

**PLATİN(II) KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. ÖZGE ERYİĞİT

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARMASÖTİK KİMYA
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
MAYIS - 2019**

**PLATİN(II) KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. ÖZGE ERYİĞİT

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

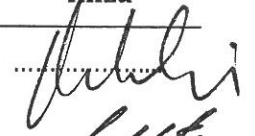
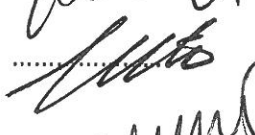
**FARMASÖTİK KİMYA
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Prof. Dr. Semra UTKU**

**MERSİN
MAYIS - 2019**

ONAY

Ec. Özge ERYİĞİT tarafından Prof. Dr. Semra UTKU danışmanlığında hazırlanan "Platin(II) Komplekslerinin Sentezi ve Biyolojik Aktiviteleri Üzerinde Çalışmalar" başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 23 Mayıs 2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Öztekin ALGÜL	
Üye	Prof. Dr. Semra UTKU	
Üye	Doç. Dr. Yasemin DÜNDAR	

Yukarıdaki Jüri kararı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25.06/2019... tarih ve 2019/220...sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

23 Mayıs 2019 / 23 May 2019

İmza / Signature



Ecz. Özge ERYİĞİT

ÖZET

PLATİN(II) KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Sisplatinin antikanser etkisinin tesadüfen keşfedilmesinden sonra araştırmacılar platin kompleksleri üzerine yapılan çalışmalara hız vermişlerdir. Biyolojik sistemin yakından tanıdığı heteroaromatik halka olan imidazol, medisinal kimyacılar için önem taşımaktadır. Bu çalışmada 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol (L1), 1-benzil-1*H*-imidazol (L2) ve 1-fenil-1*H*-imidazol (L3) taşıyıcı ligandlarını içeren ve kapalı formülü $[Pt(L1)_2Cl_2]$, $[Pt(L1)_2I_2]$, $[Pt(L2)_2Cl_2]$, $[Pt(L2)_2I_2]$, $[Pt(L3)_2Cl_2]$, $[Pt(L3)_2I_2]$ olan 6 adet yeni platin(II) kompleksi (**Kompleks 1-6**) sentezlenmiştir. Klor ayrılan ligandı taşıyan kompleksler (**Kompleks 1, 3 ve 5**) uygun ligand ile potasyumtetrakloroplatinat'ın 0.5 N HCl çözeltisi içerisindeki reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Ayrılan ligand olarak iyot taşıyan kompleksler (**Kompleks 2, 4 ve 6**) ise etanol-su içerisinde çözünmüş potasyumtetraiyodoplatinat'ın üzerine uygun ligandın ilave edilmesi ile sentezlenmiştir. Sentez edilen komplekslerin yapıları, elementel analiz, infrared (FT-IR) ve ¹H-Nükleer Manyetik Rezonans (¹H-NMR) ile aydınlatılmıştır. Komplekslerin pBR322 plazmid DNA ve *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile etkileşimleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırılmıştır. **Kompleks 1-6**'nın fare fibroblast hücreleri (L929), adenokarsinomik insan alveolar bazal epitelyal hücreleri (A549) ve insan kolon adenokarsinom (CaCo-2) hücrelerine karşı sitotoksik etkileri MTT yöntemi test edilmiştir. IC₅₀ değerlerine göre 1-fenil-1*H*-imidazol ligandına sahip **Kompleks 5**, A549 ve L929 hücre hattına karşı ve **Kompleks 6** ise CaCo-2 hücre hattına karşı en aktif kompleksler olarak bulunmuştur. **Kompleks 5 ve 6** standart bileşik olarak kullanılan sisplatinden daha etkili bulunmuşlardır. CaCo-2 hücre hattına karşı **Kompleks 5 ve 6** hariç, klorlu komplekslerin, iyotlu komplekslerden tüm hücre hatlarında daha aktif olduğu tespit edilmiştir. **Kompleks 1-6** tüm hücre hatlarına karşı referans bileşik olarak kullanılan sisplatin kadar veya daha etkili bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: 1-(4-Metoksifenil)-1*H*-imidazol, 1-benzil-1*H*-imidazol, 1-fenil-1*H*-imidazol, platin(II) kompleksleri, jel elektroforez, sitotoksik aktivite

Danışman: Prof. Dr. Semra UTKU, Mersin Üniversitesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

STUDIES ON SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF PLATIN (II) COMPLEXES

The discovery of cisplatin anticancer effect has increased the synthesis efforts of metal-based platinum complexes. The imidazole ring carrying the heteroaromatic ring system which is closely related to the biological system is of importance in medicinal discoveries. In this study, six Pt(II) complexes with the structures $[[Pt(L1)_2Cl_2]$, $[Pt(L1)_2I_2]$, $[Pt(L2)_2Cl_2]$, $[Pt(L2)_2I_2]$, $[Pt(L3)_2Cl_2]$ and $[Pt(L3)_2I_2]$ bearing 1-(4-methoxyphenyl)-1*H*-imidazole, 1-benzyl-1*H*-imidazole or 1-phenyl-1*H*-imidazole as carrier-ligands were synthesized (**Complex 1-6**). Complexes of $[Pt(L1)_2Cl_2]$, $[Pt(L2)_2Cl_2]$ and $[Pt(L3)_2Cl_2]$ were synthesized by the reaction of carrier ligands in potassium tetrachloroplatinate in 0.5N HCl solution. Complexes of $[Pt(L1)_2I_2]$, $[Pt(L2)_2I_2]$ and $[Pt(L3)_2I_2]$ were synthesized by the reaction of the ligands with potassium tetraiodoplatinate in ethanol-water. The characterization of chemical structures were done by looking for their elemental analysis, infrared (FT-IR) and ^1H -Nuclear Magnetic Resonance (^1H -NMR) spectra. Interactions of complexes with pBR322 plasmid DNA and restriction endonuclease reactions of *Bam*HI and *Hind*III enzymes were investigated by agarose gel electrophoresis method. The MTT method was tested for the cytotoxic effects of **Complex 1-6** against mouse fibroblast cells (L929), adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells A549 and human colon adenocarcinoma CaCo-2 cells. According to IC_{50} values, **Complex-5** was found to be the most active complex against the A549 and L929 cell line and the **Complex-6** CaCo-2 cell line with 1-phenyl-1*H*-imidazole ligand. **Complex 5** and **6** were found to be more effective than cisplatin used as standard compound. Against the CaCo-2 cell line, except for **Complex 5** and **6**, chlorinated complexes were found to be more active in all cell lines than iodinated complexes. **Complex 1-6** was found to be as effective as or more active than cisplatin used as reference compound against all cell lines.

Keywords: 1-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-imidazole, 1-benzyl-1*H*-imidazole, 1-phenyl-1*H*-imidazole, platinum(II) complexes, gel electrophoresis, cytotoxic activity

Advisor: Prof. Dr. Semra UTKU, Department of Pharmaceutical Chemistry, Mersin University, Mersin.

TEŞEKKÜR

Hayata karşı bakış açımı geliştiren, yardıma ihtiyaç duyduğumda destek veren, tez çalışmam boyunca, engin bilgisi ile her konuda yardımcı olan, yol gösteren, kendisine beslediğim sevgi ve saygı ile kalbimde bambaşka yeri olan Sayın Hocam Prof. Dr. Semra UTKU'ya içten teşekkürlerimi sunarım.

Edindiği bilgileri ve deneyimleri bizlerle paylaşan ve desteğini esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Öztekin ALGÜL'e teşekkürü bir borç bilirim.

Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Leyla Açık'a agaroz jel elektroforez çalışmalarında verdiği destekten dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Sitotoksik aktivite testlerinde yaptığı çalışmalar ile tezin gelişimine katkıda bulunan Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezinde Öğretim Görevlisi Sayın Aytuna ÇERÇİ'ye teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimi süresince yardımlarını, desteklerini ve arkadaşlıklarını esirgemeyen Abdoul NZEYİMANA'ya, Büşra ERTÜRK'e, Ronak Haj ERSAN'a, Emine Merve ERTUĞRUL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim konusunda beni sürekli destekleyen hayatımın vazgeçilmez parçaları MADEN ve ZİNCİRCİOĞLU ailesine, laboratuvar çalışmaları ve tez yazım süreci boyunca her zaman yanımda olan ERYİĞİT ailesine ve tüm bu süreçte sürekli destek veren ve sabır gösteren Eşim Yasin ERYİĞİT'e ve Kızım Mina Gül ERYİĞİT'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2016-2-TP2-1524 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Ecz. Özge ERYİĞİT

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	5
2.1. İmidazol Halkasının Ligand Özellikleri	5
2.2. İmidazol Türevi Platin (II) Komplekslerinin Sentez Çalışmaları	7
2.3. Klinikte Kullanılan Platin Kompleksleri	11
2.4. Sisplatinin Etki Mekanizması	12
2.5. Sisplatin Türevi Platin (II) Komplekslerinin Direnç Mekanizması	16
2.5.1. İnflüks / Eflüks	18
2.5.2. Sisplatinin Sülfür İçeren Moleküller ile İnaktivasyonu	19
2.5.3. DNA Onarımının Artması	19
2.5.3.1. Nükleotid Eksizyon Onarımı	20
2.5.3.2. Yanlış Eşleşme Eksizyon Onarımı	21
2.5.3.3. Translezyon Sentezi	21
2.5.3.4. Doğrudan Onarım	22
2.5.4. Apoptik Yolaklar ve Sisplatin Direnci	22
2.6. Sisplatin Türevi Platin (II) Komplekslerinin Yan Etkileri	23
3. MATERYAL ve YÖNTEM	26
3.1. Kimyasal Çalışma	26
3.1.1. Materyal	26
3.1.2. Yöntem	26
3.1.2.1. Dikloro-di(1-(4-metoksifenil)-1H-imidazol)Platin(II) (Kompleks 1) , Dikloro-di(1- benzil-1H -imidazol)Platin(II) (Kompleks 3) ve Dikloro-di(1- fenil-1H-imidazol)Platin(II) (Kompleks 5) Komplekslerinin Sentezi	26
3.1.2.2. Diiyodo-di(1-(4-metoksifenil)-1H-imidazol)Platin(II) (Kompleks 2) , Diiyodo-di(1- benzil-1H -imidazol)Platin(II) (Kompleks 4) ve Diiyodo-di(1- fenil-1H-imidazol)Platin(II) (Kompleks 6) Komplekslerinin Sentezi	26
3.2. Analitik Çalışmalar	27
3.2.1. Erime Noktası Tayini	27
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller	27
3.2.2.1. Materyal	27
3.2.3. Elementel Analizler	27
3.2.4. Spektroskopik Kontroller	27
3.2.4.1. FT-IR Spektrumları	27
3.2.4.2. ¹ H-NMR Spektrumları	28
3.3. Biyolojik Çalışmalar	28
3.3.1. Agaroze Jel Elektroforez Çalışması	28
3.3.1.1. Materyal	28
3.3.1.2. Yöntem	28
3.3.2. Sitotoksik Aktivite Çalışması	29
3.3.2.1. Materyal	29

3.3.2.2. Yöntem	30
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	31
4.1. Kimyasal Bulgular	31
4.1.1. 1-(4-Metoksifenil)-1 <i>H</i> -imidazol	31
4.1.2. 1- Benzil-1 <i>H</i> -imidazol	32
4.1.3. 1- Fenil-1 <i>H</i> -imidazol	34
4.1.4. Dikloro-di(1-(4-Metoksifenil)-1 <i>H</i> -imidazol)Platin(II). 0.5H ₂ O (Kompleks 1)	35
4.1.5. Diiyodo-di(1-(4-Metoksifenil)-1 <i>H</i> -imidazol)Platin(II) (Kompleks 2)	37
4.1.6. Dikloro-di(1- benzil-1 <i>H</i> -imidazol)Platin(II). (Kompleks 3)	39
4.1.7. Diiyodo-di(1- benzil-1 <i>H</i> -imidazol)Platin(II) (Kompleks 4)	41
4.1.8. Dikloro-di(1- fenil-1 <i>H</i> -imidazol)Platin(II) (Kompleks 5)	43
4.1.9. Diiyodo-di(1- fenil-1 <i>H</i> -imidazol)Platin(II) (Kompleks 6)	45
4.2. Biyolojik Bulgular	47
4.2.1. pBR322 Plazmit DNA ile Etkileşim Testi	47
4.2.2. Sitotoksosite Testi	50
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	71

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Kompleks 1-6'nın 160, 80, 40, 20 ve 10 µM; sisplatin 100, 50, 25, 12,5 ve 6,25 µM konsantrasyonlarda sitotoksik aktiviteleri	50
Tablo 4.2. Kompleks 1-6 ve sisplatinin L929 (fare fibroblast) ve A549 (küçük hücreli akciğer kanseri) ve CaCo-2 (insan adenokarsinom) hücre hatları karşı IC ₅₀ değeri (µM)	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Sisplatin molekül formülü	2
Şekil 1.2. 1-(4-Metoksifenil)-1 <i>H</i> -imidazol, 1-benzil-1 <i>H</i> -imidazol veya 1-fenil-1 <i>H</i> -imidazol taşıyıcı-ligandlarını taşıyan yeni Pt(II) kompleksleri	4
Şekil 2.1. Lofin molekül formülü	5
Şekil 2.2. pKa=7 (pKb=7) imidazolün %50 protonlanmış sulu çözeltisi	5
Şekil 2.3. İmidazol molekül formülü	6
Şekil 2.4. Sisplatin, Karboplatin ve Oksaliplatin'in kimyasal yapısı	12
Şekil 2.5. Sisplatinin hidroliz mekanizması	13
Şekil 2.6. DNA Çift Sarmalı	14
Şekil 2.7. Sisplatinin bağlanması ile DNA'nın bükülmesi	15
Şekil 2.8. Sisplatin-DNA katım ürünü oluşturan bağlantı tipleri	15
Şekil 4.1. 1-(4-Metoksifenil)-1 <i>H</i> -imidazol'ün FT-IR spektrumu	31
Şekil 4.2. 1-(4-Metoksifenil)-1 <i>H</i> -imidazol'ün NMR spektrumu	32
Şekil 4.3. 1-benzil-1 <i>H</i> -imidazol'ün FT-IR spektrumu	33
Şekil 4.4. 1-benzil-1 <i>H</i> -imidazol'ün NMR spektrumu	33
Şekil 4.5. 1-fenil-1 <i>H</i> -imidazol'ün FT-IR spektrumu	34
Şekil 4.6. 1-fenil-1 <i>H</i> -imidazol'ün NMR spektrumu	35
Şekil 4.7. Kompleks 1'in FT-IR spektrumu	36
Şekil 4.8. Kompleks 1'in NMR spektrumu	37
Şekil 4.9. Kompleks 2'nin FT-IR spektrumu	38
Şekil 4.10. Kompleks 2'nin NMR spektrumu	39
Şekil 4.11. Kompleks 3'ün FT-IR spektrumu	40
Şekil 4.12. Kompleks 3'ün NMR spektrumu	41
Şekil 4.13. Kompleks 4'ün FT-IR spektrumu	42
Şekil 4.14. Kompleks 4'ün NMR spektrumu	43
Şekil 4.15. Kompleks 5'in FT-IR spektrumu	44
Şekil 4.16. Kompleks 5'in NMR spektrumu	45
Şekil 4.17. Kompleks 6'nın FT-IR spektrumu	46
Şekil 4.18. Kompleks 6'nın NMR spektrumu	47
Şekil 4.19. Kompleks 1-6 ve sisplatinin azalan konsantrastonda pBR322 plasmit DNA ile etkileşimi	48
Şekil 4.20. Kompleks 1-6 ve sisplatinin azalan konsantrastonda pBR322 plasmit DNA ile inkübasyonundan sonra <i>Bam</i> HI ile kesimi	49
Şekil 4.21. Kompleks 1-6 ve sisplatinin azalan konsantrastonda pBR322 plasmit DNA ile inkübasyonundan sonra <i>Hind</i> III ile kesimi.	49
Şekil 4.22. Sisplatinin 100, 50, 25, 12,5 ve 6.25 µM konsantrasyonunda L-929, A549, CaCO-2 hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri	51
Şekil 4.23. Kompleks 1-6'nın 160, 80, 40, 20 ve 10 µM konsantrasyonunda L-929 hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri	51
Şekil 4.24. Kompleks 1-6'nın 160, 80, 40, 20 ve 10 µM konsantrasyonunda A549 Hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri	52
Şekil 4.25. Kompleks 1-6'nın 160, 80, 40, 20 ve 10 µM konsantrasyonunda CaCo-2 Hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri	52
Şekil 5.1. Kompleks 1, 3 ve 5'in sentez şeması	54
Şekil 5.2. Kompleks 2, 4 ve 6'nın sentez şeması	55

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simge	Tanım
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi(Food and Drug Administration)
FT-IR	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
CTR1	Bakır Taşıyıcı Protein
OCT2	Oktamer Bağlayıcı Proteinler
GSH	Glutasyon S Transferaz
MT	Metallotionein
ATP	Adenozintrifosfat
HMG	Yüksek Hareketlilik Grubu(High Mobility Group)
KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
CP-r	Sisplatine Dirençli Hücre
FBP	Folat Bağlayıcı Proteinin
NER	Nükleotid Eksizyon Onarımı
XP	Xeroderma Pigmentosum
XPA	Xeroderma Pigmentosum Tamamlayıcı Grup A
RPA	Replikasyon Protein A
TFIIH	Transkripsiyon Faktör IIH
ERCC1	Eksizyon Onarımı Çapraz Tamamlayıcı 1(Excision Repair Cross Complementing 1)
XPF	Xeroderma Pigmentosum Tamamlayıcı Grup F
XPB	Xeroderma Pigmentosum Tamamlayıcı Grup B
MMR	Yanlış Eşleşme Eksizyon Onarımı (Mismatch Repair)
MNNG	1-Metil-3-nitro-1-nitrosoguanidin
O6-meG	O6-metilguanin
hMLH1	MutL homolog 1
hMSH6	MutS homolog 6
hMSH2	MutS homolog 2
MGMT	O6- Metilguanin DNA Metil Transferaz
Bax	BCL-2 ilişkili X Proteini
BER	Doğrudan Onarım (Base Excision Repair)
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz Enzimi
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz
L-NAME	NG-Nitro-L-Arjinin Metil Ester
LPO	Lipit Peroksidasyonu
NAC	N-Asetilsistein
DMSO	Dimetilsülfoksit
Kompleks 1	Dikloro-di(1-(4-Metoksifenil)-1H-imidazol)Platin(II). 0.5H ₂ O
Kompleks 2	Diiyodo-di(1-(4-Metoksifenil)-1H-imidazol)Platin(II)
Kompleks 3	Dikloro-di(1- benzil-1H -imidazol)Platin(II)
Kompleks 4	Diiyodo-di(1- benzil-1H -imidazol)Platin(II)
Kompleks 5	Dikloro-di(1- fenil-1H -imidazol)Platin(II)
Kompleks 6	Diiyodo-di(1- fenil-1H -imidazol)Platin(II)
L	Taşıyıcı Ligand
s	Singlet
d	Dublet
m	Multiplet
BamHI	Bacillus Amyloliquefaciens Restriksiyon Endonükleaz Kesim Enzimi
HindIII	Restriksiyon Endonükleaz Kesim Enzimi

1.GİRİŞ

Kanser, her yaşta insanı etkileyen, dünyanın her yerinde görülebilen ve insanların hayatlarını tehdit eden bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2018 yılında 9.6 milyon kişinin kanserden hayatını kaybettiği ve her altı ölümden birinin kanser kaynaklı olduğu bildirilmektedir [1]. Kanser, kontrolsüz bir biçimde çoğalan anormal hücrelerden oluşan hastalıklar grubudur. Anormal bir biçimde çoğalan hücrenin kaynağına, tipine ve olduğu organa göre kanserin çok çeşitli türleri vardır. Sağlıklı hücrelerde bölünme ve çoğalma kontrollü bir şekilde gerçekleşirken bazı hücrelerde genlerde oluşan mutasyon nedeniyle anormal bölünme ve çoğalma gözlenmektedir. Bu kontrolsüz çoğalmalar sonucunda doku ve organlarda tümör adı verilen kitleler meydana gelmektedir [2].

Kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sıradaki ölüm nedeni olan kanser hastalığının tedavisi ülke ekonomilerine büyük yük oluşturmaktadır [3]. Kanserlerin bazı türlerinde risk faktörlerinin kısıtlanması, koruyucu tedbirlerin alınması ve erken teşhis ile %30-%50 arasında önlenildiği bilinmektedir [4].

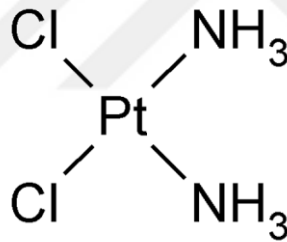
Kanser hastalarının tedavisinde çeşitli yöntemler uygulanır. Bunlardan biri olan kanser kemoterapisinin esası; hastanın normal hücrelerine zarar vermeden tümör hücresinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak, hatta tümör hücresini yok etmektir. Ancak hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçların terapötik indekslerinin dar olmasından dolayı toksik etkileri çok fazladır. Özellikle bölünerek çoğalma özelliği fazla olan kan hücreleri ve gastrointestinal sistem organ hücrelerine ve çok kanlanan organ hücrelerine yan etkileri fazladır [2].

Kanser tedavisinde kullanılan platin içeren koordinasyon bileşiği olan sisplatin (*cis*-diammindikloroplatin(II)), ilk kez 1844 yılında Michael Peyrone tarafından sentezlenmiştir [5]. Rosenberg ve ark. [6] tarafından 1965 yılında yapılan bir çalışmada, elektriksel alanın yaşayan hücreler üzerindeki etkisini incelemek amacıyla periyodik sistemin VIIIB grubu geçiş metallerinin, *E. coli*'nin hücre gelişimi üzerindeki etkileri araştırılmış ve platin elektrotta oluşan maddenin yapısının *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] olduğu ve *E. coli*'nin hücre bölünmesini inhibe ettiği saptanmıştır. Sisplatinin klinik denemeleri ise 1971 yılında yapılmıştır. 1978 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration; FDA) tarafından onaylanan ilk platin kompleksi olan sisplatin, testis ve ovaryum kanserlerine karşı etkili bir kemoterapötik ilaç olarak kullanılmaya başlanmıştır [7-9].

Sisplatinin, kanser tedavisinde tek başına kullanılmasının yanında radyoterapi ve diğer kemoterapötikler ile birlikte de kullanılmaktadır. Erken teşhis edilmiş testis kanserinin tedavisinde yaklaşık %90-95 tedavi başarısı sağlayan sisplatin, başta ovaryum kanseri olmak üzere diğer solid tümörlerin tedavisinde de kullanılan antikanser ilaçtır [10, 11].

Sisplatin günümüzde, ağız boşluğu ve yutak, akciğer, serviks, lenf bezi, kemik, cilt, mesane, beyin ve böbrek kanserlerinde kullanılmakla beraber, özellikle testis kanseri ve ovaryum kanseri tedavinde kullanılmaktadır [12]. Ancak ovaryum kanserli hastaların % 80-85'inde hastalık yeniden nüksetmekte ve sisplatin ile yapılan tekrar tedavide rezistans gelişmektedir [13,14].

Sisplatin kullanılan hastalarda toksik etkilerin görülmesi ve bazı kanser türlerinin sisplatine karşı doğal direnç geliştirmiş olması ile bazı kanser türlerinde de ilk kullanımdan sonra direnç gelişmesi araştırmacıları yeni platin kompleksleri geliştirmeye yönlendirmiştir [15, 16]. Araştırmacıların yeni tasarladıkları platin komplekslerinin, sisplatine karşı rezistans gelişen kanser türlerine karşı etkili olması beklenmektedir. Ayrıca sisplatin kullanan hastalarda görülen nefrotoksisite, kemik iliği depresyonu, mide bulantısı, kusma, periferik nöropati, sağırılık, ani nöbetler ve körlük gibi yan etkilerin en aza indirilmesi amaçlanmaktadır [17].



Şekil 1.1. Sisplatin molekül formülü

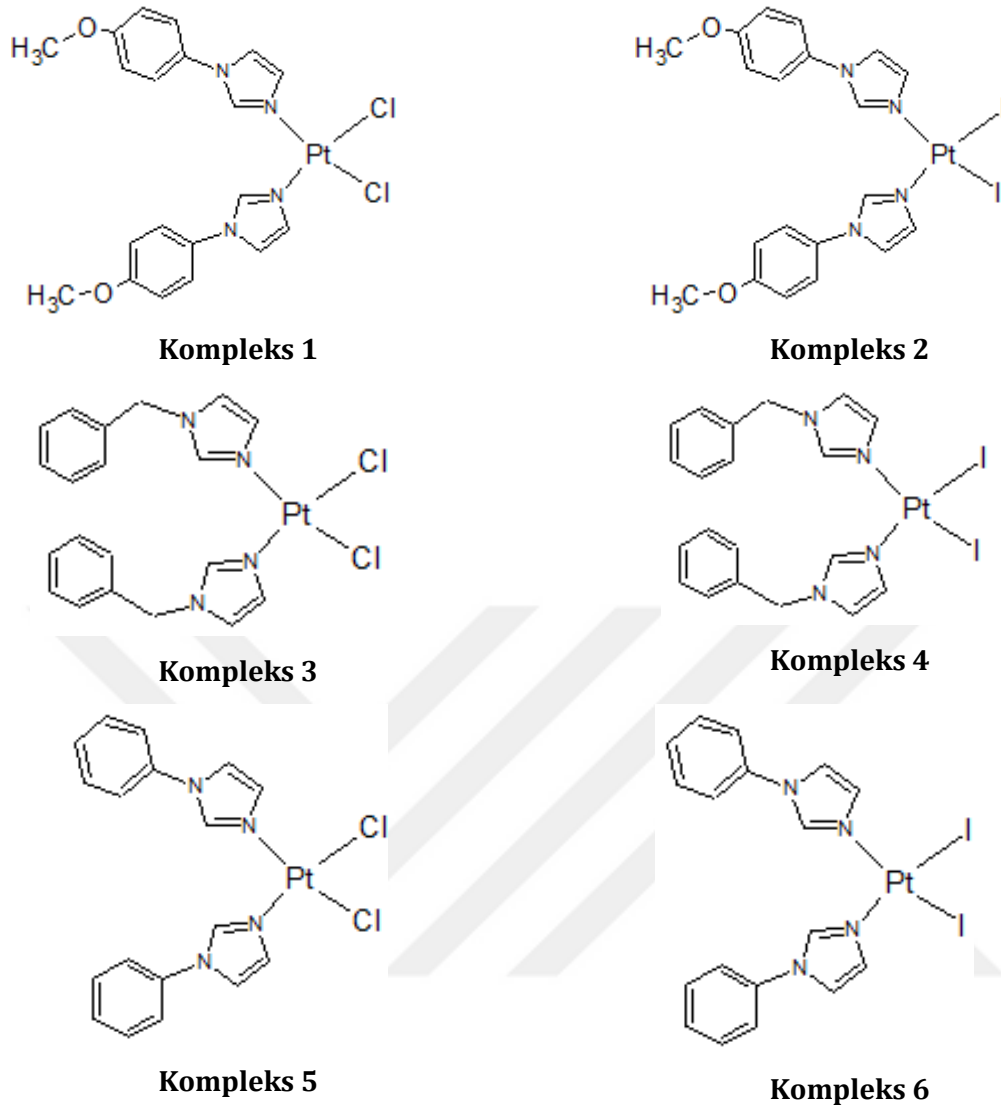
Merkezde platin atomu içeren ve cis konumda iki klor atomu ve iki amonyak molekülü ile çevrili, kare düzlem yapıya sahip olan sisplatin (Şekil 1.1.) intravenöz olarak klinikte kullanılmaktadır. Vücuda alındıktan sonra oluşan reaktif türevleri başlıca DNA'nın guanin bazının yedi numaralı azot atomuna bağlanarak antikanser etki gösterdiği bilinmektedir [18]. Terapötik etkinliği DNA'ya bağlanma yeteneğine bağlı olan sisplatinin yapısında yer alan taşıyıcı amonyak ligandları peptid, glukozamin veya heterosiklik amin grupları ile yer değiştirilerek yeni Pt(II) kompleksleri sentezlenmiştir [19,20]. Komplekslerin, taşıyıcı ligandlarının organizma tarafından tanınan ve yapısında barındırdığı doğal maddeler olması nedeniyle, hücreler tarafından tanınması sayesinde daha etkili oldukları gözlenmektedir [21].

İmidazol heteroaromatik halka sistemi biyolojik sistemde histamin ve histidin amino asiti, çeşitli metalloproteinler, demir-hem sistemi ve vitamin B12 türevlerinin yapısında bulunmaktadır [22]. Ayrıca biyolojik sistemlerin en önemli metal bağlanma bölgelerinde yer alan histidin amino asit parçası, birçok enzimin aktif merkez bölgesini oluşturmaktadır [20,23]. Düşük toksisite, yüksek stabilite, metaller ile güçlü bağlanma, elektronik ve sterik özellikleri nedeni ile imidazol halkası medisinal kimyacılar için önem taşımaktadır [24]. İnsan vücudunun tanıdığı biyolojik olarak aktif olan heterosiklik imidazol halkasının değişik farmakolojik aktiviteleri bulunan ilaçlar günümüzde tedavide kullanılmaktadır [25].

Ayrıca sisplatinin yapısında yer alan ayrılan klor ligandlarının değiştirilmesi ile toksisite azalmakta ancak çapraz rezistans engellenememektedir. Taşıyıcı amonyak ligandlarının farklı kimyasal gruplar ile değiştirilmesiyle sitotoksik etkinin arttığı araştırmalarda öngörülmektedir [26].

Bu tez çalışmasında sisplatin yapısındaki amonyak ligandlarının, organizmanın tanıdığı ve ligand özelliği gösteren 1-süstitüimidazol taşıyıcı ligandına sahip kapalı formülü $[PtL_2Cl_2]$ ve $[PtL_2I_2]$ olan (L=1-(4-metoksifenil)-1H-imidazol, 1-benzil-1H-imidazol veya 1-fenil-1H-imidazol) olan orijinal altı adet Pt(II) kompleksi tasarlanarak sentezlenmiştir (Şekil 1.2). Sentez edilen **Kompleks 1-6**'nın kimyasal yapısı elementel analiz, Fourier Transform İnfrared (FT-IR) ve ^1H Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) spektroskopisi ile aydınlatılmıştır.

Komplekslerin, DNA ile etkileşimlerinin agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak pBR322 plazmid DNA iplikçığı ile etkileşmesi ve *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz kesim enzimleriyle bağlanma bölgesinin yeri tespit edilmiştir. Ayrıca, fare fibroblast hücreleri (L929), adenokarsinomik insan alveolar bazal epitelyal hücreleri (A549) ve insan kolon adenokarsinom (CaCo-2) hücrelerine karşı sitotoksik etkileri MTT yöntemi ile test edilmiştir.



Şekil 1.2. 1-(4-Metoksifenil)-1*H*-imidazol, 1-benzil-1*H*-imidazol veya 1-fenil-1*H*-imidazol taşıyıcı-ligandlarına sahip yeni Pt(II) kompleksleri

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

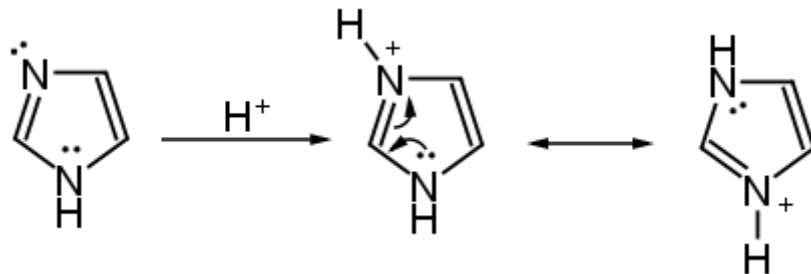
2.1. İmidazol Halkasının Ligand Özellikleri

Glioksalin, 1,3-diazol, iminazol, miazol, 1,3-diaza-2,4-siklopentadien gibi isimler ile adlandırılan imidazol, heterosiklik aromatik bir halkadır. İmidazol halka sistemi, ilk kez 1858 yılında Alman bilim adamı Heinrich Debus tarafından [27], glioksal ve amonyak kullanılarak sentezlenip glioksalin adı verilmiştir. Ancak literatüre kayıtlı ilk imidazol bileşiği 1845 yılında Fransız bilim adamı Auguste Laurent tarafından [28] sentezlenen ve 2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol olarak da bilinen Lofin'dir (Şekil 2.1.).



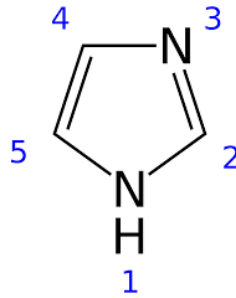
Şekil 2.1. Lofin molekül formülü

İmidazol kapalı formülü $C_3H_4N_2$, molekül ağırlığı 68.08 g'dır. İmidazol beyaz kristaller şeklinde olup erime noktası 89-91°C dir. Yüksek polariteye sahip bir bileşik olan imidazol suda ve polar çözücülerde çözünebilir . İmidazol halka sistemi amfoterik yapıdadır ve hem asidik hem de bazik karakter gösterir [29].



Şekil 2.2. $pK_a=7$ ($pK_b=7$) imidazolün %50 protonlanmış sulu çözeltisinde tautomer denklemleri

Pirol azotu halkanın asidik kısmını oluşturur. pKa değeri 14.5 olan pirol azotunun asitliği, karboksilik asitlere, fenollere ve imidlere göre daha az iken alkollere daha fazladır. İmidazol halkasına bazik özellik veren piridin azotudur. Piridin azotu güçlü alkali karakterde olup pKa değeri 7 civarındadır (Şekil 2.2). İmidazoller bazik karakterleri asidik karakterlerden daha çok göstermektedirler. Tersiyer yapıdaki piridin azotu ortaklanmamış elektron çiftlerini reaksiyona girdiği atom veya gruba verebilmesi sayesinde bazik özellik göstermektedir. İmidazoller asit özelliklerini ise taşıdıkları imino hidrojenini ortama proton halinde vererek gösterirler [29,30].



Şekil 2.3. İmidazol molekül formülü

İmidazol halkasında numaralandırmaya üzerinde hidrojen atomu taşıyan, imino azotu veya pirol azotu olarak adlandırılan azot atomuna 1 numara verilerek başlanır. Numaralandırmaya tersiyer yapıdaki piridin azotu da denilen azot atomuna 3 numara verilerek devam edilir (Şekil 2.3.) [31,32].

İmidazol halka sistemine sahip olan etken maddeler insektisit, boya üretiminde, korozyon inhibitörlerinde ara madde olarak, tekstilde sanayinde kullanılır. Fotoğrafçılık ve elektronikte kullanılan çeşitli bileşiklerde imidazol bulunabilir. İmidazol grupları biyolojik sistemlerdeki metal yapıştırılmalarda önemli bir rol oynamaktadır [33].

Heteroaromatik bir halka sistemine sahip olan imidazol, biyolojik olarak önemli olan histamin, histidin amino asiti, demir-hem sistemi, çeşitli metalloproteinler ve vitamin B12 türevlerinin yapısında bulunmaktadır [22,34].

Ligand, koordinasyon bileşiklerinin merkezindeki metal atomuna bağlı olan ve merkez atomuna elektron çifti verebilen (Lewis bazı) yüklü veya yüksüz gruplara denir [35]. Yüksüz ligandlar polar moleküllerdir. Bu moleküllerin en az bir atomunda, diğer atomlarına göre negatif yük yoğunluğu daha fazla bulunmaktadır. Negatif yük yoğunluğunun, ortaklanmamış bir elektron çiftinden veya çifte bağdan geldiği düşünülmektedir. İmidazol halkasının 3 numaralı konumdaki azot atomunun taşıdığı ortaklanmamış elektron çifti nedeni ile ligand olarak çeşitli metal komplekslerinin yapısında yer alabilmektedir. Biyolojik sistemin tanıdığı bir heteroaromatik halka sistemi olan imidazol, çeşitli geçiş metalleri için ligand özelliği

taşımaktadır [22, 31]. İmidazol halkasının üç numaralı konumundaki azotun taşıdığı ortaklanmamış elektron çifti aracılığı ile metal-ligand koordinasyon bağı oluşmaktadır. İmidazol halkasının bir numaralı konumunda koordinasyon bağı oluşumu olanaksız olmasının nedeni azotun ortaklanmamış elektronlarının aromatik halkanın π sistemi ile delokalize olmasıdır. Ancak histidin yan zincirindeki heterosiklik imidazol halka sisteminin N3 ve N1 azot atomlarının çift dişli bağlanmaya uygun olduğu da literatürde kayıtlıdır [22].

2.2. İmidazol Türevi Platin(II) Komplekslerinin Sentez Çalışmaları

Heterosiklik bileşiklerden imidazol halkası; düşük toksisite, yüksek stabilite, metaller ile güçlü bağlanma, elektronik ve sterik özellikleri nedeni medisinal kimyacılar için önem taşımaktadır [24]. Ayrıca biyolojik olarak aktif birçok kimyasal yapıda bulunması ve yapısında imidazol halka sistemi taşıyan değişik farmakolojik aktivitesi bulunan ilaçların günümüzde tedavide kullanılması, ilaç araştırma ve geliştirme çalışmalarında ana yapı olarak kullanılmasını sağlamıştır [29, 32, 36]. Biyolojik moleküllerin aktif bölgelerinde yer alan benzimidazol ve imidazol parçaları ligand görevi yaparak metallerin koordinasyonunda önemli rol oynadıkları birçok çalışma ile kanıtlanmıştır. [37, 38].

1976 yılında yayınlanan bir çalışmada Dehand ve Jordanov [39], 2-merkaptotiyazolinin Pt(II), Pd(II), Rh(I) ve Rh(III) komplekslerini ayrıca 2-merkaptobenzotiyazol ve 2-merkaptio-1-metilimidazol ligandın sahip taşıyan Pt(II) ve Pd(II), Rh(I) kompleksleri sentezlemişlerdir. Sentezledikleri komplekslerin yapılarını, FT-IR ve NMR spektroskopileri ile aydınlatmış, ardından komplekslerin iletkenlik ve dipol moment ölçümlerini yapmışlardır. Asit ortamda yapılan sentezlerde ligandların sadece N heteroatomunun üzerinden bağlandığını, bazik ortamda ise 2-merkaptotiyazolin ligandı taşıyan kompleksin sadece S atomundan bağlanabildiğini ancak, 2-merkaptobenzotiyazolin ve 2-merkaptio-1-metilimidazol ligandları taşıyan komplekslerin hem S hemde N heteroatomundan bağlanabildiğini bildirmişlerdir.

1977 yılında Ghosh ve ark. [40] tarafından yapılan bir çalışmada, $[PtL_2X_2]$ (L= benzimidazol, imidazol, 2- metilbenzimidazol ve X= -Cl- , -Br- , -I - , -NCS- , -NO₂ -) ve $[PtLX_2]$ (L= guanidobenzimidazol ve X= -Cl- , -Br- , -I - , -NCS- , -NO₂ -) kapalı formüllerine sahip platin komplekslerinin sentezlendiği bildirilmiştir.

1978 yılında Kralingen ve Reedijk [41] azot donörü olan N-metilimidazol ligandı taşıyan cis-Pt(N-metilimidazol)₂X₂, trans-Pt(N-metilimidazol)₂X₂, Pt(N-metilimidazol)₄X₂(H₂O)_n ve Pt(N-metilimidazol)₄PtX₄ yapısında kompleksleri sentezlemiş ve bu bileşiklerin yapılarını FT-IR, ¹H-NMR spektroskopisi ve X-Ray yöntemlerini kullanarak aydınlatmışlardır.

1978 yılında Graves ve ark. [42], taşıyıcı ligand olarak N-metilimidazol, ayrılan ligand olarak ise -Cl ve -Br kullanıldığı cis-dikloro-bis(N-metilimidazol)platin(II) ve cis-dibromo-

bis(N-metilimidazol)platinum(II) komplekslerini sentezlemişlerdir. Sentezledikleri komplekslerin yapılarını X-Ray yöntemleri ile aydınlatmışlardır.

1979 yılında Kralingen ve ark. [43], cis-Pt(imidazol)₂X₂, trans-Pt(imidazol)₂X₂, Pt(imidazol)₄X₂, trans-Pd(imidazol)₂X₂, Pd(imidazol)₄X₂ (X= -Cl, -I ve -Br-) ve cis-Pd(imidazol)₂X₂ (X= -Cl- , -Br ve X₂= - C₂O₄) komplekslerini sentezlenmiştir. Sentezlenen komplekslerin yapıları FT-IR ve ¹H NMR spektroskopisi ve X-Ray kristallografisi ile aydınlatılmıştır.

1979 yılında Fazakerley ve Koch [44] sisplatin benzeri cis-[Pt(NH₃)₂X₂]Y₂ yapısında kompleksler sentezlemişlerdir. (X=imidazol, pirimidin, 3-sübstiüe piridin ve inosin Y= -Cl ve -ClO₄). Komplekslerin yapılarını ¹H NMR ve ¹³C-NMR spektroskopisi kullanarak aydınlatılmıştır.

1985 yılında Domnia ve ark. [45], aralarında imidazol, benzimidazol, pirazol ve triazollerinde bulunduğu bazı 1-vinilazollerin Pt(II), Pd(II) ve Pd(IV) komplekslerini sentezlediklerini ve bu komplekslerin antikanserojen etkileriyle de ilgilendiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar vitamin B12 gibi biyoaktif maddelerin yapısında bulunan imidazol halkası nedeniyle, araştırmalarında vinilazollerin ligand olarak seçtiklerini bildirmişlerdir. Çalışmada, Sarkoma-37 ve Melanoma P-16 tümör hücrelerinin gelişimini sadece 1-vinilimidazol ve 1-vinilbenzimidazol'un ligand olarak kullanıldığı Pt(II) komplekslerinin sırasıyla % 37 ve % 48 oranında azalttıklarını bildirmişlerdir.

1987 yılında Massacesi ve ark. [46], kapalı formülü [Pt(L)_nCl₄] olan, (L= N-propilimidazol, N-etilimidazol, isoksazol, 3,5-dimetilisoksazol, benzoksazol, 2-metilbenzoksazol, 2,5-dimetilbenzoksazol ve etilendiamin, n=2,4) Pt(IV) komplekslerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen komplekslerin, L1210 lökemi farelerde antitümöral aktivitesinin test edildiğini bildirilmişlerdir.

1987 yılında Ponticelli ve ark. [47] tarafından yayınlanan bir çalışmada, N-etilimidazol ve N-propilimidazol taşıyıcı ligandlarını taşıyan Pt(L)₂X₂ ve Pt(L)₄X₂ yapısında (X= -Cl-, -Br-, -I) kompleksleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları FT-IR spektroskopisi, elektronik spektum ve iletkenlik ölçümü ile aydınlatılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden [Pt(N-propilimidazol)₄]Cl₂ bileşiğinin antitümör aktivitesinin sisplatin ile eşdeğer bulduklarını bildirmişlerdir.

1988 yılında Muir ve ark. [48] cis-Pt(NH₃)(L)Cl₂ yapısında (L= tiyazol, 2-bromotiyazol, benzotiyazol, 2,1,3-benzotiyadiazol, 1,2,3-benzotiyadiazol, imidazol ve 1-metilimidazol) yeni Pt(II) komplekslerini sentezlemişlerdir. Bu komplekslerin yapıları ¹H-NMR, FT-IR ve UV spektroskopisi ve elementel analiz yöntemi kullanılarak aydınlatılmıştır. Komplekslerin önemli sitotoksik aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir.

1990 yılında aynı araştırmacılar [49] tarafından yapılan başka bir çalışmada, imidazol, tiyazol, oksazol ve selenazolden türeyen stirilbenzoheteroazol ligandı bulunduran [NEt₄][Pt(L)-

Br_3] yapısına sahip platin kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezlenen komplekslerin yapıları erime noktası, elementel analiz, UV ve FT-IR spektroskopisi ile aydınlatılmış ve sentezlenen komplekslerden iki tanesinin kristal ve moleküler yapıları X-Ray tekniği ile tanımlanarak bu yapıların kare düzlem geometride olduğu belirlenmiştir. Araştırma grubunun 1992 yılında yapılan başka bir çalışmasında da [50], imidazol, tiyazol, oksazol içeren benzazol türevi heterosiklik aromatik ligandların platin(II) metal kompleksleri üzerinde çalışmalar yapmış, cis- $[Pt(L)_2Cl_2]$ yapısında kompleksleri hazırlamışlardır.

1992 yılında Floris ve ark.'nın [51] yaptığı bir çalışmada, pürin, pirimidin, N-etilimidazol (L_1) ve N-propilimidazol (L_2) ligandı içeren Pt(II) komplekslerinden hareketle $[Pt(L_1)(L_2)Cl_4]$ yapısında Pt(IV) komplekslerinin sentezlendiği bildirilmiştir.

1996 yılında Bloemink ve ark. [52] tarafından yapılan çalışmada, $[Pt(bmi)Cl_2]$ (bmi=bis-(N-metilimidazol-2-il)karbinol) yapısındaki bileşiklerin yapı-aktivite ilişkileri incelenmiş, ^1H -NMR spektroskopisi kullanılarak DNA olan ilişkisi aydınlatılmıştır. Bu dokuz kompleksin kristal yapıları X-Ray yöntemi ile belirlenmiş ve kare düzlem yapıda oldukları bulunmuştur.

1996 yılında Clement ve ark. [53] 1-metilimidazol ligandı taşıyan Pt(II) kompleksinin, $60^\circ C$ de $D_2O/NaOD$ içerisindeki çözeltisinin hidrojen-döteryum değişimi ^1H -NMR spektroskopisi ile izlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada imidazol halkasının 2. 4. ve 5. konumlarındaki hidrojenlerin izotopik değişim tepkimesi ile pik verdiklerini gözlemlemişlerdir.

1997 yılında Baranska ve ark. [54] tarafından yapılan çalışmada $[Pt(L)_2X_2]$ ve $[Pt(L)_2X_4]$ ($L=1$ -propilimidazol veya 1-etilimidazol) yapısında Pt(II) ve Pt(IV) kompleksleri sentezleyerek Raman spektroskopisi ile yapılarını aydınlatmışlardır. Ayrıca bu komplekslerin sitotoksik aktiviteleri ve molekül yapısı arasındaki ilişki üzerine çalışmışlardır.

1999 yılında yayınladıkları bir çalışmada Saha ve ark. [55], imidazol, benzimidazol, pirazol ve triazol gibi azot taşıyan heterosiklik ligandların $[Pt(dien)Br]^+$ (dien= dietilentriamin) ile reaksiyonu sonucunda $[Pt(dien)benzimidazol](PF_6)_2$ yapısındaki kompleksleri elde etmişlerdir.

2000 yılında Pal ve ark. [56], 1-alkil-2-(naftil- β -azo)imidazol yapısındaki ligandların K_2PtCl_4 ile reaksiyona sokarak yeni Pt(II) kompleksleri sentezlemişler ve yapılarını FT-IR spektroskopisi ile aydınlatmışlardır. Aynı çalışmada komplekslerin X-Ray yapıları da incelenmiştir.

2001 yılında Jolley ve ark. [57] tarafından 2-merkaptobenzimidazol, 2-merkaptimidazol ligandları taşıyan kare düzlem Pt(II), 4-hidroksi-2-merkaptopirimidin, 2-merkaptopiridin ligandını taşıyan dimerik Pt(III), 4-amino-2- merkaptopirimidin ligandı taşıyan monomerik Pt(II) ve 4,6-dihidroksi-2-metilmerkaptopirimidin ligantı içeren dimerik Pt(II) komplekslerinin sentez ettiklerini bildirmişlerdir. Sentez edilen komplekslerin yapıları X-Ray ile

aydınlatılmıştır. Ayrıca çalışmada, 2-merkaptimidazol ligandının içerdiği kükürt atomunun, kompleksleşme ile beraber tiyon formuna dönüştüğü bildirilmiştir.

2003 yılında Casas ve ark. [58] tarafından yapılan bir çalışmada, $[PdCl_2(LL)]$ ve $[PtX_2(LL)]$ ($X=Cl, Br$ veya I ; $LL=2,2'$ -bisimidazol veya N,N' -dimetil-2,2'-biimidazol) yapısında kompleksler sentezlenmiş ve komplekslerin yapısı spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. $[PtI_2(LL)]$ kompleksi, K_2PtCl_4 'ün KI ile muamelesi sonucu oluşan K_2PtI_4 üzerine ligand ilavesi ile elde edilmiştir. $[PtI_2(LL)]$ kompleksi üzerine KNO_3 ve $AgNO_3$ ilave edilerek oda ısısında karıştırılmış ve AgI süzülerek ayrılmıştır. Daha sonra bu çözeltinin üzerine sırasıyla KBr ve KCl ilave edilerek $[PtBr_2(LL)]$ ve $[PtCl_2(LL)]$ sentezlenmiş ve klor içeren komplekslerin, plasmid DNA üzerindeki etkilerini incelemişlerdir.

2004 yılında Huq ve ark. [59] $trans-PtL(NH_3)Cl_2$ ($L=2$ -hidroksipiridin, 3- hidroksipiridin, imidazol ve imidazo(1,2- α)piridin) yapısında kompleksler sentezlemişlerdir. Sentezlenen komplekslerden imidazo(1,2- α)piridin ligandı taşıyan kompleksin A2780cisR kanser hücrelerine karşı sisplatinden daha aktif olduğunu bildirmişlerdir.

2007 yılında Oziminski ve ark. [60] tarafından imidazol halkası taşıyan histamin içeren $Pt(II)(Hist)Cl_2$, $Pt(II)(iyodo-hist)Cl_2$ ve $Pt(IV)(Hist)_2Cl_2$ yapısında $Pt(II)$ ve $Pt(IV)$ kompleksleri sentezlenmiş ve sentezlenen bu komplekslerin antitümör aktivitesi incelenmiştir.

2007 yılında Taleb ve ark. [61]'nin yaptığı çalışmada heterosiklik bileşikler olan pirol ve imidazol halkası içeren hairpin poliamid $Pt(II)$ kompleksleri sentezlemişlerdir. Sentezledikleri metal komplekslerin yapılarını ^1H ve ^{195}Pt NMR spektroskopisi ve ESI-MS spektroskopisi ile aydınlatmışlardır.

2008 yılında yapılan bir çalışmada Bakalova ve ark. [62], 5-metil-5-(4-piridil)- 2,4-imidazolidendion taşıyıcı ligandı taşıyan $[PtL_2X_2]$ ($X= -Cl, -Br, -I$) ve $[PtL_2Cl_4]$ yapısında kompleksler sentezlemişlerdir. Sentezledikleri tüm komplekslerin yapılarını aydınlatmak için elementel analiz, FT-IR, NMR ve kütle spektroskopisi yöntemlerini kullanmışlardır. Ayrılan ligand olarak $-Cl$ içeren komplekslerin, $-Br$ ve $-I$ içeren türevlerden daha aktif olduğu bulunmuştur. Yine aynı çalışmada $Pt(IV)$ komplekslerinin $Pt(II)$ komplekslerinden daha az aktif bulunduğu bildirilmiştir.

2010 yılında Szulmanowicz ve ark. [23], aralarında 2-fenilimidazol, 1- bütimidazol ve 1-metilimidazol ligandlarının bulunduğu ayrılan grup olarak klor içeren $Pd(II)$ kompleksleri sentezlemişlerdir.

2010 yılında yayınlanan bir çalışmada Adams ve ark. [63], imidazol ve pirazol veya tuzlarını kullanarak, Pt/Pd ile metal kompleks tuzlarının veya koordinasyon bileşiklerinin oluştuğunu göstermişlerdir.

2011 yılında Kumbhare ve ark. [64] tarafından yayınlanan bir çalışmada, 2- merkapt-1-metilimidazol ligandı taşıyan $Pt(II)$ kompleksi bileşikler sentezlenmişler ve ligandın tiyol veya

tiyon formda metale bağlandığını elektronik absorpsiyon, FT-IR, NMR (^1H , ^{13}C , ^{195}Pt) spektroskopisi yöntemleriyle aydınlatılmıştır.

2011 yılında Ravera ve ark. [65], $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{bmic})\text{Cl}_2]$ ($\text{bmic}=\text{bis}(1\text{-metil-}1H\text{-imidazol-}2\text{-il})\text{metanol}$, $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{bmi})\text{Cl}_2]$ ($\text{bmi}= 1,1'\text{-dimetil-}1H,1'H\text{-}2,2'\text{-biimidazol}$) ve $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{Im})\text{I}_2]$ içerisinde bulunduğu bir seri Pt(II) kompleksi bileşik sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerden $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{bmic})\text{Cl}_2]$ L1210 lökemili farelerde önemli sitotoksik aktivite gösterdiği, daha az sterik engelli $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{bmi})\text{Cl}_2]$ bileşiğinin ise inaktif bulunduğu bildirilmiştir.

2017 yılında Rimoldi ve ark. [66], kare düzlem yapıda N-alkil imidazol ligandı içeren bir seri katyonik platin (II) kompleksi sentezlemişlerdir. $\text{R} = -\text{C}_6\text{H}_{13}$ grubuna sahip imidazol ligandı içeren platin kompleksi ile yapılan üçlü negatif meme kanseri MDA-MB-231 hücre hattı ile yüksek, DLD-1 and MCF-7 hücre hatları ile yapılan aktivite çalışmalarında zayıf sitotoksik aktivite gözlediklerini bildirmişlerdir.

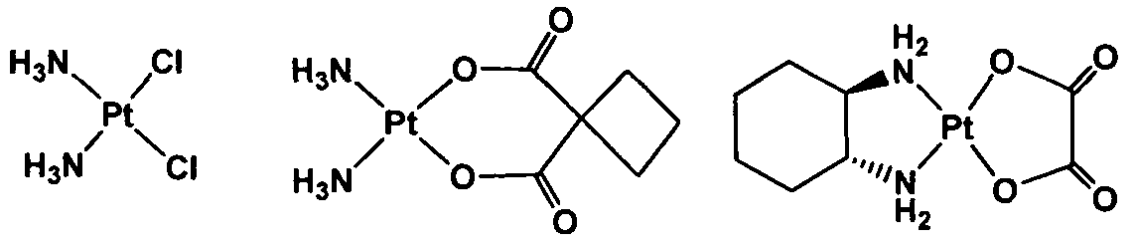
2.3. Klinikte Kullanılan Platin Kompleksleri

Klinik kullanıma giren ilk platin kompleksi bileşik olan sisplatinin doz kısıtlayıcı yan etkilerinin olması ve rezistans gelişimi gerçekleşmesi nedeniyle araştırmacılar, yeni platin kompleksleri sentezlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda sisplatin yapısındaki klor atomlarının yerine 1,1-siklobütandikarboksilat yapısının geçmesi ile ikinci kuşak platin kompleksi olan karboplatin (*cis*-diammin-(siklobütan-1,1-dikarboksilato)platin(II)) klinik kullanıma girmiştir [67,68].

Karboplatinin taşıdığı ayrılabilen ligand dikarboksilat grubunun, hücre içindeki su molekülleri ile yer değiştirebilme hızının sisplatin yapısındaki klorların su ile yer değiştirme hızı ile karşılaştırıldığında iki kat daha düşük olması, karboplatinin kelat yapısından kaynaklandığı fikrine varılmıştır. Kelat yapısı bulunan molekülün, bu yapıyı bulundurmaya göre daha kararlı olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca karboksilat ligandı karboplatinin sudaki çözünürlüğünü arttırmaktadır [69].

Sisplatine karşı çapraz rezistans gelişmiş ovaryum kanserli hastalarda tedavi karboplatin ile yapılmaktadır. Sudaki çözünürlüğü ve dayanıklılığı yüksek bileşiklerin büyük çoğunluğu karboksilat ligandı içermektedir [70].

Üçüncü kuşak platin(II) kompleksi olan oksaliplatin ($[(1R,2R)\text{-}1,2\text{-sikloheksandiamin-N,N'}][\text{oksalato-O,O'}]\text{platin(II)}$), 2002 yılında kolon veya rektumun metastatik kanserli hastalarda kullanımı için onay olan 1,2-diaminosikloheksan ligandı taşıyan bir Pt(II) kompleksidir. Sisplatine karşı oluşan rezistans oksaliplatine karşı oluşmamaktadır. Oksalat ayrılan ligandı taşıyan bileşiğin nefretoksik etkileri sisplatin ve karboplatin kullanan hastalara göre daha alt seviyededir [71].



Şekil 2.4. Sisplatin, Karboplatin ve Oksaliplatin'in Kimyasal Yapısı

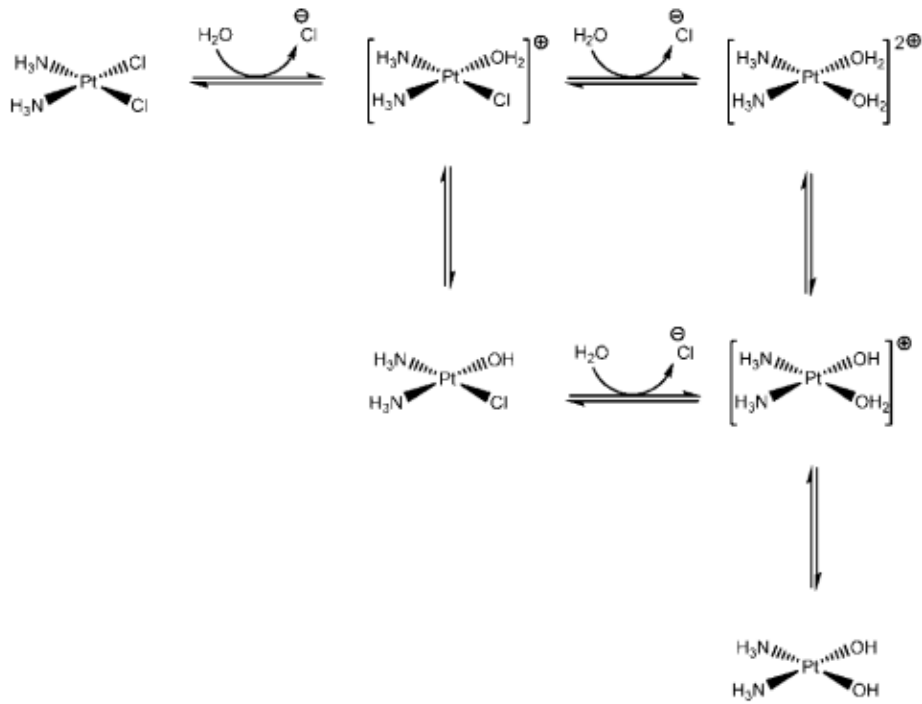
Sisplatinin 1970'li yıllarda klinikte kullanılmaya başlamasından sonra karboplatin ve oksaliplatin tüm dünyada klinikte kullanıma girmiştir. Ayrıca nedaplatin, lobaplatin ve heptaplatin ise sınırlı olarak bazı ülkelerde klinikte kullanılmaktadır (Şekil 2.4) [72].

2.4. Sisplatinin Etki Mekanizması

Sisplatin ve diğer platin türevi ilaçlar DNA'ya bağlanarak terapötik etkinlik göstermektedir. Sisplatinin DNA'ya bağlanması sonucunda transkripsiyon ve replikasyon mekanizmalarının engellenerek kanser hücrelerinin öldüğü bilinmektedir [73].

Sisplatinin hücre içine alınması influks ve hücre dışına atılması efluks olarak tanımlanmaktadır. Yapılan ilk çalışmalarda, ilaç konsantrasyonunun hücre içine akışı sınırlandırmış ve buna bağlı olarak hücre içinde ilaç konsantrasyonunda artış görülmemiştir. Bu nedenle sisplatinin çoğunlukla pasif difüzyon yoluyla hücre içine alınmasının yanında aktif taşıma mekanizması ile de giriş olduğu bildirilmektedir. Sisplatinin hücre içerisine alınmasında, hücre zarlarında bulunan fosfotidil serin fosfolipidinin önemli görevinin olduğu bildirilmektedir [74]. Ayrıca yapılan son çalışmalarda, Ctr1 (Bakır taşıyıcı protein) ve OCT2 (Oktamer bağlayıcı proteinler) taşıyıcı enzimlerinin sisplatinin hücre içerisine taşınmasında yardımcı olduğu bulunmuştur [75, 76].

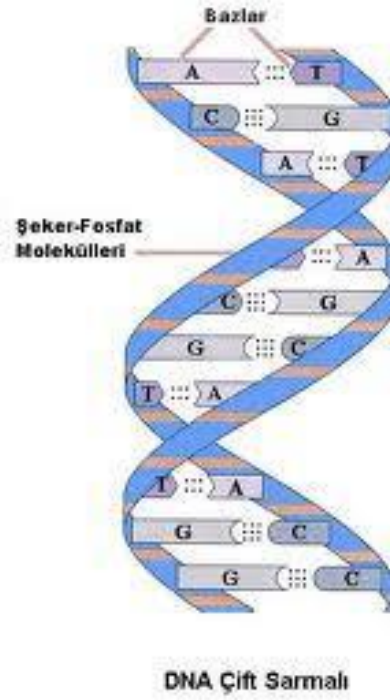
Hastaya parenteral yoldan verilen platin komplekslerinin, hücre duvarından geçişi sırasında oldukça düşük hızla hidrolizi başlar [74]. Hücre dışındaki klorür konsantrasyonu yaklaşık 100 mM olduğundan dolayı sisplatin nötral bir molekül gibi davranarak hücre yüzeyine ulaşır. Sisplatin hücreye girdikten sonra, hücre içi klorür konsantrasyonu 4 mM olduğu için hidroliz olur, bir veya iki klor atomu çıkarak yerlerine su molekülleri bağlanır; $[PtCl(H_2O)(NH_3)_2]^+$ katyonu ve $[Pt(OH)_2(NH_3)_2]$ deprotone formu oluşur [77]. Oluşan bu katyondaki su molekülü klorür iyonundan daha iyi ayrılabilen bir grup olduğundan $[PtCl(H_2O)(NH_3)_2]^+$ DNA ile kovalent bağ yaptığı ve bu bağlanma ile DNA'nın bölünmesine engel olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.5.) [78].



Şekil 2.5. Sisplatinin Hidroliz Mekanizması

Hidrolizden sonra oluşan molekül, nükleofil bölgeleri içeren DNA'ya, RNA'ya, proteinlere, membran fosfolipidlerine ve tiyol içeren moleküllere ve diğer hedeflere bağlanır. Oluşan molekülün ana hedefi DNA olmasına rağmen, bu moleküle bağlanmak için yarışan pek çok iyon ve molekül bulunmaktadır. Yarışmaya giren iyonlara örnek olarak Cl^- , $(\text{HPO}_4)^{-2}$, OH^- , moleküllere örnek olarak ise aminoasitler, peptidler, polifosfatlar, histamin, metionin, sistein, glutatyon (GSH), metallothionein (MT), adenosintrifosfat (ATP) verilebilir [79].

DNA yapısında, negatif yüklü fosfat zincirleri ve nükleofilik bölgeler barındırmaktadır. Bu yüzden pozitif yüklü platin atomları ve DNA arasında elektrostatik bir etkileşim görülebilmektedir. Bu etkileşim nedeniyle platin bazlı ilaçların hedef olarak DNA'yı proteine tercih ettiklerini açıklamaktadır [77-80].



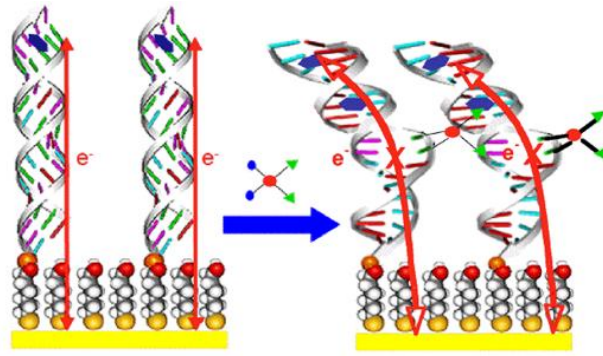
Şekil 2.6. DNA çift sarmalı

DNA'nın büyük oluğunda yer alan adenin ve guanin bazlarının, N7 atomları, platin komplekslerinin DNA'ya bağlandıkları en ulaşılabilir nükleofilik bölgeyi oluşturmaktadır (Şekil 2.6) [7].

Sisplatin, dört nükleik asit içerisinde guanin ile birleşmekte ve guaninin birkaç bağlanma bölgesine seçici olarak bağlanmaktadır. Önceleri guaninin 6 numaralı oksijen atomuna bağlanmanın antitümör mekanizma ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Daha sonra bu düşüncenin yerini guaninin 7 numaralı azot atomunun asıl önemli bölge oluşu almıştır. Daha ileri çalışmalar sisplatinin pürin bazlarından adenin ve guanine, özellikle de guaninin 7 numaralı azot atomuna, pirimidin bazlarından timin ve sitozinin 3 numaralı azot atomuna bağlandığını göstermiştir [80, 81].

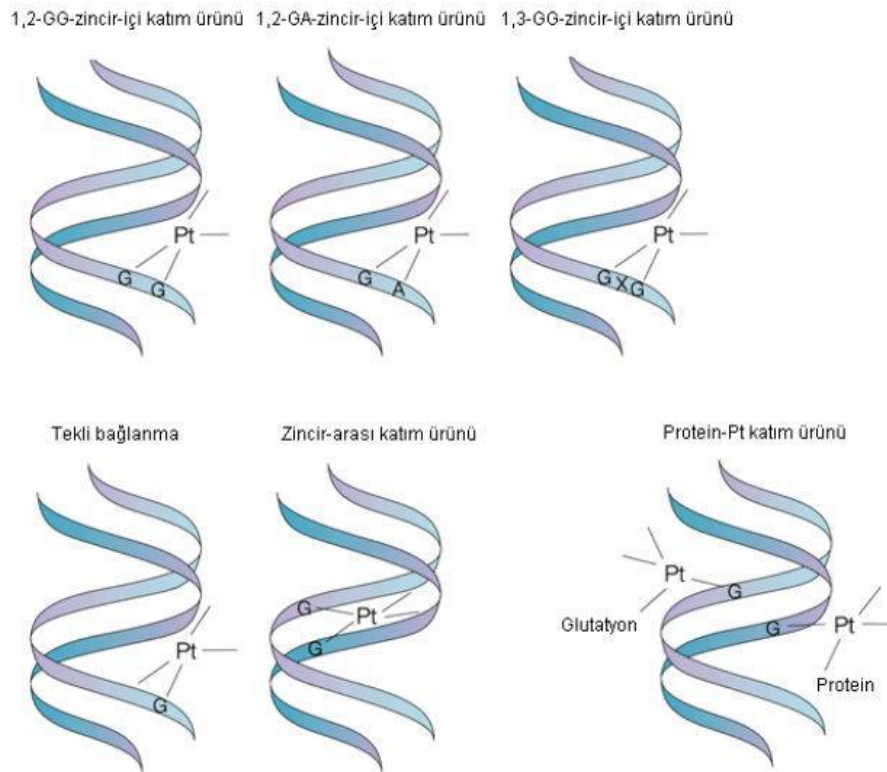
Sisplatin DNA'ya bağlandıktan sonra, DNA sarmalında bükülme, gevşeme ve kısalması gibi biçim bozuklukları oluşturarak, bağlantı bölgesinden 40-50°'lik bir bükülmeye neden olmaktadır (Şekil 2.7.) [77].

Oluşan biçim bozukluğu, platinin DNA'ya bağlandığı bölgede şeker-fosfat omurgasında ve daha sonra genel yapıda konformasyon değişikliklerine neden olmaktadır. Bu biçim bozukluğu HMG (High mobility group) 1 tarafından farkedilir ve apoptozis başlatılır. Böylece hasarlı DNA'nın onarılması engellenmiş olur [82].



Şekil 2.7. Sisplatinin bağlanması ile DNA'nın bükülmesi

Sisplatinin antitümör etkisi, bu bölgelerden genomik DNA'ya bağlanarak katım formlarını oluşturmasıyla başlamaktadır (Şekil 2.8.). Sisplatinin DNA'daki pürin bazlarına bağlanması sonucunda tekli-katım, ikili katımın ise zincir içi çapraz bağlar ve zincirler arası çapraz bağlar şeklinde 3 farklı yapı oluşabilmekte ve oluşan hasar normal transkripsiyonu ve/veya replikasyonu engelleyip, kanser hücresinin ölümüne neden olan sitotoksik aktiviteleri başlatmaktadır [83].



Şekil 2.8. Sisplatin-DNA katım ürünü oluşturan bağlantı tipleri

Tekli katım formları, platin komplekslerinin bir su molekülünü kaybetmesiyle meydana gelmekte ancak bunların % 90'ı çapraz bağlar oluşturmak üzere tekrar reaksiyona girmektedirler. Oluşan çapraz bağların büyük bir kısmı zincir içinde ve iki guanin molekülü arasında gerçekleşmekte, ileri düzeydeki formları ise zincirler arası çapraz bağlar şeklinde gözlenmekte ve DNA'da bükülmelere neden olmaktadır [74].

Zincir içi çapraz bağlar, DNA çift sarmalını büyük oluğa doğru bükerek çift heliks yapısını bozmakta ve küçük oluğu genişleterek HMG proteinleri, DNA onarım proteinleri, transkripsiyon faktörleri ve histon-1 gibi proteinlerin bağlanmaları için yüzeysel bir alan oluşturmaktadır [84]. HMG proteinlerinin sisplatin duyarlılığı için kritik öneme sahiptir. Özellikle sisplatine karşı duyarlılığı yüksek olan testis hücrelerinde çok sayıda HMG proteini tanımlanmaktadır. HMG proteinlerinin kromatinin eğriliği ile yakından ilişkili olduğu ve HMG ailesinin sisplatin ile oluşturulan çapraz bağlara bağlandıkları çalışmalarla belirlenmiştir [10, 84].

Yapılan in vitro çalışmalarda, sisplatin-DNA katım ürünlerinin % 90'nının 1,2-zincir-içi çapraz bağlantı şeklinde olduğu, X-ışını kristalografisi ve diğer spektroskopik yöntemler kullanılarak gösterilmiştir. Zincir-içi çapraz bağlantının % 65'i komşu iki guanin-N7 atomuyla; % 25'i komşu guanin-N7 ve adenin-N7 atomları aracılığı ile oluşmaktadır. Zincir-içi çapraz bağlantıların oluşma oranındaki fazlalık iki guanin-N7 atomu arasındaki mesafenin kısalığından kaynaklanmaktadır. Diğer katım ürünleri ise zincir-arası çapraz bağlantılar, monofonksiyonel katım ürünü ve 1,3-zincir içi çapraz bağlantı olarak sayılabilmektedir [85, 86].

İlacın sitotoksitesinde bağlantıların tipi önemli rol almaktadır. Sisplatin sitotoksitesi üzerinde hangi tip bağlantının etkili olduğu tam olarak anlaşılamamıştır ancak ana katkının 1,2-zincir-içi katım ürününe ait olduğu düşünülmektedir [86].

2.5. Sisplatin Türevi Platin(II) Komplekslerin Direnç Mekanizması

Sisplatine karşı tümör hücrelerinin geliştirdiği dirençte birden çok moleküler mekanizma rol oynamakta ve bu direnç farklı tümör tiplerinde farklı özellikler göstermektedir. Kolon ve küçük hücreli akciğer kanseri gibi tümörler sisplatine karşı kendilerine özgül veya yerleşik direnç gösterirlerken, baş ve boyun, testis ve over kanserlerinin çoğunlukla sisplatine duyarlı olduğu bildirilmektedir. Ancak duyarlı tümörlerin çoğunda tedaviye başladıktan sonra kazanılmış direnç gelişebilmektedir.

Sisplatin direncinin gelişmesine neden olabilecek faktörler;

- Hücrede ilaç birikiminin azalması,
- Sülfür içeren bileşiklerin aktivasyonu,
- Sisplatin-DNA katım formlarının onarımlarının artması,
- Apoptozda görevli proteinlerin ekspresyonlarında meydana gelen değişiklikler

olarak sayılabilmektedir [87].

Sisplatine karşı gelişen direnç mekanizmaları şu şekilde sıralanabilir:

1. İnfluks / Efluks
2. Sisplatinin, sülfür içeren moleküller ile inaktivasyonu
3. DNA onarımının artması
 - 3.1. Nükleotid eksizyon onarımı
 - 3.2. Yanlış eşleşme eksizyon onarımı
 - 3.3. Translezyon sentezi
4. Apoptik yollar ve sisplatin direnci

İnsandaki sisplatine rezistanslı (SP-r) hücrelerde görülen sayısız fenotipik değişiklik iyi biçimde belgelenmiştir. Yapısal olarak ilişkili veya ilgisiz birçok ilaca karşı çapraz direnç, SP-r hücrelerindeki sisplatinin, platin-DNA eklenme seviyelerindeki düşüşle birlikte azalması, hücre sağ kalımının neredeyse her alanında yer alan gen ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler, apoptoz, DNA hasar onarımı, taşıyıcılar, hücre döngüsü, proteinler arası iletişim, transkripsiyon faktörleri, onkogenler, GTPazlar, GSH ve ilgili enzimler, sitoskeletal proteinler, mitokondri vb. nedenlerini içerir [87-89].

Sisplatine karşı hücrel direncin en belirgin özelliklerinden birisi, bileşiğin birikiminin azalmasıdır. Azaltılmış hücre içi alım veya retansiyonunun bir sonucu olarak, platin-DNA katımının oluşumu buna bağlı olarak azalır ve sonuç olarak sitotoksisite azalarak platin bileşiğine daha fazla direnç gelişir [90].

Çoklu ilaç direnciyle ilişkili taşıyıcı MRP1 ve MRP2'nin ve aquaporin AQP2 ve AQP9'un azaltılmış ekspresyonu [91] ve folat bağlayıcı proteinin (FBP) ve MRP1'in yanlış sınırlandırılmasının [92,93] dirençle ilişkili olduğu bulunmuştur ve bu da sisplatin için hatalı membran taşıyıcı / bağlayıcı protein / taşıyıcının mevcut olabileceği hipotezine yol açmaktadır. SP-r hücrelerinde FBP'nin ekspresyonunda belirgin azalma, radyoaktif işaretlenmiş folik asit alımının azaltılması ve bir tür antifolat ürünü olan metotreksata karşı çapraz dirençte bir ilişki bulunması dikkat çekicidir, bu da taşıyıcı aracılı alımda daha genel bir kusur olduğunu düşündürmektedir. Azalmış influks, bozuk taşıyıcılardan ya da kanallardan veya organellerde ya

da membran üzerindeki fonksiyonel / yapısal değişikliklerden kaynaklanabilir. Artmış efluks, platin bileşiklerinin artan atılımı, sekresyonu veya ekzositozundan kaynaklanabilir [90].

2.5.1. İnfluks / Efluks

İnfluks terim olarak içeri alıma karşılık gelir. Difüzyon, endositoz, pinositoz, makrositoz ile hücre içine madde alımı sağlanır. Efluks ise kimyasal maddeler veya diğer sıvıların hücre dışına hareketi, atılım anlamına karşılık gelir. Hücre efluks olayını eksositoz, sekestrasyon, sekresyon yolu ile gerçekleştirir.

Sisplatine duyarlı ve dirençli hücre serileri karşılaştırıldığında, direnç kazanmış birçok tümör tipinde ilaç birikiminin azaldığı gözlenmiş ve bu durumun ilacın hücre dışına atılmasından çok hücre içine alımının azalmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür [74,94].

Bakır taşıyıcı proteini (CTR1) platin bileşiklerinin hücre içine alımında en önemli görevi üstlenmektedir. Plazma membranında bulunan ve hücre dışına bakır transportunda görevli olan membran proteinleri CTR1, ATP7A ve ATP7B'nin sisplatin direnci gelişiminde etkileri olduğu bildirilmektedir [95].

İnsan hücrelerinde sisplatin, CTR1'in hızlı bir şekilde bozunmasını tetiklediği, buna bağlı olarak sisplatinin hücre içine girişi azaltılarak ilaç direnci ile karşılaşıldığı doğrulanmıştır. CTR1'in genetik olarak işlevinin durdurulması sonucunda hücre içinde sisplatin birikmesi sağlanarak direncin önüne geçilebileceği çalışmalarda gösterilmektedir [73, 96, 97].

Platin bileşiklerinin hücre içersine alımından sorumlu MDR1'e benzeyen efluksdan sorumlu ATPazlar (MRP'ler, ATP7A / B) ve CTR1, SLC'leri, AQP2'yi ve AQP9'lar keşfedilmiştir. Çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein MRP1 (ABCC1) ve diğer MRP'lerin detoksifikasyon ve kemoproteksiyonda, çok çeşitli bileşiklerin özellikle de lipofilik maddelerin glutatyon, glukuronat ve sülfat sekonder metabolit konjugatlarının taşınmasında önemli roller oynadığı belirtilmiştir [98,99].

Yapılan araştırmalarda TMEM205 olarak adlandırılan membran proteini sisplatine karşı oluşan dirençte etkili olduğu bildirilmektedir [100]. SP-r hücrelerinde TMEM205'in aşırı ekspresyonu, platine karşı hücrel dirençte rol oynayabilmekte ve aynı zamanda kanser kemoterapisinde bir biyolojik belirteç veya hedef olarak önem arz etmektedir [73].

Sisplatin dirençli hücrelerde bozulmuş endositoz veya indirgenmiş endositoz, hücreler için normal olarak hücrel sıvı fazlı endositoz yoluyla sisplatin alımını azaltmanın başka bir yoludur [73]. Ayrıca CTR2'nin endositozu düzenlediğini ve hücre içi sisplatin duyarlılığını, tümör büyümesini kontrol ettiğini bildirmiştir. Araştırmaları, CTR2'nin, Rho gen ailesinin aktivasyonu yoluyla makropinositoz oranını kontrol ederek, kısmen sisplatin taşınmasını düzenlediğini göstermektedir [101].

2.5.2. Sisplatinin Sülfür İçeren Moleküller ile İnaktivasyonu

Platin türevleri gibi birçok toksik bileşiğe glutatyon konjugasyonunu, Glutatyon-S-transferaz (GSH) sağlar. Bu sayede toksisitesi az ve suda daha fazla çözünen metabolitler oluşur. Sitoplazmada hidrolize edilerek iki su molekülü kazanan sisplatinin reaktif türevi tiyol grubu içeren bileşikler ile kolayca reaksiyona girebilmektedir. GSH, glutatyonun elektrofilik ksenobiotiklere konjugasyonu yoluyla ilaç detoksifikasyonuna katılmaktadır.

Hücre içinde antioksidan olarak görev yapan GSH, sitoplazma ve nükleusta sisplatin ile bağlanarak GSH-sisplatin komplekslerini oluşturmakta ve sisplatin direncine neden olmaktadır [94]. Bu bağlanma, sisplatin-DNA tekli katım ürünlerinin çapraz bağlar oluşturmak üzere reaksiyona girmelerini engellemekte ve sitotoksik etkilerini azaltmaktadır. Plazma membranında bulunan GSH-X pompası, GSH-sisplatin komplekslerini ATP bağımlı bir mekanizma ile hücre dışına taşımaktadır [102].

Sisplatin dirençli mesane kanseri hücre serilerine GSH inhibitörü uygulanarak hücre içi GSH düzeyi azaltılmakta ve sisplatin duyarlılığı arttırılmaktadır [103]. Ayrıca sisplatine karşı duyarlılığı yüksek bir tümör olan testis kanseri hücre serilerinde GSH düzeyleri düşük iken, sisplatin dirençli mesane kanseri hücre serilerinde yüksek bulunmaktadır [104]. İnsan kolorektal kanser dokularında yüksek oranda salgılanan ve platin ilaçlarının detoksifikasyonuna katılan GSTP1 izoenzimi, platin temelli kemoterapi direncini büyük ihtimalle etkilemektedir [105].

2.5.3. DNA Onarımının Artması

DNA genomunda çevresel etmenler nedeniyle veya kendiliğinden oluşan DNA hasarlarının onarılması için bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Bu mekanizmalar arasında en bilinenleri; doğrudan onarım, kesip çıkarma onarımları, hata-okuma ve yanlış eşleşme onarımı, replikasyon sonrası onarım ve çift zincir kırık onarımıdır. Normal koşullarda bu mekanizmaların genom bütünlüğünü koruyucu ve hayatın devamlılığını sağlayıcı olarak çok önemli rolleri bulunmaktadır. Ancak, sisplatin tedavisi sırasında tümör hücrelerinde oluşturulan DNA hasarının onarımı istenmemektedir. Çünkü tümör hücreleri DNA onarım mekanizmalarını arttırarak kemoterapiye karşı dirençli hale gelebilmektedirler. Sisplatin ile oluşturulan DNA hasarları daha çok nükleotid eksizyon onarımı (Nucleotide Excision Repair, NER) ile düzeltilmektedir [106].

2.5.3.1. Nükleotid Eksizyon Onarımı

Diğer onarım mekanizmalarına göre biraz daha karmaşık olan NER, ultraviyole hasarı dahil çeşitli nedenlerle oluşan hasarların DNA'daki 27-29 nükleotid uzunluğundaki bölgelerin kesip çıkartılarak onarılmasında önemli bir mekanizmadır. NER yolağında oluşan hatalar sonucu, kalıtsal bir hastalık olan Xeroderma pigmentosum (XP) ve Cockayne's sendromu meydana gelmektedir [107]. XP hastalığına sahip kişiler ultraviyole ışınlarına karşı aşırı hassastırlar ve cilt kanseri olma riskleri sağlıklı insanlara göre daha yüksektir.

NER mekanizmasında en önemli basamak olan hasarlı bölgenin tanınması ve her iki ucundan işaretlenmesi sırasında XPA (Xeroderma pigmentosum complementary group A), RPA (Replication protein A), XPC-HR23B, XPB, XPG ve XPF, TFIIH (transkripsiyon faktör IIH) gibi bir dizi protein faktörü gerekmektedir. DNA'nın hasarlı bölgesi XPA, RPA, XPF, XPG, XPC, TFIIH faktörlerinin bağlanmasıyla belirlenir. Hasarlı zincir, hasarın olduğu nükleotidin her iki tarafından nükleaz veya endonükleazlar tarafından çıkarılır. Oluşan boşluk DNA replikasyon proteinleri RPA, RPC, PCNA, DNA polimeraz ϵ ve δ tarafından doldurulur [106].

Sisplatin duyarlı testis ve sisplatin dirençli mesane kanseri hücre serileri karşılaştırıldığında, sisplatin duyarlı testis hücrelerinde NER kapasitesinin daha düşük olduğu araştırmalarda gösterilmiştir. Sisplatin dirençli over kanseri hücre serisinde NER kapasitesinin 2-3 kat arttığı gösterilmekte ancak bu modelde sisplatin direncinin DNA onarımı kapasitesine bağlanabilmesi için 50-200 kat gibi daha büyük farkların elde edilmesi gerektiği öngörülmektedir. NER'in sisplatin katımlarının DNA'dan uzaklaştırılmasını sağlayan bir mekanizma olduğu ve zincir içi ya da zincirler arası çapraz bağlar nedeniyle oluşan yapısal değişikliğin DNA hasarının tanınmasını sağladığı düşünülmektedir. Bu mekanizma 3 tip zincir içi çapraz bağı (1,2-d(ApG), 1,2-d(GpG), 1,3-d(GpNpG) tanımakla birlikte 1,3 çapraz bağlarını daha etkin olarak onarabilmektedir. Bu verilere göre 1,2 zincir içi çapraz bağlarının en sitotoksik katım formu olduğu hipotezi ortaya atılmaktadır [108].

NER yolağında görev alan çok sayıda genin sisplatin direnci ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Örneğin, over tümörlerinde XPA ve ERCC1 (Excision repair cross complementing 1) XPF (Xeroderma pigmentosum complementary group F) ekspresyonu yüksek olan olgularda sisplatin direncinin geliştiği görülmektedir. Sisplatin dirençli primer over tümörlerinde ise XPB (Xeroderma pigmentosum complementary group B) ekspresyonunun açık ara daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Benzer şekilde mide kanserlerinde sisplatin direnci ve ERCC1-XPF mRNA düzeyleri arasında bir ilişkinin olduğu belirtilmektedir. Genellikle sisplatine duyarlı olan testis kanserlerinde ise ERCC1-XPF ve XPA düzeylerinin düşük olduğu saptanmaktadır [109].

2.5.3.2. Yanlış Eşleşme Eksizyon Onarımı

Yanlış eşleşme eksizyon tamiri (Mismatch repair, MMR), DNA replikasyonu sırasında meydana gelen hataların onarımında önemli bir mekanizma olmaktadır. İki önemli ana bileşeni MutS ve MutL proteinleri olan MMR yolağının basamakları; yanlış eşleşmenin tanınması, eksizyonla çıkarılması ve yeniden sentezlenerek ligasyonla yapıştırılması olarak sıralanabilmektedir [110,111].

MMR yolağı, replikasyon hatalarının onarılmasının yanında; sisplatin, karboplatin ve 5-fluorourasil gibi DNA hasarını indükleyen ajanlara karşı ilaç yanıtının oluşmasını sağlamaktadır. MMR yolağının çalışmadığı hücrelerde ise bu ilaçlara karşı hücre döngüsünün kontrolü ve apoptoz yanıtı baskılanmakta ve kemoterapiye karşı direnç gelişmektedir. MMR'nin kemoterapi duyarlılığı ve direnci ile ilişkisini açıklamak için bazı modeller ortaya atılmıştır. Çıkmaz döngü modeline (futile cycle) göre, MMR yolağının tek fonksiyonu DNA onarımı olmaktadır. MMR sırasında oluşan DNA kırıklarının onarılamaması sonucunda hücre döngüsünün durdurulması ya da programlı hücre ölümü ile kemoterapi yanıtı oluşmaktadır [112].

Direkt sinyal modeline göre ise MMR bileşenlerinin iki farklı fonksiyonu; DNA onarımı ve DNA hasarı sinyallerinin iletilmesidir. MutS, sisplatin DNA-katım ürünlerini ya da O6-meG/sitozin ve O6-meG/timin formlarını tanıyarak DNA hasarı sinyal yollarını aktive etmektedir. Sisplatine maruz bırakıldıktan hemen sonra izole edilen dirençli hücrelerde MMR hasarları olduğu ve genellikle hMLH1 (MutL homolog 1) geninde mutasyona neden olduğu anlaşılmıştır. MMR'nin yetersiz olduğu tümör hücrelerinde sisplatin tedavisine karşı 2-3 kat daha fazla direnç olduğu gösterilmektedir [111].

2.5.3.3. Translezyon Sentezi

Translezyon sentezi, DNA zincirinde onarım mekanizmaları ile düzeltilememiş hasarlı bölgelerin DNA polimerazlar tarafından sentezlenerek çıkartılması olarak tanımlanmaktadır. Memelilerde tanımlanmış olan DNA polimerazlar; pol h (POLH), pol i (POLI), pol k (POLK), pol b, pol z (REV3) ve REV1 olarak sıralanmakta ve DNA hasarının tipine bağlı olarak farklı polimeraz kombinasyonları çalışabilmektedir [113]. Örneğin, Sisplatin-GG katımları pol k tarafından çıkartılamamasına rağmen pol h ve pol z ile düzeltilebilmektedir [114]. Hücre serilerinde yapılan çalışmalar sonucunda translezyon sentezinin sisplatin direnci oluşmasında önemli bir yolak olduğu gösterilmektedir. Hücre serilerinde pol h aktivitesinin inhibe edilmesi hasarlı DNA yanıtını indüklemekte ve sisplatin duyarlılığını sağlamaktadır. Pol h'nin sisplatin yanıtının arttırılmasında yeni bir hedef protein olabileceğini fibroblast hücrelerinde de benzer sonuçlar elde edilmesi ile göstermektedir [114]. Tümör dokusu üzerinde yapılan DNA polimeraz

ekspresyonlarının araştırıldığı çalışmalarda translezion sentezinin sisplatin direnci oluşmasında önemli bir mekanizma olduğu belirlenmiştir. Platin bazlı kemoterapi ile tedavi edilen akciğer kanserli olgularda hayatta kalma oranının artışına karşı p53 ekspresyonunun azaldığı belirtilmektedir [115].

2.5.3.4. Doğrudan Onarım

BER, DNA molekülünde çok çeşitli genotoksik ve çevresel ajanların neden olduğu, nükleotiddeki deaminasyon, alkilasyon, metilasyon ya da oksidasyondan sonra ortaya çıkan küçük lezyonların çıkartılmasından ve böylece genom üzerinde en sık görülen DNA lezyonlarını çoğunlukla ortadan kaldırmakla sorumludur.

DNA onarım mekanizmalarının en basiti olan doğrudan onarım, baz alkilenmesi gibi basit hasarları onarır. Doğrudan onarım mekanizmasının en önemli enzimi MGMT (O6-Metilguanin DNA Metil Transferaz) kofaktörü olmayan bir polipeptiddir. MGMT guaninin O6 atomundaki alkil grubu ve timinin O4 atomundaki alkil gruplarını transfer eder. Metillenen protein aktivasyonunu kaybeder [116].

2.5.4. Apoptik Yolaklar ve Sisplatin Direnci

Programlı hücre ölümü olarak da adlandırılan apoptoz, organizmanın gelişmesi ve doku homeostazının sürdürülmesindeki en önemli basamaklardan biridir. Ayrıca tümör hücrelerinin öldürülmesinin amaçlandığı tedavilerde apoptotik yolakları aktive edebilecek proteinler hedef alınmaktadır. Apoptoz morfolojik ve biyokimyasal özelliklerin değiştiği, hücre küçülmesi, hücre-hücre iletişiminin kaybolması, kromatin kondenzasyonu ve karakteristik DNA parçalanmasını içerir. Bu değişikliklere mitokondriyal membran potansiyelinin kaybolması eşlik eder [117]. Sisplatin de diğer ilaçlara benzer şekilde apoptoz yoluyla hücre ölümünü sağlamaktadır. Apoptozis yolaklarındaki sorunlar sisplatin direncine neden olmaktadır. Küçük hücreli akciğer kanser hücre serilerinde yapılan bir çalışmada azalmış apoptotik aktivitenin sisplatin direncine neden olduğu gösterilmiştir [118]. Tümör baskılayıcı protein p53'ün, kanser hücrelerinde apoptoz yoluyla kemoterapi yanıtının oluşturulmasında önemli rolleri bulunmaktadır. P53 mutant hücre serilerinin sisplatine daha dirençli olduğu [119], benzer şekilde glioma hücre serilerinde p53 inaktivasyonunun sisplatin direncine neden olduğu bildirilmektedir [120]. Ancak in vivo çalışmalardan elde edilen bulgular platin bazlı kemoterapiye yanıtın önceden tahmin edilmesinde p53'ün kullanılabileceğini ve p53-mutant tümörlerde tam yanıtın daha düşük oranda olduğunu göstermektedir. Anti-apoptotik proteinlerin de sisplatin direncinde sorumlu olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Sisplatin

dirençli over kanseri hücrelerinde apoptozu başlatan enzimlerden olan Bax'ın (BCL-2-associated X protein) ekspresyonunda azalma görülmektedir [121]. Testis kanseri hücre serilerinde Bax ekspresyonu yüksek iken, BCL-2 ekspresyonunun düşük olduğu ve bu durumun testis kanser hücrelerinin sisplatin tedavisine oldukça duyarlı olmalarını sağladığı belirtilmektedir [122]. Over kanseri ve lenfoma hücrelerinde sisplatin direnci apoptotik yanıtın azalması ile ilişkilendirilmekte ve dirençli over kanseri hücrelerinde apoptozun başlatılabilmesi için daha yüksek dozlarda sisplatine ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir [10]. Oksaliplatin DNA bazlarına bağlanarak oluşturduğu katım ürünleri, MMR tarafından tanınmasa bile belirgin olarak NER ve BER yolları tarafından tanınırlar.

DNA tamir mekanizmasında oluşan artış ya da sitotoksik ajanın akümülyasyonunda azalma, platin grubu ilaçlara karşı direnç gelişimine katkı sağlayabilmektedir [123].

2.6. Sisplatin Türevi Platin(II) Komplekslerin Yan Etkileri

Antikanser ilaç olarak kullanılan sisplatin ve türevlerinin terapötik etkisini kısıtlayan faktörler başlıca, nefrotoksisite, nörotoksisite, kardiyotoksisite ve ototoksisitesidir. Ayrıca mide bulantısı, kusma, kemik iliği depresyonu gibi yan etkiler de gözlenebilir [17].

Sisplatinin klinik kullanımını kısıtlayan en önemli yan etkisi nefrotoksisitesidir ve hücresel mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak toksisite mekanizmasını anlayabilmek için çeşitli hayvan modelleri üzerine çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalar sonucunda nefrotoksisite ile ilgili birçok mekanizma literatürde bildirilmiştir [124].

Sisplatinin nefrotoksik etkisinin görülmesinin nedenleri arasında ilacın tübüler hücre DNA'sı ile etkileşimi, mitokondriyal bozukluklar, tübüler hücrelerdeki Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, peroksidasyona karşı koruyucu enzim aktivitelerinde azalmalar, hemodinamik faktörlerde değişiklikler bildirilmiştir. Sisplatin metabolitlerinin yaklaşık %75'i üriner yolla; geri kalan kısmı ise feçes ile atılır [125].

Nötral molekül olarak hücre yüzeyine ulaşan sisplatinin hücre dışı sıvıdaki klor konsantrasyonunun yüksek olması kompleksin hidrolizini engeller. Klorun, intrasellüler konsantrasyonunun oldukça düşük olması, su molekülleri tarafında klorun yer değiştirmesini kolaylaştırarak nefrotoksik etkiden sorumlu metabolitlerin oluşmasına neden olur [79].

Reaktif metabolitlerinin makromoleküllere kovalent bağlarla bağlanması sonucu nefrotoksik etkilerin gözlenmesine sebep olur. Ratlarda, renal fonksiyonların azalmasından önce renal korteks hücrelerindeki mitokondri ve sitozol içerisinde (platinin hücre içinde en yüksek konsantrasyonda bulunduğu bölgeler) sülfidril gruplarının azaldığı çalışmalarla gösterilmiştir. Sisplatinin tek dozluk uygulamalarından sonra akut böbrek yetmezliği

gözlenmiştir. Oluşan akut böbrek yetmezliği, idrar konsantrasyon yeteneğinin erkenden bozulmasına bağlı non-oligürik özellik gösterir [126].

Sisplatin ile tedavi edilen hastalarda elektrolit bozukluğu sık görülmektedir. En sık görülen elektrolit bozuklukları hipomagnezemi, hipokalsemi ve hipokalemidir. [125,126].

Günümüzde, sisplatinle indüklenen nefrotoksisiteyi önlemek için etkili bir yöntem bulunmamaktadır. Klinik uygulamalarda antikanser etkinliklerini çok fazla etkilemeden, ciddi yan etkileri azaltmak amacıyla, yüksek miktarda hidrasyon (>4 L/gün) ile birlikte diüretikler kullanılmaktadır. Sisplatinin renal birikmesini azaltmak için simetidin gibi, SLC22'nin alt ailesi OCT substratı olan imatinibin sisplatinle birlikte kullanılması da farklı bir stratejidir [125,127].

Sisplatin nefrotoksisite yanında sıklıkla geri dönüşümsüz ototoksisiteye de sebep olur. Ototoksisite sisplatinin dozuna bağlı olarak sıklıkla geri dönüşsüz ve bilateral simetrik olmaktadır. Ototoksik yan etkilerin ortaya çıkmasını kolaylaştıran faktörler, ototoksik ilacın dozu, yaş, diğer ototoksik ajanların kullanımı, gürültü maruziyeti, beslenme, düşük serum albumini, anemi ve hastada kraniyal radyoterapi öyküsüdür. Sisplatin ototoksisitesi kendini çınlama ve işitme kaybı ile belli eder. Çınlama tedavi bitiminden sonraki birkaç saat ile bir hafta arasında görülür ve sıklıkla geçicidir [125].

Sisplatin ototoksisitesine bağlı kokleotoksik etki özellikle kokleanın bazal kıvrımındaki dış tüylü hücreler ile iç tüylü hücrelerde meydana gelir. Sisplatin uygulaması sonrası diğer etkilenen yapılar ise korti organı ve stria vaskülarisidir. Sisplatinin reaktif oksijen radikallerini arttırması sonucunda, antioksidan enzim aktivitesini azalır ve koklea üzerinde ototoksik etkiye sebep olabilmektedir [128]. İyon kanalı blokajı ve lipid peroksidasyonu mekanizmalarıyla sisplatin ototoksisitesi oluşmaktadır. Peters ve ark.'ları, çalışmalarında sisplatinin dış tüylü hücrelerin membranındaki iyon geçiş kanallarını bloke ederek hiperpolarizasyon yaptığını göstermişlerdir [129]. Sisplatinin toksik etkilerden sorumlu olan metaboliti, sis-diamminaquakloroplatin II'dir. Serbest oksijen radikallerini arttırarak DNA replikasyonu ve tamirini önleyip koklea üzerindeki toksik etki yaptığı öne sürülmektedir [130]. Kokleayı serbest oksijen radikallerinden koruyan glutasyon ve süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz gibi enzim sistemlerinin, sisplatinin ototoksik etkisiyle, bozulması sonucunda oksidatif stres belirtici olan malondialdehit miktarında artış gözlenmiştir. Antioksidan enzim seviyelerindeki düşüşe, oksidize olmuş glutasyon ve artmış malondialdehit seviyeleri sebep olur. Serbest oksijen radikallerinin uzaklaştırılmasındaki yetersizlik sonucu hücrelerde apoptozis başlar. Dış tüylü hücrelerde glutasyon depolarının daha fazla olması sisplatine bağlı etkilerin bu hücrelerde daha yüksek oranda görülmesini açıklayabilmektedir [126]. Reaktif nitrojen türleri, sisplatin ototoksisitesinin etki mekanizmalarından birdir. Nitrik oksit (NO), 3 tip nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi ile üretilmektedir. İndüklenebilir NOS (iNOS) Ca^{++} bağımlı olmayıp normal şartlarda kokleada bulunmamaktadır. Ancak sisplatin

verilmiş hayvanların kokleasında iNOS gözlenmiştir. iNOS tarafından oluşturulan nitrik oksit lipid peroksidasyonu ile DNA ve protein hasarı oluşur ve bunun sonucunda hücre ölümüne neden olur [131].

Sisplatin ile yapılan tedavide gözlenen bir diğer toksisite ise kardiyotoksisitedir. Kardiyotoksisite tedavinin bitiminden aylar hatta yıllar sonra bile gözlenebilmektedir. Sisplatin tedavisi sonrasında akut miyokard infarktüsü vakaları kaydedilmiştir. Sisplatine bağlı kardiyotoksisite gelişmesinde hafif bulguların yanı sıra ventriküler aritmi, supraventiküler taşikardi, atriyal fibrozis, sinüs bradikardi ve atriyoventiküler blok tespit edilmiştir. Ayrıca miyokardit perikardit ve anjina sisplatin tarafından indüklenen kardiyak toksisite olarak bildirilmiştir [126].



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal

Sentez çalışmalarında kullanılan ligandlar ve çözücüler analitik niteliktedir (Merck veya Aldrich). Platin(II) komplekslerinin sentezinde; 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol, 1-benzil-1*H*-imidazol, 1-fenil-1*H*-imidazol, potasyum tetrakloroplatinat, potasyum iyodür, etanol, metanol, kloroform, eter, hidroklorik asit ve distile su kullanıldı.

3.1.2. Yöntem

3.1.2.1. Dikloro-di(1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 1), dikloro-di(1-benzil-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 3) ve dikloro-di(1-fenil-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 5) Komplekslerinin Sentezi

1.5 mmol taşıyıcı ligand 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol, 1-benzil-1*H*-imidazol veya 1-fenil-1*H*-imidazol 5 mL 0.5 N HCl içerisinde ve 0.8 mmol potasyumtetrakloroplatinat 2 mL 0.5 N HCl içerisinde çözüldü. Taşıyıcı ligand çözeltisi potasyumtetrakloroplatinat üzerine 30 dakikada damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı ilk gün oda ısısında, daha sonra su banyosu içinde 40-50°C'ye kadar ısıtılarak 5-7 gün magnetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. İTK kontrolleri ile reaksiyonun tamamlandığı anlaşıldıktan sonra oluşan çökelek süzülerek ayrıldı. Bu çökelek sırayla soğuk distile su, soğuk etanol ve eter ile yıkanarak temizlendi ve vakum etüvünde kurutuldu. İTK çalışmalarında kullanılan hazır plaklar, kloroform:metanol (80:20) ve kloroform:metanol (90:10) sistemlerinde sürüklendi, lekelerin belirlenmesinde UV ışığı ve dragendorff belirteci kullanıldı.

3.1.2.2 Diiyodo-di(1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 2), diiyodo-di(1-benzil-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 4) ve diiyodo-di(1-fenil-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 6) Komplekslerinin Sentezi

2.4 mmol potasyum iyodür ve 0.6 mmol potasyumtetrakloroplatinatın 10 mL suda çözülerek hazırlanan çözeltisinin 30 dakika oda ısısında daha sonra 60°C'lik su banyosunda 45 dakika boyunca ısıtılması ile potasyumtetraiyodat bileşiği elde edildi. Oluşan potasyumtetraiyodat bileşiği üzerine 1 mL etanolde çözülmüş 1 mmol taşıyıcı-ligand olarak

1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol, 1-benzil-1*H*-imidazol veya 1-fenil-1*H*-imidazol, 30 dakikada damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı su banyosu içinde 40°C'ye kadar ısıtılarak 2 gün magnetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. İTK kontrolleri ile reaksiyonun tamamlandığı anlaşıldı ve oluşan çökelek süzülerek ayrıldı. Bu çökelek sırayla soğuk distile su, soğuk etanol ve eter ile yıkanarak temizlendi ve vakum etüvünde kurutuldu. İTK çalışmalarında hazır plaklar, kloroform:metanol (80:20) ve (90:10) solvan sisteminde sürüklendi. Lekelerin belirlenmesinde UV ışığı ve dragendorff belirteci kullanıldı.

3.2. Analitik Çalışmalar

3.2.1. Erime Noktası Tayini

Sentezi tamamlanan bileşiklerin erime noktaları, Electrothermal 9200 erime derecesi tayini cihazı ile belirlendi.

3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

İTK'de Kieselgel 60 F254 ile 0.2 mm kalınlığında kaplanmış hazır alüminyum plaklar kullanıldı. Sentezi yapılan bileşiklerin İTK kontrollerinde mobil faz olarak; kloroform: metanol (80:20) veya (90:10) kullanıldı. Kromatografi plaklarında sentez ürünleri ve başlangıç maddelerine ait lekelerin belirlenmesinde UV ışığı ve dragendorff belirtecinden yararlanıldı.

3.2.3. Elementel Analiz

Sentezlenen komplekslerin elementel analizleri (C, H, N), Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Leco-932 Elementel Analiz Tayin Cihazı kullanılarak yapıldı.

3.2.4. Spektroskopik Kontroller

3.2.4.1. FT-IR Spektrumları

1-(4-Metoksifenil)-1*H*-imidazol, 1-benzil-1*H*-imidazol ve 1-fenil-1*H*-imidazol taşıyıcı ligandlarının ve sentezlenen **Kompleks 1-6**'nın FT-IR spektrumları Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji ve Araştırma Enstitüsünde, Perkin Elmer Spectrum FT-IR Spektrometresinde 4000-600 cm⁻¹ aralığında alındı ve dalga sayısı (cm⁻¹) cinsinden değerlendirildi.

3.2.4.2. ¹H-NMR Spektrumları

Taşıyıcı ligandların ve **Kompleks 1-6**'nın ¹H-NMR spektrumları, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda dötero dimetilsülfoksit (DMSO-d₆) içindeki çözeltileri ile Varian Mercury 400 MHz FT-NMR Spektrometresinde alınıp kayma değerleri δ skalasında değerlendirildi. Eşleşme sabitleri Hz olarak verildi.

3.3. Biyolojik Çalışmalar

3.3.1. Agaroz Jel Elektroforez Çalışması

Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Leyla Açık tarafından bu tez kapsamında sentezlenen **Kompleks 1-6** ve sisplatinin pBR322 plazmid DNA iplikçiğine bağlanması ve bağlandığı bölgenin belirlenmesi için *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmesi çalışmaları agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

3.3.1.1. Materyal

Sisplatin, pBR322 plasmit DNA, *Bam*HI ve *Hind*III endonükleaz enzimleri agaroz ve etidyum bromür Sigma'dan temin edilmiştir. Tris asetat (TAE) tamponu (0.05 M tris bazı, 0.05 M glisial asetik asit, 1 mM EDTA, pH:8), yükleme tamponu (% 40 sukroz, % 0.025 bromfenol mavisi, % 0.25 ksilen siyanol), etidyum bromür (0.5 µg/ml), tris çözeltisi (500 mM tris, pH: 8.0), EDTA tamponu (500 mM EDTA (etilendiamin-tetra asetik disodyum tuzu, 5M NaOH, pH: 8.0), TE tamponu (10 mM tris-HCl, 1 mM EDTA pH:7.4) agaroz jel elektroforez çalışmasında kullanılmıştır.

3.3.1.2. Yöntem

Sentezlenen **Kompleks 1-6** ve sisplatinin, pBR322 plasmit DNA ile etkileşimleri, *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesimi agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırılmıştır [132].

Toz haldeki agaroz %1 (w/v) konsantrasyonda olacak şekilde TAE tampon çözeltisi ile karıştırılıp kaynatıldıktan sonra tanka dökülmüştür. Çözücü olarak dimetilformamit (DMF) kullanılmıştır. DMF ile platin (II) komplekslerinin zamanla ligant değişim reaksiyonu verebilme ihtimaline karşı, bileşiklerin stok çözeltileri kullanılmadan hemen önce hazırlanmıştır.

Hazırlanan bu çözeltilerde çözücü olarak kullanılan DMF oranı % 0.1'i geçmemiştir. Kompleks 1-6 ve sisplatinin 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ve 3.125 µM konsantrasyonda olacak şekilde DMF/TE içerisinde hazırlanan farklı derişimlerdeki çözeltisi pBR322 plazmid DNA (0.5µg/ml) ile 37°C'de 24 saat karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda kompleks-DNA çözeltisi ve yükleme tampon ile birlikte %1'lik agaroz jel üzerindeki kuyucuklara uygulanmıştır. Elektroforez işlemi TAE tampon çözeltisinde 70 V'da 2 saat süre ile doğru akımda yürütülmüştür. Kontrol olarak ise kompleks ile muamele edilmemiş pBR322 plazmit DNA'sı jeldeki birinci kuyucuğa ilave edilmiştir. Süre sonunda jel etidium bromür içerisinde birkaç dakika boyanarak kısa dalga boylu UV ışığı altında BioDoc Analyze (BioDoc Analyzer, Biometra) görüntüleme cihazında görüntülenmiş ve bilgisayar ortamında fotoğrafları alınmış ve TIFF olarak kaydedilmiştir.

Kompleks 1-6 ve sisplatinin plazmid DNA'da guanin-guanin (G/G) ve/veya adenin-adenin (A/A) bazlarına olan afiniteleri *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile belirlenmiştir. *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile restriksiyon endonükleaz reaksiyonu yapılırken, 24 saat inkübasyona bırakılmış bileşik-DNA karışımından 8 µl alınarak 1 µl enzim (0.1 U), 1 µl tampon (10X) ile karıştırılıp 1 saat 37 °C'de inkübe edildikten sonra %1'lik agaroz jele yüklenmiştir ve elektroforez işlemi TAE içerisinde 70V akım ile 1 saat gerçekleştirilmiştir. Elektroforez sonrasında jel etidyum bromür (0.5 µg/mL) ile boyanarak BioDoc Analyze jel görüntüleme cihazı ile ultraviyole ışık altında görüntülenmiş ve görüntüler TIFF formatında kaydedilmiştir.

3.3.2. Sitotoksik Aktivite Çalışması

Kompleks 1-6'nın, sitotoksik aktivite testleri Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezinde Öğretim Görevlisi Aytuna ÇERÇİ tarafından yapılmıştır.

3.3.2.1. Materyal

L929 (Fare fibroblast, An2 Mouse C3; Şap Enstitüsü), A549 (küçük hücreli akciğer kanseri, ATCC CCL185) ve CaCo-2 (An1/İnsan adeno karsinomu; Şap Enstitüsü) hücre hatları kullanılmıştır.

Sitotoksikite deneyinde kimyasal madde ve malzeme olarak DMSO (Amresco/200-664-3), PBS (Bioshop/PBS415.1), İzopropanol (Sigma Aldrich 67-63-0), L-glutamin (Wisent Bioproducts/ 609-065-EL), fetal sığır serumu (Biological Industres, USA/04-007-13), Tripsin/EDTA (Biological Industres, USA/03-053-1B), Dulbecco's modified Eagle medium hücre

besiyeri (DMEM, Biological Industres, USA/01-050-1A), EMEM hücre besiyeri (Lonza, BE12-611F), %1 Penisilin/streptomisin (Penisilin 10000 units/mL Streptomisin 10mg/mL/Biological Industres, USA /03-031-1C), 96 kuyucuklu hücre kültür pleyti (SPL Lfe Science), karbondioksitli inkübatör (Binder), mikroyu okuyucu (Biotek- PowerWave XS2) kullanılmıştır.

3.3.2.2. Yöntem

Kompleks 1-6 ve siplatinin sitotoksik etkisini test etmek için 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) yöntemi kullanıldı. MTT testi ISO 10993-5 standartlarına uygun şekilde yapıldı [133].

L929 ve A549 hücreleri içerisinde %10 fetal sıgır serumu, 4 µM glutaminli 100 IU/mL penisilin/streptomisin içeren DMEM sıvı besiyerinde ve CaCo hücreleri ise %10 fetal sıgır serumu, 4 µM glutaminli 100 IU/mL penisilin/streptomisin içeren EMEM besiyerinde inkübe edildi. 96 kuyucuklu hücre kültür pleytlerine her bir kuyucuğa 1.0 x 10⁴ hücre olacak şekilde ekildi. Hücreler 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Test edilecek kompleksler %10'luk DMSO'da çözülerek 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 olmak üzere 5 farklı konsantrasyonu (160, 80, 40, 20 ve 10 µM) hücreler üzerine uygulandı. 24 saat 37 °C %5 CO₂'de inkübatörde inkübe edildi. Numunelere ait tüm konsantrasyonlar 3'er tekrarlı olarak uygulandı. %10'luk DMSO çözücü kontrolü olarak; 100 µM konsantrasyondan başlamak üzere 50 µM, 25 µM, 12,5 µM ve 6,25 µM sisplatin karşılaştırma kontrolü olarak kullanıldı. Kontrol (kör) olarak sadece besiyeri kullanıldı. 24 saat sonunda kuyucuklardaki vasatlar atılarak her kuyucuğa 50 µl MTT (1 mg/mL) çözeltisi ilave edildi. 37 °C'de 2 saat inkübasyondan sonra kuyucuklara 100 µl izopropanol eklenerek, hücre canlılığının tespiti için 96 kuyucuklu plate'in absorbans değerleri mikroyu okuyucuda 570 nm'de okutuldu. Kontrol (Kör) grupları baz alınarak % canlılık aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\% \text{ canlılık} = \frac{100 \times OD_{570e}}{OD_{570b}}$$

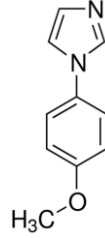
OD_{570e}: Numunenin optik yoğunluğunun değeri

OD_{570b}: Kontrol (kör) grubunun optik yoğunluğu

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Bulgular

4.1.1. 1-(4-Metoksifenil)-1H-imidazol (L1)



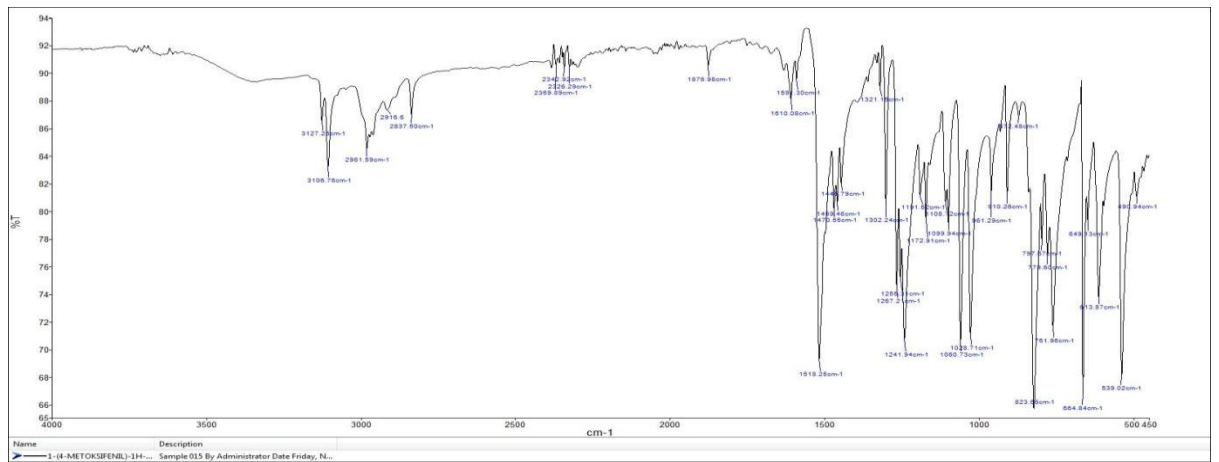
Bu çalışmada sentez edilen **Kompleks 1** ve **2**'nin yapısında taşıyıcı-ligand olarak bulunan 1-(4-metoksifenil)-1H-imidazol Aldrich firmasından temin edilmiştir. Komplekslerin yapısının belirlenmesi için sentezlenen kompleksler ile aynı şartlarda FT-IR ve ¹H-NMR spektrumları alınmıştır.

FT-IR spektrumu (ATR) ν (cm⁻¹):

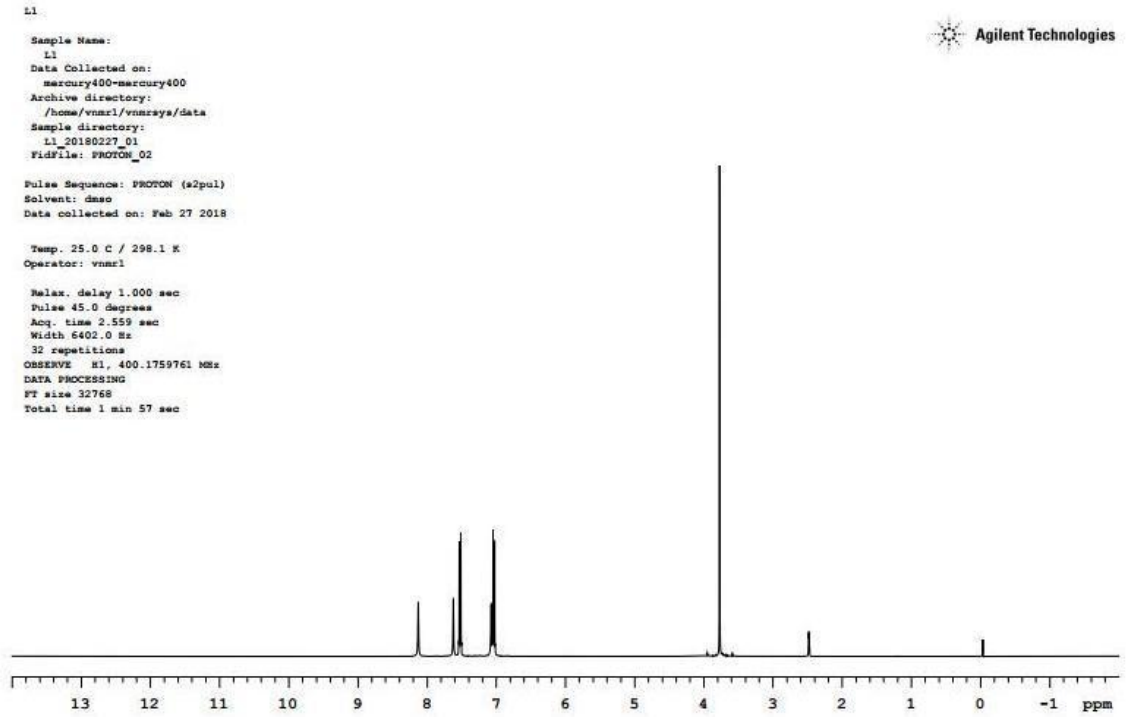
3127-2837 (C-H ve =C-H gerilimleri), 1610-1518 (C=N, C=C gerilimleri), 1050 (=C-O-C gerilimi) (Şekil 4.1.).

¹H-NMR spektrumu (DMSO-d₆) δ ppm:

8.13 (yayvan s, 1H, imidazol-H), 7.62 (yayvan s, 1H, imidazol-H), 7.53–7.51 (d, J= 9.2 Hz, 2H, ArH), 7.07 (br s, 1H, imidazol-H), 7.04– 7.02 (d, J= 9.2 Hz, 2H, ArH), 3.80 (s, 3H, -OCH₃) (Şekil 4.2.).

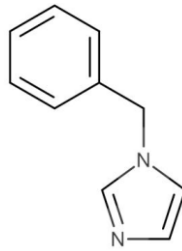


Şekil 4.1. 1-(4-Metoksifenil)-1H-imidazol'ün FT-IR spektrumu



Şekil 4.2. 1-(4-Metoksifenil)-1H-imidazol'ün ¹H-NMR spektrumu

4.1.2. 1- Benzil-1H-imidazol (L2)



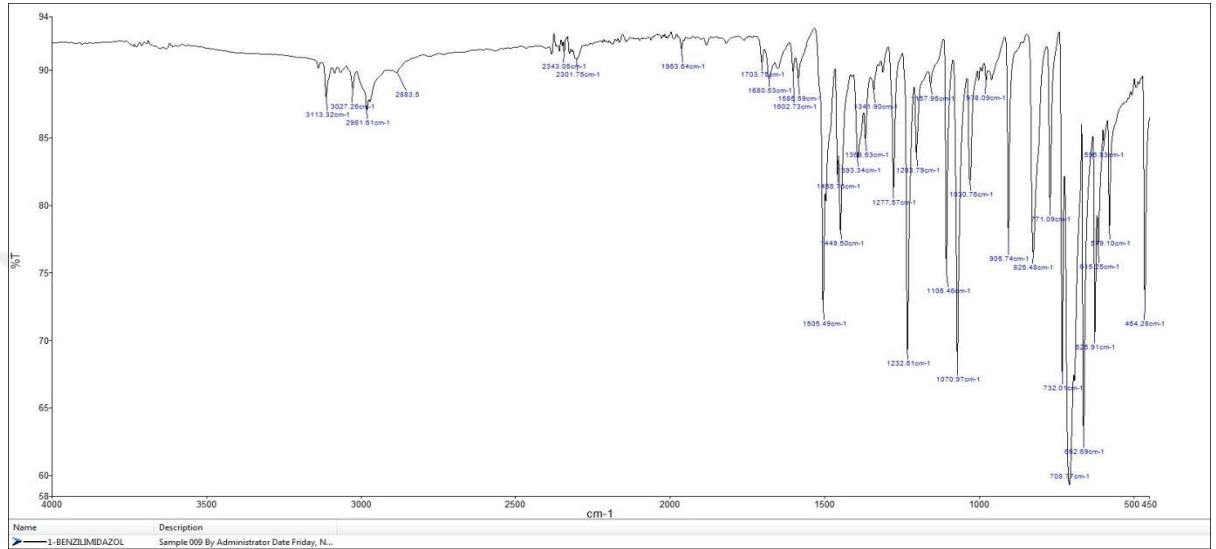
Bu çalışmada sentez edilen **Kompleks 3** ve **4**'ün yapısında taşıyıcı-ligand olarak bulunan 1-benzil-1H-imidazol Aldrich firmasından temin edilmiştir. Komplekslerin yapısının belirlenmesi için sentezlenen kompleksler ile aynı şartlarda FT-IR ve ¹H-NMR spektrumları alınmıştır.

FT-IR spektrumu (ATR) ν (cm^{-1}):

3113-2883 (C-H ve =C-H gerilimleri), 1602-1505 (C=N, C=C gerilimleri) (Şekil 4.3.)

^1H -NMR spektrumu ($\text{DMSO}-d_6$) δ ppm:

7.73 (s, 1H, imidazol-H), 7.35-7.21 (m, 5H, ArH), 7.16 (s, 1H, imidazol-H), 6.89 (s, 1H, imidazol-H), 5.17 (s, 2H, Ar- CH_2 -) (Şekil 4.4.).



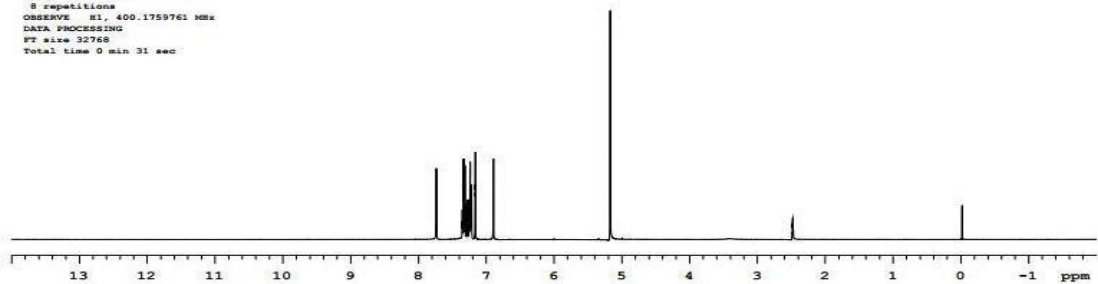
Şekil 4.3. 1-Benzil-1H-imidazol'ün FT-IR spektrumu

```
L2
Sample Name:
L2
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsws/data
Sample directory:
L2_20180227_01
FidFile: PROTON_02

Pulse Sequence: PROTON (s2pol)
Solvent: dmsc
Data collected on: Feb 27 2018

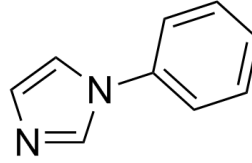
Temp: 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.559 sec
Width 6402.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE R1, 400.1759761 MHz
DATA PROCESSING
FT file 32768
Total time 0 min 31 sec
```



Şekil 4.4. 1-Benzil-1H-imidazol'ün ^1H -NMR spektrumu

4.1.3. 1-Fenil-1*H*-imidazol (L3)



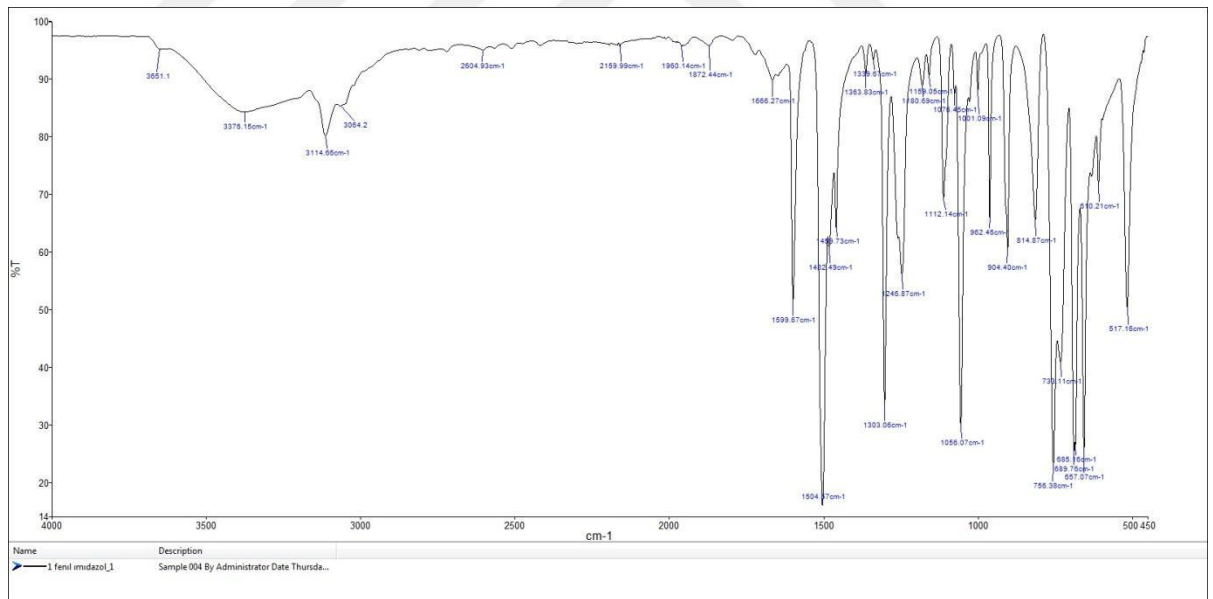
Bu çalışmada sentez edilen **Kompleks 5** ve **6**'nın yapısında taşıyıcı-ligand olarak bulunan 1-fenil-1*H*-imidazol Aldrich firmasından temin edilmiştir. Komplekslerin yapısının belirlenmesi için sentezlenen kompleksler ile aynı şartlarda FT-IR ve ¹H-NMR spektrumları alınmıştır.

FT-IR spektrumu (ATR) ν (cm⁻¹):

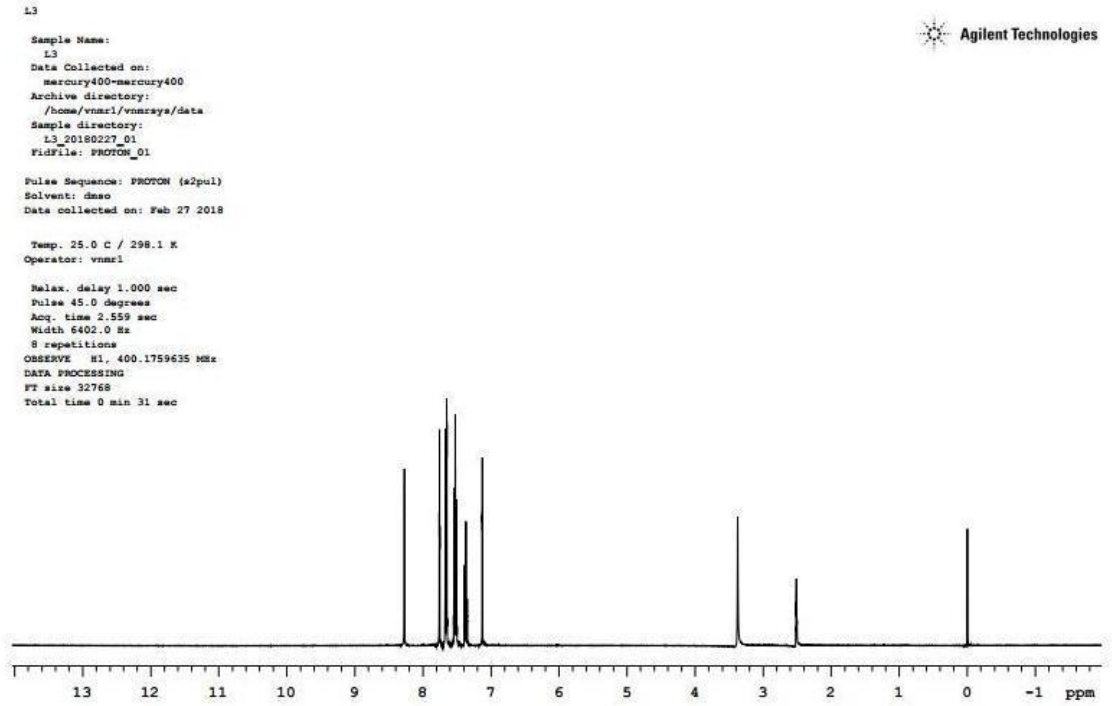
3114-3054 (=C-H gerilimleri), 1599-1504 (C=N, C=C gerilimleri) (Şekil 4.5.).

¹H-NMR spektrumu (DMSO-d₆) δ ppm:

8.27 (s, 1H, imidazol-H), 7.60 (s, 1H, imidazol-H), 7.67- 7.64 (m, 2H, ArH), 7.54- 7.50 (m, 2H, ArH), 7.39- 7.34 (t, 1H, ArH), 7.12 (s, 1H, imidazol-H) (Şekil 4.6.).

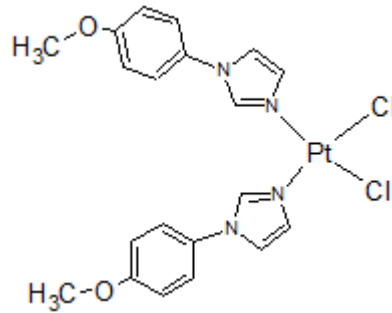


Şekil 4.5. 1- Fenil-1*H*-imidazol'ün FT-IR spektrumu



Şekil 4.6. 1- Fenil-1*H*-imidazol'ün ¹H-NMR spektrumu

4.1.4. Dikloro-di(1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol)Platin(II) 0.5 H₂O (Kompleks 1)



332 mg (0.8 mmol) Potasyumtetrakloroplatinat, 261 mg (1.5 mmol) 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol kullanılarak 0.5 N HCl çözeltisi içerisinde ilk gün oda ısısında, daha sonra 40-50°C'ye kadar 5 gün su banyosunda ısıtılıp karıştırılarak, genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile elde edildi. Reaksiyon sonucunda 310 mg saf ürün elde edildi.

Verim: % 33.67

Erime Noktası: > 400 °C

Elementel analiz: $C_{20}H_{20}Cl_2N_4O_2Pt \cdot 0.5 H_2O$

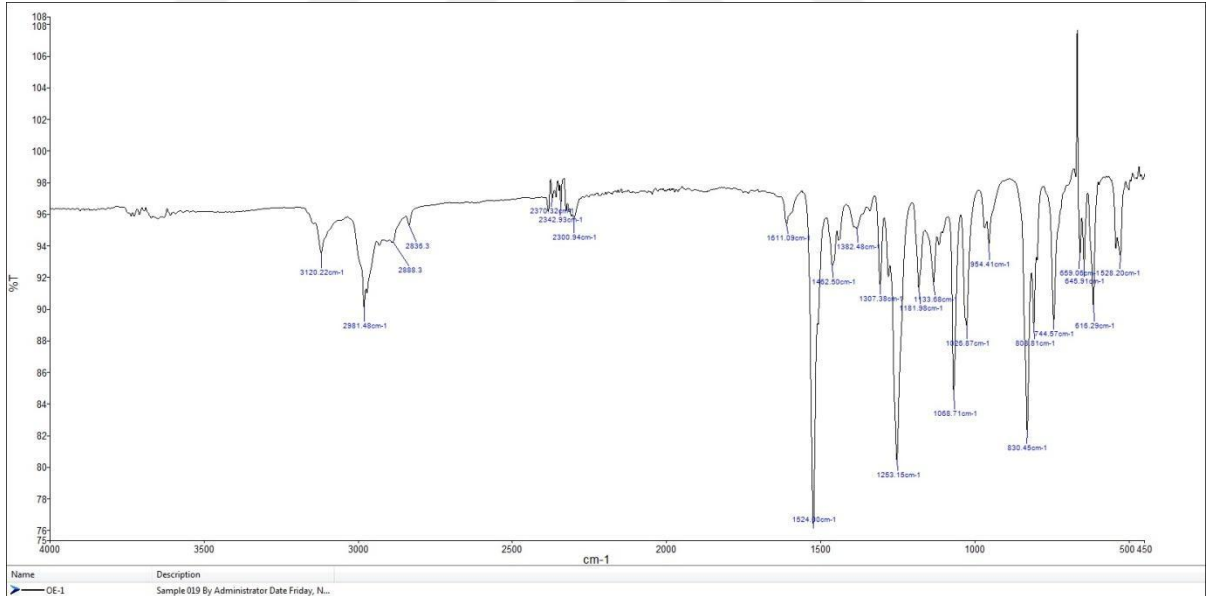
	%C	%H	%N
Hesaplanan	38.53	3.39	8.98
Bulunan	38.35	3.56	9.10

FT-IR spektrumu (ATR) ν (cm^{-1}):

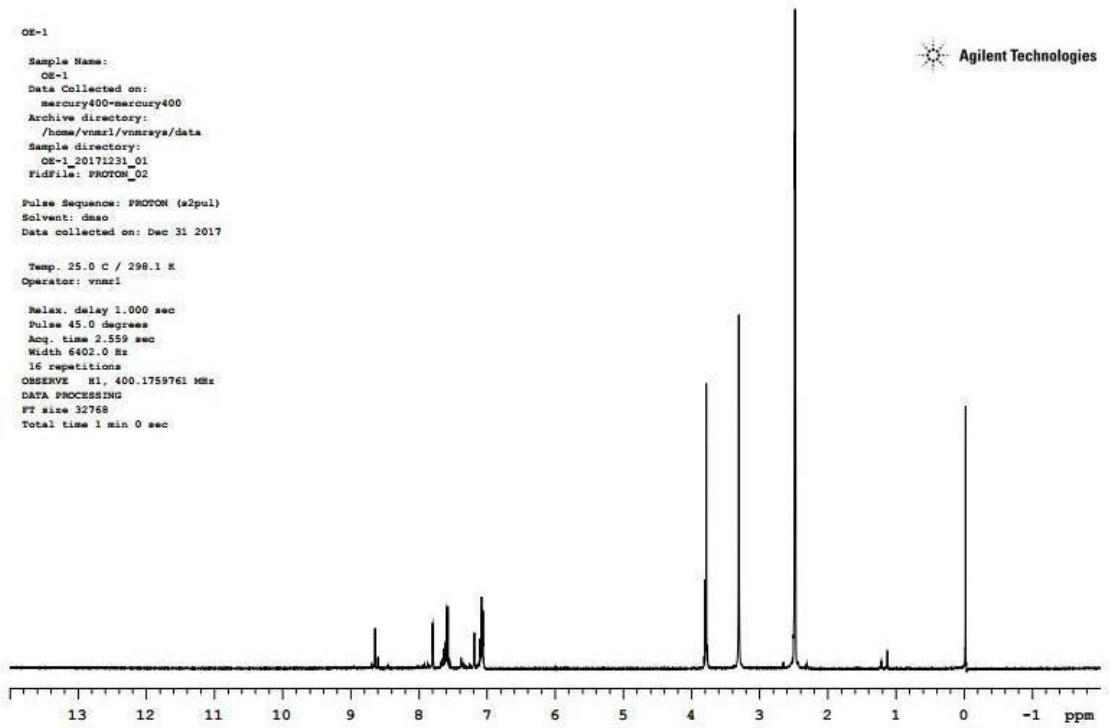
3120-2981 (C-H ve =C-H gerilimleri), 1611-1542 (C=N, C=C gerilimleri), 1068 (=C-O-C gerilimi) (Şekil 4.7.).

^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm:

8.64 (s, 2H, 2x imidazol-H), 7.80 (s, 2H, 2x imidazol-H), 7.59-7.56 (m, 4H, 2x ArH), 7.18 (s, 2H, 2x imidazol-H), 7.10-7.06 (m, 4H, 2x ArH), 3.79 (s, 3H, -OCH₃), 3.30 (s, 3H, -OCH₃) (Şekil 4.8.).

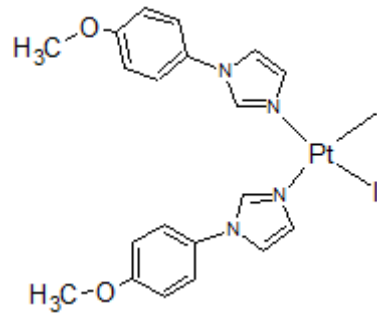


Şekil 4.7. Kompleks 1'in FT-IR spektrumu



Şekil 4.8. Kompleks 1'in ¹H-NMR spektrumu

4.1.5. Diiyodo-di(1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 2)



398 mg (2.4 mmol) Potasyum iyodür ve 250 mg (0.6 mmol) potasyum tetrakloro platinatın 30 dakika oda ısısında ardından 45 dakika 60°C'lik su banyosunda ısıtılıp karıştırılmasıyla elde edilen potasyumtetraiyodoplatinat üzerine 174 mg (1mmol) 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol'ün etanoldeki çözeltisi ilave edildi. Reaksiyon karışımı, 2 gün süre ile 40°C'lik su banyosunda ısıtılıp karıştırıldı. Genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyon sonucunda 241 mg saf ürün elde edildi.

Verim: % 41.42

Erime Noktası: > 400 °C

Elementel analiz: $C_{20}H_{20}I_2N_4O_2Pt$

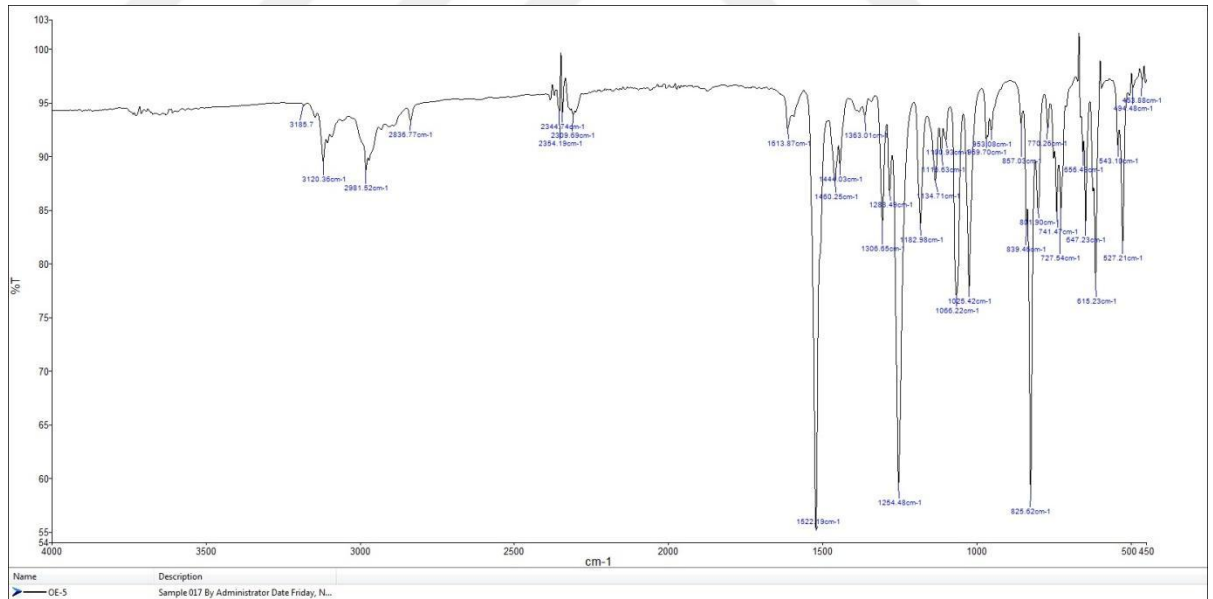
	%C	%H	%N
Hesaplanan	32.13	2.53	7.03
Bulunan	32.09	2.72	7.57

FT-IR spektrumu (ATR) ν (cm^{-1}):

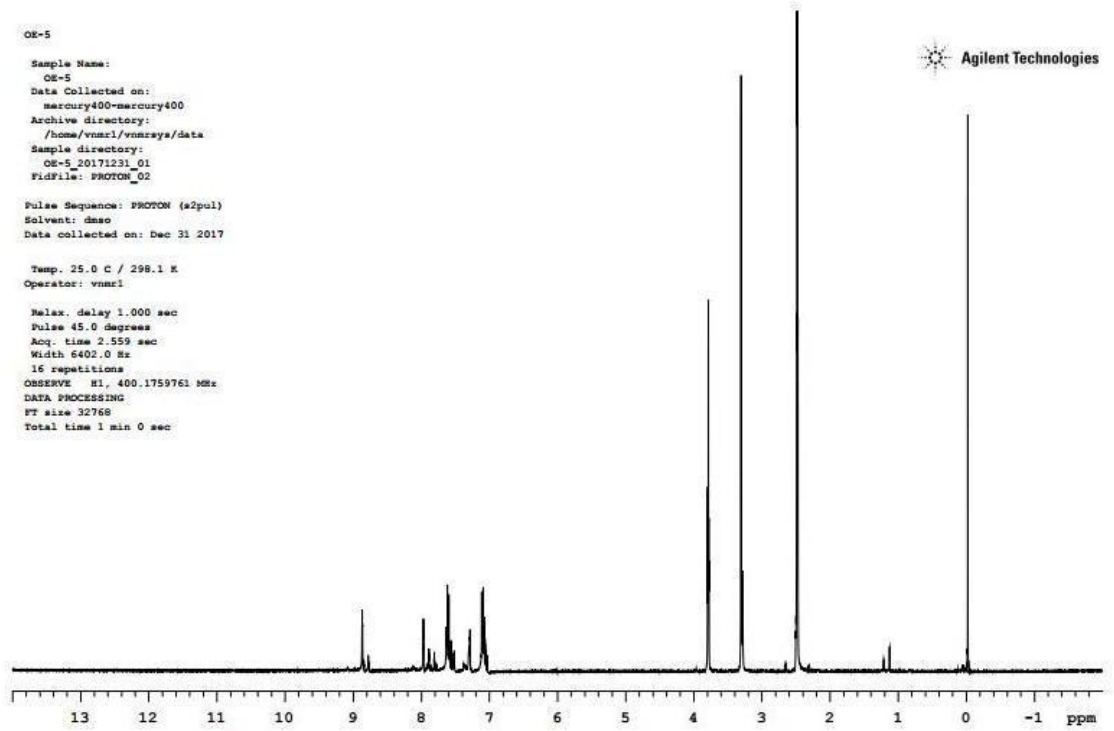
3120-2981 (C-H ve =C-H gerilimleri), 1613-1522 (C=N, C=C gerilimleri), 1066 (=C-O-C gerilimi) (Şekil 4.9.).

^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm:

8.86 (s, 2H, 2x imidazol-H), 7.97-7.76 (m, 2H, 2x imidazol-H), 7.61-7.51 (m, 4H, 2x ArH), 7.30-7.28 (m, 2H, 2x imidazol-H), 7.13- 7.03 (m, 4H, 2x ArH), 3.79 (s, 3H, -OCH₃), 3.30 (s, 3H, -OCH₃) (Şekil 4.10.).

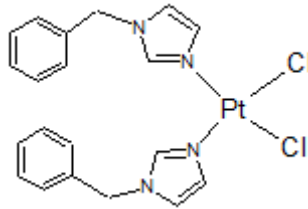


Şekil 4.9. Kompleks 2'nin FT-IR spektrumu



Şekil 4.10. Kompleks 2'nin ¹H-NMR spektrumu

4.1.6. Dikloro-di(1-benzil-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 3)



332 mg (0.8 mmol) Potasyumtetrakloroplatinat, 237 mg (1.5 mmol) 1-benzil-1*H*-imidazol kullanılarak 0.5 N HCl çözeltisi içerisinde ilk gün oda ısısında, daha sonra 40-50°C'ye kadar 5 gün su banyosunda ısıtılıp karıştırıldı. Genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyon sonucunda 182 mg saf ürün elde edildi.

Verim: % 20.86

Erime Noktası: > 400 °C

Elementel analiz: $C_{20}H_{20}Cl_2N_4Pt$

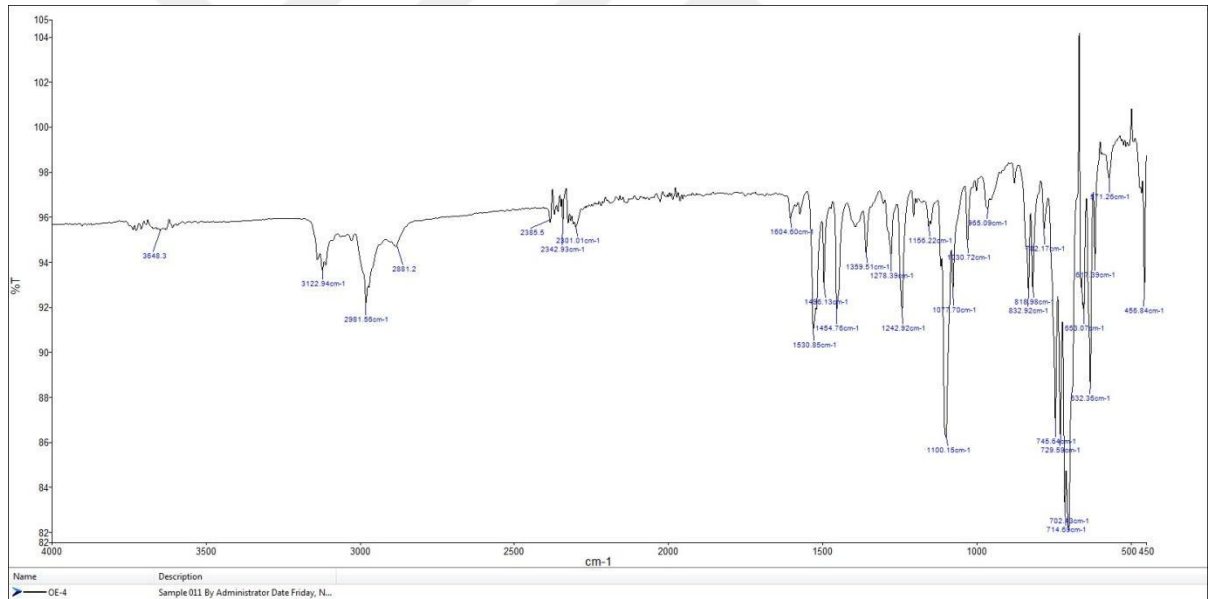
	%C	%H	%N
Hesaplanan	41.25	3.46	9.62
Bulunan	39.93	3.33	9.26

FT-IR spektrumu (ATR) ν (cm^{-1}):

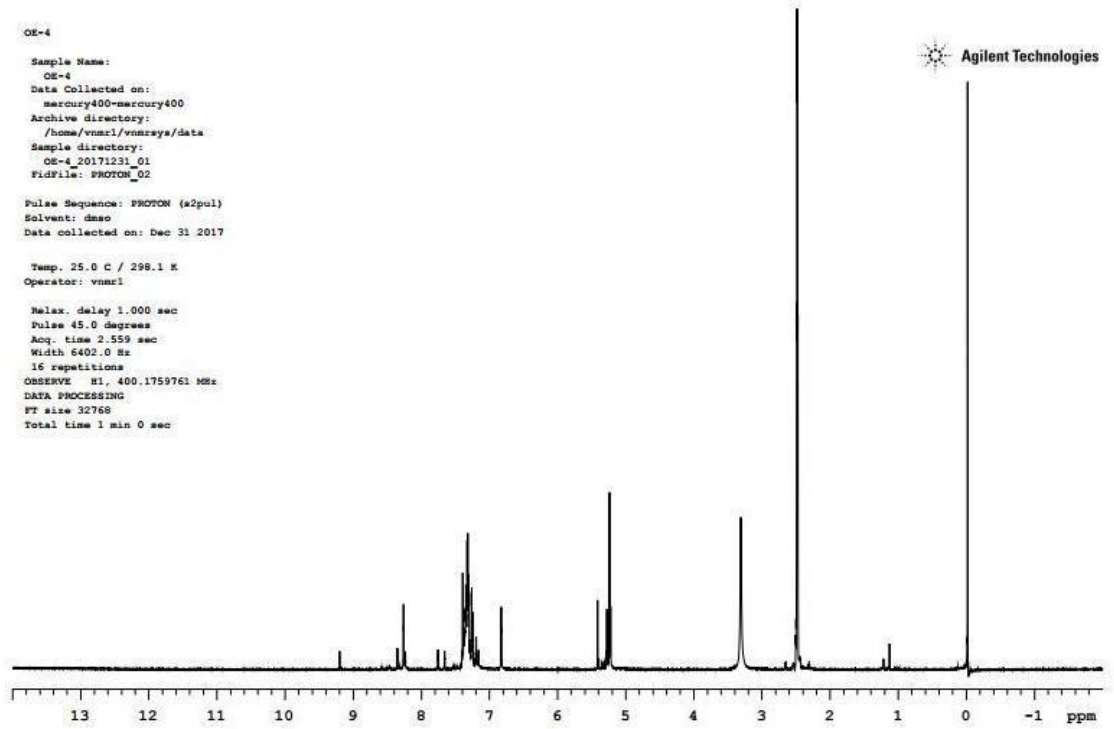
3122-2981 (C-H ve =C-H gerilimleri), 1604-1530 (C=N, C=C gerilimleri) (Şekil 4.11.).

^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm:

8.26 (s, 2H, 2x imidazol-H), 7.39-7.24 (m, 10H, 2x ArH), 7.21-7.15 (m, 2H, 2x İmidazol-H), 6.83-6.82 (t, 2H, 2x imidazol-H), 5.27-5.22 (m, 4H, 2x Ar- CH_2 -) (Şekil 4.12.).

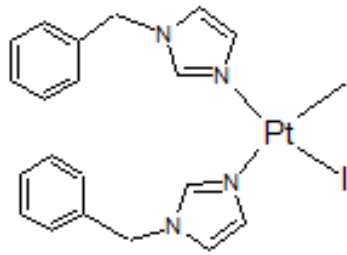


Şekil 4.11. Kompleks 3'ün FT-IR spektrumu



Şekil 4.12. Kompleks 3'ün ¹H-NMR spektrumu

4.1.7. Diiyodo-di(1-benzil-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 4)



398 mg (2.4 mmol) Potasyum iyodür ve 250 mg (0.6 mmol) potasyum tetrakloro platinatın 30 dakika oda ısısında ardından 45 dakika 60°C'lik su banyosunda ısıtılıp karıştırılmasıyla elde edilen potastumtetraiyodoplatinat üzerine 158.20 mg (1mmol) 1- benzil-1*H*-imidazol'ın etanoldeki çözeltisi ilave edilip 2 gün süre ile 40°C'lik su banyosunda ısıtılıp karıştırılarak, genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile elde edildi. Reaksiyon sonucunda 222 mg saf ürün elde edildi.

Verim: % 29

Erime Noktası: > 400 °C

Elementel analiz: $C_{20}H_{20}I_2N_4Pt$

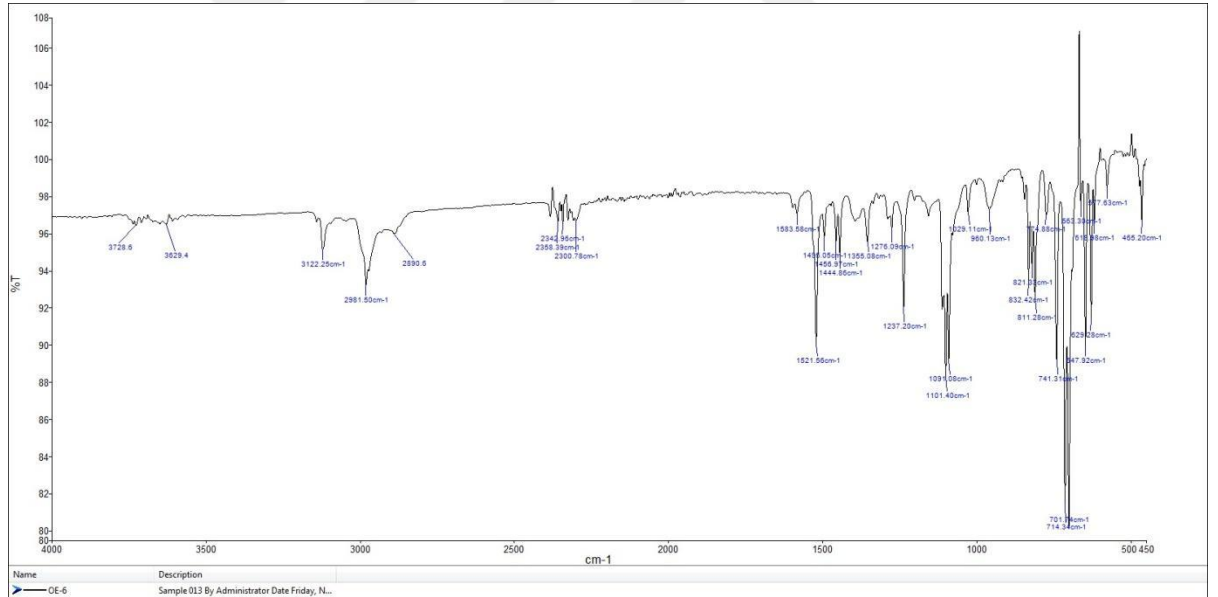
	%C	%H	%N
Hesaplanan	31.39	2.63	7.32
Bulunan	31.39	2.76	7.53

FT-IR spektrumu (ATR) ν (cm^{-1}):

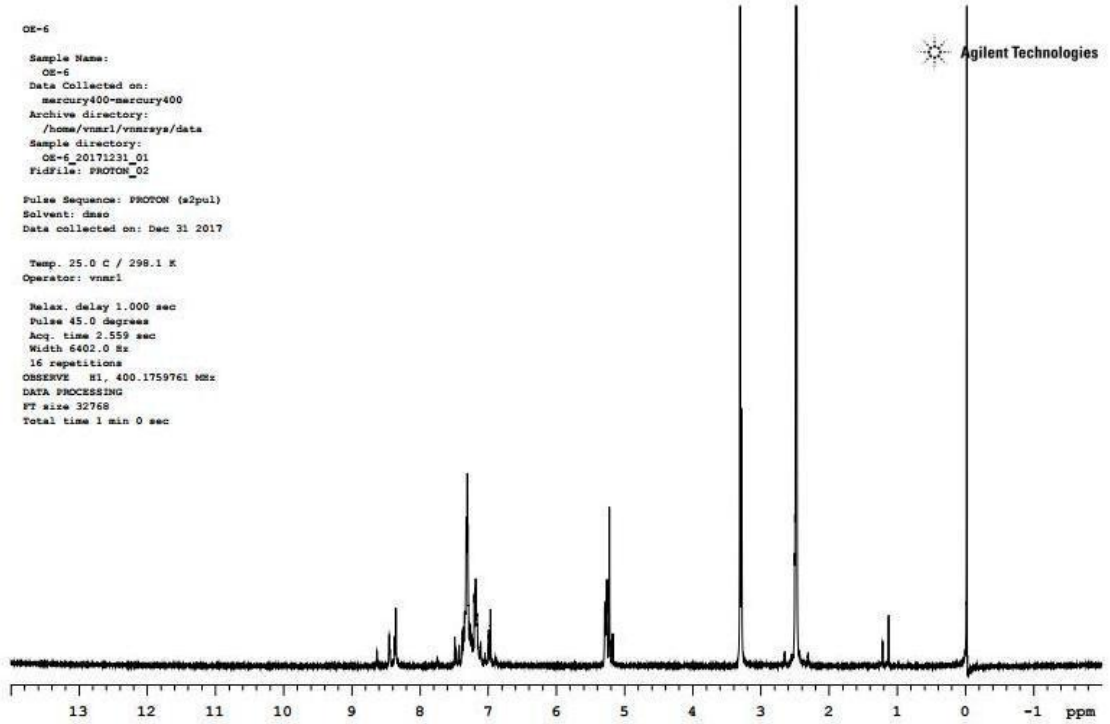
3122-2981 (C-H ve =C-H gerilimleri), 1583-1521 (C=N, C=C gerilimleri) (Şekil 4.13.).

^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm:

8.37-8.32 (m, 2H, 2x imidazol-H), 7.38-7.22 (m, 10H, 2x ArH), 7.20-7.16 (m, 2H, 2x imidazol-H), 7.04-6.96 (m, 2H, 2x imidazol-H), 5.29-5.17 (m, 4H, 2x Ar- CH_2 -) (Şekil 4.14.).

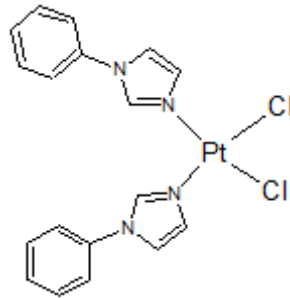


Şekil 4.13. Kompleks 4'ün FT-IR spektrumu



Şekil 4.14. Kompleks 4'ün ¹H-NMR spektrumu

4.1.8. Dikloro-di(1-fenil-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 5)



332 mg (0.8 mmol) Potasyumtetrakloroplatinat, 214 mg (1.5 mmol) 1- fenil-1*H*-imidazol kullanılarak 0.5 N HCl çözeltisi içerisinde ilk gün oda ısısında, daha sonra 40-50°C'ye kadar 5 gün su banyosunda ısıtılıp karıştırılarak, genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile elde edildi. Reaksiyon sonucunda 237 mg saf ürün elde edildi.

Verim: % 28.56

Erime Noktası: > 400 °C

Elementel analiz: $C_{18}H_{16}Cl_2N_4Pt$

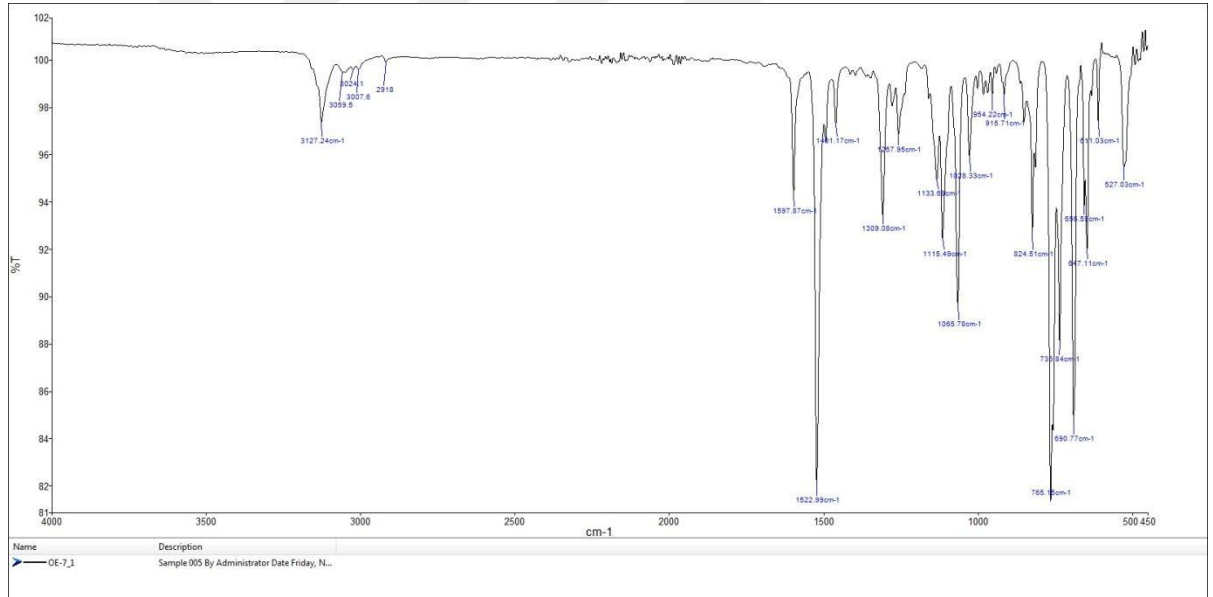
	%C	%H	%N
Hesaplanan	39.00	2.91	10.11
Bulunan	39.18	3.05	9.67

FT-IR spektrumu (ATR): ν (cm^{-1})

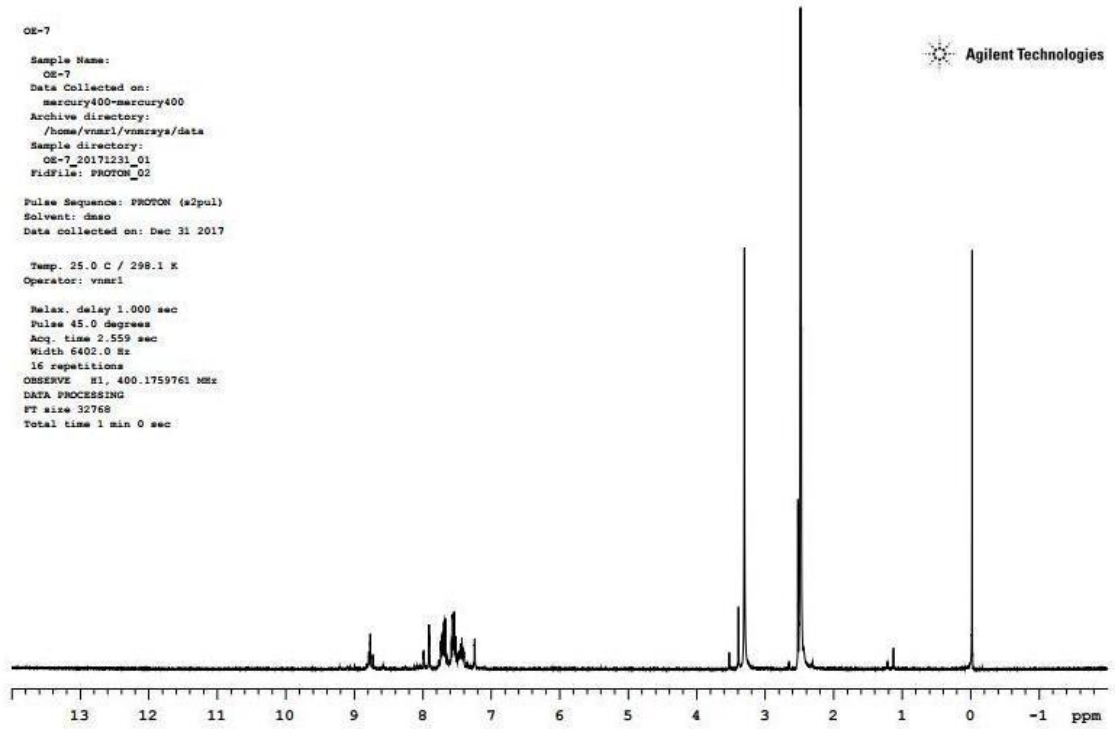
3127-3007 (=C-H gerilimleri), 1597-1522(C=N, C=C gerilimleri) (Şekil 4.15.).

^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm

8.79-8.72 (m, 2H, 2x imidazol-H), 7.99-7.89 (m, 2H, 2x imidazol-H), 7.77-7.67 (m, 4H, 2x ArH), 7.647.24 (m, 6H, 2x ArH), 7.24 (s, 2H, 2x imidazol-H) (Şekil 4.16.).

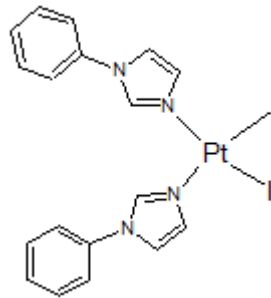


Şekil 4.15. Kompleks 5'in FT-IR spektrumu



Şekil 4.16. Kompleks 5'in ¹H-NMR spektrumu

4.1.9. Diiyodo-di(1-fenil-1*H*-imidazol)Platin(II) (Kompleks 6)



398 mg (2.4 mmol) Potasyum iyodür ve 250 mg (0.6 mmol) potasyumtetrakloro platinatın 30 dakika oda ısısında karıştırılmasıyla elde edilen potasyumtetraiyodoplatinat üzerine 144 mg (1mmol) 1- fenil-1*H*-imidazol'ün etanoldeki çözeltisi ilave edilip 2 gün süre ile 40°C'lik su banyosunda ısıtılıp karıştırılarak, genel sentez yöntemine göre yürütülen reaksiyon ile elde edildi. Reaksiyon sonucunda 246 mg saf ürün elde edildi.

Verim: % 33.36

Erime Noktası: > 400 °C

Elementel analiz: $C_{18}H_{16}I_2N_4Pt$

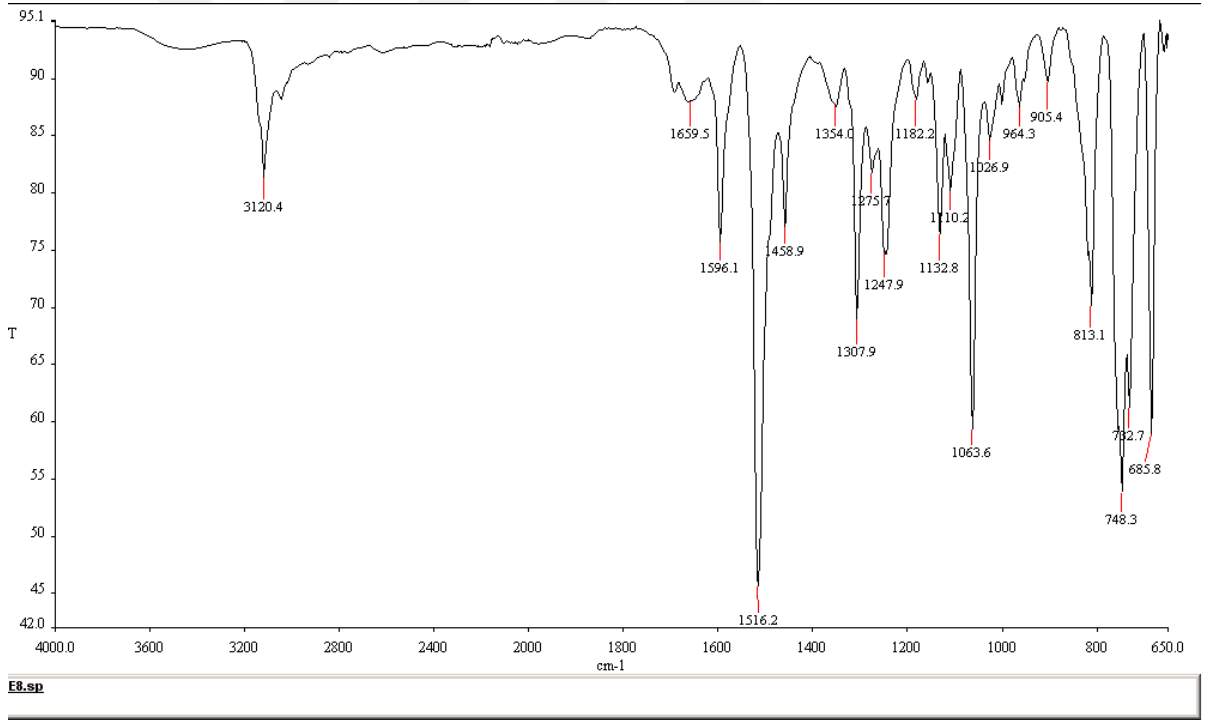
	%C	%H	%N
Hesaplanan	29.32	2.19	7.60
Bulunan	28.96	2.32	7.63

FT-IR spektrumu (ATR) ν (cm^{-1}):

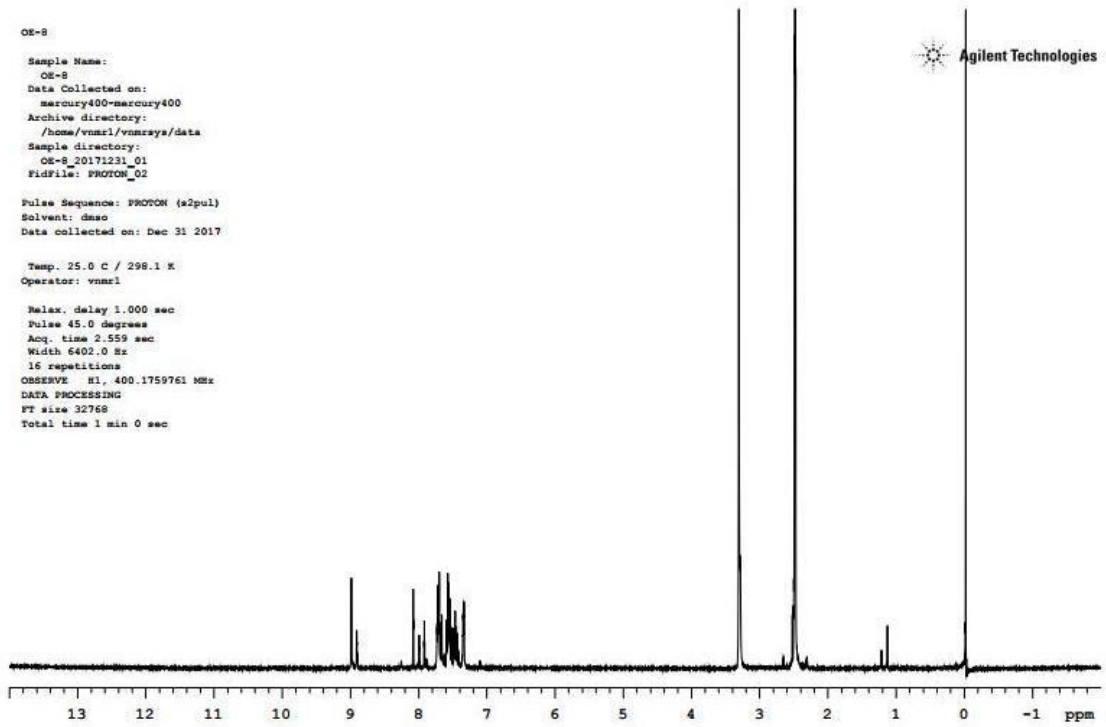
3120 (=C-H gerilimleri), 1659-1516 (C=N, C=C gerilimleri) (Şekil 4.17.).

^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm:

8.98 (s, 2H, 2x imidazol-H) 8.05-7.98 (m, 2H, 2x imidazol-H), 7.73- 7.66 (m, 4H, 2x ArH), 7.62- 7.46 (m, 6H, 2x ArH), 7.35-7.33 (m, 2H, 2x imidazol-H) (Şekil 4.18.).



Şekil 4.17. Kompleks 6'nın FT-IR spektrumu



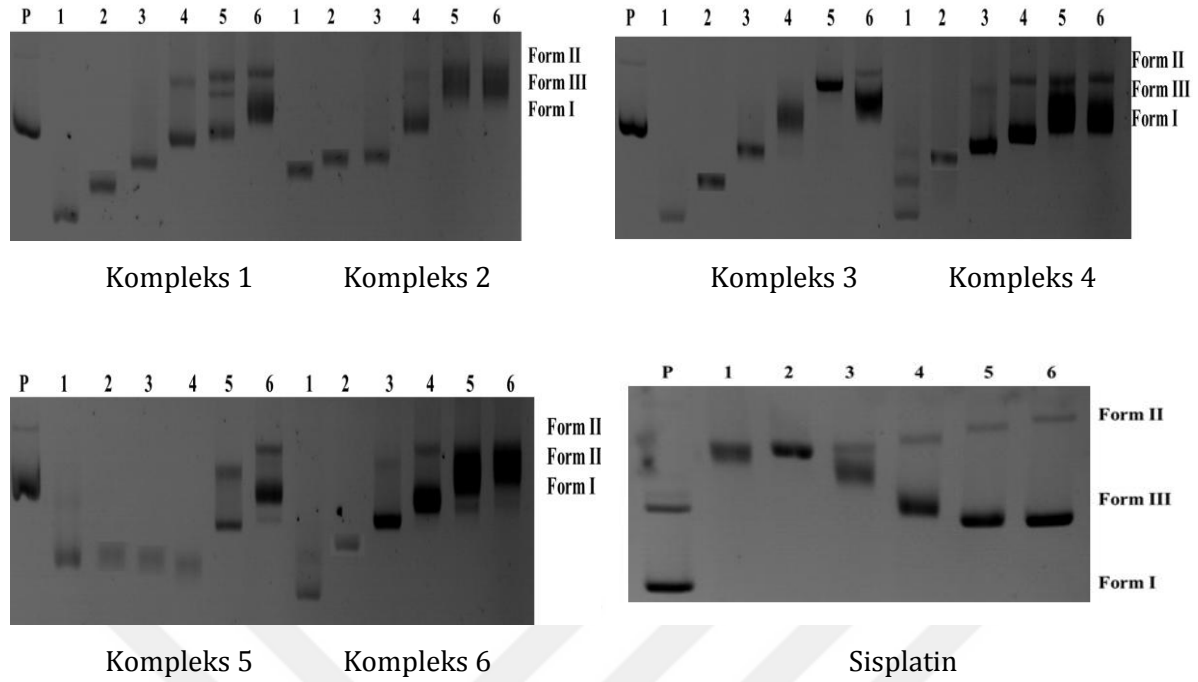
Şekil 4.18. Kompleks 6'nın ^1H -NMR spektrumu

4.2. Biyolojik Bulgular

4.2.1. pBR322 Plazmit DNA ile Etkileşim Testi

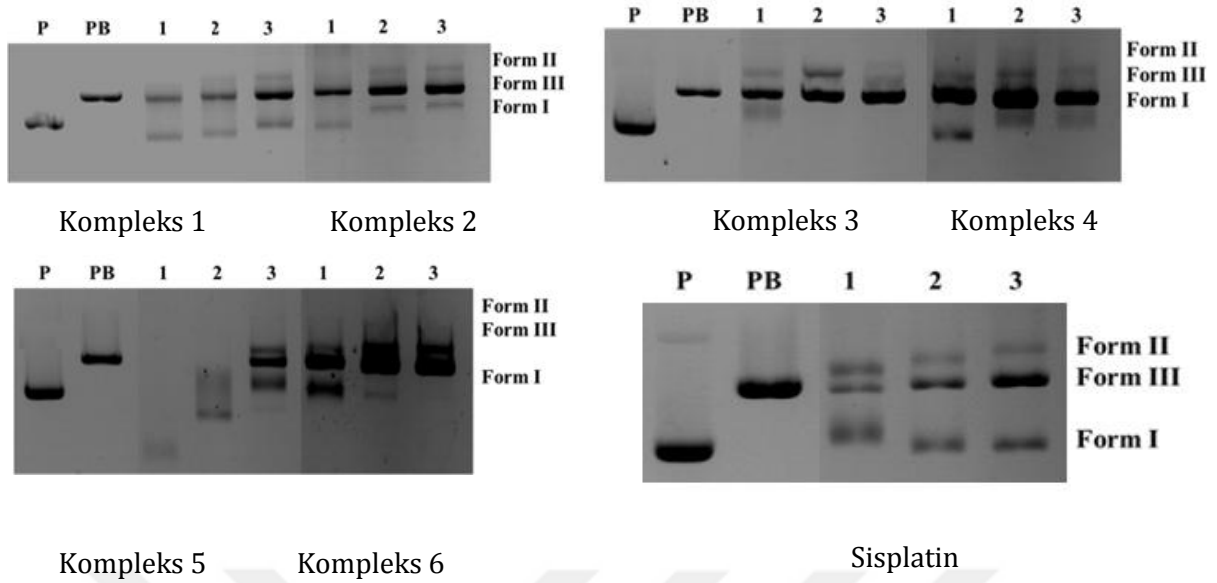
Bu tez çalışmasında sentezlenen **Kompleks 1-6**'nın ve standart olarak kullanılan sisplatinin 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ve 3.125 μM konsantrasyondaki çözeltileri pBR322 plazmid DNA ile etkileşimi agaroz jel elektroforez yöntemiyle incelendi. pBR322 plazmit DNA ile 24 saat 37°C'de inkübasyon süresi sonunda %1'lik agaroz jel elektroforezde 70 V da 2 saat yürütülerek UV görüntüleme sisteminde çekilen ve TIFF formatında kaydedilen fotoğrafları Şekil 4.19'da verilmektedir.

Genel olarak P çizgisinde pBR322 plazmit DNA'da form I (süper sarmal) ve form II (açık halkasal form) bantları gözlenmektedir. **Kompleks 1-6** ve sisplatinin, pBR322 plazmid DNA'sının hareketliliğinde, yoğunluğunda ve parçalanması üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

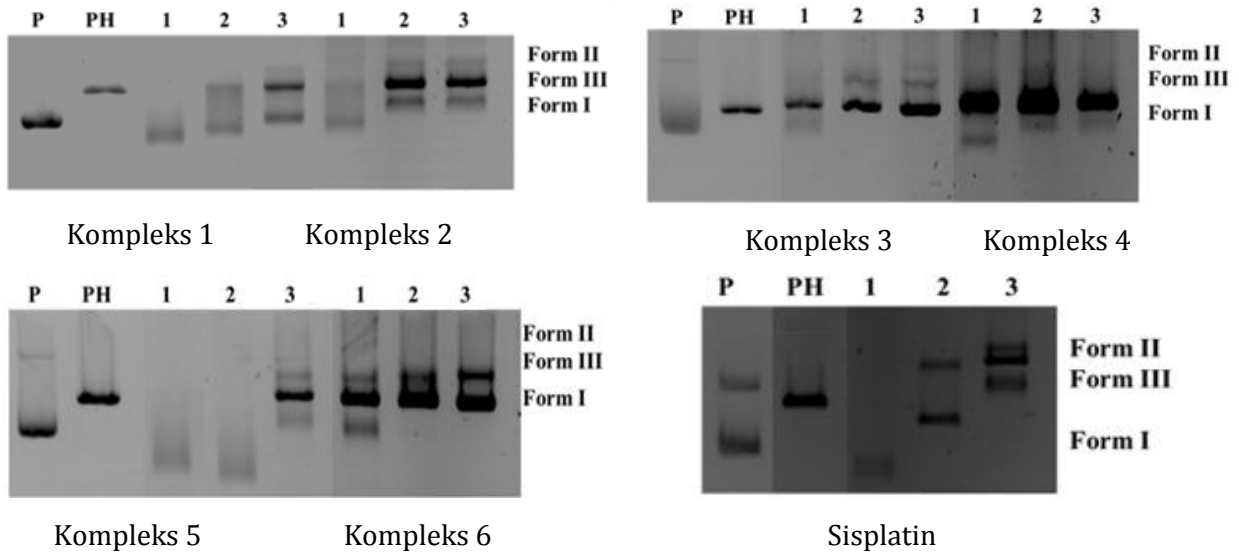


Şekil 4.19. Kompleks 1-6 ve sisplatinin azalan konsantrastonda pBR322 plasmit DNA ile etkileşimi. Sisplatin ve Kompleks 1-6 için hazırlanan konsantrasyonlar (μM) sırasıyla 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 için 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ve 3.125 μM 'dur. P ise Plasmid DNA'dır. Form I: süpersarmal form; form II: açık halkasal form; form III: doğrusal form.

Kompleks 1-6 ve sisplatinin pBR322 plazmid DNA ile 24 saat inkübasyona bırakılmasından sonra restriksiyon endonükleaz kesim enzimleri *Bam*HI ve *Hind*III ile 1 saat muamale edildikten sonra elektroforez işlemi uygulanmıştır. Şekil 4.20 ve 4.21'de *Bam*HI ve *Hind*III elektrofotogramları görülmektedir. P Kontrol kesilmemiş plazmit DNA, PB veya PH: muamele edilmemiş kontrol DNA'nın restriksiyon endonükleaz enzim ile kesimi, 1-3 arası en yüksekten en düşük konsantrasyona (12.5, 6.25 ve 3.125 μM) doğru komplekslerin 24 saat +37°C'de inkübasyona bırakılmış plazmit DNA'nın enzim ile kesilip bir saat inkübasyonu sonrası agaroz jel elektroforez profilini göstermektedir. Kontrol plazmit DNA'sı 2 formda görülmektedir. Önde giden süpersarmal form I, arkadaki bant ise açık halkasal form II DNA'yı göstermektedir. Muamele edilmemiş kontrol DNA'nın enzim ile kesimi sonucu doğrusal form III DNA gözlenmiştir.



Şekil 4.20. Kompleks 1-6 ve sisplatinin azalan konsantrastonda pBR322 plasmit DNA ile inkübasyonundan sonra *Bam*HI ile kesimi. Sisplatin ve Kompleks 1-6 için hazırlanan konsantrasyonlar (μ M) sırasıyla 1, 2 ve 3 için 12.5, 6.25 ve 3.125 μ M. P: kontrol plasmit DNA; P/B: kontrol plasmit DNA'nın *Bam*HI ile kesimi. Form I: süpersarmal form; form II: açık halkasal form; form III: doğrusal form.



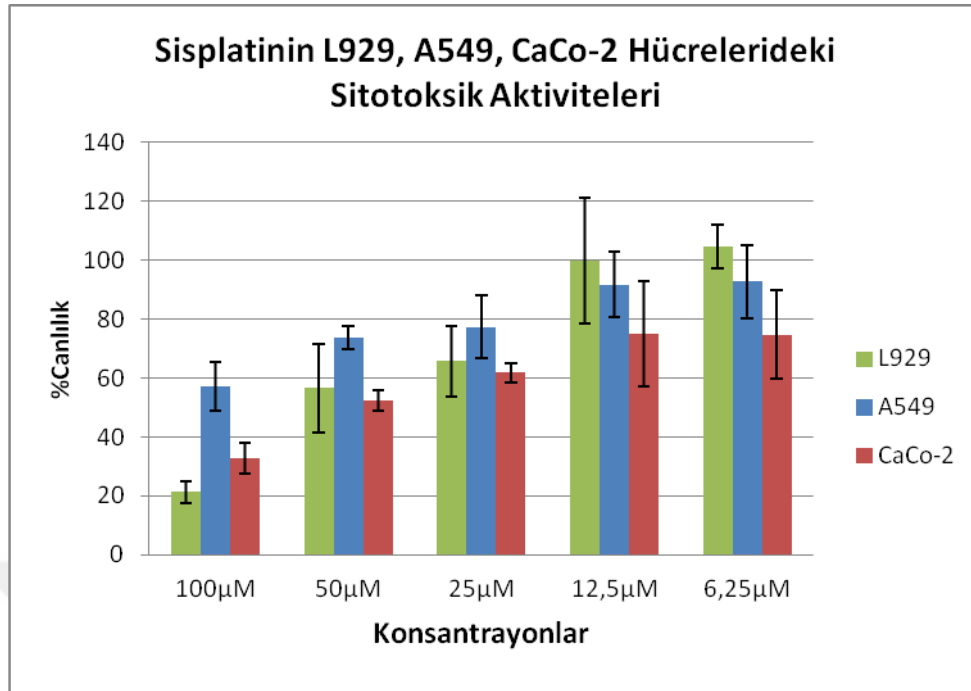
Şekil 4.21. Kompleks 1-6 ve sisplatinin azalan konsantrastonda pBR322 plasmit DNA ile inkübasyonundan sonra *Hind*III ile kesimi. Sisplatin ve Kompleks 1-6 için hazırlanan konsantrasyonlar (μ M) sırasıyla 1, 2 ve 3 için 12.5, 6.25 ve 3.125 μ M. P: kontrol plasmit DNA; P/B: kontrol plasmit DNA'nın *Hind*III ile kesimi. Form I: süpersarmal form; form II: açık halkasal form; form III: doğrusal form.

4.2.2. Sitotoksikite Testi

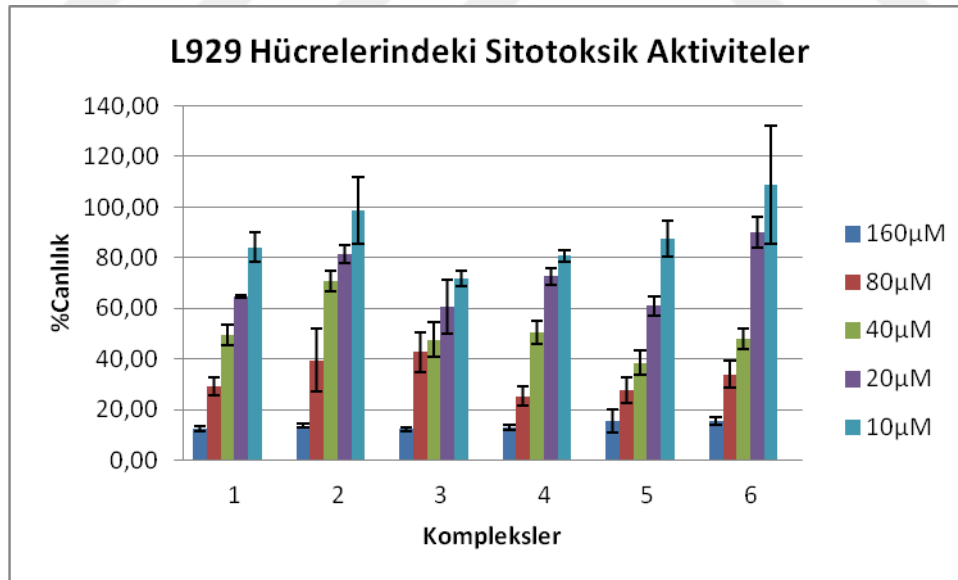
Bu tez çalışmasında sentez edilen taşıyıcı ligand olarak; 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol (L1), 1-benzil-1*H*-imidazol (L2), 1-fenil-1*H*-imidazol (L3) ve ayrılan ligand olarak klor ve iyota sahip altı adet orijinal platin(II) kompleksinin sitotoksik aktiviteleri L929 (fare fibroblast) ve A549 (küçük hücreli akciğer kanseri) ve CaCo-2 (insan adenokarsinom) hücre hatlarına karşı MTT yöntemi ile test edilmiştir. Kontrol olarak besiyeri ve standart bileşik olarak sisplatin kullanılmıştır. **Kompleks 1-6**'nın 160, 80, 40, 20 ve 10 μM ; sisplatin 100, 50, 25, 12,5 ve 6,25 μM konsantrasyonlarda sitotoksik aktiviteleri Tablo 4.1. ve Şekil 4.22-25'de, IC_{50} değerleri Tablo 4.2.'de verilmektedir.

Tablo 4.1. Kompleks 1-6 ve sisplatinin L929 (fare fibroblast) ve A549 (küçük hücreli akciğer kanseri) ve CaCo-2 (insan adenokarsinom) hücre hatları karşı sitotoksik aktiviteleri

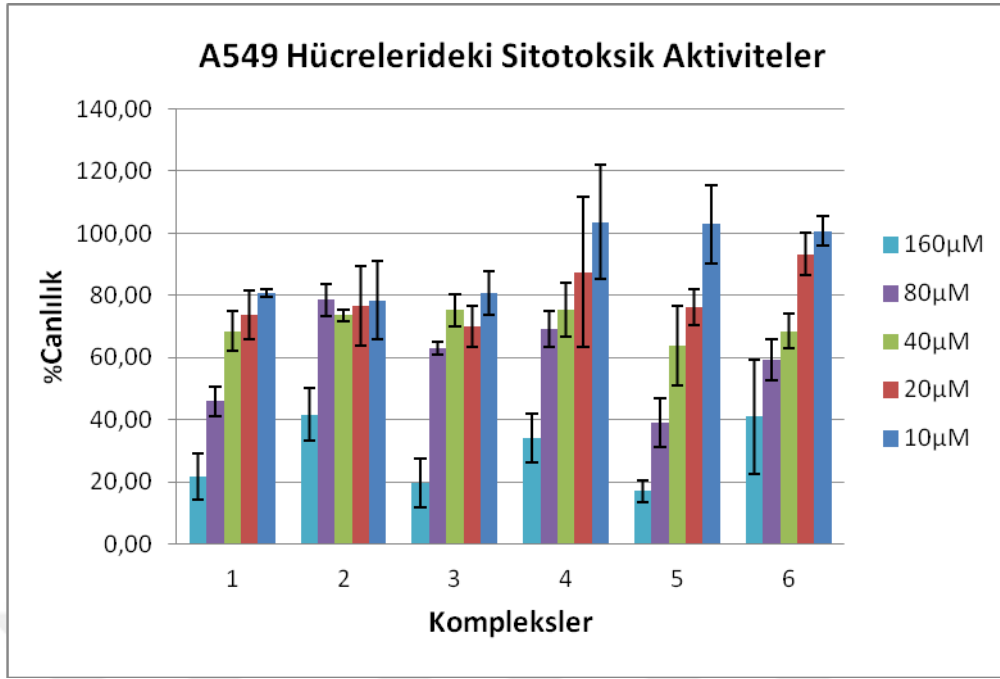
Inh.% ($\mu\text{M} \pm \text{SS}$)					Inh.% ($\mu\text{M} \pm \text{SS}$)				
Komp.	C(μM)	L-929	A549	CaCo-2	Komp.	C (μM)	L-929	A549	CaCo-2
1	160	12.62 $\pm$ 0.91	21.63 $\pm$ 7.33	21.35 $\pm$ 4.24	5	160	15.56 $\pm$ 4.71	17.00 $\pm$ 3.53	25.79 $\pm$ 4.24
	80	29.27 $\pm$ 3.52	45.99 $\pm$ 4.77	38.10 $\pm$ 17.46		80	27.70 $\pm$ 5.22	38.97 $\pm$ 7.93	25.57 $\pm$ 3.90
	40	49.48 $\pm$ 4.05	68.50 $\pm$ 6.32	67.90 $\pm$ 13.70		40	38.42 $\pm$ 4.81	63.82 $\pm$ 12.79	53.74 $\pm$ 5.05
	20	64.85 $\pm$ 0.58	73.86 $\pm$ 7.92	80.72 $\pm$ 8.80		20	60.96 $\pm$ 3.66	76.24 $\pm$ 5.62	76.50 $\pm$ 3.37
	10	84.15 $\pm$ 6.00	80.82 $\pm$ 1.25	81.17 $\pm$ 3.29		10	87.47 $\pm$ 7.05	102.85 $\pm$ 12.76	89.17 $\pm$ 11.24
2	160	13.71 $\pm$ 0.91	41.65 $\pm$ 8.52	21.27 $\pm$ 1.67	6	160	15.70 $\pm$ 1.46	40.97 $\pm$ 18.34	33.65 $\pm$ 0.84
	80	39.42 $\pm$ 12.39	78.58 $\pm$ 5.12	69.53 $\pm$ 7.96		80	34.01 $\pm$ 5.27	59.24 $\pm$ 6.54	24.98 $\pm$ 4.29
	40	70.92 $\pm$ 3.99	73.61 $\pm$ 1.85	72.20 $\pm$ 6.72		40	48.01 $\pm$ 3.91	68.45 $\pm$ 5.53	54.41 $\pm$ 8.05
	20	81.50 $\pm$ 3.67	76.68 $\pm$ 12.70	79.98 $\pm$ 4.63		20	89.99 $\pm$ 5.93	93.35 $\pm$ 6.88	60.04 $\pm$ 2.45
	10	98.71 $\pm$ 13.06	78.44 $\pm$ 12.74	85.32 $\pm$ 5.73		10	108.77 $\pm$ 23.15	100.75 $\pm$ 4.67	70.19 $\pm$ 6.82
3	160	12.43 $\pm$ 0.70	19.78 $\pm$ 7.79	18.38 $\pm$ 0.90	Sisplatin	100	21.25 $\pm$ 3.86	57.24 $\pm$ 8.26	32.76 $\pm$ 5.21
	80	42.79 $\pm$ 7.82	62.85 $\pm$ 2.07	37.28 $\pm$ 14.33		50	56.54 $\pm$ 15.13	73.66 $\pm$ 3.94	52.33 $\pm$ 3.59
	40	47.48 $\pm$ 6.84	75.32 $\pm$ 5.15	55.74 $\pm$ 5.72		25	65.75 $\pm$ 12.10	77.37 $\pm$ 10.72	61.74 $\pm$ 3.46
	20	60.58 $\pm$ 10.82	700.11 $\pm$ 6.51	87.84 $\pm$ 9.90		12.5	99.95 $\pm$ 21.41	91.69 $\pm$ 11.08	75.09 $\pm$ 17.85
	10	71.96 $\pm$ 2.99	80.73 $\pm$ 7.18	90.65 $\pm$ 12.79		6.25	104.83 $\pm$ 7.41	92.76 $\pm$ 12.30	74.79 $\pm$ 14.83
4	160	12.95 $\pm$ 0.93	33.96 $\pm$ 7.91	18.09 $\pm$ 1.34					
	80	25.38 $\pm$ 3.64	69.08 $\pm$ 5.72	62.93 $\pm$ 19.51					
	40	50.52 $\pm$ 4.32	75.51 $\pm$ 8.65	60.56 $\pm$ 2.68					
	20	72.58 $\pm$ 3.49	87.55 $\pm$ 24.33	65.60 $\pm$ 3.11					
	10	80.78 $\pm$ 2.22	103.58 $\pm$ 18.32	71.68 $\pm$ 11.02					



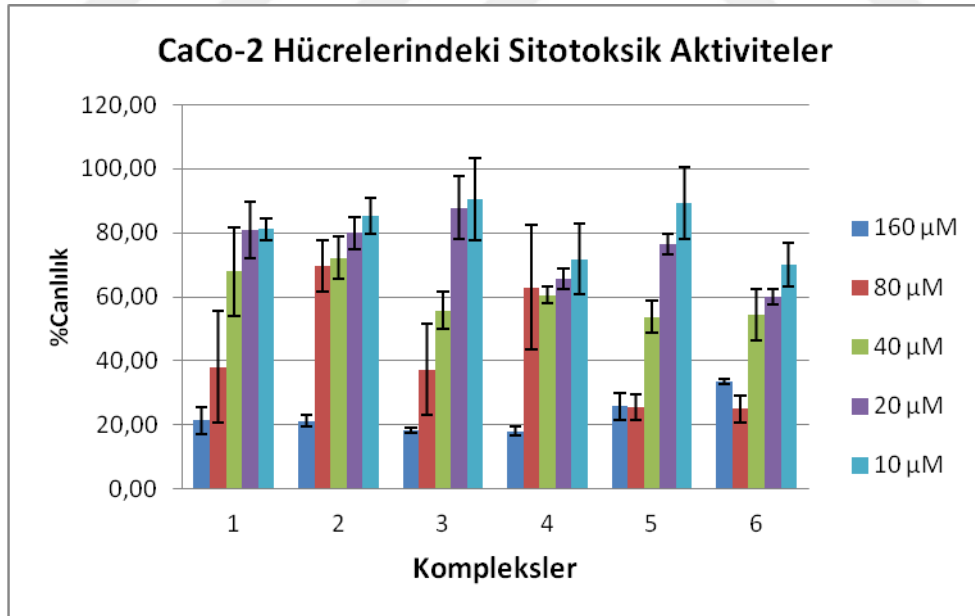
Şekil 4.22. Sisplatinin 100, 50, 25, 12,5 ve 6.25 µM konsantrasyonunda L-929, A549, CaCo-2 hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri



Şekil 4.23. Kompleks 1-6'nın 160, 80, 40, 20 ve 10 µM konsantrasyonunda L-929 hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri



Şekil 4.24. Kompleks 1-6'nın 160, 80, 40, 20 ve 10 µM konsatrasyonunda A549 Hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri



Şekil 4.25. Kompleks 1-6'nın 160, 80, 40, 20 ve 10 µM konsatrasyonunda CaCo-2 Hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri

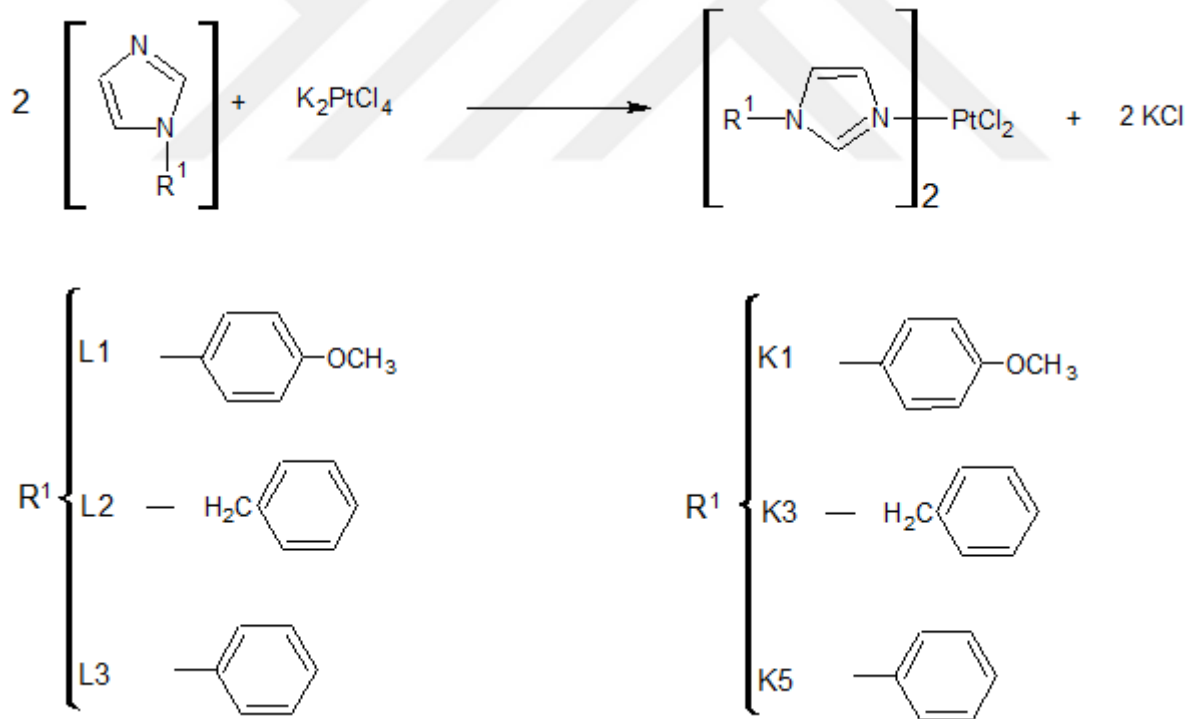
Tablo 4.2. Kompleks 1-6 ve sisplatinin L929 (fare fibroblast) ve A549 (küçük hücreli akciğer kanseri) ve CaCo-2 (insan adenokarsinom) hücre hatları karşı IC₅₀ değeri (μM)

	IC ₅₀ (μM)		
Kompleks No	A549	CaCo-2	L-929
1 [Pt(L1) ₂ Cl ₂]	82.71	80.47	57,61
2 [Pt(L1) ₂ l ₂]	148.04	100.64	82.14
3 [Pt(L2) ₂ Cl ₂]	92.54	78,72	53.76
4 [Pt(L2) ₂ l ₂]	120.02	79.69	58.60
5 [Pt(L3) ₂ Cl ₂]	81.29	72,24	52.08
6 [Pt(L3) ₂ l ₂]	122.16	56.54	78.66
Sisplatin	115.89	59.29	61.66

5. TARTIŞMA

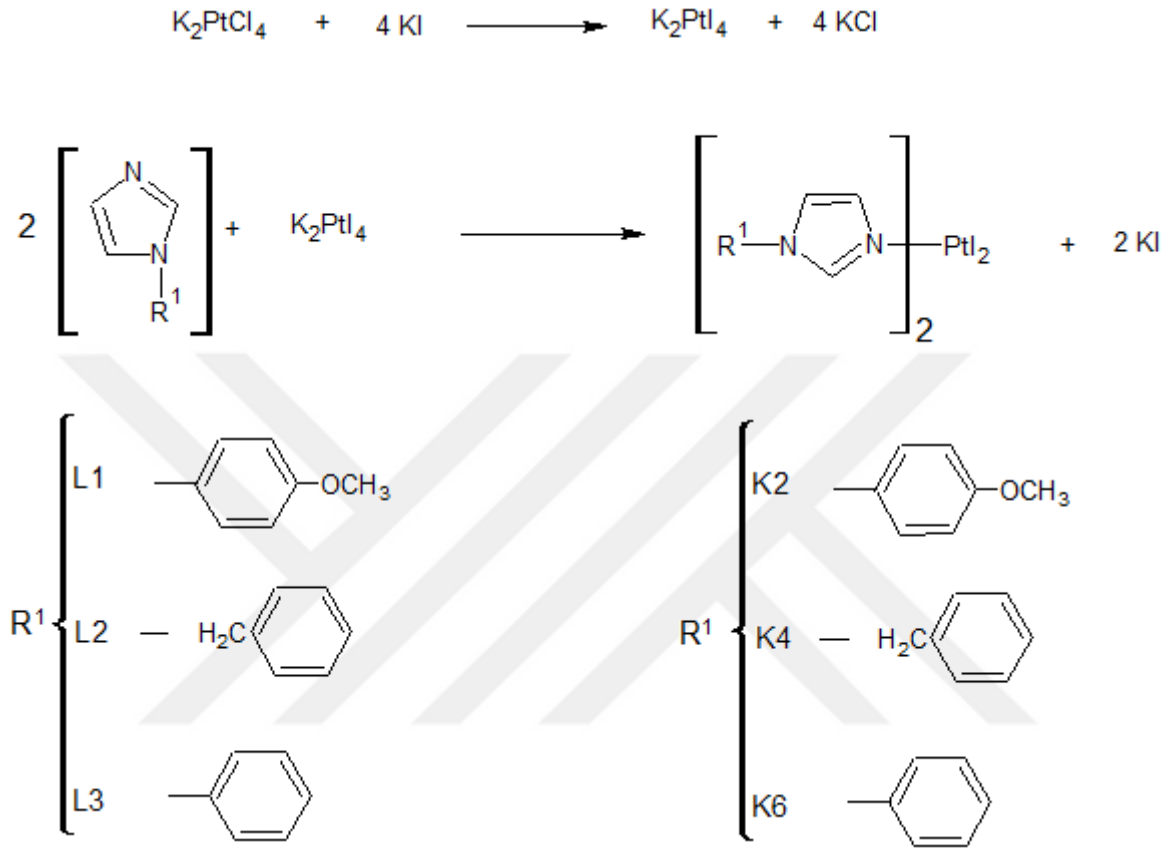
Sisplatin yapısındaki taşıyıcı amonyak ligandlarının heterosiklik amin gruplarıyla değiştirilmesiyle sentezlenen platin(II) komplekslerinin antikanser aktivitesinin değişeceği veya rezistans kazanmış kanser hücrelerinde etkili olabileceği literatür taramalarında gösterilmektedir [26]. Yapılan literatür taramaları ve çalışma grubumuzun daha önceki araştırma sonuçları [134-155] göz önüne alınarak bu tez çalışmasında orijinal altı adet platin(II) kompleksi bileşik tasarlanarak sentezlenmiştir. Taşıyıcı ligand olarak; 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol (L1), 1-benzil-1*H*-imidazol (L2), 1-fenil-1*H*-imidazol (L3) ve ayrılan ligand olarak klor ve iyot kullanılmıştır. Sentez edilen orijinal **Kompleks 1-6**'nın yapısı elementel analiz, FT-IR ve ¹H-NMR spektrumları ile aydınlatılmıştır.

Sentezlenmek istenilen komplekse göre 0.5 N HCl içerisinde çözünmüş potasyum tetrakloroplatinatın üzerine sırasıyla L1, L2 veya L3'ün 0.5 N HCl içerisinde çözünmüş çözeltilerinin ilavesi ile **Kompleks 1, 3 ve 5** sentez edilmiştir. Kompleks 1, 3 ve 5'in sentez şeması Şekil 5.1.'de verilmektedir.



Şekil 5.1. Kompleks 1, 3 ve 5'in sentez şeması

Kompleks 2, Kompleks 4 ve Kompleks 6, potasyum iyodür ve potasyum tetrakloroplatinatın reaksiyonu ile elde edilen potasyum tetraiyodoplatinat üzerine sırasıyla L1, L2 veya L3 taşıyıcı ligandların etanol içerisindeki çözeltisinin ilavesiyle sentezlenmiş Pt(II) komplekslerdir. **Kompleks 2, 4 ve 6'nın** sentez şeması Şekil 5.2.'de verilmektedir.



Şekil 5.2. Kompleks 2, 4 ve 6'nın sentez şeması

Sentez edilen **Kompleks 1-6'nın** kimyasal yapılarını aydınlatmak için elementel analiz verilerinden, FT-IR ve $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarından yararlanılmıştır. Yapı aydınlatma çalışmalarında taşıyıcı ligandlar ve sentezlenen Pt(II) komplekslerinin, aynı şartlarda alınan FT-IR ve $^1\text{H-NMR}$ spektrumları karşılaştırılarak incelenmiştir. **Kompleks 1-6'nın** yapısı, kompleksleşme ile taşıyıcı-ligandın yapısında bulunan karakteristik gruplara ait piklerdeki kayma ve değişiklikler, taşıyıcı ligandın spektrumları ile kıyaslanarak ve komplekslerin elementel analiz verileri ile desteklenerek belirlenmiştir.

Elementel analiz verileri L1, L2 ve L3'ün tek dişli ligand özelliği göstererek potasyumtetrakloroplatinat veya potasyumtetraiyodoplatinat ile 1:2 metal:ligand oranında reaksiyona girdiğini kanıtlamıştır. Tek dişli ligand özelliği gösteren imidazol halka sisteminin, 1-sübstitüeimidazol ligandına N3 atomu üzerinden bağlanmıştır.

Ligand özelliği gösteren imidazol halka sisteminin, 3 numaralı konumdaki azotun taşıdığı ortaklanmamış elektron çifti nedeni ile ligand özelliği gösterdiği ve platin atomuna koordine kovalen bağ ile bağlanarak platin(II) kompleksi olarak yeni kompleksler vereceği bilinmektedir [20-23, 150,156].

Kare düzlem yapıya sahip Pt(II) kompleksleri, platin metali üzerinde yer alan aynı tür ligandların birbirine olan konumlarına göre cis veya trans izomer oluşturmak üzere kompleksler oluştururlar. cis-Dikloro-Pt(II) komplekslerinin iki adet Pt-Cl titreşim bandı vermesi beklenir. Ancak, iki bandın enerjileri arasındaki farkın küçük olması durumunda ikinci bant omuz şeklinde görünür veya bu bölgede tek bir bant gözlenir [157,158]. Bu çalışmada sentez edilen komplekslerin potasyumtetrakloroplatinattan hareketle elde edilmesi nedeniyle kinetik trans-etkisi teorisine göre cis yapıda olması beklenir [35]. Bu tez çalışmasında sentez edilen komplekslerin FT-IR spektrumları, Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji ve Araştırma Enstitüsünde kullanılan Perkin Elmer Spectrum FT-IR/NIR Spektrometresinde alınmıştır. Kullanılan cihaz 4000-600 cm^{-1} aralığında ölçüm yaptığı için Pt-Cl ve Pt-I bandları gözlemlenememiştir.

Sisplatinin klinikte kullanılmaya başlamasının ardından daha az toksik etkileri bulunan platin kompleksleri sentez etme çalışmaları için bazı kimyasal gereklilikler öne sürülmüştür. Platin(II) komplekslerinin yapısında cis pozisyonda iki adet ayrılan ligand ve iki adet taşıyıcı ligandın koordinasyon bileşiğinin yapısını oluşturması gerekmektedir. Ayrılan ligand olarak klor yanında iyot, oksalat ve malonat gibi dikarboksilat ligandlarının bulunduğu komplekslerin sentezlendiği literatürde bildirilmektedir [71]. Bu tez çalışmasında klor ve iyot ayrılan ligandlarını sahip orijinal platin (II) kompleksleri sentezlenmiştir.

Kompleks 1-6 diğer organik çözücülerde çözünmediği için ^1H -NMR spektrumları DMSO- d_6 içinde çözülerek alınmıştır. DMSO- d_6 , platin türevi komplekslerin yapısında bulunan platin atomuna bağlı klor veya iyot atomu ile yer değiştirecek güçte ligand özelliği olması nedeniyle, zamana bağlı olarak kompleksin yapısını bozduğu göz önünde bulundurularak, bileşiklerin DMSO- d_6 içerisindeki çözeltilerinin, spektrumların alınma başlanmadan hemen önce hazırlanması sağlanmıştır. [159,160].

Platin komplekslerinin kare düzlem yapıya sahip olmaları nedeniyle taşıyıcı ligandı aynı olan $[\text{PtL}_2\text{Cl}_2]$ ve $[\text{PtL}_2\text{I}_2]$ yapısındaki komplekslerde platin atomuna bağlı olan iki ligandın çevresi de aynı olacaktır [161,162]. Bu nedenle, Pt-N bağı etrafında serbest dönüşün engellenmediği durumlarda FT-IR ve ^1H -NMR spektrumlarında aynı taşıyıcı liganda sahip komplekslerin taşıdığı her iki liganda ait piklerinin farklı olması beklenemez.

Genel olarak, kompleksleşmeye bağlı olarak aromatik ve alifatik protonlara ait piklerin ligandlara göre daha düşük alana kaymalarının gözlenmesinin yanında, ^{195}Pt izotopunun spin-kuant sayısının $\frac{1}{2}$ ve izotop bolluğunun %33 olması nedeniyle ^{195}Pt - ^1H spin-spin eşleşmesi sonucu piklerde yarılmaların olduğu görülmektedir.

L1, L2 ve L3'e ait imidazol halkasının 2 numaralı konumdaki proton piki 8.13, 7.73 ve 8.27'de görülmektedir. Klor ve iyot ayrılan ligandına sahip aynı taşıyıcı liganda sahip olan **Kompleks 1** ve **2**'de 8.64 ve 8.86 ppm; **Kompleks 3** ve **4**'de 8.26 ve 8.37-8.32 ppm; **Kompleks 5** ve **6**'da ise 8.79-8.72 ve 8.98 ppm'de gözlenmiştir. Kompleksleşmeye bağlı olarak imidazol halkasının 2 numaralı konumundaki protona ait pikin düşük alana kayması diğer aromatik ve alifatik protonlarda da gözlemlenmektedir. Bu durumda literatür verileriyle uyumludur [163-166].

Çözücü olarak kullanılan DMSO- d_6 içerisindeki suya ait δ 3.33 ppm civarında ve kullanılan DMSO- d_6 nın en iyi şartlarda %99.9 oranında döteryum içermesi nedeniyle $\text{CD}_3\text{SOCD}_2\text{H}$ 'a ait δ 2.50 ppm de pikler görülmektedir.

Elektroforez işlemi sonucunda pBR322 plazmid DNA'da form I (süper sarmal form), form II (açık dairesel form) ve form III (doğrusal form) olmak üzere üç farklı biçim gözlenmektedir [167]. En yaygın bulunan form süpersarmal form I olup, form II ve form III kimyasal ve fiziksel değişim sonucunda oluşmaktadır. Optimize olmuş koşullarda genellikle form I diğerlerine göre daha hızlı hareket eder ve daha yoğun olarak gözlemlenir [167].

Plazmid DNA'nın iplikçiklerine bağlanma veya kesim sonucu, süper sarmal form gevşeyerek daha yavaş hareket eden form II oluşur. Her iki iplikçik de kesilirse, form I ve form II arasında hareket eden form III meydana gelmektedir [168].

Platin bileşikler DNA'ya kovalan bağlanarak konformasyonda değişikliklere sebep olur. Bu değişikliklerden biri DNA sarmalının çözülmesidir. Süpersarmal form I pBR322 plazmit DNA negatif süpersarmal form I'den form II'ye sonrada pozitif form I'e dönüşür. Bu değişiklik jel üzerinde DNA'nın hareketliliğinde değişimine yol açar [169].

Kompleks 1-6 ve sisplatinin 100-3.125 μM arasında azalan konsantrasyonlarda pBR322 plazmit DNA ile etkileşimi Şekil 4.19'da görülmektedir. pBR322 plazmit DNA'nın **Kompleks 1-6** ve sisplatin ile etkileşime girdiğinde genel olarak hem etkileşime giren (Çizgi 1-6) ve hem de etkileşime girmeyen (P) çizgilerinde form I ve form II plasmid DNA gözlenmiştir.

Kompleks 1, 2 ve **6**'nın 3.1 μM (şerit 6) form I ve form II bantları arasındaki ayırım en az iken 12.5 ve 6.25 μM (şerit 4 ve 5)'de ayırım artmaktadır. Komplekslerin 100-25 μM konsantrasyonlarda (şerit 1-3) form II'nin form I'e dönüştüğü gösteren hafif bir koelosans band gözlenmiştir.

Test edilen komplekslerin konsantrasyonu yükseldikçe, form I plazmid DNA'nın mobilitesi, özellikle **Kompleks 1,3** ve **6**'da belirgin olarak artmıştır.

Kompleks 4 ve **5**'in, 100 μM (şerit 1) en yüksek konsantrasyonda doğrusal DNA içeren DNA'ya en az zarar verdiği tespit edilmiştir.

Sisplatinin 12.5, 6.25 ve 3.1 μM (şerit 4-6) konsantrasyonlarda form I ve form II arasında ayırım en fazla iken 50 μM (şerit 2) konsantrasyonda koalesans nokta tespit edilmiştir.

Sisplatin DNA'ya bağlanarak sitotoksik etki gösterir ve tercihen 1,2-d(GpG), 1,2-d(ApG) zincir içi çapraz bağlanma ve çok az miktarda oluşan 1,3-d(GpXpG) zincir içi çapraz bağlanma DNA'nın yapısında konformasyonel değişiklikler meydana getirir. **Kompleks 1-6** hakkında daha fazla bilgi edinebilmek için guanin-guanin (GG) ve/veya adenin-adenin (AA) bölgelerinden hangisine afinite gösterdiğini tespit etmek için *BamHI* ve *HindIII* enzimleri ile kesim yapılmıştır. *BamHI* ve *HindIII* enzimleri sırasıyla 5'-G/GATCC-3' ve 5'A/AGCTT-3' bölgelerini tanır ve 5'GG ve 5'AA bölgesinden hidroliz eder. Sonuçta form I ve form II DNA'dan doğrusal form III DNA'ya dönüşür.

BamHI ve *HindIII* ile inkübe edilmiş Kompleks-plazmid DNA ve sisplatinin- plazmid DNA'nın 12.5, 6.25 ve 3.125 μM konsantrasyonlarına karşılık gelen elektroforetogramlar Şekil 4.20 ve Şekil 4.21'de verilmektedir. **Kompleks 1-6** ve sisplatinin artan konsantrasyonlarında *BamHI* ve *HindIII* enzimi ile hidrolizinin önlenmesi, DNA'daki 5'GG ve/veya 5'AA nükleotitlerine bağlandığı fikrini desteklemektedir.

Bu tez çalışmasında sentez edilen taşıyıcı ligand olarak; 1-(4-metoksifenil)-1H-imidazol (L1), 1-benzil-1H-imidazol (L2), 1-fenil-1H-imidazol (L3) ve ayrılan ligand olarak klor ve iyota sahip **Kompleks 1-6**'nın sitotoksik aktiviteleri L929 (fare fibroblast) ve A549 (küçük hücreli akciğer kanseri) ve CaCo-2 (İnsan adenokarsinom) hücre hatlarına karşı MTT yöntemi ile test edilmiştir. **Kompleks 1-6**'nın 160-10 μM ve sisplatinin 100-6.25 μM arasındaki azalan konsantrasyonlarının test edilen hücre hatlarına karşı sitotoksik etki değerleri Tablo 4.1 ve IC_{50} değerleri Tablo 4.2'de verilmektedir.

IC_{50} değerlerine göre 1-fenil-1H-imidazol ligandına sahip **Kompleks 5** A549 ve L929 hücre hattına karşı ve **Kompleks 6** CaCo-2 hücre hattına karşı sırasıyla 81.29, 52.08 ve 56.54 olarak en aktif kompleksler olarak bulunmuştur. Bu kompleksler standart bileşik olarak kullanılan sisplatinden daha etkilidirler. CaCo-2 hücre hatına karşı **Kompleks 5** ve **6** hariç, klorlu komplekslerin, iyotlu komplekslerden tüm hücre hatlarında daha aktif olduğu tespit edilmiştir. MTT test sonuçlarına göre test edilen komplekslerin IC_{50} değerleri sisplatin ile karşılaştırıldığında daha etkili veya yakın etkili olduğu görülmektedir.

Test edilmiş komplekslerden iyot içeren komplekslere göre, ayrılabilen klor ligandı içeren bileşiklerin daha aktif oldukları belirlenmiştir. Sisplatin aktif iken onun iyot türevi inaktif olması, sulu çözeltide Pt-I bağının, Pt-Cl bağından daha dayanıklı olmasından dolayı reaktif türevin oluşmasının daha güç olmasıyla açıklanmıştır [170, 171]. Basola ve ark. [172] yaptığı bir

çalışmada ayrılan ligandların göreceli reaktivite sırası $\text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^- > \text{SCN}^- > \text{NO}_2^-$ olarak belirtilmiştir.

Sonraki araştırmalarda Pt-I bağının hidrolizinin çok uzun süre aldığı ancak kompleksin DNA yerine kükürt içeren sistein ve glutatyon ile etkileştiği ve sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir [173, 174]. Sisplatine alternatif ve farklı bir etki mekanizmasıyla bağlanması bakımından son yıllarda iyot taşıyan Pt(II) ve Pt(IV) komplekslerin de sentezlendiği literatürde gözlenmektedir [170-178].

Platin iyodo kompleksleri uzun yıllardır dünya çapında kullanılan platin bazlı antikanser ilaçlar (sisplatin, karboplatin ve oksaliplatin) da dahil olmak üzere çeşitli platin komplekslerinin sentetik ara ürünleri olarak kabul edilmektedir. Platin iyodo kompleksleri bu nedenle uzun zaman yeni platin bazlı metaloterapötiklerin geliştirilmesi için göz ardı edilmiştir. Son zamanlarda, birkaç araştırma ekibi iyot ayrılan ligandına sahip, umut verici kimyasal, fiziksel ve özellikle biyolojik özellikleri olan çeşitli platin kompleksleri geliştirmiştir. Özellikle, bir dizi platin iyodo kompleksi, kloro analoglarına göre daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gösterilmektedir. Ayrıca, iyodo kompleksinin etki mekanizmasının kloro analoglarına göre farklı olduğu görülmektedir [179]. Bu tez çalışmasında sentezlenen iyot ayrılan ligandına sahip **Kompleks 2, 4 ve 6'nın** kloro ayrılan ligandına sahip **Kompleks 1, 3 ve 5'den** farklı aktivite sonucu göstermeleri bu bilgileri doğrulamaktadır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, çalışma grubumuzun daha önce yaptığı çalışma verilerinin değerlendirilmesiyle tasarlanan, 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol, 1-benzil-1*H*-imidazol ve 1-fenil-1*H*-imidazol taşıyıcı-ligandlarını taşıyan, kapalı formülü $[PtL_2Cl_2]$, $[PtL_2I_2]$ olan (**Kompleks 1-6**) kompleksleri sentezlenerek yapıları aydınlatılmıştır.

pBr322 Plasmid DNA ile etkileşim ve ardından *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz enzim ile kesimi sonucunda komplekslerin DNA'nın sisplatin gibi 5'GG ve/veya 5'AA nükleotitlerine bağlandığı tespit edilmiştir. Sentez edilen kompleksler içerisinde 1-fenil-1*H*-imidazol taşıyıcı ligandına sahip kapalı formülü $[Pt(L_3)_2Cl_2]$ **Kompleks 5**'in A549 (küçük hücreli akciğer kanseri) ve L929 (fare fibroblast) en etkili kompleks olduğu gözlenmiştir.

Bu tez çalışmasının devamında;

- 1- 1-(4-metoksifenil)-1*H*-imidazol, 1-benzil-1*H*-imidazol ve 1-fenil-1*H*-imidazol taşıyıcı-ligandı sahip Pt(IV) komplekslerinin sentezlenmesi,
- 2- Ayrılabilen ligand olarak oksalat, malonat gibi dikarboksilat anyonları taşıyan platin komplekslerinin sentezlenmesi,
- 3- Komplekslerin in vitro sitotoksik etkilerinin farklı hücrelerde MTT yöntemi ile sitotoksik aktivitelerinin test edilmesi,
- 4- Sisplatine karşı rezistans kazanmış hücrelerde in vitro sitotoksik etkilerinin belirlenmesi,
- 5- Sentez edilen komplekslerin kristallerinin elde edilmesi,
- 6- Komplekslerin apoptoz sürecinde enzimler ile etkileşimlerinin araştırılması,
- 7- Bu tez çalışmasında en etkili kompleks olarak bulunan **Kompleks 5**'in ayrıntılı etki mekanizmasının incelenmesi,
- 8- Bu tez çalışmasında en etkili bulunan **Kompleks 5**'in daha yüksek verim ile sentez edilebilmesi için farklı sentez yöntemlerinin araştırılması,
- 9- Özellikle sisplatine karşı rezistans kazanmış kanser türlerine karşı etkili olan, toksisitesi azaltılmış ve oral yoldan kullanılabilen komplekslerin sentezinin yapılması,
- 10- İn vitro çalışmalarda aktif bulunan komplekslerimizin in vivo testlerinin yapılması, devam eden çalışmalarda patentlerinin alınması ve ülke ekonomisine katkı sağlaması için çalışmalara devam edilmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1]. Cancer, World Health Organization, <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (30.04.2019).
- [2]. Kayaalp, O., *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. 11.baskı; Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd.Şti: Ankara, **2005**; s 317-335.
- [3]. Wilson, L.; Bhatnagar, P.; Townsend, N., Comparing trends in mortality from cardiovascular disease and cancer in the United Kingdom, 1983–2013: joinpoint regression analysis. *Population Health Metrics* **2017**, 15, (23), 1-9.
- [4.] Balducci, L., Cancer prevention in the older individual. *Seminars in Oncology Nursing* **2016**, 32, (3), 314-324.
- [5]. Peyrone, M., Über die einwirkung des ammoniaks auf platinchlorid. *Annalen der Chemie und Pharmacie* **1844**, L1, 1-29.
- [6]. Rosenberg, B. VAN.; Camp, L.; Krigas, T., Inhibition of cell division in escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature* **1965**, 205, 698-699.
- [7]. Jamieson, E.R.; Lippard, S.J., Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. *Chemical Reviews* **1999**, 99, (9), 2467-2498.
- [8]. Bai, L.; Gao, C.; Liu, Q.; Yu, C.; Zhang, Z.; Cai, L.; Yang, B.; Qian, Y.; Yang, J.; Liao, X., Research progress in modern structure of platinum complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, 140, 349-382.
- [9]. Güney, S.; Güney, N.; Sönmez, N.C.; Ergenekon, E., Risk-adapted management for patients with clinical stage 1 non-seminomatous germ cell tumour of the testis. *Medical Oncology* **2009**, 26, (2), 136-142.
- [10]. Kartalou, M.; Essigmann, J.M., Recognition of cisplatin adducts by cellular proteins. *Mutation Research* **2001**, 478, (1), 1-21.
- [11]. Dasari, S.; Tchounwou, P.B., Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacy* **2014**, 740, 364-378.
- [12]. Ho, Y.P.; Au-Yeung, S.C.F.; To K.K.W., Platinum-based anticancer agents: Innovative design strategies and biological perspectives. *Medicinal Research Reviews* **2003**, 23, (5), 633-655.
- [13]. Brabec, V.; Kasparkova, J., Molecular aspects of resistance to antitumor platinum drugs. *Drug Resistance Updates* **2002**, 5, (3), 147-161.
- [14]. Bergamo, A.; Dyson, P.J.; Sava, G., The mechanism of tumour cell death by metal-based anticancer drugs is not only a matter of DNA interactions. *Coordination Chemistry Reviews* **2018**, 360, 17-33.
- [15]. Amble, L., Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmaceutical Research* **2016**, 106, 27-36.
- [16]. Dugbartey, G.J.; Peppone, L.J.; Graaf I.A.M., An integrative view of cisplatin-induced renal and cardiac toxicities: Molecular mechanisms, current treatment challenges and potential protective measures. *Toxicology* **2016**, 371, 58-66.
- [17]. Fanelli, M.; Formica, M.; Fusi, V.; Giorgi, L.; Micheloni, M., New trends in platinum and palladium complexes as antineoplastic agents. *Coordination Chemistry Reviews* **2016**, 310, 41-79.
- [18]. Wexselblatt, E.; Yavin, E.; Gibson, D., Cellular interactions of platinum drugs. *Inorganica Chimica Acta* **2012**, 393, 75-83.
- [19]. Živković, M.D.; Rajković, S.; Glišić, B.D.; Drašković, N.S.; Djuran, M.I., Hydrolysis of the amide bond in histidine- and methionine-containing dipeptides promoted by pyrazine and pyridazine palladium(II)-aqua dimers: Comparative study with platinum (II) analogues. *Bioorganic Chemistry* **2017**, 72, 190-198.
- [20]. Živković, M.D.; Rajković, S.; Djuran, M.I., Reaction of [Pt(Gly-Gly-N,N',O)]⁺ with the N-acetylate dipeptide L-methionyl-L-histidine: selective platination of the histidine side chain by intramolecular migration of the platinum (II) complex. *Bioorganic Chemistry* **2008**, 36, (3), 161-164.

- [21]. Trudu, F.; Amato, F.; Vanhara, P.; Pivetta, T.; Pena-Mendez, E.M.; Havel, J., Coordination compounds in cancer: past, present, perspectives. *Journal of Applied Biomedicine* **2015**, (13), 79-103.
- [22]. Sundberg, R.; Martin, R.B., Interactions of histidine and other imidazole derivatives with transition metal ions in chemical and biological systems. *Chemical Reviews* **1974**, (74), 471.
- [23]. Szulmanowicz, M.S.; Zawartka, W.; Gniewek, A.; Trzeciak, A.M., Structure, Dynamics and catalytic activity of palladium (II) complexes with imidazole ligands. *Inorganica Chimica Acta* **2010**, 363, (15), 4346-4354.
- [24]. Narasimhan, B.; Sharma, D.; Kumar, P., Biological importance of imidazole nucleus in the new millennium. *Medicinal Chemistry Research* **2011**, (20), 1119-1140
- [25]. Fan, Y.L.; Jin, X.H.; Huang, Z.P.; Yu, H.F.; Zeng, Z.G.; Gao, T.; Feng, L.S., Recent advances of imidazole-containing derivatives as anti-tubercular agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, (150), 347-365.
- [26]. Cossa, G.; Gatti, L.; Zunino, F.; Perego, P., Strategies to improve the efficacy of platinum compounds. *Current Medicinal Chemistry* **2009**, (16), 2355-65.
- [27]. Debus, H., Ueber die einwirkung des ammoniak auf glyoxal. *Annalen der Chemie und Pharmacie* **1858**, (107), 199-208.
- [28]. Brown, E.G., *Ring nitrogen and key biomolecules: the biochemistry of N-heterocycles*. Kluwer Academic Press: Dordrecht, 1998; p 40-58.
- [29]. Manocha, P.; Wakode, S.R.; Kaur, A.; Anand, K.; Kumar, H., A review: Imidazole synthesis and its biological activities. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2016**, 1, (7), 12-16.
- [30]. Grimmett, M.R., Advances in imidazole chemistry. *Heterocyclic Chemistry* **1970**, (12), 103-183.
- [31]. Preston, P.N., Synthesis, Reactions, and Spectroscopic Properties of Benzimidazoles. *Chemical Reviews* **1974**, 74, (3), 279-314.
- [32]. Suvarna, A.S., Imidazole and its derivatives and Importance in the Synthesis of Pharmaceuticals: A Review. *Research Journal of Chemical Sciences* **2015**, 5, (10), 67-72.
- [33]. Gürel, G., İtakonit ve imidazol türü Cu(II) ve Co(II) komplekslerinin sentezi, spektroskopik, termal ve yapısal özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Giresun, 2013, s 21.
- [34]. Fox, S.W., Chemistry of the biologically important imidazoles. *Chemical Review* **1943**, 32, (26), 47- 71.
- [35]. Gündüz, T., *Koordinasyon Kimyası*. Bilge Yayıncılık: Ankara, 1994.
- [36]. Boiani, M.; Gonzalez, M., Imidazole and benzimidazole derivatives as chemotherapy agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2005**, 5, (4), 409-424.
- [37]. Curini, R.; Materazzi, S.; Dascenzo, G.; De Angelis, G., Thermal behavior of biologically interesting coordination compounds of benzimidazole with divalent metal ions. *Thermochim Acta* **1990**, 161, (2), 297-307.
- [38]. Lane, J.; Nakagawa, I.; Walter, J.L.; Kandathil, A.J., Infrared investigation of certain imidazole derivatives and their metal chelates. *Inorganic Chemistry* **1962**, 1, (2), 2957-2997.
- [39]. Dehand, J.; Jordanov, J., Complexes of Pt(II), Pd(II), Rh(I) and Rh(III) with nitrogen and sulfur-containing heterocyclic ligands of biological interest. synthesis, characterization and influence of pH. *Inorganica Chimica Acta* **1976**, 17, 37-44.
- [40]. Ghosh, S.P.; Bhattacharjee, P.; Dubey, L.; Mishra, L.K., Complexes of some platinum metals with imidazole and benzimidazole. *Journal of the Indian Chemical Society* **1977**, 54, (1-3), 230-238.
- [41]. Kralingen, G.V.; Reedijk, J., Coordination compounds of Pt(II) with the nitrogen-donor ligand N- methylimidazole as a ligand. *Inorganica Chimica Acta* **1978**, (30), 171-177.
- [42]. Graves, B.J.; Hodgson, D.J.; Kralingen, C.G.; Reedijk, J., Synthesis and structural characterization of cis-dichlorobis(N-methylimidazole)platinum(II) and cis-dibromobis (N-methylimidazole) platinum(II). *Inorganic Chemistry* **1978**, (17), 3007-3011.

- [43]. Kralingen, C.G.V.; Ridder, J.K.D.; Reedijk, J., Coordination compounds of Pt(II) and Pd(II) with imidazole as a ligand. New synthetic procedures and characterization. *Inorganica Chimica Acta* **1979**, (36), 69-77.
- [44]. Fazakerler, G.V.; Kock, K.R., A ^1H -NMR and ^{13}C -NMR study of some cis-[Pt(NH₃)₂X₂]Y₂ complexes (X= Imidazoles, pyrimidines, 3-substituted pyridines, inosine and guanosine; Y= Cl⁻, ClO₄⁻) in aqueous solutions. *Inorganica Chimica Acta* **1979**, 36, 13-25.
- [45]. Dominia, E.; Varopayev, V.N.; Skvorsov, G.G.; Minakova, S.M.; Černov, B.A., Sintez nrotivopuholevaya aktivnost kompleksnih soyedneny Pt(II), Pt(IV), Pd(IV) S 1-vinilazikami. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* **1985**, (17), 700-703.
- [46]. Massacesi, M.; Pinna, R.; Ponticelli, G.; Puggioni, G., Platinum(IV) chloride complexes with heterocyclic ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1987**, 29, (2), 95-100.
- [47]. Ponticelli, G.; Biddau, M.; Zakharova, A.; Tatjanenko, L.V., Spectroscopic, biological, and antitumor studies on N-ethyl- and N-propylimidazole platinum(II) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1987**, 29, (2), 101-109.
- [48]. Muir, M.M.; Cadiz, M.E.; Baez, A., Synthesis and characterization of new platinum(II) complexes containing thiazole and imidazole donors. *Inorganica Chimica Acta* **1988**, 151, (3), 165-232.
- [49]. Muir, M.M.; Gomez, G.M.; Cadiz, M.E.; Muir, J.A., Synthesis and characterization of new platinum(II) complexes containing thiazole and imidazole donors II. Tribromo(styrylheteroazole)platinate(II) anionic complexes. *Inorganica Chimica Acta* **1990**, 168, 47-57.
- [50]. Muir, M.M.; Cox, O.; Rivera, L.A.; Cadiz, M.E.; Medina, E., Synthesis and characterization of new platinum(II) complexes containing thiazole and imidazole donors III. Dichlorobis(styrylbenzole)platinum(II) complexes. *Inorganica Chimica Acta* **1992**, 191, 131-139.
- [51]. Floris, G.; Padaglia, A.; Ponticelli, G.; Puggioni, G., Platinum(IV) complexes with purine or pyrimidine and imidazole derivatives. *Transition Metal Chemistry* **1992**, 17, (2), 145-146.
- [52]. Bloemink, M.J.; Engelking, H.; Karentzopoulos, S.; Krebs, B.; Reedijk, J., Synthesis crystal structure, antitumor activity, and DNA-binding properties of the new active platinum compound (bis-(N-methylimidazole-2-yl)carbinol)dichloroplatinum(II) lacking a NH moiety, and of the inactive analog dichloro(N 1 ,N1 -dimethyl-2,2'-biimidazole)platinum. *Inorganic Chemistry* **1996**, 35, 619-637.
- [53]. Clement, O.; Roswak, A.W.; Buncel, E., Hydrogen-deuterium exchange studies in platinum(II) complexes of 1-methylimidazole. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118, (3), 612-620.
- [54]. Baranska, H.; Kuduk-Jaworska, J.; Cacciari, S., Raman study of neutral platinumimidazole complexes. *Journal of Raman Spectroscopy* **1997**, 28, (1), 1-8.
- [55]. Saha, B.; Ray, M.; Banerjee, P., Interaction of some azole bases with [Pt(dien)Br]⁺: conductometric and spectrophotometric studies. *Indian Journal of Chemistry* **1999**, 38A, 656-659.
- [56]. Pal, S.; Das, D.; Chattopadhyay, P.; Sinha, C.; Panneerselvam, K.; Lu, T.H., Synthesis, spectral and electrochemical properties of 1-alkyl-2-(naphthyl-β-azo)imidazole complexes of platinum (II) and reaction with pyridine bases. Single-crystal X-ray structure of dichloro- [1-ethyl-2-(naphthyl-β-azo)imidazole]platinum(II). *Polyhedron* **2000**, 19, (10), 1263- 1270.
- [57]. Jolley, J.; Cross, W.I.; Pritchard, R.G.; McAuliffe, C.A.; Nolan, K.B., Synthesis and characterization of mercaptoimidazole, mercaptopyrimidine and mercaptopyridine complexes of platinum(II) and platinum(III). the crystal and molecular structures of 57 tetra(2-mercaptobenzimidazole)-and tetra(2-mercaptoimidazole)platinum(II) chloride. *Inorganica Chimica Acta* **2001**, 315, (1), 36-43.
- [58]. Casas, J.S.; Castineiras, A.; Parajo, Y.; Perez-Paralle, M.L.; Sanchez, A.; Sanchez-Gonzales, A.; Sordo, J., Pd(II) and Pt(II) complexes of 2,2'-biimidazole and its N,N'-dimethyl derivative. The crystal structure of [(PtBr(DMSO))₂(Me₂bim)](Me₂bim=N,N'-dimethyl- 2,2'-biimidazole). *Polyhedron* **2003**, 22, (8), 1113-1121.

- [59]. Huq, F.; Daghriri, H.; Yu, J.Q.; Beale, P.; Fisher, K., Studies on the synthesis and characterization of four trans-planaramineplatinum(II) complexes of the form $\text{transPtL}(\text{NH}_3)\text{Cl}_2$ where L=2-Hydroxypyridine, 3-Hydroxypyridine, imidazole and imidazo(1,2- α)pyridine. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, 39, (8), 691-697.
- [60]. Oziminski, W.P.; Garnuszek, P.; Bednarek, E.; Dobrowolski, J.C., The platinum complexes with histamine: Pt(II)(Hist)Cl_2 , $\text{Pt(II)(Iodo-Hist)}_2\text{Cl}_2$. *Inorganica Chimica Acta* **2007**, 36, (6), 1902- 1914.
- [61]. Taleb, R.I.; Jaramillo, D.; Wheate, N.J.; Aldrich-Wright, J.R., Synthesis of DNA-Sequenceselective hairpin polyamide platinum complexes. *Chemistry: A European Journal* **2007**, 13, (11), 3177-3186.
- [62]. Bakalova, A.; Varbanov, H.; Buyukliev, R.; Momekov, G.; Ferdinandov, D.; Konstantinov, S.; Ivanov, D., Synthesis, characterization and biological activity of Pt(II) and Pt(IV) complexes with 5-methyl-5(4)-pyridyl)-2,4-imidazolidenedione. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, 43, (5), 958-965.
- [63]. Adams, C.J.; Haddow, M.F.; Hughes, R.J.I.; Kurawa, M.A., Orpen, A.G., Coordination chemistry of platinum and palladium in the solid-state: synthesis of imidazole and pyrazole complexes. *Dalton Transactions* **2010**, 39, (15), 3714-3724.
- [64]. Kumbhare, L.B.; Singh, U.; Singh, B.G.; Wadawale, A.; Kedarnath, G.; Zade, S.S.; Priyadarsini, K.I.; Jain, V.K., Methimazole complexes of platinum(II): synthesis, characterization and redox behavior. *Inorganic ChemistryActa* **2011**, 374, (1), 69-78.
- [65]. Ravera, M.; Gabano, E.; Sardi, M.; Ermondi, G.; Caron, G.; McGlinchey, M.J.; MüllerBunz, H.; Monti, E.; Gariboldi, M.; Osella, D., Synthesis, characterization, structure, molecular modeling studies and biological activity of sterically crowded Pt(II) complexes containing bis(imidazole) ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2011**, 105, (3), 400-409.
- [66]. Rimoldi, I.; Facchetti, G.; Lucchini, G.; Castiglioni, E.; Marciano, S.; Ferri, N., In vitro anticancer activity evaluation of new cationic platinum (II) complexes based on imidazole moiety. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2017**, 25, (6), 1907-1913.
- [67]. Khokhar, R. A.; Al-Baker, S.; Shamsuddin, S.; Siddik, H. Z., Chemical and Biological Studies on a Series Novel (*trans*-(1R,2R)-, *trans*-(1S,2S)-, and *cis*-1,2-Diaminocyclohexane)platinum(IV) Carboxylate Complexes. *Journal of Medicinal Chemistry* **1997**, 40, (1), 112-116.
- [68]. Ho, G.Y.; Woodward, N.; Coward, J.I.G., Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **2016**, 102, 37-46.
- [69]. Crul, M.; Waardenburg, R.C.A.M.; Beijnen, J.H.; Schellens, J.H.M., DNA-based drug interaction of cisplatin. *Cancer Treatment Reviews* **2002**, 28, (6), 291-303.
- [70]. Pizaro, A.M.; Sadler, P.J., Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes. *Biochemistry* **2009**, 91, (10), 1198-1211.
- [71]. Perego, P.; Robert, J., Oxaliplatin in the era of personalized medicine: from mechanistic studies to clinical efficacy. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* **2016**, 77, (1), 5-18.
- [72]. Zhang, J.; Lui, D.; Li, Y.; Sun, J.; Wang, L.; Zang, A., Status of non-classical mononuclear platinum anticancer drug development. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2009**, 9, (11), 1357-1366.
- [73]. Shen, D.; Pouliot, L.M.; Hall, M.D.; Gottesman, M.M., Cisplatin resistance: a cellular selfdefense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes. *Pharmacological Reviews* **2012**, 64, (3), 706-721.
- [74]. Fuertes, M.A.; Alonso, C.; Perez, J.M.; Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: Enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. *Chemical Reviews* **2003**, 103, (3), 645-662.
- [75]. Messori, L.; Merlino, A., Cisplatin binding to proteins. A structural perspective. *Coordination Chemistry Reviews* **2016**, 315, 67-89.
- [76]. Lovejoy, K.S.; Todd, R.C.; Zang, S.; McCormick, M.S.; Alejandro, D.; Aquino, J.; Reardon, J.T.; Sancar, A.; Giacomini, K.M.; Lippard, S.J., Cis-diamine (pyridine) chloroplatinum (II), a monofunctional platinum (II) antitumor agent: uptake, structure, function, and prospects. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, 105, (26), 8902-8907.

- [77]. Klein, A.V.; Hambley, T.W., Platinum drug distribution cells and tumors. *Chemical Reviews* **2009**, 109, (10), 4911-4920.
- [78]. Jung, Y.; Lippard, S.J., Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chemical Reviews* **2007**, 107, (5), 1387-1405.
- [79]. Di Pasqua, A.J.; Goodisman, J.; Dabrowiak, J., Understanding how the platinum anticancer drug carboplatin Works: from bottle to the cell. *Inorganic Chimica Acta* **2012**, 389, 29-35.
- [80]. Lovejoy, K.S.; Lippard, S.J., Non-traditional platinum compounds for improved accumulation, oral bioavailability, and tumor targeting. *Dalton Trans* **2009**, 48, 10651- 10659.
- [81]. Vaisman, A.; Lim, S.E.; Patrick, S.M.; Copeland, W.C.; Hinkle, D.C.; Turchi, J.J., Effect of DNA polymerases and high mobility group protein 1 on the carrier ligand specificity for translesion synthesis past platinum-DNA adducts. *Biochemistry* **1999**, 38, (34), 11026-39.
- [82]. He, Q.; Liang, C.H.; Lippard, S.J., Steroid hormones induce HMG1 overexpression and sensitize breast cancer cells to cisplatin and carboplatin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2000**, 97, (11), 5768-5772.
- [83]. Takahara, P.M.; Frederik, C.A.; Lippard, S.J., Crystal structure of the anticancer drug cisplatin bound to duplex DNA. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118, (49), 12309-12321.
- [84]. Vaisman, A.; Lim, S.E.; Patrick, S.M.; Copeland, W.C.; Hinkle, D.C.; Turchi, J.J., Effect of DNA polymerases and high mobility group protein 1 on the carrier ligand specificity for translesion synthesis past platinum-DNA adducts. *Biochemistry* **1999**, 38, (34), 11026-39.
- [85]. Fichtinger-Schepman, A.M.J.; Van der Veer, J.L.; den Hartog, J.H.J., Lohman, P.H.M.; Reedijk, J., Adducts of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) with DNA: Formation identification, and quantitation. *Biochemistry* **1985**, 24, (3), 707-713.
- [86]. Meczes, E.M.; Azim-Araghi, A.; Ottley, C.J.; Pearson, D.G.; Tilby, M.J., Specific adducts recognised by a monoclonal antibody against cisplatin-modified DNA. *Biochemical Pharmacology* **2005**, 70, (12), 1717-1725.
- [87]. Kohno, K.; Uchiumi, T.; Niina, I.; Wakasugi, T.; Igarashi, T.; Momii, Y.; Yoshida, T.; Matsuo, K.; Miyamoto, N.; Izumi, H., Transcription factors and drug resistance. *European Journal of Cancer* **2005**, 41, (16), 2577-2586.
- [88]. Reed, E. Platinum-DNA adduct, nucleotide excision repair and platinum based anti-cancer chemotherapy. *Cancer Treatment Reviews* **1998**, 24, (5), 331-344.
- [89]. Shen, D.W.; Gottesman, M.M., RAB8 enhances TMEM205-mediated cisplatin resistance. *Pharmaceutical Research* **2012**, 29, (3), 643- 650.
- [90]. Shen, D.W.; Pouliot, L.M.; Hall, M.D.; Gottesman, M.M., Cisplatin Resistance: A Cellular Self-Defense Mechanism Resulting from Multiple Epigenetic and Genetic Changes. *Pharmacological Reviews* **2012**, 64, (3), 706 -721.
- [91]. Hall, M.D.; Okabe, M.; Shen, D.W.; Liang, X.J.; Gottesman, M.M., The role of cellular accumulation in determining sensitivity to platinum-based chemotherapy. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **2008**, 48, 495-535.
- [92]. Shen, D.; Pastan, I.; Gottesman, M.M., Cross-resistance to methotrexate and metals in human cisplatin-resistant cell lines results from a pleiotropic defect in accumulation of these compounds associated with reduced plasma membrane binding proteins. *Cancer Research* **1998**, 58, (2), 268 -275.
- [93]. Liang, X.J.; Shen, D.W.; Garfield, S.; Gottesman, M.M., Mislocalization of membrane proteins associated with multidrug resistance in cisplatin-resistant cancer cell lines. *Cancer Research* **2003**, 63, (18), 5909 -5916.
- [94]. Siddik, Z.H., Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene* **2003**, 22, (47), 7265-79.
- [95]. Kuo, M.T.; Chen, H.H.; Song, I.S.; Savaraj, N.; Ishikawa, T., The roles of copper transporters in cisplatin resistance. *Cancer and Metastasis Reviews* **2007**, 26, (1), 71-83.
- [96]. Lin, X.; Okuda, T.; Holzer, A.; Howell, S.B., The copper transporter CTR1 regulates cisplatin uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Pharmacology* **2002**, 62, (5), 1154 - 1159.

- [97]. Holzer, A.K.; Manorek, G.H.; Howell, S.B., Contribution of the major copper influx transporter CTR1 to the cellular accumulation of cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin. *Molecular Pharmacology* **2006**, 70, (4), 1390–1394.
- [98]. Zelcer, N.; Saeki, T.; Reid, G.; Beijnen, J.H.; Borst, P., Characterization of drug transport by the human multidrug resistance protein 3 (ABCC3). *Journal of Biological Chemistry* **2001**, 276, (49), 46400–46407.
- [99]. Filipits, M.; Haddad, V.; Schmid, K.; Huynh, A.; Dunant, A.; André, F.; Brambilla, E.; Stahel, R.; Pignon, J.P.; Soria, J.C., Multidrug resistance proteins do not predict benefit of adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small cell lung cancer: International Adjuvant Lung Cancer Trial Biologic Program. *Clinical Cancer Research* **2007**, 13, (13), 3892–3898.
- [100]. Shen, D.W.; Ma, J.; Okabe, M.; Zhang, G.; Xia, D.; Gottesman, M.M., Elevated expression of TMEM205, a hypothetical membrane protein, is associated with cisplatin resistance. *Journal of Cellular Physiology* **2010**, 225, (3), 822–828.
- [101]. Blair, B.G.; Larson, C.A.; Adams, P.L.; Abada, P.B.; Pesce, C.E.; Safaei, R.; Howell, S.B., Copper transporter 2 regulates endocytosis and controls tumor growth and sensitivity to cisplatin in vivo. *Molecular Pharmacology* **2011**, 79, (1), 157–166.
- [102]. Ishikawa, T.; Ali-Osman, F., Glutathione-associated cisdiamminedichloroplatinum(II) metabolism and ATPdependent efflux from leukemia cells. Molecular characterization of glutathione-platinum complex and its biological significance. *Journal of Biological Chemistry* **1993**, 268, (27), 20116–20125.
- [103]. Byun, S.S.; Kim, S.W.; Choi, H.; Lee, C.; Lee, E., Augmentation of cisplatin sensitivity in cisplatinresistant human bladder cancer cells by modulating glutathione concentrations and glutathione-related enzyme activities. *BJU International* **2005**, 95, (7), 1086–90.
- [104]. Masters, J.R.; Thomas, R.; Hall, A.G.; Hogarth, L.; Matheson, E.C.; Cattani, A.R., Sensitivity of testis tumour cells to chemotherapeutic drugs: role of detoxifying pathways. *European Journal of Cancer* **1996**, 32A, (7), 1248–53.
- [105]. Horton, J.K.; Watson, M.; Stefanick, D.F.; Shaughnessy, D.T.; Taylor, J.A.; Wilson, S.H. XRCC1 and DNA polymerase beta in cellular protection against cytotoxic DNA single-strand breaks. *Cell Research* **2008**, 18, (1), 48–63.
- [106]. Amable, L., Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmaceutical Research* **2016**, 106, 27–36.
- [107]. Ura, K.; Hayes, J.J., Nucleotide excision repair and chromatin remodeling. *European Journal of Biochemistry* **2002**, 269, (9), 2288–2293.
- [108]. Rabik, C.A.; Dolan, M.E., Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treatment Reviews* **2007**, 33, (1), 9–23.
- [109]. Welsh, C.; Day, R.; McGurk, C.; Masters, J.R.; Wood, R.D.; Koberle, B., Reduced levels of XPA, ERCC1 and XPF DNA repair proteins in testis tumor cell lines. *International Journal of Cancer* **2004**, 110, (3), 352–61.
- [110]. Martin, S.A.; Lord, C.J.; Ashworth, A., Therapeutic targeting of the DNA mismatch repair pathway. *Clinical Cancer Research* **2010**, 16, (21), 5107–13.
- [111]. Baretti, M.; Le, D.T., DNA mismatch repair in cancer. *Pharmacology Therapeutics* **2018**, 189, 45–62.
- [112]. Karran, P., Mechanisms of tolerance to DNA damaging therapeutic drugs. *Carcinogenesis* **2001**, 22, (2), 1931–7.
- [113]. Quinet, A.; Lerner, L.K.; Martins, D.J.; Menck, C.F.M., Filling gaps in translesion DNA synthesis in human cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* **2018**, 836, (B), 127–142.
- [114]. Shachar, S.; Ziv, O.; Avkin, S.; Adar, S.; Wittschieben, J.; Reissner, T.; Chaney, S.; Friedberg, E.C.; Wang, Z.; Carell, T.; Geacintov, N.; Livneh, Z., Two-polymerase mechanisms dictate error-free and error-prone translesion DNA synthesis in mammals. *The EMBO Journal* **2009**, 28, (4), 383–93.
- [115]. Ceppi, P.; Novello, S.; Cambieri, A.; Longo, M.; Monica, V.; Lo Iacono, M.; Giaj-Levra, M.; Saviozzi, S.; Volante, M.; Papotti, M.; Scagliotti, G., Polymerase eta mRNA expression predicts

- survival of non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clinical Cancer Research* **2009**, 15, (3), 1039-45.
- [116]. Feltes, B.C., Architects meets Repairers: The interplay between homeobox genes and DNA repair. *DNA Repair* **2019**, 73, 34-48.
- [117] Mohammad, R.M.; Muqbil, I.; Lowe, L.; Yedjou, C.; Hsu, H.; Lin, L.; Siegelin, M.D.; Fimognari, C.; Kumar, N.B.; Dou, Q.P.; Yang, H.; Samadi, A.K.; Russo, G.L.; Spagnulo, C.; Ray, S.K.; Chakrabarti, M.; Morre, J.D.; Coley, H.M.; Honoki, K.; Fujii, H.; Georgakilas, A.G.; Amedei, A.; Niccolai, E.; Amin, A.; Ashraf, S.S.; Helferich, W.G.; Yang, X.; Chen, S.; Mohammed, S.I.; Keith, W.N.; Bilsland, A.; Halicka, D.; Nowsheen, S.; Azmi, A.S., Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer. *Seminars in Cancer Biology* **2015**, 35, 78-103.
- [118]. Cetintas, V.B.; Kucukaslan, A.S.; Kosova, B.; Tetik, A.; Selvi, N.; Cok, G., Cisplatin resistance induced by decreased apoptotic activity in Non Small Cell Lung Cancer cell lines. *Cell Biology International* **2011**, 20, 72-79.
- [119]. Branch, P.; Masson, M.; Aquilina, G.; Bignami, M.; Karran, P., Spontaneous development of drug resistance: mismatch repair and p53 defects in resistance to cisplatin in human tumor cells. *Oncogene* **2000**, 19, (28), 3138-45.
- [120]. Xu, G.W.; Mymryk, J.S.; Cairncross, J.G., Inactivation of p53 sensitizes astrocytic glioma cells to BCNU and temozolomide, but not cisplatin. *Journal of Neuro-Oncology* **2005**, 74, (2), 141-9.
- [121]. Gupta, A.; Shah, K.; Oza, M.J.; Behl, T., Reactivation of p53 gene by MDM2 inhibitors: A novel therapy for cancer treatment. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2019**, 109, 484-492.
- [122]. Chresta, C.M.; Masters, J.R.; Hickman, J.A., Hypersensitivity of human testicular tumors to etoposide-induced apoptosis is associated with functional p53 and a high Bax:Bcl-2 ratio. *Cancer Research* **1996**, 56, (8), 18.
- [123]. Chaney, S.G.; Campbell, S.L.; Bassett, E.; Wu, Y. Recognition and processing of cisplatin- and oxaliplatin-DNA adducts. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **2005**, 53, (1), 3-11.
- [124]. Miller, R.P.; Tadagavadi, R.K.; Ramesh, G.; Reeves, W.B., Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity. *Toxins* **2010**, 2, (11), 2490-2518.
- [125]. Karasawa, T.; Steyger, P.S., An integrated view of cisplatin-induced nephrotoxicity and ototoxicity. *Toxicology Letters* **2015**, 237, (3), 219-227.
- [126]. Dugbartey, G.J.; Peppone, L.J.; Graaf, I.A.M., An integrative view of cisplatin- induced renal and cardiac toxicities: Molecular mechanisms, current treatment challenges and potential protective measures. *Toxicology* **2016**, 371, 58-66.
- [127]. Tanihara, Y.; Masuda, S.; Katsura, T.; and Inui, K., Protective effect of concomitant administration of imatinib on cisplatin-induced nephrotoxicity focusing on renal organic cation transporter OCT2. *Biochemical Pharmacology* **2009**, 78, (9), 1263- 1271.
- [128]. Youn, C.K.; Kim, J.; Jo, E.R.; Oh, J.; Do, N.Y.; Cho, S.I., Protective effect of tempol against cisplatin-induced ototoxicity. *International Journal of Molecular Sciences* **2016**, 17, (11), 1931.
- [129]. Peters, R.C.; Mommersteeg, P.M.; Heijmen, P.S., The electroreceptor organ of the catfish, *Ictalurus melas*, as a model for cisplatin-induced ototoxicity. *Neuroscience* **1999**, 91, (2), 745-51.
- [130]. Dehne, N.; Lautermann, J.; Petrat, F.; Rauen, U.; de Groot, H., Cisplatin ototoxicity: involvement of iron and enhanced formation of superoxide anion radicals. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2001**, 174, (1), 27- 34.
- [131]. Gosepath, K.; Gath, I.; Maurer, J., Characterization of nitric oxide synthase isoforms expressed in different structures of the guinea pig cochlea. *Brain Research* **1997**, 747, (1), 26-33.
- [132]. Maniatis, T.; Fristsh, E.F.; Sambrook, J., *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor: New York, 1989.
- [133]. International Standard, Biological evaluation of medical devices- Part 5 Test for *in vitro* cytotoxicity, <http://nhiso.com/wp-content/uploads/2018/05/ISO-10993-5-2009.pdf> (15.04.2019)
- [134]. Gümüş, F.; İzgü, F.; Algül, Ö., Synthesis and structural characterization of some 5(6)-substituted-2-hydroxymethylbenzimidazole derivatives and their platinum (II) complexes and determination of their *in vitro* antitumor activities by “rec-assay test”. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences* **1996**, 21, (1), 7-15.

- [135]. Gümüş, F.; Algül, Ö., DNA Binding studies with *cis*-dichlorobis (5(6)-non/chlorosubstituted-2-hydroxymethyl-benzimidazole) platinum (II) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1997**, 68, (1), 71-74.
- [136]. Gümüş, F.; Demirci, A.B.; Özden, T.; Eroğlu, H.; Diril, N., Synthesis, characterization and mutagenicity of new *cis*-[Pt(2-substitutedbenzimidazole)₂Cl₂] complexes. *Die Pharmazie* **2003**, 58, (5), 303-307.
- [137]. Gümüş, F.; Pamuk, I.; Özden, T.; Yıldız, S.; Diril, N.; Öksüzoğlu, E.; Gür, S.; Özkul, A., Syntesis, characterization and in vitro cytotoxic, mutagenic and antimicrobial activity of platinum (II) complexes with the substituted benzimidazole ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2003**, 94, (3), 255-262.
- [138]. Gümüş, F.; Algül, Ö., Eren, G.; Eroğlu, H.; Diril, N.; Gür, S.; Özkul, A., Syntesis, cytotoxic activity on MCF-7 cell line and mutagenic activity of platinum(II) complexes with 2-substituted benzimidazole ligands. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, 38, (5), 473-480.
- [139]. Gökçe, M.; Utku, S.; Gür, S.; Özkul, A.; Gümüş, F., Synthesis, in vitro cytotoxic and antiviral activity of *cis*-[Pt(R(-) and S(+)-2- α -Hydroxybenzylbenzimidazole)₂Cl₂] complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, 40, (2), 135-141.
- [140]. Algül, Ö.; Özçelik, B.; Abbasoğlu, U.; Gümüş, F., Synthesis, characterization and genotoxicity of platinum (II) complexes with substituted benzimidazole ligands. *Turkish Journal of Chemistry* **2005**, 29, 607-615.
- [141]. Utku, S.; Gümüş, F.; Gür, S.; Özkul, A., Synthesis and cytotoxic activity of platinum(II) and platinum(IV) complexes with 2-hydroxymethylbenzimidazole or 5(6)-chloro-2-hydroxymethylbenzimidazole ligands against MCF-7 and HeLa cell lines. *Turkish Journal of Chemistry* **2007**, 31, (4), 503-514.
- [142]. Utku, S.; Gümüş, F.; Karaoğlu, T.; Özkul, A.; Cytotoxic activity of platinum(II) and platinum (IV) complexes bearing 5(6)-non/chlorosubstituted-2-hydroxymethyl benzimidazole ligands against Hep-2 cell line. *Journal Faculty of Pharmacy Ankara* **2007**, 36, 21-30.
- [143]. Utku, S.; Karaoğlu, T.; Gümüş, F., In vitro cytotoxic activities of platinum (II) and platinum (IV) complexes bearing benzimidazole ligands. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences* **2008**, 33, 16-21.
- [144]. Gümüş, F.; Eren, G.; Açık, L.; Çelebi, A.; Öztürk, F.; Yılmaz, Ş.; Sağkan, R.I.; Gür, S.; Özkul, A.; Elmalı, A.; Elerman, Y., Synthesis, cytotoxicity and DNA interaction of new cisplatin analogues containing substitutedbenzimidazole ligands. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 52, (5), 1345-1357.
- [145]. Utku, S.; Topal, M.; Döğen, A.; Serin, M.S., Synthesis, characterization, antibacterial and antifungal evaluation of some new platinum (II) complexes of 2-phenylbenzimidazole ligands. *Turkish Journal of Chemistry* **2010**, 34, (3), 427-436.
- [146]. Utku, S.; Gümüş, F.; Tezcan, S.; Serin, M.S.; Ozkul, A., Synthesis, characterization, cytotoxicity and DNA binding of some new platinum(II) and platinum(IV) complexes with benzimidazole ligands. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2010**, 25, (4), 502-508.
- [147]. Eren, G.; Gümüş, F.; Yılmaz, Ş., In vitro cytotoxic activities of platinum (II) complexes containing 2-acetoxymethyl and 2-(2'-hydroxyethyl) benzimidazole ligands. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences* **2011**, 36, (2), 69-73.
- [148]. Özçelik, A.B.; Utku, S.; Gümüş, F.; Çelebi Keskin, A.; Açık, L.; Yılmaz, Ş.; Özgüngör A., Cytotoxicity and DNA interactions of some platinum(II) complexes with substituted benzimidazole ligands. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2012**, 27, (3), 413-418.
- [149]. Utku, S., Özçelik, A.B.; Gümüş, F.; Yılmaz, Ş.; Arsoy, T.; Açık, L.; Çelebi, K. A., Synthesis, in vitro cytotoxic activity amd DNA interactions of new dicarboxylatoplatinum(II) complexes with 2-hydroxymethylbenzimidazole as carrier ligands. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2014**, 66, 1593-1605.

- [150]. Boğatarkan, Ç.; Utku, S.; Açık, L., Synthesis, characterization and Pbr322 plasmid DNA interaction of platinum(II) comoplexes with imidazole and 2-phenylimidazole as carrier ligands. *Revue Roumaine de Chimie* **2015**, 60, (1), 1, 59-64.
- [151]. Özcelik, A.B.; Gümüş, F.; Sagkan, R.I.; Musabak, U., Synthesis of platinum (II) complexes of 2-cycloalkyl-substituted benzimidazoles and their cytotoxic effects. *Journal of Biosciences* **2015**, 70, (9-10), 243-250.
- [152]. Nzeyimana, A.; Utku, S.; Açık, L.; Çelebi Keskin, A., Synthesis, Characterization and DNA Interaction of Novel Platinum(II) Complexes Containing Substituted Benzimidazole Ligands. *Revue Roumaine de Chimie* **2017**, 62, (3), 227-236.
- [153]. Eren, G.; Yilmaz, S.; Gumus, F., In Vitro Cytotoxic Activities of Platinum (II) Complex with 1- Methyl-2-(3'-hydroxypropyl)benzimidazole and 2-(3'-Hydroxypropyl)benzimidazolium Hexa- and Tetrachloroplatinate Salts. *Letters in Drug Design & Discovery* **2018**, 15, (1), 65-69.
- [154]. Gozelle, M.; Suloglu, A.K.; Selmanoglu, G.; Ramazanoglu, L.; Acik, L.; Gumus, F. Studies on the synthesis, characterization, cytotoxic activities and plasmid DNA binding of platinum (II) complexes having 2- subsituted benzimidazole ligands. *Polyhedron* **2019**, 161, (1), 298-308.
- [155]. Eren, G.; Emerce, E.; Acik, L.; Aydin, B.; Gumus, F., A novel Trans- Pt(II) complex bearing 2-acetoxymethylbenzimidazole as a non-leaving ligand (trans- [Pt(AMBI)(₂)Cl₂]): Synthesis, antiproliferative activity, DNA interaction and molecular docking studies compared with its cis isomer (cis-[Pt(AMBI)(₂)Cl₂]). *Journal of Molecular Structure* **2019**, 1184, 512-518.
- [156]. Rabik, C.A.; Dolan, M.E., Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treatment Reviews* **2007**, 33, (1), 9-23.
- [157]. Amo-ocha, P.; Gonzalez, V.M.; Perez, J.M.; Masaguer, J.R.; Alonso, C.; Navarroranniger, N., Cytotoxicity, DNA binding and reactivity against nucleosides of platinum (II) and (IV) spermine compounds. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1996**, 64, (4), 287-299.
- [158]. Kammermeier, T.; Wiegerebe, W., ¹H-NMR and FT-IR-spectroscopic data of 1,3-diphenylpropane-1,3-diamines and their Pt(II) complexes: Stereochemical assignments and binding mode of the non-amine ligands. *Archiv der Pharmazie* **1994**, 327, 697-707.
- [159]. Kritzenberger, J.; Bernhardt, G.; Gust, R.; Pistor, P.; Schonenberger, H.; Yersin, H., Dichlorobis(cycloalkylamine) platinum(II) complexes structure activity relationship on the human MDA-MB-231 breast cancer cell line. *Monatshfte für Chemie* **1993**, 124, (5), 587-604.
- [160]. Winterfield, K.; Lampke, H.; Franzke, H., Sythese von 3,4-dioxo-2-aza-chinolizidin und seinem 2-methyl-derivat. *Liebigs Annalen der Chemie* **1965**, 685, (1), 181-186.
- [161]. Sams, J.R.; Tsin, T.B., Studies of spin crossover in some tris[2-(2'-pyridyl)benzimidazole]iron(II) complexes. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1976**, 0, 488-496.
- [162]. Reeder, K.A.; Dose, E.V.; Wilson, L.J., Solution state spin-equilibrium properties of the tris[2-(2'-pyridyl)benzimidazole]iron(II) and tris[2-(2'-pyridyl)benzimidazole] iron(II) cations. *Inorganic Chemistry* **1978**, 17, (4), 1071-1075.
- [163]. Robinson, S.D.; Shaw, B.L., Cyclopentadienyltrimethyl platinum(IV). *Zeith Naturforche* **1963**, 188, 507.
- [164]. Ranninger, C.N.; Zamora, F.; Martinez-Cruz, L.A.; Isea, R.; Masaguer, J.R., Synthesis and NMR structural analysis of several ortho palladated complexes of substituted benzoimidazole, -oxazole and -thiazole and study of two polymorphic crystals. *Journal of Organometallic Chemistry* **1996**, 518, 29-36.
- [165]. Albinati, A.; Arz, C.; Pregosin, P.S., Synthesis and X- -amino ethers stabilized via metal complexation. *Inorganic Chemistry* **1988**, 27, 2015-2016.
- [166]. Boğatarkan, Ç., İmidazol Türevi Platin Komplekslerinin Sentezlenmesi ve Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 2014.
- [167]. Zhu, G.; Myint, M.; Ang, W.H.; Song, L.; Lippard, S.J., Monofunctional platinum-DNA adducts are strong inhibitors of transcription and substrates for nucleotide excision repair in live mammalian cells. *Cancer Research* **2012**, 72, (3), 790-800.

- [168]. Martin, L.P.; Hamilton, T.C.; Schilder, R.J., Platinum resistance: the role of DNA repair pathways. *Clinical Cancer Research* **2008**, 14, (5), 1291-1295.
- [169]. Navarro, M.; Cisneros-Fajardo, E.J.; Fernandez-Mestre, M.; Arrieché, D.; Marchan, E., Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against *Leishmania mexicana* of $[\text{Cu}(\text{dppz})_2]\text{BF}_4$. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2003**, 97, (4), 364–369.
- [170]. Helling, R.B.; Goodman, H.M., Analysis of endonuclease R-EcoRI fragments of DNA from lambdaoid bacteriophages and other viruses by agarose-gel electrophoresis. *Journal of Virology* **1974**, 14, (5), 1235-44.
- [171]. Kratochwil, N.; Ivanov, A.I.; Patriarca, M.; Parkinson, J.A.; Gouldsworthy, A.M.; Murdoch, P.S.; Sadler, P.J., Surprising reactions of iodo Pt(IV) and Pt(II) complexes with human albumin: detection of cys34 sulfenic acid. *Journal of the Chemical Society* **1999**, 121, (36), 8193-8203.
- [171]. Burgeson, I.E.; Kostic, N.M., Selective hydrolysis of unactivated peptide bonds, promoted by platinum (II) complexes anchored to amino acid side chains. *Inorganic Chemistry* **1991**, 30, (23), 4299-4305.
- [172]. Basolo, F.; Gray, H.B.; Pearson, R.G., Mechanism of substitution reactions of complexes ions. XVII.¹ Rates of reaction of platinum (II) and palladium (II) complexes with pyridine. *Journal of the American Chemical Society* **1960**, 82, (16), 4200-4203.
- [173]. Berger, I.; Nazarov, A.A.; Hartinger, C.G.; Groessel, M.; Valiahdi, S.M.; Jakupec, M.A.; Keppler, B.K., A glucose derivative as natural alternative to the cyclohexane-1,2-diamine ligand in the anticancer drug oxaliplatin? *Chemical Medicine Chemistry* **2007**, 2, (4), 505-514.
- [174]. Messori, L.; Cubo, L.; Gabbiani, C.; Alvarez-Valdes, A.; Michelucci, E.; Pieraccini, G.; Rios-Luci, C.; Leon, L.G.; Padron, J.M.; Navarro-Runniger, C.; Casini, A.; Quiroga, A.G., Reactivity and biological properties of a series of cytotoxic $\text{PtI}_2(\text{amine})_2$ complexes, either cis or trans configured. *Inorganic Chemistry* **2012**, 51, (3), 1717-1726.
- [175]. Talman, E.G.; Brüning, W.; Reedijk, J.; Spek, A.L.; Veldman, N., Crystal and molecular structures of asymmetric cis- and trans-platinum (II/V) compounds and their reactions with DNA fragments. *Inorganic Chemistry* **1997**, 36, (5), 854-861.
- [176]. Messori, L.; Casini, A.; Gabbiani, C.; Michelucci, E.; Cubo, L.; Rios-Luci, C.; Padron, J.M.; Navarro-Runniger, C.; Quiroga, A.G., Cytotoxic profile and peculiar reactivity with biomolecules of a novel “rule-breaker”iodidoplatinum (II) complex. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2010**, 1, (8), 381-385.
- [177]. Parro, T.; Medrano, M.A.; Cubo, L.; Muñoz-Galván, S.; Carnero, A.; Navarro-Runniger, C.; Quiroga, A.G., These generation of iodo complexes: trans- $[\text{PtI}_2(\text{amino})(\text{amine})]$ bearing different aliphatic amines. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2013**, 127, 182-187.
- [178]. Savić, A.; Filipović, L.; Arandelović, S.; Dojčinović, B.; Radulović, S.; Sabo, T.J.; Grgurić-Sipka, Synthesis, characterization and cytotoxic activity of novel platinum (II) iodo complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 82, 372-384.
- [179]. Starha, P.; Vanco, J.; Travnicek, Z., Platinum iodo complexes: A comprehensive overview of anticancer activity and mechanisms of action. *Coordination Chemistry Reviews* **2019**, 380, 103-135.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ecz. Özge ERYİĞİT

Doğum Tarihi : 13.06.1991

E-mail : ecz.ozgeeryigit@gmail.com

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Eczacılık Fakültesi	Mersin Üniversitesi	2009-2014
Yüksek Lisans	Farmasötik Kimya	Mersin Üniversitesi	2015-

Görevler :

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
Eczacı	Özel Mersin Akademi Hastanesi Eczanesi	2015-2016
	Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastane Eczanesi	2016-