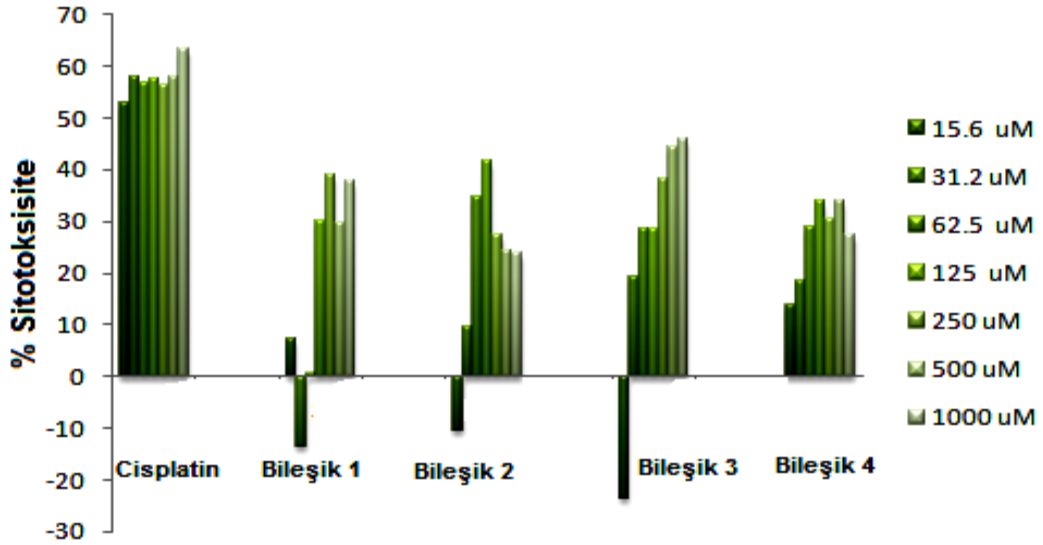
Pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatin ile bileşik 4' den elde edilen OD değerlerinin karşılaştırılmasıyla elde edilen korelasyonu gösteren grafik Şekil 4.14' te sunulmaktadır.



Şekil 4.14. Bileşik 4 korelasyon grafiği

Bileşik 4 ile pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatin arasında doz-yanıt ilişkisi açısından güçlü pozitif bağıntının bulunduğu ( $r: 0.728, p < 0.001$ ) gözlenmiştir.

Cisplatin ve bileşik 1-4' den elde edilen sitotoksik yanıtlar toplu olarak Şekil 4.15' te verilmektedir.



Şekil 4.15. Tüm bileşiklerin sitotoksik etkilerinin karşılaştırılması



Bileşik 3' ün ve bileşik 4' ün gösterdiği sitotoksik yanıtlarda doza paralellik gözlenirken bileşik 2' de bu durum tersine olarak gözlenmektedir.

#### 4.2. Tartisima

Ölüm nedenleri arasında önemli bir yer tutan kanserin tedavisinde değişik yöntemler kullanılmaktadır. Kemoterapi bu tedavi metodları arasında özel bir yer tutmakla birlikte henüz kemoterapiye alternatif bir yöntem geliştirilememiştir. Kemoterapide kullanılan birçok bitkisel ve kimyasal kökenli kemoterpotik ajan bulunmasına rağmen henüz tam anlamıyla başarılı sonuçların elde edilebildiği ve yan etkileri minimuma indirilmiş bir kemoterpotik ajan bulunabilmiş değildir. Bu nedenle bitkisel ve kimyasal kaynaklardan yeni kemoterpotik ajan arayışları dünya çapında hızla devam etmektedir.

Yeni antikanser ilaçların keşfi için hücre kültürü uygulamaları ilk ve en önemli basamağı oluşturmaktadır. İn vitro kültür sonuçlarından elde edilecek ipuçlarının değerlendirilmesiyle yeni ajanların antikanser etkisini değerlendirmek ve daha ileri çalışmalarda bulunmak amacıyla *in vivo* çalışmalara başlayabilmek mümkün olabilmektedir.

Günümüzde antikanser araştırmalarında kullanılmak üzere kanserli hastalardan ve dokulardan izole edilmiş onlarca hücre serisi bulunmaktadır. (Lozzio ve ark., 1975). Bu çalışmada antikanser araştırmalarında sıklıkla kullanılan K562 hücre serisi seçilerek elde edeceğimizi bulguların diğer çalışmalara kolayca karşılaştırılmasının sağlanması ve daha sağlık değerlendirmelerde bulunması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda hücre canlılığının tayininde tripan blue testi kullanılmıştır. Canlı hücrelerle ölü hücrelerin ayrımının hücrelerin boyayla boyanma durumu ilkesine dayanan bu test ile kültüre eklenen hücrelerin canlılık oranı doğru olarak saptanabilmiştir. Birçok çalışmada bu test yalnız başına dahi sitotoksisteyi

belirlemede kullanılabilecek kadar duyarlı bir test olarak tanınmaktadır (Öktem, 2005).

Çalışmada kullanılan sterik engelli fenol türevli Schiff bazlarının (bileşik 1-4) sitotoksik özellikleri antikanser özelliği çok iyi bilinen ve hali hazırda kemoterapötik ajan olarak kanser tedavisinde kullanılan cisplatin karşılaştırmalı olarak test edilmiştir. Cisplatin başka birçok araştırmada da pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Raja, 2012).

Çalışmada kullanılan Schiff bazları kozmopolit bir kimyasal grubu temsil etmekte ve her geçen gün bu moleküllerin yeni modelleri sentez edilmektedir. Bir kimyasal grubu olarak Schiff bazlarının birçok biyolojik etkisinin bulunduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya atılmaktadır (Prakash, 2011; Kumar, 2009).

Yeni kemoterapötik ajan arayışlarında Schiff bazlarının incelenmesine dair birçok çalışmaya rastlanmaktadır. Birçok araştırmacı Schiff bazlarının antikanser özelliklerinin bulunduğu bildirilmektedir. (Shabani ve ark., 2008; Osowole ve Akpan, 2012)

Schiff bazı türevlerinin DNA ve RNA sentezini durdurucu etkilerinin olduğu ve bu etkilerini ribonükleotit redüktaz enzimini inhibe ederek gerçekleştirdikleri görülmüştür (Cory ve ark., 1985).

Kullanılan kimyasal grubu ve kullanılan hücre serisi bakımından çalışmamızla büyük benzerlik gösteren Shabani ve arkadaşları 2008'de yaptığı bir çalışmada azot ihtiva eden bazı schiff bazlarının K562 (insan kronik myeloid lösemi) hücreleri ve Jurkat (insan T lenfosit karsinoma) hücrelerine karşı antitümör aktivite gösterdiği tesbit edilmiş ve metal kompleksli schiff bazları ve CDP (6-(cyclohexylamino)-1, 3-dimethyl-5(2-pyridyl)furo[2,3-d]pyrimidine-2, 4(1H,3H)-dione) ligandı kullanımı ile kemoterapi için umut ışığı olabilecek yeni bulgular ortaya çıkarmışlardır.

Osoyole ve arkadaşları 2012'de bazı metal kompleksli nitrofenol schiff bazlarının antikanser ve antimikrobiyal etkilerini araştırmışlar. *In vitro* şartlarda gerçekleştiren bu araştırmada Pd (II) kompleksinin MCF-7 hücre serisi üzerinde (insan ggs adenokarsinoma) güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Yapılan diğerbir çalışmada (Osoyole ve Akpan, 2012) bazı metal kompleksli schiff bazlarının *in vitro* ortamda antikanser ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış ve Pd (II) ve Cu (II) komplekslerinin MCF-7 (insan ggs adenokarsinoma) hücrelerine karşı, Pd (II) kompleksinin de HT-29 (kolon karsinoma) hücrelerine karşı önemli ölçüde etki gösterdiği bildirilmektedir.

Yeni sentezlenen hydroxysemicarbazide Schiff bazlarının melenoma, over kanseri ve lösemi tedavisinde kullanılan hydroxyurea anti kanser ilacından daha etkili olduğu ve kemotaraptik ajan olarak mit vaat ettiği bildirilmiştir (Ren ve ark., 2002).

Guo ve ark., 2009' da yaptıkları çalışmada l bakır kompleksli salisilaldehit-amino schiff bazı bileşiklerinin BGC823 (insan gastrit kanser hücre serisi) hücrelerinin proliferasyonu üzerinde etkili olduğu, apoptozisi uyardığı ve hücre siklusunda değişikliklere sebep olduğu ortaya konulmuştur. Yapılan birçok çalışmada kullanılan schiff bazlarının sitotoksik etki göstermesi çalışmamızda çıkan sonuçları desteklemekte olup sonuçlarımız kronik miyeloid lösemi için umut vaat etmediğini söyleyebiliriz

Yeni sentezlenen  $[Cu^{II}(5-Cl-pap)(OAc)(H_2O)]_2H_2O$  schiff bazının HeLa hücre serisinde apoptoza yol açtığı ve bölünmeyi S fazında durdurduğu tespit edilmiştir (Qiao ve ark., 2011).

Bakır kompleksli schiff bazlarla yapılan bir çalışmada  $[Cu(Pyimpy)Cl_2]$  bileşiğinin ggs kanserli ratlardaki tümörü inhibe ettiği ve apoptozu uyadığı görülmüştür.  $[Cu(Pyimpy)Cl_2]$  bileşiğinin MCF-7 hücre serisinde  $IC_{50}$  değeri 4. 29  $\mu M$ , PC3 hücre serisinde  $IC_{50}$  değeri 6. 34  $\mu M$  ve HEK 293 hücre serisinde  $IC_{50}$  değeri 5. 32  $\mu M$  bulunmuştur ( Chankraborty ve ark., 2010 ).

Yeni sentezlenen pirano tiyazol schiff bazlarının MCF7( insan göğüs kanseri hücre serisi ) doxorubicin daha etkili sitotoksik etki gösterdiği ve yeni sentezlenen bu bileşiklerden birçoğunun IC<sub>50</sub> değerinin doxorubicin den daha düşük olduğu görülmüştür (Ghorab ve ark., 2012). DNA bağlama özellikleri olan rutheniun (II) schiff bazı kompleksinin ve ligandının HeLa serisi üzerine yapılan sitotoksik araştırmada pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatinin IC<sub>50</sub> değeri 16.7µm, rutheniun (II) IC<sub>50</sub> 31. 6 µm ve ligandın IC<sub>50</sub> 52. 3 µm olarak bulunmuştur (Raja ve ark., 2012). IC<sub>50</sub> kullanılan bileşiğin etkinliğini belirlemede oldukça önemli ve dikkate alınan bir değerdir. Yapılan birçok çalışmadan farklı olarak kullandığımız kıymasalların IC<sub>50</sub> oldukça yüksek çıkması sitotoksik etkinin düzeyinin az olduğunu göstermektedir.

Zhang ve arkadaşları 2012 de MTT yöntemiyel yaptıkları bir araştırmada Cu(C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 2CH<sub>3</sub>OH, Zn(C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 2CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH ve Cd(C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub> CH<sub>3</sub>OH bileşikleri insan göğüs kanseri MDA-MB-231 hücre serisi üzerine en etkili bileşiğin Cd(C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 2CH<sub>3</sub>OH bileşiği olduğu ve apoptozu uyardığı görülmüş ve IC<sub>50</sub> değeri 27 µmol/ L olarak bulunmuştur. Daha önce yapılan bu çalışmalarda kullanılan birçok schiff bazının apoptozu uyardığı görülmüştür bundan dolayı çalışmada kullanılan bu kimyasalların kaspaz aktivitesine bakılmalıdır.

Sweiss albino farelerle (6-8 haftalık ehrlich asit tümörlü) yapılan bir çalışmada PDH [N-(1-phenyl-2-hydroxy-2-phenyl ethyldine)-2', 4' dinitrophenyl hydrazine], PHP [N-(1-phenyl, 2-hydroxy-2-phenyl ethylidene)-2' hydroxy phenyl imine] ve HHP [N-(2-hydroxy benzylidene)-2' hydroxy phenyl imine], Schiff bazı bileşiklerin antitümör ajan olabilecekleri bildirilmiştir (Jesmin ve ark., 2010). Jesmin ve arkadaşlarının yaptığı *in vivo* çalışmada kullanılan Schiff bazlarının etkili olduğu görülmesi çalışmamızda kullanılan bileşiklerin K562 hücre serisi üzerinde fazla bir etki göstermediğinden dolayı farklı hücre serileri üzerinde denenip, etkili görülen bileşikler gerekli diğer testler uygulandıktan sonra *in vivo* şartlarda denenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Çalışmada MTT yöntemi kullanılarak, K562 hücre dizisinde yeni sentezlenmiş dört schiff bazı bileşiğinin anti kanser etkinliğinin ortaya konması

amaçlanmıştır. Çalışmamızda kullanılan bileşiklerin metal kompleksli olmamasıyla birlikte yapılan birçok çalışmada Schiff bazlarının sitotoksik etkilerinin olduğu görülmüş ve özellikle metal kompleksli bazların daha etkili olduğu bildirilmiştir. Yeni sentezlenen bu dört schiff bazı komplekslerde en yüksek sitotoksik etki Bileşik 3' te görülmesine rağmen diğer yeni sentezlenen komplekslerinde sitotoksik etkilerinin olduğu görülmüştür. Çalışmamızda kullanılan bu bileşiklerin sitotoksik etkisi olsada kronik miyeloid için çok etkili olmadığını söyleyebiliriz.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmada sentezlenen 4 adet schiff bazı ve pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatinin 7 farklı dozu K562 hücre serisi üzerine kültür ortamında uygulanmıştır.

Bileşik 1'in 2. dozuda, bileşik 2'nin 1. dozuda ve bileşik 3'ün 1. dozunda kimyasalların K562 hücre serisi üzerine sitotoksik etkisi görülmemiş aksine proliferasyon görülmüştür. Bileşik 4' ün bütün dozlarında sitotoksik etki görülsede en yüksek etki bileşik 3' ün 7. dozunda görülmüştür.

- Sonuç olarak yapılan birçok çalışmada olduğu gibi çalışmada kullanılan Schiff bazlarının sitotoksik etkisinin olduğu fakat düşük seviyede olduğu görülmüştür.
- Bu deneyde kullanılan kimyasalların suda çözülebilir tuzlarını sentezlenerek deneyin tekrar edilmesi durumunda sitotoksik etkinin yeniden incelenmesi daha farklı sonuçların elde edilebilmesi olasıdır.
- Yapılan birçok çalışmada metal kompleksli Schiff bazlarının biyolojik etkilerinin daha yüksek düzeyde gözlenmesinden yola çıkılarak çalışmamızda kullanılan bileşiklerin metal komplekslerinin sentezlenip deneyin tekrarlanmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.
- MTT yöntemi kolorimetrik bir yöntem olduğundan dolayı kullanılan kimyasalların renksiz olmasına özen gösterilmelidir.

- Çalışmada kullanılan kimyasalların sadece kanserli hücrelerin yanısıra, sağlıklı hücreler üzerinde denenmesine ihtiyaç vardır.
- Bu denemelerin kanserli hastalardan hazırlanacak primer hücre kültürlerinde denenmeleriyle daha farklı sonuçlara ulaşılabilmesi olasıdır.
- Yüksek sitotoksik etkiye sahip kimyasalların ATP-TCA yöntemi uygulanarak ayrıca test edilmesi daha güvenilir sonuçlara ulaşılmasına katkıda bulunabilecektir.
- Araştırmalarda çeşitli kimyasalların farklı hücre soylarına karşı farklı cevaplar oluşturduğu görülmektedir. Bu nedenle kimyasalların farklı kanserlere ait hücre soyları üzerine sitotoksik etkilerinin incelenmesi yararlı olacaktır.
- Bileşiklerin sitotoksik etkisinin de apoptotik ya da nekrotik yollar kullandığının belirlenmesi önem taşımaktadır. Bu yüzden kültürlerde annexin-5, kaspaz-3 gibi biyobelirteçlerin izlenmesi faydalı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- ALI, S. M. M., AZAD, M. A. K., JESMIN, M., AHSAN, S., RAHMAN, M. M., KHANAM, J. A., ISLAM, M. N., and SHAHRIAR, S. M. S., 2012. In Vivo Anticancer Activity of Vanillin Semicarbazone. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012: 438-442.
- ANDERSON, L. C., JOKINEN, M., and GAHMBERG, C. G., 1979. Induction Of Erythroid Differentiation In The Human Leukemia Cell Line K562. *Nature*, 278:364-365
- ARSLAN, Ö., 2007. Kök Hücre Mobilizasyonu Yetmezliği. 4. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök hücre Tedavileri Kongresi, 1-4 Mart, Bursa, s17-22.
- ASLAN Ö., 2003. Kanserli Hastalarda Kemoterapiye Bağlı Semptomların Değerlendirilmesi ve Bu Semptomların Kontrolünde Hemsirelik Eğitiminin Rolü. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara,138s.
- AVCU, F., 2008. Hematolojik Malignitelerde İlaç Direnç Mekanizmaları. *Türk Hematoloji Derneği Bülteni*, 3: 61-64
- AKYOL, H., 2004. Kemoterapinin Temel İlkeleri. XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi,18-22 Mayıs, İzmir, s159-163.
- AZIRAK, S., 2007. Thymol ve Carvacrol'un In Vivo Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana,142s.
- BARILE, F.A., 1994, Introduction to in vitro cytotoxicology mechanisms and methods. CRC Pres, Florida, USA, 240s.
- BAŞAR, F., 2006. Taşıyıcı Enzimlerdeki Genetik Polimorfizmlerin İlaç Yanıtına Etkileri. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi, Ankara, 70s.
- BAYSAL A., ve CRISS W.E., 2004. Kanser Tanıyalım. Sahin Matbaası, Ankara, 191s.
- BEKER, B., 2007.Çocukluk Çağı Kanserlerdnde Kemoterapi. *Klinik Gelişimi*, 20(3) :202-210.
- BİRBIÇER, N., 1998. Suda çözünebilir boyarmaddelerin metal komplekslerinin sentezi ve boyarmadde özelliklerinin incelenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 69s.
- BULUT, H., KARATEPE, M., TEMEL, H., ŞEKERCİ, M., and KOPARIR., M., 2005. Studies on the Antiviral and Cytotoxic Activity of Schiff bases derived from 1,2-bis-(o-and paminophenoxy) ethane and salicylaldehyde. *Asian Journal of Chemistry*, 14(7): 2793-2796.
- CATANESCU, O., GRIGORAS, M., COLOTIN, G., DOBREANU, A., HURDUC, N.,and SIMIONESCU, CI., 2001. Synthesis and characterization of some aliphatic-aromatic poly(Schiff base)s. *Europen Polymer Journal*, 37:2213.
- CASCIATO, D., and TERRITO, MC., 2008. Manual of clinical oncology sixth edition.Lippincott Williams & Wilkins, 793:3-4.
- CHAKRABORTY, A., KUMAR, P., GHOSH, K., and ROY, P., 2010. Evaluation of a Schiff base copper complex compound as potent anticancer molecule with multiple targets of action. *Eur J Pharmacol*, 25:647(1-3):1-12.



- CİNGİ, M. İ., ve EROL, K., 1996. Farmakoloji. Anadolu üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Ders Kitapları Yayın No: 108 / F, Türkiye, 213s.
- CORY, J.G., CARTER, G.L., BACON, P.E., T'ANG, A., and LIEN, E.J., 1985. Inhibition of ribonucleotide reductase and L1210 cell growth by N-hydroxy-N'-aminoguanidine derivatives. *Biochem. Pharmacol*, 34: 1124-1130.
- COSTMAGNA, J., VARGAS, J., LATORRE, A., and MENA, G., 1992. *Coordination Chemistry Rewiews*. 119: 67-88.
- DE VITA, V., and CHU, E., 2004. Principles of cancer chemotherapy. Physicians' Cancer Chemotherapy Drug Manual. Jones and Bartlett Publishers, 1-3.
- DI VIRGILIO, F., 2003. Novel data point to a broader mechanism of action of oxidized ATP: the P2X7 receptor is not the only target. *British Journal of Pharmacology*, 140: 441.
- FIRAT, D., and HAYRAN, M. D., 1995. Cancer Statistics in Turkey and in the World 1990-92. Turkish Association for Cancer Research and Control, 1st Ed., İz Matbaacılık, Ankara, 12s.
- GENÇ, S., AKHİSAROĞLU, M., ve GENÇ, K., 2002. Eritropoetin'in PC12 hücre Hattında Amiloid-Beta peptid ile oluşturulan nörotoksisiteye karşı koruyucu etkisi, *Turkish Journal of Geriatrics*, 5(1): 1-6.
- GHORAB, M. M., SHAABAN, M. A., REFAAT, H. M., HEIBA, H. I., and IBRAHİM, S. S., 2012. Anticancer and radiosensitizing evaluation of some new pyranothiazole-Schiff bases bearing the biologically active sulfonamide moiety. *Eur J Med Chem.*, 53: 403-7.
- GOLCU, A., TUMER, M., DEMIRELLI, H., and WHEATLEY, RA., 2005. Cd(II) and Cu(II) complexes of polydentate Schi. base ligands: synthesis, characterization, roperties and biological activity, *Inorganica Chimica Acta*, 358: 1785.
- GÖKDERE, H., 2003. Hemşirelerin Kemoterapi Uygulamaları Sırasında Almaları Gereken Önlemler Konusunda Bilgi Düzeylerinin Saptanması. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyon, 79s.
- GUO, A. J., XU, X. S., HU, Y.H., M. Z. WANG., and TAN, X., 2010. Effects of ternary complexes of copper with salicylaldehydeamino acid Schiff base coordination compounds on the proliferation of BGC823 cells. *Chinese Journal of Cancer*, 29: 277-282.
- HADJODIS, E., RONTIYANNİ, A., AMBROZIAK, K., DZIEMBOWSKA, T., and MAVRIDIS, MI., 2004. Photochromism and thermochromism of solid trans-N,N'-bis(salicylidene)-1,2-cyclohexanediamines and trans-N,N'-bis(2-hydroxy-naphylidene)-1,2- cyclohexanediamine. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 162: 521.
- HARDMAN, J.G., and LIMBIRD, L. E., 2006. The phamacological Basis of Therapeutics. 11. Baskı, Mc Grow-Hill, New York, USA, 107s.
- HOLLA, BS., VEERENDRA, B., SHIVANANDA, M.K., and POOJARY B., 2003. Synthesis characterization and anticancer activity studies on some Mannich bases derived from 1,2,4-triazoles, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38:759.
- HOLST, C.M., and OREDSSON, S.M., 2005. Comparison of three cytotoxicity teste in the evaluation of the cytotoxicity of a spermine analogue on human breast cancer cell lines, *Toxicology in Vitro*, 19: 379-387.

- HOLZER, AK., SAMIMI, G., and KATANO, K., 2004. The copper influx transporter human copper transport protein 1 regulates the uptake of cisplatin in human ovarian carcinoma cells. *Mol Pharmacol*, 66: 817-823
- JESMIN, M., ALI, M.M., and KHANAM J.A., 2010. Antitumour activities of some Schiff bases derived from benzoin, salicylaldehyde, amino phenol and 2,4 dinitrophenyl hydrazine. *Thai J. Pharm. Sci.*, 34: 20-31.
- JIANG, C., HE, W., TAI, Z., and OUYANG, J., 2000. Spectral behavior and pH dependence of Nhexadecyl-5 iminomethyl-8-hydroxyquinoline, *Spectrochimica Acta Part*, 56 A(7): 1399
- KAV S., 2003. Kanser Tedavisinin Yan Etkilerinin Kontrolüne Özbakım Modelinin Etkisi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 10758s.
- KELLAND, L., The resurgence of platinum based cancer chemotherapy, 2007. *Nat Rev Cancer*, 7(8):573-584.
- JOHNSON, M.G., KIYOKAWA, H., TANI, S., and KOYAMA, J., 1997. Antitumor agents-CLXVII. Synthesis and structure-activity correlations of the cytotoxic anthraquinone 1,4- bis-(2,3-epoxypropylamino)-9,10-anthracenedione, and of related compounds, *Biorg. Med. Chem.*, 5(8): 1469-1479.
- KHUHAWAR, MY., MUGHAL, MA., and CHANNAR, AH., 2004. Synthesis and characterization of some new Schiff base polymers, *European Polymer Journal*, 40: 805.
- KLEIN, E., BEN-BASSAT, H., NEUMANN, H., RALPH, P., ZEUTHEN, J., POLLIACK, A., and VÁNKY, F., 1976. Properties of the K562 cell line, derived from a patient with chronic myeloid leukemia. *Int J Cancer*. 18(4): 421-31
- KOEFLER, H. P., and GOLD, D. W. W., 1980. Human myeloid leukemia cell lines. *Blood*, 56(3): 344-350.
- KORKMAZ, S., 2002, Paklitaksel, kesretin, ve berberinin A549, HeLa, HT-29 NIH3T3 hücre kültürlerinde sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi. Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Eskişehir, 58s.
- KUMAR, S., DHAR, D. N., and SAXENA, P. N., 2009. Application of metal complexes of Schiff bases-A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 68: 181-7.
- KURŞUNLU, A. N., 2008. Bazı klorlu Schiff bazlarının sentezi ve immobilizasyon uygulamaları [Synthesis of some Schiff bases including chloro and their applications]. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 80s.
- KUZ'MIN, V. E., LOZITSKY, V. P., KAMALOV, G. L., LOZITSKAYA, R. N., A.I., HELTVAY, R. N., FEDTCHOUK, A. S., and KRYZHANOVSKY, D. N., 2000. Analysis of the structure – anticancer activity relationship in a set of Schiff bases of macrocyclic 2,6-bis(2- and 4-formylaryloxymethyl) pyridines. *Atca biochimica polonica*, 47: 867–875.
- KÜÇÜKGÜZEL, İ., KÜÇÜKGÜZEL, SG., ROLLAS, S., ÖTÜK-SANİS, G., ÖZDEMİR, O., BAYRAK, İ., ALTUĞ, T., and STABLES, JP., 2004. Synthesis of some 3- Arylalkylthio)- 4 - alkyl/aryl- 5- ( 4- aminophenyl)- 4H- 1, 2, 4-triazole derivatives and their anticonvulsant activity, *IL Farmaco*, 59: 893.

- LANGDON, S.P., 2004, Cancer Cell Culture, Methods and Protocols, Humana Press, otowa, New Jersey, 360.
- LOWRY, OH., ROSBROUGH, NJ., FARR, AL., and RANDALL, RS., 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *T. Biol Chem*, 193: 265-275.
- LOZZIOI, CB., and LOZZIO, BB.,1975. Human chronic myolegenous leukemia cell line with positive Philadelphia chromosome. *Blood*, 45(3): 321-33.
- MLADENOVA, R., IGNATOVA, M., MANOLOVA, N., PETROVA, T., and RASHKOV I., 2002. Preparation,characterization and biological activity of Schiff base copmounds and derived from 8-hydroxyquinoline-2-carboxaldehyde and Jeffamines ED, *European Polymer Journal*, 38: 989.
- OSKAY, E., 1990. *Organik Kimya*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-42, Ankara 243s.
- OSOWOLE, A.A., OTT, I., and OGUNLANA, O. M., 2012. Synthesis, Spectroscopic, Anticancer, and Antimicrobial Properties of SomeMetal(II) Complexes of (Substituted) Nitrophenol Schiff Base. Hindawi Publishing Corporation *International Journal of Inorganic Chemistry*, 206417: 6.
- OSOWOLE, A.A., and AKPAN, E.J., 2012. Synthesis, Spectroscopic Characterisation, In-Vitro Anticancer and Antimicrobial Activities of Some Metal (II) Complexes of 3-{4, 6-Dimethoxy Pyrimidinyl} Iminomethyl Naphthalen-2-Ol. *European Journal of Applied Sciences*, 4: 14-20.
- ÖKTEM, G., AYLAK, Ş., TUNA, S., BAKA, M., ve BİLİR, A., 2005. Doksorubisnin Multisellüler Spheroid Hücre Kültüründe MCF-7 Hücreleri Üzerine Etkisi: Elektronmikroskopik Çalışma. *Türkiye klinikleri*, 25: 337-342.
- PANNEERSELVAM, P., NAIR, RR., VIJAYALAKSHMI, G., SUBRAMANIAN, EH., and SRIDHAR, SK., 2005. Synthesis of Schiff bases of 4-(4-aminophenyl)-morpholineas potential antimicrobial agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40: 225.
- PRAKASH, A., and ADHIKARI, D., 2011. Aplication of Schiff bases and their metal complexes-A Review. *International journal or ChemTech Research*, 3(4): 1981-6.
- PATAI, S., 1970. *Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond*. Wiley, New York 794s.
- QIAO, X., MA, Z. Y., XIE, C. Z., XUE, F., ZHANG, Y. W., XU, J. Y., QIANG, Z. Y., LOU, J. S., CHEN, G. J., and YAN, S. P., 2011. Study on potential antitumor mechanism of a novel Schiff base copper(II)complex: synthesis, crystal structure, DNA binding, cytotoxicity and apoptosis induction activity. *J Inorg Biochem*, 105(5):728-37.
- RAJA, G., BUTCHER, RJ., and JAYABALAKRISHNAN, C., 2012. Studies on synthesis, characterization, DNA interaction and cytotoxicity of ruthenium(II) Schiff base complexes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 94: 210-5.
- REN, S., WANG, R., KOMATSU, K., BONAZ-KRAUSE, P., ZYRIANOV, Y., MCKENNA, CE., CSIPKE, C., TOKES, ZA., and LIEN, EJ., 2002. Synthesis, biological evaluation, and quantitative structure-activity relationship analysis of new Schiff bases of hydroxysemicarbazide as potential antitumor agents. *J Med Chem*, 45(2):410-9.

- SAYDAM G, and AYDIN HH., 2003. Involvement of protein phosphatase 2A in interferon alfa2b induced apoptosis in K562 human CML cells. *Leukemia Research*, 27: 709-717.
- ŞENCAN S., 2006. Warfarinin sitotoksik etkisinin K562 lösemik hücre soyunda çalışılması, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 55s.
- ŞENER, K., 1999. Bazı tridentat schiff bazları ve geçiş metal şelat komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi. K.S.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, K.Maras, 60s.
- ŞENSES YALINBAŞ, E. E., 2008. Akut immün Trombositopenik Purpuralı çocuklarda Mega Doz Metilprednizolon Tedavisi öncesive Sonrasında Sitokin Profili Apoptozis, Glukokortikoid Reseptör Ve P-glikoprotein Ekspresyonu. Eskişehir Osmangazi üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 109s.
- SERİN S., GÖK Y., 1988. Hidroksi Schiff Bazı Metal Komplekslerinin Tekstil Boyamacılığında Kullanabilirliğinin İncelenmesi, *T.Kimya D.C.* 12(3): 325-331.
- SHABANI, F., GHAMMAMY, S., MEHRANI, K., TEIMOURI, M. B., SOLEIMANI, M., and KAVIANI, S., 2008. Antitumor Activity of 6-(cyclohexylamino)-1, 3-dimethyl-5(2-pyridyl)furo[2,3-d]pyrimidine-2, 4(1H,3H)-dione and Its Ti(IV), Zn(II), Fe(III), and Pd(II) Complexes on K562 and Jurkat Cell Lines. *Hindawi Publishing Corporation Bioinorganic Chemistry*, 2008: 501021.
- SINGHAL, SS., AWASTHI, S., OANDYA, U., PIPER, JT., JOHN SAINI, MK., CHENG, JZ., and AWASTHI, YC., 1999. Theeffect of Curcumin on glutathione-linked enzymes in K562 human leukemia cells. *Toxicology letters*, 109: 87-95.
- SIMUNEK, T., KLIMTOV, I., KAPLANOV, J., STERBA, M., MAZUROV, Y., ADAMCOV, M., HRDINA, R., GERSL, V., and PONKA, P., 2005. Study of daunorubicin cardiotoxicity prevention with pyridoxal isonicotinoyl hydrazone in rabbits. *Pharmacological Research*, 51: 223.
- SIWY, M., SEK, D., KACZMARCZYK, B., JAROSZEWICZ, I., NASULEWICZ, A., PELCZYNSKA, M., NEVOZHAY, D., and OPOLSKÍ, A., 2006. Synthesis and in vitro antileukemic activity of some new 1,3-(oxytetraethylenoxy)cyclotriphosphazene derivatives. *J Med Chem*, 26;49(2): 806-810.
- SUBHASHINI, J., MAHIPAL, S.V.K., and REDDANNA, P., 2005. Anti-proliferative and apoptotic effects of celecoxib on human chronic myeloid leukemia *in vitro*. *Cancer Letters*, 224(1), 31-43.
- TÜRKÖZ, G., 2008. Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemisi İle Multi-Drug Resistance 1 (Mdr1) Geni Ekspresyonu Arasındaki İlişki. Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Mersin, 63s.
- UNAT, E. K., 1996. Mikrop Karşıtı Kemoterapinin Gelişim Tarihçesi. *Klimik Dergi*, 9: 103-107.
- WANG, D., and LIPPARD, SJ., 2005. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov*, 4: 307-320.

YALMAN, D., AYDEMİR G., GÖKMEN E., ve SANAL S. 2001. Kemoterapi Sertifika Programı Modül I ve II. TC. Sağlık Bakanlığı Kansere Savaş Dairesi Başkanlığı yayınları, Ankara, 87s.

<http://tr.wikipedia.org/w/index.php?title=Kanser&oldid=1076439>

## ÖZGEÇMİŞ

25 Temmuz 1988’ de Adıyaman Kâhta’ da doğdu. Akdoğan Köyü İlköğretim okulunda başladığı ilköğretim eğitimini İstanbul Gaziosmanpaşa 50. Yıl ilköğretim okulunda tamamladı. 2007 yılında Açıköğretim Lisesi’ nden mezun oldu ve aynı yıl Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne yerleşti. 2011 yılında biyoloji bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Harran üniversitesi biyoloji bölümünde yüksek lisansa başladı ve devam etmektedir.

İletişim Bilgileri: fatma.tumen@yahoo.com.tr

## ÖZET

Kanser, ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almasından dolayı tedavisinde oldukça önemlidir. Kansere kesin bir tedavi şekli bulunamayışı yeni kemoterapotik ajan arayışına neden olmaktadır. Schiff bazları birçok çalışmada kullanılmış ve önemli derecede antikanser ve antimikrobiyal etkisinin olduğu görülmüştür. Bu çalışmada, yeni sentezlenmiş sterik engelli fenol türevli schiff bazları olan (2,4-di-tert-butil-6-{{(2,5-dimetilfenil)imino}metil}-fenol), (2,4-di-tert-butil-6-{{(3,4-metilfenil)imino}metil}-fenol), (2,4-di-tert-butil-6-{{(2,3-dimetilfenil)imino}metil}-fenol), (2,4-di-tert-butil-6-{{(3,5-dimetilfenil)imino}etil}-fenol)' ün ve pozitif kontrol olarak cisplatinin K562 hücre serisi üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılması hedeflenmiştir. Bu kimyasallar ve cisplatin 15. 6 µM, 31. 2 µM, 62. 5 µM, 125 µM, 250 µM, 500 µM ve 1000 µM lık dozlarda kullanılarak ekim yapılmıştır. Kültürde kullanılacak olan hücrelerin canlılık yüzdesini Trypan Blue testi ile belirlenmiştir. Bileşiklerin sitotoksitesini belirlemek için, canlı hücrelerin mitokondrisi aracılığıyla MTT tuzlarını indirgemesine dayanan MTT testi kullanılmıştır. Kültürün 72. Saatinde MTT eklenmiştir. 4 saat sonra kültür plakları ELİZA' da okutulup sonuçlar optik dansite olarak elde edilmiştir. Optik dansiteler üzerinden istatistiksel hesaplamalar yapılmış ve yüzde sitotoksitesite hesaplanmıştır. Hücrelerin %50 sini inhibe eden doz hesaplanmıştır. Bütün bileşiklerin K562 hücre serisi üzerine sitotoksik etkileri olduğu görülmesinin yanı sıra en fazla etki (2,4-di-tert-butil-6-{{(2,3-dimetilfenil)imino}metil}-fenol) bileşiğinin 1000 µM' lik dozunda görülmüştür. Sonuç olarak test edilen bileşiklerden gözlenen sitotoksik etki düzeyleri incelendiğinde bu bileşiklerin kemoterapotik ajan olabilmek için yeterli düzeyde etkinliğe sahip olmamakla birlikte farklı kanser türleri üzerinde test edilmesinin yararlı olabileceği fikrine varılmıştır.

## SUMMARY

Cancer is a leading cause of death and serious difficulties are encountered during treatment of cancer. There are various methods for cancer treatment such as surgery, radiotherapy and chemotherapy. As there isn't a definite treatment found in chemotherapy, studies to find new agents has been intensified. Several studies show that Schiff bases have significant anticancer and antimicrobial effect. In this study, based upon literature, cytotoxic effects of Schiff bases (2,4-di-tert-butyl-6- {[(2,5 – dimethylphenyl)imino]methyl}–phenol), (2,4-di-tert-butyl-6- {[(3,4-methylphenyl) imino]methyl}–phenol), (2,4-di-ter-butyl-6- { [2,3dimethylphenyl)imino]methyl}-phenol), (2,4-di-tert-butyl-6- { [(3,5-dimethylphenyl)mino]ethyl}-phenol) which are sterically hindered and derived from phenol and which are probable chemotherapeutic agents and cisplatin as positive control on K562 cell line were investigated. These chemicals and cisplatin were added at doses of 15.6  $\mu\text{M}$ , 31.2  $\mu\text{M}$ , 62,5  $\mu\text{M}$ , 125  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$ , 1000  $\mu\text{M}$ . The percentage of viable cells to be used in culture was determined by Trypan Blue test. Cytotoxic effects of compounds were determined by MTT test which is based on reducing MTT salts by means of mitochondria of viable cells. After first 72 hours of culture, MTT was added and after 4 hours culture plates were read by ELIZA and optical density was determined. Statistical calculations were made upon optical densities and percentage of cytotoxicity was calculated. Dose ( $\text{IC}_{50}$ ) which kills 50% of cells was calculated. Besides the fact that all compounds had cytotoxic effect on K562 cell line, the highest effect was determined at 1000  $\mu\text{M}$  dose of (2,4-di-tert-butyl-6- { [(2,3– dimethylphenyl)imino]methyl}–phenol) compound. As a result when cytotoxic effect levels and  $\text{IC}_{50}$  values observed in tested compounds are investigated, it is decided that the level of these compounds is not sufficient to be a chemotherapeutic agent for chronic myeloid leukemia and it will be useful if it is tested on different cancer types.