

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DÜZLEMSEL

[4-(DİALKİLAMİNOBENZİLİDEN)HİDRAZİNKARBOTİYOAMİT]₂Cu(II)
NÖTRAL KOMPLEKSİNİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURSEL ESER

HAZİRAN 2019

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DÜZLEMSEL
[4-(DİALKİLAMİNOBENZİLİDEN)HİDRAZİNKARBOTİYOAMİT]₂Cu(II)
NÖTRAL KOMPLEKSİNİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nursel ESER

DANIŞMAN: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

ZONGULDAK

Haziran 2019

KABUL:

Nursel ESER tarafından hazırlanan “[4-(Dialkilaminobenziliden)Hidrazinkarbotiyoamit]₂Cu(II) Nötral Kompleksinin DNA ile Etkileşimlerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 31/05/2019

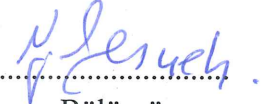
Danışman: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



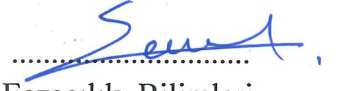
Üye : Doç. Dr. Zuhale GERÇEK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Senem AKKOÇ

Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..../..../2019



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”


Nursel ESER

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DÜZLEMSEL

[4-(DİALKİLAMİNOBENZİLİDEN) HİDRAZİNKARBOTİYOAMİT]₂Cu(II) NÖTRAL KOMPLEKSİNİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

Nursel ESER

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

Haziran 2019, 87 sayfa

Daha evvel sentezlenmiş (2E)-2-[4-(diethylamino)benziliden]-N-[(1Z,2E)-N-hidroksi-2-(hidroksimino)etanimidol]hidrazin) karbotiyoamit ligandı (**L**₁), (2E)-2-[4-(dimetilamino)benziliden]-N-[(1Z,2E)-N-hidroksi-2-(hidroksimino)etanimidol]hidrazin) karbotiyoamit ligandı (**L**₂), (1Z,2E)-N-[(2E)-2-(4-etoksibenziliden)hidrazino]karbonotiyol)-N'-hidroksi-2-(hidroksimino) etanimidamit ligandı (**L**₃) Cu(II) komplekslerinin biyolojik aktiviteleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. **L**₁ ve **L**₂ ligandlarını içeren Cu(II) komplekslerinin sitotoksite aktivitesi insan lösemi hücre hattı HL-60 kullanılarak ortaya konmuştur. **L**₁ ligandı içeren Cu(II) kompleksinin 5-20 µM konsantrasyonda en yüksek antiproliferatif etki gösterdiği ve potansiyel anti-kanser ajan olarak kullanılabilceği rapor edilmiştir. **L**₃ ligandı içeren Cu(II) kompleksinin ise anti-bakteriyel ve anti-fungal aktivite gösterdiği ortaya çıkarılmıştır.

ÖZET (devam ediyor)

Bu çalışmada ise daha evvel sentezlenmiş düzlemsel [4-(dialkilaminobenziliden) hidrazinkarbotiyoamit]₂Cu(II) nötral kompleksinin DNA ile etkileşimleri UV-Vis titrasyonu, fluorometri ve agaroz jel elektroforezi metotları kullanılarak çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde komplekslerinin DNA'ya interkalasyon ile bağlandıkları ve agaroz jel elektroforez çalışmasında da DNA'yı parçaladıkları tespit edilmiştir. Bu bağlanma ve DNAaz aktivitesi komplekslerin daha evvelden rapor edilen sitotoksik, anti-bakteriyel ve anti-fungal biyolojik aktiviteleriyle orantılı oldukları düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tiyosemikarbazon, DNA, İnterkalasyon, Agaroz jel elektroforez

Bilim Kodu: 405.05.00

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION AND DNA INTERACTIONS OF PLANAR [4-(DIALKYLAMINOBENZYLIDENE)HYDRAZINE CARBOTHIOAMIDE]₂Cu(II) NEUTRAL COMPLEXES

Nursel ESER

Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Burak ÇOBAN

June 2019, 87 Pages

The biological activities of previously synthesized copper, nickel and cobalt complexes of (2E)-2-[4-(diethylamino)benzylidene]-N-[(1Z,2E)-N-hidroxy-2-(hidroxyimino) ethanimidoyl] hidrazine carbothioamide (**L**₁), (2E)-2-[4-(dimethylamino) benzylidene]-N-[(1Z,2E)-N-hidroxy-(hidroxyimino)ethanimidoly]hidrazine) carbothioamide (**L**₂), and (1Z,2E)-N-[(2E)-2-(4-ethoxybenzylidene) hidrazino] carbonothionyl]-N'-hidroxy-2-(hidroxyimino) ethanimidamide (**L**₃) are investigated. The cytotoxicities of Cu(II) complexes containing **L**₁ and **L**₂ ligands were obtained using cell series HL-60. The Cu(II) complex including **L**₁ ligand it is considered as potential anticancer agent at 5-20 mM concentration. **L**₃ also showed antibacterial and antifungal effects.

In this study it is aimed to investigate the interaction between of previously synthesized planar [4-(dialkylaminobenzyliden)hidrazine carbothioamide]₂Cu(II) neutral complexes with DNA by using UV-Vis titration, fluorometer and agarose gel electrophoresis.

ABSTRACT (continued)

When the results were evaluated, it was found that their complexes were bound to DNA by intercalation and they also cleave the DNA in agarose gel electrophoresis study. These binding and DNAase activity complexes are thought to be proportional to the earlier reported cytotoxic, anti-bacterial and anti-fungal biological activities.

Key Words: Thiosemicarbazone, DNA, Intercalation, Agarose gel electrophoresis

Science Code: 405.05.00



TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın planlanması ve yşrştşlmesinde, çalıőmalarım sşresince bilgi birikimini, teővik ve hoőgřrřsřnř esirgemeyen tez danıőmanım Sayın Doç. Dr. Burak ÇOBAN'a Őukranlarımı sunar, teőekkřrř bir borç bilirim.

Çalıőmalarım sşresince her tşrlş laboratuvar olanağını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Abdurrahman ŐENGŐL'e ve tşm İnorganik Kimya alıőma grubuna teőekkřrlerimi sunarım.

Çalıőmalarım boyunca ilgi ve desteğini gřrdřėřm Araőtırma gşrevlisi Ufuk YILDIZ'a sonsuz teőekkřrlerimi sunarım.

Hiçbir desteğini esirgemeyen eőim İrfan ESER'e desteklerinden dolayı çok teőekkřr ederim.

Bu çalıőmaya maddi kaynak sağlayan Z.B.E.Ő Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi'ne teőekkřr ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxi
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
1.1 DNA YAPISI.....	1
1.1.1 Çift Sarmal DNA.....	1
1.1.2 Plazmid DNA	5
1.2 TEMEL FONKSİYONLARI.....	6
1.3 DNA'YI HEDEF ALAN İLAÇ MOLEKÜLLERİ	8
1.4 KÜÇÜK MOLEKÜLLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM METOTLARI.....	9
1.4.1 İnterkalasyon	10
1.4.2 Elektrostatik etkileşim.....	10
1.4.3 Oluklara Bağlanma.....	11
1.5 DNA İLAÇ ETKİLEŞİM TÜRLERİNİ BELİRLEMEDE KULLANILAN TEKNİKLER	12
1.5.1 UV Absorbsiyon Spektroskopisi	12
1.5.2 Floresans Emisyon Spektroskopisi.....	13
1.5.3 Agaroz Jel Elektroforez.....	15
1.6 TİYOSEMİKARBAZONLAR.....	16
1.6.1 Tiyosemikarbazonların Adlandırılması	18
1.6.2 Tiyosemikarbazonlarda Tautomerizm.....	19

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
1.6.3 Tiyosemikarbazonların Spektrofotometrik Uygulamaları	20
1.6.4 Tiyosemikarbazonların İndikatör Olarak Kullanılmaları	20
1.6.5 Tiyosemikarbazonların Gravimetrik Reaktif Olarak Kullanılması	20
1.6.6 Tiyosemikarbazonların Potasiyometrik çalışmalarda Kullanılması.....	20
1.6.7 Tiyosemikarbazonların Kinetik Uygulamaları	21
1.6.8 Tiyosemikarbazonların Biyolojik Aktivitesi	22
1.6.9 Tiyosemikarbazonların Metal Kompleksleri.....	25
1.7 BAKIR.....	36
1.7.1 Bakır'ın İnsan Vücudundaki Rolü.....	36
1.7.2 Bakır kompleksleri ve DNA.....	37
BÖLÜM 2 METARYAL VE YÖNTEM.....	55
2.1 ÇÖZÜCÜ VE KİMYASALLAR.....	55
2.2 KULLANILAN CİHAZLAR	57
2.2.1 UV/Vis Spektrofotometresi.....	57
2.2.2 Floresans Spektrometresi	57
2.2.3 Agaroz Jel Elektroforezi.....	57
2.3 LİGANTLAR	57
2.3.1 Yapı Formülleri	57
2.4 KOMPLEKSLER	58
2.4.1 Yapı Formülleri	58
BÖLÜM 3 SONUÇLAR.....	61
3.1 KOMPLEKSLERİN VE LİGANTLARIN DNA İLE ETKİLEŞİMİ	61
3.1.1 UV Titrasyon.....	61
3.1.2 Ligantlar	61
3.1.2 Kompleksler	63
3.2 FLORESANS TİTRASYONU	66
3.2.1 Komplekslerin Floresans Çalışması	66

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.2.2 Komplekslerin EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması.....	67
3.3 AGARUZ JEL ELEKTROFOREZ ÇALIŞMASI	71
3.3.1 İnkübasyon Süresi 1 Saat Olan Elektrophorez Çalışması.....	71
3.3.2 İnkübasyon Süresi 24 Saat Olan Elektrophorez Çalışma Sonuçları	72
3.3.3 Kompleksler UV Lambası Altında Etüvde 37° C de 1 Saat İnkübasyon Sonucunda Alınan Elektrophorez Sonuçları	73
3.3.4 Komplekslerin H ₂ O ₂ Varlığında Etüvde 37° C de 1 Saat İnkübasyon Sonucunda Alınan Elektrophorez Sonuçları	74
3.3.5 Komplekslerin Düşük Konsantrasyonlarda (5, 10, 50 µM) H ₂ O ₂ Varlığında Etüvde 37 °C de 1 Saat İnkübasyonu Sonucu Alınan Elektrophorez Sonuçları	75
3.4 TARTIŞMA.....	77
KAYNAKLAR.....	79
ÖZGEÇMİŞ	87



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 DNA zinciri.....	2
Şekil 1.2 C-G ve A-T arasındaki Watson-Crick hidrojen bağları	3
Şekil 1.3 DNA çift sarmalı	3
Şekil 1.4 DNA konformasyonları.....	4
Şekil 1.5 DNA'ya ait erime eğrileri	5
Şekil 1.6 Plazmid DNA	5
Şekil 1.7 DNA replikasyonu	6
Şekil 1.8 DNA Replikasyonu	7
Şekil 1.9 Gen ekspresyonu	7
Şekil 1.10 Cis-platinin DNA ile etkileşmesi	9
Şekil 1.11 EtBr'ün DNA baz çiftleri arasına yerleşerek interkalasyon ile etkileşmesi.....	10
Şekil 1.12 [Ru(bpy) ₃] ²⁺ molekülünün DNA ile elektrostatik etkileşimi	10
Şekil 1.13 DNA molekülünde büyük ve küçük oluklar	11
Şekil 1.14 Netropsin ve DNA'nın küçük oluşuna bağlanması	11
Şekil 1.15 UV-spektrumunda kaymalar	13
Şekil 1.16 EtBr'ün floresans yoğunluğu, interkalasyon yapan kompleks varlığındaki düşüşü	14
Şekil 1.17. Plazmid DNA geçişleri	15
Şekil 1.18 Elektroforez cihazı ve DNA formlarının hareketinin görüntüsü	16
Şekil 1.19 Tiyosemikarbazonların sentezi	17
Şekil 1.20 Tiyosesemikarbazonun hidrolizi	17
Şekil 1.21 IUPAC numaralandırma sistemi	18
Şekil 1.22 (2E)-2-(4-formilbenzilidin) hidrazintiyokarboamid	18
Şekil 1.23 Benzilidentiyosemikarbazit veya Benzaldehittiyosemikarbazon.....	18
Şekil 1.24 4-Feniltiyosemikarbazidbenzalhidrozon veya (N-benziliden-4-feniltiyosemikarbazid).....	18
Şekil 1.25 Tiyon-tiyol formu.....	19
Şekil 1.26 Tiyosemikarbazon içeren ligandın izomerleri.....	19
Şekil 1.27 p-asetilaminobenzaldehit tiyosemikarbazon	22

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.28 Antibakteriyel etki gösteren 2-piridinaldehit-4-N-metiltiyosemikarbazon ligandı.	22
Şekil 1.29 Antiepileptik etki gösteren 3-izopropil-2-(4-metoksifenil)-6-fenilpiperidin-4-tiyosemikarbazon.....	23
Şekil 1.30 Antioksidant aktivite gösteren İsatın-3-N ⁴ -benziltiyosemikarbazon (IBTC) ligandı.....	23
Şekil 1.31 Antitümör aktivite gösteren paladyum fenantrenkinontiyosemikarbazon kompleksi	23
Şekil 1.32 Antiviral etki gösteren tiyosemikarbazon türevleri.....	24
Şekil 1.33 Tiyosemikarbazon ve isatin içeren L ₁ -L ₆ ligandları	24
Şekil 1.34 [Ni(S-tcitr) ₂] kompleksi	26
Şekil 1.35 6-Hidroksi kromon-3-karbaldehit ligandının molekül yapısı	26
Şekil 1.36 Ni(II) kompleksinin tek kristal yapısı	26
Şekil 1.37 Kompleks [VO(satsc)(phen)] (1), X= H ve [VO(3,5-dibrsatsc)(phen)] (2), X= Br	27
Şekil 1.38 2-okso-2,2-dihidrokinolin-3-karbaldehit 4(N, N)-dimetiltiyosemikarbazon (HL) .	27
Şekil 1.39 (HL) ligandından oluşturulan Cu(II) kompleksi	28
Şekil 1.40 Tiyosemikarbazon içeren Ni kompleksleri	28
Şekil 1.41 Komplekslerin artan DNA derişimleri ile UV titrasyonu sonucu elde edilen absorbsiyon spektrumları	29
Şekil 1.42 DNA'ya bağlı EtBr'ün sönme eğrisi.....	29
Şekil 1.43 Ru(II) kompleksi	30
Şekil 1.44 Cu(TMCPMP-TS) kompleksi	30
Şekil 1.45 [Co(HL ¹⁻³) ₂ Cl] kompleks	31
Şekil 1.46 1,10-fenantrolin türevleri içeren dört yeni vanadyum kompleksi.....	32
Şekil 1.47 Farklı işlevsel grup içeren tiyosemikarbazon ligandları	33
Şekil 1.48 ONS donör atomlarının oluşturduğu molibden kompleksleri.....	33
Şekil 1.49 [RuCl(EPH ₃) ₃]L ¹⁻⁴ kompleksi	34
Şekil 1.50 2,6-Diasetilpiridin bis (⁴ N-p-klorofeniltiyosemikarbazon) ligand'ın yapısı	35
Şekil 1.51 2,6-Diasetilpiridin bis(⁴ N-p-klorofeniltiyokarbazonato) paladyum(II) kompleks..	35
Şekil 1.52 2,6-Diasetilpiridin bis(⁴ N-p-klorofeniltiyokarbazonato) platin(II) kompleks	35
Şekil 1.53 Metal komplekslerinin yapısı.....	36
Şekil 1.54 Bakır'ın redoks aktivitesi	37
Şekil 1.55 -(3',4'benzaldehyden)2-3-dimetil-1-fenil-3-prazolin-5-semikarbazon/tiyo semikarbazon.....	37

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.56 [CuL ₂] komplekslerinin molekül yapıları	38
Şekil 1.57 Ligand molekülü ve R-H ₃ ut yapıları	39
Şekil 1.58 CuL ₁ -L ₆ yapıları	40
Şekil 1.59 CuL ₁ 'in absorpsiyon spektrumu.....	40
Şekil 1.60 CuL ₄ 'ün absorpsiyon spektrumu.....	41
Şekil 1.61 CuL ₅ kompleksinin artan DNA miktarı ile emisyon yoğunluğundaki değişim	41
Şekil 1.62 Cu(II) L-fenilalanin-(DACH) kompleksi.....	42
Şekil 1.63 2-(Hidroksibenziliden) tiyosemikarbazon Cu(II) kompleksi	42
Şekil 1.64 [Cu(phen)(phen-dion)Cl]Cl (1), [Cu(bpy)(phen-dion)Cl]Cl (2), [Cu(ph ₂ phen)(phen-dion)Cl]Cl (3).....	43
Şekil 1.65 [Cu(ph ₂ phen)(phen-dion)Cl]Cl kompleksinin değişen DNA miktarlarıyla titrasyonu sonucu elde edilen emisyon spektrumu.....	44
Şekil 1.66 [Cu(ph ₂ phen)(phen-dion)Cl]Cl'ür kompleksinin agaroz jel elektroforez çalışması	44
Şekil 1.67 Cu(II) kompleksleri (4a-4h)	45
Şekil 1.68 Cu(II) kompleksleri; [Cu(II)(DPPA).4H ₂ O (1), [Cu(II)(DPPA)(bpy)].5H ₂ O (2), [Cu(II)(DPPA)(phen)].5H ₂ O (3)	46
Şekil 1.69 Kompleks 3'ün UV-absorpsiyon spektrumu [Cu]= 10 µM, [DNA]= 0-10 µM konsantrasyonda absorpsiyonun azaldığı görülmektedir.....	47
Şekil 1.70 Sentezlenen [Cu(L ^{1m}) ₂ Cl ₂ (1) ve [Cu(L ^{2m}) ₂ Cl ₂ (2) kompleksleri	48
Şekil 1.71 Polimer Cu (II) kompleksi	48
Şekil 1.72 Ligand molekülü	49
Şekil 1.73 Kompleks 1'in kristal yapısı	49
Şekil 1.74 Porfirin Cu(II) kompleksi.....	50
Şekil 1.75 sentezlenen [Cu ₂ (dmbiim) ₄ (H ₂ O) ₂].4.6H ₂ O	51
Şekil 1.76 4,7 × 10 ⁻⁵ M EtBr (a); a + 6,7 × 10 ⁻⁵ M DNA (b); b + 6,8 × 10 ⁻⁵ M [Cu ₂ (dmbiim) ₄ (H ₂ O) ₂] ⁺⁴ [Cu ₂ (dmbiim) ₄ (H ₂ O) ₂].4.6H ₂ O kompleksinin artan DNA miktarı ile absorpsiyon molekülünde değişim (c)	51
Şekil 1.77 Bakır (II) kompleksi.....	52
Şekil 1.78 Kompleks [Cu ₂ Phen ₂ Cl ₄] (Phen= 1,10-fenantrolin)'in kristal yapısı.	53
Şekil 2.1 Ligand L ₁	57
Şekil 2.2 Ligand L ₂	58
Şekil 2.3 Ligand L ₃	58
Şekil 2.4 Kompleks K ₁	58

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.5 Kompleks K ₂	59
Şekil 2.6 Kompleks K ₃	59
Şekil 3.1 L ₁ 'nin ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu	62
Şekil 3.2 L ₂ 'nin ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu	62
Şekil 3.3 L ₃ 'nin ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu	62
Şekil 3.4 K ₁ kompleksinin (20 µM), (0-75 µl) ct- DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu	63
Şekil 3.5 K ₁ için [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε _A -ε _f) grafiği	63
Şekil 3.6 K ₂ kompleksinin (20 µM), (0-8 µl) ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu	64
Şekil 3.7 K ₂ için [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε _A -ε _f) grafiği	64
Şekil 3.8 K ₃ kompleksinin (20 µM), (0-4 µl) ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu	65
Şekil 3.9 K ₃ için [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε _A -ε _f) grafiği	65
Şekil 3.10 K ₁ kompleksinin ct-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu (330 nm dalga boyunda uyarılmıştır).	66
Şekil 3.11 K ₂ kompleksinin ct- DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu (312 nm dalga boyunda uyarılmıştır).	66
Şekil 3.12 K ₃ kompleksinin ct-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu (286 nm dalga boyunda uyarılmıştır).	67
Şekil 3.13 20 µM EtBr ve 100 µM ct-DNA içeren çözeltinin artan 1 mM K ₁ derişimi ile 427 dalga boyunda uyarılarak elde edilen floresans değişimi	68
Şekil 3.14 K ₁ 'in Stern-Volmer grafiği	68
Şekil 3.15 20 µM EtBr ve 100 µM ct-DNA içeren çözeltinin artan 1mM K ₂ derişimi ile elde edilen emisyon spektrumu.	69
Şekil 3.16 K ₂ 'in Stern-Volmer grafiği	69
Şekil 3.17 20 µM EtBr ve 100 µM ct-DNA içeren çözeltinin artan 0,88 mM K ₃ derişimi ile elde edilen floresans spektrumu	70
Şekil 3.18 K ₃ 'ün Stern-Volmer grafiği	70
Şekil 3.19 Çeşitli konsantrasyonlarda K ₁ , K ₂ ve K ₃ komplekslerinin plazmid-DNA ile 37 °C'de, 50 mM amonyum asetat tamponunda 1 saatlik inkübasyonu sonrası elektroforezi. 1. kuyu DNA; 2. kuyu DNA + 50 µM K ₁ , 3. kuyu DNA + 500 µM K ₁ , 4. kuyu DNA; 5. kuyu DNA + 50 µM K ₂ , 6. kuyu DNA + 500 µM K ₂ , 7. kuyu DNA; 8. kuyu DNA + 50 µM K ₃ , 9. kuyu DNA + 500 µM K ₃	72

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

No

Sayfa

- Şekil 3.20 Değişen konsantrasyonlarda K_1 , K_2 ve K_3 komplekslerinin 37 °C ve 24 saat inkübasyon sonrası pBR322 plazmid-DNA (10 µl) üzerine etkilerini gösteren agaroz jel elektroforez çalışması. Çözeltiler 50 mM amonyum asetat tamponunda hazırlanmıştır. 1. kuyu DNA; 2. kuyu DNA 50 µM K_1 , 3. kuyu DNA + 500 µM K_1 , 4. kuyu DNA; 5. kuyu DNA + 50 µM K_2 , 6. kuyu DNA + 500 µM K_2 , 7. kuyu DNA; 8. kuyu DNA + 50 µM K_3 , 9. kuyu DNA + 500 µM K_3 73
- Şekil 3.21 Değişen konsantrasyonlarda K_1 , K_2 ve K_3 komplekslerinin UV lambası altında 37 °C ve 1 saat inkübasyon sonrası pBR322 plazmid-DNA (10 µl) üzerine etkilerini gösteren agaroz jel elektroforez çalışması. Çözeltiler 50 mM amonyum asetat tamponunda hazırlanmıştır. 1. kuyu DNA; 2. kuyu DNA + 50µM K_1 , 3. kuyu DNA + 500µM K_1 , 4. kuyu DNA; 5. kuyu DNA + 50µM K_2 , 6. kuyu DNA + 500µM K_2 , 6. kuyu DNA + 50µl K_3 , 7. kuyu DNA + 500µM K_3 74
- Şekil 3.22 Değişen konsantrasyonlarda K_1 , K_2 ve K_3 komplekslerinin 2 µl H_2O_2 varlığında 37 °C ve 24 saat inkübasyon sonrası pBR322 plazmid-DNA (10 µl) üzerine etkilerini gösteren agaroz jel elektroforez çalışması. Çözeltiler 50 mM amonyum asetat tamponunda hazırlanmıştır. 1. kuyu 10 µl DNA (DNA Kontrol), 2. kuyu DNA + H_2O_2 + 50 µM K_1 , 3. kuyu DNA + H_2O_2 + 500 µM K_1 , 4. kuyu DNA + H_2O_2 + 50 µM K_2 , 5. kuyu DNA + H_2O_2 + 500 µM K_2 , 6. kuyu DNA + H_2O_2 + 50 µM K_3 , 7. kuyu DNA + H_2O_2 + 500 µM K_3 75
- Şekil 3.23 Değişen konsantrasyonlarda K_1 , K_2 ve K_3 komplekslerinin 2 µL H_2O_2 varlığında 37 °C ve 1 saat inkübasyon sonrası pBR322 plazmid-DNA (10 µl) üzerine etkilerini gösteren agaroz jel elektroforez çalışması. Çözeltiler 50 mM amonyum asetat tamponunda hazırlanmıştır. 1. kuyu sadece DNA, kuyular 2-11: 10 µM DNA + 2 µL H_2O_2 , 3. kuyu + 5 µM K_1 , 4. kuyu + 10 µM K_1 , 5. kuyu + 50 µM K_1 , 6. kuyu + 5 µM K_2 , 7. kuyu + 10 µM K_2 , 8. kuyu + 50 µM K_2 , 9. kuyu + 5 µM K_3 , 10. kuyu + 10 µM K_3 , 11. kuyu 50 µM K_3 76



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Bazı hastalıklar, ilaçları ve hedef enzimler belirtilmiştir.....	8
Çizelge 1.2 Ligandların ve komplekslerin bağlanma sabitlerinin sayısal değerleri.....	33
Çizelge 3.1 Komplekslerin bağlanma sabitleri	65
Çizelge 3.2 Komplekslerin hesaplanan anlık bağlanma sabitleri.....	70





SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$^{\circ}\text{C}$: santigrat derece
g.	: gram
L	: ligand
K	: kompleks
mL	: mililitre
μL	: mikrolitre
nm	: nanometre
μM	: mikromolar
π	: pi bağı
ν	: frekans
λ	: dalga boyu

KISALTMALAR

UV	: Ultraviyole
EtBr	: Etidyum bromür
DMSO	: Dimetil sülfoksit
K_b	: Bağlanma sabiti
K_{an}	: Anlık bağlanma sabiti
TBE	: Tris borat edta



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Deoksiribonükleik asit (DNA) genetik materyal olarak önemlidir. DNA'nın keşfi kalıtımın yapısal çeşitliliğinin incelenmesi için yeni bir kapı açmıştır. DNA, antikanser ilaçlar için öncelikli hedef olmuştur ki bu ilaçlar DNA'nın kopyalanmasını ve transkripsiyonunu engeller ve hücre ölümü gerçekleşir.

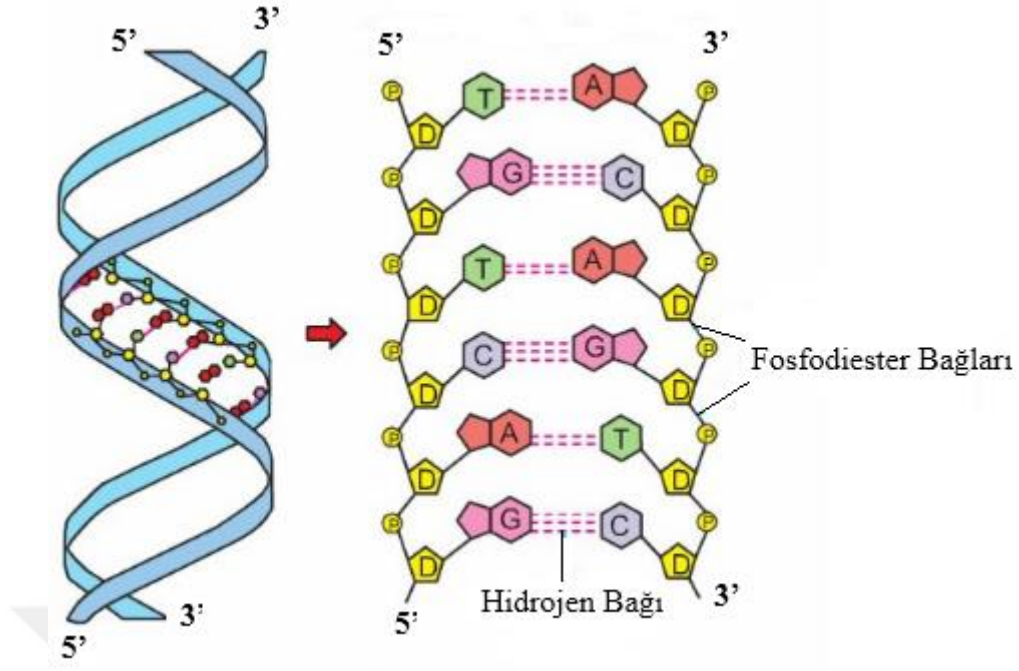
1.1 DNA YAPISI

1.1.1 Çift Sarmal DNA

Tüm canlı sistemlerde hücrelerin yapı ve fonksiyonlarına ilişkin genetik bilginin temeli, nükleik asitler adını verdiğimiz organik moleküllerden oluşan yapılardır. DNA molekülü yapısı ilk kez 1951 yılında James Watson ve Francis Crick tarafından belirlenerek açıklanmıştır.

DNA molekülü yaşayan tüm organizmaların organellerini oluşturabilmeleri, yaşamları boyunca gelişmeleri ve fonksiyonlarını sürdürebilmeleri için gerekli temel genetik bilgileri içerir. DNA, nükleotid adı verilen alt birimlerden oluşan uzun zincirli bir polimerdir. Her bir nükleotid üç kısımdan ibarettir: Baz (pürin veya pirimidin), şeker (deoksiriboz veya riboz), fosfat molekülü.

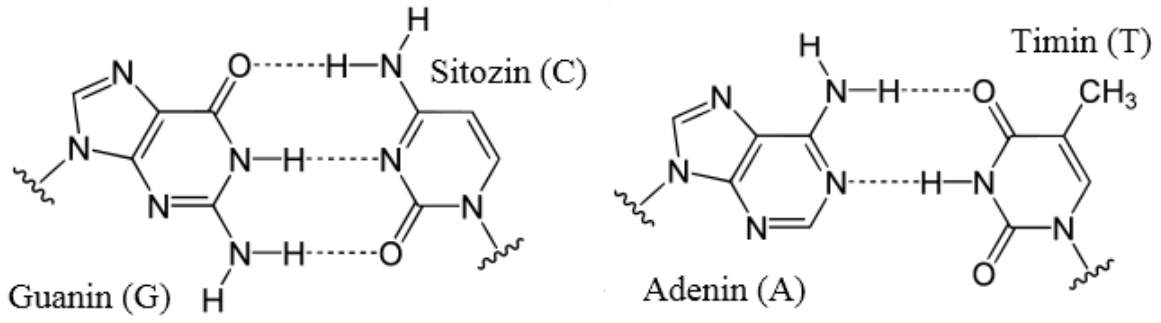
Komşu iki baz arasındaki mesafe $3,4 \text{ \AA}$ (0,34 nm) uzunluktadır. 360° 'lik her bir dönüşte 10 baz çifti bulunan DNA 34 \AA^0 uzunluğundadır. Zincir omurgasını oluşturan şeker ve fosfat molekülleri, fosfodiester bağları ile birbirine bağlanmıştır. Zincirin deoksiriboz ve fosfattan oluşan hidrofilik omurgası, aynı zamanda negatif yüklüdür, zincirin dış kısmında, hidrofobik bazlar ise iç kısımda yer alır. İki iplik $5'-3'$ yönünde antiparalel uzanır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 DNA zinciri

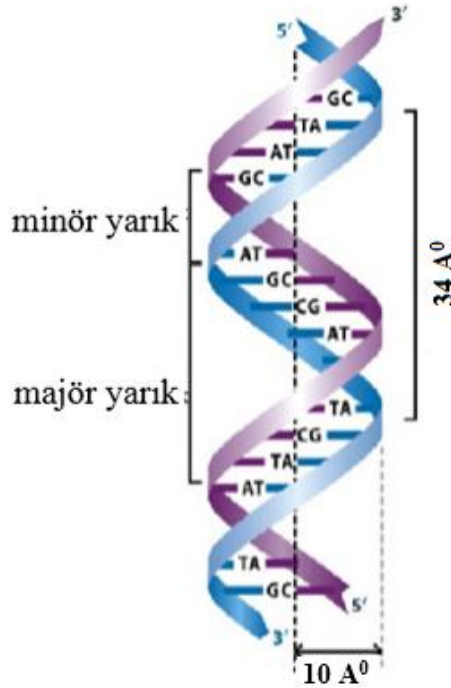
DNA molekülünde adenin (A), guanin (G), stozin (C) ve timin (T) olmak üzere dört farklı baz molekülü bulunur. Pürin bazları olarak adlandırılan adenin ve guanin, iki halkalı sistemden oluşurlar. Pirimidin bazları ise timin ve sitozindir.

DNA çift sarmalının çift zincirli yapısı, nükleotidde bulunan bazların birbirlerine hidrojen bağları ile bağlanmasından oluşur. Şeker ve fosfattan oluşan omurga aralarda bazlar bulunduğundan birbirine belirli uzaklıktadır. Baz eşleşmesi iki zincirdeki her bir nükleotitin 1' karbonlarının birbirinden aynı uzaklıkta (1.08 nm) olmasını sağlar. Adenin ile timin, guanin ile sitozin baz çifti oluşturur. Adenin ve timin iki, sitozin ve guanin üç hidrojen bağı içerir (Şekil 1.2). Çift sarmalda moleküller sadece kovalent ve hidrojen bağlarıyla değil aynı zamanda hidrofobik etkileşimler ve π istiflenmesi ile de birarada tutulurlar.



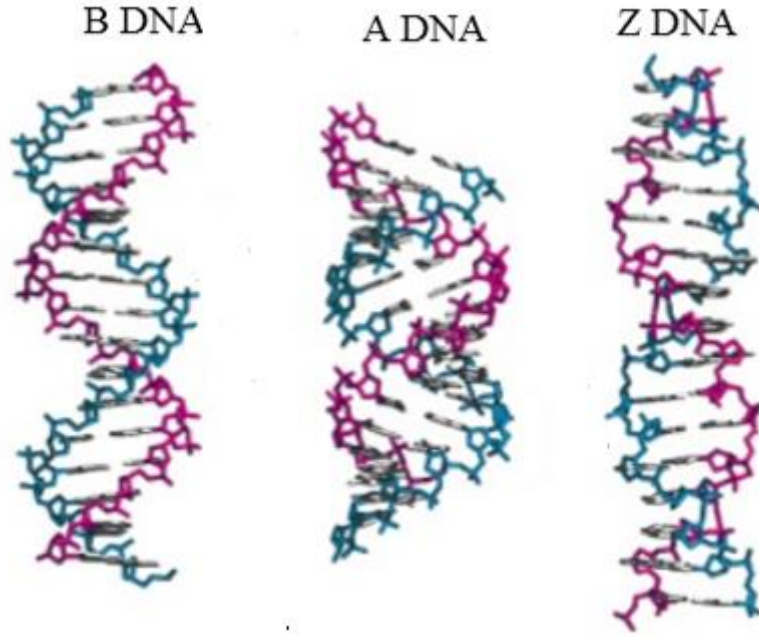
Şekil 1.2 C-G ve A-T arasındaki Watson-Crick hidrojen bağları

C-G arasındaki üç hidrojen bağı bulunması daha güçlü bağ oluşturur. C-G bağı bölgelerin daha sağlam ve katı bölgeler olduğu, A-T bölgelerinin ise daha yumuşak, kıvrılabilir ve gevşek bölgeler olduğu gözlenmiştir. Hidrofobik baz molekülleri omurgadan iç kısımlara doğru ve heliks eksenine dik olarak yerleşmiştir. Heliksin bu yerleşim düzeni sonucu molekül üzerinde bir minör oluk (yarık) ve majör oluk (yarık) ortaya çıkar (Şekil 1.3).



Şekil 1.3 DNA çift sarmalı

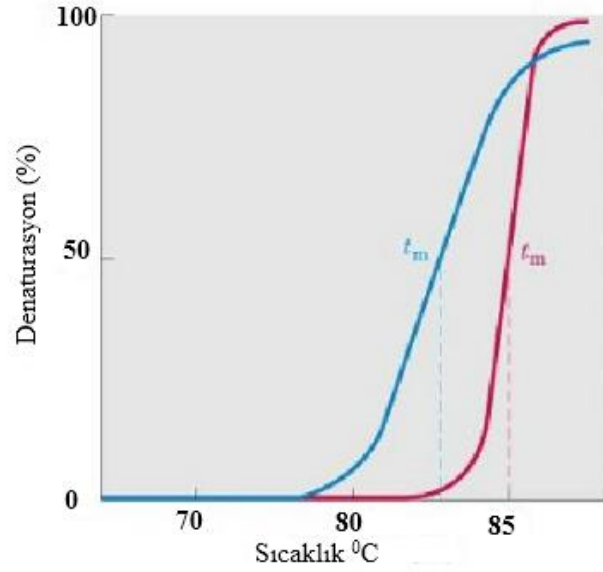
DNA çift sarmalının farklı düzenlemelerde oluşabildikleri gözlenmiştir. Biyolojik sistemlerde A-DNA, B-DNA, Z-DNA belirlenerek izole edilebilmiştir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4 DNA konformasyonları

En çok gözlenen B konformasyonudur. A formu baz çiftleri arasında daha büyük boşluk bulunan daha geniş çift sarmaldır. Susuz ortamda gözlenir. B konformasyonu dehidrasyonu ile elde edilir. A konformasyonu her bir tam dönüşte 11 baz çifti bulunur. Ayrıca baz çiftleri heliks düzlemine tam dik değildir. Z konformasyonu sol el dönümlü ve her tam dönüşte 12 baz çifti bulunduran yapılardır.

Azotlu bazlar arasında bulunan hidrojen bağları, ısı ve pH değişiklikleri bu bağların kolayca kırılmasına neden olur. Molekül yapısında bulunan şekerler arasındaki fosfodiester bağları bu değişiklikten etkilenmez. Bir DNA molekülünün çift sarmal yapısının açılmasına neden olan ısıya “DNA’nın erime derecesi” denir (Şekil 1.5).

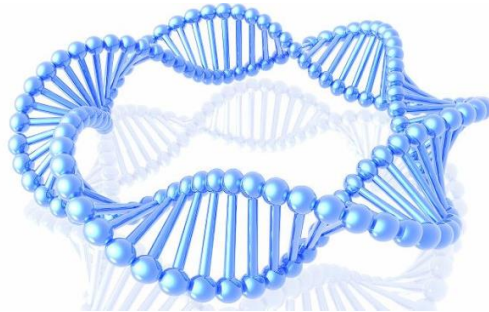


Şekil 1.5 DNA'ya ait erime eğrileri

DNA'nın tamamen açılarak çift sarmal yapısının bozulmasına "Denaturasyon" adı verilir. Denaturasyon, çözeltinin 260 nm'deki absorpsiyonu ölçülerek belirlenebilir. DNA'nın kopyalanması enzimatik denaturasyonu ile gerçekleşir.

1.1.2 Plazmid DNA

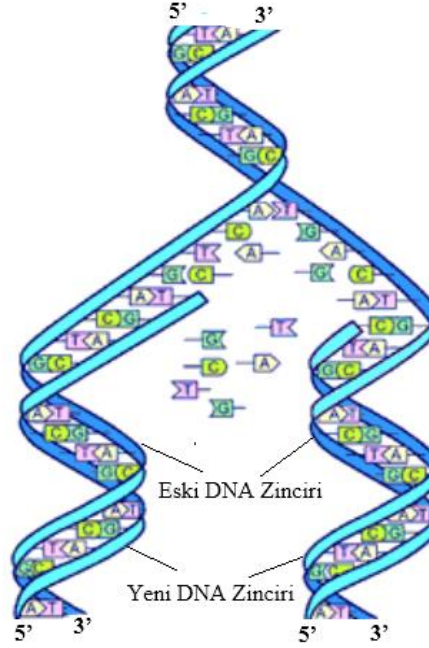
Çoğu bakterilerde ve bazı maya, mantar ve bitkilerde bulunan plazmidler, halkasal bir DNA molekülüdür. Hücre kromozomlarından ayrılarak oluşan kalıtsal yapılardır. Plazmidler bir bakteriden çıkarılsa bile, hücre normal yaşamını sürdürür. Plazmidlerin çoğu *E.coli* bakterisinden izole edilip tanımlanmıştır. Plazmid 'p' harfi ile ifade edilir (Şekil 1.6).



Şekil 1.6 Plazmid DNA

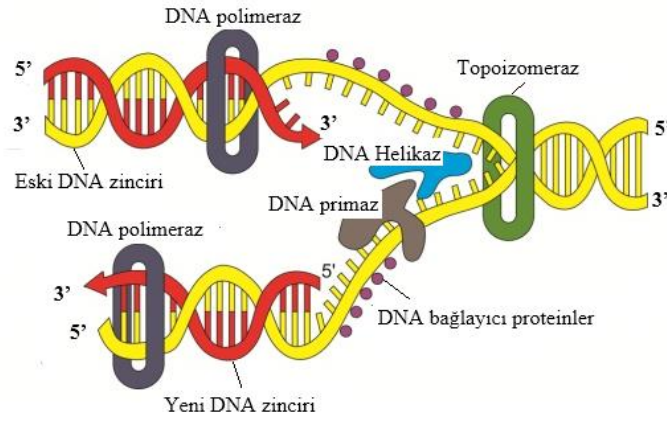
1.2 TEMEL FONKSİYONLARI

Organizmanın büyüme ve gelişmesi için gerekli olan hücre bölünmesi, DNA molekülünün kendini eşlemesi ile başlar. Oluşan yeni DNA moleküllerinde ana zincirden gelen bir DNA iplikçığı ve bir de yeni zincir bulunur. Bu olaya “**semikonservatif replikasyon**” adı verilir (Şekil 1.7).



Şekil 1.7 DNA replikasyonu

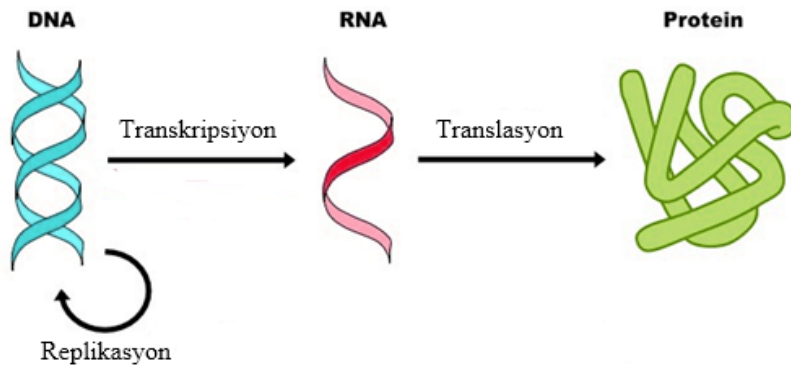
Replikasyonun oluşacağı bölgede DNA ters yönde dönerek açılır. “V” şeklindeki bu bölgeye “replikasyon çatlağı” adı verilir. DNA helikaz enzimi çatala bağlanarak çift sarmalın açılmasını sağlar. Tek zincire DNA bağlayan proteinler bağlanarak zincirin kapanmasını ve nükleazların etkisi ile parçalanmalarını önler. Zincirin açılması sırasında ana DNA molekülünde meydana gelen dönüşlere ve replikasyon yönüne bağlı olarak istenmeyen sağa (pozitif) ya da sola (negatif) süper sarmallar meydana gelir. Bu tür sarmalların oluşması DNA topoizomerazlar adı verilen bir grup enzim tarafından engellenir. DNA topoizomeraz I; DNA molekülünün bir zincirini koparan ya da birleştiren bu enzimlerin hem nükleaz (zincir koparan) hem de ligaz (zincir bağlayan) aktiviteleri vardır. DNA topoizomeraz II; DNA'nın her iki zincirinde geçici kırıklar oluşturur. Kopuk uçları tekrar birleştirerek negatif süpersarmal oluşumunu engellerler. DNA polimerazların etkisi ile sentez 3'-5' yönünde devam eder (Şekil 1.8).



Şekil 1.8 DNA Replikasyonu

5'-3' yönünde sentezin başlayabilmesi için sentezi başlatacak bir RNA primerine ihtiyaç vardır. Bu birimleri sentezleyen enzime "Primaz" denir. DNA polimeraz III, uygun nükleotidleri ekleyerek sentezi gerçekleştirir. Sentezlenen yeni DNA birimlerine "Okazaki fragmanları" adı verilir. DNA polimeraz I, Okazaki fragmanlarındaki RNA parçacıklarını uzaklaştırarak yerlerine DNA parçacıklarının gelmesini sağlar. DNA ligaz enzimi de DNA parçacıklarının birleşmesini sağlar ve iki yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur.

DNA'da saklanan genetik bilginin protein sentezine aktarılmasında aracı olan moleküller ribonükleik asitlerdir (RNA). DNA'dan RNA sentezine transkripsiyon adı verilir (Şekil 1.9).



Şekil 1.9 Gen ekspresyonu

Ribonükleik asit (RNA) nükleotid monomerlerinden oluşan tek zincirli bir nükleik asit molekülüdür. Uygun protein moleküllerinin sentezi için gerekli genetik şifreyi DNA molekülünden ribozomlara taşır. Transkripsiyonla RNA'ya kopyalanan, bir protein molekülüne ait genetik bilginin okunması veya bir protein molekülü haline çevrilmesine

translasyon denir. Transkripsiyon ve translasyon olaylarının toplamı, gen ifadesi (gen ekspresyonu) olarak tanımlanır.

1.3 DNA'YI HEDEF ALAN İLAÇ MOLEKÜLLERİ

DNA klinik çalışmalarda kullanılan pek çok ilacın farmakolojik hedefidir. Transkripsiyonu modüle ederek veya replikasyonu değiştirerek hücre fonksiyonlarını regüle etmek için DNA hedeflenmiştir.

Transkripsiyon, replikasyon hücre yaşamı için ve vücut fonksiyonlarının çalışabilmesi için önemlidir. DNA'ya sinyal geldiğinde transkripsiyona veya replikasyona başlar. Sinyal genelde DNA'nın belirli bir bölgesine bağlanan regülatör bir protein formundadır. Regülatör proteinin bağlanma özelliği veya bağlanma gücü ufak bir molekül tarafından taklit edilirse ve proteinin yerine bağlanırsa DNA inhibe ya da aktive edilebilir. Böylece DNA'nın aktivasyonu bir hastalığı iyileştirmek için gerektiğinde bu küçük sentetik veya doğal molekül, ilaç vazifesi görür.

İlacın hedeflediği bölgede DNA replikasyonu indüklenebilir. DNA inhibisyonu ile protein sentezi ya da replikasyonu durur ve hücre ölümü sağlanabilir.

DNA ilaç etkileşimi üzerinde çalışılması sadece mekanizmayı anlamak için değil aynı zamanda yeni ilaç dizaynı için de heyecan vericidir. Ancak hala DNA-ilac etkileşim mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Etkileşim mekanizmaları anlaşıldıkça yeni ilaç tasarımları ve bunların *in vitro* görüntülenmesi mümkün olacaktır.

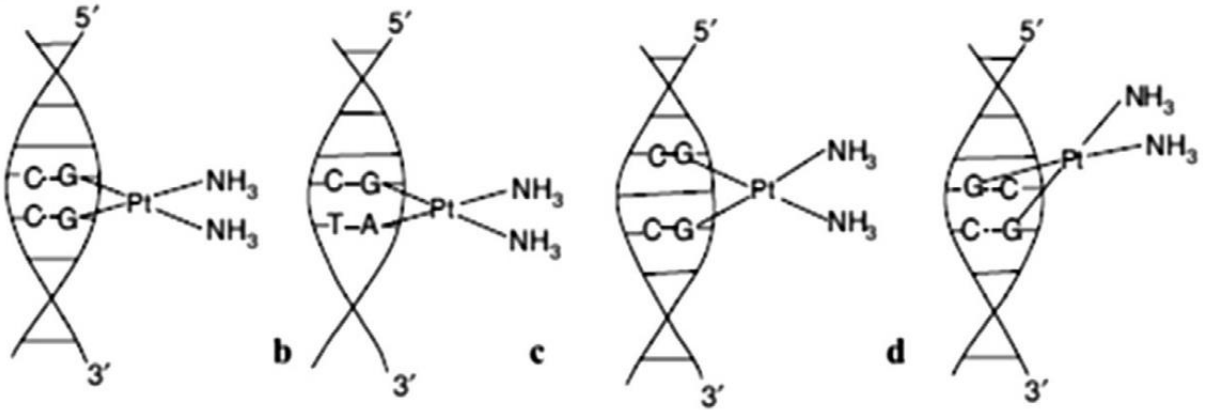
Çizelge 1.1 Bazı hastalıklar, ilaçları ve hedef enzimler belirtilmiştir.

Hastalık	İlaç	Hedef Enzim
Antienflamatuvar	Aspirin	Siklo-oksijenaz
Antidepresan	Desipramine	Monoamine oksidaz
Antikanser	Etoposide	Topoizomeraz
Antiastım	Zileutin	5-lipoksijenaz
AIDS	U75875	HIV proteaz

1.4 KÜÇÜK MOLEKÜLLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM METOTLARI

DNA'nın çift sarmal yapısında bulunan baz çiftleri, genetik mekanizma için kopyalama mekanizmasıdır. DNA klinik deneylerde geliştirilen ilaçların hedefindedir. DNA hedeflenmesinin nedeni ise hücre fonksiyonlarını, transkripsiyonu modüle etmek veya replikasyonun düzenlenmesidir. Küçük ligant moleküller DNA'ya bağlanır, DNA işleyişini inhibe eder veya değiştirir. Bu küçük ligantlar ilaç rolü oynarlar ve bir hastalık kontrol edilmeye çalışılır. DNA-ilaç ilişkisi, yeni ilaç dizaynı ve mekanizmasının anlaşılması için önemlidir. Ne var ki ilaç-DNA mekanizmaları tam bilinmemektedir. Etkileşim mekanizmasını araştıran basit metotlar bulmak çok önemlidir. Mekanizmanın anlaşılması ile yeni ilaçlar dizayn edilecek ve yapay ortamda ilaç etkilerinin gözlenmesi mümkün olacaktır (Rescifina et al. 2014).

İlaç molekülleri DNA ile iki şekilde etkileşir: 1. kovalent 2. kovalent olmayan. kovalent bağlanmanın geri dönüşümü yoktur. DNA prosesini tamamen inhibe eder ve hücre ölür. Cis-platin (cis-diklorodiaminplatinyum), bilinen anti-kanser ilaçlardandır. DNA bazlarındaki azot atomları ile platin arasında bağlanma gerçekleşir. Cis-platin, DNA sarmalının yapısını bozar, transkripsiyon ve replikasyonu etkiler (Şekil 1.10).

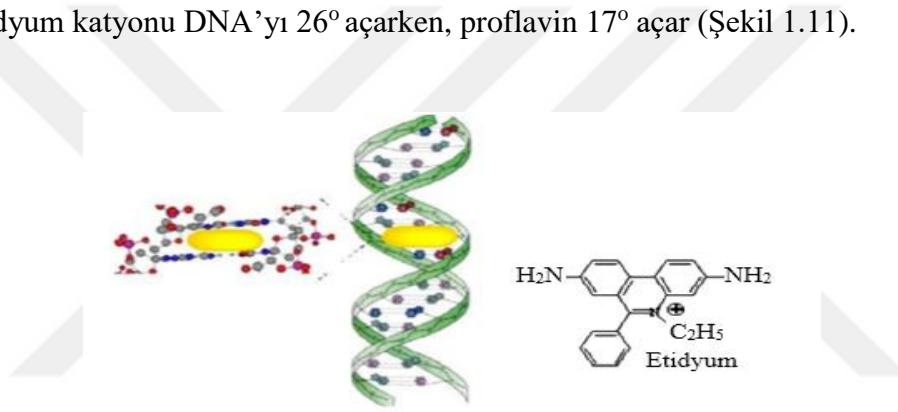


Şekil 1.10 Cis-platinin DNA ile etkileşmesi

Kovalent olmayan etkileşimler: interkalasyon, elektrostatik etkileşimler, minör ve majör boşluklara bağlanma olmak üzere üç şekilde olur.

1.4.1 İnterkalasyon

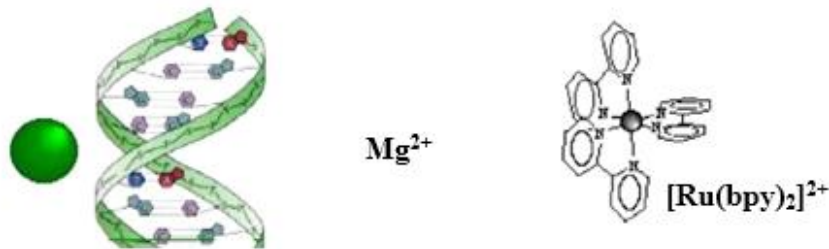
Düzlemsel organik bileşiklerin DNA ile etkileşmesi 1961 yılında Lerman tarafından ortaya konmuştur. İnterkalasyonda düzlemsel heterosiklik bileşikler DNA baz çiftleri arasına yerleşir. İnterkalatörler, DNA ile kovalent bağ oluşturmaz ve DNA bazları arasındaki hidrojen bağlarını kırmazlar. İnterkalatörlerde stabiliteyi Van der waals bağları, hidrojen bağları sağlar. İnterkalasyon yapan moleküller kanser hücrelerinde DNA replikasyonunu inhibe eder ve π - π etkileşimi ile kararlıdır. Böylece iki kovalent olmayan bağlanma şekline göre iyonik kuvvetlere daha az duyarlıdır. İnterkalasyon, DNA çift sarmalını kararlı hale getirir, boyunu uzatır, sertleştirir ve hareketsizleştirir. DNA, interkalasyon yapabilmek için dinamik olarak baz çiftlerini aralar. Açılma derecesi interkalasyon yapacak moleküle göre değişim gösterir. Örneğin etidyum katyonu DNA'yı 26° açarken, proflavin 17° açar (Şekil 1.11).



Şekil 1.11 EtBr'ün DNA baz çiftleri arasına yerleşerek interkalasyon ile etkileşmesi (Sirajuddin et al. 2013).

1.4.2 Elektrostatik etkileşim

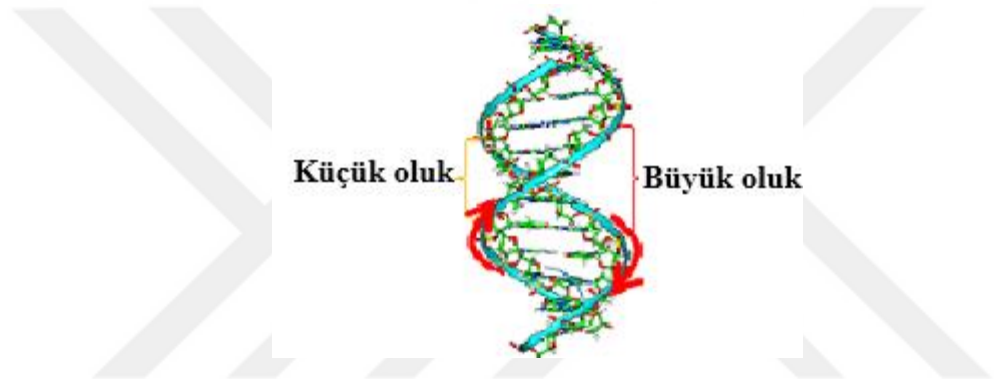
Bazı ligantlar DNA'nın fosfat kısmı ile etkileşir. Anyonik olan DNA fosfat grupları, pozitif yüklü metal iyonlarının bağlanmasıyla elektrostatik etkileşim gerçekleşir ve DNA'nın kararlılığı artar. Ru^{2+} kompleksi pozitif yüklüdür ve negatif olan fosfat, şeker kısmına bağlanır (Şekil 1.12).



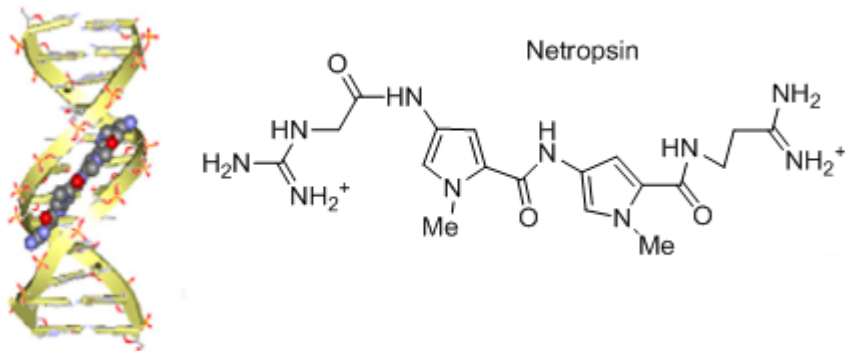
Şekil 1.12 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ molekülünün DNA ile elektrostatik etkileşimi (Sirajuddin et al. 2013).

1.4.3 Oluklara Bağlanma

Bazı küçük moleküller DNA'nın küçük oluğuna hidrojen bağı ile bağlanırlar. Küçük oluğa bağlanan moleküller piro1, furan veya benzen gibi aromatik halka içerir. Bu moleküller ince kıvrımlıdır ve adenin bazının N² ve Timin bazının O² atomuna bağlanırlar. Büyük moleküllerin büyük oluk üzerinden bağlandığı belirtilmiştir. Oluklara bağlanma bölgesi A-T bazlarınca zengin bölgelerdir. Bu bölgelerde yapı, elektronegatiflikten dolayı oluşan hidrojen bağları ve Van der Waals etkileşimleri nedeniyle daha stabil hale gelmektedir. Ayrıca A-T içeren bölgeler, G-C içeren bölgelere göre daha incedir. Oluğa bağlanarak etki gösteren moleküller DNA sarmalını çok az etkiler veya hiç bozmazlar (Şekil 1.13).



Şekil 1.13 DNA molekülünde büyük ve küçük oluklar (Sirajuddin et al. 2013).



Şekil 1.14 Netropsin ve DNA'nın küçük oluğuna bağlanması (Sirajuddin et al. 2013).

Bir antibiyotik olan Netropsin (Şekil 1.14), DNA oluğuna bağlanarak etki gösterir (Sirajuddin et al. 2013).

1.5 DNA İLAÇ ETKİLEŞİM TÜRLERİNİ BELİRLEMEDE KULLANILAN TEKNİKLER

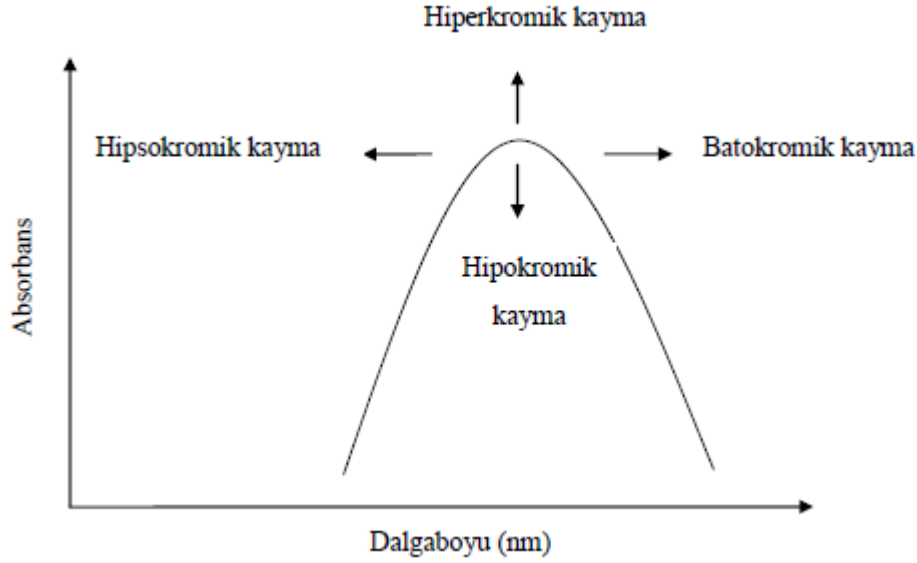
İlaç-DNA komplekslerinin doğasını ve DNA yapısındaki etkilerini ölçmek için bazı teknikler kullanılmaktadır. UV absorpsiyon spektroskopisi, dairesel dikroizm, termal denaturasyon çalışmaları, vizkozimetrik ölçümler, floresans emisyon spektroskopisi ve agaroz jel elektroforez, kütle spektroskopisi gibi yöntemlerdir. Aşağıda bu yöntemler ve DNA etkileşimlerinde kullanım şekilleri verilmiştir:

1.5.1 UV Absorpsiyon Spektroskopisi

Elektromanyetik ışımının madde ile etkileşmesini konu alan bilim dalına spektroskopi denir. Işımanın madde (atomlar veya moleküller) tarafından soğurulması veya yayılması incelenirse, soğurma (absorpsiyon) ve yayınma (emisyon) spektroskopileri olarak adlandırılır. Soğurma yapan elektronları bulunan atom gruplarına kromofor denir. Bir kromofor, görünür bölgede soğurma yapan fonksiyonlu grup olarak tanımlanır.

UV absorpsiyon spektroskopisi, DNA'nın ligant molekülleri ile etkileşimini inceleyen tekniktir. Bu teknikte ligant solüsyonda serbest halde ya da DNA'ya bağlandığında absorbanstaki ve absorpsiyon piklerinin görüldüğü dalga boyundaki değişimler incelenir. DNA'ya interkalasyon ile bağlanan bileşenler genelde hipokromizm ve batokromizm (kırmızıya kayma) ile sonuç verir. DNA'nın ve kompleksin π elektronları etkileşimi ile süreklidir. Dereceli olarak π - π elektron enerji seviyeleri azalır, absorbanstaki kırmızıya kayması kompleksin DNA ile etkileştiğinin göstergesidir. Aromatik kromofor ve DNA baz çifti arası interkalatif etki yüzünden hipokromizmin uzaması interkalatif etkinin kuvveti yüzündendir.

Elektrostatik etkileşimde ise hiperkromik etki DNA'daki değişiklikleri gösteren kriter olur (Şekil 1.15). Elektrostatik veya kısmi interkalasyon etki ile DNA omurgasındaki fosfat grubu aracılığı ile DNA'ya bağlanan katyonlar nedeniyle hiperkromizm görülür (Sirajuddin et al. 2013).



Şekil 1.15 UV-spektrumunda kaymalar

Kompleksin DNA'ya ne kadar kuvvetle bağlandığı UV absorpsiyon titrasyonu sonucunda elde edilen veriler ile hesaplanabilir. Bağlanma sabitinin hesaplanması için geliştirilen formül (1.1) aşağıdadır (Pyle et al. 1989).

$$[DNA] / (\mathcal{E}_A - \mathcal{E}_f) = [DNA] / (\mathcal{E}_B - \mathcal{E}_f) + 1/K_b (\mathcal{E}_B - \mathcal{E}_f) \quad (1.1)$$

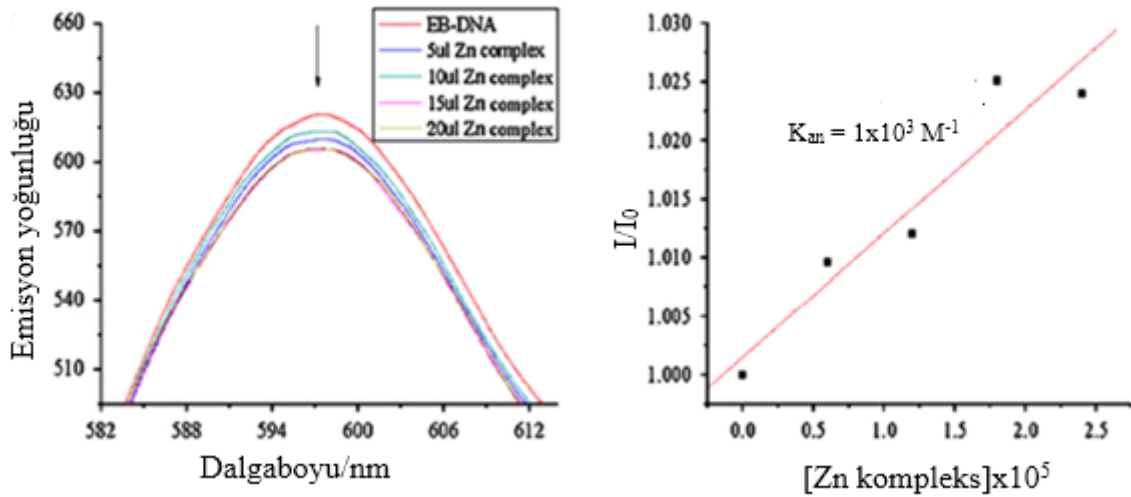
\mathcal{E}_A : ölçülen konsantrasyonda sönüm sayısı, \mathcal{E}_B : DNA'ya tüm komplekslerin bağlanması sonrasındaki sönüm katsayısı, \mathcal{E}_f : serbest haldeki kompleksin sönüm katsayısını ifade etmektedir. $[DNA]/(\mathcal{E}_A - \mathcal{E}_f)$ karşı $[DNA]$ değerleri grafiğe geçirilerek K_b sabitinin sayısal değeri eğimden hesaplanır.

1.5.2 Floresans Emisyon Spektroskopisi

DNA ile küçük ligant etkileşimlerini inceleyen en yaygın tekniklerden biridir. Diğer tekniklere göre avantajı çok hassas olmasıdır. En yoğun ve hassas floresans, fonksiyonel grup içeren aromatik bileşikler ile $\pi \rightarrow \pi^*$ düşük enerji geçişli bileşiklerde görülür. Birçok bileşik ve metal kompleksi az de olsa floresans özellik göstermektedir. Floresans emisyon deneyleri kompleksin etkileşim modu hakkında bilgi verir. Floresans emisyon spektroskopisi ile yapılan çalışmada metal kompleks içeren çözeltinin spektrumu alınarak artan miktarlarda DNA eklenir, alınan spektrumda değişimler incelenir. DNA ile interkalasyon yapan ilaçlar ile etkin

bir etkileşim, floresans yoğunluğunu belirgin bir seviyede artırır ya da azaltır. İnterkalasyon yapan ilaç molekülleri DNA sarmalındaki aminli bazlara yaklaşır. Aminli bazlar DNA'nın iç yüzeyine hidrofobik özellik kazandırmaktadır. Su molekülleri ile etkileşmeyen ilaç molekülleri floresans özellik gösterebilmektedir. DNA ile elektrostatik ve oluklara bağlanma şeklinde etkileşimde, şeker, fosfat omurgasına yakın olan bu moleküllerin floresans yoğunluğunda azalma gözlenir.

Floresans emisyon spektrumu ile DNA ile etkileşim türünün belirlenmesinde kullanılan diğer bir yöntem de, yarışmalı bağlanma yöntemidir. Etidyum bromür (EtBr) DNA'ya bağlanan genel bir florofordur. DNA varlığında floresans özelliği DNA bazları ile yaptığı kuvvetli interkalasyon nedeniyle ile artar. Ortama ilaç molekülü ilave edildiğinde ve DNA ile interkalasyon yaparsa EtBr-DNA'nın floresansı düşer (Şekil 1.16). Çünkü ilaç molekülü EtBr ile yarışarak DNA'ya bağlanacaktır (Sirajuddin et al. 2013).



Şekil 1.16 EtBr'ün floresans yoğunluğu, interkalasyon yapan kompleks varlığındaki düşüşü

Klasik Stern-Volmer eşitliği (eşitlik 1.2) ile elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda DNA ile komplekslerin etkileşim gücü değerlendirilebilmektedir (Eftink and Ghiron 1981).

$$I/I_0 = I + K [Q] \quad (1.2)$$

I ; ölçüm yapılan dalga boyundaki floresans yoğunluğunu, I_0 ; kompleks eklenmeden önceki floresans yoğunluğunu, $[Q]$ baskılayıcı molekül derişimini, K ise bağlanma derecesini verir.

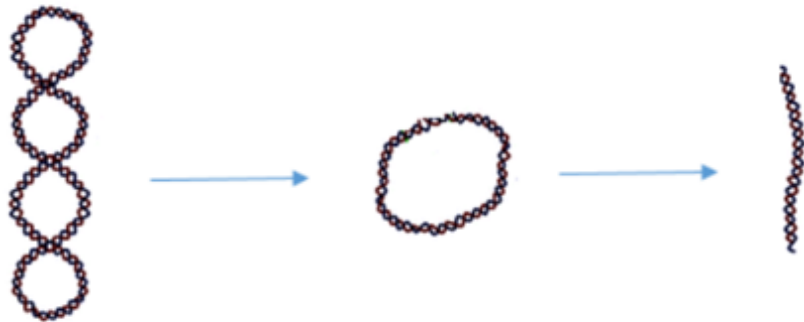
I/I_0 değerlerine karşı $[Q]$ değerleri grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun eğiminden K hesaplanır.

1.5.3 Agaroz Jel Elektroforez

Agaroz, deniz yosunundan üretilen bir polisakkarittir. Sulu çözeltisi katı bir jel halindedir. Elektriği iletecek bir tampon çözelti varlığında, agaroz jele bir elektriksel alan uygulandığında, DNA molekülleri belirli bir hızla anoda doğru jelin içinde hareket eder. Çünkü DNA molekülü negatif yüklüdür. Elektroforez, DNA moleküllerini yük ve boyutlarına göre ayırmak için kullanılabilir. Küçük moleküller daha hızlı, agaroz liflerin oluşturduğu ağın engeline takılan büyük moleküller yavaş hareket eder. Örnekler jel üzerindeki kuyucuklara yerleştirilir. Güç kaynağı açılır ve DNA molekülü jel üzerinde yürütülür. Eklenen boya da göç eder ve elektroforez işlemini takip etmede kullanılır. Elektroforezden sonra EtBr ile boyanır. Görüntüsü UV ışığı altında alınır (Turner and McLennan 2004).

Bu amaçla dış etkenlerle farklı yapısal formlara dönüşen plazmid DNA'lar kullanılır (Şekil 1.17);

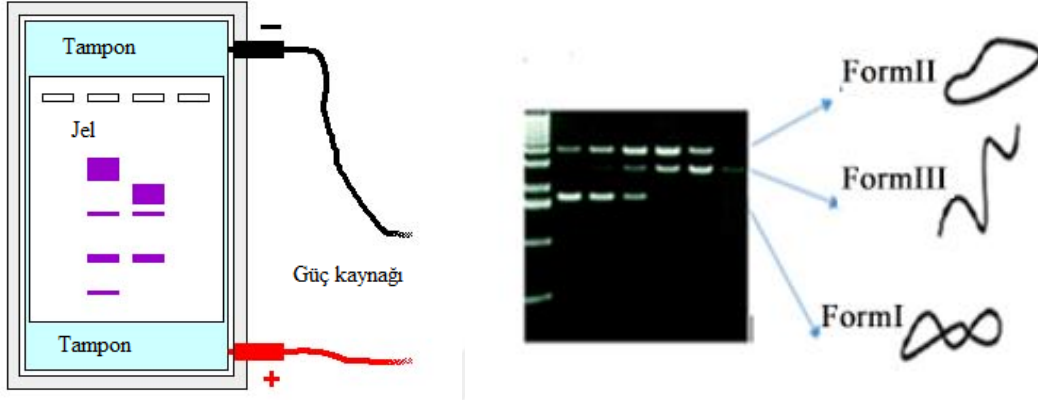
1. Süper sarmal plazmit DNA (süpercoil Form I): Çift sarmal DNA'nın kendi eksenini etrafında birkaç kez 360° dönmesinden kaynaklanır.
2. Tek zincir kırığı içeren dairesel DNA (open circular Form II).
3. Sarmal DNA'nın iki ucu açık ise lineer formdur (lineer form Form III). (Dilsiz 2009).



1.Süper sarmal DNA (Form I) 2.Açık sarmal DNA (Form II) 3.Lineer DNA (Form III)

Şekil 1.17. Plazmid DNA geçişleri

Süpersarmal form (Form I), sıkı bir konformasyona sahiptir ve hareket kabiliyeti yüksektir. Kırık yoktur. Dairesel form (Form II), süpersarmal DNA'nın bir zincirinin kırılmasıyla oluşan konformasyon daha düşük hareketliliğe sahiptir. Lineer form (Form III) DNA zincirinde birden fazla kırık bulunan konformasyonun hareketliliği iki form arasındadır (Şekil 1.18).



Şekil 1.18 Elektroforez cihazı ve DNA formlarının hareketinin görüntüsü

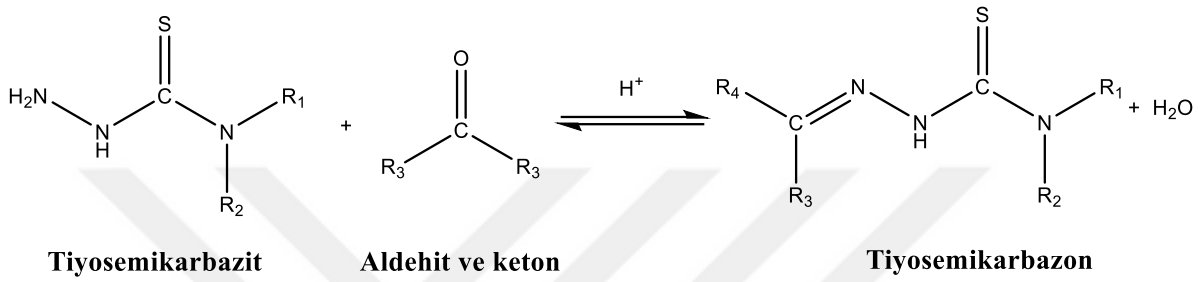
1.6 TİYOSEMİKARBAZONLAR

Tiyosemikarbazonların biyolojik etkileri, yapısal çeşitliliği ve bağlanma özelliği nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmektedir. 60'lı yıllarda tiyosemikarbazonların N, S donör bağları ve bunun koordinasyon kimyasında önemi anlaşıldı. Tiyosemikarbazon laboratuvar ortamında tiyosemikarbazit ile aldehit ya da ketonların kondenzasyonu sonucu sentezlenmektedir. 1974'de Ali ve Livingstone N, S donör ligandlar ile tiyosemikarbazonların kimyasına dikkat çektiler (Ali and Livingstone 1974). Bunu 1975 yılında Campbell takip etti (Campbell 1975). 1985'de metal-tiyosemikarbazon kimyası Padhye ve Kauffman tarafından, 1993'de West ve arkadaşları, 2000'li yıllarda Casas ve arkadaşları tarafından ortaya konmuştur (Casas et al. 2000, Padhye and Kauffman 1985, West et al. 1993). Bu çalışmalar sonucunda metal komplekslerinin sentezi, spektroskopik özellikleri, kristal yapıları ve biyolojik uygulamaları aydınlatılmıştır (Ali and Livingstone 1974, Campbell 1975, Casas et al. 2000, Padhye and Kauffman 1985, West et al. 1993, West et al. 1991).

1990 yılından itibaren geçiş metal kompleksleri ile tiyosemikarbazonlar hakkında yayınlar artmış zaman içerisinde bu maddelerin kullanışlı olduğu ortaya çıkmıştır (Lobana et al. 2009). Tiyosemikarbazon türevlerinin çoğu ilaç endüstrisinde, parfüm, boya kauçuk ve elektronik gösteri sistemleri içinde sıvı kristaller olarak kullanım alanlarına sahiptir. Hidrazin

grubundaki amin azot atomuna sahip olması tiyosemikarbazon türevi komplekslerin antienflamatuvar, antimutajenik, antikarsinojenik, antialerjik, antitümör aktivite sergilemesine nedendir. Ayrıca donör atomlarının varlığı, sağlam şelat halkalarının oluşumunu kolaylaştırır. Böylece kompleksin etkinliğinin arttırdığı belirtilmektedir (Shawish et al. 2014).

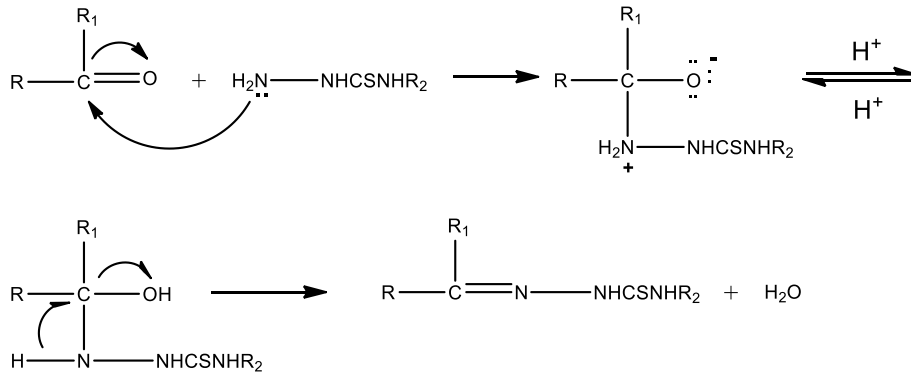
Tiyosemikarbazit ile aldehit veya ketonların kondenzasyonundan tiyosemikarbazonlar elde edilir (Şekil 1.19). Kondenzasyon reaksiyonu aşağıda verilmiştir:



Şekil 1.19 Tiyosemikarbazonların sentezi

Tiyosemikarbazon ligandına bağlı olan R^1 , R^2 , R^3 , R^4 grupları önemlidir. Tiyosemikarbazon, aldehitten elde edilmiş ise karbona bağlı bulunan sübstitüentten biri hidrojen iken R^1 'e bağlı ikinci sübstitüent bir alkil, bir aril veya heterosiklik bir gruptur. Benzer şekilde, N^1 azot atomuna bağlı grupların her iki hidrojen atomu ya da bir tanesi hidrojen atomu diğeri alkil, aril grubu olabilir.

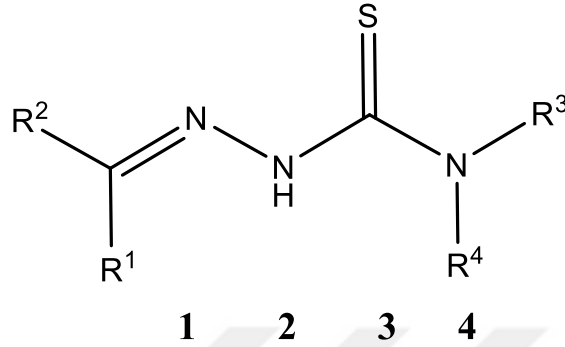
Tiyosemikarbazonlar, tiyosemikarbazitlere göre zayıf baz özelliği gösterir (Sing et al. 1978). Tiyosemikarbazit ile aldehit ve ketonların tepkimesi nükleofil olan bir grubun karbonil karbonuna katılmasıdır. Karbonil karbonunda oksijenin elektron çekmesi elektron yoğunluğunu azalmasına neden olur. Nükleofil, karbonil karbonuna bağlanırken karbon oksijen çift bağı açılır. Ara ürünün su kaybetmesi ile azometin bağı oluşur. $C=N$ çift bağına azometin bağı denir (Şekil 1.20).



Şekil 1.20. Tiyosemikarbazonun hidrolizi

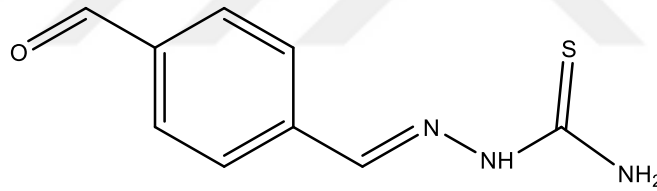
1.6.1 Tiyosemikarbazonların Adlandırılması

Tiyosemikarbazonlar, yapılarında karbon, kükürt, hidrojen ve azot bulunduran organik bileşiklerdir. $H_2C=NNHC(=S)NH_2$ kapalı formülüne sahiptirler. IUPAC sistemine göre numaralandırılmış yapı aşağıda gösterilmiştir (Şekil 1.21):



Şekil 1.21 IUPAC numaralandırma sistemi

Tiyosemikarbazonlara ait adlandırılma örnekleri; karbotiyoamit azotuna veya hidrazin grubuna bağlı süstitüent alfabetik sıra takip edilerek hidrazinkarbotiyoamit eki getirilerek adlandırılır (Şekil 1.22).

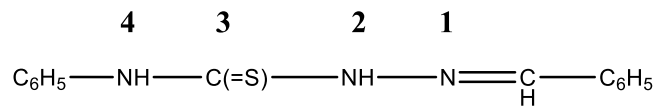


Şekil 1.22 (2E)-2-(4-formilbenzilidin) hidrazintiyokarboamid

Tiyosemikarbazonlar adlandırılırken öncelikle reaksiyona girdiği aldehit ya da ketonun adı, sonra tiyosemikarbazon eki getirilerek adlandırılır. Farklı adlandırma çeşitleri aşağıda verilmiştir (Şekil 1.23 1.24):



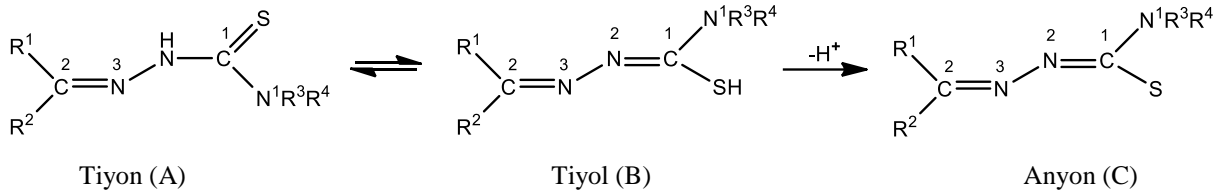
Şekil 1.23 Benzilidentiyosemikarbazit veya Benzaldehittiyosemikarbazon



Şekil 1.24 4-Feniltiyosemikarbazidbenzalhidrozon veya (N-benziliden-4-feniltiyosemikarbazid)

1.6.2 Tiyosemikarbazonlarda Tautomerizm

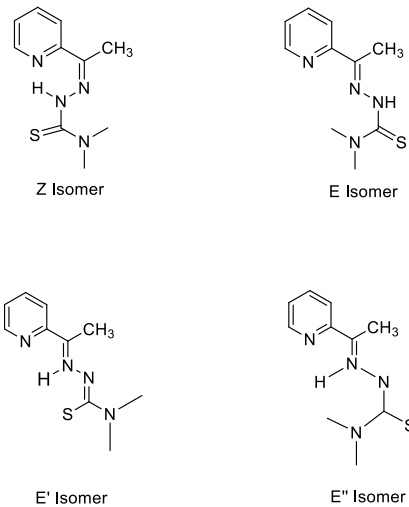
Tautomeri, birbirine dönüşebilen bileşiklerin dengede bulunmasıdır. Tiyosemikarbazonlar NH-C=S grubu içermektedirler. Bu nedenle bu ligandlar genellikle tiyon–tiyol (S=O; S–H) tautomerizm ortaya koyar (Şekil 1.25). Çözelti içerisinde tiyon–tiyol form, dengededir.



Şekil 1.25 Tiyon-tiyol formu

Metal iyonuna nötral tiyon (A) veya anyonik (C) form ile bağlanabilir. Anyonik form –SH grubunun hidrojen iyonunu kaybetmesiyle oluşmaktadır. Tiyosemikarbazonların bağ oluşturması nötral ve anyonik formlar üzerinden olduğu belirtilmektedir (Lobana et al. 2009).

N=C grubu varlığında *E* ve *Z* stereo izomerleri görülür (Şekil 1.26). Termodinamik kararlılığa göre, *E* izomer karışımda daha üstündür (West et al. 1993). Bu durumda bileşik bir dişli ligant olarak hareket eder. Yalnız sülfür sayesinde koordine olabilir. Yapıda sülfür, merkezde ise hidrazin azot ve amit azot ile koordine olan bileşik, iki dişli olarak davranır. Yapıda bulunan grupların sterik etkileri ligandın stereokimyasını belirgin şekilde etkilediği belirtilmiştir. Şelat yapılarında elektron delokalizasyonundan dolayı kompleksin kararlı olmasını *Z* formu sağlar (West et al. 1995).



Şekil 1.26 Tiyosemikarbazon içeren ligandın izomerleri

1.6.3 Tiyosemikarbazonların Spektrofotometrik Uygulamaları

Orta derece asidik ortamdan, orta derece bazik ortama uzanan aralıkta tiyosemikarbazonlar renkli metal kompleksleri meydana getirir. Bunlardan ancak birkaç tanesi kuvvetli asidik metal iyonunun tayininde kullanılır. Sikloheksan-1,2-dion ditiyosemikarbazon bazik ortamda, alkali tartarat ve EDTA ortamında Cu(II) tayininde kullanılmıştır. Aldehit grubuna orta durumunda OH grupları bulunduran tiyosemikarbazonların genellikle renkli reaksiyonlar verdiği gözlenmiştir. Tiyosemikarbazonlar bakır için oldukça seçici ve hassastırlar.

1.6.4 Tiyosemikarbazonların İndikatör Olarak Kullanılmaları

En çok bilinen uygulaması, metalin EDTA çözeltisine karşı direkt titrasyonunda pirinç (bakır-çinko) ve tunç (bakır-kalay) da bulunan bakırı ve monel çeliğindeki nikeli tayin etmekte kullanılır.

1.6.5 Tiyosemikarbazonların Gravimetrik Reaktif Olarak Kullanılması

Tiyosemikarbazonların çok kısmı metallerin gravimetrik tayininde kullanılır. 4-Etil-sülfonil benzaldehit tiyosemikarbazonun % 0,1'lik etanoldeki çözeltisi 2,5 M'dan daha az asidik ortamda Hg^{2+} 'nın gravimetrik tayini için kullanılır. Paladyumun gravimetrik tayininde 2-furaldehid-4-fenil-3-tiyosemikarbazonun % 2'lik etanol çözeltisi pH 3-5 aralığında kullanılmıştır.

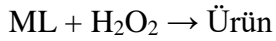
1.6.6 Tiyosemikarbazonların Potasyometrik çalışmalarda Kullanılması

2-Hidroksi-1-naftaldehid-4-fenil-3-tiyosemikarbazonun Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , VO^{2+} kompleksleri pH titrasyonu yönünden incelenmiş, proton-ligant kararlılık sabiti $1,43 \times 10^{10}$ dur. Bu dört metal 1:2 kompleksleri oluşturur, kararlılık sabitleri sırası ile ($VO^{2+}>Cu^{2+}$) ve ($Co^{2+}>Ni^{2+}$) şeklindedir.

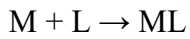
1.6.7 Tiyosemikarbazonların Kinetik Uygulamaları

Kinetik metotlarla metal tayininde tiyosemikarbazonlar, büyük kullanım alanına sahiptir. Tiyosemikarbazon ligandı dört kullanım şekline sahiptir:

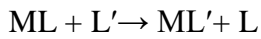
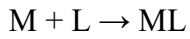
1- Metalin katalizlenmesinden yararlanıp ligandın hidrojen peroksit ile yükseltgenmesine dayanarak metal tayini.



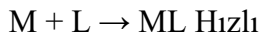
2-Normal stokiyometrik reaksiyonuna dayanılarak metal ve ligandın belirli stokiyometrik oranlarda kompleks oluşturması ile metalin tayini.



3-Tiyosemikarbazonlardan farklı iki ligandın kompleksleşmede metal ile yer değiştirerek gerçekleşen reaksiyondan yararlanılmasıyla metalin tayin edilmesi.



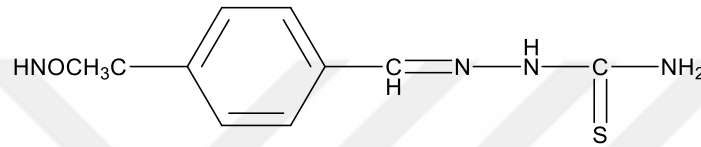
4-İki farklı metalin aynı ligantla verdiği komplekslerin oluşum hızından yararlanıp iki metal aynı ortamda ayrıştırmaya gerek duyulmadan metalin tayin edilmesi (Öztunar 2006).



1.6.8 Tiyosemikarbazonların Biyolojik Aktivitesi

Tiyosemikarbazonlar ilk kez 1894 yılında hazırlanmıştır (Pulvermacher 1894). 1902 yılında aldehit reaktifi olarak analitik amaçlarla çeşitli tiyosemikarbazonlar sentezlenmiştir (Freund and Schander 1902).

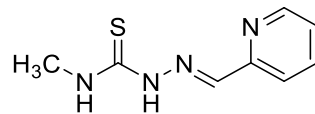
1946 yılında Domagk ve arkadaşları *p*-asetilaminobenzaldehit tiyosemikarbazonu sentezlemişler (Şekil 1.27) ve 1948 yılında Behnisch ve arkadaşları maddenin tüberkülostatik etkisini saptamışlardır (Behnisch et al. 1950, Domagk et al. 1946).



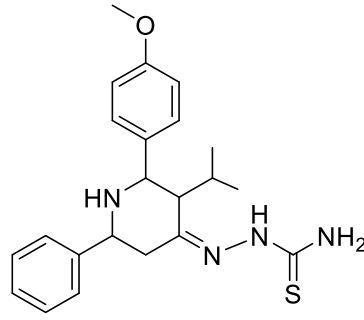
Şekil 1.27 *p*-asetilaminobenzaldehit tiyosemikarbazon

Bavin ve arkadaşları süstitüye benzaldehit tiyosemikarbazonları tüberkülostatik etkilerini incelediklerinde 2- konumunda hidroksil, 4- konumunda nitro, asetilamino ve etilsülfanil grupları içeren bileşiklerin aktif olduğunu görmüşlerdir (Bavin et al. 1950).

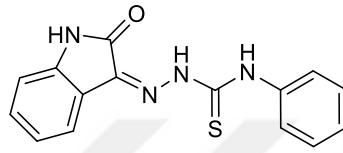
Mignot ve arkadaşları 1980 yılında aldehit tiyosemikarbazonların antienflamatuvar etkilerini ve yapı-etki mekanizmasını araştırmışlar *o*-metoksi benzaldehit tiyosemikarbazonu kuvvetli aktivite ve toksisitesinin düşük olması nedeniyle farmakokinetik çalışmalarını ³⁵S işaretleyerek yapmışlardır (Mignot et al. 1980). Antiviral ve antikanser gibi biyolojik etkileri üzerindeki çalışmalar devam etmiştir (Olgun 1987). Tiyosemikarbazon türevlerinden, 2-piridinaldehit-4-*N*-metiltiyosemikarbazon ligandı antibakteriyel (Şekil 1.28), 3-izopropil-2-(4-metoksifenil)-6-fenilpiperidin-4-tiyosemikarbazon antiepileptik (Şekil 1.29), isatin-3-*N*⁴-benziltiyosemikarbazon (IBTC) ligandı antioksidan (Şekil 1.30) etki göstermiştir. Paladyum fenantrenkinon tiyosemikarbazon kompleksi antitümör aktiviteye örnektir (Singhal et al. 2013).



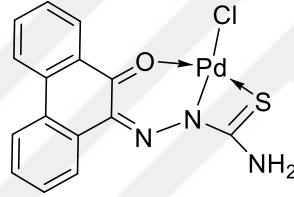
Şekil 1.28 Antibakteriyel etki gösteren 2-piridinaldehit-4-*N*-metiltiyosemikarbazon ligandı



Şekil 1.29 Antiepileptik etki gösteren 3-izopropil-2-(4-metoksifenil)-6-fenilpiperidin-4-tiyosemikarbazon



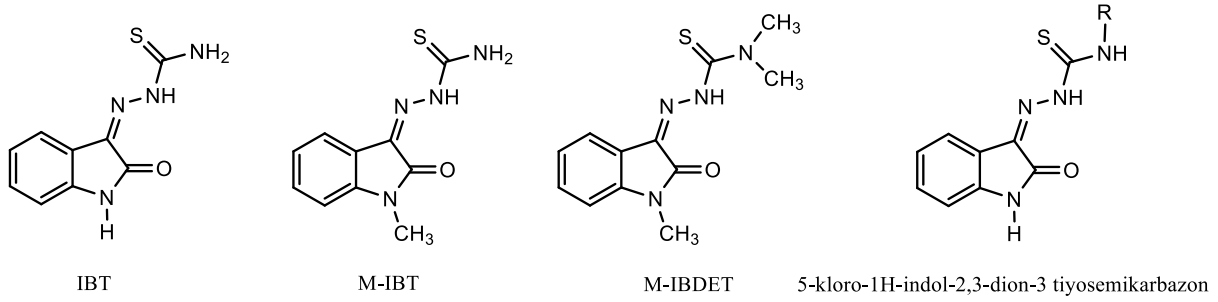
Şekil 1.30 Antioksidant aktivite gösteren İsatın-3-N⁴-benziltiyosemikarbazon (IBTC) ligandı



Şekil 1.31 Antitümör aktivite gösteren paladyum fenantrenkinontiyosemikarbazon kompleksi

İsatın- β -Tiyosemikarbazon (IBT) ve N-metilisatin- β -tiyosemikarbazon (M-IBT, metisazon), N-metilisat- $\beta,4'$, 4-dietiltiyosemikarbazonun (M-IBDET) antiviral etki gösterdiği tespit edilmiştir (Neyts and De Clercq 2003, Ronen and Teitz 1984).

5-Kloro-1*H*-indol-2,3-dion-3-tiyosemikarbazon formunun (Şekil 1.32) çok çeşitli bakteri, virüs ve kanser hücrelerinin gelişimini yavaşlattığı belirtilmektedir. Çoklu ilaç (MDR) testleri yapılırken, tiyosemikarbazon türevlerinin etkili olduğu tespit edilmiştir (Ermüt et al. 2013).

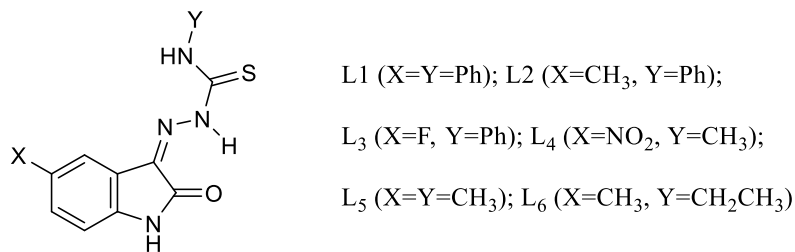


Şekil 1.32 Antiviral etki gösteren tiyosemikarbazon türevleri

Tiyosemikarbazonların yapısal özellikleri ile ilgili kapsamlı araştırmalar yapılmıştır (Bal et al. 2007, Hu et al. 2006, Murugkar et al. 1999, Prabhakaran et al. 2013). Tiyosemikarbazonların biyolojik aktivitesi C=S yapısından, tiyosemikarbazonların metal komplekslerinin biyolojik etkisinin ise tiyosemikarbazonların metal iyonlarıyla şelat yapma özelliğinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Prabhakaran et al. 2011, Prabhakaran et al. 2008, Prabhakaran et al. 2013, Prabhakaran et al. 2012a, Prabhakaran et al. 2007).

Tiyosemikarbazonların antitümör aktiviteleri ile ilgili olarak üç nokta üzerinde durulmuştur: Birincisi; tiyosemikarbazonların ribonükleik redüktaz aktivitesini inhibe ettiği, (Chen et al. 2004), ikincisi; tiyosemikarbazonların apoptozise uğramış DNA ve topoizomeraz II ile oluşturulan kompleksleri stabilize ettiği (Li et al. 2001), üçüncüsü ise ATP'ye bağlanarak taşıyıcı proteinlerdeki moleküllerin hareketini kolaylaştırdığı ve direncini arttırdığıdır. Bu aktivitelerin önemi biyolojik proseslerin takip edilmesi ve terapötik ilaçların geliştirilmesinde önemli olduğu belirtilmiştir (Hall et al. 2009).

Ali ve arkadaşları, altı yeni tiyosemikarbazon ve isatin(1*H*-indol-2,3-dione) içeren türevler sentezlemiştir. L₁, L₂ ve L₃ ligantları tiyosemikarbazon grubu içermektedir (Şekil 1.33).



Şekil 1.33 Tiyosemikarbazon ve isatin içeren L₁-L₆ ligantları

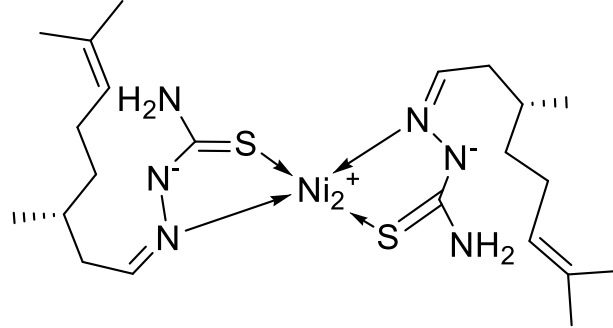
L₁-L₆ ligantların kanser hücresine karşı *in vitro* antiproliferatif etkisi değerlendirilmiştir. Absorbsiyon çalışmaları, spektral emisyon çalışmaları ve viskozite ölçümleri DNA ile interkalasyon yoluyla bağlanmayı ortaya koymuştur. Elektroforez çalışması ile plazmid DNA'nın kırıldığı, kırılmanın konsantrasyona bağlı olduğu görülmüştür. L₃ ligandının kolon kanser hücre hatlarına karşı daha yüksek bir sitotoksik aktivite sergilediği bulunmuştur (Ali et al. 2014).

1.6.9 Tiyosemikarbazonların Metal Kompleksleri

N, S donör atomları içeren tiyosemikarbazon bileşiklerinin metaller ile oluşturdukları kompleksler dikkat çekicidir (Casas et al. 2000, Mishra et al. 2006, Netalkar et al. 2015). Bunun nedeni, moleküller arası hidrojen bağları, azometin karbonundaki sterik gruplar ve π - π etkileşimleri olabilir (Metcalf and Thomas 2003, Poyraz et al. 2008, Prabhakaran et al. 2012a, Ze-hua et al. 2000). Donör atomlar, metal iyonlarla koordine olan ligantlara esneklik kazandırabilir ve tek ya da çok dişli kompleksler oluşturabilir (Prabhakaran et al. 2011, Prabhakaran et al. 2012a, Shawish et al. 2014, Shebaldina et al. 2004). Tiyosemikarbazonların farmakolojik ve biyolojik özelliklerin C=S yapısına bağlı olduğu ve geçiş metal iyonları ile oluşturulan şelat yapıdan kaynaklandığı belirtilmiştir (Prabhakaran et al. 2011, Prabhakaran et al. 2012b).

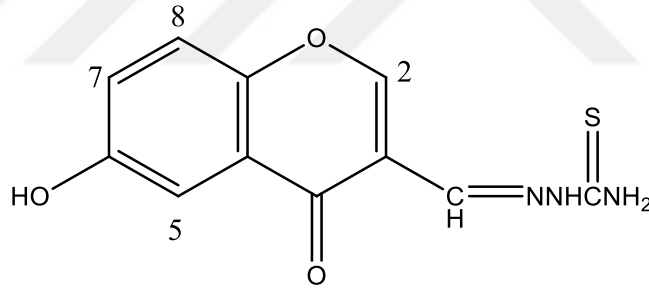
Tiyosemikarbazonlar ve metal kompleksleri ile ilgili alanda yoğun çalışmalar yapılmıştır. Tiyosemikarbazon kükürt atomu üzerinden metale bir dişli ligant olarak koordine olduğu birçok komplekste ise azometin azotu ve kükürt atomu ile iki dişli ligant olarak koordine olduğu belirtilmiştir. Elektron veren merkezlere yakın fonksiyonel grupların varlığında ise üç dişli ligant olarak koordine olduğu ifade edilmektedir. Koşullara bağlı olarak kompleksler nötral, anyonik, katyonik olabilir. Tiyosemikarbazonların daha çok yüksüz tiyon formunda metaller ile kompleks oluşturduğu ancak son çalışmalarda tiyol formuyla metale koordine olan çalışmalar da vardır (West et al. 1984). Tiyosemikarbazon içeren ligantların geçiş metalleri ile yaptığı bazı metal kompleksleri sentezlenmiştir. Bu konuda yapılan bazı çalışmalar şunlardır:

Buschini ve arkadaşları, $[\text{Ni}(\text{S-tcitr})_2]$ (S-tcitr= S-sitronellatiyosemikarbazon), kompleksin antiproliferatif etki gösterdiği (Şekil 1.34) ve telomeraz etkinliğini sınırlamada etkin olduğu belirlenmiştir (Buschini et al. 2009).

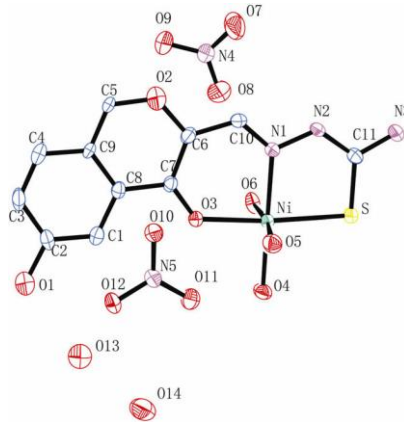


Şekil 1.34 $[\text{Ni}(\text{S-tcitr})_2]$ kompleksi

Wang ve arkadaşları, 6-hidroksi kromon-3-karbaldehit tiyosemikarbazon içeren (Şekil 1.35) Ni(II) kompleksini sentezlemiş (Şekil 1.36), DNA'ya bağlanma ve sitotoksik aktivitesini çeşitli yöntemlerle incelemiştir. Kanser hücre hatlarına karşı etkisinin olduğunu ve DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığını tespit etmişlerdir (Wang et al. 2009).

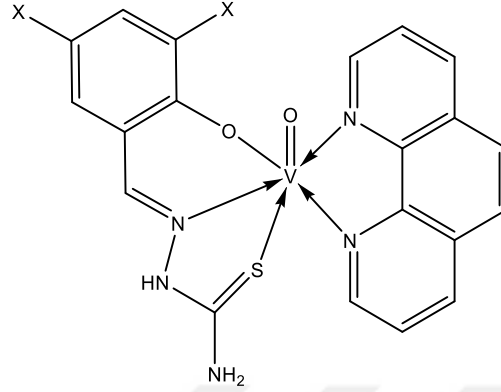


Şekil 1.35 6-Hidroksi kromon-3-karbaldehit ligandının molekül yapısı



Şekil 1.36 Ni(II) kompleksinin tek kristal yapısı

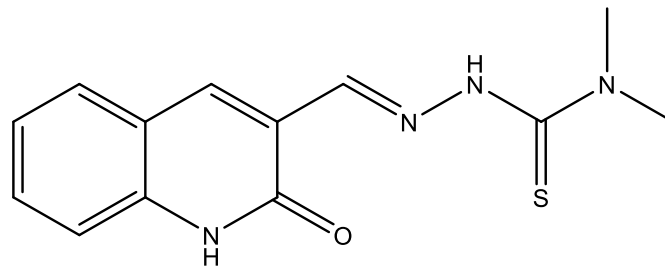
Lu ve arkadaşları, iki oksovanadyum kompleksi sentezlemişlerdir. $[\text{VO}(\text{satsc})(\text{phen})]$ (**1**) (satsc= salisilikaldehit tiyosemikarbazon, phen= 1,10-fenantrolin) ve $[\text{VO}(3,5\text{-dibrsatsc})(\text{phen})]$ (**2**) (3,5-dibrsatch= 3,5-dibromsalisilaldehit tiyosemikarbazon) (Şekil 1.37).



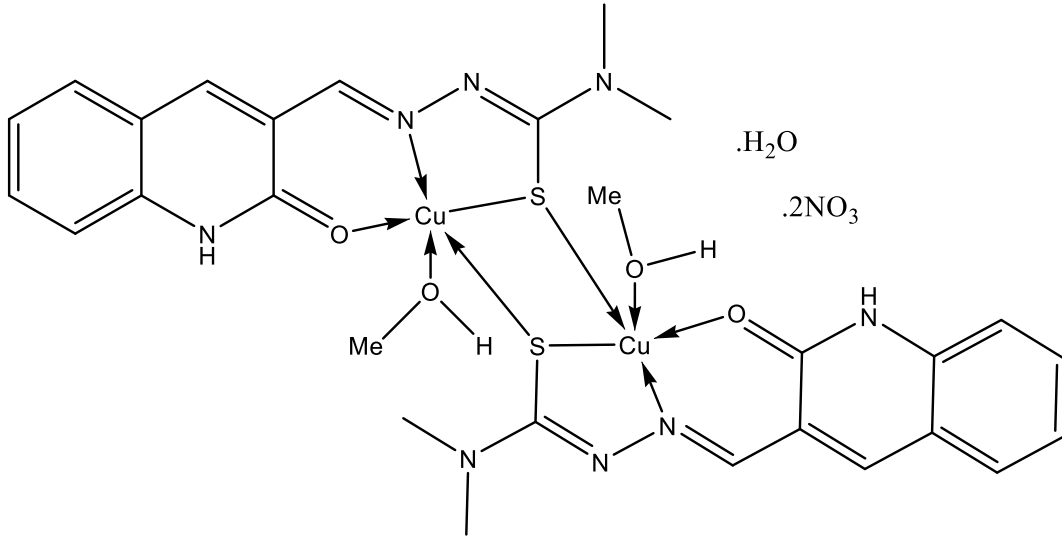
Şekil 1.37 Kompleks $[\text{VO}(\text{satsc})(\text{phen})]$ (**1**), X= H ve $[\text{VO}(3,5\text{-dibrsatsc})(\text{phen})]$ (**2**), X= Br

Sentezlenen iki kompleksin ct-DNA'ya etkisi araştırılmış, kompleks **1** ve **2**'nin ct-DNA ile kuvvetli bir şekilde etkileştiği tespit edilmiş. İki kompleks karşılaştırıldığında **2**. kompleksin 3 ve 5 konumunda iki brom atomunun bağlı olması kompleksin ct-DNA'ya bağlanma kuvvetini düşürdüğü görülmüş. Ligantların, aromatik yapısındaki tanımlanan elektronik etkilerin DNA'ya bağlanan kompleksin işlevini direkt olarak etkilediği belirtilmiştir (Lu et al. 2011).

Raja ve arkadaşları, Cu(II) metaline bağlanmış, 2-okso-2,2-dihidrokinolin-3-karbaldehit 4(N,N)-dimetiltiyosemikarbazon (HL) ligandı (Şekil 1.38) ile oluşturulan kompleksin kare piramidal yapıda olduğu ve Cu(II)'nin sülfür atomu ile bağ oluşturduğu belirlenmiş (Şekil 1.39).



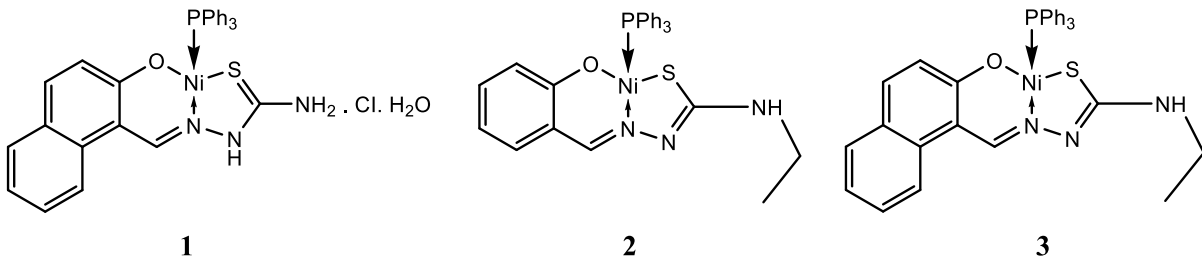
Şekil 1.38 2-okso-2,2-dihidrokinolin-3-karbaldehit 4(N, N)-dimetiltiyosemikarbazon (HL)



Şekil 1.39 (HL) ligandından oluşturulan Cu(II) kompleksi

Spektroskopik deneysel veriler ligandın ve kompleksin CT-DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiğini göstermiş. Elektrophorez ile yapılan çalışmada pBR322 plazmid DNA'yı bozduğu görülmüştür (Raja et al. 2012).

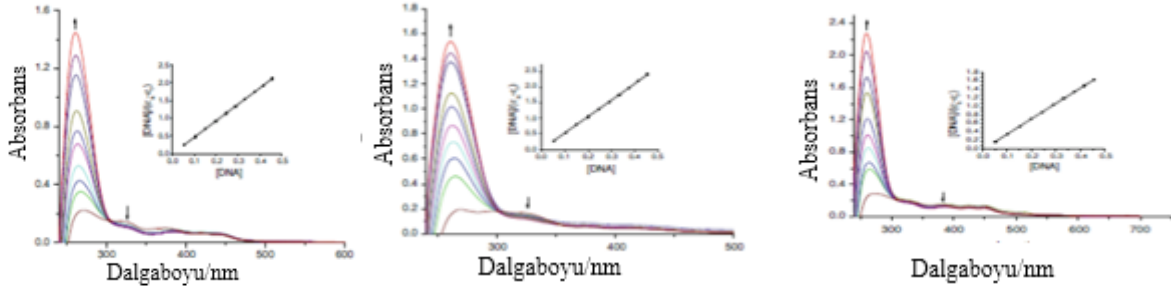
Prabhakaran ve arkadaşları, platini taklit eden biyolojik olarak aktif tiyosemikarbazon içeren üç yeni nikel kompleksi sentezlemişler ve DNA'ya bağlanmalarını, antioksidan ve sitotoksik aktivite özelliklerini incelemişlerdir (Şekil 1.40).



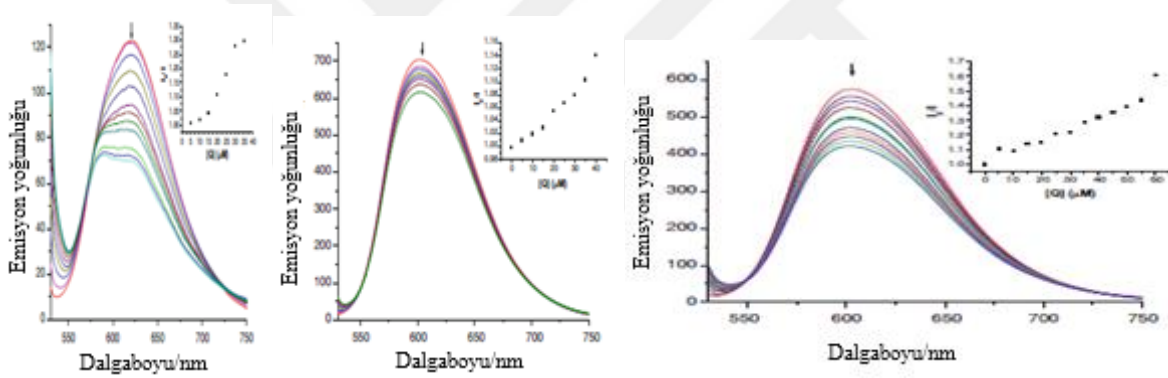
Şekil 1.40 Tiyosemikarbazon içeren Ni kompleksleri

Kompleks 1'deki ligant, 2-hidroksi-1-naftanaldehit tiyosemikarbazon monobazik üç dişli donör olarak bağlıdır. 2. ve 3. kompleksler dibazik üç dişli donör olarak koordineli salisilaldehit-4-*N*-etiltiyosemikarbazon ve 2-hidroksi-1-naftalaldehit-4-*N*-etil tiyosemikarbazon ligantlarını içerir.

Komplekslerin UV titrasyonu sonucunda (CT-DNA, fosfat tamponu, pH -7) elde edilen grafiklerde (Şekil 1.41), bağlanma sabitleri sırası ile $2,2 \times 10^5$, $8,8 \times 10^5$ ve $1,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Komplekslerin K_b sabitlerinin sayısal değerlerine bakıldığında DNA'ya kuvvetli bağlandığı görülmüştür.



Şekil 1.41 Komplekslerin artan DNA derişimleri ile UV titrasyonu sonucu elde edilen absorpsiyon spektrumları

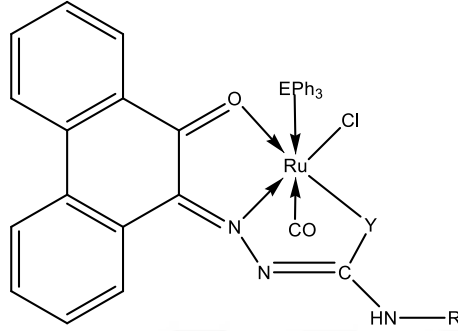


Şekil 1.42 DNA'ya bağlı EtBr'ün sönme eğrisi

Komplekslerin konsantrasyonlarının artırılması ile emisyon yoğunluğundaki değişim görülmektedir (Şekil 1.42).

Komplekslerin sitotoksik aktivite özellikleri incelendiğinde, komplekslerin akciğer kanser hücre hattı (A549) ve karaciğer kanser hücre hattı (HepG2) ligantlardan ve cis-platinden daha etkili olduğu belirlenmiş. Komplekslerin yapılarına bağlı olarak etkinlikleri incelendiğinde metalin elektron yoğunluğunun artmasını sitotoksik etkiyi arttırdığı belirtilmiştir. *In vivo* sitotoksikite çalışmalarının biyolojik etkinlikte önem taşıdığı belirtilmiştir (Prabhakaran et al. 2013).

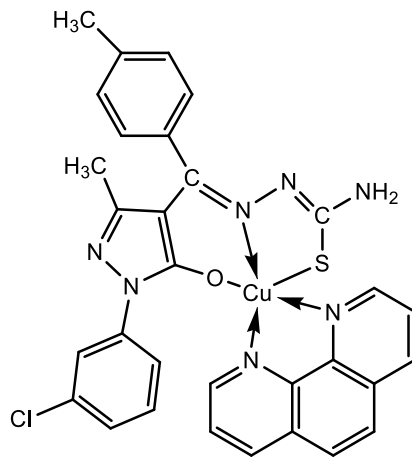
Anitha ve arkadaşları, yeni sentezlenen 9,10-fenantrolin içeren tiyosemikarbazon türevi içeren oktahedral ve üç dişli yeni bir rutenyum(II) kompleksini sentezlemişler (Şekil 1.43). pBR322 DNA'ya bağlanma, antioksidan, radikal süpürme ve sitotoksik aktivite özelliklerini incelemişlerdir (Anitha et al. 2013).



E=P veya As; Y=S

Şekil 1.43 Ru(II) kompleksi

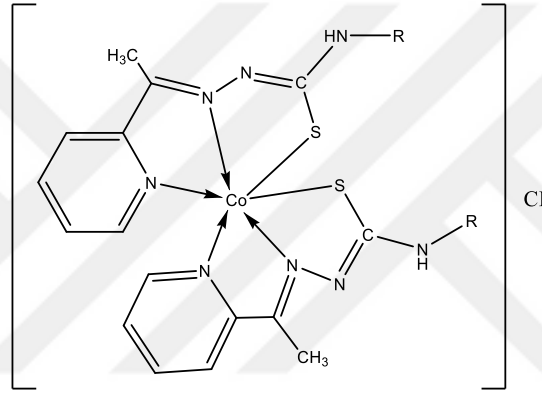
Vyas ve arkadaşları, koordinasyon bileşiklerinin antikanser özelliklerini tespit etmek amacıyla sentezlenen yeni bir kompleks [Cu(TMCPMP-TS) (Phen)] (TMCPMP-TS; (Z)-2-((1-(3-klorofenil)-3-metil-5-okso-4,5-dihidro-1H-pirazol-4-il)(p-tolil)metilen)hidrazinkarbotiyoamid ve phen; 1,10-fenantrolin) sentezlemişlerdir (Şekil 1.44). Pirazolon bazlı tiyosemikarbazon ve 1,10-fenantrolinden elde edilmiş kompleksin, DNA'ya interkalasyon ile bağlandığı görülmüştür.



Şekil 1.44 Cu(TMCPMP-TS) kompleksi

UV absorpsiyon titrasyonu sonucu $K_b = 4,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Emisyon spektrumunun sonucunda anlık bağlanma sabiti $1,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ (kompleks), $0,6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ (TMCPMP-TS) ve $0,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ (1,10-fenantrolin) (EtBr-DNA $1,0 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$) olarak elde edilmiştir. Bağlanma sabiti kompleksin interkalasyon yaptığını göstermiştir. Ayrıca kompleksin A549 kanser hücre hatlarına karşı kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Günlük alım miktarı 4-7 mg'ı aşmayan bakır varlığı güvenli olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle bakır içeren antikanser ilaçların daha az zararlı olduğu düşünülmekte ve daha az toksik olması beklenen Cu(II) üçlü kompleksler geliştirilmeye başlanmıştır (Vyas et al. 2013).

Manikandan ve arkadaşları, NNS-taşıyan ligantlar ile Co(III), üç dişli yapı sentezlemişlerdir (Şekil 1.45).

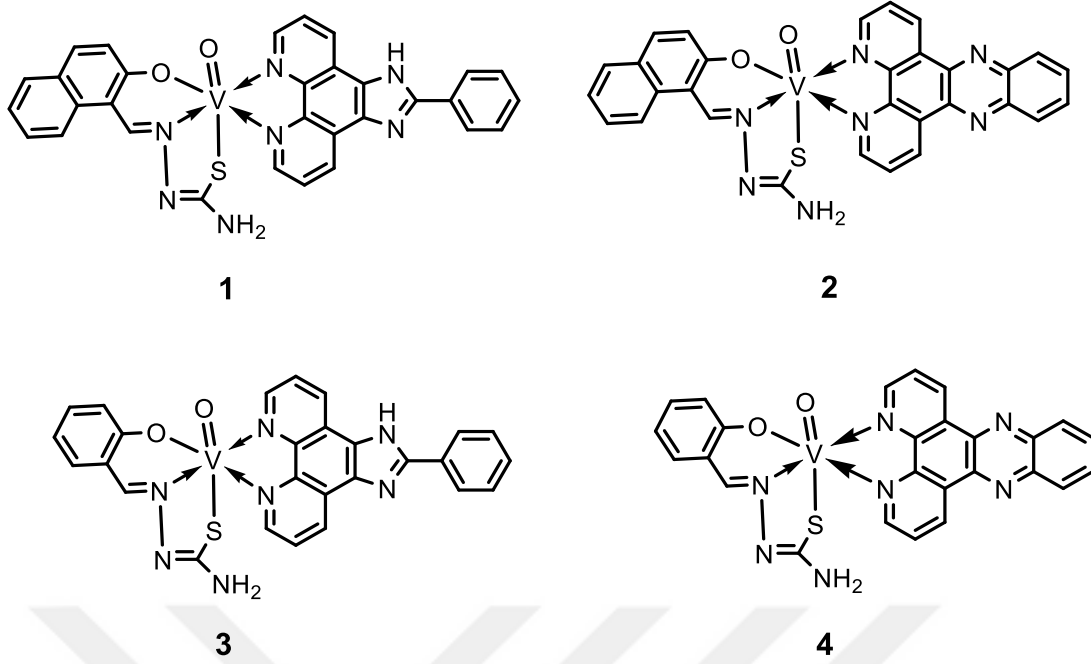


(R=H (HL¹), R=CH₃ (HL²), R=C₆H₆ (HL³))

Şekil 1.45 [Co(HL¹⁻³)₂Cl] kompleks

Her iki kompleksin DNA'ya interkalasyon ile bağlanabildiği kompleks 2'nin kompleks 1'e göre interkalasyon özelliğinin daha fazla olduğu görülmüştür. Her iki kompleksin elektroforez sonuçlarına göre pBR322 DNA'yı kestiği, MTT analizi sonuçlarına göre sitotoksisiteilerinin yüksek olduğu, yapıda fenil halkasının bulunmasının interkalasyon özelliğini ve sitotoksisiteyi arttırdığı görülmüştür (Manikandan et al. 2014).

Ying ve arkadaşları, tiyosemikarbazon ve 1,10-fenantrolin türevleri içeren dört yeni vanadyum kompleksi sentezlemişlerdir:



Şekil 1.46 1,10-fenantrolin türevleri içeren dört yeni vanadyum kompleksi

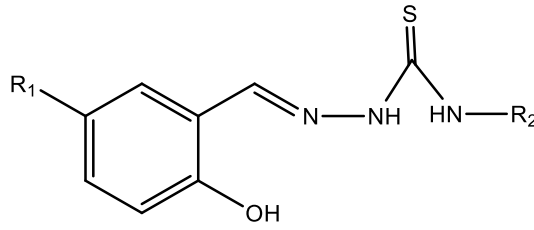
[VO(hntdtsc)(PHIP) (**1**) (hntdtsc= 2-hidroksi-1-naftaldehit tiyosemikarbazon, PHIP= 2-fenil-imidazo[4,5-*f*]1,10fenantrolin) [VO(hntdtsc)(DPPZ)] (**2**)

(DPPZ= diprido [3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin), [VO(satsc)(PHIP) (**3**)

(Satsc= salisilaldehit tiyosemikarbazon) [VO(satsc)(DPPZ) (**4**).

Sentezlenen komplekslerin antitümör özellikleri ortaya konmuştur (Şekil 1.46). Proliferatif etkinin apoptozda kendini gösterdiği belirtilmektedir. Ayrıca komplekslerin pBR322 plazmid DNA ile yapılan elektroforez çalışmasında, H₂O₂ varlığında DNA kırıklarına neden olduğu görülmüştür. Dört kompleks karşılaştırıldığında; **1**>**2** ve **3**>**4** olarak gözlemlenmiştir (Ying et al. 2015).

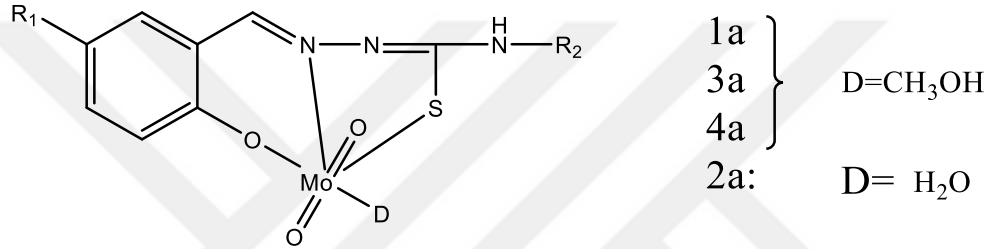
Hussein ve arkadaşları tiyosemikarbazon ligantlarından (Şekil 1.47) dört kompleks [MoO₂(acac)₂] sentezlemişler.



R ₁	R ₂
1) Cl	C ₂ H ₅
2) OCH ₃	CH ₃
3) CH ₃	CH ₃
4) C(CH ₃) ₃	CH ₃

Şekil 1.47 Farklı işlevsel grup içeren tiyosemikarbazon ligandları

Ligantlar, 5-kloro-2-hidroksi-benzaldehit (**1**), 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (**2**), 2-hidroksi-5-metilbenzaldehyit (**3**), 5-tert-2-hidroksibenzaldehit (**4**), molibden'e ONS donör atomları üzerinden üç dişli olarak bağlanmış kompleksleri oluşturmuşlardır (Şekil 1.48):



Şekil 1.48 ONS donör atomlarının oluşturduğu molibden kompleksleri

Bütün komplekslerin sitotoksik etkisinin var olduğu, **4a** > **1a** >> **3a** > **2a** şeklinde arttığı belirtilmiştir. Antitümör aktivitelerinin para konumunda bulunan [C(CH₃)] > Br >> CH₃ > OCH₃ gruplarına bağlı olarak arttığı bulunmuştur. Komplekslerin UV titrasyon yönteminde; **1a** ve **3a** komplekslerin 500 ve 380 nm'de emisyon bantlarına sahip oldukları, hipo ve hiperkromizm gösterdikleri, ayrıca 480 nm'de izobestik noktalar görüldüğü bildirilmiştir. **2a**'da 500 nm'de ve 380 nm'de hipokromizm görülmüştür. Komplekslerin ve ligantların bağlanma sabitlerinin sayısal değerleri (K_b) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır (Çizelge 1.2);

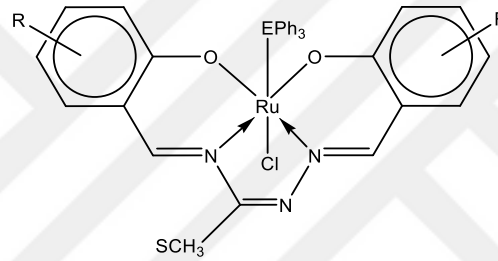
Çizelge 1.2 Ligantların ve komplekslerin bağlanma sabitlerinin sayısal değerleri

Ligant	K _b (M ⁻¹)	Kompleks	K _b (M ⁻¹)
1	1,8 × 10 ⁵	1a	1,4 × 10 ⁶
2	1,6 × 10 ⁵	2a	4,9 × 10 ⁵
3	6,3 × 10 ⁵	3a	6,5 × 10 ⁵
4	4,6 × 10 ⁵	4a	3,8 × 10 ⁶

DNA'ya bağlanma afinitesi sırasıyla **4a** > **1a** > **3a** > **1a** olarak tespit edilmiştir. $[Mo]^{+2}$ olması molekülün düzlemselliğini arttırmış, dolayısıyla DNA'ya bağlanma kuvvetini arttırdığı vurgulanmıştır.

Elektroforez çalışmasında ise DNA'yı bozma yeteneğinin komplekslerde, ligantlara göre daha fazla olduğu görülmüştür. Komplekslerin H_2O_2 'den hidroksil radikali ($\bullet OH$) oluşturabileceği ortaya konulmuştur (Hussein et al. 2015).

Prakash ve arkadaşları, rutenyum(III) S-metilzotiyosemikarbazon $[RuCl(EPH_3)_3]L^{1-4}$ (E=P veya As) yapısında sekiz yeni kompleks sentezlemişlerdir. (H_2L^{1-3} =bis(salisilaldehit)-S-metilzotiyosemikarbazon/ H_2L^4) Şekil 1.49).

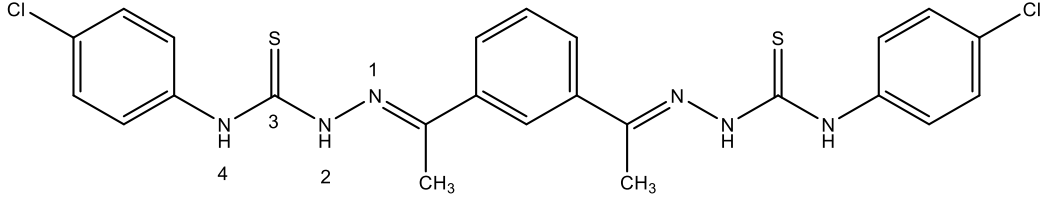


H_2L^1 , R= H; H_2L^2 ; R= 5-Cl; H_2L^3 , R= 3-CH₃O; H_2L^4 , R= C₆H₄ (fenil halkası)

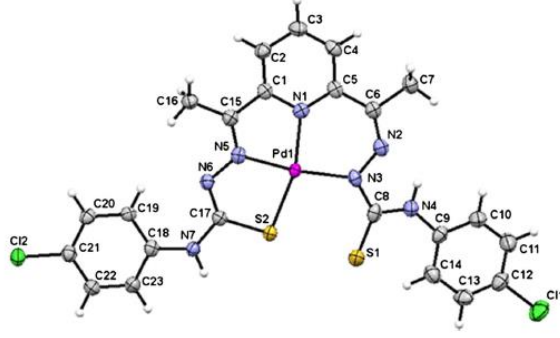
Şekil 1.49 $[RuCl(EPH_3)_3]L^{1-4}$ kompleksi

Sentezlenen sekiz komplesten üçünün $[RuCl(AsPH_3)L^1]$, $[RuCl(AsPH_3)L^2]$, $[RuCl(AsPH_3)L^3]$ DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiği belirtilmiştir. Bağlanma sabitleri sırası ile $4,7 \times 10^5 M^{-1}$, $3,6 \times 10^4 M^{-1}$ ve $3,2 \times 10^4 M^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Üç kompleksin kanser hücrelerinin gelişimini durdurduğu, biyolojik aktivitesi en yüksek olanın $[RuCl(AsPH_3)L^2]$ olduğu görülmüştür. Metoksi grubunun varlığı kompleksin DNA ile etkileşimini etkilemektedir (Prakash et al. 2014).

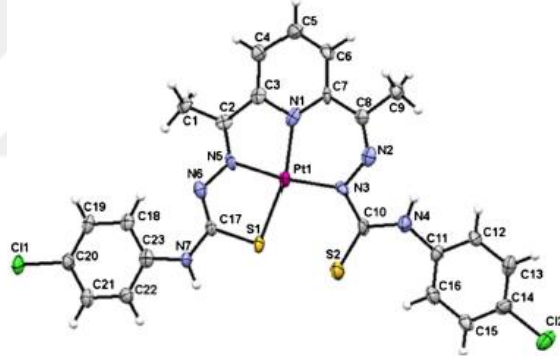
Matesanz ve arkadaşları, 2,6-diasetilpridin bis(⁴N-p-klorofeniltiyosemikarbazon ligand (Şekil 1.50) içeren Pd(II) (Şekil 1.51) ve Pt(II) (Şekil 1.52) komplekslerini, $[PdL]$ ve $[PtL]$ sentezlemişlerdir.



Şekil 1.50 2,6-Diasetilpiridin bis (⁴N-p-klorofeniltiyosemikarbazon) ligand'ın yapısı



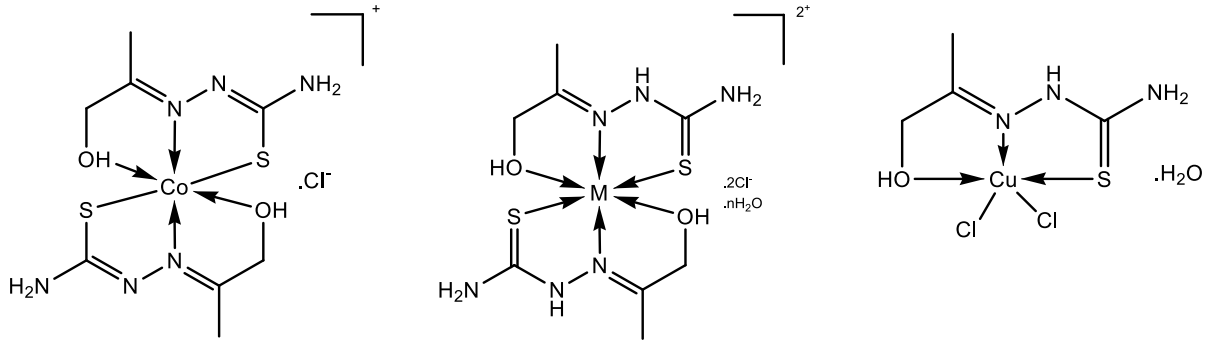
Şekil 1.51 2,6-Diasetilpiridin bis(⁴N-p-klorofeniltiyokarbazonato) paladyum(II) kompleks



Şekil 1.52 2,6-Diasetilpiridin bis(⁴N-p-klorofeniltiyokarbazonato) platin(II) kompleks

2,6-Diasetilpiridin bis(⁴N-p-klorofeniltiyokarbazonato) platin(II) kompleks ligant ve metal komplekslerinin yüksek antiproliferatif etki gösterdiği tespit edilmiştir (Matesanz et al. 2014).

Netalkar ve arkadaşları, Co(III), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) ile tiyosemikarbazon içeren ligant'ın (LH) ve oluşturduğu kompleksler ile yapılan son çalışmaların antimikrobiyal, antibakteriyal, antifungal özelliklerini ortaya koymuşlardır (Şekil 1.53).



Şekil 1.53 Metal komplekslerinin yapısı

[Co(L)₂]Cl kompleks (C₁), [Ni(LH)₂]Cl.2H₂O kompleks (C₂), [Cu(LH)₂]Cl.H₂O kompleks (C₃), [Zn(LH)₂].2Cl kompleks (C₄). Antifungal aktivitenin Zn (II) > Co (III) > Ni (II) > Cu (II) şeklinde olduğu bulunmuştur. Komplekslerin biyolojik aktiviteleri, ligantların metaller ile oluşturdukları yapılar ile ortaya çıktığı, ligandın polaritesinin, merkez metal iyonlarının yükünün önemli olduğu belirtilmiştir (Netalkar et al. 2015).

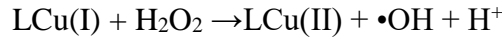
1.7 BAKIR

1B grubu elementlerinden olan bakır, Parlak, dövülebilir, korozyona ve çekmeye karşı dayanıklı, ısı ve elektriği iyi ileten bir geçiş elementidir. Kırmızı renkte olan bakır metali altınla beraber kendine has rengi olan tek metaldir. Diğer metallere göre daha fazla bulunması, dövülerek işlenebilmesi ve kolayca alaşım yaparak sert bir maddeye dönüşmesi kullanım açısından önemini arttırmıştır. Tarih boyunca en çok kullanılan ikinci metaldir (Sönmez 2010).

1.7.1 Bakır'ın İnsan Vücudundaki Rolü

Bakır hem prokaryot hem de ökaryotlardaki metabolik süreçlerin geniş bir yelpazesi için gereklidir. Oksijen taşıyıcıları ya da redoks katalizörleri gibi işlevleri olan, bilinen en az 30 tane bakır içeren enzim vardır. Bakır'ın Cu⁰, Cu⁺, Cu²⁺ olmak üzere üç oksidasyon durumu vardır. Demir'in vücutta düzenli kullanılması için de bakır gereklidir. Bakır olmazsa demir hemoglobine bağlanamaz. Erişkin insanlarda ortalama 50-120 mg bulunan bakır aminoasitler yağ asitleri ve vitaminlerin normal koşullarda metabolizmadaki tepkimelerin en önemli öğesidir. Metalloenzimlerin yapısında bulunan bakır, insan metabolizmasında biyokatalizör olarak birçok işleve sahiptir.

Bakır'ın toksisitesi homeostatik mekanizmada önemli rol oynar. Bunlar; kansızlık, bakır toksisitesinin gelişimi gibi etkilerdir. Bu etkilerin büyük bir kısmı membran bozulma ya da makromoleküllerdeki oksidatif bozulma ile ilgilidir. Bakır miktarına bağlı olarak büyük oranda reaktif oksijen türleri üretilir. Bu bakırın redoks aktivitesine bağlıdır (Şekil 1.54).

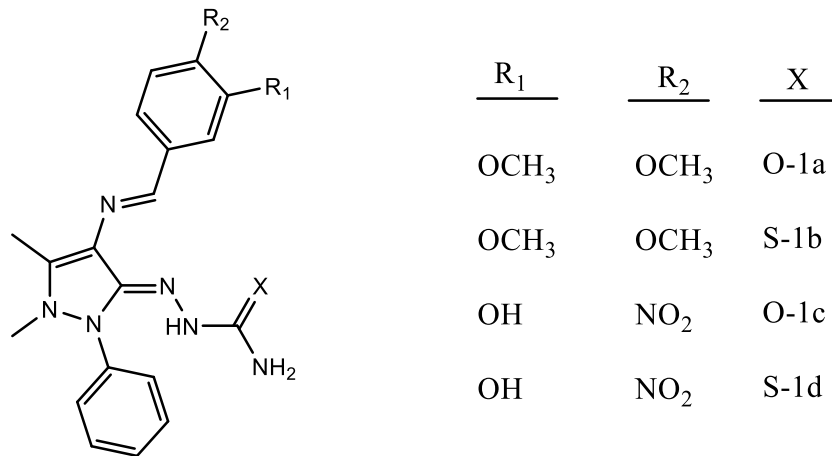


Şekil 1.54 Bakır'ın redoks aktivitesi

Bakır'ın DNA'ya oksidatif olarak zararı gözlemlenebilir (Iakovidis et al. 2011).

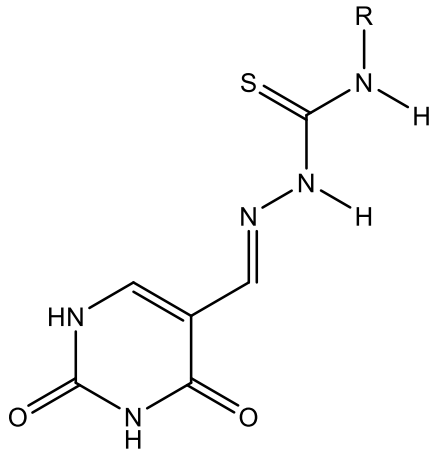
1.7.2 Bakır kompleksleri ve DNA

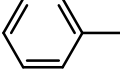
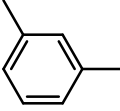
Raman ve arkadaşlarının, 4-(3',4'-dimetoksibenzaldehiden)2-3-dimetil-1-fenil-3-prazolin-5-semikarbazon (**1a**), 4-(3',4'-dimetoksibenzaldehiden)2-3-dimetil-1-fenil-3-prazolin-5-tiyosemikarbazon (**1b**), 4-(3'-hidroksi-4'-nitrobenzaldehyden)2-3-dimetil-1-fenil-3-prazolin-5-semikarbazon (**1c**), 4-(3'-hidroksi-4'-nitrobenzaldehyden)2-3-dimetil-1-fenil-3-prazolin-5-tiyosemikarbazon (**1d**) ligantlarından (Şekil 1.55) bir seri [ML₂] (M=Cu) kompleksi sentezlemişlerdir (Şekil 1.56) (Raman et al. 2010).



Şekil 1.55 -(3',4'benzaldehyden)2-3-dimetil-1-fenil-3-prazolin-5-semikarbazon/tiyosemikarbazon

Bakır (II) komplekslerinin ct-DNA ile etkileşimi spektroskopik, elektrokimyasal ve viskozite çalışmalarıyla incelemiştir (Raman et al. 2010).



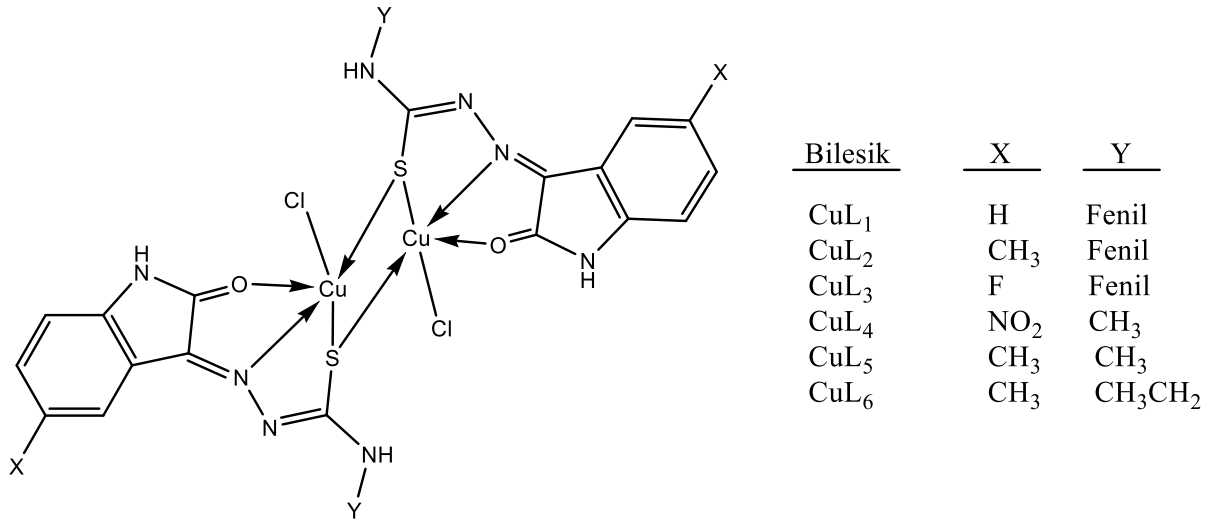
<u>R</u>	<u>YAPILAR</u>
CH ₃ -CH ₂ -	EtH ₃ ut (1)
CH ₂ =CH-CH ₂ -	Alil-H ₃ ut (2)
	Ph-H ₃ ut (3)
	MePh-H ₃ ut (4)

Şekil 1.57 Ligand molekülü ve R-H₃ut yapıları

Ligantların plazmid DNA'ya bağlanma kuvvetini absorpsiyon spektroskopisi ile incelemişler ve bağlanma sabitlerini **1**, **2**, **3** ve **4** ligant için sırası ile $2,1 \times 10^3$, $1,0 \times 10^3$, $2,9 \times 10^2$ ve $5,6 \times 10^3$ M⁻¹ olarak hesaplanmışlardır. Ligantlardan sentezlenen 5-formilurasil tiyosemikarbozon (H₃ut) içeren bakır [Cu(Et-H₃ut)(OH₂)₂]₂NO₃.2H₂O (**5**), [Cu(Alil-H₃ut)NO₃(OH₂)₂]₂NO₃.3H₂O (**7**), [Cu(Ph-H₃ut)NO₃(OH₂)₂]₂NO₃ (**9**), [Cu(MePh-H₃ut)NO₃(OH₂)₂]₂NO₃.3H₂O (**11**) bakır (II) komplekslerinin bağlanma sabitleri ise $2,5 \times 10^2$, $5,9 \times 10^2$, $2,3 \times 10^1$ ve $2,3 \times 10^3$ M⁻¹ olduğunu bulmuşlardır.

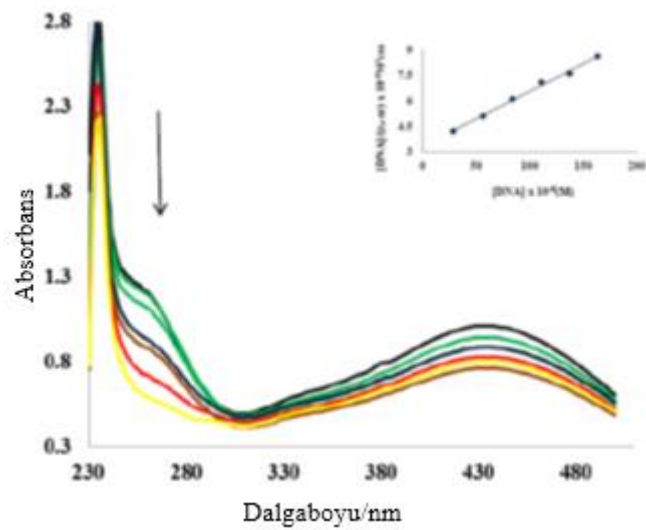
Bu çalışmada yer alan metal komplekslerinin DNA ile etkileşme kuvvetleri alifatik tiyosemikarbazonlardan oluşturulan bakır komplekslerinden daha kuvvetli olduğu belirtilmektedir. Agaroz jel elektroforez çalışmasında ise plazmid DNA'da önemli bozunma olmadığı yapılan çalışma sonuçlarına bağlı olarak belirtilmektedir. Tiyosemikarbazonun yapısında bulunan NH₂ yapının DNA'ya bağlanmasında önemli rol oynadığı ifade edilmektedir (Belicchi-Ferrari et al. 2008).

Ali ve arkadaşları, Cu(II) ile (Z)-2-(2-oksoindolin-3-iliden)-N-fenilhidrazinkarbotiyoamid (**CuL₁**), (Z)-2-(5-metil-2-oksoindolin-3-iliden)-N-fenilhidrazinkarbotiyoamid (**CuL₂**), (Z)-2-(5-floro-2-oksoindolin-3-iliden)-N-fenilhidrazinkarbotiyoamid(**CuL₃**), (Z)-N-metil-2-(5-nitro-2-oksoindolin-3-iliden) hidrazinkarbotiyoamid(**CuL₄**), (Z)-N-metil-2-(5-metil-2-oksoindolin-3-iliden) hidrazinkarbotiyoamid(**CuL₅**), (Z)-N-etil-2-(5-metil-2-oksoindolin-3-iliden) hidrazin karbotiyoamid (**CuL₆**) komplekslerini sentezlemişler (Şekil 1.58) ve plazmid DNA ile etkileşimlerini spektroskopik yöntemler ile göstermişlerdir.

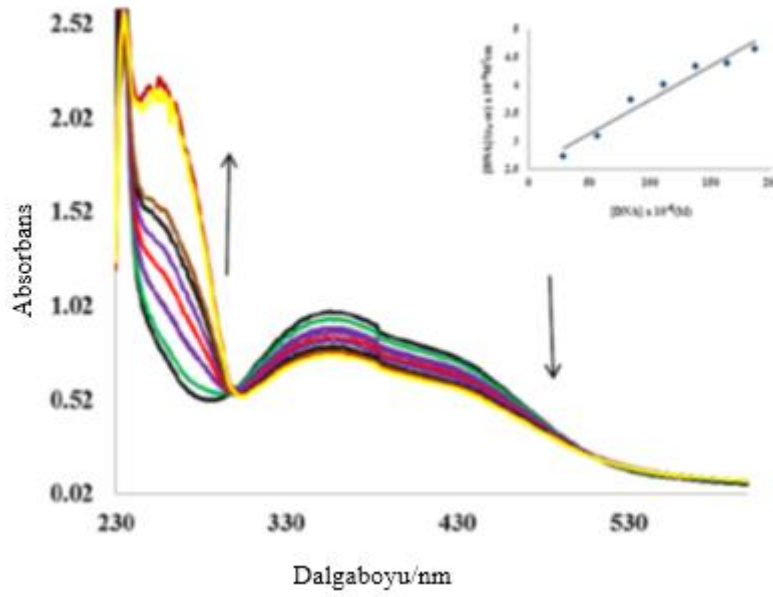


Şekil 1.58 CuL₁-L₆ yapıları

DNA ile etkileşim türünün belirlenmesi için kullanılan tekniklerden biri olan absorpsiyon spektrumu sonuçlarına göre (Şekil 1.59), bağlanma sabitleri $1,6 \times 10^5$ - $1,5 \times 10^6$ M⁻¹ dir. Bu değerler komplekslerin ct-DNA'ya karşı yüksek interkalatif etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Absorpsiyon spektrumunda görülen komplekslerin gösterdiği hipokromizm sırası ise CuL₃ > CuL₁ > CuL₂ iken CuL₄, CuL₅ ve CuL₆'m hem hipokromizm hem de hiperkromizm sergilediği görülmüştür. Bu komplekslerin hipokromizm sırası ise CuL₄ > CuL₆ > CuL₅'dir. Bunun komplekslerin yapısında bulunan tiyosemikarbazon grubundaki alifatik gruplar ile DNA arasında oluşan güçlü hidrojen bağlarından kaynaklandığı belirtilmektedir (Şekil 1.60).

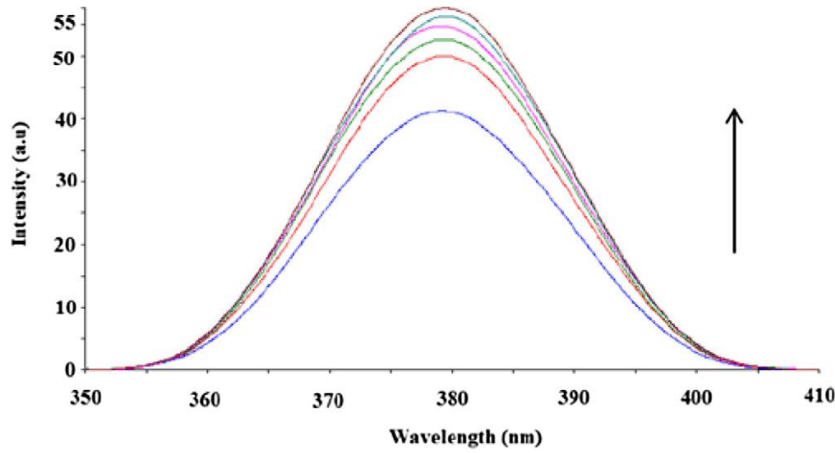


Şekil 1.59 CuL₁'in absorpsiyon spektrumu



Şekil 1.60 CuL₄'ün absorpsiyon spektrumu

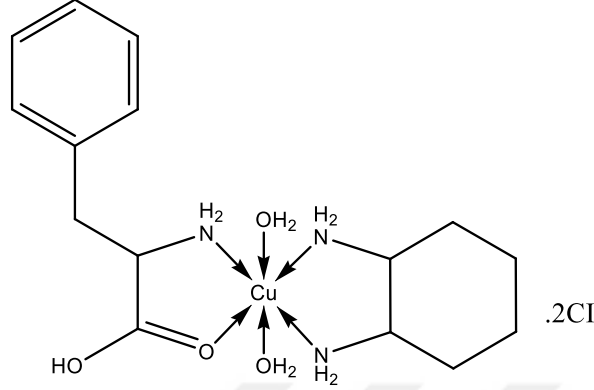
Komplekslerin DNA'ya interkalasyon ile bağlandığı diğer spektroskopik yöntemler ile de incelenmişlerdir. Alınan emisyon spektrumunda artan ct-DNA konsantrasyonu ile emisyon yoğunluğunun arttığı komplekslerin ct-DNA ile güçlü interkalasyon yaptığı ifade etmişlerdir (Şekil 1.61). Viskozite çalışmalarında sonucu desteklediğini belirtmişlerdir.



Şekil 1.61 CuL₅ kompleksinin artan DNA miktarı ile emisyon yoğunluğundaki değişim

Agaroz jel elektroforez çalışmasında ise DNA'nın bozunmasının komplekslerin varlığına bağlı olduğu görülmüş, CuL₁ ve CuL₂ komplekslerinin pBR322 plazmid DNA'da oksidatif bozunmaya neden olduğu belirtilmektedir (Ali et al. 2014).

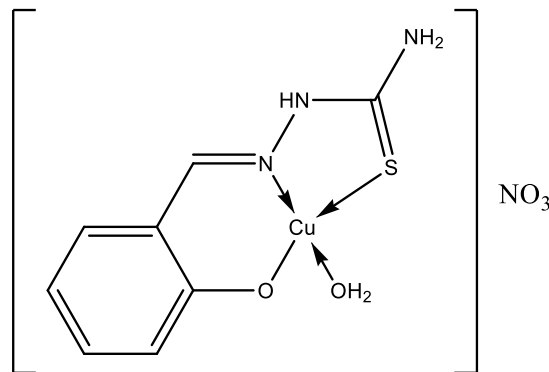
Shamsi ve arkadaşları L-fenilalanin (L-phe), 1,2-diaminoksiloheksan (DACH) ile Cu (II) kompleksi sentezlemişler (Şekil 1.62) ve bağlanma sabitini $5,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak tespit etmişlerdir.



Şekil 1.62 Cu(II) L-fenilalanin-(DACH) kompleksi

Floresans spektroskopisi yöntemi ile tespit edilen bağlanma sabiti ise $2,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ dir. UV-vis titrasyon, floresans spektroskopisi ile kompleksin DNA ile elektrostatik şekilde etkileştiğini ortaya koymuşlardır. Elektroforez çalışmasıyla kompleksin plazmid pBR322 DNA'yı Form I, Form II, Form III olacak şekilde bozduğu ve oksidatif bozunma ile bu özelliğinin yüksek olduğu belirtilmektedir (Shamsi et al. 2014).

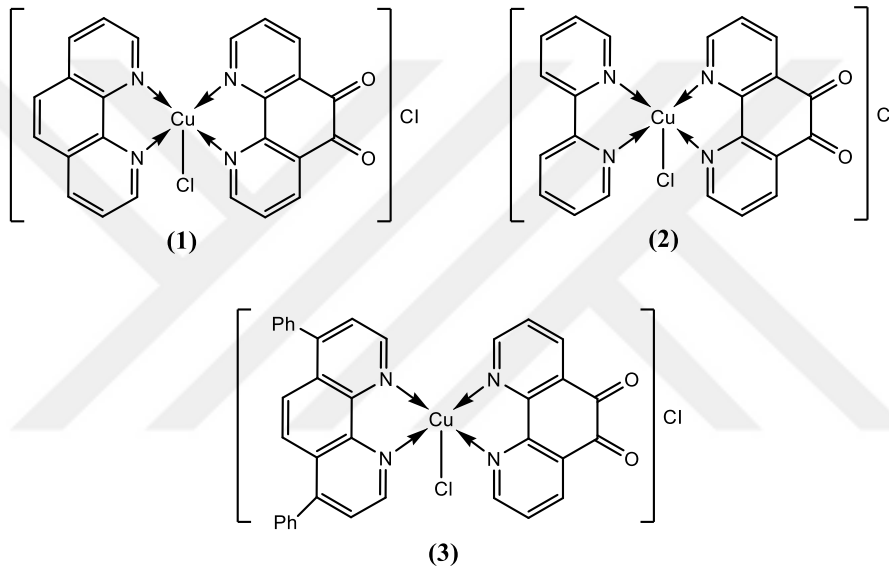
Saif ve arkadaşlarının sentezlediği 2-(hidroksibenziliden) tiyosemikarbazon Cu(II) kompleksinin (Şekil 1.63) UV absorpsiyon titrasyonu ile DNA ile etkileşim türü belirlenmiştir.



Şekil 1.63 2-(Hidroksibenziliden) tiyosemikarbazon Cu(II) kompleksi

Kompleksin DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaptığını gösteren hipokromizm görülmüştür. Kompleksin aromatik kromofor grupları ile DNA arasında güçlü bir etkileşim olduğu belirtilmiştir. Absorbsiyon spektrumu sonuçlarına göre bağlanma sabiti $8,4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir (Saif et al. 2012).

Kashaniana ve arkadaşları; $[\text{Cu}(\text{ph}_2\text{phen})(\text{phen-dion})\text{Cl}]\text{Cl}$, kompleksi ile DNA (ct-DNA) etkileşim çalışmaları spektrofotometrik ve spektrofluorometrik teknikler kullanılarak yapılmış, bu çalışmalar sonucunda $[\text{Cu}(\text{ph}_2\text{phen})(\text{phen-dion})\text{Cl}]\text{Cl}$ kompleksinin hidrojen bağları ve Van der Waals etkileşimi ile DNA'nın majör oluğa bağlandığını bulmuşlardır.

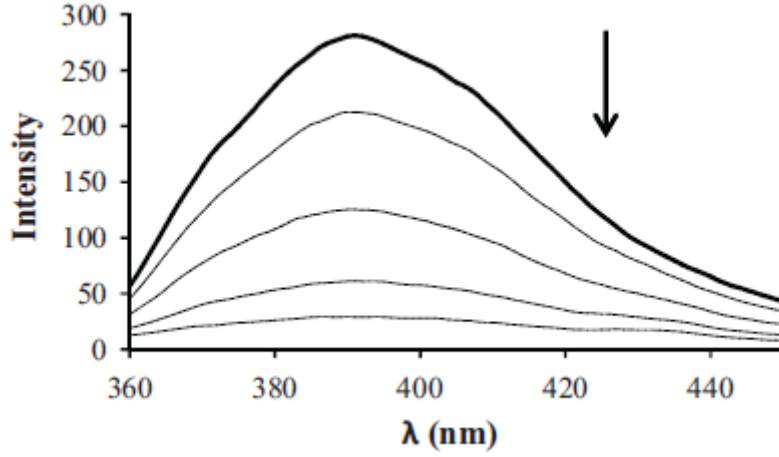


Şekil 1.64 $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{phen-dion})\text{Cl}]\text{Cl}$ (1), $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{phen-dion})\text{Cl}]\text{Cl}$ (2), $[\text{Cu}(\text{ph}_2\text{phen})(\text{phen-dion})\text{Cl}]\text{Cl}$ (3)

Fenantrolin ligandına fenil grupları eklenmesiyle DNA için gerekli olan zemin hazırlanmış (Şekil 1.64) yani molekülün yüzey alanı artırılmış böylece DNA'ya bağlanma özelliğinin de arttığı belirtilmiştir. Fenil grupları DNA'nın baz çiftleri arasına yerleşirken fenantrolin DNA baz parçalarına kısmi interkalasyon ile bağlanır. Ligantlardaki grupların değiştirilmesi ile kompleksin hidrofobik özelliği arttırdığı belirtilmiştir (Kashanian et al. 2012).

$[\text{Cu}(\text{ph}_2\text{phen})(\text{phen-dion})\text{Cl}]\text{Cl}$ kompleksinde %44, $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{phen-dion})\text{Cl}]\text{Cl}$ kompleksinde %20, $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{phen-dion})\text{Cl}]\text{Cl}$ %13 hipokromizm görülmüştür. 298°K'deki bağlanma sabitleri sırası ile $2,8 \times 10^5$, $1,3 \times 10^5$ ve $5,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ oldukları tespit edilmiştir.

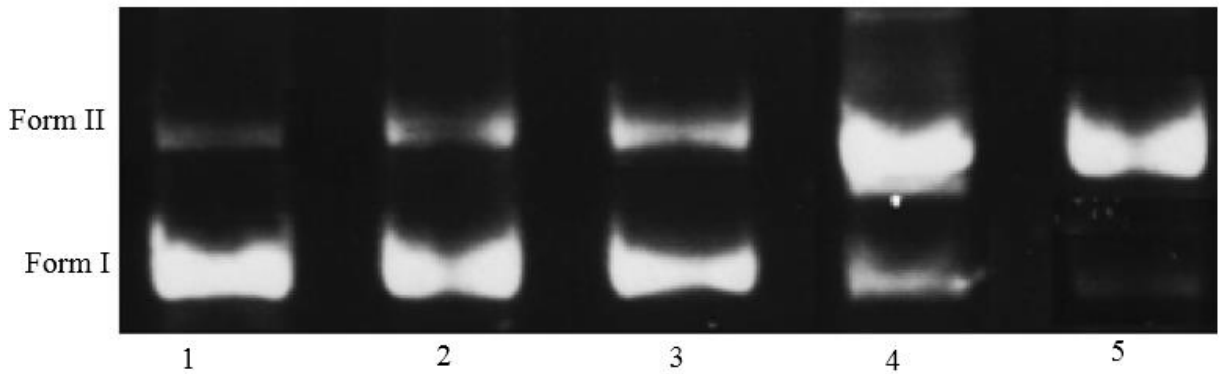
Cu(II) kompleksinin uyarılmış emisyonu 280 nm olarak ölçülmüş ve artan ct-DNA konsantrasyonu ile emisyonda azalma gözlemlenmiştir (Şekil 1.65). Emisyonda görülen bu düşüş DNA'nın yapısında bulunan guanin bazından fotoelektron transferi ile açıklanabileceği yani nedeninin DNA olabileceği belirtilmektedir.



Şekil 1.65 [Cu(ph₂phen)(phen-dion)Cl]Cl kompleksinin değişen DNA miktarlarıyla titrasyonu sonucu elde edilen emisyon spektrumu.

Sonuç olarak; Cu(II) kompleksinin DNA'ya bağlanma ilgisinin var olduğu ifade edilmektedir.

Agaroz jel elektroforez çalışmasında ise; pUC18 plazmid DNA'yı bozması artan konsantrasyonlarda [Cu(ph₂phen)(phen-dion)Cl]Cl kompleksinin varlığında gerçekleşmiş. Form I aşamalı olarak azalmış, Form II kısmen korunmuştur. Kompleks miktarı arttıkça Form II bandı da artmıştır (Şekil 1.66).

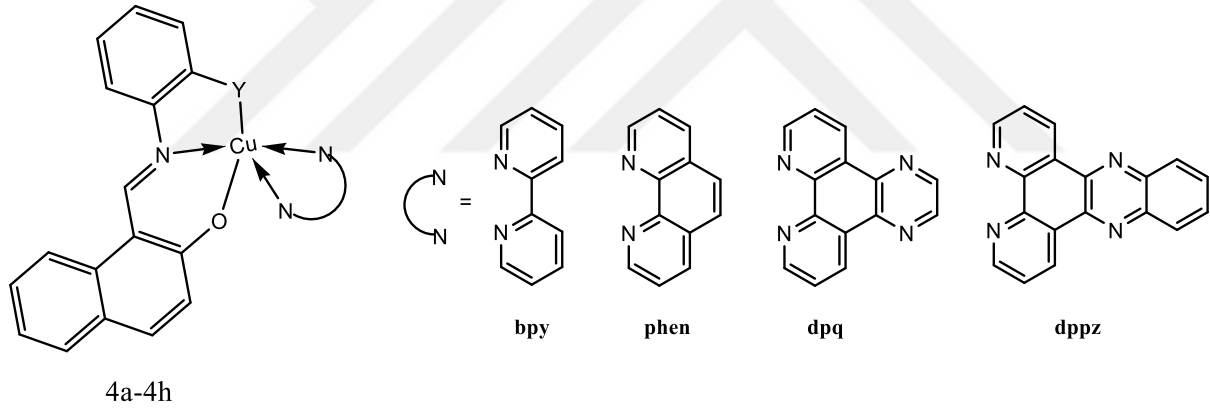


Şekil 1.66 [Cu(ph₂phen)(phen-dion)Cl]Cl'ür kompleksinin agaroz jel elektroforez çalışması

Komplekslerin DNA'ya bağlanma ilgileri, planar yapıya uygun sübstitüentler eklenmesi ile kontrol edilebileceği İnterkatif ligantların substütientleri komplekslerin DNA'ya bağlanma kuvvetlerinin kontrol edilmesinde çok önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Kashanian et al. 2012).

Kiran ve arkadaşları tarafından sekiz Cu(II) kompleksleri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. $[Cu(HL_1(B))]$ (**4a-4d**) ve $[Cu(HL_2(B))]$ (**4e-4h**), HL_1 ligandı *N*-(2-hidroksi-1-naftalidin)-2-aminofenol, HL_2 ligandı *N*-(2-hidroksi-1-naftalidin)-2-merkaptolanilin ve B ise *N,N* donör ligantları bipyridil (bpy), 1,10-fenantrolin (phen), dipridoquinoksalin (dpq) ve dipridofenazin (dppz).

Kompleksler, $[Cu(HL^1)(bpy)]$ (**4a**), $[Cu(HL^2)(phen)]$ (**4b**), $[Cu(HL^1)(dpq)]$ (**4c**), $[Cu(HL^1)(dppz)]$ (**4d**), $[Cu(HL^2)(bpy)]$ (**4e**), $[Cu(HL^2)(phen)]$ (**4f**), $[Cu(HL^2)(dpq)]$ (**4g**), $[Cu(HL^2)(dppz)]$ (**4h**) (Şekil 1.67).



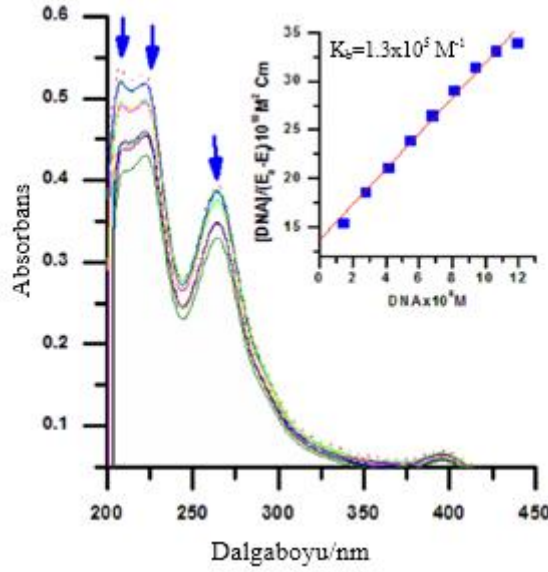
Şekil 1.67 Cu(II) kompleksleri (**4a-4h**)

Cu(II) kompleksleri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Komplekslerin (**4a-4h**) DNA'ya bağlanma özellikleri UV absorpsiyon, viskozite ölçüm tekniği kullanılarak komplekslerin DNA'ya olan ilgileri belirlenmiştir. UV absorpsiyon çalışmasında komplekslerin bağlanma sabitleri $1,1$ ve $7,2 \times 10^4 M^{-1}$ arasında bulunmuş, **4h** kompleksinin DNA'ya daha güçlü bağlandığı belirtilmiştir.

Viskozite çalışmasıyla **4d** ve **4h** komplekslerinin DNA'ya interkalasyon ile bağlandığı **4a-4c**, **4e-4g** komplekslerinin büyük olasılıkla oluğa bağlandığı veya kısmi interkalasyon yaptığı

$> 1,2 \times 10^5$ (2) $> 8,3 \times 10^4$ (1) M^{-1} olduğu görülmüştür. Phen ve bpy'in ct-DNA'ya bağlanma kuvvetleri karşılaştırıldığında phende geniş fenil aromatik halkanın bulunması DNA bazları ile $\pi-\pi$ etkileşimin kısmi interkalasyon yapmasını kolaylaştırdığı belirtilmektedir.

Flouresans spektroskopisi çalışmasında, EtBr kullanılarak yapılan yarışmalı bağlanma yönteminde komplekslerin bağlanma kuvvetlerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür.



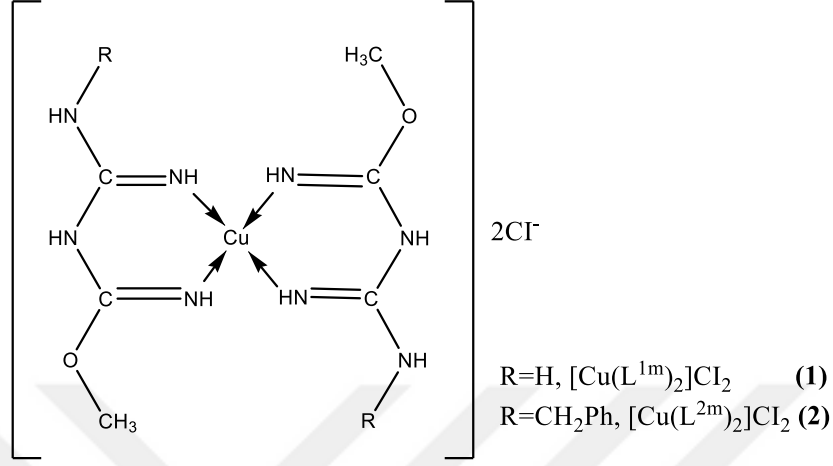
Şekil 1.69 Kompleks 3'ün UV-absorpsiyon spektrumu [Cu]= 10 μ M, [DNA]= 0-10 μ M konsantrasyonda absorbansın azaldığı görülmektedir.

Flouresans spektroskopisi çalışmasında, EtBr kullanılarak yapılan yarışmalı bağlanma yönteminde komplekslerin bağlanma sabitlerini 0,09, 0,17 ve 0,25 olarak bulunmuşlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda kompleks **1-3**'ün DNA'daki oluğa bağlandığını tespit etmişlerdir (Pulumamidi et al. 2014).

Agaroz jel elektroforez çalışmasında peroksit varlığında ve yokluğunda komplekslerin DNA'yı bozduğu sıralamanın ise **1 < 2 < 3** olduğu belirtilmiştir.

Aromatikliği artırılmış pikolinik asit bazlı ligantlar antikanser tabanlı ajanların düzenlenmesinde fark edilir yapılar olduğu gösterilmiştir (Pulumamidi et al. 2014).

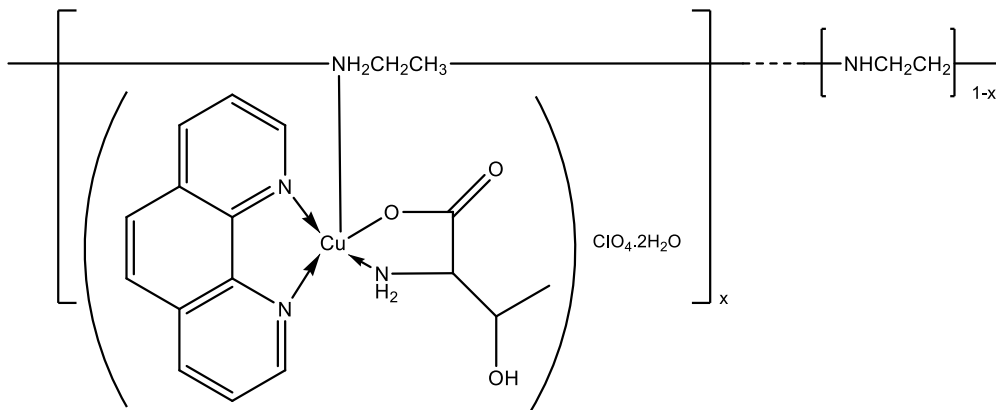
Chaveerach ve arkadaşları, (L^{1m} = amidino-O-metilüre) ve (L^{2m} = N-metifenilamidino-O-metilüre) ligantlarını içeren Cu (II) komplekslerini sentezlemişler ve DNA ile etkileşim çalışmalarını yapmışlardır (Şekil 1.70).



Şekil 1.70 Sentezlenen $[Cu(L^{1m})_2]Cl_2$ (1) ve $[Cu(L^{2m})_2]Cl_2$ (2) kompleksleri

Komplekslerin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşmediği görülmüş kompleks 1'in bağlanma sabiti $5,7 \times 10^4 M^{-1}$ olarak kompleks 2'nin bağlanma sabiti ise $1,2 \times 10^5 M^{-1}$ olarak bulunmuştur. Agaroz jel elektroforez çalışmasıyla pBR322 DNA'da kırıklar oluşmuş DNA'nın Form II yapısı ortaya çıkmıştır (Chaveerach et al. 2010).

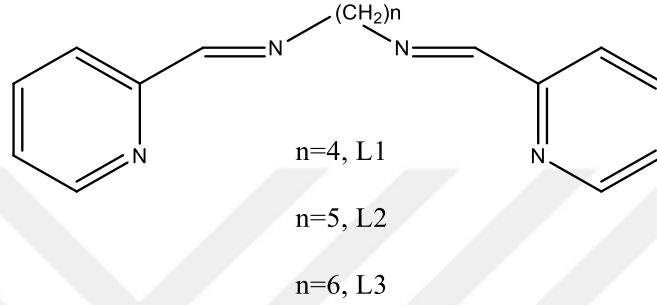
Kumar and Arunachalam, polimer Cu(II) kompleksinin (Şekil 1.71) DNA'ya bağlandığını göstermişler ve bağlanma sabiti polimer zincirin şelat yapısındaki Cu(II) miktarı artışı ile doğru orantılı olduğunu aynı zamanda antibakteriyel ve antifungal etkilerinin iyi olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 1.71 Polimer Cu (II) kompleksi

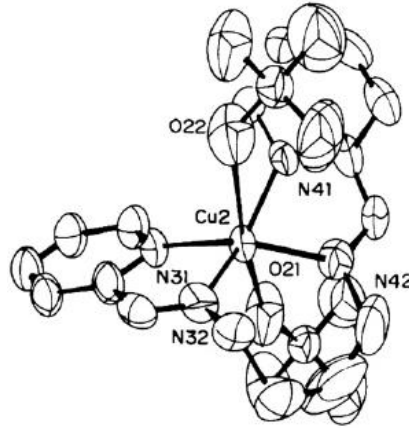
Koordinasyon derecesi (x), 0,14 iken bağlanma sabiti $1,3 \times 10^5$, 0,17 iken bağlanma sabiti $1,8 \times 10^5$, 0,20 iken bağlanma sabiti $2,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olduğu belirtilmiştir (Kumar and Arunachalam 2007).

Uma ve arkadaşları, Ligantlar, L_1 (*N,N'*-bis-bridin-2-metil-bütan-1,4-diimin), L_2 (*N,N'*-bis-bridin-2-metil-pentan-1,5-diimin), L_3 (*N,N'*-bis-bridin-2-metil-hekzan-1,6-diimin) (Şekil 1.72) ile $[\text{Cu}L_1](\text{ClO}_4)_2$ (1), $[\text{Cu}L_2](\text{ClO}_4)_2$ (2), $[\text{Cu}L_3](\text{ClO}_4)_2$ (3) komplekslerini sentezlemişlerdir (Şekil 1.73).



Şekil 1.72 Ligand molekülü

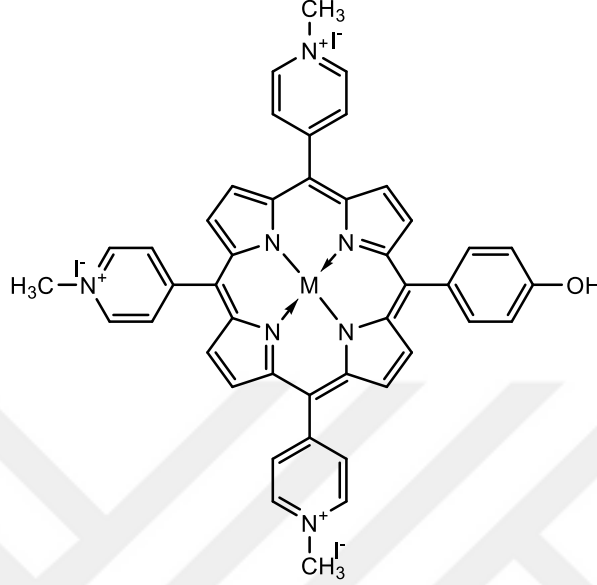
Absorbsiyon titrasyon metodu ile sentezledikleri Cu(II) komplekslerinin DNA ile etkileşmelerinin DNA üzerinde bulunan oluklarla olduğunu göstermişlerdir. Bağlanma sabitleri sırası ile 2.6×10^4 , 11×10^4 ve $1.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 1.73 Kompleks 1'in kristal yapısı

Kompleksler askorbik asit varlığında kompleksler pBR322 plazmid DNA'yı etkin olarak bozmaktadır. DNA'yı bozma kuvveti ise; $1 > 2 \approx 3$ olarak görülmüştür (Uma et al. 2007).

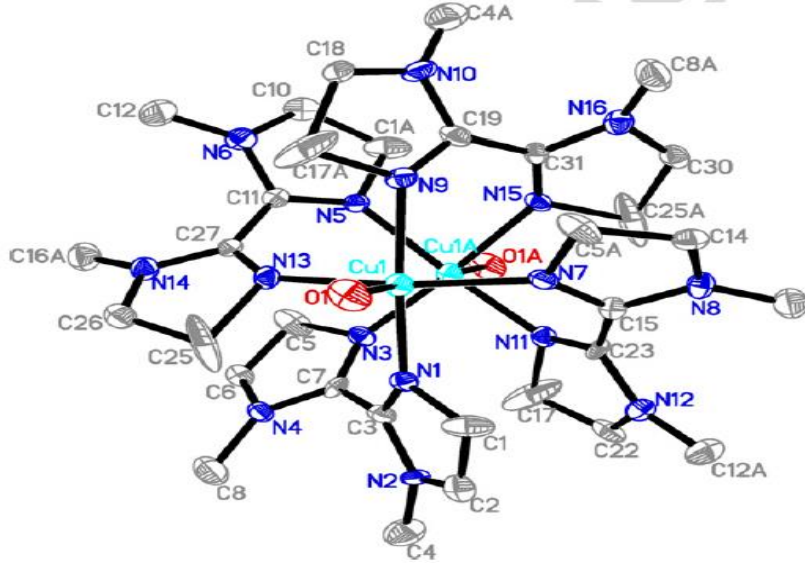
Zhao ve arkadaşları, 5,10,15-tris(1-metilpridinyum-4-il)-20-hidroksifenilporfirinato [TMPyHP]³⁺ ligandından sentezlenen Cu[TMPyHP]³⁺ kompleksinin (Şekil 1.74) bağlanma şekli absorpsiyon, floresans titrasyon yöntemi ile araştırılmıştır (Zhao et al. 2010).



Şekil 1.74 Porphirin Cu(II) kompleksi

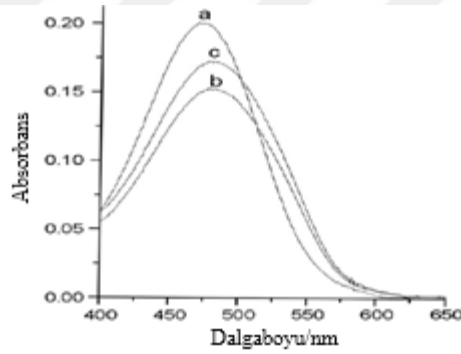
Bakır(II) kompleksinin absorpsiyon spektrumunda görülen geniş batokromizm ve hipokromizm kompleksin DNA'ya interkalasyon yapabileceğini göstermektedir. Bağlanma sabiti ise $4,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Floresans çalışmasında bu sonucu desteklediği belirtilmektedir (Zhao et al. 2010).

Li ve arkadaşları, Dmbiim= 1,1'-dimetil-2,2'-biimidazol ligandından sentezlenen $[\text{Cu}_2(\text{dmbiim})_4(\text{H}_2\text{O})_2]_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin (Şekil 1.75), DNA ile etkileşim türü incelemiştir:



Şekil 1.75 sentezlenen $[\text{Cu}_2(\text{dmbiim})_4(\text{H}_2\text{O})_2]_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

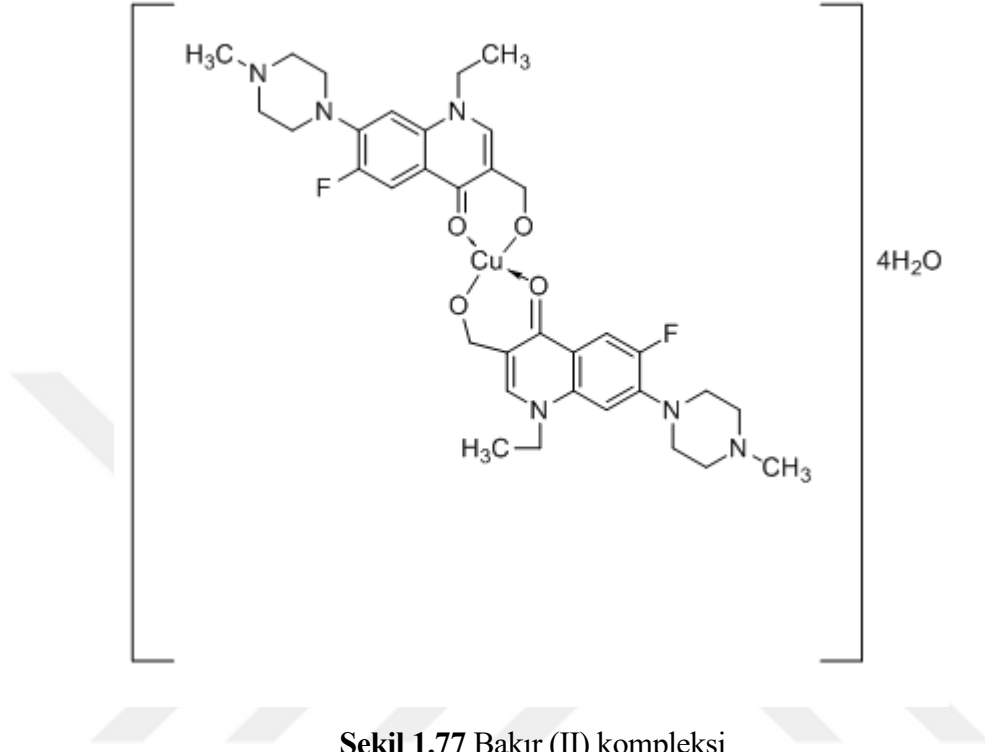
Absorbsiyon spektrumundaki değişiklikler DNA'nın minör oluk ile etkileşimde olduğunu göstermiştir.



Şekil 1.76 $4,7 \times 10^{-5}$ M EtBr (a); a + $6,7 \times 10^{-5}$ M DNA (b); b + $6,8 \times 10^{-5}$ M $[\text{Cu}_2(\text{dmbiim})_4(\text{H}_2\text{O})_2]_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin artan DNA miktarı ile absorpsiyon molekülünde değişim (c)

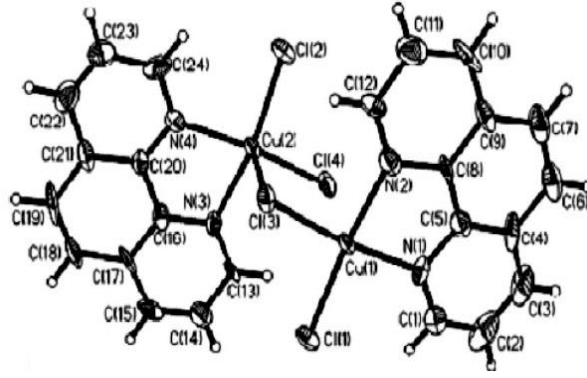
Şekil 1.76'da DNA ile interkalasyon türü ile etkileştiği bilinen EtBr kullanılarak absorpsiyon spektrumu alındığında, maksimum absorpsiyon EtBr'de 470 nm, DNA'da ise 479 nm'de görülmüş, azalmış ve kaymıştır. Bu sonucun iki nedeni olduğu belirtilmektedir: Birincisi; $[\text{Cu}_2(\text{dmbiim})_4(\text{H}_2\text{O})_2]_4^{+4}$ ile EtBr arasındaki güçlü bağ, ikincisi; $[\text{Cu}_2(\text{dmbiim})_4(\text{H}_2\text{O})_2]_4^{+4}$ ile DNA'nın etkileşim türünün DNA üzerindeki minör oluk ile olması. EtBr ile yarışmalı floresans çalışmasında $[\text{Cu}_2(\text{dmbiim})_4(\text{H}_2\text{O})_2]_4^{+4}$ kompleksi bağlanma sabiti 2,39 olduğu belirtilmiştir. Böyle bir değer DNA ile kompleksin güçlü etkileşiminden ve kompleksin minör oluşu bağlanmasından dolayı olduğu ifade edilmektedir (Li et al. 2007).

Muslu ve arkadaşları, 1-etil-6-fluoro-7-(4-metilpiperazin-1-il)-4-okso-kinolin-3-karboksilik asit (pefloksasin) ligandından sentezledikleri Cu(II) kompleksin DNA ile etkileşimini spektroskopik yöntemlerle incelemişlerdir (Şekil 1.77).



Pefloksasin ligandından oluşturulan bakır(II), çinko(II), platin(II), demir(II), rutenyum(II) komplekslerinin ct-DNA'ya bağlanma ilgisinin ($K_b = 1,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) olduğu belirtilmiştir. Siklik voltammetrik çalışmalar ile interkalatif ve elektrostatik etkileşim türünün her ikisini gösterdiğini işaret etmişlerdir (Muslu et al. 2011).

Zhang ve arkadaşları, sentezlenen bakır(II) kompleksinin $[\text{Cu}_2\text{Phen}_2\text{Cl}_4]$ (Phen= 1,10-fenantrolin) (Şekil 1.78) DNA'ya interkalasyon ile bağlandığı spektroskopik yöntemler ile tespit edilmiştir. Bağlanma sabitinin $4,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olduğu ifade edilmiştir. DNA'nın baz çiftleri ile fenantrolinin planar halkası arasında kuvvetli etkileşimin olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 1.78 Kompleks $[Cu_2Phen_2Cl_4]$ (Phen= 1,10-fenantrolin)'in kristal yapısı (Zhang et al. 2006).

Burada özetlenen literatür çalışmaları ışığında, bu çalışmada, daha evvel sentezlenmiş ve biyolojik aktiviteleri çalışılmış, düzlemsel tiyosemikarbazon içeren bakır kompleksleri [4-(dietilaminobenziliden)hidrazinkarbotiyoamit] $_2Cu(II)$ (**K₁**), [4-(dimetilaminobenziliden)hidrazinkarbotiyoamit] $_2Cu(II)$ (**K₂**) ve [4-(etoksibenziliden)hidrazinkarbotiyoamit] $_2Cu(II)$ (**K₂**) nötral komplekslerinin DNA ile etkileşimleri UV-Vis titrasyonu, fluorometri ve agaroz jel elektroforezi metotları kullanılarak çalışılmıştır.



BÖLÜM 2

METARYAL VE YÖNTEM

Kullanılan çözücü ve kimyasallar analitik saflıkta olduğundan ötürü ve saflaştırma yapılmadan kullanılmıştır. Bütün sulu çözeltiler Milli-Q su saflaştırma ünitesi kullanılmıştır. Ortamın pH'sını sabit tutabilmek için, DNA ile etkileşim çalışmalarında pH=7,5 olan 50 mM amonyum asetat tamponu kullanılmıştır.

2.1 ÇÖZÜCÜ VE KİMYASALLAR

Çözücüler ve kimyasallar saflaştırma yapılmadan ve analitik derecede kullanılmıştır. Plazmid DNA (ct-DNA), Aldirich firmasından temin edilen sığır timüsünden (Calf thymus) izole edilmiş olan ct-DNA (lyophilized sodium salt, highly polymerized–D1502) saf su içerisinde (50 mM pH=7,5 olan tampon çözeltide) 24 saat bekletilerek 1.25 mM çözelti her defasında taze olarak hazırlanmıştır. ct-DNA konsantrasyonu Beer-Lambert Yasası eşitlik (2.1) kullanılarak hesaplanmıştır. 260 nm'de absorpsiyon okunmasıyla $\epsilon = 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ değerleri kullanılmıştır.

$$A = \epsilon \cdot C \cdot l \quad (2.1)$$

DNA'nın absorpsiyon bandı maksimumda 260 nm'dir. Bu maksimum değer pürin ve pirimidin bazlarındaki kromofor grupların varlığından kaynaklanmaktadır. UV absorpsiyon spektroskopisi ile DNA'nın 260 nm değerindeki molar konsantrasyonu bulunabilir. Ortamın iyonik kuvvetindeki değişiklikler ve pH değişikliği maksimum absorpsiyondaki molar absorptiviteyi az da olsa değiştirebilmektedir (Sirajuddin et al. 2013).

UV titrasyonu için komplekslerin yaklaşık 2 mM ve 0,88mM derişimde DMSO içerisinde stok çözeltileri hazırlandı. UV titrasyonunu almak için 20 µM, 3 ml derişiminde çözelti oda sıcaklığında 50 mM amonyum asetat tamponu (pH 7.5) içerisinde hazırlandı. Hazırlanan

çözeltiden 2,5 ml kuvarz kuvete alınarak UV-Vis absorpsiyon spektrumu alındı. Amonyum asetat tamponu içerisinde hazırlanan 1,25 mM ct-DNA çözeltisi ile titre edildi. Eklemeler 1µl'lik porsiyonlar şeklinde yapılarak karışım temiz enjektör kullanılarak karıştırıldı. Her eklemeden sonra 10 d beklendi ve absorpsiyonu alındı.

Floresans titrasyonu için 2 mM'lık ve 0,88 mM kompleks (**K₁**, **K₂** ve **K₃**) stok çözeltisinden 20 µM'lık çözeltisi oda sıcaklığında amonyum asetat tamponu (pH 7.5) içerisinde hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin 2,5 ml'lik kısmı quarz küvete alındı. Çözeltiler sırasıyla 330, 312, 286 ve 321 nm dalga boylarında uyarılarak emisyon spektrumu kaydedildi. Daha sonra 2 µL'lik porsiyonlar halinde, 1,25 mM'lık DNA çözeltisinden eklendi. Her eklemeden sonra karışım temiz enjektör vasıtasıyla karıştırıldı. Her eklemeden sonra 10 dk. bekletilerek emisyon spektrumu kaydedildi.

EtBr yarışmalı floresans çalışmasında 20 µM EtBr ve 100 µM ct-DNA içeren çözelti oda sıcaklığında amonyum asetat tamponu (pH 7.5) içerisinde hazırlandı. Hazırlanan 2,5 mL'lik çözelti kuvarz küvete alındı. 427 dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumu kaydedildi. Analit çözeltisinden 2 µL'lik porsiyonlar halinde **K₁**, **K₂**, ve **K₃** çözeltileri ilave edildi, temiz enjektör vasıtasıyla karıştırıldı. İnkübasyon için 10 d bekletilerek spektrum kaydedildi. Tüm titrasyonlarda DNA eklemeleri spektrumda değişiklik görülmeyene kadar devam edildi.

Fermentas firmasından alınan *E. Coli* RRI bakterisine sentezletilmiş ve izole edilmiş pBR322 süpersarmal-plazmid DNA (20µg/mL çözeltide FE-SD0061) Thermo EC-330 agaroz jel elektroforeziyle sürüklenme yavaşlatması deneyinde kullanılmıştır. Konsantrasyonlar baz çifti cinsinden aşağıda hesaplanmıştır.

$$M_A(\text{pBR322}) = 2.830.000 \text{ Da}$$

$$10 \mu\text{g/ml pBR322} = 0,2 \mu\text{g pBR322}/2830000 = 7,1 \times 10^{-9} \text{ mol pBR322}$$

Baz çifti olarak; 8722 nükleotid

$$7,1 \times 10^{-9} \text{ mol pBR322} \times 8722 = 6,19 \times 10^{-5} \text{ mol pBR322 (baz çifti)}$$

10×TBE tampon çözeltisi, elektroforez için 10 kez seyreltilerek hazırlanan % 1'lik agarozun kaynatılıp çözünmesiyle oluşan çözeltinin yavaş yavaş soğutulmasıyla agaroz jel hazırlanmıştır. Jel üzerinde yürüme mesafesinin görülebilmesi için karışımlara boya çözeltisi

eklenmiştir. Kullanılan boya çözeltisi bromofenol mavisinin % 40'lık sükröz çözeltisinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Elektroforez işlemi sonunda jel etidyumbromür ile 30 d bekletilerek boyanmış ve sonra 30 d su ile yıkandıktan sonra görüntüsü alınmıştır.

2.2 KULLANILAN CİHAZLAR

2.2.1 UV/Vis Spektrofotometresi

Carry VinUV 100 Bio, Varian, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, ZONGULDAK

2.2.2 Floresans Spektrometresi

Perkin Elmer LS 55. Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, ZONGULDAK

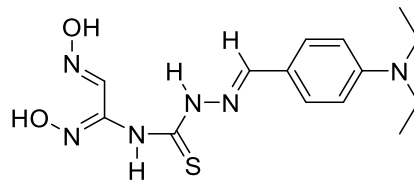
2.2.3 Agaroz Jel Elektroforezi

Thermo Electron Cooperation EC-330 Midicell Primo, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, ZONGULDAK

2.3 LİGANTLAR

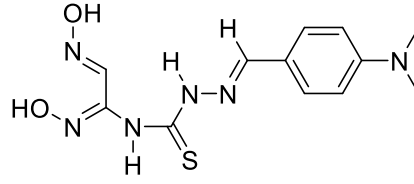
2.3.1 Yapı Formülleri

(2E)-2-[4-(diethylamino)benziliden]-N-[(1Z,2E)-N-hidroksi-2-(hidroksimino)etanimidol]hidrazin) karbotiyoamid ligandı (**L₁**) (Şekil 2.1).

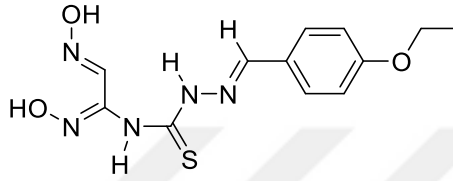


Şekil 2.1 Ligand L₁

(2E)-2-[4-(dimetilamino)benzilidin]-N-[(1Z,2E)-N-hidroksi-2-(hidroksimino)etanimidol]hidrazin) karbatiyoamid ligandı (**L₂**) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Ligand L₂



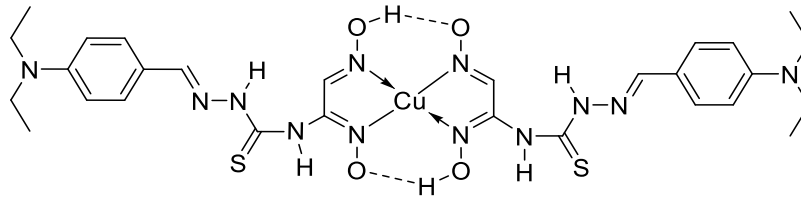
Şekil 2.3 Ligand L₃

(1Z,2E)-N-[(2E)-2-(4-etoksibenzilidin)hidrazino]karbonotiyol)-N'-hidroksi-2-(hidroksimino) etanimidamid ligandı (**L₃**) (Şekil 2.3).

2.4 KOMPLEKSLER

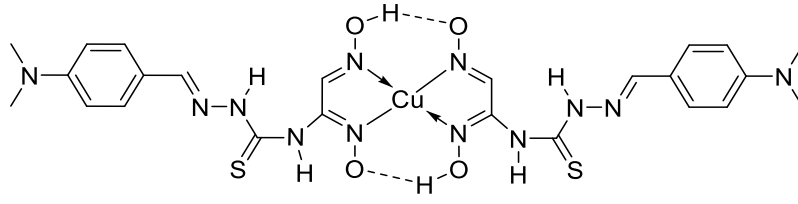
2.4.1 Yapı Formülleri

L₁'den sentezlenen bakır(II) kompleksi (**K₁**) (Şekil 2.4),



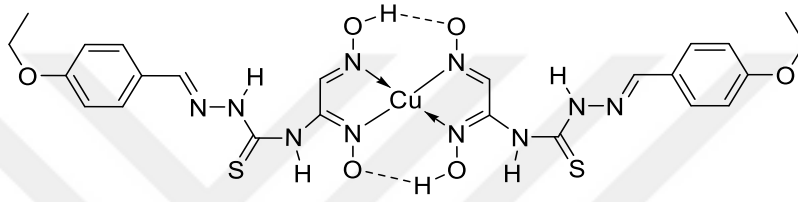
Şekil 2.4 Kompleks K₁

L₂'den sentezlenen bakır (II) kompleksi (**K₂**) (Şekil 2.5),



Şekil 2.5 Kompleks K₂

L₃'den sentezlenen Cu (II) kompleksi (**K₃**) (Şekil 2.6),



Şekil 2.6 Kompleks K₃



BÖLÜM 3

SONUÇLAR

3.1 KOMPLEKSLERİN VE LİGANTLARIN DNA İLE ETKİLEŞİMİ

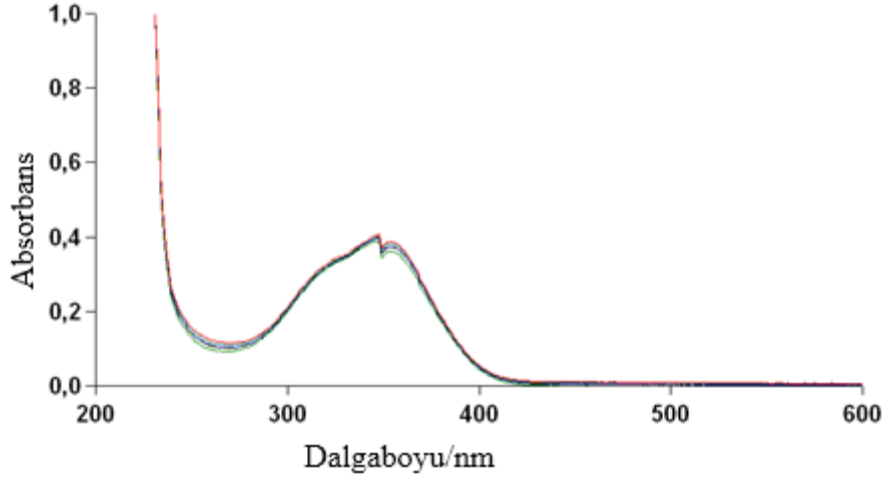
3.1.1 UV Titrasyon

UV titrasyon yönteminde; genel metot ilaç miktarını sabit tutarak üzerine düzenli miktarlarda DNA eklenmesi şeklindedir. Her bir ekleden sonra ölçüm yapılarak ilaca ait spektrumda dalga boyu ve absorbanstaki değişimler gözlenir. Maddenin DNA'ya karşı interkalasyon etkisi varsa genellikle hipokromik etki yani absorbansta azalma gözlenir. Maddenin DNA ile etkileşimi elektrostatik veya kısmi interkalasyon biçiminde ise, hiperkromik etki yani absorbansta artış gözlenir.

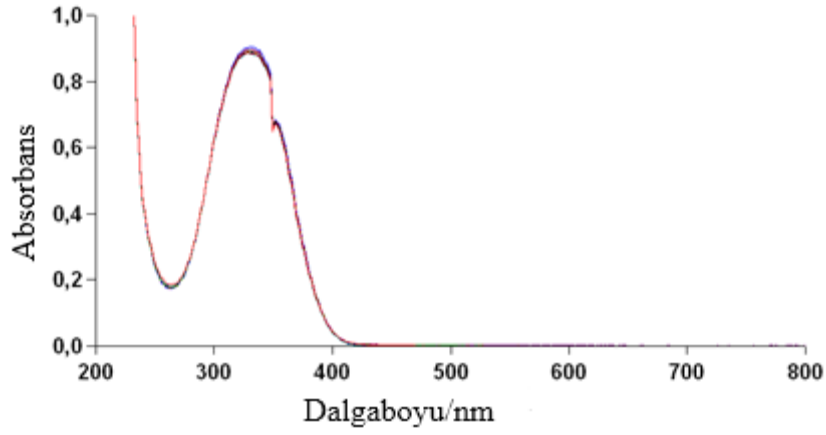
Komplekslerin DNA ile etkileşim gücünün diğer komplekslerle karşılaştırılması için $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f) = [DNA]/(\epsilon_B - \epsilon_f) + 1/K_b (\epsilon_B - \epsilon_f)$ (1.1) eşitliğinden yararlanarak, $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ karşı DNA değerleri grafiğe geçirilir ve eğimden K_b sabiti bulunur.

3.1.2 Ligantlar

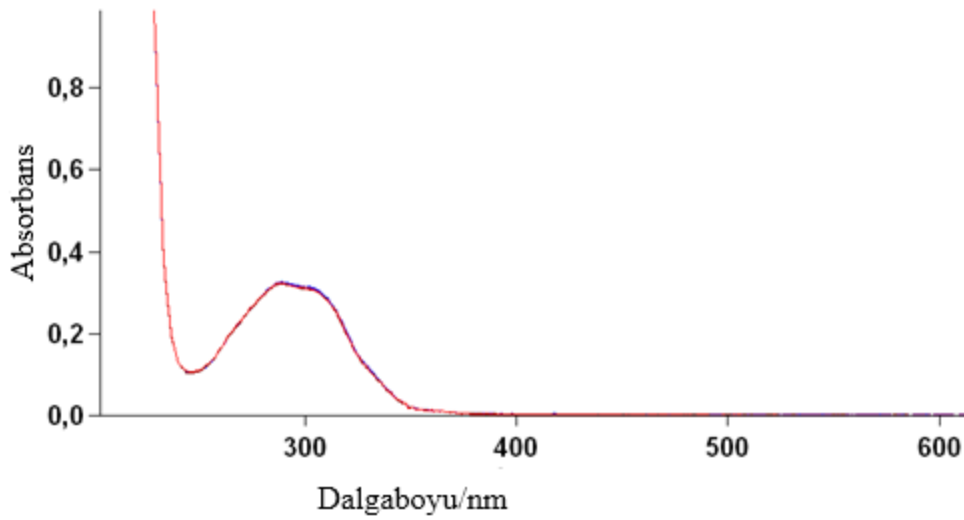
Ligandların (L_{1-3}) absorpsiyon spektrumlarını (Şekil 3.1; 3.2; 3.3) incelediğimizde DNA eklenmesi sonucunda spektrumda değişiklik olmadığından, ligandların DNA ile çok zayıf ya da hiç etkileşmediği görülmektedir.



Şekil 3.1 L₁'nin ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu



Şekil 3.2 L₂'nin ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu

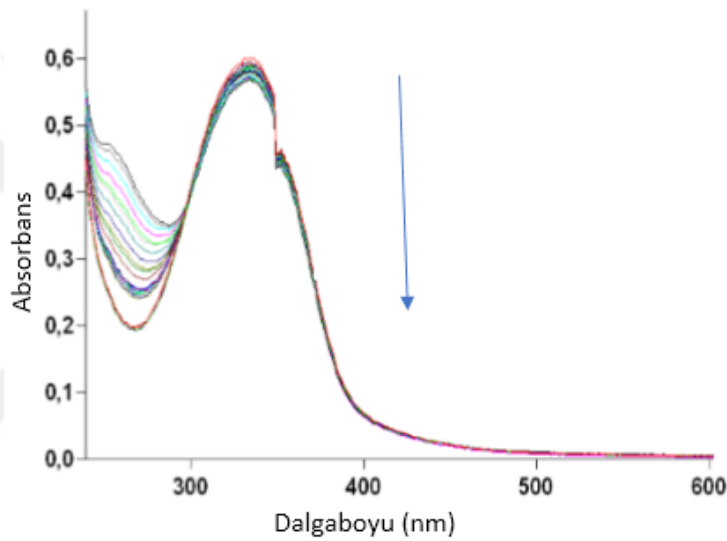


Şekil 3.3 L₃'nin ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu

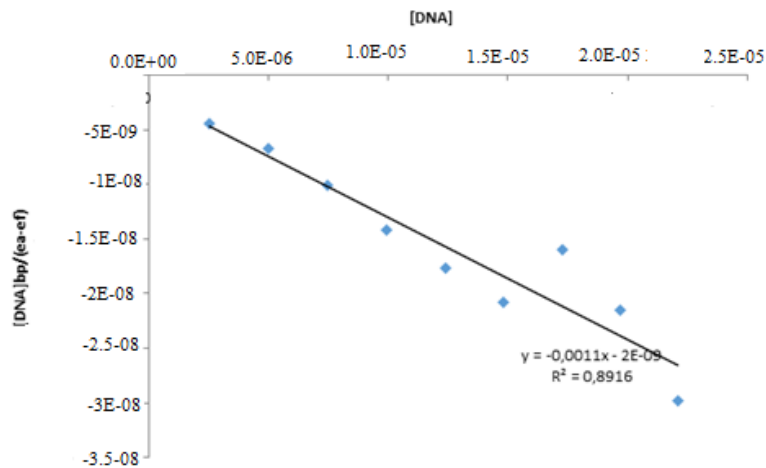
3.1.2 Kompleksler

K₁ kompleksinin titrasyonunda 330 nm'deki absorpsiyon pikinde (Şekil 3.4) hipokromik etki görülmüştür. Görülen hipokromik etki molekülün DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yapması olarak belirtilmektedir (Sirajuddin et al. 2013). **K₁** için bağlanma sabiti hesaplanırken 330 nm dalga boyundaki absorpsiyon şiddetindeki değişiklik kullanılmıştır.

Eğim ve kesim noktası değerleri kullanılarak bağlanma sabiti $K_b = 5,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Şekil 3.5'de **K₁** kompleksine ait $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_f) = [\text{DNA}]/(\epsilon_B - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_B - \epsilon_f)$ eşitliği kullanılarak elde edilen grafik gösterilmektedir.

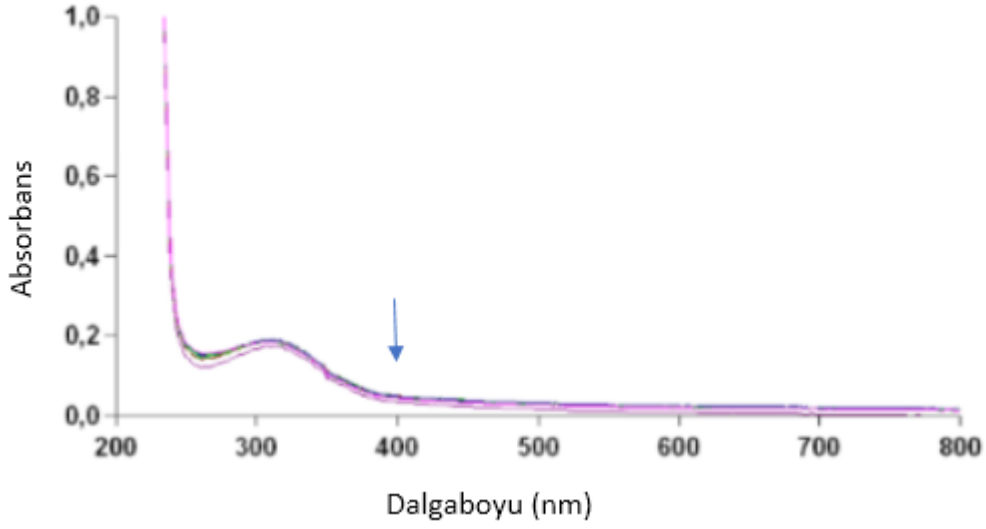


Şekil 3.4 **K₁** kompleksinin (20 µM), (0-75 µl) ct- DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu

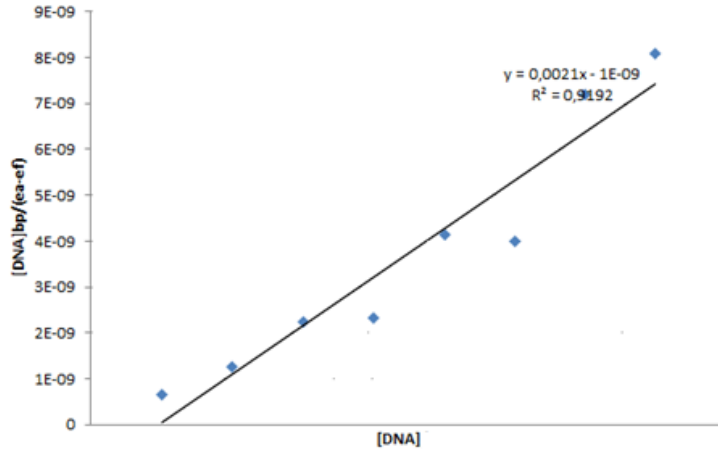


Şekil 3.5 **K₁** için [DNA] değerlerine karşı $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ grafiği

K₂ kompleksinin titrasyonunda 312 nm'deki absorpsiyon pikinde (Şekil 3.6) hipokromik etki görülmüştür. **K₂** için bağlanma sabiti $K_b = 2,1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Şekil 3.7'de **K₂** kompleksine ait $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_f) = [\text{DNA}]/(\epsilon_B - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_B - \epsilon_f)$ eşitliği kullanılarak elde edilen grafik gösterilmektedir.

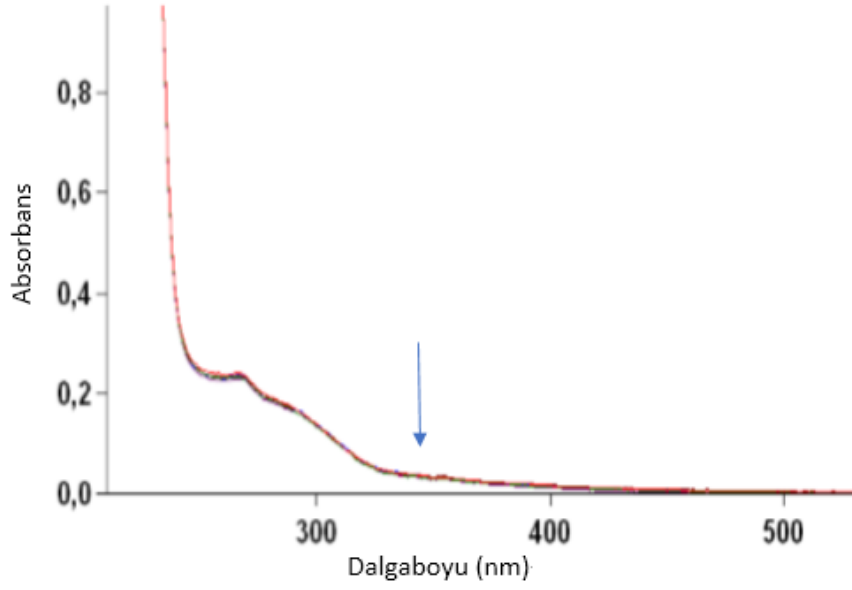


Şekil 3.6 **K₂** kompleksinin (20 μM), (0-8 μl) ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu

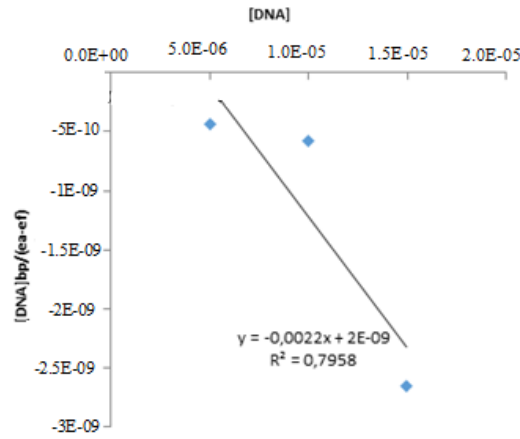


Şekil 3.7 **K₂** için $[\text{DNA}]$ değerlerine karşı $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ grafiği

K₃ kompleksinin titrasyonunda 286 nm'deki absorpsiyon pikinde (Şekil 3.8) hipokromik etki görülmüştür. **K₃** için bağlanma sabiti $K_b = 1,1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. **K₃** kompleksine ait $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_f) = [\text{DNA}]/(\epsilon_B - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_B - \epsilon_f)$ eşitliği kullanılarak elde edilen grafik gösterilmektedir (Şekil 3.9).



Şekil 3.8 K_3 kompleksinin ($20 \mu\text{M}$), ($0-4 \mu\text{l}$) ct-DNA ile titrasyonundan elde edilen UV absorpsiyon spektrumu



Şekil 3.9 K_3 için $[\text{DNA}]$ değerlerine karşı $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ grafiği

Elde edilen bağlanma sabitleri aşağıdaki çizelgede (3.1) verilmiştir.

Çizelge 3.1 Komplekslerin bağlanma sabitleri

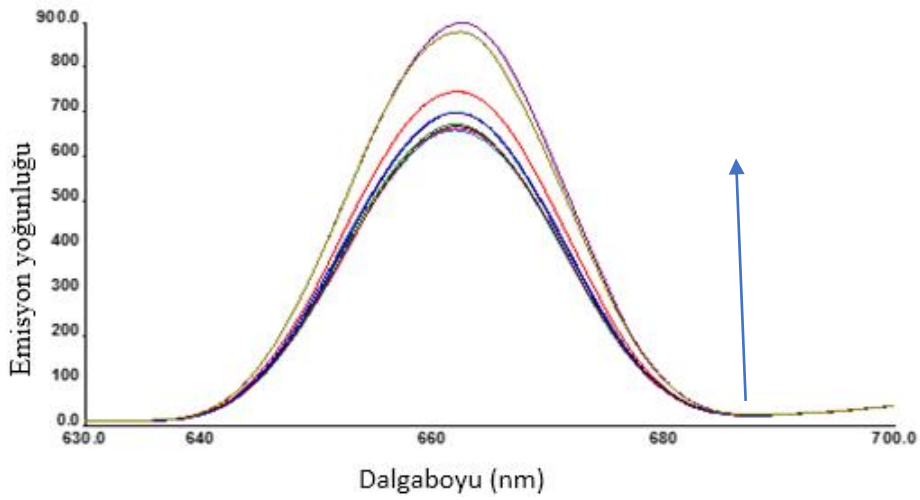
Kompleksler	K_b (M^{-1})
K_1	$5,5 \times 10^5$
K_2	$2,1 \times 10^6$
K_3	1.1×10^6

Kompleksler DNA ile kuvvetli etkileşim yapmışlardır. Etkileşim kuvvetlerine göre sıraladığımızda sıra $K_2 > K_3 > K_1$ şeklindedir.

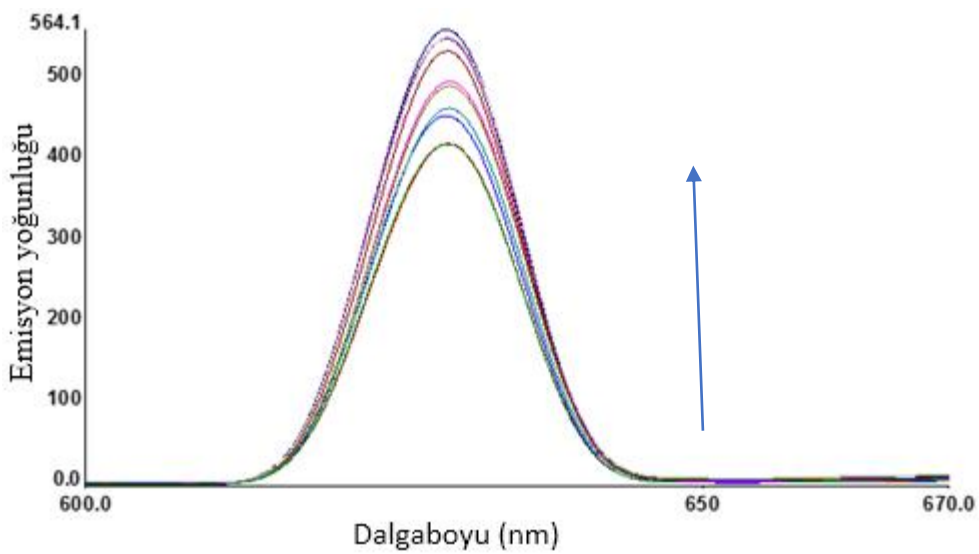
3.2 FLORESANS TİTRASYONU

3.2.1 Komplekslerin Floresans Çalışması

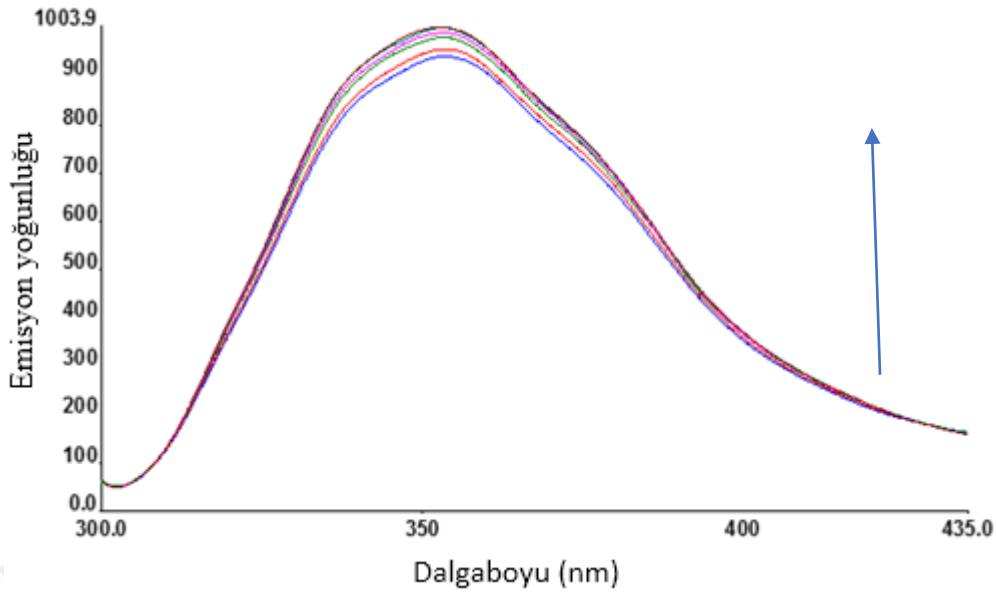
Floresans spektrumunda kompleksler üzerine artan miktarlarda DNA eklenmesiyle floresans piki yoğunluklarında yükselme görülmüştür (Şekil 3.10.-12).



Şekil 3.10 K_1 kompleksinin ct-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu (330 nm dalga boyunda uyarılmıştır).



Şekil 3.11 K_2 kompleksinin ct- DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu (312 nm dalga boyunda uyarılmıştır).



Şekil 3.12 K_3 kompleksinin ct-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu (286 nm dalga boyunda uyarılmıştır).

DNA ile interkalasyon yapan ilaç moleküllerinin etkileşmesi floresans yoğunluğunun artmasına neden olur (Sirajuddin et al. 2013). Hidrofobik özelliğe sahip olan DNA'nın iç yüzeyinde su molekülleri ile etkileşmeyen komplekslerin, DNA ortamında yerleştiğinden floresans özelliklerinin arttığı söylenebilir. K_1 , K_2 ve K_3 komplekslerini içeren çözeltiler üzerine artan miktarlarda DNA eklenmesi ile floresans piklerindeki yükselme komplekslerin DNA ile etkileştiğini göstermektedir.

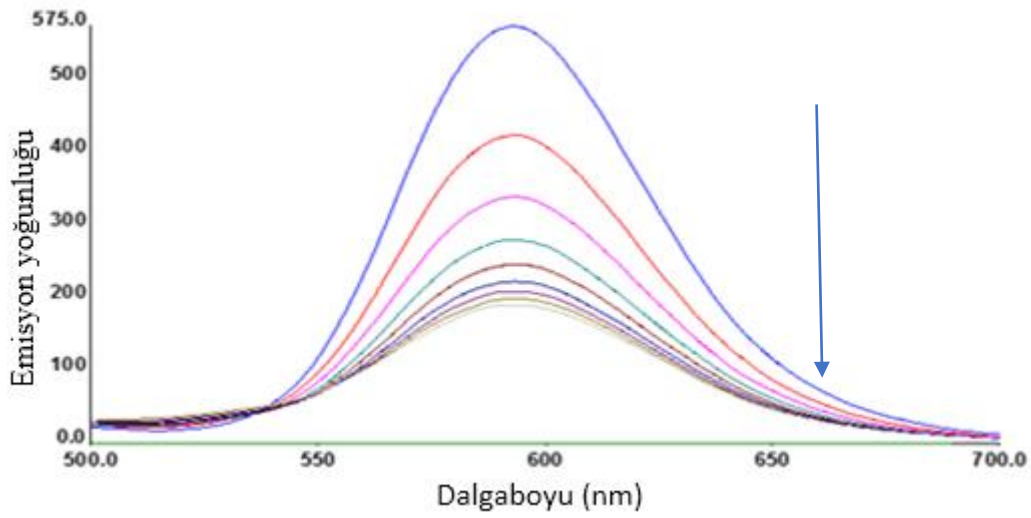
3.2.2 Komplekslerin EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması

EtBr DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaptığı kesin olarak bilinen bir moleküldür (Reinhardt and Krugh 1978). EtBr sulu çözeltilerinde çok düşük floresans gösterirken, DNA ile karıştırıldığında baz çiftleri arasına interkalasyon yapacaktır ve yüksek şiddette floresans gösterir. Ancak bu karışıma interkalasyon yapma kapasitesi olan bir kompleks eklendiği zaman EtBr yerini maddeye bırakacak ve böylece EtBr-DNA çiftinin floresans yoğunluğu düşecektir. Bu deneyden anlık bağlanma sabiti (K_{an}) klasik Stern-Volmer eşitliği (Eşitlik 3.1) (Eftink and Ghiron 1981) ile hesaplanabilir ve maddenin bağlanma modu hakkında fikir edinilebilir.

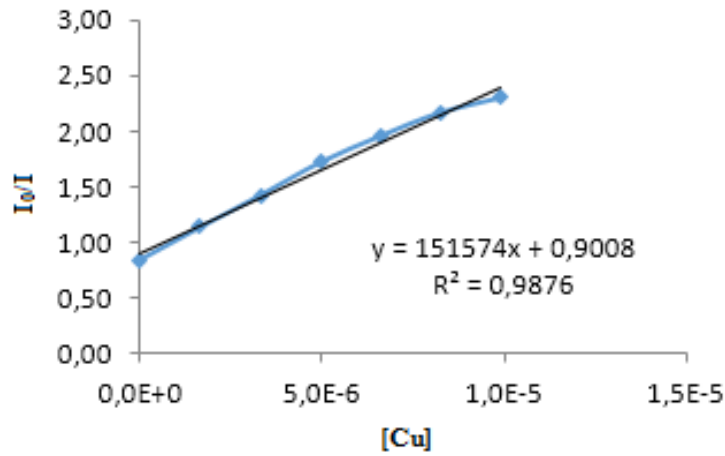
$$I/I_0 = 1 + K[Q] \quad (3.1)$$

Eşitlikte I ; o noktadaki floresans yoğunluğunu, I_0 ; ortama kompleks eklenmeden önceki floresans yoğunluğunu, $[Q]$ baskılayıcı molekül derişimini, K ise baskılayıcı oran katsayısını vermektedir. Yapılan çalışmada çözeltinin floresansını düşüren etken kompleks olduğu için baskılayıcı derişimi olarak kompleks derişimi kullanılmıştır (Hao et al. 2010). Şekil 3.13.-18'te komplekslerin EtBr-DNA kompleksinin floresans şiddetine yaptığı etkiler görülmektedir.

K₁

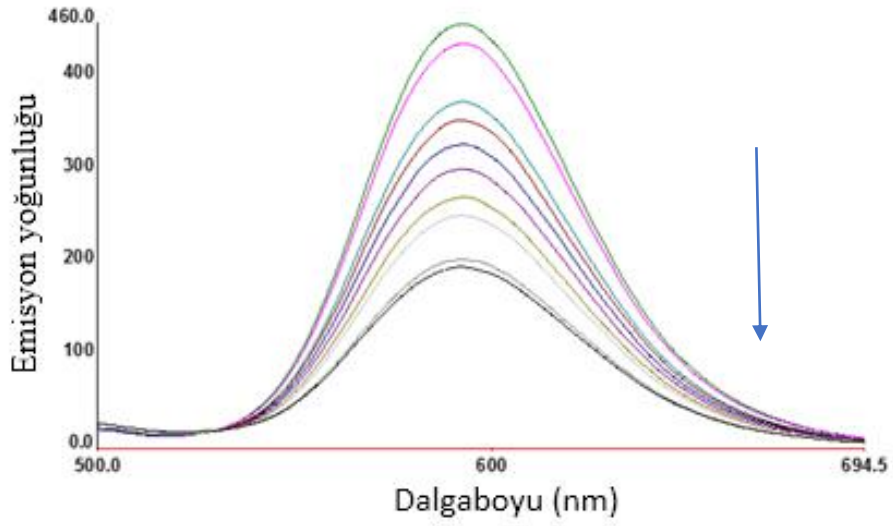


Şekil 3.13 20 μ M EtBr ve 100 μ M ct-DNA içeren çözeltinin artan 1 mM **K₁** derişimi ile 427 dalga boyunda uyarılarak elde edilen floresans değişimi

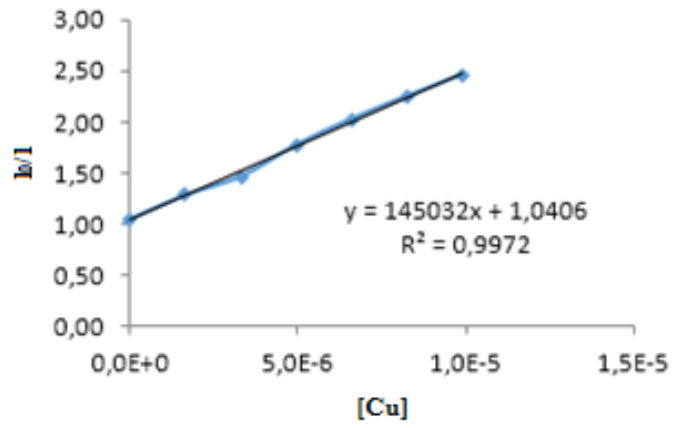


Şekil 3.14 **K₁**'in Stern-Volmer grafiği

K₂

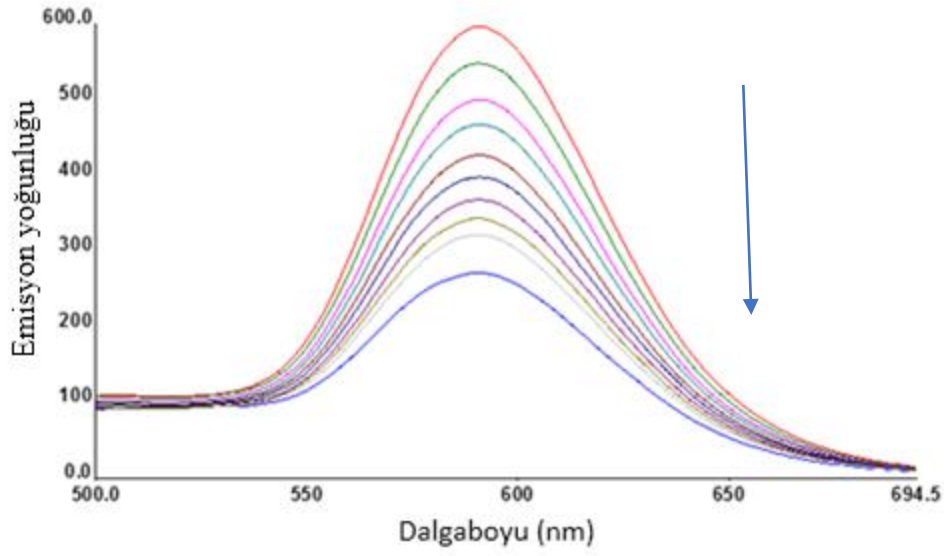


Şekil 3.15 20 μM EtBr ve 100 μM ct-DNA içeren çözeltinin artan 1mM **K₂** derişimi ile elde edilen emisyon spektrumu.

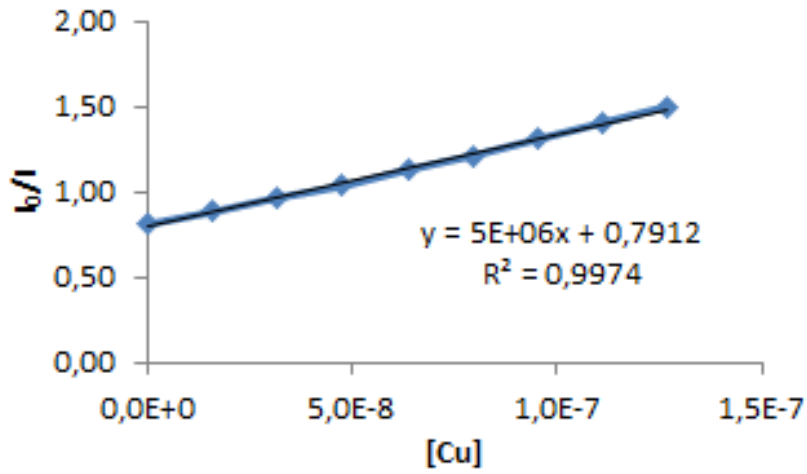


Şekil 3.16 **K₂**' in Stern-Volmer grafiği

K₃



Şekil 3.17 20 μM EtBr ve 100 μM ct-DNA içeren çözeltinin artan 0,88 mM **K₃** derişimi ile elde edilen floresans spektrumu



Şekil 3.18 **K₃**'ün Stern-Volmer grafiği

Çizelge 3.2 Komplekslerin hesaplanan anlık bağlanma sabitleri

Kompleksler	K_{an} (M ⁻¹)
K ₁	$1,8 \times 10^6$
K ₂	$1,1 \times 10^6$
K ₃	$7,1 \times 10^5$

K₁ ve **K₂** kompleksleri EtBr-DNA kompleksine ait çözeltiliye eklendiğinde floresans şiddetinde düşüş görülmektedir. Titrasyon sonunda floresansın tamamıyla kaybolduğu gözlenmiştir. Bu durum EtBr moleküllerinin tamamıyla DNA baz çiftleri arasından çıktığını ve komplekslerimizle yer değiştirdiğini göstermektedir. Bağlanma sabitleri de diğer interkalasyon yapan maddeler kadar yüksek olduğundan interkalasyonla bağlandıkları düşünülmektedir. **K₃** kompleksinde bu etkinin daha da zayıf olduğu floresanstaki düşme oranından ve bağlanma sabitlerinin sayısal değerinden görülmektedir.

3.3 AGARUZ JEL ELEKTROFOREZ ÇALIŞMASI

Plazmid DNA'nın süper sarmal yapısının artan oranlarda metal kompleksi eklenmesiyle açılma oranını görüntülemek için yapılan tekniktir. 20 µg/mL süpersarmal plazmit DNA (pBR322) içeren stok çözelti ve metal kompleksleri pH'sı 7,5 olan amonyum asetat çözeltisi ile hazırlanmıştır.

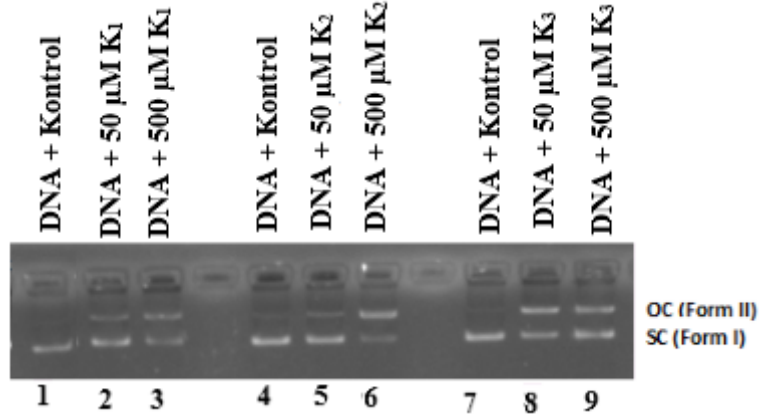
Agaroz Jel Hazırlanması: 1,5 gram agaroz jel, 150 ml TBE tampon (15 ml TBE + 135 ml saf su). Berraklaşınca kadar ısıtıldı. Ilıtılarak plakaya döküldü. Donması beklendi.

Agaroz Jel Elektroforezinde; komplekslerin 50 µM ve 500 µM derişimdeki çözeltileri, 50 mM amonyum asetat tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. Etüvde 37 °C'de 1 saat bekletildi. Etüvden çıkarıldıktan sonra, 5 µL bromfenol mavisini (% 0,25 bromfenol mavisini % 40'luk sukroz çözeltisinde w/v) eklendi. Kuyucuklara ekildi. Thermo EC250-90 marka güç kaynağı kullanılarak Thermo Midicell Primo marka sistemi ile 3 saat 40 V uygulandı. Sonra jel EtBr çözeltisi (10 mg/mL EtBr 500 mL suya 15 mL'si eklenerek hazırlandı) 15 dk 20µM'luk EtBr çözeltisinde bekletilerek boyandı, 15 dk saf suda bekletilerek yıkandı ve UV ışığı altında görüntü alındı.

3.3.1 İnkübasyon Süresi 1 Saat Olan Elektroforez Çalışması

Komplekslerin etkinliği DNA'nın kırılarak farklı formlara geçişlerinin gözlemlenmesiyle değerlendirilmiştir. Bir saatlik inkübasyon süresinde bakır kompleksleri düşük konsantrasyonlarda süpersarmal formdan (Form I), açık dairesel forma (Form II) dönüşmüştür

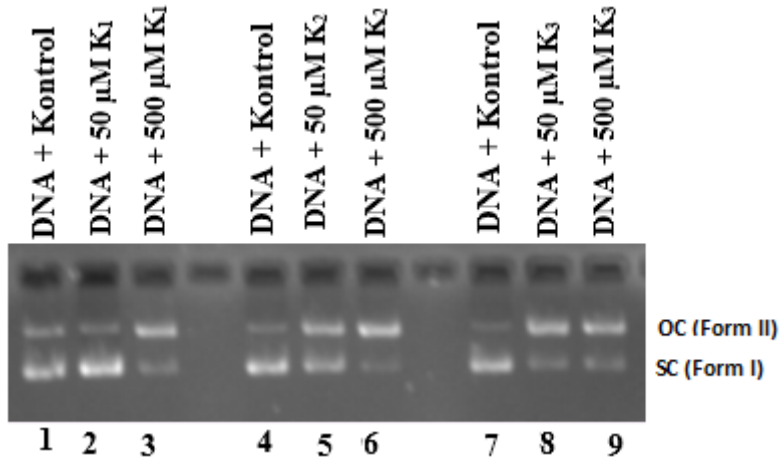
(Şekil 3.19). Bakır komplekslerinin yüksek konsantrasyonlarında ise DNA hasarında artış görülmektedir. En yüksek hasarı **K₃** verirken, etkinlik **K₂** > **K₁** şeklinde sıralanmıştır.



Şekil 3.19 Çeşitli konsantrasyonlarda **K₁**, **K₂** ve **K₃** komplekslerinin plazmid-DNA ile 37 °C’de, 50 mM amonyum asetat tamponunda 1 saatlik inkübasyonu sonrası elektroforezi. **1. kuyu** DNA; **2. kuyu** DNA + 50 µM **K₁**, **3. kuyu** DNA + 500 µM **K₁**, **4. kuyu** DNA; **5. kuyu** DNA + 50 µM **K₂**, **6. kuyu** DNA + 500 µM **K₂**, **7. kuyu** DNA; **8. kuyu** DNA + 50 µM **K₃**, **9. kuyu** DNA + 500 µM **K₃**.

3.3.2 İnkübasyon Süresi 24 Saat Olan Elektroforez Çalışma Sonuçları

Elektroforez süresi 24 saate kadar uzatıldığında komplekslerin plazmid-DNA’da daha fazla bozulmalara neden olduğu tespit edilmiştir. **K₁** ve **K₂** düşük konsantrasyonda plazmid-DNA’dan bir miktar Form II’ye dönüşmüştür. Komplekslerin etkilerinin konsantrasyona bağımlı olarak arttığı en fazla etkinin de **K₃** de meydana geldiği tespit edilmiştir. Süper sarmal form, açık sarmal forma dönüşmüştür. Şekil 3.20’de Form I’den, Form II’ye geçişler görülmektedir. Kompleksler konsantrasyona ve zamana bağımlı olarak DNA’da bozulmaya neden olmuştur. Yine etki gücü olarak kompleksler **K₃** > **K₂** > **K₁** şeklinde sıralanmıştır.

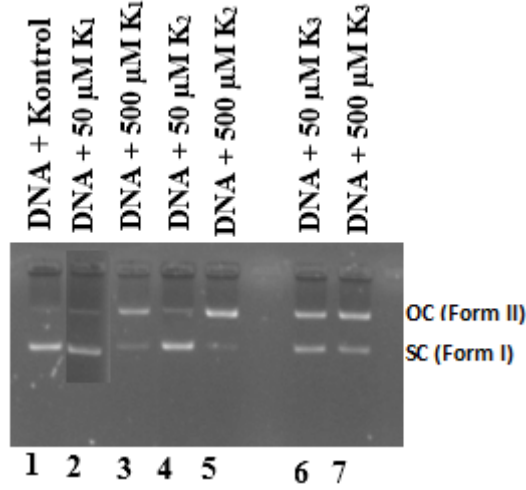


Şekil 3.20 Değişen konsantrasyonlarda **K₁**, **K₂** ve **K₃** komplekslerinin 37 °C ve 24 saat inkübasyon sonrası pBR322 plazmid-DNA (10 µl) üzerine etkilerini gösteren agaroz jel elektroforez çalışması. Çözeltiler 50 mM amonyum asetat tamponunda hazırlanmıştır. **1. kuyu** DNA; **2. kuyu** DNA 50 µM **K₁**, **3. kuyu** DNA + 500 µM **K₁**, **4. kuyu** DNA; **5. kuyu** DNA + 50 µM **K₂**, **6. kuyu** DNA + 500 µM **K₂**, **7. kuyu** DNA; **8. kuyu** DNA + 50 µM **K₃**, **9. kuyu** DNA + 500 µM **K₃**

3.3.3 Kompleksler UV Lambası Altında Etüvde 37° C de 1 Saat İnkübasyon Sonucunda Alınan Elektroforez Sonuçları

UV ışığı altında ligant elektronları, temel hal ile uyarılmış hal arasında sürekli geçiş yaparlar. Molekül içi elektron transfer döngüsü oluştururlar. Ligandın pozitif yükü artar ve radikal katyon oluşumunu kolaylaştırır, DNA'nın oksidasyonuna olanak verir, zincir kırılmalarına neden olur. DNA sarmal yapısı bozularak lineer form DNA oluşur.

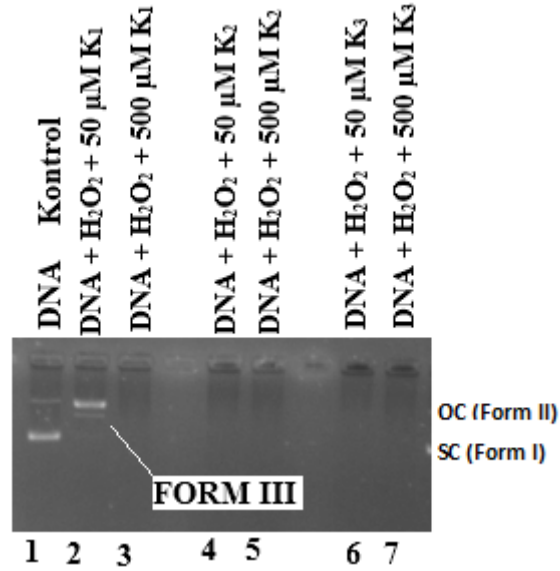
UV ışığı altında bekletilen karışımlarda DNA'da bozulmaların olduğu görülmektedir (Şekil 3.21). Fakat bu bozulmalar Şekil 3.19 ve Şekil 3.20'de görülen bozulmalardan daha fazla değildir. UV ışınlarının komplekslerin DNA hasarı kapasitelerine etkilerinin olmadığı görülmüştür.



Şekil 3.21 Değişen konsantrasyonlarda **K₁**, **K₂** ve **K₃** komplekslerinin UV lambası altında 37 °C ve 1 saat inkübasyon sonrası pBR322 plazmid-DNA (10 µl) üzerine etkilerini gösteren agaroz jel elektroforez çalışması. Çözeltiler 50 mM amonyum asetat tamponunda hazırlanmıştır. **1. kuyu** DNA; **2. kuyu** DNA + 50µM **K₁**, **3. kuyu** DNA + 500µM **K₁**, **4. kuyu** DNA; **5. kuyu** DNA + 50µM **K₂**, **6. kuyu** DNA + 500µM **K₂**, **6. kuyu** DNA + 50µM **K₃**, **7. kuyu** DNA + 500µM **K₃**

3.3.4 Komplekslerin H₂O₂ Varlığında Etüvde 37° C de 1 Saat İnkübasyon Sonucunda Alınan Elektroforez Sonuçları

Komplekslerin plazmid-DNA'yı bozma performanslarında hidrojen peroksit (2 µM) etkisi Şekil 3.22'de gösterilmiştir. 2. kuyuda plazmid-DNA'nın tamamen Form II'ye hatta bir kısmının Form III'e dönüştüğü tespit edilmiş, diğer kuyularda ise plazmid-DNA'nın tamamen parçalanarak jelden kaybolduğu gözlenmiştir. Bu durum komplekslerin peroksitten hidroksil radikalleri üreterek DNA'yı başarılı bir şekilde bozduğunu göstermektedir.



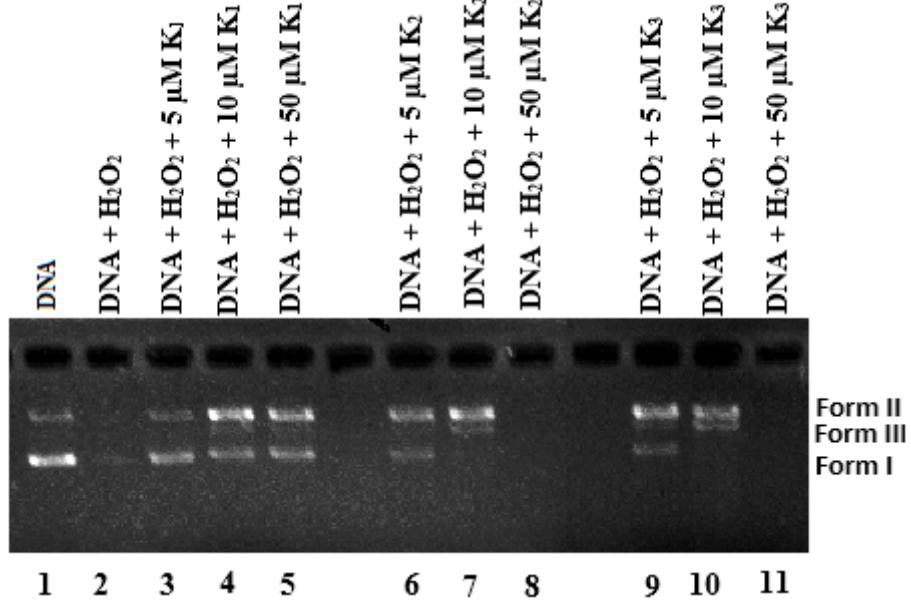
Şekil 3.22 Değişen konsantrasyonlarda **K₁**, **K₂** ve **K₃** komplekslerinin 2 µl H₂O₂ varlığında 37 °C ve 24 saat inkübasyon sonrası pBR322 plazmid-DNA (10 µl) üzerine etkilerini gösteren agaroz jel elektroforez çalışması. Çözeltiler 50 mM amonyum asetat tamponunda hazırlanmıştır. **1. kuyu** 10 µl DNA (DNA Kontrol), **2. kuyu** DNA + H₂O₂ + 50 µM **K₁**, **3. kuyu** DNA + H₂O₂ + 500 µM **K₁**, **4. kuyu** DNA + H₂O₂ + 50 µM **K₂**, **5. kuyu** DNA + H₂O₂ + 500 µM **K₂**, **6. kuyu** DNA + H₂O₂ + 50 µM **K₃**, **7. kuyu** DNA + H₂O₂ + 500 µM **K₃**

3.3.5 Komplekslerin Düşük Konsantrasyonlarda (5, 10, 50 µM) H₂O₂ Varlığında Etüvde 37 °C de 1 Saat İnkübasyonu Sonucu Alınan Elektroforez Sonuçları

K₁, **K₂** ve **K₃** komplekslerinin yüksek konsantrasyonlarda tamamen DNA'yı parçalaması nedeniyle daha düşük konsantrasyonlarda aynı çalışma tekrarlanmıştır. **K₁**, **K₂** ve **K₃** komplekslerinin sabit derişimde (10 µM) plazmid-DNA'yı parçaladıkları ve form III'ün oluşması görülmektedir. Komplekslerin plazmid-DNA'yı bozma performanslarında peroksit (2µM) etkisi Şekil 3.23'de gösterilmiştir. 5., 6., 7., 9. ve 10. kuyularda plazmid-DNA'nın tamamen Form II'ye dönüştüğü, 7. ve 10. kuyularda plazmid-DNA'nın bir kısmının Form III'e dönüştüğü görülmektedir. **K₂** ve **K₃**'ün en yüksek konsantrasyonlarında ise plazmid-DNA'nın tamamen parçalanarak jelden kaybolduğu gözlenmiştir.

Bu durum komplekslerin peroksitten hidroksil radikalleri üreterek DNA'yı başarılı bir şekilde bozduğunu göstermektedir. Özellikle 7. ve 10. kuyularda plazmid-DNA'da daha fazla bozulma olduğu Form I'in tamamen kaybolup Form III yapının oluşmasından anlaşılmaktadır.

Ligantların Cu^{+2} ile oluşturdukları komplekslerin farklı derişimlerinin plazmid-DNA'yı peroksit varlığında bozduğu yapılan elektroforez çalışması sonucunda görülmüştür.



Şekil 3.23 Değişen konsantrasyonlarda **K₁**, **K₂** ve **K₃** komplekslerinin 2 μL H₂O₂ varlığında 37 °C ve 1 saat inkübasyon sonrası pBR322 plazmid-DNA (10 μl) üzerine etkilerini gösteren agaroz jel elektroforez çalışması. Çözeltiler 50 mM amonyum asetat tamponunda hazırlanmıştır. **1. kuyu** sadece DNA, **kuyular 2-11**: 10 μM DNA + 2 μL H₂O₂, **3. kuyu** + 5 μM **K₁**, **4. kuyu** + 10 μM **K₁**, **5. kuyu** + 50 μM **K₁**, **6. kuyu** + 5 μM **K₂**, **7. kuyu** + 10 μM **K₂**, **8. kuyu** + 50 μM **K₂**, **9. kuyu** + 5 μM **K₃**, **10. kuyu** + 10 μM **K₃**, **11. kuyu** 50 μM **K₃**

3.4 TARTIŞMA

(2E)-2-[4-(dietilamino)benziliden]-N-[(1Z,2E)-N-hidroksi-2-hidroksimino)etanimidol] hidrazin) karbotiyoamid (**L**₁), (2E)-2-[4-(dimetilamino)benziliden]-N-[(1Z,2E)-N-hidroksi-2-(hidroksimino) etanimidol]hidrazin) karbatioamid (**L**₂), (1Z,2E)-N-[(2E)-2-(4-etoksibenzilidin) hidrazino] karbonotiyol)-N'-hidroksi-2-(hidroksimino) etanimidamid (**L**₃) ligantları ve bu ligantlardan sentezlenmiş Cu(II) komplekslerinin ct-DNA ile etkileşimleri UV titrasyonu, floresans spektrometresi, agaroz jel elektroforez yöntemleri ile belirlendi. UV-titrasyonu sonucunda ligantların DNA ile çok az etkileştiği belirlendi. Kompleksler **K**₁, **K**₂ ve **K**₃' nın bağlanma sabiti değerleri sırası ile $5,5 \times 10^5$, $2,1 \times 10^6$ ve $1,1 \times 10^6$ M⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bu değerler komplekslerin DNA'ya ligantlardan daha kuvvetli bağlandıklarını göstermektedir.

Yapılan bir çalışmada [Cu(TMCPMP-TS)(Phen)], (TMCP-TS;(Z)-2-((1-(3-klorofenil)-3-metil-5-okso-4,5-dihidro-1H-pirazol-4il)(p-tolil)metilen)hidrazinkarbotiyoamid ve phen;1,10-fenantrolin) kompleksinin bağlanma sabiti $4,3 \times 10^4$ M⁻¹ bulunmuştur (Vyas et al. 2013). Bir başka çalışmada ise [CuL]Cl₂ kompleksinin, L= N,N'-(benzen-1,3-diildi-1,3,4-tiyodiazol-5,2-diil)bis), bağlanma sabiti $3,9 \times 10^4$ M⁻¹ olarak bulunmuştur (Kumar et al. 2012). Bu çalışmadaki komplekslerin bağlanma sabitleri ile karşılaştırıldığında DNA'ya daha kuvvetli bağlandıkları görülmüştür. Absorbanslarda görülen hipokromik etki belki komplekslerin DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yapabilecek olduklarını gösterebilir.

Floresans spektrumunda kompleksler DNA eklenmeden önce düşük floresans özellik gösterirken DNA'nın eklenmesiyle floresans pikinin yoğunluğunda artma gözlenmiştir. Bu durum yine komplekslerin DNA ile etkileştiklerini göstermektedir.

EtBr ile yarışmalı floresans çalışmasında ise **K**₁, **K**₂ ve **K**₃ komplekslerinin anlık bağlanma sabiti sırası ile $1,8 \times 10^6$, $1,1 \times 10^6$, $7,1 \times 10^5$ M⁻¹ olarak hesaplanmıştır. EtBr, ct-DNA varlığında interkalasyon yaptığı bilinen bir moleküldür. **K**₁ kompleksinde bulunan dietil grubunun varlığı hidrofobik özelliği arttırmakta, hidrofobik özelliği yüksek olan DNA'nın iç kısmındaki baz çiftleri arasında yerleşmesini sağlamaktadır. Bu da iki kompleks arasındaki bağlanma kuvvetindeki farkı açıklamaktadır.

Agaroz jel çalışmasında ise; **K₁**, **K₂** ve **K₃** komplekslerinin sabit H₂O₂ varlığında etüvde 37 °C de 1 saat inkübasyonu sonrasında alınan elektroforez görüntüsünde, komplekslerin 10 µM konsantrasyonda pBR322-DNA'nın her iki zincirini kesmesiyle Form III'ün oluştuğu görölmüştür. Cu(II) içeren kompleksler H₂O₂ varlığında •OH oluşması ile DNA'da kırıklara neden olduğu DNA'da görölen bu kırılmalara Cu(II)/Cu(I) redoks yapısının neden olduğu düşünölmektedir.

Komplekslerin daha evvelden rapor edilen sitotoksik, anti-bakteriyel ve anti-fungal biyolojik aktivitelerinin (Babahan et al. 2014; Babahan et al. 2014) komplekslerin bağlanma ve DNAaz aktiviteleri sonucu meydana geldiği ve bunlarla orantılı oldukları düşünölmektedir.



KAYNAKLAR

- Ali A Q, Teoh S G, Salhin A, Eltayeb N E, Ahamed M B K and Majid A M S A** (2014) Synthesis of isatin thiosemicarbazones derivatives: In vitro anti-cancer, DNA binding and cleavage activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 125:440-48.
- Ali M A and Livingstone S E** (1974) Metal complexes of sulphur-nitrogen chelating agents. *Coordination Chemistry Reviews* 13(2-3):101-32.
- Anitha P, Chitrapriya N, Jang Y and Viswanathamurthi P** (2013) Synthesis, characterization, DNA interaction, antioxidant and anticancer activity of new ruthenium (II) complexes of thiosemicarbazone/semicarbazone bearing 9, 10-phenanthrenequinone. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 129:17-26.
- Babahan İ, Özmen A, Orhan N, Kazar D and Değirmenci E H** (2014) Synthesis, characterization, and in vitro anti-neoplastic activity of novel vic-dioximes bearing thiosemicarbazone side groups and their mononuclear complexes. *Bioorganic Chemistry* 53:92-98.
- Babahan I, Eyduran F, Coban E P, Orhan N, Kazar D and Biyik H** (2014) Spectroscopic and biological approach of Ni(II), Cu(II) and Co(II) complexes of 4-methoxy/ethoxybenzaldehyde thiosemicarbazone glyoxime. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 121:205-215.
- Bal T, Atasever B, Solakoğlu S, Erdem-Kuruca S and Ülküseven B** (2007) Synthesis, characterisation and cytotoxic properties of the N 1, N 4-diarylidene-S-methyl-thiosemicarbazone chelates with Fe (III) and Ni (II). *European Journal of Medicinal Chemistry* 42(2):161-67.
- Bavin, E M, Rees R J W, Robson J M, Seiler M, Seymour D E and Suddaby D** (1950) The tuberculostatic activity of some thiosemicarbazones. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2(1):764-72.
- Behnisch R, Mietzsch F, and Schmidt H** (1950) Chemical Studies on Thiosemicarbazones with particular reference to Antituberculous Activity. *American Review of Tuberculosis and Pulmonary Diseases* 61(1):1-7.
- Belicchi-Ferrari M, Bisceglie F, Pelosi G and Tarasconi P** (2008) Heterocyclic substituted thiosemicarbazones and their Cu (II) complexes: synthesis, characterization and studies of substituent effects on coordination and DNA binding. *Polyhedron* 27(5):1361-67.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Buschini A, Pinelli S, Pellacani C, Giordani F, Belicchi M, Bisceglie F, Giannetto M, Pelosi G and Tarasconi P** (2009) Synthesis, characterization and deepening in the comprehension of the biological action mechanisms of a new nickel complex with antiproliferative activity. *Journal of Inorganic Biochemistry* 103(5):666-77.
- Campbell M J M** (1975) Transition metal complexes of thiosemicarbazide and thiosemicarbazones. *Coordination Chemistry Reviews* 15(2-3):279-319.
- Casas J S, Garcia-Tasende M S and Sordo J** (2000) Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. *Coordination Chemistry Reviews* 209(1):197-261.
- Chaveerach U, Meenongwa A, Trongpanich Y, Soikum C and Chaveerach P** (2010) DNA binding and cleavage behaviors of copper (II) complexes with amidino-O-methylurea and N-methylphenyl-amidino-O-methylurea, and their antibacterial activities. *Polyhedron* 29(2):731-38.
- Chen J, Huang Y-W, Liu G, Afrasiabi Z, Sinn E, Padhye S and Ma Y** (2004) The cytotoxicity and mechanisms of 1, 2-naphthoquinone thiosemicarbazone and its metal derivatives against MCF-7 human breast cancer cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* 197(1):40-48.
- Dilsiz N** (2009) Nükleik asitlerin yapısı, Moleküler Biyoloji, 2. 279. ISBN: 975-8624-86-5. Palme yayıncılık, Ankara, 26-27. 49-50.
- Domagk G, Behnisch R, Mietzsch F and Schmidt H S** (1946) Über eine neue, gegen Tuberkelbazillen in vitro wirksame Verbindungsklasse. *Naturwissenschaften* 33(10):315-15.
- Eftink M R and Ghiron C A** (1981) Fluorescence quenching studies with proteins. *Analytical Biochemistry* 114(2):199-227.
- Ermüt G, Karalı N, Çetin İ, Topçul M and Birteksöz S** (2013) Synthesis and chemotherapeutic activities of 5-chloro-1H-indole-2, 3-dione 3-thiosemicarbazones. *Marmara Pharmaceutical Journal* 17(2):147-54.
- Freund M and Schander A** (1902) Thiosemicarbazid als Reagens auf Aldehyde und Ketone. *European Journal of Inorganic Chemistry* 35(3):2602-06.
- Hall M D, Salam N K, Hellowell J L, Fales H M, Kensler C B, Ludwig J A, Szakács G, Hibbs D E and Gottesman M M** (2009) Synthesis, activity, and pharmacophore development for isatin- β -thiosemicarbazones with selective activity toward multidrug-resistant cells. *Journal of Medicinal Chemistry* 52(10):3191-204.
- Hu W-X, Zhou W, Xia C-N, and Wen X** (2006) Synthesis and anticancer activity of thiosemicarbazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 16(8):2213-18.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Hussein M A, Guan T S, Haque R A, Ahamed M B K and Majid A M S A** (2015) Synthesis and characterization of thiosemicarbazonato molybdenum (VI) complexes: In vitro DNA binding, cleavage, and antitumor activities. *Polyhedron* 85:93-103.
- Iakovidis I, Delimaris I and Piperakis S M** (2011) Copper and its complexes in medicine: a biochemical approach. *Molecular Biology International* 2011.
- Kashanian S, Khodael M M, Roshanfekr H, Shahabadi N and Mansouri G** 2012) DNA binding, DNA cleavage and cytotoxicity studies of a new water soluble copper (II) complex: the effect of ligand shape on the mode of binding. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 86:351-59.
- Kiran T, Prasanth V G, Balamurali M M, Vasavi C S, Munusami P, Sathiyarayanan K I and Pathak M** (2015) Synthesis, spectroscopic characterization and in vitro studies of new heteroleptic copper (II) complexes derived from 2-hydroxy naphthaldehyde Schiff's bases and N, N donor ligands: Antimicrobial, DNA binding and cytotoxic investigations. *Inorganica Chimica Acta* 433:26-34.
- Kumar B V, Naik H S B, Girija D, Sharath N, Pradeepa S M, Hoskeri H J and Prabhakara M C** (2012) Synthesis, DNA-binding, DNA-photocleavage profiling and antimicrobial activity of novel tetra-aza macrocyclic Ni (II), Co (II) and Cu (II) complexes constrained by thiadiazole. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 94:192-99.
- Kumar R S and Arunachalam S** (2007) DNA binding and antimicrobial studies of some polyethyleneimine-copper (II) complex samples containing 1, 10-phenanthroline and 1-theronine as co-ligands. *Polyhedron* 26(13):3255-62.
- Li J, Zheng L-M, King I, Doyle T W and Chen S-H** (2001) Syntheses and Antitumor Activities of Potent Inhibitors of Ribonucleotide Reductase 3-Amino-4-Methylpyridine-2-Carboxaldehyde-Thiosemicarbazone (3-Amp), 3-Amino-Pyridine-2-Carboxaldehyde-Thiosemicarbazone (3-Ap) and its Water-Soluble Prodrugs. *Current Medicinal Chemistry* 8(2):121-33.
- Li Y, Wu Y, Zhao J and Yang P** (2007) DNA-binding and cleavage studies of novel binuclear copper (II) complex with 1, 1'-dimethyl-2, 2'-biimidazole ligand. *Journal of Inorganic Biochemistry* 101(2):283-90.
- Lobana T S, Sharma R, Bawa G and Khanna S** (2009) Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals—an overview. *Coordination Chemistry Reviews* 253(7):977-1055.
- Lu J-Z, Du Y-F, Guo H-W, Jiang J, Zeng X-D, and Zang L-Q** (2011) Two oxovanadium complexes incorporating thiosemicarbazones: synthesis, characterization, and DNA-binding studies. *Journal of Coordination Chemistry* 64(7):1229-39.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Manikandan R, P Vijayan P, Anitha P G, Prakash G, Viswanathamurthi P, Butcher R J, Velmurugan K and Nandhakumar R** (2014) Synthesis, structure and in vitro biological activity of pyridoxal N (4)-substituted thiosemicarbazone cobalt (III) complexes. *Inorganica Chimica Acta* 421:80-90.
- Metcalf C and Thomas J A** (2003) Kinetically inert transition metal complexes that reversibly bind to DNA. *Chemical Society Reviews* 32(4):215-24.
- Mignot A, Miocque M, Binet P, Rapin J R, Rinjard P, Roux M, Cals M J and Ekindjian J C** (1980) Thiosemicarbazones d'aldéhydes Aromatiques Antiinflammatoires: Pharmacologie, étude pharmacocinétique préliminaire, action sur le fibroblaste en culture. *European Journal of Medicinal Chemistry* 15:33-40.
- Mishra D, Naskar S, Drew M G B and Chattopadhyay S K** (2006) Synthesis, spectroscopic and redox properties of some ruthenium (II) thiosemicarbazone complexes: structural description of four of these complexes. *Inorganica Chimica Acta* 359(2):585-92.
- Murugkar A, Unnikrishnan B, Padhye S, Bhonde R, Teat S, Triantafillou E and Sinn E** (1999) Hormone anchored metal complexes. 1. Synthesis, structure, spectroscopy and in vitro antitumor activity of testosterone acetate thiosemicarbazone and its metal complexes. *Metal-based drugs* 6(3):177-82.
- Muslu H, Golcu A, Tumer M and Ozsoz M** (2011) Electrochemical investigation and DNA-binding studies of pefloxacin-metal (II/III) complexes. *Journal of Coordination Chemistry* 64(19):3393-407.
- Netalkar P P, Netalkar S P and Revankar V K** (2015) Transition metal complexes of thiosemicarbazone: Synthesis, structures and invitro antimicrobial studies. *Polyhedron* 100:215-22.
- Neyts J and Clercq E D** (2003) Therapy and short-term prophylaxis of poxvirus infections: historical background and perspectives. *Antiviral Research* 57(1):25-33.
- Olgun N** (2013) Kumarinil, Keton Tiyosemikarbazonlar ve Kumarinil Tiyazalon Hidrazonlar Üzerine Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilimdalı, 10 s.
- Öztunar N** (2006) Tiyosemikarbazonların Oksim Türevlerinin ve komplekslerinin sentezi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 33-34 s.
- Padhye S and Kauffman G B** (1985) Transition metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. *Coordination Chemistry Reviews* 63:127-60.

KAYNAKLAR (devam ediyör)

- Poyraz M, Sari M, Demirci F, Kosar M, S Demirayak S and Büyüküngör O** (2008) Synthesis, crystal structure and biological activity of 1-(1H-benzoimidazol-2-yl)-ethanone thiosemicarbazone and its cobalt complex. *Polyhedron* 27(9):2091-96.
- Prabhakaran R, Anantharaman S, Thilagavathi M, Kaveri M V, Kalaivani P, Karvembu R, Dharmaraj N, Bertagnolli H, Dallemer F and Natarajan K** (2011) Preparation, spectroscopy, EXAFS, electrochemistry and pharmacology of new ruthenium (II) carbonyl complexes containing ferrocenylthiosemicarbazone and triphenylphosphine/arsine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 78(2):844-53.
- Prabhakaran R, Huang R, Renukadevi S V, Karvembu R, Zeller M and Natarajan K** (2008) Coordination behaviour of ferrocenylthiosemicarbazone in a novel hetero trinuclear nickel (II) complex: Synthesis, spectral, electrochemistry and X-ray crystallography. *Inorganica Chimica Acta* 361(8):2547-52.
- Prabhakaran R, Kalaivani P, Huang R, Poornima P, Padma V V, Dallemer F and Natarajan K** (2013) DNA binding, antioxidant, cytotoxicity (MTT, lactate dehydrogenase, NO), and cellular uptake studies of structurally different nickel (II) thiosemicarbazone complexes: synthesis, spectroscopy, electrochemistry, and X-ray crystallography. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 18(2):233-47.
- Prabhakaran R, Kalaivani P, Poornima P, Dallemer F, Paramaguru G, Padma V V, Renganathan R, Huang R and Natarajan K** (2012a) One pot synthesis of structurally different mono and dimeric Ni (II) thiosemicarbazone complexes and N-arylation on a coordinated ligand: a comparative biological study. *Dalton Transactions* 41(31):9323-36.
- Prabhakaran R, Huang R, Karvembu R, Jayabalakrishnan C and Natarajan K** (2007) Formation of unusual ruthenium (III) carbonyl complex through ONS tricoordination of salicylaldehyde-N-phenylthiosemicarbazone. *Inorganica Chimica Acta* 360(2):691-94.
- Prabhakaran R, Kalaivani P, Renukadevi S V, Huang R, Senthilkumar K, Karvembu R and Natarajan K** (2012b) Copper Ion Mediated Selective Cleavage of C–S Bond in Ferrocenylthiosemicarbazone Forming Mixed Geometrical [(PPh₃)₂Cu(μ-S)₂Cu(PPh₃)₂] Having Cu₂S₂ Core: Toward a New Avenue in Copper–Sulfur Chemistry. *Inorganic Chemistry* 51(6):3525-32.
- Prakash G, Manikandan R, Viswanathamurthi P, Velmurugan K and Nandhakumar R** (2014) Ruthenium (III) S-methylisothiosemicarbazone Schiff base complexes bearing PPh₃/AsPh₃ coligand: Synthesis, structure and biological investigations, including antioxidant, DNA and protein interaction, and in vitro anticancer activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 138:63-74.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Pulvermacher G** (1894) Ueber einige Abkömmlinge des Thiosemicarbazids und Umsetzungsproducte derselben. *European Journal of Inorganic Chemistry* 27(1):613-30.
- Raja D S, Bhuvanesh N S P and Natarajan K** (2012) Synthesis, crystal structure and pharmacological evaluation of two new Cu (II) complexes of 2-oxo-1, 2-dihydroquinoline-3-carbaldehyde (benzoyl) hydrazone: A comparative investigation. *European Journal of Medicinal Chemistry* 47:73-85.
- Reinhardt C G and Krugh T R** (1978) A comparative study of ethidium bromide complexes with dinucleotides and DNA: direct evidence for intercalation and nucleic acid sequence preferences. *Biochemistry* 17(23):4845-54.
- Resciffina A, Zagni C, Varrica M G, Pistara V and Corsora A** (2014) Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling. *European Journal of Medicinal Chemistry* 74:95-115.
- Ronen D and Teitz Y** (1984) Inhibition of the synthesis of Moloney leukemia virus structural proteins by N-methylisatin-beta-4', 4'-diethylthiosemicarbazone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 26(6):913-16.
- Saif M, Mashaly M M, Eid M F and Fouad R** (2012) Synthesis, characterization and thermal studies of binary and/or mixed ligand complexes of Cd (II), Cu (II), Ni (II) and Co (III) based on 2-(Hydroxybenzylidene) thiosemicarbazone: DNA binding affinity of binary Cu (II) complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 92:347-56.
- Shamsi M, Yadav S and Arjmand F** (2014) Synthesis and characterization of new transition metal (Cu (II), Ni (II) and Co (II)) l-phenylalanine–DACH conjugate complexes: In vitro DNA binding, cleavage and molecular docking studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 136:1-11.
- Shawish H B, Maah M, Halim S N A and Shaker S A** (2014) Synthesis, Characterization and Structural Studies of Binuclear Nickel (II) Complexes derived from dihydroxybenzaldehyde thiosemicarbazones, bridged by 1, 2-bis (diphenylphosphino) ethane. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Shebaldina L S, Kovalchukova O V, Strashnova S B, Zaitsev B E and Ivanova T M** (2004) Synthesis and Physicochemical Properties of d-and f-Metal Complexes with Alloxan. *Russian Journal of Coordination Chemistry* 30(1):38-42.
- Sing R B, Garg B S and Sing R P** (1978) Analytical applications of thiosemicarbazones and semicarbazones. *Talanta Reviews* 25:619-632
- Singhal S, Arora S, Agarwal S, Sharma R and Singhal N** (2013) A review on potential biological activities of thiosemicarbazides. *World Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences* 2:4661-81.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Sirajuddin M, Ali S and Badshah A** (2013) Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 124:1-19.
- Sönmez S** (2010) Klorür Katkılı Polipirolün Eser Düzeydeki bakırın Katı Faz Ekstraksiyonunda Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
- Turner P C, McLennan A G, Bates A D and White M R H** (2004) Moleküler Biyoloji, Konuk M (ed.), 2. Baskı, ISBN; 975-591-596-6. Ankara.
- Uma V, Castineiras A and Nair B U** (2007) Copper (II) complexes of N 4 tetradentate ligands with flexible alkyl spacers: Crystal structure, DNA binding and cleavage studies. *Polyhedron* 26(13):3008-16.
- Vyas K M, Jadeja R N, Patel D, Devkar R V and Gupta V K** (2013) A new pyrazolone based ternary Cu (II) complex: Synthesis, characterization, crystal structure, DNA binding, protein binding and anti-cancer activity towards A549 human lung carcinoma cells with a minimum cytotoxicity to non-cancerous cells. *Polyhedron* 65:262-74.
- Wang B-D, Yang Z-Y, Lü M-H, Hai J, Wang Q and Chen Z-H** (2009) Synthesis, characterization, cytotoxic activity and DNA binding Ni (II) complex with the 6-hydroxy chromone-3-carbaldehyde thiosemicarbazone. *Journal of Organometallic Chemistry* 694(25):4069-75.
- West D X, Gebremedhin H, Butcher R J and Jasinski J P** (1995) Molecular structure and spectral properties of bromo (2-acetylpyridine-4 N-methylthiosemicarbazone) copper (II). *Transition Metal Chemistry* 20(1):84-87.
- West D X, Liberta A E, Padhye S B, Chikate R C, Sonawane P B, Kumbhar A S and Yerande R G** (1993) Thiosemicarbazone complexes of copper (II): structural and biological studies. *Coordination Chemistry Reviews* 123(1):49-71.
- West D X, Makeever R M, Scovill J P and Klayman D L** (1984) Copper (II) complexes of thiosemicarbazones derived from 2-acetylpyridine and its n-oxide. *Polyhedron* 3(8):947-55.
- West D X, Padhye S B, and Sonawane P B** (1991) Structural and physical correlations in the biological properties of transition metal heterocyclic thiosemicarbazone and S-alkyldithiocarbazate complexes. Pp. 1-50 in *Complex Chemistry*: Springer.
- Ying P, Zeng P, Lu J, Chen H, Liao X and Yang N** (2015) New Oxidovanadium Complexes Incorporating Thiosemicarbazones and 1, 10-Phenanthroline Derivatives as DNA Cleavage, Potential Anticancer Agents, and Hydroxyl Radical Scavenger. *Chemical biology & drug design* 86(4):926-37.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ze-Hua L, Chun-Ying D, Ji-Hui L, Yong-jiang L, Yu-Hua M, and Xiao-Zeng Y** (2000) Structural dependence of Π - Π interactions in dithiocarbazato and thiosemicarbazato nickel complexes. *New Journal of Chemistry* 24(12):1057-62.
- Zhang Q-Q, Zhang F, Wang W-G and Wang X-L** (2006) Synthesis, crystal structure and DNA binding studies of a binuclear copper (II) complex with phenanthroline. *Journal of Inorganic Biochemistry* 100(8):1344-52.
- Zhao P, Huang J-W, Mei Wen-J, He J, and Ji L-N** (2010) DNA binding and photocleavage specificities of a group of tricationic metalloporphyrins. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 75(3):1108-14.



ÖZGEÇMİŞ

Nursel ESER 1962 yılında doğdu. İlköğrenimini Gerede Esentepe İlkokulunda, Ortaöğretimini Van 50. Yıl ortaokulunda, Lise öğrenimini ise Samsun 19 Mayıs Lisesinde tamamladı. Malatya İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 1989 yılında mezun oldu. Halen Zonguldak Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesinde Kimya Öğretmeni olarak görev yapmaktadır.

ADRES BİLGİLERİ

Adres : Bahçelievler Mahallesi, Madenciler Sokak, Liman Apartmanı No: 26/27

ZONGULDAK

Tel: (372) 252 23 10

E-posta: nykimya@hotmail.com