



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**AMİNOMETİLFOSFİN LİGANDI İLE HAZIRLANAN SUDA
ÇÖZÜNEBİLİR Pt(II), Pd(II), Rh(I), Ru(II), Au(I) KOMPLEKSLERİNİN
SENTEZİ VE SİTOTOKSİK ETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Servet MENTEŞ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ayfer MENTEŞ

2. DANIŞMAN: Prof. Dr. Osman SERİNDAG

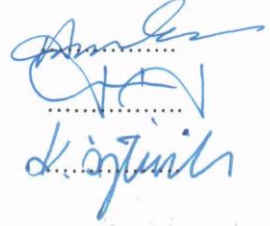
AKSARAY, 2013

T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ KABUL ve ONAY BELGESİ

Servet MENTEŞ' in Aminometilfosfin Ligandı İle Hazırlanan Suda Çözünabilir Pt(II), Pd(II), Rh(I), Ru(II), Au(I) Komplekslerinin Sentezi ve Sitotoksik Etkinliklerinin İncelenmesi başlıklı lisansüstü tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Doç. Dr. Ayfer MENTEŞ (Aksaray Üniversitesi)
Üye : Doç. Dr. Berkant KAYAN (Aksaray Üniversitesi)
Üye : Doç. Dr. Kamile ÖZTÜRK (Aksaray Üniversitesi)



Tezin Savunulduğu Tarih : 22.04.2013

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun 26.04.2013.. tarih ve 2013/16-97.. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Doç. Dr. Selçuk REİS
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

İnorganik bileşiklerin sentezlenmesi ile günümüz tıp alanında birçok ilaç geliştirilmiştir. Çağımızın en büyük hastalıklarından biri sayılabilecek kanser tedavisinde de inorganik bileşiklerin kullanılması, inorganik bileşiklerinde önemini artırmaktadır. Fakat sentezlenen bileşiklerin çoğunun suda çözünür olmamasından dolayı tedavi aşamasında hücre hatlarında kullanılması oldukça zordur. Bu çalışma ile kanser tedavisinde (kemoterapi) kullanılan *cis*-platin kompleksine benzer metal kompleksleri sentezlenmiş ve bunların antikanser özellikleri incelenmiştir. En önemli nokta elde edilen bileşiklerin suda çözünür olmasıdır ve bu özellikten faydalanılarak komplekslerin hücre hatlarında daha iyi çözünerek kanser hücrelerine daha iyi etki etmesi planlanmaktadır.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım esnasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Aksaray Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü ve Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü hocalarına, çalışmalarım esnasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, çalışmalarımın yürütülmesinde yol göstericiliğinden yararlandığım, saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Ayfer MENTEŞ ve Prof. Dr. Osman SERİNDAG’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin yapılmasını 109T560 proje numarası ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu’na (TÜBİTAK) ve 2012-12 proje numarası ile destekleyen Aksaray Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’ne teşekkür ederiz. Deneysel çalışmalarımızı yapmamıza olanak sağlayan Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne ve antikanser özelliklerinin incelenmesinde gerekli imkanları sağlayan Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hemotoloji Bilim Dalı’na katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, ASÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ayfer MENTEŞ ve ÇÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Osman SERİNDAG danışmanlığında tamamlanarak, ASÜ Fen Bilimleri Enstitüsüne “Yüksek Lisans Tezi” olarak sunulmuştur.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER DİZİNİ.....	ix
KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	2
2.1. Sitotoksisite Çalışmaları.....	14
2.2. Termal Analiz Yöntemleri.....	15
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	17
3.1. Malzeme.....	17
3.1.1. Kullanılan cihazlar.....	17
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	17
3.2 Yöntem.....	18
3.2.1. Genel Reaksiyonlar.....	18
3.2.2. $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2\text{OH})_2\text{Cl}$ Sentezi.....	19
3.2.3. $[\text{NH}(\text{CH}_2\text{COONa})\text{CH}_2]_2$ (EDDANa ₂) Elde edilmesi.....	19
3.2.4. Ligandın $[\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Na})\text{CH}_2]_2$ (A) sentezi	19
3.2.5. $[\text{PtLCl}_2]$ (1A) Kompleksinin sentezi	20
3.2.6. $[\text{PdLCl}_2]$ (2A) Kompleksinin sentezi	20
3.2.7. $[\text{RhL}_2]\text{Cl}$ (3A) Kompleksinin Sentezi	21
3.2.8. $[\text{AuLCl}]$ (4A) Kompleksinin sentezi	21
3.2.9. $[\text{RuL}_2\text{Cl}_2]$ (5A) Kompleksinin sentezi	22
3.2.10. Sitotoksisite deneyleri.....	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	24
4.1. $[\text{NH}(\text{CH}_2\text{COONa})\text{CH}_2]_2$ (EDDANa ₂).....	24
4.2. A ligandı	24
4.3. A1 kompleksi.....	24
4.4. A2 kompleksi.....	25

4.5. A3 kompleksi.....	25
4.6. A4 kompleksi.....	26
4.7. A5 kompleksi.....	26
4.8. Sitotoksosite Bulguları.....	27
5. SONUÇLAR.....	29
KAYNAKLAR.....	30
EKLER.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	46

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AMİNOMETİLFOSFİN LİGANDI İLE HAZIRLANAN SUDA ÇÖZÜNEBİLİR Pt(II), Pd(II), Rh(I), Ru(II), Au(I) KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ VE SİTOTOKSİK ETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Servet MENTEŞ

T.C.

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Ayfer MENTEŞ
İkinci Danışman : Prof. Dr. Osman SERİNDAG

Birçok organik molekülün yanı sıra geçiş metali komplekslerinin de kemoterapide kullanıldığı bilinmektedir. *cis*-platin olarak da bilinen diamindikloroplatin(II) kompleksi, kemoterapide en fazla kullanılan geçiş metali komplekslerindendir. Fosfin içeren metal kompleksleri arasında aminometilfosfin (R_2P-CH_2-N) komplekslerinin anti kanser özelliklerinin incelenmesine yönelik çalışmalar yetersiz sayılabilecek durumdadır.

Bu çalışmada, suda çözülebilir fosfin komplekslerinin potansiyel olarak insan vücuduna kolay alınabilmesi, *in vivo* ve *in vitro* ortamda kararlı olması gibi özelliklerinden dolayı aminometilfosfin ligandı ve geçiş metal kompleksleri sentezlenmiştir. Schlenk tekniği ile primer aminden çıkılarak azot atmosferinde Mannich reaksiyonu ile aminometilfosfin ligandı sentezlenerek ve bu ligandın Pt(II), Pd(II), Rh(I), Ru(II) ve Au(I) ile metal kompleksleri elde edilmiştir. Oluşan komplekslerin yapıları FT-IR, 1H , ^{13}C ve ^{31}P -NMR spektroskopisi ve mikro analitik teknikler kullanılarak aydınlatılmıştır. Termal kararlılıkları TG/DTA analizleri ile belirlenmiştir.

Sentezlenen fosfin içeren metal komplekslerinin antitümoral aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir.

2013, 46 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Metal Kompleksleri, Tersiyer Fosfin, Suda Çözünebilir Aminometilfosfin, Termal Analiz, Anti-Kanser Etki, Sitotoksisite

ABSTRACT

Master of Science Thesis

SYNTHESIS OF WATER-SOLUBLE Pt(II), Pd(II), Rh(I), Ru(II), Au(I) COMPLEXES WITH AMINOMETHYLPHOSPHINE LIGAND AND INVESTIGATIONS OF THEIR CYTOTOXIC ACTIVITIES

Servet MENTEŞ

T.R.

Aksaray University Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ayfer MENTEŞ
Co-Supervisor : Prof. Dr. Osman SERİNDAG

In addition to many organic compounds, it is well known that transition metal complexes are also used for chemotherapeutic investigation. Diamminedichloroplatinum(II) complex, also known as *cis*-platinum, is one of the most widely used transition metal complex in chemotherapies. However, among the phosphine containing metal complexes, investigation of anticancer activity of aminomethylphosphine (R_2P-CH_2-N type) has not been sufficiently studied.

In this study, aminomethylphosphine ligand and their metal complexes were synthesized due to their advantages such as stability *in vivo* and *in vitro* conditions and can be taken easily by human body of water soluble phosphine complexes. With this scope, aminomethylphosphine ligands have been synthesized based on the Mannich reaction, and metal complexes of these ligands with Pt(II), Pd(II), Rh(I), Ru(II) and Au(I) have been prepared using Schlenk techniques under nitrogen atmosphere. All the obtained complexes have been characterized using FT-IR, 1H , ^{13}C ve ^{31}P -NMR spectroscopies and microanalytic techniques. Thermal stability of the complexes was evaluated by TG/DTA analysis.

Antitumoural activities of synthesized metal complexes containing phosphine have been determined.

2013, 46 Pages

Keywords: Metal Complexes, Ter-Phosphine, Water Soluble Aminomethylphosphine, Thermal Analysis, Anti-Cancer Effect, Cytotoxicity

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Aminofosfinin genel yapıları.....	2
Şekil 2.2. Aminometilfosfin sentez tepkimeleri	3
Şekil.2.3. Bazı suda çözünabilir fosfin bileşiklerine örnekler.....	3
Şekil 2.4. Antikanser özellik gösteren çeşitli altın fosfin bileşikleri.....	5
Şekil 2.5. Fosfin ligandı içeren altın kompleksleri.....	6
Şekil 2.6. Klinik olarak kullanılan yaygın platin kompleksleri.....	6
Şekil 2.7. <i>cis</i> -Platinin DNA'ya Bağlanması.....	7
Şekil 2.8. Biyolojik ligandlı sentezlenmiş paladyum kompleksleri.....	9
Şekil 2.9. Bazı aminofosfin ligandlarının nikel ve paladyum kompleksleri.....	9
Şekil 2.10. Katalizör olarak kullanılan rutenyum aminofosfin kompleksi.....	10
Şekil 2.11. Silikaya tutturulmuş rutenyum aminofosfin kompleksi.....	11
Şekil 2.12. Aminometilfosfin ligandları ve molibden kompleksi.....	11
Şekil 2.13. Katalizör olarak kullanılan aminofosfin paladyum kompleksleri.....	11
Şekil 2.14. Silikaya tutturulmuş aminometilfosfin ligandları ve metal kompleksleri.....	12
Şekil 3.1. Fosfonyum tuzu sentezi.....	
Şekil 3.2. EDDA sodyum tuzu sentezi.....	13
Şekil 3.3. Aminometilfosfin (A) ligandı sentezi.....	18
Şekil 3.4. Metal kompleksleri sentezi.....	18
Şekil 3.5. EDDA sodyum tuzu.....	18
Şekil 3.6. Ligand (A).....	19
Şekil.3.7. 1A kompleksi.....	19
Şekil 3.8. 2A kompleksi.....	20
Şekil 3.9. 3A kompleksi.....	20
Şekil 3.10. 4A kompleksi.....	20
Şekil 3.11. 5A kompleksi.....	21

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. Farklı yöntemlerle alınmış ^{31}P -NMR spektrumları.....	8
Tablo 2.2. Fosfin ligandlı nikel ve paladyum kompleksleri ^{31}P -NMR kaymaları.....	10
Tablo 2.3. Aminometilfosfinlerin ve paladyum kompleksinin ^{31}P -NMR değerleri.....	12
Tablo 4.1. Komplekslerin çözünürlükleri.....	27
Tablo 4.2a. K562 KML transforme eritrolösemi hücre dizisi üzerinde metal komplekslerinin beş farklı konsantrasyondaki etkisini gösteren absorbans değerleri.....	28
Tablo 4.2b. K562 KML transforme eritrolösemi hücre dizisi üzerinde metal komplekslerinin beş farklı konsantrasyondaki sitotoksik etkisinin test edilen hücrelere oranı (kontrole göre %)......	28

SİMGELER DİZİNİ

d	Dublet (ikili)
g	Gram
L	Litre
m	Mili
δ	Kimyasal kayma
μ	Mikro
ppm	Milyonda bir birim
M_A	Mol ağırlığı
n	nano
o	Orta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
cm^3	Santimetre küp
s	Singlet (tekli)
ν	Titreşim frekans
z	Zayıf

KISALTMALAR DİZİNİ

DTG	Derivative termogravimetri
DTA	Diferansiyel termal analiz
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMSO-d ₆	Dötero-dimetilsülfoksit
CDCl ₃	Dötero-Kloroform
Et	Etil
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EDDA	Etilendiamindiasetik asit
EDDANa ₂	Etilendiamindiasetik asit sodyum tuzu
Ph	Fenil
³¹ P-NMR	Fosfor-31 nükleer magnetik rezonans spektroskopisi
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
ⁱ Pr	İso-propil
¹³ C-NMR	Karbon nükleer magnetik rezonans spektroskopisi
Me	Metil
¹ H-NMR	Proton nükleer magnetik rezonans spektroskopisi
TGA	Termogravimetrik analiz
^t Bu	Tersiyer bütıl
COD	1,5-siklootadien

1. GİRİŞ

Çağımızda tüm insanlığın ortak bir sorunu olarak görülen kanser; her ülkede, her yaşta görülebilen, coğrafi sınır tanımayan, sosyal statü ve gelir durumu ayrımı yapmayan, evrensel bir sorun niteliğindedir. Kanser, en basit ve en anlaşılır şekilde; kontrolden çıkan anormal hücrelerin düzensiz çoğaldığı hastalıklar grubu olarak tanımlanabilir. Kanser hücresi normal hücrelerden farklı olarak, kontrolsüz ve sınırsız çoğalma, kan ve lenf yolu ile uzak organlara giderek üreme, orada yerleşerek koloni yapma yeteneğine sahiptir. Dahası canlının doğal bağışıklık sisteminden kaçabilmekte ve ölüme sebep olabilmektedir. Bu denli ölümcül bir hastalığın tedavi edilebilmesi oldukça önemlidir ve günümüzde bu amaçla çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında kemoterapinin (ilaçla tedavi) yeri oldukça önemlidir. Bu amaçla birçok doğal ve sentetik organik molekülün yanı sıra geçiş metali komplekslerinin de kullanıldığı bilinmektedir (Yang ve Guo, 1999).

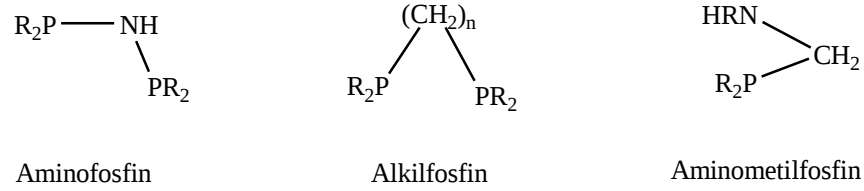
Yapılan çalışmalar sonucunda, halen kanser tedavisinde kullanılan *cis*-platin türevlerinin yanı sıra tersiyer fosfin ligandlarını (PR_3) içeren metal komplekslerinin de kanser tedavisinde kullanılabilme potansiyellerinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (McKeage, 2002).

Suda çözünebilir fosfin ligandlarının sentezi, özellikle tıp alanında vücuda kolay alınabilir komplekslerinin sentezi ve organik reaksiyonlarda reaksiyon ortamında faz farkı nedeniyle rahatlıkla alınabilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu tür bileşiklerin sentezinde, öncelikle yapıda varsa aril grubunun sülfolanması, liganda karboksil ($-COOH$), hidroksit ($-OH$) grubu bağlanması ve amin ($-NH_2$) grubu bağlanıp kuarterner amonyum tuzu (NHR_3^+) oluşturularak veya taç eterli fosfinlerde taç eter içerisine toprak alkali metali yerleştirilerek suda çözünebilir fosfinler elde edilmektedir (Ellis vd., 1992).

Bu çalışmanın temel amacı doğrultusunda P-C-N bağı içeren aminometilfosfin ligandı sentezlenmiş ve bu ligandın platin(II), paladyum(II), altın(I), rodyum(I), rutenyum(II) metal kompleksleri elde edilmiştir. Spektroskopik analizlere göre metal komplekslerinin yapı tayinleri yapılmış ve iki dişli aminometilfosfin ligandının beklenen metal komplekslerini verdiği tespit edilmiştir.

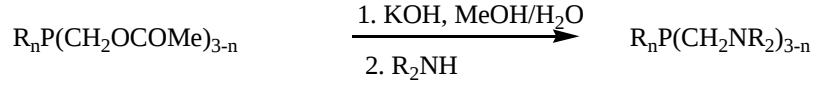
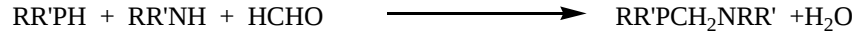
2. LİTERATÜR ÖZETİ

Fosfinlerin genel formülleri PR_3 olup R = alkil, aril ve hidrojenidir. PH_3 (fosfin), PMe_3 (trimetilfosfin), PPh_3 (trifenilfosfin), fosfitlerin genel formülleri ise $P(OR)_3$ olup her iki yapıda olduğu gibi fosfor üzerindeki bir çift ortaklanmamış elektron (dönör elektronlar) ile metale koordine olmaktadır. Bir geçiş metale bir fosfin ligandının bağlanabilme yeteneği genellikle onun sterik ve elektronik özelliklerine bağlıdır. Sterik ve elektronik özellikleri değiştirilerek bir fosfin ligandının geçiş metalleri ile oluşturacağı komplekslerinin, katalitik reaksiyonlardaki aktivitesi ve seçiciliği arttırılabilir. Bu kompleksler tek dişli ligandlara göre daha kararlı kompleksler olup belirli bir ürünün katalizlenmesi açısından stereogenik (kiral atomlu) ve stereospesifik (sadece tek ürün oluşturan) katalizörlerdir (LaPointe 1999).



Şekil 2.1. Aminofosfinin genel yapıları

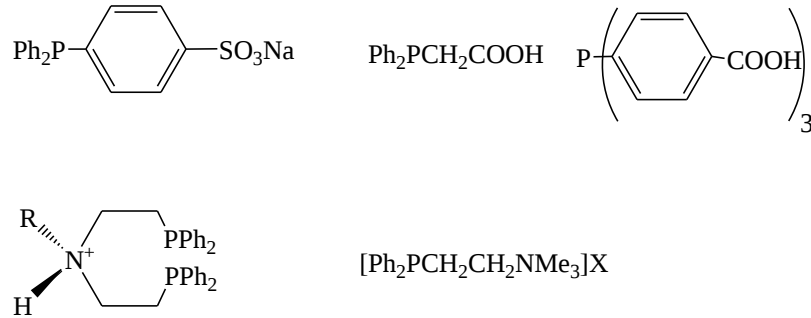
Hem fosfor hem de azot donör atomlu aminometil fosfinler (Şekil 2.1) iki dişli ligandlardır ve sentezlenmesi genel olarak Mannich reaksiyonu ile yapılır. Mannich reaksiyonu aminometilfosfinlerin metal komplekslerinin sentezinde yeni bir kapı açmıştır. P-C-N bağı içeren aminometilfosfinler, formaldehitin sekonder fosfin ile ($RR'PH$) ile reaksiyonundan elde edilmektedir. Alkil veya aril eklentili fosfinlerin, R_3P , (R = alkil, aril) sentezlenmesi için PH_3 veya Ph_2PH 'deki H ile yer değiştirme veya PCl_3 ve Ph_2PCl gibi klorlu fosfinlerin stokiometrik miktarda LiR ile tepkimesi sonucu elde edilebilir (Şekil 2.2). Böylelikle mono, di ve trifosfinler sentezlenebilir. P-CH₂-P bağı ya da aminometilfosfin P-C-N bağı içeren fosfinler hakkında günümüzde oldukça fazla sentez yapılmıştır. Aminometilfosfin, yaygın olarak diklorometan, tetrahidrofuran veya toluen çözücülerini kullanılarak Ph_2PH , amin ve formaldehitin aşırısı ile tepkimeye sokularak elde edilir (Coates ve Hoya, 1960).



Şekil 2.2. Aminometilfosfin sentez tepkimeleri

Kimyasal reaksiyonlarda organik çözücülerin yerine; su bazlı ya da organik çözücüler kadar zararlı olmayan alternatifler düşünülmesi daha çok suda çözünen bileşikler sentezleme ihtiyacını ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle araştırmalar daha çok suda çözünen bileşikler sentezlemeye yönelmiştir.

Aminometilfosfin bileşiklerinin suda çözünebilir olmasını sağlamak için bileşiklerin sülfato, karboksil, kuartir amonyum tuzları veya tuz şeklinde elde etmeye yönelinmiş ve bu şekilde elde edilen bileşikler suda çözülmüştür. Şekil 2.3'te suda çözünebilir fosfin ligandlarına bazı örnekler verilmiştir.



Şekil 2.3. Bazı suda çözünebilir fosfin bileşiklerine örnekler

Tümör hücrelerinin oluşumunu engelleyen *cis*-platin kompleksleri, ilk olarak 1969 yılında Amerikalı bilim adamı Rosenberg tarafından bulunmuştur (Rosenberg vd, 1969). İlerleyen yıllarda *cis*-platin kötü huylu hücrelerin tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Ancak klinik uygulama; düşük antitümör aktivite oranı, kazanılan ilaç direnci ve yetersiz suda çözünebilme ve toksisite (biyolojik zarar) gibi nedenlerle kullanımı sınırlı kalmıştır (Krakoff, 1979). Toksisiteyi azaltan ve yüksek klinik etki gösteren *cis*-platin analogları geliştirmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Hambley, 1997). Bunların yanı sıra platin içeren yeni kompleksler geliştirilmiştir. Bunlar oral olarak aktif olan platin(IV) kompleksleri, platin(II) kompleksleri, *trans*-platin kompleksleri, multinükleer platin kompleksleri ve kükürt içeren platin kompleksleridir (Bouliskas vd, 2007). Tasarlanan binlerce yeni kompleks ve onların

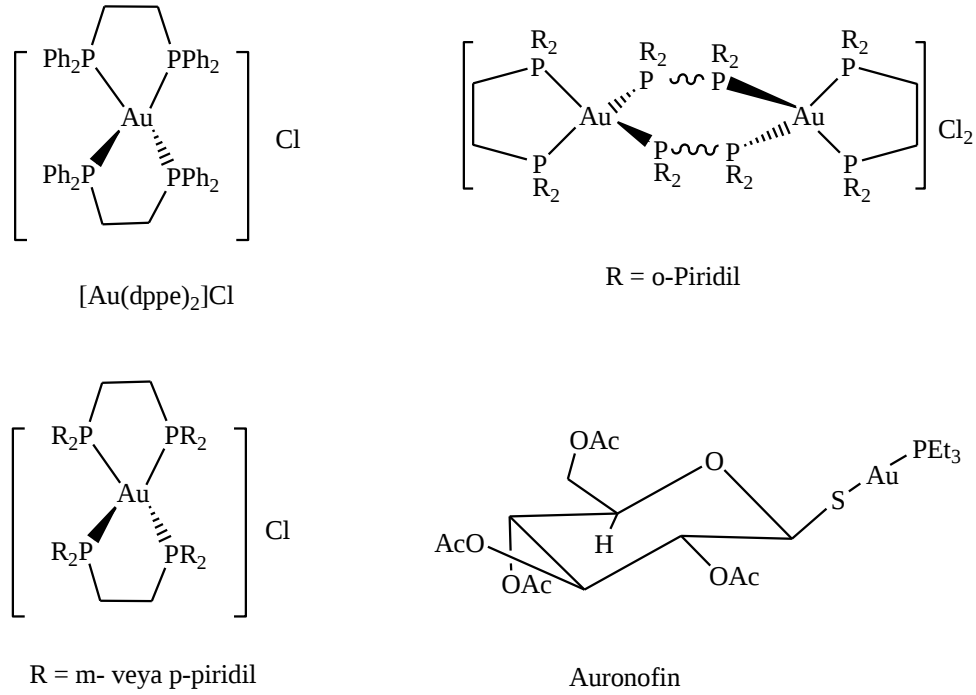
anitümör aktiviteleri üzerindeki araştırmalara rağmen, yukarıda bahsedilen eksikliklerden dolayı klinik denemelere yalnızca birkaçı girebilmiştir (Kelland vd, 1999). Şu anda kullanılan çoğu klinik araştırmalarda, platin ilaçları olarak *cis*-platin kullanılmaktadır. Bu yüzden hedef hala *cis*-platin analoglarının farmakolojik özelliklerinin geliştirilmesidir. Bu analog çalışmalarının önemli bir kısmı aktivite yapısını tanımlamak için antitümör aktivite gösteren platin komplekslerinin belirlenmesidir (Connors vd, 1979).

Antitümör platin kompleksleri, *cis*-platin ve onun analogları yumurtalık kanserinde ve çeşitli diğer katı tümörlerin tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu komplekslerin deoksiribonükleik asit (DNA)'a bağlanması sonucunda DNA replikasyonu engellenir ve hücrelerin ölümüne sebep olur (Johnson vd, 1998). DNA ya katılmaların doğası apoptozisi (programlı hücre ölümü) ve tümör hücreleri üzerinde birçok geçiş yolunu etkiler (Fuentes vd, 2003). Bu faktörlerle birlikte DNA katılmaları direkt olarak işlev görmez. En önemli rol belirtilen tümör hücrelerinin işlevi ve toksisiteyi içeren platin komplekslerinin biyolojik aktiviteleridir.

Aminofosfin Pt(II) komplekslerinin DNA bazları olan guanin ve timine halka açılma reaksiyonlarıyla bağlanabildiği ve kanserli hücrelere karşı sitotoksik etki gösterebildiği bilinmektedir. Bununla birlikte platin kompleksleri özellikle kükürt içeren metiyonin ve sistein gibi diğer birçok biyomolekülle etkileşime girip zehirleyici yan etkilere sebep olabilmektedir. Bu zehirleyici yan etkileri azaltmak için kükürt donör ligandlar koruyucu ajanlar olarak kullanılmaktadır (Brabec vd, 1992).

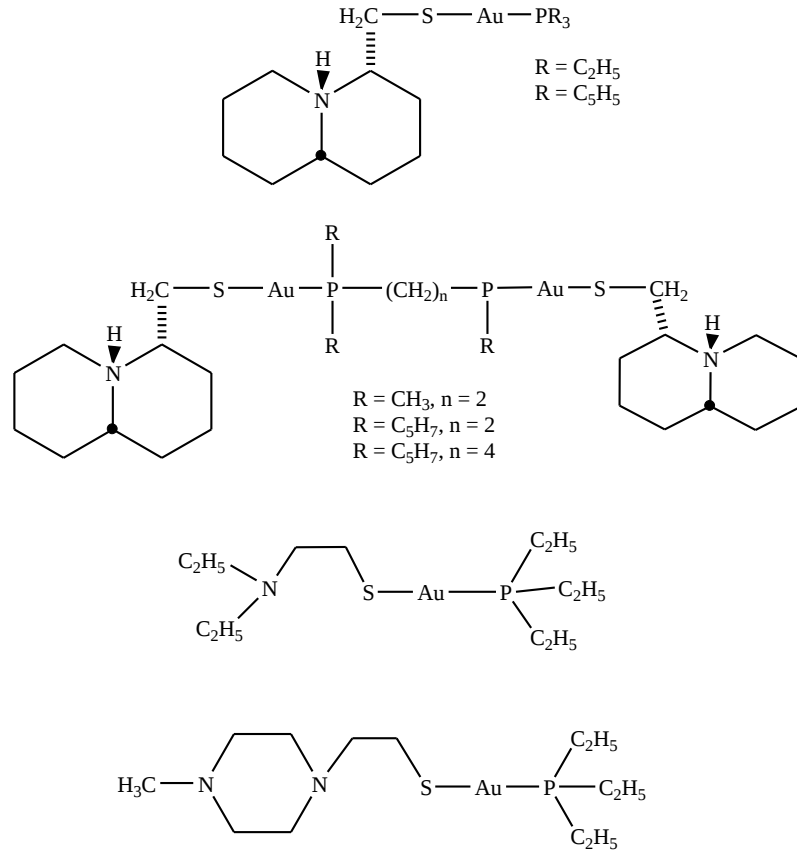
Fosfin ligandlarının ve komplekslerinin antitümör ve antibakteriyel etki gösterdiğinin deneysel olarak saptanması bu tür bileşiklerin sentezine ve farmakolojik özelliklerinin incelenmesine var olan ilgiyi daha da artırmıştır. Bu çerçevede yapılan araştırmalarda altın(I) fosfin türevlerinin *in-vitro* (yapay ortam) ortamında murine (fare tümörleri) tümör modellerine karşı önemli antitümör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (McKeage 2002). İlk olarak trietilfosfinaaltın(I) tetraasetatotiyoglikoz (Auranofin) ve trifenilfosfinaaltın(I) klorür kompleksleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Auranofin kompleksi, P388 lösemili fare hücresinin DNA polimeraz enzimini inhibe ederek farenin yaşama süresini uzatmıştır (Mirabelli vd 1985). Ancak daha sonra tetrahedral altın(I) kompleksleri olan bis[1,2-*bis*(difenilfosfino)etan]altın(I) klorür ([Au(dppe)₂]Cl) ve bis[1,2-*bis*(di-*n*-piridilfosfino)etan]altın(I)klorür ([Au(dpype)₂]Cl) komplekslerinin murine tümör modellerine karşı daha geniş bir spektrumda daha yüksek antitümör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Berner-Prices vd, 1999). Bis[1,2-(difenilfosfino)etan]altın(I) klorür ([Au(dppe)₂]Cl), *in vitro* mitokondri DNA'sına bağlanarak, DNA-protein çapraz

bağlanmasını engellemekte ve böylece P388 lösemi hücreleri üzerine antimitokondriyal etkide bulunmaktadır (Dong 1997). Potansiyel olarak antitümör etki göstermesi beklenen metal komplekslerinin, fosfolipid yapısındaki hücre zarından geçebilmesi için belirli bir yağ severliğe (lipofiliklik) sahip olması gerekmekte ve bu amacı gerçekleştirebilmek için genellikle katyonik kompleksler kullanılmaktadır (McKeage 2002). Auronofinde olduğu gibi lipofilik özellikteki (glikoz gibi) moleküller yardımıyla da lipofiliklik sağlanabilmektedir (Şekil 2.4.).



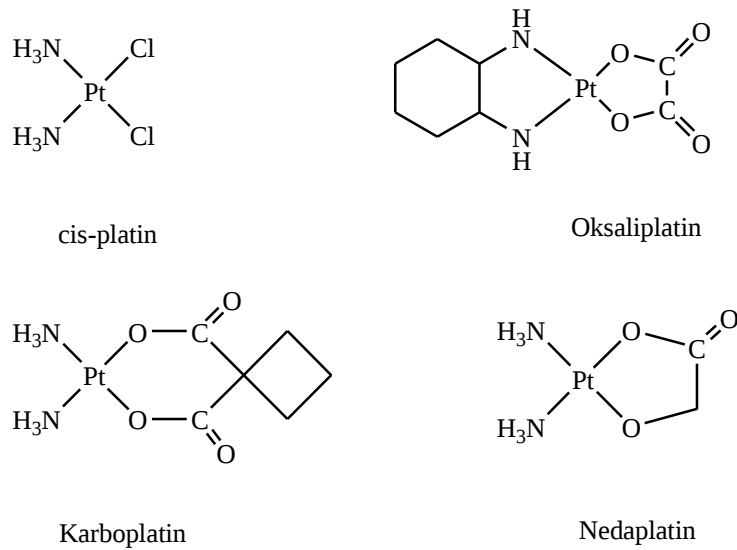
Şekil 2.4. Antikanser özellik gösteren çeşitli altın fosfin bileşikler

Novelli vd., (1999) özellikle altın kompleksleri ile yaptığı bir çalışmada yedi farklı altın kompleksi sentezlemiştir. Sentezlenen komplekslerin karakterizasyonları yapılmış ve *in vitro* olarak biyolojik aktivitesi araştırılmıştır. Aynı çalışmada biyolojik aktivitenin sadece metale bağlı olmadığı, aynı zamanda hem fosfin hemde aminotiyol ligandlara bağlı olduğu görülmüştür. Bunun yanında 1,2-bis(difenilfosfino)etan-bis(altın(I))lupinilsülfidhidroklorür ve trietilfosfinoaltın(I) (2-dietilamino)etilsülfidhidroklorür kompleksleri rahim kanserine karşı iyi bir antitümör aktivite göstermiştir (Novelli vd,1999).



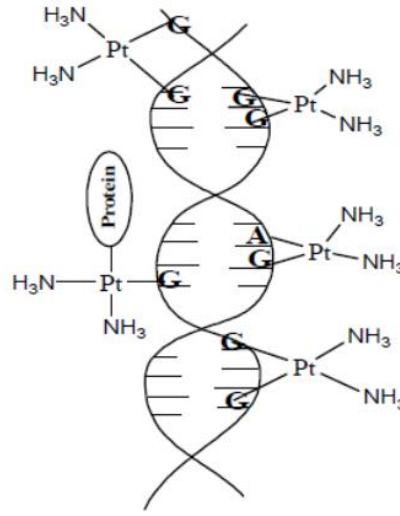
Şekil 2.5. Fosfin ligandı içeren altın kompleksleri

Cis-platinin toksik olması ve kanser hücrelerinin *cis*-platine karşı tekrarlanan tedavi sırasında direnç göstermesi bazı yeni platin komplekslerinin sentezlenmesine teşvik edici olmuştur. Bunlardan ticari olanlar Şekil 2.6'da görülen *cis*-platin, *cis*-diaminosiklobutan dikarboksilatoplatin(II) (karboplatin), (1*R*,2*R*-diaminsikloheksan)oksalatoplatin(II) (oksaliplatin) ve *cis*-diamin-gliksolatoplatin(II) (nedaplatin) kompleksleridir.



Şekil 2.6. Klinik olarak kullanılan yaygın platin kompleksleri

Sitotoksik platin komplekslerinin hedefi olarak çoğunlukla DNA görülür. *Cis*-platinin DNA ile yaptığı bağlanması Şekil 2.7’de gösterilmiştir. Ortamda hidroliz olan *cis*-platin daha sonra DNA’da guanozin bazına bağlanır ve en sonunda da komşu guanozin ile bağlanarak halka kapanır ve bir GG makro şelatında iki guanozin ligandı dihedral konformasyonda ve aralarında 26° açı ile koordine olurlar. Pt-NH ile fosfat veya karbonil grupları arasındaki hidrojen bağı bu tür bir çapraz bağlanmayı stabilize eder. GG platinasyonu DNA’nın 35-40° bükülmesine sebep olur. Bükülmüş DNA ya yüksek hareketli grup (HMG) proteinleri sıkıca bağlanır ve normal transkripsiyonu engeller. Daha sonra DNA, endonükleaz enzimleriyle sindirilir ve programlanmış hücre ölümü gerçekleşir (apoptozis) (Takahara vd., 1999).



Şekil 2.7. *cis*-platinin DNA’ya Bağlanması

Cis-platin DNA’ya bağlanırken kloro gruplarının ikisi de metalden ayrılır. *Cis*-izomerinde DNA ile bağ uzunluğu 3.3 Å iken *trans*-platinde 5.0 Å dur. *Cis*-platin, DNA’nın en zengin elektron yoğunluğuna sahip guanozin (G), N7 donörüne bağlanır, diğer bir bağlanma yeri ise adenozin (A) bazının N7 donörüdür. *Cis*-platin ve diğer anti kanser ajanları da tercihli olarak guanozin bazına bağlanır. *Cis*-platinin DNA’ya bağlanması üç yolla gerçekleşir;

- interstrand, platin köprüleri DNA’nın karşıt zincirleriyle oluşur,
- intrastrand, tek bir zincirde iki bitişik DNA bazıyla (muhtemelen guanozin bazlarıyla) köprü oluşur
- tek bir bazın bifonksiyonel atağı ile oluşur.

Deneyisel sonuçlara göre, her *cis*-platin ile DNA bağlanmasının yalnızca birinde interstrand çapraz-bağları oluşur. Tek bir bazın bifonksiyonel atağında ise guanozinin O6 ve N7 fonksiyonları kompleks ile şelat oluşturabilir (Sadler , 2003).

Cis geometride kolay ayrılabilen bir çift ve nötr ligandlı olan kompleksler daha aktiftir. *Cis*-Pt(NH₃)₂Cl₂ kompleksinde amino grupları kloro ligandlarına göre daha inert ligandlardır ve kloro ligandlarının trans etkisi fazla olduğundan klorür iyonlarının düşük olduğu konsantrasyonlarda kompleksten kolayca ayrılır. Bu nedenle kloro grupları çok daha fazla stabildir ve platin merkezli süstitüsüyonu mümkün kılar. Kloro grubu ayrılır ve biyolojik ligandlar metal iyonuna nükleofilik atak yaparak şelat oluştururlar. *Cis*-platin DNA'ya bağlanarak replikasyon ve transkripsiyonu bloke eder, tamir mekanizmalarını etkiler ve hücre ölümüne sebep olur. (Takahara vd., 1999).

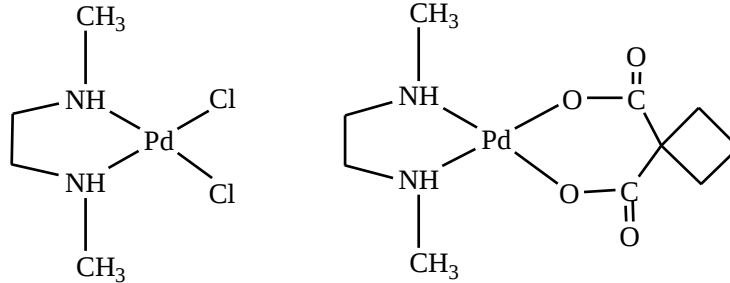
cis-platin kompleksleri akciğer kanseri, mesane kanseri, yumurtalık kanseri, germ hücreli kanserlerin tedavisinde kullanılır. DNA, RNA ve proteinlere kovalent bağlanır. Trans izomerinin antitümör aktivitesi yoktur. *Trans*-Pt(NH₃)₂Cl₂ kompleksinin inaktif olmasının sebebi *trans* etkidir. *Cis*-komplekste bir kloro grubu heterosiklik bir amin ile yer değiştirirse, yeni ligandın trans etkisi aminodan daha güçlü olduğu için amino grubu kaybedilecek ve kompleks DNA ya daha sıkı bağlanabilecektir. Bu yeni kompleks hiçbir onarım mekanizmasıyla ortadan kaldırılmaz (URL-1).

Fosfin ligandlarının ve metal komplekslerinin karakterizasyonunda ³¹P-NMR büyük rol oynamaktadır. Aynı liganda ait komplekslerin farklı yöntemlerle alınan ³¹P-NMR spektrumlarında az da olsa farklılıklar olacağı yapılan araştırmalar sonucunda ispatlanmıştır. Bemi vd., yaptığı çalışmada farklı yapıda fosfin içeren ligandlar sentezlemiş ve bunların ³¹P-NMR spektrumlarını iki farklı yöntem ile katı (CP-MAS) ve sıvı NMR olarak kimyasal kaymalarını incelemişlerdir. Tablo 2.1'de bazı komplekslerin ³¹P-NMR kimyasal kaymaları görülmektedir. PEt₃ ve PMePh₂ ligandları ile Pt(II)'nin *cis* ve *trans* izomerlerini elde edilmiş ve izomerlerin ³¹P-NMR'ları incelendiğinde Pt(II) kompleksinin *trans* durumunda olduğunda Pt-P bağının polaritesi değiştiğinden *cis* formuna göre kimyasal kaymasının farklı çıktığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada (Ph₂PCH₂CH₂Si(OEt)₃) ile serbest ve silikaya bağlı bileşikler sentezleyerek Pd(II) kompleksini sentezlemişler ve silikaya tutturulmuş Pd(II) kompleksinin ³¹P-NMR değeri 37.0 ppm'de çıkmış çözelti içerisinde olan kompleksin ise 40.2 ppm'de çıktığı tespit edilmiştir (Bemi vd., 1982).

BİLEŞİK	CP-MAS ³¹ P NMR δ	Çözelti ³¹ P NMR δ
Ph ₂ PCH ₂ PPh ₂	12.6	13.2
Ph ₂ PCH ₂ CH ₂ PPh ₂	11.5	12.6
PPh ₃	-7.2	-5.4

Tablo 2.1. Farklı yöntemlerle alınmış ³¹P-NMR spektrumları

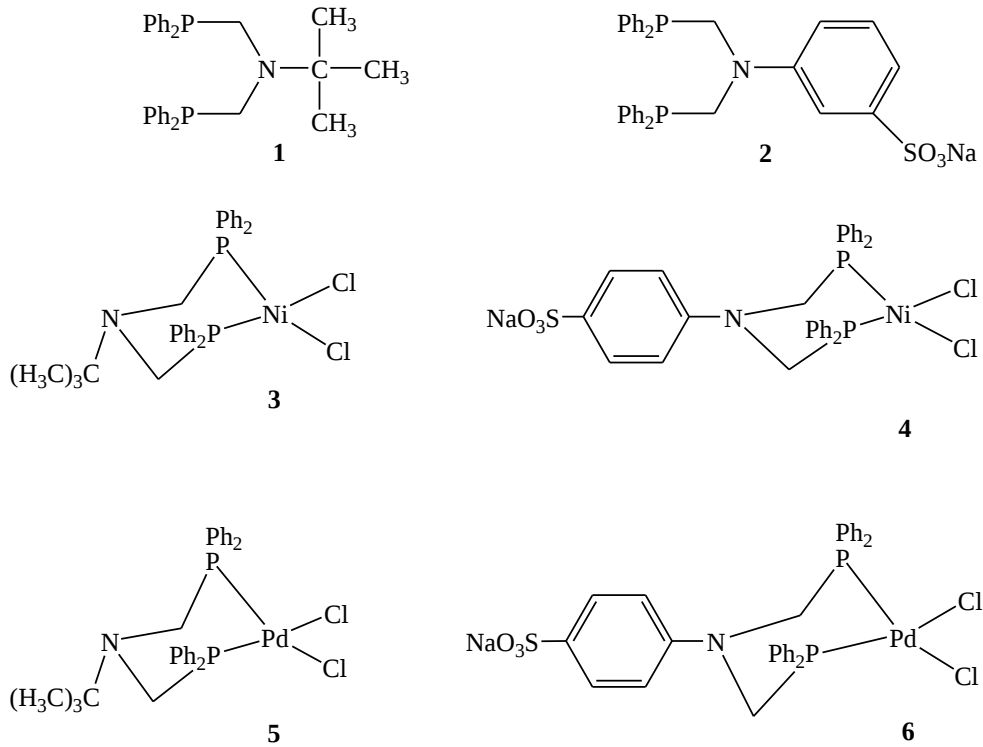
Mahmoud vd., *cis*-dikloro(*N,N*-dimetiletilediamin)paladyum(II), $[Pd(Me_2en)Cl_2]$, kompleksi sentezlemiş ve karakterize etmişlerdir (Şekil 2.8). Elde edilen biyolojik yapılı (dikarboksilikasitler, aminoasitler) ligandlara ait kompleksler FT-IR, 1H -NMR, ^{31}P -NMR ve termal analiz yöntemleriyle karakterizasyonları yapılmıştır (Mahmoud vd., 2001).



Şekil 2.8. Biyolojik ligandlı sentezlenmiş paladyum kompleksleri

N,N-bis(difenilfosfinoetil)aminometan, (dppam) $[(Ph_2PCH_2)_2NCH_3]$, ligandının altın, bakır, gümüş ve kobalt kompleksleri sentezlenmiş antimikrobiyal etkileri incelenmiş ve 1200 $\mu g/disk$ derişimde bütün komplekslerin antimikrobiyal aktivite gösterdiği ancak Co(II) fosfin kompleksinin antimikrobiyal etkisinin diğerlerine kıyasla yüksek olduğu tespit edilmiştir (Uruş vd, 2005).

Keleş vd., (2008) yılında yaptıkları çalışmada *bis*-difenilaminometilfosfin ligandı sentezlemiş ve ligandın nikel ve paladyum komplekslerini hazırlamıştır. Elde edilen kompleksler Şekil 2.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Bazı aminofosfin ligandlarının nikel ve paladyum kompleksleri

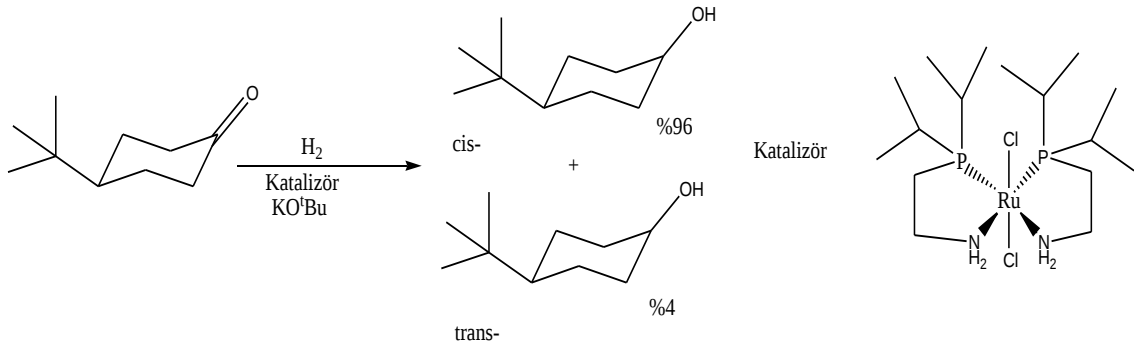
Sentezlenen kompleksler ^1H -NMR, ^{31}P -NMR ve FT-IR ile karakterize edilmiştir. Tablo 2.2 de sentezlenmiş komplekslerin ^{31}P -NMR değerleri verilmiştir.

Ligand/ Kompleks	δ_p (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
1	-27.20	-
2	-26.36	-
3	30.40	57.60
4	26.60	52.96
5	7.40	34.60
6	8.12	34.48

Tablo 2.2. Fosfin ligandlı nikel ve paladyum kompleksleri ^{31}P -NMR kaymaları

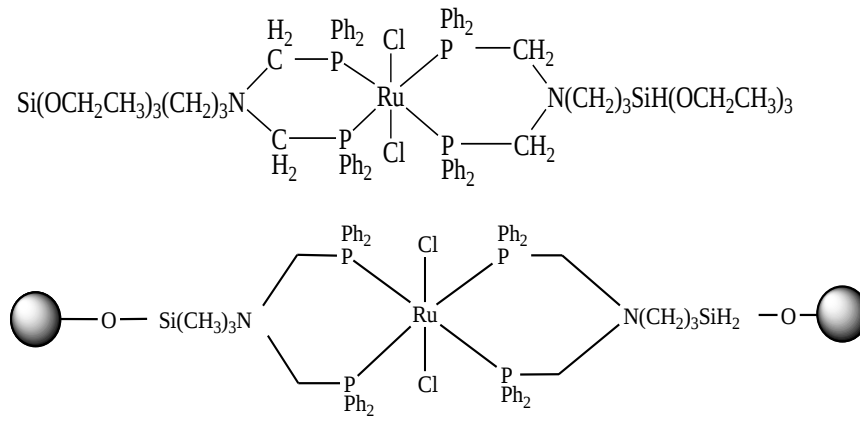
^{31}P -NMR değerlerini incelediğimizde aynı ligandlara ait komplekslerde metallerin farklılaşması ile kimyasal kaymalar meydana geldiği görülmektedir. Sentezlenen komplekslerin katalitik etkilerini incelemek için hidrojenasyon tepkimesinde katalizör olarak kullanmıştır.

Wenli vd., yaptığı çalışmada $\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$ ve $\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ ($\text{R} = \text{Ph}, ^i\text{Pr}, ^t\text{Bu}$) ligandları sentezlemiş ve uygun ligand ile $[\text{RuCl}_2(\text{COD})]_n$ ($\text{COD} = 1,5$ -siklootadien) kompleksinin 2:1 oranında uygun çözücüde reaksiyona girmesiyle $\text{RuCl}_2(\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2)_2$ ve $\text{RuCl}_2(\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2)_2$ kompleksleri sentezlenmiştir. Kompleksler keton ve iminlerin hidrojenasyonu için mükemmel bir katalizör görevi görmüştür (Şekil 2.10) (Wenli vd., 2009).



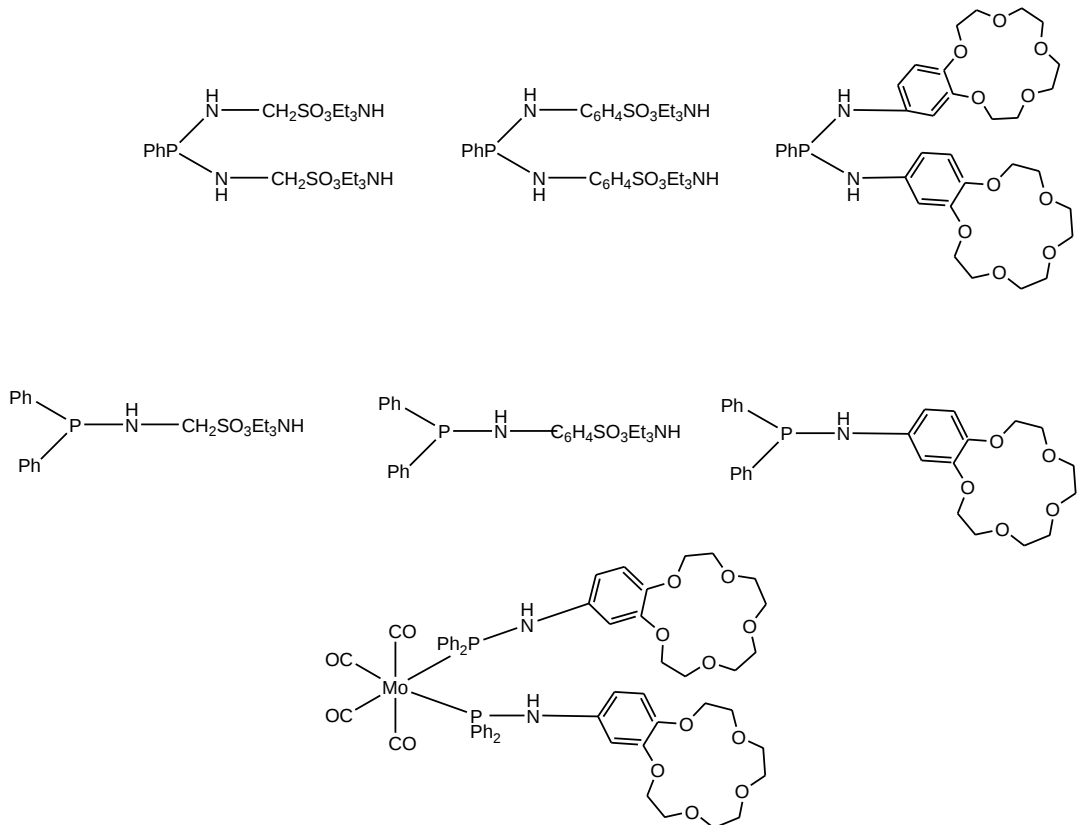
Şekil 2.10. Katalizör olarak kullanılan rutenyum aminofosfin kompleksi

Keleş vd., (2010) yılında yaptıkları çalışmada aminometilfosfin ligandı sentezlemiş ve ligandın rutenyum komplekslerini hazırlamıştır. Silika desteğe tutturulan kompleksin katalitik etkisi incelenmiştir. Şekil 2.11 de gösterilen kompleksler aromatik ketonun alkole dönüştürülmesi tepkimesinde katalizör olarak incelenmiştir. Sentezlenen kompleksler ^1H -NMR, ^{31}P -NMR ve FT-IR ile karakterize edilmiştir (Keleş vd., 2010).



Şekil 2.11. Silikaya tutturulmuş rutenyum aminofosfin kompleksi

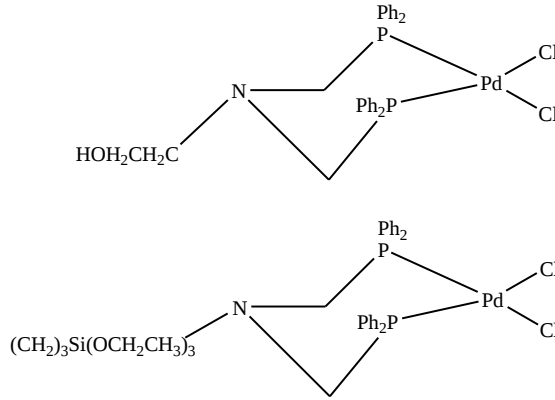
Sarıöz vd., yaptığı çalışmada aminofosfin ve bisaminofosfin türevi ligandlar ile molibden kompleksini sentezlemiş ve sentezlenen bileşikler, ^1H , ^{31}P -NMR ve element analiz ile karakterize edilmiştir (Şekil 2.12). Elde edilen komplekslerin ^{31}P -NMR kimyasal kayma değerleri incelendiğinde ligandın ^{31}P -NMR kimyasal kayma değeri 22.6 ppm de metal kompleksinde ise değeri 70.74 ppm de görülmektedir(Sarıöz vd., 2009).



Şekil 2.12. Aminometilfosfin ligandları ve molibden kompleksi

Keleş vd., yaptığı çalışmada aminometilfosfin (P-C-N-) tipi ligandlar, $(\text{Ph}_2\text{PCH}_2)_2\text{NR}$ $\text{R}=(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OEt})_3$ veya $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ile Pd(II) komplekslerini sentezlemiş ve

sentezlenen tüm bileşikler ^1H , ^{31}P -NMR ve element analiz ile karakterize edilmiştir (Şekil 2.13). Sentezlenen kompleksler metilakrilat ile arilhalojenürlerin (I, Br, Cl) Heck reaksiyonunda katalitik özelliği incelenmiştir. Sentezlenen iki kompleks metilsinamat elde etmek için yüksek aktivite göstermiştir. Elementel analiz sonuçları incelendiğinde metal ile ligandların 1:1 oranında tepkimeye girdiği görülmektedir.



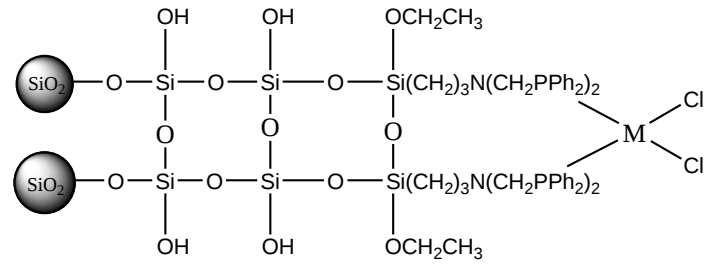
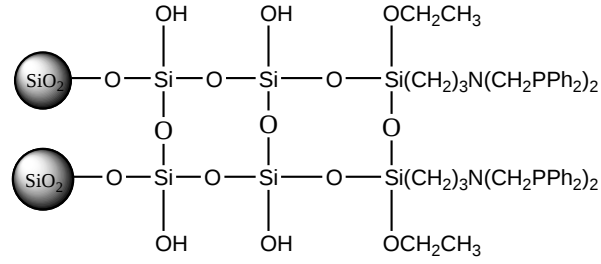
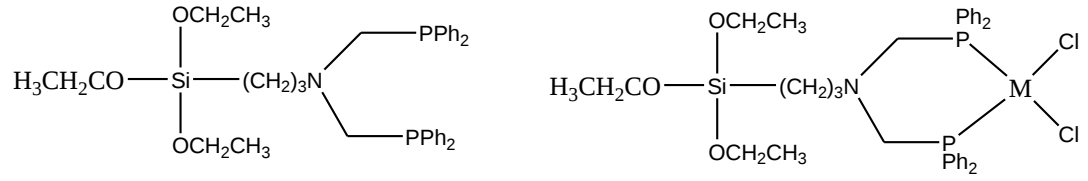
Şekil 2.13. Katalizör olarak kullanılan aminofosfin paladyum kompleksleri

Sentezlenen ve karakterize edilen bileşiklerin ^{31}P -NMR kimyasal kayma değerleri Tablo 2.3'te verilmiştir. Bu kimyasal kayma değerleri karşılaştırıldığında her iki komplekste de metalin liganda bağlandığı görülmektedir.

BİLEŞİK	δ_p (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm) ($\delta_{\text{kompleks}} - \delta_{\text{serbest ligand}}$)
$(\text{Ph}_2\text{PCH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OEt})_3$	-28.18	-
$(\text{Ph}_2\text{PCH}_2)_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	-27.2	-
$\text{PdCl}_2(\text{Ph}_2\text{PCH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OEt})_3$	7.6	35.78
$\text{PdCl}_2(\text{Ph}_2\text{PCH}_2)_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	1.94	29.14

Tablo 2.3. Aminometilfosfinlerin ve paladyum kompleksinin ^{31}P -NMR değerleri

Uruş vd., yaptığı çalışmada silikaya tutturulmuş aminometilfosfin ligandları sentezlemiş ve bu ligandın platin ve nikel komplekslerini elde etmişlerdir. Sentezlenen komplekslerin K3 vitamini sentezinde katalizör etkinliği incelenmiştir. Elde edilen bileşikler FT-IR, ^{13}C -NMR, ^1H -NMR, ^{31}P -NMR ve elementel analiz yöntemleri ile karakterize edilmiştir (Şekil 2.14). Ligand ve metal komplekslerinin ^{31}P -NMR kimyasal kaymaları incelendiğinde serbest ligandın -28.2 ppm de pik verirken platin kompleksi 7.81 ve nikel kompleksi 30.12 ppm de kimyasal kayma vermiştir. Bu sonuçlar dikkate alındığında aynı liganda ait farklı metal komplekslerine ait ^{31}P -NMR kimyasal kayma değerlerinin de farklı olacağı görülmektedir (Uruş vd. 2010).



M= Ni, Pt

Şekil 2.14. Silikaya tutturulmuş aminometilfosfin ligandları ve metal kompleksleri

2.1. Sitotoksikite Çalışmaları

Elde edilen komplekslerin karakterizasyonları yapıldıktan sonra kanser tedavisinde kullanılabilme potansiyelleri incelenmiştir. Suda çözünebilir fosfin komplekslerinin tümörlü hücrede yüksek tutunum ve kararlılıkta olması, vücuttaki dağılımının yüksek olması ile belirli bölgeye dağılımının artması hem ilacın etkinliğinin artması hem de ilacın toksisite etkisini minimuma indirilmesi düşünülmüştür. Bu yüzden MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür; Tiazolil mavi) ile yapılan sitotoksikite çalışmaları yapılmıştır.

MTT test yöntemi, ilk olarak Mosmann tarafından kullanım alanına sokulmuştur (Mosmann, 1983). Hücre canlılığı ve üremesini ölçen MTT yönteminin, diğer sitotoksik test yöntemlerine göre daha hassas ve tekrarlanabilir olması, uygulamasının kolay, hızlı ve sayılabilir olması avantaj olarak belirtilmiştir (Loosdrecht vd., 1991). MTT test yönteminin ayrıca radyoaktif izotop kullanmaya gerek kalmadığını belirtmişlerdir. Wilson vd., MTT'den üreyen formazonun yoğunluğunun direkt olarak yaşayan hücrelerin sayısı ile bağlantılı olduğunu ileri sürmüşlerdir (Wilson vd., 1990). Bu yöntemi, kanserli hastaların tedavisinde kullanılan ilaçlar üzerinde denemişler ve elde ettikleri klinik sonuçların, MTT sonuçlarıyla paralel olduğunu belirtmişlerdir.

MTT suda çözünen bir tetrazolyum tuzu olup fenol kırmızısı içermeyen ortam veya tuz çözeltisinde sarımtırak renk oluşturur. Tetrazolyum halkasının dehidrogenaz enzimlerince parçalanması sonucu MTT mor renkli çözünmez formazana dönüşür. Bu dönüşüm canlı hücrelerin mitokondrileri aracılığı ile olur. Oluşan bu formazan izopropanol veya başka bir çözücü yardımı ile çözünür hale getirilir ve oluşan renk reaksiyonu spektrofotometrik olarak okunup değerlendirilir.

MTT testi indirekt olarak hücre büyümesi ve/veya hücre ölümünü değerlendirmeyi amaçlayan, hücre kültürü esasına dayanan bir ilaç duyarlılığı testidir. Kültür ortamındaki mitokondrial aktivitesi devam eden canlı hücrelerin sayılmasını sağlar. En sık kullanım alanları: Sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ortam bileşenlerinin hücreler üzerine etkilerinin araştırılması ve sitotoksik ajanların etkinliğinin test edilmesidir.

2.2. Termal Analiz Yöntemleri

Geçiş metali fosfin komplekslerinin tıp alanında tedaviye yönelik etkinliğinin bulunduğunu gösteren çalışmalar olduğu için bu yapıların termal özelliklerinin bilinmesinin gelecekte yapılması olası çalışmalara ışık tutması açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Termal analiz genel anlamda maddeye kontrollü sıcaklık programı uygulandığında, maddenin ve/veya reaksiyon ürünlerinin fiziksel özelliklerinin sıcaklığın fonksiyonu olarak ölçüldüğü bir grup teknik olarak tanımlanabilir. Bu yöntemler polimerler, ilaçlar, killer ve mineraller, yağlar, metaller ve alaşımlar, inorganik maddeler ve seramikler gibi çok çeşitli endüstri ürünlerinin hem kalite kontrol hem de araştırma çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Fajnor ve Jesenak, 1996). Termal analiz yöntemlerinin yüzyıldan fazla bir geçmişi vardır ve birçok alanda yapı aydınlatmada kullanılmıştır. Son yıllarda termal analiz uygulamaları formaldehitler ve biyolojik organizmaların karakteristiğinde uygulama alanı bulmaktadır.

Termal analiz ile ilgili ilk deneyler 1887'de Le Chatelier ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu deneyler kil-mineraller için yapılmıştır ve ısıtma eğrisi metodu kullanılmıştır (Oesper, 1931). Aynı dönemlerde Tammann ve ark. da benzer termoanalitik çalışmalar yapmıştır. 1899'da termal olarak inert olan bir referans materyal kullanılarak ve ısınma eğrisi metodunda örnek ile referans materyal arasındaki sıcaklık farkı ölçülerek diferansiyel termal analiz (DTA) yöntemi geliştirilmiştir. 1915'de ise ikinci bir termal analiz yöntemi olan termogravimetri, TG Japon fizikçi Honda tarafından geliştirilmiştir ve 1925'de TG verileri Japon elektrik mühendisleri Kujirai ve Akahira tarafından ilk kez kinetik amaçlar için kullanılmış ve ilk kez doğal polimerik materyallerin termal analiz uygulamaları yapılmıştır. II. Dünya Savaşı'ndan önce üçüncü termal analiz metodu olan termo-dilatometri geliştirildi (Ozawa vd., 1996).

Termal analiz yöntemlerini iki ana başlık altında toplayabiliriz. Bunlar, kütle kaybı ölçümüne dayalı termal analiz yöntemleri ve sıcaklık farkı ölçümüne dayalı yöntemlerdir. Kütle kaybı ölçümüne dayalı yöntem, TG (termogravimetri) iken DTA (diferansiyel termal analiz) ve DSC (diferansiyel taramalı kalorimetri) sıcaklık farkı ölçümüne dayalı yöntemlerdir.

Termogravimetri (TG) yönteminde programlı olarak arttırılan sıcaklık sonucunda analiz edilecek maddenin kütesinde meydana gelecek olan azalmalar, sıcaklığın veya zamanın fonksiyonu olarak incelenir. Sonuçta elde edilen sıcaklık kütle eğrilerine termogram veya termal bozunma eğrileri denir. Sıcaklık artışı sonucunda meydana gelen kütle

kayıpları genel olarak su gibi uçucu bileşiklerin yapıdan ayrılması veya maddenin ayrışmasıdır (Blaine ve Hahn, 1998).

Diferansiyel Termal Analiz (DTA) yönteminde ise numune ve termal olarak inert olan referans maddeye aynı sıcaklık programı uygulanır. Diferansiyel termal analiz çok ufak ısı etkilerinin değişimini kaydetmek için yapılır. DTA sıcaklıktaki değişimi esas parçayla diğer standart parçalar arasındaki ilişkiyi kurarak sağlar. Örnek ve referans madde aynı anda ısıtılıp soğutulduktan sonra sıcaklık farkı eğrisi ve zaman eğrisi gibi diferansiyel analizin sonuçları çizilir. Değişim anında sıcaklık farkı keskin bir şekilde yükselir ve ısıtma veya soğutma durumuna bağlı değildir. İkisi arasındaki fark, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçülür. Bu iki madde bir arada ısıtılır. Sıcaklık düzgün bir şekilde arttırılır. TG deki gibi sadece kütle kaybına bağlı olmadığı için daha geniş bir kullanım alanı vardır (Bhadeshia, 2002).

Diferansiyel termal analiz yöntemi inorganik maddelerin silikatların, killerin, oksitlerin, seramiklerin incelenmesinde; organik maddelerin erime, kaynama ve parçalanma sıcaklıklarının bulunması amacıyla ve polimerlerde meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişikliklerin incelenmesi amacı ile kullanılmaktadır. Bu amaçlar kapsamında elde edilen komplekslerin parçalanma sıcaklıklarına ve bu parçalanmalar sırasında kaybettikleri kütlelere bakılması yapı tayininde önemli yol göstermektedir.

3. MALZEME ve YÖNTEM

3.1. Malzeme

3.1.1. Kullanılan cihazlar

Yapılan tez çalışmasında kullanılan cihazlar marka ve modelleri ile aşağıda belirtilmiştir.

Infrared Analizleri (FT-IR): Perkin Elmer 100 FT-IR (ATR), Aksaray Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

^1H -NMR, ^{13}C -NMR, ^{31}P -NMR Analizleri: BRUKER AVANCE DPX-400, Ankara Test ve Analiz Laboratuvarları (TÜBİTAK-ATAL)

Termal Analiz: Exstar SII 7300, Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

Elementel Analiz: LECO CHNS 932, Ankara Test ve Analiz Laboratuvarları (TÜBİTAK-ATAL)

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Yapılan tez çalışmasında kullanılan cihazlar marka ve modelleri ile aşağıda belirtilmiştir.

Çözücüler: Diklorometan (CH_2Cl_2), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), metanol (CH_3OH) ligand ve metal komplekslerinin sentezinde kullanıldı.

Dietileter ($(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$): Sentezlenen kompleksleri çöktürmek için kullanılmıştır. Analitik saflıkta, Merck firmasından temin edildi.

Metanol (CH_3OH): Fosforyum tuzunu sentezlerken, tekrar kristallendirme aşamasında kullanılmıştır. Analitik saflıkta, Merck firmasından temin edildi.

Difenilfosfin (Ph_2PH): Fosforyum tuzunu sentezlerken çıkış maddesidir. Analitik saflıkta, Aldrich firmasından temin edildi.

Formaldehit (HCHO): Fosforyum tuzunun sentezinde kullanıldı. Analitik saflıkta, Merck firmasından temin edildi.

Hidroklorik asit (HCl): Fosforyum tuzunu sentezinde kullanıldı. Analitik saflıkta, Riedel-de Haën firmasından temin edildi.

Magnezyum Sülfat (MgSO_4): Kurutucu olarak kullanıldı. Analitik saflıkta, Merck firmasından temin edildi.

Trietilamin ($\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$): Ligandların sentezinde kullanılmıştır. Analitik saflıkta, Merck firmasından temin edildi.

[PdCODCl₂], [PtCODCl₂], [RhCODCl]₂, [RuCODCl₂]_n: Komplekslerin sentezinde kullanılmıştır. Analitik saflıkta, Aldrich firmasından temin edildi.

NaAuCl₄.2H₂O: Altın(I) kompleksinin sentezinde kullanıldı. Analitik saflıkta, Riedel-de Haën firmasından temin edildi.

Dimetilsülfoksit-d₆ ((CD₃)₂SO) ve Dötero-kloroform (CDCl₃): NMR spektrumlarını alırken çözücü olarak kullanıldı. Analitik saflıkta, Merck firmasından temin edildi.

MTT çalışmalarında kullanılan kimyasallar, DMSO (dimetilsülfoksit), MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür; Tiazolil mavisi), Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

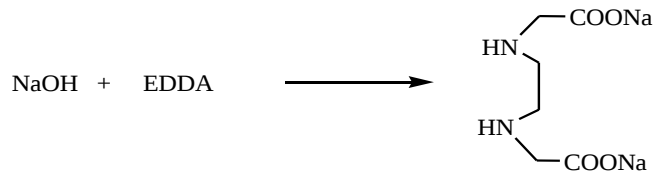
3.2. Yöntem

Yapılan çalışmalarda Mannich reaksiyonu ile aminometilfosfin ligandı sentezlenerek ligandın metal kompleksleri elde edilmiştir.

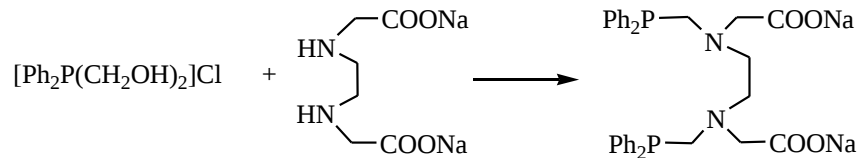
3.2.1. Genel reaksiyonlar



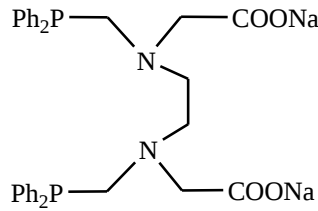
Şekil 3.1. Fosfonyum tuzu sentezi



Şekil 3.2. EDDA sodyum tuzu sentezi



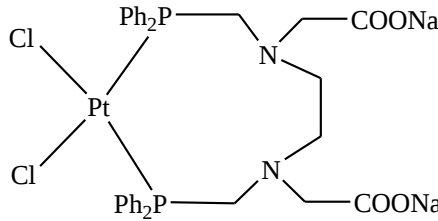
Şekil 3.3. Aminometilfosfin (A) ligandı sentezi



Şekil 3.6. Ligand (A)

3.2.5. [PtLCl₂] (1A) Kompleksinin sentezi

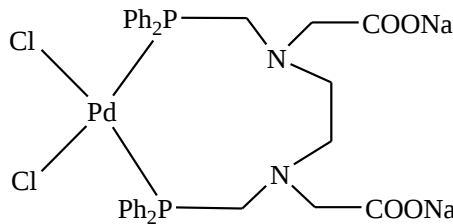
Yandan boyunlu balonda bulunan 15 mL diklorometan içerisinde çözünmüş (A) ligandı (0.50 g, 0.81 mmol) üzerine [Pt(COD)Cl₂] (0.30 g, 0.81 mmol) 10 mL diklorometanda çözülerek azot gazı altında ilave edildi. Karışım 24 saat boyunca azot atmosferi altında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözücü hacmi döner buharlaştırıcıda 5 mL'ye azaltılarak üzerine dietileter ilave edilip sarı-beyaz renkte metal kompleksinin katı halinde çökmesi sağlandı. Oluşan katı süzülüp, dietileter ile birkaç kez yıkanarak vakumda kurutuldu. (0.60 g, verim % 85)



Şekil 3.7. 1A kompleksi

3.2.6. [PdLCl₂] (2A) Kompleksinin sentezi

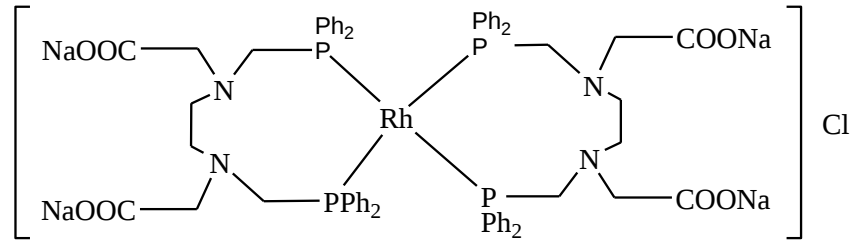
Yandan boyunlu balon içerisinde bulunan 15 mL diklorometanda çözünmüş (A) ligandı (0.50 g, 0.81 mmol) üzerine [Pd(COD)Cl₂] (0.23 g, 0.81 mmol) 10 mL diklorometanda içinde çözülerek azot gazı altında ilave edildi. Karışım 24 saat boyunca azot atmosferinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözücü hacmi döner buharlaştırıcıda 5 mL'ye azaltılarak üzerine dietileter ilave edilip sarı renkli metal kompleksinin katı halinde çökmesi sağlandı. Oluşan katı süzülüp, dietileter ile birkaç kez yıkanarak vakumda kurutuldu. (0.54 g, verim % 85)



Şekil 3.8. 2A kompleksi

3.2.7. [RhL₂]Cl (3A) Kompleksinin sentezi

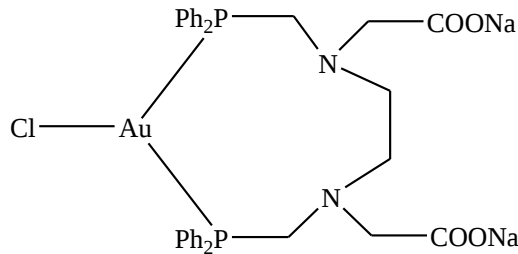
Yandan boyunlu balonda içerisinde (A) ligandının (0.50 g, 0.80 mmol) bulunan 15 mL diklorometan çözeltisi üzerine 10 mL diklorometandaki [Rh(COD)Cl]₂ (0.55 g, 0.40 mmol) çözeltisi azot gazı altında ilave edildi. Karışım 24 saat boyunca azot atmosferinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözücü hacmi döner buharlaştırıcıda 5 mL'ye azaltılarak üzerine dietileter ilave edilip kirli sarı metal kompleksinin katı halinde çökmesi sağlandı. Oluşan katı süzülüp, dietileter ile birkaç kez yıkanarak vakumda kurutuldu. (0.37 g, verim % 68)



Şekil 3.9. 3A kompleksi

3.2.8. [AuLCl] (4A) Kompleksinin sentezi

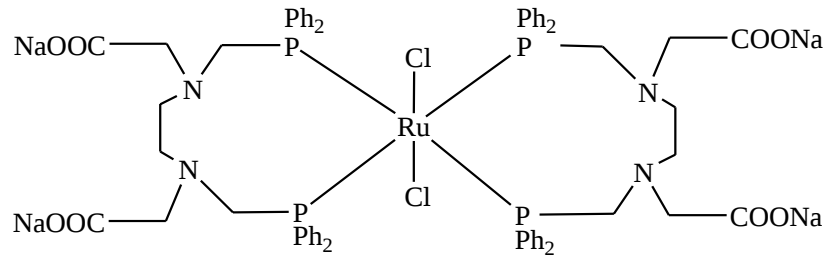
Yandan boyunlu balonda 15 mL diklorometanda içerisinde bulunan (A) ligandı (0.50 g, 0.81 mmol) üzerine NaAuCl₄.2H₂O (0.32 g, 0.81 mmol) 10 mL etanolde çözülerek azot gazı altında ilave edildi. Karışım 24 saat boyunca azot atmosferinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözelti hacmi döner buharlaştırıcıda 5 mL'ye azaltılarak üzerine dietileter ilave edilip sarı renkli metal kompleksinin çökmesi sağlandı. Oluşan katı süzülüp, dietileter ile birkaç kez yıkanarak vakumda kurutuldu. (0.57 g, verim % 83)



Şekil 3.10. 4A kompleksi

3.2.9.[RuL₂Cl₂] (5A) Kompleksinin sentezi

Yandan boyunlu balonda içerisinde fosfin ligandı (A) (0.50 g, 0.81 mmol) bulunan 15 mL diklorometan çözeltisi üzerine 10 mL diklorometadaki [Ru(COD)Cl₂]_n (0.11 g, 0.41 mmol) çözeltisi azot gazı altında ilave edildi. Karışım 24 saat boyunca azot atmosferinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözücü hacmi döner buharlaştırıcıda 5 mL'ye azaltılarak üzerine dietileter ilave edilip açık kahverenkli metal kompleksinin katı halinde çökmesi sağlandı. Oluşan katı süzülüp, dietileter ile birkaç kez yıkanarak vakumda kurutuldu. (0.4 g, verim % 70)



Şekil 3.11. 5A kompleksi

3.2.10. Sitotoksosite deneyleri

Bu çalışmada kullanılan K562 hücre hattı sağlandıktan sonra, % 10 FBS, % 1 penisilin streptomisin, % 1 L-glutamin, % 1 HEPES tamponu içeren RPMI 1640 ile hazırlanan ortam hazırlandı ve hücre flasklarında (T-25, Beckton Dickinson) 37 °C'de CO₂'lik ortamda 3 gün süreyle çoğaltıldı. Ayrıca trypan blue atılım testi ile veya akrinin oranj ile hücrelerin canlılığına bakıldı.

K-562 hücreleri için de hücre sayımı yapıldı ve canlılığa bakıldı. Bütün hücre serilerinde canlılık % 95'in üzerinde idi. Bu aşamadan sonra hücre serisi de 10⁵/mL hücre olacak şekilde ortam ile birlikte hazırlandı.

Bu aşamadan sonra her bir hücre serisi için 12 kuyucuklu kültür plaklarına 7 kuyucuğa 10⁴/mL olarak yazılacak hep hücre son hacim 3 mL olacak şekilde koyuldu. Tüm plaklar % 5 CO₂ içeren inkübatörde 24 saatlik inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrası hücre serilerinden oluşan 12 kuyucuklu plaklara eklediğimiz hücre konsantrasyonlarının üzerine 1 kuyucuğa hücre ve medium 2. kuyucuğa DMSO içeren çözücünün kontrol olarak belirlenmesi ile her bir kuyucuğa 5 farklı konsantrasyonda (1 ng/mL, 1x10⁻¹ ng/mL, 1x10⁻² ng/mL, 1x10⁻³ ng/mL ve 1x10⁻⁴ ng/mL olacak şekilde) bileşikler ilave edildi. Hücreler 37 °C'de % 5 CO₂'li ortamda 48 saat inkübe edildi. 48 saat sonunda hücre dizileri sitotoksosite yönünden değerlendirildi.

MTT solüsyonu 5 mg/mL olacak şekilde PBS içinde çözülüp steril filtrasyon ile bir şişeye transfer edilerek hazırlandı. Sitotoksosite incelemesi için bütün kültürlerden 100 µL alınıp üzerine 10 µL MTT solüsyonu eklendi ve 4 saat süre ile enkübe edildi. Daha sonra kuyucuklara 100'er µL DMSO eklenerek MTT ile oluşan formazon kristallerini çözmek için 10 dakika 37 °C'de % 5 CO₂ olacak şekilde inkübatörde bekletilip mikropate okuyucu ile her bir kuyucuk 570 nm ve 630 nm referans dalga boyunda okutuldu ve okunan absorbans değerine göre sitotoksosite düzeyi belirlendi. Sitotoksosite düzeyleri aşağıdaki formül ile hesaplandı;

$$(\text{kontrol kuyucuğunun adsorbansı} / \text{test kuyucuğunun adsorbansı}) \times 100$$

Kontrole göre % 50 oranında sitotoksik etki gösteren konsantrasyon sitotoksik doz olarak kabul edildi.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. $[\text{NH}(\text{CH}_2\text{COONa})\text{CH}_2]_2$ (EDDANa₂)

FT-IR (cm^{-1}): 3500-3300 ν (sekonder amin-NH), 2969 ν (alifatik $-\text{CH}_2$), 1600 ν (C=O), 1234 ν (-C-O)

Alev testi denemesinde sodyumun karakteristik sarı rengi gözlenmiştir.

4.2. A ligandı

FT-IR (cm^{-1}): 3221 ν (Ar-CH); 1633 ν (Alifatik C=O), 1154 ν (C-O), 742, 719, 692 ν (monosüstitüe benzen C-H)

^1H -NMR (CDCl_3 , δ): 3.1 (m, 4H, (P-CH₂-N)), 3.4 (m, 4H, (N-CH₂CH₂-N)), 4.3 (s, 4H, (NCH₂COO)), 7.3-7.8 (m, 20H, aromatik)

^{31}P -NMR (CDCl_3 , δ): 31.9 (s)

Elementel Analiz: (%) $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{P}_2\text{Na}_2$

Teorik; C, 62.34; N, 4.54; H, 5.23

Deneyisel; C, 62.49; N, 4.54; H, 5.30

4.3. A1 kompleksi

FT-IR (cm^{-1}): 3213 ν (Ar-CH gerilmesi), 2932 ν (Alifatik C-H), 1638 ν (Alifatik C=O gerilmesi), 1434 ν (P-Ar), 1100 ν (C-O), 744, 721, 694 ν (monosüstitüe benzen C-H)

^1H -NMR(CDCl_3 , δ): 3.2 (m, 4H, (P-CH₂-N)), 3.4 (m, 4H,(N-CH₂CH₂-N)), 4.3 (s, 4H, (NCH₂COO)), 7.0-7.8 (m, 20H, aromatik)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ): 168-172 (COO⁻), 128-135 (P-Ph), 66-47 (N-CH₂-)

^{31}P -NMR (CDCl_3 , δ): 7 ppm ($J_{\text{PtP}} = 3712$ Hz)

Elementel Analiz: (%) $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{P}_2\text{Na}_2\text{Pt}$

Teorik; C, 43.55; N, 3.17; H, 3.65

Deneyisel; C, 43.10; N, 3.93; H, 3.61

Kompleksin TG/DTG ve DTA eğrileri incelendiğinde **A1** kompleksinin yaklaşık termal olarak 95 °C ye kadar kararlı iken 570 °C'ye kadar üç basamakta toplam % 76 lik bir kütle kaybı olmuştur. Bu değer Pt(II) kompleksinde difenilfosfin içeren ligandın % 73 olarak hesaplanan kütesine karşılık gelmektedir.

4.4. A2 kompleksi

FT-IR (KBr, pelet, cm^{-1}): 3053 ν (Ar-CH gerilmesi), 2932 ν (Alifatik C-H), 1634 ν (Alifatik C=O gerilmesi), 1436 ν (P-Ar), 1100 ν (C-O), 746, 720, 693 ν (monosüstitüe benzen C-H)

^1H -NMR(CDCl_3 , δ): 3.1 (s, 4H, (P- CH_2 -N)), 3.4 (m, 4H, (N- CH_2CH_2 -N)), 4.3 (s, 4H, (N CH_2COO)), 7.0-7.8 (m, 20H, aromatik)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ): 161-172 (COO^-), 128-135 (P-Ph), 56.7-41 ($-\text{CH}_2-$)

^{31}P -NMR (CDCl_3 , δ): 32.9 (s)

Elementel Analiz: (%) $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{P}_2\text{Na}_2\text{Pd}$

Teorik; C, 48.41; N, 3.53; H, 4.06

Deneyisel; C, 48.73; N, 3.98; H, 4.00

Kompleksin TG/DTG ve DTA eğrileri incelendiğinde **A2** kompleksinin yaklaşık olarak 190 °C ye kadar kararlı olduğu gözlenmiştir. Bu sıcaklığa kadar sadece nemden kaynaklanan düşük oranda kütle kaybı gözlenmiştir. 190-650 °C arasında üç basamakta görülen bozunma ile oluşan % 72.43'lük kütle kaybının fosfin ligandının kütlesi olduğu belirlenmiştir. Komplekste metale kadar bozunma ile oluşması beklenen matematiksel kütle kaybı ise % 80.80'dir.

4.5. A3 kompleksi

FT-IR (cm^{-1}): 3054 ν (Ar-CH gerilmesi), 2931 ν (Alifatik C-H), 1637 ν (Alifatik C=O gerilmesi), 1435 ν (P-Ar), 1100 ν (C-O), 746, 720, 695 ν (monosüstitüe benzen C-H)

^1H -NMR(CDCl_3 , δ): 3.2 (m, 4H, (P- CH_2 -N)), 3.4 (m, 4H, (N- CH_2CH_2 -N)), 4.3 (s, 4H, (N CH_2COO)), 7.0-7.8 (m, 40H, aromatik)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ): 168-172 (COO^-), 128-131 (P-Ph), 58.7-45.2 ($-\text{CH}_2-$)

^{31}P -NMR (CDCl_3 , δ): 28.3 (s)

Elementel Analiz: (%) $\text{C}_{64}\text{H}_{64}\text{ClN}_4\text{O}_8\text{P}_4\text{Na}_4\text{Rh}$

Teorik; C, 62.34; N, 4.54; H, 5.23

Deneyisel, C, 56.47; N, 4.64; H, 4.85

Kompleksin TG/DTG ve DTA eğrileri incelendiğinde **A3** kompleksinin yaklaşık termal olarak 115 °C ye kadar kararlı iken 450 °C'ye kadar üç basamakta toplam % 85.15 lük kütle kaybının fosfin ligandının kütlesi olduğu belirlenmiştir. Komplekste metale kadar bozunma ile oluşması beklenen matematiksel kütle kaybı ise % 85.37'dir.

4.6. A4 kompleksi

FT-IR (KBr, pelet, cm^{-1}): 3053 ν (Ar-CH gerilmesi), 2937 ν (Alifatik C-H), 1639 ν (Alifatik C=O gerilmesi), 1435 ν (P-Ar), 1100 ν (C-O), 744, 721, 692 ν (monosübstitüe benzen C-H)

^1H -NMR(CDCl_3 , δ): 3.2 (m, 4H, P- CH_2 -N), 3.4 (m, 4H, N- CH_2CH_2 -N), 4.3 (s, 4H, N CH_2COO), 7.0-7.8 (m, 20H, aromatik)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ): 170 (COO^-), 128-131 (aromatik), 60-45 ($-\text{CH}_2-$)

^{31}P -NMR (CDCl_3 , δ): 27.5 (s)

Elementel Analiz: (%) $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{P}_2\text{Na}_2\text{Au}$

Teorik; C, 45.27; N, 3.30; H, 3.80

Deneyisel, C, 45.72; N, 3.66; H, 3.87

Kompleksin TG/DTG ve DTA eğrileri incelendiğinde **A4** kompleksinin yaklaşık termal olarak 110 °C' ye kadar kararlı olup bu sıcaklığa kadar sadece nemden kaynaklanan düşük oranda kütle kaybı gözlenmiştir. 110 °C ile 890 °C aralığında üç basamakta toplam % 83'lük kütle kaybının fosfin ligandının kütlesi olduğu belirlenmiştir. Komplekste metale kadar bozunma ile oluşması beklenen matematiksel kütle kaybı ise % 76'dır.

4.7. A5 kompleksi

FT-IR (cm^{-1}): 3056 ν (Ar-CH gerilmesi), 2939 ν (Alifatik C-H), 1620 ν (Alifatik C=O gerilmesi), 1423 ν (P-Ar), 1036 ν (C-O), 745, 721, 695 ν (monosübstitüe benzen C-H)

^1H -NMR (CDCl_3): 3.3 (m, 4H, P- CH_2 -N), 3.4 (m, 4H, N- CH_2CH_2 -N), 4.3 (s, 4H, N CH_2COO), 7.0-7.8 (m, 40H, aromatik)

^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, δ): 170-162 (COO^-), 128-131 (aromatik), 48-44 ($-\text{CH}_2-$)

^{31}P -NMR (CDCl_3 , δ): 33(s)

Elementel Analiz: (%) $\text{C}_{64}\text{H}_{64}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{P}_4\text{Na}_4\text{Ru}$

Teorik; C, 62.34; N, 4.54; H, 5.23

Deneyisel, C, 50.57; N, 4.54; H, 4.48

Kompleksin TG/DTG ve DTA eğrileri incelendiğinde **A5** kompleksinin yaklaşık termal olarak 110 °C'ye kadar kararlı olup bu sıcaklığa kadar sadece nemden kaynaklanan düşük oranda kütle kaybı gözlenmiştir. 110 °C ile 850 °C aralığında üç basamakta toplam % 74.7'lik kütle kaybının fosfin ligandının kütlesi olduğu belirlenmiştir. Komplekste metale kadar bozunma ile oluşması beklenen matematiksel kütle kaybı ise % 76.8'dir.

Sentezlenen metal komplekslerinin çeşitli çözünürlüklerine bakılmış elde edilen veriler Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Çözücü	1A	2A	3A	4A	5A
Su	+	+	+	++	-
EtOH	+	+	□	++	□
CH ₂ Cl ₂	+	+	+	-	□

(-) çözünmez, (□) Kısmen çözünür, (+) çözünür, (++) çok iyi çözünür

Tablo 4.1. Komplekslerin çözünürlükleri

4.8. Sitotoksosite Bulguları

Sentezlenen 5 yeni metal kompleksi ile 5 ayrı konsantrasyon kullanılarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir;

Deneyin Basamakları:

-Dondurulmuş hücre dizilerinin çözülmesi

-Hücrelerin pasajlanarak çoğaltılması; her bir deney için bu süre minimum bir haftadır.

-Çoğaltılan hücrelerin alikotlara ayrılması

-Deney günü hücre dizisinin çözülerek her bir kuyucukta $1 \times 10^4 / \text{mm}^3$ olacak şekilde sayılarak, her bir konsantrasyon için 8 kuyucuk olacak şekilde ELISA plaklarına yerleştirilmesi.

-Her bir ağır metal bileşiği için deneylerde kullanılan standart konsantrasyonlar şunlardır;

Konsantrasyon-1: 1 ng/mL

Konsantrasyon-2: 0.1 ng/mL

Konsantrasyon-3: 0.01 ng/mL

Konsantrasyon-4: 0.001 ng/mL

Konsantrasyon-5: 0.0001 ng/mL

-MTT testi için 48 saatlik inkübasyon

-ELISA plaklarının ELISA okuyucusunda okutulması ve sitotoksitenin belirlenmesi

-Her bir konsantrasyon için her hücre dizisinde sitotoksitenin fotoğraflanması

Bu deneyler her ağır metal bileşiği için yeniden olmak üzere 5 kez tekrarlanmıştır. Bu deneyler sonucunda en kolay çoğaltılabilen kanserli hücre dizisinin K562 hücre dizisi olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu hücre dizisinde ağır metal bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olarak sitotoksitenin en kolay belirlenebildiği görülmüştür.

K562 KML transforme eritrolösemi hücre dizisi üzerine ağır metal bileşiklerinin beş farklı konsantrasyondaki etkisi incelendiğinde absorbans değerleri Tablo 4.2a’da ve % sitotoksosite değerleri Tablo 4.2b’de verilmiştir. **1A**, **2A**, **3A**, **4A** ve **5A** nolu bileşiklerin K562 KML transforme eritrolösemi hücre dizisi üzerine doza bağımlı herhangi bir sitotoksik etkisi gözlenmez iken **4A** nolu metal kompleksinin 1ng/mL ve 0.1 ng/mL konsantrasyonda sırası ile % 45 ve % 25 oranında sitotoksositeye neden olduğu tespit edilmiştir ancak daha düşük konsantrasyonlarda bu etki görülmemiştir. **1A** nolu bileşikte ise 1 ng/mL dozunda % 20 oranında sitotoksosite görülür iken diğer dozlarda bu etki gözlenmemiştir.

Kompleks	Kontrol	Kons.-1	Kons.-2	Kons.-3	Kons.-4	Kons.-5
1A	0.1977	0.1582	0.1898	0.1977	0.2020	0.1967
2A	0.6361	0.5996	0.5930	0.6713	0.6060	0.6370
3A	0.1575	0.1675	0.1492	0.1528	0.1550	0.1426
4A	0.2128	0.1178	0.1598	0.2011	0.1885	0.1882
5A	0.4642	0.4646	0.5137	0.5240	0.5750	0.5220

Tablo 4.2a. K562 KML transforme eritrolösemi hücre dizisi üzerinde metal komplekslerinin beş farklı konsantrasyondaki etkisini gösteren absorbans değerleri

Kompleks	Kons.-1 (%)	Kons.-2 (%)	Kons.-3 (%)	Kons.-4 (%)	Kons.-5 (%)
1A	20	4	4	0	0
2A	6	7	0	5	0
3A	0	6	3	2	10
4A	45	25	6	12	12
5A	0	0	0	0	0

Tablo 4.2b. K562 KML transforme eritrolösemi hücre dizisi üzerinde metal komplekslerinin beş farklı konsantrasyondaki sitotoksik etkisinin test edilen hücrelere oranı (kontrole göre %)

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada P-C-N bağı içeren aminometilfosfin ligandı ($[\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Na})\text{CH}_2]_2$) sentezlenmiş ve bu ligandın Pt(II), Pd(II), Rh(I), Ru(II), Au(I) metal kompleksleri literatüre benzer şekilde sentezlenmiştir.

Sentezlenen kompleksler FT-IR, ^1H , ^{31}P -NMR, ^{13}C -NMR, termal analiz ve elementel analiz teknikleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Spektroskopik analizlere göre, metallerin ligand ile koordine olduğu ^{31}P -NMR spektrumlarında ligand ile kompleksin farklı derecelerde kimyasal kayma değerleri vermeleri önemli ölçüde yol gösterici olmuştur.

Spektroskopik analiz sonuçlarına göre metal komplekslerinin yapı tayinleri yapılarak iki dişli difenilfosfin ligandının beklenen metal komplekslerinin verdiği tespit edilmiştir. Bunun sonucunda ise farmakolojik açıdan kullanılabilirliğini tespit etmek amaçlı sitotoksik denemeler yapılmıştır.

Fosfin içeren karışık ligandlı metal komplekslerinin canlı ortamında antitümoral aktivitelerinin etkin olduğu bilindiğinden ve daha önce çalışıldığından dolayı sentezlenen komplekslerinde antitümoral etki göstereceği düşünülerek sitotoksisite çalışmaları yapılmıştır.

MTT ile yapılan sitotoksisite çalışmaları sonucunda Pt(II), (**1A**), ve Au(I), (**4A**), komplekslerinin bazı konsantrasyonlarında sitotoksisite gözlenmiştir. Sitotoksik etki gösteren bu metal kompleksleri için daha değişik konsantrasyonlarda çalışılarak doza bağımlı etkinin ve sitotoksik dozun belirlenmesi gerektiği ve bunun için ayrıca bir çalışma yapılabileceği söylenebilir.

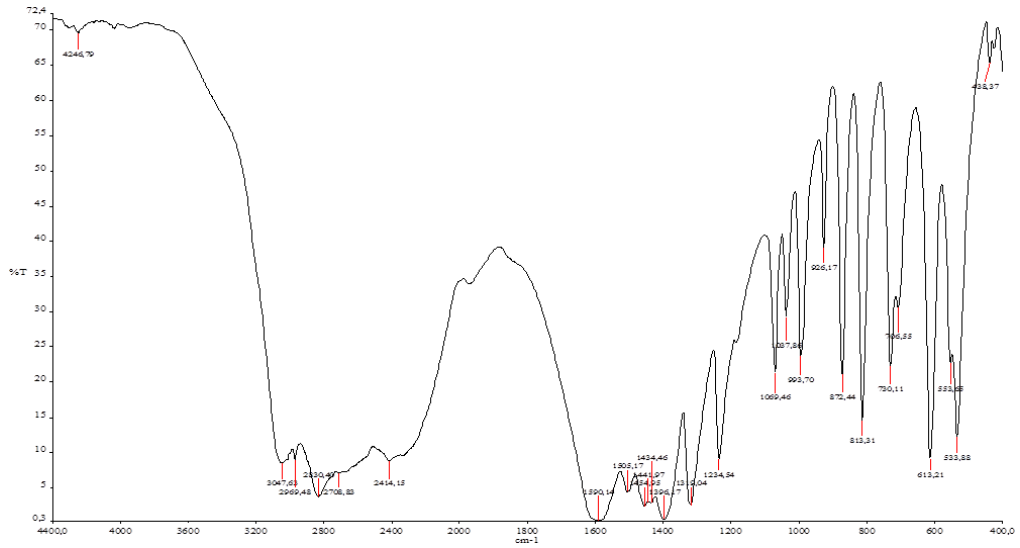
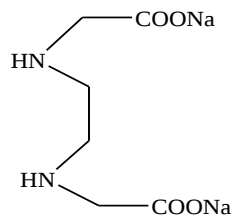
KAYNAKLAR

- Bemi, L., Clark, H.C., Davies, J.A., Drexler, D., Fyfe, C.A., Wasylishen, R. 1982. The detection and characterization of surface immobilized phosphine ligands and transition metal catalysts by high resolution ^{31}P solid state NMR using magic angle spinning techniques. *J. Organomet. Chem.*, 224(1):C5-C9
- Berners-Prices, S.J., Bowen, R.J. Galettis, P., Healy, P.C., McKeage, M.J. 1999. Structural and solution chemistry of gold(I) and silver(I) complexes of bidentate pyridyl phosphines: selective antitumour agents, *Coord Chem Rev*, 185-186, 823-836.
- Bhadeshia, H.K.D.H., 2002. Thermal Analysis Techniques, <http://www.msm.cam.ac.uk/phase-trans/2002/Thermal1.pdf>. University of Cambridge, Materials Science & Metallurgy.
- Blaine, R.L., Hahn, B.K., 1998. Obtaining kinetic parameters by modulated temperature thermogravimetry, *J Therm Anal*, 54, 695-704.
- Brabec, V., Reedijk, J., Leng, M., 1992. Sequence-dependent distortions induced in DNA by monofunctional platinum(II) binding, *Biochemistry*, 31, 12397-402.
- Boulikas, T., Pantos, A., Bellis, E., Christofis, P., 2007. Designing platinum compounds in cancer: structures and mechanisms, *Cancer Ther*, 5, 537-583.
- Coates H., Hoya P.A.T., 1960. Br. Patent, 854182
- Connors, T.A. Cleare, M.J. Harrap, K.R. 1979. Structure-activity relationships of the antitumor platinum coordination complexes, *Cancer Treat. Rep*, 63, 1499-1502.
- Dong, Y. 1997. Serine protease inhibition and mitochondrial dysfunction associated with cisplatin resistance in human tumor cell lines: targets for therapy, *Biochem. Pharmacol*, 53, 1673-1682.
- Ellis, W. J., Harrison, K. N., Hoya, P.A.T., Orpen, A. G., Pringle, P. G.N., Smith, M.B., 1992. Water-soluble Tris(hydroxymethylphosphine) Complexes with Nickel, Palladium and Platinum. Crystal Structure of $[\text{Pd}\{\text{P}(\text{CH}_2\text{OH})_3\}_4]\cdot\text{CH}_3\text{OH}$, *Inorg. Chem.* 31, 3026-3033.
- Fajnor, V.S., Jesenak, K., 1996. Differential thermal analysis of montmorillonite, *J Therm Anal Calorim*, 46, 489-493.
- Fuertes, M.A., Castilla, J., Alonso, C., Perez, J.M., 2003. Cis-platin biochemical mechanism of action: From cytotoxicity to induction of cell death through interconnections between apoptotic and necrotic pathways, *Curr Med Chem*, 10, 257-266.
- Hambley, T.W., 1997. The influence of structure on the activity and toxicity of Pt anti-cancer drugs, *Coord Chem Rev*, 166, 181-223.

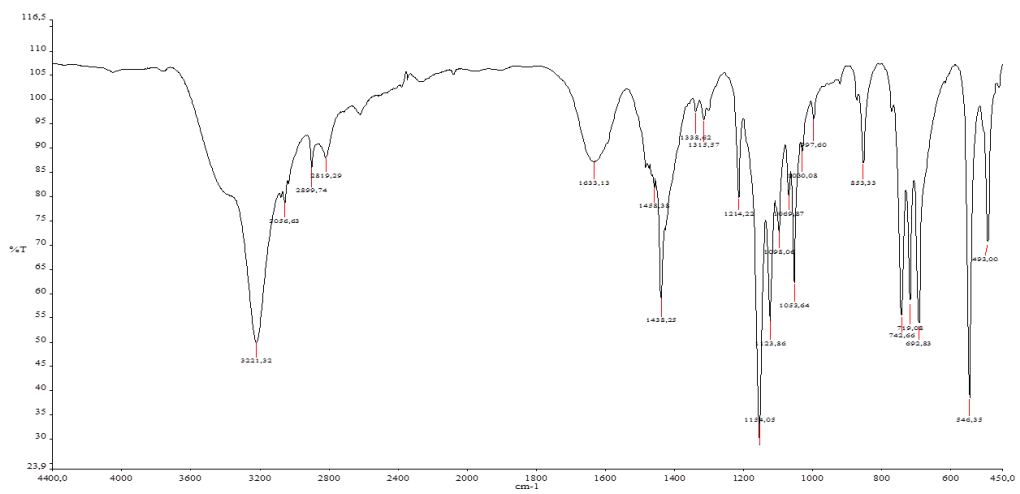
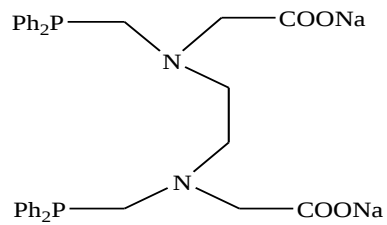
- Johnson, S.W., Ferry, K.V., Hamilton, T.C., 1998. Recent insights into platinum drug resistance in cancer, *Drug Resist. Update* 1, 243–254.
- Keleş, M., Keleş, T., Serindağ, O., 2008. Palladium complexes with bis(diphenylphosphinomethyl)amino ligands and their application as catalysts for the Heck reaction. *Transition Met Chem.* 33, 717–720.
- Kelland, L.R., Sharp, S.Y., O'Neill, C.F., Raynaud, F.I., Beale, P.J., Judson, I.R., 1999. Mini-review: discovery and development of platinum complexes designed to circumvent *cis*-platin resistance, *Inorg Biochem*, 77, 111–115.
- Krakoff, I.H. 1979. Nephrotoxicity of *cis*-dichlorodiammineplatinum(II), *Cancer Treat. Rep.* 63, 1523–1525.
- Lapointe, A.M., 1999. Paralel Synthesis of Aminomethylphosphine Ligands, *J. Comb. Chem.* 1, 101-104.
- Loosdrecht, van de A.A., Nennie, E., Ossenkoppele, G.J., Beelen, R.H., Langenhuijsen, MM. 1991. Cell mediated cytotoxicity against U937 cells by human monocytes and macrophages in a modified calorimetric MTT assay. A methodological study. *J Immunol Methods*; 141, 15-22.
- Mahmoud, M., Mohamed, A., Mohamed, M., Shoukry., 2001. Complex formation reactions of (N-N-dimethylethylenediamine) palladium(II) with various biologically relevant ligands, *Polyhedron* 20, 343-352.
- McKeage, M.J., 2002. Mechanisms of cytotoxicity and antitumor activity of gold(I) phosphine complexes: the possible role of mitochondria, *Coordin Chem Rev*, 232, 127-135.
- Mirabelli, C.K., Johnson, R.K., Sung, C., Faucette, L.F., Muirhead, K., Crooke, S.T., 1985. evaluation of the *in vivo* antitumor activity and *in vitro* cytotoxic properties of auranofin, a coordinated gold compound, in murine tumor models, *Cancer Res*, 45, 32-39.
- Mosmann T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65, 55-63.
- Novelli, F., Recine, M., Sparatore, F., Juliano, C., 1999. Gold(I) complexes as antimicrobial agents, *Il Farmaco*, 54, 232-236.
- Oesper, R.E., 1931. The Scientific Career of Henry Louis Le Chatelier., *J Chem Educ*, 8, 451.
- Ozawa, T., Sunose, T., Kaneko, T., 1996. Historical review on research of kinetics in thermal analysis and thermal endurance of electrical insulating materials, *J Therm Anal Calorim*, 47, 1105-1120.

- Rosenberg, B., Vancamp, L., Trosko, J.E., Mansour, V.H., 1969. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents, *Nature*, 222, 385–386.
- Sadler, P.J., 2003. *Medicinal Inorganic Chemistry, Medicinal Chemistry and Biotechnology*.
- Sarıöz, Ö., Serindağ, O., Abdullah M.İ., 2009. Synthesis and characterization of aminophosphines, bis(amino)phosphine derivatives, and their molybdenum(0) complexes. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, 184, 1785–1795.
- Serindag, O., Kemmitt, R.D.W., Fawcett J., Russel D.R., 1995. Synthesis of sulphonated aminomethylphosphines and some Ni(II), Pd(II), Pt(II) and Rh(I) complexes, *Transition Met Chem*, 20, 548-551.
- Takahara, P.M., Frederick, C.A., Lippad, S.J., 1999. Crystal structure of the anticancer drug cisplatin bound to duplex DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 12309-12321.
- URL-1: www.radonk.org.tr
- Uruş, S., Serindağ, O. Diğrak, M., 2005. Synthesis characterization and antimicrobial activities of Cu(I), Ag(I), and Co(II) complexes with ligand $[\text{CH}_3\text{N}(\text{CH}_2\text{PPh}_2)_2]$, *Heteroatom Chem*, 16, 484-491
- Uruş, S., Keleş, M., Serindağ, O., 2010. Catalytic synthesis of 2-methyl-1,4-naphthoquinone (vitamin k3) over silica-supported aminomethyl phosphine- Ru(II) , Pd(II) , and Co(II) complexes. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, 185, 1416–1424
- Van De Loosdrecht, A.A., Nennie, E., Ossenkoppele, G.J., Beelen R.H., Langenhuijsen M.M., 1991. Cell mediated cytotoxicity againsts U937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. A methodological study, *J Immunol Methods*, 141, 15-22.
- Yang, P., Guo, M., 1999. Interactions of organometallic anticancer agents with nucleotides and DNA, *Coord Chem Rev*, 185-186, 189-221.
- Wenli, J., Xuanhua, C., Rongwei, G., Christine, S.S., Dino, A., Alan, J. L., Kamaluddin, A.R., 2009. Aminophosphine ligands $\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ and ruthenium hydrogenation catalysts $\text{RuCl}_2(\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2)_2$. *Dalton Trans.*, 8301-8307.
- Wilson, J.K., Sargent, J.M., Elgie, A.W., Hill, J.G., Taylor, C.G., 1990. A feasibility study of the MTT assay for chemosensitivity testing in ovarian malignancy, *Brit J Cancer*, 62, 189-194.

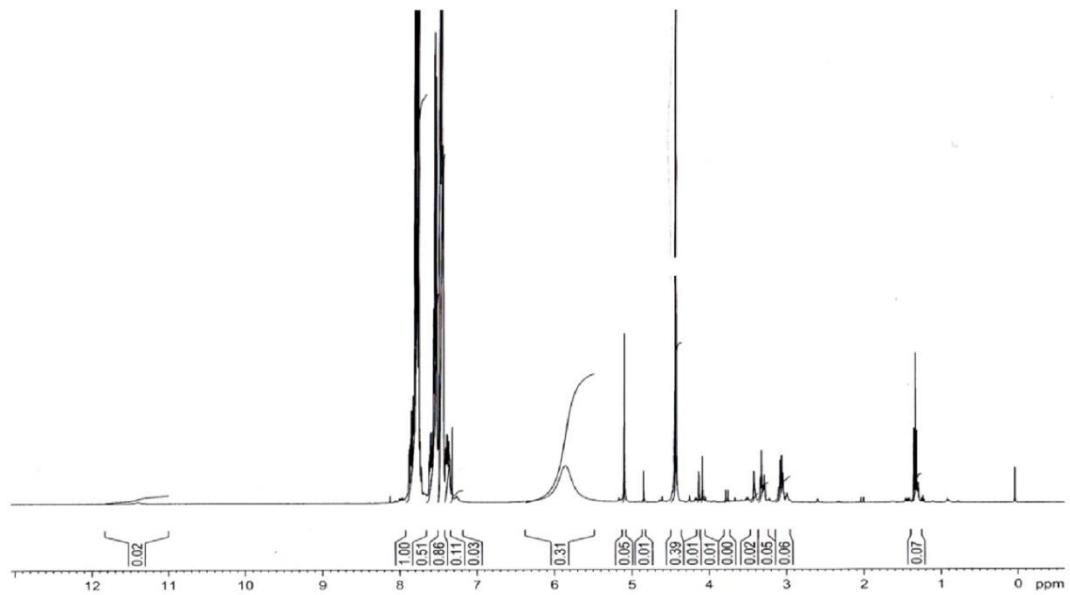
EKLER



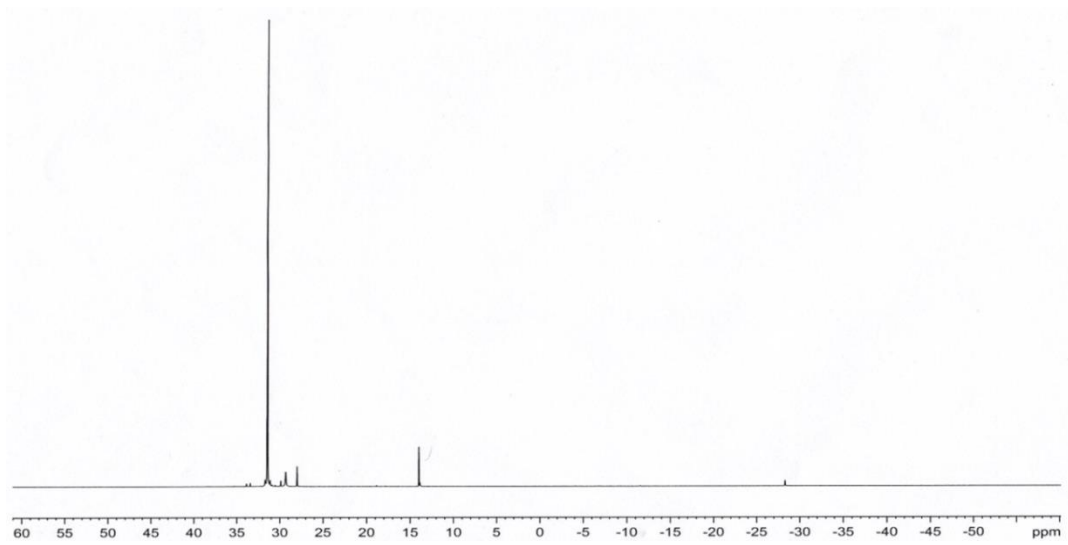
FT-IR spektrumu



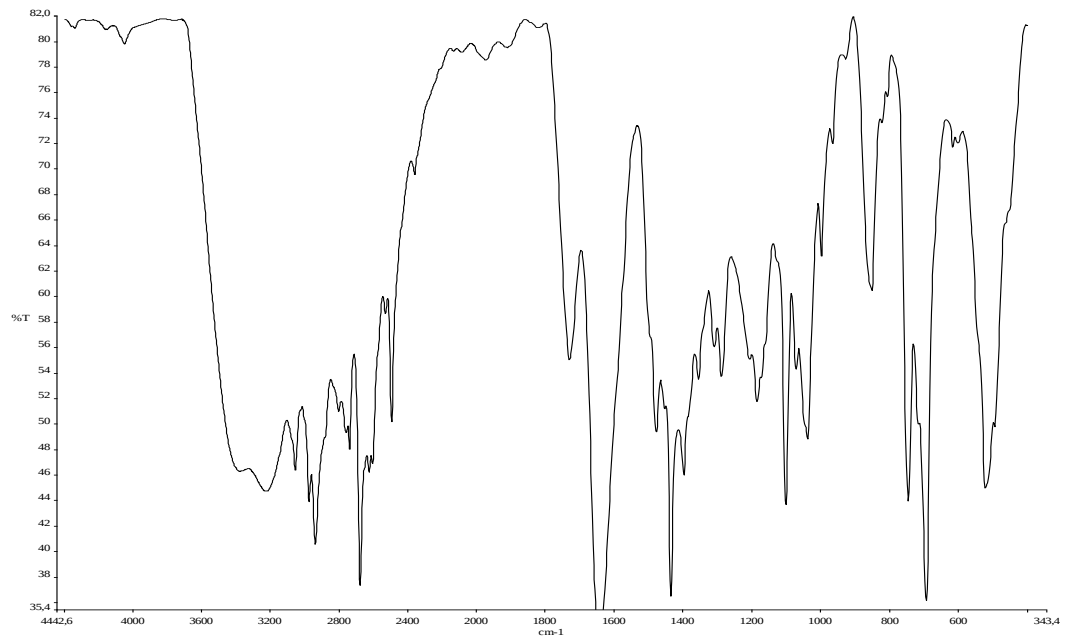
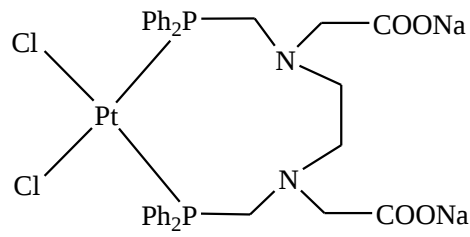
A ligandının FT-IR spektrumu



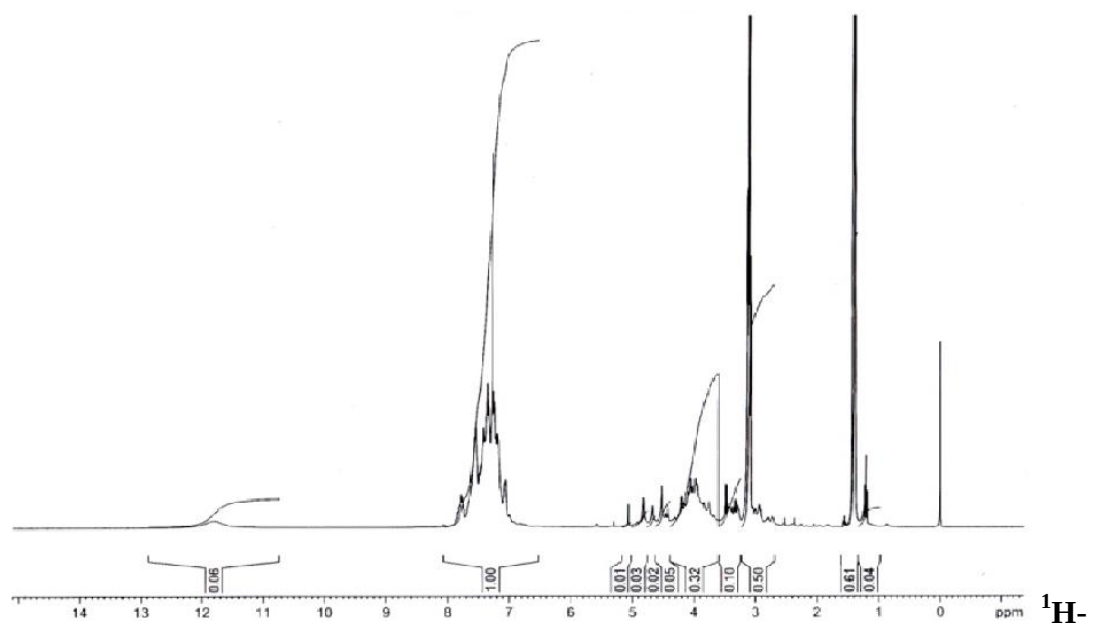
A ligandının ^1H -NMR spektrumu



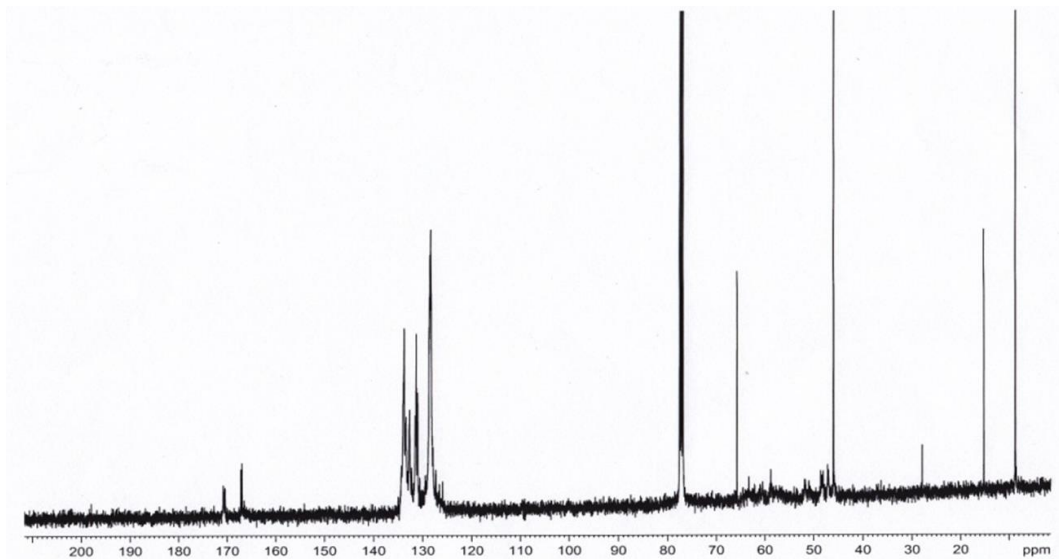
A ligandının ^{31}P -NMR spektrumu



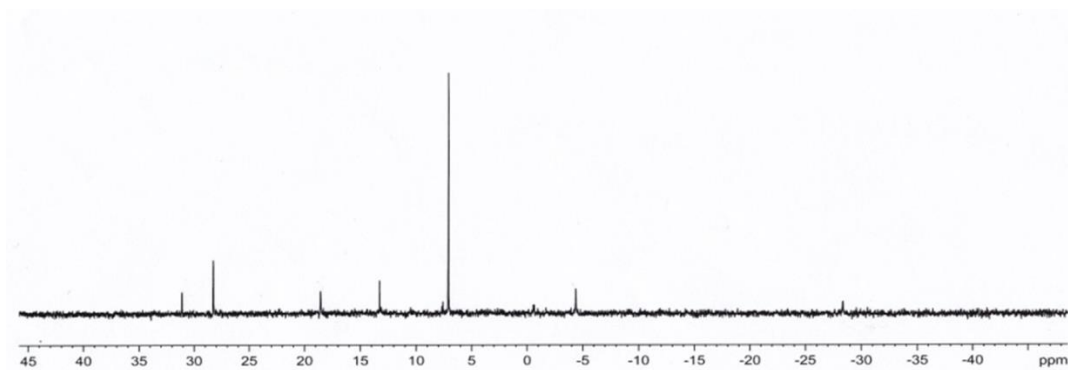
A1 kompleksinin FT-IR spektrumu



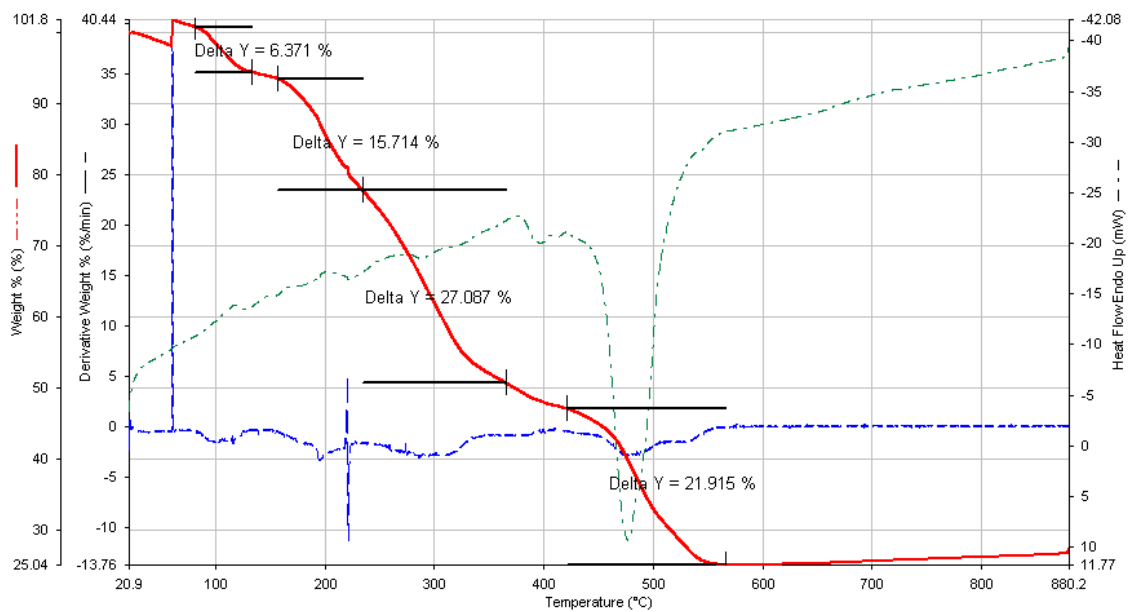
A1 kompleksinin ¹H-NMR spektrumu



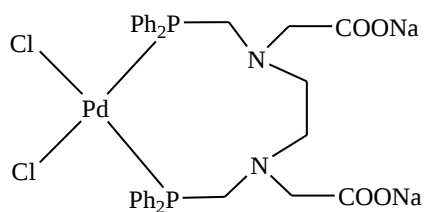
A1 kompleksinin ^{13}C -NMR spektrumu



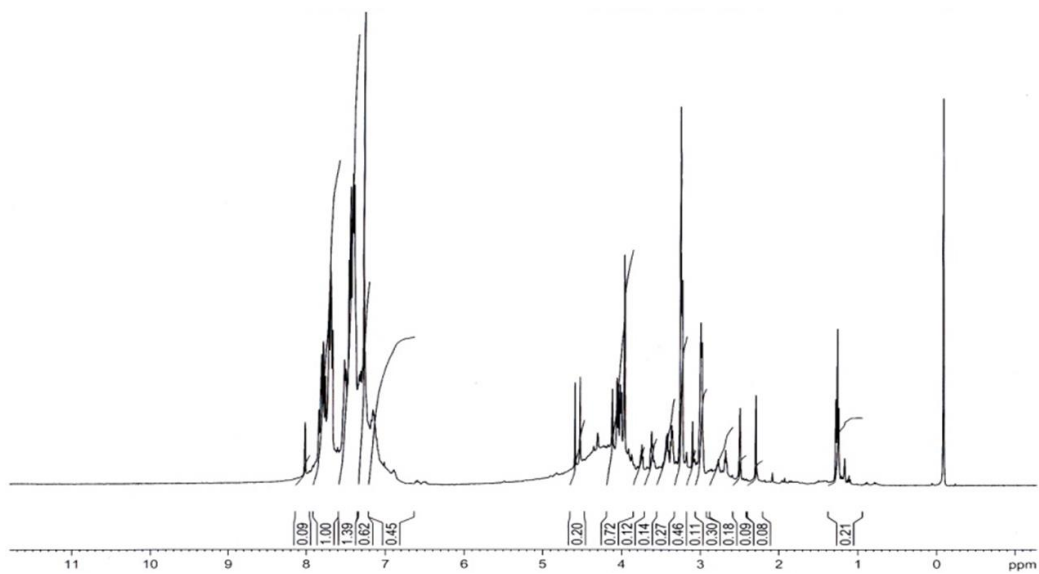
A1 kompleksinin ^{31}P -NMR spektrumu



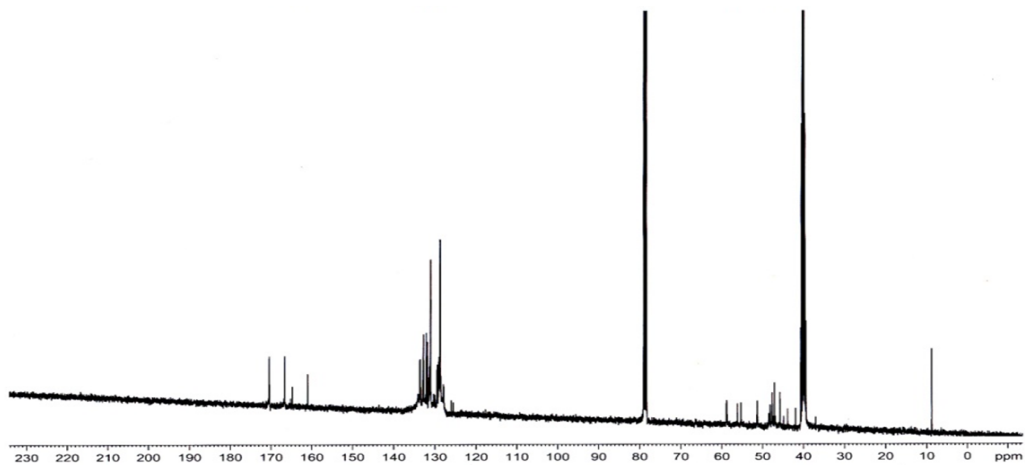
A1 kompleksinin TG/DTA spektrumu



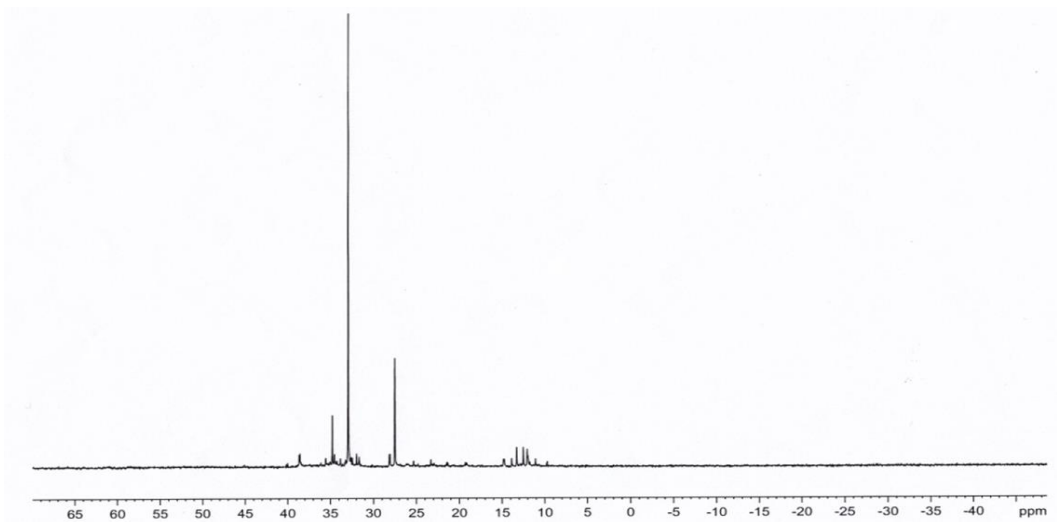
A2 kompleksinin FT-IR spektrumu



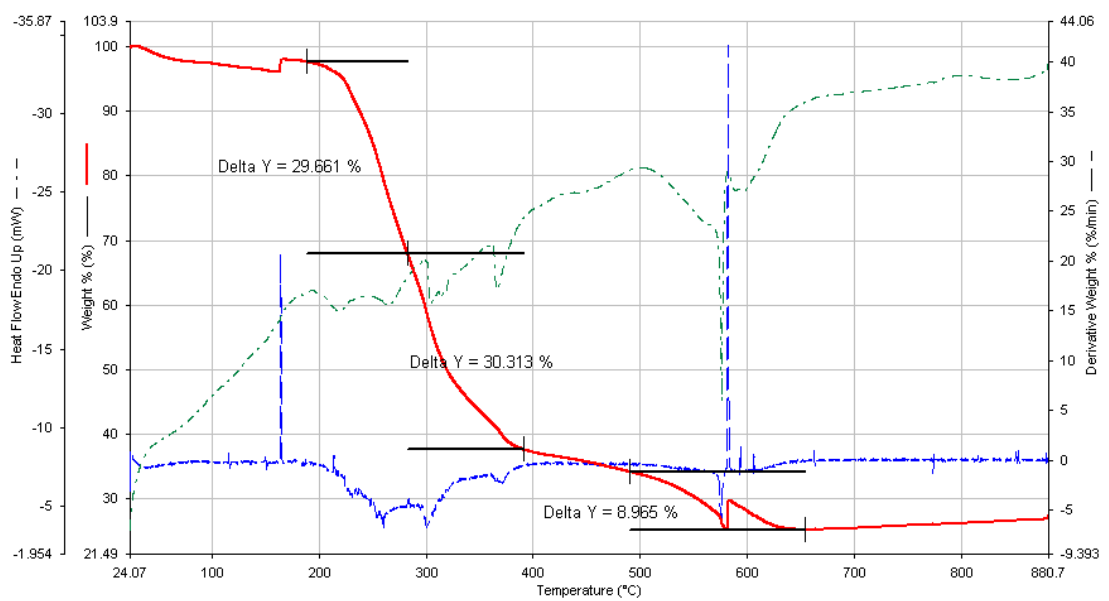
A2 kompleksinin ¹H-NMR spektrumu



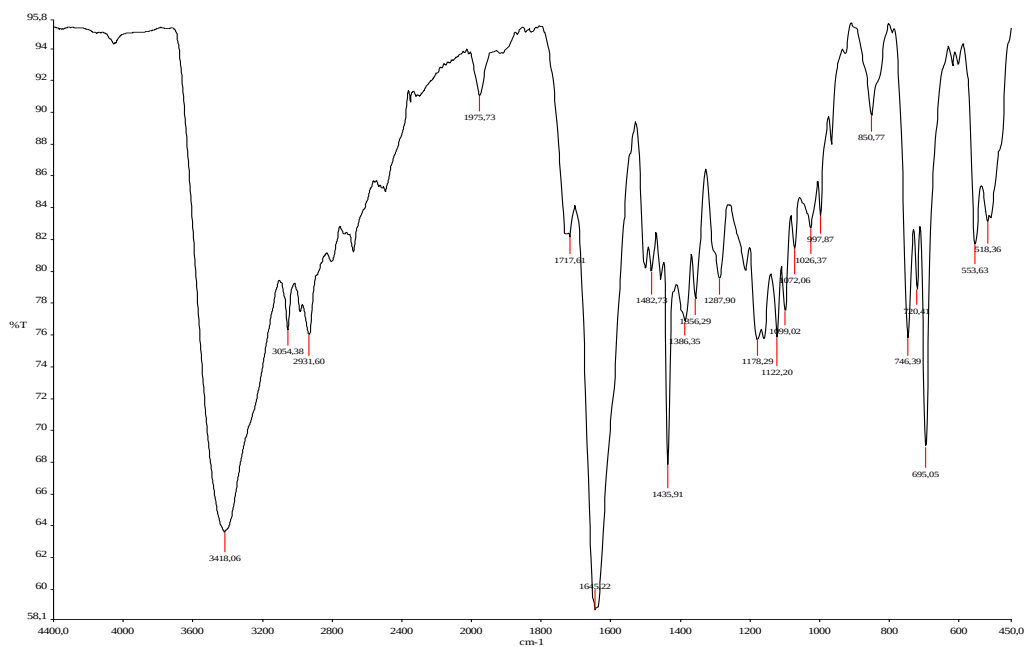
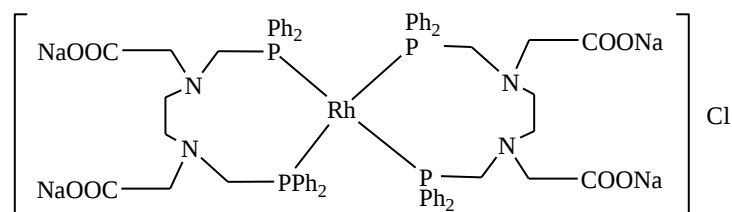
A2 kompleksinin ^{13}C -NMR spektrumu



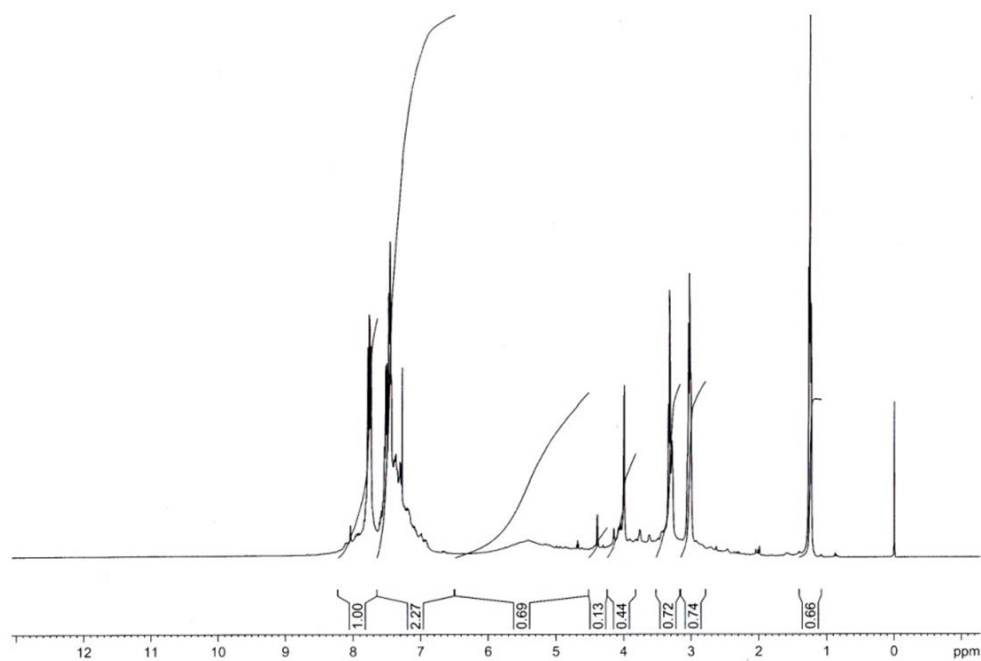
A2 kompleksinin ^{31}P -NMR spektrumu



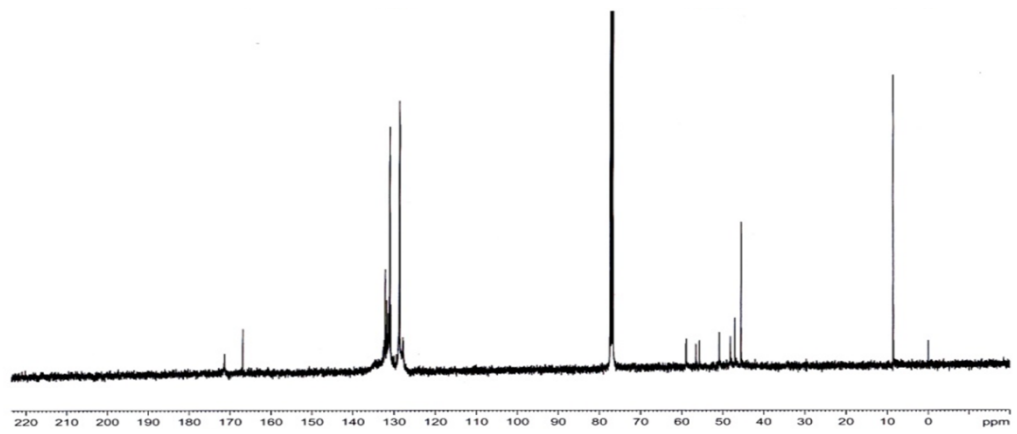
A2 kompleksinin TG/DTA spektrumu



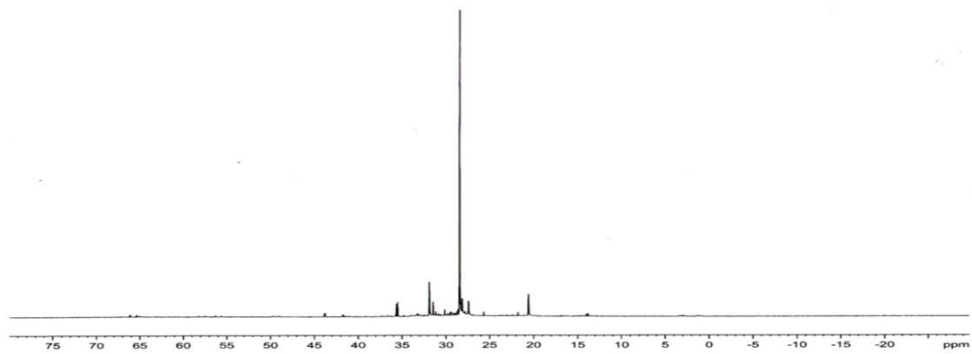
A3 kompleksinin FT-IR spektrumu



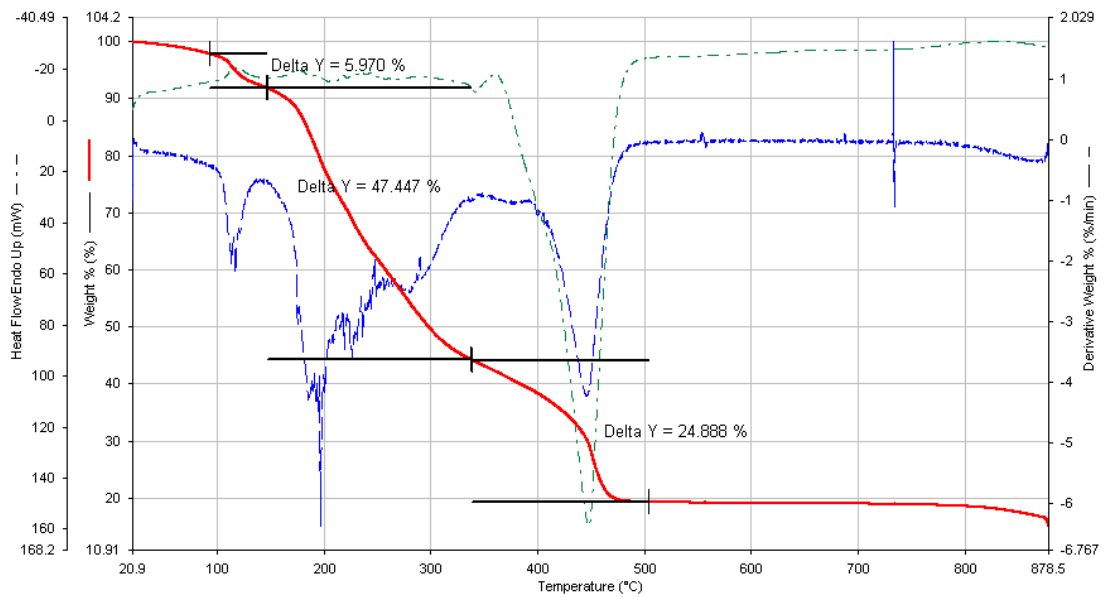
A3 kompleksinin ¹H-NMR spektrumu



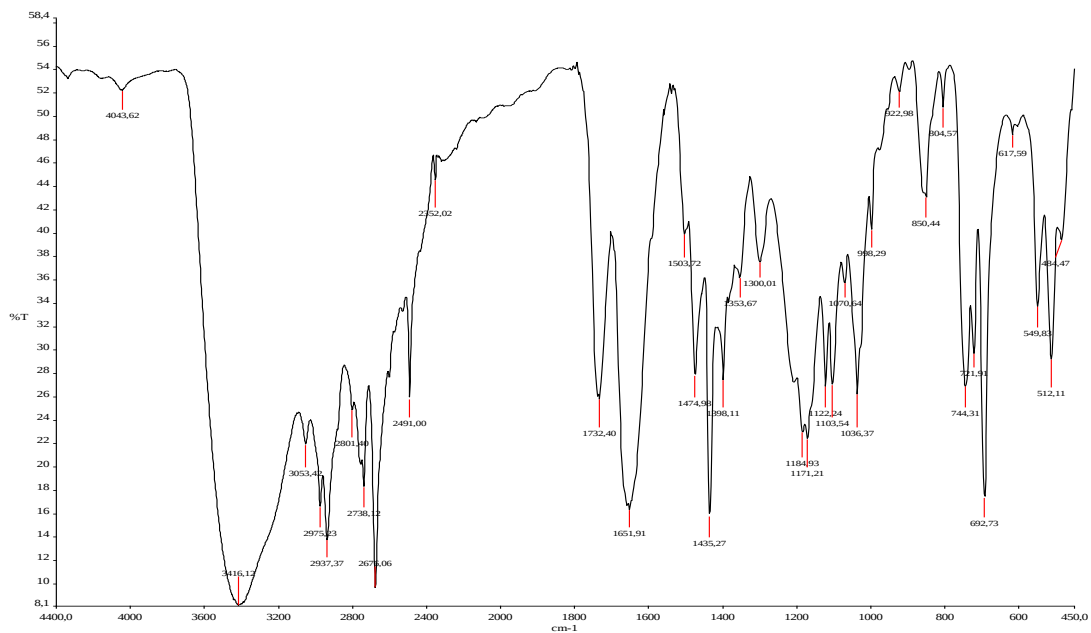
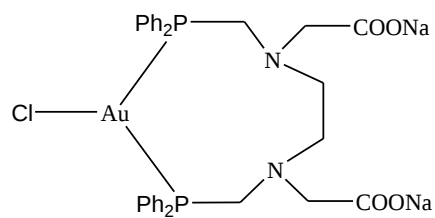
A3 kompleksinin ^{13}C -NMR spektrumu



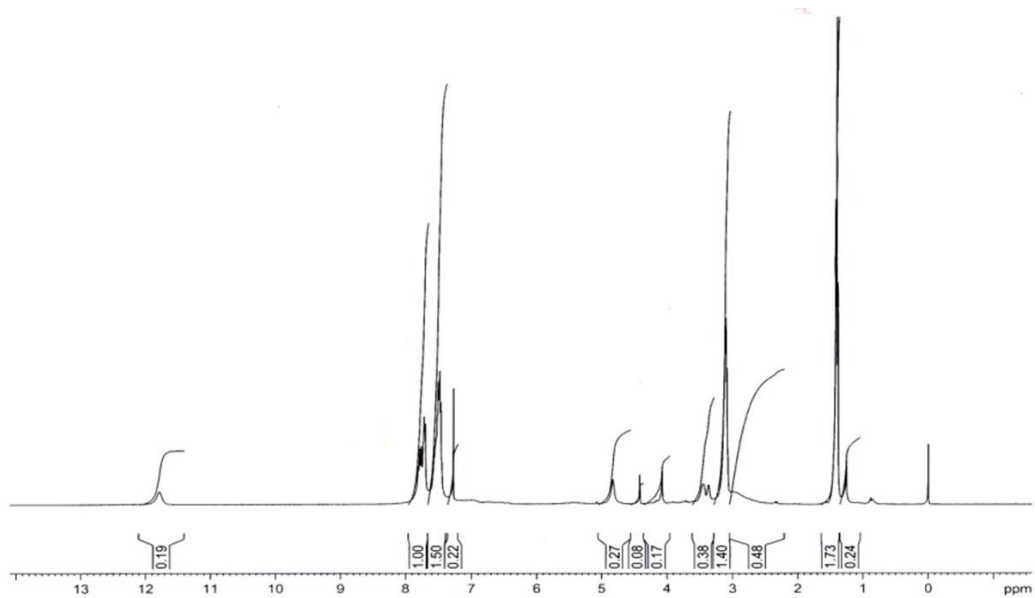
A3 kompleksinin ^{31}P -NMR spektrumu



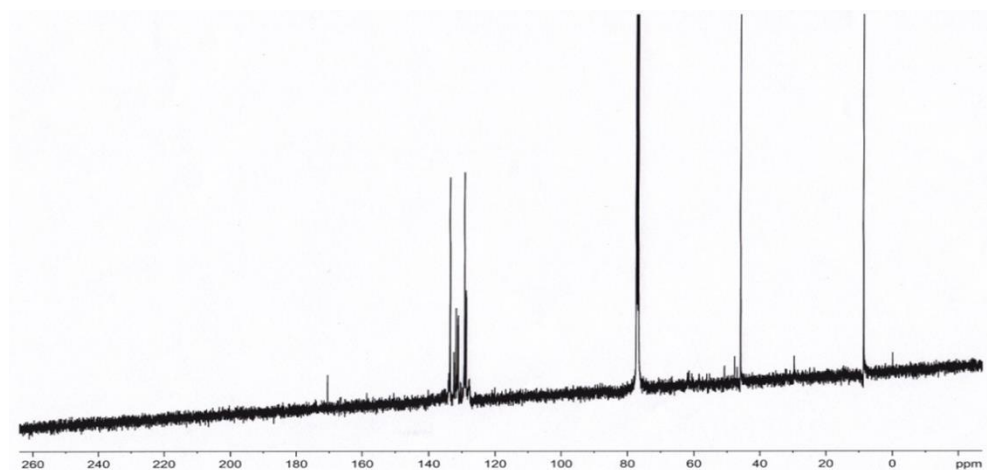
A3 kompleksinin TG/DTA spektrumu



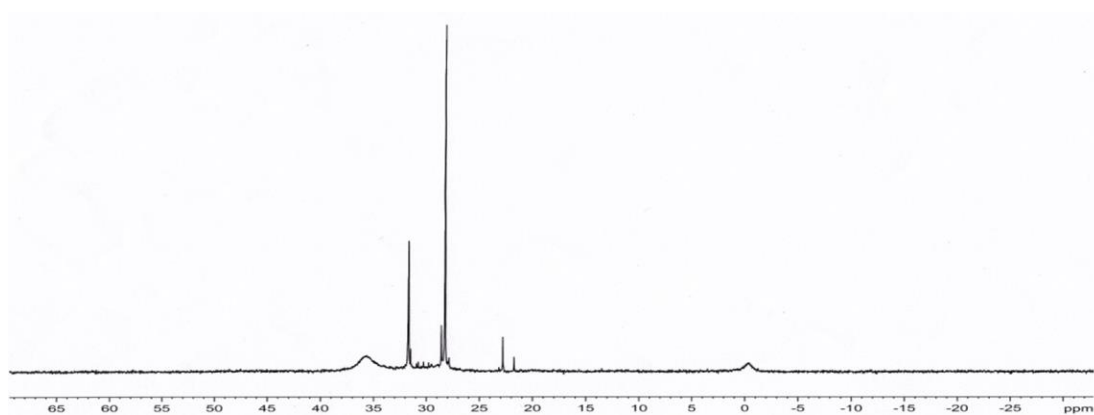
A4 kompleksinin FT-IR spektrumu



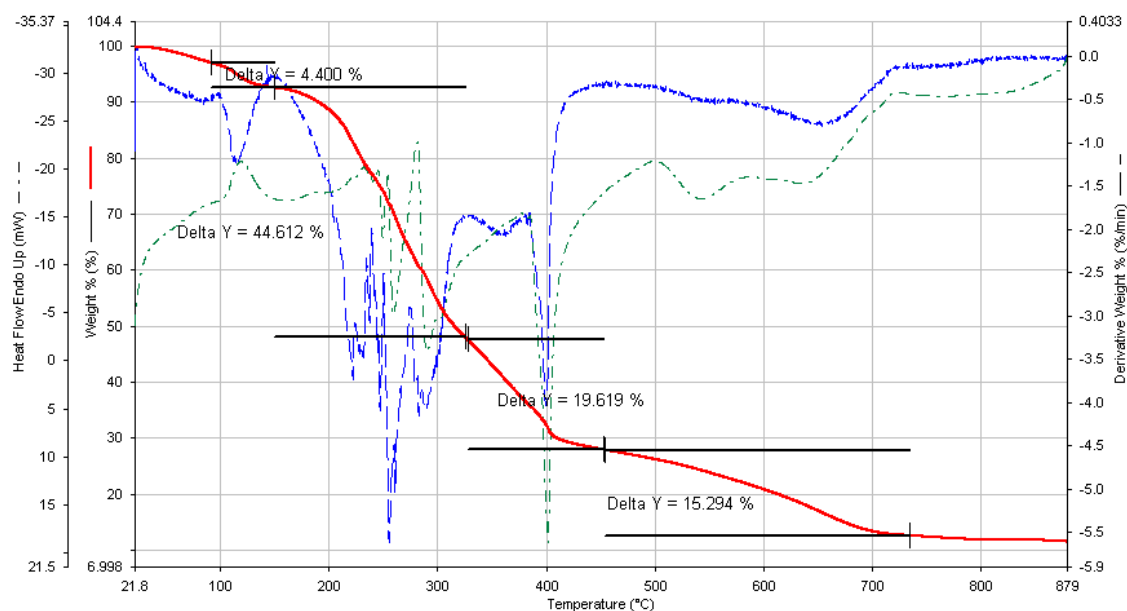
A4 kompleksinin ¹H-NMR spektrumu



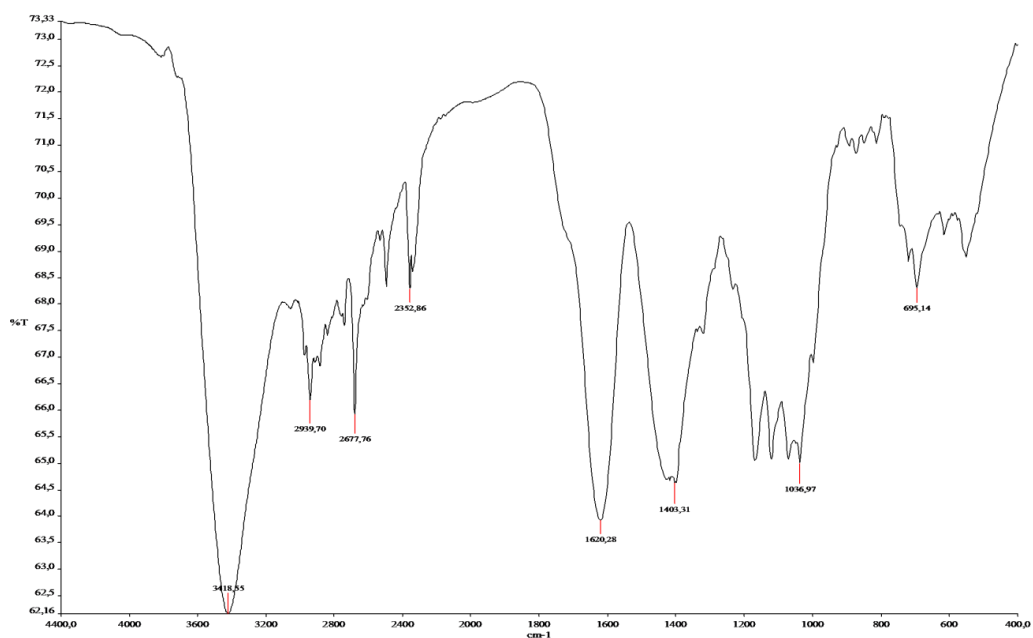
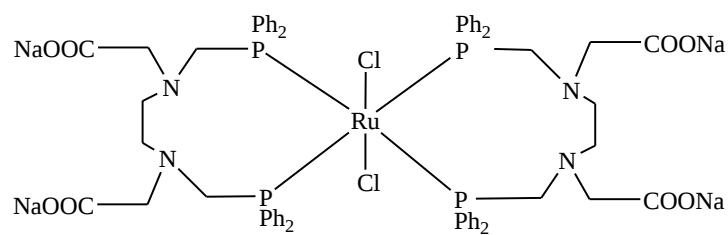
A4 kompleksinin ^{13}C -NMR spektrumu



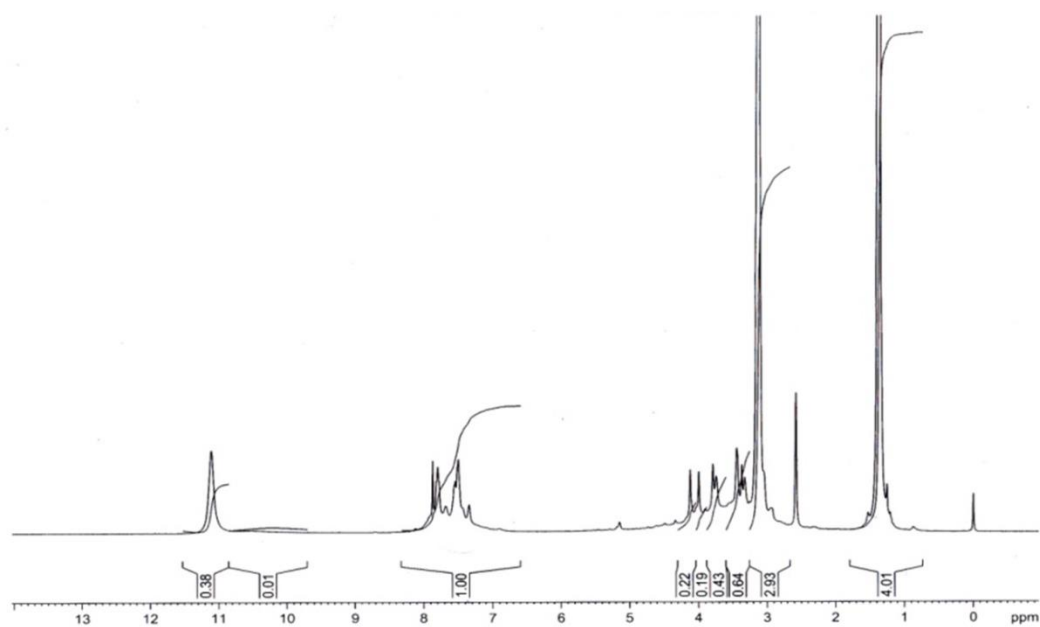
A4 kompleksinin ^{31}P -NMR spektrumu



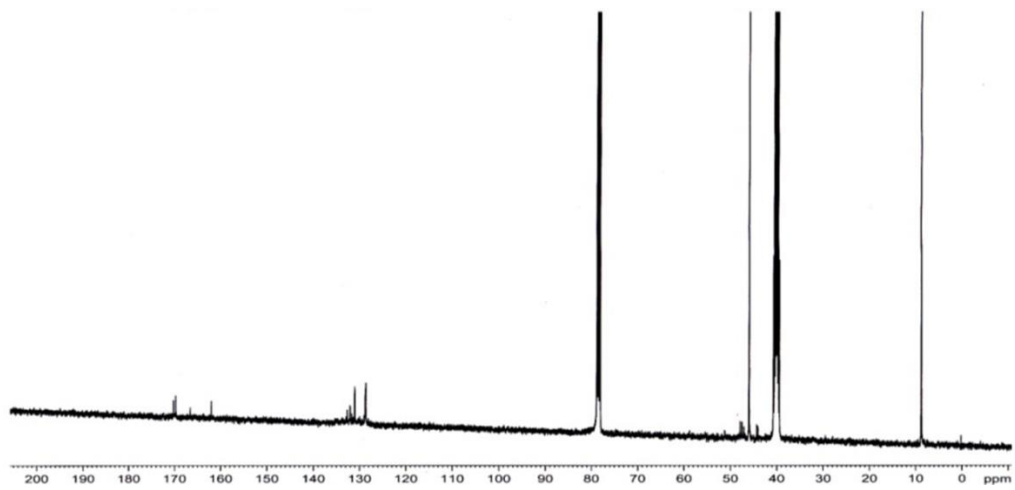
A4 kompleksinin TG/DTA spektrumu



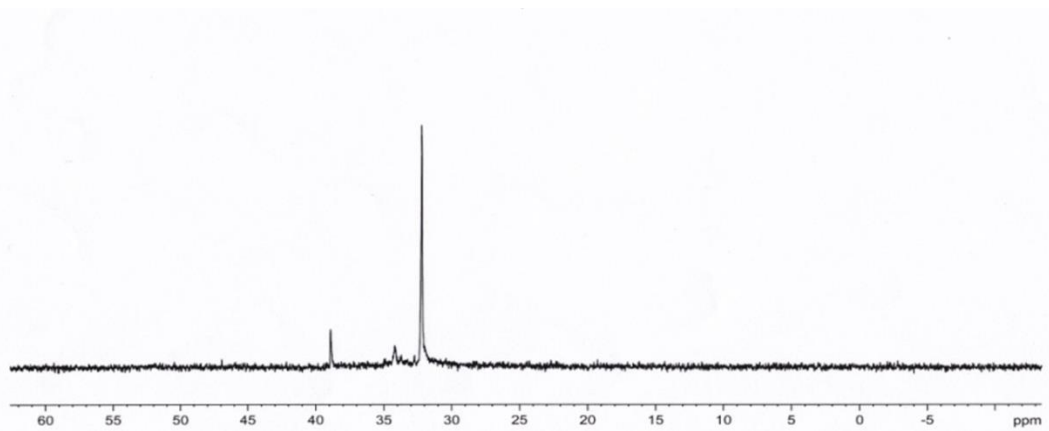
A5 kompleksinin FT-IR spektrumu



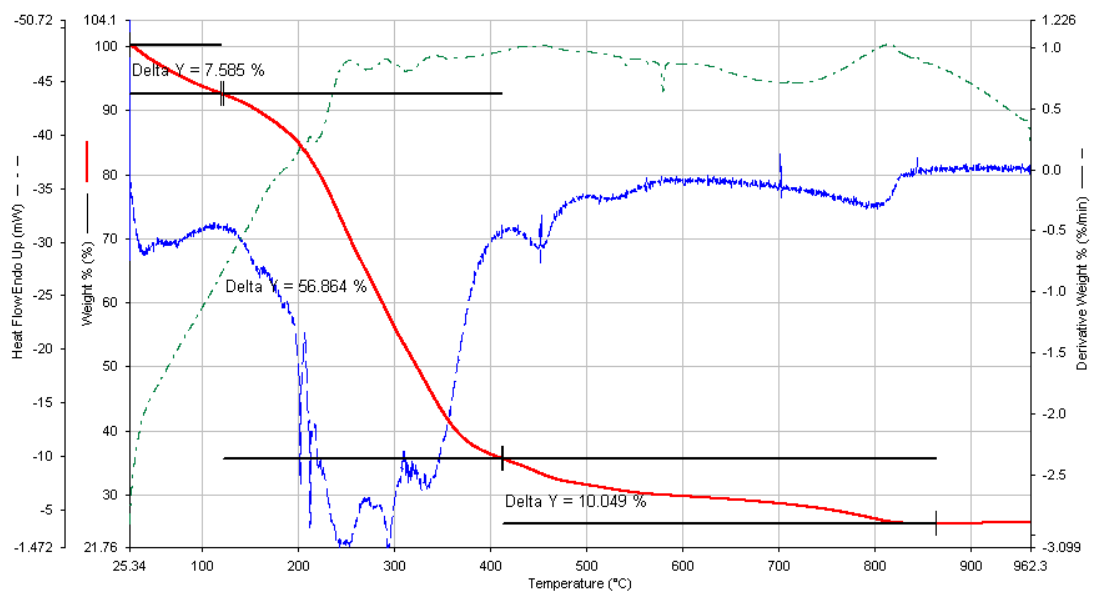
A5 kompleksinin ^1H -NMR spektrumu



A5 kompleksinin ^{13}C -NMR spektrumu



A5 kompleksinin ^{31}P -NMR spektrumu



A5 kompleksinin TG/DTA spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Servet MENTEŞ

Doğum Yılı : 15.02.1983

Eğitim Bilgileri (Kurum ve Yılı)

Lisans : Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 2001-2006

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, 2009-2013

İletişim Bilgileri

Adres : Küçük Bölcek Mah. Cumhuriyet Cad. Bahçeşehir Sit. 1 Blok Daire 1
68100 Aksaray

Telefon : 05303294377

e-posta : smentess@windowlive.com