



**BAKIR(II) İYONUNUN FENANTROLİN TÜREVLERİ
VE TRİPTOFAN İLE OLUŞTURDUĞU
KOMPLEKSLERİN SENTEZİ, KARARLILIKLARI VE
BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Pelin ŞENEL



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAKIR(II) İYONUNUN FENANTROLİN TÜREVLERİ VE TRİPTOFAN İLE
OLUŞTURDUĞU KOMPLEKSLERİN SENTEZİ, KARARLILIKLARI VE
BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Pelin ŞENEL

Prof. Dr. Rahmiye AYDIN
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA-2017

TEZ ONAYI

Pelin ŞENEL tarafından hazırlanan “Bakır(II) İyonunun Fenantrolin Türevleri ve Triptofan ile Oluşturduğu Komplekslerin Sentezi, Kararlılıkları ve Biyolojik Özelliklerinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Rahmiye AYDIN

Başkan: Prof. Dr. Rahmiye AYDIN
Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı



Üye: Prof. Dr. Tülay BAL DEMİRCİ
İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı



Üye: Doç. Dr. Bilgen OSMAN
Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ali BAYRAM

Enstitü Müdürü

30.05/2017



U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı **beyan ederim.**

.... / / 2017

imza

Pelin ŞENEL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAKIR(II) İYONUNUN FENANTROLİN TÜREVLERİ VE TRİPTOFAN İLE OLUŞTURDUĞU KOMPLEKSLERİN SENTEZİ, KARARLILIKLARI VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Pelin ŞENEL

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Rahmiye AYDIN

Bu çalışmada, metal iyonu olarak bakır(II) iyonu, anyonik ligant olarak bir amino asit olan L-triptofan (L-Trp), nötral ligant olarak ise düzlemsel bir yapıya sahip olan fenantrolin türevlerinden; 1,10-fenantrolin (phen), 4-metil-1,10-fenantrolin (4-mphen) ve 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin (dmphen) seçildi.

Çalışmada öncelikle; bakır(II) iyonunun phen, 4-mphen ve dmphen (A) ve L-trp (B) ile oluşturduğu ikili (MA, MB) ve karışık ligant (MAB) komplekslerine ait denge tepkimeleri 0,1 M KCl iyonik ortamında ve üç farklı sıcaklıkta (25°C, 35°C ve 45°C) potansiyometrik yöntem ile incelendi ve komplekslerin oluşum tepkimelerine ait termodinamik parametreler (ΔH , ΔS ve ΔG) hesaplandı. Ligantların protonlanma sabitleri ve komplekslerin kararlılık (oluşum) sabitleri potansiyometrik titrasyon verilerinin BEST bilgisayar programına uygulanması ile hesaplandı. Ayrıca, çözeltide oluşan türlerin dağılımını belirlemek için ise SPE bilgisayar programı kullanıldı.

İkinci olarak; seçilen ligantların bakır(II) iyonu ile oluşturduğu karışık ligant kompleksleri sentezlendi ve sentezlenen komplekslerin yapıları, elementel analiz, elektronik absorpsiyon spektroskopisi, IR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatıldı.

Son olarak ise; sentezlenen komplekslerin CT-DNA ile etkileşimleri ve antikanser aktiviteleri araştırıldı. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri; termal denatürasyon, elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi yöntemleri ile CT-DNA'yı bölme özellikleri ise agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelendi. Antikanser aktivite çalışmalarında ise; komplekslerin akciğer, meme ve kolon kanser hücre hatlarında ve bir sağlıklı hücre hattında XTT testi ile IC_{50} değerleri hesaplandı ve sitotoksiteleri belirlendi.

Anahtar kelimeler: Bakır(II), 1,10-fenantrolin, 4-mphen-1,10-fenantrolin, 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin, L-triptofan, potansiyometri, CT-DNA, sitotoksitite.

2017, xi + 140 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

SYNTHESIS OF COMPLEXES FORMED WITH COPPER(II) ION OF TRYPTOPHAN AND PHENANTHROLINE DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF THEIR STABILITY AND BIOLOGICAL PROPERTIES

Pelin ŞENEL

Uludag University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry
Supervisor: Prof. Dr. Rahmiye AYDIN

In this study, copper(II) ion, L-tryptophan (L-trp) as an anionic ligand and 1,10-phenanthroline (phen), 4-methyl-1,10-phenanthroline (4-mphen) ve 4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline (dmphen) as neutral ligand which have a planar structure were chosen.

In the study firstly; the equilibrium reactions of binary (MA, MB) and mixed ligand (MAB) complexes formed with phen, 4-mphen and dmphen (A), L-trp (B) of copper (II) ion were examined at 25°C, 35°C and 45°C and in 0,1 M ionic medium and thermodynamic parameters (ΔH , ΔS and ΔG) via formation reactions of the complexes were calculated. The protonation constants of the ligands and the stability constants of the complexes were calculated with BEST computer program using potentiometric titration data. Therefore, the SPE computer program was used to determine the distribution of the species formed in solution.

Secondly; the mixed ligand complexes forming with copper(II) ion with the selected ligands were synthesized and the structures of the synthesized complexes were elucidated by elemental analysis, electronic absorption spectroscopy, IR spectroscopy and single crystal X-ray diffraction method.

Finally, the interactions with CT-DNA of the synthesized complexes and anticancer activities were investigated. The binding properties with CT-DNA of the synthesized complexes were investigated by thermal denaturation, electronic absorption and fluorescence spectroscopy. Additionally, the cleavage activities with DNA of the synthesized complexes were investigated by agarose gel electrophoresis. In anticancer activity studies; IC_{50} values for the complexes were calculated by XTT test in lung, breast and colon cancer cell lines and in a healthy cell line of the complexes and their cytotoxicities were determined.

Key words: Copper(II), 1,10-phenanthroline, 4-methyl-1,10-phenanthroline, 4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline, L-tryptophan, potentiometry, CT- DNA, cytotoxicity.

2017, xi + 140 pages.

ÖNSÖZ VE/VEYA TEŞEKKÜR

Tez çalışmama sağladığı maddi destekten dolayı OUAP(F)-2015/14 no'lu Uludağ Üniversitesi BAP projesine teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım süresince her zaman yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Rahmiye AYDIN'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Çalışmama yapmış olduğu değerli katkılarından ve moral desteğinden dolayı doktora öğrencisi Duygu İNCİ'ye ve arkadaşlığı için yüksek lisans öğrencisi Sirem KİRAZ'a çok teşekkür ederim.

Sentezlenen komplekslerin sitotoksosite ölçümlerinin yapılmasına destek sağlayan Uludağ Üniversitesi'nden Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ'a, deneysel çalışmaları ile Doç. Dr. Özgür VATAN'a ve yüksek lisans öğrencisi Huzeyfe HURİYET'e teşekkür ederim.

Tez kapsamında elde edilen kristallerin tek kristal X-ışını kırınım analizlerini yapan Gebze Teknik Üniversitesi'nden Doç.Dr. Yunus ZORLU'ya ve Sinop Üniversitesi'nden Uzm. Dr. Onur ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Bu zorlu süreç boyunca, en büyük destekçim olan değerli babam Tarık ŞENEL, sevgili annem Nezahat ŞENEL, bitanecik ablam Uzm. Dr. Yasemin ŞENEL ve ikizcanım Ahmet ŞENEL başta olmak üzere tüm aileme sonsuz ve en samimi teşekkürlerimi sunarım.

Pelin ŞENEL

.... / / 2017

İÇİNDEKİLER

sayfa

| | |
|---|-----|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| ÖNSÖZ VE/VEYA TEŞEKKÜR | iii |
| SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | ix |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xi |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Çalışmanın Amacı..... | 1 |
| 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI | 2 |
| 2.1. Amino Asitlerin Yapısı ve Genel Özellikleri | 2 |
| 2.1.1. Amino asitlerin ligant olarak davranışı | 4 |
| 2.1.2. Amino asitlerin metal kompleksleri ve önemi | 4 |
| 2.1.3. Amino asitlerin sınıflandırılması | 4 |
| 2.1.3.1. Standart (protein yapısına giren) amino asitler | 4 |
| 2.1.3.2. Standart olmayan amino asitler | 7 |
| 2.2. Çalışmada Kullanılan Ligantlar | 9 |
| 2.2.1. L-Triptofan..... | 9 |
| 2.2.2. Fenantrolin Türevleri | 9 |
| 2.3. Metal İyonlarının Sulu Çözeltideki Davranışları | 11 |
| 2.4. Kompleks Denge Sabitlerinin Türleri | 12 |
| 2.5. Cu(II) İyonunun Sulu Çözelti Kimyası | 16 |
| 2.6. Karışık Ligant Metal Kompleksleri | 18 |
| 2.7. Karışık Ligant Kompleks Oluşumunu Etkileyen Faktörler | 19 |
| 2.8. Karışık Ligant Komplekslerinin Kararlılığını Etkileyen Faktörler | 20 |
| 2.9. Serbest Enerji ve Denge Sabiti | 22 |
| 2.10. Kararlılık Sabitinin Sıcaklıkla Değişimi | 24 |
| 2.11. DNA İle İlgili İlk Çalışmalar | 25 |
| 2.11.1. Nükleik asitler ve DNA | 25 |
| 2.11.2. DNA'nın termal denatürasyonu | 27 |
| 2.11.3. Metal komplekslerinin DNA ile etkileşimi | 28 |
| 2.11.4. Kanser ve antitümör metal içerikli ilaçlar..... | 31 |
| 2.12. Literatür Araştırması | 32 |
| 2.12.1. Cu(II) iyonunun amino asitler ve fenantrolin türevleri ile oluşturduğu ikili ve karışık ligant komplekslerinin kararlılık sabitleri | 32 |

| | |
|---|----|
| 2.12.2. Cu(II) iyonunun amino asitler ve fenantrolin türevleri ile oluşturduğu koordinasyon bileşiklerinin sentezi, yapıları ve antikanser aktivite çalışmaları | 36 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM | 43 |
| 3.1. Potansiyometrik Yöntem ile Ligantların Protonlanma Sabitlerinin ve Komplekslerin Kararlılık (Oluşum) Sabitlerinin Belirlenmesi | 43 |
| 3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözeltilerin hazırlanması | 43 |
| 3.1.1.1. Ligantlar | 43 |
| 3.1.1.2. Stok Cu(II) çözeltisinin hazırlanması..... | 44 |
| 3.1.1.3. Standart potasyum hidroksit çözeltisinin hazırlanması | 44 |
| 3.1.1.4. İyonik ortamı sabit tutmak için kullanılan kimyasal maddeler | 44 |
| 3.1.1.5. Azot gazı | 44 |
| 3.1.2. Deneysel yöntemler ve kullanılan aletler | 45 |
| 3.1.2.1. Potansiyometri | 45 |
| 3.1.2.2. Çalışmada kullanılan potansiyometrik sistem | 50 |
| 3.1.2.3. Titrasyon hücresinde yapılan deneyler | 50 |
| 3.1.2.4. BEST bilgisayar programı | 50 |
| 3.1.2.5. SPE bilgisayar programı | 52 |
| 3.2. Komplekslerin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması | 53 |
| 3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler | 53 |
| 3.2.2. Kullanılan cihazlar | 53 |
| 3.2.3. Tek kristal X-ışını kırınım yöntemi analizleri | 53 |
| 3.2.4. Komplekslerin sentezi | 54 |
| 3.3. Sentezlenen Komplekslerin DNA ile Etkileşimlerinin Araştırılması | 55 |
| 3.3.1. Çözeltilerin hazırlanması | 55 |
| 3.3.2. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi | 55 |
| 3.3.3. Floresans spektroskopisi yöntemi. | 56 |
| 3.3.4. Termal denatürasyon yöntemi | 57 |
| 3.3.5. Agaroz jel elektroforez yöntemi | 58 |
| 3.4. Sitotoksosite Ölçümlerinin Yapılması | 60 |
| 3.4.1. Kullanılan hücre hatları ve hücre kültürü şartları | 60 |
| 3.4.2. XTT testi | 61 |
| 4. BULGULAR..... | 62 |
| 4.1. Ligantların Protonlanma Sabitlerinin ve Komplekslerin Kararlılık (Oluşum) Sabitlerinin Belirlenmesi | 62 |
| 4.1.1. Ligantların protonlanma sabitlerinin belirlenmesi | 62 |
| 4.1.2. İkili komplekslerin kararlılık (oluşum) sabitlerinin belirlenmesi | 65 |
| 4.1.3. Karışık ligant komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitlerinin belirlenmesi | 68 |

| | |
|--|-----|
| 4.1.4. Karışık ligant sistemlerinde türlerin dağılımı | 73 |
| 4.1.5. Termodinamik parametrelerin belirlenmesi | 74 |
| 4.2. Sentezlenen Komplekslerin Yapılarının Aydınlatılması | 85 |
| 4.2.1. Fiziksel Özellikler | 85 |
| 4.2.2. Elementel Analiz | 85 |
| 4.2.3. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi | 86 |
| 4.2.4. İnfrared (IR) çalışmaları | 88 |
| 4.2.5. Tek kristal X-ışını kırınım yöntemi çalışmaları | 91 |
| 4.2.5.1. {[Cu(phen)(trp)]ClO ₄ ·3H ₂ O} _n ve {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO ₄ ·3H ₂ O} _n komplekslerinin tek kristal X-ışını yapı analizleri | 91 |
| 4.2.5.2. [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO ₃)]][NO ₃] kompleksinin tek kristal X-ışını yapı analizi | 96 |
| 4.3. Sentezlenen Komplekslerin DNA ile Etkileşimlerinin Araştırılması | 102 |
| 4.3.1. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi | 102 |
| 4.3.2. Floresans spektroskopisi yöntemi | 105 |
| 4.3.3. Termal denatürasyon yöntemi | 108 |
| 4.3.4. Agaroz jel elektroforez yöntemi | 111 |
| 4.3.5. Sentezlenen komplekslerin antikanser aktivitelerinin araştırılması | 116 |
| 4.3.5.1. XTT testi sonuçları | 116 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ | 118 |
| 5.1. Cu(II) İyonunun Fenantrolin Türevleri ve L-triptofan ile Oluşturduğu Komplekslerin Sulu Çözeltide Kararlılıklarının Değerlendirilmesi | 118 |
| 5.2. Cu(II) İyonunun Fenantrolin Türevleri ve L-triptofan ile Oluşturduğu Komplekslerin Sentezi ve Karakterizasyonunun Değerlendirilmesi | 119 |
| 5.3. Cu(II) İyonunun Fenantrolin Türevleri ve L-triptofan ile Oluşturduğu Komplekslerin Biyolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi | 120 |
| KAYNAKLAR | 122 |
| EKLER | 130 |
| EK 1 | 131 |
| EK 2 | 132 |
| EK 3 | 133 |
| EK 4 | 134 |
| EK 5 | 135 |
| EK 6 | 136 |
| EK 7 | 138 |
| ÖZGEÇMİŞ | 139 |
| TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU | 140 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| Simgeler | Açıklama |
|------------|--------------------------|
| W | Triptofan |
| f_x | Aktivite katsayısı |
| K_f | Toplam kararlılık sabiti |
| μ | İyonik şiddet |
| τ_5 | Tau parametresi |
| a_x | Aktivite |
| A | Adenin |
| T | Timin |
| G | Guanin |
| S | Sitozin |
| A | Absorbans |
| I | Işık şiddeti |
| ϵ | Molar sönüm katsayısı |
| Å | Angstrom |
| % T | Yüzde geçirgenlik |
| °C | Santigrad derece |

| Kısaltmalar | Açıklama |
|-------------|----------------------------------|
| A549 | Akciğer kanser hücresi |
| MCF-7 | Meme kanser hücresi |
| Caco-2 | Kolon kanser hücresi |
| BEAS-2B | Bronş epitel sağlıklı hücresi |
| CMP | Sitidin-5'-monofosfat |
| DMSO | Dimetil sülfoksit |
| CT-DNA | Calf thymus DNA (buzağı timüsü) |
| Phen | 1,10-fenantrolin |
| 4-mphen | 4-metil-1,10-fenantrolin |
| Dmphen | 4,7-dimetil-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 |

| | |
|-------------------------------|---|
| EB | Etidyum bromür |
| Gln | L-glutamin |
| HCl | Hidrojen klorür |
| KCl | Potasyum klorür |
| IC ₅₀ | %50 inhibisyon değeri |
| KOH | Potasyum hidroksit |
| Cis-platin | Cis-diamindikloroplatin(II) |
| L-trp | L-triptofan |
| H ₂ O ₂ | Hidrojen peroksit |
| Tris-HCl | Tris(hidroksimetil)aminometan hidroklorür |
| Hypo | Hipokromizm |



ŞEKİLLER DİZİNİ

sayfa

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1.1. Amino asitlerin genel yapısı | 2 |
| Şekil 2.1.2. Amino asitlerin kuvvetli asidik ve bazik çözeltilerdeki yapıları | 3 |
| Şekil 2.2.1.1. Triptofanın üç boyutlu ve açık yapısı | 9 |
| Şekil 2.2.2.1. Spektrokimyasal seri | 10 |
| Şekil 2.11.1.1. Nükleotitin açık yapısı | 26 |
| Şekil 2.11.1.2. Nükleik asiti oluşturan kısımlar | 26 |
| Şekil 2.11.1.3. DNA ve RNA'nın yapısı | 27 |
| Şekil 2.11.2.1. - A,T açısından zengin, - G,C açısından zengin DNA'ya ait erime eğrileri | 28 |
| Şekil 2.11.3.1. DNA sarmalı ve EB arasındaki bağlanma | 29 |
| Şekil 2.11.3.2. DNA sarmalında meydana gelen majör ve minör oluklar | 30 |
| Şekil 3.3.5.1. Plazmid DNA | 58 |
| Şekil 3.3.5.2. Plazmid DNA formları ve agaroz jeldeki göç hızları | 59 |
| Şekil 4.1.3.1. Cu(II):phen:L-trp sisteminin titrasyon eğrileri | 69 |
| Şekil 4.1.3.2. Cu(II):4-mphen:L-trp sisteminin titrasyon eğrileri | 70 |
| Şekil 4.1.3.3. Cu(II):dmphen:L-trp sisteminin titrasyon eğrileri | 71 |
| Şekil 4.1.4.1. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):phen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılımı diyagramı ve bar grafiği (t=35°C) | 75 |
| Şekil 4.1.4.2. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):phen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t=45°C) | 76 |
| Şekil 4.1.4.3. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):4-mphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t=25°C) | 77 |
| Şekil 4.1.4.4. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):4-mphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t=35°C) | 78 |
| Şekil 4.1.4.5. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):4-mphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t= 45°C) | 79 |
| Şekil 4.1.4.6. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):dmphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t=35°C) | 80 |
| Şekil 4.1.4.7. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):dmphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t= 45°C) | 81 |
| Şekil 4.1.5.1. İkili komplekslerin farklı sıcaklıklarda hesaplanan lnK değerlerinin 1/T'ye karşı çizilmiş grafikleri | 82 |
| Şekil 4.1.5.2. Karışık ligant komplekslerinin farklı sıcaklıklarda hesaplanan lnK değerlerinin 1/T'ye karşı çizilmiş grafikleri | 83 |
| Şekil 4.2.3.1. Komplekslerin elektronik absorpsiyon spektrumları | 87 |
| Şekil 4.2.4.1. {[Cu(phen)(trp)]ClO ₄ ·3H ₂ O} _n kompleksinin IR spektrumu | 90 |
| Şekil 4.2.4.2. {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO ₄ ·3H ₂ O} _n kompleksinin IR spektrumu | 90 |

| | |
|--|-----|
| Şekil 4.2.4.3. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin IR spektrumu | 91 |
| Şekil 4.2.5.1.1. $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılan molekül yapısı | 93 |
| Şekil 4.2.5.1.2. $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin bir eksen boyunca çizilmiş tek boyutlu zincir yapısı | 93 |
| Şekil 4.2.5.1.3 $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinde molekül içi N- H \cdots O hidrojen bağı etkileşimleri..... | 94 |
| Şekil 4.2.5.1.4. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılan molekül yapısı | 94 |
| Şekil 4.2.5.1.5. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin bir eksen boyunca çizilmiş tek boyutlu zincir yapısı | 95 |
| Şekil 4.2.5.1.6. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinde molekül içi N- H \cdots O hidrojen bağı etkileşimleri | 95 |
| Şekil 4.2.5.2.1. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılan molekül yapısı | 97 |
| Şekil 4.2.5.2.2. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinde molekül içi N- H \cdots O hidrojen bağı etkileşimleri | 97 |
| Şekil 4.3.1.1. Kompleks-DNA etkileşimlerinde, UV-spektrumunda görülen değişimler | 102 |
| Şekil 4.3.1.2. Komplekslerin CT-DNA ile etkileşimine ait absorpsiyon spektrumları. 104 | |
| Şekil 4.3.2.1. Komplekslerin EB+ CT-DNA ile etkileşimine ait floresans spektrumları | 107 |
| Şekil 4.3.3.1. CT-DNA, EB+CT-DNA ve Kompleks+CT-DNA çözeltilerinin termal denatürasyon eğrileri | 110 |
| Şekil 4.3.4.1. $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin 4 saat inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği hidrolitik hasarın jeldeki görüntüsü | 112 |
| Şekil 4.3.4.2. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin 24 saat inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği hidrolitik hasarın jeldeki görüntüsü..... | 113 |
| Şekil 4.3.4.3. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin 24 saat inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği hidrolitik hasarın jeldeki görüntüsü | 113 |
| Şekil 4.3.4.4. $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin 4 saat inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği oksidatif hasarın jeldeki görüntüsü | 114 |
| Şekil 4.3.4.5. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin 4 saat inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği oksidatif hasarın jeldeki görüntüsü | 114 |
| Şekil 4.3.4.6. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin puC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği oksidatif hasarın jeldeki görüntüsü | 115 |
| Şekil 4.3.5.1.1. Sentezlenen komplekslerin farklı hücre hatlarındaki IC_{50} değerlerine ait bar grafiği..... | 117 |

| | |
|--|-----|
| Çizelge 2.1.3.1.1. Amino asitlerin semboller ile gösterimi | 5 |
| Çizelge 3.1.3.1.2. Standart amino asitlerin özellikleri ve sınıflandırılması | 8 |
| Çizelge 4.1.1.1. Ligantların farklı sıcaklıklarda potansiyometrik yöntem ile bulunan protonlanma sabitleri | 64 |
| Çizelge 4.1.1.2. Cu(II) iyonunun phen, 4-mphen, mhphen ve L-trp ligantları ile oluşturduğu ikili komplekslerin kararlılık (oluşum) sabitleri | 67 |
| Çizelge 4.1.3.1. Cu(II) iyonunun phen, 4-mphen, dmphen ve L-trp ligantları ile oluşturduğu karışık ligant komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitleri | 73 |
| Çizelge 4.1.5.1. Cu(II) iyonunun phen, 4-mphen, dmphen ve L-trp ligantları ile oluşturduğu ikili komplekslerin oluşum tepkimelerinin termodinamik parametreleri ... | 84 |
| Çizelge 4.1.5.2. Cu(II) iyonunun phen, 4-mphen, dmphen ve L-trp ligantları ile oluşturduğu karışık ligant komplekslerinin oluşum tepkimelerinin termodinamik parametreleri | 84 |
| Çizelge 4.2.1.1. Komplekslerin renk, erime (bozunma) sıcaklığı ve molekül kütlesi | 85 |
| Çizelge 4.2.2.1. Komplekslerin elementel analiz sonuçları | 86 |
| Çizelge 4.2.3.1. Sentezlenen komplekslerin elektronik absorpsiyon spektrumlarına ait veriler | 86 |
| Çizelge 4.2.4.1. Sentezlenen komplekslerin seçilmiş IR spektrum verileri..... | 89 |
| Çizelge 4.2.5.2.1. Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan komplekslere ait kristalografik veriler | 98 |
| Çizelge 4.2.5.2.2. {[Cu(phen)(trp)]ClO ₄ ·3H ₂ O} _n kompleksine ait seçilmiş bağ uzunlukları ve bağ açıları | 99 |
| Çizelge 4.2.5.2.3. {[Cu(phen)(trp)]ClO ₄ ·3H ₂ O} _n kompleksine ait hidrojen bağ uzunlukları ve bağ açıları | 99 |
| Çizelge 4.2.5.2.4. {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO ₄ ·3H ₂ O} _n kompleksine ait seçilmiş bağ uzunlukları ve bağ açıları | 99 |
| Çizelge 4.2.5.2.5. {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO ₄ ·3H ₂ O} _n kompleksine ait hidrojen bağ uzunlukları ve bağ açıları | 100 |
| Çizelge 4.2.5.2.6. [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO ₃)]][NO ₃ kompleksine ait seçilmiş bağ uzunlukları ve bağ açıları | 100 |
| Çizelge 4.2.5.2.7. [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO ₃)]][NO ₃ kompleksine ait hidrojen bağ uzunlukları ve bağ açıları | 101 |
| Çizelge 4.3.1.1. Kompleks+CT-DNA çözeltilerine ait bağlanma sabiti; K _b , log K _b , λ _{max} ve % hipokromizm değerleri..... | 105 |
| Çizelge 4.3.2.1. EB+CT-DNA+Kompleks çözeltilerine ait K _{sv} ve K _{app} değerleri | 108 |
| Çizelge 4.3.3.1. CT-DNA, EB+CT-DNA ve Kompleks+CT-DNA çözeltilerinin T _m ve ΔT _m değerleri | 109 |
| Çizelge 4.3.5.1.1. Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan komplekslerin IC ₅₀ değerleri . | 117 |

1. GİRİŞ

1.1. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, biyolojik sistemlerde önemli oldukları için metal iyonu olarak bakır(II) iyonu, anyonik ligant olarak bir amino asit olan L-triptofan (L-trp), nötral ligant olarak ise düzlemsel bir yapıya sahip olan fenantrolin türevlerinden; 1,10-fenantrolin (phen), 4-metil-1,10-fenantrolin (4-mphen) ve 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin (dmphen) seçildi.

Çalışmanın birinci amacı; bakır(II) iyonunun 1,10-fenantrolin (phen), 4-metil-1,10-fenantrolin (4-mphen) ve 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin (dmphen) (A) ve L-triptofan (L-trp) (B) ile oluşturduğu ikili (MA, MB) ve karışık ligant (MAB) komplekslerine ait denge tepkimelerini üç farklı sıcaklıkta (25°C, 35°C ve 45°C) inceleyerek oluşan komplekslerin kararlılık (oluşum) sabitlerini potansiyometrik yöntem ile belirlemek ve komplekslerin oluşum tepkimelerine ait termodinamik parametreleri (ΔH , ΔS ve ΔG) hesaplamaktır. Ligantların protonlanma sabitlerini ve komplekslerin kararlılık (oluşum) sabitlerini belirlemek için BEST bilgisayar programı, çözeltilerde oluşan türlerin dağılımını belirlemek için ise SPE bilgisayar programı kullanıldı.

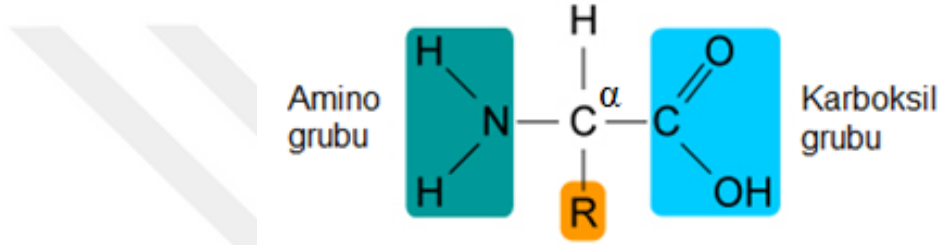
İkinci amaç; seçilen ligantların bakır(II) iyonu ile oluşturduğu karışık ligant komplekslerini sentezlemek ve sentezlenen komplekslerin yapılarını, elementel analiz, elektronik absorpsiyon spektroskopisi, IR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatmaktır.

Çalışmanın üçüncü amacı ise; sentezlenen komplekslerin CT-DNA ile etkileşimlerini ve antikanser aktivitelerini araştırmaktır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri; termal denatürasyon, elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi yöntemleri ile pUC19 plazmid DNA'yı bölme özellikleri ise agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelendi. Antikanser aktivite çalışmalarında ise; komplekslerin akciğer, meme ve kolon kanser hücre hatlarında ve bir sağlıklı hücre hattında XTT testi ile IC_{50} değerleri hesaplandı ve sitotoksiteleri belirlendi.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Amino Asitlerin Yapısı ve Genel Özellikleri

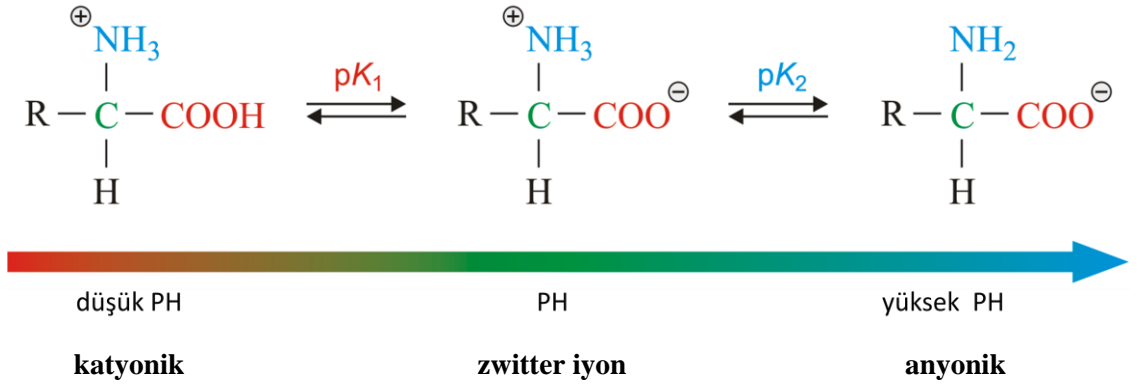
Amino asitler, canlı organizmalarda peptitlerin, proteinlerin ve enzimlerin yapı taşlarıdır ve bu nedenle çeşitli kimyasal madde grupları arasında ayrı bir öneme sahiptirler. Yapılarında hem amino ($-NH_2$), hem de karboksil ($-COOH$) grubu içeren organik bileşiklere amino asitler denir. Bir amino asit genel olarak aşağıdaki gibi gösterilir (R= çeşitli fonksiyonel gruplar).



Şekil 2.1.1. Amino asitlerin genel yapısı

Amino asitler reaksiyonlarına göre asidik, nötral ve bazik amino asitler olarak üç gruba ayrılırlar (Ün 1984). Amino asitler sulu çözeltide belli pH aralığında karboksil grubunun karboksilat ($-COO^-$) ve amin grubunun ise $-NH_3^+$ iyonu halinde olduğu “çifte iyon” (zwitter iyon, dipolar iyon) olarak adlandırılan biçimde bulunurlar. Bu yapıda, karboksilik asit grubunun protonu amin grubunun azotuna bağlanmış ve her iki fonksiyonel grupta iyon haline dönüşmüştür.

Bir çözeltideki amino asidin baskın şekli, çözeltinin pH'sına bağlıdır. Kuvvetli asidik çözeltilerde tüm amino asitler öncelikle katyonlar halinde, kuvvetli bazik çözeltilerde ise anyonlar halinde bulunurlar (Şekil 2.1.2). Moleküllerin net bir yüke sahip olmadığı pH ise izoelektrik nokta (pI) olarak adlandırılır. Her amino asidin kendine özgü bir pI değeri vardır.



Şekil 2.1.2. Amino asitlerin kuvvetli asidik ve bazik çözeltilerdeki yapıları

Doğada yaklaşık 300 çeşit amino asit vardır. Ancak bunların sadece 20 tanesi (standart amino asitler) proteinlerde bulunur. Bu 20 tane amino asidin 10 tanesi; (lösin, izölösin, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan, valin, arjinin ve histidin) insan vücudu tarafından ihtiyacı karşılayacak düzeyde sentezlenemez ve bunların dışarıdan beslenme yoluyla alımları zorunludur. Bu sebeple esansiyel amino asitler olarak adlandırılırlar.

Doğada bulunan amino asitlerin yaklaşık olarak hepsi α -amino asitlerdir. α -amino asitlerdeki α -karbon atomu asimetriktir ve dolayısıyla bu bileşiklerin D- ve L-konfigürasyonları vardır (Martin ve Granner 1985). Yani optikçe aktiftirler; polarize ışığı sağa ya da sola çevirirler. Genel olarak tüm canlıların hücre proteinlerinde bulunan amino asitler L-amino asitlerdir.

Amino asitlerin bazı kimyasal özellikleri ise şöyle sıralanabilir; bir amino asidin $-\text{COOH}$ grubu ile diğer bir amino asidin $-\text{NH}_2$ grubu birleşir ve aralarında, su çıkışı ile peptid bağı oluşur ve bunun tekrarlanması ile proteinler meydana gelir. Amino asitler, susuz HCl ve alkol ile esterleri meydana getirirler ve amino asit esterleri alkollü veya susuz amonyakla muamele edilirse amino asitlerin amidleri oluşur. Amino asitlerin amin grupları, bir çözücü içinde metil iyodür ya da dimetilsülfat ile muamele edilirse metilleşebilirler. Prolin ve hidroksi prolin haricindeki amino asitler nitroz asitlerle tepkime vererek azot açığa çıkmasını sağlarlar ve amino asitlerin bu özelliğinden faydalanılarak protein miktar tayini yapılır.

2.1.1. Amino asitlerin ligant olarak davranışı

Amino asitlerin merkez metal iyonu ile bağ yapan verici atomları; azot, kükürt ve oksijendir. Amino asitler metale sadece karboksil ($-\text{COO}^-$) grubundan bağlanarak tek dişli ligant ya da hem karboksil ($-\text{COO}^-$) hem de amino ($-\text{NH}_2$) grubundan bağlanarak çift dişli ligant gibi davranabilirler (Versiane ve ark. 2006, Rodríguez-González ve ark. 2007).

2.1.2. Amino asitlerin metal kompleksleri ve önemi

Amino asitlerin metal iyonlarıyla oluşturduğu kompleksler biyolojik sistemlerde önemli bir yer tutar ve serbest ligantlardan biyolojik olarak daha etkilidirler (Choudhary ve ark. 2011). Biyolojik sistemlerde heterosiklik bileşiklerin ayrı bir yeri vardır, özellikle de N atomu üzerinden metale bağlanan (N-vericili ligant) bileşikler pek çok vitamin ve ilacın yapısına katılırlar. Amino asitlerin metal kompleksleri antibakteriyel, antiinflamatuvar, antiülser ve antitümöral özellikleri ile farmasötik açıdan oldukça ilgi çekicidir (Stanila ve ark. 2009).

2.1.3. Amino asitlerin sınıflandırılması

Amino asitler kendi aralarında iki sınıfa ayrılırlar;

- 1) Standart (protein yapısına giren) amino asitler
- 2) Standart olmayan amino asitler

2.1.3.1. Standart (protein yapısına giren) amino asitler

Genel özellikler

Standart amino asitler, aynı karbon atomuna bağlanmış bir amino grubu ve bir karboksil grubu içerirler. Standart amino asitlerde amino ve karboksil gruplarının bağlı olduğu karbon atomu α -karbon atomu olarak adlandırılır. Eğer R grubu bir zincirde ek

karbonlar içeriyorsa bu karbonlar β , γ , δ , ϵ gibi harflerle adlandırılır. Standart amino asitler, üç harfli kısaltmalar ve tek harfli sembollerle gösterilirler (Çizelge 2.1.3.1.1).

Çizelge 2.1.3.1.1. Amino asitlerin semboller ile gösterimi

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

Standart amino asitlerin sınıflandırılması

Standart amino asitler, birbirlerinden yan zincirlerindeki yani R gruplarındaki yapı, büyüklük, elektrik yükü ve grubun amino asidin sudaki çözünürlüğüne etkisi bakımından farklıdır. Bazı amino asitler, fizyolojik pH'da, amino grubundaki pozitif yüke ve karboksil grubundaki negatif yüke ilaveten yan zincirde de bir yük taşımaktadırlar. Bazı yan gruplar polar iken bazı yan gruplar apolardır. Amino asitlerin fonksiyonları ve protein yapısındaki rolleri yan zincirlerinin kimyasal özellikleri ile ilişkilidir.

Standart amino asitler, kimyasal özelliklerinin daha kolay anlaşılabilmesi için, R yan gruplarının özellikle polaritesine ya da biyolojik pH'da suyla etkileşmeye olan eğilimlerine göre beş gruba ayrılırlar (Çizelge 2.1.3.1.2).

a) Polar olmayan alifatik R grupları içeren amino asitler

Glisin (Gly, G), R grubu H olan, yapısı basit ve en az interaktif olan amino asittir. Glisin, proteinlerdeki bulunduğu yere, diğer amino asitlerden daha fazla esneklik kazandırır.

Alanin (Ala, A), R grubu metil olan bir amino asittir.

Valin (Val, V), **Lösin (Leu, L)**, **İzolösin (Ile, I)**, dallı yan zincire sahip amino asitlerdir. Bunların büyük yan zincirleri, diğerlerinden farklı şekilleriyle protein yapıları içinde hidrofobik etkileşimi kolaylaştırmada önemlidir.

Metiyonin (Met, M), kükürt ve ilaveten metil grubu içeren bir amino asittir.

b) Aromatik R grupları içeren amino asitler

Fenilalanin (Phe, F), R grubu benzil olan bir amino asittir.

Tirozin (Tyr, Y), R grubunda bulunan fenil halkasında hidroksil grubu bağlı olan fenilalanin yapısında bir amino asittir. Tirozin amino asidi hidrofobik (suyu sevmeyen) olmakla beraber içerdiği hidroksil grubu ile hidrojen bağı oluşturabilir ve bazı enzimlerin aktivitesinde tirozinin hidroksil grubu çok önemli bir fonksiyonel grup olarak etkilidir.

Triptofan (Trp, W), indol halkasına sahip bir amino asittir. Fenilalanin, tirozin ve triptofan, aromatik yan zincirlerinden dolayı hemen hemen apolardır; tirozin içerdiği hidroksil grubu ve triptofan içerdiği indol halkasının azotu sebebiyle fenilalaninden daha fazla polardır. Fenilalanin, tirozin ve triptofanda bulunan aromatik gruplar, değişik protein zincirleri arasında güçlü bir hidrofobik etkileşim gösterirler. Üçü de ultraviyole ışığı absorblar.

c) Polar ve yüksüz R grupları içeren amino asitler

Serin (Ser, S), yapısındaki metil grubuna hidroksil grubu bağlı olan alanin yapısında bir amino asittir.

Prolin (Pro, P), amino asitlerin yapısında bulunan amino grubu, imino grubu (-NH) şeklinde olan ve imino grubu ile yan zincirdeki üç karbon atomunun oluşturduğu halkalı bir yapıya sahip olan amino asittir. Prolin, halkalı yapısı sebebiyle proteinin yapısal esnekliğini azaltır.

Treonin (Thr, T), hidroksil grubu içeren bir amino asittir.

Sistein (Cys, C), tiyol grubu içeren bir amino asittir. Sistein, sistin olarak isimlendirilen bir kovalent bağ ile bağlanmış “dimerik amino asit” şeklinde okside olabilir; sistinde iki sistein molekülü bir disülfür bağıyla birbirine bağlanmıştır. Sisteindeki gibi disülfür bağları, pek çok proteinde vardır ve proteinin yapısını kararlı duruma getirirler.

Glutamin (Gln, Q), glutamatın bir amididir.

Asparajin (Asn, N), aspartatın bir amididir.

d) Pozitif yüklü R grupları içeren amino asitler

Lizin (Lys, K), alifatik bir zincirde ϵ -pozisyonunda ikinci bir amino grubu bulunduran amino asittir.

Arjinin (Arg, R), pozitif yüklü guanidino grubu içeren bir amino asittir.

Histidin (His, H), imidazol grubuna sahip bir amino asittir. Histidindeki imidazol grubunun yükü, pH değerlerindeki küçük değişiklikler ya da lokal çevre ile değişebilir.

e) Negatif yüklü R grupları içeren amino asitler

Aspartat (Asp, D), β -pozisyonunda ikinci bir karboksil grubu bulunduran amino asittir.

Glutamat (Glu, E), γ - pozisyonunda ikinci bir karboksil grubu bulunduran amino asittir. Aspartat ve glutamat, asidik amino asitler olarak da bilinirler; ikinci karboksil gruplarıyla pH=7’de net negatif yüklü, R gruplarına sahip amino asitlerdir. Aspartat ve glutamat, asparajin ve glutaminin ana bileşikleridir.

2.1.3.2. Standart olmayan amino asitler

Standart olmayan amino asitler; bir standart amino asit, protein yapısına girdikten sonra oluşmuş olan amino asitlerdir. **4-Hidroksiprolin**, bir prolin türevidir. Bitki hücre duvarı proteinlerinde ve bağ dokusunun fibröz proteini olan kollajende bulunur. **5-Hidroksilizin**, lizin türevidir. Kollajenin yapısında bulunur. **6-N-metillizin**, lizin türevidir. Kasların kontraktıl proteini olan miyozinde bulunur. **γ -Karboksi glutamat**, glutamat türevidir. Pıhtılaşma faktörü protein olan protrombinde ve Ca^{2+} bağlayan diğer bazı proteinlerde bulunur. **Desmozin**, dört lizin kalıntısı içermektedir.

Çizelge 2.1.3.1.2. Standart amino asitlerin özellikleri ve sınıflandırılması (Nelson ve Cox 2005)

| Amino asit | pK ₁ (-COOH) | pK ₂ (-NH ₃ ⁺) | pK _R (R grubu) | pI | Hidropati İndeksi ^a | Proteindeki Miktar (%) ^b |
|---|----------------------------|---|------------------------------|-------|-----------------------------------|---|
| Polar olmayan alifatik R grupları içeren amino asitler | | | | | | |
| Glisin | 2,34 | 9,60 | | 5,97 | -0,4 | 7,2 |
| Alanin | 2,34 | 9,69 | | 6,01 | 1,8 | 7,8 |
| Valin | 2,32 | 9,62 | | 5,97 | 4,2 | 6,6 |
| Lösin | 2,36 | 9,60 | | 5,98 | 3,8 | 9,1 |
| İzolösin | 2,36 | 9,68 | | 6,02 | 4,5 | 5,3 |
| Metiyonin | 2,28 | 9,21 | | 5,74 | 1,9 | 2,3 |
| Aromatik R grupları içeren amino asitler | | | | | | |
| Fenilalanin | 1,83 | 9,13 | | 5,48 | 2,8 | 3,9 |
| Tirozin | 2,20 | 9,11 | 10,07 | 5,66 | -1,3 | 3,2 |
| Triptofan | 2,38 | 9,39 | | 5,89 | -0,9 | 1,4 |
| Polar ve yüksüz R grupları içeren amino asitler | | | | | | |
| Serin | 2,21 | 9,15 | | 5,68 | -0,8 | 6,8 |
| Prolin | 1,99 | 10,96 | | 6,48 | 1,6 | 5,2 |
| Treonin | 2,11 | 9,62 | | 5,87 | -0,7 | 5,9 |
| Sistein | 1,96 | 10,28 | 8,18 | 5,07 | 2,5 | 1,9 |
| Asparajin | 2,02 | 8,80 | | 5,41 | -3,5 | 4,3 |
| Glutamin | 2,17 | 9,13 | | 5,65 | -3,5 | 4,2 |
| Pozitif yüklü R grupları içeren amino asitler | | | | | | |
| Lizin | 2,18 | 8,85 | 10,53 | 9,74 | -3,9 | 5,9 |
| Histidin | 1,82 | 9,17 | 6,00 | 7,59 | -3,2 | 2,3 |
| Arjinin | 2,17 | 9,04 | 12,48 | 10,76 | -4,5 | 5,1 |
| Negatif yüklü R grupları içeren amino asitler | | | | | | |
| Aspartat | 1,88 | 9,60 | 3,65 | 2,77 | -3,5 | 5,3 |
| Glutamat | 2,19 | 9,67 | 3,25 | 3,22 | -3,5 | 6,3 |

(a): R gruplarının hidrofilik veya hidrofobikliğini birleştiren ölçüt; bir amino asidin sulu çevrede (- değerler) veya hidrofobik çevrede (+ değerler) eğiliminin ölçülmesi için kullanılabilir.

(b): 1150 proteindeki ortalama miktarları

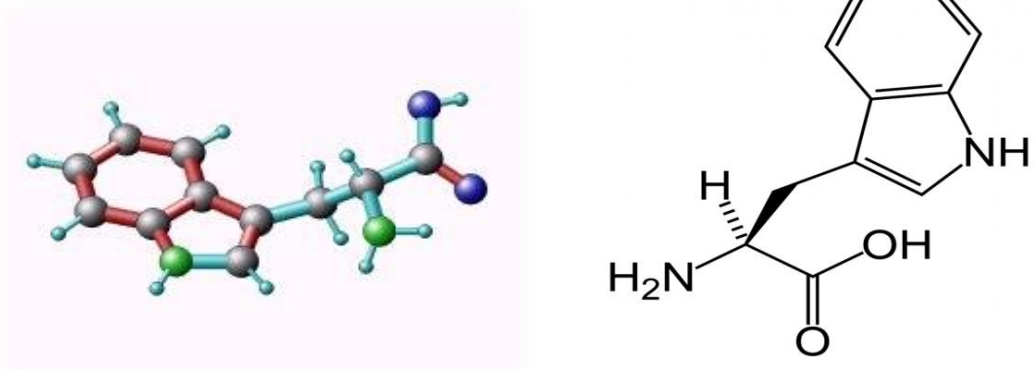
2.2. Çalışmada Kullanılan Ligantlar

2.2.1. L-Triptofan

Sistemik adı (S)-2-Amino-3-(1H-indol-3-yl)-propiyonik asittir. Kısaca Trp ve W şeklinde gösterilir (Şekil 2.2.1.1). Kimyasal formülü: $C_{11}H_{12}N_2O_2$ 'dir.

Beyaz ve kristal halde olup molekül kütlesi 204,22 g/mol'dür. İyonlaşma (asitlik) sabitleri 25°C'de pK_{a1} 2,38 ve pK_{a2} 9,39'dur. İzoelektrik noktası $pK_I=5,88$ ve yoğunluğu 1,34 g/cm³'tür. Hızlı ısıtma sonucu 289°C'de erir ve bozunmaya uğrar. Suda çözünürlüğü çok azdır. UV'de 278 ve 286 nm'de (sulu asit çözeltisinde) maksimum absorpsiyon verir. 280 nm dalga boyunda molar soğurma katsayısı yüksek olan bir amino asittir.

İndol halkası içeren apolar bir aminoasittir. Pirüvat ve asetil KoA üzerinden yıkılır. Yapısındaki indol halkası bazı bileşiklerin yapısına katılır. Bu bileşikler; serotonin ve melatonindir. Karaciğerde triptofanın yıkımıyla nikotinik asit sentezlenir. Bitkiler ve bazı mikroorganizmalar, şikimik asit ve antranilik asitten triptofanı sentezleyebilirler.

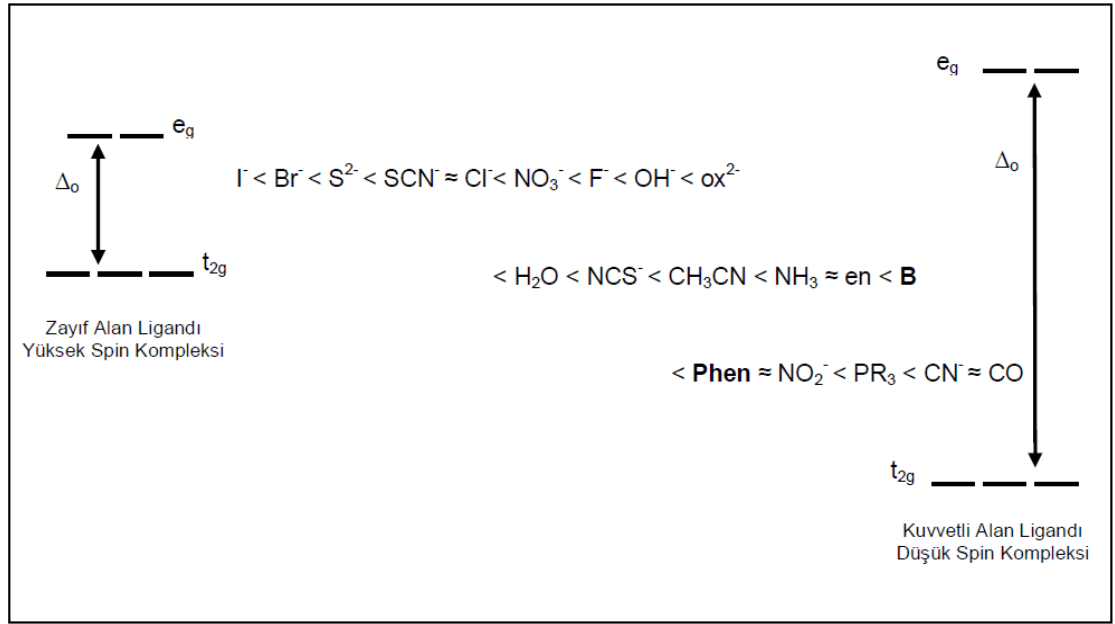


Şekil 2.2.1.1. Triptofanın üç boyutlu ve açık yapısı

2.2.2. Fenantrolin türevleri

Metal atomuna azot atomu üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftinden koordine olan ligantlar "N-verici" ligantlar olarak adlandırılır. Azot verici atomu içeren aromatik

ligantlar, periyodik tablodaki bütün metallerle kolayca tepkimeye girdikleri için koordinasyon kimyasında yaygın olarak kullanılırlar. Spektrokimyasal seride piridin, bipyridin ve 1,10-fenantrolin kuvvetli alan ligantları oldukları için, çoğunlukla düşük oksidasyon basamağına sahip metal iyonlarıyla kararlı kompleksler oluştururlar (Şekil 2.2.2.1).



Şekil 2.2.2.1. Spektrokimyasal seri

Ayrıca, 1,10-fenantrolin ve türevleri Cu(II), Cu(I), Pt(II), Cd(II), Fe(II) gibi geçiş metal iyonları ile renkli koordinasyon bileşikleri oluştururlar. Renklilik, geçiş metallerinin d orbitalindeki elektronların d-d elektron geçişlerinden veya yük transfer geçişlerinden kaynaklanır. Elektron geçişleriyle ilgili enerjinin, elektromanyetik spektrumunun görünür bölgesine (720-400) denk gelmesi durumunda bileşikler belli bir renkte görünürler. Elektron geçişleri iki şekilde meydana gelmektedir; birincisi, metalin d orbitalindeki bir elektron yine metalin diğer bir d orbitaline geçer. Bu tarz geçişlere d-d geçişi denilir. d-d geçişlerinde, atomdan atoma elektron göçü söz konusu değildir. İkinci tür elektron geçişlerine yük transfer geçişi denilir. Bu geçişler iki şekilde meydana gelir: metal ağırlıklı bir orbitalden ligant ağırlıklı bir orbitale (M→L) elektron geçişi veya ligant ağırlıklı bir orbitalden metal ağırlıklı bir orbitale (L→M) elektron geçişi olur. Sonuçta, d-d geçişleri soluk renklere, yük transfer geçişleri ise belirgin renklere sebep olmaktadır (Tunalı ve ark. 1999).

Ayrıca, N-verici atomu olan aromatik ligantlarla kararlı koordinasyon bileşikleri meydana getirebilen geçiş metalleri çok farklı oksidasyon basamakları sergileyebilirler. Geniş bir oksidasyon basamağı aralığına sahip olmaları, bunların çoğu katı bileşiklerinin ilginç elektronik özelliklerini, katalitik etkilerini ve biyokimyasal sistemlerdeki duyarlı ve oldukça farklı rollerini açıklar (Shriver ve ark. 1999).

Son zamanlarda 1,10-fenantrolin ve türevlerinin önem kazanmasının nedeni, bunların metal iyonlarıyla oluşturdukları komplekslerin DNA ile olan etkileşimlerinin bir sonucu olarak antikanser ve anti-HIV ajanları olarak kemoterapide kullanılmalarıdır (Alessino ve ark. 1997).

1,10-fenantrolin ve türevleri seçici olarak metal iyonları ile kompleks oluşturdukları için, kimyasal sensör olarak atık sulardan zehirli ya da radyoaktif metal iyonlarının seçici bir şekilde uzaklaştırılmasında membran transportu olarak, radyoizotopların immobilizasyonunda ise faz transfer katalizörü olarak kullanılırlar. Ayrıca, metallo-enzimler için model sistem olurlar ve küçük molekülleri; O₂, CO, CO₂, N₂, aktif hale getirirler (Frank ve ark. 1994).

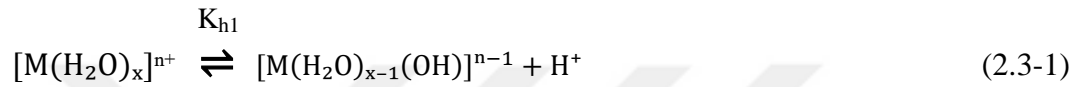
2.3. Metal İyonlarının Sulu Çözeltideki Davranışları

Metal bileşikleri, suda çözüldükleri zaman iyonlarına ayrışırlar. Metal iyonlarının yükleri ile büyüklükleri düşünüldüğünde, çözeltide serbest bir halde bulunamayacakları görülmektedir. Bu iyonlar, çözeltide ortaklanmamış elektron çifti bulunan karşıt iyon ve iyonlar ile birlikte bulunurlar. Genellikle çözücüler elektron verici özelliğe sahiptir. Eğer metal iyonları çözücü tarafından solvatize bir halde ise “solva kompleksleri”, çözücü su ise “aqua kompleksleri” meydana gelir (Cotton ve ark. 1988).

Metal iyonlarından sulu çözeltide kompleks oluşumu, bu metal iyonunun aqua kompleksinden su moleküllerinin uzaklaştırılarak, yerine istenilen ligandın gelmesi şeklinde gerçekleşir. Bu sebeple, sulu çözeltide kompleks iyonlarının oluşumunu ve bunların kararlılığını anlayabilmek için öncelikle aqua iyonlarının incelenmesi gerekir.

Tek uçlu bir ligant olan su, ortaklanmamış elektron çiftlerine sahip oksijeni metal iyonuna doğru yönlendirir ve onu çevreleyerek aqua iyon, $[M(H_2O)_n]^{m+}$ oluşturur. Bir

metal iyonu $[M(H_2O)_n]^{m+}$ türünde bir aqua iyon oluşturduğunda bağlanan su moleküllerinin sayısı o metalin maksimum koordinasyon sayısına (n) eşittir (Cotton ve ark. 1988). Metal iyonu pozitif yüklü olduğu için su molekülünün elektronlarını kendisine çeker. Bunun sonucunda, O-H bağı zayıflar ve proton metal iyonu tarafından itilir ve su molekülünden bir protonun kopmasına neden olur. Bunun sonucunda metal çözeltisinin asitliği yükselir. Metal iyonunun yükü ne kadar büyükse, etkin iyon yarıçapı ne kadar küçükse elektronları çekme ve protonu itme kuvveti o kadar büyük olur kısaca hidroliz kolaylaşır. Genel olarak hidroliz tepkimesi (2.3-1) eşitliği ile verilir (Cotton ve ark. 1988).



(2.3-1) tepkimesinin hidroliz denge sabiti, K_{h1} ise (2.3-2) eşitliği ile verilir.

$$K_{h1} = \frac{[[M(H_2O)_{x-1}(OH)]^{n-1}][H^+]}{[[M(H_2O)_x]^{n+}]} \quad (2.3-2)$$

2.4. Kompleks Denge Sabitlerinin Türleri

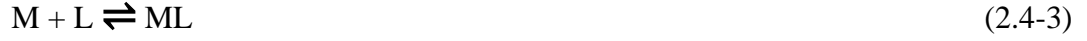
Kütlelerin tesiri kanunu, her bir tersinir kimyasal tepkimede, tepkimeye girenlerle tepkimede oluşanların arasındaki aktifliklerin ilişkisini inceler. Denge halinde olan bir kompleks oluşum tepkimesinin (2.4-1) gerçekleştiği bir karışımda; belli sıcaklıkta ürünlerin aktifliklerinin tepkimeye girenlerin aktifliklerine oranı bu tepkimenin denge sabitidir (Termodinamik denge sabiti).



(2.4-1) denge tepkimesinde M metal iyonunu, L ise ligandı ifade eder. Kütlelerin tesiri kanununa göre (2.4-1) denge tepkimesinin denge sabiti, derişimlerin bir fonksiyonu olarak (2.4-2) eşitliği ile verilir (Stokiyometrik denge sabiti).

$$K = \frac{[ML]}{[M][L]} \quad (2.4-2)$$

Sulu çözeltilerde M metal iyonu ile tek dişli L ligandı var ise ve yalnızca suda çözünen mono-nükleer bileşikler oluşuyorsa dengedeki sistem (2.4-3, 2.4-4 ve 2.4-5) eşitlikleri ile belirlenir.



.

.



Buradaki, denge sabitleri komplekslerin kararlılığını belirtir ve “basamak kararlılık sabiti” şeklinde adlandırılır. Bu denge sabitleri N adet olabilir ve N sayısı metal için maksimum koordinasyon sayısıdır. Aynı metal iyonu için maksimum koordinasyon sayısı olan N; liganttan liganda farklılık gösterir.

Denge ilişkilerini belirlemede kullanılan bir diğer metod ise “toplam kararlılık sabiti” dir. Koordinasyon bileşiğinin birden fazla basamakta oluşumunu ve kararlılığını gösteren bu sabitler K_{f1} , K_{f2} , ... K_{fn} şeklinde gösterilebilir (2.4-6, 2.4-7 ve 2.4-8).



Kompleksin oluşum dengeleri incelendiğinde K_i ile K_{fi} arasında bir ilişkinin olduğu görülür. Bu ilişki (2.4-9) eşitliği ile verilebilir.

$$K_{fi} = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3 \dots K_N = \prod_{i=1}^N K_i \quad (2.4-9)$$

Koordinasyon bileşiğinin yer aldığı denge tepkimesinde kütlelerin tesiri kanunu, ancak

stokiyometrik ve termodinamik denge sabiti eşitliklerinde derişimlerin yerine aktiflikler yerleştirildiğinde geçerlidir (Beck ve Nagypal 1990). Bir türün aktivitesi (a_x) ve onun molar derişimi (c_x)'in arasındaki bağıntı (2.4-10) eşitliği ile verilir.

$$a_x = f_x \cdot c_x \quad (2.4-10)$$

(2.4-10) eşitliğinde f_x "aktivite katsayısı" diye isimlendirilir. X'in aktivitesi, bir çözeltinin iyonik şiddetine göre değişir. İyonik şiddet (μ) ise (2.4-11) eşitliği ile ifade edilir.

$$\mu = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2 \quad (2.4-11)$$

Eşitlikteki; c_i çözeltideki farklı iyonların molar derişimini belirtirken, z_i bu iyonların yüklerini belirtmektedir. İyonik şiddetin hesaplanmasında, çözeltideki reaktiflik yalnızca bir tür için değil tüm iyonik türler için göz önüne alınır.

Aktivite katsayılarının zellikleri:

1) Bir türün aktivite katsayısı olan f_x ; dengedeki türlerin dengeyi etkileme etkinliğinin bir ölçüsüdür (Skoog 1998). Fazla seyreltik çözeltelerde iyonik şiddette çok küçüktür ve iyonlar birbirlerinden yeteri kadar uzakta olduğu için birbirlerinin davranışını etkilemez. Bir iyonun denge durumuna etkisi, onun yalnızca molar derişimine bağlıdır, diğer iyonlara bağlı değildir. Bu koşullar altında, aktivite katsayısı f_x 1'dir ve bu türün derişimi $[x]$ ile aktivitesi (a_x) birbirine eşittir. İyonik şiddet arttıkça, her bir iyonun davranışı komşu iyonlardan etkilenir ve kimyasal denge konumunu değiştirecek biçimde iyonun etkinliğinde azalma olur. Bu sebeple iyonun aktivite katsayısı 1'den daha küçük olur. Yüksek iyonik şiddetlerde, bazı türler için aktivite katsayısı artar ve hatta 1'den bile büyük olur. Bu tarz zeltelerin davranışlarını yorumlamak zordur.

2) Seyreltik zeltelerde, verilen bir tür için aktivite katsayısı elektrolitin türüne bağımlı değildir, yalnızca iyonik şiddete bağlıdır.

3) Verilen iyonik şiddet için bir iyonun aktivite katsayısı türlerin yükü arttıkça birden daha fazla sapar. Yüksüz bir molekülün aktivite katsayısı, iyonik şiddet ne olursa olsun yaklaşık olarak 1'dir.

- 4) Verilen iyonik şiddet için aynı yüke sahip iyonların aktivite katsayıları hemen hemen aynıdır. Küçük farklar ise, hidratlaşmış iyonların etkin çaplarıyla alakalıdır.
- 5) Belli bir iyonun aktivite katsayısı ile molar derişiminin çarpımı, iyonun yer aldığı bütün dengedeki etkin davranışını belirler.

1923'te P. Debye ile E. Hückel, iyonların aktivite katsayılarının hesaplanmasını sağlayan (2.4-12)'de gösterilen eşitliği geliştirdiler (Skoog 1998).

$$-\log f_x = \frac{0,509 \cdot Z_x^2 \cdot \sqrt{\mu}}{1 + 0,328 \cdot \alpha_x \cdot \sqrt{\mu}} \quad (2.4-12)$$

f_x = x türünün aktivite katsayısı, Z_x = x türünün yükü, μ = çözeltinin iyonik şiddeti, α_x = Angström türünden hidratlaşmış iyonun etkin çapı, 0,509 ile 0,328 değerleri 25°C için verilen sabitlerdir.

Koordinasyon bileşiklerinin bulunduğu dengelerin denge sabiti çalışmalarında Debye-Hückel eşitliğiyle ifade edilen iyonik şiddetin sabit kalabileceği şartların yukarıdaki açıklamaların ışığında belirlenmesi gereklidir. Bu şartlar ise yeterli önlemlerin alınmasıyla "asal elektrolitin" fazla derişik çözeltilerinde var olur. Ve ilgilenilen koordinasyon iyon ya da bileşiklerinin derişimleri asal elektrolite oranla çok seyreltik olacaktır.

Sabit iyonik ortam için gerekli olan "asal elektrolitin" özellikleri şunlardır:

- 1) Asal elektrolitin kuvvetli elektrolit olması gerekir.
- 2) Asal elektrolitin katyonu, ligant ve koordinasyon bileşiğiyle tepkimeye girmemelidir.
- 3) Asal elektrolitin anyonu merkezdeki metal iyonu ve koordinasyon bileşiğiyle tepkime vermemelidir.
- 4) Asal elektrolit ve merkez iyonu ya da ligant arasında redoks tepkimesi gerçekleşmemelidir.
- 5) Asal elektrolitin çözünürlüğü fazla olmalıdır.

6) İlgilenilen denge tepkimesinde ölçülen fiziksel ya da kimyasal özelliğe asal elektrolitin katkısı ihmal edilebilir oranda olmalıdır.

Asal elektrolit olarak kullanılacak başlıca birkaç tuz vardır; bunların içinde potasyum klorür (KCl) yukarıda belirtilen özellikleri taşıyan en elverişli tuzdur. Bu sebeple çalışmalarımızda KCl asal elektrolit olarak kullanılmıştır.

2.5. Cu(II) İyonunun Sulu Çözelti Kimyası

Cu(II) iyonu, $[Ar]3d^9$ elektronik yapısındadır ve eşleşmemiş tek elektronu olması nedeniyle koordinasyon iyon ya da bileşikleri renklidir ve paramanyetiktir.

Cu(II) iyonu koordinasyon sayısı 4-6 arasında değişen koordinasyon iyon ya da bileşikleri oluşturur. İyonik yarıçap değeri, koordinasyon sayısı 4 olduğunda kare düzlem ve tetrahedral düzenlenmede $0,71 \text{ \AA}$, koordinasyon sayısı 6 olduğunda ise bozulmuş oktahedral düzenlenmede $0,87 \text{ \AA}$ 'dur.

| <u>Koordinasyon Sayısı</u> | <u>Geometri</u> |
|----------------------------|---------------------|
| 4 | Tetrahedral |
| 4 | Kare Düzlem |
| 5 | Trigonal Bipramit |
| 6 | Bozulmuş Oktahedral |

Birçok Cu(II) tuzu suda kolaylıkla çözünür ve sulu çözelti içinde aqua iyonu $[Cu(H_2O)_6]^{2+}$ meydana getirir. Cu(II) iyonuna koordine olmuş altı su molekülünden ikisi diğer dört su molekülüne oranla, Cu(II) iyonundan daha uzakta bulunur. Sulu ortamda farklı ligandlar H_2O molekülleriyle yer değiştirebildiği için, çeşitli koordinasyon iyon ya da bileşikleri meydana gelir. Örneğin; NH_3 'ın eklenmesiyle $[Cu(NH_3)(H_2O)_5]^{2+}$... ve $[Cu(NH_3)_4(H_2O)_2]^{2+}$ koordinasyon iyonları meydana gelir (Cotton ve Wilkinson 1983). Cu(II) iyonuna beşinci ve altıncı ligand (su molekülleri olsa dahi) güçlü bağlanamaz. Bu değişik davranışın nedeni "Jahn-Teller Kuramı" ile açıklanabilir. Kurama göre, doğrusal olmayan, bununla birlikte eşenerjili elektronik düzeyde bulunan bir moleküler sistem kararsız durumdayken simetrisini azaltabilir,

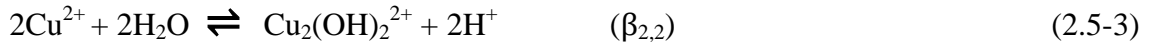
eşenerjili düzeylerin yarılmasına sebep olacak bir değişikliğe uğrayarak daha düşük enerjili duruma geçebilir. t_{2g}^6 ve e_g^3 elektronik yapısındaki Cu(II) iyonunun kristal alanda e_g orbitallerinden birinde tek diğerindeyse, iki elektron bulunacaktır. Dolayısıyla e_g orbitallerinin ($d_{x^2-y^2}$ ve d_z^2) eşenerjili durumu bozulacak ve Cu(II) iyonu düzgün sekizyüzlünün merkezinde değil de bozulmuş bir yapının merkezinde bulunan bir iyon gibi davranacaktır. Böyle yapılara genelde 5. ile 6. ligandın bağlanması kararlılığı azaltır. 5. ve 6. ligandların zayıf bağlanmasının bir sonucu olarak basamak oluşum sabiti K_5 ile K_6 oldukça küçüktür. Cu(II) iyonlarının çok farklı aminlerle oluşturduğu koordinasyon iyon ya da bileşikleri bilinmektedir. Cu(II) iyonunun amin koordinasyon iyon ya da bileşikleri, aqua koordinasyon iyon ya da bileşiklerinden daha koyu mavi renktedirler (Cotton ve Wilkinson 1983).

Sulu ortamda Cu(II) iyonu hidroliz olur ve farklı hidroliz ürünleri meydana gelir. Cu(II) iyonunun bir dimer olan katyonik hidroliz ürünü, $Cu_2(OH)_2^{2+}$ ilk defa 1943 yılında Pedersen tarafından belirtilmiştir, 1956 senesinde Berecki-Biederman, 1968 yılında Ohtaki ve 1970 senesinde Kakihani ve arkadaşları 3,0 M'lık farklı perklorat ortamlarında aynı hidroliz ürünlerini belirlemişlerdir. Perrin 1960 yılında, daha seyreltik $Cu(NO_3)_2$ çözeltisinde Cu(II) iyonunun hidroliziyle ilgili çalışmalar yapmıştır ve bulduğu sonuçlar diğer araştırmacıların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, Perrin'in en yüksek β değerini bulduğu görülmüştür (Baes ve Mesmer 1986).

$Cu(OH)^+$ 'in kararlılığı $\beta_{1,1}$, pek çok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. $\beta_{1,1}$ 'in en yüksek değeri, Kakihani ve grubu tarafından bulunmuştur. Mc Dowell ve Johnston 1936 yılında 0,04 ve 8,00 M arasında değişen potasyum hidroksit çözeltisi içinde CuO miktarını arttırarak yaptıkları çalışmalarda, $Cu(OH)_3^-$ ile $Cu(OH)_4^{2-}$ iyonlarının meydana geldiğini ifade etmişlerdir (Baes ve Mesmer 1986).

pH'ın 8 ile 12 arasında olduğu çok seyreltik çözeltilerde, $Cu(OH)^+$, $Cu_2(OH)_2^{2+}$ ve $Cu(OH)_2$ önemliyken, çok çok bazik çözeltilerde $Cu(OH)_4^{2-}$ iyonunun varlığı gözlenmiştir (Baes ve Mesmer 1986).

Cu(II) iyonunun sulu çözeltideki hidrokso bileşiklerinin oluşumlarına ait denge tepkimeleri aşağıdaki eşitliklerde verilmiştir.



$$\beta_{m,n} = \frac{[(\text{M}_m(\text{OH})_n)^{(2m-n)+}][\text{H}^+]^n}{[\text{M}^{2+}]^m} \quad (2.5-7)$$

Genel olarak hidroliz tepkimeleri (2.5-6) tepkimesinde gösterildiği şekilde yazıldığı için Ek-7'deki çizelge bu gösterim esasına uygun düzenlenmiştir ve hidroliz sabitleri verilmiştir.

2.6. Karışık Ligant Metal Kompleksleri

Biyolojik sistemlerde bulunan Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Cu, Zn ve Mo gibi metal iyonlarıyla kompleks oluşturmak üzere potansiyel ligandların milyonlarcası birbirleri ile yarıştığı için biyolojik ortamlarda genelde karışık ligand kompleksleri bulunur (Williams 1971). Karışık ligand kompleksleri; membranlar içinde aktif maddelerin taşınması ayrıca saklanması etkilidirler. Bu olay, büyük oranda ligandın türüne ve

ortamdaki metal iyonunun yapısına bağlıdır. Bu sebepten, metal kompleksleri biyokimyanın temel bir konusu olarak karşımıza çıkar. Buna karşın proteinler ve oluşturdukları karışık ligand kompleksleri hakkında oldukça az bilgi mevcuttur (Sigel 1973).

Bu çalışmada, karışık ligand kompleksleri, iki dişli olarak metal iyonuna koordine olabilen bir A ligandı ve bir B ligandının, aynı metal iyonuna koordinasyonu sonucunda oluşan kompleksi ifade eder. Bir metal iyonu ile A ve B ligandları arasındaki etkileşim hakkındaki kantitatif bilgi, aşağıda verilen reaksiyona göre oluşan $M_pA_qB_rH_s$ şeklindeki türlerinin denge sabiti (oluşum sabiti) (2.6-1) ve (2.6-2) eşitlikleri ile gösterilebilir.



$$\beta_{pqrs} = [M_pA_qB_rH_s] / [M]^p [A]^q [B]^r [H]^s \quad (2.6-2)$$

Eşitliklerde $[M]$, $[H]$, $[A]$, $[B]$ serbest haldeki bileşenlerin denge derişimidir. s parametresi, A ve B ligandlarından iyonlaşabilecek protonların sayısı olup metal iyonu bulunmadığında iyonlaşabilen protonların maksimum sayısından fazla olduğunda, negatif olabilen bir parametredir. Burada belirtilen denge sabitinin belirlenmesinde, diğer fizikokimyasal yöntemlere göre genelde potansiyometrik yöntem daha fazla tercih edilmektedir.

2.7. Karışık Ligant Kompleks Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Çoğunlukla, bir metal iyonuyla A ve B ligandlarını bulunduran bir çözeltide meydana gelen karışık ligant komplekslerinin sayısının teorik olarak yüksek olması beklenir.

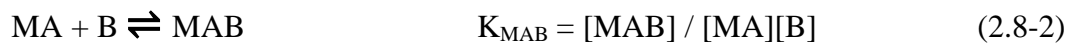
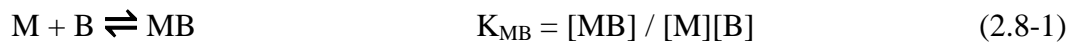
Sigel, reaksiyona giren türler (ikili kompleksler) farklı geometrik yapıda olduğu zaman, karışık ligant komplekslerinin çoğunlukla oluşmadığını belirtmiştir (Sigel, 1973). Karışık ligand komplekslerinin oluşmamasına bazen, ikili kompleksin konjugasyon etkileri (Kuhn 1948) ya da şelat oluşumu (Sigel ve ark. 1971) sebebiyle kararlılığının

yüksek olması gibi sebepler gösterilmektedir. Bu gibi açık fiziksel faktörlerin etkili olmadığı durumlar için, elde edilen deneysel verilerden birtakım deneysel prensipler açığa çıkmaya başlamıştır. Ligand alan kuvvetinin bir fonksiyonu olarak ligandların bağ enerji diyagramları, ligandların herhangi bir çiftinin karışık bir kompleks oluşturabilen bir geçiş metaliyle yalnızca yüksek spin ya da yalnızca düşük spin komplekslerini oluşturması ile alakalıdır (Martell ve Nacock 1996). Bir metal iyonu bir ligand ile yüksek spin kompleksi, diğer ligand ile düşük spin kompleksi oluşturduğu zaman ise karışık ligand kompleksi elde etmek çoğunlukla zordur. Böyle bir durumda, metale koordine olan ligandın her biri ayrı ayrı iki kompleks oluşturma eğilimindedir (Sigel 1973).

Diğer bir teoriye göre, karışık ligand komplekslerinin meydana gelişi, metal ile ligandlar arasında oluşmuş bağların tipine bağlıdır. Koordinasyon bileşiklerinde σ -bağının etkisinin iyonik komplekslerdeki elektrostatik etkiler ile aynı yönde olduğu kabul edilmiştir. Diğer taraftan, π -bağı oluşturan ligandlar, merkez iyonundan ligandın boş π -orbitallerine geri bağlanmaya izin verirler. Bu bağlanma, merkez iyon etrafındaki elektron derişimini düşürür ve bu sebeple, σ -bağı yapan ligandlara karşı bir etki gösterir. Eğer, ligandların her ikisi de σ - ve π -bağı yapıyorsa karışık ligand kompleksleri oluşur. Ama π -bağı yapan ligandlar π -bağı yapmayan ligandları dışarıda bırakma eğilimi gösterir ve bunun gibi kompleksler kararsızdırlar (Sigel 1973).

2.8. Karışık Ligant Komplekslerinin Kararlılığını Etkileyen Faktörler

$M_pA_qB_rH_s$ karışık ligand kompleksinin basamak kararlılık sabitiyle ikili komplekslerin kararlılık sabitini karşılaştırmak mümkündür. B ligandının, metal iyonuna (M) ve metal kompleksine (MA) koordinasyonu (2.8-1) ve (2.8-2) eşitlikleri ile gösterilir.



İkili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılıkları arasındaki fark, karışık ligand komplekslerinin oluşum eğilimini karakterize etmek için iyi bir yoldur (2.8-3).

$$\Delta \log K = \log K_{MAB}^{MA} - \log K_{MB}^M = \log K_{MBA}^{MB} - \log K_{MA}^M \quad (2.8-3)$$

Karışık ligand komplekslerinin oluşumu ve kararlılığı incelenirken birçok parametre de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu parametreleri kısaca aşağıdaki gibi sıralayabiliriz.

a) Çözücünün etkisi: Sigel ve McCormik, baziklikteki değişimlerin, komplekslerin kararlılığındaki değişimle uyum içinde olduğunu ifade etmişlerdir (Sigel ve McCormik, 1970). Çözücünün polarlığının düşmesiyle azot verici ligandların kararlılığı azalmakta, oksijen verici ligandların kararlılığı ise yükselmektedir (Sigel 1973).

b) İyonik şiddetin etkisi: Eğer, ikili ve karışık ligand kompleksleri eşit yükler taşıyorsa, kararlılık iyonik şiddet ile artar. Buna karşın, karışık ligand kompleks oluşumunda bir yük değişimi meydana geliyorsa iyonik şiddetin artması, karışık ligand kompleksinin kararlılığını ciddi şekilde azaltır (Nasanen ve ark. 1962, Sigel 1973).

c) Metal iyonunun elektronik yapısının etkisi: Geçiş metal iyonlarının koordinasyon iyon ve bileşikleri oluşturma eğilimleri, belli bir kararlılık sırasıyla tanımlanır. Bu sıralamalar içinde en önemlisi Irving-Williams (1948-1949) serisidir (Beck ve Nagypal 1990). Irving-Williams serisi N ve O verici atomlarına sahip ligandlar ile 3d geçiş metal iyonlarının koordinasyon iyon ve bileşiklerini kapsar. Metal iyon komplekslerinin kararlılığı için yapılan bu sıra ($Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} > Zn^{2+}$) metallerin iyonik yarıçap ve ikinci iyonlaşma potansiyellerine göre belirlenmiştir. Bu seri yalnızca yüksek spin kompleksleri için geçerlidir. Genelde düşük spin kompleksleri arasında Irving-Williams serisinden sapmalar olur (Beck ve Nagypal 1990).

d) Ligantların etkileşimi: Aynı merkez metal iyonu üzerinde koordine olmuş ligandların etkileşimi de karışık ligand kompleks oluşumunu önemli ölçüde etkiler. MAB karışık ligand kompleksinin kararlılığına bakılırken, A ve B ligandları arasındaki bağ oluşumunun etkisinin de dikkatlice incelenmesi gerekir.

e) İstatistiksel faktörler: İstatistiksel faktörler; ilk kez Bjerrum (1957) tarafından tanımlanmış, Watters ve Dewitt tarafından karışık ligand kompleksleri için geliştirilmiştir (Watters 1959, Watters ve Dewitt 1960). Watters'a göre, A ve B ligandlarının derişimi eşitse, ilk ligand A'nın bağlanma olasılığı $\frac{1}{2}$ ' dir. MA_3 kompleksinin olabilirliği ise, $\frac{1}{2} \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$ dir. Bu ilişki MA_rB_s kompleksi için genelleştirilebilir (Sharma ve Schubert 1969).

$$\log\beta_{1rs0} (\text{hesap.}) = \log S + [(r / (r+s)). \log\beta_{1(r+s)00}] + [(r / (r+s)). \log\beta_{10(r+s)0}] \quad (2.8-4)$$

Burada S, istatistiksel bir faktör olup aşağıdaki eşitlikle gösterilebilir.

$$S = \frac{(r+s)!}{r!s!} \quad (2.8-5)$$

Diğer yandan;

$$\Delta_{1rs0} = \log\beta_{1rs0}(\text{deneysel}) - \log\beta_{1rs0}(\text{hesaplanan}) \quad (2.8-6)$$

Eşitliğinde Δ_{1rs0} çoğunlukla pozitifdir ve istatistiksel etkilerin düzenlenmesinden sonra karışık ligand komplekslerinin kararlılığının artmasının ya da artmamasının bir ölçüsünü gösterir.

2.9. Serbest Enerji ve Denge Sabiti

Kimyasal termodinamik, kimyasal sistemlerde enerji ilişkilerini inceler ve termodinamik dengeyi belirleyen eşitliklerinin türetilmesinde ve aynı zamanda denge sabitlerinin tahmin edilmesinde kullanılmaktadır.

Kimyasal dengelerde, denge verileri; aşağıdaki eşitlik (2.9-1) ile tanımlanan ve Gibbs Serbest Enerjisi (G) diye adlandırılan termodinamik fonksiyona göre belirlenmektedir.

$$G = H - TS \quad (2.9-1)$$

(2.9-1) eşitliğinde H; entalpi, T; mutlak sıcaklık ve S entropi değeridir. Bir denge sisteminde, sabit sıcaklıkta ve basınç altında o sistemin serbest enerjisi minimumdur. Bir maddenin serbest enerjisi aktifliğin bir fonksiyonu olarak aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$G_A = G_A^\circ + RT \ln\{A\} \quad (2.9-2)$$

Eşitlik (2.9-2)'deki R; gaz sabiti (8,3145 j.mol⁻¹.derece⁻¹), T; mutlak sıcaklık ve ln{A}; türlerin aktiflikleri oranının doğal logaritmasıdır. G_A^o sabiti; A maddesinin standart şartlarda karakteristik bir özelliğidir ve standart serbest enerji diye isimlendirilir. G_A ise; birim aktifliği temel alan hipotetik standart durumunda, o maddenin serbest enerjisi olarak adlandırılır.



(2.9-3) denge tepkimesi için standart serbest enerji değişimi, tepkimeye giren maddelerinin standart serbest enerjilerinin, ürünlerinkinden çıkarılmasıyla belirlenir (2.9-4).

$$\Delta G^o = cG_C^o + dG_D^o - (aG_A^o + bG_B^o) \quad (2.9-4)$$

(2.9-2) eşitliği kullanılarak (2.9-3) denge tepkimesi için serbest enerji değişimi aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$\Delta G = \Delta G^o + RT \ln \frac{\{C\}^c \cdot \{D\}^d}{\{A\}^a \cdot \{B\}^b} \quad (2.9 - 5)$$

Eğer bir tepkime için ΔG negatifse, bu tepkime kendiliğinden oluşur. ΔG pozitif ise, geriye doğru reaksiyon kendiliğinden meydana gelir. $\Delta G = 0$ ise, sistem dengededir ve eşitlik (2.9-5)' de aktiflikleri oranı sadece denge sabitini belirtir.

Bu sebeple (2.9-5) eşitliğinden, (2.9-6) eşitliği elde edilir.

$$\Delta G^o = -RT \ln K \quad (2.9-6)$$

Oda sıcaklığında (25°C = 298K), genelde logaritması kullanılır. Eğer biz;

$$\Delta G^o = -5,706 \log_{10} K \quad (2.9-7)$$

olarak verirsek ΔG^o ; mol başına kilojoule olarak hesaplanır.

2.10. Kararlılık Sabitinin Sıcaklıkla Değişimi

Sıcaklık değişiminin kararlılık sabitine etkisini tanımlayan termodinamik eşitlikler aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (2.10-1)$$

Eşitliğin her iki tarafı $-RT$ 'ye bölünürse;

$$\ln K = \frac{-\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (2.10-2)$$

bağıntısı elde edilir. ΔH° ve ΔS° sabit kabul edilirse, (2.10-2) eşitliği; eğimi $-\Delta H^\circ/R$ ve kesim noktası $\Delta S^\circ/R$ olan bir doğru denklemdir. Kararlılık sabiti ve sıcaklık arasında ters orantı olduğu görülür.

Eşitlik (2.10-2)'den de anlaşılacağı gibi koordinasyon iyon ya da bileşiği oluşumuna eşlik eden entropi ve entalpi değişimleri, sabitlerin sıcaklığa bağımlılığına bakılarak saptanır ve sabitlerin sıcaklığa bağımlılığı, entalpi değişiminin eşlik etmesiyle yürütülür. Buna göre, ΔG 'nin çözüme ulaştırılmasına etki eden ΔH ve ΔS 'nin de içinde olduğu tüm faktörler, sıcaklığa bağlı sabitlerin belirlenmesinde etkilidir.

ΔH değerinin hesaplanabilmesi için kalorimetrik ölçümler veya bunun yerine çeşitli sıcaklıklarda denge sabitlerinin saptanması gereklidir. Bunlardan kalorimetride çoğunlukla elde edilen sonuçlar daha doğrudur. "Sıcaklık katsayısı" ile ΔH 'ın belirlenmesi metodu oldukça hassastır ve deneysel hata verebilir.

Molarite biriminde belirtilen derişim, sıcaklığa bağlıdır ve çözücüye ısı iletilmesiyle ΔH değerinde değişiklik meydana gelmesi olasıdır. Bu sebeple denge sabiti değerleri, geniş bir sıcaklık aralığında molalite derişim biriminde belirlenmelidir. ΔH ve dolayısıyla $(\Delta G)_p$ değerinin sıcaklığa bağımlı olarak belirlenebilmesi için gerekli koşulların sağlanması halinde “sıcaklık katsayısı” yöntemi ile kalorimetri yöntemine oranla daha geniş bilgiler elde edilebilir.

2.11. DNA İle İlgili İlk Çalışmalar

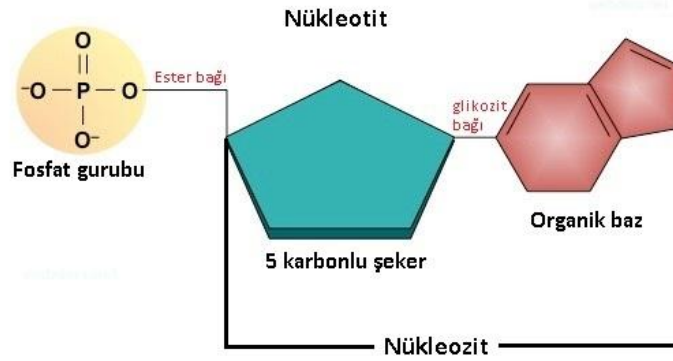
DNA'nın hücre çekirdeğindeki varlığı 1869 yılında Friedrich Miescher tarafından belirlenmiş ve ilk DNA materyelini hastane sargılarındaki cerahatten izole ettiği lenfositlerden elde etmiştir. Miescher, ilk saf DNA'yı ise somon balığı spermasından saflaştırmıştır. “Nüklein” olarak isimlendirdiği bu asidik madde ile kalıtım arasındaki ilişki henüz bilinmiyordu. 1920'lere gelindiğinde biyokimyacı Phoebus A. Levene, DNA'nın kimyasal yapısında bulunan moleküllerin neler olduğunu belirledi. DNA ile kalıtım arasındaki ilişki, ancak 1940'lardan sonra, Griffith, Avery, McLeod, McCarty, Hershey ve Chase gibi araştırmacılar tarafından açığa çıkarılmıştır. 1949-1953 yılları arasında Erwin Chargaff DNA'daki dört kimyasal bileşikten (adenin:A, timin:T, guanin:G, sitozin:S) A sayısının T sayısına, G sayısının da C sayısına eşit olduğunu kromatografik yöntemlerle saptadı. Franklin ve Wilkins'in X-ışını difraksiyonu analizleri ise DNA'nın helezoni bir yapı gösterdiğini ortaya koydu. 1953 yılında, Watson ve Crick adlı araştırmacıların DNA'nın çift sarmal yapısını kesin bir şekilde aydınlatmaları bu konuda bir dönüm noktası oldu ve bu buluş araştırmacılara Nobel ödülü kazandırdı (Tozar 1993).

2.11.1. Nükleik asitler ve DNA

Nükleik asitler; tüm canlı hücrelerde ve virüslerde bulunan, nükleotit adı verilen birimlerden oluşmuş polimerlerdir. Bu polimerleri oluşturan nükleotit birimlerinin ise her biri üç bölümden oluşur.

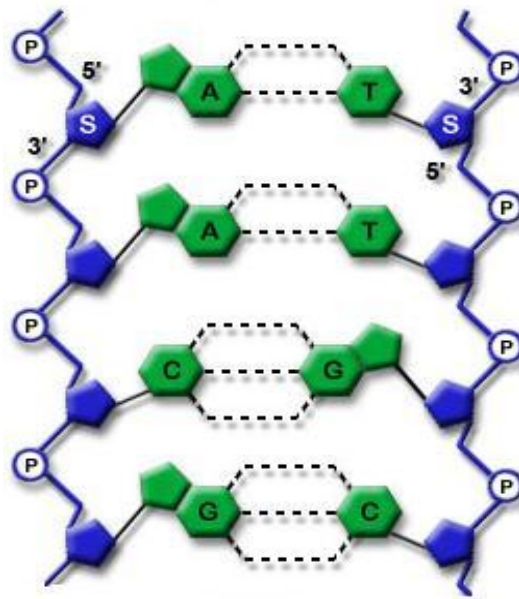
1) Azotlu heterosiklik bir baz ((pürin: adenin;A ve guanin;G) - (pirimidin: timin;T, sitozin;C ve urasil;U))

- 2) Beş karbonlu (pentoz) bir şeker
- 3) Bir fosfat grubu



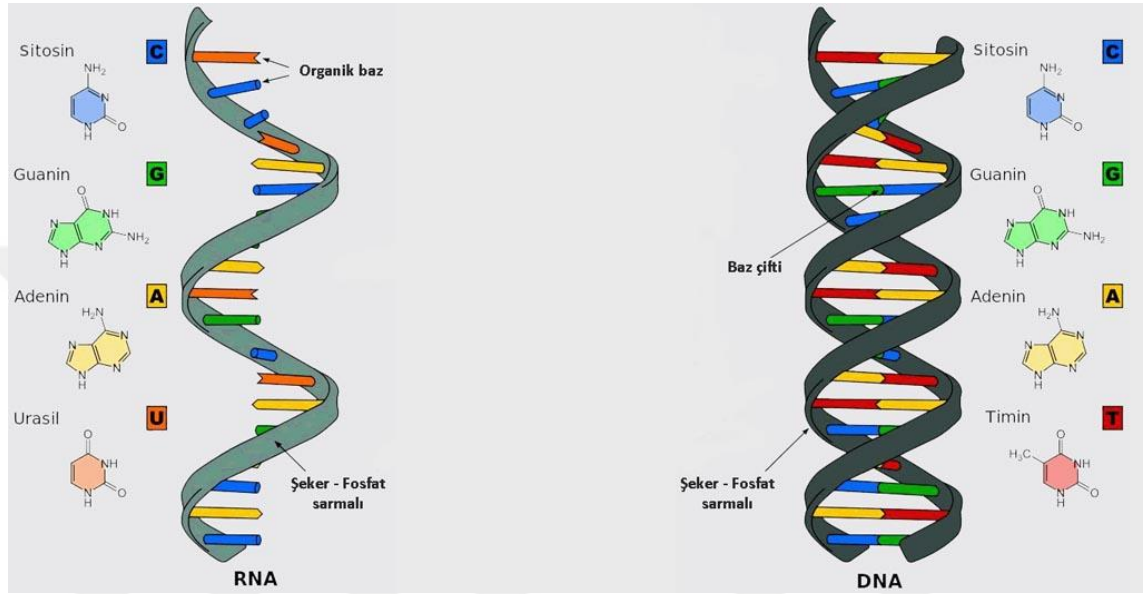
Şekil 2.11.1.1. Nükleotitin açık yapısı

Pürinlerin 9 veya pirimidinlerin 1 nolu N atomunun, bir riboz ya da deoksiriboz şekerinin 1' karbon atomuna bağlanmasıyla nükleozit meydana gelir. Nükleozitin yapısındaki şekerin 3' veya 5' karbonlarına bağlı –OH grupları ile fosfat gruplarının bağlanması sonucunda ise nükleotitler oluşur. Nükleik asitler tek bir zincirden oluşabildikleri gibi birbirine sarılmış iki zincirden de oluşabilirler. Spiral bir merdiven görünümüne sahip bu yapıya çift sarmal denir. Çift sarmallı bir nükleik asitteki iki zincir karşılıklı bazlar arasında oluşmuş hidrojen bağları ile birbirine bağlıdır. Nükleik asit zincirindeki şeker ve fosfat grupları değişimli olarak birbirine bağlıdır, oksijen atomlarının paylaşılmasıyla oluşan bu bağlara fosfodiester bağı denir.



Şekil 2.11.1.2. Nükleik asiti oluşturan kısımlar

Nükleik asitler, DNA (deoksiribonükleik asit) ve RNA (ribonükleik asit) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. DNA ve RNA her ikisi de fosfat grubu içerir, ancak içerdikleri azotlu bazlarda ve şeker yapısında farklılık vardır. DNA, deoksiriboz şeker ve A, G, C, T bazlarını, RNA ise riboz şeker ve A, G, C, U bazlarını içerir. DNA çift sarmallı RNA ise, genelde tek sarmal yapıya sahiptir.



Şekil 2.11.1.3. DNA ve RNA'nın yapısı

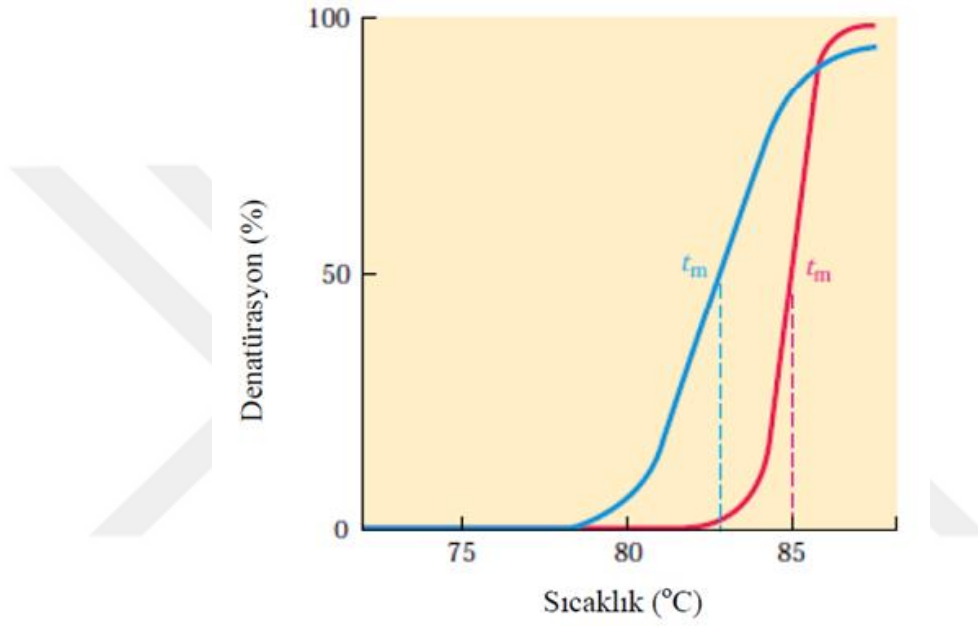
Erwing Chargaff 1949-1951 yıllarında nükleik asitlerde pürin ve pirimidin bazlarının düzeni ile ilgili çalışmalar yaptı. Çalışmasında, bazların düzenini baz-eşleşme kuralı ile açıkladı.

- 1) Adenin miktarı timin miktarına eşittir. (A=T)
- 2) Guanin miktarı sitozin miktarına eşittir. (G=C)
- 3) Pürin bazları toplamı pirimidin bazları toplamına eşittir. (G+A=C+T)

2.11.2. DNA'nın termal denatürasyonu

Pek çok kimyasal madde nükleik asitleri denatürasyona uğratabilir. Isıtma işlemi de DNA'nın hidrojen bağlarının bulunduğu çift sarmal yapısının bozulmasına sebep olur. DNA ısıtıldığında, sarmal yapının yarısının kaybolduğu sıcaklık erime sıcaklığı (T_m) olarak adlandırılır. Sarmal yapının bozulması, DNA'nın karakteristik absorbandsında

(260 nm'de) yükselmeye neden olur. T_m sarmalın kararlılığı hakkında önemli bir ölçüm parametresidir. Çünkü T_m , Guanin-Sitozin (G, C) baz çifti oranına bağlıdır. DNA molekülü ne kadar çok Guanin-Sitozin baz çifti içeriyorsa iki ipliğin ayrılması için gereken enerji de o kadar fazla olmaktadır. T_m , Guanin-Sitozin baz çifti içeriğinin her %1'lik artışında yaklaşık olarak $0,4^\circ\text{C}$ artmaktadır. Fizyolojik şartlarda, çözeltilerde bulunan DNA'da T_m değeri genelde $85-95^\circ\text{C}$ arasındadır (Yıldırım ve ark. 2007).



Şekil 2.11.2.1. — A, T açısından zengin, — G, C açısından zengin DNA'ya ait erime eğrileri

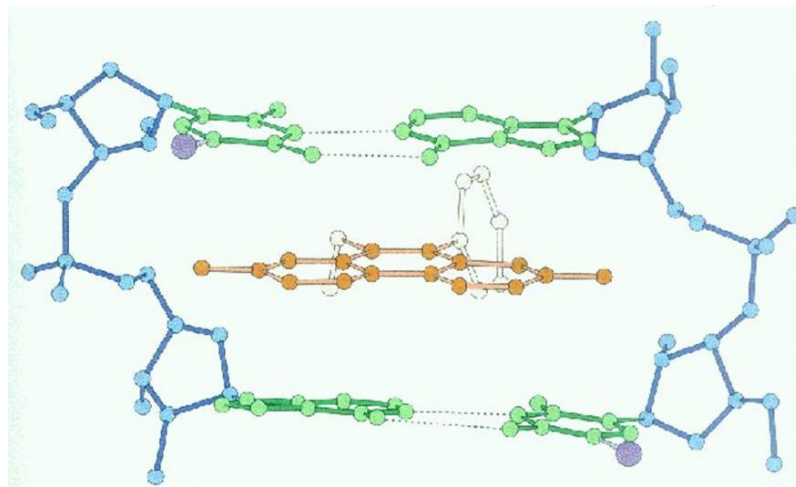
2.11.3. Metal komplekslerinin DNA ile etkileşimi

Nükleik asitlerin nicel analizleri moleküler biyoloji, biyoteknoloji ve tıbbi tanı başta olmak üzere daha pek çok alanda büyük öneme sahiptir. Nükleik asitlerin geometrileri yani sarmal yapıları ve boşlukları, içerdikleri baz çiftleri; bazı organik ve anorganik iyonik türlere seçimli olarak bağlanmalarını ya da bu türleri yapının içerisine almalarını mümkün kılar. Özellikle nükleik asitlerin metal iyonları, kompleksler, küçük organik moleküller ve proteinler gibi çeşitli kimyasal türler ile tersinir etkileşimleri; nükleik asitlerin yapısal değişimlerinin araştırılması, kemoterapik ilaçların geliştirilmesi ve nükleik asitlerin bağlanma özelliklerinin belirlenmesinde kullanılır.

Metal kompleksleri ile DNA'nın etkileşimi DNA parçalanmasına sebep olabilir ve bu kompleksler, DNA'nın zengin elektron yoğunluğuna sahip bazlarından guanin (G)'in N7 donörüne kovalent olarak bağlanabilirler. Ayrıca metal kompleksleri DNA'ya kovalent bağ ile bağlanmanın yanı sıra kovalent olmayan, moleküller arası zayıf etkileşimler şeklinde de bağlanabilirler. Bu kovalent olmayan bağlanma türleri; interkalasyon, elektrostatik ve DNA çift sarmal yapısında yer alan major ve minor oluklara bağlanma tipi gibi üç gruba ayrılabilir.

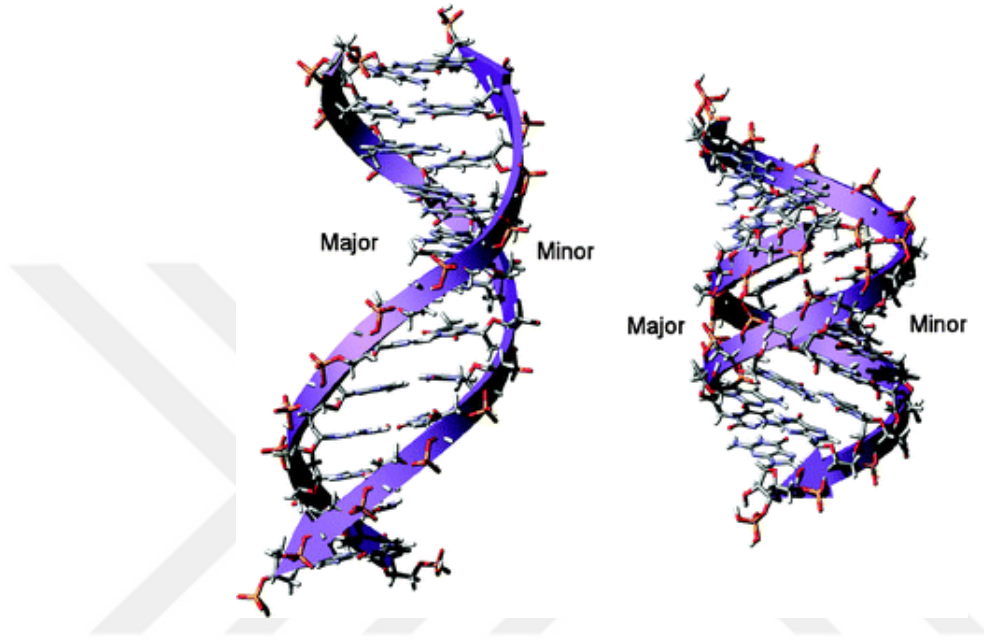
a) Elektrostatik dış bağlanma: Elektrostatik etkileşimler DNA'nın yüklü fosfat grupları ile Na^+ , Mg^{2+} gibi pozitif yüklü metal iyonlarının veya metal komplekslerinin etkileşimiyle meydana gelir ve DNA'nın kararlılığını artırır (Anastassopoulou 2003). Bu etkileşim fosfat gruplarının sahip oldukları negatif yük nötralize edilerek ortadan kaldırılabılır. DNA ile yapılan diğer etkileşim türleri de moleküldeki fonksiyonel grupların özelliklerine göre, elektrostatik etkileşimi bünyelerinde barındırabilirler.

b) İnterkalasyon: Özellikle düzlemsel yapıda kromoforlara sahip floresan özellik gösteren bileşiklerin nükleik asit baz çiftleri arasına yerleşmesiyle interkalasyon tipi bağlanma meydana gelir. İnterkalasyon esnasında; DNA sarmalında genişleme, boşluk oluşumu gibi yapısal değişiklikler meydana gelir. İnterkalasyon yapabilen bileşiklere en bilinen örnek ise etidyum bromürdür (EB). Etidyum bromür, aromatik yapıda düzlemsel bir moleküldür.



Şekil 2.11.3.1. DNA sarmalı ve EB arasındaki bağlanma

c) **Oluk bağlanma:** Oluk(groove) bağlayıcılar, çoğunlukla adenin-timin (A-T) seçiciliği gösteren moleküller olarak gruplandırılır. Proteinler, büyük oluk (major groove) etkileşimlerini tercih ederken, daha küçük moleküller genellikle küçük oluk (minor groove) etkileşimini tercih ederler. İnterkalasyon yoluyla bağlanan yapılara oranla, oluk bağlayıcılar DNA'nın yapısında belirgin, net bir değişime yol açmazlar.



Şekil 2.11.3.2. DNA sarmalında meydana gelen major ve minor oluklar

Moleküllerin DNA ile etkileşimleri farklı teknikler kullanılarak incelenmektedir. Bunlar; UV-Görünür Bölge spektrofotometresi kullanılarak yapılan elektronik absorpsiyon titrasyonu, floresans tekniği kullanılarak yapılan EB ile yer değiştirme çalışmaları, termal denatürasyon ve jel elektroforez çalışmaları gibi yöntemlerdir.

Metal komplekslerinin DNA ile etkileşimlerinde kompleksin yapısındaki ligandlar da önem taşımaktadır. Ligandın geometrisi kompleksin hangi tür bağlanma yapabileceği hakkında fikirler verir. Ligandın sahip olduğu düzlemsellik, kompleksin DNA baz çiftleri arasına girmesine yardımcı olur ve kompleks, ligand üzerinde bulunan elektronegatif atomlar sayesinde DNA'ya kovalent ya da kovalent olmayan yollarla bağlanabilir.

Cu(II)-fenantrolin türevi komplekslerin DNA'nın baz çiftleri arasına fenantrolin halkasının kısmi interkalasyonu ile bağlandığı yapılan araştırmalarda kesin bir şekilde kanıtlanmıştır (Manadevan ve ark. 1998). Sentezlenen komplekslerin monokatyonik bir yapıya sahip olması, DNA yapısında yer alan negatif yüklü fosfat gruplarıyla elektrostatik etkileşim yapabileceğini ve buna ilaveten sentezlenen komplekslerin yapısında yer alan amino asitlerdeki yan grupların (-OH,-NH) DNA çift sarmal yapısı ile H-bağı etkileşimi yapabilir olması güçlü hiperkromik etki ile bağlanmanın elektrostatik olduğuna işaret eder (Yodoshi ve ark. 2007, Chikira ve ark. 2002).

2.11.4. Kanser ve antitümör metal içerikli ilaçlar

Tıbbi anlamda kontrolsüz ve düzensiz hücre bölünmesi olarak bilinen ve bir çok türü bulunan kanser; cerrahi müdahale, radyoterapi ve kemoterapi (ilaçla tedavi) uygulamaları gibi yöntemlerle tedavi edilebilmektedir. Kemoterapide kullanılan oldukça aktif ilaçların çeşitli kanser türlerinden kaynaklanan ölüm oranlarını belirgin bir şekilde düşürdüğü görülmüştür. Bu durum özellikle de birçok kötü huylu kanser tedavisinde (testis, yumurtalık, baş ve boyun, mesane gibi) antineoplastik ajan olarak kullanılan platin bazlı ilaçlar için geçerlidir (Timerbaev ve ark. 2006).

Metal içeren antikanser ilaçların başarılı gelişimi, tam olarak cisplatin (CDDP) ile başlar; cis-[PtCl₂(NH₃)₂] (Lobinski ve ark. 2006). Bileşik ilk olarak 1845'te tanımlanmış fakat antikanser özelliği Rosenberg ve grubu tarafından 1964 yılında keşfedilmiştir (Rosenberg ve ark. 1965, Reedijk ve ark. 2003). Hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde, tümörlerde CDDP'ye bağlı olarak gerileme gözlenmesinin hemen ardından ise insanlarda katı tümörler üzerinde klinik çalışmalar başlatılmıştır.

Uzun yıllardır, yeni antikanser ilaçların geliştirilmesi ve uygulanması amacıyla, yeni birçok metal kompleksi sentezlenmiş ve bu komplekslerin tümör engelleyici etkilerinin ortaya konması için büyük çaba sarf edilmiştir.

Günümüzde yapılmış pek çok çalışmada, test maddesi olarak kullanılan Ni, Mn, Cu, Fe, Zn, Pd, Pt gibi pek çok metalle oluşturulmuş komplekslerin kanser hücreleri üzerinde

apoptotik etkiye ve hücre proliferasyonu üzerinde de toksik etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Shrivastava ve ark. 2002).

Birçok sitotoksik antikanser ilacın da tümör hücrelerinde apoptozisi uyardığı gözlenmiştir. In vitro sitotoksikite testleri; hızlı ve rasyonel yöntemlerdir. In vitroda kullanılan yöntemler test yapılması gerekli olan hayvan sayısını azaltır ve organ toksisitesini hedefleyen çalışmalar için çok değerli bir araçtır. Toksikolojik deneyler; 24 saatlik bir zaman periyodunun ardından, canlılığın değerlendirilmesinden önce oluşan maksimum hücresel hasarın ortaya konmasını sağlarlar (Wu ve ark. 1999).

Kanser tedavisi ile ilgili yapılan araştırmalardaki sonuçlar dikkate alındığında, apoptozis ve sitotoksitenin kemoterapiyle yakından ilişkili olması bu metal komplekslerinin kanser tedavisi için oldukça uygun ilaç hammaddeleri olduklarını göstermektedir (Shrivastava ve ark. 2002).

2.12. Literatür Araştırması

2.12.1. Cu(II) iyonunun amino asitler ve fenantrolin türevleri ile oluşturduğu ikili ve karışık ligant komplekslerinin kararlılık sabitleri

Brandt ve arkadaşları 1952 yılında yaptıkları çalışmada, 1,10-fenantrolin(phen) ve 5-süstitüe-1,10-fenantrolin(5-metil, 5-fenil, 5-kloro, 5-nitro) ligandlarının protonlanma sabitlerini ve Fe(II) metal iyonu ile oluşturdukları ikili komplekslerin kararlılık sabitlerini hesaplamışlardır. İkili komplekslerin ligand bakımından kararlılığının; 5-metil>phen>5-fenil>5-kloro>5-nitro sırasında olduğunu belirlemişlerdir (Brandt ve ark. 1952).

Yasuda ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada; 1,10-fenantrolin, 5-metil-1,10-fenantrolin, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin, 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin, 2,2'-bipiridin ve 4,4-dimetil-2,2'-bipiridin ligandlarının protonlanma sabitleri ile bu ligandların Zn(II) ve Cd(II) metal iyonlarıyla oluşturduğu ikili komplekslerin kararlılık sabitleri; 25°C, 0,1M KNO₃ iyonik ortamında hesaplanmıştır (Yasuda ve ark. 1956).

Banks ve arkadaşlarının 1959 yılında yaptıkları bu çalışmada, 5-sübstitüe-1,10-fenantrolin türevlerinin Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) iyonları ile oluşturduğu ikili komplekslerin kararlılık sabitleri ve 5-sübstitüe-1,10-fenantrolin türevlerinin protonlanma sabitleri, potansiyometrik ve spektroskopik metod ile 25°C ve 0,1M KCl iyonik ortamında hesaplanmıştır. Kararlılık sabiti sırasının Irving Williams serisiyle uyum içinde olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Banks ve ark. 1959).

Brisbin ve arkadaşları, su-kloroform çözeltisinde, 25°C ve 0,1M KNO₃ iyonik ortamında potansiyometrik yöntem ile Cu(II), Zn(II), Ni(II), Fe(II) ve Co(II) iyonlarının 1,10-fenantrolin, 5,6-dimetil-1,10-fenantrolin ve 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin ligandları ile oluşturduğu ikili komplekslerin kararlılık sabitlerini ve ligandların protonlanma sabitlerini spektrofotometrik metod ile belirlemişlerdir. LogK₁ değerlerinin Irving Williams serisiyle uyum içinde olduğunu saptamışlardır (Brisbin ve ark. 1963).

Yamauchi ve grubunun, 25°C, 0,1M KNO₃ iyonik ortamında potansiyometrik yöntem ile yaptıkları bu çalışmada; N,N'-dibenziletilediimin, 1,2-diiminobenzen, histamin, 2-aminometilpiridin, 2,2'-bipiridin, 1,10-fenantrolin, L-alanin, L-valin, L-fenilalanin, L-tirozin, L-triptofan ve 5-hidroksi-L-triptofan ligandlarının protonlanma sabitleri ve Cu(II) iyonu ile oluşturdukları ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitleri belirlenmiştir. Karışık ligand komplekslerinin amino asitler bakımından kararlılığının; L-alanin~L-valin < L-fenilalanin < L-tirozin < L-triptofan < 5-hidroksi-L-triptofan sırasında olduğu belirlenmiştir. Potansiyometrik hesaplamalar MINQUAD bilgisayar programıyla yapılmıştır (Yamauchi ve ark. 1985).

Krishnamoorthy ve arkadaşları, 35°C, 0,1M KNO₃ iyonik ortamında potansiyometrik metod ile Cu(II), Zn(II), Ni(II), Mn(II) ve Co(II) iyonlarıyla; birincil ligand olarak 1,10-fenantrolin(phen), glisilglisin(Gly-Gly) ve salisilik asit(sal) ve ikincil ligand olarak ise sitidin-5'- monofosforik asit(CMP)'nin oluşturduğu ikili ve karışık ligand kompleksleri üzerinde çalışmışlar ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitlerini M-phen-CMP>M-Gly-Gly-CMP>M-sal-CMP sırasında bulmuşlardır (Krishnamoorthy ve ark. 1985).

Mohan ve arkadaşları 1993 yılında yaptıkları bu çalışmada, Cu(II) ve Ni(II) iyonlarıyla 2,2',2''-terpiridin ve alanin(Ala), metiyonin(Met), fenilalanin(Phe), triptofan(Trp), histidin(Hist), teronin(thr)'nin oluşturduğu ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitlerini, 35°C, 0,2M KNO₃ iyonik ortamında potansiyometrik metod ile SCOGS bilgisayar programını kullanarak hesaplamışlardır (Mohan ve ark. 1993).

Bu çalışmada; Cu(II) iyonu ile L-tripolifosfat(TTP), pirofosfat(PP), adenozin-5'-trifosfat(ATP) ile alanin, serin, metiyonin, fenilalanin, triptofan, histidin, aspartik asit, etilendiimin, 2,2'-bipiridin, 1,10-fenantrolin, malonik asit ve pirokatekolun oluşturduğu ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitleri, 35°C, 0,2M KNO₃ iyonik ortamında potansiyometrik metod ile hesaplanmıştır. PP ve ATP'nin oluşturduğu karışık ligand komplekslerinin, TPP'nin oluşturduğu kompleks ile karşılaştırıldığında daha kararlı oldukları sonucuna varılmıştır (Yogi ve ark. 1994).

Dallavalle ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada, Cu(II) metal iyonunun (S)-triptofanhidroksamik asit ve L-prolin, L-fenilalanin ve L-triptofan aminoasitleri ile meydana getirdiği ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitlerini ve ligandların protonlanma sabitlerini 25°C ve 0,1M KCl iyonik ortamında potansiyometrik metod ve HYPERQUAD-2000 bilgisayar programı ile belirlemişlerdir (Dallavalle ve ark. 2001).

Xiao-hua ve arkadaşları, Cu(II) iyonunun 1,10-fenantrolin ve L-valin ligandlarıyla oluşturduğu karışık ligand kompleksini sentezlemişler ve yapısını tek kristal X-ışını kırınım yöntemiyle ortaya koymuşlardır. İlaveten, Cu(II) iyonunun 1,10-fenantrolin ve L-valin ile oluşturduğu ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitlerini, NaClO₄ iyonik ortamında potansiyometrik metod ile belirlemişlerdir (Xiao-hua ve ark. 2005).

Bandyopadhyay ve arkadaşları bu çalışmalarında; N-(2-hidroksibenzil)-L-histidin (H₂hb-L-his) ile 2,2'-bipiridin(bpy), 1,10-fenantrolin(phen) ve etilendiimin(en)'in Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) iyonları ile oluşturduğu ikili ve karışık ligand

komplekslerinin kararlılık sabitlerini 25°C, 0,1M NaNO₃ iyonik ortamında potansiyometrik metod ile hesaplamışlardır. Bunun yanında H₂hb-L-His ligandının bpy ile oluşturduğu karışık ligand kompleksini sentezlemişler ve yapısını tek kristal X-ışını kırınım yöntemiyle belirlemişlerdir (Bandyopadhyay ve ark. 2006).

Canel ve arkadaşlarının bu çalışmasında, bazı amino asitlerin (L-tyr, L-sis, L-lys, L-trp, L-his ve bu aminoasitlerin metil ve etil esterleri) protonlanma sabitleri su ve farklı yüzdelerde etanol-su ortamlarında, 25°C, 0,1M NaCl iyonik ortamında BEST bilgisayar programı ile hesaplanmıştır. Sulu çözeltiyle değişik yüzdelerdeki etanol-su ortamlarını karşılaştırmışlar ve etanol-su ortamlarında aminoasitlerin, etil ve metil esterlerinin daha büyük protonlanma sabitine sahip olduğunu saptamışlardır (Canel ve ark. 2006).

Podsiadly ve arkadaşları; L-triptofan, L-prolin, L-tirozin ve L-fenilalanin amino asitlerinin protonlanma sabitleri ile bu amino asitlerin V(III) iyonu ile oluşturduğu ikili komplekslerin kararlılık sabitlerini; 25°C ve 0,5M NaClO₄ iyonik ortamında, potansiyometrik yöntem ile, HYPERQUAD bilgisayar programını kullanarak hesaplamışlardır (Podsiadly ve ark. 2009).

İnci ve arkadaşlarının, 25°C ve 0,1M KCl iyonik ortamında potansiyometrik yöntem ile yapmış olduğu bu çalışmada; birincil ligand olarak 1,10-fenantrolin, 5-nitro-1,10-fenantrolin, 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin, ikincil ligand olarak tirozin, triptofan ve fenilalanin ligandlarının protonlanma sabitleri belirlenerek Cu(II) iyonu ile oluşturdukları ikili komplekslerin ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitleri hesaplanmıştır. Karışık ligand komplekslerinin amino asit bakımından kararlılığının fenilalanin<tirozin<triptofan sırasında değiştiği bulunmuştur. Potansiyometrik hesaplamalar BEST bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır (İnci ve ark. 2014).

Fazary 2014 yılında, 1,10-fenantrolin ve salisil hidroksamik asit ligandlarının Cu(II), Ni(II) ve Fe(II) metal iyonlarıyla oluşturdukları ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitlerini ve her bir ligandın protonlanma sabitini 37°C ve 0,15M NaNO₃ iyonik ortamında potansiyometrik yöntem ile Irving Rossetti, Bjerrum-Calvin ve

Hyperquad-2008 bilgisayar programlarını kullanarak belirlemiştir (Fazary 2014).

Abdelkarim ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları bu çalışmada, L-triptofan ve L-fenilalanin amino asitleri ile imidazol-4-asetik asit ligandının protonlanma sabitlerini ve Cu(II) iyonu ile oluşturdukları ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitlerini; 15°C, 25°C, 35°C, 45°C ve 0,1M NaCl iyonik ortamında hesaplamışlar ve termodinamik parametreleri belirlemiştir (Abdelkarim ve ark. 2016).

İnci ve arkadaşlarının, 25°C ve 0,1M KCl iyonik ortamında potansiyometrik yöntem ile yapmış olduğu çalışmada, birincil ligand olarak 4-metil-1,10-fenantrolin(4-mphen), 5-metil-1,10-fenantrolin(5-mphen), 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin(dmphen), 3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolin(tmphen) ve 5-nitro-1,10-fenantrolin(5-nphen) ikincil ligand olarak ise tirozin ve glisin ligandları kullanılmış ve her birinin protonlanma sabitleri belirlenerek Cu(II) iyonu ile oluşturdukları ikili komplekslerin ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitleri hesaplanmıştır. Karışık ligand komplekslerinin kararlılığının amino asit bakımından glisin>tirozin sırasında, birincil ligand bakımından ise tmphen>dmphen>4-mphen>5-mphen>5-nphen sırasında değiştiği bulunmuştur. Potansiyometrik hesaplamalar BEST bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır (İnci ve ark. 2017).

2.12.2. Cu(II) iyonunun amino asitler ve fenantrolin türevleri ile oluşturduğu koordinasyon bileşiklerinin sentezi, yapıları ve antikanser aktivite çalışmaları

Aoki ve arkadaşları 1987 yılında Cu(II) iyonunun L-triptofan ve 1,10-fenantrolin ile oluşturduğu kompleksi sentezleyip, yapısını tek kristal X-ışını kırınım yöntemiyle aydınlatmışlar ve kompleksin $[Cu(phen)(L-trpO)]ClO_4 \cdot 2,5H_2O$ formülünde, polimerik yapıda olduğunu belirlemiştir (Aoki ve ark. 1987).

Masuda, Cu(II) iyonunun L-triptofan ve 2,2'-bipiridin ligandlarıyla oluşturduğu karışık ligand kompleksini sentezlemiş ve kompleksin yapısını tek kristal X-ışını kırınım yöntemiyle aydınlatmıştır. Kompleksin $[Cu(bpy)(L-trp)]ClO_4$ genel formülünde ve kare düzlem geometride olduğunu rapor etmiştir (Masuda 1991).

Solans ve arkadaşları bu çalışmada $[\text{Cu}(\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}_2)(\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_2)(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksini ($\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}_2$:glisin ve $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_2$):4,7-dimetil-1,10-fenantrolin) sentezlemişler ve yapısını tek kristal X-ışını kırınım metodu ile aydınlatmışlardır (Solans ve ark. 1993).

Chan-Cheng Su ve arkadaşları bu çalışmalarında, Cu(II) iyonunun aminoasitler (L-fenilalanin, L-alanin, glisin) ve diminler (1,10-fenantrolin, 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin, 2,2'-bipiridin ve neokuprin) ile oluşturduğu karışık ligand komplekslerini $[\text{Cu}(\text{L-phe})(\text{dmphen})]\text{ClO}_4$, $[\text{Cu}(\text{L-phe})(\text{phen})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{L-phe})(\text{bipy})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{gly})(\text{phen})]\text{ClO}_4$, $[\text{Cu}(\text{gly})(\text{bipy})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{gly})(\text{neoc})]\text{ClO}_4$, $[\text{Cu}(\text{gly})(\text{en})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{L-ala})(\text{phen})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{L-ala})(\text{bipy})]\text{ClO}_4$, $[\text{Cu}(\text{L-ala})(\text{neoc})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sentezlemişler ve komplekslerden $[\text{Cu}(\text{L-phe})(\text{dmphen})]\text{ClO}_4$ 'ın yapısını tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile belirlemişlerdir (Chan-Cheng Su ve ark. 1999).

Yajima ve arkadaşları 2000 yılındaki bu çalışmalarında, $[\text{Cu}(\text{dpa})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}((\text{CONH}_2)_2\text{bpy})(\text{phe})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{Cl}_2\text{bpy})(\text{NO}_3)_2]$, $[\text{Cu}((\text{COOEt})_2\text{bpy})(\text{NO}_3)_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{NEt}_2)_2\text{bpy})(\text{NO}_3)_2]$, $[\text{Cu}(\text{Me}_2\text{bpy})(\text{NO}_3)_2]$ komplekslerini sentezlemişler ve $[\text{Cu}(\text{dpa})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ile $[\text{Cu}((\text{CONH}_2)_2\text{bpy})(\text{phe})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ komplekslerinin yapılarını X-ışını kırınım yöntemiyle belirlemişlerdir. (phe:fenilalanin, trp:triptofan, dpa:di(2-piridilmetil)amin, Me_2bpy :4,4'-dimetil-2,2'-bipiridin, $(\text{NEt}_2)_2\text{bpy}$:4,4'-bis(dietil-amino)-2,2'-bipiridin, $(\text{COOEt})_2\text{bpy}$:dietil-2,2'-bipiridin-4,4'-dikarboksilat, Cl_2bpy :4,4'-di-kloro-2,2'-bipiridin, $(\text{CONH}_2)_2\text{bpy}$:4,4'-dikarbamol-2,2'-bipiridin). Komplekslerin geometrileri sırasıyla bozulmuş kare düzlem ve kare piramit olarak saptanmıştır. Bunlara ek olarak çalışmada; amino asitler ve diiminlerin oluşturduğu karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabitleri SUPERQUAD bilgisayar programıyla belirlenmiştir (Yajima ve ark. 2000).

Sugimori ve arkadaşlarının bu çalışmalarında; $[\text{Cu}(\text{L-NH}_2\text{-Phe})(\text{bpy})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{L-Tyr})(\text{phen})]\text{ClO}_4 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{phen})]\text{Cl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{bpy})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksleri sentezlenmiş ve yapıları X-ışını kırınım metoduyla belirlenmiştir (L-NH₂-phe:L-para-amidofenilalanin, L-phe:L-fenilalanin, L-tyr:L-tirozin, bpy:2,2'-bipiridin, phen:1,10-fenantrolin) (Sugimori ve ark. 2001).

Subramanian ve arkadaşları 2001 yılındaki bu çalışmada; $[\text{Cu}(\text{L-phe})(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$, $[\text{Cu}(\text{L-phe})(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$ ve $[\text{Cu}(\text{L-his})(\text{bpy})]\text{ClO}_4 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ komplekslerini (L-phe: L-fenilalanin, L-his:L-histidin, bpy:2,2'-bipiridin, phen:1,10-fenantrolin) sentezlemişler ve yapılarını tek kristal X-ışını kırınım metoduyla aydınlatmışlardır (Subramanian ve ark. 2001).

Rao ve arkadaşları tarafından yapılmış bu çalışmada, $[\text{Cu}(\text{L-pro})(\text{B})(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)$ formülündeki kompleksler (L-pro:L-prolin, B:2,2'-bipiridin(bpy) ve 1,10-fenantrolin (phen)) sentezlenmiş ve bunlardan $[\text{Cu}(\text{L-pro})(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3$ 'ın yapısı X-ışını kırınım yöntemiyle belirlenmiştir. Kompleksin kare piramidal geometride olduğu bulunmuştur. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri elektronik absorpsiyon spektroskopisi, CT-DNA'yı bölme özellikleri ise elektroforez çalışmalarıyla 3-merkaptopropiyonik asit, DMSO ve katalaz varlığında araştırılmıştır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma ve bölme etkinliğinin phen>bpy sırasında değiştiği saptanmıştır (Rao ve ark. 2007).

Lin ve arkadaşları çalışmalarında, Cu(II) iyonunun 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin ligandıyla oluşturduğu ikili kompleksin yapısını tek kristal X-ışını kırınım metoduyla belirlemişler ve bu kompleksin $[\text{Cu}(\text{CHO}_2)_2(\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2)_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ genel formülünde olduğunu belirtmişlerdir (Lin ve ark. 2007).

Yodoshi ve arkadaşlarının 2007 yılındaki çalışmalarında, $[\text{Cu}(\text{Gly})(\text{bpy})\text{Cl}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{Gly})(\text{phen})\text{Cl}]_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $[\text{Cu}(\text{Gly})(\text{bpa})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ kompleksleri sentezlenmiş ve yapıları tek kristal X-ışını kırınım metoduyla aydınlatılmıştır (Gly:glisin, bpy:2,2'-bipiridin, phen:1,10-fenantrolin, bpa:2,2'-bipiridilamin). $[\text{Cu}(\text{Gly})(\text{phen})\text{Cl}]_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin kare piramidal geometride olduğu, $[\text{Cu}(\text{Gly})(\text{bpy})\text{Cl}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve $[\text{Cu}(\text{Gly})(\text{bpa})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ komplekslerinin yapılarının ise oktahedral geometride olduğu belirtilmiştir. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri florometrik metod ile incelenmiş ve bağlanma etkinliklerinin phen>bpa>bpy sırasında olduğu bulunmuştur (Yodoshi ve ark. 2007).

Qin ve arkadaşlarının bu çalışmalarında, $[\text{Cu}(\text{IP})(\text{L-Val})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{IP})(\text{L-Leu})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$, $[\text{Cu}(\text{IP})(\text{L-Tyr})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve $[\text{Cu}(\text{IP})(\text{L-Trp})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ (L-val:L-valin, L-tyr:L-tirozin, L-lue:L-lösin, L-trp:L-triptofan, IP:imidazo[4,5-f]

[1,10]fenantrolin) kompleksleri sentezlenmiş ve $[Cu(IP)(L-Tyr)(H_2O)]ClO_4 \cdot H_2O$ kompleksinin yapısı X-ışını kırınım metodu ile belirlenmiştir. NBT(Nitroblue Tetrazolium) foto indirgenme reaksiyonları ile komplekslerin katalitik süper oksit dismutaz (SOD) aktiviteleri saptanıp, sitotoksite değerleri ölçülmüştür. Komplekslerin SOD aktivite etkinliğinin val>leu>trp>tyr sırasında olduğu belirlenmiştir (Qin ve ark. 2007).

Rao ve arkadaşlarının 2008 yılındaki çalışmalarında; $[Cu(A)(B)(H_2O)](NO_3)$ kompleksleri (A:L-Lözin ya da L-İsolözin, B:2,2'-bipiridin(bpy), 1,10-fenantrolin(phen) ya da dipirido[3,2:2',3'-f]kinokzalin(dpq), X: NO_3^- ve ClO_4^-) sentezlenmiş ve komplekslerden $[Cu(L-ile)(dpq)(H_2O)](ClO_4)$ ile $[Cu(L-ile)(bpy)(H_2O)](NO_3) \cdot H_2O$ 'ın yapısı X-ışını kırınım metoduyla aydınlatılmıştır. Komplekslerin kare piramidal geometride olduğu belirtilmiştir. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri elektronik absorpsiyon spektroskopisi, CT-DNA'yı bölme özellikleri ise elektroforez çalışmalarıyla 3-merkaptopropiyonik asit, DMSO, mannitol, KI ve katalaz varlığında araştırılmıştır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma ve bölme etkinliğinin dpq>phen>bpy sırasında olduğu saptanmıştır (Rao ve ark. 2008).

Patra ve arkadaşları, $[Cu(L-trp)(B)(H_2O)](NO_3)$ ve $[Cu(L-phe)(B)(H_2O)](NO_3)$ (L-trp:L-triptofan, L-phe:L-fenilalanin B:1,10-fenantrolin(phen), dipirido[3,2:2',3'-f] kinokzalin(dpq), dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazin(dppz)) komplekslerini sentezlemiş ve bu komplekslerden $[Cu(L-trp)(dppz)(H_2O)](NO_3)$ ile $[Cu(L-phe)(dppz)(H_2O)](NO_3)$ 'ın yapısını tek kristal X-ışını kırınım yöntemiyle aydınlatmışlardır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri, elektronik absorpsiyon spektroskopisi, floresans ve DNA denatürasyon, CT-DNA'yı bölme özellikleri ise, DNA erime ve elektroforez ölçümleriyle incelenmiştir. $[Cu(L-trp)(phen)(H_2O)](NO_3)$ kompleksinin CT-DNA'ya bağlanma sabiti $K_b: 2,2 \times 10^4$ olarak belirlenmiş ve kompleksin 365 nm de etkili oksidatif foto indirgen DNA bölme aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (Patra ve ark. 2008).

Chetana ve arkadaşlarının bu çalışmalarında; $[Cu(L-ala)(B)(H_2O)](X)$ kompleksleri (L-alanin:L-ala, B:2,2'-bipiridin(bpy), 1,10-fenantrolin(phen), 1,10-fenantrolin-5,6-dion (phendion), dipirido[3,2:2',3'-f]kinokzalin(dpq), X: NO_3^- , ClO_4^-) sentezlenmiş ve

bunlardan [Cu(L-ala)(phen)(H₂O)]NO₃ ile [Cu(L-ala)(phendion)(H₂O)]NO₃'nın yapısı X-ışını kırınım metodu ile aydınlatılmıştır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi ile, CT-DNA'yı bölme özellikleride DNA erime ve elektroforez çalışmalarıyla araştırılmıştır. Sonuçlar, kompleksin DNA'ya interkale olduğunu göstermiş ve kompleksin K_b bağlanma sabiti hesaplanmıştır. Bağlanma sabitlerinin dpq>phen>bpy>phendion sırasında değiştiği ifade edilmiştir. Elektroforez çalışmalarında ise, dpq ve phen komplekslerinin indirgeyici madde olarak 3-merkaptopropiyonik asit varlığında etkili kimyasal nükleaz aktivite gösterdiği bulunmuştur (Chetana ve ark. 2009).

Patra ve arkadaşları 2009 yılındaki çalışmalarında; [Cu(L-arg)₂](NO₃)₂ ve [Cu(L-arg)(B)Cl]Cl (L-arg:L-arginin, B:2,2'-bipiridin(bpy), 1,10-fenantrolin(phen), dipirido[3,2:2',3'-f]kinokzalin(dpq), dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazin(dppz)) komplekslerini sentezlemiş ve bunlardan [Cu(L-arg)(phen)Cl]Cl·2,5H₂O'nun yapısını tek kristal X-ışını kırınım metoduyla belirlemişlerdir. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri, elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi ile CT-DNA'yı bölme özellikleri ise DNA erime ve elektroforez çalışmalarıyla araştırılmıştır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma etkinliklerinin dppz>bis-L-arginin>dpq>phen>bpy sırasında olduğu saptanmıştır. Bu komplekslerden dppz ve dpq'nun karışık ligand komplekslerinin 365 ve 647 nm'de etkili oksidatif fotoindirgen DNA bölme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Patra ve ark. 2009).

Patra ve arkadaşları, [Cu(L-gln)(B)(H₂O)](X) biçiminde formülize edilen kompleksleri (L-gln:L-glutamin, B:2,2'-bipiridin(bpy), 1,10-fenantrolin(phen), dipirido[3,2:2',3'-f]kinokzalin(dpq), X:SO₄²⁻, ClO₄⁻) sentezlemişler ve komplekslerden [Cu(L-gln)(phen)(H₂O)](ClO₄), [Cu(L-gln)(bpy)(H₂O)_{1/2}](SO₄)_{1/2}·2H₂O ve [Cu(L-gln)(dpq)(ClO₄)]'nın yapılarını X-ışını kırınım metodu ile aydınlatmışlardır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi ile, CT-DNA'yı bölme özellikleri ise DNA erime ve elektroforez ölçümleri ile araştırılmıştır. Bağlanma kuvvetinin dpq>phen>bpy sırasında bulunduğu ifade edilmiştir. Elektroforez deneylerinde ise dpq ve phen komplekslerinin etkili kimyasal nükleaz aktivite gösterdikleri bulunmuştur (Patra ve ark. 2009).

Ramakrishnan ve grubunun bu çalışmalarında; $[Cu(L\text{-tyr})(B)](ClO_4)$ biçiminde formülize edilen kompleksler (L-tyr:L-tirozin, B: (bpy):2,2'-bipiridin, (phen):1,10-fenantrolin, (5,6-dmp):5,6-dimetil-1,10-fenantrolin,(dpq):dipirido[3,2:2',3'-f]kinokzalin) sentezlenmiş ve bunlardan $[Cu(L\text{-tyr})(5,6\text{-dmp})(H_2O)]\cdot(ClO_4)$ 'ın yapısı X-ışını kırınım metodu ile belirlenmiştir. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi ile, CT-DNA'yı bölme özellikleri ise DNA erime ve elektroforez ölçümleriyle araştırılmıştır. Bağlanma kuvvetinin $dpq > 5,6\text{-dmp} > phen > bpy$ sırasında olduğu ifade edilmiştir. Elektroforez çalışmalarında komplekslerin CT-DNA'yı bölme etkinliğinin $5,6\text{-dmp} > phen > dpq > bpy$ sırasında, oksidatif olarak bölme etkinliğinin ise $dpq > 5,6\text{-dmp} > phen > bpy$ sırasında olduğu saptanmıştır. Sitotoksisite ölçümleri sonucunda ise dpq ve phen komplekslerinin cis-platinden daha etkili antikanser aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır (Ramakrishnan ve ark. 2009).

Reddy ve arkadaşları, 2009 yılında $[Cu(phen)(L\text{-Tyr})(H_2O)]$ kompleksini sentezlemişlerdir. (phen:1,10-fenantrolin, L-Tyr:L-tirozin). Kompleksin yapısını elemental analiz, manyetik süsseptibilite, UV-VIS, IR, EPR spektroskopisi ve ESI kütle spektrometresi ile aydınlatmışlardır. Kompleksin kare piramidal geometride olduğunu önermişlerdir. Ayrıca kompleksin CT-DNA ile etkileşimini UV-VIS, termal denatürasyon ve floresans yöntemleriyle incelemişlerdir. Bağlanma sabitini $K_b=3750 M^{-1}$ ve Stern Volmer sabitini ise $K=0,39$ olarak bulmuşlardır (Reddy ve ark. 2009).

Yang ve arkadaşları bu çalışmalarında; $[Cu(phen)(Tyr)](H_2O)(ClO_4)$ (1,10-fenantrolin:phen, tirozin:Tyr) karışık ligand kompleksini sentezlemişlerdir. Kompleksin kristal yapısını belirleyememişlerdir. Kompleksin DNA ile etkileşimi elektronik absorpsiyon spektroskopisi, florometrik yöntem ve elektroforez yöntemleri ile araştırılmış ve indirgeyici bir madde olan gallik asit varlığında DNA ile etkileşimleri incelenmiştir. Kompleksin biyolojik bir indirgen olan gallik asit varlığında etkili nükleaz aktivite gösterdiği ifade edilmiştir (Yang ve ark. 2011).

İnci ve arkadaşları $[Cu(dmphen)_2(NO_3)](NO_3)\cdot(1)$ ve $[Cu(dmphen)(tyr)(H_2O)]NO_3\cdot H_2O\cdot(2)$ komplekslerini (tyr:tirozin, dmphen: 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin) sentezlemişler ve

komplekslerin yapısını tek kristal X-ışını kırınım yöntemiyle aydınlatmışlardır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri elektronik absorpsiyon spektroskopisi ve floresans, CT-DNA'yı bölme özellikleri ise agaroz jel elektroforez ölçümleriyle incelenmiştir. Bağlanma kuvvetinin (1)>(2) sırasında değiştiği gözlenmiştir. Elektroforez çalışmalarında komplekslerin CT-DNA'yı bölme etkinliğinin yine aynı sırada değiştiği ifade edilmiştir. Her iki kompleksinde, üç farklı kanser hücresi ve bir sağlıklı hücrede yapılan sitotoksisite ölçümlerinde *cis*-platinden daha etkili antikanser aktivite gösterdiği bulunmuştur (İnci ve ark. 2015).

İnci ve arkadaşları bir diğer çalışmada ise; $[Cu(nphen)(gly)(H_2O)]^+$ ve $[Cu(dmphen)(gly)(NO_3)(H_2O)]$ komplekslerini (gly:glisin, dmphen:4,7-dimetil-1,10-fenantrolin nphen:5-nitro-1,10-fenantrolin) sentezlemişler ve yapılarını elemental analiz, tek kristal X-ışını kırınım yöntemi, FTIR, EPR spektroskopisi ve siklik voltametri ile aydınlatmışlardır. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma özellikleri elektronik absorpsiyon spektroskopisi, floresans ve termal denatürasyon yöntemleriyle, CT-DNA'yı bölme özellikleri ise agaroz jel elektroforez ölçümleriyle incelenmiştir. Ayrıca bu komplekslerin BSA (sığır albumin serumu) ile etkileşimleri absorpsiyon ve floresans spektroskopisi ile araştırılmıştır. (BSA+kompleks) sistemleri için üç farklı sıcaklıkta (20°C, 30°C, 37°C) termodinamik parametreler hesaplanmıştır. BSA ile kompleksler arasındaki mesafe, floresans rezonans enerji transferi (FRET) yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca komplekslerin ikisinde; üç farklı kanser hücresi ve bir sağlıklı hücrede yapılan sitotoksisite ölçümlerinde *cis*-platinden daha etkili antikanser aktivite gösterdiği bulunmuştur (İnci ve ark. 2017).

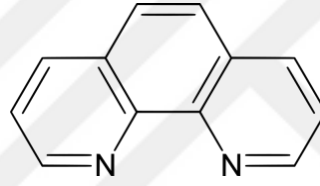
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Potansiyometrik Yöntem ile Ligantların Protonlanma Sabitlerinin ve Komplekslerin Kararlılık (Oluşum) Sabitlerinin Belirlenmesi

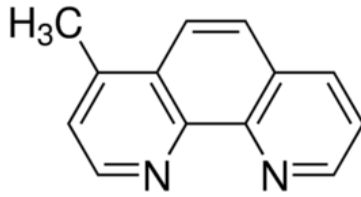
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözeltilerin hazırlanması

3.1.1.1. Ligantlar

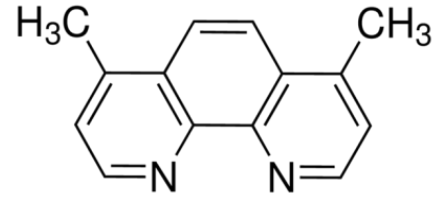
Çalışmada birincil ligant olarak; 1,10-fenantrolin (phen), 4-metil-1,10-fenantrolin (4-mphen) ve 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin (dmphen), ikincil ligant olarak ise L-triptofan (L-trp) kullanıldı.



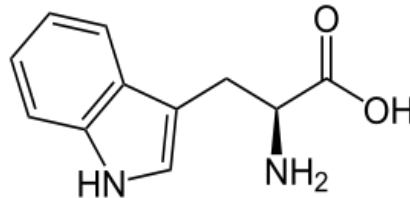
1,10-fenantrolin (phen)



4-metil-1,10-fenantrolin (4-mphen)



4,7-dimetil-1,10-fenantrolin (dmphen)



L-triptofan (L-trp)

3.1.1.2. Stok Cu(II) çözeltisinin hazırlanması

0,01 M Cu(II) stok çözeltisi, analitik saflıktaki (%>98) Merck marka CuCl_2 tuzundan hazırlandı. Stok çözeltisine metal iyonunun hidrolizini engellemek amacıyla derişik HCl'in (%37 HCl, $d=1,18$) çok az aşırısı eklendi. Stok çözeltilerin hazırlanması ve seyreltme işlemleri sırasında kaynatılmış deiyonize su kullanıldı. Destilasyon metoduyla elde edilen saf su, ultrapure saf su cihazı (Barnstead) kullanılarak deiyonize hale getirildi. Su içinde çözünmüş gazların uzaklaştırılması için iki saat kaynatıldı.

Cu(II) iyonunun stok çözeltisinin derişimi, müreksit indikatörü kullanılarak standart EDTA çözeltisiyle titre edilmesi ile belirlendi (Schwarzanbach ve Flaschka 1969). Cu(II) stok çözeltisine eklenen aşırı asitin miktarı, (1:1) mol oranlarındaki Cu(II):DTPA çözeltisinin potansiyometrik titrasyonu ile bulundu. (1:1) mol oranındaki Cu(II):DTPA koordinasyon iyonlarının meydana gelmesinde deneysel olarak bulunan baz derişiminden beklenen dönüm noktasına kadar harcanması gereken teorik baz derişimi çıkarıldı ve aşırı asit miktarı hesaplandı (Aydın ve Özer 1997, Harris ve Martell 1976).

3.1.1.3. Standart potasyum hidroksit çözeltisinin hazırlanması

0,1 M derişimindeki potasyum hidroksit çözeltisini hazırlamak için; analitik saflıktaki KOH (%86, Sigma-Aldrich marka) kullanıldı. KOH çözeltisinin derişimi, etüvde 110°C 'de bir gece bekletilen potasyum hidrojen ftalatın (%99,9, Merck marka) potansiyometrik titrasyonu ile hesaplandı (Aydın ve Özer 1997).

3.1.1.4. İyonik ortamı sabit tutmak için kullanılan kimyasal madde

Potansiyometrik titrasyonlarda, iyonik ortamı sabit tutabilmek için, %99 saflıktaki potasyum klorür çözeltisi (KCl, Merck) kullanıldı.

3.1.1.5. Azot gazı

Titrasyonların asal gaz ortamında gerçekleşmesi amacıyla yüksek saflıkta (%99,99999) Orsez marka azot gazı (N_2) kullanıldı.

3.1.2. Deneysel yöntemler ve kullanılan aletler

3.1.2.1. Potansiyometri

a) Genel özellikleri:

Potansiyometri; elektrokimyasal hücrelerde fark edilebilen bir akım geçmediğinde yapılan potansiyel ölçümüne dayalı bir methodtur. Bu method, iyonik denge araştırmalarında elverişli olması nedeniyle 20. yüzyıldan bu yana titrimetrik analizlerde dönüm noktasını belirlemek için kullanılmaktadır (Skoog ve ark. 1998).

Potansiyometrik method; bir karşılaştırma (referans) elektrodu ve uygun bir ikinci (indikatör) elektrot ile oluşturulmuş bir elektrokimyasal hücrede potansiyel farkın ölçülmesine ve çözeltideki iyonların nicel analizlerinin yapılmasına dayalı bir yöntem olarak ifade edilir (Yıldız ve ark. 1997).

Potansiyometrik analizlerde kullanılacak bir hücre şematik olarak aşağıdaki gibi gösterilmektedir.

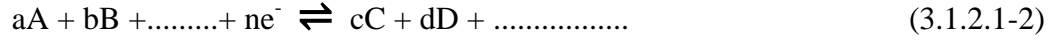
Referans elektrot / tuz köprüsü / analit çözeltisi / indikatör elektrot

Bu hücrenin potansiyeli (3.1.2.1-1) eşitliği ile gösterilebilir.

$$E_{\text{hücre}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} + E_j \quad (3.1.2.1-1)$$

Referans elektrot ile elektrot potansiyeli (E_{ref}) bilinen bir yarı hücre oluşturulur ve bu yarı hücrenin potansiyeli incelenen çözeltideki iyonların derişimine bağı değildir. İndikatör elektrot (E_{ind}) ise, incelenen çözeltideki iyonların aktivitesine bağıdır ve potansiyel farkı oluşturan diğeryarı hücrede bulunur. Temas potansiyeli (E_j) ise; iki yarı hücreden oluşmuş potansiyometrik hücrenin üçüncü bileşeni olan tuz köprüsünün her iki ucundaki sıvıyla temas etmesinden dolayı ortaya çıkmış olan potansiyel olarak ifade edilir (Skoog ve ark. 1992).

Bir indikatör elektrodun var olan potansiyeli, bulunduğu yarı hücredeki iyonların başlangıç ile denge derişimlerine bağımlı olarak değişmektedir. Çözeltide bulunan iyonların derişimi ile indikatör elektrot potansiyeli arasındaki bağıntı (3.1.2.1-2) tersinir yarı tepkimesi ile belirlenebilir.



Bu tersinir tepkimede büyük harfler yarı tepkimeye giren türlerin formüllerini, e⁻; alınan elektronu ve küçük harfler ise yarı tepkimedeki her bir türün mol sayısını belirtmektedir. Bu yarı pil tepkimesinde elektrot potansiyeli Nernst eşitliği (3.1.2.1-3) ile verilir.

$$E_{(hücre)} = E^{\circ}_{(hücre)} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_A^a \cdot a_B^b}{a_C^c \cdot a_D^d} \quad (3.1.2.1-3)$$

Burada;

$E^{\circ}_{(hücre)}$: Net hücre reaksiyonunun standart potansiyeli

R : Gaz sabiti (8,314 J.K⁻¹.mol⁻¹)

T : Sıcaklık

n : Yarı pil tepkimesindeki elektronların mol sayısı

a : Maddelerin aktiflikleri

25°C için bu sabitlerin n sayısal değerleri yerine yazıldığında ise aşağıdaki eşitlik karşımıza çıkar.

$$E_{(hücre)} = E^{\circ}_{(hücre)} + \frac{0,0592}{n} \log \frac{a_A^a \cdot a_B^b}{a_C^c \cdot a_D^d} \quad (3.1.2.1-4)$$

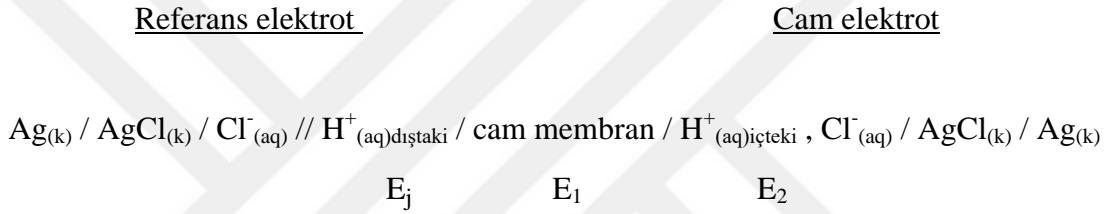
Sabit iyonik ortamda aktiflik katsayıları da sabit olduğundan (3.1.2.1-4) eşitliğinde aktiflik yerine derişimler yazılırsa aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$E_{(hücre)} = E^{\circ}_{(hücre)} + \frac{0,0592}{n} \log \frac{c_A^a \cdot c_B^b}{c_C^c \cdot c_D^d} \quad (3.1.2.1-5)$$

b) Kombine cam elektrot:

Bir iyonun derişimi, bu iyonun bulunduğu bir yarı hücre ile oluşan elektrokimyasal hücrenin ölçülen potansiyeli ve bu yarı hücrenin bilinen standart potansiyeli yardımıyla Nernst eşitliğinden (3.1.2.1-3) belirlenebilir. Bu yöntemin en iyi uygulaması çözeltinin hidrojen iyonu derişiminin yani pH'sının belirlenmesidir.

Bu çalışmada bütün pH ölçümleri Schott marka kombine cam elektrot kullanılarak yapıldı. Kombine cam elektrot, bir indikatör ve bir referans elektrottan oluşur. Böyle bir hücrenin gösterimi aşağıdaki gibidir (Harris 1982).



Böyle bir hücrenin potansiyeli aşağıdaki gibi gösterilir.

$$E = E_{cam} - E_{ref} + E_j \quad (3.1.2.1-6)$$

Bu çalışmada kullanılan kombine cam elektrot bir cam indikatör elektrot ile bir gümüş/gümüş klorür referans elektrottan oluşur. Gümüş/gümüş klorür referans elektrotlar hem gümüş klorür hem de potasyum klorür doygun çözeltisine daldırılmış bir gümüş telden oluşmuştur. Bu yarı hücrede meydana gelen tepkime şöyledir;



(3.1.2.1-6) eşitliğindeki E_{cam} , cam elektrodun potansiyelini belirtir. Cam elektrodun potansiyeli, cam membranın iki yüzeyi arasındaki potansiyel farkla (E_s), içteki referans elektrot potansiyellerinin ($E_{Ag/AgCl}$) toplamından ibarettir (3.1.2.1-8).

$$E_{\text{cam}} = E_s + E_{\text{Ag/AgCl}} \quad (3.1.2.1-8)$$

E_s sınır potansiyeli; cam membranın iki yüzeyi arasındaki potansiyel farkını gösterir (3.1.2.1-9). Bu potansiyel fark, ince aktif cam membrandan hidrojen iyonlarının taşınması sebebiyle gözlenir.

$$E_s = E_1 - E_2 \quad (3.1.2.1-9)$$

Bir cam membranın katyonlara karşı indikatör elektrot olarak görev yapması için elektriği iletmesi gereklidir. Hidratlaşmış jel tabakasındaki iletkenlik hidrojen iyonlarının hareketiyle alakalıdır. Çözelti/jel ara yüzeyinde iletkenlik (3.1.2.1-10) ve (3.1.2.1-11) tepkimeleri ile oluşur.



(3.1.2.1-10) ve (3.1.2.1-11) denge tepkimelerinde alt indis (1), cam ile örnek çözeltisi arasındaki ara yüzeyi, alt indis (2) ise iç çözelti ile cam arasındaki ara yüzeyi ifade eder. Bu iki denge, membranın her iki tarafındaki çözeltilerdeki hidrojen iyonunun aktifliği ile belirlenir (Skoog ve ark. 1992). Kombine cam elektrot potansiyeli; aktifliğin bir fonksiyonu olarak (3.1.2.1-12) eşitliği ile ya da pH'nın bir fonksiyonu olarak (3.1.2.1-13) eşitliği ile ifade edilir.

$$E_{(\text{hücre})} = E^{\circ}_{(\text{hücre})} + \frac{RT}{nF} \log a_{\text{H}^+} \quad (3.1.2.1-12)$$

$$E_{(\text{hücre})} = E^{\circ}_{(\text{hücre})} - \frac{RT}{nF} \text{pH} \quad (3.1.2.1-13)$$

Hidrojen iyonu aktifliği cam membranın içinde ve dışında aynı olduğu zaman dahi küçük bir potansiyel oluşur. Buna asimetri potansiyeli denir. pH değeri bilinen çözeltilerde elektrodun kalibrasyonunu yaparak düzeltme gerçekleştirilir (Skoog ve ark. 1992).

Elektrodun pH'ya duyarlı kısmı elektrodun dış tarafındaki ince cam membrandır. Kombine cam elektrotta ölçülen potansiyel fark bu cam membrandan hidrojen iyonlarının taşınması yoluyla gözlenir. Bu membranlardaki camın yaklaşık % 22'si Na₂O, %6'sı CaO ve % 72'si SiO₂'ten oluşur (Skoog ve ark. 1996). Bu membranlar yaklaşık olarak pH = 9'a kadar hidrojen iyonlarına karşı seçicidirler.

c) Hidrojen iyonu derişiminin belirlenmesi:

Lewis asidi özelliğindeki metal iyonları, Lewis bazı özelliğindeki ligandların verici atomlarındaki ortaklanmamış elektron çiftlerini ortaklaşa kullanıp koordinasyon iyon ve bileşiklerini meydana getirirler. Bir metal iyonu; hidrojen içeren bir Lewis bazının konjuge bazı olan bir ligand ile birlikte bir koordinasyon bileşiği oluşturduğu zaman hidrojen iyonu ortama geçer.



Eşitlikte; M^{m+} metal iyonunu, H_nL asidik ligandı ve $ML^{(m-n)}$ koordinasyon iyon ya da bileşiğini ifade etmektedir. $ML^{(m-n)}$ iyon ya da bileşiğinin oluşumuyla çözeltilin hidrojen iyonu derişimi artar yani pH düşer. pH'daki düşmenin büyüklüğü koordinasyon bileşiğinin kararlılığının kantitatif olarak bir ölçüsüdür. Yani (3.1.2.1-14) denge tepkimesinin denge sabiti ne kadar büyükse, oluşan koordinasyon bileşiği de o oranda kararlıdır.

3.1.2.2. Çalışmada kullanılan potansiyometrik sistem

Potansiyometrik titrasyon çalışmalarıında, Schott-Gerade marka Titroline Alfa Plus model otomatik titratör ve kombine cam elektrot kullanıldı. pH ölçümleri; bilgisayar ile

desteklenen bir sistemde, 100 ml hacimli çift cidarlı titrasyon hücresinde ve sabit sıcaklıkta yapıldı. Sıcaklığı sabit tutabilmek için titrasyon hücresinin etrafından, bir termostattan (B.Braun, Termomix UB) gelen 25, 35 ve $45 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ 'deki su dolaştırıldı. Titrasyon hücresi, deneyleri azot atmosferinde yapabilmek için azot tüpüne bağlandı. Titrasyon hücresindeki çözeltinin homojenliği manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılarak sağlandı. Bütün titrasyonlar ayarlı 0,1 M KOH çözeltisinin otomatik büretten titrasyon hücresine damlatılması ile gerçekleşti.

3.1.2.3. Titrasyon hücresinde yapılan deneyler

Standartlaştırılmış 0,1 M HCl çözeltisi, ayarlı 0,1 M KOH çözeltisiyle titre edilerek titrasyon hücresinin kalibrasyonu yapıldı. Hücre kalibrasyonu, günlük olarak her titrasyondan önce yapıldı ve toplam hacim su ile 50 mL'ye tamamlanacak şekilde, titrasyon hücresine aşağıdaki çözeltiler eklenerek titrasyonlar gerçekleştirildi.

- a) 5 mL 0,1 M HCl + 5 mL 1 M KCl (hücre kalibrasyonu için)
- b) 0,1 mmol ligand + 10 mL 0,1 M HCl + 5 mL 1 M KCl (ligandların protonlanma sabitlerini belirlemek için)
- c) 0,1 mmol ligand + 0,1 mmol Cu(II) + 5 mL 0,1 M HCl + 5 mL 1 M KCl (MA ve MB ikili komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitlerini belirlemek için)
- d) 0,1 mmol A ligandı + 0,1 mmol B ligandı + 0,1 mmol Cu(II) + 5 mL 0,1 M HCl + 5 mL 1 M KCl (MAB karışık ligand komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitlerini belirlemek için)

3.1.2.4. BEST bilgisayar programı

Kararlılık sabitlerinin hesaplanması için bilgisayar programlarından yararlanılmaya başlanması 1960'lı yıllara rastlamaktadır. (Oluşum) kararlılık sabitlerinin belirlenmesinde ilk kullanılan bilgisayar programı Schaap ve McMasters tarafından geliştirilmiştir (Schaap ve McMasters, 1958). Polarografik verilerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan bu programın temeli küçük kareler metoduna dayanmaktadır. Bu yöntem Sullivan ve Rydberg tarafından geliştirilmiş ve potansiyometrik titrasyon verilerinden, kararlılık sabitlerinin hesaplanması için kullanılmıştır.

Günümüzde kararlılık sabitlerinin hesaplanmasında farklı prensiplere dayalı olan bilgisayar programları kullanılmakta ve sürekli olarak yeni programlar geliştirilmektedir. Ve bu programlar bazı detaylar yönünden farklıdır. Programlar arasında potansiyometrik verilerden kararlılık sabitlerinin hesaplanmasında en fazla kullanılanı Martell ve Motekaitis tarafından geliştirilen BEST bilgisayar programıdır (Martell ve Motekaitis, 1988).

Potansiyometrik titrasyon verilerinden yararlanarak denge sabitlerinin hesaplanmasını sağlayan bu programın algoritması kütle denkliklerinin hesabına dayanır ve kütle denkliği (3.1.2.4-1) eşitliği ile ifade edilir.

$$T_i = \sum_{j=1}^{NS} e_{ij} \beta_j \prod_{k=1}^i [C_k]^{e_{kj}} \quad (3.1.2.4-1)$$

Varolan türler içinde i bileşenini içeren bütün türlerin toplamını ifade eden bu eşitlikte; e_{ij} stokiyometri katsayısını, β_j toplam denge sabitini, $[C_k]$ ise denge sabiti ifadesinde yer alan türlerin konsantrasyonunu ifade etmektedir. Bu eşitlik kullanılarak, ML_3 türünde kompleksin oluştuğu bir sistemde kütle denklikleri aşağıdaki şekilde gösterilebilir:

$$H_t = [H] + \beta_1^H [H][L] + 2\beta_2^H [H]^2[L] \quad (3.1.2.4-2)$$

$$L_t = [L] + \beta_1^H [H][L] + \beta_2^H [H]^2[L] + \beta_1 [L][M] + 2\beta_2 [L]^2[M] + 3\beta_3 [L]^3[M] \quad (3.1.2.4-3)$$

$$M_t = [L] + \beta_1 [L][M] + \beta_2 [L]^2[M] + \beta_3 [L]^3[M] \quad (3.1.2.4-4)$$

Bu eşitliklerde; H hidrojen iyonunu, L ligandı, M ise metal iyonunu ifade etmektedir. Bu kütle denkliklerinden faydalanılarak denge sabiti değerlerinin BEST programı ile hesaplanması aşağıdaki gibi olmaktadır:

I) Bilinen ve tahmin edilen toplam denge sabiti ifadeleri (β_1) ve kütle denklikleri kullanılarak titrasyonun her bir noktası için pH hesaplanır.

II) Hesaplanan pH'lar ile gözlenen pH'lar arasındaki sapmaların ağırlıklı karelerinin toplamı hesaplanır.

$$U = \sum w (p[H]_{\text{gözlenen}} - p[H]_{\text{hesaplanan}})^2 \quad (3.1.2.4-5)$$

Burada w ; hesaplamada pH profilinin eğim bölgelerindeki daha az doğru olan pH değerlerinin etkisini azaltmak için kullanılan ağırlık faktörüdür ve (3.1.2.4-6) eşitliği ile ifade edilir.

$$w = 1 / (p[H]_{i+1} - p[H]_{i-1})^2 \quad (3.1.2.4-6)$$

Sigma fit minimize edilinceye kadar bilinmeyen denge sabiti ifadelerinin yerine yeni değerler yazılarak hesaplamalar tekrarlanır. pH'daki standart sapmayı ifade eden sigma fit, σ_{fit} , (3.1.2.4-7) eşitliği ile belirtilir.

$$\sigma_{\text{fit}} = (U / N)^{1/2} \quad (3.1.2.4-7)$$

Burada N ağırlık faktörlerinin toplamını göstermektedir.

$$N = \sum w \quad (3.1.2.4-8)$$

Bu hesaplamalar sonucunda sigma fit'in minimum olduğu kararlılık sabiti değeri sonuç olarak verilir.

3.1.2.5. SPE bilgisayar programı

Potansiyometrik titrasyon verileri kullanılarak, çözeltide oluşan türlerin derişimlerinin pH ile değişimini gösteren dağılım diyagramları, Martell-Motekaitis tarafından geliştirilen SPE bilgisayar programı ile çizildi. Ligandların protonlanma sabiti değerleri ve Cu(II) iyonu ile oluşturdukları ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabiti değerleri SPE bilgisayar programına uygulandı ve çözeltide oluşan türlerin dağılımı belirlendi.

3.2. Komplekslerin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması

3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Komplekslerin sentezinde metal tuzu olarak; Merck marka (% 99) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ve Sigma-Aldrich marka (% 98) $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ligant olarak; Merck marka (% 99) 1,10-fenantrolin, Sigma-Aldrich marka (% 97) 4-metil-1,10-fenantrolin, Alfa Aesar marka (% 98) 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin ve Sigma-Aldrich marka (% 99) L-triptofan kullanıldı. Çözücü olarak ise, Merck marka metanol kullanıldı.

3.2.2. Kullanılan cihazlar

- 1) Erime noktası belirleme işlemi; Büchi Melting Point B-540 erime noktası tayin cihazı ile Uludağ Üniversitesi Kimya Bölümü'nde yapıldı.
- 2) Komplekslerin elementel analizleri; (C, H ve N analizi) TÜBİTAK Bursa Test ve Analiz Laboratuvarı'nda Costech marka elementel analiz cihazı ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda TruSpec marka elementel analiz cihazı kullanılarak yapıldı.
- 3) Elektronik absorpsiyon spektrumları; CBC Cintra 303 marka UV-VIS spektrometresi ile Uludağ Üniversitesi Kimya Bölümü'nde alındı.
- 4) Infrared (IR) spektrumları; FT-IR spektrofotometresiyle $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ aralığında İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi 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 ve Sinop Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (SÜBİTAM) Bruker AXS difraktometresi kullanılarak yapıldı.

3.2.3. Tek kristal X-ışını kırınım yöntemi analizleri

Gebze Teknik Üniversitesi'ndeki kristal yapı veri toplama işlemleri grafit monokromatörlü Bruker APEX II QUAZAR difraktometresi (Bruker 2014) üzerinde yapıldı. Kristal yapı Bruker SHELXTL programıyla (Bruker 2010) direkt yöntemler

kullanılarak çözüldü ve F^2 'ye bağlı tam matris en küçük kareler yöntemine uygun şekilde arıtıldı. Geometrik hesaplamalar ve moleküler yapı çizimleri PLATON (Spek A. L. 2009) ve MERCURY (Macrae ve ark. 2006) programları ile yapıldı. Sinop Üniversitesi'ndeki çalışmalar ise; Bruker AXS difraktometresi ile yapıldı. Kristal yapı Bruker SHELXTL V6.14 programıyla direkt yöntemler kullanılarak çözüldü ve F^2 'ye bağlı tam matris en küçük kareler yöntemine uygun şekilde arıtıldı.

3.2.4. Komplekslerin sentezi

a) $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$:

$\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol, 0,185 g) 5 mL metanolde çözüldü ve 10 mL metanolde çözülmüş 1,10-fenantrolin (0,5 mmol, 0,099 g) ligandı bu çözeltiye ilave edildi. Sonra bu karışıma, 15 mL metanol+(0,5 mmol, 0,028 g) KOH çözeltisi içerisinde çözülmüş olan L-triptofan (0,5 mmol, 0,102 g) ligandı eklendi ve karışım 50°C 'de 60 dk süre ile karıştırıldı. Elde edilen çözelti süzüldü ve oda sıcaklığında kristallenmeye bırakıldı. Koyu yeşil renkli kristallerin 3 gün içinde oluştuğu gözlemlendi. Oluşan kristaller alındı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

b) $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$:

$\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol, 0,185 g) 5 mL metanolde çözüldü ve 10 mL metanolde çözülmüş 4-metil-1,10-fenantrolin (0,5 mmol, 0,097 g) ligandı bu çözeltiye ilave edildi. Sonra bu karışıma, 0,1 N 5 mL KOH çözeltisinde çözülmüş L-triptofan (0,5 mmol, 0,102 g) ligandı eklendi ve karışım 50°C 'de 30 dk süre ile karıştırıldı. Elde edilen çözelti süzüldü ve oda sıcaklığında kristallenmeye bırakıldı. 2 gün içinde oluşan ve çok iyi yapıda olmayan kristaller alındı ve 5 mL metanol+5 mL asetonitril'de tekrar çözülerek oda sıcaklığında kristallenmeye bırakıldı. 1 gün içinde koyu mavi renkli kristallerin oluştuğu gözlemlendi, kristaller süzüldü ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

c) $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$:

$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol, 0,120 g) 5 mL saf suda çözüldü ve 10 mL metanolde çözülmüş 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin (0,5 mmol, 0,104 g) ligandı bu çözeltiye ilave

edildi. Daha sonra bu karışıma, 0,1 N 5 mL KOH çözeltisinde çözülmüş L-triptofan (0,5 mmol, 0,102 g) ligandı eklendi. Elde edilen çözelti süzüldü ve oda sıcaklığında kristallenmeye bırakıldı. Yeşil renkli kristallerin 3 gün içinde oluştuğu gözlemlendi. Oluşan kristaller alındı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

3.3. Sentezlenen Komplekslerin DNA ile Etkileşimlerinin Araştırılması

3.3.1. Çözeltilerin hazırlanması

Çalışmada kullanılan çözeltiler günlük olarak, stok çözeltilerden Tris-HCl/NaCl tamponu (5mM Tris-HCl(Sigma-Aldrich, %99), 50mM NaCl(Sigma-Aldrich, %99), pH=7,2) ile seyreltilerek hazırlandı. Çalışmalarda deiyonize su kullanıldı. Stok çözeltiler buzdolabında 4°C’de saklandı.

DNA (Deoksiribonükleik asit, çift sarmal, calf thymus, tür I, Sigma) Tris-HCl/NaCl (5 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, pH=7,2) tamponu içinde oda sıcaklığında çözüldü. 24 saat tamamen çözünmesi için bekletildi ve 4°C’de buzdolabında saklandı. DNA’nın molar derişimi, 260 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri ve molar absorpsiyon katsayısı ($\epsilon=6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılarak bulundu. DNA stok çözeltisinde A_{260}/A_{280} oranının 1,8–2,0 aralığında olup olmadığı kontrol edildi. A_{260}/A_{280} oranının 1,8–2,0 arasında olması, protein miktarının serbest hale geçtiğini göstermektedir (Reichman ve ark. 1954).

3.3.2. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi

Elektronik absorpsiyon spektrumları; GBC marka, Cintra 303 model spektrofotometre ile alındı.

Sentezlenen komplekslerin DNA ile etkileşimlerini elektronik absorpsiyon yöntemi ile belirlemek için, önce bir dizi kompleks+DNA çözeltisi hazırlandı. Sentezlenen kompleksin çözeltisi belirli derişimde ve Tris-HCl/NaCl tamponu içinde hazırlandıktan sonra, bu çözeltilere mikrolitrelik hacimlerle artan miktarlarda CT-DNA çözeltisi eklendi.

Kompleks çözeltisine CT-DNA çözeltisinin eklenmesiyle hazırlanan kompleks+DNA çözeltilerinin 200-400 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı. Spektrumlar alınmadan önce örnekler, vorteks'te karıştırıldı.

Titrasyon verilerinden yararlanılarak komplekslerin DNA'ya bağlanma sabiti; K_b belirlendi. Bağlanma sabitinin belirlenebilmesi için aşağıdaki eşitlik (McGhee-von Hippel (MvH) metodu) kullanıldı (Pyle ve ark. 1989).

$$[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f) = [DNA]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f) \quad (3.3.2-1)$$

Eşitlikte $[DNA]$; DNA baz çifti konsantrasyonu, ϵ_a ; $A_{gözlener}/[kompleks]$ ile hesaplanan molar sönüm katsayısı değeri, ϵ_f ; çözeltideki serbest formdaki kompleksin molar sönüm katsayısı, ϵ_b ise kompleksin çözeltideki bağlı formunun molar sönüm katsayısıdır. Burada; $[DNA]$ değerlerine karşı $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ değerleri grafiğe geçirilir ve elde edilen doğru denkleminin yardımıyla K_b değeri bulunur.

3.3.3. Floresans spektroskopisi yöntemi

Floresans spektrumları; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Bölümü'nde bulunan Jasco FP-750 model spektrofloreometre ile alındı.

Floresans spektroskopisi ile emisyon ölçümleri; EB çözeltisi ile doyurulmuş ve emisyon seviyesi ölçülmüş CT-DNA çözeltisine artan derişimlerde kompleks çözeltilerinin mikrolitrelik hacimlerle eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kompleksler artan derişimlerde ilave edildikçe EB+DNA çözeltisinin emisyon şiddetinde meydana gelen azalmadan yararlanarak, aşağıdaki eşitliklerinde yardımıyla K_{sv} (komplekslerin floresans söndürme yeteneklerini belirten Stern-Volmer sabiti) ve K_{app} (komplekslerin EB+DNA çözeltisinin emisyon şiddetini % 50'ye düşürdüğü andaki görünür DNA bağlanma sabiti) değerleri belirlendi. Stern-Volmer eşitliği aşağıda gösterildi (Lee ve ark. 1993, Lakowicz ve ark. 1973).

$$I_0/I = 1 + K_{sv}[Kompleks] \quad (3.3.3-1)$$

Eşitlikte verilen I_0 ; ortama kompleks eklenmeden önceki floresans yoğunluğunu, I ; kompleks içeren EB+DNA çözeltilerinin floresans yoğunluğunu K_{sv} ; söndürme katsayısını ve $[Kompleks]$; kompleks derişimini ifade etmektedir. Burada, $[Kompleks]$ değerlerine karşı I_0/I değerleri grafiğe geçirilir ve elde edilen doğrunun eğiminden K_{sv} bulunur.

$$K_{app}[Kompleks] = K_{EB}[EB] \quad (3.3.3-2)$$

Eşitlikte verilen K_{app} ; komplekslerin EB+DNA çözeltilerinin 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).

3.3.4. Termal denatürasyon yöntemi

Absorbans ölçümleri GBC marka, Cintra 303 model UV-Vis spektrofotometre ile yapıldı.

DNA denatürasyon çalışmaları, peltier sistemli UV-Visible spektrofotometre kullanılarak, $0,5^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ rampa oranı ile belli derişimdeki CT-DNA çözeltileri üzerine yine belli derişimdeki kompleks çözeltileri ilave edilerek hazırlanan çözeltilerin, artan sıcaklığa karşılık 260 nm dalga boyundaki absorbans değerlerindeki değişim incelenerek gerçekleştirildi. CT-DNA'nın kompleks varlığında ve yokluğunda, 260 nm'deki absorbans değerleri ölçüldü. $t(^\circ\text{C})$ 'ye karşı absorbans değerleri grafiğe geçirildi ve T_m ve T_m^0 (DNA ısıtıldığında sarmal yapının yarısını kaybettiği sıcaklık; erime sıcaklığı) değerleri belirlendi.

T_m , çift sarmalın kararlılığını belirten bir parametre olup, kompleksin CT-DNA'ya bağlanma gücüne göre değişir. Bu sebeple termal denatürasyon yöntemi, kompleksin CT-DNA'ya bağlanmasındaki kararlılığını belirlemek için kullanılır.

$$\Delta T_m = T_m - T_m^0 \quad (3.3.4-1)$$

T_m^0 ; sadece CT-DNA ve T_m ; kompleks+DNA çözeltilerinin erime sıcaklığını belirtmektedir. ΔT_m değerlerinin yüksek olması, komplekslerin CT-DNA ile etkileşiminin de o oranda güçlü olduğunu göstermektedir.

3.3.5. Agaroz jel elektroforez yöntemi

Elektroforez, yüklü moleküllerin bir elektriksel alan uygulandığında, sıvı içeren bir ortamda hareket hızlarının ölçüldüğü kromatografik bir yöntemdir. Jel elektroforezi DNA moleküllerini farklı büyüklük, yük ve esnekliğine göre ayırabilmektedir. Elektroforezde, DNA taşıdığı negatif yük sebebiyle elektrik alan içinde katottan anoda doğru hareket eder. Büyük yapıli moleküller yavaş sürüklenirken daha küçük yapıli moleküller daha hızlı sürüklenir. İşte sürüklenme hızlarındaki bu farklılık nedeniyle bu yöntem DNA-kompleks etkileşimlerinin incelenmesinde kullanılmaktadır.

Komplekslerin DNA bölme etkileri, agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırılırken çalışmalarda, pUC19 plazmid DNA kullanıldı. Plazmid DNA; bazı ökaryot hücrelerinde ve bakterilerin genelinde bulunan genomik DNA'dan (asıl kromozomdan) bağımsız olarak kendi kendini eşleyebilen açık sarmal yapıda halkasal bir DNA türüdür.

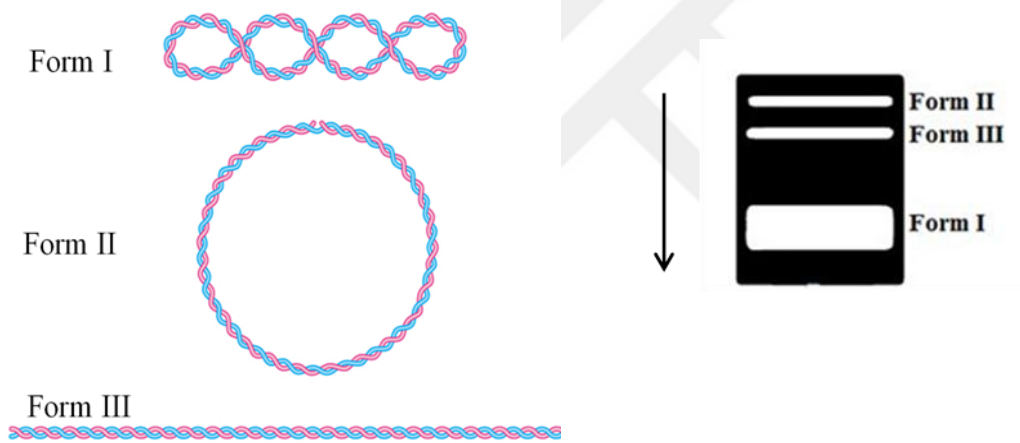


Şekil 3.3.5.1. Plazmid DNA

Deoksiribonükleik asit (DNA), genellikle süpersarmal yapıda bulunmaktadır. Metal kompleksleri ile DNA etkileşimleri sonucunda süpersarmal yapıda bir takım değişiklikler meydana gelmektedir. İnterkalasyon ile DNA'ya bağlanan bileşikler, süper sarmal yapının açılarak şeklinin değişmesine veya boyunun uzamasına neden olmaktadır (Richards ve Rodger 2007).

Bu değişimler süper sarmal DNA'nın elektroforetik davranışlarında farklılıklar meydana getirmekte ve bu farklılıklar sayesinde de bağlanmanın doğası hakkında yorum yapılabilmektedir.

pUC19 plazmid DNA'sının agaroz jel elektroforezi sonrasındaki görüntüsünde; ana bant olarak süper sarmal formunun (Form I) bandı görülmektedir, eğer komplekslerin DNA bölme aktiviteleri varsa dairesel gevşek sarmal formunun bandı (Form II) artmakta süper sarmal bandı (Form I) azalmaktadır. DNA bölme aktivitesinin ileri düzeyleri ise doğrusal form (Form III) bandının oluşmasına neden olmaktadır. Elektroforez çalışmalarında bu yapılar jel üzerinde yürütüldüğünde, genel olarak süper sarmal formu en hızlı şekilde ilerlemekte, doğrusal form da dairesel gevşek sarmal formdan daha hızlı şekilde ilerlemektedir.



Şekil 3.3.5.2. Plazmid DNA formları ve agaroz jeldeki göç hızları

Çalışmada kullanılmak üzere; 5 µL DNA örnekleri içeren, farklı derişimlerde kompleks çözeltilerinin bulunduğu, 5 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl (pH=7,2) tampon çözeltilisinde, 50 µL final hacimli olacak şekilde örnekler hazırlandı. Hazırlanan örnekler 4 saat süre ile karanlıkta 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda örnekler 3 µL yükleme tamponu (Brom fenol mavisi (%00,5), Sükroz (%40), EDTA (0,1M, pH=8) ve SDS (%0,5)) ile karıştırılarak (son hacim 50 µL oldu) jele yüklendi.

Agaroz jel, %1 derişimde olacak şekilde TBE (89 mM Tris-Borat ve 2 mM EDTA pH=8,3) tamponu içerisinde mikrodalga fırında sıcaklık ile çözüldü. Son derişim 0,5

$\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde Etidyum bromür eklenen agaroz çözeltisi, yükleme kuyucuklarını oluşturacak tarak takılmış sızdırmaz kalıp içerisine döküldü. Oda sıcaklığında, agaroz çözeltisinin, donarak jel formuna dönüşmesi beklendi. Jel oluştuktan sonra tarak çıkarıldı ve jel kalıbı, içerisinde TBE (89 mM Tris-Borat ve 2 mM EDTA pH=8,3) tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi.

Sonrasında, jel üzerindeki kuyucuklara yukarıda açıklandığı şekilde hazırlanan örnekler yüklendi. Yükleme sonrasında güç kaynağı ile jele 2 saat süre ile 60 V akım uygulandı. Böylece plazmid DNA'sının jel içerisinde anoda doğru göç etmesi sağlandı.

Süre sonunda jel içerisindeki DNA'lar fotoğraf makinesi eklentili transilüminatör yardımı ile UV ışık altında görüntüledi. (DNA örneklerini görüntüleme yolu etidyum bromür ile boyamadır. UV ışığı altında floresans etki gösteren etidyum bromür, jeldeki çift zincirli DNA moleküllerinin bazıları arasına girerek UV ışıklı transillüminatör üzerinde görüntülenebilir).

Görüntüler analiz edilerek komplekslerin DNA bölme etkileri ve olası mekanizmaları; indirgeyici ve radikal tutucuların varlığı ve yokluğunda gerçekleştirilen uygulamalar sayesinde yorumlandı. DNA bölme çalışmalarında, reaktif oksijen türlerinin etkisini analiz etmek için değişik radikal söndürücüler kullanılır. Çalışmada; hidroksil radikali söndürücüsü olarak DMSO kullanıldı.

3.4. Sitotoksisite Ölçümlerinin Yapılması

3.4.1. Kullanılan hücre hatları ve hücre kültürü şartları

Komplekslerin sitotoksisite ölçümlerinde A549 (insan akciğer kanser), MCF-7 (insan meme kanser), Caco-2 (insan kolon kanser) ve BEAS-2B (insan bronş epitel sağlıklı) hücre hatları kullanıldı.

Hücre kültürleri; havalandırılmalı T75 flasklar içerisinde, 37°C'de ve %5 CO₂'li ortama sahip inkübatörde yapıldı. Flasklara konulacak besiyeri; RPMI Medium + %10 fetal

kalf serum + 2mM L-glutamin, 50 µg/mL penisilin ve 50 µg/mL streptomisinden oluşacak biçimde hazırlandı.

3.4.2. XTT testi

XTT hücre canlılık testi, renk değişimine dayalı hücresel metabolik aktiviteyi ölçen bir testtir. Test boyunca sarı tetrazolium tuzu XTT, metabolik olarak aktif olan hücrelerde dehidrogenaz enzimi tarafından yoğun renkli formazan boyasına indirgenir. Bu dönüşüm yalnızca canlı hücrelerde meydana gelir ve üretilen formazanın miktarı örnekteki canlı hücre sayısı ile orantılıdır. Testte oluşan formazan boyası sulu çözeltilerde çözünebilir ve 450 nm’de absorbanı ölçülerek miktarı hesaplanır. PMS (N-Methylphenazonium methyl sulfate) gibi elektronla bağlanan maddeler hücrelerde XTT indirgenmesinin etkinliğini anlamlı ölçüde artırır. XTT hücre canlılık testi, birçok hücre hattına uygulanabilir ve genellikle her kuyucuk için $0,2-2 \times 10^4$ hücre yeterli olmaktadır.

XTT ölçüm solüsyonunu hazırlamak için, XTT örneklerine (kompleks çözeltileri) elektron bağlama solüsyonu eklendi (1:50 hacim oranında). Örneğin; 96 kuyucuklu plate için 5ml XTT solüsyonuna ve 0,1 mL elektron bağlama solüsyonuna gerek vardır). 96 kuyucuklu plate’nin (her bir kuyucuk 100-200 µL/kuyucuk besi yeri içerir) her bir kuyucuğuna 50 µL XTT ölçüm solüsyonu ilave edildi. 450 nm’de absorban değerleri ölçüldü. Optimum inkübasyon süresi, hücre tipine ve hücre sayısına göre değişir.

4. BULGULAR

4.1. Ligantların Protonlanma Sabitlerinin ve Komplekslerin Kararlılık (Oluşum) Sabitlerinin Belirlenmesi

4.1.1. Ligantların protonlanma sabitlerinin belirlenmesi

İkili ve karışık ligant komplekslerinin kararlılık sabitlerinin belirlenebilmesi için, ligantların protonlanma sabitlerinin bilinmesi gereklidir. Bu nedenle, ilk önce her bir ligandın protonlanma sabitleri, 0,1 M KCl iyonik ortamında ve sabit sıcaklıkta potansiyometrik titrasyon yöntemi ile elde edilen verilerin BEST bilgisayar programına uygulanması ile belirlendi (Çizelge 4.1.1.1).

a) Fenantrolin türevlerinin protonlanma sabitleri

Çalışmada kullanılan 1,10-fenantrolin(phen), 4-metil-1,10-fenantrolin(4-mphen) ve 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin(dmphen), A; ligandları nötral, suda çözünmeyen, ayrışabilen protonu olmayan ve iki tane N-verici atomu bulunan ligandlardır. Titrasyon hücresine ligand ve ligandın mmolünün en az beş katı kadar 0,1 M HCl eklenerek ligandların protonlanması ve çözünmesi sağlandı. Ligand çözeltilerinin 0,1 M KOH çözeltisi ile 0,1 M KCl iyonik ortamında, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda titrasyonları yapıldı ve her titrant ilavesinden sonra hücre potansiyelleri ölçüldü. Ölçülen potansiyel değerlerinden (mV), hücre kalibrasyonundan elde edilen eşitliğin de yardımıyla pH değerleri hesaplandı. Farklı ligand derişimleri için titrasyonlar tekrarlandı. Milimol ligand başına milimol bazı tanımlayan m (mmol baz/mmol ligand) değerlerine karşı pH değerleri grafiğe geçirildi ve potansiyometrik titrasyon eğrileri çizildi (Şekil 4.1.3.1 – Şekil 4.1.3.3).

Protonlanmış phen, 4-mphen ve dmphen (H_2A^{2+}) ligandlarının potansiyometrik titrasyon eğrileri incelendiğinde (Şekil 4.1.3.1 – Şekil 4.1.3.3'te II nolu eğriler), $m=1,0$ ve $m=2,0$ 'de iki dönüm noktası gözlemlendi. $m=0,0-1,0$ tampon bölgesinde ve yaklaşık $pH=2,0$ 'de ligandın yapısındaki azot atomlarından birine bağlı olan proton ayrışır. Ligandın yapısında yer alan ikinci azot atomuna bağlı proton ise daha yüksek pH'da (yaklaşık $pH = 4,0 - 6,0$) ayrışır.

A ligandının basamaklı protonlanma denge tepkimeleri (4.1.1-1 ve 4.1.1-3) ve bu denge tepkimelerine ait denge sabitleri ise (4.1.1-2 ve 4.1.1-4) eşitlikleri ile gösterildi.



$$K_{N(1)} = \frac{[HA^+]}{[A].[H^+]} \quad (4.1.1-2)$$



$$K_{N(2)} = \frac{[H_2A^{2+}]}{[HA^+].[H^+]} \quad (4.1.1-4)$$

A ligandının birinci protonlanma sabiti, (4.1.1-2) eşitliği ile ikinci protonlanma sabiti ise, (4.1.1-4) eşitliği ile gösterildi.

b) L-triptofanın protonlanma sabitleri

Aromatik yapıda bir L-amino asit olan L-triptofan (L-Trp), HB ; suda çözünmeyen, fakat ayrışabilen bir protona sahip olan bir ligandır. Titrasyon hücresine L-Trp ve bunun mmolünün en az beş katı kadar 0,1 M HCl eklenerek ligandın protonlanması ve çözünmesi sağlandı. 0,1 M KCl iyonik ortamında, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda 0,1 M KOH çözeltisi ile potansiyometrik titrasyonları yapıldı. Potansiyometrik titrasyon verilerinden yararlanarak titrasyon eğrileri çizildi (Şekil 4.1.3.1 – Şekil 4.1.3.3).

Protonlanmış L-triptofanın (H_2B^+) titrasyon eğrileri incelendiğinde (Şekil 4.1.3.1–4.1.3.2’de I nolu eğriler), $m=1,0$ ve $m=2,0$ ’de iki dönüm noktası gözlemlendi. $m=0,0-1,0$ tampon bölgesinde ayrışan ilk proton, asidik bölgedeki, $-COOH$ grubunun protonudur. $m=1,0-2,0$ tampon bölgesinde ayrışan ikinci proton ise, daha yüksek pH’da yaklaşık $pH=8,0-10,0$ aralığında ayrışan amin($-NH_3^+$) grubunun protonudur.

Triptofanat iyonunun (B⁻) basamaklı protonlanma denge tepkimeleri (4.1.1-5 ve 4.1.1-7) ve bu denge tepkimelerine ait denge sabitleri ise (4.1.1-6 ve 4.1.1-8) eşitlikleri ile gösterildi.



$$K_{NH_3^{+}} = \frac{[HB]}{[B^{-}].[H^{+}]} \quad (4.1.1-6)$$



$$K_{COOH} = \frac{[H_2B^{+}]}{[HB].[H^{+}]} \quad (4.1.1-8)$$

Çizelge 4.1.1.1. Ligantların farklı sıcaklıklarda potansiyometrik yöntem ile bulunan protonlanma sabitleri (*I*=0,1 M KCl, *t*=25, 35 ve 45°C)

| Ligant | log K | 25°C | 35°C | 45°C |
|----------------|---|-------|-------------|-------------|
| phen | log K _{N(1)} | 5,03* | 4,75 ± 0,03 | 4,17 ± 0,01 |
| | log K _{N(2)} | 1,73* | <1 | <1 |
| 4-mphen | log K _{N(1)} | 5,52* | 5,25 ± 0,03 | 4,99 ± 0,03 |
| | log K _{N(2)} | <1* | <1 | <1 |
| dmphen | log K _{N(1)} | 5,89* | 5,68 ± 0,01 | 5,54 ± 0,01 |
| | log K _{N(2)} | 0,61* | <1 | <1 |
| L-trp | log K _{NH₃⁺} | 9,32* | 8,77 ± 0,01 | 8,11 ± 0,03 |
| | log K _{COOH} | 2,43* | 2,16 ± 0,04 | 1,98 ± 0,02 |

*Grubumuz tarafından yapılan bir tez çalışmasında hesaplanmıştır.

*(İnci ve ark. 2014 ve İnci ve ark. 2016)

4.1.2. İkili komplekslerin kararlılık (oluşum) sabitlerinin belirlenmesi

İkili komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitlerini belirlemek için, metal:ligant oranı (1:1) olacak şekilde Cu(II) iyonu ve ligantları içeren çözeltilerinin 0,1 M KCl iyonik ortamında, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda potansiyometrik titrasyonları yapıldı.

Cu(II) iyonu içeren çözeltilere ligandlar katı olarak eklendi. Ligandları protonlamak için ise, aynı çözeltilere 5 mL 0,1 M HCl çözeltisi ilave edildi. Cu(II) iyonu ve protonlanmış ligandları (H_2A^{2+} veya H_2B^+) içeren çözeltilerin 0,1 M KCl iyonik ortamında, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda ayarlı KOH çözeltisi ile potansiyometrik titrasyonları yapıldı. Titrasyon sırasında potansiyel okumaları, mV olarak, her KOH ilavesinden sonra 90 s.'lik ara olacak şekilde otomatik olarak yapıldı. Potansiyometrik titrasyonlardan elde edilen veriler kullanılarak, m 'e karşı pH değerleri grafiğe geçirildi (m ; mmol baz/mmol metal). Elde edilen potansiyometrik titrasyon eğrileri, (Şekil 4.1.3.1 – Şekil 4.1.3.3)'te IV nolu eğriler ile gösterildi.

Cu(II) iyonu ve protonlanmış phen, 4-mphen, dmphen ligandlarını içeren çözeltilerin (H_2A^{2+}) potansiyometrik titrasyonlarında $m=2,0$ 'de ve $m=3,0$ 'te iki dönüm noktası gözlemlendi. $m=2,0$ 'de gözlenen dönüm noktası, $m=0,0-2,0$ tampon bölgesinde (4.1.2-1) denge tepkimesine göre CuA^{2+} kompleksinin oluştuğunu göstermektedir. $m=2,0$ 'den itibaren, CuA^{2+} kompleksinden $CuA(OH)^+$ hidrokso kompleksinin oluştuğu düşünülebilir. Oluşan CuA^{2+} ve $CuA(OH)^+$ komplekslerinin denge tepkimeleri (4.1.2-1 ve 4.1.2-3) ve bu denge tepkimelerine ait denge sabitleri ise (4.1.2-2 ve 4.1.2-4) eşitlikleri ile gösterildi.



$$K_1 = \frac{[CuA^{2+}].[H^+]^2}{[H_2A^{2+}].[Cu^{2+}]} \quad (4.1.2-2)$$



$$K_{\text{MAH-1}} = \frac{[\text{CuA}(\text{OH})^+].[\text{H}^+]}{[\text{CuA}^{2+}].[\text{H}_2\text{O}]} \quad (4.1.2-4)$$



$$K_{\text{MA}} = \frac{[\text{CuA}^{2+}]}{[\text{A}].[\text{Cu}^{2+}]} \quad (4.1.2-6)$$

(4.1.2-5) denge tepkimesine göre oluşan (1:1) mol oranındaki CuA^{2+} koordinasyon bileşiğinin kararlılık (oluşum) sabiti; K_{MA} ve $\text{CuA}(\text{OH})^+$ koordinasyon bileşiğinin hidroliz sabiti; $K_{\text{MAH-1}}$, potansiyometrik titrasyon verilerinin BEST bilgisayar programına uygulanması ile hesaplandı (Çizelge 4.1.2.1).

$\text{Cu}(\text{II})$ iyonu ve protonlanmış L-triptofan içeren çözeltilerin potansiyometrik titrasyonlarında, $m=2,0$ 'de ve $m=3,0$ 'te iki dönüm noktası gözlemlendi. $m=0,0-2,0$ tampon bölgesinde (4.1.2-1) denge tepkimesine göre, CuB^+ kompleksinin oluştuğu ve $m=2,0$ 'den itibaren daha yüksek pH bölgesinde ise, CuB^+ kompleksinden $\text{CuB}(\text{OH})$ hidrokso kompleksinin oluştuğu düşünüldü. Oluşan CuB^+ ve $\text{CuB}(\text{OH})$ komplekslerinin denge tepkimeleri (4.1.2-7 ve 4.1.2-9) ve bu denge tepkimelerine ait denge sabitleri ise (4.1.2-8 ve 4.1.2-10) eşitlikleri ile gösterildi.



$$K_1 = \frac{[\text{CuB}^+].[\text{H}^+]^2}{[\text{H}_2\text{B}^+].[\text{Cu}^{2+}]} \quad (4.1.2-8)$$



$$K_{\text{MBH-1}} = \frac{[\text{CuB(OH)}] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{CuB}^+] \cdot [\text{H}_2\text{O}]} \quad (4.1.2-10)$$



$$K_{\text{MB}} = \frac{[\text{CuB}^+]}{[\text{B}^-] \cdot [\text{Cu}^{2+}]} \quad (4.1.2-12)$$

(4.1.2-11) denge tepkimesine göre oluşan (1:1) mol oranındaki CuB^+ koordinasyon bileşiğinin kararlılık (oluşum) sabiti; K_{MB} ve CuB(OH) koordinasyon bileşiğinin hidroliz sabiti; $K_{\text{MBH-1}}$, potansiyometrik titrasyon verilerinin BEST bilgisayar programına uygulanması ile hesaplandı (Çizelge 4.1.2.1).

Çizelge 4.1.2.1. Cu(II) iyonunun phen, 4-mphen, dmphen ve L-trp ligantları ile oluşturduğu ikili komplekslerin kararlılık (oluşum) sabitleri ($I=0,1$ M KCl, $t=25, 35$ ve 45°C)

| Ligant | log K | 25°C | 35°C | 45°C |
|----------------|------------------------|-------|------------------|------------------|
| phen | log K_{MA} | 6,88* | $5,61 \pm 0,02$ | $5,15 \pm 0,02$ |
| | log $K_{\text{MAH-1}}$ | 0,48* | $-1,16 \pm 0,07$ | $-0,77 \pm 0,03$ |
| 4-mphen | log K_{MA} | 6,96* | $6,48 \pm 0,01$ | $6,07 \pm 0,01$ |
| | log $K_{\text{MAH-1}}$ | 0,49* | $-0,83 \pm 0,08$ | $-0,31 \pm 0,08$ |
| dmphen | log K_{MA} | 7,57* | $7,16 \pm 0,02$ | $6,77 \pm 0,02$ |
| | log $K_{\text{MAH-1}}$ | 1,32* | $0,55 \pm 0,29$ | $0,29 \pm 0,14$ |
| L-trp | log K_{MB} | 7,96* | $7,14 \pm 0,01$ | $6,59 \pm 0,01$ |
| | log $K_{\text{MBH-1}}$ | 1,39* | $0,73 \pm 0,14$ | $0,56 \pm 0,04$ |

*Grubumuz tarafından yapılan bir tez çalışmasında hesaplanmıştır.

*(İnci ve ark. 2014 ve İnci ve ark. 2016)

4.1.3. Karışık ligant komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitlerinin belirlenmesi

Cu(II) iyonu, phen türevleri ve L-trp içeren çözeltilerinin 0,1 M KCl iyonik ortamında, 25°C, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda potansiyometrik titrasyonları yapıldı. Cu(II) çözeltisine (1:1:1) mol oranlarında olacak şekilde fenantrolin türevleri ve L-triptofan katı olarak eklendi. Ligandların protonlanması için asit ilave edildi. Cu(II) iyonu ile protonlanmış ligandları içeren çözeltilerin 0,1 M KCl iyonik ortamında, 25°C, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda ayarlı KOH çözeltisi ile potansiyometrik titrasyonları yapıldı. Titrasyon sırasında mV okumaları, 90 s. ara ile otomatik olarak yapıldı. Potansiyometrik titrasyonlardan elde edilen veriler kullanılarak, m' 'e karşı pH değerleri grafiğe geçirildi ve titrasyon eğrileri çizildi. Elde edilen potansiyometrik titrasyon eğrileri, (Şekil 4.1.3.1 – Şekil 4.1.3.3)'te (V nolu eğriler) gösterildi.

Tüm potansiyometrik titrasyon eğrilerinde $m=4,0$ 'te bir dönüm noktası gözlemlendi. Oluşan CuAB^+ koordinasyon bileşiğinin oluşumuna ait denge tepkimesi (4.1.3-1) eşitliği ve denge sabiti (4.1.3-2) eşitliği ile gösterildi.

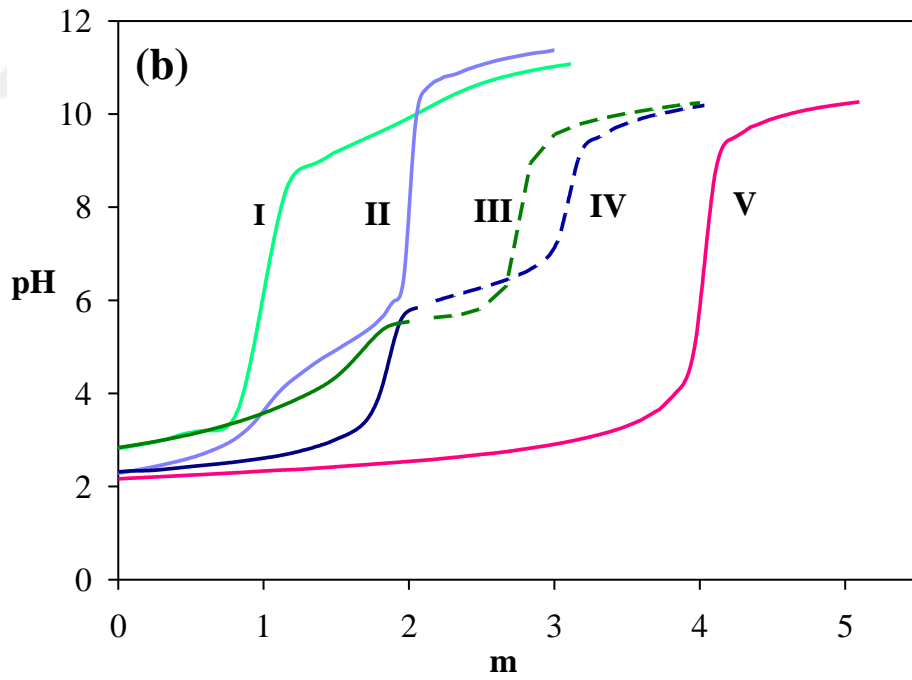
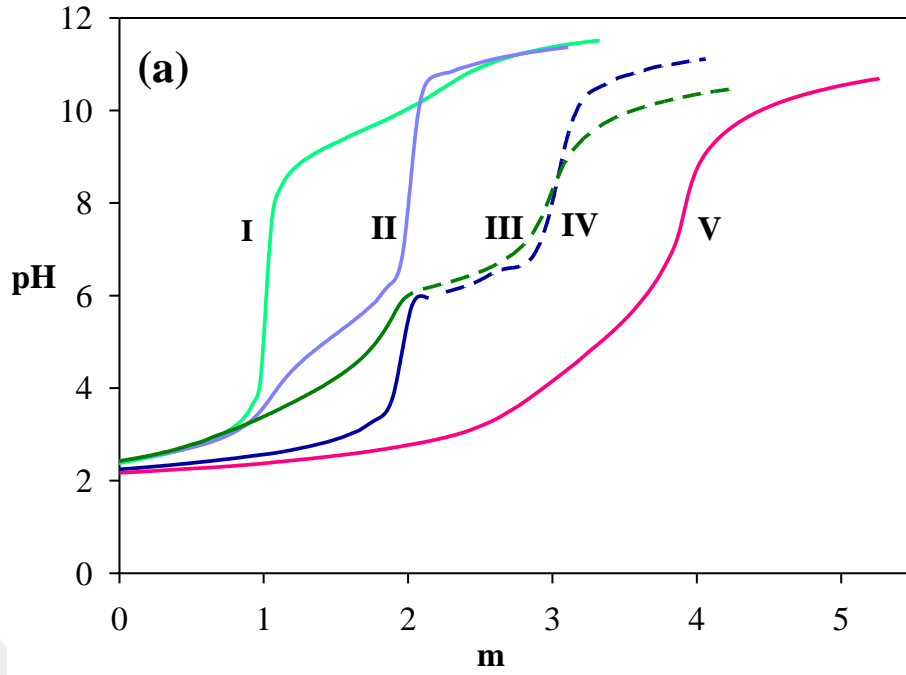


$$K_{111} = \frac{[\text{CuAB}^+].[\text{H}^+]^4}{[\text{H}_2\text{B}^+].[\text{H}_2\text{A}^{2+}].[\text{Cu}^{2+}]} \quad (4.1.3-2)$$

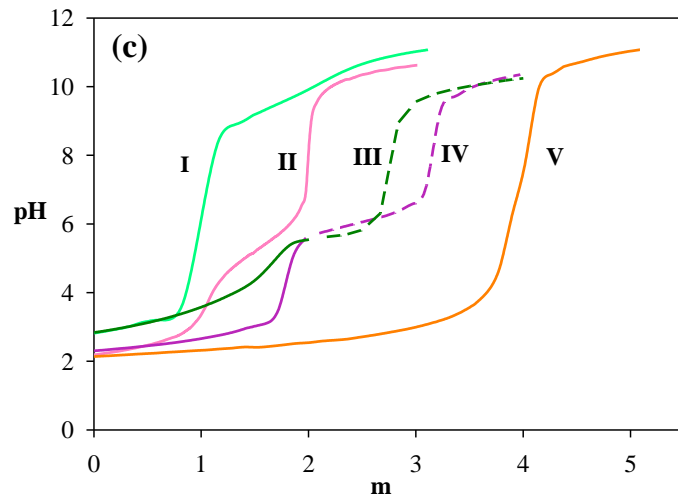
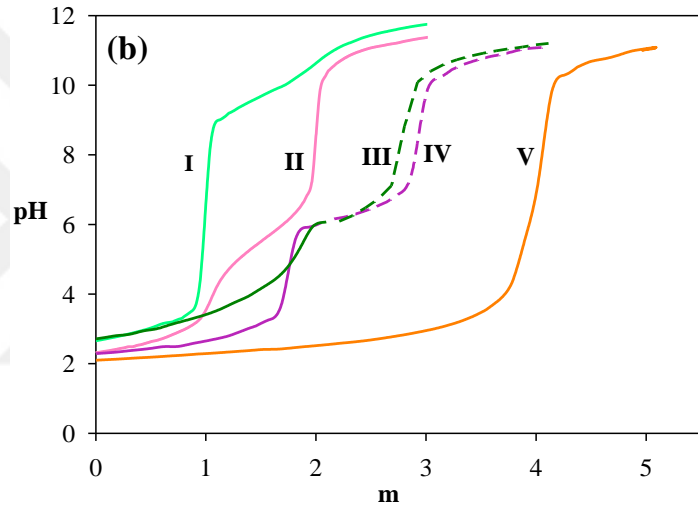
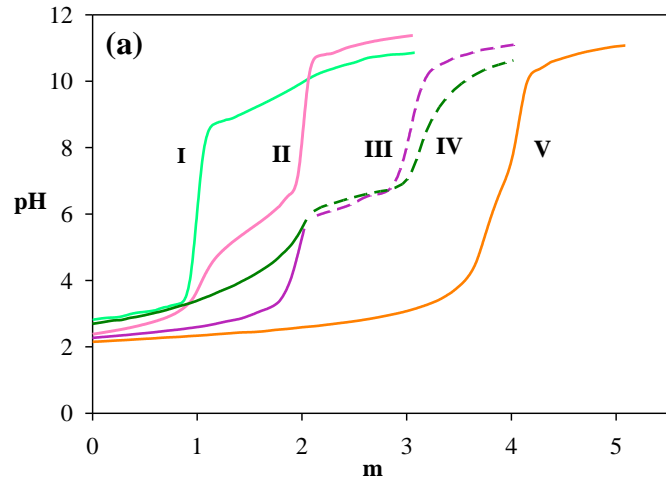


$$K_{\text{MAB}} = \frac{[\text{CuAB}^+]}{[\text{B}^-].[\text{A}].[\text{Cu}^{2+}]} \quad (4.1.3-4)$$

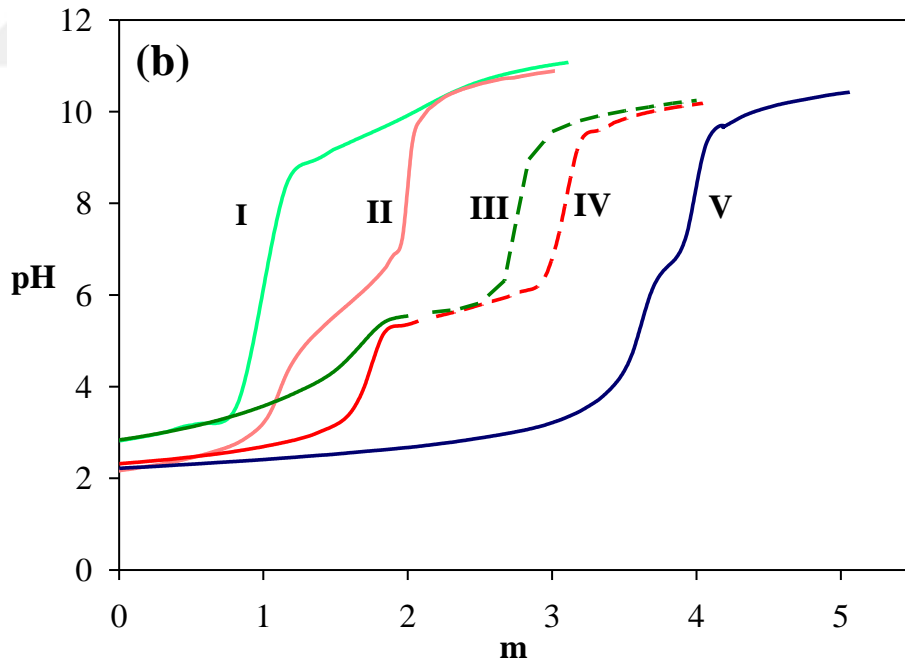
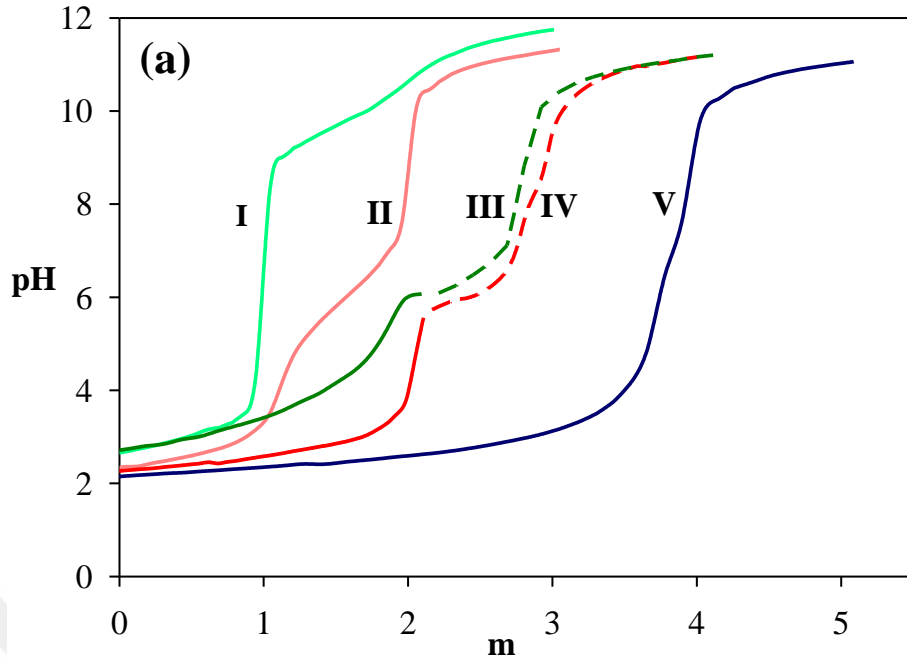
(4.1.3-3) denge tepkimesine göre, CuAB^+ türünde oluşan karışık ligand komplekslerinin (4.1.3-4) eşitliği ile verilen kararlılık (oluşum) sabitleri; $\log K_{\text{MAB}}^{\text{M}}$, potansiyometrik titrasyon verilerinin BEST bilgisayar programına uygulanmasıyla hesaplandı. Karışık ligand komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitleri (Çizelge 4.1.3.1)'de verildi.



Şekil 4.1.3.1. Cu(II):phen:L-trp sisteminin titrasyon eğrileri: **I-**) Sadece L-trp **II-**) Sadece phen **III-**) (1:1) Cu(II):L-trp **IV-**) (1:1) Cu(II):phen **V-**) (1:1:1) Cu(II):phen:L-trp (a = 35°C ve b = 45°C)



Şekil 4.1.3.2. Cu(II):4-mphen:L-trp sisteminin titrasyon eğrileri: **I-**) Sadece L-trp **II-**) Sadece 4-mphen **III-**) (1:1) Cu(II):L-trp **IV-**) (1:1) Cu(II):4-mphen **V-**) (1:1:1) Cu(II):4-mphen:L-trp (a = 25°C, b = 35°C, c = 45°C)



Şekil 4.1.3.3. Cu(II):dmphen:L-trp sisteminin titrasyon eğrileri: **I-** Sadece L-trp **II-** Sadece dmphen **III-** (1:1) Cu(II):L-trp **IV-** (1:1) Cu(II):dmphen **V-** (1:1:1) Cu(II):dmphen:L-trp (a = 35°C ve b = 45°C)

Karışık ligand kompleks oluşumunda yer alan ligandların, hangisinin birincil hangisinin ikincil ligand olduğuna karar vermek amacıyla $\log K_{MAB}^{MA}$ ve $\log K_{MAB}^{MB}$ kararlılık sabitlerinin birbiri ile kıyaslanmasının gerekli olacağı düşünüldü. Bu amaçla (4.1.3-5) ve (4.1.3-6) eşitlikleri kullanıldı.

$$\log K_{MAB}^M = \log K_{MA}^M + \log K_{MAB}^{MA}, \quad \log K_{MAB}^{MA} = \log K_{MAB}^M - \log K_{MA}^M \quad (4.1.3-5)$$

$$\log K_{MAB}^M = \log K_{MB}^M + \log K_{MAB}^{MB}, \quad \log K_{MAB}^{MB} = \log K_{MAB}^M - \log K_{MB}^M \quad (4.1.3-6)$$

$\log K_{MAB}^{MA}$ ve $\log K_{MAB}^{MB}$ sabitleri her bir karışık ligand sistemi için hesaplandı ve tüm sistemlerde fenantrolin türevlerinin birincil ligand olduğu belirlendi. Karışık ligand komplekslerinin kararlılıklarına sadece kararlılık sabitlerinin esas alınarak karar verilmesi oldukça zor olduğundan, karışık ligand kompleks kararlılıkları ikili komplekslerin kararlılıkları da göz önüne alınarak değerlendirildi. Bu amaçla MAB ve MA veya MB komplekslerinin kararlılıkları arasındaki farkları ($\Delta \log K$) karşılaştırmanın uygun olacağı düşünüldü. $\Delta \log K$; M(II) ile ilişkili olarak MA veya MB komplekslerine ikinci bir ligandın koordinasyon eğilimini niteleyen bir büyüklüktür. $\Delta \log K$ değerleri (4.1.3-7) eşitliği ile hesaplandı ve (Çizelge 4.1.3.1)'de verildi.

$$\Delta \log K = \log K_{MAB}^{MA} - \log K_{MB}^M = \log K_{MAB}^{MB} - \log K_{MA}^M \quad (4.1.3-7)$$

Çizelge 4.1.3.1. Cu(II) iyonunun phen, 4-mphen, dmphen ve L-trp ligantları ile oluşturduğu karışık ligant komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitleri ($I=0,1$ M KCl, $t=25, 35$ ve 45°C)

| Sıcaklık | Ligant A | Ligant B | $\log K_{MAB}^M$ | $\log K_{MAB}^{MA}$ | $\log K_{MAB}^{MB}$ | $\Delta \log K$ |
|----------|----------|----------|------------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| 25°C | phen | L-trp | 17,16 * | 10,28* | 9,20* | + 2,32* |
| | 4-mphen | | $17,43 \pm 0,02$ | 10,47 | 9,47 | + 2,51 |
| | dmphen | | 17,69* | 10,12* | 9,73* | + 2,16* |
| 35°C | phen | L-trp | $15,02 \pm 0,02$ | 9,41 | 7,88 | + 2,27 |
| | 4-mphen | | $15,96 \pm 0,02$ | 9,48 | 8,82 | + 2,34 |
| | dmphen | | $16,34 \pm 0,02$ | 9,18 | 9,20 | + 2,06 |
| 45°C | phen | L-trp | $13,84 \pm 0,02$ | 8,69 | 7,25 | + 2,10 |
| | 4-mphen | | $14,89 \pm 0,03$ | 8,82 | 8,30 | +2,23 |
| | dmphen | | $15,28 \pm 0,03$ | 8,51 | 8,69 | +1,92 |

*Grubumuz tarafından yapılan bir tez çalışmasında hesaplanmıştır.

*(İnci ve ark. 2014 ve İnci ve ark. 2016)

4.1.4. Karışık ligant sistemlerinde türlerin dağılımı

Bu çalışmada potansiyometrik verileri ile hesaplanmış olan ligandların protonlanma sabiti değerleri, ikili ve karışık ligand komplekslerinin kararlılık sabiti değerleri SPE bilgisayar programına uygulandı. Tüm karışık ligant sistemlerinde oluşan türlerin dağılımını görebilmek amacıyla, pH'a karşı türlerin dağılımını gösteren grafikler ve bar diyagramları çizildi (Şekil 4.1.4.1– Şekil 4.1.4.7).

Şekil 4.1.4.1 ve 2'de, Cu(II):phen:L-trp sistemi için çizilen farklı sıcaklıklardaki dağılım diyagramlarında; pH=2'de ortamda yaklaşık %40 oranında $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$ kompleksinin, %20 oranında ise $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L-trp})]^+$ kompleksinin olduğu görülmektedir. pH=4 civarında ortamda $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L-trp})]^+$ kompleksinin oranı %87'lere ve pH=5'ten sonra ise %97'lere ulaşmaktadır.

Farklı sıcaklıklarda, Cu(II):4-mphen:L-trp sistemi için çizilen dağılım diyagramlarına bakıldığında; pH=2 civarında ortamda $[\text{Cu}(4\text{-mphen})]^{2+}$ kompleksi yaklaşık %43 oranında mevcut iken, $[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{L-trp})]^+$ kompleksinin %25-30 oranında olduğu görülmektedir (Şekil 4.1.4.3 – Şekil 4.1.4.5). $[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{L-trp})]^+$ kompleksinin oranı pH'ın artmasıyla artmakta ve pH=5'ten itibaren %98'lere ulaşmaktadır.

Şekil 4.1.4.6 ve Şekil 4.1.4.7'de Cu(II):dmphen:L-trp sistemi için çizilen dağılım diyagramlarına bakıldığında ise; pH=2'de ortamda yaklaşık olarak %51-58 oranında $[\text{Cu}(\text{dmphen})]^{2+}$ kompleksinin, %16 oranında ise $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{L-trp})]^+$ kompleksinin olduğu görülmektedir. pH=4 civarında ortamda $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{L-trp})]^+$ kompleksinin oranı %88'lere ve pH=5'ten sonra ise %96'lara ulaşmaktadır.

4.1.5. Termodinamik parametrelerin belirlenmesi

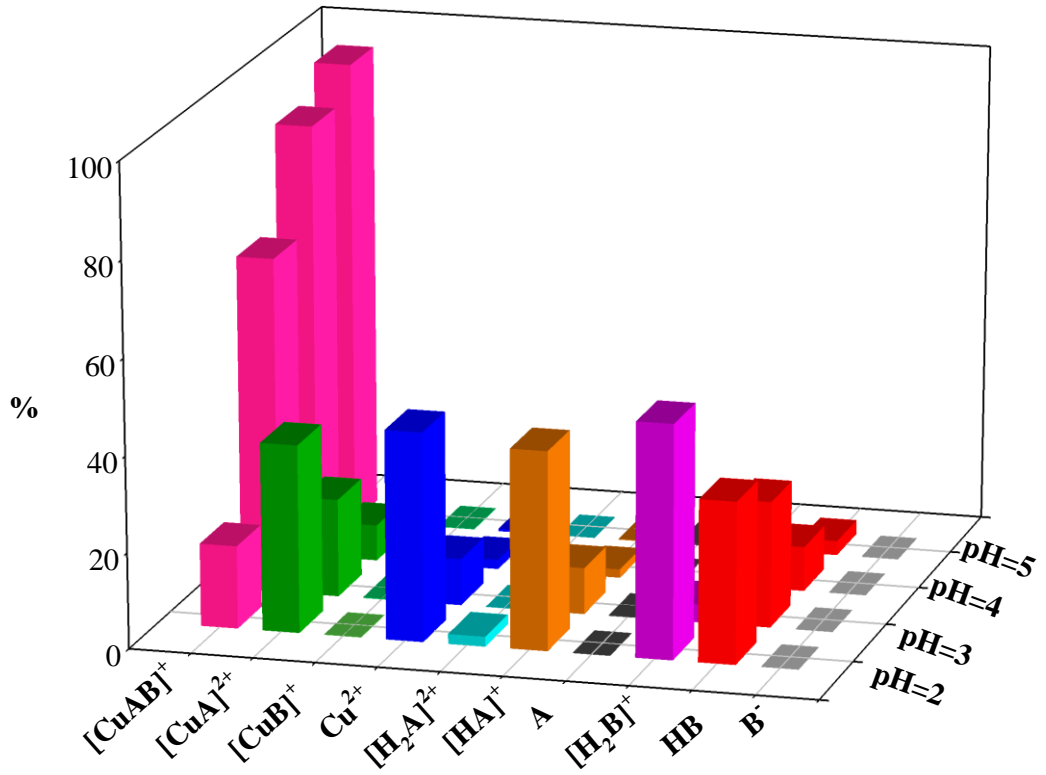
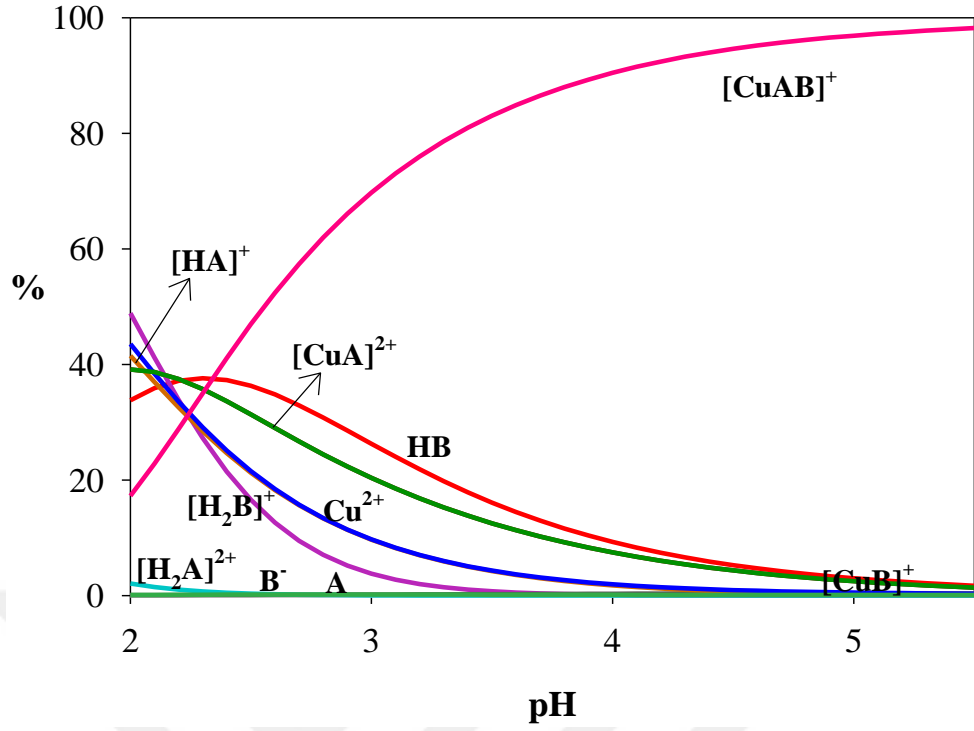
Farklı sıcaklıklarda, ikili ve karışık ligant kompleksleri için hesaplanan kararlılık sabiti değerlerinden termodinamik parametreleri (ΔH , ΔS ve ΔG) belirlemek için, aşağıda verilen (4.1.5-1) ve (4.1.5-2) eşitlikleri birleştirildi ve (4.1.5-3) eşitliği elde edildi.

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (4.1.5-1)$$

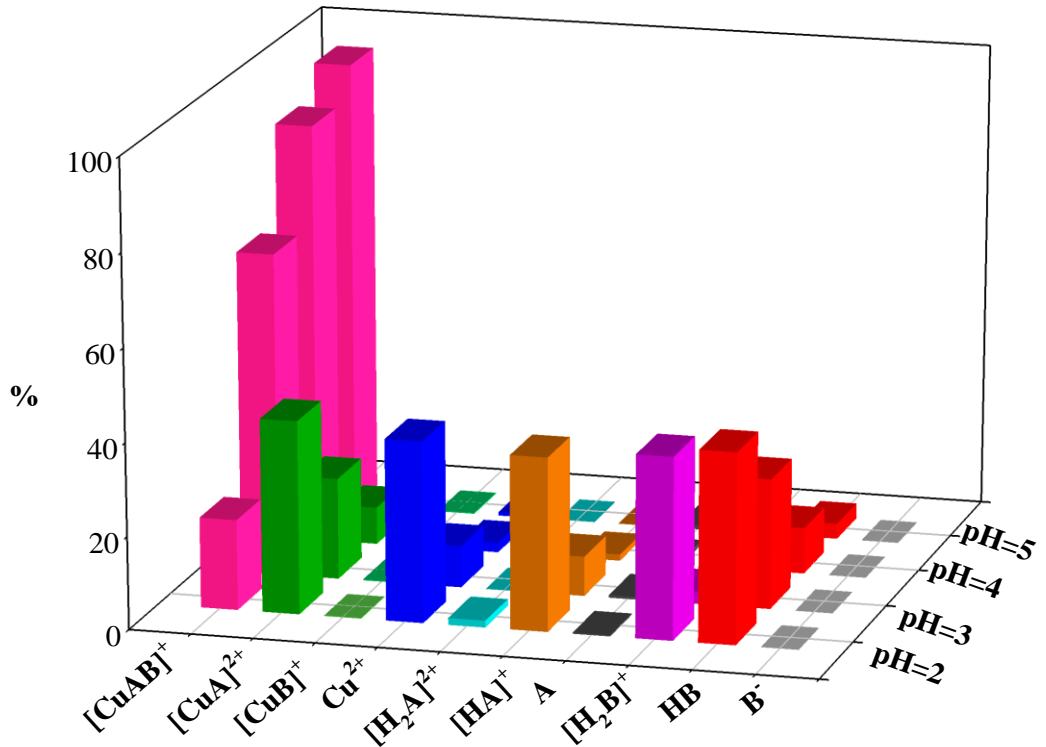
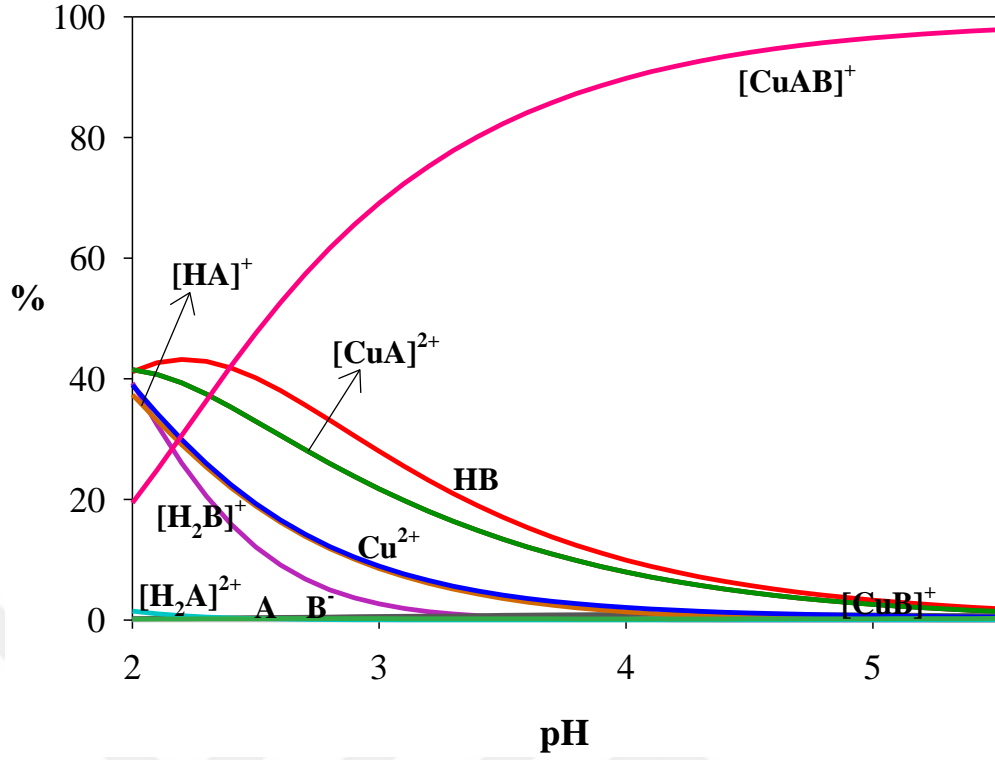
$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (4.1.5-2)$$

$$\ln K = (-\Delta H/R) (1/T) + (\Delta S/R) \quad (4.1.5-3)$$

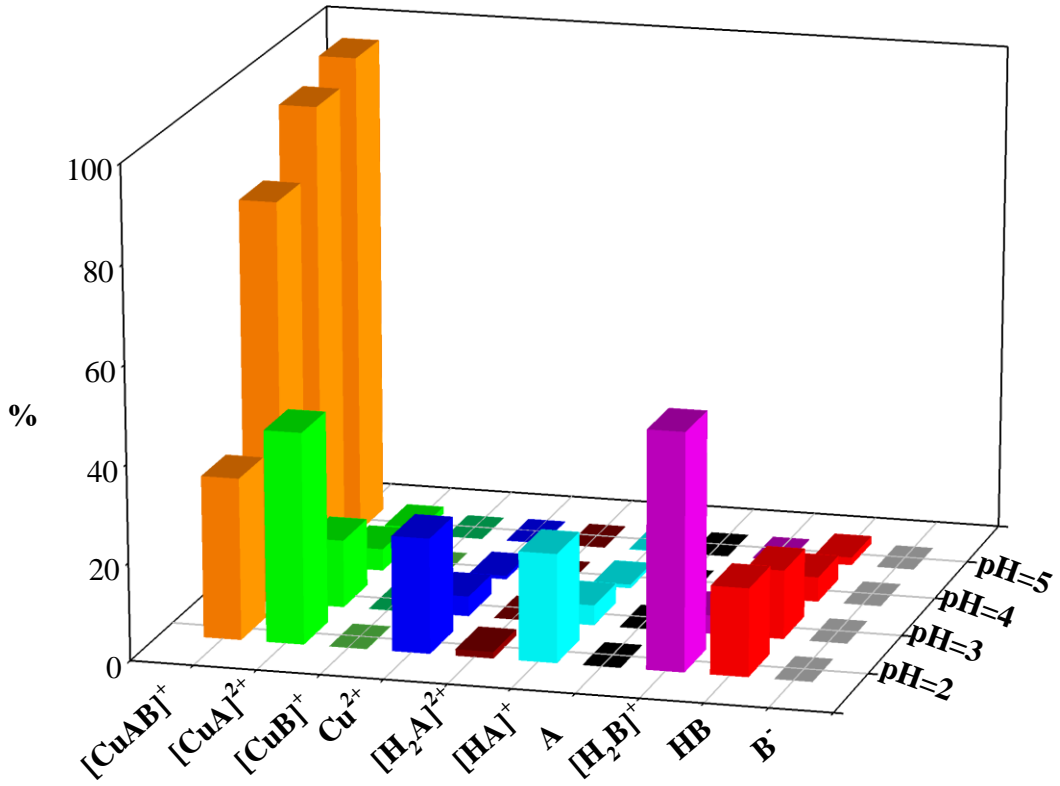
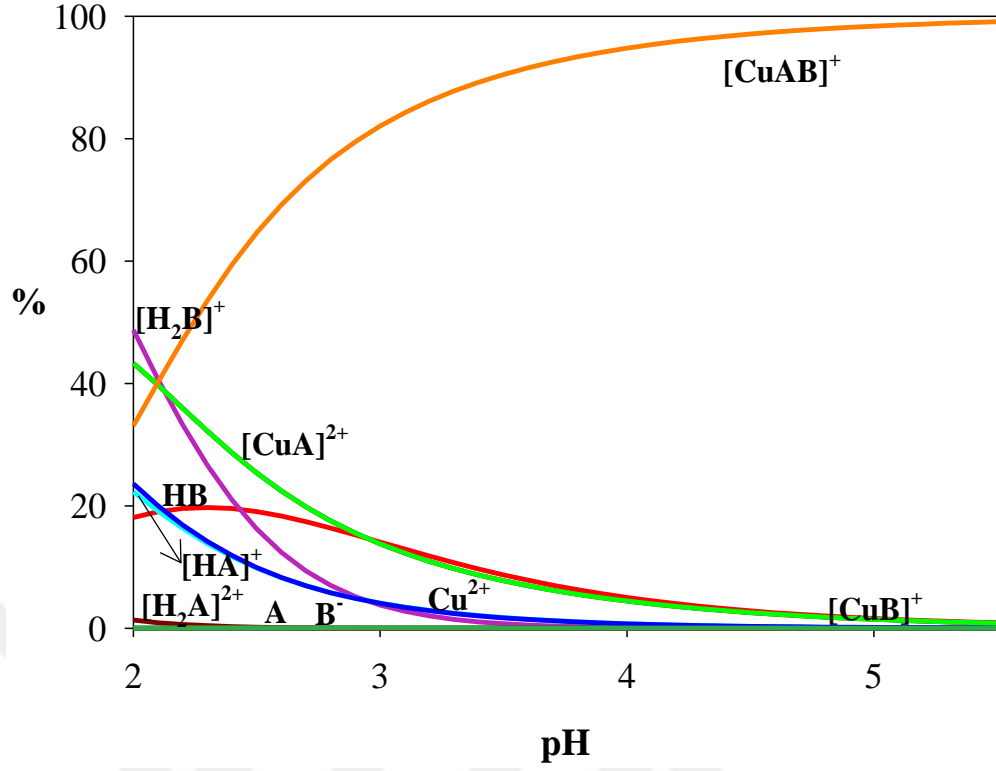
4.1.5-3 eşitliğinden yararlanarak, 1/T değerlerine karşı farklı sıcaklıklarda hesaplanan lnK değerleri grafiğe geçirildi. Elde edilen doğru bize, ΔH değerinin farklı sıcaklıklarda sabit olduğunu gösterdi. Tüm sistemler için çizilen grafiklerde, bu doğrunun eğiminden $(-\Delta H/R)$ ΔH değerleri, kesim noktasından $(\Delta S/R)$ ise ΔS değerleri belirlendi. ΔH ve ΔS 'nin belirlenen değerleri ile 25°C sıcaklık için ΔG değerleri hesaplandı. (Çizelge 4.1.5.1 ve Çizelge 4.1.5.2).



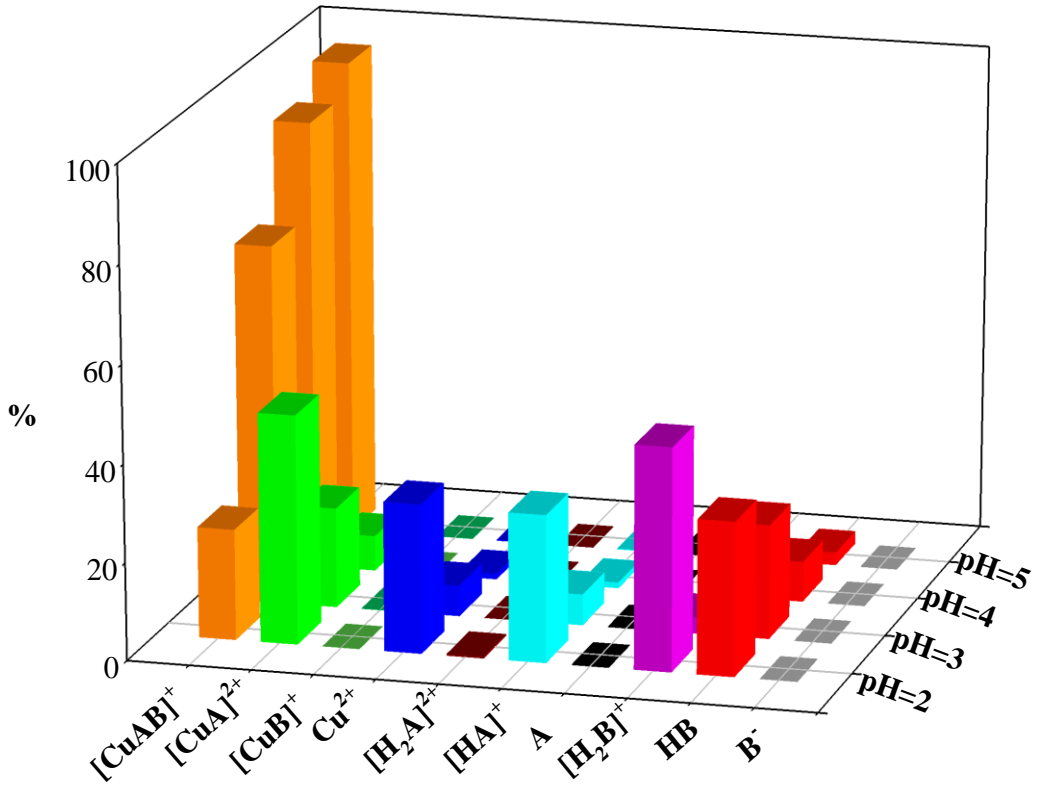
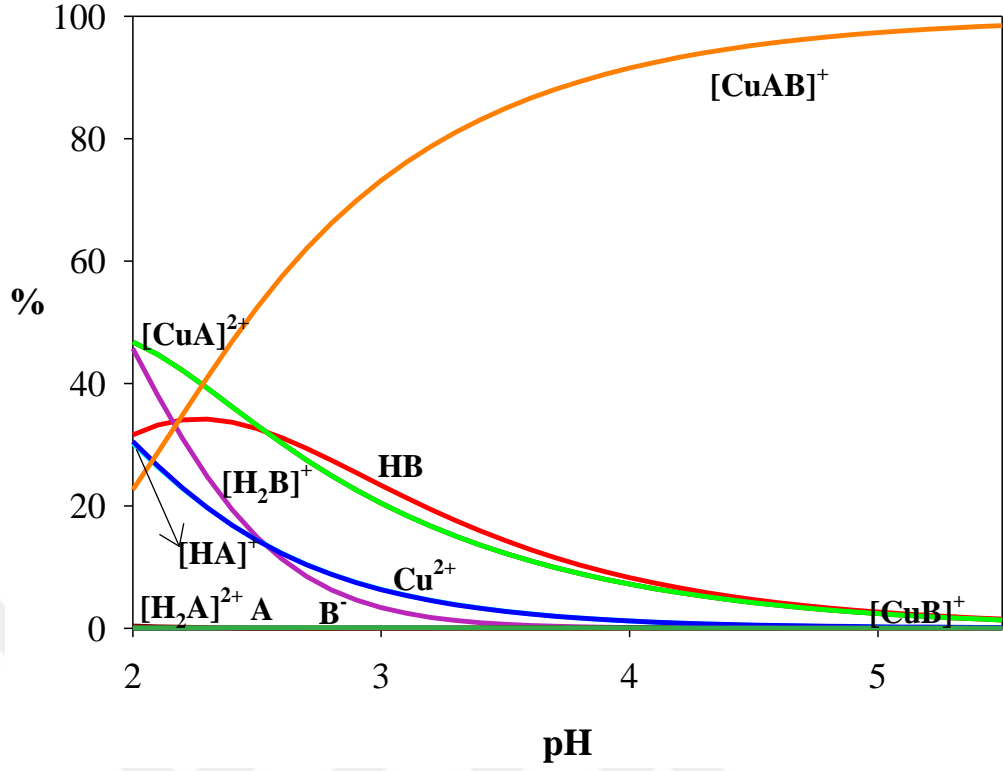
Şekil 4.1.4.1. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):phen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği ($t=35^{\circ}\text{C}$)



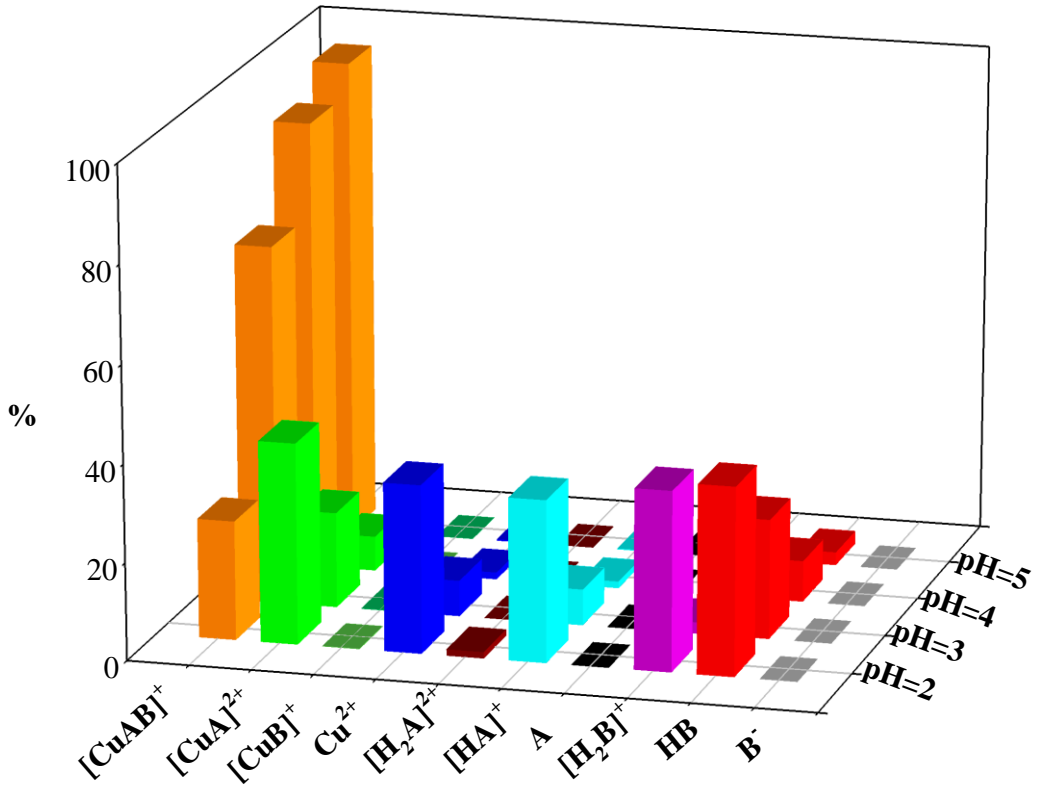
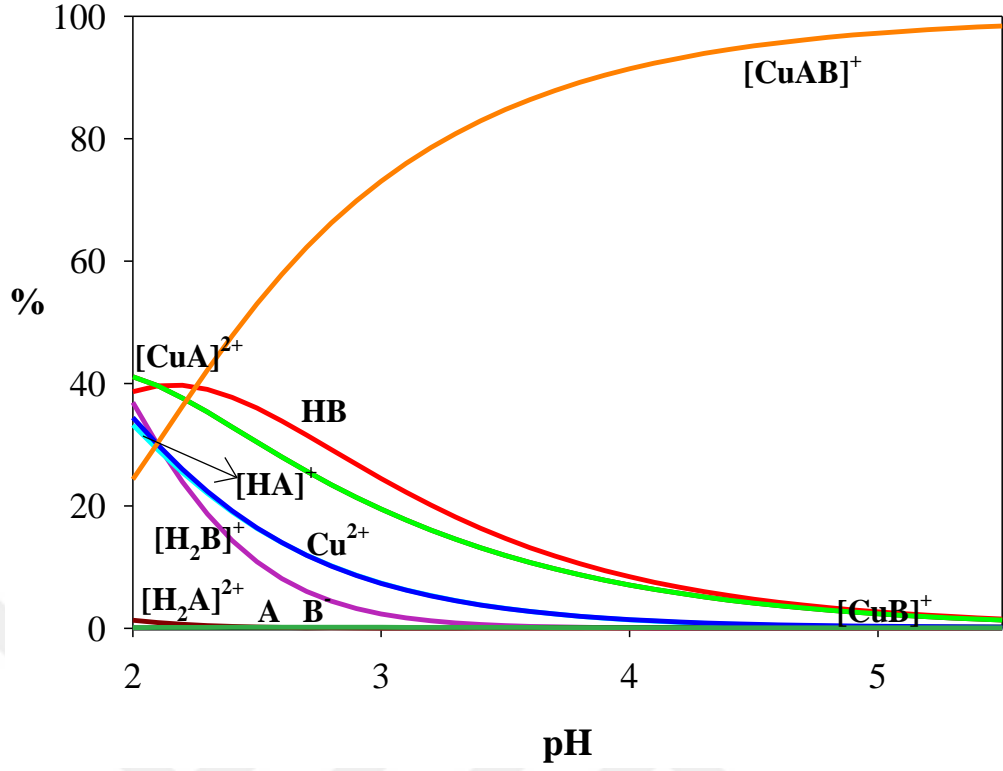
Şekil 4.1.4.2. pH'ın bir fonksiyonu olarak Cu(II):phen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t=45°C)



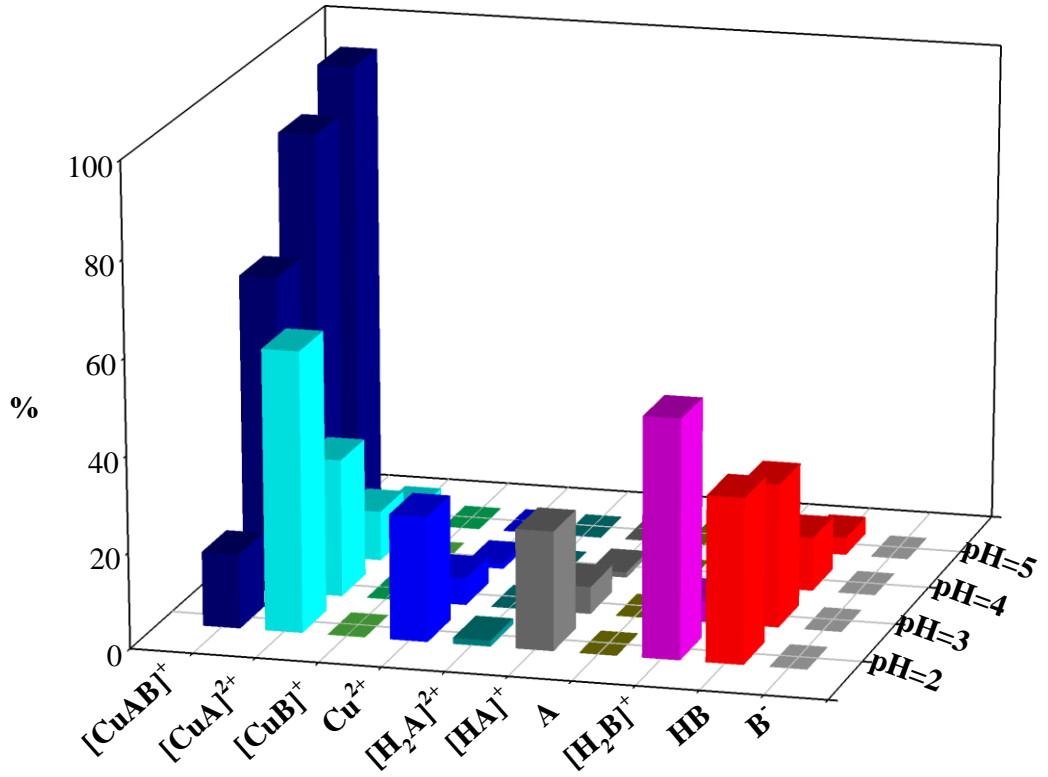
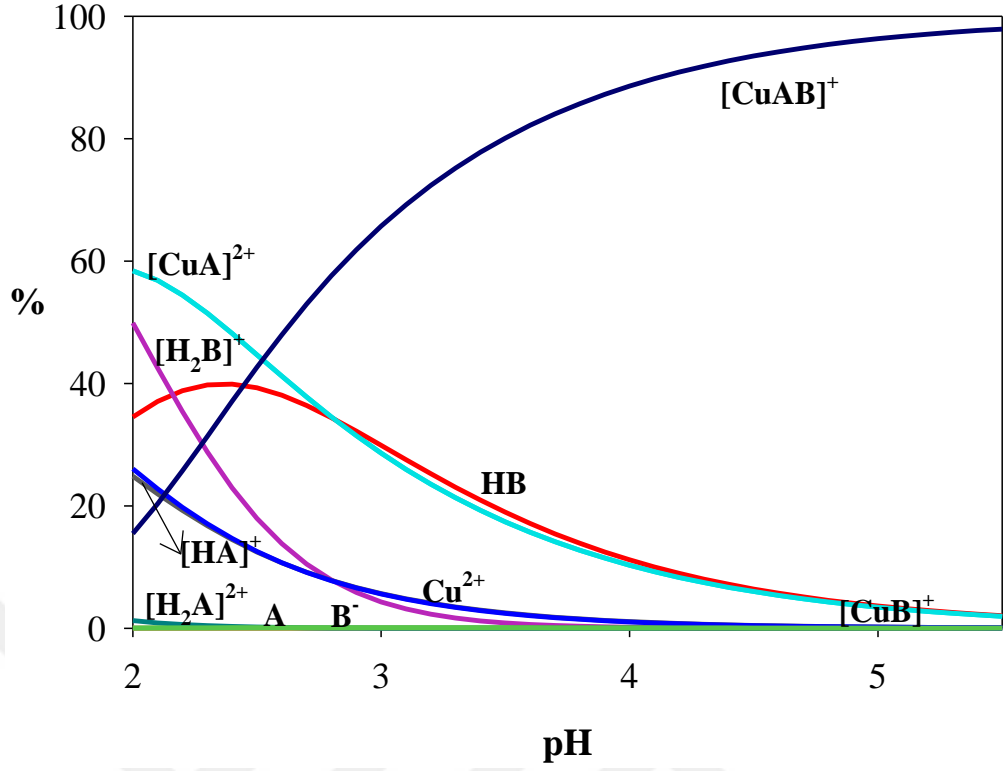
Şekil 4.1.4.3. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):4-mphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği ($t=25^{\circ}\text{C}$)



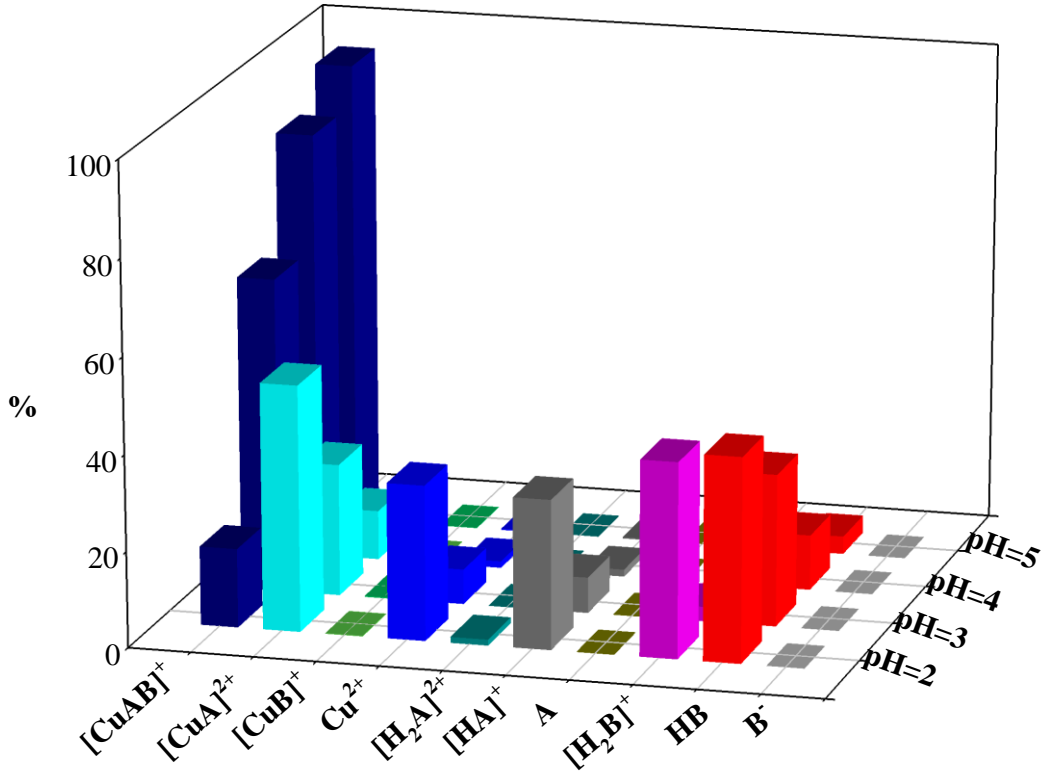
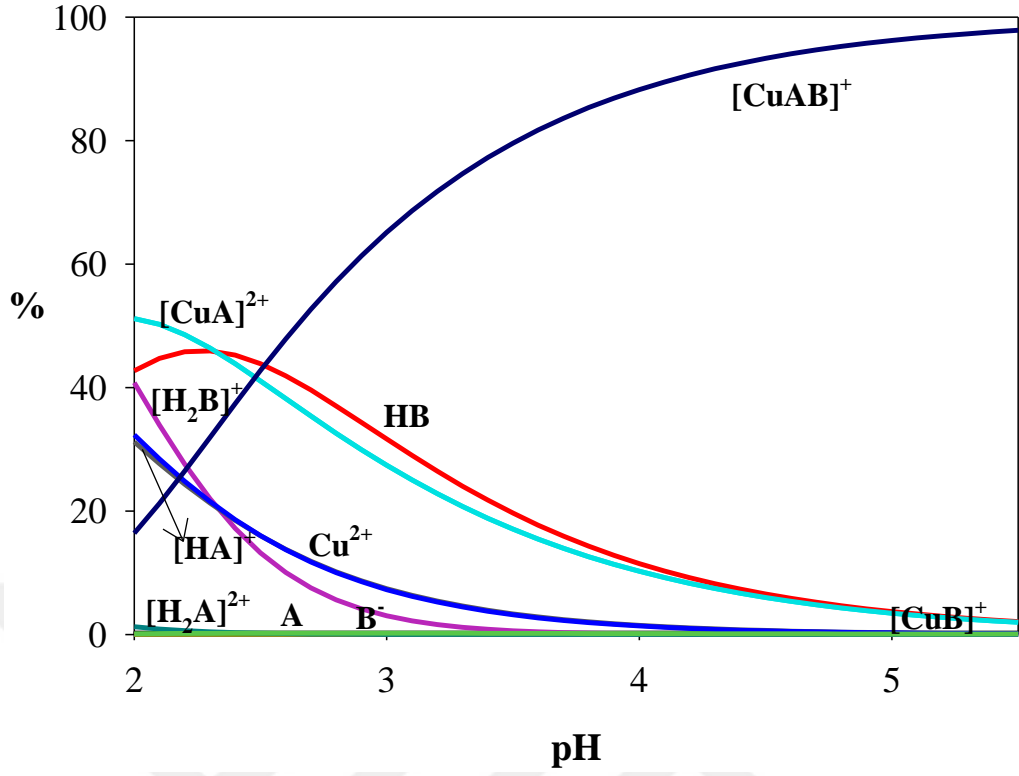
Şekil 4.1.4.4. pH'in bir fonksiyonu olarak Cu(II):4-mphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t=35°C)



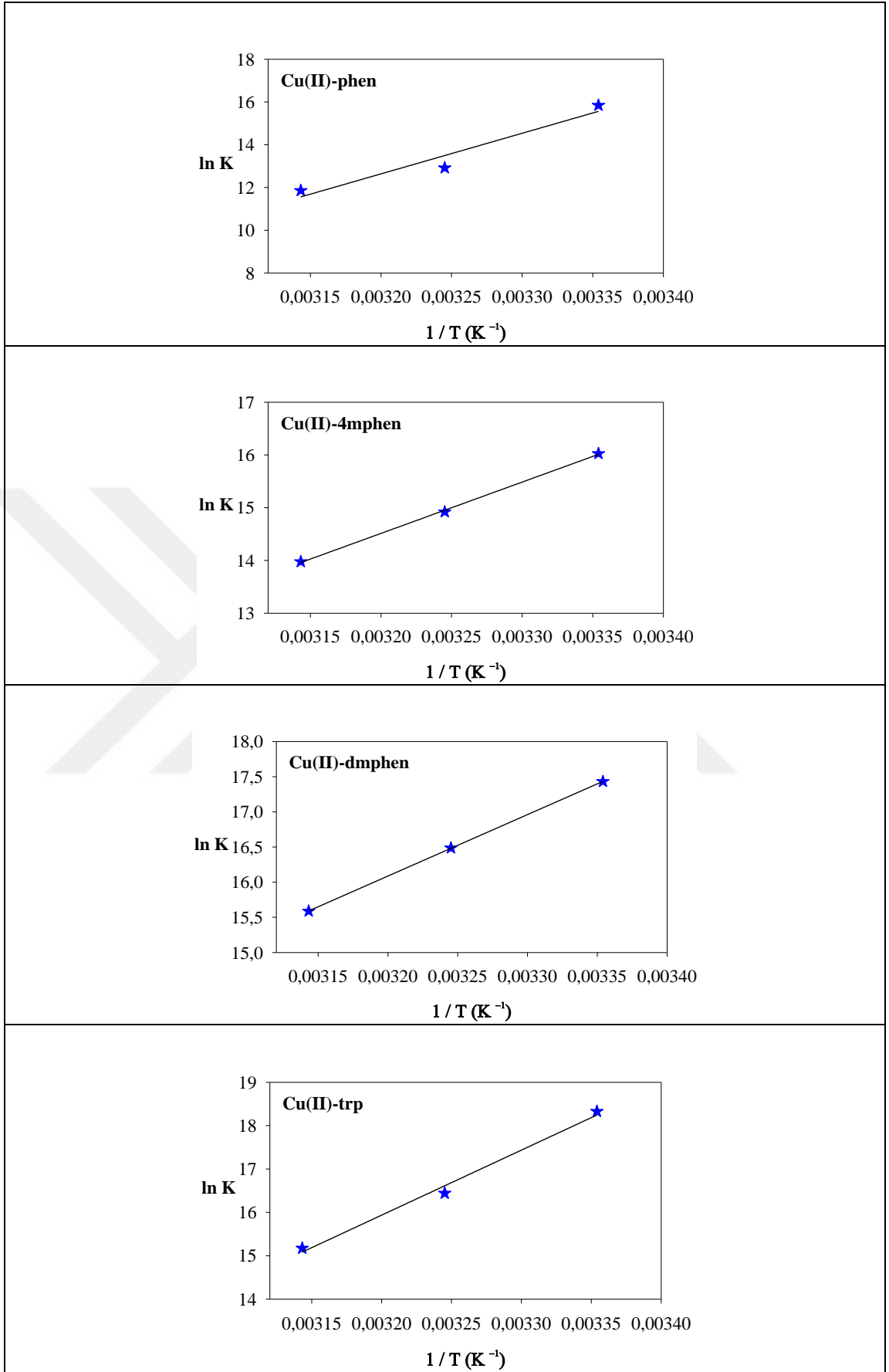
Şekil 4.1.4.5. pH'in bir fonksiyonu olarak Cu(II):4-mphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t=45°C)



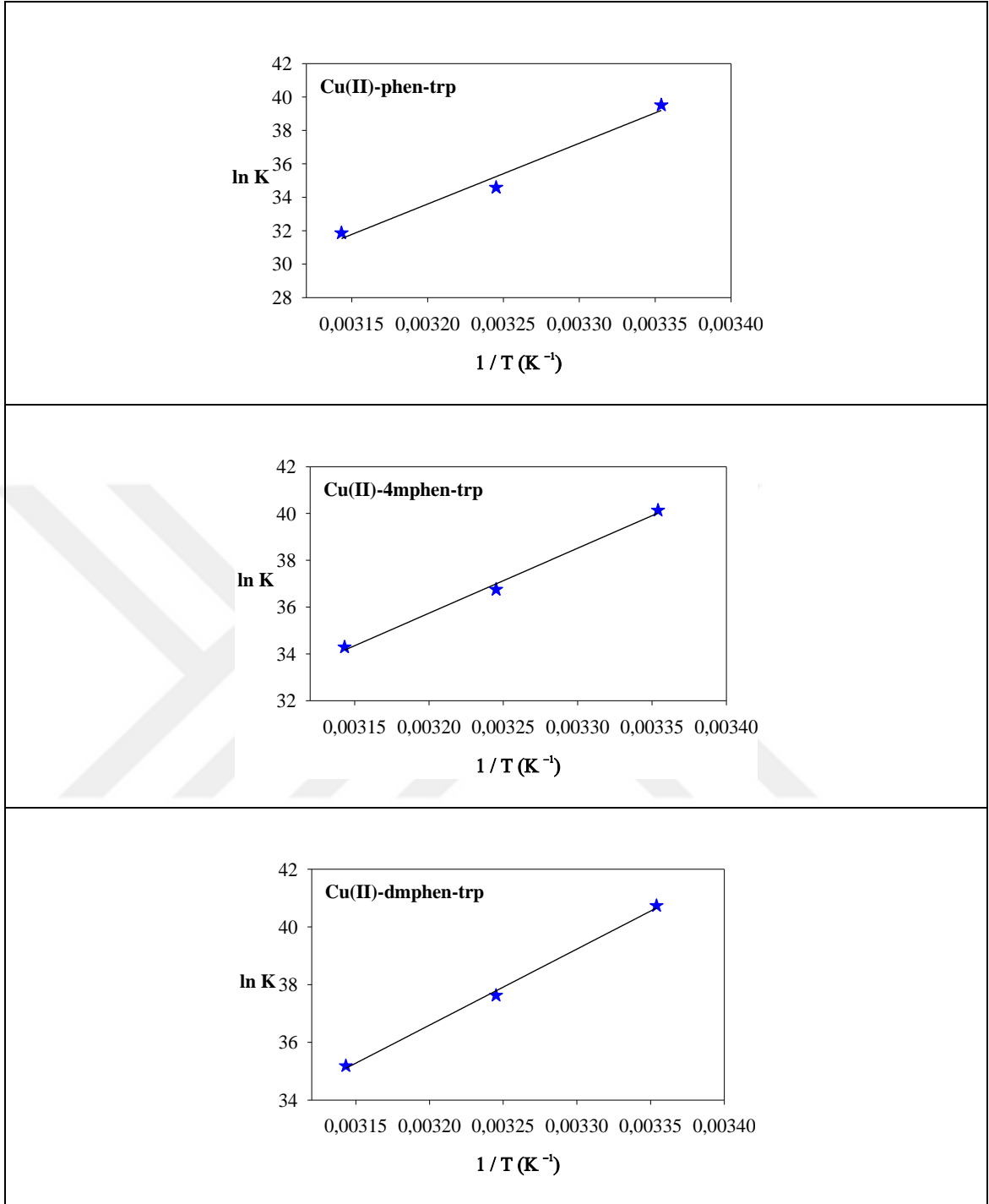
Şekil 4.1.4.6. pH'nin bir fonksiyonu olarak Cu(II):dmphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği ($t=35^{\circ}\text{C}$)



Şekil 4.1.4.7. pH'ın bir fonksiyonu olarak Cu(II):dmphen:L-trp sisteminde oluşan türlerin dağılım diyagramı ve bar grafiği (t=45°C)

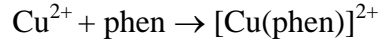


Şekil 4.1.5.1. İkili komplekslerin farklı sıcaklıklarda hesaplanan lnK değerlerinin 1/T'ye karşı çizilmiş grafikleri



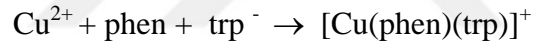
Şekil 4.1.5.2. Karışık ligant komplekslerinin farklı sıcaklıklarda hesaplanan lnK değerlerinin 1/T'ye karşı çizilmiş grafikleri

Çizelge 4.1.5.1. Cu(II) iyonunun phen, 4-mphen, dmphen ve L-trp ligandları ile oluşturduğu ikili komplekslerin oluşum tepkimelerinin termodinamik parametreleri



| İkili kompleksler | $\Delta H(\text{kJ/mol})$ | $\Delta S(\text{J/K.mol})$ | $\Delta G(\text{kJ/mol}), 25^\circ\text{C}$ |
|------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---|
| $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$ | -157,73 | -399,61 | -38,59 |
| $[\text{Cu}(4\text{-mphen})]^{2+}$ | -80,79 | -137,86 | -39,69 |
| $[\text{Cu}(\text{dmphen})]^{2+}$ | -72,58 | -98,48 | -43,22 |
| $[\text{Cu}(\text{trp})]^+$ | -124,53 | -265,97 | -45,23 |

Çizelge 4.1.5.2. Cu(II) iyonunun phen, 4-mphen, dmphen ve L-trp ligandları ile oluşturduğu karışık ligant komplekslerinin oluşum tepkimelerinin termodinamik parametreleri



| Karışık ligant kompleksleri | $\Delta H(\text{kJ/mol})$ | $\Delta S(\text{J/K.mol})$ | $\Delta G(\text{kJ/mol}), 25^\circ\text{C}$ |
|---|---------------------------|----------------------------|---|
| $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]^+$ | -302,07 | -687,30 | -97,15 |
| $[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]^+$ | -230,78 | -441,32 | -99,20 |
| $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})]^+$ | -218,88 | -396,09 | -100,78 |

4.2. Sentezlenen Komplekslerin Yapılarının Aydınlatılması

Bu çalışmada, nötral ligant olarak fenantrolin türevlerinden 1,10-fenantrolin, 4-metil-1,10-fenantrolin ve 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin ve anyonik ligant olarak ise L-triptofanat ligantlarının Cu(II) iyonu ile oluşturduğu karışık ligant kompleksleri sentezlendi. Kompleksler kristal halde elde edildi ve yapıları; elementel analiz, elektronik absorpsiyon spektroskopisi, IR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatıldı.

4.2.1. Fiziksel özellikler

Sentezlenen komplekslerin fiziksel özellikleri (renk, erime (bozunma) sıcaklığı ve molekül kütlesi) (Çizelge 4.2.1.1)'de verildi. Kompleksler su, etanol ve metanolde çok iyi çözünmektedir.

Çizelge 4.2.1.1. Komplekslerin renk, erime (bozunma) sıcaklığı ve molekül kütlesi

| Kompleksler | Renk | Erime (bozunma) sıcaklığı (°C) | Molekül kütlesi (g/mol) |
|--|------------|--------------------------------|-------------------------|
| Kompleks 1 $C_{23}H_{25}ClCuN_4O_9$ | Koyu yeşil | 271 | 600,46 |
| Kompleks 2 $C_{24}H_{27}ClCuN_4O_9$ | Koyu mavi | 280 | 614,48 |
| Kompleks 3 $C_{51}H_{50}Cu_2N_{10}O_{11}$ | Yeşil | 243 | 1106,09 |

Kompleks 1: $\{[Cu(phen)(trp)]ClO_4 \cdot 3H_2O\}_n$ Kompleks 2: $\{[Cu(4-mphen)(trp)]ClO_4 \cdot 3H_2O\}_n$
Kompleks 3: $[[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO_3)]]NO_3$

4.2.2. Elementel analiz

Sentezlenen komplekslerin elementel analiz (C, H ve N) sonuçları, (Çizelge 4.2.2.1)'de verildi. Sonuçların, hesaplanan değerler ile uyum içinde olduğu görüldü.

Çizelge 4.2.2.1. Komplekslerin elementel analiz sonuçları

| Kompleksler | % Bileşim | | |
|-------------|---------------|-------------|---------------|
| | C | H | N |
| Kompleks 1 | 46,36 (46,00) | 4,02 (4,20) | 9,44 (9,33) |
| Kompleks 2 | 46,44 (46,91) | 4,22 (4,41) | 9,18 (9,12) |
| Kompleks 3 | 51,46 (55,38) | 4,32 (4,56) | 12,64 (12,66) |

Hesaplanan değerler parantez içinde verilmiştir.

Kompleks 1: {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n Kompleks 2: {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n

Kompleks 3: [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]NO₃

4.2.3. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi

Sentezlenen komplekslerin belli derişimlerde (20µM-1000µM) ve uygun çözücü içerisinde (Tris-HCl/NaCl) çözeltileri hazırlandı ve elektronik absorpsiyon spektrumları alındı. Elektronik absorpsiyon spektrumlarına ait veriler (Çizelge 4.2.3.1)'de özetlendi.

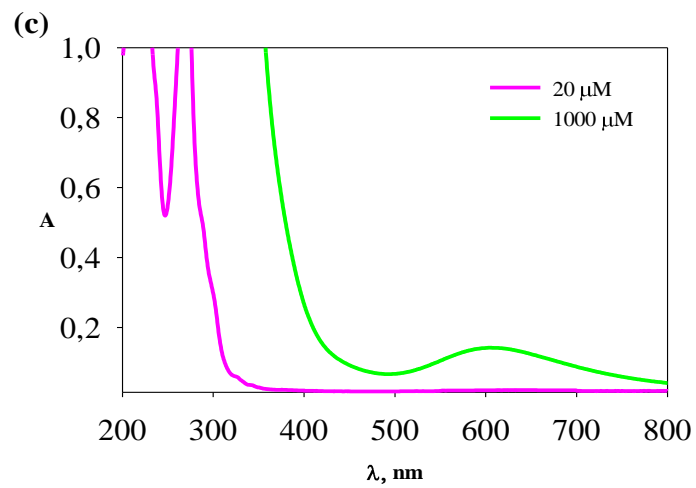
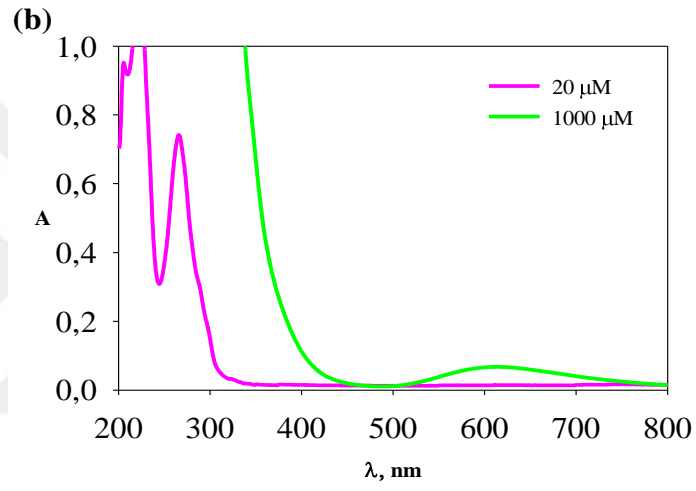
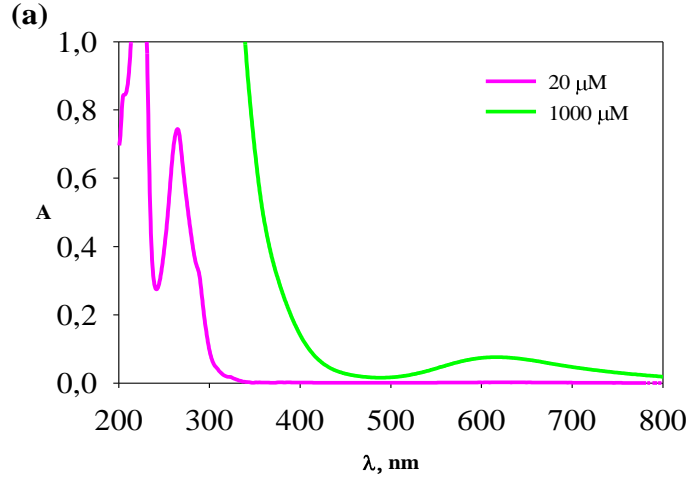
Çizelge 4.2.3.1. Sentezlenen komplekslerin elektronik absorpsiyon spektrumlarına ait veriler

| Kompleksler | Çözücü | λ _{mak} (nm) | ε (L/mol.cm) | d-d geçişleri λ _{mak} (nm) | ε (L/mol.cm) |
|-------------|---------------|-----------------------|--------------|-------------------------------------|--------------|
| Kompleks 1 | Tris-HCl/NaCl | 265 | 37220 | 614 | 76,1 |
| Kompleks 2 | Tris-HCl/NaCl | 266 | 37085 | 615 | 67,5 |
| Kompleks 3 | Tris-HCl/NaCl | 272 | 60400 | 606 | 142,1 |

Kompleks 1: {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n Kompleks 2: {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n

Kompleks 3: [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]NO₃

Komplekslerin elektronik absorpsiyon spektrumları incelendiğinde, 200-280 nm aralığında phen, 4-mphen, dmphen, L-trp ligantlarına ait yüksek şiddetli n→π* ve π→π* geçişlerini gösteren yüksek absorbans değerleri görülmektedir. Sentezlenen Cu(II) komplekslerinin her birinde, görünür bölgenin 550-650 nm dalga boyu aralığında daha düşük absorbans değerleri gözlemlendi. Bu bölgedeki absorpsiyon, d⁹ elektronik yapısına sahip Cu(II) iyonunun görünür bölgedeki d-d geçişlerine aittir (Şekil 4.2.3.1).



Şekil 4.2.3.1. Komplekslerin elektronik absorpsiyon spektrumları; **a)** $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]^+$
b) $[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]^+$ **c)** $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})]^+$ $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]^+$

4.2.4. İnfrared (IR) çalışmaları

Komplekslerin IR spektrumlarındaki karakteristik bantlar belirlendi ve yapılarıyla spektrumlar arasında ilişki kurulmaya çalışıldı. Komplekslerin IR spektrumları (Şekil 4.2.4.1 – Şekil 4.2.4.3)'te ve spektrumlardan elde edilen önemli gerilme ve eğilme titreşimlerine ait frekans değerleri ise (Çizelge 4.2.4.1)'de verildi.

Alınan spektrumlarda, 1625-1610 cm^{-1} bölgesinde karakteristik $\nu(\text{C}=\text{N})$ bandı görülmekte ve bandın 1605-1578 cm^{-1} bölgesindeki düşük frekanslara kayması; phen, 4-mphen ve dmphen ligandlarının Cu(II) iyonuna azot atomlarından koordine olduğunu göstermektedir. 850-700 cm^{-1} aralığındaki titreşim bantları ise, fenantrolin halkasındaki azot atomlarının koordine kovalent bağ ile Cu(II) iyonuna koordine olduğunu belirten diğer bir sonuçtur (Jin ve ark. 1997).

Serbest amino asitler $\nu(\text{COO}^-)$ (1660-1610 cm^{-1}) bölgesinde asimetric ve $\nu(\text{COO}^-)$ (1430-1395 cm^{-1}) bölgesinde ise simetric gerilme titreşimleri gibi karakteristik pikler verirler. Kompleksleşme sırasında ise bu piklerin düşük ve yüksek dalga frekansına kayması kompleksleşmenin amino aside ait karboksilat grubundan olduğuna işaret eder. 1425-1350 cm^{-1} bölgesindeki simetric $\nu(\text{COO}^-)$ gerilme bandı, L-trp ligandının karboksilat grubundaki oksijeninden Cu(II) iyonuna koordine olduğunu göstermektedir (Herlinger ve ark. 1970, Condrate ve ark. 1965). Ayrıca metale koordine olan L-trp ligandındaki amin grubuna ait N-H gerilme titreşimlerinin 3280-3100 cm^{-1} bölgesinde zayıf pikler verdiği görülmektedir.

Süstitüe metil grubu içeren 4-mphen ve dmphen ligandlarının en karakteristik bandı, 1446-1376 cm^{-1} 'de gözlenen metil grubuna ait, $\delta(\text{CH}_3)$, düzlem içi eğilme titreşimleridir. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ ve $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ komplekslerinde bu bantlar sırasıyla, 1366 ve 1337 cm^{-1} de görülmektedir.

Komplekslerin her birinin spektrumunda, 3050-2900 cm^{-1} aralığında görülen orta kuvvette veya zayıf bantlar aromatik ve alifatik C-H gerilme titreşimlerinden

kaynaklanmaktadır. Yine her bir kompleksin spektrumunda, 1500-700 cm^{-1} aralığında görülen C–N titreşimleri ve 1800-1500 cm^{-1} aralığında görülen C=C titreşimleri mevcuttur.

$\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ ve $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ komplekslerinin spektrumlarında $\nu(\text{OH})$ (3600-3400 cm^{-1}) titreşimlerine ait karakteristik pikler görülmektedir. Bunlar, metale koordine olmamış kristal suyuna ait O–H gerilme titreşimlerine aittir. Bu iki kompleksin spektrumlarında sırasıyla 1085 ve 1082 cm^{-1} 'de gözlenen pikler ise, komplekslerin yapısında bulunan ClO_4^- iyonuna ait piklerdir.

$[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin spektrumuna bakıldığında kompleksin yapısında bulunan NO_3^- iyonuna ait karakteristik keskin nitrat piki, 1323 cm^{-1} 'de görülmektedir. Ayrıca kompleksin yapısında bulunan alkol gruba ait C–O gerilme titreşimi ise 1109 cm^{-1} 'de gözlenmektedir.

Çizelge 4.2.4.1. Sentezlenen komplekslerin seçilmiş IR spektrum verileri

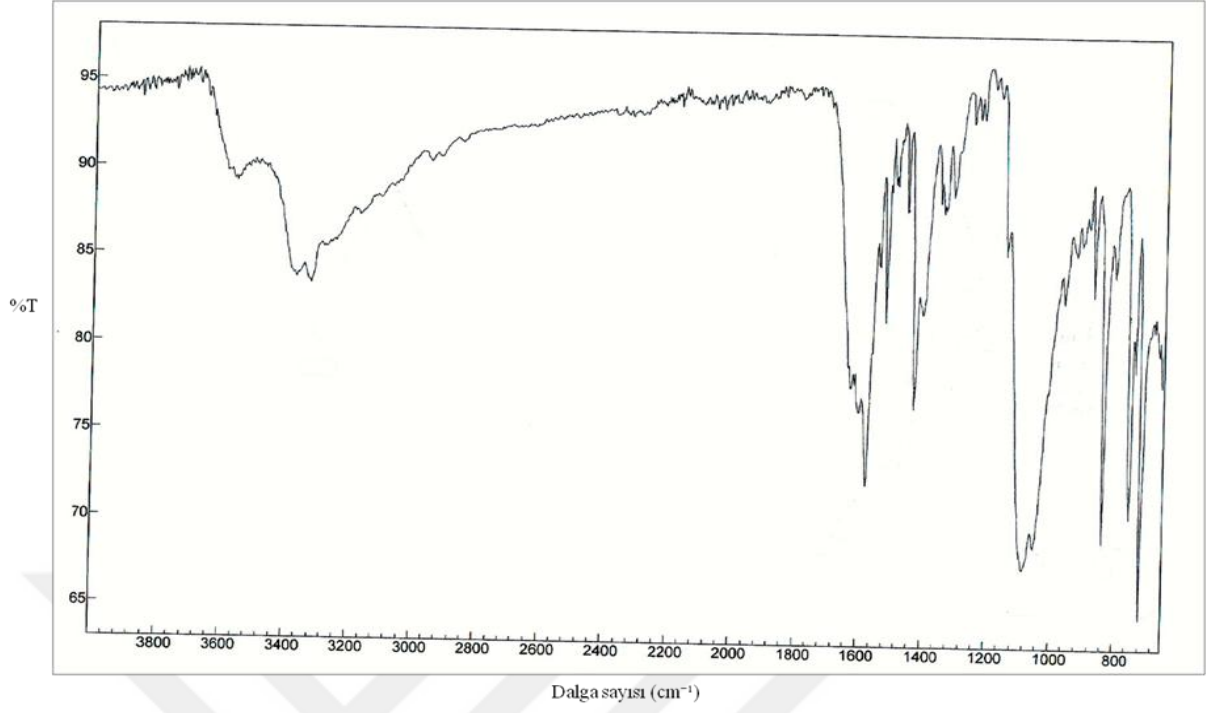
| Kompleksler | $\nu(\text{OH})$ | $\nu(\text{NH})$ | $\nu_{\text{asim}}(\text{COO}^-)$ | $\nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-)$ | $\delta(\text{CH}_3)$ | $\nu(\text{C}=\text{N})$ | $\nu(\text{NO}_3)$ | $\nu(\text{ClO}_4)$ |
|-------------|------------------|------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------|---------------------|
| Kompleks 1 | 3580y 3323o | 3173z | 1615z | 1430k | - | 1580o | - | 1085k |
| Kompleks 2 | 3610y 3400y | 2916z | 1608z | 1433k | 1337o | 1579k | - | 1082k |
| Kompleks 3 | - | 3160z 3225z | 1610o | 1427o | 1366o | 1579k | 1323k | - |

y: yayvan, k: kuvvetli, o: orta, z: zayıf

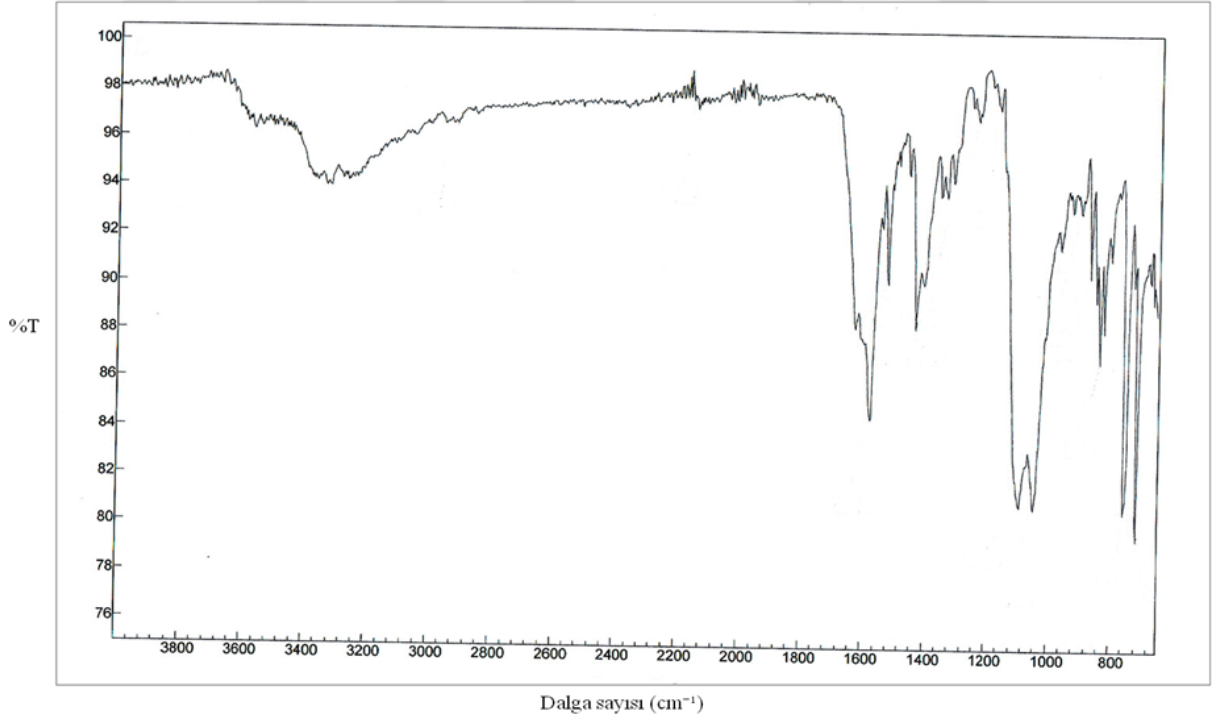
Kompleks 1: $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$

Kompleks 2: $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$

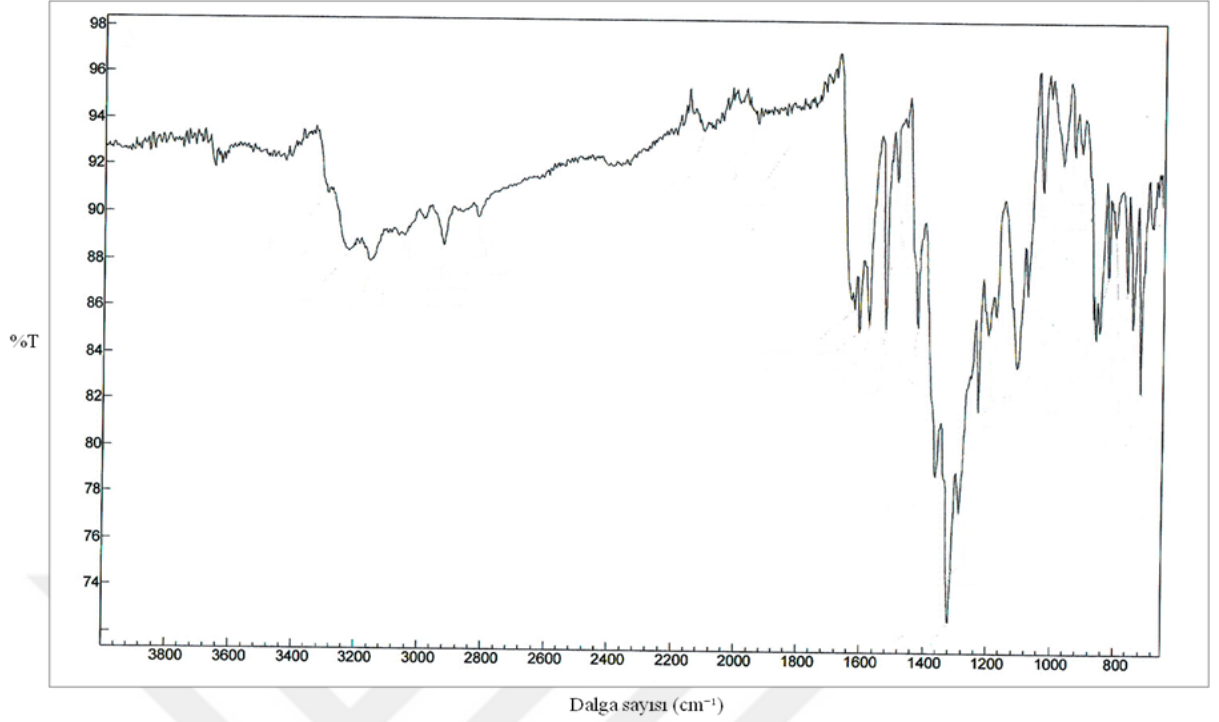
Kompleks 3: $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$



Şekil 4.2.4.1. $[[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]_n$ kompleksinin IR spektrumu



Şekil 4.2.4.2. $[[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]_n$ kompleksinin IR spektrumu



Şekil 4.2.4.3. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin IR spektrumu

4.2.5. Tek kristal X-ışını kırınım yöntemi çalışmaları

Tek kristali elde edilen $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$, $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ ve $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ komplekslerinin molekül yapıları, tek kristal X-ışını kırınım yöntemiyle aydınlatıldı. Komplekslerin molekül yapıları, (Şekil 4.2.5.1.1, Şekil 4.2.5.1.4 ve Şekil 4.2.5.2-1)'de verildi.

4.2.5.1. $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ ve $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ komplekslerinin tek kristal X-ışını yapı analizleri

$\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ (1) ve $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ (2) komplekslerinin kristal yapıları (Şekil 4.2.5.1.1 ve Şekil 4.2.5.1.4)'te gösterildi. Komplekslerin kristalografik verileri ise, (Çizelge 4.2.5.2.1)'de verildi.

$\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinde asimetrik birim hücre, 1 tane Cu(II) iyonu, 1 tane phen ligandı, 1 tane trp ligandı, 1 tane koordine olmayan perklorat anyonu

ve 3 tane kristal örgü su molekülünden oluşmuştur. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinde ise asimetrik birim hücre, 1 tane Cu(II) iyonu, 1 tane 4-mphen ligandı, 1 tane Trp ligandı, 1 tane koordine olmayan perklorat anyonu ve 3 tane kristal örgü su molekülünden oluşmuştur.

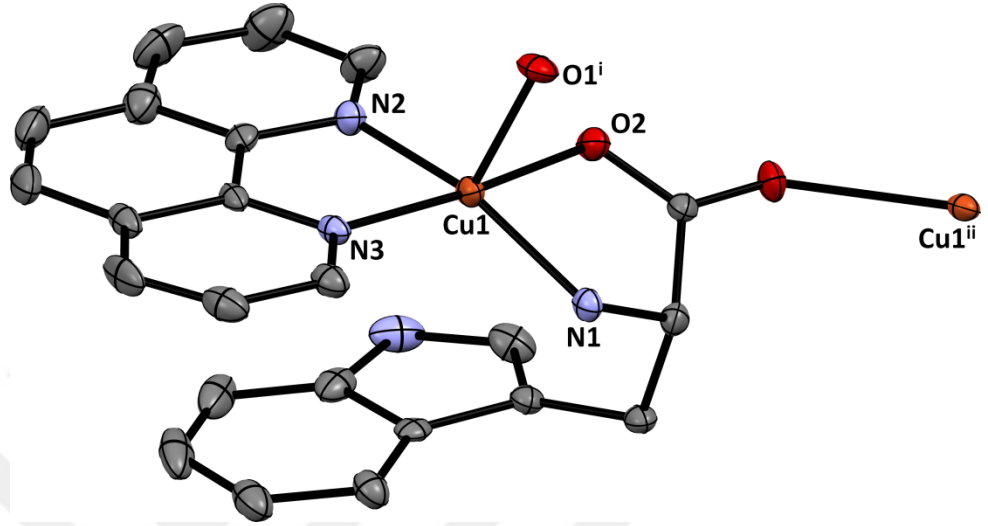
Her iki kompleksinde ortorombik kiral uzay grubunda ($P2_12_12_1$) kristallendiği bulunmuştur. Komplekler benzer yapıda olup, tek boyutlu koordinasyon polimeri şeklinde bulunurlar. Polimerizasyon, komşu triptofan ligandında bulunan karbonil oksijeninin (O1) merkez Cu(II) merkez iyonuna koordinasyonu şeklindedir $[\text{Cu1}-\text{O1}^i]$ (Şekil 4.2.5.1.2 ve Şekil 4.2.5.1.5). Komplekslerin ikisinde de merkez Cu(II) iyonu 5 koordinasyonlu, bozulmuş kare piramidal geometridedir (CuN_3O_2). Koordinasyon; trp ligandının amino grubundaki azot atomu ve karboksil grubundaki oksijen atomundan, phen ve 4-mphen ligandlarının 2 tane N-verici atomlarından ve aksiyal pozisyonundaki komşu trp ligandının ise 1 tane karbonil oksijeninden (O1) Cu(II) merkez iyonuna bağlanması ile gerçekleşmiştir.

Kristal yapıları gösterilen komplekslerde, koordine Trp ligandının yapısında bulunan aromatik halka ile phen ve 4-mphen ligandlarının yapısında yer alan aromatik halkalar arasında molekül içi aromatik halka etkileşimi olduğu belirlenmiştir.

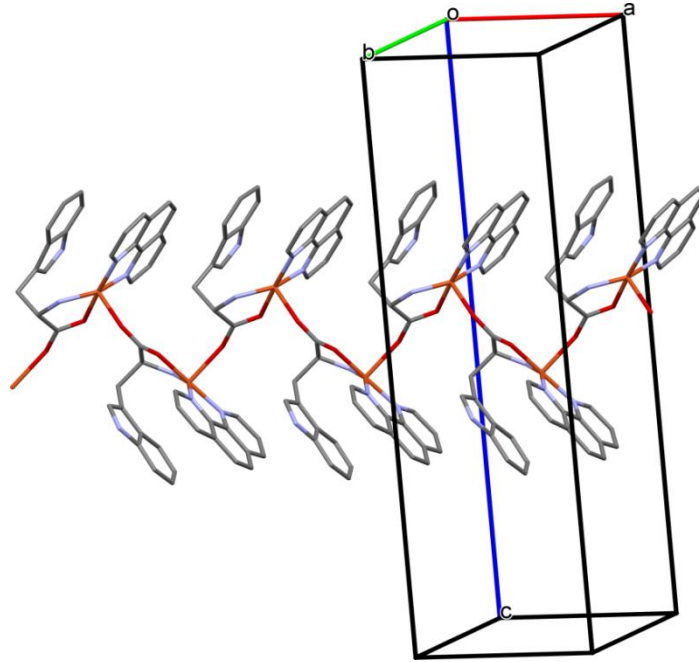
Komplekslerin koordinasyon geometrileri Addison tau-descriptor (τ_5) parametre değeri ile belirlenmektedir ($\tau_5 = \beta - \alpha/60$; ideal kare piramit geometri için $\tau_5 = 0$, ideal üçgen çift piramit geometri için $\tau_5 = 1$) (Addison ve ark. 1984). Komplekslerin ikisi içinde τ_5 değeri 0,22'dir.

$\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksi için CuN_3O_2 koordinasyon küresinde ekvatoryal bağ uzunlukları:; $\text{Cu1}-\text{N1} = 2,014(5) \text{ \AA}$, $\text{Cu1}-\text{N2} = 2,004(5) \text{ \AA}$, $\text{Cu1}-\text{N3} = 1,990(4) \text{ \AA}$, $\text{Cu1}-\text{O2} = 1,933(4) \text{ \AA}$, $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksi için ise; $\text{Cu1}-\text{N1} = 2,002(7) \text{ \AA}$, $\text{Cu1}-\text{N2} = 1,987(8) \text{ \AA}$, $\text{Cu1}-\text{N5} = 2,005(7) \text{ \AA}$, $\text{Cu1}-\text{O2} = 1,919(6) \text{ \AA}$ 'dür. Zayıf bağlanmış aksiyal bağ uzunlukları ise: $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksi için; $\text{Cu1}-\text{O1}^i = 2,253(4) \text{ \AA}$, $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksi için $\text{Cu1}-\text{O1}^i = 2,278(7) \text{ \AA}$ 'dür (i: $1/2+x$, $1/2-y$, $1-z$)

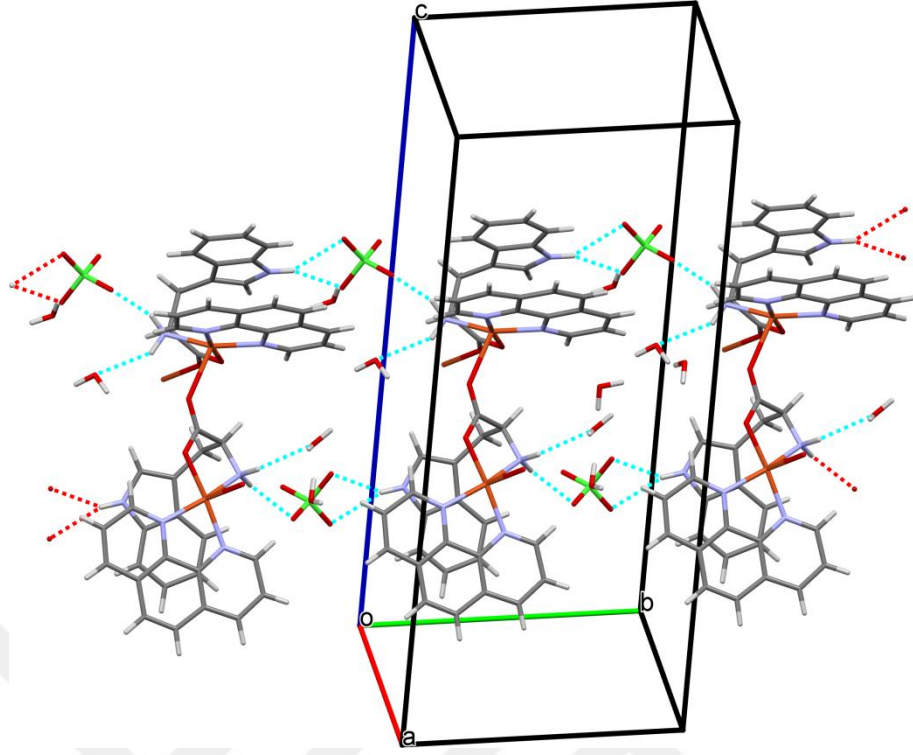
Komplekslerin belirtilen kristal yapıları; klasik (N—H···N, N—H···O, O—H···O) ve klasik olmayan (C—H···O) molekül içi hidrojen bağı etkileşimleri ile de desteklenmiştir (Şekil 4.2.5.1.3 ve Şekil 4.2.5.1.6).



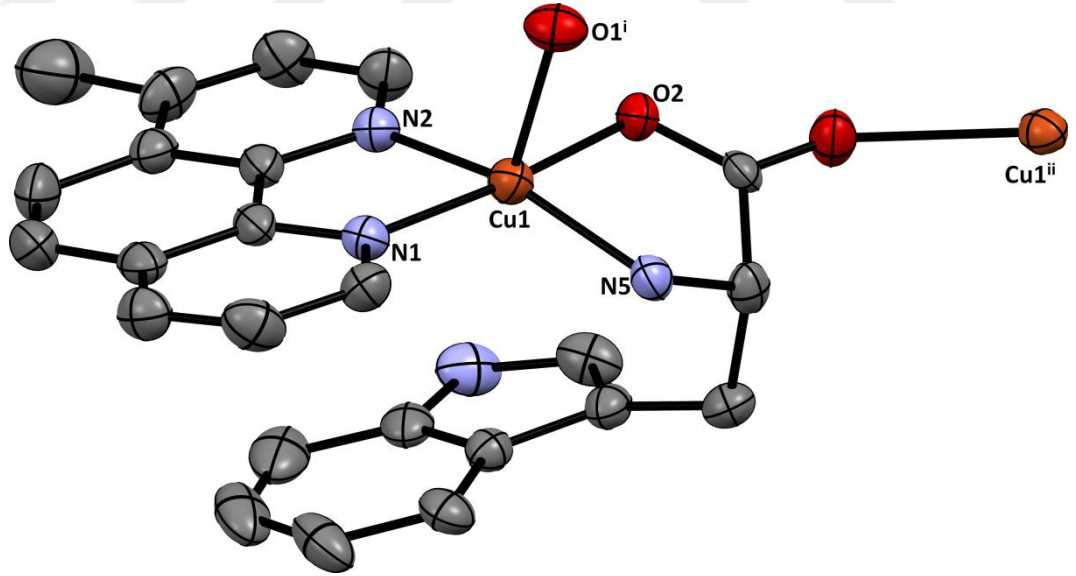
Şekil 4.2.5.1.1. {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksinin tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılan molekül yapısı. Koordine olmayan perklorat anyonu, kristal örgü su molekülleri ve H atomları yapıyı daha iyi gösterebilmek için şekilde belirtilmemiştir. Termal titreşim elipsoidleri %30 olasılıkla verilmiştir. (Simetri kodları: (i): x+1/2, -y+1/2, -z+1 (ii): x-1/2, -y+1/2, -z+1).



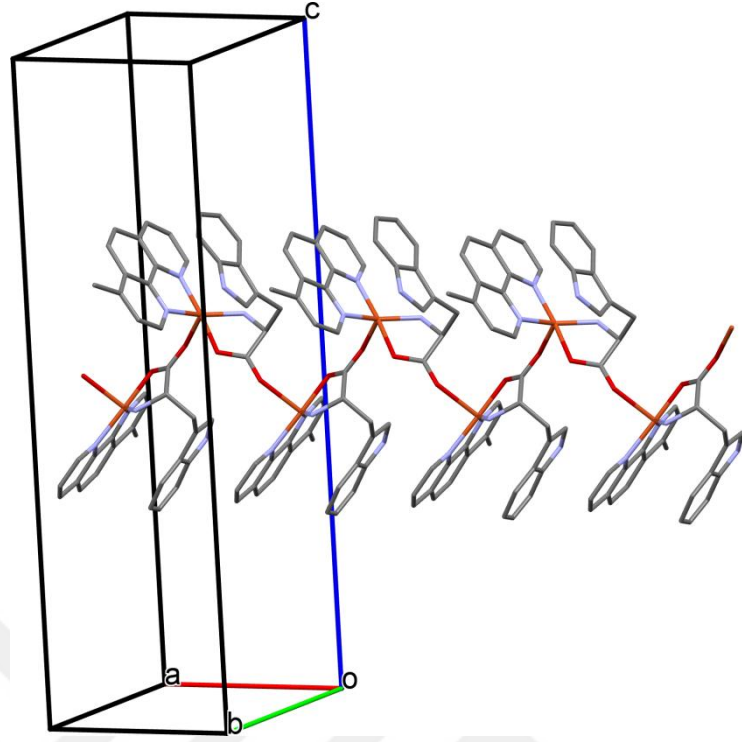
Şekil 4.2.5.1.2. {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksinin bir eksen boyunca çizilmiş tek boyutlu zincir yapısı.



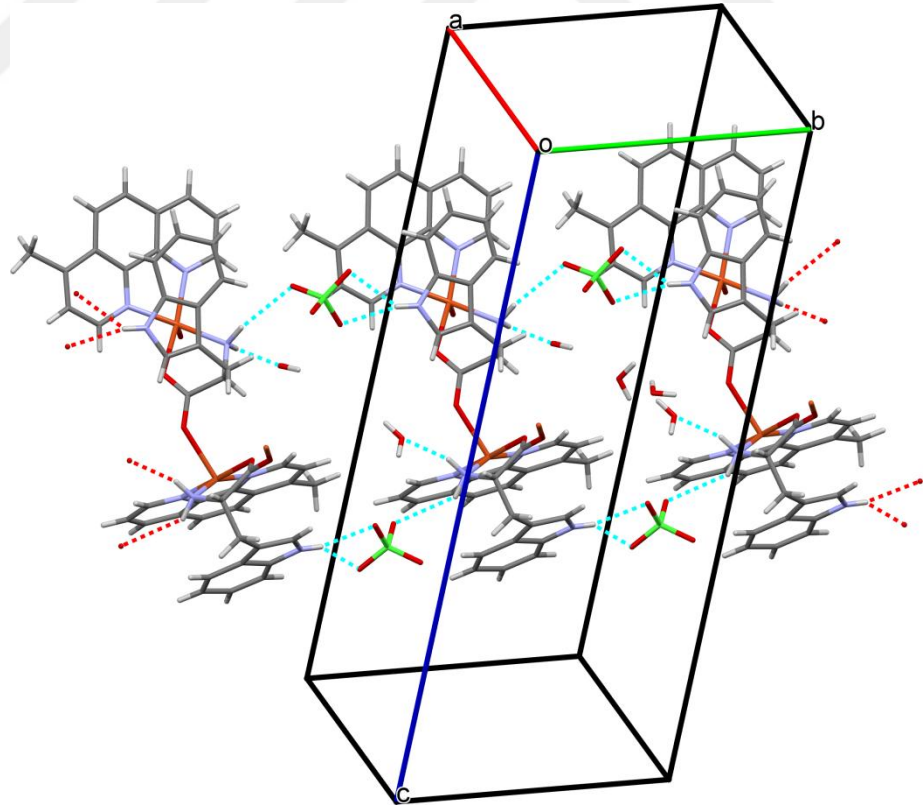
Şekil 4.2.5.1.3. {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksinde molekül içi N—H···O hidrojen bağı etkileşimleri



Şekil 4.2.5.1.4. {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksinin tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılan molekül yapısı. Koordine olmayan perklorat anyonu, kristal örgü su molekülleri ve H atomları yapıyı daha iyi gösterebilmek için şekilde belirtilmemiştir. Termal titreşim elipsoidleri %30 olasılıkla verilmiştir. (Simetri kodları: (i): x+1/2, -y+1/2, -z+1 (ii): x-1/2, -y+1/2, -z+1).



Şekil 4.2.5.1.5. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinin bir eksen boyunca çizilmiş tek boyutlu zincir yapısı



Şekil 4.2.5.1.6. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksinde molekül içi N—H···O hidrojen bağı etkileşimleri

4.2.5.2. [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]NO₃ kompleksinin tek kristal X-ışını yapı analizi

[[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]NO₃ kompleksinin kristal yapısı (Şekil 4.2.5.2.1)'de, kristalografik verileri ise (Çizelge 4.2.5.2.1)'de verildi.

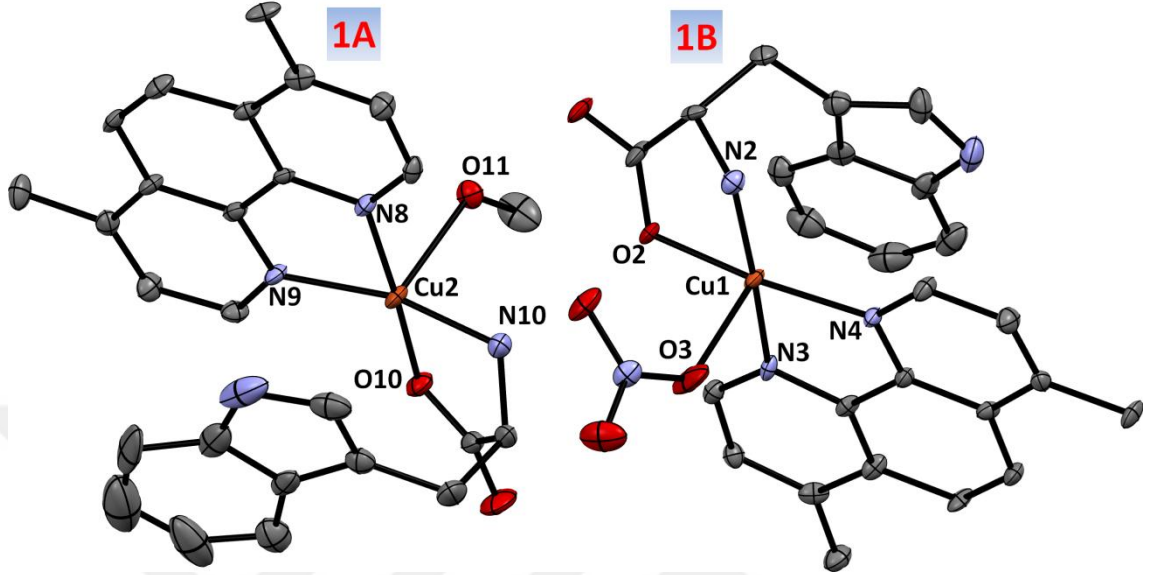
Kompleksin monoklinik kiral uzay grubunda (P2₁) kristallendiği bulundu. Kristal yapıya bakıldığında birim hücrede, her biri beş koordinasyonlu iki ayrı Cu(II) kompleksi; [Cu(dmphen)(trp)(MeOH)]⁺ (**1A**) ve [Cu(dmphen)(trp)(NO₃)] (**1B**) ve bir tane koordine olmayan nitrat anyonu olduğu görülmektedir. Cu(II) iyonunun koordinasyon çevresinde aksiyal pozisyonlarda **1A** kompleksinde 1 tane metanol, **1B** kompleksinde ise 1 tane nitrat anyonu bulunmaktadır.

1A ve **1B** kompleks yapılarındaki Cu(II) iyonu etrafındaki koordinasyon, Addison tau-descriptor (τ_5) parametre değeri 0,22 ve 0,09 olan bozulmuş kare piramidal geometridir. ($\tau_5 = \beta - \alpha/60$; ideal kare piramit geometri için $\tau_5 = 0$, ideal üçgen çift piramit geometri için $\tau_5 = 1$) (Addison ve ark. 1984).

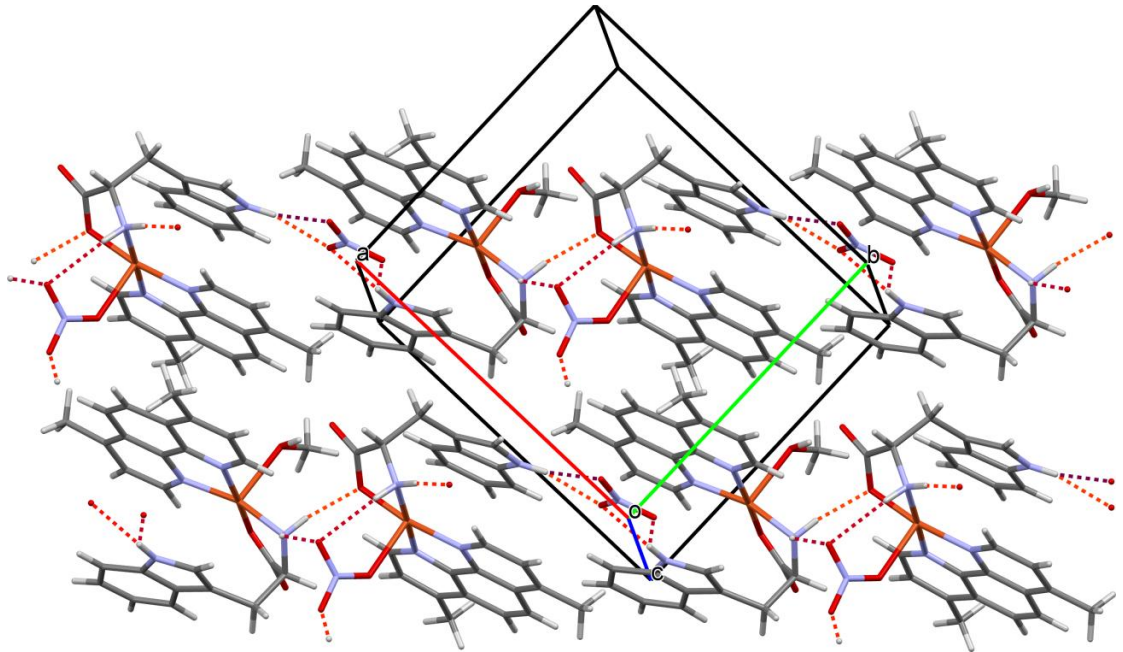
Kristal yapısı gösterilen komplekste, koordine trp ligandının yapısında bulunan aromatik halka ile dmphen ligandının yapısında yer alan aromatik halkalar arasında molekül içi aromatik halka etkileşimi olduğu belirlenmiştir.

1A kompleksinde CuN₃O₂ koordinasyon küresinde, Cu2–N(8,9) bağ uzunlukları sırası ile 2,009(6) Å ve 2,004(7) Å'dür ve Cu2–N10 bağ uzunluğundan (1,986(7) Å) çok azda olsa daha uzundur. Buna karşın **1B** kompleksinin koordinasyon küresinde Cu1–N(3,4) bağ uzunlukları sırasıyla 1,994(6) Å ve 1,990(6) Å'dür ve Cu1–N2 bağ uzunluğundan (1,997(7)Å) az da olsa daha kısadır. Aksiyal Cu1–O3 ve Cu2–O11 bağ uzunlukları ise 2,314(7) Å ve 2,308(6) Å'dür. Bu bağ uzunlukları literatürde rapor edilen aksiyal Cu–O bağ uzunluklarının bilinen değerleri ile örtüşmektedir (Patra ve ark. 2003, Patra ve ark. 2007, Patra ve ark. 2008, Zhang ve ark. 2015).

Kompleksin belirtilen kristal yapısı; klasik (N—H···N, N—H···O, O—H···O) ve klasik olmayan (C—H···O) molekül içi hidrojen bağı etkileşimleri ile de desteklenmiştir (Şekil 4.2.5.2-2).



Şekil 4.2.5.2.1. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılan molekül yapısı. Koordine olmayan nitrat anyonu ve H atomları yapıyı daha iyi gösterebilmek için şekilde belirtilmemiştir. Termal titreşim elipsoidleri %30 olasılıkla verilmiştir.



Şekil 4.2.5.2.2. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinde molekül içi N—H···O hidrojen bağı etkileşimleri

Çizelge 4.2.5.2.1. Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan komplekslere ait kristalografik veriler

| Kristal | Kompleks 1 | Kompleks 2 | Kompleks 3 |
|---|--------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Kimyasal Formül | $C_{23}H_{25}ClCuN_4O_9$ | $C_{24}H_{27}ClCuN_4O_9$ | $C_{51}H_{50}Cu_2N_{10}O_{11}$ |
| Sıcaklık (K) | 173(2) | 293(2) | 173(2) |
| Dalga boyu (Å) | 0,71073 | 0,71073 | 0,71073 |
| Kristal | ortorombik | ortorombik | Monoklinik |
| Uzay grubu | $P2_12_12_1$ | $P2_12_12_1$ | $P2_1$ |
| a (Å) | 8,1385(2) | 8,3105(4) | 12,0085(15) |
| b (Å) | 11,0108(3) | 11,1958(6) | 11,1778(15) |
| c (Å) | 28,1761(8) | 28,7556(16) | 17,986(2) |
| α (°) | 90 | 90 | 90 |
| β (°) | 90 | 90 | 101,293(4) |
| γ (°) | 90 | 90 | 90 |
| Kristal | 0,07 x 0,10 x 0,47 | 0,05 x 0,07 x 0,12 | 0,05 x 0,12 x 0,31 |
| V (Å ³) | 2524,90(12) | 2675,5(2) | 2367,5(5) |
| Z | 4 | 4 | 2 |
| ρ_{calcd} (mg.m ⁻³) | 1,580 | 1,526 | 1,552 |
| μ (mm ⁻¹) | 1,031 | 0,975 | 0,974 |
| $F(000)$ | 1236 | 1268 | 1144 |
| θ aralığı (°) | 3,11 – 25,00 | 3,05 – 25,00 | 2,94 – 25,35 |
| $h/k/l$ | -9/8, -13/13, -33/33 | -9/9, -13/13, -34/34 | -14/14, -12/13, -21/21 |
| Toplanan yansımalar | 21968 | 34359 | 17506 |
| Bağımsız yansımalar | 4419[R(int)=0,0818] | 4694 [R(int) = 0,1575] | 8293 [R(int) = 0,0643] |
| Veri/sınır/parametre | 4419 / 12 / 370 | 4694 / 9 / 371 | 8293 / 12 / 687 |
| F^2 'ye uygunluk (S) | 1,057 | 1,036 | 1,036 |
| Final R indisleri | $R_1=0,0429, wR_2=0,099$ | $R_1=0,0666, wR_2= 0,1406$ | $R_1= 0,052, wR_2=0,1104$ |
| R indisleri (tüm veriler) | $R_1=0,0581, wR_2=0,104$ | $R_1=0,1350, wR_2= 0,1603$ | $R_1= 0,077, wR_2=0,1213$ |
| ($\Delta\rho$)max ve ($\Delta\rho$)min | 0,414 ve -0,346 | 0,610 ve -0,355 | 1,088 ve -0,502 |
| Flack parametresi | 0,014(10) | 0,006(13) | -0,003(12) |

Kompleks 1: {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n

Kompleks 2: {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n

Kompleks 3: [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]NO₃

Çizelge 4.2.5.2.2. {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksine ait seçilmiş bağ uzunlukları ve bağ açıları

| Bağ Uzunlukları (Å) | | | |
|----------------------------|------------|------------------------|------------|
| Cu1-N1 | 2,014(5) | Cu1-O1 ¹ | 2,253(4) |
| Cu1-N2 | 2,004(5) | Cu1-O2 | 1,933(4) |
| Cu1-N3 | 1,990(4) | | |
| Bağ Açıları (°) | | | |
| O2-Cu1-N1 | 84,22(17) | N3-Cu1-N1 | 101,07(19) |
| O2-Cu1-N2 | 92,26(18) | N3-Cu1-N2 | 82,68(19) |
| O2-Cu1-N3 | 174,70(19) | N3-Cu1-O1 ¹ | 91,34(17) |
| O2-Cu1-O1 ⁱ | 89,07(16) | N2-Cu1-O1 ¹ | 111,76(18) |
| N2-Cu1-N1 | 161,5(2) | N1-Cu1-O1 ¹ | 86,37(17) |

(Simetri kodları: (i): x+1/2, -y+1/2, -z+1)

Çizelge 4.2.5.2.3. {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksine ait hidrojen bağ uzunlukları ve bağ açıları

| <i>D—H...A</i> | <i>D—H</i> | <i>H...A</i> | <i>D...A</i> | <i>D—H...A</i> |
|-----------------------------|------------|--------------|--------------|----------------|
| C12—H12...O2 | 0,95 | 2,56 | 3,046 (8) | 112 |
| C13—H13...O8 | 0,95 | 2,61 | 3,440 (11) | 146 |
| C21—H21...O8 ⁱⁱⁱ | 0,95 | 2,65 | 3,351 (10) | 131 |
| O7—H1O7...O9 | 0,85 (1) | 1,96 (7) | 2,689 (12) | 143 (11) |
| O7—H2O7...O4 | 0,85 (1) | 2,12 (8) | 2,847 (12) | 145 (12) |
| O8—H1O8...O9 | 0,84 (1) | 1,96 (6) | 2,715 (18) | 149 (12) |
| O8—H2O8...O7 ^{iv} | 0,85 (1) | 1,93 (9) | 2,660 (16) | 143 (14) |
| O9—H1O9...O7 | 0,85 (1) | 1,94 (8) | 2,689 (12) | 146 (13) |
| O9—H2O9...O8 | 0,85 (1) | 2,16 (11) | 2,715 (18) | 123 (12) |
| N1—H1N...O1 ¹ | 0,89 (3) | 2,49 (11) | 2,925 (6) | 110 (9) |
| N1—H1N...O9 ⁱⁱⁱ | 0,89 (3) | 2,34 (8) | 3,096 (9) | 142 (10) |
| N1—H2N...O5 ⁱⁱ | 0,89 (3) | 2,32 (6) | 3,144 (8) | 154 (11) |
| N4—H3N...Cl1 ^v | 0,89 (3) | 2,82 (4) | 3,704 (5) | 170 (11) |
| N4—H3N...O4 ^v | 0,89 (3) | 2,25 (7) | 3,045 (7) | 148 (11) |
| N4—H3N...O6 ^v | 0,89 (3) | 2,35 (7) | 3,152 (8) | 149 (11) |

(Simetri kodları: (i): x+1/2, -y+1/2, -z+1 (ii): x-1/2, -y+1/2, -z+1 (iii): x, y-1, z (iv): x+1/2, -y+3/2, -z+1 (v): x-1/2, -y+3/2, -z+1)

Çizelge 4.2.5.2.4. {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksine ait seçilmiş bağ uzunlukları ve bağ açıları

| Bağ Uzunlukları (Å) | | | |
|----------------------------|----------|-----------|----------|
| Cu1-O1 | 2,278(7) | Cu1-N2 | 1,987(8) |
| Cu1-O2 | 1,919(6) | Cu1-N5 | 2,004(7) |
| Cu1-N1 | 2,002(7) | | |
| Bağ Açıları (°) | | | |
| O2-Cu1-N1 | 174,3(3) | N1-Cu1-N5 | 102,2(3) |
| O2-Cu1-N2 | 92,1(3) | N2-Cu1-N5 | 160,8(3) |

| | | | |
|-----------|---------|-----------|----------|
| O2-Cu1-N5 | 83,5(3) | N1-Cu1-O1 | 91,3(3) |
| O2-Cu1-O1 | 89,0(3) | N2-Cu1-O1 | 111,4(3) |
| N2-Cu1-N1 | 82,5(3) | N5-Cu1-O1 | 87,3(3) |

(Simetri kodları: (i): $x+1/2, -y+1/2, -z+1$)

Çizelge 4.2.5.2.5. $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksine ait hidrojen bağ uzunlukları ve bağ açıları

| $D-H\cdots A$ | $D-H$ | $H\cdots A$ | $D\cdots A$ | $D-H\cdots A$ |
|-----------------------------------|----------|-------------|-------------|---------------|
| C11—H11 \cdots O2 | 0,93 | 2,56 | 3,029 (13) | 112 |
| C21—H21 \cdots O7 ⁱ | 0,93 | 2,48 | 3,196 (16) | 134 |
| N3—H3 \cdots O6 ⁱⁱ | 0,86 | 2,25 | 3,084 (18) | 163 |
| N3—H3 \cdots O8 ⁱⁱ | 0,86 | 2,57 | 3,312 (16) | 145 |
| N5—H5A \cdots O4 ⁱ | 0,89 | 2,32 | 3,152 (15) | 156 |
| N5—H5B \cdots O7 ⁱ | 0,89 | 2,51 | 3,233 (17) | 139 |
| O3—H2O \cdots O1 ⁱⁱⁱ | 0,82 (1) | 2,18 (5) | 2,849 (12) | 139 (6) |
| O5—H5O \cdots O4 ⁱⁱ | 0,82 (1) | 2,06 (7) | 2,734 (19) | 139 (10) |
| O4—H3O \cdots O5 ⁱⁱⁱ | 0,82 (1) | 2,00 (4) | 2,734 (19) | 148 (7) |

(Simetri kodları: (i): $x-1/2, -y+1/2, -z+1$ (ii): $x-1/2, -y+3/2, -z+1$ (iii): $x+1/2, -y+3/2, -z+1$)

Çizelge 4.2.5.2.6. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksine ait seçilmiş bağ uzunlukları ve bağ açıları

| Bağ Uzunlukları (Å) | | | | | |
|---------------------|----------|-------------|----------|-------------|----------|
| Cu1-O2 | 1,958(5) | Cu1-N2 | 1,997(7) | Cu1-N4 | 1,990(6) |
| Cu1-O3 | 2,314(7) | Cu1-N3 | 1,994(6) | Cu2-O10 | 1,928(5) |
| Cu2-O11 | 2,308(6) | Cu2-N8 | 2,009(6) | Cu2-N9 | 2,004(7) |
| Cu2-N10 | 1,986(7) | | | | |
| Bağ Açıları (°) | | | | | |
| O2-Cu1-N4 | 168,0(2) | O2-Cu1-N3 | 92,4(2) | N4-Cu1-N3 | 82,4(2) |
| O2-Cu1-N2 | 81,9(2) | N4-Cu1-N2 | 102,6(3) | N3-Cu1-N2 | 173,6(3) |
| O2-Cu1-O3 | 98,4(3) | N4-Cu1-O3 | 92,6(3) | N3-Cu1-O3 | 91,3(3) |
| N2-Cu1-O3 | 92,5(3) | O10-Cu2-N10 | 83,9(3) | O10-Cu2-N9 | 94,8(2) |
| N10-Cu2-N9 | 163,8(3) | O10-Cu2-N8 | 176,8(3) | N10-Cu2-N8 | 99,2(3) |
| N9-Cu2-N8 | 82,0(3) | O10-Cu2-O11 | 91,5(2) | N10-Cu2-O11 | 95,7(3) |
| N9-Cu2-O11 | 100,4(3) | N8-Cu2-O11 | 89,0(2) | | |

Çizelge 4.2.5.2.7. [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]][NO₃] kompleksine ait hidrojen bağ uzunlukları ve bağ açıları

| <i>D—H...A</i> | <i>D—H</i> | <i>H...A</i> | <i>D...A</i> | <i>D—H...A</i> |
|----------------------------|------------|--------------|--------------|----------------|
| C12—H12...O2 | 0,95 | 2,58 | 3,067 (9) | 112 |
| C23—H23...O4 ⁱ | 0,95 | 2,43 | 3,384 (10) | 177 |
| C23—H23...O5 ⁱ | 0,95 | 2,64 | 3,318 (10) | 129 |
| C26—H26...O10 | 0,95 | 2,59 | 3,090 (10) | 113 |
| C36—H36...O7 ⁱ | 0,95 | 2,52 | 3,440 (10) | 163 |
| C51—H51C...O10 | 0,98 | 2,62 | 3,253 (13) | 122 |
| N1—H1...N6 ⁱⁱ | 0,88 | 2,64 | 3,516 (11) | 172 |
| N1—H1...O6 ⁱⁱ | 0,88 | 2,11 | 2,944 (10) | 158 |
| N1—H1...O8 ⁱⁱ | 0,88 | 2,48 | 3,247 (11) | 146 |
| N7—H7A...N6 ⁱⁱⁱ | 0,88 | 2,63 | 3,498 (13) | 167 |
| N7—H7A...O6 ⁱⁱⁱ | 0,88 | 2,2 | 3,040 (12) | 161 |
| N7—H7A...O7 ⁱⁱⁱ | 0,88 | 2,33 | 3,060 (13) | 140 |
| N2—H2N...O4 ⁱ | 0,88 (3) | 2,15 (3) | 3,015 (9) | 167 (8) |
| N2—H1N...O5 | 0,88 (3) | 2,31 (5) | 3,103 (10) | 149 (7) |
| N10—H4N...O5 | 0,88 (3) | 2,37 (6) | 3,127 (9) | 145 (8) |
| N10—H3N...O2 | 0,88 (3) | 2,08 (4) | 2,909 (9) | 155 (8) |
| O11—H1O...O1 | 0,86 (3) | 1,81 (3) | 2,673 (8) | 175 (8) |

(Simetri kodları: (i): -x+1, y+1/2, -z+1 (ii): x, y+1, z (iii): x+1, y, z)

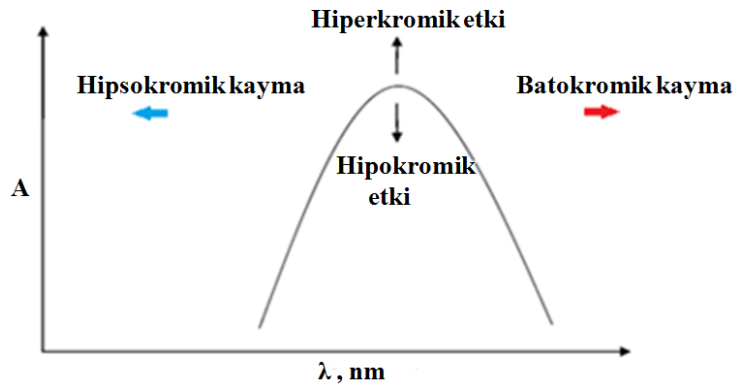
4.3. Sentezlenen Komplekslerin DNA ile Etkileşimlerinin Araştırılması

4.3.1. 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 0-400 μM aralığında olacak şekilde) hazırlandı. Çözeltinin 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 200-400 nm dalga boyu aralığında elektronik absorpsiyon spektrumları alındı. Alınan spektrumlar (Şekil 4.3.1-2)'de verildi. Ayrıca, komplekslerin DNA bağlanma sabitini, K_b , belirlemek için, $[\text{DNA}]$ değerlerine karşı $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ değerleri arasında çizilen grafikler de aynı şekil üzerinde gösterildi.

Spektrumlar incelenirken, absorbansta ve absorpsiyon piklerinin görüldüğü dalga boyunda meydana gelen değişimler üzerinde durulur (Şekil 4.3.1.1). Bu değişimler kompleks-DNA etkileşiminin türü hakkında bilgiler verir.

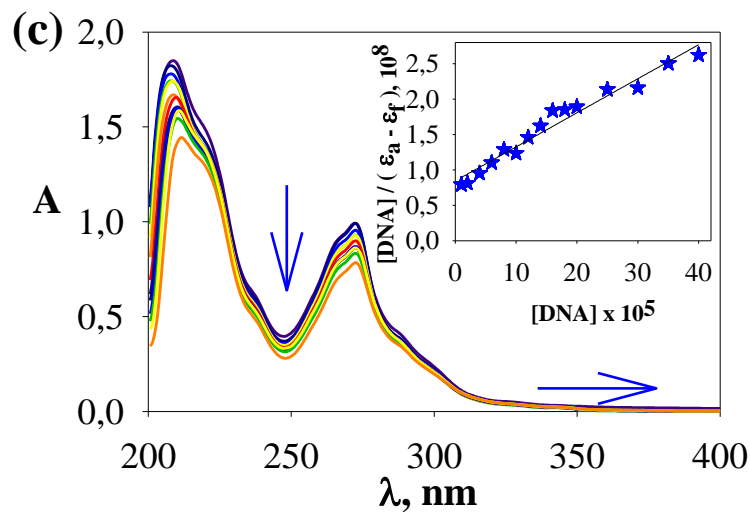
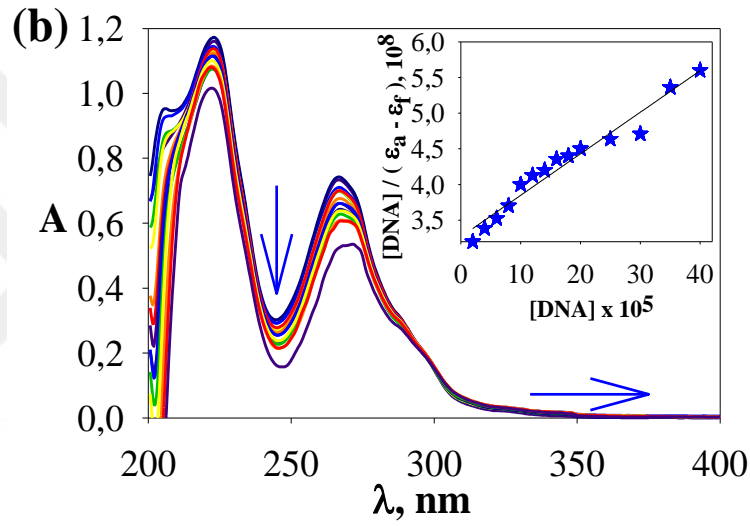
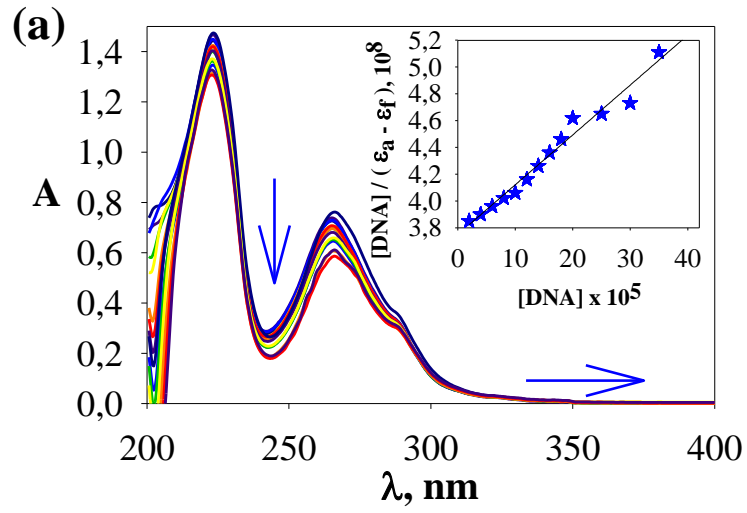


Şekil 4.3.1.1. Kompleks-DNA etkileşimlerinde, UV-spektrumunda görülen değişimler

Artan DNA derişimi ile kompleksin absorbansında azalma (hipokromik etki) meydana gelmesi kompleksin DNA'ya karşı interkalasyon etkisinin olduğunu, artan DNA derişimi ile kompleksin absorbansında artma (hiperkromik etki) meydana gelmesi ise kompleksin DNA ile elektrostatik etkileşim ya da oluk bağlanma şeklinde etkileşime girdiğini gösterir. Ayrıca maksimum absorpsiyonların daha uzun (kırmızıya kayma, batokromik etki) veya daha kısa (maviye kayma,hipsokromik etki) dalga boyunda görülmesi kompleksin DNA ile etkileşime girdiğini belirtir (Rao ve ark. 2007).

(Şekil 4.3.1.2)'deki spektrumlar incelendiğinde, sabit derişimdeki kompleks çözeltilisine artan derişimlerde CT-DNA çözeltilisi eklendiğinde kompleksin absorbans değerlerinde azalma (hipokromik etki) ve dalga maksimumu değerlerinde 1-3 nm aralığında artma (kırmızıya kayma, batokromik etki) gözlemlendi. Hesaplanan % hipokromizm değerleri (Çizelge 4.3.1.1)'de verildi. Bu sonuçlar; komplekslerin her birinin CT-DNA'ya bağlandığını ve bağlanmanın interkalasyon şeklinde olduğunu gösterdi.

Kompleks çözeltilerinin CT-DNA ile titrasyonundan elde edilen spektroskopik veriler ve $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f) = [DNA]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)$ (Pyle ve ark. 1989) eşitliği kullanılarak (McGhee-von Hippel metodu; Bölüm 3.3.2) komplekslerin CT-DNA'ya hangi kuvvette bağlandığını belirten K_b ; bağlanma sabiti değerleri hesaplandı. Hesaplanan K_b ve $\log K_b$ değerleri (Çizelge 4.3.1.1)'de verildi. Çizelgedeki değerlere bakıldığında, komplekslerin bağlanma sabitlerinin; kompleks 3 > kompleks 2 > kompleks 1 sırasında değiştiği görüldü. K_b değerinin büyük oluşu, kompleksin CT-DNA'ya daha güçlü bir şekilde bağlandığını belirtmektedir.



Şekil 4.3.1.2. Komplekslerin CT-DNA ile etkileşimine ait absorpsiyon spektrumları
 (a) $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ (b) $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$
 (c) $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$

Çizelge 4.3.1.1. Kompleks+CT-DNA çözeltilerine ait bağlanma sabiti; K_b , $\log K_b$, λ_{\max} ve % hipokromizm değerleri

| Kompleksler | K_b | $\log K_b$ | λ_{\max} (nm) | %hypo* |
|-------------|-----------------------------|-----------------|--------------------------|--------|
| Kompleks 1 | $8,24 \times 10^2 \pm 0,08$ | $2,92 \pm 0,06$ | 265 | 21,2 |
| Kompleks 2 | $1,77 \times 10^3 \pm 0,03$ | $3,25 \pm 0,01$ | 268 | 28,8 |
| Kompleks 3 | $5,52 \times 10^3 \pm 0,07$ | $3,74 \pm 0,01$ | 272 | 23,0 |

*Hypo: hipokromizm (%hypo = $A - A_0 / A_0$)

Kompleks 1: $\{[Cu(phen)(trp)]ClO_4 \cdot 3H_2O\}_n$

Kompleks 2: $\{[Cu(4-mphen)(trp)]ClO_4 \cdot 3H_2O\}_n$

Kompleks 3: $[[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO_3)]]NO_3$

4.3.2. Floresans spektroskopisi yöntemi

Floresans spektroskopisi kompleks-DNA etkileşimlerinin araştırılmasında kullanılan önemli bir yöntemdir. EB, düzlemsel bir yapıya sahiptir ve DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığı bilinen bir moleküldür. EB tek başına düşük floresans özellik gösterirken DNA'ya bağlandığında floresans şiddeti önemli ölçüde artmaktadır (Meyer-Almes ve Porschke 1993).

Yöntemin temeli; sabit ve belli derişimdeki EB-DNA çözeltilerine artan derişimlerde, DNA'ya bağlanma özelliği araştırılacak kompleksin ilave edilmesine ve bu ilave ile EB-DNA çözeltilerinin floresans spektrumunda meydana gelen derişimlerin incelenmesine dayanır. Sabit derişimdeki EB-DNA çözeltilerine artan derişimlerde kompleks eklenmesi, EB-DNA'nın floresans şiddetinde azalmalara yol açar. Bu azalma; kompleksin EB moleküllerini DNA baz çiftleri arasından çıkarıp yerine interkalasyon yoluyla kendisinin yerleşmesinin bir sonucudur.

Çalışmada öncelikle floresans spektrumları alınacak çözeltiler, 50 μ M CT-DNA + 5 mM EB içeren çözeltilere artan derişimlerde (kompleks 1 = 0-1000 μ M aralığı, kompleks 2 = 0-500 μ M aralığı, kompleks 3 = 0-600 μ M aralığı) kompleks çözeltileri ilave edilerek hazırlandı. Çözeltilerin son hacmi Tris-HCl/NaCl tampon çözeltileri ile 5 mL yapıldı.

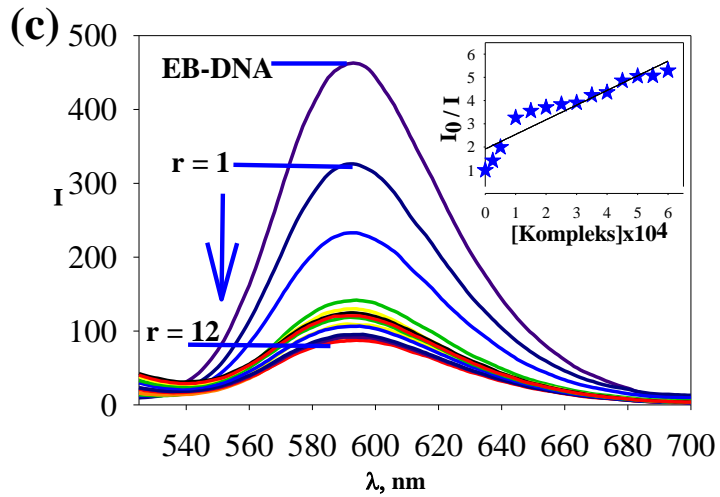
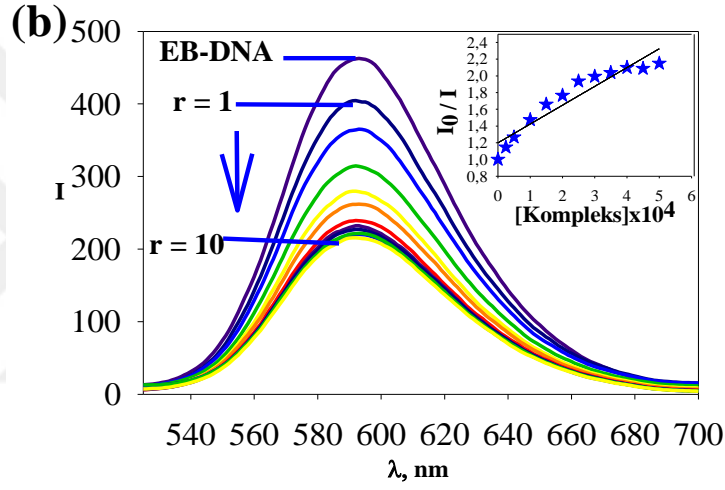
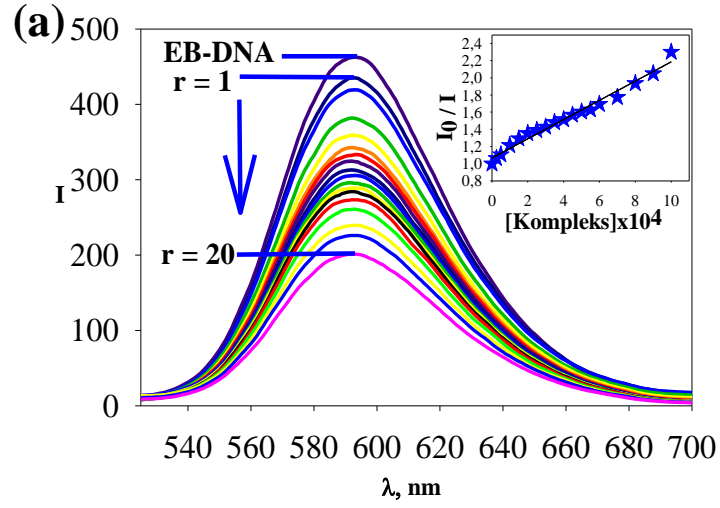
Hazırlanan çözeltilerin 500-700 nm dalga boyu aralığında floresans spektrumları alındı. Alınan spektrumlar, (Şekil 4.3.2.1)'de verildi. Ayrıca, floresans söndürme katsayısını (K_{sv}) belirlemek için, [Kompleks] değerlerine karşı I_0/I değerleri arasında çizilen grafikler aynı şekil üzerinde gösterildi. Grafik üzerindeki r değerleri [kompleks]/[DNA] oranını göstermektedir.

Floresans spektrumları incelendiğinde, sabit derişimde EB+CT-DNA içeren çözeltilere artan derişimlerde komplekslerin ilave edilmesinin floresans şiddetinde azalmalara neden olduğu görüldü. Bu sonuçlar; her üç kompleksinde CT-DNA'ya bağlı EB ile yer değiştirdiğini ve interkalasyon yoluyla CT-DNA'ya bağlandığını gösterdi.

Komplekslerin floresans söndürme yeteneklerini ifade eden Stern-Volmer sabitleri; K_{sv} , $I_0/I = 1 + K_{sv}[Kompleks]$ eşitliğine göre, [Kompleks] değerlerine karşı I_0/I değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle elde edilen doğrunun eğiminden hesaplandı. Hesaplanan K_{sv} ve $\log K_{sv}$ değerlerinin kompleks **3** > kompleks **2** > kompleks **1** sırasında değiştiği görüldü (Çizelge 4.3.2.1). K_{sv} değerinin büyük oluşu, kompleksin EB+CT-DNA çözeltisinin floresansını söndürme etkisinin yüksek olduğu anlamına gelmektedir.

Bununla birlikte, artan kompleks derişimine karşılık floresans şiddetlerinde oluşan değişimlerden ve $K_{app}[Kompleks]=K_{EB}[EB]$ eşitliğinden yararlanarak, komplekslerin EB+CT-DNA çözeltisinin floresans şiddetini %50'ye düşürdüğü andaki görünür DNA bağlanma sabiti, K_{app} , değerleri hesaplandı. Eşitlikte yer alan, [Kompleks] terimi EB+CT-DNA çözeltisinin floresans şiddetini %50 azaltan kompleks derişimidir ve $[EB]=5 \mu M$ ve $K_{EB} = 1 \times 10^7 M^{-1}$ dir (Boger ve ark. 2001).

(Çizelge 4.3.2.1)'de verilen K_{app} değerlerinin, kompleks **3** > kompleks **2** > kompleks **1** sırasında değiştiği görüldü. En büyük K_{app} değerine sahip olan kompleks **3**'ün CT-DNA'ya daha güçlü bir şekilde interkalasyon yoluyla bağlandığı belirlendi.



Şekil 4.3.2.1. Komplekslerin EB+CT-DNA ile etkileşimine ait floresans spektrumları
 (a) $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ (b) $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$
 (c) $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$

Çizelge 4.3.2.1. EB+CT-DNA+Kompleks çözeltilerine ait K_{sv} ve K_{app} değerleri

| Kompleksler | K_{sv} | $\log K_{sv}$ | K_{app} | $\log K_{app}$ |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| Kompleks 1 | $1,51 \times 10^3 \pm 0,04$ | $3,16 \pm 0,04$ | $5,88 \times 10^4 \pm 0,02$ | $4,77 \pm 0,02$ |
| Kompleks 2 | $3,79 \times 10^3 \pm 0,03$ | $3,56 \pm 0,03$ | $1,67 \times 10^5 \pm 0,02$ | $5,22 \pm 0,03$ |
| Kompleks 3 | $1,23 \times 10^4 \pm 0,05$ | $4,06 \pm 0,05$ | $1,00 \times 10^6 \pm 0,02$ | $6,00 \pm 0,02$ |

Kompleks 1: $\{[Cu(phen)(trp)]ClO_4 \cdot 3H_2O\}_n$

Kompleks 2: $\{[Cu(4-mphen)(trp)]ClO_4 \cdot 3H_2O\}_n$

Kompleks 3: $[[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO_3)]]NO_3$

4.3.3. Termal denatürasyon yöntemi

DNA denatürasyon çalışmaları, peltier sistemli UV-Visible spektrofotometre kullanılarak, $0,5^\circ C \text{ min}^{-1}$ rampa oranı ile belli derişimdeki ($120 \mu M$) CT-DNA çözeltisi üzerine yine belli derişimdeki ($30 \mu M$) kompleks çözeltisi ilave edilerek hazırlanan çözeltilerin, artan sıcaklığa karşılık 260 nm dalga boyundaki absorbands değerlerindeki değişim incelenerek gerçekleştirildi.

Kompleks+CT-DNA çözeltilerinin erime sürecindeki artan sıcaklıklara karşılık 260 nm 'deki absorbandsları ölçölüp grafiğe geçirildiğinde, erime eğrileri elde edildi (Şekil 4.3.3.1). Elde edilen erime eğrilerindeki dönüm noktası erime sıcaklığını, T_m , verdi, T_m ; DNA ısıtıldığında sarmal yapının yarısının denatüre olduğu sıcaklıktır.

Aynı işlemler DNA ile interkalasyon yaptığı bilinen EB varlığında da gerçekleştirildi. EB+CT-DNA çözeltisinin de erime eğrisi elde edildi ve T_m değeri bulundu. Ayrıca, sadece CT-DNA içeren çözeltinin erime eğrisi de elde edildi ve T_m^0 değeri belirlendi (Çizelge 4.3.3.1). ΔT_m değerlerini hesaplamak için, aşağıdaki eşitlik (4.3.3-1) kullanıldı.

$$\Delta T_m = T_m - T_m^0 \quad (4.3.3-1)$$

Komplekslerin her biri için, kompleks+CT-DNA çözeltilerinin T_m değerlerinin sadece CT-DNA içeren çözeltinin T_m^0 değerinden büyük oluşu, komplekslerin EB kadar güçlü

olmasada, CT-DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşime girdiğini gösterdi. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanması CT-DNA'nın erime sıcaklığını arttırdı.

Hesaplanan ΔT_m değerlerine bakıldığında ise; komplekslerin ΔT_m değerlerinin kompleks **3** > kompleks **2** > kompleks **1** sırasında olduğu görüldü. Kompleks **3**'ün ΔT_m değerinin büyük oluşu, CT-DNA ile etkileşiminin daha güçlü ve kararlı olduğunu gösterdi.

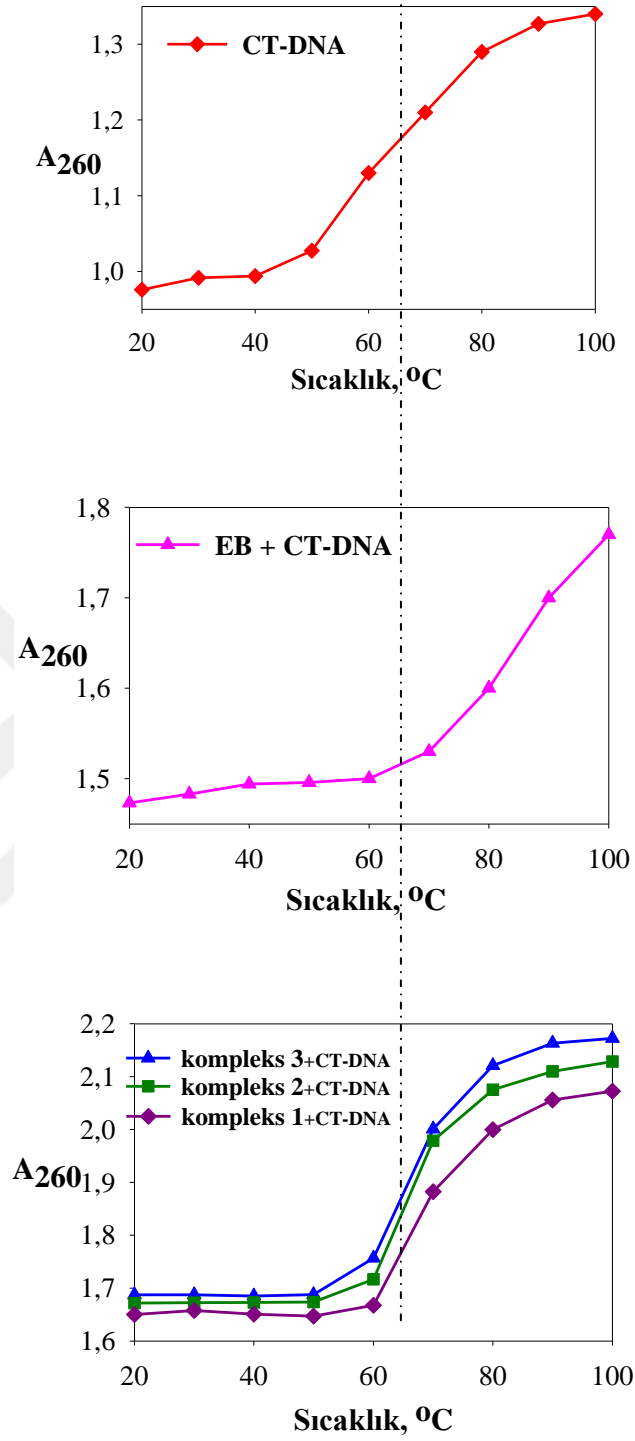
Çizelge 4.3.3.1. CT-DNA, EB+CT-DNA ve Kompleks+CT-DNA çözeltilerinin T_m ve ΔT_m değerleri

| Kompleks | T_m | ΔT_m |
|-------------------|-------------------------|--------------------------------|
| CT-DNA | 65,2 | - |
| EB | 82,2 | 17,0 |
| Kompleks 1 | 68,2 | 3,0 |
| Kompleks 2 | 69,4 | 4,2 |
| Kompleks 3 | 70,2 | 5,0 |

Kompleks **1**: $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$

Kompleks **2**: $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$

Kompleks **3**: $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$



Şekil 4.3.3.1. CT-DNA, EB+CT-DNA ve Kompleks+CT-DNA çözeltilerinin termal denatürasyon eğrileri

Kompleks 1: {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n

Kompleks 2: {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n

Kompleks 3: [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]][NO₃

4.3.4. Agaroz jel elektroforez yöntemi

Komplekslerin DNA bölme etkileri agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırıldı. Çalışmalarda pUC19 plazmid DNA kullanıldı. Komplekslerin DNA bölme etkileri hidrolitik ve oksidatif olmak üzere iki şekilde incelendi.

Hidrolitik bölme: DNA'daki fosfodiester bağlarının bölünmesi söz konusudur. Metal iyonları farklı şekillerde DNA'nın fosfodiester ve P-O bağının kırılmasını kolaylaştırmaktadır. Metal kompleksleri genel olarak DNA'nın hidrolitik bölünmesine neden olur.

Oksidatif bölme: DNA'nın yapısında bulunan şeker veya nükleobazlarda meydana gelir. Redoks aktif metal kompleksleri ile tekli veya çift sarmal oksidatif DNA bölmesi, hidroksil radikali veya singlet oksijen türleri gibi reaktif oksijen türlerinin oluşmasıyla başlar. Daha sonra bu serbest radikallerin şeker hidrojenlerini ayırmasıyla DNA bölmesi devam eder ve DNA bölme ürünleri oluşur.

Çift sarmallı DNA'nın fosfodiester bağının hidrolizi ile yürüyen hidrolitik bölme, deoksiriboz şeker kısmından veya guanin bazından meydana gelen oksidatif DNA bölmesi ile karşılaştırıldığında hücre açısından çok daha fazla avantajlıdır. Çünkü oksidatif bölme singlet oksijen (1O_2), süperoksit (O_2^-) veya hidroksil radikali ($HO\cdot$) gibi aktif türler meydana getirir. Bu türler şeker ya da baza zarar vererek parçalanmış ürünler oluşmasına neden olurlar. Buna karşın başka maddeler ilave edilmediği zaman meydana gelen hidrolitik bölmenin bu tip olumsuz yan etkileri yoktur bölme ürünleri enzimatik prosesle ortadan kaldırılabilir.

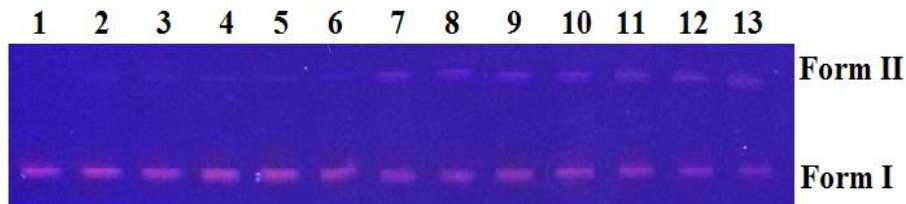
Hidrolitik DNA bölme çalışmalarında kullanılmak üzere; 5 μ L pUC19 plazmid DNA içeren, farklı derişimlerde kompleks çözeltilerinin bulunduğu, 5 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl (pH=7,2) tampon çözeltisinde, 50 μ L final hacimli olacak şekilde örnekler hazırlandı. Hazırlanan örnekler 4 saat süre ile karanlıkta 37°C'de inkübe edildi. 4 saat inkübasyonla bir etki görülmediğinde 24 saat inkübasyonla deneyler tekrar edildi. İnkübasyon süresi sonunda örnekler 3 μ L yükleme tamponu (Brom fenol mavisi

(%00,5), Sükröz (%40), EDTA (0,1M, pH=8) ve SDS (%0,5)) ile karıştırılarak (son hacim 50 µL oldu) jele yüklendi.

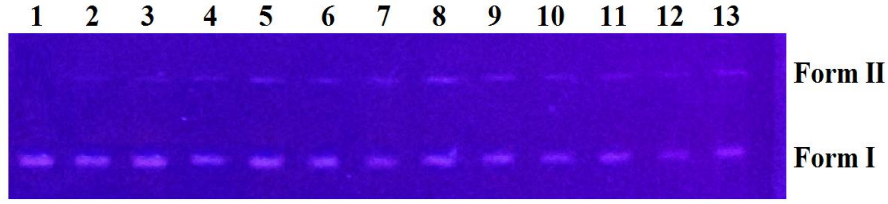
Oksidatif DNA bölme çalışmalarında ise örnekler; 5 µL pUC19 plazmid DNA, farklı derişimlerde kompleks çözeltileri, 1 µM derişiminde H₂O₂ ve farklı derişimlerde DMSO(dimetil sülfoksit) içerecek ve 50 µL final hacimli olacak şekilde hazırlandı. (Oksidatif DNA hasarı çalışmalarında radikal tutucu olarak DMSO kullanıldı. Hidroksil radikalinin etkisini analiz etmek için deneyler DMSO varlığında ve yokluğunda gerçekleştirildi). Hazırlanan örnekler 4 saat süre ile karanlıkta 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda örnekler 3 µL yükleme tamponu (Brom fenol mavisi (%00,5), Sükröz (%40), EDTA (0,1M, pH=8) ve SDS (%0,5)) ile karıştırılarak (son hacim 50 µL oldu) jele yüklendi. Yükleme sonrasında güç kaynağı ile jele 2 saat süre ile 60 V akım uygulandı. Böylece pUC19 plazmid DNA’nın jel içerisinde anoda doğru göç etmesi sağlandı. Süre sonunda jel içerisindeki pUC19 plazmid DNA’lar fotoğraf makinesi eklentili transilüminatör yardımı ile UV ışık altında görüntüledi.

Hidrolitik böme çalışmaları:

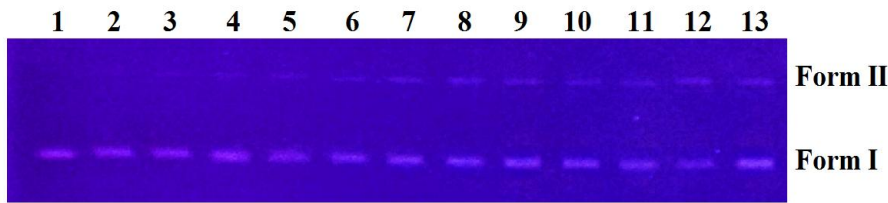
{[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksinin (1) pUC19 plazmid DNA ile etkileşimini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü (Şekil 4.3.4.1)’de, {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n (2) kompleksinin agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil (4.3.4.2)’de, [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]][NO₃] (3) kompleksinin agaroz jel elektroforez görüntüsü ise (Şekil 4.3.4.3)’te verildi.



Şekil 4.3.4.1. {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksinin 4 saat inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA’da meydana getirdiği hidrolitik hasarın jeldeki görüntüsü. **Bant 1:** Kontrol pUC19 plazmid DNA, **Bant 2-13:** pUC19 plazmid DNA+ kompleks 1, kompleks 1: 2,5; 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 ve 1500 µM.



Şekil 4.3.4.2. $[[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]_n$ kompleksinin **24 saat** inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği hidrolitik hasarın jeldeki görüntüsü. **Bant 1:** Kontrol pUC19 plazmid DNA, **Bant 2-13:** pUC19 plazmid DNA+ kompleks **2**, kompleks **2:** 2,5; 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 ve 1500 μM .



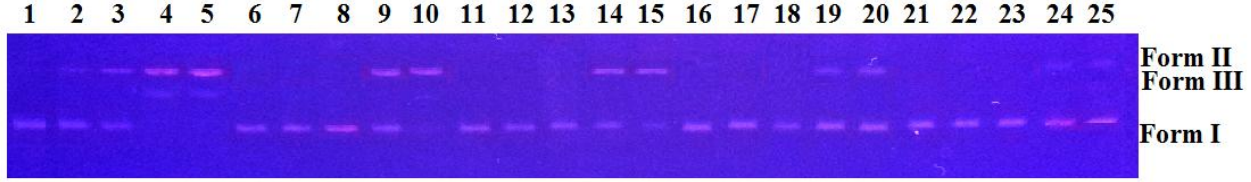
Şekil 4.3.4.3. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin **24 saat** inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği hidrolitik hasarın jeldeki görüntüsü. **Bant 1:** Kontrol pUC19 plazmid DNA, **Bant 2-13:** pUC19 plazmid DNA+ kompleks **3**, kompleks **3:** 2,5; 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 ve 1500 μM .

Komplekslerin agaroz jel elektroforezdeki görüntüleri incelendiğinde; kompleks **1**'in 4 saat inkübasyon sonunda 100 μM derişimde, kompleks **2**'nin 24 saat inkübasyon sonunda 25 μM derişimde ve kompleks **3**'ün ise 24 saat inkübasyon sonunda 100 μM derişimde pUC19 plazmid DNA'nın yapısını bozarak Form I yapısını Form II yapısına dönüştürmeye başladığı görülmektedir. Kompleks **1**'in hidrolitik bölme aktivitesi, 4 saatlik inkübasyon süresi sonunda kompleks **2** ve **3**'e göre daha düşük derişimde gözlemlendi. Kompleks **2** ve **3**, hidrofobik etkileşim gösteren metil gruplarına sahip fenantrolin türevi kompleksleri olduklarından dolayı, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda ve daha yüksek derişimde hidrolitik bölme aktivitesi gösterdi.

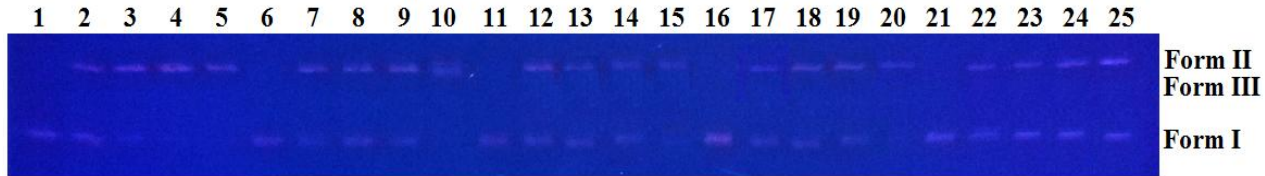
Oksidatif bölme çalışmaları:

$[[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]_n$ kompleksinin (**1**) pUC19 plazmid DNA ile etkileşimini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil (4.3.4.4)'te, $[[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]_n$ (**2**) kompleksinin agaroz jel elektroforez görüntüsü (Şekil 4.3.4.5)'te,

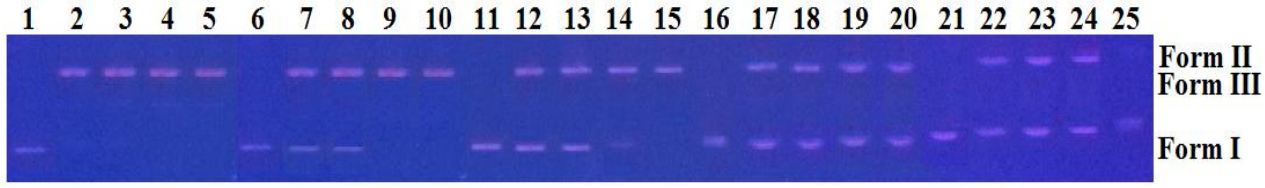
[[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃)]NO₃ (**3**) kompleksinin agaroz jel elektroforez görüntüsü ise (Şekil 4.3.4.6)'da verildi.



Şekil 4.3.4.4. {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksinin **4 saat** inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği oksidatif hasarın jeldeki görüntüsü. **Bant 1:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM), **Bant 2-5:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + kompleks **1** (0,5, 1, 2, 4 µM), **Bant 6:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM) + DMSO (50 µM), **Bant 7-10:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + DMSO (50 µM) + kompleks **1** (0,5, 1, 2, 4 µM), **Bant 11:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM) + DMSO (100 µM), **Bant 13-15:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + DMSO (100 µM) + kompleks **1** (0,5, 1, 2, 4 µM), **Bant 16:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM) + DMSO (500 µM), **Bant 17-20:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + DMSO (500 µM) + kompleks **1** (0,5, 1, 2, 4 µM), **Bant 21:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM) + DMSO (1000 µM), **Bant 21-25:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + DMSO (1000 µM) + kompleks **1** (0,5, 1, 2, 4 µM).



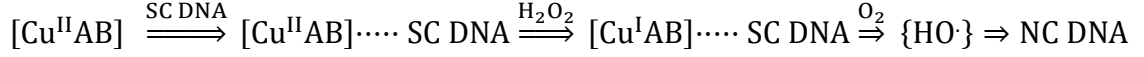
Şekil 4.3.4.5. {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n kompleksinin **4 saat** inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği oksidatif hasarın jeldeki görüntüsü. **Bant 1:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM), **Bant 2-5:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + kompleks **2** (0,5, 1, 2, 4 µM), **Bant 6:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM) + DMSO (50 µM), **Bant 7-10:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + DMSO (50 µM) + kompleks **2** (0,5, 1, 2, 4 µM), **Bant 11:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM) + DMSO (100 µM), **Bant 13-15:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + DMSO (100 µM) + kompleks **2** (0,5, 1, 2, 4 µM), **Bant 16:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM) + DMSO (500 µM), **Bant 17-20:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + DMSO (500 µM) + kompleks **2** (0,5, 1, 2, 4 µM), **Bant 21:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H₂O₂ (1 µM) + DMSO (1000 µM), **Bant 21-25:** pUC19 plazmid DNA+ H₂O₂ (1 µM) + DMSO (1000 µM) + kompleks **2** (0,5, 1, 2, 4 µM).



Şekil 4.3.4.6. $[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin 4 saat inkübasyon sonucunda pUC19 plazmid DNA'da meydana getirdiği oksidatif hasarın jeldeki görüntüsü. **Bant 1:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H_2O_2 (1 μM), **Bant 2-5:** pUC19 plazmid DNA+ H_2O_2 (1 μM) + kompleks 3 (0,5, 1, 2, 4 μM), **Bant 6:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H_2O_2 (1 μM) + DMSO (50 μM), **Bant 7-10:** pUC19 plazmid DNA+ H_2O_2 (1 μM) + DMSO (50 μM) + kompleks 3 (0,5, 1, 2, 4 μM), **Bant 11:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H_2O_2 (1 μM) + DMSO (100 μM), **Bant 13-15:** pUC19 plazmid DNA+ H_2O_2 (1 μM) + DMSO (100 μM) + kompleks 3 (0,5, 1, 2, 4 μM), **Bant 16:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H_2O_2 (1 μM) + DMSO (500 μM), **Bant 17-20:** pUC19 plazmid DNA+ H_2O_2 (1 μM) + DMSO (500 μM) + kompleks 3 (0,5, 1, 2, 4 μM), **Bant 21:** Kontrol pUC19 plazmid DNA + H_2O_2 (1 μM) + DMSO (1000 μM), **Bant 21-25:** pUC19 plazmid DNA+ H_2O_2 (1 μM) + DMSO (1000 μM) + kompleks 3 (0,5, 1, 2, 4 μM).

Komplekslerin her birinin agaroz jel elektroforezdeki görüntüleri incelendiğinde; yalnızca pUC19 plazmid DNA + H_2O_2 bulunan bantta pUC19 plazmid DNA'nın yapısında herhangi bir değişim gözlenmedi (Bant 1). Kompleks derişimi arttırıldıkça DNA'nın Form I yapısının bozularak Form II ve Form III yapılarına dönüştüğü görüldü (Bant 2-5). H_2O_2 varlığında komplekslerin pUC19 plazmid DNA ile oksidatif etkileşimi sonucu Form I'den Form II ve III'e dönüşümü, kompleks 1, 2 ve 3 için 0,5 μM da gözlenmeye başlamıştır (Şekil 4.3.4.4, Şekil 4.3.4.5, Şekil 4.3.4.6, Bant 2). Düşük derişimde, H_2O_2 varlığında, komplekslerin pUC19 plazmid DNA bölme aktivitesi gösterdiği bulundu. H_2O_2 'nin bir dizi, $\text{HO}\cdot$ radikal oluşumunu başlattığı bilinmektedir. DNA zincirine radikallerin saldırması ile DNA da kırılmalar meydana gelebilmektedir. DNA bölme çalışmalarında, reaktif oksijen türlerinin etkisini analiz etmek için hidroksil radikali tutucusu olarak DMSO kullanıldı. DMSO derişimi arttırıldığında Form III yapısı gözlenmemeye, Form II yapısı ise daha belirsiz bir şekilde gözlenmeye başladı. Burdan yola çıkarak, DMSO miktarı arttıkça ortamdaki hidroksil radikallerinin miktarının azaldığı ve ortamda oluşan radikallerin neden olduğu oksidatif DNA bölme etkisinin daha az olduğu sonucuna varıldı (Şekil 4.3.4.4, Şekil 4.3.4.5, Şekil 4.3.4.6, Bant 6-25).

Redoks aktif bakır komplekslerinin H₂O₂ varlığında, pUC19 plazmid DNA ile etkileşime girdiği zaman hidroksil radikalleri oluşturduğu bilinmektedir (Pyle ve ark. 1990). H₂O₂ varlığında, komplekslerin pUC19 plazmid DNA'yı oksidatif olarak bölmesinin olası mekanizması aşağıdaki gibidir (Reddy ve ark. 2011).



{SC DNA: Süper sarmal DNA (Form I), NC DNA: Dairesel DNA (Form II)}

4.3.5. Sentezlenen komplekslerin antikanser aktivitelerinin araştırılması

4.3.5.1. XTT testi sonuçları

Komplekslerin sitotoksosite ölçümleri XTT testi ile yapıldı. XTT testi, hızlı ve hassas bir yöntem olduğu için tercih edildi.

XTT hücre canlılık testi, renk değişimine dayalı hücre metabolik aktiviteyi ölçen bir testtir. Test boyunca sarı tetrazolium tuzu XTT, metabolik olarak aktif olan hücrelerde dehidrogenaz enzimi tarafından yoğun renkli formazan boyasına indirgenir.

Bu dönüşüm yalnızca canlı hücrelerde meydana gelmekte ve üretilen formazan miktarı örnekteki canlı hücre sayısı ile orantılı olmaktadır. Testte oluşan ve sulu çözeltilerde çözünebilir formazan boyasının 450 nm'de absorbansı ölçüldü ve miktarı hesaplandı.

Komplekslerin sitotoksosite ölçümleri, A549 (insan akciğer kanser), Caco-2 (insan kolon kanser), MCF-7 (insan meme kanser) hücre hatları ve BEAS-2B (insan bronş epitel sağlıklı) hücre hattında XTT testi ile yapıldı. Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan komplekslerin kanserli hücrelere karşı etkili olup olmadığını gösteren IC₅₀ değerleri bu teknik ile belirlendi. IC₅₀ değeri; hücrelerin % 50'sinin ölümüne neden olan kompleks derişimini ifade etmektedir. (Çizelge 4.3.5.1.1)'de komplekslere ait IC₅₀ değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.3.5.1.1. Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan komplekslerin IC₅₀ değerleri

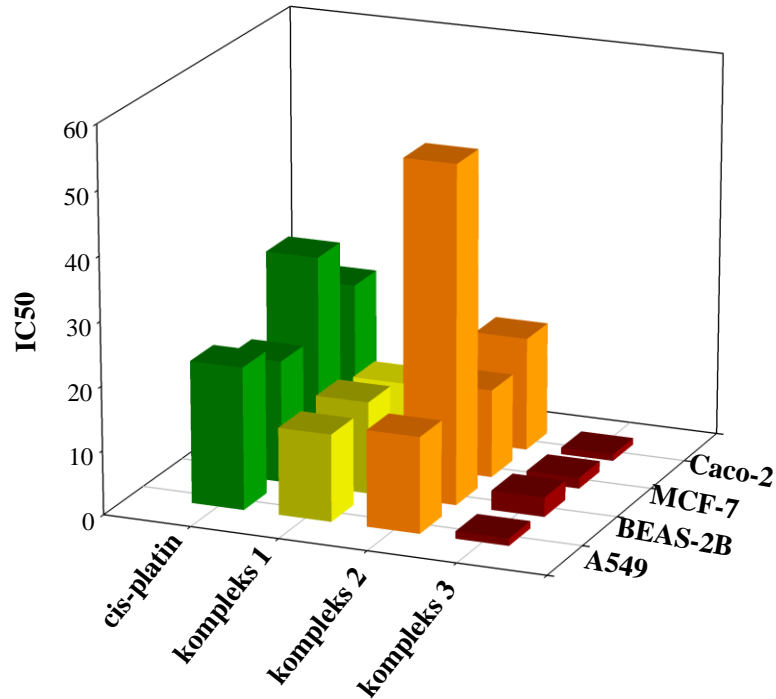
| Kompleksler | IC ₅₀ (µM) | | | |
|-------------|-----------------------|--------------|--------------|--------------|
| | BEAS-2B | A549 | MCF-7 | Caco-2 |
| Kompleks 1 | 14,30 ± 0,16 | 13,59 ± 0,51 | 12,99 ± 0,33 | 4,36 ± 0,06 |
| Kompleks 2 | 52,69 ± 0,46 | 15,01 ± 0,47 | 13,70 ± 0,69 | 17,63 ± 0,47 |
| Kompleks 3 | 3,05 ± 0,24 | 1,16 ± 0,06 | 1,72 ± 0,04 | 1,04 ± 0,06 |
| Cis-platin | 18,9 ± 0,4 | 22,2 ± 0,4 | 31,12 ± 3,2 | 22,7 ± 2,3 |

Kompleks 1: {[Cu(phen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n

Kompleks 2: {[Cu(4-mphen)(trp)]ClO₄·3H₂O}_n

Kompleks 3: [[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO₃))]NO₃

Komplekslerin IC₅₀ (hücrelerin % 50'sinin ölümüne neden olan kompleks derişimi) değerlerine bakıldığında üç kompleksinde cis-platinden daha iyi sitotoksik etkiye sahip olduğu görüldü. Kompleks 3'ün A549, MCF-7 ve Caco-2 kanser hücrelerinde sitototoksisite aktivitesinin, kompleks 1 ve 2 ile karşılaştırıldığında çok daha iyi olduğu belirlendi.



Şekil 4.3.5.1.1. Sentezlenen komplekslerin farklı hücre hatlarındaki IC₅₀ değerlerine ait bar grafiği

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Cu(II) İyonunun Fenantrolin Türevleri ve L-triptofan ile Oluşturduğu Komplekslerin Sulu Çözeltide Kararlılıklarının Değerlendirilmesi

Cu(II) iyonunun 1,10-fenantrolin (phen), 4-metil-1,10-fenantrolin (4-mphen), 4,7-dimetil-1,10-fenantrolin (dmphen); (A) ve L-triptofan (L-trp); (HB) ligantları ile oluşturduğu ikili (1:1) (MA, MB) ve karışık ligant (1:1:1) (MAB) komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitlerini belirlemek için öncelikle ligantların protonlanma sabitleri belirlendi. Çalışmada tüm ligantların protonlanma sabitleri; 0,1 M KCl iyonik ortamında, 25°C, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda potansiyometrik titrasyon yöntemi ile elde edilen verilerin BEST bilgisayar programına uygulanması ile belirlendi. Fenantrolin türevlerinin protonlanma sabiti değerlerinin her üç sıcaklıkta, dmphen > 4-mphen > phen sırasında değiştiği bulundu. Fenantrolin halkasında elektron salıcı metil gruplarının olması, onun bazlığını artırır ve protonun daha iyi bağlamasını sağlar. Dmphen ligandı 4,7-pozisyonlarında iki metil grubu ve 4-mphen ligandı ise, 4-pozisyonunda bir metil grubu içermesi nedeni ile 4-mphen ligandının protonlanma sabiti değeri, dmphen ligandından daha düşük değerde gözlemlendi. Ayrıca, her bir ligandın protonlanma sabiti değerinin artan sıcaklıkla azaldığı görüldü.

İkili komplekslerin kararlılık (oluşum) sabitlerini belirlemek için, (1:1) mol oranında Cu(II) iyonu ile fenantrolin türevleri (phen/4-mphen/dmphen) ve (1:1) mol oranında Cu(II) iyonu ile L-trp içeren çözeltilerin, 0,1 M KCl iyonik ortamında, 25°C, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda, ayarlı KOH çözeltisi ile potansiyometrik titrasyonları yapıldı. Cu(II) iyonu ve protonlanmış phen, 4-mphen, dmphen (H_2A^{2+}) ve L-trp (H_2B^+) ligantlarını içeren çözeltilerin potansiyometrik titrasyonlarında, sulu çözeltide CuA^{2+} , $CuA(OH)^+$, CuB^+ ve $CuB(OH)$ komplekslerinin oluştuğu belirlendi. İkili komplekslerin kararlılık sabiti değerlerinin fenantrolin türevlerine göre her üç sıcaklıkta, $[Cu(dmphen)]^{2+} > [Cu(4-mphen)]^{2+} > [Cu(phen)]^{2+}$ sırasında değiştiği bulundu. Ayrıca, sıcaklık arttıkça, ikili komplekslerin kararlılık (oluşum) sabiti değerlerinin azaldığı görüldü.

Cu(II) iyonunun karışık ligant komplekslerinin kararlılık (oluşum) sabitlerini belirlemek için ise (1:1:1) mol oranında Cu(II) iyonu, fenantrolin türevleri (phen/4-mphen/dmphen) ve L-triptofan içeren çözeltilerin 0,1 M KCl iyonik ortamında, 25°C, 35°C ve 45°C sıcaklıklarda ayarlı KOH çözeltisi ile potansiyometrik titrasyonları yapıldı. Tüm potansiyometrik titrasyon eğrilerinde $m=4,0$ 'te bir dönüm noktası gözlemlendi. Potansiyometrik titrasyon sırasında açığa çıkan proton sayısı ve pH'daki azalma $CuAB^+$ karışık ligant kompleksinin oluştuğunu gösterdi. Karışık ligant komplekslerinin kararlılık sabiti sırası; fenantrolin türevlerine göre $[Cu(dmphen)(L-trp)]^+ > [Cu(4-mphen)(L-trp)]^+ > [Cu(phen)(L-trp)]^+$ şeklinde bulundu. Karışık ligant komplekslerinin kararlılık sabiti değerlerinin sırası, ligantların protonlanma sabiti ve ikili komplekslerin kararlılık sabiti değerlerinin sırası ile uyumlu bulundu. Karışık ligant kompleksleri için bulunan kararlılık sabiti değerlerinin de sıcaklık arttıkça azaldığı görüldü.

Cu(II) iyonu ile ilişkili olarak MA kompleksine ikinci bir ligandın koordinasyon eğilimini karakterize eden bir büyüklük olan $\Delta \log K$ değerleri hesaplandı. Hesaplanan $\Delta \log K$ değerlerinin pozitif çıkması, ikincil ligant olan L-trp'nin Cu(II) iyonundan çok CuA^{2+} ikili kompleksine daha güçlü bağlanarak karışık ligant kompleksi oluşturma eğiliminin daha yüksek olduğunu gösterdi.

5.2. Cu(II) İyonunun Fenantrolin Türevleri ve L-triptofan ile Oluşturduğu Komplekslerin Sentezi ve Karakterizasyonun Değerlendirilmesi

Çalışmada nötral ligant olarak fenantrolin türevlerinden phen, 4-mphen ve 4,7-dmphen anyonik ligant olarak ise L-trp ligantları seçildi ve Cu(II) iyonu ile oluşturdukları karışık ligant kompleksleri sentezlendi. Kompleksler kristal halde elde edildi ve yapıları; elementel analiz, elektronik absorpsiyon spektroskopisi, IR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatıldı. $\{[Cu(phen)(trp)]ClO_4 \cdot 3H_2O\}_n$ (**1**) ve $\{[Cu(4-mphen)(trp)]ClO_4 \cdot 3H_2O\}_n$ (**2**) komplekslerinin ikisinin de ortorombik kiral uzay grubunda ($P2_12_12_1$) ve $[[Cu(dmphen)(trp)(MeOH)][Cu(dmphen)(trp)(NO_3)]]NO_3$ (**3**) kompleksinin ise monoklinik kiral uzay grubunda ($P2_1$) kristallendiği bulundu. Komplekslerde phen, 4-mphen ve dmphen ligantlarının yapılarındaki iki azot atomu üzerinden, L-trp ligandının ise yapısındaki azot ve oksijen atomları üzerinden beşli

şelat halkası oluşturacak şekilde Cu(II) iyonuna koordine olduğu belirlendi. $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ ve $\{[\text{Cu}(4\text{-mphen})(\text{trp})]\text{ClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}_n$ kompleksleri benzer yapıda olup, tek boyutlu koordinasyon polimeri şeklinde bulundu.

$[[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})][\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]]\text{NO}_3$ kompleksinin birim hücre-
sinde ise her biri beş koordinasyonlu iki ayrı Cu(II) kompleksinin; $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{MeOH})]^+$ (1A) ve $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{trp})(\text{NO}_3)]$ (1B) ve bir tane koordine olmayan nitrat anyonunun olduğu görüldü.

5.3. Cu(II) İyonunun Fenantrolin Türevleri ve L-triptofan ile Oluşturduğu Komplekslerin Biyolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan komplekslerin CT-DNA ile etkileşimleri, elektronik absorpsiyon spektroskopisi, floresans spektroskopisi, termal denatürasyon ve agaroz jel elektroforez yöntemleri ile araştırıldı. Elektronik absorpsiyon ve floresans spektroskopisi yöntemleri kullanılarak komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma sabitleri (K_b , K_{app} ve K_{sv}) belirlendi. Komplekslerin her birinin CT-DNA'ya bağlandığı ve bağlanmanın interkalasyon şeklinde olduğu bulundu. Komplekslerin bağlanma sabiti değerlerinin; kompleks 3 > kompleks 2 > kompleks 1 sırasında değiştiği görüldü. Komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma aktiviteleri termal denatürasyon yöntemi ile değerlendirildiğinde ise; komplekslerin hesaplanan ΔT_m değerlerine bakılarak CT-DNA'ya bağlanma türlerinin interkalasyon olduğu yorumu yapıldı.

Sentezlenen ve yapıları aydınlatılan komplekslerin pUC19 plazmid DNA bölme aktiviteleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı kompleks derişimlerinde hidrolitik ve oksidatif olmak üzere iki şekilde araştırıldı. H_2O_2 varlığında, bütün komplekslerin düşük derişimde, oksidatif pUC19 plazmid DNA bölme aktivitesi gösterdiği bulundu. Hidroksil radikali oluşturarak oksidatif DNA hasarı gösterdiği belirlenen komplekslerin, radikal tutucu olarak DMSO kullanılarak deneyleri tekrarlandı. DMSO derişimi arttıkça ortamdaki hidroksil radikallerinin miktarının azaldığı bantlarda görülen Form III ve Form II yapılarındaki değişimler izlenerek belirlendi.

Komplekslerin sitotoksosite aktiviteleleri A549, MCF-7, Caco-2 kanser hücre hatları ve BEAS-2B sağlıklı hücre hattında cis-platin ile karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Komplekslerin IC₅₀ (hücrelerin % 50'sinin ölümüne neden olan kompleks derişimi) değerlerine bakıldığında üç kompleksinde cis-platinden daha iyi sitotoksik etkiye sahip olduğu görüldü. Komplekslerin tez kapsamında seçilen kanser hücrelerindeki sitotoksosite akvitelerinin; kompleks **3** > kompleks **1** > kompleks **2** sırasında değiştii bulundu.



KAYNAKLAR

- Abdelkarim, A.T., El-Sherif, A.A. 2016.** Potentiometric, Thermodynamics and Coordination Properties for Binary and Mixed Ligand Complexes of Copper(II) with Imidazole-4-acetic Acid and Tryptophan or Phenylalanine Aromatic Amino Acids. *Journal of Solution Chemistry*, 45:712-731.
- Addison, A.W., Rao, T. N., Reedijk, J., Rijn, Jr V., Verschoor, G. C. 1984.** Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen-sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(*N*-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1349-1356.
- Alessio, E., Macchi, M., Heath, S.L., Marzilli, L.G. 1997.** Ordered supramolecular porphyrin arrays from a building block approach utilizing pyridylporphyrins and peripheral ruthenium complexes and identification of a new type of mixed-metal building block. *Inorganic Chemistry*, 36: 5614-5623.
- Anastassopoulou, J. 2003.** Metal-DNA interactions. *Journal of Molecular Structure*, 651-653: 19-26.
- Aydın, R. 1997.** Bazı İtiryum(III) Koordinasyon İyon ve Bileşiklerinin Sulu Çözeltideki Kararlılıkları. *Doktora Tezi*, UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Bursa.
- Bandyopadhyay, S., Mukherjee, G.N., Drew, M.G.B. 2006.** Equilibrium studies on mixed ligand complex formation of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) with *N*-(2-hydroxybenzyl)-*L*-histidine(H₂hb-*L*-his) and typical *N,N* donor ligands: Crystal structure of [Ni(hb-*L*-his)(bipyridine)]·H₂O complex. *Inorganica Chimica Acta*, 359: 3243-3251.
- Baes, C.F., Mesmer, R.E. 1986.** The Hydrolysis of Cations. Inc. Interscience, New York, U.S.A, pp:241-246, pp: 267-272.
- Banks, C.V., Bystroff, R.I. 1959.** Stability orders in transition metal-1,10-phenanthroline complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, 81(23): 6153-6158.
- Beck, M.T., Nagypal, I. 1990.** Chemistry of Complex Equilibria. Halsted press, John Wiley&Sons, New York, U.S.A, 369 pp.
- Boger, D.L., Fink, B.E., Brunette, S.R., Tse, W.C., Hedrick, M.P. 2001.** A simple, high-resolution method for establishing DNA binding affinity and sequence selectivity. *Journal of the American Chemical Society*, 123, 5878-5891.
- Brandt, W.W., Gullstrom, D.K. 1952.** Studies on some ferrous complexes of substituted 1,10-phenanthrolines. *J. Am. Chem. Soc.*, 74(14): 3532-3535.
- Brisbin, D.A., McBryde, W. A. E. 1963.** The stability of metallic complexes of two dimethylphenanthrolines. *Canadian Journal of Chemistry*, 41: 1135-1141.

Bruker, S. 2010. SHELXTL (version 6.14). Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.

Bruker, S. 2014. APEX2 (version 2014.11-0). Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.

Canel, E., Gültepe, A., Doğan, A., Kılıç, E. 2006. The determination of protonation constants of some amino acids and their esters by potentiometry in different media. *Journal of Solution Chemistry*, 35(1):5-19.

Chetana, P.R., Rao, R., Roy, M., Patra, A.K. 2009. New ternary copper(II) complexes of L-alanine and heterocyclic bases: DNA binding and oxidative DNA cleavage activity. *Inorganica Chimica Acta*, 362: 4692–4698.

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.

Choudhary, A., Sharma, R., Magar, M. 2011. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of mixed ligand complexes of Co(II) and Cu(II) with N,O/S donor ligands and amino acids. *International Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1(6): 172-187.

Condrate, R.A., Nakamoto, K. 1965. Infrared spectra and normal coordinate analysis of metal glycino complexes. *J. Chem. Phys.*, 42: 2590.

Cotton, F.A., Wilkinson, G. 1983. Advanced Inorganic Chemistry. Wiley Interscience, New York, U.S.A, pp: 746-759.

Cotton, F.A., Wilkinson, G. 1988. Advanced Inorganic Chemistry. Wiley Interscience, New York, U.S.A, pp: 955-971.

Dallavalle, F., Folesani, G., Sabatini, A., Tegoni, M., Vacca A. 2001. Formation equilibria of ternary complexes of copper(II) with (*S*)-tryptophanhydroxamic acid and both D- and L-amino acids in aqueous solution. *Polyhedron*, 20: 103–109.

Fazary, A.E. 2014. Metal complexes of salicylhydroxamic acid and 1,10-phenanthroline; equilibrium and antimicrobial activity studies. *Bull. Chem. Soc. Ethiop*, 28(3):393-402.

Frank, C.J.M., Veggel, V., Verboom, W., Reinhoudt, D.N. 1994. Metallomacrocycles: Supramolecular chemistry with hard and soft metal cations in action. *Chemical Reviews*, 94(2): 279-299.

Harris, W.R., A.E. Martell. 1976. Aqueous complexes of Gallium(III). *Inorg. Chem.* 15(3): 713-720.

Harris, D.C. 1982. Analitik Kimya, Tercüme Editörü: G. Somer Gazi, Büro Kitabevi, Ankara, s. 244-246, s. 297-319, s. 333-345.

Herlinger, A.W., Wenhold, S.L., Long II, T.V. 1970. Infrared spectra of amino acids and their metal complexes II. Geometrical isomerism in bis(amino acidato)copper(II) complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, 92 (22): 6474–6481.

İnci, D., Aydın, R. 2014. Stabilities of the Ternary Complexes of Copper(II) with Substituted 1,10-Phenanthrolines and Some Amino Acids in Aqueous Solution. *Journal of Solution Chemistry*, 43:711-726.

İnci, D., Aydın, R. 2017. Potentiometric Studies on Complexation of Cu(II) Ion with Methyl/Nitro-Substituted 1,10-Phenanthrolines and Selected Amino Acids. *Journal of Solution Chemistry*. 46(1):124-138.

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.

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.

Jin, L., Yang, P. 1997. Synthesis and DNA binding studies of Co(III) mixed-ligand complex containing dipyrrodo [3,2-a: 2',3'-c]phenazine and phen. *Polyhedron*, 16(19): 3395–3398.

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 (N₃⁻) mono- and dinuclear copper(II) complexes. *Inorganic Chemistry*, 26: 147-153.

Krishnamoorthy, C.R., Sunil, S., Ramalingam, K. 1985. The effect of ligand donor atoms on ternary complex stability. *Polyhedron*, 4(8): 1451-1456.

Kuhn, H. 1948. Elektronengasmodell Zur Quantitativen Deutung Der Lichtabsorption Von Organischen Farbstoffen I. *Helv. Chim. Acta*, 31: 1441-1445.

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) footprinting studies. *Biochemistry*, 32: 4237–4245.

Lin, J., Qiu, X., Zheng, Y. 2007. *catena*-Poly[[[(4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline- κ 2*N,N'*)(formato- κ O)-copper(II)]- μ -formato- κ 2O:O'] monohydrate]. *Acta Cryst.*, 63: 2559-2560.

Liu, J., Zheng, W., Shi, S., Tan, C., Chen, J., Zheng, K., Ji L. 2008. Synthesis, antitumor activity and structure–activity relationships of a series of Ru(II) Complexes. *J. Inorg. Biochem.*, 102(2): 193-202.

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

Macrae, C.F., Edgington, P.R., McCabe, P., Pidcock, E., Shields, G.P., Taylor, R., Towler, Streek, J. 2006. *Mercury*: visualization and analysis of crystal structures. *J. Appl. Cryst*, 39: 453-457.

Manadevan, S., Palaniandavar, M. 1998. Spectral and electrochemical behavior of Copper(II)-phenanthrolines bound to calf thymus DNA. *Inorg. Chem.*, 37: 3927-3934.

Martin, D.W., Granner, D.K. 1985. Edition Herpers Review of Biochemistry. England, pp: 14-21.

Martel, A.E., Smith, R.M. 1982. Critical stability constants. Plenum pres, New York, 254 pp.

Martell, A.E., Motekaitis, R.J. 1988. The Determination and Use of Stability Constants. VCH Publishers Inc, New York, U.S.A., 224 pp.

Martell, A.E., Hancock, R.D. 1996. Metal Complexes in Aqueous solutions. Plenum Pres, New York and London, 268 pp.

McMasters, D.L, Schaap, W.B. 1958. High-Speed Calculation of Least-Squares Best Consecutive Formation Constants of Metal-Ion Complexes Using the Electronic Computer. *Proc. Indian Acad. Sci.*, 67: 111.

Meyer-Almes, F.J., Porschke, D. 1993. Mechanism of intercalation into the DNA double helix by ethidium. *Biochemistry*, 32(16): 4246–4253.

Mohan, A., Yogi, D.S., Kumar, G.N., Mohan, M.S. 1993. Influence of electronic, steric and stacking interactions in ternary Ni(II) and Cu(II) complexes containing 2,2',2''-terpyridine and a series of amino acids. *Indian Journal of Chemistry*, 32A: 785-788.

Nasanen, M.S., Merilainen, P., Lukkari, S. 1962. Stability of the Mixed Copper Complex of 1,2-diaminopropane and 5-sulphosalicylic acid in Aqueous Sodium Perchlorate Solutions. *Acta. Chem. Scand.*, 16: 2384-2388.

Nelson, D.L., Cox, M.M. 2005. *Biyokimyanın Temelleri*. Palme Yayıncılık, Ankara, s. 116-118.

Patra, A.K., Roy, S., Chakravarty, A.R. 2009. Synthesis, crystal structures, DNA binding and cleavage activity of L-glutamine copper(II) complexes of heterocyclic bases. *Inorganica Chimica Acta*, 362: 1591–1599.

Patra, A.K., Bhowmick, T., Roy, S., Ramakumar, S., Chakravarty, A.R. 2009. Copper(II) complexes of L-arginine as netropsin mimics showing DNA cleavage activity in red light. *Inorganic Chemistry*, 48(7): 2932-2943.

Podsiadly, H., Karwecka, Z. 2009. Complexes of vanadium(III) with aromatic amino acids and L-proline in aqueous solution. *Polyhedron*, 28: 1568–1572.

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.

Pyle, A. M., Barton, J. K. 1990. Probing nucleic acids with transition metal complexes. *Progress in Inorganic Chemistry: Bioinorganic Chemistry*, 38, 413-475.

Qin, G., Xue-Yi, L., Qing-Bin, L., Sheng-Rong, L., Xue-Dan, M., Xiao-Long, F. 2007. Synthesis, characterization and SOD activities of IP-copper(II)-L-amino acid Complexes. *Chinese Journal of Chemistry*, 25: 791-796.

Ramakrishnan, S., Rajendiran, V., Palaniandavar, M., Periasamy, V.S., Srinag, B.S., Krishnamurthy, H., Akbarsha, M.A. 2009. Induction of cell death by ternary Copper(II) Complexes of L-tyrosine and diimines: role of coligands on DNA binding and cleavage and anticancer activity. *Inorg. Chem.*, 48: 1309-1322.

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. 2010. Interaction of DNA with small molecules: Role of copper histidyl peptide complexes in DNA binding and hydrolytic cleavage. *Indian Journal of Chemistry*, 49A: 1003–1015.

Reddy, P.R., Shilpa, A. 2011. Oxidative and hydrolytic DNA cleavage by Cu(II) complexes of salicylidene tyrosine schiff base and 1,10 phenanthroline/bipyridine. *Polyhedron*, 30: 565-572.

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.

Richards, A. D., Rodger, A. 2007. Synthetic metallomolecules as agents for the control of DNA structure. *Chemical Society Reviews*, 36 (3): 471-483.

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.

Stanila, A., Nagy, Cs., Marcu, A., Cozma, D., Rusu, D., David, L. 2009. Spectroscopic investigations of new metallic complexes with leucine as ligand. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. pp: 419-421.

Sharma, V.S., Schubert, J. 1969. Catalytic activity of metal chelates and mixed-ligand complexes in the neutral pH region, I. Copper-imidazole. *J. Am. Chem. Soc.*, 91(23): 6291–6296.

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.

Shriver, D., F., Atkins, P., W. 1999. *Anorganik Kimya*. Bilim Yayıncılık, Ankara, 639 s.

Sigel, H., McCorm, D.B. 1970. The structure of the Copper(II)-L-Histidine 1:2 Kompleks in Solution. *J. Am. Chem. Soc.*, 93: 2041-2044.

Sigel, H., Huber, P.R., Pasternack, R.F. 1971. Ternary complexes in solution. X. The influence of size of the chelate rings on the stability of mixed- ligand Copper(II) complexes. *Inorg. Chem.*, 10(10): 2226-2228.

Sigel, H. 1973. *Metal Ions in Biological Systems vol:2, Mixed-ligand complexes*, Marcel Dekker, Inc., Newyork, pp: 95-108.

Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J. 1992. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Saunders College Publishing, USA, 892 pp.

Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J. 1996. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Harcourt Brace College Publishers, USA, 868 pp.

Skoog, D. A., Holler, F.J., Nieman, T. A. 1998. *Principles of Instrumental Analysis*. Harcourt Brace & Company, USA, 849 pp.

Solans, X., Ruíz-Ramírez, L., Martínez, A., Gasque, L., Moreno-Esparza, R. 1993. Mixed chelate complexes. II. Structures of L-alaninato(aqua)(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline)copper(II) nitrite monohydrate and aqua(4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline)(glycinato)(nitrate)copper(II) monohydrate. *Acta Cryst.*, C49: 890-893.

Spek A. L. 2009. Single-crystal structure validation with the program PLATON. *J. Appl. Crystallogr.*, 36: 7-13.

Su, C., Tai, T., Wu, S., Wang, S., Liao, F. 1999. Spectroscopic and electronic properties of mixed ligand aminoacidatocopper(II) complexes molecular structure of

[Cu(4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline)(L-phenylalaninato)](ClO₄). *Polyhedron*, 18:2361–2368.

Subramanian, P. S., Suresh, E., Dastidar, P., Waghmode, S., Srinivas, D. 2001. Conformational isomerism and weak molecular and magnetic interactions in ternary Copper(II) complexes of [Cu(AA)L'ⁿ]ClO₄·H₂O, where AA = L-Phenylalanine and L-Histidine, L' = 1,10-phenanthroline and 2,2-bipyridine, and n = 1 or 1.5: Synthesis, single-crystal X-ray structures, and magnetic resonance investigations. *Inorg. Chem.*, 40: 4291-4301.

Sugimori, T., Masuda, H., Ohata, N., Koiwai, K., Odani, A., Yamauchi, O. 1997. Structural dependence of aromatic ring stacking and related weak interactions in ternary amino acid-Copper(II) complexes and its biological implication. *Inorg. Chem.*, 36: 576-583.

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.

Tozar, Z. 1993. DNA ikili sarmalın keşfi. *Bilim ve Teknik (TÜBİTAK)*, 26: (313).

Ün, R. 1984. Organik Kimya. İstanbul, 330 s.

Versiane, O., Rodrigues, B.L., Ramos, J.M., Tellez, C.A. 2006. Synthesis, molecular structure and vibrational spectra of a dimeric complex formed by cobalt and glycine. *Spectrochimica Acta*, 65(2):1112-1119.

Watters, J.I. 1959. A method of investigating complex equilibria in mixtures of ligands using the glass electrode: Copper(II) ion in mixtures of oxalate ion and ethylenediamine. *J. Am. Chem. Soc.*, 81(7): 1560–1563.

Watters, J.I., DeWitt, R. 1960. The complexes of Nickel(II) ion in aqueous solutions containing oxalate ion and ethylenediamine. *J. Am. Chem. Soc.*, 82(6): 1333–1339.

Williams, D.R. 1971. The Metals of Life, Chapter 4. First Published, The Camolet Pres Ltd, London and Southampton, 912 pp.

Wu, F., Lukinus, A., Bergstrom, M., Eriksson, B., Watnabe, Y and Langstrom, B. 1999. A Mechanism behind the antitumour effect of 6-diazo-5-oxo- L-norluicine (DON): Distruption of mitochondria. *Pergamon*, 35(7): 1155-1161.

Xiao-hua, Z., Xue-yi, L.E., La-sheng, L., Shi, C. 2005. Synthesis, characterization, crystal structure and stability of a ternary Cu(II) complex with 1, 10-phenanthroline and L-valinate. *Chem. Res. Chinese U.*, 21(1): 119-122.

Yajima, T., Takamido, R., Shimazaki, Y., Odani, A., Nakabayashi, Y., Yamauchi, O. 2000. π-π Stacking assisted binding of aromatic amino acids by copper(II)–aromatic diimine complexes. Effects of ring substituents on ternary complex stability. *Dalton Trans.*, 3: 299-307.

Yamauchi, O., Odani, A. 1985. Structure-stability relationship in ternary Copper(II) complexes involving aromatic amines and tyrosine or related amino acids. intramolecular aromatic ring stacking and its regulation through tyrosine phosphorylation. *J. Am. Chem. Soc.*, 107: 5938-5945.

Yamauchi, O., Odani, A., Masuda, H. 1992. Weak interaction in metal complexes of amino acids with a phosphorylated side chain. Conversion of a aromatic ring stacking to electrostatic bonding by tyrosine phosphorylation. *Inorganica Chimica Acta*, 198-200: 749-761.

Yang, Z., Wang, Y., Yang, G. 2011. Copper (II) complex of 1,10-phenanthroline and L-tyrosine with DNA oxidative cleavage activity in the gallic acid. *Biometals*, 24:737-745.

Yasuda, M., Sone, K., Yamasaki, K. 1956. Stability of zinc and cadmium complexes with some methyl derivatives of 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine. *Journal of the American Chemical Society*, 60:1667-1668.

Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B. 2007. Moleküler Biyoloji. Nobel Yayın Dağıtım, No:1170, Ankara, 613 s.

Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S. 1997. Enstrümantal Analiz Yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, s: 309-312.

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.

Yogi, D.S., Venkataiah, P., Mohan, M.S. 1994. Equilibrium studies on ternary Cu(II) complexes containing tripolyphosphate, pyrophosphate or adenosine-5'-triphosphate and series of secondary ligands. *Indian Journal of Chemistry*, 33A: 407-411.

Zhang, F., Odani, A., Masuda, H., Yamauchi, O. 1996. Structures and stabilities of ternary Copper(II) complexes with 3,5-diiodo-L-tyrosinate. Weak interactions involving iodo groups. *Inorg. Chem.* 35(24):7148-7155.

Zhang, F., Yajima, T., Odani, A., Yamauchi, O. 1998. Electrostatic ligand-ligand interactions in ternary Copper(II) complexes with 3,5-diiodo-L-tyrosine and polar amino acids. *Inorganica Chimica Acta*, 278: 136-142.

EKLER

EK 1 Çalışmada kullanılan ligantların literatürdeki protonlanma sabitleri ($\log K$)

EK 2 Cu(II):phen koordinasyon türlerinin literatürdeki kararlılık sabitleri ($\log \beta$)

EK 3 Cu(II):4-mphen koordinasyon türlerinin literatürdeki kararlılık sabitleri ($\log \beta$)

EK 4 Cu(II):dmphen koordinasyon türlerinin literatürdeki kararlılık sabitleri ($\log \beta$)

EK 5 Cu(II):L-triptofan koordinasyon türlerinin literatürdeki kararlılık sabitleri ($\log \beta$)

EK 6 Cu(II) metal iyonunun amino asitler ve 1,10-fenantrolin veya türevleri ile oluşturduğu karışık ligant komplekslerinin literatürdeki kararlılık sabitleri ($\log \beta$)

EK 7 Cu(II) iyonunun hidroliz dengelerine ait literatürdeki sabitler



EK 1 Çalışmada kullanılan ligantların literatürdeki protonlanma sabitleri (log K)

| Ligant | Protonlanma Sabiti | | Kullanılan program | Sıcaklık ve iyonik ortam | Kaynak |
|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|----------------------------|
| | log K ₁ | log K ₂ | | | |
| phen | 4,96 | - | - | - | Brandt ve ark. 1952 |
| | 4,92 | - | - | 25°C, 0,1 M KNO ₃ | Yasuda ve ark. 1956 |
| | 4,77 | - | - | 25°C, 0,1 M KCl | Banks ve ark. 1959 |
| | 4,93 | - | - | 25°C, 0,1 M KNO ₃ | Brisbin ve ark. 1963 |
| | 4,77 | 1,95 | - | 35°C, 0,1 M KNO ₃ | Krishnamoorthy ve ark.1985 |
| | 4,96 | 1,90 | - | 25°C, 0,1 M NaNO ₃ | Bandyopadhyay ve ark.2006 |
| | 4,37 | - | Irving Rossetti | 37°C, 0,15 M NaNO ₃ | Fazary 2014 |
| | 4,25 | - | Bjerrum-Calvin | | |
| | 4,46 | - | Hyperquad | | |
| | 5,03 | 1,73 | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2014 |
| | 4,75 | <1 | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| | 4,17 | <1 | | 45°C, 0,1 M KCl | |
| 4-mphen | 5,52 | <1 | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2017 |
| | 5,25 | <1 | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| | 4,99 | <1 | | 45°C, 0,1 M KCl | |
| dmphen | 5,94 | - | - | 25°C, 0,1 M KNO ₃ | Yasuda ve ark. 1956 |
| | 5,95 | - | - | 25°C, 0,1 M KNO ₃ | Brisbin ve ark. 1963 |
| | 5,89 | 0,61 | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2014 |
| | 5,68 | <1 | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| | 5,54 | <1 | | 45°C, 0,1 M KCl | |
| L-triptofan | 9,34 | 2,31 | Hyperquad | 25°C, 0,1 M KCl | Dallavalle ve ark. 2001 |
| | 10,50 | 2,60 | BEST | 25°C, 0,1 M NaCl | Canel ve ark. 2006 |
| | 9,65 | 2,52 | Hyperquad | 25°C, 0,1 M NaClO ₄ | Podsiadly ve ark. 2009 |
| | 9,32 | 2,43 | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2014 |
| | 9,51 | 2,41 | - | 15°C, 0,1 M NaCl | Abdelkarim ve ark. 2016 |
| | 9,38 | 2,33 | | 25°C, 0,1 M NaCl | |
| | 9,27 | 2,26 | | 35°C, 0,1 M NaCl | |
| | 9,15 | 2,22 | | 45°C, 0,1 M NaCl | |
| | 8,77 | 2,16 | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| | 8,11 | 1,98 | | 45°C, 0,1 M KCl | |

EK 2 Cu(II):phen koordinasyon türlerinin literatürdeki kararlılık sabitleri (log β)

| $\log\beta_{ML}$ | $\log\beta_{ML_2}$ | $\log\beta_{ML_3}$ | Kullanılan program | Sıcaklık ve iyonik ortam | Kaynak |
|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| 7,20 | - | - | - | 35°C, 0,1 M KNO ₃ | Krishnamoorthy ve ark. 1985 |
| 9,14 | - | - | - | 25°C, 0,1 M NaNO ₃ | Bandyopadhyay ve ark. 2006 |
| 6,3 | 12,45 | 17,95 | - | 25°C, 0,1 M KCl | Banks ve ark. 1959 |
| 3,65 | 8,62 | - | IrvingRossetti | 37°C, 0,15 M NaNO ₃ | Fazary 2014 |
| 3,36 | 7,92 | - | Bjerrum-Calvin | | |
| 3,49 | 8,35 | - | Hyperquad | | |
| 6,88 | - | - | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2014 |
| 5,61 | - | - | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| 5,15 | - | - | | 45°C, 0,1 M KCl | |

EK 3 Cu(II):4-mphen koordinasyon türlerinin literatürdeki kararlılık sabitleri (log β)

| logβ_{ML} | logβ_{ML_2} | logβ_{ML_3} | Kullanılan program | Sıcaklık ve iyonik ortam | Kaynak |
|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------|
| 6,96 | - | - | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2017 |
| 6,48 | - | - | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| 6,07 | - | - | | 45°C, 0,1 M KCl | |

EK 4 Cu(II):dmphen koordinasyon türlerinin literatürdeki kararlılık sabitleri (log β)

| logβ_{ML} | logβ_{ML_2} | logβ_{ML_3} | Kullanılan program | Sıcaklık ve iyonik ortam | Kaynak |
|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|----------------------|
| 8,76 | 16,02 | 21,99 | - | 25°C, 0,1 M KNO ₃ | Brisbin ve ark. 1963 |
| 7,57 | - | - | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2014 |
| 7,16 | - | - | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| 6,77 | - | - | | 45°C, 0,1 M KCl | |

EK 5 Cu(II):L-triptofan koordinasyon türlerinin literatürdeki kararlılık sabitleri (log β)

| logβ_{ML} | logβ_{ML_2} | Kullanılan program | Sıcaklık ve iyonik ortam | Kaynak |
|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| 7,96 | - | SCOGS | 35°C, 0,2 M KNO ₃ | Mohan ve ark. 1993 |
| 7,96 | - | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2014 |
| 8,05 | 7,77 | - | 15°C, 0,1 M NaCl | Abdelkarim ve ark. 2016 |
| 7,97 | 7,69 | | 25°C, 0,1 M NaCl | |
| 7,89 | 7,64 | | 35°C, 0,1 M NaCl | |
| 7,82 | 7,54 | | 45°C, 0,1 M NaCl | |
| 7,14 | - | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| 6,59 | - | | 45°C, 0,1 M KCl | |

EK 6 Cu(II) metal iyonunun amino asitler ve 1,10-fenantrolin veya türevleri ile oluşturduğu karışık ligant komplekslerinin literatürdeki kararlılık sabitleri (log β)

| Kompleks | log β_{MLA} | log β_{MLAH} | $\Delta\log K$ | Kullanılan program | Sıcaklık ve iyonik ortam | Kaynak |
|---|-------------------|--------------------|----------------|--------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Cu:phen:CMP | 11,80 | - | - | - | 35°C, 0,1 M KNO ₃ | Krishnamoorthy ve ark. 1985 |
| Cu:PP:Phe | 15,26 | - | -1,08 | - | 35°C, 0,2 M KNO ₃ | Yogi ve ark. 1994 |
| Cu:PP:Tyr | 15,48 | - | -1,18 | | | |
| Cu:PP:phen | 8,79 | - | +0,10 | | | |
| Cu:TTP:Phe | 13,98 | - | -1,60 | | | |
| Cu:TTP:Tyr | 14,43 | - | -1,47 | | | |
| Cu:TTP:phen | 8,26 | - | +0,32 | | | |
| Cu:ATP:Phe | 12,92 | - | -0,68 | | | |
| Cu:ATP:Tyr | 13,20 | - | -0,72 | | | |
| Cu:terpy:Phe | 12,65 | - | -2,64 | | | |
| Cu:terpy:Tyr | 12,90 | - | -2,54 | | | |
| Cu:terpy:Trp | 13,23 | - | -2,69 | | | |
| Cu:bpy:Phe | 15,48 | - | +0,20 | | | |
| Cu:phen:hb-L-His | 24,44 | - | -0,14 | - | 25°C, 0,1 M NaNO ₃ | Bandyopadhyay ve ark. 2006 |
| Cu ₂ :phen:(hb-L-His) ₂ | 27,46 | - | - | | | |
| Cu:phen:Val | 15,58 | - | - | - | NaClO ₄ | Xiao-hua ve ark. 2005 |
| Cu:phen:Phe | 17,57 | - | +0,64 | MINIQUAD | 25°C, 0,1 M KNO ₃ | Yamauchi ve ark. 1985 |
| Cu:phen:Tyr | - | 28,00 | +1,05 | | | |
| Cu:phen:Trp | 18,65 | - | +1,30 | | | |
| Cu:5-nphen:Phe | 13,40 | - | +0,92 | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2014 |
| Cu:5-nphen:Tyr | 13,82 | - | +0,75 | | | |
| Cu:5-nphen:Trp | 15,20 | - | +2,31 | | | |

| | | | | | | |
|-----------------------|--------------|---|--------------|------|----------------------------|---------------------|
| Cu:phen:Phe | 16,33 | - | +1,87 | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2014 |
| Cu:phen:Tyr | 16,70 | - | +2,02 | | | |
| Cu:phen:Trp | 17,16 | - | +2,32 | | | |
| Cu:dmphen:Phe | 16,51 | - | +1,36 | | | |
| Cu:dmphen:Tyr | 16,99 | - | +1,62 | | | |
| Cu:dmphen:Trp | 17,69 | - | +2,16 | | | |
| Cu:4-mphen:Gly | 16,83 | - | +1,67 | BEST | 25°C, 0,1 M KCl | İnci ve ark. 2017 |
| Cu:4-mphen:Tyr | 16,31 | - | +1,55 | | | |
| Cu:5-mphen:Gly | 16,36 | - | +1,50 | | | |
| Cu:5-mphen:Tyr | 15,68 | - | +1,22 | | | |
| Cu:dmphen:Gly | 17,81 | - | +2,04 | | | |
| Cu:dmphen:Tyr | 16,99 | - | +1,62 | | | |
| Cu:tmphen:Gly | 19,14 | - | +2,45 | | | |
| Cu:tmphen:Tyr | 18,54 | - | +2,25 | | | |
| Cu:5-nphen:Gly | 15,42 | - | +1,93 | | | |
| Cu:5-nphen:Tyr | 13,82 | - | +0,75 | | | |
| Cu:phen:Trp | 15,02 | - | +2,27 | BEST | 35°C, 0,1 M KCl | Bu çalışmada |
| Cu:phen:Trp | 13,84 | - | +2,10 | | 45°C, 0,1 M KCl | |
| Cu:4-mphen:Trp | 17,43 | - | +2,51 | | 25°C, 0,1 M KCl | |
| Cu:4-mphen:Trp | 15,96 | - | +2,34 | | 35°C, 0,1 M KCl | |
| Cu:4-mphen:Trp | 14,89 | - | +2,23 | | 45°C, 0,1 M KCl | |
| Cu:dmphen:Trp | 16,34 | - | +2,06 | | 35°C, 0,1 M KCl | |
| Cu:dmphen:Trp | 15,28 | - | +1,92 | | 45°C, 0,1 M KCl | |

EK 7 Cu(II) iyonunun hidroliz dengelerine ait literatürdeki sabitler



| Sıcaklık ve iyonik ortam | m=1, n=1 ($\beta_{1,1}$) | m=2, n=2 ($\beta_{2,2}$) | Kaynak |
|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| T = 18°C Sey. Cu(NO ₃) ₂ | -8,0 | -10,95 | Pedersen 1943 |
| T = 25°C, I = 3M NaClO ₄ | | -10,6 | Berecki-Biedermann 1956 |
| T= 15-42°C I= 0 ^b | < -8 | (-3833/T) + 2,497 | Perrin 1960 |
| T= 25°C, I = 0,1M KNO ₃ | (-7,34) | -10,6 | Achenza 1964 |
| I = 0 | (-7,6) | -10,8 | Mahapatra ve ark. 1967 |
| T= 25°C, I = 3M LiClO ₄ (dioksan-su) | (-7,60) | -10,95 | Ohtaki 1968 |
| T= 25°C, I = 3M NaClO ₄ | (-7,22) | -10,75 | Kakihana ve ark. 1970 |
| T= 25°C, I = 3M NaClO ₄ (D ₂ O) | (-7,71) | -11,46 | Kakihana ve ark. 1970 |

(Kaynak : Baes ve Mesmer 1986)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Pelin ŞENEL
Doğum Yeri ve Tarihi : İSTANBUL/02.12.1988
Yabancı Dili : İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)
Lise : Fatih-Şehremini Lisesi (YDA) - 2007
Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü - 2013
: İstanbul Üniversitesi Açık ve Uzaktan Eğitim Fakültesi
Sosyoloji Bölümü - (2014 – devam ediyor)
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı - 2017
İletişim (e-posta) : senelpelin88@gmail.com

Bildiriler

Senel, P., İnci, D., Aydın, R., Zorlu, Y. 2015. “L-Triptofan ve 4,7-dimetil-1,10-fenantrolinin Cu(II) İyonu İle Oluşturduğu Karışık Ligant Kompleksinin Sentezi, Karakterizasyonu, DNA Etkileşimlerinin ve Biyolojik Özelliklerinin Araştırılması.” V. Ulusal Anorganik Kimya Kongresi, 22-25 Nisan 2015, Mersin.

Yer Aldığı Projeler

“Bakır(II), Nikel(II) ve Çinko(II) İyonlarının Sübstitüe Fenantrolinler, Triptofan ve Glutamin İle Oluşturduğu Komplekslerin Sentezi, Karakterizasyonu, Kararlılıklarının, Kompleks-DNA Etkileşimlerinin ve Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması” adlı Uludağ Üniversitesi BAP projesi (2015).