

[N,N'-Bis(salisiliden)-1,3-propandiaminato]nikel(II) Kompleksinin Sentezi ve DNA Etkisinin İncelenmesi

Mürsel Arıcı, Hasan Nazır*

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Tandoğan 06100 Ankara, TÜRKİYE

*yazışılan yazar e-posta: nazir@science.ankara.edu.tr

Alınış: 30 Ocak 2010, Kabul: 02 Mart 2010

Özet: Bu çalışmada, bis(salisiliden)-1,3-diaminopropan (H_2L) Schiff bazı ile nikel(II) klorür heksahidrat'ın etanoldeki reaksiyonundan [N,N'-bis(salisiliden)-1,3-propandiaminato]nikel(II) (NiL) kompleksi sentezlendi. Sentezlenen NiL kompleksinin pBR322 plazmid DNA ile etkileşimi ultraviyole absorpsiyon spektroskopisi (UV), dönüşümlü voltametri (CV) ve agaroz jel elektroforez ile incelendi. NiL kompleksinin DNA varlığında absorpsiyon spektrumunun hiperkromik etki gösterdiği ve kaydedilen dönüşümlü voltamogramında pik akımının azaldığı bulundu. NiL kompleksinin indirgeyici maddeler olmadan plazmid DNA'yı etkilediği agaroz jel elektroforez ile gösterildi. Ayrıca NiL kompleksinin Hyperchem® programıyla hesaplanan en düşük enerjili yapısının geometrisi, DNA'nın kısmi interkalasyon ve elektrostatik bağlama modlarıyla ilişkilendirilebilir bir sonuç vermektedir.

Anahtar kelimeler: Nikel(II) kompleks, plazmid DNA yarılmaması, kısmi interkalasyon, elektrostatik etkileşim

Synthesis and Investigation of DNA Effect of [N,N'-bis (salicylidene)-1,3-propanediaminato]nickel(II) Complex

Abstract: In this study, N,N'-bis(salicylidene)-1,3-propanediaminato]nickel(II) (NiL) complex was synthesized from reaction of bis(salicylidene)-1,3-propanediamine (H_2L) with nickel(II) chloride hexahydrate in ethanolic medium. The interaction of synthesized NiL complex with pBR322 plasmid DNA was investigated by ultraviolet absorption spectroscopy (UV), cyclic voltammetry (CV) and agarose gel electrophoresis. It was found that the absorption spectrum of NiL complex in the presence of plasmid DNA showed hyperchromism and its peak current was significantly decreased at recorded voltammogram. Effect of NiL complex on DNA in the absence of reductant agents showed by agarose gel electrophoresis. Moreover, the geometry of the lowest-energy structure of NiL complex calculated by Hyperchem® program gave a good result to be associated with partial intercalation and electrostatic binding modes of the DNA.

Key words: Ni(II) complex, plasmid DNA cleavage, partial intercalation, electrostatic interaction

1. Giriş

Son yıllarda biyomedikal ve biyoteknoloji alanında yeni kemoterapik ilaçların geliştirilmesi ve gen manipülasyonu için DNA ile metal komplekslerinin etkileştirilmesi konusunda çalışmalar önem kazanmıştır [1, 2]. Geçiş metal kompleksleri DNA ile interkalasyon, kısmi interkalasyon, elektrostatik modda veya kovalent bağ ile bağlanarak etkileşebilir. Bu etkileşimler kompleksin geometrisine, yapısına ve büyüklüğüne bağlı olarak değişir [3]. Nükleik asit kimyasında seçici yeni problemlerin geliştirilmesi veya geçiş metal kompleksleriyle DNA arasındaki etkileşimlerde metal iyonlarının toksisite özelliklerinin belirlenmesi önemlidir [4-6]. Genel bir ifadeyle, DNA kompleks tarafından hidrolitik veya oksidatif yolla yarılmaya uğratılabilir [7-10].

Hidrolitik işlem fosfodiester bağlarının kırılması ve DNA'nın parçalanmasıyla sonuçlanır. Bu işlemde, ortamda H_2O_2 , O_2 , tiyol veya askorbik asit gibi herhangi bir indirgeyici madde kullanılmaz. Ancak, hidrolitik DNA bölme işlemi uzun reaksiyon zamanı gerektirir. Oksidatif işlem de ise, ortama indirgeyici reaktiflerin ilâve edilmesiyle, DNA, nükleobazların oksidasyonu ile yarılr veya nükleotitlerin H1' veya H4' veya H5'-deoksiriboz hidrojen atomunun ayrılmasıyla şeker küçük moleküllere parçalanır [1, 10-12]. DNA'nın yapısının bozulmasına neden olan, antikarsinojen etkiye sahip, antibakteriyel ve antifungal etki gösteren alternatif maddeler arayışında Schiff bazı kompleksleri de test edilmektedir [3, 4, 12-15]. Bu çalışmalarla birlikte, metal komplekslerin DNA etkisinin koordinasyon geometrisiyle olan ilişkisi en düşük enerji hesaplamaları, elektron çifti bulunduran en yüksek molekül orbitali (HOMO) ve boş en düşük molekül orbitali (LUMO) enerji hesaplamalarıyla da ilişkilendirilmeye çalışılmaktadır [16-18]. Sunulan bu çalışmada, H_2L ligandı ve NiL kompleksi sentezlendi [19, 20] ve NiL kompleksinin herhangi bir indirgeyici kullanmadan pBR322 plazmid DNA'ya etkisi UV, CV ve agaroz jel elektroforez ile gösterildi. Ayrıca NiL kompleksinin, Hyperchem® programı (HyperCube Inc., USA) [21] kullanılarak bulunan en düşük enerjili yapısının HOMO ve LUMO enerji değerleri hesaplandı, elektrostatik potansiyel haritası gösterildi ve kompleksin geometrisi incelenerek DNA'ya etkisi ifade edildi.

2. Materyal ve Metot

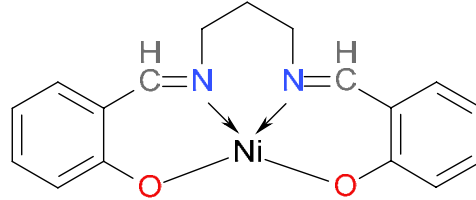
Salisilaldehit (Sigma), 1,3-propandiamin (Aldrich), $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ (Aldrich), Tris (hidroksimetil) aminometan-HCl (Tris-HCl) (Sigma), NaCl (Sigma), Etanol (EtOH) (Riedel de Hæn), Standart TBE tampon (pH 7.4) (Sigma), pBR322 plazmid DNA (SibEnzyme) kullanıldı. Tris-HCl:NaCl, 5:50 mM tamponu bidestile saf su kullanılarak hazırlandı (pH 7.2). pBR322 plazmid DNA'nın saflığı, hazırlanan tampon içinde UV spektrofotometresinde 260 ve 280 nm'de ölçülen absorpsiyon değerleri oranı, A_{260}/A_{280} 1.93 olarak bulundu. A_{260}/A_{280} oranının 1.8–2.0 arasında olması, protein miktarının plasmid DNA ile çalışmaya etki etmeyecek kadar olduğunu göstermektedir [22, 23]. Bütün çalışmalarda Tris-HCl-DNA tampon çözeltisi taze hazırlanarak ve en çok iki gün süreyle +4 °C'ta saklanarak kullanıldı. UV, CV ve agaroz jel elektroforez çalışmaları, H_2L ligandı ve NiL kompleksiyle DNA 37 °C'ta 2 saat süreyle inkübe edildikten sonra yapıldı. Jel 80 V'ta ve 2 saat süreyle yürütüldü. Sentezlenen ligandın erime noktası Gallon Kamp erime noktası tayini, ligand ve kompleksin element analizleri ise, LECO CHNS-932 cihazlarıyla yapıldı. FTIR (ATR) spektrumları Shimadzu IR Affinity-1 model spektrofotometre ile, 4000 – 550 cm^{-1} aralığında 4 cm^{-1} duyarlılıkta ve 10 tarama sayısı ile spektrofotometreye ait Shimadzu IR solution 1.50 yazılımı kullanılarak kaydedildi. Kompleksin Ni tayini GBC atomik absorpsiyon spektrofotometre ile ve GBC Avanta Ver. 2.02 yazılımı kullanılarak yapıldı. Absorpsiyon ölçümlerinde Nanodrop ND-1000 spektrofotometre ve NanoDrop ND-1000 Ver. 3.3 yazılımı, elektrokimyasal ölçümlerde ise, CHI1230A (CH Instruments, USA) potansiyostat ve CHI Ver. 9.02 yazılımı kullanılarak yapıldı. Elektrokimyasal çalışmalar standart üç elektrotlu hücrede yapıldı ve çalışma elektrodu olarak altın elektrot (Au) referans elektrot olarak Ag/AgCl ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanıldı. Agaroz jel görüntüsü GENE GENIUS Bio Imaging System cihazıyla ve GeneSnap Ver. 6.05 yazılımı kullanılarak kaydedildi. Teorik hesaplamada Hyperchem® Ver. 8.07 programı kullanıldı.

2.1. *N,N'*-bis(salisiliden)-1,3-propandiamin (H_2L) Sentezi

Geri soğutucu takılmış 100 mL'lik iki ağızlı bir balona 0.05 mol salisilaldehitin 25 mL EtOH'deki çözeltisi konur. Bu çözeltiye 0.025 mol 1,3-propandiaminin 25 mL EtOH'deki çözeltisi iki kısım halinde, 1 dakika içinde eklenir. Karışım kaynama sıcaklığına kadar ısıtılır ve soğumaya bırakılır. 24 saat oda sıcaklığında bekletilerek Schiff bazı kristallendirilir [19, 20]. $C_{17}H_{18}N_2O_2$: Verim >%90; e.n. 59 °C. Bulunan (%): C, 72.25; H, 6.32; N, 10.02. Hesaplanan (%) $C_{17}H_{18}N_2O_2$: C, 72.32; H, 6.43; N, 9.92. FTIR (ATR) (ν cm^{-1}) 1632 (C=N). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ (ppm): 13.94 (y, -OH), 8.45 (t, 1H, -N=CH-), 7.36-7.26 (ç, 4H, aromatik), 7.00-6.88 (ç, 4H, aromatik), 3.76-3.72 (ç, 4H, $\underline{CH_2}$ -CH₂- $\underline{CH_2}$), 2.14 (b, 2H, CH₂- $\underline{CH_2}$ -CH₂); (y, yayvan; t, tekli; ç, çoklu; b, beşli).

2.2. [*N,N'*-bis(salisiliden)-1,3-propandiaminato]nikel(II) (NiL) (Şekil 1) Sentezi

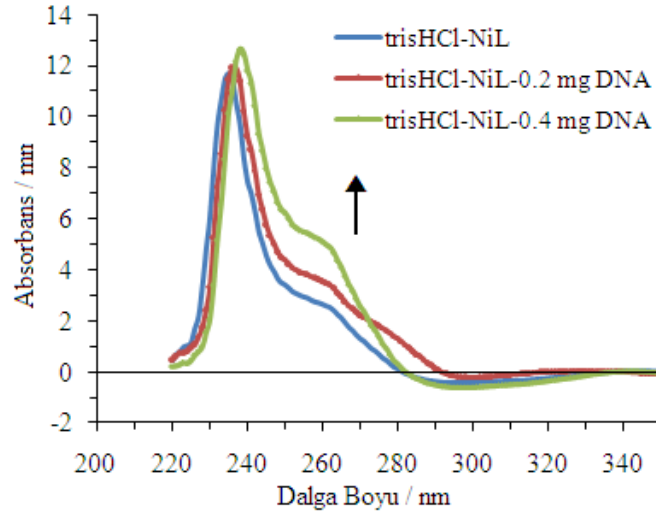
Geri soğutucu takılmış 100 mL'lik iki ağızlı bir balona 0.05 mol H_2L ligandının 50 mL EtOH'deki çözeltisi konur ve kaynama sıcaklığına kadar ısıtılır. Bu çözeltiye 0.05 mol $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 'ın 25 mL EtOH'deki çözeltisi eklenir. Kaynama sıcaklığında 1 dakika tutulan çözelti oda sıcaklığında kristallendirmeye bırakılır [19, 20]. e.n. >300 °C (bozunur). Bulunan (%): C, 60.39; H, 4.89; N, 8.41; Ni, 17.24. Hesaplanan (%) $C_{17}H_{16}N_2O_2Ni$: C, 60.23; H, 4.75; N, 8.26; Ni, 17.31. FTIR (ATR) (ν cm^{-1}) 1610 (C=N). NiL kompleksi, CH_3CN , DMF ve DMSO'te çözünür.



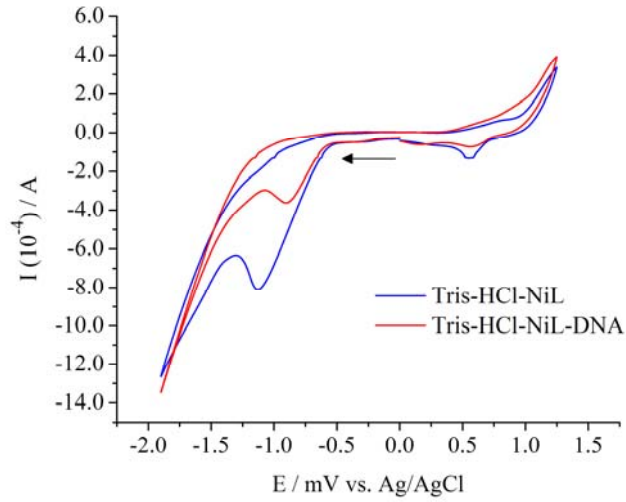
Şekil 1. NiL kompleksinin kimyasal formülü.

3. Bulgular

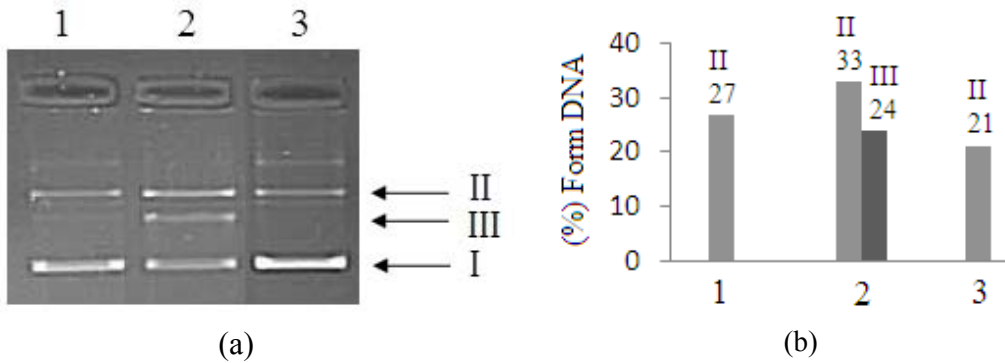
NiL kompleksinin plazmid DNA'ya olan etkisi için kaydedilen UV spektrumu Şekil 2'de, dönüşümlü voltamogramı Şekil 3'de, agaroz jel elektroforez görüntüsü ve oluşan formların yüzdeleri (%) Şekil 4'de, hesaplanan en düşük enerjili yapısının elektrostatik potansiyel haritası Şekil 5a'da ve nikel atomunun koordinasyon geometrisine ait bağ uzunlukları, bağ açıları ve torsiyon açıları Şekil 5b'de verilmiştir. NiL kompleksi için hesaplanan enerji değerleri de Tablo 1'de verilmiştir.



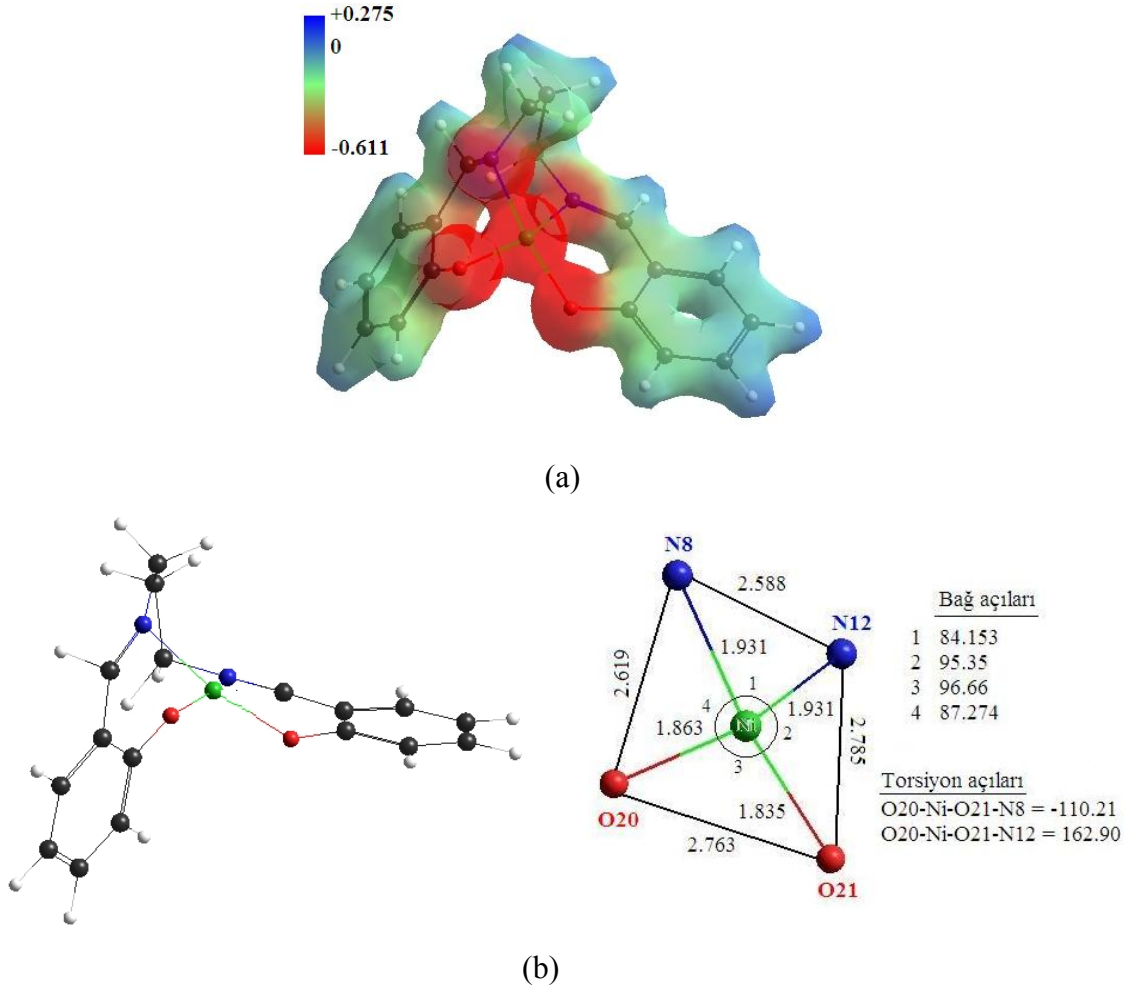
Şekil 2. Tris-HCl/NaCl tamponu içinde 0.2 μg (—) ve 0.4 μg (—) plazmid DNA varlığında ve yokluğunda 0.2 mM NiL (—) kompleksinin UV absorpsiyon spektrumu.



Şekil 3. 0.2 mM NiL (—) kompleksi ve 0.4 μg DNA (—) varlığında CH_3CN /Tris-HCl tamponundaki dönüşümlü voltamogramı, tarama oranı 0.1 V s^{-1} .



Şekil 4. (a) Agaroz jel elektroforez görüntüsü; 1 no.lu sütun 0.2 mM H_2L + 0.4 μM DNA, 2 no.lu sütun 0.2 mM NiL + 0.4 μg DNA, 3 no.lu sütun 0.4 μg DNA, (b) DNA formların yüzdeleri.



Şekil 5. NiL kompleksinin (a) elektrostatik potansiyel haritası (b) molekül ve nikel atomunun koordinasyon geometrisi {bağ uzunlukları (Å), bağ ve torsiyon açıları (°)}.

Tablo 1. NiL kompleksi için enerji hesaplamaları ZINDO/1 yarı deneysel SCF-MO metod, Restricted Hartree-Fock (RHF) geometrik değişkenlerinde bir değişiklik yapmadan, Polak-Ribiere algoritması kullanılarak hesaplandı.

	H ₂ L	NiL
E _{HOMO} (eV)	-6.680	-6.061
E _{LUMO} (eV)	5.910	4.936
ΔE _{LUMO-HOMO} (eV)	12.590	10.997
μ (Debye)	8.539	14.774
qN8	-0.232	-0.312
qO20	-0.456	-0.376
qN12	-0.208	-0.169
qO21	-0.336	-0.358
E _{TOPLAM} (au)	-177.790	-217.527

4. Tartışma ve Sonuç

4.1. Elektronik Absorpsiyon Spektrumu

Absorpsiyon spektroskopisi herhangi bir maddenin DNA'ya etkisini araştırmak için en çok kullanılan tekniklerden birisidir. Maddenin DNA'ya karşı interkalasyon etkisi varsa genellikle hipokromik etki gözlenir [24, 25]. Ancak maddenin DNA ile etkileşimi elektrostatik veya kısmi interkalasyon biçiminde ise, hiperkromik etki gözlenir. Ayrıca maksimum absorpsiyonların kırmızıya kayması, HOMO ve LUMO enerji seviyeleri arasındaki farkın azaldığını ve kompleksin DNA ile etkileştiğini [26] gösterir. Şekil 2'den görüldüğü gibi NiL kompleksinin 235 ve 258 nm'de iki absorpsiyon bandı vardır. Analiz için 235 nm'deki band seçilmiştir. Ortama artan miktarda (0.2 ve 0.4 µg) DNA ilâve edildiğinde kompleksin maksimum absorpsiyon şiddetleri artmış ve bandın absorpsiyon şiddetinde 1 ve 3 nm'lik kırmızıya kayma gözlenmiştir. Hiperkromik etkinin gözlenmesi kompleksin DNA'nın yüzeyine elektrostatik olarak bağlandığını gösterir [5, 27]. NiL-DNA etkileşiminden sonra π - π^* geçiş enerjileri azaldığından band kırmızıya kayar.

4.2. Dönüştümlü Voltametri

Şekil 3'te verilen voltamogramdan görüldüğü gibi NiL kompleksinin Tris-HCl tamponundaki redoks davranışı tersinmezdir ve katodik pik potansiyeli NiL için $E_{pc} = -1.12$ V olarak bulunmuştur. Voltamogramdaki 0.55 ve 0.8 V'taki diğer pikler ise tampon çözeltilerden kaynaklanmaktadır. Tris-HCl/NaCl tamponundaki 0.2 mM kompleks içerisine 0.4µg DNA ilâve edildikten sonra kaydedilen voltamogramda katodik pik potansiyelinin daha pozitif değerlere kaydığı ve pik akımlarında düşüş olduğu gözlenmiştir. Pik akımlarındaki bu düşüş kompleksin DNA ile etkileşerek difüzyon katsayısının azalmasından kaynaklanmaktadır [28, 29].

4.3. Agaroz Jel Elektroforez

Şekil 4'ten de görüldüğü gibi 3 no.lu sütunda tampon içerisinde DNA ve 1 no.lu sütunda tampon içerisinde H₂L ligandı ile birlikte DNA varken, DNA'nın süper sarmal formu (I) ve gevşek sarmal formu (II) gözlenmiştir. Bu durum 37 °C ve 2 saatlik inkübasyon süresi içinde H₂L ligandının DNA'ya etki etmediğini göstermektedir. NiL kompleksi ve DNA'yı içeren 2 no.lu sütunda ise form I yapısı bozularak oluşmuş doğrusal form (III) gözlenmiştir. Bu durum ise, H₂L ligandının aksine NiL kompleksinin ortamda herhangi bir indirgeyici reaktif olmadan plazmid DNA'ya etki ettiğini göstermektedir. Bundan başka, form II'ye ait çizgilerin yoğunlukları (H₂L %27, NiL %33, DNA %21) değerlendirildiğinde ise, NiL kompleksinin gevşek sarmal formun oluşumunu hızlandırdığı söylenebilir. Plazmid DNA'ya karşı gözlenen bu etki Ni'den ve kompleksin geometrik yapısından kaynaklanmaktadır.

4.4. Teorik Hesaplama

Tablo 1' de koordinasyon küresi etrafındaki atomların yük yoğunlukları ve kompleks için hesaplanan dipol momentinin yüksekliği dikkate alındığında; negatif yük yoğunluğu yüksek olan bölgelerin kırmızı pozitif yük yoğunluğu yüksek olan bölgelerin

mavi olarak gösterildiği molekülün elektrostatik potansiyel haritasına baktığımızda (Şekil 5a), negatif yük yoğunluğunun koordinasyon küresi etrafında pozitif yük yoğunluğunun da benzen halkaları ve propilen köprüsü üzerinde olduğu ve molekül içi polarlanmada, yük dağılımı anlamında, herhangi bir kesintinin olmadığı söylenebilir. Ayrıca Şekil 5b’de koordinasyon küresi için verilen bağ uzunlukları, bağ açıları, torsiyon açıları incelendiğinde ve molekülün 3 boyutlu yapısı dikkate alındığında molekülün bozulmuş kare düzlem yapıda olduğu görülmektedir. Tablo 1’den kompleksin toplam enerjisi dikkate alındığında ise (ligand-177.790, kompleks-217.527) kompleksin daha kararlı bir yapıya sahip olduğu görülür. Kompleksin sahip olduğu polarlık nedeniyle DNA ile daha kolay etkileşmesi beklenebilir. Nitekim Şekil 4’te verilen agaroz jel elektroforez görüntüsü bu yorumu destekler sonuç vermiştir. Dolayısıyla kompleksin teorik olarak hesaplanan geometrik yapısının ve özelliklerinin denel verilerle uyum halinde olduğu söylenebilir.

Teşekkür

Agaroz jel’in yürütülmesindeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Ali ERGÜL’e teşekkür ederim.

Kaynaklar

- [1] Sigman D.S., Mazumdar A., Perrin D.M., 1993. Chemical nucleases, *Chemical Review*, 93: 2295-2316.
- [2] Barton J., Golgberg J.M., Kumar C.V., Turro N.J., 1986. Binding Modes and Base Specificity of Tris(phenanthroline)ruthenium(II) Enantiomers with Nucleic Acids: Tuning the Stereoselectivity, *Journal of American Chemical Society*, 108: 2081-2088.
- [3] Vijayalakshmi R., Kanthimathi M., Parthasarathi R., Nair B.U., 2006. Interaction of chromium(III) complex of chiral binaphthyl tetradentate ligand with DNA, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14: 3300-3306.
- [4] Vaidyanathan V.G., Weyhermuller T., Nair B.U., Subramanian J., 2005. DNA damage induced by a chromium(III) Schiff base complex is reversible under physiological condition, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99: 2248–2255.
- [5] Vijayalakshmi R., Kanthimathi M., Subramanian V., Nair, B.U., 2000. Interaction of DNA with [Cr(Schiff base)(H₂O)₂]ClO₄, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1475: 157-164.
- [6] Arslantas A., Devrim A.K., Necefoglu H., 2007. DNA-Binding Study of Tetraaqua-bis(*p*-nitrobenzoato)cobalt(II) Dihydrate Complex: [Co(H₂O)₄(*p*-NO₂C₆H₄COO)₂]·2H₂O, *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 564-571.
- [7] Gupta T., Patra A.K., Dhar S., Nethaji M., Chakravarty Ar, 2005. Effect of copper–sulphur bond on the DNA photo-cleavage activity of 2-(methylthio)ethylpyridine-2 carbaldimine copper(II) complexes, *Journal of Chemical Science*, 117: 123-132.
- [8] Patra A.K., Gupta T., Roy S., Chakravarty A.R., 2008. Synthesis, structure, DNA-binding and photocleavage activity of a binuclear copper(II) complex, *Indian Journal of Chemistry*, 47: 643-649.
- [9] Pitié M., Burrows C.J., Meunler B., 2000. Mechanisms of DNA cleavage by copper complexes of 3-Clip-Phen and of its conjugate with a distamycin analogue, *Nucleic Acids Research*, 28: 4856-4864.
- [10] Yang Z.S., Yu J.S., Chen H.Y., 2002. Electrochemically Induced DNA Cleavage by Copper-Phenanthroline Complex, *Electroanalysis*, 14: 747-752.
- [11] Lu L.P., Zhu M.L., Yang P., 2003. Crystal structure and nuclease activity of mono(1,10-phenanthroline)copper complex, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 95: 31-36.
- [12] Routier S., Vezin H., Lamour E., Bernier J.L., Cateau J.P., Bailly C., 1999. DNA cleavage by hydroxy-salicylidene-ethylendiamine-iron complexes, *Nucleic Acids Research*, 27: 4160-4166.

- [13] Wang M., Wang L.F., Li Y.Z., Li Q.X., Xu Z.D., Qu D.Q., 2001. Antitumour activity of transition metal complexes with the thiosemicarbazone derived from 3-acetylumbelliferone, *Transition Metal Chemistry*, 26: 307-310.
- [14] Reddy K.H., Reddy S., Babu P.R., 2000. Nuclease activity of 2-substituted heteroaromatic thiosemicarbazone and semicarbazone copper(II) complexes, *Transition Metal Chemistry*, 25: 154-160.
- [15] Lei Y., Yin-Zhuang Z., Jin-Li L., Shu-Jie T., Ling-Mei X., 2009. Synthesis, Crystal Structure and Interaction with DNA of a Novel Chromium(III) Complex Containing Salicylaldehyde Semicarbazone, *Chinese Journal of Structural Chemistry*, 28: 789-796.
- [16] Reddy P.R., Raju N., Manjula P., Reddy K.V.G., 2007. Synthesis and DNA Binding/Cleavage of Mononuclear Copper(II) Phenanthroline/Bipyridine Proline Complexes, *Chemistry & Biodiversity*, 4: 1565-1577.
- [17] Reddy P.R., Raju N., Reddy K.V., 2009. Synthesis, characterization and DNA binding and cleavage properties of copper (II)-tryptophan-tryptophan complex, *Indian Journal of Chemistry*, 48A: 1638-1643.
- [18] Colak A., Cekirge E., Karaböcek S., Küçükdumlu A., Ertunga N.S., Col M., Abbasoğlu R., 2009. Investigation of DNA cleavage activities of new oxime-type ligand complexes and molecular modeling of complex-DNA interactions, *Chemical Paper*, 63: 554-561.
- [19] Drew G.B., 1985. Structure of (N,N'-Trimethylenesalicylideneaminato)nickel(II) (1) and (N,N'-Trimethylenesalicylideneaminato)copper(II) (2), *Acta Crystallography*, 41: 1755-1758.
- [20] Atakol O., Nazır H., Arıcı C., Durmus S., Svoboda I., Fuess H., 2003. Some new Ni-Zn heterodinuclear complexes: square-pyramidal nickel(II) coordination, *Inorganica Chimica Acta*, 342: 295-300.
- [21] HyperChem, Hypercube Inc., Gainesville, USA.
- [22] Reichmann M.E., Rice S.A., Thomas C.A., Doty P., 1954. A further examination of the molecular weight and size of desoxypentose nucleic acid, *Molecular Weight and Size of Deoxypentose Nucleic Acid*, 76: 3047-3050.
- [23] Kumar C.V., Asuncion E.H., 1993. DNA Binding Studies and Site Selective Fluorescence Sensitization of an Anthryl Probe, *Journal of American Chemical Society*, 115: 8547-8553.
- [24] Mahadevan S., Palaniandavar M., 1998. Spectroscopic and Voltammetric Studies on Copper Complexes of 2,9-Dimethyl-1,10-phenanthrolines Bound to Calf Thymus DNA, *Inorganic Chemistry*, 37: 693-700.
- [25] Indumathy R., Radhika S., Kanthimathi M., Weyhermuller T., Nair B.U., 2007. Cobalt complexes of terpyridine ligand: Crystal structure and photocleavage of DNA, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101: 434-443.
- [26] Arjmand F., Aziz M., 2008. Synthesis and characterization of dinuclear macrocyclic cobalt(II), copper(II) and zinc(II) complexes derived from 2,2,2',2'-S,S[bis(bis-N,N-2-thiobenzimidazoloxato-1,2-ethane)]: DNA binding and cleavage studies, *European Journal of Medicinal Chemistry*, XX: 1-11.
- [27] Tamilarasan R., Mcmillin D.R., 1990. Photophysical Studies of Copper Phenanthrolines Bound to DNA, *Inorganic Chemistry*, 29: 2798-2802.
- [28] Wang Y.L., Liu Y.C., Yang Z.S., Zhao G.C., 2004. Electrochemical cleavage of DNA in the presence of copper-sulfosalicylic acid complex, *Bioelectrochemistry*, 65: 77-81.
- [29] Ibrahim M.S., 2001. Voltammetric studies of the interaction of nogalamycin antitumor drug with DNA, *Analytica Chimica Acta*, 443: 63-72.