

T.C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI SCHIFF BAZLARI VE Mn(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II)
KOMPLEKSLERİNİN NÜKLEOLİTİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Hülya AĞIR

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Cemal SANDALLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2011

T.C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI SCHIFF BAZLARI VE Mn(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II)
KOMPLEKSLERİNİN NÜKLEOLİTİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Hülya AĞIR
YÜKSEK LİSANS

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09 / 06 / 2011
Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 29 / 06 / 2011
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Cemal SANDALLI

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Cemal SANDALLI

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Kerim SERBEST

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Fatih YILMAZ



RİZE, 2011

T.C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI SCHIFF BAZLARI VE Mn(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II)
KOMPLEKSLERİNİN NÜKLEOLİTİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Hülya AĞIR
YÜKSEK LİSANS

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09 / 06 / 2011
Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 29 / 06 / 2011
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Cemal SANDALLI

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Cemal SANDALLI

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Kerim SERBEST

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Fatih YILMAZ

RİZE, 2011

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programında yapılmış ve RÜBAP-2009.102.03.2 No.lu proje tarafından desteklenmiştir.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında hoşgörüsünü esirgemeyen, ilgisini ve desteğini daima hissettiğim, mesleki bilgi ve tecrübeleriyle eğitimimde ve çalışmalarımda beni yönlendiren değerli hocam, Yrd. Doç. Dr. Cemal SANDALLI' ya saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen sevgili arkadaşım Arş. Gör. Azer ÖZAD'a, Arş. Gör. Kaan KARAOĞLU ve Arş. Gör. Talat BARAN'a, bana bu bilimi sevdiren Biyoloji Öğretmenim Güliz AKÇAY'a, tüm yönleriyle takdir ettiğim ve örnek aldığım lisans hocalarım Prof. Dr. Fazıl ÖZEN ve Prof. Dr. Feray KÖÇKAR'a, lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve desteklerini aldığım bütün hocalarıma ayrıca teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca benden desteklerini esirgemeyen aileme saygı ve şükranlarımı sunarım.

Hülya AĞIR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Nükleik Asitlerin Yapı Elemanları ve Özellikleri.....	2
1.3. DNA-Protein Etkileşimleri ve Nükleolitik Enzimler.....	6
1.3.1. Nükleazlar.....	6
1.3.2. DNA Polimerazlar.....	7
1.3.3. Doğal Nükleolitik Moleküller	8
1.4. DNA ile Küçük Moleküllerin Tersinir Etkileşimleri	9
1.4.1. Dış Elektrostatik Etkileşimler.....	11
1.4.2. Oluğa Bağlanma Etkileşimleri.....	13
1.4.3. İnterkalasyon Etkileşimleri.....	14
1.5. Sentetik Kimyasal Nükleazlar.....	16
1.5.1. Schiff Bazları.....	21
1.5.1.1. Triazol ve Türevleri.....	24
1.5.1.2. Schiff Bazı-Metal Komplekslerinin Biyokimyasal Önemi.....	25

1.6.	Çalışmanın Bilimsel ve Pratik Önemi.....	26
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	27
2.1.	Materyaller	27
2.1.1.	İncelenen Schiff Bazları	27
2.1.2.	DNA Substratlarının Hazırlanması.....	32
2.1.3.	Schiff Bazları Sentezi ve Solüsyonlarının Hazırlanması.....	33
2.1.4.	Tampon Çözeltilerin Hazırlanması.....	33
2.1.5.	Agaroz Jelde Görüntü.....	33
2.2.	Çeşitli Parametrelerin Aktivite Üzerine Etkisi.....	34
2.2.1.	pH'nın Nükleolitik Aktivite Üzerine Etkisinin Araştırılması	34
2.2.2.	Sıcaklığın Nükleolitik Aktivite Üzerine Etkisinin Araştırılması.....	34
2.2.3.	Madde Konsantrasyonunun Nükleolitik Aktiviteye Etkisinin Araştırılması....	35
2.2.4.	Reaksiyon Süresinin Nükleolitik Aktivite Üzerine Etkisinin Araştırılması....	35
3.	BULGULAR.....	36
3.1.	Komplekslerin Nükleolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	36
3.2.	Nükleolitik Aktivite Gösteren Komplekslerin Karakterize Edilmesi.....	38
3.2.1.	pH'ya Bağlı Aktivitenin İncelenmesi.....	38
3.2.2.	Sıcaklığa Bağlı Aktivitenin İncelenmesi.....	41
3.2.3.	Madde Konsantrasyonuna Bağlı Aktivitenin İncelenmesi.....	47
3.2.4.	Reaksiyon Süresine Bağlı Aktivitenin İncelenmesi.....	51
4.	TARTIŞMA.....	55
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	56
	KAYNAKLAR	62
	ÖZGEÇMİŞ	66

ÖZET

Daha önce yapılan çalışmalarda bazı Schiff bazları ve iki değerlikli metallere sentezlenen komplekslerin DNA zincirleri üzerinde nükleolitik aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu aktivite aynı zamanda anti-tümör, anti-fungal ve anti-bakteriyel etkilere sebep olur.

Bu çalışmada; Schiff bazı olarak amino triazol, etanol amin, glisin ve fenil aminoasitlerinin ligandları ile iki değerlikli metal olarak Ni(II), Zn(II), Cu(II) ve Mn(II) metalleri kullanılarak yeni sentezlenen 20 adet Schiff bazı metal kompleksinin dairesel DNA'yı parçalayabilme yeteneklerinin olup olmadığı, bu etkileşimin metal iyonuna, etkileşim periyoduna ve çeşitli ortam şartlarına bağlı olup olmadığı, DNA parçalama işlemlerinde bir seçiciliklerinin (kırık ya da lineer form oluşturmak gibi) olup olmadığı incelenmiştir. Sonuç olarak bazı komplekslerin nükleaz mimiği olabileceği tespit edilmiş ve bu komplekslerle ilgili farklı nükleolitik aktiviteler için gerekli çalışma şartları optimize edilmiştir.

Bu amaçla; dairesel DNA kaynağı olarak *E.coli* DH5 α hücrelerinden pUC18 plazmiti kullanıldı. Yeni sentezlenen 20 adet Schiff bazı-metal kompleksi [1) ATR-Ni, 2) Fenil-Cu, 3)ETA-Cu₄, 4) Gli, 5) ETA, 6) ETA-Cu, 7) ETA-Zn, 8) Fenil, 9) Gli-Mn, 10) ATR-Zn, 11) ATR-Mn, 12) Gli- Ni, 13) Gli-Cu, 14) Fenil-Ni, 15) Fenil-Zn, 16) Gli-Zn, 17) ATR-Cu,18) Fenil-Mn, 19) ATR, 20)ETA-Ni] DMSO'da çözülerek 1 mM'lık solüsyonlar hazırlandı. Reaksiyonlarda tampon çözelti KHPO₄ (pH: 5.0-7.5) ve Tris-Base (pH: 8.0-10.0) kullanıldı. Kompleks, plazmit DNA, tampon çözelti ve su ile hazırlanan reaksiyon ortamına pH, sıcaklık, konsantrasyonu ve reaksiyon süresinin etkisi incelendi. Komplekslerin 10 tanesinde farklı özelliklerde nükleolitik aktivite saptandı.

Elde edilen sonuçlar çalışılan 20 kompleksten 10 tanesinin nükleolitik aktivite gösterdiğini ortaya koyar. ATR-Ni ve TE-ETA-Ni kompleksleri belirlenen ortam şartlarında nükleaz mimiği olarak önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Nükleolitik aktivite, Schiff bazı, interkalasyon, kimyasal nükleazlar

ABSTRACT

Determination of Nucleolytic Activities of Some Schiff Bases and Mn(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) Complexes

In recent studies, it has been determined that complexes, synthesized by some Schiff bases and divalent metals, show nucleolytic activity on DNA strand. This activity also provide antitumour, antifungal and antibacterial effects.

In this study; it has been examined that newly synthesized Schiff bases and their complexes, whether have ability of circular DNA hydrolysis, depend on metal ion, interaction period or a variety of conditions, have selectivity for circular DNA hydrolysis (for example create nicked or linear form). As a result, it has been determined that some of these 20 complexes can be mimic of nuclease and studied conditions have been optimised for different nucleolytic activities for these complexes.

For the purpose of this study; we used pUC18 plasmid DNA, that have been isolated from *E.coli* DH5 α cells, as circular DNA source. 1mM concentration of solutions of newly synthesized 20 Schiff base-metal complexes [1) ATR-Ni, 2) Fenil-Cu, 3) ETA-Cu₄, 4) Gli, 5) ETA, 6) ETA-Cu, 7) ETA-Zn, 8) Fenil, 9) Gli-Mn, 10) ATR-Zn, 11) ATR-Mn, 12) Gli- Ni, 13) Gli-Cu, 14) Fenil-Ni, 15) Fenil-Zn, 16) Gli-Zn, 17) ATR-Cu, 18) Fenil-Mn, 19) ATR, 20)ETA-Ni] have been prepared by solving in DMSO. KHPO₄ (pH: 5.0-7.5) ve Tris-Base (pH: 8.0-10.0) are used as buffer in reaction. It has been investigated that effects of pH, temperature, concentration and reaction time on medium of reaction, prepared by using complex, DNA, buffer and water. It has been detected that 10 of these complexes have different nucleolytic activity.

The results obtained prove that 10 of these complexes show nucleolytic activity. The complexes ATR-Ni and ETA-Ni have been suggested as mimic of nuclease.

Key words: Nucleolytic activity, schiff base, intercalation, chemical nucleases.

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin
Aa	Amino asit
Amp	Ampisilin
Atm	Atmosfer
ATP	Adenozin trifosfat
ATR	Triazol amin
bp	Baz çifti
C	Sitozin
°C	Derece
CaCl ₂	Kalsiyum klörür
Cu	Bakır
dCTP	Deoksisitidin trifosfat
dGTP	Deoksiguanozin trifosfat
ddATP	Dideoksiadenin trifosfat
dd H ₂ O	Çift distile su
ddCTP	Dideoksisitidin trifosfat
ddGTP	Dideoksiguanidin trifosfat
ddNTP	Dideoksinükleotit trifosfat
DMSO	Dimetilsulfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleozit trifosfat
dUTP	Deoksiurasil trifosfat
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EcoRI	Nukleaz sınıfı bir enzim
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ETA	Etanol Emin
G	Guanin
Gli	Glisin
h	Saat

Hpa1	Nukleaz sınıfı bir enzim
IPTG	izopropiltiyo-b-galaktozid
K	Potasyum
KCl	Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	Potasyum Fosfat
L	Litre
LB	Lauria-Bertani
LBA	Lauria-Bertani agar
m	Dakika
mM	Milimolar
Mg	Magnezyum
mL	Mililitre
Mn	Manganez
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klörür
NaOH	Sodyum hidroksit
NC	Negatif Kontrol (Negative Control)
Ni	Nikel
nm	Nanometre
OD	Optik yoğunluk (Optic Density)
PAGE	Poliakrilamidjelelektroforezi
pol	Polimeraz
ppi	Pirofosfat
PC	Pozitif Kontrol (Positive Control)
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
RE	Restriksiyon enzimi
rpm	Dakikadaki dönüş sayısı
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozomal Ribonükleik asit
tRNA	Taşıyıcı Ribonükleik asit
SDS	Sodyum dodesil sülfat

T	Timin
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TAE	Tris-asetik asit-EDTA
Tris	Tris(hidroksimetil)aminometan
Zn	Çinko
X-Gal	5-Bromo-4-kloro-3-indol-b-D-galaktozid
Å	Angstrom
α	Alfa
β	Beta
λ	Lamda
M	Metal
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
Σ	Sigma

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. DNA ve RNA nükleotitlerinin genel yapısı.....	3
Şekil 2. DNA ve RNA'da bulunan purin ve pirimidin bazlarının kimyasal yapıları...3	3
Şekil 3. Bir RNA zincirinin küçük bir parçası	4
Şekil 4. DNA molekülünün çift zincirli sekonder yapısı.....	5
Şekil 5. <i>EcoRI</i> (A) ve <i>HpaI</i> (B) tarafından DNA sarmalının zincirlerinin karşılıklı olarak ve spesifik nükleotitlerden tanınması ve zıt yönde parçalanmasının şematik gösterimi	7
Şekil 6. DNA ile küçük moleküllerin etkileşim türlerinin şematik gösterilişi.....	10
Şekil 7. Çeşitli türden etkileşimlerle DNA'ya bağlabilen moleküller	10
Şekil 8. Bazı Sentetik kimyasal nükleazların yapıları.....	18
Şekil 9. Plazmid DNA'nın formları.....	21
Şekil 10. Schiff bazının oluşum mekanizması	22
Şekil 11. Triazolün türevleri ve biyokimyasal yapıları.....	25
Şekil 12. Amino triazol ligandının Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal komplekslerinin biyokimyasal yapısı.....	29
Şekil 13. Etanol amin ligandının Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal komplekslerinin biyokimyasal yapısı.....	30
Şekil 14. Etanol amin ligandının Cu ₄ metal kompleksinin biyokimyasal yapısı.....	29
Şekil 15. Fenil ligandının Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal komplekslerinin biyokimyasal yapısı.....	30
Şekil 16. Glisin ligandının Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal komplekslerinin biyokimyasal yapısı.....	31
Şekil 17. TE-MA-Cu bileşiğinin biyokimyasal yapısı	31
Şekil 18. pUC18 plazmitinin şematik gösterimi	32
Şekil 19. Değişik konsantrasyonlarda pUC18 plazmitinin agaroz jel görüntüsü, pUC18 plazmitinin <i>HindIII</i> restriksiyon endonükleaz kesimi.....	34
Şekil 20. pH: 5.0 – 10.0 arasında değişen pH aralıklarda çalışmada kullanılan tüm maddelerin nükleolitik aktivitelerinin araştırılmasının agaroz jel analizi.....	37

Şekil 21.	Nükleolitik aktivite gösteren komplekslerin pH: 5.0-10.0 arasındaki etkinliğinin agaroz jel analizi	39
Şekil 22.	Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da, 22°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi	42
Şekil 23.	Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da, 37°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi	43
Şekil 24.	Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da, 50°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi	44
Şekil 25.	Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da, 60°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi	45
Şekil 26.	Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da, 70°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi	46
Şekil 27.	ATR ve ETA ligandlı Ni(II) komplekslerinin madde konsantrasyonuna bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi	48
Şekil 28.	ATR, ETA, Fenil ve Gli ligandlarının Cu(II) komplekslerinin madde konsantrasyonuna bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi	50
Şekil 29.	Fenil ve Gli ligandlı Zn(II) komplekslerinin madde konsantrasyonuna bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi	51
Şekil 30.	ATR ligandının madde konsantrasyonuna bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi.....	51
Şekil 31.	ATR ve ETA ligandlarının Ni(II) komplekslerinin reaksiyon süresine bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi	52
Şekil 32.	ATR, ETA, Fenil ve Gli ligandlarının Cu(II) komplekslerinin reaksiyon süresine bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi	53
Şekil 33.	Fenil ve Gli ligandlarının Zn(II) ile yaptığı komplekslerin reaksiyon süresine bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi	54
Şekil 34.	ATR ligandının reaksiyon süresine bağlı nükleolitik aktivitesini agaroz jel analizi.....	54

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Schiff bazı-metal bileşiklerinin isimlendirmesi ve numaralandırması.....	28
Tablo 2. pH'ya bağımlı kırık form DNA oluşturma yüzdeleri.....	57
Tablo 3. pH'ya bağımlı DNA hidrolizine etki yüzdeleri.....	57
Tablo 4. Sıcaklığa bağımlı kırık form DNA oluşturma yüzdeleri.....	58
Tablo 5. Sıcaklığa bağımlı DNA hidrolizi yüzdeleri.....	58
Tablo 6. Madde konsantrasyonuna bağımlı kırık form DNA oluşturma yüzdeleri....	59
Tablo 7. Madde konsantrasyonuna bağımlı DNA hidrolizi yüzdeleri.....	59
Tablo 8. Reaksiyon süresine bağımlı kırık form DNA yüzdeleri.....	60
Tablo 9. Reaksiyon süresine bağımlı DNA hidrolizi yüzdeleri.....	60
Tablo 10. Komplekslerin optimum reaksiyon verdiği parametreler	62

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

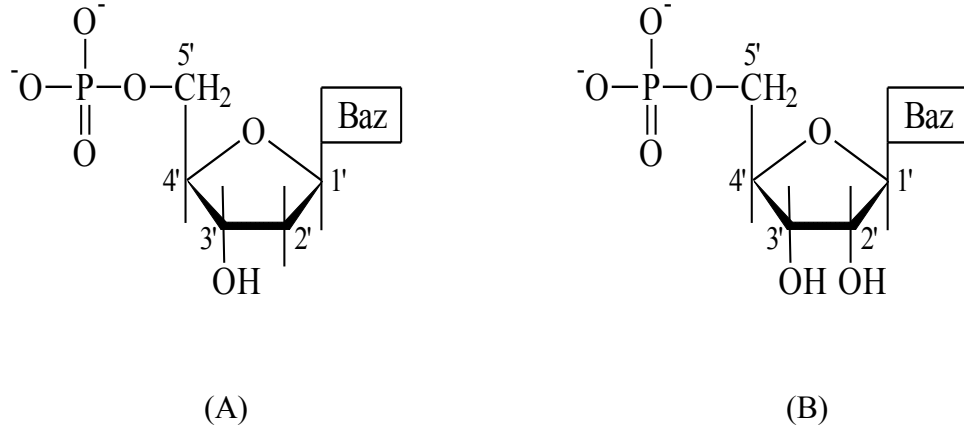
Yaklaşık son 20 yıl içinde deoksiribonükleik asit (DNA) makromolekülü ile hücre proteinlerinin genetik bir program dahilinde nasıl bir iletişim kurdukları konusu üzerine ilgi oldukça artmıştır. Pek çok proteinin nükleik asitlerle kovalent olmayan yollarla etkileştikleri bilinmektedir. Kalıtım ve genetik bilginin seçimli bir şekilde okunması için gerekli olan proteinlerin DNA ile etkileşimleri oldukça dizi-bağımlıdır. Bu dizi-bağımlı etkileşimler ise polipeptit zinciri ile DNA molekülünün küçük (minor) ve büyük (major) oluklarındaki baz çiftlerinin dışarı doğru uzanan kısımları arasında doğrudan temas ile gerçekleşirler (Papavassiliou, 1995). DNA moleküllerinin proteinlerle olan teması, DNA'da mevcut olan nükleotit dizisine de bağımlı olmak üzere hidrojen bağı, Van der Waals, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler gibi kovalent olmayan etkileşimlerle sağlanır. Proteinlerle bu türden doğrudan etkileşimlere bağlı olarak DNA zincirlerinde bükülme veya eğilme olarak tanımlanan çeşitli konformasyonel değişimler gerçekleşir (Lehninger vd., 1993). Proteinlerle etkileşimlerinin bir sonucu olarak nükleik asitler üzerinde gerçekleşen yapısal değişimlerin belirlenmesi protein-DNA komplekslerinin biyolojik fonksiyonlarının ve mekanizmalarının aydınlatılması açısından oldukça önem arz eder. Ancak son yıllarda DNA iskeletini doğrudan veya dolaylı olarak kırma yeteneğine sahip olan enzim gibi katalitik özellik gösteren kimyasal maddelerin geliştirilmesi ve uygulanması ile çeşitli DNA-protein sistemlerinin detaylı yapısal resimleri elde edilebilmiştir.

Nükleik asitler proteinler yanında; su, küçük organik moleküller, metal iyonları ve komplekslerini de içeren pek çok kimyasal tür ile dönüşümlü olarak etkileşirler. Bu dönüşümlü etkileşimler DNA yapı ve fonksiyonu için oldukça önemlidirler ve nükleik asitlerin çeşitli konformasyonlarının kararlı yapılması bu moleküllerle sağlanır. Dolayısıyla DNA ile etkileşen suyun konsantrasyonu, tuz konsantrasyonundaki (iyonik güç) değişimler ve organik moleküllerle etkileşimler sonucu nükleik asitlerde olağanüstü yapısal değişimler olur (Blackburn ve Gait, 1990).

Günümüzde kanser ile bazı viral hastalıklara karşı uygulanan ilaç geliştirme ve kemoterapi işlemlerinde kullanılan çeşitli ilaçlar, karsinojenler ve kompleks antibiyotikler genellikle nükleik asitlerle dönüşümlü etkileşirler. DNA ile etkileşen daunorubisin gibi doğal antibiyotikler ve mitoksantron gibi sentetik ilaçlar çeşitli kanserlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nükleik asitlerle etkileşimlerin araştırılmasında mevcut ilaçların etki şeklini anlamak ve daha etkin ilaçların geliştirilmesini sağlamak sürücü güç olmuştur. Nükleik asitleri tanıyan ilaçlar ve yüksek düzeyde dizi özgünlüğü gösteren potansiyel nükleazlar olarak sentetik oligopeptitler ve oligonükleotitlerin dizayn edilmesi oldukça ilgi çekmektedir. Küçük moleküllerle etkileşiminin basitliğinden dolayı nükleik asitlere bağlanma özgünlüğü, ligand ile indüklenmiş konformasyonel değişimler, bağlanmada kooperativitenin moleküler temeli, aromatik aminoasit yan zincirlerinin nükleik asit bazları ile etkileşimi ve diğer nükleik asit etkileşimlerinin özellikleri konusunda oldukça kapsamlı bilgiler elde edilmiştir (Barton, 1986; Blackburn ve Gait, 1990; Krugh, 1994; Kaim ve Schwederski, 1994).

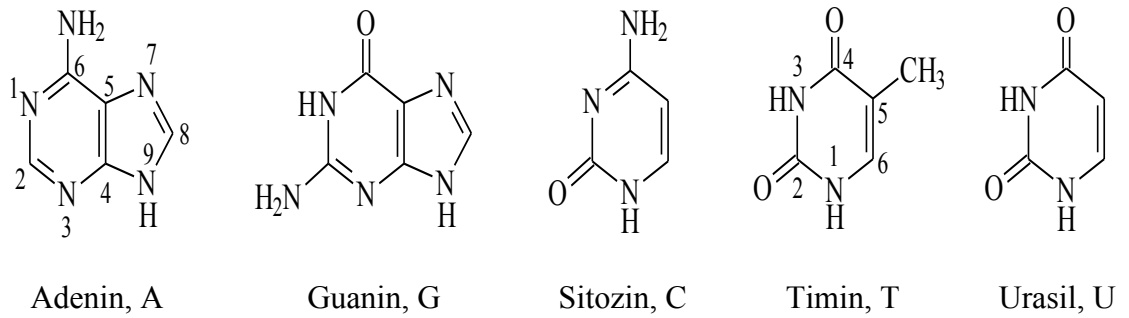
1.2. Nükleik Asitlerin Yapı Elemanları ve Özellikleri

DNA ve RNA şeklindeki nükleik asitler monomerik nükleotit ünitelerinden oluşturulan lineer polimerik makromoleküllerdir. Bir nükleotit üç bileşenden oluşur. Bunlar; bir purin veya pirimidin türevi olan azot içeren bir baz, bir pentoz şekeri ve bir veya birden fazla fosfat grubudur. Bu polimerik yapılarda heterohalkalı purin veya pirimidin bazları, bir fosfat veya polifosfat grubuna fosfoester köprüsü ile bağlı bir pentoz şekerine bir glikozil bağı ile bağlıdır (Şekil 1) (Lehninger vd., 1993).



Şekil 1. DNA ve RNA nükleotitlerinin genel yapısı. A) Deoksiribonükleozit 5'-monofosfat (DNA'nın monomerik ünitesi), B) Ribonükleozit 5'-monofosfat (RNA'nın monomerik ünitesi) (Lehninger vd., 1993).

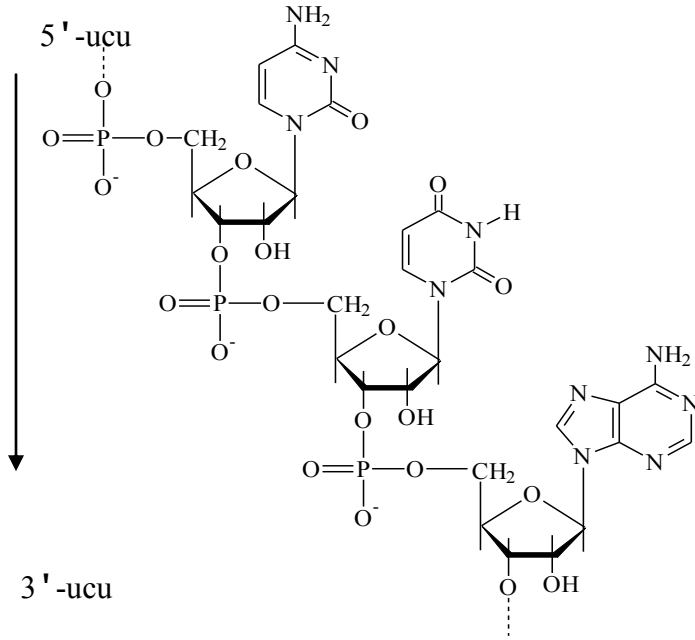
Azot içeren purinler adenin (A) ve guanin (G) iken, pirimidinler ise sitozin (C), timin (T) ve urasil (U)'dir (Şekil 2). DNA molekülleri bu bazlardan adenin, guanin, sitozin ve timini; RNA molekülleri ise adenin, guanin, sitozin ve urasili içerir. Bu bazlar nükleik asitlerdeki temel bazlar olmasına rağmen bazı mikroorganizma, bakteri ve virüs transfer RNA (tRNA) moleküllerinde az miktarlarda da olsa bazı purin ve pirimidin türevleri bulunmaktadır.



Şekil 2. DNA ve RNA'da bulunan purin ve pirimidin bazlarının kimyasal yapıları

Nükleik asitlerin primer yapısı nükleotit sırası ve nükleotit monomerlerin 5' → 3' yönünde kovalent bağlarla birbirine bağlanmaları ile oluşur. Primer yapıdaki kovalent fosfodiester bağları ard arda gelen nükleotidleri birbirine bağlar. Spesifik olarak bir nükleotit birimindeki 5'- fosforil grubu bir sonraki nükleotidin 3'-hidroksil grubu ile fosfodiester bağları vasıtasıyla birleştirilir (Şekil 3) (Lehninger vd., 1993).

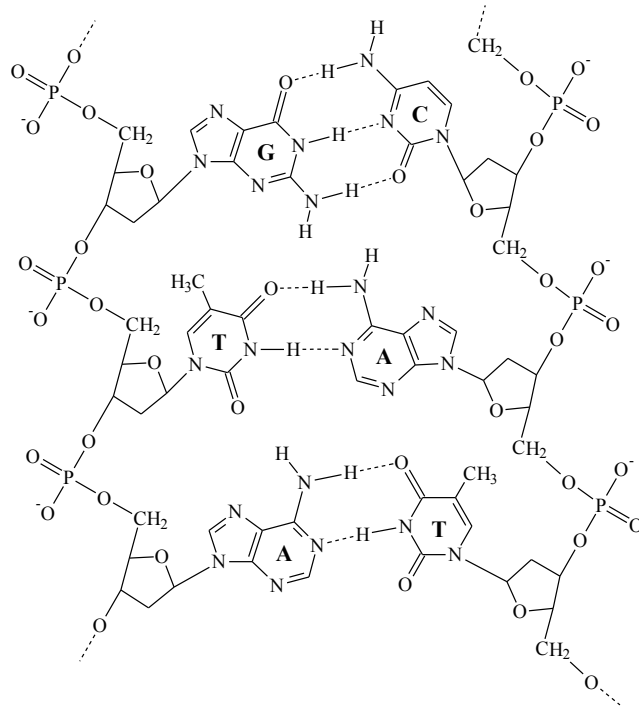
Hem DNA hem de RNA zincirlerinin şeker ve fosfat grupları hidrofiliktir. Şeker birimlerindeki hidroksil grupları su molekülleri ile hidrojen bağları oluşturur. Polar zincirdeki fosfat grupları düşük pK_a değerine sahip olduklarından pH:7'de tamamen iyonize halde bulunurlar ve negatif olarak yüklenirler. Bu negatif yükler özellikle proteinlerin, metal iyonlarının ve poliaminlerin pozitif yükleri ile iyonik etkileşimler yaparak nötralleşirler (Lehninger vd., 1993).



Şekil 3. Bir RNA zincirinin küçük bir parçası (Lehninger vd., 1993).

Sekonder yapının meydana gelmesinde baz eşleşmeleri en büyük etkidir. DNA moleküllerinde birbirleriyle eşleşen bazlar, A=T ve G≡C çiftleridir (Şekil 4). Purin ve pirimidin halkaları aromatik ve düzlemsel yapıya sahip olduklarından baz eşleşmesi

ile meydana gelen sistemin de tümü düzlemseldir. Bazların arasındaki hidrojen bağlarının uzunluğu yaklaşık 0.30 nm'dir. Burada oluşan hidrojen bağları, diğer bileşiklerin verdikleri hidrojen bağlarından daha karardır. Sisteme azot atomlarından bağlanan riboz halkaları da düzlemseldir. Ancak riboz halka düzlemi ile hidrojen bağlı eşleşmiş baz düzlemi arasında yaklaşık 90°'lik açı vardır. Yani bu iki düzlem yaklaşık olarak birbirlerine diktir (Lehninger vd., 1993).



Şekil 4. DNA molekülünde uygun bazların birbirleri ile hidrojen bağı yapması sonucu oluşan çift zincirli sekonder yapı (Lehninger vd., 1993).

Birbirleri ile hidrojen bağlarıyla eşleşen purin ve pirimidin bazları ise sarmalın iç kısmında, sarmalın uzun eksenine dik bir düzlem üzerinde ve her bir eşleşmiş baz çifti birbiri üzerine istiflenmiş olarak düzenlenirler. Böyle bir istiflenme ise eşleşmiş bazların kuvvetli Van der Waals etkileşimleri yapmalarını sağlar. Ayrıca, sarmalda yer alan iki zincir birbirine göre antiparalel olarak yönelmişlerdir. Bu düzende, her iki zincirdeki purin ve pirimidin bazları aralarındaki hidrojen bağları ile bir arada tutulurlar ve birbirine bağlı bu iki DNA iplikçığı uzayda sağ-sarmal şeklinde bükülmüştür. Diğer DNA türleri de (A-DNA ve Z-DNA) bulduktan sonra bu DNA yapısına B-DNA

denilmiştir. İki sarmal iplik DNA omurgasını oluşturur. Bu iplikler arasındaki boşluklar takip edilerek iki tane hayali boşluk veya oyuk daha bulunabilir. Bu oyular baz çiftlerine bitişiktir ve onlara bağlanmak için bir yer oluşturabilirler. Bu oyuklar birbirlerinin tam karşısında olmadıkları için büyüklükleri aynı değildir. Bunlardan büyük oyuk (majör oyuk) olarak adlandırılan 22 Å genişliğinde, küçük (minör) oyuk ise 12 Å genişliğindedir (Wing vd., 1980).

Ökaryotlarda DNA'lar nükleoproteinler halinde proteinlerle bağlanmış haldedir. Bu yapılarda RNA'lar da bulunur ve buna "kromatin" denir. Kromatinlerin oluşturduğu kuaterner yapılara "kromozom" denilir ve nükleusta bulunur. Prokaryotlarda ise DNA çift sarmalı küçük bir RNA üzerine sarılmış ve bir ucundan hücre membranına bağlanmış durumdadır ve belirli bir düzene sahip olmaksızın sitoplazmada bulunur.

1.3. DNA-Protein Etkileşimleri ve Nükleolitik Enzimler

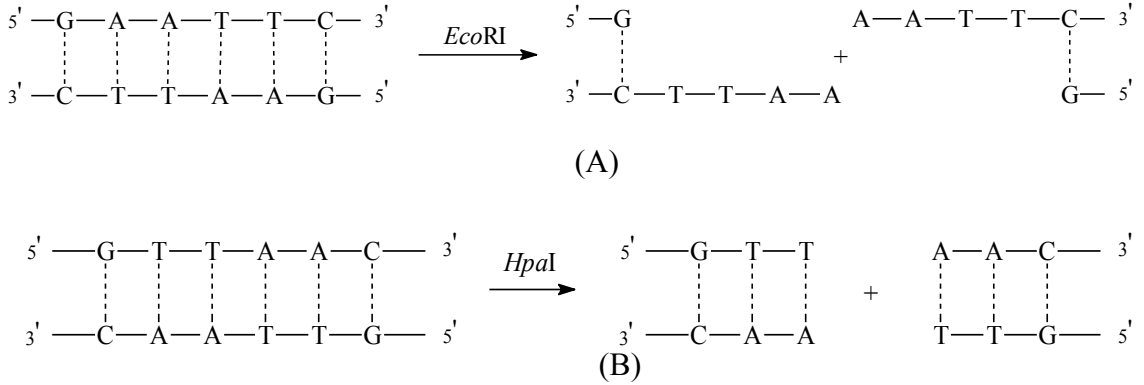
DNA ile özel olarak etkileşen proteinler genellikle genetik bilginin replikasyonu ve ekspresyonunda rol oynadıklarından oldukça önemlidirler. Bu proteinlerden pek çoğu DNA üzerinde A, T, C ve G şeklindeki dört nükleotidin özel dizileri ile tanımlanan çok özel bölgelere bağlanırlar.

Çift sarmallı DNA zincirinin tersiyer yapısındaki bir dizisinin proteinler dahil diğer moleküller tarafından tanınabilmesi sarmal boyunca yer alan büyük ve küçük oluklarda baz çiftlerinin organizasyonu ile sağlanır. Sarmalın özellikle büyük oluğundaki eşleşmiş nükleotitlerin sadece dış yüzeye bakan kısımları çözücü ve proteinle karşı karşıya gelir. Bu bölgelerde nükleotitler birbirlerinden esasen içerdikleri polar gruplarla ayırt edilirler. Her bir baz çiftinin bu dışa yönelik kısımları bir proteinin tanıyabileceği grupların farklı bir düzenini sağlar ve bu gruplar komplementer baz eşleşmesinde kullanılmazlar (Lehninger vd., 1993).

1.3.1. Nükleazlar

Nükleik asitlerle etkileşip parçalayabilme yeteneği olan enzimlere "nükleaz" adı verilir. Nükleazlar çeşitli şekilde sınıflandırılabilirler. Deoksiribonükleik asitleri spesifik olarak hidroliz eden nükleazlara deoksiribonükleazlar, ribonükleik asitleri spesifik olarak hidroliz edenlere ise ribonükleazlar denir. Bu her iki sınıfta ya 3'-hidroksil ve

5'-fosforil uçlarını veya 5'-hidroksil ve 3'-fosforil uçlarını oluşturmak için internal fosfodiester bağlarını parçalayabilen enzimler mevcuttur. Bunlara “endonükleazlar” denir. Bazı nükleazlar çift sarmalın her iki zincirini de hidroliz edebilirken, bazıları da nükleik asitlerin sadece bir tek zincirini hidroliz edebilir. DNA molekülündeki spesifik zincirleri ya da zincirin spesifik bölgelerini tanıyan endonükleazlar mevcuttur ve “restriksiyon endonükleazlar” olarak adlandırılan bu enzimlerin çoğu son yıllarda moleküler genetikte ve tıbbi bilimlerde önemli bir kullanım alanı bulmuştur (Winnacker, 1987). Bu enzimler birkaç nükleotit uzunluğundaki palindromik özel DNA dizilerini tanıyarak ve DNA'nın her iki zincirini de 3'-hidroksil ve 5'-fosforil uçlarını vererek ve de yapışkan uç ya da küt uç oluşturacak şekilde kırarlar. Meselâ, *EcoRI* endonükleazı, palindromik olan GAATTC dizisini (Şekil 5A) ve *HpaI* ise GTTAAC dizisini (Şekil 5B) farklı zincir uçları oluşturacak şekilde karşılıklı olarak zıt yönlerden her iki zinciri de tanıma ve diziyi karşılıklı olarak dizinin simetrik olmadan nükleotitler arasındaki fosfodiester bağını kırabilme yeteneğine sahiptirler.



Şekil 5. *EcoRI* (A) ve *HpaI* (B) tarafından DNA sarmalının zincirlerinin karşılıklı olarak ve spesifik nükleotitlerden tanınması ve zıt yönde parçalanmasının şematik gösterimi

1.3.2. DNA Polimerazlar

Bazı nükleazlar, sadece bir nükleik asit molekülü zincirinin sonunda bulunan nükleotidi hidroliz ederler ve bu enzimler “ekzonükleazlar” olarak adlandırılırlar. Ekzonükleazlar genellikle bir yönde (ya 3' → 5' ya da 5' → 3') etkindirler (Winnacker, 1987; Lehninger vd., 1993). DNA polimeraz (deoksiniükleotidiltransferaz) adı verilen

enzimler bu türden fonksiyon gösterebilmektedirler. DNA polimeraz I, polimerizasyona ilaveten iki ilave enzim aktivitesine sahiptir ve bunlar 3'→5' ekzonükleaz aktivitesi ile 5'→3' ekzonükleaz aktivitesidir. 3'→5' Ekzonükleaz aktivitesi zincirin 3'-ucundan başlanıp 5'-ucuna doğru nükleotitlerin basamaklı hidrolizini içerir. Ancak enzim çift sarmalın bir parçası olmayan ve 3'-ucunda serbest olarak bulunan bir nükleotide gereksinim duyar. Bu ekzonükleaz, büyüyen DNA zincirine ilave edilen yeni bazların doğruluğunu kontrol etme özelliği vardır. 5'→3' aktivitesi ise DNA çift sarmalının bir parçası olan ve zincirdeki bir 3', 5'-fosfodiester bağının hidrolizini katalizler. 5'→3' ekzonükleaz aktivitesi 3'→5' aktivitesinden birkaç noktada farklıdır. Bunlardan biri hidrolizlenen bağ, DNA'nın çift sarmallı bölgelerinde bulunur. Diğeri ise, hidrolizlenme 5'-ucundaki fosfodiester bağında veya zincirin iç kısımlarında bulunan serbest bir hidroksil grubu içeren bir bağda meydana gelebilir.

1.3.3. Doğal Nükleolitik Moleküller

Yıllardan beri DNA ile etkileşen ve onu kesen ilaçlar dizayn edilmektedir. *Streptomyces* suşlarından izole edilen iki ürün olan bleomisin ve neokarsinostatin hidrolitik olmayan mekanizmalarla DNA'nın fosfodiester zincirlerini kesen maddelerdir. En çok çalışılan doğal madde; bir glikopeptid antibiyotik ve anti-kanser ilacı olan bleomisin A2'dir. Bleomisin molekülünün farklı mevkilerden modifikasyonu yapılarak çeşitli antibiyotik türevleri hazırlanmıştır (Blackburn ve Gait, 1990; Pindur vd., 1993; Kane ve Hecht, 1994). Oldukça kompleks yapıları olan bu bleomisin türevlerinin ortak özelliği 2,4'-bitiyazol halkalarını içermeleridir. Bu halkalar genellikle bleomisin A2'deki bir katyonik yüke sahip olan küçük yan zincire bağlanır. Bitiyazollerin diğer yanındaki kısım ise DNA zincirinin kesiminden sorumlu olan bir metalin kompleksleşmesini sağlayacak bir bölgeye sahiptir. NMR ve hidrodinamik çalışmalar bitiyazol halkalarının DNA'ya bir interkalasyon kompleksi oluşturarak bağlanabildiğini göstermiştir (Blackburn ve Gait, 1990). Oysa ki, diğer çalışmalar güçlüce bitiyazollerin antibiyotiklerin bir parçası olduklarında DNA'ya oluğa bağlanma mekanizması vasıtası ile bağlandığını önermektedir. DNA'yı kesmek amacıyla bleomisinin bir çok farklı

metal iyonları ile kompleks oluşturmuş türevleri hazırlanabilir. Bu yöndeki çalışmaların çoğu Fe(II)-bleomisin türevleri ile yapılmıştır.

Bleomisinden oldukça farklı bir peptit antibiyotiği olan neokarsinostatin de DNA'da zincir kırılmasına sebep olur. Antibiyotiğin aktif kısmı DNA ile interkalasyon yapabilen bir substitute-naftalen karboksilik asit içeren protein olmayan bir kromofordur. DNA'nın neokarsinostatin kromoforu ile kesimi O₂ ve bazı prooksidanlarla aktifleştirilir. Kesimin DNA'daki 5'-hidrojenin deoksiriboz gruplarından ayrılması vasıtası ile olduğu önerilmektedir (Blackburn ve Gait, 1990).

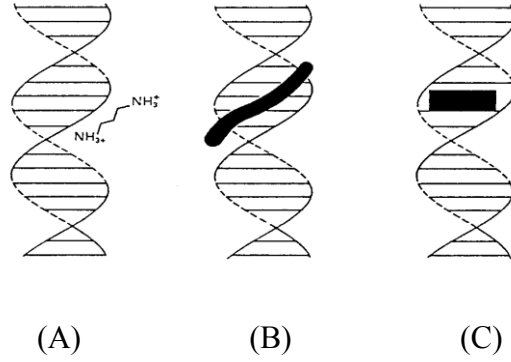
1.4. DNA ile Küçük Moleküllerin Tersinir Etkileşimleri

Nükleik asitler su, metal iyonları ve bu iyonların kompleksleri, küçük organik moleküller ve proteinlerle kovalent olmayan etkileşimlerle tersinir olarak etkileşirler. Bu moleküllerin molekül ağırlıkları genellikle binden daha azdır. Bu gruptaki moleküllere ve iyonlara çeşitli metal kompleksleri, antikarsinojen ve antiviral ilaçları ile kompleks antibiyotikler örnek olarak verilebilir (Spiro, 1980; Blackburn ve Gait, 1990; Krugh, 1994).

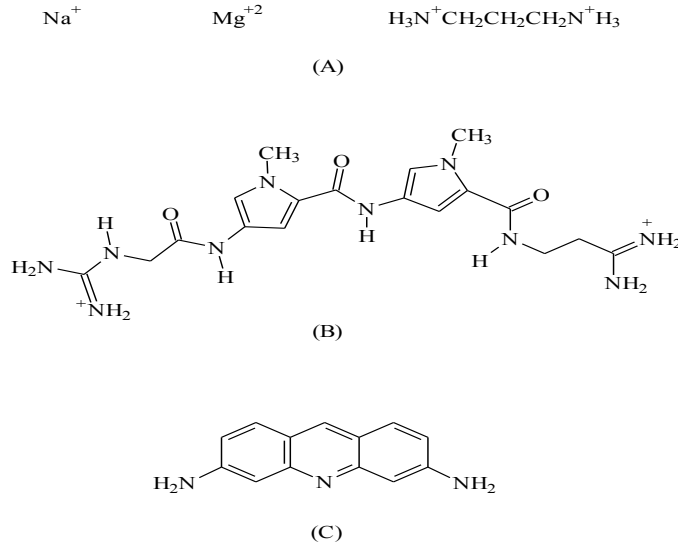
Nükleik asit yapısı ve fonksiyonu üzerinde tersinir etkileşimlerin önemi oldukça büyüktür. Birinci önemi, mevcut olan bütün kompleks nükleik asit konformasyonları su, metal iyonları veya organik katyonlarla tersinir etkileşimlerle dengelenir. Nükleik asitlerdeki yapısal değişiklikler, su aktivitesindeki, tuz konsantrasyonundaki (iyonik güç) değişikliklerle ve organik moleküllerle etkileşimlerle oldukça değişir. İkinci önemi, viral hastalıklar ve kansere karşı geliştirilen ve kullanılan ilaçların en önemlileri nükleik asitlerle tersinir etkileşen ilaçlardır. Üçüncü önemi ise, bu maddelerin basit kullanımından dolayı nükleik asitlerle karşı bu küçük moleküllerin ilgileri nükleik asitlerle olan etkileşimleri hakkında çok detaylı ve faydalı bilgiler verir. Nükleik asitlerle küçük moleküllerin etkileşimi üzerine yapılan çalışmalara DNA'nın bu moleküllerle etkileşimi RNA'nın bu moleküllerle etkileşimlerinden daha fazla rehberlik etmektedir. Bunun nedeni anti-kanser ilaçları için DNA'nın hedef molekül olmasından kaynaklanır (Bailly, 2000; Kaim ve Schwederski, 1994; Pindur vd., 1993).

Moleküllerin ve iyonların çift sarmal nükleik asitlerle etkileşimi üç sınıfa ayrılır. Dış elektrostatik etkileşimler; sarmalın dışında genellikle spesifik olmayan ve başlıca

elektrostatik etkileşimleri içeren bağlanmalardır (Şekil 6A). Alkali ve toprak alkali metal iyonları ile çeşitli organik moleküllerin katyonları DNA ile dış iskelet üzerinden elektrostatik olarak etkileşirler (Şekil 7A). Oluğa bağlanma etkileşimleri, nükleik asitlerin büyük veya küçük oluklarında yer alan baz çiftlerinin dışa yönelik kısımlarıyla moleküllerin doğrudan etkileşimlerini içerirler (Şekil 6B) ve çeşitli fonksiyonel gruplara sahip organik sistemler DNA ile bu türden etkileşim gösterirler (Şekil 7B). İnterkalasyon ya da istiflenme ile gerçekleşen etkileşimler ise baz çiftleri arasına düzlemsel veya düzlemsel yakın aromatik halkalı sistemlerin veya böyle geometriye sahip metal komplekslerinin girmesi ile meydana gelirler (Şekil 6C ve Şekil 7C) (Blackburn ve Gait, 1990).



Şekil 6. DNA ile küçük moleküllerin etkileşim türlerinin şematik gösterilişi. A) Dış elektrostatik etkileşim, B) oluğa bağlanma ve C) interkalasyon (istiflenme)



Şekil 7. Çeşitli türden etkileşimlerle DNA'ya bağlabilen moleküller. A) Dış elektrostatik etkileşimle bağlanabilen sodyum ve potasyum iyonu ile 1,3-diaminopropan katyonu, B) oluğa bağlanma ile etkileşen netropsin molekülü ve C) interkalasyon yoluyla etkileşen proflavin molekülünün kimyasal yapılar (Blackburn ve Gait, 1990)

İlk iki bağlanma türü nükleik asitte bir konformasyonel değişikliğe neden olmaz, fakat kompleks oluşumunda yapısal geçişleri içerebilir. İnterkalasyonun gerçekleşebilmesi için komşu baz çiftlerinin arasındaki mesafenin interkalasyon yapacak molekülün girebileceği uygun bir mesafeye (yaklaşık 3.4 Å) kadar ayrılmasını gerektirecek şekilde şeker-fosfat zincirinin gerilme açılarında değişikliklere neden olur. Bu konformasyonel değişimleri takiben açılma ve bükülme gibi diğer sarmal parametrelerinde de değişiklikler gerçekleşir.

1.4.1. Dış Elektrostatik Etkileşimler

Nükleik asitler oldukça yüksekçe yüklü polielektrotlardır ve anyonik fosfat grupları yapılarını ve etkileşimlerini önemli derecede etkiler. Alkali metaller gibi basit iyonların polinükleotitteki yük yoğunluğunun bir fonksiyonu olarak nükleik asitlerle etkileştikleri bilinmektedir (Manning, 1978).

Örneğin, B-DNA da, eğer fosforil grupları üzerindeki negatif yükler eşit aralıklı bir sıra halinde polinükleotit üzerinde dizilmiş ise her bir 1.7 Å lük mesafede bir iyonik yük vardır (her bir baz çiftinde iki yük ve yaklaşık sarmalın her bir dönüşünde on baz çiftine karşılık gelecektir). Eğer dizilen yük sırası yaklaşık 7 Å'den daha az olursa molekül kararsız olur. Bu yüzden yüklerin daha yakın olarak sıralandığı polimer konformasyonları kararlılığa ulaşmak için çözültideki pozitif yüklü iyonlarla birleşirler. İyonların polielektrotlarla birleşmesi karşı iyon kondenzasyonu olarak isimlendirilir ve tüm polimerin konformasyonel serbest enerji toplamında uygun olmayan bir düzensizlik durumuna sebep olur. Yük yoğunluğu her bir 7Å'luk mesafede yaklaşık bir yük kararlılık seviyesine düşürülene kadar karşı iyonlar yani nükleik asit molekülü ve pozitif iyonlar etkileşirler ve bir araya gelirler. Spesifik bir nükleik asit konformasyonu için yük yoğunluğu ve yoğunlaşan karşı iyonun miktarı sabittir (Blackburn ve Gait, 1990).

İyonlar polielektrolidin genel yük yoğunluğu ile birleştiği ve spesifik bölgelere bağlanmadığı için karşı iyonların başlangıçtaki etkileşimi kondenzasyon olarak bilinir.

İyonlar kendi iç çevre hidrasyon suyunu tutarlar ve DNA'nın şeker fosfat zinciri boyunca hızlıca hareket ederler. Hem polielektrolidin hem de karşı iyonun ikincil hidrasyon tabakaları bu etkileşimlerden etkilenir. Eğer DNA'nın fosfat yükleri kimyasal bir modifikasyon ile ortadan kaldırılırsa, DNA molekülleri B-DNA çift sarmal halini korurken beklendiği gibi normal B-DNA'nın tuz-bağımlı özelliklerini göstermez. DNA'nın B-hali sarmal yapısı ile kondenzasyon teorisi her bir fosfat grubu başına ortalama 0.76 monovalent karşı iyonun (Na^+ gibi) bağlanabildiğini göstermiştir. Diğer teorik yöntemlerle de benzer sayılara ulaşılmıştır (Blackburn ve Gait, 1990).

Küçük katyonlardan büyük proteinlere kadar çeşitli iyonik türlerin bağlanma serbest enerjisinin önemli bir kısmı kompleksteki nükleik asit yüklerinin nötralleşmesinden ve karşı iyonların salıverilmesine uygun entropik etkiden kaynaklanabilir. Sabit bir sıcaklıkta, karşı iyonun salıverilmesine sebep olan bu entropik etki nükleik asit denatürasyonuna ve ayrıca çözeltinin tuz konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak katyonik ligandların artan bağlanmasına yol açar. Bu sebeple hem nükleik asitlerin erime sıcaklığı ve hem de katyonik ligandların bağlanması için elde edilen denge sabiti tuz konsantrasyonuna oldukça bağlıdır (Record vd., 1976).

Mg^{+2} gibi çok yüklü olan basit katyonlar ve 1,3-diaminopropan gibi basit organik aminlerin katyonları (Şekil 7A) DNA ile monovalent katyonlardan (Na^+ , K^+) daha kuvvetli olarak etkileşirler ve DNA ile bu tek yüklü katyonların etkileşimlerini zayıflatarak molekülden monokatyonları uzaklaştırırlar. Bu basit çok yüklü katyonların nükleik asitlerle etkileşimleri genellikle kondenzasyon tipi etkileşimlerle olur. Çinko, bakır, civa gibi diğer metal katyonları kısmen spesifik olmayan bağlanmalarla DNA ile etkileşirler, fakat bu daha kompleks metal türleri aynı zamanda belirli bir bölgeye bağlanabilen bir kompleks oluşturmak için baz çiftlerine doğrudan bağlanabilirler (Blackburn ve Gait, 1990; Kaim ve Schwederski, 1994).

Su molekülleri de nükleik asitlerin dış yüzeyi boyunca bağlanır. Su moleküllerinin yüklü fosfat grupları ile spesifik etkileşimleri kadar bazlardaki polar gruplarla ve şekerlerle spesifik etkileşimleri de nükleik asit konformasyonlarının kararlılığı için gereklidir. Nükleik asidin spesifik bir bölgesine ligandın güçlüce bağlanması ile suyun salıverilmesi, bağlanma serbest enerjisine hem uygun hem de uygun olmayan katkılarda bulunur. Bu katkıların bağlı büyüklüğü, salıverilen su moleküllerinin sayısına ve

kompleks oluşumu boyunca kırılan etkileşimlerin türüne bağlıdır (Blackburn ve Gait, 1990).

Diğer bir dış elektrostatik etkileşim türü de spesifik olmayan etkileşimlerdir. Düzlemsel aromatik moleküller ve dimerler daha yüksek yığınlar oluşturmak için birbirlerinin üstüne istiflenebilirler. Bir madde molekülleri yüklü olduğunda, elektrostatik olarak birbirlerini iterler. Oysaki, eğer katyonlar anyonik DNA şeker-fosfat zinciri ile etkileşerek zincir ekseni boyunca istiflenirse yük itmesi azalır ve bu tip bağlanma çift zincir boyunca düzlemsel katyonların spesifik olmayan dış istiflenmelerine sebep olur. Bu tür istiflenmeler birçok yük etkileşimi ile sağlanır ve kondenzasyon ile etkileşen karşı iyonların salıverilmesini sağlar. Bu sebeple, DNA dış yüzeyinde sağlanan elektrostatik istiflenme etkileşimleri tuz konsantrasyonuna oldukça bağımlıdır ve genellikle 0.1 M ve yukarısındaki tuz konsantrasyonlarında oldukça zayıftır (Blackburn ve Gait, 1990; Papavassiliou, 1995).

1.4.2. Oluğa Bağlanma Etkileşimleri

Nükleik asitlerin büyük veya küçük oluklarının birinde yer alan baz çiftlerinin oluğa bakan fonksiyonel grupların oluşturduğu kısımları ile diğer moleküllerin doğrudan etkileşimlerini içerir. Netropsin (Şekil 7B), nükleik asitlerle bu mekanizma vasıtası ile etkileşen tipik bir moleküldür. Küçük ve büyük oluklar; elektrostatik potansiyelleri, hidrojen bağı oluşturma özellikleri, sterik etkiler ve hidrasyon özellikleri bakımından önemli ölçüde birbirlerinden farklıdır. Oluğa bağlanan küçük moleküller genellikle küçük oluğu tercih ederlerken, birçok protein ve oligonükleotit molekülleri başlıca büyük oluk etkileşimleri vasıtası ile nükleik asitlere bağlanma özgünlüğü gösterirler (Blackburn ve Gait, 1990).

Tipik olarak, küçük oluğa bağlanan moleküller pürol, furan veya benzen gibi basit aromatik halka sistemlerine sahiptirler. Moleküldeki bu halkaların uygun bir şekilde bükülmesi ve su ile yer değiştirmesi sonucu küçük oluğun sarmal şeklindeki kavisine uyabilirler. Küçük olukta bulunan A:T bölgeleri genişlik açısından daha uygun olduğundan aromatik moleküller A:T dizilerine G:C dizilerinden daha iyi uyabilirler. Aromatik halkaları doğru olarak bükülmüş olan bir molekül küçük oluğa rahatça uyabilir ve oluğun dış yüzeyini oluşturan sarmal zincirlerle van der Waals etkileşimleri yapar.

Bağlanmadaki her hangi bir özgünlük, bağlı molekül ve oluktaki baz çiftlerinin oluğa yönelik kenarları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanır. Hidrojen bağları A:T baz çiftindeki A'nın N-3 azotu ya da T'nin C-2 karbonil oksijeni ile bağlı molekül arasında gerçekleşir. Benzer gruplar G:C baz çiftlerinde de olmasına rağmen, G'nin amino grubu C'nin C-2 karbonili ve G'nin N-3 azotu ile hidrojen bağı oluşumuna sterik bir engelleme yapar. G:C baz çiftlerindeki G'nin amino grubu ve C'nin karbonil oksijeni arasındaki hidrojen bağı küçük oluk içinde bulunur ve sterik olarak molekülün bu oluğun içindeki G:C'ce zengin bölgelere girmesini önler. Bu sebeple, oluğa bağlanan moleküllerin aromatik halkalarının çoğu DNA'nın küçük oluğundaki A-H protonları ile yakın bir etkileşim kurar. Negatif elektrostatik potansiyelin DNA'nın küçük oluğundaki A:T bölgelerinde G:C bölgelerinden daha büyük olduğu gösterilmiştir. Bu tespit, katyonların A:T spesifik küçük oluğa bağlanmasının sebebini açıklayan önemli bir kaynaktır (Lavery vd., 1986).

1.4.3. İnterkalasyon Etkileşimleri

Yaklaşık son kırk yıl içinde planar aromatik katyonların DNA ile olan etkileşimlerinin ortaya konması için gerçekleştirilen çeşitli fiziksel metotlarla elde edilen bilgiler planar aromatik moleküllerin DNA ile "interkalasyon" adı verilen bir etkileşimle bağlandığı sonucunu ortaya koymuştur. İnterkalasyonun kelime anlamı, istiflenmiş olan iki baz çifti arasına molekülün düzlemsel (kromoforik) parçasının girmesidir. Bu işlem esnasında DNA'nın primer ve sekonder yapıları bozulmaz. DNA'nın tersiyer (sarmal) yapısı, orijinal yapısı ile karşılaştırıldığında kısmen uzar ve bu yüzden biraz açılır (Barton, 1986; Pindur vd., 1993). İnterkalasyon esnasında baz çiftleri arasındaki ayrılma 3.4 Å'dan yaklaşık 7-8 Å'a kadar büyür. DNA'nın üç boyutlu yapısındaki veya diğer bir deyişle topolojisindeki bu değişikliklerden dolayı DNA'nın temel fonksiyonlarında biyokimyasal olarak bir sınırlama olur. Meselâ böyle bir konformasyonel değişim sonucunda, RNA polimeraz veya topoizomeraz II'nin inhibisyonu gerçekleşir (Blackburn ve Gait, 1990).

Küçük moleküllerin DNA ile interkalasyonu molekülün düzlemselliği, aromatikliği ve moleküllerin etkileşen kısımlarının yüzeysel yayılması gibi çeşitli faktörlere bağlı olan kovalent olmayan etkileşimlerle sağlanır. Oligonükleotitlerle

oluşturulan çeşitli interkalasyon kompleksleri ile yapılan yapı analizi çalışmaları interkalasyonun; elektrostatik, van der Waals ve hidrofobik etkileşimlerle olduğunu göstermiştir. Çeşitli fiziksel çalışmalar da bir molekülün DNA ile interkalatif bağlanmasındaki yapısal kriterleri konusunda faydalı bilgiler sağlamıştır. Viskozimetri, UV spektrometri ve elektroforez gibi yöntemler yanında ve x-ışını yapı analizi, çeşitli NMR teknikleri gibi moleküler spektroskopideki modern metotlarla komplekslerin konfigürasyon ve konformasyonu gibi geometrik özellikleri araştırılmıştır (Pindur vd., 1993).

Çeşitli moleküler spektroskopik çalışmalarla beraber bilgisayarlarla moleküler modelleme çalışmaları daunorubisin ve doksorubisin gibi antrasiklin antibiyotikler yanında bir karbazol türevi olan elliptisin gibi alkaloidler yanında antrakinon sistemine sahip mitoksantron ve gibi pek çok sentetik ilacın DNA ile interkalatif etkileşimleri incelenmiştir.

Etidiyum bromür gibi heterohalkalı organik sistemlerin DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığı bilinmektedir (Lippard ve Berg, 1994). Bu molekülün doymuş konsantrasyonu ile DNA interkalasyonunda her bir baz çifti arasını doldurduğu x-ışını yapı çalışmaları ile ortaya konmuştur ve bu etkileşimde etidiyum bromür moleküllerinin eşleşen baz çiftleri arasındaki 10.2 Å'luk bir boşluğu doldurduğu tespit edilmiştir.

Düzlemsel aromatik hetero halkalı organik yapılar yanında azot içeren heterohalkalı ligandların düzlemsel katyonik metal komplekslerinin de DNA ile interkalasyon yaptığı tespit edilmiştir (Lippard ve Berg, 1994). Bunlardan en bilinen örnekler platin kompleksleridir ve içerdikleri halka sistemleri DNA ile interkalasyon yoluyla bağlanmayı kolaylaştırır. Ayrıca DNA ile interkalasyon için uygun yapısal fonksiyonlara ve geometrilere sahip, rutenyum, bakır ve mangan içeren komplekslerin bu özellikleri de çeşitli yöntemlerle analiz edilmiştir.

Bisinterkalatörler iki ayrı interkalasyon yapan düzlemsel (kromofor) halka sistemine sahiptirler ve halka sistemleri birbirlerine uzunluk ve rijitlikçe değişebilen zincirlerle bağlanırlar. İnterkalasyon yapan moleküllerin farmasötik özelliklerinden dolayı benzer şekilde üç veya daha fazla halka sistemi içeren moleküller de dizayn edilmiştir. DNA baz çiftleri ile halka sistemlerinin etkileşimi büyük ölçüde zinciri

oluşturan grupların özellikleri ile kontrol edilir (Blackburn ve Gait, 1990; Leng vd., 1998; Pindur vd., 1993).

Bisinterkalatörlerin monomerik olanlara göre çeşitli potansiyel avantajları vardır. İnterkalasyonu sağlayan birimlerin sayısı DNA ile bağlanma ilgisini oldukça artırır ve kabaca bisinterkalatörün bağlanma sabiti monomerinkinin karesi kadardır. Bisinterkalatörün bağlanma hacimi monomerinkine göre bağıl olarak artar. Böyle bir artışın dizi seçiciliğini de artırdığı bisinterkalasyon yapan daunorubisin türevleri durumunda gözlenmiştir (Chaires vd., 1997; Leng vd., 1998).

Ekinomisin ve triostain gibi kinoksalin türevi antitümör antibiyotikler x-ışını yapı analizi yöntemiyle çalışılan oldukça kompleks yapıları doğal antibiyotiklerdir. Bu moleküllerin süpersarmal DNA ile oluşturduğu yapılar incelendiğinde çift sarmal DNA'yı 40-50° kadar gevşettiği ve monointerkalatörlere göre DNA zincirinde iki kat daha fazla uzamaya sebep oldukları gösterilmiştir.

Bisinterkalatörlerin DNA molekülündeki eşleşmiş bazlarla interkalasyonu çeşitli şekillerde gerçekleşebilir (Blackburn ve Gait, 1990). Bu moleküllerdeki bağlayıcı zincir uzunluğu metilenik grupların sayısı (n) değiştirilerek gerçekleştirilebilir. Zincirin uzun olması (n>8) ile her iki planar halkanın interkalasyon yapabileceği tespit edilmiştir. Kısa bir zincir (n=6) durumunda ise halkaların her ikisi de komşu bölgelerle etkileşirken bir sterik engelleme ile karşılaşacaklardır. Metilenik grupların daha az olduğu (n<4) türevler durumunda interkalatör molekülün sadece bir halkası yoluyla interkalasyonun sağlandığı gözlenmiştir.

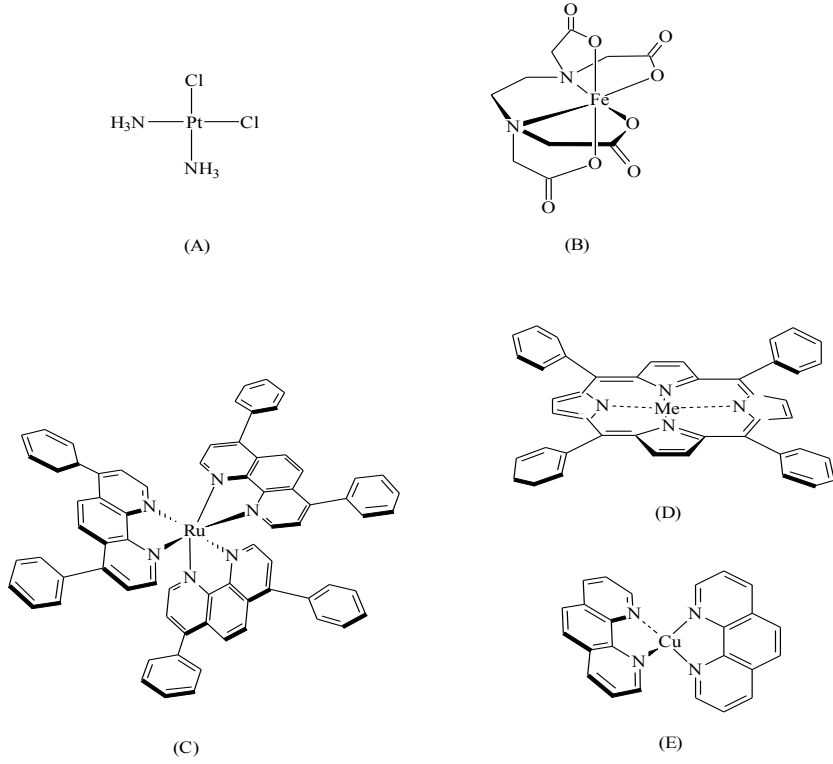
1.5. Sentetik Kimyasal Nükleazlar

Biyolojik sistemlerde ribonükleazlar ve deoksiribonükleazlar, SN-2 mekanizması ile kesilecek bağ üzerine nükleofilik saldırıyı katalizleyerek RNA ve DNA'nın fosfodiester zincirlerinin kesimini sağlayan enzimlerdir. Son yıllarda enzimlerden çok daha küçük ve yaklaşık olarak bin moleküler ağırlığa sahip DNA ile bağlanabilme ve DNA zincirini kırma yeteneğine sahip pek çok doğal ve sentetik molekül izole edilerek veya sentezlenerek karakterize edilmiştir. Bu maddeler birer prob olarak DNA ve RNA'nın konformasyonel değişimlerinin incelenmesinde de kullanılırlar. Ayrıca belirli bir nükleik asit yapısına karşı yüksek ilgiye sahip bir ligand ile kimyasal nükleaz

aktivitesinin birleştirilmesiyle bölge-spesifik nükleolitik maddelerin dizaynı mümkün olabilmektedir (Papavassiliou, 1995).

Son yıllarda, fizyolojik pH ve sıcaklıkta deoksiriboz veya ribozun oksidasyonu üzerinden nükleik asitlerin fosfodiester zincirlerini kesen pek çok redoks aktif koordinasyon kompleksleri keşfedilmiştir. Bir liganda bağlı bir metal genellikle nükleik asit zincirlerinin parçalanma işlemini başlatır. Yüksek düzeylerde DNA kırma yeteneğine sahip maddeler, DNA'ya karşı büyük ilgiye sahip bir moleküle metal ile kompleksleşecek bir yapının ilavesi sonucu elde edilebilirler (Blackburn ve Gait, 1990; Papavassiliou, 1995; Sigman ve Chen, 1990).

Süpersarmal DNA üzerinde gevşemeyi sağladığı tespit edilen ilk sentetik koordinasyon kompleksi bis(1,10-fenantrolin)-bakır iyonudur (Sigman vd., 1979; Sigman 1986). Ayrıca EDTA-Fe (Sigman ve Chen, 1990; Papavassiliou, 1995), çeşitli metaloporfirinler (Marzilli vd., 1986; Groves ve Farrell, 1989), diamino dikloro-platin kompleksleri (Rosenberg vd., 1969) ve fenatrolin-rutenyum komplekslerinin (Barton, 1986; Lippard ve Berg, 1994) de bu türden nükleolitik özellik gösterdikleri bilinmektedir. Bu maddelerin DNA-protein etkileşimlerini ortaya koymada kullanılmaları yanında, birer kimyasal nükleaz olarak kromozomal DNA'nın bölgeye özgün kesilmesi amacıyla da çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, platin komplekslerinin insan kanseri tedavisinde etkin bir şekilde klinik olarak kullanımı, antikanser özellik gösteren yeni metal komplekslerinin dizaynı ve nükleik asitlerle etkileşimlerinin incelenmesine olan ilgiyi daha da artırmıştır (Spiro, 1980; Kaim ve Schwederski, 1994). Dolayısıyla, nükleik asitlerle etkileşip zincirleri kırabilen yeni metal komplekslerinin geliştirilmesi ve DNA ile olan etkileşim mekanizmalarının anlaşılmasının bu komplekslerin moleküler biyoloji, farmakoloji ve gen terapisi gibi farklı amaçlar için daha etkin kullanımını sağlayacağı aşikârdır.



Şekil 8. Bazı sentetik kimyasal nükleazların yapıları. A) *cis*-diamino dikloro-platin kompleksi, B) EDTA-Fe kompleksi, C) (4,7-difenil-1,10-fenatrolin)-rutenyum kompleksi, D) metaloporfirin genel yapısı ve E) Bis(1,10-fenantrolin)-bakır kompleksi

Katalitik özellik gösteren ve birer kimyasal nükleaz olarak tanımlanan maddelerin çoğunluğu fizyolojik pH ve sıcaklık şartlarında DNA zincirlerinin fosfoester iskeletini kıran redoks-aktif koordinasyon kompleksleridir. Bu komplekslerin nükleolitik aktivitesi bunların DNA ile dönüşümlü bağlanmalarını takiben gerçekleşen kırma ya da parçalama gibi bir hidrolitik reaksiyondan kaynaklanır ve bu etkinin bir sonucu olarak DNA çift zinciri ya karşılıklı bölgelerden ya da tek bir zincirden kırılır. Böylece DNA'nın yapısı

bozular, DNA gevşer veya çeşitli tersiyer konformasyonlar oluşur (Sambrook vd., 1989; Goodisman vd., 1997).

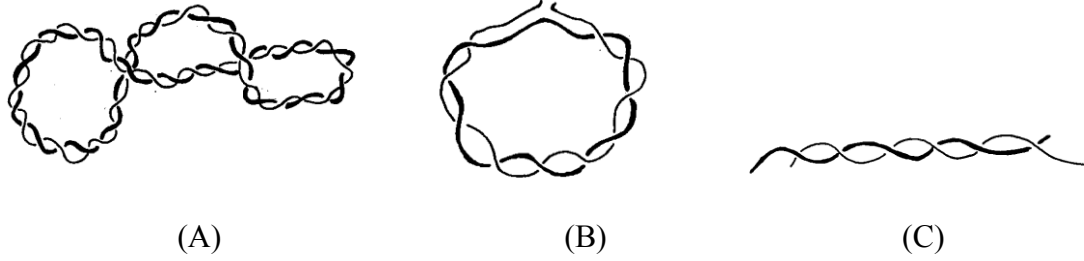
Metal kompleksleri çift sarmal DNA ile kovalent olmayan iki temel yolla etkileşir. Bunlardan birisi dış bölgelerden bağlanma diğeri ise bazlar arasına girerek (istiflenerek) bağlanmadır. Haricen bağlanma DNA yüzeyinde meydana gelen bütün etkileşimleri içerir. En basit olarak DNA biyopolimerinin iyonik yüzeyinde kompleksin etkileşmesiyle gerçekleşir. DNA oluklarına bağlanma çok daha kuvvetli bir etkileşimdir ve uygun büyüklüğe, hacime ve şekle sahip bir molekül DNA'nın büyük ya da küçük oluklarına yerleştiğinde meydana gelir. İstiflenme biyopolimerin içerisindeki komşu iki baz arasına düzgün aromatik molekülün girmesinden ibarettir. Oktahedral (sekiz yüzlü) ve tetrahedral (dört yüzlü) kompleksler interkalasyon için uygun değildir ve bu moleküller dış yüzeyden DNA ile etkileşirler. Aromatik gruplar içeren kare düzlem kompleksler için ise etkileşim interkalasyonla sağlanır. Aromatik moleküllere hacimli grupların eklenmesi DNA ile interkalasyonlarını etkiler. Dolayısıyla kare düzlem komplekslere düzlem dışı grupların eklenmesiyle istiflenme ile bağlanma yerine haricen bağlanma gerçekleşir (Papavassiliou, 1995; Sigman ve Chen, 1990).

Kimyasal nükleaz aktivitesi gösteren birçok kimyasal, DNA ile güçlü veya zayıf kompleksler oluşturarak kesimi gerçekleştirir. Bu duruma istisna olan kompleks Fe(II)-EDTA'dır (Şekil 8B). Bu kompleksin net negatif yükünden dolayı yüksekçe reaktif difüzlenebilen hidroksil radikallerini ürettiği ve kendisi DNA'ya bağlanmadan hidroksil radikalleri vasıtası ile DNA'yı kestiği önerilmektedir (Papavassiliou, 1995; Sigman ve Chen, 1990). Bir oksidan (H_2O_2) mevcudiyetinde demir-EDTA kompleksi DNA zincirini keser. Bu işlemde DNA zincirinin kesilmesi için üç bileşik gereklidir. Bunlar; $[Fe^{+2}(EDTA)^{-2}]$, H_2O_2 ve sodyum askorbattır (Sigman ve Chen, 1990). Reaksiyonun yürüyüşünde, EDTA.Fe(II)'den bir elektron ayrılarak H_2O_2 'de ki O-O bağı kırılır ve EDTA.Fe(III) üretilir ve bunun sonucunda da hidroksil iyonu ve reaktif hidroksil radikali (-OH) üretilir. Askorbat iyonu Fe(III)'ün Fe(II)'ye dönüşümünü sağlar. Bu şekilde oluşan katalitik çevrim ile EDTA.Fe(II)'nin kullanılan mikromolar konsantrasyonları DNA kırılmasına neden olur. Hem DNA hem de metal kompleksi negatif olarak yüklü oldukları için EDTA-Fe(II) elektrostatik olarak itilir ve DNA

molekülüne bağlanamaz. Bu nedenle DNA kesimine sebep olan gerçekte oluşan hidroksil radikalleridir. Hidroksil radikali çözelti boyunca difüzenir ve büyük ihtimalle bir deoksiriboz hidrojen atomunu çıkararak DNA zincirine saldırır. Bunun sonucu saldırılan bölgedeki baz ve şeker ayrılır ve böyle bir çevrim ile kompleksin oldukça düşük konsantrasyonlarında DNA kırılması gerçekleşir.

Başka bir metal içeren kimyasal nükleaz 1,10-fenatrolin ile bakır (I) in oluşturduğu bis (1,10-fenatrolin)-bakır (I) kompleksidir (Papavassiliou, 1995; Sigman ve Chen, 1990). 2:1 oranında 1, 10-fenatrolin.Cu(I) kompleksi $[(OP)_2Cu^+]$ (Şekil 8E) deoksiriboz halkasının oksidasyonu ile fizyolojik şartlar altında DNA'nın fosfodiester zincirlerini kıran etkili bir kimyasal nükleazdır. Bu kompleks gerekli bir kovalent olmayan aracı vasıtası ile ilerleyen bir reaksiyonla DNA'yı kestiği keşfedilen ilk kimyasal nükleazdır (Sigman vd., 1979). Bu bakır kompleksinin etkisi DNA'nın ikincil yapısına bağlıdır. Tek zincirli DNA etkili bir substrat değildir ve B-DNA nispeten A-DNA'ya tercih edilir. Z-DNA, B-DNA'nın kolayca kesildiği şartlar altında belirlenebilir bir biçimde kesilemez. Bu ikincil yapı, B-DNA'nın küçük oluşunun tetrahedral koordinasyon kompleksi için tercih edilen bir bağlanma yeri olduğunu gösterir.

Birçok kesim maddesi, kapalı çift zincir DNA molekülleri ile etkileşerek çemberimsi çift zincir DNA moleküllerini kapalı dairesel formdan (Form I) açık dairesel forma (Form II) ve lineer formlara (Form III) ve en sonunda da küçük DNA parçalarına dönüştürür (Goodisman vd., 1997), (Şekil 9). Çoğu antikanser ilaçları hücre DNA'sı ile etkileşerek hücre hasarı gösterirler. Bu etkileşimler zayıf veya kovalent bağlanmalar şeklinde olabilir ve işlem DNA'nın şeker-fosfat zincirinin kesimi ile sonuçlanabilir. Eğer bir ilaç, şeker-fosfat zincirinde tek bir kırık oluşturursa molekül, kapalı çemberimsi formdan (Form I) kırık çemberimsi forma (Form II) veya doğrusal forma (Form III) dönüşür. Eğer ilk kırılmanın olduğu zincirin karşısındaki zincirde ilk kırılmaya yakın bir yerde ikinci bir kırılma olursa DNA molekülü doğrusal forma dönüşür. Dolayısıyla, her iki DNA zincirini karşılıklı zincirlerden kesen bir ilaç, Form I'in doğrudan Form III'e dönüşmesine sebep olur.



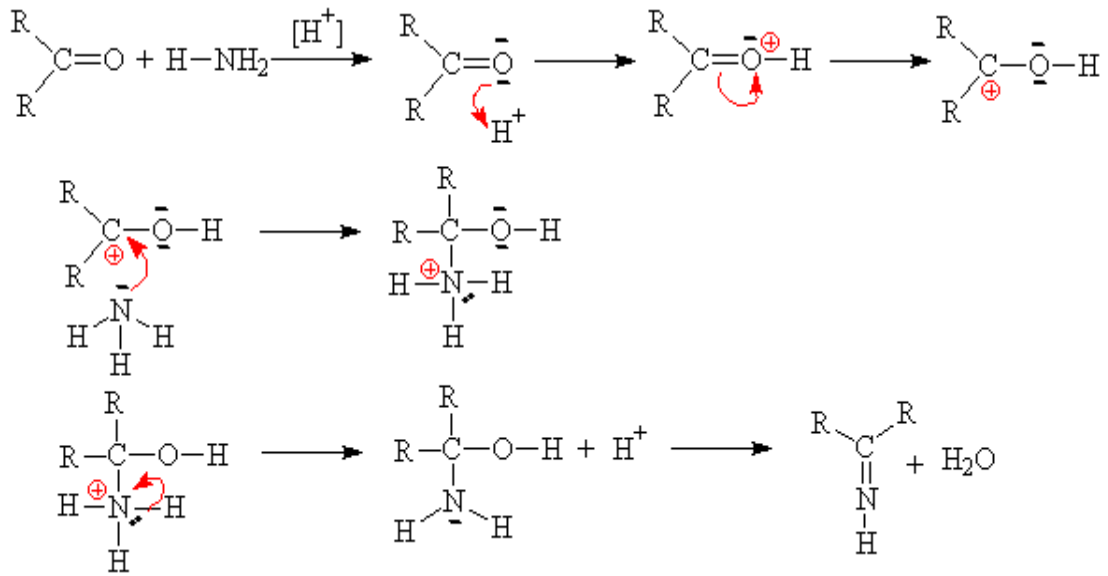
Şekil 9. Plazmid DNA'nın A) süpersarmal, B) kırık ve C) doğrusal formları

DNA'nın kendisini kesen bir ilaçla muamelesinden önce ve sonraki üç formun miktarının ölçülmesinden bu işlemde oluşan formların oranları hakkında fikir edinilebilir. Bu bağıl oranlar aynı zamanda madde tarafından DNA kesim mekanizması ve özgünlükleri hakkında bilgi verebilir. Meselâ, eğer kesim kimyasalı belli bir zaman içinde yalnızca bir zinciri kesiyorsa ve kesim özgün değilse Form II DNA'daki birçok kırık Form III'e dönüşüm için önemli bir etken olacaktır. Bu sebeple, Form I DNA'nın Form II'ye dönüşüm oranı Form II'nin Form III'e dönüşüm oranından daha büyük olacak ve Form I'in Form III'e dönüşümünün görünüşteki oranı küçük olacaktır. Kesim bu şekilde olduğunda kimyasalın "tek zincir kesim kimyasalı" olduğu söylenir. Diğer yandan, eğer madde karşılıklı iki yerden DNA'yı kesiyorsa Form I'in Form III DNA'ya dönüşüm oranı önemli olacaktır. Form I'den daha fazla ilaç molekülü içeren çoklu bağlanma/kesme olayları ile Form III oluştuğunda çift zinciri kesimine denk bir durum açığa çıkar. Eğer ilaç yüksek düzeyde dizi özgünlüğüne sahip ise kesme DNA'nın birkaç yeri ile sınırlandırılmış için her iki zincirde yakın yerlerde kırılma ihtimali yüksek olacaktır. Mekanizmasına dikkat edilmeksizin, Form I'i doğrudan Form III'e dönüştüren kesim kimyasallarına "çift zincir kesim kimyasalları" denir (Goodisman vd., 1997).

1.5.1. Schiff Bazları

Schiff bazları, primer aminlerin aldehit ve ketonlarla meydana getirdiği kondenzasyon ürünleridir. Çok esnek ve değişken yapısal özelliklerinden dolayı çok sayıda Schiff bazı ve kompleksi sentezlenmiş ve incelenmiştir (Raman vd., 2003). Schiff

bazları iyi bir azot donör ligandı olarak da bilinmektedir. Bu ligandlar koordinasyon bileşiğinin oluşması sırasında metal iyonuna bir veya daha çok elektron çifti vermektedir. Schiff bazlarının oldukça kararlı 4, 5 veya 6 halkalı kompleksler oluşturabilmesi için azometin grubuna mümkün olduğu kadar yakın ve yer değiştirebilir hidrojen atomuna sahip ikinci bir fonksiyonel grubun bulunması gereklidir. Schiff bazları $RCH=NR\phi$ genel formülüyle de gösterilebilir, bu formülde R ve $R\phi$ alkil veya alkil süstitüentleridir (Şekil 10).



Şekil 10. Schiff bazının oluşum mekanizması

Schiff bazlarının oldukça geniş çalışma alanları bulunmaktadır. Bu bileşiklerin metal kompleksleri renkli maddeler olduklarından, boya endüstrisinde özellikle tekstil boyacılığında pigment boyar maddesi olarak kullanılmaktadır (Serin ve Gök, 1988). İnhibitör olarak kullanılan Schiff bazlarının, benzen halkası üzerinde bulunan fonksiyonel grupların türüne bağlı olarak inhibisyon etkilerinin değiştiği, korozyon davranışında sıcaklığın etkisi ve diğer termodinamik parametreler tayin edilerek bu bileşiklerin mükemmel inhibitörler olduğu bulunmuştur (Agrawal vd., 2004). Schiff bazlarının inhibisyon etkisinin, sentezinde kullanılan aldehit ve aminlerden olduğu tespit

edilmiş, moleküldeki amin grubunun bulunmasına bağlı olarak inhibisyon etkisinin arttığı anlaşılmıştır (Desai vd., 1986).

Günümüzde koordinasyon bileşiklerinin endüstride ve biyolojik sistemlerdeki önemi giderek artmaktadır. Schiff bazlarının yapılarında bulunan gruplardan dolayı elde edilen metal kompleksleri renkli maddeler olduklarından boya endüstrisinde, özellikle tekstil boyacılığında, pigment boyar maddesi olarak kullanılmaktadır (Zeishen vd., 1990). Ayrıca boyar madde ve polimer teknolojisinde, ilaç sanayinde, tıpta, tarım alanında, roket yakıtı hazırlanmasında, biyolojik olayların açıklanmasında ve daha bir çok alanda bu bileşiklerden büyük ölçüde yararlanılmakta ve yeni sentezlerin yapılması yönündeki çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (Dığrak vd., 1997; Zeishen, 1987).

Son zamanlarda bazı metal kompleksleri, ilaç sanayiinde, hastalıkların teşhis ve tedavisinde önem kazanmaya başlamıştır. Özellikle kükürt içeren Schiff bazı metal komplekslerinin antikanser özelliğinin ortaya çıkarılmasından sonra bu komplekslere olan ilgi daha da artırmıştır (Amirkhanov vd., 1999; Mirabelli vd., 1987; Klayman vd., 1983; Kim and Lee 1992; Patel vd., 1989; Scovill vd., 1984; Zeishen vd., 1987). Schiff bazı komplekslerinin antikanser aktivitesine sahip olmasından dolayı tıp dünyasındaki önemi giderek artmakta ve kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılması araştırılmaktadır (Mutterties vd., 1979). Ayrıca fareler üzerinde yapılan *in vivo* araştırmalar ise Schiff bazlarının Ascites Carcinoma Virüsüne karşı antikanser aktivitesinin oldukça yüksek olduğunu göstermiştir (Patel vd., 1989). Özellikle Schiff bazlarının platin komplekslerinin antitümöral aktivite (Kuduk vd., 1994) gösterdiği bilinmektedir. Yapılan birçok araştırmada bazı Schiff bazlarının farklı oranlarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür (Yılmaz vd. 2003). Bunların yanı sıra Schiff bazlarının metal içerikli bileşiklerinin önemli ölçüde antiviral etkilerinin olduğu bilinir (Jianhua vd., 2003).

Raman ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir başka çalışmada sentezlenen yeni nötral Schiff bazları ve bunların Cu(II), Co(II) ve Zn(II) bileşiklerinin *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* ve mantar *Aspergillus niger* ve *Rhizoctonia bataicola* üzerinde çukur difüzyon metodu ile aktiviteleri test edilmiş ve metal komplekslerinin serbest ligandlara oranla daha etkili olduğu görülmüştür 4-hidroksi

salisilaldehit ve L-alaninden oluşan Schiff bazının Bakır(II), Çinko(II), Nikel(II), Kobalt(II) kompleksleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin Ehrlich Ascites Carcinoma Virüsüne karşı antikanser aktivitesinin oldukça yüksek olduğu fareler üzerinde yapılan deneylerle gözlenmiştir (Patel vd., 1989, Zeishen vd., 1990).

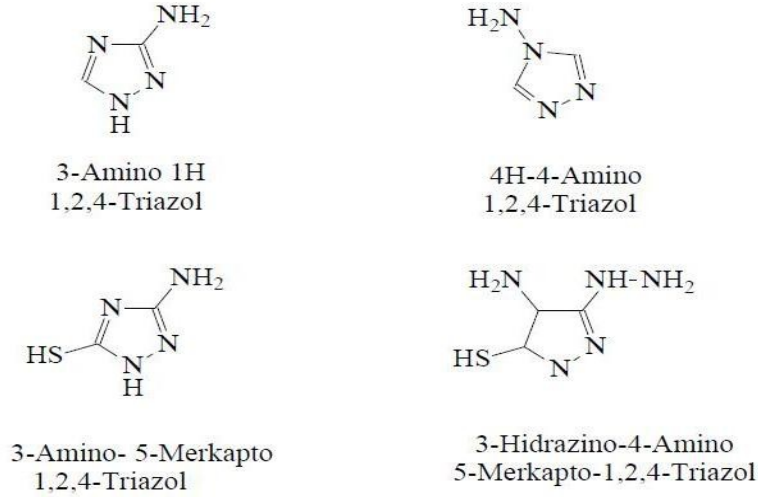
Nükleik asitlerin hidrolitik veya oksidatif olarak kırılması biyolojik ve farmakolojik olarak önem kazanmaya başlamıştır. Nükleik asitlerin non degradatif ve spesifik kesimleri DNA ve RNA yapısının çalışılmasına kemoterapötik ajanların dizaynının gen manipulasyonuna imkan sağlamıştır. Restriksiyon Endonükleaz ve Topoisomera, konversiyonel enzimatik nükleazlar moleküler biyoloji uygulamalarında sıkça kullanıldı. Son yıllarda kimyasal nükleazların veya taklit nükleazların modellenmesi ve farmakolojik biyoteknolojide kullanılması arttı. Kimyasal nükleazların konversiyonel enzimlere göre bazı avantajları tespit edildi. Bunlar boyutlarının küçük olması ve bunlardan biri makromolekülün yapısal olarak engellenmiş bölgelerine daha fazla ulaşılabilir olmasıdır. Ayrıca bu kimyasallar kataliz ya da kemoterapötik amaçlar için manipule edilip türevlendirilebilir. Bu da kimyasal nükleazların biyolojik çalışmalarda önemli araçlar haline getirir. Birkaç geçiş metali kompleksinin nükleolitik aktivitesi geniş olarak çalışılmıştır. Bunlar DNA daki fosfodiester bağını pH ve ısı faktörüne bağlı olarak kırar. Bunlar arasında Bakır(II) çok geniş biyolojik aktiviteye sahiptir ve bu bileşenler antitümör antiviral ve anti inflammatuar etkiye sahiptir.

Ek olarak özellikle Schiff bazlarının Zn(II) kompleksleri çinko içeren biyosistemlere modeldir. Öncelikli olarak bu bileşenler üzerine odaklanılmıştır. Bir Çinko(II) kompleksi olan 1,10 piyanotrolin ilk sentetik geçiş kompleksidir ve nükleolitik aktiviteye sahiptir. Diğer bileşenler bleomycin, pirol, tiyoeter, oksim, peptit ve imidazoldür.

1.5.1.1. Triazoller ve Türevleri

Triazol, yapısında üç azot atomu bulduran, beş-üyelî halkaya sahip bir organik yapıdır (Şekil 11). Triazoller; bitkilerin büyüme, gelişme ve metabolizma faaliyetlerinde etkili olan, onların abiyotik ve biyotik etmenlere karşı koyma yeteneklerini önemli derecede etkileyen bileşiklerdir. Triazoller, herbisit ve sistemik fungusit türevleridir (Fletcher vd., 1986). Triazol ve türevlerinden elde edilen Schiff bazlarının, gıda

endüstrisinde, antifungal, antibakteriyel, antikanser, antiviral ve çeşitli biyolojik aktivitelerinden dolayı çok geniş kullanım alanına sahip olduğu bilinmektedir (Invidiata vd., 1996; Mohamed ve Sharaby, 2007; Singh vd., 2007).



Şekil 11. Triazolün biyokimyasal yapısı ve türevleri

Özellikle; HIV (human immunodeficiency virus), HPV (human papilloma virus) tipi virüsleri ile savaşmada önemli sonuçlar alınmıştır. Böyle metal kompleksleri; testis, ovaryum, gırtlak, beyin ve mesane tümörlerinin tedavisinde de en iyi sonuçları vermektedirler. 1,2,4-triazoller farmakolojik aktivite göstermektedirler. Triazoller; kemoterapide kullanılan ilaçlardır (Mishra vd., 1989)

1.5.1.2. Schiff Bazı-Metal Komplekslerinin Biyokimyasal Önemi

Schiff bazlarının Mn(II) kompleksleri; mangan iyonları birçok mikroorganizmada, bitkilerde, hayvanlarda redoks enzim sistemlerinde önemli rol oynar ve kimi durumlarda katalizör olarak işlev görür. Mangan iyonları birçok yükseltgenme basamağına sahiptir. Son yıllarda Mn(III) komplekslerinin sıkça çalışıldığı görülmektedir. Oktahedral yapıda bileşikler daha yaygın olarak gözlenir (Raman vd., 2002; Raman vd., 2003; Raman vd., 2005).

Schiff bazlarının Ni(II) komplekslerinin kimyası ilgi çekicidir. Çünkü bu metal birçok yükseltgenme basamağı gösterir. Farklı oksidasyon basamağına sahip böyle

kompleksler biyoinorganik kimyada ve redoks enzim sistemlerinde kuvvetli bir role sahiptir ve biyolojik sistemlerin aktif yönleri için temel modeller sağlayabilir veya katalizör olarak davranır. Değişik geometrilere kompleksler verebilir (Raman vd., 2002; Raman vd., 2003; Raman vd., 2005).

Schiff bazlarının Cu(II) kompleksleri ile ilgili çalışmalar 1930'lu yıllarda başlamıştır. Bakır komplekslerinin antibakteriyel aktivite göstermelerinden dolayı çalışmalar artan bir şekilde devam etmektedir. Cu(II) iyonu değişik geometrilere kompleksler verebilir (Raman vd., 2002; Raman vd., 2003; Raman vd., 2005).

Schiff bazlarının Zn(II) kompleksleri; antibakteriel aktivite gösterdiklerinden dolayı bu komplekslerle ilgili araştırmalar artmaktadır. Zn^{+2} iyonu bir çok biyolojik süreçte çok önemli rol oynar. Zn(II) iyonları d^{10} sisteminde olduğu için sp^3 hibritleşmesi yaparak tetrahedral yapıda ve sp^3d^2 hibritleşmesi yaparak oktahedral yapıda kompleksler verirler (Raman vd., 2002; Raman vd., 2003; Raman vd., 2005).

1.6. Çalışmanın Bilimsel ve Pratik Önemi

Laboratuvarlarımızda yapılan ön çalışmalarda metal komplekslerinin DNA ile etkileşimi incelenmiş, bazı metal komplekslerinin polinükleotit zincirler üzerinde kırıklar oluşturduğu tespit edilmiş, bu etkileşimin bazı komplekslerde zamana, bazılarında ise kompleksin konsantrasyonuna bağımlı olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla bu ön çalışmada bazı özel metal komplekslerinin nükleaz mimiği olabileceği sonucuna varılmış ve ayrıca nükleolitik aktivite için gerekli çalışma şartları optimize edilmiştir.

Bu çalışmada bazı Schiff bazları ve Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metalleriyle yeni sentezlenen 20 adet Schiff bazı metal kompleksinin DNA ile etkileşimi incelenmiş ve aşağıdaki amaçlar planlanmıştır:

- a) Bu komplekslerin DNA'yı parçalayabilme yeteneklerinin olup olmadığı,
- b) Bu etkileşimin metal iyonuna, etkileşim periyoduna ve çeşitli ortam şartlarına bağımlılığı,
- c) Bu kompleksler nükleolitik olarak aktif ise DNA parçalama işlemlerinde bir seçiciliklerinin olup olmadığı,
- d) Bu komplekslerin DNA ile etkileşimlerinin niteliği ve mekanizması.

2.YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyaller

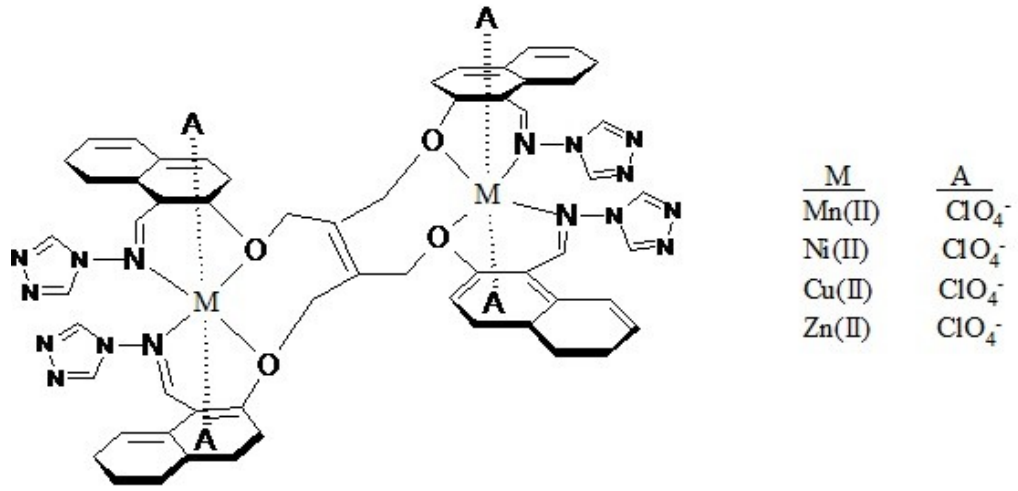
2.1.1. İncelenen Schiff Bazları

1,2,4-Triazol-{{(1E)-[2-({4-({1-[(E)-(1,2,4-triazolimino)methyl]-2-naphthyl}oxy)-2,3-bis[({1-[(E)-(1,2,4-triazolimino)metil]-2-naftil}oksi)metil]but-2-en-1-il}oksi)-1-naftil]metilen} amin **ATR**, 2-{{2-(4-{{1-[(2-hidroksi-etilimino)-metil]- naftalen-2-yloksi}-2,3-bis-{{1-[(2-hidroksi-etilimino)-metil]-naftalen-2-yloksimetil}-büt-2-eniloksi)-naftalen-1-ylmetilen]-amino-ethanol **ETA**, 3-Fenil propiyonik asit -{{(1E)- [2-({4-({1- [3-Fenil propiyonik - 2 asitimino) metil] 2naftil}okso)-2,3-bis[1-(E) [(3-Fenil propiyonik-2acid imino)-metil]2naftil }okso) metil] but-2-en-1-il}okso) - naftil] metilen} amin potasyum tuzunun sentezi **Fenil** ve glisin **Gli** olarak tanımlandı. Bu ligandlar ile Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) geçiş metalleri kullanılarak aşağıdaki 20 çeşit Schiff bazı metal kompleksi hazırlanmış (Baran,2009; Karaoğlu,2009) ve her bileşik, ligand tipi ve metalin simgesi kullanılarak aşağıdaki gibi numaralandırılmıştır.

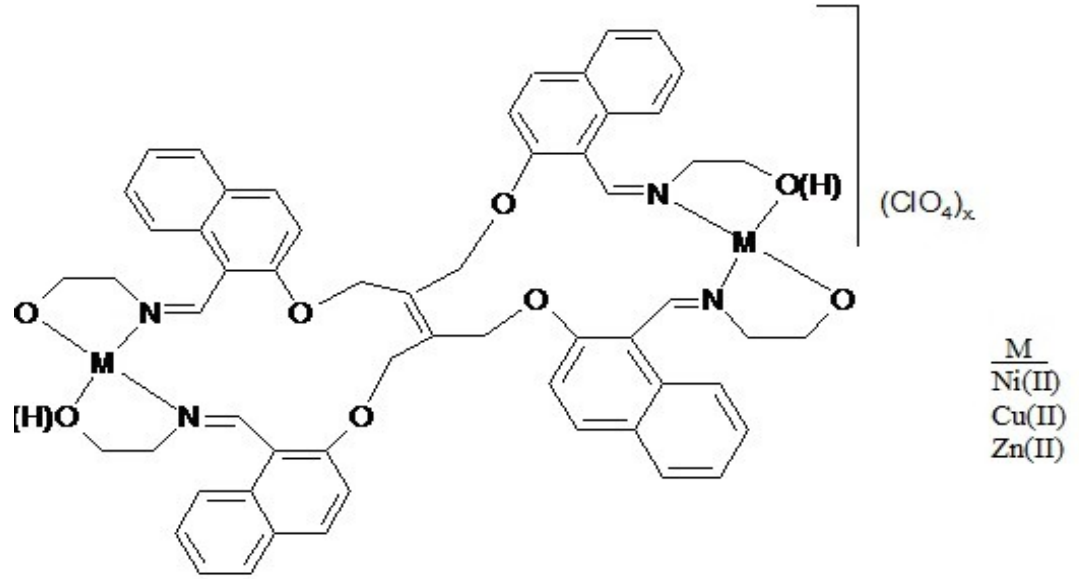
Tablo.1 Schiff bazı-metal bileşiklerinin isimlendirmesi ve numaralandırması

Bileşğin kısaltması	Bileşğin numaralandırması
ATR-Ni	1 numaralı kompleks
Fenil -Cu	2 numaralı kompleks
ETA- Cu ₄	3 numaralı kompleks
Gli	4 numaralı kompleks
ETA	5 numaralı kompleks
ETA-Cu	6 numaralı kompleks
ETA-Zn	7 numaralı kompleks
Fenil	8 numaralı kompleks
Gli-Mn	9 numaralı kompleks
ATR-Zn	10 numaralı kompleks
ATR-Mn	11 numaralı kompleks
Gli-Ni	12 numaralı kompleks
Gli-Cu	13 numaralı kompleks
Fenil-Ni	14 numaralı kompleks
Fenil-Zn	15 numaralı kompleks
Gli-Zn	16 numaralı kompleks
ATR-Cu	17 numaralı kompleks
Fenil-Mn	18 numaralı kompleks
ATR	19 numaralı kompleks
ETA-Ni	20 numaralı kompleks

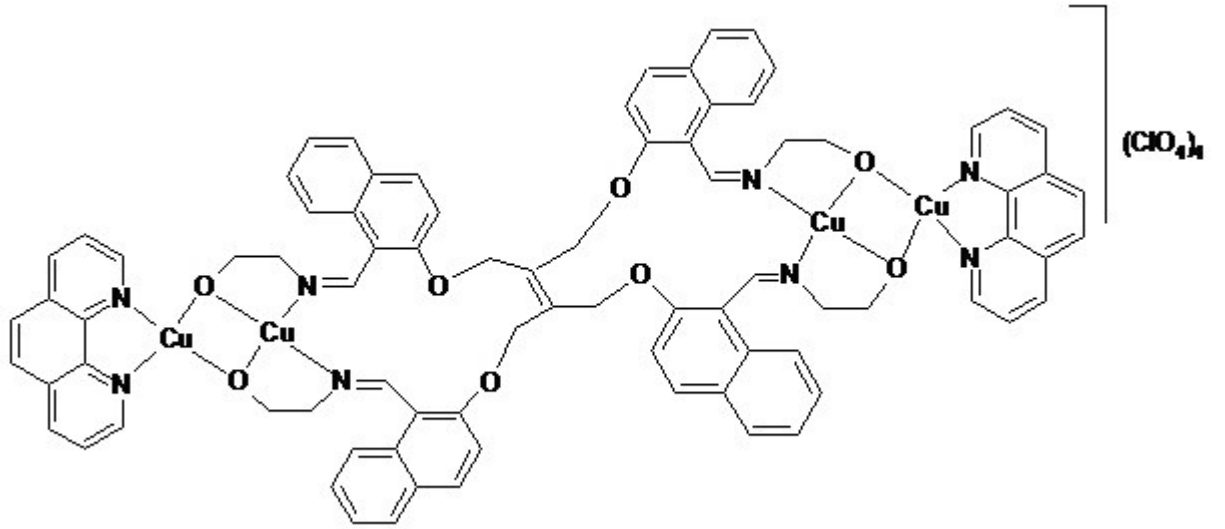
Çalışılan Schiff bazlarının metallerle yaptığı bileşiklerin kimyasal yapıları aşağıdaki gibidir (Şekil 12-16).



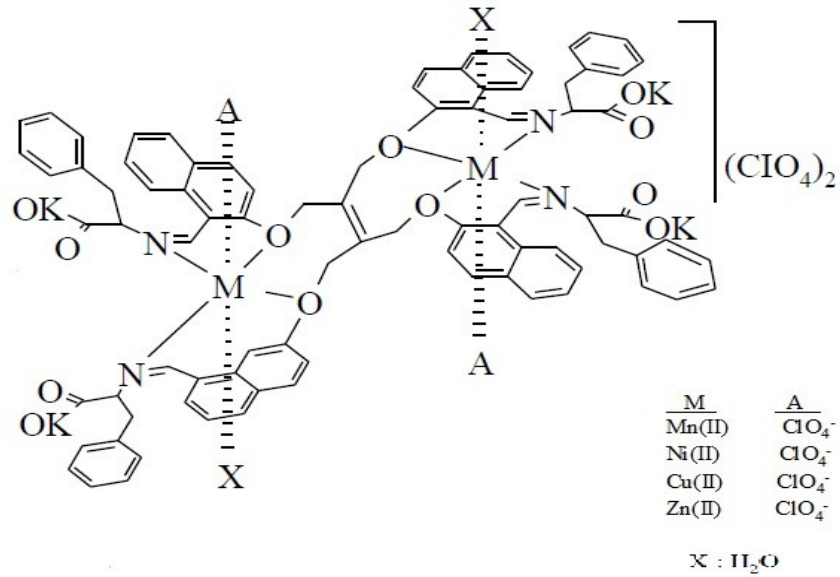
Şekil 12. Amino triazol ligandının Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal kompleksleri (Baran, 2009)



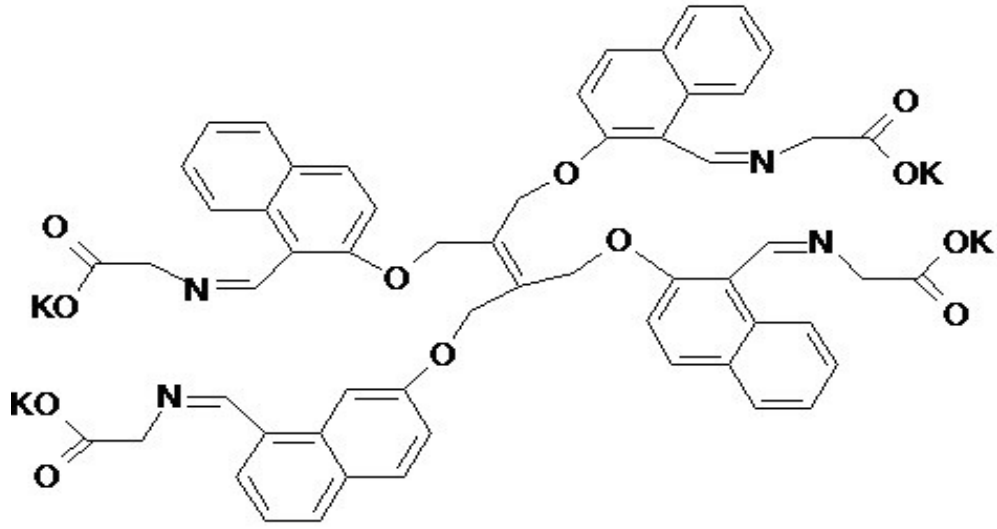
Şekil 13. Etanol amin ligandının Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal kompleksleri (Karaoğlu vd., 2009)



Şekil 14. Etanol amin ligandının Cu₄ metal kompleksi (Karaoglu vd., 2009)

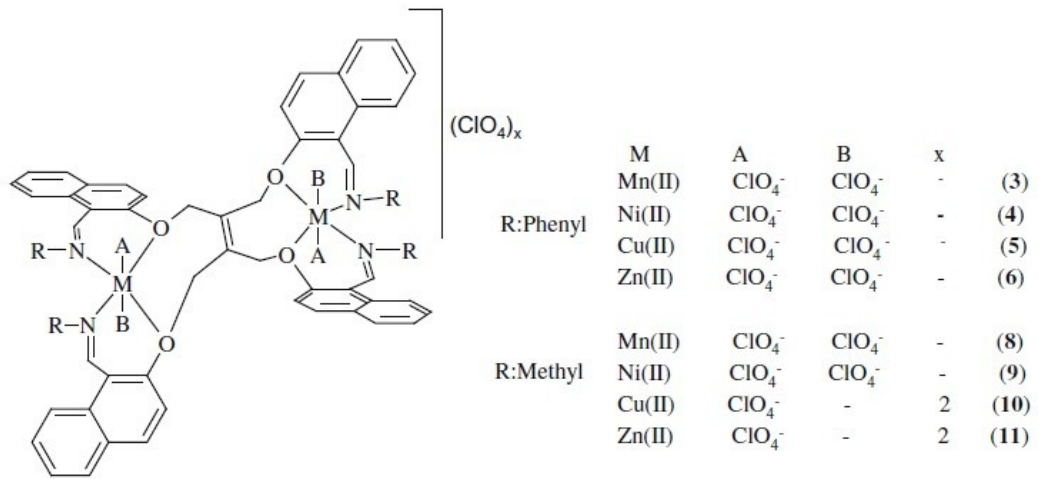


Şekil 15. Fenil ligandının Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal kompleksleri (Baran, 2009)



Şekil 16. Glisin ligandının Mn(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metal kompleksleri

Çalışmanın tamamında daha önceden sentezlenen ve kırık form (Form II) DNA oluşturma yönünde nükleolitik aktivitesi olduğu bilinen 2,2'-[2,3-Bis(1-formyl-2-naphthyloxymethyl)-but-2-ene-1,4-diyldioxy]bis(naphthalene-1-carbaldehyde) bileşiği (TE-MA-Cu) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Karaoglu vd., 2009). Pozitif kontrol olarak kullanılan bileşiğin kimyasal yapısı aşağıdaki gibidir (Şekil 17).

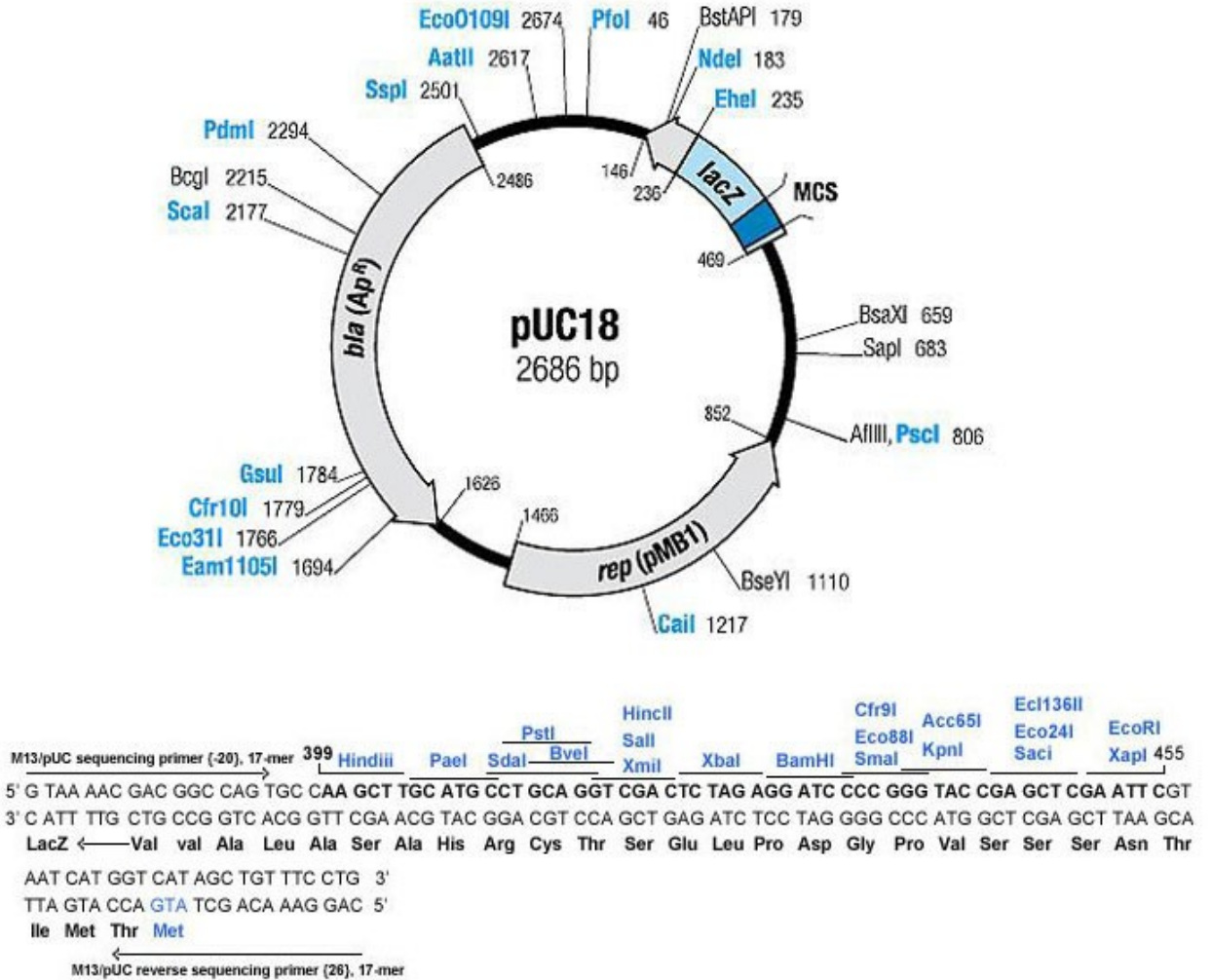


Şekil 17. TE-MA-Cu bileşiğinin kimyasal yapısı (Karaoglu vd. , 2009)

Çalışmanın tamamında yukarıda listelenen 20 kompleksin pH, sıcaklık, madde konsantrasyonu ve zamana bağlı olarak DNA üzerindeki nükleolitik aktivitesi incelenmiştir.

2.1.2. DNA Substratlarının Hazırlanması

DNA substrat olarak pUC18 plazmit DNA'sı kullanıldı. pUC18 2686 bp uzunluğunda küçük ve çok kopyalı bir *E.coli* plazmitidir. Karşılıklı bölgelere yerleşen MCS(multi cloning site)leri haricinde karakteristiktir (Şekil 18).



Şekil 18. pUC18 plazmitinin şematik görüntüsü (MBI Fermentas)

pUC18 plazmitini taşıyan *E.coli* DH5 α hücresi LB besiyerinde (1 L de; 10 g tripton, 5 g maya ekstrağı, 5 g sodyum klorür içeren besiyeri sodyum hidroksit ile pH 7.5'e ayarlandı ve otoklavda 121 °C'de 1.1 atm basınç altında 15 dakika bekletilip steril edilerek hazırlandı) büyütülerek plazmit DNA izole edildi. Büyütülen hücrelerden plazmit izolasyonu plazmit purifikasyon kiti (Promega-ABD) kullanılarak izole edildi. DNA konsantrasyonu Thermo marka nanodrop kullanılarak ölçüldü. DNA'nın kalitesi %1'lik agaroz jelde yürütülerek belirlendi. Tüm reaksiyonlarda 100 ng'a karşılık gelecek şekilde kullanıldı.

2.1.3. Schiff Bazlarının Sentezi ve Solüsyonlarının Hazırlanması

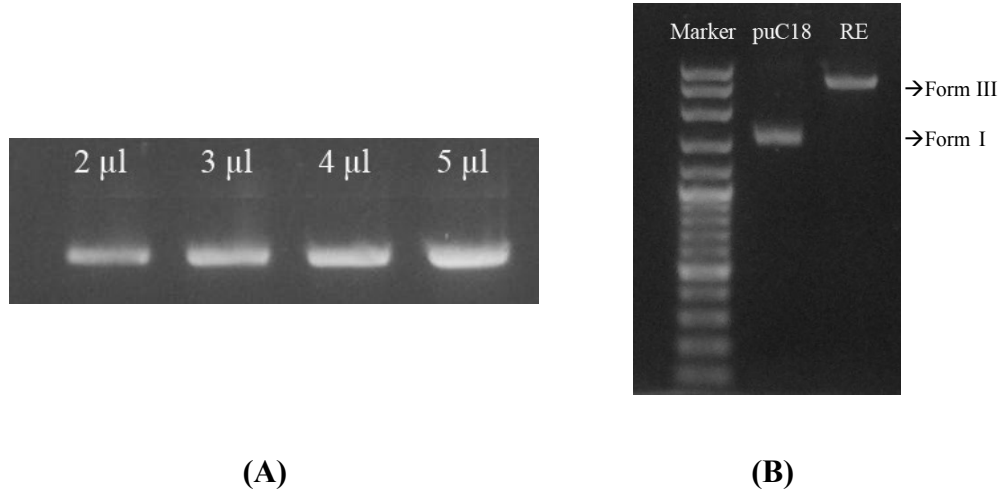
Çalışmanın tamamında kullanılan kompleksler Rize Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde TÜBİTAK 107T383 No.lu proje kapsamında sentezletilmiştir. Tüm kompleksler, son konsantrasyon 1 mM olacak şekilde DMSO'da çözülerek hazırlandı.

2.1.4. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

Komplekslerin optimum DNA kesim aktivite koşullarının pH'ya bağımlılığını belirlemek için tüm kompleksler ile çeşitli pH aralıklarında deneyler yapıldı. Bu amaç için, 500 mM KHPO₄ (pH: 5.0-7.5) ve 200 mM konsantrasyonda Tris-Base (pH:8.0-10.0) tampon çözeltileri hazırlandı.

2.1.5. Agaroz Jelde Görüntü

Nükleolitik aktivite deneylerinde kullanılmak üzere pUC18 plazmiti *E.coli* DH5 α hücrelerinden saflaştırılmıştır. 25 ng/ μ L konsantrasyonda nerede ise tamamı süpersarmal formda plazmit DNA'sı izole edildi. DNA'nın agaroz jel görüntüsü Şekil 19A'daki gibidir. Süpersarmal ve linear plazmit formları arasındaki farkı görmek için pUC18 plazmit DNA'sı *Hind*III ile kesilmiştir (Şekil 19B).



Şekil 19. (A) Değişik konsantrasyonlarda pUC18 plazmitinin agaroz jel görüntüsü, (B) pUC18 plazmitinin *Hind*III restriksiyon endonükleaz kesimi.

2.2. Çeşitli Parametrelerin Aktivite Üzerine Etkisi

2.2.1. pH'nın Nükleolitik Aktivite Üzerine Etkisinin Araştırılması

pH'nın komplekslerin aktivitesine etkisinin belirlenmesi için reaksiyonlar 100 ng plazmit DNA, her bir pH için 50 mM tampon, 200 µM her bir kompleks kullanılarak üzeri su ile tamamlanacak şekilde toplam 10 µL hacimde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar 16 saat süre ile 37°C'de gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası reaksiyonlar Orange G stop boyası ile sonlandırılıp %1'lik agaroz jelde 96 V'luk potansiyelde 45 dakika yürütülerek görüntülendi. Linear pozisyonu görüntülemek için *Hind*III kesimi pozitif olarak kullanılmıştır. *Hind*III kesimi için reaksiyon 100 ng plazmit DNA, 10 ünite *Hind*III ve 1X Buffer E ile üzeri su ile tamamlanacak şekilde 10 µL 37°C'de hacimde gerçekleştirilmiştir.

2.2.2. Sıcaklığın Nükleolitik Aktivite Üzerine Etkisinin Araştırılması

Sıcaklığın komplekslerin aktivitesine etkisinin belirlenmesi için yapılan deneylerin tamamında reaksiyonlar 100 ng plazmit DNA, her bir pH için 50 mM tampon, her bir kompleksten 200 µM kullanılarak üzeri su ile tamamlanacak şekilde toplam 10 µL hacimde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar 16 saat süre ile sırasıyla 22°C, 37°C, 50°C, 60°C ve 70°C'de gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası reaksiyonlar Orange G stop boyası

ile sonlandırılıp %1'lik agaroz jelde 96 V'luk potansiyelde 45 dakika yürütülerek görüntülendi.

2.2.3. Madde Konsantrasyonunun Nükleolitik Aktivite Üzerine Etkisinin Araştırılması

Madde konsantrasyonunun komplekslerin aktivitesine etkisinin belirlenmesi için reaksiyonlar 100 ng plazmit DNA, 50 mM tampon (pH: 8.0), 150 μ M, 300 μ M, 450 μ M, 600 μ M, 750 μ M her bir kompleksten kullanılarak üzeri su ile tamamlanacak şekilde toplam 10 μ L hacimde gerçekleştirildi. Metallerin saf halinin etkisini araştırmada pozitif kontrol olarak Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metallerin perklorat tuzları DMSO'da çözülmüş solüsyonları kullanılmıştır. Reaksiyon 300 μ M metal solüsyonu, 100 ng plazmit DNA, 50 mM pH: 8.0 tampon kullanılarak üzeri su ile tamamlanacak şekilde toplam 10 μ L hacimde gerçekleştirildi. Madde konsantrasyonunun komplekslerin aktivitesine etkisinin belirlenmesi için yapılan deneylerin tamamı pH: 8.0 ve 37°C'de 16 saat süreyle gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası reaksiyonlar Orange G stop boyası ile sonlandırılıp %1'lik agaroz jelde 96 V'luk potansiyelde 45 dakika yürütülerek görüntülendi

2.2.4. Reaksiyon Süresinin Nükleolitik Aktiviteye Etkisinin Araştırılması

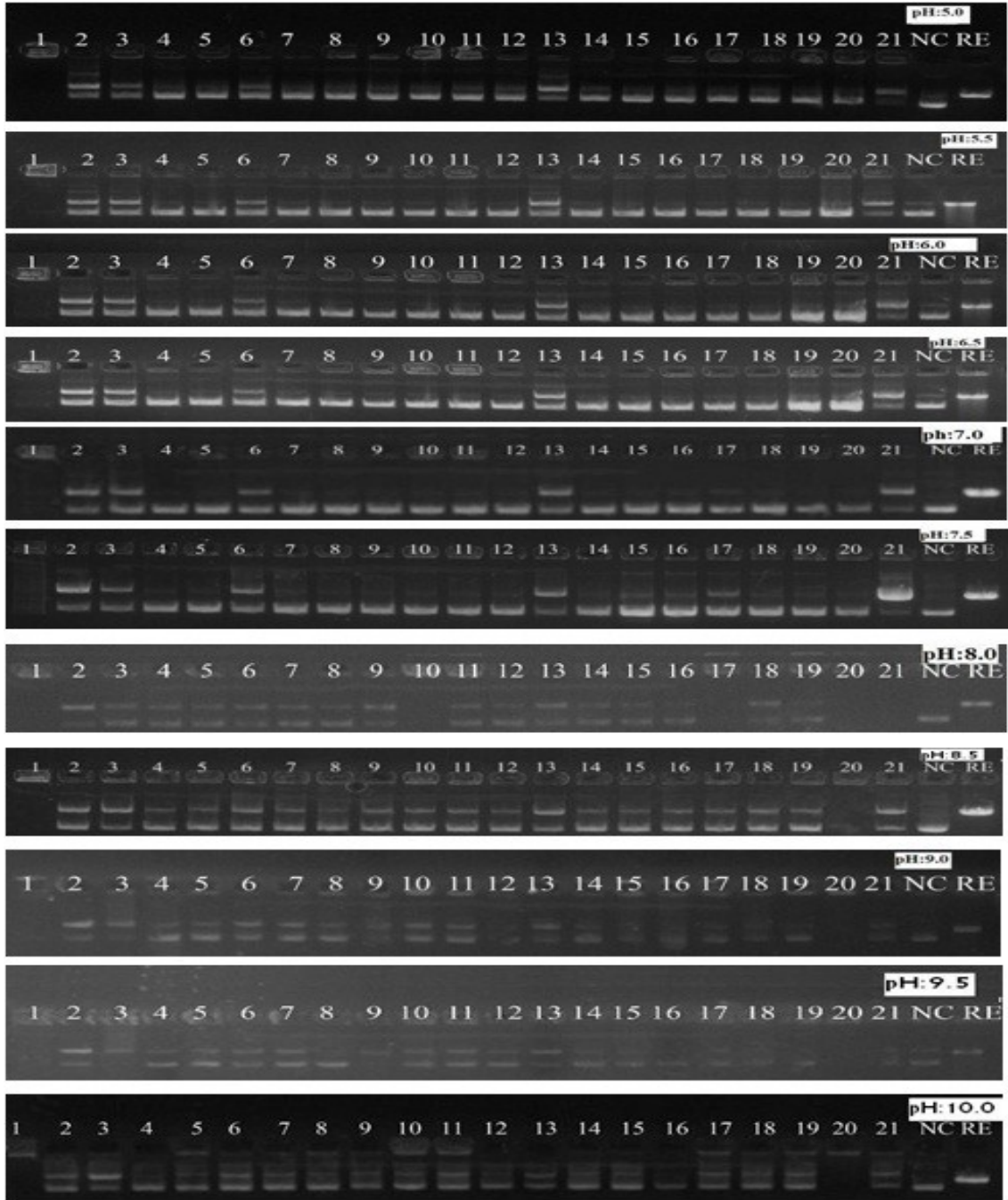
Zamana bağlı nükleolitik aktivitenin araştırılması için reaksiyonlar 100 ng plazmit DNA, 50 mM tampon (pH: 8.0), her bir kompleksten 200 μ M kullanılarak üzeri su ile tamamlanacak şekilde toplam 10 μ L hacimde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar sırasıyla 15 ve 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 4 saat, 8 saat ve 16 saat süre ile 37°C'de gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası reaksiyonlar Orange G stop boyası ile sonlandırılıp %1'lik agaroz jelde 96 V'luk potansiyelde 45 dakika yürütülerek görüntülendi.

3. BULGULAR

3.1. Komplekslerin Nükleolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi

Sentez edilen maddelerin pUC18 plazmiti üzerindeki nükleolitik aktivitesine pH'nın etkisinin araştırılması için deneyler her madde için 1,5 mL'lik santrifuj tüpte 10 µL hacimde yapıldı. Nükleolitik aktivitenin olup olmadığının araştırılması için deneyler karşılaştırma yapabilmek için 3 tip DNA olması gerekiyordu. Bunlardan birincisi süpersarmal DNA'yı ifade eder (Form I) ve negatif kontrol (Form I) olarak isimlendirilmiştir. İkincisi tek iplikte kırık olan DNA (nicked DNA) olarak kullanıldı ve Form II olarak isimlendirildi. Üçüncüsü lineer DNA'yı ifade eder (Form III). pUC18 DNA'sı restriksiyon endonükleaz *Hind*III ile kesilerek lineer DNA oluşturuldu ve Form III için pozitif kontrol olarak kullanıldı. Çalışmamızda kullanılan DMSO ve tampon çözeltiler plazmit DNA üzerinde herhangi bir form değişimine sebep olmamıştır.

Bu çalışmada pH: 5.0-10.0 arası tüm değerlerde ve tüm maddeler için ayrı ayrı reaksiyon ortamı hazırlanarak 37°C'de 16 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda reaksiyon ürünlerine 3 µL Orange G yürütme tamponu eklenerek %1'lik agaroz jele yüklendi. 96 V'luk potansiyelde 45 dk elektroforez yapıldıktan sonra UV ışığı altında gözlem yapılarak görüntü alındı (Şekil 20).



Şekil 20. pH: 5.0 – 10.0 arasında değişen pH aralıklarda çalışmada kullanılan tüm maddelerin nükleolitik aktivitelerinin araştırılmasının agaroz jel analizi. 21; pozitif kontrol (DNA+TE-MA-Cu+su+tampon), NC; DNA+Su, RE; DNA+ *Hind*III.

Farklı pH değerlerinde nükleolitik aktivitenin araştırılması sonucunda; **1** no.lu kompleks pH aralığına bağlı olmaksızın ortamdaki tüm DNA'yı hidroliz etmiştir. **2, 3, 6, 13** numaralı kompleksler pH: 5.0-7.5 arasında pH yükseldikçe artacak şekilde plazmit DNA'yı Form I den Form II'ye dönüştürmüştür ve pH: 8.0-10.0 arası ise nispeten daha düşük aktivite göstermiştir. **4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 18** numaralı kompleksler pH: 5.0-7.5 arasında aktivite göstermemiştir. pH: 8.0-10 arası değerlerde Form I'den Form II'ye dönüşüm olmakla beraber total DNA miktarının azalması gözlenmiştir. **15** numaralı kompleks pH: 5.0-6.5 arasında aktivite göstermemiş, pH: 7.0-10.0 arasında artarak Form I'den Form II'ye dönüşüme sebep olmuştur. **16** numaralı kompleks pH: 5.0-6.5 arasında aktivite göstermemiş, pH: 7.0-8.5 arasında artarak Form I'den Form II'ye dönüşüme sebep olmuştur. pH: 9.0-10.0 arasında nispeten daha düşük aktivite göstermiştir. **17** numaralı kompleks pH: 5.0-6.0 arasında aktivite göstermemiş, pH: 6.5-10.0 arasında artarak Form I'den Form II'ye dönüşüme sebep olmuştur. **19** numaralı kompleks pH: 5.0-7.0 arasında aktivite göstermemiş, pH: 7.5-10.0 arasında düşük miktarda Form I'den Form II'ye dönüşüme sebep olmuştur. **20** numaralı kompleks pH: 5.0-7.5 arasında düşük miktarda Form I'den Form II'ye dönüşüme sebep olmuş, pH: 8.0-10.0 arasında DNA'yı çok küçük fragmentlere hidroliz ettiğinden herhangi bir bant gözlenmemiştir.

Komplekslerin nükleolitik etkinliklerinin pH'ya bağımlılıkları incelendiğinde **4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14** ve **18** numaralı komplekslerin çok düşük aktivite gösterdiği ya da aktivite göstermediği tespit edildiğinden deneylere nükleolitik aktivitesi yüksek olan komplekslerle devam edilmiştir.

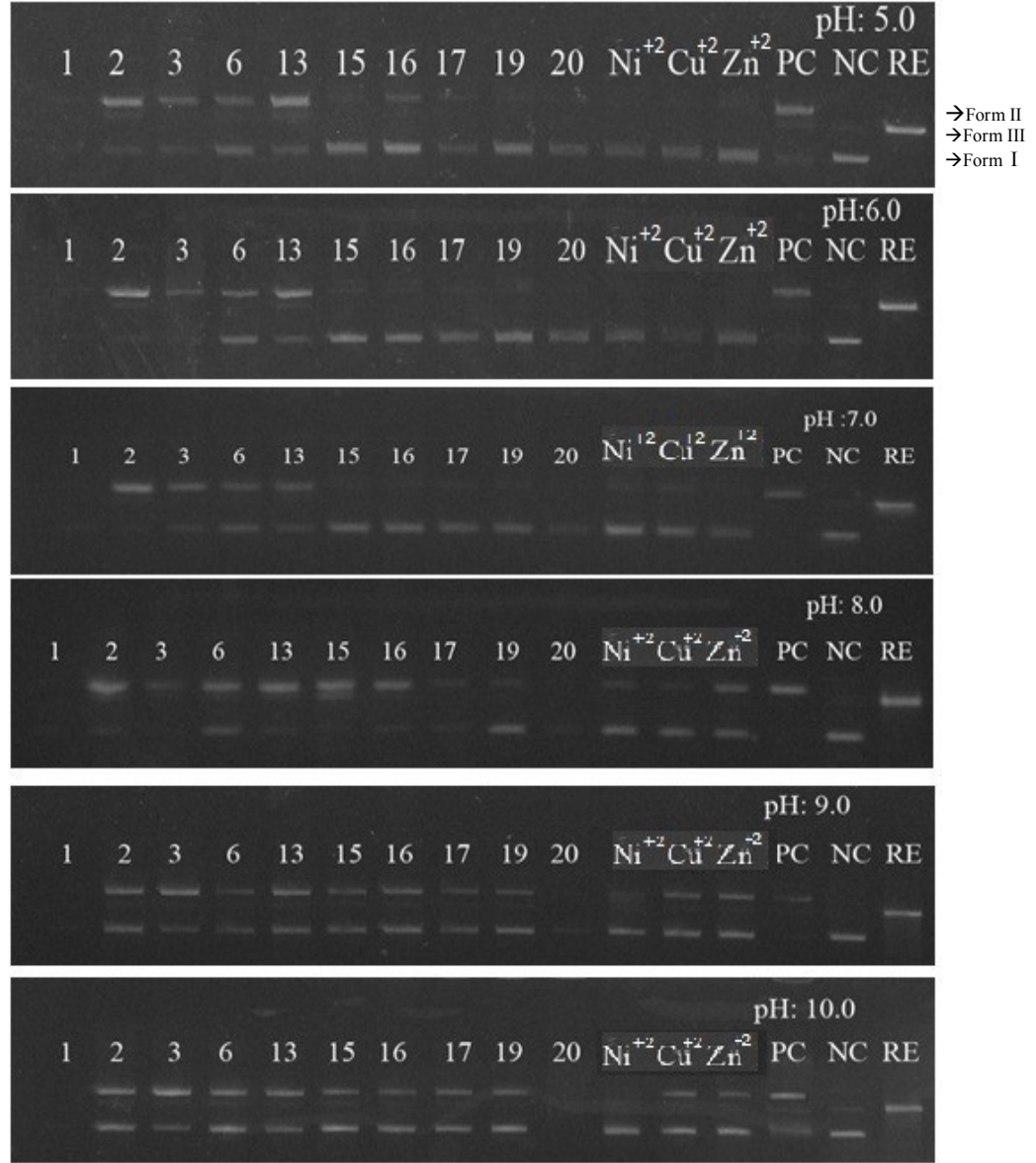
3.2. Nükleolitik Aktivite Gösteren Komplekslerin Karakterize Edilmesi

3.2.1. pH'ya Bağlı Aktivitenin Belirlenmesi

pH: 5.0-10.0 arasında yapılan deneyler sonucunda **1, 2, 3, 6, 13, 15, 16, 17, 19** ve **20** numaralı komplekslerde yüksek nükleolitik aktivite olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda DNA ile beraber Ni(II), Cu(II), Zn(II) ve Mn(II) varlığında, Cu(II) ve Zn(II)'nin pH'nın yükselmesine bağlı olarak aktivite gösterdiği, Ni(II)'nin pH'nın yükselmesine bağlı olarak nispeten daha az aktivite gösterdiği sonucu elektroforez ile

belirlendi. Bu maddelerin aktivitelerine pH'nın etkisi tekrar çalışıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 21'deki gibidir.

Sütun → 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16



Şekil 21. Nükleolitik aktivite gösteren komplekslerin pH: 5.0-10.0 arasındaki etkinliğinin agaroz jel analizi.

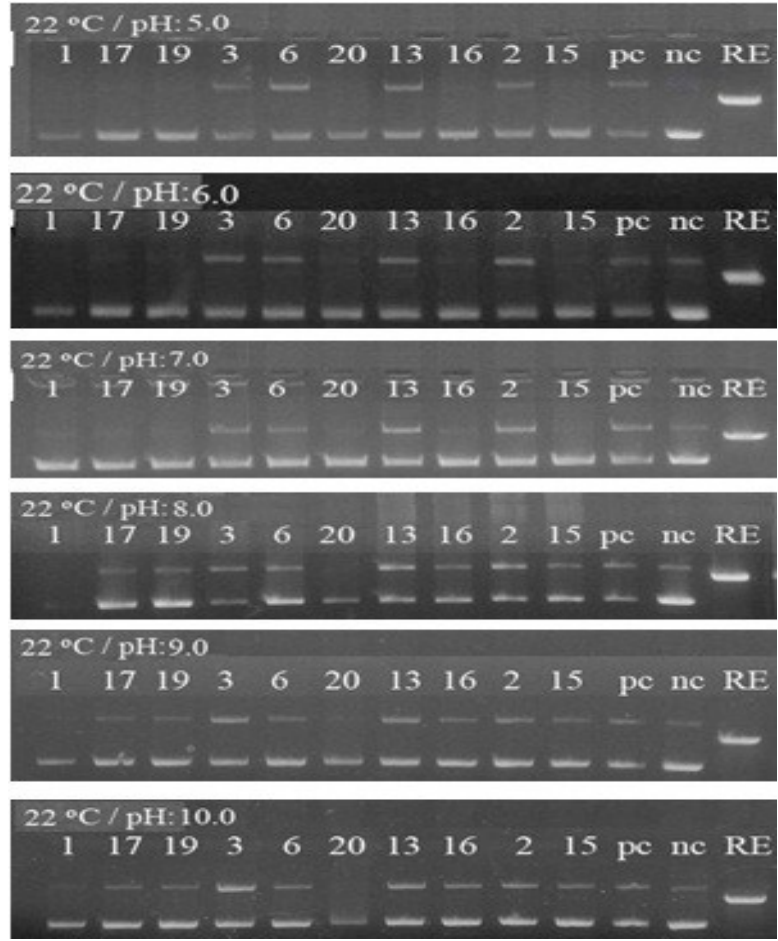
1 numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli pH seviyelerinde %18-27 arasında çeşitlilik göstermiş, plazmit DNA'nın

degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi pH yükseldikçe artacak şekilde %51'den %74'e doğru yükselmiştir (Şekil 21-sütun 1), (Tablo 2,3). **2, 3, 6 ve 13** numaralı komplekslerin oldukça benzer davranış gösterdikleri görülmüştür. **2** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-8.0 arasında %70'e kadar artmış, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %61'e düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli pH seviyelerinde %1-13 arasında çeşitlilik göstermiştir (Şekil 21-sütun 2), (Tablo 2,3). **3** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-7.0 arasında sırasıyla %42, %46 ve %38 gibi değerler almış pH: 8.0'de %34'e düşmüş, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %59-65'e yükselmiştir; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-8.0 arasında %44'e kadar artmış, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %15'e düşmüştür (Şekil 21-sütun 3), (Tablo 2,3). **6** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH yükseldikçe artacak şekilde %34'ten %49'a yükselmiştir; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli pH seviyelerinde %10-35 arasında çeşitlilik göstermiştir (Şekil 21-sütun 4), (Tablo 2,3). **13** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH yükseldikçe %74'ten %45'e düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli pH seviyelerinde %3-38 arasında çeşitlilik göstermiştir (Şekil 21-sütun 5), (Tablo 2,3). **15** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-8.0 arasında %65'e kadar artmış, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %37'ye düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli pH seviyelerinde %15-38 arasında çeşitlilik göstermiştir (Şekil 21-sütun 6), (Tablo 2,3). **16** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-8.0 arasında %48'e kadar artmış, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %33'e düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli pH seviyelerinde %16-34 arasında çeşitlilik göstermiştir (Şekil 21-sütun 7), (Tablo 2,3). **17** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH yükseldikçe artacak şekilde %27'den %41'e yükselmiştir ve plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-8.0 arasında %45'e kadar artmış, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %28'e düşmüştür (Şekil 21-sütun 8), (Tablo 2,3). **19** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-8.0 arasında

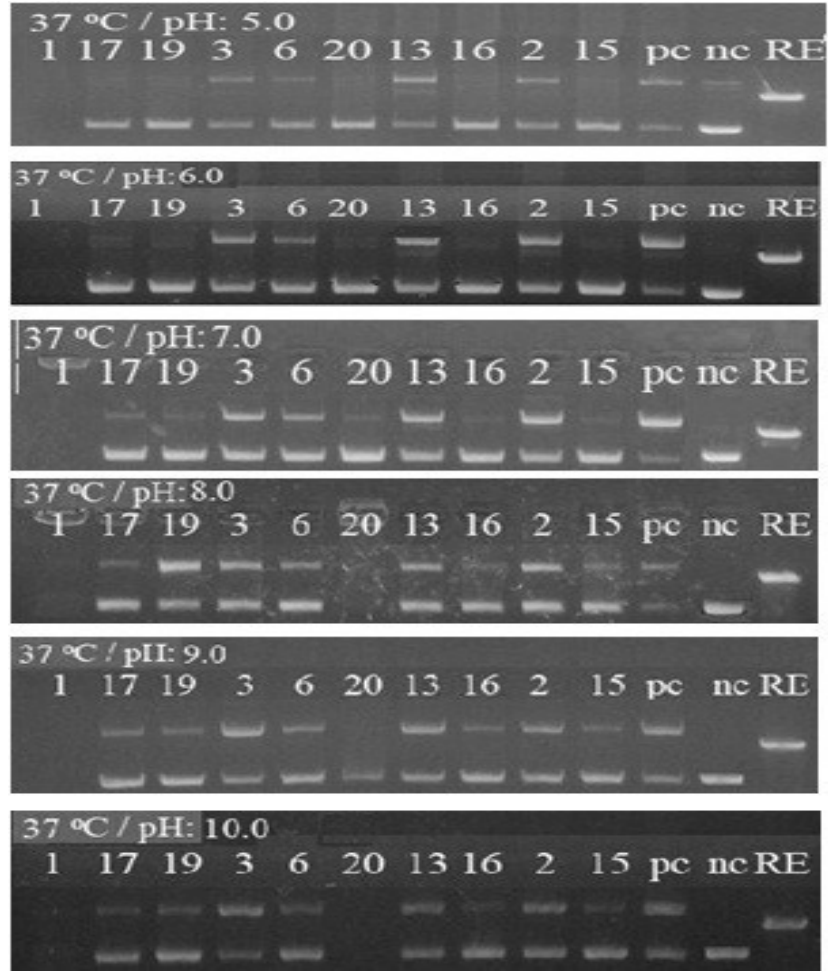
%29'dan %22'ye düşmüş, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %42'ye yükselmiştir; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-9.0 arasında %44'e kadar artmış, pH: 10.0'da ise bu değer %22'ye düşmüştür (Şekil 21-sütun 9), (Tablo 2,3). **20** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-8.0 arasında %24'ten %16'ya düşmüş, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %39'a yükselmiştir; plazmit DNA'nın hidrolizi yönündeki nükleolitik aktivitesi pH: 5.0-8.0 arasında %43'ten %65'e kadar artmış, pH: 9.0-10.0'da ise bu değer %50'ye düşmüştür (Şekil 21-sütun 10), (Tablo 2,3).

3.2.2. Sıcaklığa Bağlı Nükleolitik Aktivitenin İncelenmesi

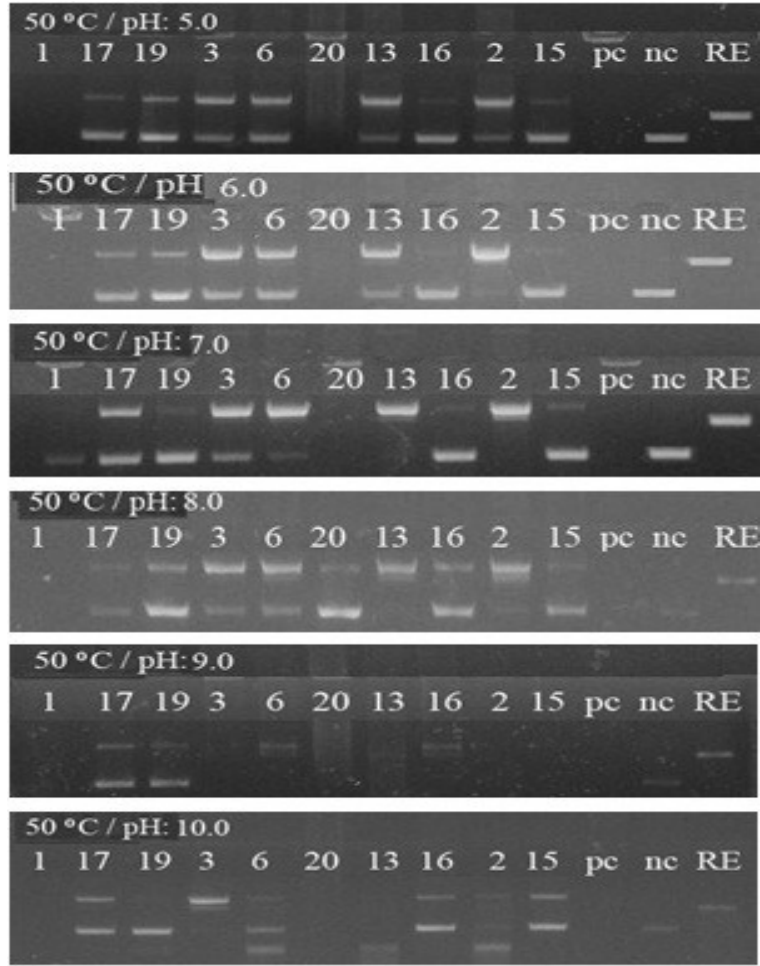
Bu çalışmada pH: 5.0-10.0 arası tüm değerlerde ve tüm maddeler için ayrı ayrı reaksiyon ortamı hazırlanarak sırasıyla 22°C, 37°C, 50°C, 60°C ve 70°C de 16 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda reaksiyon ürünlerine 3 µL orange G yürütme tamponu eklenerek %1'lik agaroz jele yüklendi. 96 V'luk potansiyelde 45 dakika elektroforez yapıldıktan sonra UV ışığı altında gözlem yapılarak görüntü alındı. Buna göre elde edilen sonuçlar Şekil 22-26'daki gibidir.



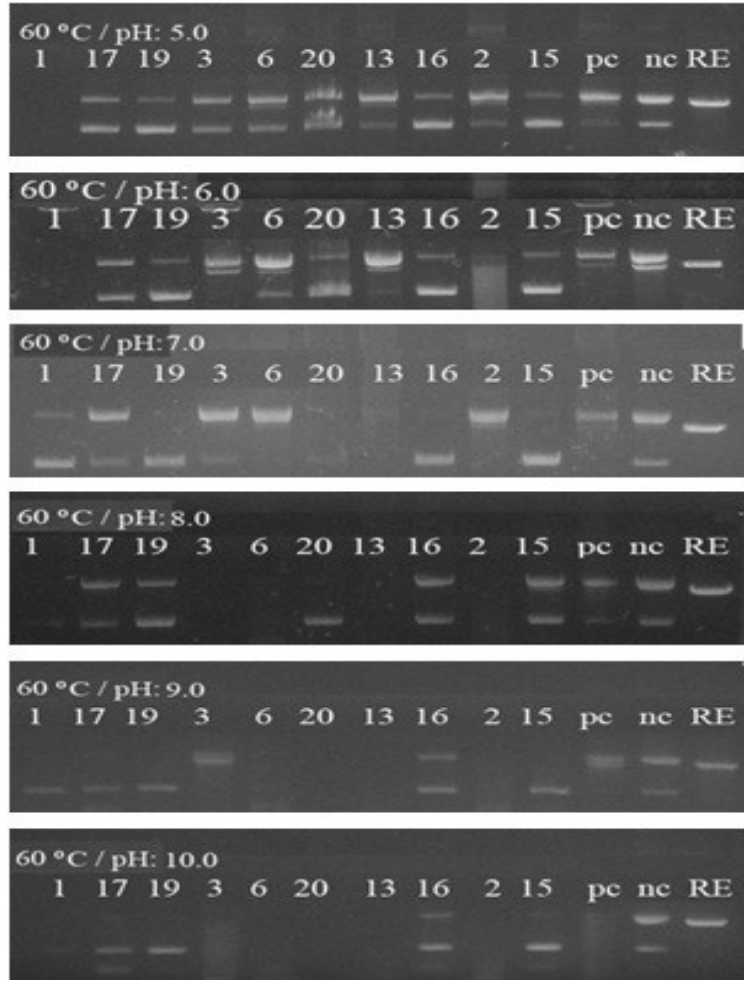
Şekil 22. Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da ve 22°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi.



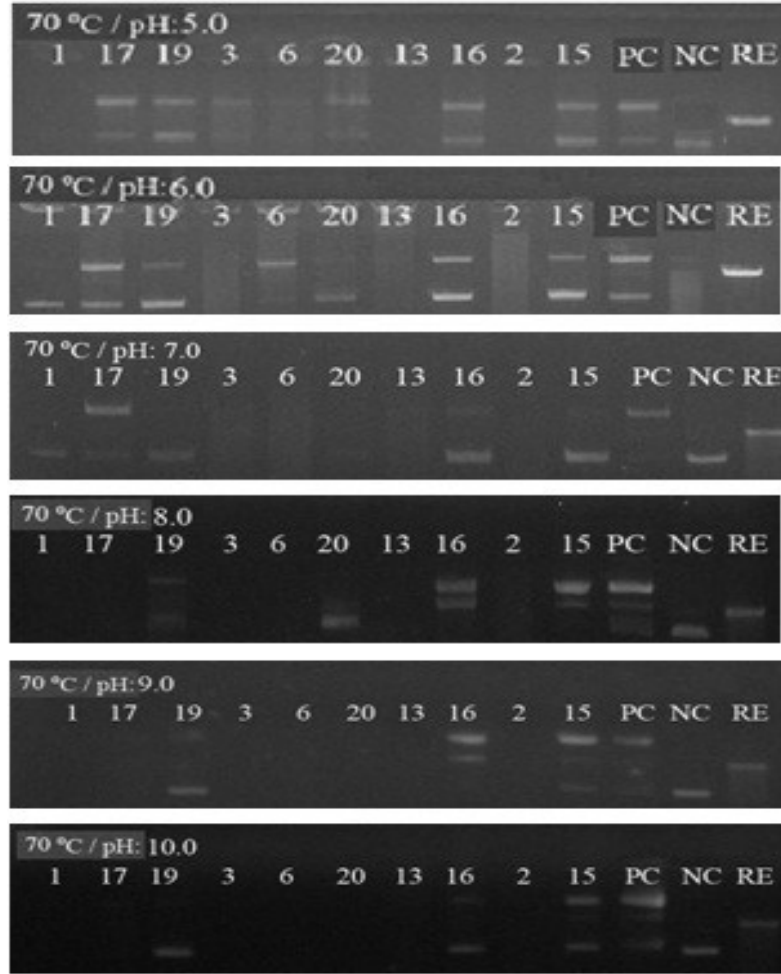
Şekil 23. Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da ve 37°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi.



Şekil 24. Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da ve 50°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi.



Şekil 25. Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da ve 60°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi.



Şekil 26. Komplekslerin pH: 5.0-10.0'da ve 70°C'de aktivitelerinin karşılaştırılmasının agaroz jel analizi.

1 numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli sıcaklık değerlerinde %13-29 arasında; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli sıcaklık değerlerinde %50-74 arasında çeşitlilik göstermiştir (Şekil 22-26), (Tablo 4,5). 2 numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi sıcaklık değerlerinde %19-70 arasında; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli sıcaklık değerlerinde %1-66 arasında çeşitlilik göstermiştir (Şekil 22-26), (Tablo 4,5). 3 numaralı kompleksin sıcaklık arttıkça kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi %43'ten %17'ye düşmüş, plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi %4'ten %69'a yükselmiştir (Şekil 22-26), (Tablo 4,5). 6 numaralı kompleksin 22°C-37°C arasında

kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi %27'den %47'ye yükselmiş; sıcaklık yükseldikçe bu değer %19'a düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C–60°C arasında %9'dan %43'e yükselmiş, 70°C'de %19'a düşmüştür (Şekil 22-26), (Tablo 4,5). **13** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C–60°C arasında %46'dan %59'a yükselmiş, 70°C'de %16'ya düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi sıcaklık arttıkça %69'a kadar artmıştır. **15** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi sıcaklık arttıkça %71'e kadar artmış; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C – 50°C arasında %9'dan %40'a yükselmiş, 70°C'de %5'e düşmüştür (Şekil 22-26), (Tablo 4,5). **16** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi sıcaklık arttıkça %78'e kadar artmış; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C–37°C arasında %20'den %29'a yükselmiş, 70°C'de %5'e kadar düşmüştür (Şekil 22-26), (Tablo 4,5). **17** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C– 60°C arasında %26'dan %54'e yükselmiş, 70°C'de %19'a düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C–37°C arasında %20'den %45'e yükselmiş, 50°C'de hidroliz olmamış, 60°C'de %12 ve 70°C'de %63 olacak şekilde gerçekleşmiştir (Şekil 22-26), (Tablo 4,5). **19** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C– 50°C arasında %29'dan %46'ya yükselmiş, 70°C'de %29'a düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C – 37°C arasında %7'den %38'e yükselmiş, 70°C'de %29'a düşmüştür (Şekil 22-26), (Tablo 4,5). **20** numaralı kompleksin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C–50°C arasında %25'den %75'e yükselmiş, 70°C'de %22'ye düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 22°C–50°C arasında %28'den %75'e yükselmiş, 70°C'de %61'e düşmüştür (Şekil 22-26), (Tablo 4,5).

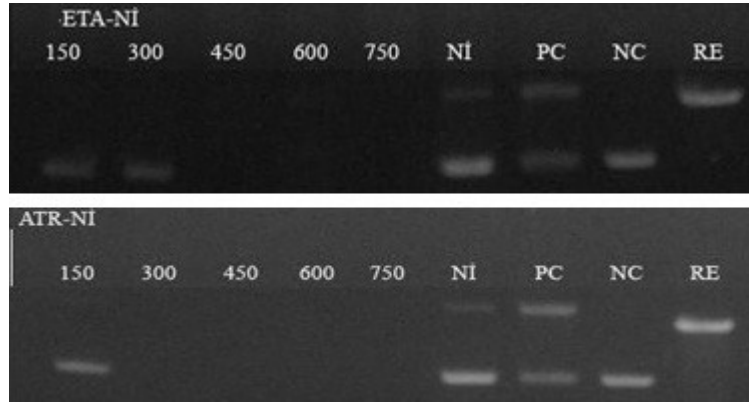
3.2.3. Madde Konsantrasyonuna Bağlı Aktivitenin İncelenmesi

Daha önce yapılan çalışmalarda nükleolitik aktivite gösteren maddelerin hangi konsantrasyonda daha etkin çalıştıkları incelendi. Yapılan kontrol deneyleri DNA ile ligand ve komplekslerde mevcut olan metallerin tuzlarının çözeltileri ile muamele

edilerek gerçekleştirildi. Bu ortamlarda süpersarmal DNA'nın bağıl oranında bir değişmeye sebep olup olmadığı kontrol edildi. Tüm maddelerde konsantrasyonun artışının ise DNA üzerindeki nükleolitik aktivitenin artışına sebep olduğu gözlemlendi.

ATR ve ETA ligandlarının Ni(II) ile yaptığı komplekslerde;

ATR-Ni kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 150 μ M-450 μ M konsantrasyon arasında %36'dan %44'e yükselmiş, bu konsantrasyondan itibaren ürün miktarı değişmemiştir; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi konsantrasyon arttıkça %48'den %53'e yükselmiştir. ETA-Ni kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi konsantrasyon arttıkça %23-30 arasında seyretmiş, plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi konsantrasyon arttıkça %34'ten %56'ya yükselmiştir. (300 μ M) Ni(II) çözeltisi ise düşük oranda Form I DNA'dan Form II DNA'ya dönüşüme sebep olmuştur (Şekil 27), (Tablo 6,7).

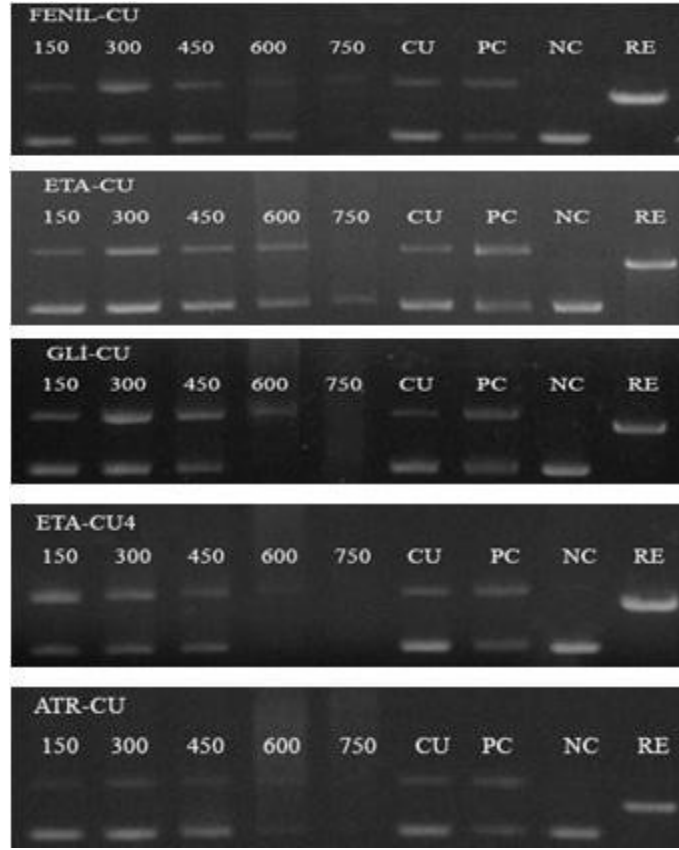


Şekil 27. ATR ve ETA ligandlı Ni(II) komplekslerinin konsantrasyona bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi.

ATR, ETA, Fenil ve Gli ligandlarının Cu(II) ile yaptığı komplekslerde;

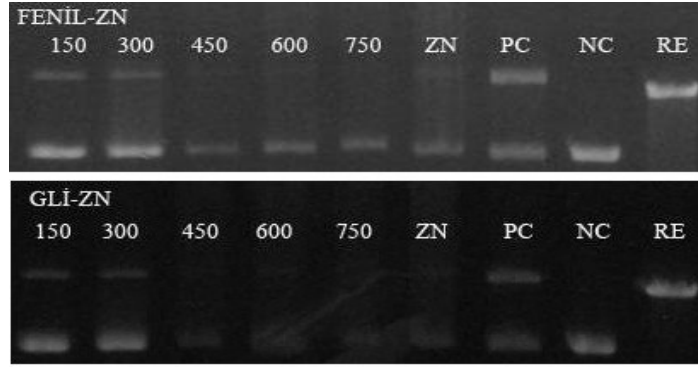
Fenil-Cu kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 150 μ M-300 μ M konsantrasyon arasında %18'den %53'e yükselmiş, konsantrasyon arttıkça bu değer %30'a düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi konsantrasyon arttıkça %9'dan %52'ye yükselmiştir. ETA-Cu₄ kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi aktivitesi 150 μ M-300 μ M konsantrasyon arasında %50'den %64'e yükselmiş, konsantrasyon arttıkça bu

değer %42'ye düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 150 µM-300 µM konsantrasyon arasında %32'den %4'e düşmüş, konsantrasyon arttıkça bu değer %43'e yükselmiştir. ETA-Cu kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 150 µM-600 µM konsantrasyon arasında %35'ten %57'ye yükselmiş, 750 µM konsantrasyonda bu değer %37'ye düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 450 µM-750 µM konsantrasyon arasında %10'dan %34'e yükselmiştir. Gli-Cu kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 150 µM-300 µM konsantrasyon arasında %29'dan %59'a yükselmiş, 450 µM-750 µM konsantrasyon arasında bu değer %42'ye düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi %18-30 arasında çeşitlilik göstermiştir. ATR-Cu kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 150 µM-600 µM konsantrasyon arasında %24'ten %59'a yükselmiş, 750 µM konsantrasyonda bu değer %31'e düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi konsantrasyon arttıkça %20'den %54'e yükselmiştir. (300 µM)Cu(II) çözeltisi ise düşük oranda Form I DNA'dan Form II DNA'ya dönüşüme sebep olmuştur (Şekil 28), (Tablo 6,7).



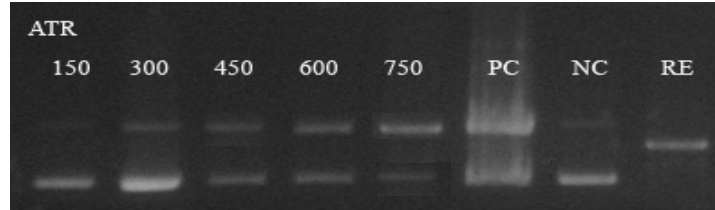
Şekil 28. ATR, ETA, Fenil ve Gli ligandlarının Cu(II) ile yaptığı komplekslerin konsantrasyona bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi.

Fenil ve Gli ligandlarının Zn(II) ile yaptığı komplekslerde; Fenil-Zn kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli konsantrasyonlarda %39-77 arasında çeşitlilik göstermiş; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli konsantrasyonlarda %2-30 arasında çeşitlilik göstermiştir. Gli-Zn kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi konsantrasyon arttıkça %37'den %47'ye yükselmiştir; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 450 μ M-750 μ M konsantrasyonda %32'den %26'ya düşmüştür. (300 μ M) Zn(II) çözeltisi ise düşük oranda Form I DNA'dan Form II DNA'ya dönüşüme sebep olmuştur (Şekil 29), (Tablo 6,7).



Şekil 29. Fenil ve Gli ligandlarının Zn(II) ile yaptığı komplekslerin konsantrasyona bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi.

Ligand olarak kullanılan ATR'nin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi konsantrasyon arttıkça %15'ten %38'e, plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi konsantrasyon arttıkça %12'den %24'e yükselmiştir (Şekil 30), (Tablo 6,7).



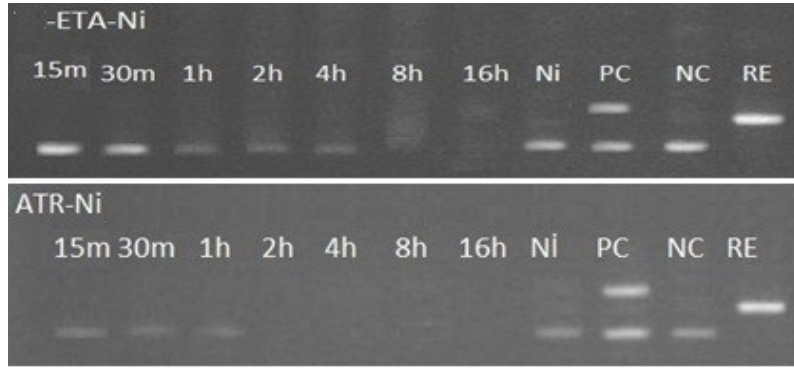
Şekil 30. ATR ligandının konsantrasyona bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi.

3.2.4. Reaksiyon Süresine Bağlı Aktivitenin İncelenmesi

Bu çalışmada farklı oranlarda nükleolitik aktivitesinin olduğu belirlenen maddelerin sırasıyla 15 ve 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 4 saat, 8 saat ve 16 saat süreyle plazmit DNA ile muamelelerinin sonuçları izlendi.

ATR ve ETA ligandlarının Ni(II) ile yaptığı komplekslerde; ATR-Ni kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 15 dakika-4 saat zaman aralığında %21'den %35'e yükselmiş, 16 saat sonunda bu değer %14'e düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi reaksiyon

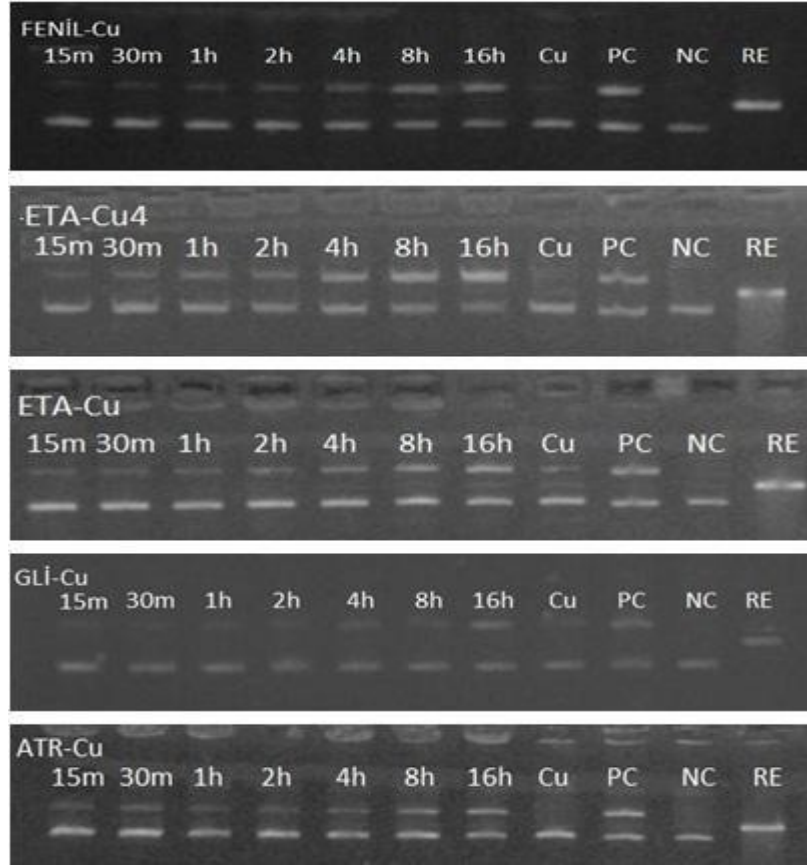
süresi arttıkça %30'dan %74'e yükselmiştir. ETA-Ni kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 15 dakika-8 saat zaman aralığında %14'ten %42'ye yükselmiş, 16 saat sonunda bu değer %16'ya düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi reaksiyon süresi arttıkça %17'den %65'e yükselmiştir. (300 μ M) Ni(II) çözeltisi ise çok düşük oranda Form I DNA'dan Form II DNA'ya dönüşüme sebep olmuştur (Şekil 31), (Tablo 8,9).



Şekil 31. ATR ve ETA ligandlarının Ni(II) komplekslerinin reaksiyon süresine bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi (m: dakika, h: saat).

ATR, ETA, Fenil ve Gli ligandlarının Cu(II) ile yaptığı komplekslerde; Fenil-Cu kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi reaksiyon süresi arttıkça %23'ten %70'e yükselmiş, plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi çeşitli reaksiyon sürelerinde %5-9 arasında seyretmiştir. ETA-Cu₄ kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 15 dakika-8 saat zaman aralığında %35'den %62'ye yükselmiş, 16 saat sonunda bu değer %34'e düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi sadece 16 saatlik reaksiyon sonucunda %44 oranında gerçekleşmiştir. ETA-Cu kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 15-30 dakika zaman aralığında %66'dan %71'e yükselmiş, 16 saat sonunda bu değer %47'ye düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi 15 dakikada %7, 16 saatte %25 şeklinde gerçekleşmiştir. Gli-Cu kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi reaksiyon süresi arttıkça %33'ten %59'a yükselmiştir; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi sadece 16 saatlik reaksiyon sonucunda

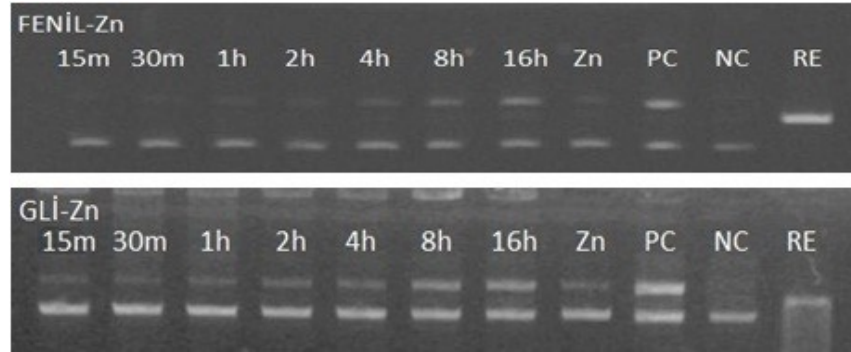
%22 oranında gerçekleşmiştir. ATR-Cu kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 15 dakika- 8 saat zaman aralığında %39'dan %52'ye yükselmiş, 16 saat sonunda bu değer %30'a düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi sadece 16 saatlik reaksiyon sonucunda %45 oranında gerçekleşmiştir. (300 μ M) Cu(II) çözeltisi ise düşük oranda Form I DNA'dan Form II DNA'ya dönüşüme sebep olmuştur (Şekil 32), (Tablo 8,9).



Şekil 32. ATR, ETA, Fenil ve Gli ligandlarının Cu(II) ile yaptığı komplekslerin reaksiyon süresine bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi.

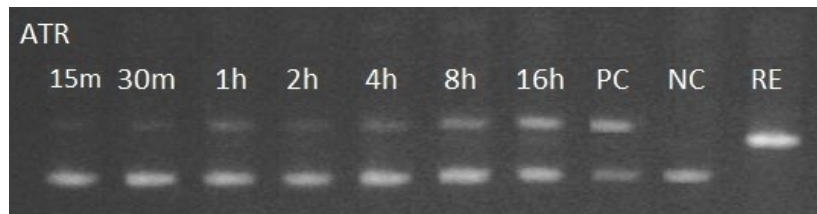
Fenil ve Gli ligandlarının Zn(II) ile yaptığı komplekslerde; Fenil-Zn kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi reaksiyon süresi arttıkça %31'den %65'e yükselmiştir; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi sadece 16 saatlik reaksiyon sonucunda %15 oranında gerçekleşmiştir. Gli-Zn kompleksinin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 15 dakika-8 saat zaman aralığında %40'tan %52'ye yükselmiş, 16 saat sonunda bu değer %48'e

düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi sadece 16 saatlik reaksiyon sonucunda %29 oranında gerçekleşmiştir. (300 μ M) Zn(II) çözeltisi ise düşük oranda Form I DNA'dan Form II DNA'ya dönüşüme sebep olmuştur (Şekil 33), (Tablo 8,9).



Şekil 33. Fenil ve Gli ligandlarının Zn(II) ile yaptığı komplekslerin reaksiyon süresine bağlı nükleolitik aktivitelerinin agaroz jel analizi.

Ligand olarak kullanılan ATR'nin kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitesi 15 dakika - 8 saat zaman aralığında %22'den %47'ye yükselmiş, 16 saat sonunda bu değer %22'ye düşmüştür; plazmit DNA'nın degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitesi sadece 16 saatlik reaksiyon sonucunda %38 oranında gerçekleşmiştir (Şekil 33), (Tablo 8,9).



Şekil 34. ATR ligandının reaksiyon süresine bağlı nükleolitik aktivitesini agaroz jel analizi.

4. TARTIŞMA

pUC18 plazmiti kullanılarak çeşitli komplekslerin nükleolitik aktivitesinin araştırıldığı bu çalışmada yukarıdaki bulgular elde edilmiştir. Reaksiyonlarda komplekslerin DNA'nın süpersarmal yapısı üzerinde her hangi bir değişim oluşturup oluşturmadığı araştırıldı. Kompleks yokluğunda DNA üzerinde herhangi bir elektroforetik değişim gözlenmedi. DNA ile beraber Ni(II), Cu(II), Zn(II) ve Mn(II)'nin perklorat tuzlarının varlığında, Cu(II) ve Zn(II)'nin pH'nın yükselmesine bağlı olarak aktivite gösterdiği, Ni(II)'nin pH'nın yükselmesine bağlı olarak nispeten daha az aktivite gösterdiği, Mn(II)'nin ise hiç aktivite göstermediği sonucu elektroforez ile belirlendi.

Kompleksler ile gerçekleştirilen deneysel çalışmalar agaroz jel elektroforeziyle analiz edildi. DNA ile pH, sıcaklık, konsantrasyon ve reaksiyon süresi gibi çeşitli ortam parametrelerine bağlı olarak süpersarmal DNA'nın kırık, lineer ve daha küçük DNA parçacıklarının varlığı gözlemlendi.

Komplekslerin hiçbirinin plazmit DNA'yı (Form I) lineer DNA'ya (Form III) dönüştürmediği; ancak reaksiyonlarda kırık form (Form II) oluşumu veya plazmit DNA'nın degradasyonunun gerçekleştiği gözlemlendi. Elde edilen verilere göre kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitelerine göre en aktif bileşikler sırasıyla Gli-Cu, Fenil-Cu, Fenil-Zn, ETA-Cu₄ ve ETA-Cu'dur (Tablo 2,3). Plazmit DNA degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitelerine göre en aktif bileşikler sırasıyla ATR-Ni, ETA-Ni, ATR-Cu ve ATR'dir (Tablo 2,3).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada dört ayrı liganda ait 10 adet Schiff sazi metal kompleksi çalışılmıştır. Amino triazol ligandının üç farklı kompleksi olan ATR (19) , ATR-Ni (1) ve ATR-Cu (17); etanol amin ligandının üç farklı kompleksi olan ETA-Cu₄ (3), ETA-Ni (20) ve ETA-Cu (6); fenil ligandının iki farklı kompleksi olan Fenil-Cu (2) ve Fenil-Zn (15); glisin ligandının iki farklı kompleksi Gli-Cu (13) ve Gli-Zn (16) komplekslerinin nükleolitik özellikleri nötral agaroz jel elektroforezi yardımıyla araştırılmıştır. Yapılan deneylerde; negatif kontrolde ortamın etkisi, Cu(II), Mn(II), Zn(II) metallerinin varlığında ve yokluğunda komplekslerin benzer davranışları gösterdiği, Ni(II)'nin varlığında ise pH, sıcaklık, konsantrasyon ve reaksiyon süresi arttıkça nükleolitik aktivite gösterdiği açıktır. Bütün komplekslerin DMSO'da çözüldüğü, tüm reaksiyonların hazırlanan tampon çözeltiler varlığında gerçekleştiği ve de DMSO ve tampon çözeltilerin DNA üzerinde bir etki yapmadığı görülmektedir. Dolayısıyla kompleks ve DMSO varlığında gerçekleştirilen bütün deneylerde gözlenen aktivitenin komplekslerden kaynaklandığı sonucu ortaya çıkmaktadır. Araştırılan komplekslerin agaroz jel görüntüleri UVIBAND UV jel görüntüleme sistemine ait UVISOFT miktar analiz programıyla değerlendirildi. Reaksiyon ürün miktarlarının % şeklinde ifadelerini içeren toplu sonuçlar Tablo 2-9'daki gibidir:

Tablo 2. pH'ya bağımlı Form II DNA oluşturma yüzdeleri (37°C, 16 saat inkübasyon)

	pH: 5.0	pH: 6.0	pH: 7.0	pH: 8.0	pH: 9.0	pH: 10.0
ATR-Ni (1)	%25	%27	%18	%14	%20	%18
Fenil-Cu (2)	%68	%70	%62	%70	%52	%61
ETA-Cu ₄ (3)	%42	%46	%38	%34	%59	%65
ETA-Cu (6)	%34	%35	%33	%47	%38	%49
Gli-Cu (13)	%74	%61,	%37	%59	%48	%45
Fenil-Zn (15)	%36	%25	%27	%65	%37	%37
Gli-Zn (16)	%37	%26	%23	%48	%47	%33
ATR-Cu (17)	%27	%27	%19	%30	%30	%41
ATR (19)	%29	%24	%23	%22	%31	%42
ETA-Ni (20)	%24	%26	%21	%16	%19	%39

Tablo 3. pH'ya bağımlı Form I DNA degradasyonu yüzdeleri (37°C, 16 saat inkübasyon)

	pH: 5.0	pH: 6.0	pH: 7.0	pH: 8.0	pH: 9.0	pH: 10.0
ATR-Ni (1)	%51	%46	% 62	% 74	% 70	% 74
Fenil-Cu (2)	% 7	% 5	% 13	% 6	% 9	% 1
ETA-Cu ₄ (3)	% 33	% 12	% 38	% 44	%	% 15
ETA-Cu (6)	% 29	% 17	%35	% 25	% 31	%10
Gli-Cu (13)	-----	% 3	% 38	% 22	% 17	% 24
Fenil-Zn (15)	-----	% 18	% 26	% 15	% 38	% 19
Gli-Zn (16)	-----	% 16	% 33	% 29	% 20	%34
ATR-Cu (17)	% 39	% 19	% 46	% 45	% 39	% 28
ATR (19)	% 16	% 18	% 40	% 38	% 44	% 22
ETA-Ni (20)	% 43	% 33	% 52	% 65	% 63	% 50

Tablo 4. Sıcaklığa bağımlı Form II DNA oluşturma yüzdeleri (pH: 8.0, 16 saat inkübasyon)

	22 °C	37 °C	50 °C	60 °C	70 °C
ATR-Ni (1)	%13	%14	%29	%15	%19
Fenil-Cu (2)	%31	%70	%34	%37	%19
ETA-Cu ₄ (3)	%43	%34	%35	%31	%17
ETA-Cu (6)	%27	%47	%45	%43	%19
Gli-Cu (13)	%46	%59	%50	%59	%16
Fenil-Zn (15)	%18	%65	%43	%54	%71
Gli-Zn (16)	%22	%48	%59	%59	%78
ATR-Cu (17)	%26	%30	%44	%54	%19
ATR (19)	%29	%22	%46	%39	%29
ETA-Ni (20)	%25	%16	%75	%71	%22

Tablo 5. Sıcaklığa bağımlı Form I DNA degradasyonu yüzdeleri (37°C'de, 16 saat inkübasyon)

	22 °C	37 °C	50 °C	60 °C	70 °C
ATR-Ni (1)	% 60	% 74	% 50	%71	% 66
Fenil-Cu (2)	% 1	% 6	% 50	%42	% 66
ETA-Cu ₄ (3)	% 4	% 44	% 53	%39	% 69
ETA-Cu (6)	% 9	% 25	% 41	%43	%19
Gli-Cu (13)	-----	% 22	% 21	% 23	% 69
Fenil-Zn (15)	% 9	% 15	% 40	%11	% 5
Gli-Zn (16)	% 20	% 29	% 23	%12	%5
ATR-Cu (17)	% 20	% 45	-----	%12	% 63
ATR (19)	% 7	% 38	% 9	%35	% 29
ETA-Ni (20)	% 28	% 65	%75	%17	% 61

Tablo 6. Madde konsantrasyonuna bağımlı Form II DNA oluşturma yüzdeleri (37 °C’de, 16 saat inkübasyon)

	150 µM	300 µM	450 µM	600 µM	750 µM
ATR-Ni (1)	%36	%44	%44	%40	%38
Fenil-Cu (2)	%18	%53	%36	%38	%30
ETA-Cu ₄ (3)	%50	%64	%55	%42	%42
ETA-Cu (6)	%35	%43	%43	%57	%37
Gli-Cu (13)	%29	%44	%51	%59	%42
Fenil-Zn (15)	%65	%39	%77	%74	%60
Gli-Zn (16)	%37	%36	%35	%36	%47
ATR-Cu (17)	%24	%41	%38	%59	%31
ATR (19)	%15	%23	%32	%27	%38
ETA-Ni (20)	%23	%30	%31	%30	%25

Tablo 7. Madde konsantrasyonuna bağımlı Form I DNA degradasyonu yüzdeleri (37°C’de, 16 saat inkübasyon)

	150 µM	300 µM	450 µM	600 µM	750 µM
ATR-Ni (1)	-----	% 48	% 50	%51	%53
Fenil-Cu (2)	% 9	% 11	% 26	% 25	% 52
ETA-Cu ₄ (3)	% 32	%4	% 16	% 45	% 43
ETA-Cu (6)	-----	-----	% 10	% 9	% 34
Gli-Cu (13)	% 26	% 18	% 20	% 30	% 23
Fenil-Zn (15)	% 20	% 2	% 13	%14	%30
Gli-Zn (16)	-----	-----	%32	%14	% 26
ATR-Cu (17)	% 20	% 6	% 19	%35	%54
ATR (19)	%12	%13	% 12	% 23	%24
ETA-Ni (20)	% 34	%39	% 48	%45	%56

Tablo 8. Reaksiyon süresine bağımlı Form II DNA oluşturma yüzdeleri (ph:8.0, 37°C’de inkübasyon)

	15 dakika	30 dakika	1 saat	2 saat	4 saat	8 saat	16 saat
ATR-Ni (1)	%21	%22	%23	%20	%35	%33	%14
Fenil-Cu (2)	%23	%27	%29	%31	%38	%57	%70
ETA-Cu₄ (3)	%35	%39	%46	%49	%54	%62	%
ETA-Cu (6)	%66	%71	%70	%69	%62	%54	%47
Gli-Cu (13)	%33	%35	%34	%37	%40	%38	%59
Fenil-Zn (15)	%31	%34	%34	%38	%38	%43	%65
Gli-Zn (16)	%40	%44	%36	%41	%43	%52	%48
ATR-Cu (17)	%39	%42	%47	%47	%50	%52	%30
ATR (19)	%22	%26	%35	%34	%40	%47	%22
ETA-Ni (20)	% 14	%23	%21	%26	%24	%42	%16

Tablo 9. Reaksiyon süresine bağımlı Form I DNA degradasyonu yüzdeleri (ph:8.0, 37°C’de inkübasyon)

	15 dakika	30 dakika	1 saat	2 saat	4 saat	8 saat	16 saat
ATR-Ni (1)	%30	%63	% 50	% 70	% 49	%50	% 74
Fenil-Cu (2)	%5	%6	%6	%7	%8	%9	% 6
ETA-Cu₄ (3)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	% 44
ETA-Cu (6)	%7	-----	-----	-----	-----	-----	% 25
Gli-Cu (13)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	% 22
Fenil-Zn (15)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	% 15
Gli-Zn (16)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	% 29
ATR-Cu (17)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	% 45
ATR (19)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	% 38
ETA-Ni (20)	%17	%12	%45	%41	%45	%26	% 65

Araştırılan komplekslerin nükleolitik aktivite için gerekli şartları optimize edilmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

ATR-Ni kompleksinin pH: 10.0'da, 37 °C'de, 450 µM konsantrasyonda ve 16 saatlik reaksiyon süresinde plazmit DNA üzerindeki nükleolitik aktivitesinin çok yüksek olduğu; Fenil-Cu ve ETA-Cu komplekslerinin pH: 8.0'de, 37°C'de, 750 µM konsantrasyonda ve 16 saatlik reaksiyon süresinde; ETA-Cu₄ kompleksinin pH: 10.0'da, 70°C'de, 750 µM konsantrasyonda ve 16 saatlik reaksiyon süresinde Gli-Cu kompleksinin pH: 8.0'de, 70°C'de, 600 µM konsantrasyonda ve 16 saatlik reaksiyon süresinde; Fenil-Zn pH: 8.0'de, 37°C'de, 450 µM konsantrasyonda ve 16 saatlik reaksiyon süresinde; Gli-Zn ve ATR-Cu komplekslerinin pH: 8.0'de, 70°C'de, 750 µM konsantrasyonda ve 16 saatlik reaksiyon süresinde; ATR pH: 10.0'da, 60°C'de, 750 µM konsantrasyonda ve 16 saatlik reaksiyon süresinde; ETA-Ni kompleksinin pH: 10.0'da, 50°C'de, 750 µM konsantrasyonda ve 16 saatlik reaksiyon süresinde plazmit DNA üzerindeki nükleolitik aktivitesinin çok yüksek olduğu sonuçlarını ortaya koymaktadır (Şekil 20-34), (Tablo 2-9). Kırık form (Form II) oluşumu veya plazmit DNA'nın degradasyonunun gerçekleşmesi ile elde edilen verilere göre kırık form oluşturma yönündeki nükleolitik aktivitelerine göre en aktif bileşiklerin sırasıyla Gli-Cu, Fenil-Cu, Fenil-Zn, ETA-Cu₄ ve ETA-Cu, (Tablo 2, 3); plazmit DNA'sının degradasyonu yönündeki nükleolitik aktivitelerine göre en aktif bileşiklerin sırasıyla ATR-Ni, ETA-Ni, ATR-Cu ve ATR olduğunu kanıtlar (Tablo 2, 3). Kompleksler araştırılan parametreler açısından optimize edilmiş olup sonuçlar Tablo 10'daki gibidir:

Tablo 10. Komplekslerin optimum reaksiyon verdiği parametreler

Kompleksler	pH	Sıcaklık	Konsantrasyon	Reaksiyon süresi
1)ATR-Ni	10.0	37 °C	450 µM	16 saat
2)Fenil-Cu	8.0	37 °C	600 µM	16 saat
3) ETA-Cu ₄	10.0	70 °C	600 µM	16 saat
6)ETA-Cu	8.0	37 °C	750 µM	16 saat
13) Gli-Cu	8.0	70 °C	600 µM	16 saat
15) Fenil-Zn	8.0	37 °C	450 µM	16 saat
16) Gli-Zn	8.0	70 °C	750 µM	16 saat
17)ATR-Cu	8.0	70 °C	600 µM	16 saat
19) ATR	10.0	60 °C	750 µM	16 saat
20) ETA-Ni	10.0	50 °C	750 µM	16 saat

Bu çalışmadan elde edilen sonuçların Schiff bazı esaslı DNA parçalayan moleküllerinin ve antikanser maddelerin dizaynında yeni düşüncelerin ortaya çıkmasını sağlayacağı açıktır. Yapılan çalışmalar ışığında, yapısında Zn(II), Ni(II), Cu(II) ve Mn(II) iyonu bulunan Schiff bazlarının DNA üzerinde farklı şekillerde ve oranlarda nükleolitik aktiviteye sebep olduğu ortaya çıkarılmıştır. Daha kapsamlı araştırmalarla kırık form oluşturma özelliğindeki komplekslerin tıp ve biyoteknolojik alanlarda kullanılmak üzere, hidrolitik özellikteki komplekslerin ise nükleaz olarak kullanılmak üzere geliştirilmesi önerilebilir. Daha önceki çalışmalardan Schiff bazlarının bazı virüslerin çoğalmasını inhibe etme özelliği bilinmektedir (Patel vd., 1989; Zeishen vd., 1987). Fakat toksisite testlerinin çelişkili sonuçlar ortaya koyması nedeni ile *in vivo* çalışmalardan çok, bu tür bileşiklerin *in vitro* çalışmalarda özellikle mikroorganizma-ların üremesine karşı kullanılması düşünülebilir. Bu yapıdaki Schiff bazlarının antikanser özelliği de gösterdikleri bilinmektedir. Daha önce sentezlenmemiş olan bu maddeler ile yapılan çalışma kanser araştırma çalışmalarına kaynak olmada etkili olabilir. Ayrıca birçok araştırmacı metal komplekslerinin sitotoksik özellikte olduğunda birleşmektedirler

(Treshchalina vd., 1979). Bu yüzden hücre kültürü çalışmalarında hücre gelişimine olan etkileri incelenebilir. Ayrıca yapılan birçok araştırma Schiff bazlarının metal komplekslerinin mikroorganizmalar üzerinde daha etkili olduğunu göstermiştir. Bunun da nedeni olarak lipid zarlardan pozitif yüklü metal iyonlarının geçerek enzimleri bloke etmesi gösterilmektedir (Treshchalina vd., 1979). Bu görüş doğrultusunda Schiff bazlarının metal kompleksleri üzerinde yoğunlaşarak çalışmalar sürdürülebilir.

KAYNAKLAR

- Agrawal, Y.K., Talati, J.D., Shah, M.D., Desai, M.N. and Shah, N.K. 2004. Schiff bases of ethylenediamine as corrosion inhibitors of zinc in sulphuric acid, Corrosion Science, 46(3), 633-651.
- Amirkhanov, V.M., Bundy E.A., Trush V.A., Ovchinnikov V.A. and Zaitsev V.N.1999.Coordination compounds of Co(II), Ni(II), Mn(II), and Zn(II) with new representative of carbacylamidophosphates–potential anticancer drugs. 5th International symposium on applied bioinorganic chemistry, Corfu, 13-17, Greece.
- Bailly, C., 2000. Topoisomerase I Poisons and Suppressors as Anticancer Drugs, Curr. Med. Chem., 7, 39-58.
- Barton, J. K., 1986. Metals and DNA: Molecular Left-Handed Complements, Science, 233, 727-733.
- Blackburn, G. M., Gait, M. J., 1990. Nucleic Acids in Chemistry and Biology, Oxford Univ. Press, Oxford, UK.
- Chaires, J. B., Leng, F., Przewlaka, T., Fokt, I., Ling, Y.-H., Perez-Soler, R., Priebe, W., 1997. Structure-Based Design of A New Bisintercalating Anthracycline Antibiotic, J. Medic. Chem., 40, 261-266.
- Coll, M., Frederick, C. A., Wang, A., H.-J., Rich, A., 1987. A Bifurcated Hydrogen-Bonded Conformation in The d(A.T) Base Pairs of The DNA Dodecamer d(CGCAAATTTGCG) and Its Complex with Distamycin, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 84, 8385-8389.
- Creighton, T. E., 1993, Proteins, W. H. Freeman and Co., New York, NY, USA.
- Desai, M.N., Desai, M.B., Shah, C.B. and Desai, S.M. 1986. Schiff bases as corrosion inhibitors for mild steel in hydrochloric acid solutions, Corrosion Science, 26, 827.
- Dığrak, M., Selvi, S., Ahmedov, M.A. ve Bağcı, E. 1997. 1,5-dien-3ol'lerin antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi. XII. Ulusal Kimya Kongresi, Y.Y Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Kongre Özetler Kitabı, 677 s., Van
- Fletcher R. A., Hofstra G., Gao J., 1986. Comparative Fungitoxic and Plant Growth Regulating Properties of Triazole Derivatives , Plant and Cell Physiology 27, 367-371.
- Goodisman, J., Kirk, C., Dabrowiak, J. C., 1997. Kinetic Analysis of Drug Cleavage of Closed-Circular DNA, Biophys. Chem., 69, 249-268.

- Gravert, D. J., Griffin, J. H., 1993. Specific DNA Cleavage Mediated by $[\text{SalenMn(III)}]^+$, J. Org. Chem., 58, 820-822.
- Groves, J. T., Farrell, T. P., 1989. DNA Cleavage by a Metal Chelating Tricationic Porphyrin, J. Am. Chem. Soc., 111, 4998-5000.
- Invidiata F.P., Simoni D., Scintu F., Pinna N., 1996. 3,6-disubstituted 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles : Synthesis, antimicrobial and antiviral activity, Farmaco 51659.
- Jianhua, W., Wen, L. and Yuanliang, W. 2003. The new Progress in the studies on antibacterial proprties of Schiff bases and its metal complexes, Taylor&Francis, 178(12), 2563-2579.
- Kaim, W., Schwederski, B., 1994. Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life, John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Kane, S. A., Hecht, S. M., 1994. Polynucleotide Recognition and Degradation by Bleomycin, Prog. Nuc. Ac. Res., 49, 313-352.
- Karaoğlu, K., 2009. Bis-N₂O₂ Donor Düzenlenmesi İçeren İki Yeni Makroasiklik Schiff Bazı Ligandı ve Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Yüksek lisans tezi, Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Karaoglu K., Baran T., Serbest K., Er M., Degirmencioglu İ., 2009. Two novel macroacyclic schiff bases containing bis-N₂O₂ donor set and their binuclear complexes: synthesis, spectroscopic and magnetic properties, Journal of Molecular Structure, 922, 39-45.
- Klayman, D.L., Scovill, J.P., Bartosevich, J.F. and Bruce, J. 1983. 2- Acetylpyridine thiosemicarbazones . 5. 1-[1-(2-pyridyl)ethyl]-3-thiosemicarbazides as potential antimalarial agents, J. Med. Chem, 35-39.
- Krugh, T. R., 1994. Drug-DNA Interactions, Curr. Op. Str. Biol., 4, 351-364.
- Kuduk, J. and Trynda, L. 1994. Impact of K₂PtCl₆ on the structure of human serum albumin and its binding ability of heme and bilirubin. J. of Inorg. Biochem., 53, 4, 249-260.
- Lallan Mishra, Vishnu J. Ram and Dinesh S. Kushwaha, 1989. Preparation and structure of cobalt(II), nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes with 3-amino-5-(α/β)pyridyl-1, 2, 4-triazoles, 14, 384-386.

- Laverey, R., Zakrzewska, K., Pullman, B., 1986. Binding of Non-Intercalating Antibiotics to B-DNA: a Theoretical Study Taking into Account Nucleic Acid Flexibility., J. Biomol. Str. Dyn., 3, 1155-1170.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, M. M., 1993. Principles of Biochemistry, Worth Publishers, Inc., New York, NY, USA.
- Leng, F., Piebe, W., Chaires, J. B., 1998. Ultratight DNA Binding of a New Bisintercalating Anthracycline Antibiotic, Biochemistry, 37, 1743-1753.
- Leupin, W., Chazin, W. J., Hyberts, S., Denny, W. A., Wuthrich, K., 1986. NMR Studies of the Complex Between the Decadeoxynucleotide d(GCATTAATGC) and A Minor-Groove-Binding Drug, Biochemistry, 25, 5902-5910.
- Lippard, S. J., Berg, J. M., 1994. Principles of Bioinorganic Chemistry, University Science Books, Mill Valley, CA, USA.
- Manning, G. S., 1978. The Molecular Theory of Polyelectrolyte Solutions with Applications to The Electrostatic Properties of Polynucleotides, Q. Rev. Biophys., 11, 179-246.
- Marzilli, L. G., Banville, D. L., Zon, G., Wilson, W. D., 1986. Pronounced Proton and Phosphorus NMR Spectral Changes on Meso-Tetrakis(N-Methylpyridinium-4-yl) Porphyrin Binding to Poly[d(G.C)].Poly[d(G.C)] and to Three Tetradeca-Oligodeoxyribonucleotides: Evidence for Symmetric Selective Binding to 5'CG3' Sequences, J. Amer. Chem. Soc., 108, 4188-4192.
- Mirabelli, C.K., Hill D.T., Faucette L.F., McCabe F.L., Girard G.R., Bryan D.B., Sutton, B.M., Bartus, J.O., Crooke, S.T. and Johnson, R.K. 1987. Antitumor activity of bis(diphenylphosphino)alkanes, their gold(I) coordination complexes, and related compounds, J. Med. Chem, 30, 2181-90
- Mohamed G.G., Sharaby C.M., 2007. Synthesis, characterization and thermal studies on metal complexes of new azo compounds derived from sulfa drugs, Spectrochim.Acta, A 66 949.
- Mutterties, E.L., Rhodin, T.N., Band, E., Brucker, G.F. and Pretzar, W.R. 1979. Clusters and surfaces, Chem.Rev., 79-91.
- Papavassiliou, A. G., 1995. Chemical Nucleases as Probes for Studying DNA-Protein Interactions, Biochem. J., 305, 345-357.
- Patel, V. K., Vasanwala, A. M. and Jejurkar, C. R. 1989. Synthesis of mixed Schiff base complexes of Cu (II) and Ni (II) and their spectral, magnetik and antifungal studies, Indian Journal of Chemistry, 28A, 719-721.

- Pindur, U., Haber, M., Sattler, K., 1993. Antitumor Active Drugs as Intercalators of Deoxyribonucleic Acid, J. Chem. Edu., 70, 263-272.
- Pjura, P. E., Grzeskowiak, K., Dickerson, R. E., 1987. Binding of Hoechst 33258 to the Minor Groove of B-DNA, J. Mol. Biol., 197, 257-271.
- Ptashne, M., 1987. A Genetic Switch, Cell Pres & Blackwell Sci. Publ., USA.
- Raman, N., Kulandaisamy, A. and Jeyasubramanian, K. 2002. Synthesis, structural characterization, redox and antimicrobial studies of Schiff base copper(II), nickel(II), cobalt(II), manganese(II), zinc(II) and oxovanadium(II) complexes derived from benzil and 2-aminobenzyl alcohol. Polish J. Chem., 76, 1085-1094.
- Raman, N., Muthuraj, V., Ravichandran, S. and Kulandaisamy, A. 2003. Synthesis, characterization and electrochemical behaviour of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes derived from acetylacetone and p-anisidine and their antimicrobial activity, Proc. Indian Acad. Sci.(Chem. Sci.), 115(3), 161-167
- Raman, N. and Ravichandran, S. 2005. New neutral Schiff base and its metal complexes derived from mannich base, N-(1-Morpholinobenzyl) acetamide, Polish J.Chem., 79, 1107-1114.
- Raman, N. and Thangaraja, C. 2005. Synthesis, structural characterization, cyclic voltammetric and antibacterial studies of tetraaza 13-membered macrocyclic copper(II), nickel(II), cobalt(II) and zinc(II) complexes derived from the Schiff base 3-salicylidene-2,4-di(imino-4'-antipyrinyl) pentane and o-phenylenediamine, Polish J. Chem., 79, 1123-1134.
- Record, M. T., Lohman, T. M., deHaseth, P., 1976. Ion Effects on Ligand-Nucleic Acid Interactions, J. Mol. Biol., 107, 145-158.
- Rosenberg, B., van Camp, L., Trosko, J. E., Mansour, V. H., 1969. Platinum Compounds: A New Class of Potent Antitumor Agents, Nature, 222, 5191, 385.
- Saglam N, Colak A, Serbest K, Dulger S, Guner S, Karabocek S, 2004. DNA Hydrolysis by Homo- and Heteronuclear Cu(II)-Ni(II) Complexes of Two Diester-type Ligands, Monatshefte für Chemie, 135, 1023-1031.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., 1989. Molecular Cloning, Cold Spring Harbor, New York, NY, USA.
- Sakai, Y., Bando, Y., Shishido, K., Shibuya, M., 1992. Cycloaromatization of A 10-Membered Eneidyne Derivative Via An Allenic Sulfone Intermediate and Its DNA Cleaving Activity, Tetrahedron Lett., 33, 957-960.

- Scovill, J.P., Klayman, D.L, Lambos, C., Childs, G.E. and Nortsch, J.P. 1984. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 9. Derivatives of 2-acetylpyridine 1-oxide as potential antimalarial agents *J. Med.Chem*, 27-87.
- Serin, S. ve Gök, Y. 1988. Hidroksi Schiff bazı metal komplekslerinin tekstil boyamacılığında kullanılabilirliğinin incelenmesi, *Doğa*, 12, 325-331.
- Sigman, D. S., 1986, Nuclease Activity of 1,10-Phenanthroline-Copper Ion, *Acc. Chem. Res.*, 19, 180-186.
- Sigman, D. S., Chen, S.-h. B., 1990. Chemical Nucleases: New Reagents in Molecular Biology, *Ann. Rev. Biochem.*, 59, 207-236.
- Sigman, D. S., Graham, D. R., D'Aurora, V., Stern, A. M., 1979. Oxygen-Dependent Cleavage of DNA by The 1,10-Pheanthroline Cuprous Complex, *J. Biol. Chem.*, 254, 12269-12272.
- Singh K., Barwa M.S., Tyagi P., Eur., 2007. Synthesis and characterization of cobalt(II),nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes with Schiff base derived from 4-amino-3-mercapto-6-methyl-5-oxo-1,2,4-triazine, *J. Med. Chem*, 42, 394.
- Spiro, T. G., 1980. Metal Ions in Biology, John Wiley & Sons, New York, NY, USA.
- Treshchalina, E.M., Konovalova, A.L., Presnov, M.A, Chapurina, L.F. and Belichuk,N.I. 1979. Antitumor properties of mixed coordination compounds of copper (II) and alpha-amino acids. *Dokl. Akad. Nauk*, 248, 1273-6.
- Voet, D., Voet, J. G., 1990. Biochemistry, John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA.
- Watson, J. D., Crick, F. H. C., 1953. Molecular Structure of Nucleic Acids, *Nature*, 171, 737-738.
- Wing R, Drew H, Takano T, Broka C, Tanaka S., Itakura K, Dickerson R., 1980. Crystal structure analysis of a complete turn of B-DNA, *Nature* 287, 5784,755-8
- Winnacker, E.-L., 1987. From Genes to Clones: Introduction to Gene Technology, VCH Publishers, New York, NY, USA
- Yılmaz İ. 2003. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of the Schiff bases derived from 2,4-disubstituted thiazoles and 3-methoxysalicylaldehyde, and their cobalt(II), copper(II), nickel(II) and zinc(II) complexes, *Transition Metal Chemistry*, 28(4), 399 – 404.
- Zeishen, W. , Huixia, W., Zhenhuan, Y. and Changhai, H. 1987. XXV. International Conference on Coordination Chemistry, Book of Abstracts, pp. 663.

Zeishen, W., Zigi, G. and Zhenhuan, Y. 1990. Synthesis, characterization and anticancer activity of L – alanin Schiff base complexes of cooper (II), zinc(II), and cobalt (II), Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem, 20 (3), 335 – 344.

ÖZGEÇMİŞ

01 Ocak 1984'te İzmir'de doğdu. İlköğrenimine Eşrefpaşa İlköğretim Okulu'nda başlayıp Gazikent İlköğretim Okulu'ndan mezun oldu. Lise öğrenimini İzmir Kız Lisesi'nde 2000 yılında tamamladı. Aynı sene Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde başladığı lisans öğrenimini 2004 yılında tamamladı. Lisans eğitimi boyunca Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin Genetik, Biyokimya ve Mikrobiyoloji başta olmak üzere çeşitli laboratuvarlarında staj yaptı. 2004-2006 yılları arasında dersane ve ilaç sektörü gibi çeşitli iş sahalarında çalışırken Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden yüksek lisans özel öğrenci olarak ders aldı. 2006 yılında girdiği Emniyet Teşkilatı'ndaki görevine ve öğrenim hayatına hala devam etmektedir.