

Deniz kabuklularında bulunan indigoid boyarmaddelerin metal etkileşimlerinin spektrofotometrik yöntemle incelenmesi

Çağlar DEMİRBAĞ, Emre DÖLEN

ÖZET

Renklendiriciler gündelik hayatımızda önemli bir yer tutmaktadırlar. Tekstil, gıda, ilaç ve kozmetik endüstrisinde yaygın olarak kullanılan sentetik boyarmaddelerin insan ve çevre sağlığı üzerine olan zararlı etkilerinden dolayı, günümüzde doğal boyarmaddelerin kullanımı giderek artmaktadır.

Deniz kabuklularından elde edilen indirubin, 6-bromo indirubin, 6'-bromo indirubin, 6,6'-dibromo indirubin, indigotin, 6-bromo indigotin ve 6,6'-dibromo indigotin boyarmaddeleri tarihte ilk kullanılan renklendiricilerdendir. Nesnelere renklendirmenin dışında birçok geleneksel tıp

reçetesinde de kullanılmışlardır. Günümüzde bu bileşiklerin kanser, diyabet gibi hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek yeni analogları da sentezlenmektedir.

Boyama sırasında metalle mordanlama işlemi çok önemlidir. Mordanlamada kullanılan metalle boyarmadde arasındaki etkileşim boyamanın kalitesini etkileyen en önemli faktördür. Bu çalışmada deniz kabuklularından elde edilen indigo analogu yedi tane boyarmaddenin alüminyum(III) ve kalay(II) metalleri ile olan etkileşimleri spektrofotometrik yöntemle incelenmiştir.

Anahar Kelimeler: İndigo, doğal boyarmadde, kalay (II), alüminyum (III), UV-VIS spektrofotometri

Çağlar Demirbağ, Emre Dölen
Marmara University, School of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Haydarpaşa 34668 İstanbul, Turkey

Yazı Sorumlusu:
Çağlar DEMİRBAĞ
Marmara University, School of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry
Tıbbiye Cad. 34668 İstanbul- TURKEY
Phone: +90 216 414 29 62
Fax: +90 216 345 29 52
E-mail: cdemirbag@marmara.edu.tr

GİRİŞ

İndirubin, 6-bromo indirubin, 6'-bromo indirubin, 6,6'-dibromo indirubin, indigotin, 6-bromo indigotin ve 6,6'-dibromo indigotin yaygın olarak *Muricidae* familyasına ait deniz kabuklularının hipobranşiyal salgıbezlerinde bulunan ve kromojen grup içeren prekürsör maddelerden elde edilen doğal boyarmaddelerdir (1, 3). İndoksilin sülfat esterleri yapısındaki bu kromojen gruplar suda çözünebilir, renksiz maddelerdir ve fotokimyasal bir tepkime sonucunda boyarmadde meydana gelir. Kromojen grupların taşıdığı farklı sübstitüentlerden dolayı oluşan boyarmaddelerin rengi de mavi ve mor aralığında değişmektedir (4).

Kabuğun kırılarak hayvanın hipobranşiyal bezi dışarı çıkarıldıktan sonra hücreler ölmeye başlar ve içerdikleri prekürsör moleküller aril-sülfataz, pürpuraz ve

bromoperoksidaz enzimleriyle tepkimeye girerek hidroliz olurlar ve sarı renkli indoksil türevleri oluşur. İndoksil türevleri ışığa maruz bırakıldığında meydana gelen fotokimyasal tepkime sonucunda kükürt taşıyan süstitüentleri serbest kalır ve mor renkli boyarmadde oluşur. İki pozisyonunda süstitüent taşımayan indoksil türevleri havayla okside olarak fotokimyasal tepkimeye ihtiyaç duymadan indigoid pigmentlere dönüşür. İşlem sonucunda oluşan mor bileşik indirubin, 6-monobromoindirubin, 6'-monobromo indirubin, 6,6'-dibromoindirubin, 6-monobromoindigotin, 6,6'-dibromoindigotin ve bazı durumlarda eser miktarda isatin içerebilir (5, 6).

Protein kinaz grubu enzimler hücrede farklılaşma, büyüme, proliferasyon, apoptosis kontrolü gibi aşamalarda rol oynarlar ve bu enzimleri aktive veya inhibe edecek ilaç olmaya aday bileşikler geliştirilerek kanser, diyabet, bipolar bozukluk gibi hastalıkların ve inflamasyonun tedavisi için kullanılmaları amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmaktadır (7, 8). İndirubin ve analoglarının protein kinaz grubu enzimlere van der Waals ve hidrojen bağları ile bağlanarak bahsi geçen enzimleri inhibe ya da aktive ettikleri ve indirubin-3'-monoksim molekülünün yüksek oranda hücre proliferasyonunu engellediği bildirilmiştir (9). Literatürde 6-bromoindirubinin ve 6-bromoindirubinin-3'-oksim analogunun glikojen sentez kinaz enziminin selektif inhibitörleri olduğunu ve kanser tedavisinde kullanılabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (10, 11).

Sentetik boyaların insan ve çevre sağlığı üzerinde zararlı etkileri vardır ve literatürde özellikle tekstil endüstrisinde kullanılan sentetik boyaların alerjik, karsinojenik ve mutajenik etkileri bildirilmektedir (12, 13). Tekstil renklendirilmesinde kullanılan ticari sentetik boyaların büyük bir kısmını ise azo boyalar oluşturmaktadır ve içerdikleri azo bağları nedeni ile parçalanmaya karşı dirençli olduklarından atık sularda yüksek oranlarda birikme potansiyeline sahiptirler (14).

İndigo türevi boyarmaddeler, yaygın olarak selüloz liflerinin boyanması için kullanılırlar. Bunlar indirgeme ile suda çözünür hale getirilirler ve bu halde iken elyafa çektirilirlir. Daha sonra oksidasyonla yeniden çözünmez hale getirilirler ancak boyarmadde ile malzeme arasında kimyasal bir bağ oluşumu gerçekleşmez. Bu nedenle mekanik etkiler ve ışık gibi nedenler ile malzeme bir süre sonra rengini kaybeder (3, 4). Boyarmaddenin malzeme üzerinde kalıcı olabilmesi için mordanlama yapılır. Boyarmaddelerin metal komplekslerinin oluşturulma işlemine mordanlama denir ve mordanlama işlemi sonucunda boyarmaddenin boyanacak malzemeye çeşitli kimyasal bağlarla bağlanması sağlanarak malzeme renklendirilir (20). Yapılan kaynak araştırmaları sonucunda deniz kabuklularından elde edilen

boyarmaddelerin herhangi bir metal ile etkileşimlerine dair bir veriye rastlanmamıştır. Çalışmamızda indigo türevi boyarmaddelerin asidik (pH=2.5) ortamda Al (III) ve Sn (II) metalleri ile olan etkileşimleri spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan *N,N*-Dimetilformamid (Merck 103053), Sodyum Hidroksit (Merck 106495), Hidroklorik asit (Merck 100316), Kalay (II) klorür (Merck 818150), Alüminyum sülfat 18-hidrat (Merck 101102) ticari olarak temin edilmiştir.

İndigotin -Sigma Aldrich firmalarından temin edilmiş; indirubin, 6-bromo indirubin, 6'-bromo indirubin, 6,6'-dibromo indirubin, 6-bromo indigotin ve 6,6'-dibromo indigotin boyarmaddelerinin ticari satışı mevcut olmadığından Avrupa Birliği 6. Çerçeve Programı FP6-2003-INCO-MPC-2 numaralı proje kapsamında sentezlenmişlerdir. İndigoid boyarmaddelerin molekül formülleri ve yaygın isimleri Tablo 1'de verilmiştir.

Standart Boyarmadde Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

İndirubin, 6-bromo indirubin, 6'-bromo indirubin, 6,6'-dibromo indirubin, indigotin, 6-bromo indigotin ve 6,6'-dibromo indigotin standart maddelerinin stok çözeltileri çözücü olarak *N,N*-dimetil formamid (DMF) kullanılarak, derişimleri 1×10^{-3} M olacak şekilde hazırlanmıştır.

Alüminyum(III) Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

$Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ stok çözeltisi derişimi 1×10^{-3} M olacak şekilde saf su ile hazırlanmıştır.

Kalay(II) Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

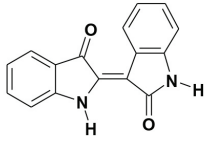
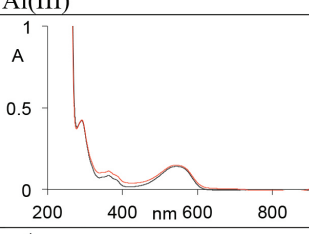
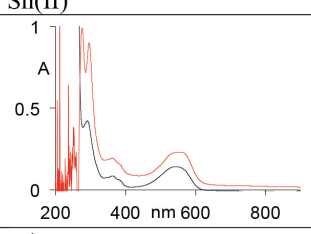
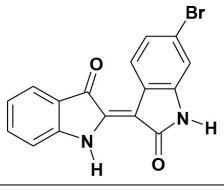
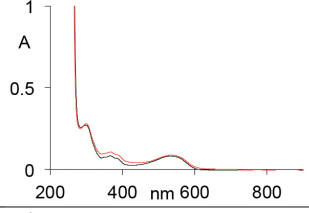
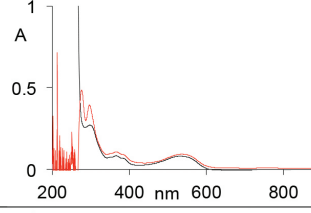
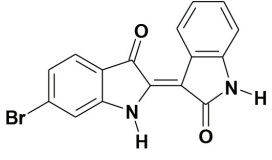
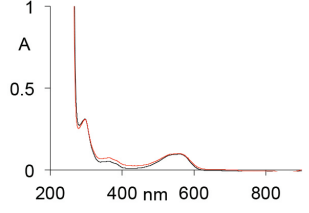
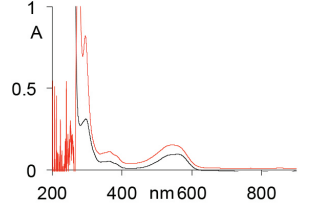
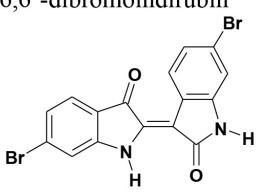
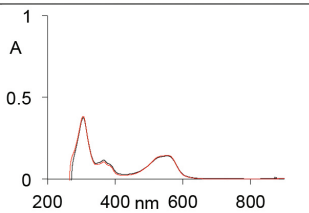
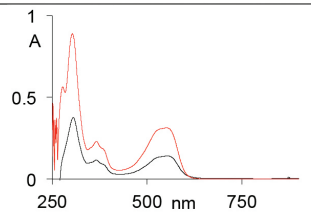
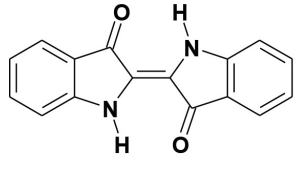
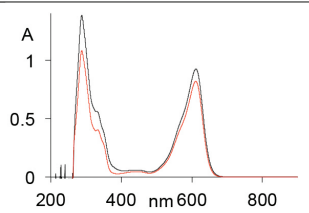
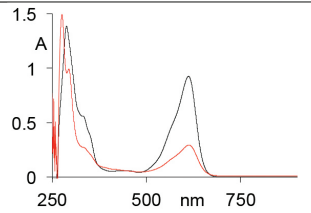
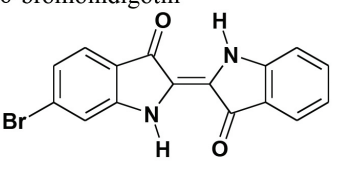
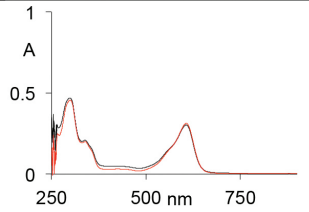
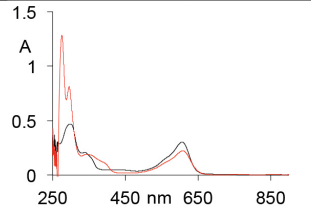
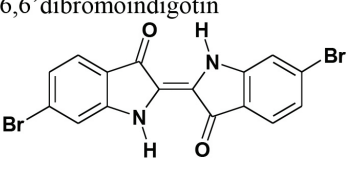
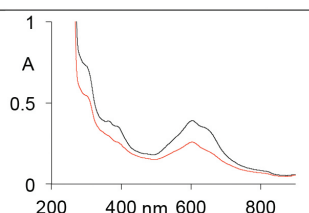
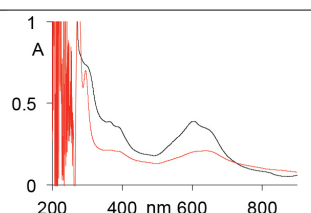
$SnCl_2$ stok çözeltisi derişimi 1×10^{-3} M olacak şekilde çözücü olarak 0,1M HCl çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır.

Çalışmada kullanılan çözeltiler bu stok çözeltilerden gerekli seyreltmeler yapılarak balon jojelerde hazırlanmıştır.

BULGULAR

Metallerin ve boyarmaddelerin stok çözeltilerinden son derişimleri 10^{-4} M olacak şekilde gerekli miktar alınarak karıştırılmıştır. Örneklerin hazırlanmasında çözücü olarak DMF kullanılmıştır.

Boyarmaddelerin spektrumlarının alınmasında kör olarak DMF kullanılmıştır. Boyarmadde metal etkileşim spektrumları alınırken ise kör olarak örneğin içerdiği

Boyarmadde	Al(III)	Sn(II)
İndirubin 		
6'-bromoindirubin 		
6-bromoindirubin 		
6,6'-dibromoindirubin 		
İndigotin 		
6-bromoindigotin 		
6,6'dibromoindigotin 		

Tablo 1. İndigoid boyarmaddelerin molekül formülleri, yaygın isimleri, UV-VIS spektrumları (Siyah spektrumlar: boyar maddelerin pH=2.5'da DMF'ye karşı, Kırmızı spektrumlar: boyarmaddelerin pH=2.5'da metal karışımlarının DMF'ye karşı alınmış spektrumları)

derişimde metal içeren çözeltiler kullanılmıştır. Örnek ve kör çözeltilerinin pH'ları aynı olacak şekilde HCl ve NaOH ile ayarlanmıştır.

Tablo 1'de pH=2.5'da boyarmaddelerin kendi spektrumları ve Al (III) ve Sn (II) metalleri ile olan etkileşim spektrumları gösterilmiştir.

Al (III) metali ile etkileşim spektrumları incelendiğinde indigotin ve 6,6'-dibromoindigotin boyarmaddelerinin absorpsanslarında düşme olduğu ancak spektrumun şeklinde bir değişimin olmadığı gözlenmektedir. Bu iki boyarmadde dışındaki indigoların absorpsanslarında da bir düşme olmakla birlikte indigotin ve 6,6'-dibromoindigotin'deki kadar bir absorpsans farkı yoktur.

Sn (II) metali ile olan etkileşim spektrumları incelendiğinde tüm boyarmaddelerin absorpsanslarında bir artış olduğu gözlenmektedir. Özellikle indigotin'in 620 nm dalga boyunda fark edilir bir absorpsans artışı olduğu görülmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada deniz kabuklularından elde edilen indirubin, 6'-bromoindirubin, 6-bromoindirubin, 6,6'-dibromoindirubin, indigotin, 6-bromoindigotin, 6,6'-dibromoindigotin boyarmaddelerinin asidik ortamda (pH=2,5) Al (III) ve Sn (II) metalleri ile olan etkileşimleri incelenmiştir.

Boyarmaddelerin sudaki çözünürlüklerinin düşüklüğü nedeni ile metallerle etkileşimleri potansiyometrik yöntemle tayin edilememiş ve bu nedenle spektrofotometrik yöntemle

incelenmiştir. Boyarmaddeler ortam pH'sına bağlı olarak moleküler ya da iyonik halde bulunurlar. Bu nedenle metal etkileşimlerinin incelenmesi asidik pH'larda yapılmıştır.

pH=2,5'da indigotin (Tablo 1) ve 6,6'-dibromoindigotin (Tablo 1) boyarmaddelerinin Al (III) metali ile etkileşim spektrumlarını bu maddelerin aynı koşullarda çekilmiş kendi spektrumları ile karşılaştırdığımızda absorpsansın düştüğü gözlenmiş diğer boyarmaddelerin spektrumlarında anlamlı bir değişme gözlenmemiştir.

pH=2,5'da tüm boyarmaddelerin Sn (II) ile olan etkileşim spektrumları, boyarmaddelerin kendi spektrumları (Tablo 1) ile kıyaslandığında hem absorpsansın yükseldiği hem de spektrumlarının şeklinin değiştiği gözlenmiştir.

Sn (II) etkileşim spektrumlarında absorpsansın yükselme nedeninin ise hem Sn(II)'nin organomolekül yapmaya olan eğilimi hem de Sn(II)'nin kovalent bağ yapma eğiliminin Al (III)'a kıyasla yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Boyarmaddelerin Sn (II) ile pH=2,5'da olan etkileşimlerinin Al (III) ile olan etkileşimlerinden daha kuvvetli olduğu görülmektedir. Ancak boyarmaddeler ile metaller arasında bir metal-ligand kompleksi oluşturacak kadar kuvvetli bir etkileşim mevcut değildir.

TEŞEKKÜRLER

Dr. Çağlar Demirbağ'ın doktora tezi Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (SAG-C-DRP-270109-0002) tarafından projelendirilmiş olup bu makale tez kaynaklıdır.

Investigation of Molluscan Indigoid Dyes-Metal Interaction with Spectrophotometric Method

SUMMARY

Synthetic dyes are widely used in textile, food, pharmaceutical and cosmetic industries and they have an important place in our daily lives. In recent years toxic effects of synthetic dyes on environment and human health have been reported and natural dyes have been proposed as an alternative colorants.

Indirubin, 6-bromo indirubin, 6'-bromo indirubin, 6,6'-dibromo indirubin, indigotin, 6-bromo indigotin and

6,6'-dibromo indigotin are molluscan dyes. These dyes are the first known colorants in history and they have been used in many traditional medical prescription. Recently their new analogues have been tested in treatment of cancer, diabetes and Alzheimer's diseases.

Mordanting process is very important in dyeing procedure. The interaction between mordant metal and dye is the most significant factor which is effecting the quality of the color. In this study we investigate the interaction of molluscan indigoid dyes with Al (III) and Sn (II) metals by spectrophotometric method.

Keywords: Indigo, Natural dye, Tin (II), Aluminium (III), UV-VIS spectrophotometry

KAYNAKLAR

1. Cardon D. Natural Dyes Sources, Tradition, Technology and Science. Archetype Publications Ltd, London. 2007. p. 607-710.
2. Hoessel R, Leclerc S, Endicott JA, Nobel MEM, Lawrie A, Tunnah P, Leost M, Damiens E, Marie D, Marko D, Niederberger E, Tang W, Eisenbrand G, Meijer L. Indirubin, the active constituent of a Chinese antileukaemia medicine, inhibits cyclin-dependent kinases. *Nat Cell Biol* 1999;1: 60-7.
3. Perkin AG, Everest AE. The Natural Organic Colouring Matters. Longmans, Green and Co, London. 1918.
4. Balfour-Paul J. Indigo. British Museum Press, London. 2000.
5. Meijer L, Guyard N, Skaltsounis L, Eisenbrand G. Indirubin, the red shade of indigo. *Life in Progress Editions*, Roscoff, France. 2006. p. 45-53.
6. Cooksey CJ. Tyrian purple: 6,6'-Dibromoindigo and related compounds. *Molecules* 2001; 6:736-69.
7. Noble MEM. Protein kinase inhibitors: Insights into drug design from structure. *Science* 2004;303:1800-5.
8. Nam S, Buettner R, Turkson J, Kim D, Cheng JQ, Muehlbeyer S, Hippe F, Vatter S, Merz KH, Eisenbrand G, Jove R, Vogt PK. Indirubin derivatives inhibit stat-3 signaling and induce apoptosis in human cancer cells. *P Natl Acad Sci USA* 2005;102: 5998-6003.
9. Nam S, Scuto A, Yang F, Chen W, Park S, Yoo HS, Konig H, Bhatia R, Cheng X, Merz KH, Eisenbrand G, Jove R. Indirubin derivatives induce apoptosis of chronic myelogenous leukemia cells involving inhibition of Stat5 signaling. *Mol Oncol* 2012;6: 276-83.
10. Moon MJ, Lee SK, Lee JW, Song WK, Kim SW, Kim JI, Cho C, Choia SJ, Kima YC. Synthesis and structure-activity relationships of novel indirubin derivatives as potent anti-proliferative agents with CDK2 inhibitory activities. *Bioorg Med Chem* 2006;14:237-46.
11. Meijer L, Skaltsounis AL, Magiatis P, Polychronopoulos P, Knockaert M, Leost M, Ryan XP, Vonica CA, Brivanlou A, Dajani R, Crovace C, Tarricone C, Musacchio A, Roe SM, Pearl L, Greengard P. GSK-3-Selective inhibitors derived from tyrian purple indirubins. *Chem Biol* 2003;10:1255-66.
12. Chavan, R.B. Environment-friendly dyeing processes for cotton. *Indian J Fibre Text* 2001;26:93-100.
13. Ryberg K, Isaksson M, Gruberger B, Hindsen M, Zimerson E, Bruze M. Contact allergy to textile dyes in southern sweden. *Contact Dermatitis* 2006;54: 313-21.
14. Seesuriyachana P, Takenakab S, Kuntiyaa A, Klayraung S, Murakamib S, Aokib K. Metabolism of azo dyes by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 and effects of various factors on decolorization. *Water Res* 2007;41: 985-92.