

**BAZI METAL KOMPLEKSLERİNİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Ufuk YILDIZ**

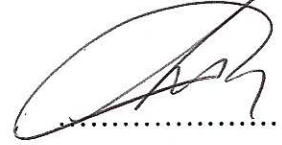
**Bülent Ecevit Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalında  
Yüksek Lisans Tezi  
Olarak Hazırlanmıştır**

**ZONGULDAK  
Haziran 2012**

**KABUL:**

Ufuk YILDIZ tarafından hazırlanan “BAZI METAL KOMPLEKSLERİNİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 19/06/2012

Başkan: Yrd. Doç. Dr. Burak ÇOBAN (BEÜ)



Üye : Doç. Dr. İshak Özel TEKİN (BEÜ)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan ÇABUK (BEÜ)



---

**ONAY:**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. .../.../2012



Prof. Dr. Özden ÖZEL GÜVEN  
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.”*

  
Ufuk YILDIZ

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BAZI METAL KOMPLEKSLERİNİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN BELİRLENMESİ

Ufuk YILDIZ

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanları:

Yrd. Doç. Dr. Burak ÇOBAN

Prof.Dr. Abdurrahman ŞENGÜL

Haziran 2012, 109 sayfa

Bu çalışmada, 1,10-fenantrolin temelli imidazol halkası içeren ligandların ve bunların platin metaliyle oluşturduğu komplekslerin sentezi ve DNA etkileşimleri üzerine çalışılmıştır.

1,10-fenantrolin-5,6-dion'dan yola çıkılarak 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin (PIP) ve 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin (HPIP) ligandları sentezlenmiştir. Bu ligandlardan (2,2'-bipiridin)(2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin)Platin(II) ([Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup>) ve (2,2'-bipiridin)(2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin)Platin(II) ([Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup>) kompleksleri elde edilmiştir. Ligandların karakterizasyonu FT-IR ve H-NMR analizi ile gerçekleştirilmiştir. Kompleksler ESI-MS ve <sup>1</sup>H-NMR yöntemleriyle karakterize edilmiştir.

## ÖZET (devam ediyor)

Komplekslerin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyonu, agaroz jel elektroforezi, florometri ve vizkozimetri metotlarıyla çalışılmıştır.  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  kompleks iyonunun UV-Vis titrasyonu göre DNA'ya diğer kompleks bileşikten daha kuvvetli bağlanmıştır. Elektroforez ve vizkozite çalışmaları da bunu desteklemektedir. Sadece florometri çalışmasında  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  kompleksinin bağlanma sabiti değeri  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{+2}$  kompleksinden daha düşük çıkmıştır.

Elde edilen sonuçlar ışığında her iki kompleksin de DNA'ya interkalasyon yaptıkları belirlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Bipiridin, Fenantrolin, Benzimidazol, DNA, İnterkalasyon.

**Bilim Kodu:** 405.05.01.

## **ABSTRACT**

**M.Sc.Thesis**

### **DETERMINATION OF DNA INTERACTIONS OF SOME METAL COMPLEXES**

**Ufuk YILDIZ**

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

**Thesis Advisors:**

**Asst.Prof. Burak ÇOBAN  
Prof.Dr. Abdurrahman ŞENGÜL**

**June 2012, 109 pages**

In this work, the synthesis of 1,10-phenanthroline based ligands bearing imidazole ring and their corresponding platinum(II) metal complexes and DNA interactions of these complexes were studied.

2-phenylimidazo[4,5-*f*][1,10]phenanthroline (PIP) and 2-(2-hydroxyphenyl)imidazo[4,5-*f*][1,10]phenanthroline (HPIP) ligands were synthesized starting from 1,10-phenanthroline-5,6-dione. (2,2'-bipyridine)2-phenylimidazo[4,5-*f*][1,10]phenanthroline)Platinum(II) ([Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup>) and (2,2'-bipyridine)2-(2-hydroxyphenyl)imidazo[4,5-*f*][1,10]phenanthroline Platinum(II) ([Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup>) complexes were obtained, respectively from the ligands. The ligands were characterized by using FT-IR and <sup>1</sup>H-NMR. The complexes were characterized by using ESI-MS and <sup>1</sup>H-NMR analysis.

## **ABSTRACT (Continued)**

DNA interactions of the complexes were determined by UV-Vis titration, agarose gel electrophoresis, fluorometer and viscosimeter methods. UV-Vis titration studies suggest that  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  interacts with DNA stronger than the other complex. Electrophoresis and viscosity studies support the UV-Vis titration results. The binding constant of  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  complex ion was found to be lower than the that of other complex in only fluorometer studies.

The results suggest that both of the complexes intercalates in DNA base pairs.

**Key Words:** Bipyridine, Phenanthroline, Benzimidazole, DNA, Intercalation.

**Science Code:** 405.05.01.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde, çalışmalarım süresince benden her türlü ilgi, bilgi birikimini teşvik ve hoşgörüsünü esirgemeyen tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Burak ÇOBAN'a (BEÜ) şükranlarımı sunar, teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım süresince her türlü laboratuvar imkânını esirgemeyen ve derin bilgileriyle aydınlatan eş-danışmanım Sayın Prof. Dr. Abdurrahman ŞENGÜL'e (BEÜ) ve tüm İnorganik Kimya çalışma grubuna teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan ve hiçbir desteğini esirgemeyen eşim Elif'e desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca maddi, manevi her konuda bana destek olan aileme çok teşekkür ederim.

Bu çalışmaya maddi kaynak sağlayan B.E.Ü Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi'ne teşekkür ederim. (Bazı Metal Komplekslerinin DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesi, 2011-10-03-06'nolu ZKÜ 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 İlaç Hedefi Olarak DNA.....	1
1.2 DNA ve Polinükleotitler.....	3
1.3 Küçük Moleküllerin DNA İle Etkileşim Yolları .....	11
1.3.1 Elektrostatik Etkileşimler Yapanlar.....	12
1.3.2 İnterkalasyon Yapan Ajanlar .....	12
1.3.3 Yarıklı Bağlayıcılar (Groove Binders).....	13
1.4 Geçiş Metal Komplekslerinin DNA İle Etkileşim Yolları .....	15
1.5 Platin Kimyasının DNA'ya Uygulanması .....	17
1.5.1 Cisplatin ve Cisplatin Türevleri .....	17
1.5.2 Pt(II) İnterkalasyon Kompleksleri .....	18
1.6 1,10-Fenantrolin Türevleri.....	20
1.7 İnterkalatör Olarak Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin Türevleri .....	22
1.8 Metal Komplekslerinin DNA İle Etkileşim Türlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler.....	28
1.8.1 UV Titrasyon Yöntemi .....	28
1.8.2 Agaroz Jel Elektroforez .....	36
1.8.3 Floresans Spektroskopisi .....	41

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
1.8.4 Vizkozimetri .....	45
1.9 Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ve Türevlerinin Sentezi .....	47
<b>BÖLÜM 2 MATERYAL ve METOD .....</b>	<b>51</b>
2.1 Materyaller.....	51
2.1.1 Çözücü ve kimyasallar .....	51
2.2 Kullanılan Cihazlar.....	52
2.2.1 Infrared Spektrofotometresi: .....	52
2.2.2 <sup>1</sup> H-NMR Spektrofotometresi .....	52
2.2.3 UV/Vis Spektrofotometresi .....	52
2.2.4 Floresans Spektrometresi: .....	52
2.2.5 ESI-MS: Tandem Gold .....	53
2.2.6 Jel Elektroforez: .....	53
2.3 Ligandların sentezi .....	53
2.3.1 1,10-fenantrolin-5,6-dion Sentezi .....	53
2.3.2 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin (PIP) Sentezi.....	54
2.3.3 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin (HPIP) Sentezi .....	54
2.4 Komplekslerin Sentezi.....	55
2.4.1 Diaqua(2,2'-bipiridin)Platin(II) Sentezi .....	55
2.4.2 [Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> Sentezi.....	55
2.4.3 [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> Sentezi.....	56
2.5 UV Titrasyonu .....	56
2.6 Agaroz Jel Elektroforez .....	60
2.7 Floresans Spektroskopisi .....	60
2.7.1 Kompleksin Floresans Değişimi .....	60
2.7.2 EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması .....	61
2.8 Vizkozite Çalışmaları .....	61
<b>BÖLÜM 3 SONUÇLAR.....</b>	<b>63</b>
3.1 Ligandların Karakterizasyonu .....	63

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.1.1 1,10-Fenantrolin-5,6-dion .....	63
3.1.2 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin.....	65
3.1.2 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin .....	69
3.2 Komplekslerin Karakterizasyonu .....	73
3.2.1 [Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> Kompleksi .....	73
3.2.2 [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> Kompleksi .....	75
3.3 Komplekslerin DNA ile Etkileşimleri .....	76
3.3.1 UV Titrasyon Sonuçları .....	76
3.3.2 Agaroz Jel Elektroforez Sonuçları .....	85
3.3.3 Floresans Spektroskopisi Sonuçları .....	88
3.3.4 EtBr ile Yarışmalı Floresans .....	90
3.3.5. Vizkozite Çalışmaları Sonuçları .....	95
3.4 SONUÇ.....	96
KAYNAKLAR.....	99
ÖZGEÇMİŞ .....	109



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>		<u>Sayfa</u>
1.1.	Anti-kanser etkili platin türevleri. ....	3
1.2.	DNA zinciri. ....	4
1.3.	DNA zincirinde bulunan azotlu bazlar. ....	4
1.4.	A-T ve G-C bazları arası tamamlayıcı hidrojen bağları. ....	5
1.5.	DNA sarmalı.....	5
1.6.	DNA konformasyonları.....	6
1.7.	– A,T açısından zengin, – G, C açısından zengin DNA'ya ait erime eğrileri.....	7
1.8.	Semikonservatif DNA replikasyonu.....	8
1.9.	DNA replikasyonu.....	9
1.10.	Gen ekspresyonu. ....	10
1.11.	m-RNA sentezi.....	10
1.12.	DNA etkileşim türleri.....	11
1.13.	Proflavin ve Etidyum bromür yapıları.....	12
1.14.	Daunomisin ve adriamisin ilaçlarının yapıları. ....	13
1.15.	Major ve Minor yarık.....	14
1.16.	Netropsin ilacının yapısı ve DNA bağlanması.....	15
1.17.	[Cu(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> ve [Pt(terpy)(SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH)] <sup>+</sup> kompleksleri.....	16
1.18.	Sırasıyla 1,10-fenantrolin, pirazino[2,3- <i>f</i> ][1,10]fenantrolin, dipirido[3,2- <i>a</i> :2',3'- <i>c</i> ]fenazin ve benzo[ <i>i</i> ]dipirido[3,2- <i>a</i> :2',3'- <i>c</i> ]fenazin yapıları.....	17
1.19.	Cisplatin-guanin H-bağı.....	18
1.20.	[Pt(bpy)(en)](ClO <sub>4</sub> ) kompleksinin yapısı.....	19
1.21.	[Pt(5,5'-Me <sub>2</sub> bpy)(4-ampyh) <sub>2</sub> ](CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> kompleksinin yapısı.....	19
1.22.	[Pt(bpy)(4-Rpy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ve [Pt(4.4'-Ph <sub>2</sub> bpy)(4-Rpy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> komplekslerinin yapısı.....	20
1.23.	Genel fenantrolin yapıları.....	20
1.24.	Tpphz ligandının molekül yapısı.....	21
1.25.	[Ru(phen) <sub>2</sub> (6-OH-dppz)] <sup>+2</sup> ve [Ru(phen) <sub>2</sub> (6-NO <sub>2</sub> -dppz)] <sup>+2</sup> komplekslerinin yapısı.....	21
1.26.	1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiğinin yapısı.....	22
1.27.	1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiğinin redoks aktif özelliği.....	22
1.28.	İmidazo[4,5- <i>f</i> ][1,10]fenantrolin yapısı.....	23

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

No	Sayfa
1.29. 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin, ve 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin yapısı .....	23
1.30. 2-(4-metilsülfonilfenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin yapısı .....	24
1.31. Farklı yan R gruplarına sahip 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin .....	24
1.32. Meta ve para pozisyonda amin grubu içeren 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin türevleri.....	25
1.33. 2-(4-benziloksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin yapısı .....	26
1.34. 2-(4-(9H-karbazol-9-il)fenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin yapısı .....	27
1.35. 2-(pirazin-2-il)-imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin yapısı .....	27
1.36. 2-(5-R-furan-2-il)-imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin yapısı .....	27
1.37. a) DNA miktarı sabit tutularak, b) kompleks miktarı sabit tutularak yapılan titrasyona örnek spektrumlar .....	29
1.39. Bağlanma sabiti belirlenmesinde çizilen örnek grafik .....	31
1.40. Chao ve arkadaşları tarafından incelenen kompleksler sırasıyla $[Ru(tpy)(dppt)]^{+2}$ , $[Ru(tpy)(pta)]^{+2}$ , $[Ru(tpy)(ptp)]^{+2}$ .....	32
1.41. a) $[Ru(tpy)(dppt)]^{2+}$ , b) $[Ru(tpy)(pta)]^{2+}$ , c) $[Ru(tpy)(ptp)]^{2+}$ komplekslerinin artan DNA derişimleriyle UV titrasyonu sonucu elde edilen absorpsiyon spektrumları. ....	33
1.42. Garcigenrin molekülünün artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişim	34
1.43. Garcigenrin ve quercetin moleküllerinin yapısı .....	35
1.44. $[Ru(bpy)_2(ITAP)](ClO_4)_2$ ve $[Ru(phen)_2(ITAP)](ClO_4)_2$ komplekslerinin yapıları.....	35
1.45. Jel elektroforez metodunda farklı büyüklükteki moleküllerin hareketi .....	36
1.46. Plazmid DNA .....	37
1.47. Plazmid DNA formlarına göre göç hızları .....	38
1.48. Açık sarmal-süper sarmal plazmid DNA geçişi .....	38
1.49. pUC19 plazmid DNA .....	39
1.50. Sırasıyla $[Ni(phen)_2(dppz)]^{+2}$ , $[Ni(phen)_2(dpqc)]^{+2}$ , $[Ni(phen)_2(dpq)]^{+2}$ , ve $[Ni(phen)_3]^{+2}$ komplekslerinin yapısı .....	40
1.51. a) $[Ni(phen)_2(dppz)]^{+2}$ , b) $[Ni(phen)_2(dpqc)]^{+2}$ , c) $[Ni(phen)_2(dpq)]^{+2}$ , d) $[Ni(phen)_3]^{+2}$ kompleksleri için elektroforez sonuçları. ....	41
1.52. $[Ru(tbz)_2(dppz)]^{2+}$ kompleksinin molekül yapısı. ....	42
1.53. $[Ru(tbz)_2(dppz)]^{2+}$ kompleksinin değişen DNA miktarıyla titrasyonu sonucu elde edilen emisyon spektrumu. ....	43

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>		<u>Sayfa</u>
1.54.	EtBr molekül yapısı.....	43
1.55.	[Ru(bpy) <sub>2</sub> (nfip)] <sup>2+</sup> kompleksinin molekül yapısı.....	44
1.56.	EtBr-DNA karışımının değişen [Ru(bpy) <sub>2</sub> (nfip)] <sup>2+</sup> miktarıyla titrasyonu sonucu elde edilen emisyon spektrumu.....	44
1.57.	EtBr için örnek vizkozimetrik titrasyon grafiği.....	45
1.58.	Ubbelohde vizkozimetrisi.....	46
1.59.	[Ag(2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline) <sub>2</sub> ](NO <sub>3</sub> ) kompleksinin DNA vizkozitesine etkisi.....	47
1.60.	[Ag(2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline) <sub>2</sub> ](NO <sub>3</sub> ).....	47
1.61.	İmidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandının sentezi.....	48
1.62.	2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin sentezi.....	48
2.1.	1,10-fenantrolin-5,6-dion Sentezi.....	53
2.2.	Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin Sentezi.....	54
2.3.	2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin Sentezi.....	54
2.4.	Diaqua(2,2'-bipiridin)Platin(II) sentezi.....	55
2.5.	[Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> Sentezi.....	55
2.6.	[Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> Sentezi.....	56
3.1.	1,10-Fenantrolin-5,6-dion IR spektrumu.....	64
3.2.	2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı H-NMR spektrumu.....	65
3.3.	2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı ESI-MS spektrumu.....	67
3.4.	2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı IR spektrumu.....	68
3.5.	2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı H-NMR spektrumu.....	69
3.6.	2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı ESI-MS spektrumu.....	71
3.7.	2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı IR spektrumu.....	72
3.8.	[Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> kompleksi H-NMR spektrumu.....	73
3.9.	[Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> kompleksi kütle spektrumu.....	74
3.10.	[Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> kompleksi H-NMR spektrumu.....	75
3.11.	[Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> kompleksi kütle spektrumu.....	76
3.12.	10 µM [Pt(bpy)(PIP)] <sup>2+</sup> kompleksinin 0,5-40 µM DNA ile titrasyonundan elde edilen UV-Vis absorpsiyon Spektrumu.....	77
3.13.	10 µM [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>2+</sup> kompleksinin 0,5-20 µM DNA ile titrasyonundan elde edilen UV-Vis absorpsiyon Spektrumu.....	78



## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
3.14. Artan DNA derişimiyle [Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> kompleksinin absorbans değişimi.....	79
3.15. Artan DNA derişimiyle [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>2+</sup> kompleksinin absorbans değişimi.....	79
3.16. [Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> için [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε <sub>A</sub> - ε <sub>f</sub> ) grafiği.....	80
3.17. [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> için [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε <sub>A</sub> - ε <sub>f</sub> ) grafiği.....	79
3.18. [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> kompleksi molekül içi hidrojen bağı .....	82
3.19. 1 saat inkübasyon sonrası [Pt(bpy)(PIP)] <sup>2+</sup> ait elektroforez sonuçları.....	85
3.20. 1 saat karanlıkta ve UV ışığında tutulan [Pt(bpy)(PIP)] <sup>2+</sup> ait elektroforez sonuçları ...	86
3.21. 1 saat inkübasyon sonrası [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>2+</sup> ait elektroforez sonuçları.....	87
3.22. 1 saat karanlıkta ve UV ışığında tutulan [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> -pUC19 karışımına ait elektroforez sonuçları .....	88
3.23. [Pt(bpy)(PIP)] <sup>2+</sup> kompleksinin 0-20 mM DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu .....	89
3.24. [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>2+</sup> kompleksinin 0-20 mM DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu .....	90
3.25. 20 µM EtBr ve 100 µM sığır DNA' sı içeren çözeltisinin artan [Pt(bpy)(PIP)] <sup>2+</sup> derişimiyle elde edilen floresans spektrumu .....	91
3.26. 20 µM EtBr ve 100 µM sığır DNA' sı içeren çözeltisinin artan [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>2+</sup> derişimiyle elde edilen floresans spektrumu .....	92
3.27. [Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> kompleksinin Stern-Volmer grafiği.....	93
3.28. [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>2+</sup> kompleksinin Stern-Volmer grafiği.....	94
3.29. 600µM DNA özeltisinin artan EtBr, [Pt(bpy)(PIP)] <sup>2+</sup> ve [Pt(bpy)(HPIP)] <sup>2+</sup> miktarıyla vizkozite değişimi.....	95

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>		<u>Sayfa</u>
1.1	Bazı bilinen hastalıklar, ilaçları ve ilaçların hedef aldıkları prosesler.....	2
2.1	[Pt(bpy)(PIP)] <sup>+2</sup> kompleksi için UV-Vis titrasyon hesaplamalarında kullanılan veriler .....	58
2.2	[Pt(bpy)(HPIP)] <sup>+2</sup> kompleksi için UV-Vis titrasyon hesaplamalarında kullanılan veriler .....	59
3.1	Farklı fonksiyonel grupların 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandının bağlanma sabitine etkisi.....	80
3.2	Dppz ligandının farklı metal komplekslerinin bağlanma sabiti değerleri.....	83



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	:	santigrat derece
%T	:	geçirgenlik
g	:	gram
L	:	ligand
mL	:	mililitre
nm	:	nanometre
R	:	alkil veya aril grubu
$\lambda$	:	dalga boyu
$\nu$	:	frekans
$\pi$	:	pi bağı

## KISALTMALAR

Bpy	:	2,2'-bipiridin
EtBr	:	etidyum bromür
ESI-MS	:	elekronsprey iyonizasyonlu kütle spektrometresi
FT-IR	:	fourier transformlu infrared spektrofotometre
HPIP	:	2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin
NMR	:	nükleer manyetik rezonans
PIP	:	2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin
UV	:	ultraviyole



## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

#### 1.1 İLAÇ HEDEFİ OLARAK DNA

Yaşayan hücrelerin en önemli bileşeni olan nükleik asitler genetik bilginin saklanması ve ifadesi için gereklidir. Kimyasal olarak iki farklı türde nükleik asit bulunmaktadır: Deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA). DNA yapısında, yaşayan bir organizmanın fiziksel ve kimyasal gelişimi için gerekli olan proteinlerin sentezi sırasında kullanılan genetik bilgi bulunmaktadır. Bu bilgiler transkripsiyon ve translasyon prosesleriyle proteine dönüştürülür. Kanser dahil birçok hastalığın sebebi olan gen aktarımındaki hatalar aynı zamanda DNA'yı ilaçlar için çok iyi bir hedef haline getirmektedir. Aslında çizelge 1.1'de de bahsedildiği üzere AIDS (Regis Marty 2004), sıtma (Kwaky-Berko and Meshnick 1989, Lisgarten et al. 2002), uçuklar (Hewlett et al. 2004), hepatitler (Hewlett et al. 2004) ve mantar enfeksiyonları (De Backer and Van Dijck 2003), DNA ile etkileşerek DNA'nın fonksiyonunu kaybetmesini sağlayan ilaçlarla tedavi edilmektedir. Ne yazık ki DNA hedefli bu ilaçlar birçok toksik yan etkiyi beraberinde getirmektedir. Yan etkilerin temel sebebi kullanılan ilaçların seçiciliğinin çok düşük olması ve sağlıklı hücrelere de zarar vermesidir. Bu yan etkilerin azaltılması ilaçların DNA'ya bağlanma şekli üzerine yeni bir konu doğurmaktadır (Haq and Ladbury 2000).

Son 25 yıldır metal kompleksleri, DNA ile etkileşen maddeler olmaları ve tedavi edici yönleriyle büyük bir ilgi kaynağı olmuşlardır (Zeglis et al. 2007). Metal komplekslerinin bu özelliği; *E.coli* bakterilerinin çoğalmalarına elektrik alanının etkisinin platin elektrotlarla incelenirken tesadüfen keşfedildi. Çalışmada, *E. coli* ortamı platin elektrotlarla reaksiyon vererek hücre bölünmesini engelleyen platin komplekslerini içeren bir karışım oluşturmuşlardır. Bu durum kanser ilaçlarının karakteristik çalışma yöntemidir. Daha sonra yapılan platin türlerinin kanser aktiviteleri çalışmaları transplatinin herhangi bir etki göstermediğini ancak cisplatin türlerinin tümörler üzerinde çok büyük etkisi olduğunu

göstermiştir. Cisplatin (Şekil 1.1) ilk olarak Birleşik Devletler FDA (Yiyecek ve İlaç Yönetimi) tarafından genitouriner tümörlerin tedavisinde kullanılmıştır.

Çizelge 1.1. Bazı bilinen hastalıklar, ilaçları ve ilaçların hedef aldıkları prosesler.

Hastalık	İlaç	Hedef
AİDS	AZT	HIV virüsünün ters transkriptaz enzimini bloke eder.
SITMA	Kloroquin	DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yapar.
UÇUKLAR ve HEPATİTLER	Lamivudine ve Adefovir	Lamivudine DNA polimeraz ın DNA ya bağlanmasını engeller. Adefovir ters transkriptaz enzimini inhibe eder.
BAKTERİYEL ve MANTAR KÖKENLİ ENFEKSİYONLAR	Flucytosine ve quinolone	Flucytosine mantar DNA sentezini engeller. Quinolonlar DNA giraz ve topoizomeraz enzimlerini engeller.
KANSER	Bleomycin ve Cisplatin	Bleomycin DNA ya ait oksijenlerle radikalik tepkimeler verir ve DNA yı parçalar. Cisplatin DNA da adenin bazının N7 azotuyla kovalent bağ yaparak açılmasını engeller.

Cisplatinin antikanser aktivitesinin DNA'ya kovalent olarak bağlanarak yapısal değişimlere sebep olmasını sağlayabilme yeteneğinden ileri geldiği bilinmektedir. Cisplatin (Şekil 1.1) de DNA'ya bağlanabilmesine rağmen DNA'da yapısal bir değişiklik yapmayacak bir bağlanma tarzı seçmektedir. Ne yazık ki cisplatin tedavisinin mide bulantısı, kusma,

nörotoksitite ve nefrotoksitite gibi birçok yan etkisi bulunmaktadır. Ancak araştırmalar karboplatin (şekil-1) gibi platin türlerinin de aynı etkileşimlere sahip olduğunu ve cisplatinde görölen yan etkilerin daha yumuşak olduğunu göstermiştir.

Karboplatin                      Cisplatin                      Transplatin

şekil 1.1. Anti-kanser etkili platin türevleri.

Geçen on yılda bipiridin, terpiridin ve fenantrolin gibi düzlemsel iki- ve üç-dişli ligandlar içeren düzlemsel veya oktahedral yapıdaki komplekslerin DNA etkileşimleri büyük bir ilgi konusu olmuştur. Ru(II), Rh(III) ve Pt(II) gibi kinetikçe inert metaller içeren bu komplekslerin birçoğunun DNA ile kovalent bağ yapmadığı görölmüştür (Cusumano et al. 2005, Deshpande et al. 2009). Üç boyutlu şekillerine bağlı olarak bir veya daha fazla mekanizmayla DNA ile kovalent olmayan etkileşimlere girmektedirler. DNA ayakizi ajanlarından spesifik komplekslerin fotofiziksel ve elektrokimyasal özellikleri DNA ile yaptıkları özel etkileşimleri belirlemeye olanak vermektedir (Zeglis et al. 2007). Yeni tedavisel ve tanısal gelişmelerin ilerleyebilmesi için metal komplekslerin DNA ile yaptıkları bağlanma türleri üzerine birçok araştırma yapılmaktadır. Komplekslerin DNA ile hangi mekanizma yoluyla etkileştiğini belirleyebilmek için birçok kimyasal ve analitik yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları NMR spektroskopisi, absorpsiyon spektroskopisi, X-ray, jel elektroforez, moleküler modelleme, izotermal titrasyon kalorimetrisi ve dairesel dikroizm spektroskopisidir (Haq et al. 1995, Nordén and Kurucsev 1994, Richards and Rodger 2007, Tse and Boger 2003).

## 1.2 DNA VE POLİNÜKLEOTİTLER

Nükleik asitler kimya ile biyoloji arasındaki çizgide yer alırlar. Kimyasal özellikleri bir canlının yaşamı boyunca gerekli olan bütün bilgileri ve gereklilikleri belirlemektedir.



Nükleik asitlerin monomeri olan nükleotit kimyasal yapısında üç farklı moleküler yapıyı barındırmaktadır. Bunlar fosfat, şeker (riboz veya deoksiriboz) ve bir bazdır (pürin veya pirimidin). Nükleotitler birinin şeker grubunda bulunan 3'-karbonuyla diğerinin 5'-karbonu arasında kurulan fosfodiester bağıyla birbirlerine bağlanarak polimerik bir zincir oluştururlar (Şekil 1.2). Bu durumda polimer zincirinde ana iskelet tekrar eden fosfat ve şeker gruplarından oluşurken diğer bileşen olan baz değişiklik göstermektedir. Azotlu bazlar olarak da adlandırılan bu grup pürin ve pirimidin olmak üzere iki ana yapıda bulunur. Pürin bazları olan adenin ve guanin iki halkalı bir sistemden oluşurlar. Pirimidin bazları ise timin ve sitozin olmak üzere iki adettir ve tek halkalı bir sistem içerirler (Şekil 1.3).

Şekil 1.2. DNA zinciri.

Adenin                      Guanin                      Sitozin                      Timin

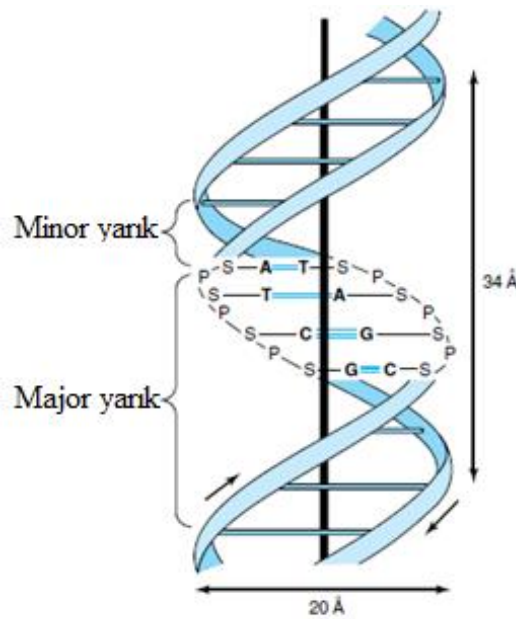
Şekil 1.3. DNA zincirinde bulunan azotlu bazlar.

1950'lerin başlarında James Watson ve Francis Crick DNA'nın bugün bilinen üç boyutlu halini X-ray çalışmalarını yorumlayarak ortaya çıkardılar (J. D. Watson 1953). Deneysel olarak bir çalışma yapmamalarına rağmen o güne kadar yapılan DNA ile ilgili çalışmaları bir araya getirip yorumlayabilmeleri sayesinde DNA yapısını doğru bir şekilde tahmin edebilmişlerdir. Bu çalışmada DNA'nın birbirine ters istikamette paralel (antiparalel) iki

karşıt zincirin birbirlerine zincirde bulunan azotlu bazların arasında yapılan hidrojen bağları sayesinde bağlandığını göstermişlerdir (Şekil 1.4).

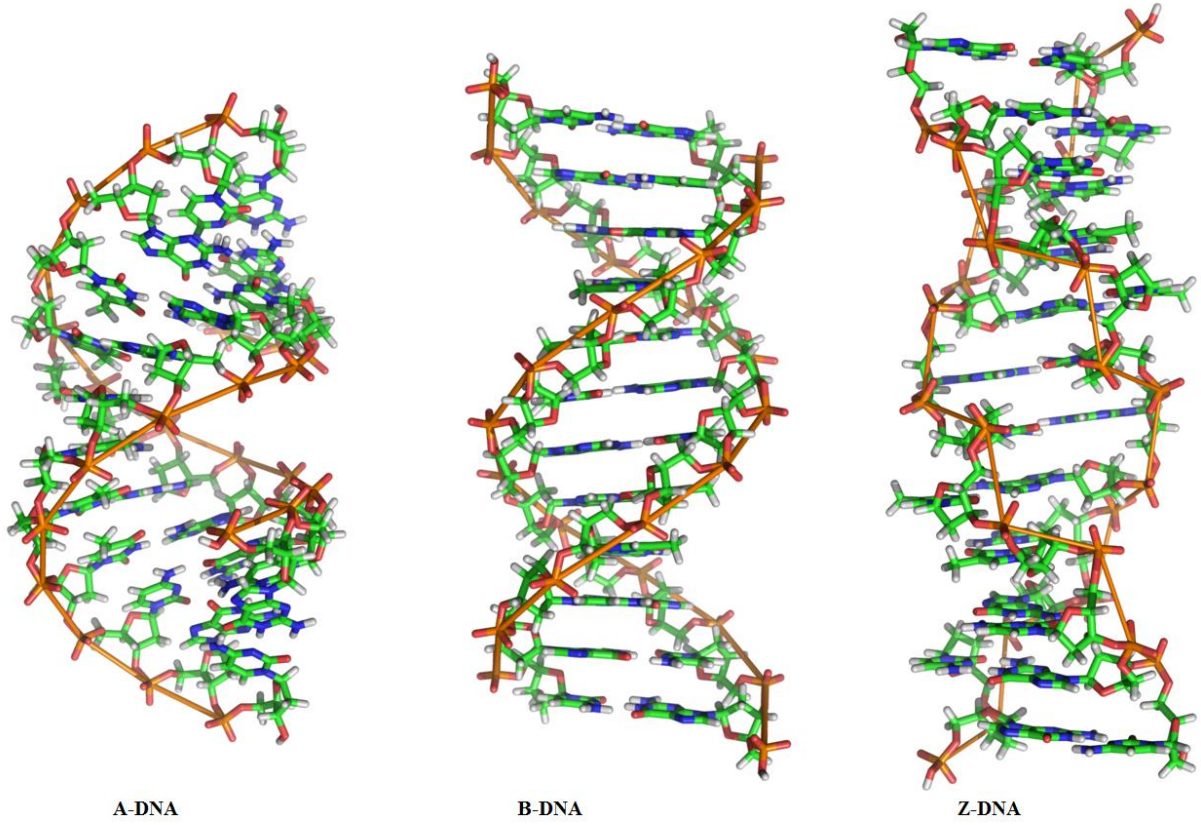
Şekil 1.4. A-T ve G-C bazları arası tamamlayıcı hidrojen bağları.

Zincirler bir çift sarmal yapısı oluştururlar. Bu yapıda iç kısımda hidrofobik bazlar birbirlerinin üzerine aralarında 0.34 nm mesafe olacak şekilde istiflenirler ve böylece sulu dış ortamdan saklı apolar bir ortam oluşur. Dış tarafta ise fosfat ve deoksiriboz şekeri bulunur. Bu yapı baz çiftlerinin merdiven gibi konumlanmaları sebebiyle kedi merdiveni olarak adlandırılır. Sarmalın çapı yaklaşık 2 nanometredir ve 10 baz çifti içeren her dönüş 3.4 nm uzunluğundadır. Bu dönüşler sırasında yapıda iki farklı boşluk oluşur (Şekil 1.5). Bunlar 12 Å büyüklüğündeki major yarıklık ve 6 Å büyüklüğündeki minor yarıktır. Aynı çalışmada Watson ve Crick baz çiftlerinin iki farklı şekilde olduğunu gözlemlemişlerdir. Adenin ve timin bazları eşleşerek bir baz çifti guanin ve sitozin eşleşerek diğer baz çiftini oluşturmaktadır. DNA'nın çift sarmal yapısının diğer bir önemli özelliği ise yapının esnek olmasıdır. Yapıdaki bu esneklik DNA'ya farklı konformasyonlarda bulunabilme olanağı sağlamaktadır (Jeremy M. Berg 1988).



Şekil 1.5. DNA sarmalı

DNA B-DNA, A-DNA ve Z-DNA olmak üzere üç farklı yapıda bulunabilir (Şekil 1.6). Watson ve Crick tarafından açıklanan DNA yapısı B-DNA özelliklerini açıklamaktadır. B-DNA'ya göre daha geniş ve daha kısa olan A-DNA'nın X-ışınları çalışmaları sırasında keşfedilmiştir. Bu yapı her bir dönüşünde 11 baz çifti içermektedir ve çapı 26 ile 29 Å arasında değişmektedir (Jeremy M. Berg 1988).



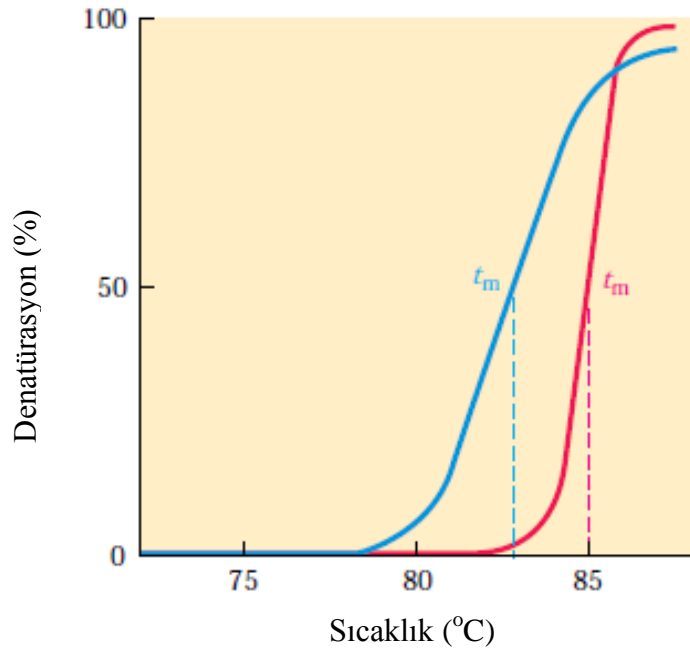
Şekil 1.6. DNA konformasyonları

Z-DNA çok radikal bir şekilde B-DNA'dan ayrılır. Bu ayrım Z-DNA'nın sola kıvrımlı olmasından ileri gelir. Her bir dönüşte 12 baz çifti yer alır ve B-DNA'ya göre daha ince ve daha uzundur. Şeker fosfat iskeleti zig zag görünümünde olduğu için bu ismi almıştır.  $Zn^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  gibi geçiş metalleriyle etkileştiklerinde B-DNA konformasyonu Z-konformasyonuna geçiş yapmaya başlar.

Çift sarmalın iki zinciri, çiftleşmiş bazların arasındaki hidrojen bağları kırıldığında birbirinden ayrılır. Bağların kırılması laboratuvarında nükleotit bazları iyonize olacak şekilde DNA sıvısının pH'ı değiştirilirse veya sıvının ısı yükseltirse gözlenebilir. Bu işlemler

sırasında fosfodiester bağları kırılmaz. DNA ısıtıldığında, sarmal yapının yarısının kaybolduğu sıcaklık erime sıcaklığı ( $T_m$ ) olarak tanımlanır. İlaç-DNA etkileşimlerinin incelenmesinde erime sıcaklığından faydalanılmaktadır. DNA'nın UV spektrumunda adenin, guanin, sitozin ve timin bazlarının tek başlarına verdikleri piklerin ortalaması olan 260 nm'deki karakteristik absorbansı izlenerek absorbans değişiminin gerçekleştiği sıcaklık gözlenerek erime sıcaklığı belirlenir.

Denatürasyon olarak adlandırılan sarmal yapının bozulması DNA'nın 260 nm'deki absorbansında yükselmeye sebep olur (Şekil 1.7). Çünkü tek zincirli DNA çift zincirli DNA'ya oranla daha yüksek absorbansa sahiptir. Guanin ile sitozin arasında üç, adenin ile timin arasında iki hidrojen bağı olduğu için yüksek miktarda A ve T içeren DNA, G ve C açısından zengin DNA'ya göre daha düşük sıcaklıkta denatüre olur (Şekil 1.7).

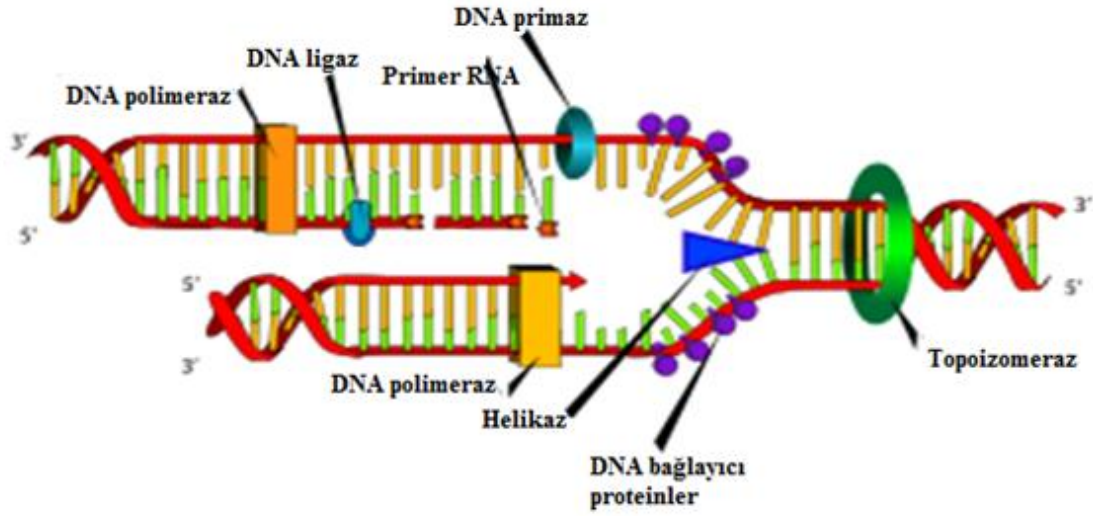


Şekil 1.7. — A,T açısından zengin, — G, C açısından zengin DNA'ya ait erime eğrileri

DNA bu şekilde açılabilmesi sayesinde kopyalanır. DNA'nın replikasyonu, DNA molekülünün, sakladığı genetik bilgilerin sonraki nesillere aktarılması için hücre bölünmesi sırasında kendi kopyasını oluşturmasıdır. DNA'yı hedef alan ilaçlar DNA'ya bağlanarak onun kararlılığını artırır ve replikasyonda görev alan bazı enzimlerin DNA'ya bağlanmasını engeller. Bu sayede replikasyon engellenir ve hücre bölünmesi önlenir. Bu teknikle birçok hastalık tedavi edilebilmiştir (Kwaky-Berko and Meshnick 1989, Lisgarten et al. 2002, Regis



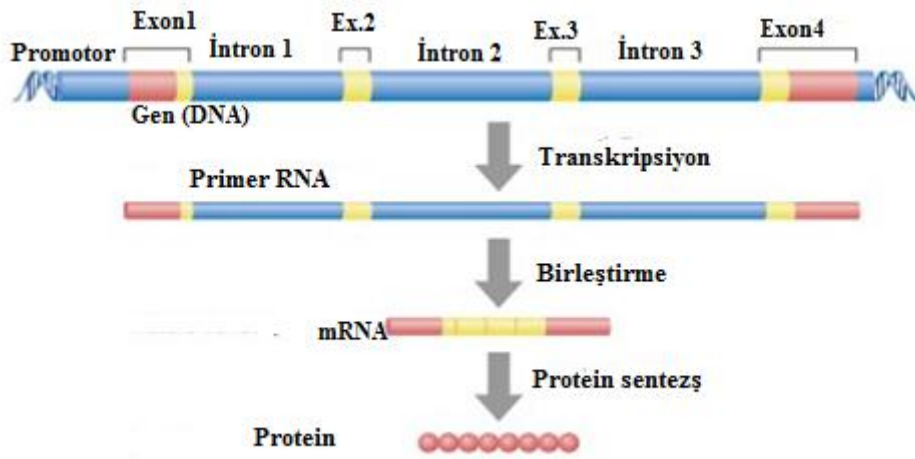
primaz aşamaları tamamlandıktan sonra DNA polimerazların etkisiyle DNA polimerizasyonu başlar ve devam eder (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. DNA replikasyonu.

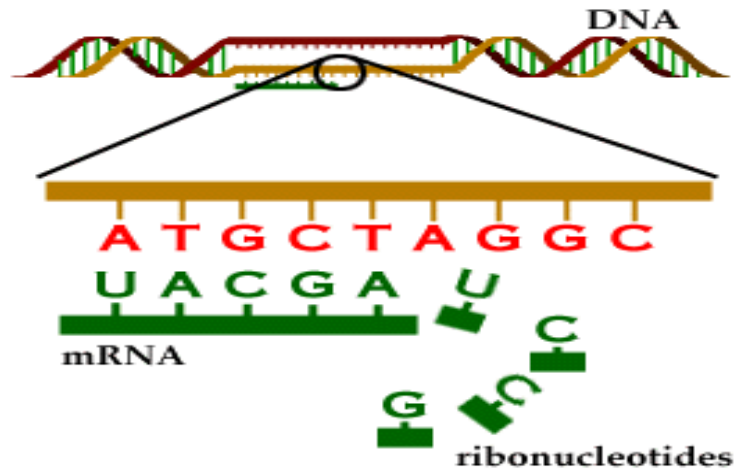
Sentez tamamlandıktan sonra DNA polimeraz I'in 5'→3' ekzonükleaz aktivitesi vasıtasıyla RNA primeri çıkarılır; *DNA ligaz*, kalan çentikleri kapatır. Yeni bir DNA şeridinin sentezi tamamlandıktan sonra DNA giraz, replike olmuş DNA'nın tekrar doğal haline kıvrılmasına yardımcı olur.

DNA'nın diğer bir işlevi ise gen ifadesidir. DNA'da saklanan genetik bilgilerin bir RNA molekülü (mRNA, tRNA, rRNA) sentezi suretiyle kopyalanması veya yazılmasına transkripsiyon adı verilir. Transkripsiyonla RNA'ya kopyalanan, bir protein molekülüne ait genetik bilgilerin okunması veya bir protein molekülü haline çevrilmesine translasyon adı verilir. Transkripsiyon ve translasyon olaylarının toplamı, gen ifadesi (gen ekspresyonu) olarak tanımlanır (Şekil 1.10).



şekil 1.10. Gen ekspresyonu.

Transkripsiyon, DNA’da saklanan genetik bilgilerin bir RNA molekülü (mRNA, tRNA, rRNA) şeklinde kopyalanması veya yazılması olayıdır (şekil 1.11). Bir RNA molekülü, DNA’nın kalıp kolunun dizilişini bütünleyici ribonükleotidlerin ATP, GTP, CTP ve UTP’tan pirofosfatlar ayrılması suretiyle polimerizasyonu sonucunda, 5’ → 3’ yönünde sentezlenir. Bir RNA molekülündeki ribonükleotidlerin dizilişi, çift kollu DNA molekülünün kalıp kol olarak anılan bir kolundaki deoksiribonükleotidlerin dizilişinin tamamlayıcısıdır.



şekil 1.11. m-RNA sentezi

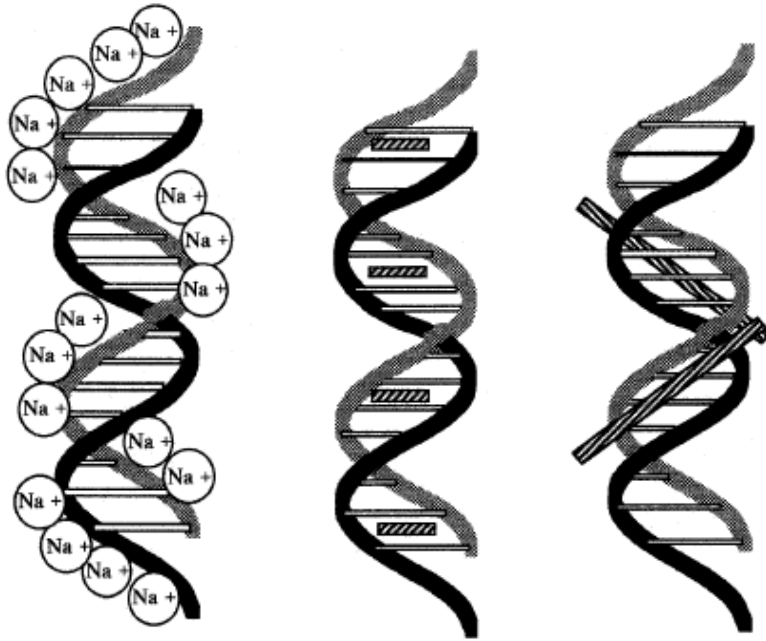
Çoğu kanser tedavisinde kullanılan bazı antibiyotikler transkripsiyonu inhibe etmektedirler. Actinomycin D, prokaryotlarda ve ökaryotlarda, guanin bağlanması üzerine etkilidir.

Daudonomycin ve distamycin A, prokaryotlarda ve ökaryotlarda, DNA üzerine etkilidirler. Rifampicin, prokaryotlarda RNA polimeraz inhibitörüdür.  $\alpha$ -amanitin, ökaryotlarda RNA polimeraz inhibitörüdür. Transkripsiyon inhibisyonunun incelenmesi ilaç-DNA etkileşimlerinin belirlenmesinde kullanılan en önemli yöntemlerdendir (Fu et al. 2003, Fu and Turro 2001).

### 1.3 KÜÇÜK MOLEKÜLLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM YOLLARI

Küçük moleküller DNA ile kovalent bağ yapmanın yanında kovalent olmayan şekilde de etkileşimde bulunurlar. Bu kovalent olmayan bağlanma türleri başlıca aşağıdaki gibi sıralanabilir (Şekil 1.12).

- i) Elektrostatik etkileşimler yapanlar
- ii) İnterkalasyon yapan ajanlar
- iii) Yarık bağlayıcılar (Groove binders)



Şekil 1.12. DNA etkileşim türleri

Moleküllerin DNA ile etkileşim mekanizmaları bu moleküllerin geometrisi ve kimyasal yapısı gibi özelliklerine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Moleküller DNA ile etkileştikleri



mekanizmaya göre boşluk bağlayıcı, interkalatör, gibi isimler alabilmektedir. Yukarıda sıralan etkileşimler aşağıda veriliş sırasına göre açıklanacaktır.

### **1.3.1 Elektrostatik Etkileşimler Yapanlar**

Elektrostatik etkileşimler dış bağlanma olarak adlandırılan DNA'nın dış yüzeyinde bulunan gruplarla yapılan etkileşimlerin neredeyse tamamını kapsamaktadır (Carrier et al. 1990). Diğer etkileşim türlerine göre daha zayıf olmasına rağmen ilaçların biyolojik aktifliklerinde önemli rol oynamaktadırlar. Elektrostatik etkileşimler DNA'nın yüklü fosfat gruplarıyla  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$  gibi pozitif yüklü metal iyonlarının etkileşmesiyle gerçekleşir ve DNA'nın kararlılığını artırır (Anastassopoulou 2003). Bu etkileşim fosfat gruplarının sahip olduğu negatif yük nötralize edilerek ortadan kaldırılabilir. DNA ile yapılan diğer etkileşim türleri de molekülde bulunan fonksiyonel grupların özelliklerine bağlı olarak elektrostatik etkileşimi bünyesinde barındırabilirler.

### **1.3.2 İnterkalasyon Yapan Ajanlar**

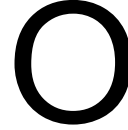
1960'ların başlarında Lerman ve arkadaşları akridin grubu boyalar varlığında (Şekil 1.13) DNA'nın fizikokimyasal davranışları konusunda önemli bir çalışma yapmışlardır (Lerman 1961). Bu çalışmada boya moleküllerinin DNA'ya bağlanarak kendilerin baz çiftleri arasına yerleştirdiklerini ve bununla DNA'yı stabilize ettiğini görmüşlerdir.

Şekil 1.13. Proflavin ve Etidyum bromür yapıları

Klasik interkalatörler kendilerini DNA baz çiftleri arasına doğru pozisyonda yerleştirebilen çok halkalı aromatik halkalardır. Aromatik interkalatörlerle DNA'nın iç kısmında bulunan yapıların hidrofobik çekme kuvvetleri bu sistemlerin kararlılığını sağlamaktadır.

İnterkalasyon esnasında küçük bir ligand DNA baz çiftleri arasına yerleşerek sabit bir sandviç benzeri yapı oluşturur. Bunun sonucunda DNA çift sarmalında vizkozimetri, dairesel dikroizm, UV titrasyon gibi yöntemlerle gözlemlenebilen yapısal değişiklikler meydana gelir (Strekowski and Wilson 2007). Molekül baz çiftleri arasında boşluk oluşturur ve sarmal yapıyı uzatır. DNA yapısındaki bu değişiklikler translasyon ve transkripsiyon gibi olağan prosesleri engeller.

Antrasiklin antibiyotikleri ailesinin en önemlileri olan daunomisin ve adriamisin (Şekil 1.14) klinik olarak kanser tedavisinde kullanılan interkalatif ajanlardandır (Frederick et al. 1990). Kanser tedavisinde geçerlilikleri kanıtlanmasına rağmen bu ilaçların çok büyük yan etkileri vardır.

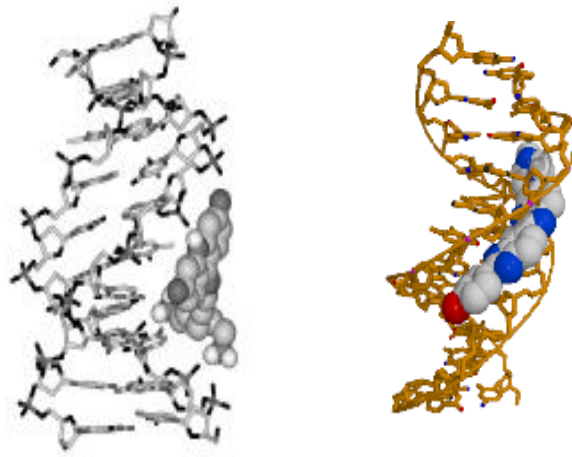


Şekil 1.14. Daunomisin ve adriamisin ilaçlarının yapıları.

Her iki ilacında yapısında birbirine birleşmiş dört halkadan oluşan bir aglikon grubu ve bir amino şekeri bulunmaktadır. Daunomisin ve adriamisin ilaçlarının DNA ile yaptıkları etkileşimde çok küçük farklılıklar vardır. Yapılan çalışmalarda aglikon grubu DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaparken amino şeker grubu diğer bir etkileşim türü olan boşluk bağlama yoluyla DNA küçük boşluğunu doldurduğu görülmüştür (Wang et al. 1987). Bu ilaçlar hidroksil grupları sayesinde DNA guanin bazında bulunan N2 ve N3 atomlarıyla hidrojen bağı yapar. Hidroksil grupları olmadan bu ilaçlar biyolojik aktivite gösterememektedir.

### 1.3.3 Yarıç Bağlayıcılar (Groove Binders)

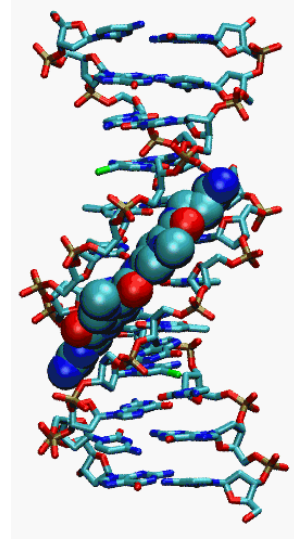
İlaçlar son yıllarda saptanan ve güçlü bir etkileşim olan yarıç bağlama yoluyla da DNA ile kovalent olmayan bağlar yaparlar. DNA'nın en geçerli formu olan B –DNA formunda sığ ve geniş bir major yarıç ve derin ve dar bir minor yarıç (Şekil 1.15) bulunmaktadır (Seanger 1984).



Şekil 1.15. Major ve Minor yarıık

DNA boşluklarına bağlanan ilaçlar gibi küçük moleküller genelde minör yarıık üzerinden etkileşime girerken protein ve oligonükleotit gibi daha uzun moleküllerin major yarıık yoluyla DNA'ya bağlandıkları görülmüştür (Bischoff and Hoffmann 2002). Bu durum her zaman böyle gelişmemektedir. Bazı çalışmalarda küçük moleküllerinde major yarıık yoluyla DNA'ya kovalent olmayan yolla bağlandıkları bilinmektedir (Kim and Nordén 1993). Bağlanmanın hangi boşluk üzerinden gerçekleşeceği boşluk ve moleköl üzerinde bulunan elektrostatik çeşitlilik ve hidrojen bağı yapabilme kapasitesine göre değişmektedir.

Minor boşluk bağlayıcı moleküller genelde birbirine amid ve vinil gruplarıyla bağı birçok heterosiklik halkaya sahip minör boşluğun şekline uygun şekle sahip moleküllerdir. Hoechst 33258, distamycin ve netropsin (Şekil 1.16) en iyi bilinen minör boşluk bağlayıcı ilaçlardandır. Bu ilaçlar ve diğer çalışmalarda incelendiğinde minör boşluk üzerinden bağlanan moleküllerin DNA üzerinde adenin ve timin bazı oranı yüksek olan bölgeleri seçtikleri anlaşılmaktadır (Neidle 1997). Minör boşluk üzerinden yapılan bağlanmalarda yapı, DNA fosfat gruplarıyla yapılan elektrostatik etkileşimler, bazlar üzerinde bulunan elektronegatif atomlar sayesinde yapılan hidrojen bağları ve Van der Waals etkileşimleri sayesinde daha stabil hale getirilmektedir.



Şekil 1.16. Netropsin ilacının yapısı ve DNA bağlanması

Boşluk bağlama yoluyla yapılan etkileşimin özellikleri bu tür etkileşimlerin DNA üzerinde interkalasyon yapan moleküller kadar bozulma yaratmadığı görülmektedir. Bu etkileşim yolu DNA üzerindeki belirgin boşlukları doldurarak enzimlerin bu bölgeler bağlanmasını engellemesi esasına dayanmaktadır.

#### 1.4 GEÇİŞ METAL KOMPLEKSLERİNİN DNA İLE ETKİLEŞİM YOLLARI

DNA ile kovalent olmayan yolla bağ yapan birçok  $d^6$  ve  $d^8$  geçiş elementi kompleksi örneği mevcuttur. Kare düzlem ve düzgün sekizyüzlü yapıda olabilen bu yapıların hepsinde merkezde metal ve etrafında DNA ile etkileşime girecek olan ligandlar bulunmaktadır.

Geçiş metallerinin DNA ile etkileşimleri üzerine ilk sayılabilecek çalışma Sigman ve grubu tarafından yapılmıştır (Sigman 1986). Bu çalışmada  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  (Şekil 1.17) molekülünün DNA minör boşluğu ile yaptığı etkileşimler incelenmiştir. Daha sonra Howe-Grant ve arkadaşları kare düzlem yapıya sahip  $[\text{Pt}(\text{terpy})(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{OH})]^+$  (Şekil 17) molekülü üzerinde çalışmış ve metal içeren interkalatörler olarak anılan molekül grubuna öncülük eden bir çalışma ortaya koymuşlardır (Bond et al. 1975).

Şekil 1.17.  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  ve  $[\text{Pt}(\text{terpy})(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{OH})]^+$  kompleksleri

Geçiş metalleri birçok bölgeden DNA'ya bağlanabilmektedir. Genellikle direkt olarak nükleotitte bulunan baza bağlanırken indirekt olarak fosfat gruplarına bağlanır. Geçiş metallerinin birçoğu DNA üzerinde bulunan pürin bazının N7 atomuyla ve pirimidin bazının N3 atomuyla kimyasal olarak etkileşir. Bu etkileşim geçiş metallerinin sahip olduğu pozitif yük sayesinde gerçekleşebilmektedir. 1970'li yıllarda cisplatinin DNA üzerine etkisi anlaşıldıktan sonra rutenyum gibi farklı geçiş metalleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda platin gibi diğer geçiş metallerinin de DNA yapısında değişikliklere yol açtıkları anlaşılmıştır (Arounaguiri et al. 2000, Chao et al. 2002, Degtyareva 2005).

Metal komplekslerinin DNA ile etkileşimlerinde kompleksin sahip olduğu ligandlarda büyük önem taşımaktadır. Ligandın sahip olduğu geometri kompleksin hangi tür bağlanma yapabileceği konusunda bilgiler verir. Ligandın sahip olduğu düzlemsellik DNA baz çiftleri arasına girebilmesine olanak sağlar ve ligand üzerinde bulunan elektronegatif atomlar sayesinde DNA'ya kovalent veya kovalent olmayan yollarla bağlanabilir.

1,10-fenantrolin temelli ligandlar birçok araştırmacı tarafından ilgi konusu olmuştur (Chao et al. 2004, Cusumano et al. 2006, Jiang and Chen 2010). Kompleks oluştururken metale iki azot üzerinden bağlanabilmesi düzlemselliği arttırmaktadır. Matteo Cusumano ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (Cusumano et al. 2006) 1,10-fenantrolin türevi 4 farklı liganda sahip platin kompleksleri üzerinde çalışmışlardır (Şekil 1.18).

Şekil 1.18. Sırasıyla 1,10-fenantrolin, pirazino[2,3-*f*][1,10]fenantrolin, dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin ve benzo[*i*]dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin yapıları

Yapılan çalışmada komplekslerin DNA ile etkileşimlerinin incelenmesinde etkin teknikler olan UV titrasyonu, dairesel dikroizm spektroskopisi, DNA erime noktası tayini ve vizkozimetri yöntemleri kullanılmıştır. Alınan sonuçlar incelendiğinde bütün komplekslerin DNA'ya interkalasyon yaptıkları anlaşılmıştır. Bu çalışmadan da anlaşılacağı gibi fenantrolin temelli ligandların DNA'ya interkalasyon yapma olasılıkları sahip oldukları düzlemsellik sayesinde artmaktadır.

## 1.5 PLATİN KİMYASININ DNA'YA UYGULANMASI

### 1.5.1 Cisplatin ve Cisplatin Türevleri

Platinin biyolojik aktivite mekanizmasının belirlenebilmesi için yıllardır birçok çalışma yapılmıştır (McGhee and von Hippel 1974). Bu çalışmanın ilgi odağı cisplatinin DNA'ya bağlanmasının DNA temelli hücrel fonksiyonları üzerine etkisi olmuştur. Genel olarak kabul gören mekanizmaya göre cisplatin pürin bazının N7 atomuna kovalent olarak bağlanmaktadır (Hathway and Kolar 1980).

Cisplatinin DNA'ya bağlanması DNA yapısını bozar (Jamieson and Lippard 1999). DNA'ya yaptığı bağ zinciri gevşetir ve doymuş derişimlerde DNA zincirinin boyunu %50'ye kadar kısaltır (Howe-Grant and Lippard 1979). Guaninin N1 atomuna yapılan bağ amino grubunun yaptığı hidrojen bağlarından birinin kaybedilmesine sebep olarak bazlar arasındaki etkileşim

bozulur (Kozelka et al. 1985). Bunun yanı sıra platinin amin grubu ile guanin bazının fosfat grubu arasında hidrojen bağı kurulur (Şekil 1.19).

### Şekil 1.19. Cisplatin-guanin H-bağı

Cisplatinin DNA'ya bağlanabilmesi ve yapısını bozması DNA'nın fonksiyonlarını yerine getirmesini engelleyebilir. Birçok DNA parçası ve enzimlerle yapılan çalışmalarda DNA sentezinin ve RNA transkripsiyonunun bloke olduğu görülmüştür (Ciccarelli et al. 1985, Corda et al. 1992, Corda et al. 1993, 1991).

Ne yazık ki cisplatinin birçok tümör hücresi üzerinde uygulanmasında engeller vardır. Birçok kanserli hücrenin cisplatine doğal olarak bağışıklığı varken diğerleride tedavi sırasında bağışıklık kazanabilmektedir. Cisplatinin çözünürlüğünün düşük olması ve yüksek toksik etkisi nedeniyle yeni platin kökenli kanser ajanlarının geliştirilmesi çalışmalarına hız kazandırmıştır.

### 1.5.2 Pt(II) İnterkalasyon Kompleksleri

Son yirmi yılda DNA ile farklı bir yolla etkileşen yeni platin kompleksleri geliştirilmiştir (Cusumano et al. 2006, Cusumano et al. 2005). Bu kompleksler cisplatine bulunan klorlar yerine aromatik azot temelli ligandlar içerirler. Bu özellik bu DNA proplarına çok farklı özellikler kazandırır. Çift sarmal DNA katyonik kompleksler ile anyonik nükleofiller arasındaki reaksiyonları engeller (Cusumano et al. 2007). Düzlemsel ligandlar ile DNA baz çiftleri arasında geri dönüşümlü bir bağ oluşur.

Çoğu etkili interkalatör platin komplekslerinde şelat olarak 2,2'-bipiridin ve benzeri yapılar kullanılır (Cusumano et al. 2005, Liu et al. 2010). [Pt(bpy)(en)](ClO<sub>4</sub>) (Şekil 1.20) gibi

aromatik olmayan ligandlar kullanıldığında DNA afinitesi etilendiamin kullanılarak sağlanmıştır (Liu et al. 1995). Çalışma sonucunda ligandın interkalasyon yaptığı anlaşılmıştır.

Şekil 1.20. [Pt(bpy)(en)](ClO<sub>4</sub>) kompleksinin yapısı.

Paladyum kompleksleriyle yapılan benzer çalışmalarda bağlanma sabiti değerleri değişen miktarlardaki aromatik halka içeren ligandlar sayesinde daha yüksek değerler almışlardır (Liu et al. 1995). Bipyridin halkasında metil süstitüent bulunması bağlanma gücünü arttırmıştır. Bu durum için ilk örnek [Pt(5,5'-Me<sub>2</sub>bpy)(4-ampyh)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Şekil 1.21) ile verilmiştir (Cusumano and Giannetto 1997). Bu kompleksin de DNA'ya interkalasyonla bağlandığı tespit edilmiştir.



Şekil 1.21. [Pt(5,5'-Me<sub>2</sub>bpy)(4-ampyh)<sub>2</sub>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> kompleksinin yapısı

Çalışılan diğer bazı kompleksler bağlanma gücünün artmasını sağlayacak daha önce bahsedilen bütün gereklilikleri yerine getirmiştir (Şekil 44) (Cusumano et al. 1998). Örneğin [Pt(bpy)(py)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> (Şekil 1.22) kompleksi DNA ile 16,2x10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> gibi bir bağlanma sabiti değeri vermektedir. Para pozisyondaki hidrojenlerin süstitüye olması ile bağlanma sabiti değerlerinde değişiklikler görülmüştür. R grubu olarak CNPy, PhPy, py, MePy, ve NH<sub>2</sub>Py kullanılması bağlanma sabiti değerini 1,5x10<sup>4</sup>'ten 116,7x10<sup>4</sup> değerlerine taşımaktadır. 4.4' -



difenil-2,2'-bipiridine (Şekil 1.22) kullanılması bağlanma sabitini  $4 \times 10^6$  dan  $140 \times 10^6$  değerlerine taşımaktadır.

Şekil 1.22.  $[\text{Pt}(\text{bpy})(4\text{-Rpy})_2](\text{PF}_6)_2$  ve  $[\text{Pt}(4,4'\text{-Ph}_2\text{bpy})(4\text{-Rpy})_2](\text{PF}_6)_2$  komplekslerinin yapısı

Yapılan bu gibi çalışmalar platin komplekslerinde ligandlardan birinin bipiridin olarak kullanılması yapıya kararlılık kazandırırken diğer ligandın değiştirilmesi kompleksin DNA afinitesi üzerine önemli etkiler göstermektedir.

## 1.6 1,10-FENANTROLİN TÜREVLERİ

Fenantrolin; Şekil 1.23’de I, II ve III ile gösterilen heterosiklik halka sistemlerini belirtmek için kullanılan isimdir. Bu heterosiklik halkalar, fenantren (IV) halka sistemindeki bir çift –CH= grubunun yerine –N= gruplarının geçmesi ile oluşur. Bu halka sistemleri 4,5-diazafenantren(I), 1,5-diazafenantren(II) ve 1,8-diazafenantren(III) olarak ifade edilir. 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. Genel olarak “Fenantrolin” adı yukarıda belirtilen üç yapının dışındaki diğer diazafenantrenleri de içermelidir.

I

II

III

IV

Şekil 1.23. Genel fenantrolin yapıları.

Joseph Bolger ve arkadaşları (Bolger et al. 1996) Tetrapirido [3, 2 – a: 2',3'- c: 3'', 2''- h: 2''', 3'''-j]fenazin (tpphz), (Şekil 1.24) ligandını sentezlemiş, bu ligandın Ru(II) ve Os(II) komplekslerinin indirgen özellik taşıdıklarını tespit etmişlerdir. Aynı komplekslerin DNA'da elektron ve proton transferi yaptığı, ligandlardaki azotların proton transferinde etkili olduğu belirtilmiştir.

Şekil 1.24. Tpphz ligandının molekül yapısı

Xue-Wen Liu ve arkadaşları (Liu et al. 2005)  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-OH-dppz})]^{+2}$  ve  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-NO}_2\text{-dppz})]^{+2}$  komplekslerini (Şekil 25) elde etmişlerdir. Aynı bileşiklerin çeşitli yöntemler kullanarak DNA etkileşimini incelemişlerdir. Aromatik halkaya bağlı fonksiyonel grubunun halkaya kazandırdığı pozitif veya negatif yükün DNA affinitesi üzerine etkisini göstermişlerdir.

Şekil 1.25.  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-OH-dppz})]^{+2}$  ve  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-NO}_2\text{-dppz})]^{+2}$  komplekslerinin yapısı

1,10-fenantrolin-5,6-dion (Şekil 1.26), organik ve biyokimyada ilginç görsel ve elektriksel özellikler gösteren maddelerin sentezinde kullanılan çok yönlü bir maddedir (Stratton and Busch 1958). 1,10-fenantrolin-5,6-dion iki işlevselliği sayesinde çok özel bir reaktivite gösterir. Kinonoid fonksiyonu sayesinde redoks aktiftir ve di-iminik azot atomlarının sayesinde bir Lewis bazı olarak davranır (Calderazzo et al. 2002).



Şekil 1.26. 1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiğinin yapısı.

1,10-fenantrolin-5,6-dion'da kinon parçası semikinona (bir radikal tür) ve iki monoelektronik adımda katekolat türüne indirgenen redoks aktif bir türdür (Şekil 1.27) (Galet et al. 2005).

Şekil 1.27. 1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiğinin redoks aktif özelliği

İmidazo[4,5-*f*]-1,10-fenantrolin ligantlarına dönüştürülmesi ve modifiye edilmesi kolaydır. Bu yüzden de yeni metal komplekslerinin sentezi büyük ilgi toplamıştır. Bu tür ligantlar düzlemseldir ve bunların büyük aromatik düzlemsel sistemlerinden DNA interkalasyon maddesi olarak oldukça çok yararlanılmıştır. Özellikle di-imin ligandlı platin kompleksleri görsel maddeler, DNA'ya interkalasyon ajanları ve güneş pili renkli maddeleri olarak geniş çapta kullanılmaktadır (Lei et al. 1996).

## 1.7 İNTERKALATÖR OLARAK FENİLİMİDAZO[4,5-*F*][1,10]FENANTROLİN TÜREVLERİ

1,10-fenantrolin temelli imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin (Şekil 1.28) türevleri DNA ile yaptıkları etkileşim sayesinde yoğun ilgi görmüşlerdir. Yapıda bulunan imidazol halkasında bulunan azotlar yapının DNA baz çiftlerinde bulunan  $\pi$  sistemi ile daha yoğun etkileşmesini sağlamışlardır.

Şekil 1.28. İmidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin yapısı

R grubunda yapılan değişiklikler ligandın DNA bağlanma sabiti değerlerinde çok önemli değişikliklere neden olmaktadır. İmidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin ligandının rutenyum ile yapılan kompleksinin DNA etkileşimi üzerine yapılan çalışmada kompleksin  $3,0 \times 10^5$  gibi bir bağlanma sabiti değeri ile DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaptığı gösterilmiştir. (Uma Maheswari and Palaniandavar 2004).

R grubu olarak fenil halkası kullanıldığında elde edilen 2-fenilimidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin ligandı (Şekil 1.29) bağlanma sabiti değerini  $4,3 \times 10^5$ 'e taşınmıştır. Burada gerçekleşen artış fenil grubunun yapının  $\pi$  sisteminin genişletmesinden kaynaklanmaktadır. Böylece yapı daha geniş bir  $\pi$  sistemine sahip olarak DNA baz çiftleri ile  $\pi$  elektronları üzerinden etkileşebilmektedir.

Şekil 1.29. 2-fenilimidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin, ve 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin yapısı

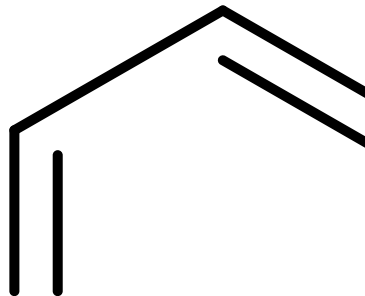
Yapıya bağlanan fenil halkasının orto pozisyonunda OH grubu bulunması ile oluşan 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin (Şekil 29) ligandı bağlanma sabiti değerini  $9,7 \times 10^5$  gibi daha yüksek değerlere çıkarmıştır. Bu artış OH grubu ile imidazol halkasındaki azot arasında gerçekleşen hidrojen bağının yapının düzlemselliğini arttırması ile gerçekleşmiştir. Yapının düzlemselliğinin artması DNA baz çiftleri arasında bulunan boşluğa daha rahat girmesini sağlamıştır.

Wang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandının fenil grubunun para pozisyonuna metilsülfonil grubu bulunduğu durumdaki 2-(4-(metilsülfonil)fenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin (Şekil 1.30) DNA etkileşimleri çalışılmıştır (Gao et al. 2011).

Şekil 1.30. 2-(4-metilsülfonilfenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin yapısı

Yapılan çalışmalarda 2-(4-(metilsülfonil)fenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı için bağlanma sabiti değeri  $4,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. Bu değer daha önce metilsülfonil grubu yerine sadece H bulunduğu durumda yapılan çalışmada bulunan değere çok yakın ancak daha düşüktür. Buradan fenil halkasına bağlı sülfonil grubunun bağlanma sabitine katkıda bulunmadığı görülmektedir. Bu durum sülfonil grubunun halkadan elektron çekmemesinden yani negatif indüktif etkisinin düşük olmasından kaynaklanmaktadır.

Liganda bulunan aromatik halkalara bağlı grupların indüktif etkisi ligandın DNA affinitesi üzerinde önemli farklar yaratmaktadır. Liu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandının fenil grubunun para fonksiyonel grubuna farklı indüktif etkilere sahip gruplar takılarak (Şekil 1.31) DNA bağlanması üzerine etkisi araştırılmıştır (Liu et al. 2008).



Şekil 1.31. Farklı yan R gruplarına sahip 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin

Nitro grubu elektron çekme gücü yani negatif indüktif etkisi en büyük gruptur. Bu grubu sırasıyla -OH ve -OMe grubu takip eder. Yapılan çalışmada bu üç grubun tıpkı indüktif sıralamasında olduğu gibi DNA bağlanma kuvveti de aynı sıralamayı göstermektedir. Nitro yan grubuna sahip kompleksin bağlanma sabiti  $1,56 \times 10^5$  değerini alırken fenol ve metoksi gruplarının bağlanma sabitleri sırasıyla  $0,2 \times 10^5$  ve  $0,69 \times 10^5$  olarak bulunmuştur. Nitro grubu halkadan daha fazla elektron çekerek halkayı aktif hale getirmektedir. Aynı şekilde -OH, -OMe, -NO<sub>2</sub> ligandlarına ek olarak -NMe<sub>2</sub>, ve -Cl gruplarının ligandın bağlanma sabitine etkisi çalışılmış ve sonuçlar beklendiği gibi çıkmıştır (Wu and Ji 1999). Cl grubu halkadan elektron çekme eğilimi -OH grubundan fazla olduğu halde -OH grubu gibi molekül içi hidrojen bağıyla molekülün düzlemselliğini ve aromatik halkanın genişliğini arttıramadığı için DNA afinitesi daha düşük bulunmuştur.

Fenil halkasına bağlı fonksiyonel grubun hangi pozisyonda bulunduğu molekülün DNA ile hangi kuvvette etkileşeceğine etki etmektedir. Yapılan bir çalışmada -NH<sub>2</sub> fonksiyonel grubunun meta ve para pozisyonlarda bulunduğu iki farklı molekül (Şekil 1.32) sentezlenmiş ve DNA etkileşimleri çalışılmıştır (Huang et al. 2010).

Şekil 1.32. Meta ve para pozisyonda amin grubu içeren 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin türevleri

Yapılan UV titrasyon çalışması sonucunda para pozisyonda amin bulduran ligandın bağlanma sabiti  $3,46 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  bulunurken meta pozisyonundaki amin bağlanma sabiti değerini  $1,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 'e düşürmektedir. Bir fenil halkasına para pozisyonda bağlı olan substitüentin indüktif etkisi halkanın aktivitesi üzerine önemli etki edebilmektedir. Genel sentez reaksiyonlarında aromatik halkaya para pozisyonda bağlı amin gibi negatif indüktif etkiye sahip gruplar meta pozisyona göre halkadan daha fazla elektron çekerek aktivitesini düşürürler. DNA çalışmalarında ise halkanın sahip olduğu pozitif yük molekülün DNA etkileşimini arttırmaktadır. Çünkü DNA sarmalının iç yüzeyi hidrofobik özellik gösterir. Molekül ne kadar pozitif yüklüyse DNA sarmalının içiyle etkileşimi o kadar yüksek olacaktır.

Buna göre para konumda amin grubu içeren kompleksin bağlanma sabiti değeri meta pozisyonda amin içeren komplekse kıyasla daha yüksek çıkmaktadır.

2-fenilimidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin ligandının para pozisyonuna daha fazla aromatik halka eklemek ligandın DNA bağlanma değerlerinde önemli değişiklikler sağlayabilmektedir. 2-fenilimidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin yapısının son fenil halkasının para pozisyonunda benziloksi grubunun bulunmasıyla madde 2-(4-benziloksifenil)imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin (Şekil 1.33) olarak adlandırılır (Tan et al. 2007).

#### Şekil 1.33. 2-(4-benziloksifenil)imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin yapısı

Benziloksi grubu varlığı molekülü fazla uzatmıştır ve ilk bakışta molekülün düzlemselliği hakkında kuşku uyandırmaktadır. Bağlanma sabiti değerleri incelendiğinde bu durum doğrulanmaktadır. Ligandın rutenyum kompleksi için bağlanma sabiti  $0,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Bu değer 2-fenilimidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin ligandının bağlanma sabiti değerinden 100 kat daha küçüktür. Bunun sebebi benziloksi grubunun ligand köküyle aynı düzlemde bulunmaması sonucu ligandın düzlemselliğinin bozulmasıdır. Düzlemsellik bozulunca ligand DNA baz çiftleri arasındaki boşluğa yerleşememiştir.

Aynı para pozisyonunda karbazol bulunmasıyla elde edilen 2-(4-(9H-karbazol-9-*l*)fenil)imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin (Şekil 1.34) ligandı ile yapılan çalışmada (Lü et al. 2006) kompleksin bağlanma sabiti değeri  $8,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Bağlanma sabiti değeri, karbazol grubunun ligandın düzlemselliğini bozmadan sağladığı  $\pi$  elektron sistemi genişlemesi sayesinde 2-fenilimidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin ligandından daha yüksek bulunmuştur.

Şekil 1.34. 2-(4-(9H-karbazol-9-il)fenil)imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin yapısı

İmidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin yapısına fenil grubu yerine pirazin grubu bulunduğunda azot grubunda bulunan eşlenmemiş elektronlar bağlanmaya pozitif etki sağlamaktadır. Eşleşmemiş elektronlar  $\pi$  istiflenmesinin kuvvetini arttırmaktadır. Yapılan çalışma sonucu 2-(pirazin-2-il)-imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin (Şekil 1.35) ligandının bağlanma sabiti  $9,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  bulunmuştur (Liu et al. 2011).

Şekil 1.35. 2-(pirazin-2-il)-imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin yapısı

2-(5-nitrofuran-2-il)-imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin (Şekil 1.36) nitrofuran halkasında barındırdığı nitro grubunun negatif indüktif etkisi sayesinde aromatik fenil halkasından daha kuvvetli bir şekilde DNA'ya bağlanmaktadır. Yapılan hesaplamalarla 2-(5-nitrofuran-2-il)-imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin için bağlanma sabiti değeri  $9,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  olarak bulunmuştur (Sun et al. 2010).

Şekil 1.36. 2-(5-R-furan-2-il)-imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin yapısı



Furan halkasında nitro grubu bulunmadığında molekülün bağlanma kuvvetinin beklendiği gibi düşmesi Pedras ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (Pedras, 2012). Nitro grubu varken bulunan  $9,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  değeri nitro grubu bulunmadığında  $3,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 'e düşmektedir. Negatif indüktif etkisi hidrojene çok yakın bir grup olan fenil halkası kullanıldığında ise fenil halkasının molekülün düzlemselliğini bozmasından dolayı bu değer  $1,6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 'e düşmektedir.

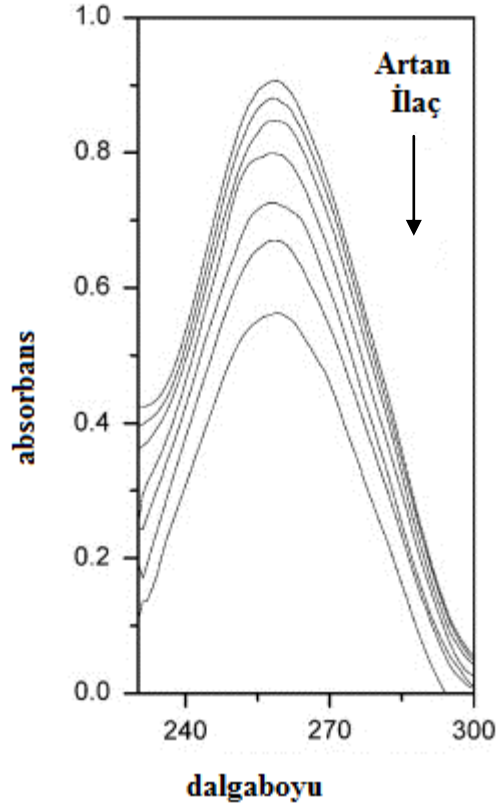
## **1.8 METAL KOMPLEKSLERİNİN DNA İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER**

Literatürlere bakıldığında DNA-metal kompleksi etkileşimlerinin incelenmesinde birçok farklı yöntemden faydalandığı görülmektedir. Bunların başlıca kullanılanları UV titrasyon yöntemi, dairesel dikroizm spektroskopisi, DNA erime noktası tayini, vizkozimetri ve agaroz jel elektroforez yöntemleridir. Aşağıda bu yöntemlerin temelleri ve DNA etkileşimlerinde ne şekilde kullanıldıkları açıklanacaktır.

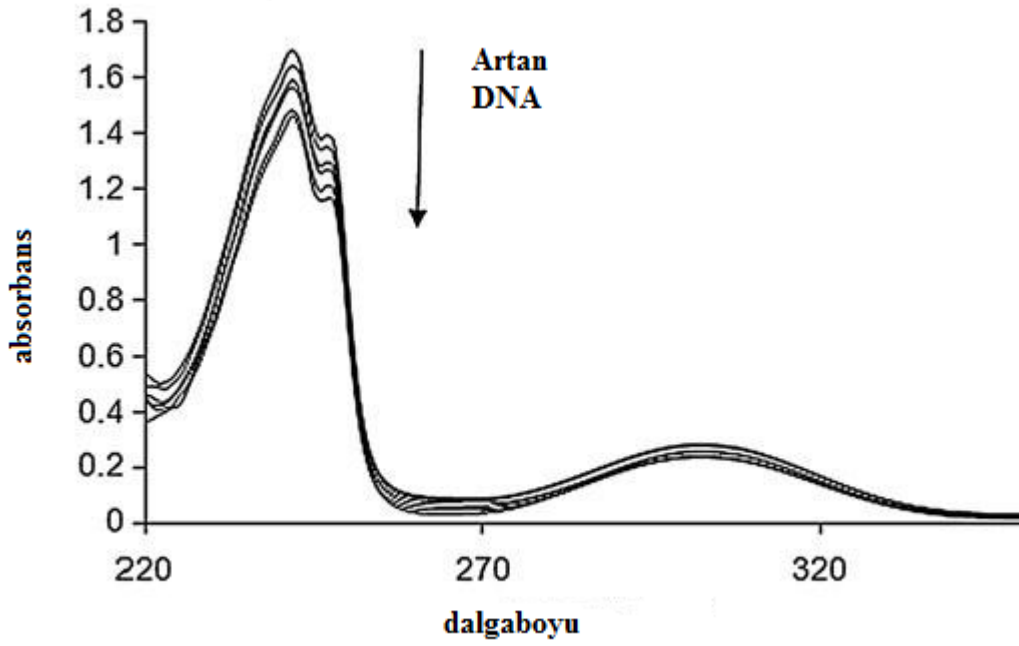
### **1.8.1 UV Titrasyon Yöntemi**

UV absorpsiyon spektroskopisi DNA etkileşimlerinin belirlenmesinde kullanılan en yaygın ve geçerli yöntemlerden birisidir (Kumar et al. 2011, Navarro et al. 2007, Sastri et al. 2003). DNA'nın sahip olduğu  $\pi$ -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.

Bu yöntem DNA veya ilaçtan herhangi birinin miktarının sabit tutularak diğerinin miktarının küçük miktarlarda artırılması ardından absorbans ölçümü yapmaya dayanır. Kullanılan genel metot ilaç miktarının sabit tutularak üzerine düzenli miktarlarda DNA eklenmesi yönündedir. Her bir eklemenden sonra ölçüm yapılarak ilaca ait spektrumda dalga boyu ve absorbanstaki değişimler gözlenir (Şekil 1.37).



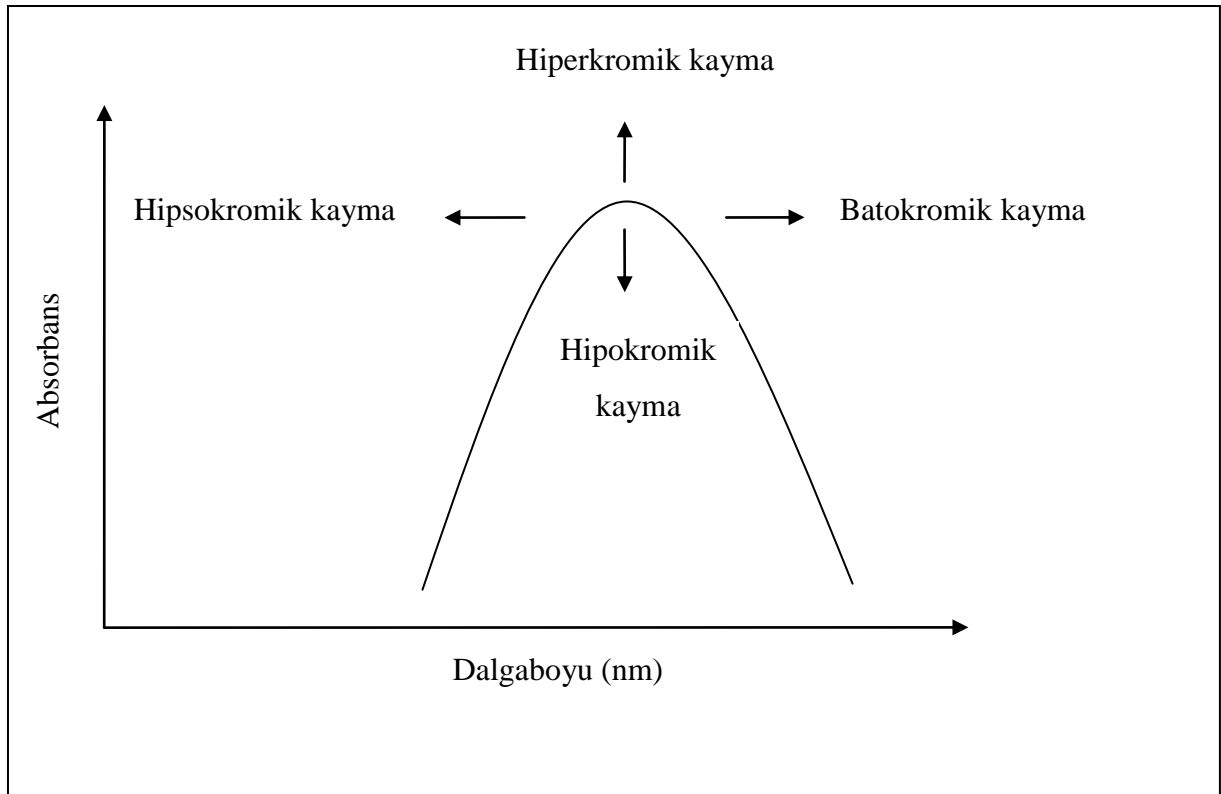
a)



b)

Şekil 1.37. a) DNA miktarı sabit tutularak, b) kompleks miktarı sabit tutularak yapılan titrasyona örnek spektrumlar

Bu spektrumlar incelenirken absorbanstaki değişimler ve absorpsiyon piklerinin görüldüğü dalga boyundaki değişimler üzerinde durulur (Şekil 1.38). Bu bilgiler etkileşim türü hakkında bilgiler verir. Maddenin DNA'ya karşı interkalasyon etkisi varsa genellikle hipokromik etki yani absorbansta azalma gözlenir. Ancak maddenin DNA ile etkileşimi elektrostatik veya kısmi interkalasyon biçiminde ise, hiperkromik etki yani absorbansta artış gözlenir. Ayrıca maksimum absorpsiyonların kırmızıya kayması (batokromizm) yani daha büyük dalga boyunda görülmesi, HOMO ve LUMO enerji seviyeleri arasındaki farkın azaldığını ve kompleksin DNA ile etkileştiğini gösterir.

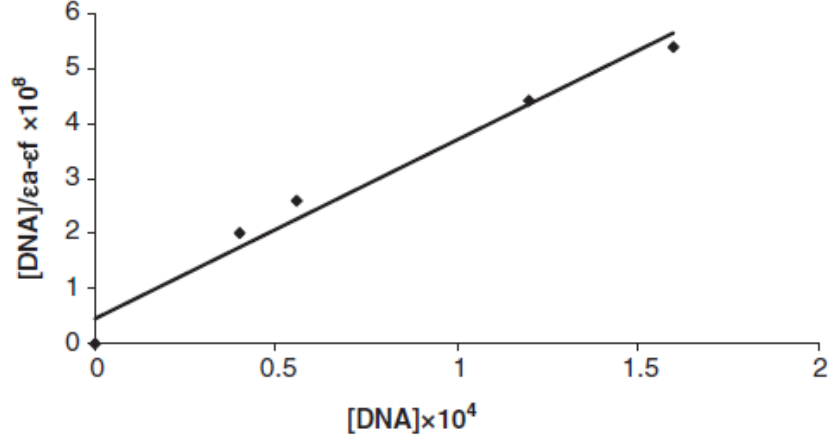


Şekil 1.38. UV spektrumunda kaymalar

Titrasyon sonucu elde edilen değerler sayesinde kompleksin DNA'ya hangi kuvvetle bağlandığını gösteren bağlanma sabiti değeri hesaplanabilmektedir. Bu sabitin hesaplanabilmesi için bir formül geliştirilmiştir (Pyle et al. 1989).

$$[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f) = [DNA]/(\epsilon_B - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_B - \epsilon_f) \quad (1.1)$$

Formülde  $\epsilon_A$ ; ölçülen konsantrasyandaki sönüm katsayısı,  $\epsilon_B$ ; DNA'ya tüm komplekslerin bağlanması sonrasındaki sönüm katsayısı ve  $\epsilon_f$ ; serbest haldeki kompleksin sönüm katsayısı olarak açıklanabilir. Burada  $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$  karşı  $[DNA]$  değerleri grafiğe geçirilir ve eğimden  $K_b$  değeri bulunur (Şekil 1.39).

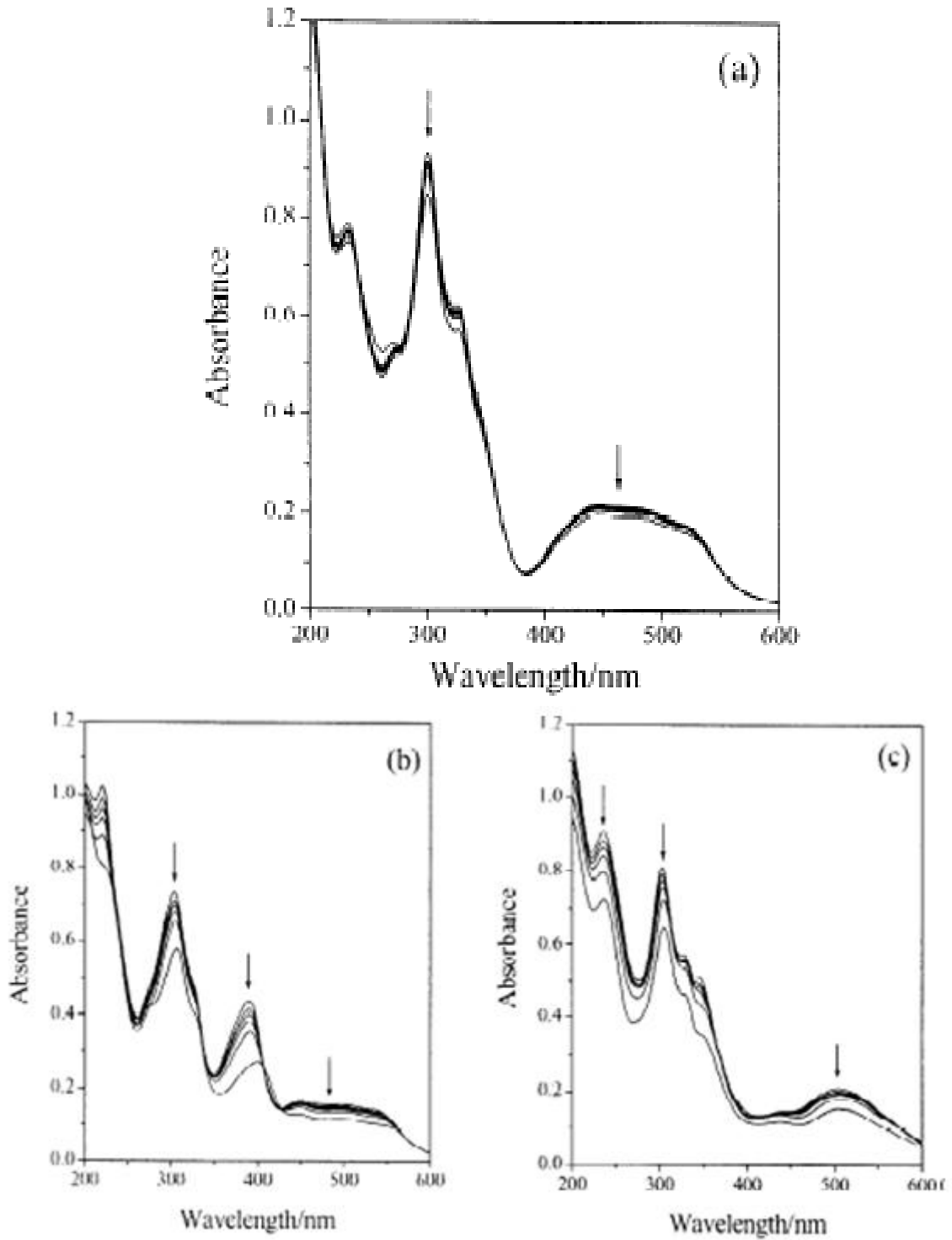


Şekil 1.39. Bağlanma sabiti belirlenmesinde çizilen örnek grafik

Bağlanma sabiti benzer ligandlara sahip metal komplekslerinin DNA'ya bağlanma kuvvetlerinin karşılaştırma olanağı vermektedir. Hui Chao ve arkadaşları yaptıkları çalışmada üç benzer liganda sahip rutenyum metal kompleksinin (Şekil 1.40) DNA etkileşimini incelemişlerdir (Chao et al. 2002).

Şekil 1.40. Chao ve arkadaşları tarafından incelenen kompleksler sırasıyla  $[\text{Ru}(\text{tpy})(\text{dppt})]^{+2}$ ,  $[\text{Ru}(\text{tpy})(\text{pta})]^{+2}$ ,  $[\text{Ru}(\text{tpy})(\text{ptp})]^{+2}$

Yapılan UV absorpsiyon titrasyonları sonucu komplekslerin metal-ligand yük transfer bantlarında komplekslerin DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaptığını gösteren hipokromizm görülmüştür (Barton et al. 1984). Aynı zamanda diğer piklerdeki hipokromizm ve batokromizm (Şekil 1.41) komplekslerin DNA'ya interkalasyon yaptığı düşüncesini desteklemektedir.

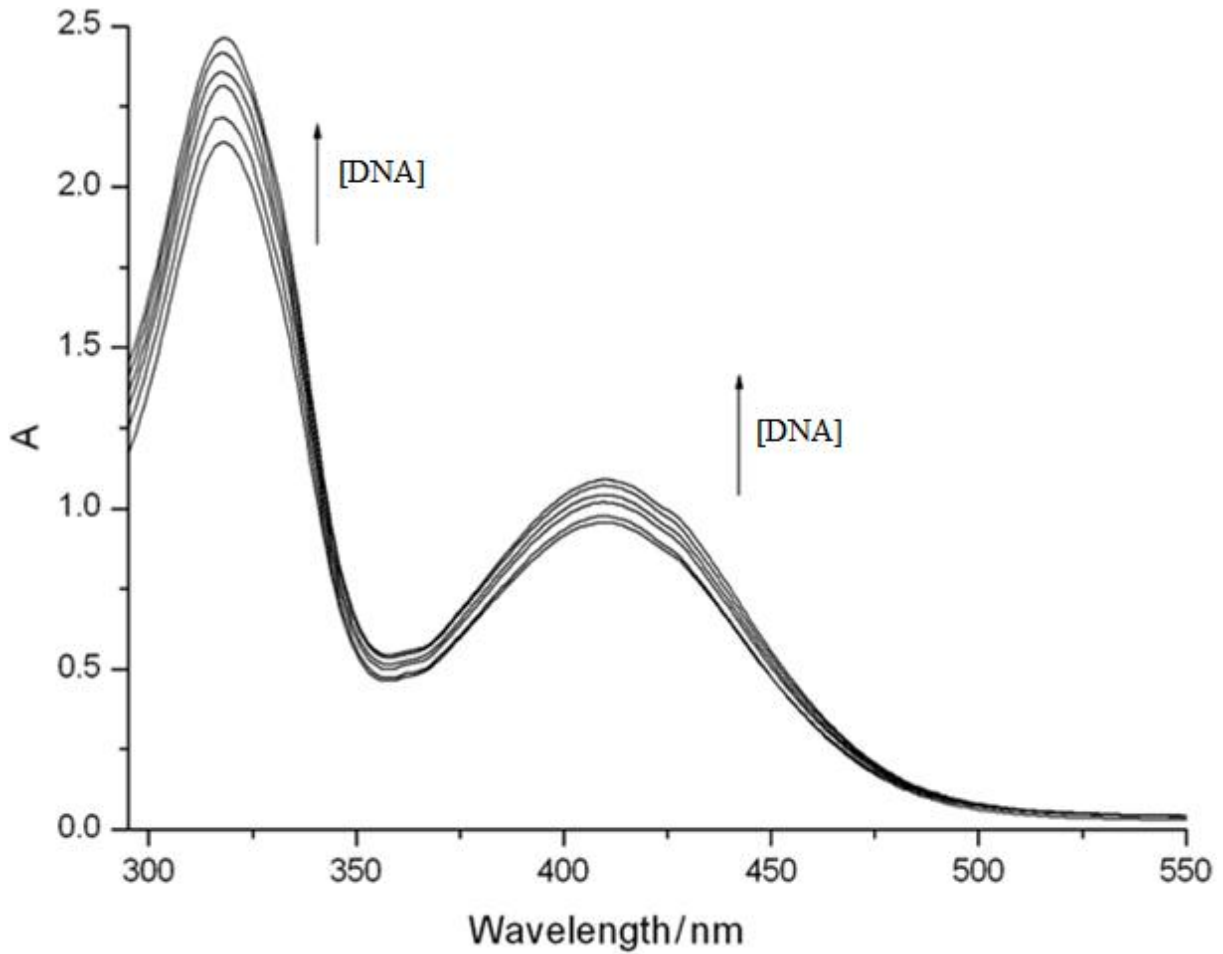


Şekil 1.41. a)  $[Ru(tpy)(dppt)]^{2+}$ , b)  $[Ru(tpy)(pta)]^{2+}$ , c)  $[Ru(tpy)(ptp)]^{2+}$  komplekslerinin artan DNA derişimleriyle UV titrasyonu sonucu elde edilen absorpsiyon spektrumları.

Bu spektrumlar üzerinden bağlanmanın kuvveti hakkında bir yorum yapabilmek için bağlanma sabitleri hesaplanmış ve en yüksek bağlanma sabiti değerine sahip olan kompleksin

düzlemselliği en fazla olan  $[\text{Ru}(\text{tpy})(\text{ptp})]^{2+}$  kompleksinin olduğu görülmüştür. Bağlanma sabiti sayesinde kompleksler karşılaştırılabilmiştir.

Diğer birçok çalışmada kompleks ve moleküllerin DNA'ya bağlanma şekilleri UV titrasyon yöntemi ile araştırılmıştır. Wu ve arkadaşlarının garcigenrin (Şekil 1.43) ile yaptıkları çalışmada UV absorpsiyon spektrumlarındaki değişiklikler yarık bağlama (groove binding) türünü işaret etmiş ve diğer yöntemlerle bu düşünce desteklenmiştir (Wu and Yang 2010).



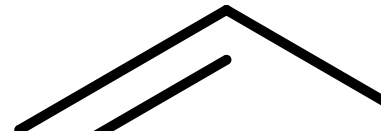
Şekil 1.42. Garcigenrin molekülünün artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişim

Garcigenrin ilacı üzerine artan miktarlarda DNA eklenmesi molekülün UV absorpsiyon spektrumunda (Şekil 1.42) hiperkromik etkiye sebep olmuştur. Daha önce bahsedildiği gibi eğer bir molekül DNA'ya yarıkları üzerinden bağlanıyorsa bu etkileşim UV spektrumunda absorbans artışı şeklinde görülür.

Gholamreza Dehghan ve arkadaşları ise çalıştıkları quercetin (Şekil 1.44) ligandına sahip bir terbiyum kompleksinin DNA etkileşimleri incelemiş ve UV spektrumunda büyük bir değişiklik olmaması etkileşimin iyonik etkilerle dışarıdan bağlanma olduğuna işaret etmiştir (Dehghan et al. 2011).

Şekil 1.43. Garcigenrin ve quercetin moleküllerinin yapısı

Yun-Jun Liu (2009) ve arkadaşları sahip oldukları yapı sayesinde interkalasyon yapma olasılıkları yüksek olan iki adet kompleks sentezlemiş ve komplekslerin DNA etkileşimlerini UV titrasyon yöntemi kullanarak incelemişlerdir (Yu et al. 2009). 20  $\mu$ M sabit kompleks çözeltisi artan miktarlarda DNA çözeltisi ile titre edilmiş ve her ekleme sonra UV ölçümü alınmıştır. Sonuçlar incelendiğinde  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ITAP})](\text{ClO}_4)_2$  (bpy = 2,2'-bipiridine, ITAP = isatino[1,2-b]-1,4,8,9-tetraazatrifenilen) (Şekil 1.45) kompleksine ait UV titrasyon grafiğinde %20,6 oranında hipokromizm görülmüştür. Bu durum kompleksin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiğinin kuvvetli bir göstergesidir. Yine aynı şekilde  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ITAP})](\text{ClO}_4)_2$  (phen = 1,10-fenantrolin, ITAP = isatino[1,2-b]-1,4,8,9-tetraazatrifenilen) (Şekil 1.44) kompleksi incelendiğinde UV titrasyon grafiğinde %28,5 gibi çok yüksek derecede hipokromizm görülmüştür.



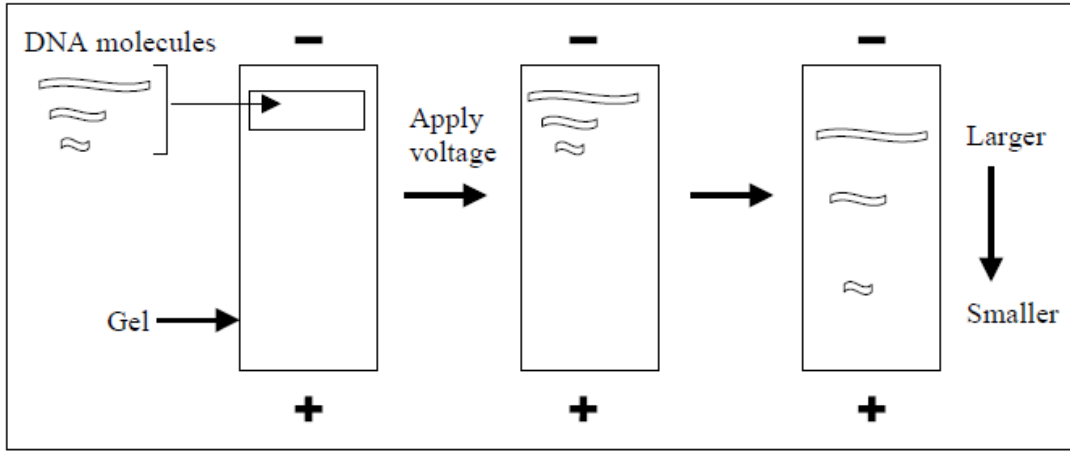
Şekil 1.44.  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ITAP})](\text{ClO}_4)_2$  ve  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ITAP})](\text{ClO}_4)_2$  komplekslerinin yapıları



Görüldüğü gibi UV absorpsiyon spektroskopisi DNA-ilaç etkileşimlerinin belirlenmesinde çok önem taşıyan bir yöntemdir. Bunun yanında DNA erime noktası tayini, vizkozimetri ve agaroz jel elektroforez gibi yöntemler etkileşimin tam olarak belirlenmesinde kullanılmaktadır.

### 1.8.2 Agaroz Jel Elektroforez

DNA-İlaç etkileşimlerinin belirlenmesinde kullanılan en önemli yöntemlerden birisi de elektroforezdür (Dehghan et al. 2011, Kashanian et al. 2010, Kumar et al. 2011). Elektroforez, yüklü moleküllerin bir elektriksel alan uygulandığında, sıvı içeren bir ortamda hareket hızlarının ölçüldüğü kromatografik bir yöntemdir. Jel elektroforezi DNA moleküllerini değişik büyüklük, yük ve esnekliğine göre ayırabilmektedir. DNA taşıdığı negatif yük sayesinde uygulanan elektrik akımı ile anoda doğru hareket eder (Şekil 1.45). Büyük yapılı moleküller daha yavaş sürüklenirken daha küçük yapıdakiler daha hızlı ilerlemektedirler.



Şekil 1.45. Jel elektroforez metodunda farklı büyüklükteki moleküllerin hareketi

İşte sürüklenme hızlarındaki bu fark bu yöntemin DNA-İlaç etkileşimlerinde etkin olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Daha önce bahsedildiği gibi DNA ile etkileşen moleküller DNA yapısında birtakım değişikliklere yol açmaktadır. İnterkalasyon yapan bileşikler süper sarmal yapıda bulunan DNA'nın açılarak şeklinin değişmesine ve boyunda uzamalara neden olurlar (Richards and Rodger 2007). Bu değişim süper sarmal DNA'nın elektroforetik

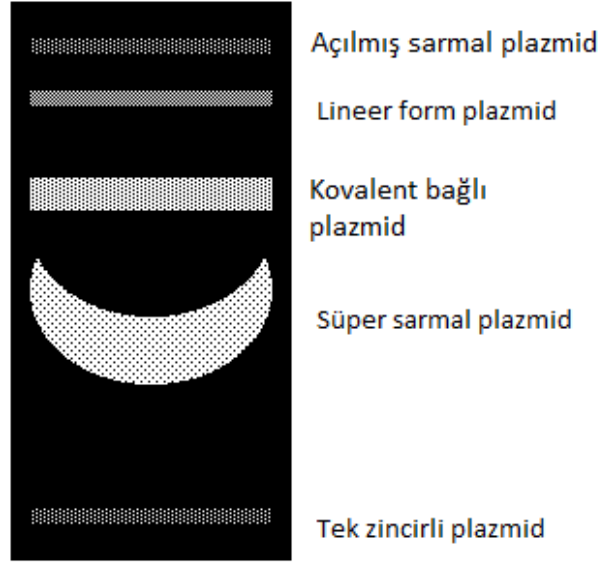
davranışlarında farklılıklar oluşturur ve bu farklılıklar sayesinde bağlanmanın doğası hakkında yorum yapılabilir.

Jel elektroforez çalışmalarında kullanılan DNA türü çoğunlukla plazmid DNA'lardır. Plazmid DNA bakterilerin çoğunda bulunan genomik DNA'dan farklı kendi kendini eşleyebilen halkasal bir DNA çeşididir (Şekil 1.46).



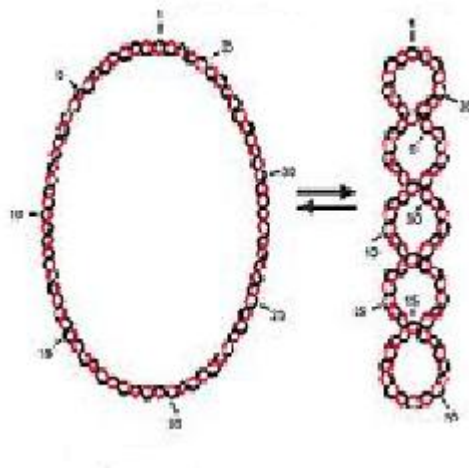
Şekil 1.46. Plazmid DNA

Plazmid DNA beş farklı konformasyonda olabilir, bunlar elektroforezle farklı hızlarda ayrılırlar. Bu konformasyonlar elektroforez hız sırasına göre, en yavaştan en hızlıya aşağıda listelenmiştir (Şekil 1.47).



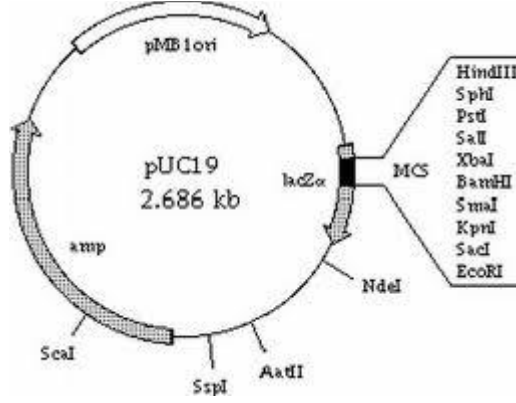
Şekil 1.47. Plazmid DNA formlarına göre göç hızları

Lineer DNA'nın ya hücre içinde de böyle olduğu için veya dairesel plazmidin iki zinciri de kesilmiş olduğu için iki ucu da açıktır. Bu konformasyon elektroforezde en yavaş sürüklenen plazmidir (şekil 1.47). Açılmış sarmal DNA'nın iki zinciri sağlamdır ama enzimler tarafından gevşetilmiş, yani aşırı sargısı giderilmiştir (Şekil 1.48). Süper sarmal denatüre (Kovalent bağlı plazmid) DNA, iki sarmalı da kesilmemiş ama bazı kısımları eşlenmemiş olduğu için biraz daha az sıkıdır. Süper sarmal DNA (veya kovalent kapalı dairesel DNA) her iki zinciri de kesik olmayan, ve kendi etrafında sarılı olmak sonucunda sıkı bir yapıya sahip olan DNA'dır. Elektroforezde en uzağa sürüklenen konformasyondur.



Şekil 1.48. Açık sarmal-süper sarmal plazmid DNA geçişi

Çalışmalarda sıkça kullanılan pUC19 plazmid DNA (Şekil 1.49) Messing ve arkadaşlarının Kaliforniya Üniversitesi'nde keşfettikleri bir seri plazmid DNA'dan bir tanesidir (Vieira and Messing 1982). 2686 baz çiftine sahip pUC19 DNA dairesel yapıda çift zincirli halde bulunmaktadır.

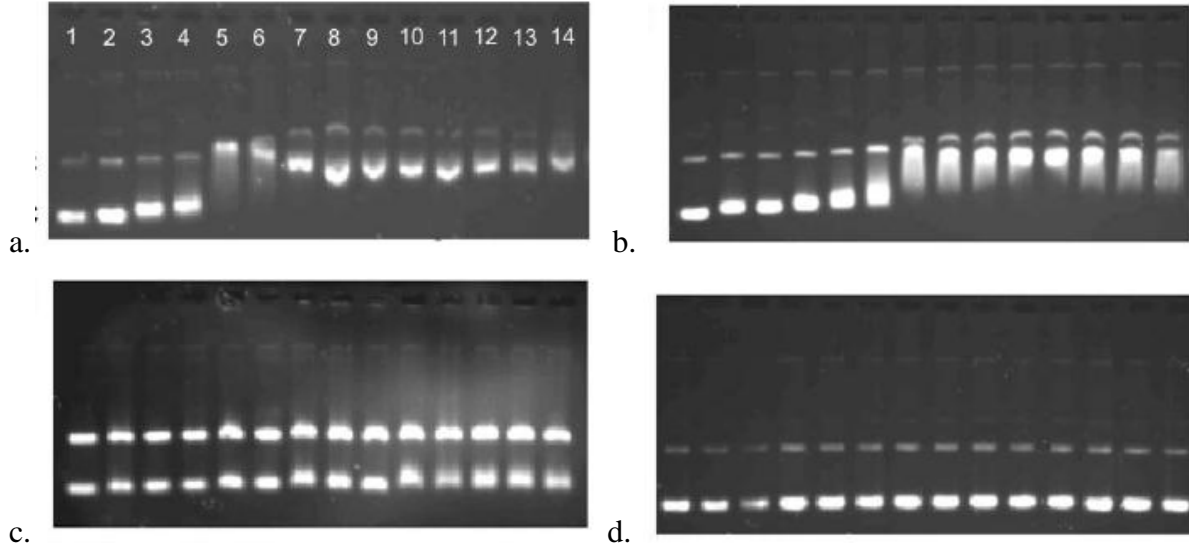


Şekil 1.49. pUC19 plazmid DNA

Jihan Talib ve arkadaşları yaptıkları çalışmada dört farklı nikel kompleksinin (Şekil 1.50) DNA bağlanmalarını farklı yöntemler kullanarak incelemiştir (Talib et al. 2009).

Şekil 1.50. Sırasıyla  $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{+2}$  ,  $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dpqc})]^{+2}$  ,  $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dpq})]^{+2}$  , ve  $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{+2}$  komplekslerinin yapısı

Çalışmada jel elektroforezi kullanılarak yapılan yorumlar diğer yöntemleri desteklemektedir. Komplekslere bakıldığında  $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  (Şekil 51a) kompleksinin sahip olduğu ligand çok iyi interkalasyon yaptığı birçok çalışmada gösterilmiş bir liganttır. Elde edilen elektroforez diyagramları (Şekil 1.51) incelendiğinde Şekil 51b, c, d'de yer alan nikel komplekslerine ait sonuçlar dppz ligandının diğer komplekslerden çok daha düşük derişimlerde iken bile DNA süper sarmal yapısını açarak DNA'nın göç hareketlerinde farklılıklar yarattığını göstermektedir. Elektroforogramlarda görüldüğü gibi eklenen kompleks miktarı arttıkça sarmal yapıda olan DNA'ya ait görüntü azalarak yeni bir nokta oluşmaktadır.



Şekil 1.51. a)  $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{+2}$ , b)  $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dpqc})]^{+2}$ , c)  $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dpq})]^{+2}$ , d)  $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{+2}$  kompleksleri için elektroforez sonuçları.

Şekil 51.b. dpqc ligandına ait sonuçları göstermektedir. Bu ligand dppz ligandının fenil grubunun aromatikliğine sahip olmadığı için DNA'yı dppz kadar etkili bozamamaktadır. Bu yüzden dppz'ye göre daha yüksek derişimlerde DNA'yı etkileyebilmektedir. Dpq ligandı için (Şekil 51.c) bu etkileşim daha da azalmaktadır. Phen ligandı ise neredeyse DNA'yı hiç bozmamaktadır (Şekil 51.d). Bu azalma interkalasyon yapacak olan ligandın boyunun kısalarak etkileşim alanının azalmasından kaynaklanmaktadır.

### 1.8.3 Floresans Spektroskopisi

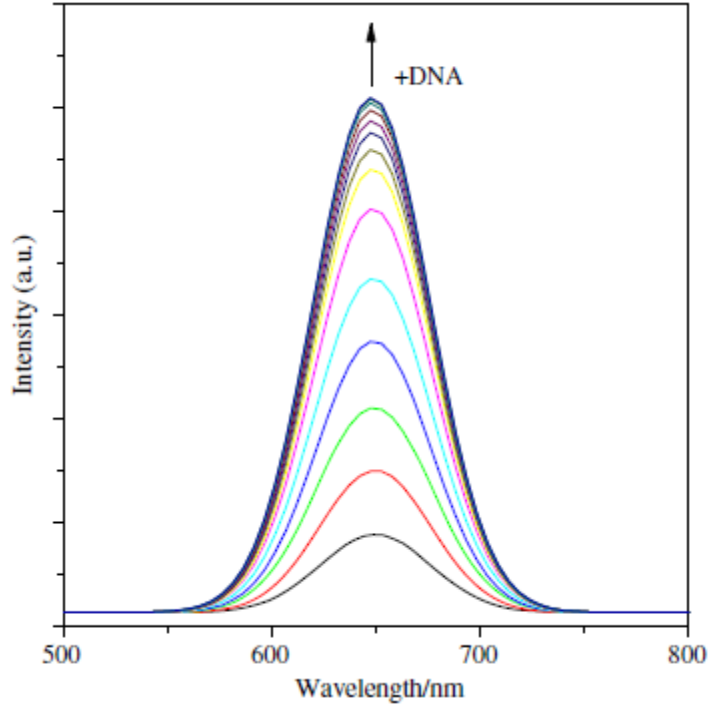
Floresans spektroskopisi DNA-ilaç etkileşimlerinin belirlenmesinde kullanılan önemli yöntemlerden biridir. Birçok molekül ve metal kompleksi az da olsa floresans özellik göstermektedir. Ancak bu özellik her zaman gözlenebilir belirginlikte olmayabilir. DNA sarmalının içinde bulunan hidrofobik yapı moleküllerin floresans özelliklerinde büyük değişikliklere yol açmaktadırlar.

Pratik olarak floresans çalışmaları UV titrasyon çalışmaları ile büyük benzerlik göstermektedirler. Ancak elde edilen veriler bazen UV titrasyon yönteminden daha kesin sonuçlar verebilmektedir. Çalışmada belli derişimdeki metal kompleksinin floresans spektrumu alınır ve üzerine artan miktarlarda DNA eklenerek her seferinde yeni spektrum alınır ve derişimler incelenir.

Özellikle metal kompleksleri su molekülleri tarafından sarıldıklarında hidrofilik ortam sebebiyle floresans özellik gösteremezler. Ancak DNA ile interkalasyon yoluyla etkileştiklerinde floresans özellikleri yükselmektedir. Bunun sebebi DNA sarmalının sahip olduğu aminli bazların DNA sarmalının iç yüzeyine hidrofobik özellik kazandırmasıdır. Hidrofobik iç yüzey sayesinde su molekülleri sarmalın dışında kalır. Böylece komplekse su molekülleri giremez ve relaksasyonda kompleks molekülleri su molekülleri ile etkileşmediğinden floresans özellik gösterebilir (Kumar, 2011, Wu and Ji 1999).

Bu konuda yapılan birçok çalışmada floresanstaki değişim gösterilmiştir (Shahabadi et al. 2011, Sun et al. 2011a, Sun et al. 2011b). Shi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada bir rutenyum kompleksinin DNA etkileşimi çeşitli yollarla incelenmiş ve etkileşimin interkalasyon yoluyla gerçekleştiği belirlenmiştir (Shi et al. 2008). Çalışmalarında floresans spektroskopisi de kullanılmış ve kompleksin (Şekil 1.52.) floresansının artan DNA miktarıyla arttığı görülmüştür (Şekil 1.53). Bu duruma neden olarak kompleksin DNA baz çifti arasına interkalasyon yaparak çözücü etkisinden kurtulduğu gösterilmiştir.

Şekil 1.52.  $[\text{Ru}(\text{tbz})_2(\text{dppz})]^{2+}$  kompleksinin molekül yapısı.



Şekil 1.53. [Ru(tbz)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> kompleksinin değişen DNA miktarıyla titrasyonu sonucu elde edilen emisyon spektrumu.

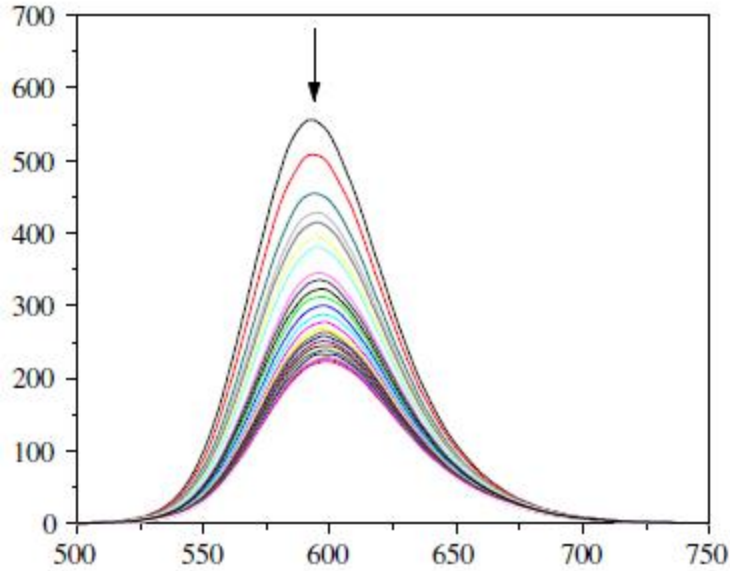
Floresans spektrumu ile DNA etkileşim türünün belirlenmesi çalışmalarında kullanılan diğer bir yöntem de etidyumbromür (EtBr) (Şekil 1.54) kullanarak yapılan yarışmalı bağlanma yöntemidir. EtBr DNA ile interkalasyon yaptığı kesin olarak bilinen bir moleküldür. Yöntemin temeli incelenecek kompleksin DNA ile interkalasyon yapmış EtBr moleküllerini DNA baz çiftleri arasında çıkararak yerine kompleksin geçmesine dayanmaktadır. Bu yer değiştirme EtBr-DNA kompleksinin floresans spektrumu izlenerek belirlenebilmektedir.

Şekil 1.54. EtBr molekül yapısı.



2010 yılında yapılan çalışmada Sun ve arkadaşları 2-(5-nitrofuran-2-il)-1H-imidazo[4,5-*f*][1,10]fenantrolin ligandına sahip rutenyum kompleksinin (Şekil 1.55) interkalasyon yaptığı çeşitli yollarla gösterilmiştir. EtBr-DNA kompleksinin floresans spektrumu alınmıştır. Daha sonra üzerine artan miktarlarda rutenyum kompleksi eklenmiş ve her eklemede EtBr-DNA kompleksine ait lüminesansın artan Ru kompleksi miktarıyla azaldığı görülmüştür (Şekil 1.56). Bu durum kompleks derişimi yeterli düzeye ulaştığında EtBr'ü DNA baz çifti arasından çıkararak EtBr-DNA kompleksine ait lüminesans pikinin yoğunluğunun azalmasına neden olduğu olarak yorumlanmıştır.

Şekil 1.55.  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{nfip})]^{2+}$  kompleksinin molekül yapısı



Şekil 1.56. EtBr-DNA karışımının değişen  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{nfip})]^{2+}$  miktarıyla titrasyonu sonucu elde edilen emisyon spektrumu.

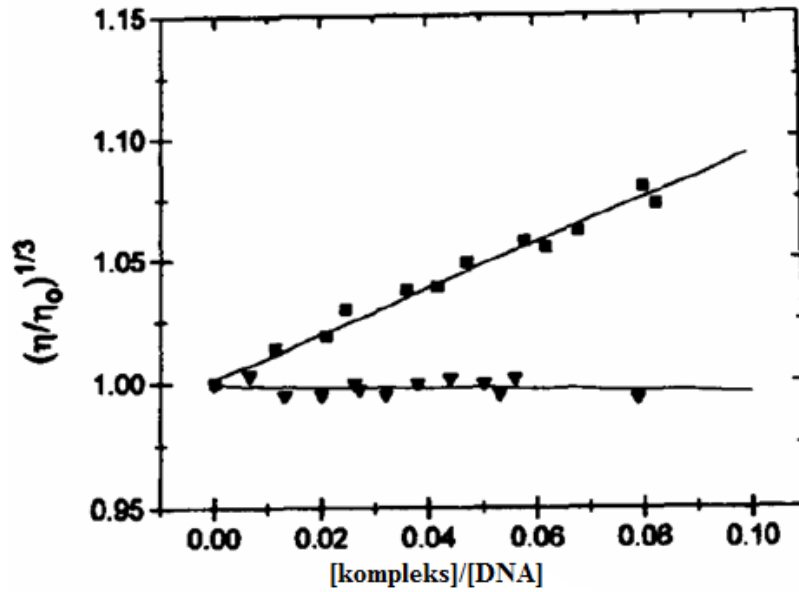
Elde edilen sonuçlar klasik Stern-Volmer eşitliği (eşitlik 1.2) (Eftink and Ghiron 1981) ile değerlendirilerek komplekslerin DNA ile etkileşim gücü analitik olarak incelenebilmektedir.

$$I / I_0 = 1 + K [Q] \quad (1.2)$$

Eşitlikte  $I$  ölçüm yapılan dalga boyundaki floresans yoğunluğunu,  $I_0$  ortama kompleks eklenmeden önceki floresans yoğunluğunu,  $[Q]$  baskılayıcı molekül derişimini,  $K$  ise bağlanma derecesini vermektedir.  $I/I_0$  değerlerine karşı  $[Q]$  değerleri grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun eğiminden  $K$  bulunur.

#### 1.8.4 Vizkozimetri

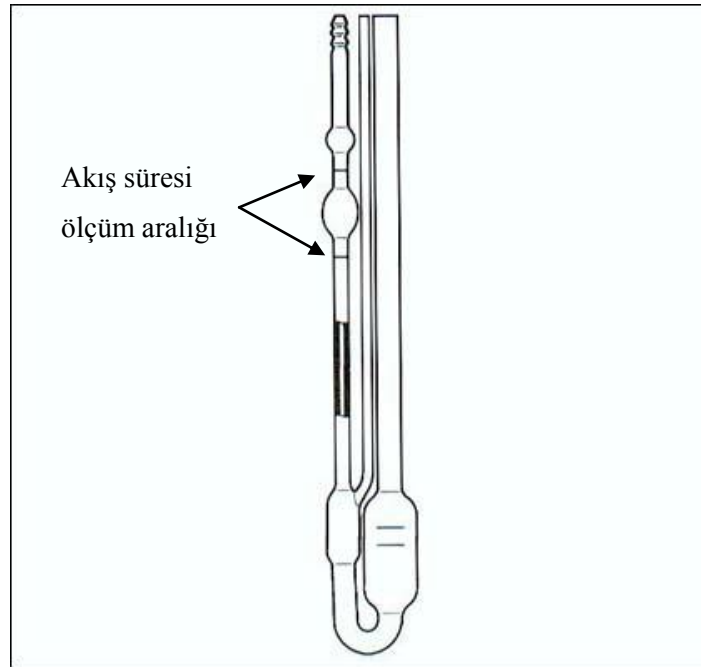
Hidrodinamik ölçümler kristal yapı hakkında herhangi bir veri olmadığında moleküler bağlanmanın belirlenmesinde kullanılan en kritik testtir. Küçük moleküller DNA ile etkileştiklerinde zincirin boyunu değiştirdiği için vizkozimetrik ölçümler komplekslerin DNA etkileşim türünün belirlenebilmesi için etkili bir yöntem olarak kullanılabilir. Vizkozimetri çok pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulmadan hassas bir şekilde etkileşim türünün belirlenmesini sağlar. Şekil 1.57 çok iyi bir interkalatör olan EtBr için örnek vizkozimetri çalışmasını göstermektedir.



Şekil 1.57. EtBr için örnek vizkozimetrik titrasyon grafiği.

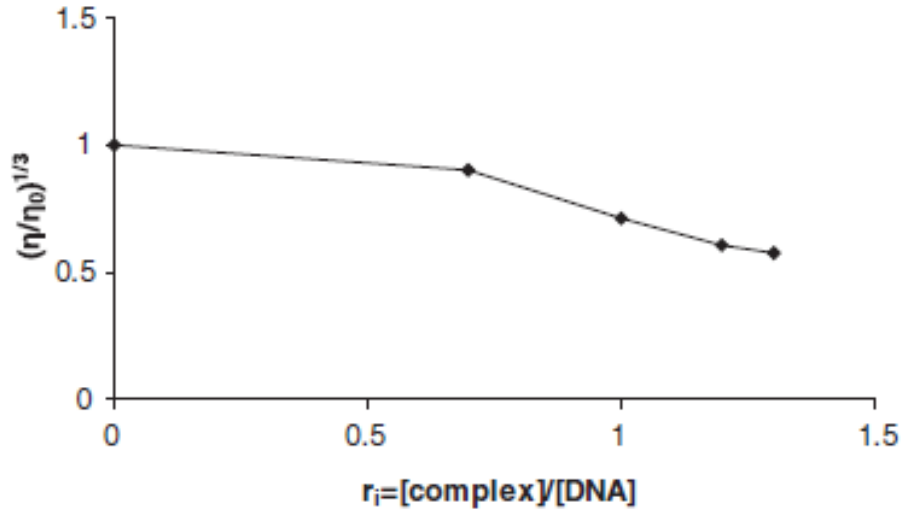
Burada  $\eta_0$  DNA'nın başlangıç viskozitesi,  $\eta$  DNA'ya bir porsiyon EtBr eklendikten sonra ölçülen viskoziteyi göstermektedir.  $\eta/\eta_0$  ise bağıl viskozite değerini belirtmektedir.

Eğer bir kompleks DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşiyorsa DNA baz çiftlerini birbirinden uzaklaştıracak ve DNA zincirinin boyu uzayacaktır. Bu uzama sonucu DNA çözeltisinin viskozitesi artacaktır. Genelde Ubbelohde viskozimetresi kullanılarak DNA çözeltisinin iki nokta arasındaki akış süresi ölçülür (Şekil 1.58). DNA viskozitesi ne kadar artarsa bu iki çizgi arasındaki mesafenin tamamlanması daha uzun süre alacaktır. Viskozite bu akış süresiyle orantılı olduğu için akış süresi viskozite olarak kabul edilebilir.



Şekil 1.58. Ubbelohde viskozimetresi

İnterkalasyon gerçekleştiğinde viskozitede artış görülürken interkalasyon gerçekleşmeyen durumlarda DNA heliksi bükülerek etkin uzunluğu azalır ve sonucunda viskozitesi azalır. Yapılan bir çalışmada kısmi interkalasyon yapan bir gümüş kompleksinin DNA viskozitesini arttırmadığı aksine azalttığı görülmüştür (Shahabadi et al. 2011).



Şekil 1.59.  $[\text{Ag}(2,9\text{-dimethyl-1,10-phenanthroline})_2](\text{NO}_3)$  kompleksinin DNA viskozitesine etkisi.

Şekil 1.59'da görüldüğü gibi artan  $[\text{kompleks}]/[\text{DNA}]$  oranıyla DNA bağıl viskozitesinde düşüş gerçekleşmiştir. Eğer kompleks interkalasyon yapmış olsaydı viskozitenin artması gerekirdi. Ancak çalışmada yapılan diğer sonuçlarla birlikte yorumlandığında  $[\text{Ag}(2,9\text{-dimethyl-1,10-phenanthroline})_2](\text{NO}_3)$  (Şekil 1.60) DNA ile kısmi interkalasyon yaptığına karar verilmiştir. Kompleks yapısı da baz çiftleri arasında girecek uzunlukta ligand içermemesinden dolayı bu yorumu desteklemektedir.

Şekil 1.60.  $[\text{Ag}(2,9\text{-dimetil-1,10-fenantrolin})_2](\text{NO}_3)$

## 1.9 FENİLİMİDAZO[4,5-F][1,10]FENANTROLİN VE TÜREVLERİNİN SENTEZİ

Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ve türevleri birçok farklı çalışmada yaklaşık aynı yollar izlenerek sentezlenmişlerdir. Wu ve arkadaşları tarafından 1997 yılında formaldehit ve 1,10-

fenantrolin-5,6-dion kullanılarak imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin'i sentezlenmiştir (Wu et al. 1997). Formaldehitin %38'lik çözeltisi ve 1,10-fenantrolin-5,6-dion katısı buzlu asetik asitte çözülmüş ve üzerine amonyum asetat eklenerek karışım 1 saat geri soğutucu altında kaynatılmıştır.(Şekil 1.61).

#### Şekil 1.61. İmidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandının sentezi

Oda sıcaklığında soğumaya bırakılan karışım suyla seyreltilip derişik amonyak damlatılarak ilave edilir. Bu ekleme sonucu sarı çökelek elde edilir ve süzülerek su ile yıkanır. Elde edilen katı madde etanol kullanılarak silika doldurulmuş kolondan geçirilir. Sarı renkli bant toplanır ve çözücüsü vakum altında uçurularak madde elde edilir.

Aynı çalışmada fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin formaldehit yerine benzaldehit kullanılarak sentezlenmiştir (Şekil 1.62).

#### Şekil 1.62. 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin sentezi

Bu yöntem imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin türevlerinin sentezinde sıkça başvurulmuş bir sentez yoludur. Tez çalışmaları sırasında ligandların sentezinde aynı yöntem bazı değişikliklerle uygulanmıştır.

Literatürde yer alan diğer bir yöntemin farkı ise çözücü olarak asetik asit yerine etanol kullanılmasıdır (Gao et al. 2011). Bu sayede asetik asidin nötralleştirilme işlemine gerek kalmamaktadır. Ancak çözücü olarak etanol kullanılması reaksiyon süresinin 1 saatten 8 saate çıkmasına neden olmaktadır.



## 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 çalışmaları pH'ı sabit tutabilmek için pH = 7,5 olan 50mM amonyum asetat tampon kullanılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan; 1,10-fenantrolin (%99), potasyum tetraklorplatınat(II) (%99,9), benzaldehit, salisilaldehit, potasyum bromür, amonyum asetat, sülfürik asit (%98), buzlu asetik asit, nitrik asit (%65), amonyak (%25) ve eter Aldrich firmasından, gümüş nitrat Engelhard, etanol, kloroform, diklorometan, metanol, sodyum hidroksit, diklorometan, 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.

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



Fermentas firmasından alınan *E. coli* RRI bakterisine sentezletilmiş ve izole edilmiş pUC19 Plasmid DNA (50 µg/mL çözeltilde FE-SD0061) Thermo EC-330 agaroz jel elektroforeziyle sürüklenme yavaşlatması deneyinde kullanılmıştır. Metal kompleksleriyle etkileşimler çalışılırken mg/mL Konsantrasyon M baz cinsinden hesaplanmış [formül 2] ve metal komplekslerinin konsantrasyonları ve  $[DNA]/[M] = R$  oranları bu konsantrasyonla hesaplanmıştır.

$$M_A(pUC19) = 1750000 \text{ Da}$$

$$10 \mu\text{l } 50 \mu\text{g/ml pUC19} = 0,5 \mu\text{g pUC19} / 1750000 = 2,86 \times 10^{-13} \text{ mol pUC19}$$

Baz çifti olarak;

$$2686 \times 2 = 5372 \text{ nükleotit}$$

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

Pozitif kontrol için Fermentas firmasından alınan kesme enzimi Hind III (FE-ER0501) kullanılmıştır. 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'luk 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 <sup>1</sup>H-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 (Goswami and Chakrabarty 2010). 1,10-Fenantrolin monohidrat (2 g, 10.1 mmol) ve potasyum bromür (3 g, 25 mmol) 0 °C'de çift boyunlu balon içinde sülfürik asit (%98, 20 ml) ile karıştırıldı. Üzerine 30 °C'de damlatma hunisi ile 3 saat boyunca damla damla nitrik asit (%65, 10 ml) 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. Oluşan çözelti 12 saat bekletildi ve doymuş sodyum hidroksit çözeltisi ile pH 6'ya ayarlandı. Oluşan sarı çökelek kloroform ile ekstrakte edildi. Düşük basınç altında çözücü uçuruldu ve kalan katı metanolde kristallendirildi. Ürün 1,6 gram, verim %76.  $C_{12}H_6N_2O_2$  molekülü için; **Erime noktası:** 260°C (literatür), 256°C (bulunan). **FT-IR:** 1714  $cm^{-1}$  (C=O)

### 2.3.2 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin (PIP) Sentezi

Şekil 2.2. Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin Sentezi.

105 mg (0,1 mmol) 1,10-fenantroline-5,6-dion, 20 ml buzlu asetik asitte çözüldü. Üzerine 1g (13 mmol) amonyum asetat ve 0,51 ml (0,1 mmol) benzaldehit eklendi. 3 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatıldı (Şekil 2.2). Başlangıçta oluşan açık sarı renk koyu kahverengiye dönüştü. Reaksiyon sonrası karışım oda sıcaklığına soğutuldu ve buz üstüne seyreltildi. Derişik amonyak ile damla damla nötralleştirildi. Oluşan sarı renkli çökelek süzüldü. Etanol, su ve eterle yıkandı. Etanolde kristallendirildi. Ürün 100 mg, verim %66. C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub> molekülü için; **FT-IR** (cm<sup>-1</sup>): 2965 (aromatik C-H), 1603 (C=N), **<sup>1</sup>H NMR**: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>ppm</sub>), 8,97 (dd, 2H, H8, H9), 8,89 (dd, 1H, H6), 8,76 (dd, 1H, H11), δ 8,15 (dd, 2H, H5, H1), 7,58 (m, 2H, H7, H10), 7,41 (dd, 2H, H4, H2), 7,3 (t, 1H, H3), **ESI-MS**: m/z (M+H) = 297,11 hesaplanan, m/z (M+H) = 297 bulunan değer.

### 2.3.3 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin (HPIP) Sentezi

Şekil 2.3. 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin Sentezi

105 mg (0,1 mmol) 1,10-fenantroline-5,6-dion 20 ml glasiyel asetik asitte çözüldü. Üzerine 1 g amonyum asetat ve 0,53 ml 2-hidroksibenzaldehit eklendi. 3 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatıldı (Şekil 2.3). Başlangıçta oluşan açık sarı renk koyu kahverengiye dönüştü.

Reaksiyon sonrası karışım oda sıcaklığına soğutuldu ve buz üstüne seyreltildi. Derişik amonyak ile damla damla nötralleştirildi. Oluşan sarı renkli çökelek süzüldü. Etanol, su ve eterle yıkandı. Etanol, su ve eterle yıkandı. Ürün 80 mg, verim % 51.  $C_{19}H_{12}N_4O$  molekülü için; **FT-IR** ( $\nu$   $cm^{-1}$ ): 2706 (aromatik C-H), 1627 (C=N),  **$^1H$  NMR**: (400 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta_{ppm}$ ) 9,19 (dd, 2H, H7, H8), 8,83 (dd, 1H, H5), 8,67 (dd, 1H, H10), 8,147 (dd, 1H, H4), 7,75 (dd, 2H, H6, H9), 7,64 (dd, 1H, H2), 7,44 (dd, 2H, H1, H3), **ESI-MS**:  $m/z$  ( $M+H$ ) = 313,10 hesaplanan,  $m/z$  ( $M+H$ ) = 313.

## 2.4 KOMPLEKSLERİN SENTEZİ

### 2.4.1 Diaqua(2,2'-bipiridin)Platin(II) Sentezi



Şekil 2.4. Diaqua(2,2'-bipiridin)Platin(II) sentezi.

42 mg (0,1 mmol)  $Pt(bpy)(Cl_2)$  suda ısıtılarak süspanse edildi. Üzerine 34 mg (0,2 mmol)  $AgNO_3$  eklendi ve ışısız ortamda 6 saat geri soğutucu altında kaynatıldı (Şekil 2.4). Berrak sarı çözelti oda sıcaklığına soğutuldu ve çöken  $AgCl$  süzülerek alındı. Çözelti konsantre edildi.

### 2.4.2 $[Pt(bpy)(PIP)]^{+2}$ Sentezi

Şekil 2.5.  $[Pt(bpy)(PIP)]^{+2}$  Sentezi.

Konsantre edilen Pt(bpy)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> üzerine etanolde çözülmüş 30 mg (0,1 mmol) 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin eklendi. 2 saat geri soğutucu altında kaynatıldı (Şekil 2.5). Berrak turuncu çözelti oda sıcaklığına soğutuldu. Üzerine NaNO<sub>3</sub>'ün aşırısı çözelti halinde eklendi. Oluşan koyu sarı çökelek süzüldü. Aseton ve eterle yıkanıp süzüldü (48 mg % 62,3 verim). C<sub>29</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>Pt molekülü için; **<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, dms<sub>o</sub>-d<sub>6</sub>, δ<sub>ppm</sub>) 9,33 (d-d 2H, H19, H16), 8,93 (d-d 2H, H9, H6), 8,78 (d-d2H, H8, H17), 8,78 (d-d2H, H12, H13), 8,42 (d-d 2H, H5, H1), 8,05 (d-d 2H, H11, H14), 7,95 (m 2H, H7, H15), 7,48(d-d 2H, H10, H15), 7,28(s 3H, H4, H3, H2), **MALDI-MS:** m/z (M+H) ) = 648,13 hesaplanan, m/z (M+H) = 648

### 2.4.3 [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> Sentezi

#### Şekil 2.6. [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> Sentezi

Konsantre edilen Pt(bpy)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> üzerine etanolde çözülmüş 31 mg (0,1 mmol) 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin eklendi. 2 saat geri soğutucu altında kaynatıldı (Şekil 2.6). Berrak turuncu çözelti oda sıcaklığına soğutuldu. Üzerine NaNO<sub>3</sub>'ün aşırısı çözelti halinde eklendi. Oluşan sarı çökelek süzüldü. Aseton ve eterle yıkanıp kurutuldu (48 mg % 61 verim). C<sub>29</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>OPt molekülü için; **<sup>1</sup>H NMR:** 1H NMR (400 MHz, dms<sub>o</sub>-d<sub>6</sub>, δ<sub>ppm</sub>), 9,1 (d-d 2H, H8, H15), 8,89 (m 6H, H7, H8, H10, H13, H15, H16), 8,12 (d-d 2H, H11, H12), 8,07 (m 4H, H6, H9, H14, H17), 7,58 (m 2H, H7, H10), 7,34 (d-d 1H, H4), 7,14 (d-d 1H, H2), 7,02 (m 2H, H3, H1), **MALDI-MS:** m/z (M+H) ) = 663,13 hesaplanan, m/z (M+2NO<sub>3</sub>+Na) = 810.

## 2.5 UV TİTRASYONU

Platin komplekslerinin üzerine artan miktarlarda DNA eklenerek kompleksin absorpsiyon spektrumunda oluşan değişiklikler izlendi. 10 µM kompleks çözeltisi 50 mM amonyum

asetat tamponu içerisinde hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin 2,5 ml'lik kısmı alınarak kuvartz küvet içinde UV-Vis absorpsiyon spektrumu alındı. Daha sonra amonyum asetat tamponu içerisinde hazırlanmış 1,25 mM sığır DNA'sı çözeltisi kullanılarak titre edildi. Her 1 µl'lik DNA eklenmesi sonrasında karışım temiz bir enjektör kullanılarak karıştırıldı ve inkübe olması için 10 dakika beklendi ve ölçüm yapıldı. Elde edilen veriler çizelge 2.1 ve 2.2'de listelenmiştir.

Çizelge 2.1 [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> kompleksi için UV titrasyon hesaplamalarında kullanılan veriler.

Eklenen DNA Hacmi, L	Toplam Hacim, L	[DNA], M	[Pt], M	Absorbans (292 nm)	$\epsilon_a(292)$	$\epsilon_a - \epsilon_f$	[DNA],bp	[DNA]bp/ $(\epsilon_a - \epsilon_f)$
0	2,500E-03	0,000E+00	1,00040E-05	0,97643	97603,96	0	0	
1,00E-06	2,501E-03	4,998E-07	1,00000E-05	0,93337	93337,00	-4266,958	7,99680E-06	-1,87412E-09
2,00E-06	2,502E-03	9,992E-07	9,99600E-06	0,85281	85315,10	-12288,860	1,59872E-05	-1,30095E-09
3,00E-06	2,503E-03	1,498E-06	9,99201E-06	0,80852	80916,66	-16687,303	2,39712E-05	-1,4365E-09
4,00E-06	2,504E-03	1,997E-06	9,98802E-06	0,76822	76914,15	-20689,809	3,19489E-05	-1,54418E-09
5,00E-06	2,505E-03	2,495E-06	9,98403E-06	0,73746	73863,95	-23740,012	3,99202E-05	-1,68156E-09
6,00E-06	2,506E-03	2,993E-06	9,98005E-06	0,72491	72635,92	-24968,034	4,78851E-05	-1,91786E-09
7,00E-06	2,507E-03	3,490E-06	9,97607E-06	0,72079	72251,92	-25352,038	5,58436E-05	-2,20273E-09
8,00E-06	2,508E-03	3,987E-06	9,97209E-06	0,71982	72183,47	-25420,489	6,37959E-05	-2,50962E-09

Çizelge 2.2.  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  kompleksi için UV titrasyon hesaplamalarında kullanılan veriler.

<b>Eklene DNA Hacmi, L</b>	<b>Toplam Hacim, L</b>	<b>[DNA], M</b>	<b>[Pt], M</b>	<b>Absorbans (292 nm)</b>	$\epsilon_a(292)$	$\epsilon_a - \epsilon_f$	<b>[DNA], bp</b>	<b>[DNA]bp/((<math>\epsilon_a - \epsilon_f</math>))</b>
0	2,500E-03	0,000E+00	1,00040E-05	0,47317	47298,08	0	0	
1,00E-06	2,501E-03	4,998E-07	1,00000E-05	0,45066	45066,00	-2232,081	7,99680E-06	-3,58267E-09
2,00E-06	2,502E-03	9,992E-07	9,99600E-06	0,39285	39300,71	-7997,373	1,59872E-05	-1,99906E-09
3,00E-06	2,503E-03	1,498E-06	9,99201E-06	0,37169	37198,72	-10099,357	2,39712E-05	-2,37354E-09
4,00E-06	2,504E-03	1,997E-06	9,98802E-06	0,36466	36509,74	-10788,339	3,19489E-05	-2,96143E-09



## 2.6 AGARUZ JEL ELEKTROFOREZ

Jel elektroforezi göç mesafesindeki farklılıkları ve buna göre süper sarmal yapıdaki plasmit DNA'nın artan oranlarda metal kompleksleri eklenmesiyle açılma oranını görüntülemek için yapılır. 50 µg/mL supersarmal plasmit DNA (pUC19) içeren stok çözelti ve metal kompleks çözeltileri 50 mM pH'ı 7,50 olan tampon çözeltiyle hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımları buz üzerinde ve  $[DNA]/[M] = R$  oranları 0,1:1, 0,25:1, 0,5:1, 0,75:1, 1:1 olacak şekilde hazırlanmıştır.

Jele yüklenecek çözeltiler 10 µL DNA (pUC19, 50 µg/ml) ve 10 µL kompleks çözeltileri karıştırılarak hazırlandı. Kontrol örneklerinde 10 µL kompleks çözeltisi yerine 10 µL tampon ve 10 µL sınırlayıcı enzim (HIND III) eklenmiştir. Çözeltiler üzerine 5 µL boya (%0,25 bromofenol mavisi %40 lik 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 tampon içinde çözünmesiye kadar kaynatılıp daha sonra oda sıcaklığında bekletilmesiyle elde edilir.

Thermo EC250-90 marka güç kaynağı kullanılarak Thermo Midicell Primo marka sistemiyle 5 saat boyunca 35 V uygulandı. Daha sonra jel etidyum bromür çözeltisi (10 mg/mL etidyum bromürün 15µl'si 500 mL suya eklenerek hazırlanmış) ile 45 dakika boyandı ve su ile 45 dakika yıkandı. Hazırlanan jel DNr MiniBIS (16mm) Pro Bio-Imaging System kullanılarak fotoğraflandırıldı.

## 2.7 FLORESANS SPEKTROSKOPİSİ

### 2.7.1 Kompleksin Floresans Değişimi

$1 \times 10^{-5}$  M  $[Pt(bpy)(PIP)]^{+2}$  çözeltisi amonyum asetat tamponu içerisinde hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin 2,5 ml'lik kısmı quartz küvete alındı ve 383 nm dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumu kaydedildi. Daha sonra 2 µl'lik porsiyonlar halinde 3 mM sığır DNA'sı çözeltisi eklendi. Her eklemekten sonra karışım 5 dakika inkübasyon için bekletilerek spektrum kaydedildi. İşleme DNA derişimi 20 µM olana kadar devam edildi.

Aynı işlemler  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  kompleksi için 400 nm dalga boyunda uyarılarak gerçekleştirildi.

### 2.7.2 EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması

20  $\mu\text{M}$  EtBr ve 100  $\mu\text{M}$  sığır DNA'sı içeren çözelti oda sıcaklığında hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin 2,5 ml'lik kısmı quartz küvete alındı. 427 nm dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumu kaydedildi. Daha sonra 20  $\mu\text{M}$ 'lik porsiyonlar halinde 3 mM  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{+2}$  çözeltisi eklendi ve her ekleden sonra karışım 5 dakika inkübasyon için bekletilerek spektrum kaydedildi. İşleme kompleks derişimi 150  $\mu\text{M}$  olana kadar devam edildi.

Aynı işlemler  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  kompleksi için aynı dalga boyunda uyarılarak gerçekleştirildi.

## 2.8 VİZKOZİTE ÇALIŞMALARI

Vizkozimetri çalışmalarında literatürde sıkça kullanılan Ubbelohde vizkozimetresi kullanıldı. Tüm ölçümler 30 °C'de digital su banyosu içerisinde gerçekleştirildi.

Vizkozite ölçümünde kullanılacak DNA çözeltisi sığır timüs DNA'dan 50 mM amonyum fosfat tamponu içerisinde 300  $\mu\text{M}$  derişimde hazırlandı. 15 ml DNA çözeltisi için vizkozite ölçümü dijital bir kronometre kullanılarak gerçekleştirildi. Daha sonra  $[\text{Pt}]:[\text{DNA}]$  oranı 0,15 olana kadar 870  $\mu\text{M}$  kompleks çözeltisinden 100  $\mu\text{l}$ '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 vizkozite değeri hesaplandı ve DNA derişimine karşı grafiğe geçirildi.



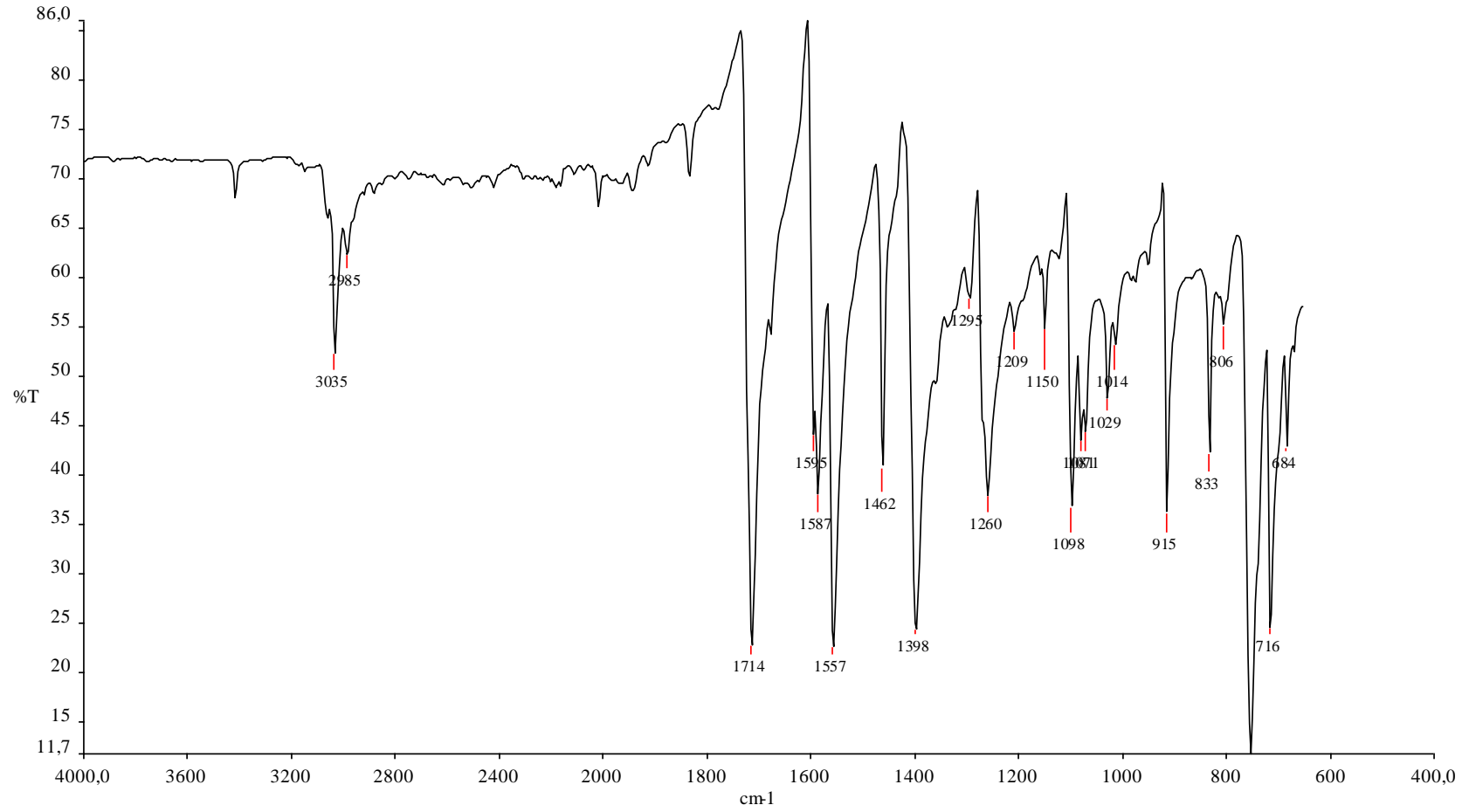
## BÖLÜM 3

### SONUÇLAR

#### 3.1 LİGANDLARIN KARAKTERİZASYONU

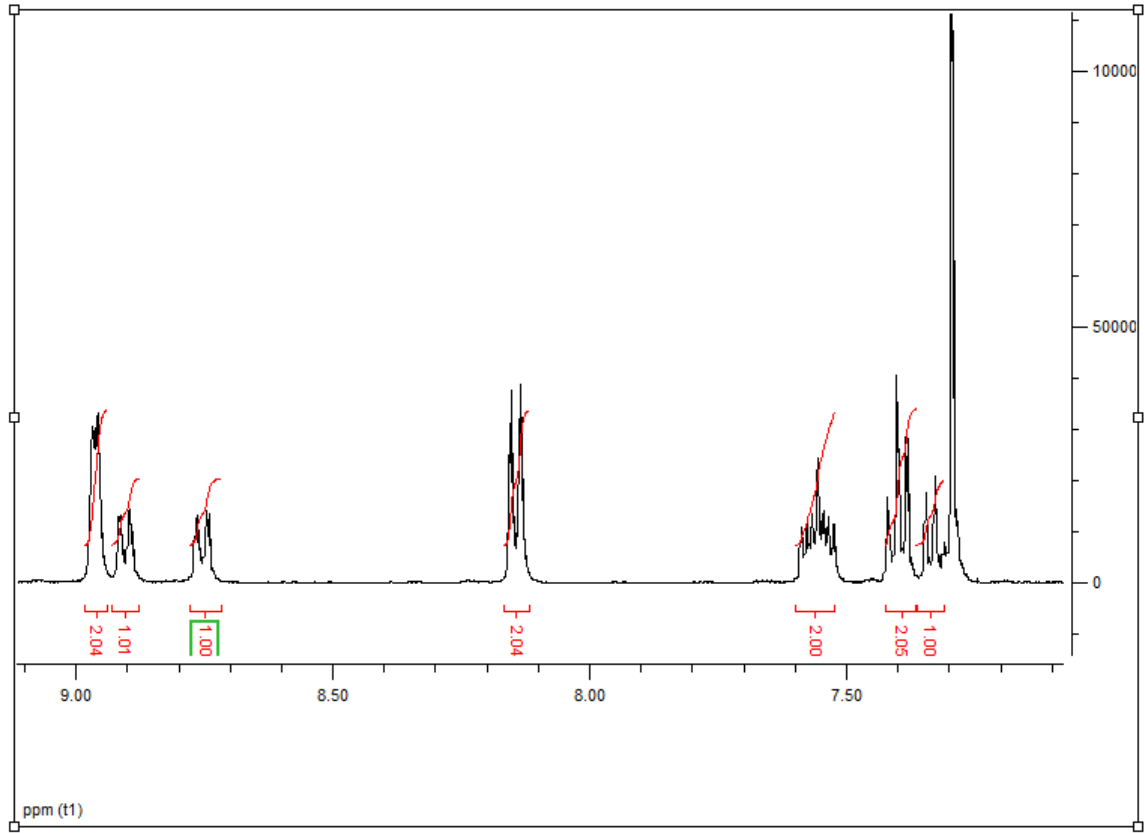
##### 3.1.1 1,10-Fenantrolin-5,6-dion

İlk olarak elde edilen ürünün IR spektrumu (Şekil 3.1) incelendiğinde bir değişim doğrudan sentezin gerçekleştiğine işaret etmektedir. Başlangıç maddesi olan 1,10-Fenantrolin’de karbonil grubu bulunmazken oluşan ürünün IR spektrumunda  $1714\text{ cm}^{-1}$ ’de çok kuvvetli karbonil piki görülmektedir. Bu pik dion oluşumunun önemli bir kanıtıdır.



Şekil 3.1. 1,10-Fenantrolin-5,6-dion IR spektrumu.

### 3.1.2 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin



Şekil 3.2. 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı H-NMR spektrumu.



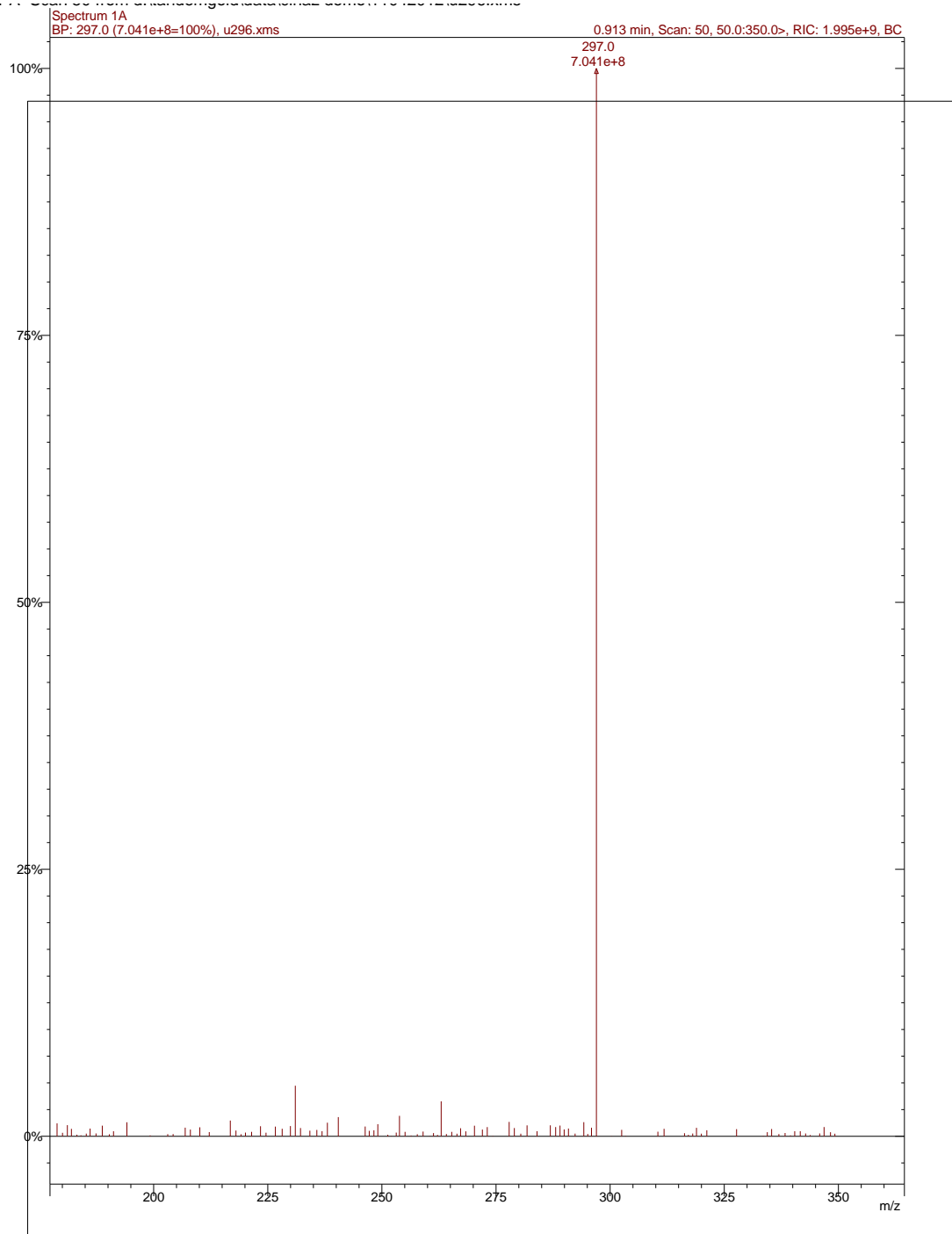
**<sup>1</sup>H NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>ppm</sub>), 8.97 (dd, 2H, H8, H9), 8.89 (dd, 1H, H6), 8.76 (dd, 1H, H11), 8.15 (dd, 2H, H5, H1), 7.58 (m, 2H, H7, H10), 7.41 (dd, 2H, H4, H2), 7.3 (t, 1H, H3).

Ligandın NMR spektrumunda (Şekil 3.2) tüm pikler beklendikleri yerlerde gelmişlerdir (Zhang et al. 2011). Fenantrolin halkasındaki azotlara komşu olan 8 ve 9 numaralı protonlar daha düşük alanda pik verirken fenil halkasında bulunan protonlar (1-5) daha yüksek alanda pikler vermişlerdir. İmidazol halkasında bulunan proton aktif proton olduğundan çözücü ile

yer değiştirdiğinden spektrumda belirlenememiştir. Bu duruma yapılan birçok çalışmada rastlanmıştır (Gao et al. 2011, Liu et al. 2008).

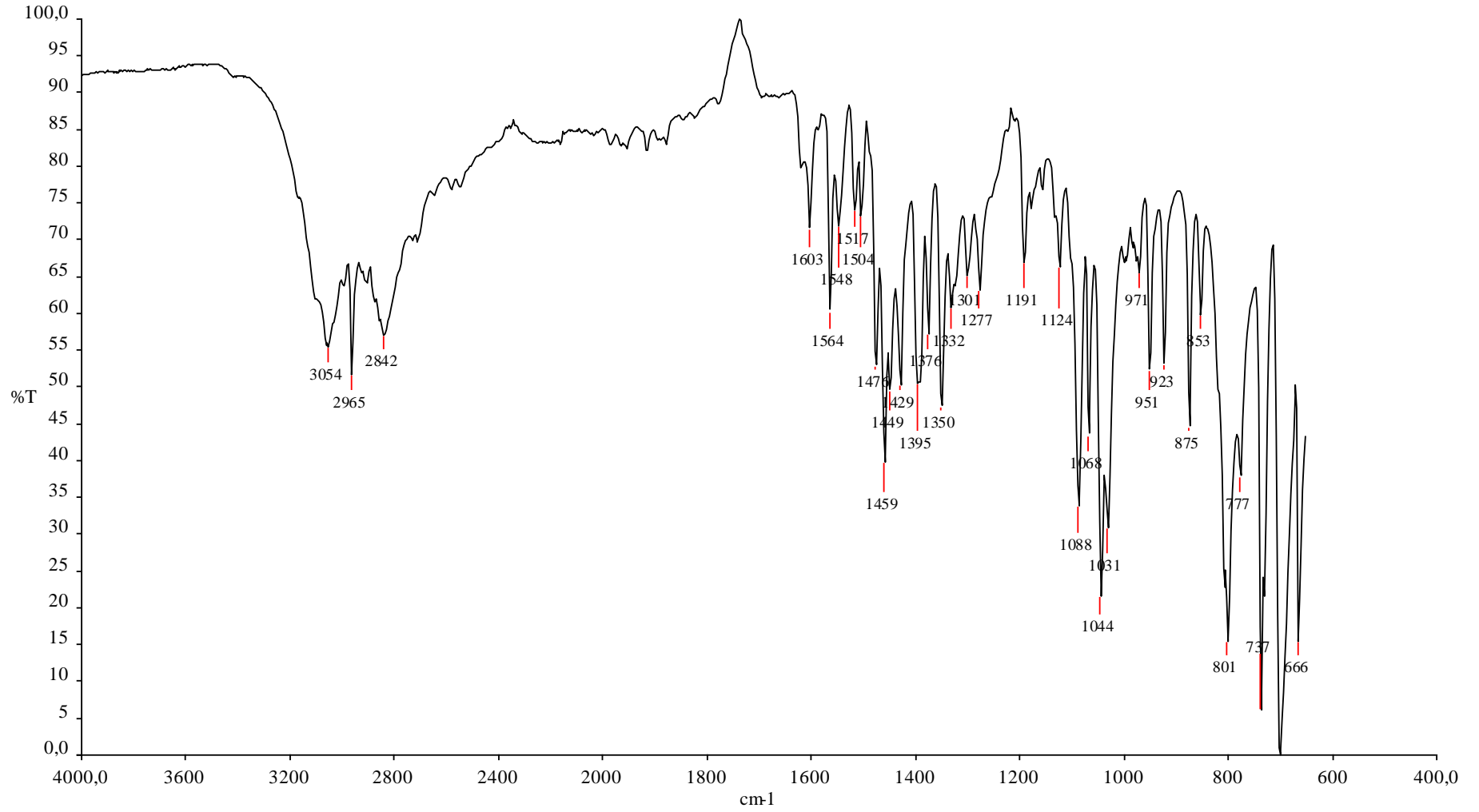
Ligandın ESI-MS spektrumu (şekil 3.3) incelendiğinde ligandın  $m/z = 297$ 'de M+H piki grlmektedir. Bu da kütle açısından ligandın sentezlendiğini kanıtlamaktadır.

Ligandın FT-IR spektrumu da yapının doğruluğu hakkında bilgiler vermektedir. Başlangıç maddelerinin her ikisinde de karbonil grubu bulunduğundan bu maddelerde  $1720\text{ cm}^{-1}$ 'de çok şiddetli C=O gerilme piki grlmektedir. Ancak reaksiyon sonunda oluşan ürüne ait IR spektrumunda (şekil 3.4) bu pik görülmemektedir. Bu durum başlangıç maddelerinin karbonil gruplarının değiştiğini ve sentezin gerçekleştiğini göstermektedir.



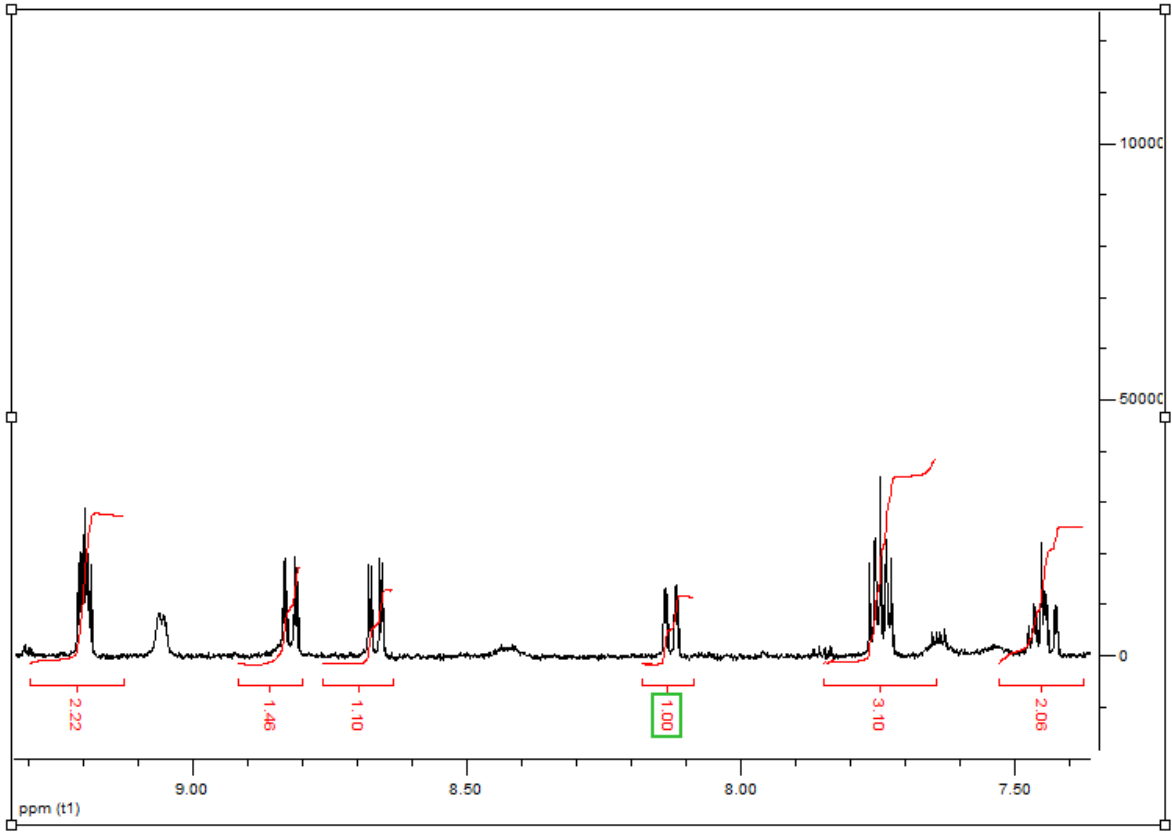
Şekil 3.3. 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı ESI-MS spektrumu





Şekil 3.4. 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı IR spektrumu

### 3.1.2 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin



Şekil 3.5. 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı H-NMR spektrumu

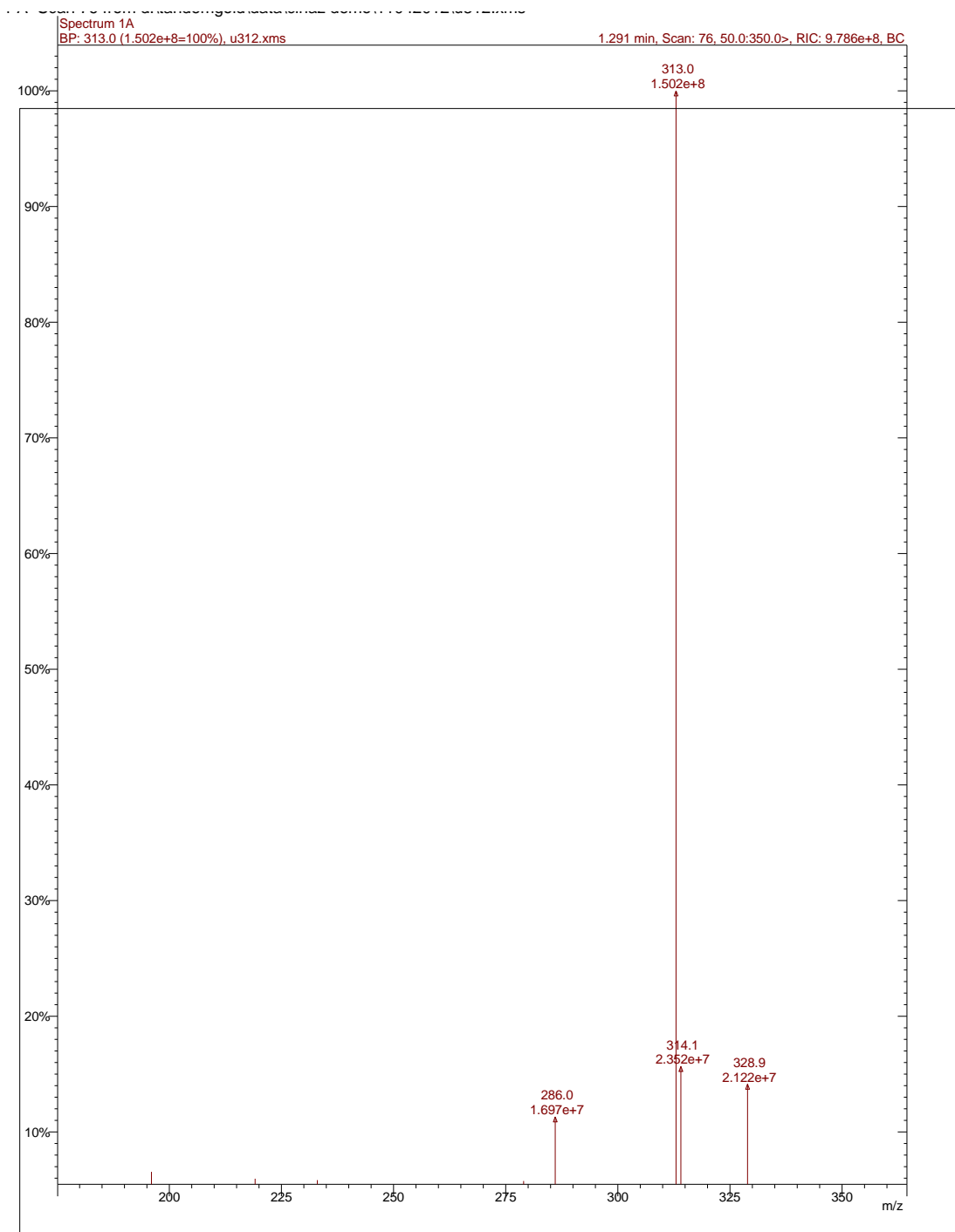
**<sup>1</sup>H NMR:** 1H NMR (400 MHz, dms<sub>o</sub>-d<sub>6</sub>, δ<sub>ppm</sub>): 9,1 (d-d 2H, H8, H15), 8,89 (m 6H, H7, H8, H10, H13, H15, H16), 8,12 (d-d 2H, H11, H12), 8,07 (m 4H, H6, H9, H14, H17), 7,58 (m 2H, H7, H10), 7,34 (d-d 1H, H4), 7,14 (d-d 1H, H2), 7,02 (m 2H, H3, H1).

Ligandın NMR spektrumunda (Şekil 3.5) tüm pikler beklendikleri yerlerde gelmişlerdir (Zhang et al. 2007). 7 ve 8 numaralı protonlar etraflarında bulunan azot grupları sebebiyle

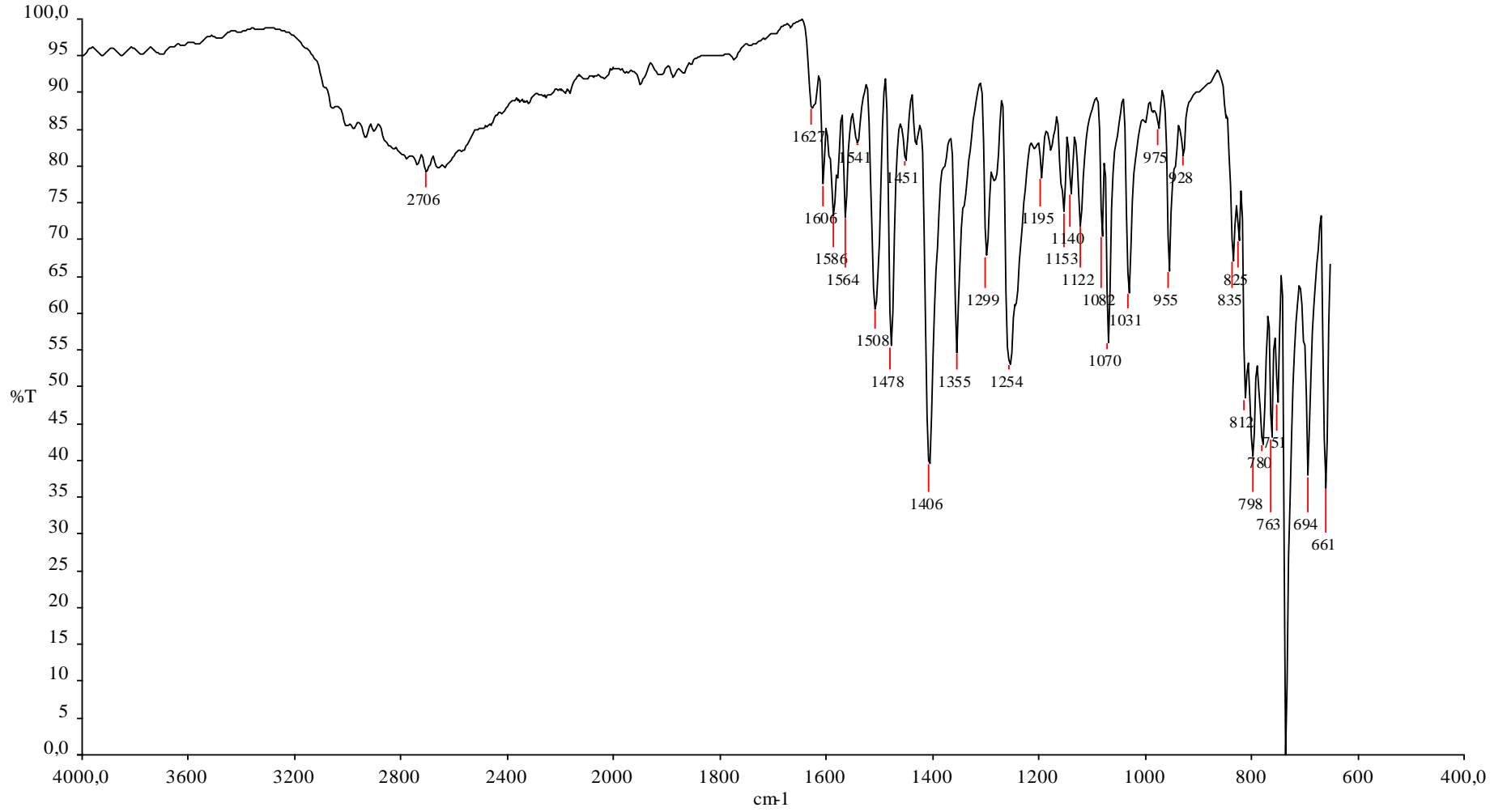
daha düşük alanda pik verirken fenil halkasında bulunan protonlar daha yüksek alanda pikler vermişlerdir. İmidazol halkasında ve OH grubunda bulunan hidrojen hareketli yani aktif hidrojen olduğu için spektrumda belirlenememiştir.

Ligandın ESI-MS spektrumu (Şekil 3.6) incelendiğinde ligandın  $m/z = 312$ 'de M+H piki görülmektedir. Bu da kütle açısından ligandın sentezlendiğini kanıtlamaktadır.

Ligandın FT-IR spektrumu da yapının doğruluğu hakkında bilgiler vermektedir. Tıpkı 2-fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin sentezinde olduğu gibi başlangıç maddelerinin her ikisinde de karbonil grubu bulunduğundan  $1720 \text{ cm}^{-1}$ 'de çok şiddetli C=O gerilme piki görülmektedir. Ancak reaksiyon sonunda oluşan ürüne ait IR spektrumunda (Şekil 3.7) bu pik görülmemektedir. Bu durum başlangıç maddelerinin karbonil gruplarının değiştiğini ve sentezin gerçekleştiğini göstermektedir.



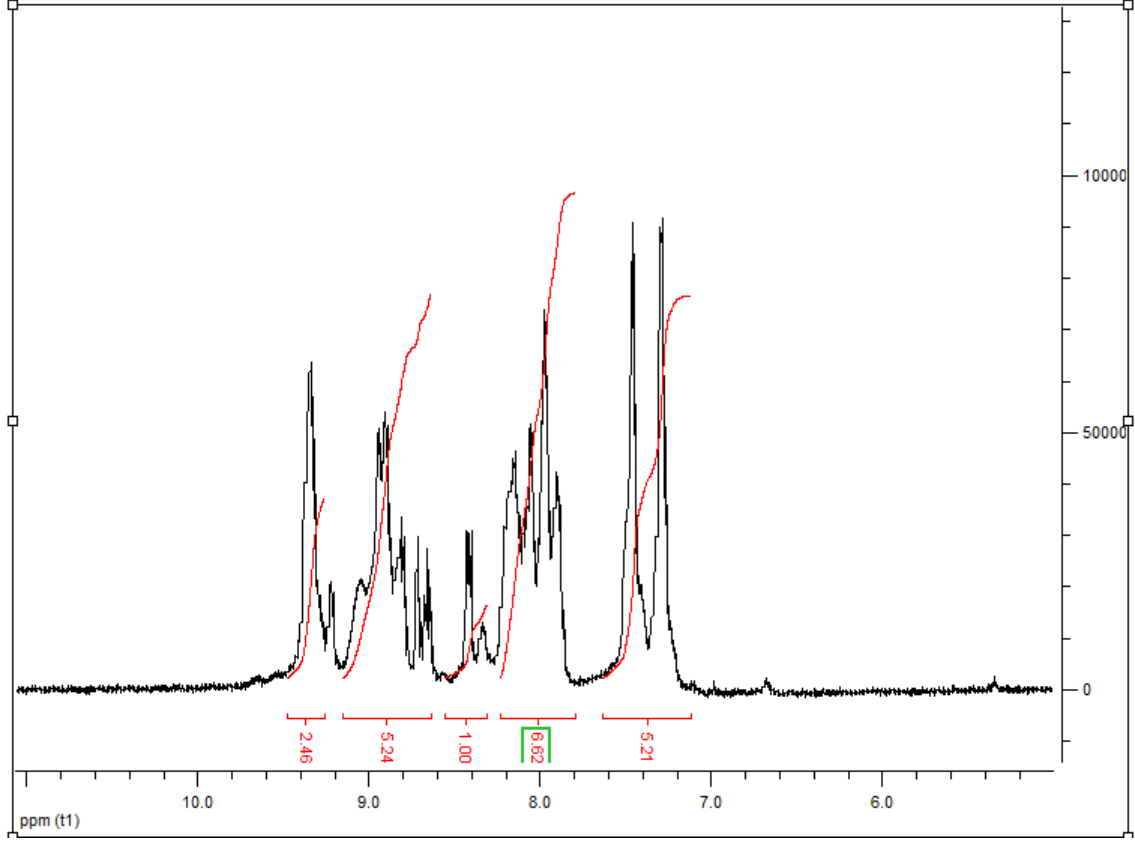
Şekil 3.6. 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı ESI-MS spektrumu



Şekil 3.7. 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandı IR spektrumu

## 3.2 KOMPLEKSLERİN KARAKTERİZASYONU

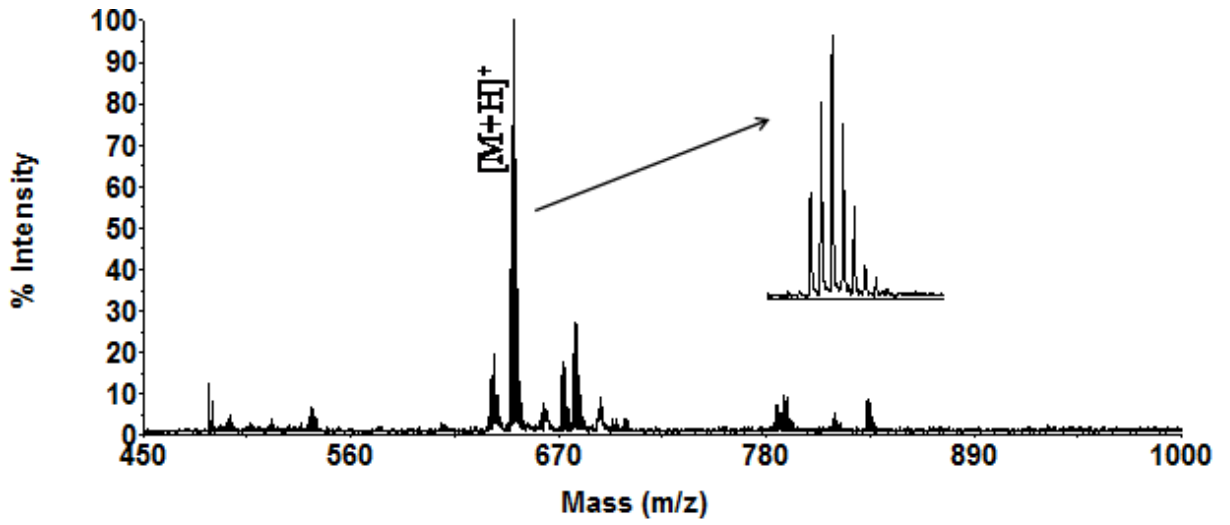
### 3.2.1 [Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup> Kompleksi



Şekil 3.8. [Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup> kompleksi H-NMR spektrumu

<sup>1</sup>H NMR: 1H NMR (400 MHz, dms<sub>o</sub>-d<sub>6</sub>, δ<sub>ppm</sub>): 9,33 (d-d 2H, H19, H16), 8,93 (d-d 2H, H9, H6), 8,78 (d-d2H, H8, H17), 8,78 (d-d2H, H12, H13), 8,42 (d-d 2H, H5, H1), 8,05 (d-d 2H, H11, H14), 7,95 (m 2H, H7, H15), 7,48(d-d 2H, H10, H15), 7,28(s 3H, H4, H3, H2).

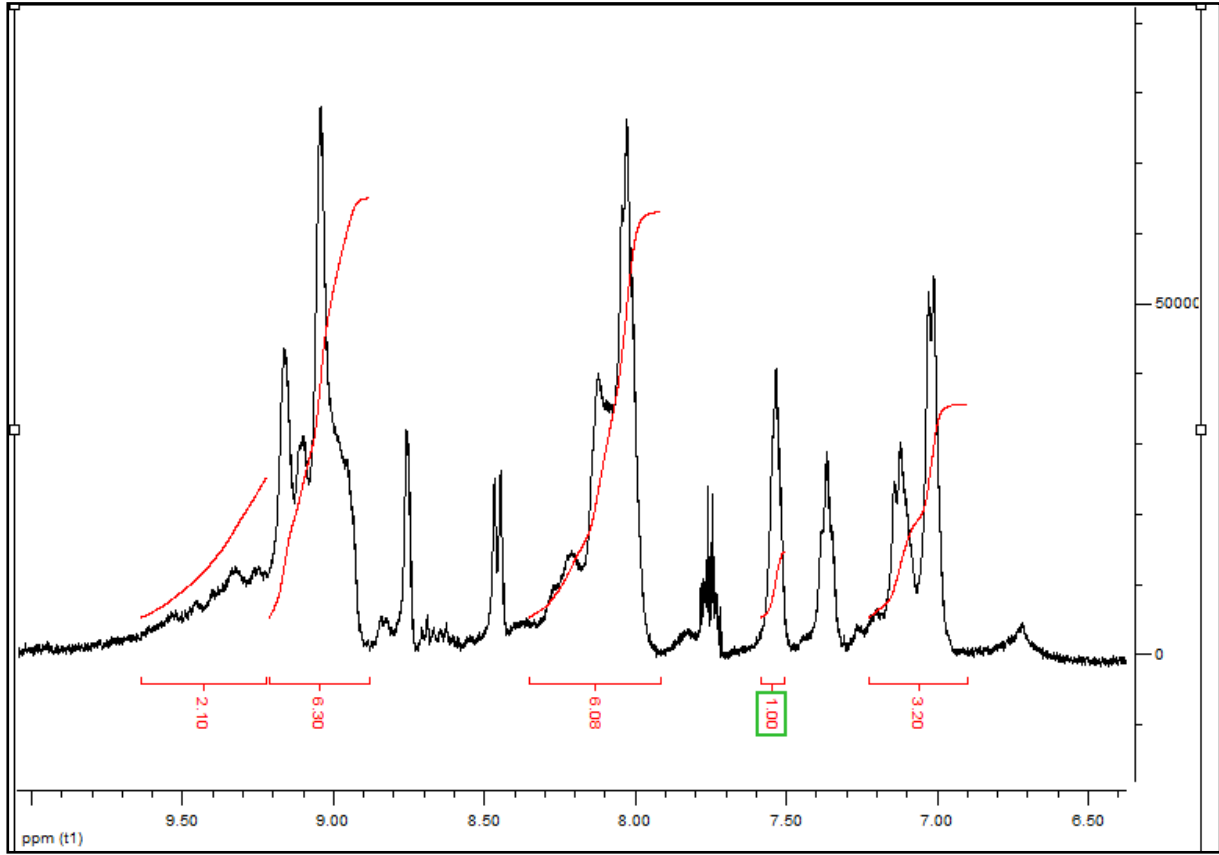
Kompleksleşmenin ardından liganda ait hidrojenlerin kimyasal kayma değerlerinde önemli değişiklikler oluşmuştur (Şekil 3.8). Kompleks oluşmadan önce 8 ve 17 numaralı hidrojenler en düşük alanda pik verirken kompleks içinde 6 ve 19 numaralı hidrojenler en düşük alanda 9,33 ppm'de pik vermiştir. Bu kompleksleşme gerçekleştiğinin en önemli kanıtıdır. Aynı kayma literatürde rutenyum kompleksi için 9,32 ppm'de görülmüştür (Uma Maheswari et al. 2006). Para pozisyonunda metoksi grubu bulduran PIP ligandından sentezlenen rutenyum kompleksinde kompleks oluşumu sırasında aynı hidrojenler için 8,56 ppm'deki pik 8,97 ppm'e kaymıştır (Gao et al. 2011).



Şekil 3.9.  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{+2}$  kompleksi kütle spektrumu

$[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{+2}$  kompleksi kütle spektrumuna (Şekil 3.9) bakıldığında kompleksin +1 yüklü halinde ana pik verdiği karşıt iyon olarak eklenen nitrat grubunun analizde görülmediği anlaşılmaktadır. Teorik olarak bu değer 648,13'tür. Spektrumda da bu beklenen sonuç görülmüştür ve kompleksin başarıyla sentezlendiği kanıtlanmıştır.

### 3.2.2 [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> Kompleksi



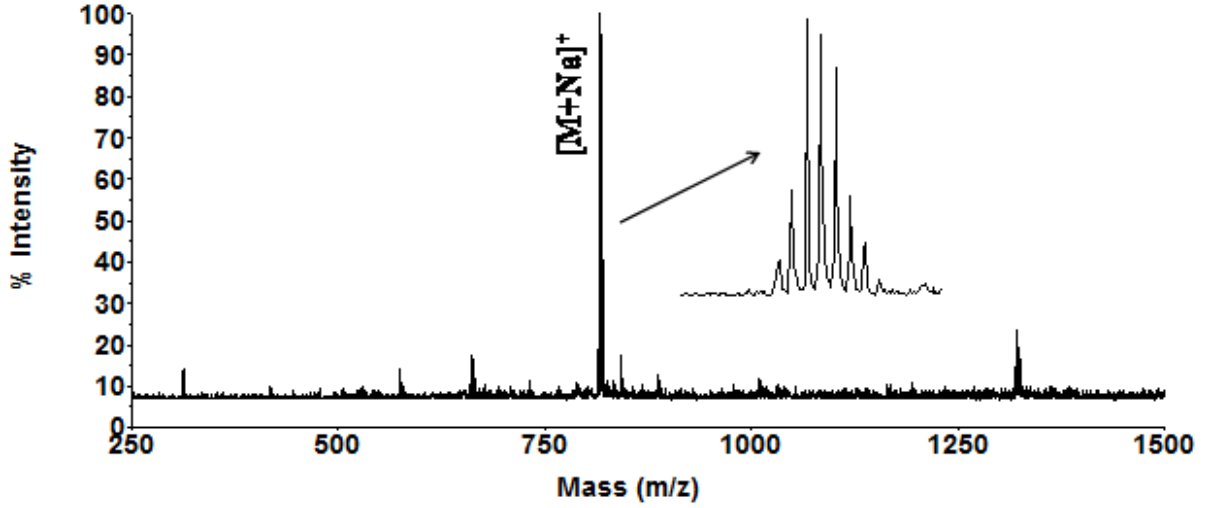
Şekil 3.10. [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksi H-NMR spektrumu

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, dms<sub>o</sub>-d<sub>6</sub>, δ<sub>ppm</sub>): 9,1 (d-d 2H, H8, H15), 8,89 (m 6H, H7, H8, H10, H13, H15, H16), 8,12 (d-d 2H, H11, H12), 8,07 (m 4H, H6, H9, H14, H17), 7,58 (m 2H, H7, H10), 7,34 (d-d 1H, H4), 7,14 (d-d 1H, H2), 7,02 (m 2H, H3, H1)

Kompleksleşmenin ardından liganda ait hidrojenlerin kimyasal kayma değerlerinde önemli değişiklikler oluşmuştur (Şekil 3.9). Kompleks oluşmadan önce 7 ve 16 numaralı hidrojenler



en düşük alanda pik verirken kompleks içinde 18 ve 5 numaralı hidrojenler en düşük alanda pik vermiştir. Bu kompleksleşme gerçekleştiğinin en önemli kanıtıdır. 18 ve 5 numaralı hidrojenlerin kayma değerlerindeki bu değişim literatürde de görülmektedir. 18 numaralı hidrojen için 8,20 ppm 5 numaralı hidrojen için 7,87 ppm olan kimyasal kayma değeri kompleks oluşumu ardından 9,06 ppm olarak değişmiştir (Liu et al. 2008).



Şekil 3.11.  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  kompleksi kütle spektrumu

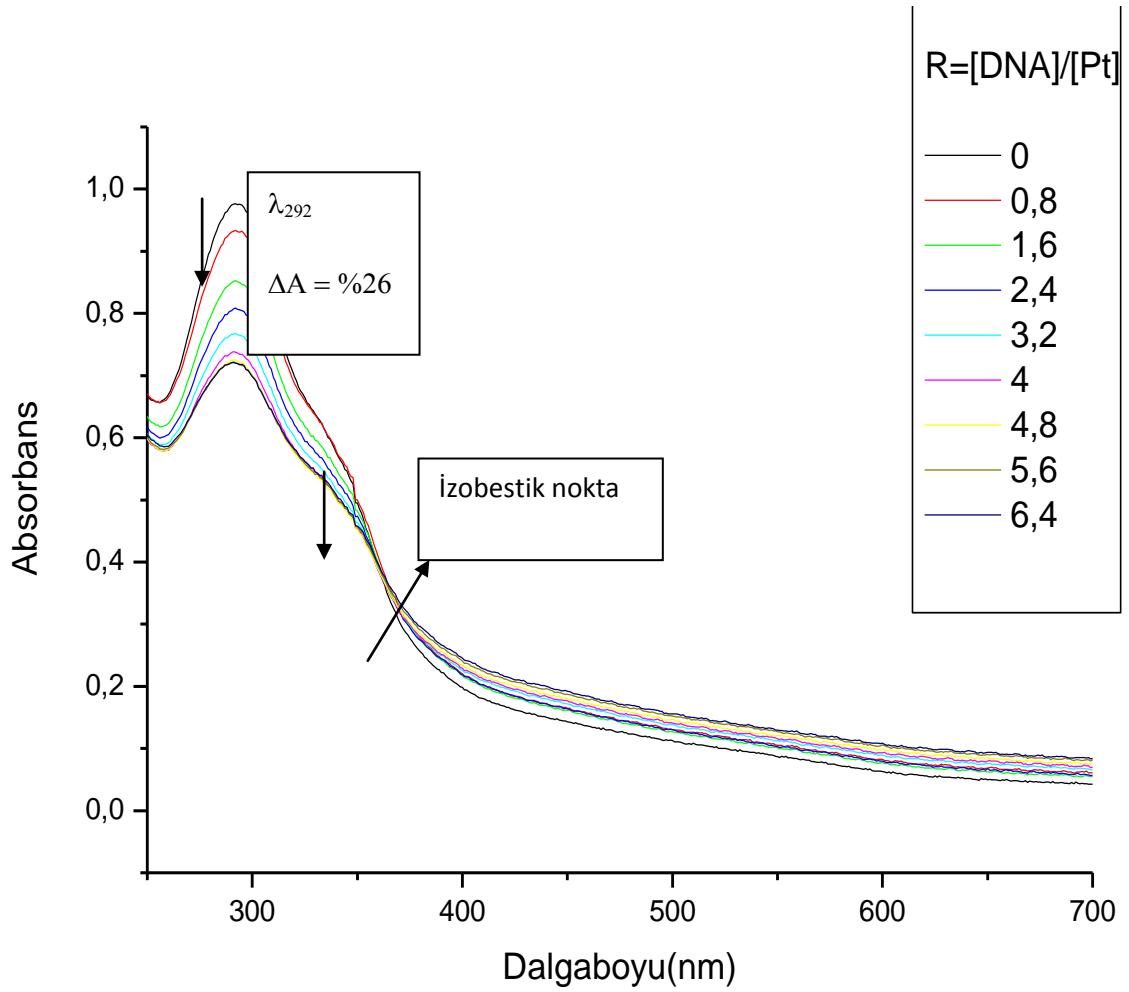
$[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  kompleksi kütle spektrumuna (Şekil 3.11) bakıldığında ana pik 810,6 da görülmektedir. Kompleksin kütle analizi yapılırken karşıt iyon olarak kullanılan nitrat iyonları ve iyon kaynağından gelen sodyum ile birlikte kompleks  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}2\text{NO}_3^- + \text{Na}$  olarak analiz edilmiş ve m/z:810,6 değeri görülmüştür.

### 3.3 KOMPLEKSLERİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİ

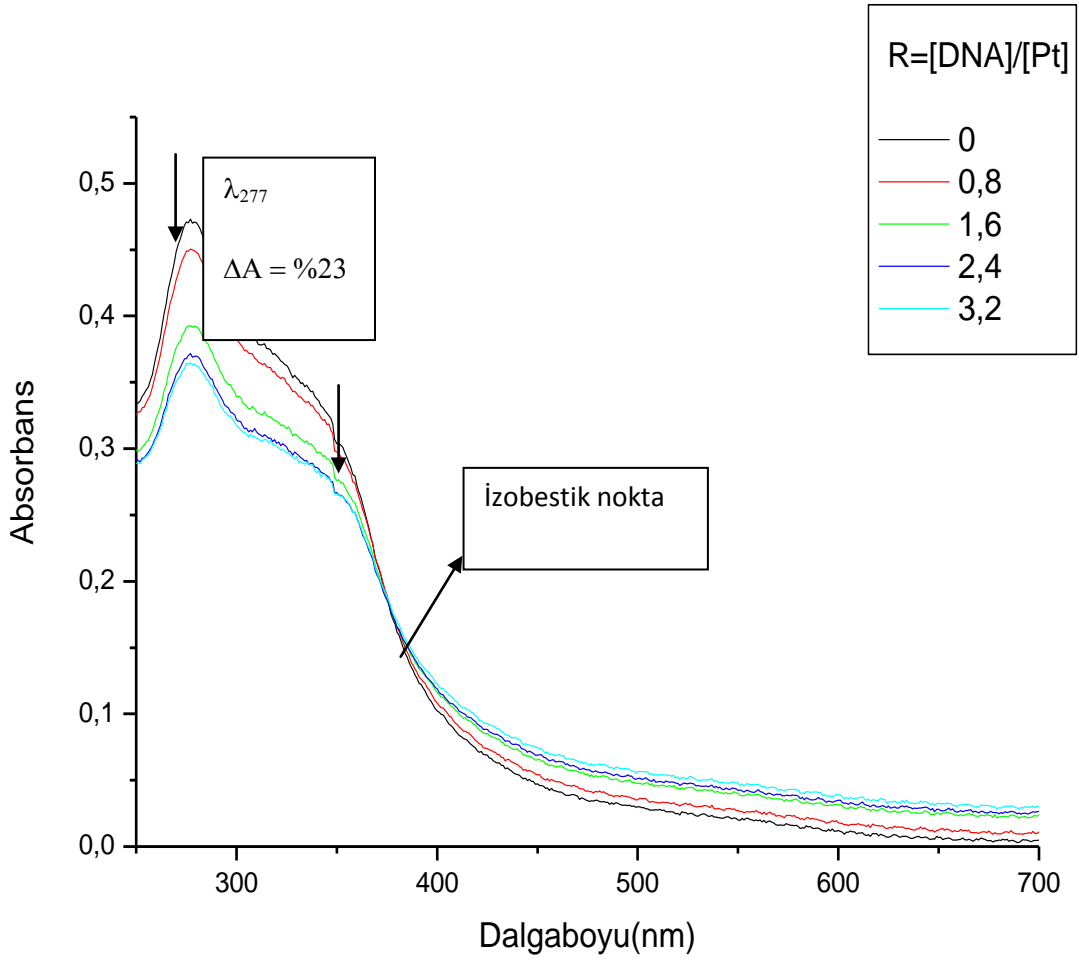
#### 3.3.1 UV Titrasyon Sonuçları

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{+2}$  ve  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{+2}$  komplekslerindeki ligandlarının  $\pi$ - $\pi^*$  geçişlerine ait sırasıyla 297 ve 277 nm'de bulunan piklerin (Şekil 3.12 ve 3.13) absorpsanlarında görülen azalma (hipokromik etki) molekülün DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yapması olarak değerlendirilmektedir (Chen et al. 2011, Sun et al. 2010, Sun et al. 2011a, Sun et al. 2011b). DNA baz çiftlerinin sahip olduğu  $\pi$

elektron sisteminin ligandın  $\pi$  elektron sistemiyle etkileşmesinden kaynaklanmaktadır (Zeglis et al. 2007). Bu etkileşim ligandların  $\pi$  elektronlarının daha geniş bir alanda delokalize olabilmemesinin sağlamaktadır. Bu durum enerji seviyesinde azalmaya dolayısıyla absorbansta azalmaya neden olmaktadır.

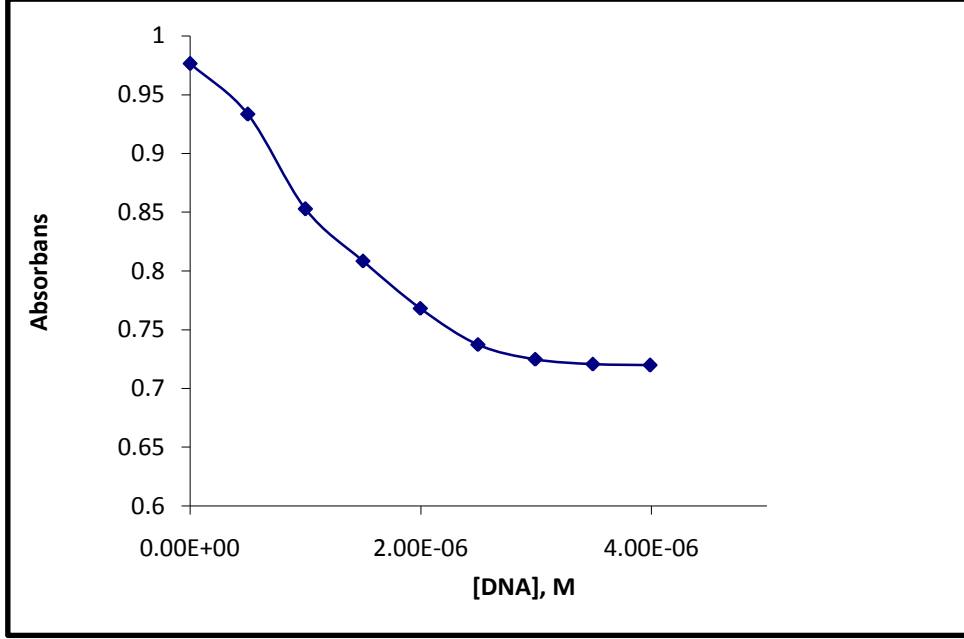


Şekil 3.12.  $10 \mu M [Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  kompleksinin  $0,5-40 \mu M$  DNA ile titrasyonundan elde edilen UV-Vis absorpsiyon Spektrumu

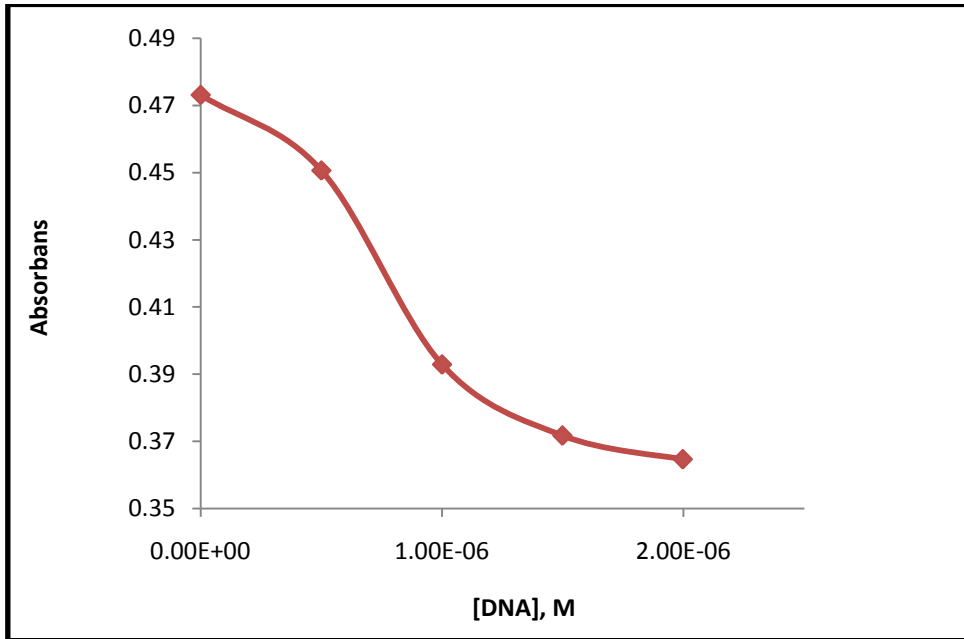


Şekil 3.13. 10  $\mu\text{M}$   $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{2+}$  kompleksinin 0,5-20  $\mu\text{M}$  DNA ile titrasyonundan elde edilen UV-Vis absorpsiyon Spektrumu

Şekil 3.13 ve şekil 3.14'te artan DNA derişimiyle komplekslerin absorpsiyonundaki azalma görülmektedir. Ancak karışım doygunluğa ulaştığında daha fazla kompleks DNA'ya interkalasyon yapamayacaktır. Bu yüzden DNA konsantrasyonu belli orandan sonra artsa da absorpsiyon değışmeyecektir.



Şekil 3.14. Artan DNA derişimiyle [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin absorbans değişimi



Şekil 3.15. Artan DNA derişimiyle [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin absorbans değişimi

Elde edilen spektrumlar incelendiğinde [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> ve [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> için sırasıyla 360 ve 380 nm dolayında izobestik noktalar görölmektedir (Şekil 3.11-12). Bu durum ortamda katılma kompleksi (DNA - Pt kompleksi) oluştugunu göstermektedir. Başlangıçta

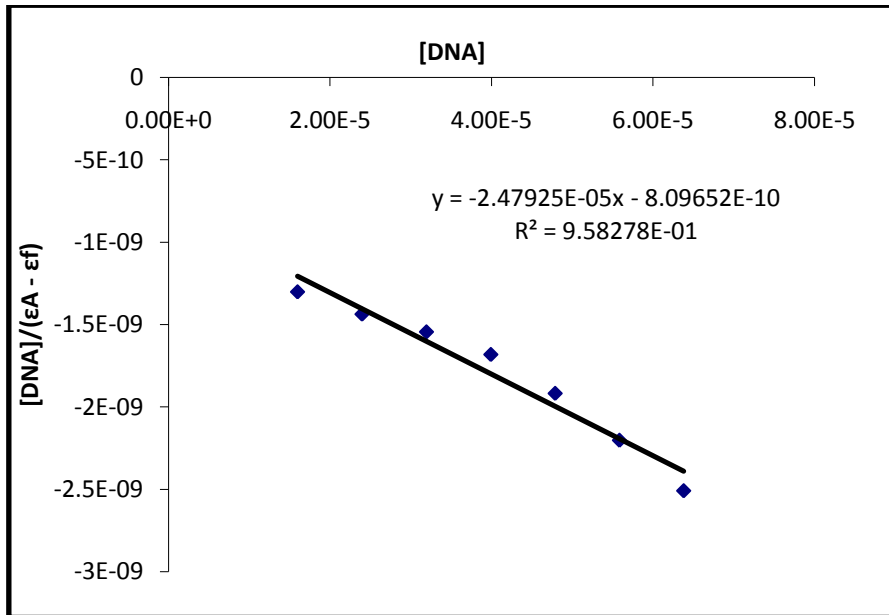
sadece kompleks varken artan DNA eklenmesiyle daha düşük enerjili, DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yapmış kompleks molekülleri oluşmaktadır.

Komplekslerin DNA ile etkileşim gücünün diğer kompleksle karşılaştırılabilmesi için eşitlik 3.1 kullanılarak bağlanma sabiti değeri hesaplandı.

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

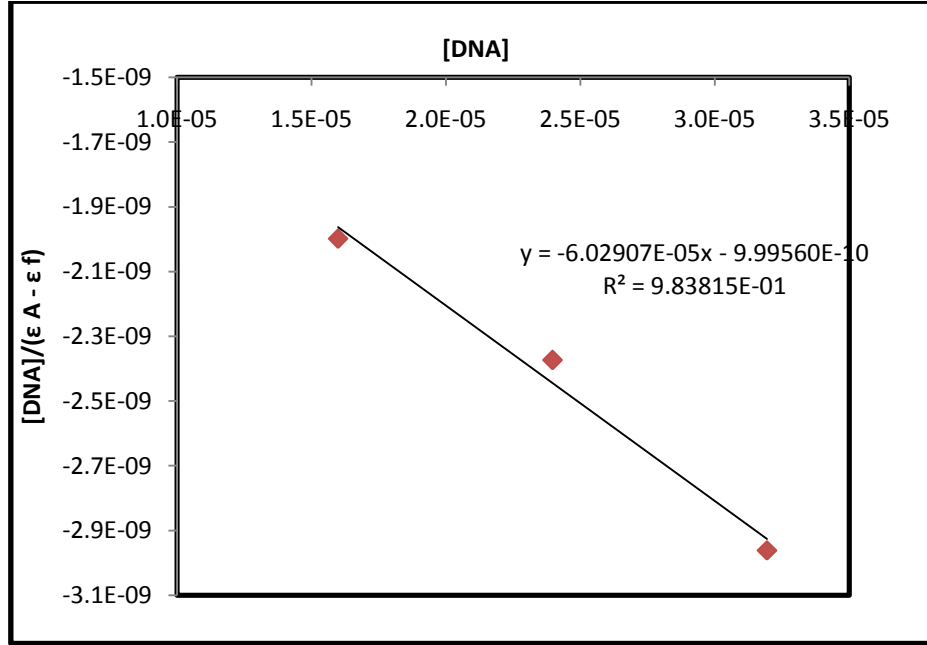
Bağlanma sabiti hesaplanırken  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  kompleksinin 292 nm'de gösterdiği,  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  kompleksinin 277 nm'de gösterdiği absorban piki kullanıldı.  $[DNA]$  değerlerine karşı  $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$  değerleri grafiğe geçirildiğinde eğim  $1/(\epsilon_B - \epsilon_f)$  değerine kesim noktası ise  $1/K_b(\epsilon_B - \epsilon_f)$  değerine karşılık gelmektedir. Burada  $[DNA]$  ölçüm yapılan dalga boyundaki DNA derişimi,  $\epsilon_A$  o noktadaki sönüm katsayısı,  $\epsilon_B$  kompleksin DNA'ya tamamen bağlandığı andaki yani titrasyon sonunda absorban değişiminin durduğu andaki sönüm katsayısı,  $\epsilon_f$  ise serbest haldeki yani ortamda DNA olmadığı durumdaki sönüm katsayısına eşittir.

Şekil 3.16'da  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  kompleksine ait  $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f) = [DNA]/(\epsilon_B - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_B - \epsilon_f)$  eşitliği kullanılarak elde edilen lineer grafik gösterilmektedir. Eğim ve kesim noktası değerleri kullanılarak bağlanma sabiti ( $K_b$ )  $3,059 \times 10^4$  olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.16.  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  için  $[DNA]$  değerlerine karşı  $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$  grafiği

Hesaplanan bağlanma sabiti değeri interkalasyon yaptığı kesin olarak bilinen dppz ligandının platin komplekslerinden daha yüksek bulunmuştur (Che et al. 1999). Bu durum ligandın sahip olduğu fenantrolin grubunun sağladığı düzlemselliğe bağlanabilir. Ligandın düzlemselliği baz çiftleri arasına daha rahat girmesini kolaylaştırmaktadır.



Şekil 3.17. [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> için [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε<sub>A</sub> - ε<sub>f</sub>) grafiği

Şekil 3.17'de [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksine ait bağlanma sabiti (K<sub>b</sub>) 6,026 x 10<sup>4</sup> olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen bağlanma sabitleri incelendiğinde [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksine ait bağlanma sabiti değerinin [Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup> kompleksi için hesaplanan değerinkinden yaklaşık iki katı çıktığı görülmektedir.

[Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksinin (Şekil 3.18) sahip olduğu OH grubu sayesinde yapı molekül içi hidrojen bağına sahip olmaktadır. Orto pozisyonundaki fenol molekülü imidazol halkasındaki azot ile hidrojen bağı yaparak molekülü daha düzlemsel bir yapıya kavuşturarak DNA baz çiftleri arasındaki boşluğa daha kolay girmesini sağlamaktadır (Uma Maheswari and Palaniandavar 2004). Bu durum yapılan diğer çalışmalarda da görülmektedir (Zhang et al. 2002, Liu et al. 2008).

Şekil 3.18. [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksi molekül içi hidrojen bağı

Aromatik halkalarda bulunan fonksiyonel grupların gösterdiği indüktif etki DNA'ya bağlanma kuvvetini doğrudan etkileyen bir faktördür. Literatürde bulunan çalışmalarda pozitif indüktif etkiye sahip yani halkaya elektron veren OH gibi fonksiyonel grupların DNA bağlanma sabitinin negatif indüktif etki gösteren azotlu fonksiyonel grupların bağlanma sabitinden daha düşük değerler çıktığı görülmektedir (Liu et al. 2008). Ancak [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksinin sahip olduğu düzlemsellik negatif indüktif etkinin getirdiği dezavantajı elimine edebilmiş ve bağlanma sabiti [Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup> kompleksinden daha büyük çıkmıştır.

Aşağıdaki çizelge 3.1'de 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandına orto pozisyonda bağlı fonksiyonel grupların bağlanma sabitine etkisi görülmektedir.

Çizelge 3.1. Farklı fonksiyonel grupların 2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandının bağlanma sabitine etkisi.

<b>-R</b>	<b>Kompleks</b>	<b>Bağlanma Sabiti (<math>10^5</math>)</b>	<b>Referans</b>
	Ru(NH <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> L	4,3	(Uma Maheswari 2004)
	Ru(NH <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> L Ru(bpy) <sub>2</sub> L	9,7 6,5	(Uma Maheswari 2004) (Liu, 1999)
	Ru(bpy) <sub>2</sub> L	1,6	(Mei, 2008)
	Ru(phen) <sub>2</sub> L	3,4	(Liu, 2011)
	Ru(phen) <sub>2</sub> L	0,4	(Xu, 2004)
	Ru(phen) <sub>2</sub> L	0,7	(Liu, 2004)

Çizelgede de görüldüğü gibi en yüksek bağlanma sabiti değeri bizim çalışmamızda da olduğu gibi hidroksi fonksiyonel grubu bulunduran ligandta (HPIP) hesaplanmıştır (Uma Maheswari 2004, Liu, 1999). Hidroksil grubunun para pozisyonunda olduğu komplekste ise bağlanma sabitinin düşmesi (Liu, 2004) daha önce bahsedildiği gibi –OH grubunun molekül içi hidrojen bağı yaparak yapının düzlemselliğini ve aromatik halka alanını arttırmasından kaynaklandığını desteklemektedir. Hiçbir fonksiyonel grup bulundurmeyen ligandın (PIP) bağlanma sabiti değeri ikinci sırada gelmektedir. NH<sub>2</sub> grubu halkaya elektron pompalmasına rağmen yine –OH grubu gibi molekül içi hidrojen bağı yaparak aromatik alanın büyümesine katkıda bulunduğundan DNA'ya daha kuvvetli bağlanmaktadır (Liu, 2011) diğer taraftan -CF<sub>3</sub> (Mei, 2008) ve -Br (Xu, 2004) gibi elektronegatif gruplar elektron çekici olmalarına rağmen atom çaplarının büyüklüğü sebebiyle ligandın düzlemselliğini bozarak bağlanma kuvvetlerini düşürmektedirler.



Çizelge 3.2. Dppz ligandının farklı metallerle yaptığı komplekslerin bağlanma sabiti değerleri.

<b>Metal kompleksi</b>	<b>Bağlanma Sabiti (<math>10^5</math>)</b>	<b>Referans</b>
Co(phen) <sub>2</sub> L	76,0	Jin 1997
Ru(phen) <sub>2</sub> L	32,0	Hiort 1993
Ru(Im) <sub>4</sub> L	25,0	Chen 2008
Ru(tbz) <sub>2</sub> L	21,0	Shi 2008
Ni(phen) <sub>2</sub> L	9,0	Arounaguiiri 2000
AuL <sub>2</sub>	1,8	Navarro 2007
CuL <sub>2</sub>	0,8	Navarro 2003
Pt(MeIm) <sub>2</sub> L	0,1	Che 1999

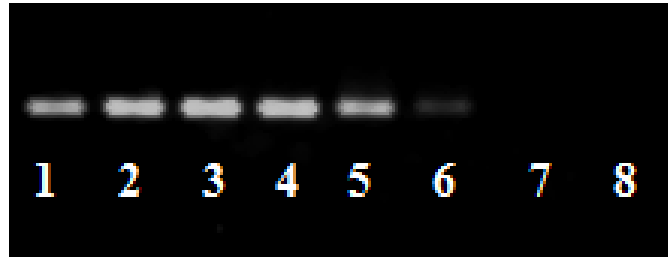
Çizelge 3.2’de verilen PIP ve HPIP ligandlarının rutenyum komplekslerine ait bağlanma sabiti değerleri  $10^5$  mertebesindeyken bu tezde yapılan çalışmalar sonucu hesaplanan bağlanma sabiti değerleri  $10^4$  mertebelerinde bulunmuştur. Bu sonuç şaşırtıcı değildir. Yapılan çalışmalarda çok iyi bir interkalatör olduğu bilinen dppz ligandının oktahedral geometriye sahip kobalt kompleksinin bağlanma sabiti değeri  $76 \times 10^5$  olarak hesaplanırken (Jin et al.1997) bu değer yine oktahedral geometriye sahip rutenyum kompleksleri için  $32 \times 10^5$ ,  $25 \times 10^5$ ,  $21 \times 10^5$  (Chen et al. 2008, Shi et al. 2008, Hiort et al. 2003) nikel kompleksleri için  $9 \times 10^5$  (Arounaguiiri et al. 2000) bulunmuştur. Oktahedral yapıli kompleksler üç boyutlu yapı sayesinde DNA minör yarığına daha iyi yerleşerek yan ligandlarıyla sarmala daha iyi tutunurlar ve yüksek bağlanma sabitleri gösterirler Altın ve platin kompleksleri kare düzlem geometriye sahiptirler ve yukarıda geçen metal komplekslerinden daha düşük bağlanma kuvveti gösterirler. Dppz ligandının Au(III) kompleksi için bağlanma sabiti.  $1,8 \times 10^5$  (Navarro et al. 2007), bakır(II) için  $0,8 \times 10^5$  (Navarro et al. 2003) bulunmuştur. Platin(II) iyonu da kare düzlem geometriye sahip kompleks verdiği için bağlanma sabitinin düşük çıkması beklenir ve  $0,1 \times 10^5$  (Che et al. 1999) değeriyle bu durum kanıtlanmaktadır. Dolayısıyla PIP ve HPIP ligandlarının platin komplekslerinin bağlanma sabiti dğerlerinin literatürde bulunan rutenyum komplekslerinden daha düşük çıkması beklenen bir sonuçtur.

### 3.3.2 Agaroz Jel Elektroforez Sonuçları

#### 3.3.2.1 [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> Kompleksinin Jel Elektroforez Sonuçları

Elektroforez çalışmalarında hedef çalışılan molekülün DNA'yı hangi derişimden sonra bozmaya başladığını saptamaktır. Bu amaç doğrultusunda çalışılacak molekülün farklı derişimlerde çözeltileri hazırlanır ve her bir derişim miktarı DNA üzerinde denenir.

[Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin pUC19 DNA üzerine etkisi incelenmiştir. Şekil 3.19'da görülen fotoğraf kompleksin kompleks: DNA oranı 0,5:1 ile 1:6 arasında değiştirilerek 1 saat inkübasyon sonrası gerçekleştirilen elektroforez sonuçları görölmektedir.



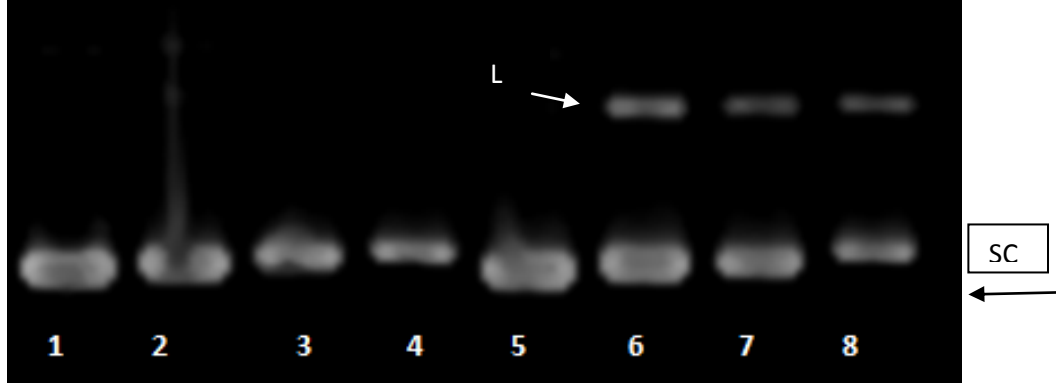
Şekil 3.19. 1 saat inkübasyon sonrası [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> ait elektroforez sonuçları

Resimde 1 numaralı kolon sadece pUC19, 2-9 arası ise kompleks:DNA oranı 0,5:1, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 ve 6:1 arasında değişen karışımları göstermektedir.

Süper sarmal halde bulunan plazmid DNA, baz çiftleri arasına yerleşen ajanlar sebebiyle süper sarmal özelliğini kaybeder açık sarmal forma dönüşür. Eğer etkileşim kuvvetli ise sarmal yapıda bozularak DNA lineer hale geçer. Lineer ve açık sarmal yapılı DNA süper sarmal DNA ya göre daha yoğundur ve elektrik akımı altında daha yavaş hareket eder.

Resim incelendiğinde 5 numaralı kolondan itibaren yani 3:1 kompleks oranından sonra artan miktarlarda kompleks eklenmesiyle süper sarmal DNA miktarında azalma görölmektedir. Bu azalma artan kompleks miktarının DNA yı daha fazla bozduğunu göstermektedir. 6 numaralı kolondan sonra ise süper sarmal DNA ortamdaki kaybolmuştur. Bu da 5:1 oranındaki kompleksin DNA'yı tamamen farklı bir forma geçirdiğini göstermektedir.

Şekil 3.20’de görülen resimde  $[Pt(bpy)(PIP)]^{+2}$ -pUC19 karışımının 1 saat boyunca karanlıkta ve UV ışığına maruz bırakılmasının ardından elde edilen elektroforez sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.20. 1 saat karanlıkta ve UV ışığında tutulan  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  ait elektroforez sonuçları

Resimde 1 ve 5 numaralı kolonlar tek başına pUC19, 2-4 arası kompleks:DNA oranı 0,1:1 ile 1:1 arasında değişen karışımların 1 saat karanlıkta bekletilmesiyle elde edilen, 6-8 arası kompleks:DNA oranı 0,1:1 ile 1:1 arasında değişen karışımların 1 saat UV ışığı altında bekletilmesiyle elde edilen sonuçları göstermektedir.

Sonuçlar incelendiğinde 1 saat karanlıkta gerçekleşen inkübasyonun DNA’yı bozarak süper sarmal DNA formunda kuvvetli bir azalmaya yol açtığı, UV ışığı altında bekletilen karışımlarda ise yüksek miktarlarda süper sarmal DNA’nın bozularak lineer form DNA’ya dönüştüğü görülmektedir.

UV ışığı altında yeni formda DNA oluşması, UV ışığının ligandın pozitif yükünü arttırmasının sonucudur. Ligand UV ışığına maruz kaldığında elektronlar temel hal ve uyarılmış hal arasında sürekli geçiş yaparak molekül içi elektron transferi döngüsü oluştururlar. Bu durum ligandın pozitif yükünü arttırır ve radikal katyon oluşumunu kolaylaştırarak DNA’nın oksidasyonuna olanak verir (Miao, 2010). Oksidasyon ile birlikte zincirde kırılmalar meydana gelir ve DNA sarmal yapısı bozularak lineer form DNA oluşur..

### 3.3.2.2 [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> Kompleksinin Jel Elektroferez Sonuçları

[Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksinin pUC19 DNA üzerine etkisi incelenmiştir. Şekil 3.21’de görülen fotoğraf kompleksin kompleks:DNA oranı 0,5:1 ile 1:6 arasında değiştirilerek 11 saat inkübasyon sonrası gerçekleştirilen elektroferez sonuçları görülmektedir.

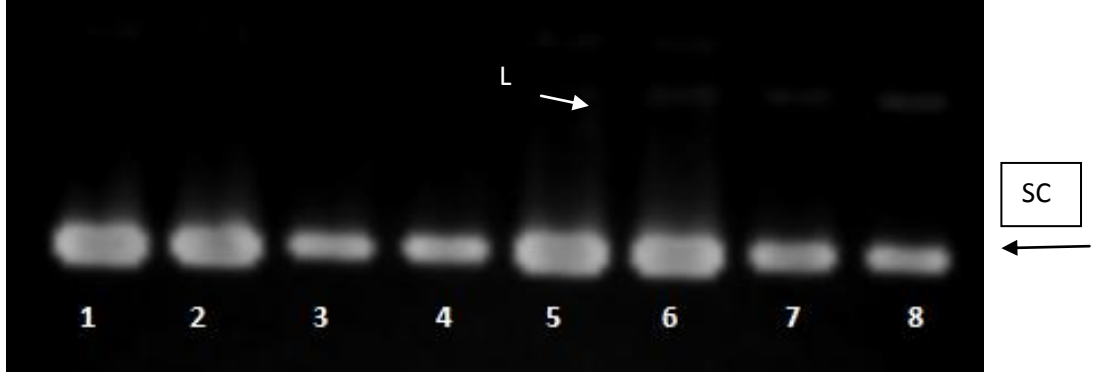


Şekil 3.21. 1 saat inkübasyon sonrası [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> ait elektroferez sonuçları

Resimde 1 numaralı kolon sadece pUC19, 2-9 arası ise kompleks: DNA oranı 0,5:1, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 ve 6:1 arasında değişen karışımları göstermektedir.

Resim incelendiğinde 4 numaralı kolondan itibaren yani 2:1 kompleks oranından sonra artan miktarlarda kompleks eklenmesiyle süper sarmal DNA miktarında azalma görülmektedir. [Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup> kompleksi için bu azalma 3:1 oranında görülmeye başlanmasına karşın [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksinde daha düşük bir oran 2:1 değerinde görülmesi bu kompleksin süper sarmal DNA’yı daha düşük derişimlerde bozmaya başladığını göstermektedir. 5 numaralı kolondan sonra ise süper sarmal DNA ortamdan kaybolmuştur. Bu da 5:1 oranındaki kompleksin DNA’yı tamamen farklı bir forma geçirdiğini ve [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksinin DNA’yı [Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup> kompleksine göre daha fazla bozduğunu göstermektedir.

Şekil 3.22’de görülen resimde [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> –pUC19 karışımının 1 saat boyunca karanlıkta ve UV ışığına maruz bırakılmasının ardından elde edilen elektroferez sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.22. 1 saat karanlıkta ve UV ışığında tutulan  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$ -pUC19 karışımına ait elektroforez sonuçları

Resimde 1 ve 5 numaralı kolonlar tek başına pUC19, 2-4 arası kompleks:DNA oranı 0,1:1 ile 1:1 arasında değişen karışımların 1 saat karanlıkta bekletilmesiyle elde edilen, 6-8 arası kompleks:DNA oranı 0,1:1 ile 1:1 arasında değişen karışımların 1 saat UV ışığı altında bekletilmesiyle elde edilen sonuçları göstermektedir.

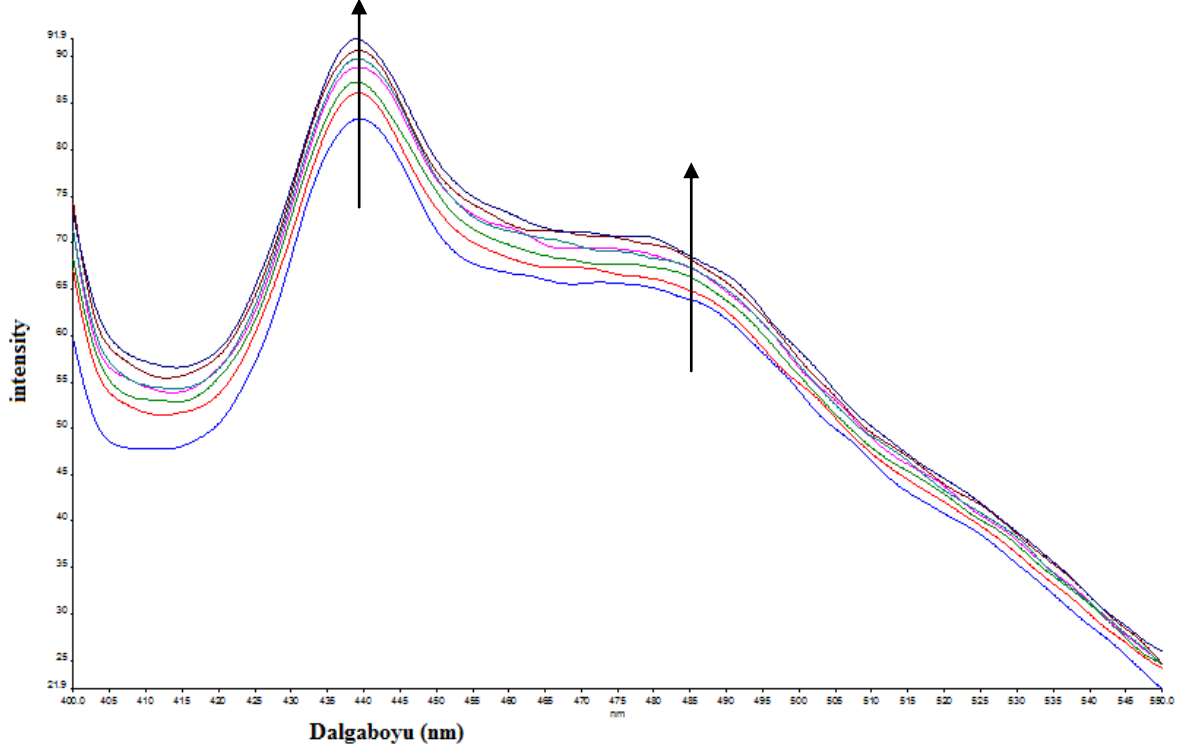
Diğer kompleks sonuçlarında olduğu gibi UV ışığı altında bekletilen karışımlarda DNA da bozulmalar gerçekleştiği görülmektedir.  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  kompleksinin gösterdiği etkiyle karşılaştırılınca  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  kompleksinin UV ışığı altında lineer form DNA oluşturma yoğunluğunun  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  sonuçlarına göre zayıf olduğu anlaşılmaktadır.

### 3.3.3 Floresans Spektroskopisi Sonuçları

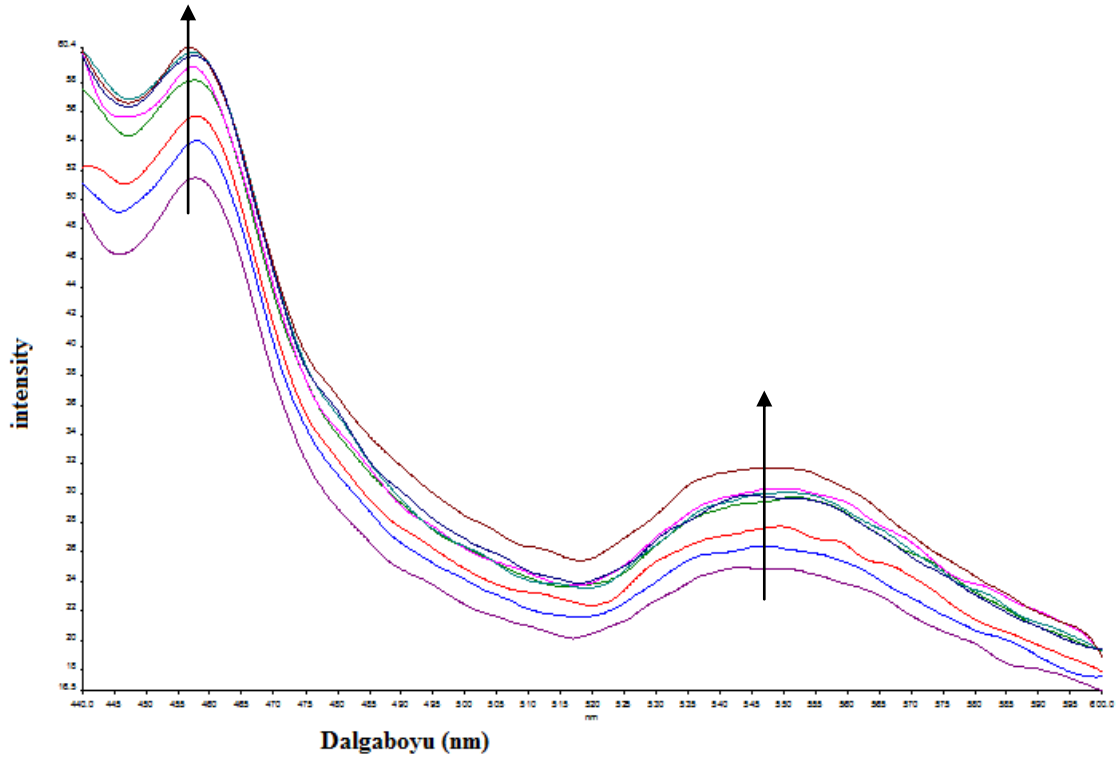
Şekil 3.23 ve şekil 3.24 artan DNA derişimiyle  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  ve  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  kompleksinin floresansındaki değişimi göstermektedir. 10  $\mu$ M kompleks çözeltisi üzerine 3 mM DNA çözeltisi ortamdaki DNA derişimi 20  $\mu$ M olana kadar devam edilmiştir ve her ekleme sonrasında spektrum kaydedilmiştir.

$[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  ve  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  kompleksi saf halde çok düşük floresans özellik göstermekteyken artan miktarlarda DNA eklenmesi sonucunda komplekslerin floresans pikinin yoğunluğu yükselmiştir. Eğer kompleks DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yapıyorsa DNA sarmalının iç yapısının hidrofobik olması sayesinde çözücünden korunur ve çözücünün kompleks üzerindeki etkisi ortadan kalkar. Bu durum floresans yoğunluğunda yükselme olarak görülür. Çalışılan  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$   $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  komplekslerinde bu

değişimin görülmesi komplekslerin DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaptığını göstermektedir.



Şekil 3.23. [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin 0-20 mM DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu



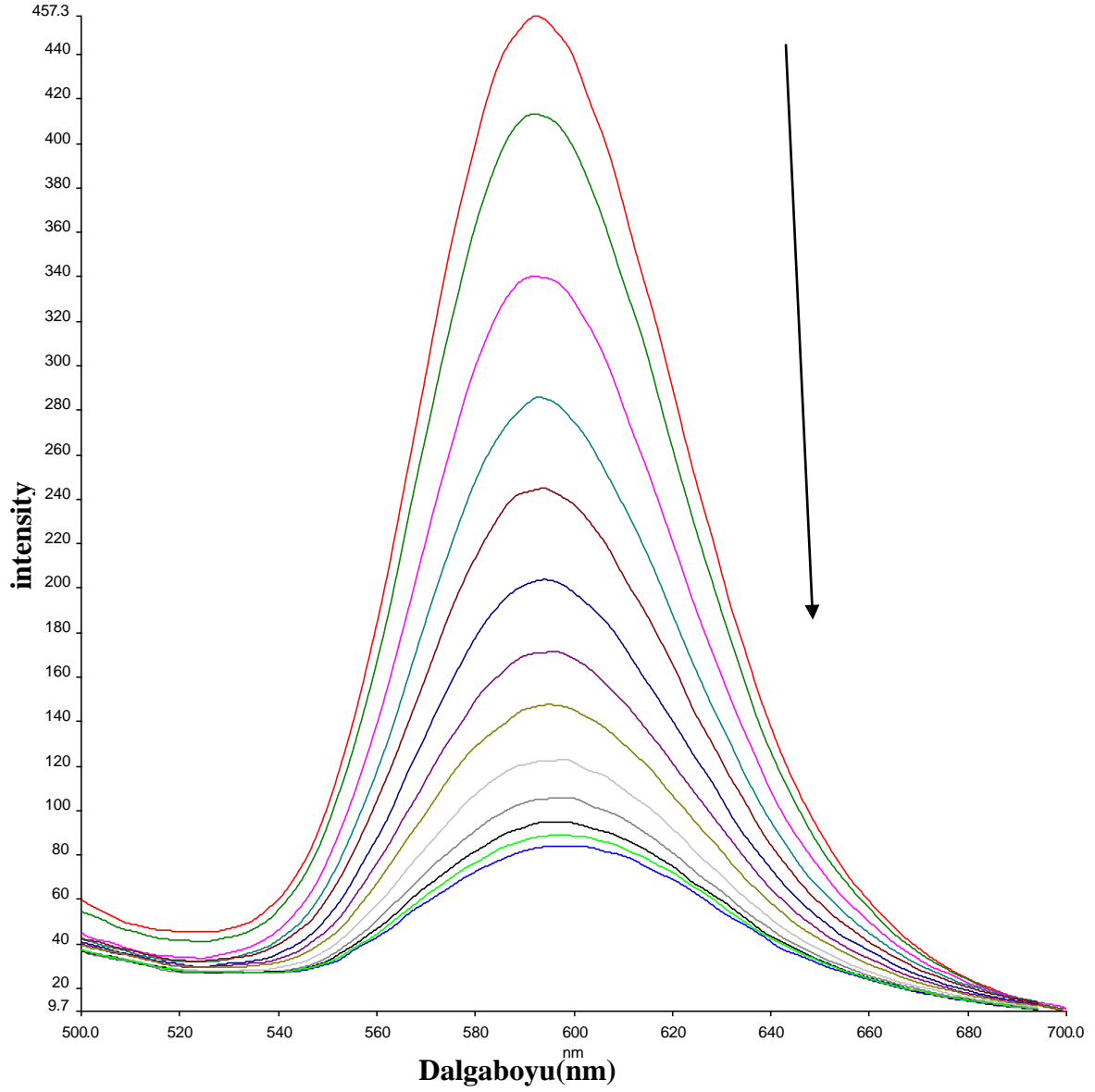
Şekil 3.24.  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  kompleksinin 0-20 mM DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumu

### 3.3.4 EtBr ile Yarışmalı Floresans

Şekil 3.25 ve şekil 3.26 20  $\mu$ M EtBr ile doyurulmuş 100  $\mu$ M sığır DNA'sı içeren çözeltisinin artan  $[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  derişimiyle floresans spektrumunda gerçekleşen değişimi göstermektedir.

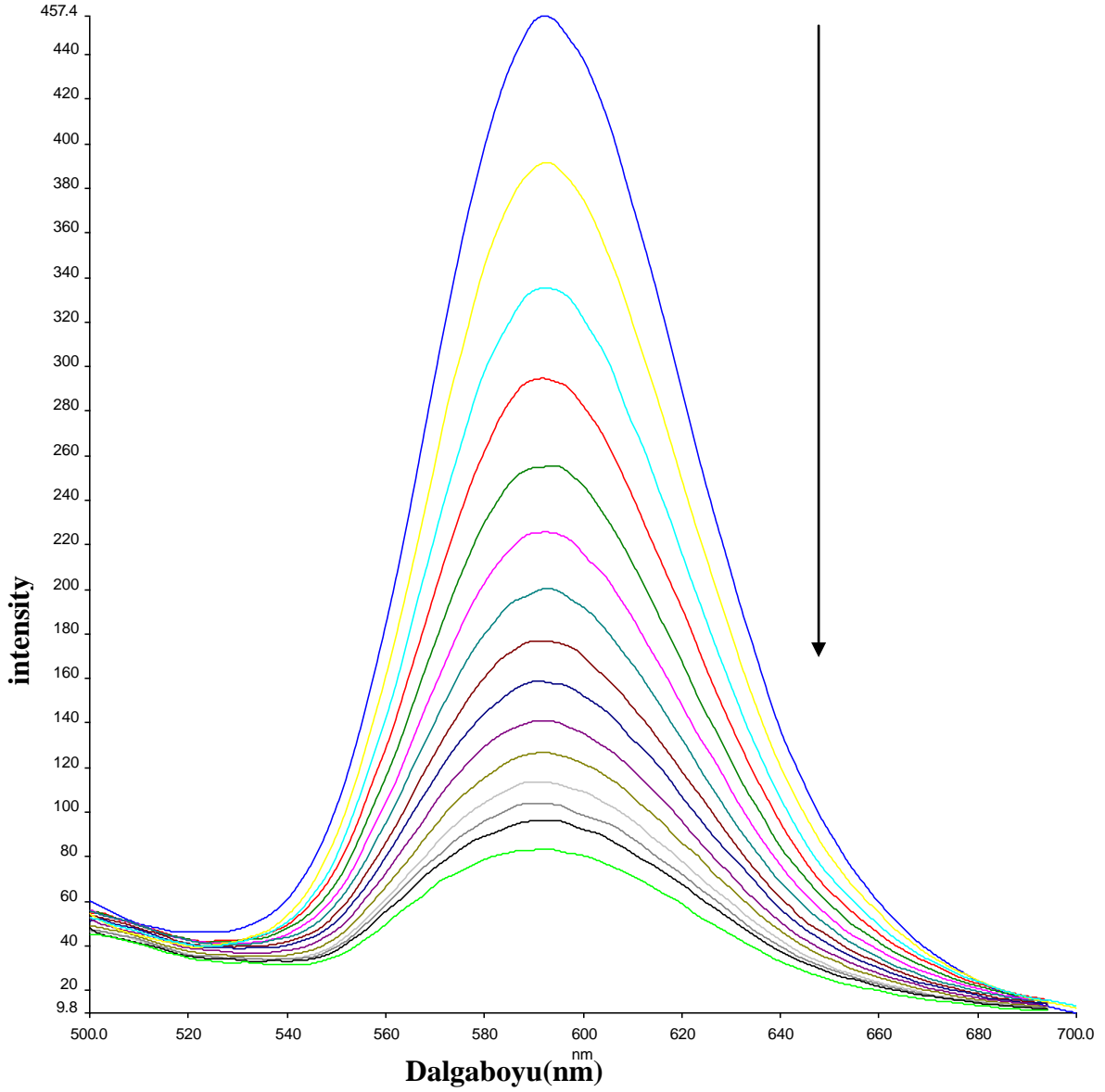
EtBr DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaptığı kesin olarak bilinen bir moleküldür (Reinhardt and Krugh 1978). EtBr, DNA ile karıştırıldığında baz çiftleri arasına interkalasyon yapacaktır. Bu sayede floresans spektrumu kaydedilir. Ancak bu karışıma interkalasyon yapma kapasitesi olan bir madde eklendiğinde konsantrasyona bağlı olarak EtBr baz çiftleri arasından çıkacak ve yerini maddeye bırakacaktır. Dışarı itilen EtBr miktarı arttıkça floresans yoğunluğu düşecektir.

$[Pt(bpy)(PIP)]^{2+}$  ve  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  kompleksleri EtBr moleküllerini baz çiftleri arasından iterek yerine kendileri geçmektedir. Floresanstaki azalma bu sonucu kanıtlamaktadır. Bu da bize her iki kompleksinde DNA ile kuvvetli interkalasyon yaptığını göstermektedir.



Şekil 3.25. 20 μM EtBr ve 100 μM sığır DNA' sı içeren çözeltisinin artan [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> derişimiyle elde edilen floresans spektrumu





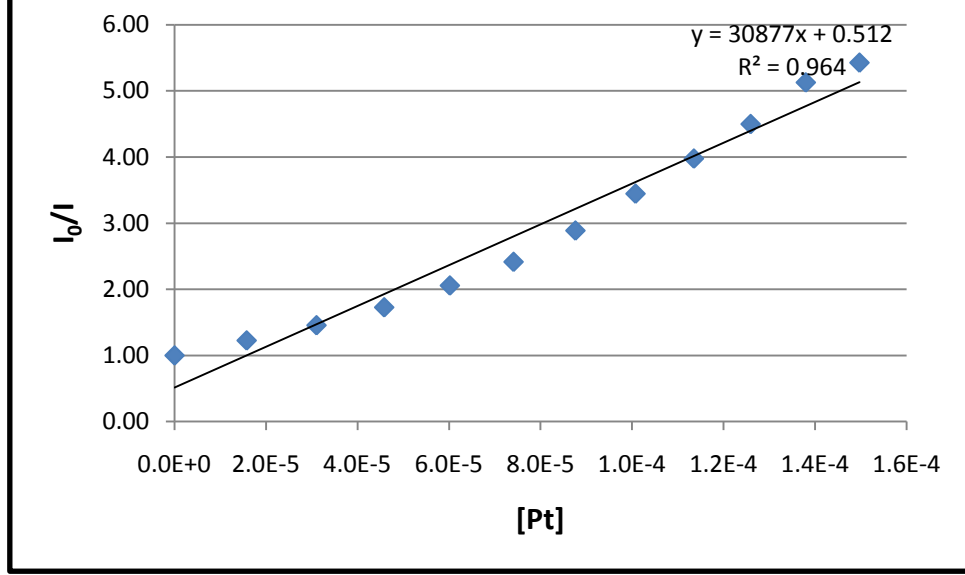
Şekil 3.26. 20 µM EtBr ve 100 µM sığır DNA' sı içeren çözeltisinin artan  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  derişimiyle elde edilen floresans spektrumu

Elde edilen sonuçlar klasik Stern-Volmer eşitliği (Eşitlik 3.2) (Eftink and Ghiron 1981) ile incelenerek kompleksin bağlanma derecesi belirlenmiştir.

$$I/I_0 = 1 + K[Q] \quad (3.2)$$

Eşitlikte  $I$  o noktadaki floresans yoğunluğunu,  $I_0$  ortama kompleks eklenmeden önceki floresans yoğunluğunu,  $[Q]$  baskılayıcı molekül derişimini,  $K$  ise baskılayıcı oran katsayısını vermektedir. Yapılan çalışmada çözeltinin floresansını düşüren etken kompleks olduğu için baskılayıcı derişimi olarak kompleks derişimi kullanılmıştır (Hao et al. 2010).

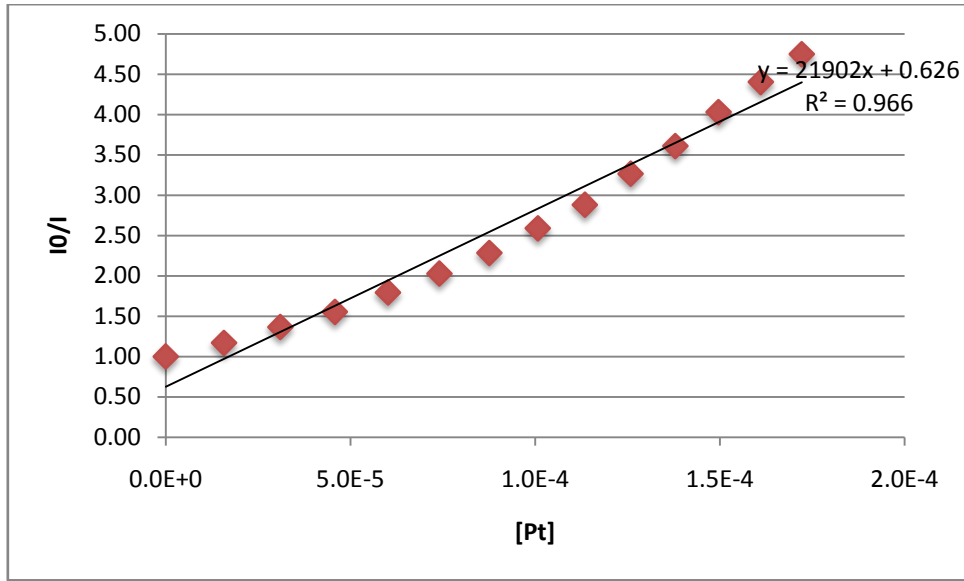
Şekil 3.27’de  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{2+}$  kompleksiyle yapılan yarışmalı floresans sonrası elde edilen veriler kullanılarak hazırlanmış Stern-Volmer eşitliğinden elde edilen lineer grafik görülmektedir.



Şekil 3.27.  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{2+}$  kompleksinin Stern-Volmer grafiği

Kompleks derişimine karşı floresans yoğunluğu oranı değerleri grafiğe geçirildiğinde eğim değeri doğrudan K değerine eşit olmaktadır. Yapılan hesaplamalar sonucu K değeri UV titrasyon sonucu elde edilen bağlanma sabitine çok yakın bir değer olan  $3,08 \times 10^4$  olarak bulunmuştur.

Şekil 3.28’de  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{2+}$  kompleksiyle yapılan yarışmalı floresans sonrası elde edilen veriler kullanılarak hazırlanmış Stern-Volmer eşitliğinden elde edilen lineer grafik görülmektedir.



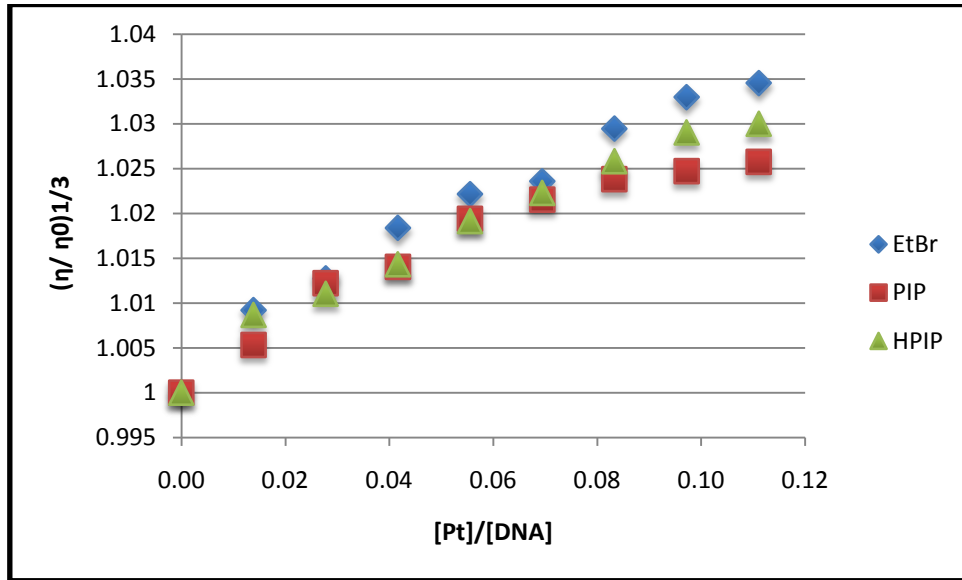
Şekil 3.28. [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin Stern-Volmer grafiği

DNA'ya [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> kompleksinden daha kuvvetli bağlanan [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin EtBr floresans emisyonunu daha kuvvetli bir biçimde söndüreceği düşünülmektedir. Fakat durum bunun tam tersidir. Yapılan hesaplamalar sonucu K değeri UV titrasyon sonucu elde edilen bağlanma sabitine göre daha küçük ( $2,19 \times 10^4$ ) olarak bulunmuştur. DNA sarmalı aynı anda hem [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksine hem de EtBr'e yer verebilmektedir. Diğer taraftan ise [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin yüksek hidrofobikliği sayesinde DNA'yı daha yüksek düzlemselliğe sahip [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksinden daha fazla bozduğundan daha etkin bir kuvvetle EtBr'ü DNA'dan uzaklaştırabilmektedir. İşte bu sebepten ötürü floresans çalışmalarında bağlanma sabitleri açısından [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> > [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksi şeklinde olmuştur (Uma Maheswari and Palaniandavar 2004). UV-Vis titrasyonunda DNA ile etkileşim sonucu kompleks bileşikteki meydana gelen değişimi, yani tüm etkileşimleri (van der Waals, electrostatic ve pi-pi (interkalasyon)) içermektedir. Oysa, luminesans ölçümlerinde DNA bağlandığı pozisyonundan ileri gelen değişimler gözlenmektedir. Bu yüzden daha hidrofobik yapıdaki kompleksin luminesans şiddetinde daha fazla değişim görülmesi (polar grup içeren komplekse göre) normaldir. Bu hidrofobik yapının interkalasyonda predominant özellik olduğunu göstermektedir.

### 3.3.5. Vizkozite Çalışmaları Sonuçları

Vizkozite çalışmaları maddelerin DNA'ya bağlanma türünün belirlenmesinde kullanılan çok önemli ve basit hidrodinamik çalışmalardır. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki eğer bir kompleks DNA ile interkalasyon yolu ile etkileşiyorsa DNA zincirinin boyunu uzatacak ve bu da DNA vizkozitesini arttıracaktır (Gao et al. 2011, Sun et al. 2011b).

Şekil 3.29'da  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{2+}$  ve  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{2+}$  komplekslerinin ve interkalasyon yaptığı kesin olarak bilinen EtBr molekülünün DNA vizkozitesi üzerine etkisi görülmektedir. Artan  $[\text{Pt}]:[\text{DNA}]$  oranıyla DNA bağıl vizkozitesi yükselmektedir.



Şekil 3.29. 600µM DNA çözeltisinin artan EtBr,  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{2+}$  ve  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{2+}$  miktarıyla vizkozite değişimi

Grafik incelendiğinde  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{PIP})]^{2+}$  ve  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{2+}$  komplekslerinin tıpkı EtBr molekülünde olduğu gibi DNA vizkozitesini arttırdığı görülmektedir. Bu sonuçlar komplekslerin DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşim yaptığının göstergesidir. Ortama kompleks eklendikçe DNA baz çiftleri arasına girmiş ve baz çiftlerini birbirinden uzaklaştırarak zincirin uzamasını sağlamıştır. Bu uzama DNA vizkozitesini arttırmaktadır. Aynı şekilde  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{2+}$  kompleksi de DNA vizkozitesini arttırmaktadır. Ancak UV-Vis titrasyon ve agaroz jel elektroforez çalışmalarına paralel olarak  $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{HPIP})]^{2+}$  kompleksi DNA'yı daha fazla bozduğundan bu kompleks ile yapılan çalışmada vizkozite değişimi daha fazla olmaktadır.

### 3.4 SONUÇ

2-Fenilimidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ve 2-(2-hidroksifenil)imidazo[4,5-f][1,10]fenantrolin ligandları literatür doğrultusunda sentezlendi ve IR, <sup>1</sup>H-NMR yöntemleriyle karakterize edildi. Karaktersizasyon sonuçları literatürle desteklendi. Aynı şekilde ligandların platin kompleksleri sentezlendi ve <sup>1</sup>H-NMR, ESI-MS veya MALDI-TOFF MS metodlarıyla karakterize edildi.

Sentezlenen platin komplekslerinin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyon, agaroz jel elektroforez, floresans spektrometresi ve vizkozimetri yöntemleriyle belirlendi. UV-Vis titrasyon sonucunda [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin bağlanma sabiti değeri 3,09 x 10<sup>4</sup>, [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin 6,026 x 10<sup>4</sup> olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin sahip olduğu OH grubunun halkanın düzlemselliğini arttırarak DNA baz çiftleri arasına daha kolay yerleşebilmesinden ileri gelmektedir.

UV-Vis titrasyon sonuçlarına paralel şekilde agaroz jel elektroforez çalışmalarında [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksi DNA'yı daha düşük derişimlerde bozarak bu kompleksin [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup>'e göre DNA ile daha kuvvetli etkileştiği görülmüştür. Aynı şekilde vizkozite çalışmalarında aynı [Pt]/[DNA] oranlarında [Pt(bpy)(PIP)]<sup>+2</sup> kompleksi bağlı vizkoziteyi 1,026'ya kadar çıkartırken [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksi 1,03 değerine çıkararak DNA'yı daha fazla bozduğu anlaşılmıştır.

Diğer metodların aksine florometri çalışmalarında [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>2+</sup> kompleksinin bağlanma sabiti değeri [Pt(bpy)(PIP)]<sup>2+</sup> kompleksinden daha düşük bulunmuştur. [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksinin bağlanma sabiti UV titrasyon metoduyla 6,026 x 10<sup>4</sup> olarak hesaplanırken florometri sonuçlarına göre 2,19x10<sup>4</sup> bulunmuştur. Bu durum DNA yarıklarında EtBr ve [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksinin aynı anda bulunduğunu göstermektedir. [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksi OH grubu sayesinde ekstra düzlemsellik kazanırken OH grubunun fenil halkasına elektron pompalaması nedeniyle hidrofobik özelliğini azaltmaktadır. Bu da [Pt(bpy)(HPIP)]<sup>+2</sup> kompleksinin hidrofobik özelliği yüksek olan DNA iç kısmına girerek EtBr moleküllerini dışarı itmesini engellemektedir.

Sonuç olarak tüm veriler incelendiğinde her iki kompleksin de DNA'ya interkalasyon yaptığı ancak sahip olduğu düzlemsellik sayesinde  $[Pt(bpy)(HPIP)]^{2+}$  kompleksinin DNA'ya daha kuvvetli bağlandığı anlağılmıştır.



## KAYNAKLAR

- Anastassopoulou J** (2003) Metal-DNA interactions. *Journal of Molecular Structure*, 651-653: 19-26.
- 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 photocleavage studies. *Proceedings of The Indian Academy of Science (Chem. Sci.)* 112 (1): 1-17.
- Barton J K, Danishefsky A and Goldberg J** (1984) Tris(phenanthroline)ruthenium(II): stereoselectivity in binding to DNA. *Journal of The American Chemical Society*, 106 (7): 2172-2176.
- Bischoff G and Hoffmann S** (2002) DNA-Binding of drugs used in medicinal therapies. *Current Medicinal Chemistry*, 9 (3): 321.
- Bolger J, Gourdon A, Ishow E and Launay J-P** (1996) Mononuclear and Binuclear Tetrapyrido[3,2-a:2',3'-c:3'',2''-h:2''',3'''-j]phenazine (tpphz) Ruthenium and Osmium Complexes. *Inorganic Chemistry* 35, (10): 2937-2944.
- Bond P J, Langridge R, Jennette K W and Lippard S J** (1975) X-ray fiber diffraction evidence for neighbor exclusion binding of a platinum metallointercalation reagent to DNA. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 72 (12): 4825-4829.
- 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.
- Carrier A, Le Ber P and Auclair C** (1990) Spin-labeled oxazolopyridocarbazole as a probe for studying nonintercalating DNA groove binding ligands. *Biochemistry*, 29 (25): 6002-6009.
- Chao H, Mei W-J, Huang Q-W and Ji L-N** (2002) DNA binding studies of ruthenium(II) complexes containing asymmetric tridentate ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry* 92, (3-4): 165-170.
- Chao H, Yuan Y X and Ji L N** (2004) Synthesis, characterization and third-order nonlinear optical properties of ruthenium(II) complexes containing 2-(4-nitrophenyl)imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline. *Transition Metal Chemistry* 29, (7): 774-779.



## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Che C-M, Yang M, Wong K-H, Chan H-L and Lam W** (1999) Platinum(II) Complexes of Dipyrindophenazine as Metallointercalators for DNA and Potent Cytotoxic Agents against Carcinoma Cell Lines. *Chemistry – A European Journal*, 5 (11): 3350-3356.
- Chen X, Gao F, Yang W-Y, Sun J, Zhou Z-X and Ji L-N** (2011) Effects of intercalative ligands on the DNA binding, DNA topoisomerase II and DNA transcription inhibition of polypyridyl ruthenium(II) complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 378 (1): 140-147.
- 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.
- Ciccarelli R B, Solomon M J, Varshavsky A and Lippard S J** (1985) In vivo effects of cis- and trans-diamminedichloroplatinum(II) on SV40 chromosomes: differential repair, DNA-protein crosslinking, and inhibition of replication. *Biochemistry*, 24 (26): 7533-7540.
- Corda Y, Anin M F, Leng M and Job D** (1992) RNA polymerases react differently at d(ApG) and d(GpG) adducts in DNA modified by cis-diamminedichloroplatinum(II). *Biochemistry*, 31 (7): 1904-1908.
- Corda Y, Job C, Anin M F, Leng M and Job D** (1993) Spectrum of DNA-platinum adduct recognition by prokaryotic and eukaryotic DNA-dependent RNA polymerases. *Biochemistry*, 32 (33): 8582-8588.
- Corda Y, Job C, Anin M F, Leng M and Job D** (1991) Transcription by eukaryotic and prokaryotic RNA polymerases of DNA modified at a d(GG) or a d(AG) site by the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II). *Biochemistry*, 30 (1): 222-230.
- 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.
- Cusumano M, Di Pietro M L, Giannetto A, Nicolò F and Rotondo E** (1998) Noncovalent Interactions of Platinum(II) Square Planar Complexes Containing Ligands Out-of-Plane with DNA. *Inorganic Chemistry*, 37 (3): 563-568.
- Cusumano M, Di Pietro M L, Giannetto A and Vainiglia P A** (2007) DNA and RNA Noncovalent Interaction of Platinum(II) Polypyridine Complexes. *Inorganic Chemistry*, 46 (17): 7148-7153.
- Cusumano M, Di Pietro M L, Giannetto A and Vainiglia P A** (2005) The intercalation to DNA of bipyridyl complexes of platinum(II) with thioureas. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99 (2): 560-565.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Cusumano M and Giannetto A** (1997) The interaction of mixed-ligand square-planar complexes with calf thymus DNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 65 (2): 137-144.
- De Backer M D and Van Dijck P** (2003) Progress in functional genomics approaches to antifungal drug target discovery. *Trends in Microbiology*, 11 (10): 470-478.
- Degtyareva N N** (2005) Platinum, Rhodium, And Ruthenium Complexes As Potential PDT Agents. Phd Thesis, The Ohio State University, Chemistry, Ohio, 153 p.
- Dehghan G, Dolatabadi J E N, Jouyban A, Zeynali K A, Ahmadi S M and Kashanian S** (2011) Spectroscopic Studies on the Interaction of Quercetin-Terbium(III) Complex with Calf Thymus DNA. *DNA and Cell Biology*, 30 (3): 195-201.
- Deshpande M S, Kumbhar A A, Kumbhar A S, Kumbhakar M, Pal H, Sonawane U B and Joshi R R** (2009) Ruthenium(II) Complexes of Bipyridine–Glycoluril and their Interactions with DNA. *Bioconjugate Chemistry*, 20 (3): 447-459.
- Eftink M R and Ghiron C A** (1981) Fluorescence quenching studies with proteins. *Analytical Biochemistry*, 114 (2): 199-227.
- Frederick C A, Williams L D, Ughetto G, Van der Marel G A, Van Boom J H, Rich A and Wang A H J** (1990) Structural comparison of anticancer drug-DNA complexes: adriamycin and daunomycin. *Biochemistry*, 29 (10): 2538-2549.
- Fu P K L, Bradley P M and Turro C** (2003) Stabilization of Duplex DNA Structure and Suppression of Transcription in Vitro by Bis(quinone diimine) Complexes of Rhodium(III) and Ruthenium(II). *Inorganic Chemistry*, 42 (3): 878-884.
- Fu P K L and Turro C** (2001) Transcription inhibition by Rh(phi)(phen). *Chemical Communications*, (3): 279-280.
- Galet A, Muñoz M C, Agustí G, Martínez V, Gaspar A B and Real J A** (2005) Synthesis and X-Ray Single Crystal Structure of Two New Copper Complexes with the Redox Active Ligand 1,10-Phenanthroline-5,6-dione. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, 631 (11): 1985-1987.
- 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.
- Goswami S and Chakrabarty R** (2010) Highly Selective Colorimetric Fluorescent Sensor for Pb<sup>2+</sup>. *European Journal of Organic Chemistry*, 2010 (20): 3791-3795.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Hao Z-Y, Liu Q-W, Xu J, Jia L and Li S-B** (2010) Synthesis, Characterization, Antioxidant Activities, and DNA-Binding Studies of (E)-N'-[1-(Pyridin-2-yl)ethylidene]isonicotinohydrazide and Its Pr(III) and Nd(III) Complexes. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 58 (10): 1306-1312.
- Haq I and Ladbury J** (2000) Drug–DNA recognition: energetics and implications for design. *Journal of Molecular Recognition*, 13 (4): 188-197.
- Haq I, Lincoln P, Suh D, Norden B, Chowdhry B Z and Chaires J B** (1995) Interaction of  $\Delta$  and  $\Lambda$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>DPPZ]<sup>2+</sup> with DNA: A Calorimetric and Equilibrium Binding Study. *Journal of the American Chemical Society*, 117 (17): 4788-4796.
- Hathway D E and Kolar G F** (1980) Mechanisms of reaction between ultimate chemical carcinogens and nucleic acid. *Chemical Society Reviews*, 9 (2): 241-264.
- Hewlett G, Hallenberger S and Rübsamen-Waigmann H** (2004) Antivirals against DNA viruses (hepatitis B and the herpes viruses). *Current Opinion in Pharmacology*, 4 (5): 453-464.
- Howe-Grant M and Lippard S J** (1979) Binding of platinum(II) intercalation reagents to deoxyribonucleic acid. Dependence on base-pair composition, nature of the intercalator, and ionic strength. *Biochemistry*, 18 (26): 5762-5769.
- Huang H-L, Liu Y-J, Zeng C-H, Yao J-H, Liang Z-H, Li Z-Z and Wu F-H** (2010) Studies of ruthenium(II) polypyridyl complexes on cytotoxicity in vitro, apoptosis, DNA-binding and antioxidant activity. *Journal of Molecular Structure*, 966 (1–3): 136-143.
- J. D. Watson F H C C** (1953) molecular structure of deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171, 737-738.
- Jamieson E R and Lippard S J** (1999) Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin–DNA Adducts. *Chemical Reviews*, 99 (9): 2467-2498.
- Jeremy M. Berg J L T, Stryer L** (1988) *Biochemistry*, W. H. Freeman and Company, Newyork.
- Jiang Y and Chen C F** (2010) Synthesis and Structures of 1,10-Phenanthroline-Based Extended Triptycene Derivatives. *Synlett*, (11): 1679-1681.
- Jin L and Yang P** (1997) Synthesis and DNA binding studies of Co-III mixed ligand complex containing dipyrido 3,2-a:2',3'-c phenazine and phen. *Polyhedron*, 16 (19): 3395-3398.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kashanian S, Khodaei M M and Pakravan P** (2010) Spectroscopic Studies on the Interaction of Isatin with Calf Thymus DNA. *DNA and Cell Biology*, 29 (10): 639-646.
- Kim S K and Nordén B** (1993) Methyl green: A DNA major-groove binding drug. *FEBS Letters*, 315 (1): 61-64.
- Kozelka J, Petsko G A, Lippard S J and Quigley G J** (1985) Molecular mechanics calculations on cis-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>{d(GpG)}] adducts in two oligonucleotide duplexes. *Journal of the American Chemical Society*, 107 (13): 4079-4081.
- Kumar K A, Reddy K L and Satyanarayana S** (2011) Synthesis, DNA Binding, DNA Photocleavage and Antimicrobial Activity of [Co(bpy)<sub>2</sub>DMHBT]<sup>3+</sup>, [Co(dmb)<sub>2</sub>DMHBT]<sup>3+</sup> and [Co(phen)<sub>2</sub>DMHBT]<sup>3+</sup> Complexes. *Spectroscopy Letters*, 44 (1): 27-37.
- Kwakye-Berko F and Meshnick S R** (1989) Binding of chloroquine to DNA. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 35 (1): 51-55.
- 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.
- Lerman L S** (1961) Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of Molecular Biology*, 3 (1): 18-30.
- Lisgarten J N, Coll M, Portugal J, Wright C W and Aymami J** (2002) The antimalarial and cytotoxic drug cryptolepine intercalates into DNA at cytosine-cytosine sites. *Nature Structural and Molecular Biology*, 9 (1): 57-60.
- Liu H-Q, Peng S-M and Che C M** (1995) Interaction of a luminescent platinum(II) complex of substituted 2,2'-bipyridine with DNA. Spectroscopic and photophysical studies. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (5): 509-510.
- Liu J-G, Ye B-H, Li H, Zhen Q-X, Ji L-N and Fu Y-H** (1999) Polypyridyl ruthenium(II) complexes containing intramolecular hydrogen-bond ligand: syntheses, characterization, and DNA-binding properties. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 76 (3-4): 265-271.
- Liu J, Zheng W, Shi S, Tan C, Chen J, Zheng K and Ji L** (2008) Synthesis, antitumor activity and structure-activity relationships of a series of Ru(II) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102 (2): 193-202.
- Liu J, Mei W J, Lin L J, Zheng K C, Chao H, Yun F C and Ji L N** (2004) Electronic effects on the interactions of complexes [Ru(phen)<sub>2</sub>(p-L)]<sup>2+</sup> (L=MOPIP, HPIP, and NPIP) with DNA. *Inorganica Chimica Acta*, 357 (1): 285-293.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.
- Liu X-W, Lu J-L, Chen Y-D, Li L and Zhang D-S** (2011) DNA binding behaviors and cleavage properties of a Ru(II) polypyridyl complex. *Inorganica Chimica Acta*, 379 (1): 1-6.
- Liu Y-J, Liang Z-H, Li Z-Z, Yao J-H and Huang H-L** (2011) Cellular uptake, cytotoxicity, apoptosis, antioxidant activity and DNA binding of polypyridyl ruthenium(II) complexes. *Journal of Organometallic Chemistry*, 696 (14): 2728-2735.
- Liu Y-J, Zeng C-H, Huang H-L, He L-X and Wu F-H** (2010) Synthesis, DNA-binding, photocleavage, cytotoxicity and antioxidant activity of ruthenium (II) polypyridyl complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45 (2): 564-571.
- Lü Y-Y, Gao L-H, Han M-J and Wang K-Z** (2006) Synthesis and the Effect of a Peripheral N-Arylcarbazole Moiety on the Acid-Base and DNA Binding Properties of a Novel Ru(II) Complex. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2006 (2): 430-436.
- McGhee J D and von Hippel P H** (1974) Theoretical aspects of DNA-protein interactions: Co-operative and non-co-operative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *Journal of Molecular Biology*, 86 (2): 469-489.
- Mei W-J, Wang N, Liu Y-J, Ma Y-Z, Wang D-Y and Liang B-X** (2008) Studies on cytotoxic and DNA-binding properties of two ruthenium(II) complexes of a substituted phenanthroline ligand. *Transition Metal Chemistry*, 33 (4): 499-503.
- Navarro M, Cisneros-Fajardo E J, Sierralta A, Fernandez-Mestre M, Silva P, Arrieche D and Marchan E** (2003) Design of copper DNA intercalators with leishmanicidal activity. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 8 (4): 401-408.
- Navarro M, Hernandez C, Colmenares I, Hernandez P, Fernandez M, Sierralta A and Marchan 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.
- Neidle S** (1997) Crystallographic insights into DNA minor groove recognition by drugs. *Biopolymers*, 44 (1): 105-121.
- Nordén B and Kurucsev T** (1994) Analysing DNA complexes by circular and linear dichroism. *Journal of Molecular Recognition*, 7 (2): 141-155.
- 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.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Pedras B, Batista R M F, Tormo L, Costa S P G, Raposo M M M, Orellana G, Capelo J L and Lodeiro C** (2012) Synthesis, characterization, photophysical studies and interaction with DNA of a new family of Ru(II) furyl- and thienyl-imidazo-phenanthroline polypyridyl complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 381 (0): 95-103.
- Regis Marty A A O, Jean-Francois Neault, Shohreh Nafisi, Heidar-Ali Tajmir-Riahi** (2004) AZT–DNA Interaction. *DNA and Cell Biology*, 23 (3): 135-140.
- Reinhardt C G and Krugh T R** (1978) A comparative study of ethidium bromide complexes with dinucleotides and DNA: direct evidence for intercalation and nucleic acid sequence preferences. *Biochemistry*, 17 (23): 4845-4854.
- Richards A D and Rodger A** (2007) Synthetic metallomolecules as agents for the control of DNA structure. *Chemical Society Reviews*, 36 (3): 471-483.
- 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.
- Seanger W** (1984) *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag, Newyork.
- Shahabadi N, Kashanian S and Ahmadipour Z** (2011) DNA Binding and Gel Electrophoresis Studies of a New Silver( I) Complex Containing 2,9-Dimethyl-1,10-Phenanthroline Ligands. *DNA and Cell Biology*, 30 (3): 187-194.
- Shi H-J, Chen Y, Gao F, Yu H-J, Li G-Y, Chao H, Shi X-F and Ji L-N** (2008) Synthesis, DNA-binding and DNA-photocleavage properties of ruthenium(II) mixed-polypyridyl complex  $[\text{Ru}(\text{tbz})_2(\text{dppz})]^{2+}$ . *Journal of Molecular Structure*, 892 (1-3): 485-489.
- Sigman D S** (1986) Nuclease activity of 1,10-phenanthroline-copper ion. *Accounts of Chemical Research*, 19 (6): 180-186.
- Stratton W J and Busch D H** (1958) The Complexes of Pyridinaldazine with Iron(II) and Nickel(II). *Journal of the American Chemical Society*, 80 (13): 3191-3195.
- Strekowski L and Wilson B** (2007) Noncovalent interactions with DNA: An overview. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 623 (1-2): 3-13.
- Sun B, Wang Y-C, Qian C, Chu J, Liang S-M, Chao H and Ji L-N** (2010) Synthesis, characterization and DNA-binding studies of chiral ruthenium(II) complexes with 2-(5-nitrofuranyl)-1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline. *Journal of Molecular Structure*, 963 (2-3): 153-159.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Sun J, An Y, Zhang L, Chen H Y, Han Y, Wang Y J, Mao Z W and Ji L N** (2011a) Studies on synthesis, characterization, and G-quadruplex binding of Ru(II) complexes containing two dppz ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105 (2): 149-154.
- Sun J, Wu S, Chen H-Y, Gao F, Liu J, Ji L-N and Mao Z-W** (2011b) Synthesis, characterization and DNA-binding and DNA-photocleavage studies of two Ru(II) complexes containing two main ligands and one ancillary ligand. *Polyhedron*, 30 (12): 1953-1959.
- Talib J, Harman D G, Dillon C T, Aldrich-Wright J, Beck J L and Ralph S F** (2009) Does the metal influence non-covalent binding of complexes to DNA?. *Dalton Transactions*, (3): 504.
- Tan L-F, Wang F, Chao H, Zhou Y-F and Weng C** (2007) Ruthenium(II) mixed-ligand complex containing 2-(4'-benzyloxy-phenyl)imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline: Synthesis, DNA-binding and photocleavage studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101 (4): 700-708.
- Tse W C and Boger D L** (2003) A Fluorescent Intercalator Displacement Assay for Establishing DNA Binding Selectivity and Affinity. *Accounts of Chemical Research*, 37 (1): 61-69.
- 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.
- Uma Maheswari P, Rajendiran V, Palaniandavar M, Thomas R and Kulkarni G U** (2006) Mixed ligand ruthenium(II) complexes of 5,6-dimethyl-1,10-phenanthroline: The role of ligand hydrophobicity on DNA binding of the complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 359 (14): 4601-4612.
- Vieira J and Messing J** (1982) The pUC plasmids, an M13mp7-derived system for insertion mutagenesis and sequencing with synthetic universal primers. *Gene*, 19 (3): 259-268.
- Wang A H J, Ughetto G, Quigley G J and Rich A** (1987) Interactions between an anthracycline antibiotic and DNA: molecular structure of daunomycin complexed to d(CpGpTpApCpG) at 1.2-Å resolution. *Biochemistry*, 26 (4): 1152-1163.
- Wu J-Z, Ye B-H, Wang L, Ji L-N, Zhou J-Y, Li R-H and Zhou Z-Y** (1997) Bis(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) complexes with imidazo[4,5-f][1,10]-phenanthroline or 2-phenylimidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (8): 1395-1402.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.
- Wu Y H and Yang G Z** (2010) Interaction Between Garcigenin and DNA by Spectrophotometry and Fluorescence Spectroscopy. *Spectroscopy Letters*, 43 (1): 28-35.
- 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.
- Xu H, Zheng K-C, Lin L-J, Li H, Gao Y and Ji L-N** (2004) Effects of the substitution positions of Br group in intercalative ligand on the DNA-binding behaviors of Ru(II) polypyridyl complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 98 (1): 87-97.
- Zeglis B M, Pierre V C and Barton J K** (2007) Metallo-intercalators and metallo-insertors. *Chemical Communications*, (44): 4565.
- Zhang Q-L, Liu J-G, Liu J-Z, Li H, Yang Y, Xu H, Chao H and Ji L-N** (2002) Effect of intramolecular hydrogen-bond on the DNA-binding and photocleavage properties of polypyridyl cobalt(III) complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 339 (0): 34-40.





## **ÖZGEÇMİŞ**

Ufuk YILDIZ 1986 yılında İstanbul'da doğdu; ilköğrenimini İzmir'de tamamladı; İzmir Atatürk Lisesi'nden mezun olduktan sonra 2004 yılında Anadolu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ne girdi; 2009'da mezun olduktan sonra Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde "Araştırma Görevlisi" olarak göreve başladı; halen 2010'e girdiği BEÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programını sürdürmektedir.

## **ADRES BİLGİLERİ**

Adres : Güney Mahallesi Hürriyet Caddesi, Marina Sitesi C Blok Daire:17  
67100 ZONGULDAK

Tel : (372) 257 40 10 (1779)

E-posta : ufyildiz@gmail.com