T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

2,6-PİRİDİNDİKARBOKSİLİK ASİT İÇEREN KARIŞIK LİGANT-METAL KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

FHIZ-2022-727

HIZLI DESTEK

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Doç. Dr. M. Suat AKSOY
Fen-Edebiyat Fakültesi/Kimya

Araştırmacı(lar)
Yüksek Lisans Öğrencisi
Sevilay KAHYA

10.01.2023

BURSA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	2
ABSTRACT	3
TEŞEKKÜR	4
1. GİRİŞ	5
2. GENEL BİLGİLER	5
3. GEREÇ VE YÖNTEM	5
4. BULGULAR	7
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	13
KAYNAKLAR	

ÖZET

Bu çalışmada [Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O (pdca: 2,6-piridindikarboksilik asit, phen: 1,10-fenantrolin), [Co_2(pdca)$_2$(H_2O)$_5$].2H_2O, [Ni(pdca)(phen)H_2O] ve [Ni(pdca)$_2$] kompleksleri sentezlendi. Komplekslerin yapıları X-ışınları tek kristal difraksiyon yöntemi, FT-IR, UV-Vis. ve elementel analiz yöntemleriyle belirlendi. Sentezlenen komplekslerin sitotoksik etkinliği A 549 (ATCC® CCL-185™) insan akciğer kanser hücre hatlarında XTT ((2,3-bis[2-metoksi- 4-nitro- 5-sulfofenil]- 2H-tetrazolyum-5-karboksianilit iç tuzu) yöntemi ile *in vitro* olarak araştırıldı.

Anahtar Kelimeler: 2,6-piridindikarboksilik asit, kobalt(II), nikel(II), 1,10-fenantrolin

ABSTRACT

In this study [Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O (pdca: 2,6-pyridinedicarboxylic acid, phen: 1,10-phenanthroline), [Co_2(pdca)$_2$(H_2O)$_5$].2H_2O, [Ni(pdca)(phen)H_2O] and [Ni(pdca)$_2$] complexes were synthesized. Structures of complexes X-ray single crystal diffraction method, FT-IR, UV-Vis. and elemental analysis methods. Cytotoxic activity of the synthesized complexes in A 549 (ATCC® CCL-185™) human lung cancer cell lines XTT ((2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxyanilide) salt) method was investigated in vitro.
Keywords: 2,6-pyridinedicarboxylic acid, cobalt(II), nickel(II), 1,10-phenanthroline

TEŞEKKÜR

FHIZ-2022-727 projesine maddi desteğinden dolayı Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz.

1. GİRİŞ

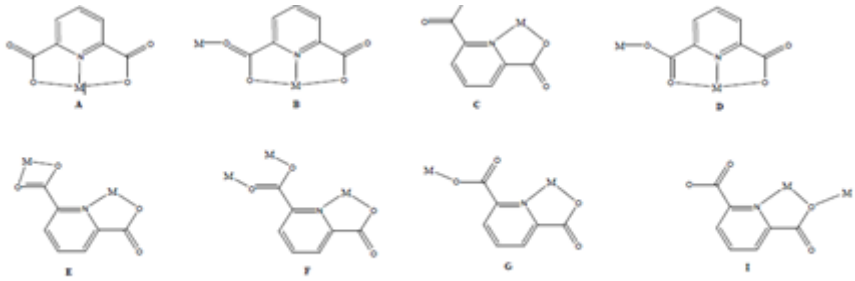
Çalışmanın amacı; literatürde yer almayan yeni karışık ligantlı Nikel(II) ve Kobalt(II)-2,6-piridindikarboksilik asit komplekslerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve biyolojik aktivitelerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2,6-piridindikarboksilik asit geçiş metallerine ya iki dişli olarak, metal merkezleri arasında karboksilat köprüleri yoluyla polimerik veya dimerik kompleksler oluşturmak üzere ya da üç dişli olarak (O, N, O') bir metal iyonuna şelat oluşturmak üzere bağlanırlar (Aghabozorg ve ark., 2008).

2,6-piridindikarboksilik asitte (dipikolinik asit) merkez piridin halkası ve iki karboksilat grubu arasında 120° lik bir açı olması, metal kompleksleri için çok çeşitli koordinasyon türleri sağlamaktadır (Wang ve ark., 2004) (şekil 1).

2,6-piridindikarboksilik asit analitik kimyada (Kanai 1990), nükleer reaktörlerin arıtılması, inhibisyon uygulamaları ve biyolojik aktivite gibi alanlardaki uygulamaları ile tanınmaktadır (Bailey ve ark., 1965, Setlow ve ark., 1993).



Şekil 1. 2,6-Piridindikarboksilik asit için olası metal bağlanma yerleri.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Materyaller

Komplekslerin sentezinde; $CoCl_2.6H_2O$ (Aldrich), $NiCl_2.6H_2O$ (Aldrich), 2,6-PDCA (Sigma), 1,10-fenantrolin monohidrat (Merck), Aspartik asit (Sigma), Glutamik asit (Sigma), NaOH (Sigma-Aldrich), Ultra saflıkta su, Etil alkol (Merck) ve 2-propanol (Merck) kullanıldı.

Cihazlar

Sentezlenen komplekslerin tek kristal X-ışınları, grafit monokromatörlü Photon III C14 dedektörlü Bruker D8 Quest difraktometresi ile alındı. FT-IR spektrumları, 4000–400 cm^{-1} frekans aralığında Shimadzu Prestige 21 FT-IR ATR spektrofotometresi ile alındı. UV-vis. soğurma spektrumları, Varian Cary 50 UV-vis. spektrofotometresi ile 200 ile 800 nm dalga boyu aralığında tarandı. Erime noktaları, Buchi 540 erime noktası tayin cihazı kullanılarak belirlendi. Komplekslerin elementel (C, H ve N) analizleri Costech ECS 4010 marka Elementel Analiz cihazı ile yapıldı.

Komplekslerin Sentezi

$[C_{19}H_{13}CoN_3O_5 \cdot H_2O]H_2O$

$CoCl_2.6H_2O$ (1 mmol, 0,1189 g) (10 mL) sulu çözeltisine 2,6-PDCA (0,5 mmol, 0,0835 g) (10 mL) sulu çözeltisi eklendi. Oluşan turuncu renkli çözelti 60 °C'de iki saat karıştırıldı. Üzerine 1,10-fenantrolin (1 mmol, 0,1982 g) (10 mL) sulu çözeltisi eklendi. Oluşan çözeltinin rengi daha da koyulaştı. 60 °C'de iki saat karıştırılan çözelti kristallenmeye bırakıldı. Oda sıcaklığında 1-2 hafta sonra turuncu renkli tek kristal elde edildi.

$[C_{14}H_{20}N_2O_{15}Co_2]$

$CoCl_2.6H_2O$ (1 mmol, 0,1189 g) (10 mL) sulu çözeltisine 2,6-PDCA (0,5 mmol, 0,0835 g) (10 mL) sulu çözeltisi eklendi. Oluşan turuncu renkli çözelti 60 °C'de iki saat karıştırıldı. Üzerine aspartik asit (1 mmol, 0,1331 g) (10 mL) sulu çözeltisi eklendi. Oluşan kırmızı-kahverenkli çözelti 60 °C'de iki saat karıştırılıp kristallenmeye bırakıldı. Oda sıcaklığında 1-2 hafta sonra kırmızı-kahverenkli tek kristal elde edildi.

$[C_{19}H_{13}N_3NiO_5 \cdot H_2O]$

$NiCl_2.6H_2O$ (1 mmol, 0,2376 g) (10 mL) sulu çözeltisine 2,6-PDCA (0,5 mmol, 0,0835 g) (10 mL) sulu çözeltisi eklendi. Oluşan mavi renkli çözelti 60 °C'de iki saat karıştırıldı. Üzerine 1,10-fenantrolin (1 mmol, 0,1982 g) (10 mL) sulu çözeltisi eklendi. Oluşan çözeltinin rengi daha da koyulaştı. 60 °C'de iki saat karıştırılan çözelti kristallenmeye bırakıldı. Oda sıcaklığında 1-2 hafta sonra mavi renkli tek kristal elde edildi.

$[C_{14}H_{12}N_2NiO_{11}]$

$NiCl_2.6H_2O$ (1 mmol, 0,2376 g) (10 mL) sulu çözeltisine 2,6-PDCA (0,5 mmol, 0,0835 g) (10 mL) sulu çözeltisi eklendi. Oluşan turuncu renkli çözelti 60 °C'de iki saat karıştırıldı. Üzerine glutamik asit (1 mmol, 0,1471) (10 mL) sulu çözeltisi eklendi. Oluşan mavi renkli çözelti 60 °C'de iki saat karıştırılıp kristallenmeye bırakıldı. Oda sıcaklığında 1-2 hafta sonra mavi renkli tek kristal elde edildi.

Biyolojik Activite

Numunelerin sitotoksik etkinliği A 549 (ATCC® CCL-185™) insan akciğer kanser hücre hatlarında XTT ((2,3-bis[2-metoksi- 4-nitro- 5-sulfofenil]- 2H-tetrazolyum- 5-karboksianilit iç tuzu) yöntemi ile *in vitro* olarak araştırılmıştır.

Hücre Kültürü: A549 hücreleri (ATCC® CCL-185™) 37 ºC ve %5 CO_2 içeren ortama sahip inkübatörlerde havalandırmalı T75 flasklar içerisinde kültüre edilmiştir. Kültür ortamı olarak kullanılan besiyeri içeriği; F-12K medyum (ATCC, USA), %10 Fetal Calf serum (PAN Biotech, Aidenbach, Germany) 1mM SodyumPürivat (PAN Biotech, Aidenbach, Germany).1 mM L- Glutamin (Sigma Aldrich, Darmstadt, Germany), 100U/ml Penisilin- 100 µg/ml Streptomisin (Bioch-rom AG, Berlin, Germany) ile oluşturulmuştur.

4. BULGULAR

Sentezlenen komplekslerin renk, erime (bozunma) sıcaklığı ve molekül ağırlığı gibi bazı fiziksel özellikleri çizelge 1'de verilmektedir.

Çizelge 1. Sentezlenen komplekslerin bazı fiziksel özellikleri

Kompleksler	Renk	E.N.(°C)	M.K. (g/mol)
$[C_{19}H_{13}CoN_3O_5 \cdot H_2O]H_2O$	Turuncu	> 310	458,28
$[C_{14}H_{20}N_2O_{15}Co_2]$	Kırmızı-Kahverengi	> 310	574,17
$[C_{19}H_{13}N_3NiO_5 \cdot H_2O]$	Mavi	> 310	440,05
$[C_{14}H_{12}N_2NiO_{11}]$	Mavi	> 310	442,97

Sentezlenen komplekslerin elementel analiz sonuçları ve yüzde verimleri Çizelge 2'de verilmektedir. Komplekslerin hepsi kristal halinde elde edildi ve yapıları X-ışını kırınımı yöntemiyle aydınlatıldı.

Çizelge 2. Sentezlenen komplekslerin verimi ve elementel analiz sonuçları[a]

Kompleks	% Bileşim			% Verim
	C	H	N	
$[C_{19}H_{13}CoN_3O_5 \cdot H_2O]H_2O$	49,87 (49,79)	3,85 (3,73)	9,29 (9,16)	78
$[C_{14}H_{20}N_2O_{15}Co_2]$	29,38 (29,26)	3,39 (3,48)	4,91 (4,87)	83
$[C_{19}H_{13}N_3NiO_5 \cdot H_2O]$	51,73 (51,85)	3,54 (3,43)	9,68 (9,54)	70
$[C_{14}H_{12}N_2NiO_{11}]$	37,74 (37,96)	2,87 (2,73)	6,19 (6,32)	71

[a]Hesaplanan değerler parantez içinde verilmiştir.

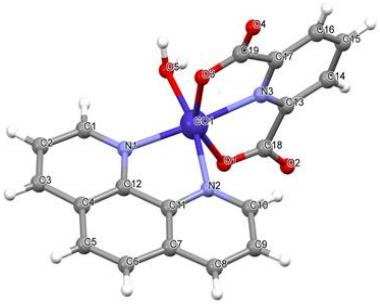
X-Işını Kırınımı

1. $[Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O$

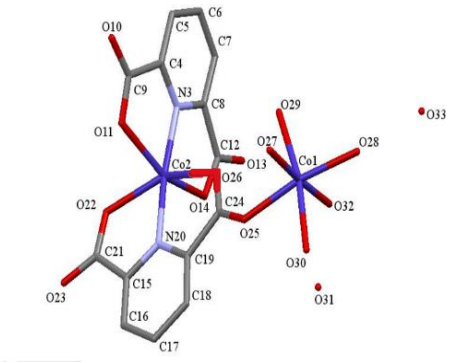
Triklinik sistemde kristallenen $[Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O$ kompleksi birim hücrede iki (2) molekül içerir. Komplekse ait kristalografik veriler Çizelge 3'te verilmektedir.

2. $[Co_2(pdca)_2(H_2O)_5].2H_2O$

Monoklinik sistemde kristallenen $[Co_2(pdca)_2(H_2O)_5].2H_2O$ kompleksi birim hücrede dört (4) molekül içerir. Komplekse ait kristalografik veriler Çizelge 3'te verilmektedir.



Şekil 2. $[Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O$ kompleksin yapısı.



Şekil 3. $[Co_2(pdca)_2(H_2O)_5].2H_2O$ kompleksin yapısı.

Çizelge 3. [Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O ve [Co_2(pdca)$_2$(H_2O)$_5$].2H_2O komplekslerine ait kristalografik veriler.

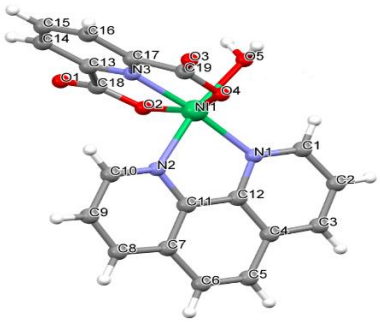
Kimyasal formül	$C_{19}H_{13}CoN_3O_5 \cdot 2(H_2O)$	$C_{14}H_{20}N_2O_{15}Co_2$
Formül kütlesi	458,28	574,17
Kristal sistemi	Triklinik	Monoklinik
Uzay grubu	P-1	C21
a (Å)	7,826 (3)	8,3807 (7)
b (Å)	9,281 (3)	27,3469 (17)
c (Å)	14,069 (5)	9,6147 (6)
ά (°)	81,409 (12)	90,095 (5)
β (°)	81,264 (13)	98,285 (6)
γ (°)	73,109 (11)	89,968 (6)
Birim hücre hacmi, V (Å^3)	960,3 (6)	2180,60 (3)
Birim hücredeki molekül sayısı, Z	2	4
Hesaplanan yoğunluk, ρ (g cm^{-3})	1,585	1,725
Elektron sayısı, F (000)	470	1148
Çizgisel soğurma katsayısı, μ(mm^{-1})	0,94	1,592
Kristal boyutları (mm)	0,09 × 0,05 × 0,04	0,09 × 0,14 × 0,16
Veri toplama sıcaklığı, T (K)	296	293 (2)
Tmin; Tmax.	0,945; 0,963	3,363 ; 28,923
h, k, l aralığı (°)	10, 12,18	11, 30,12
Parametre sayısı	289	309
Toplanan yansıma sayısı	4434	8883
Bağımsız yansımalar (R_{int})	0,074	0,0858
R[$F^2 > 2\sigma(F^2)$]	0,067	0,0764
wR (F^2)	0,173	0,1933
F^2	1,11	1,149
$\Delta\rho_{max}$, $\Delta\rho_{min}$ (e Å^{-3})	0,65; – 0,48	0,193, – 0,076

3. [Ni(pdca)(phen)H_2O]

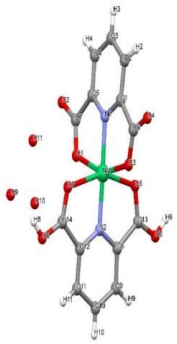
Kristal sistemi monoklinik olan [Ni(pdca)(phen)H_2O] kompleksi birim hücrede oniki (12) molekül içerir. Komplekse ait kristalografik veriler Çizelge 4'te verilmektedir.

4. [Ni(pdca)$_2$]

Triklinik sistemde kristallenen [Ni(pdca)$_2$] kompleksi birim hücrede dört (4) molekül içerir. Komplekse ait kristalografik veriler Çizelge 4'te verilmektedir.



Şekil 4. [Ni(pdca)(phen)H_2O] kompleksinin yapısı.



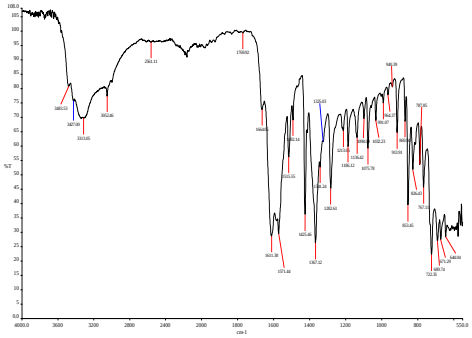
Şekil 5. [Ni(pdca)$_2$] kompleksinin yapısı.

Çizelge 4. [Ni(pdca)(phen)H_2O] ve [Ni(pdca)$_2$] komplekslerine ait kristalografik veriler.

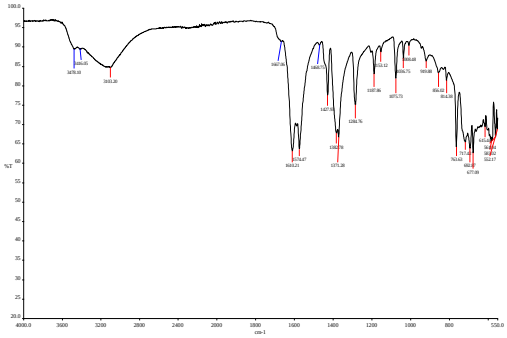
Kimyasal formül	$C_{19}H_{13}N_3NiO_5.H_2O$	$C_{14}H_{12}N_2NiO_{11}$
Formül kütlesi	440,05	442,97
Kristal sistemi	Monoklinik	Triklinik
Uzay grubu	P21/c	P2(1)
a (Å)	10,6828 (15)	13,685 (5)
b (Å)	27,275 (4)	10,048 (4)
c (Å)	19.229 (3)	13,792 (5)
ά (°)	90	90
β (°)	104,835(4)	115,205 (9)
γ (°)	90	90
Birim hücre hacmi, V (Å^3)	5416,1 (14)	1715,9 (12)
Birim hücredeki molekül sayısı, Z	12	4
Hesaplanan yoğunluk, ρ (g cm^{-3})	1,619	1,715
Elektron sayısı, F (000)	2712,0	904
Çizgisel soğurma katsayısı, μ(mm^{-1})	1,119	1,197
Kristal boyutları (mm)	0,14 × 0,09 × 0,08	0,09 × 0,14 × 0,16
Veri toplama sıcaklığı, T (K)	296	296
Tmin; Tmax.	0,886; 0,914	2,611; 28,364
h, k, l aralığı (°)	14, 36, 25	18, 13,18
Parametre sayısı	820	273
Toplanan yansıma sayısı	13426	4269
Bağımsız yansımalar (R_{int})	0,068	0,081
R[$F^2 > 2\sigma(F^2)$]	0,0395	0,123
wR (F^2)	0,118	0,173
F^2	1,15	1,15
$\Delta\rho_{max}$, $\Delta\rho_{min}$ (e Å^{-3})	0.56, −0.60	0.56, −0.60

FTIR

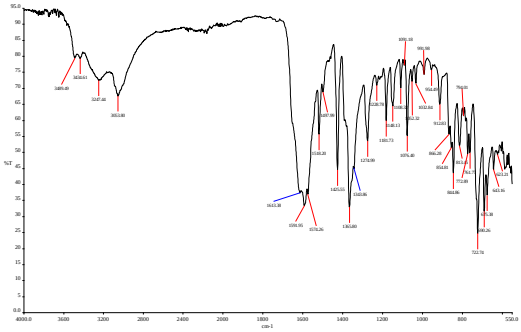
İki dişli ligant içeren nikel(II) ve kobalt(II) 2,6-piridindikarboksilik asit komplekslerine ait IR spektrumları (şekil 6-9) verilirken, spektrumlardaki bazı karakteristik soğurma bantları da çizelge 5'te listelenmiştir.



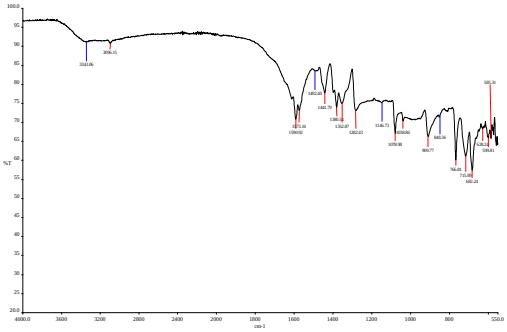
Şekil 6. [Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O kompleksinin IR spektrumu.



Şekil 7. [Co_2(pdca)$_2$(H_2O)$_5$].2H_2O kompleksinin IR spektrumu.



Şekil 8. [Ni(pdca)(phen)H_2O] kompleksinin IR spektrumu.



Şekil 9. [Ni(pdca)$_2$] kompleksinin IR spektrumu.

Çizelge 5. Nikel(II) ve kobalt(II) komplekslerin önemli IR titreşimleri (cm^{-1}).

Kompleks	**ν(OH)**	**ν(N-H)**	**ν(C-H)**	**ν(C=O)**	**ν(C=N)**	**ν(C=C)**	**ν(C-O)**	**ν(C-N)**
$[Ni(pdca)(phen)H_2O]$	3489o 3434o	3247o	3053o	1613şy 1591ş 1574ş	1425çş	1365çş	1228o	1148ş
$[Ni(pdca)_2]$	-	3343z	3096z	1590o 1573o	1441o	1352o	1282o	1146z
$[Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O$	3483o 3427o	3313y	3052o	1611ş 1571ş	1425çş	1367çş	1282ş	1136ş
$[Co_2(pdca)_2(H_2O)_5].2H_2O$	3478z 3416z	-	3103y	1610ş 1574ş	1427ş	1371ş	1284ş	1153o

çş: çok şiddetli, ş: şiddetli, o: orta, y: yayvan, z: zayıf, dalga sayısı; cm^{-1}

UV-vis.

$[Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O$, $[Co_2(pdca)_2(H_2O)_5].2H_2O$, $[Ni(pdca)(phen)H_2O]$ ve $[Ni(pdca)_2]$ komplekslerinin UV-vis. spektrumları $1x10^{-4}$ M sulu çözeltide alındı.

Çizelge 5'te komplekslerine ait UV−vis. spektroskopik verileri görülmektedir.

Çizelge 6. Nikel(II) ve kobalt(II) komplekslerinin UV−vis. spektroskopik verileri.

Kompleks	λ (nm)	ε (dm^3/mol.cm)
$[Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O$	285 294	7277 3618
$[Co_2(pdca)_2(H_2O)_5].2H_2O$	310	11050
$[Ni(pdca)(phen)H_2O]$	285 294	19384 5534
$[Ni(pdca)_2]$	290	19470

Biyolojik Aktivite

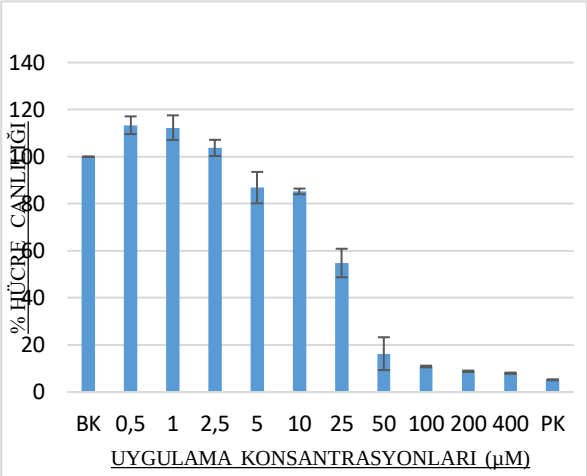
$[Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O$ ve $[Ni(pdca)(phen)H_2O]$ komplekslerinin sitotoksik etkinliği A 549 (ATCC® CCL-185™) insan akciğer kanser hücre hatlarında XTT (((2,3-bis[2-metoksi-4-nitro- 5-sulfofenil]- 2H-tetrazolyum- 5-karboksianilit iç tuzu) yöntemi ile *in vitro* olarak araştırılmıştır.

Hücre Kültürü: A549 hücreleri (ATCC® CCL-185™) (Şekil 15) 37 ^oC ve %5 CO_2 içeren ortama sahip inkübatörlerde havalandırmalı T75 flasklar içerisinde kültüre edilmiştir. Kültür ortamı olarak kullanılan besiyeri içeriği; F-12K medyum (ATCC, USA), %10 Fetal Calf serum (PAN Biotech, Aidenbach, Germany) 1mM SodyumPürivat (PAN Biotech, Aidenbach, Germany).1 mM L- Glutamin (Sigma Aldrich, Darmstadt, Germany), 100U/ml Penisilin- 100

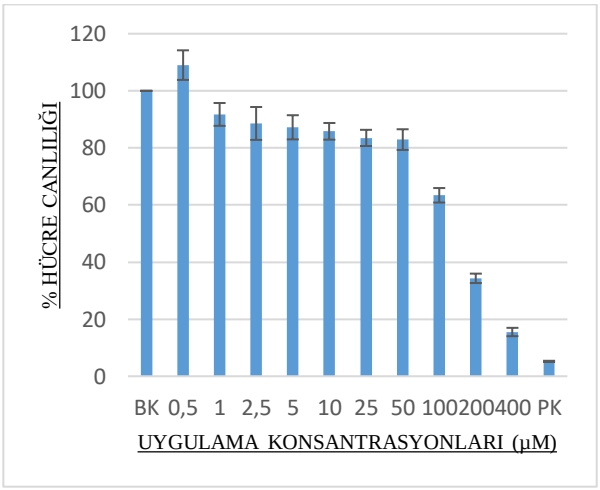
µg/ml Streptomisin (Bioch-rom AG, Berlin, Germany) ile oluşturulmuştur (Roehm ve ark., 1991).

XTT yöntemi üç tekrar olarak uygulanmış ve % canlılık değerlerinin ortalamaları verilmiştir. Yöntemde pozitif kontrol olarak H_2O_2 (300 µM) kullanılmıştır. Tekrar deneylerinde elde edilen % canlılık değerleri içerisinden seçilen dört farklı konsantrasyon ile oluşturulan grafiklerin fonksiyon denkleminden IC 50 değerleri hesaplanmış ve ortalama olarak verilmiştir.

XTT testi sonrasında elde edilen % canlılık değerleri Şekil 10 ve Şekil 11'de verilmiştir.



Şekil 10. [Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O için XTT sonucunda elde edilen % hücre canlılık değerleri grafiği.
(BK; Büyüme Kontrol, PK; Pozitif Kontrol H_2O_2)



Şekil 11. [Ni(pdca)(phen)H_2O] için XTT sonucunda elde edilen % hücre canlılık değerleri grafiği.
(BK; Büyüme Kontrol, PK; Pozitif Kontrol H_2O_2)

SONUÇ

[Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O, [Co_2(pdca)$_2$(H_2O)$_5$].2H_2O, [Ni(pdca)(phen)H_2O] ve [Ni(pdca)$_2$] kompleksleri sentezlendi. Komplekslerin yapıları X-ışınları tek kristal difraksiyon yöntemi, FT-IR, UV-Vis. ve elementel analiz yöntemleriyle karakterize edildi. Sentezlenen komplekslerin bozulmuş oktahedral geometri oluşturdukları gözlendi. XTT sonucunda elde edilen % hücre canlılık değerlerine bakıldığında [Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O ve [Ni(pdca)(phen)H_2O] kompleksleri için konsantrasyon arttıkça hücre canlılığının azaldığı görülmektedir.

Elde edilen sonuçlardan [Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O kompleksi için IC50 değeri 37,286 ± 17,318 (R^2= 0,829 ± 0,007) ve [Ni(pdca)(phen)H_2O] kompleksi için IC 50 değeri 195,786 ±

10,713 µM (R^2= 0,903 ± 0,012) belirlendi. IC 50 değerlerine bakıldığında [Co(pdca)(phen)H_2O].H_2O kompleksinin daha aktif olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

1) Aghabozorg, H., Manteghi, F., Sheshmani S 2008. *Journal of the Iranian Chemical,* 5(2): 184-227.

2) Bailey, G.F., Karp, S., Sacks, T.E 1965. Ultraviolet-absorption spectra of dry bacterial spores. *J. Bacteriol.,* 89: 984-987.

3) Kanai, Y 1990. Simultane ousdetermination of iron(II) and iron(III) oxides in geological materials by ion chromatography. *Analyst,* 115: 809-812.

4) Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM, Glasebrook AL 1991. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. J Immunol Methods 13:142(2):257-65.

5) Setlow, B., and Setlow, P 1993. Dipicolinic Acid Greatly Enhances Production of Spore Photoproduct in Bacterial Sporesupon UV Irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.,* 59(2): 640-643.

6) Wang, X.L., Qin, C., Wang, E., Changwen, H., Xu, L 2004. *J. Mol. Struct.,* 692: 187-193.