PAPER DETAILS

TITLE: N-Benziletilendiamin Birimi Içeren Yeni Shiff Bazlarinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Insan Kolon Kanseri Hücreleri Üzerine Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

AUTHORS: Fatma HAMURCU

PAGES: 857-866

ORIGINAL PDF URL: https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/3345416

Gazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Dergisi
PART C: TASARIM VE TEKNOLOJİ

Gazi University
Journal of Science
PART C: DESIGN AND TECHNOLOGY

GU J Sci, Part C, 11(3): 857-866 (2023)

N-Benziletilendiamin Birimi İçeren Yeni Schiff Bazlarının Sentezi, Karakterizasyonu ve İnsan Kolon Kanseri Hücreleri Üzerine Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

Fatma Hamurcu[1*]

[1]*Bartın University Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Bartın, Turkey*

Makale Bilgisi

Araştırma makalesi
Başvuru: 21/08/2023
Düzeltme: 06/09/2023
Kabul: 13/09/2023

Anahtar Kelimeler

Schiff bazı
N-benziletilendiamin
Antikanser aktivite

Article Info

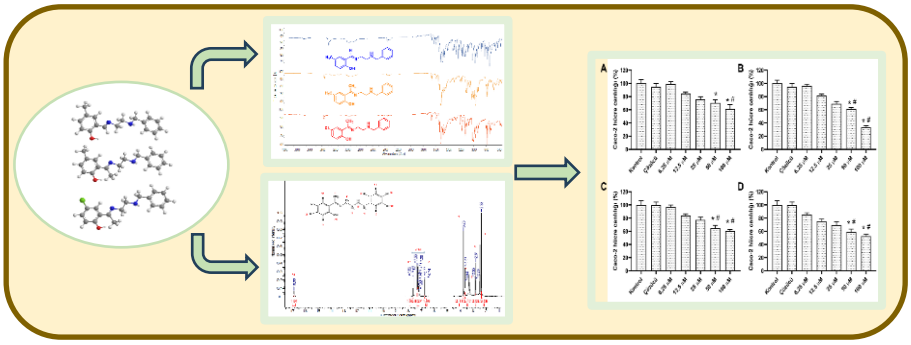
Research article
Received: 21/08/2023
Revision: 06/09/2023
Accepted: 13/09/2023

Keywords

Schiff base
N-benzylethylenediamine
Anticancer activity

Grafik Özet (Graphical/Tabular Abstract)

Bu çalışmada üç yeni Schiff bazı bileşiği sentezlendi ve karakterize edildi. Bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri insan kolon kanseri hücre dizileri kullanılarak araştırıldı. / In this study, three new Schiff base compounds were synthesized and characterized. The cytotoxic activities of the compounds were investigated using the human colon cancer cell lines.



Şekil A: *Sentezlenen bileşiklerin karakterizasyonu ve sitotoksik aktivitelerinin araştırılması /* ***Figure A:*** *Characterization of synthesized compounds and investigation of their cytotoxic activities*

Önemli noktalar (Highlights)

- *Yeni Schiff bazlarının sentezi / Synthesis of new Schiff bases*
- *Bileşiklerin yapı aydınlatması / Structure elucidation of compounds*
- *Caco-2 ve HT-29 hücrelerinde yüksek sitotoksik aktivite / High cytotoxic activity in Caco-2 and HT-29*

Amaç (Aim): *Bu çalışmanın amacı yeni sentezlenen N-benzil etilen diamin türevi bileşiklerin kanser hücreleri üzerindeki potansiyel toksisitesinin belirlenmesidir. / The aim of this study is to determine the potential toxicity of newly synthesized N-benzyl ethylene diamine derivative compounds on cancer cells.*

Özgünlük (Originality): *Çalışmada sentezlenen N-benzil etilen diamin türevi bileşikler orjinaldir ve ilk defa raporlanmaktadır. / The N-benzyl ethylene diamine derivative compounds synthesized in the study are original and are reported for the first time.*

Bulgular (Results): *Sentezlenen tüm bileşiklerin 50 ve 100 µM dozlarında Caco-2 kolon ve HT-29 kolon karsinomu hücrelerine karşı kontrol grubuna göre güçlü sitotoksik etki gösterdiği gözlendi /. It was observed that all synthesized compounds, 50 and 100 µM doses, exhibited strong cytotoxic effects against Caco-2 colon and HT-29 colon carcinoma cells compared to the control group.*

Sonuç (Conclusion): *Genel olarak, yeni sentezlenen bileşiklerin Caco-2 kolon ve HT-29 kolon karsinomu hücre hatlarında sitotoksik etkisi, standart kemoterapötik 5-FU'nun hücre hatlarında sitotoksik etkisine benzerdir. Mevcut literatür ve çalışma sonuçları, bileşiklerin kolon kanseri tedavisi için potansiyel ajanlar olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. / Overall, the cytotoxic effect of the newly synthesized compounds in Caco-2 colon and HT-29 colon carcinoma cell lines is similar to the cytotoxic effect of standard chemotherapeutic 5-FU in cell lines. The available literature and study results indicate that the compounds can be evaluated as potential agents for colon cancer therapy.*

*Corresponding author, e-mail: fhamurcu@bartin.edu.tr
DOI: 10.29109/gujsc.1346056

GU J Sci, Part C, 11(3): 857-866 (2023)

Gazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Dergisi
PART C: TASARIM VE TEKNOLOJİ

Gazi University
Journal of Science
PART C: DESIGN AND TECHNOLOGY

http://dergipark.gov.tr/gujsc

N-Benziletilendiamin Birimi İçeren Yeni Schiff Bazlarının Sentezi, Karakterizasyonu ve İnsan Kolon Kanseri Hücreleri Üzerine Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

Fatma Hamurcu[1*]

[1]*Bartın University Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Bartın, Turkey*

Makale Bilgisi

Araştırma makalesi
Başvuru: 21/08/2023
Düzeltme: 06/09/2023
Kabul: 13/09/2023

Anahtar Kelimeler

Schiff bazı
N-benziletilendiamin
Antikanser aktivite

Öz

Bu çalışmada N-benziletilendiamin ile 2-hidroksi-5-metilbenzaldehit, 2-hidroksi-5-metilasetofenon, 2-hidroksi-5-kloroasetofenon bileşiklerinin kondenzasyon reaksiyonu sonucu üç yeni Schiff bazı sentezlendi (L1, L2 ve L3). Sentezlenen yeni bileşiklerin yapıları, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, FT-IR ve elemental analiz yöntemleri ile karakterize edildi. Daha sonra, elde edilen bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri, insan kolon kanser hücre dizisi (Caco-2, kolon ve HT-29 kolon karsinoma hücre dizisi) kullanılarak araştırıldı. Elde edilen sonuçlar standart kemoterapi ilacı 5-Fluorourasil (5-FU) ile karşılaştırıldı. Sitotoksisite sonuçlarına göre L2 bileşiğinin Caco-2 (kolon) ve HT-29 (kolon) hücre hatlarında en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu bulundu.

Synthesis and Characterization of New Schiff Bases Containing N-Benzylethylenediamine Unit and Determination of Their Cytotoxic Effects on Human Colon Cancer Cells

Article Info

Research article
Received: 21/08/2023
Revision: 06/09/2023
Accepted: 13/09/2023

Keywords

Schiff base
N-benzylethylenediamine
Anticancer activity

Abstract

In this study, three new Schiff bases were synthesized as a result of the condensation reaction of N-benzylethylenediamine and 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde, 2-hydroxy-5-methylacetophenone, 2-hydroxy-5-chloroacetophenone compounds (L1, L2 and L3). The structures of the newly synthesized compounds were characterized by ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, FT-IR and elemental analysis methods. Next, the cytotoxic activities of the obtained compounds were investigated using human colon cancer cell lines (Caco-2, colon and HT-29 colon carcinoma cell lines). The results obtained were compared with the standard chemotherapy drug 5-Fluorouracil (5-FU). According to cytotoxicity results, L2 compound was found to have the highest anticancer activity in Caco-2 (column) and HT-29 (column) cell lines.

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Koordinasyon kimyası alanında önemli bir ligand sınıfı olan Schiff bazları, imin (C=N) veya azometin (C=N) grubu içeren bileşiklerdir [1-2]. Schiff bazı ligandlarının geniş uygulama alanı bulmalarının başlıca nedenleri arasında, kolay sentezlenmeleri ve oldukça kararlı bileşikler olmaları sayılabilir. [3-4]. Bu nedenle Shciff bazları tıp ve eczacılık [5, 6], kimyasal kataliz [7] ve kimyasal analiz [8] gibi birçok alanda odak noktası haline gelmiştir. Aldehit veya ketonların karbonil birimi (C=O) ile hidrazin bileşiklerinin NH_2 grubu arasındaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda karakteristik imin (C=N) bileşikleri oluşur [9-10]. Schiff bazının oluşumundan sonra, bileşikteki N-H grupları da nükleofilik reaksiyonlarda rol oynayabilir [11]. Schiff bazı ligandları, çeşitli koordinasyon modları ve çeşitli uygulamalar nedeniyle oldukça dikkat çeken organik bileşik sınıflarından biridir [12-17]. Schiff bazları, çeşitli organik substratlar için yapı taşları olarak da kullanılabilen çok yönlü ligandlardır. Yapısal çeşitlilikleri, metalik iyonlar etrafında çeşitli koordinasyon geometrilerine sahip çeşitli moleküler yapıları kolayca oluşturan çok sayıda donör veya alıcının dahil edilmesini mümkün kılar Ayrıca, Schiff bazı ligandları, çeşitli biyomoleküllerin biyoaktivitesini ve yapılarını tanımlamak için biyolojik modeller olarak hizmet etmiştir [16-17]. Biyolojik aktivite için kritik öneme

*Corresponding author, e-mail: fhamurcu@bartin.edu.tr
DOI: 10.29109/gujsc.1346056

sahip bu reaktif gruplar, doğal ya da sentetik Schiff bazlarında bulunabilir [18]. Schiff bazı ligandlarındaki oksijen ve azot atomlarının koordinasyon yetenekleri, birçok biyolojik sisteme benzer şekilde davranmalarını sağlar [19]. Bu nedenle bu bileşiklerin antikanser [20], enzim inhibisyonu [21], antibakteriyel, antifungal [22] ve antioksidan [19] aktivite gibi potansiyel biyolojik özelliklere sahip olduğunu bildiren çalışmalar yapılmıştır.

Kanser, hücre içi ve hücre dışı farklı fizyolojik ve moleküler süreçlerin bozulması sonucu meydana gelen ve hücrenin kontrolsüz bölünmesiyle karakterize edilen bir hastalıktır [23]. Kanser oluşumuna neden olan iç faktörler, kalıtsal ve rasgele mutasyonlar, bağışıklık koşulları ve hormonal faktörler olarak sıralanabilir. Radyasyona maruz kalma, bulaşıcı mikroorganizmalar, tütün kullanımı ve kimyasallar dış faktörler olarak tanımlanabilir [24]. Dünya sağlık örgütünün 2020 yılı verilerine göre, dünyada yaklaşık 10 milyon insan kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir [25]. Kanser hücrelerinin evreleri ve türleri uygulanacak tedavinin yöntemini belirler. Cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi bu sürecin zorlu prosedürleri arasında yer alır [26]. Günümüzde bu prosedürlerin kombinasyonu şeklinde uygulanan tedavi süreçleri vardır. Ne yazık ki bu hastalığın heterojenliği çoğu durumda tedavinin başarısız olmasına neden olur. Bu kapsamda birçok araştırmacı bu karmaşık hastalık grubu üzerinde yeni terapötiklerin tasarımı ve geliştirilmesi amacıyla bu alana odaklanmışlardır. Bu nedenle araştırmacıların kanserli hücrelerle mücadele için yeni terapötik ajanları keşfetmesi tedavi başarısının artmasına yardımcı olacaktır [26].

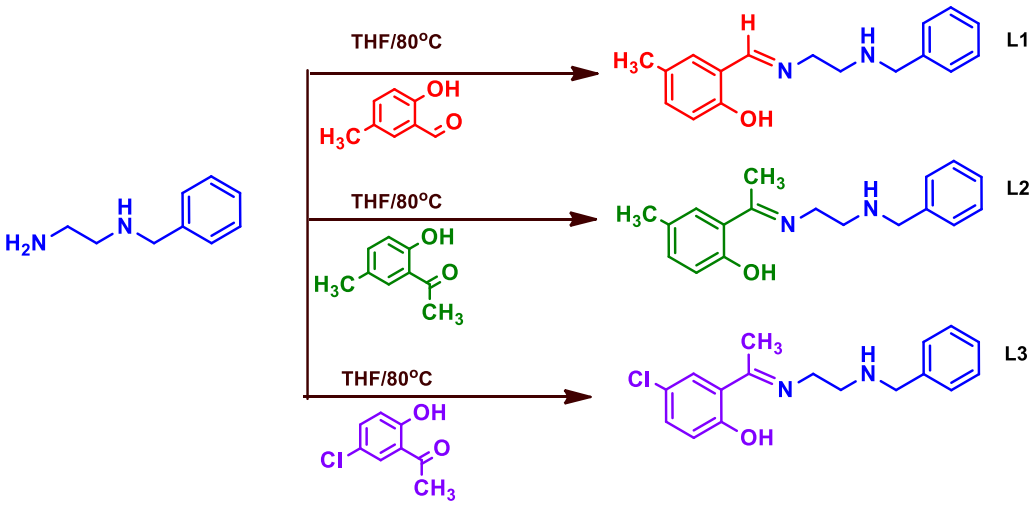
Bu çalışmanın amacı yeni sentezlenen N-benzil etilen diamin türevi bileşiklerin kanser hücreleri üzerine potansiyel toksisitesini belirlemektir. Bu amaçla, N-benzil etilen diamin ile üç farklı aldehit/keton bileşiğinin kondenzasyon reaksiyonu sonucunda üç yeni Schiff bazı (L1: (E)-2-(((2-(benzilamino)etil)imino)metil)-4-metilfenol, L2: (E)-2-(1-((2-(benzilamino)etil)imino)etil)-4-metilfenol, L3: (E)-2-(1-((2-(benzilamino)etil)imino)etil)-4-klorofenol) sentezlendi [27] ve karakterize edildi. Bileşiklerin insan kolon kanseri hücre serileri üzerine sitotoksik etkisi standart kemoterapi ilacı 5-florourasil (5-FU) ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Çalışma sonuçları, elde edilen yeni bileşiklerin güçlü sitotoksik etkiler ortaya koyduğunu göstermektedir.

2. MATERYAL VE METOD (MATERIALS AND METHODS)

Bileşiklerin element analizi Flash 2000 Thermo cihazı ile standart mikroanalitik prosedürlere göre yapıldı. ^{1}H-^{13}C NMR spektrumları, Agilent VNMRS 500 MHz spektrometre cihazıyla, dimetilsülfoksit-d6 (DMSO-d6) çözeltilerinin, iç standart olarak tetrametilsilan kullanımıyla kaydedildi. Bileşiklerin IR spektrumları, Perkin Elmer Clarus 500 FT-IR cihazında alındı. Bileşiklerin erime noktaları, Buchi B540 erime noktası cihazıyla belirlendi. N-benziletilendiamin, 2-hidroksi-5-metil-salisilaldehit, 2-hidroksi-5-metil-asetofenon ve 2-hidroksi-5-kloro-asetofenon bileşikleri Sigma-Aldirich firmasından temin edildi.

2.1. Deneysel Ekipman (Experimental Equipment)

Bileşikler (L1-L3); 2-hidroksi-5-metil-salisilaldehit, 2-hidroksi-5-metil-asetofenon ve 2-hidroksi-5-kloro-asetofenonun, N-benziletilendiamin bileşiği ile kondenzasyon tepkimesine göre sentezlenmiştir. Bileşiklerin sentez yöntemi Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Bileşiklerin sentez yöntemi (Synthesis method of compounds)

2.1.1. L1 Bileşiğinin Sentezi (Synthesis of L1 Compound)

0,150 g (1 mmol) N-benziletilendiamin 5 mL THF'de çözündü, üzerine 5 mL THF'de çözünmüş 0,14 g (1 mmol) 2-hidroksi-5-metilbenzaldehit çözeltisi damla damla ilave edildi. 24 saat 80°C de geri soğutucu altında karıştırılarak çöken krem rengi ürün süzüldü, n-hekzan ile yıkanıp kurutuldu. Verim : % 90, E.N: 130-132 °C.

2.1.2. L2 Bileşiğinin Sentezi (Synthesis of L2 Compound)

0,15 g (1 mmol) N-benziletilendiamin 5 mL THF'de çözündü, üzerine 5 mL THF'de çözünmüş 0,16 g (1 mmol) 2-hidroksi-5-metilasetofenon çözeltisi damla damla ilave edildi. 24 saat 80°C de geri soğutucu altında karıştırılarak çöken sarı renkli ürün süzüldü, n-hekzan ile yıkanıp kurutuldu. Verim : % 95, E.N: 140-142 °C.

2.1.3. L3 Bileşiğinin Sentezi (Synthesis of L3 Compound)

0,15 g (1 mmol) N-benziletilendiamin 5 mL THF'de çözündü, üzerine 5 mL THF'de çözünmüş 0,17 g (1 mmol) 2-hidroksi-5-kloroasetofenon çözeltisi damla damla ilave edildi. 24 saat 80°C de geri soğutucu altında karıştırılarak çöken sarı renkli ürün süzüldü, n-hekzan ile yıkanıp kurutuldu. Verim : % 92, E.N: 136-138 °C.

2.2. Hücre Kültürü (Cell Culture)

Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla HT-29 ve Caco-2 olmak üzere iki farklı kolon kanser hücre serisi kullanıldı. Ht-29 hücreleri RPMI-1640 medyum ile Caco-2 hücreleri DMEM medyumu ile beslendi. Her iki medyum çözeltisi de %10 Fetal Bovin Serum (FBS), 0,1 mg/mL streptomisin ve 100 U/mL penisilin eklenerek hazırlandı. Karbondioksitli (%5 CO_2) inkübatörde, 37 °C'de ve nemli ortamda tutulan hücrelerin medyumları haftada iki defa değiştirildi. Hücreler konfluent olduğunda, tripsin-EDTA solüsyonu kullanılarak flasklardan söküldü. Hücreler sayımı yapıldıktan sonra her bir kuyucuğa yaklaşık 15.000 hücre gelecek şekilde 96 kuyucuklu plaklara ekildi. Sonrasında plakalar 24 saat inkübasyona bırakıldı.

2.2.1. Test Ajanları ile Muamele (Treatment with Testing Agents)

Sentezlenen bileşiklerin ve 5-FU'nun DMSO ile hazırlanan farklı konsantrasyonları hücrelerin içinde bulunduğu kuyucuklara ilave edildi (final hacim 1µL). 24 saat inkübasyondan sonra hücre canlılığındaki değişimler MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difenil tetrazolyum bromür) yöntemiyle belirlendi.

Öncelikle kuyucuklardaki medyum aspire edildi ve sonrasında 0,5 mg/mL MTT solüsyonundan her bir kuyucuğa 50 µL eklendi. 3 saat sonunda kuyucuklardaki solüsyon aspire edildi ve her bir kuyucuğa 100 µL DMSO ilave edildi. Plakalar 570 nm dalga boyunda okundu (Thermo Multiskan Go, ABD) ve kontrol grubundaki absorbans değerlerine kıyasla uygulama gruplarındaki canlılık değişim değerleri hesaplandı [28]. Her bir bileşiğin etkisi 5 tekrar yapılarak belirlendi (n=5).

2.2.2. İstatistiksel Analiz (Statistical Analysis)

MTT analizleri sonrası elde edilen değerler GraphPad Prism (V8) programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin normallik dağılımları Shapiro Wilk testi ile analiz edildi. Sonrasında nicel değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmaları Kruskal Wallis H testi ile gerçekleştirildi. Kontrol ve uygulama grupları arasındaki ikili karşılaştırmalarda Dunn'ın Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı. Veriler ortalama ± standart sapma olarak sunuldu. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

3. BULGULAR (RESULTS)

3.1. Bileşiklerin Karakterizasyonu (Characterization of Compounds)

Bileşiklerin (L1-L3) analitik verileri ve bazı fiziksel özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

3.1.1. FT-IR Spektrumları (FT-IR Spectra)

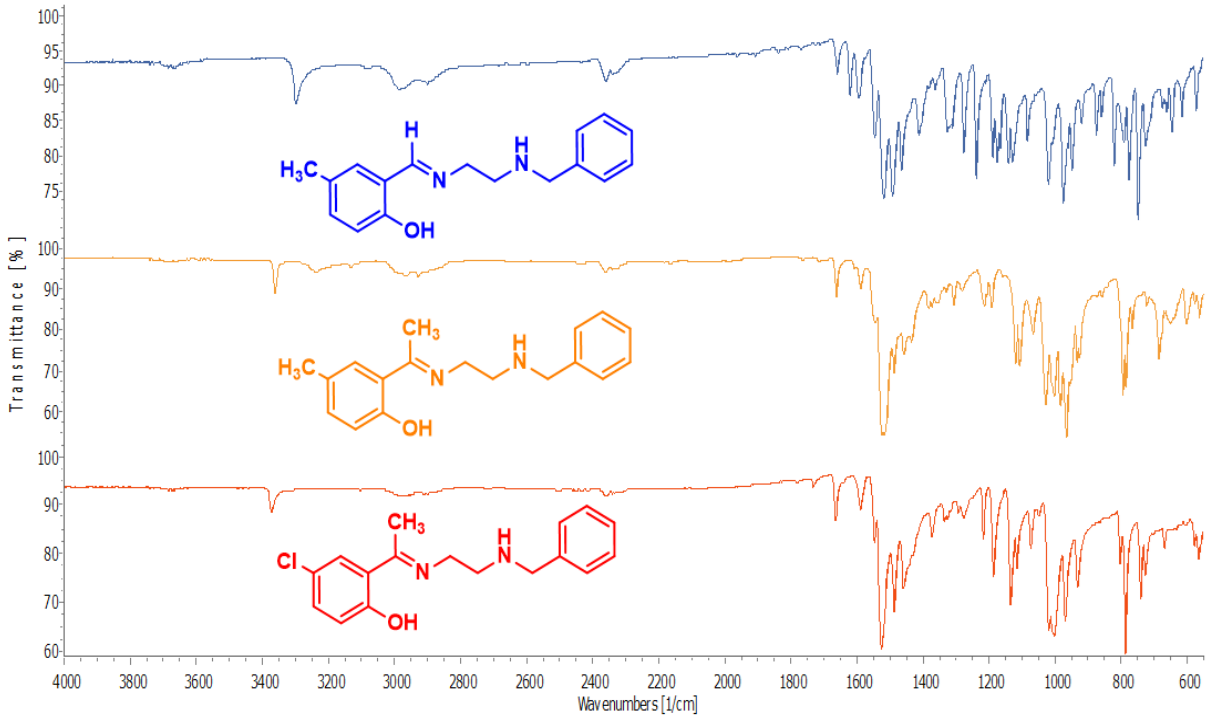
Sentezlenen bileşiklerin (L1-L3) seçilmiş titreşim frekansları Tablo 2'de, bileşiklere ait FT-IR spektrumları Şekil 2'de verildi. L1-L3 bileşiklerinin IR spektrumları incelendiğinde 3373-3299 cm^{-1} bölgesinde gözlenen bantların (N-H) gerilme titreşimlerine ait olduğu düşünülmektedir. L1, L2 ve L3 bileşiklerindeki imin (C=N) grubunun gerilme titreşim bantları sırasıyla 1660 cm^{-1}, 1662 cm^{-1} ve 1665 cm^{-1}'de gözlenirken, fenolik OH gerilme titreşimlerinin soğurma bantları sırasıyla 1276 cm^{-1}, 1281 cm^{-1} ve1277 cm^{-1}'de gözlendi.

Tablo 1. Bileşiklerin analitik verileri ve bazı fiziksel özellikleri (Analytical data and some physical properties of compounds)

Bileşik	Molekül Formülü (MA)	Renk	E.N. (^{0}C)	Verim (%)	Deneysel (teorik)			
					%C	%H	%N	%Cl
L1	$C_{17}H_{20}N_2O$ (268,35 g/mol)	Beyaz	130-132	90	75,25 (76.09)	7,03 (7.51)	9.86 (10.44)	-
L2	$C_{18}H_{22}N_2O$ (282,38 g/mol)	Sarı	140-142	95	75,96 (76,09)	7,66 (7,85)	8,48 (9,92)	-
L3	$C_{17}H_{19}ClN_2O$ (302,80 g/mol)	Sarı	136-138	92	55,09 (67,43)	2,51 (6,32)	9,01 (9,25)	10,23 (11,71)

Tablo 2. Bileşiklere ait seçilmiş titreşim dalga sayıları (cm^{-1}) (Selected vibration wave numbers of the compounds (cm^{-1}))

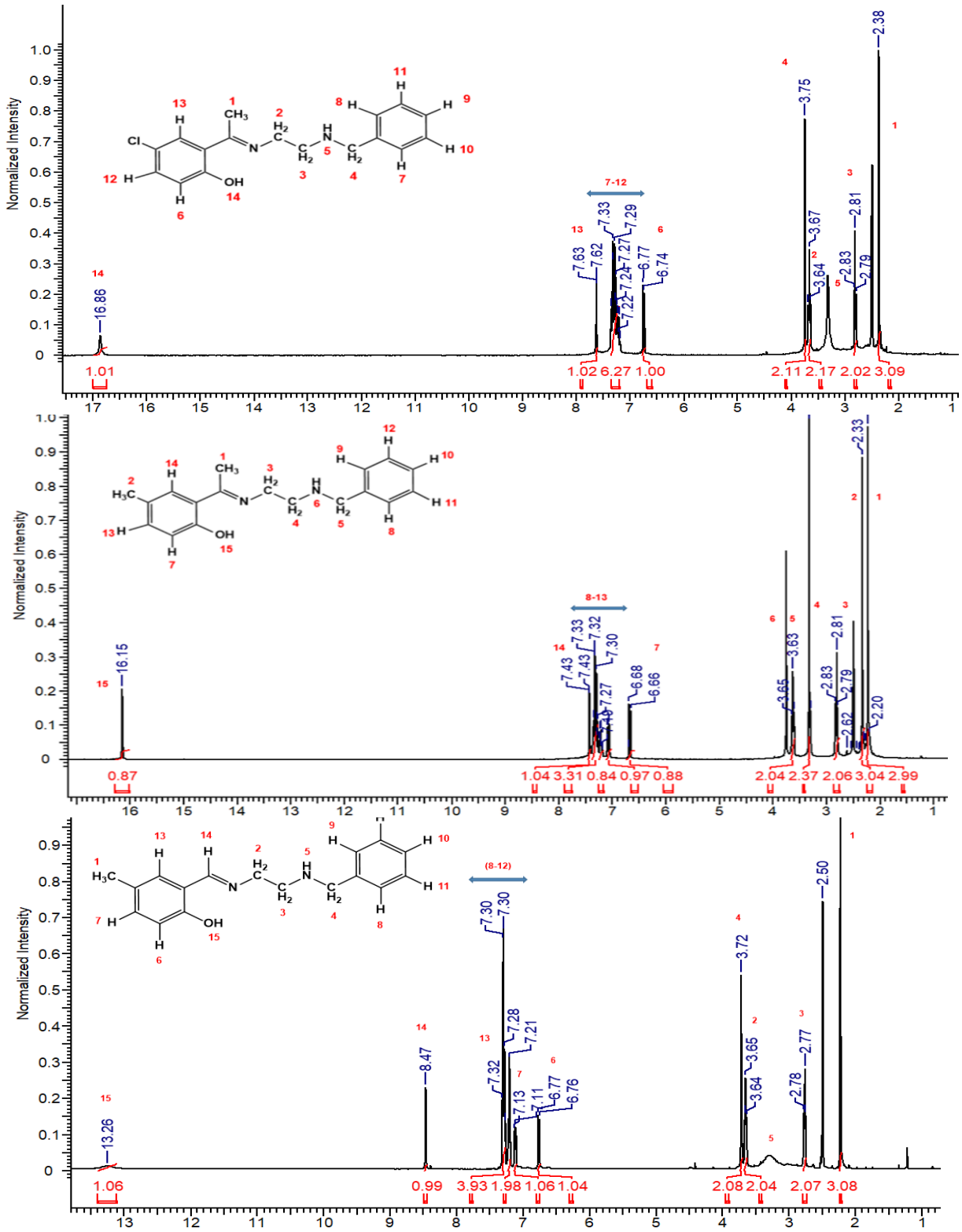
İşaretleme	L1	L2	L3
υ(NH)	3299	3363	3373
$\upsilon(CH)_{Ar.}$	3088	3131	3104
$\upsilon_{as}(CH_3)$	2988	2967	2988
$\upsilon_{s}(CH_3)$	2901	2928	2901
υ(C=N)	1660	1662	1665
υ(C-O)	1276	1281	1277



Şekil 2. Bileşiklere ait FTIR spektrumları (FTIR spectra of compounds)

3.1.2. NMR Spektrumları (NMR Spectra)

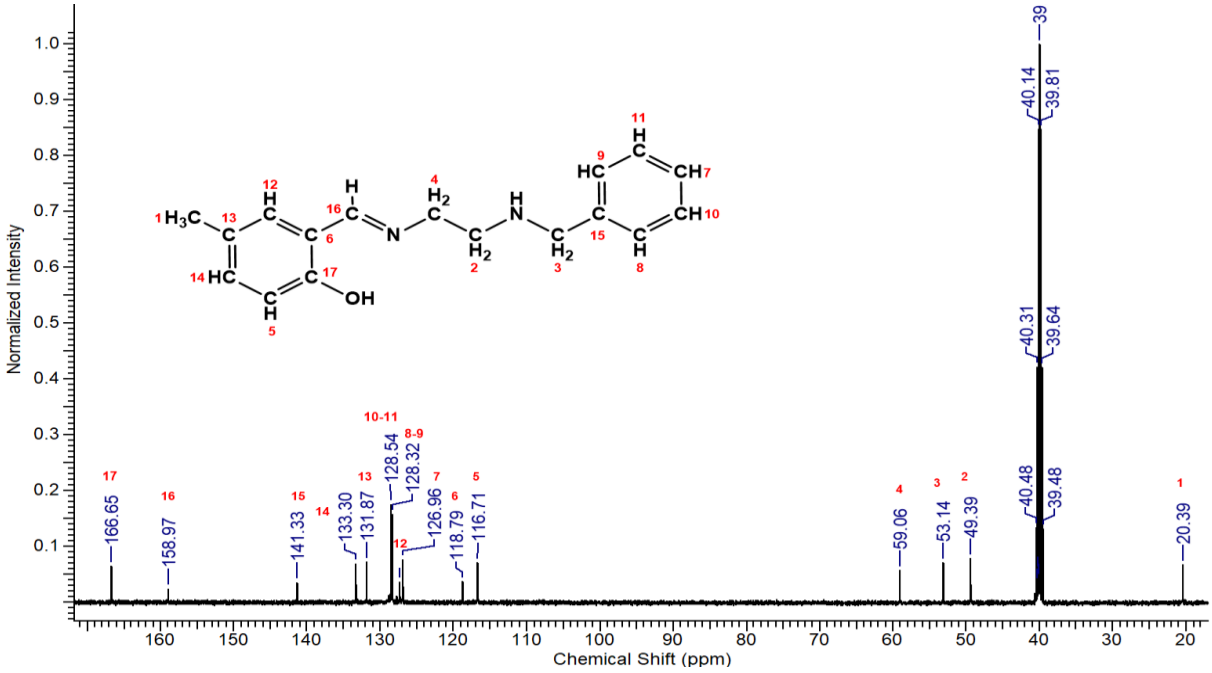
(L1-L3) bileşiklerinin ^{1}H NMR spektrumları Şekil 3'de gösterildi ve bu spektrumların kimyasal kayma değerleri Tablo 3'te verildi. L1, L2 ve L3 bileşiklerinde düşük alanda gözlenmesi beklenen aromatik halkaya bağlı fenolik O-***H*** protonları beklendiği gibi sırasıyla 13,26 ppm, 16,15 ppm ve 16,86 ppm'de gözlendi. Aldehit temelli L1 bileşiğinde imin karbonuna bağlı proton (***H***-C=N) 8,47 ppm'de gözlenirken; L2 ve L3 bileşiklerinde metil gruplarına ait protonlar (***H***$_3$C-C=N) sırasıyla 2,33 ppm ve 2,38 ppm'de gözlendi. Aynı zamanda L1 ve L2 bileşiklerinde aromatik halkaya bağlı metil protonlarına ait sinyaller (Ar-C***H***$_3$) 2,23 ppm'de gözlendi [27].



Şekil 3. Ligandlara ait ^{1}H NMR spektrumları (^{1}H NMR spectra of ligands)

L1-L3 bileşiklerinde imin azotuna bağlı metilen protonları (C=N-C***H***$_2$-) sırasıyla 3,65 ppm, 3,32 ppm ve 3,67 ppm'de gözlenirken, bu gruba komşu diğer metilen protonları sırasıyla (-CH$_2$-C***H***$_2$) 2,77 ppm ve 2,81 ppm'de gözlendi. Benzil grubuna ait protonlar (C***H***$_2$-Ar), L1-L3 bileşiklerinde sırasıyla 3,72 ppm, 3,63 ppm ve 3,75 ppm'de gözlenirken N-***H*** protonları 3,35 ppm, 3,75 ppm ve 3,33 ppm'de gözlendi. Son olarak L1, L2 ve L3 bileşiklerinde toplam 8 protona ait Ar-***H*** proton sinyalleri 6,66-7,63 ppm aralığında gözlendi [27].

Şekil 4'de verilen L1 bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumunda ***C***-OH sinyali 166,65 ppm'de; imin karbonuna ait sinyal (H-***C***=N) 158,97 ppm'de; Ar-***C*** karbon sinyalleri 141,33-116,71 ppm aralığında; imin azotuna bağlı metilen karbonu (C=N-***C***H$_2$) 59,06 ppm'de; benzil grubuna ait metilen karbonu (***C***H$_2$-Ar) 53,14 ppm'de; N-H'a bağlı metilen grubuna ait karbon (HN-***C***H$_2$) 49,39 ppm'de ve aromatik halkaya bağlı metil grubuna ait karbon (***C***H$_3$-Ar) 20,39 ppm'de gözlendi [27].



Şekil 4. L1 Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu (^{13}C NMR spectrum of Compound L1)

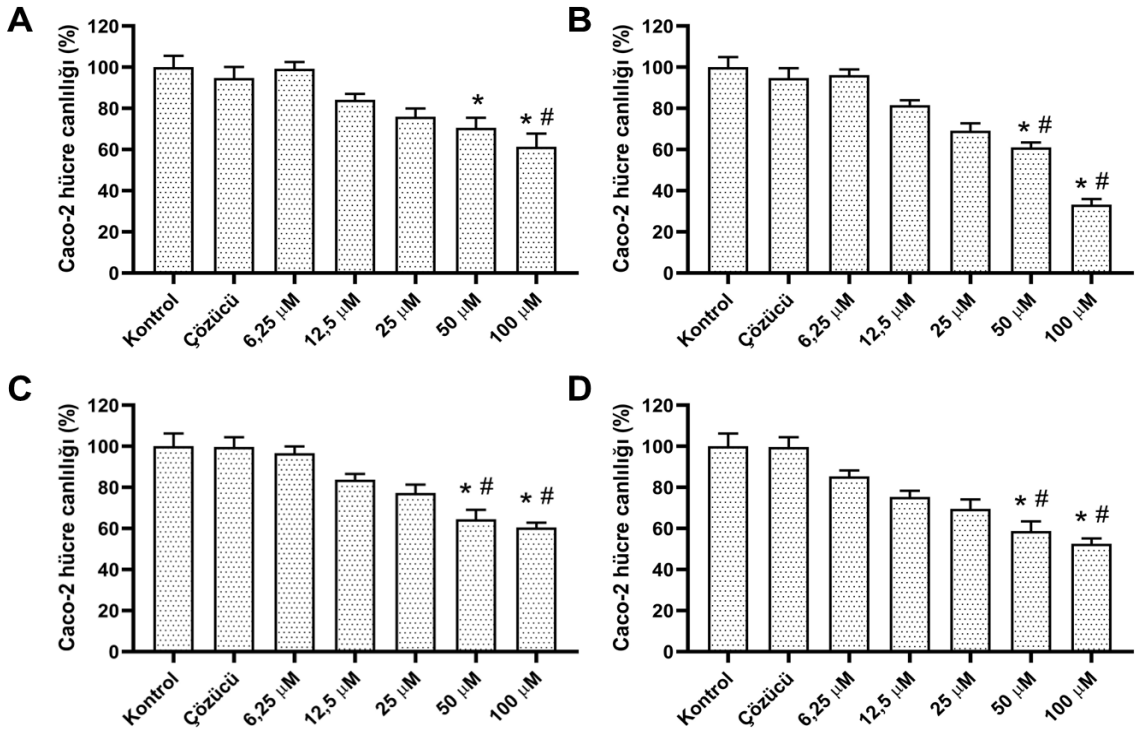
3.2. Bileşiklerin Sitotoksisite Analizleri (Cytotoxicity Analysis of Compounds)

Sentezlenen yeni bileşiklerin insan kolon kanseri hücre serileri üzerine etkileri Şekil 5 ve Şekil 6'da gösterildi. Caco-2 hücrelerine uygulanan bileşiklerin 50 ve 100 µM dozları kontrol grubuna kıyasla canlılığı önemli düzeyde azalttı ($p<0.05$). Dahası L2 ve L3 bileşiklerinin uygulanan bu dozlar çözücü grubuna kıyasla da güçlü sitotoksik etki sergiledi ($p<0.05$). Bileşiklerin HT-29 hücrelerine uygulanmasından sonra bu hücre serisi içinde Caco-2 hücre canlılığına benzer şekilde etkiler gözlendi. Bütün bileşiklerin uygulanan en yüksek dozu kontrole ve çözücü grubuna kıyasla canlılığı önemli düzeyde azalttı ($p<0.05$).

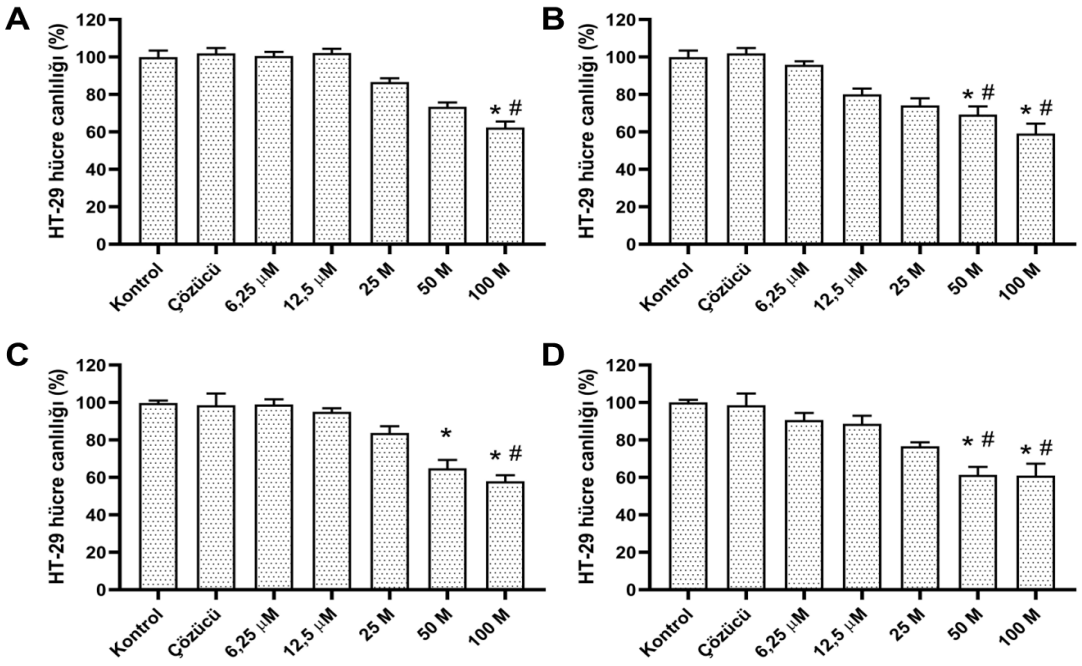
Tablo 4. Test edilen bileşiklerin LogIC50 değerleri (µM) (LogIC50 values (µM) of tested compounds)

	Caco-2	*HT-29*
L1	1,29	1,51
L2	1,50	1,30
L3	1,31	1,46
5-FU	1,37	1,40

Her iki hücre serisi içinde bileşiklerin etkinliği standart kemoterapi ilacı 5-FU ile karşılaştırıldı. Sonuçlar 5-Fluorourasil'in (5-FU) 50 ve 100 µM dozu Caco-2 hücrelerinde yaklaşık %50 civarında hücre canlılığını azalttı. Bu oran HT-29 hücrelerinde yaklaşık %40 civarında görüldü. Tüm test bileşiklerinin $LogIC_{50}$ değerliği hesaplandı ve Tablo 4'de sunuldu.



Şekil 5. Uygulamalardan 24 saat sonra Caco-2 hücre canlılığında meydana gelen değişimler. (A) L1, (B) L2, (C) L3 ve (D) 5-FU. *p<0.05 kontrole kıyasla; #p<0.05 çözücü grubuna kıyasla. (Changes in Caco-2 cell viability 24 hours after applications. (A) L1, (B) L2, (C) L3, and (D) 5-FU. *p<0.05 compared to control; #p<0.05 compared to the solvent group.)



Şekil 6. Uygulamalardan 24 saat sonra HT-29 hücre canlılığında meydana gelen değişimler. (A) L1, (B) L2, (C) L3 ve (D) 5-FU. *p<0.05 kontrole kıyasla; #p<0.05 çözücü grubuna kıyasla. (Changes in HT-29 cell viability 24 hours after applications. (A) L1, (B) L2, (C) L3, and (D) 5-FU. *p<0.05 compared to control; #p<0.05 compared to the solvent group)

4. SONUÇ (CONCLUSION)

N-Benziletilendiamin ile 2-hidroksi-5-metilbenzaldehit, 2-hidroksi-5-metilasetofenon, 2-hidroksi-5-kloroasetofenon bileşiklerinin kondenzasyon reaksiyonu sonucunda 3 yeni Schiff bazı bileşiği sentezlendi (L1-L3). Sentezlenen bileşiklerin yapı analizi aşamasında ^{1}H NMR, ^{13}C NMR ve FT-IR spektroskopik yöntemleri ile element analizi kullanıldı.

- Bileşiklerin ^{1}H NMR spektrum sonuçlarına göre her üç bileşikte bulunan aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarındaki protonlara ait (O*H*) sinyaller beklendiği gibi düşük alan bölgesinde13,26 ppm-16,86 ppm arasında singlet pikler olarak gözlendi. Schiff bazlarında bulunan karakteristik azometin karbonuna bağlı proton (*H*-N=C) L1 bileşiğinde, 8,47 ppm'de gözlenirken, metil protonları (H_3C-N=C) L2 ve L3 bileşiklerinde sırasıyla 2,33 ppm ve 2,38 ppm'de sinyal verdi. L1-L3 bileşiklerinde etilendiamin zincirinde bulunan N*H* protonları 3,33 ppm-3,75 ppm'de gözlenirken aromatik halka protonlarını 6,66 ppm-7,63 ppm aralığında integrasyon alanlarıyla uyumlu olarak sinyal verdi.
- L1-L3 bileşiklerinin FT-IR spektrumlarına göre, bütün bileşiklerin Schiff bazlarına özgü spesifik bantlara sahip olduğu belirlendi. L1-L3 bileşiklerinde sekonder amine ait NH gerilme titreşim bandı 3299 cm^{-1} - 3373 cm^{-1} aralığında, Schiff bazlarına özgü C=N gerilme titreşim bantları bileşiklerde 1660 cm^{-1}-1665 cm^{-1} aralığında ve C-O gerilme titreşim bantları1276 cm^{-1}-1281 cm^{-1} aralığında gözlendi.
- Yapılan element analizi ise spektral verileri destekledi.

Schiff bazları ve metal kompleksleri, antikanser, antikonvülsan ve antioksidan gibi muazzam bir biyolojik aktivite potansiyeline sahip olan tıbbi bileşiklerin anahtar sınıfları olarak ortaya çıkmaktadır [29]. Yapılan çalışmalar bu bileşiklerin kanser terapisinde potansiyel kemoterapötikler olarak öne çıkabileceklerini bildirmektedir. Savcı vd. benzen-1,2-diamin ve 5-floropirimidin-2,4(1H,3H)-dion'un kondenzasyon reaksiyonundan Schiff bazı ligandı ve bu ligandın Fe(II), Co(II) ve Ni(II) komplekslerini sentezlemişlerdir. Araştırmacılar sentezlenen bileşiklerin MCF-7 (insan meme kanseri) ve L-929 (fibroblast) hücre hatları üzerine sitotoksik etkiler ortaya koyduğunu [30]. Diğer bir çalışmada Shi vd. sentezledikleri naftil grubu taşıyan Schiff bazların T-24 kolorektal adenokarsinom hücrelerinde sitotoksik etki ortaya koyduğunu ve bu hücrelerin G2/M geçiş fazını doza bağlı bir şekilde azalttığını gösterdi. Buna ek olarak araştırmacılar T-24 hücrelerinde uygulamalar sonrası apoptotik hücre sayısında artışı rapor etmişlerdir [31].

- Çalışma sonuçları yeni sentezlenen Schiff bazı bileşiklerinin Caco-2 ve HT-29 kolon kanseri hücre serilerinde canlılığı önemli düzeyde inhibe ettiğini gösterdi.
- Bileşiklerin her iki hücre serisinde sergilediği sitotoksik etki standart kemoterapötik 5-FU'nun hücre serilerinde ortaya koyduğu sitotoksik etkiyle benzer seviyedeydi.
- Mevcut literatürler ve çalışma sonuçları yeni sentezlenen bileşiklerin kolon kanseri tedavisi için potansiyel ajanlar olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Yapılacak moleküler çalışmalar ve in vivo araştırmalar bu öngörünün gerçekleşmesi için gereklidir.

TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGMENTS)

Çalışmanın istatistiksel analizi sürecinde desteklerinden dolayı Dr. Yavuz ERDEN'e teşekkür ederim.

ETİK STANDARTLARIN BEYANI (DECLARATION OF ETHICAL STANDARDS)

Bu makade kullanılan materyal ve yöntemler etik kurul izni ve/veya yasal-özel bir izin gerektirmemektedir.

The materials and methods used in this article do not require ethics committee permission and/or legal-specific permission.

YAZARLARIN KATKILARI (AUTHORS' CONTRIBUTIONS)

***Fatma HAMURCU*:** Deneyleri yapmış, sonuçlarını analiz etmiş ve makalenin yazım işlemini gerçekleştirmiştir.

She conducted the experiments, analyzed the results and wrote the article.

ÇIKAR ÇATIŞMASI (AUTHORS' CONTRIBUTIONS)

Bu çalışmada herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

There is no conflict of interest in this study.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

[1] Patai S., Chemistry of the carbon-nitrogen double bond, John Wiley & Sons, NY, USA, 1970.

[2] Abu-Dief A.M., Mohamed I.M.A., A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases, Beni Suef Univ J Basic Appl Sci. 2015;4:(2)119-133.

[3] Vigato P.A., Tamburini S., The challenge of cyclic and acyclic schiff bases and related derivatives, Coordination Chemistry Reviews. 2004;248:(17) 1717-2128.

[4] More M.S., Joshi P.G., Mishra Y.K., Khanna P.K., Metal complexes driven from Schiff bases and semicarbazones for biomedical and allied applications: a review, Mater Today Chem. 2019; 14:100195.

[5] Sharaby C.M., Amine M.F., Hamed A.A., Synthesis, structure characterization and biological activity of selected metal complexes of sulfonamide Schiff base as a primary ligand and some mixed ligand complexes with glycine as a secondary ligand, Journal of Molecular Structure. 2017; 1134: 208-216.

[6] Roberts D.W., Schultz T.W., Api A.M., Skin Sensitization QMM for HRIPT NOEL Data: Aldehyde Schiff-Base Domain, Chemical research in toxicology. 2017; 30:(6) 1309-1316.

[7] Redshaw C., Use of Metal Catalysts Bearing Schiff Base Macrocycles for the Ring Opening Polymerization (ROP) of Cyclic Esters, Catalysts. 2017;7:(5) 165.

[8] R.J. DiRisio, Armstrong J.E., Frank M.A., Lake W.R., McNamara W.R., Cobalt Schiff-base complexes for electrocatalytic hydrogen generation, Dalton Transactions. 2017; 46:(31) 10418-10425.

[9] Berhanu A.L., Gaurav, I. Mohiuddin, A.K. Malik, J.S. Aulakh, V. Kumar, K.H. Kim, A review of the applications of Schiff bases as optical chemical sensors, TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2019;116: 74-91.

[10] da Silva C.M., da Silva D.L., Modolo L.V., Alves R.B., de Resende M.A., Martins C.V.B., de Fátima Â., Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities, Journal of Advanced Research. 2011;2:(1) 1-8.

[11] Müller I.M., Spillmann S., Franck H., Pietschnig R., Rational Design of the First Closed Coordination Capsule with Octahedral Outer Shape, Chemistry – A European Journal. 2004;10:(9): 2207-2213.

[12] Abdel Aziz A.A., Seda S.H., Synthesis, structural features and biochemical activity assessment of N,N‐bis‐(2‐mercaptophenylimine)‐2,5‐thiophene dicarboxaldehyde Schiff base and its Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes, Applied Organometallic Chemistry. 2017;31: 3879.

[13] Deswal Y., Asija S., Tufail A., Dubey A., Deswal, L. Kumar N., Gupta N.M., Instigating the in vitro antidiabetic activity of new tridentate Schiff base ligand appended M(II) complexes: From synthesis, structural characterization, quantum computational calculations to molecular docking, and molecular dynamics simulation studies Applied Organometallic Chemistry. 2023;37: (4) 7050.

[14] Deswal Y., Asija S., Dubey A., Deswal L., Kumar D., Jindal D.K., Devi J., Cobalt(II), nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes of thiadiazole based Schiff base ligands: Synthesis, structural characterization, DFT, antidiabetic and molecular docking studies, Journal of Molecular Structure. 2022;1253: 132266.

[15] Deswal Y., Asija S., Kumar D., Jindal D.K., Chandan G., Panwar V., Kumar N., Transition metal complexes of triazole-based bioactive ligands: synthesis, spectral characterization, antimicrobial, anticancer and molecular docking studies, Research on Chemical Intermediates. 2022; 48: 703-729.

[16] Agarwal P., Asija S., Deswal Y., Kumar N., Recent advancements in the anticancer potentials of first row transition metal complexes Journal of the Indian Chemical Society. 2022;99: 100556.

[17] Hajra S., Ghosh R., Chakrabarti S., Ghosh A., Dutta S., Dey T.K., Basu S., Rhodium-Catalyzed Enantioselective Conjugate Addition of Arylboronic Acids to Dihydronitronaphthalenes, Advanced Synthesis & Catalysis. 2012; 354: 2433-2437.

[18] Prakash A., Adhikari D., Application of Schiff bases and their metal complexes-A Review, International Journal of ChemTech Research. 2011; 3:(4) 1891-1896.

[19] Krishnamoorthy P., Sathyadevi P., Muthiah P.T., Dharmaraj N., Nickel and cobalt complexes of benzoic acid (2-hydroxy-benzylidene)-hydrazide

ligand: synthesis, structure and comparative in vitro evaluations of biological perspectives, RSC Advances. 2012; 2:(32) 12190-12203.

[20] Alagesan M., Sathyadevi P., Krishnamoorthy P., Bhuvanesh N., Dharmaraj N., DMSO containing ruthenium (II) hydrazone complexes: in vitro evaluation of biomolecular interaction and anticancer activity, Dalton Transactions, 43(42) (2014) 15829-15840.

[21] Aslam M.A.S., Mahmood S., Shahid M., Saeed A., Iqbal J., Synthesis, biological assay in vitro and molecular docking studies of new Schiff base derivatives as potential urease inhibitors, European Journal of Medicinal Chemistry. 2011; 46:(11): 5473-5479.

[22] Liu Y.T., Sheng J., Yin D.W., Xin H., Yang X.M., Qiao Q.Y., Yang Z.J., Ferrocenyl chalcone-based Schiff bases and their metal complexes: Highly efficient, solvent-free synthesis, characterization, biological research, Journal of Organometallic Chemistry. 2018;856: 27-33.

[23] Koeffler H.P., McCormick F., Denny C., Molecular mechanisms of cancer, The Western Journal of Medicine. 1991; 155:(5): 505-14.

[24] Pereira C., Leão M., Soares J., Bessa C., Saraiva L., New Therapeutic Strategies for Cancer and Neurodegeneration Emerging from Yeast Cell-based Systems, Current Pharmaceutical Design. 2012; 18:(27):4223-4235.

[25] Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Parkin D. M., Piñeros, M., Znaor A., Bray F., Cancer statistics for the year 2020: An overview, International Journal of Cancer, 2021;149: 778-789.

[26] Feng S.S., Chien S., Chemotherapeutic engineering: application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases, Chemical Engineering Science. 2003;58: 4087-4114.

[27] Sibel K. 2013. (New-Generation Metallocene Catalysts for Olefin Polymerization, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[28] Mosmann T., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, Journal of Immunological Methods. 1983; 65:55-63.

[29] Tadele K.T., Tsega T.W., Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry. 2019; 19:(15):1786-1795.

[30] Savcı A., Buldurun K., Alkış M.E., Alan Y., Turan N., Synthesis, characterization, antioxidant and anticancer activities of a new Schiff base and its M(II) complexes derived from 5-fluorouracil, Medical Oncology. 2022; 39: 172.

[31] Shi S., Yu S., Quan L., Mansoor M., Chen Z., Hu H., Liu D., Liang Y., Liang F., Synthesis and antitumor activities of transition metal complexes of a bis-Schiff base of 2-hydroxy-1-naphthalenecarboxaldehyde, Journal of Inorganic Biochemistry. 2020;210 111173