



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**



**BAZI SCHIFF BAZLARI VE KOMPLEKSLERİNİN DNA'YA  
BAĞLANMA ÖZELLİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Nuray YILDIRIM**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**ÇANAKKALE**

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**DOKTORA TEZİ**

**BAZI SCHIFF BAZLARI VE KOMPLEKSLERİNİN DNA'YA  
BAĞLANMA ÖZELLİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Nuray YILDIRIM**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Tezin Sunulduğu Tarih: 28/06/2016**

**Tez Danışmanı:**

**Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR**

**ÇANAKKALE**

Nuray YILDIRIM tarafından Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR yönetiminde hazırlanan ve **28/06/2016** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Bazı Schiff Bazları ve Komplekslerinin DNA’ya Bağlanma Özelliklerinin ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

**JÜRİ**

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

.....

**Başkan**

Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN

.....

**Üye**

Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

.....

**Üye**

Prof. Dr. Hülya SİVAS

.....

**Üye**

Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA

.....

**Üye**

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu tez çalışması Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından FDK-2015-307 numaralı ve TÜBİTAK 115F253 numaralı projelerden desteklenmiştir.

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Nuray YILDIRIM

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince benden yardımlarını esirgemeyen ve bilgi ve tecrübeleriyle yön veren, her zaman yanımda olan saygıdeğer danışmanım Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tezde çalışılan bileşikleri sağlayan, çalışmanın yürütülmesinde fikir ve görüşleri ile tez sonuçlarının yorumlanmasındaki katkılarından dolayı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Anorganik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa YILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Yine Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN'a tüm laboratuvar imkanlarını paylaştıkları ve tez çalışmamda sonuçların değerlendirilmesindeki değerli yorumları ve yönlendirmeleri için teşekkür ederim.

Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Hülya SİVAS ve Arş. Gör. Oğuzhan KARAOSMANOĞLU'na hücre kültürü tekniklerini öğrettikleri ve laboratuvar imkanlarını bizimle paylaştıkları için teşekkür ederim.

Ayrıca, antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan bakteri ve maya suşlarını laboratuvarımıza hediye eden Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Kıymet GÜVEN'e ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarındaki yardımları ve desteklerinden dolayı sevgili arkadaşlarım Feyza AKKAN, Gülsüm AKKUŞ, Mehmet Ali YILDIRIM ve Merve BALLI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca benden desteklerini esirgemeyen, ilgi ve sevgileriyle her zaman yanımda olan sevgili aileme ve hep yanımda olup bana destek olan tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nuray YILDIRIM  
Çanakkale, Haziran 2016

## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
% H	Yüzde hipokromisite
°C	Santigrat derece
A	Adenin
A <sub>e</sub>	DNA'ya tam bağlı bileşiğin absorbans şiddeti
A <sub>f</sub>	Bileşiğin serbest haldeki absorbans şiddeti
bp	Baz çifti
C	Sitozin
CFU	Koloni oluşturan birim
Co	Kobalt
CT-DNA	Calf thymus, Dana timus DNA'sı
Cu	Bakır
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's medyum
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EB	Etidiyum bromür
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FBS	Fetal sığır serumu
Fe	Demir
g	Gram
G	Guanin
HepG2	İnsan hepatoselüler karsinoma hücre hattı
IC <sub>50</sub>	Hücrelerin %50'sinin çoğalmasını baskılayan ilaç konsantrasyonu
K <sub>b</sub>	Bağlanma sabiti
L1	E)-3-[3,5-bis (triflorometil) fenilimino)metil]benzen-1,2-diol
L2	2,2'-(4,4'-[2,2'-(etan-1,2-diyilbis(oksi))bis(etan-2,1-diyil)]bis(oksi)bis (4,1fenilen))bis(azan-1-yil-1-yiliden)bis(metan-1-yil-1-yiliden)difenol
M	Molar
MIC	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre

mm	Milimetre
mM	Milimolar
Mn	Mangan
MTT	3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
ng	Nanogram
Ni	Nikel
nm	Nanometre
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
pmol	Pikomol
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medyum
Sisplatin	[cis-diamine-dichloroplatinum(II)]
T	Timin
TAE	Tris-Asetik asit-EDTA
Tris	Tris-(hidroksimetil) aminometan
UV-Vis	Ultraviyole-görünür bölge
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
$\epsilon$	Molar sönüm katsayısı
$\epsilon_a$	Absorbansın bileşik konsantrasyonuna oranı
$\epsilon_b$	Tam bağlı bileşiğin molar sönüm katsayısı
$\epsilon_f$	Serbest haldeki bileşiğin molar sönüm katsayısı
$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$\mu\text{M}$	Mikromolar
$\pi$ - $\pi^*$	$\pi$ molekül orbitalinden $\pi^*$ antibağ molekül orbitaline geçiş

## ÖZET

### BAZI SCHIFF BAZLARI VE KOMPLEKSLERİNİN DNA'YA BAĞLANMA ÖZELLİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Nuray YILDIRIM

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

28/06/2016, 85

Bu çalışmada; orijinal (*E*)-3-[3,5-bis (triflorometil)fenilimino)metil] benzen-1,2-diol (**L1**) ve 2,2'-{4,4'-[2,2'-(etan-1,2-diyilbis(oksi))bis(etan-2,1-diyil)]bis(oksi)bis(4,1fenilen)} bis(azan-1-yil-1-yiliden)bis(metan-1-yil-1-yiliden)difenol (**L2**) Schiff bazları ve **L1**'in Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) kompleksi ile **L2**'nin Mn(II), Fe(II), Ni(II) ve Cu(II) komplekslerinin DNA ile olan etkileşimleri ve biyolojik aktiviteleri araştırıldı. Bileşiklerin DNA'ya bağlanma özellikleri UV-Vis absorpsiyon titrasyonu yöntemi, DNA kırma aktiviteleri agaroz jel elektroforezi ve *in vitro* DNA replikasyonuna etkileri polimeraz zincir reaksiyonu teknikleri ile çalışıldı.

UV-Vis absorpsiyon titrasyonu sonuçları bileşiklerin tamamının DNA ile etkileşime girdiğini göstermiştir. **L1** ligandı ve Fe(II), Co(II), Ni(II) kompleksleri ile **L2** ligandı ve Mn(II), Ni(II) komplekslerinin DNA'ya interkalasyonla bağlandığı bulunmuştur. **L1-Cu**, **L2-Cu** ve **L2-Fe** komplekslerinin ise DNA'ya kısmi interkalasyon ile bağlandığı gözlemlenmiştir.

Agaroz jel elektroforezi çalışmaları sonucu, **L1-Fe**, **L1-Cu** ve **L2-Fe** hem hidrolitik hem de oksidatif DNA kırığına yol açarken, **L2-Ni** ve **L2-Cu** kompleksleri plazmid DNA'yı sadece oksidatif yolla kırabilmiştir.

Schiff bazı ve komplekslerinin *in vitro* ortamda DNA replikasyonunu konsantrasyona bağlı olarak inhibe ettikleri görülmüştür. **L1-Fe(II)** ve **L1-Co(II)** komplekslerinin pozitif kontrol etidiyum bromürden daha düşük konsantrasyonlarda replikasyonu inhibe edebildiği gözlemlenmiştir.



DNA'ya bağlanan bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri 3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) metodu ile araştırılmış, **L1-Ni**, **L2-Mn** ve **L2-Cu** komplekslerinin HepG2 hücre hattına karşı sitotoksik aktivitelerinin olduğu bulunmuştur.

Schiff bazı ve komplekslerinin gram pozitif ve negatif bakteriler ile mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri broth mikrodilüsyon metodu ile çalışılarak test edilmiş ve bakterilere karşı 128-8  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  ve mayalara karşı 64-8  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  konsantrasyonlarında antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Schiff Bazı, DNA'ya Bağlanma, UV-Vis Absorbsiyon Titrasyonu, DNA Kırma, Sitotoksik Aktivite, Antimikrobiyal Aktivite



## ABSTRACT

### IDENTIFICATION OF DNA BINDING PROPERTIES AND BIOLOGIC ACTIVITIES OF SOME SCHIFF BASES AND THEIR COMPLEXES

Nuray YILDIRIM

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Biology

Advisor : Asst. Prof. Dr. Neslihan DEMİR

28/06/2016, 85

In this study; we researched DNA interaction and biological activity of a novel (E)-3-[3,5-bis (triflorometil) fenilimino)metil]benzen-1,2-diol (**L1**) and 2,2'-{4,4'-[2,2'-(etan-1,2-diyilbis(oksi))bis(etan-2,1-diyil)]bis(oksi)bis(4,1fenilen)}bis(azan-1-yil-1-yiliden)bis (metan-1-yil-1-yiliden)difenol (**L2**) Schiff bases and **L1**'s Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) complexes and **L2**'s Mn(II), Fe(II), Ni(II) and Cu(II) complexes. DNA binding ability, DNA cleavage activity and effects on *in vitro* DNA replication of the compounds were studied by UV-Vis absorbtion titration, agarose gel electrophoresis and polymerase chain reaction techniques, respectively.

UV-Vis absorbtion studies showed that all ligands and complexes interacted with DNA. **L1** ligand and its **Fe(II)**, **Co(II)**, **Ni(II)** complexes and **L2** ligand and its **Mn(II)**, **Ni(II)** complexes bind to DNA via intercalative binding mode. On the other hand, we found that **L1-Cu**, **L2-Cu** and **L2-Fe** complexes bind to DNA via partial intercalation.

Results from the agarose gel electrophoresis studies demonstrated that while **L1-Fe**, **L1-Cu**, and **L2-Fe** complexes can cleave plasmid DNA by both hydrolytic and oxidative pathway, **L2-Ni** and **L2-Cu** complexes cleave DNA only by oxidatively.

Polimerase chain reactions results showed that Schiff bases and their complexes inhibited *in vitro* DNA replication at different concentrations. **L1-Fe(II)** and **L1-Co(II)** complexes inhibited DNA replication at lower concentrations than control ethidium bromide.

Cytotoxic activity of the compounds that bind to DNA were studied by 3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) method and **L1-Ni**, **L2-Mn**

and **L2-Cu** complexes showed cytotoxic activity against human hepatocellular carcinoma (HepG2) cancer cell line.

Antimicrobial activity of the Schiff bases and their metal complexes were screened against gram positive, gram negative bacteria and yeasts by broth microdilution method. Compounds showed antibacterial activity at 128-8  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  and 64-8  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  concentrations against tested bacteria and yeasts, respectively.

**Keywords:** Schiff Base, DNA Binding, UV-Vis Absorbance Titration, DNA Cleavage, Cytotoxic Activity, Antimicrobial Activity



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiv
BÖLÜM 1 .....	1
GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2 .....	4
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	4
2.1. Schiff Bazları ve Biyolojik Kullanım Alanları .....	4
2.2. Kanser .....	6
2.3. Antineoplastik İlaçlar .....	10
2.4. İlaç-DNA Etkileşimleri .....	10
2.5. DNA'ya Bağlanma.....	13
2.5.1 Kovalent Bağlanma .....	13
2.5.2. Kovalent Olmayan Bağlanma.....	14
2.5.2.1. Elektrostatik Etkileşimler .....	14
2.5.2.2. Oluğa Bağlanma .....	16
2.5.2.3. İnterkalasyon.....	17
2.6. DNA Kesme .....	20
2.7. Schiff Bazı ve Komplekslerinin DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler .....	21
2.7.1. UV-Vis Absorbsiyon Spektroskopisi .....	22
2.5.2. Agaroz Jel Elektroforezi.....	23
2.5.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	25
2.6. Sitotoksik Aktivite .....	26
2.7. Antimikrobiyal Aktivite .....	26
2.8. Schiff Bazı ve Komplekslerinin DNA ile Olan Etkileşimleri ve Biyolojik Aktiviteleri .....	27
BÖLÜM 3 .....	33

MATERYAL VE METOT .....	33
3.1. Test Edilen Bileşikler .....	33
3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	35
3.3. Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Tamponlar .....	35
3.4. Bileşiklerin DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesi .....	37
3.4.1. UV-Vis Absorbsiyon Titrasyonu .....	37
3.4.2. DNA Kesme .....	38
3.4.3. Bileşiklerin <i>in vitro</i> Replikasyona Etkisinin Belirlenmesi .....	39
3.5. Biyolojik Aktivitenin Belirlenmesi .....	41
3.5.1. Sitotoksik Aktivite .....	41
3.5.2. Antimikrobiyal Aktivite .....	42
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	44
4.1. Schiff bazı ve Komplekslerinin DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesi .....	44
4.1.1. UV-Vis Absorbsiyon Titrasyonu Sonuçları .....	44
4.1.2. DNA Kırma .....	55
4.1.3. Bileşiklerin <i>in vitro</i> Replikasyona Etkileri .....	58
4.2. Schiff Bazı ve Komplekslerinin Biyolojik Aktivitesinin Belirlenmesi .....	62
4.2.1. Sitotoksik Aktivite .....	62
4.2.2. Antimikrobiyal Aktivite .....	63
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER .....	67
KAYNAKLAR .....	70
ÖZGEÇMİŞ .....	I

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 2.1. Schiff bazlarının genel oluşum mekanizması.....	4
Şekil 2.2. Schiff bazlarının oluşum mekanizmaları.....	5
Şekil 2.3. Türkiye’de görülen kanser insidansı.....	6
Şekil 2.4. Türkiye’de görülen kansere bağlı ölüm oranları .....	7
Şekil 2.5. Kanser gelişiminin evreleri.....	8
Şekil 2.6. Metastaz sürecindeki aşamalar .....	9
Şekil 2.7. DNA yapısı .....	11
Şekil 2.8. Watson-Crick’e göre A-T ve G-C baz eşleşmesi. ....	12
Şekil 2.9. Siplatinin DNA’ya kovalent olarak bağlanması .....	13
Şekil 2.10. DNA’ya elektrostatik olarak bağlanan Schiff bazı.....	15
Şekil 2.11. DNA’nın küçük oluşuna bağlanan netropsin .....	16
Şekil 2.12. İnterkalasyonla DNA’ya bağlanma .....	18
Şekil 2.13. İnterkalasyon ile DNA’ya bağlanan Schiff bazı.....	19
Şekil 2.14. Hidrolitik kesme .....	21
Şekil 2.15. Oksidatif kesme .....	21
Şekil 2.16. DNA’ya bağlanmanın ligandın absorpsiyon spektrumuna etkileri .....	22
Şekil 2.17. UV-Vis Spektrumunda kaymalar .....	23
Şekil 2.18. Plazmid DNA’nın farklı formlarının agaroz jel elektroforezinde göç hızları ...	24
Şekil 2.19. pBR322 plazmid DNA haritası.....	25
Şekil 3.1. Schiff bazı ligandı <b>L1</b> .....	33
Şekil 3.2. Schiff bazı ligandı <b>L1</b> ’in Fe, Co, Ni ve Cu kompleksleri.....	33
Şekil 3.3. Schiff bazı ligandı <b>L2</b> .....	34
Şekil 3.4. Schiff bazı ligandı <b>L2</b> ’nin Mn, Fe, Ni ve Cu kompleksleri.....	34
Şekil 3.5. Jel elektroforezinde kullanılan 1 kb DNA Ladder.....	38
Şekil 3.6. pBR322 plazmid DNA’sında çoğaltılan 1213 bp DNA fragmentine ait dizi ve primer konumları.....	39
Şekil 4.1. <b>L1</b> ligand’ının UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	45
Şekil 4.2. <b>L1-Fe</b> kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	45
Şekil 4.3. <b>L1-Co</b> kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu.....	46
Şekil 4.4. <b>L1-Ni</b> kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	47
Şekil 4.5. <b>L1-Cu</b> kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	47
Şekil 4.6. <b>L2</b> ligandının UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	48
Şekil 4.7. <b>L2-Mn</b> kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	49
Şekil 4.8. <b>L2-Fe</b> kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	49
Şekil 4.9. <b>L2-Ni</b> kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	50
Şekil 4.10. <b>L2-Cu</b> kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu .....	51
Şekil 4.11. <b>L1</b> ve komplekslerinin (Fe, Co, Ni, Cu) DNA kesme aktivitesi .....	56
Şekil 4.12. <b>L2</b> ve komplekslerinin (Mn, Fe, Ni, Cu) DNA kesme aktivitesi .....	57
Şekil 4.13. <b>L1</b> ve komplekslerinin replikasyona etkilerinin PCR ile gösterilmesi.....	59
Şekil 4.14. <b>L2</b> ve komplekslerinin replikasyona etkilerinin PCR ile gösterilmesi.....	60
Şekil 4.15. Ligand ve komplekslerin farklı Taq polimeraz konsantrasyonlarında replikasyona etkisi .....	61
Şekil 4.16. Ligand ve komplekslerin (100 µM) 1 U/µL Taq polimeraz konsantrasyonunda replikasyona etkisi .....	61

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. PCR bileşimi.....	40
Çizelge 3.2. PCR Reaksiyon Döngüleri.....	40
Çizelge 4.1. CT-DNA'nın <b>L1</b> , <b>L2</b> ve komplekslerinin absorpsiyon spektrumuna etkilerine ait spektrum verileri.....	52
Çizelge 4.2. <b>L1</b> , <b>L2</b> ve komplekslerinin HepG2 hücre hattı ile 72 saatlik inkübasyonu sonrası elde edilen IC <sub>50</sub> verileri .....	62
Çizelge 4.3. Schiff bazı ve komplekslerinin MIC (µg/µL) değerleri .....	64



## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Kanser dünyada ve ülkemizde sebebi bilinen ölümler sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer alan önemli bir toplum sağlığı problemidir (Global Burden of Disease Cancer Collaboration, 2015). Kanser hastalarındaki yüksek ölüm oranları göz önüne alındığında, yeni terapötik ajanların keşfedilmesi ve geliştirilmesi hayati önem taşımaktadır (Clarke, 2003).

Nükleik asitler, hücre bölünmesi ve protein sentezi gibi kritik hücresel olaylarda önemli rol oynamaları nedeniyle küçük molekülü terapötikler için önemli hedeflerdir (Wilson, 1996). Deoksiribonükleik asit (DNA)'i hedefleyen bileşikler kimya, biyoloji ve tıp alanında önemli teorik öneme ve uygulama değerine sahiptir (Li ve ark., 2011). DNA, yapısının aydınlatılmasıyla birlikte antikanser ilaçlardan antibiyotiklere kadar değişen birçok terapötik ajan için birincil hedef olmuştur (Sobha ve ark., 2012). Kemoterapötik ilaçların çoğu DNA ile direkt olarak etkileşime geçebilen ya da topoizomeraaz enzimlerinin inhibisyonu ile DNA'nın düzgün bir şekilde açılmasına engel olan bileşiklerdir (Palchaudhuri ve Hergenrother, 2007). DNA ile etkileşime girebilen yeni moleküllerin araştırılması ve dizaynı kemoterapide kullanılacak yeni DNA hedefleyen antikanser ilaçların keşfedilebilmesi için en umut vaat edici yollardan biridir (Quiao ve ark., 2011). İlk inorganik antineoplastik ilaç olan sisplatin, modern tıpta birçok kanser türünün tedavisinde kullanılan ve piyasadaki yüzlerce ilaç arasında ikinci sırada olan önemli bir antikanser ilaçtır (Stearns ve ark., 2011; Jaividhya ve ark., 2012; Li ve ark., 2015). Ancak, sisplatin'in yüksek toksisitesi ve yan etkilerinin olması ve tedavi süresince ilaç direncinin gelişebilmesi gibi nedenler klinik uygulamalarını sınırlamaktadır. Bu nedenle, potansiyel yan etkisi minimum, iyileştirici etkisi maksimum düzeyde olan yeni ilaçların geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır (Arjmand ve Muddassir, 2010; Li ve ark., 2015).

Etkili kemoterapötik ajanlar ve daha iyi antikanser ilaçların geliştirilebilmesi için, bileşiklerin DNA ile etkileşimlerinin araştırılması gereklidir (Patra ve ark., 2007). Küçük molekülü bileşiklerin DNA ile non-kovalent etkileşimleri elektrostatik etkileşimler, oluğa bağlanma ve interkalasyon olmak üzere üç temel yolla gerçekleşir. Bu etkileşimler arasında oluğa bağlanma ve interkalasyon hücresel yıkıma yol açmaları nedeniyle en önemli bağlanma şekilleridir (Liu ve ark., 2010). Ligandın düzlemselliği ve metal iyonunun koordinasyon geometrisi kompleksin DNA'ya bağlanabilmesinde belirleyici özelliklerdir (Pradeepa ve ark., 2015). Metal merkezini değiştirerek kompleksin DNA ile olan etkileşim



şeklini ve afinitesini değiştirmek mümkündür (Jiang ve ark., 2010). Bakır, nikel ve kobalt elementleri; oksidatif yapıları ve biyolojik sistemlerle uyumlu olmaları ve birçok bakır nikel ve kobalt komplekslerinin DNA replikasyonunu ve tümör hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiğinin bulunması nedeniyle, antikanser ilaçların geliştirilmesi çalışmalarında en çok kullanılan geçiş metalleridir (Wang ve ark., 2007; Keene ve ark., 2009). Bu nedenle, bu geçiş metalleriyle sentezlenen yeni bileşiklerin DNA'yla olan etkileşimlerinin ve sitotoksik aktivitelerinin değerlendirilmesi oldukça önemlidir.

DNA'ya bağlanabilen ve DNA kırıkları oluşturan yeni moleküllerin tanımlanması üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda oldukça ilgi görmektedir. Bu tür yapay nükleazların geliştirilmesi biyoteknoloji, nanoteknoloji, ilaç sanayii gibi alanlarda ve nükleik asit konformasyonu ile ilgili çalışmalar için önem taşımaktadır (Zhou ve ark., 2016).

Birçok antibiyotik, antidepresan ve antiviral ilacın fizikokimyasal özellikleri, bu ilaçların DNA, lipitler ya da proteinler gibi makromoleküllerle kuvvetli etkileşime girerek etki ettiklerini göstermektedir (Williams ve ark., 2012). Yaygın patojenlerde çoklu ilaç direncinin gelişmesi, yeni enfeksiyon türlerindeki hızlı artışı ve potansiyel biyolojik savaşlarda çoklu ilaç direnci olan ajanların kullanılma tehlikesi yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi ihtiyacını her zamankinden daha gerekli kılmıştır. Yeni antimikrobiyal ilaçlara ihtiyacın artmasına karşın bu ajanların geliştirilmesi giderek azalmaktadır.

Schiff bazları en yaygın kullanılan organik bileşiklerden biridir. Pigment, boya sanayii, organik sentezlerde katalizör ve polimer stabilizatörü olarak yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Branchaud, 1983; Silva ve ark., 2011). Medikal ve farmasötik alanda önemli bir bileşikler sınıfı olan Schiff bazları antibakteriyel, antifungal ve antitümör aktiviteleri de dahil olmak üzere birçok biyolojik uygulamaları vardır (Mladenova ve ark., 2002). Geçiş metallerinin birçoğu ile kolaylıkla kararlı kompleksler oluşturabilirler (Brooker, 2002). Schiff bazı metal kompleksleri çeşitli biyolojik ve farmasötik aktiviteleri ile geniş ilgi toplamıştır (Liu ve ark., 2010). Buna ek olarak son yıllarda Schiff bazı ve komplekslerinin DNA ile olan etkileşimleri üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Özgün bağlanma özellikleri ve kanser terapisindeki çeşitli uygulamaları ile bu bileşikler, DNA probu, yapay nükleazlar, antimikrobiyal ve antitümör ilaç olarak uygun adaylar olarak düşünülmüşlerdir (Patil ve ark., 2011, Kiran ve ark., 2015). Bu nedenle, yeni Schiff bazı ve komplekslerinin de bu özelliklere sahip olduğu ve hastalıklarla mücadelede daha etkili antikanser ve antimikrobiyal ilaçların geliştirilmesine katkı sağlayacağı tahmin edilmektedir.

Yukarıda Schiff bazları ve kompleksleri için verilen özellikler dikkate alındığında; yeni sentezlenen ve orijinal Schiff bazları ile komplekslerinin özelliklerinin araştırılması çalışmanın ana unsurunu oluşturmuştur. Bu doğrultuda; tez çalışmasında, **L1** ve **L2** Schiff bazları ile Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) komplekslerinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu, agaroz jel elektroforezi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri, 3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) testi ve broth mikrodilüsyon metodu uygulanarak DNA ile olan etkileşimlerinin ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ve böylece Schiff bazı ve komplekslerinin antikanser ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilme potansiyellerinin araştırılması amaçlanmıştır.

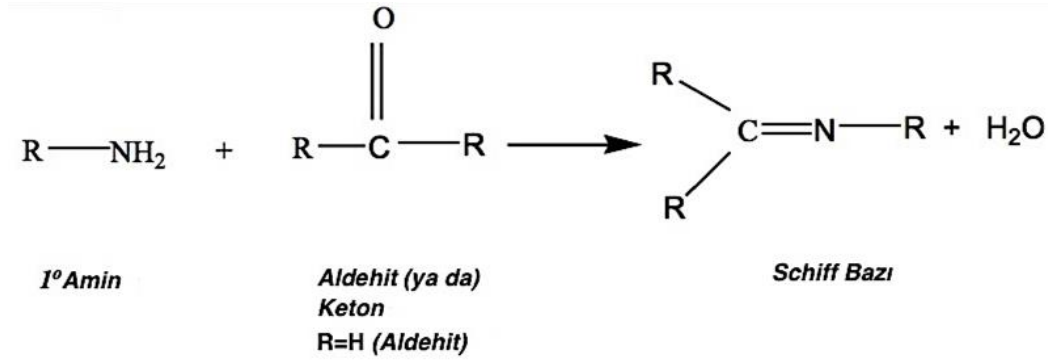


## BÖLÜM 2

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. Schiff Bazları ve Biyolojik Kullanım Alanları

İlk olarak Alman kimyager H.J. Schiff tarafından sentezlenen ve ismini kendisini keşfeden bilim adamından alan Schiff bazlarının genel formülü  $R_2C=NR$  şeklindedir (Schiff, 1869). Bir aldehit ya da ketonun uygun reaksiyon şartlarında primer aminle kondenzasyonu sonucu oluşan ve yapılarında karbon-azot çift bağı (C=N) bulunan bileşiklere “Schiff bazları” denir (Şekil 2.1).

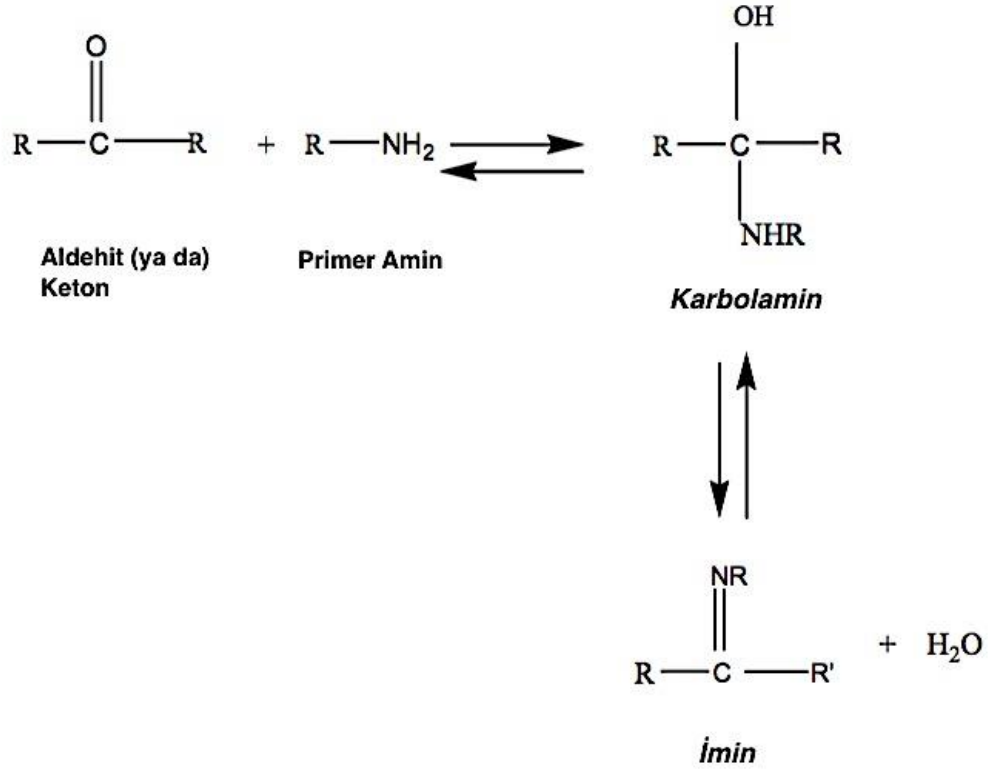


Şekil 2.1. Schiff bazlarının genel oluşum mekanizması (Xavier ve Srividhya, 2014)

Bir aldehit ya da ketondan Schiff bazı oluşumu geri dönüşümlü bir reaksiyondur ve genellikle asit ya da baz katalizi veya ısıyla meydana gelir. Schiff bazlarının oluşum mekanizması iki basamaklıdır. Birinci katılma basamağında, Schiff bazlarının primer aminle karbonil grubunun kondenzasyonundan bir karbolamin ara bileşiği meydana gelir. İkincisi ayrılma basamağıdır ve bu aşamada ara ürünün dehidrasyonu sonucunda Schiff bazı oluşur (Şekil 2.2) (Gürcan, 2014).

Schiff bazlarının oldukça esnek ve farklı yapıları vardır. Bu esnek ve değişken yapısal özellikleri nedeniyle Schiff bazı bileşikleri ve bu bileşiklerin davranışsal özellikleri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır (Xavier ve Srividhya, 2014). Schiff bazları genel olarak bi, tri ya da tetra-dentat şelat ligandlarıdır ve metal iyonları ile çok kararlı kompleksler oluştururlar. Schiff bazları hidrojen bağı özelliklerinin araştırılması çalışmaları için oldukça ilgi çekici bir gruptur. Schiff bazlarının önemli fiziksel ve biyolojik özellikleri, moleküller arası hidrojen bağının ve bir proton transfer dengesinin olması ile doğrudan ilişkilidir. Bu gruba ait bileşikler yüksek biyolojik aktiviteleri ile karakterize edilirler ve biyolojik sistemlerde önemli rol oynarlar (Sahu ve ark., 2012).

Schiff bazı metal kompleksleri Co(II), Cu(II) ve Zn(II) iyonları koordinasyon kimyasının gelişmesinde önemli rol oynamıştır. Geçiş metali kompleksleri fizyolojik koşullardaki DNA bağlanma ve kırma özelliklerinden dolayı ilgi uyandırmıştır. Kimyasal nükleazlar olarak metal komplekslerinin kullanılabilmesi günümüz araştırmalarının odağı olmuştur (Xavier ve Srividhya, 2014).



Şekil 2.2. Schiff bazlarının oluşum mekanizmaları (Xavier ve Srividhya, 2014)

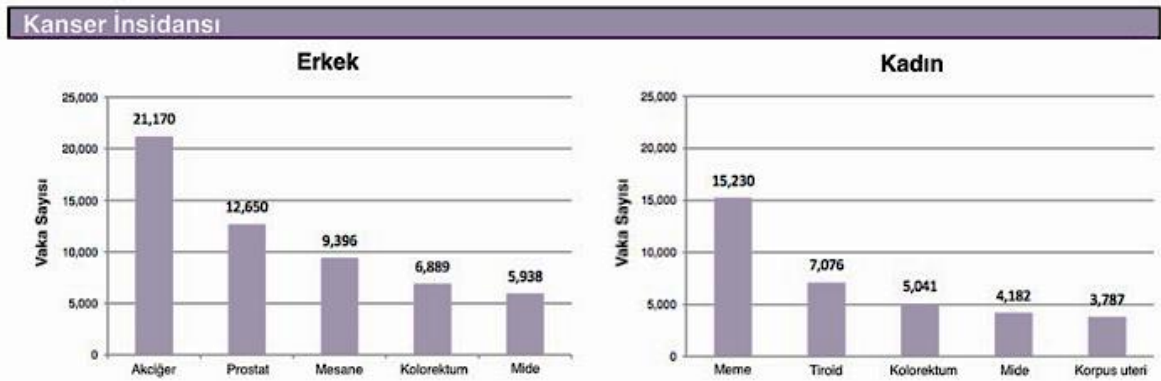
Schiff bazlarının geniş kullanım alanları vardır. Pigment, boya, organik sentezinde katalizör ve polimer stabilizatörü olarak kullanılırlar. Schiff bazları ve kompleksleri spesifik fizyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptir. Antifungal, antimalariyal, antikanser, anti-inflamatuvar, antiviral ve antipiretik aktivite gibi oldukça geniş biyolojik aktivitelere sahip oldukları bilinmektedir (Dhar ve Taploo, 1982; Przybylski ve ark., 2009). Alfa-aminoasitlerin (RCH(NH<sub>2</sub>)COOH) biyosentezinde önemli ara bileşikler olmaları Schiff bazlarının en ilgi çekici biyolojik aktivitelerinden biridir (Gürcan, 2014).

Schiff bazı komplekslerinin antikanser aktivite çalışmalarında oldukça başarılı sonuçlar vermesi, tıp dünyasındaki önemini giderek arttırmaktadır. Bu nedenle kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılması ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır. Özellikle, Cu(II) komplekslerinin normal ve kanserli hücrelerde farklı metabolik ve hücresel yanıtlar

vermesi nedeniyle antineoplastik karaktere sahip olduğunun bulunması, alternatif metal-temelli antikanser ilaçlar olarak düşünülmesini sağlamıştır (Santini ve ark., 2014).

## 2.2. Kanser

Kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde bölünmesi ve çevresindeki dokuları işgal etmesi (invazyon) veya daha uzak dokulara lenf/kan yoluyla yayılması (metastaz) ile oluşan bir hastalıktır (Kızılbey ve Akdeste, 2013). Dünya çapında milyonlarca insanın ölümüne yol açmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün araştırma verilerine göre her yıl 8,2 milyon kişi kanserden dolayı ölmektedir ve bu dünyadaki toplam ölümlerin %3'ünü teşkil etmektedir. WHO'ya göre önümüzdeki yirmi yıl içinde bu oranın %70 artacağı tahmin edilmektedir. 2012 yılında dünyadaki kansere bağlı ölüm oranları incelendiğinde; akciğer (1,59 milyon), karaciğer (745.000), mide (723.000), kolorektal (694.000), meme (521.000) ve özofagus kanserinin (400.000) en yaygın olarak ölümle sonuçlanan kanser türleri olduğu görülmüştür (WHO, 2015a). En son yayınlanan istatistik verilerine göre, 2012 yılında Türkiye'de toplam 175.000 (erkeklerde 105.404 ve kadınlarda 70.897) yeni kanser vakası ve 91.800 kanser kaynaklı ölüm (erkeklerde 58.400 ve kadınlarda 32.500) görüldüğü rapor edilmiştir (Sağlık Bakanlığı, 2015). Erkeklerde en yaygın görülen kanser türleri akciğer, prostat, mesane, kolorektum ve mide kanseri iken akciğer, trake, bronş, prostat, mide ve kolorektal kanseri en çok ölüme neden olan kanser türleri olarak belirtilmiştir. Kadınlarda ise meme, tiroid, kolorektum, mide, uterus korpusu en yaygın olarak görülen kanser türleri iken en çok ölüme sebebiyet veren kanser türlerinin meme, mide, kolorektal, trake, bronş, akciğer kanserleri olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.3 ve Şekil 2.4) (WHO, 2015a).



Şekil 2.3. Türkiye'de görülen kanser insidansı (WHO, 2014b)

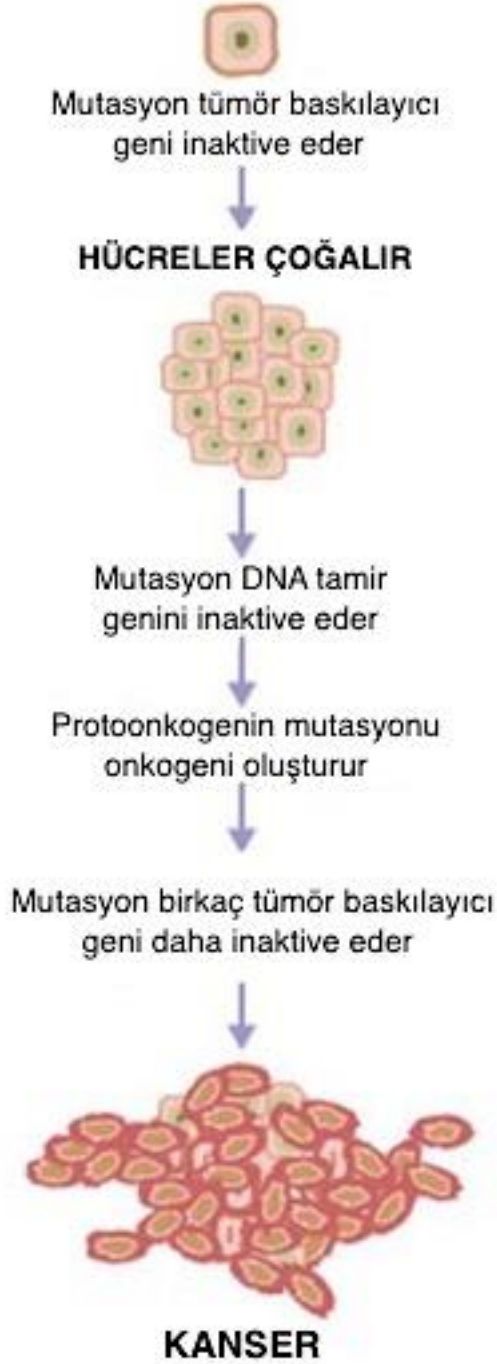
### Kansere Bağlı Ölüm Oranı Profili



Şekil 2.4. Türkiye’de görülen kansere bağlı ölüm oranları (WHO, 2015b)

Kanser, DNA’da oluşan mutasyonlar sonucu hücrenin kontrolsüz bölünmesi ve çoğalarak bir hücre yığını oluşturmasını içeren çok aşamalı bir süreçtir (Şekil 2.5). Kanser oluşumuna neden olan değişiklikler proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA tamir genleri olmak üzere üç temel gen bölgesine etki eden mutasyonlardır. Proto-onkogenler normal bir hücrenin büyümesi ve bölünmesinde rol alırlar; ancak, mutasyona uğradıklarında onkogenlere dönüşür ve hücrelerin sürekli bölünmesine neden olurlar. Tümör baskılayıcı genler de hücre büyümesi ve bölünmesinin kontrolünde rol alırlar. Bu genlerdeki belirli mutasyona sahip hücreler kontrolsüz bir şekilde bölünebilirler. DNA tamir genleri hasarlı DNA’nın tamirinde rol alırlar. Bu genlerdeki mutasyonlar ise, diğer genlerde daha fazla mutasyonun gelişmesine neden olur. Birlikte, bu mutasyonlar hücrelerin kansere dönüşmesine neden olabilir (Roberts ve ark., 2001; NIH, 2015).

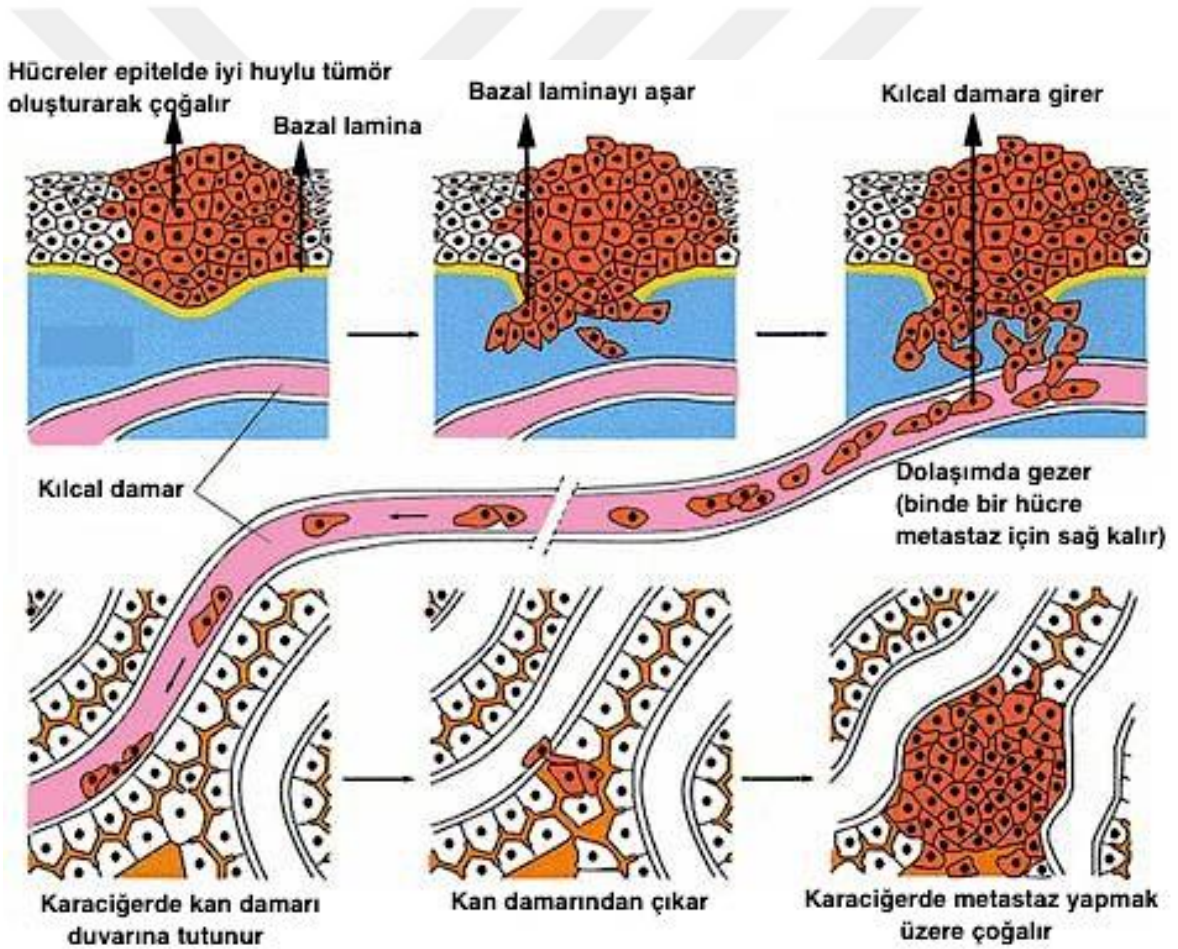
Tümörler iyi huylu (benign) ya da kötü huylu (malign) olabilirler. Hücreler tek bir kütle içinde küme halinde durdukları sürece iyi huylu tümörlerdir ve bu tümörler kanser riski taşımazlar. Bir tümör ancak kötü huylu ise, yani hücrelerin etrafındaki dokuyu istila yeteneği varsa kanser olarak adlandırılır. Bu genellikle etrafındaki dokunun bütünlüğünü bozma ve kan ya da lenf damarları aracılığı ile taşınarak vücudun diğer bölgelerinde metastaz olarak adlandırılan ikincil tümörler oluşturma yeteneğini ifade etmektedir. Sağlıklı hücreler ve organlar, fibröz protein ağında organize bir şekilde ve gömülü olarak bir arada tutulur. Tümör hücreleri genellikle bu fibröz dokunun çözünmesini sağlayan kimyasallar salgılayarak kanser hücrelerinin sağlıklı dokuları istila etmesini sağlarlar. Tümör büyüdükçe kendi kan ve lenf damarları ile yayılarak vücudun diğer kısımlarına taşınabilir. Bu hücreler immun sistem tarafından yok edilebilirler ya da başka bir organa yerleşerek ikincil tümörleri oluştururlar (Şekil 2.6) (Alberts ve ark., 2002; Hall, 2002; Jerrum, 2009).



Şekil 2.5. Kanser gelişiminin evreleri (NIH, 2015)

Kanser tek bir hastalık türü değildir, 100'den fazla tipi vardır ve farklı tanı ve tedavi yöntemleri gerektirir (WHO, 2015a). Kanser tedavisinde kullanılan dört ana tedavi tipi; cerrahi müdahale, kemoterapi, radyoterapi ve immunoterapidir (Pollock ve Morton, 2003). Cerrahi müdahale kanser tedavisinde kullanılan en eski tedavi şeklidir ve eğer tümör hayati organlara yakın değilse ve metastaz yapmamışsa kanser cerrahi müdahale ile tedavi

edilebilir. Bu tedavi şekli en çok bir bölgede kalmış olan solid tümörlerde başarılı sonuç vermektedir. Cerrahi müdahale ile kanser tamamen tedavi edilebilir ancak bunun için tümörün tamamının alınması gereklidir. Bu nedenle de sıklıkla diğer tedavi yöntemlerine de ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tedavi şekli tümörün türüne, hangi aşamaya geldiğine ve hastanın sağlık durumuna bağlıdır (Fleming, 2001). Radyoterapide yüksek doz radyasyon kullanarak kanser hücrelerinin öldürülmesi amaçlanır. Radyoterapi hem kanser hücrelerine hem de normal hücrelere zarar verir ancak; normal hücreler hasarı tamir edene kadar hücre döngülerini durdururken, kanser hücrelerinde hücre döngüsünün kontrol noktaları çeşitli hasarlar olduğundan hücre döngüsünü durdurma yeteneğini kaybederler ve bölünmeye devam ederler. Hasarlı kromozomlarıyla bölünmeye devam eden bu hücreler yıkıcı DNA hasarı sonucunda birkaç gün içinde ölürlere (Alberts, 2002).



Şekil 2.6. Metastaz sürecindeki aşamalar (Alberts, 2002)

Cerrahi müdahale ve radyoterapi, ilk aşamadaki yayılma göstermeyen tümörlerin tedavisinde kullanılır. Yayılma gösteren kanser vakalarında kemoterapi ve immunoterapi daha başarılı tedavi şekilleridir (Meyers, 2004). Kemoterapi, toksik kimyasallar kullanarak



kanser hücrelerinin öldürülmesini amaçlar. Ancak bunu yaparken sağlıklı hücrelere karşı toksik etkisinin minimuma indirilmesi gerekir (Okey ve ark., 2005). Kemoterapötik ilaçların bir kısmı sadece bölünmekte olan hücrelere etki ederler ve döngüye spesifik ilaçlar olarak adlandırılan bu ilaçlar kontrolsüz olarak bölünen kanser hücrelerine karşı daha etkilidirler. Diğer bir kısmı ise döngüye spesifik değildir. Bu ilaçlar bölünmekte olan hücrelere karşı daha etkili olmakla birlikte büyüme hızı düşük olan tümörlerin tedavisinde daha etkilidirler (Ölgen ve ark., 2002). İmmunoterapi ise, kanserle mücadelede hastanın kendi immün sistemini kullanır. Bu tedavi şeklinde, hastanın immün sistemi uyarılarak malign tümöre saldırması sağlanır ve bu şekilde kanserli hücrelerin büyümesinin ve yayılmasının durdurulması veya tamamen yok edilmesini amaçlar (Meyers, 2004).

### **2.3. Antineoplastik İlaçlar**

Ülkemizde yaklaşık olarak 70 çeşit sitotoksik ilaç kanser kemoterapisinde kullanılmaktadır (Sağlık Bakanlığı, 2004). Bu ilaçlar, hücresel düzeydeki etki mekanizmalarına göre beş grup olarak sınıflandırılırlar (Ölgen ve ark., 2002).

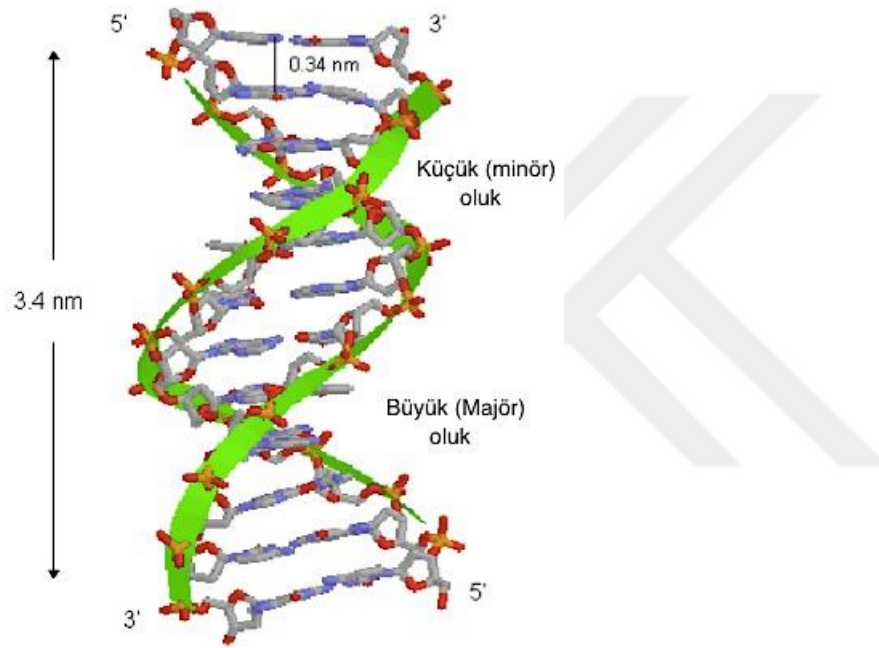
1. DNA ile geri dönüşümsüz olarak etkileşime giren ilaçlar,
2. Pürin ve pürimidin nükleotid prekürsörlerini engelleyerek veya DNA/RNA sentezinde bunların yerine geçerek etki eden ilaçlar,
3. Mikrotübül yapısını bozan ilaçlar,
4. DNA ile geri dönüşümlü olarak etkileşime girebilen ilaçlar,
5. Hormon uyarısı ile stoplazmik reseptöre bağlanarak büyüme ve gelişme hızını yavaşlatarak etki eden ilaçlar.

Genel olarak hedeflenen bu ilaçların sadece kanserli hücreleri etkilemesidir. Ancak pratikte ilaçlar kanserli hücrelerle birlikte çoğalmakta olan tüm normal hücreleri de etkilemektedir (Hitchings, 1983). Bu nedenle de yeni antikanser ilaçların sentezi çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

### **2.4. İlaç-DNA Etkileşimleri**

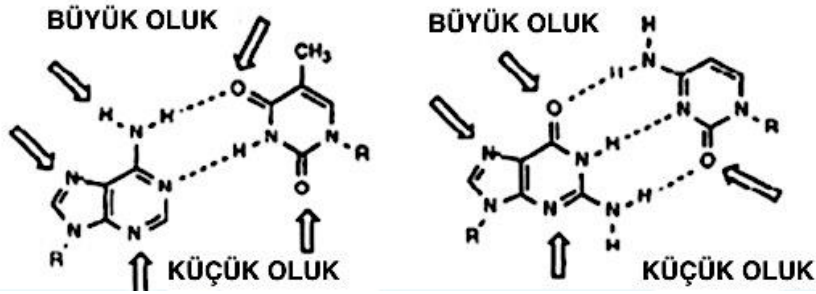
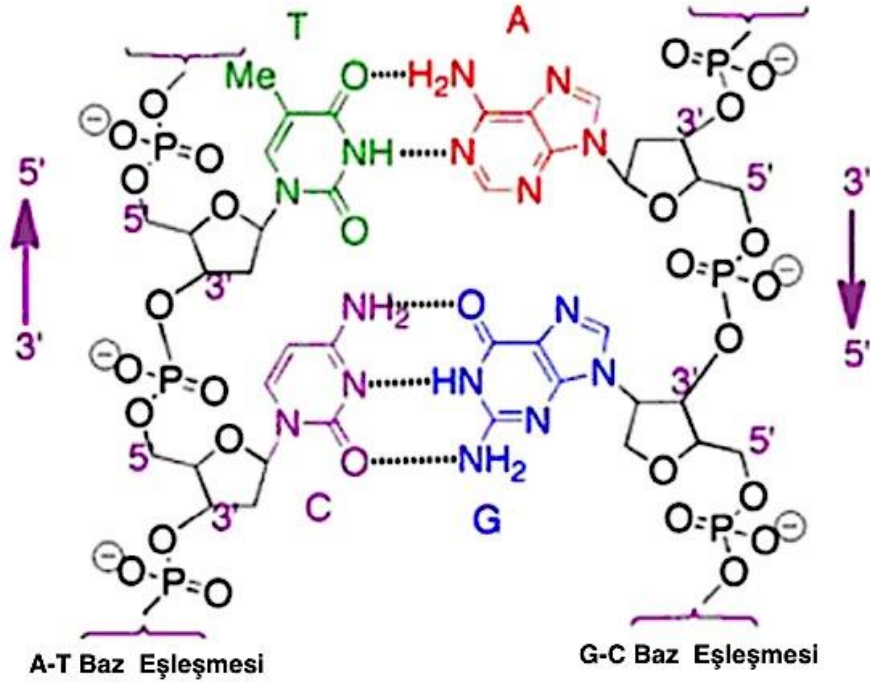
Günümüzde kullanılmakta olan ve klinik araştırmaları yapılan birçok ilacın farmakolojik hedefi DNA'dır. DNA, sağ el ikili sarmal yapıda olup bu iki zincir birbirine antiparaleldir. DNA ipliğinin omurgasını oluşturan ve nükleik asitlerin yapı taşı olan nükleotitler, yapılarında bir azotlu baz, pentoz şekeri (2-deoksiriboz) ve fosfat grubu bulundurlar. İki mononükleotitten birinin 3 numaralı karbonu ile diğerinin 5 numaralı karbonu arasında fosfat grubu, fosfodiester bağı ile nükleotitleri birbirine bağlar. DNA

ipliğinde fosfodiester bağları ile birbirine bağlı olan pürin bazları adenin (A), guanin (G) ve pürimidin bazları sitozin (C), timin (T) düzlemsel yapıdadır ve düzlemleri eksene diktir. Bazlar aralarında 3.4 Å mesafe olacak şekilde birbiri ardına istiflenir ve sarmalın içinde yer alır. Karşı zincirlerdeki azotlu bazlar, hidrojen bağları yalnızca A=T ve G≡C eşleşmesi ile birbirine bağlanırlar. Sarmalın çapı 20 Å olup her bir tam dönüşü 34 Å'dur; böylece her bir dönüşte 10 baz yer alır. Molekülün herhangi bir bölümünde, eksen üzerinde sıra ile daha geniş olan büyük (majör) oluklar ve daha dar olan küçük (minör) oluklar bulunur (Şekil 2.7 ve 2.8) (Watson ve Crick, 1953; Klug ve Cummings, 2011).



Şekil 2.7. DNA yapısı (Sangeetha ve ark., 2014)

DNA'nın hücrede replikasyon ve transkripsiyon olmak üzere iki ana fonksiyonu vardır. Replikasyon ve transkripsiyon hücrenin hayatta kalabilmesi ve çoğalması için olduğu kadar tüm vücudun fonksiyonlarının aksamadan yerine getirebilmesi için de hayati öneme sahiptir. DNA, replikasyona ve transkripsiyona başlayabilmek için bir sinyale ihtiyaç duyar ve bu sinyal genellikle regülatör proteinin DNA'nın spesifik bir bölgesine bağlanması ile olur. Bu şekilde, eğer regülatör proteinin bağlanma seçiciliği ve afinitesi küçük bir molekül tarafından taklit edilebilirse, protein yerine bu molekülün bağlanması ile DNA'nın fonksiyonu yapay olarak değiştirilebilir. Böylece, bir hastalığın tedavisi ya da kontrolü DNA'nın aktivasyonu ya da inhibisyonunu gerektirdiğinde bu sentetik/doğal molekül ilaç olarak kullanılabilir.



Şekil 2.8. Watson-Crick'e göre A-T ve G-C baz eşleşmesi. Oklar potansiyel azot ve oksijen bağlanma bölgelerini göstermektedir (Sirajuddin ve ark., 2013).

DNA aktivasyonu, ilacın DNA'nın hangi bölgesini hedef aldığına bağlı olarak DNA replikasyonunda artışa ya da gerekli proteinin daha fazla sentezine neden olur. DNA inhibisyonu ise, replikasyonu ya da protein sentezini engeller ve hücre ölümüne yol açar. Bu yollardan her ikisi de mümkün olsa da, antitümör ve antimikrobiyal aktivite için daha çok DNA inhibisyonu amaçlanır (Shaikh ve Jayaram, n.d.).

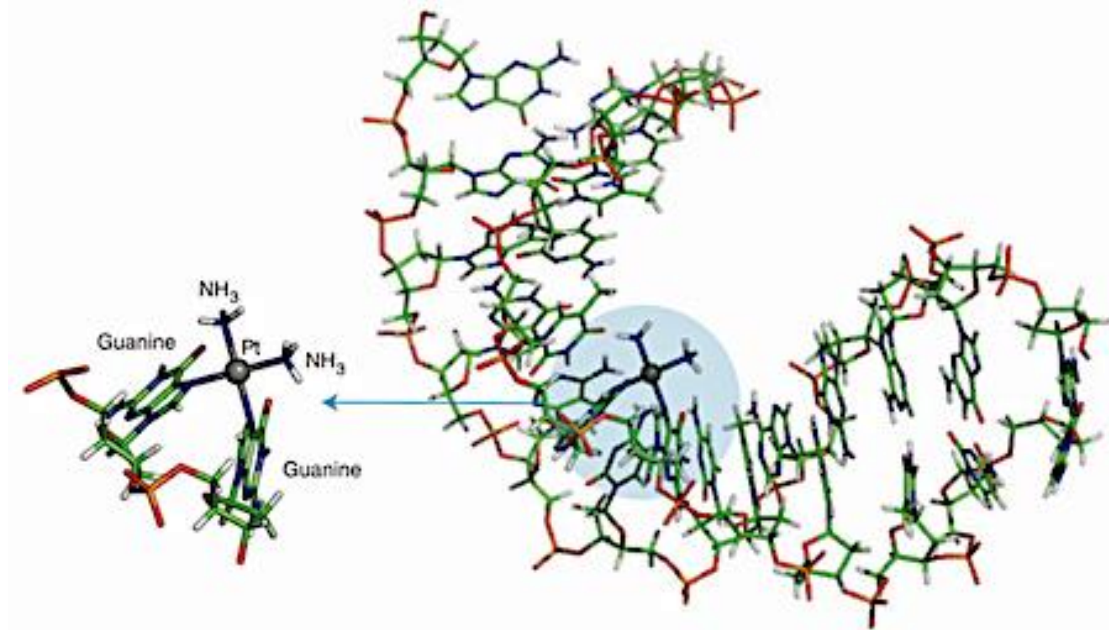
Küçük moleküllerin DNA ile olan etkileşimlerinin araştırılması sadece etkileşim mekanizmalarının araştırılması için değil aynı zamanda yeni ilaçların geliştirilebilmesi için de önem taşımaktadır.

## 2.5. DNA'ya Bağlanma

Küçük moleküller DNA'ya kovalent ya da kovalent olmayan bağlarla bağlanırlar.

### 2.5.1 Kovalent Bağlanma

DNA'ya kovalent bağlanan ilaçlar alkilleyici ajanlar olarak da adlandırılırlar. İlaç ve DNA'nın kovalent olarak bağlanması geri dönüşümsüzdür ve DNA proseslerini kalıcı olarak inhibe ederek hücre ölümüne yol açarlar. Kovalent olarak bağlanan ilaçların en önemli avantajları yüksek bağlanma gücüne sahip olmalarıdır. Bu şekilde DNA'ya bağlanan molekül DNA omurgasında hasar oluşturarak replikasyon ve transkripsiyonu engeller (Liu ve Sadler, 2011). Alkilleyici ajanlar üç farklı mekanizma ile DNA'yla etkileşime girebilirler. İlk mekanizmada, alkilleyici ajan alkil gruplarını DNA bazlarına bağlar. Bu da, DNA tamir enzimlerinin alkillenmiş bazları kesip çıkarmak amacıyla DNA'yı fragmentlerine ayırması ile sonuçlanır. İkinci mekanizmada, alkilleyici ajanlar DNA'daki atomlar arasında çapraz bağlar oluşmasına neden olur. DNA'ya iki bağlanma bölgesine sahip alkilleyici bir ajanla iki baz arasında çapraz bağ kurulur. Çapraz bağlanma DNA'nın açılmasına engel olarak transkripsiyonu ve translasyonu engeller. Alkilleyici ajanların etki ettiği üçüncü mekanizma ise nükleotitlerin yanlış eşleşmelerine neden olarak mutasyona neden olmalarıdır (Paul ve Bhattacharya, 2002 ).



Şekil 2.9. Sisplatinin DNA'ya kovalent olarak bağlanması

(<http://www.chemtube3d.com/solidstate/BC-27-3.htm>)

Azot hardal tıbbi olarak kullanılan ilk alkilleyici ajan olmasının yanı sıra modern kanser kemoterapisinin de başlangıcıdır (Bauer ve Pouirk, 1997). DNA'ya kovalent bağlanarak etki eden bir diğer molekül sisplatin [cis-diammine-dichloroplatinum(II)] en çok bilinen antikanser ilaçlarından biridir (Şekil 2.9). Sisplatin yapısındaki klor grupları ile DNA bazlarındaki azot atomları arasında zincir içi/zincirler arası çapraz bağ yapar (Shaikh ve Jayaram, n.d.).

İlk geçiş metali antikanser ilacı olma özelliği taşıyan sisplatin, modern tıpta ve kemoterapide testis, ovaryum, mesane, baş ve boyun, akciğer, meme ve prostat kanserleri gibi birçok çeşit kanser türünün tedavisinde kullanılmaktadır (Sangeetha ve ark, 2014). Ancak, istenmeyen yan etkilerinin olması ve yüksek toksisitesi gibi nedenler klinik uygulamalarını sınırlamaktadır (Pradeepa ve ark., 2015). Bu nedenle; daha etkili, hedefe özgü ve daha az toksik yeni moleküllerin aranmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

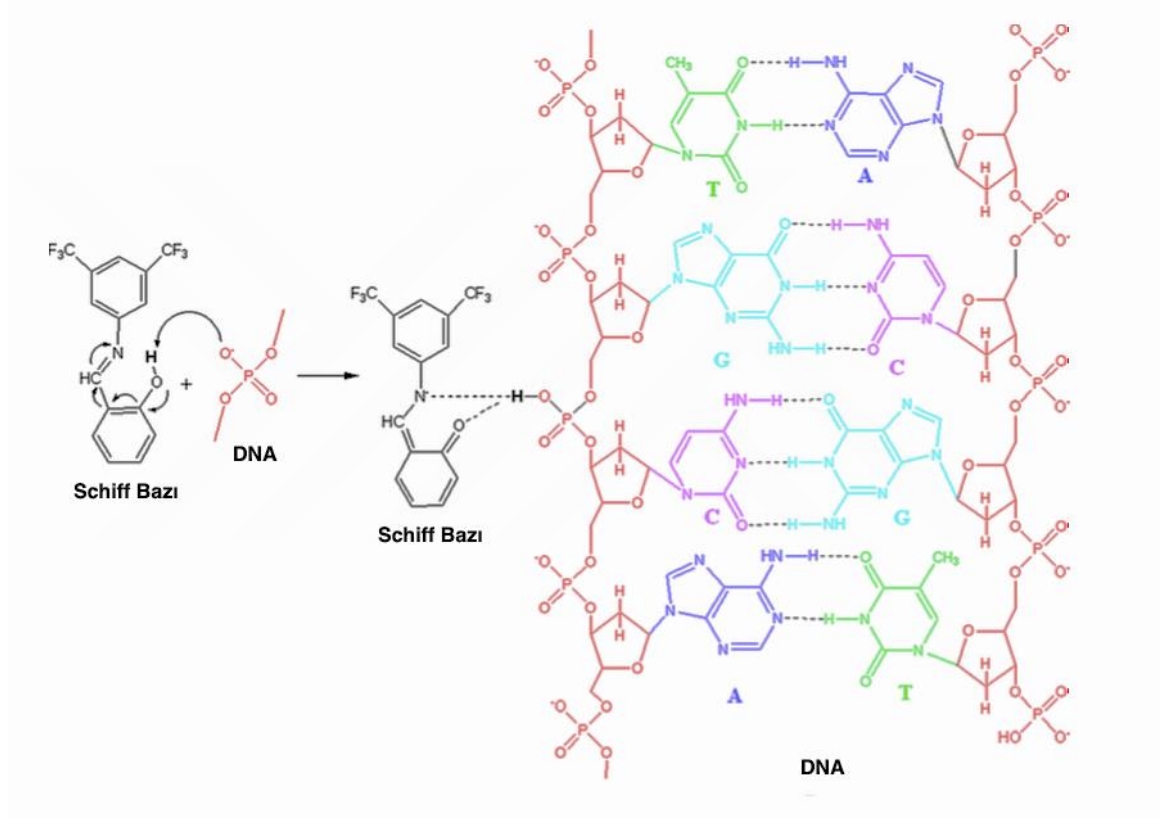
### **2.5.2. Kovalent Olmayan Bağlanma**

Kovalent olmayan DNA etkileşimleri geri dönüşümlüdür ve kovalent bağlanmaya göre daha düşük sitotoksik etkiye sahiptir. İlaç metabolizması ve toksik yan etkileri düşünüldüğünde genel olarak kovalent olmayan bağlanma şekli, kovalent bağlanmaya tercih edilir. Non-kovalent olarak DNA'yla etkileşime giren ajanlar DNA konformasyonunu ve DNA sarmalının gerilimini değiştirebilir, protein-DNA etkileşimlerini engelleyebilir ve DNA'da zincir kırıklarına neden olabilir. Tüm bu olaylar gen anlatımını önemli bir şekilde etkileyebilir (Silvestri ve Brodbelt, 2012). Moleküllerin DNA'ya non-kovalent olarak bağlanması elektrostatik etkileşimler, oluğa bağlanma ve interkalasyon olmak üzere üç temel yolla olur.

#### **2.5.2.1. Elektrostatik Etkileşimler**

Elektrostatik etkileşimler, DNA'nın dış yüzeyinde bulunan gruplarla yapılan etkileşimlerin neredeyse tamamını kapsar. DNA dış yüzeyindeki fosfat gruplarının negatif yüklü olmasından dolayı hücre içi ortamda pozitif yüklü bileşikler ile arasında elektriksel bir etkileşim meydana gelir. Hücre içi ortamda bulunan  $Na^{+2}$  ya da  $Mg^{+2}$  gibi metal katyonları DNA ile bu şekilde etkileşime girebilir. Metal iyonlarının DNA'yla olan bu etkileşimi fosfat gruplarının negatif yükünü nötralize eder, karşı iyonlar serbest kalır ve serbest bağlanma enerjisine entropik katkı sağlar. Bazı ligandlar ve metal kompleksleri DNA ile elektrostatik olarak etkileşime girebilirler ve bunun sonucunda DNA'nın yapısında değişiklikler olabilir (Sterowski ve Wilson, 2007; Sirajuddin ve ark., 2013).

DNA'nın her iki zincirindeki fosfat grupları ve bazların N ve O elektron verici atomları gibi bölgeler negatif yüklenmiş olabilir. Geçiş metallerinin çoğu, adeninin N7, N1, guaninin N7, O6 ve pürimidinlerin N3 atomu ile bağlanırlar ve çift sarmal bozarlar (Anastasopoulou, 2003). Bu bağlanma şekline örnek olarak, DNA ile Schiff bazı arasında meydana gelen elektrostatik etkileşim aşağıda verildi (Şekil 2.10). Şekilden de görüldüğü gibi DNA'daki negatif fosfat grubu, Schiff bazının asidik O-H protonları ile etkileşerek elektrostatik bağlanma oluşmaktadır.

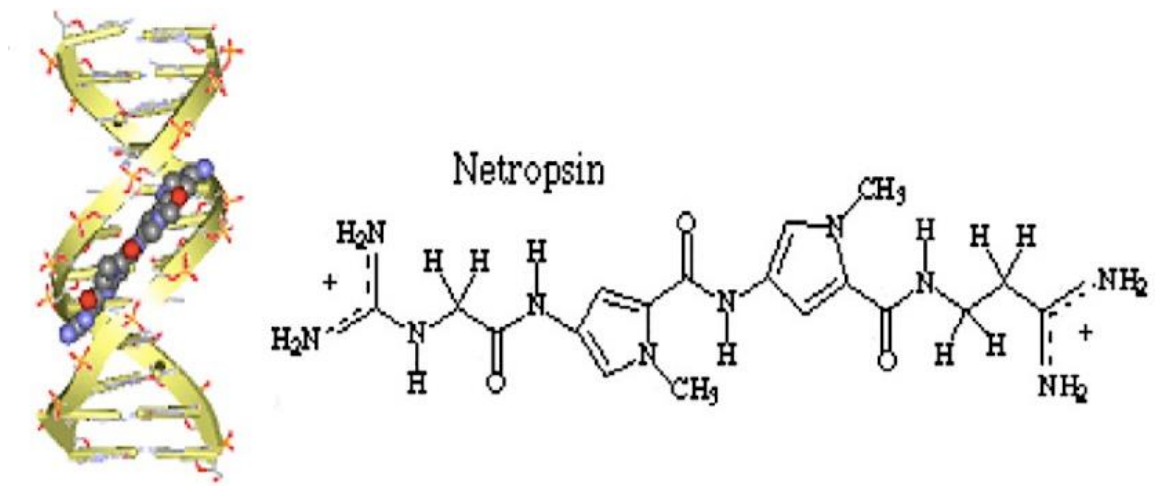


Şekil 2.10. DNA'ya elektrostatik olarak bağlanan Schiff bazı (Yıldız ve ark., 2015)

DNA'ya interkalasyonla ya da oluğa bağlanma ile bağlanan moleküller aynı zamanda elektrostatik olarak da bağlanabilirler. Genel bir kural olarak, DNA'ya kuvvetli bir şekilde bağlanabilecek terapötik bir molekülün dizaynı için, molekül yapısında elektrostatik bileşen bulundurulmalıdır. Bu şekilde bileşik DNA'ya daha kararlı bir şekilde bağlanabilir (Strekowski ve Wilson, 2007).

### 2.5.2.2. Oluğa Bağlanma

İlaç gelişiminde rol oynayan küçük moleküllerin DNA'ya kovalent olmayan bir diğer bağlanma şekli de oluğa bağlanmadır. Moleküller DNA'nın büyük ya da küçük oluğuna bağlanabilirler. Büyük ve küçük olukların boyutları birbirinden farklı olduğundan oluğa bağlanacak bileşikler de çok farklı yapıda ve farklı şekildedir. Genellikle küçük moleküller küçük oluğa bağlanırken protein ve oligonükleotitler gibi daha büyük moleküller büyük oluğa bağlanırlar (Bischoff ve Hoffmann 2002). Ancak bazı çalışmalar küçük moleküllerin büyük oluğa bağlanarak da DNA ile etkileşime girebildiğini bildirmişlerdir (Kim ve Nordén 1993).



Şekil 2.11. DNA'nın küçük oluğuna bağlanan netropsin (Sirajuddin ve ark., 2013)

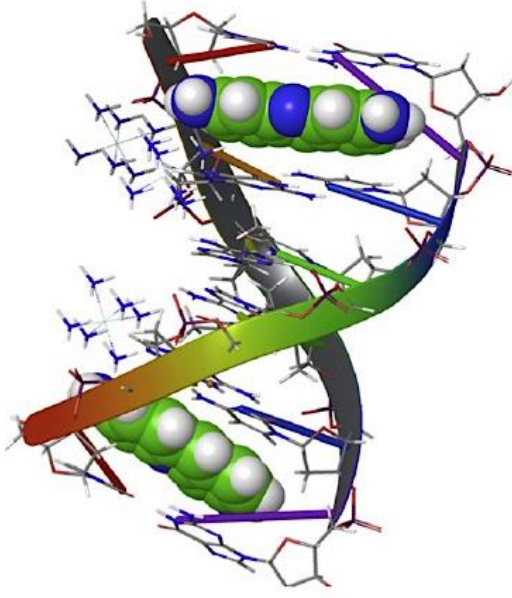
Oluğa bağlanma DNA'da büyük konformasyonel değişimlere neden olmaz, ligand-makromolekül arasındaki bağlanma standart anahtar-kilit modeline benzer bir şekilde düşünülebilir (Palchaudhuri ve Hergenrother, 2007). Küçük oluğa bağlanan bileşikler genellikle DNA'daki olukla eşleşecek hilal şeklinde olan bileşiklerdir. Küçük oluğa bağlandığı bilinen ilk ilaç antibiyotik netropsindir (Şekil 2.11). Hoechst 33258 ve distamycin diğer en iyi bilinen küçük oluğa bağlanabilen ilaçlardır. Bu ilaçlar ve diğer birçok küçük oluğa bağlanan moleküllerin DNA üzerinde adenin ve timince zengin olan bölgeleri seçtikleri görülmektedir (Neidle 1997). Küçük oluğa bağlanmalarda yapı, DNA fosfat gruplarıyla yapılan elektrostatik etkileşimler, bazlar üzerinde bulunan negatif yüklü atomlar ile yapılan hidrojen bağları ve Van der Waals etkileşimleri ile daha stabil hale gelmektedir .

Oluğa bağlanan bileşikler interkalatörler gibi DNA'da büyük konformasyonel değişikliklere neden olmasalar da, DNA'daki belirli bölgelere bağlanarak enzimlerin bu bölgelere bağlanmasını engellemek yoluyla etkili olurlar. Oluğa bağlanan bileşiklerin bir diğer önemli özelliği de moleküllerin oluk boyunca baz çiftlerine uyabilmek için genişleyebilmesi ve nükleik asitleri yüksek sekansa özgü tanıma özelliğine sahip olmasıdır (Blackburn ve Gait, 1996). İnterkalatörler gibi oluğa bağlanan moleküller de antikanser ve antimikrobiyal ajanlar olarak klinik öneme sahip bileşiklerdir (Bischoff ve Hoffman, 2002).

### 2.5.2.3. İnterkalasyon

İnterkalasyon yapan bileşikler düzlemsel, aromatik ya da heterokromatik yapıda olup DNA baz çiftleri arasına girerek DNA'ya bağlanır ve baz çiftleriyle kümelenirler (Şekil 2.12). İnterkalasyonla bağlanan moleküller, non-kovalent bağlarla ve bazlar arasındaki hidrojen bağında kırık oluşturmadan DNA omurgasına dik olarak bağlanırlar. DNA'ya interkalasyonla bağlanmada ve DNA-interkalatör kompleksin kararlılığının sürdürülmesinde etkin olan kuvvetler Van der Waals, hidrojen bağı, hidrofobik ve/veya yük transfer etkileşimi kuvvetleridir (Baginski ve ark., 1997). DNA-interkalatör kompleksi  $\pi$ - $\pi$  istiflenme etkileşimleri ile kararlı hale gelirler ve böylece iyonik kuvvetlere karşı diğer iki bağlanma şekli olan oluğa bağlanma ve elektrostatik etkileşimlerden daha az hassastırlar (Bauer ve Vinograd, 1970; Sirajuddin ve ark., 2013). İnterkalatörler DNA'da yapısal değişikliklere yol açar. İnterkalasyonla molekül baz çiftleri arasına girerek baz çiftleri arasında boşluk oluşturur ve katman çiftleri arasındaki burkulmayı indirgeyerek DNA uzunluğunda, DNA'nın dik duruşunda ve hidrodinamikliğinde değişimlere neden olur. İnterkalasyonla bağlanan molekülün baz çiftleri arasına yerleşebilmesi için DNA'nın kısmen çözülerek baz çiftleri arasında yer açması gerekir (Şekil 2.13). Çözülmenin derecesi interkalatöre ve bağlanma bölgesine bağlı olarak değişir. Örneğin etidyum katyonu  $26^\circ$ , proflavin ise  $17^\circ$  bir açıyla DNA'yı burarak açar. DNA'daki bu yapısal değişiklikler genellikle transkripsiyon, replikasyon ve DNA tamir süreçlerinin inhibisyonuna neden olur (Neidle ve Abraham, 1984; Keck ve Lippard, 1992; Sirajuddin ve ark., 2013). Bu etkilerin tümü geri dönüşümlüdür ve interkalasyon yapan molekülün uzaklaştırılması ile DNA eski haline geri döner (Lerman, 1964).



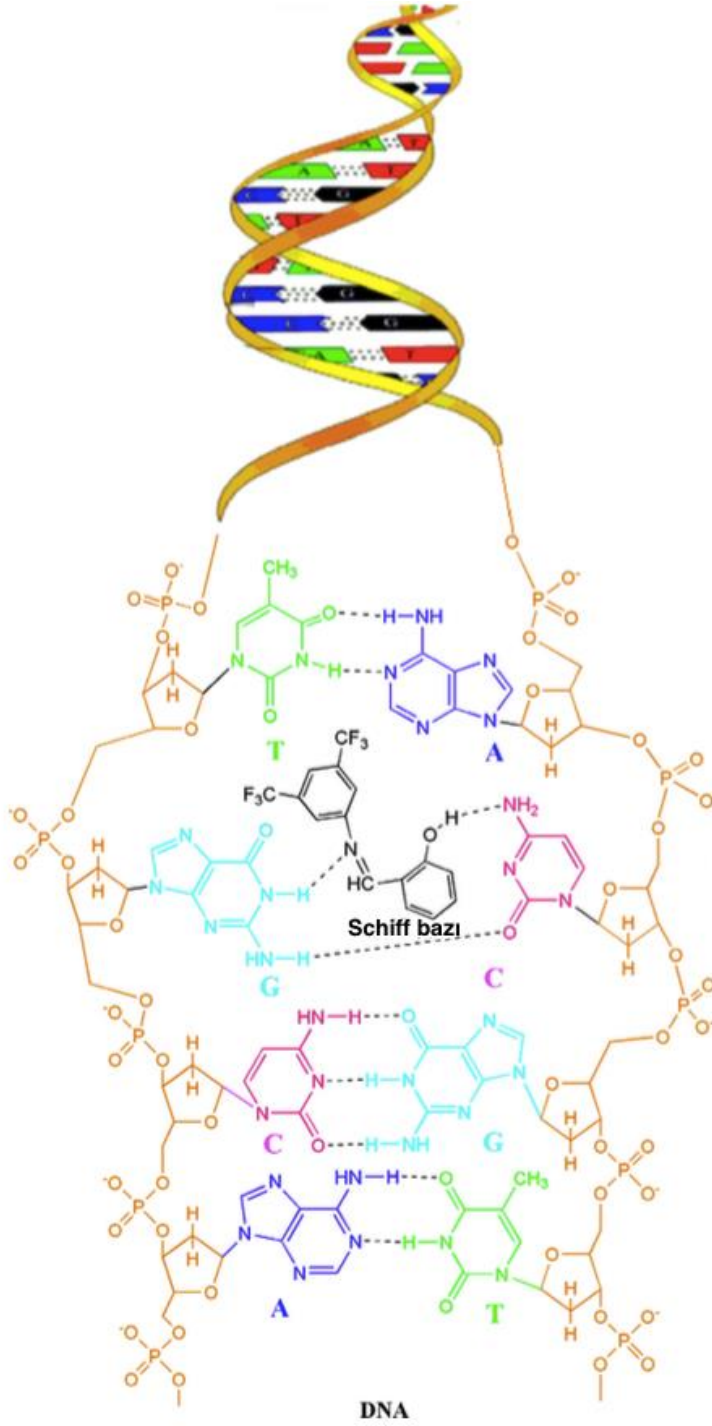


Şekil 2.12. İnterkalasyonla DNA'ya bağlanma

(<http://molbioph.niif.spbu.ru/en/взаимодействие-молекулы-днк-с-синтет/>)

En çok bilinen interkalasyon yapabilen molekül etidyum bromür (EB) aromatik, düzlemsel katyonik bir moleküldür. EB zayıf floresan özelliğe sahipken, komşu DNA baz çiftleri arasında güçlü interkalasyon yapması sonucu oluşan EB-DNA kompleksinde EB'nin floresans şiddetinin 25 kat arttığı görülmektedir. Bu özelliğinden faydalanılarak agaroz jel elektroforezi tekniklerinde DNA bantlarının görüntülenmesinde kullanılmaktadır (Pouryasin ve ark. 2014).

Etidyum bromür gibi monointerkalatörlerin yanı sıra kinoksalin türevi antibiyotikler (örneğin ekinomisin) gibi doğal birçok bisinterkalatör de bulunmaktadır. Bunlardan başka, daha uzun DNA sekanslarını kaplayabilecek tri- tetrainterkalatörler ve hatta poli-interkalatörlerin de sentetik olarak üretilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Birçok interkalatör DNA sekans seçiciliğine sahip olmasa da çalışmalar G-C zengin bölgelere daha çok bağlandıklarını göstermiştir (Geierstanger ve Wemmer., 1995; Takenaka ve Takagi, 1999).



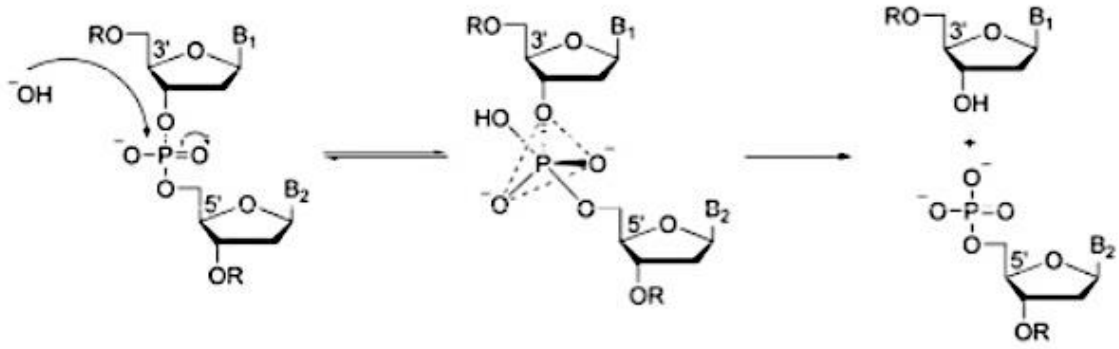
Şekil 2.13. İnterkalasyon ile DNA'ya bağlanan Schiff bazı (Yıldız ve ark., 2015)

DNA interkalatörleri hızlı büyüyen kanser hücrelerinde DNA replikasyonunu inhibe ettiğinden kemoterapötik tedavide kullanılmaktadır. Daunomisin ve Adriamisin kanser terapisinde kullanılan interkalatörlerdendir (Frederick ve ark. 1990). Ancak bu ilaçların kardiyotoksisite gibi önemli yan etkilere sahip olması ve kanser hücrelerinin zamanla direnç kazanması gibi nedenler klinik kullanımlarını sınırlamaktadır.

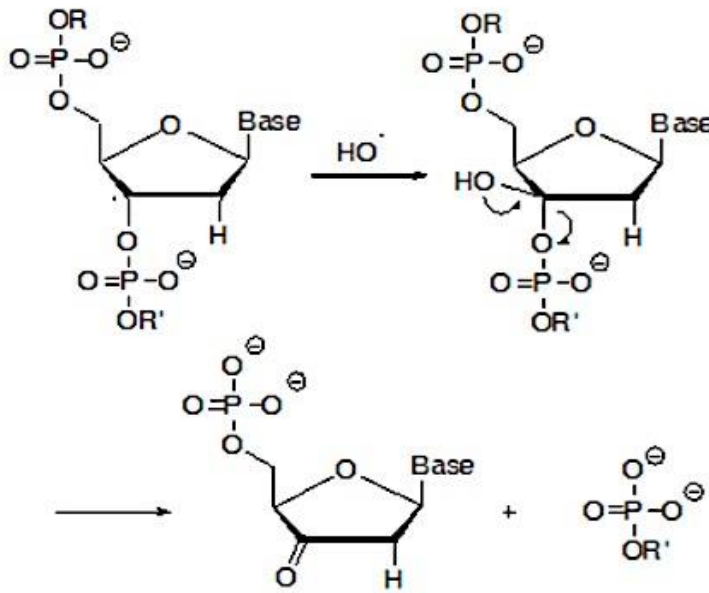
## 2.6. DNA Kesme

DNA kesme aktivitesi canlı sistemlerde hayati öneme sahiptir. Örneğin, topoizomeraz enzimleri DNA'nın tek ya da iki zincirinde kırıklar oluşturarak replikasyon, transkripsiyon ve diğer hücresel işlemler sırasında oluşan DNA'nın topolojik problemlerini ortadan kaldırırlar. Bir diğer örnek de, virüs enfeksiyonlarında yabancı DNA'yı kırarak ya da enfekte hücrenin hasarlı DNA'sını kırarak hücreyi apoptozise götüren ve bu sayede virüs enfeksiyonlarına karşı koruyan restriksiyon enzimleridir (Fukui ve Tanaka, 1996; Wang, 2002). Ayrıca, birçok antikanser ilacın etki mekanizması kanser hücrelerinin DNA'sına hasar vererek hücreleri apoptozise götürmektir (Hengartner, 2000).

DNA kırma aktivitesinde ana hedefler DNA'nın ana bileşenleri olan fosfodiester bağı, deoksiriboz şekeri ya da nükleobazlardır. DNA kırma aktivitesi hidrolitik ya da oksidatif yolla gerçekleştirilebilir. Hidrolitik kırma aktivitesinde DNA'daki fosfodiester bağlarının hidrolizi sonucu zincir kırıkları oluşturulurken, oksidatif kesme aktivitesi deoksiriboz şekeri ya da nükleobazların oksidasyonu ile gerçekleşir (Şekil 2.14 ve Şekil 2.15). Ancak, oksidatif kesme aktivitesinin gerçekleşebilmesi için reaktif moleküle ek olarak ortamda indirgeyici ya da oksitleyici ajanlar, ışık veya moleküler oksijen gibi yardımcı reaktiflere ihtiyaç duyar. Oksidatif DNA kırma aktivitesi, singlet oksijen, hidroksil radikali, foto-oksidasyon, hidrojen peroksit, iyonize radyasyon ya da diğer birçok transient radikal türleri ile indüklenebilir (Stubble ve Kozarich, 1987; Murphy, 1995). DNA'nın omurgası fosfodiester bağlarından oluşmaktadır ve bu nedenle de DNA'nın hidrolizi çok önemli bir enzimatik reaksiyondur. Ancak DNA'nın hidrolize karşı oldukça kararlı bir yapıda olması nedeniyle bu reaksiyon oldukça zordur. Fosfodiester bağı hidrolize edebilen enzimler çoğunlukla aktif bölgelerinde  $Mg^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$  gibi katalitik metal iyonlarını bulundurlar. Bu nedenle metal kompleksleri fosfodiester bağının hidrolitik olarak kesilmesi için iyi birer araçtır (Neves ve ark 2001).



Şekil 2.14. Hidrolitik kesme. DNA'nın hidrolizi için önerilen reaksiyon mekanizması



Şekil 2.15. Oksidatif kesme. Nükleobazların oksidasyonu

Nükleik asitleri kesme aktivitesi birçok biyolojik olayda ve genetik materyalin biyoteknolojik manipülasyonu çalışmalarında rol alan önemli bir enzimatik reaksiyondur (Hegg ve Burstyn, 1998; Liu ve ark., 2004). Bunun sonucu olarak, yapay nükleazlarla ilgili çalışmalar sadece potansiyel terapötik ajanlar olmaları nedeniyle değil aynı zamanda genomik araştırmalarda da çeşitli uygulamaları ile ön plana çıkmıştır (Meijler ve ark., 1997; Mancin ve ark., 2005).

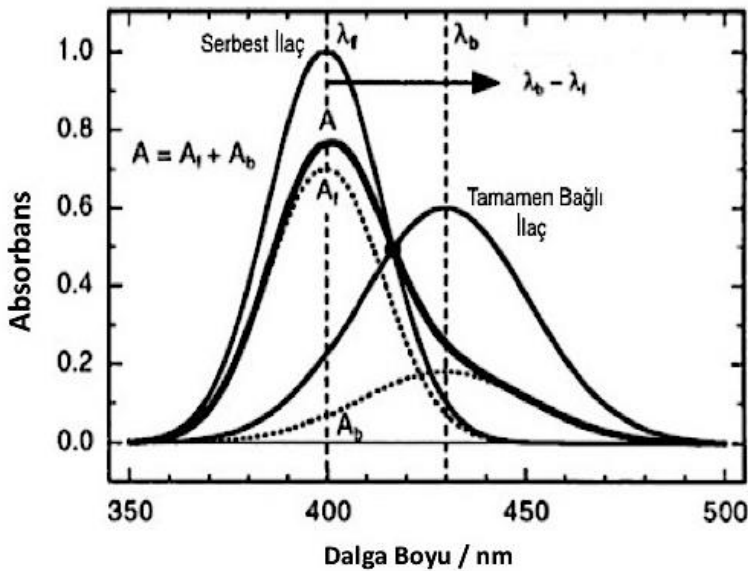
## 2.7. Schiff Bazı ve Komplekslerinin DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler

Eğer yeni bulunan bir bileşiğin DNA'yı hedef aldığı düşünülüyorsa, bir grup *in vitro* deney uygulanarak bileşiğin gerçekten DNA ile fiziksel olarak etkileşime girip giremediği

belirlenebilir (Palchaudhuri ve Hergenrother, 2007). Literatüre bakıldığında ilaç-DNA etkileşimlerinin incelenmesi için pek çok metodun geliştirildiği görülmektedir. Bunlardan en yaygın olarak kullanılan başlıca metotlar UV-Vis absorpsiyon titrasyonu, floresans spektroskopisi (Jenkins, 1995), linear ve dairesel dikroizm spektroskopisi (Colson, 1996), izotermal titrasyon kalorimetri (Palchaudhuri ve Hergenrother, 2007), viskozite ölçümleri (Liu ve ark., 2010) ve agaroz jel elektroforezi (Qiao ve ark., 2011) gibi yöntemlerdir. Aşağıda, bunlardan tez çalışmasında uygulanan yöntemlerin temelleri ve DNA etkileşiminin belirlenmesinde ne şekilde kullanılacakları açıklanacaktır.

### 2.7.1. UV-Vis Absorpsiyon Spektroskopisi

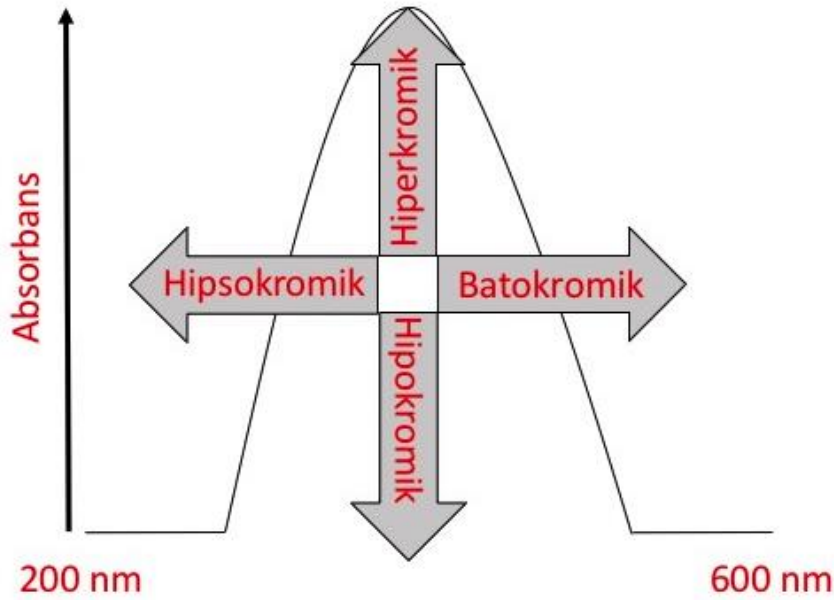
UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi ilaç-DNA etkileşimlerinin belirlenmesinde en yaygın olarak kullanılan ve uygulaması basit olan bir yöntemdir. İlaç-DNA etkileşimleri, ilacın ya da DNA'nın absorpsiyon özelliklerindeki değişikliklerin UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi ile gözlenmesi ile belirlenebilir. Deney, ilaç konsantrasyonunun sabit tutularak kademeli olarak DNA eklenmesi ve absorpsiyondaki değişikliklerin gözlenmesi esasına dayanır. Bu işlem absorpsiyonda herhangi bir değişiklik gözlenmeyinceye kadar devam edilir. Deney aynı şekilde DNA konsantrasyonu sabit tutulup kademeli olarak ilaç eklenmesi şeklinde de yürütülebilir. Titrasyon yapılırken, her bir DNA ekleme basamağından sonra absorpsiyon spektrumu ölçülerek ilacın maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyunda ve absorpsiyondaki değişimler kaydedilir (Jenkins, 1995).



Şekil 2.16. DNA'ya bağlanmanın ligandın absorpsiyon spektrumuna etkileri (Jenkins, 1995)

İlaç ve DNA arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığı, ilacın serbest haldeyken ve DNA'ya bağlandığındaki maksimum absorpsiyonundaki kaymalara bakılarak anlaşılır (Şekil 2.16). Absorbanstaki kaymanın büyüklüğünün, ilaç ile DNA arasındaki etkileşimin kuvvetini yansıttığı kabul edilir (Benitez-Bribiesca ve Sanchez-Suarez, 1999; Soto-Cerrato ve ark., 2004).

İlaç DNA'ya bağlandığında absorpsiyonda azalma (hipokromik etki) veya artma (hiperkromik etki) ve daha yüksek dalga boyuna kayma (batokromik kayma) ya da daha düşük dalga boyuna kayma (hipsokromik kayma) gözlenir (Şekil 2.17). İlaç, interkalasyonla DNA'ya bağlandığında genellikle DNA baz çiftleri ve aromatik kromofor gruplar arasındaki güçlü bir etkileşiminden dolayı karışımın UV-Vis absorpsiyonunda hipokromik etki ve batokromik kayma görülür (Liu ve ark. 2010). Hipokromik etki ve batokromik kayma genellikle interkalasyonla ilişkilendirilir (Qiao ve ark., 2011).



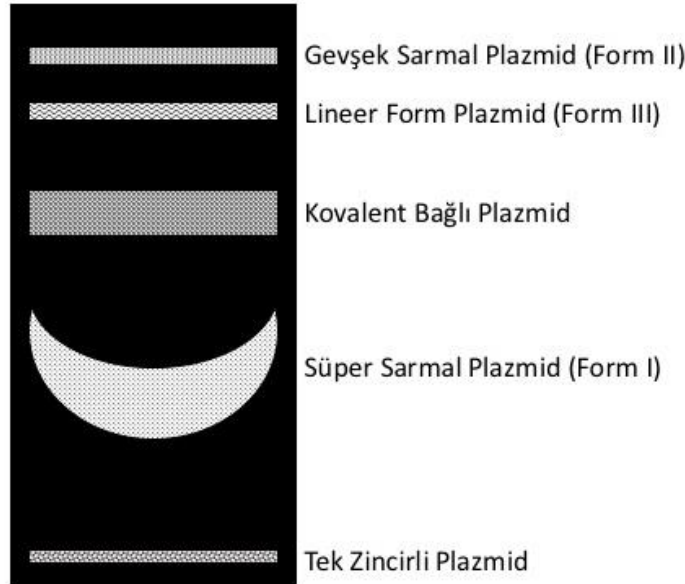
Şekil 2.17. UV-Vis Spektrumunda kaymalar

### 2.5.2. Agaroz Jel Elektrofrez

İlaç-DNA etkileşimlerinin araştırılmasında hassas ve kullanımı kolay en iyi metotlardan biri de kapalı halkasal DNA molekülünde ilacın indüklediği değişimlerin agaroz jel elektrofrez ile belirlenmesidir. Elektrofrez; DNA fragmentlerini ayırmak, tanımlamak ve saflaştırmak için kullanılan standart bir metottur. Jelde elektriksel alan

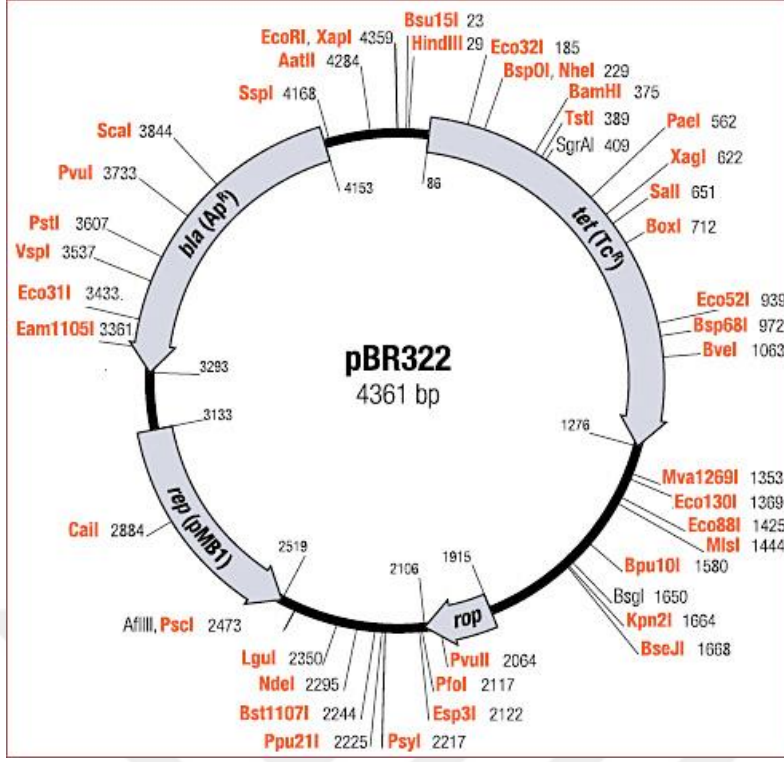
oluşturulduğunda, nötral pH'da, negatif yüklü DNA anoda doğru hareket eder. Jelde küçük yapılı olan moleküller büyük yapılı olanlardan daha hızlı olarak hareket ederler (Sambrook ve Russel, 2001). Bu teknikte de; ilacın bağlanacağı substrat olarak kapalı halkasal DNA (genellikle plazmid DNA) kullanılarak, ilaçla bağlanan DNA'nın jeldeki ilerleme hızları ölçülmektedir.

Plazmid DNA'nın orijinal süperkırımlı formu (Form I) bir çentikle açıldığında açık halkasal gevşek bir form (Form II) oluşur ve daha fazla kırık oluşmasıyla linear form (Form III) da bulunabilir. DNA elektroforezde yürütüldüğünde Form I jelde diğerlerine göre daha hızlı ilerlerken, Form II daha yavaş ilerler ve linear form (Form III) Form I ve Form II arasında hareket eder (Şekil 2.18). Bu teknik DNA kırma (DNA cleavage) ürünlerinin tanımlanmasında kullanılır (Barve ve ark., 2009; Qiao ve ark. 2011).



Şekil 2.18. Plazmid DNA'nın farklı formlarının agaroz jel elektroforezinde göç hızları

Çalışmada, bu yöntemde sıkça kullanılan süperkırımlı pBR322 plazmid DNA'sı kullanılmıştır. En yaygın kullanılan klonlama vektörlerinden biri olan pBR322, *E.coli*'de kullanılmak üzere geliştirilen ilk çok amaçlı klonlama vektörüdür ve ilk olarak Bolivar ve arkadaşları tarafından 1977'de geliştirilmiştir.



Şekil 2.19. pBR322 plazmid DNA haritası

Molekül çift zincirli halkasal formda ve 4361 bp uzunluğundadır. pBR322, tetrasiklin ve ampisiline dirençli genler içerir ve kloramfenikol ile çoğaltılabilir (Şekil 2.19). Moleküler ağırlığı  $2,83 \times 10^6$  Dalton'dur. Plazmidin kırktan fazla restriksiyon enzimi için kesim bölgesi vardır (Balbás ve ark., 1986). Plazmidin nükleotit sekansı belirlenmiştir (Watson, 1988).

### 2.5.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu, 1980'lerde Karry Mullis tarafından geliştirilen ve moleküler biyoloji çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Sonnesmans ve ark., 2002). PCR ile genomun istenilen bölgesi çoğaltılarak milyonlarca kopyası elde edilebilir.

DNA replikasyon inhibitörleri antikanser ve antiviral ajanlar olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. DNA'ya bağlanan ve DNA'da kırık oluşturan bileşikler DNA yapısını değiştirerek replikasyonu inhibe ederler (Pommier ve Diasio, 1996).

PCR ile sekansı bilinen bir DNA ya da RNA dizisi *in vitro* ortamda enzimatik olarak çoğaltılır. DNA'nın erimesi ve enzimatik reaksiyonları için tekrarlanan ısınma ve soğuma döngülerinden oluşan termal döngü metodun temelini oluşturur. Bu döngünün ilk aşamasında DNA çift sarmalı ısıtılarak iplikler birbirinden ayrılır. İkinci aşama, sıcaklığın



düştüğü ve çoğaltılacak olan DNA fragmentine primerlerin bağlandığı aşamadır. Üçüncü aşama, DNA zinciri ile eşleşen primerlerin DNA polimeraz enzimi ile uzatılmasıdır. Taq polimeraz enzimi 72 °C'de daha iyi çalıştığından tüm çoğalma işlemleri bu sıcaklıkta yapılır. Bu üç basamak PCR reaksiyonunda bir döngüyü oluşturur. Bu döngü 25-50 kez tekrar edilerek istenilen DNA dizisinin milyonlarca kopyası elde edilebilir (Klug ve Cummings, 2011). Elde edilen PCR ürünleri agaroz jel elektroferezinde yürütülerek elde edilen bantlardan uzunlukları ve miktarı belirlenebilir.

## **2.6. Sitotoksik Aktivite**

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar sitotoksik ilaçlardır ve malignant hücreleri öldürerek ya da büyümelerini durdurarak etki ederler. Birçok sitotoksik antikanser ilaç tümör hücrelerinde apoptozisi uyararak etki eder (Harvey, 2000). Küçük moleküller DNA'ya bağlanarak DNA'nın heliks yapısını bozar ve buna bağlı olarak da hücre yaşayabilirliğine etki eder. Bu bileşikler DNA'ya kuvvetli bir şekilde bağlanır ve replikasyon enzimlerinin işlev görmesini engeller ya da DNA kırıklarına yol açar ve eğer bu hasar tamir edilemezse hücre ölümüne neden olur.

Hücre yaşayabilirliği ve çoğalmasının ölçülmesi, hücre popülasyonunun dış faktörlere yanıtının *in vitro* olarak ölçülmesinde kullanılan birçok çalışmanın temelini oluşturmaktadır. 4,5-dimethyliazol-2-yl-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT) testi, hücre çoğalma oranını ve tam tersi olarak da apoptozis ve nekrozisle sonuçlanan metabolik olaylar sonucu hücre yaşayabilirliğindeki azalmanın ölçüldüğü, kabul edilmiş, güvenilir bir testtir (Von de Loosdrecht, 1994). MTT reaktifi canlı hücrelerde mitokondriyal dehidrogenaz enzimleri ile mavi-mor renkteki formazan tuzuna dönüştürülür. Çözünmüş formazanın görünür alan absorpsiyonu canlı hücrelerin sayısını verir. Eğer test edilen molekül hücre hasarına ya da ölümüne neden olacak sitotoksik etkiye sahipse, MTT reaktifinin mor renkli formazan kristallerine dönüşümü daha az olacaktır.

## **2.7. Antimikrobiyal Aktivite**

Enfeksiyon hastalıklarından dolayı ölüm miktarındaki artış, bakterilerin antibiyotiklere karşı gösterdiği çoklu direnç ile yakından ilişkilidir. Tedavideki eksiklikler bu problemin başlıca nedenidir (Rice, 2006; Alekshun ve Levy, 2007). Fungal enfeksiyonlar sadece doku yüzeyinde görülenlerle sınırlı değildir; ayrıca önemli hayati tehlikeye neden olan sistemik fungal enfeksiyonlar da görülmektedir (Sundriyal ve ark., 2006). Özellikle yaşlı, majör ameliyatlı, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanan, AIDS'li,

kanser tedavisi gören, organ yada hematopoetik kök hücre transplantasyonu geçiren hastalar risk altındadır (Nucci ve Marr, 2005). Bu nedenle yeni ve daha etkili antibiyotik ve antifungal ajanların geliştirilmesi acil bir ihtiyaçtır. Schiff bazı ve komplekslerinin antibakteriyel ve antifungal ajanlar olarak umut vaat edici özellikler gösterdikleri daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Karthikeyan ve ark., 2006; Shi ve ark., 2007).

Antimikrobiyal ajanlar bakteri hücrelerine etki mekanizmalarına göre sınıflandırılırlar. Bu ajanlar bakteri hücrelerinin;

- Hücre duvarı sentezini engelleyerek,
- Protein sentezini inhibe ederek,
- Nükleik asit sentezini inhibe ederek,
- Metabolik yollarını inhibe ederek etki edebilirler (Coyle, 2005).

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında en çok tercih edilen yöntemler, disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon metodudur. Ancak, broth mikrodilüsyon testi kantitatif bir yöntem olması ve daha kesin sonuçlar vermesi nedeniyle daha çok tercih edilmektedir.

Broth mikrodilüsyon yönteminde, mikroorganizmalar antimikrobiyal ajanın seri dilüsyonları ile muamele edilir ve inkübasyonun ardından üremeleri kontrol edilerek değerlendirilir. Çalışma sonucunda minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri mikroorganizmanın üremesini engelleyen en düşük konsantrasyon olarak değerlendirilir.

## **2.8. Schiff Bazı ve Komplekslerinin DNA ile Olan Etkileşimleri ve Biyolojik Aktiviteleri**

Schiff bazı ve komplekslerinin biyolojik ve farmasötik olarak aktif bileşikler olmaları nedeniyle oldukça ilgi gören bileşiklerdir. Literatürde Schiff bazı ve komplekslerinin DNA ile etkileşimleri, antikanser ve antimikrobiyal etkilerine dair birçok çalışma vardır. Bunlardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Lian ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışmada, dört yeni Schiff bazı Cu(II) kompleksinin (kompleks 1-4) DNA bağlanma, DNA kesme aktivitesi ve sitotoksik aktivitesini araştırmışlardır. UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi sonucunda bileşiklerin absorpsiyonunda %21- %34 arasında hipokromik kayma olduğu gözlenmiş ve bileşiklerin DNA'ya kısmi interkalasyon ile bağlandığını bildirmişlerdir. Agaroz jel elektroforezi sonucunda bileşiklerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında DNA kırma aktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir. MTT testi sonucunda tüm bileşiklerin sitotoksik aktivite gösterdiğini, kompleks 4'ün ise diğerlerine göre çok daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Zhou ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, yeni dört kiral Schiff bazı Cu(II) kompleksinin (1-4) DNA'ya bağlanma özellikleri, DNA kesme ve sitotoksik aktivitelerini çalışmışlardır. DNA'ya bağlanma aktivitesi UV-Vis absorpsiyon titrasyonu ve floresan spektroskopisi ile çalışılmış ve bileşiklerin DNA'ya interkalasyon ile bağlandığını göstermişlerdir. Agaroz jel elektroforezi sonucunda bileşiklerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında etkili bir şekilde DNA'yı kırabildiklerini belirtmişlerdir. Tüm komplekslerin MDA-MB-231, A549 ve HeLa kanser hücre hatlarına karşı oldukça etkili sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu ve özellikle kompleks 4'ün diğerlerine göre daha etkili olduğu ve MDA-MB-231 ve A549 hücre hattına karşı cisplatin'den daha etkili sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir.

Yıldız ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, 3,5-bis(triflorometil)anilin ve anilinden elde ettikleri yeni Schiff bazı ligandının DNA'ya bağlanma özellikleri ve antimikrobiyal özelliklerini UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi ve broth mikrodilüsyon yöntemi ile araştırmışlardır. Bileşiğin artan DNA konsantrasyonu ile birlikte 278 ve 310 nm'deki absorpsiyonunda sırasıyla %133,5 ve %46 hipokromizm ile birlikte 19 nm ve 1 nm batokromik kayma olduğunu gözlemlemişler ve bileşiğin DNA'ya interkalasyonla ve elektrostatik olarak bağlanabildiğini bildirmişlerdir. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucunda ise ligandın test edilen mikroorganizmalara karşı 32-128 µg/µL konsantrasyon aralığında etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Kiran ve ark. (2015), sentezledikleri sekiz yeni Schiff bazı Cu(II) kompleksinin (4a-4h) DNA'ya bağlanma özelliklerini, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerini araştırmışlardır. DNA'ya bağlanma özellikleri UV-Vis absorpsiyonu ve viskozite ölçümleri ile araştırılmış ve bileşiklerin DNA'ya interkalasyon yaparak bağlandığını göstermişlerdir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri çukur agar difüzyonu metodu ile çalışılmış ve test edilen gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını belirtmişlerdir. Bileşiklerin sitotoksisiteyi MTT metodu ile insan hepatoselüler karsinoma (HepG2) kanser hücre hattına karşı araştırılmış, 4d ve 4h komplekslerinin etkili sitotoksik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Li ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, sentezledikleri yeni üç farklı Schiff bazı Co(II) kompleksinin (kompleks 1-3) DNA'ya bağlanma özelliklerini, DNA kesme ve sitotoksik aktivitelerini araştırmışlardır. DNA'ya bağlanma özellikleri floresans spektroskopisi ve viskozimetre ölçümleri ile araştırmışlar ve her üç bileşiğin de DNA'ya interkalasyon ile bağlandığını bulmuşlardır. Agaroz jel elektroforezi sonucunda komplekslerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında DNA'yı oksidatif yolla etkili bir şekilde kesebildiğini belirlemişlerdir. Bileşiklerin HepG2 ve NCI-H460 kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik

aktivitelerini MTT testi ile araştırmışlar ve kompleks 3'ün diğer bileşiklerden daha yksek inhibisyon değerlerine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Osovole ve ark. (2012), sentezledikleri nitrofenol Schiff bazı ve Mn(II), Cu(II), Zn(II) ve Pb(II) komplekslerinin *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus cereus* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitelerini çalışmışlar ve ligand ve Zn(II) kompleksinin, bakterilere karşı 10.0-20.0 arasında ve mayalara karşı 10.0-17.0 mm arasındaki inhibisyon zonuyla, yksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Qiao ve ark. (2011), yeni sentezledikleri Schiff bazı bakır(II) kompleksinin potansiyel antitümör mekanizmasını belirlemek amacıyla DNA bağlanma özellikleri ve sitotoksisite aktivitelerini incelemişlerdir. Kompleksin DNA'ya bağlanma özellikleri UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi, floresans spektroskopisi ve agaroz jel elektroforezi yöntemleri ile araştırılmıştır. Sonuç olarak kompleksin DNA'ya interkalasyon yaparak bağlandığı belirlenmiştir. Agaroz jel elektroforezi sonucunda kompleksin süperkırımlı plazmid DNA'yı oksidatif yolla kırarak tek ve çift zincir kırıklarına neden olduğu gözlenmiştir. Sitotoksik aktiviteleri MTT testi ve klonojenik metodla çalışılmış, Schiff bazı ligandı ve bakır(II)asetat tuzu [Cu(OAc)<sub>2</sub>] tek başına önemli bir sitotoksik aktivite göstermezken, Schiff bazı Cu(II) kompleksinin HeLa hücrelerine karşı önemli sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Liu ve ark. (2010), yeni sentezlenen üç 2-oksoquonolin-3-karboksilaldehit Schiff bazı ligandı Cu(II) (1-3) komplekslerinin DNA ile olan etkileşimlerini UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi, floresans spektroskopisi, viskozite ölçümleri ve etidiyum bromür-DNA yarışmalı bağlanma deneyleri ile çalışmışlardır. Test edilen Schiff bazı ligandları ve Cu(II) komplekslerinin DNA ile etkileşime girdiğini ve bağlanma şeklinin interkalasyon olduğunu bulmuşlardır. Sitotoksisite çalışmaları MTT ve sulforhodamine B (SRB) metotları kullanılarak yürütülmüş olup; elde edilen sonuçlardan kompleks (3)'ün HL60 ve HeLa hücrelerine karşı en etkili sitotoksik aktiviteye sahip bileşik olduğu belirlenmiştir.

Shahabadi ve ark. (2010), sentezledikleri suda çözünebilir Schiff bazı Co(II) kompleksi, SF (N,N'-bis(5-[(trifenilfosforyum)klorür]-metil)salisiliden)-o-fenilendiamin)' in CT-DNA'yla etkileşimlerini UV absorpsiyon spektroskopisi, floresans ve halkasal dikroizm (CD) spektrofotometrisi ve dinamik viskozite ölçümü yöntemleri ile araştırmışlardır. UV-Vis absorpsiyonu sonucunda molekülün DNA'ya bağlanma sabiti  $K_b = 5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Shahabadi ve ark. (2009)'nın önceki çalışmaları ile

karşılaştırıldığında SF'nin DNA'ya bağlanma afinitesinin ( $K_b=8,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ), Co(II) kompleksinden daha kuvvetli olduğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler ışığında SF'nin DNA baz çiftleri arasına girerek interkalasyon yoluyla bağlandığını, Co(II) kompleksinin ise elektrostatik olarak DNA'ya bağlandığını bulmuşlardır.

Mohamed ve ark. (2009), sentezledikleri yeni Schiff bazı ligandı ve Mn(II), Co(II), Cu(II), Zn(II), Ni(II) ve Cd(II) komplekslerinin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlar ve test edilen bakterilerin bir kısmına karşı ligandın metal komplekslerinin liganda göre daha çok antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemiştir.

Wadler ve ark. (2009), sentezledikleri bir seri Schiff bazı (Ia-e)'nin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon metodu ile çalışmışlar ve sonuç olarak Ic, Ie, IIb ve IIc bileşiklerinin referans standartlar siprofloksasin ve flukonazol'e kıyasla güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Jin ve ark. (2009), toksik olmayan bir biyopolimer olan chitosan'ın Schiff bazı ligandını sentezlemişler ve *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Aspergillus niger* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini çalışmışlardır. Sonuçta artan konsantrasyonla birlikte Schiff bazının antimikrobiyal aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, Schiff bazının antimikrobiyal aktivitesi kitosan ile de karşılaştırılmış ve daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Grupta ve ark. (2007), sentezledikleri 4-metil-2,6-dibenzolfenol ve etan-1,2-diamin'den elde edilen NNO-donör Schiff bazıyla kompleks mononükleer Co(III)'ün DNA'ya bağlanma özelliklerini absorpsiyon titrasyonu deneyleri ile çalışmışlar ve kompleksin DNA'ya interkalasyonla bağlandığını ve bağlanma sabitinin  $1,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  olduğunu belirlemiştir.

Raman ve ark. (2007), sentezledikleri yeni Schiff bazı ligandlarının geçiş metali komplekslerinin DNA-kırma aktivitesini agaroz jel elektroforezi yöntemi ile ve antimikrobiyal aktivitesini agar difüzyon yöntemi ile çalışmışlardır. Yapılan deneyler sonucu Cu, Ni ve Co komplekslerinin DNA'yı kırdığını ve test edilen tüm bileşiklerin test edilen gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Karthikeyan ve ark. (2006), Mannic baz içeren 2,4-dichloro-5-fluorophenille hazırladıkları triazol Schiff bazlarının (3a-g, 4a-i, 5a-f) antimikrobiyal aktivitelerini *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarına karşı disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Sonuç olarak 3c, 4c,

4e, ve 4f Schiff bazlarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu gösterilmiştir. Bileşiklerin antifungal aktivitesi de çalışılmış ve 3c, 5c, 5e ve 5f'nin iyi düzeyde antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Wang ve ark. (2006), sentezledikleri ve karakterizasyonunu yaptıkları yeni naringenin Schiff bazı ligandı ve La(III) kompleksinin DNA'ya bağlanma özelliklerini spektrofotometrik titrasyonlar, etidiyum bromür yer değiştirme deneyleri ve viskozite ölçümleri ile çalışmışlardır. Her iki bileşiğin de, özellikle de La(III) kompleksinin CT-DNA'ya kuvvetli bir şekilde bağlandığını ve bağlanma mekanizmasının interkalasyonla olduğunu belirlemişlerdir. Bileşiklerin sitotoksik aktivitelerini ise MTT ve SRB metotları kullanarak çalışmışlardır. Çalışmaların sonucundan La(III) kompleksinin test edilen insan lösemi HL-60 ve akciğer adenokarsinoma A-549 hücrelerine karşı önemli sitotoksik aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Wang ve Yang, (2005), yeni sentezledikleri Schiff bazı [1,7-di((1-fenil-3-metil-5-pirazol-4-benziliden)dietentriamin)] ligand'ının ve üç geçiş metali kompleksinin [Cu(II), Ni(II), Zn(II)] DNA'ya bağlanma özelliklerini absorpsiyon, floresans spektroskopisi ve viskozite ölçünleriyle çalışmışlardır. Yapılan çalışmalar ligand'ın ve Ni(II) kompleksinin DNA'ya bağlanırken diğer iki kompleksin DNA'ya bağlanmadığını göstermiştir. Ni(II) kompleksinin bağlanma afinitesinin ligandan daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Dhar ve ark. (2005), sentezledikleri yeni NSO-donör Schiff bazlarının üçlü bakır(II) komplekslerinin  $[CuL^nB](ClO_4)$  (1-3) DNA'ya bağlanma özelliklerini floresans spektroskopisi ve DNA-kırma özellikleri agaroz jel elektroforezi yöntemleri kullanılarak belirlemişlerdir. Sonuç olarak komplekslerin CT-DNA'ya bağlanma afiniteleri  $2 \geq 3 > 1$  olarak bulunmuştur. Kompleks'in hidroksil radikalleri oluşturan merkaptopropiyonik asit varlığında süper kıvrımlı pUC19 DNA'yı etkili bir şekilde kırdığı gözlenmiştir.

Çukuravali ve ark. (2002), sentezledikleri siklobütan ve triazol halkaları içeren iki Schiff bazı ligandı ve Co(II), Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) komplekslerinin *Bacillus megaterium*, *Candida albicans*, *Enterobacter aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Saccaromices cerevisiae* ve *Staphylococcus aureuss* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır ve sonuç olarak ligandlardan biri ( $L^2H$ ) ve kompleksleri test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermezken; diğer ligand ( $L^1H$ ) ve kompleksleri mikroorganizmalardan bazılarına karşı zayıf antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Vijayalakshmi ve ark. (2000), Schiff bazı krom(III) kompleksleri  $[Cr(sa/pm)(H_2O)_2]$  ve  $[Cr(salen)(H_2O)_2]$ 'ün DNA ile olan etkileşimlerini araştırmışlardır. DNA'ya bağlanma

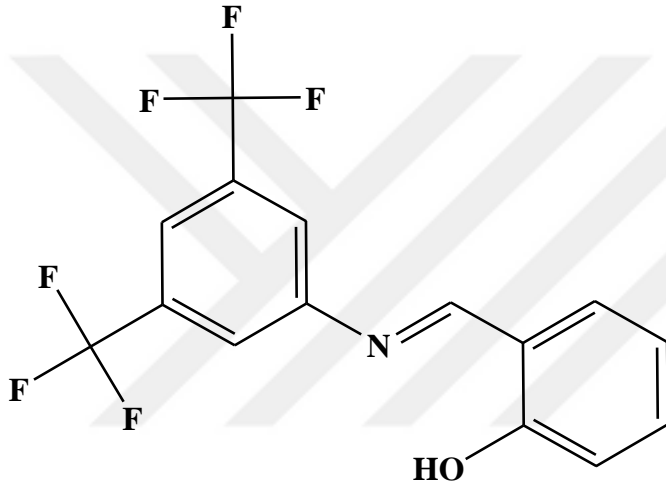
özellikleri absorpsiyon, emisyon, halkasal dikroizm spektroskopisi, termal denatürasyon ve viskozite ölçümleri ile çalışılmış ve Cu(III) komplekslerinin, DNA'ya bağlandığında kırmızıya kaymayla birlikte absorpsiyon spektrumunda hiperkromisite, floresansında artma, erime sıcaklığında artış, CD spektrumunda bazı yapısal değişiklikler ve viskozitesinde spesifik değişikliklerin olduğu gözlenmiştir. Absorpsiyon spektrumu ölçümlerinden elde edilen bağlanma sabiti her iki kompleks için de sırasıyla [Cr(salen)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] için  $(2.5 \pm 0.4) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$  ve [Cr(sa/pm)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] için  $(1.7 \pm 0.3) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Komplekslerin DNA-kırma aktiviteleri pBR322 plazmid DNA'sı ile agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak çalışılmış ve plazmid DNA'sında tek zincir kırığı oluşturdukları gösterilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda krom(III) komplekslerinin DNA'ya interkalatif olarak bağlanmadığını, büyük oluğa bağlanarak DNA'yla etkileşime girdiği bulunmuştur.

## BÖLÜM 3

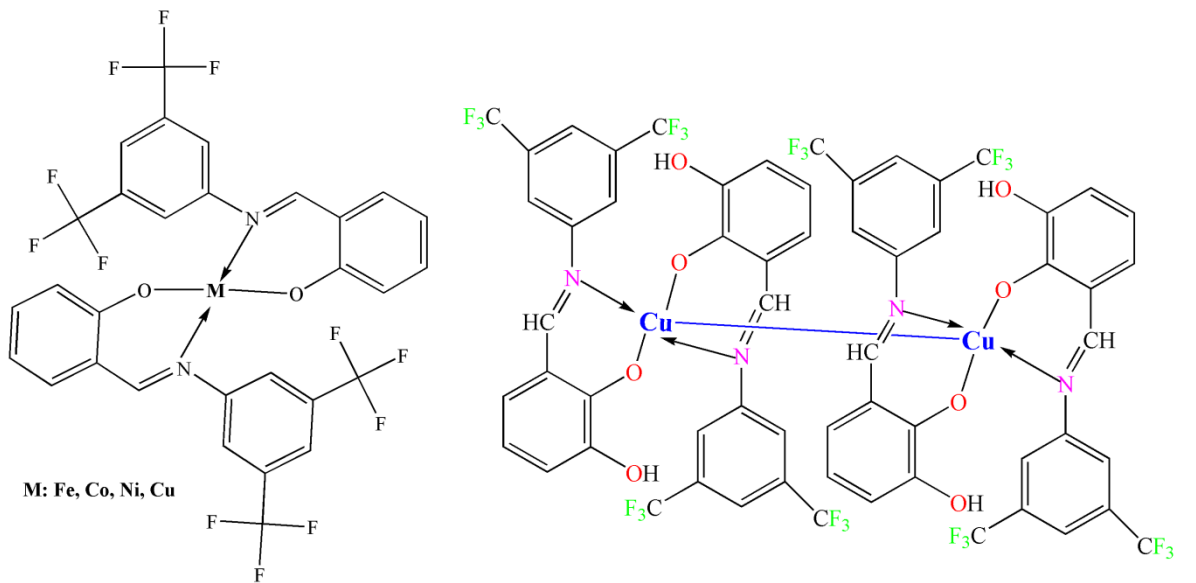
### MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Test Edilen Bileşikler

Bu çalışmada, DNA'ya bağlanma özellikleri ve biyolojik aktiviteleri araştırılan Schiff bazı ve kompleksleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümünde Doç. Dr. Mustafa YILDIZ tarafından sentezlenerek karakterize edildi (Yıldız ve ark., 2015; Ünver ve ark., 2016). Bileşiklerin kimyasal yapıları Şekil 3.1- 3.4'de verildi.

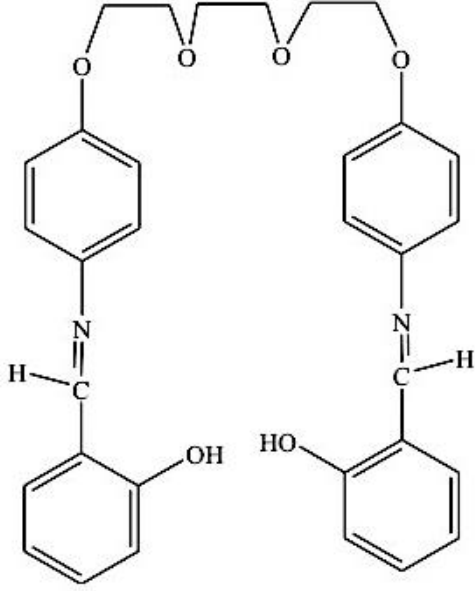


Şekil 3.1. Schiff bazı ligandı L1

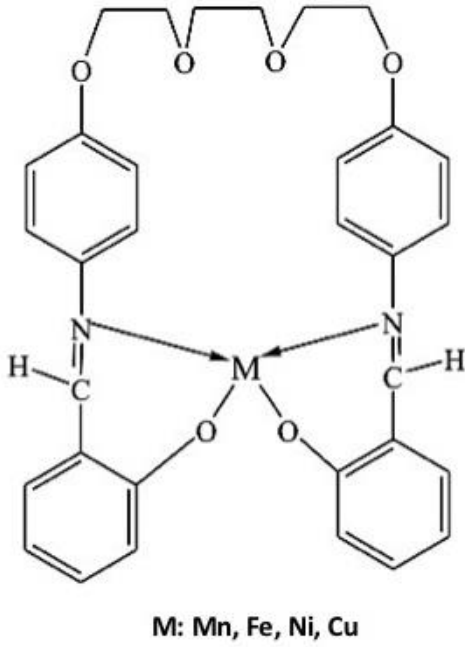


Şekil 3.2. Schiff bazı ligandı L1'in Fe, Co, Ni ve Cu kompleksleri





Şekil.3.3. Schiff bazı ligandı **L2**



Şekil 3.4. Schiff bazı ligandı **L2**'nin Mn, Fe, Ni ve Cu kompleksleri

Schiff bazı ve kompleksleri dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözüldü ve her deney için gereken konsantrasyonlarda taze olarak hazırlandı. Tüm deneylerde DMSO kontrol olarak denendi ve çözücünün kullanılan konsantrasyonlarda herhangi bir negatif etkiye sahip olmadığı belirlendi.

### 3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan tüm kimyasal ve reaktifler analitik saflıkta olup ticari olarak satın alındı ve ek bir saflaştırma işlemi uygulanmadı. Dana timusu DNA'sı (D4522) ve etidiyum bromür (EB; E-1510) Sigma Aldrich'ten; dimetil sülfoksit (DMSO; 102952), tris bazı (648310), Etilendiamintetraasetik asit (EDTA; 324503), sodyum klorür (NaCl; 137017), glasiyal asetik asit (CH<sub>3</sub>COOH; 137000), hidroklorik asit (HCl; 100317), sodyum hidroksit (NaOH; 106469), potasyum klorür (KCl; 104936), potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 104873) Merck Millipore firmalarından temin edildi. pBR322 Plazmid DNA (SD0041), EcoRI enzimi (FD0274), Taq polimeraz (EP0402), deoksiadenozin trifosfat (dATP, R0141), deoksitimidin trifosfat (dTTP, R0171), deoksiguanozin trifosfat (dGTP, R0161), deoksisitidin trifosfat (dCTP, R0151), magnezyum klorür (MgCl<sub>2</sub>, 00190181) ve DNA ladder (SM0311) Thermo Fisher Scientific; ileri ve geri primerler Macrogen Inc.'dan alındı. Sitotoksik aktivitenin belirlenmesinde kullanılan insan hepatoselüler karsinoma hücre hattı (HepG2 ATCC® 77400™) Japanese Collection of Research Biosources Cell Bank (JRCB)'den temin edildi. Fetal sığır serumu (FBS, F7942), Dulbecco's Modified Eagle's medyum (DMEM, D5796), MTT (M2128), Sisplatin (C2210000) Sigma Aldrich firmasından ve penisilin-streptomisin (15140122) Thermo Fisher Scientific firmasından satın alındı. Antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılan Saboraud dekstroz agar (1054380500), Nutrient agar (105450), Nutrient broth (107882), Mueller-Hinton broth (110293) Merck Millipore firmasından, Roswell Park Memorial Institute medyum (RPMI 1640; Sigma, R1145), gentamisin (G1914), ampisilin (A1593) ve flukonazol (Y000557) Sigma Aldrich firmasından temin edildi.

### 3.3. Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Tamponlar

8 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 1 mM EDTA (TNE) Tamponu : UV-Vis absorpsiyon titrasyonu deneyinde kullanıldı. 1,21 g Tris, 2,92 g NaCl ve 2 mL 0,5 M EDTA (pH:8.0) 800 mL saf su ile çözüldükten sonra HCl ile pH'ı 7,4'e ayarlandı ve distile su ile son hacmi 1000 mL'ye tamamlandı. Filtre ile steril edildi ve çalışma süresince oda sıcaklığında saklandı.

100 mM Tris-HCl tamponu (pH: 7.6): DNA kırma deneyinde kullanıldı. 2,42 g Tris 150 mL distile suda çözüldükten sonra HCl ile pH 7,6'ya ayarlandı. Son hacmi distile su ile 200 mL'ye tamamlandıktan sonra filtre ile steril edildi. Oda sıcaklığında saklandı.

10X TAE (Tris-Asetik asit-EDTA) Tamponu (pH: 8.0): Agaroz jel elektroforezinde yürütme tampon olarak kullanıldı. 48,4 g Tris, 5,5 mL Glasiyal asetik asite; 20 mL 0,5 M

EDTA ilave edilerek 800 mL distile suda çözüldü. pH 8.0'e ayarlandı ve distile su ile son hacimi 1000 mL'ye tamamlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

6X Agaroz Yükleme Tamponu: Agaroz jel elektroforezinde yükleme tamponu olarak kullanıldı. %30 Gliserol, 0,5 M EDTA, %0,3 bromofenol mavisi ve %0,3 ksilen siyanol olacak şekilde 10 mL hazırlandı. 4 °C'de saklandı.

Hücre Medyumu: 6,68 g DMEM 425 mL distile su ile çözüldü ve filtre ile steril edildi. 20 mL %9,2'lik NaHCO<sub>3</sub>, 50 mL FBS ve 5 mL 10000 U/mL Penisilin/Streptomisin ilave edildi ve 4°C'de muhafaza edildi.

PBS: 8g NaCl, 0,2 g KCl, 1,14 g NaHPO<sub>4</sub> ve 0,2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 800 mL distile su ile çözüldükten sonra pH'ı 7,4'e ayarlandı. Distile su ile son hacmi 1000 mL'e tamamlandı. Otoklavda steril edildi ve oda sıcaklığında muhafaza edildi.

PBS/EDTA: 0,2 g KCl, 8g NaCl, 0,2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,14 g NaHPO<sub>4</sub> ve 0,378 g EDTA 800 mL distile suda çözüldükten sonra pH'ı 7,4'e ayarlandı. Distile su ile son hacmi 1000 mL'e tamamlandı ve otoklavda steril edildi.

Tripsin/EDTA (5X): 10X %0,5'lik ana tripsin çözeltisi, PBS/EDTA ile 1:1 oranında karıştırıldı. 4 °C'de saklandı.

1 N HCl: 80 mL steril distile suya %37'lik HCl'den 8,4 mL eklendikten sonra distile su ile son hacim 100 mL'e tamamlandı ve 4 °C'de muhafaza edildi.

MTT Çözeltisi (5 g/L): 0,25 g MTT, 50 mL PBS ile çözüldü ve filtre ile steril edildi. Alikotlara bölünerek -20 °C'de ışık almayacak şekilde saklandı.

Nutrient Agar: Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında çalışma kültürlerinin hazırlanmasında kullanıldı. Ticari besiyeri distile su ile 20 g/L olacak şekilde çözüldükten sonra otoklavda steril edildi.

Saboraud Dextroz Agar: Antifungal aktivite çalışmalarında çalışma kültürlerinin hazırlanmasında kullanıldı. Ticari besiyeri distile su ile 65 g/L olacak şekilde çözüldükten sonra otoklavda steril edildi.

Mueller-Hinton Broth: Bakteri kültürlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi çalışmalarında kullanıldı. Ticari besiyeri distile su ile 21 g/L olacak şekilde çözüldükten sonra pH 7,4'e ayarlandı ve otoklavda steril edildi.

RPMI 1640 Besiyeri: 10,4 g RPMI 1640 medyum, 18 g Glukoz, 34,53 g MOPS 900 mL distile su ile çözüldükten sonra pH 7,4'e ayarlandı ve filtre ile steril edildi.

### 3.4. Bileşiklerin DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesi

#### 3.4.1. UV-Vis Absorbsiyon Titrasyonu

Bileşiğin DNA'ya bağlanma özelliği UV-Vis absorpsiyon titrasyonu metodu ile incelendi (Jenkins, 1995). Bunun için dana timüs DNA'sı (CT-DNA) kullanıldı. Deneylerde kullanılan tampon çözeltisi (10 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl ve 1 mM EDTA) pH 7.4 olacak şekilde hazırlandı.

CT-DNA, distile su ile çözdürülerek çalışma süresince buzdolabında 4 °C'de saklandı. CT-DNA'nın protein kontaminasyonu içermediğinin belirlenmesi amacıyla 260 ve 280 nm'deki absorbansı ölçüldü. Bu oranın, 1,8-1,9 aralığında olması DNA'nın protein ya da RNA kontaminasyonu içermediğini göstermektedir.

Ligand ve kompleksler DMSO ile çözülerek  $5 \times 10^{-3}$  M'lık stok çözeltileri hazırlandı. Absorpsiyon spektrumları ölçülürken konsantrasyonları 10-30  $\mu$ M olacak şekilde 10 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl ve 1 mM EDTA tamponu ile seyreltildi.

Çalışmada, ligand ve komplekslerin derişimi sabit tutulup, CT-DNA derişimi kademeli olarak arttırılarak karışımın absorpsiyon spektrumunda meydana gelen değişiklikler izlendi. Öncelikle 600  $\mu$ L kompleks çözeltisi kuvarz küvete alınarak 200-600 nm arasındaki UV-Vis absorpsiyon spektrumu (Shimadzu UV 1800) ölçüldü. Yüksek ve çok düşük konsantrasyonlarda pikler grafikte görülemeyeceğinden piklerin en iyi görüldüğü konsantrasyonda (10-30  $\mu$ M) deney yürütüldü. Kör olarak çalışma tamponu kullanıldı. Ardından küvete 3 mM CT-DNA eklenerek absorpsiyonunda bir değişiklik gözlenmeyinceye kadar titrasyonu yapıldı. Her DNA ilavesinden sonra küvetler çalkalanarak oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi. Daha sonra 200-600 nm arasında UV-Vis ölçümleri alındı. Deneyler iki tekrarlı olarak yürütüldü.

Elde edilen sonuçlardan, her DNA konsantrasyonuna ([DNA]) karşı  $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  değerleri eşitlik 3.1 gereğince grafiğe geçirildi. Grafikten elde edilen doğrunun eğimi  $1/(\epsilon_b - \epsilon_f)$ , kesim noktası ise  $1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)$  olarak bulundu ve iki değer birbirine oranlanarak bağlanma sabitleri ( $K_b$ ) hesaplandı.

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

$\epsilon_f$  serbest bileşiğin molar sönüm katsayısı,  $\epsilon_b$  tam bağlı bileşiğin molar sönüm katsayısı,  $\epsilon_a$  absorbansın bileşik konsantrasyonuna oranını ifade eder.

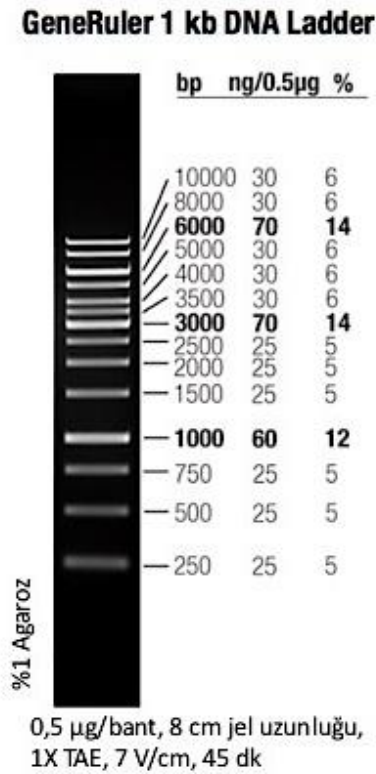
Absorbans şiddetindeki değişim yani yüzde kromisite, aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplandı.

$$\%H = [(A_f - A_e)/A_f] \times 100 \quad (3.2)$$

H kromisite,  $A_f$  bileşiğin DNA yokluğundaki absorbans şiddeti,  $A_e$  maksimum konsantrasyonda DNA eklendikten sonraki bileşiğin absorbans şiddetini ifade etmektedir.

### 3.4.2.DNA Kesme

DNA kesme çalışmalarında pBR322 plazmid DNA kullanılmıştır. Liyofilize olarak satın alınan pBR322 plazmid DNA (%90 süper kıvrımlı formda) kullanıldı. Yapılan ön denemeler sonucunda çalışma için uygun tamponun 100 mM Tris-HCl tamponu (pH:7,6) olduğu tespit edilmiştir (Schnaith ve ark., 1994). Ligand ve komplekslerin 5 mM'lık stok çözeltileri DMSO ile hazırlandı ve çalışma esnasında tamponla seyreltilerek gerekli konsantrasyonlar elde edildi. Pozitif kontrol olarak plazmidte çift zincir kırığı oluşturduğu bilinen EcoRI restriksiyon enzimi kullanıldı. Marker olarak 1 kb DNA ladder kullanıldı (şekil 3.5).



şekil 3.5. Jel elektroforezinde kullanılan 1 kb DNA Ladder

Bileşiklerin DNA kesme aktivitesi oksidatif (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında) ve hidrolitik (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yokluğunda) yolla araştırıldı. 2 µL pBR322 plazmid DNA (0,1 µg/µL), 2 µL Tris-HCl tamponu ve sırası ile artan konsantrasyonlarda ligand/kompleks ilave edildi (25 µM, 50 µM, 100 µM, 200 µM ve 400 µM). Oksidatif kesme aktivitesi için oksitleyici ajan olarak 2 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 mM) reaksiyon karışımına eklendi. Son olarak toplam reaksiyon hacmi 20 µL'e tamamlanarak 37 °C'de 3 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyondan sonra 6X agaroz yükleme tamponundan 4 µL eklenerek karıştırıldı ve örnekler agaroz jele yüklendi. Örnekler %1'lik agaroz jelde, TAE tamponu içerisinde, 60 voltta 1 saat yürütüldü. Yürütülen jeller UV ışık altında görüntülenerek (Quantum ST4) fotoğrafları alındı. Deneyler iki tekrarlı olarak yapıldı.

### 3.4.3. Bileşiklerin *in vitro* Replikasyona Etkisinin Belirlenmesi

Bileşiklerin *in vitro* replikasyona etkisinin belirlenmesi amacıyla; pBR322 plazmid DNA'sına ait tetrasiklin direnç geni, ileri (forward) ve geri (reverse) primerler kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. PCR reaksiyonunun 35 döngüsü sonunda meydana gelen 1213 bp uzunluğundaki DNA fragmentlerinin verdiği bant yoğunlukları karşılaştırılarak bileşiklerin *in vitro* DNA replikasyonunun durdurulmasına etkileri araştırıldı. Pozitif kontrol olarak DNA'ya bağlandığı bilinen etidiyum bromür kullanıldı.

PCR reaksiyonunda kullanılan primerler:

Primer 1: 10 pmol/µL

Primer sekansı: 5'- CGC AGT CAG GCA CCG TGT ATG - 3'

Primer 2: 10 pmol/µL

Primer sekansı : 5'- CCA TTC AGG TCG AGG TGG CCC - 3'

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
39.2 bits(42)	7.2	21/21(100%)	0/21(0%)	Plus/Plus
Query 1	CGCAGTCAGGCACCGTGTATG	21		
Sbjct 68	CGCAGTCAGGCACCGTGTATG	88		

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
39.2 bits(42)	7.2	21/21(100%)	0/21(0%)	Plus/Minus
Query 50	CCATTCAGGTCGAGGTGGCCC	70		
Sbjct 1280	CCATTCAGGTCGAGGTGGCCC	1260		

Şekil 3.6. pBR322 plazmid DNA'sında çoğaltılan 1213 bp DNA fragmentine ait dizi ve primer konumları

PCR tüplerine DNA ve test bileşikleri eklenerek 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Çizelge 3.1’de gösterilen oranlarda H<sub>2</sub>O, Taq buffer, dNTP’ler, primerler ve Taq DNA polimeraz ile master mix hazırlandı. İnkübasyondan sonra master mix’ten 22,25 µL PCR tüplerine eklenerek reaksiyon bileşimi hazırlandı. Ardından Çizelge 3.2’de verilen sıcaklık döngülerinin sağlanması amacıyla PCR cihazına (Bio-Rad) yerleştirildi.

Çizelge 3.1. PCR bileşimi

Reaksiyon Bileşimi	1X reaksiyon için (25 µL)
10X Taq Buffer	2,5 µL
dNTP (2 mM)	2,5 µL
İleri (forward) primer, 10 pmol/ul	1 µL
Geri (reverse) primer, 10 pmol/ul	1 µL
25 mM MgCl	2 µL
DNA, 0,1µg/µL	0,25 µL
Taq DNA polimeraz, 5 U/µL	0,1 µL
Kimyasal bileşik	2,5 µL
H <sub>2</sub> O	13,15 µL

PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen örneklerden 10 µL alınarak 6X yükleme tamponu ile karıştırıldıktan sonra jele yüklendi. Örnekler %1’lik agaroz jelde TAE tamponunda 60 voltta 1 saat yürütüldükten sonra UV ışık altında görüntülendi. Deneyle üç tekrarlı olarak yürütüldü.

Çizelge 3.2. PCR Reaksiyon Döngüleri

Aşama	Sıcaklık, °C	Süre	Döngü sayısı
DNA denatürasyonu ve enzim aktivasyonu	95	3 dk	1
Denatürasyonu	95	30 sn	35
Primer eşleşmesi	56	30 sn	
Zincir uzaması	72	4 dk	
Zincir uzamasının tamamlanması	72	10 dk	1

Jel görüntülerinden elde edilen bant yoğunlukları Image J programı ile hesaplandı ve ortalaması alındı. PCR ürünlerinden kontrole ait değer 100 olarak kabul edildi ve bileşiklerin *in vitro* replikasyonunun inhibisyonu yüzde olarak hesaplandı. Elde edilen değerler Student’s *t* test istatistik yöntemi ile karşılaştırılarak %95 güven aralığındaki *p* değerleri hesaplandı (*p*<0,05). İstatistiksel olarak kontrol değerleri ile aralarında fark olduğu belirlenen bileşik konsantrasyonlarının *in vitro* replikasyonu inhibe ettiği kabul edildi.

### **3.5. Biyolojik Aktivitenin Belirlenmesi**

#### **3.5.1. Sitotoksik Aktivite**

Bileşiklerin insan hepatoselüler karsinoma (HepG2) hücre hattına karşı sitotoksik aktiviteleri MTT yöntemi kullanılarak araştırıldı (Andronetti, 1995). Sitotoksik etkileri belirlenecek olan Schiff bazı ligand ve komplekslerinin DMSO ile hazırlanan ana stok çözeltileri steril edilerek ışık görmeyecek şekilde 4 °C’de saklandı. Bileşiklerin derişimleri (20, 10, 5, 2,5, 1,25 µM) ana stoğun uygun oranlarda hücre medyumumu ile seyreltilmesiyle elde edildi. Pozitif kontrol olarak kullanılacak olan sisplatin DMSO’da çözülerek konsantrasyonu 100 mM olacak şekilde hazırlandı ve 4 °C’de, karanlıkta maksimum bir ay süreyle saklandı. Her çalışma öncesi, stok çözelti distile su ile 10 kat seyreltilerek hazırlanan taze ara stok çözelti kullanıldı. Hücrelere 20-1,25 µM konsantrasyonlarında uygulanan sisplatin ise ara stok çözeltinin medyum ile uygun oranda seyreltilmesi ile elde edildi.

HepG2 hücreleri, %10 fetal sığır serumu (FBS), 100 U/mL penisilin-streptomisin ve %1 glutamin içeren DMEM medyumunda, 37 °C’de %5 CO<sub>2</sub>’li ortamda inkübe edildi. Hücreler %0,5’lik tripsin-EDTA çözeltisiyle muamele edildi ve pasajlandı.

MTT testinde, 96-kuyucuklu steril plakalar kullanıldı ve her bir kuyucuğunda  $1 \times 10^5 / 100$  hücre/µL olacak şekilde üç tekrarlı olarak ekim yapıldı. Plakalar 37 °C’de ve %5 CO<sub>2</sub>’li ortamda 24 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra hücreler Schiff bazı ligand/kompleksleri ve sisplatininin 1,25-20 µM konsantrasyonları arasındaki seri dilüsyonları ile 72 saat muamele edildi. İnkübasyonun ardından plakalardaki her bir kuyucuğa 25 µL MTT çalışma solüsyonundan eklendi ve 37 °C’de 4 saat inkübasyona bırakıldı. Ardından plakadaki sıvılar uzaklaştırıldı ve 100 µL DMSO eklenerek oluşan formazan kristallerinin neden olduğu renk değişimi ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) cihazında 570 nm’de absorbansı okutulularak belirlendi (Biotech ELx808). Bu işlemler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

HepG2 hücrelerinin Schiff bazı ve kompleksleri ile muamele edilmesi sonucu elde edilen verilerin istatistik analizleri IBM SPSS Statistics 20 programı ile yapılarak bileşiklerin IC<sub>50</sub> (hücrelerin %50’sinin çoğalmasını baskılayan ilaç konsantrasyonu) değerleri hesaplandı.



### 3.5.2. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları broth mikrodilüsyon yöntemi ile Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak çalışıldı (CLSI, 2006). Schiff bazı ve komplekslerinin, antibakteriyel etkileri gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) ve gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 254992, *Proteus vulgaris* ATCC 13315) bakterilere karşı ve antifungal etkileri (*Candida albicans* ATCC 60193, *Candida tropicalis* ATCC 13803) mayalarına karşı denendi. Çalışmada kullanılan bakteri ve maya suşları Prof. Dr. Kıymet GÜVEN (Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü) tarafından laboratuvarımıza hediye edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için, 96 kuyucuklu steril mikroplaklar kullanıldı. Schiff bazı ve komplekslerinin 256-0,5 µg/µL konsantrasyon aralığında seri dilüsyonları yapıldı. Standart antibiyotik gentamisin ve ampisilin ve antifungal flukonazol pozitif kontrol olarak test edildi.

- Çalışma kültürlerinin hazırlanması: Bakteri ve maya kültürleri sırasıyla Nutrient Agar ve Sabouraud Dextroz Agar'a ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

- İnokulum süspansiyonunun hazırlanması: 24 saatlik kültürlerden iyi izole olmuş, benzer morfolojiye sahip kolonilerden seçilerek öze yardımı ile alındı ve serum fizyolojik suda süspansiyon edilerek yoğunluğu 0,5 McFarland'a eşit olacak şekilde ayarlandı. Bu süspansiyonun yaklaşık olarak  $1-2 \times 10^8$  CFU/mL'e karşılık geldiğini göstermektedir.

- Broth mikrodilüsyon testi: Bakteriler için Mueller-Hinton Broth, mayalar için ise RPMI 1640 besiyeri kullanıldı. Mikroplaktaki kuyucuklara 100'er µL besiyeri eklendi. Schiff bazı ve komplekslerinin stok çözeltilerinden 100 µL alınarak ilk kuyucuklara eklendi. Ardından pipet yardımıyla karıştırıldı ve 100 µL'si ikinci kuyucuğa aktarıldı. Bu işlem onuncu kuyucuğa kadar tekrar edilerek bileşiklerin seri dilüsyonları yapıldı. Son iki kuyucuk sırasıyla pozitif kontrol (büyüme kontrolü) ve negatif kontrol (sterilite kontrolü) için ayrıldı. 0,5 McFarland yoğunluğunda hazırlanan inokulum süspansiyonu 1:20 oranında serum fizyolojik su ile seyreltildi ve negatif kontrol kuyucukları hariç tüm kuyucuklara 100'er µL ilave edildi. Böylece her bir kuyucuktaki bakteri miktarı  $5 \times 10^4$  CFU/mL oldu. Bakteri konsantrasyonunun ve buna bağlı olarak da test sonuçlarının olumsuz etkilenmesini önlemek için, inokulumun hazırlanması ve mikroplağa eklenmesi işlemleri 15 dk içerisinde gerçekleştirildi.

- İnkübasyon: Mikroplaklar bakteriler için 37 °C’de 24 saat ve mayalar için 37 °C’de 48 saat inkübasyona bırakıldı.

- Sonuçların değerlendirilmesi: İnkübasyondan sonra, bileşiklerin test edilen bakteri ve mayalara karşı MIC değerleri belirlendi.



## BÖLÜM 4

### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

#### 4.1. Schiff bazı ve Komplekslerinin DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesi

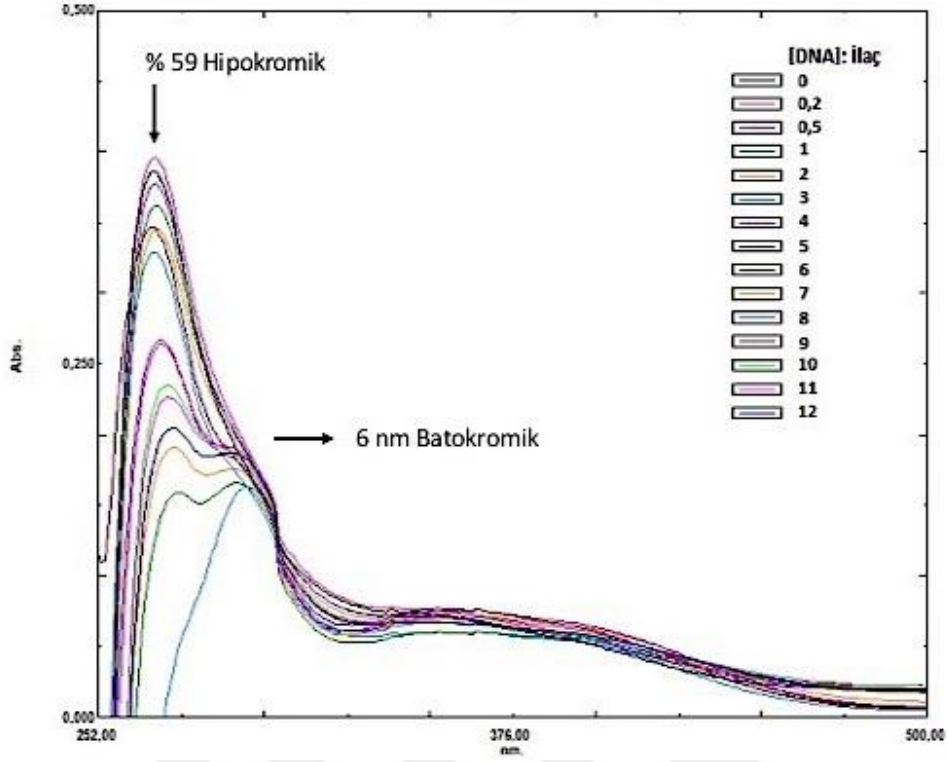
Bu çalışmada; Schiff bazı ve metal komplekslerinin DNA ile etkileşimlerini belirlemek amacıyla, UV-Vis absorpsiyon titrasyonu, agaroz jel elektroforezi yöntemi ve PCR teknikleri kullanıldı.

##### 4.1.1. UV-Vis Absorpsiyon Titrasyonu Sonuçları

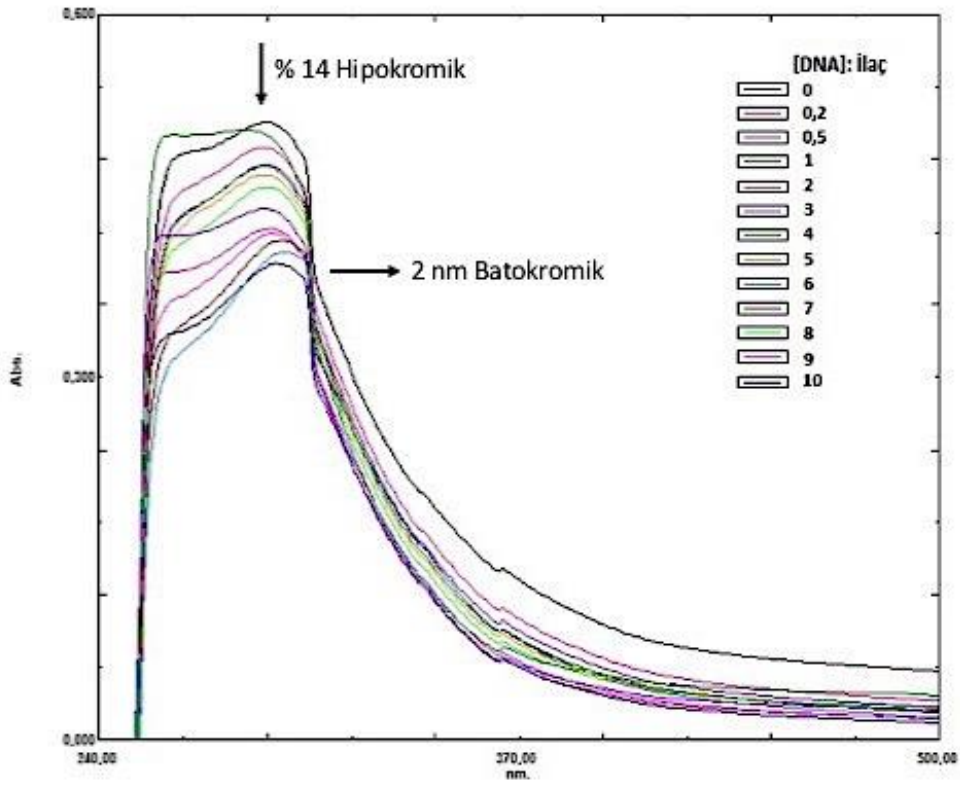
Molekülün DNA'ya bağlanması sonucu konformasyonunda ya da yapısında meydana gelen herhangi bir değişiklik spektral özelliklerine yansır. DNA'nın sekonder yapısında kararsızlığa neden olan herhangi bir etki hiperkromizme neden olurken, elektrostatik etkiler veya interkalasyonla DNA sekonder yapısının daha kararlı hale gelmesi hipokromizme neden olur. Genel olarak, küçük moleküllerin DNA'ya interkalasyonla bağlanması sonucu, absorpsiyon spektrumlarında hipokromik etki ve batokromik kayma gözlenir (Song ve ark., 2014; Rehman ve ark., 2015). Ligandların  $\pi-\pi^*$  orbitali geçişlerine ait absorpsiyonlarında görülen azalma (hipokromizm) molekülün DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yapması olarak değerlendirilmektedir.

Schiff bazı **L1** ligandının UV-Vis spektrumu incelendiğinde 269 nm'deki maksimum pikinin kademeli olarak eklenen CT-DNA konsantrasyonu ile birlikte %2-59 oranında hipokromisim ile birlikte 1- 6 nm kırmızıya kaydığı görülmektedir (Şekil 4.1). Bu da **L1**'in CT-DNA ile etkileşerek interkalatif bağlandığını göstermektedir.

**L1** ligandının kompleksleri incelendiğinde, **L1-Fe** kompleksinin absorpsiyon spektrumunda %4-14 hipokromizm ve 292 nm'deki maksimum absorpsiyonunda 2 nm batokromik kayma gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.2). Kompleks CT-DNA'ya interkalatif olarak bağlanmaktadır.

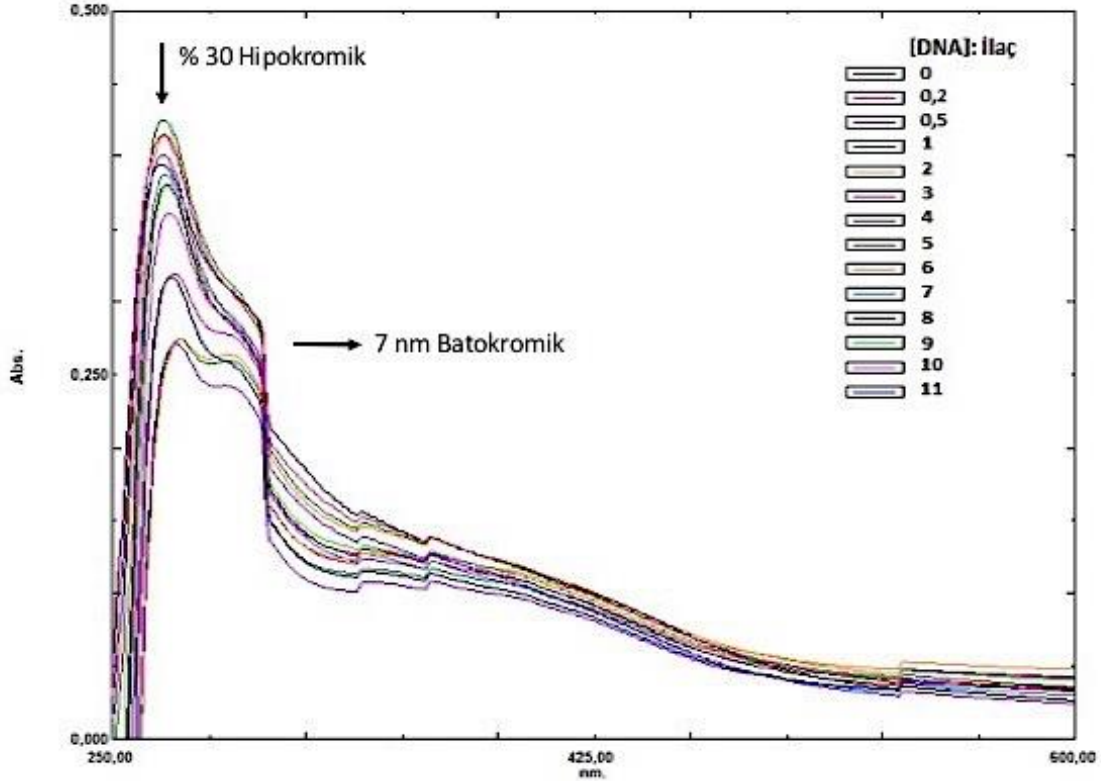


Şekil 4.1. L1 ligand'ının UV-Vis absorpsiyon titrasyonu



Şekil 4.2. L1-Fe kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu

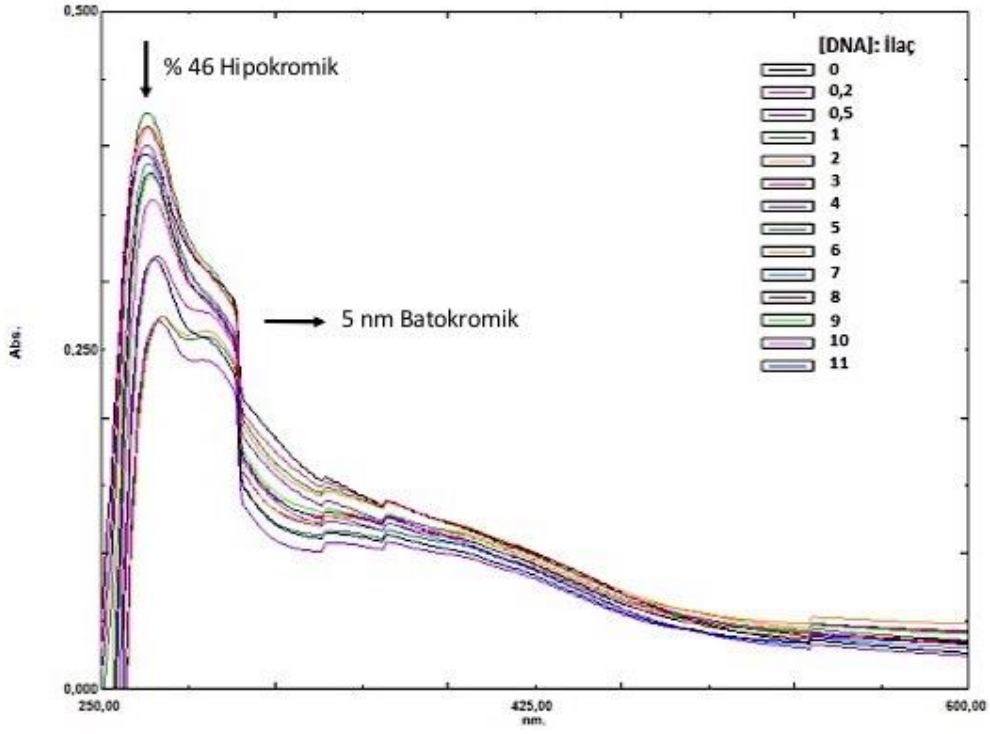
**L1-Co** kompleksinin (Şekil 4.3) absorpsiyonunda %2-30 hipokromik kayma ve 268 nm'deki maksimum absorbansında 7 nm batokromik kayma olduğu bulundu. Bu değer kompleksin CT-DNA'ya interkalatif olarak bağlandığını göstermektedir.



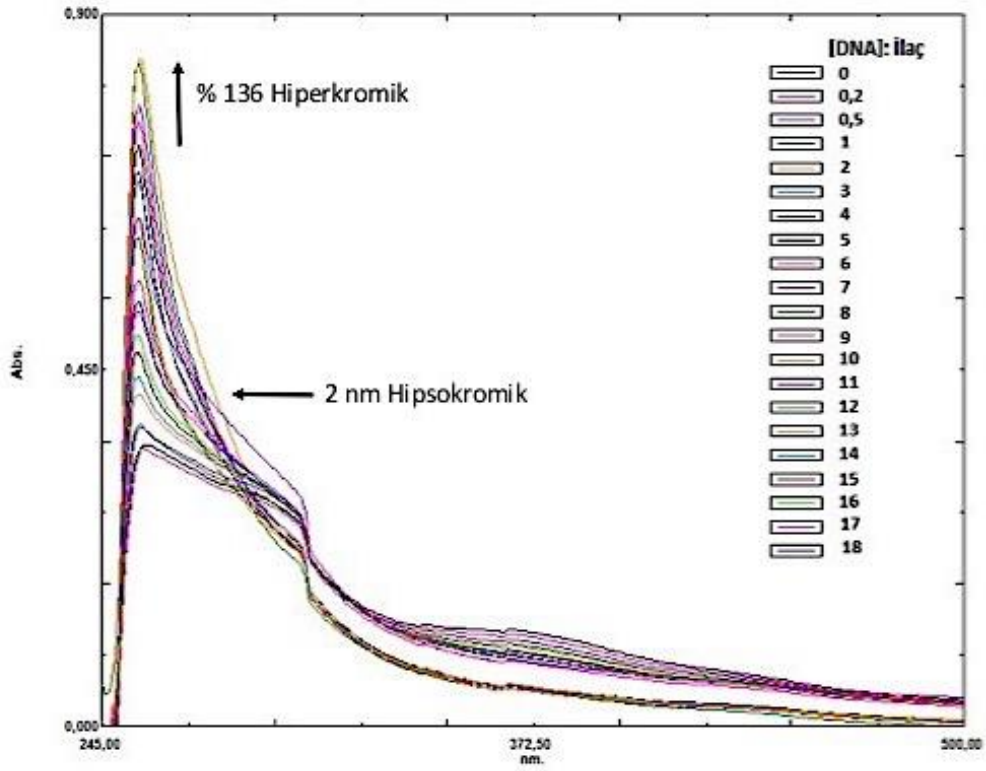
Şekil 4.3. **L1-Co** kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu

**L1-Ni** kompleksinin (Şekil 4.4) absorpsiyon spektrumu incelendiğinde kompleksin 268 nm ve 366 nm'deki absorpsiyonlarında sırasıyla %1-46 ve %1-22 oranında hipokromik etki ve 5 nm batokromik kayma olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar kompleksin CT-DNA ile interkalatif olarak etkileştiğini göstermektedir.

**L1-Cu** kompleksinde 258 nm'deki absorbansında %2-136 hiperkromizm ile birlikte 2 nm hipsokromik kayma olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.5). Bu sonuç **L1-Cu** kompleksinin CT-DNA ile etkileşime girdiğini ve kısmi interkalatif etkileştiğini göstermektedir.

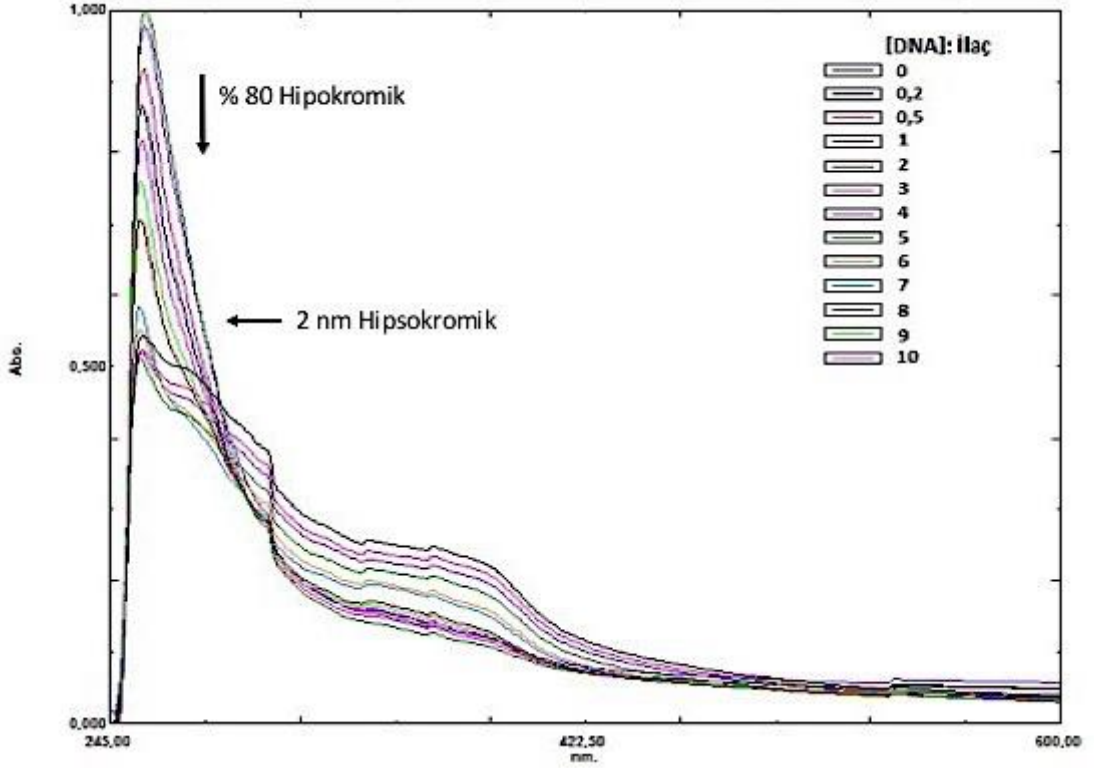


Şekil 4.4. L1-Ni kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu



Şekil 4.5. L1-Cu kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu

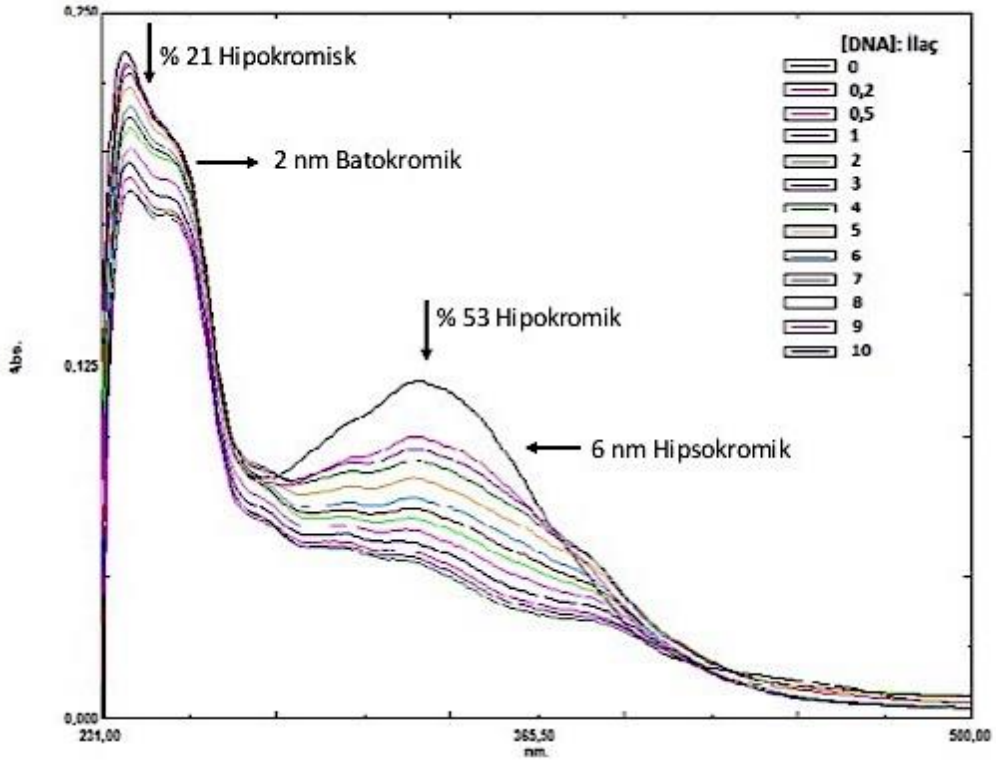
Schiff bazı **L2** ligandının Şekil 4.6’da görülen absorpsiyon spektrumu incelendiğinde, kademeli olarak artan DNA konsantrasyonu ile birlikte absorpsiyonunda %4-80 hipokromik etki ile birlikte 258 nm’deki maksimum absorpsiyonunda 2 nm hipsokromik kayma gözlenmiştir. Bu da **L2**’nin CT-DNA’ya interkalatif olarak bağlandığının bir göstergesidir.



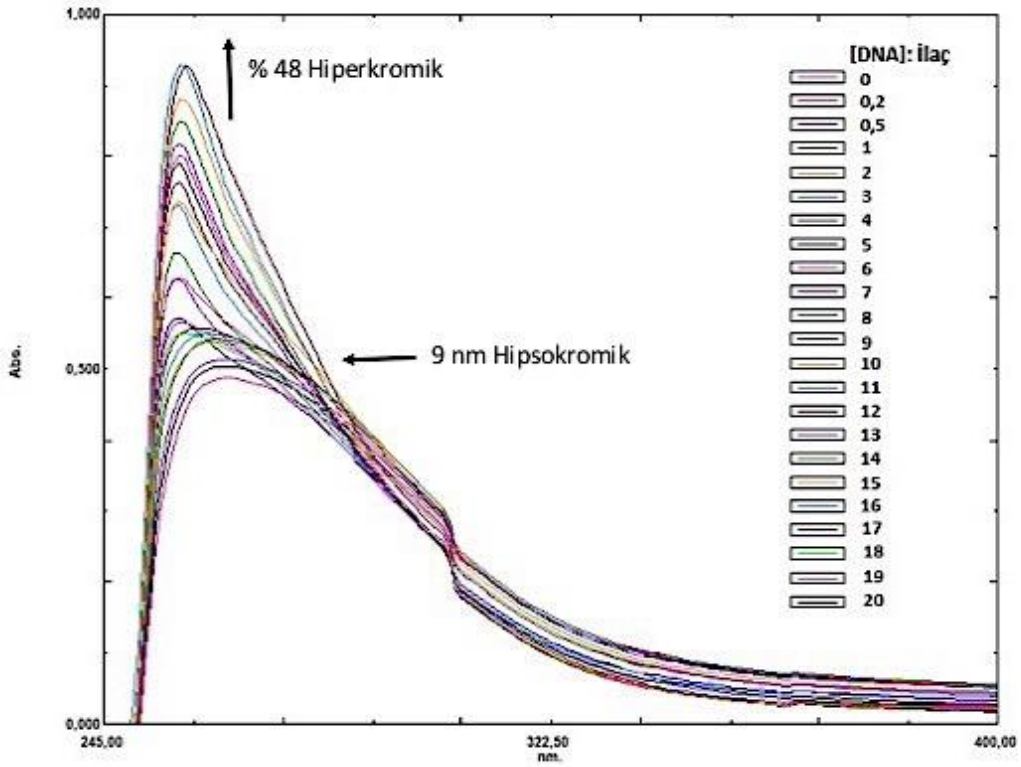
Şekil 4.6. **L2** ligandının UV-Vis absorpsiyon titrasyonu

**L2-Mn** kompleksinin Şekil 4.7’deki absorpsiyon spektrumu incelendiğinde, artan DNA konsantrasyonu ile birlikte 238 nm’deki absorpsiyonunda %2-21 hipokromisim ile birlikte 2 nm batokromik kayma ve 329 nm’deki absorpsiyonunda %53 hipokromisimle birlikte 6 nm hipsokromik kayma olduğu gözlemlenmiştir. Bu da kompleksin interkalasyon ile bağlandığını göstermektedir.

**L2-Fe** kompleksinin absorpsiyon spektrumu (Şekil 4.8), kompleksin 267 nm’deki absorpsiyonunda %12-48 hiperkromisim ve 9 nm hipsokromik kayma olduğunu göstermektedir. Buna göre kompleksin CT-DNA’ya kısmi interkalatif olarak bağlandığı söylenebilir.



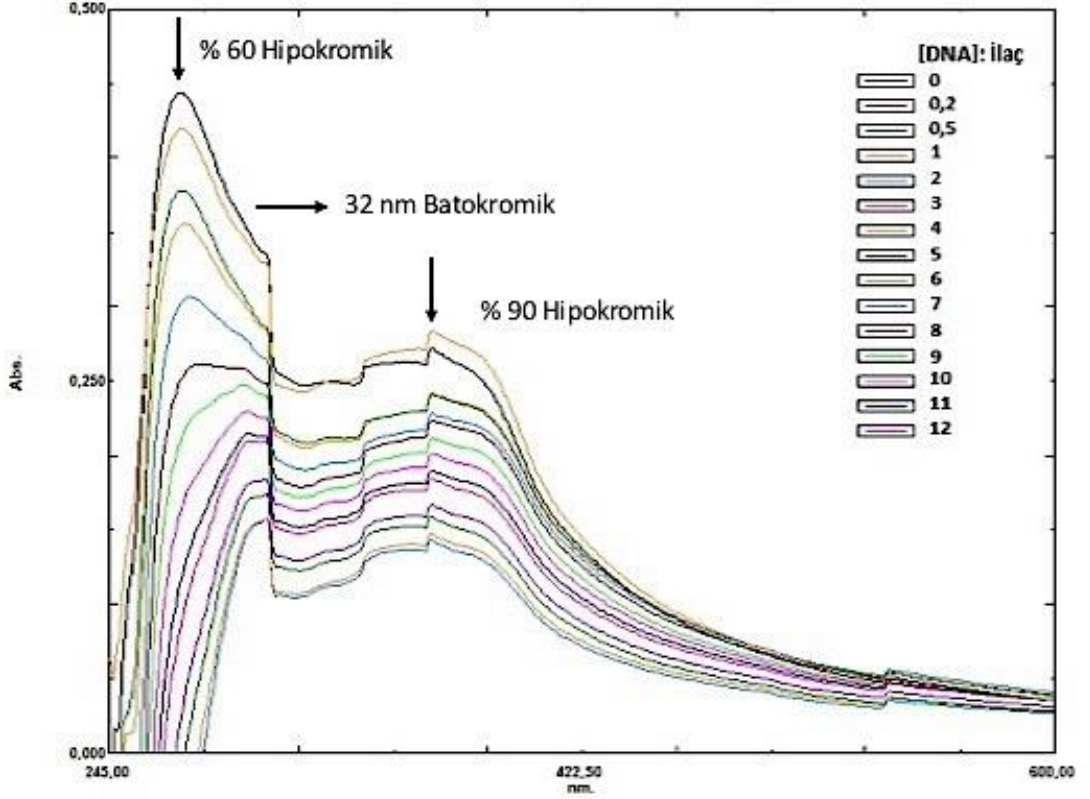
Şekil 4.7. L2-Mn kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu



Şekil 4.8. L2-Fe kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu

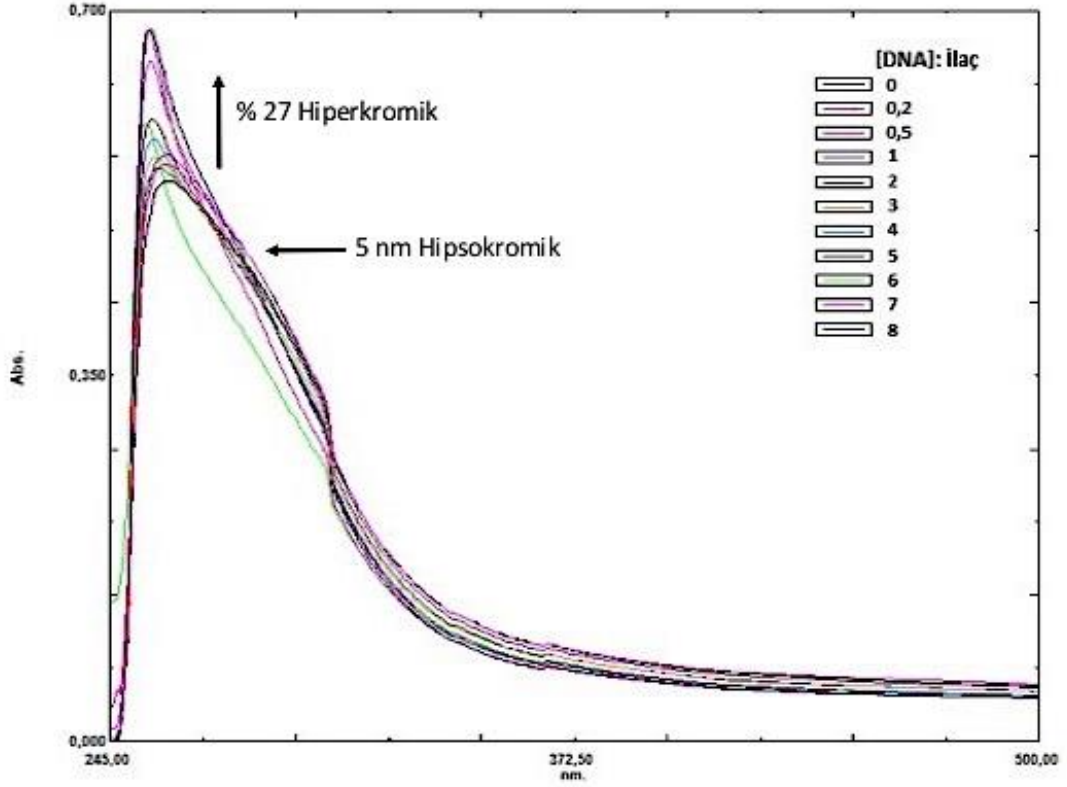


**L2-Ni** kompleksinin 272 nm ve 366 nm'deki absorpsiyonunda %6-60 ve %4-90 oranında hipokromisite ile birlikte 272 nm'deki maksimum absorpsiyonunda 32 nm batokromik kayma olduğu bulundu (Şekil 4.9). Hipokromisitenin gözlenmesi **L2-Ni** kompleksinin CT-DNA ile interkalatif etkileştiğini ifade eder.



Şekil 4.9. **L2-Ni** kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu

**L2-Cu** kompleksine ait absorpsiyon spektrumu (Şekil 4.10) incelendiğinde, artan DNA konsantrasyonu ile birlikte 261 nm'deki maksimum absorpsiyonunda %3-27 hiperkromik etki ile birlikte 5 nm mavi dalga boyuna kayma olduğu saptanmıştır. Bu sonuç **L2-Cu** kompleksinin CT-DNA ile kısmi interkalatif etkileştiğini söylemektedir.



Şekil 4.10. **L2-Cu** kompleksinin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu

DNA'ya interkalasyonla bağlanan bileşiklerde bağlanma sabiti genellikle  $10^5$ - $10^{11}$   $M^{-1}$  aralığında iken, oluğa bağlanan bileşikler bağlanma bölgesinin oluşturulması için gerekli olan serbest enerjiye ihtiyaç duymadıklarından yaklaşık olarak  $10^{11}$   $M^{-1}$ 'e yakın değerlerde interkalatörlerden daha büyük bağlanma sabitine sahiptir (Jonhatan, 1997). Çizelge 4.1'de Schiff bazı ve komplekslerinin CT-DNA ile etkileşimleri sonucu % kromisite ve  $K_b$  değerleri verildi.

UV-Vis absorpsiyon titrasyonundan elde edilen veriler değerlendirildiğinde, artan DNA konsantrasyonu ile birlikte **L1** ligandı ve onun Fe, Co, Ni komplekslerinin absorpsiyonunda sırasıyla %59, %14, %30 ve %60 oranında hipokromizm ile birlikte 6, 2, 7 ve 5 nm kırmızı dalga boyuna kayma; **L2-Mn** ve **L2-Ni** komplekslerinin absorpsiyonlarında ise sırasıyla %80, %21 ve %60 oranlarda hipokromizmle birlikte 2 ve 32 nm kırmızı dalga boyuna kayma olduğu gözlemlenmiştir. **L2** ligandı ise %80 hipokromisim ile birlikte absorpsiyonunda 2 nm hipsokromik kayma göstermiştir. Bütün bu veriler bu bileşiklerin DNA ile interkalatif olarak etkileşime girdiğini işaret etmektedir.

**L1-Cu**, **L2-Fe** ve **L2-Cu** komplekslerinin absorpsiyonunda sırasıyla %136, %48 ve %27 oranında hiperkromisite ile birlikte 2, 9 ve 5 nm mavi dalga boyuna kayma olduğu

gözlenmiş olup, bu veriler ışığında komplekslerin kısmi interkalatif olarak DNA ile etkileşime girdiği bulunmuştur.

Çizelge 4.1. CT-DNA'nın **L1**, **L2** ve komplekslerinin absorpsiyon spektrumuna etkilerine ait spektrum verileri

Bileşikler	$\lambda_{\max}^F$ (nm)	$\lambda_{\max}$ 'daki kayma ( $\lambda^e - \lambda_{\max}^F$ ) (nm)	% Kromisite ( $A^F - A^e$ )/ $A^F \times 100$	$K_b$
<b>L1</b>	269	6 nm Batokromik kayma	%2-59 Hipokromizm	$8,4 \times 10^3$
<b>L1-Cu</b>	258	2 nm Hipsokromik kayma	%2-136 Hiperkromizm	$8,2 \times 10^3$
<b>L1-Ni</b>	268	5 nm Batokromik kayma	%1-46 Hipokromizm	$9,7 \times 10^3$
<b>L1-Fe</b>	292	2 nm Batokromik kayma	%4-14 Hipokromizm	$6,03 \times 10^3$
<b>L1-Co</b>	268	7 nm Batokromik kayma	%2-30 Hipokromizm	$1,34 \times 10^4$
<b>L2</b>	258	2 nm Hipsokromik kayma	%4-80 Hipokromizm	$1,05 \times 10^4$
<b>L2-Cu</b>	261	5 nm Hipsokromik kayma	%3-27 Hiperkromizm	$1,47 \times 10^4$
<b>L2-Ni</b>	272	32 nm Batokromik kayma	%6-60 Hipokromizm	$7,99 \times 10^3$
<b>L2-Fe</b>	267	9 nm Hipsokromik kayma	%12-48 Hiperkromizm	$4,35 \times 10^3$
<b>L2-Mn</b>	238	2 nm Batokromik kayma	%2-21 Hipokromizm	$9,01 \times 10^3$

\*e [DNA]:[Bileşik] = 10:1 oranındaki DNA-Bileşik kompleksi, F serbest bileşik, A: Absorpsiyon

DNA'ya interkalasyonla bağlanan bileşikler absorpsiyonda genellikle hipokromik ve batokromik etkiye neden olurlar. Hipokromisimin şiddeti interkalasyon gücü ile orantılıdır (Liu ve ark., 2002). Hipokromik etki, DNA'nın istiflenmiş baz çiftleri ve interkalasyon yapan kromoforun elektronik durumu ile ilişkilendirilebilir. Ligand, DNA baz çiftleri arasına interkalasyonla bağlandığında; interkalasyonla bağlanan ligandın  $\pi^*$  orbitali baz çiftinin  $\pi$  orbitali ile birleşir ve bu da  $\pi-\pi^*$  geçiş enerjisinde azalmaya ve buna bağlı olarak da batokromizme neden olur (Uma ve ark., 2005; Pradeepa ve ark., 2015). Diğer yandan, eşleşen  $\pi$  orbitali kısmen elektronla dolmuştur ve elektron geçişi olasılığının azalması hipokromisime neden olur. Absorpsiyonun kırmızıya kayması en yüksek dolu moleküler orbital (HOMO) ve en düşük boş moleküler orbital (LUMO) enerji seviyeleri arasındaki farkın azaldığını ve DNA ile etkileşime girdiğini gösterir (Shelb, 2014).

Liu ve ark. (2010), 2-oksoquonolin-3-karboksilaldehyt Schiff bazı Cu(II) komplekslerinin (1-3) DNA'ya bağlanma özelliklerini araştırmış ve komplekslerin absorpsiyonunda interkalasyonla bağlanan bileşikler için karakteristik olan hipokromisim ve batokromik kayma olduğunu belirtmişlerdir (Liu ve ark., 2010).

**L2-Mn** kompleksi, 238 nm'deki absorpsiyonunda hipokromisim ile birlikte kırmızı dalga boyuna kayma gösterirken 329 nm'de hipokromisim ile birlikte mavi dalga boyuna kayma göstermektedir. **L2** ligandı ise absorpsiyonunda %80 hipokromik kayma ile birlikte 2

nm maviye kayma göstermektedir. Benzer bir çalışmada; Sathiyaraj ve ark. (2013), 5-dimethyl-2-phenyl-4-[(pyridin-2-ylmethylene)-amino]-1,2-dihydro-pyrazol-3-one Schiff bazı ligandı ve Cu(II) kompleksinin DNA'ya bağlanma özelliklerini UV-Vis absorpsiyon titrasyonu metodu ile araştırmışlardır. Ligandın absorbansında %21,80 hipokromisim ve 2 nm kırmızıya kayma gözlenirken, Cu(II) kompleksin absorbansında %71,88 hiperkromisim ve 5 nm mavi dalga boyuna kayma gözlenmiştir. Araştırmacılar ligand ve kompleksin DNA'ya bağlanma şeklinin interkalasyonla olduğunu bildirmişlerdir.

Pradeepa ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, yeni sentezledikleri azo-grubu içeren Schiff bazı ligandının Cu(II) ve Co(II) komplekslerinin absorpsiyon titrasyonu deneyleri sonucunda, bileşiklerin absorbansının sırasıyla %20,8 ve %25,1 oranında hipokromisim gözlemlerken, dalga boyunda herhangi bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Sonuçlar, komplekslerin DNA ile etkileşime girdiğini ve bileşiklerin DNA sarmalına interkalasyonla bağlandığını göstermektedir.

Schiff bazı komplekslerinin bağlanma sabitlerine bakıldığında, **L2-Fe** en yüksek bağlanma sabitine sahipken ( $1.47 \times 10^4$ ), en düşük değer **L2-Cu**'a ait olduğu ( $4,35 \times 10^3$ ) görülmektedir (Çizelge 4.1). Bu değerler klasik interkalatörlere göre (Etidiyum bromür  $K_b = 7 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ) düşük olsa da DNA'ya interkalasyonla bağlandığı belirtilen diğer metal kompleksleri ile uyumluluk göstermektedir (Lee ve ark., 1993; Uma ve ark., 2005).

**L1-Cu**, **L2-Cu** ve **L2-Fe** komplekslerinin absorpsiyon spektrumları incelendiğinde, absorpsiyonlarında sırasıyla %136, %27 ve %48 hiperkromisim ile birlikte 6, 5 ve 2 nm mavi dalga boyuna kayma gözlenmiştir. Hiperkromik etki; ligand ve DNA arasındaki elektrostatik etkileşimlerde, ligand-DNA etkileşimi sonucu DNA'nın yapısı ve konformasyonundaki değişiklikleri yansıtmaktadır. Hiperkromik etki DNA'nın denatürasyonunun absorbanstaki belirgin artışı ile olur. DNA çift zinciri temel olarak karşılıklı eşleşen iki baz çifti arasındaki istiflenme etkileşimleri, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimlerle bir arada tutulur. Hidrojen bağı aromatik halkanın rezonansını sınırlamaktadır ve bu nedenle de örneğin absorbansı da sınırlıdır. DNA çift sarmalı denatüre edici ajanlarla muamele edildiğinde, çift sarmal yapısını bir arada tutan etkileşim kuvvetleri bozulur. Çift sarmal yapısı açılarak iki tek zincir oluşur ki bunlar rasgele kıvrımlı konformasyondadır. Bu aşamada, baz-baz etkileşimleri azalacak ve birçok baz serbest halde olduğundan ve tamamlayıcı bazı ile hidrojen bağı kurmadığından DNA solüsyonun absorbansı artacaktır. Bunun sonucu olarak da, aynı konsantrasyondaki tek zincirli DNA'nın absorbansı çift zincirli DNA'dan %40 daha fazla olacaktır. Hiperkromik etki kısmi interkalasyon, elektrostatik bağlanma ya da DNA heliks yapısının açılarak

bazların daha fazla açığa çıkması sonucu da görülebilir (Pratviel ve ark., 1998; Shahabadi ve ark., 2010; Arjmand ve ark., 2011). Literatürdeki benzer çalışmalar, molekülün kimyasal yapısı ve jel elektroforezi sonuçları bu bileşiklerin kısmi interkalasyonla DNA'ya bağlandığını ve denatürasyona neden olduklarını göstermektedir.

Tabassoum ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada o-vanilin Schiff bazı ligandının 4 farklı Cu(II) komplekslerinin DNA'ya bağlanma özelliklerini UV-Vis absorpsiyon titrasyonu ile araştırmışlardır. [Cu(LH)(OAc)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] kompleksinin absorpsiyonunda %84 hiperkromisim ve 10 nm maviye kayma olduğu görülmüştür. Kompleksin DNA'ya karşı bu güçlü bağlanma eğiliminin DNA çift sarmal yapısında hasara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Prabhakaran ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada Ni(II) thisemicarbazone komplekslerinin DNA'ya bağlanma özelliklerini araştırmışlardır. Komplekslerin absorpsiyonunda hiperkromizmle birlikte mavi dalga boyun kayma gözlemlenmiştir. Araştırmacılar, absorbanstaki bu değişikliği komplekslerin CT-DNA'ya eksternal olarak ve muhtemelen de elektrostatik bağlanma yoluyla bağlandığı şeklinde yorumlamışlardır.

Falcioni ve ark. (2008), triphenylin(IV)carboxilate kompleksinin [ $\{SnPh_3(O_2CCH_2SXyl)\}$ ] (Xyl = 3,5-Me<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>) DNA ile etkileşimlerinin araştırmışlar ve absorpsiyon titrasyonu deneyleri sonucu, artan DNA konsantrasyonu ile birlikte bileşiğin absorpsiyonunda hiperkromizm ve hafif maviye kayma olduğunu gözlemlemişlerdir. Spektral değişikliğin nedeninin negatif yüklü oksijenin DNA'daki fosfat grubu ile elektrostatik olarak etkileşiminden kaynaklanıyor olabileceğini; ancak DNA baz çiftleri ve kompleksler arasında hidrojen bağı kurulması gibi diğer elektrostatik etkilerin de olabileceğini belirtmişlerdir.

Silveira ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada oxindole Schiff bazı Cu(II) komplekslerinin DNA'ya bağlanma özelliklerini UV-Vis absorpsiyonu yöntemi ile incelemişlerdir. DNA eklenmesiyle birlikte bileşiklerin absorpsiyonunda 260 nm civarında hiperkromik etki gözlemlenmişler ve bileşiğin DNA'ya interkalasyon ile bağlandığını belirtmişlerdir.

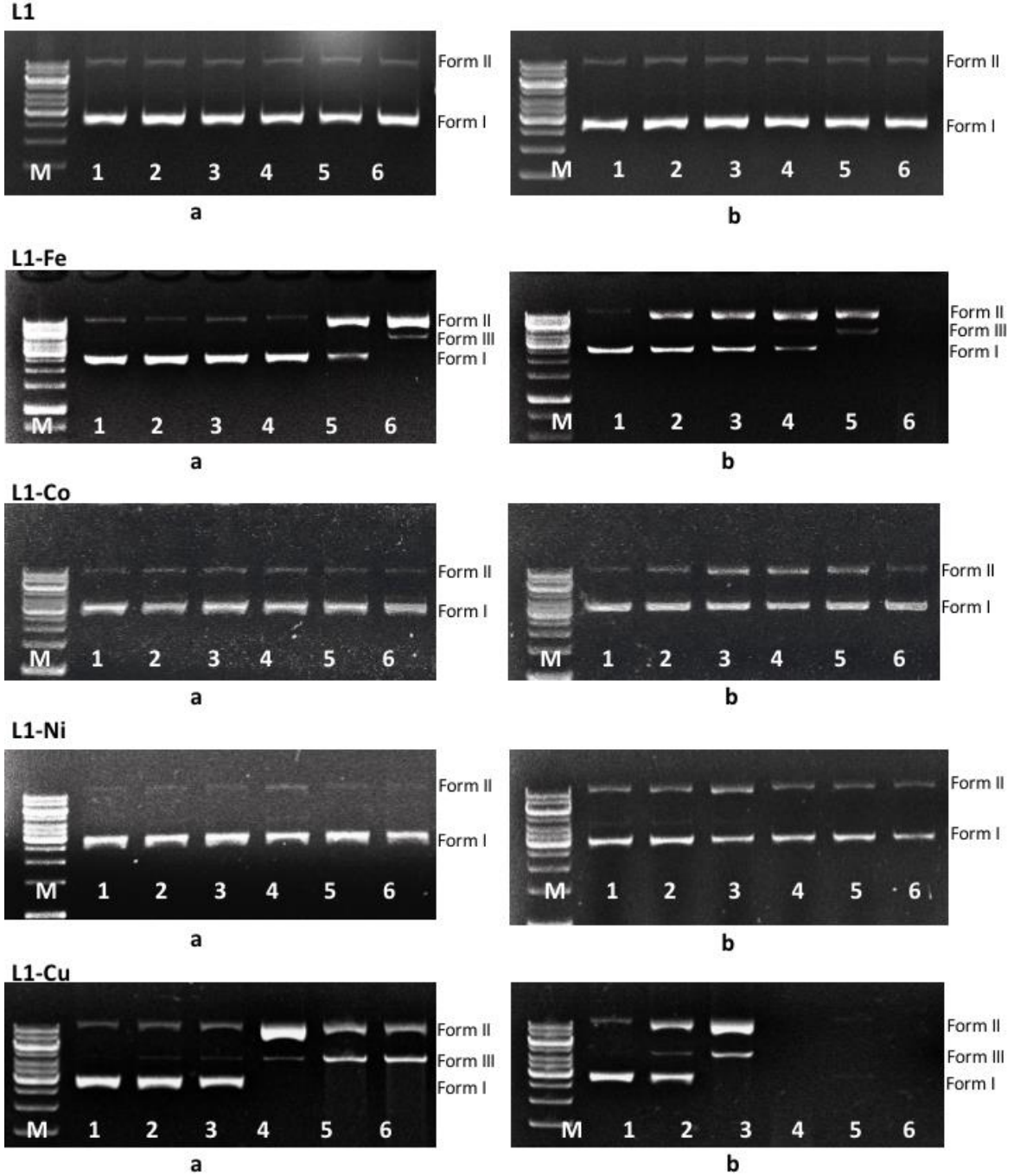
**L1-Cu**, **L2-Cu** ve **L2-Fe** kompleksleri 260 nm civarında maksimum absorpsiyon göstermiş ve DNA eklenmesiyle birlikte hiperkromik etki görülmüştür. Literatürde düzlemsel metal kompleksleri ile ilgili benzer sonuçlar vardır (Liu ve ark., 1999; Baldini ve ark., 2004). Tüm bu çalışmalarda 260 nm civarında dikkate değer bir şekilde absorbansta artış gözlemlenmiştir. Bu, moleküllerle DNA baz çiftleri arasında klasik interkalasyonla bağlanmayı göstermektedir. Genellikle, DNA eklenmesiyle, metal

kompleksinin kuvvetli bir şekilde ya da interkalasyonla bağlanması sonucu DNA sarmalının bükülmesi, 260 nm'deki absorpsiyon bandında hiperkromisim ya da hipokromisim görülmesine neden olur (Uma ve ark., 2007; Navorro ve ark., 2013).

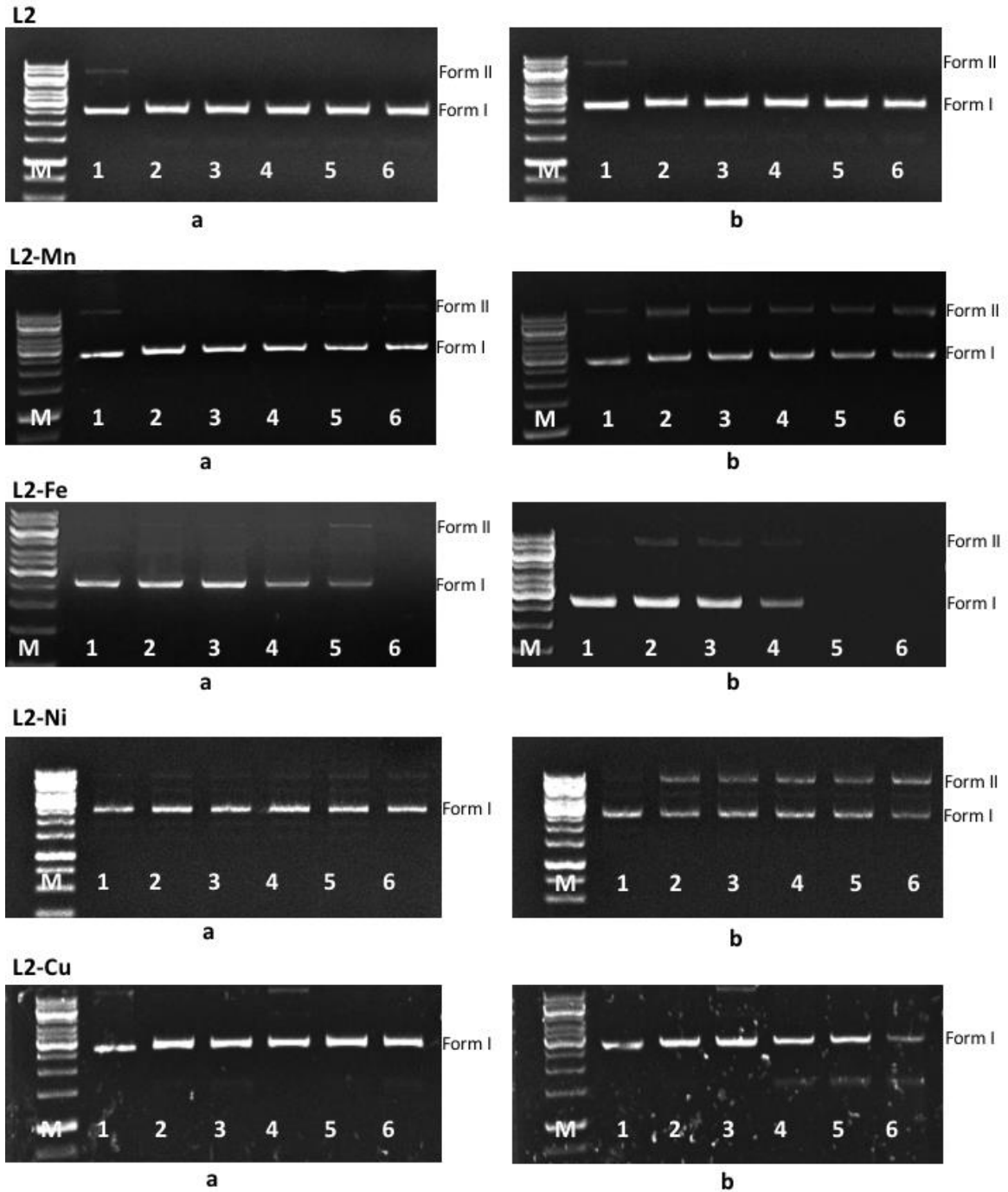
#### 4.1.2. DNA Kırma

Plazmid DNA'nın, ligand ve komplekslerin (25-400 µM) farklı konsantrasyonları ile hidrolitik ve oksidatif reaksiyonları sonucu DNA kırma aktiviteleri jelde oluşan bant formları incelenerek araştırıldı.

Agaroz jel elektroforezi sonucunda jelde üç farklı bant oluştuğu gözlemlenmektedir. Jelin en alt kısmında görülen bant jelde diğer formlara göre daha hızlı ilerleyen plazmidin süper kıvrımlı formunu (Form I), jelin üst kısmında görülen bant plazmidin çentikli formunu (Form II) ifade etmektedir. Her ikisi arasında görülen bant ise lineer formu (Form III) göstermektedir. Sonuç olarak, **L1**, **L1-Co** ve **L1-Ni** kompleksi ile **L2** ve **L2-Mn** kompleksinin oksidatif veya hidrolitik olarak DNA kesme aktivitesi göstermediği belirlendi. **L1-Fe** kompleksinin hidrolitik kesme aktivitesi incelendiğinde 200 µM konsantrasyonunda DNA'nın büyük bir kısmını gevşek forma dönüştürdüğü ve 400 µM konsantrasyonunda gevşek form ile birlikte linear formun da oluştuğu gözlenmiştir. **L1-Fe**'in oksidatif olarak 25 µM konsantrasyonunda DNA'da tek zincir kırığı oluşturduğu, 200 µM'da çift zincir kırıklarının da gözlemlendiği ve artan konsantrasyonla birlikte (400 µM) DNA'yı tamamen denatüre ettiği belirlenmiştir. **L1-Cu** kompleksinin pBR322 plazmid DNA'sını hem hidrolitik hem de oksidatif olarak kestiği görülmüştür. Hidrolitik kırma aktivitesi incelendiğinde, 100 µM konsantrasyonunda DNA'nın tamamına yakını kırarak Form I'e dönüştürdüğü, artan konsantrasyonla birlikte Form III'ün oluştuğu gözlenmiştir. Bu, bileşiğin DNA tek zincirinde kırıklar oluşturduğunu ve yüksek konsantrasyonlarda artan zincir kırıklarıyla linear form oluştuğunu düşündürmüştür. Kompleks oksidatif yolla daha etkili olup, 50 µM konsantrasyonda Form I'deki DNA'nın tamamını kırarak Form II ve Form III'e dönüştürmüştür. Ancak, daha yüksek konsantrasyonlarda ( $\geq 100$  µM) DNA'nın tamamını denatüre ettiği görülmektedir (Şekil 4.11). Benzer şekilde, **L2-Cu** kompleksinin de hidrolitik kesme aktivitesine sahip değilken, oksidatif yolla 400 µM konsantrasyonunda DNA'yı denatüre ettiğini göstermektedir. **L2-Fe** kompleksi ise, hem hidrolitik hem de oksidatif yolla yüksek konsantrasyonlarda ( $\geq 100$  µM) denatürasyona neden olmuştur. **L2-Ni** ve **L2-Mn** kompleksleri sadece oksidatif olarak etki ederken süper kıvrımlı formdaki DNA'nın bir kısmını Form II'ye dönüştürebilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.11. **L1** ve komplekslerinin (Fe, Co, Ni, Cu) DNA kesme aktivitesi. a: Hidrolitik kesme (M marker, 1. Plasmid DNA, 2-6. DNA+ sırasıyla 25, 50, 100, 200, 400  $\mu\text{M}$  L1), b. Oksidatif kesme (M marker (1 kb), 1. plazmid DNA, 2-6. DNA+ sırasıyla 25, 50, 100, 200, 400  $\mu\text{M}$  L1/kompleks+ $\text{H}_2\text{O}_2$ ).



Şekil 4.12. **L2** ve komplekslerinin (Mn, Fe, Ni, Cu) DNA kesme aktivitesi. a: Hidrolitik kesme (M marker, 1. plazmid DNA, 2-6. DNA+ sırasıyla 25, 50, 100, 200, 400  $\mu$ M L2), b. Oksidatif kesme (M marker (1 kb), 1. plazmid DNA, 2-6. DNA+ sırasıyla 25, 50, 100, 200, 400  $\mu$ M L2/kompleks+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Agaroz jel elektroforezinden elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde ligandların Fe(II) ve özellikle de Cu(II) komplekslerinin daha etkili olduğu görülmektedir. Düzlemsel heterosiklik ligandların Cu kompleksleri özel yapıları ve elektrostatik



özellikleri ile nükleaz aktivite göstermeleri nedeniyle yoğun olarak çalışılmaktadır (Sigman ve ark., 1993; Yang ve ark., 2001). Örneğin  $[Cu(phen)_2]^{2+}$  kompleksinin DNA'ya bağlanma afinitesi ve merkezdeki metal atomunun indirgeyici özelliği, DNA'da zincir kırıklarına veya baz modifikasyonlarına yol açarak nükleaz gibi davranmakta ve terapötik ajan olarak rol oynamaktadır (Pratviel ve ark., 1995; Chakraverly ve ark., 2006; Li ve ark., 2015).

Quiao ve ark. (2011), yeni sentezlenen Schiff bazı Cu(II) kompleksinin DNA kırma aktivitesini incelemişler ve bileşiğin pBR322 plazmid DNA'sını etkili bir şekilde kırarak süperkırımlı DNA'yı gevşek ve linear forma dönüştürdüğünü belirlemişlerdir.

Kong ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada tetraazammakrosiklikoksamido Ni(II) komplekslerinin DNA kesme aktivitelerini araştırmışlardır. Agaroz jel elektroforezi sonucunda tüm komplekslerin plazmid DNA'yı  $H_2O_2$  varlığında oksidatif olarak kırdığını göstermiştir.

Silveira ve ark. (2008), oksindol-Schiff bazı Cu(II) komplekslerinin nükleaz aktivitesini agaroz jel elektroforezi ile çalışmışlar ve tüm komplekslerin  $H_2O_2$  varlığında plazmid DNA'yı süper kırımlı formdan gevşek forma ve linear forma dönüştürdüklerini belirlemişlerdir. Komplekslerin hidrolitik kesme aktivitesi de çalışılmış ve ortamda  $H_2O_2$  yokken de gevşek form oluşturabildikleri gözlemlenmiştir.

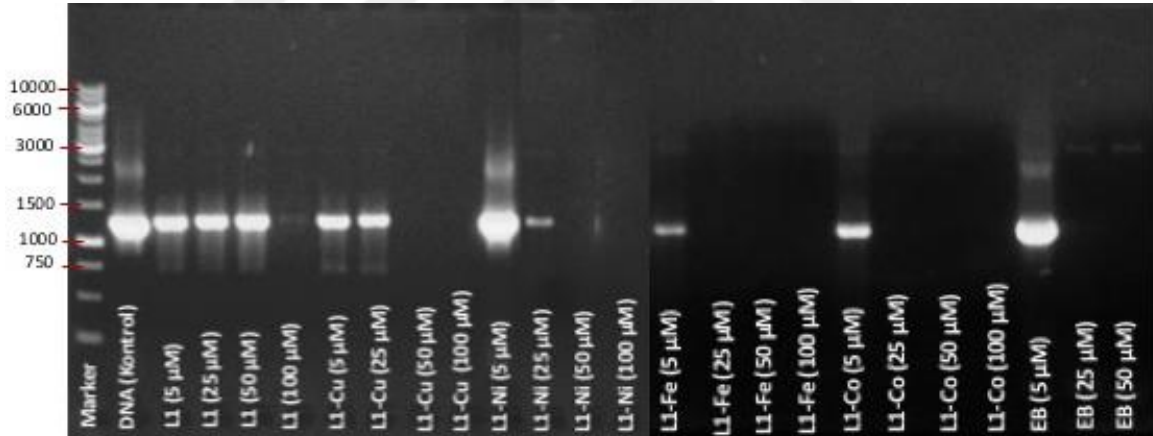
UV-Vis absorpsiyonu titrasyonu sonucu **L1-Cu**, **L2-Cu** ve **L2-Fe** komplekslerinin DNA'yı denatüre edici özellik taşıdıkları bulunmuştur. Agaroz jel elektroforezi sonuçlarında da komplekslerin yüksek konsantrasyonda DNA'yı denatüre ettikleri görülmektedir. Bu açıdan sonuçlar birbirini doğrular niteliktedir.

#### **4.1.3. Bileşiklerin *in vitro* Replikasyona Etkileri**

Schiff bazı ve komplekslerinin DNA replikasyonuna etkilerinin belirlenmesi amacıyla, Taq polimeraz enzimiyle katalizlenen reaksiyonlara etkisi *in vitro* olarak araştırıldı. Bununla birlikte, bileşiklerin interkalasyonla DNA'ya bağlanarak replikasyona etki edip etmediklerinin indirekt olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Reaksiyon karışımına bileşiklerin farklı konsantrasyonları (5, 25, 50 100  $\mu$ M) eklenerek, PBR322 plazmid DNA'ndaki 1213 bp uzunluğundaki DNA fragmenti PCR reaksiyonu ile çoğaltıldı. Amplifikasyon sonrasında ürünler jel elektroforezinde yürütüldü ve kullanılan markere göre 1000-1500 bp uzunluğu arasında bantların oluştuğu görüldü. Bantların yoğunluğundaki azalış kontrollerle karşılaştırılarak incelendi ve inhibisyon yüzdeleri

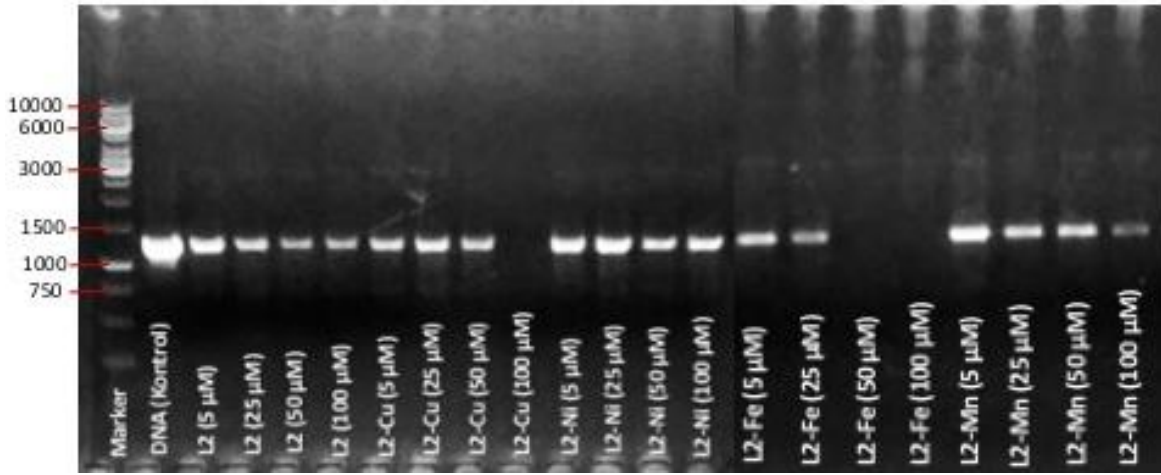
hesaplandı. Deney sonucunda bütün bileşiklerin konsantrasyona bağlı olarak *in vitro* replikasyonu inhibe ettiğini gösterdi.

PCR ürünlerinin jelde yürütülmesi sonucu oluşan bantlar **L1** ligandının 100  $\mu$ M konsantrasyonunda %96 oranında, **L1-Cu** ve **L1-Ni** komplekslerinin 50  $\mu$ M, **L1-Fe** ve **L1-Co** komplekslerinin ise 25  $\mu$ M konsantrasyonlarında replikasyonu %100 oranında inhibe ettiğini göstermektedir. Pozitif kontrol olan etidiyum bromür ise 25  $\mu$ M konsantrasyonunda replikasyonu tamamen inhibe etmiştir. Etidiyum bromürle benzer etkiye sahip **L1-Fe** ve **L1-Co** kompleksleri karşılaştırıldığında 5  $\mu$ M konsantrasyonunda etidiyum bromür hiç etki etmezken **L1-Fe** ve **L1-Co** komplekslerinin replikasyonu sırasıyla %50 ve %75 oranında inhibe ettiği görülmektedir. Sonuç olarak, **L1**'in komplekslerinin düşük konsantrasyonlarda bile replikasyonu tamamen inhibe ettiği; özellikle Fe ve Co komplekslerinin pozitif kontrol olarak kullanılan ve DNA'ya kuvvetli bir şekilde interkalasyonla bağlandığı bilinen etidiyum bromürden daha düşük konsantrasyonlarda bile etkili olduğu görülmektedir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. **L1** ve komplekslerinin replikasyona etkilerinin PCR ile gösterilmesi

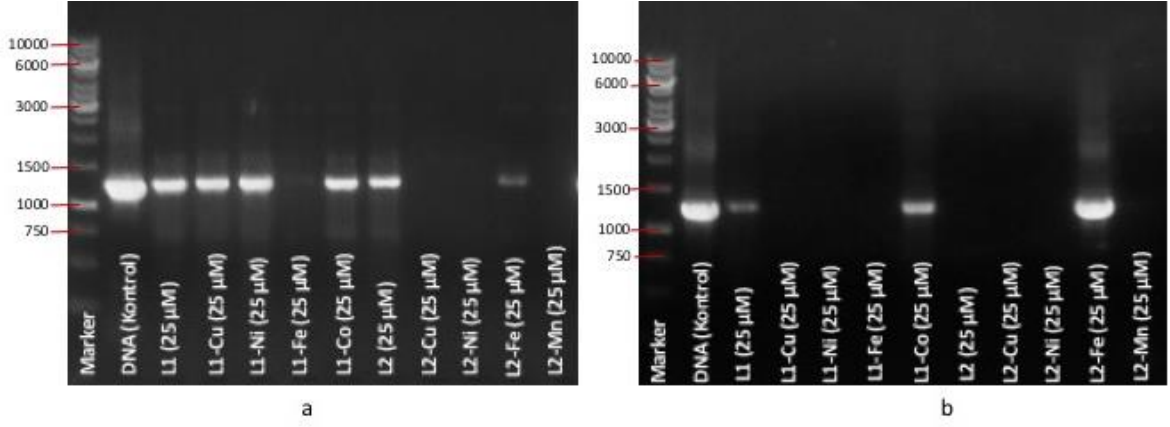
**L2** ligandı ve komplekslerinin replikasyona etkileri incelendiğinde, jel elektroforezi sonucunda gözlenen bantlar **L2** ligandı, **L2-Ni** ve **L2-Mn** komplekslerinin test edilen en yüksek konsantrasyon olan 100  $\mu$ M'da replikasyonu sırasıyla %76, %59 ve %87 oranlarında inhibe ettiğini göstermiştir. **L2-Cu** kompleksinin 100  $\mu$ M konsantrasyonunda ve **L2-Fe** kompleksinin ise 50  $\mu$ M konsantrasyonunda DNA replikasyonunu %100 oranında inhibe ederek replikasyonu durdurduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, **L2** ve kompleksleri de replikasyonu farklı oranlarda inhibe etmekle birlikte en etkili sonucu **L2-Fe** kompleksinin verdiği belirlenmiştir (Şekil 4.14).



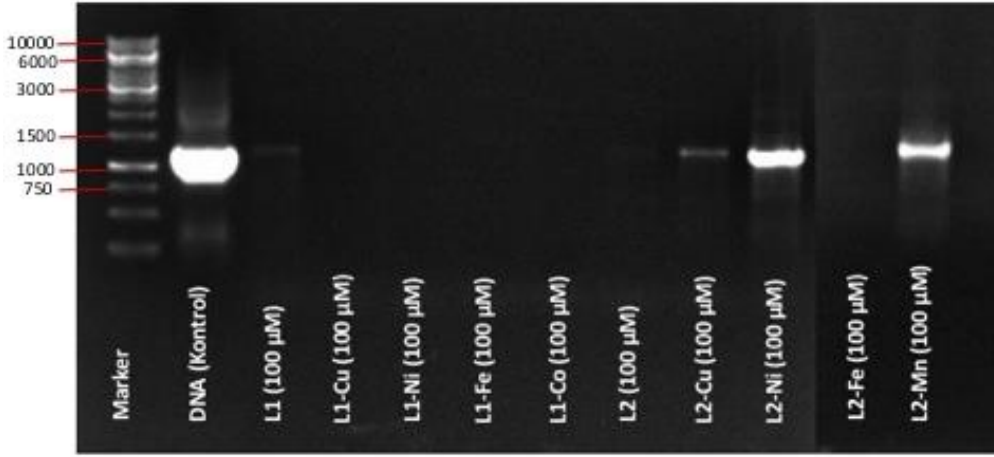
Şekil 4.14. **L2** ve komplekslerinin replikasyona etkilerinin PCR ile gösterilmesi

Bileşiklerin Taq polimeraza da bağlanabiliyor olabileceği düşünülerek, PCR amplifikasyonu reaksiyon karışımına daha yüksek konsantrasyonlarda Taq polimeraz eklendi ve bileşiklerin 25  $\mu\text{M}$  konsantrasyonu için deney tekrar edildi. Taq polimeraz konsantrasyonu 1  $\text{U}/\mu\text{L}$ 'ye çıkarıldığında **L1** ve **L2** ligandları **L1-Cu** ve **L1-Fe** komplekslerinin bant yoğunluklarında belirgin bir fark gözlenmezken, **L1-Co** kompleksinin bant kalınlığının %41 oranında arttığı, **L2-Cu**, **L2-Ni**, **L2-Fe** ve **L2-Mn** komplekslerinin bant kalınlıklarında ise sırasıyla %43, %52, %25 ve %36 oranlarında azalma olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.15a). Aynı koşullar altında polimeraz konsantrasyonunun 2  $\text{U}/\mu\text{L}$ 'ye çıkarılmasıyla birlikte sadece **L1-Fe** kompleksinin bant kalınlığı değişmezken, **L1** ve **L2** ligandlarının bant kalınlıklarının %45 ve %39 oranında, **L1-Cu**, **L1-Ni**, **L2-Cu**, **L2-Ni** ve **L2-Mn** komplekslerinin ise bant kalınlıklarının sırasıyla %44, %10, %39, %52 ve %36 oranında azaldığı, **L1-Co** ve **L2-Fe** komplekslerinin ise bant kalınlıklarında %42 ve %67 oranlarında artış olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, **L1-Fe** kompleksi dışındaki diğer bütün bileşiklerin bant yoğunluklarının değiştiği gözlenmiştir (Şekil 4.15b). Bileşiklerin 100  $\mu\text{M}$  konsantrasyonu için de deney tekrar edildi ve **L1**, **L1-Cu**, **L1-Ni**, **L1-Fe**, **L1-Co** ve **L2-Cu**, **L2-Ni** ve **L2-Fe** komplekslerinin bant kalınlıklarında değişiklik olmazken, **L2** ligandının bant kalınlığının %24 oranında azaldığı ve **L2-Mn** kompleksinin bant kalınlığının %24 oranında arttığı belirlendi (Şekil 4.16).

Sonuç olarak PCR reaksiyon karışımındaki polimeraz enziminin miktarının artırılması ile birlikte **L1-Fe** kompleksi dışındaki bileşiklerin bant kalınlıklarında değişikliklerin gözlenmesi, bu bileşiklerin DNA'ya spesifik olarak bağlanmadığını, aynı zamanda polimeraz enzimi ile de bağlanabiliyor olabileceğini düşündürmüştür.



Şekil 4.15. Ligand ve komplekslerin farklı Taq polimeraz konsantrasyonlarında replikasyona etkisi. a. 1 U/μL Taq polimeraz, b. 2 U/μL Taq polimeraz



Şekil 4. 16. Ligand ve komplekslerin (100 μM) 1 U/μL Taq polimeraz konsantrasyonunda replikasyona etkisi

Terenzi ve ark. (2013), Salphen Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) komplekslerinin DNA ile etkileşimini ve bileşiklerin *in vitro* replikasyonu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında Cu(II) komplekslerinin amplifikasyona etki ederken diğer iki kompleksin etki etmediğini bulmuşlardır. Ni(II) kompleksinin en yüksek DNA bağlanma sabitine sahip olan bileşik olduğu göz önüne alındığında bu sonuç şaşırtıcı bulunsa da, bileşiğin tipik interkalasyonla DNA'ya bağlandığı ve etidiyum bromür gibi benzer düzlemsel yapıya sahip bilinen interkalatörlerin de düşük konsantrasyonlarda etki etmediğini belirtmişlerdir. Komplekslerin geometrisindeki farklılıkların PCR inhibisyonun da etkili olduğunu görülmektedir. Çalışmamızda da, farklı metal komplekslerinin replikasyonu farklı oranlarda inhibe ettiği bulunmuştur.

## 4.2. Schiff Bazı ve Komplekslerinin Biyolojik Aktivitesinin Belirlenmesi

### 4.2.1. Sitotoksik Aktivite

Schiff bazı **L1** ligandı ve Ni(II), Cu(II) kompleksleri ile **L2** ligandı ve Mn(II), Ni(II) ve Cu(II) komplekslerinin HepG2 hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesi MTT yöntemi ile araştırıldı. HepG2 hücre hatları ligand ve komplekslerle 72 saat inkübe edildikten sonra hücre yaşayabilirlikleri MTT yöntemi ile ölçüldü ve IC<sub>50</sub> değerleri belirlendi (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. **L1**, **L2** ve komplekslerinin HepG2 hücre hattı ile 72 saatlik inkübasyonu sonrası elde edilen IC<sub>50</sub> verileri

Bileşik	IC <sub>50</sub> (µM)
<b>L1</b>	>20
<b>L1-Ni</b>	11,61±5,38
<b>L1-Cu</b>	>20
<b>L2</b>	>20
<b>L2-Mn</b>	12,60±3,20
<b>L2-Ni</b>	>20
<b>L2-Cu</b>	11,29±1,26
<b>Sisplatin</b>	13,75±3,93

Yapılan çalışmalar sonucunda, **L1-Ni** kompleksi, **L2-Mn** ve **L2-Cu** komplekslerinin konsantrasyona bağlı olarak HepG2 hücre hattının büyümesini inhibe ettiği görülmektedir. Buna karşılık, **L1** ve **L2** ligandları ile **L1-Cu** ve **L2-Ni** komplekslerinin test edilen konsantrasyon aralığında (20-1,25 µM) hücrelere karşı önemli bir sitotoksik etkiye sahip olmadığı gözlemlendi. Genel olarak, terapötik ajanların birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik fonksiyonları bileşiğin yapısı ve koordinasyonu ile yakından ilişkilidir (Liu ve ark., 2011). Deney sonuçları, komplekslerin sitotoksik etkilerinin önemli ölçüde yapısal özelliklerine bağlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca, **L1-Ni**, **L2-Mn** ve **L2-Cu** komplekslerinin antineoplastik ilaç olan sisplatinine yakın konsantrasyonlarda sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4. 2).

Çalışmada, sitotoksik aktivitesi çalışılan bileşikler DNA'ya interkalasyonla bağlanmaktadır, ancak bu bileşiklerin hepsinin sitotoksik aktiviteye sahip olmadığı görülmektedir. İnterkalasyon yapan bileşikler geniş çapta antitümör, antineoplastik, antiviral, antibiyotik ve antifungal ajanlar olarak kullanılıyor olsalar da, tüm interkalatörler genotoksik etki göstermezler. Bazik, katyonik ya da elektrofilik fonksiyonel grupların varlığı genellikle genotoksikite için gereklidir (Snyder ve ark., 2005; Snyder, 2007).

Lian ve ark. (2016), sentezledikleri dört yeni Schiff bazı Cu kompleksinin HepG2 ve HeLa hücre hattına karşı antikanser özelliklerini araştırmışlardır. Tüm bileşiklerin doza bağlı olarak hücreleri inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Komplekslerden bazıları sisplatinden daha düşük konsantrasyonlarda etki etmiştir.

Kiran ve ark. (2015), 2-hidroksinaftaldehityde Schiff bazının Cu(II) komplekslerinin HepG2 hücre hattına karşı sitotoksik aktivitelerini araştırmışlar ve tüm komplekslerin kanser hücrelerine karşı doza bağlı olarak aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Çalışmalarımızdan elde edilen veriler, Schiff bazı komplekslerinin, çoğalan tümör hücrelerinde çeşitli biyolojik fonksiyonlara katıldığı ve DNA'da konformasyonel değişikliklere yol açarak hücre ölümüne neden olduğunu göstermiştir.

#### 4.2.2. Antimikrobiyal Aktivite

Schiff bazı ve komplekslerinin antibakteriyel aktiviteleri *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Saphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 254992, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Proteus vulgaris* ATCC 13315 bakteri suşlarına karşı ve antifungal aktiviteleri *Candida albicans* ATCC 60193 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 suşlarına karşı broth mikrodilüsyon metodu ile araştırıldı. Standart antibiyotik ve antifungal ilaçlar gentamisin, ampicilin ve flukonazol referans olarak kullanıldı. Test edilen mikroorganizmanın üremesinin durdurulduğu en düşük konsantrasyon MIC olarak belirlendi. Çizelge 4.3'te üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen deneylerden elde edilen ortalama MIC değerleri sunulmuştur. Tüm bileşiklerin test edilen mikroorganizmalara karşı değişen oranlarda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ligand ve komplekslerin 128-32 µg/µL konsantrasyon aralığında antibakteriyel aktivite ve 64-8 µg/µL konsantrasyon aralığında antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ancak, referans ilaçlarla kıyaslandığında bazı bileşiklerin yakın sonuçlar verdiği ya da daha az etkili olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3).

Schiff bazı ve komplekslerinin MIC değerleri incelendiğinde test edilen gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarına karşı, bileşiklerin benzer antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, **L2-Fe** kompleksinin tüm bakteri suşlarına karşı diğer bileşiklerden çok daha etkili olduğu açıkça görülmektedir. **L2-Fe** kompleksinin bakterilere karşı 16-8 µg/µL aralığında etki ettiği ve en çok *B. Subtilis* suşuna karşı etkili olduğu (8 µg/µL) belirlenmiştir. **L1** ligandı en yüksek aktivitesini *E. faecalis* suşuna karşı

(32 µg/µL) gösterirken, **L1-Cu** kompleksi *S. aureus* suşuna karşı (32 µg/µL), L1-Co kompleksi *S. aureus* ve *E. faecalis* suşlarına karşı (32 µg/µL), **L2** ligandı *S. aureus* ve *B. Subtilis* suşlarına karşı (32 µg/µL), **L2-Cu** kompleksi 16 µg/µL konsantrasyonunda *B. Subtilis* suşuna ve 32 µg/µL konsantrasyonunda *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* ATCC 35218, *P. aeruginosa* ve *P. vulgaris* suşlarına karşı, **L2-Ni** kompleksi *E. coli* ATCC 35218, *P. aeruginosa* ve *P. vulgaris* suşlarına karşı 32 µg/µL konsantrasyonunda en yüksek aktivitelerini gösterdikleri görülmüştür. **L2-Mn** kompleksi ise *E. coli* ATCC 25299 dışındaki tüm bakterilere karşı 32 µg/µL konsantrasyonunda etki etmiştir. Tüm bileşikler içinde **L2** metal komplekslerinin, özellikle de **L2-Fe** kompleksinin test edilen bakterilere karşı diğerlerinden daha etkili olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Schiff bazı ve komplekslerinin MIC (µg/µL) değerleri

	Bakteriler						Mayalar			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25492	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	<i>Candida albicans</i> ATCC 60198	<i>Candida tropicalis</i> ATCC 13803
<b>L1</b>	64	32	64	64	128	128	64	64	32	32
<b>L1-Fe</b>	64	64	64	128	128	64	64	128	64	64
<b>L1-Co</b>	32	32	64	64	64	128	64	64	8	8
<b>L1-Ni</b>	64	64	64	64	128	128	64	128	32	64
<b>L1-Cu</b>	32	64	64	64	128	128	64	128	8	8
<b>L2</b>	32	64	64	32	128	128	64	64	32	64
<b>L2-Mn</b>	32	32	32	64	64	32	32	32	32	32
<b>L2-Fe</b>	16	16	16	8	32	16	16	16	16	32
<b>L2-Ni</b>	64	64	64	64	64	32	32	32	32	32
<b>L2-Cu</b>	32	64	32	16	64	32	32	32	16	32
<b>Gentamisin</b>	1	1	0,125	0,008	0,125	0,03	0,08	0,125	-	-
<b>Ampisilin</b>	0,016	0,016	0,125	0,06	32	32	2	0,06	-	-
<b>Flukonazol</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,063	0,5

Schiff bazı ve komplekslerinin antifungal aktiviteleri incelendiğinde mayalara karşı bakterilerden daha etkili sonuçlar verdikleri gözlemlendi. **L1-Co** ve **L1-Cu** komplekslerinin test edilen *C. albicans* ve *C. tropicalis* mayalarına karşı 8 µg/µL MIC değeri ile en yüksek aktiviteye sahip oldukları belirlendi. Tüm bileşikler içinde **L1-Fe** her iki maya suşuna karşı en düşük aktiviteye sahipken (64 µg/µL), **L1-Ni** kompleksi ve **L2** ligandının da *C. tropicalis* suşuna karşı aynı şekilde etki ettiği görülmektedir. **L2-Cu** ve **L2-Fe** komplekslerinin *C. albicans* suşuna karşı daha etkili olduğu (16 µg/µL) belirlenmiştir.

Tabassum ve ark. (2013), vanilin Schiff bazı Cu(II) kompleksleri ile yapmış oldukları çalışmada bileşiklerin antibakteriyel aktivitelerini gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarına karşı ve antifungal aktivitelerini maya suşlarına karşı incelemiştir. Sonuç olarak tüm bileşiklerin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere ve mayalara karşı önemli antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu belirlemiştir. [Cu(HL)(phen)(OAc)] kompleksinin *C. albicans* ve *A. niger* suşlarına karşı yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Shebl (2014), yeni asimetrik Schiff bazı ligandı Cu(II), Fe(II), Ni(II), Co(II) ve VO<sup>+2</sup> komplekslerinin antibakteriyel ve antifungal özelliklerini *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* suşlarına karşı araştırmışlardır. Sonuç olarak, Schiff bazı ve birçok kompleksinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve komplekslerin ligandlara göre daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Shi ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, 5-kloro-salisiladehit ve primer aminlerin kondensasyonundan elde ettikleri Schiff bazı ligandlarının antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Ligand (6-15)'in tüm bileşikler arasında en etkili sonucu verdiği bulunmuştur. *Pseudomonas fluorescens* 2,5 µg/µL ve 5.2 µg/µL MIC değerleri ile ligandlara karşı en duyarlı olan bakteri suşudur. 6,7, (9-11) ve 14 numaralı Schiff bazı ligandları *E. coli* suşuna karşı 1,6-5,7 µg/µL aralığında etki ederken, kontrol kanamisin'in MIC değeri 3,9 µg/µL olarak bulunmuştur. *B. subtilis*, Schiff bazı ligandı 14'e karşı duyarlı olduğu görülmüştür (MIC=1,8 µg/µL). Ligand 6 ve 7'nin *S. aureus*'a karşı 1,6 – 3,1 µg/µL aralığında etkili olduğunu saptamışlardır.

Metal komplekslerinin ligandlara göre daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip oldukları gözlemlenmiştir. Bu etki şelasyon teorisi ile açıklanabilir (Mahadevan ve Palaniandavar, 1998). Molekülde azometin grubunun varlığı ve merkezde metal atomunun şelatlama etkisi antimikrobiyal aktiviteyi artırır. Metal iyonu bir ligand ile şelatlandığında,



ligand orbitalinin çakışması ve donör grupları ile metal iyonunun kısmi paylaşımı nedeniyle polaritesinde büyük ölçüde düşüş olacaktır. Bunun yanı sıra, halkalaşma tüm moleküldeki  $\pi$  elektronlarının delokalizasyonunu artırır ve bunun sonucunda metal komplekslerinin lipofilitesinin artmasına neden olur. Sonuç olarak, metal kompleksleri lipid membranına kolaylıkla nüfuz edebilir ve mikroorganizmalarda enzimlerin metal bağlanma bölgelerini bloke edebilir. Ayrıca, metal kompleksleri hücrenin respirasyon aşamalarını da etkileyerek protein sentezini bloklayabilir ve organizmanın büyümesini sınırlayabilir (Padjama ve ark., 2012).



## BÖLÜM 5

### SONUÇ VE ÖNERİLER

DNA, hücre yaşayabilirliği ve fonksiyonlarının düzenlenmesinde oynadığı rol nedeniyle birçok hastalığın tedavisi için geliştirilen ilaçların birincil hücre içi hedefi olarak görülmektedir. Bu nedenle, DNA ile etkileşime girebilen yeni moleküllerin araştırılması konusuna ilgi giderek artmaktadır (Erkkila ve ark., 1999; Chouai ve ark., 2005; Liu ve ark., 2010). DNA'yla etkileşime girebilen bileşiklerin potansiyel biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinin olduğu ve bu aktivitenin bileşiğin DNA'ya bağlanma afinitesi ve bağlanma şekli ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir.

Schiff bazları ve metal kompleksleri çok çeşitli biyolojik ve farmasötik etkileriyle dikkat çeken önemli bir bileşikler sınıfıdır. Birçok Schiff bazı ligandı ve kompleksinin antibakteriyel, antifungal ve antitümör aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2006; Quiao ve ark., 2011; Tabassum ve ark., 2013). Tüm bu özellikleri dikkate alındığında, yeni sentezlenecek yeni Schiff bazı ve komplekslerinin de benzer veya üstün özelliklere sahip olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle, orjinal Schiff bazı ve komplekslerinin DNA ile etkileşimlerinin ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması hastalıklardan korunma ve yeni kemoterapötik ilaçların dizaynı için oldukça önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, orijinal **L1** ligandı ve Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) kompleksleri ile **L2** ligandı ve Mn(II), Fe(II), Ni(II), Cu(II) komplekslerinin DNA ile olan etkileşimleri ve biyolojik aktiviteleri araştırıldı. **L1** ligandı ve Fe(II), Co(II), Ni(II) kompleksleri ile **L2** ligandı ve Mn(II), Ni(II) komplekslerinin DNA'ya interkalasyonla bağlandığı, **L1-Cu**, **L2-Fe** ve **L2-Cu** komplekslerinin ise DNA'ya kısmi interkalasyon ile bağlandığı bulundu. Ayrıca bu bileşiklerde hiperkromik etkinin görülmesi, bileşiklerin DNA'yı denatüre ederek de etki ettiklerini gösterdi.

Agaroz jel elektroforezi yöntemi ile Schiff bazı ve komplekslerinin hidrolitik ve oksidatif DNA kesme aktivitesi çalışıldı. En etkili bileşikler olan **L1-Fe** ve **L1-Cu** komplekslerinin DNA'da hem oksidatif hem de hidrolitik yolla kırık oluşturduğu bulundu. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında **L1-Cu** ve **L2-Cu** kompleksinin yüksek konsantrasyonlarında bantlarının kaybolması, bileşiklerin plazmid DNA'yı denatüre ederek tek zincirli forma dönüştürdüğünü göstermektedir. Aynı etki **L2-Fe** kompleksinde hem hidrolitik hem de oksidatif olarak görülmüştür. **L2-Ni** ve **L2-Mn** kompleksleri ise, plazmid DNA'yı sadece

oksidatif yolla keserek tek zincir kırığı oluşturabilmiştir. Sonuçlar özellikle her iki liganda ait Cu(II) ve Fe(II) komplekslerinin DNA'yı etkin bir şekilde kestiğini göstermektedir.

Bileşiklerin DNA'ya bağlanması sonucu *in vitro* replikasyonlarına etkileri araştırılmış ve DNA'ya interkalasyonla bağlandığı belirlenen bu bileşiklerin replikasyonu da çeşitli ölçülerde inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu deneylerde en kuvvetli etkiyi sırasıyla Fe(II), Co(II) ve Ni(II) kompleksleri gösteriyor olsa da genel olarak tüm komplekslerin ligandlardan daha kuvvetli inhibisyon etkisine sahip olduğu görülmüştür. DNA'ya bağlanma özellikleri ve/veya kesme aktivitesi düşük olan bileşiklerin de dikkate değer ölçüde DNA replikasyonunu inhibe ettiği görülmüştür. Bileşiklerin polimeraz enzimine de bağlanıyor olabilecekleri düşünülerek kontrol amaçlı Taq polimeraz enzimi artırılmış ve deney tekrar edilmiştir. Sonuçlar **L1-Fe** kompleksi dışındaki bileşiklerin enzime de bağlanıyor olabileceğini göstermiştir. Bileşiklerin potansiyel etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için ileride polimeraz enzimleri ile olan etkileşimlerinin de araştırılması faydalı olacaktır.

Antikanser aktivitesi çalışılan Schiff bazı ve komplekslerinden; **L1-Ni**, **L2-Cu** ve **L2-Mn** komplekslerinin HepG2 kanser hücrelerine karşı oldukça etkili sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Antineoplastik ilaç sisplatin ile karşılaştırıldığında bileşiklerin aynı konsantrasyonlarda etki ettiği görülmektedir.

Schiff bazı ve komplekslerinin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri broth mikrodilüsyon metodu ile çalışıldı ve bileşiklerin bakterilere karşı 128-8 µg/µL konsantrasyon aralığında, mayalara karşı ise 64-8 µg/µL konsantrasyon aralığında etkili olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerin mayalara karşı daha etkili olduğu, bakterilere karşı **L2-Fe** kompleksinin ve mayalara karşı da **L1-Co** ile **L1-Cu** kompleksinin en etkili bileşikler olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmanın yapılmasındaki ana nedenler; Schiff bazı ve komplekslerinin potansiyel antikanser ve antimikrobiyal ajanlar olmaları ve bu nedenle de geniş çapta ilgi görmeleri, Schiff bazlarında en çok görülen iki temel DNA bağlanma şekli olan, interkalasyon ve eksternal bağlanma modlarının DNA'ya bağlanarak etki eden antikanser ilaçların geliştirilmesinde model olarak kullanılabilecek olması ve Schiff bazlarının metal komplekslerinin daha yüksek antikanser ve antimikrobiyal etkiye sahip olmalarıdır (Bauer ve Povirk, 1997; Hurley, 2002; Wang ve Lippard, 2005; Ge ve Sun, 2007; Paul ve Bhattacharya, 2012).

Sonuç olarak yaptığımız çalışmalardan elde edilen veriler bileşiklerin, özellikle de metal komplekslerinin potansiyel antikanser ve antimikrobiyal ajan olarak

kullanılabileceklerini göstermektedir. Gelecek çalışmalarda, bileşiklerin DNA etkileşim mekanizmalarını daha iyi anlamak amacıyla farklı tekniklerden yararlanılabilir. Bileşiklerin DNA'ya bağlanma seçiciliklerinin sekansa özgü olup olmadığı araştırılabilir.

Antikanser özelliklerinin daha iyi değerlendirilebilmesi ve farklı kanser türlerine karşı seçiciliğinin belirlenebilmesi için farklı hücre hatlarında çalışmaların sürdürülmesi yararlı olacaktır. Daha ileriki safhalarda ise, *in vitro* deneylerden elde edilen veriler ışığında antikanser özelliğe sahip olduğu belirlenen bileşiklerin, tümörlü hayvan modelleri kullanılarak *in vivo* çalışmalarla araştırılmaya devam edilmesi düşünülmelidir.

Antimikrobiyal ilaçların geniş spektrumlu olması aranan en önemli özelliklerden biridir. Bu nedenle, bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin daha farklı ve çok sayıda bakteri ve maya suşlarına karşı da değerlendirilmesi gelecek çalışmalar için önemlidir.



## KAYNAKLAR

- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., 2002. *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). Garland Science, New York. 1313-1362.
- Alekshun M. N., Levy S. B., 2007. Molecular Mechanism of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*, 128 (6): 1037-1050.
- Anastassoupoulou J., 2003. Metal-DNA Intercalators. *Journal of Molecular Structure*, 651: 19-26.
- Andronetti P. E., Cree I. A., Kurbacher C. M., Hartmann D. M., Linder D., Harel G., Gleiberman I., Casuro P. A., Ricks S. H., Untch M., Sartori C., Bruckner H. W., 1995. Chemosensitivity Testing of Human Tumors Using a Microplate Adenosine Triphosphate Luminescence Assay: Clinical Correlation for Cisplatin Resistance of Ovarian Carcinoma. *Cancer Research* 55 (22): 5276-5282.
- Arjmand F., Muddassir M., 2010. A Mechanistic Approach for The DNA Binding of Chiral Enantiomeric L- and D-tryptophan-derived Metal Complexes of 1,2-DACH: Cleavage and Antitumor Activity. *Chirality*, 23: 250-259.
- Arjmand F., Jamsheera A., 2011. DNA Binding Studies of New Valine Derived Chiral Complexes of Tin(IV) and Zirconium(IV). *Spectrochimica Acta A*, 78: 45-51.
- Baginski M., Fogolari F., Briggs J. M., 1997. Electrostatic and Non-electrostatic Contributions to the Binding Free Energies of Anthracycline Antibiotics to DNA. *Journal of Molecular Biology*, 274-253.
- Balbás P., Soberón X., Merino E., Zurita M., Lomeli H., Valle F., Flores N., Bolivar F., 1986. Plasmid Vector pBR322 and its Special-Purpose Derivatives-A Review. *Gene*, 50 (1-3): 3-40.
- Baldini M., Belicchi-Ferrari M., Bisceglie F., Dall'Aglio P. P., Pelosi G., Pinelli S., Tarasconi P., 2004. Copper(II) Complexes with Substituted Thiosemicarbazones of  $\alpha$ -Ketoglutaric Acid: Synthesis, X-ray Structures, DNA Binding Studies, and Nuclease and Biological Activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 43 (22): 7170-7179.
- Barve A., Kumbhar A., Menakshi B., Joshi A., Butcher R., Sonovane U., Joshi R., 2009.

- Mixed-Ligand Copper(II) Maltolate Complexes: Synthesis, Characterisation, DNA Binding and Cleavage and Cytotoxicity. *Inorganic Chemistry*, 48: 9120-9132.
- Bauer W., Vinograd J., 1970. The Interaction of Closed Circular DNA with Intercalative Dyes:III. Dependence of the Bouyant Density Upon Superhelix Density and Base Composition. *Journal of Molecular Biology*, 54: 281-298.
- Bauer G. B., Povirk L. F., 1997. Specificity and Kinetics of Interstrand and Intrastrand Bifunctional Alkylation by Nitrogen Mustards at a G-G-C Sequence. *Nucleic Acids Research*, 25: 1211-1218.
- Benitez-Bribiesca L., Sanchez-Suarez P., 1999. Oxidative Damage Bleomycin, and Gamma Radiation Induce Different Types of DNA Strand Breaks in Normal Lymphocytes: A Comet Assay Study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 887: 133-149.
- Bischoff G., Hoffman S., 2002. DNA-binding of Drugs Used in Medicinal Therapies. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 3: 723-728.
- Blackburn G. M., Gait M. J., 1996. DNA and RNA Structure Nucleic Acids in Chemistry and Biology. 3rd ed. Blackburn G. M., Gait M. J., Oxford University Press, England, 28-39.
- Bolivar F., Rodriguez R. L., Betlach M. C., Boyer H. W., 1977. Construction and Characterisation of New Cloning Vehicles. I. Ampicillin-Resistant Derivatives of Plasmid pMB9. *Gene*, 2 (2): 75-93.
- Branchaud B. P., 1983. Studies on the Preparation and Reactions of Tritylsulfenimines. *Journal of Organic Chemistry*, 48 (20): 1331-1338.
- Brooker S., 2002. Some Copper and Cobalt Complexes of Schiff-Base Macrocycles Containing Pyridazine Head Units. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 10: 2535-2547.
- Chakravarty A. R., 2006. Photocleavage of DNA by Copper(II) Complexes. *Journal of Chemical Sciences*, 118 (6): 443-453.
- Chouai A., Wicke S. E., Turro C., Basca J., Dunbar K. R., Wang R. P., 2005. Ruthenium(II) Complexes of 1,12-Diazaperylene and Their Intercalations with DNA. *Inorganic Chemistry*, 44 (17): 5996-6003.

- Clarke M. J., 2003. Rutenium Metallopharmaceuticals. *Coordination Chemistry Reviews*, 232 (1-2): 209-233.
- Clinical Laboratory Standards Institute, 2006. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Seventh Edition*. CLSI Document M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pensilvania. 49 p.
- Colson P., Bailly C., Houssier C., 1996. Electric Linear Dichroism as a New Tool to Study Sequence Preference in Drug Binding to DNA. *Biophysical Chemistry*, 58: 125-140.
- Coyle M. B., 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American Society for Microbiology. Seattle, Washington. 3-13.
- Çukurovali A., Yilmaz I., Özmen H., Ahmedzade M., 2002. Cobalt(II), Copper(II), Nickel(II) and Zinc(II) Komplekses of Two Novel Schiff Base Ligands and Their Antimicrobial Activity. *Transition Metal Chemistry*, 27: 171-176.
- Dhar D. N., Taploo C. L., 1982. Schiff Bases and Their Applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 41 (8): 501-506.
- Dhar S., Nethaji M., Chakravarty A.R., 2005. Synthesis, Crystal Structure and Photo-induced DNA Cleavage Activity of Ternary Copper(II) Complexes of NSO-Donor Schiff Bases and NN-donor Herocyclic Ligands. *Inorganica Chimica Acta*, 358: 2437-2444.
- Erkkila K. E., Odom D. T., Barton J. K., 1999. Recognition and Reaction of Metallointercalators with DNA. *Chemical Reviews*, 99 (9): 2777-2796.
- Falcioni M. L., Pellei M., Gabbianelli R., 2008. Interaction of Tributyltin(IV) Chlorid and A Related Complex [Bu<sub>3</sub>Sn(LSM)] with Rat Leukocytes and Erythrocytes: Effect on DNA and on Plasma Membrane. *Mutation Research.*, 653: 57-62.
- Flemming I. D., 2001. *Surgical Therapy*. *Clinical Oncology* 1<sup>th</sup> Edition. American Cancer Society. 160-165.
- Frederick C. A., Williams L. D., Ughetto G., Van der Marge G. A., Van Boom J. H., Rich A., Wang A. H. J., 1990. Structural Comparison of Anticancer Drug-DNA Complexes: Adriamycin and Daunomycin. *Biochemistry*, 29: 2538-2549.

- Fukui K., Tanaka K., 1996. The Acridine Ring Selectively Intercalated into a DNA Helix at Various Types of Abasic Sites: Double Strand Formation and Photophysical Properties. *Nucleic Acids Research*, 24: 3962-3697.
- Ge R., Sun H., 2007. Bioinorganic Chemistry of Bismuth and Antimony: Target Sites of Metallodrugs. *Accounts of Chemical Research*, 40: 267-274.
- Geierstanger B. H., Wemmer D. E., 1995. Complexes of the Minor Groove of DNA. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 24: 463-493.
- Global Burden of Disease Cancer Collaboration, (July 2015). The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA Oncology*, 1 (4): 505-27. DOI: 1001/jamaoncol.2015.0735.
- Gupta S. K., Hitchcock P. B., Kushwah Y. S., Argal G. S., 2007. Synthesis, Structure and DNA Binding Studies of a Mononuclear Cobalt(III) Complex with a NNO Donor Schiff Base Derived from 4-methyl-2,6-dibenzoylphenol and Ethane-1,2-diamine. *Inorganica Chimica Acta*, 360: 2145- 2152.
- Gürçan N., 2014. Ferrosen Aktif Birimi İçeren Yeni Azin Türevlerinin DNA Bağlanma, DNA Kesim ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye.
- Hall M., 2002. Target Cancer. Association of British Pharmaceutical Industry, London, UK. 1-10.
- Harvey A., 2000. Strategies for Discovering Drugs from Previously Unexplored Natural Products. *Drug Discovery Today*, 5: 294-300.
- Hegg E. L., Burstyn J. N., 1998. Toward the Development of Metal-Based Synthetic Nucleases and Peptidases: A Progress Report in Applying the Principles of Coordination Chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*, 173: 133-165.
- Hengartner M. O., 2000. The Biochemistry of Apoptosis. *Nature*, 407: 770-776.
- Hitchings G. H., 1983. Rational Design of Anticancer Drugs: Here, Imminent of Illusive. in *Development of Target-Oriented Anticancer Drugs*. Press in Cancer Research and Therapy, Vol 28. Raven Press, New York. 227-238.
- Hurley L. H., 2002. DNA and Its Associated Process as Targets for Cancer Therapy. *Nature Reviews of Cancer*, 2: 188-200.



- Jaividhya P., Dhivya R., Arkbarsha M. A., Palaniandavar M., 2012. Efficient DNA Cleavage Mediated by Mononuclear Mixed Ligand Copper(II) Phenolate Complexes: The Role of Co-ligand Planarity on DNA Binding and Cleavage and Anticancer Activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 114: 94-105.
- Jenkins T. C., 1995. Optical Absorbance and Fluorescence Techniques for Measuring DNA-Drug Interactions: In: Fox K. R. Ed. *Methods In Molecular Biology, Drug DNA Interaction Protocols (Vol 90)*. Humana Press Inc., Totowa, NJ. 195-218 p.
- Jerrum P. W., 2009. Synthesis, Analysis and Biological Evaluation of Novel Indoloquinoline Criptolepine Analogs as Potential Antitumor Agents. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Kingston University, London, UK.
- Jiang J., Tang X., Dou W., Zhang H., Liu W., Wang C., Zheng J., 2010. Synthesis and Characterisation of the Ligand Based on Benzoxazole and Its Transition Metal Complexes and Antitumor Activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 104: 583-591.
- Jin X., Wang J., Bai J., 2009. Synthesis and Antimicrobial Activity of the Schiff Base from Chitosan and Citral. *Carbohydrate Research*, 344: 825-829.
- Jonathan B. C., 1997. Energetics of Drug-DNA Interactions. *Biopolimers*, 44: 201-215.
- Karthikeyan M. S., Prasad D. J., Poojary B., Bhat K. S., Holla B. S., Kumari N. S., 2006. Synthesis and Biological Activity of Schiff and Mannich Bases Bearing 2,4-dichloro-5-fluorophenyl Moiety. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14 (22): 7482-7489.
- Keck M. V., Lippard S. J., 1992. Unwinding of Supercoiled DNA by Platinum-Ethidium and Related Complexes. *Journal of American Chemical Society*, 114: 3386-3390.
- Keene F. R., Smith J. A., Collins J. G., 2009. Metal Complexes as Structure-Selective Binding Agents for Nucleic Acids. *Coordination Chemistry Reviews*, 153: 1221-1235.
- Kızılbey K., Mustafaeva Akdeste Z., 2013. Melanoma Cancer. *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 31: 555-569.
- Kim S. K., Norden B., 1993. Methyl Green: A DNA Major-Groove Binding Drug. *FEBS*

- Letters, 315 (1): 61-64.
- Kiran T., Prasanth V. G., Balamurali M. M., Vasavi C. S., Munusami P., Sathiyarayanan K. L., Pathak M., 2015. Synthesis, Spectroscopic Characterisation and *in vitro* Studies of New Heteroleptic Copper(II) Complexes Derived From 2-hydroxy Naphthaldehyde Schiff's Bases and N, N Donor Ligands: Antimicrobial, DNA Binding and Cytotoxic Investigations. *Inorganica Chimica Acta*, 433: 26-34.
- Klug W. S., Cummings M. R., 2011. *Genetik Kavramlar* (2. baskı). Palme Yayıncılık, Ankara. 816 p.
- Kong D. M., Wang J., Zhu L. N. Jin J. W., Li X. Z., Shen H. X., Mi H. F., 2008. Oxidative DNA Cleavage by Schiff Base Tetraazamacrocyclic Oxamido Nickel(II) Complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102: 824-832.
- Lee M., Rhodes A. L., Wyatt M. D., Forrow S., Hartley J. A., 1993. GC Base Sequence Recognition by Oligo(Imidasolecorboxamide) and C-Termus-Modified Analogs of Distamycin Deduced From Circular Dichroism, Proton Nuclear Magnetic Resonance, and Methidiumpropylethylenediaminetetraacetate-iron(II) Footprinting Studies. *Biochemistry*, 32 (16): 4237-5245.
- Lerman L. S., 1964. Amino Group Reactivity in DNA-Aminoacridine Complexes. *Journal of Molecular Biology*, 10: 367-380.
- Li X., Lin Y., Wang Q., Yuan Y., Zhang H., Qian X., 2011. The Novel Anti-tumor Agents of 4-Triazol-1,8-naphthalimides: Synthesis, Cytotoxicity, DNA Interaction and Photocleavage. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46: 1274-1279.
- Li A., Liu Y. H., Yuan L. Z., Ma Z. Y., Zhao C. L., Xie C. Z., Bao W. G., Xu J. Y., 2015. Association of Structural Modifications with Bioactivity in Three New Copper(II) Complex of Schiff Base Ligands Derived from 5-Chlorosalicylaldehyde and Amino Acids. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 146: 52-60.
- Lian W. J., Wang X. T., Xie C. Z., Tian H., Song X. Q., Pan H. T., Qiao X., Xu J. Y., 2016. Mixed-Ligand Copper(II) Schiff Base Complexes: The Role of Co-Ligand in DNA Binding, DNA Cleavage, Protein Binding and Cytotoxicity. *Dalton Transactions*, 00: 1-3, DOI: 10.1039/C6DT00461J.
- Liu C., Zhou J., Li Q., Wang L., Liao Z., Xu H., 1999. DNA Damage by Copper(II)

- Complexes: Coordination-Structural Dependence of Reactivities. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 75 (3): 233-240.
- Liu J., Zhang T., Lu T., Qu L., Zhou H., Zhang Q., Ji L., 2002. DNA Binding and Cleavage Studies of Macrocyclic Copper(II) Complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 91: 269- 276.
- Liu C., Wang M., Zhang T., Sun H., 2004. DNA Hydrolysis Promoted by Di-and multi-nuclear Metal Complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, 248: 147-168.
- Liu H. K., Sadler P. J., 2011. Metal Complexes as DNA Intercalators. *Accounts of Chemical Research*, 44: 349-359.
- Liu Z. C., Wang B. D., Li B., Wang Q., Yang Z. Y., Li T. R., Li Y., 2010. Crystal Structures, DNA-Binding and Cytotoxic Activities Studies of Cu(II) Complexes with 2-Sxo-quinoline-3-carbaldehyde Schiff-bases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45: 5353-5361.
- Liu Z., Habtemariam A., Pizarro A. M., Clarkson G. J., Sadler P. J., 2011. Organometallic Iridium(III) Cyclopentadienyl Anticancer Complexes Containing C,N-Chelating Ligands. *Organometallics*, 30 (17): 1702-1710.
- Mahadevan S., Palaniandavar M., 1998. Spectroscopic and Voltametric Studies on Copper Complexes of 2,9-Dimethyl-1,10-phenanthrolines Bound to Calf Thymus DNA. *Inorganic Chemistry*, 37 (4): 693-700.
- Mancin F., Scrimin P., Tecilla P., Tonellato U., 2005. Artificial Nucleases. *Chemical Communications*, 2540-2548.
- Meijler M., Zelenko O., Sigman D. S., 1997. Interactions of Transcription Inhibitors With Throline-Copper. Carbonyl Oxygen of 5-methylene Furanone is Derived from Water. *Journal of American Society*, 119: 1135-1136.
- Meyers R. A., 2004. *Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine*, 2nd Edition, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim, ISBN: 3- 527-30543-2, Edited by Robert A. Meyers, Theoretical foundations of Cancer Chemotherapy. 174 p.
- Mladenova R., Ignatova M., Manolova N., Petrova T., Rashkov I., 2002. Preparation,

- Characterization and Biological Activity of Schiff Base Compounds Derived from 8-Hydroxyquinoline-2-carboxaldehyde and Jeffamines ED. *European Polymer Journal*, 38: 989-999.
- Mohamed G.G., Omar M.M., Ibrahim A.A., 2009. Biological Activity Studies on Metal Complexes of Novel Tridentate Schiff Base Ligand. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44: 4801-4812.
- Murphy J. A., 1995. Reactions of Oxyl Radicals with DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, 18: 1033-1077.
- National Institute of Health, (9 February 2015). NIH, National Cancer Institute. Updated February 9, 2015, from <http://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
- Navarro M., Cisneros-Farajdo E. J., Fernandez-Mestre M., Arrieche D., Marchan E., 2003. Synthesis, Characterisation, DNA Binding Study and Biological Activity Against *Leishmania mexicana* of [Cu(dppz)<sub>2</sub>]BF<sub>4</sub>. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 97 (4): 364-369.
- Neidle S., Abraham Z., 1984. Structural and Sequence Dependant Aspects of Drug Intercalation into Nucleic Acid. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 171: 73-121.
- Neidle S., 1997. Crystallographic insights into DNA Minor Groove Recognition by Drugs. *Biopolymers*, 44 (1): 105-121.
- Neves A., Terenzi H., Homer R., 2001. Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a Dinuclear Iron(III) Complex. *Inorganic Chemistry Communications*, 4: 388-391.
- Nucci M., Marr K. A., 2005. Emerging Fungal Diseases. *Clinical Infectious Diseases*, 41 (4): 521-526.
- Okey A. B., Harper P. A., Grant D. M., Hill P. R., 2005. Chemical and Radiation Carcinogenesis. *The Basic Science of Oncology*, 4<sup>th</sup> edition, McGraw-Hill, USA, 25-49.
- Osowole A. A., Ott I., Ogunlana O. M., 2012. Synthesis, Spectroscopic, Anticancer, and Antimicrobial Properties of Some Metal(II) Complexes of (Substituted) Nitrophenol Schiff Base. *International Journal of Inorganic Chemistry*, 6 p.

- Ölgen S., Bıçak I., Nebioğlu D., 2002. Angiogenesis ve Kanser Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 31 (3): 193-214.
- Padjama M., Pragathi J., Anupama B., Kumari C. G., 2012. Synthesis, Spectral Characterisation, Molecular Modeling, and Antimicrobial Studies of Cu(II), Ni(II), Co(II), Mn(II), and Zn(II) Complexes of ONO Schiff Base. Journal of Chemistry, 9 (4): 2145-2154.
- Palchoudhuri R. Hergenrother P.J., 2007. DNA as a Target for Anticancer Compounds: Methods to Determine the Mode of Binding and Mechanism of Action. Current Opinion in Biotechnology, 18: 497-503.
- Patil S. A., Unki S. N., Kulkarni A. D., Naik V. H., Badami P. S., 2011. Synthesis, Characterisation, *in vitro* Antimicrobial and DNA Cleavage Studies of Co(II), Ni(II) and Cu(II) Complexes with ONOO Donor Coumarin Schiff Bases. Journal of Molecular Structure, 985: 330-338.
- Patra A.K., Nethaji M., Chakravarty A.R., 2007. Synthesis, Crystal Structure, DNA Binding and Photo-induced DNA Cleavage Activity of (S-methyl-L-cysteine)copper(II) Complexes of Heterocyclic Bases. Journal of Inorganic Biochemistry, 101: 233-244.
- Paul A., Bhattacharya S., 2012. Chemistry and Biology of DNA Binding Small Molecules. Current Science, 102 (2): 212-231.
- Pollock, R., Morton, D. L., 2003. Principles of Surgical Oncology. Cancer Medicine (6<sup>th</sup> ed.). Ontario, USA. 569-583 p.
- Pommier Y., Diasio R. B., 1996. Pharmaceutical and Therapeutics Agents That Targets DNA Replication. In: DePamphilis ed. DNA Replication in Eucaryotic Cells (2<sup>nd</sup> ed). Cold Spring Harbor Press, 1-28 p.
- Pouryasın Z., Yousefi R., Nabavizadeh S. M., Rashidi M., Hamizadeh P., Alavianmehr M. M., Moosavi-Movadehi A. A., 2014. Anticancer and DNA Binding Activities of Platinum(IV) Complexes: Importance of Leaving Group Departure Rate. Applied Biochemistry and Biotechnology, 172 (5): 2604-2617.
- Prabhakaran R., Kalaivani P., Huang R., Poornima P., Vijaya Padma V., Dallemer F., Natarajan K., 2012. DNA Binding, Antioxidant, Cytotoxicity (MTT Lactate

- Dehydrogenase, NO), and Cellular Studies of Structurally Different Nickel(II) Thiosemicarbazone Complexes: Synthesis, Spectroscopy, Electrochemistry, and X-Ray Crystallography. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 18: 233-247.
- Pradeepa S. M., Naik H. S. B., Kumar B. V., Priyadarsini K. I., Barik A., Jayakumar S., 2015. Synthesis and Characterisation of Cobalt(II), Nickel(II) and Copper(II)-based Potential Photosensitizers: Evaluation of Their DNA Binding Profile, Cleavage and Phototoxicity. *Inorganica Chimica Acta*, 428: 138-146.
- Pratviel G. Bernadou J., Meunier B., 1995. Carbon-Hydrogen Bonds of DNA-Sugar Units as Targets for Chemical Nucleases and Drugs. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 34 (7): 746-769.
- Pratviel C., Bernardou J., Meunier B., 1998. DNA and RNA Cleavage by Metal Complexes. *Advanced Inorganic Chemistry*, 45: 251.
- Prybylski P., Huczynski A., Brzezinski B., Bartl F., 2009. Biological Properties of Schiff Bases and Azo Derivatives of Phenols. *Current Organic Chemistry*, 13 (2): 124-148.
- Qiao X., Ma Z. Y., Xie C. Z., Xue F., Zhang Y. W., Xu J. Y., Qiang Z. Y., Lou J. S., Chen G. J., Yang S. P., 2011. Study on Potential Antitumor Mechanism of a Novel Schiff Base Copper (II) Complex: Synthesis, Crystal Structure, DNA Binding, Cytotoxicity and Apoptosis Induction Activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105: 728-737.
- Raman N., Dhaveethu Raja J., Sakthivel A., 2007. Synthesis, Spectral Characterization of Schiff Base Transition Metal Complexes: DNA Cleavage and Antimicrobial Activity Studies. *Journal of Chemical Sciences.*, 119 (4): 303-310.
- Rehman S. U., Sarwar T., Husain M. A., Ishki H. M., Tabish M., 2015. Study Non-Covalent Drug-DNA Interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 576: 49-60.
- Rice L. B., 2006. Unmet Medical Needs in Antibacterial Therapy. *Biochemical Pharmacology*, 71 (7): 991-995.
- Roberts R. A., James N. H., Cosulich J. S., Hasmall S. C., 2001. Role of Cytokines in Non-genotoxic Hepatocarcinogenesis: Cause or Effect?. *Toxicology Letters*, 120: 301-306.
- Sağlık Bakanlığı, 2004. Antineoplastik (Sitotoksik) İlaçlarla Güvenli Çalışma Rehberi.

[https://www.sbn.gov.tr/icerikdosyalar/2063686233\\_antineoplastik\(sitotoksik\)\\_ilaclar\\_la\\_guvenli\\_calisma\\_rehberi.pdf](https://www.sbn.gov.tr/icerikdosyalar/2063686233_antineoplastik(sitotoksik)_ilaclar_la_guvenli_calisma_rehberi.pdf)

- Sağlık Bakanlığı, 2015. Türkiye Kanser İstatistikleri. [http://kanser.gov.tr/Dosya/ca\\_istatistik/ANA\\_rapor\\_2012sooonn.pdf](http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/ANA_rapor_2012sooonn.pdf)
- Sahu R., Thankur D. S., Kashyap P., 2012. Schiff Base: An Overview of Its Medicinal Chemistry Potential for New Drug Molecules. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 5 (3): 1763-1764.
- Sambrook J., Russel D. W., 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Sangeetha Govda K. B., Mathew B. B., Sudhamani C. N., Bhojya Naik H. S., 2014. Mechanism of DNA Binding and Cleavage. *Biomedicine and Biotechnology*, 2 (1): 1-9.
- Santini C., Pellei M., Gandin V., Porchia M., Tisato F., Marzano C., 2014. Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents. *Chemical Reviews*, 114: 815-862.
- Sathiyaraj S., Sampath K., Butcher R. J., Pallepogu R., Jayabalakrishnan C., 2013. Designing, Structural Elucidation, Comparison of DNA Binding, Cleavage, Radical Scavenging Activity and Anticancer Activity of Copper(I) Complex with 5-Dimetjyl-2-phenyl-4-[(pyridin-2-ylmethylene)-amino]-1,2-dihydro-pyrazol-3-one Schiff Base Ligand. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 64: 81-89.
- Schiff H., 1869. Über die Aldehyd und Amin Reaktionen. *Liebigs Annalen der Chemie*, 150-197.
- Schnaith L. M. T., Hanson R. S., Lawrence Q., 1994. Double-Stranded Cleavage of pBR322 by a Diiron Complex via a "Hydrolytic" Mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91: 569-573.
- Shahabadi N. Kashanian S., Darabi F., 2010. DNA Cleavage Studies of Water Soluble Cobalt(II) Complex Containing Dinitrogen Schiff Base Ligand: The Effect of Metal on the Mode of Binding. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45: 4239-4245.
- Shaikh S. A., Jayaram B., (n.d). *Drug DNA Interactions*. Supercomputing Facility for Bioinformatics and Computational Biology, Indian Institute of Technology.

<http://www.scfbio-iitd.res.in/doc/preddicta.pdf>

- Shebl M., 2014. Synthesis, Spectroscopic Characterisation and Antimicrobial Activity of Binuclear Metal Complexes of A New Asymmetrical Schiff Base Ligand: DNA Binding Affinity of Copper(II) Complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 117: 127-137.
- Shi L., Ge H. M., Tan S. H., Li H. Q., Song Y. C., Zhu H. L., Tan R. X., 2007. Synthesis and Antimicrobial Activities of Schiff Bases Derived From 5-chloro-salicylaldehyde. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42 (4): 558-564.
- Sigman D. S., Mazumder A., Perrin D. M., 1993. Chemical Nucleases. *Chemical Reviews*, 93 (6): 2295-2316.
- Silva C. M., Silva D. L., Modolo L. V. Alves R. B., Resende M. A., Martins C. V. B. Fatima A., 2011. Schiff Base: A Short Review of Their Antimicrobial Activities. *Journal of Advanced Research*, 2: 1-8.
- Silveira V. C., Luz J. S., Oliveira C. C., Graziani I., Ciriolo M. R., Ferreira M. C., 2008. Double-Strand DNA Cleavage Induced by Oxindole-Schiff Base Copper(II) Complexes with Potential Antitumor Activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102: 1090-1103.
- Silvestri C., Brodbelt J. S., 2012. Tandem Mass Spectrophotometry for Characterisation of Covalent Adducts of DNA with Anticancer Therapeutics. *Mass Spectrom Reviews*, 2: 1-20.
- Sirajuddin M., Ali S., Badshah A., 2013. Drug-DNA Interactions and Their Study by UV-Visible Fluorescence Spectroscopies and Cyclic Voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 124: 1-19.
- Snyder R. D., McNulty J., Zairov G., Ewing D. E., Hendry L. B., 2005. The Influence of N-dialkyl and Other Cationic Substituents on DNA Intercalation and Genotoxicity. *Mutation Research*, 578: 88-89.
- Snyder R. D., 2007. Assessment Of Atypical DNA Intercalating Agents in Biological and in Silico Systems. *Mutation Research*, 623: 72-82.
- Sobha S., Mahalakshmi R., Raman, N., 2012. Studies on DNA Binding Behaviour of



- Biologically Active Transition Metal Complexes of New Tetradentate  $N_2O_2$  Donor Schiff bases: Inhibitory Activity Against Bacteria. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 92: 75–183.
- Song Y., Zhong D., Luo J., Tan H., Chen S., Li P., Wang L., Wang T., 2014. Binding Characteristics and Interactive Region of 2-phenylpyrazolo[1,5-c]quinazoline with DNA. *Luminescence*, 29 (8): 1141-1147.
- Sonnesmans D. G. P., deWindt L. J., deMuinck E. D., Doevendans P. A., 2002. Methods In Molecular Cardiology: The Polymerase Chain Reaction. *Nederlands Heart Journal*, 10 (10): 412-418.
- Soto-Cerrato V., Llagostera E., Montaner B., Scheffer G. L., Perez-Thomas R., 2004. Mitochondria-Mediated Apoptosis Operating Irrespective of Multidrug Resistance in Breast Cancer Cells by the Anticancer Agent Prodigiosin. *Biochemical Pharmacology*, 68: 1345-1352.
- Stearns V., Mori T., Jacobs L. K., Khouri N. F., Gabrielson E., Yoshida T., Kominsky S. L., Huso D. L., Jeter S., Powers P., Tarpinian K., Brown R. J., Lange J. R., Rudek M. A., Zhang Z., Tsangaris T. N., Sukumar S., 2011. Preclinical and Clinical Evaluation of Intraductually Administered Agents in Early Breast Cancer. *Science Translational Medicine*, 3: 106-108.
- Strekowski L., Wilson B., 2007. Noncovalent Interaction with DNA: An Overview. *Mutation Research*, 623: 3-13.
- Stubbe J., Kozarich J. W., 1987. Mechanism of Bleomycin-Induced DNA Degradation. *Chemical Reviews*, 87: 1107-1136.
- Sundrial S., Sharma R. K., Jain R., 2006. Current Advances in Antifungal Targets and Drug Development. *Current Medicinal Chemistry*, 13 (11): 1321-1335.
- Tabassum S., Amir S., Arjmand F., Pettinari C., Marchetti F., Maschicchi N., Lupidi G., Pettinari R., 2013. Mixed-Ligand Cu(II)-Vanilin Schiff Base Complexes; Effect of Coligands on Their DNA Binding, DNA Cleavage, SOD Mimetic and Anticancer Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 60: 216-232.
- Takenaka S., Takagi M., 1999. Treading Intercalators as a New DNA Structural Probe. *Bulletin of The Chemical Society of Japan*, 72 (3): 327-337.

- Terenzi A., Male L., Ducani C., Barone G., 2013. DNA Interaction of CuII, NiII and ZnII Functionalised Salphen Complexes: Studies by Linear Dichroism, Gel Electrophoresis and PCR. *Dalton Transactions*, 42: 11220-11226.
- Uma V., Kanthimathi M., Weyhermuller T., B. U. Nair, 2005. Oxidative DNA Cleavage Mediated by a New Copper(II) Terpyridine Complex: Crystal Structure and DNA Binding Studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99 (12): 2299-2307.
- Uma V., Elango M., Nair B. U., 2007. Copper(II) Terpyridine Complexes: Effect of Substituent on DNA Binding and Nuclease Activity. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 22: 3484-3490.
- Ünver H., Boyacıoğlu B., Zeyrek C. T., Yıldız M., Demir N., Yıldırım N., Karaosmanoğlu O., Sivas H., Elmalı A., 2016. Synthesis, Spectral and Quantum Chemical Studies and its Ni(II) and Cu(II) complexes as an Anion Sensor, DNA Binding, DNA Cleavage, Anti-microbial, Anti-mutagenic and Anti-cancer Agent. *Journal of Molecular Structure*, 1125: 162-176.
- Wadler S. J., Puranik M. P., Karande N. A., Yeole, P. G., 2009. Synthesis and Biological Evaluation of Schiff Base of Dapsone and Their Derivative as Antimicrobial Agents. *International Journal of PharmTech Research*, 1 (1): 22-33.
- Wang J. C., 2002. Cellular Roles of DNA Topoisomerases: A Molecular Perspective. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3: 430-440.
- Wang D., Lippard S. J., 2005. Cellular Processing of Platinum Anticancer Drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4: 307-320.
- Wang Y., Yang Z. Y., 2005. Synthesis, Characterization and DNA-binding Properties of Three 3d Transition Metal Complexes of the Schiff Base Derived from Diethenetriamine with PMNP. *Transition Metal Chemistry*, 30: 902-906.
- Wang B., Yang Z. Y., Wang Q., Chai T., Crewdson P., 2006. Synthesis, Characterisation, Cytotoxic Activities, and DNA-Binding Properties of The La(III) Complex with Naringenin Schiff-Base. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14: 1880-1888.
- Wang Q.X., Jiao K., Liu F.Q., Yuan X.L., Sun W., 2007. Spectroscopic, Viscositic and Electrochemical Studies on DNA Interaction with a Novel Mixed Ligand Complex of Nickel(II) that Incorporates 1-Methylimidazole and Thiocyanate Groups. *Journal*

- of Biochemical and Biophysical Methods, 70: 427-433.
- Watson J. D., Crick F. H. C., 1953. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acids. *Nature*, 171: 737-738.
- Watson N., 1988. A New Revision of The Sequence of Plasmid pBR322. *Gene*, 70 (2): 399-403.
- Williams A.K., Dasiva S.C., Bhatta A., Rawal B., Liu M., Korobkova E.A., 2012. Determination of the Drug-DNA Binding Modes Using Fluorescence-Based Assays. *Analytical Biochemistry*, 422: 66-73.
- Wilson W.D., 1996. Nucleic Acids in Chemistry and Biology. In: Blackburn, G.M., Gait, M.J., Loakers, D., Williams D.M. Eds. *Reversible Interacts of Nucleic Acids with Small Molecules*. IRL Press Oxford. 342-379 p.
- Xavier A., Srividhya N., 2014. Synthesis and Study of Schiff Base Ligands. *Journal of Applied Chemistry*, 7 (11): 6-15.
- WHO (February 2015a). *World Cancer Report 2014*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
- WHO (February 2015b). *Cancer Country Profiles*. [http://www.who.int/cancer/country-profiles/tur\\_en.pdf?ua=1](http://www.who.int/cancer/country-profiles/tur_en.pdf?ua=1)
- Vijayalakshmi R., Kanthimathi M., Subramanian V., Nair B. U., 2000. Interaction of DNA with  $[\text{Cr}(\text{Schiff base})(\text{H}_2\text{O}_2)_2]\text{ClO}_4$ . *Biochimica et Biophysica Acta*, 1475: 157-162.
- Von de Loosdrecht A. A., Beelen R. H. J., Ossenkoppele G.J., Broekhoven M. G., Langenhuisen M. M. A. C., 1994. Tetrazolium-Based Colorimetric MTT Assay to Quantitate Human Monocyte Mediated Cytotoxicity Against Leukemic Cells From Cell Lines and Patients With Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Immunological Methods*, 174 (1-2): 311-320.
- Yang C. T., Moubaraki B., Murray K. S., Ranford J. D., Vittal J. J., 2001. Interconversion of a Monomer and Two Coordination Polimers of a Copper(II)-Reduced Schiff Base Ligand-1,10-Phenanthroline Complex Based on Hydrogen and Coordinative Bonding. *Inorganic Chemistry*, 40 (23): 5434-5441.
- Yıldız M., Karpuz Ö., Zeyrek C. T., Boyacıoğlu B., Dal H., Demir N., Yıldırım N., Ünver

H., 2015. Synthesis, Biological Activity, DNA Binding and Anion Sensors, Molecular Structure and Quantum Chemical Studies of a Novel Bidentate Schiff Base Derived from 3,5-bis(trifluoromethyl)aniline and Salicylaldehyde. *Journal of Molecular Structure*, 1094: 148-160.

Yıldız M., Tan E., Demir N., Yıldırım N., Ünver H., Kiraz A., Mestav B., 2015. Synthesis and Spectral, Antimicrobial, Anion Sensing and DNA Binding Properties of Schiff Base Podants and Their Metal Complexes. *Russian Journal of General Chemistry* 85 (9): 2149-2162.

Zhou X.-Q., Li Y., Zhang D.-Y., Nie Y., Li Z.-J., Gu W., Liu X., Tian J.-L., Yan S.-P., 2016. Copper Complexes Based on Chiral Schiff Base Ligands. DNA/BSA Binding Ability, DNA Cleavage Activity, Cytotoxicity and Mechanism of Apoptosis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 114: 244-256.

<http://www.chemtube3d.com/solidstate/BC-27-3.htm>

<http://molbioph.niif.spbu.ru/en/взаимодействие-молекулы-днк-с-синтет/>

## **ÖZGEÇMİŞ**

### **KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : Nuray YILDIRIM

Doğum Yeri : Borçka

Doğum Tarihi : 15.09.1984

### **EĞİTİM DURUMU**

Lisans Öğrenimi : Selçuk Üniversitesi/ Fen Fakültesi /Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Selçuk Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü/  
Biyoloji A.B.D.

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### **BİLİMSEL FAALİYETLERİ**

#### a) Yayınlar -SCI -Diğer

Ünver H., Boyacıoğlu B., Zeyrek C. T., Yıldız M., Demir N., Yıldırım N., Karaosmanoğlu O., Sivas H., Elmalı A., 2016. Synthesis, Spectral and Quantum Chemical Studies and its Ni(II) and Cu(II) complexes as an Anion Sensor, DNA Binding, DNA Cleavage, Anti-microbial, Anti-mutagenic and Anti-cancer Agent. Journal of Molecular Structure, 1125: 162-176.

Yıldız M., Tan E., Demir N., Yıldırım N., Ünver H., Kiraz A., Mestav B., 2015. Synthesis ana Spectral, Antimicrobial, Anion Sensing and DNA Binding Properties of Schiff Base Podants and Their Metal Complexes. Russian Journal of General Chemistry 85 (9): 2149-2162.

Yıldız M., Karpuz Ö., Zeyrek C.T., Boyacıoğlu B., Dal H., Demir N., Yıldırım N., Ünver H., 2015. Synthesis, Biological Activity, DNA Binding and Anion Sensors, Molecular Structure and Quantum Chemical Studies of a Novel Bidentate Schiff Base Derived From 3,5-Bis(Triflouromethyl)Aniline and Salicylaldehyde. Journal of Molecular Structure, 1094: 148-160.

#### b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

Demir N., Yıldız M., Yıldırım N., Ünver H., Zeyrek C.T., 2015. Antimicrobial Activity,

- DNA Binding and DNA Cleavage, Quantum Chemical Studies and Sensing Applications of (E)-2-[(3,5-bis(trifluoromethyl)phenylimino)methyl]-4-chlorophenol. 2.İVEK Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, İstanbul, TÜRKİYE. 27-29 Kasım 2015. 201-201 p.
- Yıldırım N., Demir N., Tan E., Yıldız M., 2015. Bis(İmino) Polieter Bileşiklerinin Biyolojik Aktivite ve DNA'ya Bağlanma Özelliklerinin Araştırılması. 27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale, TÜRKİYE, 23-28 Ağustos 2015. 233-233 s.
- Yıldırım N., Demir N., Yıldız M., Ünver H., 2015. (E)-2[(3,5-Bis (Triflorometil) Fenilimino)Metil]-4-Klorofenol'ün Antimikrobiyal, Kolorometrik Sensor ve DNA'ya Bağlanma Özellikleri. 27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale, TÜRKİYE, 23-28 Ağustos 2015. 226-226 s.
- Yıldız M., Yıldırım N., Demir N., Ünver H., Boyacıoğlu B., Zeyrek C.T., 2015. Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activity and DNA Binding Studies of a Schiff Base. 2.İVEK Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, İstanbul, TÜRKİYE, 27-29 Kasım 2015. 157-157 p.
- Yıldırım N., Demir N., Yıldız M., Ünver H., Boyacıoğlu B., Zeyrek C.T., 2015. Synthesis, Theoretical, Antimicrobial Activity, DNA Binding and DNA Cleavage Studies of (E)-3-((3,5-bis(trifluoromethyl)phenylimino)methyl)benzene-1,2-diol. 2.İVEK Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, İstanbul, TÜRKİYE, 27-29 Kasım 2015. 209-209 p.
- Yıldırım N., Demir N., Yıldız M., Geren E., 2015. Determination of Antimutagenic, DNA Binding and DNA Cleavage Properties of an Imine Compound", 2.İVEK Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, İstanbul, TÜRKİYE, 27-29 Kasım 2015. 195-195 p.
- Yıldırım N., Demir N., Yıldız M., 2015. Bazı Schiff Bazı ve Komplekslerinin Sentezi, DNA'ya Bağlanma Etkilerinin ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir, TÜRKİYE, 23-27 Haziran 2014, 705-705 s.
- Yıldız M., Karpuz Ö., Zeyrek C.T., Boyacıoğlu B., Dal H., Demir N., Yıldırım N., 2014. Synthesis, Biological Activity, Crystal Structure and Quantum Chemical Studies of a Novel Bidentate Schiff Base Derivate from 3,5 Bis(Trifluoromethyl) Aniline and Salicylaldehyde. Molecular Modeling in Chemistry and Biochemistry, Cluj-Napoca,

ROMANIA, 13-14 Kasım 2014, 68-69 p.

b) Katıldığı Projeler

Demir N., Yıldırım N., Bazı Schiff Bazları ve Komplekslerinin DNA'ya Bağlanma Özellikleri ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi. ÇOMÜ-BAP Doktora, 2015-307.

Ünver Ü., Boyacıoğlu B., Yıldız M., Demir N., Yıldırım N., Sensör Özelliği Gösteren, Yapılarında Flor Atomu Bulunan Ligandların ve Bunların Metal Komplekslerinin Sentezi, Moleküler Yapıları, Spektroskopik ve Doğrusal Olmayan Optik Özellikleri ile Elektronik Yapılarının, Deneysel ve Kuantum Mekaniksel Yöntemlerle İncelenmesi. TÜBİTAK Projesi, 3001-Başlangıç AR-GE, 115F253.

**İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu /  
2009- devam ediyor

**İLETİŞİM**

E-posta Adresi : nurayyildirim@comu.edu.tr