

## مطالعه برهمکنش کمپلکس های نیکل (II) دارای لیگاندهای آروماتیک مسطح با DNA غده تیموس

زهره اسمعیل زایی\*<sup>+</sup>

زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات سیستان و بلوچستان

علی اکبر صبوری<sup>•</sup>

تهران، دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک

حسن منصوری ترشیزی

زاهدان، دانشگاه سیستان و بلوچستان، دانشکده علوم، گروه شیمی

مریم سعیدی فر

کرج، پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته

عادلہ دیوسالار

تهران، دانشگاه خوارزمی، گروه علوم زیستی

**چکیده:** سه کمپلکس نیکل با فرمول های  $[Ni(bpy)_2](NO_3)_2$ ،  $[Ni(phen)_2](NO_3)_2$ ،  $[Ni(en)_2](NO_3)_2$  (به ترتیب **a** و **b** و **c**) که در آنها  $en$ =اتیلن دی آمین،  $bpy$ = ۲ و ۲-بی پیریدین و  $phen$ = ۱ و ۱۰ فنانترویلین است تهیه شد. ساختار این کمپلکس ها توسط روش های طیف سنجی فرا بنفش، فرورسرخ، رزونانس مغناطیسی هسته و روش های هدایت سنجی و تجزیه عنصری شناسایی شد. برهمکنش این سه کمپلکس محلول در آب با DNA غده تیموس به روش های جذب الکترونیکی، فلوروسانس و ژل فیلتراسیون مطالعه شد. این کمپلکس ها می توانند DNA در غلظت های بسیار کم، غیرطبیعی کنند. برهمکنش بین کمپلکس های **b** و **c** که دارای لیگاندهای آروماتیک و مسطح هستند، شاید از نوع اینترکیلشن باشد. همچنین، کمپلکس **c** می تواند DNA را به دو قطعه برش داده و با هر دو برهمکنش داشته باشد.

**واژه های کلیدی:** کمپلکس های نیکل، برهمکنش با DNA، اینترکیلشن.

**KEY WORDS:** Nickel complexes, Interaction with DNA, Intercalation.

+E-mail: hamoon\_985@yahoo.co.in

\*عهده دار مکاتبات

• نشانی دیگر: تهران، دانشگاه تهران، قطب بیوترمودینامیک

## مقدمه

برخی از کمپلکس‌های عنصرهای واسطه می‌توانند با DNA سلول برهمکنش نموده و تغییرهایی در ساختار آن ایجاد نمایند. در نتیجه این ترکیب‌ها می‌توانند نقش دارو، عامل ردیاب، ضد باکتری، ضد ویروس، ضد آفات نباتی و غیره را بازی نمایند [۱، ۲]. در بین این کمپلکس‌ها، آنهایی که دارای لیگاندهای مسطح و آروماتیک هستند می‌توانند به روش اینترکیلشن با DNA وارد واکنش شده و مؤثرتر عمل نمایند. ۲ و ۲- بی پیریدین (bpy) و (۱۰ فناترولین (phen) از جمله لیگاندهای آروماتیک مسطحی هستند که با آنها کمپلکس‌های فراوانی تهیه و گزارش شده است [۱۱-۳].

فلز نیکل با آرایش الکترونی  $d^8$  مانند بیشتر عناصر واسطه، می‌تواند به عنوان عنصر تجمع دهنده لیگاندها به دور خود عمل نماید. تجمع لیگاندها در اطراف عنصرهای با آرایش الکترونی  $d^8$  به طور عمده در آرایش مربع مسطح صورت می‌پذیرد. بنابراین اگر لیگاندها نیز آروماتیک و مسطح باشند، خواهند توانست در صفحه مربعی نیکل قرار گرفته و کمپلکس از گستره بیشتری برخوردار شود [۱۳، ۱۲]. از سوی دیگر گزارش‌ها نشان‌دهنده آن است که  $Ni^{+2}$  سرطانزاست (مانند بقایای نیکل که به عنوان کاتالیست در دهیدروژناسیون روغن‌های نباتی استفاده می‌شود). دلیل این امر شاید به خاطر تخریب ژنها<sup>(۱)</sup> باشد [۱۳، ۱۲] همچنین اگر نیکل با لیگاندهای بسیار کمپلکس شود، قدرت تخریب ژنها افزایش می‌یابد [۲۴-۱۴].

مقاله‌های زیادی در مورد شیمی کوئوردیناسیون لیگاندهای ۱ و ۱۰ فناترولین و ۲ و ۲- بی پیریدین با نیکل در حالت اکسایش II به چاپ رسیده است [۲۷-۲۵]. این لیگاندها دارای سامانه  $\pi$  غیر مستقر بوده در نتیجه توانایی پذیرش  $\pi$  کیلیت شدن آنها در شکل پنج ضلعی با نیکل بالاست. همچنین تعداد زیادی از کمپلکس‌های نیکل با مخلوطی از لیگاندهای bpy و phen گزارش شده است [۳۵-۲۸].

با توجه به اینکه مطالعات اندکی در زمینه برهمکنش کمپلکس‌های نیکل با DNA گزارش شده است [۳۶]، بر آن شدیم که در این زمینه گامی هر چند کوتاه برداریم. این پژوهش شامل سنتز سه کمپلکس نیکل با اندک تغییر در روش گزارش شده [۳۷] و سپس شناسایی آنها به روش‌های اسپکتروسکوپی و غیر اسپکتروسکوپی است. کمپلکس a به گونه‌ای طراحی شد که مسطح نباشد ولی کمپلکس‌های b و c مسطح مربعی بوده و بتوانند در DNA اینترکیلشن شوند. سپس برهمکنش کیفی این ترکیب‌ها با DNA

غده تیموس گوساله مطالعه و اثبات شد. در ادامه نوع برهمکنش بررسی شد و سرانجام امکان برش عرضی DNA توسط کمپلکس‌های b و c مطالعه شد. مطالعه‌های ضد میکروبی، ضد ویروس و ضد آفات نباتی این ترکیب‌ها در دست انجام است.

مطالعه برهمکنش کمپلکس‌های پالادیوم و پلاتین با DNA خیلی زیاد و به ویژه توسط نویسندگان این مقاله انجام شده است [۳۸-۴۲]. مطالعه برهمکنش کمپلکس‌های نیکل با DNA هرچند خیلی کمتر گزارش شده است، اما با توجه به ویژگی‌های یون نیکل، به تازگی مورد توجه قرار گرفته است [۴۳]. افزون بر این، نیکل با دو عنصر Pt و Pd هم خانواده است و با توجه به اینکه از نظر سینتیکی نسبت به این دو تغییر پذیرتر<sup>(۲)</sup> است، کارایی ضد سرطان ندارد ولی می‌تواند با DNA باکتری‌ها، ویروس‌ها و یا آفات نباتی برهمکنش داشته و هم‌زمان ایجاد اختلال کرده یا باعث از بین بردن و یا جلوگیری از رشد و تکثیر آنها شود. این‌گونه مطالعه‌ها و با این هدف برای کمپلکس‌های نیکل یا در مراجع نیست و یا بسیار کم است. بنابراین موردهای گفته شده می‌توانند نکات قوت و به عبارتی نوآوری کار باشند.

## بخش تجربی

## مواد و دستگاه‌ها

حلال‌های مورد استفاده، استونیتریل، متانل و دی اتیل اتر از شرکت Merck آلمان خریداری و استن و اتانول تجاری بوده که قبل از مصرف تقطیر شدند. واکنش‌گرهای مورد استفاده عبارتند از: ۱ و ۱۰- فناترولین، ۲ و ۲- بی پیریدین و ۱ و ۲- اتیلن دی آمین از شرکت Merck آلمان، دی اکسی ربیونوکلئیک اسید، تریس بافر و سفادکس G-25 از شرکت Aldrich خریداری شده و بدون خلص سازی مورد استفاده قرار گرفتند.

طیف‌های فروسرخ کمپلکس‌ها به صورت قرص KBr در بازه  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  توسط دستگاه Shimadzu FT-IR مدل ۴۶۰ ثبت شدند. طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون توسط دستگاه FT-NMR AC- Brocker ۲۵۰، مگاهرتز مدل OPX 300 در بازه ۱۲-۰ ppm با استفاده از استاندارد داخلی TMS ثبت شدند. طیف‌های جذب الکترونی توسط دستگاه UV-Vis Jasco مدل ۸۵۰ ثبت شدند. هدایت الکتریکی مولی کمپلکس‌های تهیه شده توسط دستگاه HANNA, HC-215 R-4-37 (Romania) در محیط آبی با استفاده از آب دو بار تقطیر انجام گرفت.

(۱) Genotoxicity

(۲) Labile

تا حجم محلول در هر دو سل به دو برابر حجم اولیه (۳/۶ میلی لیتر) رسید. حال منحنی جذب‌های خوانده شده در مقابل غلظت‌های گوناگون از هر یک از کمپلکس‌های b یا c رسم شد.

### کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون توسط سفادکس G-25

ابتدا ۱۰۰ میکرو لیتر DNA (با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به ۲/۴ میلی لیتر بافر تریس افزوده و به آرامی هم زده شد تا محلول یکنواختی به دست آید. این محلول به بالای ستون کروماتوگرافی افزوده شد. (ستون دارای ۴ گرم سفادکس G-25 خیس شده در بافر، طول ستون ۴۰ سانتی متر و قطر آن یک سانتی متر بود) سپس طی ۵ مرحله (هر مرحله ۰/۵ میلی لیتر) بافر تریس به بالای ستون افزوده و پس از هر مرحله اجازه داده شد تا بافر در سفادکس وارد شود. در ادامه ستون از بافر پر شد و مقدار زیادی بافر از ستون عبور داده شد. در همان حال خروجی‌های ستون در حجم‌های ۲ میلی لیتر در لوله‌های آزمایش جداگانه جمع آوری شد (۱۰ خروجی، هر کدام ۲ میلی لیتر کافی بود). سپس جذب این ده خروجی در طول موج ۲۵۸ نانومتر برای DNA و در طول موج ۳۰۰ نانومتر برای هر یک از کمپلکس‌های b و c یادداشت شد. با رسم جذب‌ها بر حسب خروجی‌های ستون، کروماتوگرام مربوط به هر یک از کمپلکس‌های b و c تهیه شد.

### برهمکنش کمپلکس‌های a، b و c با DNA به کمک طیف سنجی فلورئورسانس

در این آزمایش تمایل هر یک از کمپلکس‌های a، b و c برای اینترکیلیت شدن بین جفت بازهای DNA، در رقابت با اتیدیوم برمید بررسی شد. ابتدا شدت فلورئورسانس مخلوط دارای ۲ میکرو مولار اتیدیوم برمید و ۶۰ میکرومولار DNA ثبت شد (بازده کوانتومی اتیدیوم برمید در ۴۷۱ نانومتر بیشترین مقدار است). بنابراین محلول‌ها در این طول موج تهییج شدند و نشر فلورئورسانس آنها بین ۷۰۰-۵۴۰ نانومتر ثبت شد. سپس غلظت‌های متفاوتی از هر یک از کمپلکس‌های a یا b یا c به طور جداگانه به محلول اتیدیوم برومید-DNA تزریق شد و پس از هر تزریق، طیف فلورئورسانس آنها روی یک برگه کاغذ ثبت شد (شکل ۳ الف، ب و ج را ببینید).

ثابت سل در آزمایش هدایت سنجی معادل واحد بود. طیف‌های فلورئورسانس توسط دستگاه اسپکتروفلوئوریمتر MPF-4-Hitachi ثبت شد. تجزیه عنصری ترکیب‌ها برای یافتن درصد کربن، هیدروژن و اکسیژن توسط دستگاه Herause CHNO-RAPID elemental analyzer انجام شد.

### روش تهیه کمپلکس‌های نیکل

[Ni(en)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> bis (ethylenediamine) nickel (II) nitrate (a)  
[Ni(bpy)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> bis (2,2- bipyridine) nickel (II) nitrate (b)  
[Ni(phen)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> bis (1,10 phenanthroline) nickel (II) nitrate (c)

۲ میلی مول (۰/۵۸۲ گرم) از Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>۲</sub>·۶H<sub>2</sub>O در ۱۵ میلی لیتر اتانول تجاری تقطیر شده حل شد. به این محلول درحالی که به شدت هم زده می‌شد، محلولی از دی آمین [چهار میلی مول (۰/۲۷ میلی لیتر) از اتیلن دی آمین یا چهار میلی مول (۰/۶۲۴ گرم) از ۲ و ۲- بی پیریدین و یا چهار میلی مول (۰/۷۹۲ گرم) از ۱ و ۱۰ فنانترولین] حل شده در ۲۰ میلی لیتر اتانول به صورت قطره قطره و به مدت نیم ساعت افزوده شد. در این مرحله رنگ محلول از سبز کم‌رنگ به بنفش تغییر کرد که نشانه انجام واکنش است. این ترکیب شونده‌ها در دمای ۴۰ درجه سلسیوس هم زده شدند تا همراه با کامل شدن واکنش، حلال نیز تبخیر شود. رسوب باقی مانده در ته ظرف، خشک و پودر شد. سپس در ۱۵ میلی لیتر مخلوط ۱:۴ از استونیتریل- متانول حل، صاف و تحت نفوذ دی اتیل اتر در یک ظرف شیشه‌ای که درب آن به طور کامل بسته شده بود قرار داده شد. بعد از ۷۲ ساعت بلورهای بنفش شبیه دانه‌های شکر تشکیل شد. این بلورها صاف و با کمی دی اتیل اتر شستشو داده شد. بازده بین ۷۹-۸۳ درصد به دست آمد.

### روش غیر طبیعی شدن DNA در حضور کمپلکس‌های a, b, c

ابتدا به هر یک از دو سل UV-vis مقدار ۱/۸ میلی لیتر بافر تریس افزوده و دستگاه صفر شد. سپس از سل نمونه ۲۵ میکرولیتر بافر برداشته و به همان اندازه از محلول DNA (با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر) افزوده شد و جذب آن در طول موج ۲۵۸ نانومتر یادداشت شد. سپس در دمای ثابت ۳۷ درجه سلسیوس، ۲۵ میکرولیتر از محلول کمپلکس b یا c (با غلظت ۳×۱۰<sup>-۳</sup> مولار) به هر دو سل نمونه و مرجع افزوده شد و پس از گذشت سه دقیقه جذب آن یادداشت شد. این افزایش در فاصله‌های سه دقیقه آن قدر تکرار و جذب‌ها یادداشت شد

## نتیجه‌ها و بحث

در این پژوهش سه کمپلکس نیکل با فرمول کلی  $[\text{Ni}(\text{dam})_2](\text{NO}_3)_2$  که در آنها dam عبارت است از: ۱و۲- اتیلن دی آمین (a)، ۲و۲- بی پیریدین (b) و ۱و۱ فنانترویلین (c)، با اندکی تغییر در روش مرجع [۲۸] تهیه شد. ساختار این کمپلکس‌ها به روش‌های اسپکتروسکوپی IR،  $^1\text{H NMR}$ ، UV-Vis و روش‌های هدایت سنجی و تجزیه عنصری شناسایی شد. از بین این سه ترکیب، b و c که دارای لیگاندهای آروماتیک بوده، دارای شکل هندسی مسطح مربع هستند که انتظار می‌رود با DNA برهمکنشی از نوع اینترکلیشن داشته باشند درحالی که کمپلکس a مسطح نیست و انتظار می‌رود نوع برهمکنش آن اتصال شیاری باشد. مطالعات ضد میکروب، ضد ویروس و ضد آفات نباتی این ترکیب‌ها در دست اقدام است. شناسایی و برهمکنش این ترکیب‌ها با DNA غده تیموس بحث و بررسی می‌شود.

## شناسایی کمپلکس‌های نیکل

## طیف‌های فروسرخ (IR spectra)

مهمترین نوارهای شاخص لیگاندهای phen و bpy توسط *واد دی بوئل* و همکاران [۴۴] بررسی و گزارش شده است. آنها نوارهای کششی ظاهر شده در بازه  $1624\text{cm}^{-1}$  -  $1615\text{cm}^{-1}$  را به کوئوردینه شدن یک دندان و نوار در بازه  $1604\text{cm}^{-1}$  -  $1590\text{cm}^{-1}$  را به کوئوردینه شدن دو دندان لیگاندهای phen و bpy نسبت داده‌اند. در طیف‌های IR کمپلکس‌های b و c این نوار در  $1600\text{cm}^{-1}$  برای کمپلکس بی پیریدین و در  $1586\text{cm}^{-1}$  برای کمپلکس فنانترویلین دیده شد. که این نشان دهنده کوئوردینه شدن بی پیریدین و فنانترویلین به صورت دو دندان به فلز نیکل است.

در کمپلکس  $[\text{Ni}(\text{en})_2](\text{NO}_3)_2$ ، مطالعه‌های تجزیه اشعه ایکس [۴۵] نشان می‌دهد که اگر en به صورت کیلیت یا دو دندان به فلز کوئوردینه شده باشد، حتماً در کانفورماسیون gauche (بیچیده، تابدار، ناصاف) است که در این حالت کمپلکس دو نوار از نوع rocking (تکان نوسانی این سو و آن سو) در بازه‌های  $920\text{cm}^{-1}$  -  $890\text{cm}^{-1}$  و  $825\text{cm}^{-1}$  -  $855\text{cm}^{-1}$  نشان می‌دهد. این نوارها به علت نوسان گروه‌های  $\text{CH}_2$  در کانفورماسیون gauche می‌باشند. در کمپلکس  $[\text{Ni}(\text{en})_2](\text{NO}_3)_2$  نیز همین نوار در ناحیه  $825\text{cm}^{-1}$  دیده شد که دلیل بر کوئوردینه شدن اتیلن دی آمین به صورت

دو دندان است. همچنین نوار دیده شده در ناحیه  $1393\text{cm}^{-1}$  به گروه  $\text{NO}_3^-$  کوئوردینه نشده (یون همراه) نسبت داده می‌شود [۴۶].

## طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون (1H NMR spectra)

این طیف‌ها در حلال  $\text{D}_2\text{O}$  و با استفاده از استاندارد داخلی TMS ثبت شدند. در طیف کمپلکس a، پروتون‌های ۱و۲- اتیلن دی آمین دو دسته اند. اولی پروتون‌های متصل به نیتروژن آمینی که با حلال  $\text{D}_2\text{O}$  تعویض<sup>(۱)</sup> شده‌اند و به این علت سیگنالی ظاهر نمی‌شود. دوم پروتون‌های متیلنی این پروتون‌ها به طور هم زمان در ناحیه ۱/۴۶ ppm و در شکل یک سیگنال یکتایی به نسبت پهن رزونانس نموده‌اند. پهن بودن این سیگنال شاید به دلیل نزدیکی پروتون‌ها با نیتروژن‌های آمین می‌باشد.

در طیف کمپلکس‌ها b و c، پروتون‌های دو لیگاند ۲و۲- بی پیریدین در بازه ۱۶-۱۴ ppm و پروتون‌های ۱و۱ فنانترویلین در بازه ۱۸-۱۵ ppm به صورت سیگنال‌های به نسبت پهن رزونانس نموده‌اند. پهن بودن این سیگنال‌ها شاید به دلیل این است که حلقه‌های دو لیگاند bpy و phen در دو طرف یون نیکل در فضای به طور کامل یکسانی قرار ندارند یعنی آرایش هر کدام از این دو لیگاند در اطراف یون  $\text{Ni}^{+2}$  مربع مسطح منظم نیست و تا حدودی انحراف (distortion) دارد. شایان توجه است که بازه سیگنال‌ها و انتگراسیون آنها با لیگاندهای مربوط به هر یک از کمپلکس‌ها مطابقت دارد.

## طیف‌های جذب الکترونی (UV-Vis spectra)

یافته‌های مربوط به طیف‌های جذب الکترونی کمپلکس‌های a، b و c در جدول ۱ گردآوری شده است. همان‌گونه که در این جدول نشان داده شده در طیف‌های جذب الکترونی کمپلکس‌های  $[\text{Ni}(\text{phen})_2](\text{NO}_3)_2$  و  $[\text{Ni}(\text{bpy})_2](\text{NO}_3)_2$  چهار نوار دیده شد. نوار I و II که در این دو کمپلکس به هم نزدیک و همپوشانی دارند، به انتقال بار از نیکل به ابر  $\pi$  لیگاندهای bpy و phen نسبت داده می‌شود زیرا با ثبت طیف این کمپلکس‌ها در حلال‌های دی متیل فرم آمید، استونیتریل و آب این نوارها به مقدار ۱۵-۱۰ نانومتر به طرف طول موج‌های بالاتر جابجایی نشان می‌دهند (Blue shift). سایر نوارها به انتقالات  $\pi \rightarrow \pi^*$  و  $n \rightarrow \pi^*$  لیگاندهای bpy یا phen نسبت داده می‌شود [۴۷]. تنها نوار جذبی دیده شده در طیف  $[\text{Ni}(\text{en})_2](\text{NO}_3)_2$  به انتقالات  $n \rightarrow \delta^*$  و یا  $\delta \rightarrow \delta^*$  نسبت داده می‌شود.

(1) Exchange

جدول ۱- یافته‌های مربوط به طیف‌های UV-Vis کمپلکس‌های a، b و c در محیط آبی.

کمپلکس	غلظت		نوار I	نوار II	نوار III	نوار IV
			$\lambda(\log\epsilon)$	$\lambda(\log\epsilon)$	$\lambda(\log\epsilon)$	$\lambda(\log\epsilon)$
$[\text{Ni}(\text{en})_2](\text{NO}_3)_2$	a	$1/4 \times 10^{-3}$	—	—	—	۲۰۶(۲,۸۵۳)
$[\text{Ni}(\text{bpy})_2](\text{NO}_3)_2$	b	$1/4 \times 10^{-3}$	۳۰۶(۳,۱۵۴)	۲۹۶(۲,۶۹۸)	۲۴۳(۲,۸۹۵)	۲۰۲(۲,۸۵۳)
$[\text{Ni}(\text{phen})_2](\text{NO}_3)_2$	c	$3 \times 10^{-3}$	۳۰۰(۲,۸۲۳)	۲۹۲(۲,۷۶۵)	۲۶۹(۲,۷۲۶)	۲۲۵(۲,۲۲۱)

جدول ۲- یافته‌های مربوط به تجزیه عنصری و هدایت مولی کمپلکس‌های a، b و c.

کمپلکس	جرم مولکولی		درصد کربن		درصد هیدروژن		درصد نیتروژن		هدایت مولی ( $\text{cm}^2/\Omega.\text{Mol}$ )
			تجربی	نظری	تجربی	نظری	تجربی	نظری	
$[\text{Ni}(\text{en})_2](\text{NO}_3)_2$	a	۳۰۳	۱۵,۸۱	۱۵,۸۴	۵,۳۲	۵,۲۸	۲۷,۷۷	۲۷,۷۲	۲۴۰
$[\text{Ni}(\text{bpy})_2](\text{NO}_3)_2$	b	۴۹۵	۴۸,۵۰	۴۸,۴۸	۳,۲۶	۳,۲۳	۱۶,۹۵	۱۶,۹۷	۲۶۰
$[\text{Ni}(\text{phen})_2](\text{NO}_3)_2$	c	۵۴۳	۵۳,۰۸	۵۳,۰۳	۲,۹۰	۲,۹۴	۱۵,۴۲	۱۵,۴۸	۲۶۳

یافته‌های هدایت الکتریکی مولی کمپلکس‌های a، b و c در جدول ۲ گردآوری شده است. با مقایسه این یافته‌ها با داده‌های هدایت مولی گزارش شده (جدول ۳) [۴۸]، هدایت مولی این کمپلکس‌ها با هدایت مولی الکترولیت‌های ۱:۲ مطابقت دارد. این بدان معنی است که با حل کردن هر مول از هر یک از این کمپلکس‌های فوق، سه مول یون  $(\text{NO}_3)_2$  و یک یون کمپلکس با دو بار مثبت  $[\text{Ni}(\text{dam})]^{+2}$  به دست می‌آید.

جدول ۳- بازه کلی هدایت مولی محلول الکترولیت ترکیب‌های یونی.

تعداد یون	هدایت مولی ( $\lambda$ ) ( $\text{cm}^2/\Omega.\text{mol}$ )
۲	۱۱۸-۱۳۱
۳	۲۳۵-۲۷۳
۴	۴۰۳-۴۳۵
۵	۵۶۰

## تجزیه عنصری

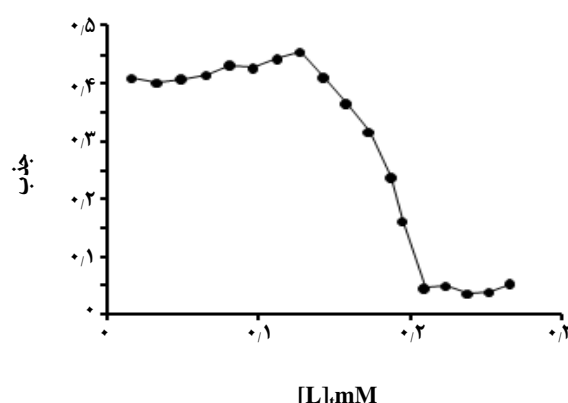
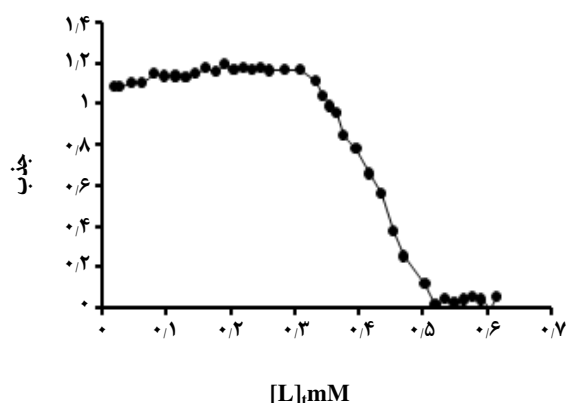
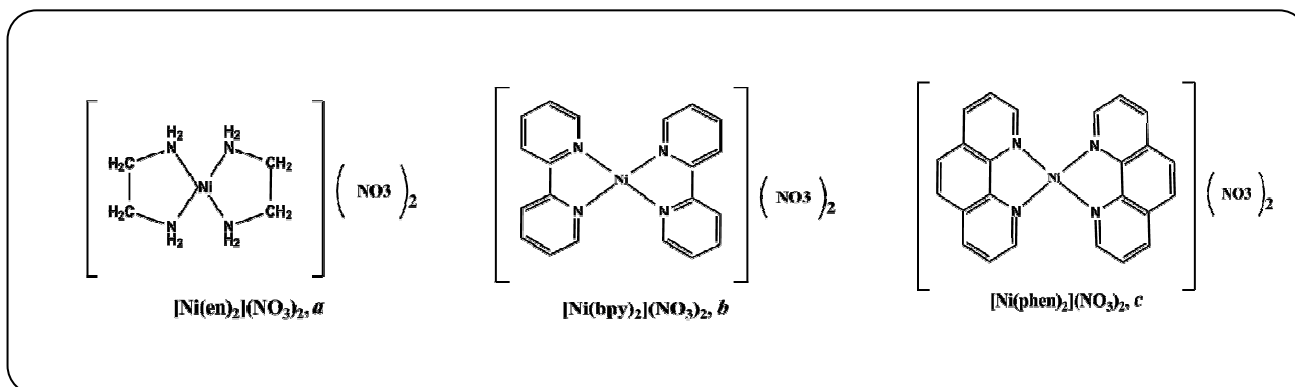
نتیجه آزمایش تجزیه عنصری کربن، هیدروژن و نیتروژن برای کمپلکس‌های a، b و c در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به مطابقت یافته‌های تجربی و تئوری گزارش شده در این جدول می‌توان نتیجه گرفت که این کمپلکس‌ها از درصد خلوص بالایی برخوردارند.

بر اساس مطالعه طیف‌های IR،  $^1\text{H NMR}$  و UV-Vis و یافته‌های هدایت مولی و تجزیه عنصری، ساختار کمپلکس‌های a، b و c پیشنهاد می‌شوند.

## هدایت سنجی

هدایت کمپلکس‌های تهیه شده در محیط آبی، با غلظت  $2 \times 10^{-3}$  و ثابت سل معادل واحد، اندازه‌گیری و به کمک معادله زیر هدایت مولی آنها محاسبه شد.

$$\lambda(\text{cm}^2) \times (\text{ohm})^{-1} \times (\text{mol})^{-1} = \frac{0.01 \times \text{هدایت سل} \times (\text{هدایت آب مقطر} - \text{هدایت کمپلکس})}{\text{غلظت کمپلکس}}$$



شکل ۱- منحنی غیر طبیعی شدن DNA، الف) در حضور کمپلکس  $[\text{Ni}(\text{bpy})_2(\text{NO}_3)_2]$  ب) و در حضور کمپلکس  $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{NO}_3)_2]$  c در حلال تریس بافر، pH=۷ و دمای ۳۷ درجه سلسیوس.

با عنوان غیر طبیعی شدن DNA در حضور کمپلکس فلزی بحث شده است که نشان دهنده وجود برهمکنش بین DNA و کمپلکس است.

در این فرایند هنگامی که نسبت غلظت کمپلکس به DNA برابر  $4/38$  برای کمپلکس b و  $1/62$  برای کمپلکس c است، غیر طبیعی شدن آغاز می‌شود و زمانی که این نسبت  $9/99$  برای کمپلکس b و  $2/74$  برای کمپلکس c می‌باشد غیر طبیعی شدن کامل شده است. این نسبت‌ها نشان می‌دهد کمپلکس c در غلظت‌های کمتر و کمپلکس b در غلظت‌های بیشتر DNA را غیر طبیعی می‌کنند. بنابراین کمپلکس c از توانمندی بیشتری برای برهمکنش با DNA برخوردار است. این امر شاید به دلیل این است که کمپلکس c که دارای لیگاند فنانترولین می‌باشد دارای سه حلقه آروماتیک و مسطح است در حالی که کمپلکس b دو حلقه دارد. این نتیجه‌ها نشان می‌دهد که اگر نوع برهمکنش را

#### برهمکنش کمپلکس‌های a، b و c با DNA غده تیموس

این بخش از پژوهش شامل سه آزمایش متفاوت است. در این آزمایش‌ها بیشتر روی برهمکنش کمپلکس‌های b و c با DNA تمرکز شد زیرا این دو کمپلکس مسطح مربع بوده و از توانمندی پیوند شدن در شکل اینترکیلیشن برخوردارند.

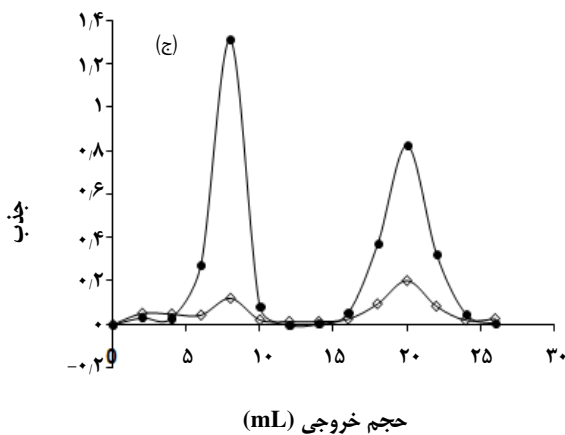
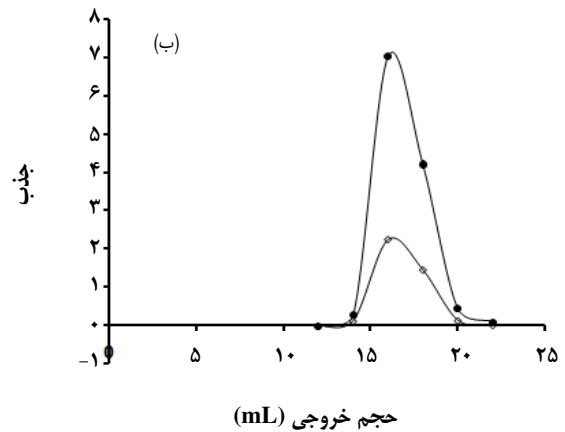
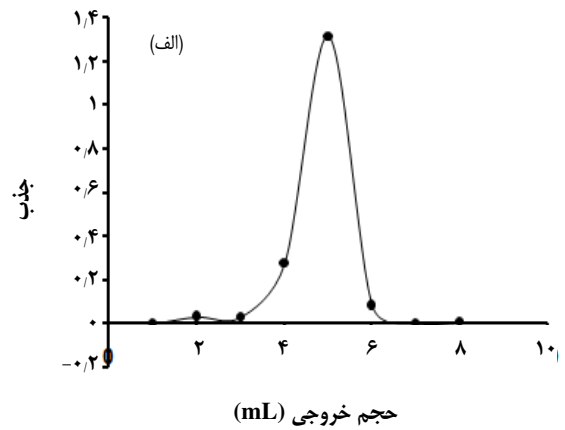
#### الف) غیر طبیعی شدن DNA در حضور کمپلکس‌های b و c

این آزمایش مطابق روش توضیح داده شده در بخش تجربی انجام شد. در واقع مقدار ثابتی از DNA با مقدارهای متفاوتی از هر یک از کمپلکس‌های b یا c تیترو پس از هر بار، افزایش جذب در ناحیه  $258 \text{ nm}$  ثبت شد. منحنی جذب در مقابل غلظت‌های متفاوت هر یک از کمپلکس‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که این منحنی‌ها نشان می‌دهند، با افزایش غلظت کمپلکس جذب تغییر (کاهش) می‌یابد. این تغییرها در منابع

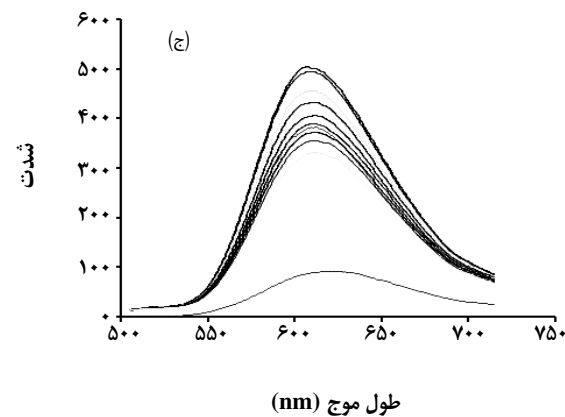
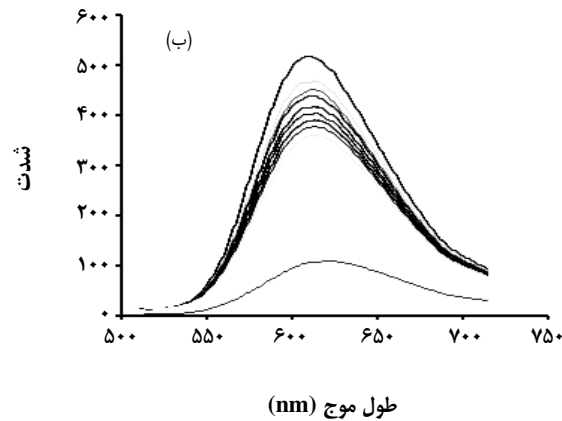
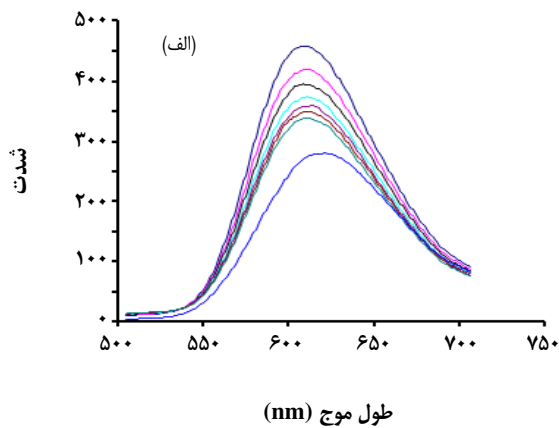
اینترکیلشن در نظر گرفته شود. روشن است که phen با سه حلقه بهتر از bpy با دو حلقه اینترکیلشن می‌شود. در فرایند غیر طبیعی شدن، پارامتر  $[L]_{1/2}$  یعنی غلظتی از کمپلکس که در آن غلظت ۵۰ درصد از واکنش غیرطبیعی شدن کامل شده است. مقدار  $[L]_{1/2}$  برای کمپلکس b و c به ترتیب ۰/۴۱ و ۰/۱۸ میلی مول است. این پارامتر برای این واکنش و در این شرایط عددی ثابت است و هر چه مقدار آن کمتر باشد، ترکیب مورد مطالعه دارای فعالیت بیشتر برای انجام واکنش است.

#### (ب) کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون توسط سفادکس G-25

هدف از انجام این آزمایش تعیین قدرت نسبی پیوند بین هر یک از کمپلکس‌های فلزی در برهمکنش با DNA است. همان‌گونه که می‌دانیم در کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون مولکول‌های درشت‌تر تندتر از ستون عبور می‌کنند و مولکول‌های کوچکتر با تاخیر بیشتر. در این آزمایش ابتدا فقط محلول DNA از ستون عبور داده شد و خروجی‌های ستون در حجم‌های ۲ میلی لیتری جمع آوری و جذب آنها در ۲۵۸ نانومتر ثبت شد. منحنی جذب بر حسب حجم خروجی‌های ستون در شکل ۲ (الف) نشان داده شده است. در این کروماتوگرام تنها یک پیک دیده می‌شود که نشان دهنده این است که رشته‌های DNA خارج شده از ستون دارای طول زنجیر به تقریب یکسان هستند. زیرا اگر DNA قطعه قطعه و مخلوطی از رشته‌های با طول زنجیر متفاوت باشد این قطعه‌ها با سرعت متفاوت از ستون خارج شده و در کروماتوگرام بیش از یک پیک وجود خواهد داشت. در مرحله بعد، پس از شستشوی ستون با آب مقطر، مخلوطی از محلول DNA و کمپلکس فلزی پس از هر برهمکنش از ستون عبور داده شد. خروجی‌های ستون در حجم‌های ۲ میلی لیتر جمع‌آوری و جذب آنها در ۲۵۸ نانومتر برای DNA و ۳۰۰ نانومتر برای کمپلکس فلزی ثبت شد. سپس جذب‌ها در مقابل حجم خروجی‌ها رسم شد. کروماتوگرام به دست آمده برای کمپلکس b و c به ترتیب در شکل ۲ (ب) و (ج) نشان داده شده است. در کروماتوگرام کمپلکس b پیک‌های مربوط به DNA و کمپلکس از یکدیگر جدا نیستند. این مسئله نشان می‌دهد که بین DNA و کمپلکس برهمکنش وجود دارد. همچنین پیوند بین این دو به حد کافی قوی بوده که ضمن عبور از ستون نشکسته و هر دو با هم از ستون خارج شدند. زیرا اگر پیوند ضعیف می‌بود کروماتوگرام دو پیک یکی برای DNA و دومی برای کمپلکس فلزی



شکل ۲- کروماتوگرام محلول‌های الف) DNA تنها (ب) مخلوط کمپلکس  $[\text{Ni}(\text{bpy})_2](\text{NO}_3)_2$  و DNA (ج) مخلوط کمپلکس  $[\text{Ni}(\text{phen})_2](\text{NO}_3)_2$  و DNA عبور داده شده از ستون کروماتوگرافی سفادکس G-25. حلال تریس بافر، pH=7 و دما ۳۷ درجه سلسیوس.



شکل ۳- تغییر شدت فلوروسانس برای اتیدیوم برمید (8) و EtBr-DNA در عدم حضور (1) و در حضور غلظت‌های متفاوت (2-7) از کمپلکس‌های الف)  $a[\text{Ni}(\text{en})_2(\text{NO}_3)_2]$  ب)  $b[\text{Ni}(\text{bpy})_2(\text{NO}_3)_2]$  و ج)  $c[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{NO}_3)_2]$ .

نشان می‌داد. در کروماتوگرام کمپلکس c، مانند کمپلکس b پیکهای مربوط به DNA و کمپلکس از یکدیگر جدا نیستند ولی در دو محل ظاهر شده‌اند. این مشاهده بیانگر این است که کمپلکس فلزی DNA را به دو قطعه یکی کوچکتر (سمت راست) و دیگری بزرگتر (سمت چپ) برش داده و با هر دو قطعه برهمکنش داشته است.

نتیجه‌ای که از این آزمایش گرفته می‌شود این است که کمپلکس b فقط با DNA برهمکنش داشته درحالی که کمپلکس c نه تنها با DNA برهمکنش داشته بلکه آن را دو قطعه کرده و با هر دو نیز برهمکنش داشته است. این نتیجه مانند نتیجه به دست آمده از آزمایش غیر طبیعی کردن DNA نیز بیانگر عملکرد قویتر کمپلکس c از b است.

**ج) شیوه برهمکنش کمپلکس‌های a، b و c با DNA به کمک طیف سنجی فلوروسانس**  
از آنجا که در محلول آبی کمپلکس‌های a، b و c، در حضور و بدون حضور DNA پدیده نشر نور (فلوروسانس) دیده نشد، بررسی نوع پیوند این ترکیبات با DNA به صورت مستقیم امکان‌پذیر نمی‌باشد. بنابراین ابتدا جایگاه‌های مناسب تشکیل پیوند اینترکلیشن در DNA (فاصله مسطح بین جفت بازها در DNA)، با افزایش اتیدیوم برمید (EBr) به صورت یکی در میان اشغال شد [۴۹، ۵۰]. این برهمکنش باعث می‌شود شدت طیف نشری فلوروسانس EBr-DNA نسبت به EBr تنها، حدود ۲۰ مرتبه افزایش یابد. دلیل این افزایش، قرار گرفتن سه حلقه آروماتیک و مسطح فنانتزیدینیوم از مولکول EBr در بین بازهای آلی DNA، ناحیه‌ای که آگریز بوده و در اثر تداخل ابر الکترونی بالا و پایین صفحه آروماتیک از مولکول EBr با ابر الکترونی پایین و بالا از بازهای آلی DNA، نه تنها نشر فلوروسانس خاموش نمی‌شود بلکه تشدید می‌شود. به عبارت دیگر اینترکلیشن EBr در DNA باعث افزایش سطوح انرژی حالت برانگیخته در EBr-DNA شده و این مولکول از نظر فلوروسانس فعال‌تر می‌شود. بعد از اشباع جایگاه‌های پیوند اینترکلیشن موجود در DNA توسط اتیدیوم برمید، محلول به دست آمده یعنی DNA- اتیدیوم برمید توسط هر یک از کمپلکس‌های b یا c که دارای لیگاندهای آروماتیک مسطح هستند تیترا شد. در این صورت اگر با افزایش غلظت هر یک از کمپلکس‌های فلزی شدت نشر فلوروسانس DNA- اتیدیوم برمید کاهش یابد مشخص می‌شود که کمپلکس فلزی، مولکول‌های اتیدیوم برمید را از بین بازهای آلی



### نتیجه‌گیری

سه کمپلکس نیکل با لیگاندهای اتیلن دی آمین a، ۲ و ۲- بی پیریدین b و ۱ و ۱۰ فنانترولین c تهیه شد. یافته‌های طیف سنجی و غیر طیف سنجی این ترکیب‌ها با ساختار پیشنهادی آنها مطابقت داشت. هر سه کمپلکس با DNA غده تیموس برهمکنش داشته و می‌توانند در غلظت‌های بسیار پایین DNA را دناتور کنند. کمپلکس a به شیوه اتصال شیاری و کمپلکس‌های b و c به شیوه اینترکیلشن با DNA برهمکنش می‌نمایند. کمپلکس c، DNA را دو قطعه کرده و با هر دو برهم‌کنش دارد.

### قدردانی

از گروه شیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان و بخش بیوفیزیک در مرکز تحقیقات بیوشیمی، بیوفیزیک دانشگاه تهران بابت همکاری ارزنده تشکر و قدردانی می‌شود. از حمایت‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد زاهدان نیز سپاسگزاریم.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۱۳

DNA بیرون رانده و خود جایگزین شده یعنی بین کمپلکس فلزی و اتیدیم برمید برای اشغال جایگاه‌های پیوندی رقابت وجود داشته و در این رقابت کمپلکس فلزی که دارای بار مثبت نیز می‌باشد به دلیل تمایل برهمکنش بیشتر برنده شده است. شایان توجه است که در فرایند تیتراسیون DNA- اتیدیم برمید، با تزریق هر یک از این کمپلکس‌های فلزی و افزایش اینترکیلشن شدن آن در DNA، شدت نشر کاهش می‌یابد زیرا در DNA- کمپلکس فلزی پدیده نشر نور فلوئورسانس دیده نشد. از طرف دیگر، چنانچه در طی تزریق‌های اولیه کاهش شدت فلوئورسانس در DNA- اتیدیم برمید چشمگیر باشد، احتمال می‌رود که کمپلکس فلزی به صورت اینترکیلشن پیوند شود ولی اگر کاهش شدت با غلظت‌های بالایی از کمپلکس فلزی انجام پذیرد، احتمال انجام پیوند به روش اتصال شیاری بالاست. شکل ۳ الف، ب) و ج) نشان می‌دهند که کمپلکس‌های b و c به روش اتصال اینترکیلشن و کمپلکس a به روش اتصال شیاری با DNA پیوند شده‌اند. این مشاهده با شکل هندسی این ترکیب‌ها نیز مطابقت دارد. زیرا کمپلکس‌های b و c مسطح و آروماتیک هستند در حالی که کمپلکس a غیر مسطح و غیر آروماتیک است.

### مراجع

- [1] Hillman R.E., Dandliker P.J., Barton J.K., Charge Transfer through the DNA Base Stack, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **36**, p. 2714 (1977).
- [2] Dupureur C., Barton J.K., "Comprehensive Supramolecular Chemistry", Lehn J-M., (ed.) Pergamon, New York, **5**, p. 295 (1977).
- [3] Amani S., Zolgharnein J., Theriot L.J., Synthesis of Binuclear MonohydroxoBridged Copper (II) Complexes with 1,10-Phenanthroline and 4,4 -dimethyl - 2,2 – bipyrdine, *Iran. J. Chem. Chem. Eng.*, **19**(1), p. 1 (1998).
- [4] Mesmaeker A. K-D., Lecomte.J-P., Kelly J.M., Photoreactions of Metal Complexes with DNA, Especially those Involving a Primary Photo-Electron Transfer, *Topics Curr. Chem.*, **177**, p.25 (1996).
- [5] Norden B., Lincoln P., Akerman B., Tuite E., "Metalions in Biological Systems: Probing of Nucleic Acids by Metal Ion Complexes of Small Molecules", Sigel A., Sigel H., (eds) Marcel Dekker, New York, **33**, p. 177 (1996).
- [6] Sigman D.S, Mazumder. A., Perrin D.M., Chemical Nucleases, *J. Chem. Rev.*, **93**, p. 2295 (1993).
- [7] Murphy C.J., Barton. J. K., Ruthenium Complexes as Luminescent Reporters of DNA, *Meth.Enzymol.*, **226**, p. 576 (1993).

- [8] Turro N.J, Barton J. K, Tamalia. D.A, Molecular Recognition and Chemistry in Restricted Reaction Spaces. Photophysics and Photoinduced Electron Transfer on the Surfaces of Micelles, Dendrimers and DNA, *J. Acc. Chem. Res.*, **24**, p. 332 (1991)
- [9] Pyle A.M, Barton J.K, Probing Nucleic Acids with Transition Metal Complexes, *J. Prog. Inorg. Chem.*, **38**, p. 413 (1990).
- [10] Tullis T.D (ed.), "Metal-DNA chemistry. ACS Symposium Series", Am. Chem. Soc., Washington, DC, **402** (1989).
- [11] Barton J.K, Metals and DNA: Molecular Left – Handed Complements, *Science*, **233**, p. 727 (1986).
- [12] Kawanishi S, Oikawa S, Inoue S, Nishino K, Distinct Mechanisms of Oxidative DNA Damage Induced by Carcinogenic Nickel Subsulfide and Nickel Oxides, *J. Environ. Health Perspect.*, **110**, p. 789 (2002).
- [13] Badisa V.L, Latinwo L.M, Odewumi C.O, Ikediobi C.O, Badisa R.B., Ayuk-Takem L.T., Woga J.N., West J., Mechanism of DNA Damage by Cadmium and Interplay of Antioxidant Enzymes and Agents, *J. Environ. Toxicol.*, **22**, p. 144 (2007).
- [14] Matkar S.S., Wrischnik L.A, Jones P.R., Hellman-Blumberg U., Two Closely Related Nickel Complexes Have Different Effects on DNA Damage and Cell Viability, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **343**, p. 754 (2006).
- [15] Illan-Cabeza N.A, Vilaplana R.A, Alvarez Y., Akdi K., Kamah S., Hueso-Urena F., Quiros M., Gonzalez-Vilchez F., Moreno-Carretero M.N., Synthesis, Structure and Biological Activity of a New and Efficient Cd(II)-uracil Derivative Complex System for Cleavage of DNA, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **10**, p. 924 (2005).
- [16] Afrasiabi Z., Sinn E., Lin W., Ma Y., Campana C., Padhye S., Nickel(II) Complexes of Naphthaquinone Thiosemicarbazone and Semicarbazone: Synthesis, Structure, Spectroscopy and Biological Activity, *J. Inorg. Biochem.*, **98**, p. 1526 (2005).
- [17] Fang Y.Y., Claussen C.A., Lipkowitz K.B., Long E.C., Diastereoselective DNA Cleavage Recognition by Ni(II) x Gly-Gly-His-Derived Metallopeptides, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, p. 3198 (2006).
- [18] Kaczmarek P., Szczepanik W., Jezowska-Bojczuk M., Acid-base, Coordination and Oxidative Properties of Systems Containing ATP, L-histidine and Ni(II) Ions, *Dalton Trans.*, **34**, p. 3653 (2005).
- [19] Kirin S.I, Happel C.M, Hrubanova S., Weyhermuller T., Klein C., Metzler-Nolte N., Synthesis, structure and DNA Cleavage Propensity of Metal Complexes M(II)L with the N-(2-ethoxyethanol)-bis(2-picolyl)amine Ligand L (M = Co, Ni, Cu and Zn), *Dalton. Trans.*, **33**, p. 1201 (2004).
- [20] Muller J.G., Chen X., Dadiz C., Rokita S.E., Burrows C. J., Ligand Effects Associated with the Intrinsic Selectivity of DNA Oxidation Promoted by Nickel(II) Macrocyclic Complexes, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, p. 6407 (1992).

- [21] Reddy P.R, Rao K.S, Ternary Nickel(II) Complexes as Hydrolytic DNA-Cleavage Agents, *Chem.Biodivers.*, **3**, p. 231 (2006).
- [22] Rodriguez-Arguelles M.C, Ferrari M.B, Biscegli F., Pellizi C, Pelosi.G., Pinelli S., Sassi M., Synthesis, Characterization and Biological Activity of Ni, Cu and Zn Complexes of IsatinHydrazones, *J. Inorg.Biochem.*, **98**, p. 313 (2004).
- [23] Song Y.M, Wu Q., Yang P.J., Luan N.N, Wang L.F, Liu Y.M, DNA Binding and Cleavage Activity of Ni(II) Complexwith All-trans Retinoic Acid, *J. Inorg. Biochem.*, **100**, p. 1685 (2006).
- [24] Rahimizadeh M., Rajabzadeh G., Preparation of Ethylenediamine by Ammonolysis of 1,2-Dichloroethane in NonaqueousMedia, *Iran. J. Chem. Chem. Eng.*, **14**(2), p. 1 (1995).
- [25] Lindoy L.F, Livingstone S.E., Complexes of Iron(II), Cobalt(II) and Nickel(II) with  $\alpha$ -Diimines and Related BidentateLigands, *Coord. Chem. Rev.*, **2**, p. 173 (1967).
- [26] McWhinnie W.R., Miller J.D., The Chemistry of Complexes Containing 2,2'-Bipyridyl, 1, 10-Phenanthroline, or 2,2',6',2''-Terpyridyl as Ligands, *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.*, **12**, p. 135 (1970).
- [27] McKenzie E.D.,The Steric Effect in Bis(2,2'-bipyridyl) and Bis(1,10-phenanthroline) Metal Compounds, *Coord. Chem. Rev.*, **6**, p. 187 (1971).
- [28] Wada A., Katayama C., Tanaka J., The Crystal Structure and Absolute Configuration of (+)<sub>589</sub>Tris(2,2'-bipyridyl)nickel(II) chloride (+)<sub>589</sub>-tartrate Hydrate, *[Ni(C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>.nH<sub>2</sub>O*, *Acta Crystallogr., Sect. B*, **32**, p. 3194 (1976).
- [29] Wada A., Sakabe N., Tanaka. J, The Crystal Structure of Tris(2,2'-bipyridyl)nickel(II) SulphateHydrate, *[Ni(C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>)<sub>3</sub>]SO<sub>4</sub>.7.5H<sub>2</sub>O*, *Acta Crystallogr. Sect. B*,**32**, p. 1121 (1976).
- [30] Butler K.R, Snow M.R., The Structure and Absolute Configuration of the (+)<sub>589</sub>Tris(1, 2-dithiooxalation)cobaltate (III) Ion, *J. Chem. Soc. (A)*, p. 565 (1971)
- [31] Frenz B.A, Ibers J.A., Crystal and Molecular Structure of Tris (1,10-phenanthroline)nickel(II) Pentacarbonylmanganate(-I), *[Ni(1,10-phen)3][Mn(CO)5]2*, *J. Inorg. Chem.*, **11**, p. 1109 (1972).
- [32] Butcher R.J., Sinn E., Synthesis and Relation between Magnetic and Structural Properties of a Series of Monomeric and DimericNickel(II) Complexes. Crystal and Molecular Structures of *[Ni(biq)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>*, *Ni(biq)Br<sub>2</sub>*, *[Ni(dmp)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>*, *[Ni(dmp)Br<sub>2</sub>]<sub>2</sub>* and *Ni(bc)I<sub>2</sub>*, *J. Inorg. Chem.*, **16**, p. 2334 (1977).
- [33] Butcher R.J., O'Connor C.J., Sinn E., Magnetic Properties of Some Monomeric and DimericNickel(II) Complexes *NiLX<sub>2</sub>* (L = 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline (dmp), 2,2'-biquinoyl, bathocuproine; X = chlorine, bromine, iodine) and the Crystal Structure of *Ni(dmp)I<sub>2</sub>*, *J. Inorg. Chem.*, **18**, p. 492 (1979).
- [34]Arora S.K., Carter D.E., Fernando Q., (2,2'-Bipyridyl)bis(O,O'-dimethyl Dithiophosphato) Nickel(II), *Acta Crystallogr., Sect. B*, **33**, p. 3230 (1977).

- [35] Shetty P.S., Fernando Q., Structures of Five- and Six-Coordinated Mixed-Ligand Chelates of Nickel(II) Containing Sulfur and Nitrogen Donor Atoms, *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, p. 3964 (1970).
- [36] Moosavi-Movahedi A.A., Godarzi M., Interaction Studies of Sodium N- Dodecyl Sulfate and Proton to Histon H1, *Iran. J. Chem. Chem. Eng.*, **3**, p. 3 (1989)
- [37] Omoregie O., Woods J., Synthesis and Physicochemical Studies of Nickel(II) Complexes of Various 2-Alkyl-1-phenyl-1,3-butanediones and Their 2,2'-Bipyridine and 1,10-Phenanthroline Adducts, *Int. J. Chem.*, **3**, p. 24 (2011).
- [38] Mansouri-Torshizi H., Saeidifar M., Divsalar A., Saboury A.A., Binding Studies of a Novel Antitumor Palladium(II) Complex to Calf Thymus DNA, *J.Nucleous. Nucleot.Nuc.Acids*, **30**, p. 405 (2011).
- [39] Divsalar A., Saboury A.A., Ahadi A., Zemanatiyar E., Bagheri M.J., Mansoori-Torshizi H., Ajloo D., Sarma R.H., Biological Evaluation and Interaction of a Newly Designed Anti-Cancer Pd(II) Complex and Human Serum Albumin, *J. Biomol. Struc. Dyn.*, **29**, p. 283, (2011).
- [40] Masouri-Torshizi H., Saeidifar M., Khosravi F., Divsalar A., Saboury A.A., Yekke-Ghasemi Z., DNA-Binding and Thermodynamic Parameters, Structure and Cytotoxicity of Newly Designed Platinum(II) and Palladium(II) Anti-Tumor Complexes, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **32**, p. 947 (2011).
- [41] Masouri-Torshizi H., Saeidifar M., YekkeGhasemi Z., Khastan M., Divsalar A., Saboury A.A., DNA Binding Studies and Cytotoxicity of the Novel 1,10-phenanthrolinePalladium(II) Complexes of Dithiocarbamate Derivatives, *J. Korean Chem. Soc.*, **55**, p. 70 (2011).
- [42] Masouri-Torshizi H., Saeidifar M., Divsalar A., Saboury A.A., Study on Interaction of DNA from Calf Thymus with 1,10-phenanthrolinehexyldithiocarbamatopalladium(II) nitrate as Potential Antitumor Agent, *J. Biomol. Struc. Dyn.*, **28**, p. 805 (2011).
- [43] Zhang Z., Wang S., Dong X., Photodynamic Activity of a Nickel Diimine Complex and Its Interaction with DNA, *J. Trans. Met. Chem.*, **37**, p. 379 (2012).
- [44] Van-Der Poel H., Van- Koten G., Vrieze K., Five-Coordinate [PtIIICl<sub>2</sub>(eta.2-olefin)L<sub>2</sub>] (L<sub>2</sub> = .sigma., SigmaN,N'-Bonded alpha-Diimine or N,N'-Disubstituted 1,2-Diaminoethane) Complexes. Solution Conformation, eta.2-olefin Rotational Barriers (NMR), and the x-Ray Molecular Structure of [PtCl<sub>2</sub>(eta.2-styrene) (t-Bu-N:CHCH:N-t-Bu)], *J. Inorg. Chem.*, **19**, p. 1145 (1980).
- [45] Rejitha K., Suresh M., Thermoanalytical Investigations of Tris(ethylenediamine)nickel(II) Oxalate and Sulphate Complexes, *J. Therm. Anal. Cal.*, **102**(3), p. 931 (2010).
- [46] Elduque A., Finestra C., Lopez C., Lahoz J.A., Merchan F.J., Oro F., Pinillos M.T., Rhodium Dithiocarbamate Compounds as Metalloligands: A Controlled Way for the Construction of Binuclear Complexes, *J.Inorg.Chem.*, **37**, p. 824 (1998).
- [47] Mansuri-Torshizi H., Akhbari-Shad M.H., Srivastava T.S., Synthesis, Two-Dimensional <sup>1</sup>HNMR Spectrum, and DNA Binding Studies of 2,2'-Bipyridine- 2-pyridinecarboxylato - Platinum (II) Nitrate, *Iran. J. Sci. Technol.*, **25**, p. 153 (2001).

- [48] Manav N., Mishra A.K., Kaushik N.K., In Vitro Antitumour and Antibacterial Studies of Some Pt(IV) Dithiocarbamate Complexes, *Spectrochim. Acta Part A*, **65**, p. 32 (2006).
- [49] Angelici R.J., "Synthesis Technique in Inorganic Chemistry", p. 17, Saunders, Philadelphia, (1969).
- [50] Lepecq J.B., Paoletti C., A Fluorescent Complex between Ethidium Bromide and Nucleic Acids: Physical-Chemical Characterization, *J. Mol. Biol.*, **27**, p. 87 (1967).
- [51] Howe-Grant M., Wu K.C., Bauer W.K., Lippard S.J., Binding of Platinum and Palladium Metallo Intercalation Reagents and Antitumor Drugs to Closed and Open DNAs, *Biochemistry*, **15**(19), p.4339 (1976).