

**BAKIR(II) İYONUNUN KARIŞIK LİGANT  
KOMPLEKSLERİNİN IN VİTRO SİTOTOKSİK,  
GENOTOKSİK VE APOPTOTİK ETKİLERİNİN  
SAĞLIKLI VE KANSER HÜCRE HATLARINDA  
BELİRLENMESİ**

**Dilek YILMAZ**



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAKIR(II) İYONUNUN KARIŞIK LİGANT KOMPLEKSLERİNİN IN VİTRO  
SİTOTOKSİK, GENOTOKSİK VE APOPTOTİK ETKİLERİNİN SAĞLIKLI  
VE KANSER HÜCRE HATLARINDA BELİRLENMESİ**

**Dilek YILMAZ**

Prof. Dr. Nilüfer ÇİNLKILIÇ  
(Danışman)

DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BURSA-2015  
Her Hakkı Saklıdır

## TEZ ONAYI

Dilek YILMAZ tarafından hazırlanan ‘Bakır (II) İyonunun Karışık Ligant Komplekslerinin İn Vitro Sitotoksik, Genotoksik ve Apoptotik Etkilerinin Sağlıklı ve Kanser Hücre Hatlarında Belirlenmesi’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof Dr. Nilüfer Çinkılıç

**Başkan** : Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKILIÇ

**Üye** : Prof. Dr. Tolga ÇAVAŞ

**Üye** : Prof. Dr. Berrin TUNCA

**Üye** : Prof. Dr. Feray KÖÇKAR

**Üye** : Prof. Dr. Bülent KAYA

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR  
Enstitü Müdürü  
2015

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada:**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

2015

**Dilek YILMAZ**

## ÖZET

Doktora Tezi

BAKIR(II) İYONUNUN KARIŞIK LİGANT KOMPLEKSLERİNİN IN VİTRO SİTOTOKSİK, GENOTOKSİK VE APOPTOTİK ETKİLERİNİN SAĞLIKLI VE KANSER HÜCRE HATLARINDA BELİRLENMESİ

**Dilek YILMAZ**

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Nilüfer Çinkılıç

Bu çalışmada suda çözünebilen dört yeni bakır (II) kompleksinin,  $[\text{Cu}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2$  (1),  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{tyr})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (2),  $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$  (3),  $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{tyr})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (4) MCF7 insan meme kanseri hücre hattı, Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı, Hep-3B insan karaciğer kanseri hücre hattı ve BEAS-2B insan bronş epitel hücre hattında XTT testi ile antikanser aktiviteleri gösterilmiştir. Hücre ölüm şekli M30 ve M65 testleri ile analiz edilmiştir. Hücre ölümünün altında yatan mekanizmayı aydınlatmak için bakır komplekslerinin genotoksik etkileri mikronükleus ve komet testleri ile değerlendirilmiştir. Hücre içi ROS seviyesi ROS testi ile değerlendirilmiştir. Oksidatif DNA hasarının bir biyomarkırı olarak ise 8-OH-dG oluşumu ölçülmüştür. M30 ve M65 testlerinden elde edilen sonuçlar bakır komplekslerinin düşük dozları ile hücrelere muamele edildiğinde hücrelerin apoptoza yüksek dozlarda ise hücrelerin nekroza gittiğini göstermiştir. Mikronükleus ve komet testleri sonuçları bakır komplekslerine maruz kalan hücrelerde DNA fragmentasyonunun gerçekleştiğini göstermiştir. ROS ve 8-OH-dG testleri DNA fregmantasyonunun oksidatif hasardan kaynaklandığını doğrulamaktadır. Bu durum hücre ölümünü tetiklemektedir. Sistotoksisite çalışmaları cisplatine kıyasla daha düşük  $\text{IC}_{50}$  değerleri olduğu için bakır komplekslerinin cisplatine karşı umut verici alternatifler olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakır, anti-kanser, genotoksik, phenantrolin, L-tyrosin.

**2015, xix + 240 sayfa**

## ABSTRACT

PHD Thesis

THE CYTOTOXIC, GENOTOXIC AND APOPTOTIC EFFECTS OF MIXED  
LIGAND COMPLEXES OF COPPER(II) ION IN HEALTHY AND CANCER CELL  
LINES IN VITRO

**Dilek YILMAZ**

Uludag University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

**Supervisor:** Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ

The anticancer activities of four new water-soluble copper(II) complexes [Cu(phen)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (1), [Cu(phen)(tyr)(H<sub>2</sub>O)]NO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O (2), [Cu(dmphen)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub> (3), [Cu(dmphen)(tyr)(H<sub>2</sub>O)]NO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (4) were analyzed in the MCF7 human breast cancer cell line, the Caco-2 human colon cancer cell line, the Hep-3B human hepatocellular carcinoma cell line and the Beas-2B human bronchial epithelial healthy cell line by XTT assay. Cell death mode was analyzed using M30 and M65 ELISAs. To clarify the mechanisms underlying the observed cell death, the genotoxic effects of the copper complexes were evaluated by micronucleus and comet assays. Intracellular ROS levels were determined by ROS assay. 8-OH-dG occurrence was analyzed as a biomarker of oxidative DNA damage. The results obtained from M30-M65 assays indicated that low doses of copper complexes caused the cells to undergo apoptosis while higher doses caused necrosis. Analysis of micronucleus and comet assays showed that exposure to copper complexes induced DNA fragmentation. ROS and 8-OH-dG assays confirmed that DNA fragmentation was due to oxidative damage, which triggered cell death. Cytotoxicity studies showed that copper complexes could be promising alternatives to cisplatin, with lower IC<sub>50</sub> values than that of cisplatin.

**Keywords:** Copper, anti-cancer, genotoxic, phenanthroline, L-tyrosine.

**2015, xix + 240 pages**

## TEŞEKKÜR

Tez alıŐmasının her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgemeyen danışman Hocam, Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ'a,

Tez alıŐmasının her aşamasında öneri ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Tolga avaŐ'a,

Tez deneylerimde, deneyimlerimden ve yardımlarından faydalandığım, deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen AraŐ. Gör. Dr. Özgür VATAN'a

Deney aşamasında yardımcı olan yüksek lisans öğrencisi Huzeyfe HURİYET'e,

Deneylerimizde kullandığımız bakır komplekslerini sentezleyen Prof. Dr. Rahmiye AYDIN, Duygu İNCİ ve Hasene Mutlu Gençkal'a,

Bu süreçte manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. Kanser.....	5
2.2. Kanserde Kemoterapi.....	7
2.3. Metal İçerikli Kanser İlaçları.....	7
2.3.1. Platin içerikli ilaçlar.....	8
2.3.2. Kanser ilacı olarak bakır kompleksleri.....	10
2.3.2.1. Bakır Kimyası.....	10
2.3.2.2. Bakırın Esansiyelliği.....	11
2.3.2.3. Bakır Hemeostasisi.....	11
2.3.2.3.1. Menkes Hastalığı.....	13
2.3.2.3.2. Wilson Hastalığı.....	14
2.3.2.4. Casiopénas.....	15
2.3.2.5. Pheanathrolin.....	16
2.3.2.6. Bakır Komplekslerinin Biyolojik Hedefleri ve Etki Mekanizmaları.....	18
2.3.2.6.1. DNA'yı Hedefleyen İlaçlar Olarak Bakır Kompleksleri.....	18
2.3.2.6.2. Topoizomerez I,II İnhibitörü Olarak Bakır Kompleksleri....	21
2.3.2.6.3. Proteasom İnhibitörleri Olarak Bakır Kompleksleri.....	23
2.4. Anti-kanser Kimyasal Araştırmalarında Kullanılan Sitotoksisite, Genotoksisite, Oksidatif Hasar ve Apoptoz Belirleme Yöntemleri.....	26
2.4.1. Canlılık Testleri.....	26
2.4.2. Vitro Comet Testi.....	27
2.4.3. Vitro Mikro Nükleus Testi.....	29
2.5. Reaktif Oksijen Türleri.....	32
2.5.1. 8-oxo-7, 8-dihidroguanin.....	34
2.6. Hücre Ölümü.....	35
2.6.1. Apoptoz.....	35
2.6.2. Nekroz.....	36
2.6.2.1. Kaspaz substratı K18.....	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	42
3.1. Kullanılan Ekipmanlar, Sarf Malzemeler.....	42
3.2. Kullanılacak Hücre Hatları.....	44
3.2.1. Bu Hücre Hatlarında Kullanılacak Hücre Kültürü Şartları....	44
3.3. Kullanılan Kompleksler.....	44
3.3. XTT Testi.....	49
3.4. ROS Ölçümü.....	49



3.5.	8-OHdG Ölçümü.....	50
3.6.	Komet Testi.....	52
3.7.	Mikronükleus Testi.....	53
3.8.	M30-M65 Testleri.....	54
3.8.1.	M30 Testi Protokolü.....	55
3.8.2.	M65 Testi Protokolü.....	50
4.	BULGULAR.....	57
4.1.	XTT Bulguları.....	57
4.1.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen XTT bulguları.....	57
4.1.2.	MCF7 Hücre hattında elde edilen XTT bulguları.....	58
4.1.3.	Hep-3B Hücre hattında elde edilen XTT bulguları.....	59
4.1.4.	BEAS-2B Hücre hattında elde edilen XTT bulguları.....	60
4.2.	ROS Bulguları.....	63
4.2.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen ROS bulguları.....	63
4.2.2.	MCF7 hücre hattında elde edilen ROS bulguları.....	67
4.2.3.	Hep-3B hücre hattında elde edilen ROS bulguları.....	71
4.2.4.	BEAS-2B hücre hattında elde edilen ROS bulguları.....	75
4.3.	8-oxo Guanin Bulguları.....	81
4.3.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen 8-oxo Guanin bulguları.....	81
4.3.2.	MCF7 hücre hattında elde edilen 8-oxo Guanin bulguları.....	82
4.3.3.	Hep-3B hücre hattında elde edilen 8-oxo Guanin Bulguları.....	83
4.3.4.	BEAS-2B hücre hattında elde edilen 8-oxo Guanin bulguları.....	84
4.4.	Comet Testi Bulguları.....	87
4.4.1.	Kuyruk Uzunluğu Bulguları.....	87
4.4.1.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen komet kuyruk uzunluğu bulguları.....	87
4.4.1.2.	MCF-7 hücre hattında elde edilen komet kuyruk uzunluğu bulguları.....	91
4.4.1.3.	Hep-3B hücre hattında elde edilen komet kuyruk uzunluğu bulguları.....	95
4.4.1.4.	BEAS-2B hücre hattında elde edilen komet kuyruk uzunluğu bulguları.....	99
4.4.2.	Kuyruk %DNA Bulguları.....	105
4.4.2.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları	105
4.4.2.2.	MCF7 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları	109
4.4.2.3.	Hep-3B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları	113
4.4.2.4.	BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları	117
4.4.3.	OTM bulguları.....	123
4.4.3.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen OTM bulguları.....	123
4.4.3.2.	MCF7 hücre hattında elde edilen OTM bulguları.....	127
4.4.3.3.	Hep-3B hücre hattında elde edilen OTM bulguları.....	131
4.4.3.4.	BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM bulguları.....	135
4.5.	Mikronükleus Testi Bulguları.....	142
4.5.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen mikronükleus testi	

	bulguları.....	142
4.5.2.	MCF7 hücre hattında elde edilen MN bulguları.....	146
4.5.3.	Hep-3B hücre hattında elde edilen MN bulguları.....	150
4.5.4.	BEAS-2B hücre hattında elde edilen MN bulguları.....	154
4.6.	NDI Bulguları.....	161
4.6.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen NDI bulguları.....	161
4.6.2.	MCF7 hücre hattında elde edilen NDI bulguları.....	162
4.6.3.	Hep-3B hücre hattında elde edilen NDI bulguları.....	163
4.6.4.	BEAS-2B hücre hattında elde edilen NDI bulguları.....	164
4.7.	M30 ve M65 Bulguları.....	168
4.7.1.	Caco-2 hücre hattında elde edilen M30 ve M65 bulguları....	168
4.7.1.1.	Caco-2 hücre hattında Kompleks 1 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	168
4.7.1.2.	Caco-2 hücre hattında Kompleks 2 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	169
4.7.1.3.	Caco-2 hücre hattında Kompleks 3 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	170
4.7.1.4.	Caco-2 hücre hattında Kompleks 4 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	171
4.7.2.	MCF7 hücre hattında elde edilen M30 ve M65 Bulguları.....	173
4.7.2.1.	MCF7 hücre hattında Kompleks 1 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	173
4.7.2.2.	MCF7 hücre hattında Kompleks 2 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	174
4.7.2.3.	MCF7 hücre hattında Kompleks 3 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	175
4.7.2.4.	MCF7 hücre hattında Kompleks 4 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	177
4.7.3.	Hep-3B hücre hattında elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	178
4.7.3.1.	Hep-3B hücre hattında Kompleks 1 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	178
4.7.3.2.	Hep-3B hücre hattında Kompleks 2 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	179
4.7.3.3.	Hep-3B hücre hattında Kompleks 3 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	180
4.7.3.4.	Hep-3B hücre hattında Kompleks 4 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	181
4.7.4.	BEAS-2B hücre hattında elde edilen M30 ve M65 bulguları....	183
4.7.4.1.	BEAS-2B hücre hattında Kompleks 1 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	183
4.7.4.2.	BEAS-2B hücre hattında Kompleks 2 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	184
4.7.4.3.	BEAS-2B hücre hattında Kompleks 3 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	185
4.7.4.4.	BEAS-2B hücre hattında Kompleks 4 için elde edilen M30 ve M65 bulguları.....	187
4.8.	BEAS-2B Hücre Hattına Dört Kompleksin Kansere Hücre Hatlarındaki IC <sub>50</sub> Dozları İle Muamele Edilmesi Sonucu	

4.8.1.	Elde Edilen Komet Testi Bulguları.....	191
	Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC <sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hatlarına muamelesinden elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM verileri.....	191
4.8.2.	Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC <sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hatlarına muamelesinden elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM verileri .....	196
4.8.3.	Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC <sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hatlarına muamelesinden elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM verileri.....	201
4.8.4.	Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC <sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hatlarına muamelesinden elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM verileri.....	206
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	212
	KAYNAKLAR.....	224
	ÖZGEÇMİŞ.....	239

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$\mu\text{m}$	Mikrometre
H	Hidrojen
Cu	Bakır
KCL	Potasyum Klorür
mg	Miligram
mL	Mililitre
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
O	Oksijen
$^{\circ}\text{C}$	Derece Santigrad
V	Volt
mA	Miliamper

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
8-oxo-dG	8-Oksijen deoksiguanozin
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetikasit
EtOH	Etanol
İNH	İki Nüklueslu Hücre
LMA	Low Melting Agarose
MN	Mikro Nüklues
NDI	Nükleer Division Index
OTM	Olive Tail Moment
PBS	Phosphate Buffered Saline
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reactive Oxygen Species
RFU	Relatif Floresan Değeri

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Kanser oluşumu üzerine çevresel faktörlerin, genetik ve epigenetik değişimlerin etkisi.....	6
Şekil 2.2.	Vücutta bakır dağılımı.....	14
Şekil 2.3.	Bakırın hücre içindeki fonksiyonu.....	15
Şekil 2.4.	Mikronukleus oluşumu mekanizması.....	31
Şekil 2.5.	M30 test kitinin çalışma mekanizması.....	38
Şekil 2.6.	M65® Elisa testi ile nekrozun belirlenmesi.....	39
Şekil 3.1.	1,10-phenanthrolin moleküler yapısı.....	44
Şekil 3.2.	4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline (dmphen) moleküler yapısı.....	45
Şekil 3.3.	L-tyrosinin moleküler yapısı.....	45
Şekil 3.4.	Kompleks 1'in moleküler yapısı.....	46
Şekil 3.5.	Kompleks 2'nin moleküler yapısı.....	46
Şekil 3.6.	Kompleks 3'ün moleküler yapısı.....	47
Şekil 3.7.	Kompleks 4'ün moleküler yapısı.....	48
Şekil 3.8.	DCF standartlarının hazırlanması.....	50
Şekil 3.9.	8-OHdG miktarı standart grafiği.....	51
Şekil 4.1.	Caco-2 hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4'ün IC <sub>50</sub> değerleri verilmiştir.....	58
Şekil 4.2.	MCF7 hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4'ün IC <sub>50</sub> değerleri verilmiştir.....	59
Şekil 4.3.	Hep-3B hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4'ün IC <sub>50</sub> değerleri verilmiştir.....	60
Şekil 4.4.	BEAS-2B hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4'ün IC <sub>50</sub> değerleri verilmiştir.....	61
Şekil 4.5.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	64
Şekil 4.6.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	65
Şekil 4.7.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	66
Şekil 4.8.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	67
Şekil 4.9.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	68
Şekil 4.10.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	69
Şekil 4.11.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	70

Şekil 4.12.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	71
Şekil 4.13.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	72
Şekil 4.14.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	73
Şekil 4.15.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	74
Şekil 4.16.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	75
Şekil 4.17.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	76
Şekil 4.18.	Kompleks 2'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	77
Şekil 4.19.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	78
Şekil 4.20.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	79
Şekil 4.21.	Caco-2 hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC <sub>50</sub> dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri.....	82
Şekil 4.22.	MCF-7 hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC <sub>50</sub> dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri.....	83
Şekil 4.23.	Hep-3B hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC <sub>50</sub> dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri.....	84
Şekil 4.24.	BEAS-2B hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC <sub>50</sub> dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri.....	85
Şekil 4.25.	Kompleks 1'in IC <sub>50/2</sub> ve IC <sub>50</sub> dozları ile CaCo-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	88
Şekil 4.26.	Kompleks 2'nin IC <sub>50/2</sub> ve IC <sub>50</sub> dozları ile CaCo-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	89
Şekil 4.27.	Kompleks 3'ün IC <sub>50/2</sub> ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	90

Şekil 4.28.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	91
Şekil 4.29.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	92
Şekil 4.30.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	93
Şekil 4.31.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	94
Şekil 4.32.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	95
Şekil 4.33.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	96
Şekil 4.34.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	97
Şekil 4.35.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	98
Şekil 4.36.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	99
Şekil 4.37.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	100
Şekil 4.38.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	101
Şekil 4.39.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	102
Şekil 4.40.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri.....	103
Şekil 4.41.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	106
Şekil 4.42.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	107
Şekil 4.43.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	108



Şekil 4.44.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	109
Şekil 4.45.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	110
Şekil 4.46.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	111
Şekil 4.47.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	112
Şekil 4.48.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	113
Şekil 4.49.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	114
Şekil 4.50.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	115
Şekil 4.51.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri .....	116
Şekil 4.52.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	117
Şekil 4.53.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	118
Şekil 4.54.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	119
Şekil 4.55.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	120
Şekil 4.56.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	121
Şekil 4.57.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	124
Şekil 4.58.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	125
Şekil 4.59.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	126

Şekil 4.60.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	127
Şekil 4.61.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	128
Şekil 4.62.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF-7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	129
Şekil 4.63.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF-7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	130
Şekil 4.64.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF-7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	131
Şekil 4.65.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	132
Şekil 4.66.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	133
Şekil 4.67.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	134
Şekil 4.68.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	135
Şekil 4.69.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	136
Şekil 4.70.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	137
Şekil 4.71.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	138
Şekil 4.72.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	139
Şekil 4.73.	Komet testi preparatlarından elde edilen mikroskopik görüntü örnekleri.....	141
Şekil 4.74.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	143
Şekil 4.75.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	144
Şekil 4.76.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre	

	hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	145
Şekil 4.77.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	146
Şekil 4.78.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	147
Şekil 4.79.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	148
Şekil 4.80.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	149
Şekil 4.81.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	150
Şekil 4.82.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	151
Şekil 4.83.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	152
Şekil 4.84.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	153
Şekil 4.85.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	154
Şekil 4.86.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	155
Şekil 4.87.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	156
Şekil 4.88.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	157
Şekil 4.89.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> /2 ve IC <sub>50</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	158
Şekil 4.90.	MN testi preparatından elde edilen mikroskopik görüntü örnekleri.....	160
Şekil 4.91.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	169
Şekil 4.92.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen	

	M30-M65 değerleri.....	170
Şekil 4.93.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	171
Şekil 4.94.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	173
Şekil 4.95.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	174
Şekil 4.96.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	175
Şekil 4.97.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	176
Şekil 4.98.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	178
Şekil 4.99.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	179
Şekil 4.100.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	180
Şekil 4.101.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	181
Şekil 4.102.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	183
Şekil 4.103.	Kompleks 1'in IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	184
Şekil 4.104.	Kompleks 2'nin IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	185
Şekil 4.105.	Kompleks 3'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	186
Şekil 4.106.	Kompleks 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri.....	188
Şekil 4.107.	Kompleks 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen Kuyruk uzunluğu değerleri (µM).....	194
Şekil 4.108.	Kompleks 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM dozları ile	

	BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA değerleri.....	195
Şekil 4.109.	Kompelsk 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM değerleri.....	196
Şekil 4.110.	Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen Kuyruk uzunluğu değerleri ( $\mu$ M).....	199
Şekil 4.111.	Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA değerleri.	200
Şekil 4.112.	Kompelsk 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM değerleri.....	201
Şekil 4.113.	Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen Kuyruk uzunluğu değerleri ( $\mu$ M).....	204
Şekil 4.114.	Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA değerleri.....	205
Şekil 4.115.	Kompelsk 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM değerleri.....	206
Şekil 4.116.	Kompleks 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi s onucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen Kuyruk uzunluğu değerleri ( $\mu$ M).....	209
Şekil 4.117.	Kompleks 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA değerleri.....	210
Şekil 4.118.	Kompelsk 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM değerleri.....	211

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan ekipman.....	42
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler.....	43
Çizelge 4.1. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarında IC <sub>50</sub> , IC <sub>75</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları.	62
Çizelge 4.2. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri.....	80
Çizelge 4.3. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarında IC <sub>50</sub> dozları ile 4 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri.....	86
Çizelge 4.4. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC <sub>50/2</sub> ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 2 4 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri.....	104
Çizelge 4.5. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC <sub>50/2</sub> ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri.....	122
Çizelge 4.6. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC <sub>50/2</sub> ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri.....	140
Çizelge 4.7. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC <sub>50/2</sub> ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri.....	159
Çizelge 4.8. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC <sub>50/2</sub> ve IC <sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri.....	167
Çizelge 4.9. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30 değerleri.....	189
Çizelge 4.10. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC <sub>50</sub> ve IC <sub>90</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M65 değerleri.....	190
Çizelge 4.11. Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC <sub>50</sub> dozu ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri.....	193
Çizelge 4.12. Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC <sub>50</sub> dozu ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu,	

	Kuyruk %DNA ve OTM değerleri.....	198
Çizelge 4.13.	Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre Hatlarındaki IC <sub>50</sub> dozu ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri.....	203
Çizelge 4.14.	Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC <sub>50</sub> dozu ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri.....	208

## 1.GİRİŞ

İlaç kimyası genellikle organik ve doğal bileşiklere dayanmasına rağmen son 30 yıldır metal kompleksleri kemoterapi ilaçları veya tanı ajanları olarak büyük ilgi kazanmıştır. Metal bazlı kanser ilaçları kemoterapide önemli bir rol oynamaktadır. Cisplatinin toksik etkileri ve ilaç rezistansı klinikte kullanımını sınırlamasına rağmen cisplatin bu ilaçlardan en etkililerinden biridir. Bu nedenle klinik etkinin artırılması genel toksisitesinin azaltılması ve aktivite alanının genişletilmesi için son yıllarda yeni metal içerikli kanser ilaçlarının geliştirilmesi hızlı bir şekilde yaygınlaşmaktadır (Habley 2007).

Şüphesiz cisplatin, cis-diammine-dichloroplatinum(II)'nin bulunması yirminci yüzyılın en önemli olaylarından biridir. Cisplatin çeşitli kanser tiplerinin tedavisinde oldukça etkilidir özellikle testis kanserinde. Böbrek toksisitesi, emetogenesis ve nörotoksikite nedeniyle tedavide kullanımı sınırlıdır (Zhang ve Lippard 2003). Buna ek olarak cisplatin ağız yoluyla alınamaz ve cisplatin rezistansı da uygulamayı sınırlamaktadır (Kelland 2000). Bu sınırlamalar antitümör aktivitesi olan farmakolojik özellikli inorganik komplekslerin geliştirilmesini teşvik etmiştir. Metal içerikli ilaçlarda metal ligandları kusursuz üç boyutlu konfigürasyonda koordine edilmektedir. Bu aynı zamanda ilacın spesifik bir moleküler hedefi tanımasını ve etkileşime girmesini sağlamaktadır. Bu durum ligandın farklı kimyasal modifikasyonları ile arttırılmaktadır. Dahası metal kompleksleri kolayca redoks reaksiyonlarına girmekte ve ligand değişimi biyolojik redoks kimyasına katılmalarına ve biyolojik moleküller ile reaksiyona girmelerine olanak sağlamaktadırlar. Bu alandaki araştırmaların bakır gibi esansiyel iyonlar tarafından şekillendirilmiş biyolojik aktif kompleksler üzerine odaklanması ilgi çekicidir (Petering 1980). Normal metabolik yolağında kaçan herhangi bir metal, organizma için çok toksik olabilmektedir, bu gibi metallerin kompleksleri etkili sitotoksik ajanlar olarak görev yapabilmektedirler (Frausto Da Silva ve Williams 1991). Bakır canlı tüm organizmalarda bulunmaktadır ve redoks kimyasında, büyüme ve gelişimde çok önemli bir iz elementtir (Linder 1991). Enerji metabolizmasında, solunumda, DNA sentezinde yer alan sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz, askorbat oksidaz ve tyrosinaz gibi birçok enzimin ve proteinin fonksiyonu için önemlidir.



Biyolojik bakır komplekslerinin en önemli fonksiyonu bakır içeren biyolojik moleküllerin moleküler oksijen ile doğrudan reaksiyona girerek serbest radikalleri oluşturduğu oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarında rol almaktır. Bakır, mitokondiral solunumda demir absorpsiyonunda ve serbest radikallerin hücre fizyolojisinde katalitik kofaktör olarak esas rolü oynamaktadır. Bakırın toksisitesi reaktif oksijen türlerini oluşturma yeteneğinden, diğer metallerle yer değiştirmesinden, lipidleri perokside etmesinden ve doğrudan DNA ve RNA'yı parçalamasından kaynaklanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge 1990).

Cis-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] klinik uygulamalardaki başarısından dolayı daha etkili, sistemik ve özel organlara olan toksisitesi daha düşük olan yeni platin temelli ve platin temelli olmayan antitümör ilaçları geliştirilmektedir. Platin içermeyen antitümör ilaçlarından bakır temelli komplekslerle yapılan çalışmalar endojen metallerin daha az toksik olduğunu göstermiştir.

Bakır ile koordine edilmiş bileşiklerin özellikleri, hem klasik inorganik koordine edilmiş komplekslerde hem de biyoorganik model bileşiklerinde ligandin özellikleri ve metale bağlanan donör atomlar tarafından belirlenmektedir (Hathaway 1987; Mukherjee 2004). Bakır üç oksidasyon seviyesinde stabilize edilebilir: Cu(III), Cu(II), Cu(I) fakat bakır(III) bileşikleri çok az rapor edilmiştir (Mukherjee 2004). Cu(II) türevlerinin koordinasyonu daha yaygındır ve çok az sayıda Cu(I) bileşikleri vardır. Cu(II) türevlerinin d<sup>9</sup> elektronik konfigürasyonu d-d transisyonuna neden olmaktadır ve bu da renkli türlerin ortaya çıkması ile sonuçlanmaktadır. Bu komplekslerde koordinasyon sayısı 4 den 6 ya kadar değişebilir (Kitajima ve Moro-oka 1994). Bakır komplekslerinin antitümör etki gösterdiğine dair ilk bulgular 1960'lara kadar dayanmaktadır (Padhye ve Kauffman 1985). Bakır komplekslerinin kimyasal ve biyolojik davranışları ile ilgili pek çok çalışma vardır. Bakır komplekslerinin farklı sınıflarının sentezi için çok miktarda çaba olmasına rağmen fizyolojik süreçleri ile ilgili çok az veri vardır. Bakır iyonlarının şelatları seçilmiş organik ligandların biyolojik aktivitelerinde belirleyici bir rol oynamaktadır ve metal içermeyen maddelerin antitümör aktivitesini arttırmaktadır.

Şelasyon yapan metallerden 1,10-fenantrolin (phen) ve bakır tuzları kararlı bis-phen kompleksleridirler. İndirgeyici ajanların ve moleküler oksijenin varlığında nükleaz

aktivitesi göstermektedirler. Bu gibi bakır komplekslerinin biyolojik aktivitesi yetmişli yıllarda gösterilmiştir (Sigman ve ark. 1979). Bis-phen kompleksleri  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  şeker gruplarına atak yaparak DNA ve RNA'yı oksidatif olarak parçalayabilen ajanlar olarak tanımlanmıştır. Buna ek olarak antitümör, antimycobakteriyal, antifungal ve antimikrobial özellikler içerdikleri gösterilmiştir (Ranford ve ark. 1993; Saha ve ark. 2004). Mono-phen komplekslerinden daha reaktif olan  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  kompleksinin DNA'yı parçalama aktivitesi şu mekanizmalara göre gerçekleşmektedir (Sigman ve ark. 1993; Chen ve ark. 2001; Thederahn ve ark. 1989) : a)  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$  çözeltilerde  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  ye indirgenir; b)  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  DNA'ya bağlanır; c)  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  doku içinde üretilen  $\text{H}_2\text{O}_2$  tarafından  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$  'ye oksitlenir; d) oksidasyondan sonra metal iyonları Cu-oxo ve/veya Cu-hidroksil türlerine neden olan bir ligand kazanır bunun doğası bilinmemektedir; e) bu bakır bileşiklerinin aracılık ettiği DNA parçalanması genellikle 2-deoksiriboz'un C-1, C-4 veya C-5 bağlarında gerçekleşir (Meijler ve ark. 1997; Oyoshi ve Sugiyama 200; Pitie ve ark. 2000).

Phen ve diğer bakır-phen kompleksleri konsantrasyona bağlı sitotoksik etki göstermektedirler, özellikle metal kompleksleri en yüksek sitotoksik etkiyi göstermektedirler, cisplatinin gösterdiği etkinin yaklaşık 3-18 katından daha fazladır (Deegan ve ark. 2007).

Casiopinas (Cas) ismi ile tanınan bir seri bakır bazlı ilaçlar Ruiz-Azuara ve arkadaşları tarafından üretilmiştir (Zhou ve ark. 2002; Ruiz Azuara 1991). Bu bileşikler şelat bakır(II) kompleksleri ile karıştırılmıştır ve genel formülleri  $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{A-A})][\text{NO}_3]$ 'dir, burada N-N nötral dimine donörleri, ya phen yada bipy, A-A tek negatif N-O veya O-O donörleri, ya aminoasit yada acetylacetonate'dır (De Vizcaya-Ruiz ve ark. 2003; Trejo-Solis ve ark. 2005). Cas kanser tedavisinde alternatif bir kemoterapi ajanı olarak dizayn edilmiştir, ön deneylere göre bunlardan bazıları hem vitro hem de vivoda (De Vizcaya-Ruiz ve ark. 2003; Gracia-Mora ve ark. 2001) CH1 ve L1210 gibi fare hücre hatlarında antineoplastik etki göstermiştir (De Vizcaya-Ruiz ve ark. 2000). Sıçanlardaki deneylerde türevlerden biri C6 glioma hücrelerine karşı hücre poliferasyonunda inhibisyon göstermiştir (Lovejoy ve Richardson 2002). İlacın ROS'da artışa ve bunu takiben mitokondride hasara neden olduğu ve bunu hem kaspaz bağımlı hem de kaspaz

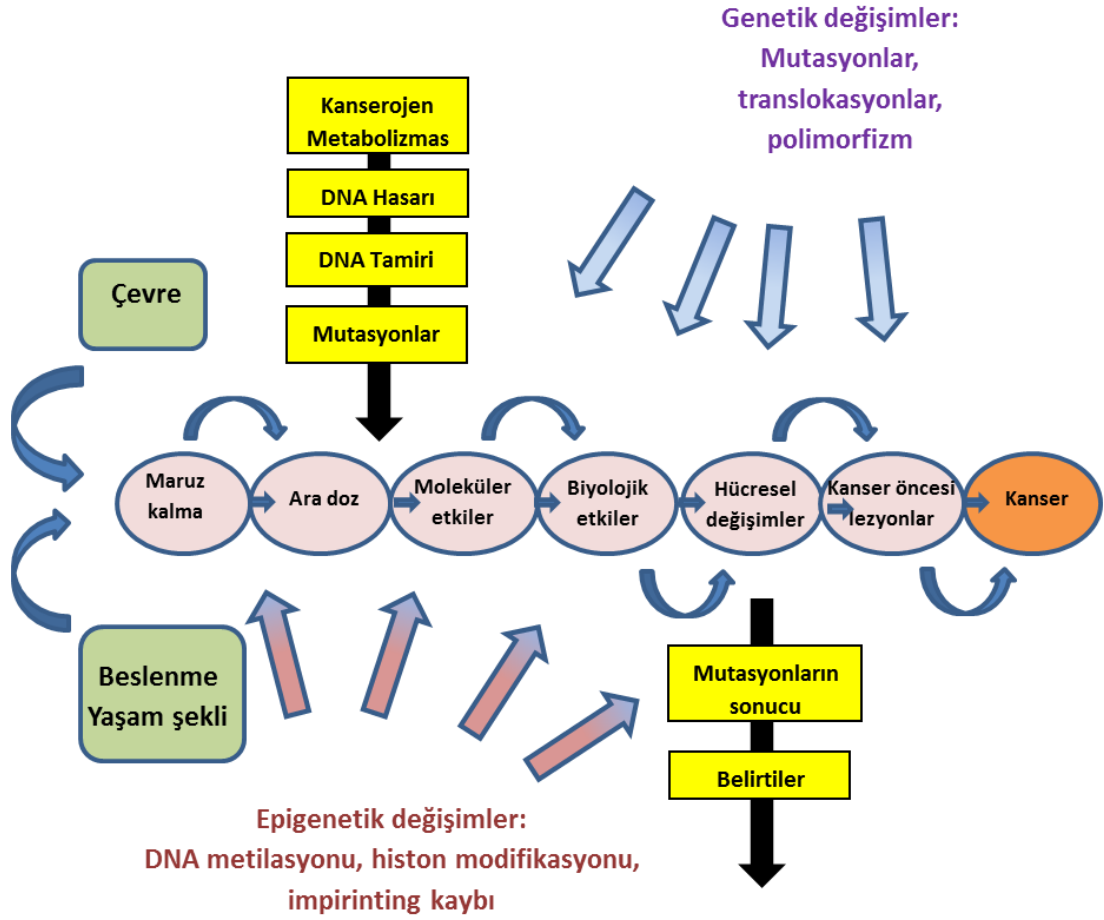
bağımsız yollar ile gerçekleşen apoptosun izlediği gösterilmiştir (Trejo-Solis ve ark. 2005).

Tez çalışmasında fakültemizin Kimya Bölümü Anorganik Kimya Anabilim dalı tarafından sentezlenmiş 1,10 phenanthrolinin, L-tyrosinin, bakır(II) iyonu ile oluşturduğu dört farklı karışık ligand kompleksinin  $[Cu(phen)_2(NO_3)]^+$ ,  $[Cu(phen)(tyr)(H_2O)]^+$ ,  $[Cu(dmphen)_2(NO_3)]^+$ ,  $[Cu(dmphen)(tyr)(H_2O)]^+$ , MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı, Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı, Hep-3B insan karaciğer kanseri hücre hattı ve BEAS-2B insan bronş epitel hücre hattında sitotoksik etkilerini ölçmek için XTT testi ile IC<sub>50</sub> değerleri belirlenmiştir. Hücre içi ROS seviyesi ROS testi ile değerlendirilmiştir. Oksidatif DNA hasarının bir biyomarkırı olarak ise 8-OH-dG oluşumu ölçülmüştür. Bu bileşiklerin genotoksik etkilerini belirlemek için comet ve mikronükleus testleri yapılmıştır. Ayrıca bu bileşiklerin hücreler üzerindeki apoptotik ve nekrotik etkilerini incelemek için M30 ve M65 testleri uygulanmıştır. Bakır komplekslerinin kanser hücrelerine kıyasla sağlıklı hücre hattı üzerinde daha az toksik olması ve IC<sub>50</sub> değerlerinin cisplatine kıyasla daha düşük olması durumunda bu komplekslerin umut verici alternatif metal içerikli kemoterapi ilaçları olabileceğini düşündürmektedir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Kanser

Kanser oluşumu hücrenin hücre poliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki hemeostatik dengeyi düzenleyen kontrol ağından kurtulmasını sağlayan genetik ve epigenetik değişimlerin birikmesi ile gerçekleşir (Hanahan ve Weinberg, 2000). Weinberg ve çalışma arkadaşları in vitro primer hücreyi malignan hale çevirmek için hücrenin kendi büyümesini, bölünmesini, pozisyonunu, farklılaşmasını ve yaşam süresini kontrol ettiği mekanizmaların değiştirilmesi gerektiğini belirlediler (Elenbaas ve ark. 2001). 90'larda kanser dokusu ile yapılan çalışmalar basamak basamak gerçekleşen genetik değişimlerin kanser gelişimine eşlik eden morfolojik değişimleri belirleyebileceği düşüncesini popüler hale getirmiştir. (Fearon ve Vogelstein, 1990). Son zamanlarda homojen histolojik bir grup içindeki bireysel tümörlerin genetik değişimler, epigenetik değişimler ve gen ekspresyonunda büyük heterojenlik gözlenmesi nedeniyle "ardışık" konsept yetersiz kalmıştır (Feinberg ve ark. 2006). Buna ek olarak malignan fenotipler kök hücre özelliği olan alt popülasyonlar ile devam ettirilebiliyorlar (Kim ve ark., 2005; Pardal ve ark., 2003; Singh ve ark., 2004). Erken evre kanserlerin sistematik olarak geç evre kanserlerden daha az agresif olduğu düşüncesi erken evre kanserlerde metastatik kanserlerdeki ile benzer gen ekspresyonu profillerinin tanımlanması ile doğruluğu tartışılır hale gelmiştir (Schedin ve Elias, 2004). Nitekim günümüzde hücrenin kanser gelişim sürecine girmesinde çeşitli mekanizmalar olduğu bilinmektedir. Genetik ve epigenetik değişimlerin düzenli birikimi ve aralarındaki fonksiyonel işbirliği kanser gelişimini başlatan mekanizmalardır (şekil 2.1).



**Şekil 2.1.** Kanser oluşumu üzerine çevresel faktörlerin, genetik ve epigenetik değişimlerin etkisi (Herceg ve ark. 2007).

Kanser çevresel/beslenme faktörleri tarafından indüklenen spesifik genlerdeki uygunsuz aktivasyon veya inaktivasyonun neden olduğu genetik ve epigenetik değişimlerin kombinasyonunun bir sonucudur (Herceg ve ark. 2007). Kanser günümüzde tedavisi en zor olan hastalıklardan biridir. Kanser tedavisi çoğunlukla cerrahi, radyoterapi, hormon ve kemoterapiye dayanmaktadır. Ulusal kanser ajansı 2012 yılı verilerine göre 2012 yılında Dünya’da toplam 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kişi kanser nedeni ile hayatını kaybetmiştir (ulusal kanser ajansı).

## 2.2. Kanserde Kemoterapi

1960'larda Paul Ehrlich isimli alman kimyacı enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılması için ilaç geliştirmiştir. Kemoterapi terimini bulan ve hastalıkların tedavisinde kimyasalların kullanımı olarak tanımlayan ilk kişidir (Vincent ve ark. 2008).

Kemoterapi ilaçları malignan tümör hücrelerini öldürmeyi amaçlamaktadır. 20. yüzyılın ilk yarısından itibaren kanser kemoterapisinde önemli gelişmeler olmuştur. 10 yılı aşkın bir süredir antifoliate, thiopurines, 5-fluororacil veya methotrexate gibi antimetabolitler bulunmuştur. Bu ilaçların amacı DNA replikasyonu için gerekli olan enzimatik reaksiyonları inhibe etmektir (Vincent ve ark. 2008).

Kemoterapi ajanları ile tedavinin en önemli problemi olan toksisitenin nedeni ilaçların kanser hücrelerini seçecek şekilde vücutta dağılmamalarıdır. Hücreler yapısal olarak benzer olan ilaçlara karşı çapraz-rezistans geliştirmektedir ve bu durum çoklu-ilaç rezistansı olarak bilinmektedir. Çoklu ilaç rezistansının nedenleri arasında ilaç modifikasyonu veya inaktivasyonu, geçirgenliğin azalması veya ilacın hücreye girişinin azalması veya ilacın hücreden dışarı sızmasının artışı yer almaktadır (Avendano ve Menendez 2008).

1965'de Barnett Rosenberg beklenmedik bir şekilde platin komplekslerinin, diamminedichloridoplatinum(II) *Escherichia coli*. bölünme sürecini inhibe ettiğini bulmuştur fakat bakterinin büyümesini engellemediğini tespit etmiştir (Rosenberg 1999). Bu buluş metal kompleksleri arasında antikanser ajanları araştırmalarını arttırmıştır.

## 2.3. Metal İçerikli Kanser İlaçları

Tarihsel olarak metal içerikli çeşitli ajanlar antitümör potansiyelleri için test edilmişlerdir. En önemli metal içerikli ilaç cisplatindir (cis-diamminedichloroplatinum(II), cis-DDP, CDDP). Cisplatinin başarısı önemlidir çünkü ilaç tamamen inorganiktir, karbon atomu içermez. Testis kanseri, ovaryum kanseri,

mesane kanseri, servik kanseri ve melanoma üzerine etkilidir (Reedijk 1996). Araştırmacılar yıllarca platin komplekslerinin farmakolojik özelliklerini geliştirmek için büyük çaba harcamışlardır (Lippert ve ark. 1999, Kelland ve Farrell 2000).

Metal içeren ajanlar klinikte kullanılmalarını sağlayacak farmakolojik özelliklere sahip olmalıdırlar. Birçok antitümör bileşik yüksek aktivite seviyesine ve ilginç özelliklere sahiptir fakat farmakolojik olarak kullanımını sağlayacak fizikokimyasal özellikleri olmadığı için klinik faza ulaşamamıştır, örneğin; düşük çözünürlük, sıvı ortamda kararsızlık ve çözücüye maruz kaldığında bozulma gibi. Diğer taraftan toksisitelerinin seçiciliği veya farmakolojik özellikleri araştırmacılara metal içerikli ilaçların geliştirilmesinde yardımcı olmuştur. Neticede metal içerikli ilaçlar tümör modellerinde vivo çalışılmalarının ötesinde vitroda organik ilaçlardan anlamlı derecede daha toksiktirler (Huang ve ark. 2009). 48 metal içerikli ilaç içerisinde sadece 3 tanesinin; cisplatin (CDDP), carboplatin ve oxaliplatin, klinikte antineoplastik ajan olarak kullanıldığını görmekteyiz (Kelland ve ark. 2000). Metallerin tedavi edici potansiyeli ile ilgili diğer önemli bir faktör oksidasyon seviyesidir. Fakat toksisitenin doğrudan yüksek veya düşük oksidasyon seviyesi ile ilişkili olduğu söylenemez. Örneğin krom (VI) bileşikleri krom (III) bileşiklerinden daha toksik iken arsenit As(III) arsenat As (V) den daha toksiktir. Bu nedenle bir metal kompleksinin sitotoksik aktivitesi antitümör aktivitesi ile yakından ilişkilidir ve metalin kimliği, oksidasyon seviyesi ve koordinasyon ligandlarının özellikleri ile kontrol edilmektedir, fakat bazı durumlarda sadece bunlardan biri dominant faktördür. Metal içerikli bileşiklerin aktivasyon mekanizması 4 grupta sınıflandırılabilir: sülfidril gruplarına (SH) bağlanmayı tercih etmesi, şelat yapanlar ve şelat yapıcıların metal kompleksleri, reaktif oksijen türleri (ROS) ve oksidatif stres oluşturanlar, lipofilic iyon oluşturanlar (Huang ve Covell 2005).

### **2.3.1. Platin içerikli ilaçlar**

Tarihte yeni buluşlar genellikle tesadüftür, ilk metal içerikli kanser ilacı olan cisplatin de aranırken bulunmamıştır. Barnett Rosenberg, Michigan State Üniversitesinde bölünen hücrelerde iğ iplikleri ve manyetik gücün hatları arasındaki benzerliği

çalışırken elektrik alanının büyümekte olan hücreler üzerine etkisini test etmiştir. Çalışma *E. Coli* bakterilerinde yapılmıştır ve platin elektrodları kullanılmıştır ve bu şartlar altında hücre bölünmesinin inhibe olduğu gözlenmiştir. Daha sonraki çalışmalar  $(\text{NH}_4)_2[\text{PtCl}_6]$ 'nin bu duruma neden olduğunu göstermiştir. Bu buluştan sonra National Cancer Institute'de (NCI) 4 platin kompleksi test edilmiştir  $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ ,  $[\text{PtCl}_2\text{en}]$ ,  $[\text{PtCl}_4(\text{NH}_3)_2]$ ,  $[\text{PtCl}_4\text{en}]$ . Cisplatin tüm basamakları geçmiş ve 1971'de klinik aşamaya ulaşmıştır ve çeşitli tümörlere karşı özellikle de testis kanserine karşı denenmiştir (Higby ve ark. 1974). Bu aktivite yanında çeşitli toksik yan etkileri gösterilmiştir bunlar; kusma, mide bulantısı, sinir hastalığı, böbrek toksisitesidir (Goldstein ve Mayor 1983).

Günümüzde cisplatin yaygın olarak kullanılmaktadır ve keşfi inorganik ilaç kimyası alanında yeni ilaçların araştırılmasını sağlamıştır. Fakat cisplatinin toksisite ve ilaç rezistansı gibi dez avantajları vardır. Bu durum cisplatin yapısını temel alan toksisitesi yüksek ve/veya yararlı antikanser aktivitesi genişletilmiş yeni nesil bileşiklerin geliştirilmesine neden olmuştur. Daha sonra çok daha fazla platin bileşiği geliştirilmiştir fakat bunların çoğu klinik faza ulaşamamıştır. Tetraplatin nörotoksitesini nedeni ile faz I'i aşamamıştır (Schilder ve ark. 1994), sadece carboliplatin ve oxaliplatin 90'ların sonuna doğru klinikte kullanılmaya başlanmıştır (Wong ve Giandomenico 1999). İlaç aktivasyonunun moleküler mekanizması ve cisplatin rezistansının hücrel mekanizmalarının araştırılması yeni nesil platin antitümör ilaçlarının geleneksel dizaynı için yardımcı olmuştur. DNA'nın metal içerikli ilaçların örneğin platin içeren ilaçların ana hedefi olduğu düşünülmektedir, DNA üzerinde spesifik lezyonlar oluşturmada ve apoptozu indüklemektedirler. Platin içerikli bileşiklerin tedavi edici etkisinin DNA 'ya spesifik bağlanmasını sağlayan moleküler konfigürasyonu ile ilişkili olduğuna dair bulgular vardır. Cisplatin sıvı ortamda trans isomere dönüşmekte ve antitümör etkisini kaybetmektedir, bunun nedeni cis isomerine kıyasla nükleik asit içerisindeki zincirler arası irreversible çapraz bağlar oluşturma yeteneğinin azalmasıdır (Greene ve ark. 1979, Repta ve ark. 1979). Bununla birlikte cisplatinin aksine platin içeren diğer bileşiklerden ligantları trans konfigürasyonunda olanlar cis- konfigürasyonunda olanlara kıyasla daha yüksek sitotoksite göstermektedirler (Kleinwachter ve Zaludova 1977, Fricker 1994).



### **2.3.2. Kanser İlacı Olarak Bakır Kompleksleri**

Antitümör özelliği gösteren esansiyel olmayan metallerin geliştirilmesine karşın bir diğer yaklaşım esansiyel metal içeren komplekslerin geliştirilmesidir (Fricker 1994). Aslında yıllarca çok sayıda araştırmacı esansiyel metallerin endojen metaller oldukları için anti tümör ajanı olarak daha az toksik olduğunu göstermiştir (Ruiz-Ramírez ve ark. 1991).

Yıllar içinde esansiyel metallerin kanser tedavisinde kullanımı bleomycin gibi ilaçların aktivasyonunun demir ve bakır tarafından sınırlanmasına neden olmuştur (Burger ve ark 1994; Dorr 1992) veya şelatörlerin kullanılması demir ve diğer hücre poliferasyonunda gerekli besinlerin azaltılması yolu ile etki ederek tümör büyümesinin sınırlanması ile sonuçlanmıştır (Buss ve ark. 2004). Son zamanlarda demir, kobalt, manganez ve bakır gibi esansiyel metallerin antitümör araştırmaları artmıştır.

Son yıllarda bakır komplekslerinin çeşitli aileleri potansiyel antikanser ajanı olarak çalışılmıştır (Tisato ve ark. 2009; Wang ve Guo 2006). Etki mekanizmalarının moleküler temelleri hakkında çok az bilgi olmasına rağmen etki mekanizmalarının DNA'ya kovalent bağlanan cisplatinden farklı olması nedeni ile dikkatleri üzerine çekmişlerdir (Marzano ve ark. 2009). Bu nedenle bakır kompleksleri en azından prensipte daha kapsamlı bir antitümör aktivitesi gösterebilirler, platin içeren ilaçlara kıyasla daha az yan etkiye sahiptirler ve cisplatin direncinin üstesinden gelebilecekleri ileri sürülmektedir (Wang ve Guo 2006).

#### **2.3.2.1. Bakır Kimyası**

İnsanoğlu bakırı ilk defa 10000 yıl önce kullanmıştır. Yaklaşık 5000 yıldır bakır insanoğlunun bildiği tek metaldir. Roma İmparatorluğu süresince Kıbrıs adasında çıkartılmıştır bu nedenle bakır isminin kökeni Cyprium “Kıbrıs metalı” dir, daha sonra Cuprum olarak kısaltılmış ve Cu sembolü halini almıştır (Marzano ve ark. 2009).

Bakır periyodik tablonun 29. elementidir ve 11. grup geçiş metallerine dahildir. Atom numarası 29 ve atom ağırlığı 63,546'dır. Cu(III) ve Cu (IV) oksidasyon seviyeleri rapor

edilmiş (Popova ve Aksenova 2003) olmasına rağmen bakır kimyası Cu(I) ve Cu(II) bileşikleri daha yaygındır (Greenwood ve Earnshaw 1998, Mukherjee 2004). Cu(I) hem organik hem de inorganik ligandlar ile çok sayıda kompleks oluşturabilmektedir. Bunun nedeni bu iyonun “yumuşak” karakterde olmasıdır (Pearson tanımı), Cu(I) yumuşak donör atomları olan ligandları tercih etmektedir örneğin sülfür içeren sistein, methionin, aromatik nitrojen gibi.

Cu(I) kompleksleri genellikle linear (koordinasyon numarası (CN) 2'ye eşit), trigonal (CN=3) veya tetrahedral (CN= 4) yapıdadır (Linder 1991) . Buna rağmen Strähle tarafından monomeric bakır(I) kompleksleri karakterize edilmiştir (Lingnau 1988). Bilindiği gibi linear Cu(I) kompleksleri çok güçlü bazik, yüksek polarize veya kolay polarize olabilen ligandlar ile oluşturulmaktadır. Yüzeysel koordinasyona (CN=3) bir örnek  $K_2[Cu(CN)_3]$ 'dir. Diğer durumlarda genellikle dört yüzlü yapılar oluşmaktadır. Cu(I) tuzlarındaki redox dengesi Cu(I)'in Cu(0)'a ve Cu(II)'ye kolayca disproportionation'da kaynaklanır. Çoğu Cu(I) kompleksi analogu olan Ag(I) ve Au(I) derivatlarından daha kararlıdır.

Cu(I) iyonları  $d^{10}$  konfigürasyonuna sahiptirler ve diyamagnetik (mıknatis geçirme hassası düşük olan) ve genellikle renksizdirler. Cu(I) komplekslerinin kararlılığı ligantın doğasına bağlıdır ve Cu(I) iyonunun lattice (kafes) enerjisine ve solvation enerjisine bağlıdır (Greenwood ve Earnshaw 1998). d elementlerinin oksidasyon seviyesi ayrı ayrı komplekslerin kararlılığındaki anlamlı artış veya azalma ile ilişkilidir.

Cu(II) komplekslerinin koordinasyon numaraları 4'den 8'e kadar değişmektedir. En yaygın olanı 4 koordine kare yüzey, beş –koordine trigonal eşkenar piramit ve karasel piramit aranjmanlarıdır, altı-koordine trigonal bipyramidal ve kare gonal çarpıklık (distortions)tır (Mukherjee 2004).

### **2.3.2.2. Bakırın Esansiyelliği**

Bakır bakteriden insana kadar tüm biyolojik organizmalar için esansiyel iz elementtir. Kaynağına ve biyolojik materyaline bağlı olarak bakır miktarı aralığı billion (ppb)'dan million (ppm)'e kadar değişir. Bakırın esansiyel olduğu ilk defa 1928'de Hart ve

arkadaşları (1928) tarafından bulunmuştur. Hart ve arkadaşları sıçanların bakır içeriği az olan süt diyeti ile beslendiklerinde yeterli kırmızı kan hücresi üretemediklerini göstermiştir. Anemi bakır sülfid içeren sebze veya hayvan kaynaklı küllerin eklenmesi ile düzeltilmiştir.

Bakır doğal çevrede suda, toprakta bulunmaktadır. Miktarı bölgeden bölgeye ve özel durumlarda değişmektedir. Diyetteki bakır kaynakları mantarlar ve sebzelerdir. Diğer önemli bakır kaynakları ise sakatattır (Murphy ve ark. 1975, Olivares ve Uauy 1996, Pennington ve Calloway 1974).

Bakırın fizyolojik rolleri aşağıdaki fonksiyonları sağlamaktır:

Metallo enzimlerin esansiyel bileşenidir, bakır burada bakır(I) ve bakır(II) arasındaki döngüsü aracılığı ile redoks reaksiyonlarına katılmaktadır. Uygun koordinasyon kimyası ile makro moleküllerin yapısal bileşenidir (Stern et al 2007).

### **2.3.2.3. Bakır Hemeostasisi**

Bakır birikimi ve bakır eksikliği insan sağlığı için zararlıdır bu nedenle bakır hemeostasisi güçlü bir şekilde düzenlenmektedir (Linder 1991). Metal bağlayan diziler olarak sistein, methionin veya histidine zengin domainler içeren korunmuş bir grup protein, hücre içindeki serbest bakır konsantrasyonunu  $10^{-18}$  M seviyesinde tutmaktadır (Safaei ve ark. 2004). Besinlerle alınan bakır mideden ve ince bağırsaktan emilmekte ve ATP7A (Menkes proteini) sayesinde kan dolaşımına katılmaktadır (Şekil 2.2). İnsan serumundaki bakırın büyük kısmı 6 bakır iyonu içeren bir enzim olan seruloplasmine bağlanmaktadır. Bakır bu formda değişebilir değildir. Bakırın değişilebilir formu albümin ve aminoasitlere bağlandığı formdur (Laussac ve Sarker 1984). Bakır-histidin kompleksi insan kanındaki ana bakır-aminoasit kompleksidir (Lau ve Sarkar 1971).

Bakırın hücre içine alınımı sürecinde Cu(II) Cu(I)'e indirgenmekte ve transmembran transporter tarafından absorbe edilmektedir. İnsan hücrelerinde bakırı içeriye alan ana taşıyıcı 190 aminoasitlik bakır taşıyıcısı 1 (hCtr1)'dir. hCtr1 çoğunlukla plazma membranında bulunmakta ve karaciğer, böbrek, kalp ve bağırsakta yüksek seviyede

eksprese olurken beyin ve kaslarda düşük seviyede eksprese olmaktadır. hCtrl'in bakıra methionin ve histidince zegin amino-terminal domain aracılığı ile bağlandığı ve hücre membranından porlardan taşıdığı düşünülmektedir (Lee ve ark. 2001).

Bakır sitoplazmaya girdiğinde çeşitli ligandlarla kompleksler oluşturmakta böylece serbest bakırın hücrel membranlarla, proteinlerle veya DNA ile etkileşime girerek oksidatif hasara neden olması engellenmektedir. Fakat sitoplazmadaki bakırın büyük kısmının GSH Cu(I) kompleksi oluşturduğu düşünülmektedir (Freedman ve ark. 1989). Cu(I)-GS kompleksi hücre içindeki çeşitli proteinlere örneğin metallothioininlere (MT) bakır aktarabilmektedir, bu protein ailesi metal detoksifikasyonu için önemlidir (Ferreira ve ark. 1993). Bakır dağıtımı için önemli olan başka bir molekül sınıfı bakır şaperonlarıdır. Bunlar ATOX1 (HAH1), bakırı trans golgi ağındaki P-tipi ATPaz olan ATP7A ve ATP7B'ye aktarmaktadır, COX17 bakırı mitokondrideki sitokrom-c oksidaz'a aktarmaktadır, CCS1 bakırı sitoplazmadaki SOD'a aktarmaktadır (Culotta ve ark. 1997). (Şekil 2.3)

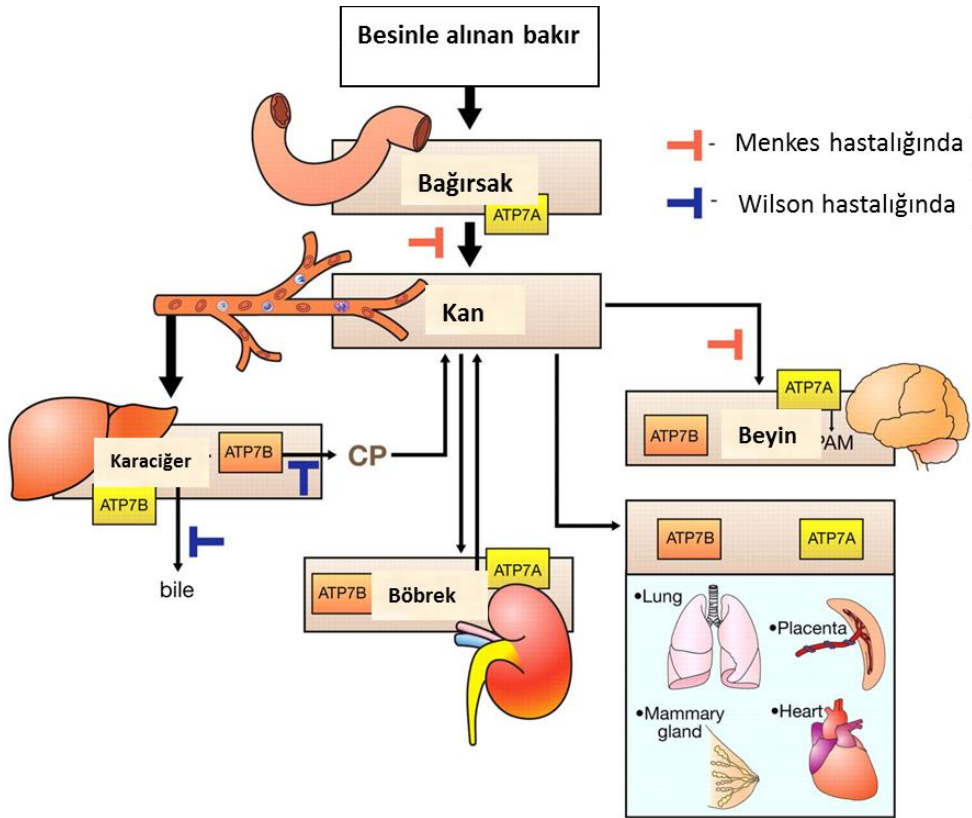
### **2.3.2.3.1. Menkes Hastalığı**

Menkes hastalığı bakır-taşıyıcısı ATP7A (Menkes proteini olarak da adlandırılır) genindeki çeşitli mutasyonların neden olduğu X'e bağlı öldürücü bir hastalıktır (Goodyer ve ark.1999). ATP7A geni P-tipi ATPaz'ları kodlamaktadır (Vulpe ve ark. 1993, Chelly ve ark. 1993). Bu enzim bakırın hücreden salınması ve trans-golgi ağındaki enzimlere dağıtılmasından sorumludur.

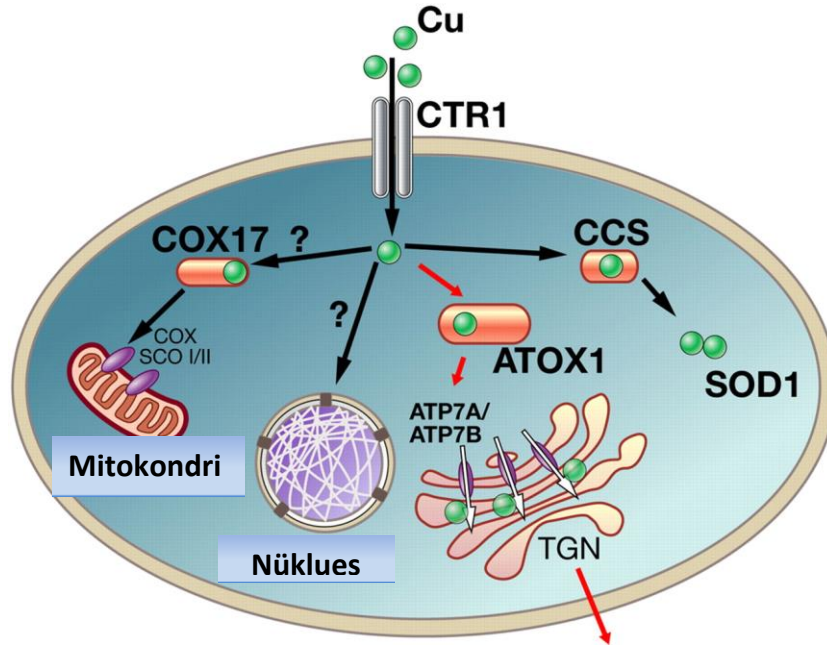
Hastalığın semptomları bakıra bağımlı enzimlerin aktivite eksikliğinden kaynaklanmaktadır (Kaler 1994). Hastalık kas gücü zayıflığı, çeşitli mental gerilikler, gelişim gecikmesi ve prematüre ölümler gibi çeşitli klinik özellikler sergilemektedir. Hastalık ATP7A genindeki mutasyonların taranması ile tespit edilmektedir (Horn 1983).

### 2.3.2.3.2. Wilson Hastalığı

Bakır taşınımının otosomal resesif bir hastalığıdır. Karaciğer ve beyinde bakır birikmesinden kaynaklanmaktadır. Hastalık ATP7B geninin mutasyondan kaynaklanmaktadır. Bu gen bakırın safra ile salgılanmasından sorumludur (Brewer 2000). Wilson hastalığı görülen kişilerde karaciğerdeki bakır seviyesi yükselmekte ve serumdaki bakır seviyesi düşmektedir, bunun nedeni karaciğerden safra kanalına hepatik bakırın transferinde yer alan ATP7B proteininin fonksiyonunun azalmasıdır (Petrukhin ve ark. 1993). Patolojik göstergeleri karaciğer hasarı, titremeler, bozuk konuşma ve diğer nörolojik bozukluklardır (Roberts ve Schilsky 2003). Hastalığın tanısı çeşitli basit testlerle yapılabilmektedir. İlk testler serumdaki bakır konsantrasyonunun ölçülmesidir (Roberts ve Schilsky 2008).



Şekil 2.2. Vücutta bakır dağılımı (LUTSENKO ve ark. 2007).



Şekil 2.3. Bakırın hücre içindeki fonksiyonu (Lutsenko ve ark. 2007).

#### 2.3.2.4. Casiopénas

Bakır içeren kanser ilaçları üzerine yapılan çalışmalar oldukça aktif bir alandır (Marzano ve ark. 2009, Tisato ve ark. 2010). Casiopénas antitümör potansiyeli en çok bilinen bakır kompleksidir. Karışık-bakır(II) komplekslerinin genel formülü  $[(Cu(N-N)(O-O)]NO_3$  veya  $[Cu(N-N)(O-N)]NO_3$  N-N aromatik diiminlerle (1,10-phenantrolin veya 2,2'-bipiridin), O-N  $\alpha$ -aminoasidat veya peptid ve O-O asetilasetonat veya salicylaldehyde ile yer değiştirebilir. Bu komplekslerin Casiopénas adı altında patenti alınmıştır (Ruiz-Azuara 1992, 1996) ve çeşitli vitro ve vivo modellerde test edilmişlerdir, antiproliferatif (Bravo-Gomez ve ark. 2009, Gracia-Mora ve ark. 2001), sitotoksik (Alemón-Medina ve ark. 2007), genotoksik (Rivero-Muller ve ark. 2007,Carvalho-Chaigneau ve ark. 2008) ve antitümör aktiviteleri (Trejo-Solis ve ark. 2005) göstermektedirler. Klinik öncesi çalışmalar diimin ligandlarındaki yer değiştirmenin aynı zamanda co-ligandlardaki yer değiştirme biyolojik aktivitenin magnitüde'ünü değiştirmektedir (Mejia ve Ruiz-Azuara 2008). Aynı etki insan tümör

hücre hatlarında vitro testlerde antiproliferatif aktivite (Bravo-Gomez ve ark. 2009, Gracia-Mora ve ark. 2001, Rivero-Muller ve ark. 2007, Mejia ve ark. 2008) ve genotoksik aktivite (Alemon-Medina ve ark. 2007) için gözlenmiştir.

Casiopéinas'ın aktivite şekli tam olarak açıklanmamıştır fakat bu bileşiklerin hücre proliferasyonunu inhibe ettiğine ve HCT-15 (Carvallo-Chaigneau ve ark. 2008) ve murin-glioma C6 (Trejo-Solis ve ark. 2005) gibi çeşitli tümör modellerinde apoptoz ile doza bağlı hücre ölümünü indüklediğine dair veriler vardır. Caspaz aktivasyonuna bağımlı ve bağımsız mekanizmalarla apoptozis gerçekleşir ve bir veya çok sayıda sinyalin sonucu bu etkiye neden olabilir ( Trejo-Solis ve ark. 2005, De Vizcaya-Ruiz ve ark. 2000). Bu sinyaller ROS (reaktif oksijen türleri) oluşumu ile ( Alemon-Medina ve ark. 2007, Rivero-Muller ve ark. 2007, Kachadourian ve ark. 2010), mitokondriyal toksisite (Hernandez-Esquivel ve ark. 2006, Marin-Hernandez ve ark. 2003, Rodriguez-Enriquez ve ark. 2006) veya DNA ile doğrudan etkileşim ile ( Rivero-Muller ve ark. 2007, Chikira ve ark. 2002) oluşabilirler. Bu üç mekanizma yalnız başlarına veya birlikte bu komplekslerin neden olduğu hücre ölümünün düzenlenmesinde önemli rol almaktadırlar.

### **2.3.2.5. Pheanthrolin**

Phenantrolin yıllardır yapısal ve kimyasal özelliklerin en iyi kombinasyonunu oluşturmak için kimyasal çok amaçlı bir modül (esas kısım) olarak kullanılmaktadır (Sammes ve Yahioğlu 1994). Phenantrolinin karalılığı onu entropikal olarak 2,2' -bipiridin gibi şelat yapan daha yaygın moleküllere göre daha iyi bir şelat molekülü yapmaktadır. Son zamanlarda 1,10-pehnantrolin türevlerinin kalıp etkisi olarak adlandırılan avantajları catenanes, rotaxanes ve knots gibi mükemmel moleküler yapıların geliştirilmesini kolaylaştırmışlardır. Bu sistemlerden bazıları moleküler seviyelerdeki makineler olarak üretilmişlerdir (Bonnet ve ark. 2006). 1,10-pehnantrolin'in diğer bir önemli özelliği düzeysel yapısıdır bu yapı DNA veya RNA'nın oyduğuna bağlanmayı kolaylaştırmaktadır (Hayashi ve ark. 2004).

Küçük bakır-phenantrolin moleküllerinin DNA ve RNA'yı tanıma özellikleri ile metallerin neden olduğu oksitadif kesme sayesinde nükleik asit dizilerini parçalama yetenekleri vardır (Pitie ve Pratviel 2010). Kimyasal nükleaz olan  $[Cu(1,10\text{-phen})_2]^{2+}$  moleküler oksijen varlığında (veya hidrojenperoksit)  $Cu^+$  'ya indirgeyerek nükleik asitleri tesadüfi kesen iyi çalışılmış ajanlardır (Sigman, ve ark. 1979, Marshall ve ark. 1981). Bu ajan çift zincirli DNA'yı spesifikklik göstermeden oksitlemektedir, özellikle minör oyuktaki C1', C4', ve C5' pozisyonundaki C-H bağları ana hedeflerdir. DNA'yı hedefleyen ajanlara, proteinlere, tek-zincirli nükleik asit vektörlerine 1,10-phen'in tutturulması veya bağlanması indirgeyici kimyasal bir çevrede  $Cu^{+2}$  iyonları ile inkübasyondan sonra dizi-spesifik kesim başarıyla gerçekleşmektedir (Pitie ve Meunier 1998, Pitie ve ark. 2000). Ayrıca bu kompleksin peptid bağlarını oksidatif olarak degrede eden bir kimyasal proteaz olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Lembach ve ark. 1989, Kito ve ark. 1995). Hücre içi metal-şelat ligandı, 1,10-phen'in tek başına veya bir metal kompleksinin parçası olarak in vitro antifungal (Blank 1951), antibakteriyel (Macleod 1952) ve antikanser aktiviteleri (McCann ve ark. 2012) göstermektedir.

$Cu^{+2}$  1,10-phenanthrolin içeren komplekslerin tedavi edici potansiyeli sürekli geliştirilmektedir ve inner-sphere, oksijen-donor ligantlarının eklenmesi ile anlamlı biyolojik potansiyeli olan bir seri kompleks üretilmiştir (Tardito ve Marchio 2009, ) Ruiz-Azuara ve Bravo-Gomez 2010). Örneğin Casiopeina serisinden  $[Cu(\text{glycinate})(4,7\text{-dimethyl-1,10-phenanthroline})(H_2O)](NO_3)$  (Cas II-gly) kompleksinin glioma C6 implant edilmiş farede önemli bir sitotoksisite gösterdiği bulunmuştur. Mekanizmanın hem kaspaz bağlı hem de kaspaz bağımsız apoptozisin uyarılması ile gerçekleştiği düşünülmüştür. CasII-gly aynı zamanda hücre içi ROS miktarını arttırarak nükleer fregmentasyonu tetiklemektedir. Casiopeina serisinin başka bir türünün  $[Cu(\text{acetylacetonato})(4,4'\text{-dimethyl-2,2'-bipyridine})(NO_3)$  (Cas III-ia) C6 glioma üzerinde antineoplastik etkisi olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada yazarlar, mitojenler tarafından aktive edilen proteinkinazların, JNK, Cas III-ia tarafından ROS'un sürekli arttırılması ile otofajik ve apoptotik yolları harekete geçirdiğini göstermişlerdir.  $Cu^{+2}$ 'nin N,N'-O,O' şelat komplekslerine yine bu çalışma grubu tarafından sentezlenmiş olan  $[Cu(o\text{-phthalate})(1,10\text{-phen})] \cdot 2(H_2O)$  (Kellettve ark. 2012), ve  $[Cu(3\text{-methoxysalicylate})(1,10\text{-phen})]$  (O'Connor ve ark. 2012) kompleksleri



örnek olarak verilebilir. o-phthalate kompleksinin yüksek seviyede hücre içi ROS ürettiği, çift zincirli DNA'ya bağlandığı, ovaryum kanseri hücrelerinde (SK-OV-3) DNA'da çift zincir kırıklarına neden olduğu  $\gamma$ -H2AX immünofloresan testi ile tespit edilmiştir. Buna ek olarak methoxysalicylate kompleksinin süperoksit dismutazı taklit edebildiği (SODm) fakat katalaz veya COX-1/COX-2'yi taklit etmediği gösterilmiştir. Buradaki etkinin kompleksin hücre içinde oluşturduğu hidrojenperoksitçe ( $H_2O_2$ ) zengin mikroçevre olduğu ileri sürülmüştür. ROS'un aracılık ettiği apoptosiz epitel kanseri için umut verici bir potansiyel göstermektedir.

### **2.3.2.6. Bakır Komplekslerinin Biyolojik Hedefleri ve Etki Mekanizmaları**

Bakır türleri geniş bir etki alanı göstermektedirler ve platin ilaçlarına kıyasla toksisiteleri daha düşüktür ve cisplatin rezistansının üstesinde gelebildikleri düşünülmektedir. Bu özellikler bakır komplekslerinin DNA'ya kovalent bağlanan platin ilaçlarından farklı bir etki mekanizmalarının olduğu hipotezi ile uyumludur. Fakat bakır komplekslerinin etki şeklinin moleküler temelleri hakkında çok az bilgi vardır.

#### **2.3.2.6.1. DNA'yı Hedefleyen İlaçlar Olarak Bakır Kompleksleri**

1969'dan beri bakırın DNA'ya bağlanma affinitesi gösterdiği bulunmuştur (Eichhorn ve Shin 1968). Bu bağlanma bakır kompleksinin büyüklüğüne, elektron affinitesine ve oluşan adduktun geometrisine bağlıdır, DNA'nın konformasyonel yapısında irreversible bir modifikasyona neden olmaktadır.

Bu gözlemlere ek olarak çok sayıda bakır kompleksi DNA'yı hedefleyen metallo ilaçlar olarak test edilmektedir. Bakır türevlerinin bazı sınıfları için DNA'ya bağlanma affiniteleri belirlenmiştir. Bakır türevlerinin DNA ile kovalent adduktlar oluşturmak yerine DNA çift sarmalı ile non-kovalent etkileşime girme kapasitesi olduğu gösterilmiştir. Bakır komplekslerinin DNA'nın minör ve majör oyuklarına interkalasyon yapması, oyuklara bağlanması DNA'nın kompleksler ile non-kovalent etkileşimidir.

Birçok durumda metaller biyolojik aktif molekülün organik omurgasının inorganik modifiye edicisi olarak etki gösterir. Bu çerçevede DNA'ya interkalasyon

yeteneklerinin yüksek oluşu ve in vitro anti-tümör etkilerinden dolayı N-donor ligandları içeren bakır(II) kompleksleri büyük ilgi görmüştür. 1,10 phen içeren bakır türevleri ve diimin şelatları potansiyel sitotoksik ajanlar olarak tanımlanmışlardır ve IC<sub>50</sub> değerleri altmikromolar aralıktadır (Santini ve ark. 2014).

Metal kompleksinin koordinasyon kimyası yanısıra düzlemsellik, hidrofobiklik ve diiminin büyüklüğü, koligantın doğası gibi fiziko-kimyasal özellikler hepsi bakır kompleksinin DNA'ya bağlanma/interkalasyon şeklinin belirlenmesinde önemli rol alırlar.

Örneğin Selvakumar ve çalışma arkadaşları (2006) farklı diimin ligandları içeren bazı iminodiasetik bakır(II) türevleri yapı-DNA bağlanma ilişkisi ile ilgili çalışmalar yapmışlardır.

[Cu(imda)(phen)(H<sub>2</sub>O)], 1 (H<sub>2</sub>imda = iminodiaceticacid), [Cu(imda)(5,6-dmp)], 2 (5,6-dmp = 5,6-dimethyl-1,10-phen) ve [Cu(imda)(dpq)] 3. Tüm kompleksler anlamlı DNA bağlanma yeteneği göstermişlerdir. 1 ve 3 türevleri heterosiklik halkanın DNA baz gruplarına kısmi interkalasyonu ile DNA'ya bağlanma yeteneği gösterirler, oysa 2'nin DNA'nın oyuğa bağlanma eğilimi daha fazladır. Metil grubunun phenil halkasına dahil edilmesi phen halkasının kısmi interkalasyonunu engellemek yanında DNA'nın yüzeyi ile Hidrojen yapışma etkileşimine girmesine izin vererek DNA zincirinin bükülmesine neden olmaktadır (Selvakumar ve ark. 2006).

Son zamanlarda heterosiklik diiminler dışında ligandlar içeren kompleksler DNA'ya bağlanma özellikleri için test edilmişlerdir. Bunlar arasında en çok dikkat çekenler salphen (Campbell ve ark. 2012), isoeuxanthone (Wang ev ark. 2009), flavonoidler (Tang ve ark. 2011) ve çeşitli Schiff bazı ligantlarıdır (Roy ve ark. 2009). Tüm bu çalışmalarda ligantın düzlemselliğinin DNA bağlanma affinitesinin uyarılmasında çok önemli rol aldığı gösterilmiştir.

Birçok durumda DNA interkalasyonu DNA yapısının deformasyonuna neden olmuştur ve bu durum DNA parçalanma sürecini desteklemiştir. Aslında bu yeni antineoplastik

bakır metal ilaçları çeşitli yollar aracılığı ile “kimyasal nükleaz” gibi davranırlar örneğin nükleobaz oksidasyonu, fosfat ester hidrolizi ve deoksiriboz şeker oksidasyonu. Redoks özellikleri dolayısıyla Cu(II) kompleksleri çoğunlukla DNA'nın oksidatif parçalanması için ajanların geliştirilmesinde kullanılmaktadırlar. 1989'da Zue ve arkadaşları bakır komplekslerinin DNA'ya yüksek affinite ile bağlanabildiğini ve redox katalizör olarak fonksiyonu olduğunu göstermişlerdir (Wang ve Lippard, 2005). Daha sonra çok sayıda çalışma bakır komplekslerinin fizyolojik koşullarda oksidatif yollar aracılığı ile plazmid DNA'sını parçaladığını göstermişlerdir (Buchtik ve ark. 2011, Bhat ve ark. 2011). DNA'nın bakır kompleksleri tarafından degradasyonunun Fenton tipi reaksiyonlar ile gerçekleştiğine inanılmaktadır. Bu reaksiyon hidroksil radikalleri (Koppenol 2001) veya çeşitli metal içerikli ara moleküller gibi ROS kaynağıdır (Kremer 1999) ve sırasıyla doğrudan oksidasyona ve DNA polinükleotid zincirinin kırılmasına neden olmaktadır.

Genelde Cu(II) türlerinin ilgili Cu(I) türleri ile dengede olduğu düşünülmektedir. Sonraki DNA baz çiftlerine interkalasyon, ligantın düzlemselliğinden kaynaklanmaktadır. Bakır(I) ve fosfat diester omurgası arasındaki elektrostatik etkileşimler daha sonra DNA'ya güçlü şekilde bağlanmayı garantilemektedir. Bakır-oxo türleri genellikle deoksiriboz kalıntısının C1'-H bölgesine atak yapmaktadır ve DNA'da zincir kırılması ile sonuçlanmaktadır (Buchtik ve ark. 2012).

Diğer taraftan Cu(II) kompleksinin DNA'yı hidrolitik mekanizmalar ile parçaladığına dair çok sayıda örnek vardır. Burstyn ve çalışma arkadaşları ilk örneği 1996'da rapor etmişlerdir. Cu(II)- TACN kompleksi (TACN= 1,4,7-triazacyclononane) süpercoil DNA'yı aerobik ve anaerobik koşullarda hidrolitik mekanizmalar ile kesmiştir (Hegg ve Burstyn 1998). Bu çerçevede DNA'yı oksidatif olarak parçalayan ajanların ürettiği fragmentlerin doğal hidrolazların ürettiği fragmentlerden farklı olduğunun altının çizilmesi gerekmektedir. Bu nedenle gelecekte kemoterapi ilacı olarak geliştirilecek metallonükleazlarda oksidatif-parçalayıcı ajanlar yerine DNA'yı hidrolitik olarak kesecek ajanlar tercih edilmelidir.

“Moleküler makas” (klasik kimyasal nükleazlar) olarak adlandırılan diğer bakır kompleksleri DNA’yı tek-veya çift zincir kırıkları ile parçalar. DNA hasarını (kırıklar) takiben oluşan hücresel cevap çeşitli tamir mekanizmalarını aktivasyonunu kapsar ve eğer tamir başarısız olursa hücre ölüme gider. İkili sarmaldaki çift zincir kırıkları tek zincir kırıklarına kıyasla hücre ölümünün en önemli kaynağıdır. Bunun nedeni çift zincir kırıklarının tamirinin daha zor oluşudur (Povrik ve Austin 1991).

Bakır kompleksleri tarafından DNA’da oluşturulan hasarın tipine göre hücresel süreç apoptoz sinyalleri yolağını aktive edebilir. Bir bakır kompleksinin DNA hasarı neticesinde apoptozu tetiklediğinin bulunmasına rağmen çok az sayıda makalede bakır kompleksleri ile muamele edilen hücrelerde sinyal transdüksiyonunu aktive eden moleküler belirleyiciler hakkında sınırlı açıklama yapılmıştır. Bazı durumlarda bakır komplekslerinin pro-apoptotik proteinleri fazla ifade ettiği veya anti-apoptotik proteinleri az ifade ettiği tespit edilmiştir. Örneğin García -Gimeñez ve ark. (2009) ın çalışmasında  $[Cu(N9-ABS)(phen)_2]$  (H<sub>2</sub>N<sub>9</sub>-ABS = N-(9H-purin-6-yl)benzenesulfonamide) kompleksinin CaCo-2 hücrelerinde apoptozu indüklemesinin, p53 proteini seviyesini arttırması ve Bcl-2 ekspresyon seviyesini azaltması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Garcia-Gimenez ve ark. 2009).

Aynı zamanda bakır kompleksi ile muamele edilmiş hücrelerde hücre ölümünde kaspaz aktivasyonu henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Çok az sayıda bakır türevinin kanser hücrelerinde kaspaz-3 (Tan ve ark. 2009, Chakraborty ve ark. 2010) ve/veya kaspaz-9 (Qiao ve ark. 2011) katılımı ile apoptozu indüklediği rapor edilmiştir.

### **2.3.2.6.2. Topoizomeraz I,II İnhibitörü Olarak Bakır Kompleksleri**

Bakır komplekslerinin topoizomerazları (Topo’lar) inhibe etme yetenekleri üzerine yapılan son çalışmalar bu sınıftaki metallerin sadece kanser araştırmalarındaki anlamlı potansiyelini güçlendirmemiş aynı zamanda bu moleküllerin olası biyokimyasal hedeflerini de genişletmişlerdir. Topoizomerazlar esansiyel nükleer enzimlerdir ve DNA’nın sarmal dönüşünü veya açılışını (overwinding or underwinding of DNA) düzenlemektedirler. Topoizomerazlar çift zincirli DNA polimerinde geçici çentikler

(Topo I) veya kırıklar (Topo II) oluşturarak DNA'nın topolojik izomerleri arasında dönüşümüne izin vermektedirler (Qin ve ark. 2007). Nükleer Topo I ve Topo II kanser kemoterapisi için önemli klinik hedefler olarak tanımlanmışlardır ve bunların inhibitörleri birçok tedavi edici dozaj için merkezi bileşiklerdir. Bu topoizomerazları hedefleyen ajanlar genel olarak iki grupta sınıflandırılmaktadırlar; Topoizomeraz zehirleri ve katalitik inhibitörler. Topoizomeraz zehirleri geri dönüşümlü kovalent topo-DNA kompleksini stabilize ederek parçalama kompleksini oluşturur. Çoğu Topo II'yi hedefleyen katalitik inhibitörler ise kovalent komplekse etki etmeden katalitik sirkülasyondaki diğer basamaklara etki etmektedir.

Son zamanlarda insan topoizomerazları üzerine etki eden yeni nesil ilaçların geliştirilmesine odaklanılmıştır ve Topo I,II inhibitörleri olan metal komplekslerinin geliştirilmesi bu durum içinde uygundur. Fakat DNA'dan farklı olarak bakır komplekslerinin topoizomerazlar ile etkileşimi araştırmalarda oldukça yeni bir alandır. İlk gözlemlere göre öksim (oxime) bakır kompleksi Topo II zehiri olarak kabul edilmiştir (Hall ev ark. 1997). Özellikle 2-furaldehyde öksim'in bakır komplekslerinin kemoterapi ilacı olan etoposid ile benzer şekilde Topo II aktivitesi üzerinde zehir etkisi yaptığı bulunmuştur ve bu ilaca kıyasla Topo II'nin fosforilasyon aktivitesini bloke ederken bu ilaçtan daha iyi aktivite göstermiştir. Son zamanlarda L1210 lösemi hücre poliferasyonunu etkili şekilde inhibe eden bir bakır salisilaldoxime Topo II'yi bloke etmiş, Topo II dimer oluşumunu bozmuş ve neticesinde DNA'da enzime bağımlı tek zincir kırıklarını oluşturmuştur (Jayaraju ve ark. 2001).

Az sayıda yayın  $\alpha$ -heterosiklik TSC'ler ve bunların Cu(II) kompleksleri vivo ve vitro IC<sub>50</sub> dozunda Topo II inhibe etme yeteneğindedir (Marzano ve ark. 1997, Chen ve ark. 2004). Umut verici sonuçlara rağmen TSC'nin Topo II inhibe etme yeteneğinde metalasyonun önemli olduğuna dair az sayıda yayın vardır. Son zamanlarda  $\alpha$ -heterosiklik-N-4 TSC'leri ve Cu(II) komplekslerini temsil etmektedir ve Topo II inhibe etme yetenekleri olduğu ve farklı seviyelerde Topo II eksprese eden meme kanseri hücrelerinde antipoliferatif etkisi olduğu gösterilmiştir. Sonuçlar tek başına TSC ligantlarına kıyasla [Cu(TSC)Cl] sınıfı komplekslerin Topo II inhibitörü olma potansiyelinin daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Bakır komplekslerinin Topo I inhibe etme yetenekleri de çalışılmıştır. Bakır (II) kloridin karidesten ekstre edilen Topo I'i mikromolar konsantrasyonda inhibe ettiği bulunmuştur (Seng ve ark. 2012). Metal (II) pirofosfat-köprüsü kompleksleri arasında,  $\{[M-(phen)_x]_2(\mu-P_2O_7)\}$  ( $x = 1$  veya  $2$ ) kompleksinin mikromolar konsantrasyonda Topo I'i inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu mekanizma DNA etkileşimi ve oksidatif stres ile ilişkilendirilmiş ve  $\{[Cu(phen)(H_2O)]_2(\mu-P_2O_7)\} \cdot 8H_2O$  kompleksinin adriamycin rezistansı olan kanser hücrelerindeki sitotoksitesi için önemli olduğu düşünülmüştür,  $IC_{50}$  değeri nanomolar aralıktadır. Pharmacophoric düzlemsel heterosiklik phen içeren bakır kompleksleri arasında glisin ve metillenmiş glisin içeren karışık bakır(II)-phen kompleksleri geliştirilmiştir. Böylece yardımcı liganddaki metil ilavesinin sayısının ve konumunun biyolojik aktivite ve Topo I inhibisyonuna etkisi gösterilmek istenmiştir. Metal koordinasyonunda glisin ve metillenmiş glisinin yer değiştirmesi ternary (3'lü) kompleksin DNA bağlanma özelliğini etkilediği fakat HK1 kanser hücreleri üzerine antiproliferatif etkisinde ve Topo I inhibisyonunda anlamlı bir farklılık olmadığı gösterilmiştir (Ikotun ve ark. 2009).

Dinukleer bakır(II) dipeptid ppz-köprüsü kompleksin DNA'da minör oyukta spesifik bir diziyi tanıma yeteneğindedir ve böylece Topo I ekspresyonunu inhibe ederek kanser hücrelerinin replikasyonunu kontrol etmek için dizayn edilmiştir (Tabassum ve ark. 2012). Bu kompleks DNA'yı oksidatif olarak parçalama yeteneğindedir ve DNA'nin minör oyuğuna bağlanabilir ve çok düşük konsantrasyonlarda Topo I aktivitesini inhibe edebilmektedir ( $IC_{50} = 12,5\mu M$ ) ve SOD taklidi yapabilmektedir ( $IC_{50} = 0,086\mu M$ ). Moleküler kenetlenme çalışmaları bu kompleksin enzimle hidrojen bağları kurmadan minör oyuktaki baz çiftleri arasında interkalasyon yaptığını ortaya koymuştur. Bakır kompleksleri Topo I bağlanma bölgesini işgal ederek enzimin DNA ile olan ilişkisini baskılamaktadır. Bu durumda bakır kompleksinin kanser hücrelerine karşı (A498, A549 ve Mia PaCa-2) seçicilik şeklinde büyümelerini inhibe etmesi Topo I inhibisyonu ile ilişkilidir (Tabassum ve ark. 2012).

### 2.3.2.6.3. Proteasom İnhibitörleri Olarak Bakır Kompleksleri

Proteasom hem nükleusda hem de sitoplazmada lokalize olmuş multiprotein kompleksidir hücre içi proteinleri seçici olarak tamir etmekte ve parçalamaktadır. Ökaryotik 26S proteasom 20S ana parça ve iki tane 19S düzenleyici parça (caps) içermektedir. Ana parçanın içi boştur ve parçalanacak proteinin içinde kapalı bir oyuk oluşturur. Ana parçanın her iki ucu da 19S düzenleyici alt ünite ile ilişkilidir ve bu bölgeler çoklu ATPaz aktif bölge ve ubiquitin bağlanma bölgesi içermektedirler. Bir substrat proteinin proteasom tarafından tanınması ve işlenmesi için ubiquitine bağlanması gerekmektedir (Peters ve ark. 1994). Poliubiquitinasyondan sonra proteinler tanınmakta ve 20S ana parçanın içine transfer edilmektedirler. Bu bölge kemotripsin benzeri ( hidrofobik kalıntılardan sonra keser, CT-L), tripsin benzeri (bazik kalıntılardan sonra keser, T-L) ve kaspaz benzeri ( asidik kalıntılardan sonra keser, C-L) gibi çoklu peptidaz aktivitesi içermektedir (Goldberg 1995). Proteasomlar hücrenin özel proteinlerin ( örneğin siklinler, bcl-2 ailesi ve p53) konsantrasyonunu ve stabilitesini düzenledikleri büyük bir mekanizmanın parçasıdır. Ubiquitin proteasom-bağımlı parçalama sistemi birçok hücrel fonksiyon için esansiyeldir, örneğin poliferasyon, apoptozis, angiogenez ve metastaz gibi kanser oluşumu için önemli olan süreçler (Dou ve ark. 2003).

Kanser hücrelerinin proteasom inhibisyonuna normal hücrelerden daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. Ubiquitin proteasom yolağı önemli bir antikanser stratejisi olarak ortaya çıkmıştır ve son zamanlarda yeni antikanser ajanı olarak proteasom inhibitörlerinin geliştirilmesi alanında yoğun çalışılmaktadır (Drexler 1997).

Bakır kompleksinin proteasom fonksiyonunu inhibe ettiği ilk defa Dou ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (Dou ve Goldfarb 2002). 2004'de bazı karışık bakır kompleksleri tanımlamışlardır, bunlar bakır (II) ( $\text{CuCl}_2$  veya  $\text{CuBr}_2$ ) ve ikili ligandlarının (8-OHQ ailesi including CQ, phen, and DTC ailesi) karışımından oluşmaktadır ve CT-L proteozom aktivitesinin potansiyel inhibitörleri olarak tanımlanmışlardır (Daniel ve ark. 2004). Proteosom inhibitör aktivitesinden dolayı bu

bakır karışımları seçici şekilde transforme olmamış hücrelerde etki göstermezken kanser hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü indüklemektedirler (Chen ve ark. 2007).

Bakırın aracılık ettiği proteazom –inhibitör aktivitesi uygun bidentate ligandların seçimi ile arttırılabilmektedir fakat EDTA gibi daha güçlü bakır çoklu şelatörler tarafından bloke edilmektedir (Tisato ve ark. 2010). Xiao ve çalışma arkadaşları (2010) bakırın oksidasyon seviyesinin Cu(I) ve Cu(II) proteosom aktivitesinin inhibisyonundaki etkisini araştırmışlardır (Xiao ve ark. 2010). Bakırı bağlayan bir molekül olan Neocuproine'nin (NC) Cu(I) veya Cu(II) oluşturduğu her iki kompleks de proteasom CT-L aktivitesini inhibe edebilmektedir ve tümör hücrelerinde apoptozisi indükleyebilmektedir ve Cu(I) daha güçlüdür. Aslında saflaştırılmış 20S proteasom proteini Cu(II)'yi Cu(I)'e doğrudan indirgeyebilmektedir, bu durum bakırın Cu(I) oksidasyon seviyesinde doğrudan proteasom ile reaksiyona girebilmektedir. Fakat bu bakır türevlerinin 26S proteasomun katalitik altbirimi ile etkileşim/inhibisyon şekli ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır.

Son zamanlarda Dou ve ark. (2003) farklı bakır komplekslerinin etkilerini araştırmışlardır ki bunlar  $[Cu(PyDTC)_2]$  ve  $[Cu(EtDTC)_2]$ , (PyDTC = pyrrolidinedithiocarbamate, EtDTC = diethyldithiocarbamate) lardır. İnsan kanser hücrelerinde gerçekleştirilen biyolojik çalışmalar farklı komplekslerin proteasom inhibisyonu aktivitesini kabul ederken proteasome inhibisyon mekanizmasını anlamaya çalışmaktadırlar (Frezza ve ark. 2010).

Farklı kimyasal orantıları, protonasyon seviyeleri ve metilpyridin-amino-methylphenol omurgası ligantları farklı olan bir seri bakır(II) kompleksi proteasome inhibisyonu metal kompleksinin 20S ana parçasınının beta bölgesinde bulunan N-terminal threoninine bakır kompleksinin bağlandığı düşünülerek dizayn edilmiştir (Hindo ve ark. 2009). Bu kompleksler C4-2B ve PC3 prostat kanser hücrelerinde test edildiklerinde önemli bir proteasom inhibisyonu bununla ilişkili yüksek seviyede ubiquitinize olmuş protein ve yüksek seviyede apoptosis gözlenmiştir. Bu bakır komplekslerinin metal iyonlarını hücre membranından geçirmek için bir yol oluşturduğu ve spesifik olmayan hücre içi etkileşimleri önlediği ileri sürülmüştür.



Proteazomlar hidrofilik fosfin ligantı içeren bakır(I) komplekslerinin ana hedefi olarak tanımlanmışlardır (Santini ve ark. 2011). Monokasyonik bakır(I) kompleksi  $[Cu(thp)_4]-[PF_6]$ , (thp = trishydroxymethylphosphine) yüksek çözünürlüktedir ve su solüsyonu içerisinde kararlıdır, insan kanser hücrelerinde doğrudan seçici antiproliferatif etkisi nedeniyle özel ilgi görmektedir. Tris(hydroxymethyl)-phosphine içeren bu kompleksin vitro ve vivo insan kolon kanseri hücrelerinde CT-L, T-L ve C-L 26S proteazomun katalitik aktivitesini inhibe ettiği bulunmuştur. Böylece poliubiquitinize olmuş proteinlerin hücre içinde birikmesine ve ubiquitin-proteazom yolağının fonksiyonel baskılanmasına ve dolayısıyla endoplazmik retikulum (ER) stresinin artmasına neden olmaktadır. Geri dönüşümü olmayan ER stresine yüksek seviyede sitoplazmik vakuolizasyon ve paraptosis (PCD) olarak adlandırılan programlı hücre ölümü eşlik etmektedir. Paraptosis morfolojik ve biyokimyasal olarak apoptosisten farklıdır ve farklı bir grup bakır kompleksi ile muamele edilen kanser hücrelerinde gözlenmiştir (Marzano ve ark. 2008).

Cu(II)'nin iki molekül indol 3-asetikasit veya 3-propionik asit ile koordinasyon kurduğu ve üçüncü ligant olarak phen'in bulunduğu dinuklear bakır(II) komplekslerinin son zamanlarda proteazom inhibitörü olduğu ve insan kanser hücrelerinde apoptosisi indüklediği bulunmuştur. Phen'in bakırı kanser hücresine taşımada anahtar rol oynadığı ve doğrudan proteazom etkileşimi/inhibisyonuna ve/veya proteazomun bakır tarafından oksidasyonuna neden olmaktadır ve multiprotein kompleksinin deaktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (Zhang ve ark. 2012).

## **2.4. Anti-kanser Kimyasal Araştırmalarında Kullanılan Sitotoksisite, Genotoksisite, Oksidatif Hasar ve Apoptoz Belirleme Yöntemleri**

### **2.4.1. Canlılık Testleri**

Tetrazolium tuzları sitotoksisite, hücre poliferasyonu ve canlılık ölçümü için yaygın şekilde kullanılmaktadır. İlk test Mosmann tarafından 1983'de tanımlanmıştır (Mosmann 1983). Bu çalışmada deney için 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-diphenil-2H-tetrazolium bromid (MTT) kullanılmıştır. MTT suda çözünebilir sarı bir boyadır ve

tetrazolium halkasının indirgenerek kırılması ile suda çözünmeyen koyu mavi formazan boyası oluşmaktadır. Besi yerinin uzaklaştırılması ve formazonun kullanılmadan önce çözülmesi basamakları hatalara neden olabilmektedir (Marshall ve ark. 1995).

Bu nedenle zaman kaybını engellemek ve olası hataları engellemek için diğer tetrazolium tuzları tanımlanmıştır. Bunlar; 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-5-(3-karboksimesitoksiphenil)-2-(4-sulfophenil)-2H-tetrazolium (MTS), sodyum 4-(3-(4-iodophenil)-2-(4-nitrophenil)-2H-5-tetrazolium)-1,3-benzen disulfonat (WST-1), ve sodyum 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sulfophenil)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT) (Goodwin ve ark. 1995, Hamasaki ve ark. 1996). Bu ajanlar formazan oluşturmak için bir elektron eşleşmesine ihtiyaç duyarlar (Roehm ve ark. 1991). Bunun için genellikle fenazin metosulfate (PMS) kullanılmaktadır. Slater ve ark. mitokondrial süksinat dehidrogenazın tetrazolium tuzunun hücresel olarak indirgenmesinde görev almaktadır (Slater ve ark. 1963).

#### **2.4.2. Vitro Comet Testi:**

1984 yılında İsveçli bilim adamları Ostling ve Johanson biyolojik araştırmalarda DNA hasarını analiz etmek için yeni bir metot geliştirdiler, bu yöntem komet olarak adlandırıldı. Komet testinde DNA'nın lizisi ve nötral koşullarda elektroforezi gerçekleştirilir ve etidyum bromür ile boyanır. Teknik sonunda elde edilen görüntü kuyruklu yıldız benzer, hasar görmemiş bir kafa ve hasarlı kırık DNA parçalarından oluşur. Elektroforez esnasında kafadan ayrılan DNA'nın miktarı değerlendirilen mutajenin etki seviyesine bağlıdır.

Tek hücre jel elektroforezi testi (SCG veya SCGE) olarak da adlandırılan Komet testi ökaryotik hücrelerdeki DNA hasarını ölçen hızlı, nicel bir tekniktir. Elektroforez sırasında denatüre olmuş DNA fragmentlerinin hücre nükleusu dışına göçünün nicel değerlendirmesine dayanan bir testtir.

Komet testi diğer genotoksisite testlerine kıyasla çok sayıda avantajı vardır, tek bir hücre seviyesinde DNA hasarını tespit edebilir, düşük seviyede DNA hasarını tespit

edebilir, her bir örnek için az miktarda hücreye ihtiyaç duyulur, çeşitli tiplerdeki DNA hasarı değerlendirilebilir.

Ostling ve Johanson tarafından geliştirilen komet testi ilk versiyonu ve çift zincir kırıkları (DSB) değerlendirilebiliyordu. Daha sonra Singh ve ark. DNA'yı alkali koşullarda unwinding yaparak Protokolü modifiye ettiler (pH>13). Bu pH'da artan DNA göçü artan tek zincir kırıkları (SSB), yetersiz kesip çıkarma onarımı ile ilişkili tek zincir kırıkları ve alkilenebilir bölgeler ile ilişkilidir (ALS) (Singh ve ark. 1988). Çoğu genotoksik ajan DSB'den daha fazla miktarda SSB ve/veya ALS oluşturduğu için komet testinin bu versiyonu genotoksik ajanların tanımlanmasında daha hassastır. Bu metot genotoksik ajanların tanımlanması için Uluslararası Genotoksisite Test Prosedürleri Çalıştayında (IWGTP) komet testinin en uygun versiyonu olarak kabul edilmiştir (Tice ve ark. 2000).

Gandin ve ark. (2013) [CuCl(dipyrido-[3,2-d:2', 3'-f]-quinoxaline(tris-(2-cyanoethyl)phosphine))] kompleksinin 2008 hücre hattında 6 ve 12 saat IC<sub>50</sub> dozu ile muamele edildikten sonra alkali komet testi gerçekleştirilmişlerdir. Bakır kompleksi muamele süresine bağlı olarak komet kuyruk uzunluğunda belirgin şekilde artışa neden olmuştur.

Ramakrishnan ve çalışma arkadaşları [Cu(L-tyr)(diimine)](ClO<sub>4</sub>), 5,6-dimethyl-1,10-phenanthroline (5,6-dmp) (1), dipyrido[3,2-d:2',3'-f]quinoxaline (dpq) (2) komplekslerinin H-460 hücre hatlarında (küçük olmayan akciğer kanseri hücre hattı) neden olduğu DNA hasarını komet testi ile araştırmışlardır. Hücreler 12 ve 24 saat IC<sub>50</sub> konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Kompleksler komet kuyruk uzunluğunu anlamlı şekilde arttırmıştır ve kompleks 1'in neden olduğu artış kompleks 2'ye kıyasla daha fazladır (Ramakrishnan ve ark. 2009).

Montagner ve arkadaşlarının bir çalışmasında (2015) [Cu<sub>2</sub>{bcmp(-H)}(μ-OH)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O (1, bcmp=2,6-bis(1,4,7-triazacyclonon-1-ylmethyl)-4-methylphenol) kompleksinin artan konsantrasyonları (12,5μM, 25μM ve 50μM) ile panreas kanser hücrelerine (Capan-1 hücre hattı) 6 ve 12 saat muamele edilmesi sonucunda zamana ve

doza bağı olarak komet kuyruk uzunluğunun anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir (Montagner ve ark. 2015).

Bir diğerk çalışmada MCF-7 (meme kanseri hücre hattı) hücrelerine [Cu(phen)(L-tyr)BPEI]ClO<sub>4</sub> (phen = 1,10-phenanthroline, L-tyr = L-tyrosine and BPEI = dallanmış polyethyleneimine) kompleksinin 20,4 and 14,3 lg ml/1konsantrasyonları ile 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Komet sonuçları kuyruktaki DNA miktarına göre 5 gruba ayrılarak değerlendirilmiştir; 0–20% hasarsız, 20–40% az hasarlı, 40–60% hasarlı, 60–80% çok hasarlı ve >80% ölü. Sonuçlar kompleksin MCF-7 hücrelerinde DNA hasarına neden olduğunu ve hasarın 48 saat muamele edilen grupta 24 saat muamele edilen gruba kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Lakshmi praba ve ark. 2015).

### **2.4.3. Vitro Mikro Nükleus Testi**

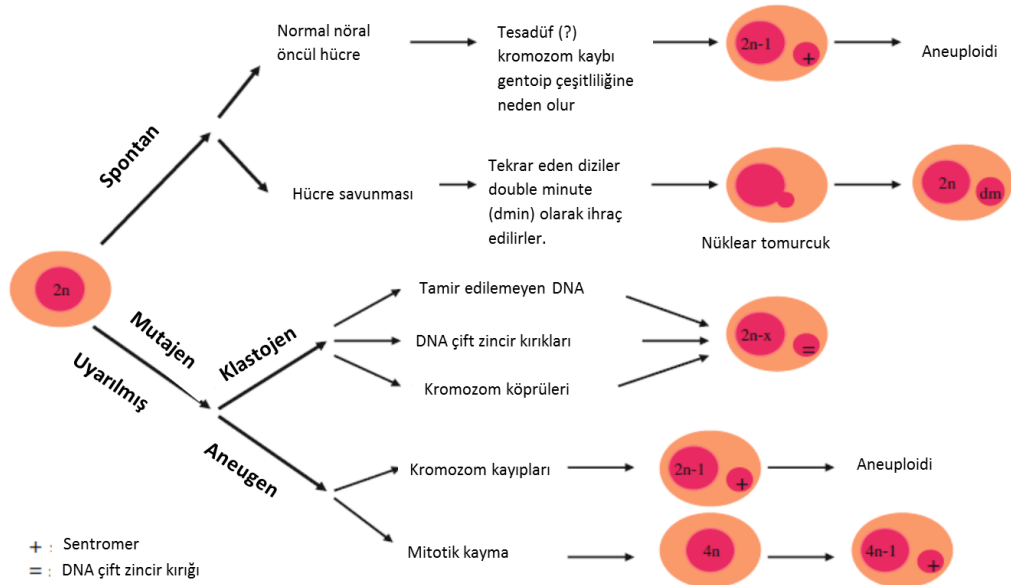
Son yıllarda vitro mikronükleus testi hem klastojenik hemde anöjenik olayları ölçme kapasitesi, değerlendirmenin kolay olması, doğruluk, farklı hücre tiplerinde uygulanabilmesi nedeni ile genotoksisite testleri için alternatif bir test olmuştur. Mikronükleus oluşumunda kromozomlarda kırılma ve kromozom ayrılmasındaki düzensizlikler temel mekanizmalar olduğu için mikronükleus oluşumunda mayotik veya mitotik bölünmeye ihtiyaç duyulur. Sitokinez blok metodu sitokinezin inhibisyonuna dayanır. Fenech ve Morley (1985) bölünmeyen ( tek nükleuslu) ve vitro kültür boyunca nükleus bölünmesini tamamlayan (iki nükleuslu) hücreleri ayırt etmek için etkili bir yaklaşım önermişlerdir. Mikronükleus (MN) bölünen hücrelerde, asentrik fragmentlere neden olan kromozom kırılması ve/veya hücre bölünmesi esnasında kutuplara ulaşamayan tam kromozomlardan oluşan nükleus dışındaki küçük cisimlerdir. Telofazda iki kardeş hücre etrafında çekirdek zarı tekrar oluşturulurken bu geride kalan kromozomlar veya fragmentler ana nükleusa dahil olamazlar fakat ayrı küçük bir nükleus oluştururlar (Kirsch-Volders ve ark. 2002, 2011; Mateuca ve ark. 2006; Fenech ve ark. 2011). MN oluşumuna neden olan farklı yollar şekil 2.4’de gösterilmiştir.

MN oluşumu spontan veya mutajenler tarafından indüklenebilir. Spontan olarak indüklenen MN oluşumu kromozom dışı double minute’leri (dmin) hücreden

uzaklaştırmak için hücrenin savunma mekanizması olarak ortaya çıkar. Bu MN gen amplifikasyonundan kırılma-füzyon-köprüsü (BFB) döngüsü aracılığı ile oluşur. Amplifiye olan DNA nükleusun periferinde spesifik bir bölgede lokalize olur ve hücre döngüsünün S-fazında nüklear tomurcuklanma (NBUD) ile uzaklaştırılır (Mateuca ve ark. 2006; Fenech ve ark.2011). MN oluşumuna neden olan nüklear tomurcuklanma ile uzaklaştırılan Double minute özel genetik bir sürecin sonucudur. Dmin genellikle kanser hücrelerinde oluşur ve büyüme avantajı sağlayan veya ilaç rezistansına neden olan yüksek oranda amplifiye olmuş gen içerir (Shimizu ve ark. 2000, 2007; Utani ve ark. 2007).

Tam kromozom/kromatid içeren mikronükleus mitotik iğ ipliği hatasından, mikrotübüllerin kinetokora yanlış tutunmasından sonra oluşabilir. Aynı zamanda sentromer DNA'sında veya diğer kromozom alt-birimlerindeki hasarlar kinetokorlara hasar verir ve kromozom kaybına ve neticede aneuploidiye neden olur (Cimini ve Degrassi 2005; Mateuca ve ark. 2006). Bütün kromozom içeren mikronükleus oluşumuna neden olan başka bir olay ise hücre döngüsünü kontrol eden genlerde ve özellikle iğ ipliğini kontrol eden genlerdeki eksiklikler (King 2008), geç replikasyon, nükleusdaki periferik lokalizasyon ve sentromer DNA'sının hipometilasyonudur (Fenech ve ark. 2005). Tam kromozom/kromatid içeren mikronükleus oluşumu genelde anöjen'ler tarafından indüklenir. Buna ek olarak bu bileşikler mitotik gecikme nedeni ile tam kromozom içeren mikronükleusu olan poliploid hücreler oluşmasına neden olur (Decordier ve ark. 2008).

Kromozom fragmentleri içeren mikronükleuslar doğrudan çift-zincir kırıklarından (DSB), hücre replikasyonundan sonra tek-zincir kırıklarının (SSB) DSB'ye dönüşmesinden veya DNA sentezinin inhibisyonundan oluşurlar. Aynı zamanda mikronükleuslar, disentrik kromatidler, halka kromozomlar veya kardeş kromatidlerin birleşmesi gibi kromozom rearanjmanları nedeni ile oluşan anafaz köprülerinin kırılmasıyla meydana gelen fragmentlerden köken alır (Norppa ve Falck 2003).



**Şekil 2.4.** Mikronukleus oluşumu mekanizması (Cimini ve Degrassi 2005).

Singh ve ark. (2011) metal kompleksleri,  $[\text{Cu}(\text{HL}^1)_2](\text{ClO}_4)_2$  (1) ve  $[\text{Cu}(\text{HL}^2)_2](\text{ClO}_4)_2$  (2) N-benzyl-2-(diethylamino)acetamide,  $(\text{HL}^1)$  ve 2-(diethylamino)-N-phenylethylacetamide,  $(\text{HL}^2)$ , tarafından indüklenen sitogenetik hasarın modifikasyonunu göstermek için glioma (U87) ve servik kanseri (HeLa) hücrelerinde metal kompleksleri ile 24 saat muameleden sonra mikronükleus oluşumu gösterilmiştir. HeLa ve U87 hücre hatlarında kompleks 1 ve 2'nin mikronükleus frekasını anlamlı şekilde arttırdığı gözlenmiştir. Mikronükleus frekasını her iki hücre hattında da  $31,25 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunda % 15-30 arasında değişmektedir. Kompleks (2) her iki hücre hattında da mikronükleus frekasını 3-4 kat artışa neden olmuştur (Singh ve ark. 2010).

Gandin ve ark. (2013)  $[\text{CuCl}(\text{dipyrido-[3,2-d:2', 3'-f]-quinoxaline}(\text{tris-(2-cyanoethyl)phosphine})]$  kompleksinin genotoksik etkisini periferal kan lenfositlerinde sitokines blok mikronükleus testini floresan in situ hibridizasyon (FISH) testi ile kombine ederek göstermişlerdir. İnsan lenfositleri  $\text{IC}_{50}$ ,  $\text{IC}_{25}$ ,  $\text{IC}_{10}$  dozlarına 4 saat maruz bırakılmıştır. Kompleksin en yüksek dozunda CBMN frekasını yaklaşık 4 kat

arttırdığı bulunmuştur. MN'ler üzerinde sentromer problemleri kullanılarak yapılan FISH analizleri ile MN'nin aneugenik ve klastojenik kökenli olduğu araştırılmıştır. Çoğunlukla (%85,6) CBMN sinyallerinin negatif olması kompleksin klastojenik etki gösterdiğine işaret etmektedir. Bu gözlem kompleksin insan lenfositlerinde kromozom hasarı oluşturduğunu göstermektedir (Gandin ve ark. 2013).

## 2.5. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS ) mitokondri, peroksisomlar ve inflamatuvar hücre aktivitesi gibi iç kaynaklar (Klauning ve Kamendulis 2004) ve çevresel ajanlar, ilaçlar, endüstriyel kimyasallar gibi dış kaynaklar ROS oluşumuna neden olabilmektedir. Reaktif oksijen türleri hücrenin antioksidan savunma sistemi tarafından dengelenmediği sürece bazı hasarların oluşması olasıdır. Bu oksidatif hasar DNA, protein ve/veya lipid hasarına neden olabilir ve bu durum kromozom kararsızlığı, genetik mutasyonlar ve/veya kanserle sonuçlanabilecek hücre büyümesinin düzenlenmesi ile (modulation) sonuçlanabilir (Klaunig ve ark. 2010).

Mitokondrideki oksijen metabolizması oksijenin suya indirgenmediği oksijen tüketiminin büyük kısmını oluşturur. Fakat %4 ila %5 reaktif oksijen türlerine dönüşür özellikle süperoksit anyonlarına ( $O_2^{\cdot-}$ ) (St-Pierre ve ark. 2002; Klaunig ve Kamendulis 2004). Süperoksit anyonları enzimatik olarak NADPH oksidaz, xantin oksidaz, lipoksigenaz ve cylooxygenaz tarafından üretilebilir (Curtin ve Donovan 2002). Süperoksit anyonları hücre içindeki moleküller ile etkileşime girdiği için birincil ROS olarak adlandırılır ve enzimler aracılığı ile veya metaller tarafından katalizlenen süreçlerde ikincil ROS'u oluşturur (Fridovich 1986; Valko ve ark. 2006).  $O_2^{\cdot-}$ 'nin süperoksit dismutaz tarafından (SOD) dismutate edilmesi  $O_2^{\cdot-}$ 'i hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) indirger (Juarez ve ark. 2008). Bu reaksiyonla oluşan  $H_2O_2$  Fenton reaksiyonları ile serbest hidroksil radikallerine dönüştürülebilir (Winterbourn 1995). Hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonları biyolojik sistemlerdeki diğer moleküller ile reaksiyona girebilir ve diğer serbest radikallerin oluşmasına neden olabilirler (Huie ve Neta 1999).

Oksidatif stres endojen reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşur. Antioksidan savunma sistemi süperoksit radikalleri ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve reaktivitesi yüksek olan hidroksil radikallerininin ( $\cdot OH$ ) öncüsü olan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi reaktivitesi düşük olan ROS'u süpürür. Bu reaktif oksijen türleri inflamasyon reaksiyonları tarafından başlatılabilir, reaktif nitrojen türü (NOS) olan nitrit oksit oluşumunu artırır.

Loganathan ve ark. (2012) tarafından yapılan bir diğer çalışmada  $[Cu(bba)(diimine)](ClO_4)_2$  bba= 5,6-dimethyl-1,10-phenanthroline (5,6-dmp) kompleksinin  $IC_{50}$  konsantrasyonu ile SiHa insan serviks kanser hücrelerine 12 saat muamele edilmiştir ve DCFH-DA floresan probları kullanılarak hücre içi ROS üretimi ölçülmüştür. Kompleksin oksidatif stres oluşturarak etkili bir antikanser ajanı olarak etki ettiği ileri sürülmüştür.

HT-29 hücreleri  $Cu(BrHAP)_2$  Schiff bazı kompleksinin  $6.25 \mu g/mL$  konsantrasyonu ile 24 saat muamele edilmiş ve DHE boyası ile boyanmıştır. Bu boya süperoksit varlığında ethidiuma oksidize olmaktadır. Muameleden sonra hücrede ROS miktarının anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir. Mitokondrideki ROS üretimindeki aşırı artış ve mitokondri membran potansiyelinin çöküşünün kaspaz yolağında ki molekülleri aktive ettiği ve sonuç olarak apoptotik hücre ölümüne neden olduğu ileri sürülmüştür (Hajrezaie ve ark. 2014).

Doğal olarak cisplatin rezistansı olan SK-OV-3 insan ovaryum hücrelerine  $[Cu(ph)(1,10-phen)] \cdot 2H_2O$  (1) (ph=o-phthalate) ve  $[Cu(ph)(2,2'-bipy)] \cdot 2H_2O$  (2) kompleksleri ile  $100-0.78 \mu M$  konsantrasyonları aralığında, 15-240 dakika süresince muamele edilmiştir. Pozitif kontrol olarak ROS ürettiği bilinen  $0,5 \mu M H_2O_2$  kullanılmıştır ve sonuçlar  $H_2O_2$ 'in ROS üretimi ile karşılaştırılmıştır. Kompleks 1'in önemli bir ROS üreticisi olduğu bulunmuştur. Kompleks 1  $12,5 \mu M$  konsantrasyonunda  $0,5 \mu M H_2O_2$  ile eşit seviyede ROS üretmiştir. Aynı şekilde kompleks 2'de 50 ve 25  $\mu M$  doz aralığında  $0,5 \mu M H_2O_2$  ile eşit seviyede ROS üretmiştir (Kellett ve ark. 2012).



Sentetik kimyasal nükleaz  $[\text{Cu}(1,10\text{-phen})_2]^{2+}$  kompleksinin neden olduğu DNA parçalanması, indirgeyicilerin varlığından (indirgeyici örneğin L-ascorbik asit) ve oksidant (örneğin  $\text{O}_2$  veya  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ve redoks reaksiyonlarından kaynaklanmaktadır (1-5), bunlar DNA toksisitesine neden olan hydroxo (4-5) ve metal-oxo (4) radikal türlerini oluşturmaktadır.

- 1)  $[\text{Cu}(1,10\text{-phen})_2]^{2+} + \text{red} \rightarrow [\text{Cu}(1,10\text{-phen})_2]^+ + \text{red}^{\bullet}$
- 2)  $[\text{Cu}(1,10\text{-phen})_2]^+ + \text{O}_2 \rightarrow [\text{Cu}(1,10\text{-phen})_2]^{2+} + \text{O}_2^{\bullet-}$
- 3)  $2\text{O}_2^{\bullet-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
- 4)  $[\text{Cu}(1,10\text{-phen})_2]^+ + \text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow [\text{O-Cu}(1,10\text{-phen})_2]^{2+} + \text{OH}^{\bullet}$
- 5)  $[\text{Cu}(1,10\text{-phen})_2]^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow [\text{O-Cu}(1,10\text{-phen})_2]^{2+} + \text{OH}^{\bullet} + \text{H}^+$

### 2.5.1. 8-oxo-7, 8-dihidroguanin

Nükleik asitlerin oksijen radikallerine maruz kalması ile çeşitli modifiye bazlar oluşur. Oksidatif olarak değişmiş pürin ve pirimidinlerin 20 den fazla değişik tipi vardır (Gajewski ve ark. 1990; Demple ve Harrison 1994). Bunlar arasında 8-oxo-7, 8-dihidroguanin (8-oxoguanin) en yaygın olanlarıdır ve mutagenез ve karsinogenezde önemli rol oynamaktadır (Kasai ve Nishimura 1984; Fraga ve ark. 1990). Timin glikol ve 5', 8-pürin siklodeoksinükleosid gibi (Evans ve ark. 1993; Brooks ve ark. 2000; Kuraoka ve ark. 2000) diğer oksidatif DNA hasarlarından farklı olarak 8-oxoguanin DNA sentezini bloke etmez ve yanlış baz eşleşmesini indükler. DNA sentezi esnasında 8-oxoguanin hem adenin hem de sitozin ile eşleşebilir ve bu yanlış eşleşme genomik DNA'da spontan mutasyonları anlamlı şekilde artırır (Shibutani ve ark. 1991; Smith 1992).

DNA'daki 8-oxoguanin kalıntıları mutM geni tarafından kodlanan bir enzim tarafından uzaklaştırılırken MutY proteini 8-oxoguanin ile eşleşmiş olan adenini uzaklaştırır (Cabrera ve ark., 1988; Chung ve ark., 1991; Michaels ve ark., 1991; Bessho ve ark., 1992). mutM ve MutY proteini DNA'daki oxide olmuş guanin kalıntılarının spesifik transversiyon mutasyonlarına neden olmasını engellemek için sıra ile çalışırlar (Tchou ve Grollman, 1993).

## 2.6. Hücre ölümü

### 2.6.1. Apoptoz

Hücre ölümünün çeşitli tipleri aynı doku içinde indüklenebilir fakat en hızlısı apoptozdur ve nekroz ve otofaji gibi diğer hücre ölümü formları sadece apoptoz inhibe edildiğinde ortaya çıkmaktadır (Los ve ark. 2002; Martinet ve ark. 2006). Apoptoz çoğunlukla programlı hücre ölümü olarak adlandırılmaktadır fakat bazı araştırmacılar programlı hücre ölümünün sadece gelişim süreciyle ilişkili ölüm olduğunu ileri sürmektedirler. Hücreler apoptoz esnasında çok sayıda değişime uğramaktadırlar; kromatin yoğunlaşırken, hücre zarı çevreye tutunmayı bırakmakta ve büzülmetedir. Apoptoz mekanizmasının en önemli özelliği olarak hücre zarının kabarcıklar oluşturmaya başlamasıdır. Kabarcıklar hücre membranı içinde kapsüllenmiş küçük, küresel stoplazmik fragmentlerdir ve apoptoz cisimciklerinin öncülleridirler. Apoptotik cisimcikler plazma membranı ile çevrelenmiş fonksiyonel organelleri içermektedirler. Plazma membranı içine gömülü fosfolipid olan fosfatidilserin apoptotik cisimciklerin dış tarafına çıkmaktadırlar. Bunlar “beni ye” sinyali olarak etki ederler ve fagositoz yapma yetenekleri olan makrofajları çekmektedir (Savill ve Fadok 2000; Kurosaka ve ark. 2003).

Kısmen birbirine bağlı iki apoptoz mekanizması vardır; kaspaz-bağımlı klasik apoptoz ve kaspaz-bağımsız programlı hücre ölümü, bazen necroptosis olarak da adlandırılmaktadır. Hücre ölümünün her iki şekilde birine bağımlıdır çünkü kaspazlar non-kaspaz proteazları ve ikincil versaların aktivasyonuna neden olmaktadır (Meyer ve ark. 2006).

Klasik kaspaz bağımlı apoptoz iç veya dış faktörlerle uyarılabilmektedir. Dış yolak transmembran reseptörlerinin [ölüm reseptörü, CD95/APO-1/Fas, tumor nekroz faktör  $\alpha$  (TNF)-reseptörleri, “TNF ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand” (TRAIL)-reseptörleri] ligantları tarafından (APO-1/Fas, TNF, TRAIL) çarpıştırılması ile aktive olmaktadır (Locksley ve ar. 2001). Ligantlar ölü reseptörlere bağlandığında sitoplazmik ölü bölgeleri adaptör moleküllere (tipik olarak FADD) saldırmakta ve kaspaz yolağını

başlatmaktadır. Farklı reseptör/ligand çiftleri bulunmaktadır, Fas/FasL ve TNF/TNFR<sub>1</sub> TRAIL/DRs; sonuçta hepsi kaspaz-8'in aktivasyonuna neden olmakta ve sırasıyla downstream kaspazları aktive etmektedirler (Kischkel ve ark. 1995).

Gerçek yolak aynı zamanda mitokondrial yolak olarak adlandırılmaktadır, Bcl2 ailesi proteinleri tarafından düzenlenmektedir (Cory ve Adams 2002). Bu proteinler mitokondrial membran geçirgenliğini kontrol etmektedirler. Hem-benzeri yapı içeren protein strom-c mitokondrinin iç membranının dışında lokalize olmaktadır ve sitoplazmaya salınmaktadır, burada (d)ATP ile apoptotik proteaz aktivasyon faktör (Apaf1)'e bağlanmakta ve apoptozom kompleksini oluşturmaktadır. Apoptozom kaspaz-9'u aktive etmekte, buda kaspaz şalesinin downstream elementlerini sırası ile aktive etmektedir (Oda ve ark. 2000). Mitokondrial yolak kaspaz bağımlı apoptoz mekanizmasında yer alsada önce strom c salınmaktadır, bu durum aynı zamanda kaspaz-bağımsız apoptozu başlatabilmektedir. Kaspaz-bağımsız yolakta apoptoz indükleyici faktör (bir flavaprotein) ve endonükleaz -G proteini mitokondriden salınmakta ve nükleusa göç ederek kromatin yoğunlaşmasını sağlamaktadır (Li ve ark. 2001).

### **2.6.2. Nekroz**

Morfolojik olarak “nekrotik hücre ölümü” veya “nekroz” hücre hacminde artış, organellerin şişmesi, plazma membranının parçalanması ve sonuç olarak hücre içeriğinin kaybı ile gerçekleşmektedir (Kerr ve ark. 1972; Majno ve Joris 1995; Trump ve ark. 1997) . Çok sayıda aracı, organeller ve hücresel süreçler nekrotik hücre ölümü sürecine dahil olmaktadır fakat bunların biribiri ile nasıl ilişkili olduğu henüz açık değildir. Spesifik proteazların aktivasyonu ve oligonükleozomal DNA fregman tasyonu gibi apoptozun biyokimyasal davranışları nekrotik hücrelerde de gerçekleşebilmektedir. Nekrotik ve apoptotik hücre ölümünün sonuçları oldukça farklı olmasına rağmen nekroz, apoptoz gibi programlı hücre ölümünün düzenleme fazı gibi nitelendirilebilir. Nekroz durumunda inflamatuvar cevap sitozolik bileşenlerinin hasar görmüş plazma membranından hücreler arası boşluğa dökülmesi ile gerçekleşmektedir; apoptozda bu ürünler makrofajlar içinde güvenli şekilde izole edilmektedir (Savill ve Fadok 2000;

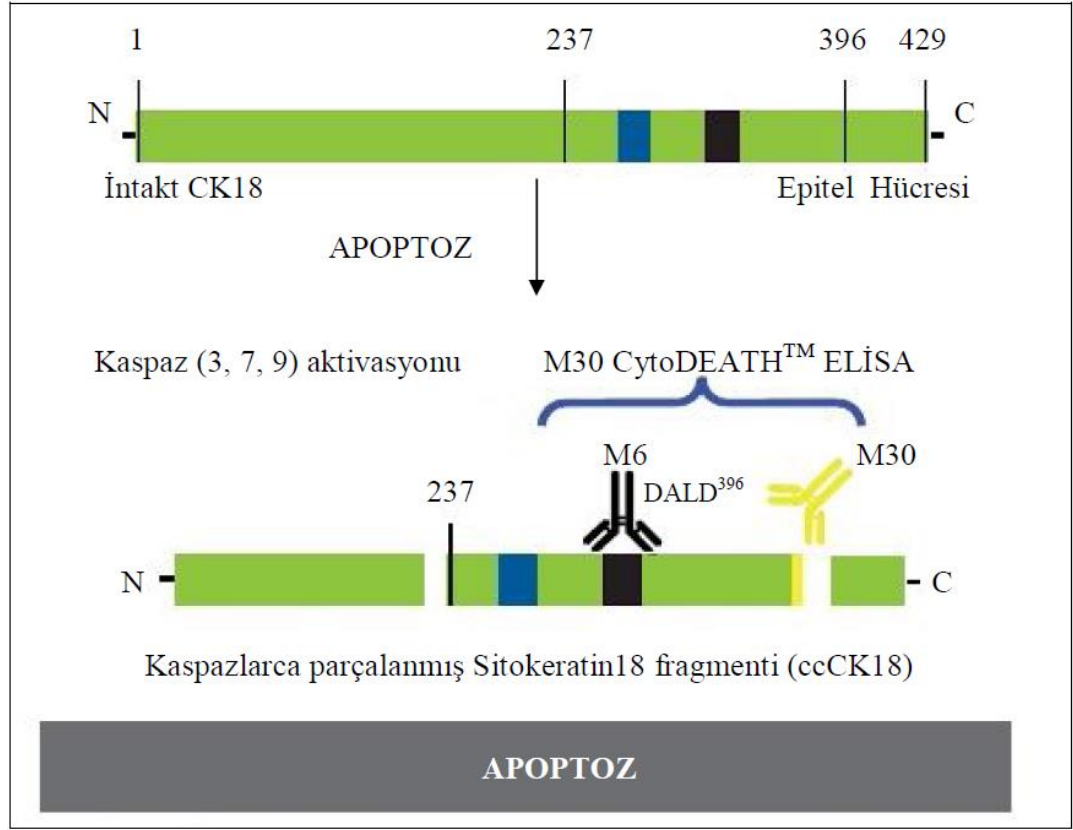
Kurosaka ve ark. 2003). Nekroz ve apoptoz arasındaki dengenin bozulması bazı hastalıkların oluşmasında anahtar rol oynamaktadır.

### **2.6.2.1. Kaspaz substratı K18**

Çoğu ökaryotik hücre sitoplazmasında çok veya az ayrıntılı araflamentlerden (IF) oluşan sitoskelet sistemi içermektedir (Ku ve ark. 1999). Bu filamentler kimyasal olarak çok uzun süre kararlı ve dallanmamış yaklaşık 10nm çapındadırlar. Kreatinler epitelin tipik ara filament proteinleridir, olağanüstü seviyede çeşitlilik göstermektedirler. Heteropolimerik filamentler tip I ve tip II moleküllerlerin eşleşmesiyle oluşmaktadır. İnsanda 54 fonksiyonel kreatin geni bulunmaktadır (Coulombe ve Wong 2004). Kreatinler epitel iskeletinin parçası olarak mekanik dayanıklılık ve epitel hücresi ve dokusunun bütünlüğü için oldukça önemlidir. Ayrıca bazı kreatinlerin düzenleyici fonksiyonları vardır ve hücre içi sinyal yollarında yer almaktadırlar, stresden koruma, yara iyileşmesi ve apoptosis. Aynı zamanda kreatinler insan tümörlerinde karakteristik ekspresyon özellikleri göstermektedirler, bunlardan çoğu kanserin imminohistokimyasal tanısında özellikle açık olmayan metastazlarda ve sınıflandırılmasında çok önemlidir (Moll ve ark. 2008).

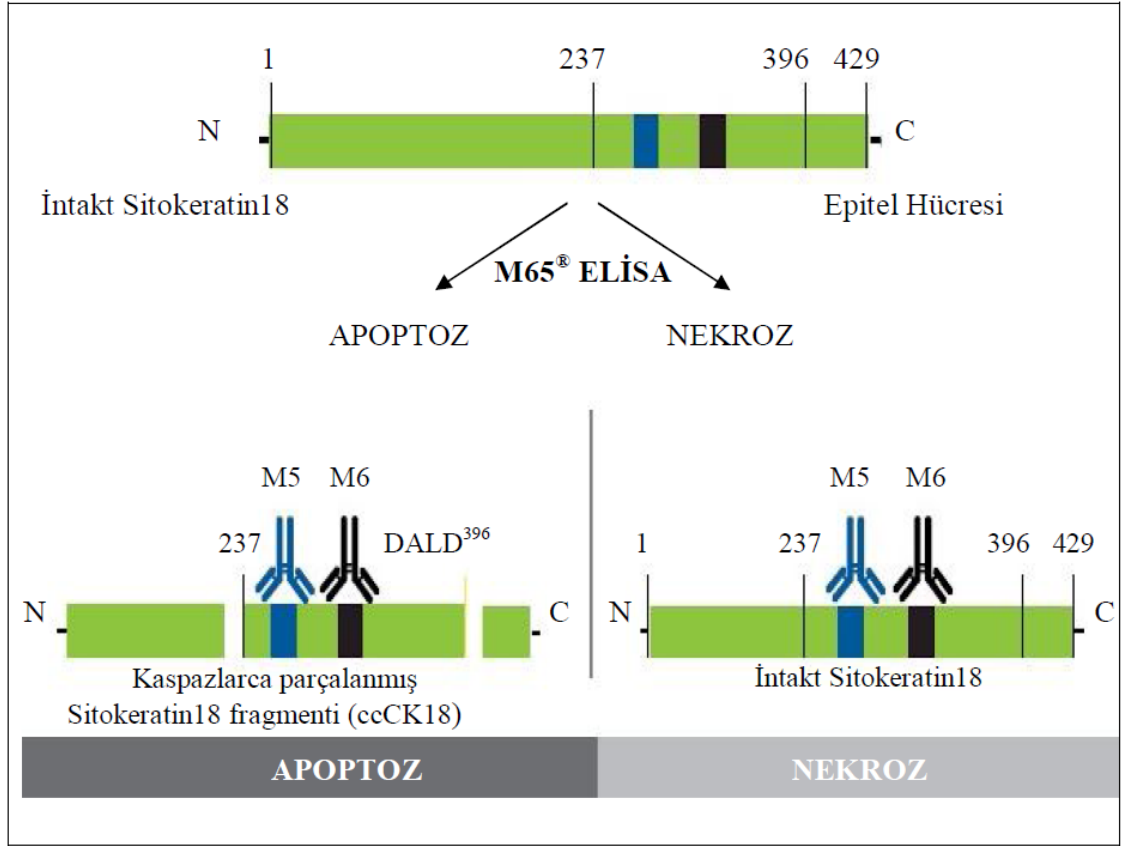
Apoptosis normal ve hasta dokularda hücre ölümünün düzenlenmesi için önemlidir ve proteolitik kaspaz şelalesinin aktivasyonu ile gerçekleşmektedir ve çoğu önemli hücre proteininin basamak basamak parçalanmasından sorumludur (Bredesen ve ark. 2006). Hücre iskeleti ile ilişkili kaspaz substratı olan proteinler arasında K18 ve K19 yer almaktadır (Ku ve ark. 1997). Apoptosis esnasında L12 segmentindeki yüksek seviyede korunmuş Asp 237'den kaspazlar tarafından kesilmektedir (Marceau ve ark. 2007). K18 Asp396'da ikinci bir kaspaz kesme bölgesi içeren tek araflament proteindir. Prokaspaz 3 ve 9 ölüm efektör bölgesi içeren DNA bağlanma proteini ile özellikle K18'e atak yapmaktadır (Dinsdale ev ark. 2004).

K18'in Asp396'dan kesilmesi apoptotik şelalenin erken olaylarından biridir. Asp396'da kesim gerçekleşmesi ile neo-epitop oluşmaktadır ve özellikle M30 "CytoDeath" monoklonal antikoru tarafından tanınmaktadır (Lee ve ark. 2002).



**Şekil 2.5.** M30 test kitinin çalışma mekanizması (Anonim 2010b)  
(<http://www.enzolifesciences.com>, 2010'dan değiştirilerek alınmıştır)

Nekroz esnasında membran bütünlüğü bozulmaktadır, hücre membranının bütünlüğünün bozulması hücre dışı boşluğa K18 de dahil hücre içi proteinlerin salınması içe sonuçlanacaktır. Apoptoz da ise plazma membranı bütünlüğü korunmaktadır fakat bunu çoğunlukla ikincil nekroz izlemektedir ve hücre içi bileşenler serbest bırakılmaktadır. Bu nedenle hücre kültürü süpernatantından veya serum/plazma örneklerinden yapılan M65 Epideath ELISA ölçümleri herhangi bir nedenle gerçekleşen epitel hücresi ölümlerini göstermektedir. M65 EpiDeath ELISA monoklonal antikorları klasik K18 epitopları için spesifiktir.



**Şekil 2.6.** M65® Elisa testi ile nekrozun belirlenmesi (Anonim 2010b) (<http://www.enzolifesciences.com> 2010'dan değiştirilerek alınmıştır)

Zhou ve ark [Cu(phen)<sub>2</sub>] kompleksinin Bel-7402 karaciğer kanseri hücre hatlarında G1 fazına spesifik apoptozu indüklediğini rapor etmişlerdir (Zhou ve ark. 2002). Daha sonra Cai ve arkadaşları [Cu(phen)<sub>2</sub>] kompleksi ile muamele edilen Bel-7402 hücrelerindeki apoptoz yolğunun lipofilik phen ligandları tarafından hücre içine taşınan yüksek seviyede bakır tarafından başlatıldığını göstermişlerdir (Cai ve ark. 2007).

Casiopeinas'ın (Cas) L1210 ve CH1 gibi kemirgen hücre hatlarında apoptozu indüklediği gösterilmiştir (De Vizcaya-Ruiz ve ark. 2000). Sıçanlarda yapılan çalışmalar en umut verici türevlerinin C6 glioma hücrelerine karşı güçlü şekilde proliferasyonu inhe ettiğini göstermiştir. İlacın neden olduğu ROS artışı mitokondri hasarına neden olmakta ve bunu apoptoz izlemektedir, apoptoz hem kaspaz bağımlı hem de kaspaz bağımsız yollarla gerçekleşmektedir.

Escribà ve ark. bakır (II)'nin phen, aminoasit ve ortho-iodohippurate ile üçlü koordinasyon kompleksinin A549 küçük-olmayan insan akciğer kanser hücre hatlarında büyümei inhibe ettiğini ve nanomolar konsantrasyonlarda apoptozu indüklediğini göstermişlerdir. Büyümei inhibe edici etkisi flow sitometri analizi ile araştırılmıştır. G1, S ve G2/M fazlarının sayısında azalış ve apoptotik hücre sayısında artış gözlenmiştir. Apoptoz muamele edilen hücrelerin poly ADP-riboz polimerazın (PARP) parçalanmasının mikroskopik analizi ile gözlenmiştir. Kompleks aynı konsantrasyonda yağ dokusu hücrelerinin canlılığını etkilememiş, kanser hücreleri üzerine yararlı bir seçicilik göstermiştir (Trejo-Solis ve ark. 2000).

Capan-1 pankreas kanser hücreleri 48 ve 72 saat süre ile  $[Cu_2\{bcmp(-H)\}(\mu-OH)](NO_3)_2 \cdot H_2O$  (1, bcmp=2,6-bis(1,4,7-triazacyclonon-1-ylmethyl)-4-methylphenol) kompleksine maruz bırakılmıştır ve hücreler Hoechst 33258-boyası ile boyandıktan sonra morfolojik değişimler floresan mikroskop ile incelenmiştir. Kontrol hücrelerine kıyasla morfolojik değişimlerin apoptoz için tipik olduğu gözlenmiştir, kromatin kondensasyonu ve fregmentasyonu apoptozun indüklendiğini doğrulamaktadır. Bu kompleksin sitotoksik potansiyeli P53 null pankreas Mia PaCa-2 hücre hatlarında yabancı tipte P53'ü olan pankreas kanser hücrelerine kıyasla (BxPC3, AsPC-1, Capan-1 ve PANC-1) iki kat daha düşüktür. Dolayısıyla komplek doza bağlı olarak P53 aktivitesinde artışa neden olmaktadır. Sitotoksisite ve P53 sonuçları dikkate alındığında bu kompleksin apoptoz yolağını P53-bağımlı mekanizmalarla aktive ettiği görülmektedir. Bakır kompleksinin kanser hücrelerine karşı olan bu duyarlılığı ise p53 statüsüne bağlıdır (Montagner ve ark. 2015).

Wu ve ark.  $Cu(phen)_2$  komplekslerinin çeşitli kanser hücrelerinde (Hela,PC-3, ECA-109 ve HepG2) sitotoksik olduğunu ve HepG2 hücrelerinde doza ve zamana bağlı olarak etkili şekilde apoptozu indüklediğini bulmuşlardır. HepG2 hücrelerinde  $Cu(phen)_2$ 'nin neden olduğu apoptoz sinyal yolağı mitokondriyal yolak, Endoplazmik Retikulum stresi yolağı ve mitotik tutuklanmadan oluşmaktadır.

Bu çalışmada  $Cu(phen)_2$ 'nin Bcl-2 ailesindeki faktörlerin seviyesi üzerine etkisi tespit edilmiştir. Bcl-2 ailesi anti-apoptotik ve pro-apoptotik üyelerden oluşmaktadır ve

apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesinde en iyi karakterize edilmiş protein ailesidir. Bcl-2 ve Bcl-x<sub>L</sub> gibi anti-apoptotik proteinler kaspazların öncül formlarına el koyarak (sequestering) ya da sitokrom c ve AIF gibi mitokondrial apoptotik faktörlerin sitoplazmaya salınmasını engellemektedir. Bax ve Bak gibi bu ailenin proapoptotik üyeleri ise tam tersine kaspazların salınmasını tetiklemektedir. Bcl-2 ailesinin başka bir üyesi olan Bid kaspaz-8 tarafından kesilebilir ve mitokondriyal sitokrom c'nin sitoplazmaya salınmasını tetiklemekte ve kaspaz-3 ve 9'u aktive etmektedir (Garibal ve ark. 2010). Bu çalışmada Bcl-2 ve Bcl-x<sub>L</sub>'nin ekspresyon seviyesi doza bağlı olarak azalmaktadır. Diğer taraftan Bax'ın ekspresyon seviyesi artmaktadır. Bax'ın daha fazla eksprese olması Bax/Bcl-2 oranının artması ile sonuçlanmaktadır. Bid'in öncül formunun azalması Cu(phen)<sub>2</sub>'nin neden olduğu apoptoz esnasında kesilmesine işaret etmektedir. Bu sonuçlar Bax ve Bid'in artışına işaret etmektedir, Bcl-2 ve Bcl-x<sub>L</sub>'nin az düzenlenmesi MMP'nin yıkılmasına ve kaspazların aktivasyonuna neden olmaktadır. Çalışmada MMP'nin yıkıldığı ve kaspaz-8 ve kaspaz-9'un yıkıldığı tespit edilmiştir. Prokaspaz-3'ün azalması kaspaz-3'ün aktivasyonuna işaret etmektedir. Bu veriler HepG2 hücrelerinde Cu(phen)<sub>2</sub>'nin neden olduğu apoptoza mitokondriyal yolak dahil olduğunu göstermektedir.

Apoptoz yolağı aynı zamanda ER tarafından da harekete geçirilmektedir. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin ER'de birikmesi ER'de strese ve katlanmamış protein yanıtına neden olmaktadır (UPR). Cu(phen)<sub>2</sub> kompleksi Ca<sup>2+</sup> homeostasini bozmakta ve ER stresini tetiklemektedir. Uzun süreli ER stresi hücreye hasar vermekte ve sonuçta apoptozu indüklemektedir (Wu ve ark. 2014).



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada suda çözünebilen dört yeni bakır (II) kompleksinin,  $[\text{Cu}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2$  (1),  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{tyr})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (2),  $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$  (3),  $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{tyr})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (4) MCF7 insan meme kanseri hücre hattı, Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı, Hep-3B insan karaciğer kanseri hücre hattı ve BEAS-2B insan bronş epitel hücre hattında XTT testi ile antikanser aktiviteleri gösterilmiştir. Hücre ölüm şekli M30 ve M65 testleri ile analiz edilmiştir. Bakır komplekslerinin genotoksik etkileri mikronükleus ve komet testleri ile değerlendirilmiştir. Hücre içi ROS seviyesi ROS testi ile değerlendirilmiştir. Oksidatif DNA hasarının bir biyomarkırı olarak ise 8-OH-dG oluşumu ölçülmüştür.

#### 3.1. Kullanılan Ekipmanlar, Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan cihazlar Çizelge 3.1’de, sarf malzemelerine ilişkin bilgiler ise Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Çalışmalarda kullanılan ekipman

<b>Ekipman</b>	<b>Marka/Model</b>
Etüv	BINDER – CB 150
Soğutmalı Santrifüj	SIGMA – 2-16PK
Laminar flow	BINDER – CB 150
Hassas terazi	SHIMADZU – AUW220D
Kaba Terazi	RADWAG – WTB2000
Pastör fırını	Elektro.mag- M3025P
Inverted mikroskobu	SOIF
Flöresans mikroskobu	NIKON – ECLIPSE 80i
Işık mikroskobu	NIKON – ECLIPSE E100
Komet yazılımı	Kameram 21
Elektroforez güç kaynağı	PeqLab- Reqpowers 300
Elektroforez tankı	Cleaver Scientific
Mikroplaka okuyucu	Bio Tek, ELx800 U.S.A
Azot tankı	INT. CRYOGENICS – IC 20R
Ph metre	HANNA – HI 221
+4 buz dolabı	Regal
-20 derin dondurucu	ALASKA – ADF 06 V
-80 derin dondurucu	ELCOLD
Fluoroskan Ascent FL 2.6	THERMO

Hücre sayım cihazı	ROCHE
Distile su cihazı	MP MINI PURE – DEST UP
Su banyosu	NÜVEBATH NBS

**Çizelge 3.2.** Çalışmada kullanılan sarf malzemeler

Sarf Malzeme	Firma/ Katalog No
Serolojik pipet	COSTAR
Serolojik pipet tabancası	BIOHIT/ Midi Plus
Steril 15 ml lik tüpler	FALCON
Steril flasklar (T-12,5, T-25 ve T-75)	CORNING
RPMI-1640 (500 ml)	LONZA/ BE12-115 F
Penisilin – Streptomisin	PANBIOTECH P06-07100
L-Glutamin (100 ml)	SIGMA/ G7513
Fetal Bovine Serum	PANBIOTECH/ P30-1985
Sodyum piruvat (100 ml)	PANBIOTECH
% 0,25 Tripsin-EDTA	GIBCO 1304898
DPBS	PANBIOTECH P04-36500
Etil alkol	SIGMA 32221
Metanol	MERCK K 40218208
Asetik asit	MERCK K 40577856
KCl	MERCK K 37391236 728
NaCl	MERCK K 45393104 410
NaOH	SIGMA S8045
Sitokalsin-B	SIGMA C6762
Giemsa	MERCK HX939018
Triton X-100	SIGMA T8787
Lowmelting Agaroz	SIGMA A9539
Normal Agaroz	MERCK K33719436
DMSO	MERCK K40744143

### 3.2. Kullanılacak Hücre Hatları

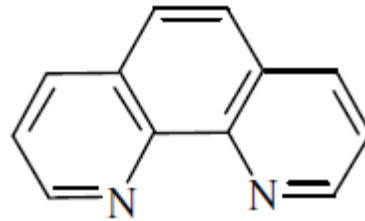
Tez çalışmasında BEAS-2B sağlıklı insan bronşiyal epitel hücre hattı, Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı, MCF7 insan meme kanseri hücre hattı, Hep-3B insan karaciğer kanseri hücre hatları kullanılmıştır.

#### 3.2.1. Bu hücre hatlarında Kullanılacak Hücre Kültürü Şartları

Hücre kültürü havalandırılmalı T75 flasklar içinde 37 °C ve %5 CO<sub>2</sub> ortama sahip inkübatörde yapılmıştır. Flasklara konulacak besiyeri: RPMI Medium + %10 fetal kalf serum+ 2ml glutamine, 50 µg/ml penisilin ve 50 µg/ml streptomisinden oluşmaktadır.

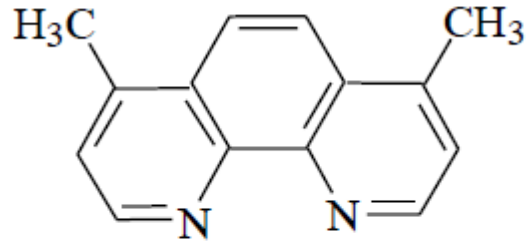
### 3.3. Kullanılan Kompleksler

Bu çalışmada suda çözünebilir dört yeni bakır (II) kompleksi , [Cu(phen)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (1), [Cu(phen)(tyr)(H<sub>2</sub>O)]NO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O (2), [Cu(dmphen)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub> (3), [Cu(dmphen)(tyr)(H<sub>2</sub>O)]NO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (4) kullanılmıştır. Aşağıda bu bakır komplekslerinin yapısına katılan ligantlar ve bakır komplekslerinin yapılarını gösteren şekiller verilmiştir (şekil 3.1; 3.2; 3.3; 3.4; 3.5; 3.6; 3.7). Kompleksler steril sitle suda çözülmüştür. Çözücü olarak kullanılan su testlerde kullanılan en yüksek doz oranında kültür ortamına eklenmiş ve negatif kontrol olarak kullanılmıştır.



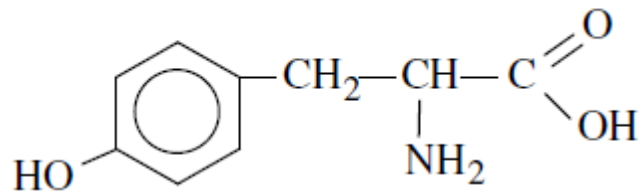
1,10-phenanthroline  
(phen)

Şekil 3.1. 1,10-phenanthrolin moleküler yapısı.



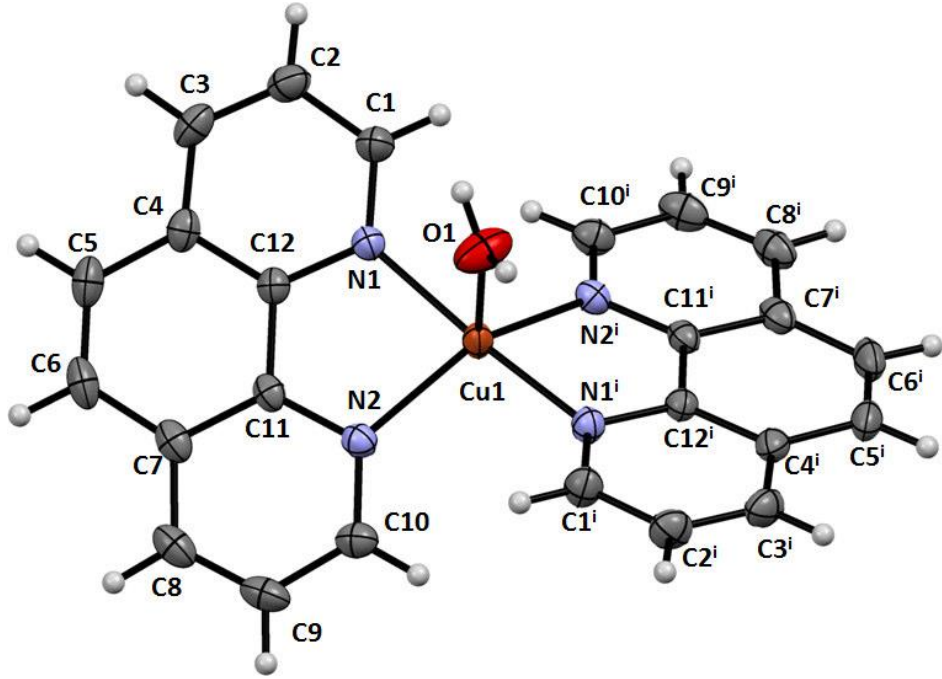
4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline  
(dmphen)

Şekil 3.2. 4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline (dmphen) moleküler yapısı

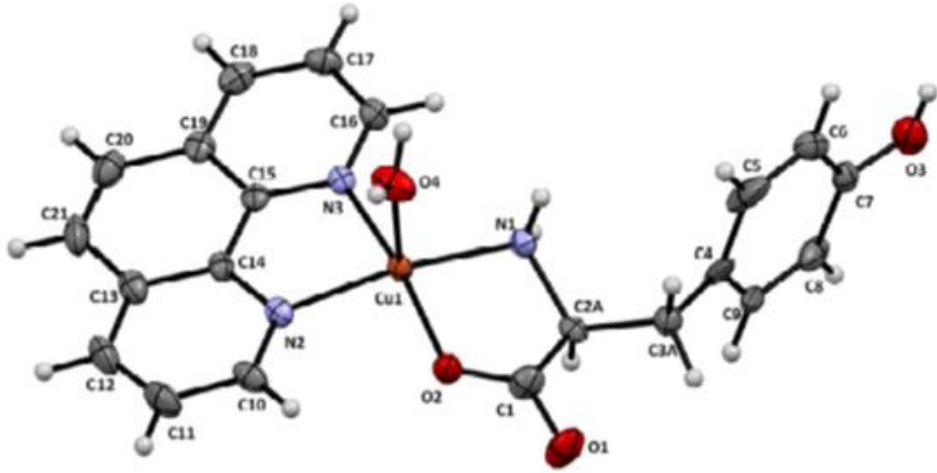


L-tyrosine  
(tyr)

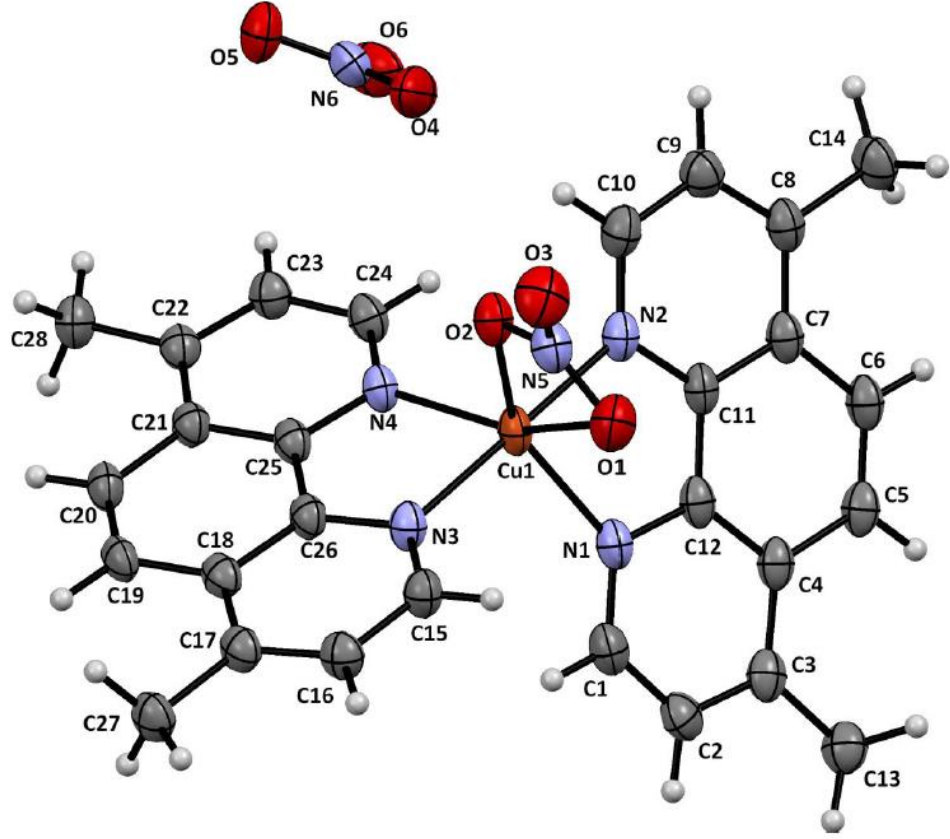
Şekil 3.3. L-tyrosinin moleküler yapısı



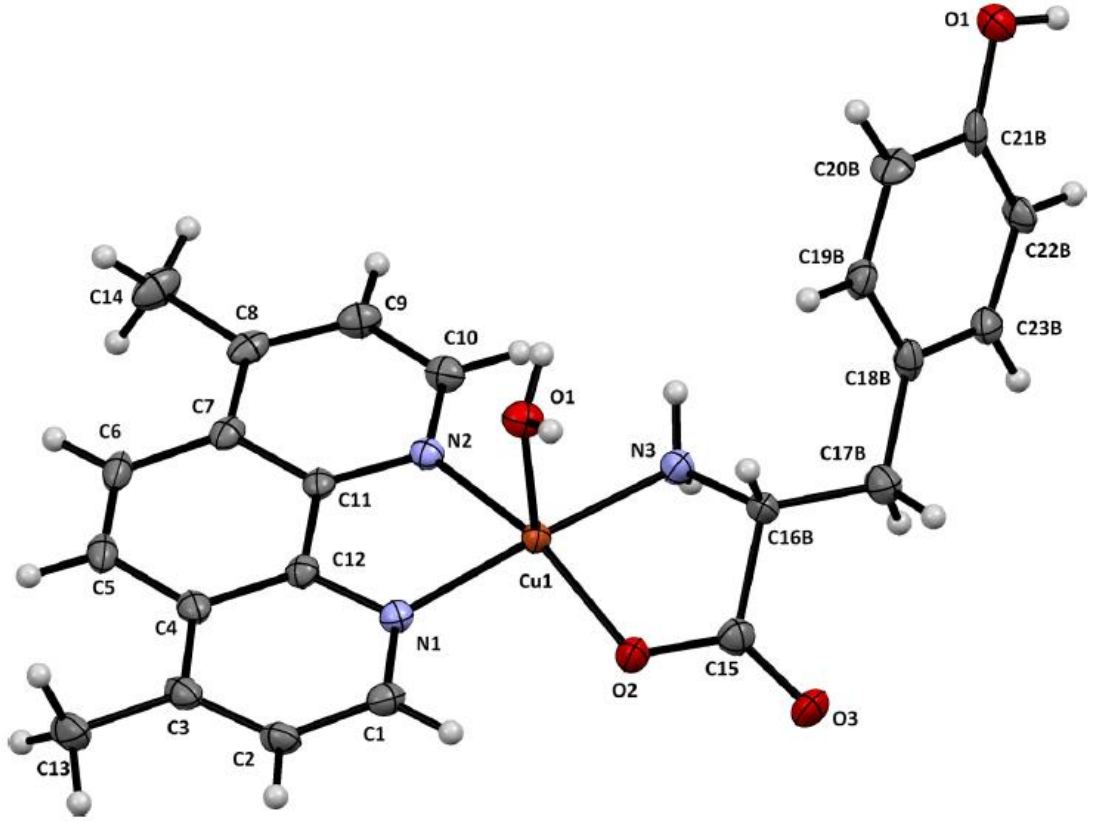
**Şekil 3.4.** Kompleks 1'in moleküler yapısı. Elipsoid yerdeğiştirme %30 olabirlik seviyesinde çizilmiştir. Koordinasyonu olmayan nitrat anyonları şeklin daha açık olması için dahil edilmemiştir. H atomları rastgele seçilmiş yarıçaptaki küçük küreler ile gösterilmiştir.



**Şekil 3.5.** Kompleks 2'nin moleküler yapısı. İki koordinasyonu olmayan su molekülü ve nitrat anyonu şeklin daha açık olması için dahil edilmemiştir. Elipsoid yerdeğiştirme %50 olabirlik seviyesinde çizilmiştir. H atomları rastgele seçilmiş yarıçaptaki küçük küreler ile gösterilmiştir.



**Şekil 3.6.** Kompleks 3'ün moleküler yapısı. Elipsoid yerdeğiştirme %50 olabilirlik seviyesinde çizilmiştir. H atomları rastgele seçilmiş yarıçaptaki küçük küreler ile gösterilmiştir.



**Şekil 3.7.** Kompleks 4'ün moleküler yapısı. Şekil düzensiz parçanın majör oryantasyonunu göstermektedir. Bir koordine olmamış su molekülü ve şeklin daha açık olması için dahil edilmemiştir. Elipsoid yerdeğiştirme %50 olabilirlik seviyesinde çizilmiştir. H atomları rastgele seçilmiş yarıçaptaki küçük küreler ile gösterilmiştir.

### 3.4. XTT Testi

Hücreler 75-cm<sup>2</sup>'lik flasklarda 1 hafta boyunca büyütülmüştür. Büyüyen hücreler 96 kuyucuklu platelere ekilmiştir. Hep-3B ve Beas-2B hücre hatları için her bir kuyucuğa 5x10<sup>3</sup> hücre, CaCo-2 ve MCF-7 hücre hatları için her bir kuyucuğa 8x10<sup>3</sup> hücre ekilmiştir. 37 °C ve %5 CO<sub>2</sub> ortama sahip inkübatörde 24 saat inkübe edildikten sonra besi yeri değiştirilmiştir ve 0,1'den 30 µM arasında değişen konsantrasyonlarda bakır kompleksleri ile dozlanmıştır. 24 saat muameleden sonra kuyucuklar PBS ile yıkanmış ve 100 µL yeni besiyeri eklenmiştir. Her bir kuyucuğa aktive olmuş XTT solüsyonu eklenmiş ve 3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mikroparka okuyucu ile 450nm de absorbans ölçülmüştür ve poliferasyon eğrisi çizilmiştir. Blankler çıkarıldıktan sonra IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> dozları  $(1 - \frac{A_{\text{maumele grubu}}}{A_{\text{kontrol}}}) \times 100$  formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Y eksenine doz, X eksenine canlılık olan dağılım grafiği çizilmiştir. Daha sonra grafik üzerinde doğrusal 3 nokta seçilerek eğilim çizgisi eklenmiştir. Eğilim çizgisinin formülünde y yerine 50, 25 ve 10 yazılarak sırası ile IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> dozları hesaplanmıştır.

Kimyasalların Hazırlanması:

1. Kimyasallar deneyden hemen önce 37 °C'de ısıtılarak eritilmiştir.
2. XTT ölçüm solüsyonunu hazırlamak için XTT kimyasalına elektron bağlama solüsyonunu eklenmiştir (1:50 hacim oranında). Örneğin 96 kuyucuklu plate için 5ml XTT solüsyonuna ve 0.1ml elektron bağlama solüsyonuna ihtiyaç duyulmaktadır.

### 3.5. ROS Ölçümü

Bakır komplekslerinin hücre içi ROS oluşumuna etkisi Cell Biolabs'OxiSelect™ Hücre içi ROS test kiti (Cell Biolabs, San Diego, CA, U.S.A) kullanılarak belirlenmiştir. 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA) boyası kendisi floresan özellikte değildir, hücre içine difüzyonla girmekte ve DCFH hücresel esterazlarına hidrolize olmaktadır. DCFH ise ROS varlığında hızlı şekilde oksidize olarak yüksek seviyede floresan etkisi olan fluorescent 2', 7' dichlorodihydrofluorescein (DCF) oluşturmaktadır.



ROS ölçümü için hücreler 75-cm<sup>2</sup> 'lik flasklarda üretilmiştir. Büyüyen hücreler 96 kuyucuklu siyah planelere iki tekrarlı şekilde ekilmiştir ve 24 saat kültüre edilmiştir. Kültür sonunda besi yeri değiştirildikten sonra hücreler 2 defa PBS ile yıkanmış. Hücrelere 1X DCFH-DA/besiyeri çözeltisinden 100 µl eklenmiş ve 37 °C'de 120 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi bitiminde hücreler 2 kez PBS ile yıkanmıştır. DCFH-DA yüklenmiş hücrelere 2 saat bakır komplekslerinin IC<sub>50</sub> ve IC<sub>75</sub> dozları ile muamele edilmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin IC<sub>50</sub> dozu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Absorbanslar 480 nm/530 nm'de florometrik plaka okuyucuda okunmuştur. ROS değerleri standartlardan yararlanılarak çizilen dağılım grafiğinin eğim formülü ile hesaplanmıştır. Deney ikişer tekrarlı gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 15 paket program kullanılarak Mann-Wilthney U testi ile gerçekleştirilmiştir.

Konsantrasyonu 0 µM – 10 µM arasında değişen DCF standartlarının 1:10 seyreltme serisi 1mM DCF stok solüsyonunun besi yeri ile seyreltilmesi ile hazırlanır.

Standard Tubes	DCF Standard (µL)	Culture Medium (µL)	DCF (nM)
1	10	990	10,000
2	100 of Tube #1	900	1000
3	100 of Tube #2	900	100
4	100 of Tube #3	900	10
5	100 of Tube #4	900	1
6	100 of Tube #5	900	0.1
7	100 of Tube #6	900	0.01
8	0	1000	0

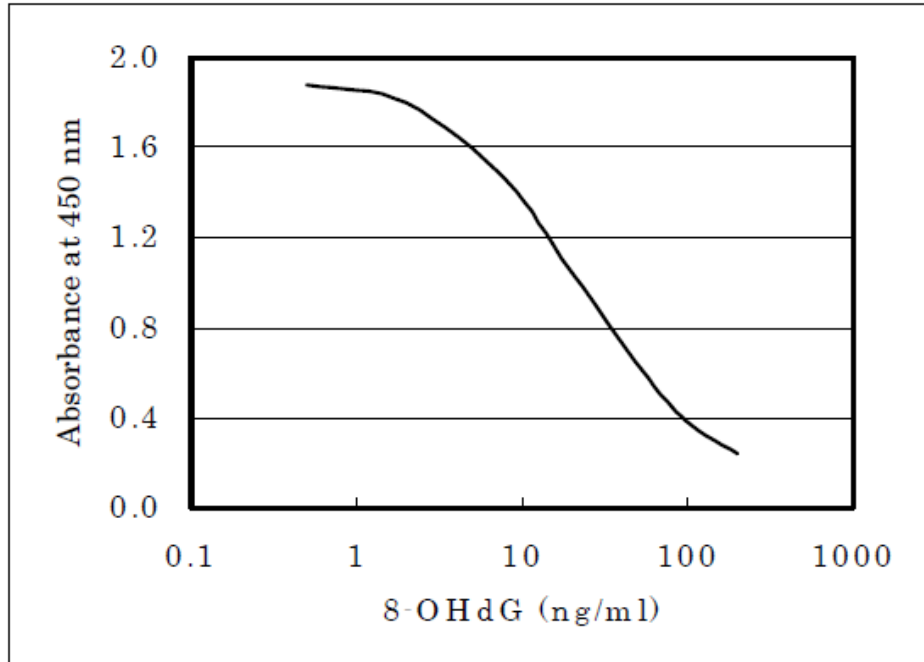
**Şekil 3.8.** DCF standartlarının hazırlanması

### 3.6. 8-OHdG Ölçümü

Hücreler T-75 flasklarda büyütülmüş ve %80 doluluk sağlandığında bakır komplekslerinin IC<sub>50</sub> dozları ile 4 saat muamele edilmiştir. Muameleden sonra hücreler MO BIO kit (Carlsbad, CA USA) DNA ekstraksiyon kiti ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

DNA kalitesi Nanodrop spectrophotometer (Thermo Scientific) kullanılarak ölçülmüştür. İzole edilen DNA'lar 80 µg/ml konsantrasyonda çözülmüştür. DNA örneklerinin tek zincirli hale getirilmesi için 95°C'de 5 dakika inkübe edilmiş ve hızlı bir şekilde buza alınmıştır. DNA örnekleri 20 ünite nükleaz P1 ile 2dk 37 °C'de 20mM sodyum asetat içinde inkübe edilerek DNA'nın sindirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra DNA örnekleri 10 ünite alkalın fosfat ile 1 saat 37 °C'de muamele edilmiştir. Örnekler 5dk 6000g de santrifüj edilmiş ve süpernatantlar 8-OHdG testinde kullanılmıştır.

Hazırlanan DNA örneklerinden 50 µL her bir kuyucuğa eklenmiş ve üzerine 50 µL primer antikor eklendikten sonra 37°C 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda her bir kuyucuk 250 µL yıkama solüsyonu ile yıkanmış ve 100 µL sekonder antikor ile 37°C 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda yıkama solüsyonu ile yıkanmış ve her bir kuyucuğa 100 µL substrat solüsyonu eklenilerek 15dk karanlıkta inkübe edilmiştir. Son olarak her bir kuyucuğa 50 µL reaksiyonu sonlandırıcı solüsyon eklenmiş ve absorbans 450nm de mikropilaka okuyucuda okunmuştur. 8-OHdG miktarı standart grafiği çizilerek hesaplanmıştır.



Şekil 3.9. 8-OHdG miktarı standart grafiği.

### 3.7. Komet Testi

DNA hasarının ve tamirinin belirlenmesini sağlayan genotoksisite testidir. Hasarlı DNA'nın göçü ile kuyruklu yıldız görüntüsü oluşur. Hücrelerin low-melting agaroz solüsyonuna gömülmesi, hücrelerin lizisi, alkali ortamda (ph > 13) çift zincirli DNA'nın zincirlerinin ayrılması ve elektroforez aşamasından oluşur.

Lamların Agaroz Jel ile Kaplanması:

Mikroskop lamları, kendileri için hazırlanan % 0,8'lik agaroz jel içine daldırılıp 30 sn bekletilmiştir. Daha sonra da çıkarılıp altları temizlenip kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan lamlar etiketlenmiştir.

#### COMET Testi Protokolü

1. Bu aşamada kullanılan bütün solüsyonlar soğuktur. Bu prosedür karanlıkta gerçekleştirilmiştir. Pellet olarak kalan hücreler 1 ml PBS ile seyreltilmiş ve iyice karıştırılmıştır.
2. Hücreleri jel içine gömmek için, düşük erime noktası olan agaroz (LMA) kullanılarak jel hazırlanmıştır. 0,065 gr LMA tartılmış ve 10 ml distile su içinde ısıtılarak jel haline getirilmiştir.
3. Eppendorf tüplere 250 şer µL LMA aktarılmıştır. Bu eppendorf tüpler 37 °C de bekleyen sıcak su banyosuna yerleştirilmiştir.
4. Seyreltilen hücre pelletlerinden 50 µl çekilmiş, su banyosunda bekleyen ve içinde 250µl LMA jeli bulunan eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Jel ve hücre süspansiyonu iyice pipet yoluyla karıştırılmıştır.
5. Karıştırılan jel ve hücre karışımından 35 µl çekilmiş ve lam üzerine yayılmıştır. Her çalışma grubu kendi lamının üzerine yayılmıştır.
6. Üzerine karışım koyulan lamlar hemen lamelle kapatılmış ve buz üzerine kaldırılmıştır.
7. Yayma işlemi bittikten sonra lamlar 15 dakika +4 °C de bekletilmiştir.
8. 2 dakika sonra lamlar üzerindeki lameller çıkarılmıştır.
9. Lizis işlemi başlatılmıştır. Lamelleri çıkmış olan lamlar şalelere dizilmiş ve şaleler lizis solüsyonuna ile doldurulmuştur. Lamlar şaleler içinde 1 gece boyunca karanlıkta ve +4 °C de bekletilmiştir.

10. Ertesi gün lamalar lizis solüsyonundan çıkarılmış ve COMET tankına dizilmiştir.
11. Tanklar yürütme tamponu ile doldurulmuş ve lamalar 20 dk yürütme tamponu içinde bekletilmiştir. Bu aşamada DNA sarmalları açılmaktadır.
12. Yürütme işlemi 300 mA, 25V'da, yarım saat gerçekleştirilmiştir.
13. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra lamalar tanktan çıkarılıp nötralizasyon tamponuna daldırılmıştır ve 5 dakika lamalar tampon içerisinde bekletilmiştir. Nötralizasyon işlemi karanlıkta gerçekleştirilmiştir.
14. Nötralizasyon işlemi sonrasında lamalar tampondan çıkarılıp distile suya daldırılıp yıkanmış ve kuruması beklenmiştir.
15. Kuruduktan sonra lamalar absöü etanol içinde 5 dakika fikse edilmiştir.

#### Boyama İşlemi

20 µg/mL konsantrasyonlu EtBr boya solüsyonundan enjektör ile 0,2 ml çekilir ve lamlara damlatılır. Boya damlatıldıktan sonra lamalar lamellerle kapatılıp, mikroskopik inceleme için hazırlanır.

#### Mikroskopik İnceleme

Sayım ve değerlendirme safhalarında florsan mikroskop kullanılmıştır. Boyanılan lamlara mikroskopta bakılmış ve her lamdan 100 tane hücre sayılmıştır. Değerlendirme kameram 21 komet sayım programı ile yapılmıştır. Komet uzunluğu, kuyruk uzunluğu, kuyruk moment uzunluğu verileri değerlendirilmiştir. Test iki bağımsız tekrar halinde yapılmıştır.

### **3.8. Mikronükleus Testi**

25'lik flaslara 100.000 hücre ekilmiş ve flaslara %80 doluluk sağladıktan sonra bakır bileşiklerinin IC<sub>50</sub> ve IC<sub>50</sub>/2 dozları ile 24 saat muamele edilmiştir. Muamele ile eş zamanlı olarak sitokalazin-B eklenmiştir. İnkübasyon süresinin bitiminde besi yeri uzaklaştırılmış, PBS ile yıkanmış ve MN preparasyonuna başlanmıştır. PBS ile yıkanan flaslara, 2ml tripsin eklenmiş ve 2dk beklendikten sonra tripsinin etkisi 2ml besi yeri eklenerek durdurulmuştur. Hücreler tüplere toplanmıştır. 1000 RPM'de 5dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılarak 0.75M KCl hipotonik solüsyonu eklenmiş ve

3dk bekletildikten sonra tekrar santrifüj edilerek ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. 3:1 oranında metanol ve asetik asitten oluşan fiksatif damla damla eklenerek harvest işlemi 10 dk sürdürülmüştür. Harvest bitiminde tekrar santrifüj yapılmış ve süper natan uzaklaştırılmıştır. Kalan hücreler fiksatifle 1ml ye seyreltilerek daha önceden alkolde bekletilerek temizlenmiş ve etiketlenmiş lamlara yayılarak kurumaya bırakılmıştır. Lamlar kuruduktan sonra %5'lik gimsa ile 15 dk boyanmıştır. Boyama işleminden sonra distile su ile durulanan lamlar kurumaya bırakılmıştır. Her bir preparattan 1000 binükleuslu hücrede mikronükleus sayılmıştır. Toplamda 2000 hücre sayılarak tek nükleuslu, çift nükleuslu, üç nükleuslu, dört nükleuslu hücreler kaydedilmiş ve nükleer bölünme indeksi

$MI + 2xM2 + 3xM3 + 4xM4 / 2000$  formülü ile hesaplanmıştır.

### **3.9. M30-M65 Testleri**

Hücreler 96 kuyucuklu plakalara iki tekrarlı olarak ekilmiştir. Hep-3B ve Beas-2B hücre hatları için her bir kuyucuğa  $5 \times 10^3$  hücre, Caco-2 ve MCF7 hücre hatları için her bir kuyucuğa  $8 \times 10^3$  hücre ekilmiştir. 24 saat inkübasyondan sonra besi yerleri yeni besi yeri ile değiştirilmiş ve bakır bileşiklerinin  $IC_{50}$  ve  $IC_{90}$  dozları ile 24 saat muamele edilmiştir. İnkübasyon süresinin bitiminde M30 ve M65 test prosedürleri uygulanmıştır.

#### **3.9.1. M30 Testi Protokolü**

Bakır kompleksleri ile 24 saat muamelenin ardından mikrolaka  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de bir gece dondurulmuştur. Ertesi gün mikro plaka oda sıcaklığına getirilmiş ve her bir kuyucuğa  $10 \mu\text{L}$  10% Triton-X eklenerek 5 dk hücrelerin lizis olması sağlanmıştır. Her bir kuyucuktan besiyerleri epondofların içine toplanmış ve epondoflar 2000 rpm'de 10 saniye santrifüj edilerek ve hücreler dibe çöktürülmüştür. Efondorfun üst kısmından  $25 \mu\text{L}$  süpernatandan alınmış ve kitin antikor kaplı 96 kuyucuklu plakalarına aktarılmıştır. Bunun üzerine  $75 \mu\text{L}$  seyreltilmiş M30 cytodeath HRP konjugantı eklenmiştir. Karanlıkta 4 saat 600rpm'de inkübasyon yapılmıştır. Her kuyucuğa seyreltilmiş  $250 \mu\text{L}$  yıkama solüsyonu eklenmiştir ve 5 defa yıkama yapılmıştır. Yıkama sonunda konjugantın mavi renginin kalmaması gerekmektedir. Platelere içinde

köpük kalıp kalmadığı ışığa tutularak bakılmıştır. Platelere peçetelerin üzerine ters çevrilerek vurulmuş ve köpük kalmaması sağlanmıştır. Daha sonra 200 µL TMB solüsyonu eklenmiş ve karanlıkta 20 dakika inkübe edilmiştir. Mavi renk oluşumu gözlenmiştir. Rengin çok koyu olmamasına dikkat edilmiştir. Her bir kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonundan eklenmiş ve 10 dakika karıştırıcıda karıştırılmıştır. Renklerin sarıya dönüştüğü gözlenmiştir. Mikro plaka okuyucuda okuma yapılmadan önce 3-4 dakika beklenmiştir ve 450nm dalga boyunca absorbanslar ölçülmüştür. X ekseninde konsantrasyon y ekseninde absorbans olacak şekilde grafikler çizilmiştir. Sonuçlar U/L olarak verilmiştir.

Deney iki bağımsız tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

### **3.9.2. M65 Testi Protokolü**

M65 Elisa iki fare monoklonal antikor kullanır ( klon M5, Ig-G2b ve M6, IgG2a) bunlar K18'in geleneksel epitoplari için spesifiktirler. M5 antikorlari insan K18'ini tespit eder fakat fare K18'ine etki etmez. M65 Elisa sıvı-faz sandiviç enzim immuno testidir. Standartlar, kontroller ve örnekler K18 tanıyan M6 antikorunu içeren sıvı fazla etkileşime girmektedir. HRP (horseradish peroxidase) konjuge edilmiş M5 antikorlu farklı bir K18 epitopunun tanımadır. Bağlanmamış konjugantlar yıkama basamağında uzaklaştırılmakta ve TMB substratı eklenmektedir. Daha sonra renk gelişimi durdurulmakta ve absorbans ölçülmektedir. Sonuçtaki renk doğrudan numunenin konsantrasyonu ile orantılıdır.

Ölçülen absorbansa karşı bilinen konsantrasyonun standart eğrisinin çizilmesi ile örnekteki antijen miktarı ölçülmekte ve antijenin konsantrasyonu litredeki birim olarak (U/L) ifade edilmektedir.

Protokol:

Bakır kompleksleri ile 24 saat muamelenin ardından mikroparka kuyucuklardan besiyerleri epondorf tüplere toplanmıştır. Epondorf tüpler 2000 rpm'de 30 saniye santirfüj edilerek hücreler dibe çökertilmiştir. Epondorfun üst kısmından 25µL süpernatandan alınmış ve kitin 96 kuyucuklu plakalarına aktarılmıştır.

M65 Elisa oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir

- 1) Tüm malzemeler oda sıcaklığında getirilmiştir. Tüm maddeleri kullanmadan önce karıştırılmıştır (vortex).
- 2) Yıkama solüsyonunu yeni deiyonize su ile seyreltilmiştir.
- 3) M65 HRP konjugantını M65 konjugant seyreltme buffırı ile seyreltilmiştir.
- 4) 25µL M65 satandardı (A-G), M65 kontrol düşük (Low), M65 kontrol yüksek (High), yüklenmiştir.
- 5) Her kuyucuğa 75 µL seyreltilmiş M65 HPR konjugant solüsyonu eklenmiş ve 600rpm'de 2 saat inkübe edilmiştir.
- 6) 400 mL seyreltilmiş yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 5 defa yıkanmıştır.
- 7) Her bir kuyucuğa 200 µL TMB substratı eklenmiş ve oda sıcaklığında karanlıkta 20 dk inkübe edilmiştir.
- 8) 50 µL durdurma solüsyonu eklenmiş ve 5-10dk şakırda karıştırılıp absorbans ölçülmeden önce 5 dakika beklenmiştir. 450 nm de Elisa Reader kullanılarak absorbans ölçülmüştür.

## 4. BULGULAR

### 4.1. XTT Bulguları

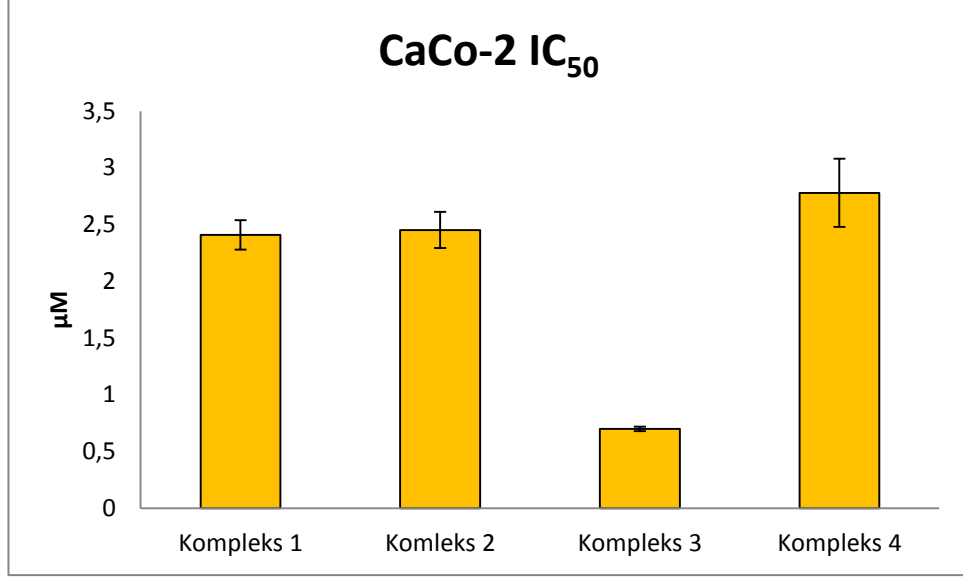
XTT testinden elde edilen bulgular Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün 0,1'den 30 µM arasında değişen konsantrasyonları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmiştir. Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarında IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> dozları verilmiştir.

#### 4.1.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen XTT Bulguları

Caco-2 hücre hattının kompleks 1, 2, 3 ve 4 ile 24 saat muamele edilmesi sonucu XTT testinden elde edilen IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> bulguları Çizelge 4.1 ve şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Kompleks 1'in Caco-2 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 2,43 ± 0,134; 4,73 ± 0,36; 6,68 ± 0,43 şeklindedir. Kompleks 2'nin Caco-2 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 2,45 ± 0,16; 4,30 ± 0,10; 6,61 ± 0,04 şeklindedir. Kompleks 3'ün Caco-2 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,70 ± 0,02; 1,42 ± 0,39; 2,81 ± 0,52 şeklindedir. Kompleks 4'ün Caco-2 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 2,78 ± 0,30; 9,76 ± 0,74; 20,16 ± 0,34 şeklindedir. Cisplatinin Caco-2 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 22,70 ± 3,21; 88,87 ± 1,66; 126,6 ± 5,69 şeklindedir. Caco-2 hücre hattında en etkili kompleksler sırasıyla 3>1>2>4 şeklindedir. Cisplatin'in Caco-2 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 22,70 ± 3,21; 88,87 ± 1,66; 126,6 ± 5,69 şeklindedir. Komplekslerin IC<sub>50</sub> değerlerinin Cisplatine kıyasla daha düşük olduğu gözlenmiştir. Caco-2 hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin IC<sub>50</sub> ve IC<sub>90</sub> dozu sırası ile 116,18 ± 15,59; 602,62 ± 1,89 µM olarak belirlenmiştir.



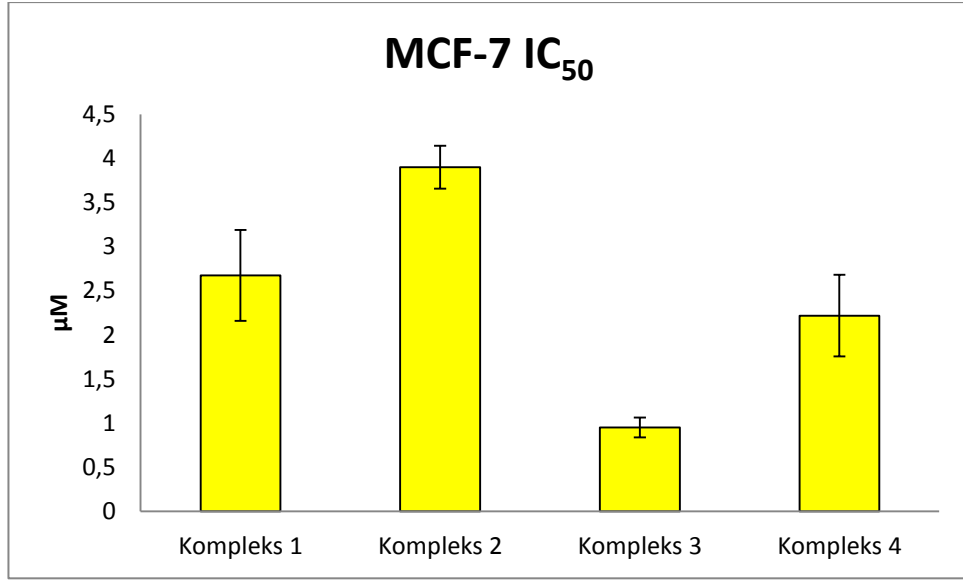


**Şekil 4.1.** Caco-2 hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4'ün IC<sub>50</sub> değerleri verilmiştir (µM).

#### 4.1.2. MCF7 Hücre hattında elde edilen XTT Bulguları

MCF7 hücre hattının kompleks 1, 2, 3 ve 4 ile 24 saat muamele edilmesi sonucu XTT testinden elde edilen IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> bulguları Çizelge 4.1'de ve şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Kompleks 1'in MCF-7 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $2,67 \pm 0,72$ ;  $8,65 \pm 0,46$ ;  $12,2 \pm 0,43$  şeklindedir. Kompleks 2'nin MCF-7 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $3,90 \pm 0,34$ ;  $10,54 \pm 0,50$ ;  $16,71 \pm 0,37$  şeklindedir. Kompleks 3'ün MCF-7 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $0,95 \pm 0,19$ ;  $2,01 \pm 0,08$ ;  $2,78 \pm 0,07$  şeklindedir. Kompleks 4'ün MCF-7 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $2,21 \pm 0,65$ ;  $8,78 \pm 0,66$ ;  $13,09 \pm 0,32$  şeklindedir. MCF-7 hücre hattında en etkili kompleksler sırasıyla  $3 > 4 > 1 > 2$  şeklindedir. Cisplatin'in MCF-7 hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $31,10 \pm 1,09$ ;  $53,51 \pm 2,06$ ;  $67,48 \pm 6,57$  şeklindedir. Komplekslerin IC<sub>50</sub> değerlerinin Cisplatine kıyasla daha düşük olduğu gözlenmiştir. MCF7 hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin IC<sub>50</sub> dozu ve IC<sub>90</sub> dozu sırası ile  $107,27 \pm 13,52$ ;  $626,41 \pm 9,81$  µM olarak belirlenmiştir.

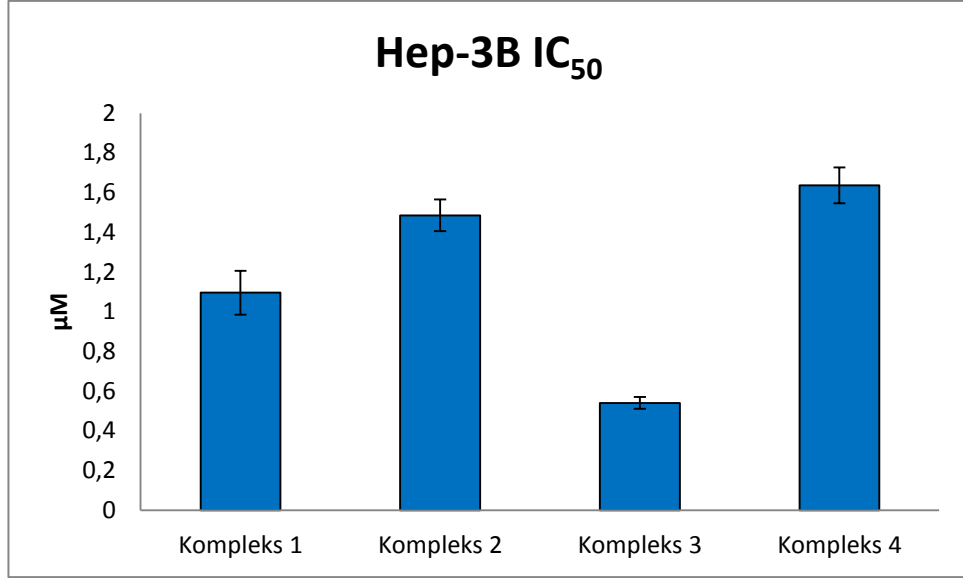


**Şekil 4.2.** MCF-7 hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4'ün IC<sub>50</sub> değerleri verilmiştir (µM).

#### 4.1.3. Hep-3B Hücre hattında elde edilen XTT Bulguları

Hep-3B hücre hattının kompleks 1, 2, 3 ve 4 ile 24 saat muamele edilmesi sonucu XTT testinden elde edilen IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> bulguları Çizelge 4.1'de ve şekil 4.3'de gösterilmiştir.

Kompleks 1'in Hep-3B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $1,10 \pm 0,11$ ;  $1,9 \pm 0,58$ ;  $5,92 \pm 0,22$  şeklindedir. Kompleks 2'nin Hep-3B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $1,49 \pm 0,08$ ;  $2,81 \pm 0,50$ ;  $5,65 \pm 0,17$  şeklindedir. Kompleks 3'ün Hep-3B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $0,55 \pm 0,03$ ;  $1,16 \pm 0,12$ ;  $2,39 \pm 0,26$  şeklindedir. Kompleks 4'ün Hep-3B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $1,63 \pm 0,09$ ;  $4,43 \pm 0,78$ ;  $6,99 \pm 0,46$  şeklindedir. Hep-3B hücre hattında en etkili kompleksler sırasıyla  $3 > 1 > 2 > 4$  şeklindedir. Cisplatin'in Hep-3B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $5,80 \pm 1,86$ ;  $11,66 \pm 0,27$ ;  $16,52 \pm 2,58$  şeklindedir. Komplekslerin IC<sub>50</sub> değerlerinin Cisplatine kıyasla daha düşük olduğu gözlenmiştir. Hep-3B hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin IC<sub>50</sub> dozu ve IC<sub>90</sub> dozu sırası ile  $52,81 \pm 2,62$ ;  $128,12 \pm 6,23$  µM olarak belirlenmiştir.

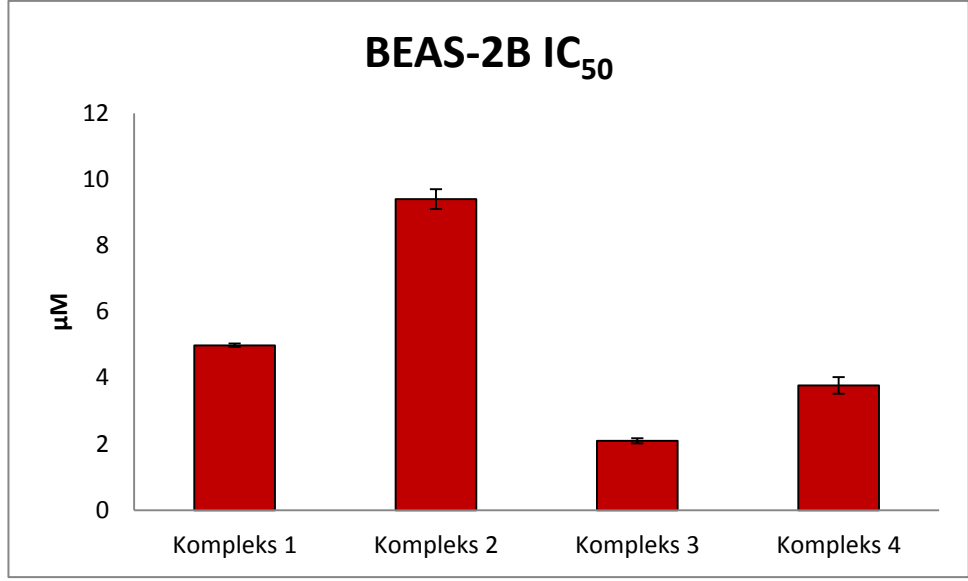


**Şekil 4.3.** Hep-3B hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4'ün IC<sub>50</sub> değerleri verilmiştir (µM).

#### 4.1.4. BEAS-2B Hücre hattında elde edilen XTT Bulguları

BEAS-2B hücre hattının kompleks 1, 2, 3 ve 4 ile 24 saat muamele edilmesi sonucu XTT testinden elde edilen IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> bulguları Çizelge 4.1'de ve şekil 4.4'de gösterilmiştir.

Kompleks 1'in Beas-2B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $4,98 \pm 0,05$ ;  $9,38 \pm 0,02$ ;  $11,97 \pm 0,31$  şeklindedir. Kompleks 2'nin BEAS-2B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $9,40 \pm 0,30$ ;  $12,38 \pm 0$ ;  $13,99 \pm 0,21$  şeklindedir. Kompleks 3'ün BEAS-2B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $2,14 \pm 0,08$ ;  $3,37 \pm 0,19$ ;  $4,28 \pm 0,13$  şeklindedir. Kompleks 4'ün BEAS-2B hücre hattındaki IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub> değerleri sırasıyla  $3,77 \pm 0,25$ ;  $5,44 \pm 0,17$ ;  $6,33 \pm 0,31$  şeklindedir. BEAS-2B hücre hattında en etkili kompleksler sırasıyla 3>4>1>2 şeklindedir. Komplekslerin IC<sub>50</sub> değerlerinin Cisplatine kıyasla daha düşük olduğu gözlenmiştir. BEAS-2B hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin IC<sub>50</sub> dozu ve IC<sub>90</sub> dozu sırası ile  $44,95 \pm 4,73$ ;  $89,23 \pm 3,21$  µM olarak belirlenmiştir.



**Şekil 4.4.** BEAS-2B hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4'ün IC<sub>50</sub> değerleri verilmiştir (µM).

**Çizelge 4.1.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarında IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> ve IC<sub>90</sub> dozları, ±; standart sapmayı ifade etmektedir2

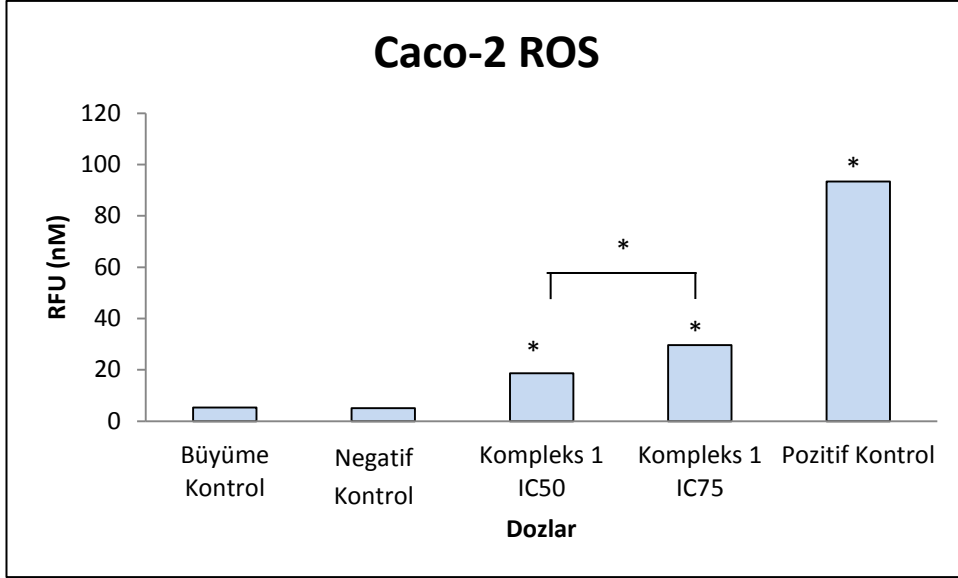
Hücre hattı	CaCo-2			MCF-7			Hep-3B			BEAS-2B		
Kompleksler	IC <sub>50</sub> (µM)	IC <sub>75</sub> (µM)	IC <sub>90</sub> (µM)	IC <sub>50</sub> (µM)	IC <sub>75</sub> (µM)	IC <sub>90</sub> (µM)	IC <sub>50</sub> (µM)	IC <sub>75</sub> (µM)	IC <sub>90</sub> (µM)	IC <sub>50</sub> (µM)	IC <sub>75</sub> (µM)	IC <sub>90</sub> (µM)
<b>Kompleks 1</b>	2,43 ± 0,13	4,73 ± 0,36	6,68 ± 0,43	2,67 ± 0,72	8,65 ± 0,46	12,2 ± 0,43	1,10 ± 0,11	1,90 ± 0,58	5,92 ± 0,22	4,98 ± 0,05	9,38 ± 0,02	11,97 ± 0,31
<b>Kompleks 2</b>	2,45 ± 0,16	4,30 ± 0,10	6,61 ± 0,04	3,90 ± 0,34	10,54 ± 0,50	16,71 ± 0,37	1,49 ± 0,08	2,81 ± 0,50	5,65 ± 0,17	9,40 ± 0,30	12,38 ± 0	13,99 ± 0,21
<b>Kompleks 3</b>	0,70 ± 0,02	1,42 ± 0,39	2,81 ± 0,52	0,95 ± 0,19	2,01 ± 0,08	2,78 ± 0,07	0,55 ± 0,03	1,16 ± 0,12	2,39 ± 0,26	2,14 ± 0,08	3,37 ± 0,19	4,28 ± 0,13
<b>Kompleks 4</b>	2,78 ± 0,30	9,76 ± 0,74	20,16 ± 0,34	2,21 ± 0,65	8,78 ± 0,66	13,09 ± 0,32	1,63 ± 0,09	4,43 ± 0,78	6,99 ± 0,46	3,77 ± 0,25	5,44 ± 0,17	6,33 ± 0,31
<b>Cisplatin</b>	22,70 ± 3,21	88,87 ± 1,66	126,6 ± 5,69	31,10 ± 1,09	53,51 ± 2,06	67,48 ± 6,57	5,80 ± 1,86	11,66 ± 0,27	16,52 ± 2,58	18,94 ± 1,23	57,63 ± 6,55	71,26 ± 4,05

## 4.2. ROS Bulguları

Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub> ve IC<sub>75</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (relatif floresan değeri; RFU, nM) Çizelge 4.2'de verilmiştir. Pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları sırası ile 116,18; 107,27; 52,81; 44,95 µM kullanılmıştır. ROS değerlerinin istatistiksel analizi Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

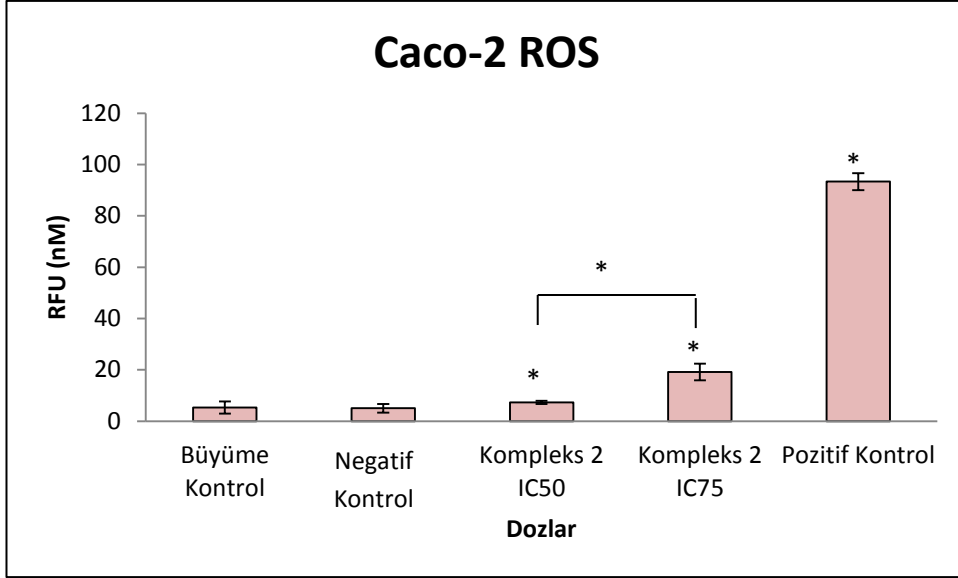
### 4.2.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen ROS Bulguları

Caco-2 hücrelerine ortalama ROS kontrol grubunda  $5,33 \pm 2,40$  ve negatif kontrol grubunda  $5,06 \pm 1,69$  olarak belirlenmiştir. Caco-2 hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,73 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla  $18,66 \pm 2,73$ ;  $29,64 \pm 2,15$  şeklindedir ve çizelge Çizelge 4.2'de ve şekil 4.5'de gösterilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,73 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,73 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (4,73 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,43 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.5.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,73 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

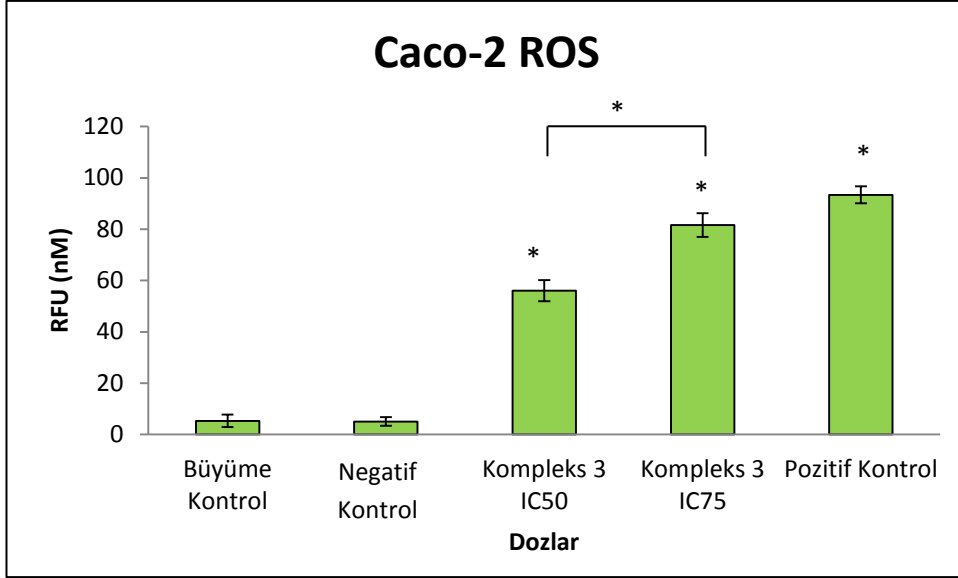
Caco-2 hücrelerine Kompleks 2'in IC<sub>50</sub> (2,45 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,30 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 7,30 ± 0,63; 19,16 ± 3,21 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.6'da Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (2,45 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,30 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>75</sub> (4,30 µM) dozunun ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05).



**Şekil 4.6.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (2,45 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,30 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili solvent kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

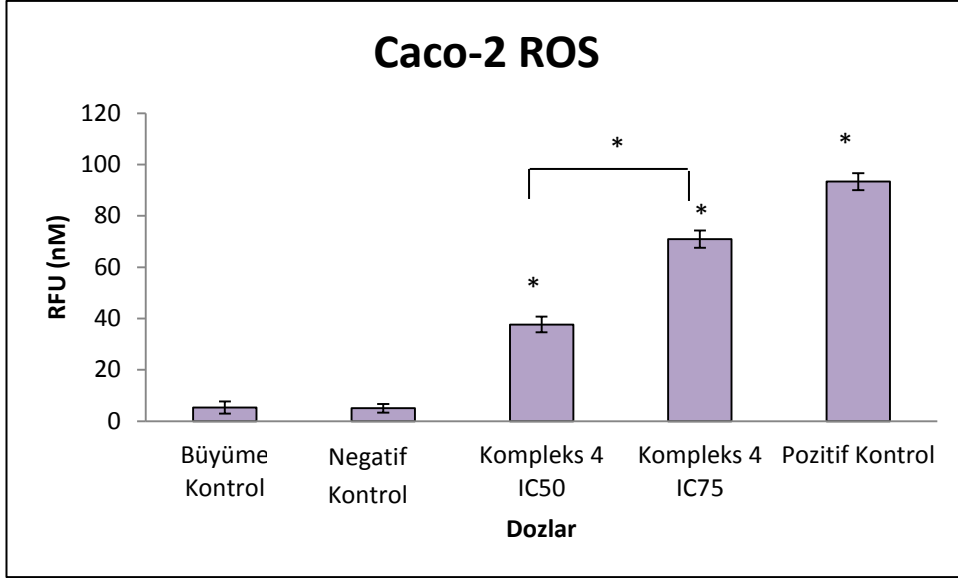
Caco-2 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,4 2 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 56,07 ± 4,08; 81,61 ± 4,65 şeklindedir ve çizelge 4.2'de şekil 4.7'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,4 2 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,4 2 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (1,4 2 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).





**Şekil 4.7.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,4 2 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

Caco-2 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,78 µM) ve IC<sub>75</sub> (9,76 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 37,70 ± 2,99; 70,89 ± 3,36 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.8'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,78 µM) ve IC<sub>75</sub> (9,76 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,78 µM) ve IC<sub>75</sub> (9,76 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (9,76 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).

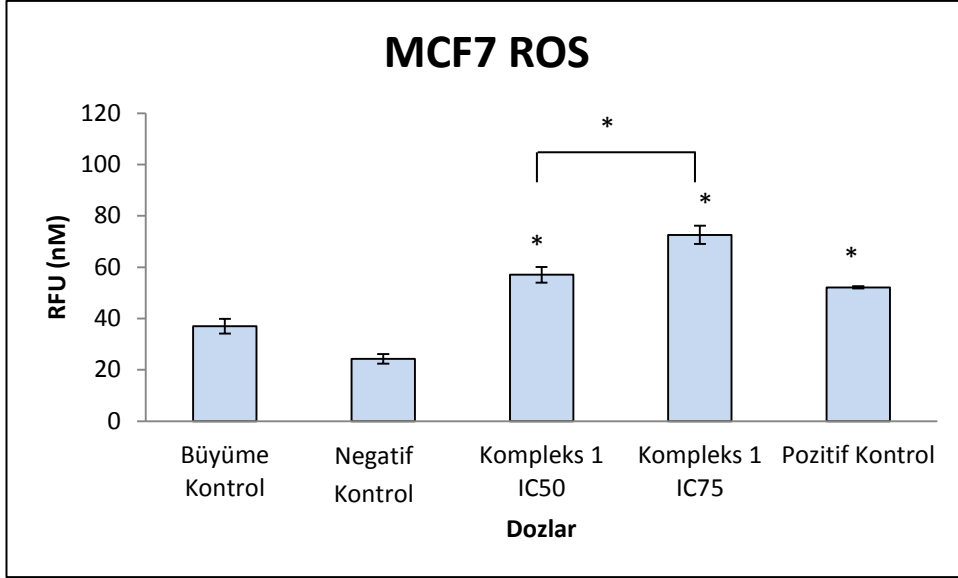


**Şekil 4.8.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,78 µM) ve IC<sub>75</sub> (9,76 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

Pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin Caco-2 hücre hattındaki IC<sub>50</sub> (116,18 µM) dozu kullanılmıştır. Caco-2 hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muamelesi sonucu ROS değeri 93.36 ± 3.30 olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p ≤ 0,05).

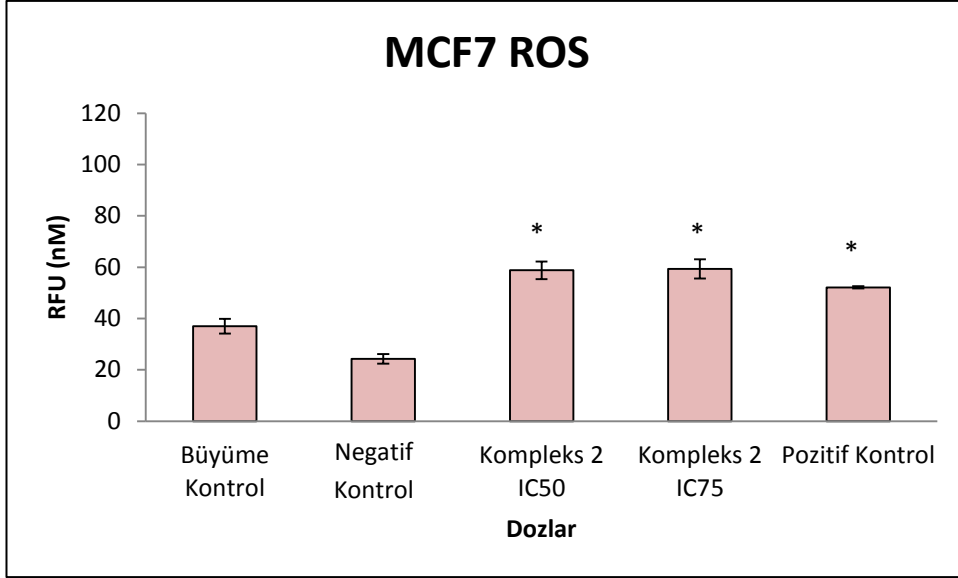
#### 4.2.2. MCF7 hücre hattında elde edilen ROS Bulguları

MCF7 hücrelerine ortalama ROS kontrol grubunda 37,04 ± 2,90 ve negatif kontrol grubunda 24,25 ± 1,88 olarak belirlenmiştir. MCF7 hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,67 µM) ve IC<sub>75</sub> (8,65 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 57,05 ± 3,08; 72,62 ± 3,60 şeklindedir çizelge 4.2'de ve şekil 4.9'da verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,67 µM) ve IC<sub>75</sub> (8,65 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri solvent kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,67 µM) ve IC<sub>75</sub> (8,65 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (8,65 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p ≤ 0,05).



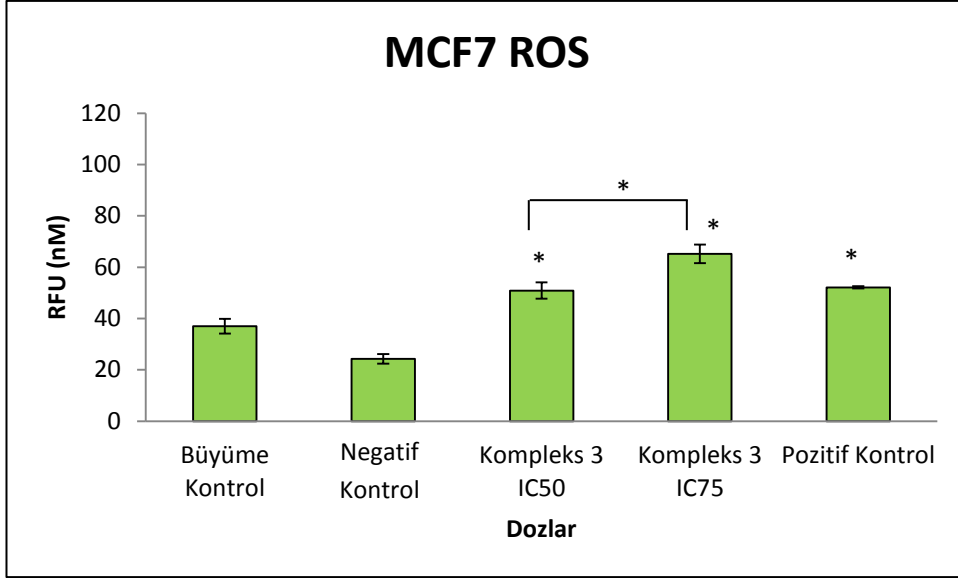
**Şekil 4.9.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,67 µM) ve IC<sub>75</sub> (8,65 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili solvent kontrol ile karşılaştırılmıştır<sup>\*</sup>; p≤ 0,05

MCF7 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (3,90 µM) ve IC<sub>75</sub> (10,54 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 58,79 ± 3,45; 59,33 ± 3,69 şeklindedir çizelge 4.2'de ve şekil 4.10'da verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (3,90 µM) ve IC<sub>75</sub> (10,54 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (3,90 µM) ve IC<sub>75</sub> (10,54 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (10,54 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).



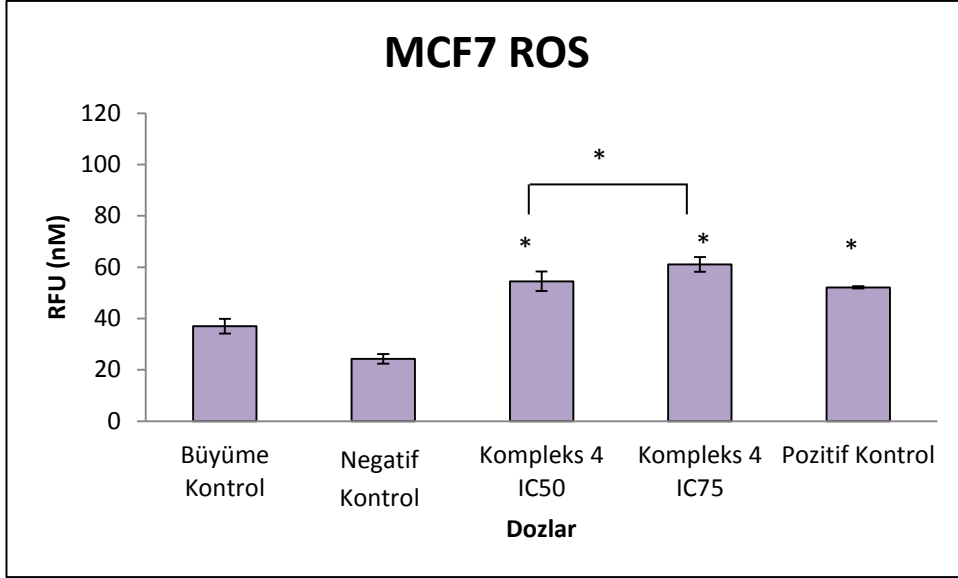
**Şekil 4.10.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (3,90 µM) ve IC<sub>75</sub> (10,54 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili solvent kontrol ile karşılaştırılmıştır\* ; p≤ 0,05

MCF7 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,95 µM) ve IC<sub>75</sub> (2,01 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 50,90 ± 3,18; 65,24 ± 3,63 şeklindedir çizelge 4.2'de ve şekil 4.11'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,95 µM) ve IC<sub>75</sub> (2,01 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (0,95 µM) ve IC<sub>75</sub> (2,01 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (2,01 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).



**Şekil 4.11.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,95 µM) ve IC<sub>75</sub> (2,01 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤0,05

MCF7 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>75</sub> (8,78 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 54,53 ± 3,84; 61,11 ± 2,87 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.12'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>75</sub> (8,78 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>75</sub> (8,78 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (8,78 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).

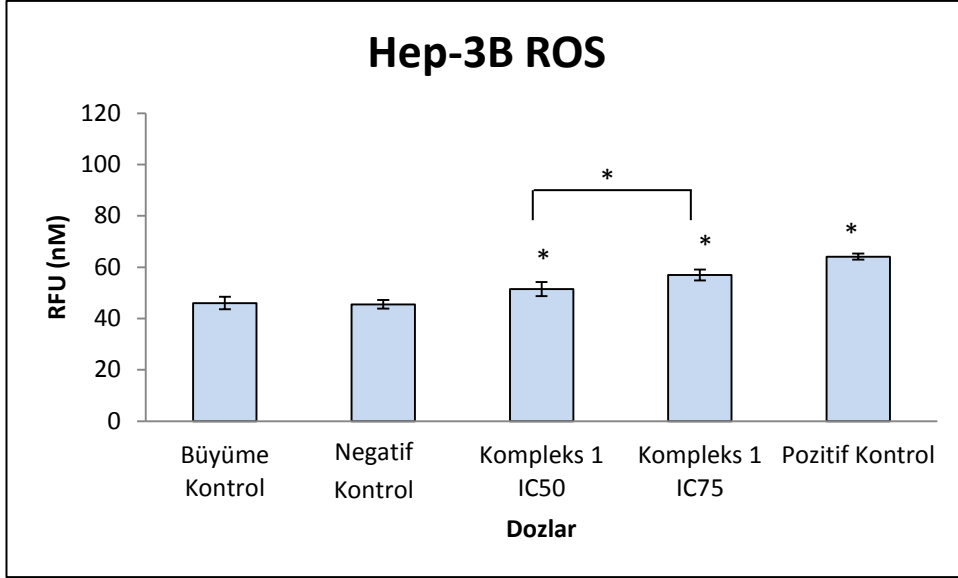


**Şekil 4.12.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>75</sub> (8,78 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤0,05

Pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin MCF7 hücre hattındaki IC<sub>50</sub> (107,27 µM) dozu kullanılmıştır. MCF7 hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muamelesi sonucu ROS değeri 52,15 ± 0,45 olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05).

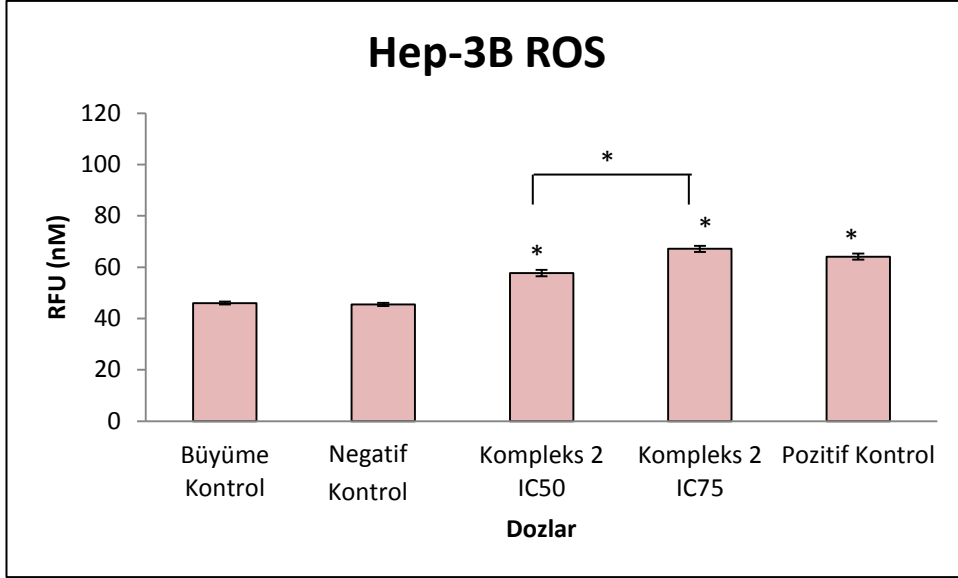
#### 4.2.3. Hep-3B hücre hattında elde edilen ROS Bulguları

Hep-3B hücrelerine ortalama ROS kontrol grubunda 37,04 ± 2,90 ve negatif kontrol grubunda 46,05 ± 0,52 ve negatif kontrol grubunda 45,51 ± 0,64 olarak belirlenmiştir. Hep-3B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,90 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 51,47 ± 0,94; 56,96 ± 0,98 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.13'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,90 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri solvent kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,90 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (1,90 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).



**Şekil 4.13.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,90 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır<sup>\*</sup>; p≤0,05

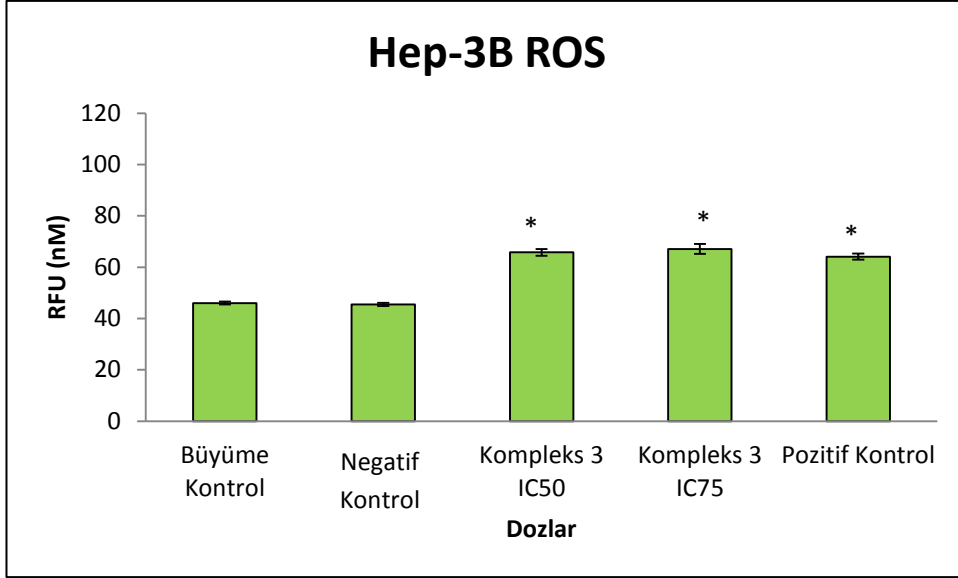
Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>75</sub> (2,81 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 57,75 ± 1,24; 67,15 ± 1,22 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.14'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>75</sub> (2,81 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>75</sub> (2,81 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (2,81 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).



**Şekil 4.14.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>75</sub> (2,81 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır\* ; p ≤ 0,05

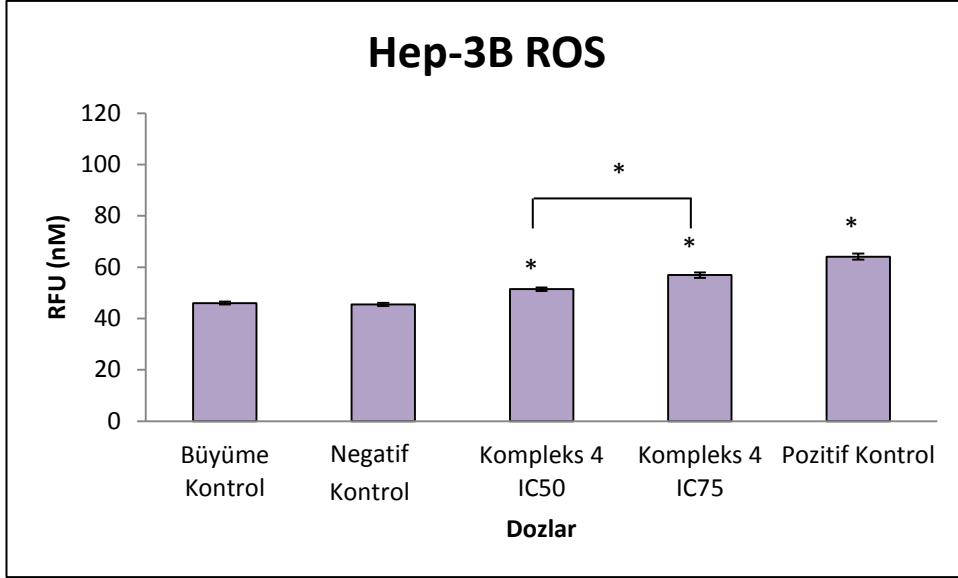
Hep-3B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,16 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 65,77 ± 1,28; 67,13 ± 1,95 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.15'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,16 µM) gruplarının ortalama ROS değerlerine negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,16 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ROS değerini arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (P > 0,05).





**Şekil 4.15.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>75</sub> (1,16 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤0,05

Hep-3B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (1,63 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,43 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 51,47 ± 0,67; 56,96 ± 1,05 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.16'da verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (1,63 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,43 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (1,63 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,43 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (4,43 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).

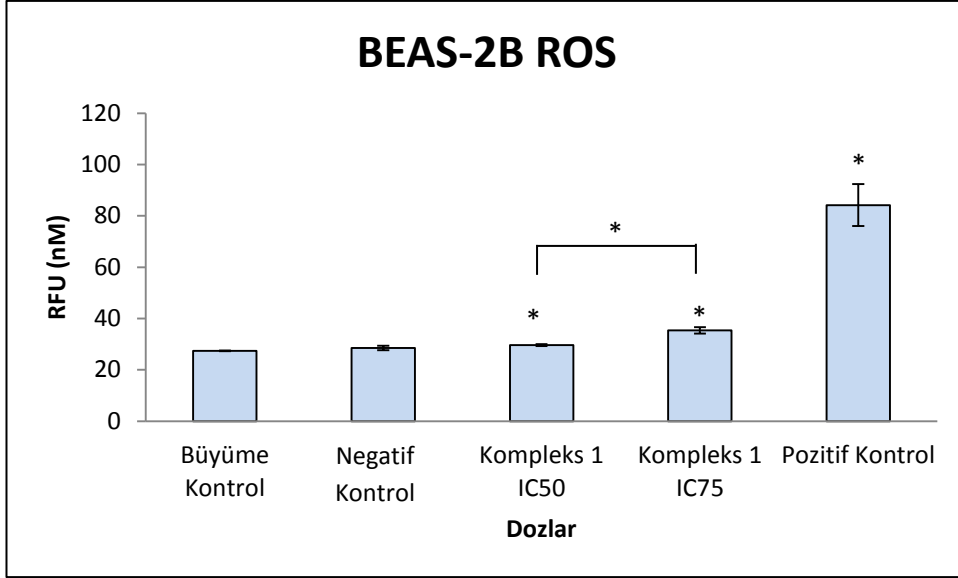


**Şekil 4.16.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (1,63 µM) ve IC<sub>75</sub> (4,43 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

Pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin Hep-3B hücre hattındaki IC<sub>50</sub> (52,81 µM) dozu kullanılmıştır. Hep-3B hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muamelesi sonucu ROS değeri 64,13 ± 1,20 olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p ≤ 0,05).

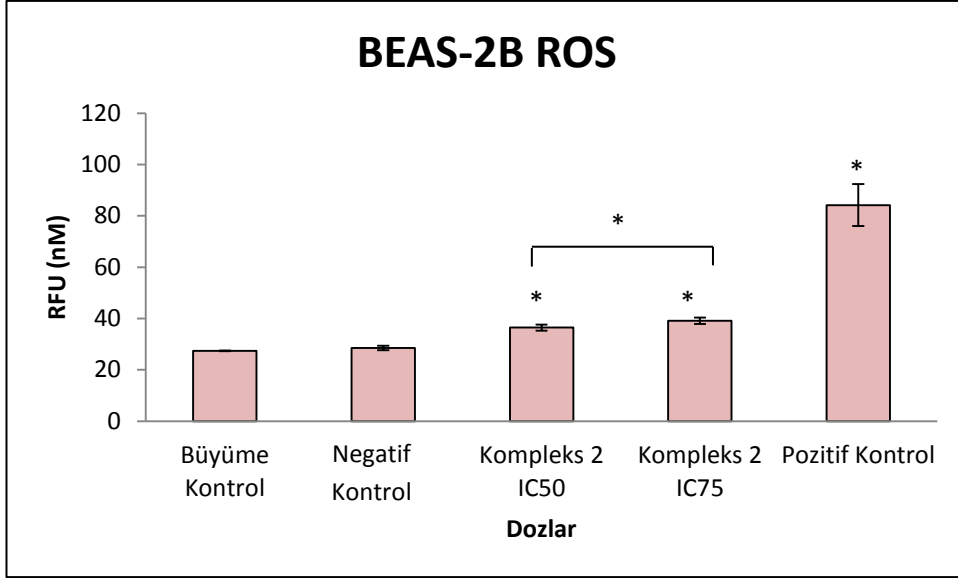
#### 4.2.4. BEAS-2B hücre hattında elde edilen ROS Bulguları

BEAS-2B hücrelerine ortalama ROS kontrol grubunda 27,41 ± 0,07 ve negatif kontrol grubunda 28,49 ± 0,87 şeklindedir. BEAS-2B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (4,98 µM) ve IC<sub>75</sub> (9,38 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 29,66 ± 0,37; 35,41 ± 1,26 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.17'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (4,98 µM) ve IC<sub>75</sub> (9,38 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (4,98 µM) ve IC<sub>75</sub> (9,38 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (9,38 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p ≤ 0,05).



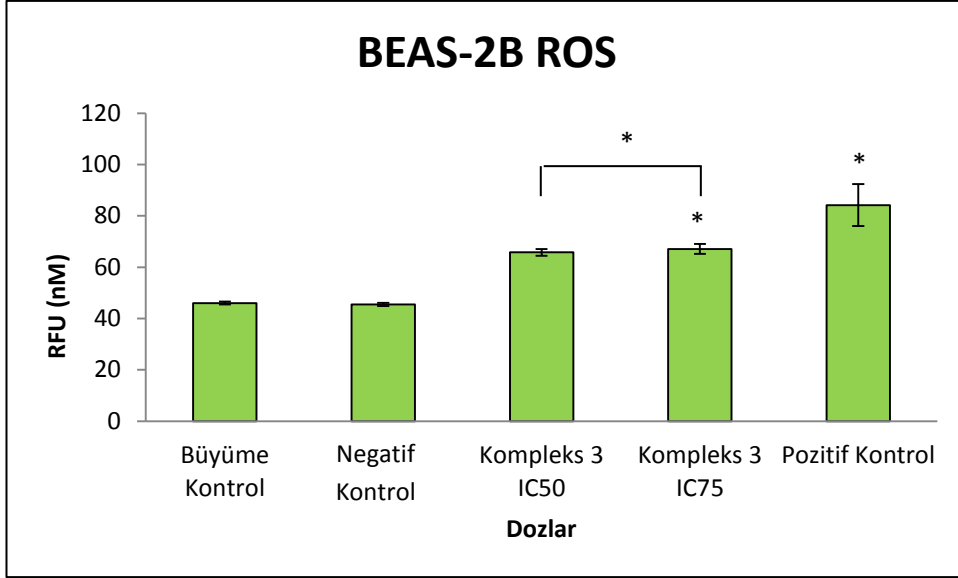
**Şekil 4.17.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (4,98 µM) ve IC<sub>75</sub> (9,38 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır<sup>\*</sup>; p≤ 0,05

Beas-2B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (9,40 µM) ve IC<sub>75</sub> (12,38 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 36,46 ± 1,13; 39,14 ± 1,26 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.18'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (9,40 µM) ve IC<sub>75</sub> (12,38 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (9,40 µM) ve IC<sub>75</sub> (12,38 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (12,38 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).



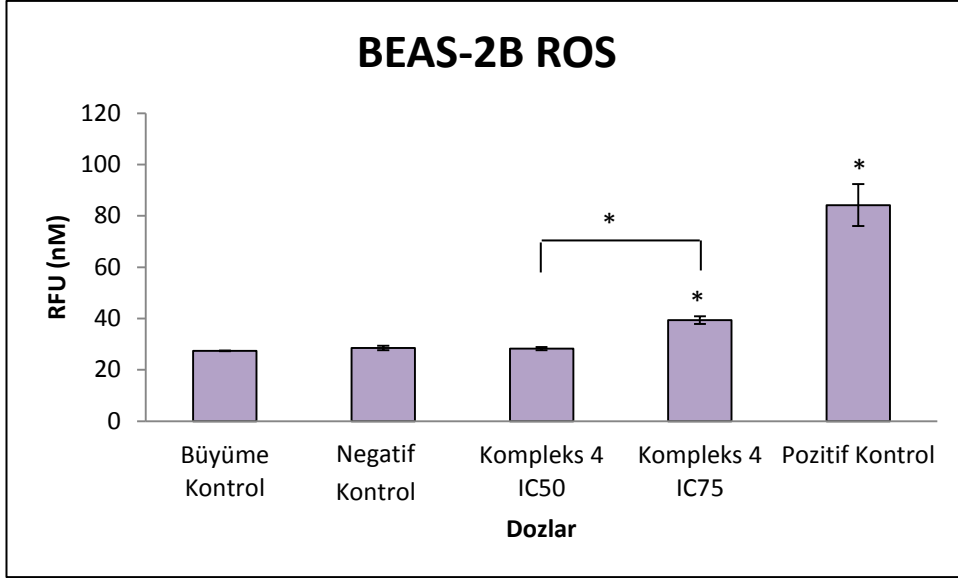
**Şekil 4.18.** Kompleks 2'in IC<sub>50</sub> (9,40 µM) ve IC<sub>75</sub> (12,38 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır<sup>\*</sup>; p≤ 0,05

Beas-2B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>75</sub> (3,37µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 28,15 ± 0,63; 34,15 ± 0,98 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.19'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>75</sub> (3,37µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub> dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) IC<sub>75</sub> dozunun istatistiki olarak anlamlı bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>75</sub> (3,37µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (3,37µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).



**Şekil 4.19.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>75</sub> (3,37µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

Beas-2B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>75</sub> (5,44 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama ROS değerleri sırasıyla 28,31 ± 0,61; 39,36 ± 1,50 şeklindedir ve çizelge 4.2'de ve şekil 4.20'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>75</sub> (5,44 µM) gruplarının ortalama ROS değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) IC<sub>75</sub> (5,44 µM) dozunun istatistiki olarak anlamlı bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>75</sub> (5,44 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>75</sub> (5,44 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozuna kıyasla ROS değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).



**Şekil 4.20.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>75</sub> (5,44 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (RFU, nM), ilgili solvent kontrol ile karşılaştırılmıştır<sup>\*</sup>; p ≤ 0,05

Pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin BEAS-2B hücre hattındaki IC<sub>50</sub> (89,23 µM) dozu kullanılmıştır. BEAS-2B hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muamelesi sonucu ROS değeri 84,21 ± 8,18 olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistik olarak anlamlıdır (p ≤ 0,05).

**Çizelge 4.2.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub> ve IC<sub>75</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 2 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerleri (nM), ±; standart sapmayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, ilgili IC<sub>50</sub> dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05

Hücre Hattı	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Büyüme Kontrol</b>	5,33 ± 2,40	37,04 ± 2,90	46,05 ± 0,52	27,41 ± 0,07
<b>Negatif Kontrol</b>	5,06 ± 1,69	24,25 ± 1,88	45,51 ± 0,64	28,49 ± 0,87
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	18,66 ± 2,73a	57,05 ± 3,08a	51,47 ± 0,94a	29,66 ± 0,37a
<b>Kompleks 1 IC<sub>75</sub></b> (sırası ile 4,73; 8,65; 1,90; 9,38 µM)	29,64 ± 2,15 <sup>ad</sup>	72,62 ± 3,60 <sup>ad</sup>	56,96 ± 0,98 <sup>ad</sup>	35,41 ± 1,26 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	7,30 ± 0,63	58,79 ± 3,45a	57,75 ± 1,24a	36,46 ± 1,13a
<b>Kompleks 2 IC<sub>75</sub></b> (sırası ile 4,30; 10,54; 2,81; 12,38 µM)	19,16 ± 3,21 <sup>ad</sup>	59,33 ± 3,69 <sup>a</sup>	67,15 ± 1,22 <sup>ad</sup>	39,14 ± 1,26 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	56,07 ± 4,08a	50,90 ± 3,18a	65,77 ± 1,28a	28,15 ± 0,63
<b>Kompleks 3 IC<sub>75</sub></b> (sırası ile 1,4 2; 2,01; 1,16; 3,37 µM)	81,61 ± 4,65 <sup>ad</sup>	65,24 ± 3,63 <sup>ad</sup>	67,13 ± 1,95 <sup>a</sup>	34,15 ± 0,98 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77µM)	37,70 ± 2,99a	54,53 ± 3,84a	51,47 ± 0,67a	28,31 ± 0,61
<b>Kompleks 4 IC<sub>75</sub></b> (sırası ile 9,76; 8,78; 4,43; 5,44 µM)	70,89 ± 3,36 <sup>ad</sup>	61,11 ± 2,87 <sup>ad</sup>	56,96 ± 1,05 <sup>ad</sup>	39,36 ± 1,50 <sup>ad</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> (sırası ile 116,18; 107,27; 52,81; 44,95 µM)	93.36 ± 3.30a	52.15 ± 0.45a	64.13 ± 1.20a	84.21 ± 8.18a

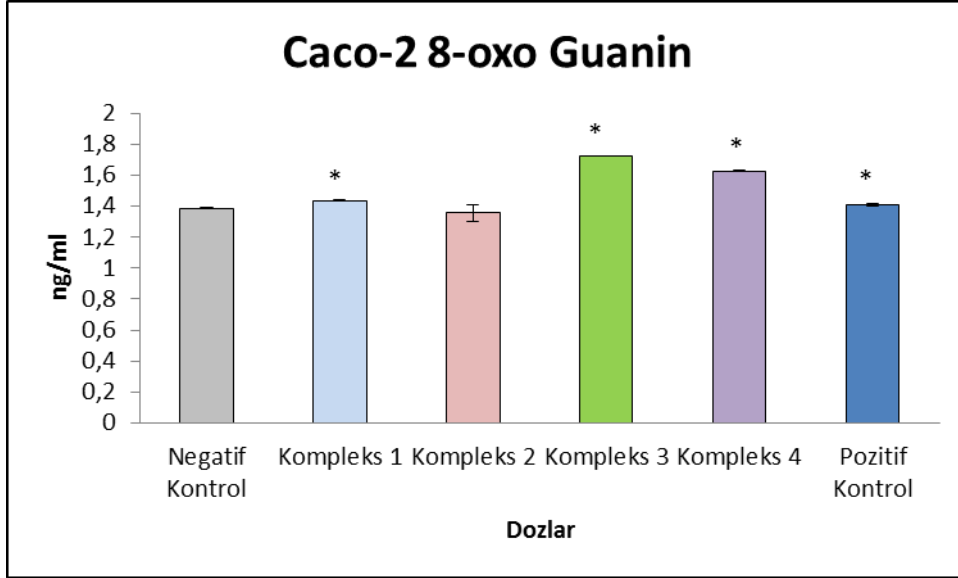
### **4. 3. 8-oxo Guanin Bulguları**

Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve Beas-2B hücre hatlarına 4 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen 8-oxo Guanin değerleri (ng/ml) Çizelge 4.3'de verilmiştir. ROS değerlerinin istatistiksel analizi Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **4.3.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen 8-oxo Guanin Bulguları**

Caco-2 hücrelerinde ortalama 8-oxo Guanin değeri negatif kontrol grubunda  $1.39 \pm 0.005$  olarak belirlenmiştir. Caco-2 hücrelerine Kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) IC<sub>50</sub> (2,43, 2,45, 0,70, 2,78; 116,18 µM) dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri sırası ile  $1,44 \pm 0,002$ ;  $1,36 \pm 0,053$ ;  $1,73 \pm 0,00$ ;  $1,63 \pm 0,005$ ;  $1,41 \pm 0,008$  şeklindedir ve çizelge 4.3'de ve şekil 4.21'de verilmiştir. Kompleks 1, 3, 4 ve pozitif kontrolün IC<sub>50</sub> (2,43, 0,70, 2,78; 116,8 µM) dozlarının ortalama 8-oxo Guanin değerlerinde neden olduğu artış negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ). Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (2,45µM) dozu negatif kontrol ile kıyaslandığında 8-oxo Guanin değerlerinde anlamlı bir artışa neden olmamıştır ( $p > 0,05$ ).

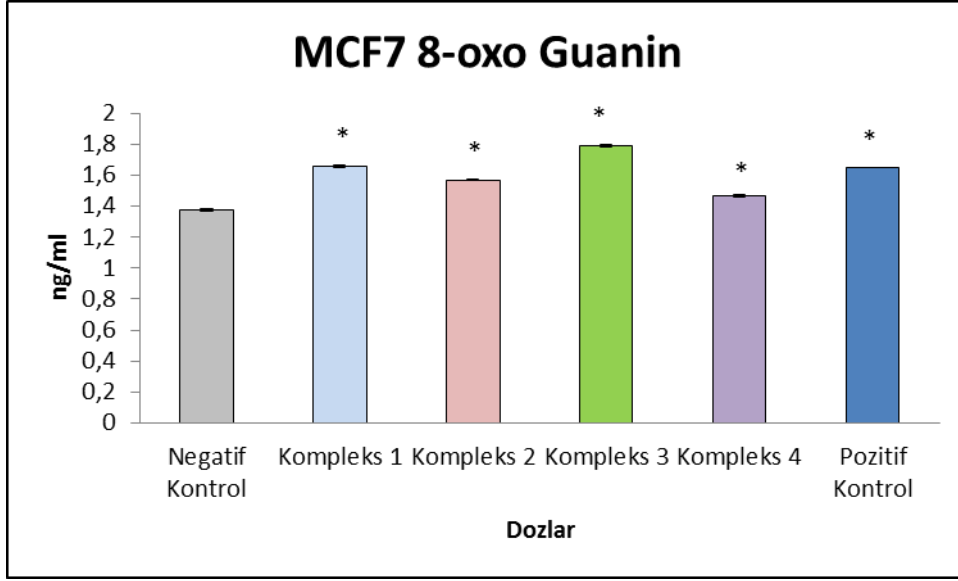




**Şekil 4.21.** Caco-2 hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün ( $H_2O_2$ )  $IC_{50}$  (2,43; 2,45; 0,70; 2,78; 116,8) dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri. Muameleler negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

#### 4.3.2. MCF7 hücre hattında elde edilen 8-oxo Guanin Bulguları

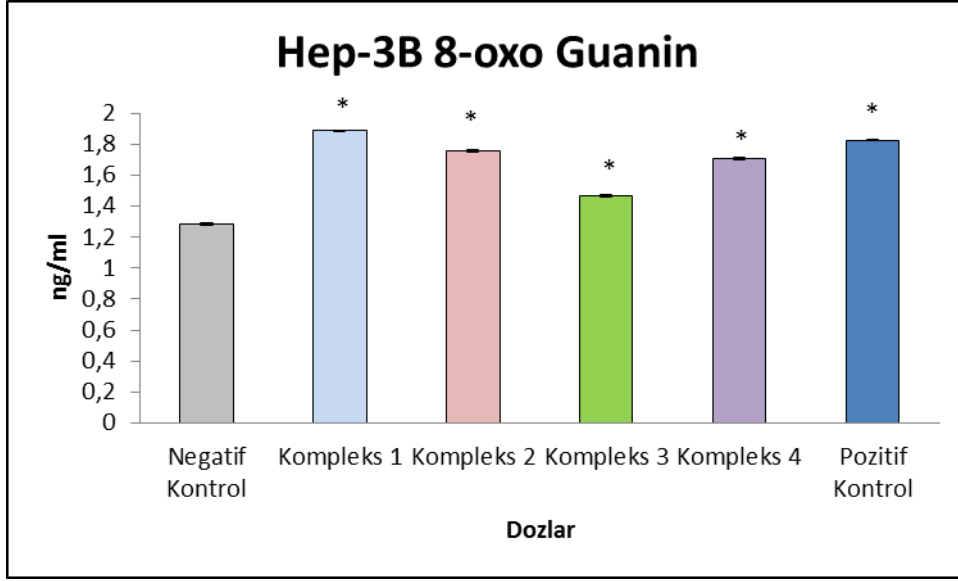
MCF7 hücrelerinde ortalama 8-oxo Guanin değeri negatif kontrol grubunda  $1,38 \pm 0,008$  olarak belirlenmiştir. MCF7 hücrelerine Kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün ( $H_2O_2$ )  $IC_{50}$  (2,67; 3,90; 0,95; 2,21; 107,27  $\mu M$ ) dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri sırası ile  $1,66 \pm 0,005$ ;  $1,57 \pm 0,005$ ;  $1,79 \pm 0,008$ ;  $1,47 \pm 0,005$ ;  $1,65 \pm 0,002$  şeklindedir ve çizelge 4.3'de ve şekil 4.22'de verilmiştir. Komplekslerin ve pozitif kontrolün  $IC_{50}$  (2,67; 3,90; 0,95; 2,21; 107,27  $\mu M$ ) dozlarının ortalama 8-oxo Guanin değerlerinde neden olduğu artış negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.22.** MCF7 hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC<sub>50</sub> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (2,67; 3,90; 0,95; 2,21; 107,27 µM) dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri. Muameleler negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤0,05

#### 4.3.3. Hep-3B hücre hattında elde edilen 8-oxo Guanin Bulguları

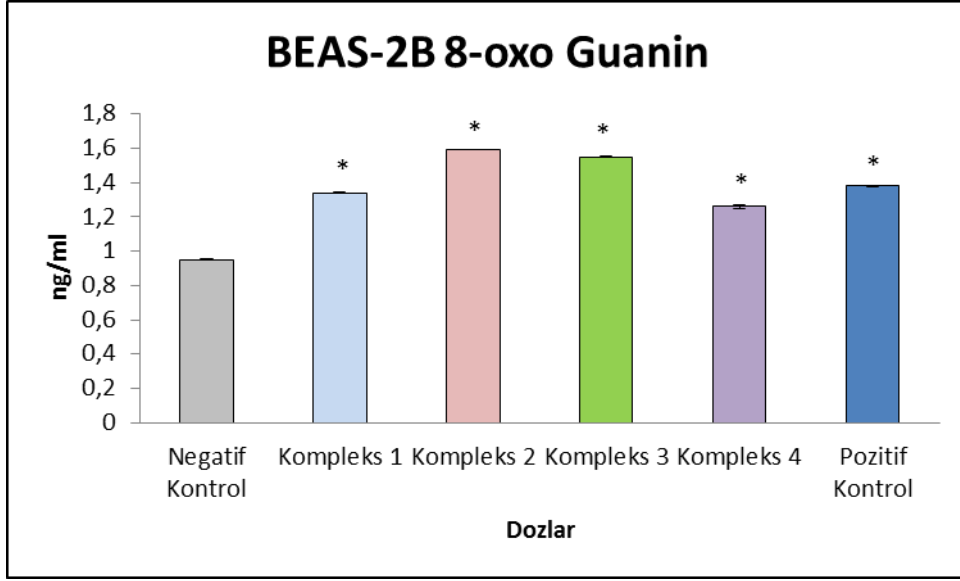
Hep-3B hücrelerinde ortalama 8-oxo Guanin değeri negatif kontrol grubunda  $1,29 \pm 0,008$  olarak belirlenmiştir. Hep-3B hücrelerinde Kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC<sub>50</sub> (1,10; 1,49; 0,55; 1,63; 52,81 µM) dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri sırası ile  $1,89 \pm 0,005$ ;  $1,76 \pm 0,008$ ;  $1,47 \pm 0,005$ ;  $1,71 \pm 0,005$ ;  $1,83 \pm 0,005$  şeklindedir ve çizelge 4.3'de şekil 4.23'de verilmiştir. Komplekslerin ve pozitif kontrolün IC<sub>50</sub> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (1,10; 1,49; 0,55; 1,63; 52,81 µM) dozlarının ortalama 8-oxo Guanin değerlerinde neden olduğu artış negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05).



**Şekil 4.23.** Hep-3B hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC<sub>50</sub> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (1,10; 1,49; 0,55; 1,63; 52,81 µM) dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri. Muameleler negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤0,05

#### 4.3.4. BEAS-2B hücre hattında elde edilen 8-oxo Guanin Bulguları

BEAS-2B hücrelerinde ortalama 8-oxo Guanin değeri negatif kontrol grubunda  $0,95 \pm 0,005$  olarak belirlenmiştir. BEAS-2B hücrelerinde Kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC<sub>50</sub> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (4,98; 9,40; 2,14; 3,77; 44,95 µM) dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri sırası ile  $0,95 \pm 0,005$ ;  $1,34 \pm 0,005$ ;  $1,59 \pm 0,002$ ;  $1,55 \pm 0,002$ ;  $1,26 \pm 0,011$ ;  $1,38 \pm 0,005$  şeklindedir ve çizelge 4.3'de şekil 4.24'de verilmiştir. Komplekslerin ve pozitif kontrolün IC<sub>50</sub> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (4,98; 9,40; 2,14; 3,77; 44,95 µM) dozlarının ortalama 8-oxo Guanin değerlerinde neden olduğu artış negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05).



**Şekil 4.24.** BEAS-2B hücre hattında kompleks 1, 2, 3,4 ve pozitif kontrolün IC<sub>50</sub> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (4,98; 9,40; 2,14; 3,77; 44,95 µM) dozu ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri. Muameleler negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \* ; p≤ 0,05

**Çizelge 4.3.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarında IC<sub>50</sub> dozları ile 4 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama 8-oxo Guanin değerleri, ±; standart sapmayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır<sup>a</sup>; p≤ 0,05

Hücre hattı	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Negatif Kontrol</b>	1,39 ± 0,005	1,38 ± 0,008	1,29 ± 0,008	0,95 ± 0,005
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	1,44 ± 0,002 <sup>a</sup>	1,66 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,89 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,34 ± 0,005 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	1,36 ± 0,053	1,57 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,76 ± 0,008 <sup>a</sup>	1,59 ± 0,002 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	1,73 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,008 <sup>a</sup>	1,47 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,55 ± 0,002 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77µM)	1,63 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,47 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,71 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,26 ± 0,011 <sup>a</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> (sırası ile 116,18; 107,27; 52,81; 44,95 µM)	1,41 ± 0,008 <sup>a</sup>	1,65± 0,002 <sup>a</sup>	1,83 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,38 ± 0,005 <sup>a</sup>

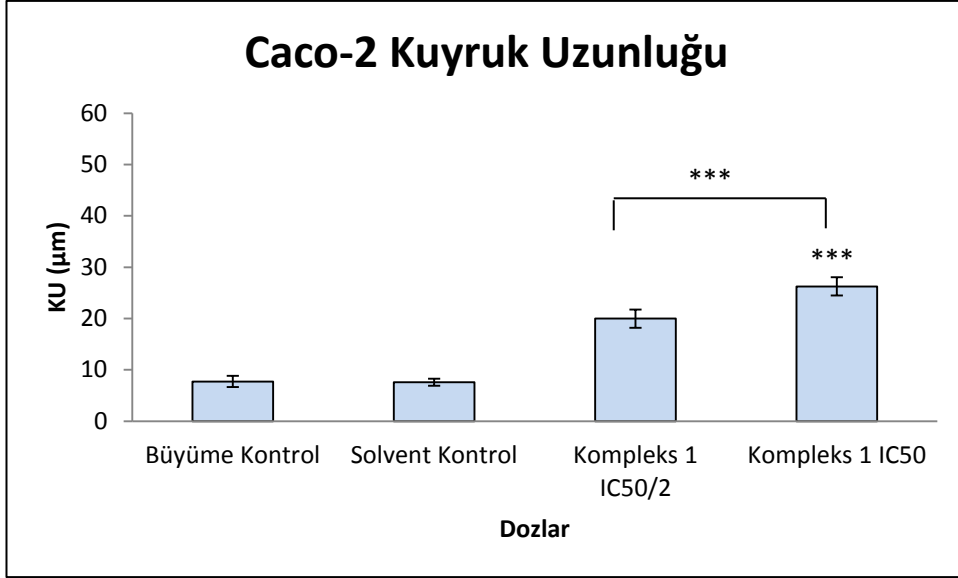
#### **4.4. Comet Testi Bulguları**

##### **4.4.1. Kuyruk Uzunluğu Bulguları**

Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün  $IC_{50}/2$  ve  $IC_{50}$  dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen kuyruk uzunluğu değerleri ( $\mu m$ ) Çizelge 4.4'de verilmiştir. K.U. değerlerinin istatistiksel analizi veriler normal dağılım göstermediği için Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

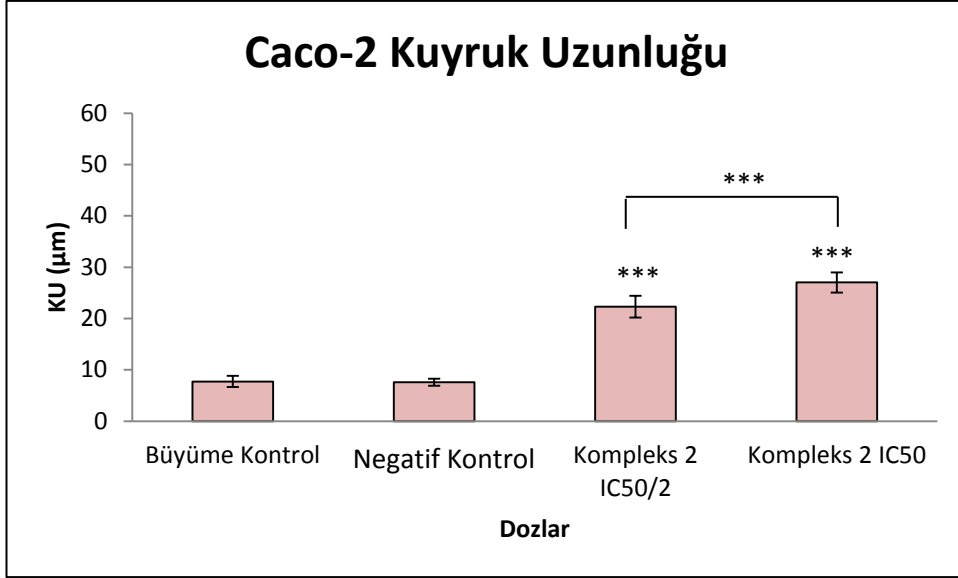
##### **4.4.1.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen komet kuyruk uzunluğu bulguları**

Caco-2 hücrelerine ortalama K.U. kontrol grubunda  $7,73 \pm 1,08$  ve negatif kontrol grubunda  $7,57 \pm 0,67$  olarak belirlenmiştir. Caco-2 hücrelerine Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla  $19,97 \pm 1,77$ ;  $26,26 \pm 1,78$  şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.25'de verilmiştir. Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında  $IC_{50}/2$  dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken ( $p > 0,05$ ) ve  $IC_{50}$  dozunun K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,001$ ).



**Şekil 4.25.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,21 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,43 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

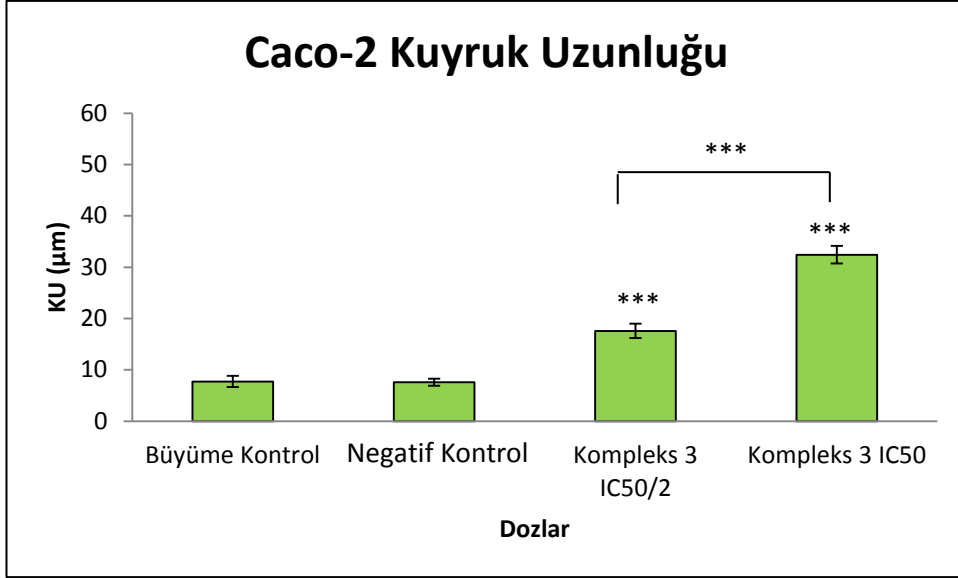
Caco-2 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 22,32 ± 2,11; 27,02 ± 1,98 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.26'da verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.26.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> dozları ile Caco-2 (2,45 µM) hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

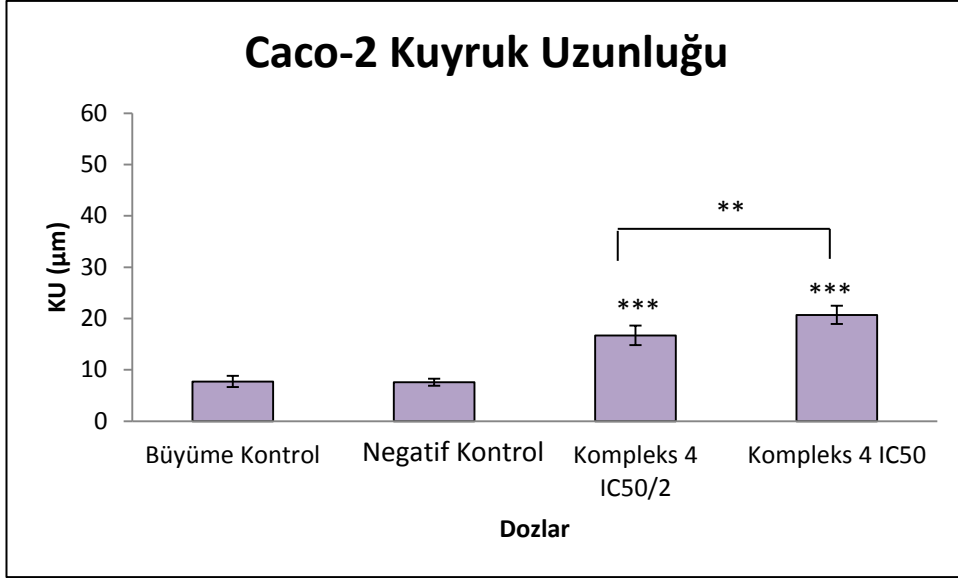
Caco-2 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 17,58 ± 1,39; 32,44 ± 1,74 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.27'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).





**Şekil 4.27.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

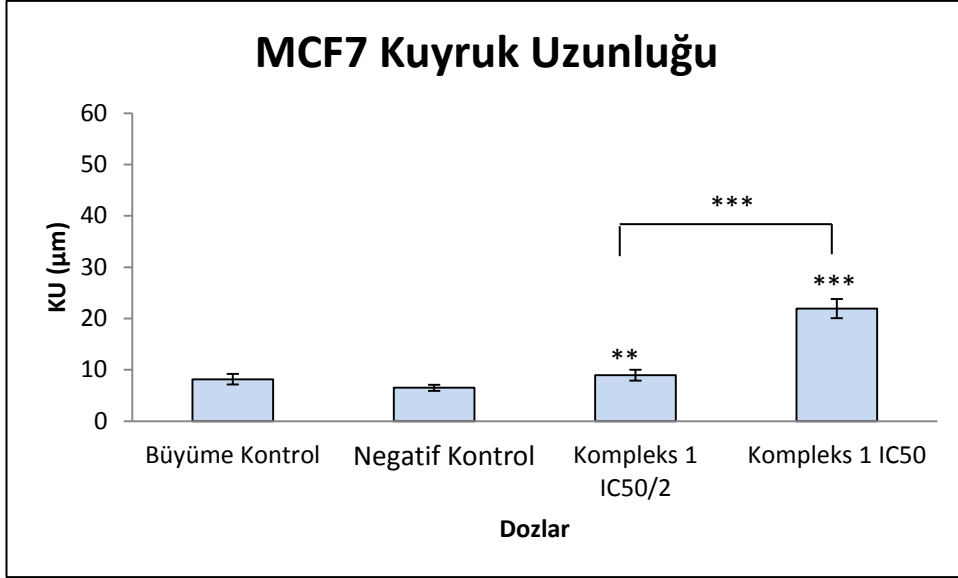
Caco-2 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 16,72 ± 1,89; 20,71 ± 1,77 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.28'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,01).



**Şekil 4.28.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

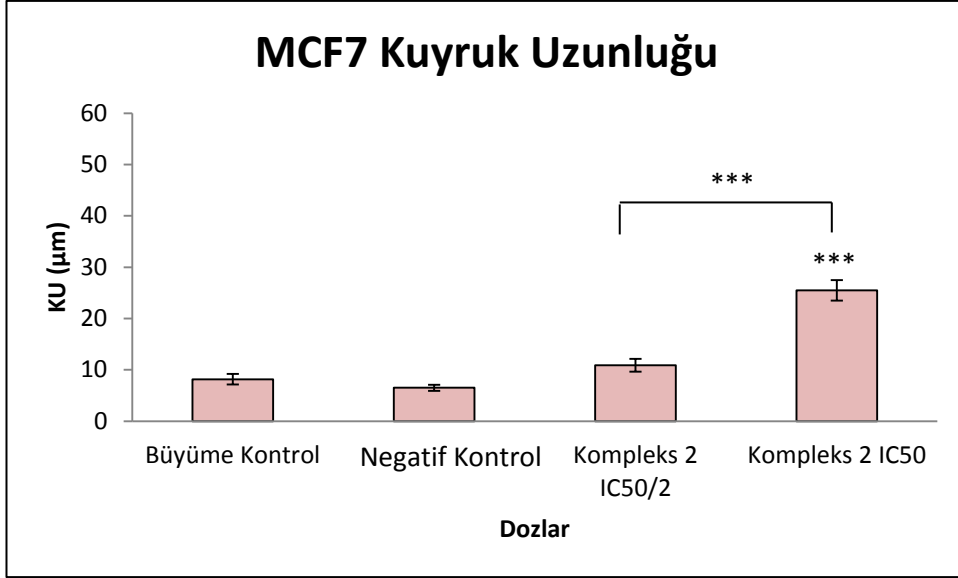
#### 4.4.1.2. MCF7 hücre hattında elde edilen komet kuyruk uzunluğu bulguları

MCF7 hücrelerine ortalama K.U. kontrol grubunda  $8,17 \pm 1,03$  ve negatif kontrol grubunda  $6,50 \pm 0,60$  şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla  $8,96 \pm 1,06$ ;  $21,94 \pm 1,85$  şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.29'da verilmiştir. Kompleks 1'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,01; p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,01).



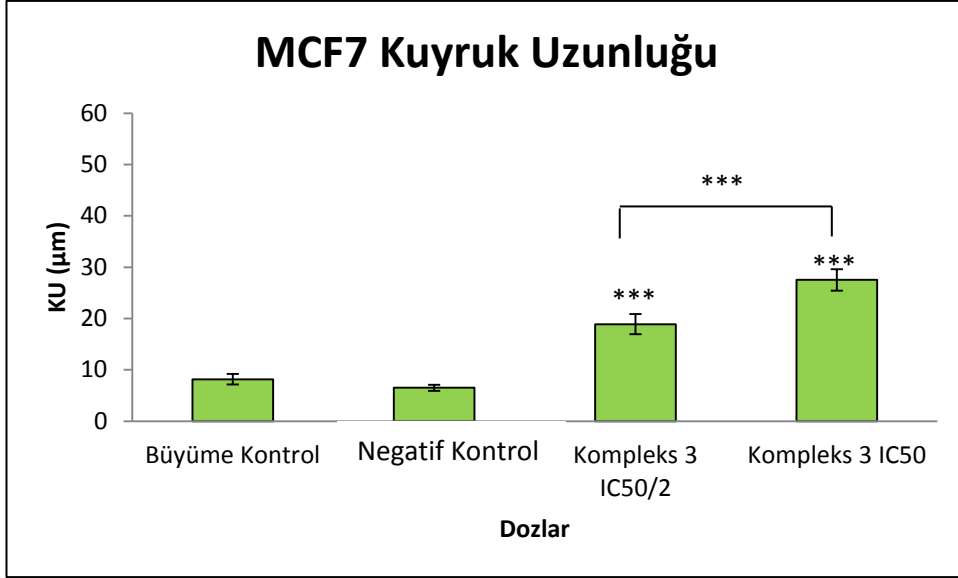
**Şekil 4.29.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 μM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 μM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (μm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

MCF7 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 μM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 μM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 10,90 ± 1,25; 25,50 ± 1,98 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.30'da verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 μM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 μM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,95 μM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>50</sub> (3,90 μM) dozunun K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,95 μM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 μM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (3,90 μM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,95 μM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



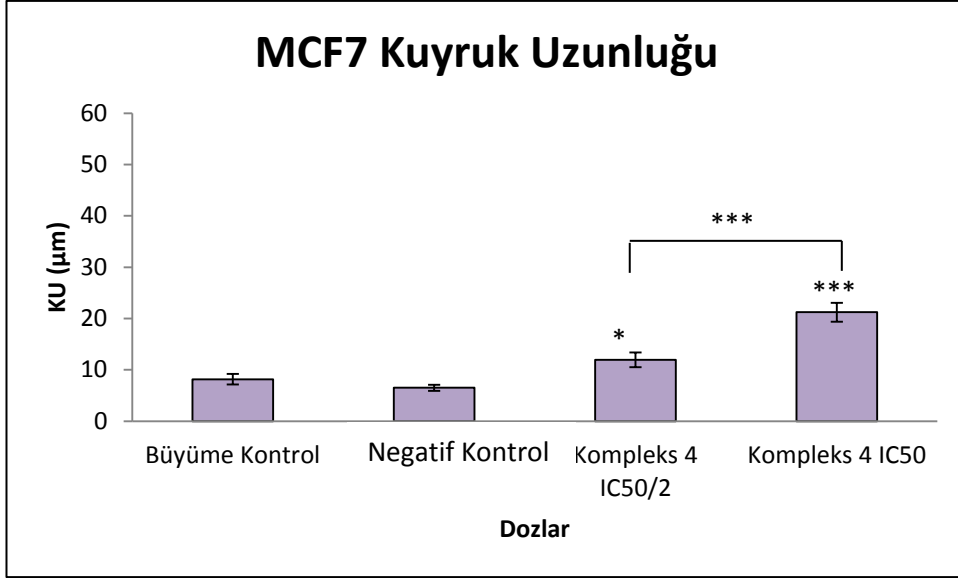
**Şekil 4.30.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

MCF7 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 18,89 ± 1,96; 27,52 ± 2,06 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.31'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.31.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

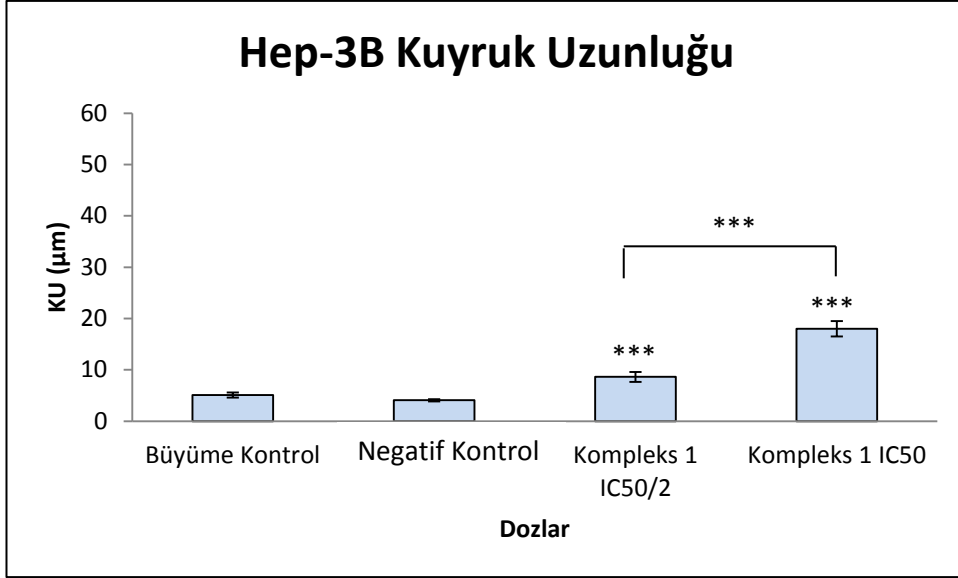
MCF7 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 11,93 ± 1,43; 21,22 ± 1,83 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.32'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05; p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.32.** Kompleks 4'ün IC<sub>50/2</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

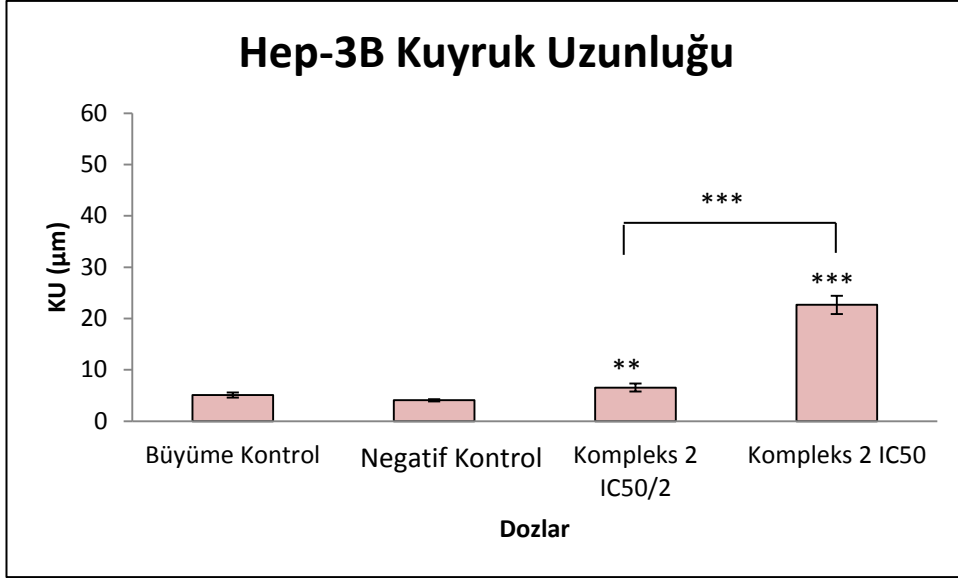
#### 4.4.1.3. Hep-3B hücre hattında elde edilen komet kuyruk uzunluğu bulguları

Hep-3B hücrelerine ortalama K.U. kontrol grubunda  $5,12 \pm 0,49$  ve negatif kontrol grubunda  $4,07 \pm 0,23$  şeklindedir. Hep-3B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50/2</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla  $8,63 \pm 0,97$ ;  $18,00 \pm 1,49$  şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.33'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50/2</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50/2</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozunun IC<sub>50/2</sub> (0,55 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,001).



**Şekil 4.33.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

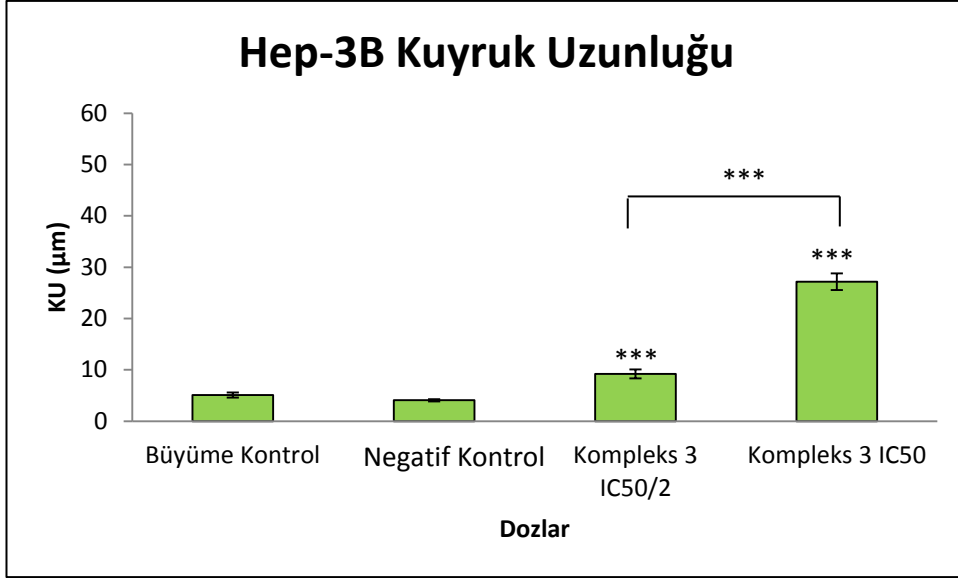
Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 6,55 ± 0,76; 22,66 ± 1,78 şeklindedir. Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 6,55 ± 0,76; 22,66 ± 1,78 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.34'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.34.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

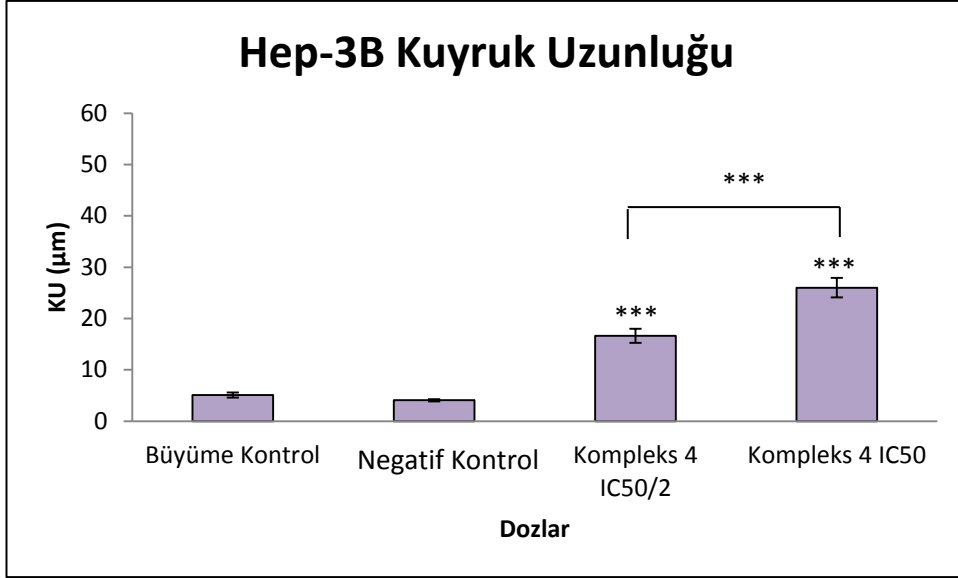
Hep-3B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 9,20 ± 0,88; 27,17 ± 1,62 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.35'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).





**Şekil 4.35.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

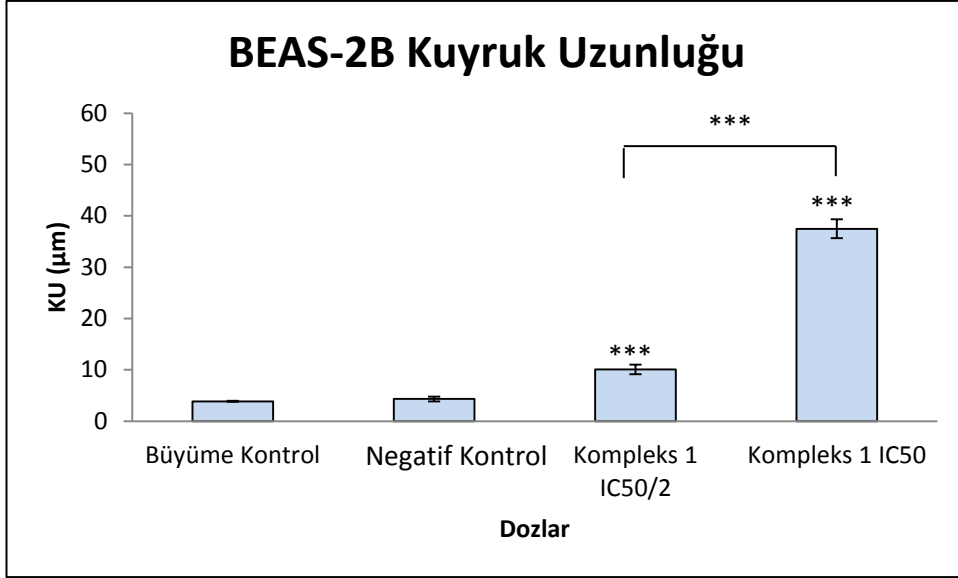
Hep-3B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 16,64 ± 1,38; 26,01 ± 1,90 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.36'da verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,01).



**Şekil 4.36.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

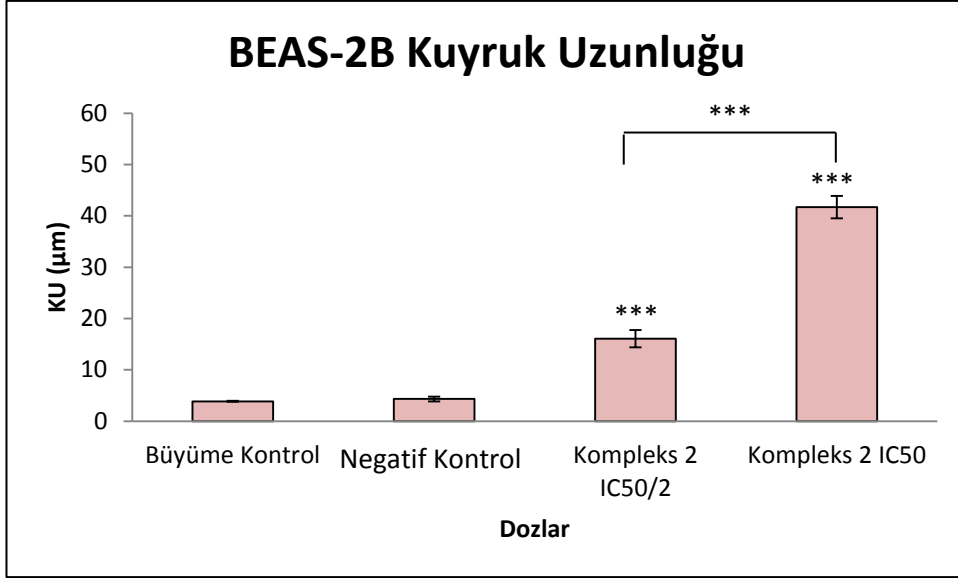
#### 4.4.1.4. Beas-2B hücre hattında elde edilen komet kuyruk uzunluğu bulguları

Beas-2B hücrelerine ortalama K.U. kontrol grubunda  $3,88 \pm 0,08$  ve negatif kontrol grubunda  $4,32 \pm 0,45$  şeklindedir. Beas-2B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla  $10,11 \pm 0,93$ ;  $37,47 \pm 1,84$  şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.37'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,001$ ).



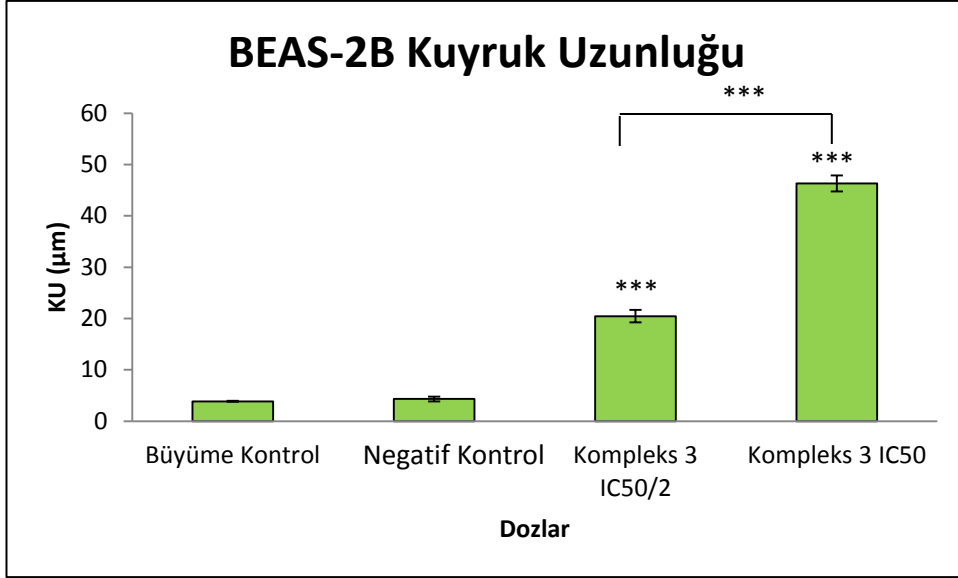
**Şekil 4.37.** Kompleks 1'in IC<sub>50/2</sub> (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Beas-2B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50/2</sub> (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 16,05 ± 1,69; 41,72 ± 2,17 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.38'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50/2</sub> (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50/2</sub> (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozunun IC<sub>50/2</sub> (4,7 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



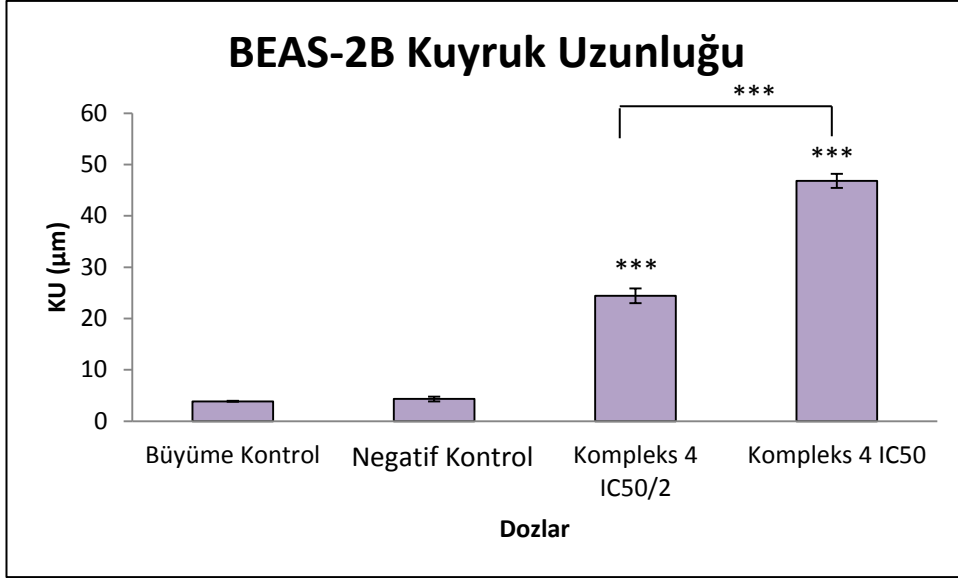
**Şekil 4.38.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Beas-2B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 20,47 ± 1,18; 46,31 ± 1,58 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.39'da verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.39.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (µm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Beas-2B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 24,43 ± 1,40; 46,79 ± 1,36 şeklindedir ve çizelge 4.4'de şekil 4.40'da verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) gruplarının ortalama K.U. değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) dozuna kıyasla K.U. değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.40.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 μM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 μM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama K.U değerleri (μm), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

**Çizelge 4.4.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 ve IC<sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri (µm), ±; standart hatayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, <sup>b</sup>; p≤0,01 <sup>c</sup>; p≤ 0,001, ilgili IC<sub>50</sub>/2 dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05, <sup>e</sup>; p≤0,01 <sup>f</sup>; p≤ 0,001

Hücre Hattı	Kuyruk Uzunluğu ± SH			
	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Büyüme Kontrol</b>	7,73 ± 1,08	8,17 ± 1,03	5,12 ± 0,49	3,88 ± 0,08
<b>Negatif Kontrol</b>	7,57 ± 0,67	6,50 ± 0,60	4,07 ± 0,23	4,32 ± 0,45
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 2,21; 1,33; 0,55; 2,49 µM)	19,97 ± 1,77	8,96 ± 1,06 <sup>b</sup>	8,63 ± 0,97 <sup>c</sup>	10,11 ± 0,93 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	26,26 ± 1,78 <sup>cf</sup>	21,94 ± 1,85 <sup>cf</sup>	18,00 ± 1,49 <sup>cf</sup>	37,47 ± 1,84 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,22; 1,95; 0,74; 4,7µM)	22,32 ± 2,11 <sup>c</sup>	10,90 ± 1,25	6,55 ± 0,76 <sup>c</sup>	16,05 ± 1,69 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	27,02 ± 1,98 <sup>cf</sup>	25,50 ± 1,98 <sup>cf</sup>	22,66 ± 1,78 <sup>cf</sup>	41,72 ± 2,17 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 0,35; 0,47; 0,27; 1,07 µM)	17,58 ± 1,39 <sup>c</sup>	18,89 ± 1,96 <sup>c</sup>	9,20 ± 0,88 <sup>c</sup>	20,47 ± 1,18 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	32,44 ± 1,74 <sup>cf</sup>	27,52 ± 2,06 <sup>cf</sup>	27,17 ± 1,62 <sup>cf</sup>	46,31 ± 1,58 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,39; 1,10; 0,81; 1,88 µM)	16,72 ± 1,89 <sup>c</sup>	11,93 ± 1,43 <sup>a</sup>	16,64 ± 1,38 <sup>c</sup>	24,43 ± 1,40 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77µM)	20,71 ± 1,77 <sup>ce</sup>	21,22 ± 1,83 <sup>ce</sup>	26,01 ± 1,90 <sup>ce</sup>	46,79 ± 1,36 <sup>cf</sup>

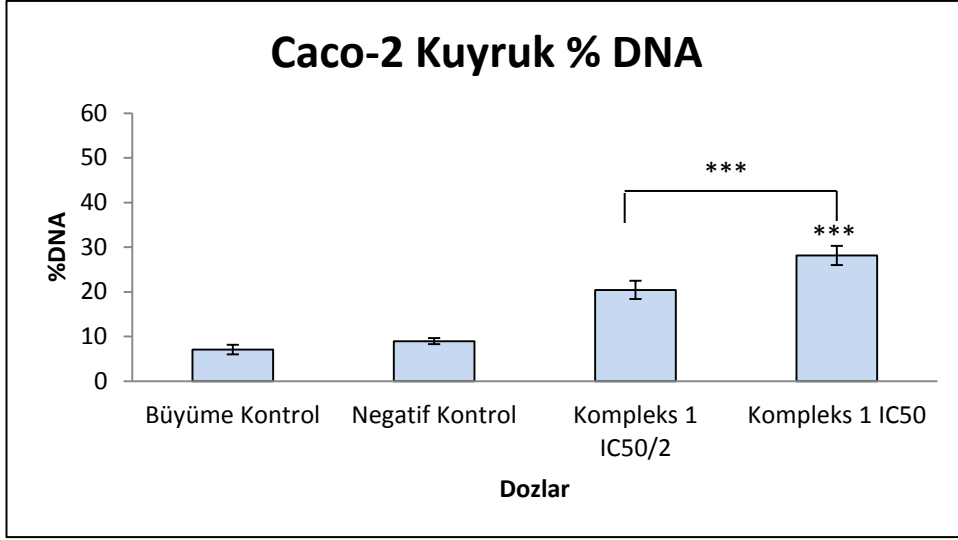
#### **4.4.2. Kuyruk %DNA Bulguları**

Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün  $IC_{50}/2$  ve  $IC_{50}$  dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen kuyruk %DNA değerleri Çizelge 4.5'de verilmiştir. Kuyruk %DNA değerlerinin istatistiksel analizi veriler normal dağılım göstermediği için Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

##### **4.4.2.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları**

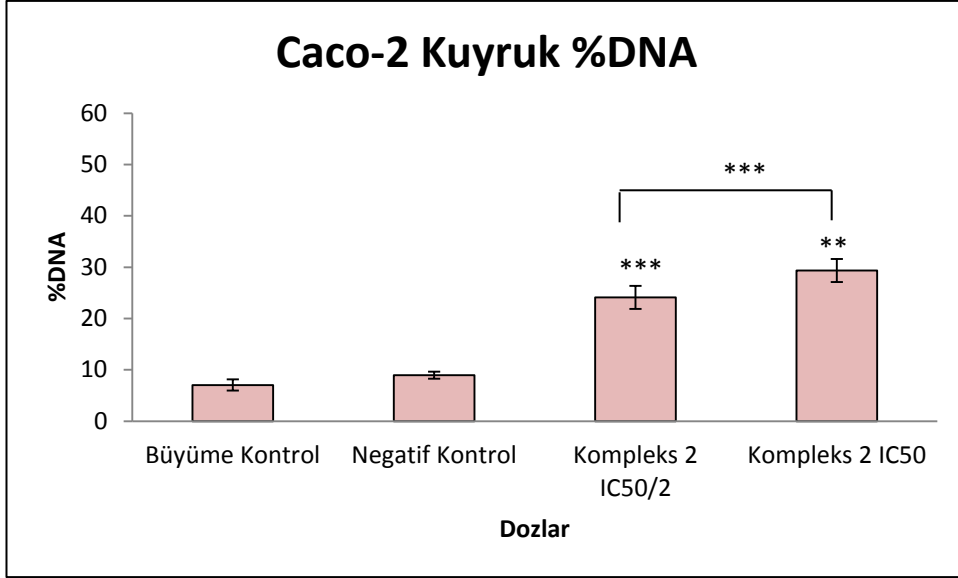
Caco-2 hücrelerine ortalama kuyruk %DNA değerleri kontrol grubunda  $7,06 \pm 1,08$  ve negatif kontrol grubunda  $8,96 \pm 0,67$  şeklindedir. Caco-2 hücrelerine Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla  $20,44 \pm 2,04$ ;  $28,14 \pm 2,15$  şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.41'de verilmiştir. Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyasandığında  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken ( $p > 0,05$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozunun kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,001$ ).





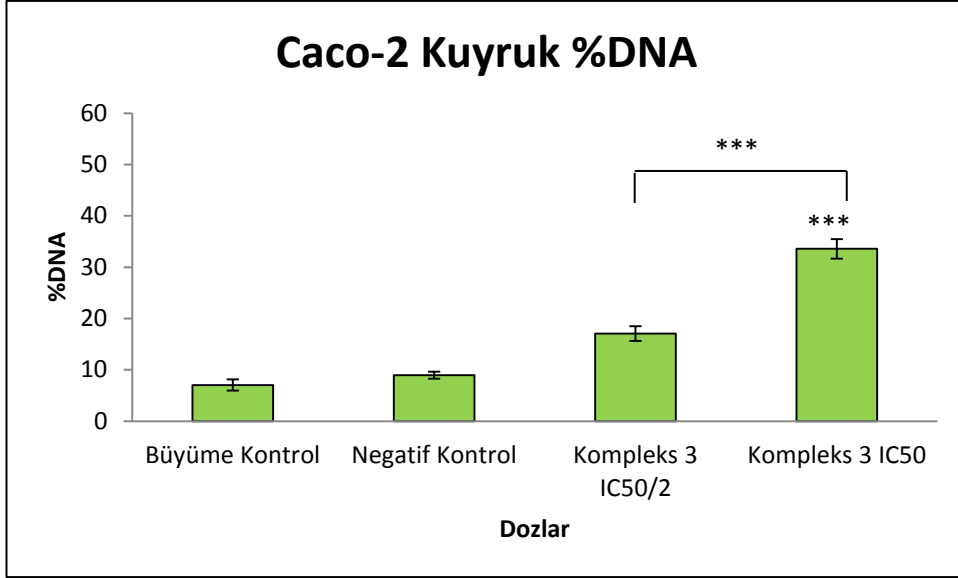
**Şekil 4.41.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,21 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,43 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Caco-2 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 24,10 ± 2,24; 29,38 ± 2,25 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.42'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,01).



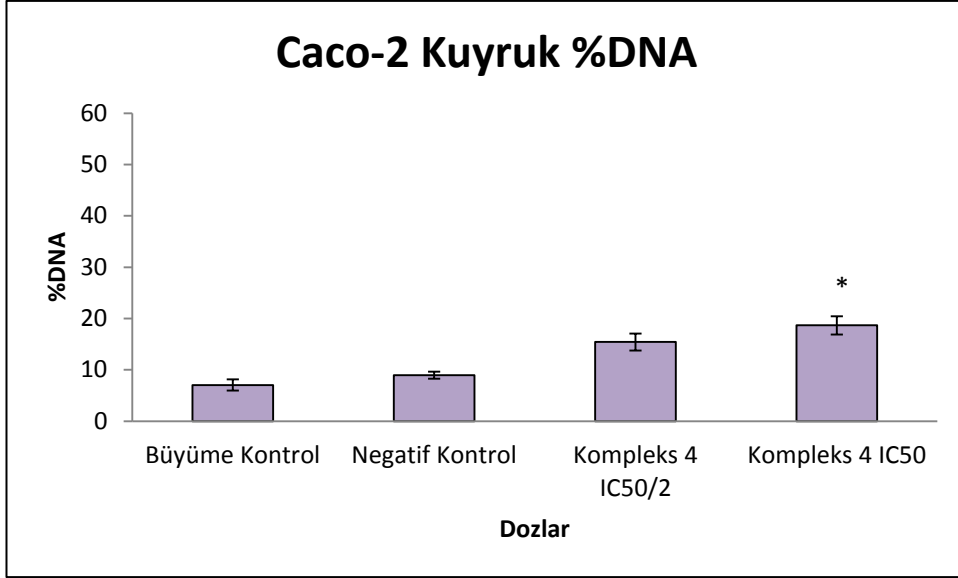
**Şekil 4.42.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Caco-2 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 17,08 ± 1,43; 33,58 ± 1,92 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.43'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozunun kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.43.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

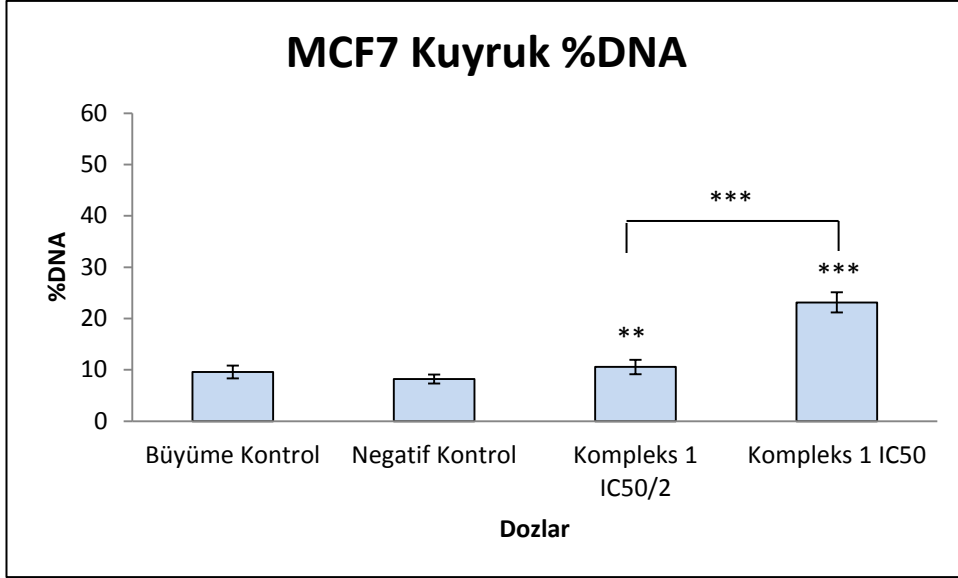
Caco-2 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 15,45 ± 1,65; 18,67 ± 1,77 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.44'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozunun kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında dozlar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).



**Şekil 4.44.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

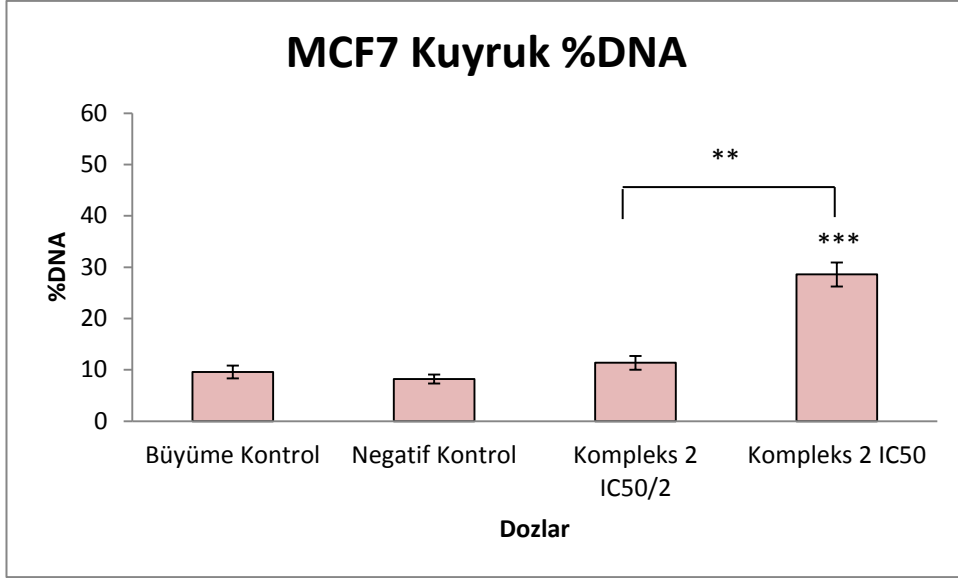
#### 4.4.2.2. MCF7 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları

MCF7 hücrelerine ortalama kuyruk %DNA değerleri kontrol grubunda  $9,58 \pm 1,25$  ve negatif kontrol grubunda  $8,23 \pm 0,88$  şeklindedir. MCF7 hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla  $10,56 \pm 1,43$ ;  $23,15 \pm 1,94$  şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.45'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistik olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistik olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,001$ ).



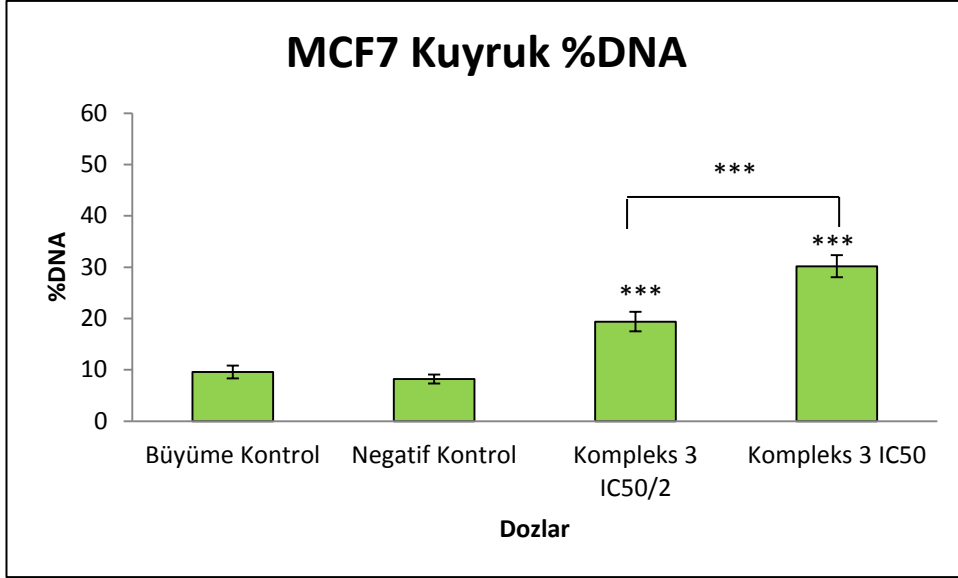
**Şekil 4.45.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

MCF7 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 11,37 ± 1,32; 28,59 ± 2,32 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.46'da verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozunun kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,01).



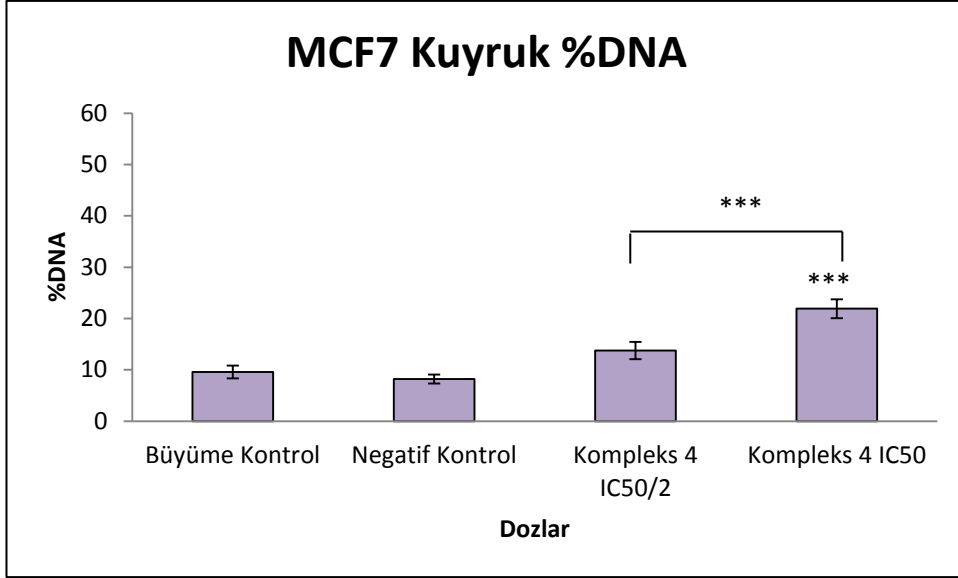
**Şekil 4.46.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

MCF7 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 19,41 ± 1,91; 30,19 ± 2,16 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.47'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,01).



**Şekil 4.47.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

MCF7 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 13,77 ± 1,70; 21,91 ± 1,86 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.48'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozunun kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,01).

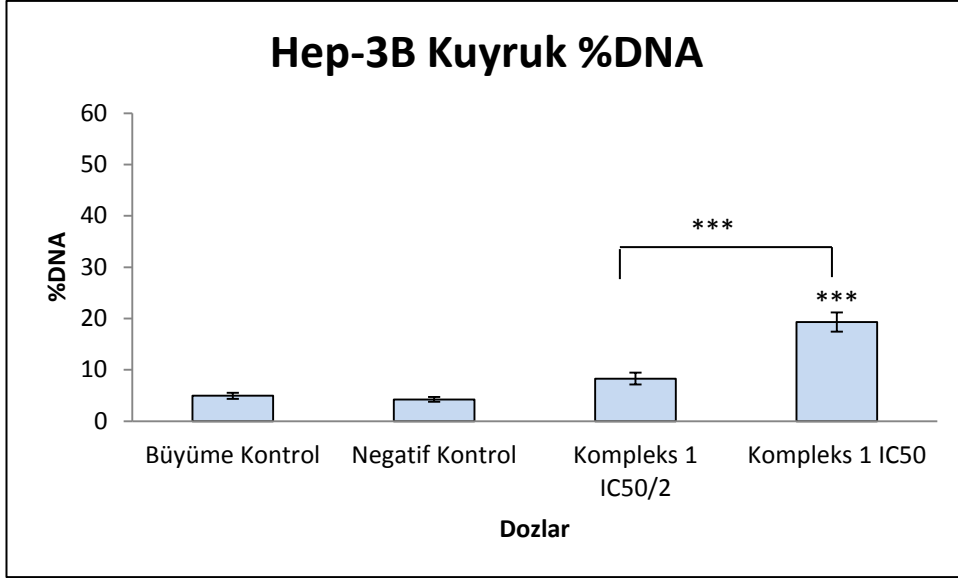


**Şekil 4.48.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

#### 4.4.2.3. Hep-3B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları

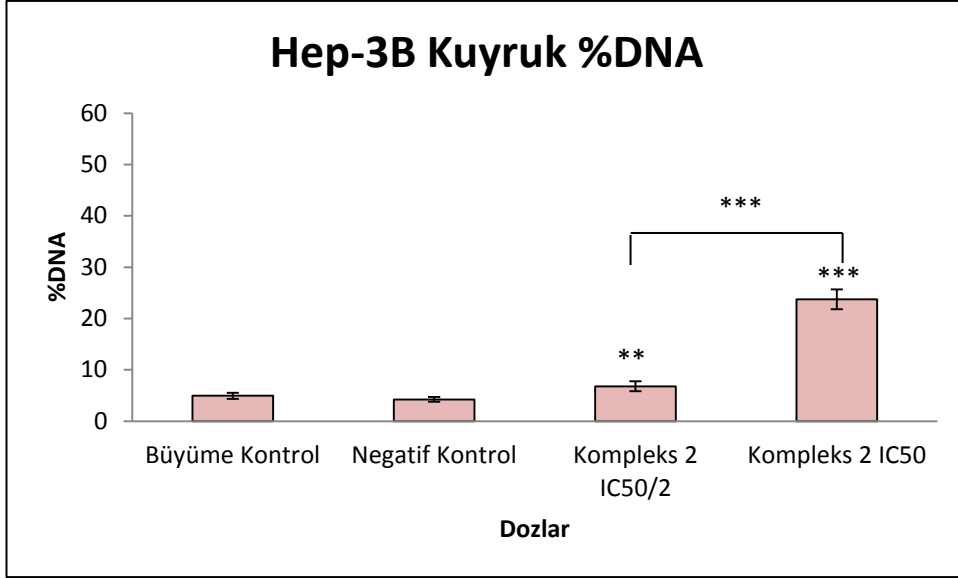
Hep-3B hücrelerine ortalama kuyruk %DNA değerleri kontrol grubunda  $4,95 \pm 0,58$  ve negatif kontrol grubunda  $4,24 \pm 0,47$  şeklindedir. Hep-3B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla  $8,31 \pm 1,15$ ;  $19,30 \pm 1,86$  şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.49'da verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistik olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistik olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,001$ ).





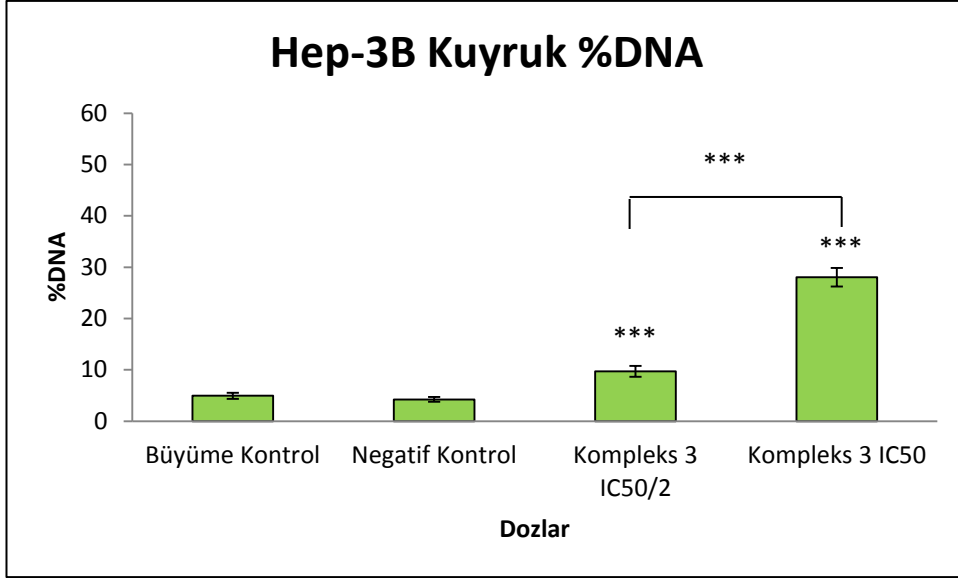
**Şekil 4.49.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 6,79 ± 0,97; 23,75 ± 1,94 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.50'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,01; p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



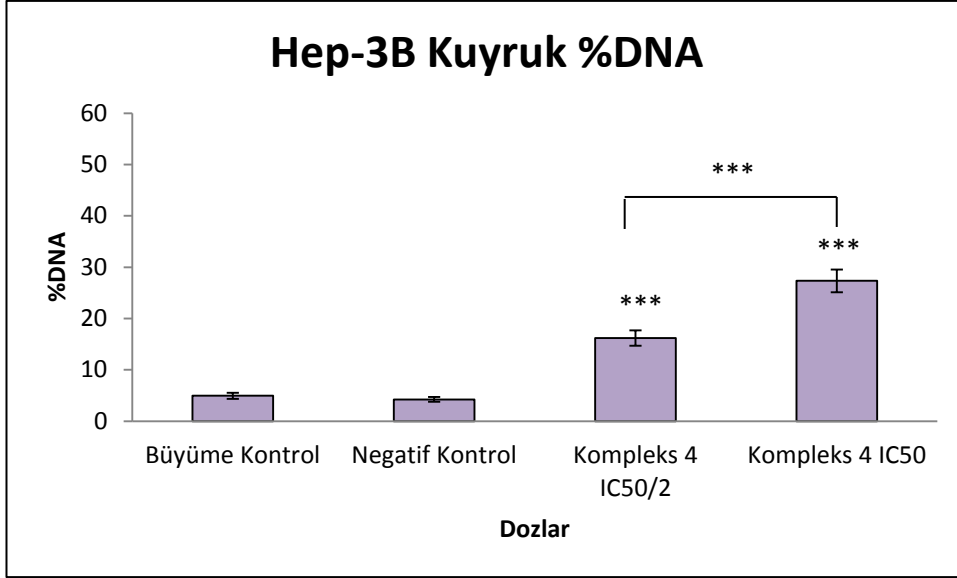
**Şekil 4.50.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Hep-3B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 9,71 ± 1,07; 28,04 ± 1,80 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.51'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.51.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

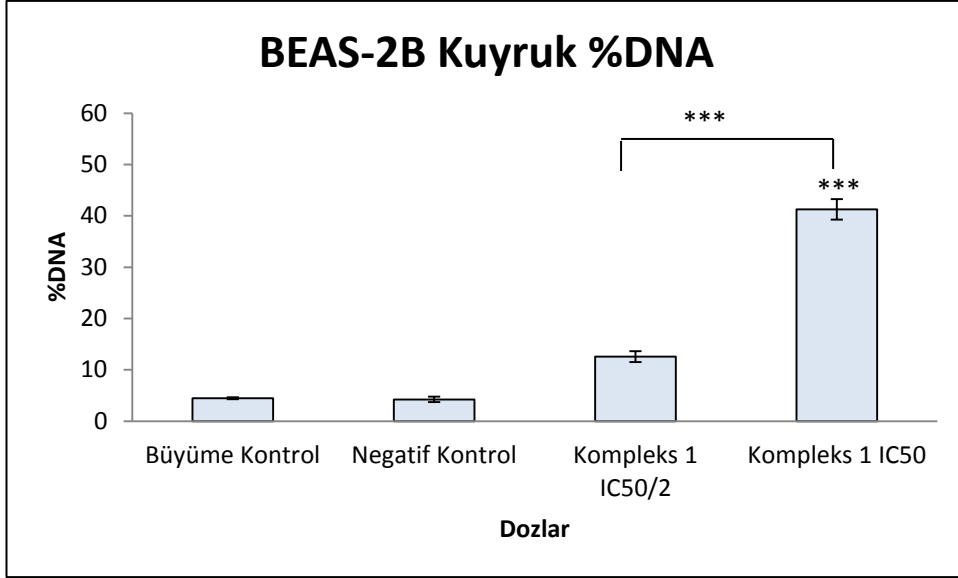
Hep-3B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 16,21 ± 1,50; 27,35 ± 2,20 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.52'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.52.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

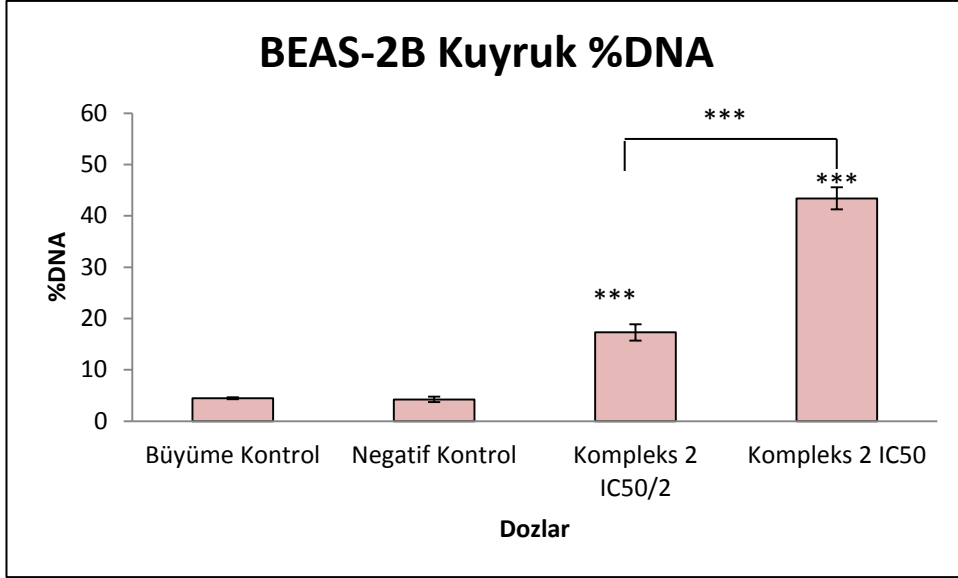
#### 4.4.2.4. BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları

BEAS-2B hücrelerine ortalama kuyruk %DNA değerleri kontrol grubunda  $4,48 \pm 0,20$  ve negatif kontrol grubunda  $4,26 \pm 0,53$  şeklindedir. BEAS-2B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla  $12,59 \pm 1,06$ ;  $41,27 \pm 1,98$  şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.53'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



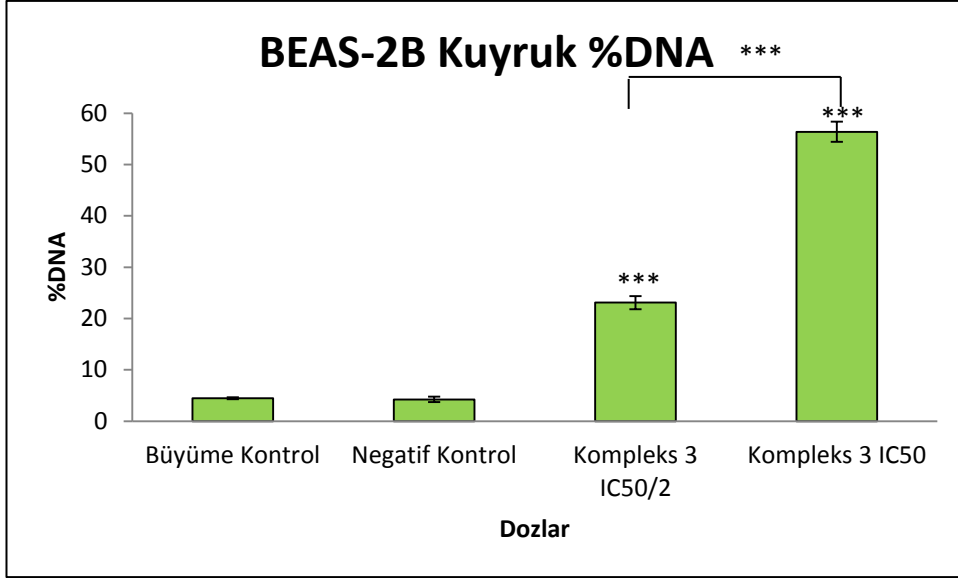
**Şekil 4.53.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 17,32 ± 1,59; 43,41 ± 2,16 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.54'de verilmiştir. Kompleks 2'in IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



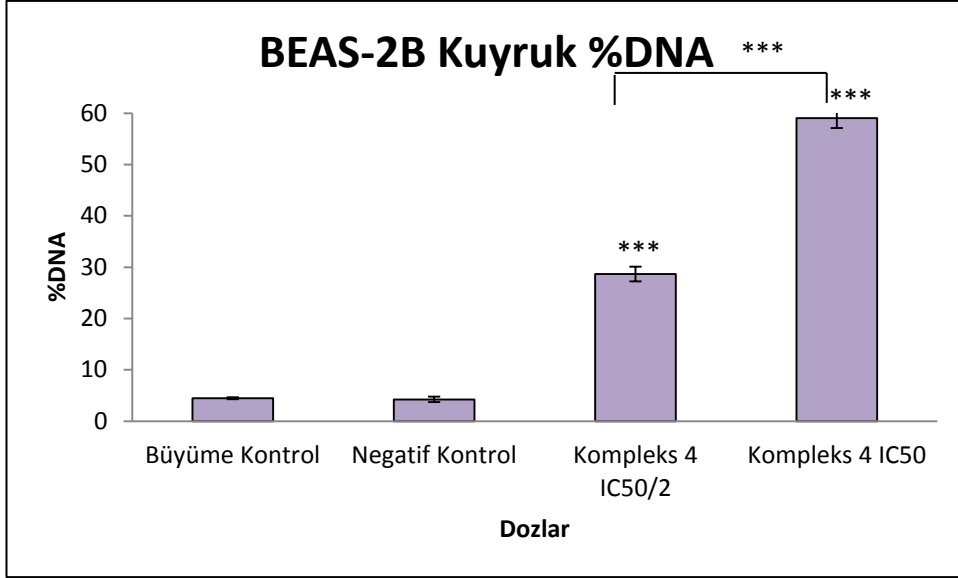
**Şekil 4.54.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 23,11 ± 1,27; 56,38 ± 1,98 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.55'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.55.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 28,68 ± 1,44; 59,03 ± 1,90 şeklindedir ve çizelge 4.5'de şekil 4.56'da verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) gruplarının ortalama kuyruk %DNA değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) dozuna kıyasla kuyruk %DNA değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.56.** Kompleks 4'ün  $IC_{50}/2$  ( $1,88 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $3,77 \mu M$ ) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \* ;  $p \leq 0,05$ , \*\* ;  $p \leq 0,01$ , \*\*\* ;  $p \leq 0,001$



**Çizelge 4.5.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 ve IC<sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama Kuyruk %DNA değerleri, ±; standart hatayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, <sup>b</sup>; p≤0,01 <sup>c</sup>; p≤ 0,001, ilgili IC<sub>50</sub>/2 dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05, <sup>e</sup>; p≤0,01 <sup>f</sup>; p≤ 0,001

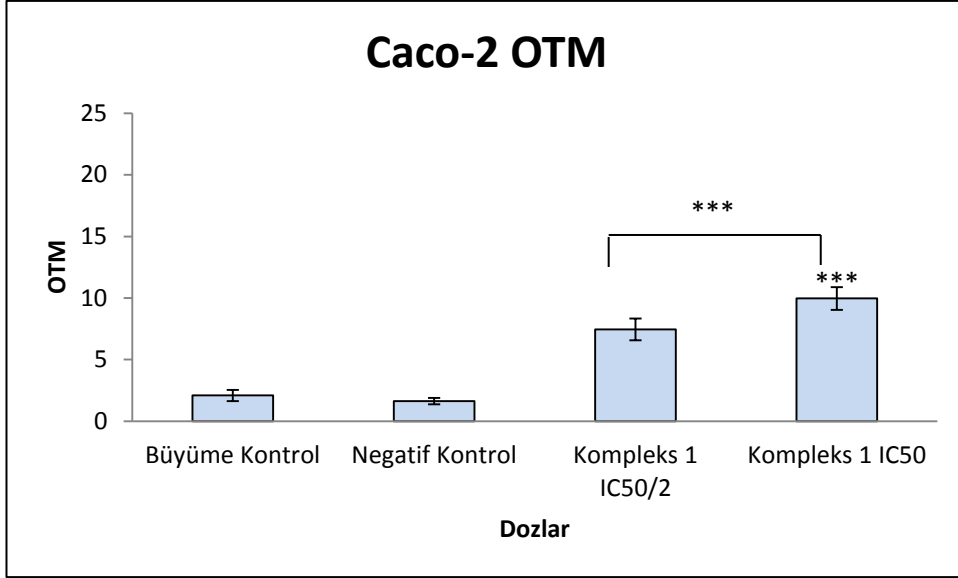
Hücre Hattı	Kuyruk % DNA ± SH			
	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Büyüme Kontrol</b>	7,06 ± 1,08	9,58 ± 1,25	4,95 ± 0,58	4,48 ± 0,20
<b>Negatif Kontrol</b>	8,96 ± 0,67	8,23 ± 0,88	4,24 ± 0,47	4,26 ± 0,53
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 2,21; 1,33; 0,55; 2,49 µM)	20,44 ± 2,04	10,56 ± 1,43 <sup>b</sup>	8,31 ± 1,15 <sup>c</sup>	12,59 ± 1,06 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	28,14 ± 2,15 <sup>cf</sup>	23,15 ± 1,94 <sup>cf</sup>	19,30 ± 1,86 <sup>cf</sup>	41,27 ± 1,98 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,22; 1,95; 0,74; 4,7µM)	24,10 ± 2,24 <sup>c</sup>	11,37 ± 1,32	6,79 ± 0,97 <sup>b</sup>	17,32 ± 1,59 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	29,38 ± 2,25 <sup>ce</sup>	28,59 ± 2,32 <sup>cf</sup>	23,75 ± 1,94 <sup>cf</sup>	43,41 ± 2,16 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 0,35; 0,47; 0,27; 1,07 µM)	17,08 ± 1,43	19,41 ± 1,91 <sup>c</sup>	9,71 ± 1,07 <sup>c</sup>	23,11 ± 1,27 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	33,58 ± 1,92 <sup>cf</sup>	30,19 ± 2,16 <sup>cf</sup>	28,04 ± 1,80 <sup>cf</sup>	56,38 ± 1,98 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,39; 1,10; 0,81; 1,88 µM)	15,45 ± 1,65	13,77 ± 1,70	16,21 ± 1,50 <sup>c</sup>	28,68 ± 1,44 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77µM)	18,67 ± 1,77 <sup>a</sup>	21,91 ± 1,86 <sup>cf</sup>	27,35 ± 2,20 <sup>cf</sup>	59,03 ± 1,90 <sup>cf</sup>

### 4.4.3. OTM bulguları

Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün  $IC_{50}/2$  ve  $IC_{50}$  dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen OTM değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir. OTM değerlerinin istatistiksel analizi veriler normal dağılım göstermediği için Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

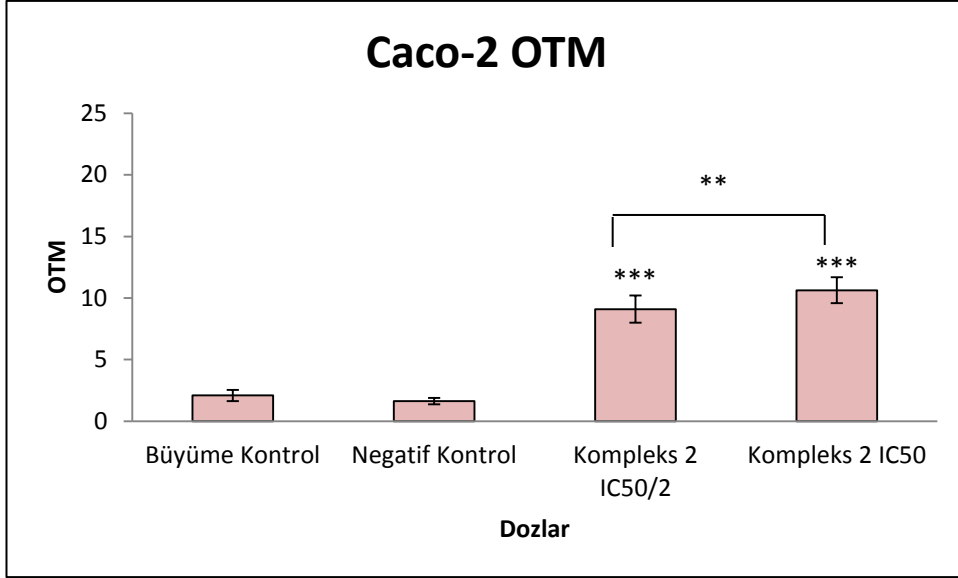
#### 4.4.3.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen OTM bulguları

Caco-2 hücrelerine ortalama OTM değerleri kontrol grubunda  $2,09 \pm 0,46$  ve negatif kontrol grubunda  $1,63 \pm 0,25$  şeklindedir. Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla  $7,45 \pm 0,89$ ;  $9,96 \pm 0,92$  şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.57'de verilmiştir. Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken ( $p > 0,05$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozunun OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,001$ ).



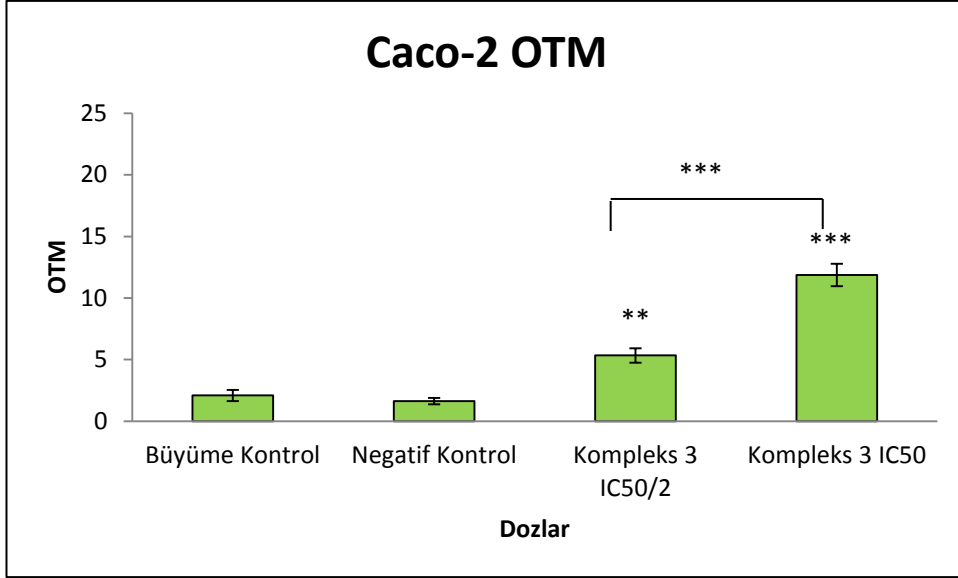
**Şekil 4.57.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,21 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,43 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Caco-2 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 9,10 ± 1,11; 10,63 ± 1,06 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.58'de verilmiştir. Kompleks 2'in IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,01).



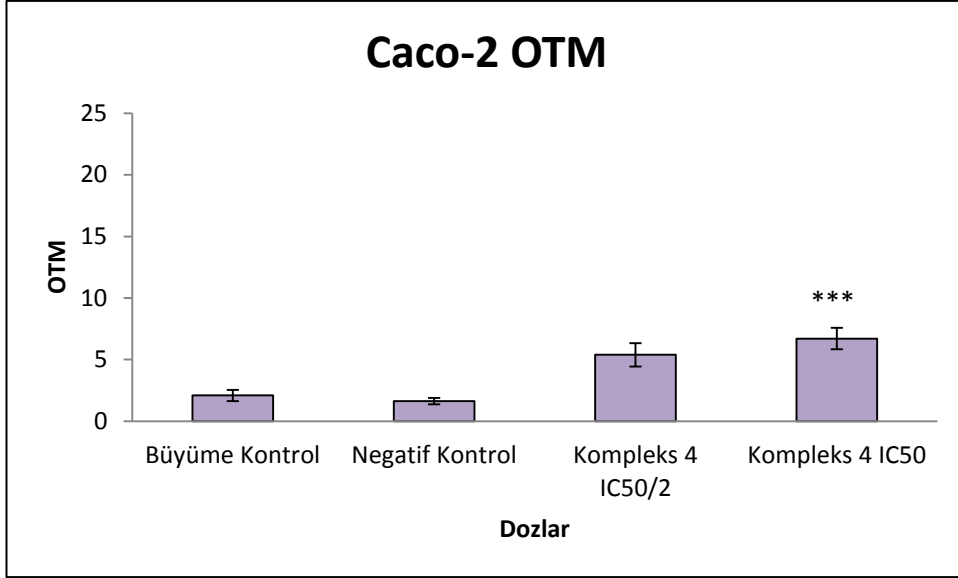
**Şekil 4.58.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Caco-2 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 5,34 ± 0,59; 11,88 ± 0,91 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.59'da verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001; p≤0,01). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.59.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

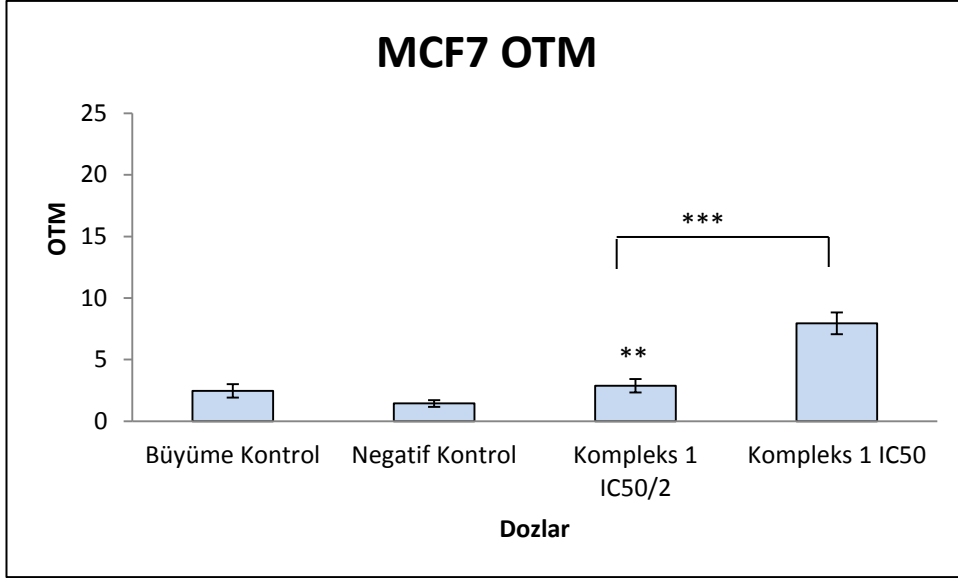
Caco-2 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 5,39 ± 0,94; 6,71 ± 0,87 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.60'da verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozunun OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05).



**Şekil 4.60.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

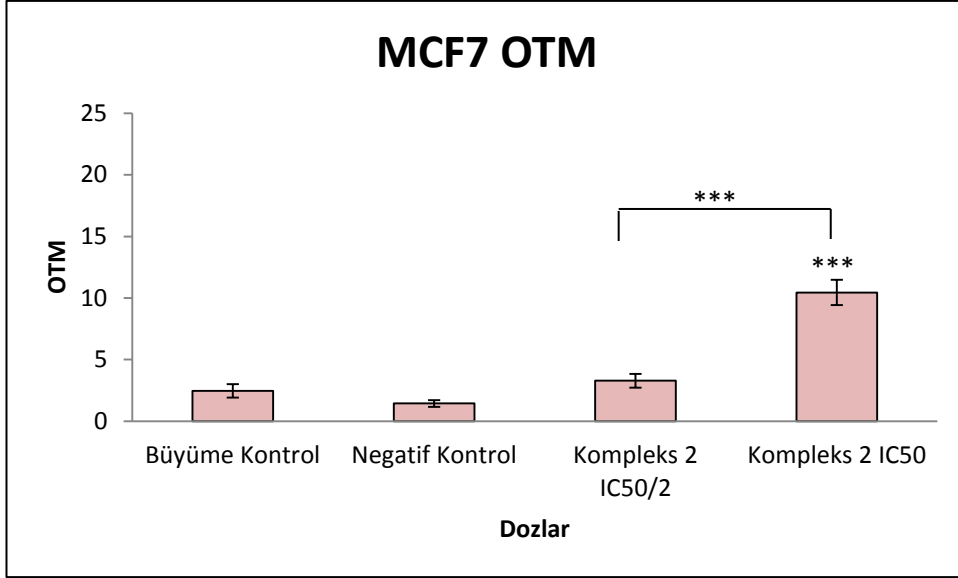
#### 4.4.3.2. MCF7 hücre hattında elde edilen OTM bulguları

MCF7 hücrelerine ortalama OTM değerleri kontrol grubunda  $2,46 \pm 0,54$  ve negatif kontrol grubunda  $1,44 \pm 0,28$  şeklindedir. MCF7 hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla  $2,88 \pm 0,54$ ;  $7,95 \pm 0,88$  şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.61'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,01; p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.61.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

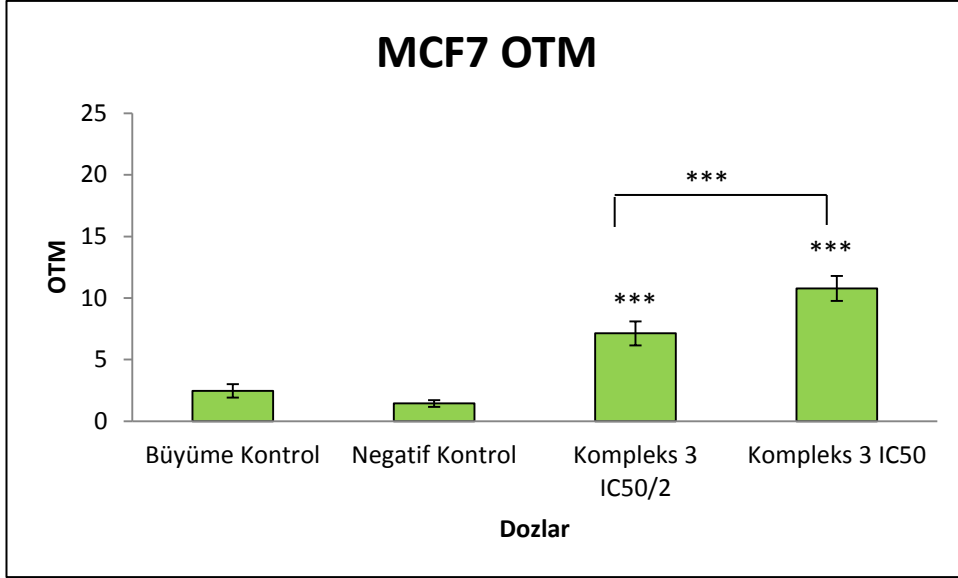
MCF7 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 3,29 ± 0,56; 10,45 ± 1,02 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.62'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozunun OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.62.** Kompleks 2'in IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

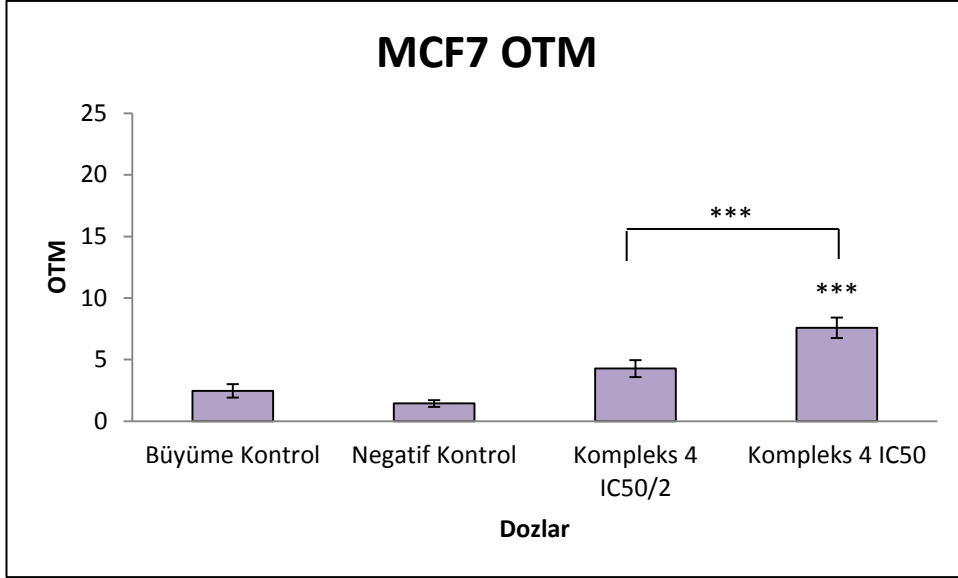
MCF7 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 7,13 ± 0,98; 10,78 ± 1,02 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.63'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).





**Şekil 4.63.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

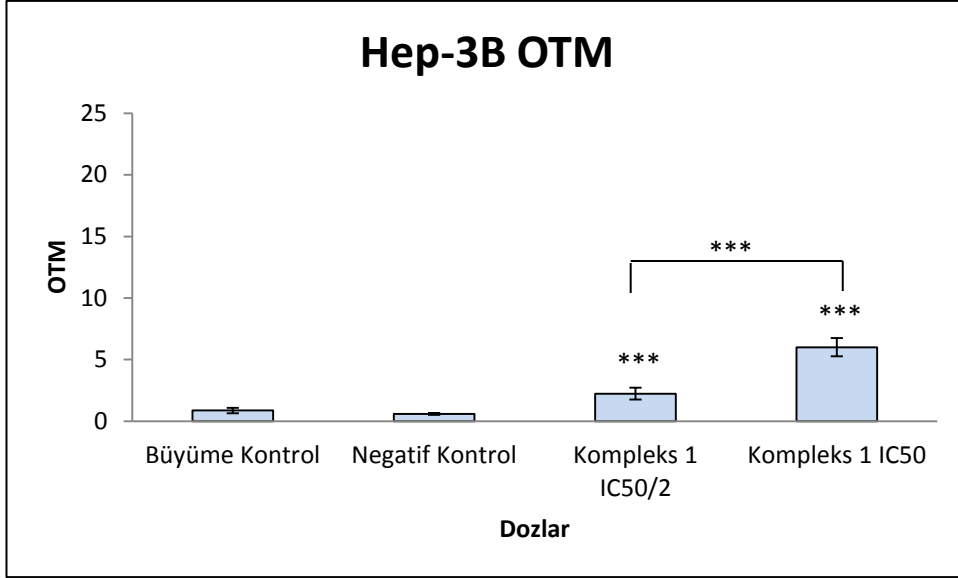
MCF7 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 4,27 ± 0,70; 7,59 ± 0,83 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.64'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken (p>0,05) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozunun OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,001).



**Şekil 4.64.** Kompleks 4'ün IC<sub>50/2</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

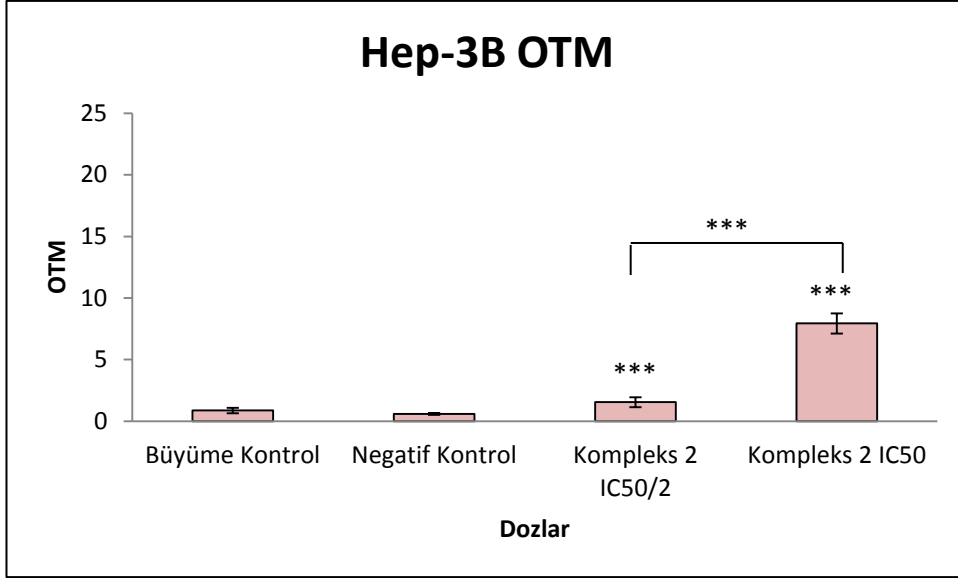
#### 4.4.3.3. Hep-3B hücre hattında elde edilen OTM bulguları

Hep-3B hücrelerine ortalama OTM değerleri kontrol grubunda  $0,87 \pm 0,22$  ve negatif kontrol grubunda  $0,59 \pm 0,07$  şeklindedir. Hep-3B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50/2</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla  $2,24 \pm 0,48$ ;  $6,01 \pm 0,73$  şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.64'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50/2</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ). Aynı zamanda IC<sub>50/2</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozunun IC<sub>50/2</sub> (0,55 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ).



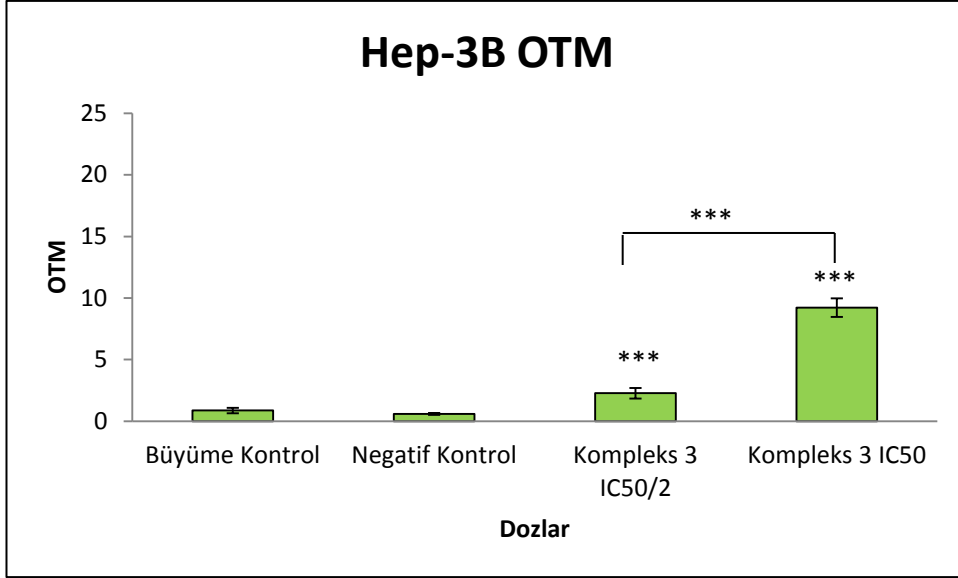
**Şekil 4.65.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 1,55 ± 0,40; 7,94 ± 0,82 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.66'da verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,001).



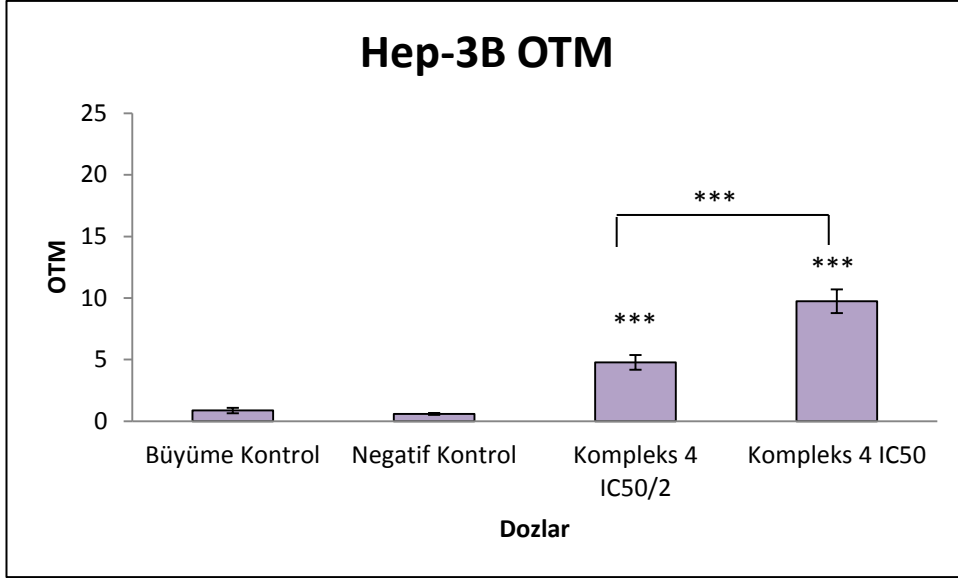
**Şekil 4.66.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

Hep-3B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 2,27 ± 0,43; 9,22 ± 0,76 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.67'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,001).



**Şekil 4.67.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

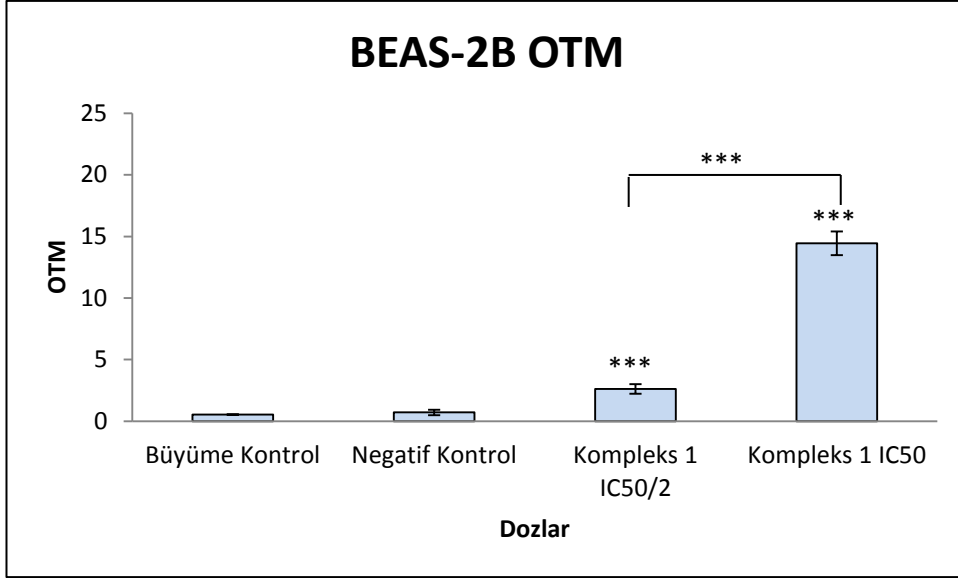
Hep-3B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 4,78 ± 0,59; 9,75 ± 0,96 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.68'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,001).



**Şekil 4.68.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05, \*\*; p ≤ 0,01, \*\*\*; p ≤ 0,001

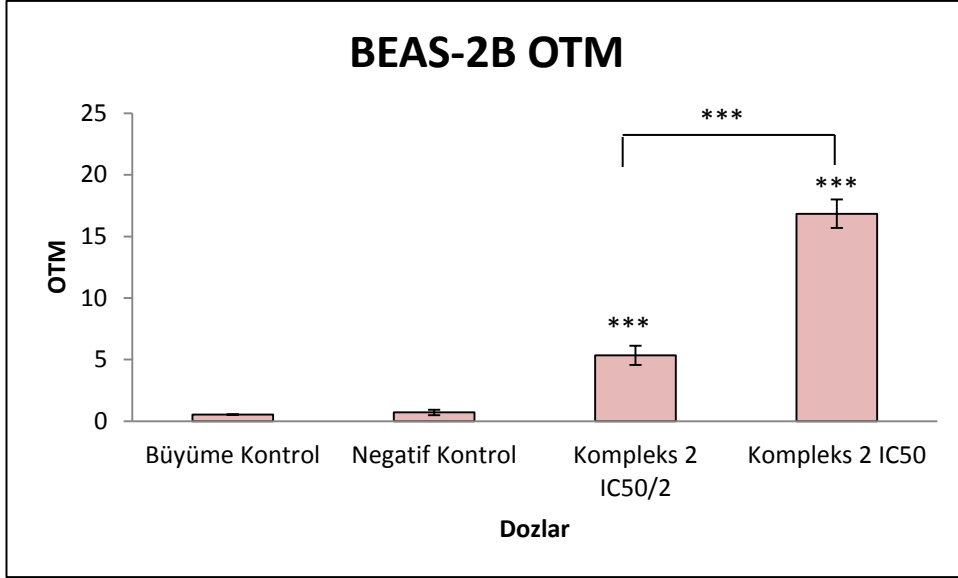
#### 4.4.3.4. BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM bulguları

BEAS-2B hücrelerine ortalama OTM değerleri kontrol grubunda  $0,54 \pm 0,02$  ve negatif kontrol grubunda  $0,72 \pm 0,22$  şeklindedir. BEAS-2B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla  $2,63 \pm 0,39$ ;  $14,45 \pm 0,96$  şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.69'da verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,001$ ).



**Şekil 4.69.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

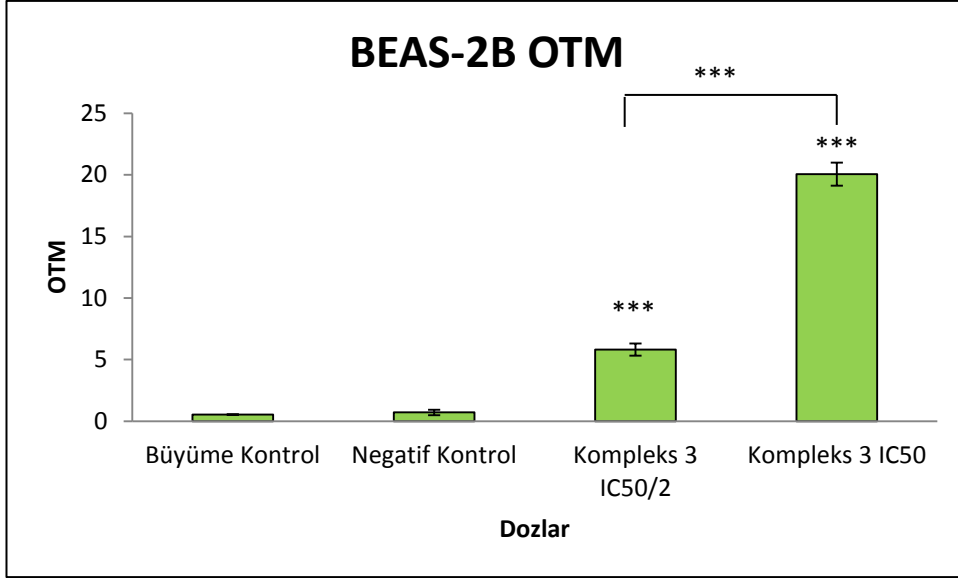
BEAS-2B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 5,34 ± 0,78; 16,84 ± 1,16 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.70'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,001).



**Şekil 4.70.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub>(9,40 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \* ; p≤ 0,05, \*\* ; p≤ 0,01, \*\*\* ; p≤ 0,001

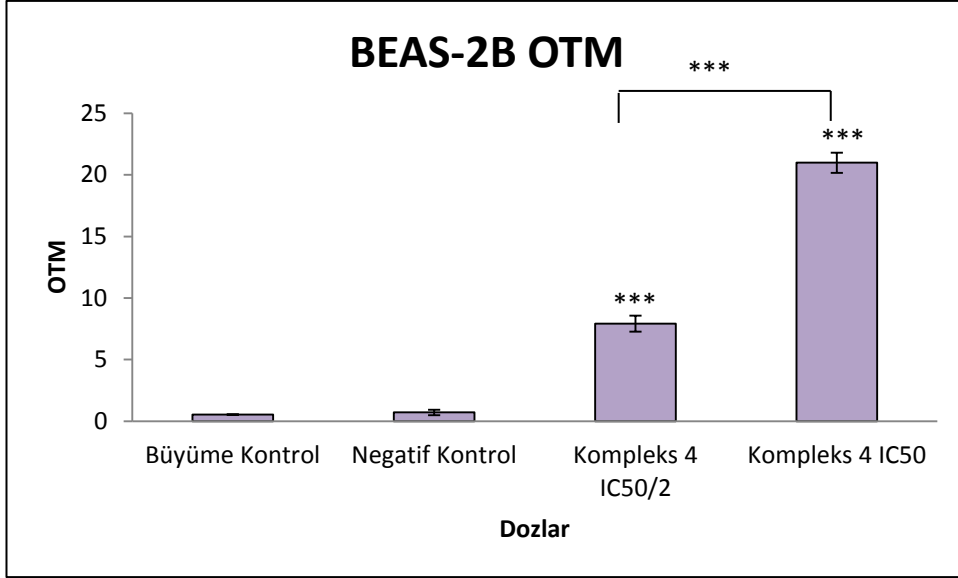
BEAS-2B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 5,82 ± 0,50; 20,06 ± 0,93 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.71'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,001).





**Şekil 4.71.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05, \*\*; p≤ 0,01, \*\*\*; p≤ 0,001

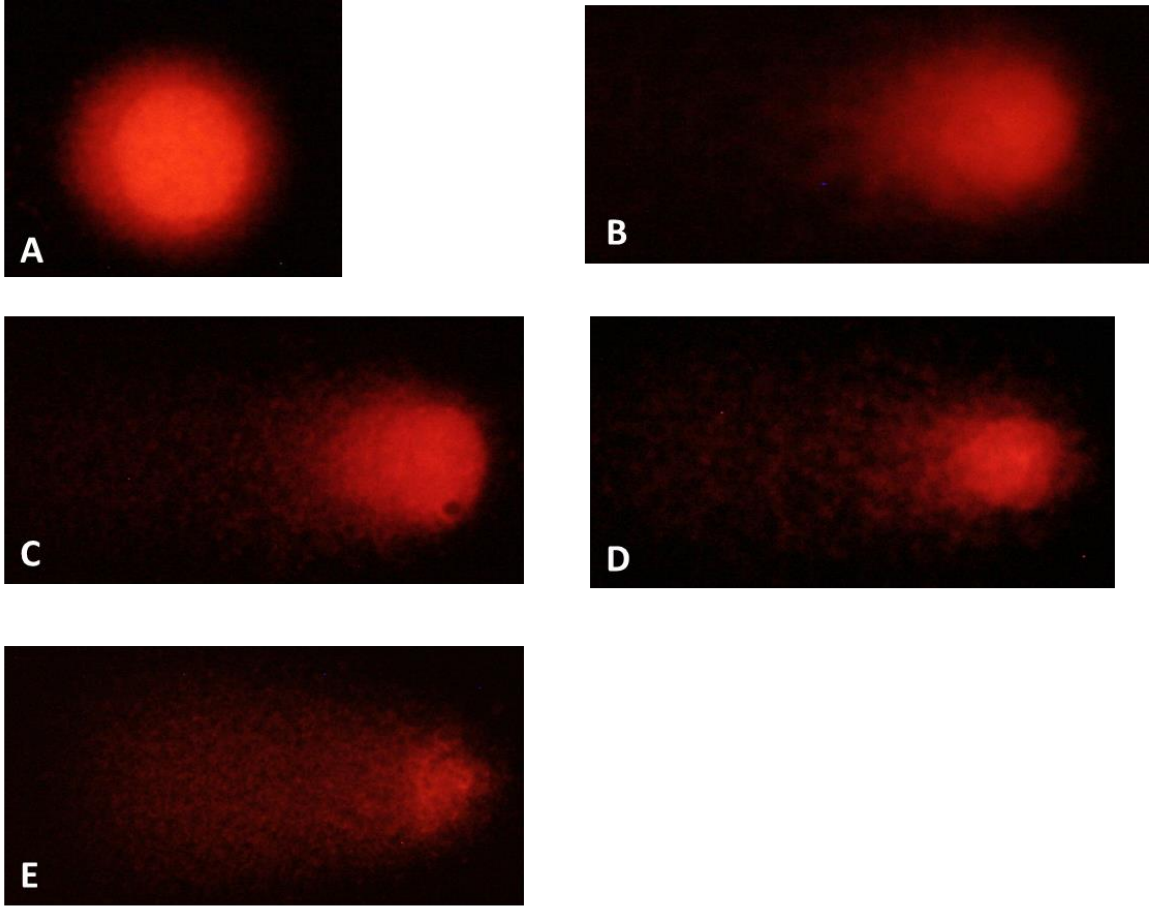
BEAS-2B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri sırasıyla 7,92 ± 0,64; 20,98 ± 0,82 şeklindedir ve çizelge 4.6'da şekil 4.71'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) gruplarının ortalama OTM değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,001). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) dozuna kıyasla OTM değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,001).



**Şekil 4.72.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \* ; p≤ 0,05, \*\* ; p≤ 0,01, \*\*\* ; p≤ 0,001

**Çizelge 4.6.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 ve IC<sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama OTM değerleri, ±; standart hatayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, <sup>b</sup>; p≤0,01 <sup>c</sup>; p≤ 0,001, ilgili IC<sub>50</sub>/2 dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05, <sup>e</sup>; p≤0,01 <sup>f</sup>; p≤ 0,001

Hücre Hattı	OTM ± SH			
	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Büyüme Kontrol</b>	2,09 ± 0,46	2,46 ± 0,54	0,87 ± 0,22	0,54 ± 0,02
<b>Negatif Kontrol</b>	1,63 ± 0,25	1,44 ± 0,28	0,59 ± 0,07	0,72 ± 0,22
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 2,21; 1,33; 0,55; 2,49 µM)	7,45 ± 0,89	2,88 ± 0,54 <sup>b</sup>	2,24 ± 0,48 <sup>c</sup>	2,63 ± 0,39 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	9,96 ± 0,92 <sup>cf</sup>	7,95 ± 0,88 <sup>cf</sup>	6,01 ± 0,73 <sup>cf</sup>	14,45 ± 0,96 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,22; 1,95; 0,74; 4,7µM)	9,10 ± 1,11 <sup>c</sup>	3,29 ± 0,56	1,55 ± 0,40 <sup>c</sup>	5,34 ± 0,78 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	10,63 ± 1,06 <sup>ce</sup>	10,45 ± 1,02 <sup>cf</sup>	7,94 ± 0,82 <sup>cf</sup>	16,84 ± 1,16 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 0,35; 0,47; 0,27; 1,07 µM)	5,34 ± 0,59 <sup>b</sup>	7,13 ± 0,98 <sup>c</sup>	2,27 ± 0,43 <sup>c</sup>	5,82 ± 0,50 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	11,88 ± 0,91 <sup>cf</sup>	10,78 ± 1,02 <sup>cf</sup>	9,22 ± 0,76 <sup>cf</sup>	20,06 ± 0,93 <sup>cf</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,39; 1,10; 0,81; 1,88 µM)	5,39 ± 0,94	4,27 ± 0,70	4,78 ± 0,59 <sup>c</sup>	7,92 ± 0,64 <sup>c</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77 µM)	6,71 ± 0,87 <sup>c</sup>	7,59 ± 0,83 <sup>cf</sup>	9,75 ± 0,96 <sup>cf</sup>	20,98 ± 0,82 <sup>cf</sup>



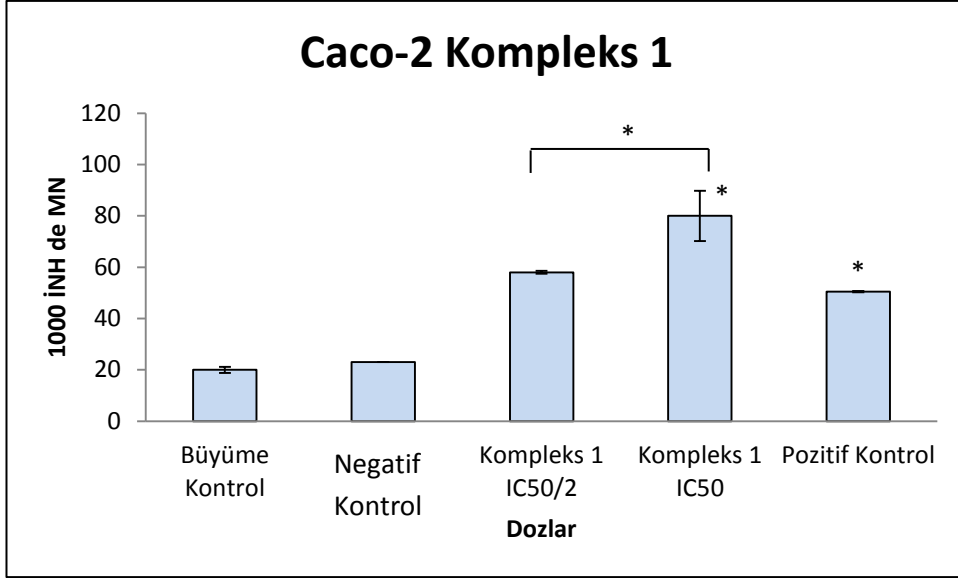
**Şekil 4.73.** Komet testi preparatlarından elde edilen mikroskopik görüntü örnekleri. A; Hasarsız nükleus. B; Az hasarlı nükleus. C; Orta hasarlı nükleus. D; Çok hasarlı nükleus. E; Tam hasarlı nükleus.

#### **4.5. Mikronükleus Testi Bulguları**

Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 ve IC<sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen MN değerleri Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları kullanılmıştır (sırası ile 116,18; 107,27; 52,81; 44,95 µM) MN değerlerinin istatistiksel analizi Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

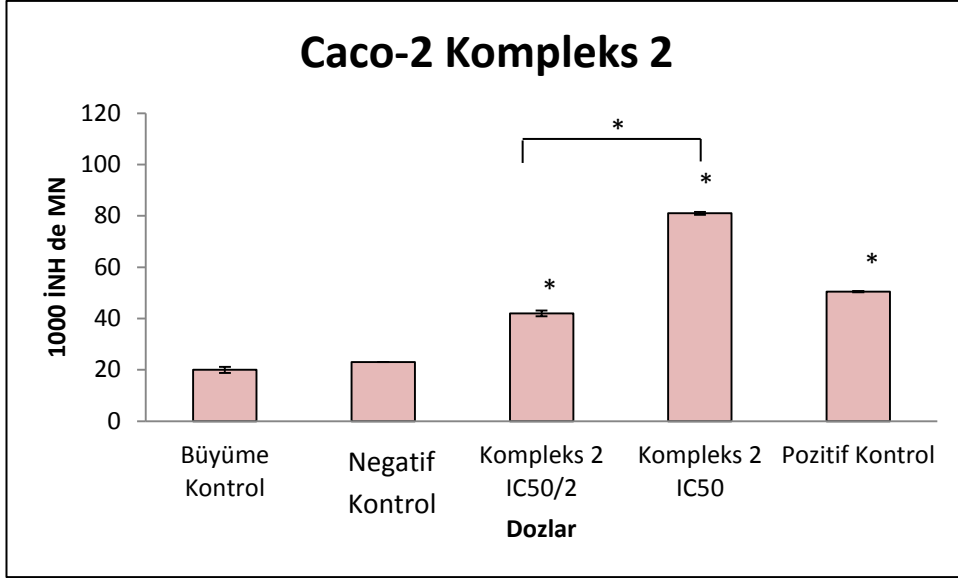
##### **4.5.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen mikronükleus testi bulguları**

Caco-2 hücrelerine ortalama MN değerleri kontrol grubunda  $20 \pm 1.15$  ve negatif kontrol grubunda  $23 \pm 0$  şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,21 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,43 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla  $58 \pm 0,57$ ;  $80 \pm 9,81$  şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.74'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,21 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,43 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,21 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,43 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,43 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,21 µM) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).



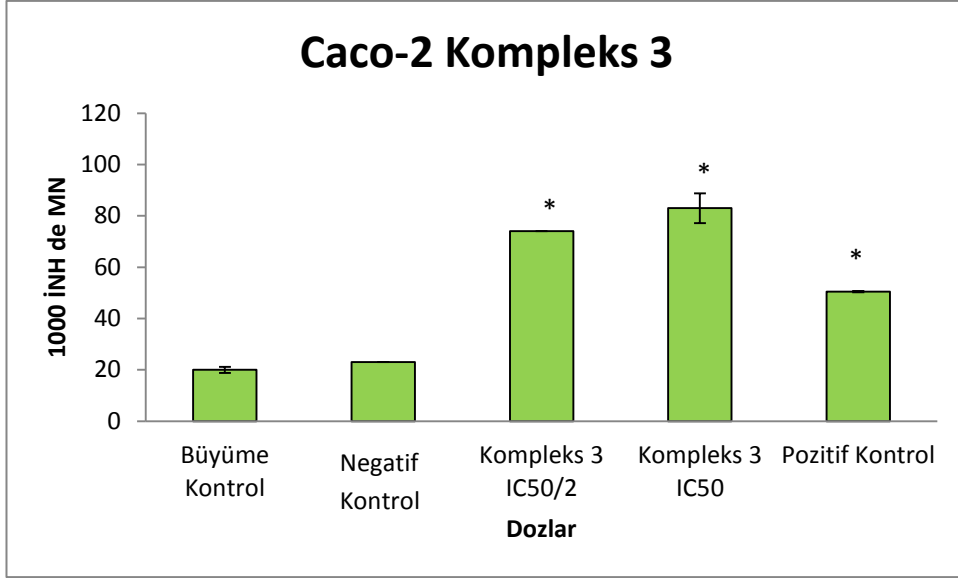
**Şekil 4.74.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,21 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,43 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

Caco-2 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla 42 ± 1,15; 81 ± 0,57 şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.75'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,05).



**Şekil 4.75.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,22 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

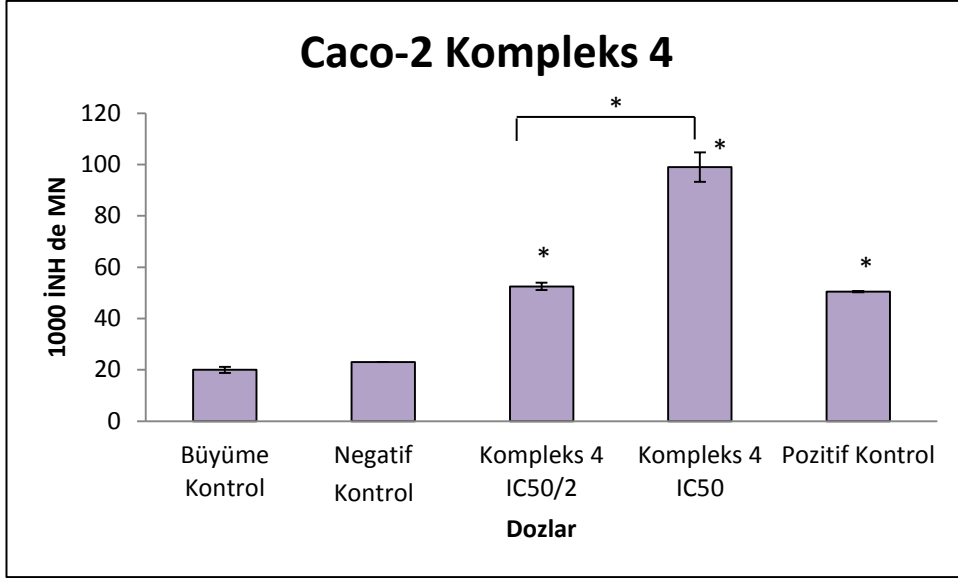
Caco-2 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla 74 ± 0; 83 ± 5,77 şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.76'da verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p > 0,05).



**Şekil 4.76.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,35 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

Caco-2 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla 52,5 ± 1,44; 99 ± 5,77 şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.77'de verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P ≤ 0,05).

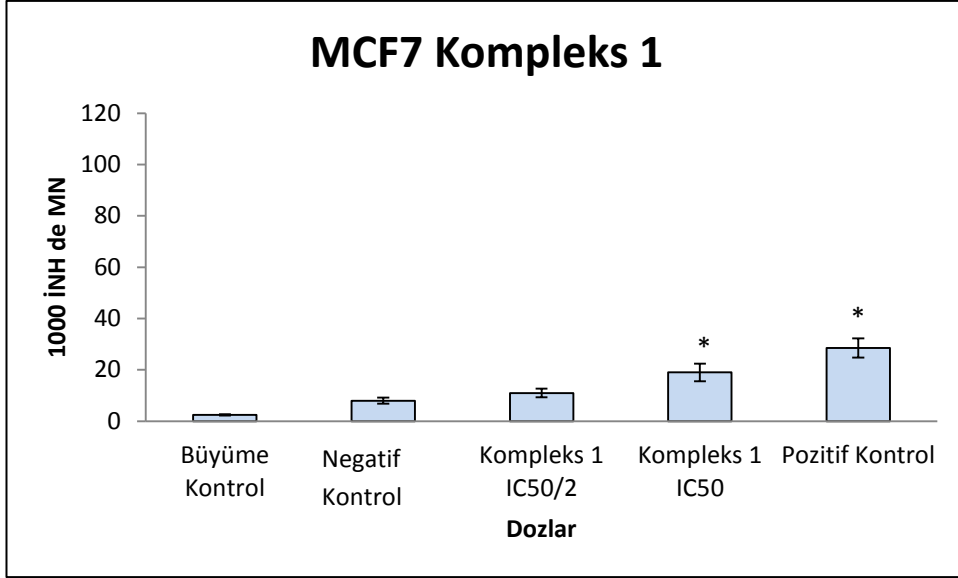




**Şekil 4.77.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,39 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,78 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

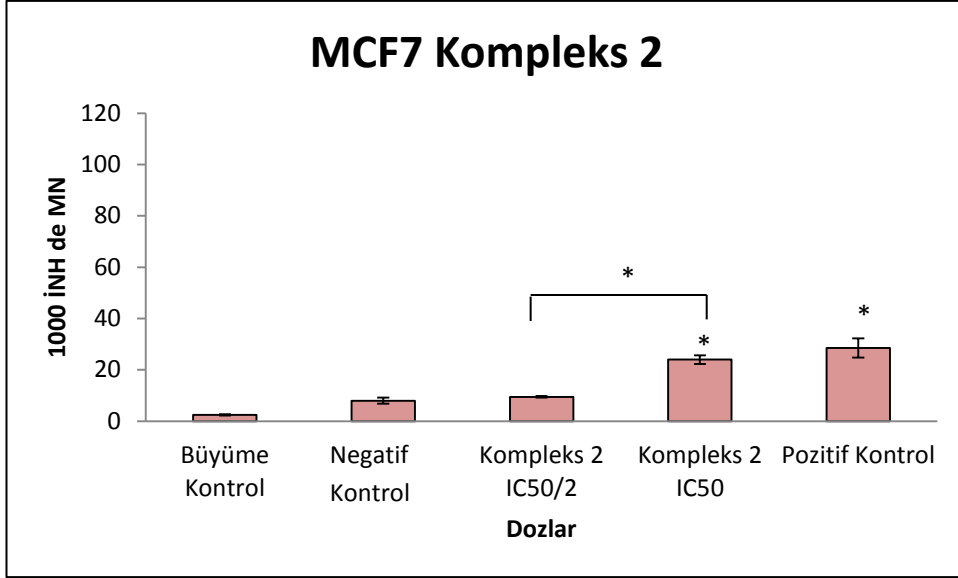
#### 4.5.2. MCF7 hücre hattında elde edilen MN bulguları

MCF7 hücrelerine ortalama MN değerleri kontrol grubunda  $2,5 \pm 0$  ve negatif kontrol grubunda  $8 \pm 1,15$  şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla  $11 \pm 1,73$ ;  $19 \pm 3,46$  şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.78'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) dozunun neden olduğu artış anlamlı değilken (P > 0,05), IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozunun MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p > 0,05).



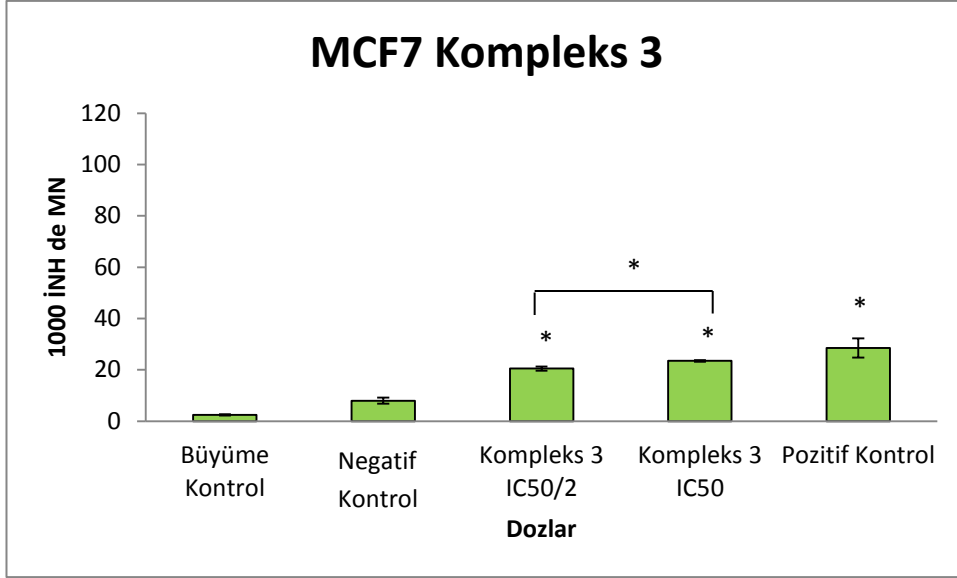
**Şekil 4.78.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (1,33 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

MCF7 hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla 9,5 ± 0,28; 24 ± 1,73 şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.79'da verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) dozunun neden olduğu artış anlamlı değilken (P>0,05), IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozunun MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,05).



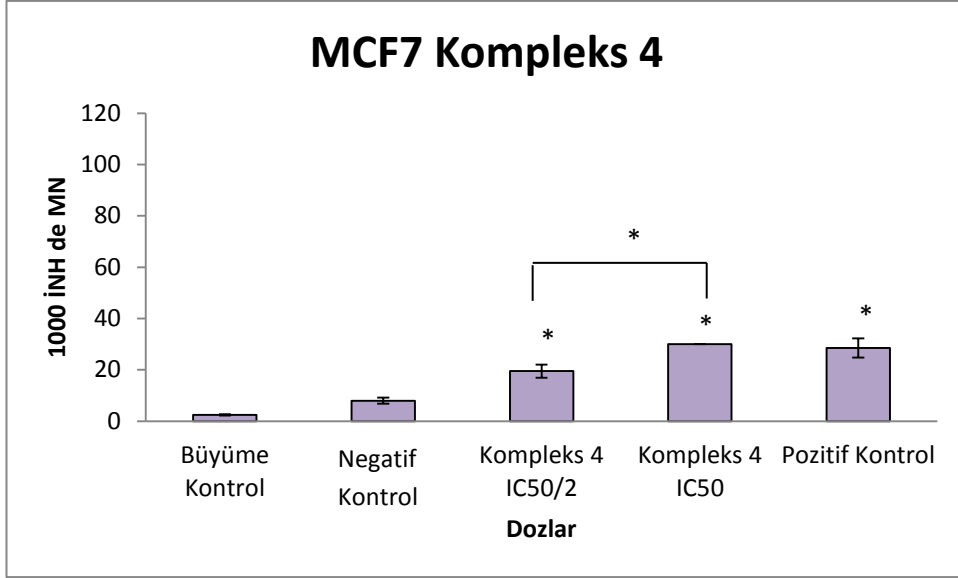
**Şekil 4.79.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

MCF7 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla 20,5 ± 0,86; 23,5 ± 0,28 şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.80'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P ≤ 0,05).



**Şekil 4.80.** Kompleks 3'ün  $IC_{50}/2$  ( $0,47 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $0,95 \mu M$ ) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

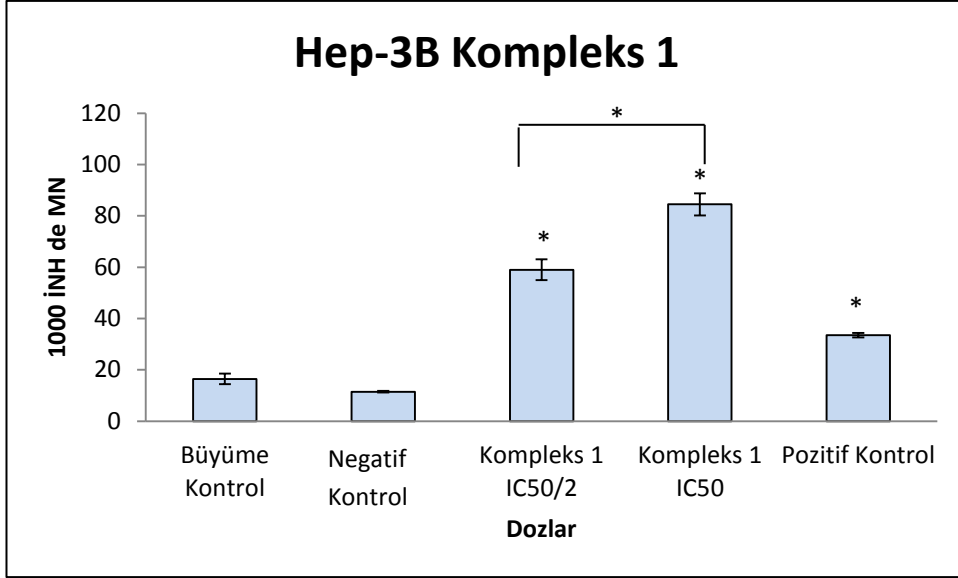
MCF7 hücrelerine Kompleks 4'ün  $IC_{50}/2$  ( $1,10 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,21 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla  $19,5 \pm 2,59$ ;  $30 \pm 0$  şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.81'de verilmiştir. Kompleks 4'ün  $IC_{50}/2$  ( $1,10 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,21 \mu M$ ) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}/2$  ( $1,10 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,21 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $2,21 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}/2$  ( $1,10 \mu M$ ) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.81.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

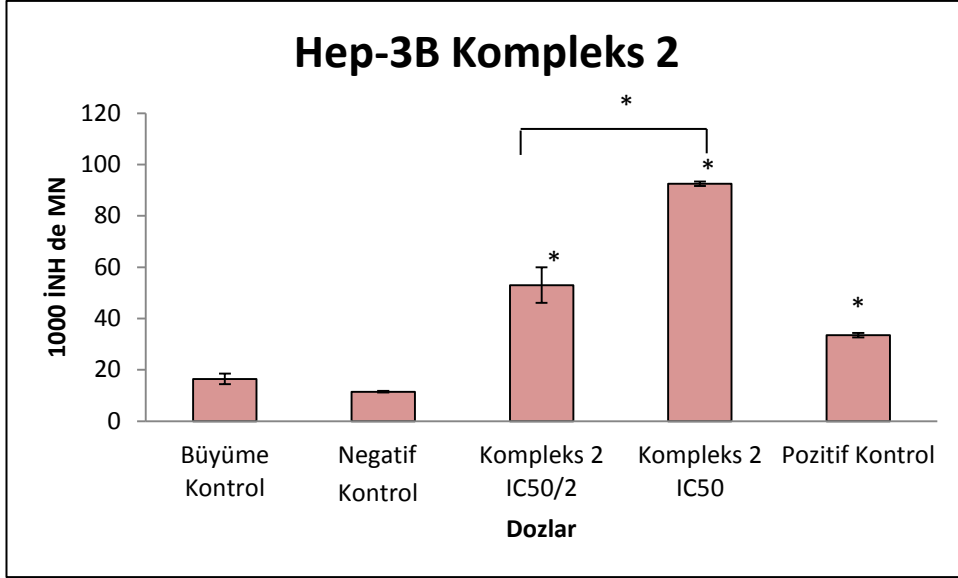
#### 4.5.3. Hep-3B hücre hattında elde edilen MN bulguları

Hep-3B hücrelerine ortalama MN değerleri kontrol grubunda  $16,5 \pm 2,02$  ve negatif kontrol grubunda  $11,5 \pm 0,28$  şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla  $59 \pm 4,04$ ;  $84,5 \pm 4,33$  şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.82'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,05).



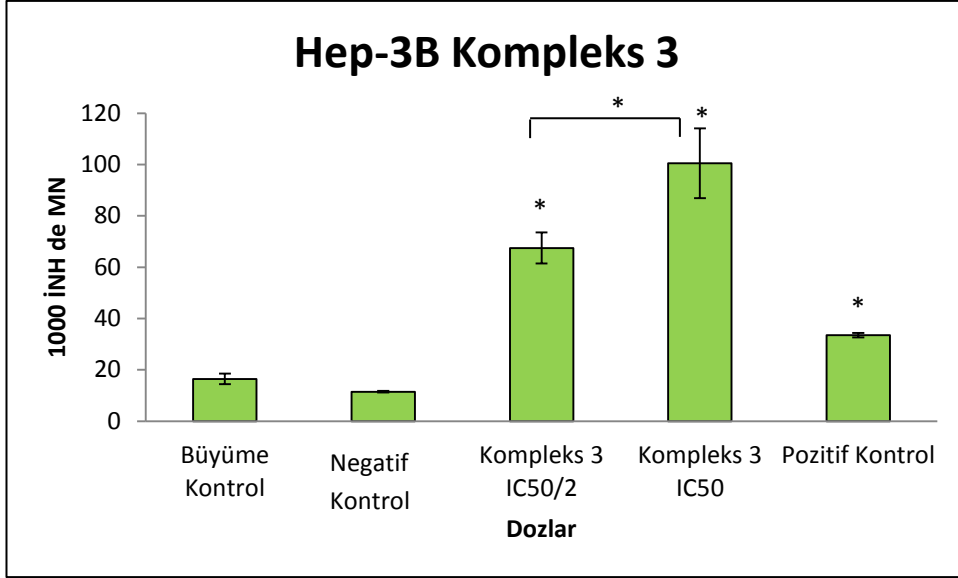
**Şekil 4.82.** Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $0,55 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $1,10 \mu M$ ) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \* ;  $p \leq 0,05$

Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin  $IC_{50}/2$  ( $0,74 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $1,49 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla  $53 \pm 6,92$ ;  $92,5 \pm 0,86$  şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.83'de verilmiştir. Kompleks 2'nin  $IC_{50}/2$  ( $0,74 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $1,49 \mu M$ ) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}/2$  ( $0,74 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $1,49 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $1,49 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}/2$  ( $0,74 \mu M$ ) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.83.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

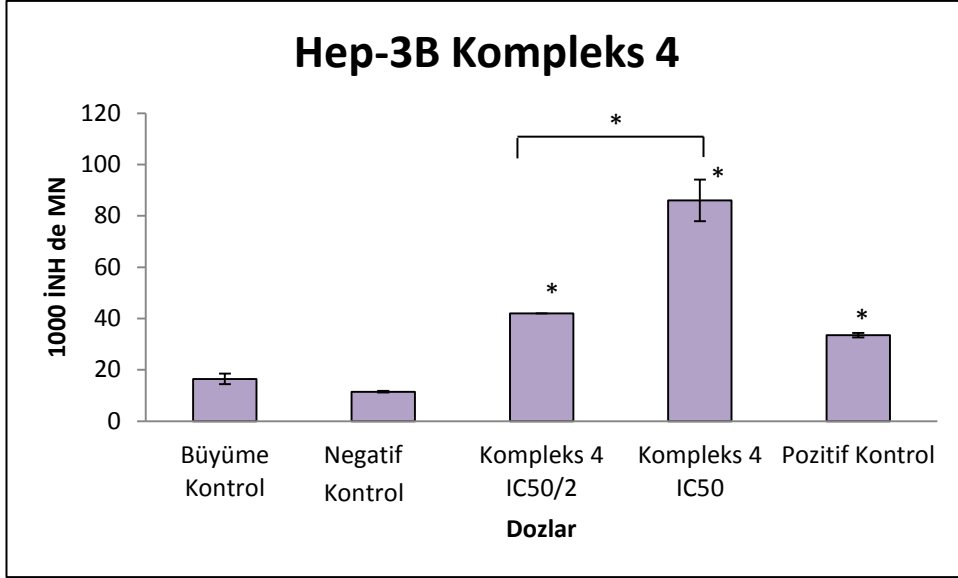
Hep-3B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla 67,5 ± 6,06; 100,5 ± 13,56 şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.74'de verilmiştir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p > 0,05).



**Şekil 4.84.** Kompleks 3'ün  $IC_{50}/2$  ( $0,27 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $0,55 \mu M$ ) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

Hep-3B hücrelerine Kompleks 4'ün  $IC_{50}/2$  ( $0,81 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla  $42 \pm 0$ ;  $86 \pm 8,08$  şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.85'de verilmiştir. Kompleks 4'ün  $IC_{50}/2$  ( $0,81 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}/2$  ( $0,81 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}/2$  ( $0,81 \mu M$ ) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

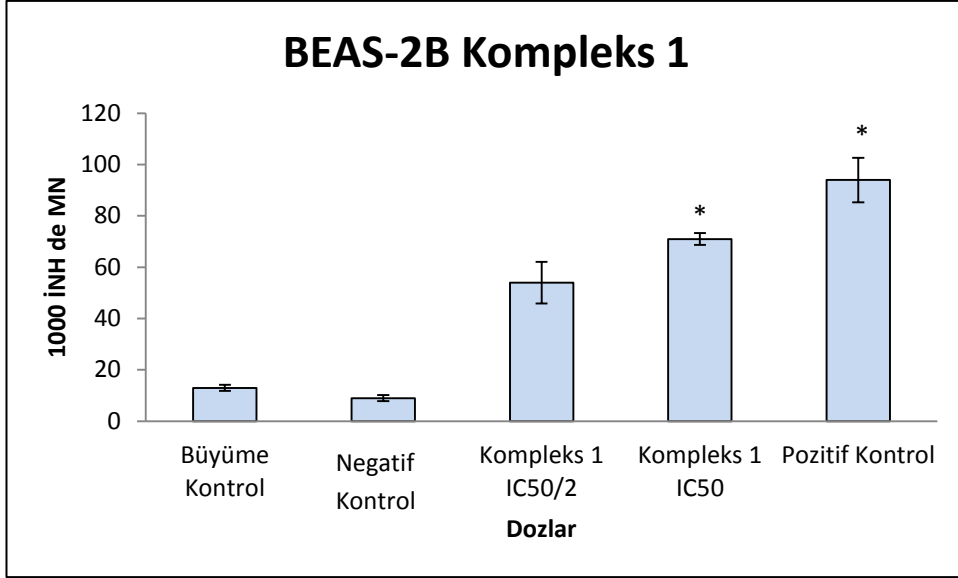




**Şekil 4.85.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

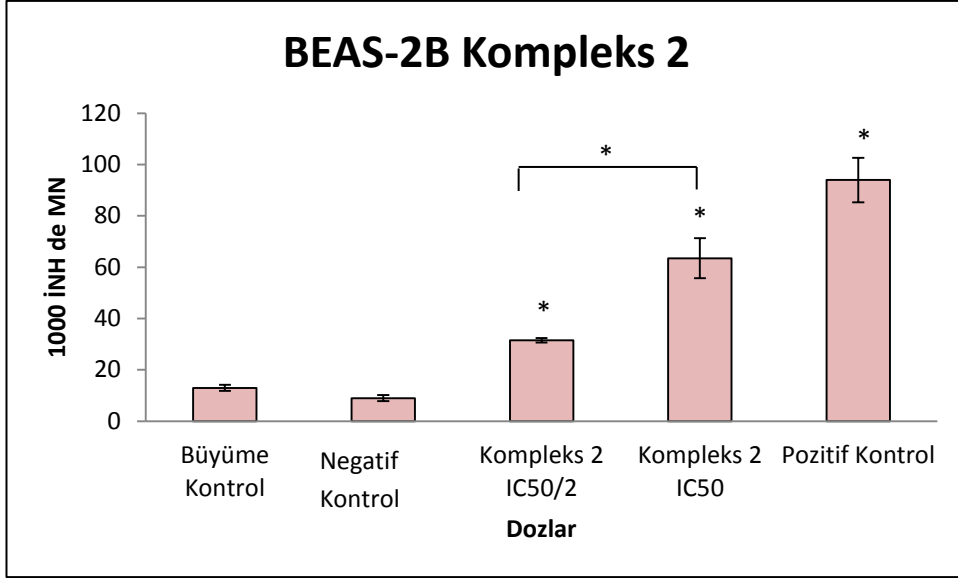
#### 4.5.4. BEAS-2B hücre hattında elde edilen MN bulguları

BEAS-2B hücrelerine ortalama MN değerleri kontrol grubunda  $13 \pm 1,15$  ve negatif kontrol grubunda  $9 \pm 1,15$  şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla  $54 \pm 8,08$ ;  $71 \pm 2,30$  şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.86'da verilmiştir. Kompleks1'in IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub> (4,98 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05).



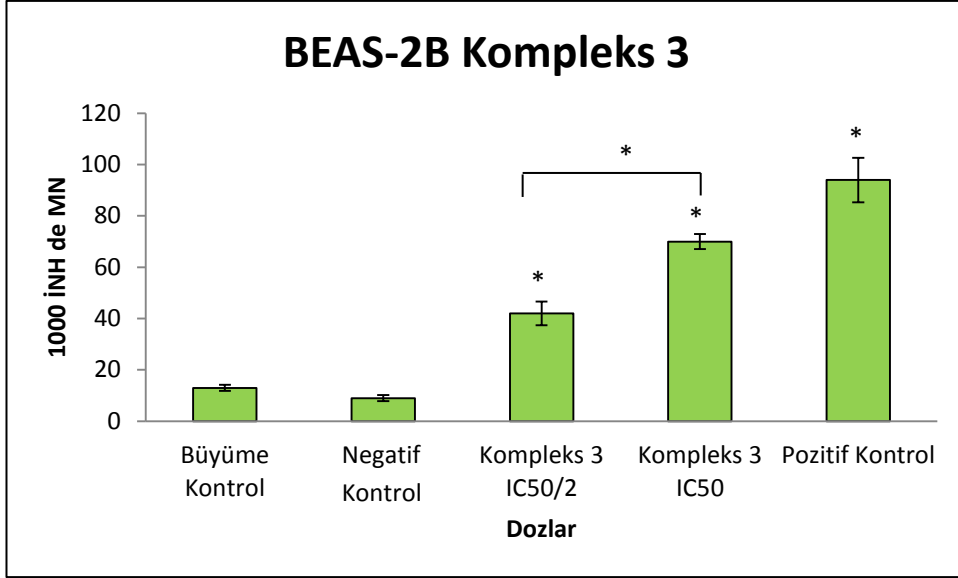
**Şekil 4.86.** Kompleks 1'in  $IC_{50/2}$  ( $2,49 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $4,98 \mu M$ ) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 2'nin  $IC_{50/2}$  ( $4,7 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $9,40 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla  $31,5 \pm 0,86$ ;  $63,5 \pm 7,79$  şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.87'de verilmiştir. Kompleks 2'nin  $IC_{50/2}$  ( $4,7 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $9,40 \mu M$ ) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50/2}$  ( $4,7 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $9,40 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $9,40 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50/2}$  ( $4,7 \mu M$ ) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).



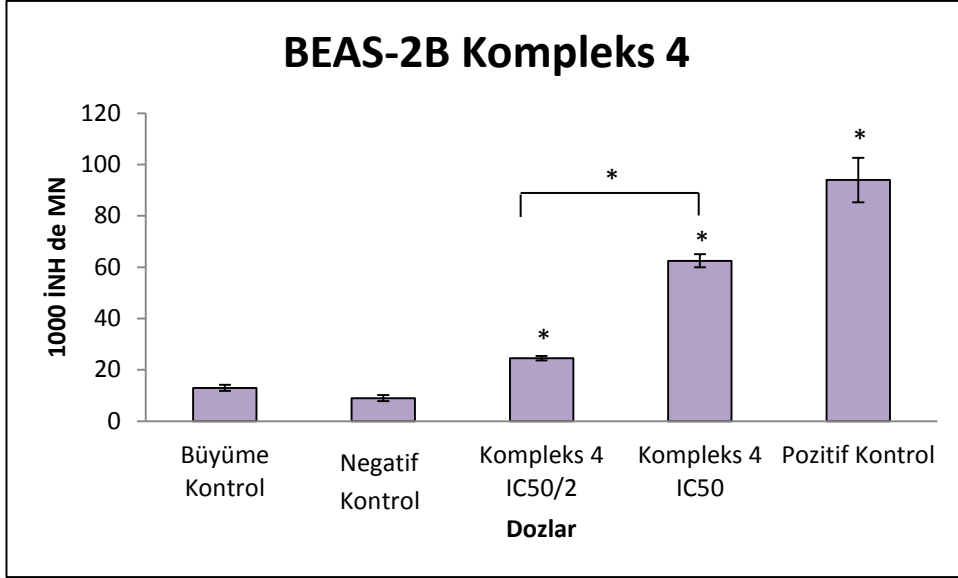
**Şekil 4.87.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 (4,7 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla 42 ± 4,61; 70 ± 2,88 şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.88'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P ≤ 0,05).



**Şekil 4.88.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,07 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

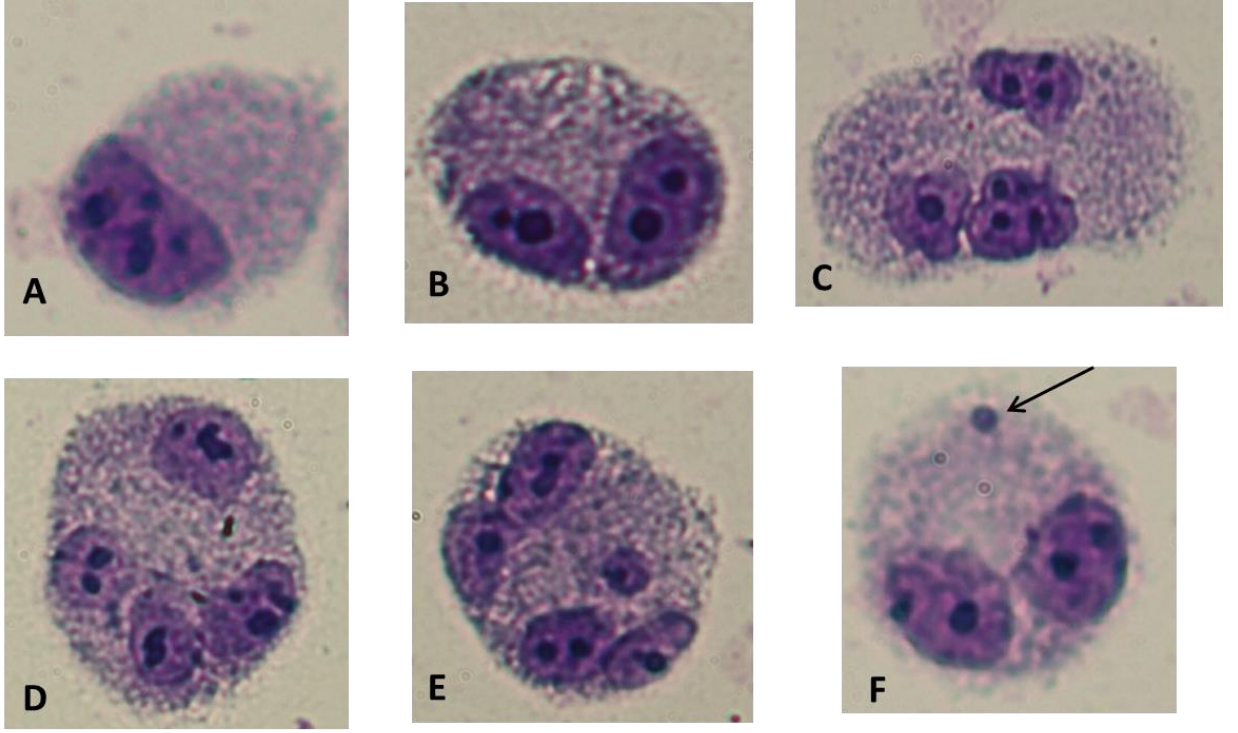
BEAS-2B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri sırasıyla 24,5 ± 0,86; 62,5 ± 2,59 şeklindedir ve çizelge 4.7.'de ve şekil 4.89'da verilmiştir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) gruplarının ortalama MN değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (P ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,77 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,88 µM) dozuna kıyasla MN değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P ≤ 0,05).



**Şekil 4.89.** Kompleks 4'ün  $IC_{50}/2$  ( $1,88 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $3,77 \mu M$ ) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \* ;  $p \leq 0,05$

**Çizelge 4.7.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 ve IC<sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama MN değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, ilgili IC<sub>50</sub> dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05

Hücre Hattı	MN			
	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Büyüme Kontrol</b>	20 ± 1,15	2,5 ± 0,28	16,5 ± 2,02	13 ± 1,15
<b>Negatif Kontrol</b>	23 ± 0	8 ± 1,15	11,5 ± 0,28	9 ± 1,15
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 2,21; 1,33; 0,55; 2,49 µM)	58 ± 0,57 <sup>a</sup>	11 ± 1,73	59 ± 4,04 <sup>a</sup>	54 ± 8,08 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	80 ± 9,81 <sup>ad</sup>	19 ± 3,46 <sup>a</sup>	84,5 ± 4,33 <sup>ad</sup>	71 ± 2,30 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,22; 1,95; 0,74; 4,7µM)	42 ± 1,15 <sup>a</sup>	9,5 ± 0,28	53 ± 6,92 <sup>a</sup>	31,5 ± 0,86 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	81 ± 0,57 <sup>ad</sup>	24 ± 1,73 <sup>ad</sup>	92,5 ± 0,86 <sup>ad</sup>	63,5 ± 7,79 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 0,35; 0,47; 0,27; 1,07 µM)	74 ± 0 <sup>a</sup>	20,5 ± 0,86 <sup>a</sup>	67,5 ± 6,06 <sup>a</sup>	42 ± 4,61 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	83 ± 5,77 <sup>a</sup>	23,5 ± 0,28 <sup>ad</sup>	100,5 ± 13,56 <sup>a</sup>	70 ± 2,88 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,39; 1,10; 0,81; 1,88 µM)	52,5 ± 1,44 <sup>a</sup>	19,5 ± 2,59 <sup>a</sup>	42 ± 0 <sup>a</sup>	24,5 ± 0,86 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77µM)	99 ± 5,77 <sup>ad</sup>	30 ± 0 <sup>ad</sup>	86 ± 8,08 <sup>ad</sup>	62,5 ± 2,59 <sup>ad</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> (sırası ile 116,18; 107,27; 52,81; 44,95 µM)	50,5 ± 0,28 <sup>a</sup>	28,5 ± 3,75 <sup>a</sup>	33,5 ± 0,86 <sup>a</sup>	94 ± 8,66 <sup>a</sup>



**Şekil 4.90.** MN testi preparatından elde edilen mikroskopik görüntü örnekleri (20X). A; bir nükleuslu hücre. B; iki nükleuslu hücre C; üç nükleuslu hücre. D; dört nükleuslu hücre. E; beş nükleuslu hücre. F; MN içeren iki nükleuslu hücre.

#### 4.6. NDI Bulguları

Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün  $IC_{50}/2$  ve  $IC_{50}$  dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen NDI değerleri Çizelge 4.8.'de verilmiştir. NDI değerlerinin istatistiksel analizi Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

##### 4.6.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen NDI bulguları

Caco-2 hücrelerine ortalama NDI değerleri kontrol grubunda  $1,69 \pm 0,05$  ve negatif kontrol grubunda  $1,73 \pm 0,04$  şeklindedir. Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,15 \pm 0,01$ ;  $1,08 \pm 0,01$  şeklindedir. Kompleks 1'in  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,43 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  dozunun  $IC_{50}/2$  ( $1,21 \mu M$ ) dozuna kıyasla NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

Caco-2 hücrelerine Kompleks 2'nin  $IC_{50}/2$  ( $1,22 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,45 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,39 \pm 0,04$ ;  $1,16 \pm 0$  şeklindedir. Kompleks 2'nin  $IC_{50}/2$  ( $1,22 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,45 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}/2$  ( $1,22 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,45 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $2,45 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}/2$  ( $1,22 \mu M$ ) dozuna kıyasla NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

Caco-2 hücrelerine Kompleks 3'ün  $IC_{50}/2$  ( $0,35 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $0,70 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,27 \pm 0,04$ ;  $1,19 \pm 0,02$  şeklindedir. Kompleks 3'ün  $IC_{50}/2$  ( $0,35 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $0,70 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini



istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50/2}$  ( $0,35 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $0,70 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $0,70 \mu M$ ) dozunun NDI değerinde neden olduğu düşüşün istatistiki olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ( $p > 0,05$ ).

Caco-2 hücrelerine Kompleks 4'ün  $IC_{50/2}$  ( $1,39 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,78 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,14 \pm 0,02$ ;  $1,21 \pm 0$  şeklindedir. Kompleks 4'ün  $IC_{50/2}$  ( $1,39 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,78 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50/2}$  ( $1,39 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,78 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $2,78 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50/2}$  ( $1,39 \mu M$ ) dozuna kıyasla NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

#### **4.6.2. MCF7 hücre hattında elde edilen NDI bulguları**

MCF7 hücrelerine ortalama NDI değerleri kontrol grubunda  $1,31 \pm 0,07$  ve negatif kontrol grubunda  $1,27 \pm 0,04$  şeklindedir. Kompleks 1'in  $IC_{50/2}$  ( $1,33 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,67 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,49 \pm 0$ ;  $1,18 \pm 0$  şeklindedir. Kompleks 1'in  $IC_{50/2}$  ( $1,33 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,67 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında  $IC_{50/2}$  dozunun NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı ( $P \leq 0,05$ ),  $IC_{50}$  ( $2,67 \mu M$ ) NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50/2}$  ( $1,33 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,67 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında doz grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir ( $P > 0,05$ ).

MCF7 hücrelerine Kompleks 2'nin  $IC_{50/2}$  ( $1,95 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $3,90 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,33 \pm 0,03$ ;  $1,26 \pm 0$  şeklindedir. Kompleks 2'nin  $IC_{50/2}$  ( $1,95 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $3,90 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde değiştirmediği belirlenmiştir ( $P > 0,05$ ). Aynı zamanda

IC<sub>50</sub>/2 (1,95 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında NDI değerinin IC<sub>50</sub> (3,90 µM) doz grubunda istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir (P≤0,05).

MCF7 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla 1,21 ± 0,02; 1,19 ± 0 şeklindedir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) dozunun NDI değerinde anlamlı bir düşüşe neden olmadığı (P>0,05), IC<sub>50</sub> (0,95 µM) dozunun ise NDI değerleri anlamlı seviyede düşürdüğü tespit edilmiştir (P≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,47 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,95 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında doz grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (P>0,05).

MCF7 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla 1,16 ± 0; 1,11 ± 0 şeklindedir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir (P≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) ve IC<sub>50</sub> (2,21 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozunun IC<sub>50</sub>/2 (1,10 µM) dozuna kıyasla NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir (P≤0,05).

#### **4.6.3. Hep-3B hücre hattında elde edilen NDI bulguları**

Hep-3B hücrelerine ortalama NDI değerleri kontrol grubunda 1,57 ± 0,02 ve negatif kontrol grubunda 1,5 ± 0,05 şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla 1,59 ± 0,04; 1,32 ± 0,06 şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde değiştirmediği belirlenmiştir (P>0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub>/2 (0,55 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,10 µM) grupları kendi aralarında

karşılaştırıldığında NDI değerinin IC<sub>50</sub> (1,10 µM) doz grubunda istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir (P≤0,05).

Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50/2</sub> (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla 1,21 ± 0,04; 1,26 ± 0 şeklindedir. Kompleks 2'nin IC<sub>50/2</sub> (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir (P≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50/2</sub> (0,74 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında doz grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (P>0,05).

Hep-3B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50/2</sub> (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla 1,26 ± 0,02; 1,2 ± 0 şeklindedir. Kompleks 2'nin IC<sub>50/2</sub> (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir (P≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50/2</sub> (0,27 µM) ve IC<sub>50</sub> (0,55 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>50</sub> (0,55 µM) dozunun IC<sub>50/2</sub> (0,27 µM) dozuna kıyasla NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir (P≤0,05).

Hep-3B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50/2</sub> (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla 1,52 ± 0,09; 1,38 ± 0,02 şeklindedir. Kompleks 4'ün IC<sub>50/2</sub> (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde değiştirmediği belirlenmiştir (P>0,05). Aynı zamanda IC<sub>50/2</sub> (0,81 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,63 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında doz grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (P>0,05).

#### **4.6.4. BEAS-2B hücre hattında elde edilen NDI bulguları**

BEAS-2B hücrelerine ortalama NDI değerleri kontrol grubunda 2,1 ± 0,05 ve negatif kontrol grubunda 2,05 ± 0,02 şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50/2</sub> (2,49 µM) ve IC<sub>50</sub>

dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,405 \pm 0$ ;  $1,03 \pm 0,19$  şeklindedir. Kompleks 1'in  $IC_{50/2}$  ( $2,49 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $4,98 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50/2}$  ( $2,49 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $4,98 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $4,98 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50/2}$  ( $2,49 \mu M$ ) dozuna kıyasla NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 2'nin  $IC_{50/2}$  ( $4,7 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $9,40 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,56 \pm 0$ ;  $1,28 \pm 0,01$  şeklindedir. Kompleks 2'nin  $IC_{50/2}$  ( $4,7 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $9,40 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50/2}$  ( $4,7 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $9,40 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $9,40 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50/2}$  ( $4,7 \mu M$ ) dozuna kıyasla NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 3'ün  $IC_{50/2}$  ( $1,07 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,14 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,31 \pm 0,01$ ;  $1,22 \pm 0$  şeklindedir. Kompleks 3'ün  $IC_{50/2}$  ( $1,07 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,14 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50/2}$  ( $1,07 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $2,14 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$  ( $2,14 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50/2}$  ( $1,07 \mu M$ ) dozuna kıyasla NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 4'ün  $IC_{50/2}$  ( $1,88 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $3,77 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri sırasıyla  $1,03 \pm 0,12$ ;  $1,39 \pm 0$  şeklindedir. Kompleks 4'ün  $IC_{50/2}$  ( $1,88 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $3,77 \mu M$ ) gruplarının ortalama NDI değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda NDI değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50/2}$  ( $1,88 \mu M$ ) ve  $IC_{50}$  ( $3,77 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{50}$

(3,77  $\mu\text{M}$ ) dozu grubunda NDI değerinin  $\text{IC}_{50}/2$  (1,88  $\mu\text{M}$ ) doz grubuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

**Çizelge 4.8.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 ve IC<sub>50</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama NDI değerleri, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, ilgili IC<sub>50</sub> dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05

Hücre Hattı	NDI			
	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Büyüme Kontrol</b>	1,69 ± 0,05	1,31 ± 0,07	1,57 ± 0,02	2,1 ± 0,05
<b>Negatif Kontrol</b>	1,73 ± 0,04	1,27 ± 0,04	1,5 ± 0,05	2,05 ± 0,02
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 2,21; 1,33; 0,55; 2,49 µM)	1,15 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,49 ± <sup>a</sup>	1,59 ± 0,04	1,40 ± 0 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	1,08 ± 0,01 <sup>ad</sup>	1,18 ± 0 <sup>a</sup>	1,32± 0,06 <sup>d</sup>	1,03 ± 0,19 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,22; 1,95; 0,74; 4,7µM)	1,39 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,33 ± 0,03	1,21 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,56 ± 0 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	1,16 ± 0 <sup>ad</sup>	1,26 ± <sup>d</sup>	1,26 ± 0 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,01 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 0,35; 0,47; 0,27; 1,07 µM)	1,27 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,21 ± 0,02	1,26 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	1,19 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,19 ± 0 <sup>a</sup>	1,2 ± 0 <sup>ad</sup>	1,22 ± 0 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub>/2</b> (sırası ile 1,39; 1,10; 0,81; 1,88 µM)	1,14 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,16 ± 0 <sup>a</sup>	1,52 ± 0,09	1,03 ± 0,12 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77µM)	1,21 ± 0 <sup>ad</sup>	1,11 ± 0 <sup>ad</sup>	1,38 ± 0,02	1,39 ± 0 <sup>ad</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> (sırası ile 116,18; 107,27; 52,81; 44,95 µM)	1,27 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,11 ± 0 <sup>a</sup>	1,41 ± 0	1,64 ± 0,03 <sup>a</sup>

#### **4.7. M30 ve M65 Bulguları**

Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub> ve IC<sub>90</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30 değerleri (U/L) Çizelge 4.9'da ve M65 değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarındaki IC<sub>90</sub> dozları kullanılmıştır (602,62; 626,41; 128,12; 89,23) M30 ve M65 değerlerinin istatistiksel analizi Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

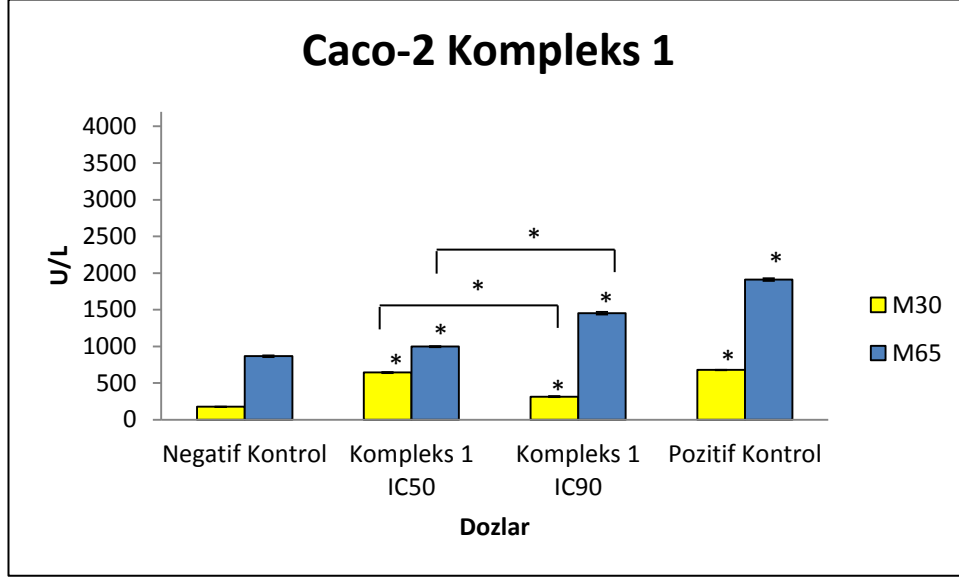
##### **4.7.1. Caco-2 hücre hattında elde edilen M30 ve M65 bulguları**

###### **4.7.1.1. Caco-2 hücre hattında Kompleks 1 için elde edilen M30 ve M65 bulguları**

Caco-2 hücrelerine ortalama M30 kontrol grubunda  $192,40 \pm 1,15$  ve negatif kontrol grubunda  $176,40 \pm 1,15$  olarak belirlenmiştir. Caco-2 hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,68 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $644 \pm 7,69$ ;  $315,60 \pm 7,69$  şeklindedir ve çizelge 4.9.'da verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,68 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,68 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (6,68 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,43 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

Caco-2 hücrelerine ortalama M65 kontrol grubunda  $914,07 \pm 5,36$  ve negatif kontrol grubunda  $865,85 \pm 10,72$  olarak belirlenmiştir. Caco-2 hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,68 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla  $998 \pm 6,59$ ;  $1454,42 \pm 17,32$  şeklindedir ve çizelge 4.10.'da ve şekil 4.91'de verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,68 µM) gruplarının M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,43 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,68 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (6,68

$\mu\text{M}$ ) dozunun  $\text{IC}_{50}$  ( $2,43 \mu\text{M}$ ) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.91.** Kompleks 1'in  $\text{IC}_{50}$  ( $2,43 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $6,68 \mu\text{M}$ ) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

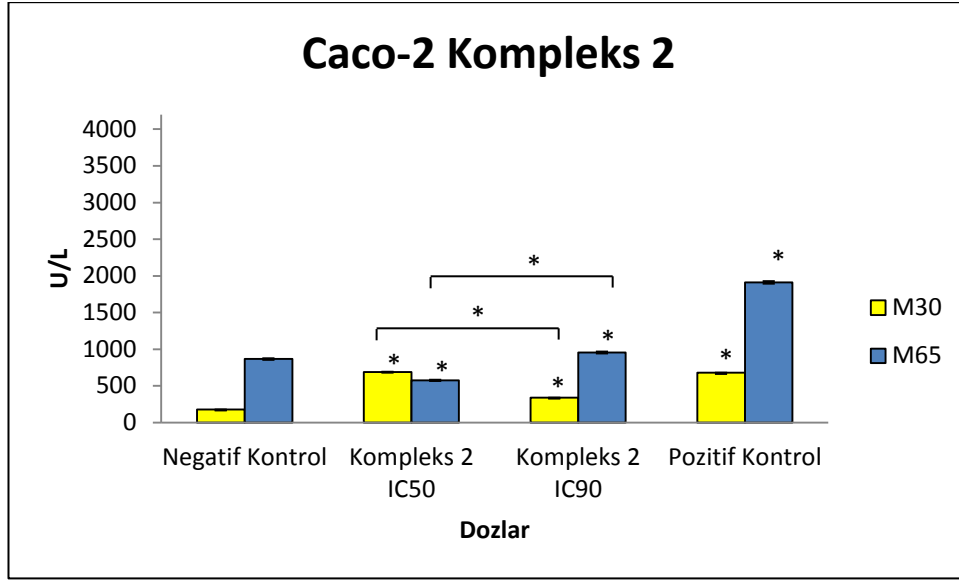
#### 4.7.1.2. Caco-2 hücre hattında Kompleks 2 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

Caco-2 hücrelerine Kompleks 2'nin  $\text{IC}_{50}$  ( $2,45 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $6,61 \mu\text{M}$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $690,60 \pm 4,61$ ;  $339,8 \pm 1,15$  şeklindedir ve çizelge 4.9.'da verilmiştir. Kompleks 2'nin  $\text{IC}_{50}$  ( $2,45 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $6,61 \mu\text{M}$ ) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda ve  $\text{IC}_{90}$  ( $6,61 \mu\text{M}$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $\text{IC}_{90}$  ( $6,61 \mu\text{M}$ ) dozunun  $\text{IC}_{50}$  ( $2,45 \mu\text{M}$ ) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

Caco-2 hücrelerine Kompleks 2'nin  $\text{IC}_{50}$  ( $2,45 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $6,61 \mu\text{M}$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla  $575,14 \pm 9,89$ ;  $956,57 \pm 13,19$  şeklindedir ve çizelge 4.10.'da ve şekil 4.92'de verilmiştir. Kompleks 2'nin  $\text{IC}_{50}$  ( $2,45 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $6,61 \mu\text{M}$ ) gruplarının M65 değerleri negatif kontrol ile



kıyaslandığında IC<sub>50</sub> (2,45 µM) dozunun M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı IC<sub>90</sub> (6,61 µM) dozunun ise anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,45 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,61 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (6,61 µM) dozunun dozunun kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,05).

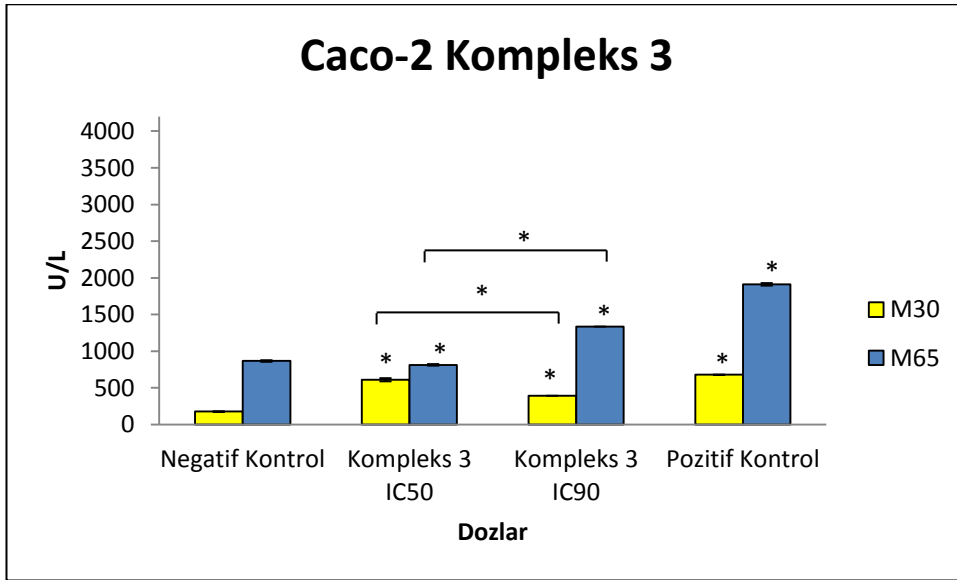


**Şekil 4.92.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (2,45 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,61 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

#### 4.7.1.3. Caco-2 hücre hattında Kompleks 3 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

Caco-2 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,81 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla 610,66 ± 23,09; 390,60 ± 0 şeklindedir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,81 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,81 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (2,81 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P≤0,05).

Caco-2 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,81 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla 811,57 ± 10,72; 1334,42 ± 0,82 şeklindedir ve çizelge 4.10.'da ve şekil 4.93'de verilmiştir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,81 µM) gruplarının ortalama M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozunun M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı IC<sub>90</sub> (2,81 µM) dozunun ise anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,81 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (2,81 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (0,70 µM) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,05).



**Şekil 4.93.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,70 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,81 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

#### 4.7.1.4. Caco-2 hücre hattında Kompleks 4 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

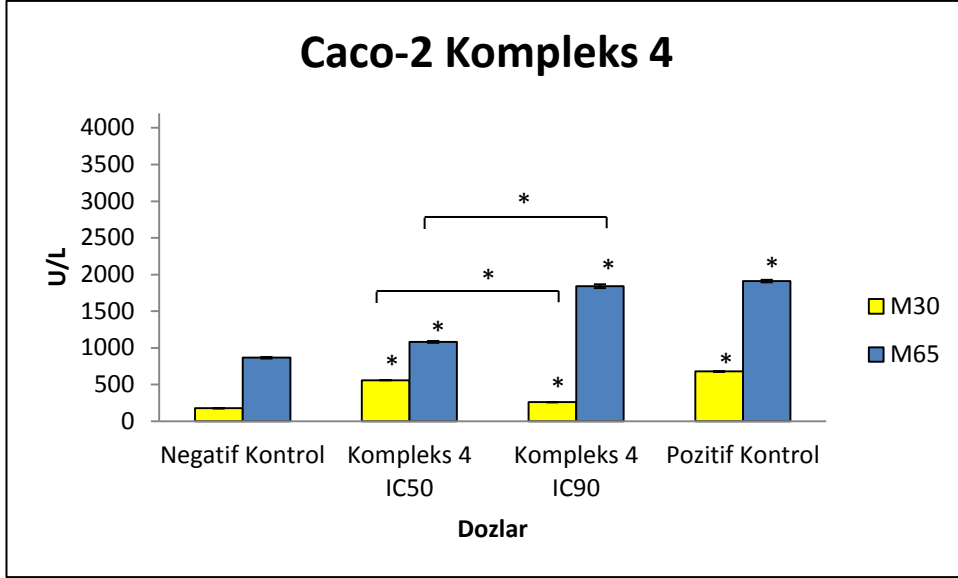
Caco-2 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,78 µM) ve IC<sub>90</sub> (20,16 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla 559 ± 1,92; 260,6 ± 1,92 şeklindedir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,78 µM) ve IC<sub>90</sub> (20,16 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini

istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}$  (2,78  $\mu M$ ) ve  $IC_{90}$  (20,16  $\mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{90}$  (20,16  $\mu M$ ) dozunun  $IC_{50}$  (2,78  $\mu M$ ) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

Caco-2 hücrelerine Kompleks 4'ün  $IC_{50}$  (2,78  $\mu M$ ) ve  $IC_{90}$  (20,16  $\mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla  $1083,71 \pm 13,19$ ;  $1839,42 \pm 26,39$  şeklindedir ve çizelge 4.10.'da ve şekil 4.94'de verilmiştir. Kompleks 4'ün  $IC_{50}$  (2,78  $\mu M$ ) ve  $IC_{90}$  (20,16  $\mu M$ ) gruplarının ortalama M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}$  (2,78  $\mu M$ ) ve  $IC_{90}$  (20,16  $\mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{90}$  (20,16  $\mu M$ ) dozunun  $IC_{50}$  (2,78  $\mu M$ ) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ).

M30 testinde pozitif kontrol olarak Cisplatin'nin Caco-2 hücre hattındaki  $IC_{90}$  (126,6  $\mu M$ ) dozu kullanılmıştır. Caco-2 hücre hattında Cisplatin muamelesi sonucu M30 değeri  $679,83 \pm 2,4$  olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ).

M65 testinde pozitif kontrol olarak  $H_2O_2$ 'nin Caco-2 hücre hattındaki  $IC_{90}$  (602,62  $\mu M$ ) dozu kullanılmıştır. Caco-2 hücre hattında  $H_2O_2$  muamelesi sonucu M65 değeri  $1909,58 \pm 17,8$  olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.94.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,78 µM) ve IC<sub>90</sub> (20,16 µM) dozları ile Caco-2 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

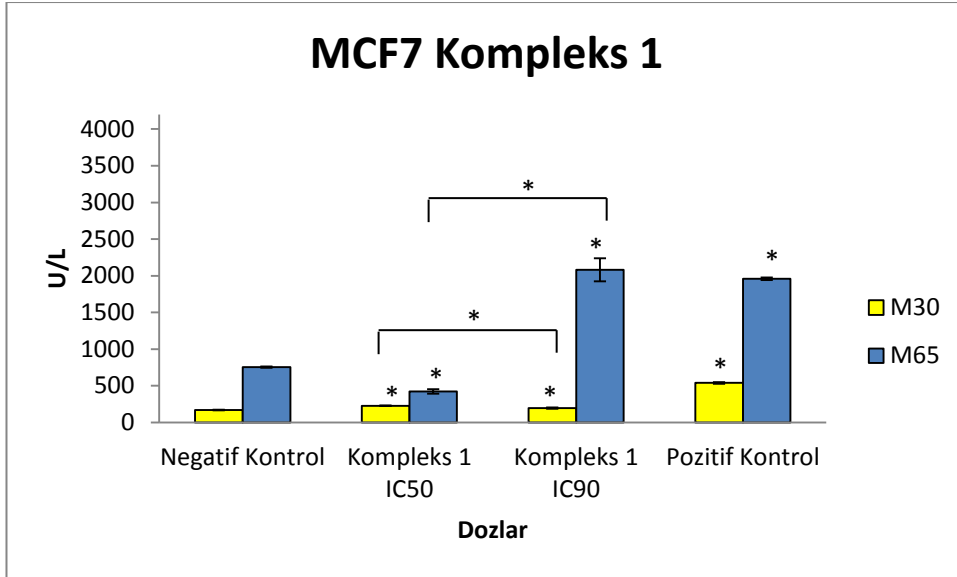
#### 4.7.2. MCF7 hücre hattında elde edilen M30 ve M65 bulguları

##### 4.7.2.1. MCF7 hücre hattında Kompleks 1 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

MCF7 hücrelerine ortalama M30 kontrol grubunda  $171,40 \pm 4,61$  ve negatif kontrol grubunda  $169,80 \pm 4,61$  olarak belirlenmiştir. MCF7 hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,67 µM) ve IC<sub>90</sub> (12,2 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $227,30 \pm 1,92$ ;  $195,60 \pm 7,69$  şeklindedir ve çizelge 4.9.'da verilmiştir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (2,67 µM) ve IC<sub>90</sub> (12,2 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,67 µM) ve IC<sub>90</sub> (12,2 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (12,2 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,67 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

MCF7 hücrelerine ortalama M65 kontrol grubunda  $430,41 \pm 5,29$  ve negatif kontrol grubunda  $755,41 \pm 8,17$  olarak belirlenmiştir. MCF7 hücrelerine kompleks 1'in IC<sub>50</sub>

(2,67  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (12,2  $\mu\text{M}$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla  $421,57 \pm 30,51$ ;  $2081,57 \pm 157,53$  şeklindedir. Kompleks 1'in  $\text{IC}_{50}$  (2,67  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (12,2  $\mu\text{M}$ ) gruplarının M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında  $\text{IC}_{50}$  (2,67  $\mu\text{M}$ ) dozunun M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı  $\text{IC}_{90}$  (12,2  $\mu\text{M}$ ) dozunun ise anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $\text{IC}_{50}$  (2,67  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (12,2  $\mu\text{M}$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $\text{IC}_{90}$  (12,2  $\mu\text{M}$ ) dozunun  $\text{IC}_{50}$  (2,67  $\mu\text{M}$ ) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).



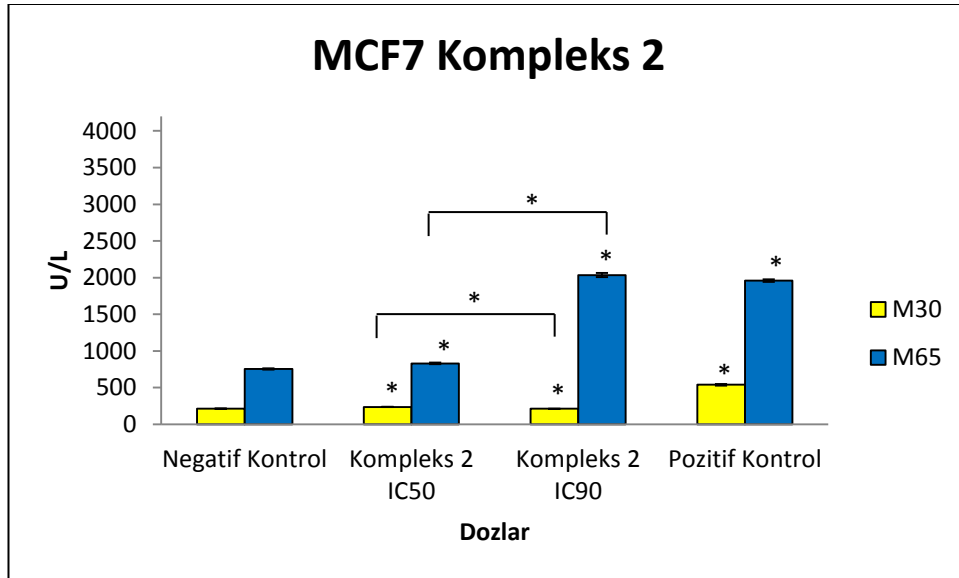
**Şekil 4.95.** Kompleks 1'in  $\text{IC}_{50}$  (2,67  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (12,2  $\mu\text{M}$ ) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

#### 4.7.2.2. MCF7 hücre hattında Kompleks 2 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

MCF7 hücrelerine Kompleks 2'nin  $\text{IC}_{50}$  (3,90  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (16,71  $\mu\text{M}$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $236,50 \pm 0,96$ ;  $211,50 \pm 0,96$  şeklindedir. Kompleks 2'nin  $\text{IC}_{50}$  (3,90  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (16,71  $\mu\text{M}$ ) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $\text{IC}_{50}$  (3,90  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (16,71  $\mu\text{M}$ ) grupları kendi aralarında

karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (16,71 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P≤0,05).

MCF7 hücrelerine Kompleks 2'in IC<sub>50</sub> (3,90 µM) ve IC<sub>90</sub> (16,71 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla 830,14 ± 12,37; 2035,14 ± 29,69 şeklindedir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (3,90 µM) ve IC<sub>90</sub> (16,71 µM) gruplarının M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>90</sub> (16,71 µM) ve IC<sub>50</sub> (3,90 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (16,71 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (3,90 µM) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,05).



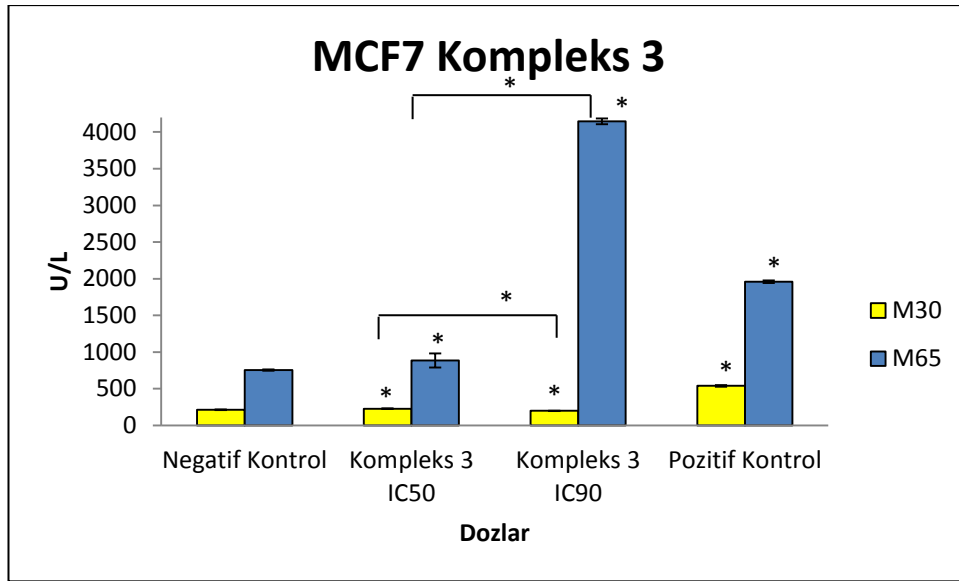
**Şekil 4.96.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (3,90 µM) ve IC<sub>90</sub> (16,71 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

#### 4.7.2.3. MCF7 hücre hattında Kompleks 3 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

MCF7 hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,95 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,78 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla 228,10 ± 2,88; 198,10 ± 0,96 şeklindedir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,95 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,78 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini

istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}$  ( $0,95 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $2,78 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{90}$  ( $2,78 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}$  ( $0,95 \mu M$ ) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

MCF7 hücrelerine Kompleks 3'ün  $IC_{50}$  ( $0,95 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $2,78 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla  $884,42 \pm 94,85$ ;  $4145,85 \pm 38,76$  şeklindedir. Kompleks 3'ün  $IC_{50}$  ( $0,95 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $2,78 \mu M$ ) gruplarının ortalama M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}$  ( $0,95 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $2,78 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{90}$  ( $2,78 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}$  ( $0,95 \mu M$ ) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.97.** Kompleks 3'ün  $IC_{50}$  ( $0,95 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $2,78 \mu M$ ) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

#### 4.7.2.4. MCF7 hücre hattında Kompleks 4 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

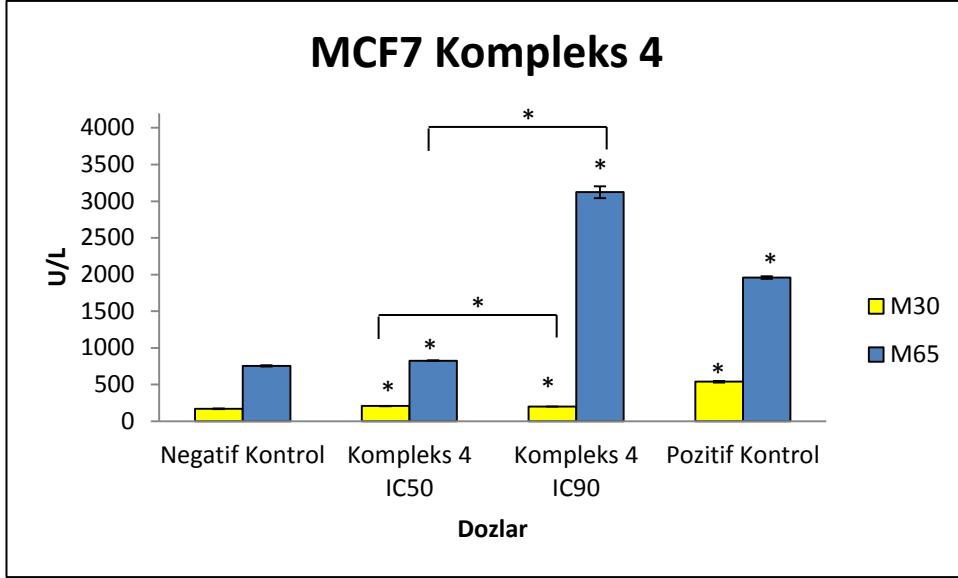
MCF7 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,09 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla 207,30 ± 1,92; 199 ± 0,96 şeklindedir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,09 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,09 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (13,09 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P≤0,05).

MCF7 hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,09 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla 825,85 ± 0,82; 3123 ± 81,65 şeklindedir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,09 µM) gruplarının ortalama M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,09 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (13,09 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,21 µM) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).

M30 testinde pozitif kontrol olarak Cisplatin'nin MCF7 hücre hattındaki IC<sub>90</sub> dozu kullanılmıştır. MCF-7 hücre hattında Cisplatin muamelesi sonucu M30 değeri 538,4 ± 10,96 olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05).

M65 testinde pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin MCF-7 hücre hattındaki IC<sub>90</sub> (626,41 µM) dozu kullanılmıştır. MCF-7 hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muamelesi sonucu M65 değeri 1958,71 ± 17,32 olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05).





**Şekil 4.98.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (2,21 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,09 µM) dozları ile MCF7 hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

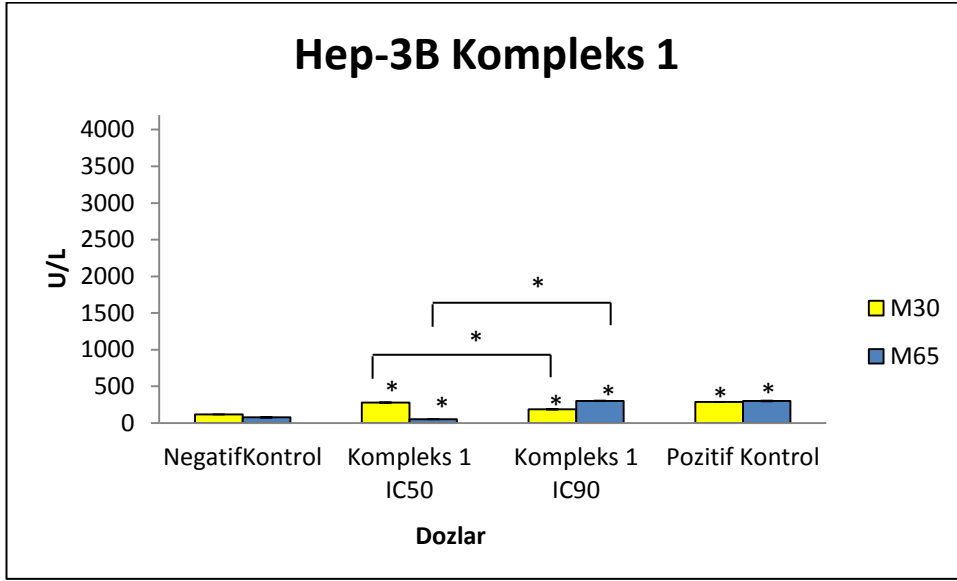
#### 4.7.3. Hep-3B hücre hattında elde edilen M30 ve M65 bulguları

##### 4.7.3.1. Hep-3B hücre hattında Kompleks 1 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

Hep-3B hücrelerine ortalama M30 kontrol grubunda  $118,8 \pm 3,64$  ve negatif kontrol grubunda  $116,8 \pm 1,15$  olarak belirlenmiştir. Hep-3B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,92 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $277,80 \pm 4,61$ ;  $186,80 \pm 3,46$  şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,92 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,92 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (5,92 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P ≤ 0,05).

Hep-3B hücrelerine ortalama M65 kontrol grubunda  $121,42 \pm 0$  ve negatif kontrol grubunda  $76,42 \pm 2,47$  olarak belirlenmiştir. Hep-3B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,92 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama

M65 değerleri sırasıyla  $52,91 \pm 0$ ;  $302,08 \pm 2,47$  şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,92 µM) gruplarının M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub> dozunun M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı IC<sub>90</sub> (5,92 µM) dozunun ise anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,92 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (5,92 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (1,10 µM) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

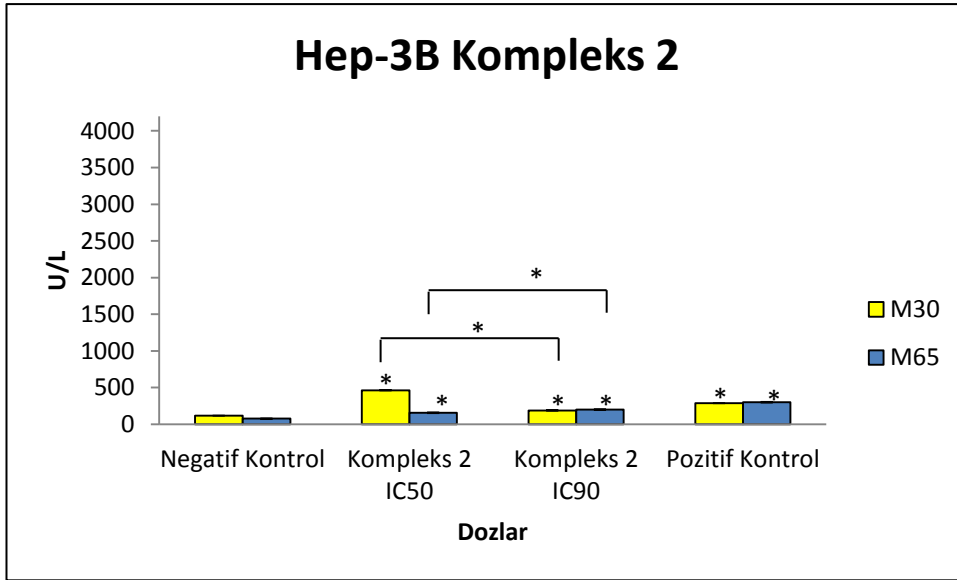


**Şekil 4.99.** Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (1,10 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,92 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

#### 4.7.3.2. Hep-3B hücre hattında Kompleks 2 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,65 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $463,55 \pm 3,46$ ;  $187,80 \pm 2,30$  şeklindedir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,65 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,65 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (5,65 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

Hep-3B hücrelerine Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,65 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla 155,83 ± 2,88; 200 ± 4,81 şeklindedir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,65 µM) gruplarının M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>90</sub> (5,65 µM) ve IC<sub>50</sub> (1,49 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (5,65 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (1,49 µM) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,05).



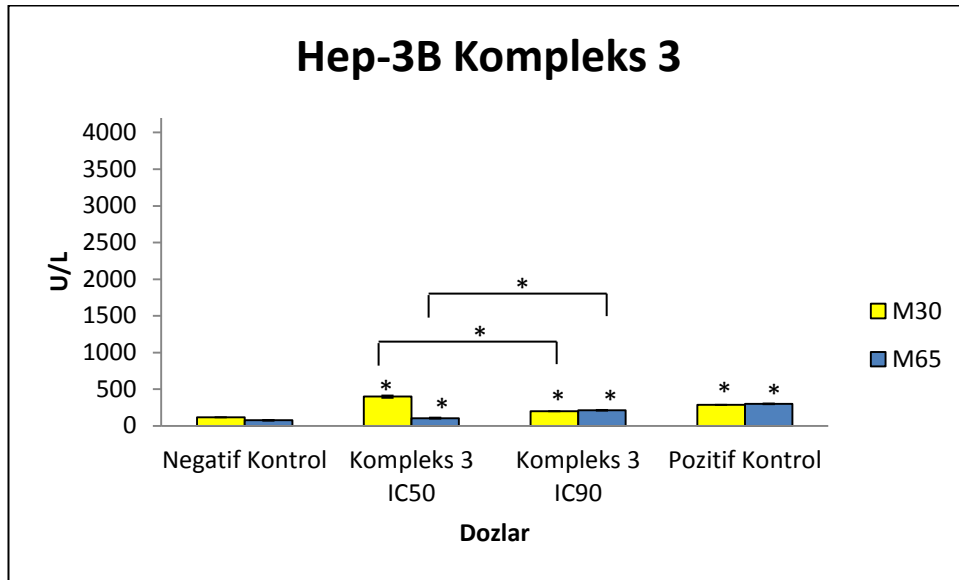
**Şekil 4.100.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (1,49 µM) ve IC<sub>90</sub> (5,65 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

#### 4.7.3.3. Hep-3B hücre hattında Kompleks 3 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

Hep-3B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,39 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla 268,8 ± 5,77; 199,80 ± 1,15 şeklindedir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,39 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (0,55 µM) ve IC<sub>90</sub> (2,39 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (2,39

$\mu\text{M}$ ) dozunun  $\text{IC}_{50}$  ( $0,55 \mu\text{M}$ ) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

Hep-3B hücrelerine Kompleks 3'ün  $\text{IC}_{50}$  ( $0,55 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $2,39 \mu\text{M}$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla  $104,58 \pm 6,25$ ;  $213,33 \pm 2,88$  şeklindedir. Kompleks 3'ün  $\text{IC}_{50}$  ( $0,55 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $2,39 \mu\text{M}$ ) gruplarının ortalama M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $\text{IC}_{50}$  ( $0,55 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $2,39 \mu\text{M}$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $\text{IC}_{90}$  ( $2,39 \mu\text{M}$ ) dozunun  $\text{IC}_{50}$  ( $0,55 \mu\text{M}$ ) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.101.** Kompleks 3'ün  $\text{IC}_{50}$  ( $0,55 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $2,39 \mu\text{M}$ ) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$

#### 4.7.3.4. Hep-3B hücre hattında Kompleks 4 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

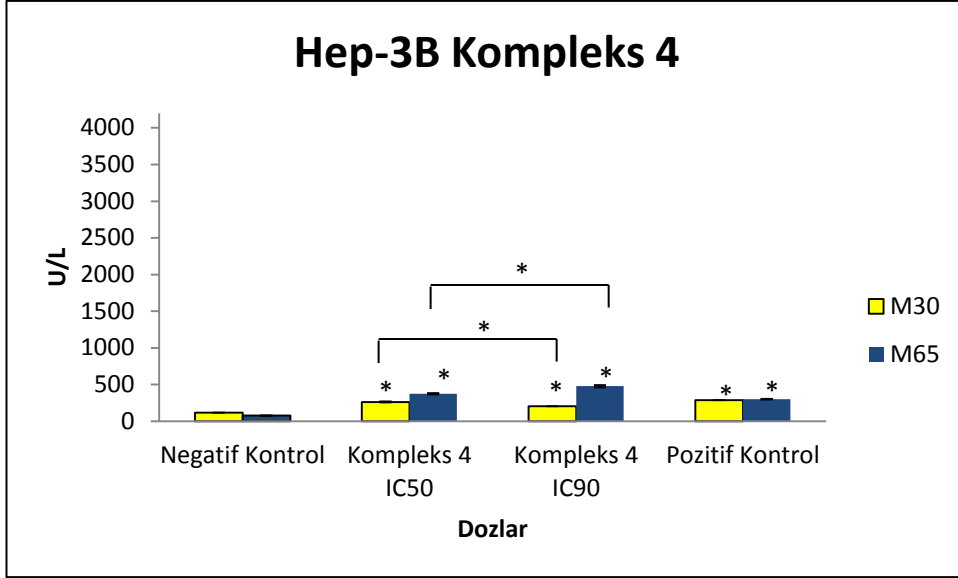
Hep-3B hücrelerine Kompleks 4'ün  $\text{IC}_{50}$  ( $1,63 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $6,99 \mu\text{M}$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $262,80 \pm 5,77$ ;  $204,80 \pm 1,15$  şeklindedir. Kompleks 4'ün  $\text{IC}_{50}$  ( $1,63 \mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  ( $6,99 \mu\text{M}$ ) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini

istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $6,99 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{90}$  ( $6,99 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).

Hep-3B hücrelerine Kompleks 4'ün  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $6,99 \mu M$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla  $375 \pm 9,07$ ;  $477,85 \pm 15,67$  şeklindedir. Kompleks 4'ün  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $6,99 \mu M$ ) gruplarının ortalama M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) ve  $IC_{90}$  ( $6,99 \mu M$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $IC_{90}$  ( $6,99 \mu M$ ) dozunun  $IC_{50}$  ( $1,63 \mu M$ ) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ).

M30 testinde pozitif kontrol olarak Cisplatin'nin Hep-3B hücre hattındaki  $IC_{90}$  ( $6,99 \mu M$ ) dozu kullanılmıştır. Hep-3B hücre hattında Cisplatin muamelesi sonucu M30 değeri  $285,8 \pm 0,57$  olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ).

M65 testinde pozitif kontrol olarak  $H_2O_2$ 'nin Hep-3B hücre hattındaki  $IC_{90}$  ( $128,12 \mu M$ ) dozu kullanılmıştır. Hep-3B hücre hattında  $H_2O_2$  muamelesi sonucu M65 değeri  $1909,58 \pm 17,8$  olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır ( $p \leq 0,05$ ).



**Şekil 4.102.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (1,63 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,99 µM) dozları ile Hep-3B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

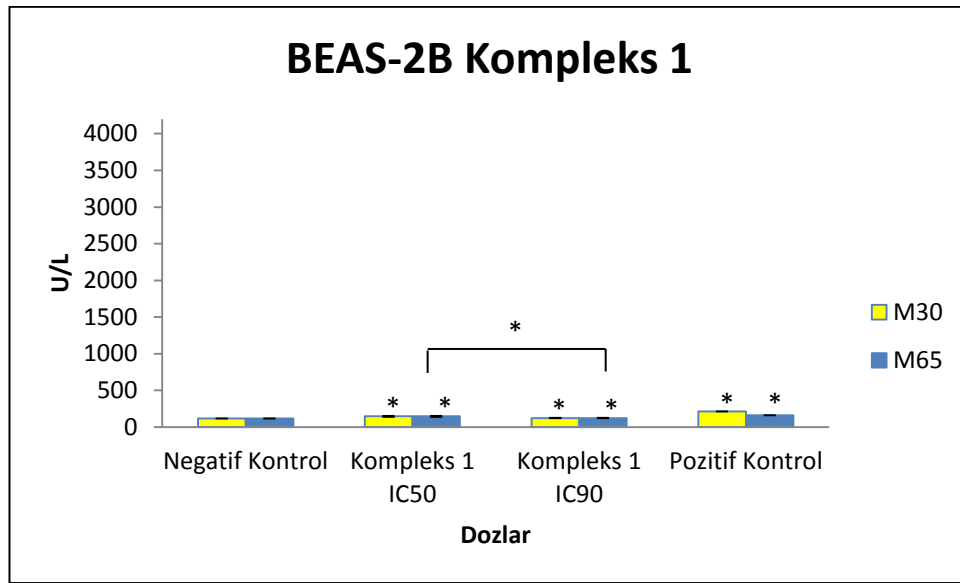
#### 4.7.4. BEAS-2B hücre hattında elde edilen M30 ve M65 Bulguları

##### 4.7.4.1. BEAS-2B hücre hattında Kompleks 1 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

BEAS-2B hücrelerine ortalama M30 kontrol grubunda  $119,80 \pm 0$  ve negatif kontrol grubunda  $117,80 \pm 0$  olarak belirlenmiştir. BEAS-2B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (4,98 µM) ve IC<sub>90</sub> (11,97 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $146,80 \pm 5,77$ ;  $122,80 \pm 1,15$  şeklindedir. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> (4,98 µM) ve IC<sub>90</sub> (11,97 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p ≤ 0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (4,98 µM) ve IC<sub>90</sub> (11,97 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (11,97 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P ≤ 0,05).

BEAS-2B hücrelerine ortalama M65 kontrol grubunda  $98,57 \pm 3,29$  ve negatif kontrol grubunda  $70,71 \pm 2,47$  olarak belirlenmiştir. BEAS-2B hücrelerine Kompleks 1'in IC<sub>50</sub>

(4,98  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (11,97  $\mu\text{M}$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla  $61,42 \pm 0$ ;  $237,14 \pm 0$  şeklindedir. Kompleks 1'in  $\text{IC}_{50}$  (4,98  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (11,97  $\mu\text{M}$ ) gruplarının M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında  $\text{IC}_{50}$  (4,98  $\mu\text{M}$ ) dozunun M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı  $\text{IC}_{90}$  (11,97  $\mu\text{M}$ ) dozunun ise anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Aynı zamanda  $\text{IC}_{50}$  (4,98  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (11,97  $\mu\text{M}$ ) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında  $\text{IC}_{90}$  (11,97  $\mu\text{M}$ ) dozunun  $\text{IC}_{50}$  (4,98  $\mu\text{M}$ ) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P \leq 0,05$ ).



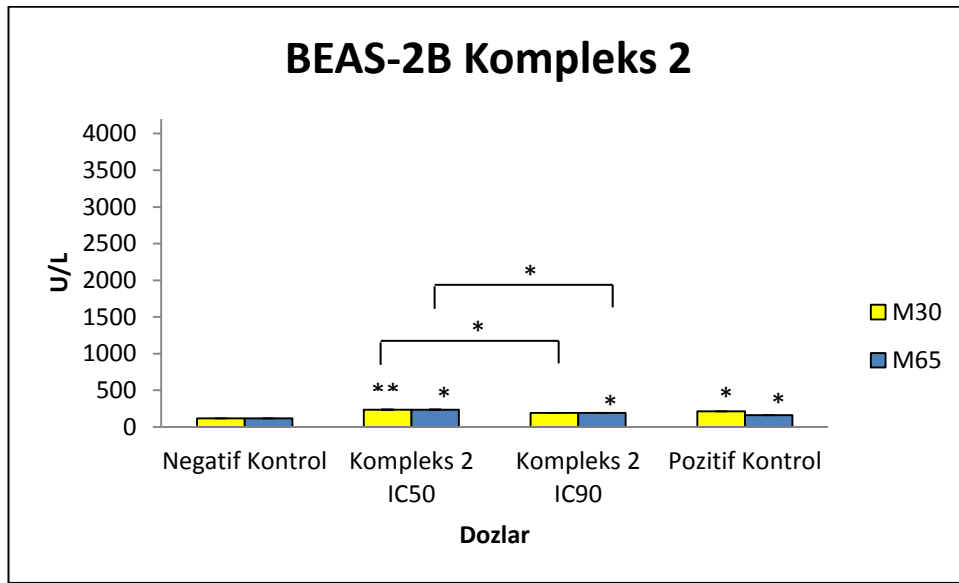
**Şekil 4.103.** Kompleks 1'in  $\text{IC}_{50}$  (4,98  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (11,97  $\mu\text{M}$ ) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*;  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$

#### 4.7.4.2. BEAS-2B hücre hattında Kompleks 2 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 2'nin  $\text{IC}_{50}$  (9,40  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (13,99  $\mu\text{M}$ ) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla  $234,80 \pm 4,61$ ;  $191,80 \pm 1,15$  şeklindedir. Kompleks 2'nin  $\text{IC}_{50}$  (9,40  $\mu\text{M}$ ) ve  $\text{IC}_{90}$  (13,99  $\mu\text{M}$ ) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında  $\text{IC}_{50}$  (9,40  $\mu\text{M}$ ) dozunun M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükseltirken ( $p \leq 0,01$ ),  $\text{IC}_{90}$  (13,99  $\mu\text{M}$ ) dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı ( $p \geq 0,05$ ) belirlenmiştir.

Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (9,40 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,99 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (13,99 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P≤0,05).

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 2'in IC<sub>50</sub> (9,40 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,99 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla 27,08 ± 0,48; 38,75 ± 2,40 şeklindedir. Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (9,40 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,99 µM) gruplarının M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>90</sub> (13,99 µM) ve IC<sub>50</sub> (9,40 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (13,99 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (P≤0,05).



**Şekil 4.104.** Kompleks 2'nin IC<sub>50</sub> (9,40 µM) ve IC<sub>90</sub> (13,99 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05; \*\* p≤ 0,01

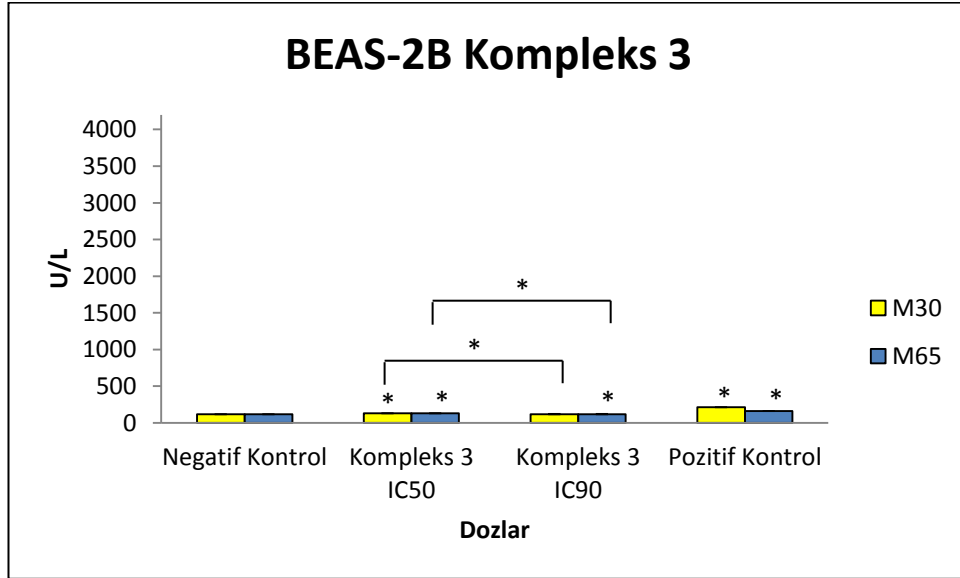
#### 4.7.4.3. BEAS-2B hücre hattında Kompleks 3 için elde edilen M30 ve M65 bulguları

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>90</sub> (4,28 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla 131,80 ± 0;



118,80 ± 1,15 şeklindedir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>90</sub> (4,28 µM) gruplarının M30 değerleri solvent kontrol ile kıyaslandığında IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozunun M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükseltirken (p≤0,05), IC<sub>90</sub> (4,28 µM) dozunun neden olduğu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı (p≥0,05) belirlenmiştir. Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>90</sub> (4,28 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (4,28 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P≤0,05).

Beas-2B hücrelerine Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>90</sub> (4,28 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla 80,71 ± 0,82; 291,42 ± 4,94 şeklindedir. Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>90</sub> (4,28 µM) gruplarının ortalama M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>90</sub> (4,28 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (4,28 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).



**Şekil 4.105.** Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> (2,14 µM) ve IC<sub>90</sub> (4,28 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p≤ 0,05

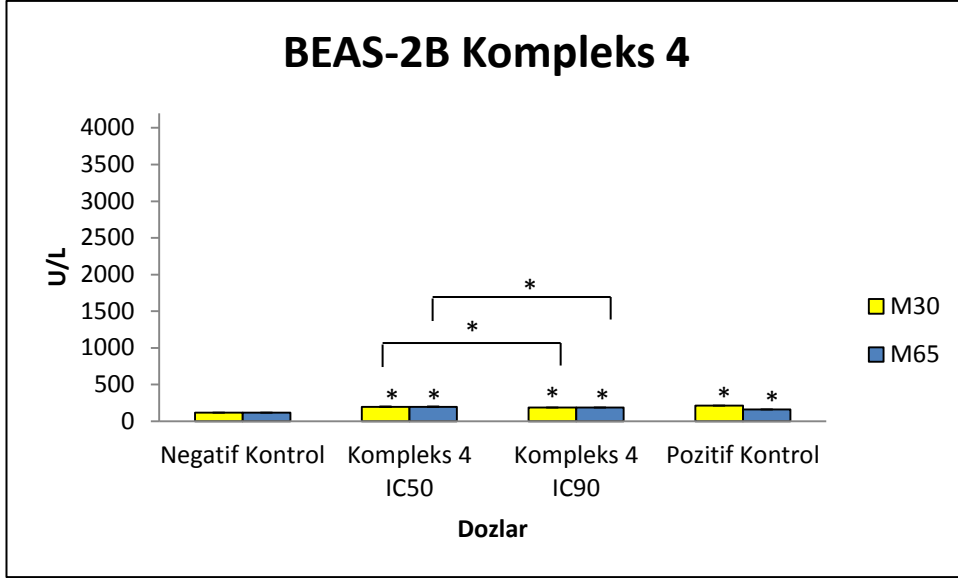
#### **4.7.4.4. BEAS-2B hücre hattında Kompleks 4 için elde edilen M30 ve M65 bulguları**

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,33 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M30 değerleri sırasıyla 197,80 ± 1,15; 186,80 ± 0 şeklindedir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,33 µM) gruplarının M30 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunda M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,33 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub>(6,33 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozuna kıyasla M30 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P≤0,05).

BEAS-2B hücrelerine Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,33 µM) dozları ile muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama M65 değerleri sırasıyla 199,16 ± 13,47; 310, 83 ± 2,88 şeklindedir. Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,33 µM) gruplarının ortalama M65 değerleri negatif kontrol ile kıyaslandığında her iki dozunun neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05). Aynı zamanda IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,33 µM) grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IC<sub>90</sub> (6,33 µM) dozunun IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozuna kıyasla M65 değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (p≤0,05).

M30 testinde pozitif kontrol olarak Cisplatin'nin BEAS-2B hücre hattındaki IC<sub>90</sub> dozu kullanılmıştır. BEAS-2B hücre hattında Cisplatin muamelesi sonucu M30 değeri 211,8 ± 0,57 olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05).

M65 testinde pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin BEAS-2B hücre hattındaki IC<sub>90</sub> (89,23 µM) dozu kullanılmıştır. BEAS-2B hücre hattında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muamelesi sonucu M65 değeri 322,5 ± 2,88 olarak tespit edilmiştir ve negatif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrolün neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlıdır (p≤0,05).



**Şekil 4.106.** Kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> (3,77 µM) ve IC<sub>90</sub> (6,33 µM) dozları ile BEAS-2B hücre hattına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30-M65 değerleri (U/L), ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır \*; p ≤ 0,05

**Çizelge 4.9.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub> ve IC<sub>90</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M30 değerleri (U/L), ±; standart sapmayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, <sup>b</sup>; p≤0,01, ilgili IC<sub>50</sub>/2 dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05

Hücre Hattı	M30 ± SS			
	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Büyüme Kontrol</b>	192,40 ± 1,15	171,40 ± 4,61	118,8 ± 3,64	119,80 ± 0
<b>Negatif Kontrol</b>	176,40 ± 1,15	169,80 ± 4,61	116,8 ± 1,15	117,80 ± 0
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	644 ± 7,69 <sup>a</sup>	227,30 ± 1,92 <sup>a</sup>	277,80 ± 4,61 <sup>a</sup>	146,80 ± 5,77 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 1 IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 6,68; 12,2; 5,92; 11,97 µM)	315,60 ± 7,69 <sup>ad</sup>	195,60 ± 7,69 <sup>ad</sup>	186,80 ± 3,46 <sup>ad</sup>	122,80 ± 1,15 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	690,60 ± 4,61 <sup>a</sup>	236,50 ± 0,96 <sup>a</sup>	463,55 ± 3,46 <sup>a</sup>	234,80 ± 4,61 <sup>b</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 6,61; 16,71; 5,65; 13,99 µM)	339,8 ± 1,15 <sup>ad</sup>	211,50 ± 0,96 <sup>ad</sup>	187,80 ± 2,30 <sup>ad</sup>	191,80 ± 1,15 <sup>d</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	610,66 ± 23,09 <sup>a</sup>	228,10 ± 2,88 <sup>a</sup>	268,8 ± 5,77 <sup>a</sup>	131,80 ± 0 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 2,81; 2,78; 2,39; 4,28 µM)	390,60 ± 0 <sup>ad</sup>	198,10 ± 0,96 <sup>ad</sup>	199,80 ± 1,15 <sup>ad</sup>	118,80 ± 1,15 <sup>d</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77µM)	559 ± 1,92 <sup>a</sup>	207,30 ± 1,92 <sup>a</sup>	262,80 ± 5,77 <sup>a</sup>	197,80 ± 1,15 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 20,16; 13,09; 6,99; 6,33 µM)	260,6 ± 1,92 <sup>ad</sup>	199 ± 0 <sup>ad</sup>	204,80 ± 1,15 <sup>ad</sup>	186,80 ± 0 <sup>ad</sup>
<b>Cisplatin IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 126,6; 67,48; 16,52; 71,26 µM)	679,83 ± 2,4 <sup>a</sup>	538,4 ± 10,96 <sup>a</sup>	285,8 ± 0,57 <sup>a</sup>	211,8 ± 0,57 <sup>a</sup>
<b>H2O2</b> (sırası ile 602,62; 626,41; 128,12; 89,23 µM)	170,80 ± 2,3	172,4 ± 4,04	166,8 ± 1,15 <sup>a</sup>	160,8 ± 0 <sup>a</sup>

**Çizelge 4.10.** Kompleks 1, 2, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub> ve IC<sub>90</sub> dozları ile Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen M65 değerleri (U/L), ±; standart sapmayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, ilgili IC<sub>50</sub>/2 dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05

Hücre Hattı	M65 ± SS			
	Caco-2	MCF7	Hep-3B	BEAS-2B
<b>Büyüme Kontrol</b>	914,07 ± 5,36	430,41 ± 5,29	121,42 ± 0	98,57 ± 3,29
<b>Negatif Kontrol</b>	865,85 ± 10,72	755,41 ± 8,17	76,42 ± 2,47	70,71 ± 2,47
<b>Kompleks 1 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM)	998 ± 6,59 <sup>a</sup>	421,57 ± 30,51 <sup>a</sup>	52,91 ± 0 <sup>a</sup>	61,42 ± 0 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 1 IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 6,68; 12,2; 5,92; 11,97 µM)	1454,42 ± 17,32 <sup>ad</sup>	2081,57 ± 157,53 <sup>ad</sup>	302,08 ± 2,47 <sup>ad</sup>	237,14 ± 0 <sup>ae</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49; 9,40 µM)	575,14 ± 9,89 <sup>a</sup>	830,14 ± 12,37 <sup>a</sup>	155,83 ± 2,88 <sup>a</sup>	27,08 ± 0,48 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 2 IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 6,61; 16,71; 5,65; 13,99 µM)	956,57 ± 13,19 <sup>ad</sup>	2035,14 ± 29,69 <sup>ad</sup>	200 ± 4,81 <sup>ad</sup>	38,75 ± 2,40 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM)	811,57 ± 10,72 <sup>a</sup>	884,42 ± 94,85 <sup>a</sup>	104,58 ± 6,25 <sup>a</sup>	80,71 ± 0,82 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 3 IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 2,81; 2,78; 2,39; 4,28 µM)	1334,42 ± 0,82 <sup>ad</sup>	4145,85 ± 38,76 <sup>ad</sup>	213,33 ± 2,88 <sup>ad</sup>	291,42 ± 4,94 <sup>ad</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>50</sub></b> (sırası ile 2,78; 2,21; 1,63; 3,77µM)	1083,71 ± 13,19 <sup>a</sup>	825,85 ± 0,82 <sup>a</sup>	375 ± 9,07 <sup>a</sup>	199,16 ± 13,47 <sup>a</sup>
<b>Kompleks 4 IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 20,16; 13,09; 6,99; 6,33 µM)	1839,42 ± 26,39 <sup>ad</sup>	3123 ± 81,65 <sup>ad</sup>	477,85 ± 15,67 <sup>ad</sup>	310,83 ± 2,88 <sup>ad</sup>
<b>Cisplatin IC<sub>90</sub></b> (sırası ile 126,6; 67,48; 16,52; 71,26 µM)	398 ± 8,24 <sup>a</sup>	218,75 ± 3,36 <sup>a</sup>	77,91 ± 10,10	122,91 ± 5,29 <sup>a</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> (sırası ile 602,62; 626,41; 128,12; 89,23 µM)	1909,58 ± 17,8 <sup>a</sup>	1958,71 ± 17,32 <sup>a</sup>	301,25 ± 5,29 <sup>a</sup>	322,5 ± 2,88 <sup>a</sup>

#### **4.8. BEAS-2B Hücre Hattına Dört Kompleksin Kanser Hücre Hatlarındaki IC<sub>50</sub> Dozları İle Muamele Edilmesi Sonucu Elde Edilen Komet Testi Bulguları**

Komplekslerin kanser hücre hatlarındaki ve sağlıklı hücrelerdeki etkilerini kıyaslayabilmek için kompleksler ile kanser hücre hatlarına muamele edildiğinde elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri ile sağlıklı hücre hattına (BEAS-2B) muamele edilmiştir ve genotoksik hasarın tespiti için komet testi kullanılmıştır.

##### **4.8.1. Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hatlarına muamelesinden elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM verileri**

Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu (sırası ile 2,43 µM, 2,67 µM, 1,10 µM) ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri çizelge 4.11., 4.12., 4.13.'de verilmiştir. Elde edilen veriler BEAS-2B hücre hattının muamele edilen komplekse ait IC<sub>50</sub> dozundaki komet değerleri ve negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır.

BEAS-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 1 IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozunun neden olduğu kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla  $3,88 \pm 0,20$ ;  $4,32 \pm 0,53$ ;  $37,47 \pm 1,83\mu\text{m}$  şeklindedir. Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 2,43 µM, 2,67 µM, 1,10 µM) ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla  $15,43 \pm 0,77$ ;  $16,90 \pm 0,86$ ;  $7,04 \pm 0,31 \mu\text{m}$  dir. Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 2,43 µM, 2,67 µM, 1,10 µM) ortalama K.U. değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede artırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 1 IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozu ile kıyaslandığında kuyruk uzunluğu değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ).

Beas-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 1 IC<sub>50</sub> (4,98 µM) dozunun neden olduğu kuyruk %DNA değerleri

sırasıyla  $4,48 \pm 0,20$ ;  $4,26 \pm 0,53$ ;  $41,27 \pm 1,98$   $\mu\text{M}$  şeklindedir. Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki  $\text{IC}_{50}$  dozları (sırası ile  $2,43$   $\mu\text{M}$ ,  $2,67$   $\mu\text{M}$ ,  $1,10$   $\mu\text{M}$ ) ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan kuyruk %DNA değerleri sırasıyla  $26,62 \pm 1,12$ ;  $28,70 \pm 1,24$ ;  $15,56 \pm 0,96$  dır. Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki  $\text{IC}_{50}$  dozları (sırası ile  $2,43$   $\mu\text{M}$ ,  $2,67$   $\mu\text{M}$ ,  $1,10$   $\mu\text{M}$ ) ortalama kuyruk %DNA değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 1  $\text{IC}_{50}$  dozu ( $4,98$   $\mu\text{M}$ ) ile kıyaslandığın da kuyruk %DNA değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ).

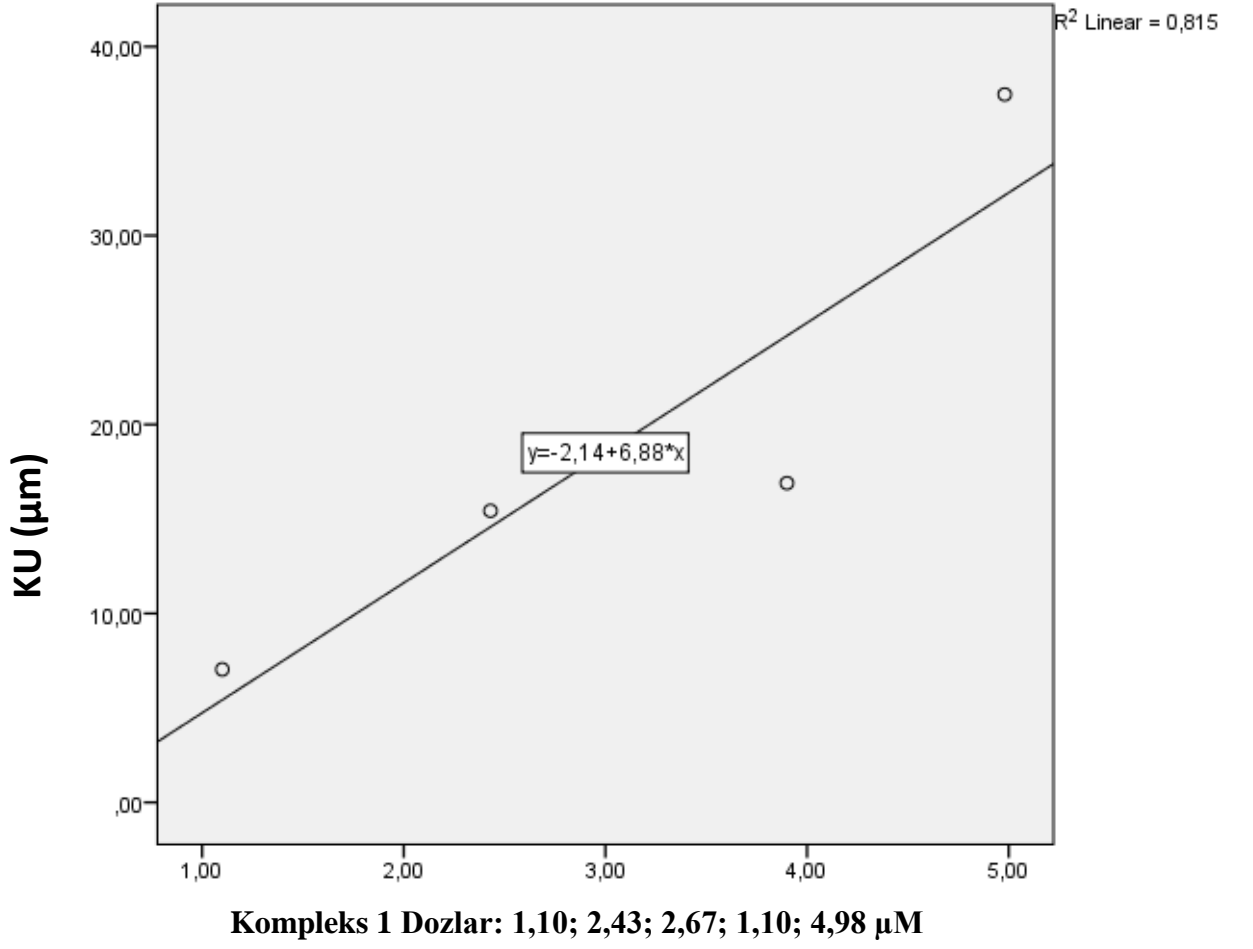
BEAS-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 1  $\text{IC}_{50}$  dozunun ( $4,98$   $\mu\text{M}$ ) neden olduğu OTM değerleri sırasıyla  $0,54 \pm 0,02$ ;  $0,72 \pm 0,22$ ;  $14,45 \pm 0,96$  şeklindedir. Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki  $\text{IC}_{50}$  dozları ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan OTM değerleri sırasıyla  $4,62 \pm 0,30$ ;  $5,30 \pm 0,34$ ;  $1,59 \pm 0,10$  dur. Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki  $\text{IC}_{50}$  dozları (sırası ile  $2,43$   $\mu\text{M}$ ,  $2,67$   $\mu\text{M}$ ,  $1,10$   $\mu\text{M}$ ) ortalama OTM değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 1  $\text{IC}_{50}$  dozu ( $4,98$   $\mu\text{M}$ ) ile kıyaslandığın da OTM değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir ( $p \leq 0,001$ ).

**Çizelge 4.11.** Kompleks 1'in Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu (sırası ile 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM) ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri. ±; standart hatayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, <sup>b</sup>; p≤0,01 <sup>c</sup>; p≤ 0,001, BEAS-2B IC<sub>50</sub> dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05, <sup>e</sup>; p≤ 0,01, <sup>f</sup>; p≤ 0,001

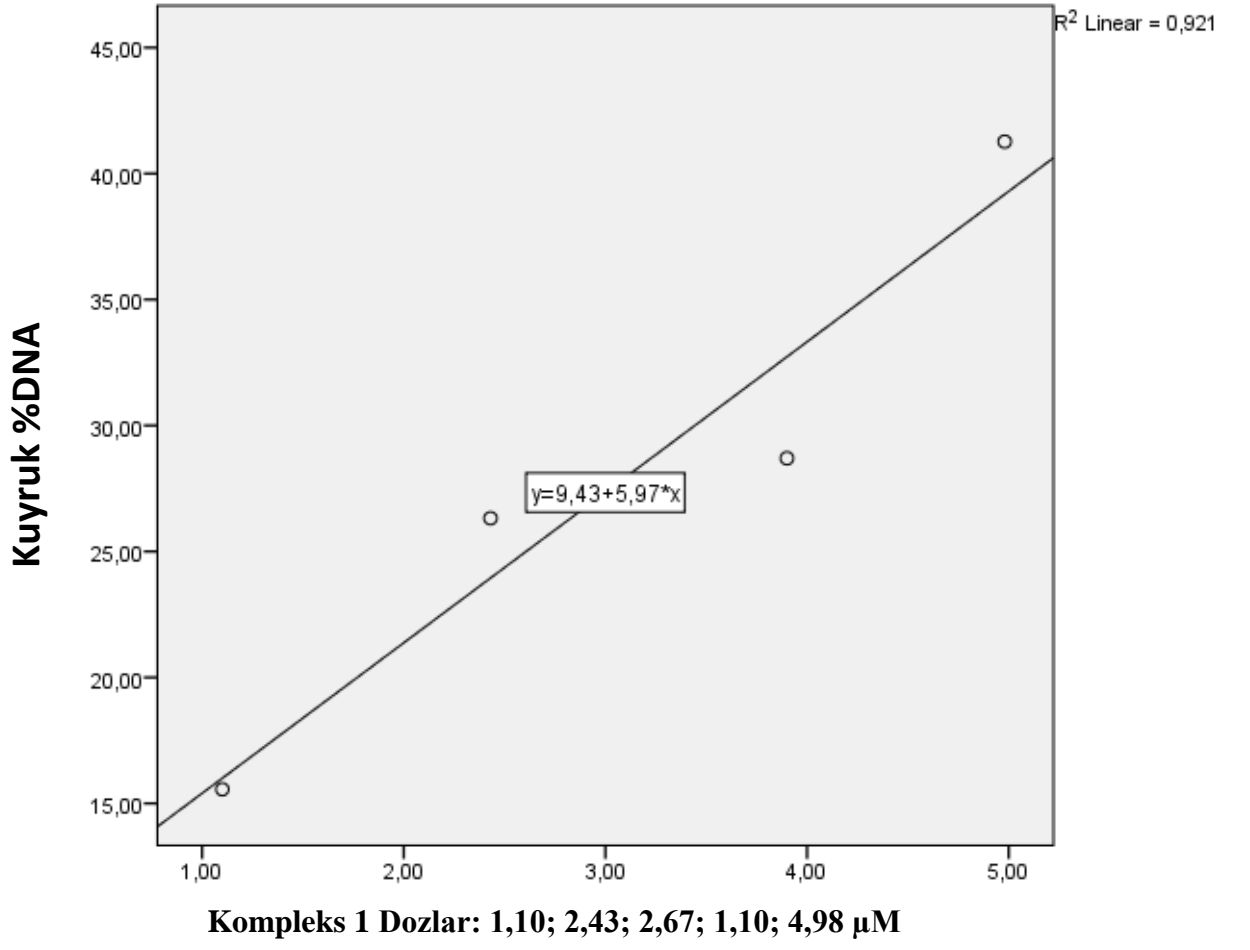
Dozlar	BEAS-2B		
	Kuyruk Uzunluğu	Kuyruk % DNA	OTM
<b>Büyüme Kontrol</b>	3,88 ± 0,20	4,48 ± 0,20	0,54 ± 0,02
<b>Negatif Kontrol</b>	4,32 ± 0,53	4,26 ± 0,53	0,72 ± 0,22
<b>Caco-2 Kompleks 1 IC<sub>50</sub> (2,43 µM)</b>	15,43 ± 0,77 <sup>cf</sup>	26,62 ± 1,12 <sup>cf</sup>	4,62 ± 0,30 <sup>cf</sup>
<b>MCF7 Kompleks 1 IC<sub>50</sub> (2,67 µM)</b>	16,90 ± 0,86 <sup>cf</sup>	28,70 ± 1,24 <sup>cf</sup>	5,30 ± 0,34 <sup>cf</sup>
<b>Hep-3B Kompleks 1 IC<sub>50</sub> (1,10 µM)</b>	7,04 ± 0,31 <sup>cf</sup>	15,56 ± 0,96 <sup>cf</sup>	1,59 ± 0,10 <sup>cf</sup>
<b>BEAS-2B Kompleks 1 IC<sub>50</sub> (4,98 µM)</b>	37,47 ± 1,83	41,27 ± 1,98	14,45 ± 0,96

Kompleks 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM dozları (sırası ile Hep-3B IC<sub>50</sub>, Caco-2 IC<sub>50</sub>, MCF7 IC<sub>50</sub>, BEAS-2B IC<sub>50</sub>) ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerlerinde ki artış regresyon analizi ile incelenmiştir. Bu dozların seçilmesinde ki amaç kanser hücrelerinin %50 sini öldüren kompleks 1 dozlarının sağlıklı hücre hatlarına ne ölçüde zarar verdiğini gözlemlemektir. KU için Kompleks 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.107'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=2,14+6,88* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 = 0,815$ ;  $p > 0,05$ ). Kuyruk %DNA için Kompleks 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.108'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y= 9,43+5,97* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 = 0,921$ ;  $P < 0,05$ ). OTM için Kompleks 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.109'da gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=2,53+2,91* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 = 0,790$ ;  $p > 0,05$ ). Sonuç olarak BEAS-2B hücre hattında kompleks 1'in kullanılan bu dozlara bağlı olarak doz artışı ile %Kuyruk DNA değerlerinde anlamlı artış olduğu tespit edilmiştir.

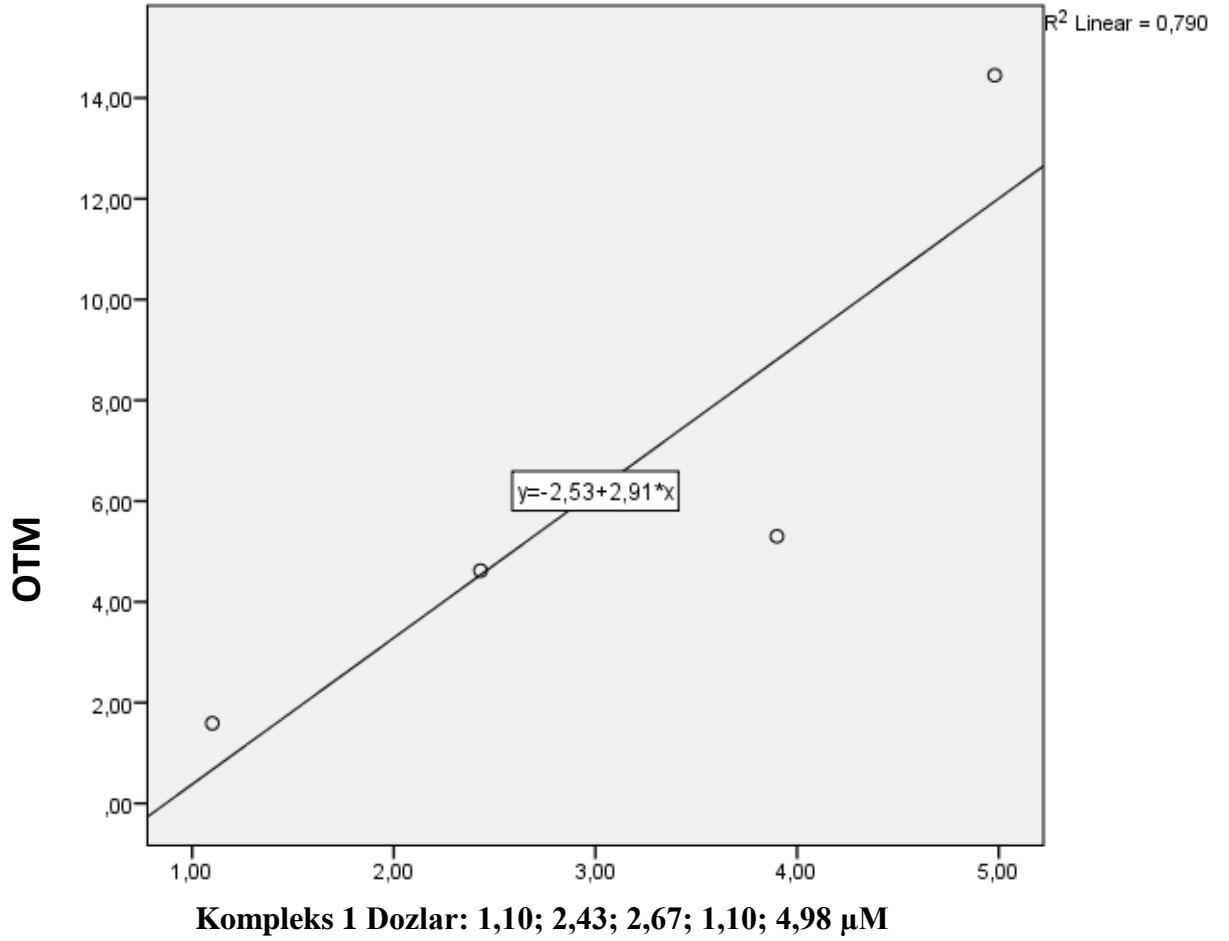




**Şekil 4.107.** Komepleks 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen Kuyruk uzunluğu değerleri (µM).



**Şekil 4.108.** Kompleks 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98  $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA değerleri.



**Şekil 4.109.** Kompelsk 1'in 1,10; 2,43; 2,67; 1,10; 4,98 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM değerleri.

#### **4.8.2. Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hatlarına muamelesinden elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM verileri**

Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu (sırası ile 2,45 µM, 3,90 µM, 1,49 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri değerleri çizelge 4.11., 4.12., 4.13.'de verilmiştir. Elde edilen veriler BEAS-2B hücre hattının muamele edilen komplekse ait IC<sub>50</sub> dozundaki (9,40 µM) komet değerleri ve negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır.

Beas-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 2 IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozunun neden olduğu kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 3,88 ± 0,20; 4,32 ± 0,53; 3,93 ± 0,18 µm şeklindedir. Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 2,45 µM, 3,90 µM, 1,49 µM) ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 4,71 ± 0,15; 6,15 ± 0,25; 3,93 ± 0,18 µm dir. Kompleks 2'nin Caco-2 ve MCF7 hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 2,45 µM, 3,90 µM) ortalama K.U. değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede artırırken (p≤0,001) Hep-3B kompleks 2 IC<sub>50</sub> dozu (1,49 µM) anlamlı bir artışa nedene olmamıştır (p<0,05). BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 2 IC<sub>50</sub> dozu (9,40 µM) ile kıyaslandığında kuyruk uzunluğu değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

BEAS-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 2 IC<sub>50</sub> (9,40 µM) dozunun neden olduğu kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 4,48 ± 0,20; 4,26 ± 0,53; 43,41 ± 2,16 µm şeklindedir. Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 2,45 µM, 3,90 µM, 1,49 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 10,31 ± 0,69; 12,36 ± 0,80; 10,23 ± 0,61 dir. Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 2,45 µM, 3,90 µM, 1,49 µM) ortalama kuyruk %DNA değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede artırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 2 IC<sub>50</sub> dozu (9,40 µM) ile kıyaslandığında da kuyruk %DNA değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

BEAS-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 2 IC<sub>50</sub> dozunun (9,40 µM) neden olduğu OTM değerleri sırasıyla 0,54 ± 0,02; 0,72 ± 0,22; 16,84 ± 1,16 şeklindedir. Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 2,45 µM, 3,90 µM, 1,49 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan OTM değerleri sırasıyla 0,98 ± 0,06; 1,41 ± 0,11; 0,89 ± 0,80 dir. Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 2,45 µM, 3,90 µM, 1,49 µM) ortalama OTM

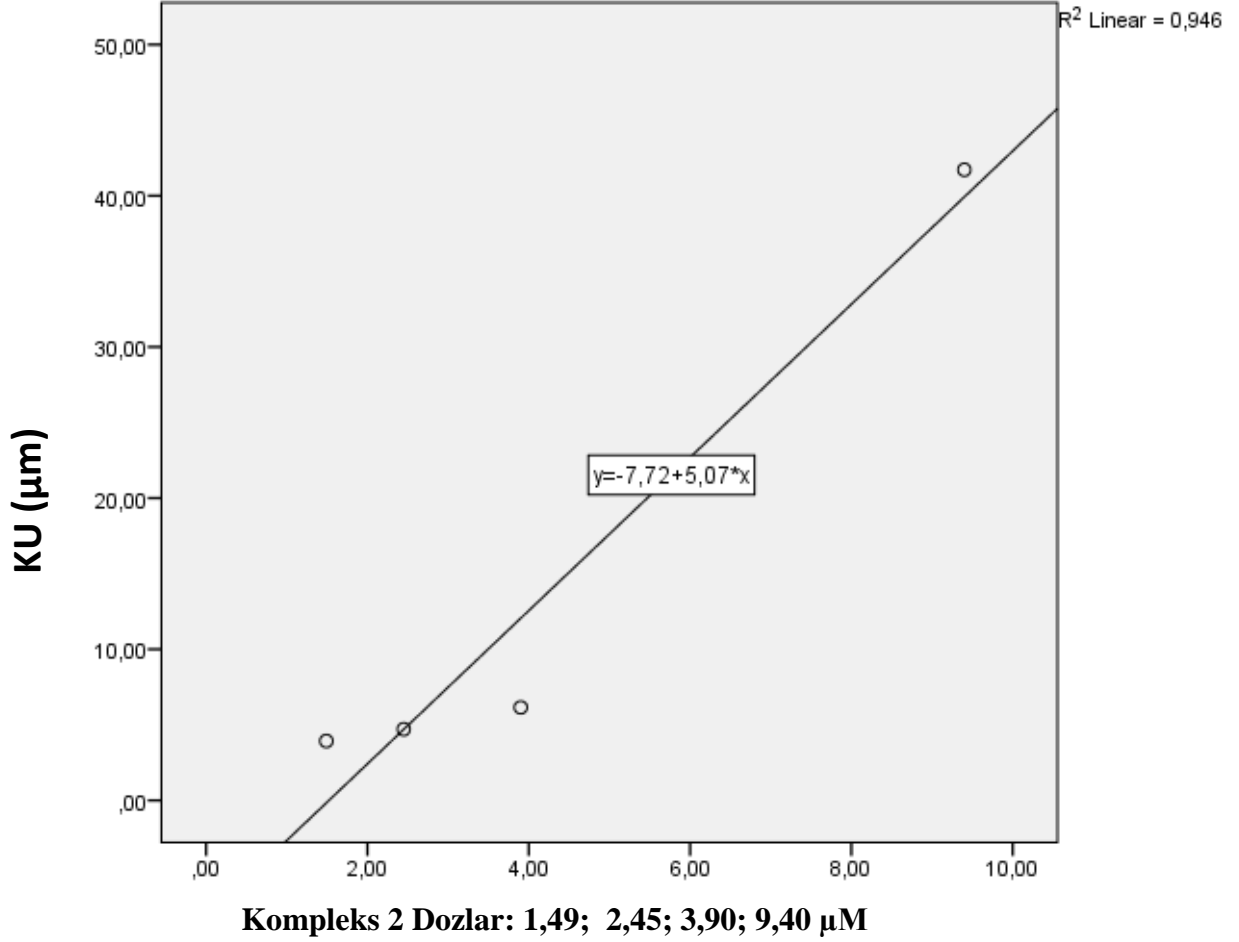
değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 2 IC<sub>50</sub> dozu (9,40 µM) ile kıyaslandığında da OTM değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

**Çizelge 4.12.** Kompleks 2'nin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu Kompleks 1'in Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu (sırası ile 2,45; 3,90; 1,49) ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri. ±; standart hatayı ifade etmektedir, ilgili solvent kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, <sup>b</sup>; p≤0,01 <sup>c</sup>; p≤ 0,001, BEAS-2B IC<sub>50</sub> dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05, <sup>e</sup>; p≤ 0,01, <sup>f</sup>; p≤ 0,001

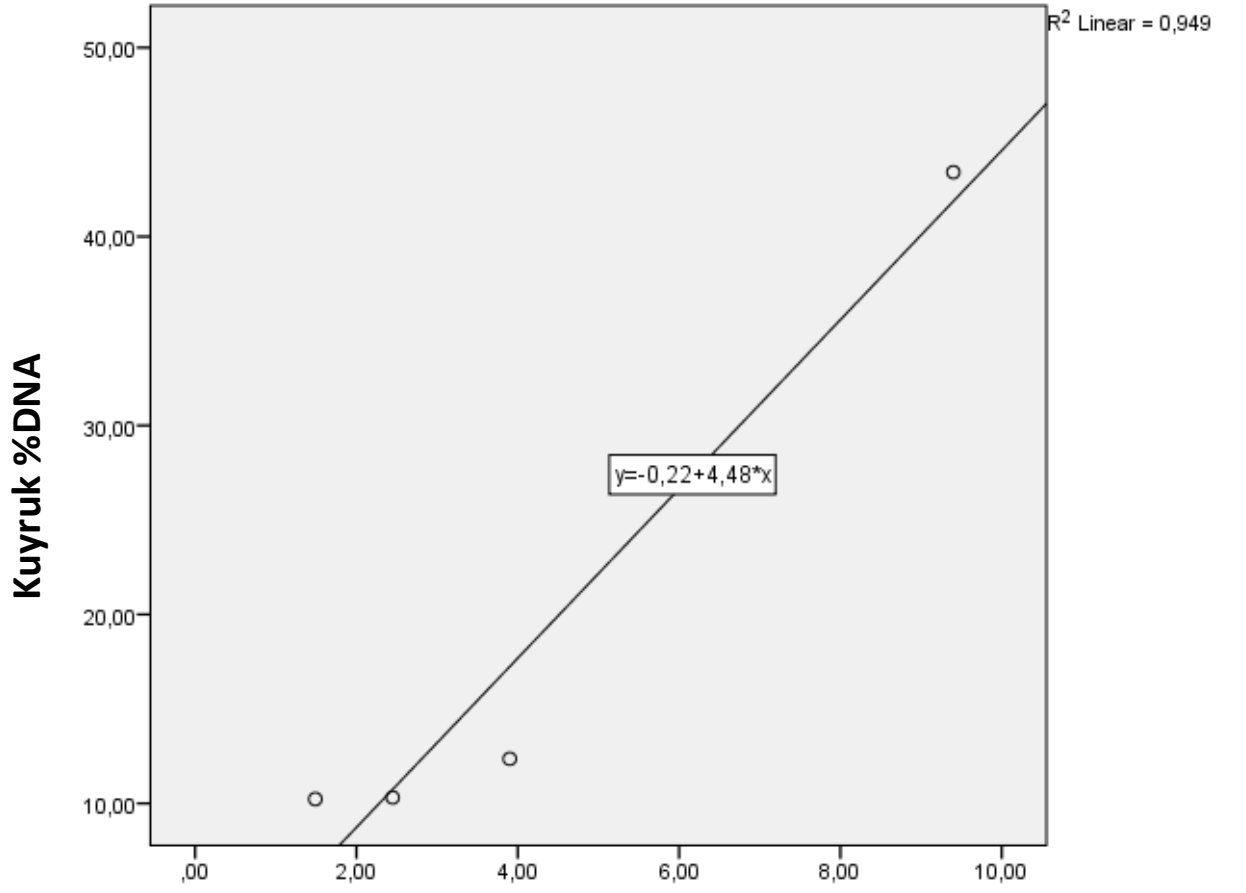
Dozlar	BEAS-2B		
	Kuyruk Uzunluğu	Kuyruk % DNA	OTM
<b>Büyüme Kontrol</b>	3,88 ± 0,08	4,48 ± 0,20	0,54 ± 0,02
<b>Negatif Kontrol</b>	4,32 ± 0,45	4,26 ± 0,53	0,72 ± 0,22
<b>Caco Kompleks 2 IC<sub>50</sub> (2,45 µM)</b>	4,71 ± 0,15 <sup>cf</sup>	10,31 ± 0,69 <sup>cf</sup>	0,98 ± 0,06 <sup>cf</sup>
<b>MCF7 Kompleks 2 IC<sub>50</sub> (3,90 µM)</b>	6,15 ± 0,25 <sup>cf</sup>	12,36 ± 0,80 <sup>cf</sup>	1,41 ± 0,11 <sup>cf</sup>
<b>Hep-3B Kompleks 2 IC<sub>50</sub> (1,49 µM)</b>	3,93 ± 0,18 <sup>f</sup>	10,23 ± 0,61 <sup>cf</sup>	0,89 ± 0,80 <sup>cf</sup>
<b>BEAS-2B Kompleks 2 IC<sub>50</sub> (9,40 µM)</b>	41,72 ± 2,17	43,41 ± 2,16	16,84 ± 1,16

Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 µM dozları (sırası ile Hep-3B IC<sub>50</sub>, Caco-2 IC<sub>50</sub>, MCF7 IC<sub>50</sub>, BEAS-2B IC<sub>50</sub>) ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerlerinde ki artış regresyon analizi ile incelenmiştir. Bu dozların seçilmesinde ki amaç kanser hücrelerinin %50 sini öldüren kompleks 2 dozlarının sağlıklı hücre hatlarına ne ölçüde zarar verdiğini gözlemlemektir. KU için Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.110'da gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=7,72+5,07* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 =0,946$ ;  $p<0,05$ ). Kuyruk %DNA için Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.111'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=0,22+4,48* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 =0,949$ ;  $P<0,05$ ). OTM için Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.112'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=4,26+2,16* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 = 0,936$ ;  $p>0,05$ ).

Sonuç olarak BEAS-2B hücre hattında kompleks 2'nin kullanılan bu dozlara bağlı olarak doz artışı ile Kuyruk uzunluğu ve %Kuyruk DNA değerlerinde anlamlı artış olduğu tespit edilmiştir.

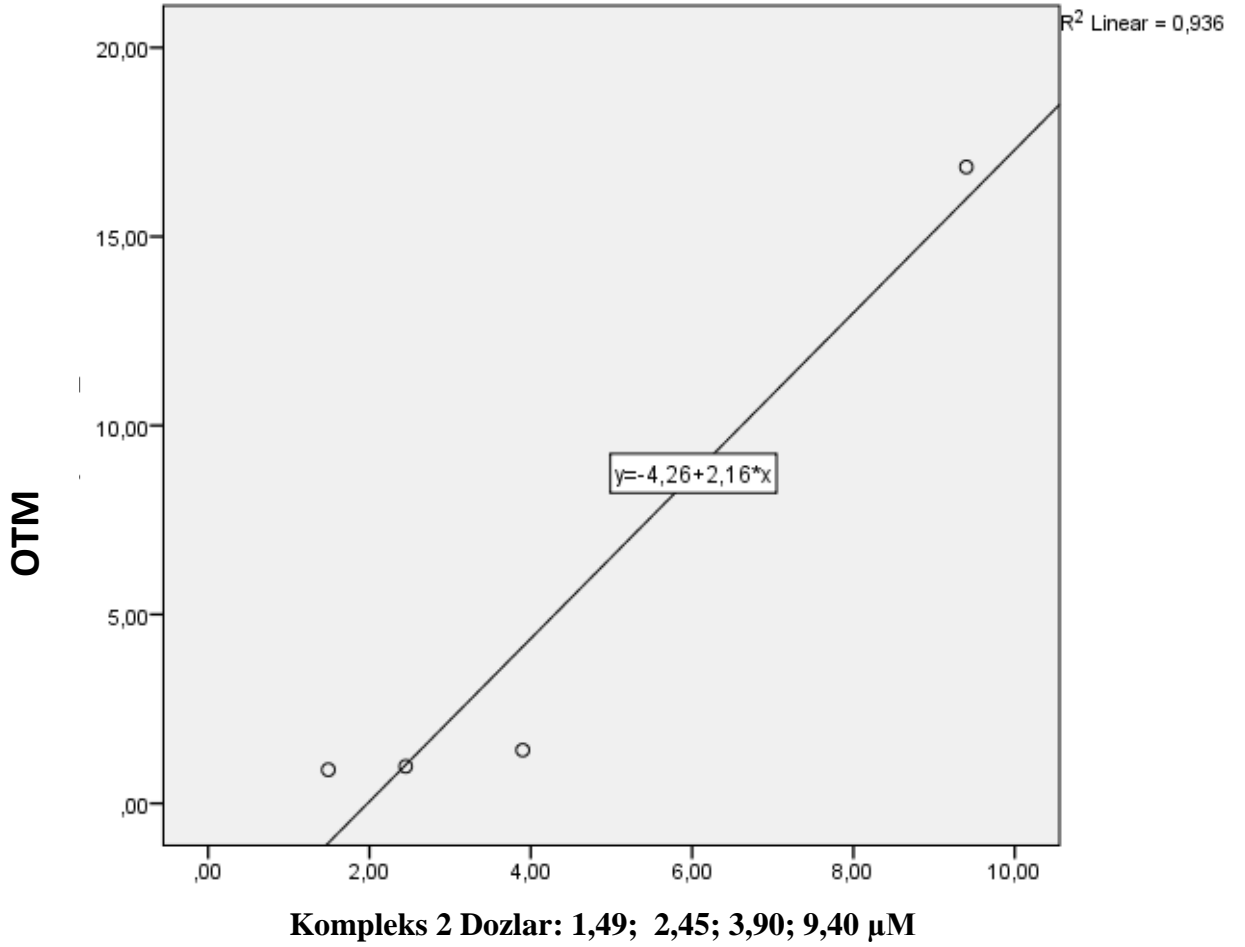


**Şekil 4.110.** Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen Kuyruk uzunluğu değerleri (µM).



**Kompleks 2 Dozlar: 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 µM**

**Şekil 4.111.** Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA değerleri.



**Şekil 4.112.** Kompleks 2'nin 1,49; 2,45; 3,90; 9,40  $\mu$ M dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM değerleri.

**4.8.3. Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hatlarına muamelesinden elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM verileri**

Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55  $\mu$ M) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri 4.11., 4.12., 4.13.'de verilmiştir. Elde edilen veriler BEAS-2B hücre hattının muamele edilen komplekse ait IC<sub>50</sub> (2,14  $\mu$ M) dozundaki komet değerleri ve negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır.



Beas-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 3 IC<sub>50</sub> dozunun (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM) neden olduğu kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 3,88 ± 0,08; 4,32 ± 0,45; 46,31 ± 1,58 µm şeklindedir. Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55 µM) ile Beas-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 18,66 ± 0,93; 11,71 ± 0,51; 14,53 ± 0,6631 µm dir. Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55 µM) ortalama K.U. değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 3 IC<sub>50</sub> (2,14 µM) dozu ile kıyaslandığında kuyruk uzunluğu değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

Beas-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 3 IC<sub>50</sub> (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM) dozunun neden olduğu kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 4,48 ± 0,20; 4,26 ± 0,53; 56,38 ± 1,98 şeklindedir. Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 33,33 ± 1,26; 26,50 ± 1,28; 26,66 ± 1,09 dur. Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55 µM) ortalama kuyruk %DNA değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 3 IC<sub>50</sub> dozu ile kıyaslandığında kuyruk %DNA değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

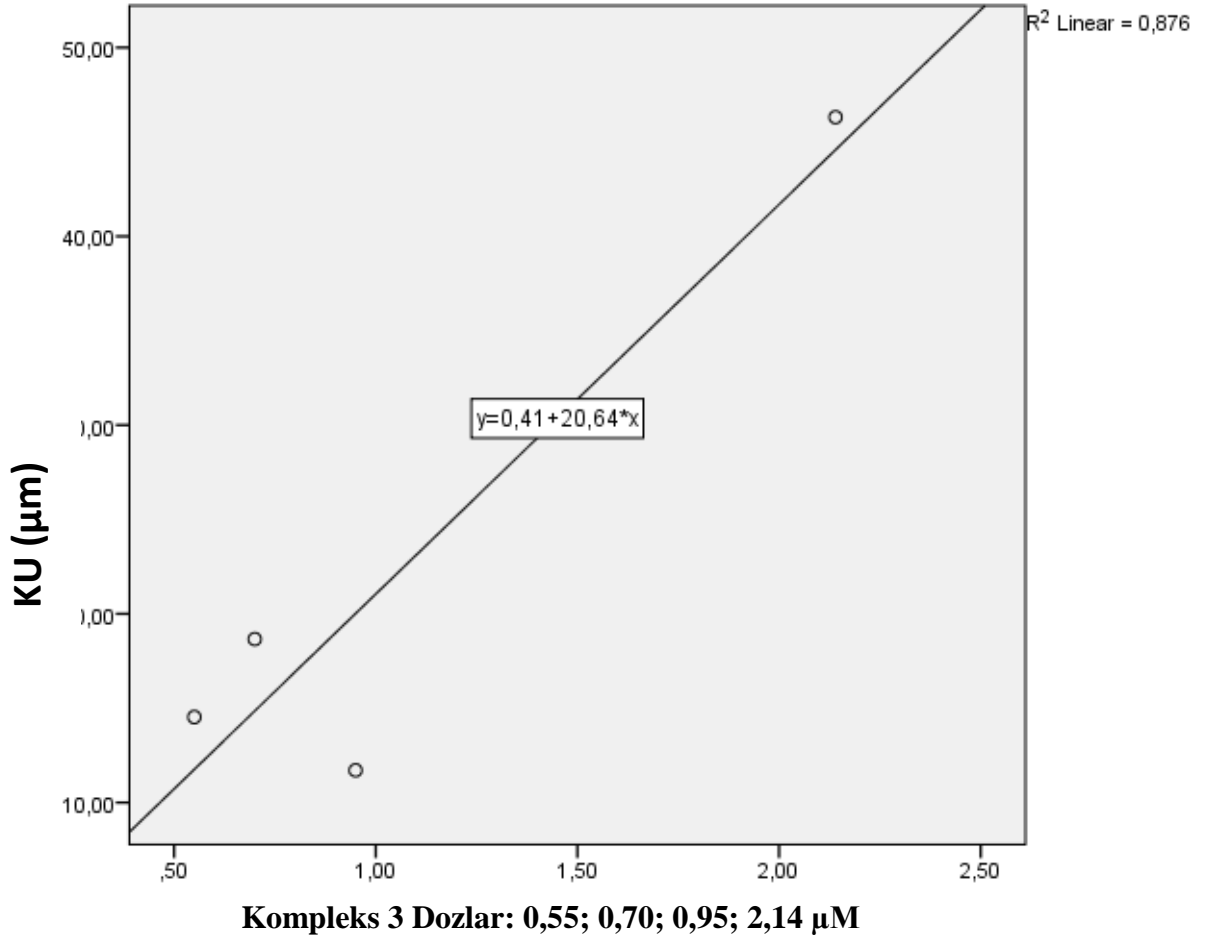
BEAS-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 3 IC<sub>50</sub> dozunun (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM) neden olduğu OTM değerleri sırasıyla 0,54 ± 0,02; 0,72 ± 0,22; 20,06 ± 0,93 şeklindedir. Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55; 2,14 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan OTM değerleri sırasıyla 6,23 ± 0,40; 3,67 ± 0,22; 4,24 ± 0,25 dir. Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (sırası ile 0,70; 0,95; 0,55 µM) ortalama OTM değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede

arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 3 IC<sub>50</sub> dozu (2,14 µM) ile kıyaslandığı da OTM değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

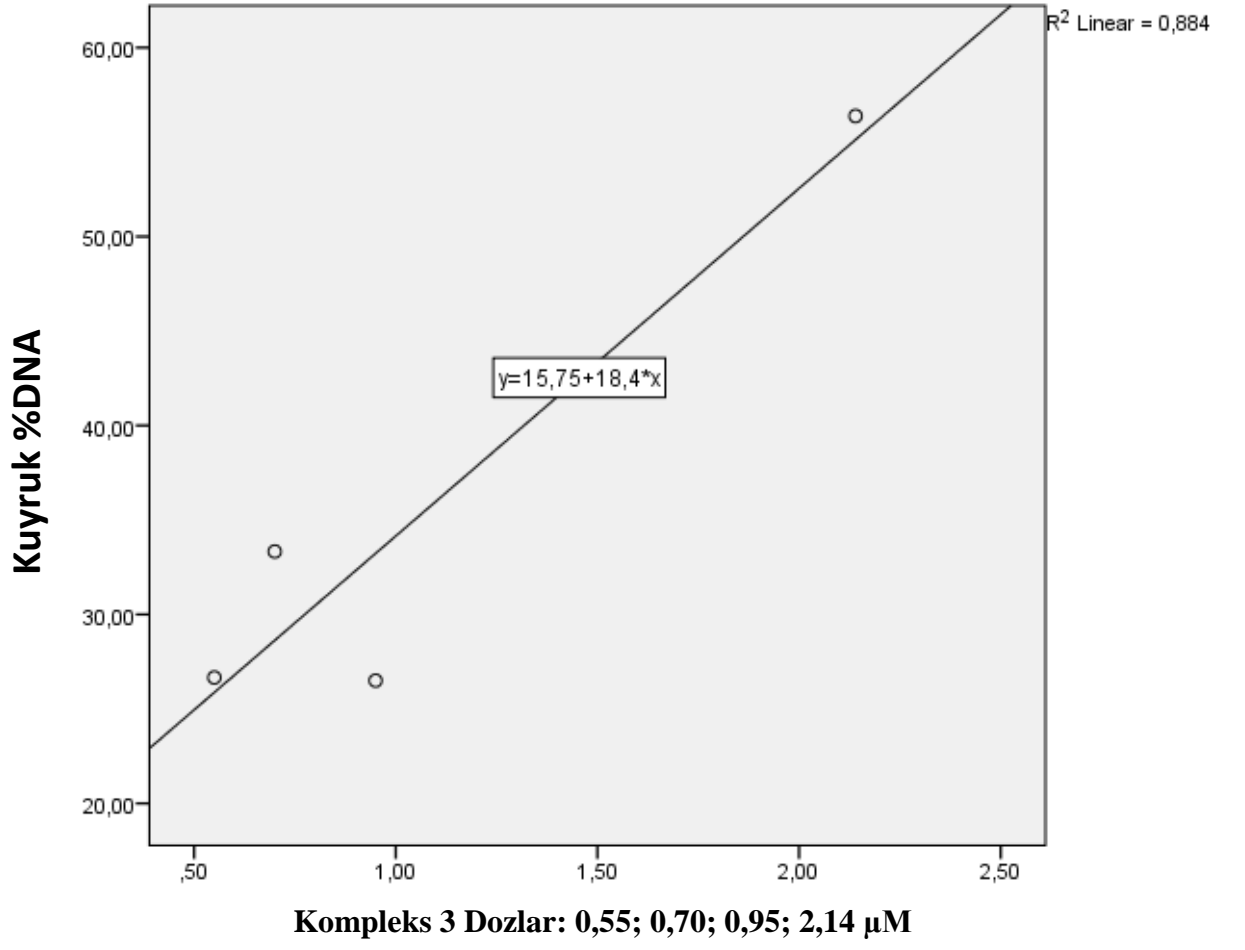
**Çizelge 4.13.** Kompleks 3'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri. ±; standart hatayı ifade etmektedir, ilgili solvent kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, <sup>b</sup>; p≤0,01 <sup>c</sup>; p≤ 0,001, BEAS-2B IC<sub>50</sub> dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05, <sup>e</sup>; p≤ 0,01, <sup>f</sup>; p≤ 0,001

Dozlar	BEAS-2B		
	Kuyruk Uzunluğu	Kuyruk % DNA	OTM
<b>Büyüme Kontrol</b>	3,88 ± 0,08	4,48± 0,20	0,54 ± 0,02
<b>Negatif Kontrol</b>	4,32 ± 0,45	4,26 ± 0,53	0,72 ± 0,22
<b>Caco Kompleks 3 IC<sub>50</sub> (0,70 µM)</b>	18,66 ± 0,93 <sup>cf</sup>	33,33 ± 1,26 <sup>cf</sup>	6,23 ± 0,40 <sup>cf</sup>
<b>MCF7 Kompleks 3 IC<sub>50</sub> (0,95 µM)</b>	11,71 ± 0,51 <sup>cf</sup>	26,50 ± 1,28 <sup>cf</sup>	3,67 ± 0,22 <sup>cf</sup>
<b>Hep-3B Kompleks 3 IC<sub>50</sub> (0,55 µM)</b>	14,53 ± 0,66 <sup>cf</sup>	26,66 ± 1,09 <sup>cf</sup>	4,24 ± 0,25 <sup>cf</sup>
<b>BEAS-2B Kompleks 3 IC<sub>50</sub> (2,14 µM)</b>	46,31 ± 1,58	56,38 ± 1,98	20,06 ± 0,93

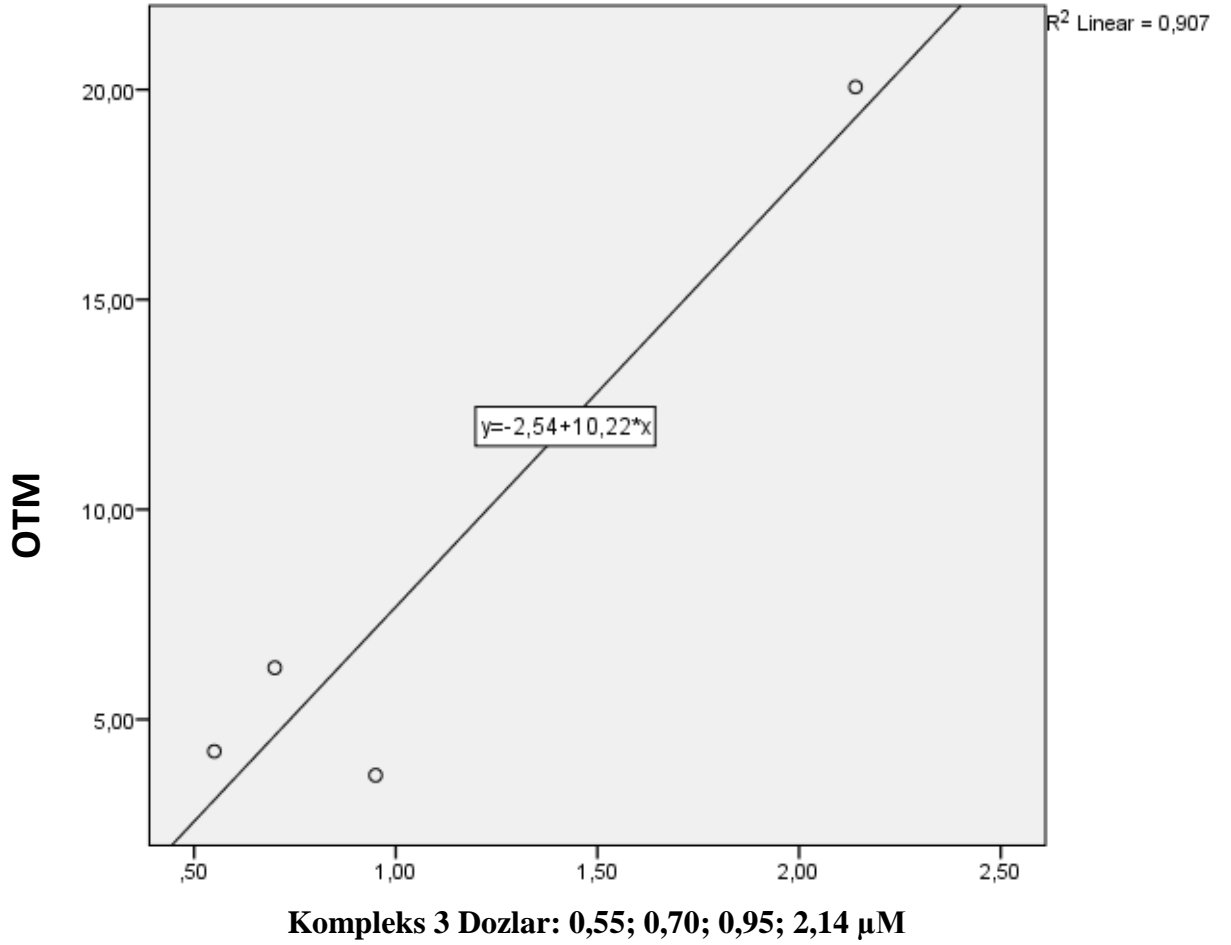
Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 µM dozları (sırası ile Hep-3B IC<sub>50</sub>, Caco-2 IC<sub>50</sub>, MCF7 IC<sub>50</sub>, BEAS-2B IC<sub>50</sub>) ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerlerinde ki artış regresyon analizi ile incelenmiştir. Bu dozların seçilmesinde ki amaç kanser hücrelerinin %50 sini öldüren kompleks 3 dozlarının sağlıklı hücre hatlarına ne ölçüde zarar verdiğini gözlemlemektir. KU için Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.113'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=0,41+20,64* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 =0,876$ ;  $p>0,05$ ). Kuyruk %DNA için Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.114'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=15,75+18,4* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 =0,884$ ;  $P>0,05$ ). OTM için Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.115'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=2,54+10,22* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 =0,907$ ;  $p<0,05$ ). Sonuç olarak BEAS-2B hücre hattında kompleks 3'ün kullanılan bu dozlara bağlı olarak doz artışı ile OTM değerlerinde anlamlı artış olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 4.113.** Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen Kuyruk uzunluğu değerleri (µM).



**Şekil 4.114.** Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA değerleri.



**Şekil 4.115.** Kompleks 3'ün 0,55; 0,70; 0,95; 2,14 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM değerleri.

#### **4.8.4. Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hatlarına muamelesinden elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM verileri**

Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu (2,78; 2,21; 1,63 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri 4.11., 4.12., 4.13.'de verilmiştir. Elde edilen veriler BEAS-2B hücre hattının muamele edilen komplekse ait IC<sub>50</sub> dozundaki (3,77 µM) komet değerleri ve negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır.

BEAS-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 4 IC<sub>50</sub> dozunun (3,77 µM) neden olduğu kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 3,88 ± 0,08; 4,32 ± 0,45; 46,79 ± 1,36 µm şeklindedir. Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (2,78; 2,21; 1,63 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla 21,95 ± 1,31; 23,50 ± 1,33; 21,34 ± 1,16 µm dir. Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (2,78; 2,21; 1,63 µM) ortalama K.U. değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 4 IC<sub>50</sub> dozu (3,77 µM) ile kıyaslandığında kuyruk uzunluğu değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

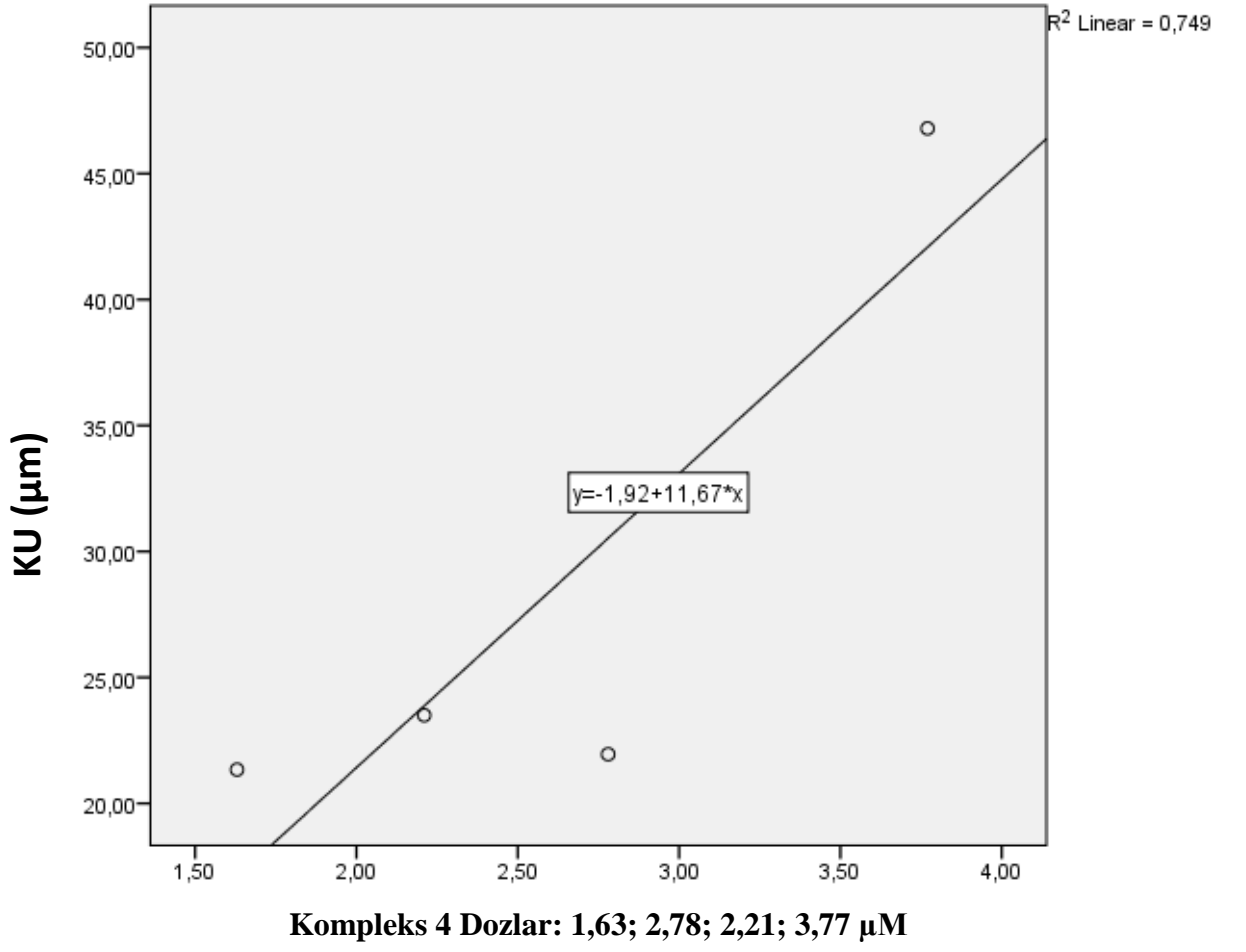
BEAS-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 4 IC<sub>50</sub> dozunun (3,77 µM) neden olduğu kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 4,48 ± 0,20; 4,26 ± 0,53; 59,03 ± 1,90 şeklindedir. Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (2,78; 2,21; 1,63 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan kuyruk %DNA değerleri sırasıyla 34,72 ± 1,79; 35,28 ± 1,82; 34,52 ± 1,77 dir. Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (2,78; 2,21; 1,63 µM) ortalama kuyruk %DNA değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 4 IC<sub>50</sub> dozu (3,77 µM) ile kıyaslandığında kuyruk %DNA değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

BEAS-2B hücre hattının büyüme kontrol, negatif kontrol ve BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 4 IC<sub>50</sub> dozunun (3,77 µM) neden olduğu OTM değerleri sırasıyla 0,54 ± 0,02; 0,72 ± 0,22; 20,98 ± 0,82 şeklindedir. Kompleks 4'ün CaCo-2, MCF-7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (2,78; 2,21; 1,63 µM) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu oluşan OTM değerleri sırasıyla 8,25 ± 0,63; 8,76 ± 0,67; 7,99 ± 0,58 dir. Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları (2,78; 2,21; 1,63 µM) ortalama OTM değerlerini negatif kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı seviyede arttırırken, BEAS-2B hücre hattının kendi kompleks 4 IC<sub>50</sub> (3,77 µM) dozu ile kıyaslandığında da OTM değerlerinin istatistiki olarak anlamlı seviyede düşük olduğu gözlenmiştir (p≤0,001).

**Çizelge 4.14.** Kompleks 4'ün Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozu (2,78; 2,21; 1,63) ile BEAS-2B hücre hattına muamele edilmesi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri. ±; standart hatayı ifade etmektedir, ilgili negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır <sup>a</sup>; p≤ 0,05, <sup>b</sup>; p≤0,01 <sup>c</sup>; p≤ 0,001, BEAS-2B IC<sub>50</sub> dozu ile karşılaştırılmıştır <sup>d</sup>; p≤ 0,05, <sup>e</sup>; p≤ 0,01, <sup>f</sup>; p≤ 0,001

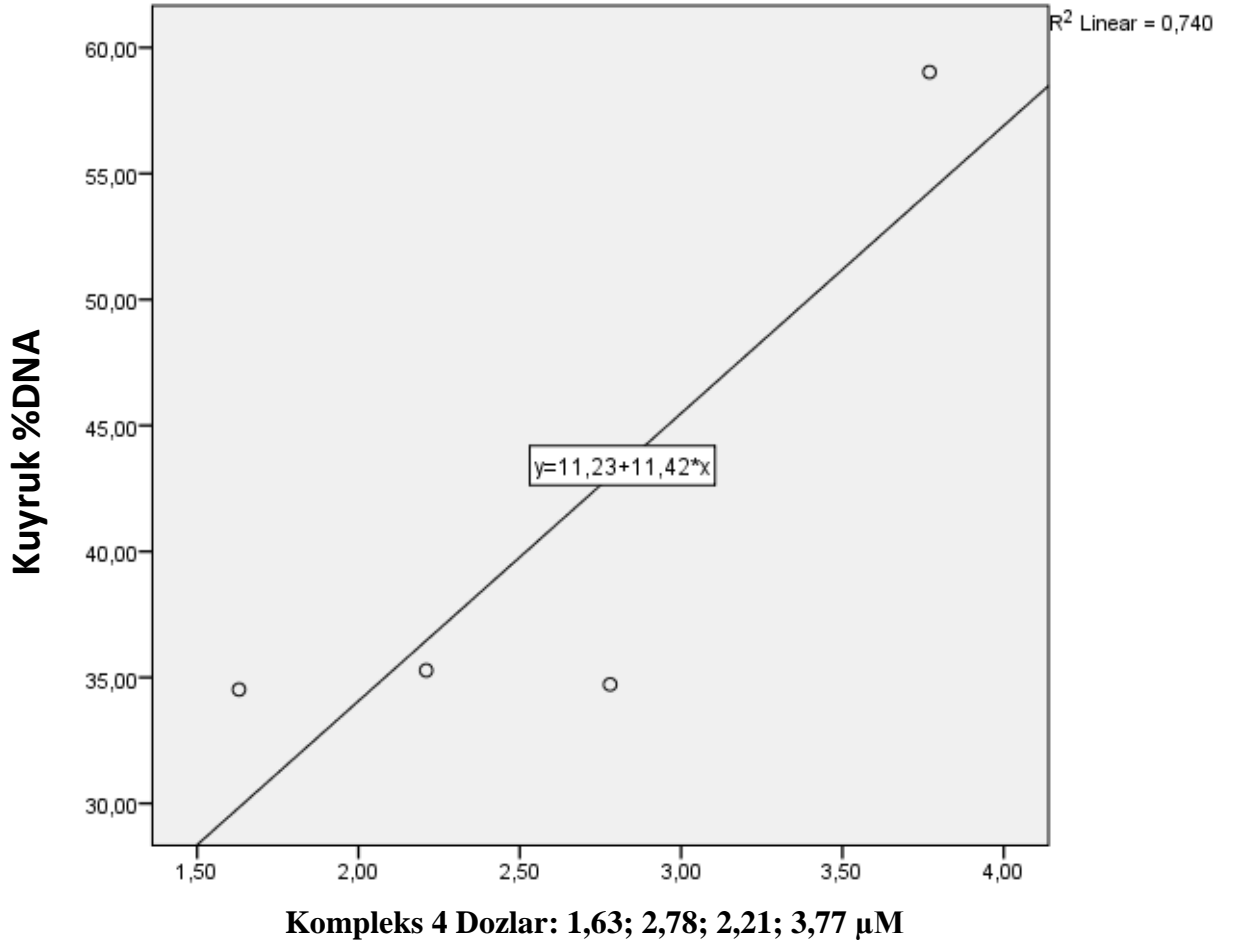
Dozlar	BEAS-2B		
	Kuyruk Uzunluğu	Kuyruk % DNA	OTM
<b>Büyüme Kontrol</b>	3,88 ± 0,08	4,48 ± 0,20	0,54 ± 0,02
<b>Negatif Kontrol</b>	4,32 ± 0,45	4,26 ± 0,53	0,72 ± 0,22
<b>Caco-2 Kompleks 4 IC<sub>50</sub> (2,78 µM)</b>	21,95 ± 1,31 <sup>cf</sup>	34,72 ± 1,79 <sup>cf</sup>	8,25 ± 0,63 <sup>cf</sup>
<b>MCF7 Kompleks 4 IC<sub>50</sub> (2,21 µM)</b>	23,50 ± 1,33 <sup>cf</sup>	35,28 ± 1,82 <sup>cf</sup>	8,76 ± 0,67 <sup>cf</sup>
<b>Hep-3B Kompleks 4 IC<sub>50</sub> (1,63 µM)</b>	21,34 ± 1,16 <sup>cf</sup>	34,52 ± 1,77 <sup>cf</sup>	7,99 ± 0,58 <sup>cf</sup>
<b>BEAS-2B Kompleks 4 IC<sub>50</sub> (3,77 µM)</b>	46,79 ± 1,36	59,03 ± 1,90	20,98 ± 0,82

Kompleks 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 µM dozları (sırası ile Hep-3B IC<sub>50</sub>, Caco-2 IC<sub>50</sub>, MCF7 IC<sub>50</sub>, BEAS-2B IC<sub>50</sub>) ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerlerinde ki artış regresyon analizi ile incelenmiştir. Bu dozların seçilmesinde ki amaç kanser hücrelerinin %50 sini öldüren kompleks 4 dozlarının sağlıklı hücre hatlarına ne ölçüde zarar verdiğini gözlemlemektir. KU için Kompleks 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.116'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=1,92+11,67* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 =0,749$ ;  $p>0,05$ ). Kuyruk %DNA için Kompleks 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.117'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=11,23+11,42* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 =0,740$ ;  $P>0,05$ ). OTM için Kompleks 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 µM dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.118'de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise  $y=4,1+6,01* \text{Doz}$  şeklinde belirlenmiştir ( $R^2 =0,748$   $p>0,05$ ). Sonuç olarak BEAS-2B hücre hattında kompleks 4'ün kullanılan bu dozlara bağlı olarak doz artışı ile Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerlerinde anlamlı artış olduğu tespit edilmemiştir.

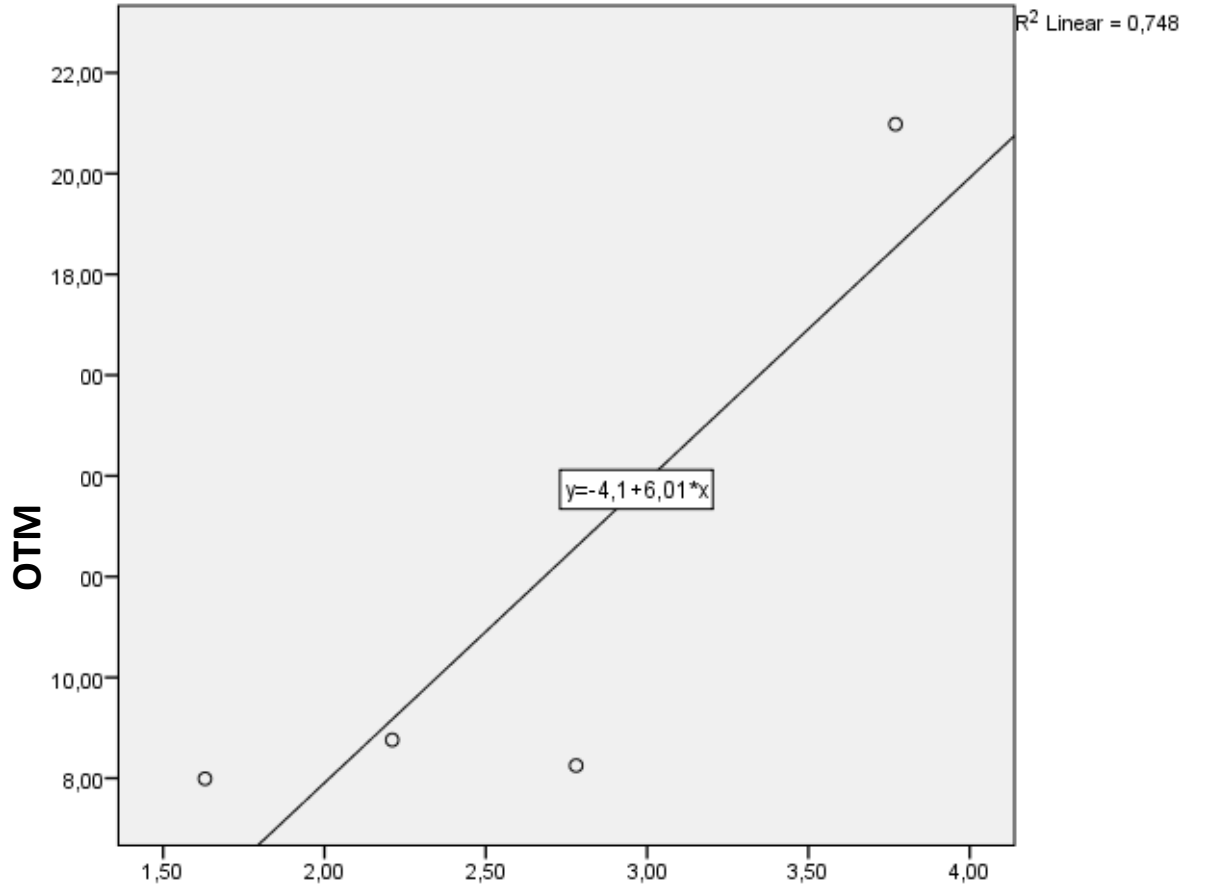


**Şekil 4.116.** Kompleks 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen Kuyruk uzunluğu değerleri (µM).





**Şekil 4.117.** Kompleks 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA değerleri.



**Kompleks 4 Dozlar: 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 µM**

**Şekil 4.118.** Kompelsk 4'ün 1,63; 2,78; 2,21; 3,77 µM dozları ile BEAS-2B hücre hatlarına muamele edilmesi sonucu BEAS-2B hücre hattında elde edilen OTM değerleri.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında yeni sentezlenen 4 farklı bakır(II) karışık ligant kompleksi ile çalışılmıştır. Bu kompleksler “Kompleks 1:  $[\text{Cu}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2$ ; kompleks 2:  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{tyr})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; kompleks 3:  $[\text{Cu}(\text{dmphen})_2(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$ ; ve kompleks 4:  $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{tyr})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ” şeklindedir. Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarında bakır komplekslerinin antiproliferatif etkileri XTT testi ile, genotoksik etkileri komet ve mikronükleus testi ile, apoptotik-nekrotik etkileri M30-M65 testi ile, oksidatif hasar ROS ve 8-oxoguanidin (8-OHdG) testleri ile araştırılmıştır.

Bakır (I,II) koordinasyon bileşiklerinin antiproliferatif etkileri ile ilgili son yıllarda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Aktif bakır ilacı sentezi için çok sayıda çeşitli ligant kullanılmıştır. Rapor edilen bakır kompleksleri çoğunlukla bakır(II) kompleksleridir ve ligantın merkez atom etrafında koordine olan atom sayısı 1’den (monodentate) 6’ya (hexadentate) kadar değişmektedir (Mukherjee 2004). Ligantların seçimi genellikle farklı yaklaşımlarla belirlenmektedir. Birçok çalışmada anti-inflamatuar ilaçlar, doğal ilaçlar ve anti tümör ajanlar gibi özellikle DNA’yı hedef alan türler şinerjistik metal-ligant etkisine işaret etmektedir. Ligantların seçiminde ligantın DNA dışında diğer spesifik hedeflerinin olması, biyolojik bölgeleri taklit edebilmesi, bakırı oksidasyon seviyesinde karalı tutabilmesi ve özel lipofiliklik sağlayabilmesi gibi özellikler göz önünde bulundurulmaktadır (Marzano ve ark. 2009).

Çalışmada pozitif kontrol ajanı olarak interkalasyon ile DNA'ya bağlanarak etkili olduğu bilinen bir metal kompleksi olan cisplatin kullanılmıştır. Cisplatinin klinikte kullanımı onaylandıktan sonra cisplatinin sistemik ve organlara spesifik toksisitesini azaltarak klinik etkisini arttırmak için yeni platin içerikli ve platin içerikli olmayan ilaçların geliştirilmesi aşamasında büyük çaba harcanmıştır. Platin içermeyen bileşiklerin geliştirilmesi için bakır içerikli kompleksler endojen metallerin daha az toksik olabileceğini göstermiştir (Santini ve ark. 2014).

Çalışmada 4 farklı bakır kompleksinin Caco-2, MCF7, Hep-3B kanser hücre hatlarında ve BEAS-2B sağlıklı hücre hattındaki sitotoksitesisi XTT testi ile gösterilmiştir ve

klirikte yaygın kullanılan cisplatin ile kıyaslanmıştır. Bakır komplekslerinin tüm hücre hatlarında cisplatinle kıyasla daha yüksek sitotoksikite gösterdiği bulunmuştur. Kanser hücre hatları arasında bakır komplekslerine en duyarlı hücre hattının Hep-3B olduğu tespit edilmiştir. Komplekslerin ve cisplatinin BEAS-2B sağlıklı hücre hattına diğer hücre hatlarına kıyasla daha az zarar verdiği tespit edilmiştir. Kompleksler kendi aralarında kıyaslandığında kompleks 3'ün tüm hücre hatlarında en düşük IC<sub>50</sub> değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Kompleks 1 ve 2 benzer kimyasal yapıda olup kompleks 2'de kompleks 1'den farklı olarak L-tyrosin bulunmaktadır. Aynı şekilde kompleks 3 ve 4 benzer kimyasal yapıda olup kompleks 3'de kompleks 4'den farklı olarak L-tyrosin bulunmaktadır. Yapısında aminoasit bulundurmeyen komplekslerin aminoasit bulunduranlara kıyasla sitotoksikitesinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Kompleks 1 ve kompleks 2'nin DNA kesme aktiviteleri pBR322 plasmid DNA ile yapılan çalışmada incelenmiş ve kompleks 1'in kompleks 2'ye kıyasla plasmid DNA'yı kesmede daha etkili olduğu gözlenmiştir (İnci ve ark. 2015). Kompleks 3 ve kompleks 4'ün DNA kesme aktiviteleri pBR322 plasmid DNA ile yapılan çalışmada incelenmiş ve kompleks 3'ün kompleks 4'e kıyasla plasmid DNA'yı kesmede daha etkili olduğu gözlenmiştir (İnci ve ark. 2014). Komplekslerin DNA'ya bağlanma şekli ise absorpsiyon spektroskopisi, floresan spektroskopisi ve termal denatürasyon testleri ile incelenmiş komplekslerin DNA'ya interkalasyon yaptığı tespit edilmiştir (İnci ve ark 2014, 2015).

Yapılan çalışmalar in-vitro sitotoksikite ile bakır(II) karışık ligant komplekslerinin DNA'ya bağlanması ve DNA etkileşimi arasında ilişki olduğunu göstermektedir. DNA interkalasyonu DNA yapısının bozulmasına neden olmakta ve DNA'nın parçalanmasını kolaylaştırmaktadır. Bu yeni antineoplastik bakır içerikli metal ilaçları kimyasal nükleazlar gibi davranmaktadırlar, özellikle nükleobaz oksidasyonuna, fosfat ester hidrolizine ve deoksiriboz şeker oksidasyonuna neden olmaktadır (Pratviel ve ark. 1995).

Bakır komplekslerinin sitotoksikitesine neden olan mekanizmaları aydınlatmak için ROS, 8-OHdG, komet, mikronükleus, M30-M65 testleri yapılmıştır.

Bakır(II) komplekslerinin redoks özelliklerinden dolayı DNA'yı oksidatif olarak parçalayan ajanların geliştirilmesinde kullanılmıştır. 1986'da Zue bakır komplekslerinin DNA'ya yüksek affinite ile bağlandığını ve redoks katalizörü olarak işlev gördüğünü göstermiştir. Daha sonra pek çok çalışmada bakır komplekslerinin plasmid DNA'sını oksidatif yolla ile parçaladığı ortaya koyulmuştur. Bakır kompleksleri tarafından gerçekleştirilen DNA degradasyonunun Fenton tipi reaksiyonlar aracılığı ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu reaksiyonlar hidroksi radikalleri veya metal içerikli ara ürünler ( $\text{CuOH}^{+2}$  veya CuO türleri gibi) gibi ROS'un kaynağıdır. Bu ürünler DNA'nın doğrudan oksidasyonu veya DNA polinükleotid zincirinin parçalanmasına neden olmaktadır.

Komplekslerin hücre kültüründe neden olduğu hücre içi ROS miktarı Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarında elisa testi ile ölçülmüştür. Hücre hatlarına komplekslerin  $\text{IC}_{50}$  ve  $\text{IC}_{75}$  dozları ile 2 saat süresince muamele edilmiştir. Caco-2 hücre hattında kompleks 2'nin ve BEAS-2B hücre hattında kompleks 3 ve 4'ün  $\text{IC}_{50}$  dozu muameleleri hücre içi ROS seviyesinde anlamlı bir artışa neden olmazken bu gruplar dışındaki tüm muameleler hücre içi ROS seviyesini anlamlı şekilde arttırmıştır. MCF7 hücre hattında kompleks 2 ve Hep-3B'de kompleks 3'ün  $\text{IC}_{50}$  ve  $\text{IC}_{75}$  dozları arasındaki ROS artışı istatistiki olarak anlamlı değilken diğer tüm muamele gruplarında  $\text{IC}_{75}$  dozu  $\text{IC}_{50}$  dozuna kıyasla anlamlı bir artışa neden olmuştur.

Bakır komplekslerinin redoks özellikleri ve ROS ürettikleri bilinmektedir. Fakat çoğu çalışma hücre olmayan sistemlerde yapılmıştır. Ng ve ark.  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{aa})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  1-4 (phen = 1,10-phenanthroline; aa = gly (1), DL-ala (2), sar (3), C-dmg (4)) komplekslerinin MDA-MB-231 kanser ve MCF10A sağlıklı meme hücrelerinde  $5\mu\text{M}$  ve  $10\mu\text{M}$  dozlarında 6 ve 24 saat muamele edildiğinde oluşan ROS miktarını ölçmüşlerdir.  $5\mu\text{M}$  dozunun 6 saatlik muamelesinde hiçbir kompleks ROS artışını anlamlı şekilde yükseltmemiştir.  $10\mu\text{M}$  dozlarının 6 saatlik muamelesinde ise MDA-MB-231 kanser hücre hatlarında ROS seviyesinde kontrole kıyasla anlamlı bir artış olurken MCF10A sağlıklı meme hücre hatlarında ROS seviyesinde anlamlı bir artış olmamıştır. Bu durum bakır komplekslerinin minimum dozda kanser hücre hatlarında ROS seviyesini arttırırken sağlıklı hücre hattında ROS seviyesini anlamlı şekilde

değiştirmedini göstermiştir. Kompleksler ile 24 saat muamele edildiğinde ise ROS seviyesi her iki hücre hattında da anlamlı şekilde artmış fakat sağlıklı hücre hattında ki artışın daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Kanser hücre hatlarında komplekslerin neden olduğu ROS artışının konsantrasyona ve zamana bağlı olduğu gösterilmiştir (Ng ve ark. 2014).

Yapılan çalışmalar bakır komplekslerinin süperoksit radikalleri ( $O_2^{\cdot-}$ )ve hidroksil radikalleri ( $\cdot OH$ ) gibi ROS ürünleri oluşturduğunu göstermiştir. Bakır komplekslerinin Fenton reaksiyonları ile ROS oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (Macías ve ark. 2003). Bir çok çalışmada komplekslerin DNA kesme aktivitesinin oksidatif bir süreç ile gerçekleştiği ileri sürülmüştür. Kompleksler tarafından üretilen  $\cdot OH$  radikalleri DNA ile etkileşime girmekte ve deoksiribozdan hidrojen atomları kopararak DNA zincir kırıklarına neden olmaktadır.

$\cdot OH$  radikalleri aynı zamanda proteinler, membran lipidleri ile de etkileşime girmektedirler.  $\cdot OH$  radikallerinin DNA ile etkileşime girmesi DNA-protein çapraz bağlarına, DNA zincir kırıklarına, DNA baz ve şeker hasarlarına neden olmaktadır. Oksidatif baz lezyonları arasında 8-hidroksiguanin (8- OHdG) en yaygın olanıdır Adenine ile eşleşerek GC'nin TA transversiyonuna neden olmaktadır. 8-hidroksiguanin oksidatif stress, yaşlanma ve kanser riskinin biomarkırı olarak kabul edilmektedir (Cooke ve ark. 2003). Tez çalışmasında 8- OHdG oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak analiz edilmiştir. Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 4 saat süre ile komplekslerin  $IC_{50}$  dozları ile muamele edildikten sonra 8- OHdG seviyeleri belirlenmiştir. 8- OHdG seviyesinin kontrol gruplarına kıyasla tüm hücre hatlarında anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir. Hücre hatlarındaki ROS seviyesi artışı ve DNA'da oksidatif hasara neden olmuştur.

Molphy ve ark.  $[Cu(DPQ)(phen)]^{2+}$  (Cu-DPQ-Phen), (phen = 1,10-phenanthroline; DPQ = dipyridoquinoxaline) kompleksinin pUC19 DNA'da 8- OHdG seviyesini kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttırdığını elisa testi ile tespit etmişlerdir.

Bakır komplekslerinin neden olduğu DNA hasarı komet ve MN testlerinin bulguları ile de desteklenmiştir. Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatları 24 saat bakır komplekslerinin IC<sub>50</sub>/2 ve IC<sub>50</sub> dozları ile muamele edildikten sonra komet testi gerçekleştirilmiştir. Komet testi sonuçları Kuyruk uzunluğu, kuyruk %DNA ve Olive kuyruk momenti parametreleri ile değerlendirilmiştir. Caco-2 hücre hattında kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 dozu ile muamelesi ve MCF7 hücre hattında kompleks 2'nin IC<sub>50</sub>/2 dozu ile muamelesi dışında tüm muamele gruplarında negatif kontrole kıyasla kuyruk uzunluğunda anlamlı bir artış gözlenmiştir. Tüm muamele gruplarında IC<sub>50</sub> dozu IC<sub>50</sub>/2 dozuna kıyasla kuyruk uzunluğunda anlamlı artışa neden olmuştur.

Kuyruk %DNA verileri değerlendirildiğinde Caco-2 hücre hattında 1, 3 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 dozu ile muamelesi ve MCF7 hücre hattında kompleks 2 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 dozu ile muamelesinin kuyruk %DNA miktarında neden olduğu artış negatif kontrole kıyasla anlamlı değildir. Bunlar dışındaki tüm muamele gruplarında negatif kontrole kıyasla kuyruk %DNA miktarını anlamlı şekilde artmıştır. Caco-2 hücre hattının kompleks 4'ün IC<sub>50</sub> dozunun IC<sub>50</sub>/2 dozuna kıyasla kuyruk %DNA miktarında neden olduğu artış anlamlı değildir. Bunun dışındaki tüm muamele gruplarında IC<sub>50</sub> dozu IC<sub>50</sub>/2 dozuna kıyasla kuyruk %DNA miktarında anlamlı artışa neden olmuştur.

Olive kuyruk momenti verileri değerlendirildiğinde Caco-2 hücre hattında 1 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 dozu ile muamelesi ve MCF7 hücre hattında kompleks 2 ve 4'ün IC<sub>50</sub>/2 dozu ile muamelelerinin Olive kuyruk momentinde neden olduğu artış solvent kontrole kıyasla anlamlı değildir. Bunlar dışındaki tüm muamele gruplarında solvent kontrole kıyasla Olive kuyruk momenti değerleri IC<sub>50</sub>/2 dozunda anlamlı bir artış göstermiştir. Tüm muamele gruplarında IC<sub>50</sub> dozu IC<sub>50</sub>/2 dozuna kıyasla olive kuyruk momenti miktarında anlamlı artışa neden olmuştur. Sonuçlar komplekslerin DNA fregmantasyonuna neden olduğunu göstermektedir. ROS ve 8-OHdG testi sonuçları göz önünde bulundurulduğunda DNA parçalanmasının oksidatif hasar veya komplekslerin kesme özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ramakrishnan ve ark. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücreleri [Cu(L-tyr)(diimine)](ClO<sub>4</sub>) (5,6-dmp) kompleksi ile muamele edildiğinde komet kuyruk uzunluğunun arttığı tespit edilmiştir. Aynı

çalışmada komplekslerin DNA'nın major oyuğuna bağlandığı ve DNA'yı kesme aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.

Kompleks 1, 2, 3 ve 4 ile yaptığımız bir çalışmada komplekslerin DNA'ya interkalasyon yolu ile bağlandığını rapor ettik. Yine aynı çalışmada komplekslerin super-coiled pBR322 plasmid DNA'sını kestiğini gösterdik.

Gandin ve ark. bakır(I) karışık ligant kompleksi [CuCl(dpq)(PCN)] 5,6-dimethyl-1,10-phenanthroline (dmp), PCN = tris-(2-cyanoethyl)phosphine, ile yaptıkları bir çalışmada periferel kan lenfositlerine kompleksin IC<sub>50</sub> dozu ile cisplatine duyarlı insan ovaryum kanseri hücrelerine 6 ve 12 saat muamele ettikten sonra komet testi uygulamışlardır. Komet kuyruk uzunluğunun zaman bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. "Dpq"nın DNA'yı tanıma ve kesme fonksiyonu gösterdiği tespit edilmiştir. Komet kuyruk uzunluğundaki artış kompleksin önemli miktarda DNA fregmantasyonuna neden olduğunu göstermiştir.

Alemon-Medina ve ark. HeLa hücrelerinde ve insan lenfositlerinde Casiopeínas'ın nüklear DNA'ya verdiği oksidatif hasar komet testi ile araştırılmıştır. HeLa hücreleri üzerindeki genotoksik hasarın daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeninin HeLa hücrelerinin daha hızlı bölünmesi ve HeLa hücrelerinde ki MnSOD enzim eksikliği olduğu ileri sürülmüştür. Casiopeínas'ın ROS oluşturarak etki ettiği düşünüldüğünde bu enzimin eksikliği Casiopeínas'ın etkisini arttırmaktadır. DNA fragmentleri uzunluğunun ilaç konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak arttığı ve hücre ölümünün genotoksik hasarın sonucu olarak gerçekleştiği rapor edilmiştir.

Cai ve ark. Bel-7402 karaciğer kanser hücrelerinde bakır-1,10-phenanthroline, Cu(OP)<sub>2</sub>, kompleksinin sitotoksisite mekanizması çalışılmıştır. OP ligantının Cu(OP)<sub>2</sub> kompleksinin sitotoksisitesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Kompleksin neden olduğu ROS artışının apoptoz şelalesini harekete geçirdiği ileri sürülmüştür. OP ligantı ile hücre içine aşırı miktarda bakır girişi sağlamıştır. Kompleks nükleus membranını geçerek nükleus DNA'sını hedef almış, tek ve çift zincir kırıklarına, modifiye bazlara, DNA-protein çapraz bağlarına neden olmuştur. DNA hasarının hücre



siklusunda tutulmayı ve DNA tamirini uyardığı düşünülmektedir. DNA hasarının apoptozu tetikleyen p53'ü aktive ettiği ileri sürülmüştür. Kompleksin Bel-7402 hücrelerinde neden olduğu DNA hasarı komet kuyruğundaki %DNA'nın artışı ile gösterilmiştir.

Arjmand ve arkadaşları yaptığı çalışmada R- enantiyomer bakır(II) komplekslerin ( $C_{24}H_{34}N_2O_{10}Cu_2$ ) genotoksik etkisi vivo sıçan çalışmasında kemik iliği mikronükleus testi ile ve periferal kan lenfositlerinden komet testi ile tespit edilmiştir. Kemik iliği hücrelerinde mikronükleuslu polychromatic eritrositlerin frekansı kontrol grubuna kıyasla bakır kompleksleri ile muamele edilen grupta artmıştır. İzole edilen sıçan lenfositleri bakır kompleksi ile muamele edildiğinde ise komet kuyruk uzunluğu ve olive kuyruk momenti kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artmıştır.

Serbest radikallerin DNA hasarına neden olarak zincir kırıkları ve oksitlenmiş bazlar özellikle 8-OHdG oluşturduğu gösterilmiştir. Komet testi oksidatif DNA hasarından kaynaklanan DNA tek zincir kırıklarının tespiti için uygun bir testtir. Tez çalışmasının 8-OHdG, ROS ve komet testi sonuçları birbiri ile uyumludur. Test sonuçları bakır komplekslerinin ROS üreterek veya DNA zincirlerini kırarak DNA hasarına neden olduğuna işaret etmektedir.

Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarına 24 saat bakır komplekslerinin  $IC_{50}/2$  ve  $IC_{50}$  dozları ile muamele edildikten sonra MN testi gerçekleştirilmiştir. MN testi sonuçları MN değerleri ve NDI parametreleri ile değerlendirilmiştir. Caco-2 hücre hattında tüm komplekslerin her iki doz ile muamelesi de solvent kontrole kıyasla MN değerini anlamlı düzeyde arttırmıştır. Caco-2 hücre hattında kompleks 3'ün  $IC_{50}$  dozunun  $IC_{50}/2$  dozuna kıyasla MN değerinde neden olduğu artış istatistiki olarak anlamlı değilken, bunun dışındaki tüm muamele gruplarında  $IC_{50}$  dozu  $IC_{50}/2$  dozuna kıyasla MN değerini anlamlı seviyede arttırmıştır. MCF7 hücre hattında kompleks 1 ve 2'nin  $IC_{50}/2$  dozu ile muamelesi neticesinde MN değerinde meydana gelen artış solvent kontrole kıyasla anlamlı değilken, kompleks 3 ve 4  $IC_{50}/2$  dozunda MN değerini anlamlı düzeyde arttırmıştır. MCF7 hücre hattında tüm komplekslerin  $IC_{50}$  dozu ile muamelesi ise MN değerini anlamlı şekilde arttırmıştır. Komplekslerin  $IC_{50}$  ve  $IC_{50}/2$  doz grupları

arasındaki MN değerleri kıyaslandığında kompleks 1 dışındaki diğer komplekslerin doza bağlı olarak MN değerini anlamlı şekilde arttırdığı tespit edilmiştir. Hep-3B hücre hattında tüm kompleksler IC<sub>50</sub> ve IC<sub>50</sub>/2 doz gruplarında MN değerinde solvent kontrole kıyasla anlamlı artışa neden olmuş aynı zamanda kompleks 3 dışında diğer komplekslerin IC<sub>50</sub> ve IC<sub>50</sub>/2 doz grupları kıyaslandığında doza bağlı olarak MN değerleri anlamlı derecede artış göstermiştir. BEAS-2B hücre hattında tüm komplekslerin IC<sub>50</sub> ve IC<sub>50</sub>/2 dozu ile muamelesi MN değerlerini negatif kontrole kıyasla anlamlı şekilde arttırmıştır. BEAS-2B hücre hattında IC<sub>50</sub> ve IC<sub>50</sub>/2 doz grupları arasındaki MN değerleri kıyaslandığında kompleks 1 dışında diğer komplekslerin doza bağlı olarak neden olduğu MN değerlerindeki artış istatistiki olarak anlamlıdır.

MN testi kromozom kayıplarından veya kromozom kırıklarından kaynaklanan kromozom hasarını ölçmektedir. Mikronükleusların anafazda geride kalan yeni hücrelerin nükleuslarına dahil olamayan kromozomlar veya kromozom parçalarından meydana geldiği düşünüldüğünde komplekslerin klastojenik veya aneugenic etki gösterdiği ileri sürülebilir. Komet testi sonuçlarının da ortaya koyduğu gibi kompleksler DNA kırıklarına neden olmaktadır. DNA'daki tamir edilmeyen çift zincir kırıkları kromozom kırıklarına neden olmaktadır. Aynı zamanda ROS ve 8-oxoguanin testlerinden elde edilen sonuçlar oksidatif hasar neticesinde DNA kırıklarının oluşabileceğini ve bunların kromozom kırıklarına yol açabileceğini ortaya koymuştur. Beynek ve ark. insan peripheral kan lenfositlerinde yaptıkları çalışmada makrosiklik ligand 1,1'-bis(bis-(6,6'-oxymethylenyl-2,2'-bipyridine) binaphthyl, (L), CuL(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, CuL(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O komplekslerinin 150 µg/ml dozu ile 24 saat muamele edildiğinde mikronükleus sayısını arttırdığını tespit etmişlerdir.

Komplekslerin hücreler üzerinde neden olduğu sitotoksosite Caco-2, MCF7, Hep-3B ve BEAS-2B hücre hatlarında IC<sub>50</sub> ve IC<sub>50</sub>/2 doz gruplarında NDI ile ölçülmüştür. CaCo-2 hücre hattında tüm komplekslerin her iki doz ile muamelesi de negatif kontrole kıyasla NDI değerini anlamlı düzeyde azaltmıştır. IC<sub>50</sub> ve IC<sub>50</sub>/2 doz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında kompleks 1, 2 ve 3 de doza bağlı olarak anlamlı seviyede azaltırken kompleks 4 anlamlı seviyede arttırmıştır. MCF7 hücre hattında kompleks 1'in IC<sub>50</sub>/2 dozu NDI değerini negatif kontrole kıyasla anlamlı derecede arttırırken IC<sub>50</sub> dozu

anlamli derecede dusuermustur. Kompleks 2 MCF7 hucre hattinda IC<sub>50</sub> ve IC<sub>50/2</sub> doz gruplarında negatif kontrole kıyasla anlamli bir artış gözlenmezken doz grupları kendi aralarında kıyaslandığında IC<sub>50</sub> dozunda NDI değerinin anlamli seviyede daha düşük olduğu tespit edilmiştir. MCF7 hucre hattında kompleks 3'ün IC<sub>50/2</sub> dozu NDI değerinde anlamli bir farklılık yaratmazken IC<sub>50</sub> dozu NDI değerini anlamli seviyede dusuermustur fakat dozlar arasında NDI değerleri açısından anlamli bir farklılık yoktur. MCF7 hucre hattında kompleks 4 her iki doz grubunda da NDI değerini anlamli seviyede dusuermuş ve doz artışına bağlı olarak NDI değerinde anlamli bir azalma olmuştur. Hep-3B hucre hattında kompleks 1 ve 4 her iki doz grubunda da solvent kontrole kıyasla NDI değerinde anlamli değişikliğe neden olmamıştır. Hep-3B hucre hattında kompleks 2 ve 3 HEP-3B hucre hattında her iki doz grubunda da solvent kontrole kıyasla NDI değerlerini anlamli düzeyde arttırmıştır. Hep-3B hucre hattında aynı zamanda kompleks 3 IC<sub>50</sub> dozunda IC<sub>50/2</sub> dozuna kıyasla NDI değeri anlamli derecede azaltmıştır. BEAS-2B hucre hattında tüm muamele gruplarında solvent kontrole kıyasla NDI değerleri anlamli seviyede düşüş göstermiştir. Aynı zamanda BEAS-2B hucre hattında tüm kompleksler IC<sub>50</sub> dozunda IC<sub>50/2</sub> dozuna kıyasla NDI değerini anlamli seviyede dusuermustur.

Hucre ölüm yollarını tespit etmek için M30 ve M65 testleri yapılmıştır. M30 testi apoptotik hucre ölümünün bir biyomarkırı iken M65 testi nekrotik ölüm şeklinin göstergesidir. M30 sonuçları değerlendirildiğinde tüm kanser hucre hatlarında IC<sub>50</sub> ve IC<sub>90</sub> dozlarında M30 seviyesinin negatif kontrol grubuna kıyasla anlamli düzeyde arttığı fakat IC<sub>50</sub> ve IC<sub>90</sub> dozları kendi aralarında kıyaslandığında IC<sub>50</sub> dozunda M30 seviyesinin IC<sub>90</sub> dozuna kıyasla anlamli seviyede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum komplekslerin düşük dozda daha yüksek oranda apoptoza neden olduğunu göstermektedir. M30 seviyesinin IC<sub>90</sub> dozunda IC<sub>50</sub> dozuna kıyasla azalması yüksek dozda hücrelerin nekroz ile öldüğüne işaret etmektedir. Bu varsayım M65 sonuçları ile desteklenmiştir.

Caco-2 hucre hattında kompleks 2 ve kompleks 3'ün, MCF7 hucre hattında kompleks1'in ve Hep-3B hucre hattında kompleks 1'in IC<sub>50</sub> dozları ile muamele edildiğinde M65 seviyeleri negatif kontrolün altına düşmüştür. Bu dozlarda M65 seviyesi düşerken M30 seviyesinin artışı düşük dozda hücrelerin apoptoz ile öldüğünü

göstermektedir. Bu komplekslerin IC<sub>90</sub> dozları ise M65 seviyesinde anlamlı artışa neden olmuştur. Caco-2, MCF7 ve Hep-3B hücre hatlarında komplekslerin IC<sub>50</sub> dozları ile muamele sonucunda M65 seviyesi negatif kontrole kıyasla artmış fakat IC<sub>50</sub> ve IC<sub>90</sub> dozları kıyaslandığında IC<sub>90</sub> dozunun neden olduğu artışın IC<sub>50</sub> dozuna kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hücreler IC<sub>50</sub> dozunda apoptoz ile ölürken IC<sub>90</sub> dozunda nekroz ile ölmektedir.

ROS testinden elde ettiğimiz sonuçlar hücrelerin yüksek dozda nekroza gittiğini açıklamaktadır. Komplekslerin IC<sub>75</sub> dozları tüm hücre hatlarında ROS oluşumunu anlamlı düzeyde arttırmıştır ve hücrelerin nekroza gidiş nedeninin artan ROS miktarı ve buna bağlı olarak neden olduğu DNA hasarı olduğu düşünülmektedir. Bu gözlem Fenech ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur. Fenech ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 25-50 ve 100 µM dozlarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muamelesinden sonra nekroz ve apoptoz arasında negatif bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir.

Hampton ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada yüksek seviyede oksidatif stresin kaspazları inhibe ettiği ve apoptozu geciktirerek apoptozdan nekrotik ölüme geçişi sağladığını gösterilmiştir. Çalışmada Jurkat T-lenfositlerine 50µM hidrojen peroksit ile muamele edildiğinde kaspaz aktivasyonunun gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Kaspaz aktivitesi ilk olarak 3 saat sonra belirlenmiş ve 6 saat sonunda apoptozun morfolojik belirtileri ortaya çıkmıştır. Hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyonlarında kaspaz aktivitesi tespit edilmemiş ve hücrelerin nekroz ile öldüğü gözlemlenmiştir. Hidrojen peroksitin aynı zamanda sisteine bağlı bu proteazlar üzerinde inhite edici etkisi olduğu düşünülmektedir (Hampton ve Orrenius 1997).

ROS ve redoks-aktif bileşiklerin apoptozu indüklediğine ve yüksek dozlarının nekroza neden olduğu farklı çalışmalar tarafından da desteklenmiştir (Lennon ve ark. 1991; Dypbukt ve ark. 1994).

Komplekslerin kanser hücre hatlarındaki ve sağlıklı hücrelerdeki etkilerini kıyaslayabilmek için kanser hücre hatlarından elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri ile sağlıklı

hücre hatlarına muamele edilmiştir ve genotoksik hasarın tespiti için komet testi kullanılmıştır.

Kompleks I, II, III ve IV'ün Caco-2, MCF7, Hep-3B hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> dozları ile Beas-2B hücre hattına muamelesinden komet testi sonucu elde edilen Kuyruk uzunluğu, Kuyruk %DNA ve OTM değerleri genotoksik hasarın parametreleri olarak kullanılmıştır.

Elde edilen veriler BEAS-2B hücre hattının muamele edilen komplekse ait IC<sub>50</sub> dozundaki komet değerleri ve negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır. Her üç kanser hücre hattının kompleks 1 IC<sub>50</sub> değerleri ile BEAS-2B hücre hattına muamele edildiğinde tüm muamele gruplarında kuyruk uzunluğu, kuyruk %DNA ve OTM değerlerinin solvent kontrole kıyasla anlamlı seviyede arttığı, BEAS-2B'nin kendi IC<sub>50</sub> dozuna kıyasla anlamlı seviyede düşük olduğu tespit edilmiştir.

Kompleks 2'nin Hep-3B hücre hattındaki IC<sub>50</sub> dozu ile BEAS-2B hücre hattına muamele edildiğinde negatif kontrole kıyasla kuyruk uzunluğu değerinde anlamlı bir artış olmamıştır, bunun dışındaki tüm muamele gruplarında negatif kontrole kıyasla ve BEAS-2B hücre hattının kendi IC<sub>50</sub> dozu grubuna kıyasla kuyruk uzunluğu, kuyruk %DNA ve OTM değerleri anlamlı seviyede artmıştır. Kompleks 3 ve 4'ün her üç kanser hücre hattındaki IC<sub>50</sub> dozları ile muamele edildiğinde tüm muamele gruplarında negatif kontrole kıyasla ve ilgili kompleksin BEAS-2B hücre hattındaki IC<sub>50</sub> dozuna kıyasla tüm komet parametrelerinde anlamlı bir artış olmuştur. Sonuçlar genel anlamda komplekslerin kanser hücrelerini öldürürken sağlıklı hücrelere de zarar verdiğini fakat bu zararın sağlıklı hücrelerde daha düşük oranda olduğunu ortaya koymuştur.

ROS ve 8-oxoguanin testlerinden elde edilen sonuçlar bakır komplekslerinin oksidatif DNA hasarına neden olduğunu göstermektedir. ROS ve 8-oxoguanin testlerinden elde edilen sonuçlar mikronukleus ve komet testlerinin sonuçları ile de desteklenmiştir. DNA hasarının neden olduğu hücre ölümü M30 ve M65 testleri ile ölçülmüştür ve sonuçlar hücrelerin bakır komplekslerinin düşük dozlarında apoptoza yüksek dozlarında nekroza gittiğini göstermiştir.

Elde edilen bulgular ışığında tez çalışmasında kullanılan bakır komplekslerinin Caco-2, MCF7 ve Hep-3B kanser hücre hatlarına karşı güçlü antiproliferatif etki gösterdiği ve sağlıklı BEAS-2B hücre hatlarına karşı daha az toksik olduğu tespit edilmiştir. Bakır komplekslerinin oksidatif DNA hasarı ve DNA fregmantasyonu ile apoptoz veya nekrozu tetiklediği görülmüştür. Bakır komplekslerinin klinikte kullanılması için vivo çalışmalara ihtiyaç vardır. Vivo çalışmalarda olumlu sonuçlar alındığı takdirde klinik uygulamalar için umut verici olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Alemon-Medina, R., Brena-Valle, M., Munoz-Sanchez, J.L., Gracia-Mora, M.I., Ruiz-Azuara, L. 2007.** Induction of oxidative damage by copper-based antineoplastic drugs (Casiopeínas). *Cancer Chemother. Pharmacol.* 60, 219–228.
- Avendano, C., Menendez, J.C. 2008.** Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs. *Elsevier B.V.* 1, 1-7.
- Barcelo-Oliver, M., Garcia-Raso, A., Terron, A., Molins, E., Prieto, M.J., Moreno, V., Martinez, J., Llado, V., Lopez, I., Gutier-rez, A., Escriba, P.V. 2007.** Synthesis and mass spectroscopy kinetics of a novel ternary copper(II) complex with cytotoxic activity against cancer cells. *J. Inorg. Biochem.*, 101, 649-659.
- Berners-Price, S.J., Sadler, P.J. 1988.** Phosphines and metal phosphine complexes: relationship of chemistry to anticancer and other biological activity. *Struct. Bonding*, 70, 27-102.
- Bessho, T., Tano, K., Kasai, H., Nishimura, S. 1992.** Repair of 8-hydroxyguanine in DNA by mammalian N-methylpurine-DNA glycosylase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 188, 372 - 378.
- Bhat, S.S., Kumbhar, A.A., Heptullah, H., Khan, A.A., Gobre, V.V., Gejji, S.P., Puranik, V.G. 2011.** Synthesis, electronic structure, DNA and protein binding, DNA cleavage, and anticancer activity of fluorophore-labeled copper(II) complexes. *Inorg Chem.*, 50, 545-58.
- Blank, F. 1951.** In vitro fungistatic action of phenanthrolines against pathogenic fungi. *Nature*, 168, 516–517.
- Bonnet, S., Collin, J.P., Koizumi, M., Mobian, P., Sauvage, J.P. 2006.** Transition metal-complexed molecular machine prototypes. *Adv. Mater.*, 18, 1239.
- Bravo-Gomez, M.E., Garcia-Ramos, J.C., Gracia-Mora, I., Ruiz-Azuara, L.J. 2009.** Antiproliferative activity and QSAR study of copper(II) mixed chelate [Cu(N-N)(acetylacetonato)]NO<sub>3</sub> and [Cu(N-N)(glycinato)]NO<sub>3</sub> complexes, (Casiopeínas). *Inorg. Biochem*, 103, 299–309.
- Bredesen, D.E., Rao, R.V., Mehleni, P. 2006.** Cell death III the nervous system. *Nature*, 443, 796-802.
- Brewer, G.J. 2000.** Recognition, diagnosis, and management of Wilson's disease. *Proc Soc Exp Biol Med*, 223, 39–46.
- Brooks, P.J., Wise, D.S., Berry, D.A., Kosmoski, J.V., Smerdon, M.J., Somers, R.L., Mackie, H., Spoonde, A.Y., Ackerman, E.J., Coleman, K., Tarone, R.E., Robbins, J.H. 2000.** The oxidative DNA lesion 8,5'-(S)-cyclo-2'-deoxyadenosine is repaired by the nucleotide excision repair pathway and blocks gene expression in mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, 275, 22355 - 22362.
- Buchtik, R., Travnicek, Z., Vanco, J. 2012.** In vitro cytotoxicity, DNA cleavage and SOD-mimic activity of copper(II) mixed-ligand quinolinonato complexes. *J Inorg Biochem.*, 116, 163–171.
- Buchtik, R., Travnicek, Z., Vanco, J., Herchel, R., Dvorak, Z. 2011.** Synthesis, characterization, DNA interaction and cleavage, and in vitro cytotoxicity of copper(II) mixed-ligand complexes with 2-phenyl-3-hydroxy-4(1H)-quinolinone. *Dalton Trans.*, 40, 9404.
- Burger, R.M., Drlica, K., Birdsall, B. 1994.** The DNA cleavage pathway of iron bleomycin. Strand scission precedes deoxyribose 3-phosphate bond cleavage. *J Biol Chem*, 269, 2597-85.

- Buss, J.L., Greene, B.T., Turner, J., Torti, F.M., Torti, S.V. 2004.** Iron chelators in cancer chemotherapy. *Curr Top Med Chem*, 4, 1623-35.
- Cabrera, M., Nghiem, Y., Miller, J.H. 1988.** mutM, a second mutator locus in Escherichia coli that generates G.C-T.A transversions. *J Bacteriol.* 170, 5405–5407.
- Cai, X., Pan, N., Zou, G. 2007.** Copper-1,10-phenanthroline-induced apoptosis in liver carcinoma Bel-7402 cells associates with copper overload, reactive oxygen species production, glutathione depletion and oxidative DNA damage. *BioMetals*, 20, 1-11.
- Campbell, N.H., Karim, N.H., Parkinson, G.N., Gunaratnam, M., Petrucci, V., Todd, A.K., Vilar, R., Neidle, S. 2012.** Molecular basis of structure-activity relationships between salphen metal complexes and human telomeric DNA quadruplexes. *J Med Chem*, 55, 209-22.
- Carvalho-Chaigneau, F., Trejo-Solís, C., Gómez-Ruiz, C., Rodríguez-Aguilera, E., Macías-Rosales, L., Cortés-Barberena, E., Cedillo-Peláez, C., Gracia-Mora, I., Ruiz-Azuara, L., Madrid-Marina, V., Constantino-Casas, F. 2008.** Casiopeina III-ia induces apoptosis in HCT-15 cells in vitro through caspase-dependent mechanisms and has antitumor effect in vivo. *Biometals*. 21, 17-28.
- Chakraborty, A., Kumar, P., Ghosh, K., Roy, P. 2010.** Evaluation of a Schiff base copper complex compound as potent anticancer molecule with multiple targets of action. *Eur. J. Pharmacol.*, 647, 1-12.
- Chelly, J., Tuemer, Z., Toennesen, T., Petterson, A., Ishikawa-Brush, Y., Tommerup, N., Horn, N., Monaco, A.P. 1993.** Isolation of a candidate gene for Menkes disease that encodes a potential heavy metal binding protein. *Nat Genet*, 3, 14–19.
- Chen, D., Cui, Q.C., Yang, H., Barrea, R.A., Sarkar, F.H., Sheng, S., Yan, B., Reddy, G.P.V., Dou, Q.P. 2007.** Clotrimazole, a therapeutic agent for Alzheimer's disease, has proteasome-inhibitory, androgen receptor-suppressing, apoptosis-inducing, and antitumor activities in human prostate cancer cells and xenografts. *Cancer Res.*, 67, 1636-1644.
- Chen, J., Huang, Y.-w., Liu, G., Afrasiabi, Z., Sinn, E., Padhye, S., Ma, Y. 2004.** The cytotoxicity and mechanisms of 1,2-naphthoquinone thiosemicarbazone and its metal derivatives against MCF-7 human breast cancer cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 197, 40-48.
- Chen, C.B., Milne, L., Landgraf, R., Perrin, D.M., Sigman, D.S. 2001.** Artificial nucleases. *ChemBiochem*, 2, 735-740.
- Chikira, M., Tomizawa, Y., Fukita, D., Sugizaki, T., Sugawara, N., Yamazaki, T., Sasano, A., Shindo, H., Palaniandavar, M., Antholine, W.E. 2002.** DNA-fiber EPR study of the orientation of Cu(II) complexes of 1, 10-phenanthroline and its derivatives bound to DNA: mono(phenanthroline)-copper(II) and its ternary complexes with amino acids. *J. Inorg. Biochem.*, 89, 163–173.
- Chung, M.H., Kasai, H., Jones, D.S., Inoue, H., Ishikawa, H., Ohtsuka, E., Nishimura, S., 1991.** An endonuclease activity of Escherichia coli that specifically removes 8-hydroxyguanine residues from DNA. *Mutat. Res.*, 254, 1-12.
- Cimini, D., Degrossi, F. 2005.** Aneuploidy: a matter of bad connections. *Trends Cell Biol*, 15, 442–451.
- Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Lunec, J. 2003.** Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 17-1195-1214
- Cory, S., Adams, J.M. 2002.** The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer*, 2, 647–56.



- Coulombe, P.A., Wong, P. 2004.** Cytoplasmic intermediate filaments revealed as dynamic and multipurpose scaffolds. *Nat Cell Biol*, 6, 699-706. Review
- Culotta, V.C., Klomp, L.W.J., Strain, J., Casareno, R.L.B., Krems, B., Gitlin, J.D. 1997.** The copper chaperone for superoxide dismutase. *J.Biol. Chem.*, 272, 23469-23472.
- Curtin, J.F., Donovan, M., Cotter, T.G. 2002.** Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods*, 265, 49-72.
- Daniel, K.G., Gupta, P., Harbach, R.H., Guida, W.C., Dou, Q.P. 2004.** Organic copper complexes as a new class of proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 67, 1139-1151.
- Daniel, K.G., Harbach, R.H., Guida, W.C., Dou, Q.P. 2004.** Copper storage diseases: Menkes, Wilson's, and cancer. *Front. Biosci.*, 9, 2652-2662.
- De Vizcaya-Ruiz, A., Rivero-Muller, A., Ruiz-Ramirez, L., Howarth, J.A., Dobrota, M. 2003.** Hematotoxicity response in rats by the novel copper-based anticancer agent: casiopeina II. *Toxicology*, 194, 103-113.
- De Vizcaya-Ruiz, A., Rivero-Muller, A., Ruiz-Ramirez, L., Kass, G.E., Kelland, L.R., Orr, R.M., Dobrota, M. 2000.** Induction of apoptosis by a novel copper-based anticancer compound, casiopeina II, in L1210 murine leukaemia and CH1 human ovarian carcinoma cells. *Toxicol In Vitro*, 14, 1-5.
- Decordier, I., Cundari, E., Kirsch-Volders, M. 2008.** Survival of aneuploid, micronucleated and/or polyploid cells: crosstalk between ploidy control and apoptosis. *Mutat Res*, 651, 30-39.
- Deegan, C., McCann, M., Devereux, M., Coyle, B., Egan, D.A. 2007.** *In vitro* cancer chemotherapeutic activity of 1,10-phenanthroline (phen), [Ag<sub>2</sub>(phen)<sub>3</sub>(mal)].2H<sub>2</sub>O, [Cu(phen)<sub>2</sub>(mal)].2H<sub>2</sub>O and [Mn(phen)<sub>2</sub>(mal)].2H<sub>2</sub>O (malH<sub>2</sub> = malonic acid) using human cancer cells. *Cancer Lett.*, 247, 224-233.
- Demple, B., Harrison, L. 1994.** Repair of oxidative damage to DNA: enzymology and biology. *Annu. Rev. Biochem.*, 63, 915 - 948.
- Dinsdale, D., Lee, J.C., Dewson, G., Cohen, G.M., Peter, M.E. 2004.** Intermediate filaments control the intracellular distribution of caspases during apoptosis. *Am J Pathol*, 164, 395-407.
- Dorr, R.T. 1992.** Bleomycin pharmacology: mechanism of action and resistance, and clinical pharmacokinetics. *Semin Oncol*, 19, 3-8.
- Dou, Q.P., David, M.S., Kenyon, G.D., Kazi, A. 2003.** Interruption of tumor cell cycle progression through proteasome inhibition: implications for cancer therapy. *Prog. Cell. Cycle Res.*, 5, 441-446.
- Drexler, H.C.A. 1997.** Activation of the cell death program by inhibition of proteasome function. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94, 855-860.
- Eichhorn, G.L., Shin, Y.A. 1968.** Interaction of metal ions with polynucleotides and related compounds. XII. The relative effect of various metal ions on DNA helicity. *J Am Chem Soc.*, 90, 7323-8.
- Elenbaas, B., Spirio, L., Koerner, F., Fleming, M.D., Zimonjic, D.B., Donaher, J.L., Popescu, N.C., Hahn, W.C., Weinberg, R.A. 2001.** Human breast cancer cells generated by oncogenic transformation of primary mammary epithelial cells. *Genes and Development*, 15, 50-65.
- Evans, J., Maccabee, M., Hatahet, Z., Courcelle, J., Bockrath, R., Ide, H., Wallace, S. 1993.** Thymine ring saturation and fragmentation products: lesion bypass, misinsertion and implications for mutagenesis. *Mutat. Res.*, 299, 147 - 156.

- Fearon, E.R., Vogelstein, B. 1990.** A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61, 759–767.
- Feinberg, A.P., Ohlsson R., Henikoff, S. 2006.** The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nature Reviews Genetics*, 7, 21-33. doi:10.1038/nrg1748
- Fenech, M., Morley, A.A. 1985.** Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res* 147, 29–36.
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A.T., Surrales, J., Croft, J., Parry, J., Norppa, H. 2011.** Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in human cells. *Mutagenesis*, 26, 125–132.
- Fraga, C.G., Shigenaga, M.K., Park, J.W., Degan, P., Ames, B.N. 1990.** Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 4533 - 4537.
- Frausto Da Silva, J.J.R., Williams, R.J.P. The Biological Chemistry of the Elements.** Clarendon: Oxford, 1991.
- Freedman, J.H., Ciriolo, M.R., Peisach, J. 1989.** The role of glutathione in copper metabolism and toxicity. *J. Biol. Chem.*, 264, 5598-5605.
- Ferreira, A.M.D.C., Ciriolo, M.R., Marcocci, L., Rotilio, G. 1993.** Copper(I) transfer into metallothionein mediated by glutathione. *Biochem. J.*, 292, 673-676.
- Frezza, M., Hindo, S., Chen, D., Davenport, A., Schmitt, S., Tomco, D., Dou, Q.P. 2010.** Novel metals and metal complexes as platforms for cancer therapy. *Curr. Pharm. Des.*, 16, 1813-1825.
- Fricker, S.P. 1994.** Metal Compounds in Cancer Therapy. London: *Chapman and Hall*. 1-31
- Fridovich, I. 1986.** Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys*, 247, 1–11.
- Gaetke, L.M., Chow, C.K. 2003.** Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189, 147-163.
- Gajewski, E., Rao, G., Nackerdien, Z., Dizdaroglu, M. 1990.** Modification of DNA bases in mammalian chromatin by radiation-generated free radicals. *Biochemistry*, 29, 7876 - 7882.
- Gandin, V., Porchia, M., Tisato, F., Zanella, A., Severin, E., Dolmella, A., Marzano, C.J. 2013.** Novel mixed-ligand copper(I) complexes: role of diimine ligands on cytotoxicity and genotoxicity. *Med. Chem.*, 56, 7416-7430.
- Garcia-Gimenez, J.L., Gonzalez-Alvarez, M., Liu-Gonzalez, M., Macias, B., Borrás, J., Alzuet, G. 2009.** Toward the development of metal-based synthetic nucleases: DNA binding and oxidative DNA cleavage of a mixed copper(II) complex with N-(9H-purin-6-yl)benzenesulfonamide and 1,10-phenantroline. Antitumor activity in human Caco-2 cells and Jurkat T lymphocytes. Evaluation of p53 and Bcl-2 proteins in the apoptotic mechanism. *J. Inorg. Biochem.*, 103, 923-934.
- Garibal, J., Hollville, E., Renouf, B., Tetaud, C., Wiels, J. 2010.** Caspase-8-mediated cleavage of Bid and protein phosphatase 2A-mediated activation of Bax are necessary for Verotoxin-1-induced apoptosis in Burkitt's lymphoma cells. *Cell Signal*, 22, 467–475.
- Goodman, V.L., Brewer, G.J., Merajver, S.D. 2004.** Copper deficiency as an anti-cancer strategy. *Endocr.-Relat. Cancer*, 11, 255-263.

- Goodyer, I.D., Jones, E.E., Monaco, A.P., Francis, M.J. 1999.** Characterization of the Menkes protein copperbinding domains and their role in copper-induced protein re-localization. *Hum Mol Genet*, 8, 1473–1478.
- Goodwin, C.J., S.J. Holt, S. Downes, and N.J. Marshall. 1995.** Microculture tetrazolium assays: a comparison between two new tetrazolium salts, XTT and MTS. *J. Immunol. Methods*, 179, 95-103.
- Goldberg, A.L. 1995.** Functions of the proteasome: the lysis at the end of the tunnel. *Science*, 268, 522-523.
- Gracia-Mora, I. Ruiz-Ramírez, L., Gómez-Ruiz, C., Tinoco-Méndez, M., Márquez-Quñones, A., Romero-De L.L., Marín-Hernández, A., Macías-Rosales, L., Bravo-Gómez, M.E., 2001.** Knight's Move in the Periodic Table, From Copper to Platinum, Novel Antitumor Mixed Chelate Copper Compounds, Casiopeinas, Evaluated by an *in Vitro* Human and Murine Cancer Cell Line Panel. *Met.-Based Drugs* 8, 19–28.
- Greene, R.F., Chatterji, D.C., Hiranaka, P.K., Gallelli, J.F. 1979.** Stability of cisplatin in aqueous solution. *Am J Hosp Pharm*, 36, 38-43.
- Greenwood, N.N., Earnshaw, A. 1998.** Chemistry of the elements. 2nd ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1173–1200.
- Goldstein, R.S., Mayor, G.H., 1983.** minireview. The nephrotoxicity of cisplatin. *Life Sci*, 32, 685-90.
- Hajrezaie, M., Paydar, M., Moghadamtousi, S.Z., Hassandarvish, P., Gwaram, N.S., Zahedifard, M., Rouhollahi, E., Karimian, H., Looi, C.Y., Ali, H.M., AbdulMajid, N., Abdulla, M.A. 2014.** A Schiff Base-Derived Copper (II) Complex Is a Potent Inducer of Apoptosis in Colon Cancer Cells by Activating the Intrinsic Pathway. Hindawi Publishing Corporation, Article ID 540463, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/540463>
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M. 1990.** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.*, 186, 1-85.
- Hall, I.H., Taylor, K., Miller, M.C., Dothan, I.I.I., Khan, X., Bouet, M.A. 1997.** Cytotoxicity of copper complexes of 2-furaldehyde oxime derivatives in murine and human tissue cultured cell lines. *Anticancer Res.*, 17, 2411-2418.
- Hamasaki, K., Kogure, K., Ohwada, K. 1996.** A biological method for the quantitative measurement of tetrodotoxin (TTX): tissue culture bioassay in combination with a water-soluble tetrazolium salt. *Toxicon*, 34, 490-495.
- Hambley, T.W. 2007.** Metal-Based Therapeutics. *Science*, 318,1392-1393.
- Hampton, M.B., Orrenius, S. 1997.** Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide; implications for apoptosis. *FEBS Lett.* 414, 552-556.
- Hanahan, D., Weinberg, R.A. 2000.** The hallmarks of cancer. *Cell*, 100,57–70.
- Hart, E.B., Steenbock, H., Waddell, J. 1928.** Iron nutrition. VII: Copper is a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. *J.Biol. Chem.* 77, 797–812.
- Hayashi, K., Akutsu, H., Ozaki, H., Sawai, H. 2004.** Bis(phenanthroline)-ethylenediamine conjugate displays excimer fluorescence upon binding with DNA. *Chem Commun (Camb)*. 12, 1386-7.
- Hegg, E.L., Burstyn, J.N. 1998.** Toward the development of metal-based synthetic nucleases and peptidases: A rationale and progress report in applying the principles of coordination chemistry. *Coord. Chem. Rev.*, 173, 133-165.
- Herceg, Z., Hainaut P. 2007.** Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis. *MOLECULAR ONCOLOGY*, 1, 26–41

- Higby, D.J., Wallace, H.J., Albert, D., Holland, J.F. 1974.** Diamminodichloroplatinum in the chemotherapy of testicular tumors. *J Urol*, 11, 100-4.
- Hindo, S.S., Frezza, M., Tomco, D., Heeg, M.J., Hryhorczuk, L., McGarvey, B.R., Dou, Q.P., Verani, C.N. 2009.** Metals in anticancer therapy: copper(II) complexes as inhibitors of the 20S proteasome. *Eur. J. Med. Chem.*, 44, 4353-4361.
- Horn, N. 1983.** Menkes' X-linked disease: Prenatal diagnosis and carrier detection. *J Inherit Metab Dis*, 6, 59–62.
- Huang, R. A.W., Covell, D.G. 2005.** Anticancer metal compounds in NCI's tumorecreeing database: putative mode of action. *Biochem Pharmacol*, 69, 1009-1039.
- Huie, R.E., Neta, P. 1999.** Chemistry of reactive oxygen species. In *Reactive Oxygen Species in Biological Systems* (G. A. Colton, ed.), pp. 33– 68. Kluwer Academic/Plenum, New York
- Ikotun, O.F., Higbee, E.M., Ouellette, W., Doyle, R.P.J. 2009.** Pyrophosphate-bridged complexes with picomolar toxicity. *Inorg. Biochem.*, 103, 1254-64.
- İnci, D., Aydın, R., Vatan, O., Yılmaz, D., Gençkal, H.M., Zorlu, Y., Çavaş, T. 2015.** Binary and ternary new water soluble copper(II) complexes of L-tyrosine and substituted 1,10-phenanthrolines: Effect of substitution on DNA interactions and cytotoxicities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2015.03.011>
- İnci, D., Aydın, R., Yılmaz, D., Gençkal, M., Vatan, O., Çinkılıç, N., Zorlu, Y. 2014.** New water-soluble copper (II) complexes including 4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline and L-tyrosine: synthesis, characterization, DNA interactions and cytotoxicities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. DOI: 10.1016/j.saa.2014.09.093
- Kachadourian, R., Brechbuhl, H.M., Ruiz-Azuara, L., Gracia-Mora, I., Day, B.J. 2010.** Casiopeína Ilgly-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human lung cancer A549 and H157 cells. *Toxicology*, 268, 176-83.
- Jayaraju, D., Kondapi, A.K. 2001.** Anti-cancer copper salicylaldehyde complex inhibits topoisomerase II catalytic activity. *Curr. Sci.*, 81, 787-792.
- Kaler, S.G. 1994.** Menkes disease. *Adv Pediatr*, 41, 263–304.
- Kasai, H., Nishimura, S. 1984.** Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents. *Nucleic Acids Res.*, 12, 2137 - 2145.
- Kelland L.R., Farrell, N.P., Ed. - Platinum-based Drugs in Cancer Therapy**, Humana Press, Totowa, New Jersey, 2000.
- Kelland, L.R. 2000.** Preclinical perspectives on platinum resistance. *Drugs*, 59, 1-8.
- Kellett, A., Howe, O., O'Connor, M., McCann, M., Creaven, B.S., McClean, S., Foltyn-Arfa Kia, A., Casey, A., Devereux, M. 2012.** Radical induced DNA damage by cytotoxic square–planar copper(II) complexes incorporating o-phthalate and 1,10-phenanthroline or 2,2'-dipyridyl. *Free Radical Biol. Med.*, 53, 564–576.
- Kerr, J.F., Wyllie, A.H., Currie, A.R. 1972.** Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 26, 239–57.
- Kim, C.F., Jackson, E.L., Woolfenden, A.E., Lawrence, S., Babar, I., Vogel, S., Crowley, D., Bronson, R.T., Jacks, T., 2005.** Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell*. 121, 823-35.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., De Boeck ,M., Decordier, I. 2002.** Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations. *Mutat Res*, 504,137–148.

- Kirsch-Volders, M., Decordier, I., Elhajouji, A., Plas, G., Aardema, M.J., Fenech, M. 2011.** In vitro genotoxicity testing using the micronucleus assay in cell lines, human lymphocytes and 3D skin models. *Mutagenesis*, 26,177–184.
- Kischkel, F.C., Hellbardt, S., Behrmann, I., Germer, M., Pawlita, M., Krammer, P.H., Peter, M.E. 1995.** Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)- associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *Embo J*, 14, 5579–88.
- Kitajima, N., Moro-oka, Y. 1994.** Copper-Dioxygen Complexes. Inorganic and bioinorganic perspectives. *Chem. Rev.*, 94, 737-757.
- Kito, M., Takenaka, Y., Urade, R. 1995.** The 1,10-phenanthroline micelles–copper(I) complex catalyzes protein degradation. *FEBS Lett.*, 362, 39–42.
- Klaunig, J.E., Kamendulis L.M., Hocevar, B.A. 2010.** Oxidative Stress and Oxidative Damage in Carcinogenesis. *Toxicologic Pathology*, 38, 96-109.
- Klaunig, J.E., Kamendulis, L.M. 2004.** The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 44, 239–67.
- Kleinwachter, V.Y Zaludova, R. 1977.** Reaction of cis and trans isomers of platinum(II) diamminedichloride with purine, adenosine and its derivatives in dilute solutions. *Chem Biol Interact*, 16, 207-22.
- Koppenol, W.H. 2001.** The Haber-Weiss cycle--70 years later. *Redox Rep.*, 6, 229-34.
- Kremer, M. L. 1999.** Mechanism of the Fenton reaction. Evidence for a new intermediate. *Phys. Chem. Chem. Phys.*,1, 3595-3605.
- Ku, N.O., Zhou ,X., Toivola, D.M., Omary, M.B. 1999.** The cytoskeleton of digestive epithelia in health and disease. *Am J. Physiol.*, 277, 1108-1137. Review.
- Ku, N.O., Liao, J., Omary, M.B. 1997.** Apoptosis generates stable fragments of human type I keratins. *J Biol Chem*, 272, 33197-33203.
- Kuraoka, I., Bender, C., Romieu, A., Cadet, J., Wood, R.D., Lindahl, T. 2000.** Removal of oxygen free-radical-induced 5',8-purine cyclodeoxynucleosides from DNA by the nucleotide excision-repair pathway in human cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 3832 - 3837.
- Kurosaka, K., Takahashi, M., Watanabe, N., Kobayashi, Y. 2003.** Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *J Immunol*, 171,4672–9.
- Lakshmipraba, J., Arunachalam, S., Riyasdeen, A., Dhivya, R., Akbarsha, M.A. 2015.** Polyethyleneimine anchored copper(II) complexes: Synthesis, characterization, in vitro DNA binding studies and cytotoxicity studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 142, 59–67.
- Lau, S.J., Sarkar, B., 1971.** Ternary coordination complex between human serum albumin, copper (II), and L-histidine. *J. Biol. Chem.*, 246, 5938-5943.
- Laussac, J.P., Sarker, B. 1984.** Characterization of the copper(II) and nickel(II) transport site of human serum albumin. Studies of copper(II) and nickel(II) binding to peptide 1-24 of human serum albumin by carbon-13 and proton NMR spectroscopy. *Biochemistry*, 23, 2832-2838.
- Lee, J., Schickling, O., Stegh, A.B., Oshima, R.G., Dinsdale, D., Cohen, G.M., Peter, M.E. 2002.** DEDD regulates degradation of intermediate filaments during apoptosis. *J Cell Biol*. 158, 1051-1066.
- Lee, J., Prohaska, J.R., Thiele, D.J. 2001.** Essential role for mammalian copper transporter Ctr1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98, 6842-6847.

- Lembach, K.J., Dobkin, M.B., Louie, R.E. 1989.** Inactivation of Viruses with 1,10-Phenanthroline. In *Virus Inactivation in Plasma Products*; S. Karger AG: Basel, Switzerland, pp 97–108.
- Lennon, S.V., Martin, S.J. and Cotter, T.G. 1991.** Dose-dependent induction of apoptosis in human tumour cell lines by widely diverging stimuli. *Cell Prolif.* 24, 203–214.
- Li, L.Y., Luo, X., Wang, X. 2001.** Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*, 412, 95–9.
- Linder, M.C. Biochemistry of Copper.** Plenum Press: New York, 1991.
- Lingnau, R., Straehle, J. 1998.** 2,4,6-Ph<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>M [M<sub>5</sub>copper(I), silver(I)] monomeric complexes with the coordination number of 1. *Angew Chem*, 100:409–410.
- Liochev, S.I., Fridovich, I. 1992.** Superoxide radical in *Escherichia coli*. *Curr. Commun. Cell Mol. Biol.*, 5, 213–229.
- Lippert, B. 1999.** 30 Years of Cisplatin-Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug. Verlag Helvetica Chimica Acta, Wiley-VCH: Zürich.
- Locksley, R.M., Killeen, N., Lenardo, M.J. 2001.** The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*, 104, 487–501.
- Loganathan, R., Ramakrishnan S., Suresh E., Riyasdeen, A., Akbarsha M.A., Palaniandavar, M. 2012.** Mixed Ligand Copper(II) Complexes of *N,N*-Bis(benzimidazol-2-ylmethyl)amine (BBA) with Diimine Co-Ligands: Efficient Chemical Nuclease and Protease Activities and Cytotoxicity. *Inorg. Chem.*, 51, 5512–5532.
- Los, M., Mozoluk, M., Ferrari, D. 2002.** Activation and caspase-mediated inhibition of PARP: a molecular switch between fibroblast necrosis and apoptosis in death receptor signaling. *Mol Biol Cell*, 13, 978–988.
- Lovejoy, D.B., Richardson, D.R. 2002.** Novel "hybrid" iron chelators derived from aroylhydrazones and thiosemicarbazones demonstrate selective antiproliferative activity against tumor cells. *Blood*, 100, 666–676.
- Lutsenko, S., Natalie, L.B., Bartee, M.Y., Dmiriev O.Y. 2006.** Function and Regulation of Human Copper-Transporting ATPases. *Physiol Rev*, 87, 1011–1046. doi:10.1152/physrev.00004.2006.
- Macleod, R.A. 1952.** The toxicity of o-phenanthroline for lactic acid bacteria. *J. Biol. Chem.*, 197, 751–761.
- Majno, G., Joris, I. 1995.** Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol*, 146, 3–15.
- Marceau, N.L., Schutte, B., Gilbert, S., Loranger, A., Henfling, M.E.R., Broers, J.L.V., Mathew, J., Ramaekers, F.C.S. 2007.** Dual Roles of Intermediate Filaments in Apoptosis. *Exp Cell Res*, 313, 2265–2281.
- Marín-Hernández, A., Gracia-Mora, I., Ruiz-Ramírez, L., Moreno-Sánchez, R. 2003.** Toxic effects of copper-based antineoplastic drugs (Casiopeinas) on mitochondrial functions. *Biochem Pharmacol.* 65, 1979–89.
- Marshall, L.E., Graham, D.R., Reich, K.A., Sigman, D.S. 1981.** Cleavage of deoxyribonucleic acid by the 1,10-phenanthroline-cuprous complex. Hydrogen peroxide requirement and primary and secondary structure specificity. *Biochemistry* 1981, 20, 244–250.
- Marshall, N.J., C.J. Goodwin, and S.J. Holt. 1995.** A critical assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function. *Growth Regul.*, 5, 69–84.

- Martinet, W., Schrijvers, D.M., Herman, A.G. 2006.** z-VAD-fm-induced non-apoptotic cell death of macrophages: possibilities and limitations for atherosclerotic plaque stabilization. *Autophagy*, 2, 312–314.
- Marzano, C., Pellei, M., Tisato, F., Santini, C., 2009.** Complexes as Anticancer Agents *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 9, 185-211.
- Marzano, C., Gandin, V., Pellei, M., Colavito, D., Papini, G., Gioia Lobbia, G., Del Giudice, E., Porchia, M., Tisato, F., Santini, C.J. 2008.** In vitro antitumor activity of the water soluble copper(I) complexes bearing the tris(hydroxymethyl)phosphine ligand. *Med. Chem.*, 51, 798-808.
- Marzano, C., Severin, E., Pani, B., Guiotto, A., Bordin, F. 1997.** DNA damage induced by 4,6,8,9-tetramethyl-2H-furo[2,3-h]quinolin-2-one, a new furocoumarin analog: biological consequences. *Environ. Mol. Mutagen.*, 29, 256-264.
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I., Kirsch-Volders, M. 2006.** Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*. 88, 1515–1531.
- McCann, M., Devereux, M., Santos, A.L.S., Hilger, R.A., Silva, B.A., Romanos, M.T.V., Pyrrho, A.S., Kavanagh, K., Fichtner, I., Kellett, A. 2012.** In vitro and in vivo studies of the biological activities of 1,10-phenanthroline, 1,10-phenanthroline-5,6-dione and copper(II) and silver(I) perchlorate complexes of 1,10-phenanthroline-5,6-dione. *Toxicol. Res.*, 1, 47–54.
- Meijler, M.M., Zelenko, O., Sigman, D.S. 1997.** Chemical mechanism of DNA scission by (1,10-Phenanthroline)copper. Carbonyl oxygen of 5-methylene-furanone is derived from water. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 1135-1136.
- Meyer, N., Kim, S.S., Penn, L.Z. 2006.** The Oscar-worthy role of Myc in apoptosis. *Semin Cancer Biol*, 16, 275–87.
- Michaels, M.L., Pham, L., Cruz, C., Miller, J.H. 1991.** MutM, a protein that prevents G.C---T.A transversions, is formamidopyrimidine-DNA glycosylase. *Nucleic Acids Res.*, 19, 3629 - 3632.
- Ming, L.-J. 2003.** Structure and function of "metalloantibiotics". *Med.Res. Rev.*, 23, 697-762.
- Moll, R., Divo, M., Langbein, L. 2008.** The human keratins: biology and pathology. *Histochem Cell Biol*, 129, 705–733.
- Montagner, D., Gandin, V., Marzano, C., Erxleben, A. 2015.** DNA damage and induction of apoptosis in pancreatic cancer cells by a new dinuclear bis(triazacyclonane) copper complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 145, 101–107.
- Mejia, C., Ruiz-Azuara, L. 2008.** Casiopeinas IIgly and IIIia Induce Apoptosis in Medulloblastoma Cells Pathol. *Oncol. Res.* 14, 467–472.
- Mosmann, T. 1983.** Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65-55-63.
- Mukherjee, R.** In *Comprehensive Coordination Chemistry II-From Biology to Nanotechnology*; McCleverty, J. A., Meyer, T. J., Eds.; Elsevier Ltd.: Oxford, U.K., 2004; Vol. 6.
- Murphy, E.W., Willis, B.W., Watt, B.K. 1975.** Provisional tables on zinc content of foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 66, 345–355.
- Ng, C.H., Kong, S.M., Tiong, Y.L., Maah, M.J., Sukram, N., Ahmade, M., Khoo, A.S.B. 2014.** Selective anticancer copper(II)-mixed ligand complexes: targeting of ROS and proteasomes. *Metallomics*, 6, 892-906.

- Norppa, H., Falck, G.C. 2003.** What do human micronuclei contain? *Mutagenesis*, 18, 221–233.
- O'Connor, M., Kellett, A., McCann, M., Rosair, G., McNamara, M., Howe, O., Creaven, B.S., McClean, S., Kia, A.F., O'Shea, D., Devereux, M. 2012.** Copper(II) complexes of salicylic acid combining superoxide dismutase mimetic properties with DNA binding and cleaving capabilities display promising chemotherapeutic potential with fast acting in vitro cytotoxicity against cisplatin sensitive and resistant cancer cell lines. *J. Med. Chem.* 55, 1957–1968.
- Oda, E., Ohki, R., Murasawa, H., Nemoto, J., Shibue, T., Yamashita, T., Tokino, T., Taniguchi, T., Tanaka, N. 2000.** Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis. *Science*, 288, 1053–8.
- Olivares, M., Uauy, R. 1996.** Copper as an essential nutrient. *Am. J. Clin. Nutr.*, 63, 791–796.
- Oyoshi, T., Sugiyama, H. 2000.** Mechanism of DNA strand scission induced by (1,10-phenanthroline)copper complex: major direct DNA cleavage is not through 1',2'-Dehydronucleotide intermediate nor  $\beta$ -elimination of forming ribonolactone. *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 6313-6314.
- Ostling, O., Johanson, K.J. 1984.** Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 123, 291-98.
- Padhye, S., Kauffman, G.B. 1985.** Transition metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. *Coord. Chem. Rev.*, 63, 127-160.
- Pardal, R., Clarke, M.F., Morrison, S.J. 2003.** Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nature Reviews in Cancer*, 3, 895–902.
- Pennington, J.A.T., Calloway, D.H. 1974.** Copper content of foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 63, 145–153.
- Petering, D.H. 1980.** Carcinostatic copper complexes. *Met. Ions Biol. Syst.*, 11, 197-229.
- Peters, J.M., Franke, W.W., Kleinschmidt, J.A.J. 1994.** Distinct 19 S and 20 S subcomplexes of the 26 S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm. *Biol. Chem.*, 269, 7709-7718.
- Petrukhin, K., Fischer, S.G., Pirastu, M., Tanzi, R.E., Chernov, I., Devoto, M., Brzustowicz, L.M., Cayanis, E., Vitale, E., Russo, J.J., Matseoane, D., Boukhgalter, B., Wasco, W., Figus, A.L., Loudianos, J., Cao, A., Sternlieb, I., Evgrafov, O., Parano, E., Pavone, L., Warburton, D., Ott, J., Penchaszadeh, G.K., Scheinberg, I.H., Gilliam, T.C. 1993.** Mapping, cloning and genetic characterization of the region containing the Wilson disease gene. *Nat Genet*, 5, 338–343.
- Pitie, M., Burrows, C.J., Meunier, B. 2000.** Mechanisms of DNA cleavage by copper complexes of 3-clip-phen and of its conjugate with a distamycin analogue. *Nucleic Acids Res.*, 28, 4856-4864.
- Pitie, M., Meunier, B. 1998.** Preparation of a spermine conjugate of the bis-phenanthroline ligand Clip-Phen and evaluation of the corresponding copper complex. *Bioconjugate Chem.*, 9, 604–611.
- Pitie, M., Burrows, C.J., Meunier, B. 2000.** Mechanisms of DNA cleavage by copper complexes of 3-clip-phen and of its conjugate with a distamycin analogue. *Nucleic Acids Res.*, 28, 4856–4864.
- Pitie, M., Pratviel, G., 2010.** Activation of DNA carbon–hydrogen bonds by metal complexes. *Chem. Rev.* 110, 1018–1059.



- Popova, T.V., Aksenova, N.V. 2003.** Complexes of copper in unstable oxidation states. *Russ J Coord Chem*, 29, 743–765.
- Povirk, L.F., Austin, M.J.F. 1991.** Genotoxicity of bleomycin. *Mutat. Res.*, 257, 127-143.
- Pratviel, G., Bernadou, J., Meuminer, B. 1995.** Carbon-hydrogen bonds of DNA sugar units as targets for chemical nucleases and drugs. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 34, 746-769.
- Qiao, X., Ma, Z.Y., Xie, C.Z., Xue, F., Zhang, Y.W., Xu, J.Y., Yan, Z., Qiang, Lou, J.S., Chen, G.J., Yan, S.P. 2011.** Study on potential antitumor mechanism of a novel Schiff base copper (II) complex: Synthesis, crystal structure, DNA binding, cytotoxicity and apoptosis induction activity. *J Inorg Biochem*, 105, 728-737.
- Qin, Y., Meng, L., Hu, C., Duan, W., Zuo, Z., Lin, L., Zhang, X., Ding, J. 2007.** Gambogic acid inhibits the catalytic activity of human topoisomerase IIalpha by binding to its ATPase domain. *Mol. Cancer Ther*, 6, 2429-2440.
- Ramakrishnan, S., Rajendiran, V., Palaniandavar, M., Periasamy, V.S., Srinag, B.S., Krishnamurthy, H., Akbarsha, M.A. 2009.** Induction of cell death by ternary copper(II) complexes of L-tyrosine and diimines: role of coligands on DNA binding and cleavage and anticancer activity. *Inorg Chem*, 48, 1309-1322.
- Ranford, J.D., Sadler, P.J., Tocher, D.A. 1993.** Cytotoxicity and antiviral activity of transition-metal salicylato complexes and crystal structure of bis(diisopropylsalicylato)(1,10-phenanthroline)copper(II). *J.Chem. Soc., Dalton Trans.*, 22, 3393-3399.
- Reedijk, J. 1996.** Improved understanding in platinum antitumour chemistry. *Chem. Commun.* 801– 806.
- Repta, A.J., Long D.F., Hincal, A.A. 1979.** cis-Dichlorodiammineplatinum(II) stability in aqueous vehicles: an alternate view. *Cancer Treat Rep*, 63, 229-31.
- Reyes, L., Fuentes-Noriega, I., Ruiz-Ramirez, L., Macias, L. 2003.** Development and validation of a liquid chromatographic method for Casiopeina IIgly in rat plasma. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, 791, 111-116.
- Rivero-Muller, A., De Vizcaya-Ruiz, A., Plant, N., Ruiz, L., Dobrota, M. 2007.** Mixed chelate copper complex, Casiopeina IIgly, binds and degrades nucleic acids: a mechanism of cytotoxicity. *Chem. Biol. Interact.* 165, 189–199.
- Roberts, E.A., Schilsky, M.L. 2003.** A practice guideline on Wilson disease. *Hepatology*, 37, 1475–1492.
- Roberts, E.A., Schilsky, M.L. 2008.** Diagnosis and treatment of Wilson disease: An update. *Hepatology*, 47, 2089–2111.
- Rodriguez-Enriquez, S., Vital-Gonzalez, P.A., Flores-Rodriguez, F.L., Marin-Hernandez, A., Ruiz-Azuara, L., Moreno-Sanchez, R. 2006.** Control of cellular proliferation by modulation of oxidative phosphorylation in human and rodent fast-growing tumor cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 215, 208–217.
- Roehm, N.W., Rodgers, G.H., Hatfield, S.M., Glasebrook. A.L. 1991.** An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *J. Immunol. Methods*, 142, 257-265.
- Rosenberg, B. 1999.** In *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*; Lippert, B., Ed.; Verlag Helvetica Chimica Acta: Zurich; Wiley-VCH: Weinheim, Germany,; pp 3–27.

- Roy, S., Maheswari, P.U., Lutz, M., Spek, A.L., Dulk, H., Barends, S., van Wezel, G.P., Hartl, F., Reedijk, J. 2009.** DNA cleavage and antitumour activity of platinum(II) and copper(II) compounds derived from 4-methyl-2-N-(2-pyridylmethyl)aminophenol: spectroscopic, electrochemical and biological investigation. *Dalton Trans.*, 48, 10846-60.
- Ruiz-Azuara, L. 1996.** Copper amino acidate diimine nitrate compounds and their methyl derivatives and a process for preparing them. 07/628,628: 5,576,326, United States Patent 1996.
- Ruiz-Azuara, L. 1997.** Preparation of new mixed copper aminoacidate complexes from phenylate phenanthrolines to be used as "anticancerogenic" agents. 07/628,628: RE 35,458, Feb. 18 (1997), United States Patent 1992.
- Ruiz-Azuara, L., Bravo-Gomez, M.E. 2010.** Copper compounds in cancer chemotherapy. *Curr. Med. Chem.*, 17, 3606–3615.
- Ruiz Azuara, L.** Preparation of new mixed copper aminoacidate complexes from phenanthrolines and their alkyl derivatives to be used as anticancerogenic agents. *Eur. Pat. Appl.*, EP 434445, 10 pp,1991.
- Ruiz-Ramírez, L., Gracia-Mora, I., Moreno-Esparza, R., Díaz, D., Gasque, L., Mayet, L., Ortiz, V., Lomelí, C. 1991.** The antitumor activity of several transition metal complexes. *J Inorg Biochem*, 43, 615.
- Safaei, R., Holzer, A.K., Katano, K., Samimi, G., Howell, S.B. 2004.** The role of copper transporters in the development of resistance to Pt drugs. *J. Inorg. Biochem.*, 98, 1607-1613.
- Saha, D.K., Sandbhor, U., Shirisha, K., Padhye, S., Deobagkar, D., Anson, C.E., Powell, A.K. 2004.** A novel mixed-ligand antimycobacterial dimeric copper complex of ciprofloxacin and phenanthroline. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 3027-3032.
- Sammes, P.G.,Yahioglu G.1994.** 1,10-Phenanthroline: a versatile ligand. *Chem. Soc. Rev.*, 23, 327-334.
- Santini, C., Pellei, M., Gandin, V., Porchia, M., Tisato, F., Marzano, C. 2014.** Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents. *Chem. Rev.* 114, 815–862.
- Santini, C., Pellei, M., Papini, G., Morresi, B., Galassi, R., Ricci, S., Tisato, F., Porchia, M., Rigobello, M.P., Gandin, V., Marzano, C.J. 2011.** In vitro antitumour activity of water soluble Cu(I), Ag(I) and Au(I) complexes supported by hydrophilic alkyl phosphine ligands. *Inorg. Biochem.*, 105, 232-240.
- Savill, J., Fadok, V. 2000.** Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature*, 407, 784–8.
- Schedin, P., Elias, A. 2004.** Multistep tumorigenesis and the microenvironment. *Breast Cancer Research*, 6, 93–101.
- Schilder, R.J., LaCreta, F.P., Perez, R.P., Johnson, S.W., Brennan, J.M., Rogatko, A., Nash, S., McAleer, C., Hamilton, T.C., Roby, D. 1994.** Phase I and pharmacokinetic study of ormaplatin (tetraplatin, NSC 363812) administered on a day 1 and day 8 schedule. *Cancer Res*, 54, 709-17.
- Selvakumar, B., Rajendiran, V., Maheswari, P.U., Stoeckli-Evans,H., Palaniandavar, M. 2006.** Structures, spectra and DNA-binding properties of mixed ligand copper (II) complexes of iminodiacetic acid: The novel role of diimine co-ligands on DNA conformation and hydrolytic and oxidative double strand DNA cleavage. *J. Inorg. Biochem.*, 100, 316-330.
- Seng, H.-L., Wang, W.-S., Kong, S.-M., Alan Ong, H.-K., Win, Y.-F., Raja Abd. Rahman, R. ,N. Z., Chikira, M., Leong, W.-K. Ahmad, M., Khoo, A.S.-B., Ng, C.-**

- H. 2012.** Biological and cytospecific anticancer properties of copper(II)-polypyridyl complexes modulated by auxiliary methylated glycine ligand. *BioMetals*, 25, 1061-1081.
- Shibutani, S., Takeshita, M., Grollman, A.P. 1991.** Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxodG. *Nature*, 349, 431 – 434.
- Shimizu, N., Shimura, T., Tanaka, T. 2000.** Selective elimination of acentric double minutes from cancer cells through the extrusion of micronuclei. *Mutat Res*, 448, 81–90.
- Shimizu, N., Misaka, N., Utani, K. 2007.** Nonselective DNA damage induced by a replication inhibitor results in the selective elimination of extrachromosomal double minutes from human cancer cells. *Genes Chromosom Cancer.*, 46, 865–874.
- Sigman, D.S., Mazumder, A., Perrin, D.M. 1993.** Chemical nucleases. *Chem. Rev.*, 93, 2295-2316.
- Sigman, D. S., Graham, D.R., D'Aurora, V., Stern, A.M. 1979.** Oxygendependent cleavage of DNA by the 1,10-phenanthroline. cuprous complex. Inhibition of Escherichia coli DNA polymerase I. *J. Biol. Chem.*, 254, 12269–12272.
- Singh, A.P., Kaushik, N.K., Verma, A.K., Gupta, R. 2011.** Synthesis, structure and anticancer activity of copper(II) complexes of N-benzyl-2-(diethylamino)acetamide and 2-(diethylamino)-N-phenylethylacetamide. *Indian Journal of Chemistry*, 50, 474-483.
- Singh, S.K., Hawkins, C., Clarke, I.D., Squire, J.A., Bayani, J., Hide, T., Henkelman, R.M., Cusimano, M.D., Dirks, P.B. 2004.** Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*, 432, 396–401.
- Slater, T.F., Sawyer, B., Straeuli, U. 1963.** Studies on succinate-tetrazolium reductase system. III. Points of coupling of four different tetrazolium salts. *Biochim. Biophys. Acta.*, 77, 383-393.
- Smith, K.C. 1992.** Spontaneous mutagenesis: experimental, genetic and other factors. *Mutat Res.*, 277, 139–162.
- St-Pierre, J., Buckingham, J.A., Roebuck, S.J., Brand, M.D. 2002.** Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. *J Biol Chem*, 277, 44784–90.
- Stern, B.R., Solioz, M., Krewski, D., Aggett, P., Aw, T., Baker, S., Crump, K., Dourson, M., Haber, L., Hertzberg, R., Keen, C., Meek, B., Rudenko, L., Schoeny, R., Slob, W., Starr, T. 2007.** Copper and health: biochemistry, genetics, and strategies for dose-response relationships. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10, 157–222.
- Tabassum, S., Al-Asbahy, W.M., Afzal, M., Arjmand, F., Bagchi, V. 2012.** Molecular drug design, synthesis and structure elucidation of a new specific target peptide based metallo drug for cancer chemotherapy as topoisomerase I inhibitor. *Dalton Trans.*, 41, 4955-4964.
- Tan, J., Wang, B., Zhu, L. 2009.** DNA binding and oxidative DNA damage induced by a quercetin copper(II) complex: potential mechanism of its antitumor properties. *J Biol Inorg Chem*. 14, 727-39.
- Tang, L.J., Chen, X., Sun, Y.N., Ye, J., Lu, J., Han, Y., Jiang, X., Cheng, C.C., He, C.C., Qiu, P.H., Li, X.K. 2011.** Synthesis and biological studies of 4', 7, 8-trihydroxyisoflavone metal complexes. *J Inorg Biochem*. 105, 1623-9.
- Tardito, S., Marchio, L. 2009.** Copper compounds in anticancer strategies. *Curr. Med. Chem*. 16, 1325–1348.
- Tchou, J., Grollman, .AP. 1993.** Repair of DNA containing the oxidatively-damaged base, 8-oxoguanine. *Mutat Res.*, 299, 277–287.

- Theдераhn, T.B., Kuwabara, M.D., Larsen, T.A., Sigman, D.S. 1989.** Nuclease activity of 1,10-phenanthroline-copper: kinetic mechanism. *J. Am. Chem. Soc.*, *111*, 4941-4946.
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C., Sasaki, Y.F. 2000.** Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ. Mol. Mutagen.*, *35*, 206–221.
- Tisato, F., Marzano, C., Porchia, M., Pellei, M., Santini, C. 2010.** Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies. *Med. Res. Rev.* *30*, 708–749.
- Trejo-Solís, C., Palencia, G., Zúñiga, S., Rodríguez-Ropon, A., Osorio-Rico, L., Luvia, S.T., Gracia-Mora, I., Marquez-Rosado, L., Sánchez, A., Moreno-García, M.E., Cruz, A., Bravo-Gómez, M.E., Ruiz-Ramírez, L., Rodríguez-Enriquez, S., Sotelo J. 2005.** Cas Ilgly Induces Apoptosis in Glioma C6 Cells *In Vitro* and *In Vivo* through Caspase-Dependent and Caspase-Independent Mechanisms. *Neoplasia*, *7*, 563–574.
- Trump, B.F., Berezsky, I.K., Chang, S.H., Phelps, P.C. 1997.** The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis. *Toxicol Pathol*, *25*, 82–8.
- Utani, K., Kawamoto, J.K., Shimizu, N. 2007.** Micronuclei bearing acentric extrachromosomal chromatin are transcriptionally competent and may perturb the cancer cell phenotype. *Mol Cancer Res*, *5*, 695–704.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, *160*, 1–40.
- Vincent, T. DeVita, Jr., Chu E. 2008.** A History of Cancer Chemotherapy. *Cancer Res*, *68*, 21-2008.
- Vulpe, C., Levinson, B., Whitney, S., Packman, S., Gitschier, J. 1993.** Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper-transporting ATPase. *Nat Genet*, *3*, 7–13.
- Wang, H., Shen, R., Wu, J., Tang, N. 2009.** Antitumor activity and DNA-binding investigations of the Zn(II) and Cu(II) complexes with isoeuxanthone. *Chem. Pharm. Bull.*, *57*, 814.
- Wang, T. y Guo, Z., 2006.** Copper in medicine: homeostasis, chelation therapy and antitumor drug design. *Curr Med Chem*, *13*, 525-37.
- Wang, D., Lippard, S.J. 2005.** Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov.* *4*, 307-20.
- Winterbourn, C.C. 1995.** Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicol Lett*, *82–83*, 969–74.
- Wong, E. Y Giandomenico, C.M., 1999.** Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chem Rev*, *99*, 2451-66.
- Wu, J., Chen, W., Yin, Y., Zheng, Z., Zou, G. 2014.** Probing the cell death signaling pathway of HepG2 cell line induced by copper-1,10-phenanthroline complex Jieyuan. *Biometals*, *27*, 445–458.
- Zhang, Z., Bi, C., Schmitt, S.M., Fan, Y., Dong, L., Zuo, J., Dou, Q.P.J. 2012.** 1,10-Phenanthroline promotes copper complexes into tumor cells and induces apoptosis by inhibiting the proteasome activity. *Biol. Inorg. Chem.*, *17*, 1257-1267.
- Zhang, S., Zhu, Y., Tu, C., Wei, H., Yang, Z., Lin, L., Ding, J., Zhang, J., Guo, Z.A 2004.** Novel cytotoxic ternary copper(II) complex of 1,10-phenanthroline and L-threonine with DNA nuclease activity. *J. Inorg. Biochem.*, *98*, 2099-2106.

**Zhang, C.X., Lippard, S.J. 2003.** New metal complexes as potential therapeutics. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 7, 481-489.

**Zhou, H., Zheng, C., Zou, G., Tao, D., Gong, J. 2002.** G1-phase specific apoptosis in liver carcinoma cell line induced by copper-1,10-phenanthroline. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 34, 678-684.

**Xiao, Y., Chen, D., Zhang, X., Cui, Q., Fan, Y., Bi, C., Dou, Q. 2010.** Molecular study on copper-mediated tumor proteasome inhibition and cell death. *P. Int. J. Oncol.*, 37, 81-87.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Dilek YILMAZ
Doğum Yeri ve Tarihi	: Artvin / 1981
Yabancı Dili	: İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)	
Lise	: Gemlik Yabancı Dil ağırlıklı Lisesi/1995-1999
Lisans	: Hacettepe Üni. Eğitim Fak. Biyoloji Öğretmenliği/ 2000-2006
Yüksek Lisans	: U.Ü. F.B.E. Biyoloji A.B.D. Genel Biyoloji B.D./ 2006-2009.
Çalıştığı Kurum/ Kurumlar ve Yıl	: Araştırma Görevlisi U.Ü. F.E.F. Biyoloji Bölümü / 2009- Halen.
İletişim	: dilekyilmaz@uludag.edu.tr.
Yayınları	:

### SCI ve SCI Expanded Kapsamında Taranan Dergilerde Yayımlanmış Makaleler:

- Summak, S., Cinkilic, A.N, Vatan, O., Yılmaz, D., Zorlu, T. Bilaloğlu, R. 2010.** Evaluation of genotoxicity from Nilufer Stream (Bursa/Turkey) water using piscine micronucleus test. *Food Chem. Toxicol.* 48, 2443-2447.
- Yılmaz, D., Cinkilic Aydemir, N., Vatan, O., Tüzün. E., Bilaloğlu, R. 2012.** Influence of Naringin on Cadmium-induced Genomic Damage in Human Lymphocytes *in vitro*. *Toxicology and Industrial Health.* 28, 114-121.
- Erdem, M., Cinkilic, N., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Bagdas, D., Bilaloğlu, R.2012.** Genotoxic and anti-genotoxic effects of vanillic Acid against mitomycin C-induced genomic damage in human lymphocytes *in vitro*. *Asian Pac J Cancer Prev.* 13, 4993-8.
- Çavaş, T., Cinkilic, N., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Çoşkun, M. 2012.** *In vitro* genotoxicity evaluation of acetamiprid in CaCo-2 cells using the micronucleus, comet and  $\gamma$ H2AX foci assays. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 104, 212–217.
- Cinkilic, N., Kahraman, S., Zorlu, T., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Çavaş, T., Tunç, S., Özkan, L., Bilaloğlu, R. 2012.** Radioprotection by two phenolic compounds: chlorogenic and quinic acid, on X-ray induced DNA damage in human blood lymphocytes *in vitro*. *Food Chem Toxicol.* 53, 359-363.
- Selvi, M., Çavaş, T., Benli, A.Ç.K., Memmi, B.K., Cinkılıç,N., Dinçel, A.S., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Sarıkaya, R., Zorlu, T., Erkoç, F.** Sublethal toxicity of esbiothrin relationship with total antioxidant status and *in vivo* genotoxicity assessment

in fish (*Cyprinus carpio* L., 1758) using the micronucleus test and comet assay. *Environmental Toxicology*. (Baskıda) (DOI 10.1002/tox.20760).

**Gül, Ö., Çinkiliç, N., Gül, C.B., Cander, S., Vatan, Ö., Ersoy, C., Yılmaz, D., Tuncel, E. 2013.** Comparative genotoxic and cytotoxic effects of the oral antidiabetic drugs sitagliptin, rosiglitazone, and pioglitazone in patients with type-2 diabetes: A cross-sectional, observational pilot study. *Mutation Research* 757, 31–35.

**Unal, O.K., Cinkilic, N., Gul, O.O., Cander, S., Vatan, O., Ersoy, C., Yılmaz, D., Tuncel, E. 2014.** Investigation of Genotoxicity in Acromegaly from Peripheral Blood Lymphocyte Cultures Using Micronucleus Assay. *J Clin Endocrinol Metab* doi: 10.1210/jc.2014-1641

**Çavaş, T., Çinkiliç, N., Vatan, O., Yılmaz, D. 2014.** Effects of Fullerenol Nanoparticles on Acetamidrid Induced Cytotoxicity and Genotoxicity in Cultured Human Lung Fibroblasts. *Pesticide Biochemistry and Physiology* <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.07.008>

**Cinkilic, N., Tuzun, E., Cetintas, S., Vatan, O., Yılmaz, D., Çavaş, T., Tunç, S., Özkan, L., Bilaloğlu, R. 2014.** Radio-protective effect of cinnamic acid, a phenolic phytochemical, on genomic instability induced by X-rays in human blood lymphocytes in vitro. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 12-79,770

**İnci, D., Aydın, R., Yılmaz, D., Gençkal, M., Vatan, O., Çinkiliç, N., Zorlu, Y. 2014.** New water-soluble copper (II) complexes including 4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline and L-tyrosine: synthesis, characterization, DNA interactions and cytotoxicities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. DOI: 10.1016/j.saa.2014.09.093

**Kumbıcak, U., Cavas, T., Cinkilic, N., Kumbıcak, Z., Vatan, O., Yılmaz, D., 2014.** Evaluation of in vitro cytotoxicity and genotoxicity of copper-zinc alloy nanoparticles in human lung epithelial cells. *Food and Chemical Toxicology* 1-7,114

**İnci, D., Aydın, R., Vatan, O., Yılmaz, D., Gençkal, H.M., Zorlu, Y., Çavaş, T.** Binary and ternary new water soluble copper(II) complexes of L-tyrosine and substituted 1,10-phenanthrolines: Effect of substitution on DNA interactions and cytotoxicities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2015.03.011>

**Yılmaz, D., Teksoy, O., Bilaloğlu, R., Çinkiliç, N. 2015.** Anti-genotoxic effect of naringin against bleomycin-induced genomic damage in human lymphocytes in vitro. *Drug and Chemical Toxicology* DOI: 10.3109/01480545.2015.1039647.