

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ METFORMİN SCHİFF BAZI KOMPLEKSLERİ:  
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTI-  
KANSER ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Zeynep Seda DURUKAN**

**Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA**

**Enstitü Bilim Dalı : ANORGANİK KİMYA**

**Aralık 2020**

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ METFORMİN SCHİFF BAZI KOMPLEKSLERİ:  
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTI-  
KANSER ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Zeynep Seda DURUKAN**

**Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA**

**Enstitü Bilim Dalı : ANORGANİK KİMYA**

**Bu tez 23/12/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.**

## **BEYAN**

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Zeynep Seda DURUKAN

23/12/2020

## TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi'ndeki yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden ve bilime karşı olan sevgisiyle beni yönlendiren danışman hocam Prof. Dr. Salih Zeki YILDIZ'a ve ortak danışman hocam Doç. Dr. Gamze GÜNEY ESKİLER'e teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamda hep desteğini hissettiğim sabırla ve titizlikle her konuda beni dinleyen ve yardımcı olan sayın Dr. Öğr. Üyesi Murat TUNA hocama teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar olanakları konusunda yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve birikimlerinden yararlanırken göstermiş olduğu sabırdan dolayı öncelikle değerli hocam Dr. Ertuğ YILDIRIM'a, Yük. Kim. Talha AKKUŞ'a, Sümeyye Nur ÇAKMAK'a, Yük. Kim. Seçkin DERİN'e ve laboratuvar çalışma arkadaşım olan Yük. Kim. Tuğba UĞUR'a teşekkür ederim. Ayrıca bu yola birlikte çıktığım, her koşulda yanımda olan, tez dönemim boyunca her zaman desteğini benden esirgemeyen, arkadaştan öte ailem olan laboratuvar çalışma arkadaşım ve can dostum Yük. Kim. Merve TOPÇAKAN'a teşekkür ederim.

Her zorlukta ve güzellikte yanımda olan, eğitim hayatım boyunca desteklerini hep hissettiğim annem Hacer, babam Alaattin abilerim Ferhat ve Süleyman, yengem Kübra'ya ve ailemizin en küçük üyesi olan Kuzey'e beni motive ettiği için teşekkür ederim.

Son olarak hayatımın her alanında olduğu gibi tez aşamasında da yanımda olan ve beni güçlendiren sevgili hayat arkadaşım Emin DURUKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
SUMMARY .....	xii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Schiff Bazı .....	4
2.1.1. Schiff bazı sentezi .....	4
2.1.2. Schiff bazlarının metal kompleksleri .....	6
2.1.3. Schiff bazları ve metal komplekslerinin kanser tedavisinde potansiyel rolleri.....	7
2.2. Metformin .....	10
2.2.1. Metforminin genel özellikleri .....	10
2.2.2. Metforminin etki mekanizması .....	12
2.3. Meme Kanseri.....	15
2.3.1. Meme kanseri epidemiyolojisi .....	15
2.3.2. Meme kanseri ve metformin .....	17
2.3.3. Meme kanseri, Schiff bazı ve metal kompleksleri.....	19

### BÖLÜM 3.

LİTERATÜR ÇALIŞMALARI .....	21
3.1. Schiff Baz Sentez Çalışmaları .....	21
3.2. Meme Kanseri Çalışmaları .....	26
3.2.1. Meme kanseri ve Schiff bazı metal kompleksleri.....	26
3.2.2. Meme kanserinde metforminin anti-kanser çalışmaları.....	29

### BÖLÜM 4.

MATERYAL VE METOD .....	31
4.1. Materyal.....	31
4.1.1. Kullanılan araç ve gereçler .....	31
4.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler .....	32
4.2. Metod.....	32
4.2.1. Sentez çalışmaları .....	32
4.2.1.1. 4, 4'-Metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) sentezi.....	32
4.2.1.2. (E, E)-1, 1'-(metilenbis (2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazı ligandının sentezi.....	33
4.2.1.3. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3- metoksibenziliden)amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazı ligandının sentezi.....	34
4.2.1.4. [Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] Kompleksinin sentezi .....	36
4.2.1.5. [Pd(Met-Da) <sub>2</sub> ] Kompleksinin sentezi .....	37
4.2.1.6. [Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] Kompleksinin sentezi.....	38
4.2.1.7. [Cu(Met-Ov)Cl] Kompleksinin sentezi.....	39
4.2.1.8. [Pd(Met-Ov)Cl] Kompleksinin sentezi .....	40
4.2.1.9. [Ni(Met-Ov) <sub>2</sub> ] Kompleksinin sentezi.....	41
4.2.2. Hücre kültürü .....	42
4.2.2.1. Hücre hatlarının üretilmesi.....	42
4.2.2.2. Hücrelerin pasajlanması .....	42
4.2.2.3. Hücrelerin stoklanması.....	43

4.2.2.4. Deney gruplarının oluşturulması.....	43
4.2.3. Hücre canlılığının ve morfolojik değişimlerin belirlenmesi.....	43
4.2.3.1. WST-1 analizi .....	43
4.2.3.2. Akridin oranj boyama.....	44
4.2.3.3. İstatistiksel analizler .....	45
BÖLÜM 5.	
ARAŞTIRMA BULGULARI .....	46
5.1. Ligandların Sentezi ve Karakterizasyonu .....	46
5.1.1. (E, E)-1, 1'-(metilenbis(2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazının karakterizasyonu .....	46
5.1.2. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden) amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazının karakterizasyonu.....	49
5.2. Komplekslerin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	53
5.3. WST-1 Analizi ile Sitotoksikite Sonuçları.....	66
5.4. Akridin Oranj Boyama ile Morfolojik Değişimlerin Belirlenmesi.....	74
BÖLÜM 6.	
TARTIŞMA VE SONUÇ .....	79
KAYNAKÇA .....	84
EKLER.....	102
ÖZGEÇMİŞ .....	124

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AMP	: Adenozin monofosfat
AMPK	: AMP ile aktive edilen kinaz
ATP	: Adenozin trifosfat
°C	: Santigrat derece (celcius)
CO <sub>2</sub>	: Karbon dioksit
<sup>13</sup> C-NMR	: Karbon 13 Nükleer Manyetik Rezonans spektroskopisi
DMF	: Dimetilformamid
DMSO	: Dimetil sülfoksit
EtOH	: Etanol
FT-IR	: Furier-transform infrared spektroskopisi
g	: Gram
<sup>1</sup> H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans spektroskop
HUVEC	: İnsan umbilikal ven endotel hücreleri
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
MCF-7	: Meme adenokarsinom hücreleri
MeOH	: Metanol
µl (µL)	: Mikro litre
mmol	: Milimol
MS	: Kütle spektroskopisi
NaDH	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NaOH	: Sodyum hidroksit
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
pH	: Hidrojen gücü
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
T2D	: Tip 2 Diyabet
WST-1	: Suda çözünür tetrazolyum-1



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Schiff bazı oluşumuna ait mekanizma .....	5
Şekil 2.2. Schiff bazı oluşumunda pH etkisi .....	6
Şekil 2.3. Sis-platinin kimyasal yapısı .....	9
Şekil 2.4. Biguanidin monoprotonlanmış formları için rezonans yapıları .....	11
Şekil 2.5. Biguanidlerin yapısı, metformin hidroklorür ve bir geçiş metaline olası kombinasyonu [M] .....	11
Şekil 2.6. Metforminin etki mekanizması .....	14
Şekil 2.7. Meme kanseri gelişme riskinin yaşla birlikte artışı (1975-2010) .....	16
Şekil 2.8. Meme kanseri insidansı ve mortalite oranları: bölgeye göre 100.000 kişideki oranlar .....	17
Şekil 3.1. Metformin Schiff bazı sentezi .....	21
Şekil 3.2. Metformin orto ve para nitrobenzaldehit Schiff bazlarının kimyasal yapıları .....	21
Şekil 3.3. Metformin hidroklorür ve 1, 4-diasetilbenzen ile metal komplekslerinin önerilen yapısı .....	22
Şekil 3.4. 4-Hidroksisalisilidenkitosan Schiff bazı ve metal komplekslerinin yapısı .....	23
Şekil 3.5. Cu, Ni ve Zn Komplekslerin önerilen yapısı .....	23
Şekil 3.6. 1-ferrosenil-3-(2-furil) propenon diamino (tiyo) Schiff bazı ligandlarından türetilen kompleks yapıları .....	24
Şekil 3.7. Pirazol bazlı Schiff bazlarının trans-[PdCl <sub>2</sub> (L) <sub>2</sub> ] kompleksinin sentezi ve önerilen yapısı .....	25
Şekil 3.8. Ligandların sentez yolu (2-okso-kinolin-3-karbaldehid-benzoil hidrazon 6a, 2-okso-kinolin-3-karbaldehid-2-hidroksibenzoil hidrazon 6b, 2-okso-kinolin-3-karbaldehid-3, 4- dimetilpiril-2- karboksilik asit hidrazon 6c) .....	25

Şekil 3.9. [Cu (Met) (AA) (ClO <sub>4</sub> ) (H <sub>2</sub> O)] kompleksinin önerilen yapısı.....	26
Şekil 3.10. 2-etilaminometil-6-metoksifenol (HL <sub>1</sub> ) ve (E) -2-2-dimetilaminoetiliminometil -6 metoksifenol (HL <sub>2</sub> ) komplekslerinin sentez yolları.....	27
Şekil 3.11. Cu (II) kompleksi sentezi.....	28
Şekil 3.12. Metformin türevi HL010183 bileşiği ile metforminin yapısı ve MTT testi analizi .....	29
Şekil 4.1. 4, 4'-Metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) sentez yolu .....	32
Şekil 4.2. [Met-Da] Schiff bazının sentez yolu.....	33
Şekil 4.3. [Met-Ov] Schiff bazının sentez yolu .....	34
Şekil 4.4. [Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] Kompleksinin sentez yolu.....	36
Şekil 4.5. [Pd(Met-Da) <sub>2</sub> ] Kompleksinin sentez yolu .....	37
Şekil 4.6. [Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] Kompleksinin sentez yolu .....	38
Şekil 4.7. [Cu(Met-Ov)Cl] Kompleksinin sentez yolu .....	39
Şekil 4.8. [Pd(Met-Ov)Cl] Kompleksinin sentez yolu.....	40
Şekil 4.9. [Ni(Met-Ov) <sub>2</sub> ] Kompleksinin sentez yolu .....	41
Şekil 4.10. Tetrazolyum tuzunun formazan kristaline dönüşüm reaksiyonu.....	44
Şekil 5.1. (E, E)-1, 1'-(metilenbis(2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazının açık yapısı .....	48
Şekil 5.2. (E, E)-1, 1'-(metilenbis(2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] tautomerleşme yapısı .....	48
Şekil 5.3. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden)amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazının açık yapısı. ....	51
Şekil 5.4. [Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin molekül yapısı ve molekül içindeki konjigasyonlar .....	55
Şekil 5.5. [Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin üç boyutlu gösterimi .....	55
Şekil 5.6. [Pd(Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin molekül yapısı ve molekül içindeki konjigasyonlar .....	56
Şekil 5.7. [Pd(Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin üç boyutlu gösterimi .....	57
Şekil 5.8. [Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin molekül yapısı.....	57
Şekil 5.9. [Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin üç boyutlu gösterimi .....	58

Şekil 5.10. [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksinin üç boyutlu gösterimi .....	64
Şekil 5.11. [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksinin üç boyutlu gösterimi.....	64
Şekil 5.12. [Ni(Met-Ov) <sub>2</sub> ] kompleksinin üç boyutlu gösterimi. ....	66
Şekil 5.13. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Met-Da] ve (B) [Met-Ov] ligandları uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05*, p<0.01**). ....	67
Şekil 5.14. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] ve (B) [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05*, p<0.01**). ....	68
Şekil 5.15. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Pd(Met-Da) <sub>2</sub> ] ve (B) [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05*, p<0.01**). ....	69
Şekil 5.16. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] ve (B) [Ni(Met-Ov) <sub>2</sub> ] kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05*, p<0.01**). ....	70
Şekil 5.17. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Met-Da] ve (B) [Met-Ov] ligandları uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05*, p<0.01**). ....	71
Şekil 5.18. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] ve (B) [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05*, p<0.01**). ....	72
Şekil 5.19. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Pd(Met-Da) <sub>2</sub> ] ve (B) [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05*, p<0.01**). ....	73
Şekil 5.20. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] ve (B) [Ni(Met-Ov) <sub>2</sub> ] kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05*, p<0.01**). ....	74
Şekil 5.21. Farklı metal bileşikleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde morfolojik değişimlerin AO boyaması ile değerlendirilmesi (a) Kontrol, (b) [Met-Da], (c) [Met-Ov], (d) [Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ], (e) [Cu(Met-Ov)Cl], (f) [Pd(Met- Da) <sub>2</sub> ], (g) [Pd(Met-Ov)Cl], (h) [Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> .....	76

Şekil 5.22. HUVEC hücrelerinde morfolojik değişimlerin AO boyaması ile değerlendirilmesi (a) Kontrol, (b) [Met-Da], (c) [Met-Ov], (d) [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>], (e) [Cu(Met-Ov)Cl], (f) [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>], (g) [Pd(Met-Ov)Cl], (h) [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve (ı) [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>]. ..... 78



## TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Metforminin genel özellikleri .....	10
Tablo 2.2. Metforminin vücuttaki görevleri.....	13
Tablo 5.1. [Met-Da] Schiff bazı ligandının kütle spektrum yorumu. ....	49
Tablo 5.2. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden) amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazının tautomerleşme yapısı ve <sup>1</sup> H-NMR kayma değerleri. ....	51
Tablo 5.3. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden) amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazının tautomerleşme yapısı ve <sup>13</sup> C NMR kayma değerleri. ....	52
Tablo 5.4. [Met-Ov] Schiff bazı ligandının kütle spektrum yorumu .....	53
Tablo 5.5. Ligandların ve Komplekslerin deneysel FT-IR spektroskopisi işaretlemeleri.....	54
Tablo 5.6. [Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin kütle spektrum yorumu .....	58
Tablo 5.7. [Pd(Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin kütle spektrum yorumu .....	59
Tablo 5.8. [Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ] kompleksinin kütle spektrum yorumu.....	60
Tablo 5.9. [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksinin kütle spektrum yorumu.....	62
Tablo 5.10. [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksinin kütle spektrum yorumu .....	63
Tablo 5.11. [Ni(Met-Ov) <sub>2</sub> ] kompleksinin kütle spektrum yorumu .....	65

## ÖZET

Anahtar kelimeler: Anti-kanser, meme kanseri, metformin, Schiff baz, Schiff baz metal kompleksleri.

Sis-platin 1978 yılından beri kullanılan ve en çok tercih edilen anti-kanserojenik kemoterapi ajanlarından biri olup, iyi bilinen bir koordinasyon bileşiğidir. Bununla birlikte sis-platinin sahip olduğu dezavantajlar, kanser tedavisinde araştırmaların yeni koordinasyon bileşiklerine odaklanmasına neden olmuştur. Metformin biguanidin türevidir ve uzun yıllardır tip 2 diyabet hastalığında insülin direncine karşı kullanılmaktadır. Metformin ile ilgili anti-kanser çalışmalarında uzun yıllardır literatürde üzerinde çalışılan konular arasında bulunmaktadır.

Sunulan tez çalışmasında, yeni potansiyel anti-kanser ajanı olarak metforminin Schiff bazı bileşikleri, farklı başlangıç maddeleri kullanılarak yeni şelat yapıcı çok dişli ligandlar olarak hazırlanması, amaca yönelik farklı metal tuzları ile komplekslerinin sentezlenmesi, karakterize edilmesi ve meme kanserinde anti-kanser etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada ilk aşama olarak metformin ile 4, 4'-metilenbis (2-hidroksibenaldehit) ve 3-metoksisalisilaldehid (orto-vanilin) bileşikleri reaksiyona sokularak, yeni tip (E, E)-1, 1'-(metilenbis(2-hidroksi-5, 1-fenilen))bis (metaniliden)bis(N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] ve (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibeniliden)amino)-1,6-dihidroksi-1,3,5-triazin-2-yil)-6-metoksi fenol [Met-Ov] Schiff bazı ligandları şelat yapıcı polidentat ligandlar olarak sentezlenmiştir. Komplekslerin hazırlanmasında ise Cu(II), Pd(II) ve Ni(II) iyonlarının klorür tuzları kullanılmıştır. Hazırlanan ligandlar ve bunların metal komplekslerinin yapısı FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, kütle spektrometresi ve elementel analiz verileri kullanılarak moleküler olarak karakterize edilmiştir. Metformin içerikli hazırlanan ligandların ve ilgili komplekslerinin anti-kanser etkileri MCF-7 insan meme kanseri ve HUVEC insan umbilikal ven endotel hücrelerinde belirlenmiştir. In vitro gerçekleştirilen çalışmalarda, hücre canlılığının ve apoptotik etkinin belirlenmesi için sırasıyla WST-1 analizi ve Akridin oranj boyama yöntemleri kullanılmıştır. Metformin Schiff bazı ligandları ılımlı reaksiyon şartlarında yüksek verimlerle sentezlenebilmiştirler. 1. ve 2. sıra geçiş metallere kare düzlem yapı oluşturmaya yatkın d<sup>8</sup> ve d<sup>9</sup> elektronik konfigürasyonuna ve iyonlarla hedeflenen anti-kanser özelliğe sahip metal-şelat kompleksi yeterli verimlilikte hazırlanmıştırlar. Elde edilen deneysel verileri yeni sentezlenen ligandların ve Cu, Pd, Ni komplekslerinin MCF-7 hücreleri üzerinde sitotoksik ve apoptotik etkisi olduğunu göstermiştir. Ayrıca, metal komplekslerinin Schiff bazlarına göre MCF-7 hücrelerinde daha etkin ve DNA hasarına yol açarak apoptotik ölüme neden olduğu görüntülenmiştir.

# NOVEL METFORMIN SCHIFF BASE COMPLEXES: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF THEIR ANTI-CANCER PROPERTIES

## SUMMARY

Keywords: Anti-cancer, breast cancer, metformin, Schiff base, Schiff base metal complexes.

Cis-platin is one of the most preferred anti-carcinogenic chemotherapy agents used since 1978 and is a well-known coordination compound. However, the disadvantages of cis-platin have led research in cancer treatment to focus on new coordination compounds. Metformin is a derivative of biguanidine and has been used against insulin resistance in type 2 diabetes for many years. In anti-cancer studies on metformin, it has been among the topics studied in the literature for many years.

In the presented thesis, it was aimed to prepare Schiff base metal compounds of metformin as new potential anti-cancer agents. New chelating multi-toothed ligands have been synthesized using different starting materials, complexed with different metal salts, characterized and determined the anti-cancer effects in breast cancer. In the first step, metformin was reacted with 4,4'-methylenebis (2-hydroxybenzaldehyde) and 3-methoxy salicylaldehyde (ortho-vanillin) respectively for preparing (E, E) -1, 1' (methylenebis (2-hydroxy-) 5, 1-phenylene)) bis (methanylidene) bis (N, N-dimethylbiguanidine) [Met-Da] and (E)-2-(6- (dimethylamino)-4 ((2-hydroxy-3-methoxybenzylidene) amino)-1, 6-dihydroxy-1, 3, 5 triazin-2 -yl)-6-methoxyphenol [Met-Ov] as new type chelating polydentate Schiff base ligands. Chloride salts of Cu (II), Pd (II) and Ni (II) ions were used in the preparation of the complexes. The prepared ligands and the structure of their metal complexes were characterized molecularly using FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, mass spectrometry and elemental analysis data. Anti-cancer effects of metformin-containing ligands and related complexes were determined in MCF-7 human breast cancer and HUVEC in human umbilical vein endothelial cells. In the in vitro studies, WST-1 analysis and Acridine orange staining methods were used to determine cell viability and apoptotic effect, respectively. Metformin Schiff base ligands were synthesized with high yields under mild reaction conditions. Metal-chelate complexes with d<sup>8</sup> and d<sup>9</sup> electronic configurations, which are prone to form a square plane structure from 1st and 2nd order transition metals, and anti-cancer properties targeted by ions, were prepared with sufficient their efficiency. Obtained experimental data showed that newly synthesized ligands and Cu, Pd, Ni complexes have cytotoxic and apoptotic effects on MCF-7 cells. In addition, it has been observed that metal complexes are more effective in MCF-7 cells than Schiff bases and cause apoptotic death by causing DNA damage.

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Schiff bazları primer aminlerin karbonil bileşikleri ile kondenzasyonu sonucu oluşan ürünlerdir, ve ilk defa 1864 yılında Alman kimyager H. Schiff tarafından sentezlenmiştir [1]. Schiff bazları şelatlayıcı ligandlar olmaları ve çeşitli potansiyel donör bölgelerinin varlığı nedeni ile hemen hemen tüm metal tuzlarıyla kompleksleşme reaksiyonları verebilme özelliklerinden dolayı koordinasyon kimyasında ilgi çekicidir [2, 3]. Schiff bazı ligandları genel olarak, metal iyonları ile azometin veya diğer gruplar aracılığıyla koordinat bağları oluşturmaya karşı yüksek afiniteye sahiptirler ve güçlü metal bağlama yetenekleriyle metal komplekslerinin sentezi için sıkça tercih edilen ligandlardır [4, 5]. Schiff bazı ve kompleksleri inorganik kimyada geniş çalışma alanları bulmaktadır [6]. Günümüzde birçok kimyacı tarafından iyi düzenlenmiş ve yeni Schiff bazlarının sentezi üzerine çalışmalar halen devam etmektedir. Ayrıca Schiff bazlı geçiş metallerinin kompleksleri, serbest ligandlar ile karşılaştırıldığında daha iyi biyolojik aktivite gösterdiği görülmektedir [7].

Günümüzde kanser vakalarının artması nedeniyle anti-kanser ajanlara olan ilgi ve ihtiyaç artmıştır [8]. Klinik çalışmalarda mevcut anti-kanser ilaçlarının neden olduğu yan etkiler (organ toksisitesi, kısa dolaşımdaki yarı ömür, hücre özgüllüğü eksikliği, anjiyogenez ve hedef hücrelerde direnç gelişmesi vb.) yeni kemoterapik ajanların geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur ve bu kapsamda DNA'ya bağlanma özelliklerinden dolayı metal bazlı bileşiklerin kanser tedavisinde etkileri dikkat çekmektedir [9, 10].

Sisplatin akciğer, meme, over, baş ve boyun, mesane ve kolorektal kanser gibi farklı kanser tiplerinin tedavisinde kullanılan metal temelli bir kemoterapik ajandır. Ancak, sisplatinin normal hücrelerde neden olduğu yan etkiler, gelişen ilaç direnci ve kanser



hücrelerini spesifik bir şekilde hedefleyememesi etkin tedavinin gerçekleşmesini önemli ölçüde sınırlamaktadır. Bu nedenle, yeni metal bazlı komplekslerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar dikkat çekmektedir [11, 12, 13]. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda Schiff baz ve metal komplekslerinin anti-kanser etkilerine ilgi oldukça artmıştır. Schiff baz ve metal komplekslerinin karaciğer kanserinde de erken teşhisde önemli bir anti-kanser ajan olabileceği ve aynı zamanda yapılan çalışmalar da meme kanseri hücrelerinde hücre döngüsünün durdurulmasına ve apoptotik ölüme neden olduğu tespit edilmiştir [14, 15]. Örneğin; Salisilaldehitten elde edilen Schiff bazı ligandlarının ve platin komplekslerinin meme, karaciğer ve akciğer kanseri hücre hatlarında etkisi değerlendirilmiş ve sisplatininkine benzer seviyede anti-kanser etki gösterdiği belirlenmiştir [16]. Ayrıca 3-metoksisalisilaldehitten türetilmiş Schiff bazı ligandı kullanılarak Cu (II), Co (II) ve Ni (II) komplekslerinin insan kolon (HCT-116) ve meme (MCF-7) kanseri hücrelerinde sitotoksik etkisi gösterilmiştir [17].

Guanidin ilk kez 1861'de guaninin oksidatif parçalanması ile sentezlenmiş olan bir Schiff bazıdır [18]. Guanidin donör özellikleri sayesinde çeşitli geçiş metallerini oksidasyon durumlarında stabilize edebilmekte bu özelliği sayesinde de biyoinorganik kimya alanında önemli bir sınıfa girmektedir. Guanidin Schiff bazları ayrıca doğal ligand sınıfına girdiği için tıbbi faydaları üzerine çalışmalar yaygınlaşmış ve giderek daha çok ilgi odağı olmasına neden olmuştur [19]. Genellikle, üç amino grubu içeren biguanidler, iki amino grubuna sahip olan guanidinlerden daha güçlü bazlardır [20]. Slotta ve Tschiesche tarafından keşfedilen metformin (N, N- dimetil biguanid) ise hipoglisemik aktiviteye sahip biguanidin bir türevidir [18]. Metformin, hepatik glukoneogenezi inhibe ederek ve glikojenolizi azaltarak insülin duyarlılığını gelişmesinde rol alan anti-diyabetik bir ilaçtır [21, 22] Ancak literatürde metforminin nöroendokrin tümörler dahil olmak üzere pankreas, prostat [23], kolon [24], meme [25] kolorektal [26] ve akciğer [27] kanser tiplerinde güçlü anti-kanser özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu özelliklerinin yanı sıra metforminin Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda etkili bir ilaç olacağı tespit edilmiştir [21]. Diğer yandan metforminin, kanser tedavisinde bir anti-kanser ajan olarak kullanımı kısa yarı ömrü, yüksek hidrofilitiği, seçici olmayan biyodistribüsyonu ve düşük biyoyararlanımı nedeniyle sınırlıdır [28]. Ayrıca anti-kanser aktivitesi göstermesi için

yüksek metformin konsantrasyonları uygulanması toksik etkilere yol açabilmektedir [29]. Bu nedenle metforminin etkinliğini ve biyolojik aktivitesini arttırmak amacıyla metformin metal kompleksleri ilgi odağı durumundadır ve geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır [30].

Bu kapsamda, mevcut tez çalışmasında, metformin içerikli iki yeni tip [Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazlarının ve bunların Cu (II), Ni (II), Pd (II) içerikli metal-şelat komplekslerinin sentezlenmesi, karakterize edilmesi ve meme kanseri hücrelerinde potansiyel anti-kanser etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



## BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Schiff Bazı

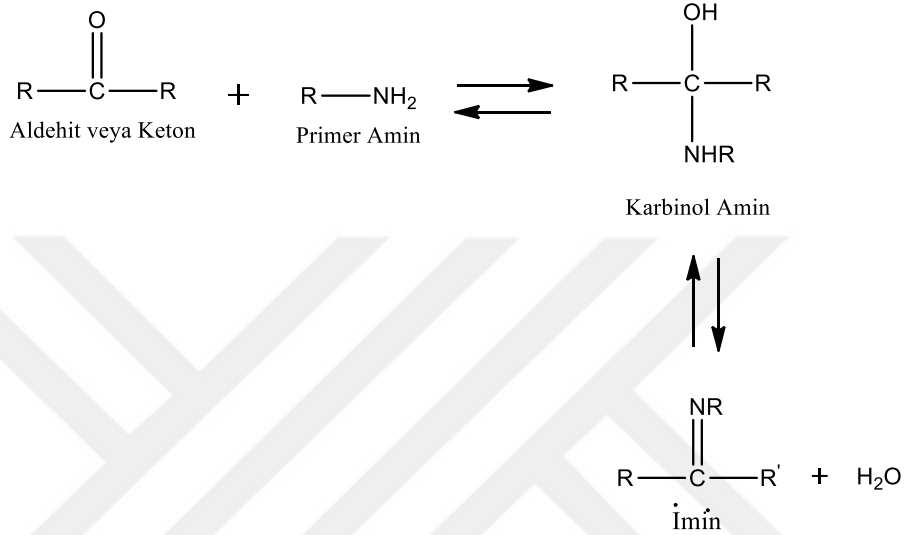
Schiff bazları, karbon atomuna çifte bağ ile bağlı azot atomu içeren imin grupları olarak bilinen ya da azometin grubu ( $-HC = N-$ ) içeren bileşiklerdir. Bunlar ketonların veya aldehitlerin (aldehit ve ketonların) birincil aminlerle verdiği kondenzasyon ürünleridir. Schiff bazları aynı zamanda iyi bir azot donör ligandı ( $>C=N-$ ) olarak da bilinmektedir. Schiff bazının oluşumu genellikle asitler veya baz katalizi altında ya da ısı ile gerçekleşir [31]. Schiff bazları genellikle bi, tri veya tetra-dentat şelat ligandlarıdır ve metaller ile çok kararlı kompleksler oluşturur. Bir Schiff bazı, Flexi-dentat ligandı gibi davranır ve genellikle fenolik grubun O atomu ve azometin grubunun N atomu yoluyla reaksiyona girer. Schiff bazları, çeşitli biyoaktif bileşiklerin sentezi için önemli bir ara maddedir [32, 33].

Schiff bazı, amino asitlerin sentezi için ara ürünler olarak veya bir dizi farklı yapıya sahip metal komplekslerinin hazırlanmasında ligand olarak kullanılır [33]. Bu Schiff bazı ligandları koordinasyon bileşiklerinin oluşumları esnasında metal iyonuna bir veya daha çok elektron çifti vermektedir. Schiff bazlarının ağır metallerle kararlı kompleksler verebilmesi için azometin grubunun rolü büyüktür. Çünkü azometin grubunun kendisine yakın ve yer değiştirebileceği hidrojen atomuna sahip başka bir fonksiyonel gruba (tercihen fenolik  $-OH$ ) ihtiyacı vardır, böylece ağır metaller ile dörtlü, beşli veya altılı şelat halkalı oldukça kararlı kompleksler verebilirler [34].

#### 2.1.1. Schiff bazı sentezi

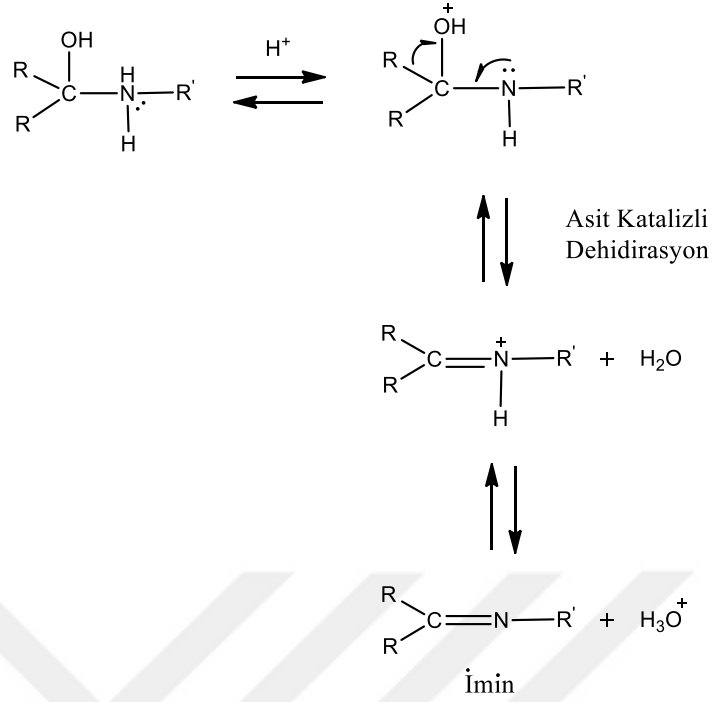
Schiff bazlarının oluşum reaksiyonları tersinir reaksiyonlardır. Karbonil bileşikleriyle primer aminlerin katılma ve eliminasyon (kondensasyon) reaksiyonları sonucu oluşan

Schiff bazı sentezi iki basamak da gerçekleşir. Mekanizmanın ilk kısmında primer amin karbinolamin adı verilen kararsız bileşikler vermek üzere aldehit veya keton grubu ile reaksiyona girer. Bu reaksiyon asit veya baz tarafından katalize edilebilir ve su kaybeder İkinci kısmın da ise ara bileşiğin dehidrasyonu sonucu Schiff bazı oluşur (Şekil 2.1.) [35, 36].



Şekil 2.1. Schiff bazı oluşumuna ait mekanizma [35].

Schiff bazıları hidrolize yatkın olmasından dolayı hız belirleyen basamak olarak dehidrasyon basamağı ortaya çıkmaktadır [35]. Karbinolamin bir alkol olduğundan, asit katalizli dehidrasyona uğrar. Ancak asit konsantrasyonu çok yüksek olmamalıdır çünkü aminler bazik bileşiklerdir. Amin protonlanır ve nükleofile proton katılır ise bunun sonucunda etkin olmayan bir amonyum iyonu oluşabilir ve reaksiyon dengesi sola kayar bunun sonucunda da karbinolamin oluşumu gerçekleşemez. Bu nedenle, bir çok Schiff bazı sentezi kendilerini oluşturan amin ve karbonil bileşiklerinin karakterlerine bağlı olarak hafif asidik pH'da gerçekleştirilir [36]. Schiff bazı oluşumunda pH etkisi Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Schiff bazı oluşumunda pH etkisi [37].

Ketonlar Schiff bazı reaksiyonunu oldukça zor verirler. Ketonlardan Schiff bazı elde edebilmek için reaksiyon esnasında açığa çıkan su ile azeotrop oluşturan bir çözücü seçilmesi, pH aralığının uygunluğu, katalizör seçimi ve uygun reaksiyon sıcaklığının belirlenmesi gibi çok sayıda faktörün dikkate alınması gerekir. Özellikle aromatik ketonlar ile Schiff bazını elde edebilmek için yüksek sıcaklık, uzun reaksiyon süresi ve katalizör kullanımı gereklidir [37]. Alifatik aldehytlerin Schiff bazları ise daha kararsızdır ve kolayca polimerize edilebilir. Ancak etkili konjügasyona sahip olan aromatik aldehytler düşük sıcaklıklarda, normal şartlarda ve uygun çözücü seçimi ile yüksek verimli reaksiyon verirler. Oluşan bu Schiff bazları ise daha kolay sentezlenebilir ve daha kararlı bir yapıya sahiptir [36].

### 2.1.2. Schiff bazlarının metal kompleksleri

Primer aminlerin karbonil bileşikleri ile kondenzasyonu ile meydana gelen karbon-azot çift bağına (-C=N-) imin bağı veya azometin adı verilmektedir. Bu imin bağının en karakteristik özelliklerinden birisi metallere kompleksler vermesidir. Schiff bazlarındaki imin azotunun bazlığının, aldehyt ve amin bileşeninde bulunan çeşitli

sübstitüentlerinden etkilendiği bilinmekte olup bu konuda türlü çalışmalar yapılmıştır. Sübstitüentlerin Schiff bazındaki imin azotunun bazlığı üzerindeki etkisi sonucu ligand özelliği de sübstitüentlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu sebepten ötürü Schiff bazlarının metal komplekslerinin kararlılıkları da yapılarında bulunan sübstitüentlerden az veya çok etkilenir.

Schiff bazlarında ki imin azotunun metal iyonları ile kararlı kompleksler verebilmesi için yeterli bazlığa sahip olması gerekmektedir. Bu nedenle molekülde hidrojen atomu verebilecek ilave bir grubun bulunması metal iyonlarıyla kararlı kompleksler oluşturmasını kolaylaştırmaktadır. Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin kararlılıklarının detaylı olarak incelenmesi, onların kullanılma alanlarının daha da genişlemesini sağlayacaktır [38].

Schiff bazları genellikle geçiş metalleri ile çok kararlı kompleksler oluşturabilen bir tridentat ligandlarıdır [39]. Schiff bazları potansiyel anti-kanser ilaçlarıdır ve metal kompleksleriyle birlikte uygulandıklarında, bu komplekslerin anti-kanser aktivitelerinin, serbest liganda göre daha yüksek olduğu görülmüştür [40]. Schiff bazlı geçiş metal bileşiklerinin biyokimyasal, analitik ve antimikrobiyal alanlar gibi farklı alanlarda yaygın olarak uygulanabilir oldukları keşfedildiği için en yaygın araştırılan koordinasyon bileşikleri olmuştur [41].

### **2.1.3. Schiff bazları ve metal komplekslerinin kanser tedavisinde potansiyel rolleri**

Schiff bazları ve geçiş metali kompleksleri ile DNA arasındaki etkileşim kanser hücrelerinde DNA hasarına neden olabilir, bu da hücre bölünmesinin durmasına ve sonunda hücre ölümünün gerçekleşmesi ile sonuçlanır [42]. Aslında DNA, kanser tedavisinde kullanılan ilaçların birincil hücre içi hedefidir, çünkü hücrede birçok biyokimyasal yaşamsal süreci düzenlenmesinde rol alır [43].

Schiff baz bileşiklerinde azometin grubunun ( $-HC=N$ ) biyolojik aktivite için temel yapısal bir gereklilik olduğu kanıtlanmıştır [44].  $C=N$  çekirdeğindeki elektrofilik

karbon ve nükleofilik azot, Schiff bazlarına, enzim inhibisyonuna veya DNA replikasyon bozukluğuna yol açabilen birkaç nükleofilik ve elektrofilik biyolojik tür ile etkileşime girme imkanı sunmaktadır [45].

Schiff bazları, klinik olarak onaylanmış anti-kanser ajanlarından farklı olabilen bir etki mekanizmasına sahip yeni sitotoksik ve sitostatik küçük moleküllerin rasyonel tasarımı için umut vericidir [45].

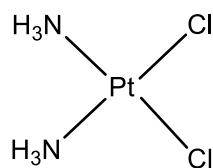
Reaktif azometin gruplarından ötürü Schiff bazlarının, alkilleyici ajanlar olarak tümör hücreleri tarafından seçici bir şekilde hidrolize edilebildiği, bununla birlikte serbest aminlerin aynı anda antimetabolitler olarak işlev gördüğü öne sürülmüştür [45].

Ayrıca, bazı çalışmalar da Schiff bazlarının yanı sıra karşılık gelen metal komplekslerinin interkalasyon ve oluk bağlanması ile doğrudan DNA ile etkileşebileceğini göstermiştir [41, 46].

Öte yandan, hidrosillenmiş Schiff bazları da etkili antioksidan ajanlar olarak işlev görebilir. Yüksek seviyelerde reaktif oksijen (ROS) ve azot türleri (RNS) hücre yapısına, nükleik asitlere, membran lipitlerine ve proteinlerine ve ayrıca DNA molekülünün pürin ve pirimidin bazlarına zarar vererek mutasyona neden olabilir. Bu nedenle, çok sayıda çalışma, antioksidanların reaktif oksijen ve azot türlerinin neden olduğu oksidatif hasara karşı savunma mekanizmalarında ve sonuç olarak bazı kanser türlerinin önlenmesinde hayati bir rol oynadığını öne sürmüştür [45].

Metal bazlı komplekslerin kanser tanısında ve tedavisinde kullanımı son yıllarda oldukça dikkat çekmektedir. Özellikle bakır, molibden, vanadyum, kalsiyum, magzenyum, demir, çinko ve krom gibi metal iyonları içeren komplekslerin oksijen taşınması ve elektronik transfer reaksiyonları gibi biyolojik aktivite göstermesi, metal içerikli Schiff bazı komplekslerine olan ilgiyi arttırmaktadır [47]. Metal bazlı kompleksler içerisinde platin komplekslerinin cis-platin, lobaplatin, nedaplatin, oksaliplatin, karboplatin ve heptaplatin gibi benzerleri kemoterapötik ilaçlar olarak önemli bir yere sahiptir [48]. Bu kompleksler içerisinde ise cis-platin (cis-

diamminedichloridoplatinum) kanser tedavisinde en yaygın kullanılan anti-kanser ilaçlarından biridir. Sis-platinin rahim, akciğer, baş ve boyun kanseri gibi farklı kanser tiplerinin tedavisinde kullanılmaya başlaması araştırmaların sis-platinden daha iyi farmakolojik özelliklere sahip yeni metal bazlı bileşiklerinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır [49, 50]. Bununla birlikte, sis-platinin ciddi toksik yan etkileri nedeni ile kansere karşı mücadelede alternatif geçiş metalleri arayışına girilmiştir [51].



Sis-Platin

Şekil 2.3. Sis-platinin kimyasal yapısı [52].

Paladyum (II) kompleksleri mükemmel katalitik performansına ek olarak anti-tümör, antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve anti-viral aktiviteler gibi çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir [53, 54]. Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalar da paladyum (II) komplekslerinin platin (II) kompleksleri ile yapısal ve termodinamik benzerliklerinden dolayı kansere karşı potansiyel kemoterapötik ajanlar olarak incelenmesine neden olmuştur. Hatta bazı Pd (II) komplekslerinin sis-platin ve benzerlerinden daha iyi anti-tümör aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir [54].

Paladyum komplekslerinin tercih edilmesinde belirleyici bir diğer faktör ise Pd (II) iyonlarının DNA ile etkileşime girme potansiyeline sahip olmasıdır. Bu sayede DNA'ya çapraz bağlanarak DNA replikasyonunu inhibe etmesinin yanı sıra kanser hücrelerinde apoptotik ölüme yol açmaktadır [55].

Diğer yandan yapılan çalışmalar daha az toksik özellik gösteren ve insan vücudun da bulunan yeni geçiş metallerine odaklanılmasına yol açmıştır. Geçiş metalleri arasında bakır, önemli ve üzerinde çok çalışılmış bir metaldir, çünkü demir ve çinkodan sonra insan vücudun da en çok bulunan üçüncü metalik elementtir [56]. Bakır (II) kompleksleri, kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılır olması ve biyolojik olarak erişilebilir redoks durumları nedeniyle en sık çalışılan



metallonükleazların bir sınıfıdır [42, 57]. Bakır(II) komplekslerinin aracılık ettiği sitotoksisite mekanizması, DNA'yı bağlama ve parçalama yeteneklerinden kaynaklanabilmektedir [42]. Ayrıca bakır (II) komplekslerinin DNA'ya bağlanarak DNA replikasyonunu inhibe etme yetenekleri sayesinde anti-kanser aktivitesinin olduğu bilinmektedir [57, 58]. Bu sayede de hücre döngüsü durdurma ve apoptoza veya reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna ve daha sonra hücre ölümüne yol açmaktadır [42]. Nikel ise birçok yaygın alaşımda bulunabilen nispeten toksik olmayan bir metaldir [59]. Ayrıca biyolojik sistemler için önemli unsurlardandır [60]. Nikel, oksitleyici ajanların varlığında doğrudan DNA'ya zarar verebilir ancak histonlara ve protaminlere bağlanarak kromatin yapısını da etkilememektedir [59]. Bununla birlikte nikel komplekslerinin antimikrobiyal [61], anti-tümör [62, 63] ve antibakteriyel [64] gibi çeşitli biyolojik aktivitesi olduğu ortaya çıkmıştır [59].

## 2.2. Metformin

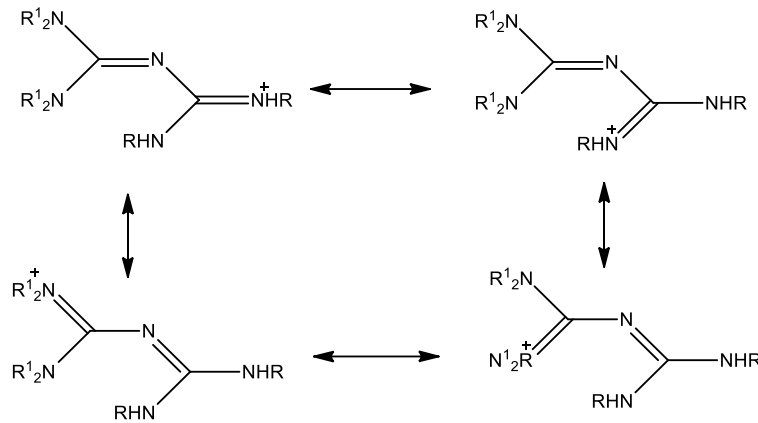
### 2.2.1. Metforminin genel özellikleri

Metformin diğer bir adıyla dimetilbiguanidin, ilk olarak 20. yüzyılın başlarında orta çağ avrupalında *Galega officinalis* (Fransız leylak) bitkisinden elde edilmiştir [65, 66]. Guaninden sentezlenen metforminin kan şekeri seviyesini düşürdüğü keşfedilmiş ayrıca mono- ve diguanidinlere göre daha az toksik olduğu tespit edilmiştir [66, 67].

Tablo 2.1. Metforminin genel özellikleri.

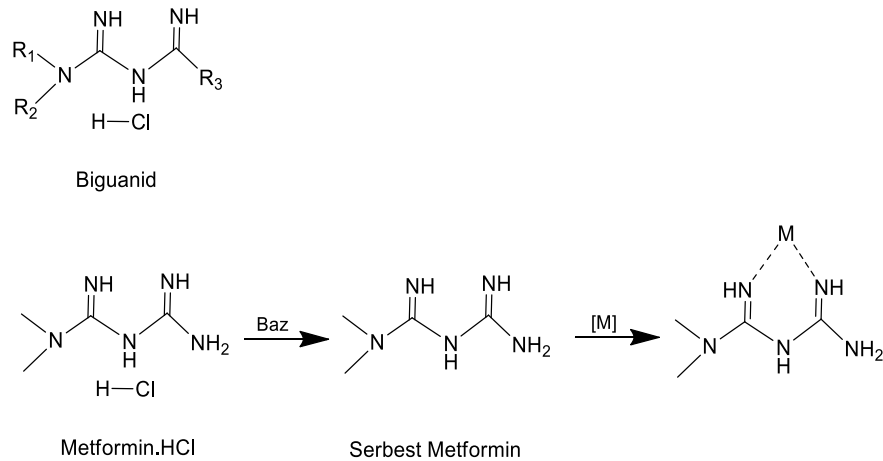
Molekül ismi	Metformin
IUPAC ismi	1, 1-Dimethylbiguanide
Görünüm	Beyaz kristal toz
Moleküler formülü	$C_4H_{11}N_5$
Molar kütle	129, 163 gr / mol

Metformin bilinen orta derecede güçlü bir organik bazdır. Biguanidler n-p ( itme-çekme efekti) rezonans etkisi ile bir veya daha fazla amino grubu ile konjuge edilmiş iki imino azot grubu içermektedir. Güçlü bazik olmaları, imino atomunun protonasyonundan ve ilgili katyonların yüksek stabilitesinden kaynaklanmaktadır. Şekil 2.4.'de metforminin rezonans yapıları gösterilmektedir [20] .



Şekil 2.4. Biguanidin monoprotonlanmış formları için rezonans yapıları [20].

Metformin hidroklorür serbest olarak suda çözünürken aseton, kloroform ve eter de çözünmezler ve metaller ile şelat yapıcı çok dişli ligandlar oluşturabilen bileşiklerdir [68, 69]. Metformin sahip olduğu iki imin grubu sayesinde birçok metal ile özellikle Cu (II), Ni (II), Co (II) ve Pt (II) gibi geçiş metalleri ile kompleks oluşturabilir. Ayrıca metforminin Cu, Ni, Co (II) ve Zn (II) kompleksleri saf metformin ile karşılaştırıldığında etkinliğinin daha çok arttığı ve hipoglisemik aktivitede önemli artış sergilediği bulunmuştur [69].



Şekil 2.5. Biguanidlerin yapısı, metformin hidroklorür ve bir geçiş metaline olası kombinasyonu [M] [70].

Oral hipoglisemik ajanlardan olan metformin glikoz düşürücü etkisinin keşfedilmesi klinikte diyabet tedavisinde kullanılmasına yol açmıştır [65, 71]. Metformin glukoneogenezin inhibisyonunda ve hepatik glikojenoliz oranının azalmasında rol

olarak kanda glikoz miktarının azalmasına yol açmaktadır [71]. Diyabet hastalarının % 90'ından fazlasına tip 2 diyabet teşhisi konmaktadır [72]. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) hareketsiz yaşam tarzının ve kalorili beslenme şeklinin bir sonucu olarak ortaya çıkan tip 2 diyabet (T2D) hastalığının yaygınlığı ve hızla artışı nedeniyle küresel bir halk sağlığı acil durumu olarak kabul etmiştir. Metforminin, dolaşımdaki glikoz ve insülin seviyelerini azaltma kabiliyeti yaygın olarak tip 2 diyabet tedavisinde kullanılmasına olanak sağlamıştır [73, 74]. Bu nedenle, metformin 2009'dan beri Amerikan Diyabet Derneği ve Avrupa Diyabet Araştırmaları Derneği tarafından tip 2 diyabet tedavisinde kullanımı için uygun bulunmuş ve dünya çapında en çok reçete edilen anti-diyabetik ajan olarak yer almaktadır [65, 66].

Metforminin anti-diyabetik özelliğinin yanı sıra, yapılan çalışmalarda anti-kanser aktivitesi de belirlenmiştir [75, 76]. Ayrıca metformin kullanımının meme, over, endometriyal ve kolorektal kanser riskini azalttığı da bulunmuştur [77]. Metforminin anti-kanser etkisinin temelinde AMP ile aktive edilmiş protein kinazın (AMPK) aktivasyonu yer almaktadır [71]. Metforminin etki mekanizması bölüm 2.2.2.'de ayrıntılı olarak bahsedilmiştir.

### **2.2.2. Metforminin etki mekanizması**

Kanser ve diyabet yaygın görülen hastalıklar arasındadır bu nedenle her iki hastalığında aynı kişide görülme oranı yüksektir. Bu nedenle yapılan birçok araştırma kanser ve diyabetin aynı anda ortaya çıkma yüzdesinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Diyabet tanısının, obezite ile olan ilişkisinden bağımsız olarak farklı kanser tipleri için önemli bir risk faktörü olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir [78]. Hiperglisemi kanser hücrelerinin metabolik aktivitesinde ve böylece hücrelerin hızlı bir şekilde bölünmesinde rol almaktadır ve dolayısıyla kemoterapi direncinin gelişmesine yol açmaktadır. Bu nedenle, metformin gibi anti-diyabetik ilaçlar kanser tedavisinde potansiyel etkiye sahiptir [79, 80]. Tablo 2.2.'de metforminin vücutta ki diğer görevleri ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

Tablo 2.2. Metforminin vücuttaki görevleri [81, 82, 83, 84].

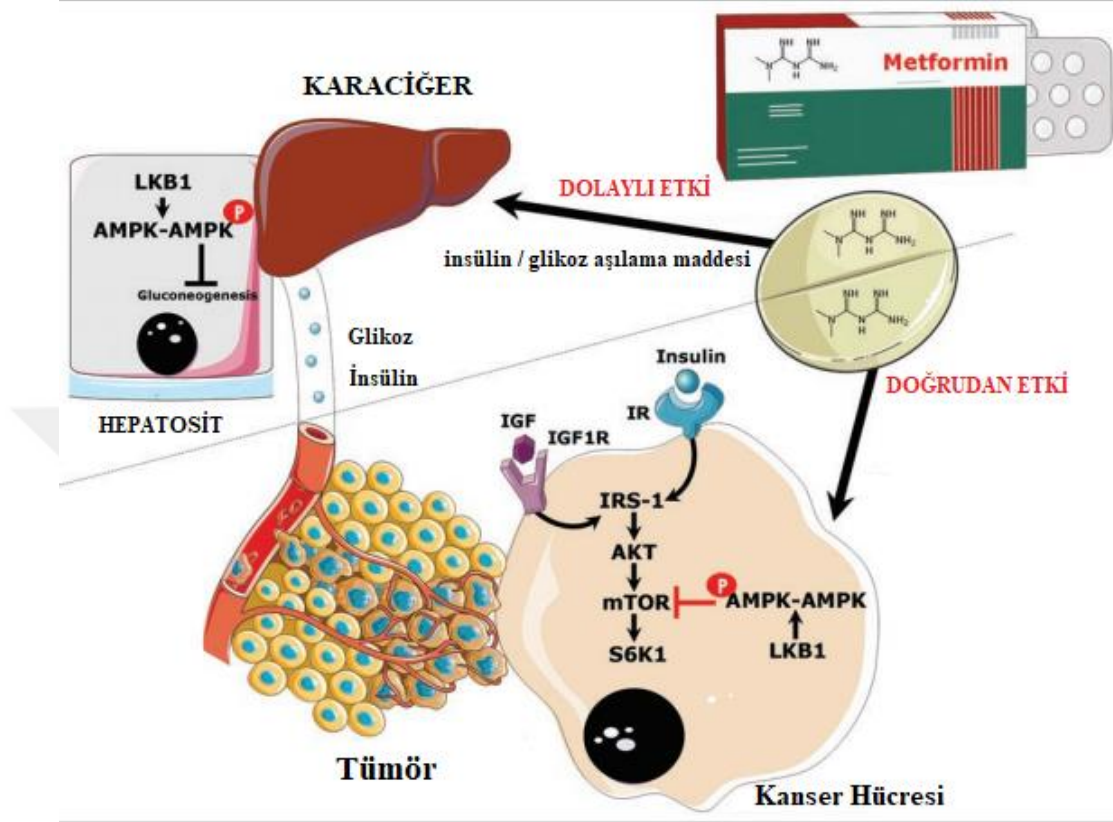
Metforminin vücuttaki görevleri
Metformin (biguanid türevi), kan şekeri seviyesini kontrol eder,
Karaciğerin endojen glikoz üretimini azaltır, Hepatik glikoz salınımını bloke eden ve iskelet kasında glikoz alımını destekleyen AMPK'nın aktivasyonu yoluyla insülin seviyesini azaltır,
Tip 2 diyabetli hastalarda antihiperglisemik etkisinin yanında, hiperinsülinemini azaltır, lipid profilinin düzenlenmesini sağlar,
Meme, over ve pankreas kanseri dahil olmak üzere farklı kanser hücrelerinde anti-kanser etkiye sahip olduğu belirlenmiştir,
Normal hücrelerdeki ROS birikimini ve DNA hasarını azaltır,
İştahı, kalori alımını ve intestinal glikoz emilimini azaltır,
İskelet kaslarında periferik glikoz alımını iyileştirir.

Metforminin hücrede etki mekanizması incelendiğinde, hücreye girdikten sonra hedefinin hücre metabolizmasının düzenlenmesini sağlayan mitokondri olduğu belirlenmiştir. Metformin pozitif yüklü bir moleküldür ve negatif yükü nedeniyle mitokondriyal membran ile etkileşime girer. Metformin, mitokondriyal elektron taşıma sistemini inhibe etmesi sonucunda, hücresel adenozin trifosfatında (ATP) miktarında azalmaya yol açarak hücre içinde adenozin monofosfat (AMP) / ATP oranında artışa neden olur. Bu nedenle, AMP protein kinaz (AMPK) aktivitesinin metforminin hücresel etkisinde rol aldığı belirlenmiştir [85].

Metforminin genel etkisi, insülin duyarlılığını arttırmak ve hepatik glikoz çıkışını azaltmaktır, bu da insülin ve glikoz seviyelerinde azalmaya yol açarak hem preneoplastik hem de neoplastik hücrelerinin çoğalmasını azaltılmaktadır [86-88]. Bu nedenle metforminin prostat [23], kolon [24], meme [89, 90], kolorektal [26] ve akciğer [27] kanser tiplerinde potansiyel anti-kanser etkisi belirlenmiştir.

Şekil 2.6.'da gösterildiği üzere metforminin anti-kanser etkisi iki şekilde gerçekleşmektedir. Doğrudan etkisinde, metformin mitokondrinin kompleks 1' ini bloke ederek enerji stresi yaratır ve kanser hücrelerinin proliferasyon inhibisyonuyla birlikte katabolik yıkıma yol açan AMPK' yı aktive eder. İkinci olarak ise dolaylı etkisinde, metformin uygulanması sonucunda karaciğerdeki AMPK aktivasyonu, dolaşımdaki insülinin azalmasına neden olur ve kanser hücresi proliferasyonu

sağlayan IGF1 / fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)/mTOR yolağının inhibisyonu ile sonuçlanır [91].



Şekil 2.6. Metforminin etki mekanizması [92].

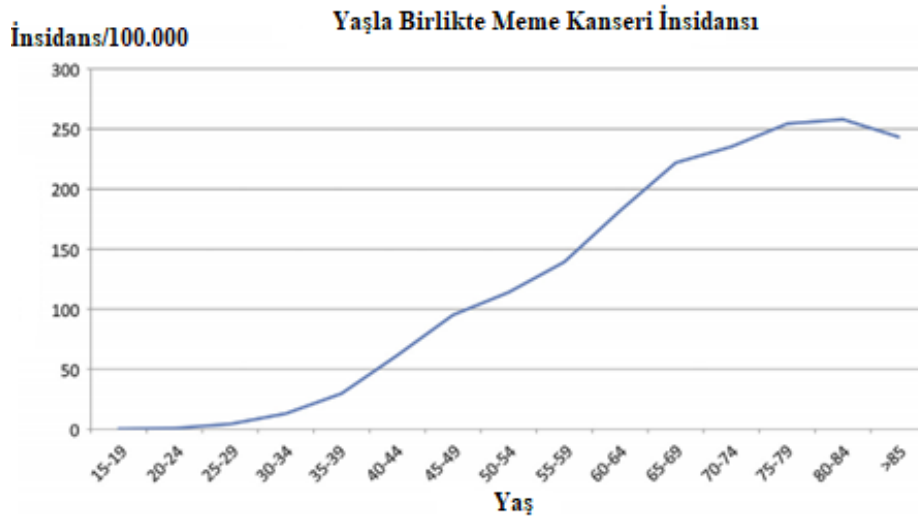
Metforminin anti-tümör etkisinde hem doğrudan (insülden bağımsız) hem de dolaylı (insüline bağımlı) etkileri rol almaktadır. Metforminin dolaylı etkisi yani insüline bağımlı etkisi hastalarda dolaşımdaki insülin seviyesinde azalma ile ilişkilidir [93]. İnsülinin mitojenik ve antiapoptotik etkileri göz önüne alındığında, sistemik seviyesindeki azalma, özellikle meme ve kolon kanseri gibi obezite ve hiperinsülinemi ile ilişkili kanserlerin tedavisinde metforminin potansiyel önemini göstermektedir. Ayrıca, başta meme kanseri olmak üzere farklı kanser tiplerinde insülin reseptörünün (IR) yüksek seviyede eksprese olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle metforminin, özellikle meme kanserinde potansiyel etkisi dikkat çekmektedir [87].

### **2.3. Meme Kanseri**

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen malign tümörlerden biridir [94]. Meme kanseri vakalarının çoğu sporadiktir ancak tüm meme kanserlerinin % 5-10'unun BRCA1 ve BRCA2 gibi genlerdeki mutasyonlara bağlı olduğu kanıtlanmıştır [95]. Meme kanseri için risk faktörleri öncelikle yaş ve östrojen maruziyeti ile ilgilidir (erken menarş, geç menopoz, nulliparite ve ekzojen hormonların kullanımı); buna ek olarak, yüksek risk altındaki popülasyonda yerinde duktal veya lobüler karsinomlu kadınlar ve 30 yaşından önce torasik radyoterapi öyküsü olan kadınlar bulunmaktadır [96].

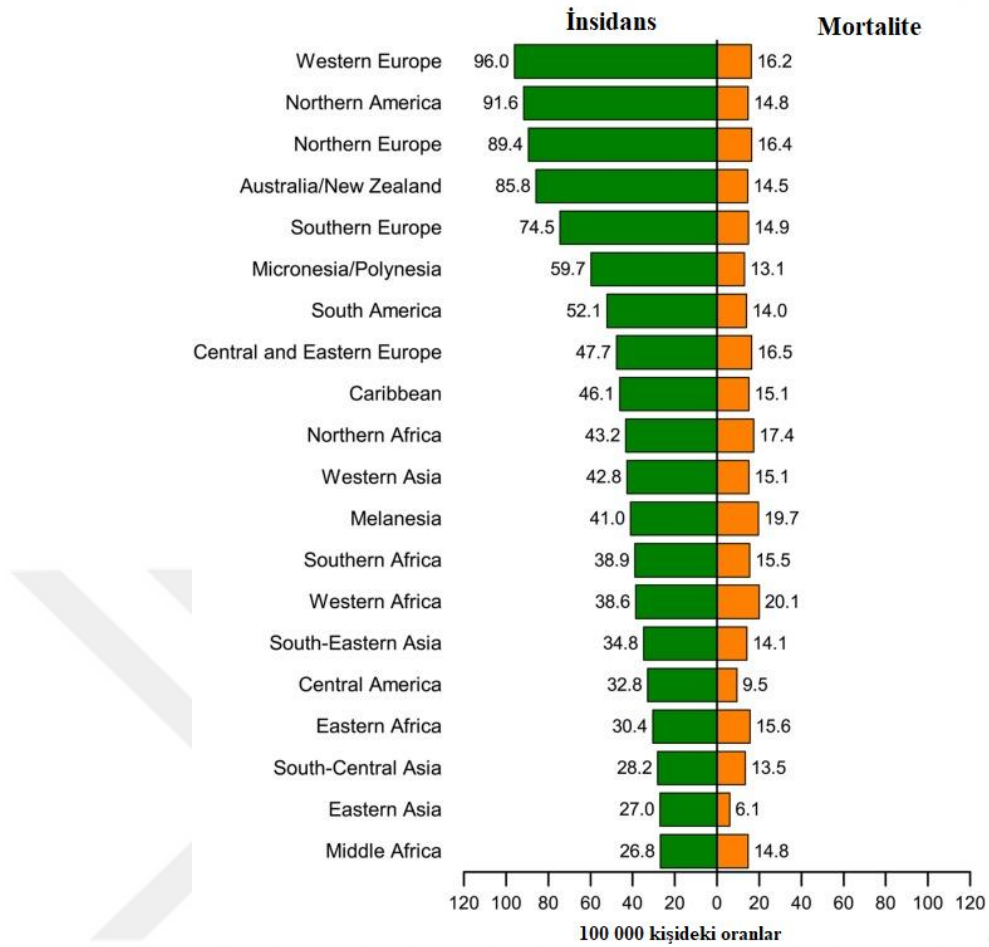
#### **2.3.1. Meme kanseri epidemiyolojisi**

Meme kanseri, dünya çapında kadınlar üzerinde yapılan araştırmalara göre en sık görülen ve en ölümcül olan kanser türüdür [97, 98]. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de meme kanseri tüm yaş grubu kadınlarda en yaygın görülen kanser türüdür. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı 2014 yılında ki verilerine göre, tüm kadın kanserleri arasında meme kanserinin % 24.9'luk oranla kadınlarda yaygın görülen dört kanserden biri olduğunu ortaya koymuştur [99]. Ulusal Kanser Enstitüsünün 2013-2017 yılları arasını kapsayan araştırmalarına göre, meme kanseri en sık 55-64 yaş arası kadınlarda (ortanca tanı-62 yaş), insidans ve mortaliteye bağlı olarak yaş ile birlikte artmaktadır. Ayrıca aynı araştırmaya göre, meme kanserine ileri yaşta yakalananlar ile daha genç yaşta yakalananlar arasında sağkalım süreleri değerlendirildiğinde genç yaşta meme kanseri teşhisi koyulan hastalarda ölüm oranlarının daha az olduğu görülmektedir [100].



Şekil 2.7. Meme kanseri gelişme riskinin yaşla birlikte artışı (1975-2010) [101].

Global Kanser İstatistiklerine göre 2018 yılında, 4 kanser vakasından 1'ine karşılık gelen yaklaşık olarak 2.1 milyon yeni meme kanseri vakası teşhis edilmiştir [97]. Sumaira ve arkadaşlarının 1990-2015 yılları arasında gerçekleştirdiği araştırmaya göre meme kanseri insidansının yaşla birlikte arttığı belirtilmektedir [102]. Ayrıca 2017-2018 yılları arasında yapılan çalışma, gelişmekte olan ülkelerde yıllık meme kanseri insidansının arttığını göstermektedir. Bunun yanı sıra meme kanseri insidansı sadece gelişmekte olan ülkelerde değil gelişmiş ülkeler de artmaktadır [103]. En yüksek insidans 100.000'de 99.4 ile Kuzey Amerika'da iken, en düşük insidans Afrika ülkelerinde görülmektedir[104].



Şekil 2.8. Meme kanseri insidansı ve mortalite oranları: bölgeye göre 100.000 kişideki oranlar [105].

2018'de yayınlanan Amerikan Kanser Yıllık Raporuna göre, meme kanserli hastaların mortalite oranınının 1991'den bu yana % 39 oranında azaldığı ve bu hastaların 5 yıllık sağkalım oranınının % 90'a kadar yükseldiği gösterilmiştir [94].

### 2.3.2. Meme kanseri ve metformin

Metformin, glikoz miktarını düşürücü etkisi nedeniyle dünyada en yaygın kullanılan anti-diyabetik ilaç olmasının yanı sıra deneysel, klinik ve epidemiyolojik yapılan çalışmalar anti-kanser etkisinin de olduğunu göstermiştir [106-109].

Diyabetin meme kanseri olma riskini arttırması, insülin seviyesinin kanseri tetiklediği hipotezini destekler niteliktedir. Bu nedenle, kanda insülin seviyelerinde azalmaya neden olan anti-diyabetik ilaç olan metformin ile tedavi, kansere bağlı mortalityeyi



azaltabilmektedir [109-113]. Metforminin in vivo ve in vitro deneysel çalışmalarından elde edilen sonuçlarına göre kanser hücrelerinin çoğalmasını azalttığı bilinmektedir [114, 115]. Örneğin, Simon R. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada diyabetik olmayan 40 meme kanserli hastada 13-21 gün süreyle metformin ile tedavi ederek metforminin mitokondriyal metabolit seviyelerini azalttığını ve tümör hücrelerinde küçülmeye neden olduğu sonucuna varmışlardır [114]. Yapılan bir başka çalışmada ise Min Xin ve arkadaşları tarafından metforminin meme kanseri üzerine etkisi in vitro olarak incelenmiş ve çalışmada MCF-7 meme kanseri hücre hattı kullanılmıştır [116]. Bununla birlikte yapılan çalışmalar ile düşük glikoz ortamında metforminin MCF-7 meme kanseri hücresindeki etkisi in vitro ve in vivo olarak belirlenmiştir [117, 86].

2014 yılında yapılan başka bir çalışmada metformin ve hiperterminin MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücresine ve MIA PaCa-2 pankreas kanseri hücrelerinde etkileri araştırılmıştır [118]. Kyung-Min ve arkadaşları metforminin bir türevi olan metformin-butirat bileşiğinin, meme kanseri hücrelerinin % 10-15'ini oluşturan triple negatif meme kanseri hücrelerindeki etkisini in vitro ve in vivo olarak yaptıkları çalışmalarda ortaya koymuşlardır [119]. Benzer şekilde yakın zamanda yapılan diğer çalışmada ise metforminin meme ve pankreas kanserlerinin büyümesi ve gelişmesi üzerinde etki mekanizmasındaki ve kanser kök hücreleri ile ilişkili mikroRNA'ların (miRNA'lar) regülasyonunda potansiyel rolünü araştırmışlardır.

Yapılan birçok çalışmanın sonucunda hem diyabetli hem de diyabet olmayan hastalarda metformin tedavisinin meme kanseri olma ve kanserin ilerleme riskini azaltabileceğini göstermektedir [28, 106, 114, 120, 121]. Bununla birlikte 2019 yılında yapılan in vivo çalışmalar metforminin 4T1 ve MDA-MB-231 metastatik meme kanseri hücrelerinin, kemoterapiye olan duyarlılığı arttırdığını göstermektedir [122]. Ayrıca metforminin meme kanseri hücreleri üzerinde anti-proliferatif etkiye sahip olduğu bulunmuştur [89, 90]. Bunun yanı sıra çalışmaların sonucunda, metforminin fizyolojik dozlarda uygulanması MCF-7, T47D, BT474, MDA468, HCC70, BT20 ve SKBR3 meme kanseri hücre hatlarında apoptoza neden olduğu aynı zamanda tümörün proliferasyon özelliğinin azalmasını sağladığı gösterilmiştir [88].

### 2.3.3. Meme kanseri, Schiff bazı ve metal kompleksleri

Schiff bazılarının metal şelatlama yetenekleri ve Schiff bazı komplekslerinin oluşumunda reaksiyona girdikleri metal tuzları ile kazandıkları formal kararlılık, koordinasyon kimyasında önemli bir yere sahip olmalarını sağlamıştır [123]. Ayrıca kükürt ve azot içeren çok dişli ligandların metal kompleksleri dikkat çekici biyolojik aktivite göstermektedir [17, 44, 123-125].

Schiff bazlarının DNA'yı hedefleme yetenekleri sayesinde anti-kanser aktivite gösterdiği bilinmektedir [44]. Bu özelliklerinden dolayı son yıllarda meme kanseri tedavisinde Schiff baz ve metal komplekslerine olan ilgi artmaktadır [126, 127]. Yapılan bir çalışmada, 2-amino-3-hidroksipiridin ve 3-metoksisalisilalaldehitin türetilmiş Schiff bazı ligandı kullanılarak Co(II), Ni(II), ve Cu(II) metal kompleksleri sentezlenmiş ve bileşiklerin interkaratif mod yoluyla DNA'ya bağlanabildiği bulunmuştur. Ayrıca bu komplekslerin MCF-7 meme ve HCT-116 kolon kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksitesi, *in vitro* çalışmalar ile belirlenmiştir [41].

Schiff bazları metal komplekslerinin, anti-kanser aktivitesinin serbest liganda göre daha etkili olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Örneğin, Zahra ve arkadaşları 2004 ve 2005 yılında yayınladıkları çalışmada, naftakinon semikarbazon (NQSC) ve naftakinon tiyosemikarbazon (NQTS) 'dan türetilen Ni(II), Cu(II) ve Pd(II) komplekslerini sentezlemiş, ligand ve komplekslerin anti-tümör aktivitelerini ve MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerindeki etki mekanizmalarını *in vitro* olarak araştırmışlardır. Metal komplekslerinin MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederek anti-tümör etkisinin serbest ligandlardan daha etkili olduğu ve incelenen kompleksler arasında, Ni-NQTS kompleksinin kanser hücrelerinde en yüksek sitotoksik etkiyi sahip olduğu tespit edilmiştir [128, 129].

Yakın zamanda yapılan çalışmada Nuria ve arkadaşları ise, Piridin-2-karboksaldehid ve 5, 6-diamino-1, 3-dimetilurasilin kondenzasyonu sonucu oluşan Schiff bazı ile Ni(II), Zn(II) ve Cd(II) komplekslerinin karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir.

Çalışmada bu komplekslerin MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerine karşı anti-tümör aktivitesi belirlenmiştir [130].

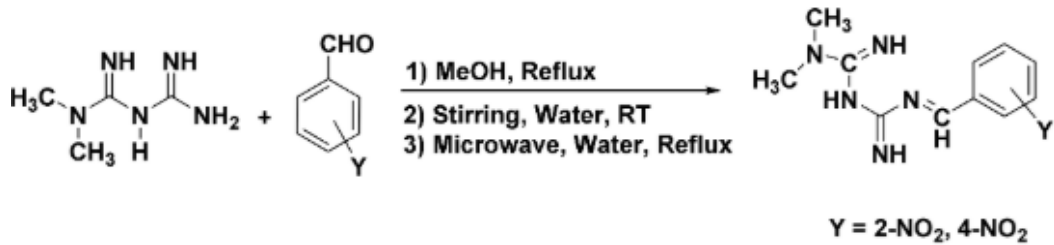
Benzer bir çalışmada, 6-aminobenzotiazol ve 4-metoksi salisilaldehitten türetilmiş iki değerlikli Cu, Ni ve Co kompleksleri sentezlenmiş ve HeLa (servikal kanser hücresi), A549 (adenokarsinomik insan alveoler bazal epitel hücreleri) ve MCF-7 kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri in vitro çalışmalar ile incelenmiştir [131].



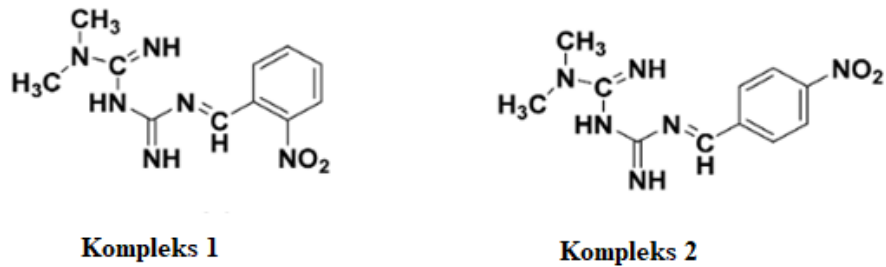
## BÖLÜM 3. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI

### 3.1. Schiff Baz Sentez Çalışmaları

2020 yılında yapılan çalışmada Al-Qadisy ve arkadaşları tarafından, metformin hidroklorür ile iki yeni orto ve para nitrobenzaldehit Schiff bazları sentezlenmiş ve gram-pozitif (ATCC 43300, ATCC 25923 ve ATCC 29212) ile gram-negatif (ATCC 25922, ATCC 27853 ve ATCC 700603) bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Sentezlenen moleküllerin yapısı element analiz, kütle spektroskopisi, fourier dönüşümü kızılötesi (IR), UV-Görünür (UV-Vis), <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR ve diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) ile analiz edilmiştir. Yeni sentezlenen bileşiklerin, Şekil 3.1. ve 3.2.'de oluşum reaksiyonları gösterilmiştir [132].

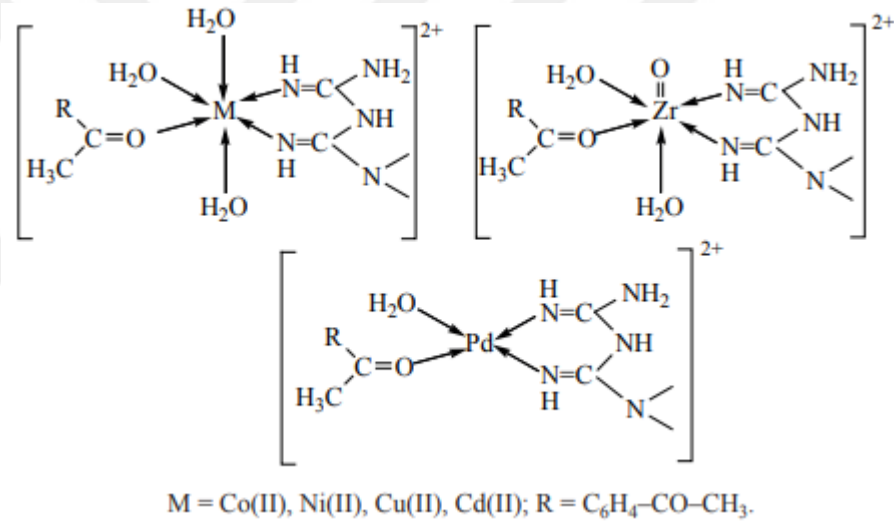


Şekil 3.1. Metformin Schiff bazı sentezi [132].



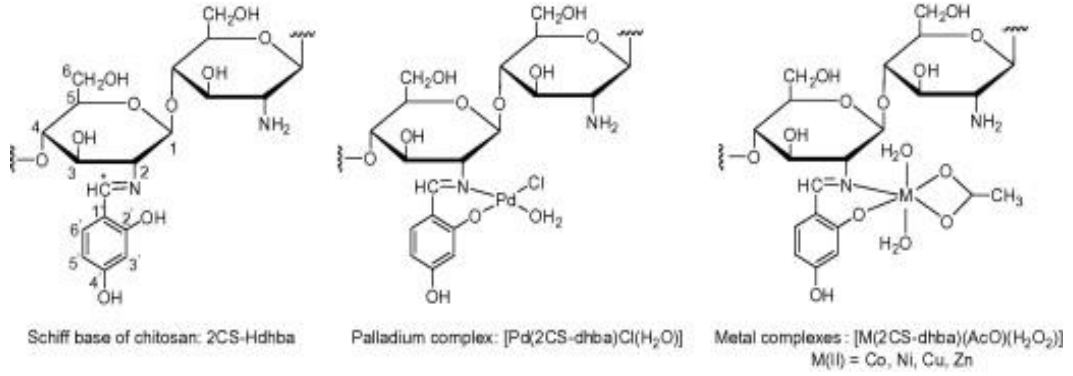
Şekil 3.2. Metformin orto ve para nitrobenzaldehit Schiff bazlarının kimyasal yapıları[132].

2020 yılında yapılan başka bir çalışmada ise, metformin hidroklorür (MF) ve 1, 4-diasetilbenzen (DAB)'den türetilmiş Co (II), Ni (II), Cu (II), Zr (IV), Pd (II) ve Cd (II) mononükleer kompleksleri, sentezlenmiş ve yapıları FT-IR, <sup>1</sup>H NMR, termal ve elementel analiz, molar iletkenlik ve manyetik duyarlılık ölçümleri ile karakterize edilmiştir. FT-IR spektrumlarına göre MF, iki imino grubu boyunca metal iyonları ile iki dişli bir ligand olarak reaksiyona girerken DAB, iki eşdeğer keto grubundan biri aracılığı ile bir monodentat ligandı olarak reaksiyona girer. Moleküler modelleme hesaplamalarına göre metal kompleksleri, kare düzlemsel ve oktahedral yapıya sahiptirler. Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri üzerine in vitro çalışmalar yapılmış ve sentezlenen metal komplekslerinin liganda göre daha aktif olduğu sonucuna varılmıştır [133].



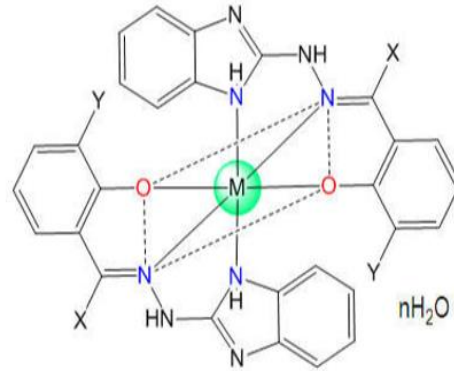
Şekil 3.3. Metformin hidroklorür ve 1, 4-diasetilbenzen ile metal komplekslerinin önerilen yapısı [133].

Neveen ve çalışma arkadaşları 2011 yılında, 4-dihidroksibenzaldehidin ve kitosanın yoğunlaşması sonucu 4-Hidroksisalisilidenkitosan schiff bazı (2CS-Hdhba) ve onun bir dizi iki ve üç değerlikli metal kompleksleri sentezini gerçekleştirmiş ve komplekslerin karakterizasyonu FT-IR, elementel analiz, <sup>13</sup>C NMR, UV-vis ve ESR spektroskopisi, SEM ve XRD manyetik ve termal ölçümler ile analiz edilmiştir. Komplekslerin geometrileri metale bağlı olarak değişkenlik gösteren oktahedral ve kare düzlemsel yapıya sahiptir ve tek bir negatif yük ile iki yönlü şelat kompleks gibi davrandıkları belirlenmiştir [134].



Şekil 3.4. 4-Hidroksisalisilidenkitosan Schiff bazı ve metal komplekslerinin yapısı [134].

Ranjan K. ve arkadaşları 2018 yılında o-hidroksiasetofenon, o-hidroksifenzofenon ve o-vanilin ile yeni tip Schiff bazları ve metal komplekslerinin sentezini gerçekleştirmiş ve komplekslerin spektral, termal, kinetik ve antibakteriyel etkinliklerini araştırmışlardır. Çalışmalar sonucunda ligandların tüm organizmalara karşı ılımlı aktivite gösterirken, komplekslerin serbest ligandlara göre daha aktif olduğunu belirlemişlerdir. Şekil 3.5.'de sentezlenen ligandların kompleks yapıları gösterilmiştir [135].



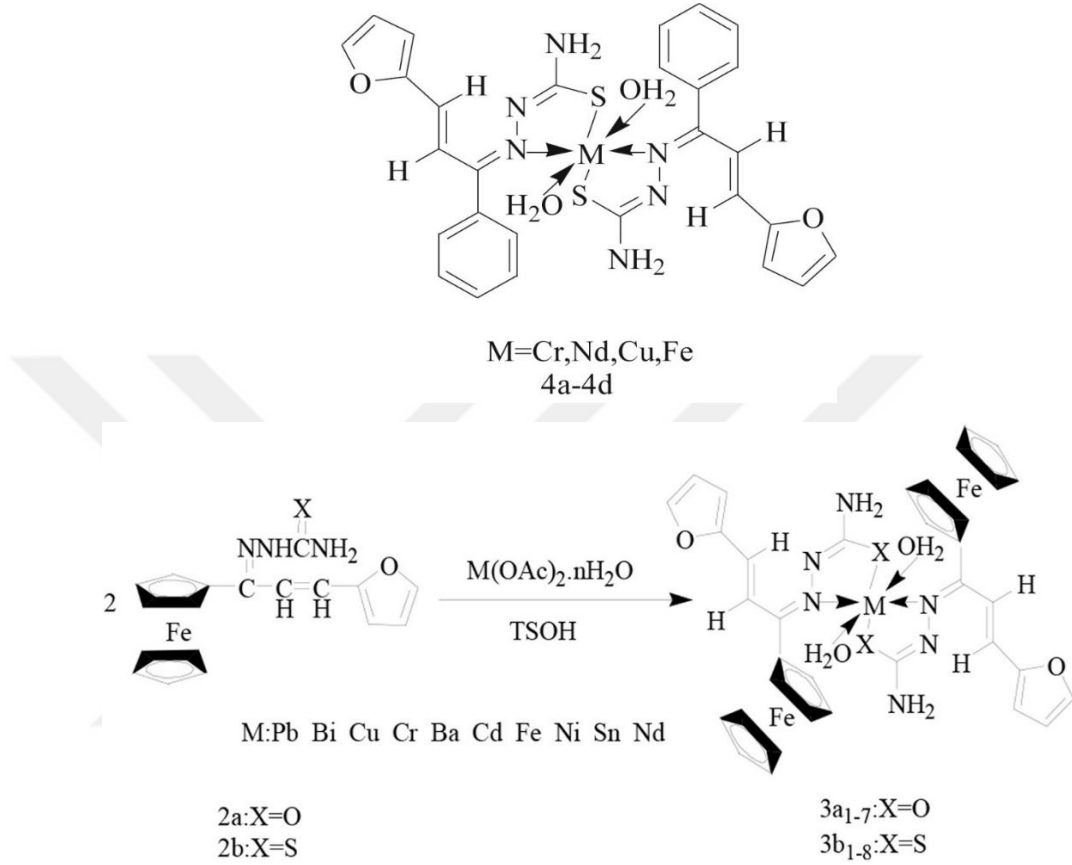
$M = Co(II), Ni(II), Cu(II)$  and  $Zn(II)$

$X = -H, -CH_3, -C_6H_5, Y = -H, -OCH_3$

Şekil 3.5. Cu, Ni ve Zn Komplekslerin önerilen yapısı [135].

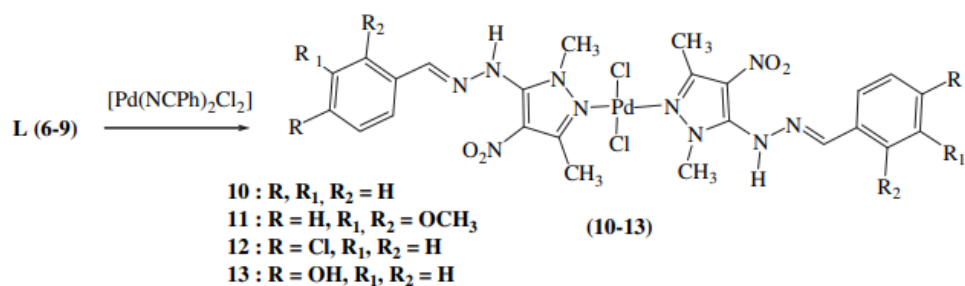
Yu-Ting ve arkadaşları tarafından 2017 yılında 1-ferrosenil-3-(2-furil) propenon diamino (tiyo) üre ligandlarının ve  $Bi(III)$ ,  $Pb(II)$ ,  $Cu(II)$ ,  $Ba(II)$ ,  $Cd(II)$ ,  $Cr(III)$ ,  $Fe(II)$ ,  $Sn(II)$ ,  $Ni(II)$ ,  $Nd(II)$  metal komplekslerinin lösemi (P-388) ve akciğer kanser hücrelerinde anti-kanser aktiviteleri açısından potansiyel terapötik etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmaların sonucunda ferrosen grubunun eklenmesi ilaç süperpozisyonu işlevini yerine getirerek sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktivitesini

arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca ferrosen içeren bileşiklerin anti-kanser potansiyelinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Şekil 3.6.'da hazırlanan Schiff bazları ve metal komplekslerinin yapısı gösterilmektedir [136].

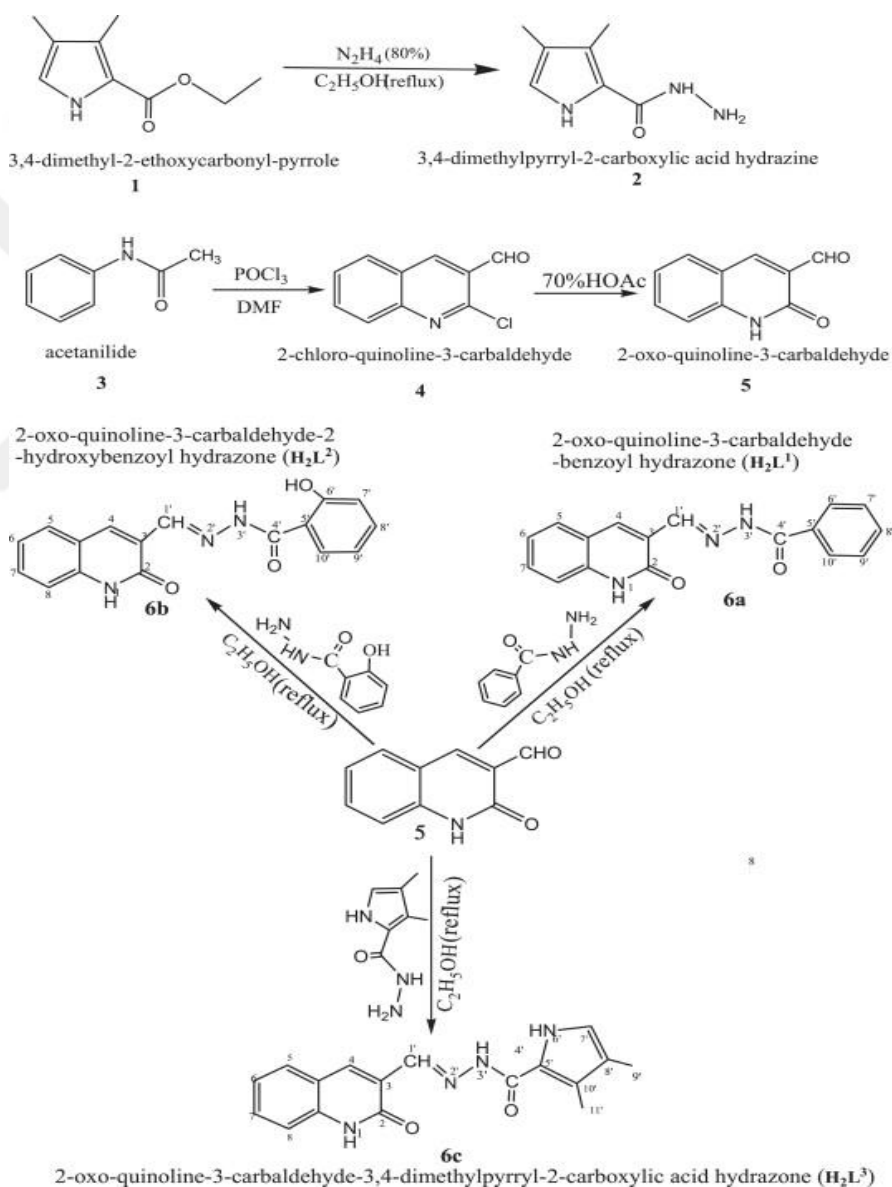


Şekil 3.6. 1-ferrosenil-3-(2-furil) propenon diamino (tiyo) Schiff bazı ligandlarından türetilen kompleks yapıları [136].

Adnan S. ve arkadaşları 2010 yılında yapmış oldukları çalışmalar neticesinde Pirazol bazlı Schiff bazı ligandları taşıyan yeni paladyum (II) komplekslerinin baş ve boyun skuamöz karsinom hücrelerinde sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Çalışmaların sonucunda paladyum (II) komplekslerinin baş ve boyun kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin doza bağımlı olduğunu ve hücre tipine göre değiştiği tespit edilmiştir. Şekil 3.7.'de ise sentezlenmiş trans-[PdCl<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>] kompleksin yapısı verilmiştir [137].



Şekil 3.7. Pirazol bazlı Schiff bazlarının trans-[PdCl<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>] kompleksinin sentezi ve önerilen yapısı [137].

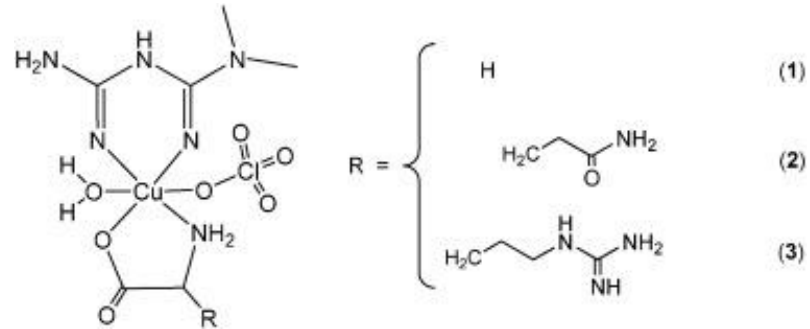


Şekil 3.8. Ligandların sentez yolu (2-okso-kinolin-3-karbaldehid-benzoil hidrazon 6a, 2-okso-kinolin-3-karbaldehid-2-hidroksibenzoil hidrazon 6b, 2-okso-kinolin-3-karbaldehid-3, 4-dimetilpiril-2-karboksilik asit hidrazon 6c) [138].



Zeng-Chen 2010 yılında arkadaşları ile üç yeni 2-okso-kinolin-3-karbaldehid Schiff-baz ligandını ve bunların Cu (II) komplekslerini sentezlemiş ve yapılarını X-ışını tek kristal kırınımı ile karakterize etmişlerdir. Bu üç Cu (II) kompleksinin beş koordinatif kare-piramidal konfigürasyona sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, sentezlenen Cu (II) komplekslerinin HeLa ve HL-60 hücrelerinde sitotoksisiteyi *in vitro* olarak test edilmiştir. Sonuçlar Cu (II) komplekslerinin ligandlardan daha yüksek anti-kanser etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Şekil 3.8.'de ligandların sentez reaksiyonları verilmektedir [138].

Madhavan ve arkadaşları indol-3-karboksaldehid ve m-aminobenzoik asitten türetilen Schiff bazının Co (II), Zn(II), Cu (II) ve Ni (II) komplekslerini sentezlemiştir. Sentezlenen ligand ve komplekslerin yapısı Şekil 3.9.'da gösterilmektedir. Bu komplekslerin antifungal, antibakteriyel ve DNA üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Sonuçlar, metal komplekslerinin ligandlara göre daha aktif olduğunu göstermektedir. Ligand ve komplekslerinin nükleaz aktivitesi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında jel elektroforezi kullanılarak CT DNA üzerinde analiz edilmiş ve Cu (II) kompleksi, ligand ve diğer komplekslerle karşılaştırıldığında bir oksidan varlığında artan nükleaz aktivitesi gösterdiği sonucuna varılmıştır [139].



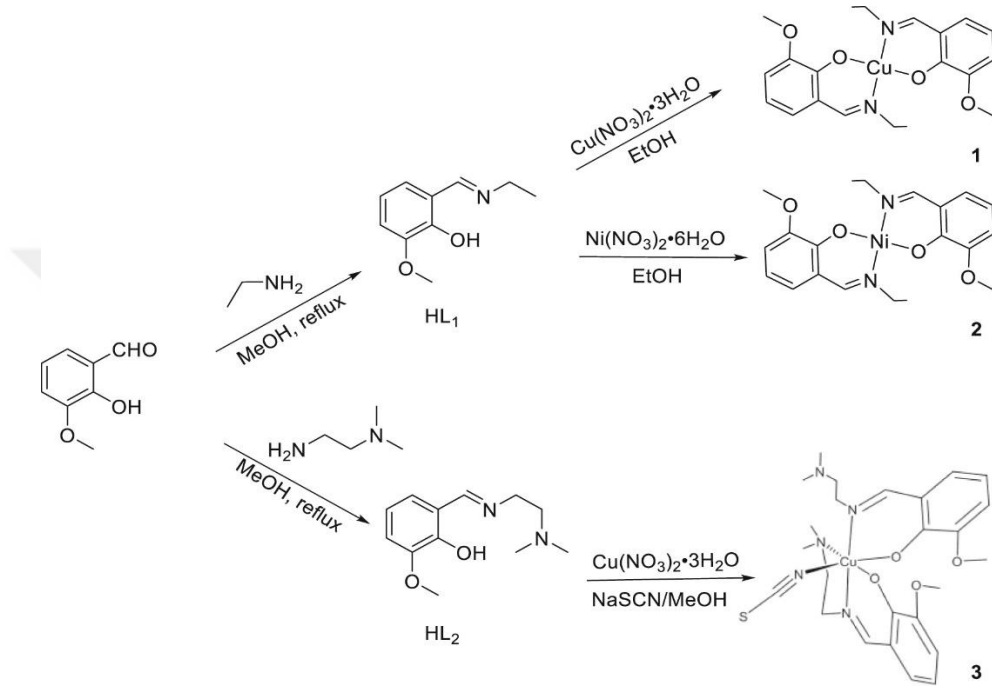
Şekil 3.9. [Cu (Met) (AA) (ClO<sub>4</sub>) (H<sub>2</sub>O)] kompleksinin önerilen yapısı [141].

## 3.2. Meme Kanseri Çalışmaları

### 3.2.1. Meme kanseri ve Schiff bazı metal kompleksleri

Di ve arkadaşları tarafından 2019 yılında iki Schiff baz ligandı 2-etilaminometil-6-metoksifenol (HL<sub>1</sub>) ve (E)-2-2-dimetilaminoetil-iminometil-6 metoksifenol (HL<sub>2</sub>) çift

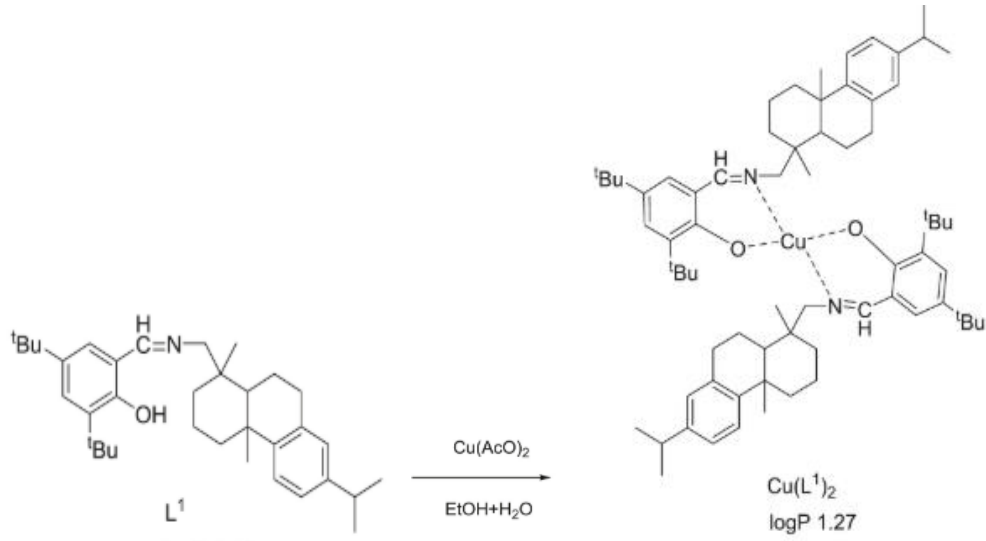
çekirdekli veya üç çekirdekli mod, tek aşamalı bir organik yoğuşma reaksiyonu yoluyla sentezlenen kompleksler Şekil 3.10.'da gösterilmiştir. Bu çalışmada, üç farklı yeni sentezlenen Ni (II) ve Cu (II) bazlı koordinasyon komplekslerinin ve nano formülasyonlarının meme kanseri hücrelerinde ROS üretiminin artmasını sağlayarak hücrelerde apoptotik ölüme neden olduğunu belirlemişlerdir [142].



Şekil 3.10. 2-etilaminometil-6-metoksifenol (HL<sub>1</sub>) ve (E) -2-2-dimetilaminoetiliminometil -6 metoksifenol (HL<sub>2</sub>) komplekslerinin sentez yolları [142].

Burak ve arkadaşları 2020 yılında, imin taşıyan ligandların nikel komplekslerinin anti-tümör aktivitesini belirlemek amacıyla iki asimetrik bidentat ve tridentat nikel kompleksinin sentezini gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca komplekslerin kanser hücrelerinde sitotoksik etki göstererek apoptotik ölüme yol açtığı bulunmuştur [62].

Fengyi ve arkadaşları tarafından 2018 yılında yaptıkları çalışmalar sonucunda Dehidroabietilamin Schiff-baz türevlerinden beş biyoaktif bileşik ve bir Cu(II) kompleksinin Hela (serviks), MCF-7 (meme), A549 (akciğer), HepG2 (karaciğer) ve HUVEC (normal hücre) üzerindeki potansiyel anti-kanser etkileri araştırılmıştır. Schiff baz bileşiklerinin ve Cu kompleksinin kanser hücrelerinde yüksek anti-tümör aktiviteye sahip olduğu ve normal hücrelerde düşük toksisitesi tespit edilmiştir. Şekil 3.11.'de sentezlenen Cu(II) kompleksinin önerilen yapısı gösterilmiştir [143].



Şekil 3.11. Cu (II) kompleksi sentezi [143].

Md Nur Alam ve Fazlul Huq tarafından sispaltinin keşif döneminden 2015'e kadar palladyum bileşiklerinin in vivo ve in vitro anti-kanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. Toplamda, 847 bileşik üç kategoride tartışılmıştır. Bunlar; güçlü paladyum bileşikleri, karşılaştırılabilir aktiviteye sahip paladyum bileşikleri ve önemsiz aktiviteye sahip paladyum bileşikleridir. Yapmış oldukları çalışmalar da daha fazla anti-tümör aktivitesi olan yeni paladyum bileşiklerinin tasarımına yardımcı olabilecek yapı aktivite ilişkileri önermişlerdir [144].

2005 yılın da Zahra ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada Orto-naftalinon tiyosemikarbazon ve semikarbazonun Ni (II) komplekslerinin MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde etkisini analiz etmişlerdir. Çalışmada, sentezlenen semikarbazon türevinin nikel (II) kompleksi hücre proliferasyonunun inhibisyonunda, tiyosemikarbazon nikel (II) kompleksinden daha aktif olduğu ortaya konmaktadır [128].

2012 yılında yapılan çalışmada ise, yeni 2-piridilmetiliden-2-hidroksi-5-kloro-fenilamin schiff bazı ve Cu (II) kompleksinin MCF-7 insan meme kanseri hücresi üzerindeki anti-kanser etkileri araştırılmıştır. Sitotoksisite ve apoptozu belirlemek için sırasıyla MTT testi ve Annexin V-FITC / PI analizi yapılmıştır. Çalışmaların sonucuna göre Cu (II) kompleksinin, MCF-7 hücresinde canlılığı önemli ölçüde azalttığını ve ve

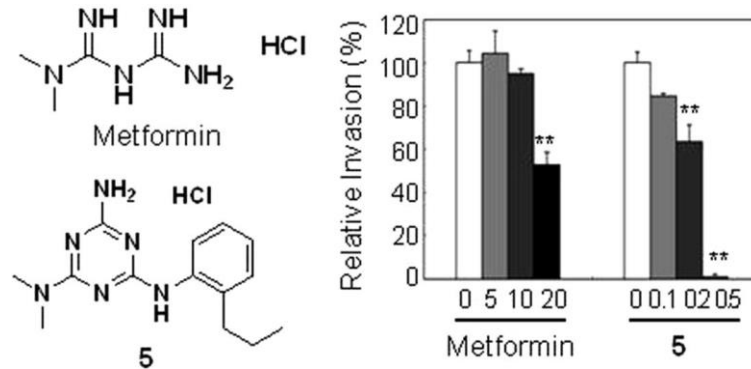
hücrede apoptotik ölüme neden olduğunu belirlenmiştir. Ayrıca, MCF-7 hücrelerinde komplekslerin önemli derecede DNA hasarına neden olduğu tespit edilmiştir [49].

### 3.2.2. Meme kanserinde metforminin anti-kanser çalışmaları

Chan-Hun ve arkadaşları 2019 yılında yapmış oldukları araştırmaya göre metforminin akciğer, kolon ve meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiğini ve metformin kullanan diyabetli kanser hastalarının, kullanmayanlara göre daha iyi sağkalım gösterdiğini belirtmişlerdir [145].

2018 yılında Inês ve arkadaşları metforminin anti-kanser mekanizmasına katkıda bulunmak için MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücre dizileri kullanılarak araştırmalar yapmışlardır. Yapılan çalışmalar ile MDA-MB-231 ve MCF-7 hücrelerinin, metformine uzun süreli (24 saat) maruz kalması sonucu hücre canlılığında azalmaya neden olduğu ortaya çıkmıştır [146].

Minsoo ve arkadaşları 2013 yılında, metforminden daha güçlü inhibitör etkilere sahip yeni metformin türevli bileşiklerin Hs578T ve MDA-MB-231 triple negatif meme kanseri hücreleri üzerindeki anti-kanser etkilerini yaptıkları in vitro ve in vivo çalışmalar ile ortaya koymuşlardır. Çalışmalar doğrultusunda her iki hücrede de metformine kıyasla metformin türevli bileşiklerin daha iyi sitotoksik etki göstererek hücre büyümesini inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (Şekil 3.12.) [147].



Şekil 3.12. Metformin türevi HL010183 bileşiği ile metforminin yapısı ve MTT testi analizi [147].

2017 yılında Gerke ve arkadaşları tarafından, MCF-7, T47D ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları üzerinde metformin ve everolimus kombinasyonunun anti-tümör etkileri üzerine in vitro çalışmalar yapılmıştır. Sonucunda metformin ve everolimus kombini uygulanan kanser hücrelerinde mTOR aktivitesini inhibe ettiği ve tümör hücresi çoğalması üzerinde önleyici etkiye sebep olduğu tespit edilmiştir [148].



## **BÖLÜM 4. MATERYAL VE METOD**

### **4.1. Materyal**

#### **4.1.1. Kullanılan araç ve gereçler**

Cam malzeme olarak; çeşitli ebatlarda reaksiyon balonları, huniler, erlenler, beherler, büret, pipetler, bagetler, mezür, saat camı, cam saklama kapları, cam tüpler, geri soğutucu, basınç borulu silindirik damlatma hunisi, nüçe erleni, 96 kuyucuklu hücre kültürü plakları, hücre kültürü için 25 cm<sup>2</sup>' lik flasklar. Kullanılan ekipmanlar; Spatül, pens, ısıtıcı (IKARCT Claccsic), elektronik terazi (OHAUS Pioneer), pH metre (PHM 210 STANDARD pH METER, analitical KCI. Ag meterLab), pH kağıtları, magnet, magnetik ve mekanik karıştırıcılar, etüv, vakum etüvü, gooch krozesi, santrifüj, peristaltik pompa (Ismatec), mekanik karıştırıcı (Heidolph MR Hei-Standart), Perkin Elmer UATR-TWO, Shimadzu IR Prestige-21 FR-IR spektrofotometreleri ile diamond ATR cihazı, <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR Spektrometreleri (Varian Mercury Plus 300 MHz Spektrometresi), Kütle spektrometresi maldi-tof Bruker micrOTOF (Germany) (Gebze Teknik Üniversitesi), Erime noktası tayini (Stauart SMP 10 ve Barnstad-Electrotermel 9200 cihazı), Döner buharlaştırıcı (BÜCHI Waterbath B-480), -80°C soğutmalı santrifüj (Nüve, Türkiye), Distile su cihazı (Nüve, Türkiye), Su banyosu (Stuart, Birleşik Krallık),

Vorteks (Hangzhou Allsheng, Çin), Otoklav (Nüve, Türkiye), Orbital çalkalayıcı (Hangzhou Allsheng, Çin), CO<sub>2</sub> inkübatör (Thermo Fisher Scientific, ABD), Countees hücre sayım cihazı (Invitrogen, ABD), Biyogüvenlik Kabini Sınıf II (Thermo Fisher Scientific, ABD ), İverted mikroskop (BestScope, Çin), EVOS Görüntüleme sistemi (Thermo Fisher Scientific, ABD).

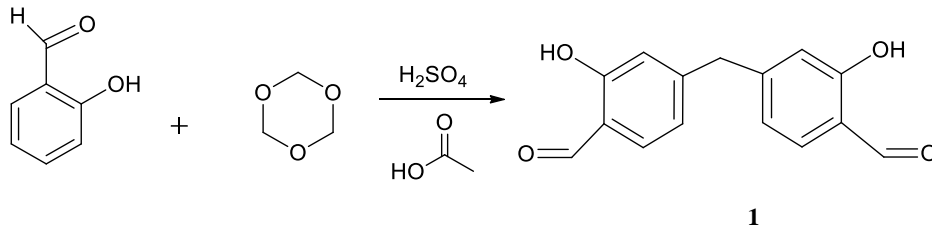
### 4.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

1, 1-Dimetil biguanid hidroklorür (metformin hidroklorür)(C<sub>4</sub>H<sub>12</sub>ClN<sub>5</sub>), 2-Hidroksi-3-metoksi benzaldehit (orto-vanilin) (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>), Salisilaldehit (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>), 1, 3, 5-Trioksan (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>), Glasiyal Asetik Asit (CH<sub>3</sub>COOH), Sülfirik Asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), Metanol (CH<sub>3</sub>OH), Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), Dimetilformamid (C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO), Dietyl eter (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O, tri etil amin (C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>), Sodyum Hidroksit (NaOH), Asetonitril (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N), 1, 4-Dioksan (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>), Dimetil Sülfoksit (DMSO), Bakır (II) klorür (CuCl<sub>2</sub>), Nikel diklorür hegzahidrat (NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O), Paladyum diklorür (PdCl<sub>2</sub>), Saf su, %49 NaOH, Penicillin-Streptomycin Solution, Fetal Bovine Serum (FBS), WST-1 kiti, Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F12), tripan blue [C<sub>34</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>14</sub>S<sub>4</sub>], fostat tampon solüsyonu (PBS).

## 4.2. Metod

### 4.2.1. Sentez çalışmaları

#### 4.2.1.1. 4, 4'-Metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) sentezi

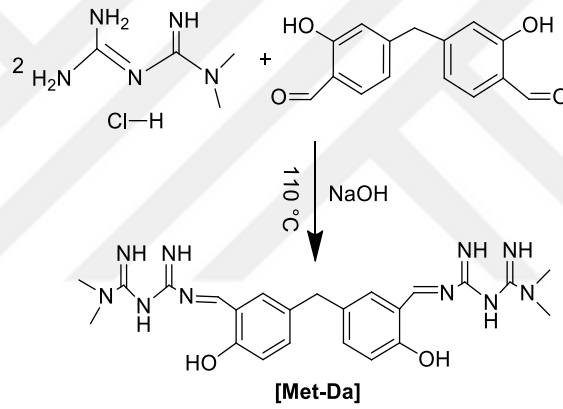


Şekil 4.1. 4, 4'-Metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) sentez yolu.

4, 4'-metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) literatürde verildiği gibi sentezlenmiştir [149-152]. 50 mL reaksiyon balonu içerisine 6 g (50 mmol) salisilaldehit ve 0,765 g (8,5 mmol) 1, 3, 5 trioksan alındı ve 10 ml glasiyal asetik asit solvanti içerisinde çözüldürüldü. Çözündürme işlemi argon gazı altında 80°C de ve 45 dakika devam etti. Süre sonunda 5 mL glasiyal asetik asit 1 mL sülfirik asit damla damla ilave edildi. Reaksiyon sıcaklığı 90°C ye ayarlanarak 24 saat devam ettirildi. Sonlandırılan reaksiyon bir behere alındı ve 100 mL buzlu safsu ilavesi yapıldı. Çözeltiye tekrar 100

ml saf su eklenerek iyice karıştırıldı ve krem bir renk elde edildi. Gooch krozesi ile vakum altında süzme yapıldı. 4, 4'-Metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) elde etmek için oluşan çökelti kısmı bir kaç kez metanol ile yıkandı. Beyaz renkte ki ürün 50°C de vakum etüvünde P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> üzerinden kurutuldu (Şekil 4.1.). Reaksiyon verimi; 7.56 g, %60.04. Erime noktası; 110°C. Renk; krem. Kapalı formül: C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>, 256.25 g.mol<sup>-1</sup>. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}$ (cm<sup>-1</sup>): 3146 (O-H), 3061 (=C-H), 2930-2913 (-C-H), 2851-2746 (HC=O), 1647 (C=O), 1620-1588 (C=C), 1479 (C-C), 1269-1145 (C-O), 918, 830, 810. 767, 738, 665.

#### 4.2.1.2. (E, E)-1, 1'-(metilenbis (2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazı ligandının sentezi



Şekil 4.2. [Met-Da] Schiff bazının sentez yolu.

250 mL'lik reaksiyon balonunun içerisinde metformin.HCl (1.241 g, 7.5 mmol) ve 80 mL dimetilformamid (DMF) karıştırıldı. Daha sonra içerisinde sodyum hidroksit (NaOH) (0.4 g, 10 mmol) katı olarak ilave edilip 110 °C de çözülmeye bırakıldı (Reaksiyon pH 12.02). Üzerine 40 mL DMF de çözülmüş 4, 4'-metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) (0.99 g, 3.8 mmol) çözeltisi ilave edilip reaksiyon inert ortam da (Ar) ve 115 °C de 24 saat devam ettirildi. Reaksiyon sonunda saf su (100 mL) ile çöktürüldü, vakum etüvünde 40°C de 24 saat kurumaya bırakıldı (Şekil 4.2.). Reaksiyon verimi; 1.22 g, %65, 9. Erime noktası; 250 °C. Renk; kahverengi. Kapalı formül: C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>10</sub>O<sub>2</sub>, 478.55 g.mol<sup>-1</sup> (hesaplanan). Elementel analiz, % içerik, bulunan(hesaplanan), %C; 58, 30(57, 73), %H; 5, 21(6, 32), %N; 29.17(29, 27).



FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$ : 3478 (O-H), 3327-3179 (N-H), 3051-3022 (=C-H), 2930-2874 (-C-H), 1660-1601 (C=N), 1558-1515 (C=C), 1469-1368 (C-C), 1250-1230 (Ar-O), 1095-997 (C-N), 820, 810, 662, 629.

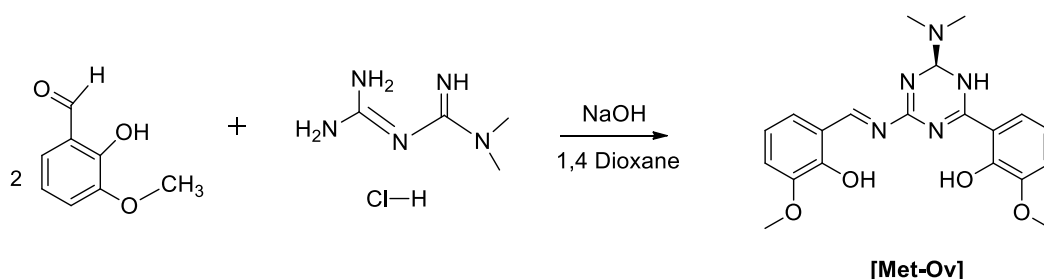
$^1\text{H-NMR}$  ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  (ppm): 13, 69 (s, 2H, ArO-H $\cdots$ N), 10, 20-9, 21 (m, NH $\cdots$ N, O), 8, 12-8, 04 (m, 2H, N=C-H), 7, 92 (s, 2H, Ar-H), 7, 31 (br, 2H, =N-H), 7, 20-7, 14 (d, 2H, Ar-H), 6, 78-6, 76 (d, 2H, Ar-H), 4, 38 (br, 2H, -N-H), 3, 75 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3, 08-3, 70 (s, 12H, CH<sub>3</sub>).

$^1\text{H-NMR}$  ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , D<sub>2</sub>O exchange)  $\delta$  (ppm): 8, 04 (s, 2H, N=C-H), 7, 89 (s, 2H, Ar-H), 7, 20-7, 17 (d, 2H, Ar-H), 6, 78-6, 75 (d, 2H, Ar-H), 3, 80 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3, 04 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 2, 85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2, 69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) (EK 4).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  (ppm): 170, 1; 165, 3; 164, 3; 163, 1; 160, 2; 134, 6; 131, 8; 129, 1; 118, 1; 118, 0; 36, 5; 31, 5.

MALDI-TOF: (m/z): [C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>10</sub>O<sub>2</sub><sup>3+</sup>](475.2 % 100).

#### 4.2.1.3. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden)amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazı ligandının sentezi



Şekil 4.3. [Met-Ov] Schiff bazının sentez yolu.

100 mL reaksiyon balonuna (2.75 g, 16.431 mmol) metformin hidroklorür ve 40 mL 1, 4-dioksan alınıp karıştırıldı. Tam çözünme sağlanabilmesi için (0.766 g, 19.2 mmol) sodyum hidroksit katısı ilave edilip 24 saat 102 °C sıcaklık ile reflux edildi. 20 mL 1,

4-dioksan ve (5 g, 32.862 mmol) orto-vanilin karıştırıldı. Çözünme sağlandığında damlatma hunisine alındı ve metformin üzerine inert şartlarda damla damla ilave edildi. Reaksiyon 102 °C de 20 saat reflux edildi. Reaksiyon sonunda solvent döner buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırıldı. Kalan kısım önce su (150 mL) ile disper edildi ve tuz içeriğinden kurtarıldı. Santrifüjlenerek geri kazanılan çökelek sonra dietil eter (100 mL) ile dispers edilerek eter fazına alındı. Eter çözeltisi kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve turuncu rekli yağimsı ham ürün elde edildi. Ham ürün aseton / dietil eter (1/2) ile kristallendirildi (Şekil 4.3.). Reaksiyon verimi; 9.18 g, %.70, 3. Erime noktası; 210°C. Renk; turuncu. Kapalı formül:  $C_{20}H_{28}N_5O_4$ , 397.43 g.mol<sup>-1</sup> (hesaplanan). Elementel analiz, % içerik, bulunan(hesaplanan), %C; 63, 07(60, 44), %H; 6, 13(5, 83), %N; 15, 05(17, 62).

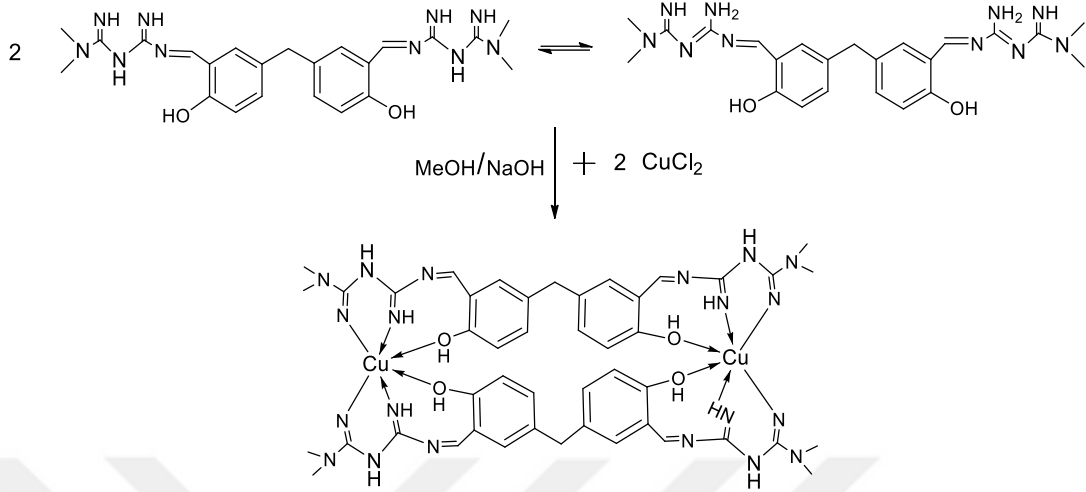
FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}$ (cm<sup>-1</sup>): 3468 (O-H), 3343-3212 (N-H), 3084-3051 (=C-H), 2936-2841 (-C-H), 1716 (C=O), 1643 (C=N), 1561-1522 (C=C) 1476-1387 (C-C), 1250-1200 (Ar-O), 1118 (C-N), 1069 (C-O-C), 951, 869, 718.

<sup>1</sup>H-NMR ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO)  $\delta$  (ppm): 10, 26 (s, 1H, N=C-H), 7, 84-7, 81 (s, 1H, ArO-H $\cdots$ N), 7, 24-7, 21 (m, 1H, ArH), 7, 05-7, 01 (m, 1H, Ar H), 6, 92-6, 86 (m, 2H, Ar-H), 6, 81-6, 74 (m, 2H, Ar-H), 6, 06 (s, 1H, ArO-H), 5, 99-5, 77 (s, 1H, =N-H), 3, 83-3, 82 (m, 1H, N-C-H), 3, 75-3, 72 (m, 6H, O-CH<sub>3</sub>), 3, 09-2, 95(m, 6H, N-CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO)  $\delta$  (ppm): 192, 7; 165, 2; 164, 4; 159, 8; 152, 6; 152, 5; 151, 5; 149, 2; 123, 16; 120, 9; 120, 8; 119, 8; 118, 4; 118, 2; 117, 9; 115, 9; 56, 7; 56, 5; 36, 6; 36, 3.

MALDI-TOF: (m/z): [C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>] (397.18 % 100).

#### 4.2.1.4. [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] Kompleksinin sentezi



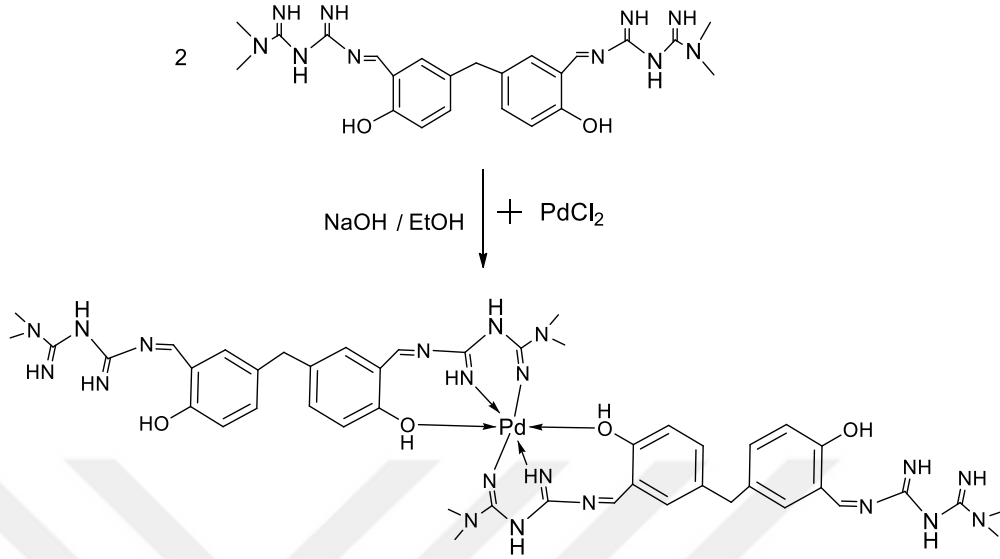
Şekil 4.4. [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinin sentez yolu.

50 mL'lik reaksiyon balonun da [Met-Da] Schiff bazı (0.478 g, 1 mmol) ve 10 mL metanol (MeOH) 1 saat boyunca karıştırıldı (Reaksiyon pH 7.70). Bakır (II) klorür (CuCl<sub>2</sub>) (0.134 g, 1 mmol) 5 ml metanol ile karıştırıldı ve damla damla ligand içerisine ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı (Reaksiyon pH 4.45). % 3'lük sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisinden 300 µl ilave edip pH 6.50 olarak ayarlandı. Reaksiyon inert ortamda 80 °C de 8 saat reflux edildi. Reaksiyon sonunda çökme meydana geldi ve ürün santrifüjlenerek izole edildi. Çöken kısım saf su ile yıkandı ve tekrar santrifüjlenerek temizlendi ve önce desikatörde takiben 50°C de vakum etüvünde P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> üzerinden 24 saat kurutuldu (Şekil 4.4.). Reaksiyon verimi; 0.56 g, %51, 9. Erime noktası; ≥300°C. Renk; kahverengi. Kapalı formül: C<sub>46</sub>H<sub>55</sub>Cu<sub>2</sub>N<sub>20</sub>O<sub>4</sub>, 1080.16 g.mol<sup>-1</sup> (hesaplanan). Elementel analiz, % içerik, bulunan(hesaplanan), %C; 51, 91(52, 35), %H; 5, 28(5, 74), %N; 19, 27(24, 92). ICP-OES, %Cu bulunan(hesaplanan); %11, 05(12, 12).

FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}$ (cm<sup>-1</sup>): 3475 (O-H), 3330-3274 (N-H), 3051-3022 (=C-H), 2923 (-C-H), 1611-1561 (C=N), 1506 (C=C), 1430-1407 (C-C), 1253 (Ar-O), 1138-993 (C-N), 813.

MALDI-TOF: (m/z): [C<sub>46</sub>H<sub>56</sub>Cu<sub>2</sub>N<sub>20</sub>O<sub>4</sub>+2Na-2H] (1124.3 %100).

#### 4.2.1.5. [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] Kompleksinin sentezi

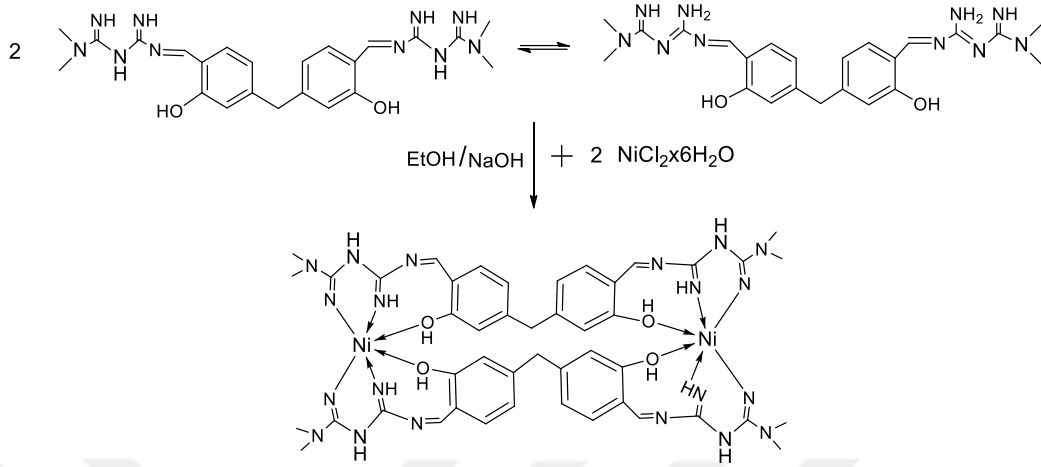


Şekil 4.5. [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinin sentez yolu.

25 mL'lik reaksiyon balonu içerisinde 10 mL etanol ve (0.124 g, 0.259 mmol) [Met-Da] ligandı çözüne kadar kaynama sıcaklığında reflux edildi. ( Reaksiyon pH 7.74). 6 ml etanol de (0.023 g, 0.129 mmol) PdCl<sub>2</sub> metali karıştırıldı. Tam bir çözünmenin sağlanabilmesi için (0.021 g, 0.36 mmol) NaCl<sub>2</sub> katısı ilave edilip ve karıştırılmaya devam edildi. Çözünme işleminin ardından PdCl<sub>2</sub> çözeltisi [Met-Da] ligandı içerisinde damla damla ilave edildi (Reaksiyon pH 5.45). 30 µl % 49 'luk NaOH çözeltisi ile pH 6.50 olarak ayarlandı. Reaksiyon 80°C'de inert şartlarda 8 saat reflux edildi. Reaksiyon sonunda oluşan çöken kısım santrifüj ile ayrılıp saf su ile yıkanarak izole edildi. Katı kısım santrifüjlenerek 50°C de vakum etüvünde P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> üzerinden kurutuldu (Şekil 4.5.). Reaksiyon verimi; 0.18 g, %67, 9. Erime noktası; ≥300°C. Renk; kahverengi. Kapalı formül: C<sub>46</sub>H<sub>58</sub>N<sub>20</sub>O<sub>4</sub>Pd, 1061.50 g.mol<sup>-1</sup> (hesaplanan). Elementel analiz, % içerik, bulunan(hesaplanan), %C; 52, 65(52, 05), %H; 5, 08(5, 51), %N; 26, 16(26, 39). ICP-OES, %Pd bulunan(hesaplanan); %11, 99(%10, 03).

FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}$ (cm<sup>-1</sup>): 3475 (O-H), 3314 (N-H), 3048-3018 (=C-H), 2927 (-C-H), 1615-1561 (C=N), 1506 (C=C), 1443-1371 (C-C), 1250 (Ar-O), 1138-994 (C-N), 806. MALDİ-TOF: (m/z): [C<sub>46</sub>H<sub>56</sub>N<sub>20</sub>O<sub>4</sub> +Pd<sup>+</sup>+3Na] (1127.35 % 100).

#### 4.2.1.6. [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] Kompleksinin sentezi



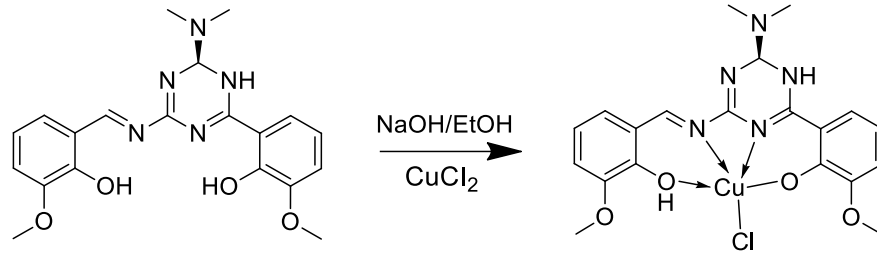
Şekil 4.6. [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinin sentez yolu.

50 mL'lik reaksiyon balonu içerisinde (0.235 g, 0.491 mmol) [Met-Da] ligandı ve 16 mL etanol (EtOH) çözünene kadar kaynama sıcaklığında reflux edildi ( Reaksiyon pH 7.25). 10 mL etanol de (0.117 g, 0.491 mmol) nikel diklorür hegzahidrat (NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) karıştırdı. Çözünme işleminin ardından NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O çözeltisi [Met-Da] ligandı üzerine damla damla ilave edildi (Reaksiyon pH 5.60). 20 µl % 49 'luk NaOH çözeltisi ile pH 6.65 olarak ayarlandı ve reaksiyon 80 °C'de inert (Ar) şartlarda 8 saat reflux edildi. Süre sonunda ortamda ki solvent döner buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırılarak kalan kısım saf su ile yeniden çöktürülüp santrifüj yapıldı. Katı kısım dekantasyonla kazanıldı, su ile dispers edilip tekrar santrifüjlenerek temizlendi ve önce desikatörde takiben 40°C de vakum etüvünde P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> üzerinden 24 saat kurutuldu (Şekil 4.6.). Reaksiyon verimi; 0.28 g, %53.3. Erime noktası; ≥300°C. Renk; kahverengi. Kapalı formül: C<sub>46</sub>H<sub>56</sub>N<sub>20</sub>Ni<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 1070.46 g.mol<sup>-1</sup> (hesaplanan). Elementel analiz, % içerik, bulunan(hesaplanan), %C; 47, 47(51, 61), %H; 4, 98(5, 27), %N; 26, 74(26, 17). ICP-OES, %Ni bulunan(hesaplanan); % 10, 26(% 10, 97).

FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}$ (cm<sup>-1</sup>): 3478 (O-H), 3324 (N-H), 3058-3010 (=C-H), 2923 (-C-H), 1597-1568 (C=N), 1522 (C=C), 1473-1371 (C-C), 1253 (Ar-O), 1138-990 (C-N), 823, 629.

MALDİ-TOF: (m/z): [C<sub>46</sub>H<sub>56</sub>N<sub>20</sub>O<sub>4</sub>+2Ni] (1070.3 %81.6).

#### 4.2.1.7. [Cu(Met-Ov)Cl] Kompleksinin sentezi



Şekil 4.7. [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksinin sentez yolu.

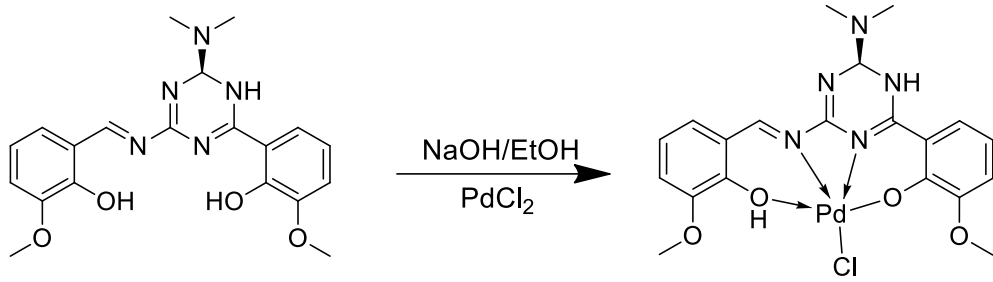
50 mL'lik reaksiyon balonu içerisinde (0.174 g, 0.437 mmol) [Met-Ov] ligandı ve 15 mL etanol (EtOH) çözünene kadar kaynama sıcaklığında reflux edildi ( Reaksiyon pH 6.78). 10 mL etanol de (0.059 g, 0.437 mmol) bakır (II) klorür ( $\text{CuCl}_2$ ) karıştırıldı ve çözünme işleminin ardından [Met-Ov] ligandı üzerine damla damla ilave edildi (Reaksiyon pH 2.02). 50  $\mu\text{l}$  % 49 'luk NaOH çözeltisi ile pH 6.00 olarak ayarlandı. Reaksiyon  $80^\circ\text{C}$ 'de inert şartlarda 7 saat reflux edildi. Süre sonunda ortamda ki solvent döner buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırılarak kalan kısım saf su ile yıkanıp santrifüj yapıldı. Çöken kısım  $40^\circ\text{C}$  de vakum etüvünde  $\text{P}_2\text{O}_5$  üzerinden 24 saat kurutuldu (Şekil 4.7.). Reaksiyon verimi; 0.17 g, % 78, 7. Erime noktası;  $\geq 300^\circ\text{C}$ . Renk; kıvı-kahve. Kapalı formül:  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{ClCuN}_5\text{O}_4$ ,  $495.42 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  (hesaplanan). Elementel analiz, % içerik, bulunan(hesaplanan), %C; 47, 87(48, 49), %H; 5, 31(4, 48), %N; 14, 57(14, 14).

ICP-OES, %Cu bulunan(hesaplanan); % 12, 25(12, 83).

FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$ : 3406-3327 (O-H), 3196 (N-H), 3009 (=C-H), 2930-2835 (-C-H), 1597-1568 (C=N), 1545-1512 (C=C), 1437-1335 (C-C), 1213 (Ar-O), 1151 (C-N), 1072 (C-O-C), 967.

MALDİ-TOF: (m/z): $[\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{ClN}_5\text{O}_4+\text{Cu}+\text{Na}]$  (517.06 % 100).

#### 4.2.1.8. [Pd(Met-Ov)Cl] Kompleksinin sentezi



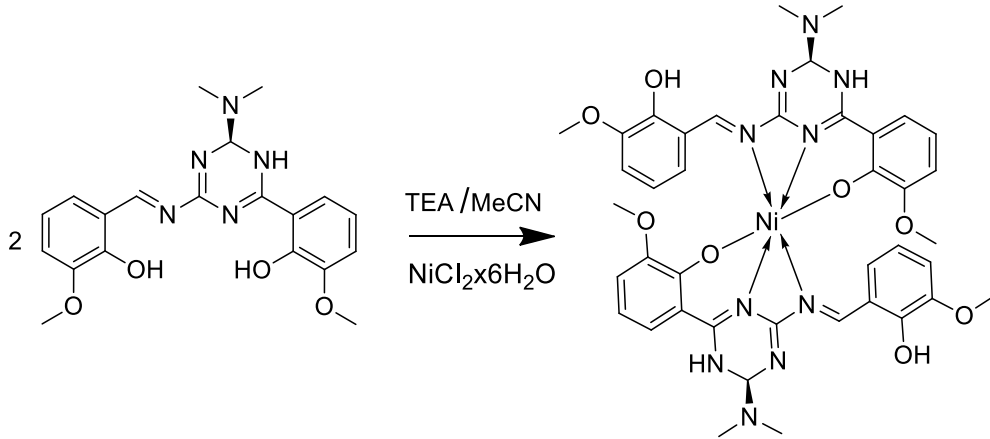
Şekil 4.8. [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksinin sentez yolu.

[Met-Ov] Schiff bazı (0.154 g, 0.387 mmol) tartıldı ve 10 mL etanol (EtOH) ile 50 mL'lik reaksiyon balonuna alındı. 40 dakika kaynama sıcaklığında reflux edildi (Reaksiyon pH 6.73). 6 ml etanol de (0.069 g, 0.387 mmol) ), palladyum diklorür (PdCl<sub>2</sub>) metali karıştırıldı. Tam bir çözünmenin sağlanabilmesi için (0.045 g, 0.774 mmol) NaCl katısı ilave edilip karıştırılmaya devam edildi. Ardından PdCl<sub>2</sub> çözeltisi [Met-Ov] ligandı üzerine damla damla ilave edildi (Reaksiyon pH 3.05). 20 µl % 49 'luk NaOH çözeltisi ile pH 6.50 olarak ayarlanıp reaksiyon 80 °C'de inert (Ar) şartlarda 15 saat reflux edildi. Reaksiyon sonunda oluşan çöken kısım santrifüj ile ayrılıp, su ile dispers edilip tekrar santrifüjlenerek temizlendi. Elde edile katı kısım 50 °C de vakum etüvünde P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> üzerinden kurutuldu (Şekil 4.8.). Reaksiyon verimi; 0.15 g, % 72, 11. Erime noktası; ≥300°C. Renk; kıvıll-kahve. Kapalı formül: C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>Pd, 538.29 g.mol<sup>-1</sup> (hesaplanan). Elementel analiz, % içerik, bulunan(hesaplanan), %C; 45, 01(44, 63), %H; 3, 62(4, 12), %N; 12, 13(13, 01). ICP-OES, %Pd bulunan(hesaplanan); % 19, 72(% 19, 77).

FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}$ (cm<sup>-1</sup>): 3415-3330 (O-H), 3202 (N-H), 3009 (=C-H), 2930-2838 (-C-H), 1588 (C=N), 1506 (C=C), 1460-1351 (C-C), 1269-1246-1223 (Ar-O), 1184 (C-N), 1079 (C-O-C), 793, 738.

MALDI-TOF: (m/z): [C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>+Pd+Na] (560.0 % 89.0).

#### 4.2.1.9. [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] Kompleksinin sentezi



Şekil 4.9. [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksinin sentez yolu.

50 mL'lik reaksiyon balonu içerisinde (0.153 g, 0.385 mmol) [Met-Ov] ligandı ve 15 mL asetonitril çözüne kadar reflux edildi (Reaksiyon pH 8.60). 10 mL asetonitril de (0.046 g, 0.192 mmol) nikel diklorür hegzahidrat (NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) karıştırılıp çözünme işleminin ardından [Met-Ov] ligandı üzerine damla damla ilave edildi (Reaksiyon pH 4.54). Metal ilavesinin ardından reaksiyon pH'ı tri etil amin (TEA) ile 8.40 olarak ayarlandı. 90 °C'de inert (Ar) şartlarda 18 saat reflux edildi. Reaksiyon sonunda santrifüj ile çöken kısım ayrılıp 50 °C de vakum etüvünde P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> üzerinden kurutuldu (Şekil 4.9.). Reaksiyon verimi; 0.13 g, %39, 7. Erime noktası; ≥300°C. Renk; sarı. Kapalı formül: C<sub>40</sub>H<sub>44</sub>N<sub>10</sub>NiO<sub>8</sub>, 851.53 g.mol<sup>-1</sup> (hesaplanan). Elementel analiz, % içerik, bulunan(hesaplanan), %C; 56, 04(56, 42), %H; 4, 90 (5, 21), %N; 16, 28(16, 45).

ICP-OES, %Ni bulunan(hesaplanan); %6, 80(%6, 89).

FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR)  $\bar{\nu}$ (cm<sup>-1</sup>): 3317 (O-H), 3201 (N-H), 3030 (=C-H), 2989-2841 (-C-H), 1627-1607 (C=N), 1551 (C=C), 1469-1361 (C-C), 1273-1210 (Ar-O), 1168 (C-N), 1072 (C-O-C), 954, 780, 734.

MALDI-TOF: (m/z): [C<sub>40</sub>H<sub>42</sub>N<sub>10</sub>O<sub>8</sub><sup>2+</sup>+Ni+3H<sub>2</sub>O+C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>] (1127.34 %100).



## 4.2.2. Hücre kültürü

### 4.2.2.1. Hücre hatlarının üretilmesi

Çalışmamızda iki hücre hattı kullanılmıştır. Bunlar, MCF-7 insan meme kanseri ve kontrol hücre hattı olarak insan umbilikal ven endotel hücreleri (HUVEC) hatlarıdır. MCF-7 ve HUVEC hücre hatları Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu (ATCC)'dan ticari olarak temin edilmiştir. -80 °C'de saklanan hücreler 37°C su banyosunda çözüldükten sonra 25 cm<sup>2</sup>lik filtrelili hücre kültür flasklarına aktarıldı. Her iki hücre hattının Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM, Sigma-Aldrich, ABD) besiyerine %10 Fetal Sığır Serum (FBS, Gibco, Invitrogen, ABD) ve %1 Penisilin-Streptomisin (Sigma-Aldrich St ABD) eklenerek 37°C'de, %95 nem ve %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatör içerisinde kültüre edilmesi sağlanmıştır.

### 4.2.2.2. Hücrelerin pasajlanması

MCF-7 ve HUVEC hücrelerinin üretildiği flasklarda %80-90 hücre yoğunluğuna ulaşıldığında, flask içerisindeki besiyerleri pipet kullanılarak uzaklaştırıldı. Daha sonra hücrelerin yüzeylerinin hafifçe steril fostat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkanması sağlandı. Hücrelerin yapıştıkları flask yüzeyinden kaldırılabilmesi için, her bir flaskın boyutuna uygun olarak 1X Tripsin/EDTA (%0.25 trypsin/ 1mM EDTA) solüsyonu konularak 37 °C sıcaklıkta, % 5 CO<sub>2</sub> ve nem içeren inkübatörde 3-5 dakika bekletildi. Tripsinin hücrelere zarar vermesini engellemek amacıyla süspansiyon haldeki hücrelere tripsin hacminin 2 katı kadar besiyeri eklenerek hücreler 15 ml hacimli falkon tüp içerisine alındı. Sonrasında falkon tüpler 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant kısım atıldı. Hücre pelletleri üzerine taze besiyeri eklenerek hücreler besiyeri ile süspanse edildi ve hücre miktarına göre flasklara bölündü. Pasajlanan hücreler 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> ve %95 nem içeren inkübatörde kültüre edildi.

#### 4.2.2.3. Hücrelerin stoklanması

Tripsin-EDTA ile yüzeyden kaldırılan hücreler 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra hücre pelletleri üzerine 1 ml taze besiyeri eklenerek hücreler sayıldı. Her bir kriyo tüp (vial) için 900 µL hücre besiyeri konulup, 30 dk kuru buz üzerinde bekletildikten sonra her bir kriyo tüpe 100 µL DMSO eklenerek kriyo tüpler -20 °C'ye kaldırıldı. 3-4 saat sonra vialler -80°C'lik derin dondurucuya yerleştirilerek, stoklama işlemi tamamlandı.

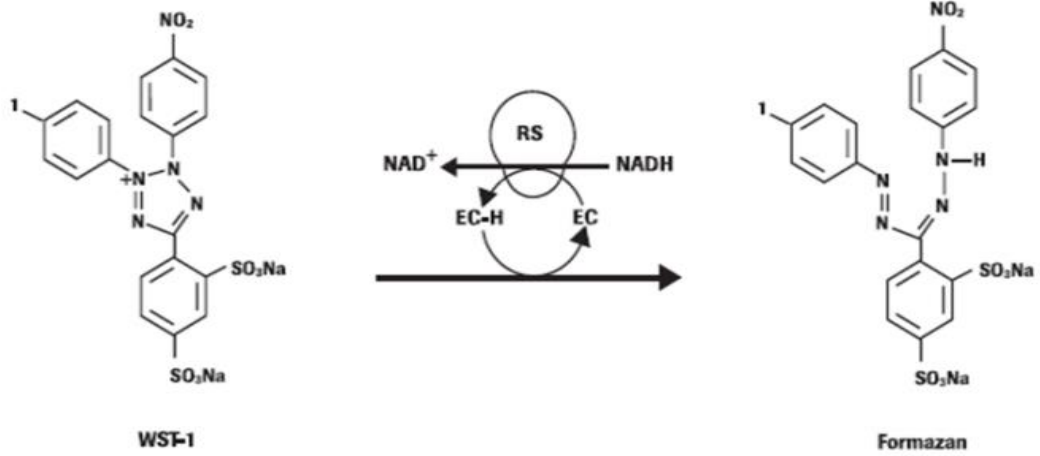
#### 4.2.2.4. Deney gruplarının oluşturulması

[Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazları ile Cu, Pd ve Ni komplekslerinin her birinden 0.1 gr tartılarak 1 mL DMSO solventinde çözülerek hazırlanmıştır. Her bir kompleksin ve ligandlarının MCF-7 ve HUVEC hücrelerinde 1-10 µM konsantrasyon aralığında sitotoksik etkisi analiz edilmiştir.

#### 4.2.3. Hücre canlılığının ve morfolojik değişimlerin belirlenmesi

##### 4.2.3.1. WST-1 analizi

WST-1 analizi; hücrelerde sitotoksik etki, proliferasyon ve canlılığın ölçülmesinde kullanılan renksiz tetrazolyum tuzlarının elektron alarak renkli formazana indirgenmesi esasına dayanan kolorimetrik bir analizdir [153, 154]. Canlı hücrelerdeki redüktaz enzimi ile tetrazolyum tuzu renkli formazana indirgenir ve böylece canlı hücreler boyanır (Şekil 4.10.). Ölü hücreler ise tetrazolyum bileşiklerini indirgeme yeteneklerini kaybeder ve renk değişimine neden olmazlar. Bu nedenle tetrazolyum-formazan sistemleri canlılık belirteci olarak sınıflandırılır [155].



Şekil 4.10. Tetrazolyum tuzunun formazan kristaline dönüşüm reaksiyonu [156].

MCF-7 ve HUVEC hücreleri her bir kuyuya  $2 \times 10^4$  hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu kültür plakalarına ekildikten sonra  $37^\circ\text{C}$ , % 5  $\text{CO}_2$  içeren inkübatörde 1 gün inkübe edilmiştir. Sonrasında, 1, 2.5, 5 ve 10  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda [Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazları ve Cu(II), Ni(II), Pd(II) kompleksleri her bir kuyuya eklenerek 24 ve 48 saat boyunca inkübatörde inkübe edilmiştir. Belirlenen inkübasyon sürelerinin sonunda her bir kuyuya 10  $\mu\text{L}$  WST-1 reaktifi eklenerek 96 kuyucuklu kültür plakaları  $37^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika boyunca karanlıkta inkübe edilmiştir. Ölçümler 460- 520 nm referans dalga boyu aralığında Elisa Reader cihazında gerçekleştirilmiştir. Ligand ve kompleksler ile muamele edilmeyen kontrol hücrelerinin canlılığı %100 canlı kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları % olarak ifade edilmiştir. Her test 3'er defa olmak üzere tekrar edildi.

#### 4.2.3.2. Akridin oranj boyama

MCF-7 ve HUVEC hücre hatlarında [Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazları ve metal komplekslerinin neden olduğu apoptozun morfolojik değişimlerinin görüntülenebilmesi için Akridin oranj boyama yöntemi kullanılmıştır. Akridin oranj, DNA'ya bağlandığında yeşil renk floresans yayan nükleik aside özgü florokrom bir boyadır [157]. Yöntemde, 6 kuyucuklu plaka içerisinde her bir kuyuya  $5 \times 10^5$  olacak şekilde hücreler ekildikten 24 saat sonra, hücrelere en etkin doz olarak belirlenen 5  $\mu\text{M}$  [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandları ve bunların Cu(II), Ni(II), Pd(II) kompleksleri eklenerek 48 saat boyunca  $37^\circ\text{C}$ 'de % 95 nem ve % 5  $\text{CO}_2$  ortamında inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi dolduktan sonra hücreler oda sıcaklığında 15 dakika boyunca %4 paraformaldehit ile fikse edilerek, fiksasyon sonrasında karanlık koşullarda 30 dakika boyunca akridin oranj (AO)(100 mg/ml) ile boyanmıştır. Her bir hücre steril fostat tampon solüsyonu (PBS) ile üç kez yıkanmıştır. Görüntüler ise EVOS FL Hücre görüntüleme sistemi ile analiz edilmiştir.

#### **4.2.3.3. İstatistiksel analizler**

İstatistiksel analiz çalışmaları için GraphPad Prism 6.0 programından kullanılmıştır. Canlılık analizi sonucunda elde edilen verilerde gruplar arası farklılıklar One Way ANOVA (Tukey) analizi ile değerlendirildi. Sonuçlar arasından  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BÖLÜM 5. ARAŞTIRMA BULGULARI

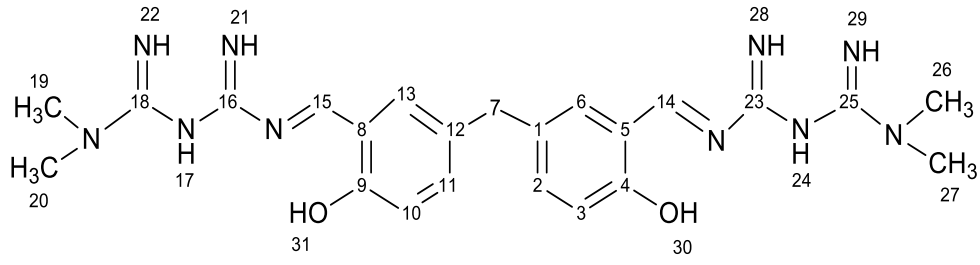
### 5.1. Ligandların Sentezi ve Karakterizasyonu

#### 5.1.1. (E, E)-1, 1'-(metilenbis(2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazının karakterizasyonu

(E, E)-1, 1'-(metilenbis(2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazı ligandı, bu çalışmada ilk kez sentezlenmiş olup yapısı FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve kütle spektrometre teknikleri ile mikro elementel analiz verilerinden yararlanılarak aydınlatılmıştır. Ligandın hazırlanmasında ilk aşama olarak 4, 4'-metilen-bis(2-hidroksibenzaldehit) (**1**) sentezlenmiştir. Bunun için, salisilaldehit ve 1, 3, 5-trioksan literatürde verildiği gibi reaksiyona sokulmuştur [149-152]. (**1**) bileşiğinin spektroskopik verileri literatürle uyum içerisindedir ve bu hali ile [Met-Da] Schiff bazının sentezinde kullanılmıştır (Ek1). İlk olarak 1, 1-dimetilbiguanid hidroklorür uygun bir çözücü içerisinde sodyum hidroksit (NaOH) ile reaksiyona sokularak imin oluşumunda kullanılacak amin grubu serbest hale getirilmiştir. Bunun için dimetilformamid (DMF) ortamında çözünme sağlandığında 4, 4'-metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) ilavesi yapılmıştır, reaksiyon uygun zaman aralığında devam ettirildiğinde [Met-Da] Schiff bazı elde edilir. Daha sonra ise reaksiyon ortamına saf su ilavesi yapılarak ürünün çökmesi sağlanmıştır. [Met-Da] ligandı, reaksiyon ortamından yüksek verimle yeteri saflıkta elde edilmiş ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. [Met-Da] ligandının FT-IR spektrumunda O-H gerilme piki 3478 cm<sup>-1</sup> de tespit edilmiştir. Metformin grubuna ait karakteristik N-H gerilme pikleri 3327 ve 3179 cm<sup>-1</sup> de, 3051-3022 cm<sup>-1</sup> de ise =C-H gerilme pikleri tespit edilmiştir. Tersiyer amin birimine bağlı metil grubuna ait alifatik -C-H gerilme pikleri 2930-2874 cm<sup>-1</sup> de ortaya çıkmıştır. 1660 -1601 cm<sup>-1</sup> de gelen güçlü spektrum bantları ise C=N gerilmesi sonucu oluşur ve bu ise hedeflenen çoklu azometin grubuna

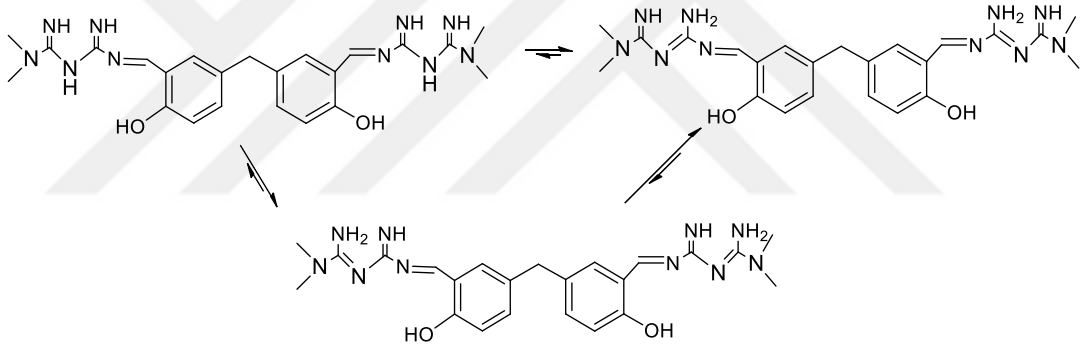
sahip Schiff bazının oluştuğunu gösteren ilk kanıt olarak not edilmiştir. Benzen halkasından gelen C=C gerilme titreşimi 1558-1515  $\text{cm}^{-1}$  aralığında, C-C gerilmesinden kaynaklı pikler ise 1469-1368  $\text{cm}^{-1}$  de iken, Ar-O gerilmesi 1250-1230  $\text{cm}^{-1}$  aralığında tespit edilmiştir. C-N gerilme titreşim pikleri 1095-997  $\text{cm}^{-1}$  de gözlemlenmiştir. Burada moleküle ait özellikle birden çok C=N, Ar-O ve C-N bandlarının gözlenmiş olması molekül içinde tautomerik bir denge olduğunu da ortaya koymaktadır (Ek2).

Bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spekturumu DMSO- $d_6$  içerisinde alınmıştır. Hetero atomlara bağlı protonlar  $\text{D}_2\text{O}$  yer değiştirmesi ile dötorolanmış ve  $^1\text{H-NMR}$  spektrumlarında kaybolan piklerin yerleri hetero atomlara bağlı oynak protonlar olarak tespit edilmiştir (Ek4). Moleküldeki fenolik protona ait kimyasal kayma değeri 13.69 ppm'de 2H değerinde singlet olarak tespit edilmiştir (H30, H31) (Şekil 5.1.). Metformin (dimetil biguanidin) birimine ait azometin grubuna bağlı C=NH protonlarından biri [-C=NH] $\leftrightarrow$ [=C-NH<sub>2</sub>] tautomerleşmesi sonucu 10.20-9.21 ppm'de 2H değerinde (H21, H28), diğeri ise 7.31 ppm'de yine 2H değerinde tespit edilmiştir (H22, H29) (Şekil 5.2.). Ayrıca, 8.12 ve 8.04 ppm'de 2H değerinde Schiff bazına ait azometin grubunun N=CH pikleri gözlenmiştir (H14, H15). Benzen halkasından kaynaklanan aromatik protonların kimyasal kayma değerleri sırasıyla 7.92 ppm'de 2H değerinde singlet (H6, H13), 7.20-7.14 ppm'de 2H değerinde dublet (H2, H11) ve 6.78-6.76 ppm'de 2H integral değerinde dublet olarak gözlenmiştir (H3, H10). Metformin grubuna ait -NH-köprü protonları 4.38 ppm'de 2H değerinde iken (H17-H24), aromatik halkalar arasındaki -CH<sub>2</sub>- köprü protonları ise 3.75 ppm'de 2H değerinde singlet olarak tespit edilmiştir (H7). Metformin grubunda ki azot atomuna bağlı metil grupları ise 3.70-3.08 ppm'de 12H integral değerinde geniş singlet pik olarak tespit edilmiştir (H19, H20, H26, H27) (Şekil 5.1.) (Ek3).



Şekil 5.1. (E, E)-1, 1'-(metilenbis(2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazının açık yapısı.

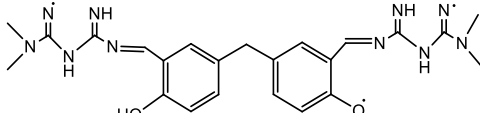
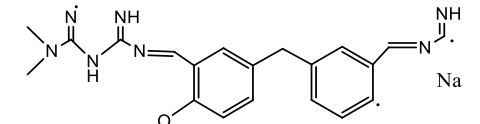
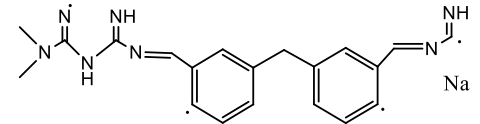
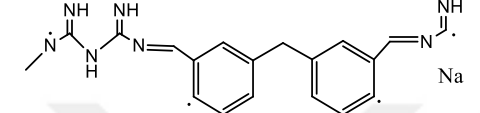
Bileşiğe ait  $^1\text{H-NMR}$  ve FT-IR sonuçları değerlendirildiğinde molekül içinde Şekil 5.2.'de gösterildiği gibi bir tautomerinin ve kondenzasyonun olduğu sonucuna varılmıştır. Özellikle dötörölama aşamasından sonra hetero atoma bağlı protonlara ait karmaşık piklerin kaybolması ve özellikle  $^1\text{H-NMR}$  spektrumunun oldukça sadeleşmesi bu öneriyi destekler niteliktedir (Ek4).



Şekil 5.2. (E, E)-1, 1'-(metilenbis(2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] tautomerleşme yapısı.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrumunda Schiff bazına ait azometin grubuna bağlı C14 ve C15 karbon atomları 170.16 ppm'de, azot atomuna bağlı C16 ve C23 karbonları ise 165.26 ppm'de en düşük alanda tespit edilmiştir. -OH grubunun bağlı olduğu C4 ve C9 karbon atomları 164.29 ppm'de, metformin grubuna ait olan C18 karbonu 163.09 ppm'de, C25 karbonu ise 160.22 ppm'de gözlenmiştir. Aromatik benzen halkasına ait karbonların kimyasal kayma değeri 134.54-117.98 ppm aralığında 5 pik olarak tespit edilmiştir (C1-C3, C5, C6, C8, C10-C13). Azot atomuna bağlı metil gruplarının C19, C20 ve C26, C27 karbonlarının kimyasal kayma değeri 36.50 ppm'de gözlenmiştir. Aromatik halkaya bağlı C7 ise 31.45 ppm'de tespit edilmiştir (Ek5).

Tablo 5.1. [Met-Da] Schiff bazı ligandının kütle spektrum yorumu.

Molekül Şekli	Hesaplanan(m/z):	Gözlenen(m/z):
	475.23 (100.0%), 476.24 (25.3%)	475.10
	396.15 (100.0%), 397.16 (21.9%)	396.88
	380.16 (100.0%), 381.16 (24.2%)	380.86
	366.14 (100.0%), 367.15 (20.7%), 368.15 (2.0%)	368.73

[Met-Da] ( $C_{23}H_{30}N_{10}O_2$ ,  $478.55 \text{ g.mol}^{-1}$ ) ligandının moleküler yapısında olup MALDI-TOF olarak alınan kütle spektrumlarında elde edilen pikler yorumlanmış ve Tablo 5.1.'de verilmiştir. m/z; 475.1 de çıkan temel pik  $[M^+ - 3H]$  olarak tespit edilmiştir. Ligand yapısında 396.8 de çıkan pik  $[M^+ : +Na - C_3H_8N_3O]$  olarak bulunurken, 380.8 de çıkan pik  $[M^+ : +Na - C_3H_8N_3O_2]$  olduğu tespit edilmiştir. 368.7 de çıkan pik ise  $[M^+ : +Na - C_4H_{10}N_3O_2]$  olarak hesaplanmıştır (Ek15). Spektrometrik analiz sonuçlarının önerilen yapıyı desteklediğini söyleyebiliriz.

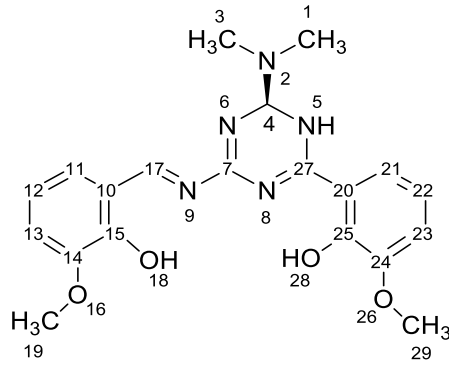
### 5.1.2. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden)amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazının karakterizasyonu

[Met-Ov] Schiff bazı bu çalışmada ilk kez sentezlenmiş olup yapısı FT-IR,  $^1H$  NMR,  $^{13}C$  NMR ve kütle spektrometresi ile aydınlatılmıştır. Sentez aşamasında ilk basamak olarak metformine 1, 4-dioksan çözücüsü içerisinde sodyum hidroksit (NaOH) katısı ilave edilerek çözündürme işlemi gerçekleştirilir. İkinci basamak olarak ise 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehid (orto-vanilin) çözücü içerisinde çözünür ve metforminin içerisine damlatılarak ilave edilir. Reaksiyon sonucunda solvent döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırılır. Kalan kısım önce su ile ayrıştırılarak yıkanır ve oluşan inorganik tuzlardan temizlenmiş olur. Santrifüjle toplanan ham üründen saf ürün dietil eter ile ekstrakte edilir ve çözeltilinin kuruluğa kadar buharlaştırılması ile [Met-Ov]



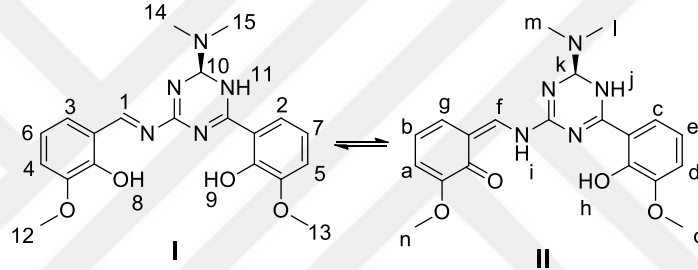
Schiff bazı sentezlenmiş olur. Aseton/dietileter ikili solventinden kristallendirilerek saflaştırılan ürünün FT-IR spektrumunda karakteristik N-H gerilme piki 3343 ve 3212  $\text{cm}^{-1}$  de iken, 3468  $\text{cm}^{-1}$  de O-H gerilmesinden kaynaklı geniş bir pik ortaya çıkmıştır. =C-H gerilmesi 3084 ve 3051  $\text{cm}^{-1}$  de, alifatik -C-H gerilme pikleri ise 2936 ve 2841  $\text{cm}^{-1}$  de tespit edilmiştir. Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin grubuna ait C=N gerilmesi 1643  $\text{cm}^{-1}$  de, bileşiğin tautomerleşmesi sonucu oluşan C=O gerilmesi ise 1716  $\text{cm}^{-1}$  de tespit edilmiştir (Tablo 5.2.). Aromatik C=C gerilmesi 1561-1522  $\text{cm}^{-1}$  aralığında, C-C gerilme pikleri 1476 ve 1387  $\text{cm}^{-1}$  de, Ar-O gerilme pikleri 1250 ve 1200  $\text{cm}^{-1}$  de, C-N gerilme titreşimleri 1118  $\text{cm}^{-1}$  ve C-O-C gerilme titreşimi ise 1069  $\text{cm}^{-1}$  de tespit edilmiştir (Ek9).

Bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spekturumu DMSO- $d_6$  içerisinde alınmış olup azometin grubuna ait N=CH protonu 10.26 ppm'de 1H değerinde singlet olarak tespit edilmiştir (H17) (Şekil 5.3.). Aromatik halkaya bağlı protonların kimyasal kayma değerleri ise 7.24-6.74 ppm aralığında multipler şeklinde 6H değerinde gözlenmiştir (H11-H13, H21-H23). Aromatik halkaya bağlı fenolik -OH grubuna ait proton sinyalleri tautomerleşme nedeniyle 7.84-7.81 ve 6.06 ppm'de ayrı ayrı singletler olarak tespit edilmiştir (H18, H28) (Tablo 5.2.). Bu piklere ait toplam integral değeri 2H a karşılık gelmektedir. Moleküldeki triazin halkasına ait sinyaller, 5.99 ve 5.77 ppm'de NH protonuna ait toplam 1H değerinde iki ayrı singlet,  $\text{N}_2\text{CH-N}(\text{CH}_3)_2$  grubunda köprü durumundaki CH protonu ise 3.83-3.82 ppm'de 1H değerinde multipler olarak tespit edilmiştir (H4, H5) (Şekil 5.3.). Sentezlenen [Met-Ov] bileşiğinin 2-Hidroksi-3-metoksibenzaldehid (Ov) grubundan gelen oksijen atomuna bağlı metil gruplarının kimyasal kayma değeri 3.75-3.72 ppm'de 6H değerinde tespit edilmiştir (H19, H29). Metforminden (Met) gelen azot atomuna bağlı metil gruplarının kimyasal kayma değeri ise 3.09 ve 2.95 ppm'de multipler olarak 6H değerinde gözlemlenmiştir (H1, H3) (EK10).



Şekil 5.3. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden)amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazının açık yapısı.

Tablo 5.2. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden)amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazının tautomerleşme yapısı ve  $^1\text{H-NMR}$  kayma değerleri.

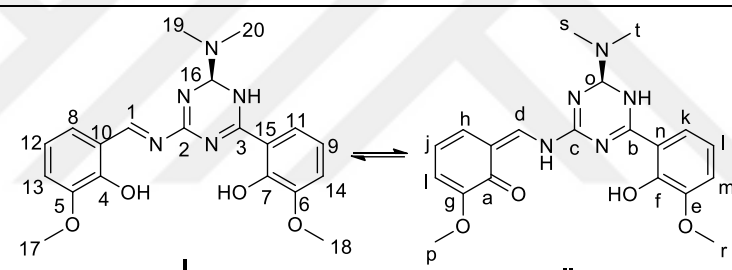


Yapı I	Kayma değeri $\delta$ (ppm):	Yapı II	Kayma değeri $\delta$ (ppm):
1	10, 26 (N=CH)	A	8, 58
2	7, 24-7, 21 (ArH)	B	7, 83-7, 81
3	7, 05-7, 01 (ArH)	C	7, 24-7, 21 (ArH)
4	6, 92-6-86 (ArH)	D	6, 92-6-86 (ArH)
5	6, 92-6-86 (ArH)	E	6, 81-6, 74 (ArH)
6	6, 81-6, 74 (ArH)	F	6, 70 (=CH)
7	6, 81-6, 74 (ArH)	G	6, 06-5, 99
8	5, 77 (ArOH)	H	5, 77 (ArOH)
9	5, 77 (ArOH)	I	3, 09
10	3, 83	J	3, 12
11	3, 12	K	3, 82
12	3, 75	L	2, 96-2, 73
13	3, 75	M	2, 96-2, 73
14	2, 96-2, 73	N	3, 72
15	2, 96-2, 73	O	3, 75

[Met-Ov] bileşiği için tespit edilen tautomerik yapılara ait  $^1\text{H-NMR}$  kayma değerleri “ChemDrave Ultra 12.0” simülasyon programı ile tespit edilmiş ve Tablo 5.2.’de verilmiştir. Enol-imin (Yapı I) için protonlara ait kayma değerleri yapıda 1-15 rakamları ile işaretlenmiş, keto-amin (Yapı II) için ise moleküle ait protonlar A-O arasındaki harfler ile işaretlenerek tabloya yerleştirilmiştir (Tablo 5.2.).

$^{13}\text{C}$  NMR spektrumunda ise beklenen piklerden fazla çıkan kayma değerleri yine söz konusu taotomer dengesini kanıtlar niteliktedir (Tablo 5.3.). Spektrumda azot atomuna bağlı C7 karbonu 192.69 ppm'de iken, C17 ve C27 atomları ise sırasıyla 165.21 ve 159.77 ppm'de tespit edilmiştir. Oksijen atomuna bağlı C14-C15 ve C24-C25 karbonları 152.65-149.19 ppm aralığında 4 pik olarak gözlenmiştir. Aromatik halkada bulunan C20-C23 ve C10-C13 aralığında ki karbon atomları ise 123.16 ve 115.98 ppm aralığında 8 pik olarak tespit edilmiştir. Triazin halkasına ait C4 atomu ise 110.83 ppm'de gözlenmiştir. 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehid grubunda ki oksijen atomuna bağlı C19 ve C29 karbon atomları 56.74 ve 56.47 ppm'de, metformin grubundan gelen azot atomuna bağlı C1 ve C3 karbon atomları ise 36.60 ve 36.27 ppm'de gözlemlenmiştir (Ek11).

Tablo 5.3. (E)-2-(6-(dimetilamino)-4-((2-hidroksi-3-metoksibenziliden)amino)-1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazının tautomerleşme yapısı ve  $^{13}\text{C}$  NMR kayma değerleri.

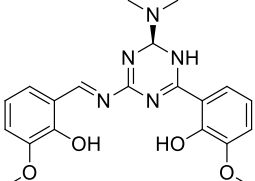
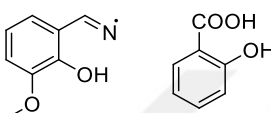
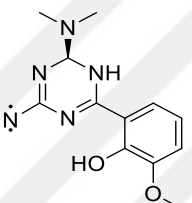


Yapı I	Kayma değeri $\delta$ (ppm):	Yapı II	Kayma değeri $\delta$ (ppm):
1	163, 7 (N=CH)	a	179, 4 (C=O)
2	163 (N=C)	b	156, 2 (N=C)
3	156, 2 (N=C)	c	153, 6 (N=C)
4	150, 1 (ArC-OH)	d	151, 8 (HN-C=C)
5, 6	149, 0 (ArC-O)	e	149, 0 (ArC-O)
7	147, 0 (ArC-OH)	f	147, 0 (ArC-OH)
8	124, 4 (ArC)	g	139, 6 (ArC-OH)
9	122, 4 (ArC)	h	126, 4 (ArC)
10	119, 5 (ArC)	i	122, 4 (ArC)
11	117, 8 (ArC)	j	125, 9 (ArC)
12	116, 6 (ArC)	k	117, 8 (ArC)
13	115, 0 (ArC)	l	117, 6 (ArC)
14	114, 0 (ArC)	m	114, 1 (ArC)
15	108, 8 (ArC)	n	108, 8 (ArC)
16	104, 4 (N <sub>2</sub> CH-N)	o	104, 3 (N <sub>2</sub> CH-N)
17, 18	56, 1 (O-CH <sub>3</sub> )	p, r	58, 4-56, 1
19, 20	39, 5 (N-CH <sub>3</sub> )	s, t	39, 5

[Met-Ov] bileşiği için tespit edilen tautomerik yapılarla ait  $^{13}\text{C}$ -NMR kayma değerleri "ChemDrive Ultra 12.0" simülasyon programı ile tespit edilmiş ve Tablo 5.3.'de

verilmiştir. Enol-imin (Yapı I) için karbonlara ait kayma değerleri yapıda 1-20 rakamları ile işaretlenmiş, keto-amin (Yapı II) için ise moleküle ait karbonlar a-t arasındaki harfler ile işaretlenerek tabloya yerleştirilmiştir (Tablo 5.3.).

Tablo 5.4. [Met-Ov] Schiff bazı ligandının kütle spektrum yorumu.

Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	m/z: 397.18 (100.0%), 398.18 (22.0%)	m/z: 398.16
	m/z: 288.09 (100.0%), 289.09 (16.6%),	m/z: 289.52
	m/z: 261.12 (100.0%), 262.13 (13.2%)	m/z: 261.33

[Met-Ov] ( $C_{20}H_{23}N_5O_4$ ,  $397.43 \text{ g.mol}^{-1}$ ) ligandının MALDI-TOF olarak alınan kütle spektrumu moleküler iyon piki ve fragmentlere ait kütle pikleri ayrı ayrı tespit edilmiş olup Tablo 5.4.'de gösterilmiştir. Moleküle ait iyon piki m/z; 398.1 de çıkan temel pik  $[M^+]$  olarak hesaplanmıştır. 289.5 de çıkan pik ise  $[M^+ + C_7H_6O_3 - C_{12}H_{15}O_2]$  olarak bulunmuştur, 261.3 de çıkan pik  $[M^+ - C_8H_8O_2]$  olarak tespit edilmiştir (Ek16). Spektrometrik analiz sonuçları doğrultusunda elde edilen sonuçların önerilen Schiff bazı yapısını desteklediği ve diğer sonuçlarla uyum içerisinde olduğunu söyleyebiliriz.

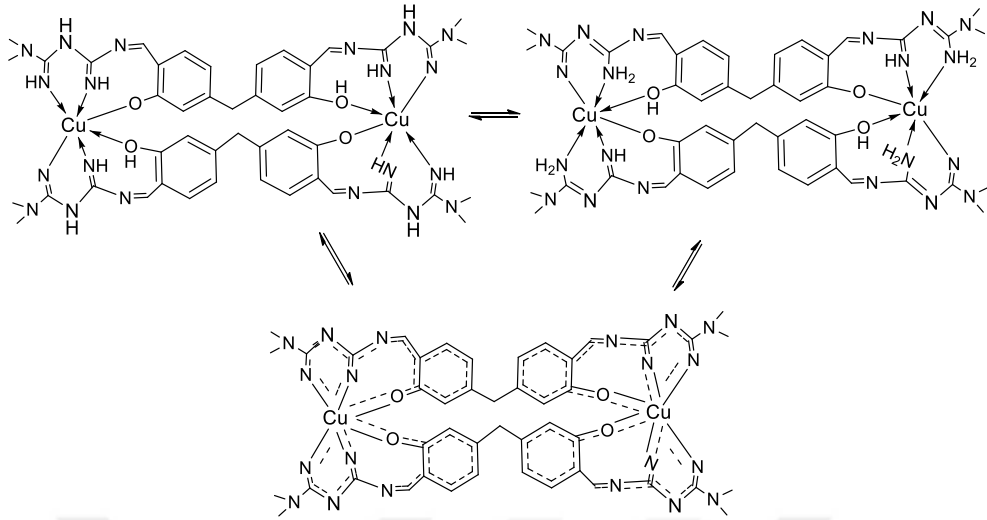
## 5.2. Komplekslerin Sentezi ve Karakterizasyonu

[Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazlarından hareketle hazırlanan Cu(II), Pd(II) ve Ni(II) kompleksleri bu çalışmada ilk kez sentezlenmiş olup, yapıları FT-IR ve kütle spektroskopik sonuçlarının kombinasyonu ve elementel analiz sonuçlarının değerlendirilmesi ile aydınlatılmıştır. Tablo 5.5.'de kompleks ve ligandların karşılaştırılmalı FT-IR spektrum işaretlemeleri verilmiştir.

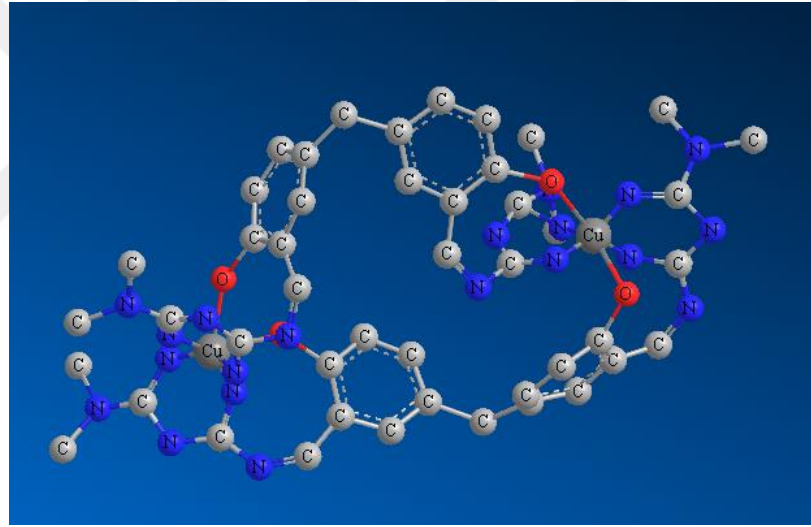
Tablo 5.5. Ligandların ve Komplekslerin deneysel FT-IR spektroskopisi işaretlemeleri.

Ligant ve Kompleksler	$\bar{\nu}(\text{O-H})$ cm <sup>-1</sup>	$\bar{\nu}(\text{N-H})$ cm <sup>-1</sup>	$\bar{\nu}(=\text{C-H})$ cm <sup>-1</sup>	$\bar{\nu}(-\text{C-H})$ cm <sup>-1</sup>	$\bar{\nu}(\text{C=N})$ cm <sup>-1</sup>	$\bar{\nu}(\text{C=C})$ cm <sup>-1</sup>	$\bar{\nu}(\text{C-C})$ cm <sup>-1</sup>	$\bar{\nu}(\text{Ar-O})$ cm <sup>-1</sup>	$\bar{\nu}(\text{C-N})$ cm <sup>-1</sup>
[Met-Da]	3478	3327- 3179	3051- 3022	2930- 2874	1660- 1601	1558- 1515	1469- 1368	1250- 1230	1095- 997
[Cu <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ]	3475	3330- 3274	3051- 3022	2923	1611- 1561	1506	1430- 1407	1253	1138- 993
[Pd(Met-Da) <sub>2</sub> ]	3475	3314	3048- 3018	2927	1615- 1561	1506	1443- 1371	1250	1138- 994
[Ni <sub>2</sub> (Met-Da) <sub>2</sub> ]	3478	3324	3058- 3010	2923	1597- 1568	1522	1473- 1371	1253	1138- 990
[Met-Ov]	3468	3343- 3212	3084- 3051	2936- 2841	1643	1561- 1522	1476- 1387	1250- 1200	1118
[Cu(Met-Ov)Cl]	3406- 3327	3196	3009	2930- 2835	1597- 1568	1545- 1512	1437- 1335	1213	1151
[Pd(Met-Ov)Cl]	3415- 3330	3202	3009	2930- 2838	1588	1506	1460- 1351	1269- 1223	1184
[Ni(Met-Ov) <sub>2</sub> ]	3317	3201	3030	2989- 2841	1627- 1607	1551	1469- 1361	1273- 1210	1168

Yukarıda ki elde edilen verilere göre tüm kompleksler için koordinasyona girmiş veya girmemiş –OH gerilme pikleri 3478-3317 cm<sup>-1</sup> aralığında değişen transmütans değerleri ile gözlenmiştir. N-H titreşim pikleri ise 3343-3196 cm<sup>-1</sup> aralığında tespit edilmiştir. [Met-Da] ligandından hazırlanan bakır kompleksi dimerik yapıda kompleksleşmiş olup, kompleksin yapısı FT-IR, MALDI-TOF kütle spektrumu ve elementel analiz verilerinin birlikte değerlendirilmesi sonucu önerilmiştir. [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kapalı formülündeki bileşiğin kompleksleşme sırasında molekül üzerindeki azometin gruplarının ikisinde kullanıldığı, fenolik OH gruplarının ise hem iyonik olarak M-O bağı oluşturarak ve hemde HO-M koordinasyon bağı ile bağlandığı şeklinde yorumlanmıştır. Kompleksleşme sonucunda ligandda net olarak tespit edilen NH ve OH bağlarının deforme olması, oluşan kompleks de ortaya çıkan oldukça kuvvetli konjigasyonların bu deformasyona yol açtığını düşündürmektedir. Ayrıca kompleksin FT-IR spektrumunda 1611 ve 1561 cm<sup>-1</sup> de ortaya çıkan piklerin komplekste bir birine özdeş C=N gruplarının varlığına işaret etmekte olup, ligandın infrared spektrumunda 1660-1601 cm<sup>-1</sup> aralığında ortaya çıkan bu gruba ait sinyallerin 1611 ve 1561 cm<sup>-1</sup> de daha düşük dalga sayısında ortaya çıkması önerilen yapıyı destekler niteliktedir (Ek6). [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinin moleküler yapısının bu verilere göre Şekil 5.4.’ deki gibi olduğu önerilmiştir. Bununla birlikte [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] için önerilen yapıya ait molekül yapısı “Chem 3D Pro.12” simülasyon programının MM2 yöntemi kullanılarak optimize edilmiş en düşük enerjili yapısı Şekil 5.5.’ de verilmiştir.



Şekil 5.4.  $[Cu_2(Met-Da)_2]$  kompleksinin molekül yapısı ve molekül içindeki konjugasyonları.

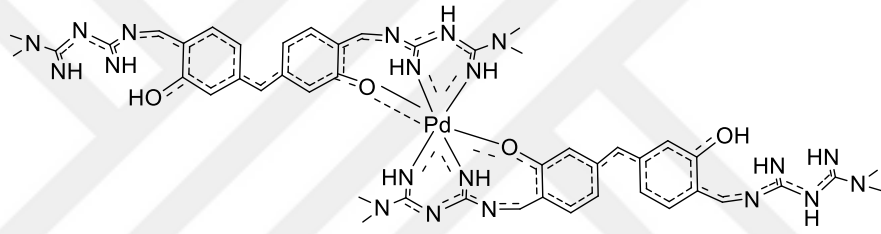


Şekil 5.5.  $[Cu_2(Met-Da)_2]$  kompleksinin üç boyutlu gösterimi.

[Met-Da] Schiff bazının Pd ve Ni ile verdiği komplekslerde de benzer şekilde  $1660\text{ cm}^{-1}$  de gözlenen yüksek şiddetteki C=N gerilme titreşimi, kompleksler de azometin bağından koordinasyona girmesi nedeniyle düşük frekansa kayar.  $[Pd(Met-Da)_2]$  ve  $[Ni_2(Met-Da)_2]$  komplekslerin de azometin pikleri bu nedenle sırasıyla  $1561$  ve  $1597\text{ cm}^{-1}$ 'e kaymaktadır. Ayrıca Ar-O gerilme titreşim pikleri [Met-Da] ligandına ait kompleksler de  $1253-1250\text{ cm}^{-1}$  aralığında iken, C-N gerilimlerine ait pikler ise  $1138$  ve  $990\text{ cm}^{-1}$  aralığında gözlenmiştir. Moleküllere ait aromatik gerilme pikleri beklenildiği gibi tespit edilmiş ve önerilen yapıyı destekler niteliktedir. Tüm bu

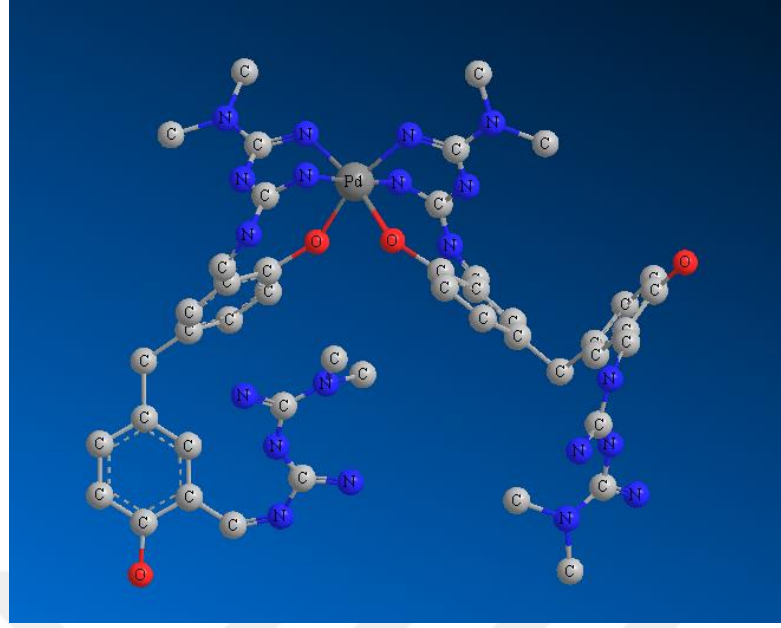
komplekslerde ki alifatik C-H gerilmelerine ait olan pikler  $2927-2923\text{ cm}^{-1}$ 'de görülmektedir. Komplekslerde ki aromatik =C-H gerilmelerine ait olan pikler ise  $3058-3010\text{ cm}^{-1}$ 'de görülmektedir (Tablo 5.5.). Moleküllere ait diğer önemli titreşim modları ve kaydedilen değerleri tabloda verilmiştir (Ek7-Ek8).

Bu komplekslerin kütle ve elementel analiz sonuçları değerlendirildiğinde sırası ile M/L: 1/2 ve 2/2 oranlarında kompleksleşmiş oldukları ve moleküler yapılarının sırası ile Şekil 5.6. ve Şekil 5.8.'de verildiği gibi olduğu sonucuna varılmıştır.  $[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$  kompleksinde de yüksek konjigasyonların olduğu NH ve OH grubuna ait piklerin deformasyonundan ve  $1615\text{ cm}^{-1}$  de ortaya çıkan omuz şeklindeki C=N geriliminden anlaşılmaktadır (Ek7).



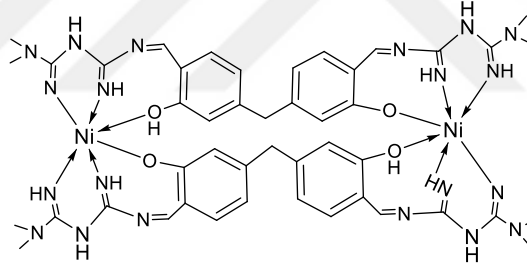
Şekil 5.6.  $[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$  kompleksinin molekül yapısı ve molekül içindeki konjigasyonlar.

$[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$  için önerilen yapıya ait molekül yapısı “Chem 3D Pro.12” modelleme programında MM2 yöntemi kullanılarak optimize edilmiş en düşük enerjili yapısı Şekil 5.7.'de verilmiştir.



Şekil 5.7. [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinin üç boyutlu gösterimi.

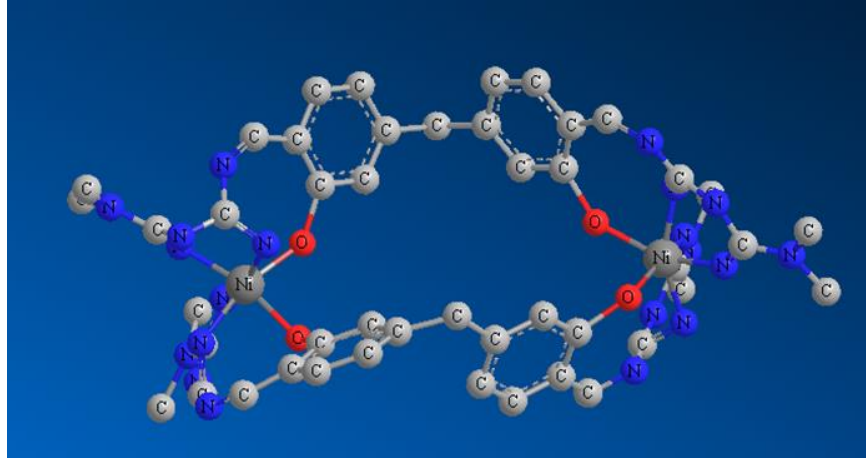
[Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinde ise daha az delokalizasyonun olduğu ve önerilen yapının aşağıda gösterildiği gibi olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 5.8.).



Şekil 5.8. [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinin molekül yapısı.

[Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] için önerilen yapıya ait molekül yapısı “Chem 3D Pro.12” modelleme programındaki MM2 yöntemi kullanılarak optimize edilmiş en düşük enerjili yapısı Şekil 5.9.’da verilmiştir.





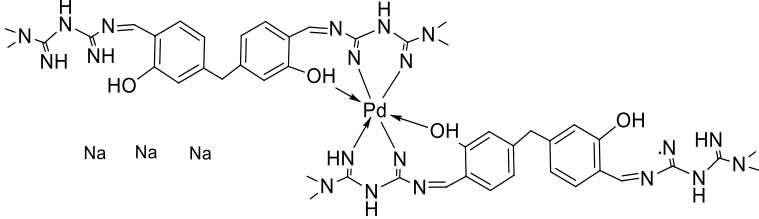
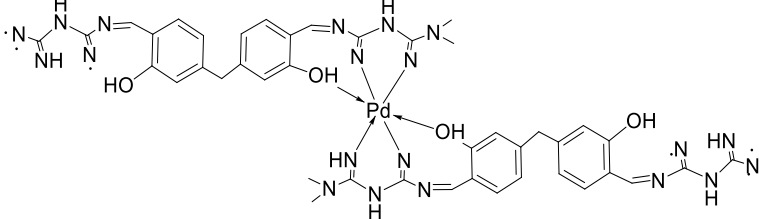
Şekil 5.9.  $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  kompleksinin üç boyutlu gösterimi.

Tablo 5.6.  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  kompleksinin kütle spektrum yorumu

Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	m/z: 1126.3 (100.0%), 1124.3 (93.9%), 1125.3 (54.4%).	m/z: 1126.71
	m/z: 996.16 (100.0%), 998.16 (92.5%).	m/z: 996.49

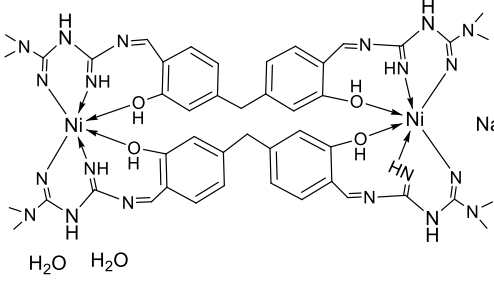
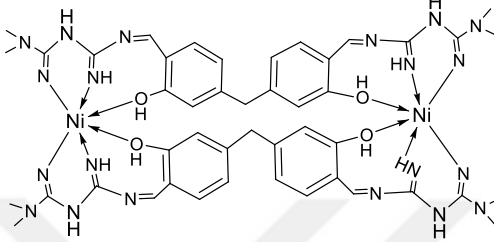
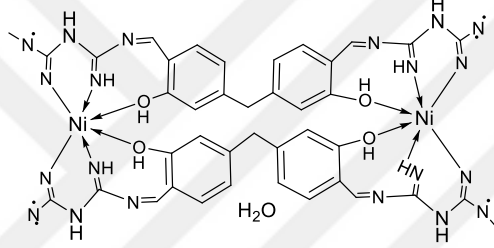
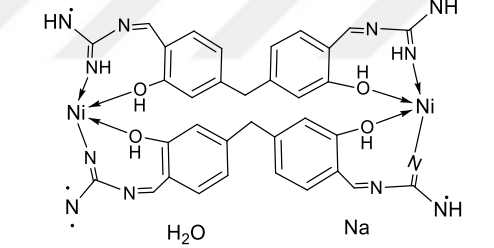
Komplekslerin moleküler yapısında belirleyici olarak MALDI-TOF kütle spektrumundan yararlanılmış ve sonuçları Tablo 5.6.'da yorumlanmıştır.  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  ( $\text{C}_{46}\text{H}_{56}\text{Cu}_2\text{N}_{20}\text{O}_4$ ,  $1080.16 \text{ g.mol}^{-1}$ ) kompleksinin moleküler yapısında m/z; 1126.7 de ortaya çıkan ve en yüksek pik olan temel pik  $[\text{M}^+ + 2\text{Na}]$  olarak hesaplandı.  $[\text{Met-Da}]\text{Cu}$  kompleksinin moleküler yapısında 996.4 da çıkan pik ise  $[\text{M}^+ + \text{Na} - \text{C}_7\text{H}_{21}\text{O}_4]$  olarak hesaplanmıştır (Ek17). Bileşiğin elementel analiz verileri önerilen yapıyı desteklemektedir.

Tablo 5.7. [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinin kütle spektrum yorumu.

Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	m/z: 1127.35 (100.0%), 1129.35 (93.7%)	m/z: 1127.39
	m/z: 997.28 (100.0%), 996.30 (94.2%)	m/z: 997.24

[Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] (C<sub>46</sub>H<sub>56</sub>N<sub>20</sub>O<sub>4</sub>Pd, 1061.50 g.mol<sup>-1</sup>) kompleksi moleküler yapısında olup MALDI-TOF olarak alınan kütle spektrumlarında elde edilen pikler yorumlanmış ve Tablo 5.7.'de verilmiştir. [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksinin moleküler yapısında m/z; 1127.4 de çıkan ve en yüksek pik olan temel pik [M<sup>+</sup> +3Na] olarak tespit edilmiş, 997.2 de çıkan pik ise [M<sup>+</sup> -C<sub>4</sub>H<sub>13</sub>] olarak hesaplanmıştır (Ek18). Bileşiğe ait elementel analiz verileri önerilen yapıyı destekler niteliktedir.

Tablo 5.8.  $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  kompleksinin kütle spektrum yorumu.

Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	m/z: 1127.36 (100.0%), 1129.36 (81.0%).	m/z: 1129.03
	m/z: 1068.35 (100.0%), 1070.35 (81.6%),	m/z: 1070.72
	m/z: 996.22 (100.0%), 998.22 (81.3%), 997.22 (50.8%).	m/z: 998.67
	m/z: 826.11 (100.0%), 828.11 (78.8%)	m/z: 826.47

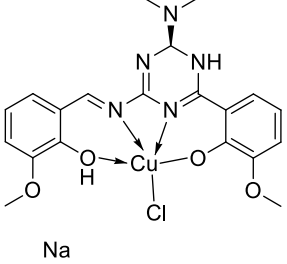
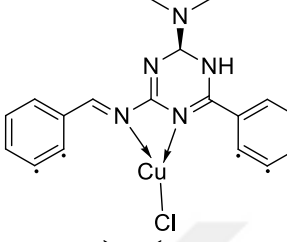
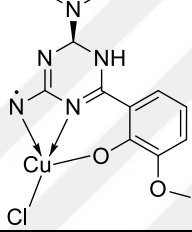
$[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  ( $\text{C}_{46}\text{H}_{56}\text{N}_{20}\text{NaNi}_2\text{O}_6$ ,  $1070.46 \text{ g.mol}^{-1}$ ) kompleksinin moleküler yapısında belirleyici olarak MALDI-TOF kütle spektrumundan yararlanılmış ve sonuçları Tablo 5.8.'de yorumlanmıştır.  $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  kompleksinin moleküler yapısında m/z; 1129.03 de ortaya çıkan pik  $[\text{M}^+ + 2\text{H}_2\text{O} + \text{Na}]$  iken, 1070.72 de çıkan temel pik  $[\text{M}^+]$  olarak tespit edilmiştir. Molekül yapısında 998.6 da çıkan pik ise  $[\text{M}^+ + \text{H}_2\text{O} - \text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}]$  iken, 826.4 de çıkan pik  $[\text{M}^+ + \text{Na} + \text{H}_2\text{O} - \text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{N}_8\text{O}]$  olarak hesaplanmıştır (EK19). Alınan elementel analiz verileri önerilen yapı ile uyum içerisindedir.

$[\text{Met-Ov}]$  ligandından hazırlanan komplekslerin karakterizasyonunda da FT-IR spektrumunda ki değişikliklerin yorumlanması, bağlantılı olarak kütle spektrumunda

ortaya çıkan moleküler iyon piki ve ilgili fragmen piklerinin değerlendirilmesi ve elementel analiz sonuçları ile kombine edilmesi sonucu ilgili hazırlanan kompleksler için moleküler yapılar önerilmiştir. [Met-Ov] Schiff bazının molekül yapısında bulunan enol keto taotomerisinden dolayı ortaya çıkan C=O gerilimine ait  $1716\text{ cm}^{-1}$  deki omuzun kaybolması ile  $1643\text{ cm}^{-1}$ 'de olan C=N gerilme titreşimi kompleks oluştururken azometin bağından koordinasyon yapması nedeniyle Cu, Pd ve Ni komplekslerinde sırasıyla  $1597$ ,  $1588$  ve  $1627\text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı gözlenmektedir. Fenolik Ar-O-H gerilimine ait  $3468\text{ cm}^{-1}$  deki omuzun da oluşan kompleksler de kaybolmuş olması kompleksleşmenin fenolik OH ve komşuluğundaki C=N grupları üzerinden 5 li ve 6 lı şelat halkaları oluşturacak şekilde meydana geldiğini kanıtlar niteliktedir. Ayrıca söz konusu komplekslere ait C-O gerilmelerine ait pikler ise her üç kompleks için  $1273$ - $1210\text{ cm}^{-1}$  aralığında tespit edilirken, C-N titreşim pikleri  $1184$ - $1151\text{ cm}^{-1}$  aralığında gözlenmiştir. [Met-Ov] ligandının bu komplekslerinde Ph-O-Me grubuna ait eterik C-O gerilimleri ise  $1079$ - $1072\text{ cm}^{-1}$  aralığında ortaya çıkmaktadır. Moleküllere ait aromatik =C-H ve alifatik -C-H gerilme pikleri beklenildiği gibi tespit edilmiş ve Tablo 5.5.'de toplu olarak verilmiştir. Komplekslerin FT-IR spektrumlarından çıkarılan sonuçlar önerilen yapıyı destekler niteliktedir (Ek12-Ek14).

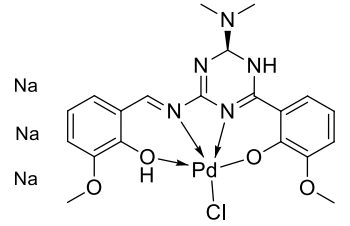
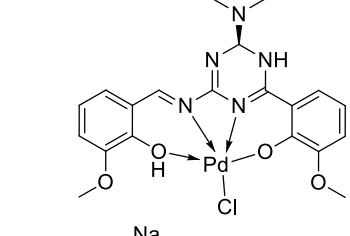
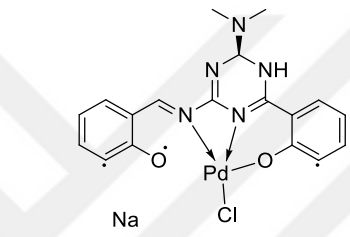
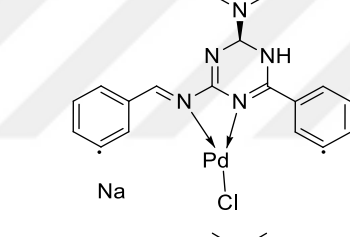
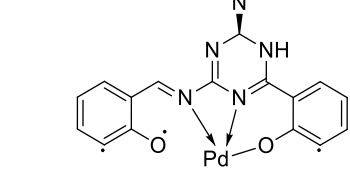
[Met-Ov] ligandının oluşturduğu komplekslerin kütle spektrumları değerlendirilmiştir (Ek20-Ek21). Buna göre Cu(II) ve Pd(II) iyonları ile oluşan komplekslerin M/L: 1/1 oranında kompleks oluşturduğu ve komplekslerde esas valensi tamamlamak üzere  $\text{Cl}^-$  iyonunun koordinasyona katıldığı tespit edilmiştir. Bu bileşikler için yapılan elementel analizlerden elde edilen veriler önerilen yapıları desteklemektedir.

Tablo 5.9. [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksinin kütle spektrum yorumu.

Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
 Na	m/z: 517.06 (100.0%), 519.05 (76.5%).	m/z: 517.12
 Na	m/z: 399.03 (100.0%), 401.03 (76.9%).	m/z: 401.19
	m/z: 358.01 (100.0%), 360.01 (76.8%)	m/z: 357.84

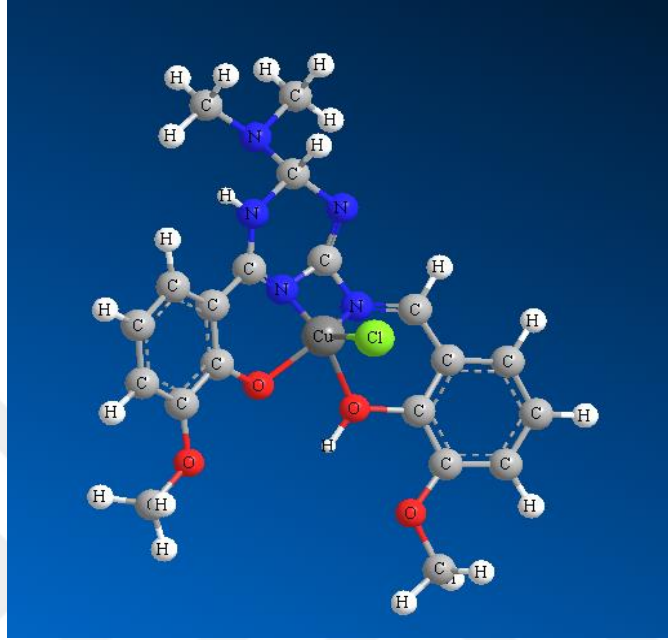
[Cu(Met-Ov)Cl] ( $C_{20}H_{22}ClCuN_5O_4$ ,  $495.42 \text{ g.mol}^{-1}$ ) kompleksinin MALDI-TOF olarak alınan kütle spektrumu fragmentleri ayrı ayrı tespit edilmiş olup Tablo 5.9.'da gösterilmiştir. [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksinin moleküler yapısında m/z; 517.1 de çıkan temel pik  $[M^+ + Na]$  olarak hesaplanırken, 401.1 de çıkan pik  $[M^+ - C_2H_7O_4]$  tespit edilmiştir. Kompleks yapısında 357.8 de çıkan pik  $[M^+ - C_8H_8O_2]$  hesaplanmıştır (Ek20). Bileşiğe ait elementel analiz verileri önerilen yapıyı destekler niteliktedir.

Tablo 5.10. [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksinin kütle spektrum yorumu.

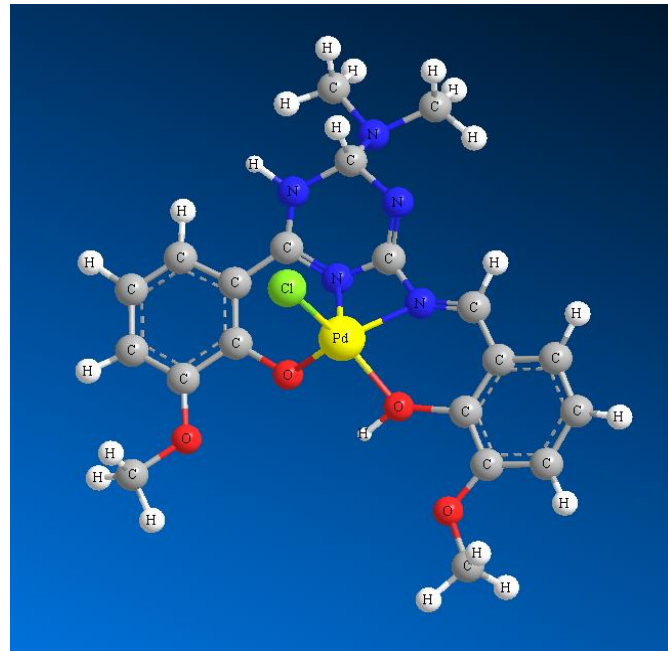
Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	H <sub>2</sub> O m/z: 662.04 H <sub>2</sub> O (100.0%), 660.04 H <sub>2</sub> O (83.5%)	m/z: 662.26
	m/z: 562.03 (100.0%), 560.03 (89.0%)	m/z: 562.93
	m/z: 496.98 (100.0%), 495.99 (78.6%)	m/z: 495.56
	m/z: 469.01 (100.0%), 467.01 (85.0%)	m/z: 469.43
	m/z: 439.03 (100.0%), 438.03 (76.6%)	m/z: 438.39

[Pd(Met-Ov)Cl] ( $C_{20}H_{22}ClN_5O_4Pd$ ,  $538.29 \text{ g.mol}^{-1}$ ) kompleksinin MALDI-TOF olarak alınan kütle spektrumlarında elde edilen pikler yorumlanmış ve Tablo 5.10.'da verilmiştir. Kompleksin moleküler yapısında m/z; 662.2 de çıkan pik  $[M^+ + 3Na + 3H_2O]$  olarak hesaplanırken, 562.9 da çıkan temel pik  $[M^+ + Na]$  olarak tespit edilmiştir. 495.5 de çıkan pik  $[M^+ + Na - C_2H_7O_2]$  iken, 469.4 de çıkan pikin ise  $[M^+ + Na - C_2H_5O_4]$  olduğu bulunmuştur. [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksinin moleküler yapısında 438.4 de çıkan pik  $[M^+ - Na - C_2ClH_7NaO_2]$  olduğu hesaplanmıştır (Ek21).

[Cu(Met-Ov)Cl] ve [Pd(Met-Ov)Cl] için önerilen yapılar için yapıları “Chem 3D Pro.12” modelleme programının MM2 yöntemi kullanılarak optimize edilmiş en düşük enerjili yapıları Şekil 5.10. ve 5.11.’de verilmiştir.



Şekil 5.10. [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksinin üç boyutlu gösterimi.



Şekil 5.11. [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksinin üç boyutlu gösterimi.

[Met-Ov] ligandının Ni(II) iyonu ile yapmış olduğu kompleksin kütle ve elemental analiz değerleri ise kompleksleşmenin M/L:1/2 oranında olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

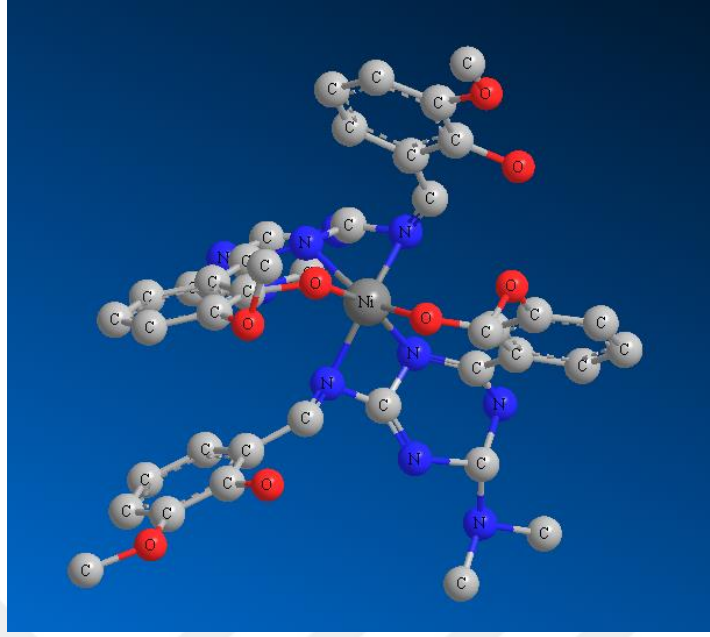
Tablo 5.11. [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksinin kütle spektrum yorumu.

Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	H <sub>2</sub> O H <sub>2</sub> O H <sub>2</sub> O m/z: 1127.34 (100.0%), 1128.34 (62.1%),	m/z: 1127.94
	H <sub>2</sub> O H <sub>2</sub> O Na m/z: 997.28 (100.0%), 998.28 (50.7%).	m/z: 997.42

[Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] (C<sub>40</sub>H<sub>42</sub>N<sub>10</sub>NiO<sub>8</sub>, 851.53 g.mol<sup>-1</sup>) kompleksinin MALDI-TOF olarak alınan kütle spektrumu fragmentleri ayrı ayrı tespit edilmiş olup Tablo 5.11.'de gösterilmiştir. Kompleksin moleküler yapısında m/z; 1127.9 da çıkan ve en yüksek pik olan temel pik [M<sup>+</sup> +3H<sub>2</sub>O+C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub><sup>\*</sup>] olarak tespit edilirken, 997.4 de çıkan pik ise [M<sup>+</sup> +Na +2H<sub>2</sub>O +C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub><sup>\*</sup> -C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>] olarak hesaplanmıştır (Ek22). Alınan elemental analiz verileri önerilen yapı ile uyum içerisindedir.

Bunlara ilave olarak [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] önerilen moleküle ait molekül yapısı “Chem 3D Pro.12” modelleme programının MM2 yöntemi kullanılarak optimize edilmiş en düşük enerjili yapısı Şekil 5.12.'de verilmiştir.

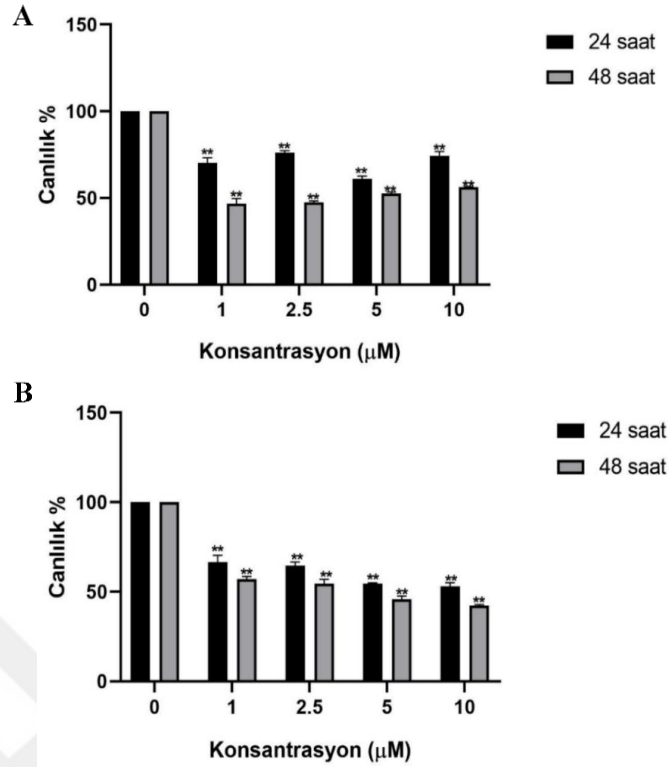




Şekil 5.12. [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksinin üç boyutlu gösterimi.

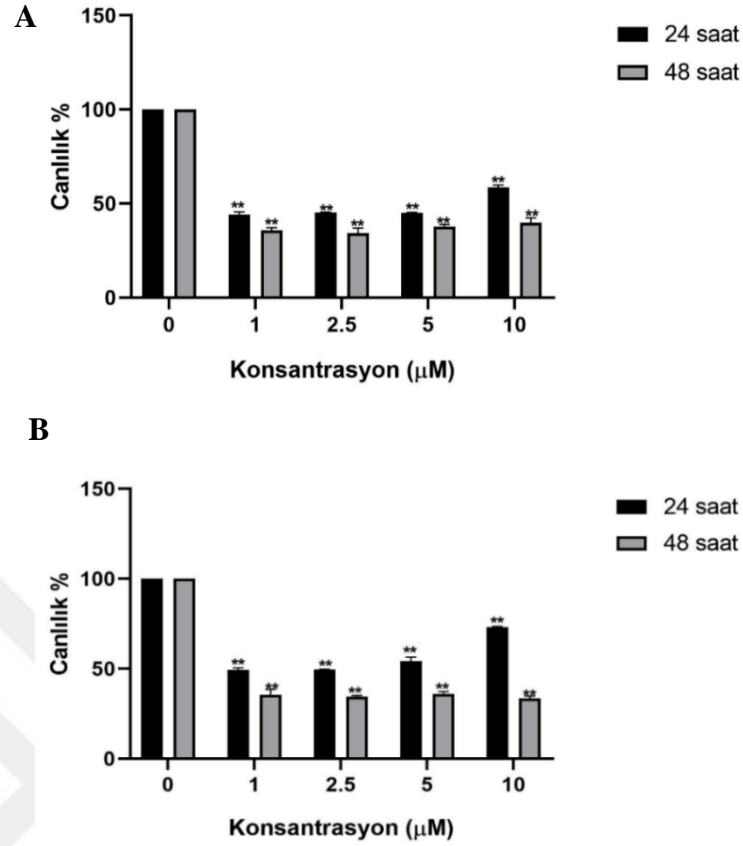
### 5.3. WST-1 Analizi ile Sitotoksite Sonuçları

MCF-7 ve HUVEC hücre hatlarında 2 farklı ligandın Cu, Pd ve Ni türevli metal komplekslerinin sitotoksik etkisinin belirlenmesi için WST-1 analizi gerçekleştirilmiştir. 24 saat boyunca 1  $\mu$ M [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandı uygulanan MCF-7 hücrelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında canlılık oranları sırasıyla %70.18 ve %64.62 iken, 48 saat sonunda canlılık oranları sırasıyla %44.25 ve %56.95 olarak belirlendi ( $p < 0.01$ ). MCF-7 hücrelerine 24 saat boyunca 5  $\mu$ M [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandı uygulandığında ise, canlılık oranlarının sırasıyla %61.10 ve %54.55 azaldığı belirlenmesine rağmen, 48 saat sonunda ise bu oranların %52.49 ve %45.71'e düştüğü analiz edildi ( $p < 0.01$ ). 48 saat boyunca 10  $\mu$ M [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandı uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %56.20 ve %40.68 olarak tespit edildi ( $p < 0.01$ ) (Şekil 5.13.).



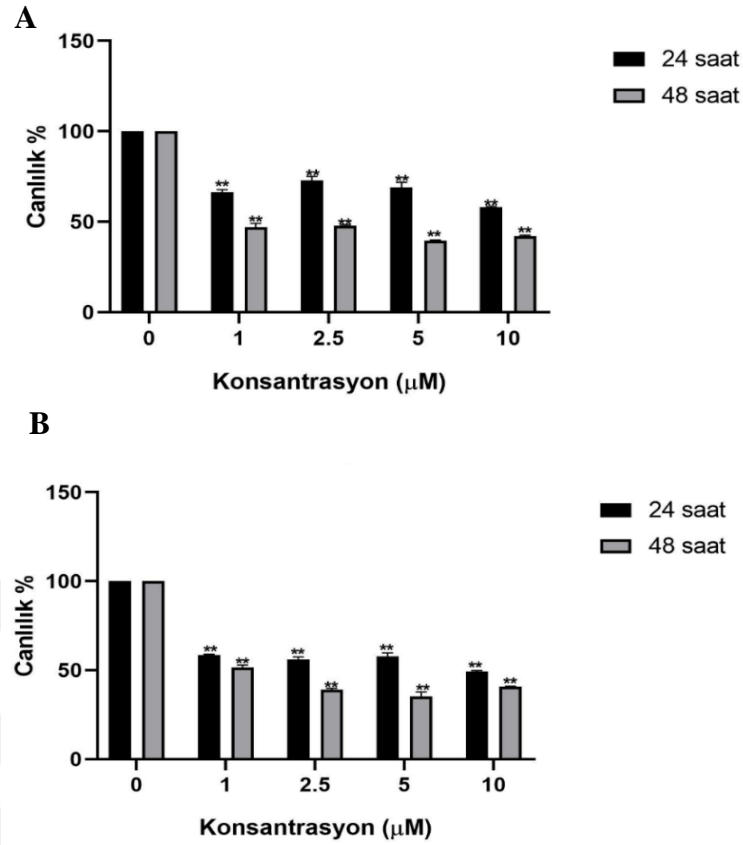
Şekil 5.13. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Met-Da] ve (B) [Met-Ov] ligandları uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık değerleri ( $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$ ).

MCF-7 hücrelerine 24 ve 48 saat boyunca belirli dozlarda (1-10 µM)  $[Cu_2(Met-Da)_2]$  ve  $[Cu(Met-Ov)Cl]$  metal kompleksleri uygulanarak elde edilen sonuçlar Şekil 5.14.'de verilmiştir. 24 saat boyunca 1 µM  $[Cu_2(Met-Da)_2]$  ve  $[Cu(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %44.06 ve %49.32 olduğu tespit edilirken, 48 saat sonunda sırasıyla %35.71 ve %35.61'e düştüğü analiz edildi ( $p < 0.01$ ). 24 saat boyunca 5 µM  $[Cu_2(Met-Da)_2]$  ve  $[Cu(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde ise, canlılık oranları sırasıyla %45.10 ve %54.24 iken, 48 saatin sonunda bu oranların %37.72 ve %35.96'e düştüğü gözlemlenmiştir ( $p < 0.01$ ). MCF-7 hücrelerine 10 µM  $[Cu_2(Met-Da)_2]$  ve  $[Cu(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri uygulandığında ise 48 saatin sonunda canlılık oranları sırasıyla %39.87 ve %33.40 olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.01$ ).



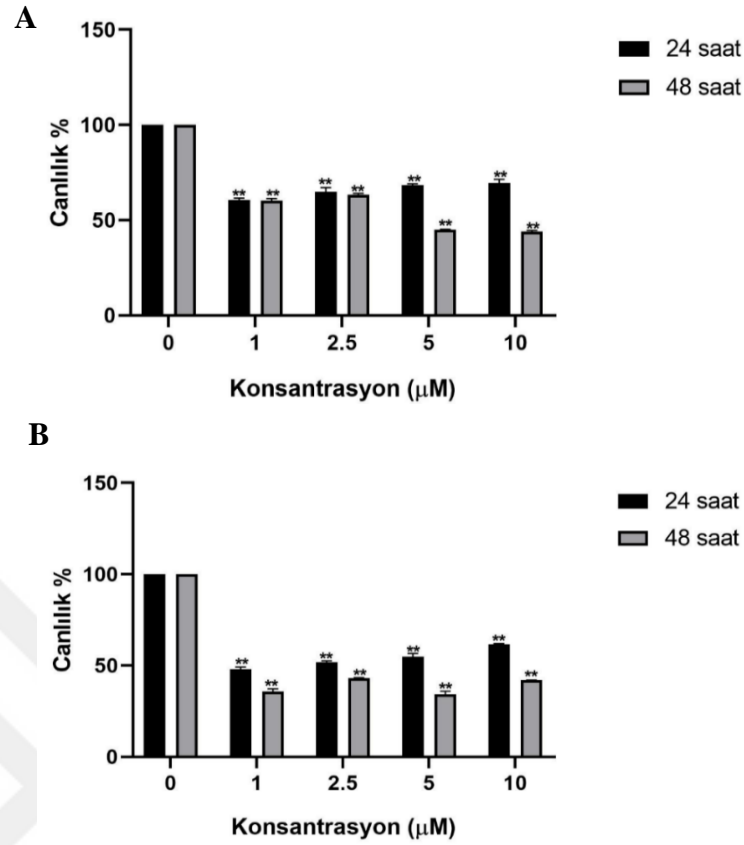
Şekil 5.14. Farklı konsantrasyonlarda (1-10  $\mu\text{M}$ ) 24 ve 48 saat boyunca (A)  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve (B)  $[\text{Cu}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık değerleri ( $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$ ).

MCF-7 hücrelerinde  $[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Pd}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  metal komplekslerinin sitotoksik etkisinin sonuçları Şekil 5.15.'de verilmiştir. 24 saat boyunca 1  $\mu\text{M}$  24 saat boyunca 1  $\mu\text{M}$   $[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Pd}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %66.25 ve %58.43 olarak belirlenirken, bu değerlerin 48 saat uygulamanın sonucunda sırasıyla %46.96 ve %51.38 olduğu tespit edildi ( $p < 0.01$ ). 24 saat boyunca 5  $\mu\text{M}$   $[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Pd}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerindeki canlılık oranları sırasıyla %69.06 ve %57.78 iken, 48 saat sürenin sonunda bu oranların %39.38 ve %35.20'e düştüğü gözlemlendi ( $p < 0.01$ ). 10  $\mu\text{M}$   $[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Pd}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri 24 saat süreyle MCF-7 hücrelerine uygulandığında, canlılık oranları sırasıyla %58.00 ve %49.25 olarak saptanmış olup, 48 saat süre ile  $[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Pd}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri uygulandığında ise, canlılık oranlarının sırasıyla %41.99 ve %40.68 olduğu analiz edildi ( $p < 0.01$ ).



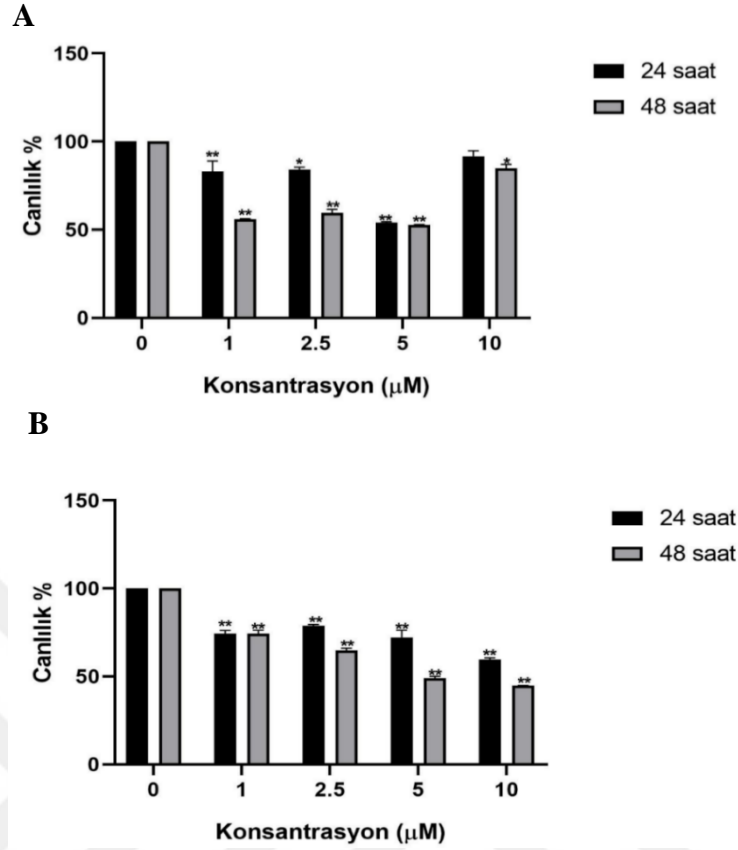
Şekil 5.15. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] ve (B) [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05\*, p<0.01\*\*).

[Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] komplekslerinin (1-10 µM) MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin sonuçları Şekil 5.16.'da verilmiştir. 24 saat süre ile 1 µM [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında canlılık oranları sırasıyla %60.61 ve %48.00 iken, 48 saat boyunca uygulamanın sonucunda canlılık oranları sırasıyla %60.22 ve %35.71 olduğu analiz edildi (p<0.01). 48 saat boyunca 5 µM [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerindeki canlılık oranlarının anlamlı bir şekilde sırasıyla %44.90 ve %34.21'e düştüğü tespit edilirken 48 saat süre ile 10 µM [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde ise canlılık oranlarının sırasıyla %43.95 ve %41.94 olduğu analiz edildi (p<0.01).



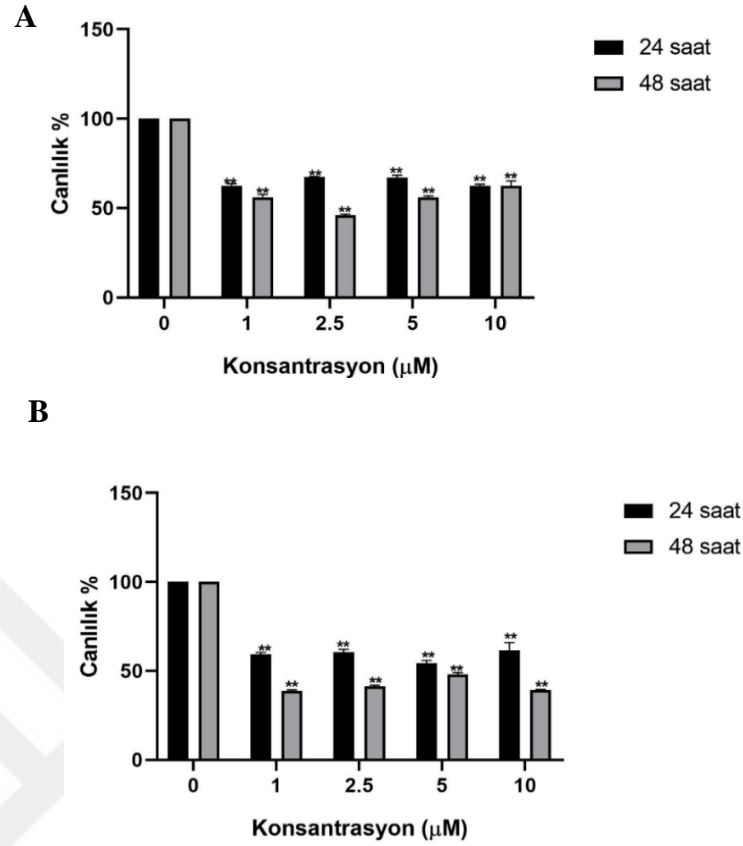
Şekil 5.16. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A)  $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve (B)  $[\text{Ni}(\text{Met-Ov})_2]$  kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde canlılık değerleri ( $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$ ).

HUVEC hücrelerine belirli dozlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca uygulanan [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandlarının sitotoksik etkisinin sonuçları Şekil 5.17.'de verilmiştir. 24 saat boyunca 1 µM [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandları uygulanan HUVEC hücrelerinde ki canlılık oranları sırasıyla %83.01 ve %74.31 iken, 48 saat uygulamanın sonucunda bu değerlerin %56.00 ve %72.85 olduğu tespit edildi ( $p < 0.01$ ). 24 saat boyunca 2.5 µM [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandları uygulanan HUVEC hücrelerinde ki canlılık oranlarının sırasıyla %84.18 ve %78.83 olduğu görülürken, 5 µM uygulamanın sonucunda canlılık oranlarının sırasıyla %54.01 ve %72.15'e düştüğü analiz edildi ( $p < 0.01$ ). 10 µM [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandları 24 saat süreyle HUVEC hücrelerine uygulandığında, canlılık oranların da sırasıyla %96.71 ve %59.61 olarak saptanırken, 48 saat süre uygulandığında ise canlılık oranlarının sırasıyla %84.85 ve %44.80 olduğu belirlendi ( $p < 0.01$ ).



Şekil 5.17. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Met-Da] ve (B) [Met-Ov] ligandları uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık değerleri ( $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$ ).

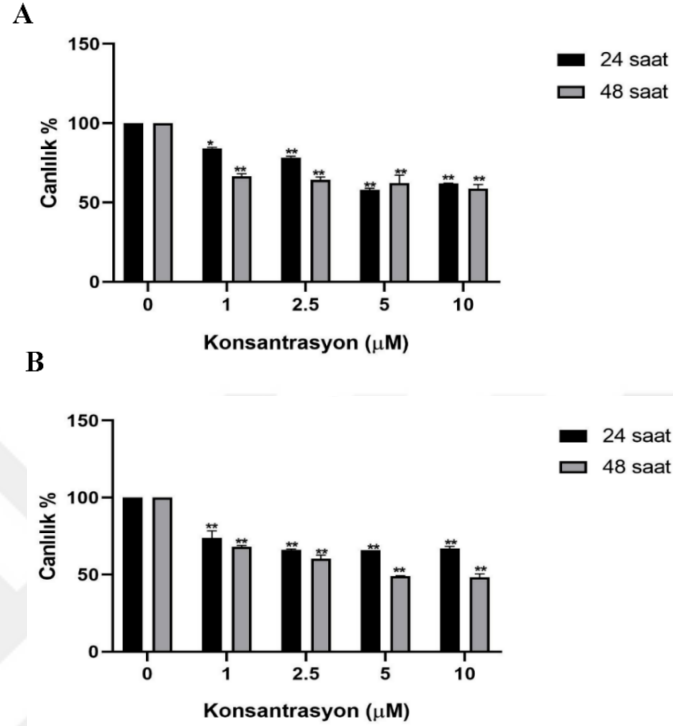
HUVEC hücre hattında  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Cu}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  metal komplekslerinin sitotoksik etkisinin sonuçları Şekil 5.18.'de verilmiştir. 24 saat boyunca 1 µM  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Cu}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %62.43 ve %59.30 iken, bu değerlerin 48 saat uygulamanın sonucunda sırasıyla %55.93 ve %39.13'e düştüğü tespit edildi ( $p < 0.01$ ). 2.5 µM  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Cu}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri 24 saat süreyle HUVEC hücrelerine uygulandığında canlılık oranları sırasıyla %67.41 ve %54.36 olduğu tespit edilir ( $p < 0.01$ ). 24 saat boyunca 5 µM  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Cu}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerindeki canlılık oranlarının ise neredeyse sabit kalarak sırasıyla %67.00 ve %54.36 olduğu gözlemlendi ( $p < 0.01$ ). 10 µM  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Cu}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri 24 saat süreyle HUVEC hücrelerine uygulandığında, canlılık oranları sırasıyla %62.52 ve %61.57 iken, 48 saat süre ile  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Cu}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$  kompleksleri uygulandığında ise, canlılık oranlarının sırasıyla %62.59 ve %39.53 olduğu analiz edildi ( $p < 0.01$ ).



Şekil 5.18. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A)  $[Cu_2(Met-Da)_2]$  ve (B)  $[Cu(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık değerleri ( $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$ ).

$[Pd(Met-Da)_2]$  ve  $[Pd(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri belirli dozlarda (1-10 µM) uygulanan HUVEC hücrelerinde hücre canlılığına dair sonuçlar Şekil 5.19.'da verilmiştir. 24 saat boyunca 1 µM  $[Pd(Met-Da)_2]$  ve  $[Pd(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %84.20 ve %73.85 olduğu belirlenirken, bu değerlerin 48 saat uygulamanın sonucunda sırasıyla %66.54 ve %67.32 olduğu tespit edildi ( $p < 0.01$ ). HUVEC hücrelerine 2.5 µM  $[Pd(Met-Da)_2]$  ve  $[Pd(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri 24 saat süre ile uygulandığında canlılık oranları sırasıyla %78.45 ve %66.11 iken, 48 saat süreyle uygulandığında canlılık oranlarının sırasıyla %64.16 ve %62.00'a düştüğü analiz edildi ( $p < 0.01$ ). 48 saat boyunca 5 µM  $[Pd(Met-Da)_2]$  ve  $[Pd(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerindeki canlılık oranları ise sırasıyla %62.14 ve %49.28 olduğu gözlemlendi ( $p < 0.01$ ). 10 µM  $[Pd(Met-Da)_2]$  ve  $[Pd(Met-Ov)Cl]$  kompleksleri 24 saat süreyle HUVEC hücrelerine uygulandığında, canlılık oranları sırasıyla %61.98 ve %67.09 olduğu tespit edilirken, 48 saat süre ile

[Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksleri uygulandığında ise, canlılık oranlarının sırasıyla %58.77 ve %46.83 olduğu analiz edildi (p<0.01).

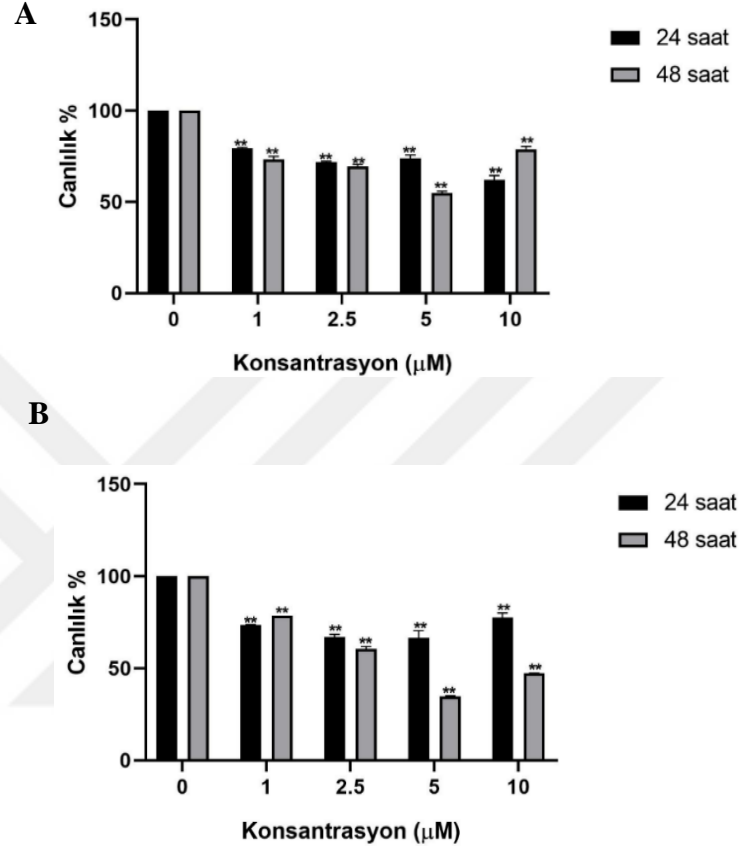


Şekil 5.19. Farklı konsantrasyonlarda (1-10 µM) 24 ve 48 saat boyunca (A) [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] ve (B) [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık değerleri (p<0.05\*, p<0.01\*\*).

[Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksleri belirli dozlarda (1-10 µM) HUVEC hücrelerine eklendikten sonra hücre canlılığına dair sonuçlar Şekil 5.20.'de verilmiştir. 24 saat süre boyunca 1 µM [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %79.49 ve %73.55 iken, 48 saat boyunca uygulamanın sonucunda bu değerlerin %72.13 ve %78.59 olduğu tespit edildi (p<0.01). 2.5 µM [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksleri 24 saat süreyle HUVEC hücrelerine uygulandığında canlılık oranlarının sırasıyla %71.78 ve %67.07 olduğu belirlenmesine rağmen, bu değerlerin 48 saat sürenin sonunda %70.23 ve %59.35 olduğu tespit edildi (p<0.01). 24 saat boyunca 5 µM [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerindeki canlılık oranlarının ise sırasıyla %73.83 ve %66.47 iken, 48 saat süreyle uygulandığında HUVEC hücrelerinde canlılık oranlarının %54.01 ve %34.98'e düştüğü tespit edildi (p<0.01).



48 saat boyunca 10  $\mu\text{M}$   $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Ni}(\text{Met-Ov})_2]$  kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde ise canlılık oranlarının sırasıyla %79.98 ve %47.37 olarak analiz edildi ( $p < 0.01$ ).



Şekil 5.20. Farklı konsantrasyonlarda (1-10  $\mu\text{M}$ ) 24 ve 48 saat boyunca (A)  $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve (B)  $[\text{Ni}(\text{Met-Ov})_2]$  kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde canlılık değerleri ( $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$ ).

#### 5.4. Akridin Oranj Boyama ile Morfolojik Değişimlerin Belirlenmesi

MCF-7 meme kanseri ve HUVEC kontrol hücrelerine 1, 2.5, 5 ve 10  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda  $[\text{Met-Da}]$  ve  $[\text{Met-Ov}]$  schiff bazları ve  $\text{Cu}(\text{II})$ ,  $\text{Ni}(\text{II})$ ,  $\text{Pd}(\text{II})$  kompleksleri uygulanarak 24 ve 48 saat boyunca inkübe edilmiş ve belirlenen inkübasyon sürelerinin sonunda her iki hücre de sitotoksisteyi belirlemek amacıyla hücre canlılık analizi olan WST-1 analizi gerçekleştirilmiştir. WST-1 analizi sonucuna göre en etkili doz olarak 5  $\mu\text{M}$  belirlenmiş ve AO boyaması belirlenen doz için gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.21.).  $[\text{Met-Da}]$  ve  $[\text{Met-Ov}]$  Schiff bazı ligandları

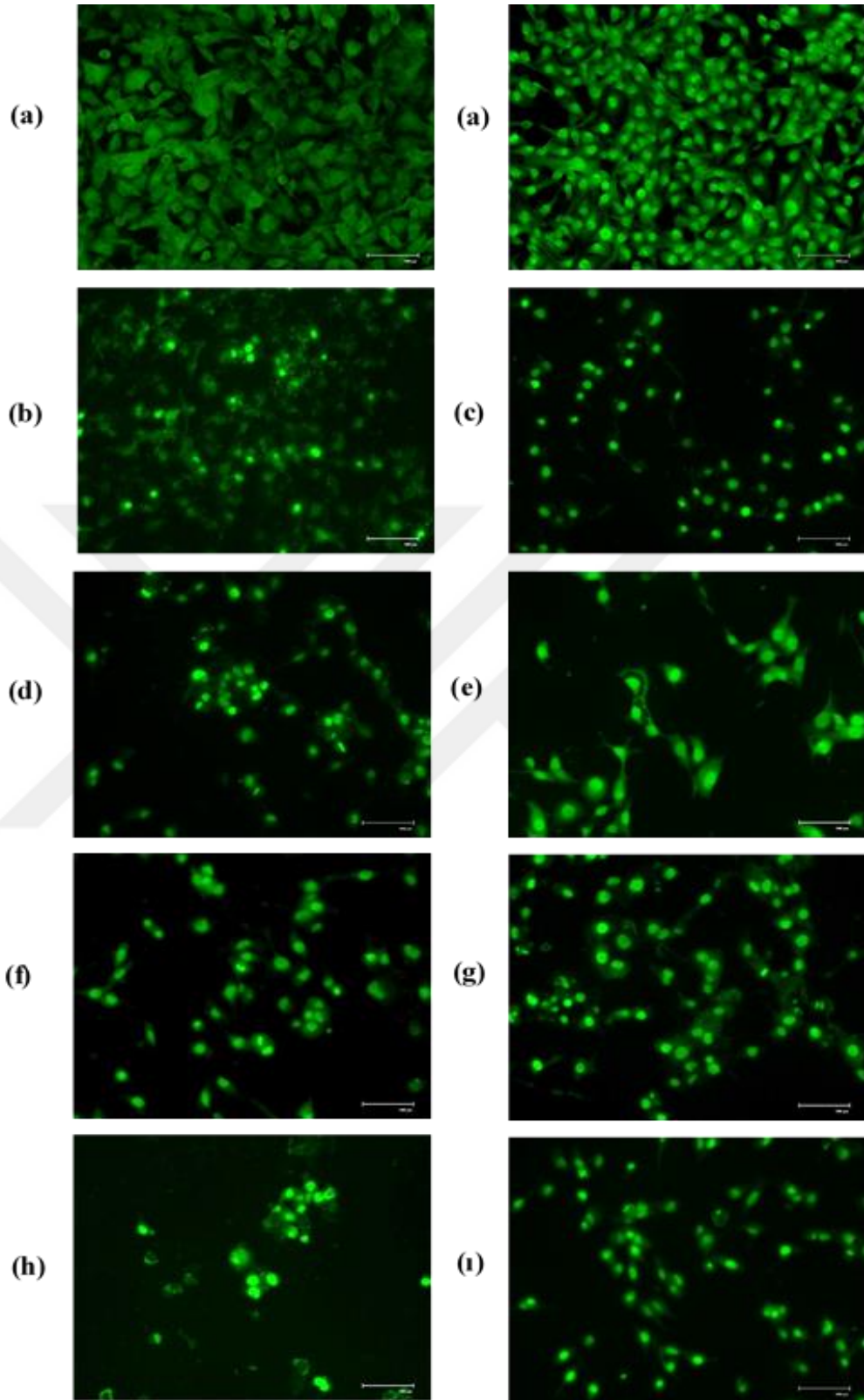
uygulanan MCF-7 hücrelerinde morfolojik değişimler incelendiğinde, [Met-Da] ligandının [Met-Ov] ligandına göre MCF-7 hücrelerinde daha toksik etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

Ligandlar ile oluşturulan kompleksler incelendiğinde, [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksi uygulanan MCF-7 hücrelerinde kromatin yoğunlaşmasının yanısıra, hücre küçülmesi ve nükleus parçalanması gözlemlenmiştir. [Cu(Met-Ov)Cl] kompleksinin ise benzer şekilde kromatin yoğunlaşmasına ve sitoplazmada vakuol oluşmasına neden olurken, [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksine göre daha az hasara neden olduğu görüntülenmiştir.

MCF-7 hücrelerine 48 saat boyunca [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksleri uygulandığında hücrelerde DNA kırıkları, sitoplazma kaybı ve kromatin yoğunlaşması gözlemlenmiştir. Ancak, [Pd(Met-Ov)Cl] uygulanan hücrelerde nükleer hasarın daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

[Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde ise, [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksi uygulanan hücrelerde diğer [Met-Da] komplekslerine göre daha fazla nükleer hasar görüntülenmiştir. Ayrıca, hücrelerin genel morfolojik yapısını kaybettiği ve apoptotik ölüme gittiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, [Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazı ligandlarının MCF-7 hücrelerinde etkin olmasıyla birlikte metal komplekslerinin ligandlarına göre hücrelerde belirgin apoptotik morfolojik değişikliklere neden olduğu görüntülenmiştir. Ayrıca, özellikle Cu(II) ve Ni(II) metallerinin [Met-Ov] komplekslerinin [Met-Da] komplekslerine hücrelerde daha fazla hasara neden olduğu gözlemlenmiştir. Pd(II) komplekslerinin ise her ikisinde hücrelerde benzer morfolojik değişimlere neden olduğu tespit edilmiştir.

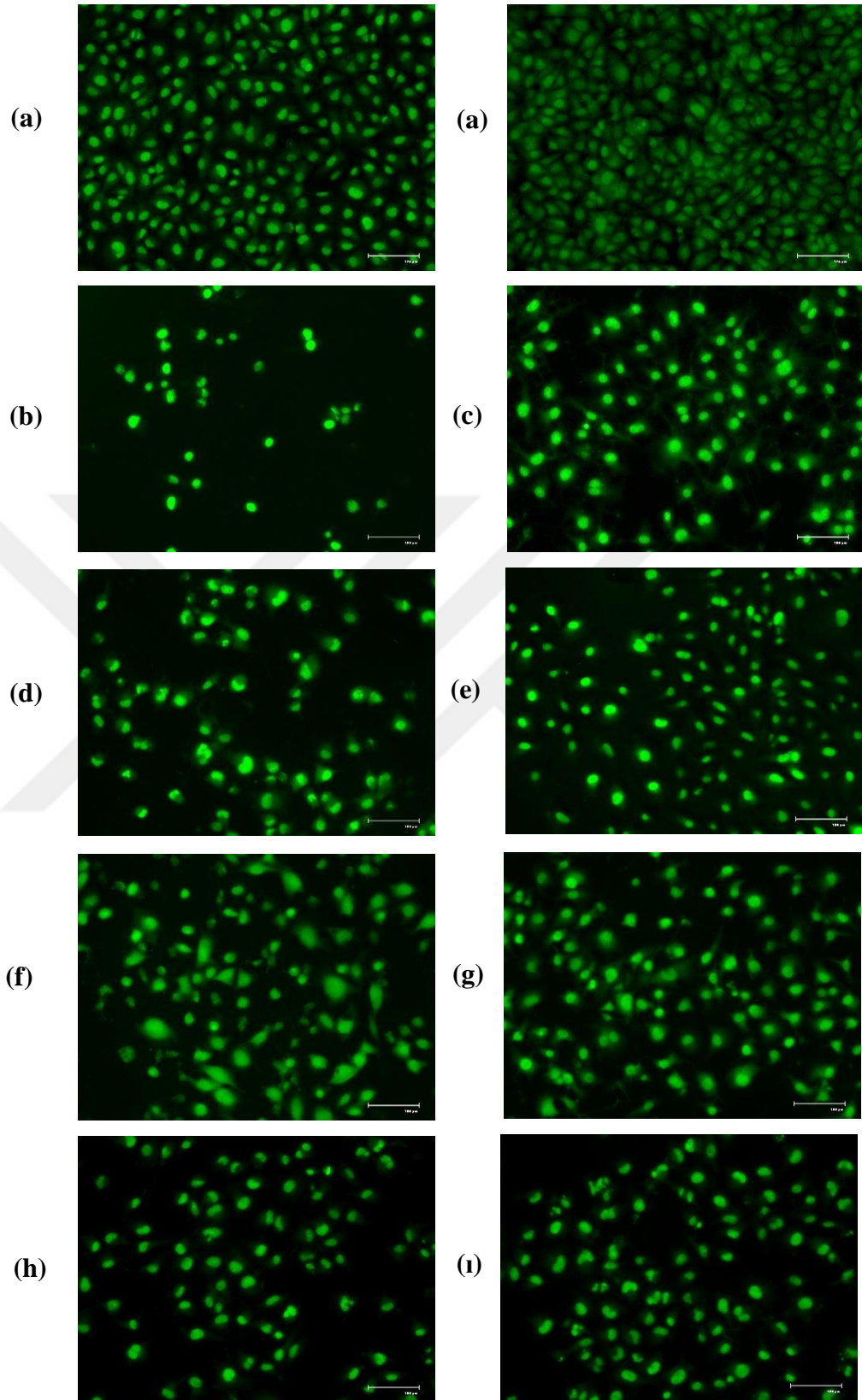


Şekil 5.21. Farklı metal bileşikleri uygulanan MCF-7 hücrelerinde morfolojik değişimlerin AO boyaması ile değerlendirilmesi (a) Kontrol, (b) [Met-Da], (c) [Met-Ov], (d)  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$ , (e)  $[\text{Cu}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$ , (f)  $[\text{Pd}(\text{Met-Da})_2]$ , (g)  $[\text{Pd}(\text{Met-Ov})\text{Cl}]$ , (h)  $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$ .

[Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazları ve Cu(II), Ni(II), Pd(II) kompleksleri uygulanan HUVEC hücrelerinde morfolojik değişimler değerlendirildiğinde;(Şekil 5.22.) her iki ligandın da kontrol HUVEC hücre hattında belirli düzeyde hasara neden olduğu görüntülenmiştir. Özellikle [Met-Da] uygulanan HUVEC hücrelerinde kromatin yoğunlaşması ve hücrelerin morfolojisinin daha yuvarlak bir yapıda olduğu görüntülenmiştir.

[Met-Da] ligandının Cu(II), Ni(II), Pd(II) komplekslerinin HUVEC hücrelerinde genel olarak hücre yapısını bozduğu ve kromatin yoğunlaşmasına yol açtığı gözlemlenmiştir. [Met-Ov] ligandının komplekslerinin [Met-Da] komplekslerine kıyasla hücrelerin genel morfolojik yapısında daha az değişime yol açtığı tespit edilmiştir. Ancak, diğer metal komplekslerine göre özellikle Ni(II) [Met-Da] ve [Met-Ov] komplekslerinin HUVEC hücrelerinde belirgin düzeyde nükleer parçalanmaya neden olduğu ve [Met-Ov] kompleksinin daha fazla apoptotik ölüme neden olduğu görüntülenmiştir.

Sonuç olarak, HUVEC hücrelerinde [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandı- temelli apoptotik ölüm belirlenmekle birlikte her iki ligandın komplekslerinde belirli düzeyde toksik etki gösterdiği görüntülenmiştir. Elde edilen veriler, [Met-Ov] ligandının metal komplekslerinin MCF-7 meme kanseri hücrelerinde daha fazla toksik etkiye ve apoptotik ölüme neden olurken, normal hücrelerde [Met-Da] komplekslerine göre daha az toksik etkiye neden olduklarını göstermektedir. Elde edilen veriler WST-1 sonuçları desteklemektedir.



Şekil 5.22. HUVEC hücrelerinde morfolojik değişimlerin AO boyaması ile değerlendirilmesi (a) Kontrol, (b) [Met-Da], (c) [Met-Ov], (d)  $[Cu_2(Met-Da)_2]$ , (e)  $[Cu(Met-Ov)Cl]$ , (f)  $[Pd(Met-Da)_2]$ , (g)  $[Pd(Met-Ov)Cl]$ , (h)  $[Ni_2(Met-Da)_2]$  ve (i)  $[Ni(Met-Ov)_2]$ .

## BÖLÜM 6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser türü olmasının yanısıra heterojenik özelliğinden dolayı tedavi başarısının sınırlı olduğu ve dolayısıyla mortalitenin yüksek olduğu bir kanser tipidir [158]. Çalışmalar hiperglisemi ve hiperinsülineminin hem yaşlanmada hem de meme kanseri gelişiminde önemli faktörler olduğunu göstermektedir [90]. Bu nedenle hiperglisemi sırasında glikoz seviyesini azaltarak anti-diyabetik özellik gösteren metforminin meme kanseri tedavisinde kullanımı dikkat çekici hale gelmiştir [159].

Metformin anti-diyabetik etkiye sahip olmasının yanında güçlü anti-kanser özelliğe sahip bir biguanid türevidir [83]. Yapılan bir çalışmada metforminin antikanser etkileri, MCF-7 meme kanseri ve FSaII fare fibrosarkom hücreleri ile incelenmiştir. MCF-7 hücrelerinin 24 veya 48 saat boyunca 1 mM metformin ile inkübasyonu sonucunda hücrede sağkalım sırasıyla % 81.7 ve % 71.0 iken, FSaII hücrelerinde ise canlılık oranının sırasıyla % 49.3 ve % 28.7'ye düştüğü tespit edilmiştir. Çalışma klinik olarak ulaşılabilir metformin konsantrasyonlarının kanser hücrelerinde önemli klonojenik ölüme neden olduğu yargısını doğurmaktadır. Bu doğrultuda son çalışmalar, düşük dozlu metforminin özellikle meme kanseri kök hücrelerini hedef alarak meme kanseri üzerinde sitotoksik etkilere yol açtığını göstermektedir [160].

Örneğin, yapılan bir çalışma düşük dozda metforminin, farklı dört alt tip meme kanserinde hücresel dönüşümü inhibe ederek kanser kök hücrelerini seçici olarak öldürdüğünü göstermektedir. Ayrıca metformin kemoterapötik ajanlar ile birlikte uygulandığında hem kanser hücrelerinin hemde tümör gelişiminde rol alan kök hücreleri de hedefleyerek kemoterapik ajanların etkisinin arttığı tespit edilmiştir [92, 161, 162]. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada, metformin ile kemoterapik ilaç olarak kullanılan doksorubisin birlikte kullanımının MDA-MB-231 hücrelerinde anti-proliferatif sinerjistik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca aynı çalışma, metforminin kanser tedavisini desteklemesinin yanı sıra standart kemoterapi tedavisi ile ortaya

çıkan toksisitesiyi de azaltmak için geniş anti-kanser etkiye sahip olduğunu belirtmektedir [163]. Yapılan bir başka çalışmada metforminin insan meme kanseri JIMT-1 hücre hattı üzerinde sitotoksik etki göstererek tümörün büyümesini engellediği belirlenmiştir [164].

Tıbbi bileşikler hemen hemen doğal ya da organik ürünlerden türetiliyor olsa da sis-platinin keşfi diğer metal bileşiklerinin anti-kanser etkisi üzerine yapılan çalışmaların artmasına neden olmuştur [46]. Yapılan bir çalışmada sis-platin analogları olan sis-Pt1 ve sis-Pt2 platin komplekslerinin MCF-7 meme kanseri hücresinde sitotoksik etkisinin tespiti için WST-1 analizi uygulanmış ve Pt2 komplekslerinin 24 saatte MCF-7 hücrelerinin canlılık oranını %50-55 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada sentezlenen analogların sis-platine kıyasla MCF-7 hücrelerinde daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır [165].

Bu kapsamda yapılan çalışmada metformin türevli iki yeni [Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazı ligandları şelat yapıcı moleküller olarak sentezlenmiştir. Her iki ligand yeni yöntem kullanılarak özgün bir biçimde hazırlanmıştır. Aynı şekilde [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandlarının Cu(II), Pd(II) ve Ni(II) metal kompleksleri özgün bir biçimde sentezlenmiştir. Yapılan spektrofotometrik çalışmalar sonucunda sentezlenen Schiff bazlarının 1. ve 2. sıra geçiş metalları ile kare düzlem yapı oluşturmaya yatkın  $d^8$  ve  $d^9$  elektronik konfigürasyona sahip geçiş metal bileşikleri ile alışılmışın dışında altılı ve beşli kooordinasyona sahip kompleksler olduğu tespit edilmiştir. Burada özellikle [Met-Da] ligandı ile hazırlanan komplekslerin altılı koordinasyonda oktahedral yapıda oldukları, ligandların şelat yapıcı çok dişli ligand yapısında olmalarının ve özellikle molekül içindeki konjigasyonların oluşan komplekslerin kararlılığının artırılmasında etkin rol oynadığı ve önerilen yapıların kararlı moleküller olarak hazırlanmasına katkı sağladığı düşünülmektedir. [Met-Ov] ligandının komplekslerinde ise benzer katkıların söz konusu olmasına rağmen Pd(II) ve Cu(II) iyonları için ML stokiometrisinde üçgen bi piramid yapıda komplekslerin meydana geldiği, ancak Ni (II) iyonu için  $ML_2$  yapısında oktahedral kompleksin oluşumunun kararlılığı artırıcı bir tercih olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca bu ligand ve metal komplekslerinin MCF-7 meme

kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri WST-1 analizi ile araştırılmıştır. Kontrol olarak HUVEC hücre hattı kullanılmıştır.

Elde edilen veriler, MCF-7 meme kanseri ve HUVEC hücrelerine 5 µM [Met-Ov] ligandı 48 saat uygulandığında hücrelerde canlılık oranının sırasıyla %45.71 ve %49.74 olduğunu göstermiştir. Her iki hücreye 5 µM [Met-Da] ligandı 48 saat uygulandığında ise canlılık oranının sırasıyla %52.49 ve %52.63 olduğu tespit edilmiştir.

MCF-7 kanser hücre hattına 48 saat süreyle 5 µM [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] ve [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksleri uygulandığında canlılık oranları sırasıyla %37.72 ve %39.38 iken, HUVEC hücrelerinde bu oran sırasıyla %56.06 ve %62.14 olarak analiz edilmiştir. [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] kompleksi ise MCF-7 meme kanseri ve HUVEC hücrelerinde 48 saat uygulamanın sonucunda canlılık oranları sırasıyla %44.90 ve %54.01 olduğu tespit edilmiştir.

5 µM [Cu(Met-Ov)Cl] ve [Pd(Met-Ov)Cl] kompleksleri MCF-7 kanser hücrelerine 48 saat süreyle uygulandığında canlılık oranları sırasıyla %35.96 ve %35.20 iken, HUVEC kontrol hücre hattında aynı konsantrasyon ve süreyle uygulandığında canlılık oranlarının sırasıyla %47.36 ve %49.28 olduğu tespit edilmiştir. [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] kompleksinin ise MCF-7 ve HUVEC hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %34.21 ve %34.98 olarak belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar [Met-Da] ve [Met Ov] ligandının ve metal komplekslerinin sitotoksitesinin MCF-7 hücre hattında zamana bağlı bir şekilde istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiğini göstermektedir (p<0.05). Ayrıca her iki ligandın sitotoksik etki gösterdiği ancak ligandlara kıyasla metal komplekslerinin sitotoksitesinin daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Elde edilen bu veriler mevcut tez çalışmasının yapılan diğer çalışmaları destekler nitelikte olduğunu göstermektedir. Ayrıca, [Met-Da] ve [Met-Ov] ligandları ile karşılaştırıldığında, Cu(II) ve Pd(II) komplekslerinin MCF-7 hücrelerinde anlamlı derecede sitotoksik etki gösterdiği ve [Met-Ov] ligandı ile kompleks formülasyonlarının [Met-Da] komplekslerine göre daha etkin olduğu



tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra,  $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  ve  $[\text{Ni}(\text{Met-Ov})_2]$  komplekslerinin MCF-7 hücrelerinde etkili olmakla birlikte, HUVEC hücrelerinde en yüksek sitotoksik etki gösteren kompleks olduğunda tespit edilmiştir.

Ligand ile karşılaştırıldığında bileşiklerin sitotoksitesindeki bu önemli artış, komplekslerde ki metal merkezinin koordinasyon gücünün anti-kanser aktivitesi üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir [131]. Aynı şekilde komplekslerin farmasötik kullanımı, pozitif yüklü metal merkezlerinin protein bileşenleri, ATP, nükleik asitler ve amino asit kalıntıları gibi negatif yüklü biyomoleküller ile etkileşime girerek bağlanabilir olmasından kaynaklanmaktadır [166].

Apoptoz terimi ilk kez 1972’de Avusturalyalı bir patolog olan J.F.K. Kerr tarafından doku ölümünden farklı olarak gerçekleşen diğer bir ölüm şekli için tanımlanmış ve fizyolojik hücre ölümünü ifade etmektedir [167, 168]. Yani kısaca programlı hücre ölümüdür [167]. Bir hücredeki apoptotik ölüm; hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, nükleer parçalanma ve DNA kırığı oluşumu gibi morfolojik değişimler ile karakterize edilebilir [169, 170].

Mevcut tez çalışmasında her iki ligandın ve Cu(II), Pd (II), Ni(II) metal komplekslerinin MCF-7 meme kanseri hücrelerinde neden olduğu morfolojik değişimlerin incelenmesi için Akridin oranj boyama yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda ligand ve komplekslerin kanser hücrelerinde membran bütünlüğünde bozulmaya ve DNA’da hasara neden olduğu görüntülenmiştir. Ayrıca hücrelerde DNA kırıkları, kromatin yoğunlaşması, çekirdekte ve sitoplazmada hasar belirlenmiştir.

Sonuç olarak, [Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazı ligandlarının MCF-7 hücrelerinde etkin olmasıyla birlikte metal komplekslerinin ligandlarına göre hücrelerde belirgin apoptotik morfolojik değişikliklere neden olduğu görüntülenmiştir. Ayrıca, özellikle Cu(II) ve Pd(II) metallerinin [Met-Ov] komplekslerinin [Met-Da] komplekslerine göre hücrelerde daha fazla hasara neden olduğu gözlemlenmiştir.

Ayrıca, metforminin etki mekanizması üzerine 2000 yılında yapılan ilk çalışmada, metforminin mitokondriyal solunum zinciri kompleks 1'i inhibe ederek, NADH oksidasyonunu ve oksijen tüketimini azalttığı ortaya konmuştur [171]. Metforminin kanser tedavisindeki olası yararları ve anti-kanser mekanizması araştırılmasına rağmen hücrel ve mitokondriyal metabolizma üzerindeki etkileri tam olarak anlaşılammıştır. Bu nedenle ileri çalışmalar ile desteklenmesi gereken bir konudur [172, 173].

Mevcut tez çalışmasında [Met-Da] ve [Met-Ov] Schiff bazı ligandlarının ve farklı metal kompleks bileşiklerinin meme kanseri üzerinde sitotoksik ve apoptotik etkileri belirlenmiştir. Bununla birlikte oluşan metal komplekslerin fonksiyonel olarak platine benzer kompleksler oluşurmaya yatkın oldukları ve sis-platine göre daha düşük metal toksisitesine sahip olmaları, alternatif kemoterapik ajan olabileceklerini göstermektedir. Ancak, neden oldukları apoptotik ölümün moleküler mekanizmasının belirlenmesine yönelik detaylı çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKÇA

- [1] Ashraf, M. A., Mahmood K., Wajid A., Synthesis, characterization and biological activity of Schiff bases. IPCBEE., 10: 1-7, 2011.
- [2] Kapila, A., Kaur, M., Kaur, H., Organotin (IV) complexes of tridentate (O, N, O) Schiff base ligand: computational, spectroscopic and biological studies. Materials Today: Proceedings, 2020.
- [3] Xu, Y., Shi, Y., Lei, F., & Dai, L., A novel and green cellulose-based Schiff base-Cu (II) complex and its excellent antibacterial activity. Carbohydrate Polymers., 230: 115671, 2020.
- [4] Shirode, P. R., Yeole, P. M., Synthesis, spectroscopic, thermal and antimicrobial studies of some transition metal mixed ligand complexes of Schiff Base. Chemical Science Transactions., 3(3): 1186-1192, 2014.
- [5] Sharaby, C. M., Amine, M. F., & Hamed, A. A., Synthesis, structure characterization and biological activity of selected metal complexes of sulfonamide Schiff base as a primary ligand and some mixed ligand complexes with glycine as a secondary ligand. Journal of Molecular Structure., 1134: 208-216, 2017.
- [6] Sevgi, F., Bagkesici, U., Kursunlu, A. N., & Guler, E., Fe (III), Co (II), Ni (II), Cu (II) and Zn (II) complexes of Schiff bases based-on glycine and phenylalanine: synthesis, magnetic/thermal properties and antimicrobial activity. Journal of Molecular Structure., 1154: 256-260, 2018.
- [7] Sharma, V. K., Srivastava, A., & Srivastava, S., Synthetic, structural and antifungal studies of coordination compounds of Ru (III), Rh (III) and Ir (III) with tetradentate Schiff bases. Journal of the Serbian Chemical Society., 71(8-9): 917-928, 2006.
- [8] Ahamad, M. N., Iman, K., Raza, M. K., Kumar, M., Ansari, A., Ahmad, M., & Shahid, M., Anticancer properties, apoptosis and catecholase mimic activities of dinuclear cobalt (II) and copper (II) Schiff base complexes. Bioorganic Chemistry., 95: 103561, 2020.

- [9] Chate, A. V., Kamdi, S. P., Bhagat, A. N., Jadhav, C. K., Nipte, A., Sarkate, A. P., Gill, C. H., et al., Design, Synthesis and SAR Study of Novel Spiro [Pyrimido [5, 4-b] Quinoline-10, 5'-Pyrrolo [2, 3-d] Pyrimidine] Derivatives as Promising Anticancer Agents. *Journal of Heterocyclic Chemistry.*, 55(10): 2297-2302, 2018.
- [10] Bruijninx, P. C., & Sadler, P. J., New trends for metal complexes with anticancer activity. *Current opinion in chemical biology.*, 12(2): 197-206, 2008.
- [11] Md Yusof, E. N., M Latif, M. A., M Tahir, M. I., Sakoff, J. A., Simone, M. I., Page, A. J., BSA Ravoof, T., et al., o-Vanillin derived schiff bases and their organotin (IV) compounds: synthesis, structural characterisation, in-silico studies and cytotoxicity. *International journal of molecular sciences.*, 20(4): 854, 2019.
- [12] [12] Ali, I., Wani, W. A., Saleem, K., & Hseih, M. F., Design and synthesis of thalidomide based dithiocarbamate Cu (II), Ni (II) and Ru (III) complexes as anticancer agents. *Polyhedron.*, 56: 134-143, 2013.
- [13] [13] Huang, K. B., Wang, F. Y., Tang, X. M., Feng, H. W., Chen, Z. F., Liu, Y. C., & Liang, H., et al., Organometallic gold (III) complexes similar to Tetrahydroisoquinoline induce ER-stress-mediated apoptosis and pro-death autophagy in A549 Cancer cells. *Journal of medicinal chemistry.*, 61(8): 3478-3490, 2018.
- [14] Zhang, L., Chen, Q., Hou, G., Zhao, W., & Hou, Y., Hydroxyl-substituted double Schiff-base condensed 4-piperidone/cyclohexanones as potential anticancer agents with biological evaluation. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry.*, 34(1): 264-27, 2019.
- [15] Farghadani, R., Seifaddinipour, M., Rajarajeswaran, J., Abdulla, M. A., Hashim, N. B. M., & Khaing, S. L., In vivo acute toxicity evaluation and in vitro molecular mechanism study of antiproliferative activity of a novel indole Schiff base  $\beta$ -diiminato manganese(III) complex in hormone-dependent and triple negative breast cancer cells. *PeerJ.*, 7: e7686, 2019.
- [16] Al-Khathami, N. D., Al-Rashdi, K. S., Babgi, B. A., Hussien, M. A., Arshad, M. N., Eltayeb, N. E., Al-Jahdali, M., et al., Spectroscopic and biological properties of platinum complexes derived from 2-pyridyl Schiff bases. *Journal of Saudi Chemical Society.*, 23(7): 903-915, 2019.
- [17] More, M. S., Joshi, P. G., Mishra, Y. K., & Khanna, P. K., Metal complexes driven from Schiff bases and semicarbazones for biomedical and allied applications: a review. *Materials Today Chemistry.*, 14: 100195, 2019.

- [18] Gungor, O., Kocer, F., & Kose, M., Cu (II) complexes of biguanidine ligands: Structural characterisation, DNA binding and antimicrobial properties. *Journal of Molecular Structure.*, 1204: 127533, 2020.
- [19] Abd El-Razek, S. E., El-Gamasy, S. M., Hassan, M., Abdel-Aziz, M. S., & Nasr, S. M., Transition metal complexes of a multidentate Schiff base ligand containing guanidine moiety: Synthesis, characterization, anti-cancer effect, and anti-microbial activity. *Journal of Molecular Structure.*, 1203: 127381, 2020.
- [20] Raczyńska, E. D., Decouzon, M., Gal, J. F., Maria, P. C., Gelbard, G., & Vielfaure-Joly, F., Gas-phase structural (internal) effects in strong organic nitrogen bases. *Journal of Physical Organic Chemistry.*, 14(1): 25-34, 2001.
- [21] Chen, X., Wu, W., Gong, B., Hou, L., Dong, X., Xu, C., Chen, L., et al., Metformin attenuates cadmium-induced neuronal apoptosis in vitro via blocking ROS-dependent PP5/AMPK-JNK signaling pathway. *Neuropharmacology.*, 175: 108065, 2020.
- [22] Cunha, V., Cotrim, H. P., Rocha, R., Carvalho, K., & Lins-Kusterer, L., Metformin in the prevention of hepatocellular carcinoma in diabetic patients: a systematic review. *Annals of Hepatology.*, 19(3): 232-237, 2020.
- [23] Giovannucci, E., & Michaud, D., The role of obesity and related metabolic disturbances in cancers of the colon, prostate, and pancreas. *Gastroenterology.*, 132(6): 2208-2225, 2007.
- [24] Liu, C., Liu, Q., Yan, A., Chang, H., Ding, Y., Tao, J., & Qiao, C., Metformin revert insulin-induced oxaliplatin resistance by activating mitochondrial apoptosis pathway in human colon cancer HCT116 cells. *Cancer Medicine.*, 9(11): 3875-3884, 2020.
- [25] Yee, L. D., Mortimer, J. E., Natarajan, R., Dietze, E. C., & Seewaldt, V. L., Metabolic health, insulin, and breast cancer: why oncologists should care about insulin. *Frontiers in Endocrinology.*, 11: 58, 2020.
- [26] Palazzolo, G., Mollica, H., Lusi, V., Rutigliani, M., Di Francesco, M., Pereira, R. C., Decuzzi, P., et al., Modulating the Distant Spreading of Patient-Derived Colorectal Cancer Cells via Aspirin and Metformin. *Translational oncology.*, 13(4): 100760, 2020.
- [27] Wang, G., Li, X., Xiong, R., Wu, H., Xu, M., & Xie, M., Long-term survival analysis of patients with non-small cell lung cancer complicated with type 2 diabetes mellitus. *Thoracic Cancer.*, 11(5): 1309-1318, 2020.
- [28] Lee, J. Y., Shin, D. H., & Kim, J. S., Anticancer effect of metformin in herceptin-conjugated liposome for breast cancer. *Pharmaceutics.*, 12(1): 11, 2020.

- [29] Lee, J. E., Lim, J. H., Hong, Y. K., & Yang, S. H., High-dose metformin plus temozolomide shows increased anti-tumor effects in glioblastoma in vitro and in vivo compared with monotherapy. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association.*, 50(4): 1331, 2018.
- [30] Rao, N. K., & Annapurna, M. M., Copper and nickel complexes of metformin: synthesis, characterization and pharmacodynamic evaluation. *JASA.*, 3, 43-6, 2007.
- [31] Sonar, S., Vaidya, S., Bagal, M., & Chondhekar, T. K., Potentiometric Study Of Binary Complexes Of Transition Metal Ion  $Cu^{+2}$  With Schiff Base Ligands. *Heterocyclic Letters.*, 8(1), 185-189, 2018.
- [32] Gaikwad, S. V., Musale, B. B., & Lonkar, S. M., An Ecofriendly Synthesis and Bioactivity Evaluation of New Bromo Schiff's Bases in Water under Stirring Method. *International Journal of Universal Science and Technology.*, 03(05): 256-261, 2018.
- [33] Xavier, A., & Srividhya, N., Synthesis and study of Schiff base ligands. *IOSR Journal of Applied Chemistry.*, 7(11): 06-15, 2014.
- [34] Koç, Z. E., Tripodal Schiff bazlı ligandların sentezi ve metal komplekslerinin incelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Doktora Tezi, 2006.
- [35] Tokmak, E., & Nartop, D., Schiff bazı takılı polimerlerin sentezi Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2017.
- [36] Kolapwar, B. G., Study Of Schiff Base Compounds And Its Derivatives. *Anveshana's International Journal Of Research In Pharmacy and Life Sciences.*, 2(1), 2017.
- [37] Kılıçaslan, H, . Değişik Uçlu Schiff Bazlarının Sentezi ve Metal Komplekslerinin İncelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.
- [38] Özbülbül, A., Oligofenol Esaslı Yeni Tip Oligomer Schiff Bazlarının Sentezi ve Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü , Yüksek Lisans Tezi, 2006.
- [39] Al Zoubi, W., Biological activities of Schiff bases and their complexes: a review of recent works. *International Journal of Organic Chemistry.*, 3: 73-95, 2013

- [40] Tyagi, P., Chandra, S., & Saraswat, B. S., Ni (II) and Zn (II) complexes of 2-((thiophen-2-ylmethylene) amino) benzamide: Synthesis, spectroscopic characterization, thermal, DFT and anticancer activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, 134: 200-209, 2015.
- [41] Abdel-Rahman, L. H., Abu-Dief, A. M., El-Khatib, R. M., Abdel-Fatah, S. M., Sonochemical synthesis, DNA binding, antimicrobial evaluation and in vitro anticancer activity of three new nano-sized Cu(II), Co(II) and Ni(II) chelates based on tri-dentate NOO imine ligands as precursors for metal oxides. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.*, 162: 298-308, 2016.
- [42] Tabassum, S., Zaki, M., Ahmad, M., Afzal, M., Srivastav, S., Srikrishna, S., & Arjmand, F., Synthesis and crystal structure determination of copper (II)-complex: in vitro DNA and HSA binding, pBR322 plasmid cleavage, cell imaging and cytotoxic studies. *European Journal of Medicinal Chemistry.*, 83: 141-154, 2014.
- [43] Iftikhar, B., Javed, K., Khan, M. S. U., Akhter, Z., Mirza, B., & Mckee, V., Synthesis, characterization and biological assay of Salicylaldehyde Schiff base Cu (II) complexes and their precursors. *Journal of Molecular Structure.*, 1155: 337-348, 2018.
- [44] Shokrollahi, S., Amiri, A., Fadaei-Tirani, F., & Schenk-Joß, K., Promising anti-cancer potency of 4, 5, 6, 7-tetrahydrobenzo [d] thiazole-based Schiff-bases. *Journal of Molecular Liquids.*, 300: 112262, 2020.
- [45] Da Silva, C. M., Silva, M. M., Reis, F. S., Ruiz, A. L. T., de Carvalho, J. E., Santos, J. C., de Fátima, Â., et al., Studies on free radical scavenging, cancer cell antiproliferation, and calf thymus DNA interaction of Schiff bases. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.*, 172: 129-138, 2017.
- [46] Jia, L., Xu, J., Zhao, X., Shen, S., Zhou, T., Xu, Z., Dong, K., et al., Synthesis, characterization, and antitumor activity of three ternary dinuclear copper (II) complexes with a reduced Schiff base ligand and diimine coligands in vitro and in vivo. *Journal of inorganic biochemistry.*, 159: 107-119, 2016.
- [47] Tabassum, S., Ahmad, M., Afzal, M., Zaki, M., & Bharadwaj, P. K., Synthesis and structure elucidation of a copper (II) Schiff-base complex: in vitro DNA binding, pBR322 plasmid cleavage and HSA binding studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.*, 140: 321-331, 2014.
- [48] Özdemir, Ö., Gürkan, P., Demir, Y. D. Ş., & Ark, M., Novel palladium (II) complexes of N-(5-nitro-salicylidene)-Schiff bases: Synthesis, spectroscopic characterization and cytotoxicity investigation. *Journal of Molecular Structure.*, 1207: 127852, 2020.

- [49] Ma, Z. Y., Qiao, X., Xie, C. Z., Shao, J., Xu, J. Y., Qiang, Z. Y., & Lou, J. S., Activities of a novel Schiff Base copper (II) complex on growth inhibition and apoptosis induction toward MCF-7 human breast cancer cells via mitochondrial pathway. *Journal of inorganic biochemistry.*, 117: 1-9, 2012.
- [50] Kazemi, Z., Rudbari, H. A., Mirkhani, V., Sahihi, M., Moghadam, M., Tangestaninejad, S., & Mohammadpoor-Baltork, I., Synthesis, characterization, crystal structure, DNA-and HSA-binding studies of a dinuclear Schiff base Zn (II) complex derived from 2-hydroxynaphtaldehyde and 2-picolyamine. *Journal of Molecular Structure.*, 1096: 110-120., 2015.
- [51] Dhahagani, K., Kumar, S. M., Chakkaravarthi, G., Anitha, K., Rajesh, J., Ramu, A., & Rajagopal, G., Synthesis and spectral characterization of Schiff base complexes of Cu (II), Co (II), Zn (II) and VO (IV) containing 4-(4-aminophenyl) morpholine derivatives: Antimicrobial evaluation and anticancer studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, 117: 87-94, 2014.
- [52] Mori, H., Kojima, R., Mochizuki, Y., Uenohara, W., Umezawa, I., & Matsushita, N., Importance of spin-orbit coupling effect and solvent effect in electronic transition assignments of PtII complexes: In the case of cis/trans-[PtIICl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]. *Journal of Molecular Structure.*, 1035: 218-223, 2013.
- [53] Elhousseiny, A. F., & Hassan, H. H., Antimicrobial and antitumor activity of platinum and palladium complexes of novel spherical aramides nanoparticles containing flexibilizing linkages: Structure-property relationship. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, 103: 232-245, 2013.
- [54] Wei, X., Yang, Y., Ge, J., Lin, X., Liu, D., Wang, S., Li, S., et al., Synthesis, characterization, DNA/BSA interactions and in vitro cytotoxicity study of palladium (II) complexes of hispolon derivatives. *Journal of inorganic biochemistry.*, 202: 110857, 2020.
- [55] Kuduk-Jaworska, J., Puszko, A., Kubiak, M., & Pełczyńska, M., Synthesis, structural, physico-chemical and biological properties of new palladium (II) complexes with 2, 6-dimethyl-4-nitropyridine. *Journal of inorganic biochemistry.*, 98(8): 1447-1456, 2004.
- [56] Tümer, M., Çelik, C., Köksal, H., & Serin, S., Transition metal complexes of bidentate Schiff base ligands. *Transition Metal Chemistry.*, 24(5): 525-532, 1999.
- [57] AL-Noaimi, M., Choudhary, M. I., Awwadi, F. F., Talib, W. H., Hadda, T. B., Yousuf, S., Sawafta, A., Warad, Ismail., Characterization and biological activities of two copper(II) complexes with dipropylentriamine and diamine as ligands. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, 127: 225-230, 2014.



- [58] Alvarez, N., Velluti, F., Guidali, F., Serra, G., Kramer, M. G., Ellena, J., Torre, M. H., et al., New BI and TRI-Thiazole copper (II) complexes in the search of new cytotoxic drugs against breast cancer cells. *Inorganica Chimica Acta.*, 508: 119622, 2020.
- [59] Matkar, S. S., Wrischnik, L. A., Jones, P. R., & Hellmann-Blumberg, U., Two closely related nickel complexes have different effects on DNA damage and cell viability. *Biochemical and biophysical research communications.*, 343(3): 754-761, 2006.
- [60] Wei, Q., Dong, J., Zhao, P., Li, M., Cheng, F., Kong, J., & Li, L., DNA binding, BSA interaction and SOD activity of two new nickel (II) complexes with glutamine Schiff base ligands. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.*, 161: 355-367, 2016.
- [61] Kasuga, N. C., Sekino, K., Koumo, C., Shimada, N., Ishikawa, M., & Nomiya, K., Synthesis, structural characterization and antimicrobial activities of 4- and 6-coordinate nickel (II) complexes with three thiosemicarbazones and semicarbazone ligands. *Journal of inorganic biochemistry.*, 84(1-2): 55-65, 2001.
- [62] Ay, B., Gönül, İ., Demir, B. S., Saygıdeğer, Y., & Kani, İ., Synthesis, structural characterization and in vitro anticancer activity of two new nickel complexes bearing imine bonds. *Inorganic Chemistry Communications.*, 114: 107824, 2020.
- [63] Selvakumaran, N., Bhuvanesh, N. S. P., Endo, A., & Karvembu, R., Synthesis, structure, DNA and protein binding studies, and cytotoxic activity of nickel (II) complexes containing 3, 3-dialkyl/aryl-1-(2, 4-dichlorobenzoyl) thiourea ligands. *Polyhedron.*, 75: 95-109, 2014.
- [64] Alexiou, M., Tsivikas, I., Dendrinou-Samara, C., Pantazaki, A. A., Trikalitis, P., Lalioti, N., Kessissoglou, D. P., et al., High nuclearity nickel compounds with three, four or five metal atoms showing antibacterial activity. *Journal of inorganic biochemistry.*, 93(3-4): 256-264, 2003.
- [65] He, L., & Wondisford, F. E., Metformin action: concentrations matter. *Cell metabolism.*, 21(2): 159-162, 2015.
- [66] Adak, T., Samadi, A., Ünal, A. Z., & Sabuncuoğlu, S., A reappraisal on metformin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.*, 92: 324-332, 2018.
- [67] Bailey, C. J., Metformin: historical overview. *Diabetologia.*, 60(9): 1566-1576, 2017.
- [68] Vasantha, P., Shekhar, B., & PV, A. L., Copper-metformin ternary complexes: Thermal, photochemosensitivity and molecular docking studies. *Materials Science and Engineering: C.*, 90: 621-633, 2018.

- [69] Refat, M. S., Al-Azab, F. M., Al-Maydama, H. M., Amin, R. R., Jamil, Y. M., & Kobeasy, M. I., Synthesis, spectroscopic and antimicrobial studies of La (III), Ce (III), Sm (III) and Y (III) Metformin HCl chelates. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, 142: 392-404, 2015.
- [70] Fortun, S., Beauclair, P., & Schmitzer, A. R., Metformin as a versatile ligand for recyclable palladium-catalyzed cross-coupling reactions in neat water. *RSC advances.*, 7(34): 21036-21044, 2017.
- [71] Mark, M., Klingbiel, D., Mey, U., Winterhalder, R., Rothermundt, C., Gillessen, S., Cathomas, R., et al., Impact of Addition of Metformin to Abiraterone in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Patients With Disease Progressing While Receiving Abiraterone Treatment (MetAb-Pro): Phase 2 Pilot Study. *Clinical genitourinary cancer.*, 17(2): e323-e328, 2019.
- [72] Turacli, I. D., Candar, T., Yuksel, E. B., Kalay, S., Oguz, A. K., & Demirtas, S., Potential effects of metformin in DNA BER system based on oxidative status in type 2 diabetes. *Biochimie.*, 154: 62-68, 2018.
- [73] Foretz, M., Guigas, B., Bertrand, L., Pollak, M., & Viollet, B., Metformin: from mechanisms of action to therapies. *Cell metabolism.*, 20(6): 953-966, 2014.
- [74] Libby, G., Donnelly, L. A., Donnan, P. T., Alessi, D. R., Morris, A. D., & Evans, J. M., New users of metformin are at low risk of incident cancer: a cohort study among people with type 2 diabetes. *Diabetes care.*, 32(9): 1620-1625, 2009.
- [75] Vitali, E., Boemi, I., Piccini, S., Tarantola, G., Smiroldo, V., Lavezzi, E., Spada, A., et al., A novel insight into the anticancer mechanism of metformin in Pancreatic Neuroendocrine Tumor cells. *Molecular and Cellular Endocrinology.*, 509: 11080, 2020.
- [76] Nurani, M., Akbari, V., & Taheri, A., Preparation and characterization of metformin surface modified cellulose nanofiber gel and evaluation of its anti-metastatic potentials. *Carbohydrate polymers.*, 165: 322-333, 2017.
- [77] Nyane, N. A., Tlaila, T. B., Malefane, T. G., Ndwandwe, D. E., & Owira, P. M. O., Metformin-like antidiabetic, cardio-protective and non-glycemic effects of naringenin: Molecular and pharmacological insights. *European Journal of Pharmacology.*, 803: 103-111, 2017.
- [78] Hemminki, K., Li, X., Sundquist, J., & Sundquist, K., Risk of cancer following hospitalization for type 2 diabetes. *The Oncologist.*, 15(6): 548, 2010.

- [79] Targosz-Korecka, M., Malek-Zietek, K. E., Kloska, D., Rajfur, Z., Stepien, E. Ł., Grochot-Przeczek, A., & Szymonski, M., Metformin attenuates adhesion between cancer and endothelial cells in chronic hyperglycemia by recovery of the endothelial glycocalyx barrier. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects.*, 1864(4): 129533, 2020.
- [80] Hankinson, S. J., Fam, M., & Patel, N. N., A review for clinicians: Prostate cancer and the antineoplastic properties of metformin. In *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations.*, 35(1): 21-29, 2017.
- [81] Peng, J., Jing, X., Wu, J., Hong, D., Hu, X., Wang, Q., Cai, X., et. al., Metformin's Effects on Apoptosis of Esophageal Carcinoma Cells and Normal Esophageal Epithelial Cells: An In Vitro Comparative Study. *BioMed Research International.*, 10, 2020.
- [82] Aljada, A., & Mousa, S. A., Metformin and neoplasia: implications and indications. *Pharmacology & therapeutics.*, 133(1): 108-115, 2012.
- [83] Nasri, H., & Rafieian-Kopaei, M., Metformin: current knowledge. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences.*, 19(7): 658, 2014.
- [84] Harmancı, A., Gürlek, A., Eski İlaç, Eski ve Yeni Kullanımları: Metformin, *Dahili Tıp Bilimleri Dergisi.*, 12(1): 29-37, 2005.
- [85] Krishan, S., Richardson, D. R., & Sahni, S., Adenosine monophosphate-activated kinase and its key role in catabolism: Structure, regulation, biological activity, and pharmacological activation. *Molecular pharmacology.*, 87(3): 363-377, 2015.
- [86] Gunton, J. E., Delhanty, P. J., Takahashi, S. I., & Baxter, R. C., Metformin rapidly increases insulin receptor activation in human liver and signals preferentially through insulin-receptor substrate-2. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.*, 88(3): 1323-1332, 2003.
- [87] Dowling, R. J., Niraula, S., Chang, M. C., Done, S. J., Ennis, M., McCready, D. R., Stambolic, V., et. al., Changes in insulin receptor signaling underlie neoadjuvant metformin administration in breast cancer: a prospective window of opportunity neoadjuvant study. *Breast Cancer Research.*, 17(1): 32, 2015.
- [88] Wahdan-Alaswad, R., Fan, Z., Edgerton, S. M., Liu, B., Deng, X. S., Árnadóttir, S. S., Thor, A. D., et. al., Glucose promotes breast cancer aggression and reduces metformin efficacy. *Cell cycle.*, 12(24): 3759-3769, 2013.
- [89] Alimova, I. N., Liu, B., Fan, Z., Edgerton, S. M., Dillon, T., Lind, S. E., & Thor, A. D., Metformin inhibits breast cancer cell growth, colony formation and induces cell cycle arrest in vitro. *Cell cycle.*, 8(6): 909-915, 2009.

- [90] Anisimov, V. N., Berstein, L. M., Egormin, P. A., Piskunova, T. S., Popovich, I. G., Zabezhinski, M. A., Re, F., et. al., Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Experimental gerontology.*, 40(8-9): 685-693, 2005.
- [91] Daugan, M., Wojcicki, A. D., d'Hayer, B., & Boudy, V., Metformin: An anti-diabetic drug to fight cancer. *Pharmacological research.*, 113: 675-685, 2016.
- [92] Martin-Castillo, B., Vazquez-Martin, A., Oliveras-Ferraros, C., & Menendez, J. A., Metformin and cancer: doses, mechanisms and the dandelion and hormetic phenomena. *Cell cycle.*, 9(6): 1057-1064, 2010.
- [93] Cusi, K., Consoli, A., & Defronzo, R. A., Metabolic effects of metformin on glucose and lactate metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.*, 81(11): 4059-4067, 1996.
- [94] Fang, X., Cao, J., & Shen, A., Advances in anti-breast cancer drugs and the application of nano-drug delivery systems in breast cancer therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.*, 57: 101662, 2020.
- [95] Easton, D. F., Familial risks of breast cancer. *Breast Cancer Research.*, 4(5): 1-3, 2002.
- [96] Sismondi, P., D'Alonzo, M., Pecchio, S., Bounous, V. E., Robba, E., & Biglia, N., Chemoprevention or mastectomy for women at high risk of developing breast cancer. *Maturitas.*, 82(3): 271-273. 2015.
- [97] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A., Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians.*, 68(6): 394-424, 2018.
- [98] Costa, B., Amorim, I., Gärtner, F., & Vale, N., Understanding Breast cancer: from conventional therapies to repurposed drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences.*, 151: 105401, 2020.
- [99] Randa, S., Uğraş, G. A., & Eser, K., Meme kanserli kadınların cerrahi girişim sonrası yaşadıkları üst ekstremitelerde sorunlarının yaşam kalitesine etkisi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi.*, 12(2): 170-181, 2019.
- [100] National Institutes of Health., National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. *Cancer stat facts: female breast cancer.*, 2018.
- [101] Ban, K. A., & Godellas, C. V., Epidemiology of breast cancer. *Surg Oncol Clin N Am.*, 23(3): 409-22, 2014.

- [102] Mubarik, S., Malik, S. S., Wang, Z., Li, C., Fawad, M., & Yu, C., Recent insights into breast cancer incidence trends among four Asian countries using age-period-cohort model. *Cancer Management and Research.*, 11, :8145-8155, 2019.
- [103] Fitzmaurice, C., Allen, C., Barber, R. M., Barregard, L., Bhutta, Z. A., Brenner, H., Fleming, T., et. al., Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the global burden of disease study. *JAMA oncology.*, 3(4): 524-548, 2017.
- [104] Nasrollahzadeh, M., Delshad, M. S. E., Mansour-Ghanaei, R., Maleki, Z., Joukar, F., Hassanipour, S., Mansour-Ghanaei, F., et. al., The prevalence, epidemiology and screening results of breast cancer in women of Guilan province, north of Iran: A cross-sectional study during 2017-2018. *Clinical Epidemiology and Global Health.*, 2020.
- [105] Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., & Jemal, A., Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians.*, 65(2): 87-108, 2015.
- [106] Zakikhani, M., Dowling, R., Fantus, I. G., Sonenberg, N., & Pollak, M., Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. *Cancer research.*, 66(21): 10269-10273, 2006.
- [107] Sahra, I. B., Le Marchand-Brustel, Y., Tanti, J. F., & Bost, F., Metformin in cancer therapy: a new perspective for an old antidiabetic drug?. *Molecular cancer therapeutics.*, 9(5): 1092-1099, 2010.
- [108] Liu, B., Fan, Z., Edgerton, S. M., Deng, X. S., Alimova, I. N., Lind, S. E., & Thor, A. D., Metformin induces unique biological and molecular responses in triple negative breast cancer cells. *Cell cycle.*, 8(13): 2031-2040, 2009.
- [109] Roshan, M. H., Shing, Y. K., & Pace, N. P., Metformin as an adjuvant in breast cancer treatment. *SAGE open medicine.*, 7: 2050312119865114, 2019.
- [110] Cleary, M. P., & Grossmann, M. E., Obesity and breast cancer: the estrogen connection. *Endocrinology.*, 150(6): 2537-254, 2009.
- [111] Rennert, G., Rennert, H. S., Gronich, N., Pinchev, M., & Gruber, S. B., Use of metformin and risk of breast and colorectal cancer. *Diabetes Research and Clinical Practice.*, 165: 108232, 2020.
- [112] Barnes-Josiah, D., Potter, J. D., Sellers, T. A., & Himes, J. H., Early body size and subsequent weight again as predictors of breast cancer incidence (Iowa, United States). *Cancer Causes & Control.*, 6(2): 112-118, 1995.

- [113] Cazzaniga, M., Bonanni, B., Guerrieri-Gonzaga, A., & Decensi, A., Is it time to test metformin in breast cancer clinical trials?. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers.*, 18(3): 701-705, 2009.
- [114] Lord, S. R., Cheng, W. C., Liu, D., Gaude, E., Haider, S., Metcalf, T., Wigfield, S., et. al., Integrated pharmacodynamic analysis identifies two metabolic adaption pathways to metformin in breast cancer. *Cell metabolism.*, 28(5): 679-688, 2018.
- [115] Yu, Z., Zhao, G., Xie, G., Zhao, L., Chen, Y., Yu, H., Li, Y., et. al., Metformin and temozolomide act synergistically to inhibit growth of glioma cells and glioma stem cells in vitro and in vivo. *Oncotarget.*, 6(32): 32930, 2015.
- [116] Xin, M., Wang, Y., Ren, Q., & Guo, Y., Formononetin and metformin act synergistically to inhibit growth of MCF-7 breast cancer cells in vitro. *Biomedicine & Pharmacotherapy.*, 109: 2084-2089, 2019.
- [117] Zhuang, Y., Chan, D. K., Haugrud, A. B., & Miskimins, W. K., Mechanisms by which low glucose enhances the cytotoxicity of metformin to cancer cells both in vitro and in vivo. *PloS one.*, 9(9): e108444, 2014.
- [118] Lee, H., Park, H. J., Park, C. S., Oh, E. T., Choi, B. H., Williams, B., Song, C. W., et. al., Response of breast cancer cells and cancer stem cells to metformin and hyperthermia alone or combined. *PloS one.*, 9(2): e87979, 2014.
- [119] Lee, K. M., Lee, M., Lee, J., Kim, S. W., Moon, H. G., Noh, D. Y., & Han, W., Enhanced anti-tumor activity and cytotoxic effect on cancer stem cell population of metformin-butyrate compared with metformin HCl in breast cancer. *Oncotarget.*, 7(25): 38500, 2016.
- [120] Martin-Castillo, B., Dorca, J., Vazquez-Martin, A., Oliveras-Ferraros, C., Lopez-Bonet, E., Garcia, M., Menendez, J. A., et. al., Incorporating the antidiabetic drug metformin in HER2-positive breast cancer treated with neo-adjuvant chemotherapy and trastuzumab: an ongoing clinical–translational research experience at the Catalan Institute of Oncology. *Annals of oncology.*, 21(1): 187-189, 2010.
- [121] Dowling, R. J., Zakikhani, M., Fantus, I. G., Pollak, M., & Sonenberg, N., Metformin inhibits mammalian target of rapamycin–dependent translation initiation in breast cancer cells. *Cancer research.*, 67(22): 10804-10812, 2007.
- [122] Wang, J. C., Li, G. Y., Wang, B., Han, S. X., Sun, X., Jiang, Y. N., Liu, J. L., et. al., Metformin inhibits metastatic breast cancer progression and improves chemosensitivity by inducing vessel normalization via PDGF-B downregulation. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research.*, 38(1): 1-17, 2019.

- [123] Kirubavathy, S. J., Chitra, S., Synthesis, characterization, DFT, In-vitro antimicrobial, cytotoxicity evaluation, and DNA binding interactions of transition metal complexes of quinoxaline Schiff base ligand. *Proceedings*, 2020.
- [124] Tan, J., Wang, B., & Zhu, L., DNA binding, cytotoxicity, apoptotic inducing activity, and molecular modeling study of quercetin zinc (II) complex. *Bioorganic & medicinal chemistry.*, 17(2): 614-620, (2009).
- [125] Malekshah, R. E., Shakeri, F., Khaleghian, A., & Salehi, M., Developing a biopolymeric chitosan supported Schiff-base and Cu (II), Ni (II) and Zn (II) complexes and biological evaluation as pro-drug. *International Journal of Biological Macromolecules* 152: 846–861, 2020.
- [126] Palanimurugan, A., & Kulandaisamy, A., DNA, in vitro antimicrobial/anticancer activities and biocidal based statistical analysis of Schiff base metal complexes derived from salicylaldehyde-4-imino-2, 3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one and 2-aminothiazole. *Journal of Organometallic Chemistry.*, 861: 263-274, 2018.
- [127] Li, Z., Yan, H., Liu, K., Huang, X., & Niu, M., Syntheses, structures, DNA/BSA binding and cytotoxic activity studies of chiral alcohol-amine Schiff base manganese (II/III) complexes. *Journal of Molecular Structure.*, 1195: 470-478, 2019.
- [128] Afrasiabi, Z., Sinn, E. K. K., Lin, W., Ma, Y., Campana, C., & Padhye, S., Nickel (II) complexes of naphthaquinone thiosemicarbazone and semicarbazone: Synthesis, structure, spectroscopy, and biological activity. *Journal of Inorganic Biochemistry.*, 99(7): 1526-1531, 2005.
- [129] Chen, J., Huang, Y. W., Liu, G., Afrasiabi, Z., Sinn, E., Padhye, S., & Ma, Y., The cytotoxicity and mechanisms of 1, 2-naphthoquinone thiosemicarbazone and its metal derivatives against MCF-7 human breast cancer cells. *Toxicology and applied pharmacology.*, 197(1): 40-48, 2004.
- [130] Illan-Cabeza, N. A., Jimenez-Pulido, S. B., Hueso-Urena, F., Ramirez-Exposito, M. J., Sanchez-Sanchez, P., Martinez-Martos, J. M., & Moreno-Carretero, M. N., Effects on estrogen-dependent and triple negative breast cancer cells growth of Ni (II), Zn (II) and Cd (II) complexes with the Schiff base derived from pyridine-2-carboxaldehyde and 5, 6-diamino-1, 3-dimethyluracil explored through the renin-angiotensin system (RAS)-regulating aminopeptidases. *Journal of inorganic biochemistry.*, 185: 52-62, 2018.
- [131] Vamsikrishna, N., Daravath, S., Ganji, N., & Pasha, N., Synthesis, structural characterization, DNA interaction, antibacterial and cytotoxicity studies of bivalent transition metal complexes of 6-aminobenzothiazole Schiff base. *Inorganic Chemistry Communications.*, 113: 107767, 2020.

- [132] Al-Qadsy, I., Saeed, W. S., Al-Odayni, A. B., Ahmed Saleh Al-Faqeeh, L., Alghamdi, A. A., & Farooqui, M., Novel metformin-based schiff bases: synthesis, characterization, and antibacterial evaluation. *Materials.*, 13(3): 514, 2020.
- [133] El-Shwiniy, W. H., Abbass, L. M., Sadeek, S. A., & Zordok, W. A., Synthesis, Structure, and Biological Activity of Some Transition Metal Complexes with the Mixed Ligand of Metformin and 1, 4-Diacetylbenzene. *Russian Journal of General Chemistry.*, 90: 483-488, 2020.
- [134] Anan, N. A., Hassan, S. M., Saad, E. M., Butler, I. S., & Mostafa, S. I., Preparation, characterization and pH-metric measurements of 4-hydroxysalicylidenechitosan schiff-base complexes of Fe (III), Co (II), Ni (II), Cu (II), Zn (II), Ru (III), Rh (III), Pd (II) and Au (III). *Carbohydrate research.*, 346(6): 775-793, 2011.
- [135] Mohapatra, R. K., Das, P. K., El-ajaily, M. M., Mishra, U., & Dash, D. C., Synthesis, spectral, thermal, kinetic and antibacterial studies of transition metal complexes with benzimidazolyl-2-hydrazones of o-hydroxyacetophenone, o-hydroxybenzophenone and o-vanillin. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia.*, 32(3): 437-450, 2018.
- [136] Liu, Y. T., Sheng, J., Yin, D. W., Xin, H., Yang, X. M., Qiao, Q. Y., & Yang, Z. J., Ferrocenyl chalcone-based Schiff bases and their metal complexes: Highly efficient, solvent-free synthesis, characterization, biological research. *Journal of Organometallic Chemistry.*, 856: 27-33, 2018.
- [137] Abu-Surrah, A. S., Safieh, K. A. A., Ahmad, I. M., Abdalla, M. Y., Ayoub, M. T., Qaroush, A. K., & Abu-Mahtheieh, A. M., New palladium (II) complexes bearing pyrazole-based Schiff base ligands: Synthesis, characterization and cytotoxicity. *European journal of medicinal chemistry.*, 45(2): 471-475, 2010.
- [138] Liu, Z. C., Wang, B. D., Li, B., Wang, Q., Yang, Z. Y., Li, T. R., & Li, Y., Crystal structures, DNA-binding and cytotoxic activities studies of Cu (II) complexes with 2-oxo-quinoline-3-carbaldehyde Schiff-bases. *European journal of medicinal chemistry.*, 45(11): 5353-5361, 2010.
- [139] Nair, M. S., Arish, D., & Joseyphus, R. S., Synthesis, characterization, antifungal, antibacterial and DNA cleavage studies of some heterocyclic Schiff base metal complexes. *Journal of Saudi Chemical Society.*, 16(1): 83-88, 2012.
- [140] De Araújo, E. L., Barbosa, H. F. G., Dockal, E. R., & Cavaleiro, É. T. G., Synthesis, characterization and biological activity of Cu (II), Ni (II) and Zn (II) complexes of biopolymeric Schiff bases of salicylaldehydes and chitosan. *International journal of biological macromolecules.*, 95: 168-176, 2017.



- [141] Shoair, A. G. F., Ibrahim, M. M., Soliman, M., & Abu-Melha, K. A., Spectroscopic, electrochemical, DNA binding and antioxidant biomimetic catalytic activities of metformin-based copper (II) complexes. *Journal of Molecular Liquids.*, 212: 865-871, 2015.
- [142] Wu, D., Guo, L., & Li, S. J., Synthesis, structural characterization and anti-breast cancer activity evaluation of three new Schiff base metal (II) complexes and their nanoparticles. *Journal of Molecular Structure.*, 1199: 126938, 2020.
- [143] Zhao, F., Wang, W., Lu, W., Xu, L., Yang, S., Cai, X. M., Cao, F., et. al., High anticancer potency on tumor cells of dehydroabietylamine Schiff-base derivatives and a copper (II) complex. *European journal of medicinal chemistry.*, 146: 451-459, 2018.
- [144] Alam, M. N., & Huq, F., Comprehensive review on tumour active palladium compounds and structure–activity relationships. *Coordination Chemistry Reviews.*, 316: 36-67, 2016.
- [145] Jung, C. H., Kim, E. M., Song, J. Y., Park, J. K., & Um, H. D., Mitochondrial superoxide dismutase 2 mediates  $\gamma$ -irradiation-induced cancer cell invasion. *Experimental & Molecular Medicine.*, 51(2): 1-10, 2019.
- [146] Amaral, I., Silva, C., Correia-Branco, A., & Martel, F., Effect of metformin on estrogen and progesterone receptor-positive (MCF-7) and triple-negative (MDA-MB-231) breast cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy.*, 102: 94-101, 2018.
- [147] Koh, M., Lee, J. C., Min, C., & Moon, A., A novel metformin derivative, HL010183, inhibits proliferation and invasion of triple-negative breast cancer cells. *Bioorganic & medicinal chemistry.*, 21(8): 2305-2313, 2013.
- [148] Ariaans, G., Jalving, M., De Vries, E. G. E., & De Jong, S., Anti-tumor effects of everolimus and metformin are complementary and glucose-dependent in breast cancer cells. *BMC cancer.*, 17(1): 232, 2017.
- [149] Anila, V., Shankara, B., Bharathb, G., & Jalapathi, P., Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel Substituted 4-[3-(1H-Benzimidazol-2-yl)-4-hydroxybenzyl]- 2-(1H-benzimidazol-2-yl)phenol Derivatives. *B. Journal of General Chemistry.*, 87(11): 2648–2653, 2017.
- [150] Shankar, B., Jalapathi, P., Sunitha, V., & Karunakar Rao, K., Synthesis of 5, 5'-methylene bis (benzofuran-5, 2-diyl)) bis (phenylmethanone) and its phenylhydrazonoe, benzenesulfonate derivatives and their anti-inflammatory activity. *Der Pharma Chem.*, 8(7): 192-199, 2016.
- [151] Desai, A., & Rana, D., Metal-free synthesis of calixsalen-type cavitands for the recognition of fluoride ion. *Synthetic Communications.*, 48(3): 291-301, 2018.

- [152] Marvel, C. S., & Tarköy, N., Heat stability studies on chelates from schiff bases of salicylaldehyde derivatives. II. *Journal of the American Chemical Society.*, 80(4): 832-835, 1958.
- [153] Tan, A. S., & Berridge, M. V., Superoxide produced by activated neutrophils efficiently reduces the tetrazolium salt, WST-1 to produce a soluble formazan: a simple colorimetric assay for measuring respiratory burst activation and for screening anti-inflammatory agents. *Journal of immunological methods.*, 238(1-2): 59-68, 2000.
- [154] Stockert, J. C., Horobin, R. W., Colombo, L. L., & Blázquez-Castro, A., Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta histochemica.*, 120(3): 159-167, 2018.
- [155] Shawali, A. S., & Samy, N. A., Functionalized formazans: A review on recent progress in their pharmacological activities. *Journal of Advanced Research.*, 6(3): 241-254, 2015.
- [156] Tuncer, S., Çoklu İlaç Dirençli Kanser Hücre Hattına Nanopartiküllerle İlaç Aktarımı, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve Nanotıp, Yüksek Lisans Tezi, 2014.
- [157] Abdul Aziz, M. Y., Omar, A. R., Subramani, T., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Ismail, N. H., & Alitheen, N. B., et. al., Damnacanthal is a potent inducer of apoptosis with anticancer activity by stimulating p53 and p21 genes in MCF 7 breast cancer cells. *Oncology letters.*, 7(5): 1479-1484, 2014.
- [158] Abdul Aziz, M. Y., Omar, A. R., Subramani, T., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Ismail, N. H., Alitheen, N. B., et. al., Damnacanthal is a potent inducer of apoptosis with anticancer activity by stimulating p53 and p21 genes in MCF 7 breast cancer cells. *Oncology letters.*, 7(5):1479-1484, 2014.
- [159] Liu, X., Romero, I. L., Litchfield, L. M., Lengyel, E., & Locasale, J. W., Metformin targets central carbon metabolism and reveals mitochondrial requirements in human cancers. *Cell metabolism.*, 24(5): 728-739, 2016.
- [160] Song, C. W., Lee, H., Dings, R. P., Williams, B., Powers, J., Dos Santos, T., Park, H. J., et.al., Metformin kills and radiosensitizes cancer cells and preferentially kills cancer stem cells. *Scientific reports.*, 2: 362, 2012.
- [161] Hirsch, H. A., Iliopoulos, D., Tsiachlis, P. N., & Struhl, K., Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer research.*, 69(19): 7507-7511, 2009.

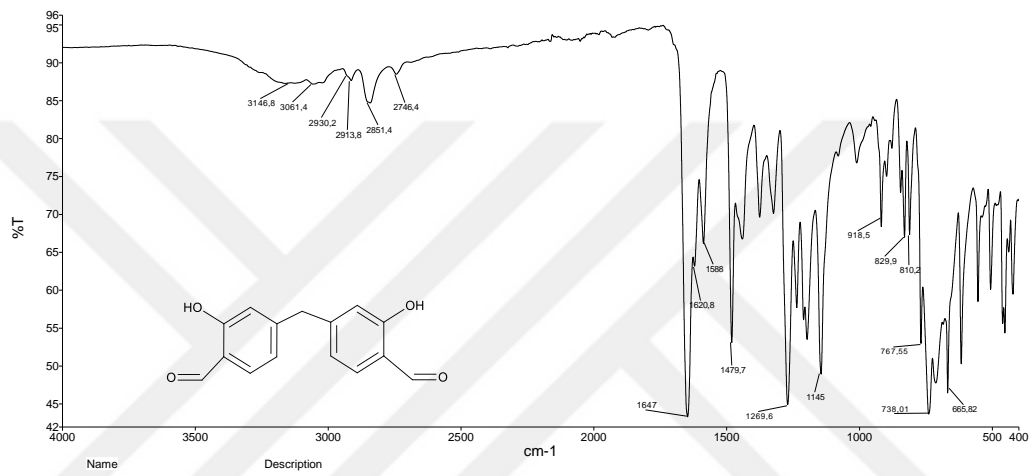
- [162] Patil, S., Metformin treatment decreases the expression of cancer stem cell marker CD44 and stemness related gene expression in primary oral cancer cells. *Archives of Oral Biology.*, 113: 104710, 2020.
- [163] Iliopoulos, D., Hirsch, H. A., & Struhl, K., Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. *Cancer research.*, 71(9): 3196-3201, 2011.
- [164] Cufi, S., Corominas-Faja, B., Vazquez-Martin, A., Oliveras-Ferraros, C., Dorca, J., Bosch-Barrera, J., Menendez, J. A., et. al., Metformin-induced preferential killing of breast cancer initiating CD44+ CD24-/low cells is sufficient to overcome primary resistance to trastuzumab in HER2+ human breast cancer xenografts. *Oncotarget.*, 3(4): 395, 2012.
- [165] Bogdanović, G., Kojić, V., Srdić, T., Jakimov, D., Djuran, M. I., Bugarčić, Ž. D., Baltić, V. V., et. al., Growth effects of some platinum (II) complexes with sulfur-containing carrier ligands on MCF7 human breast cancer cell line upon simultaneous administration with Taxol. *Metal-based drugs.*, 9(1-2): 33-43, 2002.
- [166] Shahabadi, N., & Heidari, L., Synthesis, characterization and multi-spectroscopic DNA interaction studies of a new platinum complex containing the drug metformin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, 128: 377-385, 2014.
- [167] Altunkaynak, B. Z., & Özbek, E., Programlanmış hücre ölümü: Apoptoz nedir?. *Tıp Araştırmaları Dergisi.*, 6(2): 93-104, 2008.
- [168] Kerr, J. F., Wyllie, A. H., & Currie, A. R., Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer.*, 26(4): 239-257, 1972.
- [169] Redza-Dutordoir, M., & Averill-Bates, D. A., Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.*, 1863(12): 2977-2992, 2016.
- [170] Pistritto, G., Trisciuglio, D., Ceci, C., Garufi, A., & D'Orazi, G., Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY).*, 8(4): 603, 2016.
- [171] El-Mir, M. Y., Nogueira, V., Fontaine, E., Avéret, N., Rigoulet, M., & Leverve, X., Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. *Journal of Biological Chemistry.*, 275(1): 223-228, 2000.

- [172] Bao, B., Azmi, A. S., Ali, S., Zaiem, F., & Sarkar, F. H., Metformin may function as anti-cancer agent via targeting cancer stem cells: the potential biological significance of tumor-associated miRNAs in breast and pancreatic cancers. *Annals of translational medicine.*, 2(6): 59, 2014.
- [173] Andrzejewski, S., Gravel, S. P., Pollak, M., & St-Pierre, J., Metformin directly acts on mitochondria to alter cellular bioenergetics. *Cancer & metabolism.*, 2(1): 1-14, 2014.

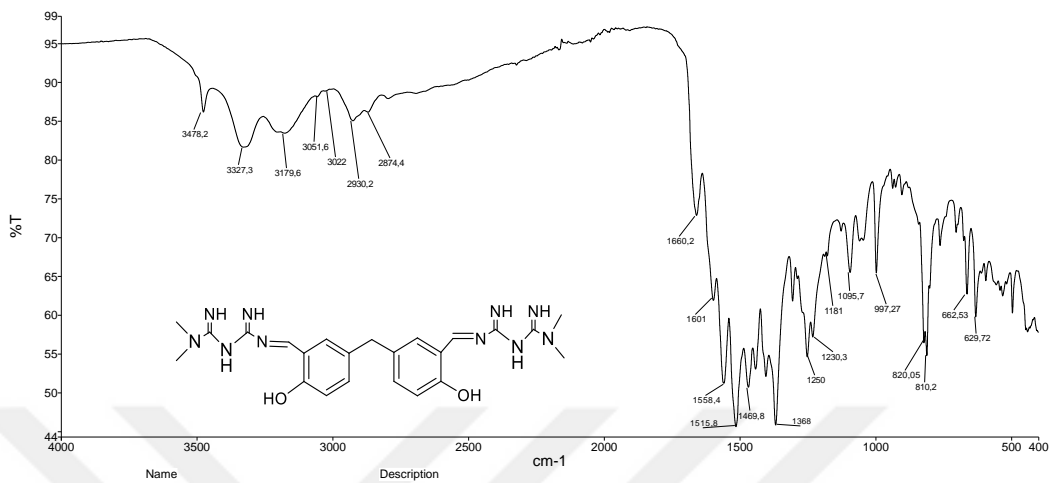


# EKLER

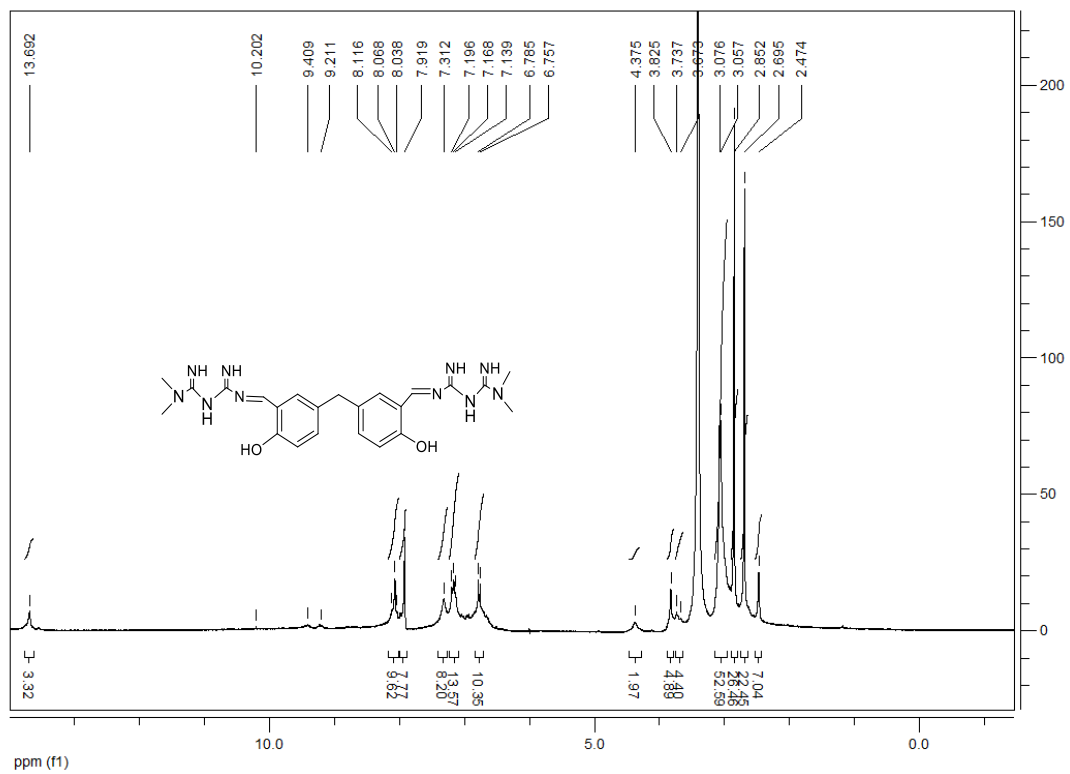
## EK 1: 4, 4'-metilenbis (2-hidroksibenzaldehit) FT-IR spektrumu



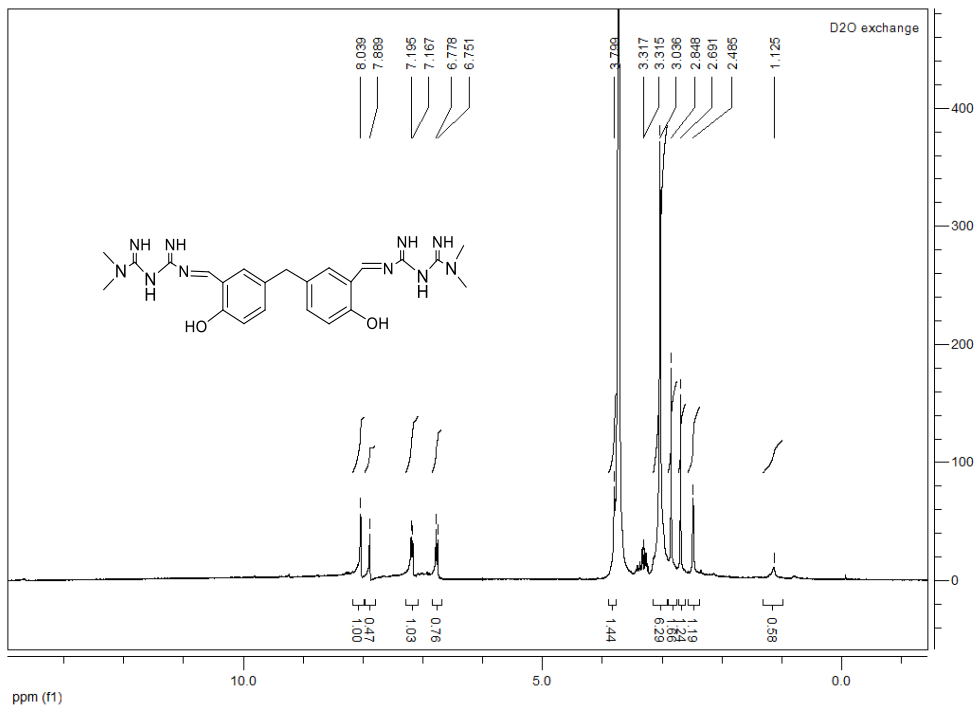
**EK 2:** (E, E)-1, 1'-(metilenbis (2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazı FT-IR spektrumu



**EK 3:** (E, E)-1, 1'-(metilenbis (2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazı  $^1\text{H-NMR}$  spekturumu

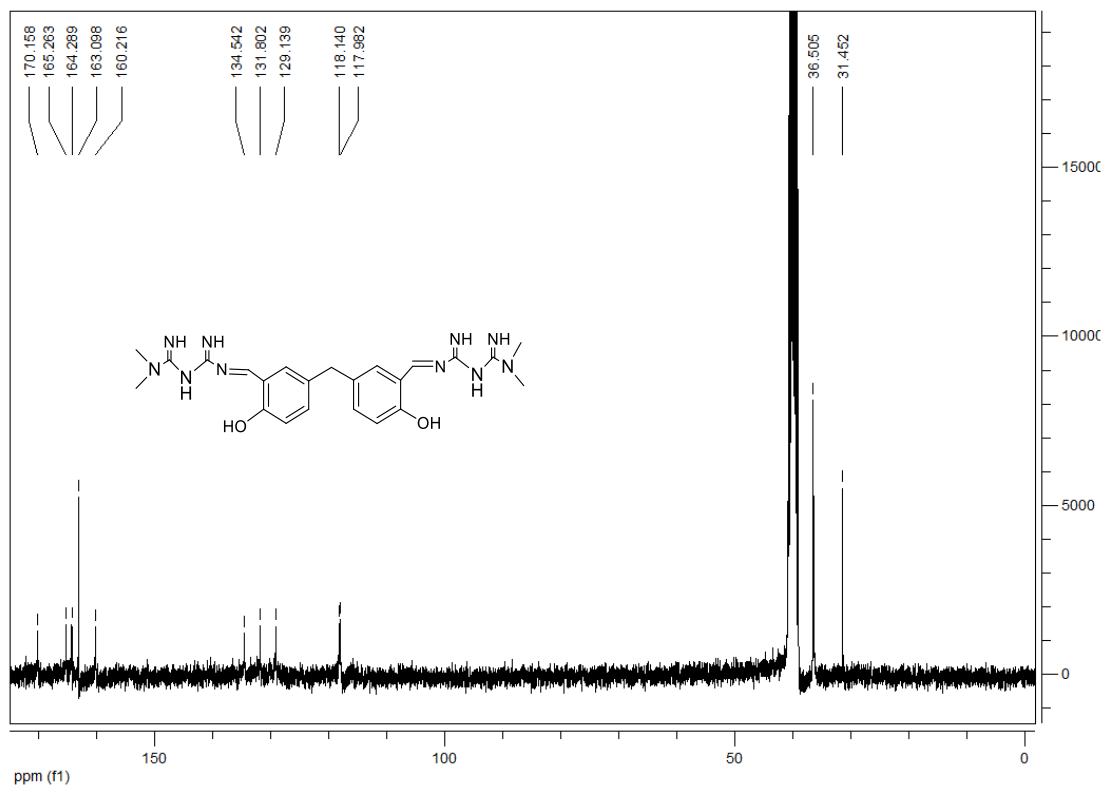


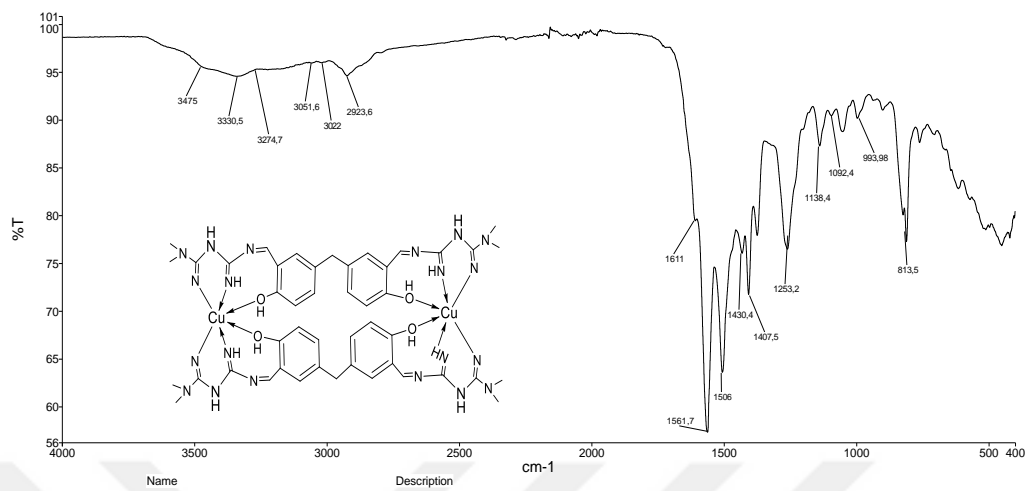
**EK 4:** (E, E)-1, 1'-(metilenbis (2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazı D<sub>2</sub>O exchange <sup>1</sup>H-NMR spekturumu

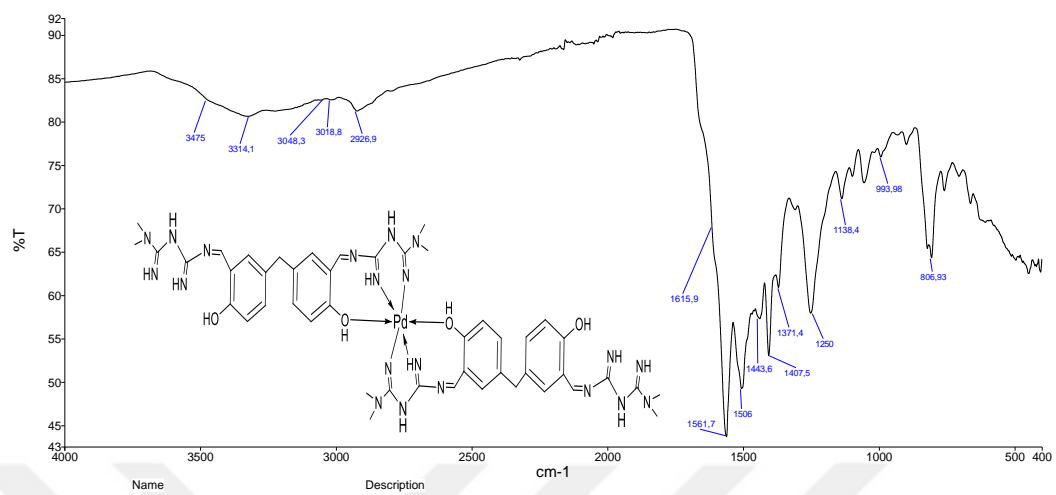


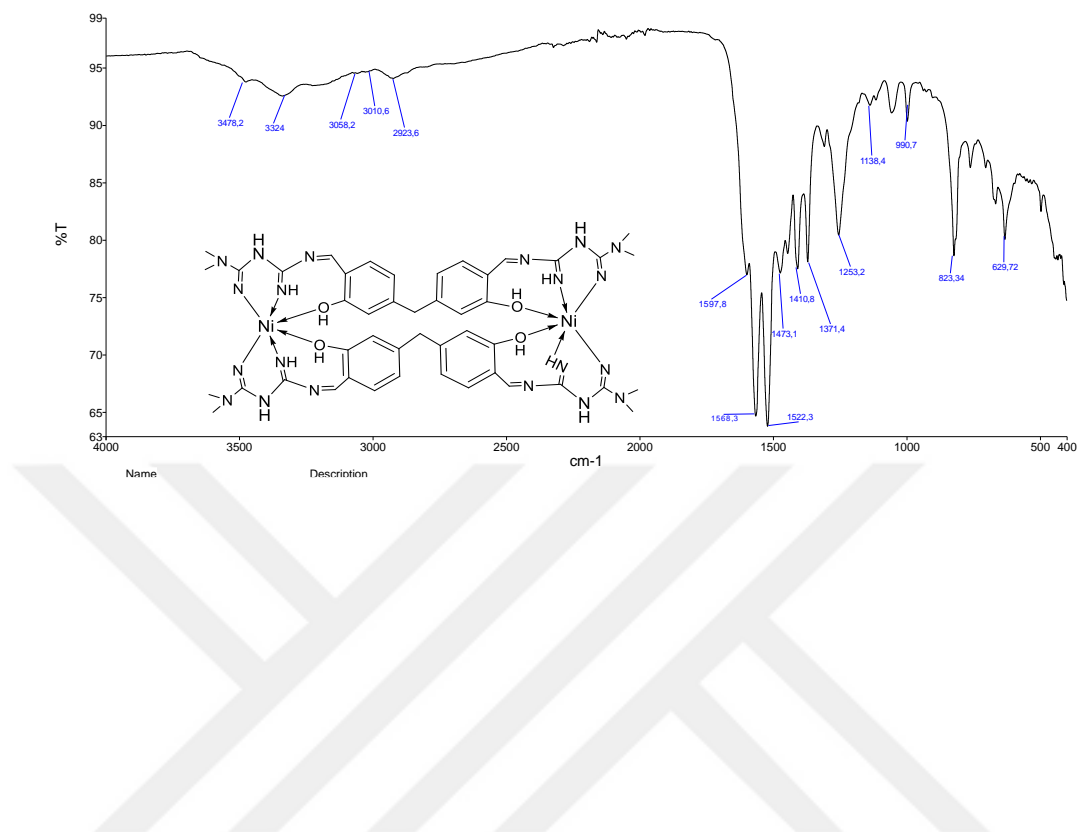


**EK 5:** (E, E)-1, 1'-(metilenbis (2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazı  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

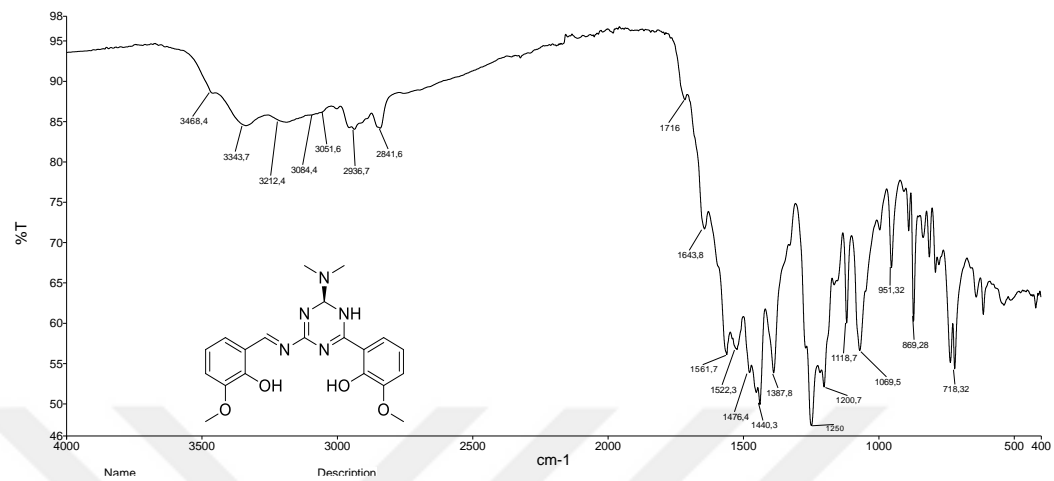


**EK 6:**  $[\text{Cu}_2(\text{Met-Da})_2]$  Kompleksinin FT-IR spektrumu

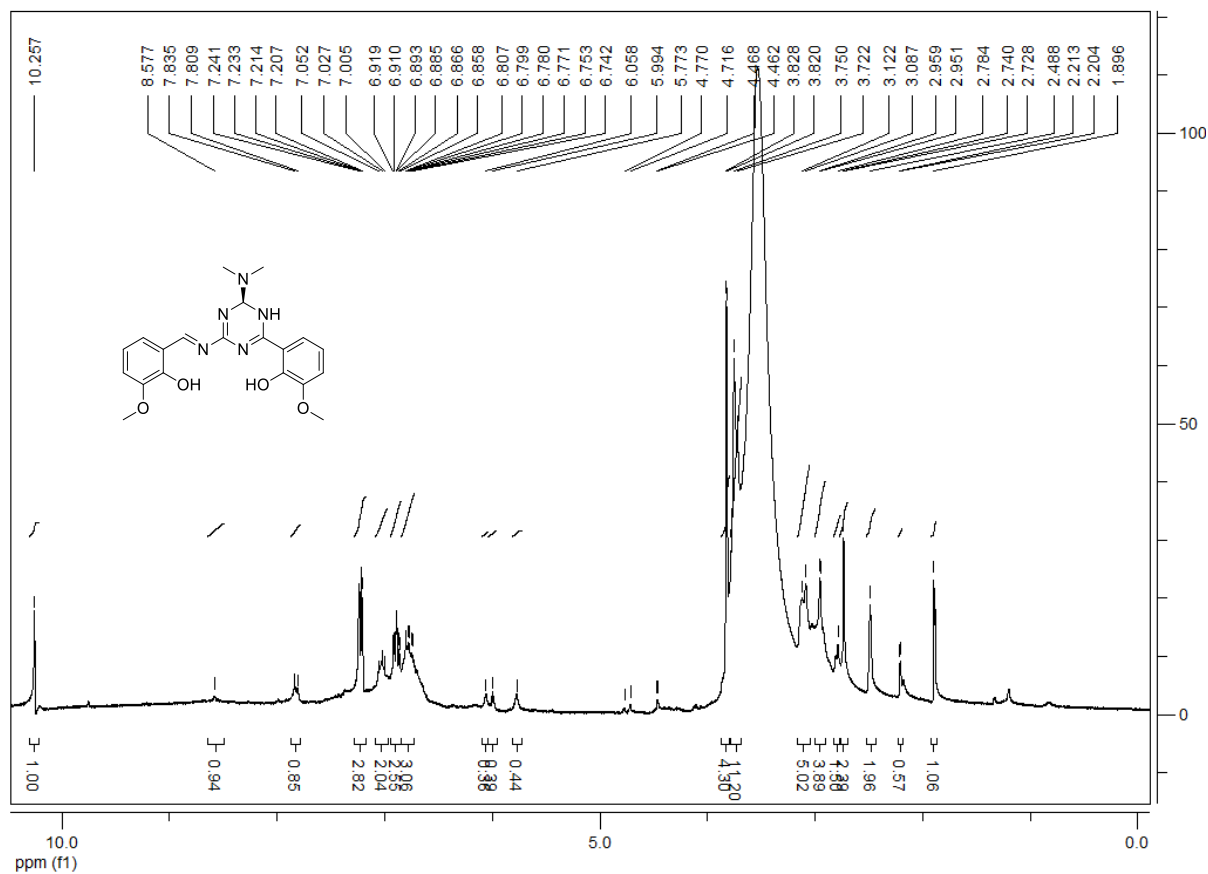
**EK 7:** [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] Kompleksinin FT-IR spektrumu

**EK 8:**  $[\text{Ni}_2(\text{Met-Da})_2]$  Kompleksinin FT-IR spektrumu

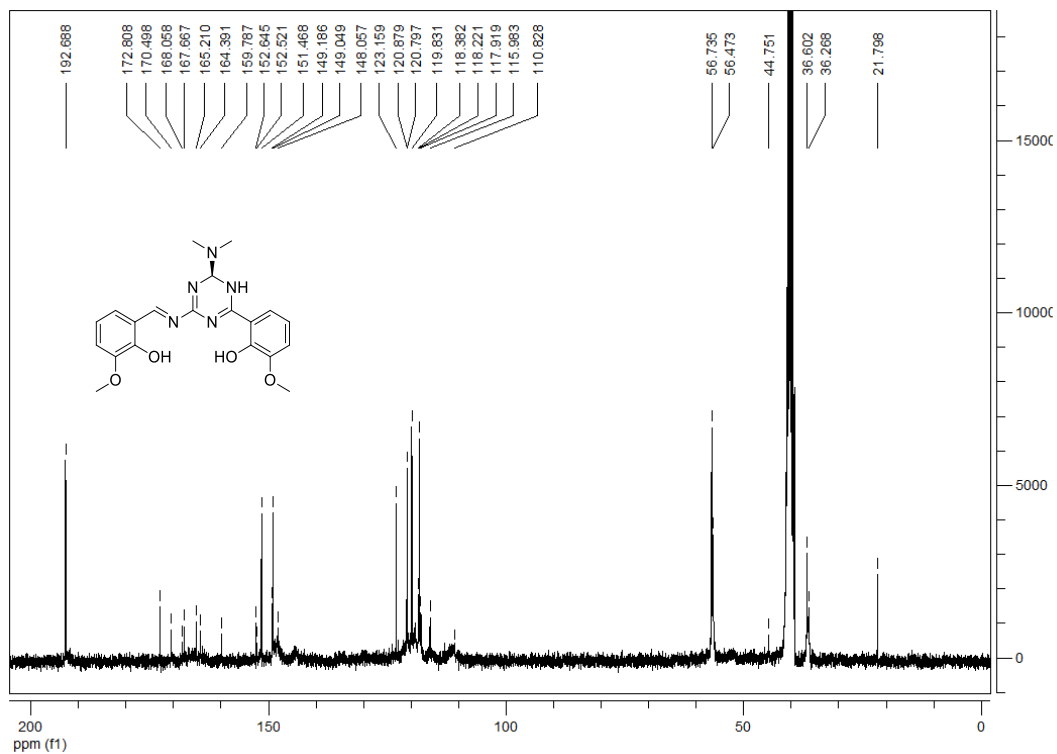
**EK 9:** (E)-2-(6-(dimetilamino) -4- ((2-hidroksi -3- metoksibenziliden) amino) -1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazı FT-IR spektrumu

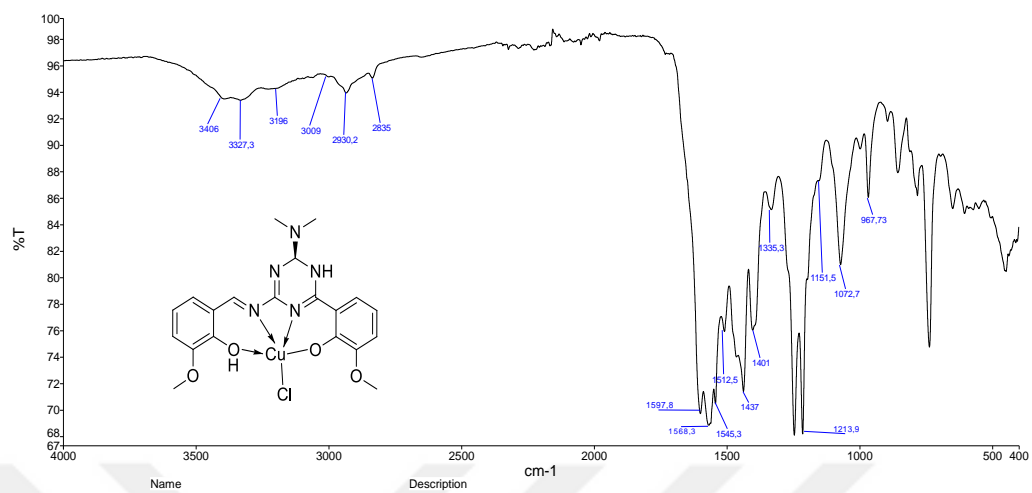


**EK 10:** (E)-2-(6-(dimetilamino) -4- ((2-hidroksi -3- metoksibenziliden) amino) -1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazı  $^1\text{H-NMR}$  spekturumu

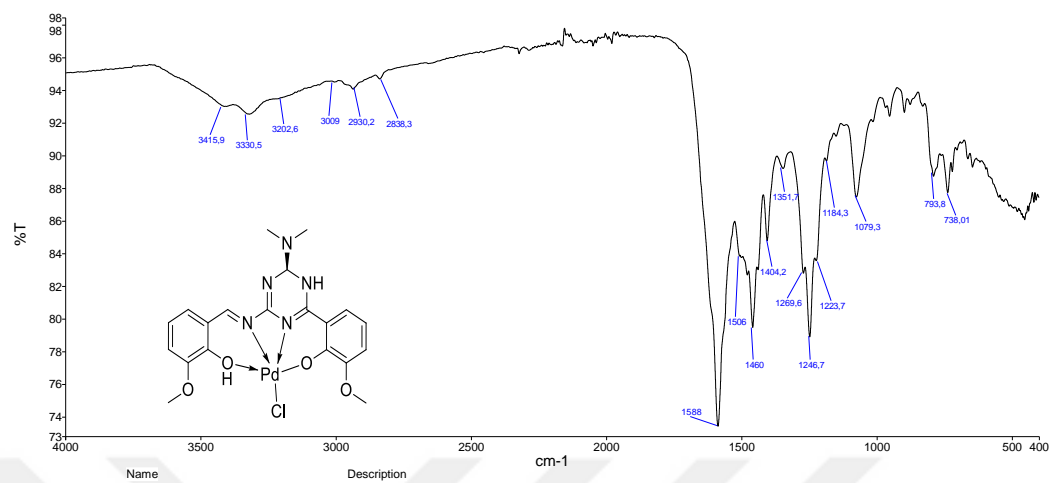


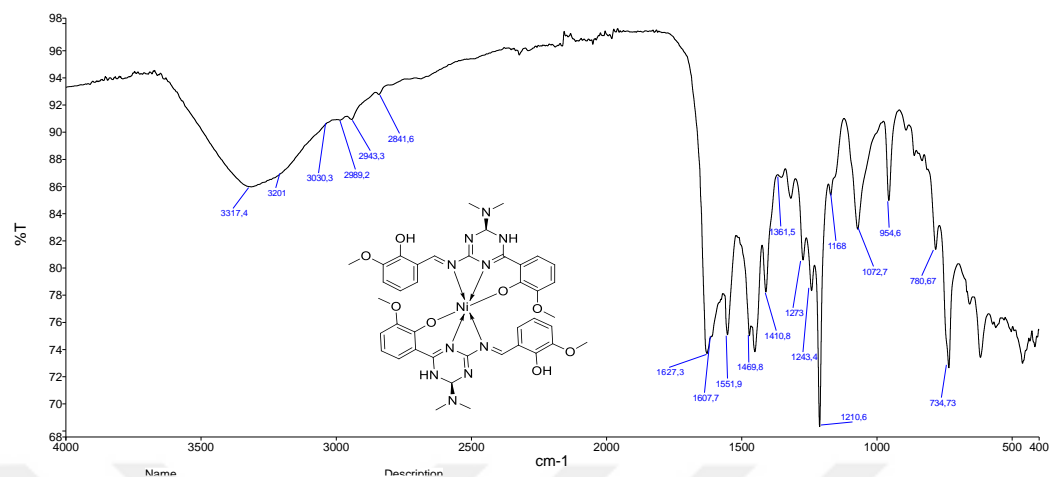
**EK 11:** (E)-2- (6-(dimetilamino) -4- ((2-hidroksi -3- metoksibenziliden) amino) -1, 6-dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il) -6- metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazı  $^{13}\text{C}$ -NMR spekturumu



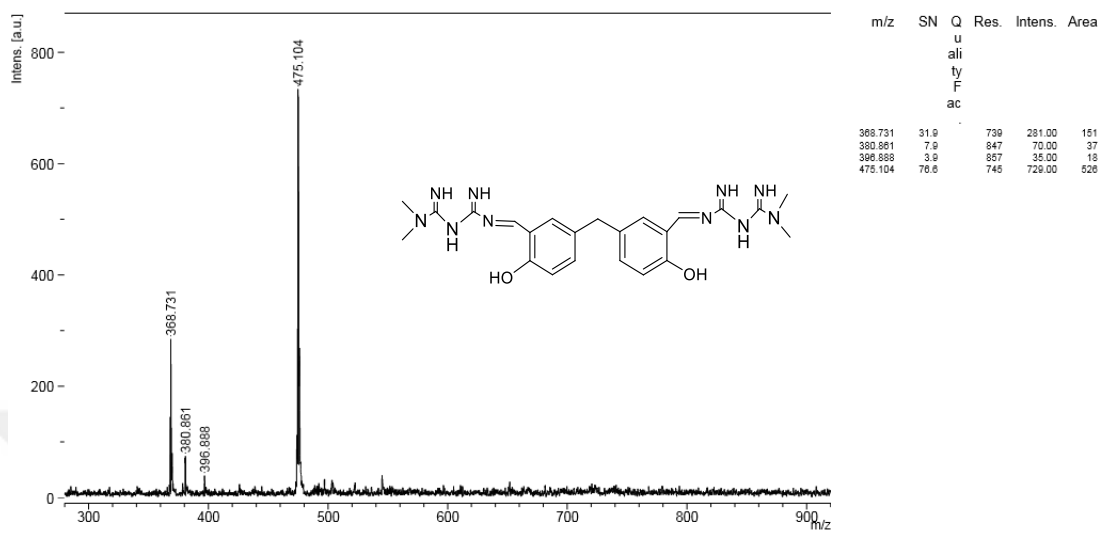
**EK 12:** [Cu(Met-Ov)Cl] Kompleksinin FT-IR spektrumu



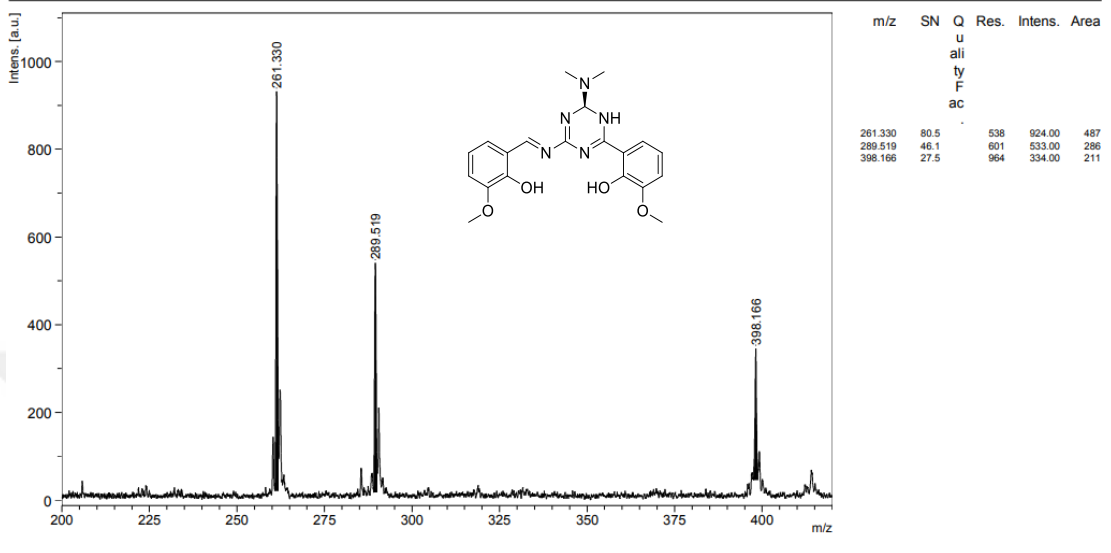
**EK 13:** [Pd(Met-Ov)Cl] Kompleksinin FT-IR spektrumu

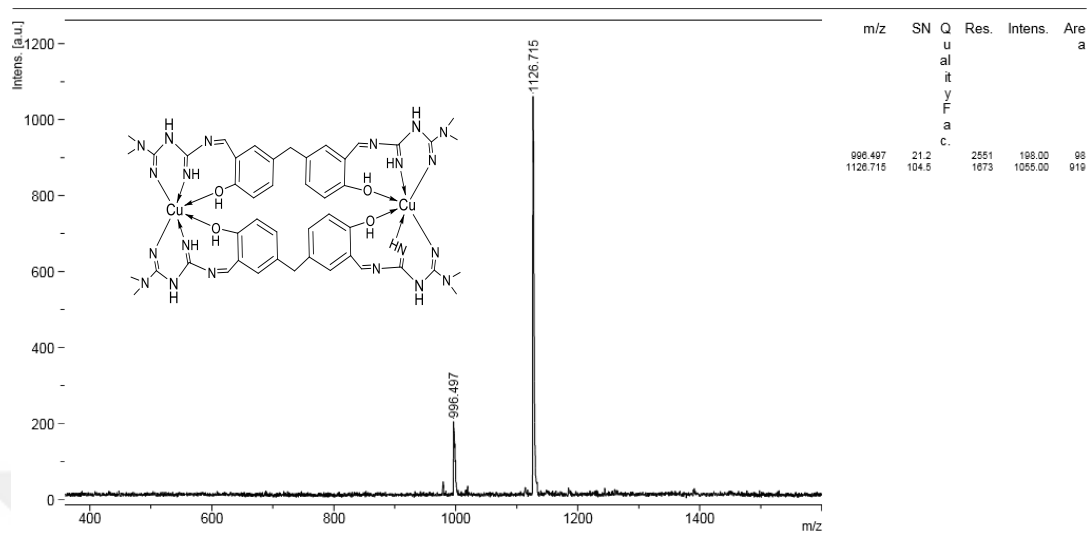
**EK 14:** [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] Kompleksinin FT-IR spektrumu

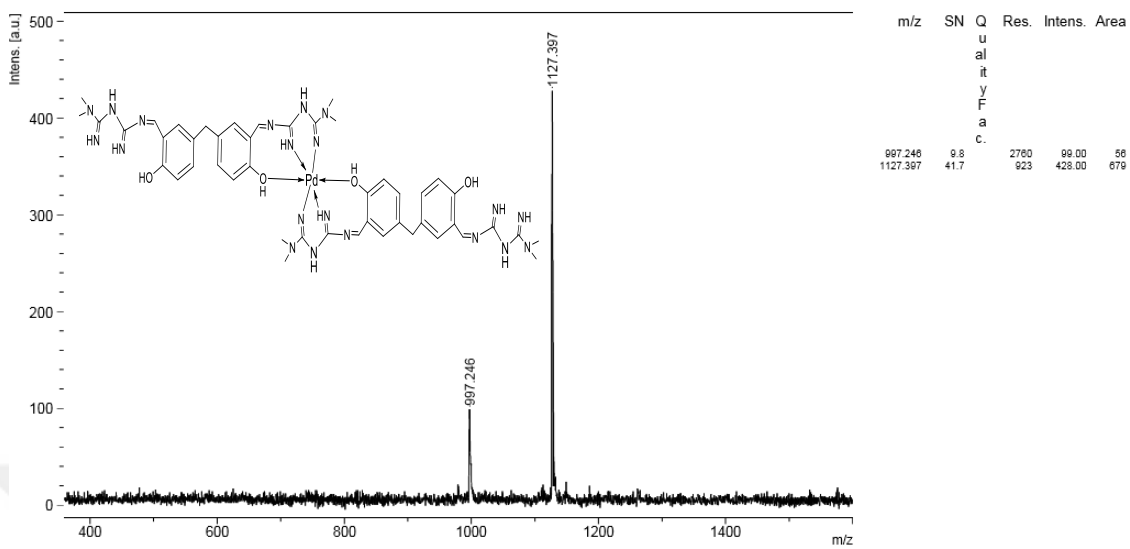
**EK 15:** (E, E)-1, 1'- (metilenbis (2-hidroksi-5, 1-fenilen)) bis (metaniliden) bis (N, N-dimetilbiguanidin) [Met-Da] Schiff bazı ligandının kütle spektroskopisi

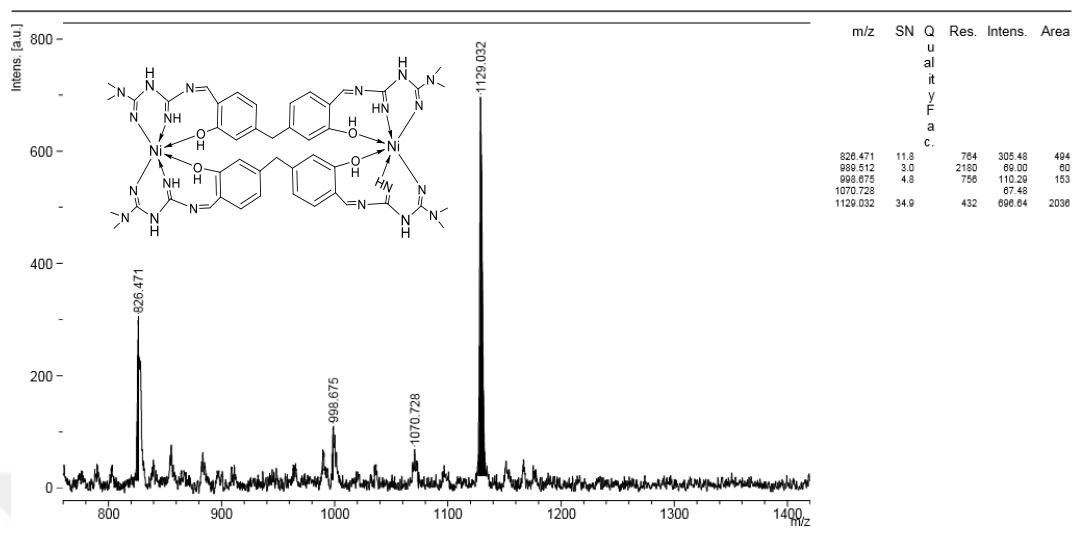


**EK 16:** (E)-2-(6- (dimetilamino) -4- ((2-hidroksi -3- metoksibenziliden) amino) -1, 6- dihidroksi-1, 3, 5-triazin-2-il)-6-metoksifenol [Met-Ov] Schiff bazı ligandının kütle spektroskopisi

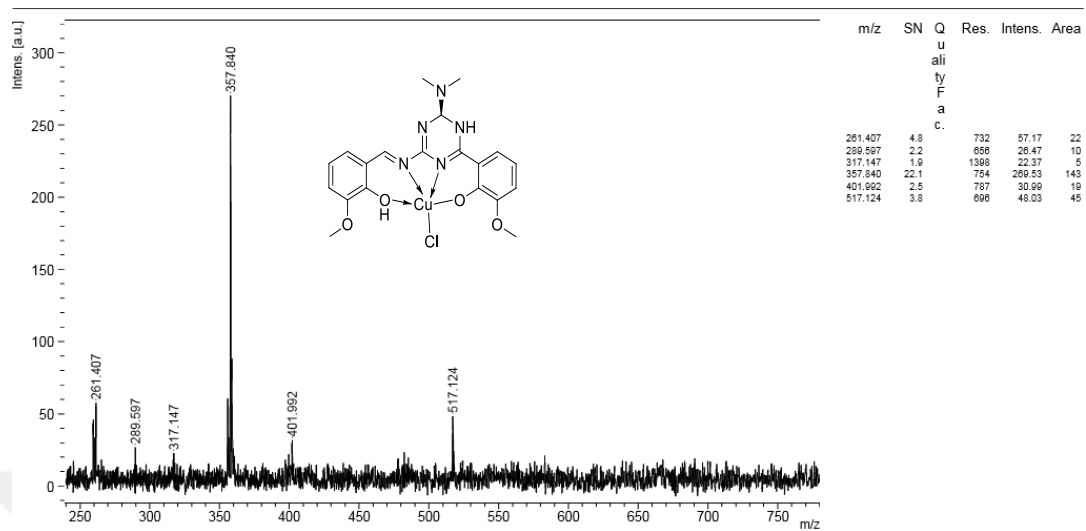


**EK 17:** [Cu<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] Kompleksinin kütle spektroskopisi

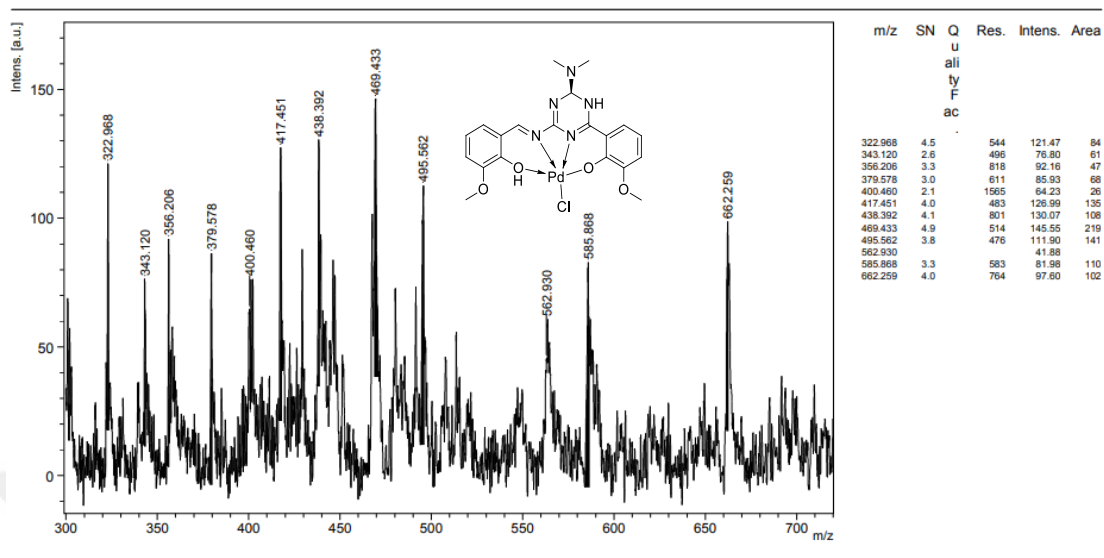
**EK 18:** [Pd(Met-Da)<sub>2</sub>] Kompleksinin kütle spektroskopisi

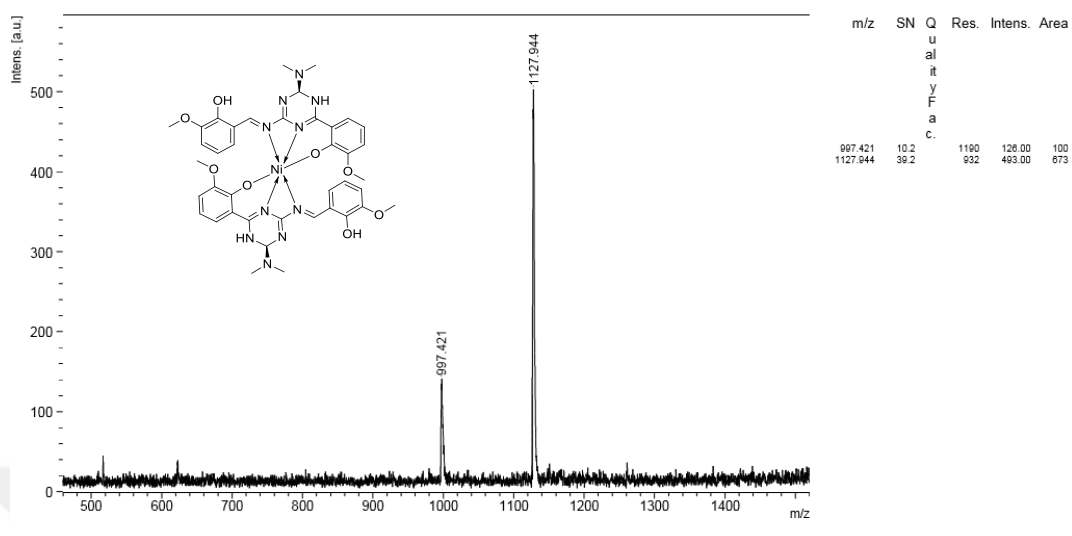
**EK 19:** [Ni<sub>2</sub>(Met-Da)<sub>2</sub>] Kompleksinin kütle spektroskopisi

## Ek 20: [Cu(Met-Ov)Cl] Kompleksinin kütle spektroskopisi





**EK 21:** [Pd(Met-Ov)Cl] Kompleksinin kütle spektroskopisi.

**EK 22:** [Ni(Met-Ov)<sub>2</sub>] Kompleksinin kütle spektroskopisi

## ÖZGEÇMİŞ

Zeynep Seda Durukan, ilköğretimini Adana'da, orta ve lise eğitimini ise Kocaeli'de tamamladı. 2010 yılında Nuh Çimento Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2011 yılında başladığı Kocaeli Üniversitesi Çevre Koruma ve Kontrol Bölümü'nü 2013 yılında bitirdi. 2014 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2017 yılında lisans eğitimini tamamladı. Şu anda Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmaktadır.