



**AMİNOASİT SCHİFF BAZI İLE FENANTROLİN  
TÜREVİ İÇEREN BAKIR(II) KOMPLEKSLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Büşra GÜLTEKİN**



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AMİNOASİT SCHİFF BAZI İLE FENANTROLİN TÜREVİ İÇEREN BAKIR(II)  
KOMPLEKSLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Büşra GÜLTEKİN  
0009-0009-8425-2144

Prof. Dr. Rahmiye AYDIN  
0000-0003-4944-0181  
(Danışman)

Doç. Dr. Duygu İNCİ ÖZBAĞCI  
0000-0002-0483-9642  
(İkinci Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA – 2023  
Her Hakkı Saklıdır

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### AMİNOASİT SCHİFF BAZI İLE FENANTROLİN TÜREVİ İÇEREN BAKIR(II) KOMPLEKSLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Büşra GÜLTEKİN**

Bursa Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Rahmiye AYDIN

**2. Danışman:** Doç. Dr. Duygu İNCİ ÖZBAĞCI (Bursa Uludağ Üniversitesi)

Bu tez çalışmasında, bakır(II) iyonunun amino asit Schiff bazı ligandı içeren komplekslerini sentezlemek için, aminoasitlerden L-triptofan, salisilaldehit türevlerinden 5-klorosalisilaldehit ve 3,5-diklorosalisilaldehit ve ayrıca nötral ligant olarak 1,10-fenantrolin seçildi.

Tezin ilk aşamasında; bakır(II) iyonunun triptofan Schiff bazları ve 1,10-fenantrolin içeren ikili ve karışık ligant kompleksleri sentezlendi. L-triptofan ve 5-klorosalisilaldehitten/3,5-diklorosalisilaldehitten türeyen triptofan Schiff bazı ligandları; kompleks sentezi sırasında çözelti ortamında oluşturuldu. Sentezlenen komplekslerin yapıları ve özellikleri; elementel analiz, IR spektroskopisi, tek kristal X-ışını kırınımı, elektronik absorpsiyon spektroskopisi ve termik analiz yöntemleri ile belirlendi.

Tezin ikinci aşamasında ise; sentezlenen komplekslerin biyolojik aktivite çalışmaları yapıldı. Komplekslerin buzağı timüsü DNA'sı olan CT-DNA ile etkileşimleri termal denatürasyon, elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi yöntemleri ile araştırıldı. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma sabitleri hesaplandı. Komplekslerin DPPH radikal süpürme ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali yakalama aktiviteleri standart olarak kullanılan askorbik asit, trolox ve BHT ile karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Komplekslerin antikanser aktiviteleri ise; MCF-7 ve MDA-MB-231 insan meme kanser hücre hatlarında kemoterapik ilaç olan *cis*-Platin ve Paklitaksel ile karşılaştırmalı olarak belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Amino asit Schiff bazları, 5-klorosalisilaldehit, 3,5-diklorosalisilaldehit, triptofan, 1,10-fenantrolin, Cu(II)

**2023, xv + 73 sayfa.**

## ABSTRACT

MSc Thesis

### INVESTIGATION OF COPPER(II) COMPLEXES CONTAINING AMINO ACID SCHIFF BASE AND PHENANTHROLINE DERIVATIVE

**Büşra GÜLTEKİN**

Bursa Uludag University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

**Supervisor:** Prof. Dr. Rahmiye AYDIN

**2<sup>nd</sup> Supervisor:** Doç. Dr. Duygu İNCİ ÖZBAĞCI (Bursa Uludag University)

In this thesis, to synthesize copper(II) ion complexes containing amino acid Schiff base ligand, amino acids L-tryptophan, salicylaldehyde derivatives 5-chlorosalicylaldehyde / 3,5-dichlorosalicylaldehyde and 1,10-phenanthroline as neutral ligand were selected.

In the first part of the thesis; binary and mixed ligand complexes of copper(II) ion containing tryptophan Schiff bases and 1,10-phenanthroline were synthesized. tryptophan Schiff base ligands derived from L-tryptophan and 5-chlorosalicylaldehyde / 3,5-dichlorosalicylaldehyde; formed in the solution during complex synthesis. Structures and properties of synthesized complexes; determined by elemental analysis, IR spectroscopy, single crystal X-ray diffraction, electronic absorption spectroscopy and thermal analysis methods.

In the second part of the thesis; biological activity studies of the synthesized complexes were carried out. The interactions of the complexes with calf thymus DNA (CT-DNA) were investigated by thermal denaturation, electronic absorption and fluorescence spectroscopy methods. The binding constants of the complexes to CT-DNA were calculated. DPPH radical scavenging and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical scavenging activities of the complexes were investigated in comparison with standard ascorbic acid, trolox and BHT. The anticancer activities of the complexes were determined in comparison with cis-Platinum and Paclitaxel, which are chemotherapeutic drugs in MCF-7 and MDA-MB-231 human breast cancer cell lines.

**Key words:** Amino acid Schiff bases, 5-chlorosalicylaldehyde, 3,5-dichlorosalicylaldehyde, tryptophan, 1,10-phenanthroline, Cu(II)

**2023, xv + 73 pages.**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamın planlanması, araştırılması ve yürütülmesinde tüm deneysel çalışmalarım sırasında beni bilgi ve önerileri ile yönlendiren, benden hiçbir yardım ve katkıyı esirgemeyip her zaman yanımda olup bu zor yolda beni hiç bırakmayan değerli danışman hocam Prof. Dr. Rahmiye AYDIN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tanıştığımız ilk günden beri tüm çalışmalarımdaya yanımda olup bilgi, destek ve tecrübelerini benimle paylaşıp her türlü moral ve motivasyon konusunda yanımda olup beni yalnız bırakmayan değerli yardımcı danışman hocam Doç. Dr. Duygu İNCİ ÖZBAĞCI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez kapsamında elde edilen kristallerinin sitotoksikite çalışmalarımı katkı sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde BUMKAL Laboratuvarından değerli hocam Prof. Dr. Ferda ARI'ya teşekkür ederim.

Tez kapsamında elde edilen kristallerin tek kristal X-ışını analizlerine katkı sağlayan Gebze Teknik Üniversitesi'nde Gebze Lab Laboratuvarından değerli hocam Prof. Dr. Yunus ZORLU'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmamaya sağladığı maddi destekten dolayı FYL-2022-912 nolu BAP projesine teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim hayatımda olduğu gibi bu zorlu süreçte de her zaman gösterdikleri anlayış, maddi ve manevi tüm destekleri ile çalışmamın her aşamasında benim yanımda durup en değerli varlığım olan canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Büşra GÜLTEKİN  
22/06/2023

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	3
2.1. Schiff Bazları .....	3
2.1.1. Schiff Bazları ve Genel Özellikleri.....	3
2.1.2. Schiff Bazlarının Sınıflandırılması .....	5
2.1.3. Amino Asit Schiff Bazları ve Metal Kompleksleri.....	5
2.2. Amino Asitler.....	6
2.2.1. Amino Asitlerin Genel Özellikleri.....	7
2.2.2. Amino Asitleri Sınıflandırma.....	8
2.2.3. Standart Amino Asitler .....	9
2.2.4. Standart Amino Asitlerin Sınıflandırılması .....	9
2.2.4.1. Polar Olmayan Alifatik Yan Zincir İçeren Amino Asitler.....	10
2.2.4.2. Aromatik Yan Zincir İçeren Amino Asitler.....	10
2.2.4.3. Polar Olan Yüksüz Yan Zincir İçeren Amino Asitler.....	11
2.2.4.4. Pozitif yüklü yan zincirli amino asitler .....	12
2.2.4.5. Negatif Yüklü Yan Zincirli Amino Asitler .....	12
2.2.5. Standart Olmayan Amino Asitler.....	13
2.3. DNA ve Nükleik Asitler.....	13
2.3.1 Nükleik Asitler .....	13
2.3.2. DNA .....	16
2.3.3. Metal Komplekslerinin DNA ile Etkileşimleri .....	17
2.3.3.1. Kovalent Bağlanma.....	17
2.3.3.2. Kovalent Olmayan Bağlanma .....	18
2.3.3.2.1. Elektrostatik Bağlanma .....	18
2.3.3.2.2. İnterkalasyon ile Bağlanma.....	19
2.3.3.2.3. Minor ve Major Oluk Bağlanma .....	20
2.3.4. Metal Kompleksi İçeren İlaçlar.....	21
2.4. Termal Denatürasyon .....	22
2.5. Çalışmada Kullanılan Metal ve Ligandlar .....	23
2.5.1. Bakır(II) Metal İyonu.....	23
2.5.2. Amino Asit Schiff Bazları.....	23
2.5.2.1. Triptofan.....	23
2.5.2.2. 5-klorosalisilaldehit ve 3,5-diklorosalisilaldehit.....	24
2.5.3. 1,10-fenantrolin.....	25
2.6. Literatür Çalışması.....	25
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	34
3.1. Materyal .....	34
3.2. Komplekslerin Sentez ve Karakterizasyonu .....	35
3.2.1. İkili Kompleksin Sentezi.....	35
3.2.2. Karışık Ligant Komplekslerinin Sentezi.....	35
3.3. Kullanılan Cihazlar .....	36

3.4. Tek kristal X-ışını Kırınım Yöntemi Analizleri.....	37
3.5. DNA Etkileşimlerinin Araştırılması .....	37
3.5.1. Çözeltilerin Hazırlanması.....	37
3.5.2. Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi Yöntemi.....	38
3.5.3. Floresans Spektroskopisi Yöntemi.....	39
3.5.4. Termal Denatürasyon Yöntemi .....	40
3.5.5. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler.....	41
3.5.5.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi.....	41
3.5.5.2. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Radikali Yakalama Aktivite Yöntemi .....	42
3.5.6. Termik Analiz .....	42
3.5.7. Kullanılan Hücre Hatları ve Hücre Kültürü .....	42
3.5.7.1. SRB Canlılık testi.....	43
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	44
4.1. Fiziksel Özellikler .....	44
4.2. Elementel Analiz.....	44
4.3. Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi.....	45
4.4. İnfrared (IR) Çalışmaları.....	47
4.4.1. İkili Kompleksin İnfrared Sonuçları .....	47
4.4.2. Karışık Ligandlı Kompleksler Sonuçları .....	47
4.5. Termik Analiz Çalışmaları.....	49
4.6. Tek Kristal X-ışını Kırınım Çalışmaları .....	52
4.6.1. [Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ], [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH ve [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] Komplekslerinin Kristalografik Analizleri .....	53
4.7. DNA Etkileşimlerinin Araştırılması .....	56
4.7.1. Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi Yöntemi.....	56
4.7.2. Floresans Spektroskopisi Yöntemi.....	59
4.7.3. Termal Denatürasyon Çalışması .....	61
4.8. Antioksidan Kapasite Çalışmaları.....	63
4.8.1. DPPH Radikal Süpürme ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Radikali Yakalama Aktiviteleri Çalışması.....	63
4.9. Sitotoksosite Çalışmaları.....	64
KAYNAKLAR .....	68
ÖZGEÇMİŞ .....	73

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
W	Triptofan
$f_x$	Aktivite katsayısı
$K_f$	Toplam kararlılık sabiti
$K_{app}$	Bağlanma sabitleri
$\mu$	İyonik şiddet
$\tau_5$	Tau parametresi
$a_x$	Aktivite
A	Absorbans
I	Işık şiddeti
$\epsilon$	Molar sönüm katsayısı
Å	Angström
%T	Yüzde geçirgenlik
°C	Santigrat derece
Cu	Bakır
A	Adenin
G	Guanin
T	Timin
C	Sitozin
$K_{sv}$	Stern-Volmer sabiti

Kısaltmalar	Açıklama
DMSO	Dimetil sülfoksit
CT-DNA	Calf thymus DNA (buzağı timüsü)
Phen	1,10-fenantrolin
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
IR	Kızıl ötesi
Dpa	Di(2-piridilmetil)amin
Dpq	Dipirido[3,2:2',3'-f]kinokzalin
Dppz	Dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazin
ATP	Adenozin-5'-trifosfat
DTPA	Dietilentriamin pentaasetik asit
IC <sub>50</sub>	%50 inhibisyon değeri
EB	Etidyum bromür
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
HCl	Hidroklorik asit
KOH	Potasyum hidroksit
CH <sub>3</sub> I	Metil iyodür
Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Dimetil sülfat

NH <sub>3</sub>	Amonyak
H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>	Hidronyum ionu
Ph	Potansiyel hidrojen
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
Tris	Tris(hidroksimetil) aminometan



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Schiff bazları genel gösterimi ( $R^1$ , $R^2$ , $R^3$ ; aril ya da alkil grupları)	3
Şekil 2.2. Schiff bazı genel tepkime mekanizması .....	4
Şekil 2.3. Amino asit Schiff bazlarının oluşumu için genel tepkime mekanizması.....	5
Şekil 2.4. Amino asit genel yapısı.....	6
Şekil 2.5. Peptit bağ oluşumunun şematik gösterimi.....	7
Şekil 2.6. Polipeptit zincir oluşumu genel gösterimi.....	7
Şekil 2.7. Polar olmayan alifatik yan zincir içeren amino asitlerin gösterimi.....	11
Şekil 2.8. Aromatik yan zincir içeren amino asitlerin gösterimi .....	11
Şekil 2.9. Polar olan yüksüz yan zincir içeren amino asitlerin gösterim .....	11
Şekil 2.10. Pozitif yüklü yan zincir içeren amino asitlerin gösterimi .....	12
Şekil 2.11. Negatif yüklü yan zincir içeren amino asitlerin gösterimi.....	12
Şekil 2.12. Sırası ile a) 4-Hidroksiprolin, b) 5-Hidroksilizin ve c) 6-N-metillizin'in yapıları .....	13
Şekil 2.13. Nükleotit yapısının genel gösterimi.....	14
Şekil 2.14. Nükleik asitteki bağ oluşumu .....	15
Şekil 2.15. RNA ve DNA yapısı .....	16
Şekil 2.16. DNA-Gen ilişkisinin şematik gösterimi .....	16
Şekil 2.17. cis-platinin N7 azot atomu ile guanin bazı üzerinden DNA'ya bağlanması.....	18
Şekil 2.18. Elektrostatik bağlanma.....	19
Şekil 2.19. Etidyum bromür'ün molekül yapısı.....	20
Şekil 2.20. DNA yapısındaki minor ve major oluklar.....	21
Şekil 2.21. Triptofan amino asidi kimyasal yapısı.....	24
Şekil 2.22. Sırası ile a) 5-klorosalisilaldehit ve b) 3,5-diklorosalisilaldehit yapıları.....	25
Şekil 2.23. 1,10-fenantrolin'in molekül yapısı.....	25
Şekil 3.1. İkili kompleksin sentez şeması.....	36
Şekil 3.2. Karışık ligant komplekslerinin sentez şeması.....	36
Şekil 3.3. Kompleks+DNA çözeltilerinin elektronik absorpsiyon spektrumundaki değişimler.....	40
Şekil 4.1. a) [Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ], b) [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH ve c) [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] ve komplekslerine ait elektronik absorpsiyon spektrumları.....	48
Şekil 4.2. [Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] kompleksinin IRspektrumu.....	50
Şekil 4.3. [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH kompleksinin IRspektrumu.....	50
Şekil 4.4. [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] kompleksinin IR spektrumu.....	51
Şekil 4.5. [Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] kompleksinin TGA/DSC grafiği.....	52
Şekil 4.6. [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH kompleksinin TGA/DSC grafiği	52
Şekil 4.7. [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] kompleksinin TGA/DSC grafiği.....	53
Şekil 4.8. [Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] (kompleks 1), [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH (kompleks 2) ve [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] (kompleks 3) kristal yapılarının ORTEP gösterimi. Elipsoidler %30 olasılık seviyesinde gösterilmiştir .....	56

Şekil 4.9.	[Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] (kompleks 1), [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH (kompleks 2) ve [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] (kompleks 3) kristal paketlenmelerinin gösterimi.....	56
Şekil 4.10.	Kompleks ve CT-DNA içeren çözeltilerin absorpsiyon spektrumları; a) [Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ], b) [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH ve c) Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)].....	60
Şekil 4.11.	) [Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ], b) [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH ve c) [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] ve komplekslerine ait EB+CT-DNA ile etkileşiminin floresans spektrumları.....	62
Şekil 4.12.	CT-DNA, EB+CT-DNA ve kompleks+CT-DNA çözeltilerinin termal denatürasyon eğrileri ([CT-DNA]=50 µM, [EB]=[Kompleks]=10 µM) .....	65
Şekil 4.13.	Sentezlenen Cu(II) komplekslerin, paklitakselin ve <i>cis</i> -Platinin IC <sub>50</sub> değerleri .....	65

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. Amino asitlerin adları, kısaltmaları ve simgeleri.....	9
Çizelge 3.1. Kullanılan Ligandlar ve kimyasal formülleri.....	34
Çizelge 4.1. Komplekslerin renk ve molekül kütleleri.....	44
Çizelge 4.2. Komplekslerin elementel analiz sonuçları.....	44
Çizelge 4.3. Komplekslerin elektronik absorpsiyon spektroskopisi analiz sonuçları.....	45
Çizelge 4.4. Komplekslerin gerilme ve eğilme titreşimlerine ait frekans değerleri.....	49
Çizelge 4.5. [Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] (1), [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH (2) ve [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] (3) bileşiklerine ait kristal veri parametreleri.....	52
Çizelge 4.6. Cu(5-ClSal-Trp)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] (1) kompleksinin bağ uzunlukları ve bağ açıları değerleri.....	55
Çizelge 4.7. [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH kompleksinin bağ uzunlukları ve bağ açıları değerleri.....	55
Çizelge 4.8. [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] kompleksinin bağ uzunlukları ve bağ açıları değerleri.....	56
Çizelge 4.9. Kompleks+CT-DNA çözeltilerine ait bağlanma sabiti (K <sub>b</sub> ve logK <sub>b</sub> ), λ <sub>max</sub> ve % hipokromizm değerleri.....	58
Çizelge 4.10. EB + CT-DNA + Kompleks içeren çözeltilere ait K <sub>sv</sub> ve K <sub>app</sub> değerleri.....	60
Çizelge 4.11. CT-DNA, EB+CT-DNA ve kompleks+CT-DNA çözeltilerinin T <sub>m</sub> ve ΔT <sub>m</sub> değerleri.....	61
Çizelge 4.12. Kompleksler ve standart antioksidanlar için elde edilen DPPH radikali süpürme ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> radikali yakalama aktivitelerinin IC <sub>50</sub> değerleri.....	63
Çizelge 4.13. Sentezlenen Cu(II) komplekslerin, paklitakselin ve <i>cis</i> -Platinin IC <sub>50</sub> değerleri.....	65

## 1. GİRİŞ

Koordinasyon kimyası, anorganik kimya için çok önemli ve sürekli gelişmekte olan bir alandır. Koordinasyon bileşikleri yapılarında içerdikleri çeşitli metal atomları ve ligandlar ile farklı kimyasal ve fiziksel özellikleri sayesinde geniş bir araştırma alanına sahiptir. Schiff bazları ise koordinasyon kimyasında sıkça kullanılan ligandlardandır. İlk olarak 1860'lı yıllarda Alman bir kimyager olan *Hugo Schiff* tarafından keşfedilen Schiff bazları *Pfeiffer* tarafından ligant olarak kullanılmıştır (Schiff H. 1869). Aldehit veya ketonların aminler ile tepkimelerinden elde edilen ve yapılarında azometin ( $-C=N$ ) grubu bulunduran bu bileşikler Schiff bazları olarak bilinirler. Schiff bazları çok dişli ligant davranışı göstererek metal iyonları ile koordinasyon bileşiği oluştururlar. Bazı Schiff bazları ve Schiff bazı içeren metal komplekslerinin sahip olduğu antimikrobiyal, antifungal ve antikanser özellikleri nedeniyle, bu bileşiklerin önemi gün geçtikçe daha da artarak ilerlemektedir.

Aromatik halkada halo atom bulunduran salisilaldehit türevlerinin antibakteriyel ve antifungal etkilerinin olumlu sonuçlar verdiği 1947 yılında yapılan çalışmada araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Felton L.C. 1947). Shi ve ark. 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada ise; 5-klorosalisilaldetten türeyen Schiff bazlarının antibakteriyel ve antifungal etkilerini araştırmışlar ve rapor halinde sunmuşlardır. (Shi L. ve ark. 2007). Ayrıca, aminoasit Schiff bazlarından oluşan metal komplekslerinin pek çok farklı alana konu olduğu, özellikle radyoaktif izleyici madde olarak nükleer tıpta, antibakteriyel ve anti kanser aktivitelerinden dolayı farklı hastalıklarda kullanıldığı rapor edilmiştir (Kong, D. ve ark. 1998). Yeni biyolojik aktif metal komplekslerinin yapılarının aydınlatılmasında ve DNA etkileşimlerinin araştırılmasında çeşitli kimyasal ve analitik yöntemler kullanılmaktadır.

Yapılan araştırmalar değerlendirildiğinde; bu tez çalışmasında redoks aktif metal olan bakır(II) iyonu, ligandlardan birincisi amino asit Schiff bazları ve diğeri ise 1,10-fenantrolin seçilmiş ve ikili/karışık ligant komplekslerinin sentezlenmesi hedeflenmiştir. Amino asit Schiff bazları; biyoaktif salisilaldehit türevlerinden 5-klorosalisilaldehit ve 3,5-diklorosalisilaldehit ile L-triptofan amino asidinden türeyen anyonik ligandlardır.

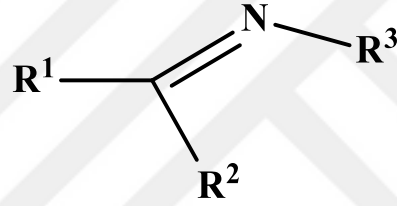
İkinci olarak, biyoaktif ligandlardan sentezlenen bakır(II) ikili/karışık ligant komplekslerinin DNA ile etkileşimlerinin, antioksidan ve antikanser aktivitelerinin araştırılması hedeflenmiştir.



## 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Schiff Bazları

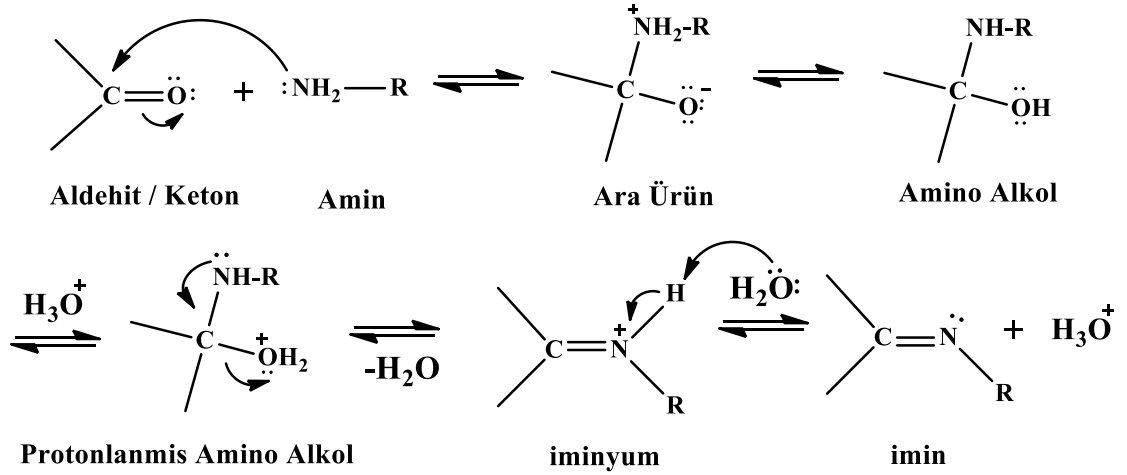
İlk olarak 1860'lı yıllarda Alman bir kimyager olan *Hugo Schiff* tarafından keşfedilen Schiff bazları(iminler ya da azometinler); uygun bir ortamda aldehit veya ketonların aminler ile tepkimelerinden elde edilen, yapılarında azometin grubu (-C=N) bulunduran bileşikler olarak bilinmektedir. Keşfinden yaklaşık 70 yıl kadar sonra; Schiff bazları *Pfeiffer* tarafından ligant olarak kullanılmıştır (Turan N. 2003). Schiff bazları iyi azot vericisi olan bir liganttır. Schiff bazlarının önemli kimyasal ve biyolojik özellikler göstermesi sebebi ile metal komplekslerinin sentezindeki yeri giderek artmaktadır (Li ve ark. 2015).



Şekil 2.1. Schiff bazları genel gösterimi ( $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ; aril ya da alkil grupları)

#### 2.1.1. Schiff Bazları ve Genel Özellikleri

Schiff bazları, iki basamaklı tepkime mekanizması ile meydana gelmektedir. İlk olarak; nükleofilik özellikli olan amin grubu aldehit ya da ketonda bulunan karbonil karbonuna katılır ve ara ürün oluşturur. Daha sonra molekül içinden N atomundan O atomuna proton aktarımı sağlanır ve amino alkol grubu oluşur. Son olarak ise; O atomunun protonlanması ile bir molekül su ortamdan uzaklaşarak iminyum iyonu meydana gelir. İminyum iyonundaki protonun suya aktarılması ile ana ürün olan imin ve hidronyum iyonu meydana gelerek tepkime tamamlanır.



**Şekil 2.2.** Schiff bazı genel tepkime mekanizması

Tepkime mekanizmasında pH değerinin dengesi çok önemlidir. Eğer hidronyum iyon derişimi çok yüksek veya çok düşük ise; tepkime çok yavaş gerçekleşir. Çünkü; H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> derişimi çok yüksek olduğunda amin grubu kendisini protonlar, ilk basamakta gerçekleşmesi gereken tepkime gerçekleşemez ve bu durumda nükleofil derişimi azalmış olur. Tam tersine düşük H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> derişiminde ise; protonlanmış amino alkol derişimi azalır. Bu nedenle; tepkimenin gerçekleşmesi için genellikle pH değerlerinin 4 – 5 aralığında olması gerekmektedir (Uyar, 1998, Solomons, 2002).

Schiff bazlarının en önemli ve belirgin özelliği; yapısında bulundurduğu azometin/imin azotu olarak adlandırılan azot atomunun yaptığı bağlardır. Schiff bazlarının koordinasyon bileşigi oluştururken metale öncelikli olarak bağlanma noktası; azometin grubunun azot atomudur. Azometin grubunun  $\pi$  orbitalleri; geri bağlanma yapan d-metal iyonlarına bağlanmada rol alırlar. Buna ek olarak; Schiff bazları azometin grubuna yakın komşuluğu olan fenolik gruplar ile de merkez metaline bağlanarak çok dişli ligant davranışı göstererek şelat halkası (5 üyeli veya 6 üyeli halka) oluşturabilirler. Böylece, şelat halkası içeren Schiff bazı metal kompleksleri yüksek kararlılık gösterirler. Schiff bazlarını içeren metal komplekslerinin geometrik yapısını içerdiği metal iyonu ve ligandlar belirler.

Aldehit/keton ve amin türevlerinden pek çok yeni Schiff bazı elde edilebilir. Kolay tepkime verebilen Schiff bazlarının katılma, hidroliz, indirgenme-yükseltgenme ve tuz oluşumu gibi pek çok farklı tepkimeleri vardır. Uygun koşullar sağlandığında; kolay

tepkime verebilen Schiff bazları çoğunlukla kararlı bileşikler oluştururlar. Bu nedenle; Schiff bazları pek çok farklı kullanım alanına konu olmuştur (Snell E. ve ark. 1966).

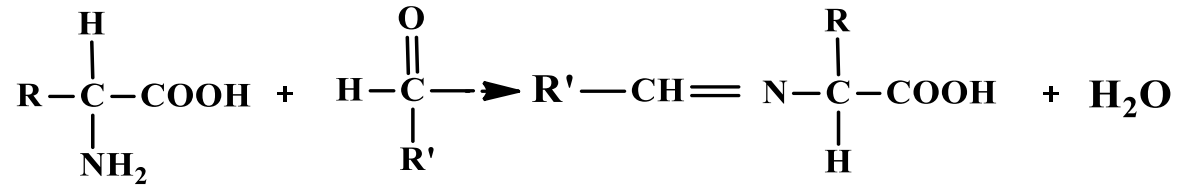
Ayrıca; Schiff bazı metal kompleksleri biyolojik olayları katalizleyen tepkimelerin incelenmesinde, radyoaktif izleyici madde olarak nükleer tıpta, antibakteriyel ve anti kanser aktivitelerinden dolayı tedavi amaçlı kullanılabileceği çeşitli araştırmalarda belirtilmektedir (Metzler, D.E. ve ark.1954, Reddy P. ve ark. 2011 ve Kong, D. ve ark. 1998).

### 2.1.2. Schiff Bazlarının Sınıflandırılması

Bugüne kadar yapılan pek çok çalışmada farklı türde ve özellikte yeni Schiff bazları sentezlenmiştir. Sentezlenen Schiff bazları; kendisini oluşturan moleküllerde bulunan N, O ve S gibi verici atomların sayesinde farklı türlerde oluşmuş çok uçlu ligandlardır. Schiff bazları; tek dişli, çift dişli, üç dişli, dört dişli ve altı dişli ligant olarak sınıflandırılabilirdiği gibi verici atomları ile NO, ONO, ONN, NNN, ONNO, N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> ve NNNN şeklinde de gösterilebilirler. Schiff bazları farklı bağlanma biçimleri ile metal iyonlarına bağlanarak pek çok metal kompleksi oluşturabilirler (Karahan A. 2012, Rehman W. ve ark. 2004).

### 2.1.3. Amino Asit Schiff Bazları ve Metal Kompleksleri

Aminoasitler ile aldehitlerin tepkimeleri sonucunda amino asit Schiff bazları meydana gelmektedir (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3.** Amino asit Schiff bazlarının oluşumu için genel tepkime mekanizması

Amino asit Schiff bazlarının sentezinde salisilaldehit yaygın olarak kullanılmakta olup, hem yapısal hem de kimyasal özellikleri nedeniyle, amino asit Schiff bazı araştırmalarında çok önemli rol oynamaktadır (Ikawa, M ve ark., 1954). Ligandlar,

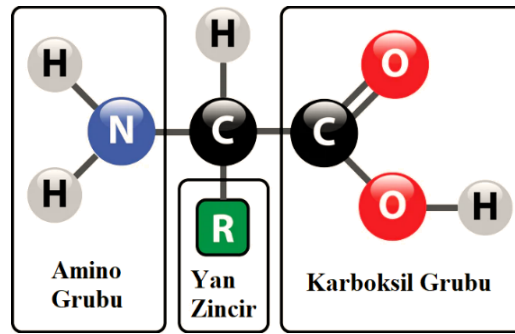
merkez metaline elektron çifti verebilen gruplardır. Bu nedenle; Lewis bazları olarak adlandırılırlar. Amino asit Schiff bazları da yapılarında bulunan N, O ve S atomları üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftini merkez metaline vererek Lewis bazları gibi bazik özellik gösterirler. Schiff bazlarında yaygın olarak görülen çok uçlu ligant davranışı; amino asit Schiff bazlarında da görülmektedir.

Yapılan araştırmalarda Schiff bazları, potasyum tuzları olarak sentezlenmiş ve saklanmıştır. Literatürde; piridin, salisilaldehit, naftaldehit ve bu yapıların türevleri ile sentezlenen Schiff bazlarının sayısı oldukça fazladır (Sarı N. 1999).

Ayrıca; 1900'lü yıllardan sonra amino asit Schiff bazları ve onların oluşturduğu metal kompleksleri ile ilgili araştırma ve çalışmaların sayısı önemli ölçüde artmıştır. Amino asit Schiff bazı metal komplekslerinin pek çok biyolojik olayda önemli rolü olduğu yapılan çalışmalar ile rapor edilmiştir (Du Prezz ve ark. 1984).

## 2.2. Amino Asitler

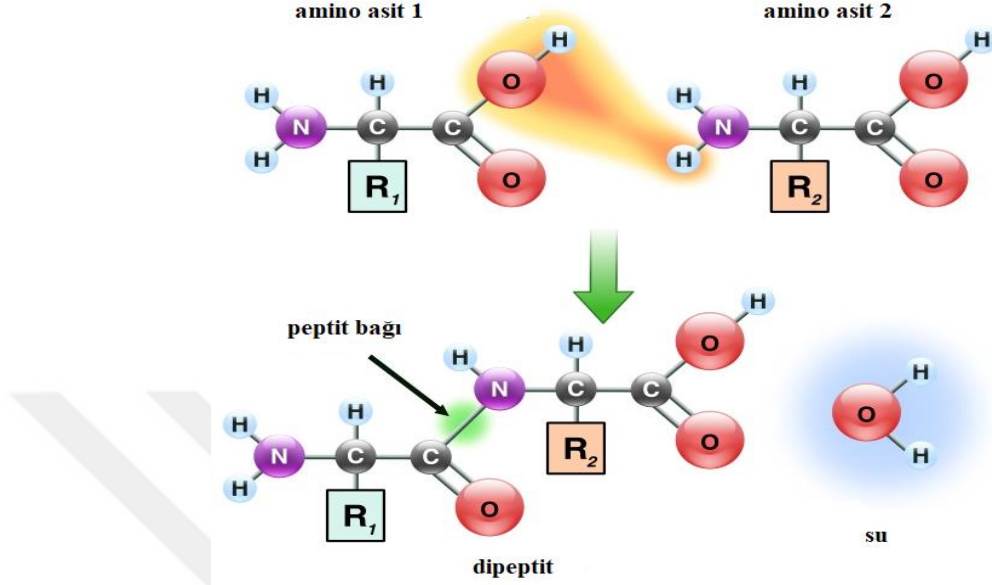
Proteinlerin temel yapı taşları olarak bilinmekte olan amino asitler; yapılarında bir amino grubu (-NH<sub>2</sub>), bir karboksil grubu (-COOH) ve bir yan zincir (-R) içeren organik bileşiklerdir (Şekil 2.4.).



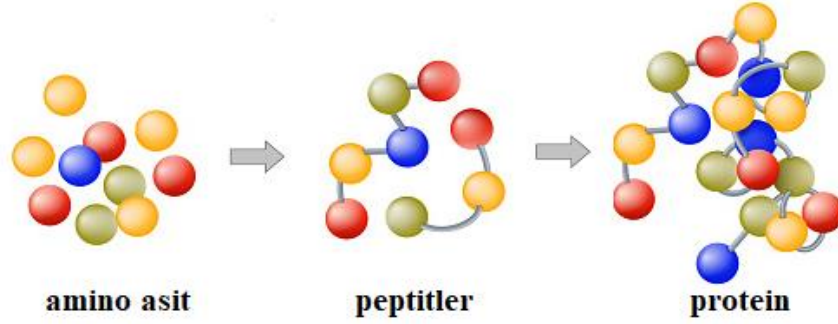
**Şekil 2.4.** Amino asit genel yapısı

Amino asitler; yan yana gelerek birbirlerine 'peptit bağları' ile bağlanarak kısa polimer zincirler meydana getirirler. Oluşan bu kısa polimer zincirlere 'peptit' adı verilir. Peptitler

birbirleri ile bağlanarak uzun polimer zincirler oluştururlar. Oluşan bu uzun polimer zincirlerine “polipeptit” veya “protein” adı verilir. (Şekil 2.5. - 2.6.)



Şekil 2.5. Peptit bağ oluşumunun şematik gösterimi



Şekil 2.6. Polipeptit zincir oluşumu genel gösterimi

### 2.2.1. Amino Asitlerin Genel Özellikleri

- Amino asitler genellikle renksizdirler. Saf halde katı halde bulunurlar.
- Amino asitler; su, asidik ve bazik çözeltilerde çözünürler. Ancak, organik çözücülerin birçoğunda çözünmezler.
- Amino asitler; yapılarında bulundukları karbon atomunun asimetric özelliği sebebi ile polarize ışığın düzlemini sağa veya sola döndürebilme özelliğine sahiptirler. Bu özellikleri

nedeni ile optikçe aktif bileşikler olarak bilinirler. Bu durum sadece glisin amino asidinde geçerli değildir, asimetric karbon atomu bulundurmadığı için optikçe aktiflik gösteremez.

- Amino asitler amfoter özellik gösterirler. Yapılarında buldukları asidik ve bazik gruplar sayesinde kuvvetli asit ve bazlar ile tepkimeye girerler. Bu özelliği sayesinde canlılardaki asit baz dengesini koruyarak önemli tampon görevi görürler.
- Amino asitler yapılarında buldukları amino ve karboksil grupları ve bazı amino asitlerin yan zincirinde bulunan R grupları ile iyonlaşma özelliği gösterebilirler. Ayrıca amino asidin üzerinde bulundurduğu yüklerin sıfır olması durumunda ölçülen pH değerine izoelektronik nokta adı verilir. Bu pH değeri; pI sembolü ile özel olarak ifade edilir. Ek olarak; bu değer bilmesi ile proteinlerin elektroforez metodu kullanılarak ayrılma işlemi yapılabilir.
- Amino asitler; 200 °C'den büyük erime noktalarına ulaşılabilir.
- Amino asitler çeşitli tepkimelere girebilir. Örneğin; HCl ve alkol ile esterleşme, CH<sub>3</sub>I veya Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile metilleşme tepkimeleri verebilir.
- Amino asitler acı, tatlı ve tatsız olarak çeşitli şekillerde bulunabilir.
- Amino asitler; protein sentezinde önemli rol oynarlar ve vücut için çeşitli görevlerde yer alarak üretime veya sentezlere kaynak sağlarlar.

### 2.2.2. Amino Asitleri Sınıflandırma

Amino asitler iki sınıfta incelenir;

- 1) Standart (protein yapısına girebilen) aminoasitler
- 2) Standart olmayan aminoasitler

Yaklaşık olarak doğada 300 çeşit amino asit vardır. 20 tane **standart amino asitler** olarak adlandırılmış olan amino asitler proteinlerde mevcuttur. Standart amino asitlerden; Leu, Ile, Lys, Met, Phe, Thr, Trp, Val, Arg ve histidin insan vücudu içerisinde sentezlenemez ve bunların ihtiyaçlarını hazır olarak dışarıdan besinler yoluyla alınması gerekir. Bu nedenle; bu amino asidlere **esansiyel amino asitler** adı verilmektedir.

### 2.2.3. Standart Amino Asitler

#### 2.2.3.1. Standart Amino Asitlere ait Genel Özellikler

Bu amino asitler; genel olarak aynı C atomuna bağlanmış bir amino grubu, bir karboksil grubu ve yan zincir olarak adlandırılan bir R grubu bulundurlar. Bu üç grubunda bağlı olduğu karbon atomu  $\alpha$ -karbon olarak isimlendirilir. 20 adet standartamino asit kısaltmaları ve bununla birlikte sembolleri vardır. (Çizelge 2.1.)

**Çizelge 2.1.** Amino asitlerin adları, kısaltmaları ve simgeleri

Amino Asit	Kısaltma	Simge	Amino Asit	Kısaltma	Simge
<b>Glisin</b>	Gly	G	<b>Treonin</b>	Thr	T
<b>Alanin</b>	Ala	A	<b>Metiyonin</b>	Met	M
<b>Valin</b>	Val	V	<b>Sistein</b>	Cys	C
<b>Lösin</b>	Leu	L	<b>Asparjin</b>	Asn	N
<b>İzolösin</b>	Ile	I	<b>Glutamin</b>	Gln	Q
<b>Prolin</b>	Pro	P	<b>Aspartat</b>	Asp	D
<b>Fenilalanin</b>	Phe	F	<b>Glutamat</b>	Glu	E
<b>Tirozin</b>	Tyr	Y	<b>Lizin</b>	Lys	K
<b>Triptofan</b>	Trp	W	<b>Arjinin</b>	Arg	R
<b>Serin</b>	Ser	S	<b>Histidin</b>	His	H

#### 2.2.4. Standart Amino Asitlerin Sınıflandırılması

Standart amino asitler; yapılarında buldukları R ile gösterilen yan zincir olarak da adlandırılan grupların elektriksel yüküne, sudaki çözünürlüğüne ve büyüklüklerine göre farklılıklar gösterirler. Standart amino asitlerin kimyasal ve fiziksel özelliklerinin temeli bu yan grup ile doğrudan ilişkilidir. Bu sebeple; yan grupların gösterdiği polarite değerlerine ya da su ile gösterdiği etkileşimlere göre gruplandırma yapılmaktadır. Bunlar incelendiğinde; polar olmayan alifatik yan zincir içeren amino asitler, aromatik yan zincir içeren amino asitler, polar olan yüksüz yan zincir içeren amino asitler, ‘-’ yüklü yan zincir

içeren amino asitler, '+' yüklü yan zincir içeren amino asitler olmak üzere beş gruba ayrılır.

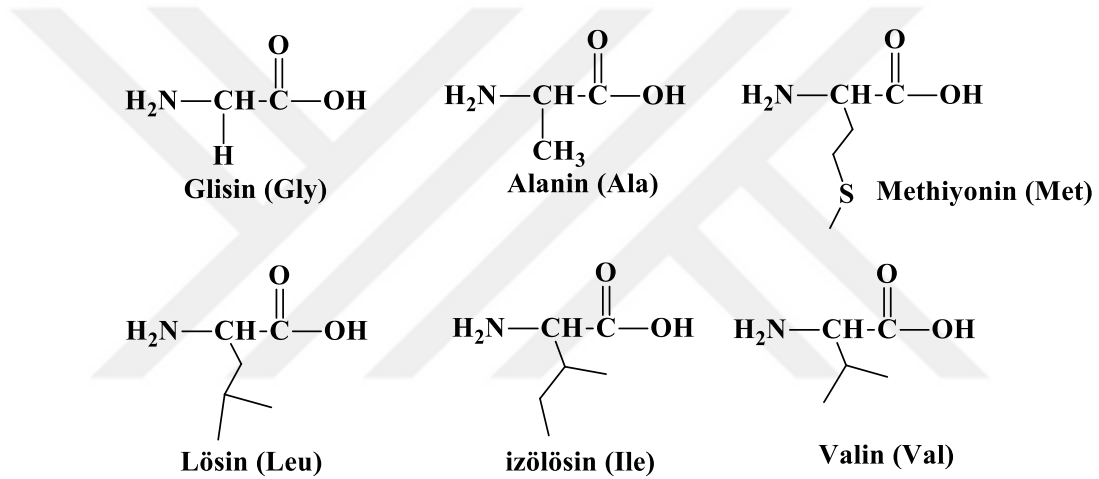
#### 2.2.4.1. Polar Olmayan Alifatik Yan Zincir İçeren Amino Asitler

**Alanin (Ala, A)**, yan zincirinde metil grubu bulundurur.

**Glisin (Gly, G)**, yan zincirinde hidrojen atomu bulunduran, yapı itibari ile en basit ve en az interaktif olandır.

**Metiyonin (Met, M)**, yan zincirinde kükürt atomuna bağlı metil grubu içerir

**Valin (Val, V)**, **Lösin (Leu, L)**, **İzolösin (Ile, I)**, dallanmış birer zincir bulundurur.



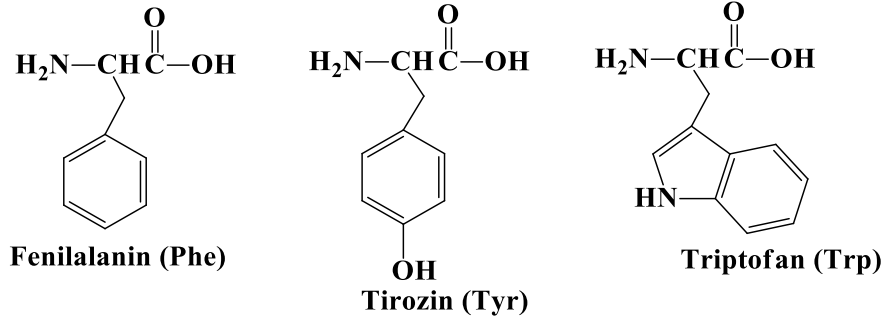
Şekil 2.7. Polar olmayan alifatik yan zincir içeren amino asitlerin gösterimi

#### 2.2.4.2. Aromatik Yan Zincir İçeren Amino Asitler

**Fenilalanin (Phe, F)**, yan zincirinde benzil grubu bulundurur.

**Tirozin (Tyr, Y)**, yan zincirinde fenil halkasında hidroksil bağlı olan fenilalanin yapılıdır.

**Triptofan (Trp, W)**, yan zincirinde indol halkası bulunmaktadır.



**Şekil 2.8.** Aromatik yan zincir içeren amino asitlerin gösterimi

### 2.2.4.3. Polar Olan Yüksüz Yan Zincir İçeren Amino Asitler

**Asparajin (Asn, N)**, aspartat amino asidinin amidi şeklinde bulunur.

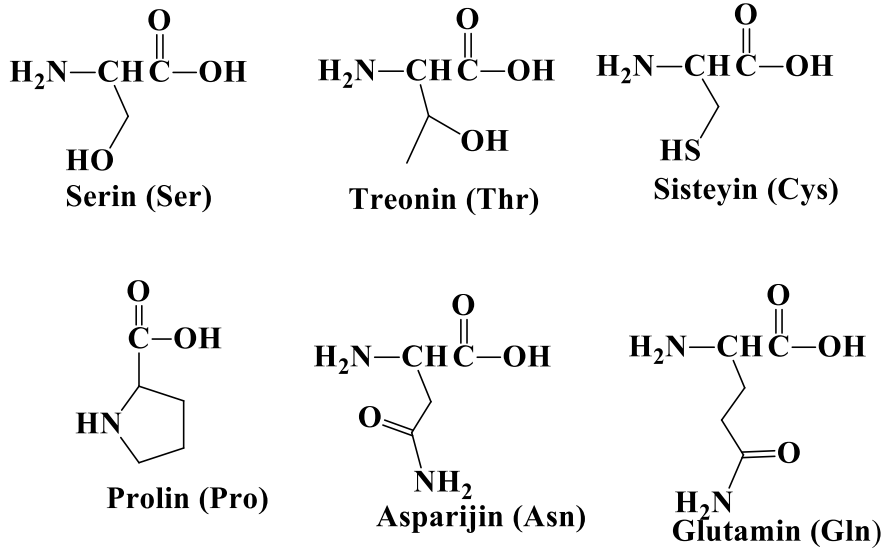
**Glutamin (Gln, Q)**, glutamat amino asidinin amidi şeklinde bulunur.

**Prolin (Pro, P)**, yan zincirinde imino grubu ve yapısındaki üç karbon atomunun oluşturduğu halka içerir.

**Serin (Ser, S)**, yan zincirinde metil grubuna bağlanmış hidroksil grubu bulundurur

**Sistein (Cys, C)**, yan zincirinde tiyol grubu bulundurur.

**Treonin (Thr, T)**, yan zincirinde OH grubu bulundurur.



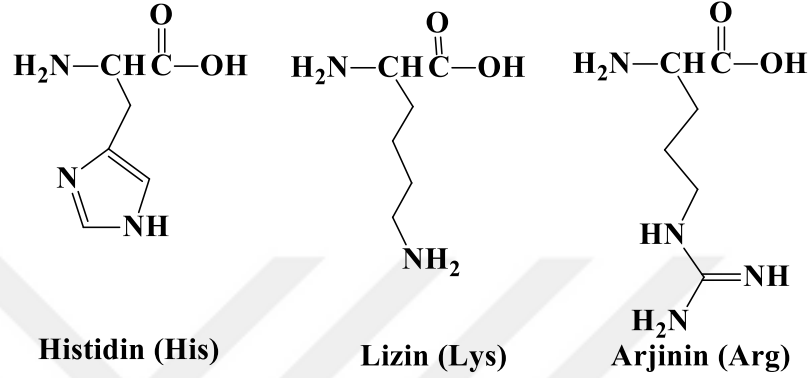
**Şekil 2.9.** Polar olan yüksüz yan zincir içeren amino asitlerin gösterim

#### 2.2.4.4. Pozitif yüklü yan zincirli amino asitler

**Arjinin (Arg, R)**, yan zincirinde + yüklü guanidino grubu bulundurur.

**Histidin (His, H)**, yan zincirinde imidazol grubu bulundurur.

**Lizin (Lys, K)**, yan zincirinde  $\epsilon$ -pozisyonunda ikinci bir amino grubu bulundurur.



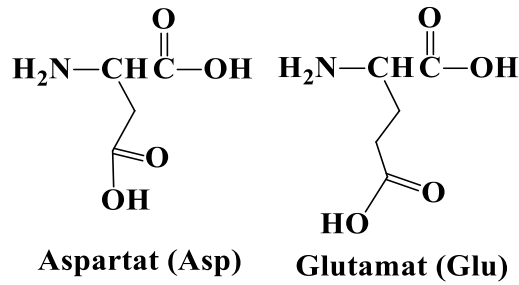
**Şekil 2.10.** Pozitif yüklü yan zincir içeren amino asitlerin gösterimi

#### 2.2.4.5. Negatif Yüklü Yan Zincirli Amino Asitler

**Aspartat (Asp, D)**, yan zincirinde  $\beta$  - konumunda ikinci bir karboksil grubu bulundurur.

**Glutamat (Glu, E)**, yan zincirinde  $\gamma$  - konumunda ikinci bir karboksil grubu bulundurur.

Ayrıca aspartat ve glutamat; asidiktir ve bu sebeple aspartik asit ve glutamik asit olarak adlandırılabilirler.

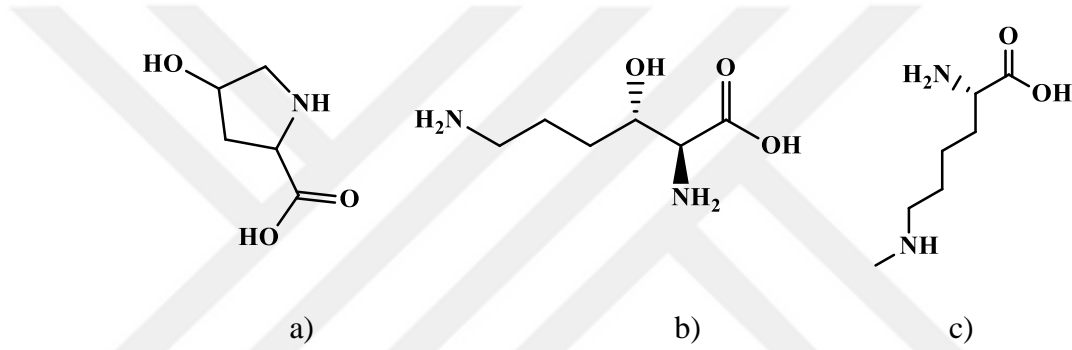


**Şekil 2.11.** Negatif yüklü yan zincir içeren amino asitlerin gösteri

### 2.2.5. Standart Olmayan Amino Asitler

Standart amino asitler; proteinleri oluşturduktan sonra 'standart olmayan amino asitler' adı verilen amino asitleri oluştururlar.

Örneğin; *4-Hidroksiprolin* prolin amino asidinin oluşturduğu standart olmayan bir amino asittir. Bitkilerde hücre duvarı ve bağ dokusunda fibröz proteini olarak yer alan kolajende bulunur. *5-Hidroksilizin*; lizin amino asidinin oluşturduğu standart olmayan bir amino asittir ve kolajenin yapısında yer alır. *6-N-metillizin ise*; lizin amino asidinden oluşur ve kaslarda kontraktıl proteini miyozinde yer alır.



**Şekil 2.12.** Sırası ile a) 4-Hidroksiprolin, b) 5-Hidroksilizin ve c) 6-N-metillizin'in yapıları

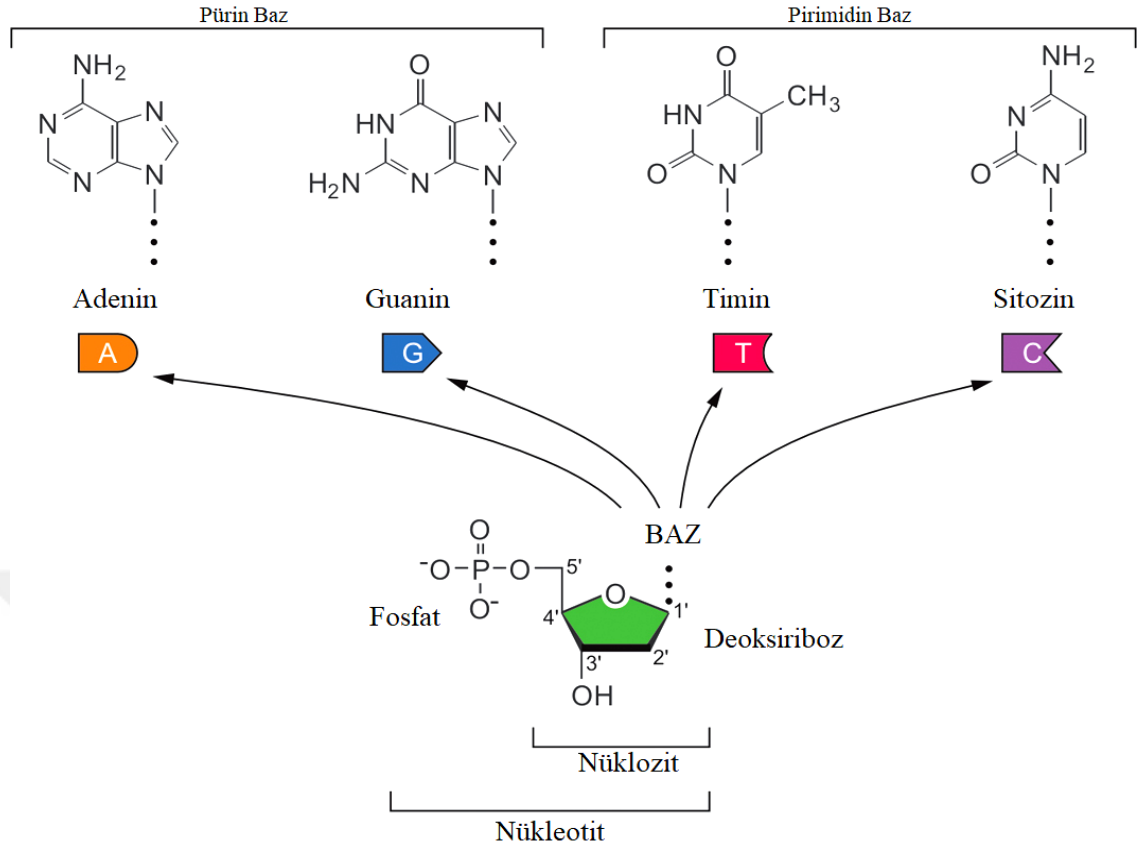
### 2.3. DNA ve Nükleik Asitler

#### 2.3.1 Nükleik Asitler

Nükleik asitlerin yapıları incelendiğinde; hücrelerde var olan ve nükleotit adı verilen küçük yapılardan oluşmuş polimerler olduğu görülür. Hücrede bulunan bu madde, enerji dönüşümü, proteinlerin yapımı ve yıkımı gibi olaylarının tümünü kontrol eder.

Nükleotit adı verilen küçük yapılar kendi içerisinde 3 farklı birimden oluşur. Bunlar;

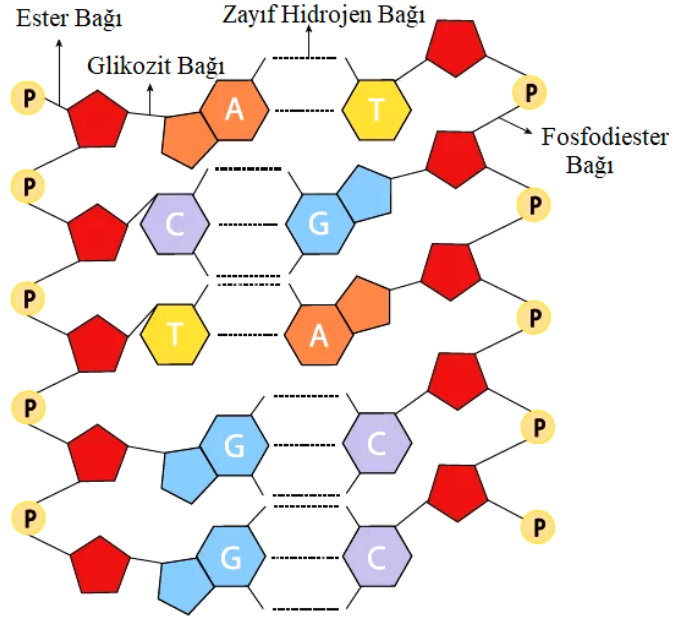
- Fosfat grubu
- Pentoz (beş C atomu içeren) şeker
- Pürin/Pirimidin bazı (Azotlu heterosiklik baz)



**Şekil 2.13.** Nükleotit yapısının genel gösterimi

Pürin bazları 9 ya da 1 numaralı N atomu üzerinden riboz/deoksiriboz şekerlerinin 1' C atomuna bağlanarak 'nükleozit' adı verilen yapılar oluşmaktadır. Nükleozitin 3' C atomuna -OH grubu ve 5' C atomuna fosfat grubunun bağlanması ile nükleotit adı verilen yapılar meydana gelir.

Nükleik asitler tek zincir veya birbirine sarılmış iki zincirden oluşabilir. Birbirine sarılmış olan spiral görüntüye sahip yapıya 'çift sarmal' adı verilir. Bu çift sarmal yapı; bazlar arasındaki hidrojen bağları sayesinde oluşur. Nükleik asit zincirindeki şeker ve fosfat grupları değişimli olarak birbirine bağlıdır, oksijen atomlarının paylaşılmasıyla oluşan bu bağlara fosfodiester bağı denir.

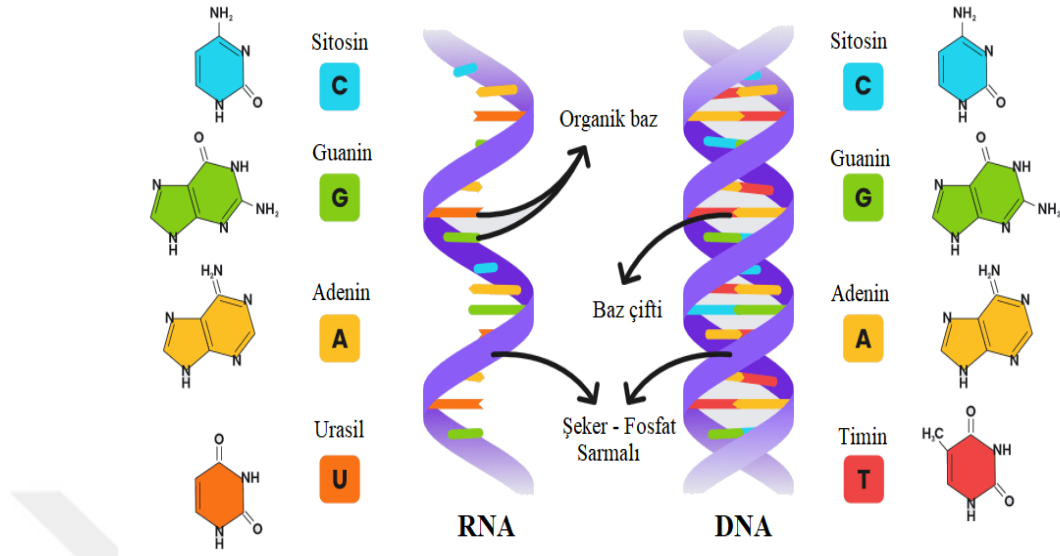


**Şekil 2.14.** Nükleik asitteki bağ oluşumu

Nükleik asitler, iki farklı yapıda bulunabilir. Bunlardan birincisi DNA deoksiribonükleik asit, diğeri ise RNA ribonükleik asit olarak adlandırılır. Bu yapıların her biri fosfat grupları içerir fakat farklı olan N atomlu heterosiklik baz ve şekerdir. DNA yapısı; deoksiriboz şekeri ve Adenin, Guanin, Sitozin, Timin bazlarını, RNA ise yapısında riboz şekeri ve Adenin, Guain, Sitozin, Urasil bazlarını içerir. Buna ek olarak; DNA çift sarmal yapıya, RNA yapısı ise tek sarmal şeklindedir.

DNA'nın kabul edilen yapısı; 1950'li yıllarda Crick F. ve Watson J. tarafından önerilmiştir (Watson J. ve Crick F 1953). Önerilen bu yapı; modern çağın önemli olaylarından bir tanesi olarak bilinmektedir. Bu konudaki araştırmalar; Wilkins M. ve Franklin R.'in DNA'nın X-ışını kırınımı çalışmaları ile Chargaff E.'nin nükleik asitlerde bulunan pürin/pirimidin bazlarının düzenleriyle çalışılmaya devam edildi. Bu bazların düzeni baz-eşleşme kuralı olarak aşağıda gösterildiği şekilde ifade edildi (Petrucci ve ark. 2002).

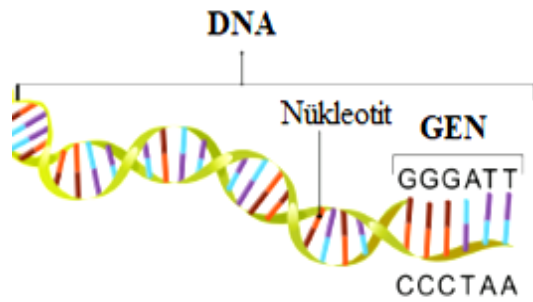
- Adenin(A), timin(T) miktarına eşittir. (A=T)
- Guanin(G), sitozin(C) miktarına eşittir. (G=C)
- Pürin ve pirimidin baz toplamları eşittir. (G+A=C+T)



Şekil 2.15. RNA ve DNA yapısı

### 2.3.2. DNA

Bir nükleik asit olan DNA (deoksiribonükleik asit) canlılarda biyolojik açıdan oldukça önemlidir. Canlıların canlılıkları ve biyolojik olayları için genetik rol üstlenir. DNA'nın küçük bölümlerine gen ismi verilir. Genler bileşenlerin genetik bilgilerini içererek kendilerine özgü işlevler meydana getirirler.



Şekil 2.16. DNA-Gen ilişkisinin şematik gösterimi

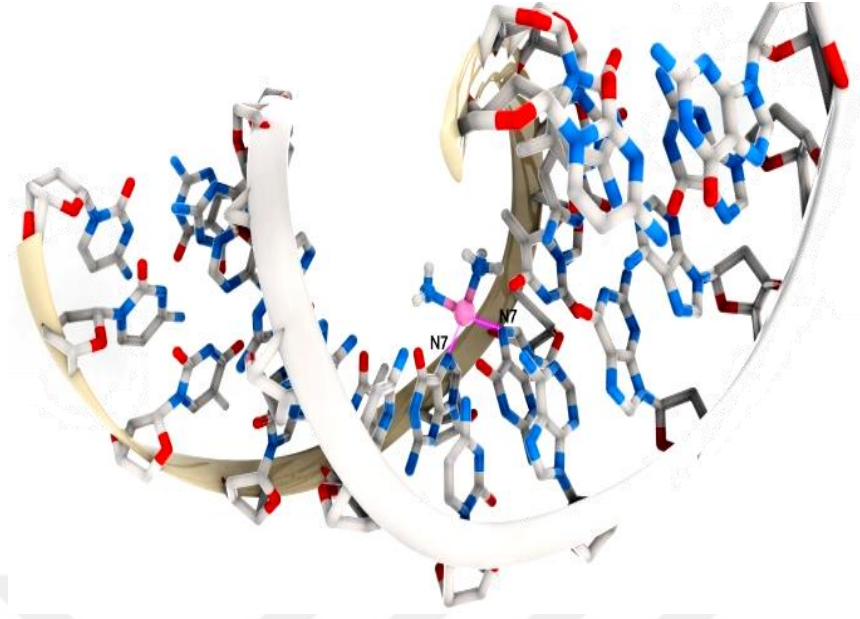
### 2.3.3. Metal Komplekslerinin DNA ile Etkileşimleri

DNA ile ilgili çalışmalar; moleküler biyoloji, biyoteknoloji, kimya ve tıp gibi pek çok farklı alanların çalışmalarında büyük öneme sahiptir. Çeşitli özellikleri sebebiyle DNA'nın sarmal hali, yapıdaki boşlukları ve içerdikleri baz çiftleri; organik yapılu bileşikler, metal iyonları ve metali içeren kompleksler gibi farklı türler ile etkileşimleri ve bu etkileşimlerinin araştırılması, antikanser etki gösteren ilaç üretiminden gelişimine ve bağlanma özelliklerinin incelenmesinde önemli rol oynar.

Metal komplekslerinin DNA ile oluşabilen etkileşim mekanizmaları, metalin geometrik kimyasal yapılarına bağlı olduğu gibi ligandın da özelliklerine bağlı olarak farklı olabilmektedir. Hem DNA'nın karmaşık yapısı hem de metal komplekslerinin çeşitlilikleri nedeniyle; kompleksler DNA ile çeşitli etkileşimler yapar. Metal kompleksleri ile DNA arasında kovalent veya kovalent olmayan bağlanma olmak üzere iki temel etkileşim türü vardır. Kovalent olmayan bağlanma türü kendi içerisinde üçe ayrılır bunlar; elektrostatik, interkalasyon ve minör ya da major oluk bağlanmadır.

#### 2.3.3.1. Kovalent Bağlanma

DNA'nın bileşikler ile kovalent bağlanması, hücre ölümü ile sonlanan ve geri dönüşü olmayan bir bağlanma türüdür. DNA'ya bazı ilaç ve ilaç etken maddelerinin kovalent bağlanması ile DNA yapısında bulunan major oluktaki adenin ve guanin bazlarının N7 azotuna bağlanması ile meydana gelmektedir (Hannon 2007). Antikanser aktivite gösteren *cis-platin* DNA yapısına kovalent bağlı olduğu bilinmekte olan bir ilaçtır (Şekil 2.17.).



**Şekil 2.17.** cis-platinin N7 azot atomu ile guanin bazı üzerinden DNA'ya bağlanması

*cis*-platin, 1960'larda keşfi yapılan ve kemoterapik etki gösterebilme yeteneği sayesinde dünya üzerinde en çok tercih edilen yüksek antikanser aktiviteli ilaçtır (Rosenberg ve ark. 1967). Antikanser aktivite özelliği bulundurmasına rağmen, bazı tümürlü hücrelerin *cis*-platine karşı direnç gösterdiği fark edilmiştir. Ayrıca; kuvvetli yan etkileri vardır (Wang ve ark. 2010). Gösterdiği yan etkiler ve dezavantajlar sebebi ile, araştırmacılar ise yaptıkları çalışmalar ile *cis*-platinde bulunan antikanser aktiviteyi koruyacak ancak yan etkilerini azaltacak yeni ilaç türevlerini geliştirmişlerdir. Bunlara örnek; oksaliplatin, karboplatin, nedaplatin, lobaplatin ve heptaplatindir (Hud 2009). Değişik metal iyonlarını içeren kompleksler kullanılarak sağlıklı hücreyi koruyan ve hedefi kanserli hücre olan yeni keşfedilecek ilaç etken maddeler geliştirmek bilim insanlarının hedefidir.

### 2.3.3.2. Kovalent Olmayan Bağlanma

#### 2.3.3.2.1. Elektrostatik Bağlanma

DNA sarmal yapısında hem yapıyı hem de etkileşim yapılacak türleri etkileyen negatif yüklü fosfat grupları bulunmaktadır. DNA'da bulunan negatif yüklü fosfat grupları ile pozitif yüklü metal iyonları ya da pozitif yüklü metal kompleksleri ile arasında oluşan etkileşim türüdür. Bu etkileşim DNA kararlılığını artırır. Oluşan elektrostatik bağlanma;

DNA sarmalındaki negatif yüklü grupların (fosfat grubu) pozitif yüklü gruplar(metal iyonları ya da pozitif yüklü metal kompleksleri) tarafından nötralize olması ile gerçekleşir. Yani; metal kompleksi sarmal yapıya dış bağlanma ile bağlandığında karşıt iyonlar uzaklaşır. Bu etkileşim sonucu; DNA yapısında bazı ayrılmalar gerçekleşebilir ve bunlar seçici değildir.

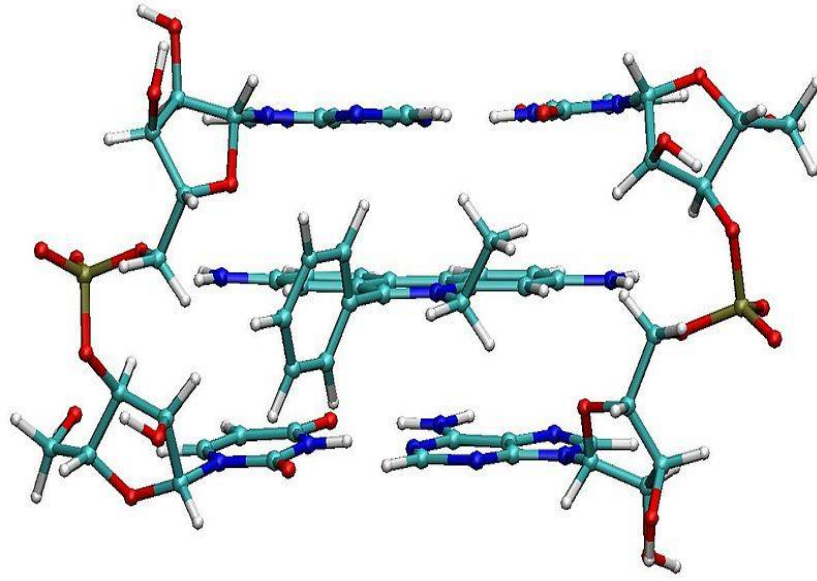


**Şekil 2.18.** Elektrostatik bağlanma

### 2.3.3.2.2. İnterkalasyon ile Bağlanma

DNA sarmal yapısında var olan nükleik asit çiftlerinin aralarında bulunan boşluklara düzlemsel yapıda bulunan özellikle floresans özellik gösterebilen kromofor gruplu bileşiklerin yapıya yerleşmesi ile oluşan etkileşim türüdür. Bu etkileşim sonucunda DNA'nın ilk yapısında bazı değişiklikler meydana gelebilir (genişleme ve boşluk oluşumu gibi).

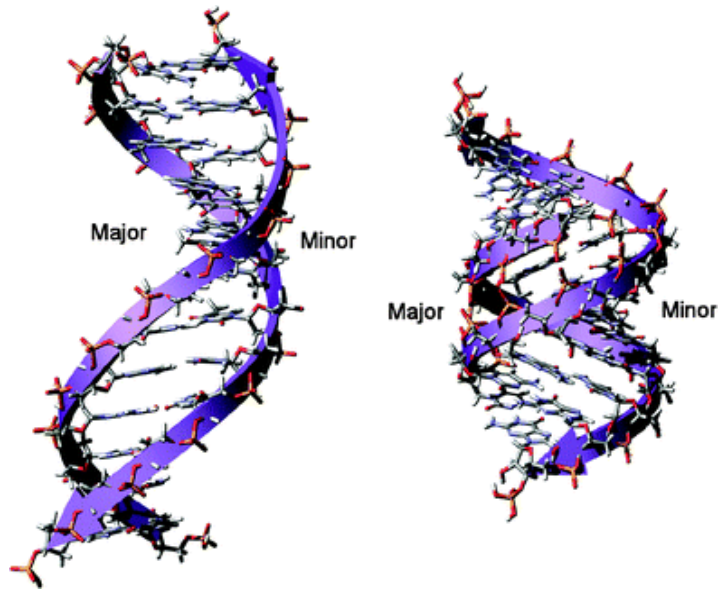
İnterkalasyon yolu ile bağlanabilen bileşiklerin en bilineni etidyum bromür gibi floresans özellikli maddelerdir. Bu tür bileşikler aromatik düzlemsel yapıdadır.



**Şekil 2.19.** Etidyum Bromür'ün molekül yapısı

### 2.3.3.2.3. Minor ve Major Oluk Bağlanma

Minor ve major oluk bağlayıcı yapılar genellikle DNA yapısındaki Adenin ve Timin'e ilgi gösteren yapılar olarak adlandırılır. Daha büyük yapıda olan moleküller (protein gibi) büyük oluklar ile bağlanmayı tercih ederken daha küçük yapıda olan moleküller ise küçük oluklardan bağlanırlar. Bu tür etkileşimler; DNA'da büyük bir değişime yol açmaz.



**Şekil 2.20.** DNA yapısındaki minor ve major oluklar

Metal bileşiklerinin DNA ile etkileşimi çeşitli yöntemler ile araştırılmaktadır. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi ile metal bileşiklerinin DNA'ya bağlanması incelenebilir. Buzağı DNA'sı olan; CT-DNA (çift sarmal) ile metal bileşikleri arasındaki etkileşim nedeniyle; DNA'nın yapısı değiştiği için elektronik absorpsiyon spektrumlarında hiperkromik etki (absorbans değerinin artması) veya hipokromik etki (absorbans değerinin azalması) gözlenmektedir. Metal bileşikleri DNA'ya interkalasyon yolu ile bağlanırsa hipokromik etki, H-bağı, elektrostatik etkileşim ya da oluk bağlanma ile bağlanırsa hiperkromik etki gözlenir. Ayrıca; floresans spektroskopisi ile etidyum bromür kullanarak yer değiştirme çalışmaları, termal denatürasyon ve agaroz jel elektroforez gibi farklı yöntemler kullanılır.

Bakır ve fenantrolin içeren metal komplekslerinin DNA baz çiftleri arasına interkalasyon ile etkileşim gösterdiği araştırmalarda rapor edilmiştir (Pages B.J. ve ark. 2015). Araştırmacılar; amino asitler içeren monokatyonik metal komplekslerinin, DNA'da bulunan negatif yüklü fosfat grupları ile elektrostatik etkileşimi ve ayrıca metal komplekslerinin yapılarında olan amino asitlerdeki yan grupların (-OH ve -NH) DNA ile H-bağı oluşturması sonucunda güçlü hiperkromik etkinin ortaya çıkacağı sonucuna varılmıştır (Yodoshi ve ark. 2007, Chikira ve ark. 2002).

#### **2.3.4. Metal Kompleksi İçeren İlaçlar**

Geçmişte ve günümüzde metal içeren kompleksler tıpta pek çok kanser tedavisinde, cerrahi müdahaleden kemoterapiye farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Bu tarz kemoterapik ilaçların farklı kanser türlerinde ölüm oranlarını gözle görülür ölçüde azalttığı gözlenmiştir (Timerbaev ve ark. 2006). Ayrıca; son yıllarda bilim adamları antimikrobiyal, antifungal ve antikanser özellik gösterebilen Schiff bazları ve Schiff bazı içeren metal komplekslerini sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin antibakteriyel ve antikanser ajan olarak ve nükleer tıpta radyoaktif izleyici olarak kullanıldığını rapor etmişlerdir (Kong, D. ve ark. 1998 ve Li A. ve ark. 2015).

Farklı araştırmalarda, metal içeren kompleks bileşiklerin antikanser ilaçlardaki gelişimi, tarihte *cis*-platin ( $cis-[PtCl_2(NH_3)_2]$ ) kompleksi ile başladığı bilinmektedir (Lobinski ve ark. 2006). Bu bileşik 1845 yılında belirlenmiş olup; antikanser özelliği daha sonraki yıllarda keşfedilmiştir (Rosenberg ve ark. 1965). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, pek çok geçiş metali ile sentezlenen koordinasyon bileşiklerinin kanserli hücrelerde sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda; metal komplekslerinin çeşitli kanserli hücre hatları üzerinde sitotoksiteleri belirlenmiş ve bu bileşiklerin/komplekslerin kanser tedavisinde kullanılan ilaçların ham maddesi olarak tercih edilmesinin uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Shrivastava ve ark. 2002).

#### **2.4. Termal Denatürasyon**

Denatürasyon kelime anlamı ile hücrelerin, yapısal ve işlevsel olarak bozulması, hatta ölümü ile sonuçlanmasıdır. Termal denatürasyon ise; sıcaklık ile meydana gelen bozulma olarak tanımlanabilir. Isıtma sırasında DNA'nın hidrojen bağlarının bulunduğu çift sarmal yapıda bozulmalar meydana gelir. CT-DNA'nın kompleks içeren ve içermeyen çözeltilerinde sıcaklık artırılarak absorbans değerleri ölölür. Sıcaklık değerlerine karşı absorbans değerleri grafiğe geçirilerek  $T_m$  ve  $T_m^\circ$  değerleri belirlenir.  $T_m$ ; metal kompleksi+DNA özelti sistemi ısıtıldığında sarmal yapının %50'sinin denatüre olduğu sıcaklık.  $T_m^\circ$  değeri ise; sadece DNA ısıtıldığında sarmal yapının %50'sinin denatüre olduğu sıcaklıktır.  $\Delta T_m$  değeri;  $T_m - T_m^\circ$  denklemi kullanılarak hesaplanmaktadır. Yüksek  $\Delta T_m$  değeri; kompleksin DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığı yapılan çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir (Mahendiran ve ark. 2015).

$T_m$  değeri sarmal yapının kararlılığı için önemli bir parametredir. DNA molekülü ne kadar çok G ve C baz çifti içerirse yapının bozulması için gerekli olan enerji miktarı da aynı oranda fazla olmalıdır.

## 2.5. Çalışmada Kullanılan Metal ve Ligandlar

### 2.5.1. Bakır(II) Metal İyonu

Bakır metalinin,  $[Ar]3d^{10}4s^1$  şeklinde elektronik dizilişi vardır. Bakır iyonunun; Cu(I), Cu(II) ve Cu(III) olmak üzere 3 farklı yükseltgenme basamağı mevcuttur. Ayrıca Cu(0)'ın yapmış olduğu bileşikler kararlı değildir ve genellikle ara ürün şeklinde oluşmaktadır. Diğer yükseltgenme basamağındaki bakır metal iyonları birleştikleri ligandların yapılarına ve özelliklerine bağlı olarak kararlılıkları farklılık göstermektedir. Cu(II) metal iyonu ise;  $[Ar]3d^9$  şeklinde elektronik dizilişe sahiptir. Cu(II) metal iyonunun farklı ligandlarla oluşturdukları bileşikler genellikle yeşil ve mavi renktedir. Renkli gözükmesinin sebebi; yapmış oldukları d-d elektronik geçişlerdir (McCleverty ve ark. 2004).

Komplekslerin fiziksel ve kimyasal özellikleri kompleks yapısındaki ligant ve metal iyonuna bağlı olarak değişmektedir. Seçilen metal iyon büyüklüğü, yükü ve iyonlaşması kararlılıkta rolü büyüktür. Schiff bazları ve Cu(II) metal iyonunu içeren çalışmalar 1930 yıllarında başlamıştır (Fakı E. 2017). Schiff bazlarının +2 yüklü metal iyonları ile oluşturduğu kompleks yapısı; düzlemsel, tetragonal, dörtyüzlü ya da sekizyüzlü olarak görülmektedir (Çelik, 1999).

### 2.5.2. Amino Asit Schiff Bazları

Amino asit Schiff bazları; amino asitler ile aldehitlerin tepkimeleri sonucu oluşur. Bu tez çalışması kapsamında amino asit Schiff bazı sentezlemek için amino asitlerden L-triptofan ve salisilaldehit türevlerinden 5-klorosalisilaldehit ve 3,5-diklorosalisilaldehit seçilmiştir.

#### 2.5.2.1. Triptofan

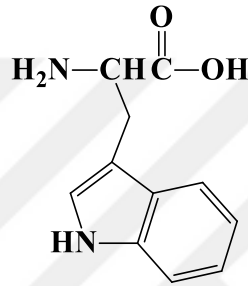
20 temel amino asitten bir tanesi olan triptofan esansiyel amino asit sınıfında yer alır. Protein yapı taşı olan amino asitler doğada besinlerde kendiliğinden bulunur. Besinden

gelen proteinin sindirimi sağlandıktan sonra serbest olan triptofan gerekli sentezlerde kullanılmak üzere vücutta bulunmaktadır. Yapısında bulundurduğu indol halkası sebebi ile aromatik amino asit sınıfındandır. Aromatik yan zinciri sebebi ile apolar yapılıdır, bu özelliği sebebi ile proteinler ile hidrofobik etkileşim meydana getirirler. UV ışığı absorplama özelliği vardır.

**Kimyasal Formül:** C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Moleküler kütle:** 204,23 g/mol

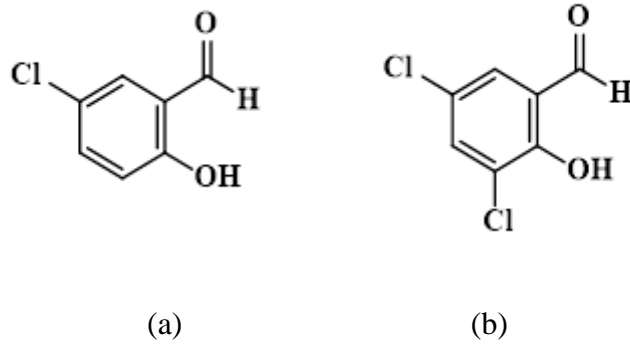
**IUPAC:** (2S)-2-amino-3-(1H-indol-3-yl) propanoic acid



**Şekil 2.21.** Triptofan amino asidi kimyasal yapısı

#### 2.5.2.2. 5-klorosalisilaldehit ve 3,5-diklorosalisilaldehit

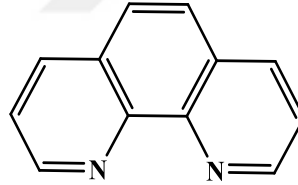
R-CHO genel formülü ile gösterilen aldehitler yapılarında; karbonil (-C=O) ve alkil (R) grubu içerirler. Aldehitler içerdikleri -C=O grubundaki çift bağ nedeni ile polar özellik gösterirler ve kimyasal tepkimelerde aktif rol alırlar (Eski P. 2010). Geniş kullanım alanına sahip olan Schiff bazlarının sentezinde aldehit veya ketonlar tercih edilmektedir. Schiff bazı sentezlerinde; kararlı olmaları ve kolay tepkime vermeleri nedeniyle salisilaldehit ve türevleri sıkça kullanılmaktadır. Salisilaldehit türevlerinden 5-klorosalisilaldehit 5- pozisyonunda ve 3,5-diklorosalisilaldehit ise 3- ve 5- pozisyonlarında klor atomu içerir. 5-klorosalisilaldehit ve 3,5-diklorosalisilaldehit'in molekül kütleleri sırası ile; 156,57 g/mol ve 191,01 g/moldür. Yapıları Şekil 2.22'de verilen kloro atomu içeren salisilaldehit türevleri ile yapılan araştırmalarda güçlü antibakteriyel ve antifungal etkilerinin olduğu görülmüştür (Felton L.C. 1947).



Şekil 2.22. Sırası ile a) 5-klorosalisilaldehit ve b) 3,5-diklorosalisilaldehit yapıları

### 2.5.3. 1,10-fenantrolin

1,10-fenantrolin nötral ve düzlemsel bir ligandır. 1,10-fenantrolin yapısında bulunan iki azot atomu ile metal iyonuna koordine olur ve iki dişli ligand davranışı göstererek beş üyeli şelat halkası oluşturur. Ayrıca; 1,10-fenantrolin spektrokimyasal seride kuvvetli alan ligandı olarak bilinir ve metal iyonları ile kararlı kompleksler meydana getirir. 1,10-fenantrolin(phen) ile sentezlenen komplekslerinin güçlü antibakteriyel ve antikanser aktivite gösterdikleri yapılan pek çok araştırmada rapor edilmiştir (İnci D. ve ark. 2015).



Şekil 2.23. 1,10-fenantrolin'in molekül yapısı

## 2.6. Literatür Çalışması

Li A. ve ark. 2015 yılında; Cu (II) iyonunun **5-kloro salisilaldehit** ve **glisin/alanin** amino asitleri ile ikili komplekslerini ve ayrıca **bipridin** ile karışık ligant kompleksini sentezlemişler ve komplekslerin yapılarını tek kristal X-Işını kırınım yöntemi, elementel analiz ve IR spektroskopi teknikleri ile aydınlatmışlardır. Sentezlenen komplekslerin formülleri;  $[Cu (SalCl-Gly) (H_2O)_2]$  (**1**),  $[Cu (SalCl-Ala) (H_2O)]$  (**2**) ve  $[Cu (SalCl-Gly) (bipy)] \cdot 0,5H_2O$  (**3**) şeklinde gösterilmiştir (**SalCl-Gly**: 5-kloro-2-hidroksibenziliden-glisin, **SalCl-Ala**:5-kloro-2-hidroksibenziliden-alanin ve **bipy**:2,2'-bipiridin). Ek olarak;

sentezlenen komplekslerin DNA bağlanma ve bölme analizleri ve akciğer kanser hücre hattı üzerinde sitotoksikite ölçümleri yapılarak antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. Tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile; kompleks **1**'deki SalCl-Gly ligandının üç dişli ligant davranışı ile şelat oluşturduğu ve hem de köprü ligandı davranışı ile 1D zikzak zinciri oluşturduğunu ortaya koymuşlardır. Kompleks **2** ve **3**'ün ise mono nükleer yapıda olduğu belirtilmiştir. Cu(II) iyonunun **1-3** komplekslerinin geometrik yapılarının sırasıyla; altı koordinasyonlu bozulmuş sekizyüzlü, dört koordinasyonlu kare düzlem ve beş koordinasyonlu kare piramit olduğu gösterilmiştir. Komplekslerin DNA ile etkileşimleri; viskozite ölçümü ve floresans spektroskopisi yöntemi ile araştırılmıştır. Bağlanma sabiti değerlerini ( $K_{app}$ ) **1-3** kompleksleri için sırasıyla;  $1,02 \times 10^5$ ,  $0,98 \times 10^5$  ve  $1,057 \times 10^5$  M<sup>-1</sup> şeklinde bulmuşlardır. Üç kompleksin de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında; DNA'nın etkili oksidatif bölünme sergilediğini gözlemlemişlerdir. **SalCl-Ala** ligandının yapısında bulunan metil grubunun varlığı nedeniyle kompleks **2**'nin DNA'yı bölme aktivitesinin kompleks **1**'den biraz az olduğunu bulmuşlardır. Yapılan viskozite ölçümleri ile **1-3** komplekslerinde viskozitenin artış oranının birbirinden farklı olduğunu bulmuşlar; ancak kompleks **2**'deki artışın metil grubunun varlığı nedeniyle küçük olduğunu ve kompleks **3**'deki artışın ise düzlemsel 2,2'-bipiridin varlığı nedeniyle büyük olduğunu rapor etmişlerdir. 2,2'-bipridin ligandı içeren kompleks **3**'ün  $K_{app}$  değerinin **1-3** kompleksleri arasında en büyük olduğunu ve kompleks **3**'ün DNA ile güçlü bir şekilde interkale yolu ile etiletiğini bildirmişlerdir. Ayrıca; HepG-2 (insan karaciğer hepatoselüler karsinomu) ve NCI-H460 (insan büyük hücreli akciğer karsinomu) hücrelerine karşı üç kompleksin de sitotoksikite çalışmaları, MTT testi ile yapılmıştır. Kompleks **3**'ün IC<sub>50</sub> değerleri her iki kanser hücre hattında sırasıyla;  $14,3 \pm 5,3$  µM ve  $13,2 \pm 4,6$  µM şeklinde bulunmuştur. Kompleks **1** ve **2**'nin IC<sub>50</sub> değerleri çok yüksek ve birbirine çok yakın olduğu için, kompleks **1** ve **2**'nin zayıf sitotoksik etki gösterdiği rapor edilmiştir.

**Reddy P. ve ark. 2011 yılında;** Cu(II) iyonunun **triptofan** ve **salisilaldehitten** türeyen amino asit Schiff bazı ve nötral ligant olarak **fenantrolin** ve **bipridin** ile karışık ligant komplekslerini sentezlemişlerdir. Komplekslerin genel formülü  $[Cu(saltrp)(B)]$  (**1 ve 2**) (**B=1,10-fenatrolin (1)** veya **2,2'-bipiridin (2)**) şeklinde gösterilmiştir. Sentezlenen kompleks **2**'nin yapısı tek kristal X-ışını kristalografi yöntemi ile karakterize edilmiştir. Amino asit Schiff bazının ONO verici atomları ile Cu(II) iyonuna bağlandığını ve

geometrik yapısının bozulmuş kare piramidal olduğunu rapor etmişlerdir. CT-DNA bağlanma çalışmaları ile komplekslerin DNA'ya bağlanma eğilimlerinin yüksek olduğu ortaya çıkarılmıştır. Araştırmacılar; komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma sabiti ( $K_{app}$ ) değerlerini belirlemek için floresans spektroskopisi yöntemini kullanmışlar ve  $K_{app}$  değerlerini kompleks **1** için  $0,66 \times 10^7 M^{-1}$  ve kompleks **2** için  $0,50 \times 10^7 M^{-1}$  bulmuşlardır. Kompleks **1**'in  $K_{app}$  değerinin kompleks **2**'den büyük olması; kompleks **1**'in CT-DNA ile daha güçlü bir şekilde interkale olduğunu göstermiştir. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi kullanarak yapılan çalışmalar ile komplekslerin CT-DNA ile etkileşimi araştırılmış ve bağlanma sabiti ( $K_b$ ) değerleri; kompleks **1** ve **2** için sırası ile  $3,32 \times 10^5 M^{-1}$  ve  $3,10 \times 10^5 M^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Kompleks **1**'de düzlemsel yapılu fenantrolin ligandının bulunması nedeniyle  $K_b$  değerinin daha yüksek bulunduğu rapor edilmiştir. Kompleks-DNA bağlanma çalışmaları; termal denatürasyon deneyleri ile de araştırılmıştır. Sıcaklık artışı ile DNA yapısındaki bozulmalar elektronik absorpsiyon spektrumları alınarak gözlemlenmiştir. Ölçülen  $T_m$  değerlerinde kompleks **1** için  $\sim 8^\circ C$  ve kompleks **2** için  $\sim 7^\circ C$ 'lik bir artış gözlenmiş ve komplekslerin DNA'ya interkalasyon yolu ile bağlandığı rapor edilmiştir. Ayrıca; DNA'nın oksidatif ve hidrolitik bölünmesinde komplekslerin katalitik rolü incelenmiştir. Yapılan kinetik çalışmalar elektronik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi ile yapılmış olup; kompleks **1** ve **2**'nin hız sabiti ( $K_{cat}$ ) değerleri; sırası ile  $1,94 h^{-1}$  ve  $1,05 h^{-1}$  bulunmuş ve kompleks **1**'in DNA'ya bağlanma ve DNA'yı bölme kabiliyeti kompleks **2**'den daha yüksek bulunmuştur.

Ayrıca; yapılan viskozite ölçümleri ile kompleks **1** ve **2**'nin DNA'nın viskozitesi üzerindeki etkisi araştırılmış ve artan miktarlarda kompleks eklenmesi ile DNA'nın viskozitesinde sürekli bir artış görülmüştür. Kompleksler interkalasyon yolu ile DNA'ya bağlandığında DNA çift sarmalının yapısında uzama meydana geldiği ve bu nedenle viskozitesinin arttığı rapor edilmiştir.

**Banaspati A ve ark. 2019 yılında;** Cu (II) iyonunun **salisilaldehit** ve **triptofan** amino asidinin oluşturduğu Schiff bazı ve ayrıca 1,10-fenantrolin(**phen**) (**1**), dipirido[3,2-d:2',3'-f] kinoksalin(**dpq**) (**2**), dipirido[3,2-a:2',3'-c] fenazin(**dppz**) (**3**) ve 2-(anthrasen-1-yl)-1H-imidazo[4,5-f][1,10] fenantrolin(**aip**) (**4**) ikincil ligandlarını içeren komplekslerini sentezlenmiştir. Karışık ligant kompleksleri  $[Cu(saltrp)(L)]$  şeklinde

formüle edilmiştir. Yapı aydınlatmaları; elementel ve IR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınım yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Sadece kompleks **1** için elde edilen kristalografik veriler ile kompleks **1**'in yapısının bozulmuş kare piramit olduğu gösterilmiştir. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi ile DNA etkileşimi araştırılmış ve bağlanma sabiti ( $K_{app}$ ) değerlerinin  $2,40 \times 10^5 - 6,38 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  aralığında olduğu bulunmuştur.  $K_{app}$  değerlerinin **3** > **4** > **2** > **1** sırasında olduğu rapor edilmiştir. DNA bölme çalışmalarında ise; komplekslerin DNA'yı bölme aktivitesi **4** ~ **3** > **2** > **1** sırasında olduğu bulunmuştur. Komplekslerin kanser hücre hatları (HeLa ve MCF-7) üzerinde sitotoksikite çalışmaları; karanlık ve görünür ışık olmak üzere iki farklı ortamda yapılmıştır. Karanlıkta yapılan çalışmalarda; komplekslerin tümünün her iki kanser hücresine karşı yüksek  $IC_{50}$  değerleri ile düşük sitotoksik etki gösterdiği gözlenmiştir. Özellikle kompleks **4**'ün görünür ışıkta HeLa hücrelerine karşı  $IC_{50}$  değeri  $3,24 \mu\text{M}$  olarak bulunmuş ve önemli derecede apoptoz ile kanserli hücre ölümünün gerçekleştiği belirtilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmaları desteklemek ve komplekslerin reaktif oksijen türleri (ROS) üretme yeteneğini gözlemlemek için, DCFDA (2',7'-diklorofloresin diasetat) testi uygulanmıştır.

**Moradi-Shoeili Z. ve ark. 2013 yılında;** Cu (II) iyonunun **tirozin, lösin ve triptofan** amino asitleri ile **5-bromosalisilaldehit**ten türeyen Schiff bazları ve bipiridin ikincil ligandı içeren karışık ligandlı komplekslerini sentezlenmişlerdir. Kompleksler  $[Cu(5-bromo-salTyr)(bipy)] \cdot \frac{1}{2}CH_3OH$  (**1**),  $[Cu(5-bromo-salLue)(bipy)] \cdot CH_3OH$  (**2**) ve  $[Cu(5-bromo-salTrp)(bipy)] \cdot 3CH_3OH$  (**3**) ile formüle edilmiştir. Yapıdaki ONO verici atomları içeren Schiff bazları; (**5-bromo-salTyr**): 5-bromosalisilaldehit-tirozin, (**5-bromo-salLue**): 5-bromosalisilaldehit-Lösin ve (**5-bromo-salTrp**): 5-bromosalisilaldehit-triptofan şeklinde gösterilmiştir. Komplekslerin yapılarının aydınlatılmasında; elementel analiz, elektronik, IR spektroskopileri, manyetik ölçüm ve siklik voltametri yöntemleri kullanılmıştır. Kompleks **1** ve **3** kristal olarak sentezlenmiş ve geometrik yapılarının tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile bozulmuş kare piramidal olduğu rapor edilmiştir. Cu(II) iyonundaki bir eşleşmemiş elektron nedeniyle komplekslerin paramanyetik olduğu belirtilmiştir. Ayrıca; komplekslerin elektronik absorpsiyon spektrumları alındığında;  $\lambda_{max}$  değerleri 664 nm ve 378 nm bulunmuş olup bu dalga boyları sırasıyla; d-d geçişleri ve liganddan metale yük transfer geçişlerine atfedilmiştir. Ligandlardaki aromatik

halkalardaki  $\pi-\pi^*$  geçişlerine atfedilen 274 ve 245 nm'de ligand bazlı iki yüksek enerji geçişi gözlenmiştir. DMF ortamında komplekslerin elektrokimyasal çalışmaları, -0,3 ila 0,5 V potansiyel aralığında tersinmez bir Cu(II)/Cu(I) redoks çifti gösterir. Ayrıca, geçici olarak koordine olmuş Schiff bazlarının oksidasyonuna atfedilen yaklaşık 0,8 V'tan daha büyük potansiyellerde bir ek tersinmez oksidasyon dalgası gözlenir. Komplekslerin moleküler oksijen varlığında askorbat oksidasyonunda katalitik olarak aktif oldukları ve askorbik asit:kompleks mol oranı 100:1 olduğunda etkili oldukları bulunmuştur.

**Dong J. ve ark 2022 yılında;**  $[Cu(sal-trp)(phen)] \cdot 0.5H_2O \cdot 0.5CH_2Cl_2 \cdot CH_3OH$  (**1**),  $[Cu(o-van-trp)(phen)]$  (**2**),  $[Cu(naph-trp)(phen)] \cdot H_2O$  (**3**),  $[Cu(sal-trp)(bipy)]$  (**4**),  $[Cu(o-van-trp)(bipy)]$  (**5**) ve  $[Cu(naph-trp)(bipy)]$  (**6**) formülleri ile verilen altı adet Cu(II) karışık ligant kompleksi sentezlemişlerdir. Cu(II) karışık ligant komplekslerindeki Schiff bazları; (**sal-trp**, **o-van-trp** ve **naph-trp**) salisilaldehit, o-vanilin ve naftaldehit ile **triptofan**dan oluşan üç dişli ligandlardır. Sentezlenen komplekslerin yapıları tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılmıştır. Komplekslerin bozulmuş kare piramidal yapıda olduğu görülmüştür. Komplekslerin DNA ile etkileşimleri; viskozite, termal denatürasyon, elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir. Komplekslerin DNA'ya bağlanma çalışmaları ile bağlanma sabiti ( $K_b$ ), Stern-Volmer sabiti ( $K_{sq}$ ) ve  $\Delta T_m$  değerleri hesaplanmıştır. Komplekslerin  $K_b$  değerleri; elektronik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi ile yapılan ölçümlerinden  $0,64 \times 10^4 - 0,94 \times 10^4 M^{-1}$  aralığında olduğu bulunmuştur. Komplekslerin  $K_{sq}$  değerlerinin ise; floresans spektroskopisi yöntemi ile yapılan ölçümlerden 0,31 - 1,89 arasında değiştiği gözlenmiştir. DNA'nın erime sıcaklığına bağlı olarak yapılan ölçümlerden  $\Delta T_m$  değerlerinin, 1,0 - 9,9 °C aralığında olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre; kompleks **1**'in en yüksek bağlanma afinitesi sergilediğini ve bağlanma kuvvetinin **1** > **2** > **3** >> **4** > **5** > **6** sırasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Kompleks **1-6**'nın DNA bölünme çalışmaları; 3-merkaptopropiyonik asit (MPA) varlığında gerçekleştirilmiş ve komplekslerin **1** > **2** > **3** >> **4** > **5** > **6** sırasıyla DNA'yı parçalayabildiğini rapor etmişlerdir. Fenantrolin içeren komplekslerin oksidatif yol ile plazmit DNA'nın verimli parçalayıcıları olduğu belirtilmiştir. Ayrıca komplekslerin sitotoksikite çalışmaları; dört farklı kanser hücre hattında (MCF-7, SGC-7901, Eca-109 ve HepG2) yapılmıştır. Özellikle kompleks **1**'in

MCF-7, SGC-7901, Eca-109 ve HepG2 gibi hücre hatlarına karşı *cis*-platinden daha güçlü antiproliferatif etki gösterdiği vurgulanmıştır.

**Neelakantan M.A. ve ark 2017 yılında yaptığı çalışmada;** Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) metal iyonlarının Schiff bazı ile kompleksleri sentezlenmişlerdir. Schiff bazı **triptofan** ve **4-hidroksisalisilaldehitten** türetilmiştir. Sentezlenen komplekslerin yapılarının aydınlatılmasında elementel analiz, FT-IR, UV ve ESI-MS kullanılmıştır. Komplekslerin moleküler geometrileri, gaz fazında DFT/B3LYP yöntemi ile yapı optimize edilerek tahmin edilmiştir. **CuL** ve **NiL** komplekslerinin kare düzlem geometriye, **ZnL**'nin ise dört yüzlü geometride olduğu bulunmuştur. Ayrıca komplekslerin DNA/BSA ile etkileşimleri elektronik absorpsiyon, floresans ve vizkozimetri yöntemleri araştırılmıştır. Ligandın ve komplekslerin bağlanma sabiti sırası; **L < ZnL < NiL < CuL** şeklinde gösterilmiş olup komplekslerin DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığı sonucuna varılmıştır. Kompleksler için yük transfer bandı 369-372 nm aralığında gözlenmiştir. Kompleks içeren çözeltiye DNA eklenmesi ile komplekslerde liganda ait bantların bozulmasına ve absorpsiyon bantlarında hipokromizm gözlenmiştir. Ayrıca hesaplanan elektronegatiflik, kimyasal sertlik, kimyasal yumuşaklık ve elektrofiliklik değerleri sırası ile **CuL** kompleksi için 1,761; 0,489; 1,022; 3,170 eV ve **NiL** kompleksi için 1,726; 0,562; 0,889; 2,650 eV şeklinde bulunmuştur. Ayrıca **ZnL** kompleksi için bu değerler 1,753; 0,568; 0,8802; 2,705 eV şeklindedir. Enerji aralığı ve yumuşaklık değerlerinden tüm komplekslerin yüksek kimyasal reaktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Komplekslerin pUC19 DNA'ya karşı nükleaz aktivitesi araştırılmış ve herhangi bir harici reaktifin yokluğunda bile fizyolojik koşullar altında aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Askorbik asidin varlığında ve yokluğunda komplekslerin DNA'yı bölme aktivitesi; **L < ZnL < NiL < CuL** şeklinde bulunmuştur. **CuL** kompleksinin askorbik asit varlığında belirgin bir aktivite sergilediği ve oksidatif yol ile DNA'yı bölme mekanizma gösterdiği rapor edilmiştir. Komplekslerin antibakteriyel aktivitesi; *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı potansiyel aktivite ölçümü yapılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm komplekslerde antibakteriyel aktivite gözleendiği rapor edilmiştir. Ayrıca; **L** ligandının ve **CuL** kompleksinin *Pseudomonas Aeruginosa* ve *Escherichia Coli* bakterilerine karşı güçlü potansiyel aktivite gösterdiği vurgulanmıştır.

**Theetharappan M. ve ark. 2016 yılında yaptığı bu çalışmada;** Cu(II) iyonu ile **o-vanillin** ve **triptofandan** türeyen Schiff bazı ve ayrıca diimin kullanarak karışık ligandlı kompleksleri sentezlemişlerdir. Diimin olarak **2,2'-bipiridin (1)**, **1,10-fenantrolin (2)** ve **5,6-dimetil-1,10-fenantrolin (3)** kullanılmıştır. Komplekslerin genel formülü [*Cu(o-vanillin-L-tryptophan.s.b.)(diimine)*] şeklinde gösterilmiştir. Komplekslerin yapıları analitik ve spektral yöntemler ile karakterize edilmiştir. Ayrıca; komplekslerin gaz fazında DFT ile optimizasyonu yapılarak bozulmuş kare piramit yapıda oldukları bulunmuştur. Kompleksler; CT-DNA ve BSA gibi maddelerle olan etkileşimleri; elektronik absorpsiyon spektroskopisi, floresans spektroskopisi, viskozimetri ve voltametri yöntemleri kullanarak araştırılmıştır. Komplekslerin, CT-DNA ile bağlanmasına ilişkin çalışmalar, moleküler yerleştirme simülasyonu ile interkalasyon modu şeklinde olduğunu ortaya koymuştur. Komplekslerin DNA'yı bölme çalışmalarında ise; komplekslerin pUC19 DNA'yı herhangi ajan olmadan parçalayabildiği ve DNA'yı bölme aktivitesinin **1 > 3 > 2** sırası ile değiştiği gösterilmiştir. DPPH radikal süpürme yöntemi ile komplekslerin antioksidan aktivitelerinin araştırılmasında; komplekslerin ligandan ve standart maddeden daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Komplekslerin MCF7 kanser hücre hattında sitotoksiteleri araştırılmış ve kompleks **2**'nin en yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca; DAPI boyama testi ile komplekslerin oluşturduğu mitokondriyal zar potansiyel hasarı ve FITC boyama testi ile apoptotik hücrelerin morfolojisi incelenmiştir.

**Subha L. ve ark. 2015 yılında yaptığı bu çalışmada;** Cu(II) iyonunun; **o-vanilin** ve **L-triptofan** amino asidinden türetilmiş Schiff bazı ile ikili ve karışık ligant kompleksleri sentezlenmiştir. İkili kompleksler [*Cu(L)*] (**1**) ve karışık ligant kompleksleri, [*Cu(L)(A)*] (**2**) ve (**3**) şeklinde formüle edilmiştir. Karışık ligant komplekslerinde ikincil ligant olarak **piridin ve imidazol** kullanılmıştır. Komplekslerin yapılarını aydınlatmak için elementel analiz, ESI-MS ve FT-IR yöntemleri kullanılmıştır. Kompleks 2'nin yapısı tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılmıştır. Ligandların N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verici atomları ile Cu(II) iyonuna bağlandığı ve komplekslerin kare düzlem yapıda olduğu rapor edilmiştir. Ligandın ve komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri; spektral ve kinetik yöntemler kullanarak araştırılmıştır. Bağlanma sabiti (K<sub>b</sub>) değerlerinin 2,3x10<sup>5</sup>-3,8 x 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup> aralığında değiştiği, K<sub>b</sub> değerleri sırasının **L<1<2<3** şeklinde olduğu ve

etkileşimlerinin oluk bağlanma olarak gerçekleştiği rapor edilmiştir. Komplekslerin DNA'yı bölme yeteneği; jel elektroforezi kullanılarak araştırılmıştır. pUC19 DNA ile ligant veya kompleksler 37 °C'de bir saat bekletildiğinde; aşırı sarmal (SC) formun çentikli (NC) forma geçtiği gözlenmiştir. Ayrıca; ligand ve komplekslerin MCF-7 kanser hücre hattında sitotoksikite çalışmaları yapılmış ve hem ligandın hem de karışık ligant komplekslerinin MCF-7 hücre hattı üzerinde sitotoksik etki gösterdiği rapor edilmiştir.

**Yang C. ve ark. 2003 yılında yaptıkları bu çalışmada; glisin, alanin, valin, histidine, tirozin ve triptofan** amino asidi ve **salisilaldehit** kullanarak elde edilen Schiff bazı ile Cu (II) iyonunun ikili komplekslerini sentezlenmişlerdir. Komplekslerin genel formülü;  $[Cu_2L_2(H_2O)_x] \cdot yH_2O$  olarak formülize edilmiştir. **L** ile belirtilen Schiff bazı ligandlarının kısa formülleri; Sgly (1), D-Sala (2), L-Sala (3), DL-Sala(4), Sval(4), Shis(5), Styr (6) ve Stryp (7) şeklindedir. Komplekslerin yapıları; elementel analiz, IR ve NMR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınım yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Kristal halde elde edilen DL-Sala, Styr ve Stryp ligandlarını içeren komplekslerin yapısı bozulmuş kare piramidal yapıda olduğu yapılan çalışmada rapor edilmiştir. Tirozin amino asidi ile sentezlenen amino asit Schiff bazı Cu(II) kompleksinin dimerik yapıda ve tirozin amino asidi ile sentezlenen amino asit Schiff bazının Cu(II) kompleksinin ise tek boyutlu koordinasyon polimeri yapısında olduğu bulunmuştur. Ayrıca komplekslerin farklı sıcaklıklarda manyetik ölçümleri yapılmıştır. Cu(II) kompleksleri için Cu başına oda sıcaklığındaki manyetik momentler 1,12~1,50  $\mu B$  aralığında ölçülmüş ve bu sonuç komplekslerde orta derecede güçlü antiferromanyetik eşleşmenin meydana geldiğini göstermiştir. Ayrıca; komplekslerin DTBC (3,5-di-tert-bütilkatekol) ile oksidasyonu araştırılmış ve komplekslerin önemli ölçüde katalitik aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir. Komplekslerin katalitik aktivitenin ( $K_{cat}$ ) 199 - 3800  $h^{-1}$  aralığında değiştiği ve katalitik aktivitenin Sval > L-Sala > D-Sala ~ Sgly > DL-Sala > Styr > Shis > Stryp şeklinde olduğu belirtilmiştir. Schiff bazı ligandlarında amino asidin metilen yan zincirinin uzunluğu arttıkça; komplekslerin katalitik aktivitesinin arttığı bulunmuştur.

**Garcia-Raso A. ve ark. 1996 yılında yaptığı çalışmada;** Cu (II) iyonunun **triptofan** amino asidi ve salisilaldehitten türeyen **Schiff bazı** ile ikili kompleksinin *erythro* (1) ve *threo* (2) olmak üzere iki farklı izomerini sentezlemişlerdir. Kompleksin genel formülü

$[Cu(Sal-Trp)(H_2O)_2]$  şeklinde gösterilmiştir. Schiff bazı; ONO verici atomları ile üç dişli ligandır. Kompleksin yapısı IR, tek kristal X-ışını kırınımı ve ESR yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Kompleks geometrisi ise; bozulmuş kare piramidal yapıda olduğu çalışmada rapor edilmiştir. Cu(II) iyonunun birinci koordinasyon küresinde yer alan iki adet su molekülü ile birlikte kompleksin formülü  $Cu(Sal-Trp)(H_2O)_2$  şeklinde gösterilmiştir. Kompleks 1'de, O(W2) indol halkasının bulunduğu tarafta ve Cu--O(W2) mesafesi 2,25 Å bulunmuştur. Kompleks 2'de, O(W2) ve amino asit zinciri daha uzun ve Cu--O(W2) mesafesi, 2,485 Å bulunmuştur.



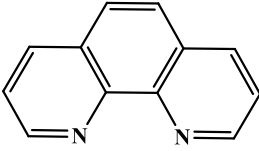
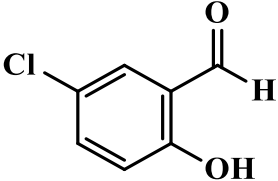
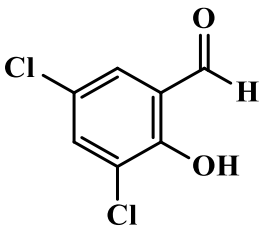
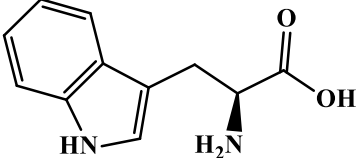
### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Yapılan deneysel çalışmalarda; metal iyonu olarak bakır (II) iyonu, fenantrolin türevi olarak 1,10-fenantrolin (phen), amino asit olarak ise triptofan (trp) seçildi. 1,10-fenantrolin (%99), triptofan (%99) ve bakır(II) asetat monohidrat (%98),  $\text{Cu}(\text{CO}_2\text{CH}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , Sigma-Aldrich'den temin edildi. Metanol ve etanol analitik saflıkta kullanıldı.

Kompleks-DNA etkileşimlerinin araştırılmasında; Sigma-Aldrich marka buzağı timüs DNA'sı (Deoksiribonükleik asit, CT-DNA, çift sarmal, tür I), etidyum bromür (EB), tris(hidroksimetil) aminometan (Tris-HCl), NaCl,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve DMSO kullanıldı.

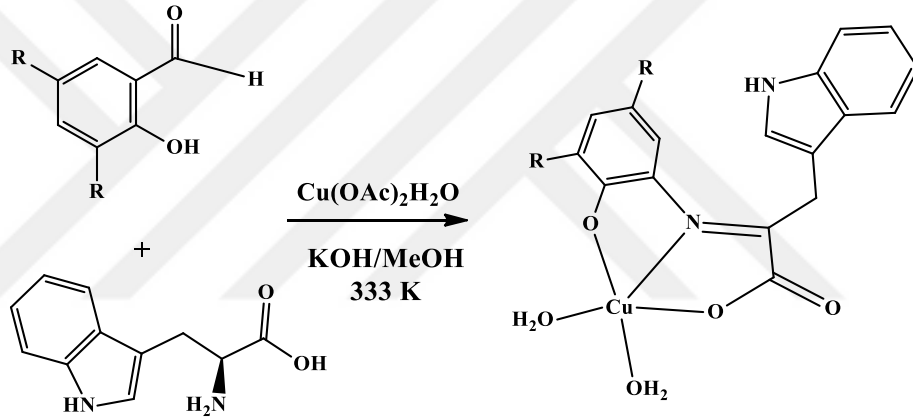
Çizelge 3.1. Kullanılan ligandlar ve kimyasal formülleri

LİGANDLAR	KİMYASAL FORMÜLÜ
1,10-fenantrolin (phen)	
5-klorosalisilaldehit (5-Clsal)	
3,5-diklorosalisilaldehit (3,5-Clsal)	
Triptofan (trp)	

## 3.2. Komplekslerin Sentez ve Karakterizasyonu

### 3.2.1. İkili Kompleksin Sentezi

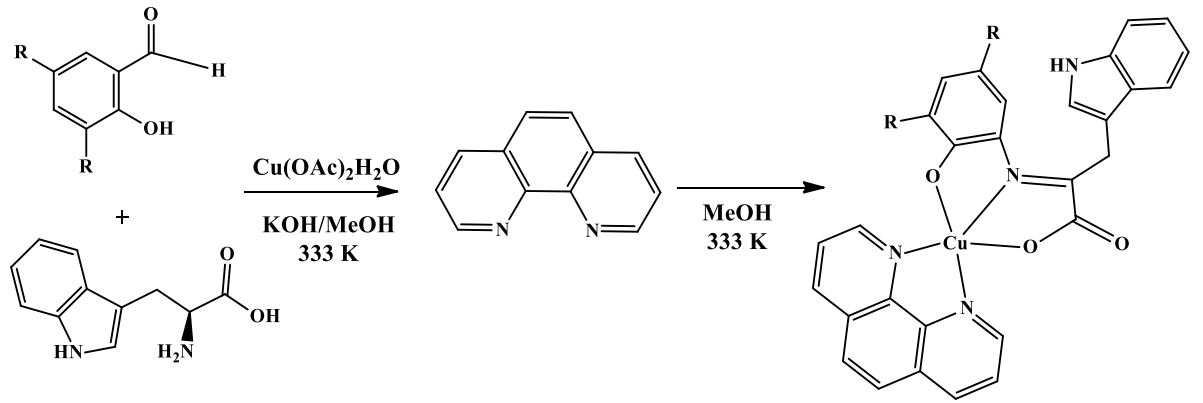
1 mmol KOH (0,056 g) 20 mL metanolde çözüldü ve üzerine 1 mmol triptofan (0,204 g) eklendi ve çözelti berraklaşana kadar karıştırıldı. Daha sonra 1 mmol 5-klorosalisilaldehit (0,151 g) metanol içinde çözüldü ve karışıma yavaşça eklendi. Çözelti yaklaşık 3 saat karıştırıldı. 1 mmol bakır(II) asetat monohidrat (0,199 g) metanolde çözülerek hazırlanan bu çözelti üzerine yavaşça eklendi ve yaklaşık 2 saat karıştırıldı. Çözelti süzülerek süzüntü oda sıcaklığında kristallenmeye bırakıldığında ~3 gün içerisinde açık yeşil renkli oluştuğu gözlemlendi. Kristaller bekletilmeden süzülerek alındı ve kurutuldu.



Şekil 3.1. İkili kompleksin sentez şeması (R= Cl)

### 3.2.2. Karışık Ligant Komplekslerinin Sentezi

1 mmol KOH (0,056 g) 20 mL metanolde çözüldü ve üzerine 1 mmol triptofan (0,204 g) eklendi ve çözelti berraklaşana kadar karıştırıldı. Daha sonra 1 mmol 5-klorosalisilaldehit (0,151 g) / 3,5-diklorosalisilaldehit (0,191g) metanol içinde çözüldü ve karışıma yavaşça eklendi. Çözelti yaklaşık 3 saat karıştırıldı. 1 mmol bakır(II) asetat monohidrat (0,199 g) metanolde çözülerek hazırlanan bu çözelti üzerine yavaşça eklendi ve ~2 saat karıştırıldı. Çözeltiye üzerine 1 mmol 1,10'-fenantrolin (0,198 g) metanolde çözülerek damla damla eklendi ve 2 saat karıştırıldı. Çözelti süzülerek süzüntü oda sıcaklığında kristallenmeye bırakıldığında yaklaşık 3 gün içerisinde koyu yeşil renkli oluştuğu gözlemlendi. Kristaller bekletilmeden süzülerek alındı ve kurutuldu.



**Şekil 3.2.** Karışık ligant komplekslerinin sentez şeması (R= Cl)

### 3.3. Kullanılan Cihazlar

- 1) Komplekslerin elementel analizleri; (C, H ve N analizi) TÜBİTAK-MAM (TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi)'nde Thermo Finnigan marka, Flash 1112 Series EA model elementel cihazı ve Çankırı Karatekin Üniversitesi Merkezi Araştırma Labrotuarı Thermo marka Flash 2000 model elementel analiz cihazında yapıldı.
- 2) Elektronik absorpsiyon spektrumları; CBC Cintra 303 marka UV-VIS spektrometresi ile 200-800 nm dalga boyu aralığında Uludağ Üniversitesi Kimya Bölümü'nde alındı.
- 3) Infrared (IR) spektrumları; Perkin Elmer Spectrum 100 Waltham, MA, ABD marka FT-IR spektrofotometresi ile 4000–400  $\text{cm}^{-1}$  frekans aralığında Uludağ Üniversitesi Kimya Bölümü'nde alındı.
- 4) Floresans spektrumları; Varian Cary Eclipse marka Floresans spektrofotometresi ile 500-700 nm dalga boyu aralığında Uludağ Üniversitesi Kimya Bölümü'nde alındı.
- 5) Komplekslerin tek kristal X-ışını analizleri; Gebze Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde Bruker APEX II QUAZAR difraktometresi kullanılarak yapıldı.
- 6) Sentezlenen komplekslerin sitotoksosite ölçümleri; Bursa Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümü BUMKAL Laboratuvarı'nda MCF-7 ve MDA-MB-231 kanser hcre hatları kullanarak belirlendi.

- 7) Komplekslerin Termik Analizleri; (TGA/DSC) Çankırı Karatekin Üniversitesi Merkezi Araştırma Labrotuarı TA Instruments SDT Q600 Simultane Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ve Termogravimetrik Analiz Cihazı ile gerçekleştirildi.

### **3.4. Tek kristal X-ışını Kırınım Yöntemi Analizleri**

Bileşiklerin tek kristal verileri Gebze Teknik Üniversitesi'ndeki Bruker APEXII CCD X-ışınları difraktometresinde toplandı. Kristal datalarının indirgeme ve absorpsiyon doğrulama işlemleri APEX2 programı ile gerçekleştirildi. Alifatik ve aromatik hidrojenler bağlı buldukları karbon atomlarının hibritleşme türüne göre hesapsal olarak yerleştirildi.

Kristal yapı çözümleri ve atomik arıtım işlemleri Olex-2 (Dolomanov O.V. ve ark 2009) programında yer alan SHELXT (Sheldrick, G. M. ve ark. 2015) ve SHELXL (Sheldrick, G. M. ve ark. 2015) yazılımları kullanılarak yapıldı.

Kristal yapı validasyonları, geometrik hesaplamaları ve çizimler Platon (Spek, A. L. Ve ark. 2009) ve Mercury (Macrae C. F. ve ark. 2020) programları kullanılarak gerçekleştirildi.

### **3.5. DNA Etkileşimlerinin Araştırılması**

#### **3.5.1. Çözeltilerin Hazırlanması**

Komplekslerin DNA ile etkileşimlerinin araştırılması için çalışmada kullanılan çözeltiler günlük taze olarak hazırlandı. Stok Tris-HCl/NaCl tampon çözeltisi (5mM Tris-HCl, 50mM NaCl, pH=7,2) hazırlandı ve seyreltilerek kullanıldı. Çözelti hazırlamada deiyonize su kullanıldı. Hazırlanan stok çözeltiler 4°C'de saklandı.

CT-DNA stok çözeltisi hazırlamak için, bir miktar CT-DNA ayarlı Tris-HCl/NaCl tampon çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında çözüldü. Tamamen çözünmesi için 24 saat

karıştırıldı ve 4°C’de saklandı. DNA stok çözeltisinin derişim değeri, 260 nm dalga boyundaki okunan absorbans değeri ve molar absorpsiyon katsayısı ( $\epsilon=6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) kullanılarak bulundu. Çözeltinin  $A_{260}/A_{280}$  oranının 1,8–2,0 değerleri arasında olmasına dikkat edildi. Aralığın uygun olması, hazırlanan çözeltideki protein miktarının serbest hale geçtiğini göstermektedir (Çakatay U. ve ark. 2011).

### 3.5.2. Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi Yöntemi

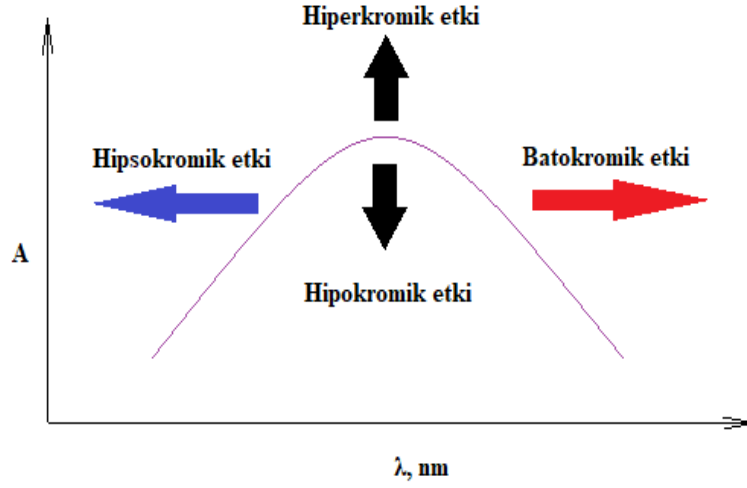
Sentezlenen ikili ve karışık ligandlı Cu(II) komplekslerinin CT-DNA ile etkileşimlerini araştırmak amacı ile elektronik absorpsiyon yöntemi kullanıldı. İlk olarak; sentezlenen ikili ve karışık ligandlı Cu(II) komplekslerinin stok çözeltileri hazırlandı. Belli derişimde kompleks çözeltisine artan derişimlerde CT-DNA çözeltisi eklenerek hazırlanan bir dizi çözeltinin 200-400 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı. Spektrumlar alınmadan önce çözeltiler vorteks ile karıştırıldı. Elde edilen verilerden komplekslerin DNA’ya bağlanma sabiti;  $K_b$  aşağıdaki eşitlik (Mc Ghee-von Hippel (MvH) metodu) kullanılarak hesaplandı (Pyle ve ark. 1989).

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

Bu eşitlikte verilmiş olan [DNA]; DNA derişimidir.  $\epsilon$  değerleri ise, molar sönüm katsayısı değerleridir. Burada elde edilen; [DNA] değerlerine karşı  $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  değerleri grafiği çizilir ve elde edilen denklem kullanılarak kompleksin CT-DNA’ya bağlanma sabiti değeri,  $K_b$ , hesaplanır (İnci D. ve ark, 2018).

Kompleks+CT-DNA çözeltilerinin spektrumlarında gözlenen değişimlerden kompleks-DNA etkileşimi hakkında açıklamalar yapılır. Grafik incelendiğinde; 4 farklı etki oluşabildiği yorumlanmaktadır (Şekil 3.3.) Bunlar; hipokromik, hiperkromik, batokromik ve hipsokromik etkilerdir. Hipokromik etki spektrumlarda; artan DNA derişimi ile kompleksin absorbansında azalma oluşmasıdır. Metal kompleksinin DNA’ya interkalasyon ile etkileştiğini gösterir. Hiperkromik etki ise; artan DNA derişimi ile kompleksin absorbansında bir artış oluşmasıdır. Metal kompleksin DNA ile elektrostatik etkileşim/oluk bağlanma ile etkileşiminde olduğunu belirtir. Ek olarak; dalgaboyundaki

değişikliklerde oluşan kırmızıya kayma batokromik etki ve maviye kayma, hipsokromik etki olarak adlandırılmaktadır (Rao ve ark. 2007).



**Şekil 3.3.** Kompleks+DNA çözeltilerinin elektronik absorpsiyon spektrumundaki değişimler

### 3.5.3. Floresans Spektroskopisi Yöntemi

Floresans spektroskopisi ile EB kullanarak sentezlenen komplekslerin CT-DNA ile interkalasyon modu ile bağlanıp bağlanmadığı araştırıldı. EB, düzlemsel yapı bir moleküldür ve DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığı pek çok araştırma ile belirlenmiştir. EB molekülünün düşük floresans özellik gösterdiği bilinmektedir. Ancak DNA'ya bağlandığında floresans şiddeti önemli ölçüde artmaktadır.

EB çözeltisi ile doyurulmuş ve emisyon seviyesi ölçülmüş CT-DNA çözeltisine artan derişimlerde kompleks çözeltisi eklenmesi ile hazırlanan çözeltilerin emisyon ölçümleri yapıldı. EB+CT-DNA çözeltisine artan derişimlerde kompleks ilave edildikçe EB+CT-DNA çözeltisinin emisyon şiddetinde azalma gözlemlendi. Emisyon şiddetinde meydana gelen derişimlerden Stern-Volmer eşitliği kullanılarak komplekslerin  $K_{sv}$  (komplekslerin floresans söndürme yeteneklerini belirten Stern-Volmer sabiti) ve  $K_{app}$  (komplekslerin EB+DNA çözeltisinin emisyon şiddetini % 50'ye düşürdüğü görünür CT-DNA bağlanma sabiti) sabiti değerleri hesaplandı (Lee ve ark. 1993, Lakowicz ve ark. 1973).

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

(3.2) eşitliği; Stern-Volmer eşitliğidir ve bu eşitlikteki  $I_0$ ; EB+CT-DNA floresans yoğunluğunu,  $I$  ise; kompleks+EB+CT-DNA floresans yoğunluğunu,  $K_{sv}$ ; söndürme katsayısını ve  $[Kompleks]$ ; kompleks derişimini ifade etmektedir. Bu sonuçlar ışığında;  $[Kompleks]$ 'e karşılık  $I_0/I$  verileri olacak şekilde grafik çizilir ve eğimden  $K_{sv}$  değeri hesaplanır.

Aşağıdaki eşitlik ile  $K_{app}$  değerleri hesaplandı.  $K_{app}$ ; komplekslerin EB+DNA çözeltisinin emisyon şiddetini % 50'ye düşürdüğü andaki görünür DNA bağlanma sabitini,  $[Kompleks]$ ; kompleks derişimini,  $K_{EB}$ ; etidyum bromürün belirgin bağlayıcı değerini,  $[EB]$  ise etidyum bromürün derişimini göstermektedir (Karlin ve ark. 1987).

$$K_{app} [Kompleks] = K_{EB} [EB] \quad (3.3)$$

#### 3.5.4. Termal Denatürasyon Yöntemi

Metal kompleksi içeren CT-DNA çözeltisine sıcaklık uygulandığında, DNA'nın konformasyonel değişime uğradığı ve komplekslerin DNA ile etkileşim şekli ve gücü hakkındaki bilgilerin ortaya çıktığı yapılan araştırmalar ile bulunmuştur (Gan ve ark. 2016).

DNA'nın konformasyonel değişimine sentezlenen ikili ve karışık ligandlı Cu(II) komplekslerinin etkisini araştırmak için; termal denatürasyon deneysel çalışmaları peltier sistemli elektronik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak yapıldı.  $0,5^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$  rampa oranı ile sabit derişimdeki CT-DNA çözeltisine, sabit derişimlerde kompleks çözeltisi ilave edilerek hazırlanan çözeltinin 260 nm dalga boyundaki absorbans değerlerindeki değişim incelenerek gerçekleştirildi.

CT-DNA çözeltisinin kompleks varlığında ve yokluğunda 260 nm'deki absorbans değerleri ölçüldü ve sıcaklığa karşı grafiği çizildi.  $T_m$  ve  $T_m^{\circ}$  değerleri belirlendi.  $T_m$  değeri çift sarmal için kararlılık belirten bir parametredir ve komplekslerin CT-DNA'ya

bağlanma gücüne göre farklılıklar gösterir. Bu yöntem, kompleksin bağlanma kararlılığını belirlemek için tercih edilen bir yöntemdir.

$$\Delta T_m = T_m - T_m^\circ \quad (3.4)$$

Verilen eşitlikte;  $T_m^\circ$ ; yalnızca CT-DNA'yı ve  $T_m$  ise; kompleks+DNA içeren çözeltilerinin erime sıcaklıkları anlamına gelmektedir.  $\Delta T_m$  değerleri incelendiğinde;  $\Delta T_m$  değerlerinin yüksek çıkması komplekslerin CT-DNA ile etkileşiminin güçlü olduğunu göstermektedir.

### 3.5.5. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Antioksidanlar; serbest radikal oluşurmasını engelleyici hidrojen kaynağı ve elektron vericisi olarak davranırlar. Sentezlenen komplekslerin antioksidan özelliklerini bulmak için; yaygın olarak kullanılan yöntemlerden DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemi ve  $H_2O_2$  radikali yakalama aktivite yöntemleri uygulandı. DPPH radikal süpürücü aktivite yönteminde DPPH kullanılır ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) organik azot radikallerinden biridir. DPPH; antioksidan özellik taşıyan kompleks varlığında indirgenir ve indirgenen DPPH'nin renk değişiminden yararlanılarak antioksidan aktivite belirlenir.

#### 3.5.5.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi

DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemi; Brand-Williams'ın analiz yöntemine uygun şekilde yapıldı (Brand-Williams 1995). DPPH metanol ile çözeltisi hazırlandı ve üzerine sentezlenen kompleksin çözeltisi eklendi. DPPH+kompleks çözeltileri bir saat karanlıkta inkübe edildi. Standart antioksidan türlerinden BHT, troloks ve askorbik asit kullanıldı. İnkübe süresi sonucunda DPPH+kompleks içeren çözeltilerin 517 nm'deki absorbans değerleri okundu ve yüzde inhibisyon değerleri (3.5.)'te verilen eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi} = 1 - (A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (3.5)$$

Bu eşitlikte;  $A_{\text{kontrol}}$ , kontrolün absorbanası,  $A_{\text{örnek}}$  ise kompleksin absorbanasını göstermektedir. Komplekslerin absorbanasına karşı derişim grafikleri çizildi ve DPPH derişimini yarıya düşüren kompleks miktarları ( $IC_{50}$ )  $\mu\text{M}$  cinsinden bulundu.

### 3.5.5.2. $\text{H}_2\text{O}_2$ Radikali Yakalama Aktivite Yöntemi

$\text{H}_2\text{O}_2$  yönteminde ise literatürde belirtildiği gibi deneyler yapıldı (Ruch 1989).  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisi 0,1 M fosfat tamponu kullanılarak (pH=7,4) hazırlandı. Bu çözeltiye kompleks çözeltisi ilave edildi.  $\text{H}_2\text{O}_2$ +kompleks bulunan çözeltilerin 230 nm absorban değerleri belirlendi ve % inhibisyon değerleri (3.6.)'daki verilen eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{H}_2\text{O}_2 \text{ radikali yakalama aktivitesi} = 1 - (A_{\text{örnek}}/A_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (3.6)$$

Verilen eşitlikte;  $A_{\text{kontrol}}$ , kontrolün absorbanası,  $A_{\text{örnek}}$  ise örnek absorbanasıdır. Komplekslerin absorbanasına karşı derişim grafikleri bu değerler yardımı ile çizilip  $\text{H}_2\text{O}_2$  derişimini yarıya düşüren kompleks miktarı ( $IC_{50}$ )  $\mu\text{M}$  cinsinden bulundu.

### 3.5.6. Termik Analiz

Termik analiz; sıcaklığın kontrollü artışı ile koordinasyon bileşiginde fiziksel özelliklerinin değişimlerinin ölçülmesi işlemine denir. Termik Analiz; TGA, DSC, TMA ve DTG gibi birkaç yöntemin genel olarak adlandırılmasıdır. Sentezlenen komplekslerde; TGA/DSC yöntemi kullanılarak kütle kayıpları belirlendi. Metal kompleksleri basamaklı bir bozunma sergiledikleri için termik analiz koordinasyon kimyasında sık kullanılmakta olup önemlidir.

### 3.5.7. Kullanılan Hücre Hatları ve Hücre Kültürü

Sentezlenen karışık ligandlı Cu(II) komplekslerinin sitotoksisite ölçümlerinde MCF7 ve MDA-MB231 hücre hatları kullanıldı. Tüm hücre hatları, 37°C'de %5  $\text{CO}_2$  ortamında saklandı ve sentezlenen komplekslerin (50 mM) stok çözeltileri DMSO kullanarak hazırlandı ve -20°C'de saklandı.

### 3.5.7.1. SRB Canlılık testi

Sulforhodamine B (SRB) testi, hücresel protein içeriğinin ölçümüne dayalı olarak hücre canlılığını bulmak için kullanılan bir yöntemdir (Vajrabhaya LO ve ark. 2018). Sentezlenen komplekslerin MCF7 ve MDA-MB231 kanserli meme hücrelerindeki çoğalmayı önleyiciliği SRB yöntemi kullanılarak araştırıldı (Vajrabhaya LO. ve ark. 2018, Erturk E. ve ark. 2023)

Hücreler, 96 oyuklu bir plakanın oyuk başına  $5 \times 10^3$  hücre yoğunluğunda ekildi. Hücrelerin üzerine kompleks derişimi  $0,78 \mu\text{M}$  -  $100 \mu\text{M}$  olacak şekilde stok kompleks çözeltisinden eklendi. 72 saat bekletildi ve SRB canlılık analizi yapıldı (Erturk E ve ark., 2023). Absorbans değerleri spektrofotometre (ELISA, mikropilaka) kullanılarak  $570 \text{ nm}$ 'de okundu. Hücre canlılığı, aşağıdaki formül kullanılarak kontrol hücreleri referansı ile hesaplandı:

$$\text{Canlılık (\%)} = \text{Abs}_{(\text{örnek})} / \text{Abs}_{(\text{kontrol})} \times 100 \quad (3.7)$$

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Fiziksel Özellikler

Sentezlenen komplekslerin renkleri ve molekül kütleleri Çizelge 4.1’de verildi. Kompleksler metanol, etanol, dimetil formamit (DMF) ve dimetil sülfoksit (DMSO) çözücülerinde iyi çözünmektedirler.

Çizelge 4.1. Komplekslerin renk ve molekül kütleleri

Kompleks	Renk	Molekül Kütleleri (g/mol)
Kompleks 1	Açık Yeşil	440,35 g/mol
Kompleks 2	Koyu Yeşil	630,56 g/mol
Kompleks 3	Koyu Yeşil	618,94 g/mol

Kompleks 1:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$

Kompleks 2:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

Kompleks 3:  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$

### 4.2. Elementel Analiz

Komplekslerin elementel analiz sonuçları (C, H ve N) Çizelge 4.2’de verildi. Analiz sonuçlarının hesaplanan değerler ile uyumlu olduğu görüldü.

Çizelge 4.2. Komplekslerin elementel analiz sonuçları

Kompleks	N %	C %	H %
Kompleks 1	6,46 (6,36)	52,03 (49,09)	3,73 (3,86)
Kompleks 2	9,25 (8,88)	60,89 (60,95)	4,22 (4,31)
Kompleks 3	8,97 (9,04)	58,72 (58,21)	3,05 (3,25)

\*Hesaplanan değerler parantez içinde verilmiştir.

Kompleks 1:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$

Kompleks 2:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

Kompleks 3:  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$

### 4.3. Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi

Komplekslerin farklı derişimlerde (20µM-1000µM) ve seçilen uygun çözücü içerisinde (DMSO+Tris-HCl/NaCl) çözeltileri hazırlandı ve elektronik absorpsiyon spektrumları alındı. Elektronik absorpsiyon spektrumlarına ait veriler (Çizelge 4.3)'de gösterildi.

Kompleks 1, 2 ve 3'ün elektronik absorpsiyon spektrumları incelendiğinde, 320-420 nm dalga boyu aralığında Schiff bazının azometin (C=N) grubuna ait şiddetli  $n \rightarrow \pi^*$  geçişine ait bantların absorpsiyonları görüldü. Ayrıca kompleks 2 ve 3'te 250-300 nm dalga boyu aralığında fenantrolin ligandına ait olduğu düşünülen şiddetli  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişine ait bantların absorpsiyonları görüldü. Tüm Cu(II) komplekslerinde 550-800 nm dalga boyu aralığında gözlenen daha düşük absorpsiyon değerleri ise;  $d^9$  elektronik yapısına sahip Cu(II) iyonunun görünür bölgedeki d-d geçişlerine aittir (Şekil 4.1).

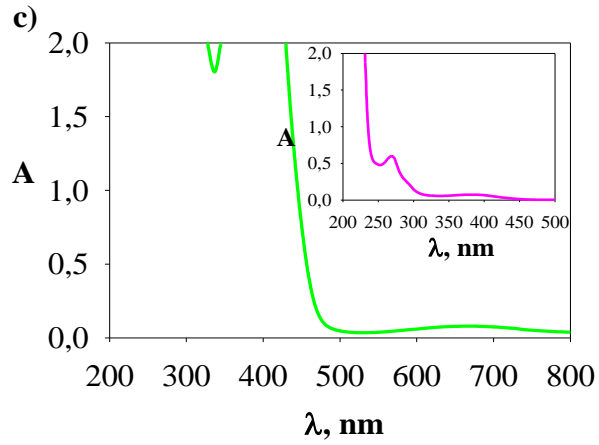
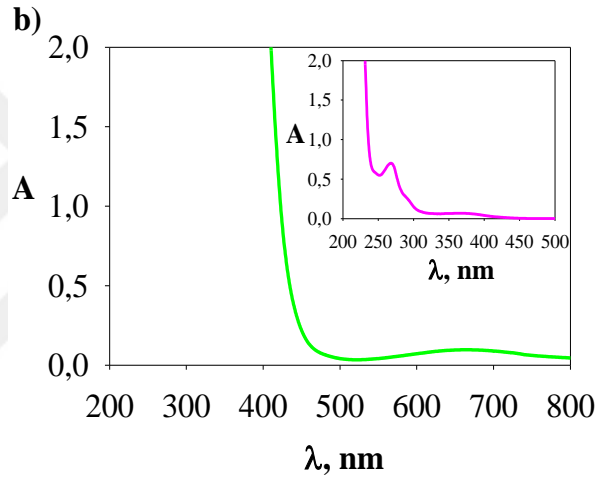
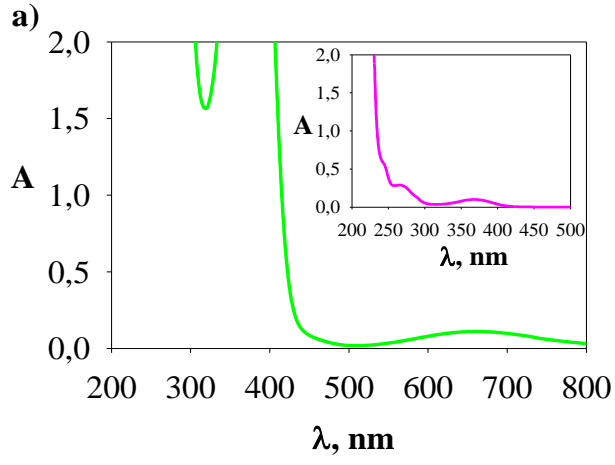
Çizelge 4.3. Komplekslerin elektronik absorpsiyon spektroskopisi analiz sonuçları

Kompleks	Çözücü	$\lambda_{\text{mak}}(\text{nm})$	$\epsilon(\text{L/mol.cm})$	d-d geçişi	$\epsilon(\text{L/mol.cm})$
Kompleks 1	DMSO + Tris-HCl/NaCl	367	5035	657	110,4
Kompleks 2	DMSO + Tris-HCl/NaCl	369	3445	665	97
Kompleks 3	DMSO + Tris-HCl/NaCl	398	3370	666	79

Kompleks 1: [Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]

Kompleks 2: [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

Kompleks 3: [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)]



**Şekil 4.1.** a)  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$ , b)  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]\cdot\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  ve c)  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$  komplekslerine ait elektronik absorpsiyon spektrumları

#### 4.4. Infrared (IR) Çalışmaları

Kompleks **1**, **2** ve **3**'ün IR spektrumlarında karakteristik pikler belirlendi ve kompleks yapıları ile spektrumlar arasında bağlantı kuruldu. Kompleks **1**, **2** ve **3**'ün IR spektrumları (Şekil 4.2.- Şekil 4.4)'te ve spektrumlardan elde edilen yapı aydınlatmada önemli görülen gerilme ve eğilme titreşimlerine ait frekans değerleri ise (Çizelge 4.4)'de verildi.

Yapılan pek çok çalışmada; Schiff bazının yapısında bulunan azometin (-CH=N) grubuna ait karakteristik band aralığı  $1625-1630\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir. Schiff bazının yapısındaki karboksilat ( $\text{COO}^-$ ) grubuna ait asimetric ve simetric gerilme titreşimleri ise  $1610-1380\text{ cm}^{-1}$  band aralığında gözlenmiştir. Ayrıca Schiff bazında bulunan fenolat gruba ait (C-O) karakteristik band aralığı  $1215-1220\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir. Bu band aralıklarının kompleks oluşumu ile daha düşük veya yüksek değerlerde gözlenebileceği çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir (İnci D. 2020 ve Subha L. 2015).

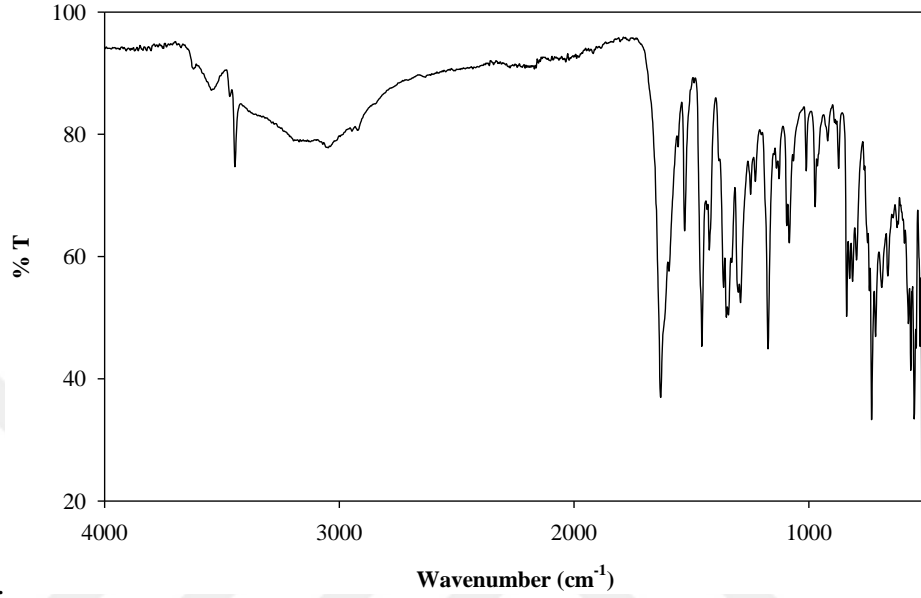
##### 4.4.1. İkili Kompleksin İnfrared Sonuçları

Kompleks **1** için elde edilen IR spektrumu incelendiğinde, Schiff bazları için karakteristik olan azometin grubuna ait band,  $\nu(-\text{CH}=\text{N})$ ,  $1629\text{ cm}^{-1}$  değerinde gözlendi. Karboksilat grubuna ait asimetric ve simetric gerilme titreşimleri;  $\nu_{\text{asim}}(\text{COO}^-)$   $1528\text{ cm}^{-1}$  ve  $\nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-)$   $1455\text{ cm}^{-1}$  değerlerinde görüldü. Ayrıca; fenolat gruba ait gerilme titreşimi,  $\nu(\text{C}-\text{O})$ ,  $1173\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlendi (Şekil 4.2. ve Çizelge 4.4.).

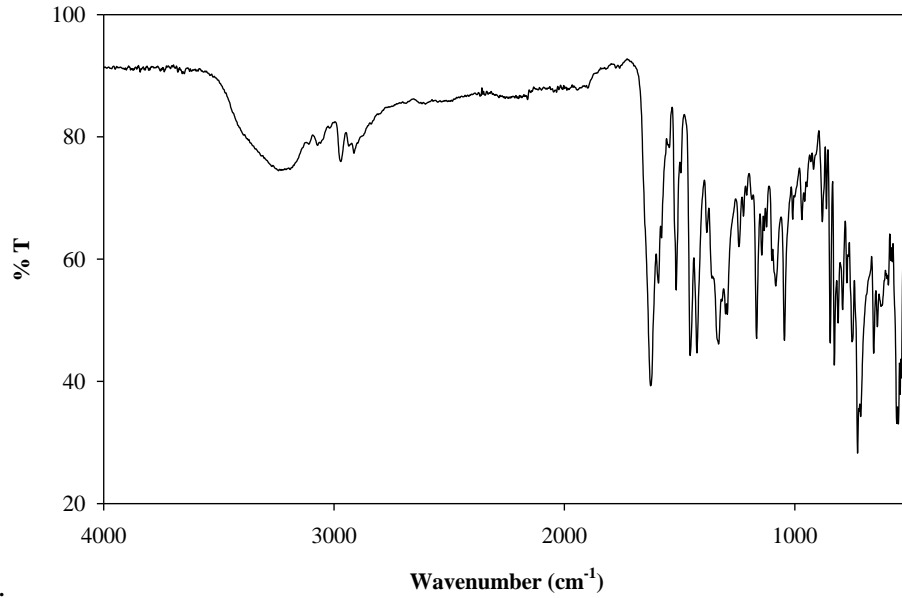
##### 4.4.2. Karışık Ligandlı Kompleksler Sonuçları

Karışık ligandlı komplekslerin IR spektrumları incelendiğinde, Schiff bazları için karakteristik olan azometin grubunun gerilme titreşimi,  $\nu(-\text{CH}=\text{N})$ , kompleks **2** ve kompleks **3** için sırası ile  $1621$  ve  $1623\text{ cm}^{-1}$  değerlerinde gözlendi. Karboksilat grubuna ait asimetric ve simetric gerilme titreşimleri ise kompleks **2** ve kompleks **3** için sırası ile;  $\nu_{\text{asim}}(\text{COO}^-)$   $1590\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-)$   $1381\text{ cm}^{-1}$  ve  $\nu_{\text{asim}}(\text{COO}^-)$   $1588\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-)$   $1388\text{ cm}^{-1}$  değerlerinde gözlendi. Fenolat grubuna ait gerilme titreşimi,  $\nu(\text{C}-\text{O})$ , kompleks **2** ve kompleks **3** için sırası ile  $1236\text{ cm}^{-1}$  ve  $1208\text{ cm}^{-1}$  değerlerinde gözlendi. Ayrıca,

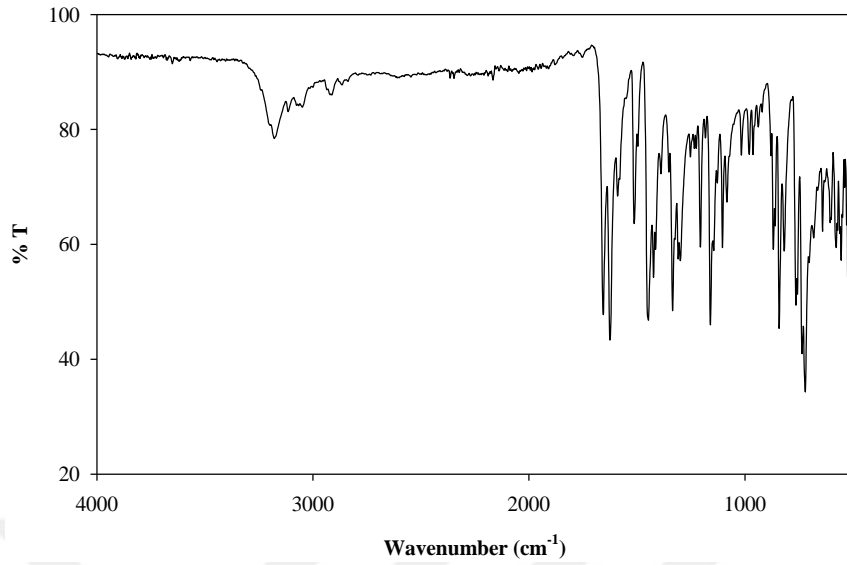
phen ligandının karakteristik düzlem içi eğilme titreşimleri,  $\delta(\text{C-H})$ , kompleks **2** için 831 ve 729  $\text{cm}^{-1}$  ve kompleks **3** için 843 ve 723  $\text{cm}^{-1}$ 'de görüldü (Şekil 4.3. -Şekil 4.4. ve Çizelge 4.4.).



Şekil 4.2.  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$  kompleksinin IR spektrumu



Şekil 4.3.  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]\cdot\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  kompleksinin IR spektrumu



**Şekil 4.4.** [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] kompleksinin IR spektrumu

**Çizelge 4.4.** Komplekslerin gerilme ve eğilme titreşimlerine ait frekans değerleri

Kompleks	$\nu(-CH=N-)$	$\nu(C-O)$	$\nu_{asim}(COO^-)$	$\nu_{sim}(COO^-)$	$\Delta(C-H)$
Kompleks 1	1629	1173	1528	1455	-
Kompleks 2	1621	1236	1590	1381	831 - 729
Kompleks 3	1623	1208	1588	1388	843 - 723

Kompleks 1: [Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]

Kompleks 2: [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

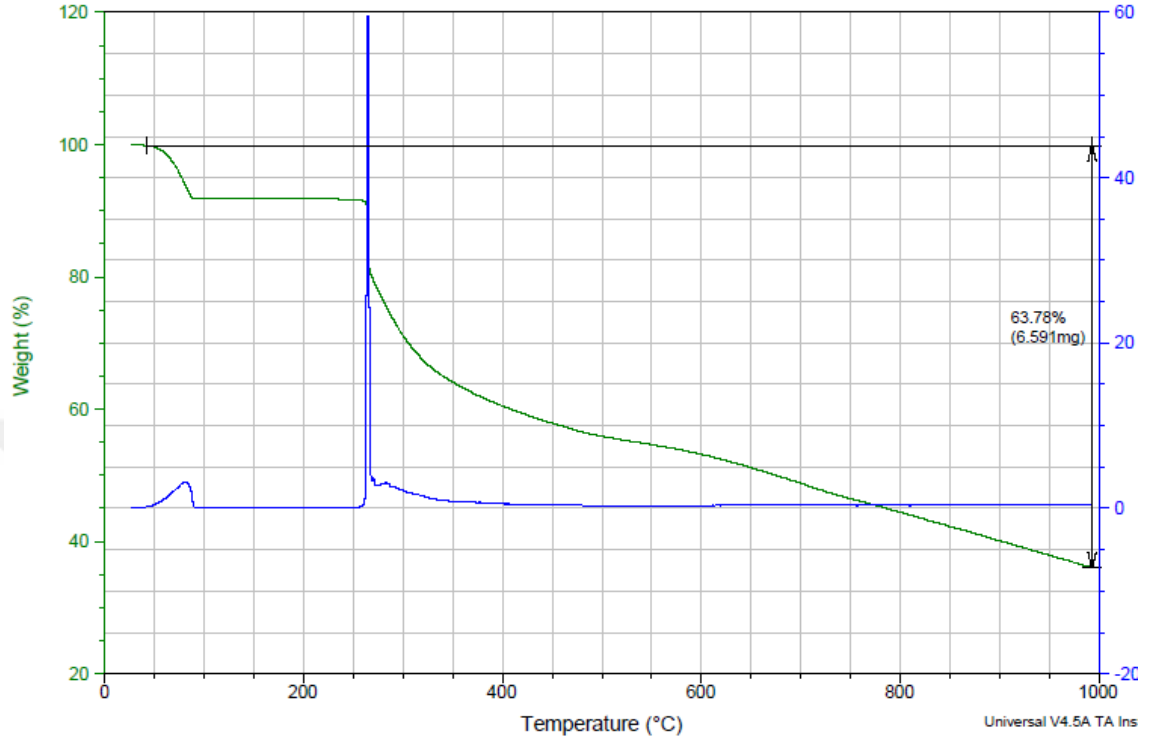
Kompleks 3: [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)]

#### 4.5. Termik Analiz Çalışmaları

Komplekslerin termogravimetrik analizleri 0-1000°C aralığında ve ayrıca ısıtma hızı 10°C/dk olan azot atmosferinde gerçekleştirildi. Komplekslerin TGA/DSC grafikleri Şekil 4.5.-4.7. de verildi.

[Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] kompleksinin TGA grafiğine bakıldığında; ilk kütle kaybının 100°C sıcaklıkta kompleksin birinci koordinasyon küresinde bulunan ve Cu(II) iyonuna bağlı olan akua (H<sub>2</sub>O) ligandlarına ait olduğu görüldü. Yaklaşık 300°C'den sonra

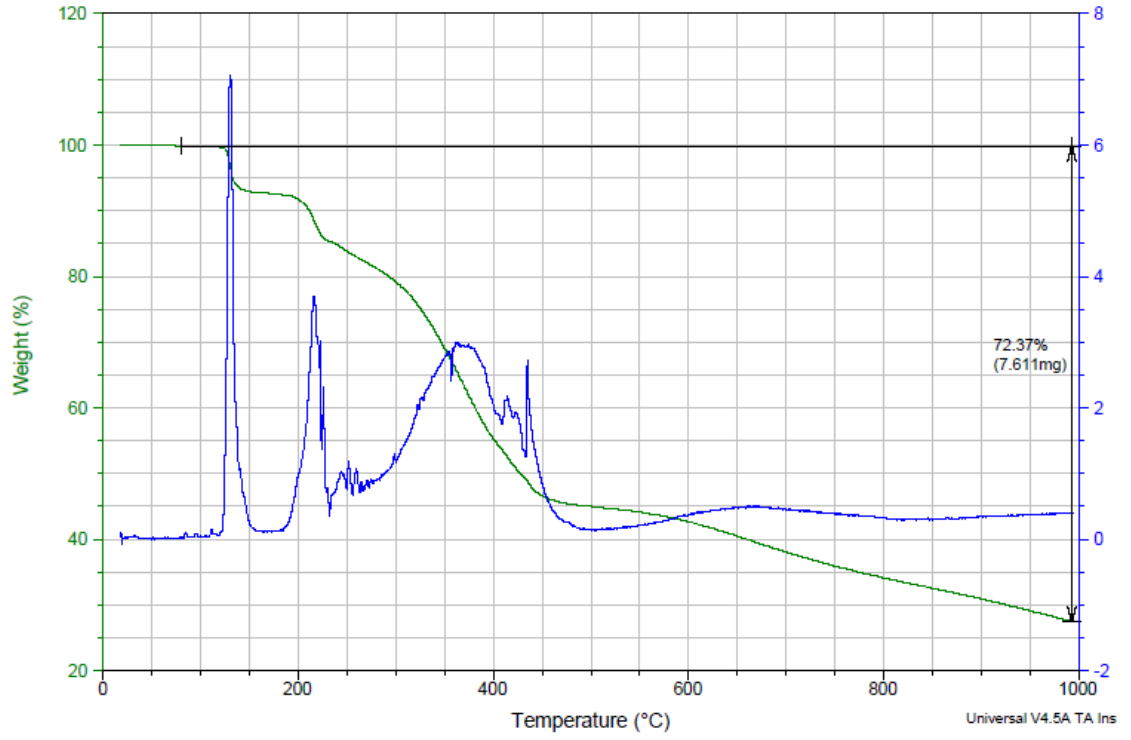
komplekste Cu(II) iyonuna bağlı triptofan Schiff bazı ligandının ayrışmaya başladığı ve 1000°C sıcaklığa kadar kütle kaybının devam ettiği görüldü (şekil 4.5.).



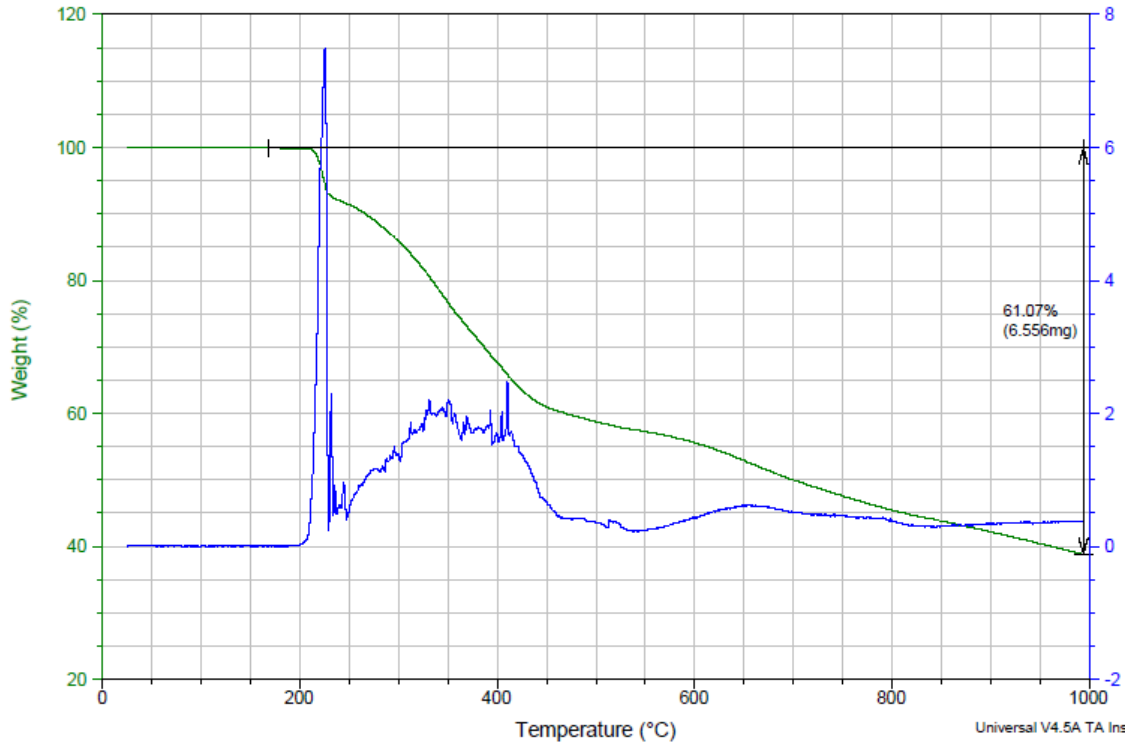
**şekil 4.5.** [Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] kompleksinin TGA/DSC grafiği

[Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH kompleksinin TGA grafiğinde ise; yaklaşık 150°C civarında kompleksin kristal boşluklarında bulunan bir mol etanolün (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) uzaklaştığı gözlemlendi. 250 – 450°C sıcaklık aralığında kompleksin birinci koordinasyon küresinde bulunan ve Cu(II) iyonuna bağlı olan phen ve triptofan Schiff bazı ligandlarının ayrışmaya başladığı ve 1000°C'ye kadar ise kütle kaybının devam ettiği görüldü (şekil 4.6.).

[Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] kompleksinin TGA grafiğinde ise; yaklaşık 250°C sıcaklığa kadar kütle kaybının olmadığı görüldü. 250°C'den itibaren kompleksin birinci koordinasyon küresinde bulunan ve Cu(II) iyonuna bağlı olan phen ve triptofan Schiff bazı ligandlarının ayrışmaya başladığı ve 1000 °C sıcaklığa kadar kütle kaybının devam ettiği görüldü (şekil 4.7.).



Şekil 4.6.  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]\cdot\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  kompleksinin TGA/DSC grafiği



Şekil 4.7.  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$  kompleksinin TGA/DSC grafiği

#### 4.6. Tek Kristal X-ışını Kırınım Çalışmaları

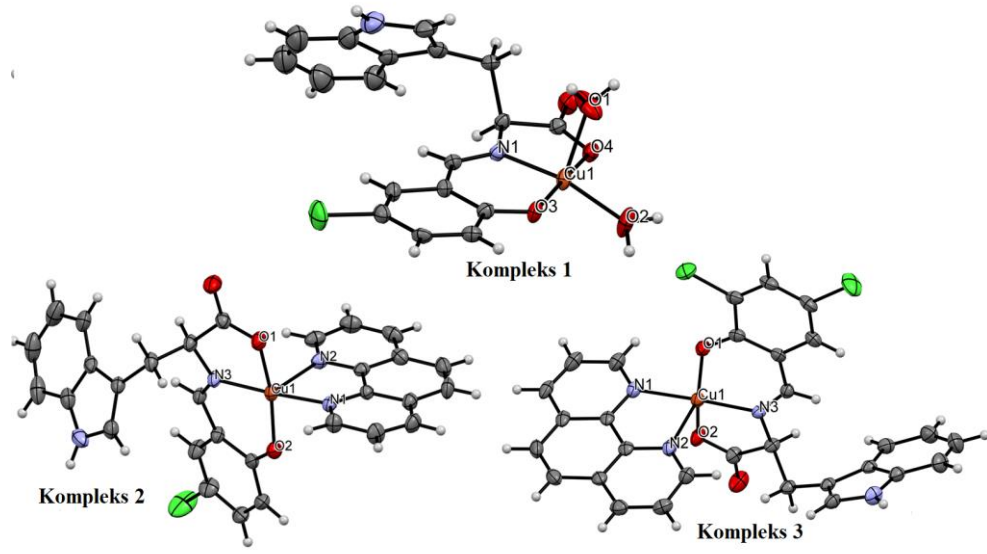
Sentezlenen komplekslerin kristal verilerine ait değerler Çizelge 4.4’de gösterildi. Bağ uzunlukları ve açıları ise Çizelge 4.5’de verildi.

Çizelge 4.5. Kompleks 1, 2 ve 3 bileşiklerine ait kristal veri parametreleri

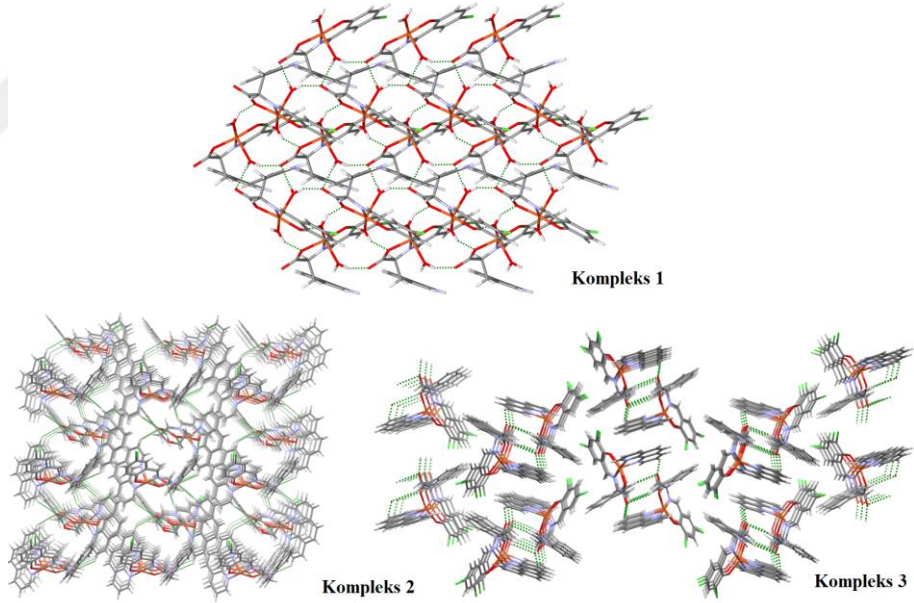
	<b>Kompleks 1</b>	<b>Kompleks 2</b>	<b>Kompleks 3</b>
<b>Kapalı Formül</b>	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> ClCuN <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	C <sub>32</sub> H <sub>27</sub> ClCuN <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	C <sub>30</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> CuN <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
<b>Formül Ağırlığı</b>	440,32	630,56	618,94
<b>Sıcaklık/K</b>	298	298	298
<b>Kristal Sistemi</b>	Ortorombik	Triklinik	Ortorombik
<b>Uzay Grubu</b>	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	P <sub>1</sub>	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
<b>a/Å</b>	6,6323(12)	10,4775(15)	9,5820(17)
<b>b/Å</b>	7,9645(15)	11,6304(17)	10,7927(18)
<b>c/Å</b>	35,447(7)	11,8913(17)	26,368(4)
<b>α/°</b>	90	86,681(2)	90
<b>β/°</b>	90	84,175(2)	90
<b>γ/°</b>	90	88,041(2)	90
<b>V (Å<sup>3</sup>)</b>	1872,4(6)	1438,6(4)	2726,9(8)
<b>Z</b>	4	2	4
<b>ρ<sub>calc</sub>/cm<sup>3</sup></b>	1,562	1,456	1,508
<b>μ/mm<sup>-1</sup></b>	1,341	0,897	1,037
<b>F(000)</b>	900	650	1260
<b>Kristal Boyutu/mm<sup>3</sup></b>	0,345×0,03×0,02	0,326×0,119×0,046	0,212×0,176×0,164
<b>X-ışını Kaynağı</b>	MoKα	MoKα	MoKα
	(λ = 0,71073)	(λ = 0,71073)	(λ = 0,71073)
<b>Data Toplama için 2θ Aralığı</b>	4,596 to 50	3,448 to 50,184	3,09 to 49,97
<b>HKL İndeks Aralığı</b>	-7 ≤ h ≤ 7, -9 ≤ k ≤ 9, -42 ≤ l ≤ 42	-12 ≤ h ≤ 12, -13 ≤ k ≤ 13, -14 ≤ l ≤ 14	-11 ≤ h ≤ 11, -12 ≤ k ≤ 12, -30 ≤ l ≤ 31
<b>Toplanan Yansıma Sayısı</b>	29343	18311	21812
<b>Bağımsız Yansıma Sayısı</b>	3292	10161	4796
	[R <sub>int</sub> = 0,0845, R <sub>sigma</sub> = 0,0526]	[R <sub>int</sub> = 0,0348, R <sub>sigma</sub> = 0,0749]	[R <sub>int</sub> = 0,0867, R <sub>sigma</sub> = 0,0531]
<b>Veri/kısıtlamalar/parametreler</b>	3292/250/248	10161/3/761	4796/0/361
<b>S Faktörü</b>		0,975	1,003
<b>Final R Faktörleri [I ≥ 2σ (I)]</b>	R <sub>1</sub> = 0,0734, wR <sub>2</sub> = 0,1663	R <sub>1</sub> = 0,0419, wR <sub>2</sub> = 0,0879	R <sub>1</sub> = 0,0379, wR <sub>2</sub> = 0,0913
<b>Final R Faktörleri [bütün data]</b>	R <sub>1</sub> = 0,0806, wR <sub>2</sub> = 0,1687	R <sub>1</sub> = 0,0566, wR <sub>2</sub> = 0,0949	R <sub>1</sub> = 0,0441, wR <sub>2</sub> = 0,0933
<b>En Büyük Fark Tepe/Delik / e Å<sup>-3</sup></b>	0,61/-0,65	0,33/-0,26	0,52/-0,44

#### 4.6.1. [Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>], [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH ve [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] Komplekslerinin Kristalografik Analizleri

[Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] (**1**), [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (**2**) ve [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] (**3**) bileşiklerinin 3D yapı analizleri tek kristal X-ışınları kristalografisi ile kesin olarak belirlendi (Şekil 4.8.). [Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] ve [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] kompleksi ortorombik P<sub>2</sub><sub>1</sub><sub>2</sub><sub>1</sub><sub>2</sub><sub>1</sub> uzay grubunda kristallenirken, [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH kompleksi triklinik P<sub>1</sub> uzay grubunda kristallenmiştir. [Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] kompleksi merkez metal atomuna 2 adet koordine su molekülündeki oksijen atomları ve triptofan Schiff bazı ligandının 2 oksijen ve 1 azot atomu ile birlikte bozulmuş kare düzlem koordinasyon geometrisindedir. [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH kompleksinin asimetrik birim hücresinde; 2 adet kompleks yapı ve 2 adet kristallendirme çözücüsünden gelen etanol (EtOH) bulunmaktadır. [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH ve [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] kompleksleri; yapılarıdaki Cu(II) merkez metal atomu bir adet fenantrolin ligandının 2 adet azot atomu ve bir adet triptofan Schiff bazı ligandının 2 adet oksijen ve 1 adet azot atomu ile birlikte bozulmuş kare düzlem koordinasyon geometrisindedir. Kompleks **1**, **2** ve **3**'te Cu-O bağ uzunlukları sırasıyla; 1,914 (5) Å - 1,959 (5) Å / 1,910 (3) Å-1,957 (3) Å / 1,907(8) Å-2,261(11) Å aralıklarında değişirken, Cu-N bağ uzunluğu ise 1,920 (5) Å-2,308 (5) Å / 1,935 (4) Å-2,257 (4) Å / 1,915(9) Å şeklinde bulundu (Çizelge 4.6. - Çizelge 4.8.). Ayrıca; kompleks **1**, **2** ve **3**'ün yapılarında moleküller arası hidrojen bağları kristal yapıyı önemli ölçüde kararlı kılmada büyük rol oynamaktadır (Şekil 4.9.).



**Şekil 4.8.**  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$  (1),  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]\cdot\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (2) ve  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$  (3) kristal yapılarının ORTEP gösterimi. Elipsoidler %30 olasılık seviyesinde gösterilmiştir.



**Şekil 4.9.**  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$  (1),  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]\cdot\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (2) ve  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$  (3) kristal paketlenmelerinin gösterimi

**Çizelge 4.6.** [Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] kompleksinin bağ uzunlukları ve bağ açıları değerleri

<b>[Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]</b>					
<b>Bağ Uzunlukları (Å)</b>					
Cu1-O1	2,261(11)	Cu1-O3	1,907(8)	Cu1-N1	1,915(9)
Cu1-O2	1,935(9)	Cu1-O4	1,948(8)		
<b>Bağ Açıları (°)</b>					
O4-Cu1-O1	91,6(4)	O3-Cu1-N1	94,3(3)	O3-Cu1-O1	94,3(4)
O3-Cu1-O4	174,1(4)	O3-Cu1-O2	88,2(4)	N1-Cu1-O4	84,6(4)
N1-Cu1-O2	163,1(4)	N1-Cu1-O1	96,1(5)	O2-Cu1-O4	91,2(4)
O2-Cu1-O4	91,2(4)				

**Çizelge 4.7.** [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH kompleksinin bağ uzunlukları ve bağ açıları değerleri

<b>[Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</b>					
<b>Bağ Uzunlukları (Å)</b>					
Cu1-O1	1,959 (5)	Cu1-N1	1,990 (5)	Cu1-N3	1,920 (5)
Cu1-O2	1,914 (5)	Cu1-N2	2,308 (5)	Cu2-N7	1,925 (5)
Cu2-O4	1,947 (5)	Cu2-N5	2,029 (5)		
Cu2-O5	1,927 (5)	Cu2-N6	2,282 (5)		
<b>Bağ Açıları (°)</b>					
O1-Cu1-N1	92,48 (19)	O2-Cu1-N2	93,4 (2)	N3-Cu1-N1	176,2 (2)
O1-Cu1-N2	99,4 (2)	O2-Cu1-N3	93,64 (19)	N3-Cu1-N2	102,21 (19)
O2-Cu1-O1	167,2 (2)	N1-Cu1-N2	78,19 (19)	O4-Cu2-N5	91,3 (2)
O2-Cu1-N1	90,1 (2)	N3-Cu1-O1	83,7 (2)	O4-Cu2-N6	98,0 (2)
O5-Cu2-O4	169,1 (2)	N5-Cu2-N6	77,76 (19)	N7-Cu2-N5	170,8 (2)
O5-Cu2-N5	90,81 (19)	N7-Cu2-O4	83,4 (2)	N7-Cu2-N6	110,34(19)
O5-Cu2-N6	92,95 (19)	N7-Cu2-O5	93,1 (2)		

**Çizelge 4.8.** [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)] kompleksinin bağ uzunlukları ve bağ açıları değerleri

[Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)]					
Bağ Uzunlukları (Å)					
Cu1-O1	1,910 (3)	Cu1-N1	2,019 (3)	Cu1-N3	1,935 (4)
Cu1-O2	1,957 (3)	Cu1-N2	2,257 (4)		
Bağ Açıları (°)					
O1-Cu1-O2	159,04 (15)	O2-Cu1-N1	89,00 (14)	N3-Cu1-N1	172,27(15)
O1-Cu1-N1	91,68 (15)	O2-Cu1-N2	97,43 (14)	N3-Cu1-N2	104,32 (13)
O1-Cu1-N2	103,26 (14)	N1-Cu1-N2	78,94 (14)	N3-Cu1-O2	83,65 (13)
O1-Cu1-N3	94,33 (14)				

#### 4.7. DNA Etkileşimlerinin Araştırılması

##### 4.7.1. Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi Yöntemi

Bu yöntemde, sentezlenen komplekslerin CT-DNA ile olan etkileşimleri; uygun şekilde hazırlanan çözeltilerin absorpsiyon spektrumları incelenerek araştırıldı. Öncelikle komplekslerin stok çözeltileri hazırlandı. Stok çözeltiden alınan belli miktardaki kompleks çözeltilerine artan miktarlarda derişimi belirlenmiş CT-DNA stok çözeltisinden ilave edilerek bir dizi çözelti (CT-DNA derişimi 0-300 µM aralığında olacak şekilde) hazırlandı. Çözeltilerin son hacmi Tris-HCl/NaCl tampon çözeltisi ile 5 mL yapıldı.

Sabit derişimde kompleks çözeltisi ve artan derişimlerde CT-DNA çözeltisi içeren kompleks+DNA çözeltilerinin 200-500 nm dalga boyu aralığında elektronik absorpsiyon spektrumları alındı. Alınan spektrumlar Şekil 4.10'da verildi. Ayrıca, komplekslerin DNA bağlanma sabitini ( $K_b$ ) belirlemek için, [DNA] değerlerine karşı  $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  değerleri arasında çizilen grafikler de aynı şekil üzerinde gösterildi.

Spektrumlar incelendiğinde, stok kompleks çözeltisine artan derişimlerde CT-DNA çözeltisi eklendiğinde; kompleksin absorbans değerlerinde azalma (hipokromik etki) ve

dalga maksimumu değerlerinde artma (kırmızıya kayma, batokromik etki) gözlemlendi. Elde edilen verilere göre; hesaplanan % hipokromizm değerleri (Çizelge 4.9.)’de verildi. Bu sonuçlar; komplekslerin her birinin CT-DNA’ya bağlandığını ve bağlanmanın interkalasyon yolu ile olduğunu gösterdi.

Kompleks çözeltilerinin CT-DNA ile titrasyonundan elde edilen spektroskopik veriler bölüm 3.5.2.’de verilen MvH yöntemine uygulanarak CT-DNA’ya bağlanma sabiti olan  $K_b$  değerleri hesaplandı. Hesaplanan  $K_b$  ve  $\log K_b$  değerleri (Çizelge 4.9.)’da verildi. Çizelgedeki değerlere bakıldığında, komplekslerin bağlanma sabitlerinin; kompleks 2 > kompleks 3 > kompleks 1 şeklinde olduğu gözlemlendi. Phen ve Schiff bazı ligandlarını içeren kompleks 2 ve kompleks 3’ün  $K_b$  değerlerinin büyük olması CT-DNA’ya daha güçlü bağlandıklarını göstermektedir.

**Çizelge 4.9.** Kompleks+CT-DNA çözeltilerine ait bağlanma sabiti ( $K_b$  ve  $\log K_b$ ),  $\lambda_{max}$  ve % hipokromizm değerleri

	$K_b$	$\log K_b$	$\lambda_{max}$ (nm)	% Hypo*
Kompleks 1	$2,39 \times 10^3 \pm 0,04$	$3,38 \pm 0,02$	265,3	8,8
Kompleks 2	$4,34 \times 10^4 \pm 0,04$	$4,64 \pm 0,01$	267,6	9,4
Kompleks 3	$1,10 \times 10^4 \pm 0,05$	$4,04 \pm 0,02$	268,5	9,0

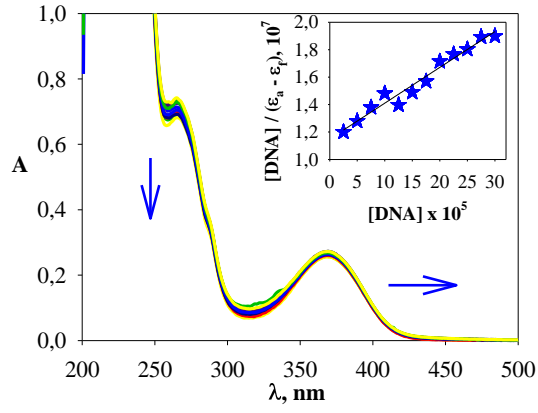
\*Hypo: hipokromizm

Kompleks 1:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$

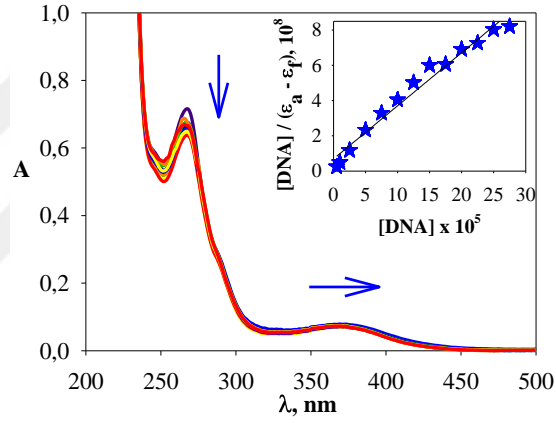
Kompleks 2:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

Kompleks 3:  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$

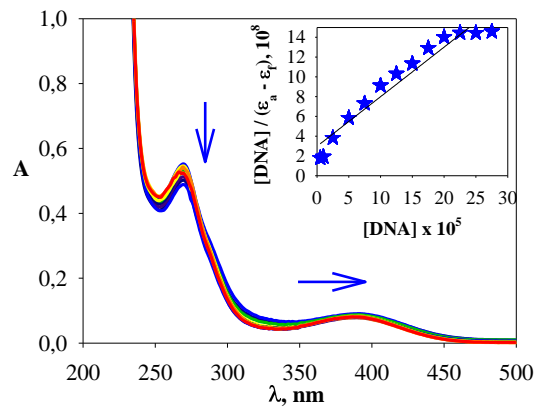
a)



b)



c)



**Şekil 4.10.** Kompleks ve CT-DNA bulunan çözeltilerin absorpsiyon spektrumları; **a)**  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$ , **b)**  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  ve **c)**  $\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})$

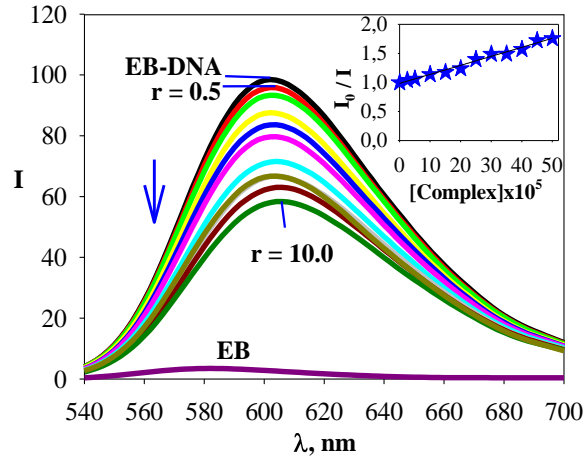
#### 4.7.2. Floresans Spektroskopisi Yöntemi

Bu yöntemde; sabit derişimde EB+DNA çözeltilisine artan derişimlerde kompleks çözeltilisinin ilavesi ile komplekslerin DNA'ya bağlanma özelliği araştırıldı. Kompleks çözeltilisinin EB+DNA çözeltilisine eklenmesi ile floresans şiddetinde gözle görülür bir azalmanın meydana gelmesi; kompleksin DNA'ya bağlı olan EB moleküllerini uzaklaşp onun yerine interkalasyon ile bağlanabileceğini göstermektedir.

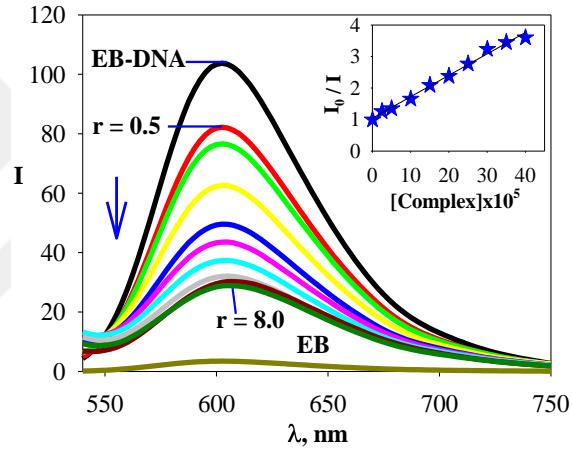
Bu çalışmada, 50 µM CT-DNA +5 µM EB içeren çözeltilere artan derişimlerde kompleks çözeltisi (25-500 µM aralığı) ilave edildi ve tampon çözeltisi ile toplam hacim 5 mL olacak şekilde bir dizi çözelti hazırlandı. Hazırlanan CT-DNA+EB+kompleks çözeltilerinin 500-700 nm dalga boyu aralığında floresans spektrumları alındı. Floresans spektrumları Şekil 4.11.'de verildi. Floresans spektrumları incelendiğinde; EB+CT-DNA'e artan miktarlarda komplekslerin ilavesi ile floresans şiddetinde önemli ölçüde bir azalma meydana geldiği görüldü. Floresans şiddetinde bir azalmanın meydana gelmesi; kompleks 1, 2 ve 3'ün CT-DNA'ya bağlı EB molekülü ile yer değiştirdiğini ayrıca komplekslerin interkalasyon yolu ile C T-DNA ile etkileştiğini gösterdi.

Bölüm 3.5.3'teki Stern-Volmer eşitliği ile floresans söndürme katsayısı ( $K_{sv}$ ) hesaplandı. Hesaplanan  $K_{sv}$  ve  $\log K_{sv}$  değerlerinin kompleks 2 > kompleks 3 > kompleks 1 sırasında değiştirdiği Çizelge 4.7.'de verildi.  $K_{sv}$  değeri büyük olan kompleks 2'nin EB+CT-DNA çözeltilisinin floresan şiddetini söndürmede etkisinin büyük olduğu görüldü. Bölüm 3.5.3.'te verilen (3.3.) nolu eşitlik kullanılarak, komplekslerin EB+CT-DNA çözeltilisinin floresans şiddetini % 50'ye düşürdüğu andaki görünür DNA bağlanma sabiti,  $K_{app}$ , değerleri hesaplandı.  $K_{app}$  değerlerinin, kompleks 2 > kompleks 3 > kompleks 1 şeklinde değiştirdiği görüldü (Çizelge 4.7.). Kompleks 2'nin  $K_{app}$  değerinin büyük olması; kompleksin CT-DNA'ya daha güçlü bir şekilde interkalasyon yolu ile bağlandığını gösterdi.

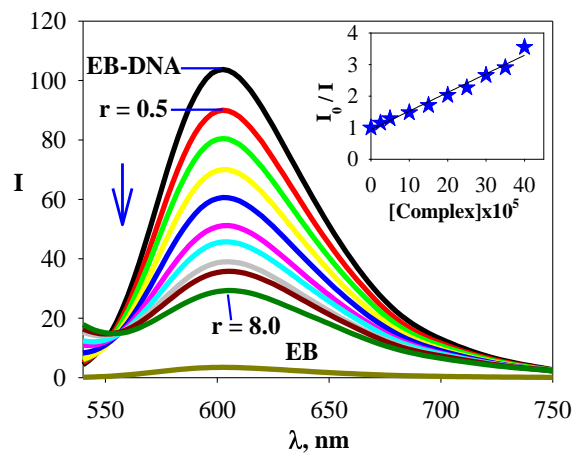
a)



b)



c)



**Şekil 4.11.** a)  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$ , b)  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  ve c)  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$  ve komplekslerine ait EB+CT-DNA ile etkileşiminin floresans spektrumları

**Çizelge 4.10.** EB + CT-DNA + kompleks içeren çözeltilere ait  $K_{sv}$  ve  $K_{app}$  değerleri

	$K_{sv}$	$\log K_{sv}$	$K_{app}$	$\log K_{app}$
Kompleks 1	$1,43 \times 10^3 \pm 0,05$	$3,15 \pm 0,05$	$1,00 \times 10^5 \pm 0,01$	$5,00 \pm 0,01$
Kompleks 2	$7,39 \times 10^3 \pm 0,11$	$3,86 \pm 0,06$	$3,33 \times 10^5 \pm 0,01$	$5,52 \pm 0,01$
Kompleks 3	$5,45 \times 10^3 \pm 0,05$	$3,73 \pm 0,04$	$2,50 \times 10^5 \pm 0,01$	$5,40 \pm 0,01$

Kompleks 1:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$

Kompleks 2:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

Kompleks 3:  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$

#### 4.7.3. Termal Denatürasyon Çalışması

Bu çalışmada; belli derişimdeki CT-DNA, EB ve kompleks (1-3) içeren çözeltilerin artan sıcaklığa bağılı olarak 260 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Kompleks+CT-DNA çözeltilerinin artan sıcaklık ile 260 nm dalga boyunda absorbans ölçümü ile hazırlanan erime eğrilerinin dönüm noktasından erime sıcaklığı,  $T_m$ , bulundu. Sadece CT-DNA içeren çözeltilerin erime eğrisinden  $T_m^\circ$  değeri belirlendi (Çizelge 4.11). Bölüm 3.5.4.'de verilen eşitlik ile  $\Delta T_m$  değerleri hesaplandı.  $\Delta T_m$  değerinin yüksek olması, kompleksin DNA'ya interkalasyon yolu ile etkileşim gösterdiği rapor edilmiştir (Mahendiran ve ark. 2015). Kompleks 1, 2 ve 3'ün  $\Delta T_m$  değerleri sırası ile  $0,7^\circ\text{C}$ ,  $6,1^\circ\text{C}$  ve  $5,8^\circ\text{C}$  dir. Kompleks 2 ve 3'ün  $\Delta T_m$  değerlerinin büyük olması, kompleks 2 ve 3'ün CT-DNA ile etkileşiminin interkalasyon yolu ile olduğunu gösterdi.

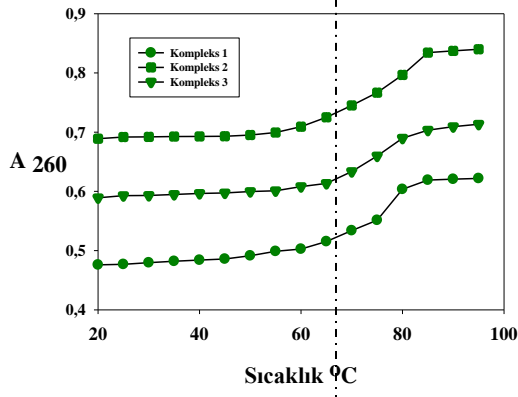
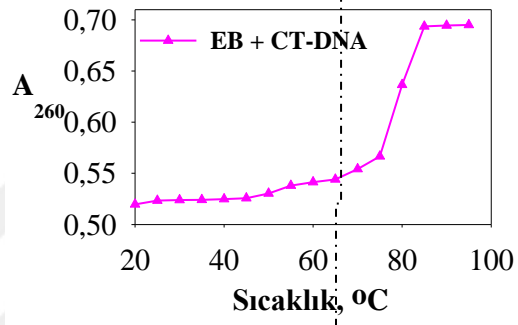
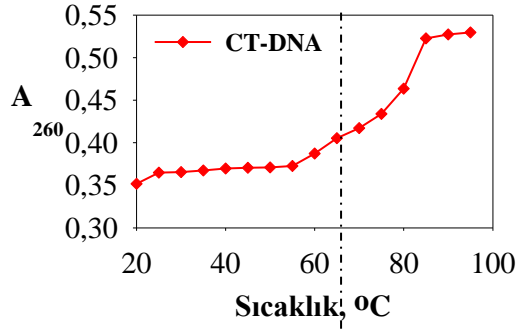
**Çizelge 4.11.** CT-DNA, EB+CT-DNA ve kompleks+CT-DNA çözeltilerinin  $T_m$  ve  $\Delta T_m$  değerleri

	$T_m$	$\Delta T_m$
CT-DNA	66,7	-
EB	79,9	13,2
Kompleks 1	67,4	0,7
Kompleks 2	72,8	6,1
Kompleks 3	72,5	5,8

Kompleks 1:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$

Kompleks 2:  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

Kompleks 3:  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$



**Şekil 4.12.** CT-DNA, EB+CT-DNA ve Kompleks+CT-DNA çözeltilerinin termal denatürasyon eğrileri ( $[CT-DNA]=50 \mu M$ ,  $[EB]=[Kompleks]=10 \mu M$ )

## 4.8. Antioksidan Kapasite Çalışmaları

### 4.8.1. DPPH Radikal Süpürme ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Radikali Yakalama Aktiviteleri Çalışması

Sentezlenen kompleksler ve standart antioksidanlar için elde edilen DPPH radikali süpürme ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali yakalama aktivitelerinin IC<sub>50</sub> değerleri Çizelge 4.12’de verildi. Komplekslerin % DPPH radikali süpürme miktarları Bölüm 3.5.5.1.’de anlatılan % DPPH radikali süpürme eşitliği kullanılarak, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali yakalama aktiviteleri ise Bölüm 3.5.5.2.’de anlatılan % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali yakalama eşitliği kullanılarak hesaplandı (Çizelge 4.12.).

Komplekslerin DPPH radikal süpürme aktivite deney sonuçlarına göre; kompleksler antioksidan aktiviteleri standart olarak kullanılan ve değerleri bilinen standart madde olan; askorbik asit, Trolox ve BHT ile karşılaştırıldığında; komplekslerin kullanılan standart maddelere göre DPPH radikal süpürme aktivitesi göstermediği belirlendi (IC<sub>50</sub> cinsinden). Komplekslerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali yakalama aktivitelerinden standart olarak kullanılan askorbik asit, Trolox ve BHT ile karşılaştırıldığında, komplekslerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali yakalama aktivitesini de göstermediği bulundu. (IC<sub>50</sub> cinsinden).

**Çizelge 4.12.** Kompleksler ve standart antioksidanlar için elde edilen DPPH radikali süpürme ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali yakalama aktivitelerinin IC<sub>50</sub> değerleri

Kompleksler	IC <sub>50</sub> (µM)	
	DPPH	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Kompleks 1	> 500	4,12
Kompleks 2	184,1	1,61
Kompleks 3	339,5	0,73
Askorbik asit	25,6*	0,02*
Trolox	7,73*	0,12*
BHT	15,04*	0,03*

\*Grubumuz tarafından başka bir çalışmada yapılmıştır (İnci ve ark. 2019)

Kompleks 1: [Cu(5-ClSal-Trp)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]

Kompleks 2: [Cu(5-ClSal-Trp)(phen)]·C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

Kompleks 3: [Cu(3,5-ClSal-Trp)(phen)]

#### 4.9. Sitotoksisite Çalışmaları

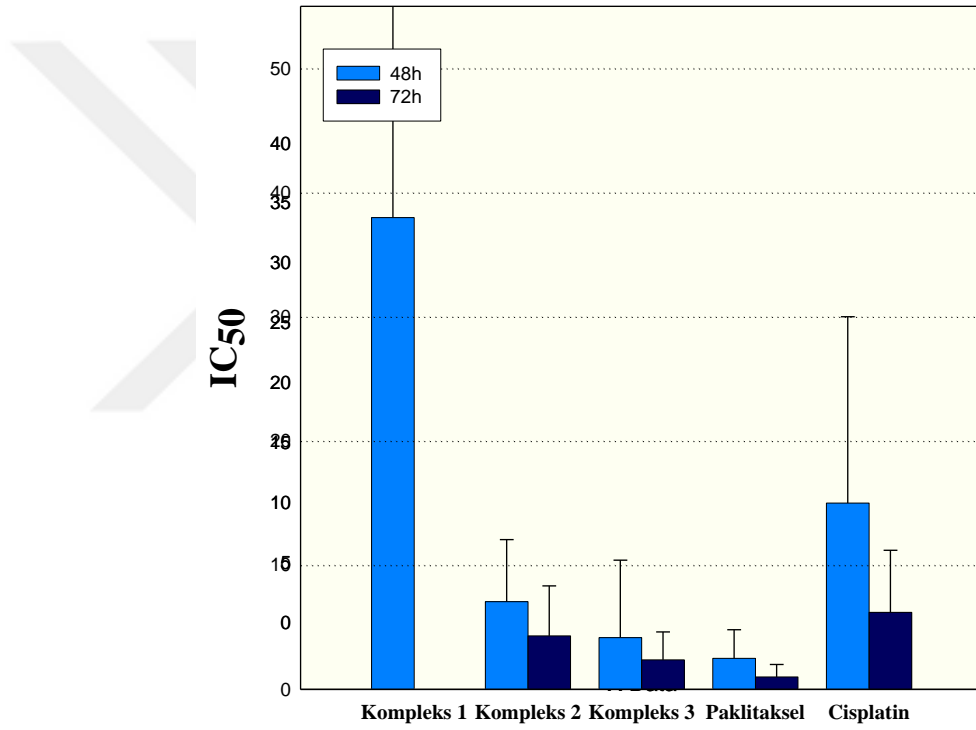
Sentezlenen Cu(II) komplekslerinin doza bağımlı sitotoksik aktivite ölçümleri; MCF7 ve MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hatlarında SRB canlılık testi kullanılarak yapıldı. Sentezlenen komplekslerin kanser hücre hatlarında IC<sub>50</sub> değerleri Çizelge 4.13.'de verildi. Komplekslerin antikanser aktivitelerini karşılaştırabilmek için kanserli hücrelerde etkili olan *cis*-platin ve paklitakselin sitotoksisite değerleri Şekil 4.13.'de gösterildi.

Cu(II) kompleksleri kanser hücre hatlarına 48 saat süre ile uygulandığında IC<sub>50</sub> değerleri; 4,16 µM - 49,39 µM derişim aralığında bulundu. 72 saat uygulandığında ise kompleks 2 ve kompleks 3 için IC<sub>50</sub> değerleri; 2,24 µM - 4,31 µM derişim aralığında bulundu. 72 saatlik uygulamada IC<sub>50</sub> değerlerinin küçük derişimlerde olması, kompleks 2 ve kompleks 3'ün çok az bir miktarının kanser hücrelerinin yarısını bloke ettiğini gösterdi. Kompleks 1'in IC<sub>50</sub> değeri ise yaklaşık 50 µM civarında büyük bulundu. Kompleks 2 ve 3'ün bilinen antikanser ilaç olan *cis*-platin ile karşılaştırıldığında her iki uygulamada etkin oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.13).

Paklitaksel çeşitli kanser tedavilerinde kullanılan kemoterapik bir ilaçtır. Paklitakselin MCF7 ve MDA-MB-231 meme kanser hücre hatlarına 72 saat süre uygulanması ile IC<sub>50</sub> değerleri birden küçük (<1) bulundu. Kompleks 3'ün MCF7 ve MDA-MB-231 kanser hücre hatlarına 72 saat süre ile uygulanması ile bulunan IC<sub>50</sub> değerleri sırası ile 2,38 µM ve 2,24 µM dır (Çizelge 4.13.). Kompleks 3'ün IC<sub>50</sub> değerlerinin; paklitakselin IC<sub>50</sub> değerlerine çok yakın olduğu görüldü.

**Çizelge 4.13.** Sentezlenen Cu(II) komplekslerin, paklitakselin ve *cis*-Platinin IC<sub>50</sub> değerleri

	IC <sub>50</sub> (µM)			
	MCF7 48h	MDA-MB231 48h	MCF7 72h	MDA-MB231 72h
Kompleks 1	37,98	49,39	-	-
Kompleks 2	7,06	<5	4,31	4,02
Kompleks 3	4,16	6,24	2,38	2,24
Paklitaksel	2,5	2,3	<1	<1
<i>cis</i> -Platin	15	15	6,2	5



**Şekil 4.13.** Sentezlenen Cu(II) komplekslerin, paklitakselin ve *cis*-Platinin IC<sub>50</sub> değerleri

## 5. SONUÇ

Bu tez kapsamında, Cu(II) iyonunun triptofan Schiff bazı ligandları ve phen kullanarak sentezlenen komplekslerin karakterizasyon ve biyolojik aktivite çalışmaları yapıldı.

### 5.1. Komplekslerinin Sentezi ve Yapılarının Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında; metal iyonu olarak bakır(II), amino asit schiff bazı için aminoasitlerden L-triptofan, salisilaldehit türevlerinden 5-klorosalisilaldehit ve 3,5-diklorosalisilaldehit ayrıca nötral ligand olarak 1,10-fenantrolin seçildi. Kristal halde Cu(II) kompleksleri sentezlendi. Komplekslerin yapıları ve özellikleri; elementel analiz, IR spektroskopisi, tek kristal X-ışını kırınımı, elektronik absorpsiyon spektroskopisi ve termik analiz yöntemleri ile belirlendi. Komplekslerin formülleri  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{H}_2\text{O})_2]$  (**1**),  $[\text{Cu}(5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (**2**) ve  $[\text{Cu}(3,5\text{-ClSal-Trp})(\text{phen})]$  (**3**) şeklinde gösterildi. Kompleks **1** ve **3**'ün ortorombik  $P2_12_12_1$ , ve kompleks **2** triklinik  $P_1$  uzay grubunda kristallendiği bulundu. Kompleks **1**, **2** ve **3**'ün koordinasyon sayısının beş olduğu ve geometrik yapısının bozulmuş kare piramidal yapıda olduğu belirlendi. Kompleks **1**, **2** ve **3**'de triptofan Schiff bazı ligandı iki adet oksijen ve bir adet azot atomu ile Cu(II) iyonuna üç uçlu ligant olarak şelat halkası oluşturacak şekilde bağlandı. Ayrıca, kompleks **1**'de iki adet akua ligandı; kompleks **2** ve **3**'de ise phen ligandı ile koordinasyon sayısı beşe tamamlandı. Ayrıca; Kompleks **1**, **2** ve **3**'ün IR spektrumları alındı ve karakteristik azometin grubuna ait band  $1621\text{-}1629\text{ cm}^{-1}$  aralında gözlemlendi. Termogravimetrik analiz ile kompleks **1**'de birinci koordinasyon küresinin akua ligandının ve kompleks **2**'de ise kristal boşluklarına yerleşen etanol molekülünün varlığı görüldü. Kompleks **3**'de sadece triptofan Schiff bazı ligandı ve phen ligandının olduğu gözlemlendi.

### 5.2. Komplekslerin Biyolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan kompleks **1**, **2** ve **3**'ün CT-DNA ile olan etkileşimlerini incelemek için; elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi yöntemleri ile kullanılarak araştırıldı. Bu yöntemler ile tüm komplekslerin CT-DNA'ya

bağlanma sabitleri literatüre uygun yöntemler kullanılarak ( $K_b$ ,  $K_{app}$  ve  $K_{sv}$ ) hesaplandı. Kompleks 1, 2 ve 3'ün CT-DNA'ya bağlandığı ve bağlanmanın interkalasyon yolu ile olabileceği bulundu. Komplekslerin bağlanma sabiti değerleri; kompleks 2 > kompleks 3 > kompleks 1 sırasında değişti. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma aktiviteleri termal denatürasyon yöntemi ile değerlendirildiğinde ise; komplekslerin hesaplanan  $\Delta T_m$  değerlerinin kompleks 2 > kompleks 3 > kompleks 1 sırasında olduğu bulundu. Kompleks 2 ve 3'ün  $\Delta T_m$  değerlerinin büyük bulunması; komplekslerin CT-DNA ile etkileşiminin interkalasyon yolu ile güçlü bir şekilde gerçekleştiğini gösterdi. Kompleks 1, 2 ve 3'ün DPPH radikal süpürme ve  $H_2O_2$  radikal yakalama aktiviteleri standart olarak kullanılan askorbik asit, trolox ve BHT ile karşılaştırmalı olarak araştırıldı ve DPPH radikal süpürme ve  $H_2O_2$  radikal yakalama aktivitesinin olmadığı bulundu. Ayrıca kompleks 1, 2 ve 3'ün MCF7 ve MDA-MB231 insan meme kanseri hücre hatlarında doza bağlı sitotoksik aktiviteleri; Sulforhodamine B (SRB) canlılık testi ile araştırıldı. Kompleks 2 ve 3'ün  $IC_{50}$  değerlerine bakıldığında; *cis*-platinden daha iyi sitotoksik etkiye sahip oldukları görüldü. Kompleks 1'in ise *cis*-platinden daha yüksek  $IC_{50}$  değeri ile sitotoksik etki göstermediği bulundu. Ek olarak antikanser aktivite gösteren farklı kanser türlerini tedavi amaçlı kullanılan bir kemoterapik ilaç olan paklitaksel ile karşılaştırmalı çalışmalar yapıldı. Kompleks 3'nin  $IC_{50}$  değeri kemoterapik ilaç olan paklitaksele yakın bulundu. Ayrıca; kompleks 3'nin en düşük  $IC_{50}$  değeri ile en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu bulundu.

## KAYNAKLAR

- Anastassopoulou, J., Theophanides, T., & Demunno, G. (2003). Metal-DNA Interactions. In Metal-Ligand Interactions. [https://doi.org/10.1007/978-94-010-0191-5\\_12](https://doi.org/10.1007/978-94-010-0191-5_12)
- Banaspati, A., Das, D., Choudhury, C. J., Bhattacharyya, A., & Goswami, T. K. (2019). Photocytotoxic copper(II) complexes of N-salicylyl-L-tryptophan and phenanthroline bases. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 191. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.11.005>
- Chikira M., Tomizawa Y., Fukita D., Sugizaki T., Sugawara N., Yamazaki T., Sasano A., Shindo H., Palaniandavar M., Antholine W.E. 2002. DNA-fiber EPR study of the orientation of Cu(II) complexes of 1,10-phenanthroline and its derivatives bound to DNA: Mono(Phenanthroline)-Copper(II) and its ternary complexes with amino acids. *J. Inorg. Biochem.*, 89(3-4):163-173.
- Çakatay U., Aydın S., Belce A., (2011) *Biyokimyada Temel Hesaplamalar*, İstanbul, Çelik, C., (1999). 2-Amino Pridin Esaslı Schiff Bazları ile Onların Geçiş Metal şelat Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Termal Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi.
- Du Preez, J. G. H., Gerber, T. la, Fourie, P. J., & van Wyk, A. J. (1984). The chemistry of rhenium and technetium. part ii. schiff base complexes with polyfunctional amino acids. *Journal of Coordination Chemistry*, 13(2). <https://doi.org/10.1080/00958978408079770>
- Erturk E, Tuna G, Coskun D, Ari F. Investigation of Anti-Cancer Activity of Newly Synthesized 2,4-pentadien-1-one Derivative Containing Benzofuran in Human Lung and Colon Cancer Cells. *EJMO*. 2023; 7(1): 24-33 <https://dx.doi.org/10.14744/ejmo.2023.61594>
- Felton, L. C., & Brewer, J. H. (1947). Action of substituted salicylaldehydes on bacteria and fungi. *Science*, 105(2729). <https://doi.org/10.1126/science.105.2729.409>
- Figgi, BN., Lewis, J. (1964). *Progr Inorg Chem* 6:37-157.
- Garcia-Raso A., Juan J. (1996) X-Ray Diffraction Structures Of Two Nsalicylydene Tryptophananato Diaquocopper(II) Complexes: Erythro And Threo Isomers Polyhedron Vol. 15, No. 24, pp. 4407~1413,
- Hannon, M. J. (2007). Supramolecular DNA recognition. *Chemical Society Reviews*, 36: 280-295.
- Holm, R.H. Everett, G.W., (1966). Chekravarty A. Prog Metal Complexes of Schiff bases and  $\beta$ -ketoamines, *Inorg Chem*, 7: 83-214.
- Hud, N. V. (2009). *Nucleic AcidMetalIon Interactions*. RCS Publishing, 98 pp

Ikawa, M., Snell, E.E., (1954). Benzene Analogs of Pyridoxal. The Reactions of 4-Nitrosalicylaldehyde with Amino Acid, *J. Am. Chem Soc.* 76:653-655.

Inci D. (2020). A new ternary Cu (II) complex with 4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline and NOO-type tridentate Schiff base ligand: Synthesis, crystal structure, biomacromolecular interactions, and radical scavenging activities. *Applied Organometallic Chemistry*, 34(12). <https://doi.org/10.1002/aoc.6016>

İnci, D., Aydın, R., Vatan, Ö., Sevgi, T., Yılmaz, D., Zorlu, Y., Yeril, Y., Çoşut, B., Demirkan, E., Çinkılıç, N. (2017). Synthesis and crystal structures of novel copper(II) complexes with glycine and substituted phenanthrolines: reactivity towards DNA/BSA and in vitro cytotoxic and antimicrobial evaluation. *J Biol Inorg Chem.*, 22(1):61-85.

İnci, D., Aydın, R., Yılmaz, D., Gençkal, H.M., Vatan, Ö., Çinkılıç, N., Zorlu, Y. (2015). New water- soluble copper (II) complexes including 4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline and L-tyrosine: Synthesis, characterization, DNA interactions and cytotoxicities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 761-770.

Jianfang Dong , Yang Li , Peiran Zhao , Tao Xu , Bo Zhang , Lei Gao , Lianzhi Li , (2022). Synthesis and Biological Evaluation of Six L-tryptophan Schiff base Copper(II) Complexes as Promising Anticancer Agents In Vitro, *Journal of Molecular Structure* doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132578>

Karahan A, (2017). ‘Oksijen Azot Gibi Donör Atom İçeren Ligandların Geçiş Metalli Komplekslerinin Hazırlanması Bunların Kristal Ve Moleküler Yapılarının İncelenmesi’, Doktora Tezi

Karlin, K.D., Cohen, B.I., Hayes, J.C., Farooq, A., Zubieta, J. (1987). Models for methemocyanin derivatives: structural and spectroscopic comparisons of related azido-coordinated (N<sub>3</sub>-) mono- and dinuclear copper(II) complexes. *Inorganic Chemistry*, 26: 147-153.

Kong, D., Zhang, X., Zhu, Q., Xie Y., (1998). Synthesis Characterization and antitumor activities of amino acid Schiff bases and their lanthanide Complexes, *I. Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi*, 8: 245-249.

Lakowicz, J.R., Weber, G. (1973). Quenching of fluorescence by oxygen. Probe for structural fluctuations in macromolecules. *Biochemistry*, 12: 4161–4170.

Lee, M., Rhodes, A.L., Wyatt, M.D., Forrow, S., Hartley, J.A. (1993). GC base sequence recognition by oligo(imidazolecarboxamide) and C-terminus-modified analogues of distamycin deduced from circular dichroism, proton nuclear magnetic resonance, and methidiumpropylethylenediaminetetraacetate-iron(II) foot-printing studies. *Biochemistry*, 32: 4237–4245.

Lerman, L. S. (1961). Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of Molecular Biology*, 3: 18-30

Li, A., Liu, Y. H., Yuan, L. Z., Ma, Z. Y., Zhao, C. L., Xie, C. Z., Bao, W. G., & Xu, J. Y. (2015). Association of structural modifications with bioactivity in three new copper(II) complexes of Schiff base ligands derived from 5-chlorosalicylaldehyde and amino acids. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 146. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.02.013>

Lobinski, R., Moulin, C., Ortega, R. (2006). Imaging and speciation of trace elements in biological environment. *Biochimie*, 88: 1591-1604.

Mahendiran, D., Gurumoorthy, P., Gunasekaran, K., Kumar, R. S., Rahiman, A. K. 2015. Structural modeling, in vitro antiproliferative activity, and the effect of substituents on the DNA fastening and scission actions of heteroleptic copper (II) complexes with terpyridines and naproxen. *New Journal of Chemistry*, 39: 7895-7911.

McCleverty, J. A., Meyer, T. J. (2004). *Comprehensive Coordination Chemistry*. Volume 1, Elsevier, Oxford, UK, 25 pp.

Metzler, D.E., Ikawa, M., Snell, E.E., (1954). A general mechanism for vitamin B6 catalysed reactions., *J. Am Chem Soc* 76:648.

Metzler, D.E., Snell, E.E., (1952). Some transamination reactions involving vitamin B., *J Am Chem Soc* 74:979.

Moradi-Shoeili, Z., Amini, Z., Boghaei, D. M., & Notash, B. (2013). Synthesis, X-ray structure and ascorbic oxidation properties of ternary  $\alpha$ -amino acid Schiff base-bipy Cu(II) complexes as functional models for ascorbic oxidase. *Polyhedron*, 53. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.01.020>

Neelakantan, M. A., Balamurugan, K., Balakrishnan, C., & Subha, L. (2017). Interaction of Amino Acid Schiff Base Metal Complexes with DNA/BSA Protein and Antibacterial Activity: Spectral Studies, DFT Calculations and Molecular Docking Simulations. *Applied Organometallic Chemistry*, 32(4). <https://doi.org/10.1002/aoc.4259>,

Pages, B.J., Ang, D.L., Wright, E.P., Aldrich-Wright, J.R. (2015), Metal complex interactions with DNA, *Dalton Trans.*, 44, 3505–3526.

Petrucci, R.H., Harwood, W.S., Herring, F.G. (2002) *General Chemistry Principles and Modern Applications*, 8th Edition, Prentice Hall, New Jersey.

Pişkin, N., (2011) Yüksek Lisan Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.  
Pyle, A. M., Barton, J. K. (1990). Probing nucleic acids with transition metal complexes. *Progress in Inorganic Chemistry: Bioinorganic Chemistry*, 38, 413-475.

Pyle, A.M., Rehmann, J.P., Meshoyrer, R., Kumar, C.V., Turro, N.J., Barton, J.K. (1989). Mixed-ligand complexes of ruthenium(II): factors governing binding to DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 111: 3051–3058.

Rao, R., Patra, A. K., Chetana, P. R. 2007. DNA binding and oxidative cleavage activity of ternary (L-proline)copper(II) complexes of heterocyclic bases. *Polyhedron*, 26: 5331-5338.

Rao, R., Patra, A. K., Chetana, P. R. 2008. Synthesis, structure, DNA binding and oxidative cleavage activity of ternary (L-leucine/isoleucine) copper(II) complexes of heterocyclic bases. *Polyhedron*, 27: 1343-1352.

Reddy, P. R., Shilpa, A., Raju, N., & Raghavaiah, P. (2011). Synthesis, structure, DNA binding and cleavage properties of ternary amino acid Schiff base-phen/bipy Cu(II) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105(12). <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.08.022>

Reedijk, J. (2003). New clues for platinum antitumor chemistry: Kinetically controlled metal binding to DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100: 3611-3616.

Rehman, W., Badshah, A., Baloch, M. K., Ali, S., Hameed, G., & Khan, K. M., (2004), Synthesis Characterization and Biological Screening of Tri-benzyl Tin (IV) Complexes of Some Schiff Bases. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 51(5A), 929-934.

Rosenberg, B., Renshaw, E., Vancamp, L., Hartwick, Drobnik, J. J. (1967). Platinum-induced filamentous growth in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 93(2): 716-721.

Rosenberg, B., Vancamp, L., Krigas, T. (1965). Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, 205: 698-700.

Sarı N., (1999), Bazı Heterosiklik Aldehitler ile Aminoasitlerden Yeni Schiff Bazlarının ve Cu(II), Ni(II) komplekslerinin sentezlenmesi ve Yapılarının Aydınlatılması, G.Ü.F.B. Enstitüsü, Doktora Tezi,

Shi, L., Ge, H. M., Tan, S. H., Li, H. Q., Song, Y. C., Zhu, H. L., & Tan, R. X. (2007). Synthesis and antimicrobial activities of Schiff bases derived from 5-chlorosalicylaldehyde. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42(4). <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2006.11.010>

Shrivastava, H. Y., Kanthimathi, M., Nair, B. U. (2002). Copper(II) complex of a tridentate ligand: an artificial metalloprotease for bovine serum albumin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1573: 149–155.

Snell, E.E., Metzler, D.E., (1968), *Pyridoxal catalysis, enzymes and model Systems* Interscience Newyork.

Solomon, T.W.G., Feryhle, C.B., (2002). *Organik Kimya, Literatür Yayıncılık, İstanbul*,1258s.

Subha L., Balakrisnan C. , Thalamuthu S., Neelakantan M.A. (2015) Mixed ligand Cu(II) complexes containing o-vanillin-Ltryptophan Schiff base and heterocyclic nitrogen bases: synthesis, structural characterization, and biological properties *Journal of*

Coordination Chemistry, Vol. 68, No. 6, 1021–1039,  
<http://dx.doi.org/10.1080/00958972.2015.1008466>

Theetharappan, M., Subha, L., Balakrishnan, C., & Neelakantan, M. A. (2016). Binding interactions of mixed ligand copper(II) amino acid Schiff base complexes with biological targets: Spectroscopic evaluation and molecular docking. *Applied Organometallic Chemistry*, 31(10). <https://doi.org/10.1002/aoc.3713>

Timerbaev, A.R., Hartinger, C.G., Aleksenko, S.S., Keppler, B.K. (2006). Interactions of antitumor metallodrugs with serum proteins: advances in characterization using modern analytical methodology. *Chemical Reviews*, 106: 2224-2248.

Turan, N., (2003) 1,8-diaminonaftalinden elde edilen Schiff bazının Co(II), Ni(II), Cu(II) komplekslerinin sentezi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya anabilimdalı,10

Uyar, T.,(1988) Organik Tepkimeler, OkanYayıncılık, Ankara

Vajrabhaya LO, Korsuwannawong S. Cytotoxicity evaluation of a Thai herb using tetrazolium (MTT) and sulforhodamine B (SRB) assays. *Journal of Analytical Science and Technology*. 2018; 9:15;1-6. <http://dx.doi.org/10.1186/s40543-018-0146-0>

Wang, D., Zhu, G. Y., Huang, X. H., Lippard, S. J. (2010). X-ray structure and mechanism of RNA polymerase II stalled at an antineoplastic monofunctional platinum-DNA adduct. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 107(21): 9584-9589.

Watson, J. D., Crick, F. H. C. (1953) Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171: 737-738.

Yang, C. T., Vetrichelvan, M., Yang, X., Moubaraki, B., Murray, K. S., & Vittal, J. J. (2003). Syntheses, structural properties and catecholase activity of copper(ii) complexes with reduced Schiff base N-(2-hydroxybenzyl)-amino acids. *Journal of the Chemical Society. Dalton Transactions*, 4(1). <https://doi.org/10.1039/b310262a>,

Yodoshi, M., Odoko, M., Okabe, N. 2007. Structures and DNA-binding and cleavage properties of ternary Copper(II) complexes of glycine with phenanthroline, bipyridine, and bipyridylamine, *Chem. Pharm. Bull.*, 55(6): 853-860.