



Semnan University

# Applied Chemistry Today

Journal homepage: <https://chemistry.semnan.ac.ir/>

ISSN: 2981-2437



Research Article

## Investigation of Interaction of CT-DNA with New Nickel and Palladium Complexes Containing Ferrocene Group with N and S Donor Atoms

Mohsen Atghaei, Bitashafaatian\* , S. Ahmad Rezvani  
School of Chemistry, Damghan University, Damghan 3671641167, Iran

### PAPER INFO

#### Article history:

Received: 14/Sep/2023

Revised: 08/Apr/2024

Accepted: 29/Jun/2024

#### Keywords:

DNA interaction, Binding constant, Ferrocene, Schiff base, Palladium complex, Nickel complex.

### ABSTRACT

New complexes of nickel(II) and palladium(II) were synthesized using the ferrocenyl imine ligand. This Schiff base ligand was coordinated to the metal ions through the imine N and thiolic S atoms. The synthesized complexes were characterized by FT-IR, <sup>1</sup>H NMR, UV-Vis spectroscopy and elemental analysis. The IR spectra of complexes show characteristic of imine group. Furthermore, the <sup>1</sup>H NMR spectra display different protons of the cyclopentadienyl groups. The binding interactions of the compounds with DNA were investigated by the electronic absorption spectroscopy, and the intrinsic binding constants ( $K_b$ ) were calculated for the Schiff base ligand, nickel and palladium complexes as  $2.7 \times 10^4$ ,  $1.2 \times 10^5$  and  $7.2 \times 10^4$ , respectively. The obtained data showed that the synthesized compounds bind to DNA via intercalative binding modes. Also, viscosity was investigated in order to further explore the nature of interactions between the compounds and DNA. Accordingly, it was found that the synthesized compounds bind to DNA via intercalative binding modes.

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2024.31723.2212>

© 2024 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

\* Corresponding author: Associate Professor of Inorganic Chemistry. E-mail address: shafaatian@du.ac.ir

**How to cite this article:** Atghaei, M., Shafaatian, B., & Rezvani, S. A. (2024). Investigation of Interaction of CT-DNA with New Nickel and Palladium Complexes Containing Ferrocene Group with N and S Donor Atoms. *Applied Chemistry Today*, 19(72), 189-204. (in Persian)

## بررسی برهمکنش-DNA CT با کمپلکس های جدید نیکل و پالادیم شامل گروه فروسن با اتم های دهنده N و S

محسن اتقایی، بیبا شفاعتیان\*، سید احمد رضوانی

دانشکده شیمی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۶/۲۳	<p>کمپلکس های جدید نیکل (II) و پالادیم (II) به وسیله واکنش نمک های فلزی مربوطه در حضور لیگاند ایمینی فروسن سنتز شدند. در این کمپلکس ها لیگاند از طریق نیتروژن ایمینی و گوگرد تیولی به فلزها کوئوردینه شده است. باز شیف و کمپلکس های فلزی آن به وسیله <math>UV-Vis</math>، <math>FT-IR</math>، <math>^1H-NMR</math>، آنالیز عنصری مورد شناسایی قرار گرفته اند. در طیف IR کمپلکس های نیکل و پالادیم پیک های مشاهده شده فرکانس کششی گروه ایمینی را نشان می دهند. علاوه بر این، طیف های <math>NMR</math>، پروتون های متفاوت گروه های سیکلوپنتادی انیل را نشان داد. به منظور بررسی کاربرد ترکیب های سنتز شده به عنوان داروی ضد سرطان، برهمکنش ترکیب های سنتز شده با DNA مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از تغییر طیف جذبی مرئی-فرابنفش ترکیبات سنتزی در حضور DNA، چگونگی اتصال هر گونه به DNA تعیین شده و علاوه بر این مقدار ثابت پیوستگی ذاتی یا <math>K_b</math> برای هر ترکیب محاسبه شد. داده های بدست آمده نشان می دهد که برهمکنش ترکیبات سنتزی با DNA از نوع اینترکلیشن می باشد. مقدار ثابت پیوستگی ذاتی یا <math>K_b</math> برای باز شیف و کمپلکس های نیکل و پالادیم به ترتیب برابر <math>2/7 \times 10^4</math>، <math>1/2 \times 10^5</math> و <math>7/2 \times 10^4</math> محاسبه شده است. همچنین به منظور تحقیق بیشتر بر روی نوع برهمکنش، تغییرات گرانشی محلول ترکیب های سنتزی، در حضور DNA بررسی شد. مشاهده افزایش گرانشی محلول DNA که مربوط به جدایی بازها می باشد نشان داد که مکانیسم برهمکنش ترکیب های سنتز شده با DNA از نوع اینترکلیشن است.</p>
بازنگری مقاله: ۱۴۰۳/۰۱/۲۰	
پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۴/۰۹	
<p><b>کلمات کلیدی:</b> برهمکنش با DNA، ثابت پیوستگی، فروسن، باز شیف، کمپلکس نیکل، کمپلکس پالادیم.</p>	
DOI: <a href="https://doi.org/10.22075/chem.2024.31723.2212">https://doi.org/10.22075/chem.2024.31723.2212</a>	
This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. ( <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/</a> )	

### ۱- مقدمه

بازهای شیف که دارای گروه عاملی ایمین هستند را می توان دسته ای مهمی از لیگاندها دانست که از طریق اتم های دهنده متفاوتی مانند نیتروژن، اکسیژن، گوگرد، فسفر و ... می توانند به فلز مرکزی متصل شده و تشکیل کمپلکس دهند. بسیاری از کمپلکس های فلزهای واسطه ای بازهای شیف خواص بیوشیمی مانند فعالیت های ضد سرطانی و ضد باکتریایی دارند [۱-۳]. امروزه پیدا کردن داروهایی برای درمان سرطان با بیشترین کارایی در بهبود بیمار و با عوارض جانبی کمتر تبدیل به یکی از موضوعات مهم تحقیقاتی شده است. کمپلکس های فلزی به عنوان نسل جدیدی از داروهای ضد سرطان مطرح هستند که می توانند از راه تخریب اکسیدان ها یا با جلوگیری از تکثیر DNA در نهایت موجب مرگ سلول های سرطانی شوند. امروزه توجه پژوهشگران به طراحی ترکیب هایی معطوف شده است که بتوانند به شکل هدفدار به DNA سلول سرطانی متصل شوند. [۴]. در اثر این اتصال، کنفورماسیون DNA تغییر کرده و در نتیجه ساختار طبیعی دو رشته ای آن از بین می رود. این تغییرهای

ساختاری باعث می شود آنزیم هایی مثل DNA پلیمراز نتواند DNA را شناسایی کنند و در نتیجه امکان همانندسازی DNA در سلول سرطانی از بین می رود و در نهایت موجب مرگ سلولی می شود [۵]. این تغییرات توسط سلول های عادی قابل ترمیم است و سلول های عادی، کار ترمیم DNA را به وسیله آنزیم ها انجام می دهند ولی سلول های سرطانی قادر به انجام ترمیم نیستند. کمپلکس سیس پلاتین به عنوان یک کمپلکس فلزی موثر در درمان سرطان است و به طور گسترده ای در مراکز درمانی کاربرد دارد اما عوارض جانبی و سمیت بالا کاربرد آن را محدود کرده است [۶]. بنابراین تلاش های گسترده ای برای سنتز ترکیب هایی که خاصیت دارویی داشته و سمیت و عوارض جانبی کمتری دارند آغاز شده است. در دهه های اخیر شیمی دان ها کمپلکس های فلزی با لیگاندهایی مانند بازهای شیف را طراحی و سنتز کرده اند و خواص بیوشیمی آن ها را مورد بررسی قرار داده اند. به طور کلی برهمکنش کمپلکس ها با مارپیچ دورشته ای DNA از سه طریق مختلف انجام می شود که شامل برهم کنش های الکترواستاتیک در قسمت خارجی مارپیچ DNA، فرو رفتن یا اینتر کیلیشن<sup>a</sup> بین جفت بازهای DNA و برهمکنش اختصاصی ترکیبات با جفت بازها در شیار کوچک یا بزرگ DNA می باشد [۷]. در روش اول از برهمکنش، ترکیب های کاتیونی می توانند با اسکلت قند-فسفات اتصال خارجی غیر اختصاصی برقرار کنند. در نوع اینتر کیلیشن مولکول ها به صورت فرورفتن در بین جفت بازها با DNA برهمکنش می کنند که این برهمکنش باعث طویل شدن رشته های DNA می شود [۸]. ترکیب های سنتزی که در بین جفت بازها قرار می گیرند دسته مهمی از ترکیب های دارویی هستند و از بیش تر آن ها در درمان سرطان استفاده می شود. در آخرین نوع برهمکنش، گونه های مولکولی برای قرار گرفتن در بین بازهای نوکلئوتید یا ساختار اصلی DNA معمولاً از راه شیار کوچک یا بزرگ وارد می شوند [۹]. برهم کنش گونه های مولکولی، یونی و کمپلکس های فلزی با DNA می تواند باعث تغییر در ساختار آن و در نتیجه باعث تغییر در رفتار الکترونی DNA و تغییر ویژگی فیزیکی محلول DNA شود. از طرفی این پیوستگی، ویژگی الکترونی گونه مورد نظر را نیز تغییر می دهد. با استفاده از تغییرهای صورت گرفته در طیف جذبی مرئی-فرابنفش ترکیب مورد نظر (در حضور و عدم حضور DNA) می توان به نوع پیوستگی گونه به مولکول DNA پی برد و از طرفی می توان قدرت پیوستگی (ثابت پیوستگی یا  $K_b$ ) را برای هر یک از ترکیبات سنتزی محاسبه کرد. از آن جا که برهمکنش های صورت گرفته با گونه های خارجی می توانند باعث تغییر ساختار DNA شوند باعث تغییر ویسکوزیته محلول هم می شوند. مطالعه تغییرات انجام شده در گرانیوی محلول DNA می تواند به محققین در مشخص کردن دقیق تر نوع برهمکنش های کمپلکس با DNA کمک کند. در این کار پژوهشی پس از تهیه لیگاند باز شیف دو دندانه [۱۰] با دهنده های نیتروژن و گوگرد، کمپلکس های جدید نیکل و پالادیم با استفاده از آن تهیه شد و در ادامه برهمکنش کمپلکس ها و لیگاند ساخته شده با DNA مورد مطالعه قرار گرفت تا با تعیین نوع پیوستگی و ثابت پیوستگی، امکان سنجی اولیه کاربرد این ترکیبات به عنوان دارو بررسی شود.

<sup>a</sup>- Intercalation

## ۲- بخش تجربی

## ۲-۱- مواد شیمیایی مورد استفاده

مواد مورد استفاده در این کار تحقیقاتی شامل نمک های کلرید نیکل و پالادیم، هیدروکلریک اسید، سدیم هیدروکسید و نمک تریس سدیم از شرکت Merck و استیل فروسن و ct-DNA از شرکت Aldrich می باشند. همچنین ۲-آمینو تیوفنول مورد استفاده از شرکت Across تهیه شده است.

## ۲-۲- دستگاهوری

طیف‌های FT-IR در ناحیه  $4000\text{ cm}^{-1}$  تا  $400\text{ cm}^{-1}$  با استفاده از قرص KBr و دستگاه طیف سنجی PERKIN ELMER Spectrum RX I FT-IR System انجام شد. همچنین طیف‌های  $^1\text{H NMR}$  در ناحیه  $10-0\text{ ppm}$  با استفاده از DMSO دوتره به عنوان حلال و نیز دستگاه  $^1\text{H NMR}$  400 MHz Bruker انجام گرفت و TMS به عنوان مرجع استاندارد داخلی استفاده شده و جابه‌جایی‌های شیمیایی نسبت به TMS با  $10-0\text{ ppm}$  در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری نقطه‌ی ذوب ترکیب‌های سنتز شده در مراحل گوناگون از دستگاه نقطه‌ی ذوب مدل Barnstead 9100 Electrothermal استفاده شد. آنالیز عنصری نمونه‌های سنتزی با استفاده از دستگاه 2400 SERIES II از کمپانی Perkin Elmer انجام گرفت. علاوه بر این برای بررسی برهم کنش DNA با کمپلکس‌های سنتز شده از pH متر شرکت Metrohm مدل ۸۲۷، دستگاه همزن مغناطیسی متروهم مجهز به گرم‌کن همراه با مگنت، ترازوی Sartareous با دقت  $0.0001$  گرم و طیف جذبی الکترونی ترکیبات سنتزی ( $10^{-5}\text{M}$ ) با اسپکتروفوتومتر مدل Perkin-Elmer Lambda 25 ثبت شد. ویسکومتر استوالد<sup>b</sup> موئین برای آزمایش‌های گرانیوی مربوط به DNA مورد استفاده قرار گرفت. از سیرکولاتور گرمایی<sup>c</sup> (شرکت DIHAR LABTECH) برای تثبیت دما در آزمایش‌های این قسمت استفاده شد.

## ۲-۳- روش تهیه محلول‌های مورد استفاده

✓ در این کار تحقیقاتی برای تهیه کلیه محلول‌های آبی و بافری از آب دو بار تقطیر استفاده شد. برای آزمایش‌های مربوط به DNA محلول بافر تریس با غلظت  $10\text{ mM}$  که دارای سدیم کلرید با غلظت  $50\text{ mM}$  بود در  $\text{pH} = 7.4$  تهیه شد. از محلول رقیق هیدروکلریک اسید برای تنظیم pH استفاده شد. محلول بافر بعد از ساخته شدن برای مدت زمان دو ساعت در اتوکلاو قرار داده شد.

b- Ostwald

c- Thermo-circulator

d- shaker

✓ برای ساخت محلول استوک DNA مقدار ۵ میلی گرم از DNA در ۵ میلی لیتر بافر تریس حل شد و مقدار مشخصی EDTA به محلول اضافه شد تا غلظت EDTA به ۱ mM برسد. محلول ساخته شده به مدت ۱۲ ساعت روی دستگاه تکان دهنده<sup>۱</sup> قرار گرفت تا محلول کاملا یکنواختی حاصل شود. محلول ساخته شده در یخچال و دمای ۴ °C نگهداری شد. غلظت ct-DND محلول در طول موج ۲۶۰ nm و با استفاده از ضریب خاموشی  $\epsilon = 6600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  محاسبه شد. اندازه گیری و محاسبه نسبت جذب DNA در طول موج ۲۶۰ نسبت به ۲۸۰ بیشتر از ۱/۸ بود که نشان می داد DNA کاملاً عاری از پروتئین است. ✓ محلول ۰/۰۰۱ M از کمپلکس های فلزی و محلول باز شیف در DMSO آماده سازی و مورد استفاده قرار گرفت.

#### ۲-۴-۲- سنتز باز شیف و کمپلکس های فلزی

##### ۲-۴-۲-۱- سنتز باز شیف

لیگاند باز شیف دو دندان شامل دهنده های نیتروژن و گوگرد طبق روش گزارش شده سنتز شده است [۱۰]. ابتدا مقدار ۰/۰۸۵ گرم (۰/۳۷۳ میلی مول) از استیل فروسن را در ۴ میلی لیتر اتانول حل کرده و در یک بالن یک دهانه ریخته سپس مقدار ۰/۰۴۷ گرم (۰/۳۷۳ میلی مول) یا ۴۰ میکرولیتر از ۲- آمینوتیو فنل را در ۴ میلی لیتر اتانول حل کرده و در دمای ۶۰ °C به محلول حاوی استیل فروسن که به دمای ۶۰ °C رسیده است، اضافه گردید. مخلوط واکنش برای دو ساعت و در دمای ۹۰ °C تحت سیستم بازروانی قرار گرفت. سپس ۳-۴ قطره استیک اسید گلاسیال به محلول اضافه کرده و برای مدت ۷۲ ساعت تقطیر برگشتی ادامه می یابد. پس از تبخیر حلال رسوب روغنی شکلی تشکیل گردید که با حلال اتانول سرد شست و شو داده شد (نقطه ذوب ۱۹۲ °C و بازده ۴۴ درصد).

##### ۲-۴-۲-۲- سنتز و شناسایی کمپلکس دایمر نیکل شامل باز شیف دو دندان، N و S، $\text{Ni}_2\text{Cl}_2\text{L}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

برای سنتز این کمپلکس، مقدار ۰/۰۸۵ گرم (۰/۳۷۳ میلی مول) از استیل فروسن را در ۴ میلی لیتر اتانول حل کرده و در یک بالن یک دهانه ریخته و سپس مقدار ۰/۰۴۷ گرم (۰/۳۷۳ میلی مول) یا ۴۰ میکرولیتر از ۲- آمینوتیو فنل را در ۴ میلی لیتر اتانول حل نموده و در دمای ۶۰ °C به محلول حاوی استیل فروسن که به دمای ۶۰ °C رسیده، افزوده می شود. سپس استیک اسید گلاسیال به عنوان کاتالیزگر به محیط واکنش اضافه می شود. افزودن مقدار ۰/۰۸۸ گرم (۰/۳۷۳ میلی مول) نیکل کلرید شش آبه که در ۵ میلی لیتر اتانول حل شده به محیط واکنش، مرحله ی بعد می باشد. محلول حاصل به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۹۰ °C در داخل حمامی از روغن تحت بازروانی قرار داده شد. پس از افزودن نیکل کلرید شش آبه به باز شیف تشکیل شده، رنگ محلول به قهوه ای تیره تغییر می کند. پس از تبخیر حلال، رسوب روغنی شکلی حاصل می شود که با شستشو در اتانول خالص سازی شده و پودر قهوه ای تیره ای حاصل می شود که در آن خلا قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. آنالیز عنصری محاسبه شده

<sup>d</sup>- shaker

برای  $[C_{36}H_{32}N_2S_2Ni_2Cl_2Fe_2.6H_2O]$  عبارت است از: C, 44.82; H, 4.59; N, 2.90 و تجربی: C, 44.28; H, 4.43; N, 3.07% (نقطه ذوب  $< 250^\circ C$  و بازده ۵۷ درصد).

### ۳-۴-۲- سنتز و شناسایی کمپلکس دایمر پالادیم شامل باز شیف دو دندانه‌ی N و $Pd_2Cl_2L_2 \cdot S$

برای سنتز این کمپلکس، مقدار ۰/۰۷۴ گرم (۰/۳۲۶ میلی‌مول) از استیل فروسن را در ۴ میلی‌لیتر اتانول حل نموده و در یک بالن یک دهانه ریخته سپس مقدار ۰/۰۴۱ گرم (۰/۳۲۶ میلی‌مول) یا ۳۵ میکرولیتر از ۲-آمینوتیو فنل را در ۴ میلی‌لیتر اتانول حل کرده و در دمای  $60^\circ C$  به محلول حاوی استیل فروسن که به دمای  $60^\circ C$  رسیده، اضافه می‌شود. سپس سیستم بازروانی بسته شده و به دمای  $90^\circ C$  رسانده می‌شود. پس از این که محلول به مدت ۱۲ ساعت بازروانی شد استیک اسید گلاسیال به محیط واکنش اضافه شده و بازروانی ادامه می‌یابد. ۲۰ ساعت پس از شروع واکنش، مقدار ۰/۰۵۸ گرم (۰/۳۲۶ میلی‌مول) نمک پالادیم را در ۵ میلی‌لیتر اتانول حل کرده و به محلول داخل بالن که حاوی باز شیف تشکیل شده و کاتالیزگر می‌باشد اضافه می‌شود. محلول به مدت ۱۲ ساعت تحت بازروانی قرار داده شد. پس از افزودن نمک پالادیم به باز شیف تشکیل شده، رنگ محلول به قهوه‌ای تغییر می‌کند. پس از تبخیر حلال، رسوب روغنی شکلی حاصل می‌شود که با شستشو در اتانول خالص سازی شده و پودر قهوه‌ای حاصل شده که در آون خلا کاملاً خشک می‌گردد. آنالیز عنصری محاسبه شده برای  $[C_{36}H_{32}N_2S_2Pd_2Cl_2Fe_2]$  عبارت است از: C, 45.38; H, 3.39; N, 2.94% و تجربی: C, 44.96; H, 3.23; N, 2.87% (نقطه ذوب  $< 400^\circ C$  و بازده ۵۷ درصد).

### ۳-۵-۲- مطالعه برهمکنش ترکیبات سنتزی با DNA به کمک طیف سنجی UV-Vis

آزمایش‌های مرئی-فرابنفش در دمای  $25^\circ C$  و در غلظت ثابت (۱۰ mM) از باز شیف یا کمپلکس‌های فلزی انجام شد. پس از ثبت طیف اولیه درغیاب DNA (از طول موج ۲۲۰ تا ۷۰۰ نانومتر)، برای اینکه غلظت DNA در محلول هر ترکیب در دامنه ۰ تا ۱۲/۵ میکرو مولار قرار بگیرد مقادیر مشخصی از محلول DNA در چند مرحله به محلول ترکیب مورد نظر در داخل سل اضافه شد. زمان در نظر گرفته شده به منظور کامل شدن برهمکنش بین گونه‌ها و DNA، در هر مرحله ۱۰ دقیقه بوده و بعد از آن طیف جذبی گونه مورد نظر در حضور غلظت‌های گوناگون از DNA ثبت گردید. به منظور حذف یا تصحیح جذب حاصل از DNA، در هر مرحله همان مقدار DNA به سل محتوی محلول شاهد اضافه می‌شد.

### ۳-۶-۲- اندازه‌گیری‌های گرانیروی

آزمایش‌های گرانیروی با استفاده از ویسکومتر اوستوالد موئین که در حمام آب در دمای  $25^\circ C$  قرار دارد انجام شد. در این آزمایش‌ها غلظت DNA ثابت بوده (۵۰ mM) و غلظت کمپلکس یا باز شیف به تدریج افزایش داده شد. مدت زمان جاری شدن محلول از داخل لوله موئین با استفاده از یک زمان سنج دیجیتالی اندازه‌گیری شد. برای هر ترکیب سنتزی آزمایش اندازه‌گیری

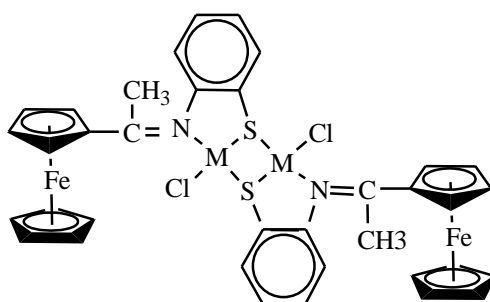
گرانروی سه مرتبه تکرار شد تا میانگین زمان جریان بدست آورده شود. سپس با استفاده از میانگین زمان های بدست آمده، گرانروی نسبی در هر آزمایش مطابق رابطه زیر محاسبه می شود [۱۱]:

$$\eta = (t-t_0)/t_0$$

که  $t_0$  نشان دهنده ی زمان جریان در محلول بافر (عدم حضور هیچ گونه ترکیبی) و  $t$  زمان جریان در حضور ترکیب های سنتز شده در محلول بافر است. داده های بدست آمده به صورت  $(\eta/\eta^0)^{1/3}$  بر حسب  $r$  رسم شدند که در آن  $\eta$  گرانروی نسبی DNA در حضور گونه ها،  $\eta^0$  گرانروی DNA در محلول بافر و در عدم حضور سایر گونه ها است و  $r$  نسبت  $[\text{complex}]/[\text{DNA}]$  است.

### ۳- بحث و نتیجه گیری

از واکنش نمک های فلزی نیکل و پالادیم، با باز شیف حاصل شده در محیط واکنش و در حلال اتانول کمپلکس های باز شیف نیکل و پالادیم سنتز شده است. لازم به ذکر است که کمپلکس محصول زیر تنها در صورتی بدست می آید که نسبت مولی ۱:۱ از نمک های فلزی و باز شیف در واکنش به کار برده شود (شکل ۱).



شکل ۱- کمپلکس های نیکل و پالادیم شامل باز شیف دو دندانه ی NS.

#### ۳-۱- طیف FT-IR

در طیف FT-IR باز شیف دو دندانه ی N و S پیک ضعیف ظاهر شده در ناحیه ی  $2854 \text{ cm}^{-1}$  فرکانس کششی گروه S-H را نشان می دهد که حضور گروه تیولات در این ترکیب را ثابت می کند [۱۰]. وجود یک پیک نسبتاً قوی در ناحیه  $1621 \text{ cm}^{-1}$  تشکیل گروه ایمینی در این لیگاند را نشان می دهد. همچنین ظاهر نشدن پیک مربوط به گروه  $(\text{C}=\text{O})$  کتونی در ناحیه ی  $1654 \text{ cm}^{-1}$  تشکیل باز شیف N و S را تایید می کند [۱۲]. افزون بر آن گروه های آمینی ( $\text{NH}_2$ ) معمولاً در ناحیه ی  $3017-3221 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر می شوند که حذف آن ها در طیف IR دلیل دیگری بر تشکیل باز شیف می باشد. مقایسه ی طیف FT-IR باز شیف و کمپلکس های فلزی آن نشان می دهد که لیگاند باز شیف به یون های فلزی کوئوردینه شده است. در طیف IR کمپلکس های نیکل و پالادیم پیک های مشاهده شده در ناحیه ی  $1634$  و  $1602 \text{ cm}^{-1}$  فرکانس کششی گروه ایمینی را نشان می دهند که به ترتیب در فرکانس های بیش تر و کم تر نسبت به باز شیف ظاهر شده اند. همچنین ظاهر شدن پیک های جدید در ناحیه ی  $440 \text{ cm}^{-1}$  تا  $440 \text{ cm}^{-1}$

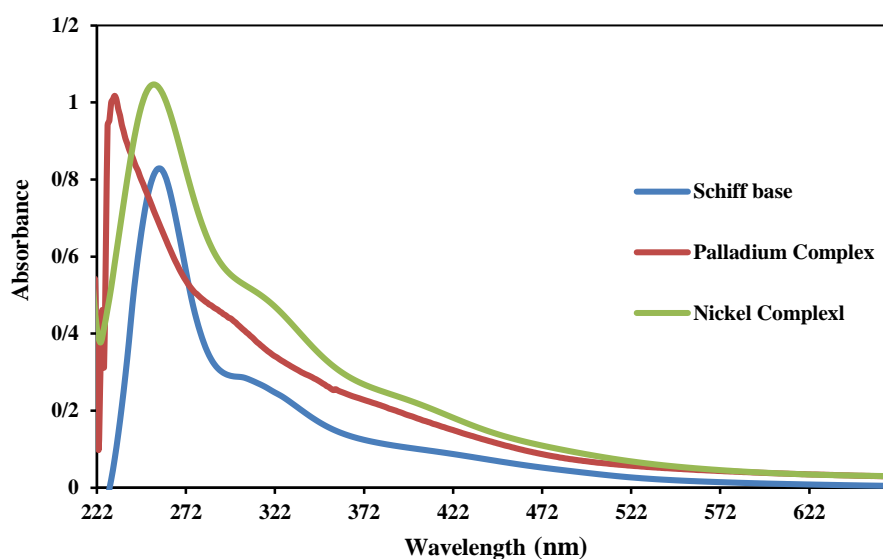
۶۸۰ به ترتیب به تشکیل پیوندهای M-S و M-N نسبت داده می‌شود [۱۳]. داده های طیف FT-IR مربوط به این سه ترکیب در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- داده های طیف FT-IR باز شیف و کمپلکس های نیکل و پالادیم

کمپلکس/لیگاند	فرکانس (cm <sup>-1</sup> )						
	C=N	سیکلوپنتادی انیل (C=C)	Fe-Cp	C-S	C-H	M-S	M-N
باز شیف	۱۶۲۱	۱۲۸۰-۱۴۵۸	۸۷۳-۱۱۰۶	۸۲۴	۲۹۲۴	----	----
کمپلکس نیکل	۱۶۳۴	۱۴۷۴	۹۳۶-۱۰۳۱	۸۲۷	۲۹۲۳	۵۰۰	۶۴۲
کمپلکس پالادیم	۱۶۰۲	۱۴۷۲	۸۹۶-۱۰۷۰	۸۲۲	۳۰۸۶	۴۴۰	۶۸۰

### ۲-۳-UV-Vis طیف

در طیفالکترونی کمپلکس های فلزی نیکل و پالادیم تغییراتی نسبت به باز شیف به تنهایی مشاهده می‌شود. طیف UV-Vis محلول  $10^{-5}$  M در مولار کمپلکس های فلزی در حلال DMSO و در ناحیه ۶۷۰-۲۲۲ nm بررسی شده است (شکل ۲). پیک های مشاهده شده در ناحیه ۲۵۶ nm و ۲۳۲ nm به ترتیب مربوط به انتقالات  $\pi \rightarrow \pi^*$  کمپلکس های نیکل و پالادیم می‌باشند. همچنین پیک ظاهر شده در ناحیه ۳۲۴ nm و ۲۸۷ nm به انتقالات  $n \rightarrow \pi^*$  نسبت داده می‌شوند. علاوه بر این پیک بسیار ضعیف در ناحیه ۴۰۶ nm به انتقالات  $d \rightarrow d$  کمپلکس نیکل نسبت داده می‌شود.



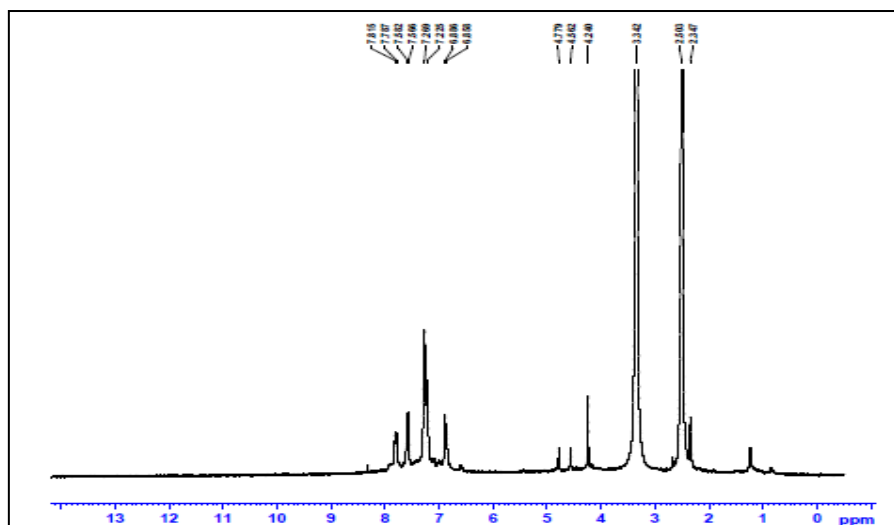
شکل ۲- طیف UV-Vis ترکیب های سنتز شده ( $10^{-5}$  M) در حلال DMSO.

### ۳-۳- طیف <sup>1</sup>H NMR

طیف <sup>1</sup>H NMR باز شیف در حلال کلروفرم دوتره و در دمای اتاق با استفاده از TMS به عنوان استاندارد داخلی گرفته شده است. بررسی طیف <sup>1</sup>H NMR این ترکیب پیک مربوط به گروه متیل چسبیده به (-C=N) را در ناحیه ۲/۴۲ ppm به صورت پیک یکتایی نشان می‌دهد. همچنین یک پیک یکتایی در ناحیه ۴/۲۳ ppm مشاهده شده که به ۵ هیدروژن حلقه سیکلوپنتادی انیل



بدون عامل نسبت داده می شود. برای حلقه ی سیکلوپنتادی انیل عامل دار دو دسته هیدروژن دیده می شود که در طیف  $^1\text{H NMR}$  دو دسته پیک سه تایی در ناحیه ی ۴/۵۷ ppm و ۴/۷۹ ppm با سطح زیر نمودارهای برابر دیده می شود. افزون بر این، هیدروژن مربوط به گروه تیولی -SH در ناحیه ی ۴/۳۵ ppm مشاهده می شود. پروتون های مربوط به حلقه بنزنی در ناحیه ی ۷/۱۹-۶/۵۹ ظاهر شده اند [۱۰]. در طیف  $^1\text{H NMR}$  کمپلکس نیکل یک پیک یکتایی مربوط به گروه متیل چسبیده به (-C=N) در ناحیه ی ۲/۳۱ ppm دیده می شود. همچنین یک پیک یکتایی دیگر در ناحیه ی ۴/۳۱ ppm مشاهده شده که به ۵ هیدروژن حلقه ی سیکلوپنتادی انیل بدون عامل نسبت داده می شود. برای حلقه ی سیکلوپنتادی انیل عامل دار دو دسته هیدروژن دیده می شود که در طیف  $^1\text{H NMR}$  دو پیک مجزا در ناحیه ی ۴/۵۳ ppm و ۴/۷۵ ppm برای آن ها دیده شده است. همچنین پروتون های حلقه بنزنی در ناحیه ی ۶/۷-۶۴/۲۸ ppm ظاهر شده است [۱۴]. در طیف  $^1\text{H NMR}$  کمپلکس پالادیم یک پیک یکتایی مربوط به گروه متیل چسبیده به (-C=N) در ناحیه ی ۲/۳۵ ppm دیده می شود. همچنین یک پیک یکتایی در ناحیه ی ۴/۲۴ ppm مشاهده شده که به ۵ هیدروژن حلقه ی سیکلوپنتادی انیل بدون عامل نسبت داده می شود. برای حلقه ی سیکلوپنتادی- انیل عامل دار دو دسته هیدروژن دیده می شود که در طیف  $^1\text{H NMR}$  دو پیک مجزا در نواحی ۴/۵۵ ppm و ۴/۷۶ ppm برای آن ها دیده شده است. همچنین پروتون های حلقه بنزنی در ناحیه ی ۶/۷-۸۶/۸۲ ppm ظاهر شده اند (شکل ۳) [۱۴].



شکل ۳- طیف  $^1\text{H NMR}$  کمپلکس باز شیف پالادیم

#### ۴-۳- بررسی UV/Vis بر همکنش کمپلکس های باز شیف با DNA

برهمکنش DNA با کمپلکس های فلزی و لیگاند باز شیف معمولاً منجر به تغییر در شدت جذب و گاهی جابه جایی طول موج ماکزیمم جذب می شود. پیوستگی DNA از طریق فرورفتن (اینترکیلشن) منجر به کاهش جذب یا پدیده هیپوکرومیسم<sup>□</sup>

<sup>c</sup> - Hypochromism

می‌شود و از طرف دیگر باعث جابه‌جایی طول موج بیش‌ترین جذب به سمت طول موج‌های بلندتر یا پدیده‌ی باثوکرومیسم<sup>f</sup> می‌شود [۸] اگر چه گاهی جابه‌جایی به سمت طول موج‌های کوتاه‌تر یا هیپسو کرومیسم<sup>g</sup> هم گزارش شده است که این جابه‌جایی‌ها و تغییرها به برهمکنش بین حلقه‌های آروماتیک و بازهای DNA نسبت داده می‌شود. در بعضی موارد افزایش شدت جذب یا پدیده‌ی هایپر کرومیسم<sup>h</sup> نشان می‌دهد که برهمکنش بین DNA و ترکیب مورد نظر از نوع الکتروستاتیک می‌باشد که باعث تغییر در ساختار DNA می‌شود.

در ابتدا به منظور مطالعه برهمکنش کمپلکس‌های سنتز شده‌ی جدید با DNA از تکنیک مرئی-فرابنفش استفاده شد. تغییرهای طیف جذبی باز شیف و کمپلکس‌های فلزی آن در عدم حضور و حضور مقادیر افزایشی DNA در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است. در بررسی برهمکنش‌های مرئی-فرابنفش باز شیف و کمپلکس‌های آن با DNA مشاهده شده که با افزایش غلظت DNA در مورد هر سه ترکیب سنتزی شدت طیف جذبی دچار تغییرهای کاهش شده است. برای ترکیب باز شیف اگر چه حدود ۱۴/۸ درصد هیپوکرومیسم مشاهده شد اما تغییر کمی (۲ nm) در جابه‌جایی طول موج ماکزیمم جذب مشاهده شد (شکل ۴). از طرف دیگر طیف جذبی کمپلکس‌های پالادیم و نیکل در ناحیه فرابنفش و در حضور DNA پدیده‌ی هیپوکرومیسم و حدود ۲ nm جابه‌جایی آبی (جابه‌جایی به طول موج‌های کوتاه‌تر) را نشان می‌دهند. میزان و چگونگی تغییرات مربوط به طیف جذبی باز شیف و کمپلکس‌های آن نشان دهنده اینترکیلیشن جزئی این ترکیب‌ها با DNA است. قابل توجه این‌که برهمکنش نوع اینترکیلیشن شامل همپوشانی موثر الکترونهای  $\pi$  حلقه آروماتیک مربوط به گونه برهمکنش دهنده با جفت بازهای رشته‌های DNA می‌باشد که با ساختار گونه‌های مورد بررسی در این آزمایش همخوانی دارد. لازم به ذکر است که در برهمکنش اینترکیلیشن برخی موارد کل ساختار کمپلکس و در برخی موارد بخش آروماتیک یا مسطح کمپلکس می‌تواند در بین جفت بازهای DNA قرار بگیرد [۱۵]. از طرفی برهمکنش‌های از نوع پیوند هیدروژنی و برهمکنش گونه‌ها با شیارهای DNA باعث افزایش جذب یا پدیده‌ی هایپر کرومیسم می‌شود که در اینجا مشاهده نمی‌شود [۱۶]. ثابت پیوستگی ذاتی<sup>i</sup> ( $K_b$ ) ترکیب‌ها با DNA با استفاده از رابطه زیر محاسبه می‌شود [۱۷]:

$$\frac{[DNA]}{\epsilon_a - \epsilon_f} = \frac{[DNA]}{\epsilon_b - \epsilon_f} + \frac{1}{K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)}$$

که در آن [DNA] غلظت DNA و  $\epsilon_a$  ضریب خاموشی ظاهری محلول کمپلکس در حضور DNA است که با در نظر گرفتن اینکه طول سل برابر ۱ cm است از تقسیم جذب مشاهده شده بر غلظت کمپلکس ( $A_{obs}/[complex]$ ) به دست می‌آید.  $\epsilon_b$  و  $\epsilon_f$  به ترتیب برابر ضریب خاموشی برای کمپلکس آزاد و برای کمپلکس در حالت پیوند شده با DNA است. مقدار  $\epsilon_f$  از روی شیب

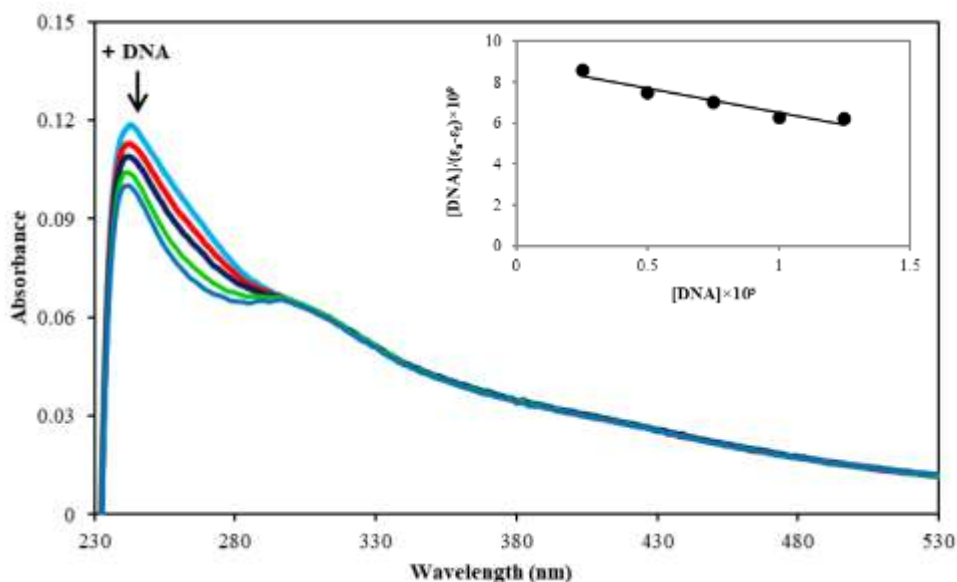
<sup>f</sup>- Bathochromism

<sup>g</sup>- Hypsochromism

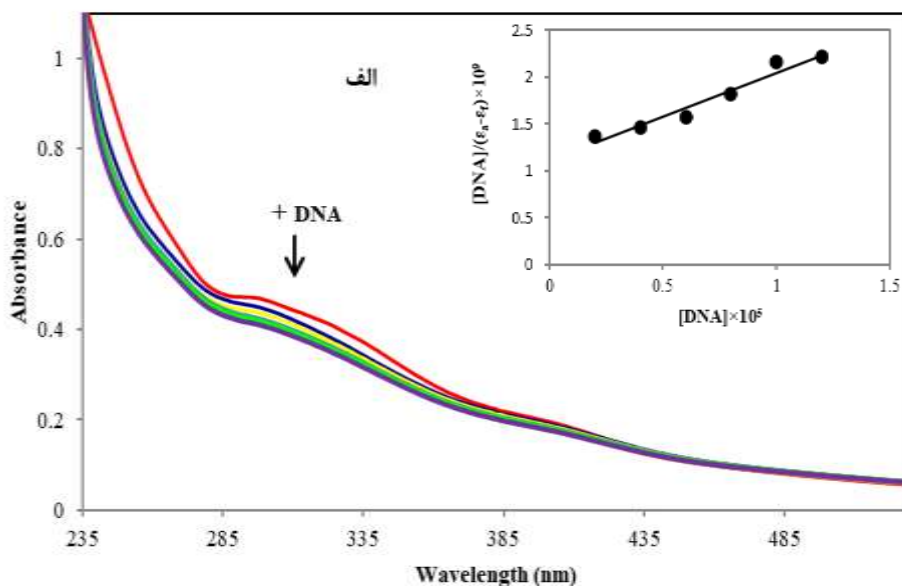
<sup>h</sup>-hyperchromism

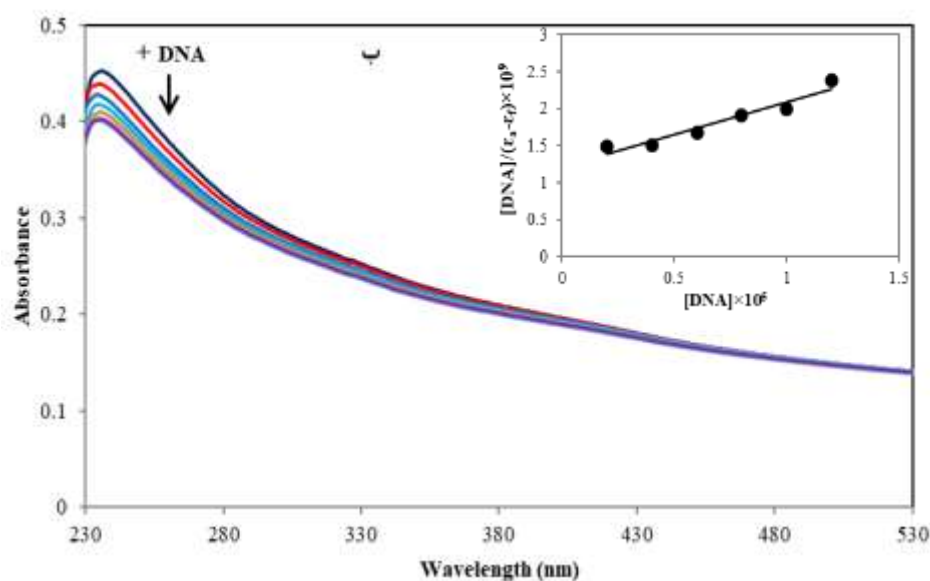
<sup>i</sup>-Intrinsic binding constants

نمودار واسنجی جذب در برابر غلظت های متفاوت از کمپلکس در عدم حضور DNA بدست می آید. مقدار  $K_b$  از نسبت شیب به عرض از مبدا نمودار  $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  در برابر  $[DNA]$  محاسبه می شود. برای مقایسه قدرت پیوستگی ترکیب ها از نظر کمی، ثابت پیوستگی ذاتی  $K_b$  محاسبه شد که برای باز شیف، کمپلکس نیکل و کمپلکس پالادیم به ترتیب برابر  $۱/۲ \times ۱۰^۵$ ،  $۲/۷ \times ۱۰^۴$  و  $۷/۲ \times ۱۰^۴$  بدست آمد.



شکل ۴- تغییرهای طیف جذبی باز شیف (با غلظت  $۱۰ \mu M$ ) در بافر تریس با افزودن مقادیر افزایشی DNA ( $[DNA] = ۰-۱۲/۵ \mu M$ ). نمودار داخلی رسم  $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times 10^5$  را در برابر  $[DNA]$  نشان می دهد.



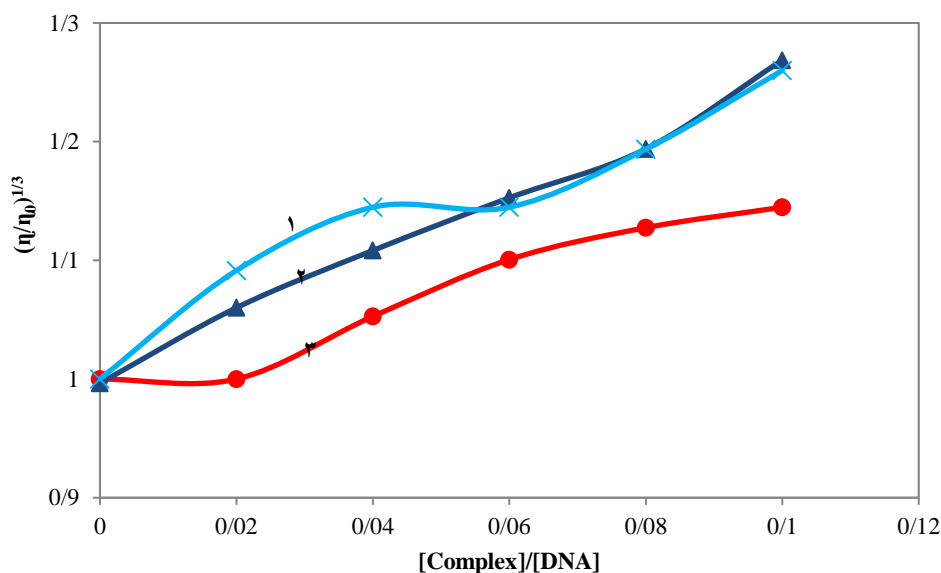


شکل ۵- تغییرهای طیف جذبی الف- کمپلکس نیکل و ب- کمپلکس پالادیم (با غلظت  $10 \mu\text{M}$ ) در بافر تریس با افزودن مقادیر افزایشی از محلول DNA ( $[\text{DNA}] = 0 - 12/5 \mu\text{M}$ ). نمودارهای داخلی رسم  $([\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)) \times 10^9$  را در برابر  $[\text{DNA}]$  برای هر کدام از کمپلکس‌ها نشان می‌دهد.

### ۵-۳- اندازه‌گیری‌های گرانروی

با وجود اینکه اسپکتروسکوپی جذبی الکترونی مفیدترین تکنیک مطالعه برهمکنش کمپلکس‌های فلزی با DNA است [۱۸] اندازه‌گیری‌های گرانروی روشی تکمیلی برای مطالعه دقیق‌تر برهمکنش کمپلکس‌های فلزی با DNA است. از آنجا که گرانروی DNA نسبت به تغییر طول زنجیر در اثر برهمکنش با کمپلکس‌ها بسیار حساس است، در این پژوهش به منظور تایید بیشتر مکانیسم مشاهده شده در اندازه‌گیری‌های مرئی-فرابنفش، اندازه‌گیری‌های گرانروی انجام شد. بنابراین تغییر گرانروی محلول‌هایی از DNA که با کمپلکس‌ها یا باز شیف واکنش داده شده بودند مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برهمکنش‌هایی از نوع اینترکیلشن معمولاً باعث افزایش گرانروی محلول DNA می‌شود. توجه به این پدیده به این صورت است که در محل فرورفتگی، رشته‌های DNA از یکدیگر باز شده و باعث افزایش در طول رشته DNA و در نتیجه افزایش گرانروی می‌شود. ضمناً برهمکنش‌های الکتروستاتیک که با اسکلت فسفاتی DNA انجام می‌شوند باعث خم شدن زنجیره DNA و کاهش طول موثر آن و در نتیجه موجب کاهش گرانروی می‌شود [۱۹،۲۰]. شکل ۶ نمایش تغییرهای گرانروی محلول ct-DNA با حضور مقادیر افزایشی از باز شیف و کمپلکس‌های مربوطه را نشان می‌دهد. همان‌طور که از نمودار مربوط به باز شیف (نمودار شماره ۱ در شکل ۶) مشخص است، گرانروی محلول‌ها از غلظت‌های کم تا غلظت‌های میانی با شیب بیش‌تری تغییر می‌کند و پس از آن تغییرات با شیب کم‌تری صورت می‌گیرند. این می‌تواند به کاهش جایگاه‌های در دسترس DNA برای مولکول‌های باز شیف در غلظت‌های بالاتر مربوط باشد. همان‌طور که در شکل مشخص است تغییرهای گرانروی در حضور کمپلکس‌ها تقریباً مشابه تغییرات آن در حضور لیگاند باز شیف بوده و به صورت افزایشی است. مقدار نسبتاً کم تغییرهای گرانروی نشان‌دهنده جزئی بودن فرآیند

اینترکیلیشن بین این ترکیب ها با مولکول DNA است. نتایج بدست آمده از اندازه گیری های گرانروی با نتایج حاصل از بررسی های مربوط به طیف جذبی الکترونی مطابقت دارد. از طرف دیگر مقایسه نتایج بدست آمده در این کار با نتایج مربوط به کمپلکس های با نسبت ۱ به ۲ فلز به لیگاند در پژوهش های انجام شده [۱۰] نشان می دهد که ترکیب های نسبت ۱ به ۲ فلز به لیگاند در مقایسه با ترکیب های با نسبت ۱ به ۱ فلز به لیگاند برهمکنش های قویتری با مولکول DNA دارند.



شکل ۶- اثر افزایش تدریجی غلظت باز شیف (۱) و کمپلکس های نیکل (۲) و پالادیم (۳) بر گرانروی نسبی ct-DNA (۵۰ μM).

#### ۴- نتیجه گیری

در این کار پژوهشی کمپلکس های جدید نیکل و پالادیم شامل لیگاند فروسن با نسبت ۱:۱ سنتز و شناسایی شدند. همچنین برهمکنش کمپلکس های باز شیف سنتز شده و لیگاند باز شیف با DNA مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از تغییرهای طیف جذبی مرئی-فرابنفش گونه ها در حضور مقادیر افزایشی از غلظت DNA و نیز بررسی تغییرهای گرانروی DNA در حضور مقادیر افزایشی از غلظت هر ترکیب، چگونگی برهمکنش هر گونه با DNA تعیین شد و علاوه بر این مقدار ثابت پیوستگی ذاتی یا  $K_b$  برای هر یک از ترکیبات سنتزی محاسبه شد. داده های بدست آمده نشان داد که برهمکنش باز شیف و کمپلکس های نیکل و پالادیم مربوط به آن با DNA از نوع اینترکیلیشن است.

#### ۴- تقدیر و تشکر

نویسندگان از دانشگاه دامغان برای فراهم کردن امکانات به منظور انجام پژوهش ها تشکر و قدردانی می نمایند.

#### ۵- فهرست منابع و مآخذ

[1] Rajavel, R., Senthil Vadivu, M., & Anitha, C. (2008). Synthesis, physical characterization and biological activity of some Schiff base complexes. *Journal of Chemistry*, 5(3), 620-626.

- [2] Chandra, S., & Sangeetika, X. (2004). EPR, Magnetic and spectral studies of copper(II) and nickel(II) complexes of Schiff base macrocyclic ligand derived from thiosemicarbazide and glyoxal. *Spectrochimica Acta A*, 60(1-2), 147-153.
- [3] Kelley, J. L., Linn, J.A., Bankston, D. D., Burchall, C. J, Soroko, F. E., & Cooper, B.R. (1995). 8-amino-3-benzyl-1,2,4-triazolo[4,3-a]pyrazines. Synthesis and anticonvulsant activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 38(18), 3676-3679.
- [4] Gopinathan, H., Komathi, N., & Arumugham, M. (2014). Synthesis, structure, DNA binding, cleavage and biological activity of cobalt(III) complexes derived from triethylenetetramine and 1,10-phenanthroline ligands. *Inorganica Chimica Acta*, 416, 93-101.
- [5] Muniyandi, V., & Raman, N. (2016). Screening the DNA interaction ability and antimicrobial activity of a few novel bioactive complexes tethering N-((2-aminophenyl)(phenyl)methylene)-4-nitroaniline. *Material Science and Engineering C*, 68, 258-266.
- [6] Pradeepa, S., Naik, H. B., Kumar, B. V., Priyadarsini, K. I., Barik, A., & Jayakumar, S. (2015). Synthesis and characterization of cobalt(II), nickel(II) and copper(II)-based potential photosensitizers: evaluation of their DNA binding profile, cleavage and photocytotoxicity. *Inorganica Chimica Acta*, 428, 138-146.
- [7] Garcia-Ramos, J. C., Galindo-Murillo, R., Cortes-Guzman, F., & Ruiz-Azuara, L. (2013). Metal-based drug-DNA interactions. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 57(3), 245-259.
- [8] Kumar, M. P., Tejaswi, S., Rambabu, A., & Kalabandi, V. K. A. (2015). Synthesis, crystal structure, DNA binding and cleavage studies of copper(II) complexes with isoxazole Schiff bases. *Polyhedron*, 102, 111-120.
- [9] Salehi, M., Kubicki, M., Jafari, M., Galini, M., & Soleimani, F. (2019). Synthesis, crystal structure, spectroscopic, molecular docking and DFT studies of two Schiff base ligands derived from DL-1-phenylethylamine. *Journal of Applied Chemistry*, 13(49), 103-116.
- [10] Shafaatian, B., Atghaei, M., & Rezvani, S. A. (2017). Investigation of DNA binding interaction of new synthesized nickel(II) and palladium(II) complexes containing ferrocenyl Schiff base ligand. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 64(12), 1524-1531.
- [11] Kocak, A., Yilmaz, H., Faiz, O., & Andac, O. (2016). Experimental and theoretical studies on Cu(II) complex of N,N'-disalicylidene-2,3-diaminopyridine ligand reveal indirect evidence for DNA intercalation. *Polyhedron*, 104, 106-115.
- [12] Biradar, N. S., & Kulkarni, V.H. (1971). A spectroscopic study of tin(IV) complexes with multidentate Schiff bases. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, 33 (11), 3781-3786.
- [13] Bamfield, P. (1967). The Reaction of cobalt halides with N-arylsalicylideneimines. *Journal of the Chemical Society A*, 804-808.

- [14] Gryaznova, T. P., Katsyuba, S. A., Milyukov, V.A., & Sinyashin, O.G. (2010). DFT study of substitution effect on the geometry, IR spectra, spin state and energetic stability of the ferrocenes and their pentaphospholyl analogues. *Journal of Organometallic Chemistry*, 695(24), 2586-2595.
- [15] Mukherjee, A. , Sasikala, W.D. (2013). Drug-DNA intercalation: from discovery to the molecular mechanism. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 92, 1-62.
- [16] Shahabadi, N., Mirzaeikalar, Z., & Hosseinpour Moghadam, N. (2012). DNA interaction studies of a platinum(II) complex containing an antiviral drug, ribavirin: The effect of metal on DNA binding. *Spectrochimica Acta A*, 96, 723-728.
- [17] Zhao, P., Huang, J. W., Mei, W. J., He, J., & Ji ,L. N. (2010). DNA binding and photocleavage specificities of a group of tricationicmetalloporphyrins. *Spectrochimica Acta A.*, 75(3),1108-1114.
- [18] Shiva Kumar, L., Revanasiddappa, H.D. (2011). Synthesis, characterization, antimicrobial, DNA binding, and oxidative cleavage activities of Cu(II) and Co(II) complexes with 2-(2-hydroxybenzylideneamino)isoindoline-1,3-dione. *Journal of Coordination Chemistry*, 64, 699-714.
- [19] Icel, C., & Yilmaz, V. T. (2014). In vitro DNA binding studies of the sweetening agent saccharin and its copper(II) and zinc(II) complexes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 130, 115-121.
- [20] Totta, X., Hatzidimitriou, A. G., Papadopoulos, A. N., & Psomas, G. (2016). Nickel(II) complexes of the non-steroidal anti-inflammatory drug tolfenamic acid: synthesis, structure, antioxidant activity and interaction with albumins and calf-thymus DNA. *Polyhedron*, 117, 172-183.

