

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ DİPİRİDO[3,2-*a*:2',3'-*c*]FENAZİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE DNA ETKİLEŞİMLERİNİN ÇALIŞILMASI**



KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHRUZ ABULHASANOV

TEMMUZ 2018

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ DİPİRİDO[3,2-*a*:2',3'-*c*]FENAZİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE DNA ETKİLEŞİMLERİNİN ÇALIŞILMASI**

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bahrüz ABULHASANOV

DANIŞMAN: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

ZONGULDAK

Temmuz 2018

KABUL:

Bahruz ABULHASANOV tarafından hazırlanan “Yeni dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazinin türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimlerinin çalışılması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir.
18/07/2018

Danışman: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



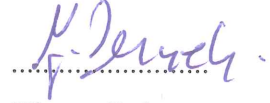
Üye: Prof. Dr. İrfan KANDEMİR

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü



Üye: Doç. Dr. Zuhale GERÇEK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım./..../2018



Doç. 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.”



Bahruz ABULHASANOV

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YENİ DİPİRİDO[3,2-*a*:2', 3'-*c*]FENAZİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE DNA ETKİLEŞİMLERİNİN ÇALIŞILMASI

Bahrüz ABULHASANOV

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

Temmuz 2018, 105 sayfa

Bu çalışmada, yeni dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin-10,11-imidazol-2 ligandı ve bu ligandın nikel ve kobalt metalleriyle oluşturduğu oktahedral nikel ve kobalt komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimleri üzerinde çalışılmıştır.

1,10 fenantrolin-5,6-dion'dan yola çıkarak dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin-10,11-imidazol-2 (DPPZ-idzo) ligandı sentezlenmiş. Daha sonra bu ligandın [Ni(phen)₂(dppz-idzo)]²⁺ ve [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ metal kompleksleri hazırlanmıştır. Elde edilen ligand ve metal komplekslerin karakterizasyonu FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS analiz yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir.

Komplekslerin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyonu, floresans, viskozimetri ve agaroz jel elektroforezi metotlarıyla çalışılmıştır. UV-Vis titrasyonu sonuçlarına her iki kompleksin de

ÖZET (devam ediyor)

yüksek bağlanma sabitleriyle (sırasıyla $4,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, $6,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) DNA'nın baz çiftleri arasına girerek interkalasyon yaptığını göstermektedir ve kobalt kompleksi nikel kompleksinden biraz daha kuvvetli bağlanmıştır. Yapılan viskozimetri ve floresans çalışmaları da bu sonucu desteklemektedir. Elektroforez çalışmalarında kompleksler düşük konsantrasyonlarda nükleaz etkisi göstermiştir ve yine kobalt kompleksinin nükleaz aktivitesi daha yüksektir.

Sonuçlar, her iki kompleksin de interkalasyonla DNA'ya nispeten yüksek bağlanma sabitleri ile bağlandığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Dppz, nikel, kobalt, DNA, interkalasyon, elektroforez, nükleaz aktivitesi

Bilim Kodu: 405.05.01

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND DNA INTERACTION OF NEW DIPYRIDO [3,2-*a*:2',3'-*c*] PHENAZINE DERIVATIVES

Bahrüz Abulhasanov

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

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Burak ÇOBAN

July 2018, 105 page

In this work, the synthesis and characterization and DNA interactions of novel dipyrido[3,2-*a*:2',3'-*c*]phenazine-10,11-imidazolone-2 ligand and octahedral nickel and cobalt complexes of this ligand were studied.

The ligand dipyrido[3,2-*a*:2',3'-*c*]phenazine-10,11-imidazolone-2 (dppz-idzo) was synthesized from 1,10 phenanthroline-5,6-dione. The metal complexes of this ligand $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ and $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ were then prepared. The characterization of the ligand and metal complexes obtained is characterized by FT-IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and ESI-MS analysis methods.

The DNA interactions of the complexes were studied by UV-Vis titration, fluorescence, viscosimetry and agarose gel electrophoresis methods. According to UV-Vis titrations, both complexes intercalate with DNA binding between base pairs with high binding constants

ABSTRACT (continued)

($4.7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, $6.7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, respectively) and the cobalt complex binds slightly stronger than the nickel complex. The viscosity and fluorescence studies also supported this result. In electrophoresis studies, the both complexes showed nuclease activity at low concentrations and again the nuclease activity of cobalt complex was found higher.

The results suggest that both complexes intercalatively bind DNA with relatively high binding constants.

Key Words: Dppz, nickel, cobalt, DNA, intercalation, electrophoresis, nuclease activity

Science Code: 405.05.01

TEŞEKKÜR

Tez çalışması boyunca desteğini bir an olsun eksik etmeyen, bilgi birikimini ve akademik tecrübesini benimle paylaşan, kendimi geliştirmeme yardımcı olan, hoşgörüsünü, sabrını, en önemlisi desteğini eksik etmeyen çok kıymetli hocam ve danışmanım Doç. Dr. Burak ÇOBAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda yardımını ve bilgi birikimini esirgemeyen, her daim beni destekleyen, yol gösteren değerli hocalarım Arş. Grv. Dr. Ufuk YILDIZ ve Arş. Grv. Fatih PEKDEMİR'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince her türlü laboratuvar imkânını esirgemeyen ve derin bilgileriyle beni aydınlatan sayın Prof. Dr. Abdurrahman ŞENGÜL ve Doç. Dr. Zuhale GERÇEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans döneminde bana yardımcı olan ve birlikte güzel vakit geçirdiğimiz laboratuvar arkadaşlarım Bahar CAYMAZ, Engin SAKA, Gözde DURSUN ve Melike EREN'e teşekkür ederim.

Bana bilimi sevdiren, yaşamım boyunca maddi ve manevi konuda destek olan aileme ve arkadaşlarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmaya maddi kaynak sağlayan B.E.Ü Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi'ne teşekkür ederim. (Yeni Dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve DNA Etkileşimlerinin Çalışılması, 2017-72118496-04'nolu BEUN araştırma Fonu Projesi)



İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| KABUL | ii |
| ÖZET | iii |
| ABSTRACT | v |
| TEŞEKKÜR | vii |
| İÇİNDEKİLER..... | ix |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | xiii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xvii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | xix |
| | |
| BÖLÜM 1 GİRİŞ | 1 |
| | |
| 1.1 DNA YAPILARI VE FONKSİYONLARI..... | 1 |
| 1.2 DNA-İLAÇ ETKİLEŞİMİ | 6 |
| 1.3 KÜÇÜK MOLEKÜLLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM YOLLARI..... | 8 |
| 1.3.1 Elektrostatik Etkileşim | 10 |
| 1.3.2 İnterkalasyon | 10 |
| 1.3.3 Oyuk Bağlayıcılar (Groove Binders) | 11 |
| 1.4 METAL KOMPLEKSLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER..... | 13 |
| 1.4.1 UV Titrasyon Yöntemi..... | 13 |
| 1.4.2 Floresans Spektroskopisi..... | 17 |
| 1.4.3 Viskozimetri | 20 |
| 1.4.4 Agaroz Jel Elektroforez..... | 22 |
| 1.5 1,10-FENANTROLİN VE TÜREVLERİ | 24 |
| 1.6 DİPİRİDO[3,2- <i>a</i> :2',3'- <i>c</i>]FENAZİN VE TÜREVLERİ..... | 27 |
| 1.7 NİKEL VE KOBALT KİMYASININ DNA'YA UYGULANMASI..... | 43 |

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOD..... | 53 |
| 2.1 MATERYALLER | 53 |
| 2.1.1 Çözücü ve kimyasallar | 53 |
| 2.2 KULLANILAN CİHAZLAR..... | 54 |
| 2.2.1 Infrared Spektrofotometresi: | 54 |
| 2.2.2 ¹ H-NMR Spektrofotometresi: | 54 |
| 2.2.3 UV/Vis Spektrofotometresi:..... | 54 |
| 2.2.4 Floresans Spektrometresi: | 54 |
| 2.2.5 ESI-MS:..... | 54 |
| 2.2.6 Jel Elektroforez: | 54 |
| 2.3 LİGANDLARIN SENTEZİ | 55 |
| 2.3.1 1,10-fenantrolin-5,6-dion Sentezi | 55 |
| 2.3.2 Dipirido[3,2- <i>a</i> :2',3'- <i>c</i>]fenazin-10,11-imidazol-2 (DPPZ-idzo) Sentezi | 55 |
| 2.4 KOMPLEKSLERİN SENTEZİ | 56 |
| 2.4.1 [Ni(phen) ₂ (H ₂ O)Cl]Cl Sentezi | 56 |
| 2.4.2 [Co(phen) ₂ Cl ₂]Cl Sentezi | 57 |
| 2.4.3 [Ni(phen) ₂ (DPPZ-idzo)](ClO ₄) ₂ Sentezi..... | 57 |
| 2.4.4 [Co(phen) ₂ (DPPZ-idzo)](ClO ₄) ₃ Sentezi | 58 |
| 2.5 UV TİTRASYONU..... | 59 |
| 2.6 FLORESANS SPEKTROSKOPİSİ | 59 |
| 2.6.1 Kompleksin Floresans Değişimi | 59 |
| 2.6.2 EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması | 59 |
| 2.7 AGAROS JEL ELEKTROFOREZ..... | 59 |
| 2.8 VİZKOZİTE ÇALIŞMALARI | 60 |
| BÖLÜM 3 SONUÇLAR..... | 61 |
| 3.1 SENTEZ..... | 61 |
| 3.1.1 1,10-Fenantrolin-5,6-dion Sentezi..... | 61 |
| 3.1.2 Dipirido[3,2- <i>a</i> :2',3'- <i>c</i>]fenazin-10,11-imidazol-2 (dppz-idzo) Sentezi | 62 |
| 3.1.3 [Ni(phen) ₂ (H ₂ O)Cl]Cl Sentezi | 66 |

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 3.1.4 [Co(phen) ₂ Cl ₂]Cl Sentezi..... | 67 |
| 3.2 KOMPLEKSLERİN SENTEZİ | 72 |
| 3.2.1 [Ni(phen) ₂ (dppz-idzo)] ⁺² Sentezi | 72 |
| 3.2.2 [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ⁺² Sentezi..... | 76 |
| 3.3 KOMPLEKSLERİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİ..... | 80 |
| 3.3.1 UV Titrasyon Sonuçları: | 80 |
| 3.3.2 Floresans Çalışması:..... | 83 |
| 3.3.2.1 Yarışmalı Floresans | 86 |
| 3.3.3 Viskozite Sonuçları | 90 |
| 3.3.4 Elektroferez Sonuçları..... | 91 |
| 3.3.4.1 Elektroferez Sonuçlarına Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Etkisi | 92 |
| 3.4 SONUÇ | 94 |
| KAYNAKLAR..... | 95 |
| ÖZGEÇMİŞ | 105 |



ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>No</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Şekil 1.1 DNA zinciri..... | 1 |
| Şekil 1.2 DNA zincirinde bulunan azotlu bazlar..... | 2 |
| Şekil 1.3 A-T ve G-C bazları arasındaki hidrojen bağları..... | 3 |
| Şekil 1.4 DNA sarmalı | 3 |
| Şekil 1.5 DNA konformasyonları..... | 4 |
| Şekil 1.6 DNA Replikasyonu | 5 |
| Şekil 1.7 mRNA sentezi | 5 |
| Şekil 1.8 Gen ekspresyonu | 6 |
| Şekil 1.9 Antikanser ilaçlarının etki mekanizması özeti | 7 |
| Şekil 1.10 DNA ait erime eğrileri | 8 |
| Şekil 1.11 Kovalent olmayan DNA etkileşim türleri | 9 |
| Şekil 1.12 Platin kompleksleri | 11 |
| Şekil 1.13 A-T ve G-C çiftlerinin minor ve major bağlanması..... | 12 |
| Şekil 1.14 DNA oyuğa bağlanma aktivitesi gösteren distamisin ve netropsin bileşikleri | 12 |
| Şekil 1.15 UV spektrumunda kaymalar | 14 |
| Şekil 1.16 Bağlanma sabiti belirlenmesinde çizilen örnek grafik referans | 15 |
| Şekil 1.17 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ moleküllerin yapısı | 16 |
| Şekil 1.18 $(\text{Ni}\cdot\text{HL}\cdot 3\text{H}_2\text{O})\cdot\text{NO}_3$ kompleksinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği..... | 16 |
| Şekil 1.19 $[\text{Ru}(\text{en})_2\text{pyip}]^{2+}$ kompleksinin değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu | 18 |
| Şekil 1.20 EtBr'ün molekül yapısı | 19 |
| Şekil 1.21 EtBr-DNA kompleksinin değişen Ni(II) kompleksi miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu | 19 |

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

| <u>No</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Şekil 1.22 Hoechst 33258 molekül yapısı | 20 |
| Şekil 1.23 EtBr için örnek titrasyon grafiği | 21 |
| Şekil 1.24 Ag (I) kompleksinin molekül yapısı ve DNA viskozitesine etkisi | 22 |
| Şekil 1.25 Farklı boyutlardaki moleküllerin jel üzerinde hareketi..... | 22 |
| Şekil 1.26 Plazmid DNA ve onun formalarına göre hızları | 23 |
| Şekil 1.27 [Pt(bpy)(pip)] ⁺² ve [Pt(bpy)(hpip)] ⁺² komplekslerin molekül yapısı | 24 |
| Şekil 1.28 [Pt(bpy)(pip)] ⁺² ve [Pt(bpy)(hpip)] ⁺² kompleksleri için elektroforez sonuçları | 24 |
| Şekil 1.29 1,10 Fenantrolin heterosiklik halka sistemleri. | 25 |
| Şekil 1.30 [Pd(Et-dtc)(phen)]NO ₃ kompleksinin molekül yapısı..... | 26 |
| Şekil 1.31 1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiğinin reaktif davranışı | 26 |
| Şekil 1.32 Renyum (I) komplekslerinin molekül yapısı..... | 28 |
| Şekil 1.33 dppz, qdppz ve hqdppz'nin molekül yapısı..... | 30 |
| Şekil 1.34 [Ru(phen) ₂ (6-R-dppz)] ²⁺ (R= -OH, NO ₂) molekül yapıları | 31 |
| Şekil 1.35 [Ru(phen) ₂ (dppz)] ²⁺ ve [Ru(5,6-dmp) ₂ (dppz)] ²⁺ molekül yapıları | 31 |
| Şekil 1.36 mitatp ve nitatp ligandlarının molekül yapısı | 34 |
| Şekil 1.37 Ru (II) kompleksinin molekül yapıları..... | 35 |
| Şekil 1.38 [Ru(en) ₂ (L)] ⁺² komplekslerin molekül yapısı | 36 |
| Şekil 1.39 Λ, Λ -[μ -bidppz(bipy) ₄ Ru ₂] ⁴⁺ kompleksin yapısı ve DNA'ya küçük oyuk üzerinden bağlanması | 37 |
| Şekil 1.40 Ru1 ve Ru2 komplekslerinin molekül yapısı | 38 |
| Şekil 1.41 Ru(II) komplekslerinin molekül yapısı | 39 |
| Şekil 1.42 Ru(II) komplekslerinin molekül yapıları | 40 |
| Şekil 1.43 Kuaterinze DPPZ ve onun türevlerinin molekül yapısı | 42 |
| Şekil 1.44 dq-DPPZ türevinin molekül yapısı | 43 |
| Şekil 1.45 Schiff bazı içeren Ni (II) metal komplekslerinin molekül yapısı..... | 45 |
| Şekil 1.46 [M(L) ₂ fyip] ²⁺ (M=Ru, Co; L= phen, bpy) komplekslerinin molekül yapısı..... | 46 |

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

| <u>No</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| Şekil 1.47 $[M(\text{phen})_2(\text{qdppz}/\text{dicnq})]^{n+}$ komplekslerinin molekül yapısı..... | 48 |
| Şekil 1.48 $[M(\text{phen})_2(\text{qbdp})]^{n+}$ molekülünün yapısı..... | 49 |
| Şekil 1.49 Sciff baz ligandın ve Co (II) ve Ni (II) kompleksinin molekül yapısı..... | 49 |
| Şekil 1.50 dppz türevlerinin Ru(II) komplekslerinin molekül yapıları..... | 51 |
| Şekil 2.1 1,10-fenantrolin-5,6-dion Sentezi | 55 |
| Şekil 2.2 DPPZ-idzo ligandının sentezi | 56 |
| Şekil 2.3 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$ Sentezi..... | 56 |
| Şekil 2.4 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$ Sentezi | 57 |
| Şekil 2.5 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksinin sentezi | 58 |
| Şekil 3.1 $[M(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{+n}$ komplekslerinin sentez şeması (M= Ni(II), Co(III))..... | 61 |
| Şekil 3.2 1,10-Fenantrolin-5,6-dion IR spektrumu. | 63 |
| Şekil 3.3 DPPZ-idzo ligandının IR spektrumu..... | 64 |
| Şekil 3.4 DPPZ-idzo ligandının kütle spektrumu..... | 65 |
| Şekil 3.5 DPPZ-idzo ligandının NMR spektrumu | 66 |
| Şekil 3.6 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$ IR spektrumu..... | 68 |
| Şekil 3.7 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$ ligandının kütle spektrumu..... | 69 |
| Şekil 3.8 $[\text{Co}(\text{phen})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}$ IR spektrumu..... | 70 |
| Şekil 3.9 $[\text{Co}(\text{phen})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}$ kütle spektrumu..... | 71 |
| Şekil 3.10 $[M(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{+2}$ komplekslerinin sentez şeması (M= Ni(II), Co(III))..... | 72 |
| Şekil 3.11 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ Kompleksinin IR Spektrumu..... | 74 |
| Şekil 3.12 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{+2}$ kompleksinin kütle spektrumu | 75 |
| Şekil 3.13 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{+2}$ ve $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$ komplekslerinin ve dppz-idzo ligandının UV spektrumlarının karşılaştırılması | 75 |
| Şekil 3.14 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ Kompleksinin IR Spektrumu | 79 |
| Şekil 3.15 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksinin kütle spektrumu..... | 78 |

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

| <u>No</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| Şekil 3.16 [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ³⁺ kompleksinin ¹ H NMR spektrumu | 78 |
| Şekil 3.17 [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ³⁺ Kompleksinin ¹³ C-NMR Spektrumu | 79 |
| Şekil 3.18 [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ³⁺ ve [Co(phen) ₂ Cl ₂] ⁺ komplekslerinin ve dppz-idzo ligandının UV spektrumlarının karşılaştırılması | 79 |
| Şekil 3.19 [Ni(phen) ₂ (dppz-idzo)] ²⁺ kompleksinin (10 µM) 0-9 µM DNA ile titrasyonundan elde edilen UV-Vis absorpsiyon spektrumu | 80 |
| Şekil 3.20 [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ³⁺ kompleksinin (10 µM) 0-9 µM DNA ile titrasyonundan elde edilen UV-Vis absorpsiyon spektrumu | 81 |
| Şekil 3.21 Artan DNA derişimiyle nikel ve kobalt komplekslerinin absorbans değişimi | 81 |
| Şekil 3.22 Ni/Co komplekslerine ait lineer grafiği..... | 82 |
| Şekil 3.23 [Ni(phen) ₂ (DPPZ-idzo)] ²⁺ kompleksinin (10 µM) 0-6 µM DNA ile titrasyonundan elde edilen floresans spektrumu | 84 |
| Şekil 3.24 [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ³⁺ kompleksinin (10 µM) 0-5 µM DNA ile titrasyonundan elde edilen floresans spektrumu | 85 |
| Şekil 3.25 Nikel ve kobalt komplekslerinin Stern-Volmer grafiği | 85 |
| Şekil 3.26 EtBr (20 µM) ve 100 µM sığır DNA'sı içeren çözeltilisinin artan nikel kompleksi derişimiyle elde edilen floresans spektrumu | 87 |
| Şekil 3.27 EtBr (20 µM) ve 100 µM sığır DNA'sı içeren çözeltilisinin artan kobalt kompleksi derişimiyle elde edilen floresans spektrumu | 87 |
| Şekil 3.28 Hoechst 33258 (1.25 µM) ve 12.5 µM sığır DNA' sı içeren çözeltilisinin artan nikel kompleksi derişimiyle elde edilen floresans spektrumu | 88 |
| Şekil 3.29 Hoechst 33258 (1.25 µM) ve 12.5 µM sığır DNA' sı içeren çözeltilisinin artan kobalt kompleksi derişimiyle elde edilen floresans spektrumu | 88 |
| Şekil 3.30 DNA çözeltilisinin (100 µM) artan EtBr, [Ni(phen) ₂ (dppz-idzo)] ²⁺ ve [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ³⁺ miktarıyla vizkozite değişimi | 90 |
| Şekil 3.31 Karanlıkta 1 saat inkübasyon sonrası [Ni(phen) ₂ (dppz-idzo)] ²⁺ ait elektroforez sonucu | 91 |
| Şekil 3.32 Karanlıkta 1 saat inkübasyon sonrası [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ³⁺ ait elektroforez sonucu | 92 |
| Şekil 3.33 Karanlıkta 38°C'ta [Ni(phen) ₂ (dppz-idzo)] ²⁺ 'a ait elektroforez sonucu | 93 |
| Şekil 3.34 Karanlıkta 38°C'ta [Co(phen) ₂ (dppz-idzo)] ³⁺ 'a ait elektroforez sonucu | 93 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>No</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| Çizelge 3.1 Komplekslerin bağlanma sabitleri karşılaştırılması..... | 83 |
| Çizelge 3.2 Nikel ve kobalt komplekslerinin UV titrasyonu sonuçları..... | 83 |
| Çizelge 3.3 Farklı titrasyon sonuçlarında Nikel ve kobalt kompleksi için elde edilen bağlanma sabitleri..... | 89 |





SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

| | |
|--------------------|--------------------|
| π | : Pi bağı |
| %T | : Geçirgenlik |
| $^{\circ}\text{C}$ | : Santigrat derece |
| μL | : Mikrolitre |
| μM | : Mikromolar |
| g | : Gram |
| L | : Ligand |
| mL | : Mililitre |
| mM | : Milimolar |
| nm | : Nanometre |
| λ | : Dalga boyu |
| ν | : Frekans |

KISALTMALAR

| | |
|-----------|--|
| Bpy | : 2,2'-bipiridin |
| Dmp | : Dimetil-1,10-fenantrolin |
| DPPZ | : Dipirido[3,2- <i>a</i> :2',3'- <i>c</i>]fenazin |
| DPPZ-idzo | :Dipirido[3,2- <i>a</i> :2',3'- <i>c</i>]fenazin-10,11-imidazol-2 |
| ESI-MS | :Elekronsprey iyonizasyonlu kütle spektrometresi |
| EtBr | :Etidyum bromür |
| FT-IR | :Fourier transformlu infrared spektrofotometre |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

NMR : Nükleer manyetik rezonans

Phen : 1,10-fenantrolin

UV : Ultraviyole



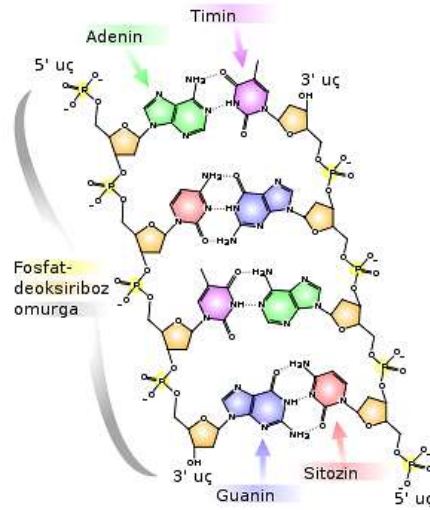
BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 DNA YAPILARI VE FONKSİYONLARI

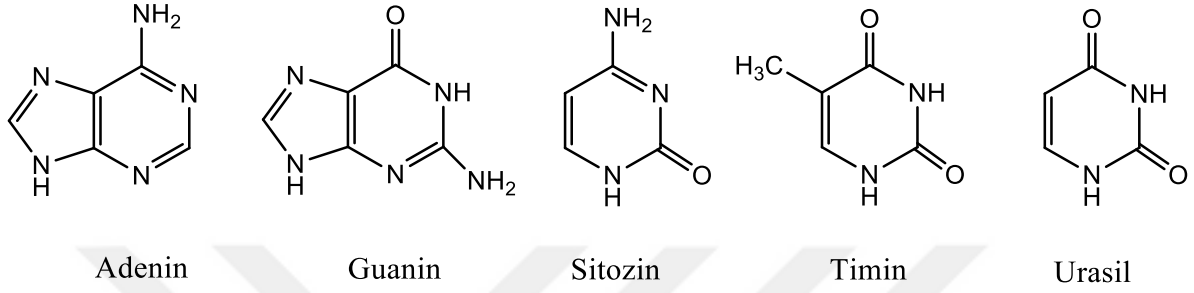
Genetik bilgilerin depolanmasında ve ifade edilmesinde önemli rol oynayan nükleik asitler iki temel sınıfa ayrılır: sadece bilgi depolamasında fonksiyon gösteren **deoksiribonükleik asit (DNA)** ve protein biyosentezi ve gen ifadesinin hemen hemen tüm aşamalarında rol alan **ribonükleik asit (RNA)**. Tüm nükleik asitler baz (pirimidin veya pürin), şeker (deoksiriboz ve riboz) ve bir fosfat biriminden meydana gelen nükleotidlerden oluşur. DNA ve RNA'yı bir birinden ayıran fark görüldüğü gibi sadece şeker tipi ve içerdikleri bazdır.

Nükleotitler birinin şeker grubunda bulunan 3'-karbonuyla diğerinin 5'-karbonu arasında fosfodiester bağıyla bir birine bağlanarak polimerik bir zincir oluştururlar (Şekil 1.1). Oluşan polimerik zincir birbirini tekrar eden fosfat ve şeker gruplarından oluşurken nükleik asidin DNA'mı yoksa RNA'mı olmasına karar veren baz değişikliği gösterir.



Şekil 1.1 DNA zinciri

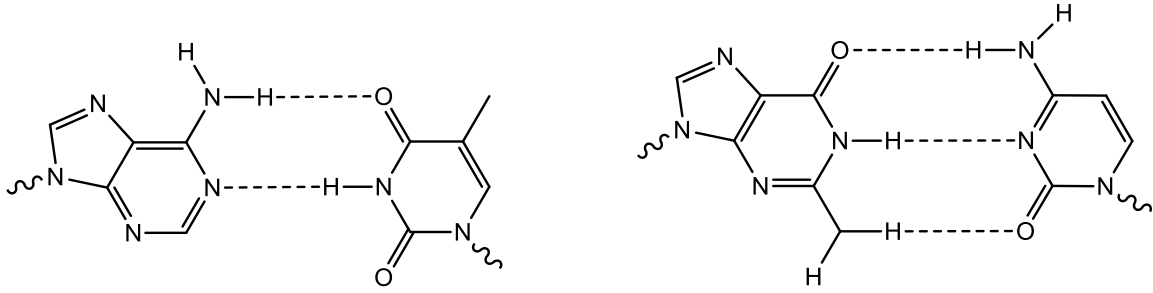
Nükleik asitteki bazlar, azotlu bazlar olarak da adlandırılan pirimidin ve pürindinden türemiş heterosiklik bileşiklerdir. Bu bazlardan beşi tüm organizmalarda bulunur. Pürin bazları olan iki halkalı sistemden oluşan adenin ile guanin ve tek halkalı bir sistem içeren pirimidin bazı ise sitozin ve timindir (Şekil 1.2). Pirimidin bazı olan sitozin hem DNA hem de RNA'da bulunur. Bunda farklı olarak pirimidin bazının diğer üyesi olan urasil sadece RNA'da bulunur. DNA'da ise urasil yerine urasilin türevi olan timin bulunur.



Şekil 1.2 DNA zincirinde bulunan azotlu bazlar

İlk kez 1869 yılında alman bir fizikçi olan Friedrich Miescher tarafından keşf edilen DNA asitliğinden ötürü nükleik asit olarak isimlendirilmiştir [1]. Bu olaydan yaklaşık 100 yıl sonra 1950 yılların başlarında James Watson ve Francis Crick DNA'nın X-ray çalışmalarını yorumlayarak DNA'nın bugün bilinen üçboyutlu halini ortaya çıkardılar [2]. Watson ve Crick deneysel olarak hiç bir çalışma yapmamış fakat DNA'nın o güne kadar bilinen bütün çalışmalarını bir araya toplayarak yorumlamış ve böylece DNA'nın yapısı doğru bir şekilde belirlenmiştir. Daha sonra araştırmalar devam ettirilmiş ve DNA'nın yaklaşık eşit miktarda adenin ve timin aynı zamanda guanin ile sitozin içerdiği ve bunların arasında bir etkileşim olduğu belirlenmiştir. Fakat bunların tersine Watson ve Crick'e göre adenin ve timin bazlarının toplam sayının guanin ve sitozin bazının toplam sayına olan oranı her bir organizmadan diğerine farklılık gösterir. DNA iki polinükleotit molekülünden ("iplikler") oluşur. Polinükleotiddeki her baz diğer polinükleotiddeki bir komplementer bazla hidrojen bağı oluşturur. Böylece adenin ile timin, guaninle ise sitozin bir birine komplementerdir. Diğer bir deyişle, her baz çifti bir pürin ve bir pirimidin bazı içerir (Şekil 1.3) [3].

Adenin timinle ve guaninin ise sitozinle komplementerliği farklı bazlar arasındaki hidrojen bağları dikkate alındığında anlaşılabilir. Şöyle ki A-T çiftlerinde iki ve G-C çiftleri arasında ise 3 hidrojen bağı bulunur. RNA'daki urasil, baz eşleşmesi sırasında timin gibi davranır. DNA'da iki iplik zıt polariteye sahip değilse, yani zıt yönlerde konumlanmamışlarsa o zaman Şekil 1.3'de gösterilen baz eşleşmeleri oluşmaz.

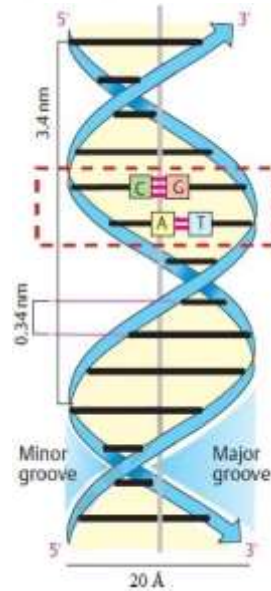


Şekil 1.3 A-T ve G-C bazları arasındaki hidrojen bağları

DNA yapısının iç kısmında bazlar arasındaki mesafe 0.34 nm olan hidrofobik bir yapı oluşturur ve böylece sulu dış ortamdan saklı bir apolar ortam oluştururken yüzeyi, omurganın şeker ve fosfat birimlerinden dolayı negatif yüklüdür.

DNA sarmalının çapı yaklaşık olarak 2 nm'dir ve her dönüşü 3.4 nm uzunluğunda olan 10 baz çifti içerir. Bu dönüşler sırasında her DNA'da bulunan iki farklı boşluk oluşur ve bu boşluklar "küçük oyuk" ve "büyük oyuk" olarak tanımlanır (Şekil 1.4). Büyük oyuk 12 Å, küçük oyuk ise 6 Å büyüklüğündedir.

DNA'nın diğer özelliklerinden biri de yapının esnek olmasıdır. Yapıdaki bu esneklik sayesinde DNA farklı konformasyonlarda bulunabilmektedir [4].

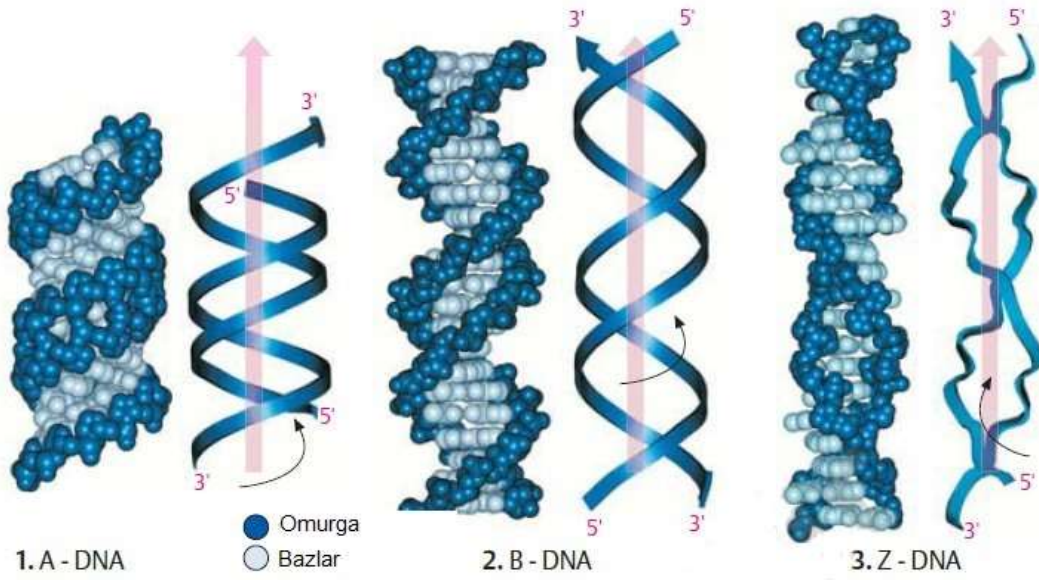


Şekil 1.4 DNA sarmalı

DNA B-DNA, A-DNA, Z-DNA olmak üzere üç farklı yapıda bulunabilir (Şekil 1.5). Bizim hakkında konuştuğumuz ve Watson ve Crick tarafından açıklanan DNA özellikleri B-DNA'ya aittir. X-ışınları çalışmaları sırasında keşfedilen A-DNA'nın B-DNA'a göre daha geniş ve

daha kısa olduğu görülmüştür. Bu yapı B-DNA'dan farklı olarak her bir dönüşümde 11 baz çifti içermektedir ve çapı 26 ile 29 Å arasında değişmektedir [4]. A-DNA B-DNA'nın dehidrate olduğu zamanlarda ortaya çıkar. A-DNA diğer DNA yapılarına göre daha kompakttır ve küçük oyuk neredeyse tamamen kaybolmuştur.

Z-DNA B-DNA'nın G-C bakımından zengin bölgelerinde oluşur ve radikal bir şekilde B-DNA'dan ayrılır. Z-DNA sarmalının çapı 18 Å ve her bir dönüşte 12 baz çifti yer alır. Z-DNA'nın şeker fosfat iskeleti zig zag görünümde olduğu için ona bu isim verilmiştir. Z-DNA sola kıvrımlıdır ve yapısındaki küçük oyuk derin ve dardır, büyük oyuk ise yoktur. Yapıdaki DNA parçaları muhtemelen fizyolojik önem taşır fakat ayrıntılar henüz bilinmemektedir [3].

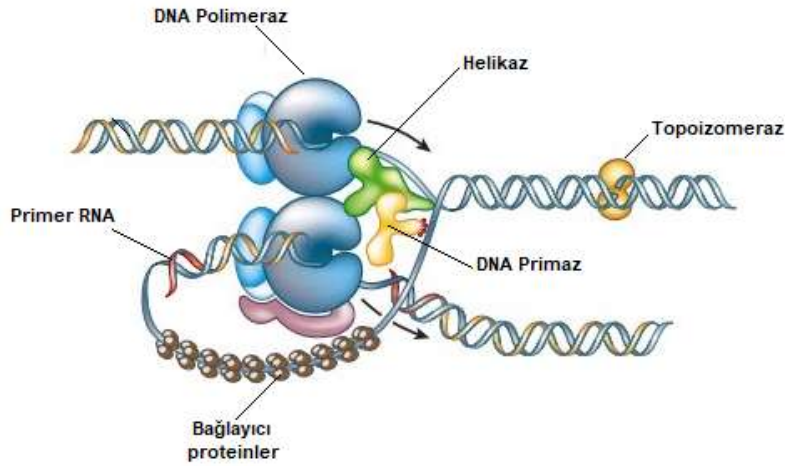


Şekil 1.5 DNA konformasyonları

DNA hayat için tüm genetik bilgiyi taşır [5]. DNA genetik bilginin depolanması ve işlenmesinde merkezi öneme sahiptir. Hücre bölünmesi sırasında, genetik bilgi yeni hücrelere geçer ve bunun gerçekleşmesi içinde hücredeki tüm DNA replikasyonu denilen fonksiyon sayesinde kopyalanır. Replikasyon sayesinde de hücreler, DNA moleküllerinin aynısını kopyalamış olurlar. Kısaca bu süreç bir adet çift iplikli DNA molekülüyle başlar ve iki özdeş DNA'nın oluşumuyla son bulur.

Replikasyon olayı ilk olarak helikaz enziminin DNA çift sarmalının zincirini açmasıyla başlar. DNA çift sarmalı açıldığı zaman DNA'nın bir kısmında çatallanma olayı meydana gelir. Sonra bu olayda DNA topoizomeraz adı verilen enzim DNA'yı çentikler ve yeniden kapatır. DNA'nın kıvrımı açıldıktan sonra primaz enzimi "kopyalama" sürecine başlamadan

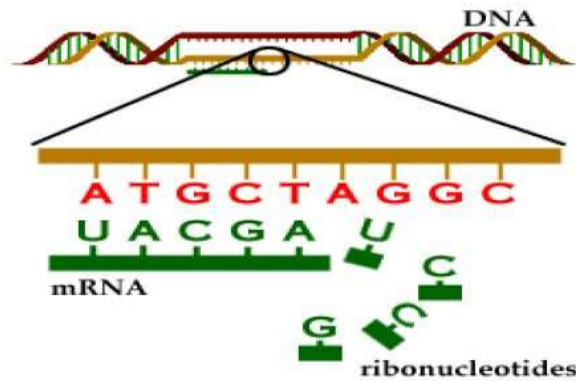
önce çok kısa bir RNA molekülü diğer adıyla RNA primer üretir. Helikaz ve topoizomeraz enziminin aşamaları tamamlandıktan hemen sonra ise DNA polimerazların etkisiyle DNA polimerizasyonu başlar ve bu süreç böyle devam eder (Şekil 1.6).



Şekil 1.6 DNA Replikasyonu

Yeni DNA sentezi bittikten sonra DNA-giraz enzimi replike olmuş DNA'nın yeniden kıvrılarak doğal halini almasına yardımcı olur.

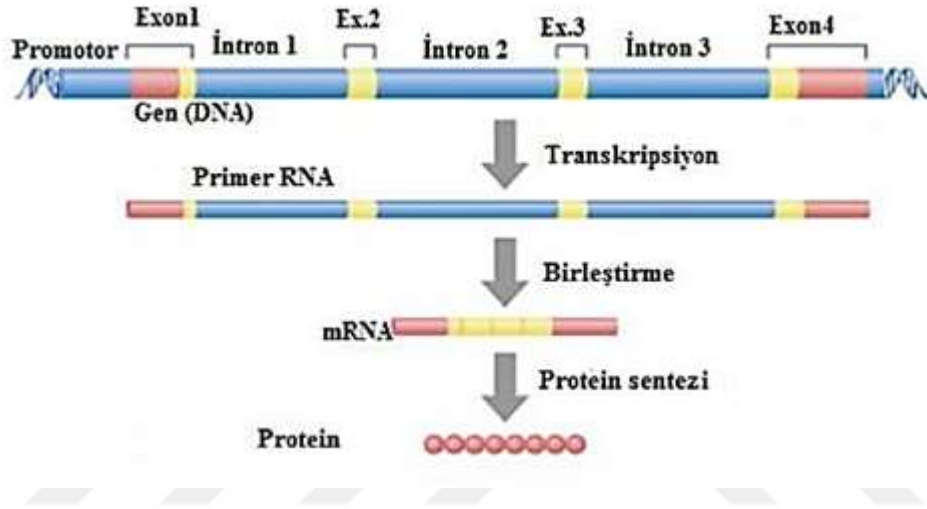
DNA'nın diğer bir fonksiyonu ise gen işlevi yani transkripsiyonu ve translasyonudur. Transkripsiyon, DNA'da saklanan genetik bilgilerin bir RNA polimeraz enzimi (mRNA, tRNA, rRNA) sayesinde bir RNA dizisi olarak kopyalanması sürecidir (Şekil 1.7). Başka bir deyişle, DNA'dan RNA'ya genetik bilginin aktarımıdır.



Şekil 1.7 mRNA sentezi

DNA'dan RNA molekülü 5'→3' yönünde sentezlenir. Bu sentezlenme sonucunda da DNA ipliğinin bir tarafında olan deoksiribonükleotit dizilişinin karşıtı olarak RNA molekülünün ribonükleotidleriyle tamamlanır.

Transkripsiyon sonucu oluşan mRNA'lardaki koda uygun olarak ribozomlarda protein üretme sürecin ise translasyon denir. DNA dizisi olan genlerin fonksiyonel protein yapılarına dönüşme süresi (Transkripsiyon ve translasyon) gen ifadesi (gen ekspresyonu) olarak ifade edilir (Şekil 1.8).



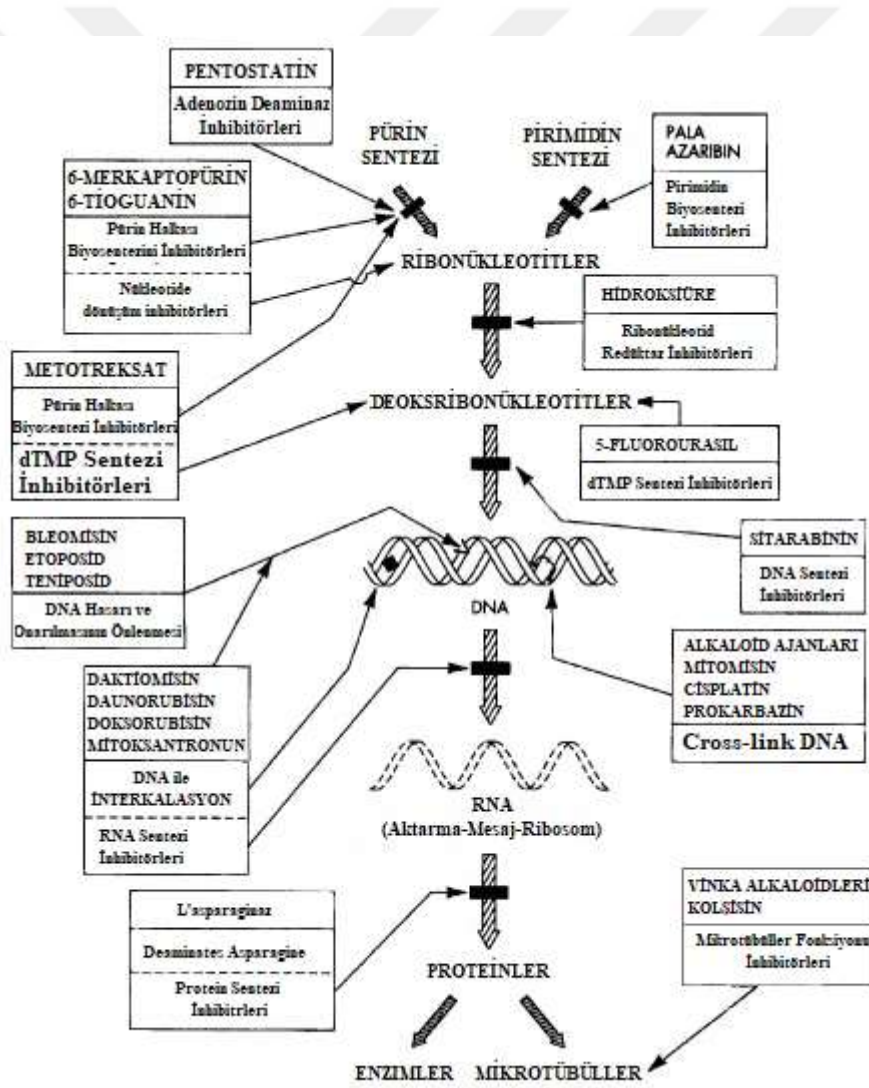
Şekil 1.8 Gen ekspresyonu

Diğer bir deyişle gen ekspresyonu bir hücrenin değişen çevresine yanıt vermesine olanak tanıyan sıkı düzenlenmiş bir süreçtir.

1.2 DNA-İLAÇ ETKİLEŞİMİ

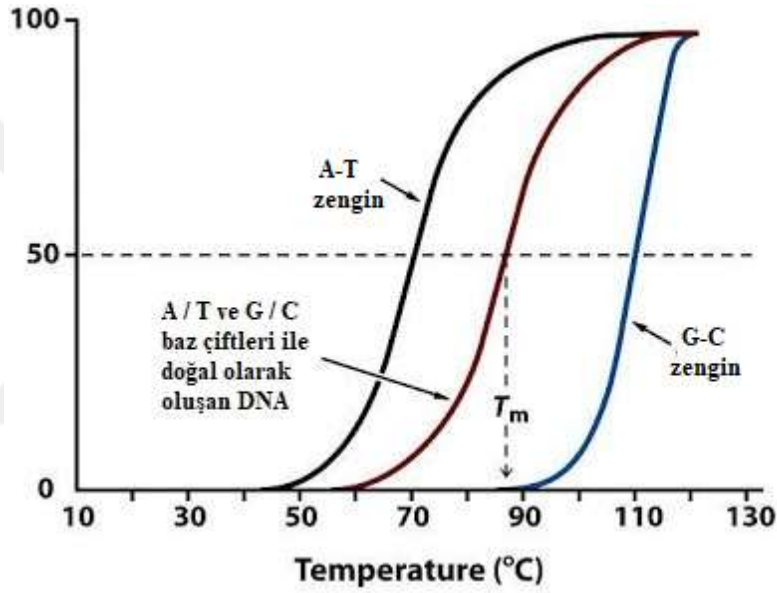
DNA'nın hayatımızda önemli bir yeri vardır [6]. Çünkü deoksiribonükleik asit genetik bilgiyi taşır ve canlı hücrelerdeki bu bilginin kopyalanmasında (replikasyon) ve aynı zamanda protein sentezlerinde (transkripsiyon) önemli rol oynamaktadır. Biyolojik sistemlerde, insan hastalıklarının teşhisi ve tedavisinde önemli rol oynadığı için de DNA iyi bir hedef haline gelmiştir [7]. Bazı küçük moleküllerin DNA ile bağlanma mekanizması üzerine yapılan çalışmalar, son birkaç yıl boyunca en önemli konulardan biri olarak tanımlanmıştır [8]. Dahası, DNA'nın yapısal özelliklerini, genlerin mutasyonunu, bazı hastalıkların kökenini, bazı antitümör ve antivirüs ilaçlarının etki mekanizmasını anlamak ve genetik hastalıklarla mücadele etmek için yeni ve daha verimli DNA hedefli ilaçlar tasarlamak büyük önem taşımaktadır (Şekil 1.9). Bu veya buna benzer nedenlerden son yıllarda, anti-kanser-ilaçları ile

DNA arasında etkileşimin farklı analiz yöntemleriyle araştırmaları giderek artan bir ilgi duyulmaktadır. Çünkü bu moleküller DNA ile etkileştiği zaman DNA yapısını bozarak DNA'nın fonksiyonlarını engeller ve kanserli hücre/doku ölümü gerçekleştirir. DNA'nın veya ilaç etkileşimi öncesi ve sonrası sinyallerin gözlenilmesi sayesinde bir etkileşim mekanizması belirlenir, buna uygun olarak da ilaçların miktarı bulunur ve DNA'ya hedef alan yeni ilaçlar tasarlanır. DNA ve ilaç arasında meydana gelen karmaşık oluşumun bir sonucu olarak, termodinamik kararlılığı ve DNA'nın işlevsel özellikleri ve geometrisi değişir [9]. Metal komplekslerin DNA ile hangi mekanizma yoluyla etkileştiğini incelemek için X-Ray, jel-elektroforezi, dairesel dikroizm, absorpsiyon spektroskopisi, NMR spektroskopisi, UV ve floresans spektroskopisi, izotermal titrasyon kalorimetrisi gibi birçok analitik ve analiz yöntemleri vardır.



Şekil 1.9 Antikanser ilaçlarının etki mekanizması özeti

İlaç-DNA etkileşimlerinde erime sıcaklığı değişiminde de faydalanılmaktadır. Erime sıcaklığı (T_m), DNA ısıtıldığında sarmal yapının yarısının denature olduğu sıcaklık olarak tanımlanır. DNA bazları UV spektrumunda tek başına verdikleri piklerin ortalaması 260 nm'dir. Sarmal yapı bozulduğu zaman tek zincirli DNA çift zincirli DNA'ya göre daha yüksek absorbansa sahip olduğundan DNA'nın 260 nm'deki absorbansı yükselmeye başlar. Adenin ve timin arasında iki, guanin ile sitozin arasında üç hidrojen bağı olduğundan yüksek miktarda A ve T içeren DNA, G ve C açısından zengin olan DNA'ya göre daha düşük sıcaklıkta denatüre olur (Şekil 1.10).



Şekil 1.10 DNA ait erime eğrileri

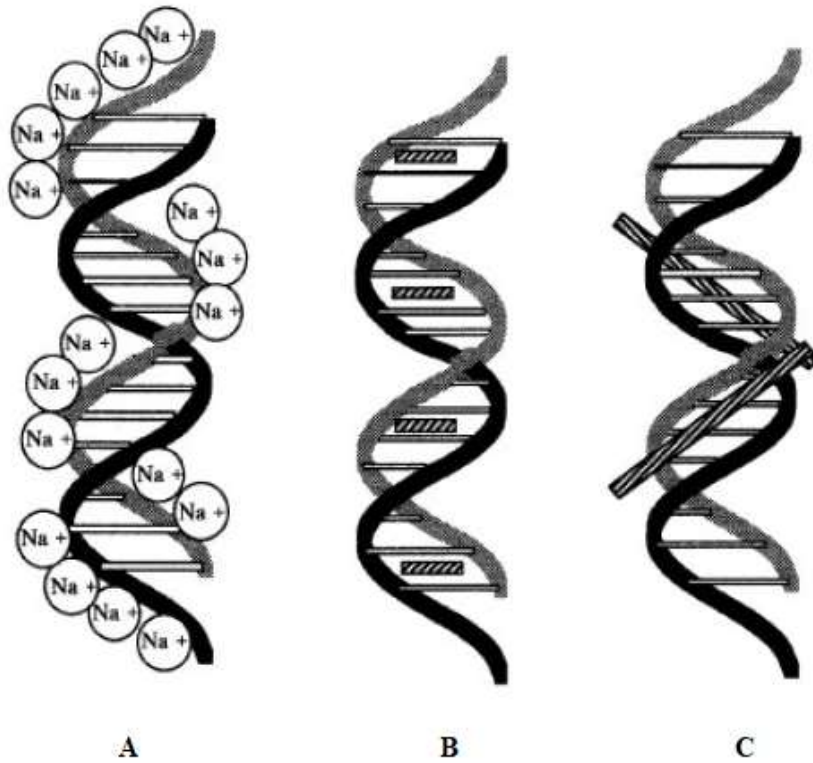
1.3 KÜÇÜK MOLEKÜLLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM YOLLARI

Küçük moleküllerin DNA ile olan etkileşimleri son otuz yılda kanser önleyici ilaç tasarımı alanında büyük ilgi uyandırdı [10]. Nükleik asitlerin ilaçlarla etkileşimi, ilaç keşfi ve gelişim süreçlerinde en önemli parametrelerden biridir. Anti-kanser ilaçlar ile DNA arasındaki etkileşim, moleküler farmakolojide ve biyolojik kimyada çok dikkat çekmektedir. Yeni sentezlenen DNA hedefli maddelerin DNA ile etkileşiminin hızlı bir şekilde aydınlatılması bu çalışmaların daha hızlı bir şekilde ilerlemesine olanak sağlar. Birçok anti-kanser ajanlar DNA'ya bağlanarak harekete geçer.

İlaçlar kovalent ve kovalent olmayan yollarla DNA'ya bağlanır [11]. Anti-kanser ilaçların DNA ile kovalent olmayan olan etkileşimi esas olarak üç farklı yolla meydana gelir (1.11).

- Nükleik asidin negatif yüklü şeker-fosfat omurgasına elektrostatik olarak bağlanması ile (Elektrostatik etkileşim).
- DNA'nın baz çiftleri arasında interkalasyon yapması.
- DNA çift sarmal yapısındaki büyük ve küçük oyuklara bağlanma ile (Groove binders).

Literatüre baktığımız zaman DNA-ilaç etkileşmesinin incelenmesine dair birçok araştırmaların olduğunu göre biliriz. Örneğin, H. Nawaz ve arkadaşlarının kinolin türevi antibakteriyel etkiye sahip ciprofloksacin ile yaptıkları çalışmaya göre ciprofloksacinin DNA'ya elektrostatik olarak ve interkalasyon yaparak bağlanmıştır [12]. Küçük moleküllerin DNA ile etkileşim mekanizmaları moleküllerin kimyasal yapısı ve geometrisi gibi özelliklere bağlı olarak farklılık gösterebilirler ve bu moleküllerin DNA ile etkileşim mekanizmalarına göre de onlara farklı isimler veriliyor. Yukarıda adı gösterilen etkileşim mekanizmalarını sırasıyla açıklayalım.



Şekil 1.11 Kovalent olmayan DNA etkileşim türleri

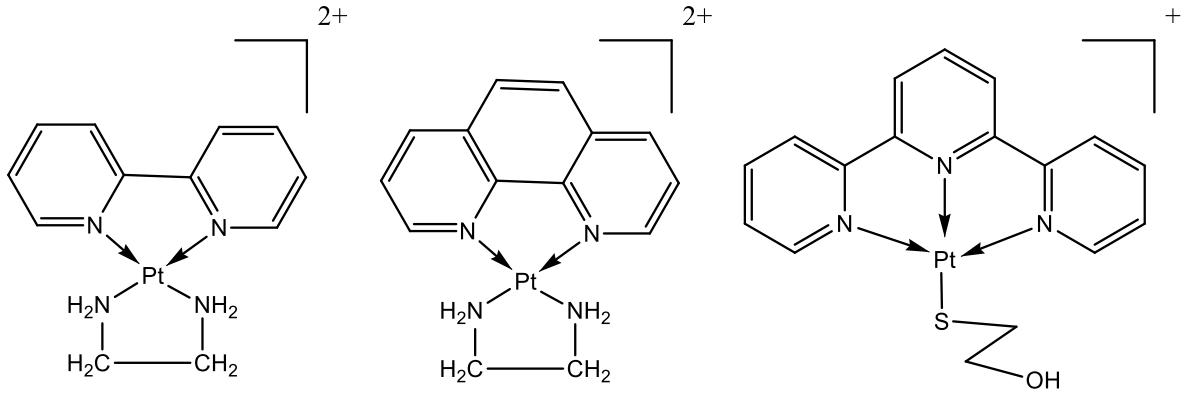
1.3.1 Elektrostatik Etkileşim

Bazı küçük moleküller DNA fosfat omurgasıyla spesifik olmayan, dış kenar istifleme etkileşimleri oluşturabilirler. Böyle etkileşimlere elektrostatik etkileşim denir. Bu etkileşim genellikle, Na^+ ve Mg^{2+} gibi pozitif iyonların ve bazı iyonik organik bileşiklerin DNA'nın yüklü fosfat gruplarıyla etkileşmesi sonucunda meydana gelir. Örneğin, floresans bir bileşik DNA çift sarmalına dış bağlanma ile bağlandığı zaman karşı iyonları uzaklaştırır ve bunun sonucunda da DNA sarmalında değişiklikler meydana gelir. Bu etkileşim diğer etkileşim türleri gibi DNA yapısında büyük değişiklikler meydana getirmese de ilaçların biyolojik aktivitelerinde önemli rol oynarlar. Kelly ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bazı metal kompleksleri ayrıca, bazı katyonik Ru(II) komplekslerinin de negatif yüklü DNA fosfat şekeri omurgasına bağlanması gibi dış bağlama yoluyla DNA ile etkileşime girdiği görülmüştür [13].

1.3.2 İnterkalasyon

İnterkalasyon, düzlemsel halkaya sahip olan bazı maddelerin DNA baz çiftleri arasına girerek baz çiftleriyle güçlü bir etkileşim meydana getiren bir etkileşim metodudur. Bu etkileşim metodunu 1982 yılında Mainwaring bir molekülün DNA çift sarmalındaki komşu baz çiftleri arasına sıkışması şeklinde tanımlamıştır [14]. Moleküllerin DNA'ya bağlanması ile DNA genişler, DNA zinciri kırılır ve düzlemsel aromatik baz etkileşimleri ile sabitlenir [15]. İnterkalasyon yapan ajanlar DNA senteziyle DNA'ya bağlı RNA sentezini de bozar. İnterkalasyona neden olan moleküller topoizomeras (II) enzimini inhibe eder. Bu etkileşim olayı, maddenin yapısına bağlı olarak dönüşümlü veya dönüşümsüz şekilde gerçekleşir.

1970'li yılların başlarında cisplatinin DNA üzerinde etkisi anlaşıldıktan sonra 1978 yılında Lippard, platin tabanlı anti tümör ajanlarının bağlanma türlerini araştırırken interkalasyon yapan çeşitli platin kompleksleri buldu (Şekil 1.12) [16].



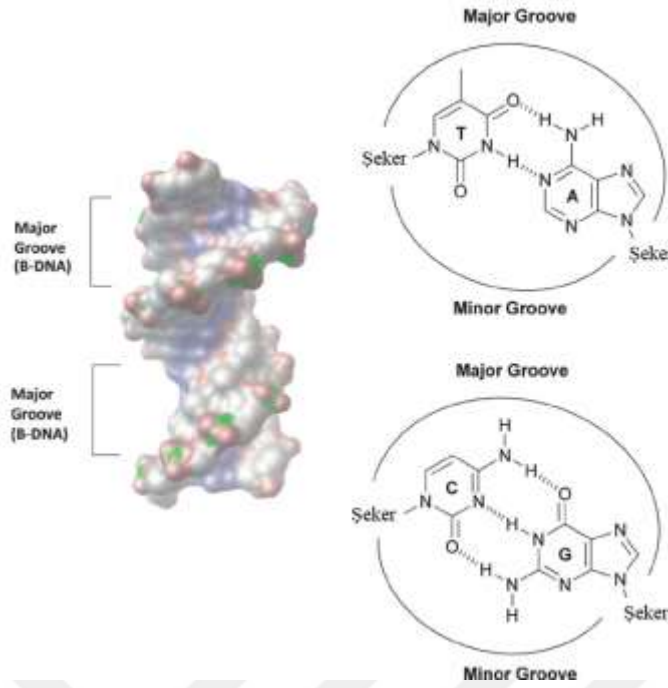
Şekil 1.12 Platin kompleksleri

Lippard ve arkadaşları, sentezlediği platin komplekslerinin DNA zincirinin boyunu %50'ye kadar kısalttığını ve DNA'nın yapısını bozduğunu görmüşlerdir. DNA yapısındaki bu değişiklikler sayesinde translasyon ve transkripsiyon gibi olağan prosesler engellenmiştir. Bu bulgulardan sonra Howe-Grant ve arkadaşları kare düzlem yapıya sahip olan $[Pt(terpy)(SCH_2CH_2OH)]^+$ molekülü üzerinde çalışarak ortaya güzel bir çalışma koymuşlardır.

Son yıllarda sentezlenen ilaçlar daha çok kanser tedavisinde kullanılan belirli ana interkalatörler temel alınmakta ve ana yapısı korunmak üzere onlara bir takım yeni yan zincirler dahil edilmektedir. İnterkalasyon, DNA'daki hidrojen bağlarını kırmaz fakat heliks yapısını deforme eder.

1.3.3 Oyuk Bağlayıcılar (Groove Binders)

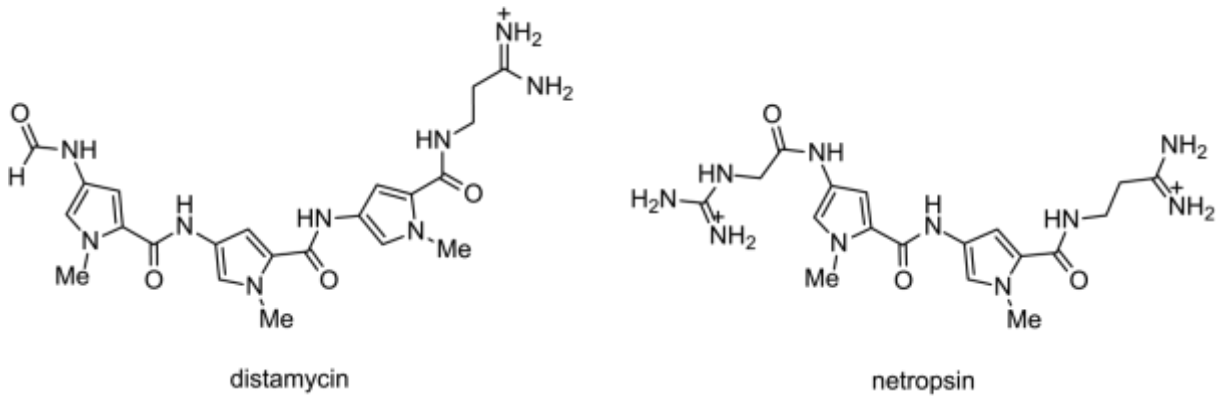
1981 yılında Gale ve arkadaşları küçük moleküllerin B-DNA çift sarmaldaki küçük oyuklara bağlanırken, proteinlerin ya da gen hedefli oligonükleotidlerin ise büyük oyuklara bağlandığına dikkat çekti (Şekil 1.13) [17]. Yapılan çalışmalardan minör boşluk üzerinden bağlanan küçük moleküllerin elektrostatik potansiyel daha fazla olduğundan ve sterik engel daha az olduğundan daha çok adenin ve timin bazı oranı yüksek olan bölgeleri seçtikleri görülmüştür. Genel olan bir kurala göre minör boşluk üzerinden bağlanan moleküller major boşluk üzerinden bağlanan moleküllere göre DNA'ya daha az etki eder ve DNA'nın yönelimi üzerinde az bir etkiye sahiptirler [18].



Şekil 1.13 A-T ve G-C çiftlerinin minor ve major bağlanması

Oyuğa bağlanan bileşikler Hoechst 33258, netropsin, gibi genel olarak uzun ve hilal şeklindeki yapılardır (Şekil 1.14). Bu tür etkileşimlerde bağlanacak olan molekül, büyük ve küçük oyuktan çıkıntı yapan bazların fonksiyonel grupları ile etkileşime girerek DNA'ya bağlanır. Hidrojen bağları ve Van der Waals etkileşimlerinin sayıları fazla olduğundan interkalatörler kadar etkili olmasalar da DNA konformasyonunu etkiler.

Büyük ve küçük oyuklardaki etkileşimler DNA'daki boşlukları doldurarak enzimlerin bu bölgelere girmesine engel olur, fakat interkalasyon yapan moleküller kadar DNA'da bozulmalara sebep olmazlar.



Şekil 1.14 DNA oyuğa bağlanma aktivitesi gösteren distamisin ve netropsin bileşikleri

1.4 METAL KOMPLEKSLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER

Metal komplekslerin DNA ile etkileşim türlerinin belirlenmesinde NMR, X-Ray kristalografisi, elektroforez, UV titrasyon yöntemi, vizkozimetri ölçümleri, kütle spektrometresi, DNA erime noktası tayini, dairesel dikroizm spektroskopisi, lüminesans gibi çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler DNA-ilaç etkileşimini niteliğini karakterize eden önemli araçlardır. Biz bu çalışmada UV titrasyon, elektroforez ve s. gibi geniş ve yaygın olarak kullanılan tekniklerin temelini ve DNA etkileşiminde nasıl kullanıldığını açıklamaya çalışacağız.

1.4.1 UV Titrasyon Yöntemi

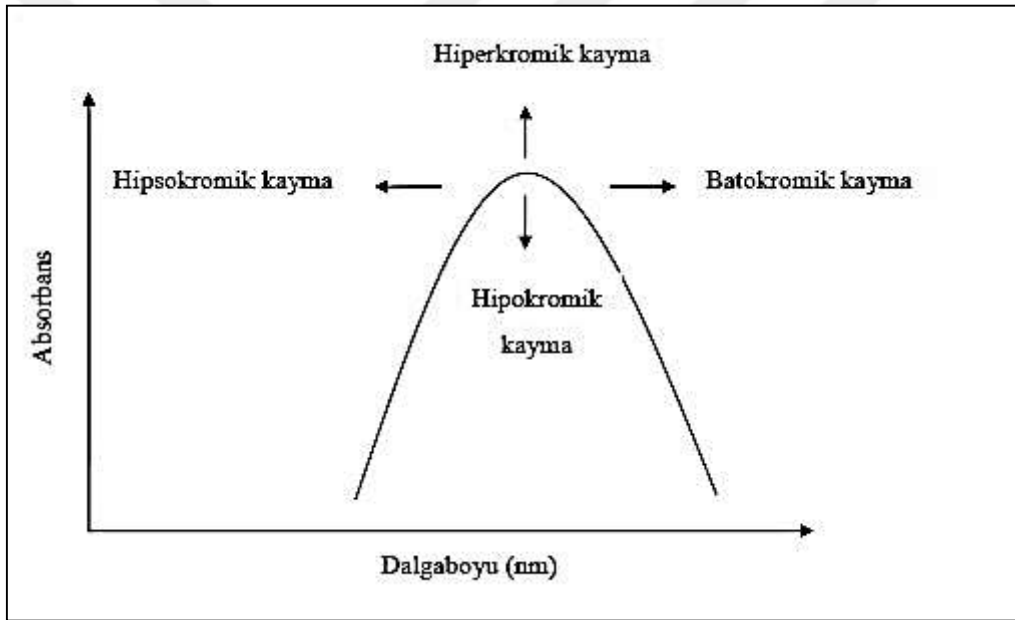
UV-görünür absorpsiyon spektroskopisi belki de hem DNA'nın kararlılığını hem de küçük ligand molekülleri ile etkileşimlerini incelemek için en basit ve en yaygın kullanılan enstrümantal tekniktir [19]. DNA'nın sahip olduğu π -elektron sistemleri ve metal komplekslerin ligandlarında yer alan elektron sistemleri birbirlerini etkileyerek kompleksin ve DNA'nın UV absorbansında değişikliklere yol açar. Bu değişikliklerin belirlenmesi bize metal kompleksi ile DNA arasındaki etkileşimin türü hakkında bilgiler verir.

DNA 220-300 nm aralığında geniş bir bant spektrumuna sahiptir. DNA primindin ve pürin bazlarında yer alan kromofor gruplar nedeniyle 260 nm'de maksimum absorpsiyon değerini gösterir. DNA'nın 260-280 nm'deki absorbans değeri oranı DNA'nın saflığıyla ilgili bize bir bilgi verir. Eğer bu değer yaklaşık 1,8 ise o zaman DNA'nın saf olduğunu, 1,8 düşük olması ortamda protein bulunduğunu, 1,8 büyük olması ise ortamda RNA bulunduğunu gösterir [20].

İlaç-DNA etkileşimleri, genellikle farklı olan serbest ilaç ve ilaç-DNA komplekslerinin UV-görünür absorpsiyon spektrumu karşılaştırılarak incelenebilir. UV spektroskopisi ile ilaç-DNA etkileşimlerinin belirlenmesi genellikle ilacın miktarını sabit tutmakla üzerine düzenli miktarlarda DNA eklendikten sonra alınan absorbans ölçümü yapmaya dayanır. Her DNA eklendikten sonra ilaca ait UV spektrumunda dalga boyu ve absorbanstaki değişiklikler gözlemlenir.

İlacın DNA ile etkileşim türüne göre absorbansta farklı değişiklikler gözlenmektedir (Şekil 1.15). İnterkalasyon yoluyla DNA ile bağlanan bileşikler genellikle ilaca ait kromofor gruplar ile DNA baz çiftleri arasına girerek onlarla etkileştiği için hipokromizm ve batokromizm

(kırmızı kayma) ile sonuçlanır. Bu bağlanmanın gücü kromofor ile DNA bazları arasındaki mesafe düştükçe azalacaktır. Çünkü DNA ve ilaç arasındaki mesafe azaldıkça her iki türe ait olan π elektronları arasındaki etkileşim artar ve π - π^* arasındaki geçişlerin enerji seviyesi azalır ve bu durum batokromik kaymaya neden olur [21]. Buna ek olarak elektrostatik etkileşimlerde de DNA'nın yapısının bozulmasından dolayı hiperkromik kayma gözlemlenmektedir [22]. Çift sarmal DNA'da bulunan hidrojen bağları aromatik halkalardaki rezonansı sınırlar ve böylece absorbans değerinde de azalma görülür. Ancak DNA, yapısını bozan ilaçlar ile etkileştiği zaman çift sarmalı bir arada tutan bağlar koparak iki sarmal yapı tekli sarmal yapıya dönüşür ve bazlar serbest hale geçtiğinden aralarındaki etkileşim azalır ve UV absorbansı artar. Sonuçta tek sarmalı DNA'ya ait absorbans değeri, aynı konsantrasyonda çift sarmalı DNA göre % 40 daha fazla olacaktır.



Şekil 1.15 UV spektrumunda kaymalar

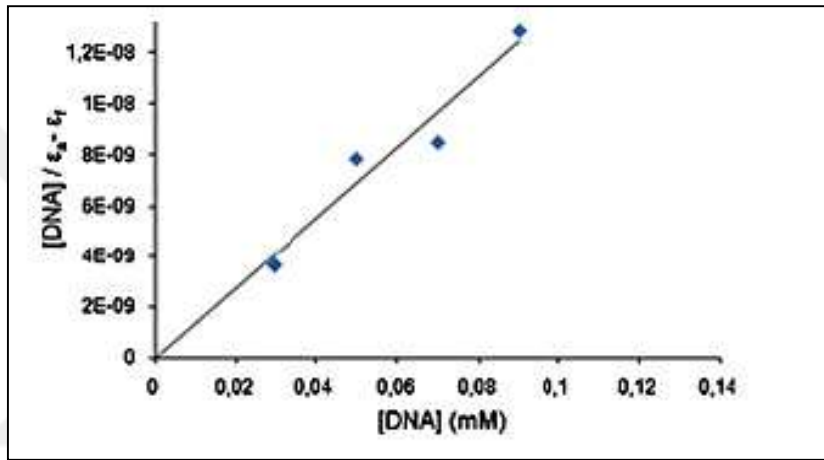
Dahası, hiperkromik etki çoğunlukla, DNA omurgasının fosfat grubuna elektrostatik çekim yoluyla DNA'ya bağlanan yüklü katyonların varlığına bağlı olarak ortaya çıkar ve bu nedenle DNA'nın sekonder yapısında bir kasılmaya ve genel hasara neden olur [23]. Fakat UV spektrumunda daha zayıf bir etkileşim varsa, yalnızca spektrum profillerinde kayma değişiklikleri olmaksızın hipokromik veya hiperkromik etkiler gözlenilebilir.

UV spektrumun absorbansındaki değişikliklere dayanarak ilaç-DNA arasındaki bağlanma sabiti değeri hesaplanabilmektedir. Bu bağlanma sabitinin hesaplanabilmesi için bir formül geliştirilmiştir [24].

$$[\text{DNA}]/(\varepsilon_A - \varepsilon_f) = [\text{DNA}]/(\varepsilon_B - \varepsilon_f) + 1/K_b(\varepsilon_B - \varepsilon_f)$$

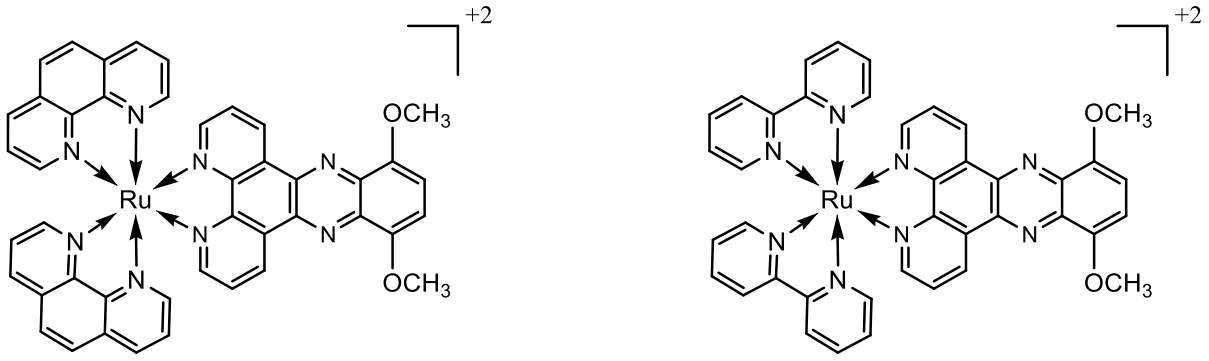
Formülde ε_A ; ölçülen konsantrasyondaki sönüm katsayısı, ε_B ; DNA'ya tüm komplekslerin bağlanması sonrasındaki sönüm katsayısı, ε_f ; serbest haldeki kompleksin sönüm katsayısı olarak açıklanabilir. Bu denklemdeki $[\text{DNA}]/(\varepsilon_A - \varepsilon_f)$ 'e karşı $[\text{DNA}]$ değerleri grafiğe geçirilir ve eğimden K_b değeri bulunur (Şekil 1.16).

Benzer ligantlara sahip metal komplekslerin bağlanma sabitlerini hesaplayarak onların DNA'ya bağlanma kuvvetlerini karşılaştırabilir ve hangisinin DNA'ya daha iyi bağlandığını tespit edebiliriz.



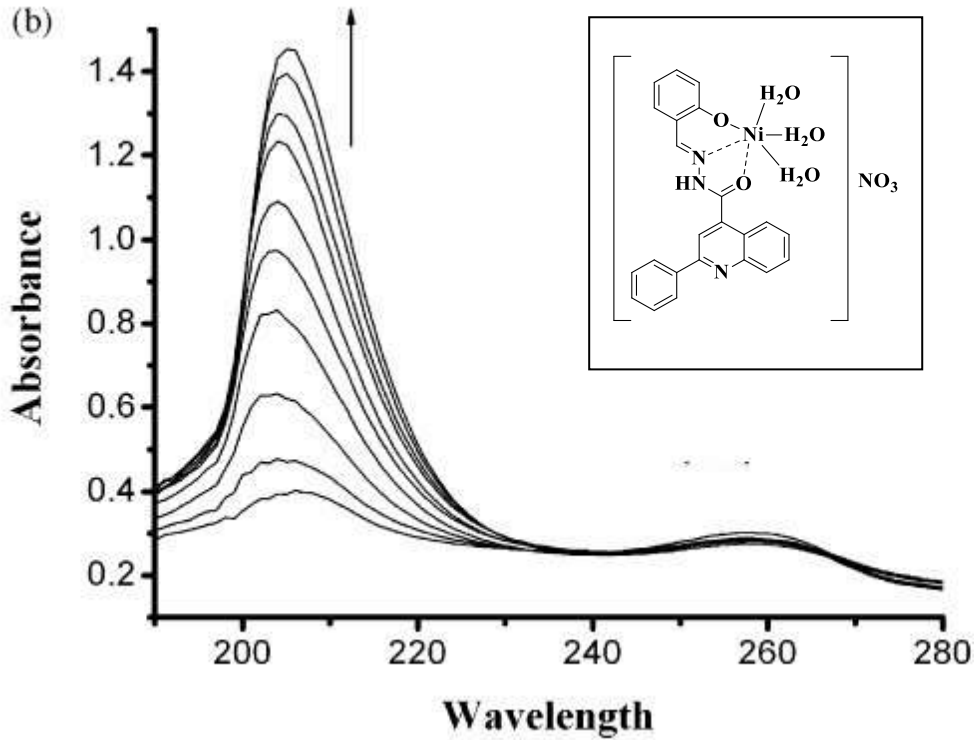
Şekil 1.16 Bağlanma sabiti belirlenmesinde çizilen örnek grafik referans

Guang-Bin Jiang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada interkalasyon yapma olasılığı yüksek olan $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ komplekslerin UV titrasyon metodunu kullanarak DNA ile etkileşimleri incelenmiştir. UV absorpsiyon titrasyonları sonucu komplekslerin DNA bağlanması incelemiş ve bağlanma sabitleri K_b , ardışık olarak $6,89 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $3,98 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bağlanma kuvvetlerini ve $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ düzlemselliğinin daha fazla olduğunu göz önüne alarak DNA'ya daha iyi bağlandığı kanıtlanmıştır (Şekil 1.17) [25].



Şekil 1.17 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ moleküllerin yapısı

Zhi-Hong Xu ve arkadaşlarının sentezlediği $(\text{Ni}\cdot\text{HL}\cdot 3\text{H}_2\text{O})\cdot\text{NO}_3$ kompleksinin DNA'ya bağlanma şekli UV titrasyon yöntemi ile araştırılmıştır [26]. $10\ \mu\text{M}$ sabit kompleks çözeltisi üzerine artan miktarda DNA ilave edilmiş ve her defasında UV absorpsiyonundaki değişiklikler kaydedilmiştir ve bağlanma sabiti $2,2 \times 10^5\ \text{M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Her defasında kompleks çözeltisine DNA eklenmesi sonucunda UV absorbanında hiperkromik kayma gözlenmiştir ve UV absorbanında gözlenen bu değişiklik sonucunda kompleksin DNA ile etkileşiminin oyuk bağlanma (groove binding) olduğunu söylemiştir (Şekil 1.18).



Şekil 1.18 $(\text{Ni}\cdot\text{HL}\cdot 3\text{H}_2\text{O})\cdot\text{NO}_3$ kompleksinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği

Seyed ve arkadaşları çalıştıkları quercetin-terbium(III) [Q–Tb(III)] kompleksinin DNA etkileşimini incelemiş ve UV spektrumunda büyük bir değişiklik olmadığını gördüğü için maddenin DNA'ya elektrostatik etkileşim yoluyla bağlandığını söylemiş, viskozite ve dairesel dikroizm spektroskopisi bu fikri doğrulamıştır [27].

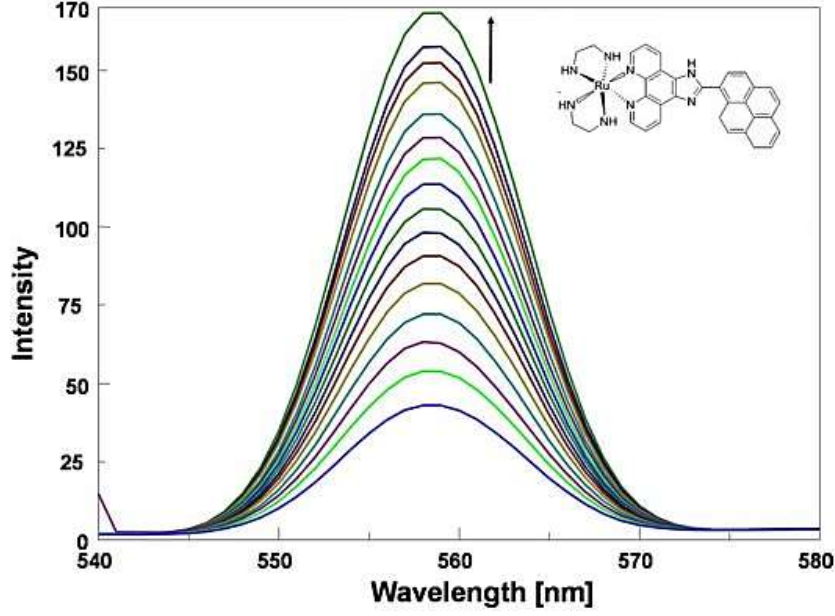
1.4.2 Floresans Spektroskopisi

Floresans, atom veya moleküllerin elektromanyetik ışınları absorplayarak uyarıldığı bir fotoluminesans olayıdır. Bütün moleküller az da olsa floresans özellik gösterirler ve maddenin uygun absorpsiyon dalga boyunda uyarıldığımız zaman, molekül veya kompleks uyarıldığı dalga boyundan daha uzun bir dalga boyunda ışık yayar. Molekülün veya kompleksin yaydığı bu ışık floresans spektroskopisi vasıtasıyla ölçülür. Floresans spektroskopisi UV-Visible absorpsiyon spektroskopisi kadar DNA-ilaç etkileşiminin belirlenmesinde kullanılan en belirli yöntemlerden biridir.

Pratik olarak floresans çalışmaları UV spektroskopisi çalışmaları ile benzerdir. UV titrasyonunda olduğu gibi önce kompleksin floresansı alınır ve sonra miktarını sabit tutmakla üzerine artan miktarda DNA eklenir ve her defasında yeniden floresans spektrumu alınarak değişiklikler incelenir.

Metal kompleksleri DNA ile etkileştiği zaman floresans genellikle yükselir. Çünkü metal kompleksleri su molekülü tarafından sarılır, fakat DNA ile etkileştiği zaman bu su molekülleri DNA'nın hidrofobik yapısından dolayı dışarıda kalır ve böylece metal kompleksin floresansı yükselir [28]. İnterkalasyon yapan maddelerin floresans spektroskopisinde diğer etkileşimlere göre daha yüksek artış görülmektedir.

Floresans spektroskopisiyle ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, Devi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 20 mM sabit metal kompleksi çözeltisi üzerine artan miktarlarda DNA eklemiş ve her ekleyişte floresans spektrumunda artış olduğunu görmüştür (Şekil 1.19).

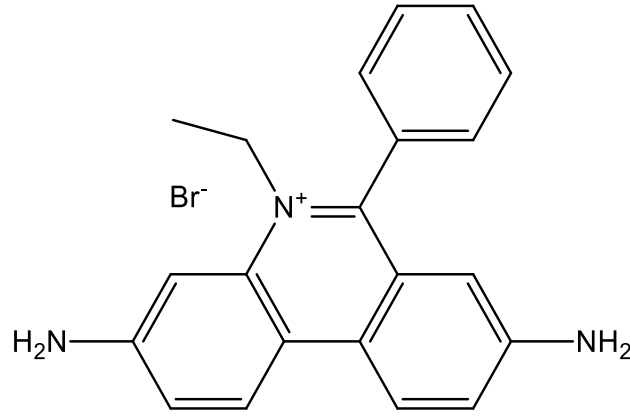


Şekil 1.19 $[\text{Ru}(\text{en})_2\text{pyip}]^{2+}$ kompleksinin değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu

Devi ve arkadaşları metal kompleksin DNA'nın baz çiftleri arasında girerek interkalasyon yaptığını ve bu yüzden floresans spektrumunda artış olduğu şeklinde yorumlamıştır [29].

Bazen ilaçların floresans özelliği göstermeyebilirler. Bu durumlarda DNA-ilaç etkileşimini incelemek için florofor olarak adlandırılan boya maddeleri kullanılır. Bilinen en iyi florofor boya maddelerinden etidyum bromür, Hoechst 33258 ve başkalarını örnek olarak gösterebiliriz.

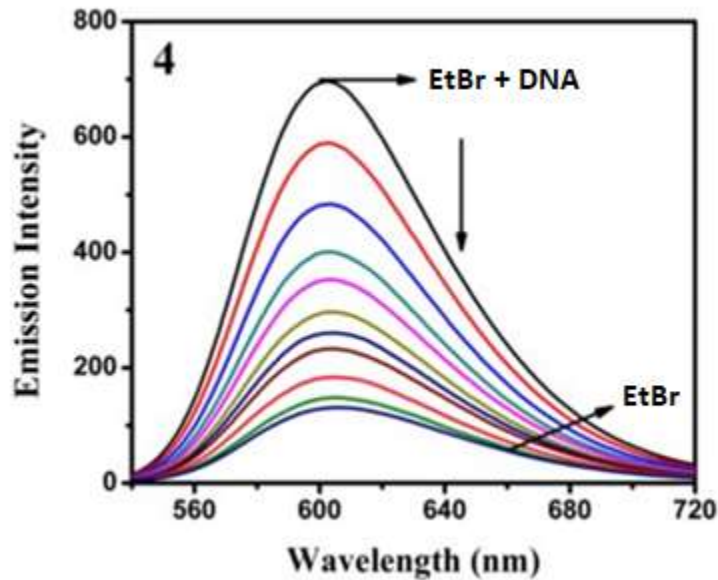
Floresans spektrumuyla DNA etkileşim türünün belirlenmesine kullanılan etidyum bromür bilinen en iyi interkalasyon ajanıdır (Şekil 1.20) [30]. Etidyum bromür (EtBr) nükleik asidi inhibe ettiği bilinen en iyi ilaçlardan biridir [31]. 1953 yılında Newton'un yaptığı çalışmalar sonucunda EtBr'nün nükleik asit sentezini inhibe ettiğini görmüştür. EtBr DNA ile etkileştiği zaman genomun replikasyon ve transkripsiyon gibi olağan proseslerini engeller. EtBr zayıf floresansa sahip olduğu halde, DNA ile etkileştiği zaman floresans spektrumunda yüksek artış görülür. Bunun sebebi yukarıda açıkladığımız gibi DNA'yla etkileştiği zaman Etidyum kationu DNA baz çiftleri arasında girer ve bağlı olduğu bütün su moleküllerinden ayrılır. Bu ayrılma sayesinde floresans emisyonunda büyük bir artış olur.



Şekil 1.20 EtBr'ün molekül yapısı

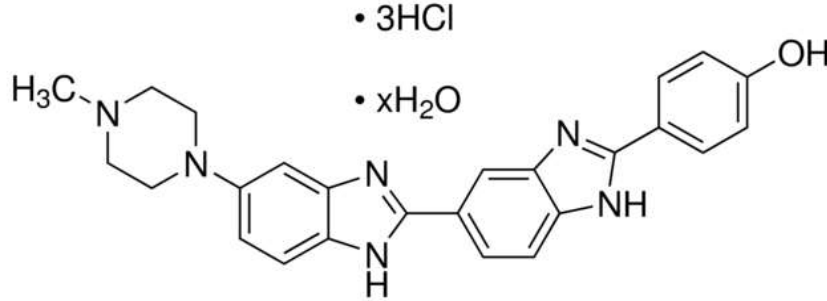
EtBr DNA ile kesin interkalasyon yaptığı bilinen bir moleküldür. Eğer ortamda DNA ile interkalasyon yapan başka bir molekül varsa o zaman bu molekül EtBr ile yarışmalı olarak DNA ile etkileşir ve sonuçta diğer molekülün konsantrasyonu arttığında EtBr-DNA kompleksini bozarak EtBr'ün emisyon şiddetinde düşüşe sebep olur.

Haribabu ve arkadaşların sentezlediği Nikel komplekslerinin DNA ile etkileşimini farklı analiz metotlarıyla göstermiştir. İlk önce EtBr-DNA kompleksinin floresans emisyonunu kaydetmiş ve sonra üzerine artan miktarda metal kompleksi eklemiştir. Ni kompleksi eklendiği zaman EtBr-DNA emisyonunda azalma görülmüştür (Şekil 1.21) [32].



Şekil 1.21 EtBr-DNA kompleksinin değişen Ni(II) kompleksi miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu

Hoechst 33258 (Şekil 1.22), floresans spektrumuyla DNA etkileşim türünün belirlenmesine kullanılan bir groove binding ajanıdır. Hoechst 33258, genellikle DNA'ya büyük oyuk üzerinden, A-T nükleotidleriyle zengin olan bölgesine bağlanır [33].



Şekil 1.22 Hoechst 33258 molekül yapısı

Hoechst 33258 de EtBr gibi zayıf floresansa sahiptir ve DNA ile etkileştiği zaman floresans spektrumunda yüksek artış görülür. Ortamda DNA ile groove binding yapan başka bir molekül varsa o zaman bu molekül Hoechst 33258 ile yarışmalı olarak DNA ile etkileşir ve sonuçta Hoechst-DNA kompleksini bozarak Hoechst'ün emisyon şiddetinde düşüşe sebep olur. Titrasyon sonucu elde edilen veriler klasik Stern-Volmer eşitliği ile değerlendirilerek komplekslerin DNA ile etkileşim gücü analitik olarak hesaplanabilir.

$$F_0 / F = 1 + K_{SV} [Q]$$

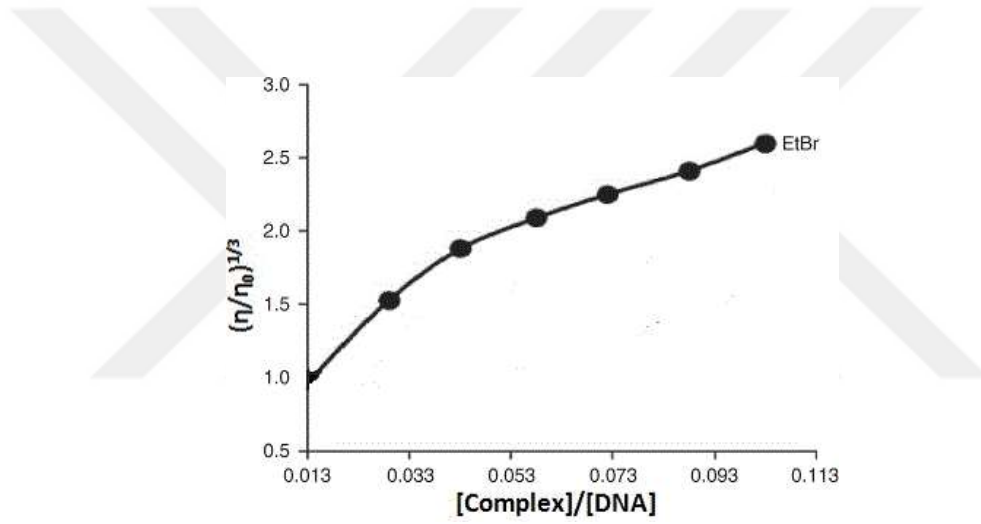
Eşitlikte ölçüm yapılan dalga boyundaki floresans yoğunluğu F, ortama kompleks eklenmeden önceki floresans yoğunluğu F₀, baskılayıcı molekül derişimi [Q], bağlanma derecesi K_s ile verilmektedir. F₀/F değerine karşı [Q] değerleri grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun eğiminden K_{SV} bulunur [34].

1.4.3 Viskozimetri

Viskozite, bir akışkanın, yüzey gerilimi altında deforme olmaya karşı gösterdiği direncin ölçüsüdür. Küçük moleküller DNA ile etkileştiği zaman DNA zincirinde uzanmalara veya kısaltmalara sebep olabilir. Bu değişiklikleri kullanarak viskozimetrik yöntemle küçük moleküllerin DNA ile etkileşmesini inceleyebiliriz. Örneğin, EtBr'ün DNA'yla interkalasyon yaptığı bilinmektedir. EtBr DNA'nın baz çiftleri arasında girerek DNA baz çiftleri arasındaki mesafeni artırdığı için DNA zincirinin boyunu uzanır ve böylece DNA'nın viskozitesi artar (Şekil 1.23).

Grafikteki η_0 başlangıç viskozitesi, η DNA'ya bir porsiyon EtBr eklendikten sonra ölçülen viskoziteyi göstermektedir. η/η_0 ise bağıl viskozite değerini belirtmektedir.

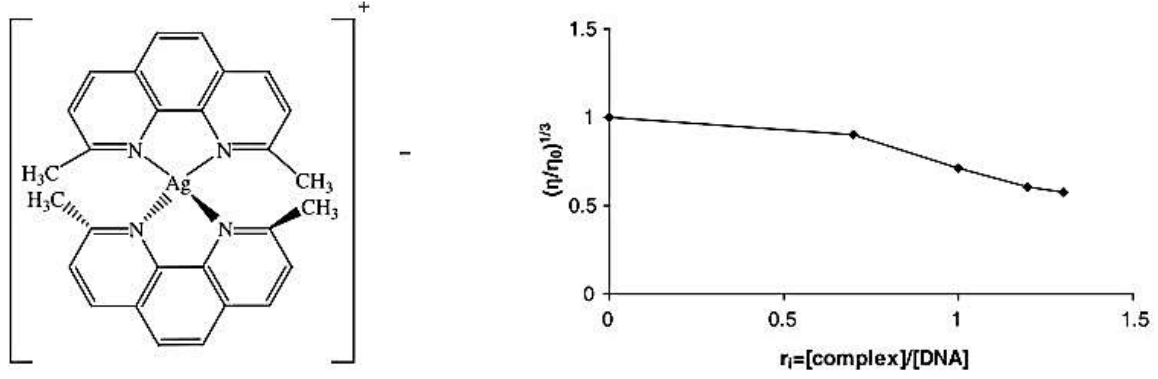
Bundan önce anlatılan yöntemlerden farklı olarak viskozimetri yönteminde pahalı ekipmanlara gerek duymadan ilaç-DNA etkileşimini inceleyebiliriz. Genelde Ubbelohde viskozimetresi kullanılarak DNA çözeltisinin iki nokta arasındaki akış süresi ölçülür. Viskozitede artış veya azalış oluyorsa o zaman da iki nokta arasındaki mesafenin tamamlanması uzun/kısa sürecektir. Akış süresi viskoziteyle orantılı olduğu için akış süresi viskozite olarak kabul edilir.



Şekil 1.23 EtBr için örnek titrasyon grafiği

İlacın DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşmediği durumlarda ise DNA heliksi bükülür ve böylece viskozitede azalma görülür.

Shahbadi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sentezlenen $[\text{Ag}(2,9\text{-dimethyl-1,10-phenanthroline})_2](\text{NO}_3)$ molekülünün DNA'nın baz çiftleri arasına girecek liganda sahip olmamasına rağmen viskozitede azalma görülmüştür (Şekil 1.24) [35].

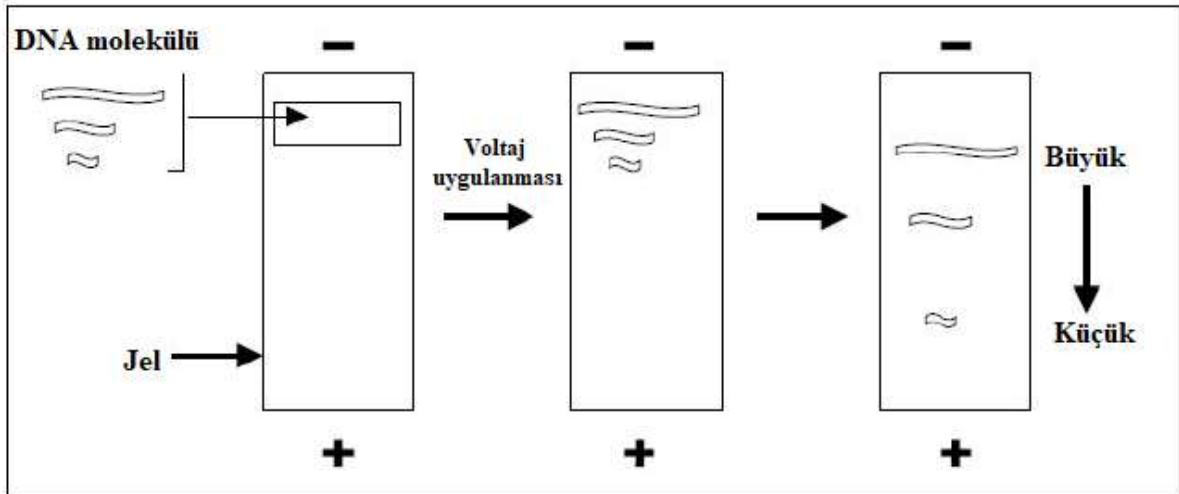


Şekil 1.24 Ag (I) kompleksinin molekül yapısı ve DNA viskozitesine etkisi

Fakat yapılan UV, floresans, elektroforez sonuçlarına göre maddenin DNA ile kısmi interkalasyon yaptığı sonucuna varılmıştır.

1.4.4 Agaroz Jel Elektroforez

DNA-ilaç etkileşiminin incelenmesinde çeşitli yöntemlerle birlikte jel elektroforez yöntemi de kullanılmaktadır. Yöntemin en büyük özelliği diğer yöntemlerden daha hızlı ve basit olmasıdır. Elektroforez sayesinde DNA moleküllerini ayırabilir, saflaştırabilir ve tanımlayabiliriz. Agaroz jel elektroforezinin temeli, yüklü moleküllerin elektriksel bir alanda, jel üzerindeki göçüne dayanır. Bu göç hızı ise molekülün büyüklüğüne, yapısına, jelde kullanılan agaroz konsantrasyonuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akıma bağlı olarak değişmektedir. Örneğin, daha büyük moleküller jel üzerinde yavaş ve daha az mesafeye yürürken, daha küçük moleküller hızlı ve daha uzağa ilerlemektedir. DNA negatif yüklü olduğundan uygulanan elektrik akımı sayesinde katottan anoda doğru hareket eder (Şekil 1.25).



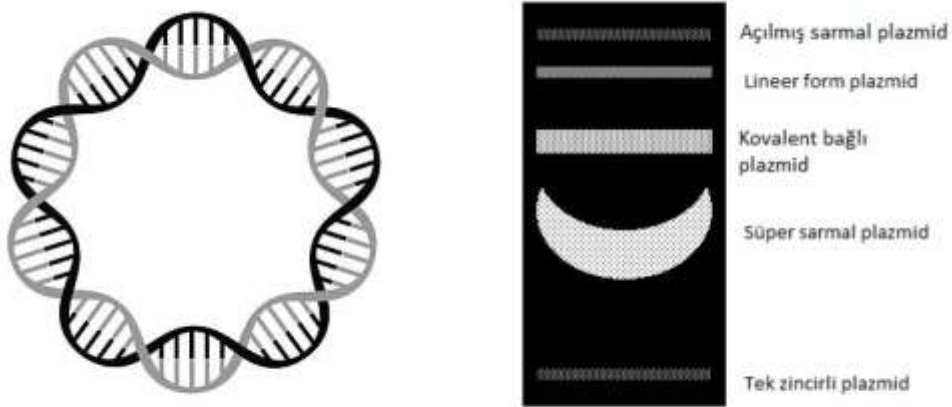
Şekil 1.25 Farklı boyutlardaki moleküllerin jel üzerinde hareketi

Moleküllerin jel üzerinde sürüklenme hızlarındaki farkı kullanarak DNA-ilaç etkileşmesini inceleyebiliriz. Önceden de anlatıldığı gibi eğer moleküller DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşiyorsa o zaman DNA'nın yapısında değişikliklere yol açar. Eğer moleküller interkalasyon yapıyorsa o zaman süper sarmal yapıda bulunan DNA'nın açılarak şeklinin değişmesine ve DNA zincirinin boyunda uzamalarına sebep olabilir. Bu değişimler sayesinde de DNA'nın elektroforetik davranışlarında değişikliklere yol açar ve böylece bu değişiklikler sayesinde moleküllerin DNA'ya bağlanma doğasıyla ilgili yorumlar yapabiliriz.

Agaroz jel elektrofrez çalışmalarında kullanılan DNA genellikle plazmid DNA'lardır. Bakterilerin çoğunda bulunan bu DNA türü genomik DNA'dan farklı olarak kendi kendini kopyalayabiliyor (Şekil 1.26).

Plazmid DNA beş farklı konformasyonda bulunabilir ve konformasyonlara bir elektriksel alan uygulandığında jel üzerinde farklı hızlarda ayrışır.

Resimde görünen lineer-DNA dairesel-plazmid-DNA'nın iki ucunun da kesilmesi sonucunda oluşur ve diğer konformasyonlardan daha büyük olduğu için elektrofrezde yavaş sürüklenir. Diğer konformasyon olan açılmış sarmal DNA enzimler sayesinde gevşetilmiştir. Kovalent bağlı plazmid DNA'nın da açılmış sarmal DNA gibi iki ucu da kesilmemiş fakat bazı kısımları eşleşmemiş olduğu için yapısı biraz daha sıkıdır. Süper sarmal DNA'nın da her iki zinciri de kesik olmayan ve çift sarmal DNA'nın kendi eksenini çevresinde tekrar halkalanması ile oluşan plazmid DNA'dır ve elektrofrezde daha uzağa sürüklenir (Şekil 1.25).

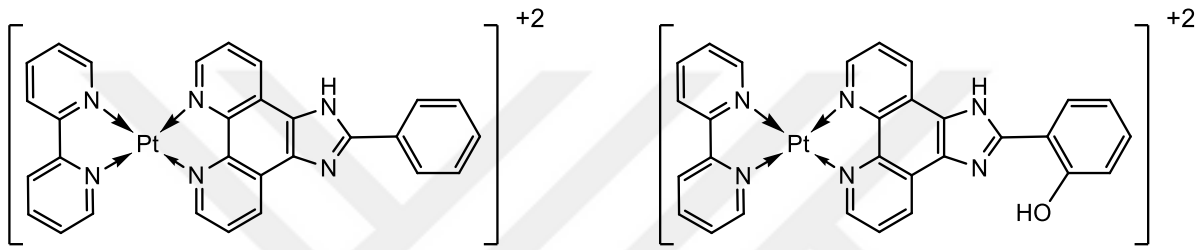


Şekil 1.26 Plazmid DNA ve onun formalarına göre hızları

DNA'nın görünür hale gelmesi için EtBr DNA baz çiftleri arasına bağlanarak UV ışığı altında (300-360 nm'de) ışık absorplar ve böylece floresans özellik gösterir. EtBr'ün bu özelliği kullanılarak düşük konsantrasyonlarda bile DNA'nın jel üzerindeki yerini belirlenebilir.

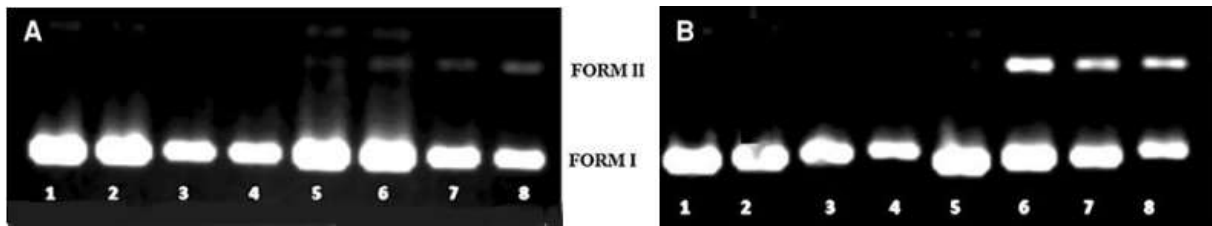
Yapılan çalışmada 2 farklı platin kompleksinin $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ ve $[Pt(bpy)(hpip)]^{+2}$ DNA ile etkileşimi agaroz jel elektroforez yöntemiyle incelenmiştir ve incelenmenin sonucunda bulunan bulgular diğer bulgularla da desteklenmiştir (Şekil 1.27) [36].

Elde edilen elektroforez diyagramları incelendiğinde (Şekil 1.28) $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ kompleksinin artan miktarıyla DNA'nın azaldığı görülmüştür.



Şekil 1.27 $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ ve $[Pt(bpy)(hpip)]^{+2}$ komplekslerin molekül yapısı

Bu azalma metal kompleksinin DNA'yı bozduğunu göstermektedir. $[Pt(bpy)(hpip)]^{+2}$ kompleksinin elektroforez diyagramına baktığımız zaman ise daha düşük derişimlerde DNA süper sarmal yapısını açarak DNA'nın göç hareketlerinde farklılıklar yarattığını görülmektedir. Bu sonuçtan yola çıkarak $[Pt(bpy)(hpip)]^{+2}$ molekülünün DNA'yı $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ molekülüne göre daha fazla bozduğunu söyleyebiliriz.



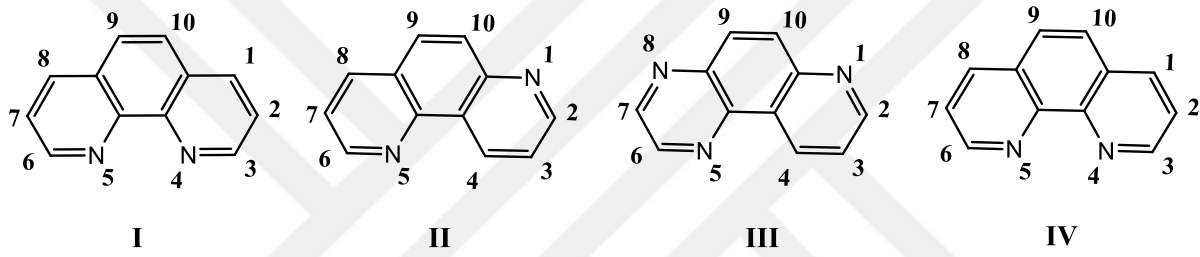
Şekil 1.28 $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ ve $[Pt(bpy)(hpip)]^{+2}$ kompleksleri için elektroforez sonuçları

1.5 1,10-FENANTROLİN VE TÜREVLERİ

Fenantrolin; şekil 1.29'da I, II ve III ile gösterilen heterosiklik halka sistemlerini belirtmek için kullanılan isimdir. Bu heterosiklik halkaları, $-N=$ gruplarının fenantren halka sistemindeki $-CH=$ gruplarının yerine geçmesi ile oluşur. Bu halka sistemleri 4,5-diazafenantren(I), 1,5-diazafenantren(II) ve 1,8-diazafenantren(III) olarak adlandırılır. Bu

numaralandırma şekil 1.28'deki IV numaralandırması esas alınarak yapılır. Bu üç farklı yapı genel olarak "Fenantrolin" olarak adlandırılır. I, II ve III ile gösterilen heterosiklik halkalar sırasıyla o-, m-, ve p-fenilendiaminden elde edildiğinden bu yapılar genellikle o-fenantrolin, m-fenantrolin ve p-fenantrolin olarak adlandırılırlar. Bundan başka "Fenantrolin" ayrıca belirtilen üç yapının dışındaki diğer diazafenantrenleri de içermektedir. o-, m-, ve p italik...

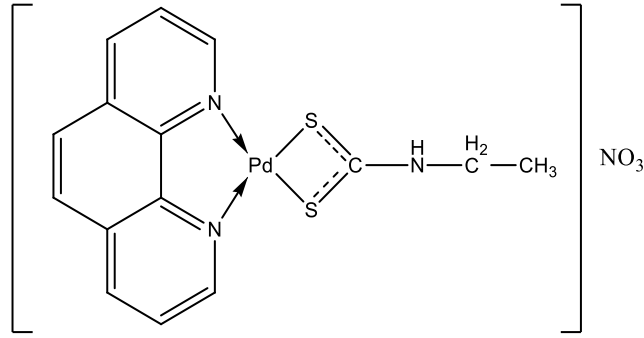
Fenantrolin ve türevleri düzlemsel heterohalkalı bir yapıya sahip olduğundan ve çok dişli ligand özelliği gösterdiğinden geçiş metalleriyle kararlı kompleksler oluşturur. 1,10-fenantrolin ve türevlerinin yaklaşık elli yıl önce, bakterileri öldürdüğü belirlenmiş ve bundan başka fenantrolin ve onun türevlerinin pekçok farklı biyolojik etkinlik gösterdikleri de görülmüştür [37].



Şekil 1.29 1,10 Fenantrolin heterosiklik halka sistemleri.

Son zamanlar yapılan araştırmalarda DNA'nın yapısını bozan, molekül yapısında fenantrolin ve onun türevleri olan ilaçlar kullanılmaya başlanılmıştır. Fenantrolin düzlemsel bir yapıya sahip olduğu için DNA'nın baz çiftleri arasına girerek DNA ile etkileşiyor. Fenantrolin ve türevleri, bu özelliğinden dolayı DNA-ilaç etkileşimiyle ilgili birçok çalışmalara konu olmuştur. Ayrıca fenantrolin platinle meydana getirdiği platin-1,10 fenantrolin kompleksinin kanser tedavisinde etkin bir şekilde kullanımı, nükleik asitlerle etkileşimlerinin incelenmesine olan ilgiyi daha da artırmıştır.

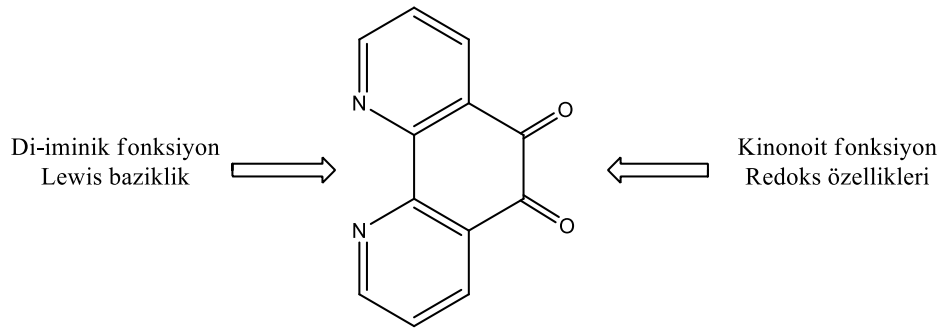
1,10-fenantrolin ligandların hazırlanması ve modifiye edilmesi kolaydır. Bu yüzden de yeni metal komplekslerinin sentezin de büyük ilgi görmüştür. Mansouri ve grubunun yaptığı çalışmada [Pd(Et-dtc)(phen)]NO₃ kompleksi (Şekil 1.30) sentezlenmiş ve kompleksin DNA ile etkileşimi incelenmiştir. Çalışma sonucunda 1,10-fenantrolin'in koplanar olması ve Pd(II) merkezinin etrafında kare düzlem geometri ile uzamasının interkalasyon özelliklerine katkıda bulunduğunu ve anti-tümör aktivitelerini geliştirdiği görülmektedir. Sentezlenen Pd(II) kompleksi DNA ile etkileşime girer ve DNA'yı çok düşük konsantrasyonda bile bozar [38].



Şekil 1.30 [Pd(Et-dtc)(phen)]NO₃ kompleksinin molekül yapısı

Fenantrolin türevlerinin sentezinde kullanılan en önemli madde 1,10-fenantrolin-5,6-diondur. Şekil 1.31’de de görüldüğü gibi 1,10-fenantrolin-5,6-dion kinonoid fonksiyonu sayesinde redoks aktiftir ve di-iminik azot atomlarının sayesinde bir Lewis bazı olarak davranır [39].

1,10-Fenantrolin-5,6-dion çok çeşitli metal iyonlarıyla kararlı kompleksler oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu sebepten yıllarca metal katyonlarına koordinasyonu tarafından etkilenip etkilenmediği araştırmacılar tarafından araştırılmıştır. Araştırmalar sonucunda, 10-fenantrolin-5,6-dion’un çözeltilerde Pt, Pd, Ni, Co, Zn, Fe, Cu ile birlikte oluşturduğu komplekslerde ligandın ileri derecede hidrate olduğu ve hidrasyon derecesinin fenantrolin-metal kompleksinin kararlılığına bağlı olduğu bulunmuştur [40].



Şekil 1.31 1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiğinin reaktif davranışı

1,10-fenantrolin ve onun türevleri supramoleküler topluluklar için yapı iskele malzemesi olarak çok önemli bir rol oynamaktadır. Metal iyonlarıyla direkt köprü kurabilmesi ve farklı orto-kinonlarla ilaveli türevler oluşturabilmesi yönünden 5,6-diamin-1,10-fenantrolin çok önemlidir.

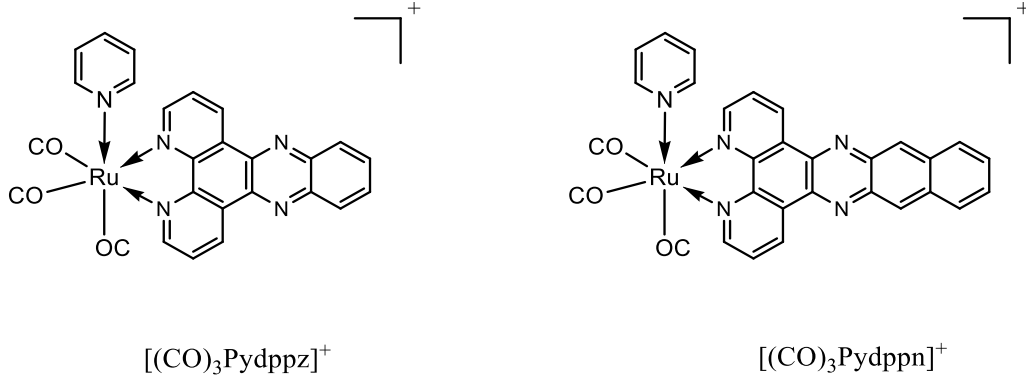
1.6 DİPİRİDO[3,2-*a*:2',3'-*c*]FENAZİN VE TÜREVLERİ

Dipiridofenazın türevleri, DNA ile yaptıkları etkileşimleri sayesinde araştırmacılar tarafından yoğun ilgi görmüştür. Dipiridofenazın (DPPZ), Pt(II), Ru(II) ve benzeri bazı uygun metal iyonları ile koordine edildiğinde karakteristik bir floresans özellikler gösterir. DPPZ, hidrojen bağı yapan veya koordinasyonu destekleyebilen iki türdeş pirazin sahibidir. Fenazın parçalarının düşük enerjili π^* yörüngesi olduğundan dipiridofenazın kolay redüksiyon olur ve böylece dipiridofenazında π kabul bölgesi molekülün fenazın kısmına daha kolay lokalize olur [41]. Dipiridofenazın türevlerinin π kabul özelliği sayesinde azotlar hidrojen bağlarını destekler ya da DNA baz çiftleri arasına kolayca girer.

Dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazın (DPPZ) ilk defa 1970 yılında Dickeson ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir [42]. DPPZ'nin antikanser etkisi olduğu anlaşıldıktan sonra, yaklaşık 1990 yılarının başlarından başlayarak DPPZ ligandının farklı metal kompleksleri sentezlenmiş ve DNA ile etkileşimi incelenmiştir. Bu çalışmalara ilk örnek olacak çalışmalardan birisi de Friedman ve grubunun sentezlediği $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{+2}$ kompleksidir [43]. Çalışmalar sonucunda $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{+2}$ kompleksinin çift sarmallı DNA'nın baz çiftleri arasına girerek interkalasyon yaptığı görülmüştür.

Daha sonra 1992 yılında Richard ve grubu yardımcı ligand olan bipyridin yerine fenantrolin kullanarak yeni $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{+2}$ kompleksi sentezlediler. Yapılan DNA çalışmaları sentezlenen yeni kompleksin $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{+2}$ kompleksi gibi davranışlar sergileyerek DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşmiş ve "ışık anahtar" rolü oynamıştır. Yapılan hesaplamalar sonucunda sentezlenen yeni kompleksin DNA'ya $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{+2}$ kompleksten daha iyi bağlandığı görülmüştür [44].

Friedman ve grubunun yayınladığı çalışmadan 5 yıl sonra birbirinden bağımsız olarak Stoeffler ve Wing-Wah Yam kendi gruplarıyla birlikte DPPZ ve onun türevi olan DPPN'nin kompleksini sentezledi (Şekil 1.32) [45, 46].



Şekil 1.32 Renyum (I) komplekslerinin molekül yapısı

Sentezlenen her iki kompleksin DNA ile etkileşimi incelendi. UV titrasyon sonucunda her iki maddenin hipokromik etki gösterdiği görüldü. Komplekslerin floresans çalışmaları ise daha çok ilgi çekmiştir. Çünkü DPPN kompleksinin DNA ile etkileştiği zaman emisyonunda daha çok artış beklense de aksine DPPZ ligandı DPPN göre floresans emisyonunda 13 kat daha iyi artış görülmüştür. Bu anormalliğin sebebi olarak ise DPPN ligandındaki aromatik ligandın genişlenmesinden dolayı çözelti halinde oraya su toplanması gösterilmiştir. UV titrasyon sonucunda komplekslerin DNA'ya bağlanma sabitlerini ardışık olarak $4,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $6,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Her iki kompleksin daha çok DNA'nın A-T zengin olan bölgesinden bağlandığı ve hesaplamalar sonucunda Renyum(I) komplekslerinde daha az yük olduğu varsayılarak, elde edilmiş olan rutenyum(II) analoglarınınkinden yaklaşık 10 kat daha düşük afinite gösterdiği belirlenmiştir.

$[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{+2}$ DNA üzerindeki etkisini gören Arounagui ve arkadaşı Maiya Ru metali yerine Co(III) ve Ni(II) metalini kullanarak sentezlediği yeni $[\text{M}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{+2}$ (M= Co, Ni) komplekslerinin DNA üzerindeki etkisini araştırdı. Araştırmalar sonucunda her iki kompleksin rutenyum kadar olmasa da DNA üzerinde etki gösterdiği görüldü [47].

DPPZ'nin iyi bir interkalatör olduğu ve rutenyumla yaptığı etkileşimin çevreye duyarlılığını da göz önüne alarak Kato ve arkadaşları kare düzlem geometrili $[\text{Pt}(\text{dppz})\text{Cl}_2]^{+2}$ kompleksi sentezlenmiş ve DNA çalışmaları yapılmıştır. Sentezlenen Pt(II) kompleksi düzlemsel bir yapıya sahip olduğu için kolay bir şekilde DNA'nın baz çiftleri arasına girerek onunla etkileşmiştir.[48].

Maruyama ve grubu DPPZ ligandı içeren Osmiyum kompleksi sentezlemiş ve bu kompleksin DNA ile etkileşimi incelemiştir. Çalışmanın sonucunda Maruyama ve grubu DPPZ içeren

metal kompleksin bağlanma sabitinin $3,1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ olduğunu hesaplamış ve DPPZ ligandının yüksek bağlanma affinitesine sahip olduğu söylemiştir. DPPZ ligandı içeren metal kompleksleri DNA'ya daha iyi bağlanır. Çünkü geniş yüzeyi ve düzlemsel olması sayesinde DPPZ DNA sarmalının içine daha iyi girerek interkalasyon yapabiliyor [49].

Navarro ve arkadaşları yapılan çalışmalardan ilhamlanarak bu kez kare düzlem geometri [Cu(dppz)₂]⁺ metal kompleksi sentezlemiştir. Madde miktarını sabit tutarak her defasına da üzerine artan miktarda DNA eklendikçe spektroskopik titrasyonundan elde edilen verilerle göre 275 nm'de %25'lik, 361 ve 378 nm'de %28'lik hipokromizm görülmüştür. Bu veriler sayesinde 275 nm'deki bağlanma sabiti (K_b) değerini yaklaşık olarak $5,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Sonuçları [Ru(dppz)₃]²⁺ kompleksi ile karşılaştırıldığında Ru kompleksinin DNA'ya [Cu(dppz)₂]⁺ kompleksinden yaklaşık olarak 10 kat daha iyi bağlandığı görülmüştür.

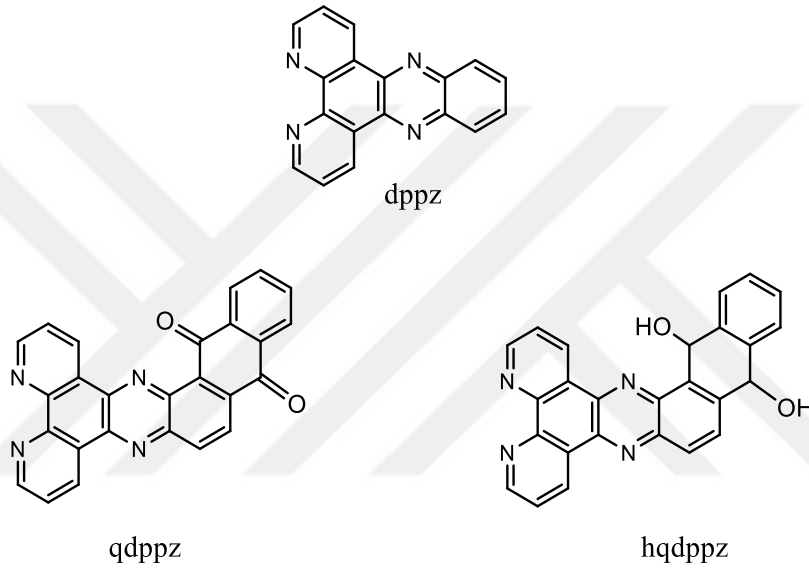
Sadece spektroskopik titrasyon Cu kompleksinin DNA ile interkalasyon yaptığını söyleme için yetersiz olduğundan, viskozite ve elektroforez çalışmaları da yapılmış ve bu çalışmalardan sonra metal kompleksin DNA ile interkalasyon yaptığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca sentezlenen bakır kompleksinin biyolojik aktivitesi çalışılmış ve *leishmaniasis* hastalığının sebebi olan *L. mexicana promastigotes* bakterisi üzerinde büyük bir etki yarattığı tespit edilmiştir [50].

Aynı yılda Vaidyanathan ve gurubunun sentezlediği DPPZ'nin uzatılmış bir aromatik sistemli düzlemsel bir bidentat ligandı olan Krom(III) kompleksi-[Cr(dppz)₂Cl₂]⁺, DPPZ ligandının daha büyük bir düzlemsel alana sahip olduğu için, DNA'nın baz çiftleri arasına diğer ligandlara göre daha iyi nüfuz etmiş ve DNA'ya $1,8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ gibi yüksek bağlanma sabiti ile bağlanmıştır. Krom(III) kompleksinin DNA erime sıcaklığını yükseltmesi ve DNA viskozite çalışmaları metal kompleksin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiğini açıkça göstermektedir. Ayrıca, yarışmalı floresans çalışmasında artan miktarla maddenin DNA baz çiftleri arasına yerleşen EtBr ile yer değiştirdiği görülmektedir. Çalışmalar [Cr(dppz)₂Cl₂]⁺ kompleksinin baz çiftlerinin arasına girmekle beraber aynı zamanda fosfat ester omurgasında bükülme getirdiğini ve DNA'da konformasyonel geçişe neden olduğunu gösteriyor [51].

Uma ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı bir çalışmada DPPZ'nin türevleri olan qdppz ve hqdppz (Şekil 1.33) ligandlarının rutenyum komplekslerini sentezlenmiş ve onların DNA ile

etkileşimi farklı metotlarla incelenmiştir. İncelenme sonucunda bağlanma sabitlerini ardışık olarak K_b $5,4 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ve $7,7 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplamıştır.

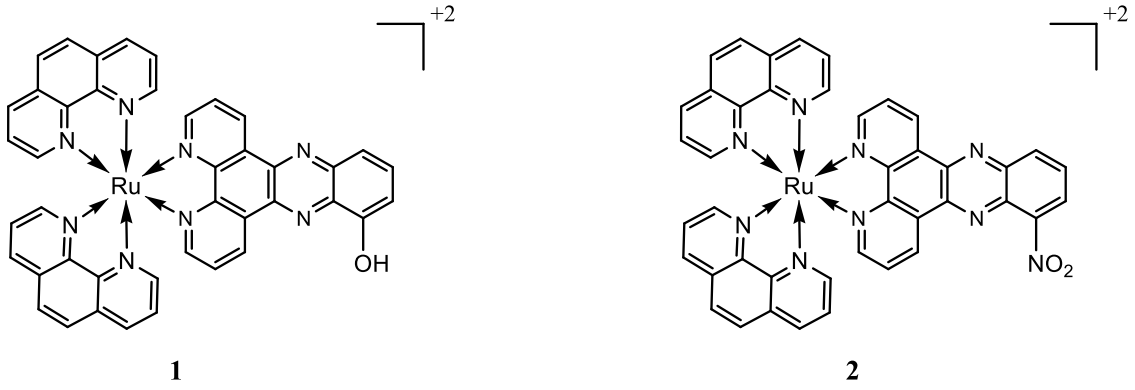
Ligandın düzlemselliği bağlanma sabitini etkilediği için qdppz ligandı DNA'ya dppz ligandın daha kuvvetle bağlanır. HQDPPZ ligandının DNA'ya qdppz ligandın daha güçlü bağlanmasının sebebi ise hqdppz ligandın planaritesini uzatan intramoleküler hidrojen bağının varlığıdır. Ayrıca bu çalışmadan yola çıkarak Uma DPPZ gibi ligandlara sahip olan metal için ligandın mimarisinde ve elektronik yapısındaki ufak değişikliklerin bile DNA bağlanma afinitesini önemli ölçüde değiştirebildiğini göstermiştir [52].



Şekil 1.33 dppz, qdppz ve hqdppz'nin molekül yapısı

Rutenyum içerikli DPPZ türevlerinin DNA'ya diğer komplekslere göre daha iyi bağlandığı gösteren çalışmalardan biri de Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır [53]. Sentezlenen $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-OH-dppz})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-NO}_2\text{-dppz})]^{2+}$ (Şekil 1.34) komplekslerinin bağlanma davranışları spektroskopik yöntemlerle ve viskozite ölçümleriyle incelenmiştir.

Sonuç olarak her iki ligandın DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığı, $-\text{NO}_2$ grubuna sahip olan DPPZ türevi kompleksin DNA'ya bağlanma afinitesinin $-\text{OH}$ grubuna sahip olan DPPZ türevi komplekse göre bağlanma afinitesinden büyük olduğu belirtildi.



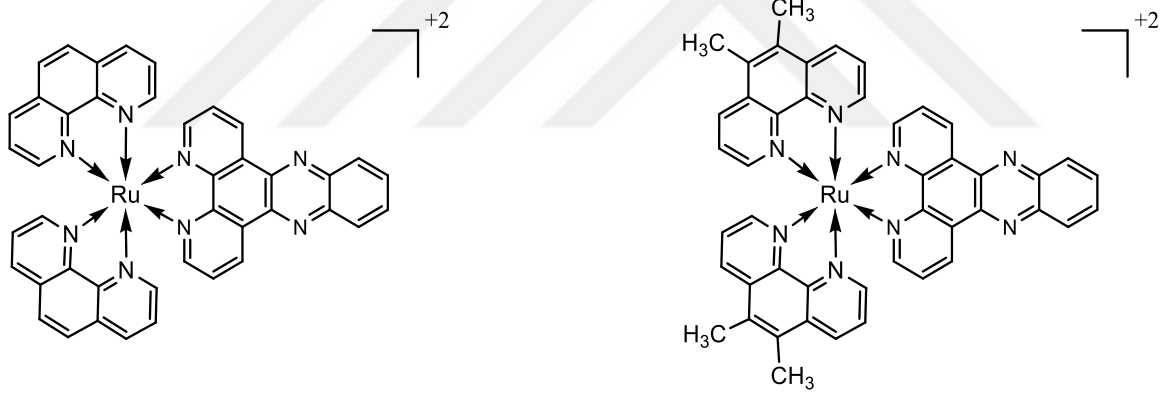
Şekil 1.34 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-R-dppz})]^{2+}$ ($\text{R} = -\text{OH}, \text{NO}_2$) molekül yapıları

Her iki kompleksin bağlanma sabitlerini $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ kompleksin bağlanma afinitesiyle kıyasladığımızda ise $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ kompleksinin birinci kompleksten yaklaşık olarak 10 kat, ikinci kompleksten ise 3 kat daha iyi bağlandığı görürüz. Her iki kompleksin $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ kompleksinden düşük bağlanma afinitesi göstermesinin sebebi olarak interkalatif ligandların kompleks üzerinde elektronik etkileri gösteriliyor. Aynı zamanda interkalatif liganttaki $-\text{NO}_2$ grubunun elektron çekici olması kompleksin bağlanma sabitini artırırken, $-\text{OH}$ ise aksine, elektron verici olması ters etki göstererek bağlanma sabitini düşürdüğünü söyleyebiliriz. Bu çalışmada yapılan jel elektroforez çalışmalarında $-\text{OH}$ grubuna sahip olan kompleksin DNA'yı UV ışını altında bozduğu halde $-\text{NO}_2$ grubuna sahip olan kompleksin normal halde, UV ışını olmadan bile DNA'nı bozduğu görülmüştür.

$[\text{M}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ kompleksinin, rutenyum, nikel, kobalt ve bakır gibi geçiş metalleriyle çalıştığını gören Mudasir, bu kez demir kompleksinin DNA üzerindeki etkisini incelemiştir [54].

Mudasir ve grubu diğer çalışmalardan farklı olarak metal kompleksinin DNA ile etkileşimini NaCl ortamında incelemiştir. Çünkü tuzlu bir ortamda maddelerin DNA ile bağlanma sabitinde artış görülmektedir. Normalde maddeler DNA ile interkalasyon yapmasının yanı sıra, tuzlu ortamda elektrostatik etkileşim de yapıyorlar. Yapılan hesaplamalara göre $[\text{Fe}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ kompleksi $[\text{Na}^+]$ ortamında DNA'ya %36 oranında daha iyi bağlanmıştır. Sentezlenen metal kompleksi DNA'ya $1,31 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ bir değerle bağlanıyor. Bu bağlanma sabitini rutenyum kompleksinin bağlanma sabitiyle kıyasladığımız da ise rutenyum kompleksinin DNA'ya daha iyi bağlandığını görebiliriz.

Kararlı, koordineli, yoğun renklendirilmiş ve suda çözünen rutenyum kompleksleri, nükleik asit kimyasının hem yapısal hem de işlevsel açıdan kovalent olmayan propları olarak uygundur ve son derece değerlidir. Radyoaktif olmayan nükleik asit sondaları olarak nükleik asitlere interkalasyon yapabilen oktahedral polipiridil rutenyum komplekslerinin DNA ile etkileşimi ilgi çeken bir araştırma konusu olmuştur. Bu ilgi çeken araştırmaların biri de 2006 yılında Maheswari ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir [55]. Bu çalışmada $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ kompleksinin yardımcı ligand olan fenantroline kısmına dimetil eklemekle yeni bir rutenyum kompleksi olan $[\text{Ru}(5,6\text{-dmp})_2(\text{dppz})]^{2+}$ elde edilmiş (Şekil 1.35)ve DNA ile etkileşimi incelendikten sonra, fenantroline göre bağlanma afinitesinde 1.4 oranında bir artış görülerek $7,2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Kompleksin DNA'ya bağlanma modülüne baktığımız zaman maddenin DPPZ kısmı DNA'nın daha çok A-T zengin olan taraftan baz çiftlerinin arasına girmiş ve dimetiller sayesinde de elektrostatik etkileşim yaparak DNA'ya istiflenmiş ve daha kuvvetli, kararlı bir yapı oluşturmuştur. Dimetillerin DNA ile hidrofobik etkileşim yapması bize metal kompleksin yardımcı ligand olan fenantroline nazaran DNA'ya daha iyi bağalandığını açıklamaktadır.



Şekil 1.35 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(5,6\text{-dmp})_2(\text{dppz})]^{2+}$ molekül yapıları

Platin ve rutenyum gibi metallerin yanısıra potansiyel antikanser ilacı olarak altın (Au) bileşiklerine de bir merak oluşturmuştur. Bu sebepten de çok sayıda yeni Au kompleksleri sentezlenmiş ve DNA ile etkileşimi incelenmiştir. İncelemeler sonucunda Au içerikli komplekslerin de önemli anti-kanser aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda araştırmalar sonucunda Au içerikli metal komplekslerinin anti-tümör platin kompleksleri gibi *in vitro*'da önemli sitotoksik etkiler göstermektedir. Platin ve altın metallerinin bileşiklerinin kimyasal benzerliği nedeniyle DNA üzerinde gösterdiği aktiviteler aynı etki gösterdiği düşünülmektedir.

Palanichamy ve arkadaşlarının çalışmalarında altın kompleksi ve DNA arasında interkalasyon gözlemlenmiştir. Onlar, bir kare düzlem Au(III) komplekslerinin DNA'ya karşı iyi bağlanma özelliğini gösteren güzel bir çalışma yapmış ve Au(III) komplekslerinin DNA'ya bağlanma yeteneği, sitotoksik etki mekanizmasını göstermişler. Etki mekanizmasında 4 anti-tümör [Au(polipiridil)Cl₂]PF₆ (Polipridil= dpq, dppz, dpqc) metal komplekslerinin toksik etkilerinde metal-protein etkileşimleri anahtar rol oynamaktadır. Bu durum, DNA anti-tümör metal ilaçları için ilkin hedef olduğu örneklemesini hızla reddetmekte ve artık geçersiz hale getirmekte olduğu için daha önemli olduğu belirtilmektedir [56].

Birçok çalışmada platin komplekslerinin DNA'nın baz çiftleri arasına girerek interkalasyon yolu ile etkileştiği belirtilmiştir. Cusumano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarında sentezlenen platin kompleksi ile DNA arasında interkalasyon gözlemlenmiştir.

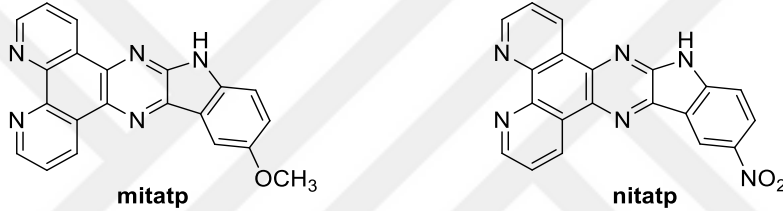
UV ve floresans spektroskopik titrasyon ile DNA ve sentezlenen metal kompleksi arasında interkalasyonun belirlenmesine rağmen interkalasyonun türü hakkında bilgi vermemektedir. İnterkalativ etkileşimler ile DNA heliks yapısındaki değişimleri değerlendirmek için viskozite gibi bazı çalışmalar yapılmıştır. DNA viskozitesinin ölçümünde [Pt(N-N)(py)₂]²⁺ (N-N= phen, dpq, dppz, bdppz) kompleksinin farklı konsantrasyonları önem taşımaktadır. Platin kompleksinin konsantrasyonlarındaki artış DNA viskozitesini arttırmaktadır. Bu durum [Pt(N-N)(py)₂]²⁺ kompleksinin bir DNA interkalatörü olduğunu göstermektedir [57].

2006 yılında Palanichamy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan yola çıkarak Navarro ve grubu yeni [Au(dppz)₂]Cl₃ kompleksi sentezledi ve DNA ile etkileşiminin yanı sıra *Leishmaniasis* gibi ciddi bir hastalığın sebebi olan *Leishmania (L) mexicana* paraziti üzerinde etkisini de incelenmiştir. Çünkü *leishmania* cinsinin parazitleri, *Trypanosoma* cinsi, kinetoplastid parazitler olup, bu parazitlerinde tümörlere benzer bir metabolizması olduğu düşünülmektedir. Bu öncü temelinde sisplatin ve diğer anti-tümör metallik bileşiklerin kinetoplastid parazitleri üzerinde etkisini incelemiş ve yapılan çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir. Navarro ve grubunun çalışmasında altın ve DPPZ kullanmasının sebebi olarak DPPZ'nin iyi bir interkalatör olması ve Au metalinin genişletilmesinden ve platin gibi etki gösterdiğinden kaynaklanıyor.

DNA-altın kompleksi etkileşimleri, spektroskopik titrasyonlar, viskozite ölçümleri ve elektroforetik tahliller ile incelendi. Çalışmalar sonucunda altın kompleksinin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiği belirlendi. Bu sonuçlardan yola çıkarak kompleksin parazit

üzerinde etkisi de incelendi. Altın kompleksinin küçük miktarında bile parazitler üzerinde etki gösterdiği görüldü ve sonuç olarak da $[\text{Au}(\text{dppz})_2]\text{Cl}_3$ kompleksinin umut verici bir kemoterapötik alternatif olduğu düşünülmektedir [58].

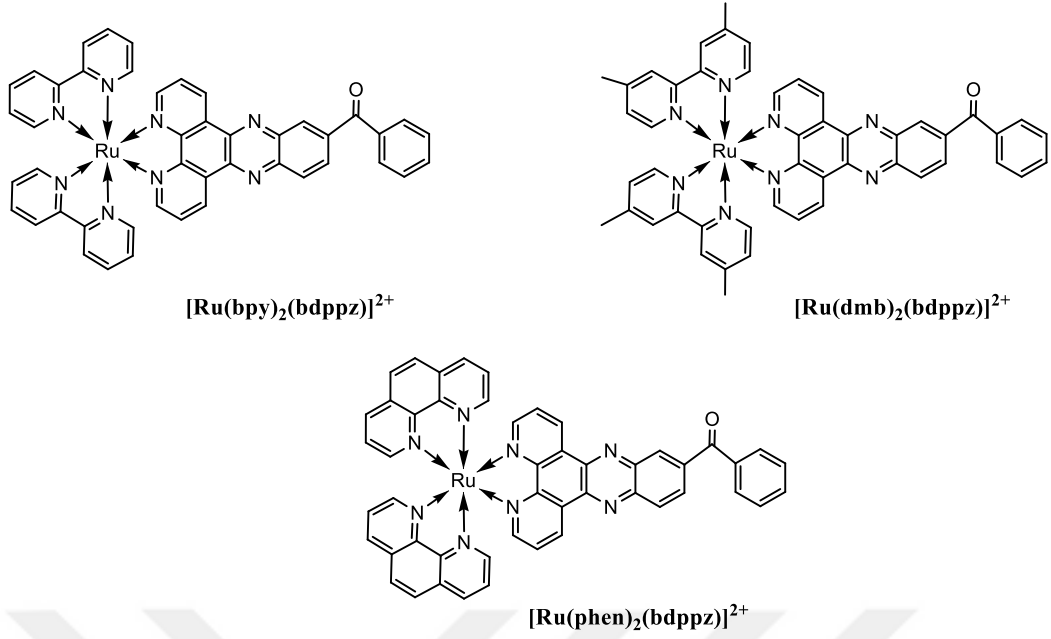
2009 yılında Hui-Juan Yu ve arkadaşları tarafından yayınlanan makalede dppz ligandının başka türevleri olan mitatp ve nitatp ligandlarından yola çıkarak $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{mitatp})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{nitatp})]^{2+}$ (Şekil 1.36) kompleksleri sentezlenmiş ve çeşitli yöntemlerle DNA ile etkileşimi incelenmiştir. İncelemeler sonucunda her iki kompleksin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiğini belirtilmiştir. Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda her iki kompleksin bağlanma sabitinin $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ kompleksinin bağlanma sabitinden daha büyük olması ve aynı zamanda $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{mitatp})]^{2+}$ kompleksinin DNA'ya diğer metal komplekslerden daha iyi bağlandığı gözlemlenmiştir [59].



Şekil 1.36 mitatp ve nitatp ligandlarının molekül yapısı

DPPZ ve onun türevlerin metal komplekslerinin DNA ile etkileşmesinde yardımcı ligandların da önemi büyüktür. Bu yüzden Kumar ve grubunun yaptığı bir çalışmada yeni DPPZ türevinin DNA ile nasıl etkileştiğini belirlemekle birlikte, yardımcı ligandların bağlanma afinitesini nasıl değiştirdiği de araştırılmıştır (Şekil 1.37).

Sentezlenen her üç kompleksin DNA'ya bağlanma özellikleri spektroskopik yöntemler, erime sıcaklığı, viskozite ve jel elektroforez çalışmaları yapılmış ve çalışmalar sonucunda her üç kompleksin DNA ile interkalasyon yoluyla bağlandığı tespit edilmiştir.



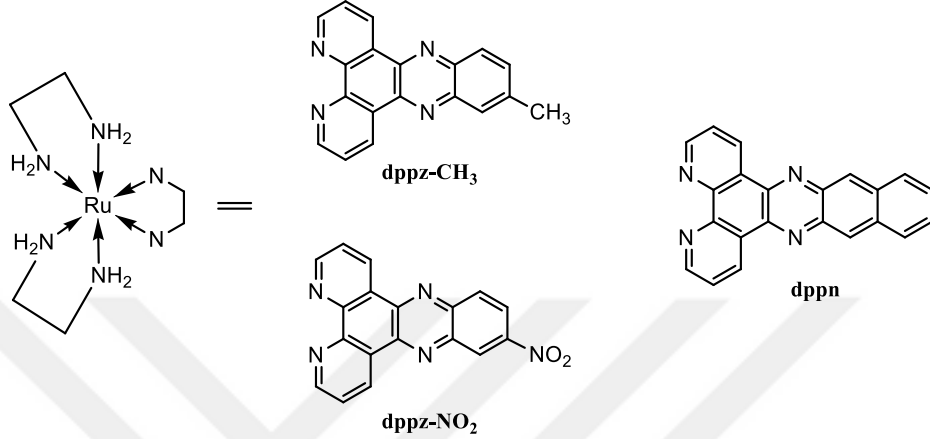
Şekil 1.37 Ru (II) kompleksinin molekül yapıları

Yapılan çalışmalar sonucunda bağlanma sabitleri ardışık olarak, $5,3 \times 10^5$, $3,7 \times 10^5$ ve $6,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bağlanma sabitlerinden de görüldüğü gibi propriat interkalatif ligandlar bağlanma afinitesinde küçük değişiklikler yaratabiliyor. Deneyler sonucunda da 1,10-fenantrolin yardımcı ligandları içeren Ru(II) kompleksinin DNA'ya daha iyi bağlandığı görülmüştür.

Bu komplekslerin DNA ile etkileşiminin incelenmesinin yanı sıra antimikrobiyal aktiviteleri açısından da incelenmiştir. İncelemeler sonucunda her üç kompleksin *Aspergillus niger*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* gibi bakteri türleri üzerinde küçük derişimlerde bile büyük inhibasyon aktivitesi gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlara göre de [Ru(phen)₂bdppz]⁺² kompleksi bu bakteri türleri üzerinde daha çok etki gösterdiği anlaşılmıştır [60].

İnterkalatif liganttaki ikame edici grubu veya ikame pozisyonunu değiştirmek, Ru(II) polipiridil komplekslerinin alan konfigürasyonunda ve elektron yoğunluk dağılımında ilginç bazı farklılıklar yaratabilir. Bu da spektral özelliklerde ve komplekslerin DNA bağlanma davranışlarında bazı farklılıklar oluşturur. Böyle farklılıklar da bize Ru(II) polipiridil komplekslerinin DNA'ya bağlanma mekanizmasını anlamamıza yardımcı olurlar. Bu nedenle, DNA bağlama modunu belirleyen faktörleri değerlendirmek ve anlamak için farklı yapısal ligandları kullanan daha ileri çalışmalar gereklidir.

Böyle çalışmalardan biri de Shila ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Onlar çalışmalarında DPPZ'ye ikame edilmiş yeni ligandlar sentezlemiş ve sentezlemiş olduğu bu ligandların rutenyum(II) etilendiamin $[\text{Ru}(\text{en})_2(\text{dppz-CH}_3)]^{2+}$ (a), $[\text{Ru}(\text{en})_2(\text{dppz-NO}_2)]^{2+}$ (b) ve $[\text{Ru}(\text{en})_2(\text{dppn})]^{2+}$ (c) (Şekil 1.38) komplekslerini rapor etmiş ve DNA'ya bağlanma özellikleri incelenmiştir.

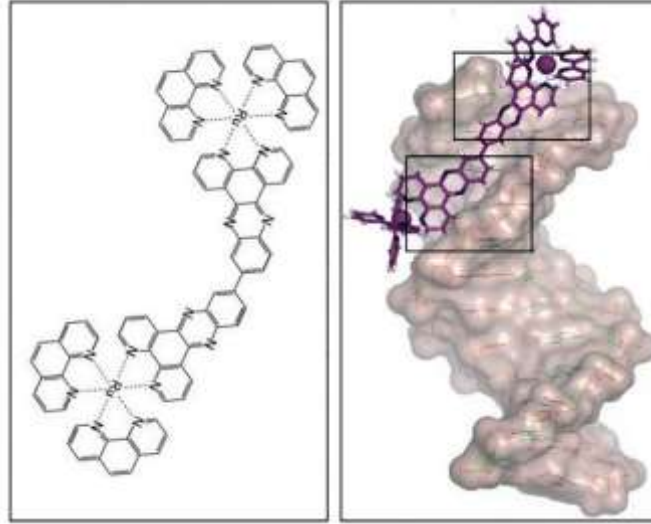


Şekil 1.38 $[\text{Ru}(\text{en})_2(\text{L})]^{2+}$ komplekslerin molekül yapısı

Ru(II) komplekslerinin DNA ile etkileşimi spektroskopik yöntemlerle incelenmiştir. Floresans çalışmalarında floresansda görülen 3,85, 4,20 ve 4,35 oranındaki artışlar her üç kompleksin DNA ile kuvvetli bir etkileşime girdiği göstermektedir.

Floresansla birlikte yapılan diğer çalışmalar b ve c kompleksin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiğini, a kompleksinin ise daha DNA ile çok elektrostatik etkileşim yoluyla etkileştiğini gösteriyor. Bunun sebebi olarak bağlanma ve moleküler eliptikliğinin daha az olması gösteriliyor [61].

Şimdiye kadar DPPZ ve onun türevlerinin DNA'nın baz çiftleri arasına girerek interkalasyon yaptığıyla ilgili yapılan çalışmaları örnek gösterdik. Fakat 2013 yılında Lisha Wu ve arkadaşları tarafından sentezlenen Λ, Λ - $[\mu\text{-bidppz}(\text{bipy})_4\text{Ru}_2]^{4+}$ (Şekil 1.39) metal kompleksinin farklı teknikler kullanarak DNA ile interkalasyon yoluyla değil de küçük oyuk üzerinden bağlandığı görmüştür [62]. Yapılan çalışmalardan küçük oyuk üzerinden bağlanan kompleksin elektrostatik potansiyel daha fazla olduğundan ve sterik engel daha az olduğundan daha çok adenin ve timin bazı oranı yüksek olan bölgeleri seçtiği görülmüştür.

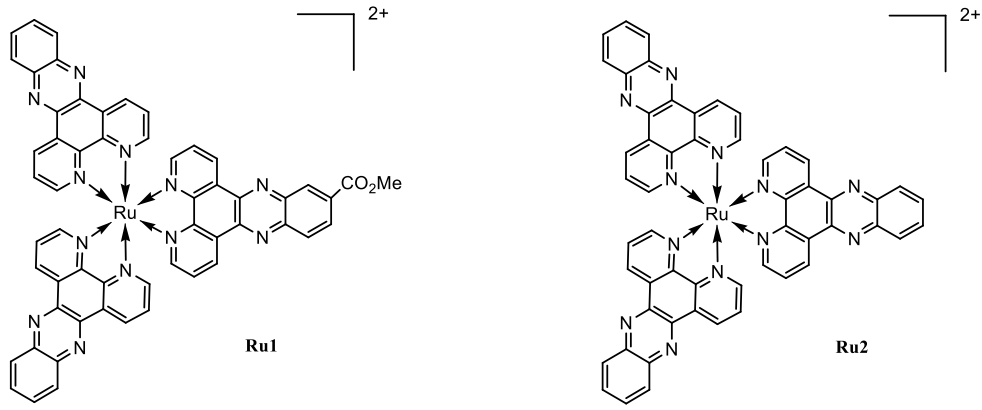


Şekil 1.39 Λ,Λ - $[\mu$ -bidppz(bipy) $_4$ Ru $_2$] $^{4+}$ kompleksin yapısı ve DNA'ya küçük oyuk üzerinden bağlanması

Daha sonra He ve grubunun, sentezlediği Ru1 ve Ru2 metal komplekslerin (Şekil 1.40) yarışmalı floresans ve viskozite sonuçlarına dayanarak komplekslerin DNA'nın baz çiftleri arasına girerek interkalasyon yaptığını, ayrıca Ru2 kompleksinin DNA'ya daha güçlü bağlandığını söylemiştir. Bundan başka yapılan çalışmada sentezlenen Ru1 ve Ru2 metal kompleksin topoizomeraz I ve topoizomeraz II enzimlerini inhibe edebildiğini ve her iki kompleksin seçilen tümör hücrelere karşı orta düzeyde etki gösterdiği kanıtlanmıştır [63].

Liu ve arkadaşları tarafından sentezlenen $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pyidppz})]^{2+}$ kompleksinin DNA'ya üzerinde etkisi araştırılmış ve sonuçlar rutenyum kompleksinin DNA'ya interkalatif bir modla bağlandığını, DNA moleküler “ışık anahtarı” olarak hareket edebileceğini göstermiştir. Aynı zamanda kompleksin topoizomeraz I enzimini inhibe ettiği de kanıtlanmıştır [64].

Küçük moleküllerin DNA'yla bağlanma çalışmaları, yeni terapötik reaktiflerin ve DNA moleküler problemlerinin geliştirilmesinde çok önemlidir. Biyotıp ve antikanser ilaçları için araçlar ararken, DNA'ya bağlanan geçiş metal kompleksleri son birkaç on yılda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.



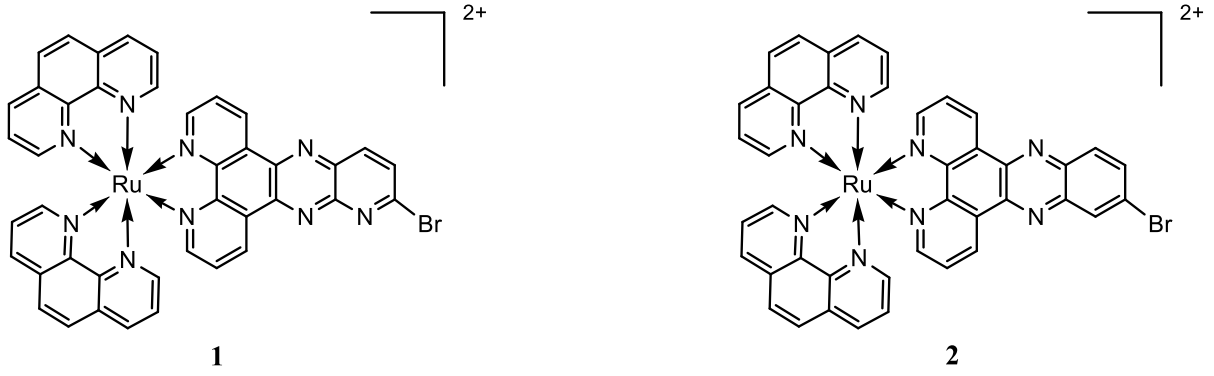
Şekil 1.40 Ru1 ve Ru2 komplekslerinin molekül yapısı

Önceden de örnek gösterdiğimiz araştırmalardan da görüldüğü gibi DNA bağlayıcı substratlar olarak DPPZ ligandına veya onun türevlerine sahip olan Ru(II) kompleksleri DNA'ya güçlü bağlanmaları nedeniyle araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmüştür. İnterkalatif ligandın yapısındaki değişiklikler, kompleksin DNA'ya bağlanma davranışlarında, fotofiziksel özelliklerinde ve komplekslerin biyolojik aktivitelerinde değişikliğe neden olabilir. Bu nedenle, DNA bağlama mekanizması ve Ru(II) komplekslerinin afinitelerini daha ayrıntılı bir şekilde aydınlatmak ve yeni DNA problemleri, fotodinamik terapi ajanları veya diğer biyolojik fonksiyonlarla sahip kompleksleri keşfetmek için farklı yapısalara sahip kapsamlı çalışmalar yapmak gereklidir.

Böyle çalışmalardan birini de Deepika ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Onların sentezlediği komplekslerin (Şekil 1.41) molekül yapısı bir birinden sadece 1. komplekste fazladan bir piridin azotu olmasıyla ayrılıyor.

Yapılan spektroskopik yöntemler sayesinde bu iki kompleksdeki bu küçük değişim bile DNA'ya bağlanma sabitlerine etki ettiği görülmüştür. Hem bppp hem de 7-Br-dppz ligandının bağlanma sabitini bakıldığında, her iki ligandın bağlanma sabitinin ana interkalasyon ligandı olan DPPZ kompleksinin bağlanma sabitinden yaklaşık 10 kat daha az bağlanma sabitine sahip olduğu görülmektedir.

Her iki kompleksin bağlanma sabitinin böyle düşük olmasının muhtemel sebebi her iki ligandın yapısında olan brom grubu olabilir. Ayrıca, 1. kompleksin bağlanma sabitinin 2. kompleksten yüksek olmasının sebebi olarak da 1. kompleksteki ligandın ekstrandan piridin azotuna sahip olmasıdır. Bu ekstra azot sayesinde kompleks DNA'nın baz çiftleri arasında daha iyi girebilmektedir. Bu da komplekse daha büyük bağlanma afinitesine sahip olmasına imkan sağlar.

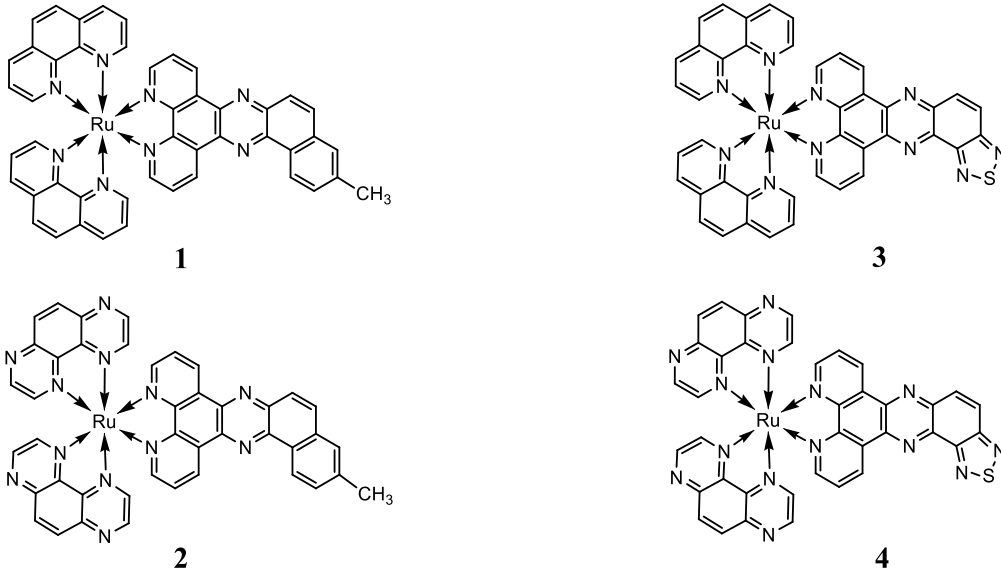


Şekil 1.41 Ru(II) komplekslerinin molekül yapısı

Bundan başka yapılan çalışmalar sonucunda her iki kompleksin biyolojik aktiviteleri incelenmiş ve her iki kompleksin tümör hücreleri üzerinde etkili olduğu ve verilen koşullarda bakteri üremesini engellediği görülmüştür [65].

Rutenyum (II) polipiridil kompleksleri, supramoleküler kimya, biyolojik ve potansiyel olarak uygulamalara sahip olabilecek ilginç fotofiziksel özelliklere sahiptir. Son zamanlarda, bu tür kompleksler nükleik asit bağlayıcılar olarak geliştirilmiş ve yapılan çalışmalarla bağlanma modunun, koordinat ligandlarının yapısına yüksek ölçüde bağlı olduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda, DPPZ gibi genişletilmiş aromatik bölgeleri olan ligandlara sahip Ru(II) komplekslerinin ve bunların oligonükleotidlere interkalasyon yetenekleri incelenmiştir.

Bu çalışmaya güzel bir örnek olarak Poulsen ve grubunun yaptığı çalışmadır. Çalışmada DPPZ ligandının farklı türevleri olan mpdppz ve dtp sentezlenmesiyle birlikte yardımcı ligand olan 1,10-fenantroline fazladan piridin azotu eklenmiş (TAP) ve komplekslerdeki bu farklılıklar incelenmiştir (Şekil 1.42).



Şekil 1.42 Ru(II) komplekslerinin molekül yapıları

Her 4 kompleksin DNA ile etkileşmesi UV spektropisini incelendiği zaman fenantrolin yardımcı ligandı içeren 1 ve 3 kompleksleri için MLCT bandında 440 nm'deki absorbanda azalma sırasıyla %17 ve %18, aynı zamanda genişletilmiş aromatik kısım için 310 nm'de $\pi-\pi^*$ bandındaki azalma sırasıyla %44 ve %52 olmuştur. Benzer şekilde 2 ve 4 kompleksleri için MLCT bandında 412 nm'deki azalma %22 ve %19, genişletilmiş aromatik kısım için $\pi-\pi^*$ bandındaki azalma sırasıyla 2. kompleks için %34 ve 4. kompleks için %41 olmuştur. Bu hipokromik davranış, özellikle 310 nm'de absorbandaki büyük azalma, genişletilmiş aromatik parçanın kromoforu ile baz çiftlerinin kromoforları arasındaki güçlü bir etkileşim ile açıklanabilir. Bu güçlü etkileşim bize her 4 Ru(II) kompleksin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiği göstermektedir. Komplekslerin floresans spektroskopisi ise ilgi çekici olmuştur. Şöyle ki yardımcı ligand olarak 1,10-fenantrolin içeren yardımcı ligandlar sulu ortamda hiçbir emisyon göstermediği halde DNA ile etkileştiği zaman 1 ve 3 komplekslerin emisyonunda artış görülmüştür. Yardımcı TAP ligandı içeren 2 ve 4 kompleksleri ise bu olayın aksine sulu ortamda ve DNA varlığında tamamen söndürülen nispeten güçlü bir emisyon göstermişler. Komplekslerin bağlanma sabitine bakıldığında ise fenantrolin içeren komplekslerin DNA'ya daha iyi bağlandığı gözlemlenmiştir [66].

DPPZ'nin koordinasyon komplekslerindeki yüksek miktarda ilgi olmasına rağmen, bu kısmın organik türevlerinin DNA bağlama özellikleri önceleri hiç araştırılmamıştır. DPPZ'nin kendisi düzlemsel bir aromatik molekül olarak sulu çözeltilerde neredeyse çözünmezdir. Fakat DPPZ'nin metal merkezi, kuaternize edilmiş ligandlar verecek şekilde bir etilen köprüsü ile

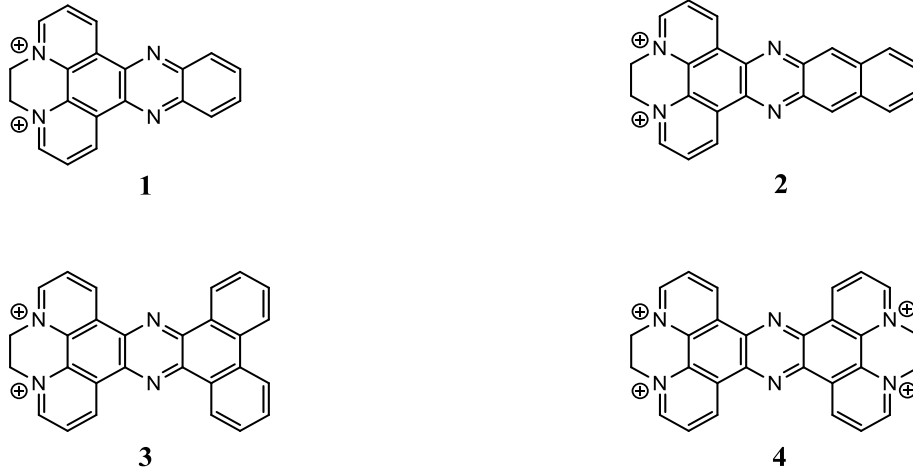
değiştirildiği zaman suda iyi çözünürlük gösterdiği ve nötr pH'ta kararlı olduğu bilinmektedir. Kuaternize edilmiş ligandların bağlanma afiniteleri metal komplekslerine göre biraz daha düşük olsa da onlarla karşılaştırılabilir düzeydedir [67].

DPPZ ile ilgili böyle ilk çalışma Phillips ve arkadaşları tarafından gerçekleştirildi [68]. Sentezlenen molekülün yapısı incelendi ve DPPZ bir poliaromatik molekül olarak düzlemsel şekilde olmasına rağmen kuaternize edilmiş DPPZ ligandında ise hala düzlemselliğe yakın olsa bile yapıda hafifçe bir bükülme görüldü. DNA ile yapılan çalışmalarda kuaternize edilmiş DPPZ ligandının $3,78 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ oranında bir bağlanma sabitiyle DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiği belirlendi. Bu bağlanma sabitini $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ molekülüne göre yaklaşık olarak 10 kat düşüktür. Bağlanma sabitinin bu kadar düşük olmasının sebebi olarak metal kompleksinin $[\text{Ru}(\text{phen})_2]^{2+}$ kısmının ek olarak büyük oyuk üzerinden bağlanmasının da etkisinden meydana gelmektedir.

Bu çalışmalardan elde ettiği verilerden yola çıkan Phillips ve grubu daha üç DPPZ türevini kuaternize ederek DNA ile etkileşimini incelemiştir (Şekil 1.43) [69].

Yapılan çalışmalarda 3. ve 4. moleküllerden farklı olarak 2. molekülün organik ve sulu çözeltilerde floresans özellik gösterdiği fark edildi.

Sentezlenene her üç kompleks üzerine DNA eklenmesi, UV absorpsiyon spektrumunda büyük ölçüde hipokromizm ve batokromizm görüldü. Örneğin, 2. molekülün absorpsiyon spektrumunda 341 nm ve 403 nm'de absorpsiyon bantlarında %50'ye kadar hipokromik ve buna ek olarak 15 nm ve 11 nm'lik batohromik kaymalar sergiledi. Bu sergilenme molekülün DNA ile güçlü bir şekilde etkileştiğini belirtmektedir.



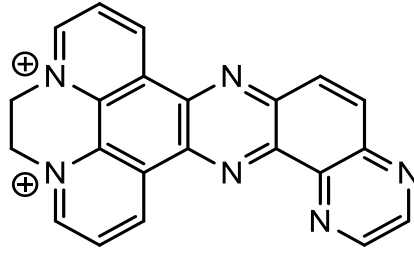
Şekil 1.43 Kuaterinize DPPZ ve onun türevlerinin molekül yapısı

Yapılan çalışmalarda 3. ve 4. moleküllerden farklı olarak 2. molekülün organik ve sulu çözeltilerde floresans özellik gösterdiği fark edildi.

Sentezlenen her üç kompleks üzerine DNA eklenmesi, UV absorpsiyon spektrumunda büyük ölçüde hipokromizm ve batokromizm görüldü. Örneğin, 2. molekülün absorpsiyon spektrumunda 341 nm ve 403 nm'de absorpsiyon bantlarında %50'ye kadar hipokromik ve buna ek olarak 15 nm ve 11 nm'lik batokromik kaymalar sergiledi. Bu sergilenme molekülün DNA ile güçlü bir şekilde etkileştiğini belirtmektedir.

2. molekülün organik ve sulu çözeltilerde floresans özelliği belirlendikten sonra DNA ortamında floresansı da incelendiği ve incelemeler sonucunda her DNA ekleyişinde 2. molekülün floresansı emisyonunda azalma görüldü. Aynı zamanda 2. molekülün sentetik polinükleotitlerle floresans titrasyonu incelenmiş ve incelemeler sonucunda 2. molekülün daha çok G-C seçiciliği gösterdiği belirlendi.

Zamanla düşük moleküler ağırlıklı kanser ilaçlarının gelişimi son derece güncel bir araştırma alanı olmuştur. Böyle moleküller suda iyi çözümlenmeli ve kanser hücrelerine iyi tutunmalı ve onlara etki hücrelerinin ölümüne sebep olmalıdır. Bu fikirden yola çıkarak Elmes ve grubu yeni düşük moleküllü ve suda iyi çözünen kuarternize edilmiş yeni DPPZ türevi sentezledi (Şekil 1.44) ve daha sonra DNA ile etkileşimi incelendi. İncelemeler sonucunda molekülün DNA'ya bağlanma anfinitesi $6.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak bulundu. Bu bağlanma Phillips ve grubunun sentezlediği moleküllerinin bağlanma anfinitesinden yüksek olmuştur. Araştırmalar sonucunda molekülün DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiği ve çeşitli kanser hücre türevleri üzerinde etkili olduğu görülmüştür [70].



Şekil 1.44 dq-DPPZ türevinin molekül yapısı

1.7 NİKEL VE KOBALT KİMYASININ DNA'YA UYGULANMASI

DNA ile kovalent olmayan yolla bağ yapan metal komplekslerin birçoğu d^6 ve d^8 geçiş metal kompleksleridir. Bu geçiş metalleri kare düzlem ve düzgün sekizyüzlü yapıda sahip olabilirler. Bu yapıların hepsinde merkezde metal ve etrafında DNA ile etkileşime girecek olan ligandlar bulunmaktadır.

Geçiş metallerin DNA ile etkileşmesi incelenmesinde ilk yapılan çalışmalardan biri de Sigman ve arkadaşları yapılan çalışma örnek gösterilmektedir. Onlar, sentezlediği $[Cu(phen)_2]^+$ metal kompleksinin çeşitli analizler sonucunda DNA'ya büyük oyuk üzerinden bağlandığını söylemişlerdir [71].

DNA ile etkileşmede geçiş metalleri kadar onların sahip olduğu ligandlar da önemlidir. Çünkü ligandın sahip olduğu geometri bize önceden ligandın DNA ile hangi tür etkileşime gireceği hakkında bilgi verir. Eğer ligand düzlemselse o zaman DNA baz çiftleri arasına daha kolay girer ve ligand üzerinde bulunan elektronegatif atomlar sayesinde DNA'ya kovalent veya kovalent olmayan yollarla bağlanabilir.

Geçiş metali kompleksleri, nükleik asit yapısı için bir prob görevi yapmak ve nükleaz özellik göstermek için yaygın şekilde kullanılmıştır. Dolayısıyla, DNA kendisi ve DNA'ya bağlı ilaçlar için sentetik, sekans-seçici bölünme ajanları ve yapı sondalarının geliştirilmesi, moleküler biyoloji, tıp ve ilgili alanlarda daha beklenen uygulamalar için gereklidir [72].

Potansiyel antikanser ilaçların koordinasyon merkezleri olarak kabul edilen metal iyonları arasında platin ve rutenyum iyonları bugüne kadar en çok araştırılanlardır [73]. Bununla birlikte, geçiş metal komplekslerinin potansiyel sitotoksik etkinliğe sahip etkili DNA bağlayıcıları olarak sentezlenmesine artan bir ilgi vardır. Bu geçiş metallerinden olan nikel ve kobalt metal komplekslerinin DNA ile etkileşmesi yoğun olarak çalışılan bir konu olmuştur. Her iki metal iyonu, canlı organizmaların biyolojik hücre içi ortamında temel elementler

olarak bulunur. Bu metal iyonları, günümüzde antibakteriyel ve antifungal, antikanser uygulamaları gibi çeşitli hastalıklara karşı ilaç olarak kullanılan çeşitli inorganik farmasötiklerde mevcuttur [74].

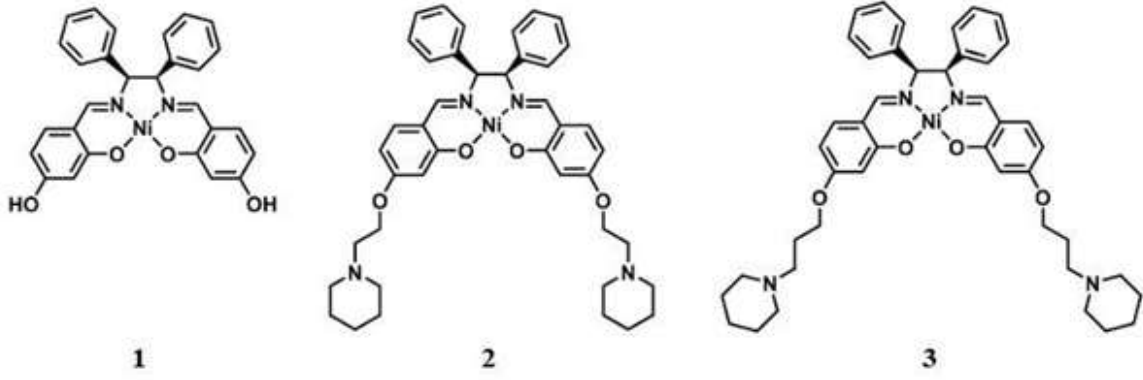
Bu geçiş metali komplekslerinin biyolojik sistemler ile etkileşimi iyi bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda nikel komplekslerinin, DNA replikasyonu veya DNA tamirinde rol alan enzimler veya proteinlere müdahale ederek DNA tamir mekanizmasını inhibe ettiği bulunmuştur. Ancak şu ana kadar, metallerin DNA'ya bağlanması üzerine ve normal proteinleri konformasyonel değişiklikler yapmaya zorlayıp, böylece işlevsiz hale getirebildiklerini söylemek için sınırlı kanıt bulunmaktadır. Bu nedenle, bu gibi etkileşimi anlamak için model bileşikler geliştirilmeye başlanılmıştır [75].

DNA ile nikelin zengin ve çeşitli bir kimyası mevcut literatür tarafından desteklenmiştir. Çalışmalar sayesinde nikel komplekslerinin DNA replikasyonunda veya DNA onarımında rol oynayan enzim veya proteinlere müdahale ederek DNA onarımını inhibe edebildiğini ortaya koyulmuştur. Kobalt, vitamin B₁₂'nin önemli bir bileşenidir ve kompleksleri, antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antioksidan ve antitümör-antiproliferatif etkinlik gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahiptir [76].

Tan ve grubu daha çok G-C seçiciliği sağlayan yeni bir nikel kompleksi sentezlediler [77]. Komplekslerin DNA'ya G-C üzerinden bağlanmasının büyük bir önemi vardır. Çünkü mithramisin ve hedamisin gibi antikanser etkisi gösteren biyotikler G-C ile zengin DNA'ya bağlanırlar. Maddeler G-C zengin DNA ile etkileştiği zaman kromoforlar guaninlerin -NH₂ grubu ile spesifik hidrojen bağları oluştururlar ve böylece transkripsiyon veya gen ekspresyonunu olayları bloke olur [78].

Floresan ölçümlerinden ve moleküler modellemeden elde edilen sonuçlar, Ni(Que)₂(H₂O)₂ kompleksinin, mithramisin ve hedamisin gibi G-C'nin zengin DNA dizilerine tercihli olarak bağlanabileceğini göstermiştir. Yapılan diğer deneyseller sonucunda da kompleksin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiği ve transkripsiyon faktörlerini bloke ettiği ve aynı zamanda gen ekspresyonunu engellemiştir.

Kolay sentezlenebilen ve Schiff bazı içeren komplekslerin DNA üzerinde etkili olduğunu gören Davis ve arkadaşlarının sentezlediği yeni Schiff bazı içeren Ni(II) kompleksleri sentezledi (Şekil 1.45) ve sentezlenen komplekslerin DNA ile etkileşimini ESI-MS, CD spektroskopik ve v.b yöntemlerle inceledi.



Şekil 1.45 Schiff bazı içeren Ni (II) metal komplekslerinin molekül yapısı

Şekilden de görüldüğü gibi 1. komplekse mezo-1,2-difeniletildiamin grubu eklenerek 2. ve 3. metal kompleksleri elde edilmiştir ve böylece kompleksin DNA'ya bağlanma seçiciliği artmıştır. Yapılan kütle spektrometrisi analizleri sonucunda mezo-1,2-difeniletildiamin grubunu içeren metal komplekslerinin mükemmel bir DNA-bağlanma seçiciliği sergilediğini gösterdiği görülmüştür. Bu sonuç, CD spektrumunda önemli değişikliklerin gözlemlenmesiyle desteklenmiştir.

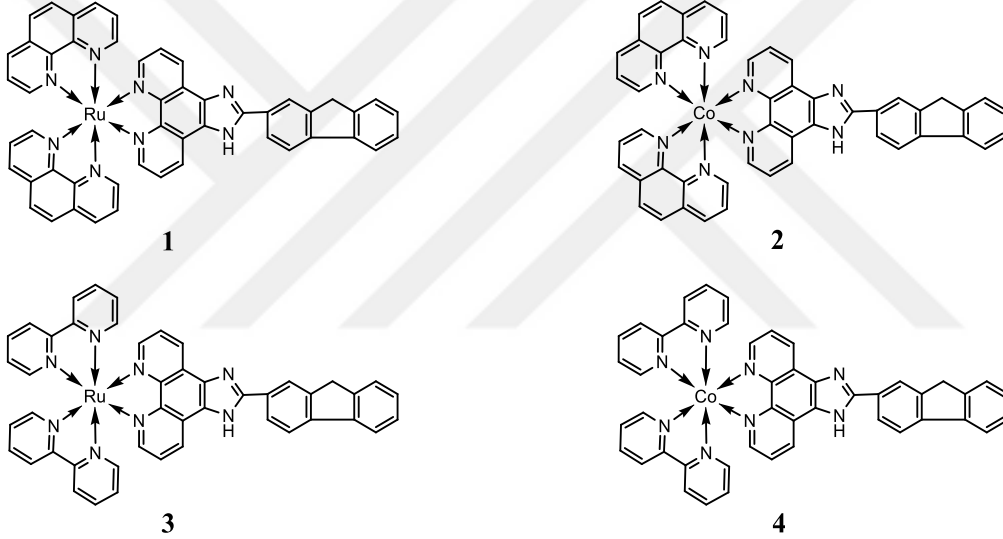
Metal komplekslerin kationik karakteri, suda çözünürlüğü, sulu ortamdaki stabilitesi onların nükleik asitlerle etkileşmesini nasıl etkilediği hakkında bilgi verir. Metal iyonlarını değiştirerek kompleksin geometrisini değiştirebilir ve bu değişim sayesinde de kompleksin fotofiziksel gibi özelliklerini, aynı zamanda DNA ile etkileşimini değiştirebiliriz. Kompleksin ligandını değiştirerek ise kompleksin nükleik asitlerle etkileşimini değiştirebiliriz. Bu fikirden yola çıkarak ve daha önce yapılan çalışmalara dayanarak, Vaidyanathan ve grubu oktahedral yapıya sahip yeni $[\text{Co}(\text{bzimpy})_2]^{2+}$ kompleksi sentezlediler [79].

Yüksek bir verimle sentezlenen Co(II) kompleksinin DNA ile etkileşimi farklı yöntemlerle incelendi. UV spektroskopisine her DNA ekleyişinde absorbansında düşüş görüldü. Aynı zamanda dalga boyunda görülen 2 nm'lik bir hipsokromizm kompleksin DNA ile küçük oyuk üzerinden bağlandığına işaret etmektedir. UV spektroskopisinden elde edilen verilerle kompleksin DNA'ya bağlanma sabitini $1,6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplandı. $[\text{Co}(\text{bzimpy})]^{2+}$ kompleksin viskozitesinde görülen azalma, onun DNA'ya oyuk üzerinden bağlandığını göstermektedir. Fakat aynı durumda olan Cu(II) kompleksin viskozitesinde artış görülmüştür. Vaidyanathan ve grubu bunun sebebini bakırın kare-düzlem bir yapıya sahip olmasıyla açıklamıştır [80]. Kare düzlem yapıya sahip olan kompleksler kendi yapısını korur ve

DNA'nın baz çiftleri arasında kolayca girer. Oktahedral yapıya sahip komplekslerde ise ligand düzlemselliğini kaybeder ve böylece DNA ile farklı yollarla etkileşebilir.

DNA-ilaç etkileşimlerinde ligandın düzlemselliği önemlidir. Çünkü ligand ne kadar düzlemsel olursa DNA'nın baz çiftleri arasında kolay bir şekilde girer ve DNA ile güçlü bir şekilde etkileşir. Fakat DNA ile etkileşimde ligand kadar yardımcı ligandların ve metallerin de önemi vardır. Bu yüzden de Shilpa ve grubunun yaptığı çalışmada oktahedral yapıda olan Ru(II) ve Co(III) metallerini ve yardımcı ligand olarak fenantrolin ve bipyridin kullanarak 4 yeni metal kompleksi sentezledi (Şekil 1.46) [81].

Her dört kompleksin floresans spektrokopisinde ve viskozitede görülen artış, kompleksinlerin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiğine işaret etmektedir.



Şekil 1.46 $[M(L)_2fyip]^{2+}$ ($M=Ru, Co$; $L=phen, bpy$) komplekslerinin molekül yapısı

Yapılan hesaplamalar sonucunda önceden de tahmin edildiği gibi $[Ru(phen)_2fyip]^{2+}$ kompleksi DNA'ya daha büyük bir afinite ile bağlanmaktadır. Bağlanma sabitinin Co(III) kompleksinin bağlanma sabitinden yüksek olmasının sebebi Ru(II) metalinin boyutunun kobalt metalinin boyutundan daha büyük olması ve Ru(II) metalinin neden olduğu elektronik etki arasındaki fark ve fazladan 4d orbitaline sahip olmasıdır. Fazladan d orbitaline sahip olması sonucunda rutenyum metali içeren kompleksler interkalasyon yapan ligandın daha fazla elektron eksikliğine sahip olmasını sağlar ve böylece DNA'ya kobalttan daha iyi bağlanır. Daha sonra ardışık olarak bağlanma sabitleri $4 < 3 < 2 < 1$ şeklinde artmaktadır. Fenantrolin içeren kobalt kompleksinin $[Ru(bpy)_2fyip]^{2+}$ kompleksinden yüksek bir bağlanma

afinitesi göstermesinin sebebi, yardımcı ligand olan fenantrolin gösteriliyor. Çünkü fenantrolin bipiridine göre daha hidrofobik ve düzlemseldir. Dolayısıyla da bağlanma afinitesi de bipiridinden yüksektir.

Her 4 kompleksin antibakterial özellikleri incelendiğinde ve 1 ve 2 komplekslerinin gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde etkili olduğu ve onları inhibe ettiği gözlemlendi. 3. ve 4. kompleksler ise sadece gram pozitif bakteriler üzerinde antibakteriyel aktivite göstermiştir. Her dört kompleksin antibakteriyel etkisi de $4 < 3 < 2 < 1$ şeklinde artmaktadır ve her dört kompleks bir terapötik ajan olarak kullanılabilir.

Ara-birleştirici ligandlardaki değişken ikame grubu veya ikame pozisyonu, Ru(II) ve Co(III) gibi polipiridil komplekslerinin uzay konfigürasyonu ve elektron yoğunluğu dağılımında bazı ilginç farklılıklar yaratabilir. Ru(II) ve Co(III) metallerinin polipiridil komplekslerinin yardımcı ligandları ve komplekslerin spektral özellikleri DNA bağlama davranışı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir [82].

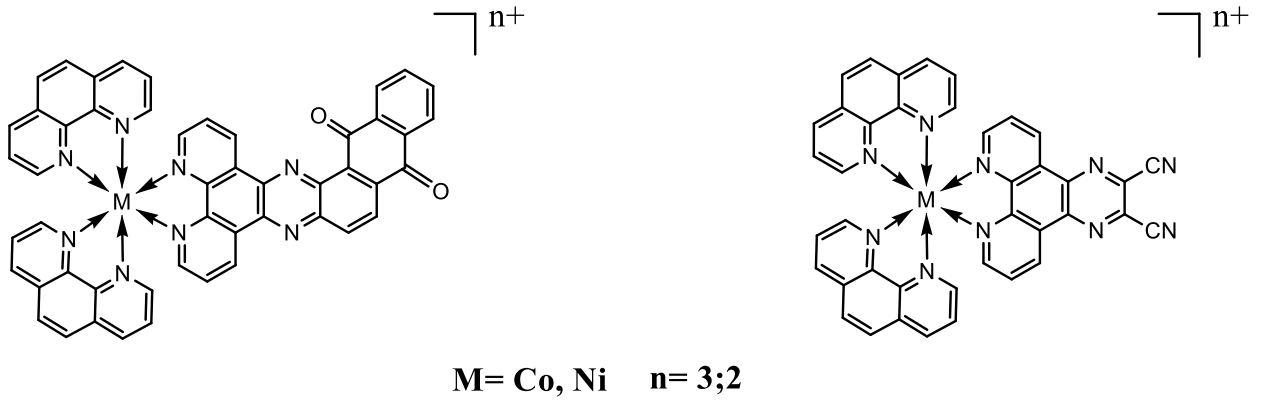
Shilpa'nın araştırmalarından sonra Reddy ve arkadaşları da bipiridin ve fenantrolin yardımcı ligandı içeren rutenyum ve kobaltın dmbip ligandı ile etkileştirmiş ve sentezlenen yeni kompleksler karakterize edilerek DNA ile etkileşimi incelenmiştir [83].

Çalışmalardan elde edilen veriler Shilpa ve grubunun elde ettiği sonuçlarla aynı olmuştur. Yani, kompleksler arasında en yüksek bağlanma sabitine $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dmbip}]^{2+}$ sahip olmuştur.

Deneyler Ru(II) ve Co(III) kompleksleri DNA ışık açma ve kapama etkisi sergiledi. Ayrıca, kompleksler ve DNA arasındaki bağlanma modu, moleküler modelleme ve yerleştirme ile incelendi. Komplekslerin kanser hücreleri üzerindeki etkileri araştırıldı ve sonuç olarak her dört kompleksin kanser hücreleri üzerinde belirli bir etkiye sahip olduğu görüldü.

Son zamanlarda, farklı nikel ve kobalt kompleksinin ilginç DNA bağlama özellikleri sergilediğini ve etkin fotonükleazlar olduğunu bulunmuştur [84].

Sastri ve grubu çalışmalarında nikel(II) veya kobalt(III) iyonları içeren dört yeni karışık-ligand kompleksinin DNA etkileşimlerini ortaya çıkarmaya çalışmıştır. Şimdiye kadar yapılan absorpsiyon ve viskozimetrik titrasyona ve DNA termal denatürasyon çalışmalarının verilerine dayanarak, bu kompleksler için qdppz/dicnq (Şekil 1.47) içeren DNA interkalasyon yoluyla etkileştiği önerilmiştir. Genel olarak, qdppz komplekslerinin, karşılık gelen dicnq komplekslerine kıyasla daha iyi DNA bağlama ve fotoayırılma ajanları olduğu bulunmuştur.

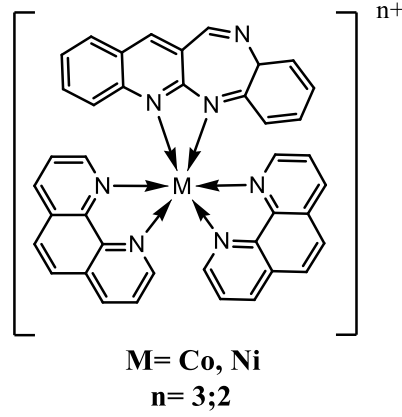


Şekil 1.47 [M(phen)₂(qdppz/dicnq)]ⁿ⁺ molekülünün yapısı

Aynı zamanda qdppz/dicnq'nun kobalt ve nikel komplekslerinin DNA bağlanma sabitleri, rutenyumun aynı ligandlarla olan komplekslerinin DNA ile bağlanma sabitlerine benzer şekilde bulunmuş ve bu çalışmada da kobalt metal komplekslerinin nikel komplekslerine göre daha iyi etkileştiği görülmüştür [85].

Prabhakara ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada [Ni(phen)₂(qbdp)]²⁺ ve [Co(phen)₂(qbdp)]³⁺ (Şekil 1.48) sentezlemiş ve DNA ile yapılan çalışmalar sonucunda her iki kompleksin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda her iki kompleksin bağlanma sabitlerini (K_b) ardışık olarak $4,8 \times 10^4$ ve $6,4 \times 10^4$ M⁻¹ ve kobalt kompleksinin DNA'ya nikel kompleksinden daha güçlü bağlandığı kanıtlanmıştır. Ayrıca çalışmalar sonucunda her iki kompleksin DNA'ya karşı güçlü oksidatif parçalama (nükleaz) aktivitesi sergilediği ortaya çıkmıştır. DNA'yı parçalama aktivitesinde de Co(III) metal kompleksinin Ni(II) kompleksine kıyasla daha güçlü olduğu kanıtlanmıştır [86].

Zhi-Hong Xu ve grubunun sentezlediği kobalt ve nikel komplekslerinin, yapılan diğer çalışmalar gibi DNA ile interkalasyon yapacağı düşünülse de aksine, DNA ile etkileşimleri incelendikten sonra komplekslerin DNA'ya interkalasyon yoluyla değil de oluk üzerinden bağlandığı tespit edildi [26]. Sentezlenen her iki kompleks DNA ile etkileştiği zaman UV spektrumunun 190-280 nm aralığında hiperkromizm görüldü. Her iki kompleksin floresansına baktığımız zaman komplekslerin 412 nm'de floresans gösterdiği ve bu floresansın artan DNA konsantrasyonu ile arttığı görüldü. Fakat floresans yoğunluğundaki bu artışın interkalasyon yapan bileşiklere göre az olduğunu ele alarak ve dairesel dikromizim spektroskopisine ve viskozite gibi diğer analiz yöntemlerine dayanarak her iki kompleksin DNA ile büyük oluk üzerinden bağlandığı sonucuna varıldı. UV spektroskopisi ve viskozite ölçümlerinin

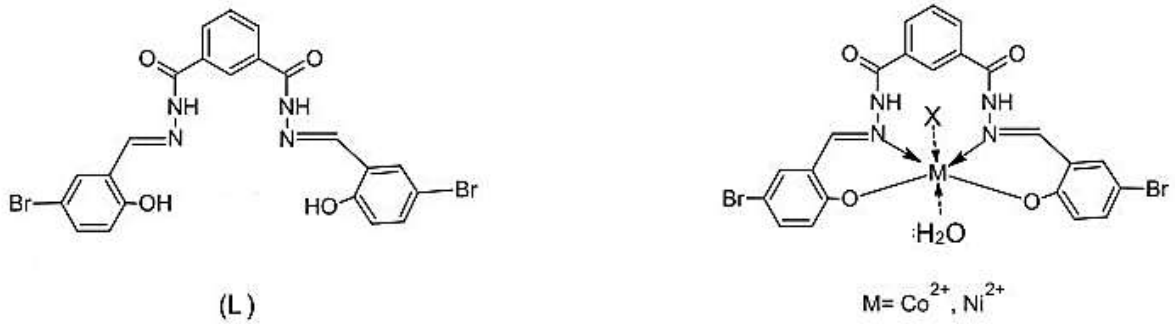


Şekil 1.48 $[M(\text{phen})_2(\text{qbdp})]^{n+}$ molekülünün yapısı

hesaplarını ele alarak nikel kompleksinin kobalt kompleksine göre DNA'ya daha iyi bağlandığı rapor edildi.

Schiff baz metal komplekslerinin DNA ile etkileşimi son yıllarda yaygın olarak çalışılmaya başlanmıştır. Çünkü bölgeye özgü bağlanma özellikleri ve kanser tedavisindeki pek çok kat uygulamadan dolayı, bu koordinasyon bileşikler DNA ikincil yapı sondaları, foto yarıkları ve antitümör ilaçları olarak uygun adaylardır. Buna ek olarak, Schiff bazlarının çeşitli metal kompleksleri bazen amino asitten türetilmiştir ve bunların bir kısmı etkili tümör kemoterapötik ve tümör radyo görüntüleme ajanları olarak doğrulanmıştır. Çünkü bu kompleksler uygun ışığın ışınlanması altında uyarılarak moleküler oksijen varlığında reaktif oksijen türleri üretir ve kanser hücrelerini inhibe eder [87].

Schiff baz metal komplekslerinin çeşitlendirilmiş rolleri ışığında Pradeepa ve onun grubu tarafından bir Schiff baz ligandını ve onun Co(II) ve Ni(II) (Şekil 1.49) sentezlenmiş ve komplekslerin yapıları fiziko-kimyasal yöntemler ile aydınlatılmış, DNA bağlanma, ışığa duyarlılık ve antitümör aktiviteleri de tarif edilmiştir [88].

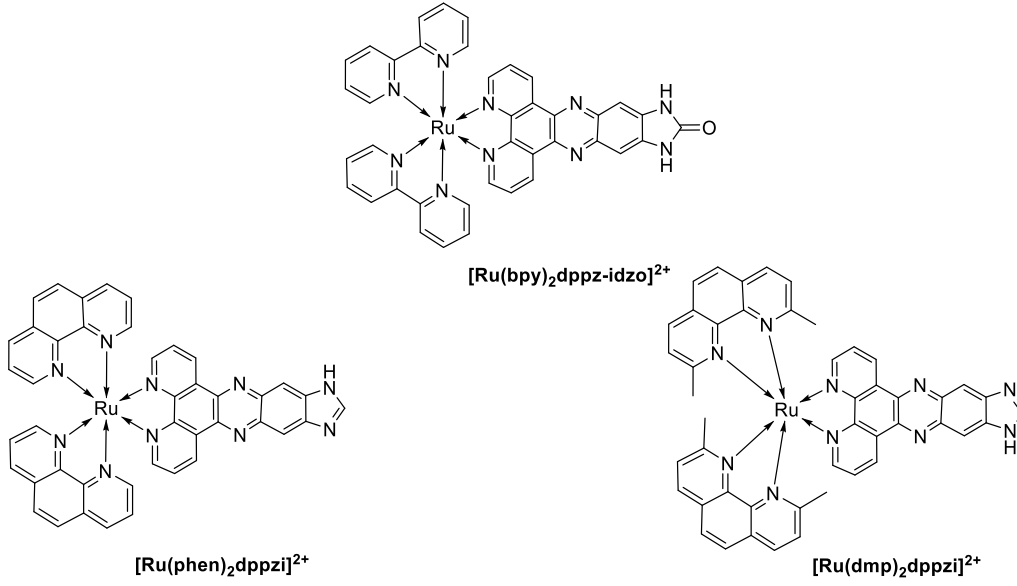


Şekil 1.49 Schiff baz ligandın ve Co (II) ve Ni (II) kompleksinin molekül yapısı

Sentezlenen her iki kompleksin DNA ile yapılan çalışmalarının özeti, UV spektroskopisinde yaklaşık olarak %20'lik görülen hipokromiz, viskozitedeki artış ve her iki kompleksin düşük konsantrasyonlarda bile DNA'yı bozması, schiff bazlı komplekslerin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşmesine işaret verir. UV spektroskopisinden elde edilen sonuçlara göre Co(II) kompleksinin DNA'ya bağlanma afinitesi Ni(II) kompleksinden yüksektir. Aynı zamanda her iki kompleksin mekanizma çalışmaları, singlet oksijenin (1O_2) DNA fotoğrafisinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, bu kompleksler, fotokimyasal terapide (PDT) potansiyel PDT ajanları olarak faydalı olabilir sonucuna varılmıştır.

Yao ve arkadaşları DPPZ liganının yeni bir türevi olan dppz-idzo liganın içeren rutenyum kompleksinin (Şekil 1.50) farklı bir üç-boyutlu yapıya sahip özel bir DNA olan G-dörtlü DNA ile yapılan çalışmalarda liganın seçici olarak quadruple (G-dörtlü) DNA'ya bağlandığı görmüştür [89, 90]. G-dörtlü DNA çift sarmal DNA'dan farklı olarak birbirine sekiz hidrojen bağıyla bağlanan dört guaninden oluşur ve bu DNA'ya seçici olarak bağlanan metal kompleksleri DNA'nın kendini eşleşmesi sırasında kullanılan topoizomeraz I ve topoizomeraz II enzimlerin inhibisyonunu engeller [91].

Yao ve grubu tarafından sentezlenen yeni $[Ru(bpy)_2dppz-idzo]^{2+}$ kompleksinin yapılan floresans çalışmaları sonucunda kompleksin bir K^+ varlığında G-dörtlü DNA'ya bağlandığında, emisyonunda görülen yüksek artış kompleksin UV ışınıyla ışınlama altında çıplak gözle bile gözlemlenebilen olağanüstü bir "ışık anahtarı" etkisi sergilediğini gösterdi. $[Ru(bpy)_2dppz-idzo]^{2+}$ 'nin sadece monokasyonların yokluğunda antiparalel G-dörtlü DNA yapısının oluşumunu indüklediğini ve aynı zamanda onu kararlı hale getirme kabiliyetine sahip olduğunu göstermiştir. Hem "ışık anahtarı" etkisi hem de Ru(II) kompleksinin, G-dörtlü DNA'ya $4,8 \times 10^6 M^{-1}$ gibi bir bağlanma afinitesiyle, G-dörtlü DNA molekülü için iyi bilinen bir "ışık anahtarı" olan $[Ru(bpy)_2dppz]^{2+}$ 'den yaklaşık olarak iki kat daha iyi bağlandığı bulunmuştur. Yapılan moleküler simülasyon çalışmaları sonunda kompleksin G-dörtlü DNA ile etkileşimi için "sandviç benzeri" bir bağlanma modeli önerilmiştir.



Şekil 1.50 dppz türevlerinin Ru(II) komplekslerinin molekül yapıları

Daha sonra $[Ru(bpy)_2dppz-idzo]^{2+}$ G-dörtlü DNA üzerinde etkisini gören Shuo Shi ve grubu dppz-idzo ligandına benzeyen ligandın iki kompleksini $[Ru(phen)_2dppzi]^{2+}$ ve $[Ru(dmp)_2dppzi]^{2+}$ sentezledi (Şekil 1.51) ve G-dörtlü'sü DNA üzerinde etkisini araştırdı. Araştırmalar sonucunda her iki kompleksin DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığı görüldü. Yapılan hesaplamalar sonucunda $[Ru(dmp)_2dppzi]^{2+}$ kompleksin yardımcı lıgandında 2 ve 9 pozisyonu üzerinde bulunan CH_3 sübstitüentleri elektrostatik etkisinden dolayı diğerine komplekse göre DNA'ya daha iyi bağlandığı tespit edildi [92].

Yapılan araştırmalar DPPZ ve onun türevi olan ligandların farklı komplekslerinin DNA'ya bağlanma sabitinin diğer ligandların komplekslerine göre daha yüksek olduğunu, ayrıca nikel ve kobalt metallerinin farklı komplekslerinin bazı bakterileri ve kanser hücrelerini inhibe ettiğini, ayrıca tamamlayıcı ligandlar arasında fenantrolinin en yüksek etkileşimi yaptığı tespit edildiğinden, bu çalışmada amaç G-dörtlü DNA'ya yüksek bağlanma özellikleri olan dppz türevi dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin-10,11-imidazolon-2 (dppz-idzo)'nun oktahedral $[Ni(phen)_2dppz-idzo]^{2+}$ ve $[Co(phen)_2dppz-idzo]^{2+}$ komplekslerini sentezlemek, karakterize etmek ve komplekslerin DNA etkileşimlerini incelemektir.



BÖLÜM 2

MATERYAL VE METOD

2.1 MATERYALLER

2.1.1 Çözücü ve kimyasallar

Bütün kimyasallar ve çözücüler analitik derecede ve saflaştırma yapılmadan kullanılmıştır. Reaksiyonlarda ve etkileşimlerde kullanılacak bütün sulu çözeltilerin hazırlanmasında Milli-Q su saflaştırma ünitesi kullanılmıştır. DNA etkileşim çalışmalarında pH = 7,5 olan 10mM KCl-Tris tampon kullanılmıştır

Bu çalışmada kullanılan 1,10-fenantrolin (%99), 5,6-diamino-2-benzimidazol (%99), potasyum bromür, KCl, sülfürik asit (%98), buzlu asetik asit, nitrik asit (%65), amonyak (%25) ve eter Aldrich firmasından, NiCl₂ x 6 H₂O, CoCl₂ x 6 H₂O, etanol, kloroform, diklorometan, metanol, diklormetan, Merck firmasından temin edilmiştir.

DNA;

Aldrich firmasından alınan sığır timüsünden (Calf thymus) izole edilmiş CT-DNA (lyophilized sodium salt, highly polymerized-D1502) saf su içerisinde (50 mM pH = 7,5 tampon çözeltide) 24 saat bırakılıp çözülerek 3 mM stok çözeltisi her defasında taze olarak hazırlanmıştır. CT-DNA konsantrasyonu Beer-Lambert yasası eşitlik 3 kullanılarak spektrofotometre ile 260 nm'de absorpsiyon okumasıyla $\epsilon = 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. CT-DNA ultrasonik banyoda bırakılmıştır. Stok çözelti 1 günden fazla buzdolabında saklanmamıştır. Bütün titrasyon işlemlerinde bu stok çözelti kullanılmıştır.

$$A = \epsilon.C.l$$

Fermentas firmasından alınan *E. coli* RRI bakterisine sentezletilmiş ve izole edilmiş pUC19 plasmit DNA (50 µg/mL çözeltide FE-SD0061) Thermo EC-330 agaroz jel elektroforeziyle

sürüklenme yavaşlatması deneyinde kullanılmıştır. Metal kompleksleriyle etkileşimler çalışılırken mg/mL Konsantrasyon M baz çifti cinsinden hesaplanmış ve metal komplekslerinin konsantrasyonları ve $[DNA]/[M] = R$ oranları bu konsantrasyonla hesaplanmıştır.

MA(pUC19) = 1750000 Da

10 µl 50 µg/ml pUC19 = 0,5 µg pUC19 /1750000 = $2,86 \times 10^{-13}$ mol pUC19

Baz çifti olarak;

$2686 \times 2 = 5372$ nükleotit $2,86 \times 10^{-13}$ mol pUC19 $\times 5372 = 1,536 \times 10^{-9}$ mol pUC19 (baz çifti)

Elektroforez için 10xTBE tampon çözeltisi 10 kere seyreltilerek kullanılmıştır. Agaroz jel %1'lik agarozun kaynatılarak çözünmesiyle oluşan çözeltinin yavaşça soğutulmasıyla elde edilmiştir. Jel üzerinde yürüme mesafesinin görülebilmesi için tüm karışımlara boya çözeltisi eklenmiştir. Boya çözeltisi bromofenol mavisinin %40'lık sükröz çözeltisinde çözülmesiyle elde edilmiştir. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel etidiumbromür ile 30 d boyanmıştır. Daha sonra su ile yıkandıktan sonra DNr MiniBIS (16mm) Pro Bio-Imaging System görüntüleme cihazı kullanılarak fotoğrafları çekilmiştir.

2.2 KULLANILAN CİHAZLAR

2.2.1 Infrared Spektrofotometresi: Jasco FT/IR-300 E

2.2.2 ¹H-NMR Spektrofotometresi: Bruker Ultra Shield Plus, Ultra long hold time 400MHz NMR

2.2.3 UV/Vis Spektrofotometresi: Carry VinUV 100 Bio, Varian

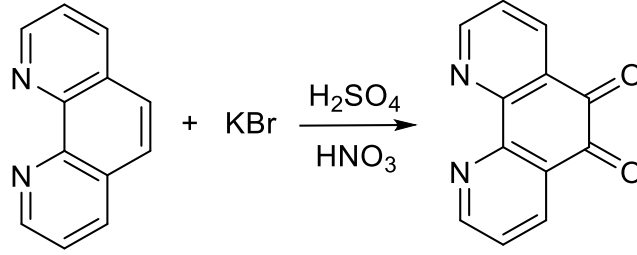
2.2.4 Floresans Spektrometresi: Perkin Elmer LS 55

2.2.5 ESI-MS: Tandem Gold

2.2.6 Jel Elektroforez: Thermo Electron Corporation EC-330 Midicell Primo

2.3 LİGANDLARIN SENTEZİ

2.3.1 1,10-fenantrolin-5,6-dion Sentezi

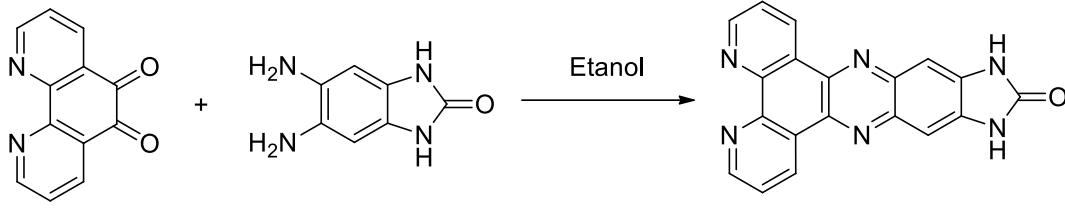


Şekil 2.1 1,10-fenantrolin-5,6-dion Sentezi

1,10-fenantrolin-5,6-dion (Şekil 2.1) daha önce literatürde belirtildiği gibi sentezlendi [42]. 1,10-Fenantrolin monohidrat (3 g, 15.15 mmol) ve potasyum bromür (3 g, 25 mmol) 0 °C'de çift boyunlu balon içine eklendi. Damlatma hunisi ile üzerine sülfürik asit (%98, 20 ml) ve nitrik asit (%65, 20 ml) dakika boyunca eklendi. Ekleme sonrası sıcaklık 1 saat boyunca 90 °C'ye çıkarıldı daha sonra oluşan brom gazının uzaklaşması için geri soğutucu çıkarılarak 3 saat aynı sıcaklıkta bekletildi. 3 saat sonra oluşan çözelti bir gece boyunca bekletildikten sonra doymuş sodyum hidroksit çözeltisi ile pH 5'e ayarlandı. Oluşan sarı çökelek kloroform ile ekstrakte edildi. Düşük basınç altında çözücü uçuruldu ve kalan katı metanolde kristallendirildi. Ürün 1,6 gram, verim %76. C₁₂H₆N₂O₂ molekülü için; Erime noktası: 260 °C (literatür), 261 °C (bulunan). FT-IR: 1703 cm⁻¹ (C=O)

2.3.2 Dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazin-10,11-imidazol-2 (DPPZ-idzo) Sentezi

DPPZ-idzo literatürdeki gibi sentezlendi [89]. İlk önce 30 ml etanolde çözülmüş 0.21 g 1,10-fenantrolin-5,6-dion üzerine 0.164 g 5,6-Diaminobenzimidazolone-2 eklendi. 1 saat boyunca geri soğutucu altında karıştırıldı. Oluşan sarı çökelek oda sıcaklığında soğutuldu, süzgeçten geçirildi, etanolle yıkandı ve etüvde kurutuldu. Ürün: 0.3 g (Verim: %88,7).



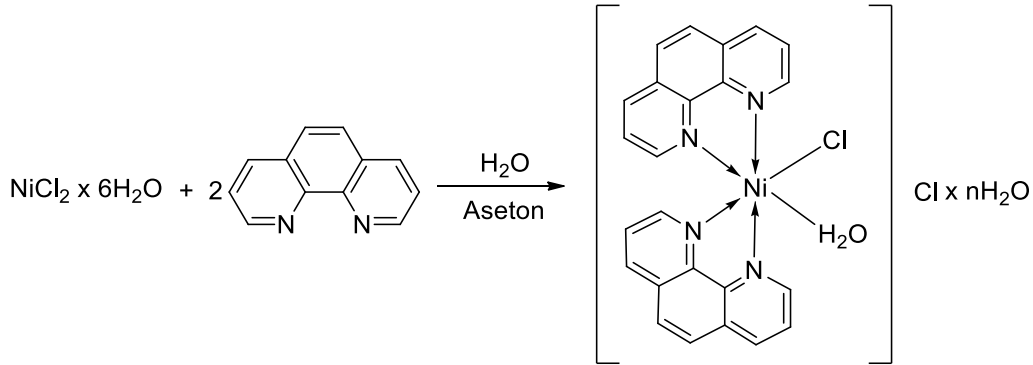
Şekil 2.2 DPPZ-idzo ligandının sentezi

DPPZ-idzo ligandı için; **FT-IR** ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 1720 (C=O), 3241 (N-H), 1610 (C=N), **¹H NMR:** (400 MHz, DMSO+TFA, λ_{ppm}), 9,82 (dd, 2H, H1,H4), 9,26 (dd, 2H, H3, H6), 8,30 (m, 2H, H7, H8), 7,55 (s, 2H, H2, H5). **MALDI-MS:** m/z (M)= (M+H) hesaplanan 339,3; bulunan (M+H)= 339,3

2.4 KOMPLEKSLERİN SENTEZİ

2.4.1 [Ni(phen)₂(H₂O)Cl]Cl Sentezi

[Ni(phen)₂(H₂O)Cl]Cl literatüre göre sentezlendi [93]. 0.26 g NiCl₂.6H₂O ve 0.40 g fenantrolin 20 ml suda çözüldü ve 2 saat geri soğutucuda altına kaynatıldı. Daha sonra oluşan leylak rengindeki çözelti 5 ml kalana kadar evaporatörde buharlaştırıldı, süzgeçten geçirildi ve üzerine 20 ml aseton eklendi. Bir gece kapalı bir kaptaki bekletildi. Oluşan yeşilimsi-mavi kristaller eterle yıkanıp, hava sıcaklığında kurutuldu. Verim 0.35 g (%55).

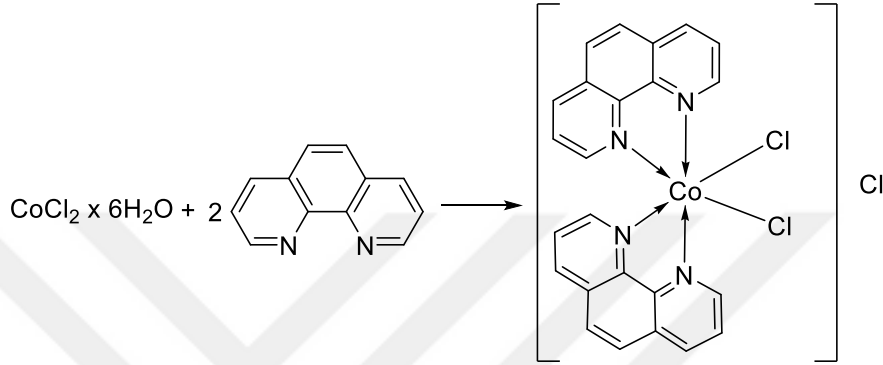


Şekil 2.3 [Ni(phen)₂(H₂O)Cl]Cl Sentezi

[Ni(phen)₂(H₂O)Cl]Cl kompleksi için; **FT-IR** ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 3248 (O-H), 1624 (C=N), **MALDI-MS:** m/z (M)= ((M- Cl)+ H) hesaplanan 473,3; bulunan (M- H₂O- Cl)+H= 455,2, (M- H₂O- 2Cl)+ H= 419,1, (M- H₂O- 2Cl)/2+H=210,95, (M- H₂O- 2Cl)+ EtOH=463,15

2.4.2 [Co(phen)₂Cl₂]Cl Sentezi

[Co(phen)₂Cl₂]Cl literatüre göre sentezlendi [94]. 0.12 mmol (0,24 g) fenantrolin 20 ml etanolde 150 °C sıcaklıkta ısıtıldıktan sonra üzerine 0.05 mmol (0.12 g) CoCl₂ x 6 H₂O eklendi ve 30 dakika boyunca geri soğutucu altında karıştırıldı. Oluşan kırmızı renkli çökelek süzgeç kağıdından geçirildi ve kurutulması için etüve bırakıldı (Şekil 2.4). Verim: 0,180 g (% 34).

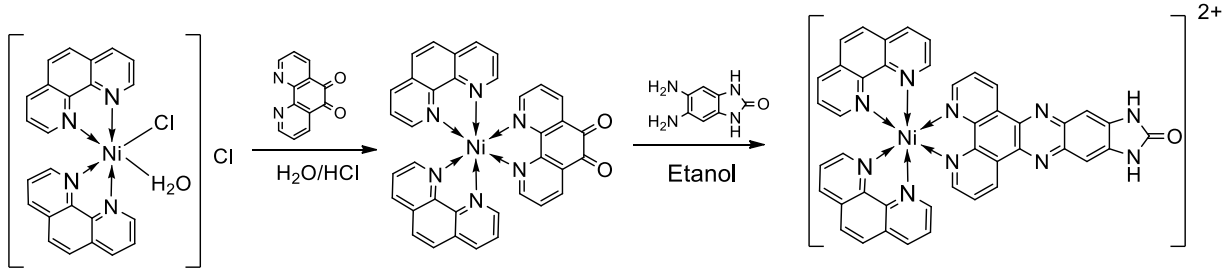


Şekil 2.4 [Co(phen)₂(H₂O)Cl]Cl Sentezi

[Co(phen)₂Cl₂]Cl kompleksi için; **FT-IR** (ν cm⁻¹): 3248 (O-H), 1624 (C=N), **MALDI-MS**: m/z (M)= ((M-Cl)+H) hesaplanan 472,5; bulunan m/z ((M-3Cl)+H)= 419,1

2.4.3 [Ni(phen)₂(DPPZ-idzo)](ClO₄)₂ Sentezi

[Ni(phen)₂(dppz-idzo)]²⁺ literatüre göre sentezlendi [95]. İlk önce 20 ml su ve HCl (0.5 ml) çözeltisinde çözülen 0.254 g [Ni(phen)₂(H₂O)Cl]Cl x n H₂O üzerine 0.105 g 1,10-fenantrolin-5,6-dion eklendi ve 30 dakika boyunca geri soğutucu altında karıştırıldı. Sonradan oluşan sarı renkli çözelti üzerine önceden 20 ml etanolde çözülen 0.082 g 5,6-diamino-2-benzimidazolon eklendi ve yeniden 1 saat geri soğutucu altında karıştırıldı. Daha sonra kompleksin çökmesi için oluşan turuncu renkli çözelti üzerine üzerine NaClO₄ ilave edildi ve oluşan sarı renkli çökelek oda sıcaklığında soğutuldu, süzgeçten geçirildi ve etüvde kurutuldu. Ürün: 0.108 g (Verim % 30)



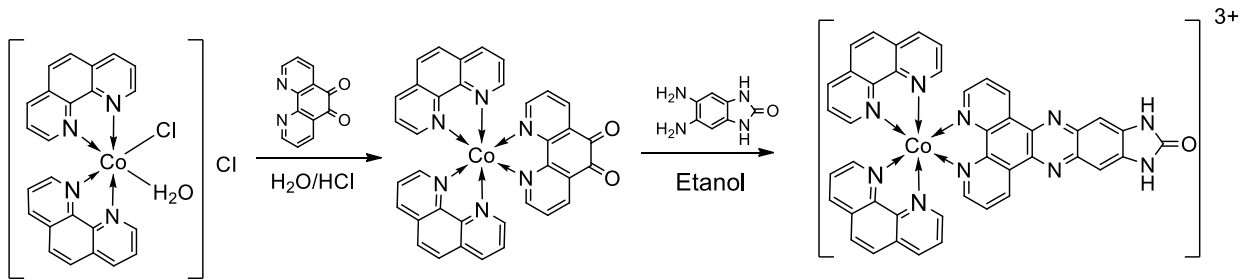
Şekil 2.4 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ kompleksinin sentezi

$[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ kompleksi için; **FT-IR** ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 1718 (C=O), 3070 (N-H), MALDI-MS: m/z (M)= hesaplanan 378, bulunan m/z (M)= 378.1, (M-Ligand+EtOH)= 463

2.4.4 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{DPPZ-idzo})](\text{ClO}_4)_3$ Sentezi

$[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksi de $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ kompleksi gibi sentezlendi.

İlk önce 20 ml su ve HCl (0.5 ml) çözeltisinde çözülen 0.100 g $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$ üzerine 0.042 g 1,10-fenantrolin-5,6-dion eklendi, 30 dakika boyunca geri soğutucu altında karıştırıldı. Sonradan oluşan sarı renkli çözelti üzerine önceden 20 ml etanolde çözünen 0.0328 g 5,6-diamino-2-benzimidazolone ve yeniden 1 saat geri soğutucu altında karıştırıldı. Daha sonra kompleksin çökmesi için oluşan turuncu renkli çözelti üzerine üzerine NaClO_4 ilave edildi ve oluşan sarı renkli çökelek oda sıcaklığında soğutuldu, süzgeçten geçirildi. Soğuk su ve etanolle yıkandıktan sonra etüvde kurutuldu. Ürün: 0.06 g (verim %35).



Şekil 2.5 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksinin sentezi

$[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksi için **FT-IR** ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 1716 (C=O), 3070 (N-H), **^1H NMR**: (400 MHz, DMSO, λ_{ppm}), 11,78 (s, 2H), 10,31 (dd, 4H H11, H14, H19, H22), 9,89 (d, 2H, H3, H6), 9,17 (m, 4H, H1, H4, H9, H24), 9,03 (dd, 2H, H16, H17), 8,56 (dd, 2H, H7, H8), 8,34 (d, 2H, H2, H5), 8,09 (d, 4H, H12, H13, H20, H21), 7,85 (t, 2H, H10, H23), 7,71 (t, 2H, H15, H18). **^{13}C NMR**: (400 MHz, DMSO, λ_{ppm}), 129,18 (C2, 4C), 129,25 (C3, 4C),

129,65 (C5, 4C), 130,61 (C8, 2C), 132,39 (C11, 2C), 132,46 (C10, 2C), 136,98 (C13, 2C), 138,49 (C15, 2C), 140,58 (C14, 2C), 142,42 (C9, 2C), 142,54 (C1, 4C), 146,08 (C6, 4C), 148,58 (C7, 2C) 154 (C4, 4C), 154,59 (C12, 2C), 157,64 (C16, 1C). **MALDI-MS:** m/z (M)/3=252,3 hesaplanan, m/z (M/3)+ H= 253,5, (M+2ClO₄)/3=318,6, (M+3Na)/3+H= 274,5, M-ligand= 419,3, Ligand= 338,2 bulunan.

2.5 UV TİTRASYONU

Metal komplekslerinin üzerine artan miktarlarda DNA eklenerek kompleksin absorpsiyon spektrumunda oluşan değişiklikler izlendi. 2,5 ml 100 mM KCl-TRIS (pH=7,5) tamponu kullanılarak içerisinde 10 µM kompleks olan çözeltinin quartz küvette UV-Vis absorpsiyon spektrumu alındı. Daha sonra KCl-TRIS içerisinde hazırlanmış 1,25 mM sığır DNA'sı çözeltisi kullanılarak titre edildi. Her 2 µl'lik DNA eklenmesi sonrasında karışım temiz bir enjektör kullanılarak karıştırıldı, inkübe olması için 5 dakika beklendi ve ölçüm yapıldı.

2.6 FLORESANS SPEKTROSKOPİSİ

2.6.1 Kompleksin Floresans Değişimi

2,5 ml 100 mM KCl-TRIS (pH=7,5) tamponu kullanılarak içerisinde 10 µM kompleks 10 µM kompleks olan çözeltinin quartz küvette 410 nm dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumu kaydedildi. Daha sonra 2 µl'lik porsiyonlar halinde 1,25 mM sığır DNA'sı çözeltisi eklendi. Her ekleden sonra karışım 5 dakika inkübasyon için bekletilerek spektrum kaydedildi. İşleme DNA derişimi 6 µM olana kadar devam edildi.

2.6.2 EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması

20 µM EtBr ve 100 µM sığır DNA'sı içeren çözelti oda sıcaklığında hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin 2,5 ml'lik kısmı quartz küvete alındı. 543 nm dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumu kaydedildi. Daha sonra 20 µl'lik porsiyonlar halinde 1 mM kompleks çözeltisi eklendi ve her ekleden sonra karışım 5 dakika inkübasyon için bekletilerek spektrum kaydedildi.

2.7 AGARUZ JEL ELEKTROFOREZ

Jel elektroforezi göç mesafesindeki farklılıkları ve buna göre süper sarmal yapıdaki plasmid DNA'nın artan oranlarda metal kompleksleri eklenmesiyle açılma oranını görüntülemek için yapılır. 50 µg/ml supersarmal plasmid DNA (pUC19) içeren stok çözelti ve metal kompleks

çözeltileri 10 mM pH'ı 7,50 olan tampon çözeltiyle hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımları [DNA]/[M]= R oranları 0,5:1, 1:1, 2:1, 4:1, 8:1, 16:1, 32:1, 64:1, 128:1, 256:1 (0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 µM kompleks) olacak şekilde hazırlanmıştır.

Jele yüklenecek çözeltiler 10 µL plazmit DNA (pUC19, 50 µg/ml) ve 10 µL kompleks çözeltileri karıştırılarak hazırlandı. Çözeltiler üzerine 5 µl boya (%0,25 bromofenol mavisi %40'lık sukroz çözeltisinde w/v) eklenmeden önce gerekli inkübasyon süresi kadar etüvde 38 °C'de bekletildi. Daha sonra karışımın 10 µl'lik kısmı %1'lik agaroz jel üzerine yüklendi. %1'lik agaroz jel 1,5 g agaroz 150 mL (135 ml H₂O + 15 ml TBE) tampon içinde çözünene kadar kaynatılıp daha sonra oda sıcaklığında bekletilmesiyle elde edildi.

Thermo EC250-90 marka güç kaynağı kullanılarak Thermo Midicell Primo marka sistemiyle 3 saat boyunca 55 V uygulandı. Daha sonra jel etidyum bromür çözeltisi (10 mg/ml etidyum bromürün (EtBr) 15µl'si 500 mL suya eklenerek hazırlanmış) ile 30 dakika boyandı ve su ile 30 dakika yıkandı. Hazırlanan jel DNr MiniBIS (16mm) Pro Bio-Imaging System kullanılarak fotoğraflandırıldı.

2.8 VİZKOZİTE ÇALIŞMALARI

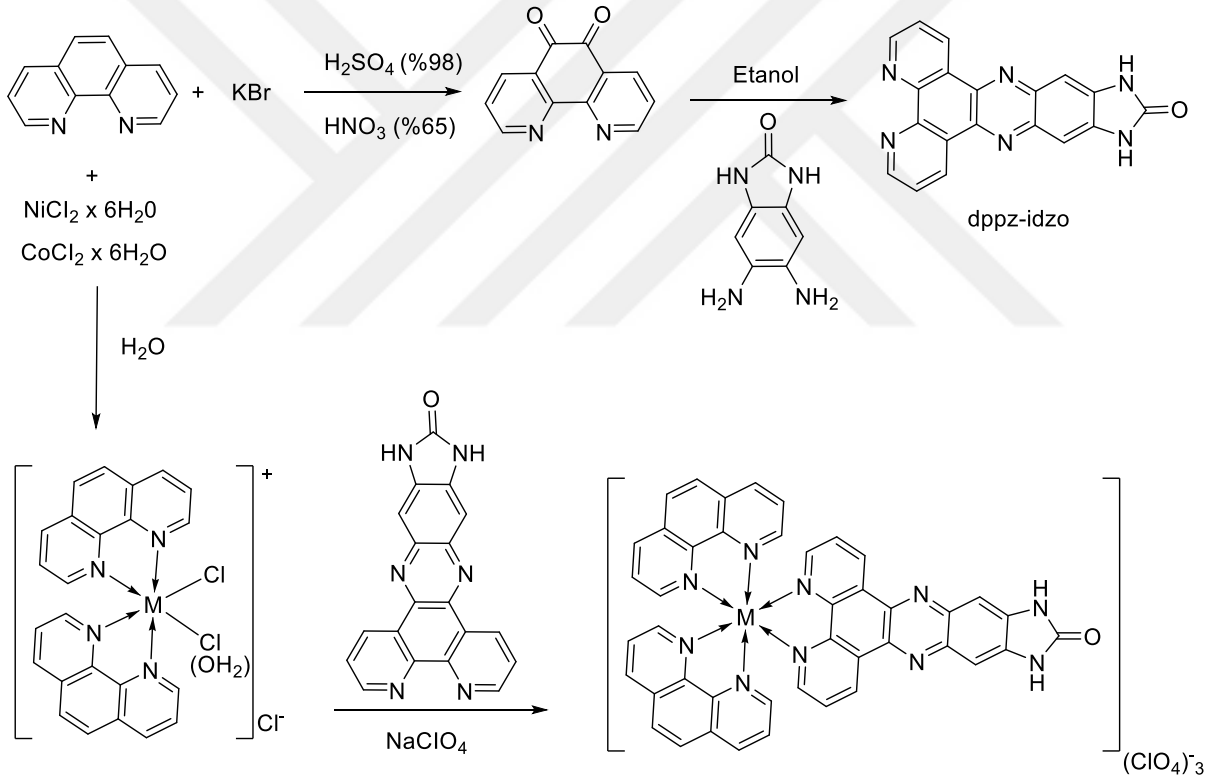
Vizkozimetri çalışmalarında literatürde sıkça kullanılan Ubbelohde viskozimetresi kullanıldı. Tüm ölçümler 30 °C'de digital su banyosu içerisinde gerçekleştirildi. Viskozite ölçümünde kullanılacak DNA çözeltisi sığır timüs DNA'dan 100 mM KCl-TRIS tamponu içerisinde 100 µM derişimde hazırlandı. 12 ml DNA çözeltisi için viskozite ölçümü dijital bir kronometre kullanılarak gerçekleştirildi. Daha sonra 2 mM kompleks çözeltisi 50 µl'lik porsiyonlar halinde eklendi. Her eklemenin ardından karışım çalkalandı ve 5 dakika etkileşimin tamamlanması için bekletildi. Her ekleden sonra dijital kronometre ile karışımın akış süresi 3 defa ölçüldü ve üçünün ortalamasından bağıl viskozite değeri hesaplandı ve DNA derişimine karşı grafiğe geçirildi.

BÖLÜM 3

SONUÇLAR

3.1 SENTEZ

Dppz-idzo bileşiği ve $[\text{Ni(II)(phen)}_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ ve $[\text{Co(III)(phen)}_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksleri aşağıdaki şemaya uygun olarak sentezlenmiştir.



Şekil 3.1 $[\text{M(phen)}_2(\text{dppz-idzo})]^{+n}$ komplekslerinin sentez şeması (M= Ni(II), Co(III))

3.1.1 1,10-Fenantrolin-5,6-dion Sentezi

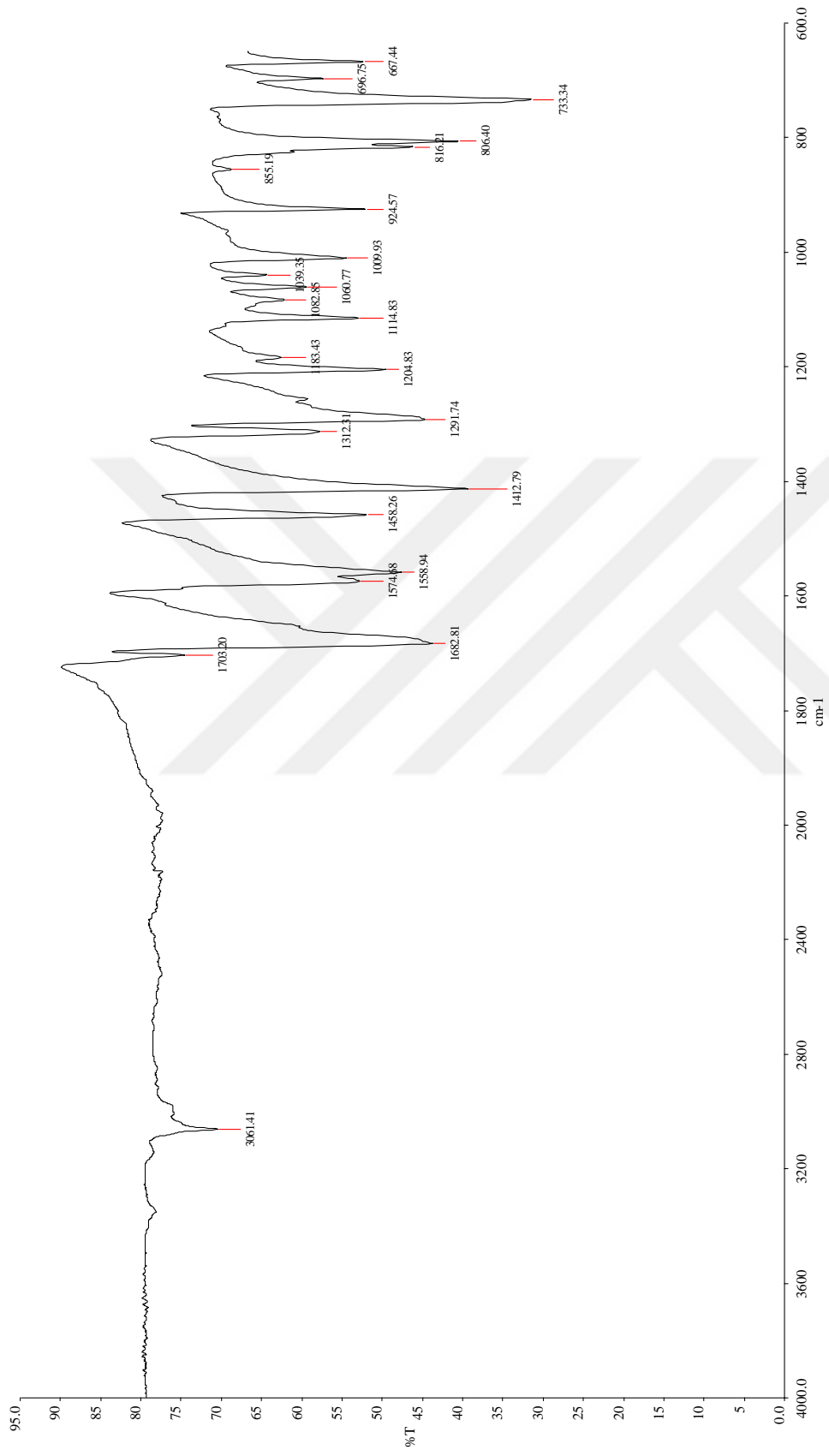
1,10-fenantrolinin potasyum bromür, konsantre sülfürik asit ve nitrik asitle 3 saat boyunca kaynatılıp daha sonra brom gazının uzaklaşması için 12 saat bekletildikten sonra reaksiyon ortamının baz ile nötralize edilmesiyle elde edilen ürün son olarak metanolde yeniden kristallendirilerek %75 verimle elde edildi. Ürünün erime noktasının literatürle uyumlu

olması ve IR spektrumunda 1703 cm^{-1} 'de görünen (Şekil 3.2) çok kuvvetli karbonil piki sentezin başarıyla gerçekleştiğini kanıtlamaktadır.

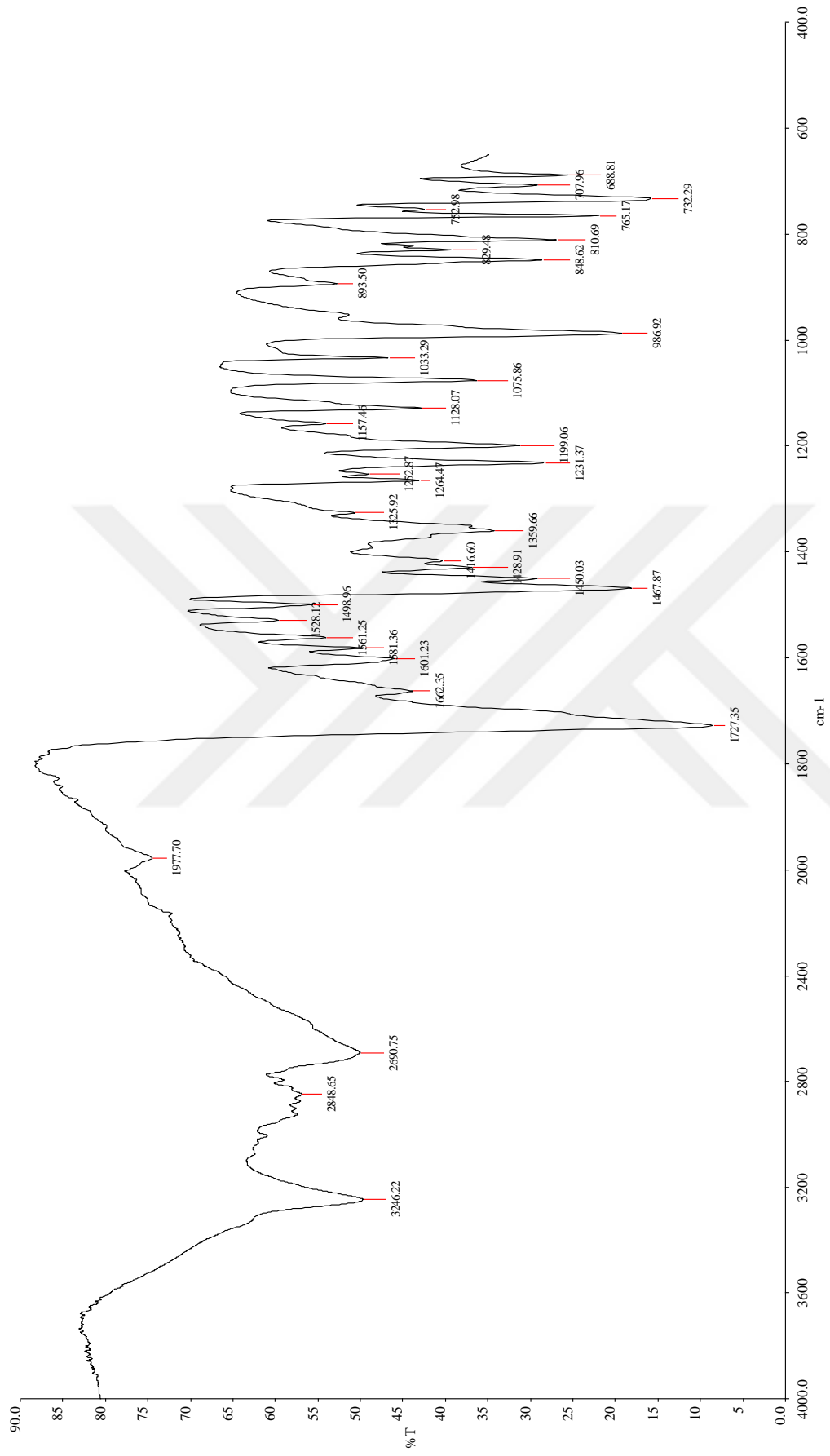
3.1.2 Dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin-10,11-imidazol-2 (dppz-idzo) Sentezi

Dppz-idzo etanol içerisinde fenantrolin-5,6-dion ile 5,6-diamino-2-benzimidazolon 1 saat boyunca geri soğutucu altında karıştırılmasından oluşan ürün açık sarı katı olarak %88,7 verimle elde edildi [89]. Çözünürlüğü çok düşük olduğundan ve kristallendirilememiştir. FT-IR spektrumunda (Şekil 3.3) 3241 cm^{-1} 'de amit bandı, 1720 cm^{-1} 'de çok şiddetli C=O gerilme piki ve ESI-MS spektrumunda (Şekil 3.4) $m/z = 339$ 'da görülen M+H piki hedef molekülün sentezlendiğini kanıtlamaktadır.

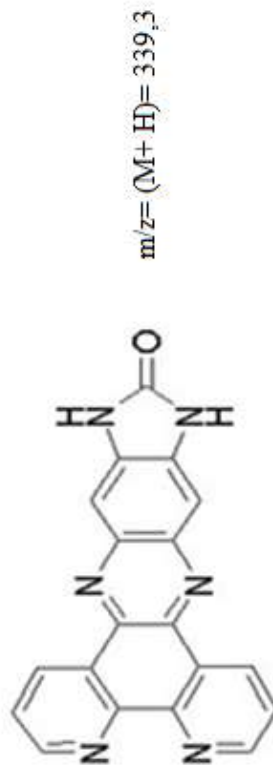
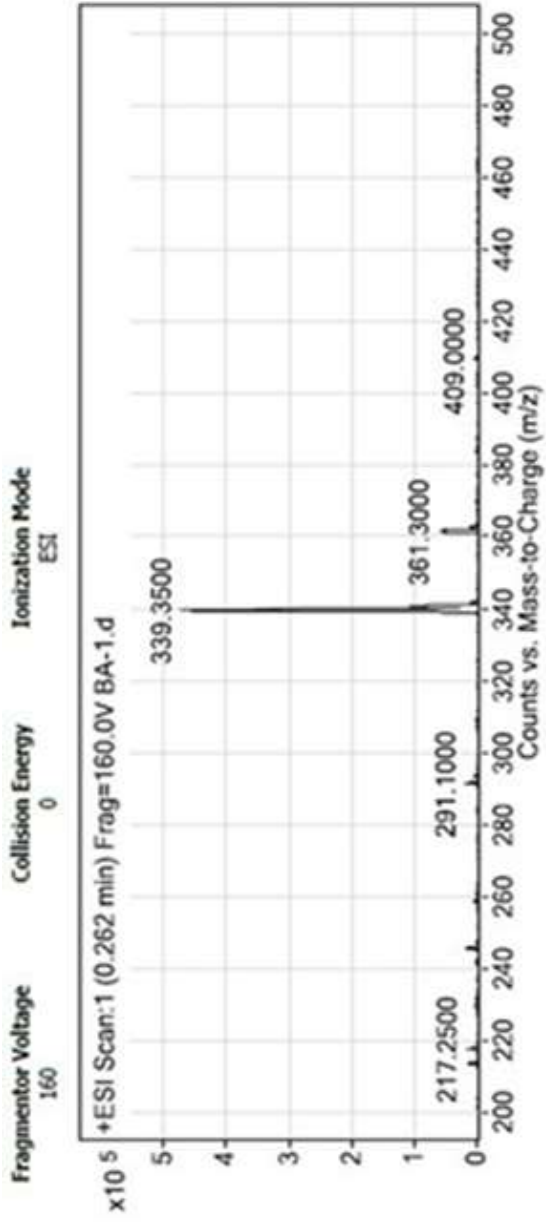




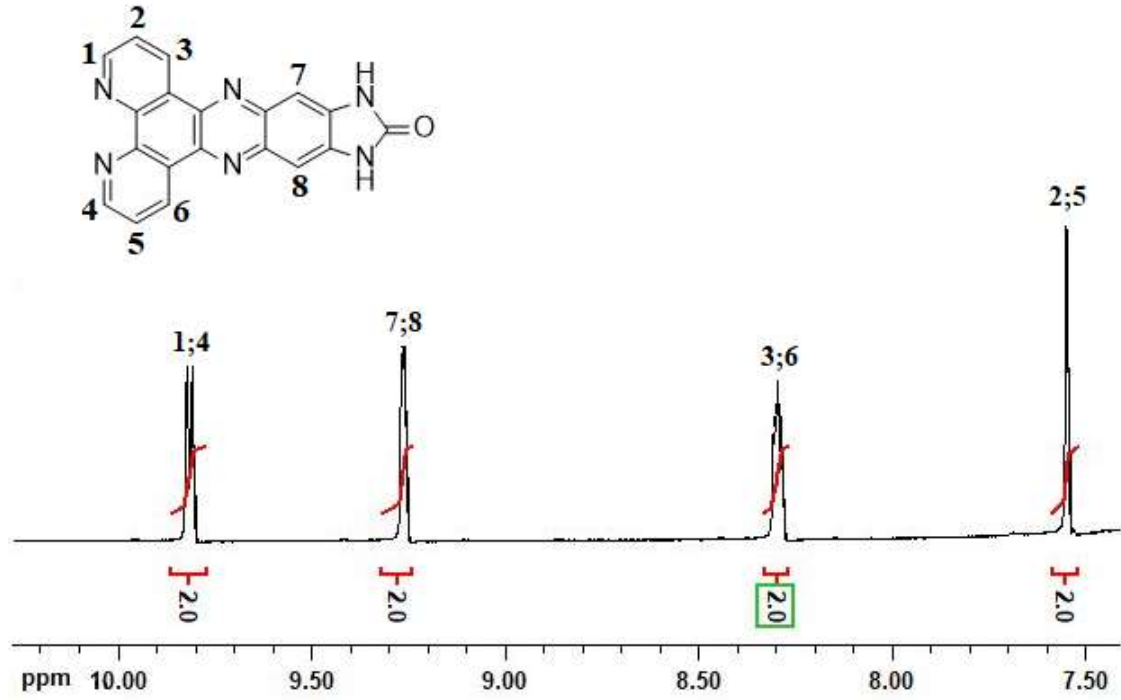
Şekil 3.2 1,10-Fenantrolin-5,6-dion IR spektrumu.



Şekil 3.3 DPPZ-idoz ligandının IR spektrumu



Şekil 3.4 DPPZ-idzo ligandının kütle spektrumu



Şekil 3.5 DPPZ-idzo ligandının NMR spektrumu

$^1\text{H NMR}$: (400 MHz, DMSO+TFA, λ_{ppm}), 9.82 (dd, 2H, H1,H4), 9.26 (dd, 2H, H7, H8), 8.30 (dd, 2H, H3, H6), 7.55 (s, 2H, H2, H5).

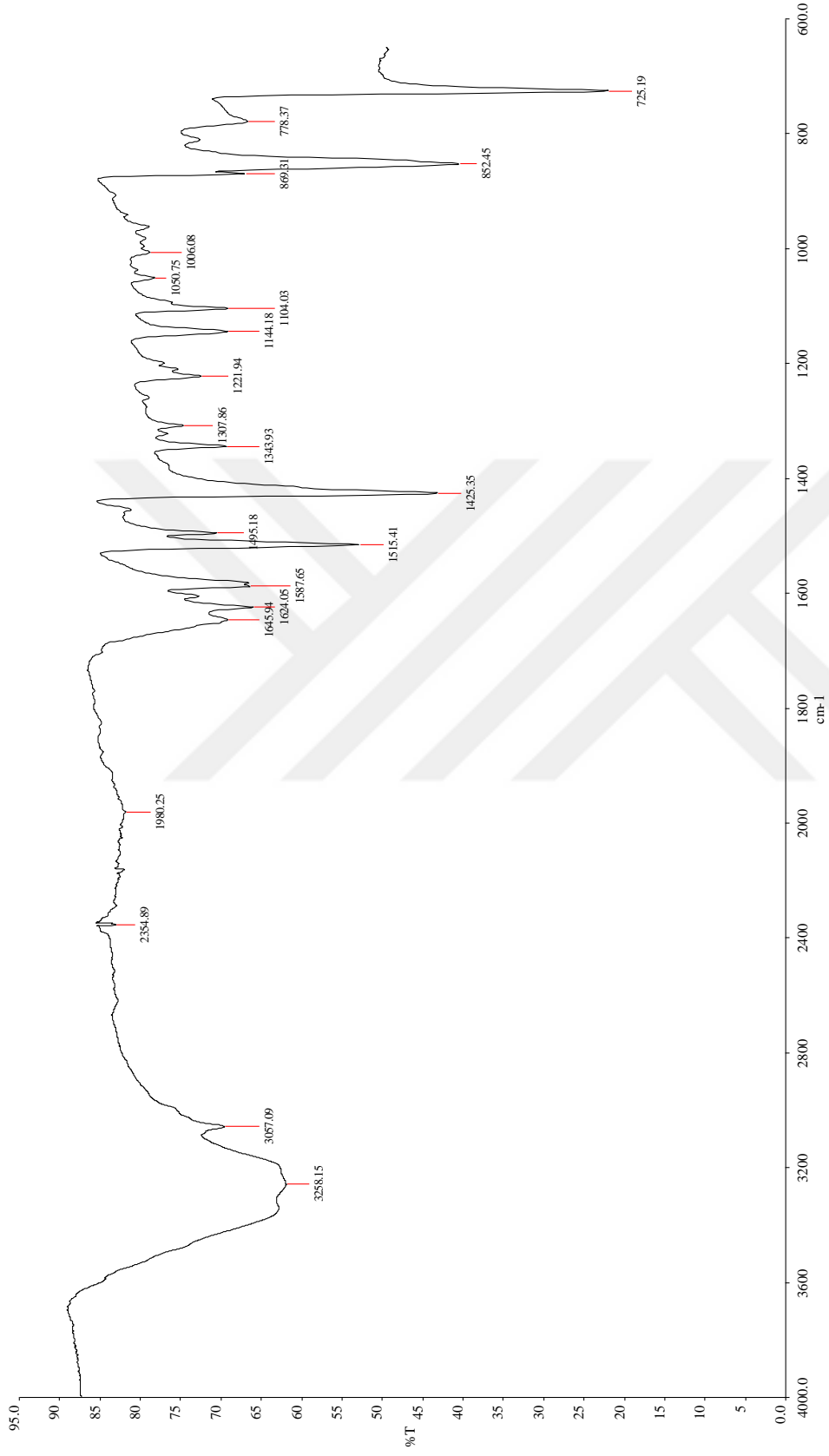
Dppz-idzo'ya ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (Şekil 3.5) molekülün yapısı ile uyumludur [96]. Protonlar dört grup olarak birbirine eşit integraller halinde görülmektedir. Fenazin halkasındaki 7 ve 8 numaralı protonlar NH'a yakın olduğu için yüksek alana kaymışlardır. İmidazol halkasında bulunan protonlar aktif proton olduklarından ve çözünürlüğü arttırmak için ortama eklenen TFA çözücüsünün etkisiyle yer değiştirdiğinden spektrumunda görülmemiştir. Birçok araştırmalarda da aynı durum gözlenmiştir [97, 98].

3.1.3 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$ Sentezi

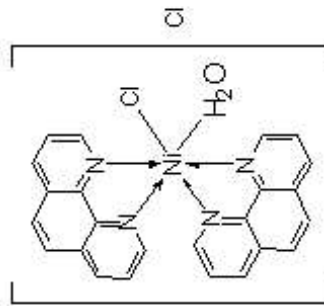
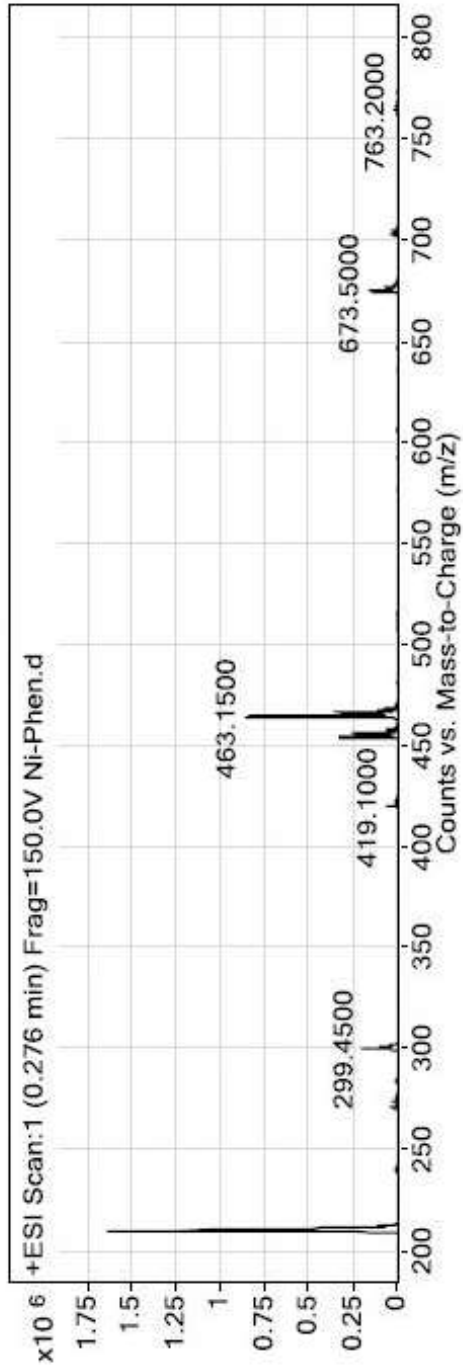
$[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$ literatüre göre sentezlenmiştir [93]. Bu amaçla $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ile fenantrolin sulu çözeltisinin 2 saat geri soğutucuda altına kaynatılmış elde edilen leylak rengindeki çözelti evaporatörde konsantre hale getirildikten sonra aseton ile seyreltilmiştir. Oluşan yeşilimsi-mavi kristaller %55 verimle elde edilmiştir. FT-IR spektrumunda (Şekil 3.6) 3057 cm^{-1} 'de Aril-H bandı ve 3241 cm^{-1} 'de geniş çok şiddetli $-\text{O}-\text{H}$ gerilme bandı görülmektedir. ESI-MS spektrumunda (Şekil 3.7) görülen dominant iyon $m/z = 463,15$ $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$ 'ye, $m/z = 209,3$ $[\text{Ni}(\text{phen})_2]^+$ 'ye ve $m/z = 454,95$ 'de $[\text{Ni}(\text{phen})_2\text{Cl}]^+$ 'ye aittir.

3.1.4 [Co(phen)₂Cl₂]Cl Sentezi

[Co(phen)₂Cl₂]Cl literatüre göre [93] sentezlenmiştir. CoCl₂.6H₂O ile fenantrolin etanol çözeltisinin 30 dakika geri soğutucuda altına kaynatılmasıyla elde edilen kırmızı renkli çökelek etanol ve asetonla yıkandı ve kurutuldu. FT-IR spektrumunda (Şekil 3.8) 3038 cm⁻¹'de Aril-H bandı görülmektedir. ESI-MS spektrumunda (Şekil 3.9) bulunan dominant iyon m/z = 419 [Co(phen)₂]⁺'ye aittir.



Şekil 3.6 [Ni(phen)₂(H₂O)Cl]Cl IR spektrumu



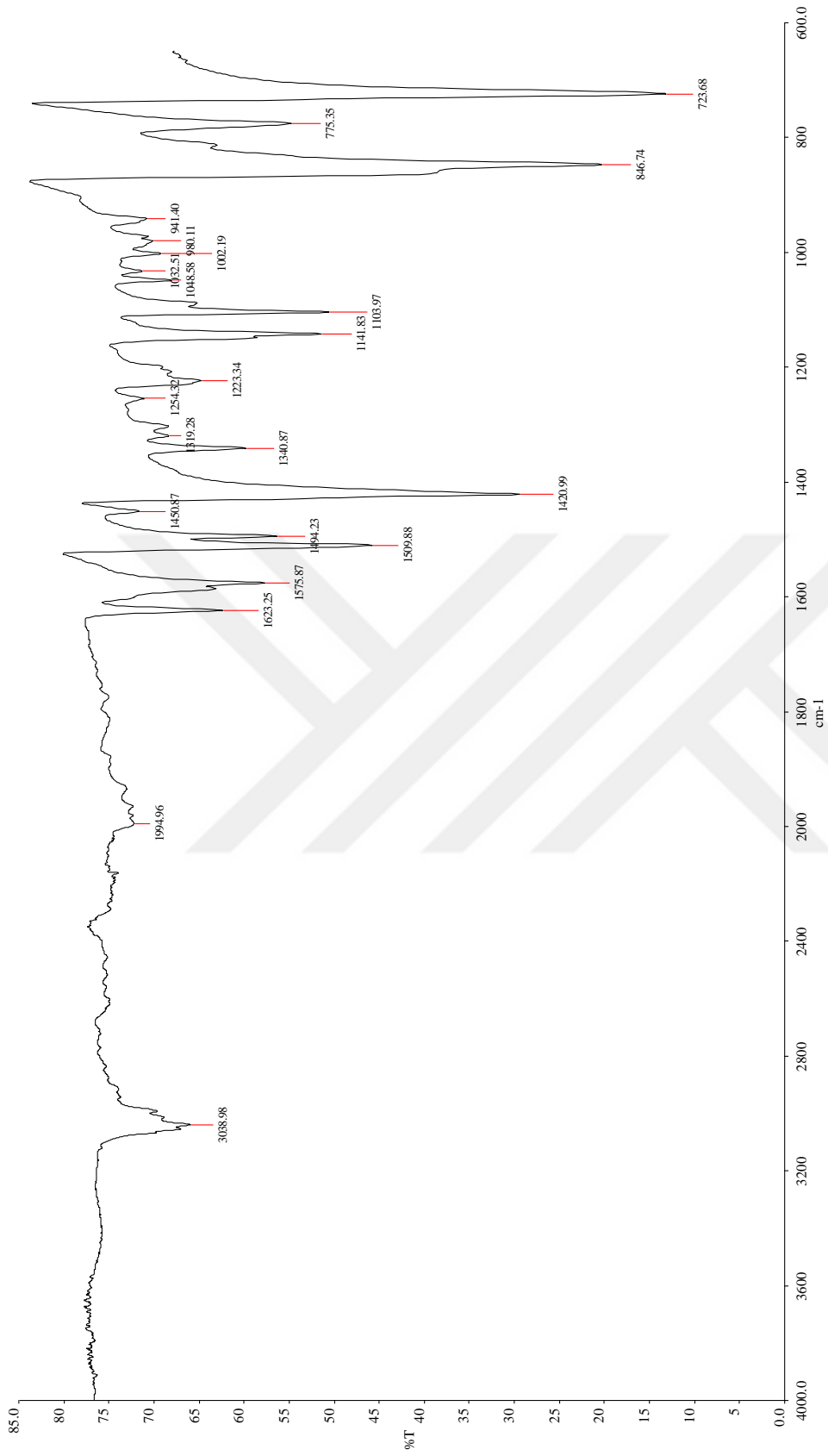
$$m/z = (M - Cl - H_2O) + H = 455,02$$

$$m/z = (M - 2Cl - H_2O) = 419,1$$

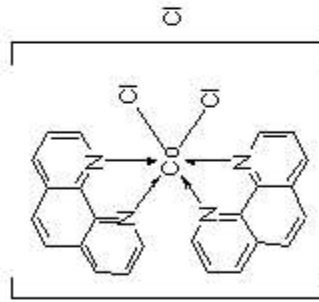
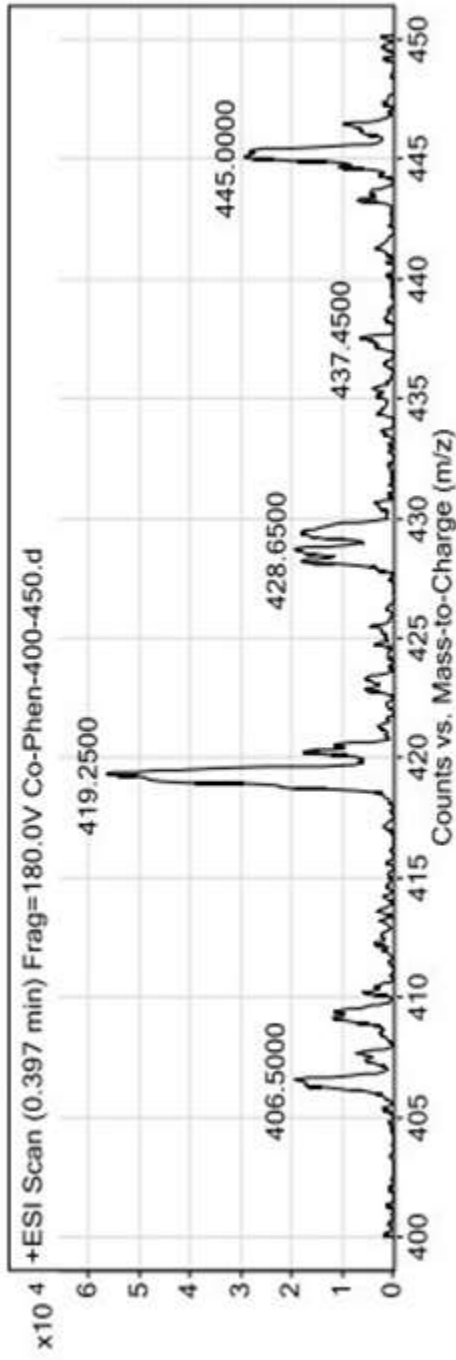
$$m/z = (M - 2Cl - H_2O + H) \gamma 2 = 210,95$$

$$m/z = (M - 2Cl - H_2O) + EtOH = 463,15$$

Şekil 3.7 [Ni(phen)₂(H₂O)Cl]Cl ligandının küle spektrumu



Şekil 3.8 [Co(phen)₂Cl₂]Cl IR spektrumu



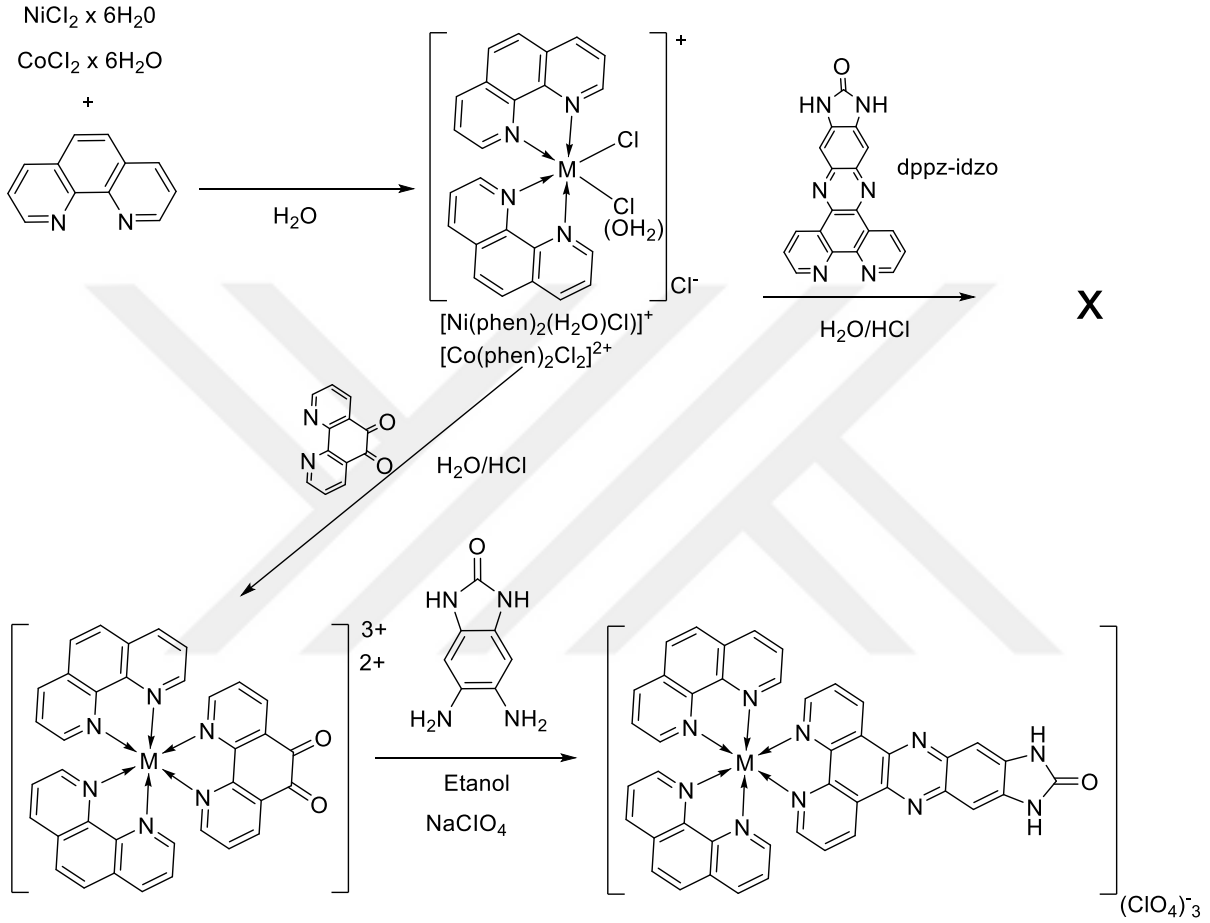
$$m/z = (M - 3Cl) = 419,25$$

M: 525,7

Şekil 3.9 [Co(phen)₂Cl₂]Cl kütle spektrumu

3.2 KOMPLEKSLERİN SENTEZİ

$[M(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{+n}$ komplekslerinin sentezleri $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$ ve $[\text{Co}(\text{phen})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ komplekslerinin dppz-idzo ile olan sudaki reaksiyonu ile planlanmıştır. Bu metod çözünürlük sorunu nedeniyle gerçekleşmemiştir bu yüzden farklı bir yöntemle [95] komplekslerin sentezine devam edilmiştir (Şekil 3.10).



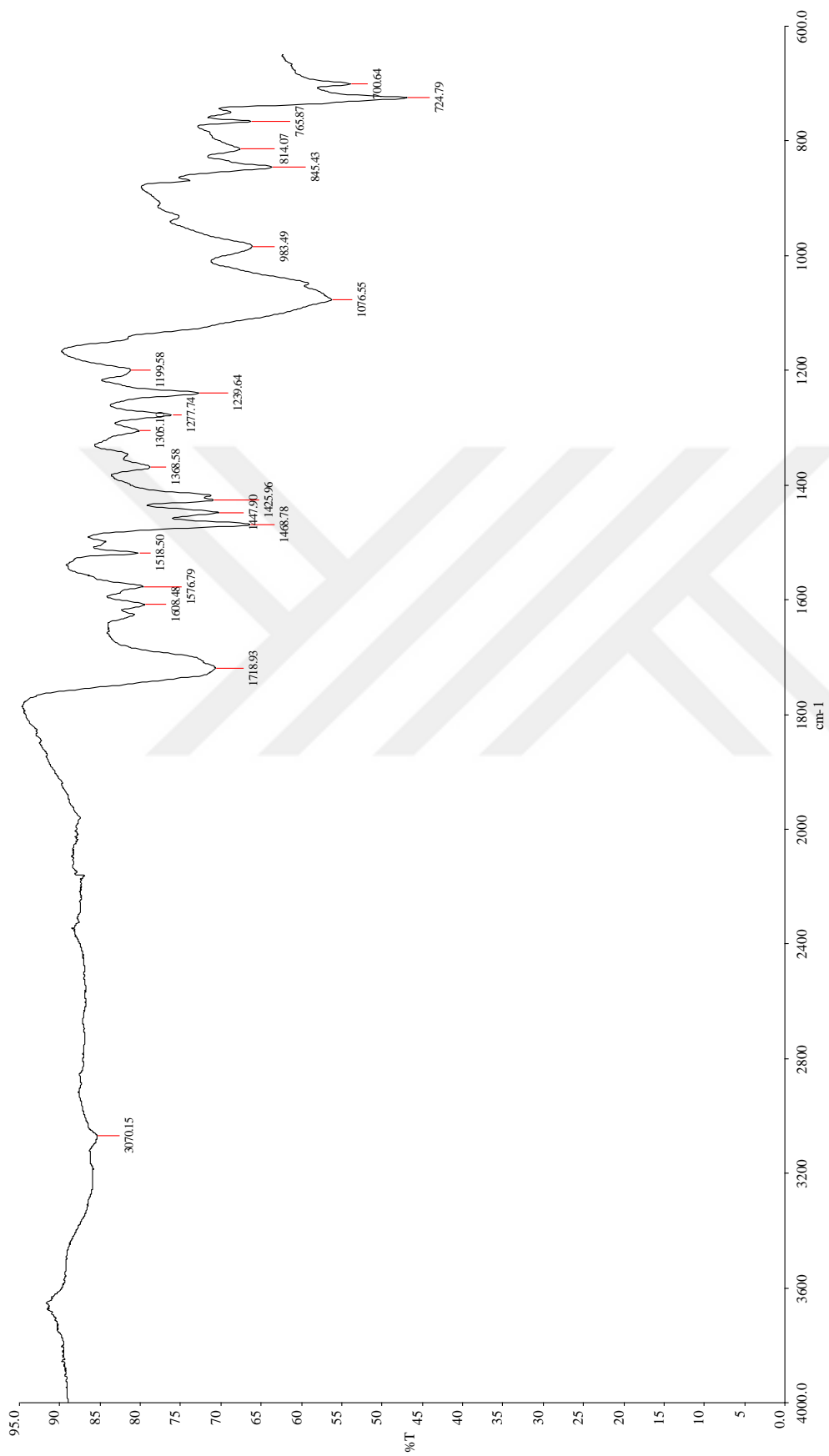
Şekil 3.10 $[M(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{+2}$ komplekslerinin sentez şeması (M= Ni(II), Co(III))

3.2.1 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{+2}$ Sentezi

Nikel kompleksinin sentezi, $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$ kompleksine önce fenantrolin-5,6-dion eklenerek oluşturulan $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{phen-dion})]^{2+}$ ara kompleksine etanol ortamında 5,6-diamino-2-benzimidazolonun kenetlenmesiyle başarıyla gerçekleştirilmiştir. Nikel kompleksinin FT-IR spektrumunda (Şekil 3.11) dppz-idzo'ya ait 1718 cm^{-1} 'de karbonil piki görülmektedir. Kompleksin ES/MS spektrumunda (Şekil 3.12) $m/z = 378.1$ 'de $(M-2\text{ClO}_4/2)$ görülen piki nikel kompleksinin başarıyla sentezlendiğini kanıtlamaktadır. Nikel kompleksi paramanyetik özellik gösterdiğinden NMR spektrumu kaydedilememiştir. Nikel kompleksinin

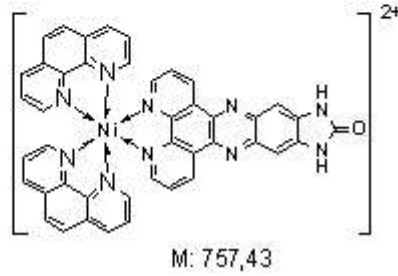
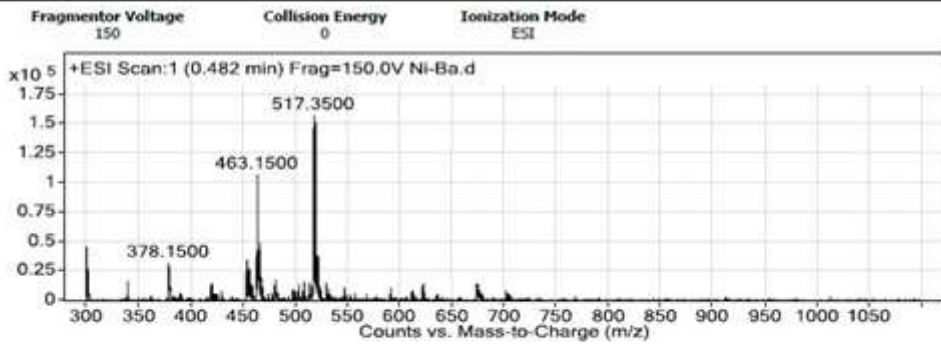
sentezine bir diğerk kanıt da $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$, dppz-idzo ve $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ bileşiklerine ait UV spektrumlarıdır (Şekil 3.13). $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$, kompleksi 270 nm'de tek bir absorbsiyon piki ve dppz-idzo ligandı da 309 ve 416 nm'de iki absorbsiyon piki veririrken, nikel kompleksi $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ bu iki spektrumun toplamı olan 271, 295 409 nm'lerde üç pik vermiştir. Liganda ait 416 nm'deki absorbsiyon piki 500nm'ye kadar uzanan bir omuza sahipken nikel kompleksinde 409 nm'ye ve omuz ise 450 nm'ye kadar hipsokromik kayma göstermiştir.





Şekil 3.11 [Ni(phen)₂(dppz-idzo)]²⁺ kompleksinin IR spektrumu

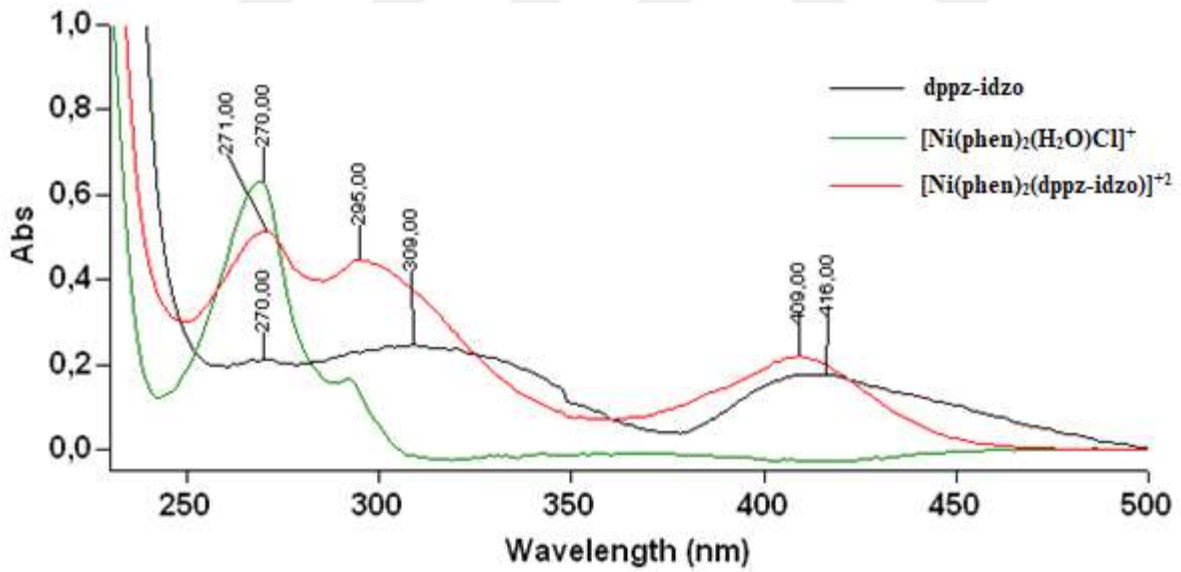
User Spectra



$$m/z = M/2 = 378,15$$

$$m/z = M\text{-ligand} + \text{EtOH} = 463,1$$

Şekil 3.12 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ kompleksinin kütle spektrumu



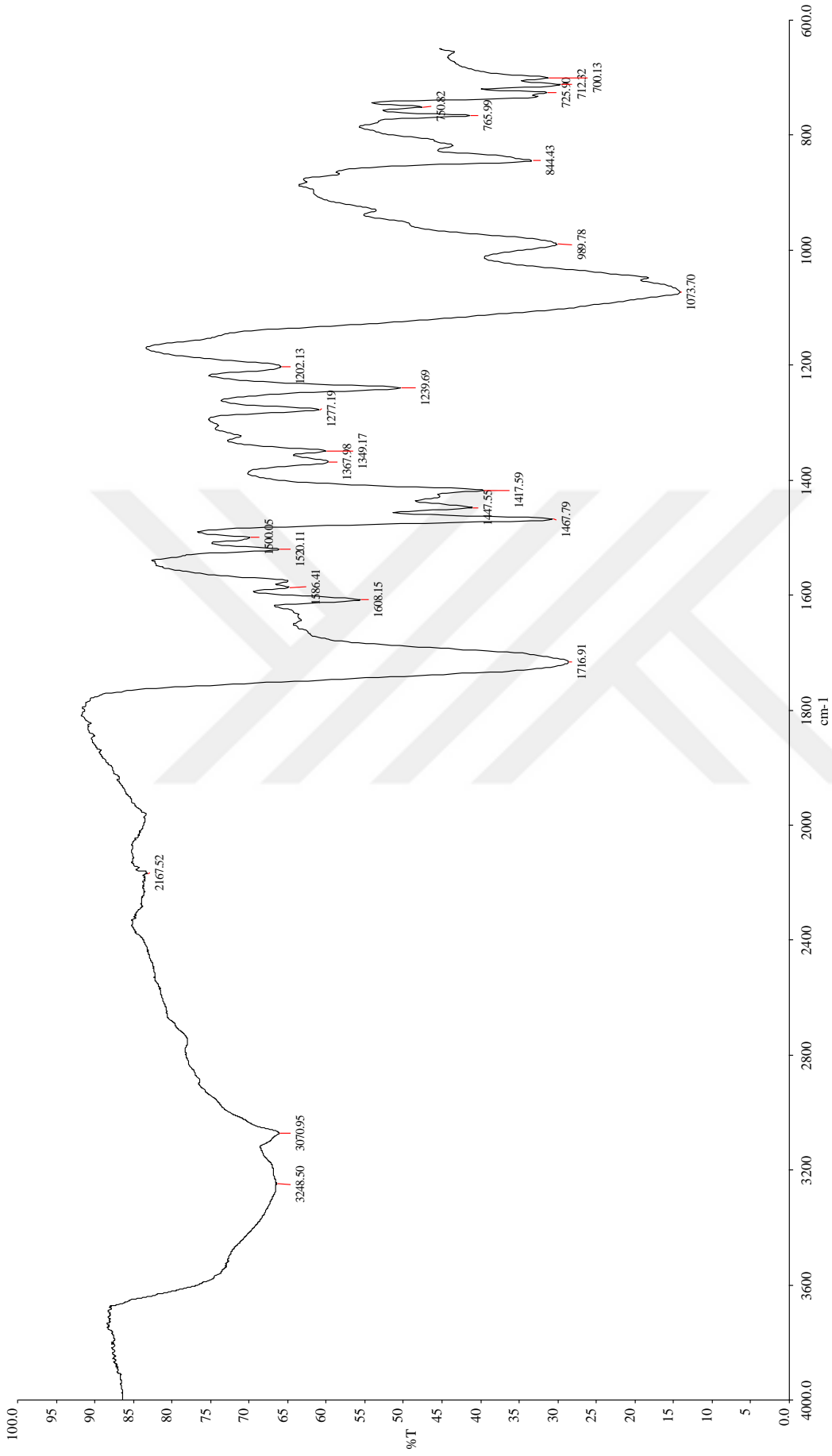
Şekil 3.13 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ ve $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$ komplekslerinin ve dppz-idzo ligandının UV spektrumlarının karşılaştırılması

3.2.2 [Co(phen)₂(dppz-idzo)]⁺² Sentezi

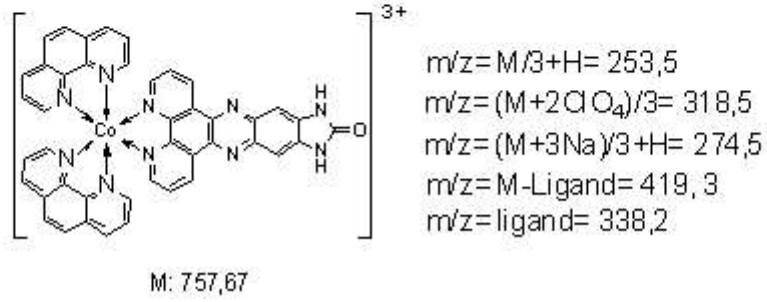
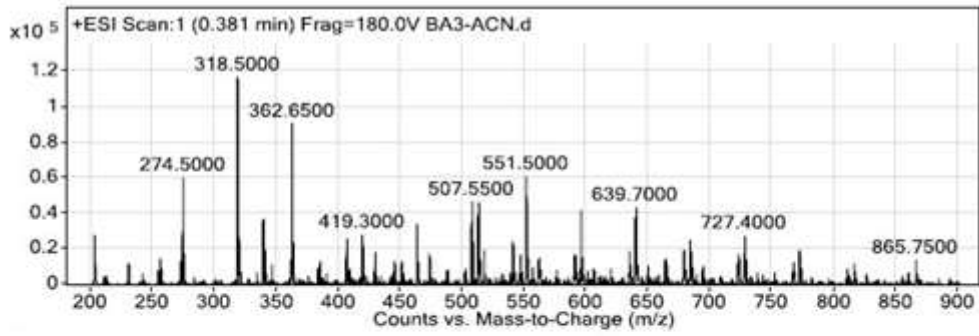
[Co(phen)₂(dppz-idzo)]⁺³ kompleksi sentezinde bir önceki metot kullanılmıştır. Kobalt kompleksinin FT-IR spektrumunda (Şekil 3.14) dppz-idzo'ya ait 1716 cm⁻¹'de karbonil piki görülmektedir. Kompleksin ESI-MS spektrumunda (Şekil 3.15) m/z= 318,6'da görülen piki (M+2ClO₄)/3, m/z= 275,5'da (M+3Na)/3 (bulunan 274,5), m/z= 253,5'da (M/3+H) (işaretlenmemiş), m/z= 419,3'te (M-Ligand) ve m/z= 338,2'de sadece ligand piki (dppz-idzo) kobalt kompleksinin başarıyla sentezlendiğini kanıtlamaktadır. Kobalt kompleksin ¹H-NMR spektrumu (Şekil 3.16) yapı ile uyumludur [89]. Literatürle karşılaştırıldığında piklerin [Ru(bpy)₂(dppz-idzo)]⁺² kompleksinin ¹H-NMR spektrumundan farklı olarak daha yüksek alana kaydığı görülmektedir. Aynı zamanda ligandın ¹H-NMR spektrumuyla kompleksin NMR spektrumunu karşılaştırıldığında ligandın sahip olduğu protonların da yüksek alana kayması, kompleksin gerçekleşmesinin en önemli kanıtıdır. Literatürde benzer sonuçlar görülmektedir [99, 100].

Kompleksin ¹³C NMR spekturumunda (Şekil 3.17) aromatik karbonlar δ129-155 ppm arasında ve 157,64 ppm'de C=O grubu karbonu gözlenmiştir. Kompleksin sahip olduğu iki fenantrolin halkasının kimyasal yapısı aynı olduğundan NMR spekturumunda fenantroline ait karbonlar toplamda 6 pik şeklinde, kompleksin ligand kısmı ise simetrik olduğundan spekturumda karbonlar toplamda 9 pik halinde gözlemlenmiştir.

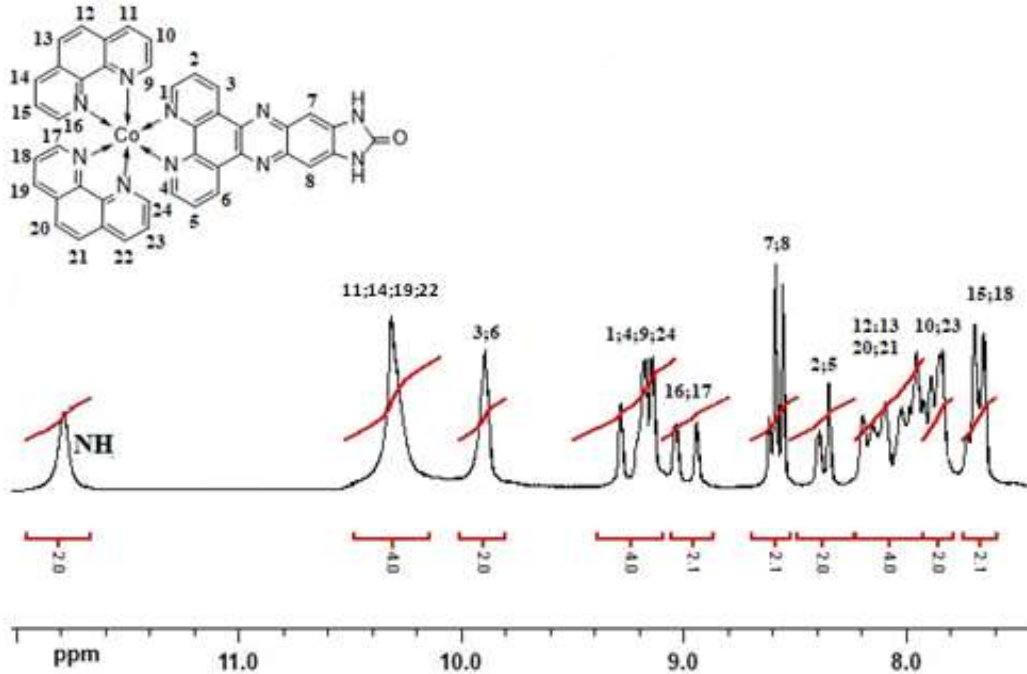
Kobalt kompleksinin sentezlendiğine dair bir diğer kanıt da [Co(phen)₂Cl₂]⁺³, dppz-idzo ve [Co(phen)₂(dppz-idzo)]⁺³ bileşiklerine ait UV spektrumlarıdır (Şekil 3.18). [Co(phen)₂Cl₂]⁺³ kompleksi 268 nm'de tek bir absorpsiyon piki ve dppz-idzo ligandı da 309 ve 416 nm'de iki absorpsiyon piki verirken, kobalt kompleksi [Co(phen)₂(dppz-idzo)]⁺³ beklendiği gibi iki spektrumun toplamına ait 270, 295 409 nm'lerde üç pik vermiştir. Liganda ait absorpsiyon piki kobalt kompleksinde nikel kompleksinde olduğu gibi yine 409 nm'ye ve omuz ise 450 nm'ye kadar hipsokromik kayma göstermiştir.



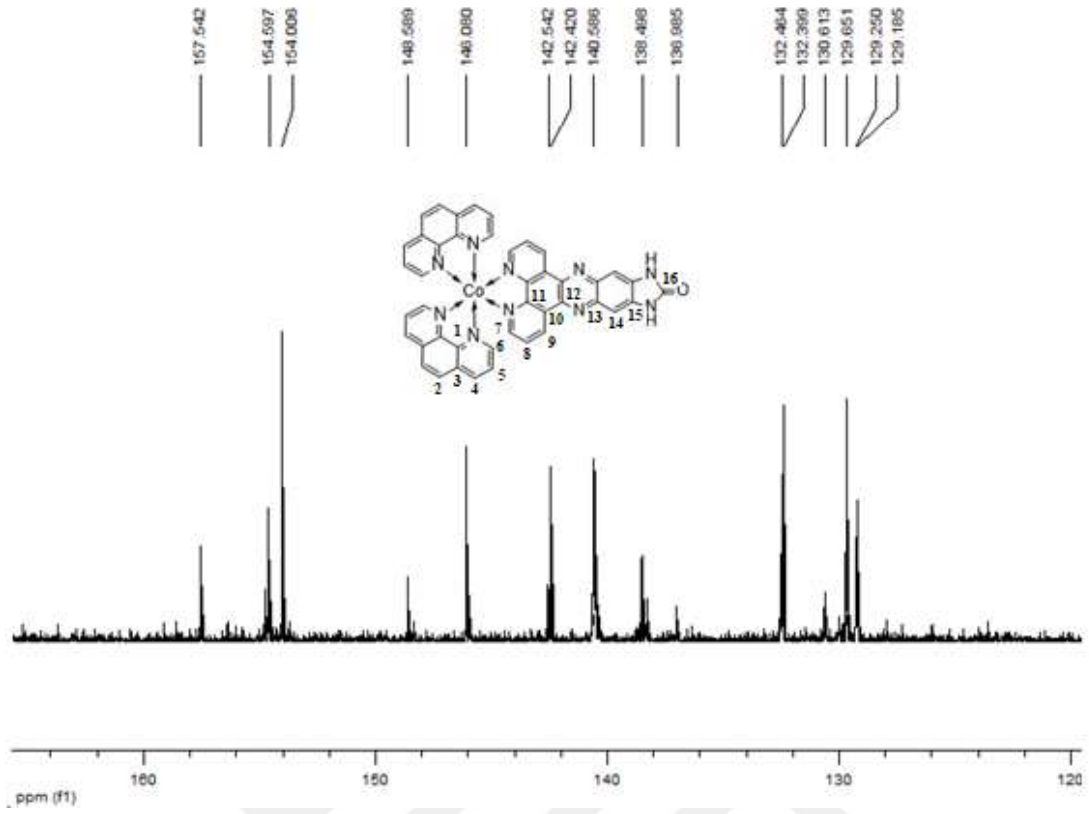
Şekil 3.14 [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ kompleksinin IR spektrumu



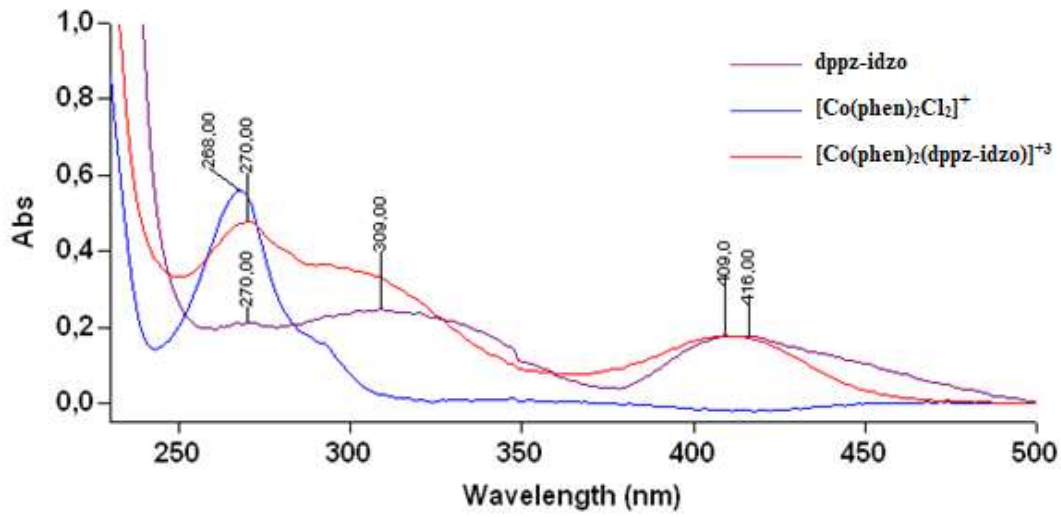
Şekil 3.15 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksinin kütle spektrumu



Şekil 3.16 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksinin ^1H NMR spektrumu



Şekil 3.17 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ Kompleksinin ^{13}C -NMR Spektrumu

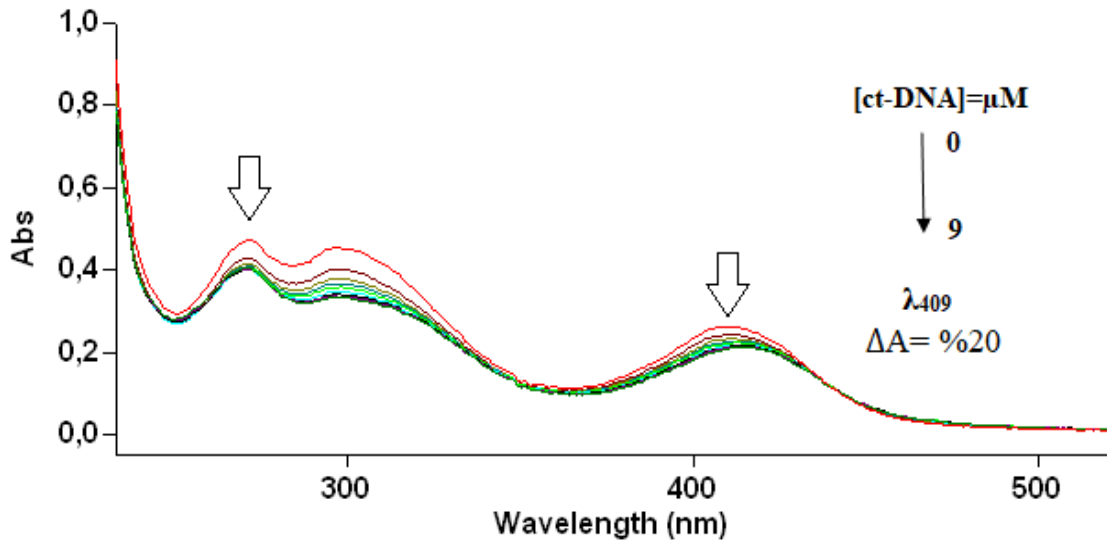


Şekil 3.18 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ ve $[\text{Co}(\text{phen})_2\text{Cl}_2]^+$ komplekslerinin ve dppz-idzo ligandının UV spektrumlarının karşılaştırılması

3.3 KOMPLEKSLERİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİ

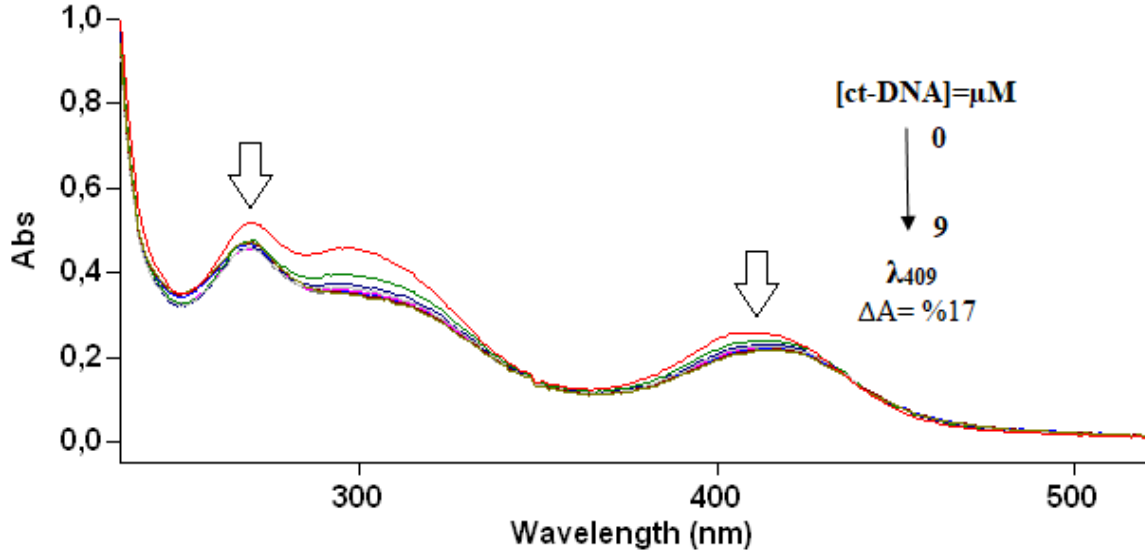
3.3.1 UV Titrasyon Sonuçları:

Komplekslerin KCl-Tris tamponundaki UV'sinde $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ ve $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ dppz-idzo ligandının $\pi-\pi^*$ geçişine ait 409 nm'de bulunan pikin (Şekil 3.19 ve Şekil 3.20) absorbanısındaki hipokromik kayma ve tepe noktasındaki sırasıyla 5 ve 8 nm'lik batokromik kayma komplekslerin DNA baz çiftleri arasına girerek interkalasyon yapması olarak değerlendirilmektedir.



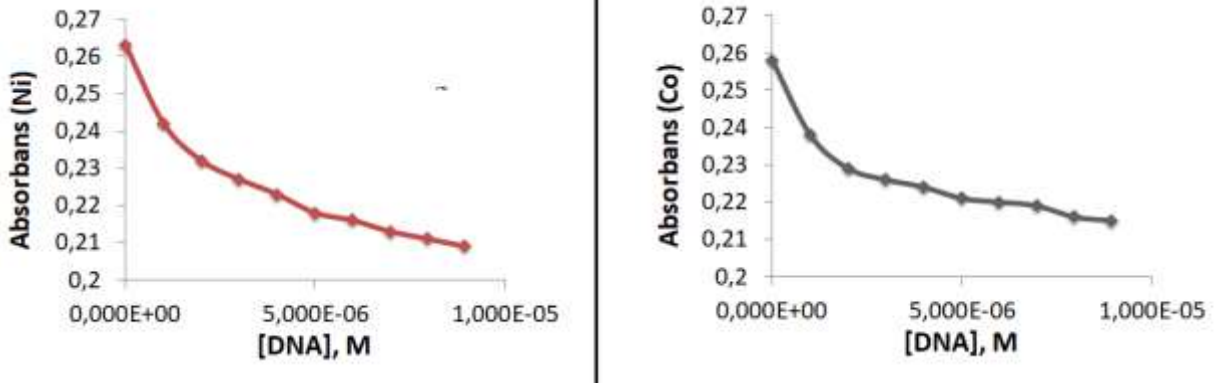
Şekil 3.19 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ kompleksinin (10 μM) 0-9 μM DNA ile titrasyonundan elde edilen UV-Vis absorpsiyon spektrumu

DNA üzerine artan miktarda kompleks eklendiğinde DNA baz çiftlerinin sahip olduğu π elektron sistemi kompleksteki ligandın π elektron sistemiyle etkileşime girer ve bu etkileşim sonucunda ligandın π elektronlarının daha geniş bir alanda delokalize olmasına imkan yaratır. Ligandın π elektronlarının daha geniş bir alanda delokalize olması da absorbansta azalmaya neden olmaktadır [101].



Şekil 3.20 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksinin ($10 \mu\text{M}$) $0-9 \mu\text{M}$ DNA ile titrasyonundan elde edilen UV-Vis absorpsiyon spektrumu

Şekil 3.21’de görüldüğü gibi artan DNA miktarıyla komplekslerin absorbanlarında azalma görülmektedir. Fakat karışım DNA miktarı $9 \mu\text{M}$ olduğunda absorbanstaki azalma durduğundan doyuma ulaştığı kabul edilmiştir.



Şekil 3.21 Artan DNA derişimiyle nikel ve kobalt komplekslerinin absorban değişimi

Komplekslerin DNA ile etkileşim gúcünü birbiriyle karşılaştırabilmek için eşitlik 3.1 kullanarak bağlanma sabiti hesaplanmıştır.

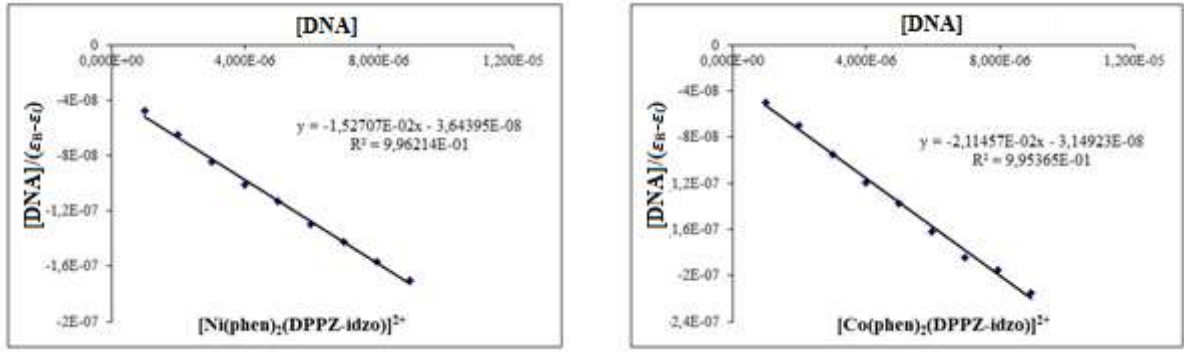
$$[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_f) = [\text{DNA}]/(\epsilon_B - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_B - \epsilon_f) \quad (3.1)$$

Bağlanma sabiti hesaplanırken her iki kompleksin 409 nm ’de gösterdiği absorban piki kullanılmıştır. Şekil 3.22’de görüldüğü gibi $[\text{DNA}]$ değerlerine karşı $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ grafiğe

geçirildiğinde eğim $1/(\epsilon_B - \epsilon_f)$ değerine karşı kesim noktası $1/K_b(\epsilon_B - \epsilon_f)$ değeri karşılık gelmektedir.

Grafikteki [DNA] ölçüm yapılan dalga boyundaki DNA derişimi, ϵ_A o noktadaki sönüm katsayısı, ϵ_B kompleksin DNA'ya tamamen bağlandığı andaki yani titrasyon sonunda absorbans değişiminin durduğu andaki sönüm katsayısı, ϵ_f ise serbest haldeki yani ortamda DNA olmadığı durumdaki sönüm katsayısına eşittir.

Şekil 3.22'deki eşitlik kullanılarak elde edilen linner grafiğinde eğim ve kesim noktasını kullanarak her iki kompleksin bağlanma sabitini (K_b) nikel kompleksi için kompleksi için (K_b) $4,2 \times 10^5$ kobalt kompleksi için bağlanma sabiti (K_b) $6,7 \times 10^5$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.22 Ni/Co komplekslerine ait linner grafiği

Bağlanma sabitleri karşılaştırıldığında [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ kompleksinin [Ni(phen)₂(dppz-idzo)]²⁺ kompleksinden yaklaşık olarak 1.5 kat daha iyi bağlandığı tespit edilmiştir. Literatürde yer alan diğer nikel ve kobalt komplekslerinin DNA ile etkileşim çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir [102-104].

Bulunan bağlanma sabitleri Çizelge 3.1'de [Ni(phen)₂(dppz)]²⁺ ve [Co(phen)₂(dppz)]³⁺ komplekslerin bağlanma sabitleriyle karşılaştırıldığında, her iki kompleksin dppz ligandı içeren komplekslere göre DNA'yla daha güçlü etkileştiği görülmektedir [104].

Çizelge 3.1 Komplekslerin bağlanma sabitleri karşılaştırılması.

| Kompleks | Bağlanma sabiti (K_b) ($\times 10^5 M^{-1}$) |
|--------------------------------|---|
| $[Ni(phen)_2(dppz)]^{2+}$ | 1,51 |
| $[Ni(phen)_2(dppz-idzo)]^{2+}$ | 4,70 |
| $[Co(phen)_2(dppz)]^{3+}$ | 5,05 |
| $[Co(phen)_2(dppz-idzo)]^{3+}$ | 6,70 |

Ayrıca nikel kompleksi için 409 nm’de 5 nm’lik, kobalt kompleksi için 8 nm’lik bir batokromizm görülmektedir. Bu batokromizm komplekslerin HOMO ve LUMO enerji seviyelerinin azaldığını ve kompleksin DNA ile etkileştiğini kanıtlamaktadır. Kobalt kompleksindeki batokromizmin nikel kompleksinden fazla olması onun DNA’ya nikel kompleksinden daha güçlü bağlandığını göstermektedir.

Her iki kompleksin UV titrasyon sonuçları Çizelge 3.2’de ayrıntılı bir şekilde ele alınmıştır.

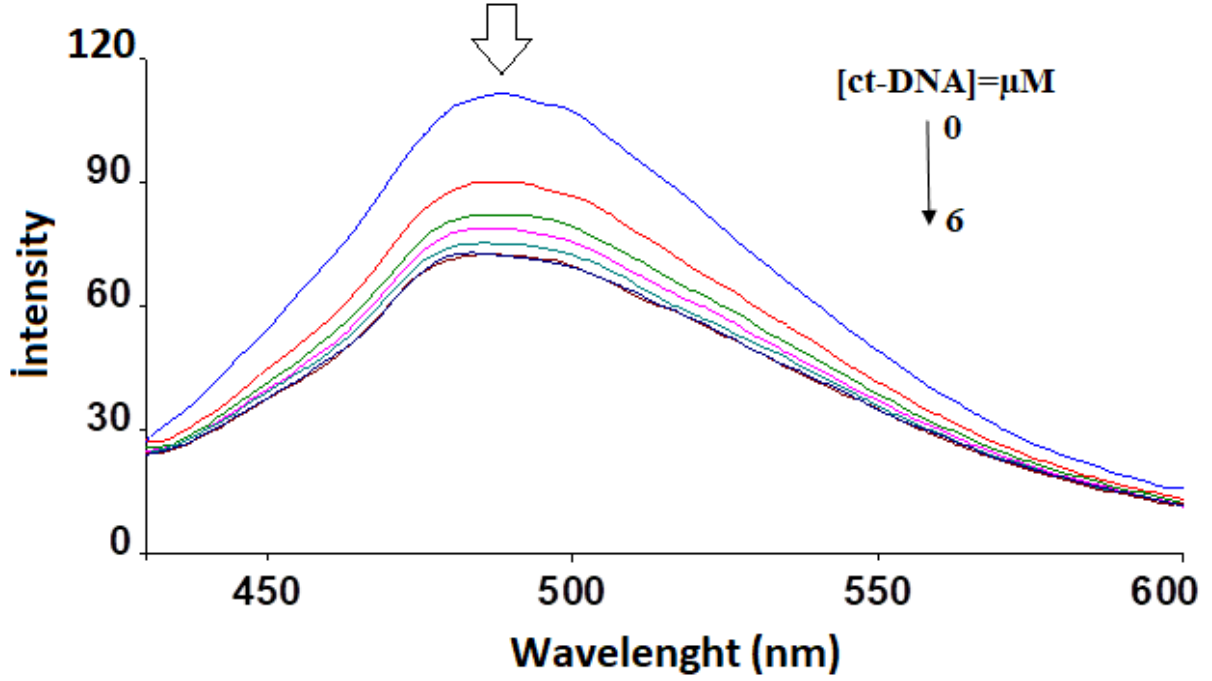
Çizelge 3.2 Nikel ve kobalt komplekslerinin UV titrasyonu sonuçları

| Kompleks | λ_{max} (nm) | Absorbans değişimi | $\Delta A\%$ | Batokromizm (nm) | $K_b (M^{-1})$ |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------|-----------------------------|-------------------|
| $[Ni(phen)_2(dppz-idzo)]^{2+}$ | 409 | Hipokromizm | 20 | 5 | $4,2 \times 10^5$ |
| $[Co(phen)_2(dppz-idzo)]^{3+}$ | 409 | Hipokromizm | 17 | 8 | $6,7 \times 10^5$ |

3.3.2 Floresans Çalışması

Şekil 3.23 ve şekil 3.24 artan DNA derişimiyle $[Ni(phen)_2(dppz-idzo)]^{2+}$ ve $[Co(phen)_2(dppz-idzo)]^{3+}$ komplekslerinin floresansındaki değişimi göstermektedir. 10 μM kompleks çözeltisi üzerine 1.25 mM DNA çözeltisi ortamdaki DNA derişimi nikel kompleksi için 6 μM , kobalt kompleksi için 5 μM olana kadar devam edilmiştir ve her ekleme sonrasında spektrum kaydedilmiştir.

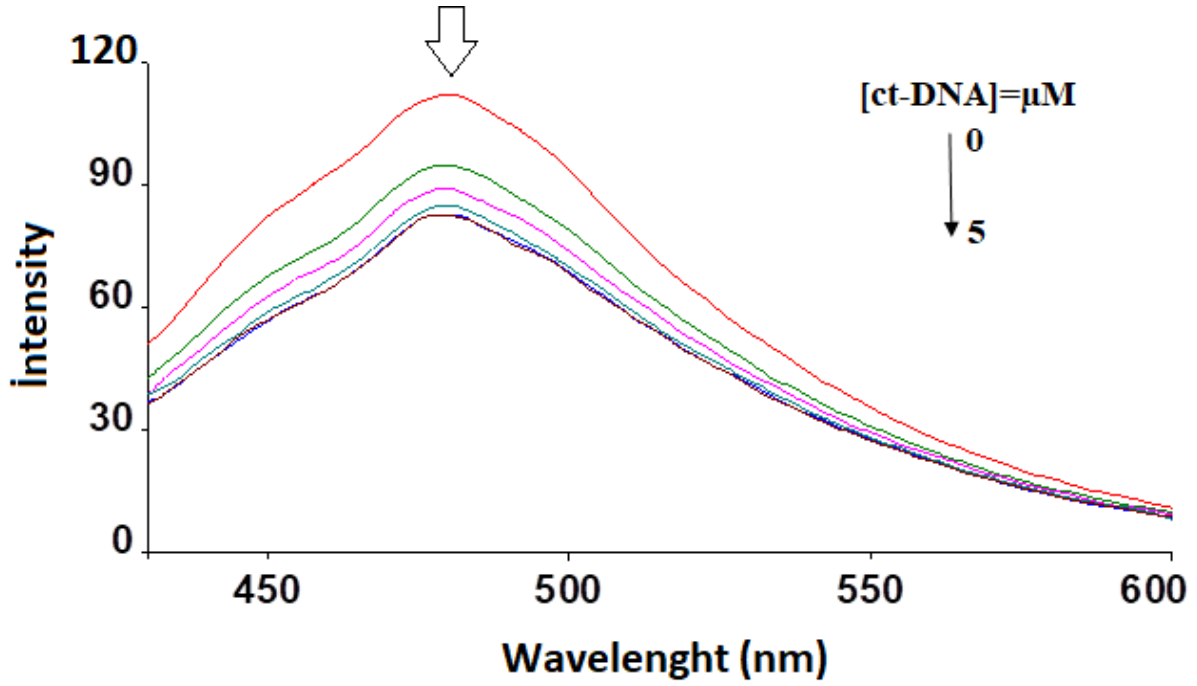
Şekil 3.23’de görüldüğü gibi kompleksin kendisi düşük floresans özellik göstermektedir. DNA eklenmesiyle kompleksin floresans yoğunluğu düşmektedir.



Şekil 3.23 [Ni(phen)₂(DPPZ-idzo)]²⁺ kompleksinin (10 μM) 0-6 μM DNA ile titrasyonundan elde edilen floresans spektrumu

[Ni(phen)₂(DPPZ-idzo)]²⁺ kompleksinin UV spektrumunda görünen hipokromik ve batokromik kayma DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiğini göstermektedir. Literatüre göre madde DNA'nın baz çiftleri arasına girerek interkalasyon yaptığında hidrofobik özelliğe sahip DNA iç sarmalı kompleksi çözücünden korur ve çözücünün kompleks üzerindeki etkisini ortadan kaldırır. Bu durum da floresans yoğunluğunda yükselme olarak görülür. Kompleksin floresans yoğunluğunun daha da düşmesi kompleksin interkalasyon yapmadığını, DNA'ya oluk üzerinden bağlandığını önerir.

UV-Vis spektrumunda hipokromik ve batokromik etki olmasına rağmen floresansında olan düşüş her iki kompleksin interkalasyona ek olarak DNA yüzey alanından da bağlandığına işaret etmektedir [88, 103, 105, 106].

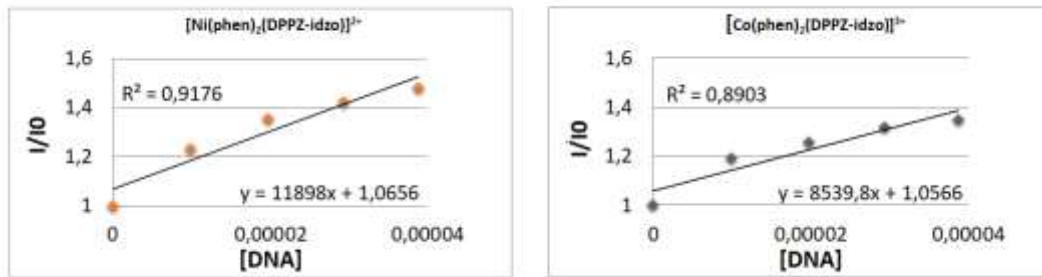


Şekil 3.24 $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksinin ($10 \mu\text{M}$) $0\text{-}5 \mu\text{M}$ DNA ile titrasyonundan elde edilen floresans spektrumu

Elde edilen sonuçlar klasik Stern-Volmer eşitliği (Eşitlik 3.2) ile incelenerek kompleksin bağlanma derecesi belirlenmiştir.

$$I/I_0 = 1 + K_{SV} [Q] \quad (3.2)$$

Şekil 3.25'te elde edilen veriler kullanılarak hazırlanmış Stern-Volmer eşitliğinden elde edilen lineer grafik görülmektedir. Kompleks derişimine karşı floresans yoğunluğu oranı değerleri grafiğe geçirildiğinde eğim değeri doğrudan K değerine eşit olmaktadır. Yapılan hesaplamalar sonucu K_{SV} değeri nikel kompleksi için $1,1 \times 10^4$, kobalt kompleksi için $0,85 \times 10^4$ bulunmuştur.



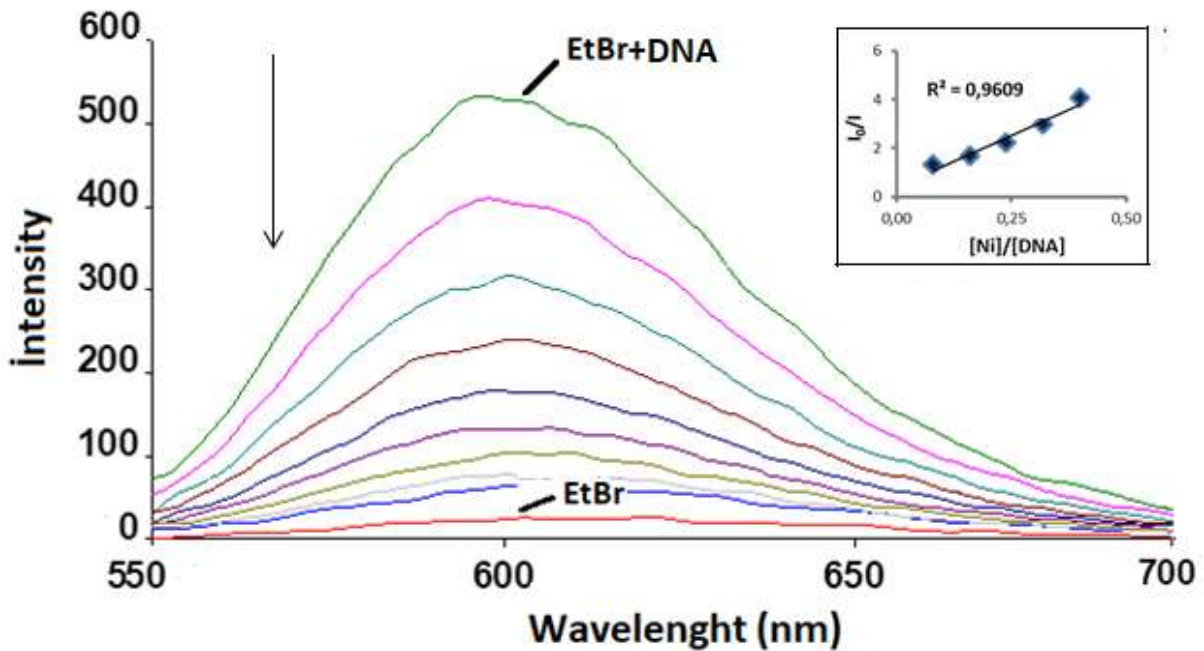
Şekil 3.25 Nikel ve kobalt komplekslerinin Stern-Volmer grafiği

3.2.2.1 Yarışmalı Floresans

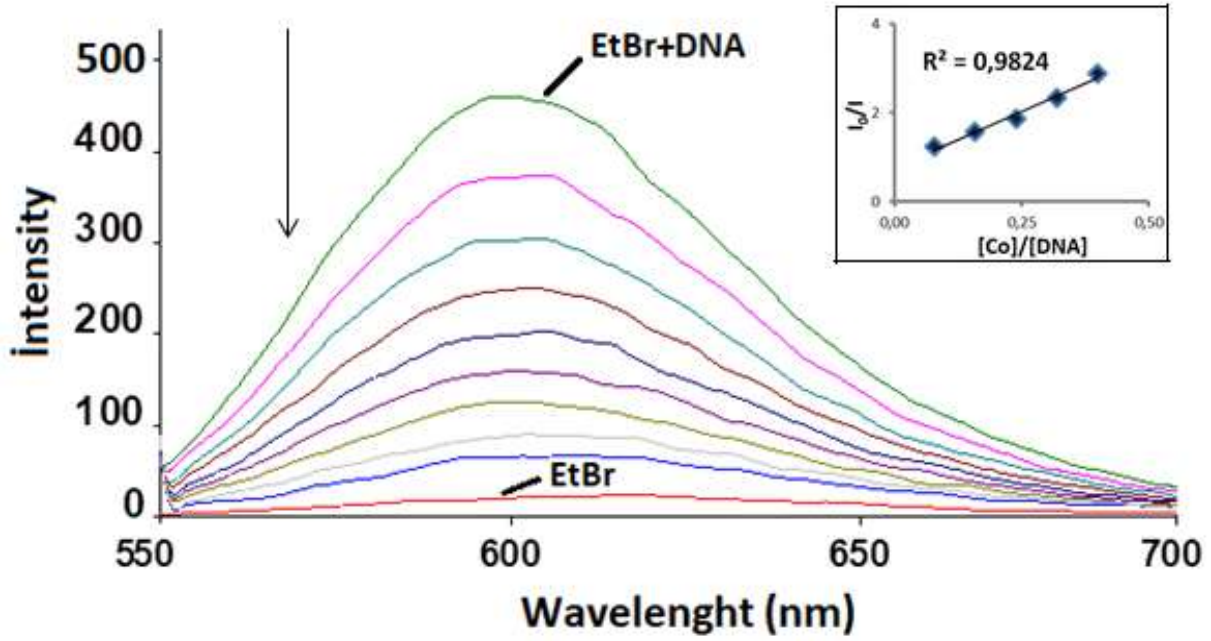
Şekil 3.26 ve şekil 3.27’de 20 µM EtBr ile doyurulmuş 100 µM sığır DNA’sı içeren çözeltisinin artan derişimlerdeki nikel ve kobalt komplekslerinin floresans spektrumundaki değişimi gösterilmiştir.

Etidyum bromür (EtBr) DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yoluyla etkileştiği yaptığı kesin olarak bilinen bir moleküldür. EtBr normelde düşük floresans göstermesine rağmen DNA ile etkileştiği zaman floresansında büyük bir artış görölmektedir. Bu karışıma interkalasyon yapma kapasitesi olan bir madde eklendiğinde, maddenin konsantrasyona bağlı olarak EtBr baz çiftleri arasından çıkarak yerini maddeye bırakır. EtBr ise eklenen madde tarafından “dışarı” itildiği için madde miktarı arttıkça floresans yoğunluğunda düşüş görülecektir.

$[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ ve $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksleri çözelti içine ekledikçe her iki kompleks de EtBr moleküllerini baz çiftleri arasından çıkararak yerine kendileri geçmektedir. Floresanstaki görölen azalma da bu sonucu kanıtlamaktadır. Bu sonuçlar her iki kompleksin de DNA ile kuvvetli interkalasyon yaptığını göstermektedir.



Şekil 3.26 EtBr (20 µM) ve 100 µM sığır DNA’sı içeren çözeltisinin artan nikel kompleksi derişimiyle elde edilen floresans spektrumu



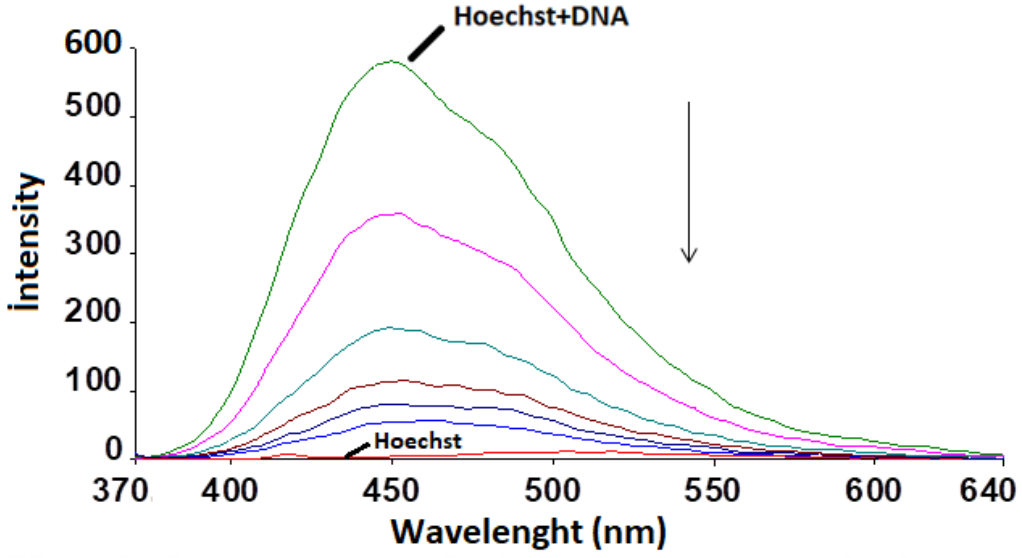
Şekil 3.27 EtBr (20 μM) ve 100 μM sığır DNA'sı içeren çözeltisinin artan kobalt kompleksi derişimiyle elde edilen floresans spektrumu

Yarışmalı floresanta elde edilen sonuçlar eşitlik 3.3 kullanılarak komplekslerin bağlanma sabitleri hesaplanmıştır [11].

$$K_{\text{app}} = K_{\text{EtBr}} \times C_{\text{EtBr}}/C_{50} \quad (3.3)$$

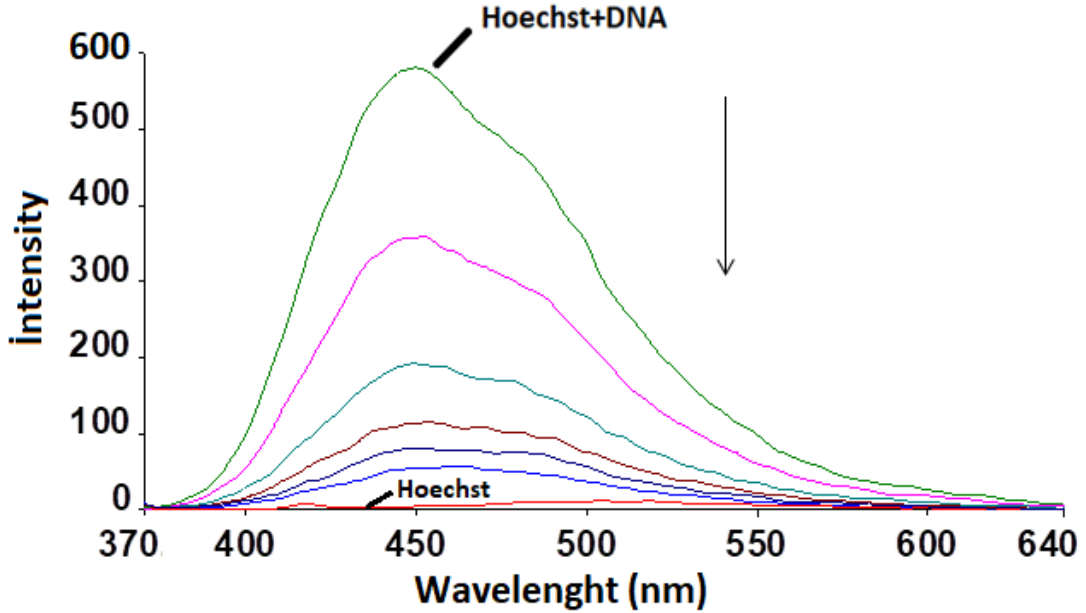
Burada K_{EtBr} EtBr molekölünün bağlanma değeri sabitidir ve $4,54 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 'dir. C_{EtBr} , EtBr molekölünün çözeltideki konsantrasyonu (20 μM), C_{50} ise DNA-EtBr emisyon yoğunluğunun başlangıç floresansında %50 azalma sağlayan kompleksin konsantrasyonudur. Elde edilen değerleri eşitlik 3.3'de yerine koyulduğu zaman nikel kompleksi için bağlanma sabiti (K_{app}) $5,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, kobalt kompleksi için bağlanma sabiti (K_{app}) ise $3,8 \times 10^5 \text{ m}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Şekil 3.28 ve Şekil 3.29'da ise 1,25 μM Hoechst 33258 ve 12,5 μM sığır DNA'sı içeren çözeltisinin artan nikel ve kobalt komplekslerin derişimiyle floresans spektrumunda gerçekleşen değışimi göstermektedir.



Şekil 3.28 Hoechst 33258 (1.25 μM) ve 12.5 μM sığır DNA' sı içeren çözeltisinin artan nikel kompleksi derişimiyle elde edilen floresans spektrumu

Hoechst 33258, floresans spektrumuyla DNA etkileşim türünün belirlenmesine kullanılan bir DNA oyuk bağlanma ajanıdır. Hoechst 33258, genellikle DNA'ya büyük oyuk üzerinden, A-T nükleotidleriyle zengin olan bölgesine bağlanır.



Şekil 3.29 Hoechst 33258 (1.25 μM) ve 12.5 μM sığır DNA' sı içeren çözeltisinin artan kobalt kompleksi derişimiyle elde edilen floresans spektrumu

Hoechst 33258 de ErrR gibi zayıf floresansa sahiptir ve DNA ile etkileştiği zaman floresans spektrumunda yüksek artış görülür. Ortamda DNA ile oyuk bağlanma yapan başka bir molekül varsa o zaman bu molekül Hoechst 33258 ile yarışmalı olarak DNA ile etkileşir ve sonuçta Hoechst-DNA kompleksini bozarak Hoechst 33258'in emisyon şiddetinde düşüşe sebep olur.

Elde edilen sonuçlar, her iki kompleksin düşük konsantrasyonlarında bile Hoechst 33258-DNA etkileşimini bozduğunu ve komplekslerin DNA ile hem interkalasyon yaptığını hem de DNA'ya yüzelsel olarak küçük oyuk üzerinden de bağlandığını göstermektedir. Sonuçlar floresans spektrumundan elde edilen verilerin doğruluğunu kanıtlamaktadır.

Her iki kompleksi karşılaştırmak için UV titrasyon, floresans ve yarışmalı floresans sonuçlarından elde edilen bağlanma sabitleri Çizelge 3.3'de ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

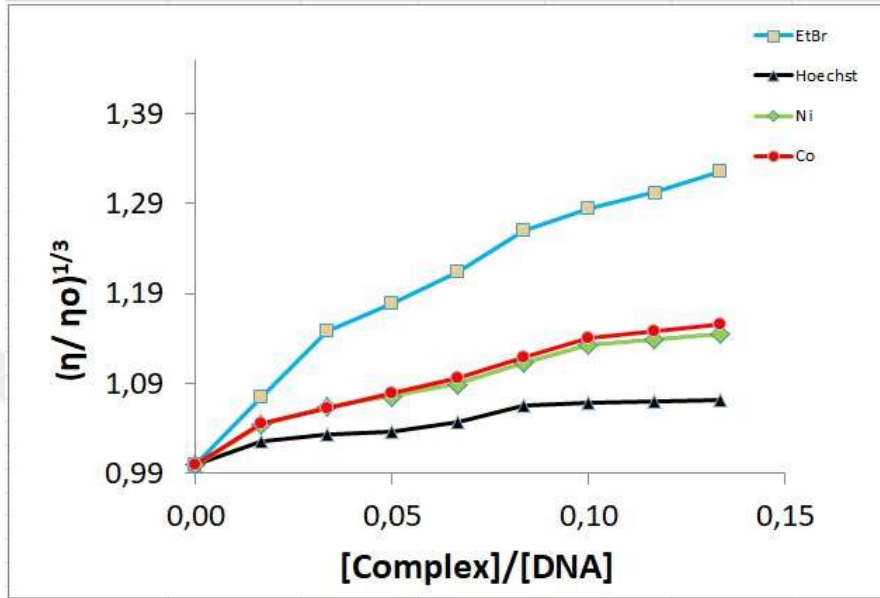
Çizelge 3.3 Farklı titrasyon sonuçlarında Nikel ve kobalt kompleksi için elde edilen bağlanma sabitleri

| Kompleks | $K_b (M^{-1})$ | $K_{sv} (M^{-1})$ | $K_{app} (M^{-1})$ |
|--------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| $[Ni(phen)_2(dppz-idzo)]^{2+}$ | $4,2 \times 10^5$ | $1,1 \times 10^4$ | $5,4 \times 10^5$ |
| $[Co(phen)_2(dppz-idzo)]^{3+}$ | $6,7 \times 10^5$ | $0,85 \times 10^4$ | $3,8 \times 10^5$ |

Çizelge 3.3'de de görüldüğü gibi UV-Vis titrasyon sonuçlarından farklı olarak nikel kompleksinin K_{sv} ve K_{app} sabitleri kobalt kompleksinin K_{sv} ve K_{app} sabitlerinden büyük olduğu görülmektedir. UV-Vis titrasyonunda DNA-Kompleks etkileşimini Van der Waals, elektrostatik ve π - π gibi etkileşimi türleri etkilediği halde luminesans ölçümlerinde bu tip etkileşimler olmaz. Bu yüzden de luminesans değişimlerinde büyük bir değişimlikler gözlenilmemektedir, bu yüzden K_{sv} 'i büyük olan komplekslerde K_{app} 'ın büyük olma olasılığı fazladır [52].

3.2.3 Viskozite Sonuçları

Viskozite çalışmaları maddelerin DNA'ya bağlanma türünün belirlenmesinde kullanılan çok önemli ve basit hidrodinamik çalışmalardır. Bir kompleks DNA ile interkalasyon yolu ile etkileştiğinde DNA zincirinin boyunu uzar ve bu da DNA'nın viskozitesini artırır.



Şekil 3.30 DNA çözeltisinin (100 µM) artan EtBr, $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ ve $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ miktarıyla vizkozite değişimi

Şekil 3.30'da $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ ve $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ komplekslerinin ve interkalasyon yaptığı kesin olarak bilinen EtBr'ün, aynı zamanda da DNA'ya oyuk üzerinden bağlanan Hoechst 33258 molekülünün DNA vizkozitesi üzerine etkisi görülmektedir. 100µM DNA çözeltisi olan ortama eklenen EtBr ve metal kompleksleri DNA viskozitesini artırmıştır. Bu uzama artan $[\text{EtBr}]:[\text{DNA}]$, $[\text{Ni}]:[\text{DNA}]$ ve $[\text{Co}]:[\text{DNA}]$ oranına bağlı olarak daha da artmaktadır.

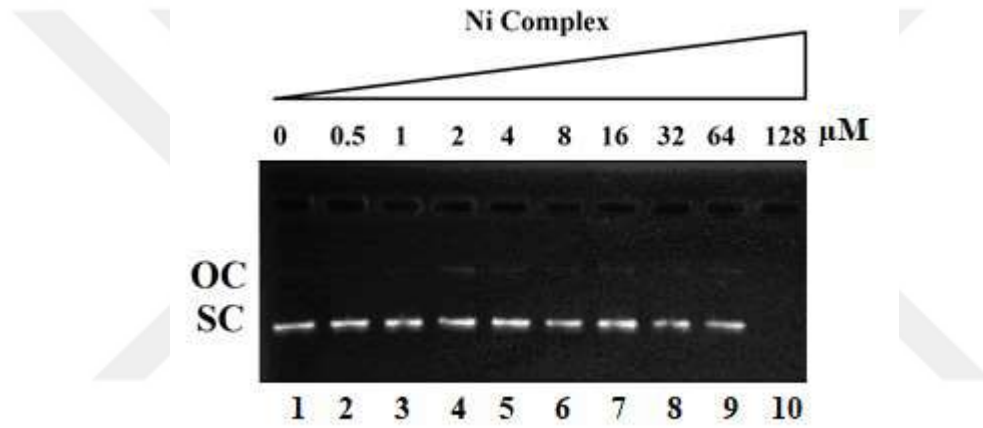
EtBr molekülü DNA'nın baz çiftleri arasına girerek DNA sarmalının boyunu uzattır ve bu yolla DNA viskozitesini artır. Hoechst 33258 ise DNA'ya oyuk üzerinden bağlanır ve DNA sarmalının viskozitesinde bir artışa sebep olmaz.

Viskozitedeki bu artış $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ ve $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ komplekslerinin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşim yaptığının göstergesidir.

3.2.4 Elektrophorez Sonuçları

Bu çalışmada agaroz jel elektrophorezi sentezlenen komplekslerin DNA'yı bozmaya başladığı minimum derişimi tespit etmek için kullanılmıştır. Bu amaç doğrultusunda üzerinde çalışılan metal kompleksin farklı derişimlerde zelteleri hazırlanıp her bir derişim miktarlarının DNA üzerinde etkisi araştırılmıştır.

İlk önce $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ kompleksinin plazmit DNA üzerinde etkisi incelenmiştir. Şekil 3.31'de görünen fotoğrafta kompleksin kompleks derişimi 0,5 ile 128 μM arasında değiştirilerek bir saat 38 $^\circ\text{C}$ 'ta karanlıkta inkübasyon sonrası gerçekleştirilen elektrophorez sonuçları görülmektedir.

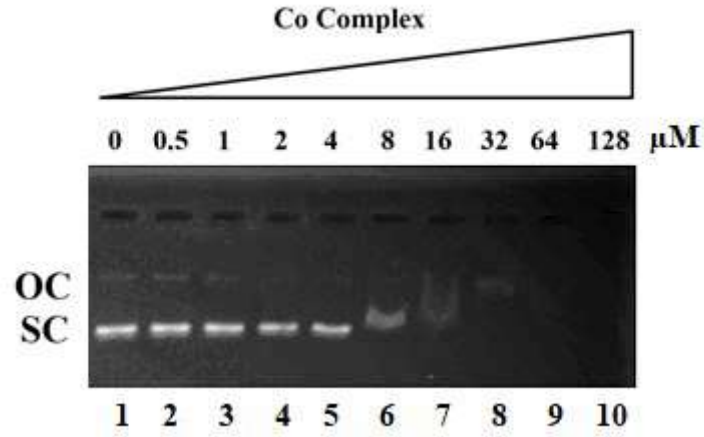


Şekil 3.31 Karanlıkta 1 saat inkübasyon sonrası $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ ait elektrophorez sonucu

Şekil 3.31'de 1 numaralı kolonda sadece plazmit DNA, 2-10 numaralı kolonlarda ise artan miktarda kompleks derişimi (0,5 ile 128 μM) içeren karışımlar görülmektedir.

Şekilde 2 numaralı kolondan yani kompleks derişimi 0,5 μM 'dan başlayarak artan miktarlarda kompleks eklenmesiyle süper sarmal DNA miktarında azalma görülmektedir. Artan kompleks miktarıyla meydana gelen bu azalma kompleksin DNA'yı bozduğuna işaret etmektedir. 10 numaralı kolonda ise artık süper sarmal DNA'nın ortamdaki kaybolduğu görülmektedir. Bu da 128 μM 'da kompleksin süper sarmal DNA'yı tamamen parladığını ve jelde grntlenemediğini göstermektedir [11].

Şekil 3.32'de $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ kompleksinin derişimi 0,5 ile 128 μM arasında değiştirilerek bir saat 38 $^\circ\text{C}$ 'ta karanlıkta inkübasyon sonrası gerçekleştirilen elektrophorez sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.32 Karanlıkta 1 saat inkübasyon sonrası $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ ait elektroforez sonucu

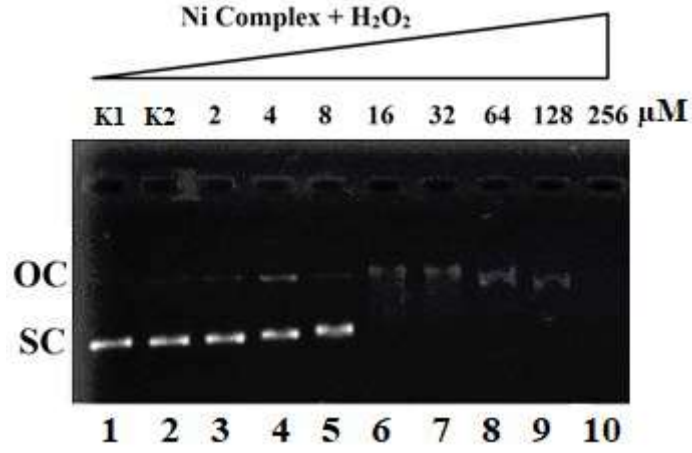
Şekil 3.32’de iki numaralı kolondan başlayarak süper sarmal DNA’nın miktarının azalmaya başladığı görülmektedir. 6 numaralı kolonda kompleks derişimi $8 \mu\text{M}$ olduğunda zaman nikel kompleksinden farklı olarak kobalt kompleksi DNA’yı parçaladığı, kompleks derişimi $64 \mu\text{M}$ olduğu zaman ise artık DNA’nın tamamen kaybolarak başka bir forma geçtiği görülmektedir [11].

İki kompleksin DNA üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında kobalt kompleksinin nikel kompleksine nazaran DNA’yı daha düşük konsantrasyonlarda bozduğunu dolayısıyla daha kuvvetli etki gösterdiğini söylenebilir.

3.2.4.1 Elektroforez Sonuçlarına Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Etkisi

Hidrojen peroksit (H_2O_2), DNA’yı parçalayabilen aktif oksijen türlerinden biridir. Nispeten stabil bir oksidan olmasına rağmen, aynı zamanda geçiş metal iyonları varlığında çeşitli reaktif kimyasallar üretme yeteneği de vardır. Hidrojen peroksitin tek değerlikli elektrona indirgenmesi, en zararlı türlerden biri olan hidroksil radikalini ($\text{HO}\bullet$) üretebilir. Üretilen hidroksil radikali ($\text{HO}\bullet$) DNA’nın yüzeyi boyunca dizilmiş deoksiriboz şekerlerine ve bazlarına saldırır ve onları bozar [107].

Şekil 3.33’da plazmit DNA ve H_2O_2 karışımının artan derişimlerde $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ kompleksi varlığında 1 saat boyunca 38°C ’ta ve karanlığa bırakılmasının ardından elde edilen elektroforez sonuçları gösterilmektedir.



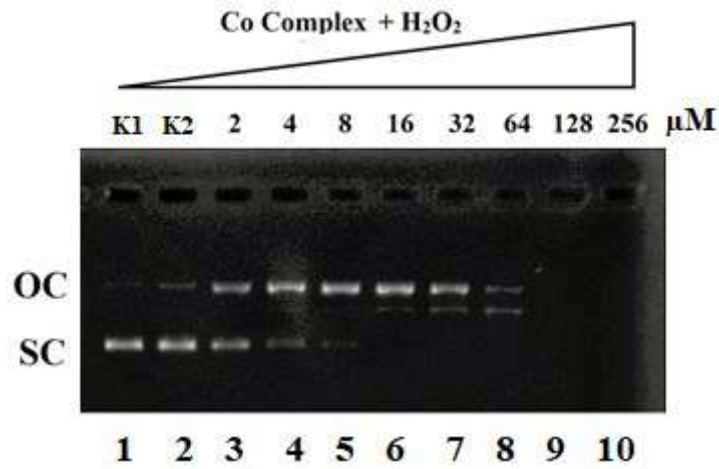
Şekil 3.33 Karanlıkta 38°C'ta $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ 'a ait elektroforez sonucu

Şekil 3.33'te 1 numaralı kolonda kontrol olarak plazmit DNA, ikinci kolonda ise yine kontrol olarak plazmit DNA + H_2O_2 , 3-10 numaralı kolonlarda ise H_2O_2 ve artan miktarda kompleks (2-256 μM) karışımların plazmit DNA'ya etkisi gösterilmektedir.

H_2O_2 ortamında kompleks derişiminin 16 μM 'a ulaştığı 6. kolonda süper sarmal DNA'nın bozularak lineer form DNA'ya dönüştüğü, 256 μM derişimde ise tamamen kaybolduğu görülmüştür.

Aynı kompleks:DNA sistemini $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ uyguladığında Şekil 3.34'da görülen elektroforez sonuçları elde edilmiştir.

Kompleksin H_2O_2 etkisiyle 4 μM 'dan başlayarak süper sarmal DNA'nın bozulduğu, 16 μM 'dan daha yüksek konsantrasyonlarda DNA yeni form'a geçtiği ve 9 numaralı kolondan sonra kaybolduğu görülmektedir.



Şekil 3.34 Karanlıkta 38°C'ta $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ 'a ait elektroforez sonucu

Her iki kompleksin hidrojen peroksit ortamındaki davranışları karşılaştırıldığında, (Şekil 3.29-3.30) kobalt kompleksinin nikel kompleksine göre daha düşük derişimlerde DNA'yı bozduğu anlaşılmıştır. DNA'ya interkalasyon yapan, aynı ligand sistemine sahip kobalt komplekslerinin Nikel komplekslerine nazaran daha yüksek nükleaz aktivitesi gösterdiği birçok yayında ispat edilmiştir [86].

3.4 SONUÇ

Sonuç olarak dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin-10,11-imidazol-2 (dppz-idzo) bileşiği literatür doğrultusunda sentezlenip IR, ¹H-NMR ve ESI-MS yöntemleriyle karakterize edildi. Karaktersizasyon sonuçları literatürle desteklendi. Aynı şekilde ligandın nikel ve kobalt kompleksleri sentezlendi ve IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS metodlarıyla karakterize edildi.

Sentezlenen nikel ve kobalt komplekslerinin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyon, floresans spektrometresi, vizkozimetri ve agaroz jel elektroforez yöntemleriyle belirlendi. UV-Vis titrasyon sonucunda [Ni(phen)₂(dppz-idzo)]²⁺ ve [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ komplekslerinin bağlanma sabiti değerleri sırasıyla $4,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ve $6,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplandı.

Agaroz jel elektroforez çalışmalarında [Co(phen)₂(DPPZ-idzo)]³⁺ kompleksi [Ni(phen)₂(dppz-idzo)]²⁺ kompleksine göre daha düşük derişimlerde DNA'yı bozarak DNA ile daha kuvvetli etkileştiği görülmüştür. Aynı şekilde vizkozite çalışmalarında da [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ kompleksi bağıl viskoziteyi daha fazla artırdığı saptanmıştır.

Diğer metodların aksine yarışmalı floresans çalışmalarında [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ kompleksinin bağlanma sabiti değeri [Ni(phen)₂(dppz-idzo)]²⁺ kompleksinden daha düşük bulunmuştur. [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ kompleksinin bağlanma sabiti UV titrasyon metoduyla $6,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanırken yarışmalı floresans titrasyonu sonuçlarına göre $3,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ bulunmuştur. Bu durum DNA yarıklarında EtBr ve [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ kompleksinin aynı anda bulunduğunu göstermektedir

Sonuç olarak tüm veriler incelendiğinde her iki kompleksin de DNA'ya interkalasyon yaptığı ancak iyon yükü büyük olduğundan [Co(phen)₂(dppz-idzo)]³⁺ kompleksinin DNA'ya daha kuvvetli bağlandığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Dahm R** (2005) Friedrich Miescher and the discovery of DNA, *Developmental Biology*, 278(2): 274-288.
- [2] **Watson J D and Crick F H C** (1953) Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid, *Nature*, 171: 737.
- [3] **Koolman J and Röhm K H** (2005) *Color Atlas of Biochemistry*, Thieme, p.467
- [4] **Jeremy M Berg J L T and Lubert Stryer** (2002) *Biochemistry*, W. H. Freeman and Company, Newyork, p.1514
- [5] **Alberts B** (2003) DNA replication and recombination, *Nature*. 421: p. 431.
- [6] **Rauf S, Gooding J, Akhtar K, Ghauri A, Rahman M, Anwar A and Khalid M** (2005) Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 37(2): 205-217.
- [7] **Paul A and Bhattacharya S** (2012) Chemistry and biology of DNA-binding small molecules, *Current Science*. 102(2): 212-231.
- [8] **Chen H, Zhao Y and Guo J** (1999) Interaction of a novel red-region fluorescent probe, Nile Blue, with DNA and its application to nucleic acids assay, *Analyst*, 124: 901-906.
- [9] **Graves D E and Velea L M** (2000) Intercalative Binding of Small Molecules to Nucleic Acids, *Current Organic Chemistry*, 4(9): 915-929.
- [10] **David E G and Luminita M V** (2000) Intercalative Binding of Small Molecules to Nucleic Acids, *Current Organic Chemistry*, 4(9): 915-929.
- [11] **Coban B, Tekin I O, Sengul A, Yildiz U, Kocak I and Sevinc N** (2016) DNA studies of newly synthesized heteroleptic platinum(II) complexes $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{iip})]^{2+}$ and $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{miip})]^{2+}$, *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 21(2): 163-175.
- [12] **Nawaz H, Rauf S, Akhtar K and Khalid A M** (2006) Electrochemical DNA biosensor for the study of ciprofloxacin–DNA interaction, *Analytical Biochemistry*, 354(1): 28-34.
- [13] **Kelly J M, Tossi A B, McConnell D J and OhUigin C** (1985) A study of the interactions of some polypyridylruthenium(II) complexes with DNA using fluorescence spectroscopy, topoisomerisation and thermal denaturation, *Nucleic Acids Research*, 13(17): 6017-6034.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [14] **Mainwaring J H P, Pickering J D and Mann N H** (1982) *Nucleic Acid Biochemistry and Molecular Biology*: 557.
- [15] **Lerman L S** (1961) Structural considerations in the interaction of DNA and acridines, *Journal of Molecular Biology*, 3(1): 18-14.
- [16] **den Hartog C A, Chottard J C, Girault J P, Lallemand J Y, Leeuw A nand Reedijk J** (1982) *Nucleic Acids Res.*, 10: 4715.
- [17] **Gale E C, Reynolds P E, Richmond M H and M J Waring** (1981) *The Molecular Basis of Antibiotic Action*, 2nd edn.
- [18] **Marrington T R D, Halsall D J and Rodger A** (2004) *Biophysical Journal*, 87: 2002.
- [19] **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*, 124: 1-19.
- [20] **Yunus G, Srivastava S, Kuddus M and Gupta V D** (2013) Drug–DNA interaction: A theoretical study on the binding of thionine with DNAs of varying base composition, *Current Applied Physics*, 13(2): 322-326.
- [21] **Aleksic M M and Kapetanovic V** (2014) An overview of the optical and electrochemical methods for dedection of DNA-drug interactions, *Acta Chim. Slov*: 555-573.
- [22] **Wheate N, R Brodie C, Grant Collins J, Kemp S and Aldrich-Wright J** (2007) *DNA Intercalators in Cancer Therapy: Organic and Inorganic Drugs and Their Spectroscopic Tools of Analysis*. 7: 627-48.
- [23] **Arjmand F and Jamsheera A** (2011) DNA binding studies of new valine derived chiral complexes of tin(IV) and zirconium(IV), *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78(1): 45-51.
- [24] **Pyle A M, Rehmann J P, Meshoyrer R, Kumar C V, Turro N J and Barton J K** (1989) Mixed-ligand complexes of ruthenium(II): factors governing binding to DNA, *Journal of the American Chemical Society*, 111(8): 3051-3058.
- [25] **Jiang G B, Zheng X, Yao J H, Han B J, Li W, Wang J, Huang H L and Liu Y J** (2014) Ruthenium(II) polypyridyl complexes induce BEL-7402 cell apoptosis by ROS-mediated mitochondrial pathway, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 141: 170-179.
- [26] **Xu Z H, Chen F J, Xi P X, Liu X H and Zeng Z Z** (2008) Synthesis, characterization, and DNA-binding properties of the cobalt(II) and nickel(II) complexes with salicylaldehyde 2-phenylquinoline-4-carboylhydrazone, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 196(1): 77-83.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [27] **Seyed Mojtaba Ahmadi G D, Muhammad A H, Jafar E N D and Soheila Kashanian** (2011) Preparation, Characterization, and DNA Binding Studies of Water-Soluble Quercetin–Molybdenum(VI) Complex, *DNA and Cell Biology*, 30 (7): 517-523.
- [28] **Wu J Z and Ji L N** (1999) Synthesis and spectroscopic DNA binding studies of homoleptic and heteroleptic ruthenium(II) complexes with imidazo[4,5-f] [1,10]phenanthroline or its derivatives, *Transition Metal Chemistry*, 24(3): 299-303.
- [29] **Devi S, Thulasiram B, Satyanarayana S and Nagababu P** (2017) Analytical Techniques Used to Detect DNA Binding Modes of Ruthenium(II) Complexes with Extended Phenanthroline Ring, *Journal of Fluorescence*, 27(6): 1-12.
- [30] **Kuypers N J, James K T, Enzmann G U, Magnuson D S K and Whittemore S R** (2013) Functional consequences of ethidium bromide demyelination of the mouse ventral spinal cord, *Experimental neurology*, 247: 615-622.
- [31] **Waring M J** (1965) Complex formation between ethidium bromide and nucleic acids, *Journal of Molecular Biology*, 13(1): 269-282.
- [32] **Haribabu J, Jeyalakshmi K, Arun Y, Bhuvanesh N S P, Perumal P T and Karvembu R** (2017) Synthesis of Ni(II) complexes bearing indole-based thiosemicarbazone ligands for interaction with biomolecules and some biological applications, *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 22(4): 461-480.
- [33] **Hard T, Fan P and Kearns D R** (1990) A Fluorescence Study of The Binding of Hoechst 33258 and Dapi to Halogenated Dnas, *Photochemistry and Photobiology*, 51(1): 77-86.
- [34] **Kalanur S S, Katrahalli U and Seetharamappa J** (2009) Electrochemical studies and spectroscopic investigations on the interaction of an anticancer drug with DNA and their analytical applications, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 636(1): 93-100.
- [35] **Shahabadi N, Kashanian S and Ahmadipour Z** (2010) *DNA Binding and Gel Electrophoresis Studies of a New Silver(I) Complex Containing 2,9-Dimethyl-1,10-Phenanthroline Ligands*. Vol. 30. 187-94.
- [36] **Coban B, Yildiz U and Sengul A** (2013) Synthesis, characterization, and DNA binding of complexes [Pt(bpy)(pip)]²⁺ and [Pt(bpy)(hpip)]²⁺, *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 18(4): 461-471.
- [37] **Zhang C, Feng L and Chen Z** (2007) Synthesis and photophysical processes of a novel 1,10-phenanthroline-containing p-conjugated chromophores and Zn(II) chelated complex, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 66(4): 1204-1207.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [38] **Mansouri-Torshizi H, Saeidifar M, Divsalar A and Saboury A A** (2010) Interaction studies between a 1,10-phenanthroline adduct of palladium(II) dithiocarbamate anti-tumor complex and calf thymus DNA. A synthesis spectral and in-vitro study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 77(1): 312-318.
- [39] **Calderazzo F, Pampaloni G and Passarelli V** (2002) 1,10-Phenanthroline-5,6-dione as a building block for the synthesis of homo- and heterometallic complexes, *Inorganica Chimica Acta*, 330(1): 136-142.
- [40] **Lei Y, Shi C and Anson F C** (1996) Effects of Coordination to Transition Metals on the Hydration and Electroactivity of the Chelating Ligand 1,10-Phenanthroline-5,6-dione, *Inorganic Chemistry*, 35(10): 3044-3049.
- [41] **da Silva Miranda F, Signori A M, Vicente J, de Souza B, Priebe Jacks P, Szpoganicz B, Gonçalves N S and Neves A** (2008) Synthesis of substituted dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazines and a new heterocyclic dipyrido[3,2-f:2',3'-h]quinoxalino[2,3-b]quinoxaline, *Tetrahedron*, 64(22): 5410-5415.
- [42] **Dickeson J and Summers L** (1970) Derivatives of 1,10-Phenanthroline-5,6-quinone, *Australian Journal of Chemistry*, 23(5): 1023-1027.
- [43] **Friedman A E, Chambron J C, Sauvage J P, Turro N J and Barton J K** (1990) A molecular light switch for DNA: Ru(bpy)₂(dppz)²⁺, *Journal of the American Chemical Society*, 112(12): 4960-4962.
- [44] **Hartshorn R M and Barton J K** (1992) Novel dipyridophenazine complexes of ruthenium(II): exploring luminescent reporters of DNA, *Journal of the American Chemical Society*, 114(15): 5919-5925.
- [45] **Stoeffler H D, Thornton N B, Temkin S L and Schanze K S** (1995) Unusual Photophysics of a Rhenium(I) Dipyridophenazine Complex in Homogeneous Solution and Bound to DNA, *Journal of the American Chemical Society*, 117(27): 7119-7128.
- [46] **Yam V W W, Lo K K W, Cheung K K and Kong R Y C** (1995) Synthesis, photophysical properties and DNA binding studies of novel luminescent rhenium(I) complexes. X-Ray crystal structure of [Re(dppn)(CO)₃(py)](OTf), *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (11): 1191-1193.
- [47] **Arounaguiri S and Maiya B G** (1996) Dipyridophenazine Complexes of Cobalt(III) and Nickel(II): DNA-Binding and Photocleavage Studies, *Inorganic Chemistry*, 35(14): 4267-4270.
- [48] **Kato M K, Yano C S and Kimura M** (1998) Two-Dimensional Stacking of Dichloro(dipyridophenazine)platinum(II), *Acta Crystallographica Section C*, 54(5): 621-623.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [49] Maruyama K, Mishima Y, Minagawa K and Motonaka J (2001) Electrochemical and DNA-binding properties of dipyridophenazine complexes of osmium(II), *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 510(1): 96-102.
- [50] Navarro M, Cisneros-Fajardo E J, Fernandez-Mestre M, Arrieché D and Marchan E (2003) Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against *Leishmania mexicana* of $[\text{Cu}(\text{dppz})_2]\text{BF}_4$, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 97(4): 364-369.
- [51] Vaidyanathan V G and Nair B U (2003) Synthesis, characterization and binding studies of chromium(III) complex containing an intercalating ligand with DNA, *Journal of inorganic biochemistry*, 95(4): 334-342.
- [52] Uma Maheswari P and Palaniandavar M (2004) DNA binding and cleavage properties of certain tetrammine ruthenium(II) complexes of modified 1,10-phenanthrolines – effect of hydrogen-bonding on DNA-binding affinity, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 98(2): 219-230.
- [53] Liu X W, Li J, Li H, Zheng K C, Chao H and Ji L N (2005) Synthesis, characterization, DNA-binding and photocleavage of complexes $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-OH-dppz})]^{2+}$ and $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-NO}_2\text{-dppz})]^{2+}$, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99(12): 2372-2380.
- [54] Mudasir, Wijaya K, Tri Wahyuni E, Yoshioka N and Inoue H (2006) Salt-dependent binding of iron(II) mixed-ligand complexes containing 1,10-phenanthroline and dipyrido[3,2-*a*:2',3'-*c*]phenazine to calf thymus DNA, *Biophysical Chemistry*, 121(1): 44-50.
- [55] Maheswari P U, Rajendiran V, Palaniandavar M, Parthasarathi R and Subramanian V (2006) Synthesis, characterization and DNA-binding properties of $\text{rac-}[\text{Ru}(5,6\text{-dmp})_2(\text{dppz})]^{2+}$ Enantiopreferential DNA binding and co-ligand promoted exciton coupling, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 100(1): 3-17.
- [56] Palanichamy K and Ontko A C (2006) Synthesis, characterization, and aqueous chemistry of cytotoxic Au(III) polypyridyl complexes, *Inorganica Chimica Acta*, 359(1): 44-52.
- [57] Cusumano M, Di Pietro M L and Giannetto A (2006) DNA Interaction of Platinum(II) Complexes with 1,10-Phenanthroline and Extended Phenanthrolines, *Inorganic Chemistry*, 45(1): 230-235.
- [58] Navarro M, Hernández C, Colmenares I, Hernández P, Fernández M, Sierraalta A and Marchán E (2007) Synthesis and characterization of $[\text{Au}(\text{dppz})_2]\text{Cl}_3$ DNA interaction studies and biological activity against *Leishmania (L) mexicana*, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101(1): 111-116.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [59] Yu H-J, Huang S-M, Li L-Y, Jia H-N, Chao H, Mao Z-W, Liu J-Z and Ji L-N (2009) Synthesis, DNA-binding and photocleavage studies of ruthenium complexes $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{mitatp})]^{2+}$ and $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{nitatp})]^{2+}$, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 103(6): 881-890.
- [60] Ashwini Kumar K, Reddy K L, Vidhisha S and Satyanarayana S (2009) Synthesis, characterization and DNA binding and photocleavage studies of $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{BDPPZ}]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{dmb})_2\text{BDPPZ}]^{2+}$ and $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{BDPPZ}]^{2+}$ complexes and their antimicrobial activity, *Applied Organometallic Chemistry*, 23(10): 409-420.
- [61] Shilpa M, Nagababu P, Kumar Y P, Latha J N L, Reddy M R, Karthikeyan K S, Gabra N and Satyanarayana S (2011) Synthesis, Characterization Luminiscence Studies and Microbial Activity of Ethylenediamine Ruthenium (II) Complexes with Dipyrindophenazine Ligands, *Journal of Fluorescence*, 21(3): 1155-1164.
- [62] Wu L, Reymer A, Persson C, Kazmierczuk K, Brown T, Lincoln P, Nordén B and Billeter M (2013) Initial DNA Interactions of the Binuclear Threading Intercalator Λ, Λ - $[\mu\text{bidppz}(\text{bipy})_4\text{Ru}_2]^{4+}$: An NMR Study with $[\text{d}(\text{CGCGAATTCGCG})]_2$, *Chemistry (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, 19(17): 5401-5410.
- [63] He X, Jin L and Tan L (2015) DNA-binding, topoisomerases I and II inhibition and in vitro cytotoxicity of ruthenium(II) polypyridyl complexes: $[\text{Ru}(\text{dppz})_2\text{L}]^{2+}$ (L=dppz-11-CO₂Me and dppz), *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 135: 101-109.
- [64] Liu X W, Shen Y M, Shu J S, Xiao Y, Zhang S B and Lu J L (2015) DNA Interaction, Photocleavage and Topoisomerase I Inhibition by Ru(II) Complex with a New Ligand Possessing Phenazine Unit, *Journal of Fluorescence*, 25(5): 1527-1535.
- [65] Deepika N, Devi C S, Kumar Y P, Reddy K L, Reddy P V, Kumar D A, Surya S S and Satyanarayana S (2016) DNA-binding, cytotoxicity, cellular uptake, apoptosis and photocleavage studies of Ru(II) complexes, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 160: 142-153.
- [66] Poulsen B C, Estalayo-Adrian S, Blasco S, Bright S A, Kelly J M, Williams D C and Gunnlaugsson T (2016) Luminescent ruthenium polypyridyl complexes with extended 'dppz' like ligands as DNA targeting binders and cellular agents, *Dalton Transactions*, 45(45): 18208-18220.
- [67] Coban B and Yildiz U (2014) DNA-Binding Studies and Antitumor Evaluation of Novel Water Soluble Organic pip and hpi Analogues, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(1): 248-262.
- [68] Phillips T, Haq I, Meijer A J H M, Adams H, Soutar I, Swanson L, Sykes M J and Thomas J A (2004) DNA Binding of an Organic dppz-Based Intercalator, *Biochemistry*, 43(43): 13657-13665.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [69] **Phillips T, Rajput C, Twyman L, Haq I and Thomas J A** (2005) Water-soluble organic dppz analogues-tuning DNA binding affinities, luminescence, and photo-redox properties, *Chemical Communications*, (34): 4327-4329.
- [70] **Elmes R B P, Erby M, Cloonan S M, Quinn S J, Williams D C and Gunnlaugsson T** (2011) Quaternarized pdppz: synthesis, DNA-binding and biological studies of a novel dppz derivative that causes cellular death upon light irradiation, *Chemical Communications*, 47(2): 686-688.
- [71] **Sigman D S** (1986) Nuclease activity of 1,10-phenanthroline-copper ion, *Accounts of Chemical Research*, 19(6): 180-186.
- [72] **Nordell P and Lincoln P** (2005) Mechanism of DNA threading intercalation of binuclear Ru complexes: Uni- or bimolecular pathways depending on ligand structure and binding density, *Journal of the American Chemical Society*, 127(27): 9670-9671.
- [73] **Ang W H and Dyson P J** (2006) Classical and Non-Classical Ruthenium-Based Anticancer Drugs: Towards Targeted Chemotherapy, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2006(20): 4003-4018.
- [74] **Barone G, Terenzi A, Lauria A, Almerico A M, Leal J M, Busto N and García B** (2013) DNA-binding of nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes: Structure–affinity relationships, *Coordination Chemistry Reviews*, 257(19): 2848-2862.
- [75] **Chitrapriya N, Mahalingam V, Zeller M and Natarajan K** (2010) Synthesis, characterization, crystal structures and DNA binding studies of nickel(II) hydrazone complexes, *Inorganica Chimica Acta*, 363(14): 3685-3693.
- [76] **Shamsi M, Yadav S and Arjmand F** (2014) Synthesis and characterization of new transition metal {Cu(II), Ni(II) and Co(II)} 1-phenylalanine–DACH conjugate complexes: In vitro DNA binding, cleavage and molecular docking studies, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 136: 1-11.
- [77] **Tan J, Zhu L and Wang B** (2010) From GC-rich DNA binding to the repression of survivin gene for quercetin nickel (II) complex: implications for cancer therapy, *BioMetals*, 23(6): 1075-1084.
- [78] **Sastry M and Patel D J** (1993) Solution structure of the mithramycin dimer-DNA complex, *Biochemistry*, 32(26): 6588-6604.
- [79] **Vaidyanathan V G and Nair B U** (2003) Photooxidation of DNA by a cobalt(II) tridentate complex, *Journal of inorganic biochemistry*, 94(1-2): 121-126.
- [80] **Vaidyanathan V G and Nair B U** (2003) Oxidative cleavage of DNA by tridentate copper (II) complex, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 93(3): 271-276.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [81] **Shilpa M, Latha J N L, Gayatri Devi A, Nagarjuna A, Kumar Y P, Nagababu P and Satyanarayana S** (2011) DNA–interactions of ruthenium(II) & cobalt(III) phenanthroline and bipyridine complexes with a planar aromatic ligand 2-(2-fluoronyl)1H-imidazo[4,5-f][1,10-Phenanthroline], *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 70(1): 187-195.
- [82] **Xu H, Zheng K-C, Deng H, Lin L-J, Zhang Q-L and Ji L-N** (2003) Effects of the ancillary ligands of polypyridyl ruthenium(II) complexes on the DNA-binding behaviors, *New Journal of Chemistry*, 27(8): 1255-1263.
- [83] **Reddy M R, Reddy P V, Kumar Y P, Srishailam A, Nambigari N and Satyanarayana S** (2014) Synthesis, Characterization, DNA Binding, Light Switch “On and Off”, Docking Studies and Cytotoxicity, of Ruthenium(II) and Cobalt(III) Polypyridyl Complexes, *Journal of Fluorescence*, 24(3): 803-817.
- [84] **Sangeetha Gowda K R, Bhojya Naik H S, Vinay Kumar B, Sudhamani C N, Sudeep H V, Ravikumar Naik T R and Krishnamurthy G** (2013) Synthesis, antimicrobial, DNA-binding and photonuclease studies of Cobalt(III) and Nickel(II) Schiff base complexes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 105: 229-237.
- [85] **Sastri C V, Eswaramoorthy D, Giribabu L and Maiya B G** (2003) DNA interactions of new mixed-ligand complexes of cobalt(III) and nickel(II) that incorporate modified phenanthroline ligands, *Journal of inorganic biochemistry*, 94(1-2): 138-145.
- [86] **Prabhakara M C, Naik H S B, Krishna V and Kumaraswamy H M** (2007) Binding and Oxidative Cleavage Studies of DNA by Mixed Ligand Co(III) and Ni(II) Complexes of Quinolo [3,2-b]Benzodiazapine and 1,10-Phenanthroline, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 26(5): 459-471.
- [87] **Wang M Z, Meng Z X, Liu B L, Cai G L, Zhang C L and Wang X Y** (2005) Novel tumor chemotherapeutic agents and tumor radio-imaging agents: Potential tumor pharmaceuticals of ternary copper(II) complexes, *Inorganic Chemistry Communications*, 8(4): 368-371.
- [88] **Pradeepa S M, Bhojya Naik H S, Vinay Kumar B, Indira Priyadarsini K, Barik A and Ravikumar Naik T R** (2013) Cobalt(II), Nickel(II) and Copper(II) complexes of a tetradentate Schiff base as photosensitizers: Quantum yield of 1O_2 generation and its promising role in anti-tumor activity, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 101: 132-139.
- [89] **Yao J L, Gao X, Sun W, Shi S and Yao T M** (2013) $[Ru(bpy)_2dppz-idzo]^{2+}$: a colorimetric molecular "light switch" and powerful stabilizer for G-quadruplex DNA, *Dalton Transactions*, 42(16): 5661-5672.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [90] Yao J L, Gao X, Sun W, Fan X Z, Shi S and Yao T M (2012) A Naked-Eye On–Off–On Molecular “Light Switch” Based on a Reversible “Conformational Switch” of G-Quadruplex DNA, *Inorganic Chemistry*, 51(23): 12591-12593.
- [91] Engelhart A E (2009) Metal Ion Interactions with G-Quadruplex Structures, in Nucleic Acid-Metal Ion Interactions, *The Royal Society of Chemistry*, 118-153.
- [92] Shi S, Gao X, Huang H, Zhao J and Yao T (2015) Effect of the Ancillary Ligands on the Spectral Properties and G-Quadruplexes DNA Binding Behavior: A Combined Experimental and Theoretical Study, *a European Journal*, 21 (38): 13390-13400
- [93] Harris C M and McKenzie E D (1967) Nitrogenous chelate complexes of transition metals—III: bis-chelate complexes of nickel (II) with 1,10-phenanthroline, 2,2'-bipyridyl and analogous ligands, *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, 29(4): 1047-1068.
- [94] Pu Su Zhao L D L and Fang Fang Jian (2003) Structure of Chloro bis(1,10-phenanthroline)Cobalt(II) Complex, $[\text{Co}(\text{phen})_2(\text{Cl})(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, *Journal of the Korean Chemical Society*, 47(4): 334-338.
- [95] Funston A M, Cullinane C, Ghiggino K P, McFadyen W D, Styli S S and Tregloan P A (2005) Dipyridophenazine Complexes of Cobalt(III): DNA Photocleavage and Photobiology, *Australian Journal of Chemistry*, 58(3): 206-212.
- [96] Frodl A, Herebian D and Sheldrick W S (2002) Coligand tuning of the DNA binding properties of bioorganometallic (η^6 -arene)ruthenium(II) complexes of the type $[(\eta^6\text{-arene})\text{Ru}(\text{aminoacid})(\text{dppz})]^n+$, (dppz=dipyrido[3,2-*a*:2',3'-*c*]phenazine), $n= 1-3$, *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (19): 3664-3673.
- [97] Chen L M, Liu J, Chen J C, Tan C-P, Shi S, Zheng K C and Ji L N (2008) Synthesis, characterization, DNA-binding and spectral properties of complexes $[\text{Ru}(\text{L})_4(\text{dppz})]^{2+}$ (L=Im and MeIm), *Journal of inorganic biochemistry*, 102(2): 330-341.
- [98] Gao J, Wang Z P, Yuan C L, Jia H S and Wang K Z (2011) A Ru(II) complex with 2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1H-imidazo[4,5-*f*][1,10]phenanthroline: Synthesis, characterization, and acid–base and DNA-binding properties, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(5): 1815-1822.
- [99] Arancibia A, Leiva A M and Loeb B (2000) Synthesis and Characterization of New Ruthenium Complexes With 11-carboxy-dipyrido (3,2-*a*:2',3'-*c*)phenazine as Ligand, *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 45: 587-592.
- [100] Gajardo F and Loeb B (2011) Spectroscopic and Electrochemical Properties of a Series of Substituted Polypyridine Co(II)/Co(III) Couples and Their Potentiality as Mediators for Solar Cells *Journal of the Chilean Chemical Society*, 56: 697-701.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [101] **Zeglis B M, Pierre V C and Barton J K** (2007) Metallointercalators and Metalloinsertors, *Chemical communications (Cambridge, England)*, (44): 4565-4579.
- [102] **Prabahkara M C and Bhojya Naik H S** (2008) Binding and photocleavage of DNA by mixed ligand Co(III) and Ni(II) complexes of thiophene[2,3-b] quinoline and phenanthroline/bipyridine, *BioMetals*, 21(6): 675.
- [103] **Prabhakara M C, Basavaraju B and Naik H S B** (2007) Co(III) and Ni(II) Complexes Containing Bioactive Ligands: Synthesis, DNA Binding, and Photocleavage Studies, *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2007: 36497.
- [104] **Arounaguiri S, Easwaramoorthy D, Ashokkumar A, Dattagupta A and Maiya B G** (2000) Cobalt(III), nickel(II) and ruthenium(II) complexes of 1,10-phenanthroline family of ligands: DNA binding and photocleavage studies, *Journal of Chemical Sciences*, 112(1): 1-17.
- [105] **Tamil Selvi P, Stoeckli-Evans H and Palaniandavar M** (2005) Synthesis, structure and DNA interaction of cobalt(III) bis-complexes of 1,3-bis(2-pyridylimino)isoindoline and 1,4,7-triazacyclononane, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99(11): 2110-2118.
- [106] **Kumar C V, Barton J K and Turro N J** (1985) Photophysics of ruthenium complexes bound to double helical DNA, *Journal of the American Chemical Society*, 107(19): 5518-5523.
- [107] **Kobayashi S, Ueda K and Komano T** (1990) The Effects of Metal Ions on the DNA Damage Induced by Hydrogen Peroxide, *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(1): 69-76.

ÖZGEÇMİŞ

Bahruz ABULHASANOV 1994 yılında Azerbaycanın Masallı ilinde doğdu. İlköğretimini Masallı'da tamamladı. 2011 yılında Sumgayıt Devlet Üniversitesinde Kimya Bölümü'ne girdi ve 2015 yılında lisans eğitimini tamamladıktan sonra 2016 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalında tezli yüksek lisans eğitimine başladı.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Çaybaşı sokağı, Yağmur Evler C Blok No: 27/6

Merkez/ZONGULDAK

Tel: 05538486211

E-posta: ebulhesenli@gmail.com