

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ NAFTALİMİT TÜREVLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖZDE GÜLBOY

AĞUSTOS 2023

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ NAFTALİMİT TÜREVLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gözde GÜLBOY

DANIŞMAN: Prof. Dr. Burak ÇOBAN

ZONGULDAK

Ağustos 2023

KABUL:

Gözde GÜLBOY tarafından hazırlanan “Yeni Naftalimit Türevlerinin Biyolojik Aktivitesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 28/08/2023

Danışman: Prof. Dr. Burak ÇOBAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü

Üye: Prof. Dr. Özlem DEMİRKIRAN

Trakya Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Ufuk YILDIZ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

....../....../20....

Prof. Dr. Fikret GÖLGELEYEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Gözde GÜLBOY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YENİ NAFTALİMİT TÜREVLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ

Gözde GÜLBOY

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Burak ÇOBAN

Ağustos 2023, 107 sayfa

Naftalimit türevleri antitümör, antiprotozoal, antibakteriyel ve antiviral ajanlar için çekirdek iskele görevi sağladığından farmakolojik öneme sahip aromatik heterosiklerdir. DNA'ya bağlanma özelliği sayesinde antiproliferatif etki göstererek etki eder. Son yıllarda birçok literatür özeti hazırlanmış ve naftalimitlerin yapı aktivite ilişkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda naftalimit halka sisteminin DNA baz çiftleri arasına interkalasyon yaparak bağlandığı ve halkanın çeşitli noktalarından yapılan sabstitüsyonlarla çeşitli aktiviteler elde edildiği anlaşılmıştır.

Bu çalışmada, naftalimit iskeleti anhidrit oksijeni üzerinden diaminopridin halkasını amin kollarından birinden bağlayarak elde ettiğimiz 2-(2-amino-4-bromo-pridin)-1H-benzo[de]isoquinoline-1,3(2H)-dione (G1) ve pridin azotu üzerinden alkilleyerek elde ettiğimiz katyonik bileşik (G2) sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin karakterizasyonu FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS analiz yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. DNA etkileşimleri üzerinde çalışılmıştır. Bileşiklerin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyonu, floresans, yarışmalı floresans, viskozimetri ve agaroz jel elektroforezi metotlarıyla çalışılmıştır.

ÖZET (devam ediyor)

Çalışma sonuçlarında anlaşıldığı üzere G1 bileşiğinin DNA ile etkileşimi zayıftır ve büyük ihtimalle kısmi interkalasyon olarak etki etmektedirler. Fakat katyonik bileşiğin (G2) ise spektrofotometrik yöntemlerle yapılan çalışmalarda DNA'ya interkalasyon yaptığı tespit edilmiştir. Bileşikler agaroz jel elektroforezinde plazmit DNA'ya hasar vermemiştir.

Anahtar Kelimeler: Naftalimit, DNA, interkalasyon, agaroz jel elektroforezi

Bilim Kodu: 405.05.00.



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW NAPHTHALIMIDE DERIVATIVES

Gözde GÜLBOY

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry**

Thesis Advisor: Prof. Dr. Burak ÇOBAN

June 2023, 107 pages

Naphthalimide derivatives are aromatic heterocycles of pharmacological importance as they provide core scaffolding for antitumor, antiprotozoal, antibacterial and antiviral agents. Thanks to its ability to bind to DNA, it acts by showing an antiproliferative effect. In recent years, many literature summaries have been prepared and the structure-activity relationships of naphthalimide have been examined. In the studies, it was understood that the naphthalimide ring system was connected by intercalating between DNA base pairs and various activities were obtained with the substitutions made from various points of the ring.

In this study, 2-(2-amino-4-bromo-pyridine)-1H-benzo[de]isoquinoline-1,3(2H)-dione (G1) and the cationic compound (G2), which we obtained by alkylating over pyridine imine, was synthesized. Characterization of the obtained compounds was performed by FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS analysis methods. DNA interactions have been studied. DNA interactions of compounds were studied by UV-Vis titration, fluorescence, competitive fluorescence, viscosimetry and agarose gel electrophoresis methods.

ABSTRACT (continued)

As understood in the results of the study, the interaction of G1 compound with DNA is weak and they probably act as partial intercalation. However, it has been determined that the cationic compound (G2) intercalates with DNA in studies with spectrophotometric methods. Compounds did not damage plasmid DNA in agarose gel electrophoresis.

Keywords: Naphthalimide, DNA, intercalation, agarose gel electrophoresis

Science Code: 405.05.00.



TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca desteği, yardımı, tüm bilgi birikimini, hoşgörüsünü ve anlayışını benden esirgemeyen, tüm sorunlarımda yanımda olan ve yol gösteren değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Burak ÇOBAN’a

Laboratuvar çalışmalarım boyunca hoşgörü, anlayış, meydana gelen bütün aksiliklerde her zaman yardımını isteyebildiğim, desteğini hiç esirgemeyen hayat tecrübeleriyle alakalı verdiği fikir ve tavsiyelerden dolayı hocam Doç. Dr. Ufuk YILDIZ’a,

Her zaman her koşulda yanımda olan desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen dostum Nilsu UZALDI’ya

Uzun yıllar boyunca hayatımda ve yanımda olan, her zaman her konuda destek olan dostum Gönül AYDEMİR’e

Yüksek lisans sürecinde ve sosyal yaşamda desteğini esirgemeyen Cansu ALKAN’a

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan beni bu günlere getiren babam olarak gördüğüm amcama, beni kendi evlatları gibi görüp yetiştiren halalarım, beni hiçbir şeyden mahrum bırakmayan babama, her nazımı çeken ve her istediğimi yapmaya çalışan anneme ve masum sevgisiyle iyiki yanımda olan tüylü dostum Buddy’e çok teşekkür ederim.

Bu çalışmaya maddi kaynak sağlayan Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi’ne teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL:	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxi
 BÖLÜM 1 GİRİŞ	 1
1.1 DNA VE YAPISI.....	1
1.2 DNA İLAÇ ETKİLEŞİMLERİ	7
1.2.1 Kovalent Bağlanma	8
1.2.2 Kovalent Olmayan Bağlanma	10
1.2.2.1 İnterkalasyon	10
1.2.2.2 Oyuk Bağlayıcılar	12
1.2.2.3 Dış bağlanma.....	13
1.3 KÜÇÜK MOLEKÜLLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER	 14
1.3.1 UV titrasyon yöntemi	14
1.3.2 Floresans Spektroskopisi.....	24
1.3.3 Yarışmalı floresans spektroskopisi	28
1.3.4 Viskozimetri	36
1.3.5 Agaroj jel elektroforez	42
1.4 NAFTALİMİD TÜREVLERİ VE DNA ETKİLEŞİMLERİ	47

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

BÖLÜM 2 GEREÇ VE YÖNTEM	63
2.1 MATERYALLER	63
2.1.1 Çözücü ve Kimyasallar	63
2.2 KULLANILAN CİHAZLAR.....	64
2.2.1 Infrared Spektrofotometresi	64
2.2.2 ¹ H-NMR Spektrofotometresi	64
2.2.3 UV/Vis Spektrofotometresi	64
2.2.4 Floresans Spektrometresi	64
2.2.5 ESI-MS	64
2.2.6 Jel Elektroforez.....	64
2.3 BİLEŞİKLERİN SENTEZİ	65
2.3.1 G1 Sentezi	65
2.3.2 G2 Sentezi	66
2.4 DNA ETKİLEŞİM ÇALIŞMALARI.....	67
2.4.1 UV Titrasyonu	67
2.4.2 Floresans Titrasyonu	67
2.4.2.1 Floresans Değişimi	67
2.4.2.2 EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması	68
2.4.2.3 DAPI ile Yarışmalı Floresans Çalışması	68
2.4.2.4 Hoechst ile Yarışmalı Floresans Çalışması	68
2.4.2.5 TO ile Yarışmalı Floresans Çalışması	69
2.4.3 Viskozite Çalışması	69
2.4.4 Agaroz Jel Elektroforez Çalışması	69
BÖLÜM 3 SONUÇLAR.....	71
3.1 BİLEŞİKLERİN KARAKTERİZASYONU	71
3.1.1 G1 Karakterizasyonu	71
3.1.2 G2 Karakterizasyonu	75
3.2 BİLEŞİKLERİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİ	79

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.2.1 UV Titrasyon Sonuçları.....	79
3.2.2 Floresans Titrasyon Sonuçları	82
3.2.2.1 Floresans Değişimi	82
3.2.3 Yarışmalı Floresans Sonuçları	84
3.2.3.1 EtBr ile Yarışmalı Floresans Sonuçları	85
3.2.3.2 DAPI ve Hoechst-33258 ile Yarışmalı Floresans Sonuçları	86
3.2.3.3 TO (tiyazol turuncusu) ile Yarışmalı Floresans Sonuçları	88
3.2.4 Viskozimetre Sonuçları	90
3.2.5 AgaroZ Jel Elektroforez Sonuçları.....	90
 BÖLÜM 4 SONUÇ	 93
 KAYNAKLAR.....	 95
 ÖZGEÇMİŞ	 107



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 DNA zinciri ve DNA sarmal yapısı.....	2
Şekil 1.2 DNA zinciri.	3
Şekil 1.3 Hidrojen bağları.	4
Şekil 1.4 Minör ve majör oluk.	5
Şekil 1.5 DNA- formları.....	6
Şekil 1.6 DNA replikasyonu.....	6
Şekil 1.7 Transkripsiyon ve Translasyon.....	7
Şekil 1.8 Cisplatinin DNA'ya bağlanması.....	9
Şekil 1.9 Cisplatinin DNA'ya kovalent olarak bağlanması.	9
Şekil 1.10 Kovalent olmayan etkileşim çeşitleri.	10
Şekil 1.11 İnterkalasyona uğramış DNA sarmalı.	11
Şekil 1.12 Adriamisin molekülünün (siyah) düz kısmının DNA'ya eklenmesini gösteren, sarmal yapının lokal çözülmesini gösteren şematik model.	12
Şekil 1.13 Netropsin ve Hoechst molekülünün minor oluğa bağlanması.	13
Şekil 1.14 Elektrostatik etkileşim bölgeleri. Yeşil küreler pozitif yüklü iyonlar olup, DNA'nın negatif yüklü kısmının etrafını sararak nötralize etmesi ve oluk bağlanan EtBr molekülü.	14
Şekil 1.15 UV spektrumunda kaymalar.....	16
Şekil 1.16 Bağlanma sabiti belirlenmesinde çizilen örnek grafik referans.	17
Şekil 1.17 Jiang ve arkadaşları (2014) $[Ru(phen)_2(dmdppz)]^{2+}$ ve $[Ru(bpy)_2(dmdppz)]^{2+}$ moleküllerin yapısı.	17
Şekil 1.18 Xu ve arkadaşları (2008) tarafından sentezlenen nikel kompleksinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve kompleksin yapısı.....	18
Şekil 1.19 Samuel ve arkadaşları (2012) Emodinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve emodin yapısı.	18
Şekil 1.20 Ataci ve arkadaşları (2020) TTA'nın artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve TTA yapısı.	19
Şekil 1.21 Chunfang ve arkadaşları (2020) B-norkolesterilbenzimidazolun artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve B- norkolesterilbenzimidazol yapısı.	19
Şekil 1.22 Li ve arkadaşları (2005) Mitoksantronun artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve mitoksantron yapısı.	20

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

No	Sayfa
Şekil 1.23 Kalanur ve arkadaşları (2009) GMB'nin artan DNA miktarıyla absorbsiyon spektrumundaki değişikliği ve GMB yapısı.	20
Şekil 1.24 Shahabadi ve arkadaşları (2016) Sitarabinin artan DNA miktarıyla absorbsiyon spektrumundaki değişikliği ve sitarabin yapısı.	21
Şekil 1.25 Kalar (2018) Atorvastatinin artan DNA miktarıyla absorbsiyon spektrumundaki değişikliği ve atorvastatin yapısı.	21
Şekil 1.26 Mohamadi ve arkadaşları (2015) Oleuropeinin artan DNA miktarıyla absorbsiyon spektrumundaki değişikliği ve oleuropein yapısı.	22
Şekil 1.27 Shahabadi ve arkadaşları (2013) mesalaminin artan DNA miktarıyla absorbsiyon spektrumundaki değişikliği ve mesalamin yapısı.	22
Şekil 1.28 Mukherjee ve Singh (2016) Kaptoprilinin artan DNA miktarıyla absorbsiyon spektrumundaki değişikliği ve kaptoprilin yapısı.	23
Şekil 1.29 Shuyun ve arkadaşları (2012) salbutamolun artan DNA miktarıyla absorbsiyon spektrumundaki değişikliği ve salbutamol yapısı.	23
Şekil 1.30 Shi ve arkadaşları (2017) boskalitin artan DNA miktarıyla absorbsiyon Spektrumundaki değişikliği ve boskalit yapısı.	24
Şekil 1.31 Sarwar ve arkadaşları (2014) kumarinin artan DNA miktarıyla absorbsiyon spektrumundaki değişikliği ve kumarin yapısı.	24
Şekil 1.32 Devi ve arkadaşları (2017) $[Ru(en)_2pyip]^{2+}$ kompleksinin değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu ve molekül yapısı	26
Şekil 1.33 Kalar (2018) atorvastatinin değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu ve atorvastatin yapısı.	26
Şekil 1.34 Shahabadi ve Hashempour (2017) sefaleksinin değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu ve sefaleksin yapısı.	27
Şekil 1.35 Shuyun ve arkadaşları (2012) Salbutamolun değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu ve salbutamol yapısı.	27
Şekil 1.36 Li ve arkadaşları (2005) MTX'in değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu.	28
Şekil 1.36 EtBr, Hoechst, Tiyazol Turuncusu ve DAPI boyaları.	29
Şekil 1.37 Haribabu ve arkadaşları (2017) EtBr-DNA kompleksinin değişen Ni(II) kompleksi miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu.	29
Şekil 1.38 a) Hoechst üzerine artan DNA çözeltisi eklenmesi ile oluşan floresans değişimi, b) Hoechst-DNA kompleksine ilaç molekülü eklendikçe oluşan floresans değişimi	30
Şekil 1.39 Sarwar ve arkadaşları (2014) kumarin bileşiği için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları a) EtBr b) Akridin Turuncusu c) Hoechst 33258.	31

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

No	Sayfa
Şekil 1.40 Shuyun ve arkadaşları (2019) furazolidon / furasilin bileşiği için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları (AO-DNA- Hoechst-DNA) ve furazolidon/ furasilin yapısı.	32
Şekil 1.41 Alam ve arkadaşları (2018) Sitral için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları (AO-DNA, Hoechst-DNA, EtBr-DNA) ve sitral yapısı.	33
Şekil 1.42 Shahabadi ve Bagheri (2014) Olanzapin için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları Hoechst-DNA ve olanzapinin yapısı.	34
Şekil 1.43 Shahabadi ve arkadaşları (2016) Sitarabin için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları Hoechst-DNA ve sitarabin yapısı.	34
Şekil 1.44 Karthikeyan ve arkadaşları (2017) Tiyadiazol için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrum değişimi (EtBr-DNA) ve tiyadiazol yapısı.	35
Şekil 1.45 Yıldızın (2017) yaptığı çalışmada TO-çift sarmal DNA kompleksi üzerine artan miktarlarda L-3 eklenmesiyle elde edilen emisyon spektrumu.	35
Şekil 1.46 Yıldızın (2017) yaptığı çalışmada TO-çift sarmal DNA kompleksi üzerine artan miktarlarda L-7 eklenmesiyle elde edilen emisyon spektrumu.	36
Şekil 1.47 Ubbelohde viskozimetresi.	36
Şekil 1.48 EtBr için örnek viskozimetrik titrasyon grafiği.	37
Şekil 1.49 Shahbadi ve arkadaşları (2010) Ag(I) kompleksinin molekül yapısı ve DNA viskozitesine etkisi.	38
Şekil 1.50 Abulhasanov ve arkadaşları (2020) $[Ni(phen)_2(dppzido)]^{2+}$ kompleksinin molekül yapısı ve DNA viskozitesine etkisi.	38
Şekil 1.51 Shahabadi ve Moghadam (2012) sumatriptanın DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.	39
Şekil 1.52 Sarwar ve arkadaşları (2014) kumarinin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.	39
Şekil 1.53 Shahabadi ve arkadaşları (2013) Mesalaminin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.	40
Şekil 1.54 Afrin ve arkadaşları (2017) tiklopidinin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.	40
Şekil 1.55 Shahabadi ve arkadaşları (2012) metforminin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.	41
Şekil 1.56 Kalar ve arkadaşları (2018) atorvastatinin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.	41
Şekil 1.57 Xiong ve arkadaşları (2016) hematoksilenin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.	42

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

No	Sayfa
Şekil 1.58 Yıldız ve Çoban (2019) $[Cu(dtb)(phen)]^{2+}$ kompleksinin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.....	42
Şekil 1.59 Farklı boyutlardaki moleküllerin jel üzerinde hareketi.....	43
Şekil 1.60 Plazmid DNA ve onun formlarına göre hızları.....	44
Şekil 1.61 Yao ve Qian (2000) oksazolonaftalimidlerin elektroforez sonuçları.....	44
Şekil 1.62 Li ve arkadaşları (2010) 1,2,3-triazol1,8-naftalimid türevlerinin elektroforez görüntüsü.....	45
Şekil 1.63 Çoban ve arkadaşları (2013) $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ ve $[Pt(bpy)(hpi)]^{+2}$ komplekslerin molekül yapısı.....	45
Şekil 1.64 Çoban ve arkadaşları (2013) $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ ve $[Pt(bpy)(hpi)]^{+2}$ kompleksleri için elektroforez sonuçları.....	46
Şekil 1.65 Kirthan ve arkadaşları (2020) Cu(II), Co(II) ve Ni(II) metal kompleksleri için elektroforez sonuçları.....	46
Şekil 1.66 Wang ve arkadaşları (2020) baicalin bileşiğinin elektroforez sonuçları.....	47
Şekil 1.67 Haris ve arkadaşları (2016) kurkumin bileşiğinin elektroforez sonuçları.....	47
Şekil 1.68 1,8-naftalimid yapısı.....	48
Şekil 1.69 Amonafid, elinafide, mitonafid, UNBS5162 ve bisnafide yapısı.....	49
Şekil 1.70 Mohammadhodaie ve arkadaşları (2010) <i>N</i> -ester-1,8-naftalimid yapısı.....	49
Şekil 1.71 Vohra ve arkadaşları (2009) Genel formül yapısı.....	50
Şekil 1.72 Singh ve arkadaşları (2020) fenantro[9,10- <i>d</i>]imidazol yapısı.....	51
Şekil 1.73 Wang ve arkadaşları (2011) bileşiklerin DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve bileşiklerin yapısı.....	51
Şekil 1.74 Rao ve arkadaşları (2018) Bileşiklerin DNA viskozitesine etkisi ve bileşiklerin sentezi ve yapıları.....	52
Şekil 1.75 Jia ve arkadaşları (2018) bileşiklerin DNA viskozitesine etkisi ve bileşiğin yapısı.....	52
Şekil 1.76 Nekvinda ve arkadaşları (2020) naftalimid-karboran konjugatı.....	53
Şekil 1.77 Ryan ve arkadaşları (2012) bileşiğin yapısı.....	53
Şekil 1.78 Rad ve arkadaşları (2019) 1,8-naftalimidin- β -laktam türevinin yapısı.....	54
Şekil 1.79 Wang ve arkadaşları (2018) naftalimid platin(IV) bileşiğinin DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve naftalimid platin(IV) yapısı.....	54
Şekil 1.80 Rong ve arkadaşları (2018) bileşiğin yapısı.....	55
Şekil 1.81 Huang ve arkadaşları (2018) Bileşiğin yapısı.....	55
Şekil 1.82 Tian ve arkadaşları (2016) bileşiğin yapısı.....	56
Şekil 1.83 Li ve arkadaşları (2007) bileşiklerin yapısı.....	56

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.84 Yang ve arkadaşları (2018) bileşiklerin yapısı.	57
Şekil 1.85 Brana ve arkadaşları (2002) bileşiğin yapısı.	57
Şekil 1.86 Li ve arkadaşları (2005) bileşiklerin yapısı.	58
Şekil 1.87 Xu ve arkadaşları (2005) bileşiklerin yapısı.	58
Şekil 1.88 Verma ve arkadaşları (2015) bileşiğin yapısı.	59
Şekil 1.89 Fan ve arkadaşları (2021) tripod ferrosenil bis-naftalimit türevi.	59
Şekil 1.90 Yıldız ve arkadaşları (2018; 2020) bileşiklerin yapısı.	60
Şekil 1.91 Baker ve arkadaşlarının (2021) NAP6 ve 10-Cl-BBQ bileşiklerinin ve sentezlenecek bileşiklerin (G1 ve G2) yapısı.	60
Şekil 2.1 G1 sentezi.	65
Şekil 2.2 G2 sentezi.	66
Şekil 3.1 G1'ye ait FT-IR spektrumu.	72
Şekil 3.2 G1'ye ait ESI-MS spektrumu.	73
Şekil 3.3 G1'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.	74
Şekil 3.4 G2'e ait FT-IR spektrumu.	76
Şekil 3.5 G2'e ait ESI-MS spektrumu.	77
Şekil 3.6 G2'e ait ¹ H-NMR spektrumu.	78
Şekil 3.7 G1 çözeltisinin DNA ile UV titrasyonu.	79
Şekil 3.8 G1 bileşiğinin [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε _A - ε _f) grafiği.	80
Şekil 3.9 G2 çözeltisinin DNA ile UV titrasyonu.	80
Şekil 3.10 G2 bileşiğinin [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε _A - ε _f) grafiği.	81
Şekil 3.12 G1 bileşiğine ait Stern-Volmer grafikleri.	83
Şekil 3.13 G2 çözeltisinin DNA çözeltisi ile titrasyonu sonucu floresans spektrumda oluşan değişim.	83
Şekil 3.14 G-2 bileşiğine ait Stern-Volmer grafikleri.	84
Şekil 3.15 EtBr-DNA kompleksinin G1 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.	85
Şekil 3.16 EtBr-DNA kompleksinin G2 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.	86
Şekil 3.17 DAPI-DNA kompleksinin G1 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.	87
Şekil 3.18 DAPI-DNA kompleksinin G2 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.	87

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.19 Hoechst ve DNA kompleksinin G1 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.	88
Şekil 3.20 Hoechst ve DNA kompleksinin G2 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.	88
Şekil 3.21 TO-DNA kompleksinin G1 ve G2 bileşikleriyle titrasyonu sonucu elde edilen yarışmalı floresans çalışması.	89
Şekil 3.22 TO- DNA kompleksi üzerine artan miktarlarda G1 ve G2 eklenmesiyle elde edilen emisyon spektrumu hesaplaması.	89
Şekil 3.23 G1 ve G2 bileşiklerinin DNA viskozitesine etkileri.	90
Şekil 3.24 Aktivatör varlığında pBR322 ve artan G1 karışımına ait elektroforez görüntüsü.	91
Şekil 3.25 Aktivatör varlığında pBR322 ve artan G2 karışımlarına ait elektroforez görüntüsü.	92

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

Å	: Amstrong
M	: Molarite
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmol	: Milimol
nm	: Nanometre
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
π	: Pi bağı
Υ	: Frekans
°C	: Santigrat derece

KISALTMALAR

AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
AO	: Akridin Turuncusu
DAPI	: 4',6-Diamidin-2-Fenilindol
EtBr	: Etidyum Bromür
FT-IR	: Fourier transform infrared spektrofotometre
Hoeschst	: 2'-(4-hidroksifenil)-5-(4-metil-1-piperazinil)-2,5'-bi-1H-benzimidazol
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
St	: Station
SWAT	: Soil and Water Assessment Tool
TO	: Tiyazol Turuncusu
UMN	: University of Minnesota
UV	: Ultraviyole



BÖLÜM 1

GİRİŞ

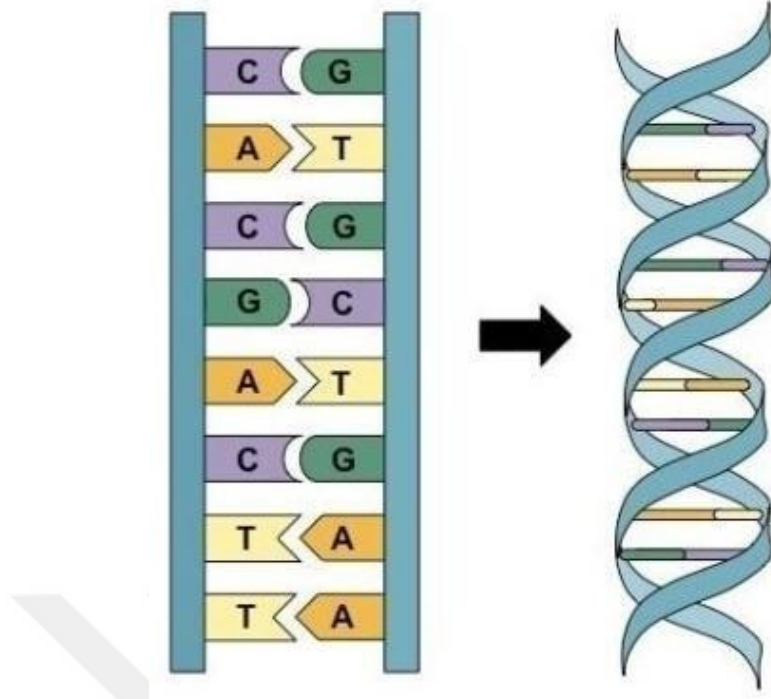
Deoksiribonükleik asit (DNA) özgül proteinleri sentezlemekten sorumlu olan genlerden oluşmaktadır. Gen, insan vücudunda belirli özellikleri kontrol eder. DNA kalıtsal bir materyal olduğu için, insan vücudunda bulunan hücreler benzer DNA'ya sahip olabilir. DNA molekülünün kimyasal maddelerle etkileşmesi ve etkileşimlerin çeşitli yöntemlerle tayin edilmesi yeni ilaçların geliştirilmesi için önemlidir. DNA, antikanser, antiviral, antibiyotikler gibi farklı ilaç gruplarında kullanılan önemli bir genetik materyaldir.

1.1 DNA VE YAPISI

Nükleik asit, canlı hücrelerin dışında virüslerde de bulunan nükleotidlerden oluşmuş bir polimerdir. Nükleik asitler baz, şeker ve fosfat içeren nükleotidlerden oluşur. Deoksiribonükleik asit ve ribonükleik asit bilinen nükleik asitlerdir. DNA milyonlarca nükleotitten oluşmaktadır.

DNA (deoksiribonükleik asit) ilk kez Friedrich Miescher tarafından 19. yüzyılda araştırılmıştır. Watson ve Crick 1953 yılında DNA yapısının heliks şeklinde olduğunu keşfetmiştir.

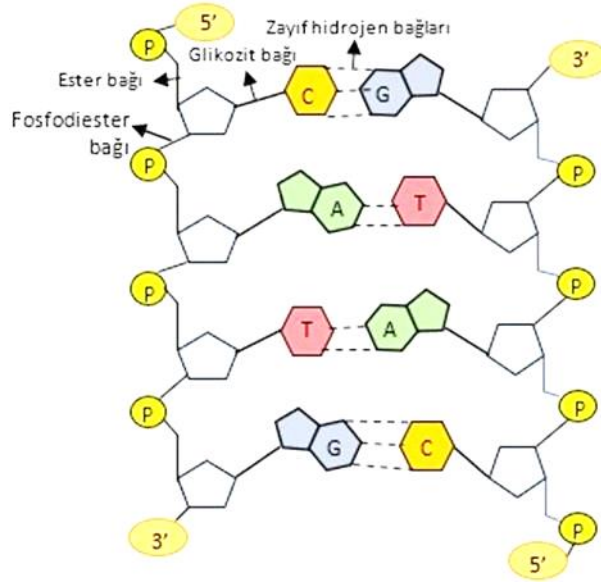
[1] (Şekil 1.1). Çift sarmallı modelleri bir tane X-ışını kırınımına dayanır. Franklin ve Gosling'in makalesinde yer almaktadır [2]



Şekil 1.1 DNA zinciri ve DNA sarmal yapısı.

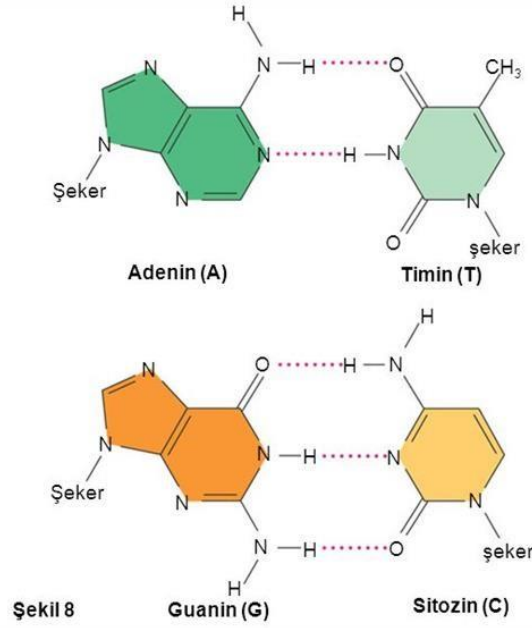
DNA yapısının asit olarak anılmasının sebebi zincirde bulunan fosforik asit gruplarıdır [3]. Birbirine bağlı iki antiparalel zincirden oluşan DNA sarmalı bu iki zinciri pirimidin ve pürin bazları arasındaki hidrojen bağlarıyla kararlı bir halde durur. Baz eşleşmeleri (A-T ve G-C) gibi spesifik bir şekilde oluşmaktadır ve böylece DNA zincirleri birbirinin tamamlayıcısı olur.

DNA'yı meydana getiren nükleotitler bir çekirdek bazı, bir pentozdan meydana gelir ve birbirlerine fosforik asitle oluşturdukları ester bağlarıyla bağlanır [4]. Fosforik asit kalıntısı ve ribozdan oluşan kısım DNA'nın zincirinin desteğini oluşturur. Çekirdek bazları bu iki zincirden birbirlerine doğru uzanırlar. Pürin bazları adenin (A) ve guanin (G), pirimidin bazları ise sitozin (C), timin (T) RNA'da bulunan urasildir (U) [5] (Şekil 1.2).



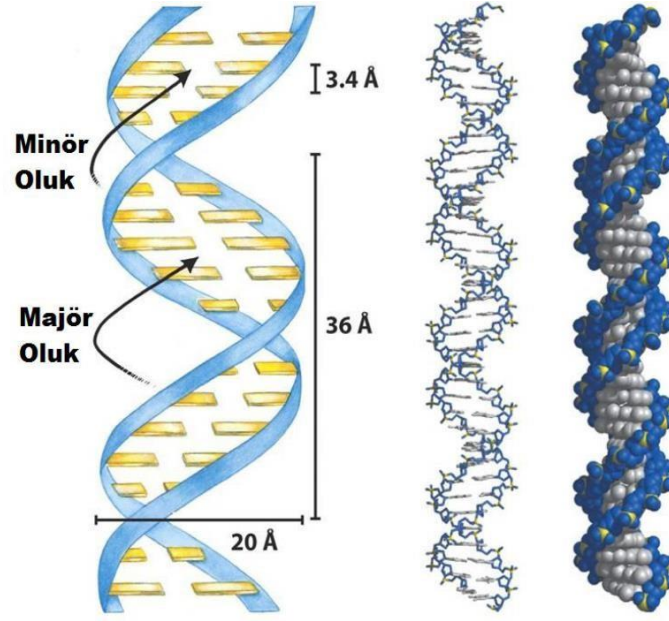
Şekil 1.2 DNA zinciri.

Sarmalın iç kısmında organik bazlar, dış kısmında ise fosfat ve şeker olduğundan, sarmalın iç bölgesi hidrofobik, dış bölgesi hidrofilik özellik göstermektedir. [6]. Sarmalı tutan ilk kuvvet apolar yapıdaki sarmalın iç kısmının hidrofobik etkileşimleri ve polar yapıdaki dış kısmı ile etrafındaki su molekülleri arasındaki etkileşimdir. Hidrojen bağları ise DNA zincirlerini tutan ikinci kuvvettir. A, T arasında iki H bağı, G, C arasında üç H bağı vardır (Şekil 1.3). Bağlanma sayısından kaynaklı G-C çifti arasındaki etkileşim A-T baz çiftine göre daha güçlü olur. Kısaca iki DNA ipliğinin birbirine bağlanma gücü DNA çift sarmalının uzunluğu hem de onu oluşturan G-C baz çiftlerinin yüzde oranıdır. Uzun G-C DNA iplikleri birbirine daha sıkı bağlıdır A-T oranı yüksek kısa sarmalların iplikleri birbirleriyle zayıf etkileşim gösterirler [7].



Şekil 1.3 Hidrojen bağları.

Zincirler anti paraleldirler (yönleri birbirine göre ters) ve aynı zamanda sarmal yapıyı bir eksen etrafında oluşturur. Sarmal majör ve minör oyuklara sahiptir. Majör oyuk, minör oyuğa göre daha geniştir (22 Å ve 12 Å) [8]. Küçük oyuktan, küçük moleküller bazların kenarlarına ulaşarak DNA'ya hidrojen bağlarıyla bağlanabilir. Büyük oyuklar ise proteinlerin (enzimler) bağlandığı önemli açıklıklardır. Çekirdek bazıları aromatik düzlemsel yapıdadır ve hidrojen bağlarıyla birbirine bağlanan baz çiftleri daha büyük aromatik düzlemsel yapılar oluşturarak eksene dik pozisyonda üst üste istiflenerek dururlar. Üst üste iki baz arasında 3,4 Å mesafe bulunur [9]. Sarmalın her adımı 36 Å, çapı ise 20 Å'dur (Şekil 1.4). Yani her dönüşte yaklaşık 10 organik baz yer alır [10,11].



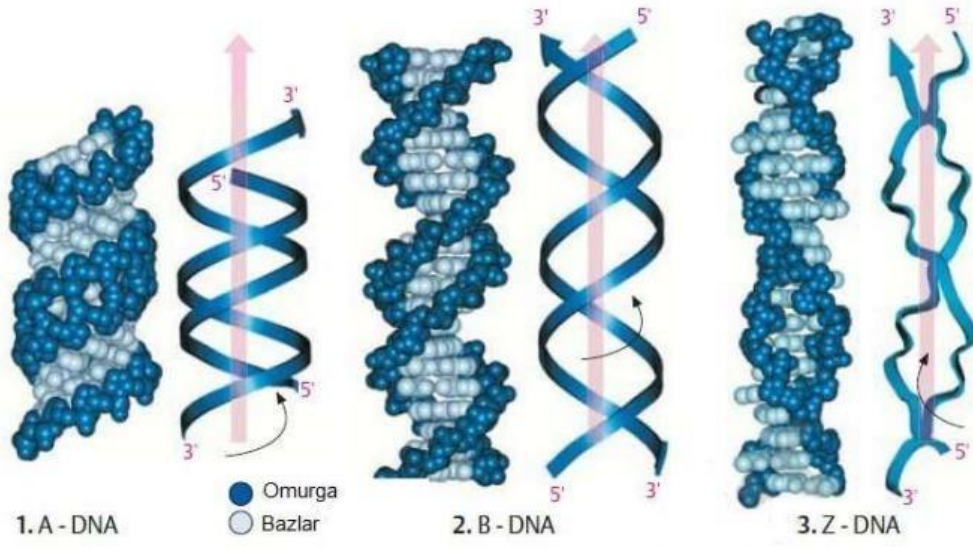
Şekil 1.4 Minör ve majör oluk.

DNA, çok esnek bir moleküldür ve farklı konformasyonlara sahiptir. NMR ve X-ışını kristalografisi yöntemleriyle DNA'nın yapısı belirlenir. DNA dizisi, bazlardaki kimyasal değişimler ve çözeltinin özellikleri DNA'nın hangi formda olduğunu gösterir [7]. Watson ve Crick B-DNA formunu en uygun form olarak bulmuştur [12]. Bunun dışında DNA'nın A-DNA ve Z-DNA formlarında vardır.

B-DNA formu 3,7 Å genişliğindedir. Molekül asimetriktir çünkü bir baz çiftinin glikosidik bağları birbirine zıt değildir. Çift B-DNA iplikleri zıt yönlerde ilerler.

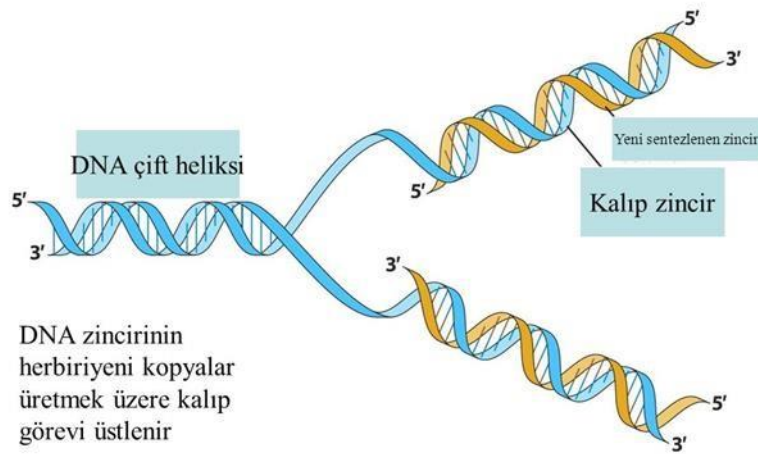
A-DNA daha geniştir, basıktır ve kendi eksenine boyunca B-DNA formuna göre fazla sıkıştırılmıştır [13]. B-DNA'nın dehidrasyonu sonucu A-DNA formu (kristal yapı) oluşur [14].

Omurganın zikzak görünümü, diğer DNA formlarından ayırt edilmesini sağlar. Heliks genişliği, üç tip arasında en dar olan 1.8 nm'dir. Yapı, büyük ve küçük oluklardan oluşur. Bir Z-DNA dönüşü 12 baz çiftine sahiptir ve uzunluk 4.56 nm'dir. İki bitişik deoksiribonükleotit arasındaki mesafe 0.37 nm'dir. Z-DNA, transkripsiyon sırasında burulma gerilimini azaltmada yardımcı olmaktadır ve ayrıca negatif süper sargıyla ilişkilidir [15,16] (Şekil 1.5).



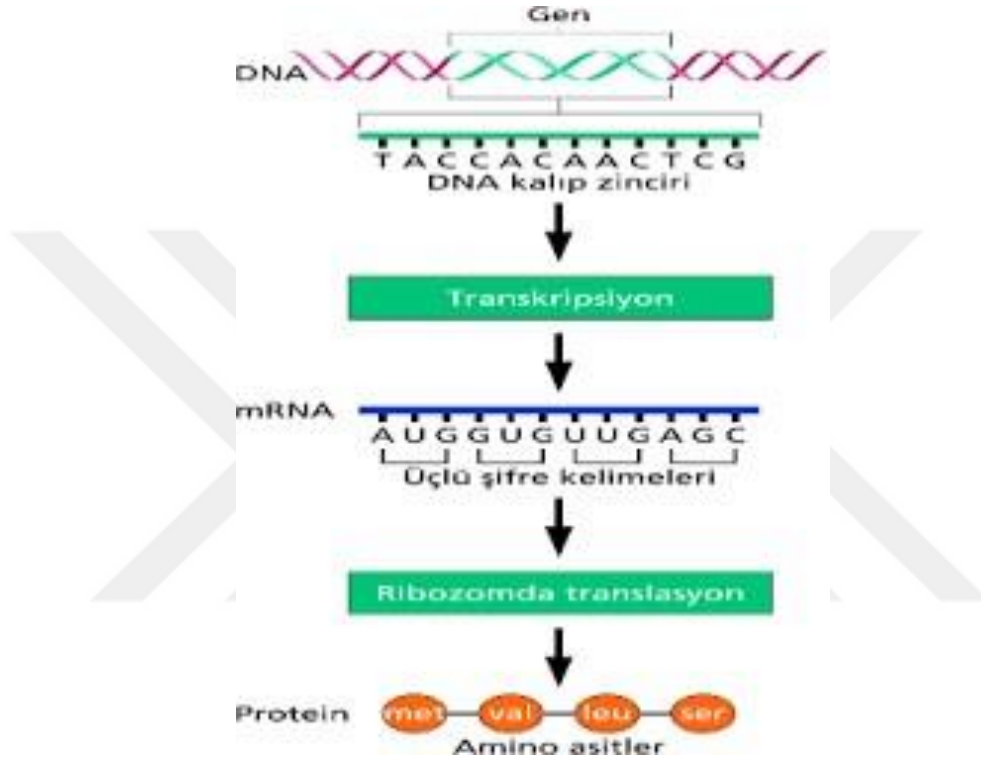
Şekil 1.5 DNA- formları.

DNA'nın yapısındaki zincirlerin birbirinden ayrıldıktan sonra tekrar bir araya gelmesi DNA replikasyonu ve protein sentezini gerçekleştirir [17]. DNA'nın ilk görevi, hücrenin bölünmeye hazırlandığı sırada DNA'nın kendini kopyalamasıdır. Bu olaya replikasyon denir ve replikasyon DNA polimeraz enzimi tarafından gerçekleştirilir. Sarmalın yapısından kaynaklı polimeraz kesintisiz zincirde 5'-3' yönünde DNA sentezi yapmaktadır. Replikasyonda, zinciri tutan hidrojen bağları fermuar gibi açıldıktan sonra açıkta kalan nükleotidler önceden sentezlenen nükleotidlerle tamamlanır ve böylece birbiriyle aynı iki DNA oluşur (Şekil 1.6).



Şekil 1.6 DNA replikasyonu.

İkinci görevi kendinde bulunan bilgiyi RNA'ya aktarmasıdır ve DNA baz çiftleri arasındaki H-bağlarının açılması ve bu sefer ilgili bazların RNA'ya ait nükleotidlerle tamamlanarak mRNA sentezlenmesi sonucunda gerçekleşir. Bu işlem RNA polimeraz enzimi tarafından gerçekleşir. Buna transkripsiyon denir. Transkripsiyonun sonucunda oluşan mRNA'larda koda uygun sitoplazmadaki ribozomda protein sentezi gerçekleşir. Buna işleme ise translasyon denir [18] (Şekil 1.7).



Şekil 1.7 Transkripsiyon ve Translasyon.

1.2 DNA İLAÇ ETKİLEŞİMLERİ

DNA'nın kimyasal maddelerle etkileşmesi ve etkileşimlerin çeşitli yöntemlerle tayin edilmesi yeni ilaçların geliştirilmesi için önemlidir. Bu etkileşimler sonucunda DNA-ilâç kompleksi oluşur.

İlaç keşifleri ve farmasötik geliştirme süreçlerinde DNA-ilâç etkileşimleri biyolojik çalışmalarda oldukça etkilidir. Dahası, kemoterapötiklerin rasyonel tasarımı için hedeflerin bilgisi, onkolojik hastalıkların tedavisinde kullanılabilen moleküllerin tasarımı için temel bir faktördür. İlaç-DNA etkileşiminin ön ve son işaretlerini gözlemlemek, etkileşim

mekanizmasının aydınlatılması için iyi bir kanıt sağlar. Ayrıca, bu etkileşim, ilaçların miktar tayini ve tayini için kullanılabilir.

Antitümör ilaçlar etkilerini DNA ile bağlanarak gösterir [19]. Böylelikle bileşiklerin antikanser ilacı olarak kullanılıp kullanılmadığını öğrenebiliriz. Bu sebeple kemoterapötik ilaç-DNA çalışmaları, kanserli hücrelerin yok edilmesi için önemlidir [20]. Kanserli hücrelerin oluşmasının asıl nedeni, hücre bölünmesi sırasında oluşan hatalı DNA replikasyonlarıdır. Antibiyotik ve antikanser ilaçları yapı olarak küçük molekül olduğundan bağlanma alanları küçük oluklardır [21, 22]. Küçük yapıdaki moleküllerin DNA ile bağlanması moleküllerin yapısına ve bazın dizilişine bağlıdır. [23, 24].

DNA ile küçük moleküllerin etkileşimleri, tıp, moleküler biyoloji, biyoteknoloji ve ilaç alanlarında yapılan DNA-ilac çalışmaları için önemlidir. DNA' nın küçük moleküller ile etkileşimleri kovalent bağlar ve kovalent olmayan bağlarla meydana gelir.

Klinik kullanımdaki birçok antikanser ilacı, düzlemsel aromatik veya heteroaromatik halkaya sahip bileşikler DNA sarmalının eksenine dik biçimde ve bitişik baz çiftleri arasına ve genel istiflemeyi bozmadan yerleşerek DNA ile etkileşime girer.

1.2.1 Kovalent Bağlanma

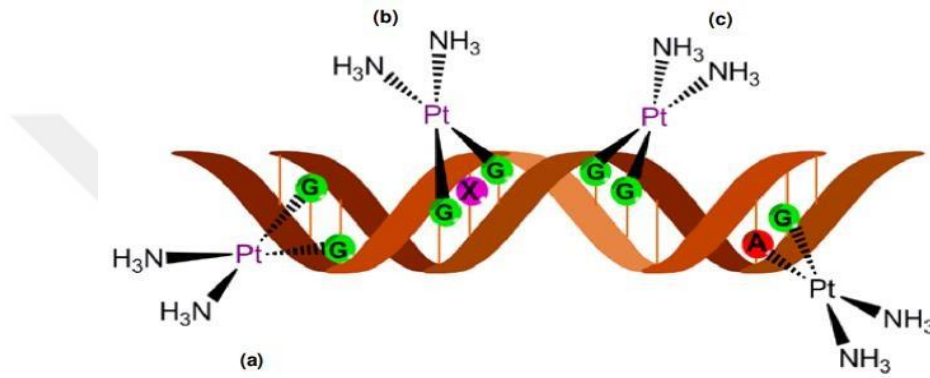
Geri dönüşümsüz bir bağdır. Bu ilaçlar DNA döngüsünü inhibe ederek hücre ölümünü sağlar. Bu bağlayıcılar yüksek bağlanma özelliğine sahiptir. DNA'nın protein alımını bozar, replikasyonu ve transkripsiyonu etkileyen omurga bozulmasına sebep olabilir [25, 26].

Bu tür moleküllere, kanser tedavisinde DNA'nın yapısına alkil gruplarını bağladığı için alkilleyici ajanlarda denir. Alkilleyici ajanların bazıları guanin ile etkileşim gösterirken, bazı alkilasyon ajanları ise güçlü etkiyi çapraz bağlarda başka pozisyonlarda alkilasyon yaparak göstermektedir [27,28]. Mitomycin C, anthramycin, ecteinascidin türevleri (ET-743) ve bleomycin A2 gibi ilaçlar kovalent bağlanma yapmaktadır [29-31].

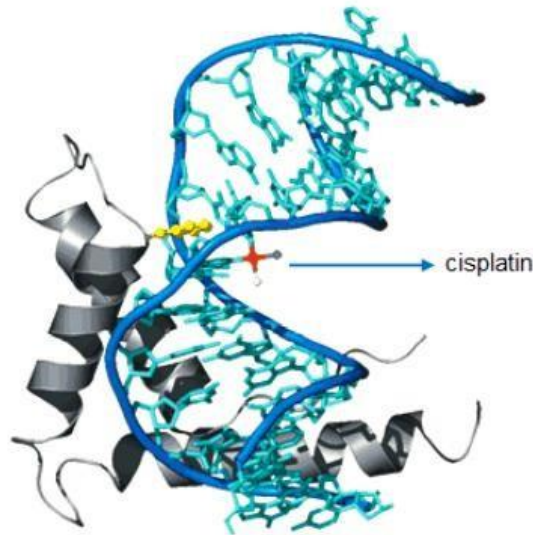
En çok kullanılan antikanser ilacı olan cis-platin bir kovalent bağlayıcıdır ve yapısındaki klorür gruplarının DNA'nın bazlarındaki azot grupları ile etkileşimiyle etkisi görülür (Şekil 1.8). Cis

platin mesane kanseri, mide, yumurtalık, baş, özofagus, boyun, akciğer, testis, meme ve prostat kanseri tedavilerinde kullanılır.

Cisplatinin tümörlerin uzaklaştırılmasını sağlayan bir ilaç olduğu kanıtlanmıştır [32]. Şekil 1.9'da görüldüğü gibi cisplatin DNA'ya bağlandığında DNA'nın yapısını bozar. Ayrıca DNA'nın yenilenmesini durdurur ve protein oluşumu engellenir. Bunların sonucunda DNA'nın uğradığı hasar tamir edilemez, hücre çoğalamaz ve ölür. Oxaliplatin gibi platinyum kompleksleri, mustine, klorambusil ve melphalan (L-PAM) gibi bazı azot hardalları anti-kanser ilaçlarına örnek verilebilir [33].



Şekil 1.8 Cisplatinin DNA'ya bağlanması.



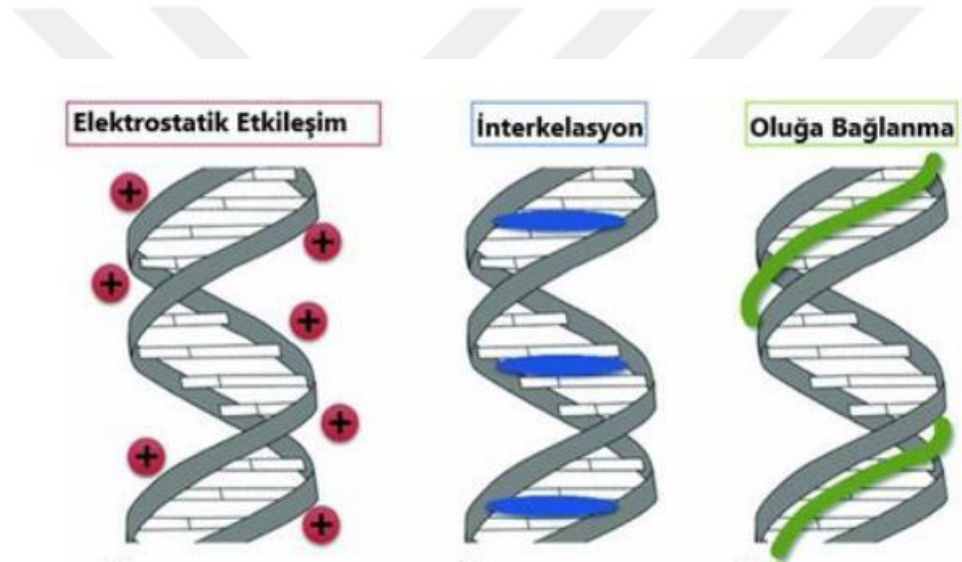
Şekil 1.9 Cisplatinin DNA'ya kovalent olarak bağlanması.

1.2.2 Kovalent Olmayan Bağlanma

Tersinir bağlanmadır ve geri dönüşümlüdür. DNA konformasyonunu değiştirir, protein-DNA etkileşimini inhibe eder ve DNA sarmalını kırarak DNA'nın gen yapısında deformasyon meydana gelir [3].

İlaç molekülünün DNA'ya kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanması üç çeşittir [34,24] (Şekil 1.10).

- 1) İnterkalasyon
- 2) Oyuk Bağlayıcılar
- 3) 3) Dış bağlanma

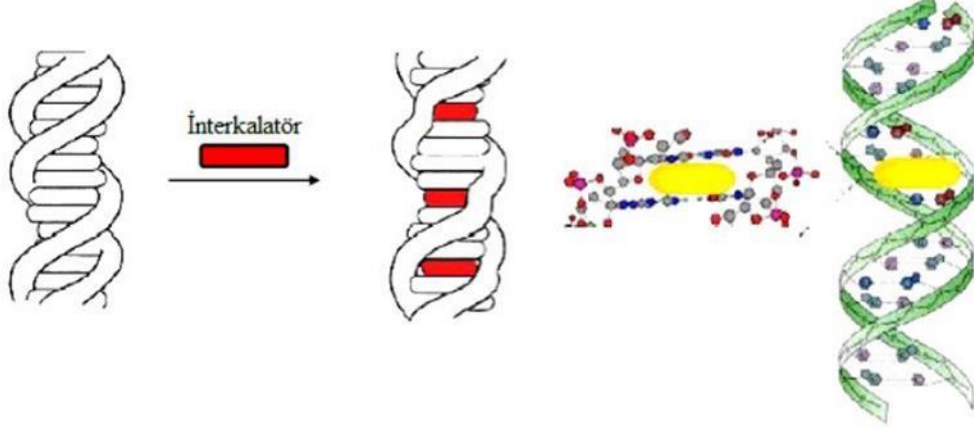


Şekil 1.10 Kovalent olmayan etkileşim çeşitleri.

1.2.2.1 İnterkalasyon

Lerman ilk kez düzlemsel yapıdaki organik bileşiğin DNA'ya bağlanabileceğini incelenmiştir [35]. Düzlemsel yapıdaki heterosiklik bileşikler DNA'nın karşılıklı baz çiftleri arasına yerleşen interkalatörlerdir. İnterkalasyonda kullanılan çoğu ajan antibakteriyel, antiparazitik ve antitümör tedavilerinde kullanılan ajanlardır [36-38]. İnterkalasyon, DNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonunu inhibe ederek hücre bölünmesi ve büyümesine engel olur [39] (Şekil 1.11). Ek olarak, interkalasyon, topoizomerez II'yi (DNA zincirini geçici olarak bölerek ve bozulmamış bir ipi kırık iplikten geçerek DNA sarmalındaki gerginliği hafifleten bir enzim)

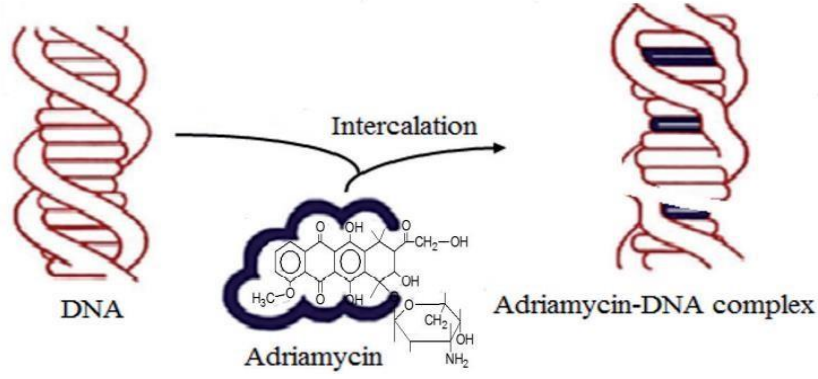
inhibe eder. İnterkalasyon genellikle DNA dizisinden bağımsız olarak gerçekleşse de diğer baz çiftine göre GC bazlarına karşı biraz daha eğilimli olduğu gözlemlenmiştir [40].



Şekil 1.11 İnterkalasyona uğramış DNA sarmalı.

İnterkalatör maddeler hidrojen bağlarını parçalamadan DNA'nın omurgasına dik biçimde yığın yapabilen moleküllerdir. DNA ve interkalatör arasındaki Van der Waals etkileşimleri, hidrojen bağları ve hidrofobik kuvvetler DNA-interkalatör kompleksinin oluşmasını sağlar. İnterkalatörler kanser hücrelerinde replikasyonu inhibe etmesinden dolayı kemoterapötik tedavilerde kullanılır. İnterkalatör maddeler DNA'ya bağlanırken DNA genişler, baz çiftleri arasında açıklık artar. Bu açıklık, interkalatöre bağlı değişim göstermektedir. Oluşan açılma DNA sarmalının uzaması, şeklinin değişmesine ve ayrıca baz çiftlerinin burulması gibi değişikliklere neden olur [41,42].

Düzlemsel ve heterosiklik bileşiklerin interkalasyonunda DNA'nın hidrojen bağlarında kırılma olmaz ve ayrıca interkalatör maddelerle DNA'nın bazlarının arasında p- π elektron örtüşmesi oluşur [43]. Daunomisin, adriyamisin, etidyum bromür, proflavin, doksorubisin, talidomit, fenantridin interkalasyon yapan moleküllerdir. Adriyamisin molekülünün düz kısmının DNA'ya interkalasyonla bağlanması sarmal yapının yerel olarak çözülmesini sağlar (Şekil 1.12).

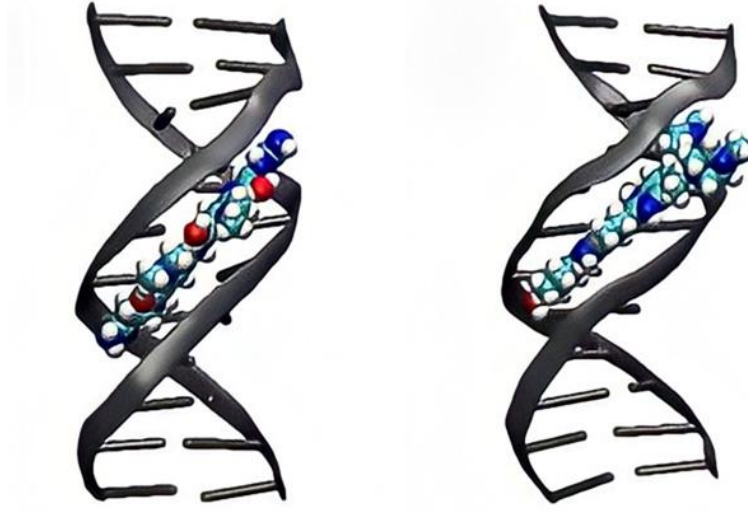


Şekil 1.12 Adriamisin molekülünün (siyah) düz kısmının DNA'ya eklenmesini gösteren, sarmal yapının lokal çözülmesini gösteren şematik model.

1.2.2.2 Oyuk Bağlayıcılar

Küçük moleküllerin çoğu küçük oluklarla etkileşime girerken, protein ve oligonükleotid gibi büyük moleküller genellikle büyük oluklara bağlanır [42]. Oluk bağlanma, DNA'nın yapısında belirgin değişiklik göstermez [44]. Küçük oluklara bağlanan moleküller, olukların şeklini alarak (hilal biçiminde) ve Van der Waals etkileşimlerinin oluşumunu sağlayarak bağlanmayı kolaylaştırırlar.

Oluklar arasında farklı kimyasal özellikler vardır. Bu özellikler elektrostatik potansiyel değişime, hidrojen bağ karakterine, sterik etkiye ve hidrasyon yeteneğine bağlıdır. Küçük oluklara bağlanan moleküllerin çoğunluğu A-T oranı zengin dizilere bağlanır. Çünkü A-T bölgeleri G-C bölgeleri göre daha dar yapıya sahiptir. Ayrıca bu bölgede daha az sterik engel ve daha fazla elektrostatik potansiyel vardır. Benzer fonksiyonel gruplar GC baz çiftleri arasında da bulunur. Fakat guaninin amino grubu ile sitozinin karbonil oksijeni arasındaki güçlü hidrojen bağları minor olukların içerisine küçük moleküllerin girmesini zorlaştırır [23]. Bu moleküller çoğunlukla adenin (N3) ve timin (O2) bazlarının atomları ile hidrojen bağları oluşturmaktadır. Netropsin ve Hoechst molekülünün DNA'nın minör oluğuna bağlanması (Şekil 1.13) gibidir.

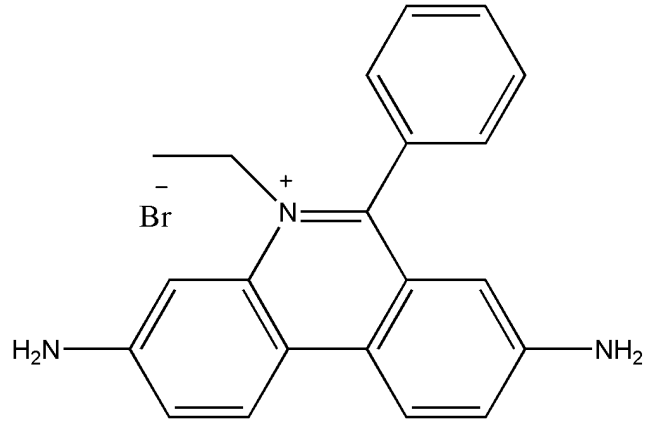
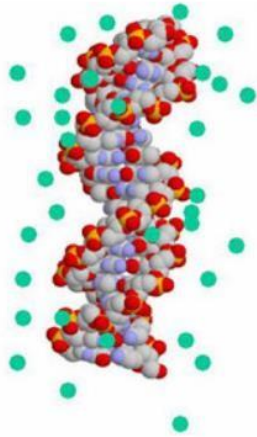


Şekil 1.13 Netropsin ve Hoechst molekülünün minor oluğa bağlanması.

Oyuk bağlanma sırasında küçük moleküller minör oyuğa Van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağları ile tutunur. Minör oyuk bağlayıcı moleküller dar ve kıvrımlı bir yapıya sahiptir [45]. Distamycin A, sentetik diarilamidinler (DAPI ve pentamidin) ve bis (benzimidazoller, örneğin; Hoechst) oluk bağlayıcı moleküllerdir.

1.2.2.3 Dış bağlanma

Elektrostatik etkileşimler genellikle çift sarmalın dış yüzeyi boyunca meydana gelmektedir. DNA sarmalı hem yapısını hem de fonksiyonlarını etkileyen negatif yüklü fosfat grupları içermektedir. DNA'nın negatif yüklü fosfat gruplarıyla Na^+ ve Mg^{+2} gibi pozitif yüklü iyonlar etkileşime girmektedir. Bu şekilde bağlanan yükler bağlanma serbest enerjisine katkıda bulunan ve uygun entropiye sebep olan organik katyonlar diğer elektrostatik etkileşimler tarafından negatif fosfat omurga yükünün nötralleşmesi ile salınır [23]. Zıt yüklerin salınması DNA-protein bağlanması gibi yüksek yük yoğunluğuna sahip moleküllerin serbest bağlanma enerjisine de katkıda bulunur [24]. Bunların sonucunda DNA yapısında ayrılmalar gerçekleşebilir. Elektrostatik etkileşim diğer etkileşim türlerine göre DNA'nın yapısında değişiklikler meydana getirmez ama DNA'nın kararlılığını artırır. Metal kompleksleri de DNA'ya dış bağlanma yoluyla bağlanır (Şekil 1.14).



Şekil 1.14 Elektrostatik etkileşim bölgeleri. Yeşil küreler pozitif yüklü iyonlar olup, DNA'nın negatif yüklü kısmının etrafını sararak nötralize etmesi ve oluk bağlanan EtBr molekülü.

1.3 KÜÇÜK MOLEKÜLLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER

DNA-ilaç etkileşimlerini aydınlatmak amacıyla birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler Kızılötesi (IR), Raman, Sirküler Dikroizm, Kütle Spektrometresi, Ultraviyole-Görünür Bölge (UV-GB) ve Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopileri (NMR), X-Ray kristalografisi, Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM), Elektroforez, Viskozite Ölçümleri ve Termal Denatürasyon çalışmalarıdır. Tekniklerin hepsi ilacın, DNA ile kompleks oluşturmada ve aralarındaki etkileşimlerin DNA'nın yapısında meydana gelen değişimlerin incelenmesinde bir araç olarak kullanılmaktadır [28].

1.3.1 UV titrasyon yöntemi

UV titrasyon yöntemi nükleik asitlerin küçük moleküllerle etkileşiminde kullanılan yaygın ve basit bir yöntemdir. UV absorpsiyon spektroskopisi, DNA veya ligandın absorpsiyon özelliklerindeki değişiklikleri ölçerek DNA ligand etkileşimini saptamak için kullanılabilir. İlaç ile İlaç-DNA kompleksinin UV absorpsiyon spektrumları farklı olduğundan İlaç-DNA etkileşimleri incelenirken bu farklılıklar karşılaştırılır. Değişimdeki büyüklük DNA ile ilaç arasındaki etkileşimin miktarını göstermektedir.

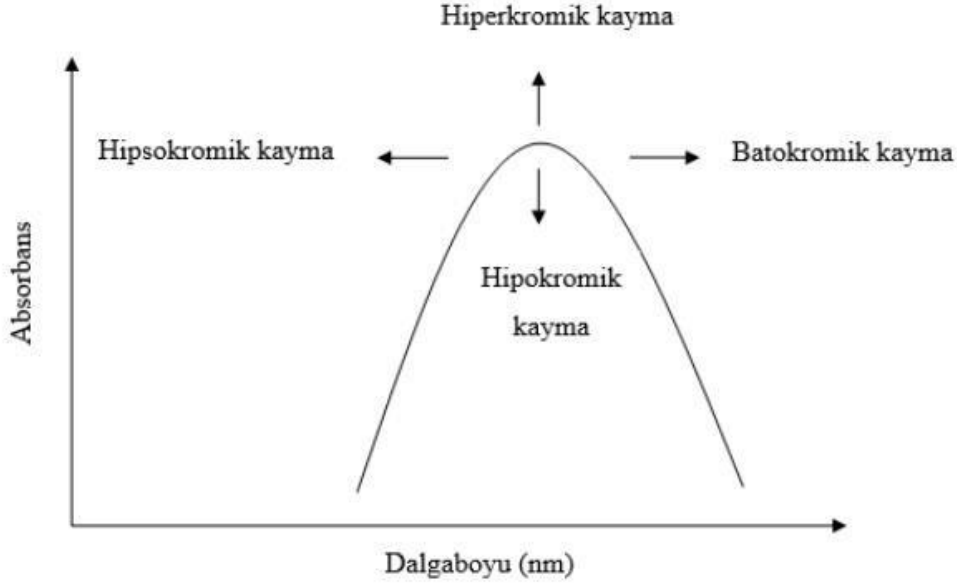
Bir ilaç DNA ile etkileşime girdiğinde, absorbansta ve bandın konumunda değişiklikler meydana gelmelidir. DNA maksimum absorpsiyonu 260 nm’de gerçekleştirir ve DNA 200-350 nm aralığında geniş bir bant verir.

İnterkalasyon bağlanmanın sonucunda ilacın spektrumunda hipokromik (absorbans değerinde azalma) ve batokromik (kırmızıya kayma) etki gözlemlenir. Oyuk bağlanma yoluyla DNA’ya bağlanan moleküllerde ise hipokromik değişimler gözlenir ve batokromizm ise çok düşük miktarda görülebilir ya da hiç görülmez [46]. Eğer etkileşim elektrostatik ise etkileşimden etkilenen DNA’nın yapısında gerçekleşen bozulmadan kaynaklı hiperkromik (absorbans değerinde artma) etki gözlemlenir [47].

Hidrojen bağları aromatik halkalardaki rezonansı sınırladığından dolayı absorbans değerinin azalmasına neden olur. Fakat DNA sarmal yapısını bozan bir tür ile etkileşime girdiğinde çift sarmal bir arada tutan bağlar kırılarak ikili sarmal açılır ve tek sarmal şekline döner. Bu durumda bazlar serbest hale geçtiğinden aralarındaki etkileşim azalır ve UV absorbansı artar. Bu durumlar sonucunda tek sarmallı DNA’ya ait absorbans değeri aynı derişimdeki çift sarmal DNA’ya göre %40 daha fazla olur [48].

Bu yöntemde önce ilacın spektrumu alınır ve kaydedilir. Sonra bu çözelti üzerine porsiyonlar halinde DNA eklenerek tekrar UV spektrumu alınarak spektrumdaki değişim gözlenir. Bu değişimler 4 çeşittir.

Absorpsiyon sonucunda oluşan pikler çözücü polaritesinin artmasıyla kısa dalga boyuna doğru kayma gösterir. Buna hipsokromik kayma (maviye kayma) denir. Hipsokromik kaymanın nedeni; DNA’ nın yapısındaki bazlar ile molekülün ortaklanmamış elektron çiftleri arasında oluşan hidrojen bağlarıdır [49] (Şekil 1.15).



Şekil 1.15 UV spektrumunda kaymalar.

Hiperkromizm, DNA'nın ikincil yapısının kırılması anlamına gelmektedir [50,51]. Bağlanan maddeler hidrojen bağlarını ve ayrıca hidrofobik etkileşim kuvvetlerini de bozar. Bu bozulma DNA'nın sekonder yapısında hasar meydana getirir [52]. Çift sarmal açılarak iki tek iplik haline gelir. Bu durumda serbest kalan bazlar tamamlayıcısı olan baz ile hidrojen bağı oluşturamaz, bazlar arasındaki etkileşim azalır. Bu durumlar sonucunda DNA'nın absorpsiyonda artış meydana gelir ve bu durum hipokromik etki görülmesini sağlar [50, 51, 53].

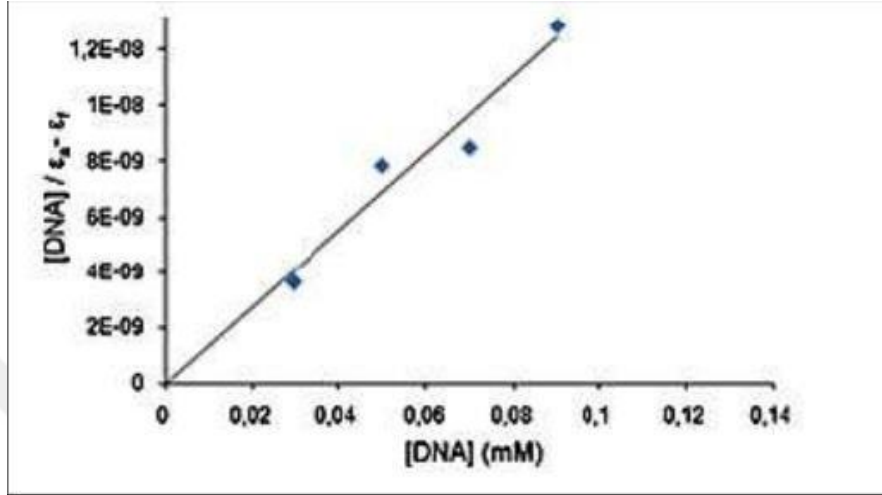
Hipokromizm ise madde bazların arasına girdiği için DNA'yı daha kararlı yapı haline getirir [50,51]. Bu durum π - π elektron geçişini azaltıp, aynı zamanda batokromik kaymaya da neden olur. Öte yandan π yörüngesi kısmen elektronlar tarafından yüklü olduğu için geçiş ihtimallerinde azalma meydana gelir ve ayrıca absorbansta azalma gerçekleşir [54]. Mesafe azaldığında π - π^* elektronik geçişinin enerji seviyesi düşer ve kırmızıya kayma oluşur [55, 56].

Oyuk bağlanma ve elektrostatik etkileşimlerde az bir miktarda kırmızıya kayna görülebilir ya da hiç kırmızıya kayma görülmez [15].

Spektrumda görülen bu değişimler ile ilaç-DNA arasındaki bağlanma sabitinin değeri hesaplanır. Bu formül şu şekildedir [57].

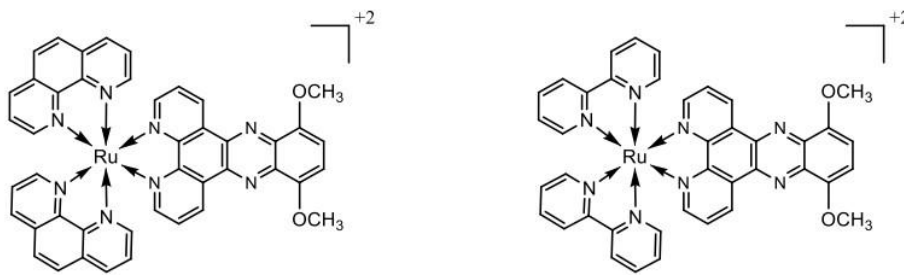
$$[\text{DNA}] / (\epsilon_A - \epsilon_f) = [\text{DNA}] / (\epsilon_B - \epsilon_f) + 1 / K_b (\epsilon_B - \epsilon_f)$$

Formülde ϵ_A ; ölçülen konsantrasyondaki sönüm katsayısı, ϵ_B ; DNA'ya tüm komplekslerin bağlanması sonrasındaki sönüm katsayısı, ϵ_f ; serbest haldeki kompleksin sönüm katsayısı olarak açıklanabilir. Denklemdaki $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ 'e karşı $[DNA]$ değerleri grafiğe geçirilir. K_b değeri ise eğimden bulunur (Şekil 1.16).



Şekil 1.16 Bağlanma sabiti belirlenmesinde çizilen örnek grafik referans.

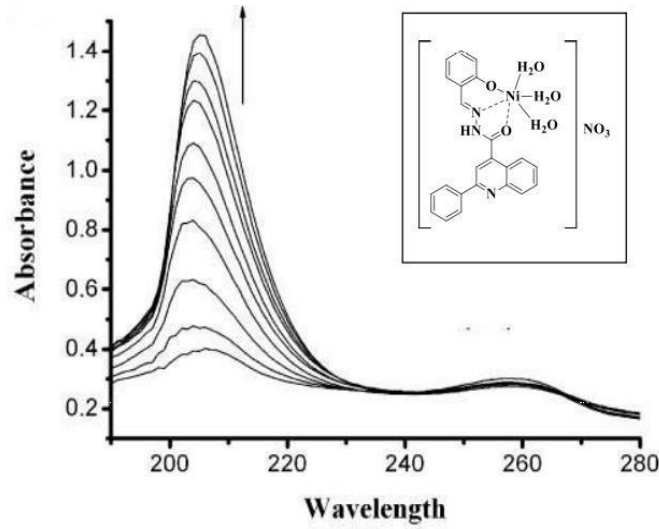
Jiang ve arkadaşları (2014) $[Ru(phen)_2(dmdppz)]^{2+}$ ve $[Ru(bpy)_2(dmdppz)]^{2+}$ komplekslerinin DNA ile etkileşimlerini UV titrasyon yöntemiyle incelemişlerdir (Şekil 1.17). $[Ru(phen)_2(dmdppz)]^{2+}$ yapısının daha düzlemsel olmasından dolayı DNA'ya daha kuvvetli bağlandığı kanıtlanmıştır [58].



Şekil 1.17 Jiang ve arkadaşları (2014) $[Ru(phen)_2(dmdppz)]^{2+}$ ve $[Ru(bpy)_2(dmdppz)]^{2+}$ moleküllerinin yapısı.

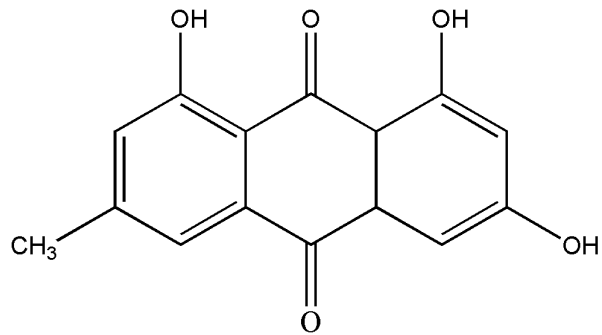
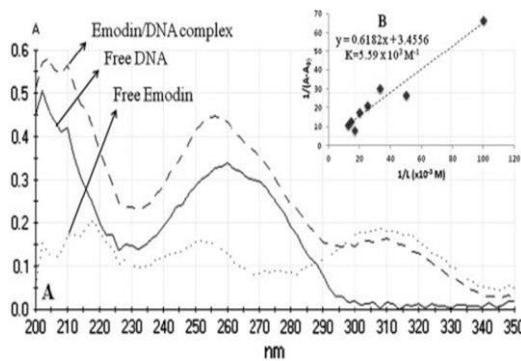
Xu ve arkadaşları (2008) $(Ni \cdot HL \cdot 3H_2O) \cdot NO_3$ kompleksin DNA ile bağlanma türünü UV titrasyon yöntemiyle araştırmışlardır (Şekil 1.18). Kompleks çözeltisi üzerine artan miktarlarda

DNA eklendikçe maddenin absorpsiyonunda hiperkromik kayma oluşmuştur. Absorpsiyonda görülen bu değişim, kompleksin DNA ile oyuk bağlanma yoluyla bağlandığını gösterir [59].



Şekil 1.18 Xu ve arkadaşları (2008) tarafından sentezlenen nikel kompleksinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve kompleksin yapısı.

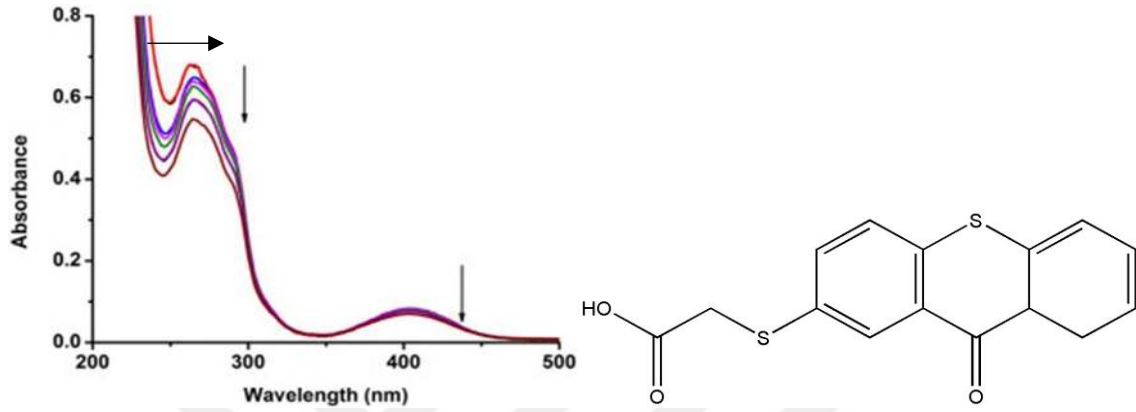
Samuel ve arkadaşları (2012) çalışmasında emodinın, sulu çözelti içindeki DNA ile moleküler etkileşimlerini (Şekil 1.19) UV titrasyon yöntemi ile incelemişlerdir. Serbest emodin 310 nm’de maksimum pik göstermiştir. DNA 260 nm’de pik verir. Emodin-DNA karışımın absorbansı 260 nm’de artış ve 310 nm’de alçalma göstermiştir. Bu, emodinın doğal DNA yapısıyla etkileşime girdiğinin ve bozduğunun açık bir göstergesidir. İnterkalasyon ya da oyuk bağlanma yapabildiği görülmüştür [60].



Şekil 1.19 Samuel ve arkadaşları (2012) Emodinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve emodin yapısı.

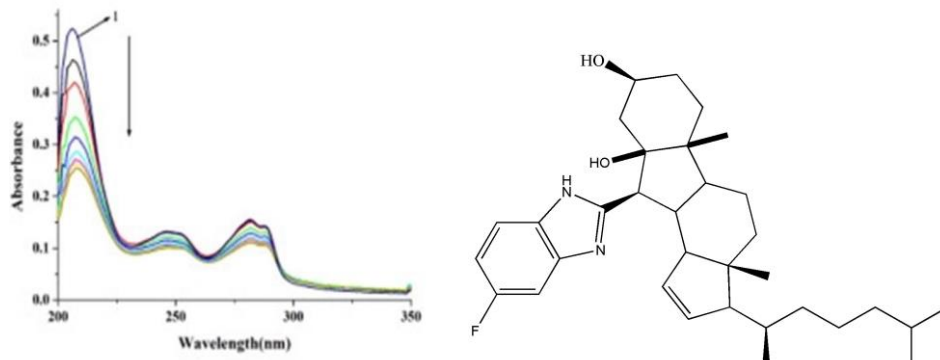
Ataci ve arkadaşları (2020) çalışmasında 2-tiyoksanton Tiyoasetik Asit (TTA) ile DNA arasındaki bağlanma türünü analiz etmek için (Şekil 1.20) UV titrasyon yöntemini

kullanmışlardır. Grafiğe bakıldığında en üstte kırmızıyla gösterilen 270 nm’deki pik maddeye aittir. Az miktarda DNA eklendikçe absorpsiyonda düşme ve kırmızıya kayma meydana gelmiştir. 400 nm’de de aynı değişim görülmektedir. Hipokromizm ve batokromizm TTA’nın DNA’ya interkalasyon yaptığını düşündürmektedir. Tiyoksanton halkasının bu bağlanmada rolü vardır [61].



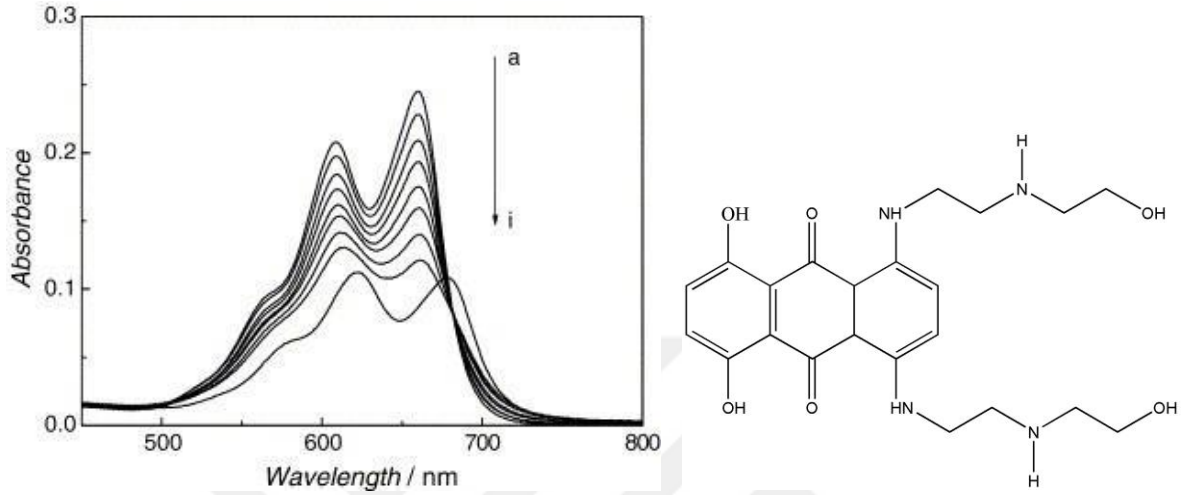
Şekil 1.20 Ataci ve arkadaşları (2020) TTA’nın artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve TTA yapısı.

Chunfang ve arkadaşları (2020) farklı B-norkolesteril benzimidazol bileşiminin DNA ile etkileşimini Uv titrasyon yöntemi ile incelemişlerdir (Şekil 1.21). Bileşik 220, 250 ve 280 nm’de absorbans vermektedir. DNA eklendiğinde bu üç pikde alçalma görülmüştür. Pikler aynı zamanda kırmızıya kaymıştır yani batokromik etki vardır. Maddenin interkalasyon yaptığını düşündürmektedir. Benzimidazol halkası interkalasyon yapmış olabilir [62].



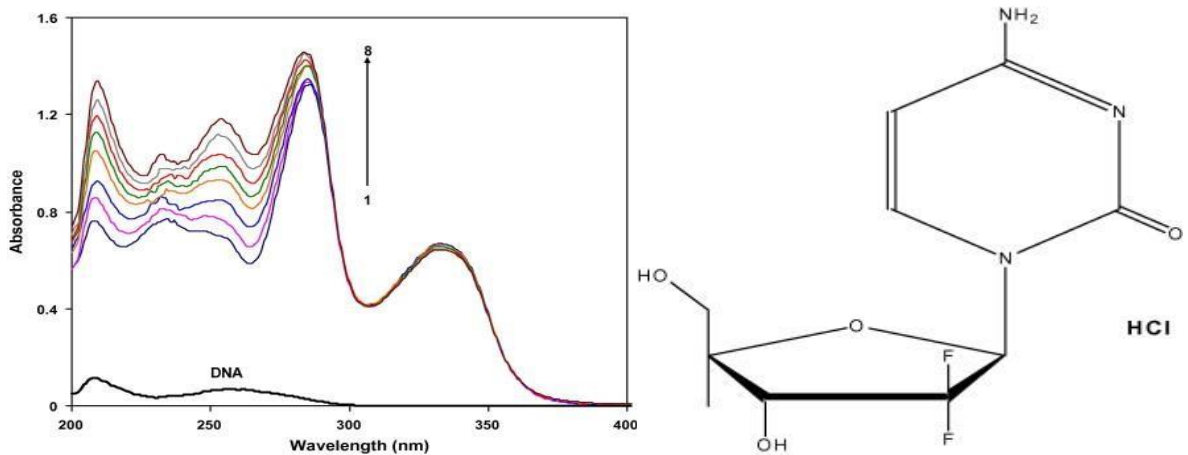
Şekil 1.21 Chunfang ve arkadaşları (2020) B-norkolesterilbenzimidazolun artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve B-norkolesterilbenzimidazol yapısı.

Li ve arkadaşları (2005) mitoksantronun (MTX) DNA ile etkileşimini (Şekil 1.22) UV titrasyon yöntemi kullanarak incelemişlerdir. MTX'in maksimum absorpsiyonu, 608-660 nm civarında bulunmuştur. Artan DNA konsantrasyonuyla MTX'in absorpsiyonunda bir düşüş olmuştur. Görülen hipokromizm maddenin interkalasyon yaptığını gösterir [63].



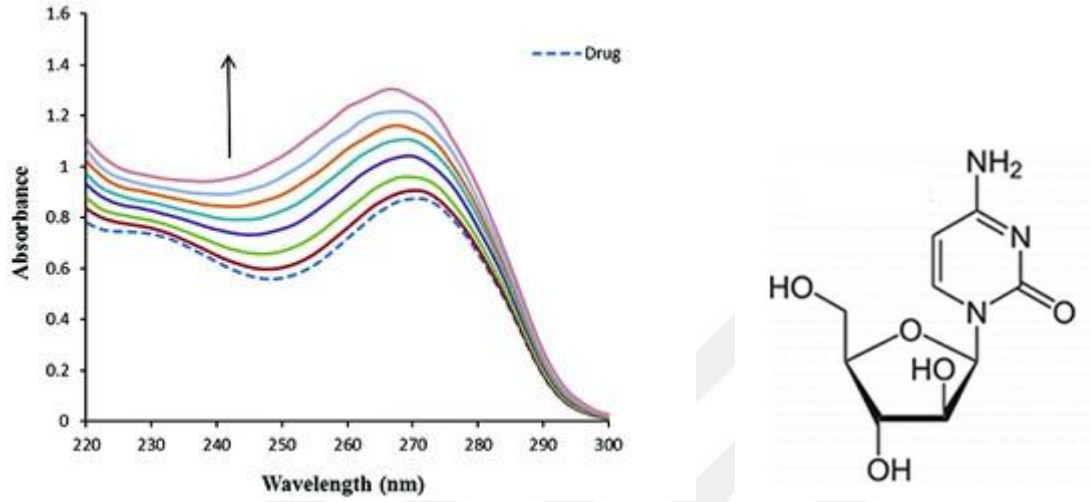
Şekil 1.22 Li ve arkadaşları (2005) Mitoksantronun artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve mitoksantron yapısı.

Kalanur ve arkadaşları (2009) gempitabin hidroklorürün (GMB) DNA ile etkileşimini UV titrasyon yöntemi ile araştırmışlardır (Şekil 1.23). GMB'nin absorpsiyon spektrumu, 207, 232, 248, 283 ve 331 nm'de pik vermiştir. GMB'nin absorpsiyonu eklenen DNA miktarı ile 207, 232, 248 ve 283'te artarken (207 ve 48 nm'de kırmızı kayma ile) 331 nm'de alçalma göstermiştir. Bu sonuçlar, ilaç ve DNA arasında bir etkileşim olduğunu gösterir. Görülen bu etkiler maddenin interkalasyon yaptığını göstermektedir [64].



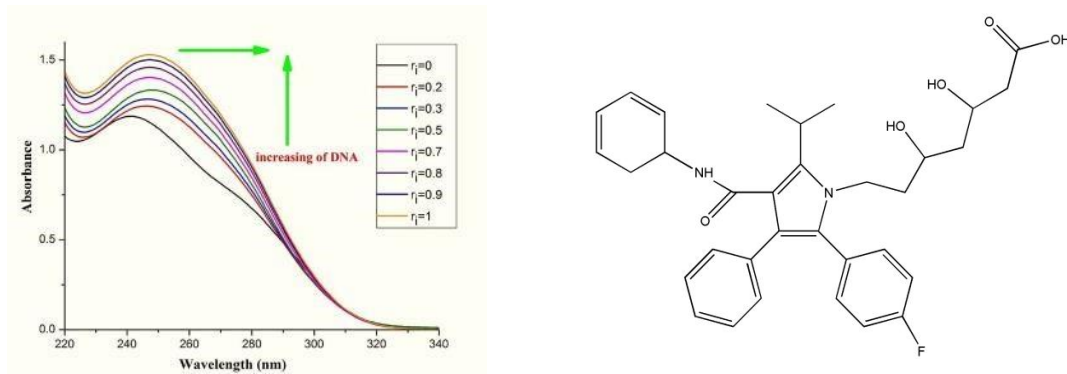
Şekil 1.23 Kalanur ve arkadaşları (2009) GMB'nin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve GMB yapısı.

Shahabadi ve arkadaşları (2016) sitarabinin DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.24). İlaç DNA ile titre edildiğinde 270 nm’de maksimum absorpsiyon ve hiperkromizm etkisi gösterdiği görülmüştür. Bu durum ilaç ile DNA arasında bir etkileşim olduğunu göstermektedir ve bu etkileşimde oluk bağlanama olduğunu düşündürmüştür [65].



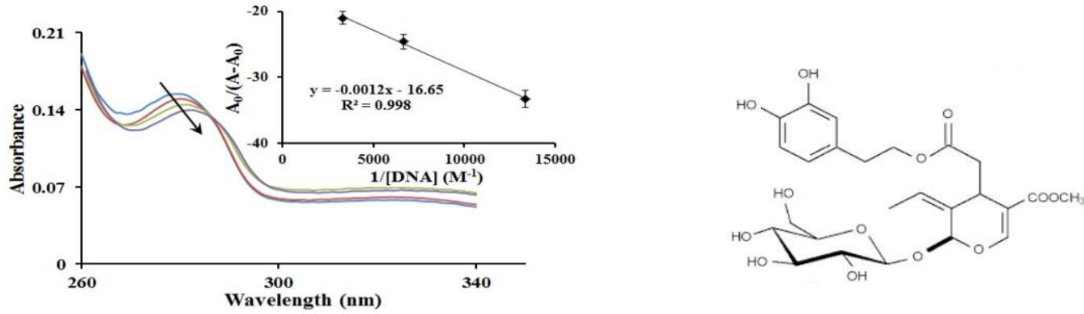
Şekil 1.24 Shahabadi ve arkadaşları (2016) Sitarabinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve sitarabin yapısı.

Kalar (2018) atorvastatinin DNA ile etkileşimini UV titrasyon yöntemi ile araştırmıştır (Şekil 1.25). DNA eklenmesiyle, absorpsiyon yoğunluğunun arttığını (hiperkromizm) ve dalga boyunda batokromik kayma gözlenmiştir. Absorbans artışı atorvastatinin DNA oluğunda bağlanmasını önerir. Bu sonuçlar, atorvastatinin oluk bağlanma yaptığını göstermektedir [66].



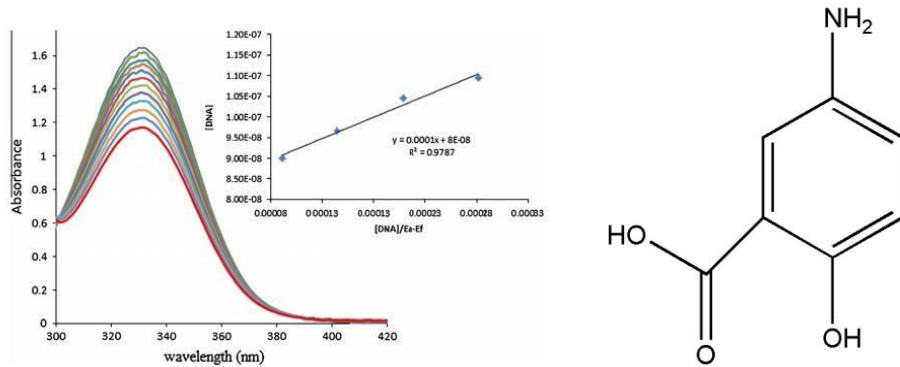
Şekil 1.25 Kalar (2018) Atorvastatinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve atorvastatin yapısı.

Mohamadi ve arkadaşları (2015) oleuropeinin DNA ile etkileşimini incelemişlerdir (Şekil 1.26). Absorbsiyon şiddetinde DNA eklendikçe görülen azalma yani hipokromizm ve ayrıca batokromik etki nedeniyle maddenin interkalasyon ile bağlandığı sonucuna varılmıştır [67].



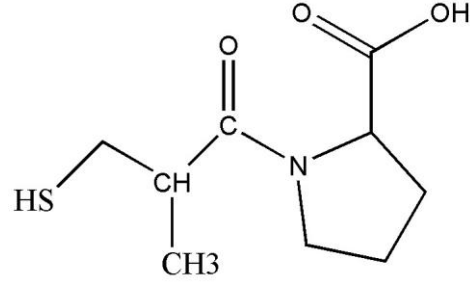
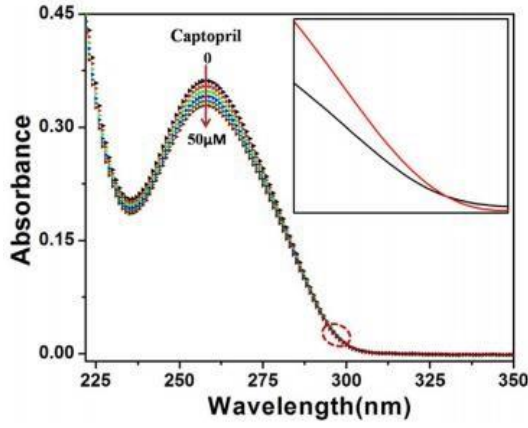
Şekil 1.26 Mohamadi ve arkadaşları (2015) Oleuropeinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve oleuropein yapısı.

Shahabadi ve arkadaşları (2013) mesalaminin (Şekil 1.27) DNA ile etkileşimini araştırmışlardır. DNA'nın eklenmesiyle, 331 nm'deki pik yoğunluğunda bir azalma görülmüştür fakat kırmızıya kayma gözlemlenmemiştir. Bütün bu sonuçlar bağlanma modunun interkalatif bağlanma olmadığını gösterir. Gözlemlenen hipokromizm değişiklikleri mesalaminin DNA'ya bağlanma modunun oluk bağlama olduğunu göstermektedir [68].



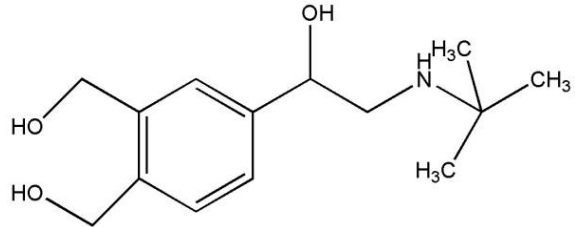
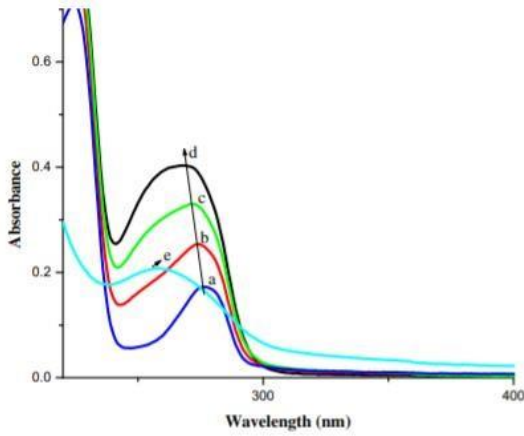
Şekil 1.27 Shahabadi ve arkadaşları (2013) mesalaminin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve mesalamin yapısı.

Mukherjee ve Singh (2016) kaptoprilin DNA ile etkileşimini incelemişlerdir (Şekil 1.28). DNA'nın absorpsiyon şiddetindeki ihmal edilebilir kayma maddenin DNA ile oluk bağlanma yaptığını göstermektedir [69].



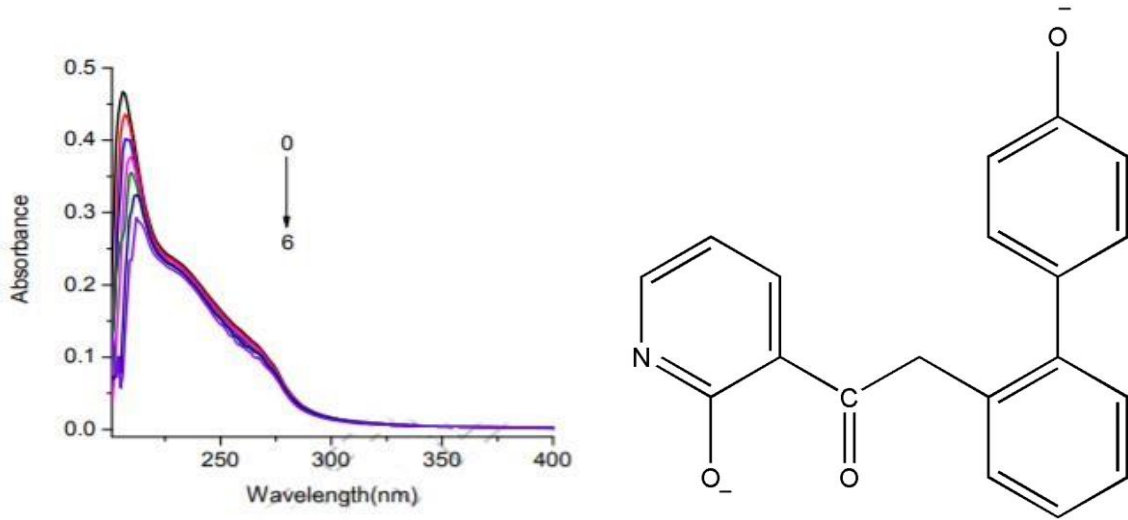
Şekil 1.28 Mukherjee ve Singh (2016) Kaptoprilinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve kaptoprilin yapısı.

Shuyun ve arkadaşları (2012) salbutamolün DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.29). Hiperkromik etki ve maddenin molekül yapısı düşünüldüğünde oluk bağlanmayı işaret etmektedir [70].



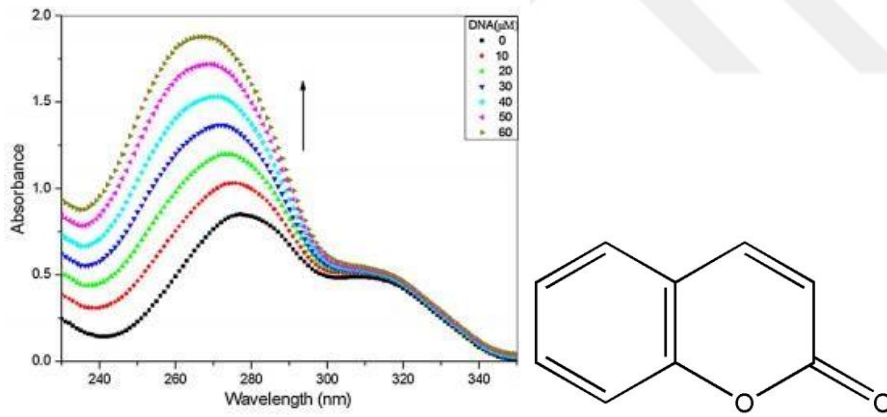
Şekil 1.29 Shuyun ve arkadaşları (2012) salbutamolun artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve salbutamol yapısı.

Shi ve arkadaşları boskalit (2017) maddesinin DNA ile etkileşimini (Şekil 1.30) UV titrasyon yöntemi ile incelemişlerdir. Absorpsiyon şiddetinin yoğunluğu, DNA konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. Aynı zamanda absorpsiyon bandının ise 206'dan 210 nm'ye hafif kırmızı bir kayma olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar molekülün interkalasyon yaptığını göstermektedir [71].



Şekil 1.30 Shi ve arkadaşları (2017) boskalitin artan DNA miktarıyla absorpsiyon Spektrumundaki değişikliği ve boskalit yapısı.

Sarwar ve arkadaşları (2014) kumarinin DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.31). Absorpsiyon şiddetinde görülen hipokromik etki ve maddenin molekül yapısı düşünüldüğünde maddenin oluk bağlanma yaptığı düşünülmektedir [72].



Şekil 1.31 Sarwar ve arkadaşları (2014) kumarinin artan DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve kumarin yapısı.

1.3.2 Floresans Spektroskopisi

DNA ile küçük ligand molekülleri arasındaki etkileşimleri incelemek için kullanılır. Yöntem yüksek hassasiyet, geniş doğrusal derişim aralığı ve seçicilik gibi avantajlara sahiptir.

Floresans çalışmaları UV absorpsiyon spektroskopisi çalışmaları ile benzerdir. Floresans spektroskopisinde yine önce ilaç çözeltisinin floresansı ölçülür. Sonra üzerine DNA

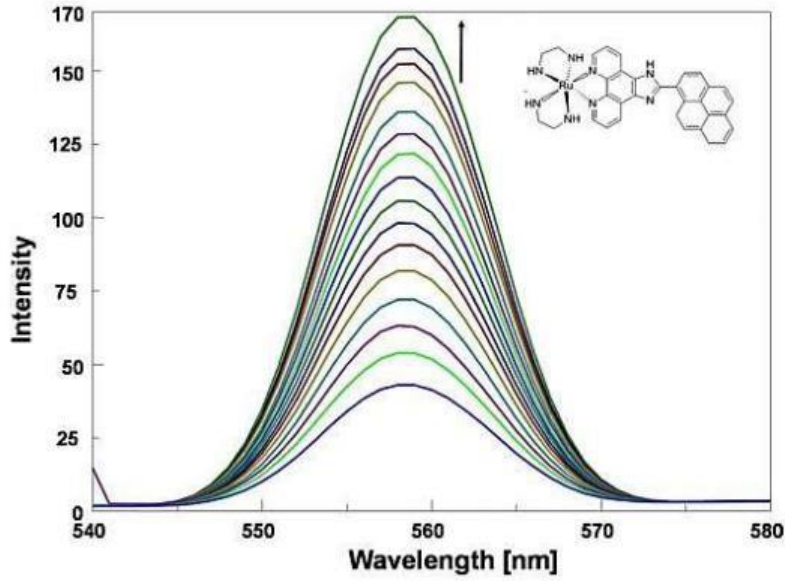
eklenmesiyle floresansında meydana gelen değişimler izlenir. Floresans şiddetindeki değişim bağlanma olduğunu gösterir. Düşük enerjili ($\pi-\pi^*$) geçiş seviyeleri olan aromatik gruplar yüksek floresans özelliğine sahiptir. Alifatik yapılar ya da konjuge çift bağ yapıları içeren bileşiklerinde floresans özelliği vardır ama floresans şiddetleri aromatik bileşiklere göre düşüktür [73,74]. DNA ve metal komplekslerinin etkileşiminde genellikle yüksek floresans ortaya çıkar. Bunun sebebi metal komplekslerin su molekülü tarafından sarılmasıdır. DNA ile etkileşim olması durumunda su molekülleri dışarıda kalır ve bu durum sonucunda metal kompleksin floresansında yükselme meydana gelir [75]. DNA ile interkalasyon yapan ilaçlar floresans yoğunluğunu artırır ya da azaltır. Gözlemlenen hipokromizm, ilacın bağlanma hareketliliğini kısıtlar ve titreşim frekansının azalmasına neden olur [76]. Bu durum floresans yoğunluğunda düşüşe neden olur. Oluk bağlama yapan ajanlarda ise hidrojen bağı, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler meydana gelir. Bu bileşikler şeker-fosfat omurgasına yakındır. Bu sebepler floresans yoğunluğunda düşüş meydana getirir.

Stern-Volmer eşitliği titrasyon sonucunda elde edilen verileri değerlendirilerek bileşiklerin DNA ile meydana gelen etkileşimin kuvvetini bulabilir.

$$F / F_0 = 1 + K_{sv} [Q]$$

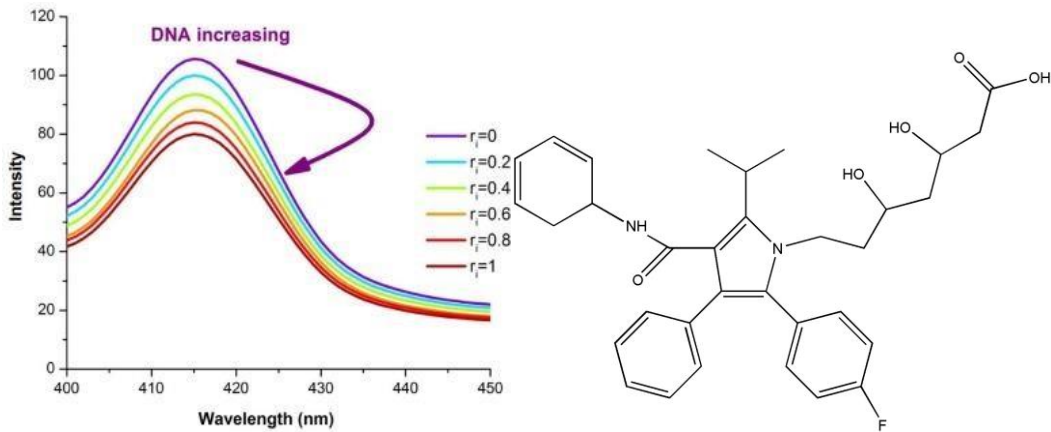
İlaç üzerine DNA eklendikçe değişen floresans yoğunluğu F, DNA eklemekten ölçülen floresans yoğunluğu F_0 , baskılayıcı molekül derişimi [Q], bağlanma derecesi K_{sv} ile verilmektedir. F/F_0 değerine karşı [Q] değerleri grafiği doğrunun eğiminden K_{sv} değerini verir.

Devi ve arkadaşlarının (2017) çalışmasında metal kompleksi çözeltisinin üstüne artan miktarda DNA eklenmiştir ve floresansın emisyon şiddetinde artış olduğu görülmüştür (Şekil 1.32). Bu sonuçlardan metal kompleksinin DNA ile interkalasyon yaptığı sonucuna varılmıştır [77].



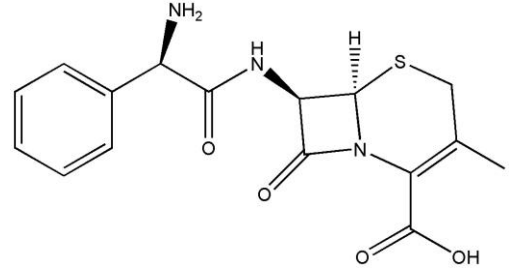
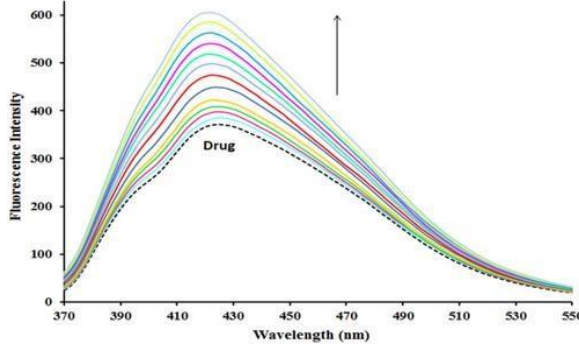
Şekil 1.32 Devi ve arkadaşları (2017) $[Ru(en)_2pyip]^{2+}$ kompleksinin değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu ve molekül yapısı

Kalar (2018) atorvastatinin (Şekil 1.33) DNA ile etkileşimini floresans titrasyon yöntemiyle de araştırmıştır. Atorvastatinin floresansı, DNA konsantrasyonunu artırarak düzenli olarak azaldı, ancak emisyon maksimum dalga boyunda önemli bir kayma gözlenmedi, bu da DNA'nın atorvastatin ile etkileşime girdiğini ve oluk bağlanma ile bağlandığını göstermiştir [66].



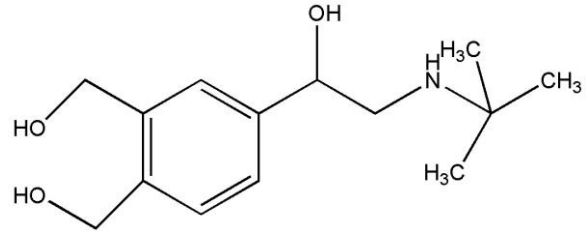
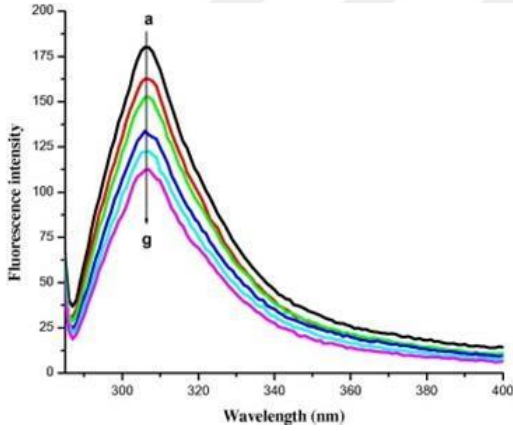
Şekil 1.33 Kalar (2018) atorvastatinin değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu ve atorvastatin yapısı.

Shahabadi ve Hashempour (2017) sefaleksinin DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.34). Sefaleksinin maksimum floresans emisyonu 420 nm'dedir. DNA konsantrasyonunun artmasıyla sefaleksinin emisyon yoğunluğunda artış meydana gelmiştir. Sonuçlar, sefaleksinin DNA ile güçlü bir şekilde etkileşime girebileceğini ve interkalasyon ile bağlandığını göstermektedir [78].



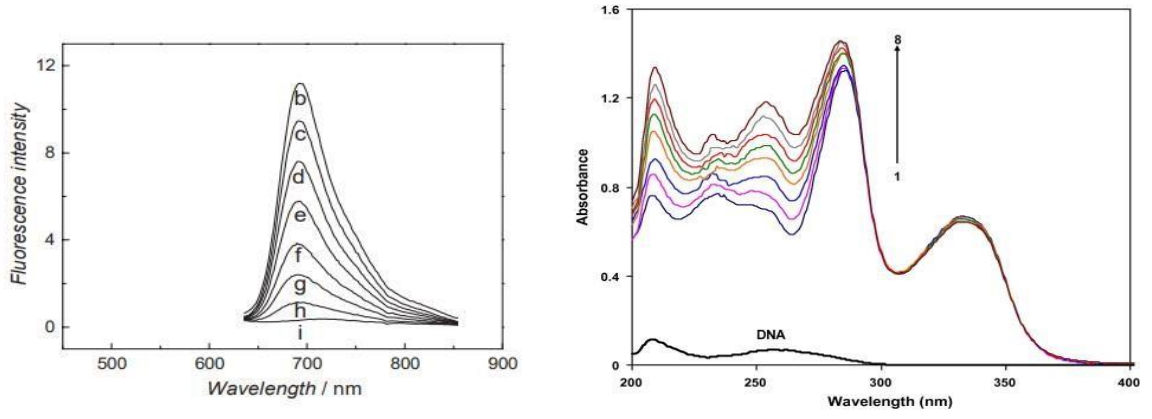
Şekil 1.34 Shahabadi ve Hashempour (2017) sefaleksinin değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu ve sefaleksin yapısı.

Shuyun ve arkadaşları (2012) salbutamol (Şekil 1.31) ile DNA arasındaki etkileşimi araştırmışlardır (Şekil 1.35). Salbutamol 306 nm maksimum emisyon vermiştir. Farklı konsantrasyonlardaki salbutamol çözeltisine DNA eklendiğinde salbutamolün floresan yoğunluğu artan DNA konsantrasyonu ile düzenli olarak azalmıştır. Floresans yoğunluğundaki düşüş, DNA'nın salbutamol ile bağlanabileceğini ve bu bağlanmanın oluk bağlanma olduğunu göstermektedir [70].



Şekil 1.35 Shuyun ve arkadaşları (2012) Salbutamolun değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu ve salbutamol yapısı.

Li ve arkadaşları (2005) mitoksantronun (MTX) (Şekil 1.22) DNA ile etkileşimini floresans titrasyon yöntemiyle de araştırmışlardır (Şekil 1.36). Floresans yoğunluğu DNA miktarı arttıkça azalmıştır, bu da MTX'in DNA'ya bağlandığını göstermektedir. Sonuçlara ve maddenin molekül yapısı dikkate alındığında interkalasyon yoluyla bağlandığı görülmüştür [63].

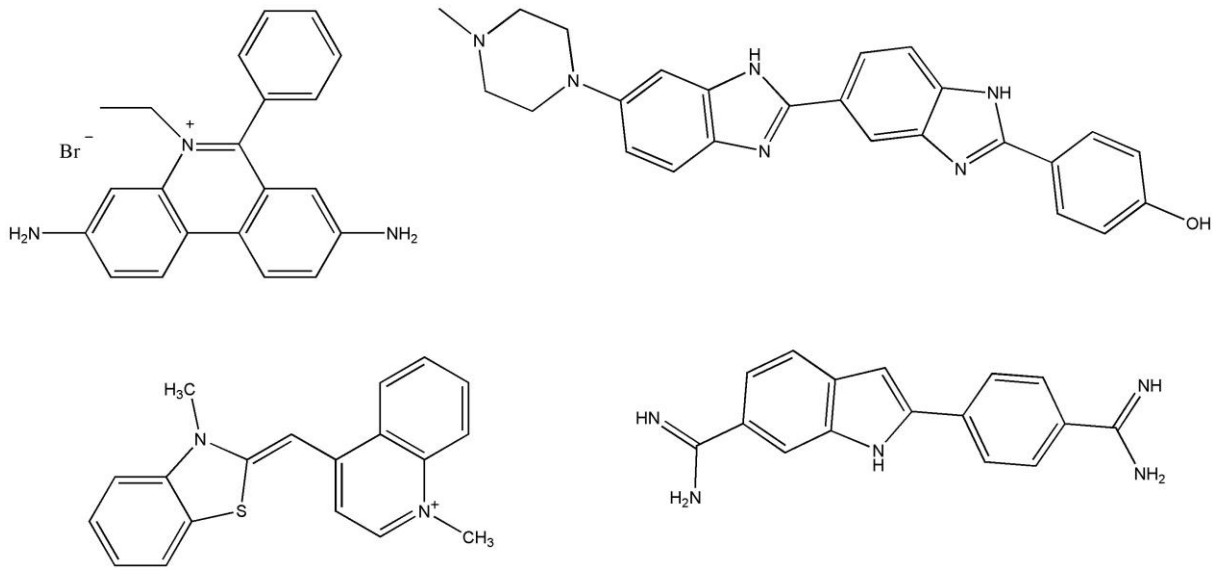


Şekil 1.36 Li ve arkadaşları (2005) MTX'ın değişen miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu.

1.3.3 Yarışmalı floresans spektroskopisi

Bu teknik DNA ile bağlanma modu bilinen boya türlerinin kullanılmasıyla gerçekleşir. Küçük molekülün eklenmesi üzerine, boya DNA kompleksinin floresans yoğunluğundaki herhangi bir değişiklik, bize, etkileşim modları hakkında değerli bilgiler verebilir.

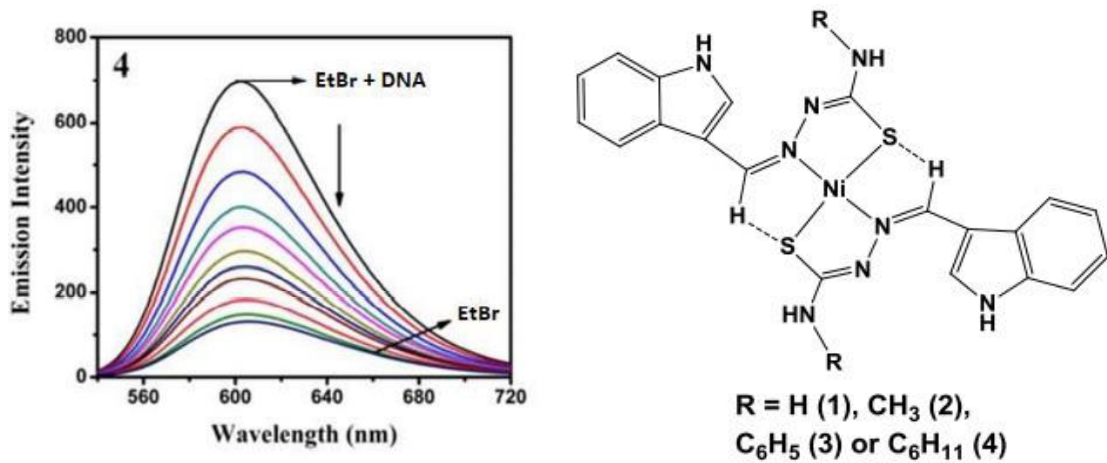
Yarışmalı titrasyonda önce DNA boya ile titre edilir ve floresansı kaydedilir, sonrasında küçük molekül ile boya-DNA kompleksi titre edilir. Molekülün kompleksin floresans şiddetinde azalma meydana getirdiği görüldüğünde, küçük molekülün bağlanan boyayı yerinden çıkarttığı ve molekülün boya ile aynı modda DNA ile bağlandığı düşünülür. En çok kullanılan boyalar etidyum bromür (EtBr), 4',6-diamidin-2-fenilindol (DAPI) ve 2'-(4-hidroksifenil)-5-(4-metil-1-piperazinil)2,5'-bi-1*H*-benzimidazol (Hoechst-33258, (Hoechst))'dir. Hoechst, EtBr, DAPI ve TO (tiyazol turuncusu) düşük floresans özelliğine sahip boyalardır ve DNA ile bağlandıklarında floresans şiddetlerinde artış olur (Şekil 1.36). Artan miktarlarda ilaç eklenmesi boyayı yerinden çıkartır ve ilacın floresans şiddeti düşmeye başlayacaktır.



Şekil 1.36 EtBr, Hoechst, Tiyazol Turuncusu ve DAPI boya lar ı.

EtBr nükleik asidi inhibe eden ilaçlardan biridir [79]. Ayrıca EtBr bilinen en iyi interkalasyon ajan ıdır [80].

Haribabu ve arkadaşları (2017) nikel kompleksinin DNA ile etkileşimini incelemiştir. Artan miktarda metal kompleksi eklenmesi EtBr-DNA emisyon şiddetinde azalma meydana getirmiştir [81] (Şekil 1.37).

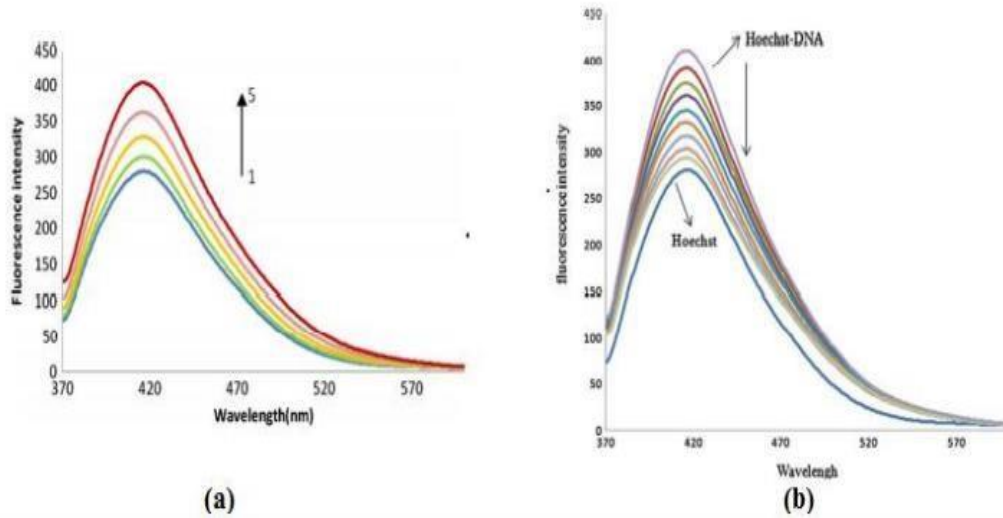


Şekil 1.37 Haribabu ve arkadaşları (2017) EtBr-DNA kompleksinin değişen Ni(II) kompleksi miktarıyla titrasyon sonucu elde edilen emisyon spektrumu.

TO, sulu çözeltilerinde neredeyse floresan özelliğe sahip değildir fakat nükleik asitlerle düşük interkalasyon yaparak floresan haline gelir [82]. Kimyasal kararlılığa ve yüksek bir molar

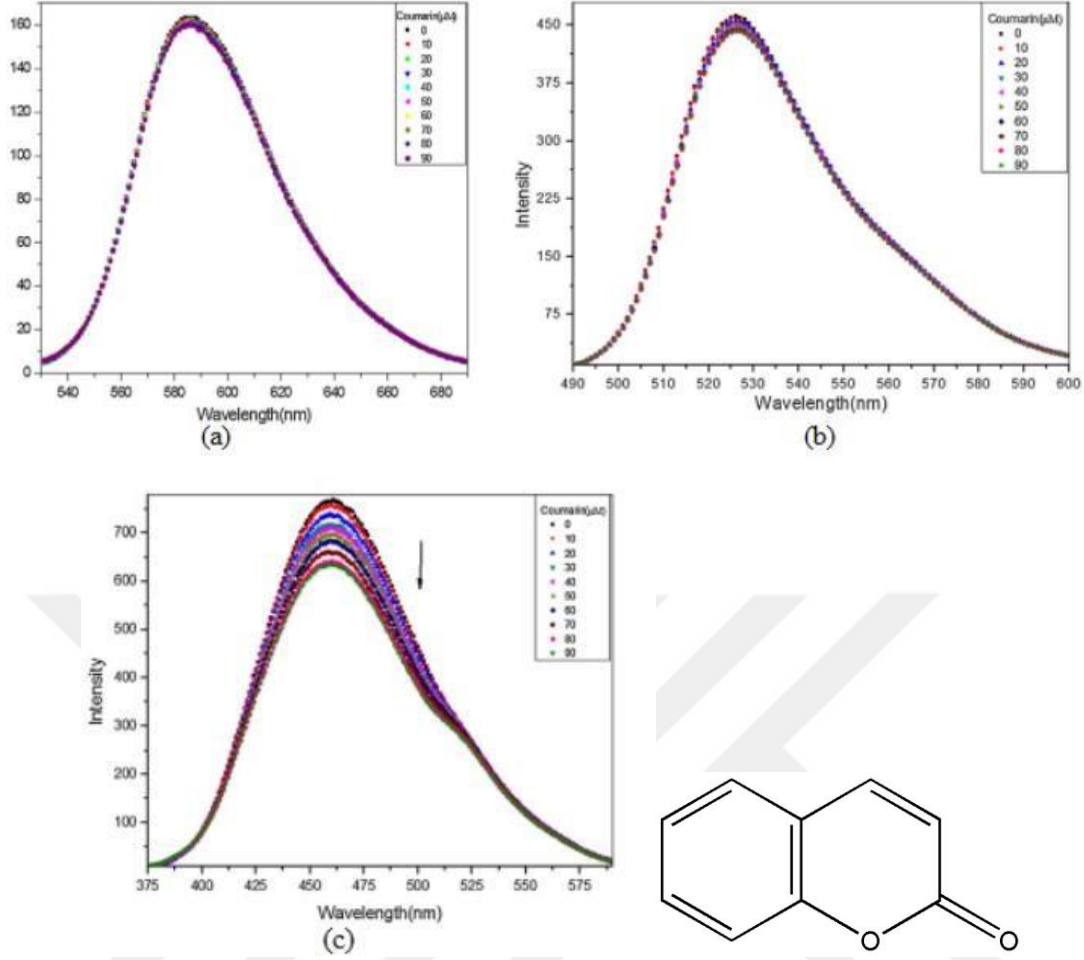
absorpsiyon katsayısına sahiptir. Bu boyanın tümör afinitesi normal hücrelere göre daha yüksektir ve bu yüzden kanser hücrelerinin erken evre etiketlemede yaygın olarak kullanılır.

Hoechst, DNA ile etkileşim türünün belirlenmesinde kullanılan bir oyuk bağlayıcı ajandır. DNA'nın büyük oyuğu üzerinden ve A-T nükleotidlerinin fazla olan kısmına bağlanır [83] (Şekil 1.38).



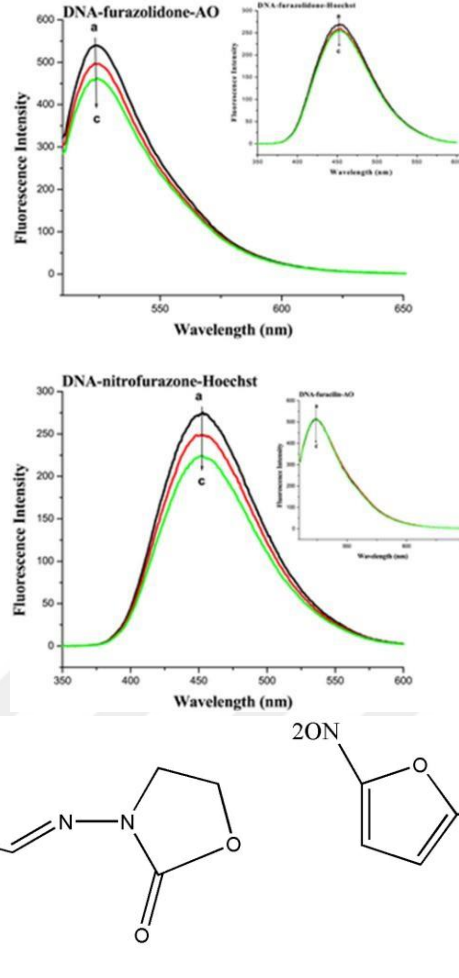
Şekil 1.38 a) Hoechst üzerine artan DNA çözeltisi eklenmesi ile oluşan floresans değişimi, b) Hoechst-DNA kompleksine ilaç molekülü eklendikçe oluşan floresans değişimi

Sarwar ve arkadaşları (2014) (Şekil 1.39) kumarinin DNA ile etkileşimini araştırmışlardır. Kumarin üzerine artan miktarlarda DNA çözeltisi eklendikçe kumarinin floresans şiddetinde düşüş meydana gelmiştir. Bileşiğin EtBr ve akridin turuncusu (AO) boya ile etkileşimi (EtBr-DNA ve AO-DNA) kompleksin floresans şiddetinde azalma meydana getirmiştir. Bu durum kumarinin DNA'ya boya ile bağlandığı bölgeden bağlanmadığını gösterir. Fakat Hoechst-DNA kompleksine kumarin ilave edildikçe floresans şiddetinde azalma meydana gelmiştir. Floresansda azda olsa meydana gelen bu düşüş maddenin DNA'ya Hoechst'ün bağlandığı bölgeden zayıf olarak bağlandığını düşündürmektedir [72].



Şekil 1.39 Sarwar ve arkadaşları (2014) kumarin bileşiği için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları a) EtBr b) Akridin Turuncusu c) Hoechst 33258.

Shuyun ve arkadaşlarının (2019) çalışmasında DNA ve furazolidon/furasilin arasındaki etkileşimi, yarışmalı floresans titrasyonu ile araştırmıştır (Şekil 1.40). Bu çalışmada ayrı ayrı iki boyanın DNA komplekslerini içeren çözeltilere furalizadon maddesi eklendiğinde AO-DNA kompleksinin floresans şiddeti azalmıştır, ama Hoechst-DNA kompleksinin floresans şiddeti değişmediğinden furalizadon interkalatör maddedir. Furalisin maddesi ile bu çalışma tekrarlandığında ise AO-DNA kompleksi floresans şiddetinde çok az bir düşme olmuştur ama Hoechst-DNA kompleksinin floresans şiddetinde yüksek oranda düşüş olmuştur. Bu durumda furalizadon maddesinin interkalatör değil Hoechst gibi oluk bağlanma yaptığı anlaşılmıştır [84].



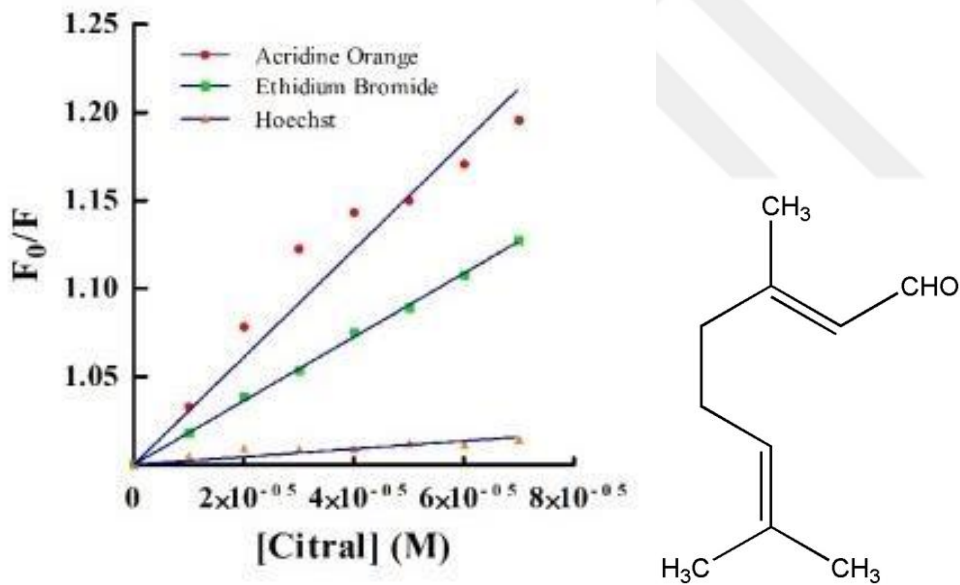
Şekil 1.40 Shuyun ve arkadaşları (2019) furazolidon / furasilin bileşiği için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları (AO-DNA- Hoechst-DNA) ve furazolidon/ furasilin yapısı.

Alam ve arkadaşları (2018) sitralin DNA etkileşimi modunu incelemek için bağlanma modları iyi belirlenmiş EtBr, AO ve Hoechst-33258 boyaları kullanılmıştır (Şekil 1.41). DNA sarmalından bağlı bir boyayı rekabetçi bir şekilde değiştiren herhangi bir küçük molekülün, bağlı boyanıninkine benzer bir şekilde DNA ile bağlanması beklenir. EtBr-DNA kompleksi için emisyon 500-700 nm aralığında, AO-DNA kompleksi için emisyon 520-700 nm aralığında, Hoechst-DNA kompleksi için emisyon 375-600 nm aralığında kaydedilmiştir.

EtBr'nin floresans yoğunluğu, DNA baz çiftleri içindeki interkalasyonu nedeniyle büyük ölçüde artmıştır. Sürekli sitral eklenmesiyle EtBr-DNA sisteminin floresans yoğunluğunda değişim gözlenmiştir. Bu, sitralin DNA sarmalından EtBr'nin yerini aldığını ve bu da interkalasyon yöntemi ile DNA'ya bağlandığını göstermektedir.

AO EtBr'ye benzer şekilde DNA'ya bağlanmaktadır. AO-DNA'nın floresans yoğunluğu, tek başına AO'dan çok daha güçlüdür. Grafik sitral varlığında ve yokluğunda DNA'ya bağlanan AO'nun emisyon spektrumunu göstermektedir. Eklenen sitral miktarı arttıkça AO-DNA'nın floresans yoğunluğunun azalması gözlemlenmiştir, bu durum sitralin AO'nun yerini alabildiğini göstermektedir. Bu sonuç, sitralin bir interkalasyon yöntemi ile DNA'ya bağlandığını doğrulamıştır.

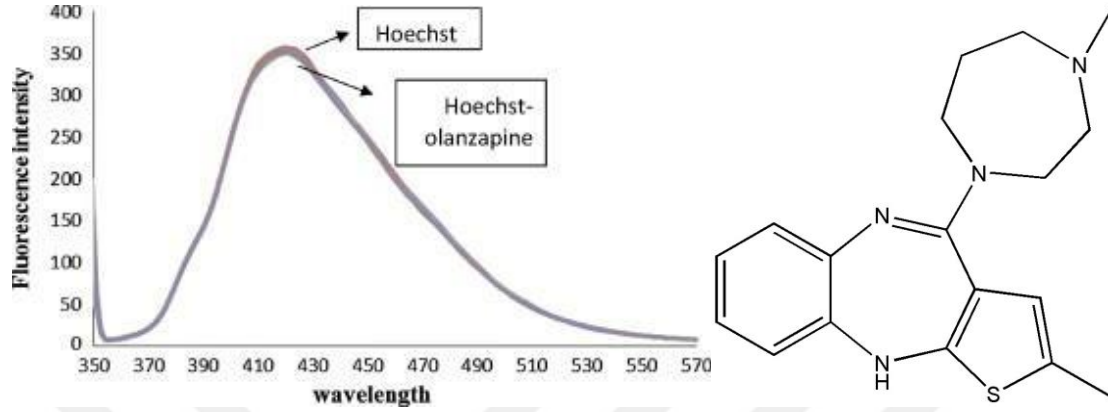
Grafikte (Şekil 1.41) sitralin eklenmesiyle Hoechst-DNA sisteminin floresans yoğunluğunda hiçbir değişiklik gözlenmemiştir, bu da sitralinin DNA'ya minör oluk bağlı Hoechst'ün yerini alamayacağını düşündürmektedir. Bu, sitral bağlanma modunun oluk bağlanması yerine interkalatif olduğunu kanıtlamıştır. EtBr ve AO için bu iki parametrenin hesaplanan değerleri Hoechst boyasına kıyasla çok daha yüksektir ve bu da sitralin, Hoechst boyasına kıyasla EtBr ve AO'nun DNA'yı daha büyük ölçüde yer değiştirebildiğini düşündürmektedir [85].



Şekil 1.41 Alam ve arkadaşları (2018) Sitral için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları (AO-DNA, Hoechst-DNA, EtBr-DNA) ve sitral yapısı.

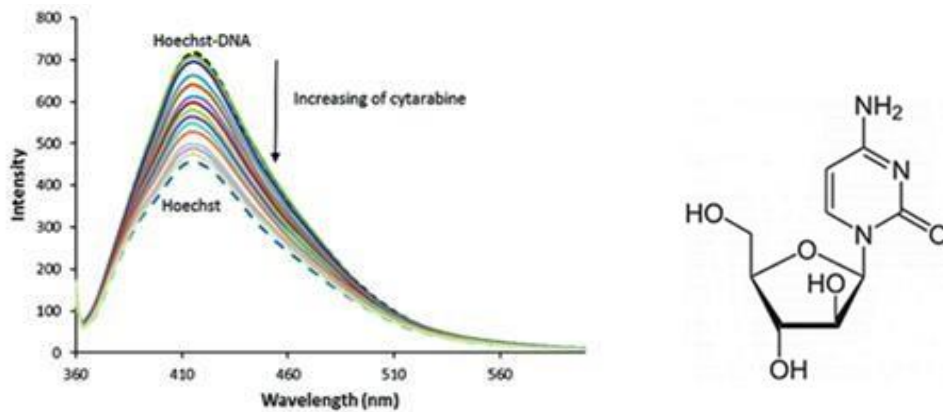
Shahabadi ve Bagheri (2014) olanzapinin DNA ile etkileşimini araştırmışlardır. Olanzapinin DNA'ya bağlanma modunu araştırmak için yarışmalı bir bağlanma deneyi yapılmıştır (Şekil 1.42). Olanzapin, Hoeschst-DNA kompleksi çözeltisine eklendiğinde, floresans yoğunluğunda azalma meydana gelmiştir. Olanzapin, DNA ile bağlanmada Hoeschst'e karşı yarışır ve oluk Hoeschst'i dubleksten çıkarır ve böylece Hoeschst'ün DNA ile bağlanma konsantrasyonu azalır. Olanzapin ile Hoechst-DNA kompleksinin bağlanması, yeni bir floresanssız kompleks

DNA-Hoechst-Olanzapin oluşturur, bu da Hoechst-DNA kompleksinin floresansının söndürülmesine neden olur. Bu durum olanzapinin küçük bir oyuk bağlayıcı olarak etkileşebileceğini göstermiştir [86].



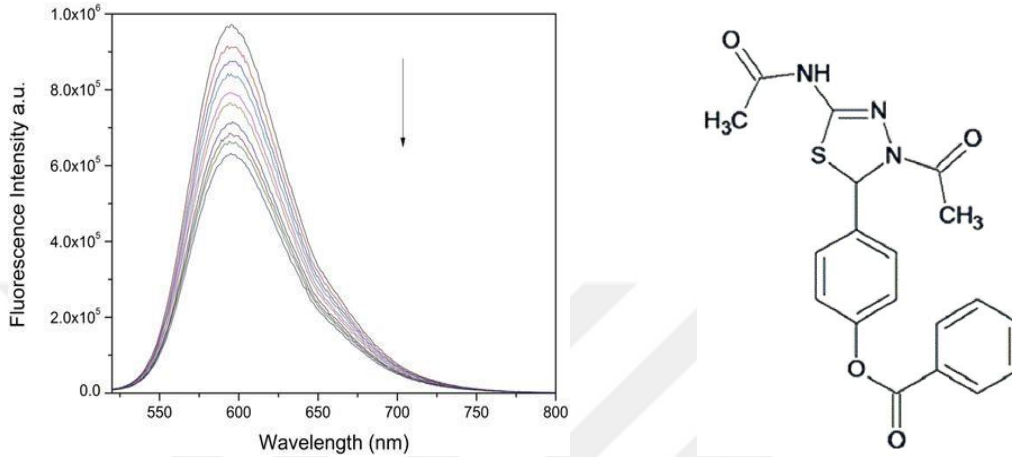
Şekil 1.42 Shahabadi ve Bagheri (2014) Olanzapin için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları Hoechst-DNA ve olanzapinin yapısı.

Shahabadi ve arkadaşları (2016) sitarabin ile DNA arasındaki etkileşimini ayrıca yarışmalı floresans titrasyonu ile araştırmıştır (Şekil 1.43). Artan miktarda sitarabin eklenmesiyle Hoechst-DNA solüsyonunun floresans şiddetinde azalma meydana gelmiştir. Sitarabinin eklenmesinden dolayı oluşan floresans yoğunluğundaki düşüş Hoechst'ün DNA oluğundan çıkışından kaynaklanmaktadır. İlaç ve Hoechst varlığında yarışmalı bağlanma deneyi sitarabinin bir oluk bağlayıcı olarak etkileşime girebileceğini ve sitarabinin Hoechst ile yer değiştirmiş olabileceğini göstermiştir [65].



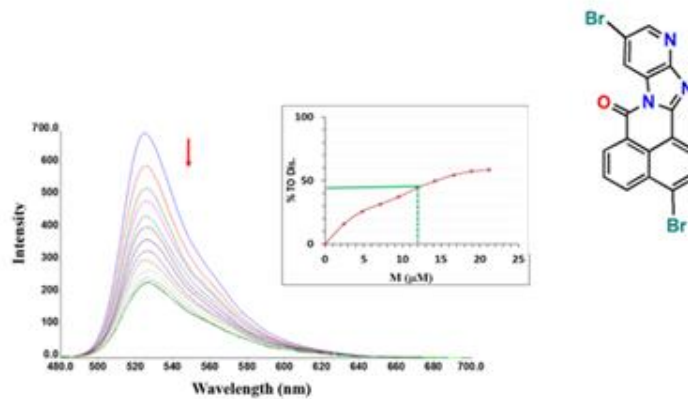
Şekil 1.43 Shahabadi ve arkadaşları (2016) Sitarabin için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrumları Hoechst-DNA ve sitarabin yapısı

Karthikeyan ve arkadaşları (2017) tiyadiazol (Şekil 1.44) türevinin DNA etkileşimini yarışmalı floresans titrasyon yöntemi ile araştırmıştır. Bu nedenle DNA interkalasyon çalışmalarında bir floresan işaretleyici olarak kullanılan EtBr ile çalışmışlardır. Sistem Tiyodaizol ilacıyla titre edilirken, EtBr-DNA sisteminin floresans yoğunluğunda azalma meydana gelmiştir ve maddenin interkalasyon yoluyla bağlandığını göstermiştir [87].

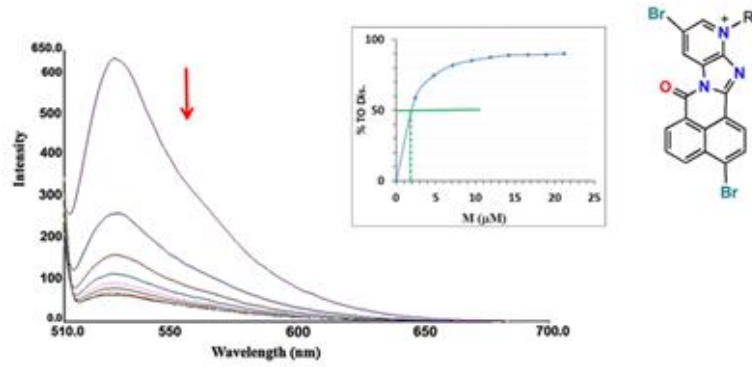


Şekil 1.44 Karthikeyan ve arkadaşları (2017) Tiyadiazol için yapılan yarışmalı titrasyon sonucu elde edilen floresans spektrum değişimi (EtBr-DNA) ve tiyadiazol yapısı

Yıldızın yaptığı çalışmada (2017) L-3 ve L-7 (katyonik) bileşiklerinin (Şekil 1.45 ve Şekil 1.46) TO boyası kullanarak DNA ile etkileşim türü incelenmiştir. Her iki bileşiğin ayrı ayrı eklenmesiyle floresans şiddetinde azalma meydana gelmiştir yani madde boyayı yerinden çıkarıp, DNA ile interkalasyon yoluyla bağlandığı görülmüştür. DC_{50} değerleri sırasıyla 12,1 ve 11,9 olarak hesaplanmıştır [88].



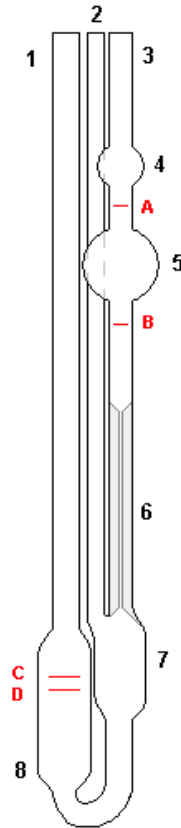
Şekil 1.45 Yıldızın (2017) yaptığı çalışmada TO-çift sarmal DNA kompleksi üzerine artan miktarlarda L-3 eklenmesiyle elde edilen emisyon spektrumu



Şekil 1.46 Yıldızın (2017) yaptığı çalışmada TO-çift sarmal DNA kompleksi üzerine artan miktarlarda L-7 eklenmesiyle elde edilen emisyon spektrumu

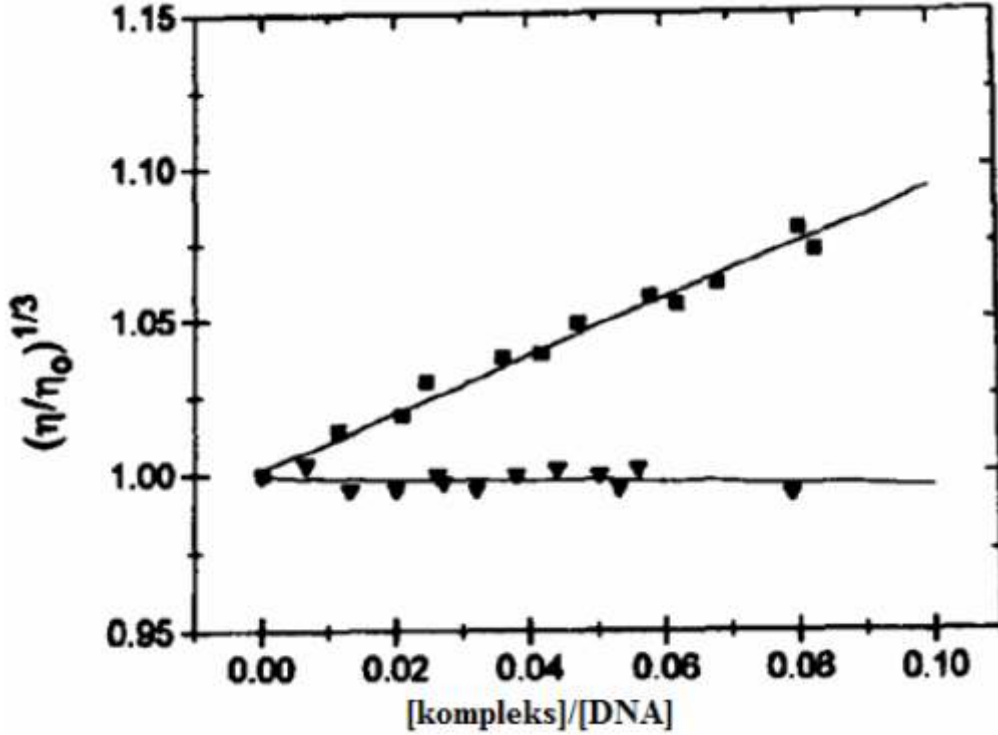
1.3.4 Viskozimetri

Viskozite ölçümü küçük moleküllerin DNA ile bağlanma modunu öğrenmek için kullanılan hassas ve etkin bir araçtır [89]. Ubbelohde viskozimetresiyle (Şekil 1.47) DNA çözeltisinin iki nokta arasındaki akış süresi ölçülmektedir.



Şekil 1.47 Ubbelohde viskozimetresi.

Kompleks DNA ile interkalasyon yoluyla etkileşiyorsa DNA'nın baz çiftleri birbirinden uzaklaşır ve DNA zincirinin boyu uzar [90]. Bu durum DNA çözeltisinin viskozitesinde artış meydana getirir. EtBr bu duruma örnek verilebilir (Şekil 1.48).

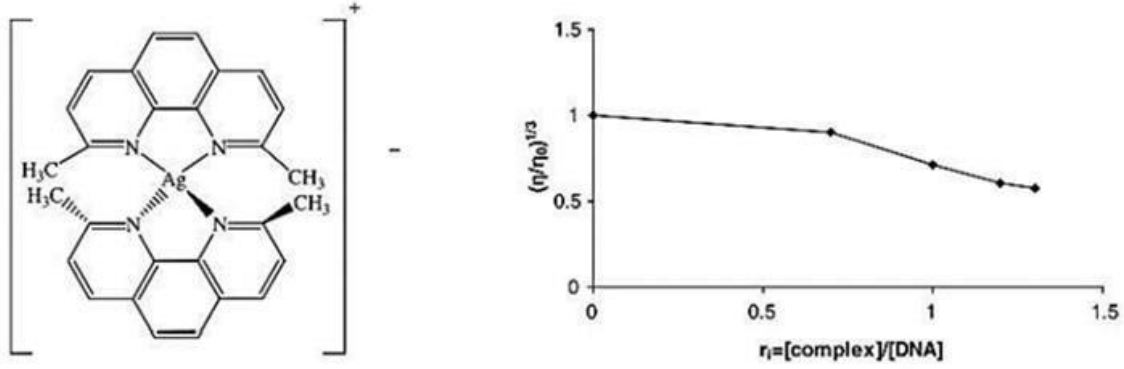


Şekil 1.48 EtBr için örnek viskozimetrik titrasyon grafiği.

Grafikte η_0 DNA'nın başlangıç viskozitesi, η DNA'ya bir porsiyon EtBr eklendikten sonra ölçülen viskoziteyi gösterir, η/η_0 ise bağıl viskozite değerini ifade eder.

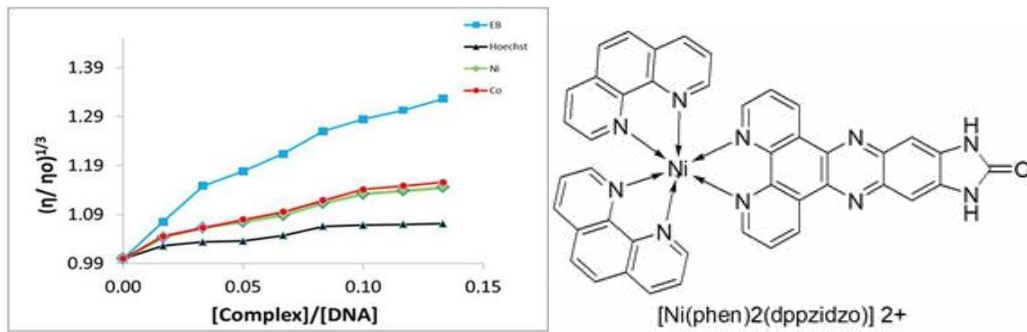
Oyuğa bağlanan moleküller DNA'yı bükebildiğinden dolayı DNA'nın boyunda kısalma ve viskozitesinde azalma meydana gelir. Eğer elektrostatik veya oluk bağlanma meydana gelirse, DNA'nın viskozitesi üzerinde çok az etkisi vardır [91].

Shahbadi ve arkadaşları (2010) $[\text{Ag}(2,9\text{-dimethyl-1,10-phenanthroline})_2](\text{NO}_3)$ molekülünün DNA ile etkileşimini viskozimetre deneyi ile araştırmışlardır (Şekil 1.49). Viskozitenin azalması gümüş kompleksinin DNA ile kısmi interkalasyon yaptığı sonucu ortaya çıkmıştır [92].



Şekil 1.49 Shahbadi ve arkadaşları (2010) Ag(I) kompleksinin molekül yapısı ve DNA viskozitesine etkisi.

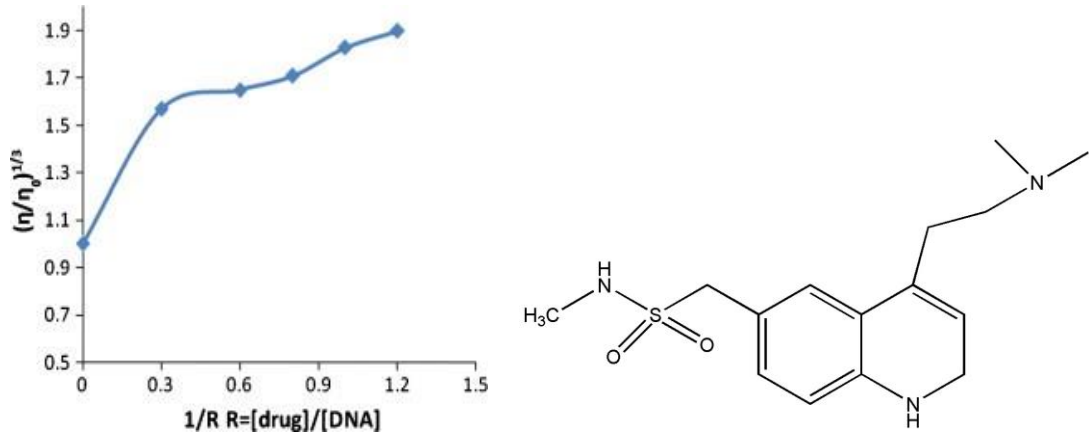
Abulhasanov ve arkadaşları (2020) çalışmasında yeni oktahedral $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppzido})]^{2+}$ ve kompleksinin DNA viskozitesine etkisi çalışılmıştır (Şekil 1.50). Şekildeki düzlemsel dppzido ligandını içeren oktahedral nikel kompleksinin DNA ile arasındaki etkileşim incelenmiştir. Nikel ve kobalt kompleksleri DNA viskozitesini biraz artırmıştır. Kontrol olarak kullanılan interkalatör EtBr DNA'nın viskozitesini artırırken, oluk bağlayıcı Hoechst boyası DNA viskozitesine etki etmez. İncelenen komplekslerin bu iki maddenin arasında bir kuvvetle viskoziteyi artırdığından EtBr'den daha zayıf interkalatörler oldukları anlaşılmıştır. Mavi olan EtBr'ün DNA viskozitesine etkisini gösteren eğridir ve artışın miktarı maddenin bilinen kuvvetli interkalasyonunu doğrulamaktadır. Aynı şekilde Hoechst ise en alttaki siyah olandır ve çok az değişiklik yani bilinen oluk bağlanmayı doğrular. Nikel kompleksi ise bu ortadaki kırmızı yeşil kısımdır ve daha az kuvvetle interkalasyon yaptığı anlaşılmaktadır [93].



Şekil 1.50 Abulhasanov ve arkadaşları (2020) $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppzido})]^{2+}$ kompleksinin molekül yapısı ve DNA viskozitesine etkisi.

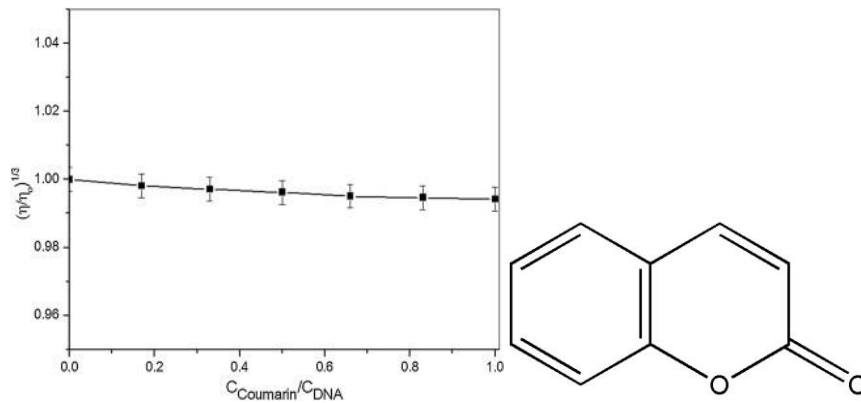
Shahabadi ve Moghadam (2012) sumatriptanın DNA ile etkileşimini viskozite deneyi ile araştırmışlardır (Şekil 1.51). Sumatriptanın baz çiftlerine girerek sarmalda bir uzamaya neden

olduğu ve bunun sonucunda DNA'nın viskozitesinde artış görülmektedir. Bu durumda interkalasyon olabileceğini göstermektedir [94].



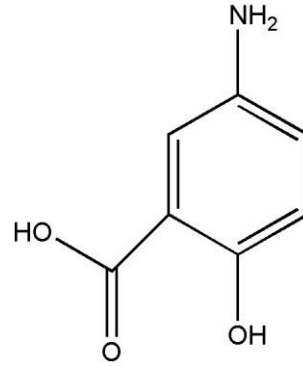
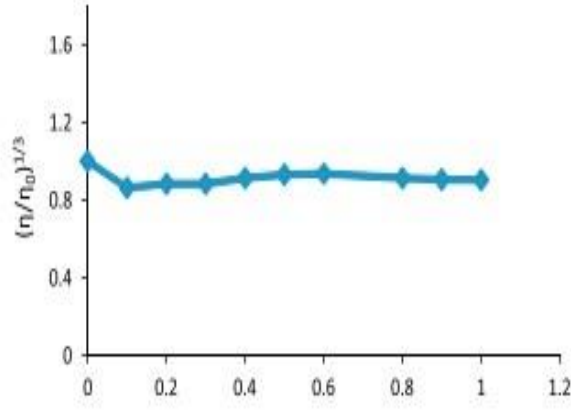
Şekil 1.51 Shahabadi ve Moghadam (2012) sumatriptan'ın DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.

Sarwar ve arkadaşları (2014) kumarinin DNA'ya bağlanma modunu farklı kumarin konsantrasyonlarında DNA viskozitesini ölçerek araştırmışlardır (Şekil 1.52). Artan kumarin konsantrasyonu ile DNA'nın viskozitesinde hafif bir düşüş meydana gelmektedir. Bu durum kumarinin oluk bağlanma yoluyla DNA ile etkileşime girdiğini gösterir. DNA'nın nispi viskozitesindeki hafif düşüş, kumarinin neden olduğu DNA sarmalındaki bükülme ve bükülmeden dolayı, etkin uzunluğunu ve dolayısıyla viskozitesini azaltabilir [72].



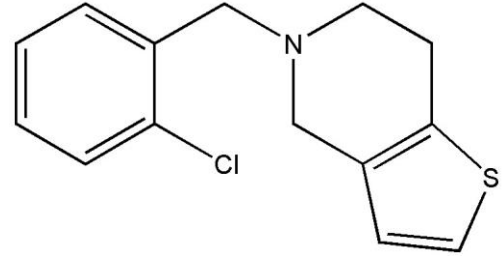
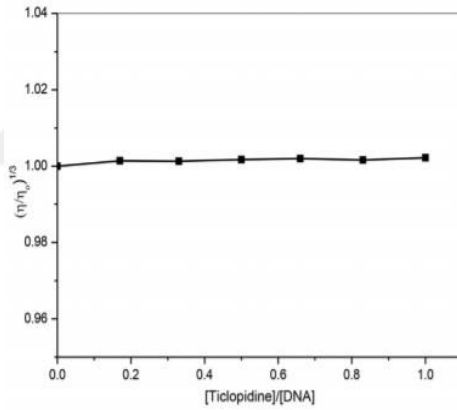
Şekil 1.52 Sarwar ve arkadaşları (2014) kumarinin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.

Shahabadi ve arkadaşları mesalaminin (2013) DNA ile etkileşimini viskoziteyle de incelemişlerdir (Şekil 1.53). DNA'nın viskozitesine bakıldığında, oluşan ufak değişim mesalaminin oluk bağlanma ile DNA'ya bağlandığını göstermiştir [68].



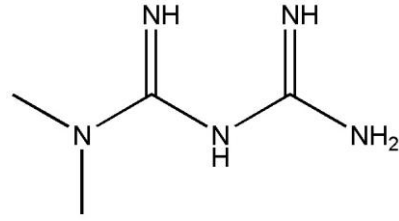
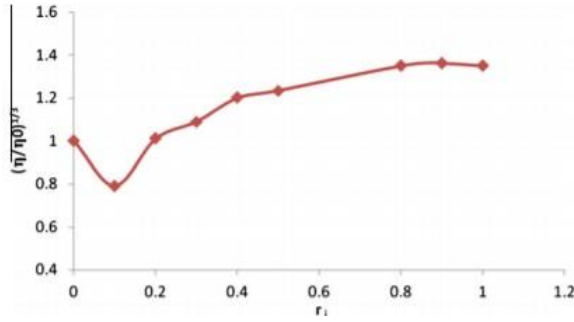
Şekil 1.53 Shahabadi ve arkadaşları (2013) Mesalaminin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.

Afrin ve arkadaşları (2017) tiklopidinin DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.54). Tiklopidin varlığında DNA solüsyonunun viskozitesinde kayda değer bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bu durum maddenin oluk bağlanma ile bağlandığını gösterir [95].



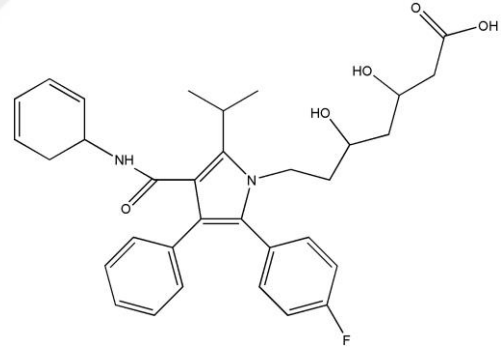
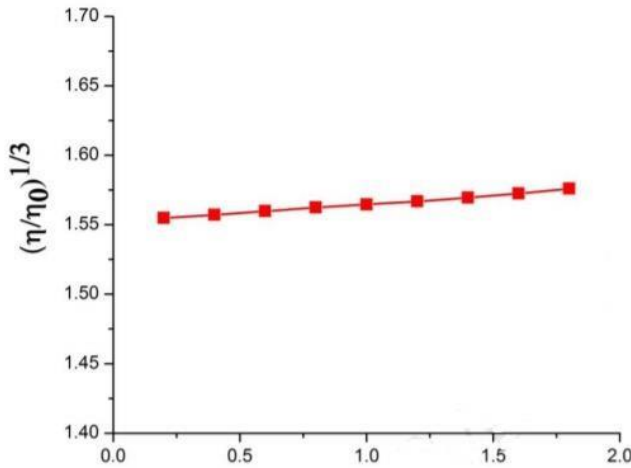
Şekil 1.54 Afrin ve arkadaşları (2017) tiklopidinin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.

Shahabadi ve arkadaşı (2012) metforminin DNA ile etkileşimini viskozite deneyi ile araştırmışlardır (Şekil 1.55). Viskozite görülen bu artış oluk bağlanmanın bir göstergesidir [96].



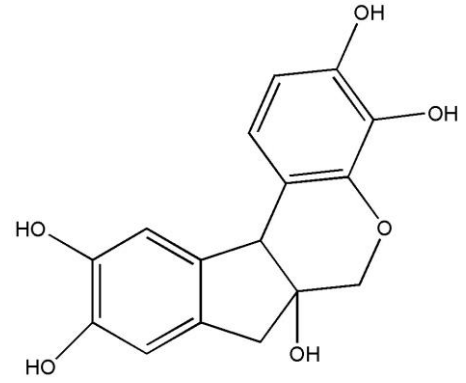
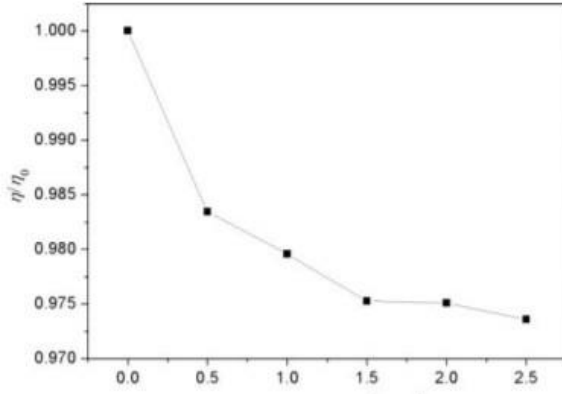
Şekil 1.55 Shahabadi ve arkadaşları (2012) metforminin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.

Kalar (2018) atorvastatinin DNA ile bağlanma şeklini viskozite yöntemiyle de araştırmışlardır (Şekil 1.56). Artan atorvastatin konsantrasyonları ile DNA solüsyonunun viskozitesinde önemli bir değişim görülmemiştir. Bu gözlem maddenin oluk bağlama modu aracılığıyla DNA'ya bağlandığını açıklar [66].



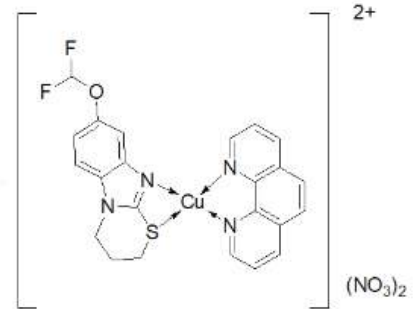
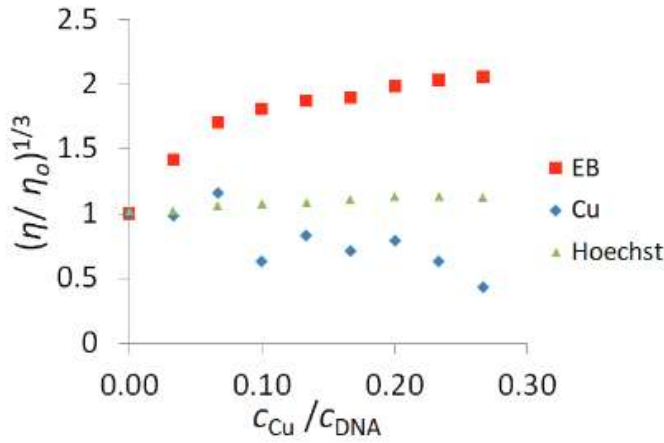
Şekil 1.56 Kalar ve arkadaşları (2018) atorvastatinin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.

Xiong ve arkadaşları (2016) hematoksilenin DNA ile bağlanma türü araştırılmıştır (Şekil 1.57). Kompleksin miktarı arttıkça DNA'nın bağıl viskozitesi giderek azalmıştır. Nedeni kompleksdeki aromatik halkanın kısmen DNA baz çiftlerine bağlanmasıdır. Dolayısıyla DNA sarmalında bir bükülme ile sonuçlanarak etkin uzunluğunun azalmasıyla ilişkili olmasıdır [97].



Şekil 1.57 Xiong ve arkadaşları (2016) hematoksilenin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.

Yıldız ve Çoban'ın çalışmasında (2019) $[\text{Cu}(\text{dtb})(\text{phen})]^{2+}$ kompleksinin (Şekil 1.58) viskozitesini araştırmışlardır. Artan miktarlardaki $[\text{Cu}(\text{dtb})(\text{phen})]^{2+}$ kompleksi DNA'nın viskozitesinde hafif bir azalmaya neden olmuştur ve kompleksin kısmi interkalasyon ile bağlandığını göstermiştir. Major ve minör oyuklarda oluşan kısmi interkalasyon baz çiftin bir kısmını kaldırır gibi kaldırır. Klasik interkalasyondaki gibi istiflenmiş baz çiftlerini tamamen ayırmaz. Bu durum sarmalda bükülmeye ve DNA'nın viskozitesinde bir azalmaya neden olur [98].



Şekil 1.58 Yıldız ve Çoban (2019) $[\text{Cu}(\text{dtb})(\text{phen})]^{2+}$ kompleksinin DNA viskozitesine etkisi ve molekül yapısı.

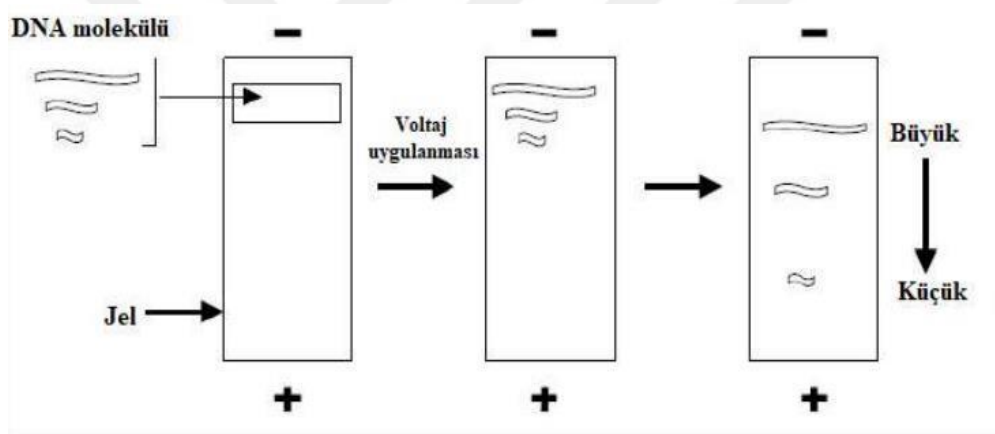
1.3.5 Agaroz jel elektroforez

Elektrik varlığında hareketlenen moleküllerin, molekül ağırlıkları dikkate alınarak jel boyunca karşı bölgeye hareket etmesiyle gerçekleşir. Diğer yöntemlerden daha hızlı ve basittir. İlk olarak

1937 yılında Arne Tiselius tarafından incelenmiştir [99]. Bu yöntemde DNA'yı ayırabilir, saflaştırabilir ve tanımlayabiliriz.

Bu yöntemde plazmid DNA kullanılır. Bolivar ve Rodriguez tarafından 1977 yılında keşfedilmiştir ve pBR322 olarak isimlendirilir. Plazmid DNA, çift sarmal yapıya sahiptir 4361 baz çifti uzunluğunda ve $2,83 \times 10^6$ D (Dalton) ağırlığındadır.

Yöntem, elektrik varlığında yüke sahip olan moleküllerin jel üzerindeki göçme hızına dayanır. Göçün hızını molekülün büyüklüğü ve yapısı, agaroz konsantrasyonu, iyonik kuvvet ve uygulanan akım etkiler. Molekülün ağırlığında artış oldukça maddenin jel üzerindeki yürüme hızı da azalmaktadır. DNA negatif yüke sahip olduğundan elektrik akımı uygulandığında hareket katottan anota doğru gerçekleşir (Şekil 1.59).



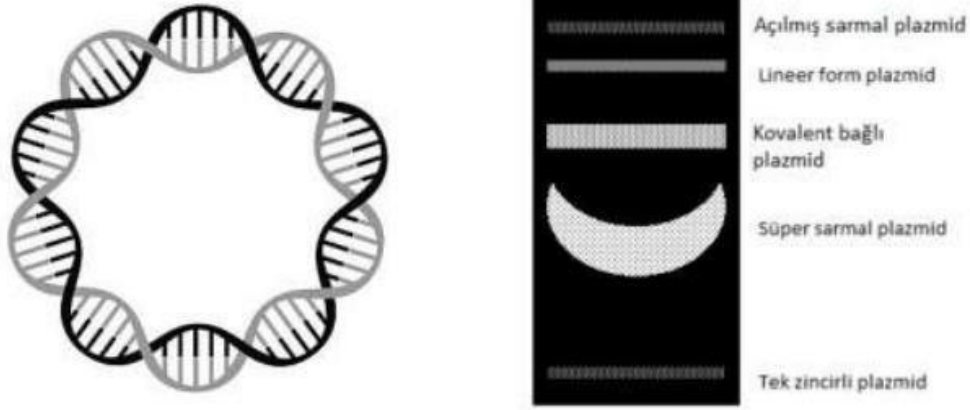
Şekil 1.59 Farklı boyutlardaki moleküllerin jel üzerinde hareketi.

İlk önce örnekler jelin yüzeyindeki kuyucuklara yerleştirilir ve DNA molekülü jelin üzerinde yürütülmeye başlanır. Boyanın eklenmesiyle göç işlemi başlar sonrasında elektroforez işlemi takip edilir. Daha sonra jel EtBr boyası ile boyanır ve görüntü UV ışığı altında okunur [100].

Plazmid DNA'nın en önemli özelliği dış bir etki tarafından kesildiğinde 5 değişik konformasyona sahip olması ve elektrik alan uygulandığında farklı yürüme hızlarının etkileşim türü ile ilgili bilgi vermesidir. Bakteri türlerinde de bulunan plazmid DNA kendini eşleyebilen halkasal bir DNA çeşididir.

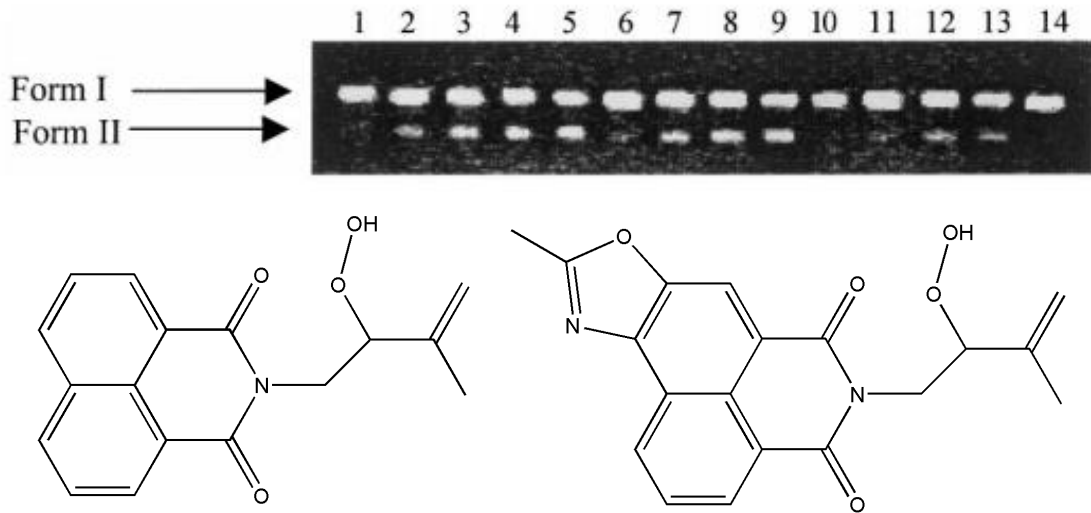
Form I plazmid DNA'nın süper sarmal halidir ve elektroforezde en uzağa sürüklenir. DNA'nın tek zincirinde meydana gelen kırılma Form II formunun oluşmasını sağlar ve elektroforezde en

yavaş hareket bu formdur. İki zincir kırıldığında süper sarmal yapı yok olur ve lineer form (doğrusal form) olan Form III oluşur. Bu form, Form II ve Form I arasında yer alır [101]. (Şekil 1.60).



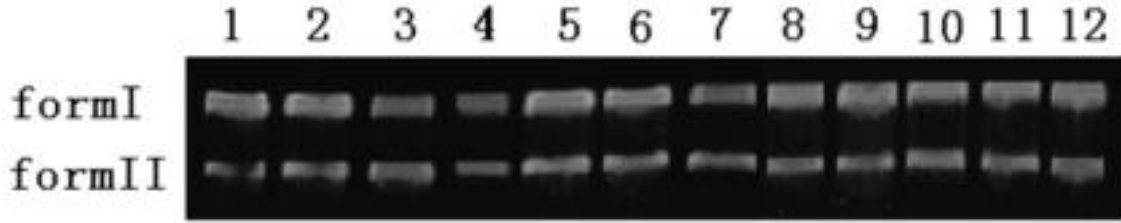
Şekil 1.60 Plazmid DNA ve onun formalarına göre hızları.

Yao ve Qian (2000) oksazolonaftalimidlerin hidroperoksit halinin (Şekil 1.61) DNA ile etkileşimini araştırmışlardır. İki ve üç numaralı bileşikler bir numaralı bileşiğe göre daha belirgin bozulma göstermiştir [102].



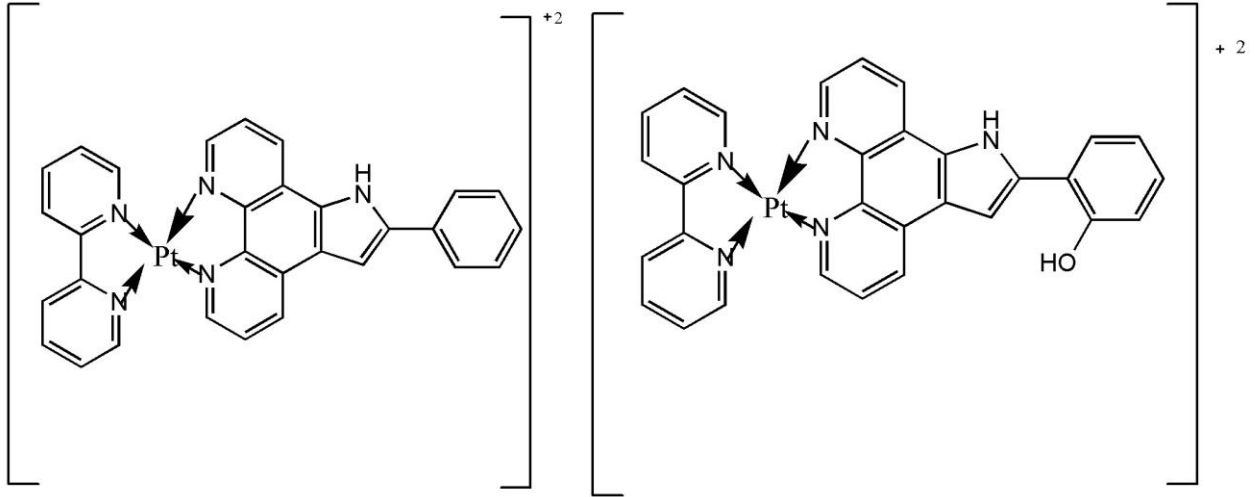
Şekil 1.61 Yao ve Qian (2000) oksazolonaftalimidlerin elektroforez sonuçları.

Li ve arkadaşları (2010) 1,2,3-triazol1,8-naftalimid türevlerinin biyolojik aktivitelerini incelemişlerdir (Şekil 1.62). Sonuçlara göre, 5 numaralı kuyucuğun 7 numaralı kuyucuğa göre daha yüksek hasar verdiği görülmüştür. Bunun sebebi 5 numaralı kuyucukta fenil grubunun bulunmasıdır [103].



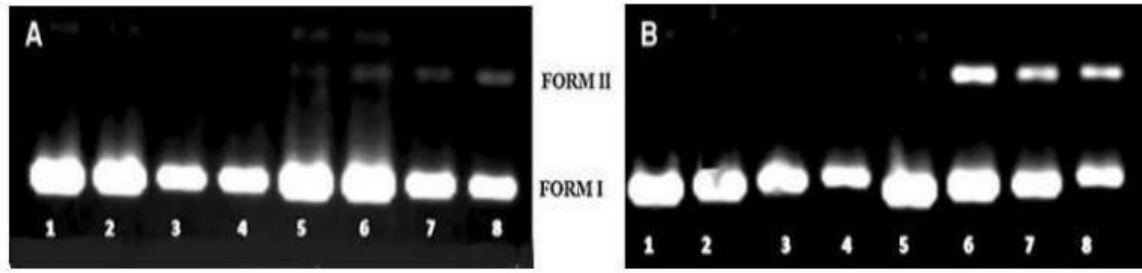
Şekil 1.62 Li ve arkadaşları (2010) 1,2,3-triazol1,8-naftalimid türevlerinin elektroforez görüntüsü.

Çoban ve arkadaşları (2013) çalışmada farklı platin kompleksinin $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ ve $[Pt(bpy)(hpi)]^{+2}$ (Şekil 1.63) DNA ile etkileşimini agaroz jel elektroforezi yöntemiyle incelemiştir (Şekil 1.64). Elektroforez sonuçları incelendiğinde $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ kompleksinin miktarının artmasıyla DNA miktarı azalmıştır.



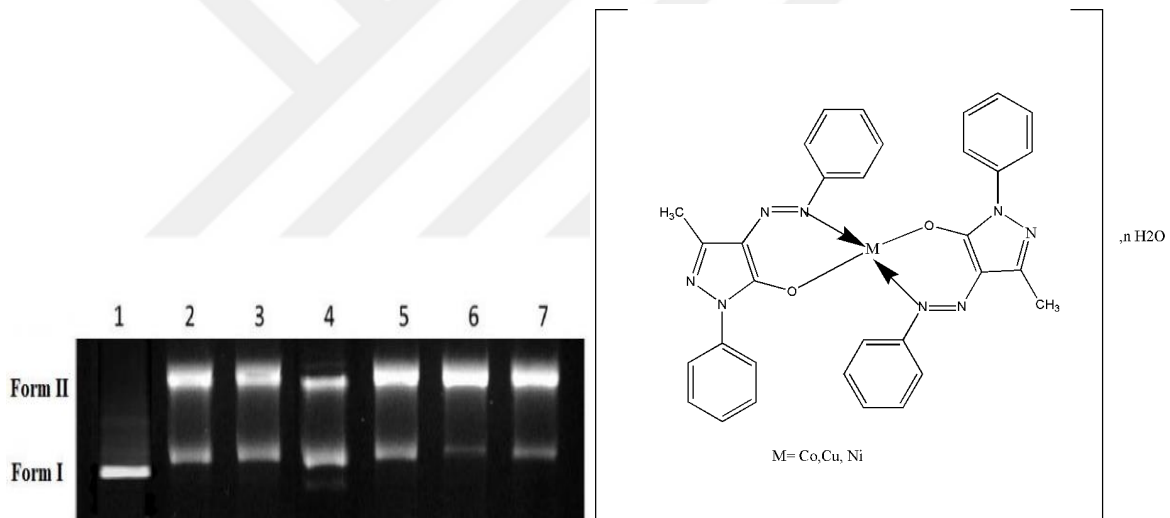
Şekil 1.63 Çoban ve arkadaşları (2013) $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ ve $[Pt(bpy)(hpi)]^{+2}$ komplekslerin molekül yapısı.

Bu azalmanın sonucunda metal kompleksin DNA'yı bozduğu anlaşılr. Ayrıca DNA'nın göç hareketinde farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre $[Pt(bpy)(hpi)]^{+2}$ molekülünün $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ molekülüne göre DNA'nın yapısında daha etkili bozulma meydana getirdiğini ifade edebiliriz [104].



Şekil 1.64 Çoban ve arkadaşları (2013) $[Pt(bpy)(pip)]^{+2}$ ve $[Pt(bpy)(hpi)]^{+2}$ kompleksleri için elektroforez sonuçları.

Kirthan ve arkadaşları (2020) Cu(II), Co(II) ve Ni(II) metal komplekslerinin DNA ile etkileşim türünü araştırmışlardır (Şekil 1.65). Komplekslerin konsantrasyon miktarı arttığında Form II yoğunluğu artmıştır Form I yoğunluğu ise azalmıştır [105]. Bu sonuçlar komplekslerin DNA ile bağlandığını ve DNA'yı bozduğunu gösterir.



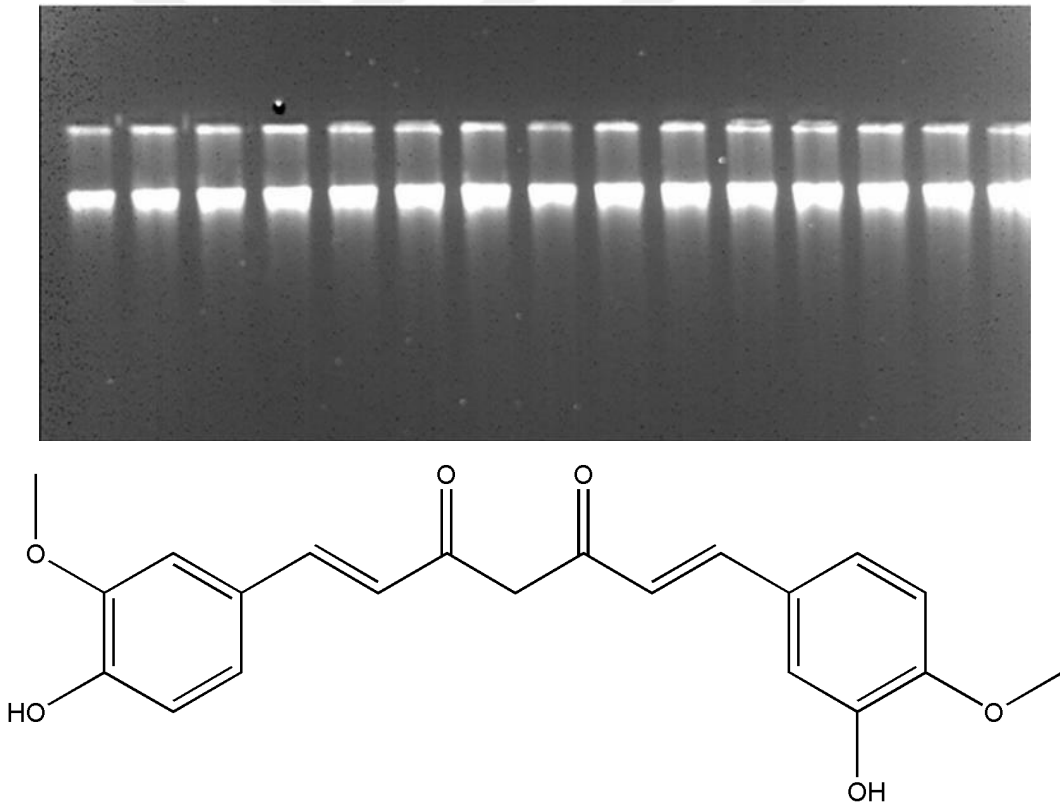
Şekil 1.65 Kirthan ve arkadaşları (2020) Cu(II), Co(II) ve Ni(II) metal kompleksleri için elektroforez sonuçları.

Wang ve arkadaşları (2020) baicalin bileşiğinin (Şekil 1.66) etkileşim türünü jel elektroforez yöntemiyle araştırmışlardır. Kontrol plazmid DNA, Form I konumunda yer almaktadır. Fe^{2+} ve H_2O_2 eklenmesiyle şerit 2'de DNA açık dairesel biçime dönüşmüştür. Şerit 3-4'de ise Fe^{2+} veya H_2O_2 eklenmesi DNA hasarına yol açmamıştır. Şerit 5-9'da baicalin eklenmesi DNA bandının pozisyonunda değişiklik olmadığı DNA'nın süper sarmal formunu koruduğunu gösterir [106].



Şekil 1.66 Wang ve arkadaşları (2020) baicalin bileşiğinin elektroforez sonuçları.

Haris ve arkadaşları (2016) kurkumin bileşiğinin (Şekil 1.67) DNA ile bağlanma yöntemini incelemişlerdir. Sonuçlar artan kurkumin miktarıyla DNA hareketliliğinde belirgin bir değişiklik olmadığını göstermiştir ve bileşiğin oluk bağlanma yaptığını doğrulamıştır [107].



Şekil 1.67 Haris ve arkadaşları (2016) kurkumin bileşiğinin elektroforez sonuçları.

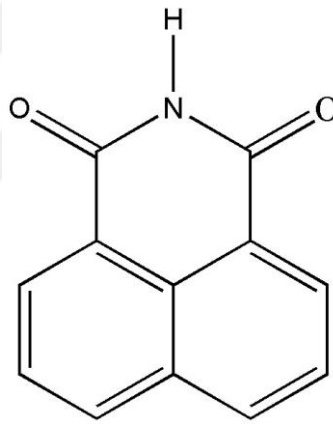
1.4 NAFTALİMİD TÜREVLERİ VE DNA ETKİLEŞİMLERİ

Düzlemsel aromatik heterosiklik bileşiklerden olan naftalimid türevleri flüoresan ve biyolojik özellikleri nedeniyle önem taşımaktadır [108-109]. Naftalimidler antitümör, antiinflamatuvar,

antidepresan, antiprotozoal, antibacterial ve antiviral ajanlar için çekirdek iskele görevi sağladığından farmakolojik öneme sahip aromatik heterosiklerdir. Naftalimid türevleri düzlemsel yapılarından dolayı DNA ile kolaylıkla interkalasyon yapabilir ve hücre bölünme sürecini bozabilir.

Esas olarak DNA-oluk bağlanması ve topoizomerez inhibisyonu yoluyla DNA'nın baz çiftlerine interkalasyon yapma yeteneklerinden dolayı antiproliferatif aktivite gösterirler [110-111].

Bir DNA interkalatörü olan 1,8-naftalimid antitümör ajanların geliştirilmesi için araştırılmıştır [112]. 1,8- Naftalimidler, başlangıçta Brana ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir DNA bağlayıcı ajanlar sınıfını oluşturur [113]. Antitümör aktivitelerini topoizomerez I/II enzimlerinin inhibisyonu ve DNA ve RNA'nın bozulma yoluyla gösterir [114] (Şekil 1.68).

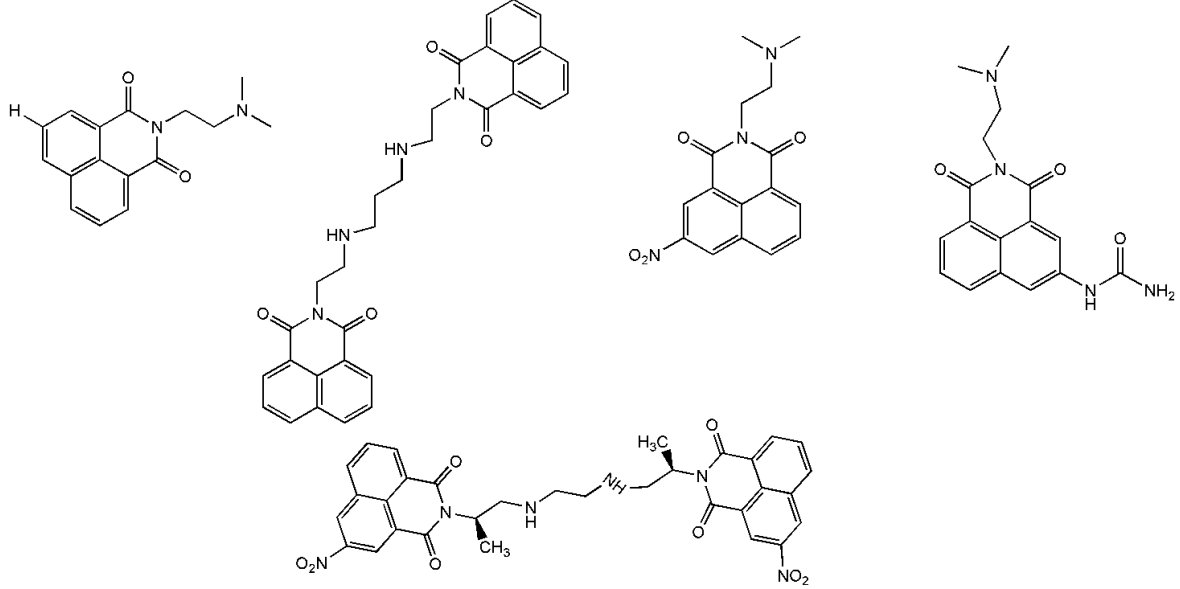


Şekil 1.68 1,8-naftalimid yapısı.

Tandon ve arkadaşları (2017) naftalimit-imid ikilisinde zincir uzunluğu DNA ile olan etkileşimde aktiviteyi artırır. Naftalimit-metal kompleksleri DNA ile daha yakınlık göstererek toksit etki oranını artırır. Naftalimit-heterosiklik ikilisinde heterosiklik kısım maddenin DNA ile interkalasyon bağlanma derecesini artırır. Naftalimit-halka değişiminde, aromatik halka interkalasyonda artış sağladığından aromatik halka konumuna göre maddenin DNA ile interaksiyonunda değişiklikler gözlemlenir. Bis-naftalimit de ise iki halka arasındaki bağlayıcılar aktiviteyi etkiler, her iki halkada DNA ile birleşir ve bağlayıcılar oluk bağlanma ile bağlanır [110].

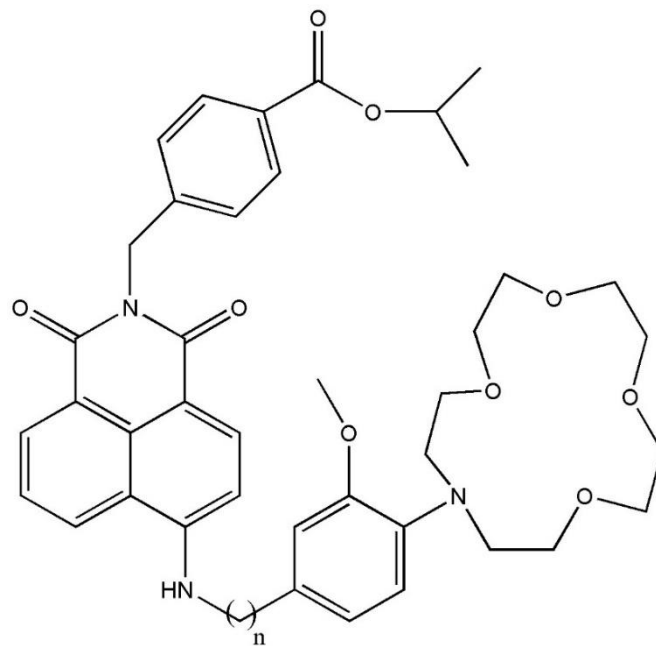
Naftalimid türevlerinden amonafide, mitonafide, elinafide, UNBS5162 ve bisnafide güçlü antikanser aktivitelere sahipler [113-108] (Şekil 1.69). Klinik deney aşamasına ulaşan ilk

bileşik olan, amonafid çok iyi antikanser aktivite göstermiştir [113-115]. Naftalimidin, DNA hedeflemeyi destekleyen ve hedef bileşiklerin ilaç direncini azaltan uygun bir "taşıyıcı" olduğu kanıtlanmıştır [116-117].



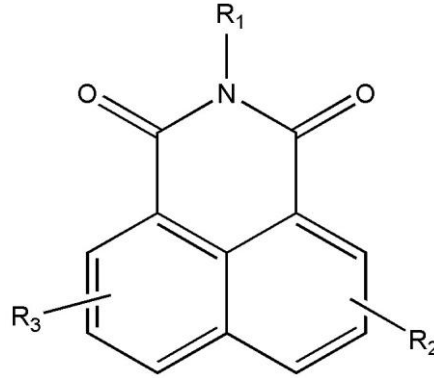
Şekil 1.69 Amonafid, elinafide, mitonafid, UNBS5162 ve bisnafide yapısı.

Mohammadhodaie ve arkadaşları (2010) *N*-ester-1,8-naftalimide dayanan iki yeni antibakteriyel monoazo asit boyası sentezlemiştir (Şekil 1.70). Boyaların gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel özelliği olduğu görülmüştür [118].



Şekil 1.70 Mohammadhodaie ve arkadaşları (2010) *N*-ester-1,8-naftalimid yapısı.

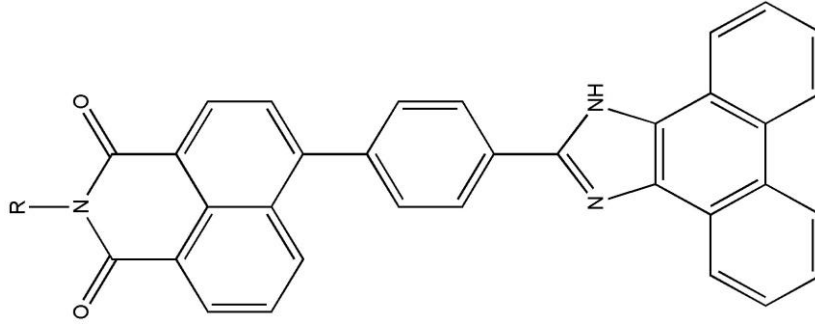
Vohra ve arkadaşları (2009) naftalimitlerin bir nörotrofinin ağrı, inflamatuvar bozukluklar, nörolojik bozukluklar, solunum bozuklukları, gastrointestinal bozuklukların tedavisine yardımcı olan reseptör ile etkileşiminin modülasyonunda etkinliğini tarif etmiştir (Şekil 1.71). Genel formül naftalimitlerin çekirdek kısımlarıyla ilgilidir [108].



Şekil 1.71 Vohra ve arkadaşları (2009) Genel formül yapısı.

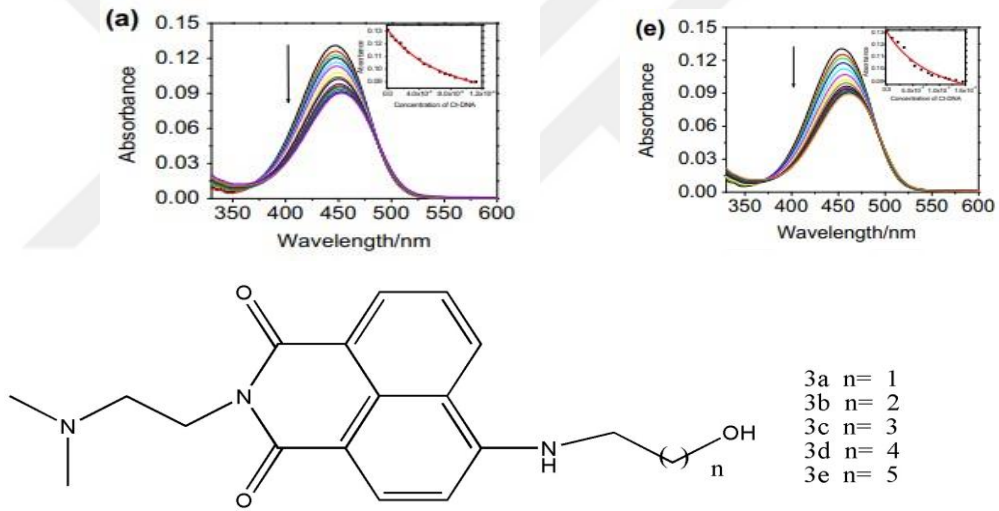
Singh ve arkadaşları (2020) naftalimid ve fenantro[9,10-*d*]imidazol konjugatının (Şekil 1.72) DNA ile etkileşimini incelemiştir. Bu bileşikler, kanser hücre hattına karşı sitotoksiteleri açısından in vitro olarak da değerlendirildi.

DNA etkileşimleri UV titrasyonu ile incelendiğinde hiperkromizm oluşmuştur. Hiperkromizm, elektrostatik veya oluk bağlamadan kaynaklanır. Ayrıca absorpsiyon spektrumunda denge noktasının bulunmaması da kompleks oluşumun kovalent olmayan etkileşim olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, DNA'ya bileşiğin eklenmesi, DNA çözeltisinin nispi viskozitesinde önemli bir değişiklik göstermemiştir. Bu sonuçlar bileşiğin DNA'ya oluk bağlanma yoluyla bağlandığını göstermektedir. Viskozite ölçümlerinde kontrol olarak EtBr ve Hoechst boyaları kullanılmıştır. Oluk bağlama DNA çözeltisinin viskozitesinde küçük bir değişikliğe neden olurken, interkalasyon önce DNA'nın uzamasına ve sonunda viskozitede önemli bir artışa neden olur [119].



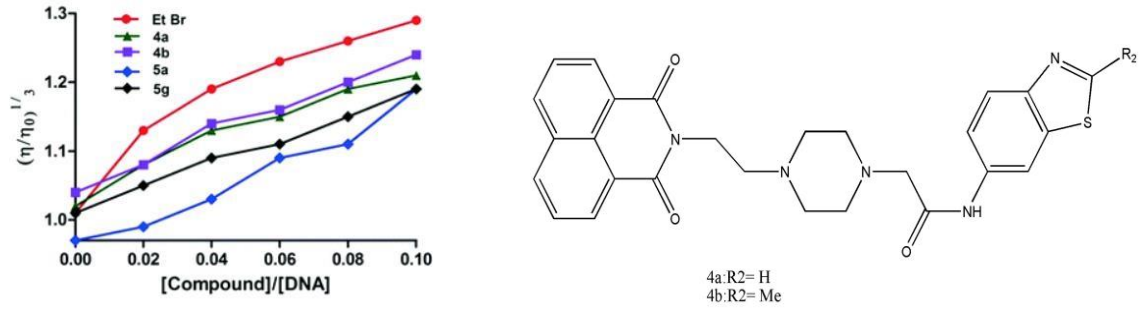
Şekil 1.72 Singh ve arkadaşları (2020) fenantro[9,10-*d*]imidazol yapısı.

Wang ve arkadaşları (2011) 4-konumunda çeşitli hidroksil-alkilaminlerle modifiye edilmiş bir dizi yeni naftalimid türevi sentezlemiştir. 3 a-e bileşiklerinin (Şekil 1.73) absorpsiyon yoğunluğu artan DNA konsantrasyonları ile azalır ve maksimum absorpsiyon batokromik kayma olduğunu gösterir [120].



Şekil 1.73 Wang ve arkadaşları (2011) bileşiklerin DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve bileşiklerin yapısı.

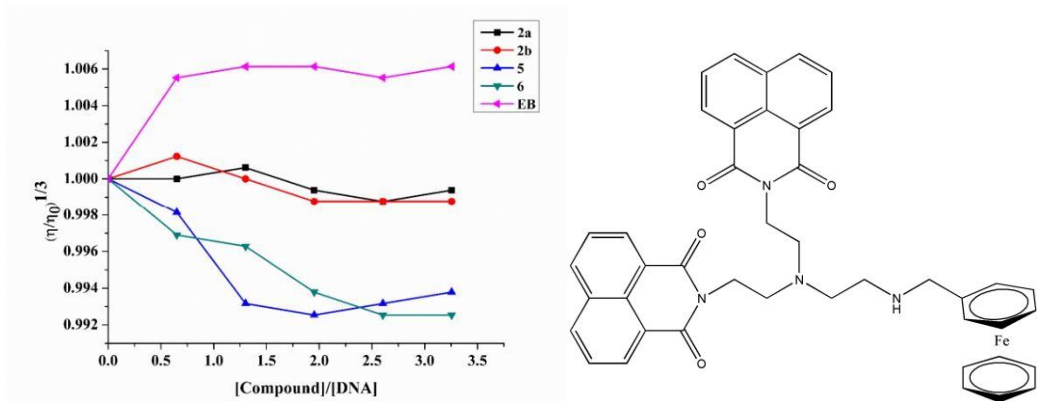
Rao ve arkadaşları (2018) yeni bir dizi farklı naftalimid-benzotiyazol/sinamid türevleri sentezlemiş (Şekil 1.74) ve kanser hücre hatları üzerinde in vitro sitotoksiteleri açısından test edilmiştir. DNA'nın viskozitesi, EtBr'nin DNA ile interkalasyonu nedeniyle EtBr ilavesiyle sürekli olarak artmıştır ve maddenin interkalasyon yaptığı anlaşılmıştır [121].



Şekil 1.74 Rao ve arkadaşları (2018) Bileşiklerin DNA viskozitesine etkisi ve bileşiklerin sentezi ve yapıları.

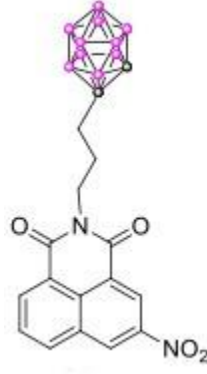
Jia ve arkadaşları (2018) ferrosen ekli 1,8-naftalimid türevlerinin viskozite yöntemi ile DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.75). Ferrosen ekli interkalatörlerin, tekli interkalatörlere göre kanserli hücrelere karşı çok daha fazla sitotoksisite veya daha iyi seçicilik sergiledikleri görülmüştür. EtBr ile karşılaştırıldığında, DNA çözeltisinin viskozitesi, mono-naftalimid türevlerinin eklenmesinden sonra hafifçe artırıldı ve sonra düşürüldü. Eklenen ferrosen grubu, naftalimidin tipik interkalasyon bağlanma modunu bozmuştur.

Bis-naftalimid türevlerinin eklenmesi DNA solüsyonunun viskozitesinde gözle görünür bir düşüşe neden olmuştur bu durum naftalimid gruplarının kısmi interkalasyon yaptığı anlamına gelmektedir [122].



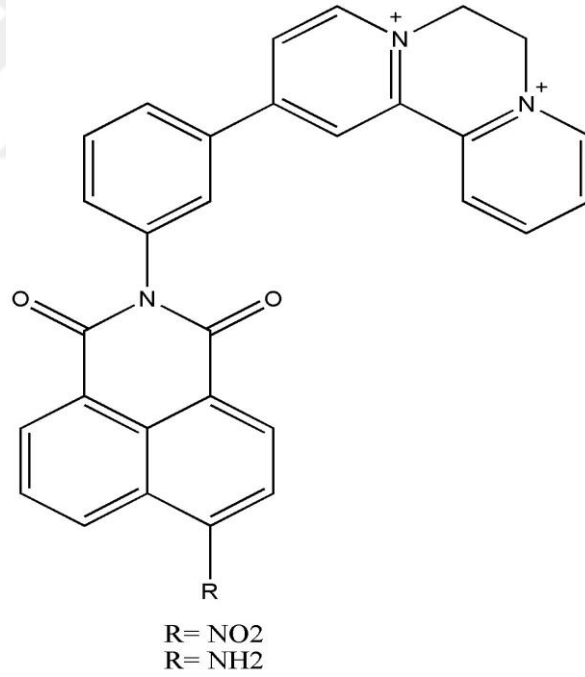
Şekil 1.75 Jia ve arkadaşları (2018) bileşiklerin DNA viskozitesine etkisi ve bileşiğin yapısı.

Nekvinda ve arkadaşları (2020) naftalimid-karboranların antikanser özelliklerini bildirmiştir (Şekil 1.76). Porsiyonlar halinde eklenen bileşik, DNA ile etkileşime girmiştir ve bu etkileşimin zayıf bir interkalasyon olduğu görülmüştür [123].



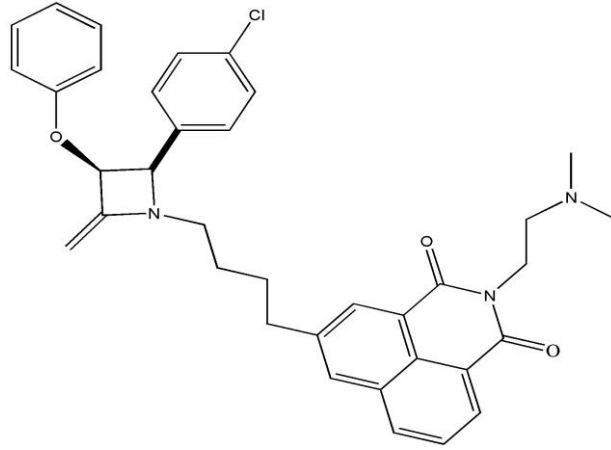
Şekil 1.76 Nekvinda ve arkadaşları (2020) naftalimid-karboran konjugatı.

Ryan ve arkadaşları (2012) 1,8-naftalimiddipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin konjugatlarının (Şekil 1.77) DNA ile etkileşimini incelemiştir. UV titrasyon çalışmaları, DNA konsantrasyonu arttıkça bir absorbans değerinin düştüğü görülmüştür. Oluşan bu değişiklikler maddenin interkalasyon yoluyla DNA'ya bağlandığını ifade eder [124].



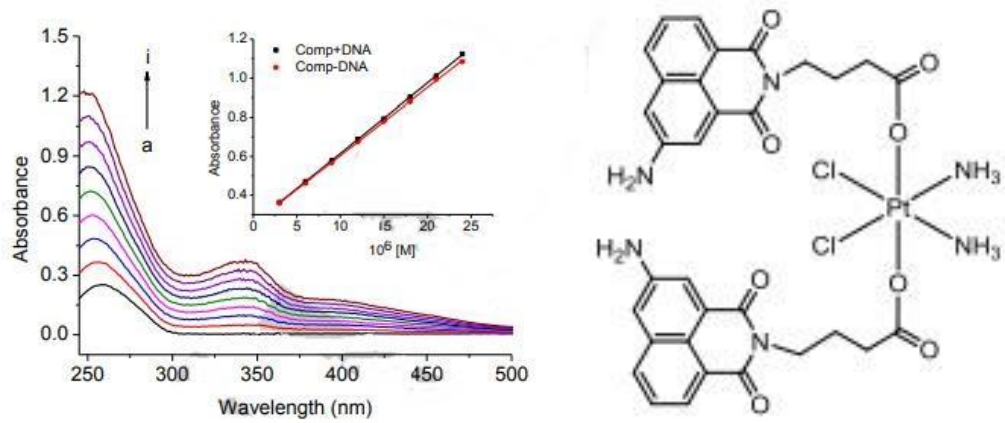
Şekil 1.77 Ryan ve arkadaşları (2012) bileşiğin yapısı.

Rad ve arkadaşları (2019) 1,8-naftalimidin- β -laktam türevinin (Şekil 1.78) DNA'ya bağlanmasını araştırmışlardır. UV titrasyonunda, DNA'nın eklenmesi üzerine absorpsiyon spektrumunda hipokromik bir kayma ve hafif bir kırmızı kayma meydana gelmiştir. Bu durum maddenin interkalasyon yoluyla bağlandığını gösterir [125].



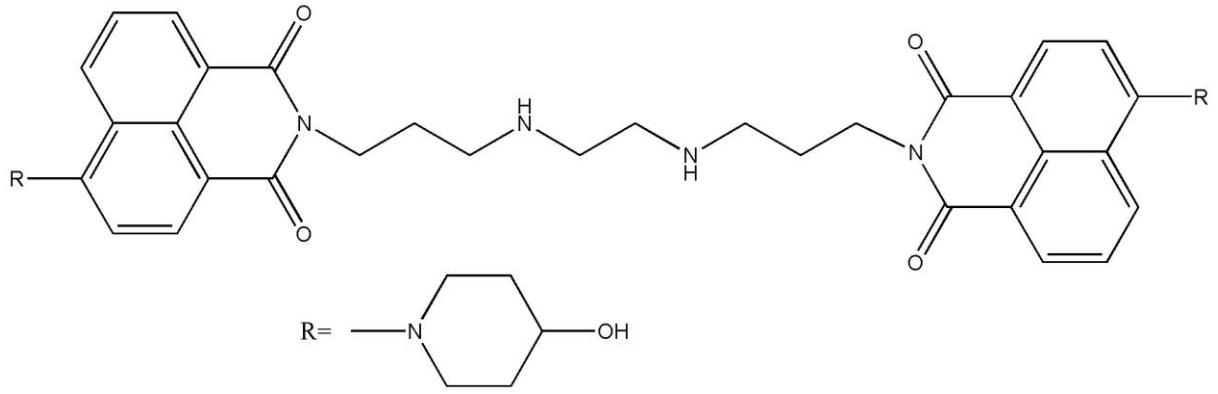
Şekil 1.78 Rad ve arkadaşları (2019) 1,8-naftalimidin- β -laktam türevinin yapısı.

Wang ve arkadaşları (2018) naftalimiti etkili bir DNA interkalatörü olarak platin(IV) bileşiklerine dahil ederek bileşiklerin DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.79). Naftalimid platin (IV) bileşik ile DNA'nın UV spektrumları, 260 nm'de absorpsiyonun artan bileşik konsantrasyonları ile doğrusal olarak arttığını gösterir. Ayrıca, absorpsiyon yoğunluklarının gözlemlenmesiyle hipokromik bir etki ortaya çıkar [126].



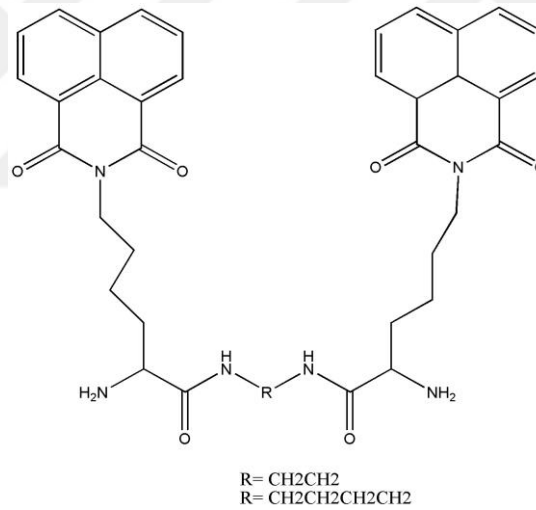
Şekil 1.79 Wang ve arkadaşları (2018) naftalimid platin(IV) bileşiğinin DNA miktarıyla absorpsiyon spektrumundaki değişikliği ve naftalimid platin(IV) yapısı.

Rong ve arkadaşları (2018) bisnaftalimid türevlerinin piperidin ve piperazin modifikasyonlarının sonucunda oluşan birleşğin DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.80). UV titrasyonu çalışmaları sonucunda, bileşiğe porsiyonlar halinde DNA eklendikçe batokromik kayma ile absorpsiyon yoğunluğunda azalma görülmüştür. Oluşan bu değişiklikler bileşiğin interkalasyon yaptığını gösterir [127].



Şekil 1.80 Rong ve arkadaşları (2018) bileşiğin yapısı.

Huang ve arkadaşları (2018) farklı amin bağlayıcılara sahip bir dizi bis-naftalimid türevinin (Şekil 1.81) DNA bağlanmasını ve antikanser aktivitesini inlemişlerdir. DNA çözeltisinin viskozitesinin bileşiklerin ilavesiyle arttığı ve bu bileşiklerin DNA'ya interkalasyon ile bağlandığını gösterir [128].



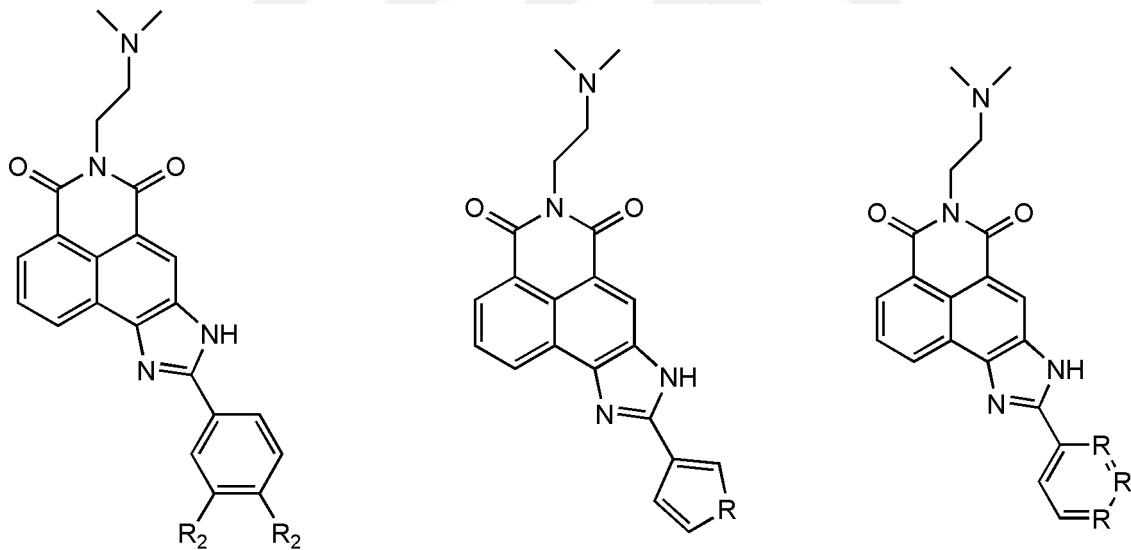
Şekil 1.81 Huang ve arkadaşları (2018) Bileşiğin yapısı.

Tian ve arkadaşları (2016) yan zincirin naftalimid-poliamin konjugatının (Şekil 1.82) DNA ile etkileşimini araştırmışlardır. EtBr yer değiştirme çalışmaları, bileşiğin artan konsantrasyonu varlığında EtBr-DNA kompleksinin floresans yoğunluğunda azalma olduğunu göstermiştir. Bileşikteki aromatik kısmın DNA'ya karışabileceğini, poliamin kısmının ise oluk bağlama yaptığı görülmüştür [129].

m= 1, n=1, x= 2; R1=Me, R2= Me

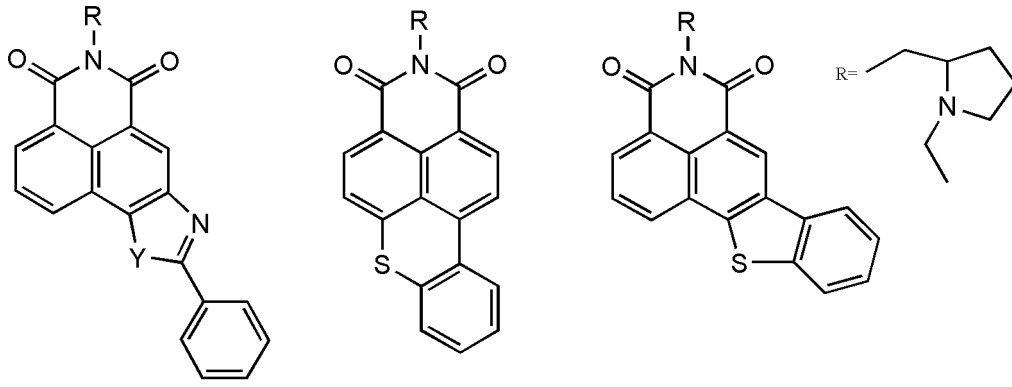
Şekil 1.82 Tian ve arkadaşları (2016) bileşiğin yapısı.

Li ve arkadaşları (2007) bir aril/heteroaril-imidazonaftalimid sistemine dayanan yeni ‘4-1’ pentasiklik DNA’nın arasına bağlanan ajan geliştirmişlerdir (Şekil 1.83). Bu çalışma ayrıca DNA hedefli antitümör ajanların daha fazla geliştirilmesi için yeni perspektifler açılmasına sebep olmuştur. Floresans ve absorpsiyon şiddetlerinde gözlenen değişiklikler sonucunda bileşiğin DNA’ya interkalasyon yoluyla bağlandığını düşündürür [130].



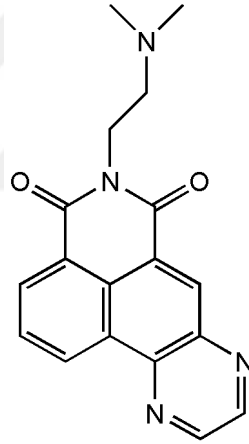
Şekil 1.83 Li ve arkadaşları (2007) bileşiklerin yapısı.

Yang ve arkadaşları (2018) çalışmalarında naftalin halkasına (Şekil 1.84) genişletici yeni heterosiklik halkalar ekleyerek interkalasyonu artırıcı naftalimitlerin sentezine ayrıca amino yan zinciri ekleyerek fizyolojik pH değerinde protonlanabilmesinden yararlanarak elektrostatik etkileşimin yardımıyla daha kuvvetli bağlanma elde etmeye çalışmışlardır. Bu bileşiklerin DNA fotoklivaj aktivitelerinin (DNA yapısını UV ışığı etkisiyle parçalama) ve sitotoksisiteslerinin çok yüksek olduğu sonucuna ulaşmışlardır [131].



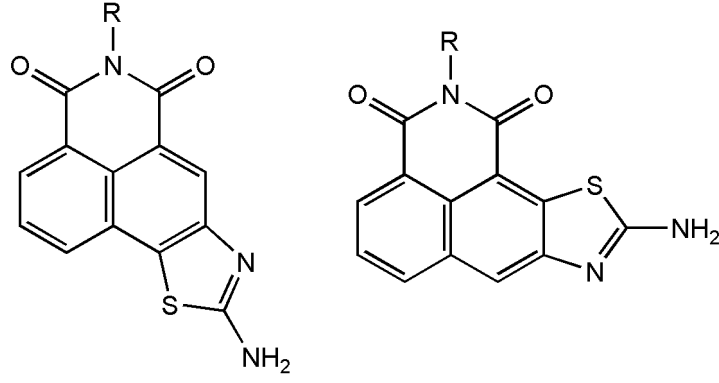
Şekil 1.84 Yang ve arkadaşları (2018) bileşiklerin yapısı.

Brana ve arkadaşları (2002) yeni bir dizi mono ve bisnaftalimid sentezlemiş (Şekil 1.85) ve bunların antiproliferatif aktiviteleri üç tümör hücre hattına karşı değerlendirilmiştir. Naftalimid sistemine kaynaşmış bir pirazin halkası taşıyan naftalimid elinafide benzer şekilde aktivite göstermiştir [132].



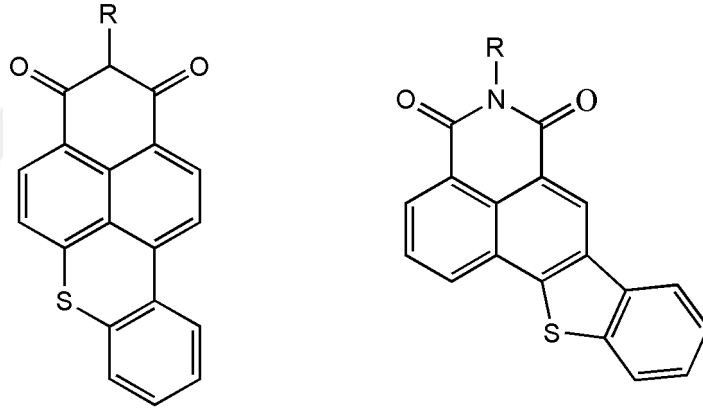
Şekil 1.85 Brana ve arkadaşları (2002) bileşiğin yapısı.

Li ve arkadaşları (2005) yeni bir 2-aminotiazonaftalimid ailesi sentezlemişlerdir ve farklı DNA aktivitelerine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 1.86). Heterosiklik-kaynaşmış kromoforlu bileşik, açılal kromoforlu bileşikten daha yüksek DNA interkalasyon ve DNA fotoklivaj aktiviteleri sergilediği görülmüştür [133].



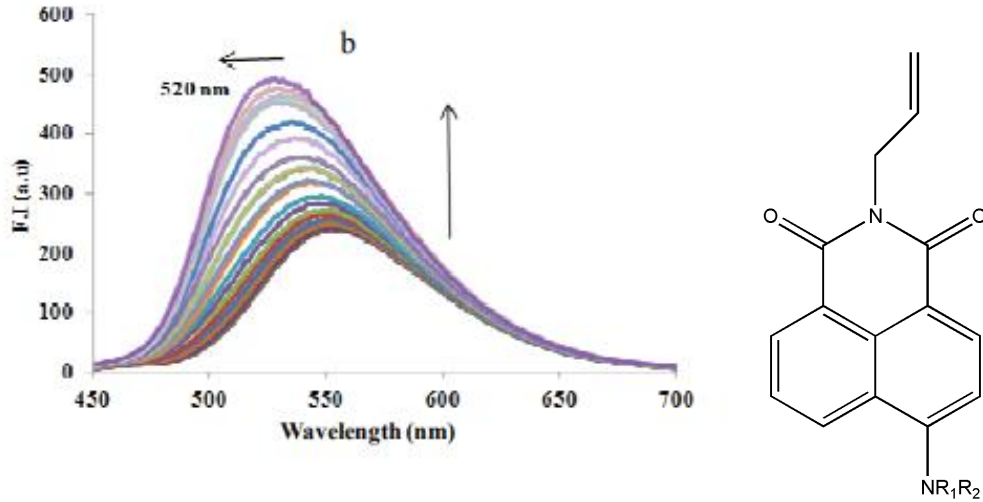
Şekil 1.86 Li ve arkadaşları (2005) bileşiklerin yapısı.

Xu ve arkadaşları (2005) bir başka çalışmada pentasiklik tiyo-heterosiklik kaynaşmış naftalimitlere (Şekil 1.87) Yang ve arkadaşları (2018) [145] çalışmasına benzer imitte aminoalkil yan zincirler içeren yeni ve yüksek interkalasyonlu fotoklivaj aktiviteli maddeleri elde etmişlerdir [134].



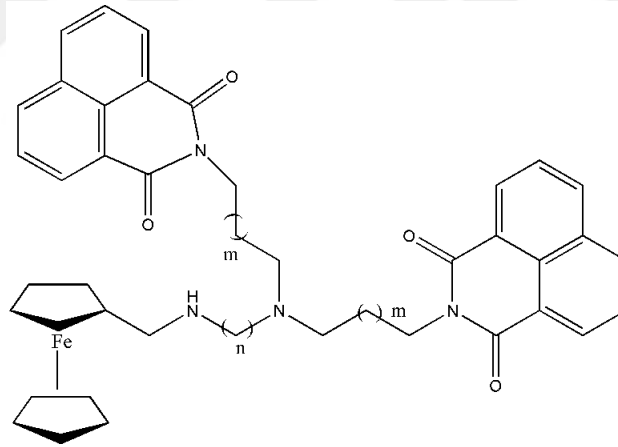
Şekil 1.87 Xu ve arkadaşları (2005) bileşiklerin yapısı.

Verma ve arkadaşları (2015) antikanser ajan olan N-alil naftalimit analoglarının DNA ile etkileşimini araştırmışlardır (Şekil 1.88). EtBr ile yapılan yarışmalı floresans deneyinde görülen kompleksin etkili bir şekilde EtBr boyasını çıkaramayacağını gösterdi [135].



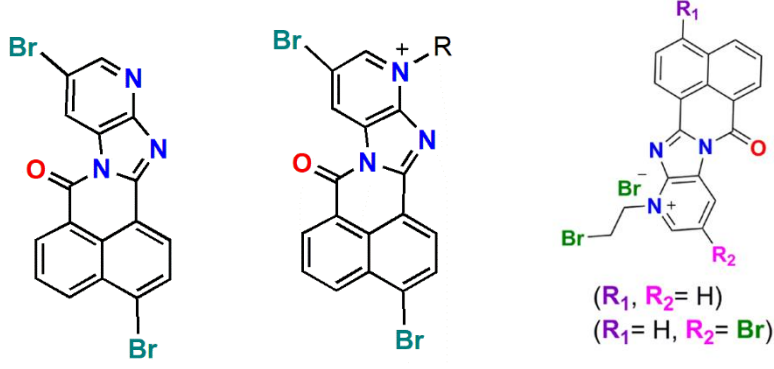
Şekil 1.88 Verma ve arkadaşları (2015) bileşiğin yapısı.

Fan ve arkadaşları (2021) tripod ferrosenil bis-naftalimit türevlerinin (Şekil 1.89) molekülünün EtBr boyası ile yarışmalı floresans deneyinde emisyon şiddeti azalmıştır. Bu azalma elektrostatik etkileşimler yüzünden de kaynaklanabileceğini düşündürmüştür [136].



Şekil 1.89 Fan ve arkadaşları (2021) tripod ferrosenil bis-naftalimit türevi.

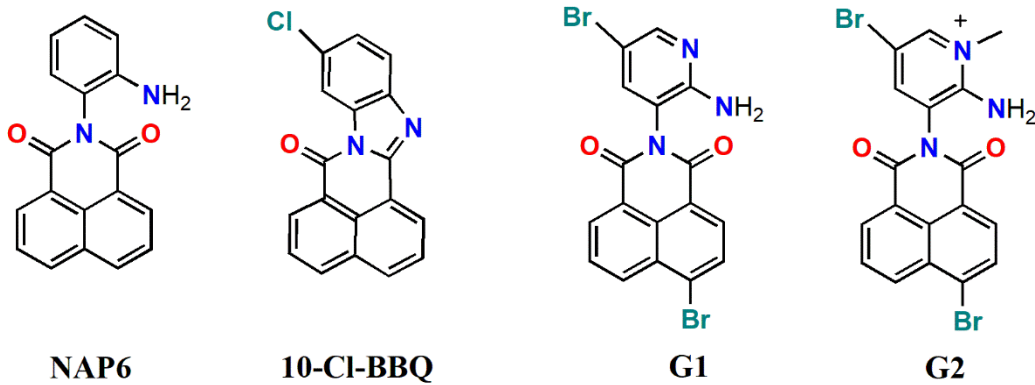
Yıldız ve arkadaşları (2018) bu sefer anhidrit ucundan yeni bir pentasiklik heterosiklik kaynaşık türevi olan 3,10-dibromo-7*H*-benzo[*de*]pirido[2',3':4,5]imidazo[2,1-*a*]izokinolin-7-on molekülünü sentezlemişlerdir (Şekil 1.90). Molekül dibromoetan ile alkilenerek bağlanma sabiti daha yüksek olan bir molekül sentezlenmiştir. Bileşik interkalasyona ek olarak N-alkillendiğinden katyonik özellik gösterir anyonik DNA'ya elektrostatik olarak bağlanarak etkileşimin daha fazla olmasını sağlar [137].



Şekil 1.90 Yıldız ve arkadaşları (2018; 2020) bileşiklerin yapısı.

Yıldız ve arkadaşları (2020) 2018’de sentezledikleri naftalimitin türevlerini (Şekil 1.90) sentezlenmiştir. Yıldız ve Ark. (2018, 2020) tarafından sentezlenen yeni tür naftalimit bileşikleri anhidrit bağından diamino türevleri eklenerek başarılmış ve yeni bir yaklaşım getirmiştir. Daha kuvvetli bağlanmaya sahip olduklarını öngördükleri katyonik türevlerin DNA etkileşimlerinin ve sitotoksitelerinin diğer naftalimitlerle benzer olduğunu gördüler [138].

Baker ve arkadaşları (2021) (NAP-6) ve 10-chloro-7*H*-benzo[*de*]benzo[4,5]imidazo[2,1-*a*]isoquinolin-7-one (10-Cl-BBQ) bileşiklerinin (Şekil 1.91) sentezi ile sitotoksitede meme kanseri seçiciliğini araştırmışlardır. NAP6 bileşiğinin göre meme kanserinde bu kadar güçlü etkilere sahip olması [139], anhidrit oksijeninden direk aromatik halkanın bağlanarak yeni bileşikler eklenmesinin yolunu açmıştır.



Şekil 1.91 Baker ve arkadaşlarının (2021) NAP6 ve 10-Cl-BBQ bileşiklerinin ve sentezlenecek bileşiklerin (**G1** ve **G2**) yapısı.

Bu çalışmada Baker ve arkadaşlarının (2021) sentezledikleri NAP6 bileşiği [139] ile Yıldız ve ark. (2018, 2020) sentezledikleri bileşiklerinin [137-138] bir kombinasyonu denenerek yeni naftalimit bileşikleri (**G1**) ve katyonik türev (**G2**) sentezlenecektir. Burada NAP6 bileşiğindeki

benzen halkası yerine pridin halkası kullanılacaktır ve N-alkillendirmesi sayesinde katyonik özellik kazandırılarak interkalasyon yanında bir de elektrostatik etkileşim yaparak daha iyi bir DNA bağlanma sabiti elde edileceği öngörülmüştür. Bu çalışmada bileşiklerin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyonu, floresans, yarışmalı floresans, viskozite ve agaroz jel elektroforezi metotlarıyla çalışılacaktır.





BÖLÜM 2

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 MATERYALLER

2.1.1 Çözücü ve Kimyasallar

Bütün kimyasallar ve çözücüler analitik derecede ve saflaştırma yapılmadan kullanılmıştır. Reaksiyonlarda ve etkileşimlerde kullanılan bütün sulu çözeltiler hazırlanırken Milli-Q su kullanılmıştır. DNA etkileşim çalışmalarında pH'ı sabit tutabilmek amacıyla pH= 7,5 olan 20 mM Tris/100 mM KCl tampon kullanılmıştır.

DNA (Aldrich firmasından alınan sığır timüsünden izole edilmiş, liyofilize sodyum tuzu, yüksek oranda polimerize-D1502) saf su içerisinde (50 mM pH = 7,5 tampon çözeltide) 24 saat bırakılıp çözülerek 3 mM stok çözeltisi her defasında taze olarak hazırlanmıştır. DNA konsantrasyonu Beer-Lambert yasası (eşitlik 2.1) kullanılarak spektrofotometre ile 260 nm'de absorpsiyon okumasıyla $\epsilon = 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. DNA ultrasonik banyoda 20 dakika bırakılmıştır. Stok çözelti buzdolabında en fazla üç gün saklanmıştır. Titrasyon işlemleri hazırlanan stok çözelti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

$$A = \epsilon \cdot C \cdot l \quad (2.1)$$

Thermo firmasından alınan pBR322 Plazmit DNA (500 mg/mL çözeltide) Thermo EC-330 agaroz jel elektroforeziyle sürüklenme yavaşlatması deneyinde kullanılmıştır. Ligantlar ile etkileşimler çalışılırken ng/ μ L türünden konsantrasyon hesaplanmıştır.

2.2 KULLANILAN CİHAZLAR

2.2.1 Infrared Spektrofotometresi

Jasco FT/IR-300 E

2.2.2 ¹H-NMR Spektrofotometresi

Bruker Ultra Shield Plus, Ultra long hold time 400MHz NMR

2.2.3 UV/Vis Spektrofotometresi

Carry VinUV 100 Bio, Varian

2.2.4 Floresans Spektrometresi

Perkin Elmer LS 55

2.2.5 ESI-MS

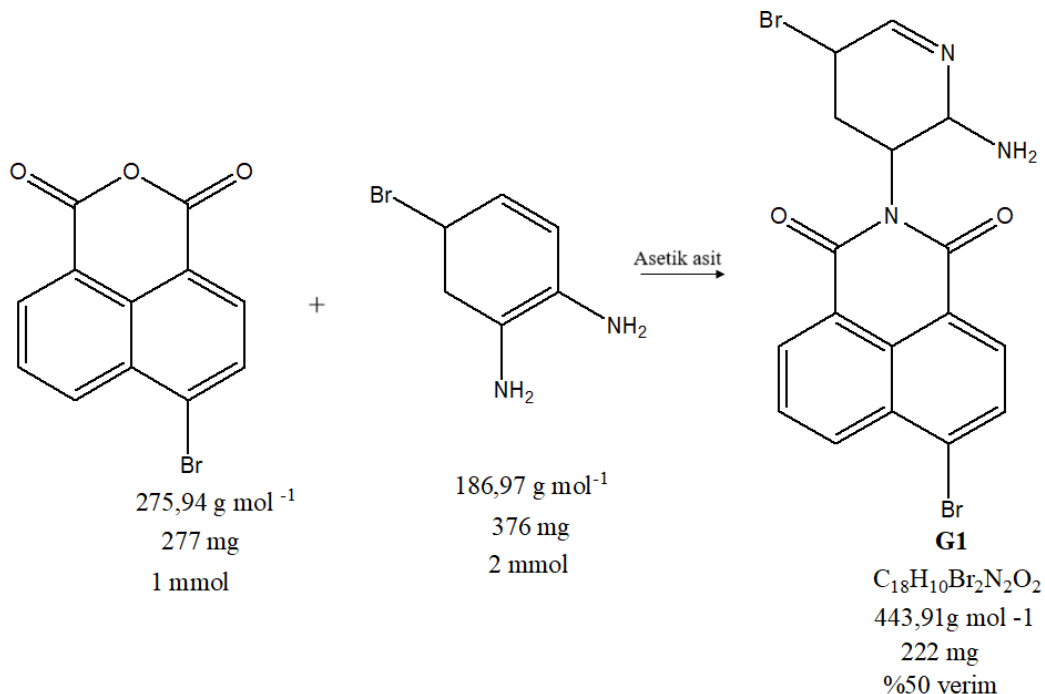
Tandem Gold

2.2.6 Jel Elektroforez

Thermo Electron Corporation EC-330 Midicell Primo

2.3 BİLEŞİKLERİN SENTEZİ

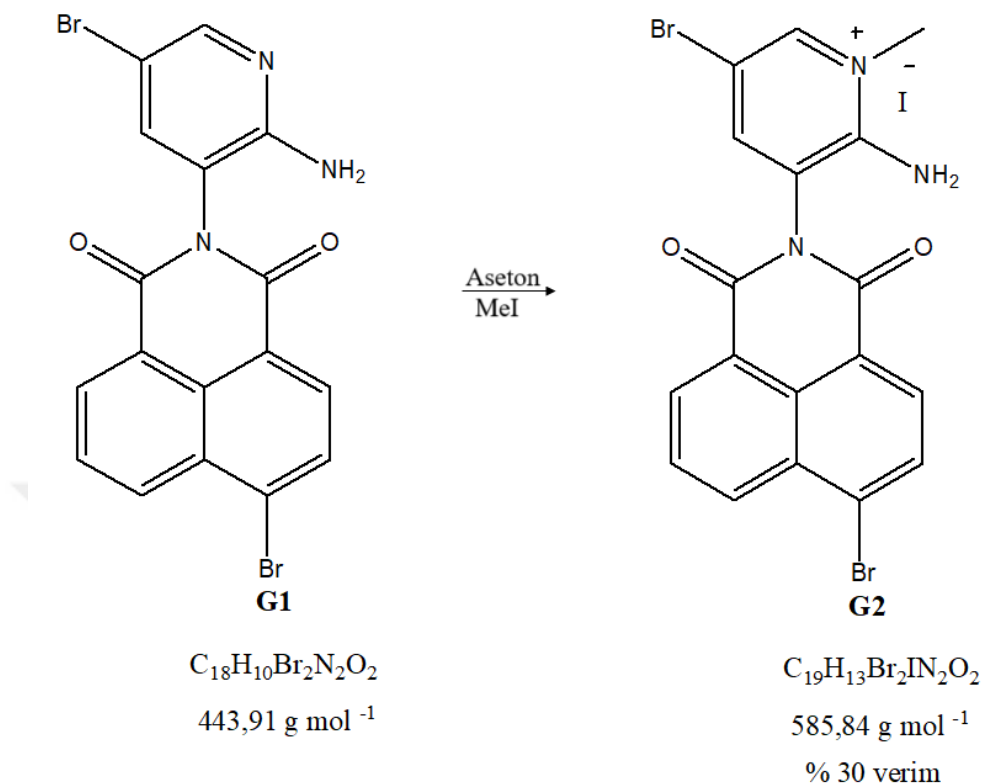
2.3.1 G1 Sentezi



Şekil 2.1 G1 sentezi.

Önce 4-bromo-1,8-naftlalik anhidrit (277 mg, 1 mmol) içerisine 25 ml asetik asit eklenerek geri soğutucuda çözüldü. Daha sonra içerisine 2,3-diamino-5-bromopiridin (188 mg, 2 mmol) eklendi ve 24 saat 120°C’de karıştırıldı. Sarı renkte olan madde asetik asit eklediğimizde daha açık renge dönüştü. 2,3-diamino-5-bromopiridin eklendiğinde ise tepkime koyu turuncu renge sahip oldu. Bunun nedeni bileşiğin içindeki bromun turuncu renge sahip olmasından kaynaklıdır. Tepkime sonlandırıldıktan sonra üzerine buz ilave edilerek çözelti oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Oluşan sarı çökelek eterle yıkandı, süzüldü ve kurutuldu. Ürün G2 C₁₈H₁₀Br₂N₂O₂ 222 mg, %50 verimle elde edildi. ESI-MS: m/z = 448 (M+H). ¹H-NMR (600 MHz, DMSO+TFA, δ, ppm) 8.58 (m, 2H), 8.53 (d, 1H), 8.30-8.27 (m, 2H+1H), 8.11 (dd, 1H). FT-IR (ν, cm⁻¹) 3066, 1782, 1699, 1669, 1591, 1564, 1537, 1495, 1452, 1392, 1376, 1365, 1339, 1297, 1264, 1224, 1186, 1151, 1141, 1127, 1065, 1043, 1019, 971, 940, 901, 886, 858, 826, 769, 741, 726, 690.

2.3.2 G2 Sentezi



Şekil 2.2 G2 sentezi.

Elde ettiğimiz G2 bileşiğini (60 mg) azot (Schlenk) tüpü içerisinde 20 ml aseton içerisinde çözüldükten sonra 5 ml metil iyodür eklendi ve geri soğutucuda 24 saat 70°C’de karıştırıldı. Tepkime sonlandırıldıktan sonra çözelti buz içerisinde oda sıcaklığına gelene kadar soğutuldu, oluşan sarı çökelek asetonla yıkandı, süzüldü ve kurutuldu. Ürün G2, $C_{19}H_{13}Br_2IN_2O_2$, 24 mg, %30 verimle elde edildi. ESI-MS: $m/z = 443$ (M+H). 1H -NMR (600 MHz, DMSO+TFA, δ , ppm) 9.53 (s, 2H, NH₂), 9.10 (d, 1H), 8.97 (d, 1H), 8.88 (m, 2H), 8.83 (m, 1H), 8.50 (m, 1H), 8.25 (m, 1H), 8.83 (m, 1H), 4.57 (s, 3H). FT-IR (ν , cm^{-1}) 3403, 3065, 2166, 1963, 1697, 1611, 1592, 1562, 1536, 1495, 1451, 1397, 1375, 1365, 1338, 1295, 1264, 1223, 1185, 1172, 1151, 1141, 1127, 1118, 1099, 1065, 1042, 971, 939, 900, 883, 867, 826, 792, 767, 740, 726, 690, 681.

2.4 DNA ETKİLEŞİM ÇALIŞMALARI

2.4.1 UV Titrasyonu

G1 ve G2 bileşikleri ayrı ayrı 60 µM stok çözeltileri DMSO çözücüsünde hazırlandı. Hesaplanan hacimde maddelerden alınarak hacim 2,5 µl'ye 20 mM TRIS/100 mM KCl (pH=7,5) tamponuyla tamamlanarak UV kuvartz küveti içerisinde hazırlandı. Maddelerin üzerine 2 µl (G1) ve 2 µl (G2) porsiyonlar halinde 1,25 mM ct-DNA eklendi. Eklenen her bir DNA'dan sonra karışım pastör pipet ile karıştırılıp, 5 dakika beklendi ve ardından UV-Vis absorpsiyon spektrumları kaydedildi. Spektrumlarda meydana gelen değişim duruncaya kadar titrasyon işlemlerine devam edildi. Ölçüm boyunca küvet ısı 25 °C'de sabit tutuldu. Elde edilen $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ ve $[DNA]$ verileri grafiğe geçirilerek ligantın bağlanma sabiti;

$$[DNA] / (\epsilon_A - \epsilon_f) = [DNA] / (\epsilon_B - \epsilon_f) + 1 / K_b (\epsilon_B - \epsilon_f) \quad (2.2)$$

formülü kullanılarak hesaplandı.

2.4.2 Floresans Titrasyonu

2.4.2.1 Floresans Değişimi

Bileşiklere ait olan çözeltiler 20 mM TRIS/ 100 mM KCl (pH=7,5) tamponu kullanılarak cam küvet içinde hazırlanıp 370 (G1) ve 370 (G2) dalga boylarında uyarıldı ve iki bileşik içinde 400-750 nm arasında emisyon spektrumları kaydedildi. Titrasyonlar için küvetlere (G1 ve G2 için ayrı ayrı) 4 µl porsiyonlar şeklinde 1,25 mM ct-DNA çözeltisi eklendi. Her ekleden sonra karışım pastör pipet yardımıyla karıştırıldı ve inkübe olması amacıyla 10 dakika bekletilerek emisyon spektrumu kaydedildi (slit= 5,0). Spektrumda meydana gelen değişim sonlanıncaya kadar titrasyon işlemine devam edildi ve elde edilen verilerden bağlanma sabiti hesaplandı.

2.4.2.2 EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması

20 μ M EtBr ve 100 μ M DNA içeren çözelti 20 mM TRIS/ 100 mM KCl (pH=7,5) tamponu içerisinde oda sıcaklığında hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin ayrı ayrı 2,5 ml'lik kısımları küvete alındı. İki bileşikte 427 nm dalga boyunda uyarılarak, 500-700 nm arasında emisyon spektrumları kaydedildi (slit= 10,0). Daha sonra iki çözelti içinde ayrı ayrı 2 μ l'lik porsiyonlar halinde maddeler eklendi ve her eklemenden sonra karışım 5 dakika inkübasyon için bekletilerek spektrumlar kaydedildi. İşlemlere spektrumlarda değişim durana kadar devam edildi.

2.4.2.3 DAPI ile Yarışmalı Floresans Çalışması

DAPI ile yarışmalı floresans çalışmasında ise 20 mM TRIS/100 mM KCl (pH= 7,5) tamponu içerisinde hazırlanan DAPI çözeltisi 2,5 ml 1 μ M olacak şekilde cam küvet içerisinde hazırlandı. Bileşikler 358 nm dalga boyunda uyarıldı ve 350–700 nm arasında emisyon spektrumları kaydedildi (G1 slit=4,5, G2 slit=4). Daha sonra DAPI çözeltisi içerisine aynı tamponda hazırlanmış olan 5 μ M DNA çözeltisi eklendi ve etkileşimin gerçekleşmesi için 30 dakika oda sıcaklığında bekletilip emisyon spektrumları kaydedildi. Bileşiklerin üzerlerine 2 μ l porsiyonlar halinde 1 mM çözelti eklenerek inkübe olması amacıyla 10 dakika bekletilmesinin ardından spektrum kaydedildi. Spektrumda gözlemlenen değişim duruncaya kadar titrasyon işlemine devam edildi.

2.4.2.4 Hoechst ile Yarışmalı Floresans Çalışması

Hoechst ile yarışmalı floresans çalışmasında 20 mM TRIS/ 100 mM KCl (pH=7,5) tamponunda hazırlanan Hoechst çözeltisi 2,5 ml 2 μ M olacak şekilde cam küvet içerisinde hazırlandı. Bileşikler 350 nm dalga boyunda uyarıldı ve 360-700 nm arasında emisyon spektrumları kaydedildi (G1 slit=10,0, G2 slit=8). Hoechst çözeltisine aynı tamponda hazırlanan 12,5 μ M DNA çözeltisi ilave edildikten sonra etkileşim için 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve daha sonra bileşiklerin emisyon spektrumları kaydedildi. Bileşiklerin üzerlerine 2 μ l porsiyonlar halinde 1mM çözelti eklenerek inkübe olması amacıyla 10 dakika bekletilmesinin ardından spektrum kaydedildi. Spektrumlar da gözlemlenen değişim sonlanıncaya kadar titrasyona devam edildi.

2.4.2.5 TO ile Yarışmalı Floresans Çalışması

TO ile yarışmalı floresans çalışmasında 20 mM TRIS/ 100 mM KCl (pH=7,5) tamponunda hazırlanan TO çözeltisi 2,5 ml 2,1 μ M olacak şekilde cam küvet içerisinde hazırlandı. Bileşikler 504 nm dalga boyunda uyarıldı ve 500-800 nm arasında emisyon spektrumları kaydedildi (G1 ve G2 için slit=3,5). TO çözeltisine aynı tamponda hazırlanan 12,5 mM DNA çözeltisi ilave edildikten sonra etkileşim için 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve bileşiklerin emisyon spektrumları kaydedildi. Bileşiklerin üzerlerine 2 μ l porsiyonlar halinde 1mM çözelti eklenerek inkübe olması amacıyla 10 dakika bekletilmesinin ardından spektrum kaydedildi. Spektrumlar da gözlemlenen değişim sonlanıncaya kadar titrasyona devam edildi. Bileşik için TO emisyonunu %50'ye düşürmek için gerekli derişim (DC_{50}) hesaplanmıştır.

2.4.3 Viskozite Çalışması

Bu yöntemde Ubbelohde viskozimetresi kullanılmıştır. İlk olarak su banyosunda ki sıcaklık 30 °C'ye ayarlandı. 20 mM TRIS/ 100 mM KCl (pH=7,5) tamponu içerisinde 15 ml 100 μ M DNA ve 2 mM bileşiklerin çözeltileri (G1 ve G2) hazırlandı. Kolon içerisine önce 15 ml tampon eklendi ve dijital bir kronometre kullanılarak akış hızı 3 defa ölçüldü. Ardından 500 μ l DNA çözeltisi eklendi ve dijital bir kronometre kullanılarak akış hızı süresi ölçüldü. Daha sonra aynı tampondaki DNA çözeltisi üzerine 50 μ l'lik porsiyonlar halinde G1 çözeltisi ilave edildi, her eklemenin ardından karışım çalkalanarak 10 dk etkileşimin tamamlanması amacıyla beklendi ve dijital kronometre ile akış hızı süresi 3 defa ölçüldü. Değişim sonlanıncaya kadar ölçüm yapıldı. Bütün bu işlemler G2 bileşiği içinde yapılmıştır. Her üç verinin ortalamasından bağıl viskozite değeri hesaplandı (n/n_0) ve kompleks/DNA derişimine karşı grafiği elde edildi.

2.4.4 Agaroz Jel Elektroforez Çalışması

Önce 1,5 gram agaroz 3 ml TAE ve 147 ml saf su içinde kaynatılıp tamamen çözündükten sonra ilk sıcaklığı geçene kadar oda sıcaklığında bekletildi ve kalıp kabına dökülerek agaroz jel elde edildi. Kullanılan DNA (pBR322 plazmid DNA çözeltisi 20 nanogram 1 μ l), bileşikler 20 mM TRIS/ 100 mM KCl (pH=7,5) tamponu içinde hazırlandı. Jele ekilecek çözeltiler karanlık ortam ve DNA nötralizasyon deneylerinde her iki bileşik için: 10 μ l plazmid DNA + 10 μ l bileşik hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler 1 saat boyunca karanlıkta 38 °C'de inkübe edildi. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından her bir çözeltiye 5 μ l bromo fenol mavisi boya ilave

edilerek iyice karıştırıldıktan sonra çözeltilerden 10 µl alınarak sırasıyla jeldeki hatlara ekildi. 45 voltta 150 dakika yürütülmesinin ardından jel EtBr içinde (10 µl) 30 dakika boyanması sağlandı ve EtBr'nin fazlasının alınması için 10 dakika saf su içerisinde yıkandıktan sonra fotoğrafı çekildi.



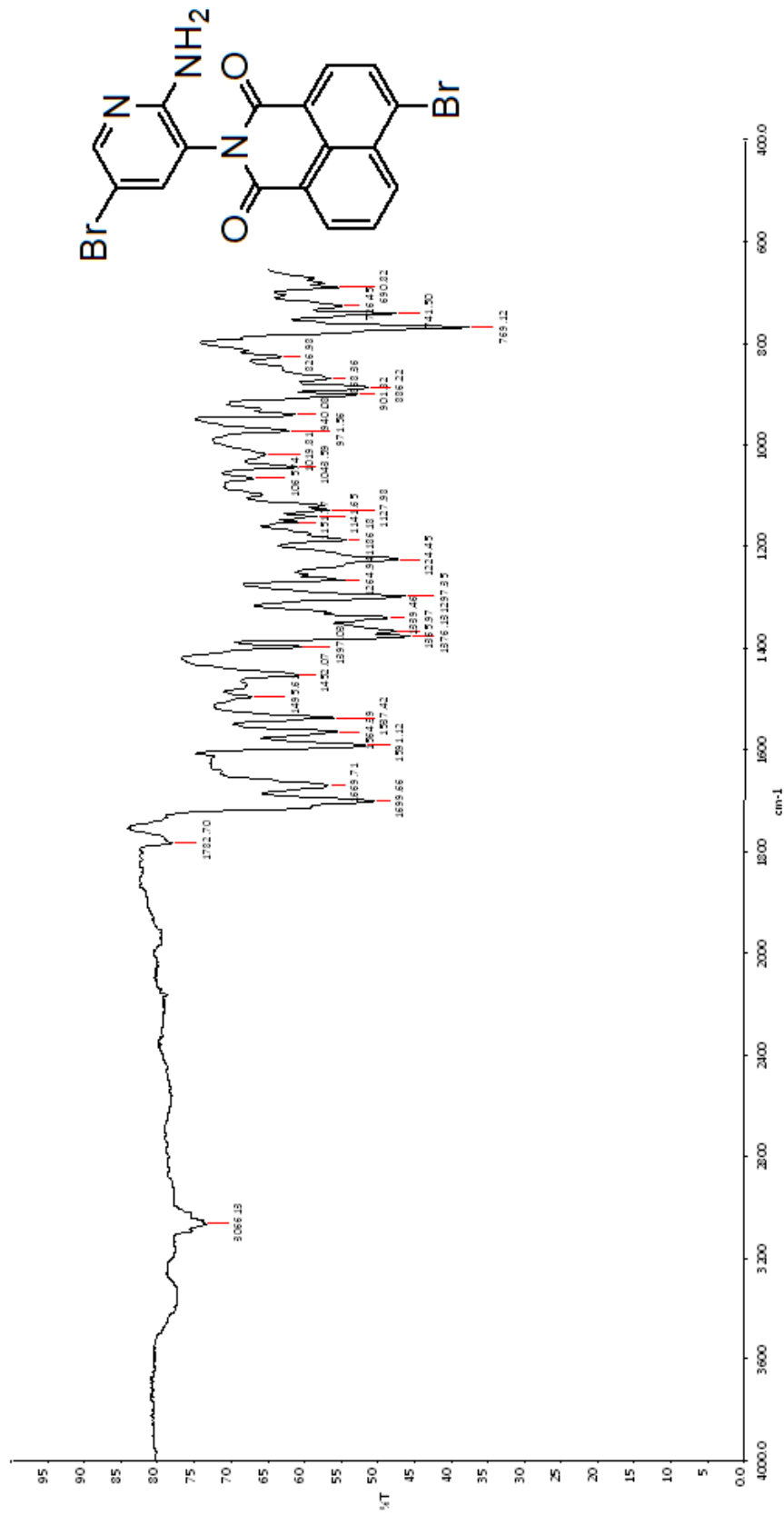
BÖLÜM 3

SONUÇLAR

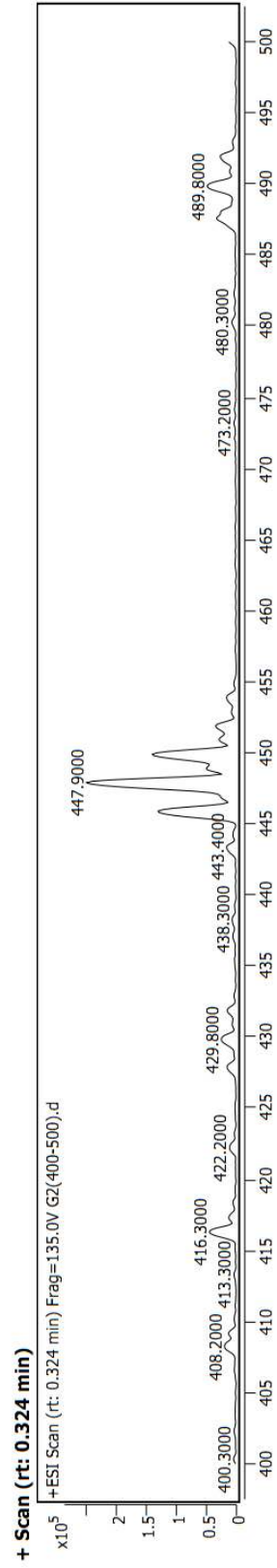
3.1 BİLEŞİKLERİN KARAKTERİZASYONU

3.1.1 G1 Karakterizasyonu

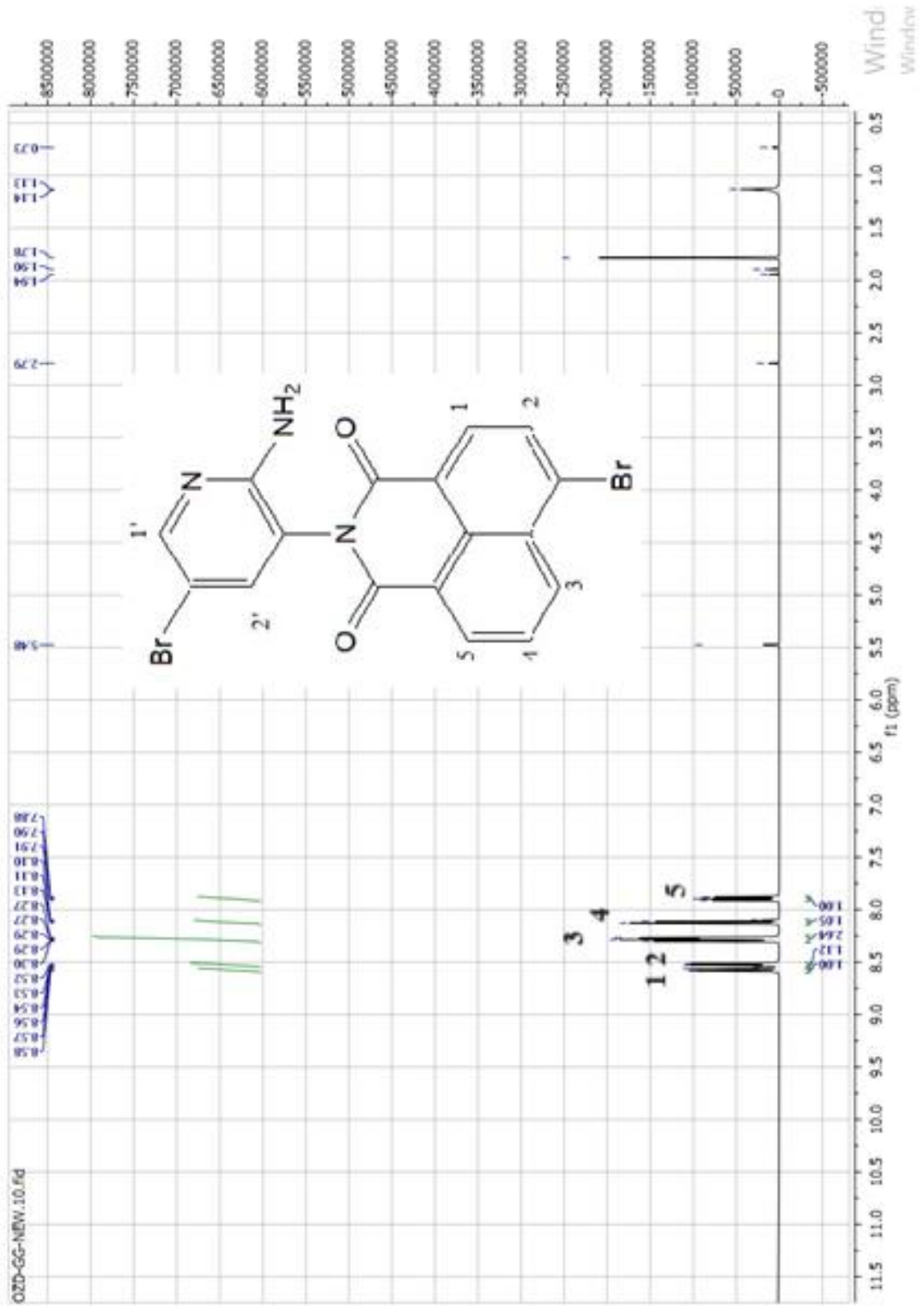
4-bromo-1,8-naftlalik anhidrit ile 2,3-diamino-5-bromopiridin asetik asit içerisinde geri soğutucu altında 24 saat kaynatılmıştır. Soğutulup buz eklendiğinde sarı renkli çökelek %50 verimle elde edilmiştir. Yapıya ait FTIR spektrumunda (Şekil 3.1) 3300 cm^{-1} 'deki geniş band N-H titreşim ve gerilimlerine ait pikleri oluşturur. 3066 cm^{-1} 'de C-H gerilme pikleri görülmüştür. C=O gerilme piki için 1699 ve 1669 cm^{-1} olarak iki sinyal alınmıştır. Ayrıca 1186 cm^{-1} 'deki pik pridin halkasının C-N titreşimlerine aittir. $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2$ için teorik $[\text{M}] = 444$ olarak hesaplanan kütle deneysel ESI-MS sonucu ise moleküler iyon pikini 448 olarak sonuçlanmıştır (Şekil 3.2). Proton nmr spektrumunda ise beklendiği gibi pridin halkasına ait iki singlet 8.58 ve 8.53 ppm olarak görülmüştür (Şekil 3.3). 8.29 ppm'de 3 proton integrasyonundaki multiplet ve 8.11 ppm'deki dublet ve 7.99 ppm'de bir proton integrasyonundaki triplet naftalin halkasındaki protonlara ait sinyallerdir. Bu spektrumda pridin halkasında bulunan NH_2 grubuna ait sinyal görülmemiştir.



Şekil 3.1 G1'ye ait FT-IR spektrumu.



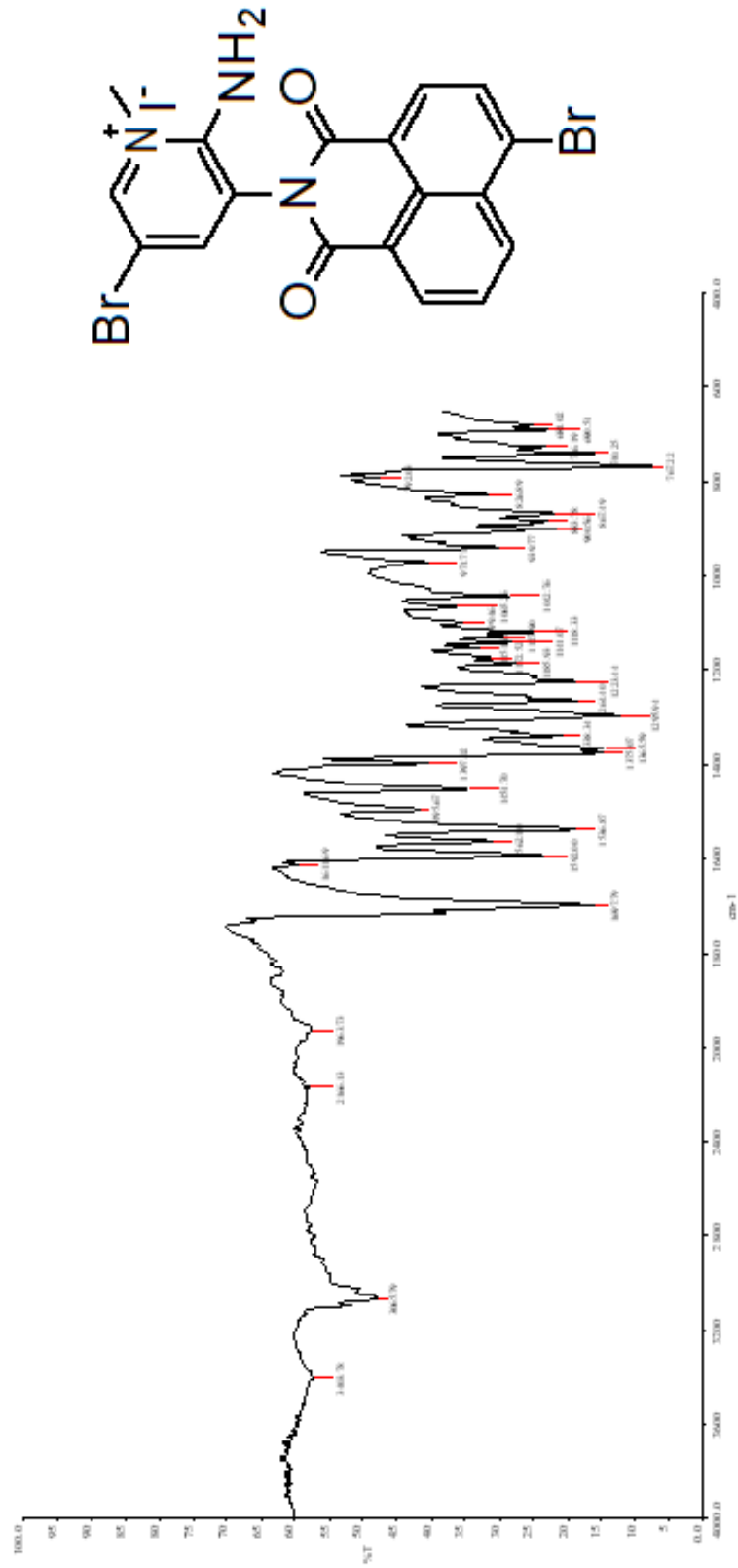
Şekil 3.2 G1'ye ait ESI-MS spektrumu.



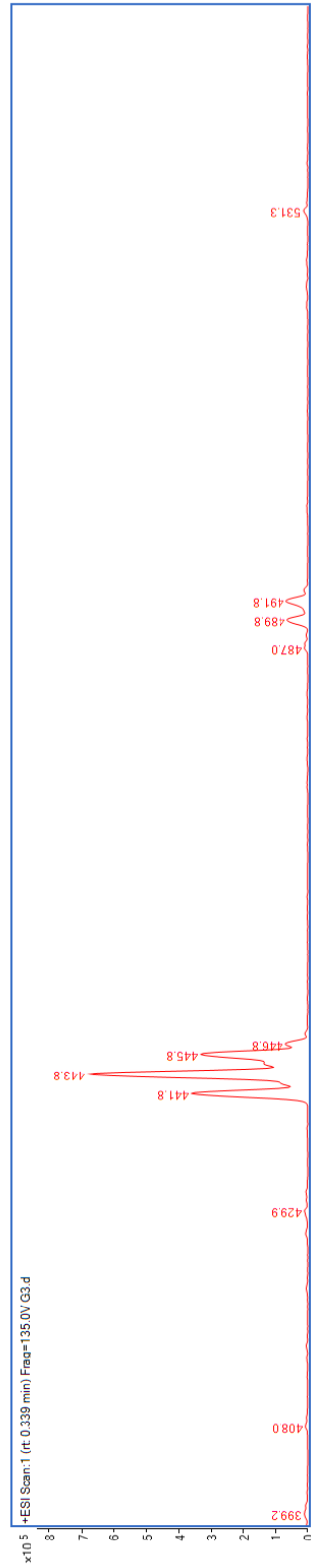
Şekil 3.3 G1'ye ait ¹H-NMR spektrumu.

3.1.2 G2 Karakterizasyonu

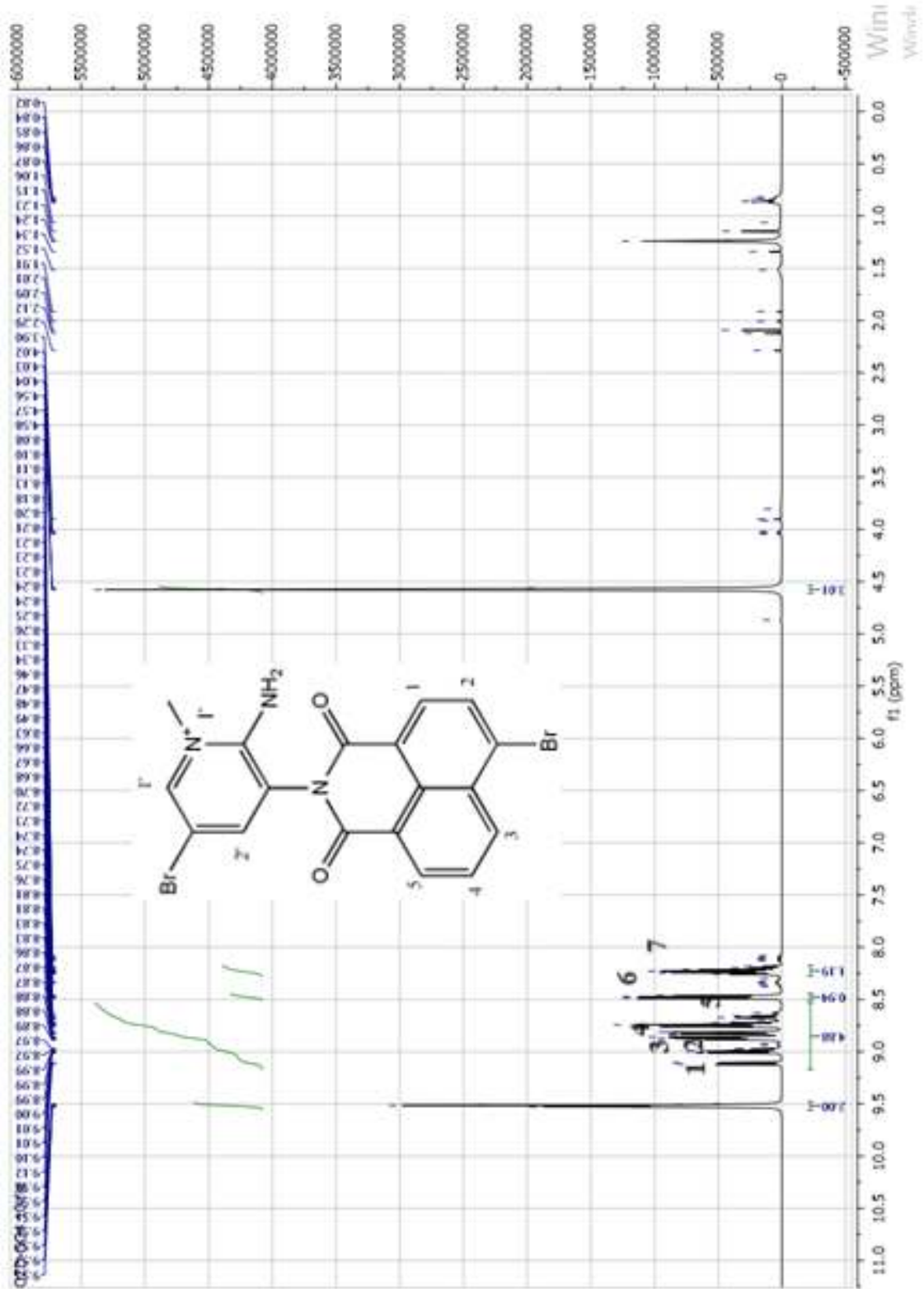
G2 metil iyodür içerisinde kaynatılarak elde edildi. Soğutulup buz eklendiğinde sarı renkli çökelek %30 verimle elde edilmiştir. Yapıya ait FTIR spektrumunda (Şekil 3.4) 3300 cm^{-1} 'deki geniş band N-H titreşim ve gerilimlerine ait pikleri oluşturur. C-H gerilme pikleri 3050-3070 cm^{-1} 'de görülmüştür. C=O gerilme piki için 1689 cm^{-1} 'de geniş band olarak görülmüştür. Ayrıca 2166 cm^{-1} 'deki pik pridin halkasının C-N gerilimine aittir. $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{Br}_2\text{IN}_2\text{O}_2$ için teorik $[\text{M}] = 585$ olarak hesaplan kütle deneysel ESI-MS sonucu ise moleküler iyon pikini $[\text{M}-\text{CH}_3\text{I}] = 443$ olarak sonuçlanmıştır (Şekil 3.5). Proton nmr spektrumunda ise beklendiği gibi katyonik bileşiğe ait aromatik proton pikleri yüksek alana göç etmişlerdir (Şekil 3.6). 8.25-9.10 ppm arasında 7 proton sinyali bu gruptadır. Ayrıca Pridin halkasındaki amine ait protonlar 9.30 ppm'de (NH_2) singlet olarak görülmüştür. N-metile ait singlet 4.57 ppm'de 3 proton integralinde bulunmaktadır.



Şekil 3.4 G2'e ait FT-IR spektrumu.



Şekil 3.5 G2'e ait ESI-MS spektrumu.

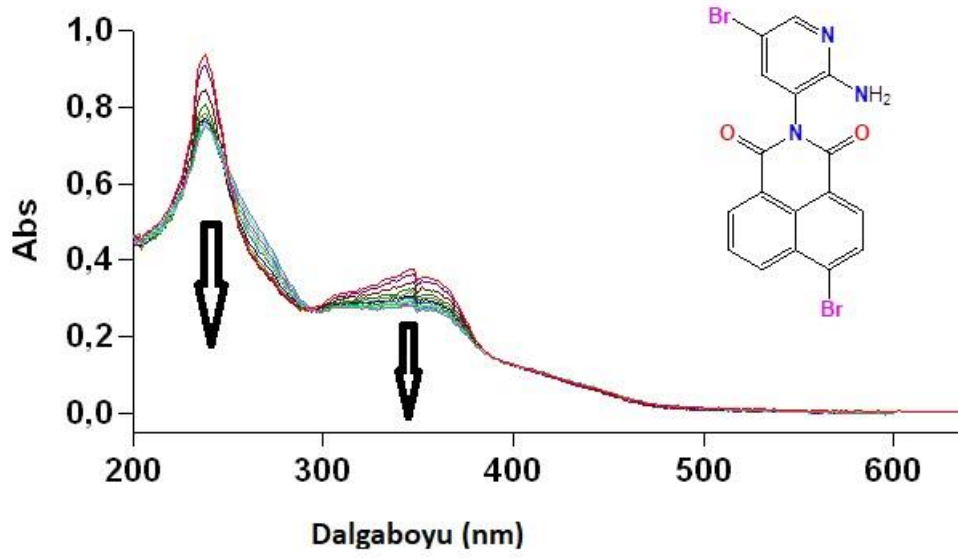


Şekil 3.6 G2'e ait ¹H-NMR spektrumu.

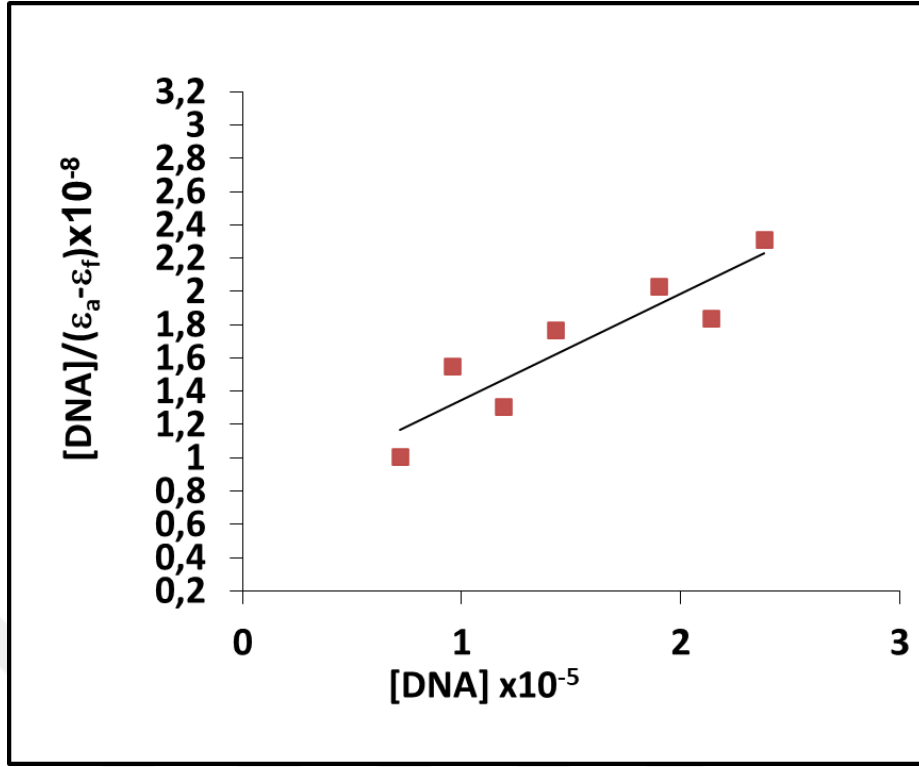
3.2 BİLEŞİKLERİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİ

3.2.1 UV Titrasyon Sonuçları

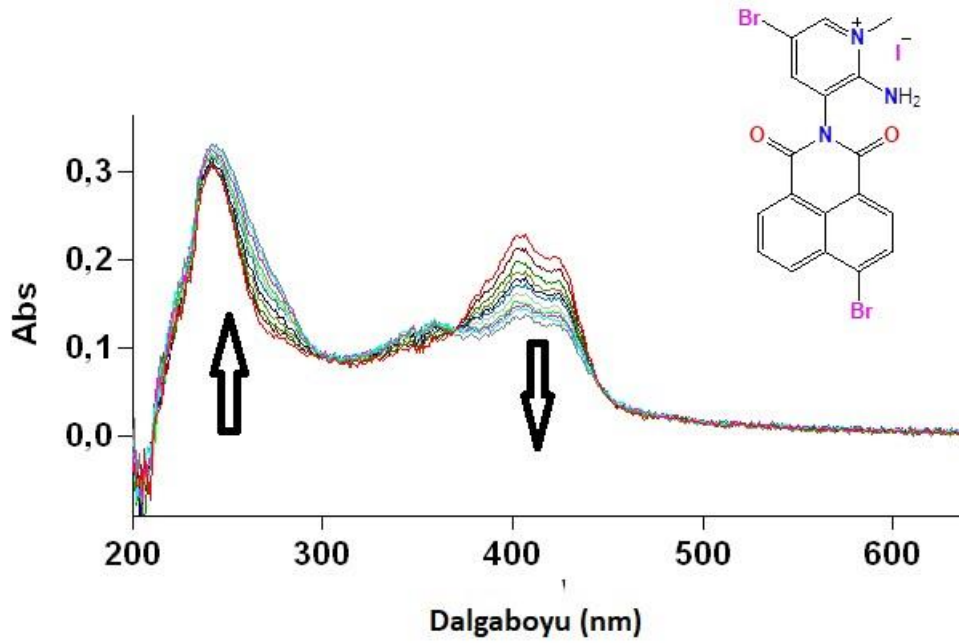
UV-Vis titrasyon spektrumlarında 20 mM TRIS/ 100 mM KCl (pH=7,5) tamponu içinde hazırlanan çözeltilerin absorpsiyonları kaydedilmiştir. Aynı tampon içerisinde hazırlanan DNA, çözeltilerin üzerine artan miktarlarda porsiyonlar halinde eklenerek bileşiklerin absorpsanlarında oluşan değişimler gözlemlenmeye çalışılmıştır.



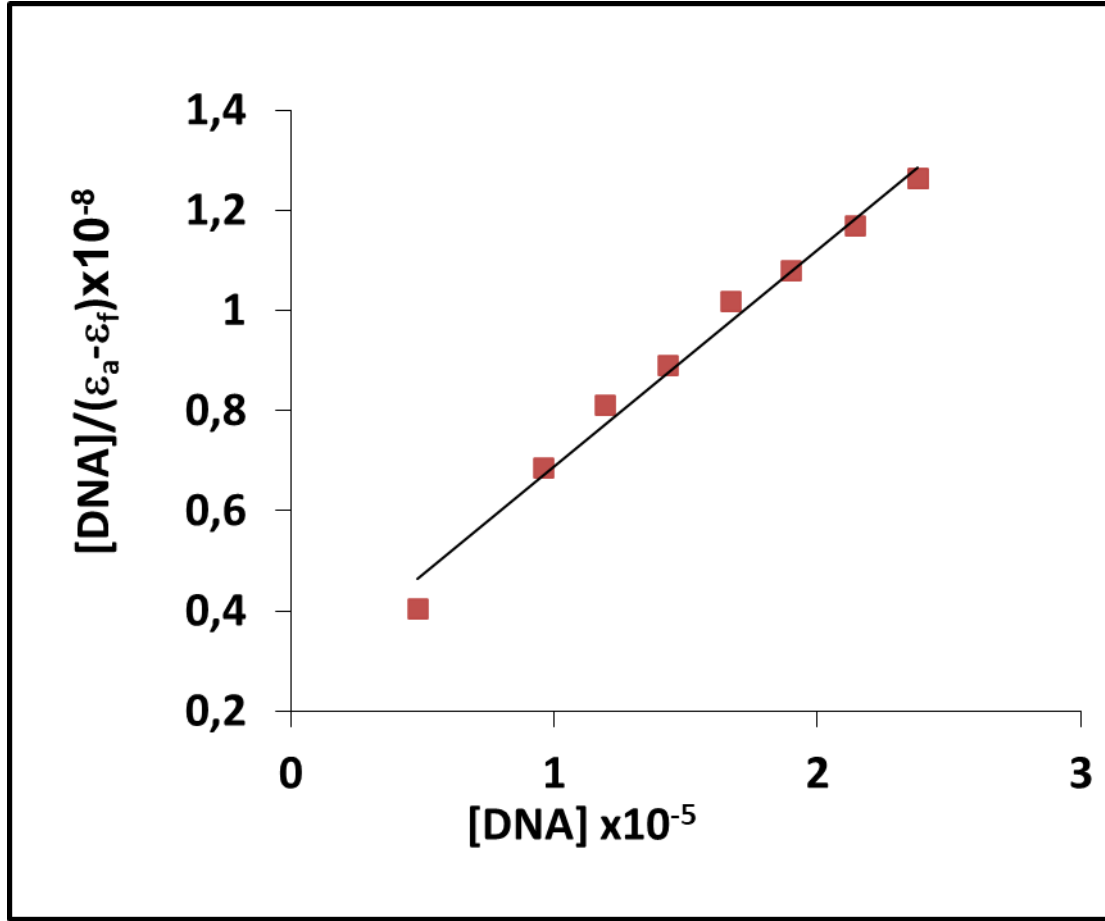
Şekil 3.7 G1 çözeltisinin DNA ile UV titrasyonu.



Şekil 3.8 G1 bileşiğinin [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε_A - ε_f) grafiği.



Şekil 3.9 G2 çözeltisinin DNA ile UV titrasyonu.



Şekil 3.10 G2 bileşiğinin [DNA] değerlerine karşı [DNA]/(ε_A - ε_f) grafiği.

Şekil 3.7’de görüldüğü gibi G1 bileşiği 237 nm ve 347 nm’de maksimum absorbans vermiştir ve porsiyonlar halinde DNA çözeltisi eklendiğinde maksimum absorbans değeri azalmıştır. Çözelti üzerine artan miktarlarda DNA çözeltisi eklendiğinde, molekülde bulunan π elektron sistemiyle, DNA’da bulunan π elektron sistemi etkileşime girer ve bu etkileşim sonucunda DNA molekülün π elektronlarının daha geniş bir alanda delokalize olmasına neden olur. Böylece absorbansta azalma meydana gelmektedir. Absorbansta meydana gelen değişim durana kadar titrasyon işlemine devam edilmiştir. DNA ile titre edildiğinde absorbans değerinin azalması maddenin DNA ile oyuk veya interkalasyon bağlanma yaptığını göstermektedir. Hesaplanan bağlanma sabiti değeri $8,89 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ’dir (Şekil 3.8).

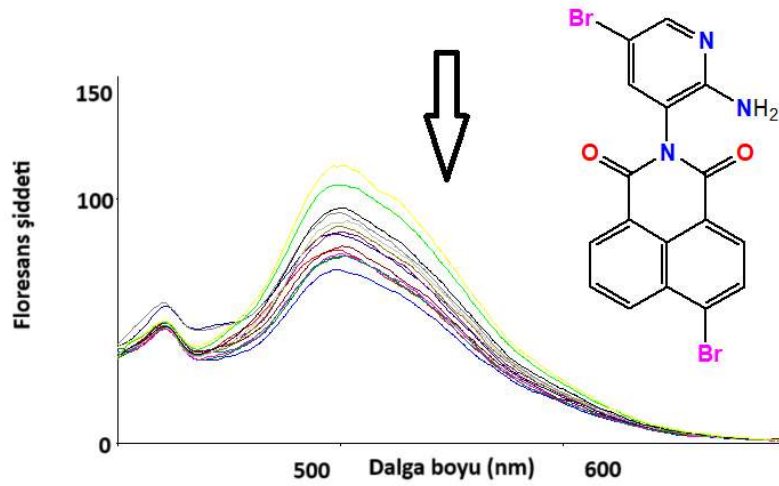
G2 bileşiği ise 241 nm ve 402 nm’de maksimum absorbans vermiştir (Şekil 3.9) ve porsiyonlar halinde DNA çözeltisi eklendiğinde maksimum absorbans değeri belirgin bir şekilde azalmıştır. Absorbansta meydana gelen değişim durana kadar titrasyon işlemine devam edilmiştir. DNA ile titre edildiğinde absorbans değerinin azalması maddenin DNA ile oyuk veya interkalasyon bağlanma yaptığını göstermektedir. Hesaplanan bağlanma sabiti değeri $1,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ’dir (Şekil

3.10). Bağlanma sabitleri Yıldız ve arkadaşlarının (2018) sentezlediği bileşiklerinin değerleriyle karşılaştırıldığında hepsinden çok daha iyi oldukları görülmektedir.

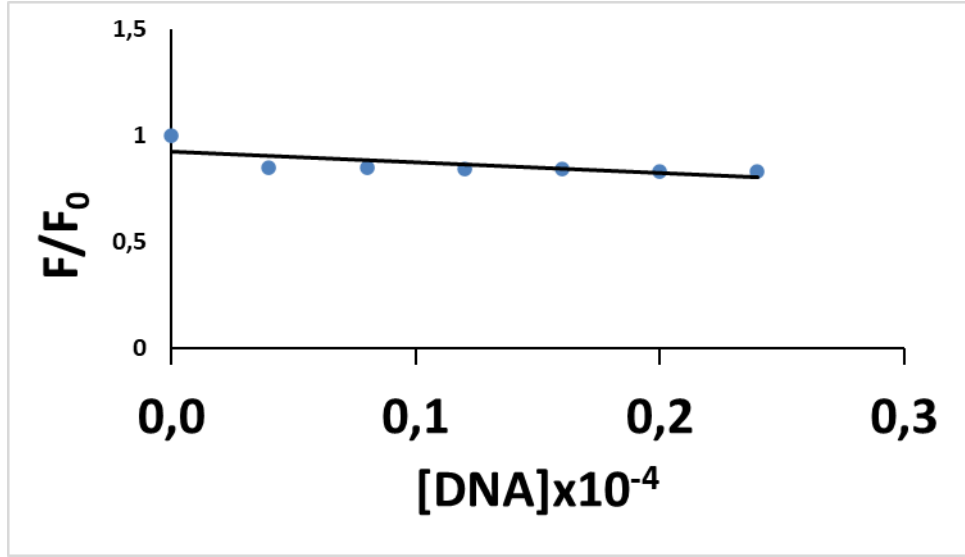
3.2.2 Floresans Titrasyon Sonuçları

3.2.2.1 Floresans Değişimi

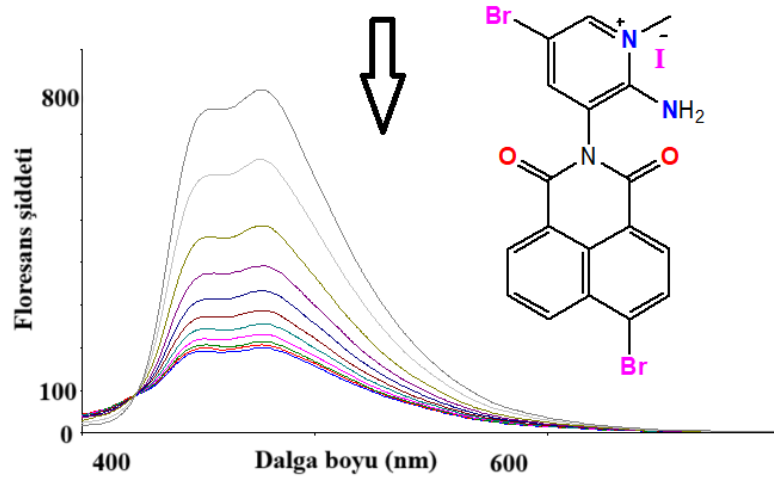
Floresans titrasyon spektrumlarında 20 mM TRIS/ 100 mM KCl (pH=7,5) tamponu içinde hazırlanan çözeltilerin uygun dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumları kaydedilmiştir. Aynı tamponda hazırlanan DNA çözeltisinin, çözeltiler üzerine artan miktarlarda eklenmesi sonucu bileşiklerin emisyonunda meydana gelen değişim gözlemlenmeye çalışılmıştır.



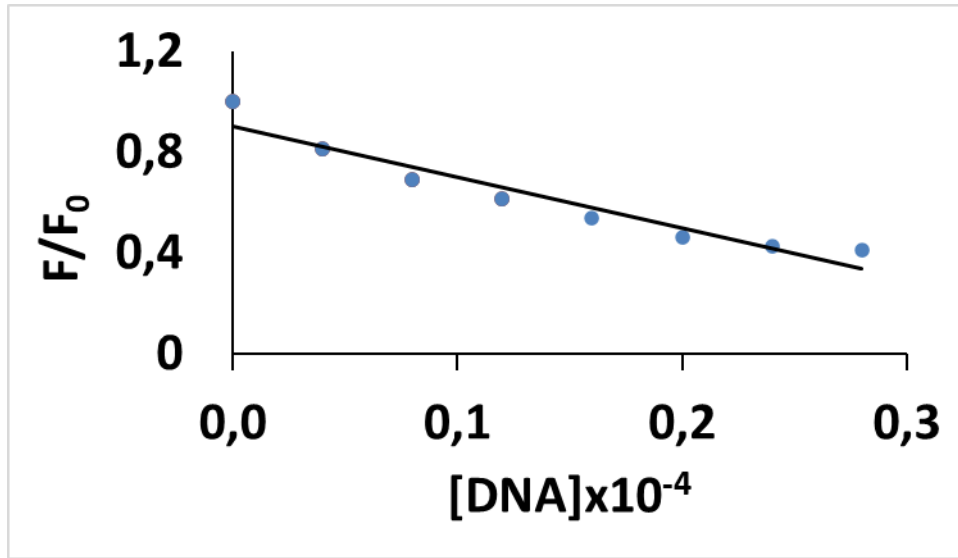
Şekil 3.11 G1 çözeltisinin DNA çözeltisi ile titrasyonu sonucu floresans spektrumunda oluşan değişim.



Şekil 3.12 G1 bileşiğine ait Stern-Volmer grafikleri.



Şekil 3.13 G2 çözeltisinin DNA çözeltisi ile titrasyonu sonucu floresans spektrumunda oluşan değişim.



Şekil 3.14 G-2 bileşiğine ait Stern-Volmer grafikleri.

G1 bileşiği 370 nm dalga boyunda uyarılarak 400-750 nm dalga boyunda oluşan emisyon spektrumu kaydedilmiştir. G1 bileşiği 520 nm’de emisyon vermiştir. Floresans şiddeti yaklaşık 112’den 90’e düşmüştür (Şekil 3.11). %20’luk bir değişim gözükmektedir. Hesaplanan bağlanma sabiti (K_{sv}) değeri $1,11 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ ’dir (Şekil 3.12).

G2 bileşiği 370 nm dalga boyunda uyarılarak 400-750 nm dalga boyunda oluşan emisyon spektrumu kaydedilmiştir. G2 bileşiği 400-550 nm’de emisyon vermiştir. Floresans şiddeti 800’den 200’e düşmüştür. %75’luk bir değişim gözükmektedir (Şekil 3.13).

Bu sonuçlardan G2 bileşiğinin, G1 bileşiğine göre daha kuvvetli etkileşim gösterdiği görülmüştür. Yani bileşiği iyonik hale getirdiğimizde DNA ile etkileşim oranı daha çok artmıştır. Hesaplanan bağlanma sabiti değeri $2,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ’dir (Şekil 3.14). Bileşiklerin K_{sv} değerleri Yıldız ve arkadaşlarının (2018) sentezlediği bileşiklerinin değerleriyle benzerlik göstermektedir.

3.2.3 Yarışmalı Floresans Sonuçları

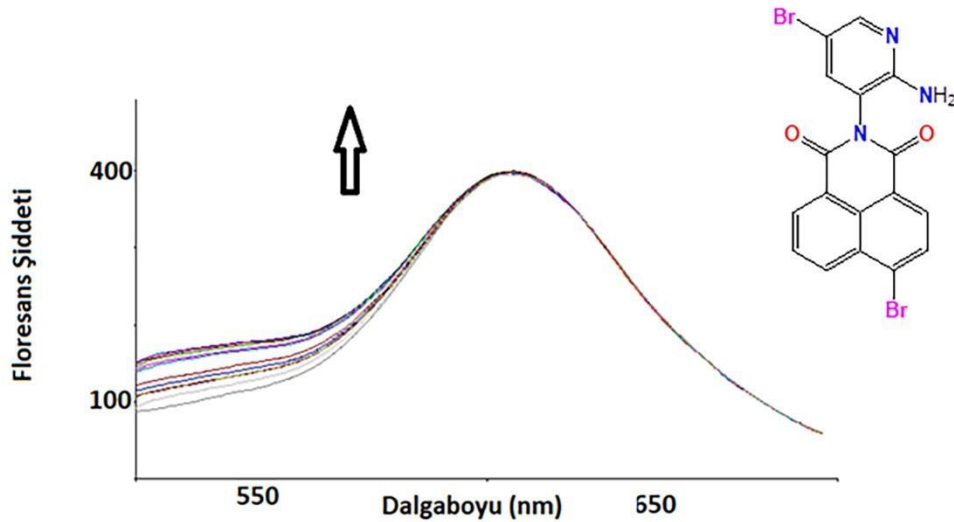
Yarışmalı yer değiştirme analizleri floresans boyalar kullanılarak yapılmıştır. DNA’ya bağlanan boyaları yerinden çıkarabilen herhangi bir küçük molekül, yer değiştirmiş boya ile aynı biçimde DNA’ya bağlanıyor demektir. En yaygın kullanılan boyalar EtBr, Hoechst, DAPI ve TO’dur. Bu tür boyalar sulu çözeltilerinde düşük floresans yoğunluğa sahiptir. Ancak bu boyalar DNA

ile bağlandıklarında floresans yoğunluklarında artış meydana gelmektedir. Eklenen ilaç boyayı yerinden çıkarttıkça floresans yoğunluğa düşmeye başlayacaktır.

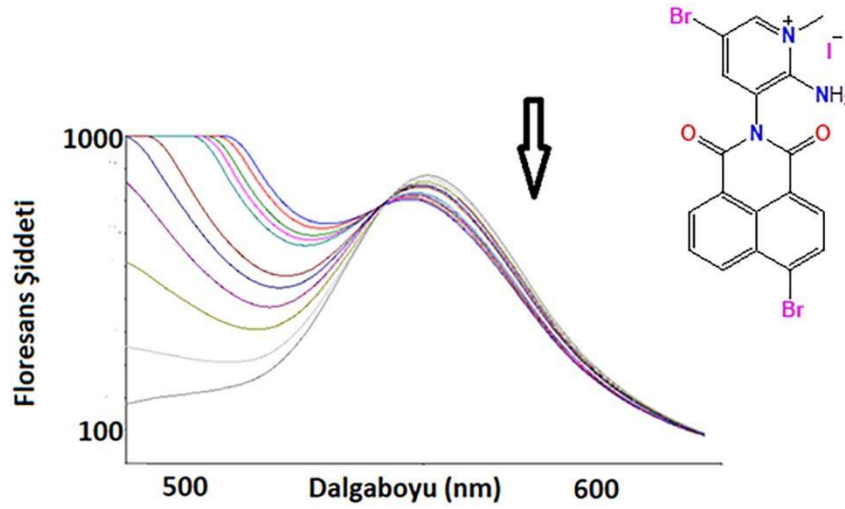
3.2.3.1 EtBr ile Yarışmalı Floresans Sonuçları

Bileşiklerin DNA ile etkileşimini anlamak için DNA ile etkileşim modları bilinen çeşitli bileşikler ile titrasyon yapılmıştır. EtBr DNA ile karıştığı zaman baz çiftleri arasına interkalasyon yapar. Böylece floresans spektrumu kaydedilir. Fakat bu karışıma interkalasyon yapma kapasitesi olan bir madde eklendiği zaman konsantrasyona bağlı olarak EtBr baz çiftleri arasından çıkar ve yerini maddeye bırakır. EtBr miktarı arttıkça floresans yoğunluğu düşecektir. Şekil 3.15 ve Şekil 3.16 da 20 μM EtBr ile 100 μM sıgır DNA'sı içeren çözeltinin artan derişimlerde G1 ve G2 bileşiklerinin ilavesi ile floresans spektrumlarında oluşan değişimler gösterilmiştir.

20 mM TRIS/ 100 mM KCl tamponu (pH= 7,5) içerisinde hazırlanan EtBr-DNA sistemine aynı tamponda hazırlanan, G1 ve G2 çözeltileri artan konsantrasyonlarda eklenip spektrum kaydedilmiştir. Oluşan EtBr-DNA kompleksine G1 bileşiği eklendiğinde kompleksin floresans şiddetinde değişiklik olmamıştır. G2 bileşiği ise floresans şiddetinde çok az miktarda düşüş meydana getirmiştir.



Şekil 3.15 EtBr-DNA kompleksinin G1 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.



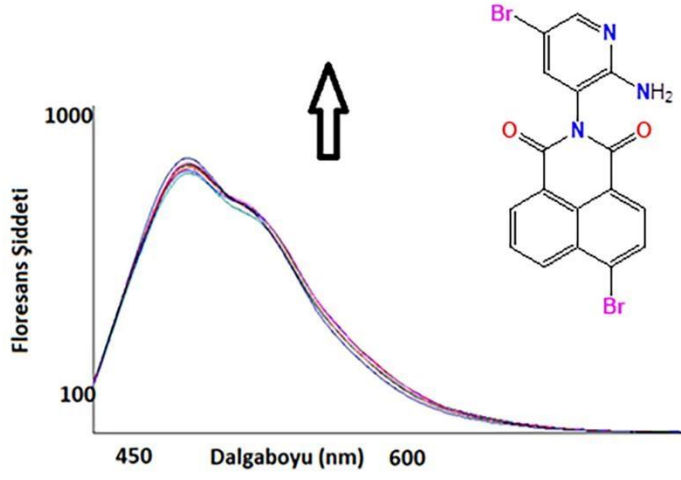
Şekil 3.16 EtBr-DNA kompleksinin G2 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.

3.2.3.2 DAPI ve Hoechst-33258 ile Yarışmalı Floresans Sonuçları

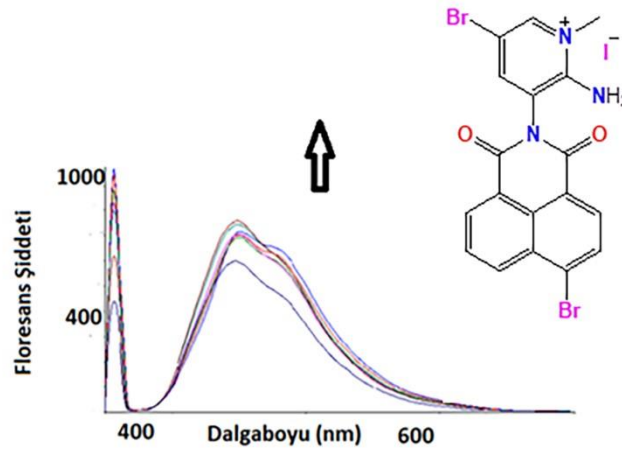
DAPI ve Hoechst boyaları da sulu çözeltilerinde düşük floresansa sahip boyalardır. Ancak, DNA eklendiği zaman yüksek floresans özellik gösterir ve DNA ile etkileşerek DAPI-DNA ve Hoechst-DNA kompleksleri oluşur. Bu komplekslere DAPI ve Hoechst gibi oyuk üzerinden bağlanan bir madde eklendiği zaman ise eklenen madde DAPI ve Hoechst boyalarını yerinden çıkararak DNA'ya madde bağlanır. Bu durum sonucunda floresans yoğunluğunda düşüş meydana gelir.

Hazırlanan DAPI-DNA çözeltisine aynı sırasıyla G1 ve G2 çözeltileri ilave edildikçe floresans yoğunluğunda belirgin bir düşüş olmamıştır hatta emisyon yoğunluğu artmıştır (Şekiller 3.17 ve 3.18). Bu durum bileşiklerin DAPI'yi yerinden çıkaramadığını göstermiştir. Yani bileşikler DAPI-DNA sistemine etki etmemiştir.

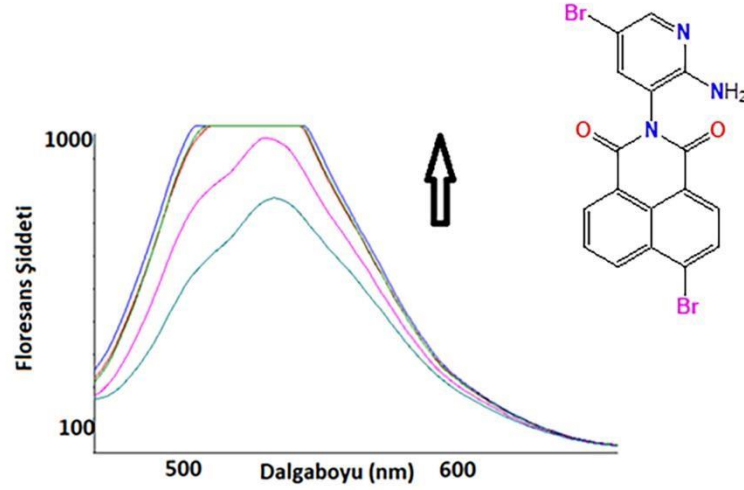
Yüksek floresanslı Hoechst-DNA kompleksine G1 ve G2 çözeltisi ilave edildikçe emisyon yoğunluğunda artış görülmüştür (Şekiller 3.19 ve 3.20). Bu artış G1 ve G2 bileşiklerinin emisyonlarının Hoechst ile emisyon verdiği bölgeler aynı olmasından kaynaklanabilir. Bu durum bileşiklerin Hoechst maddesini yerinden çıkarıp çıkaramadığını anlamamızı imkansız hale getirmiştir.



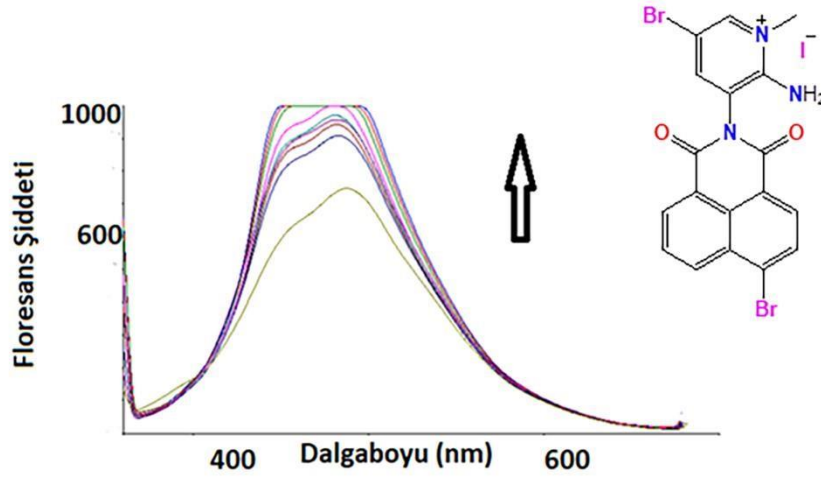
Şekil 3.17 DAPI-DNA kompleksinin G1 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.



Şekil 3.18 DAPI-DNA kompleksinin G2 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.



Şekil 3.19 Hoechst ve DNA kompleksinin G1 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.



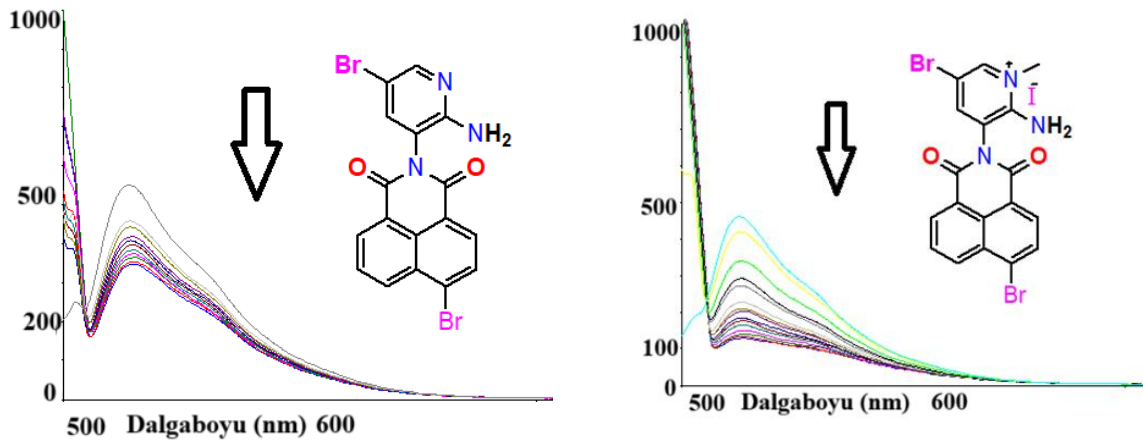
Şekil 3.20 Hoechst ve DNA kompleksinin G2 bileşiği ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.

3.2.3.3 TO (tiyazol turuncusu) ile Yarışmalı Floresans Sonuçları

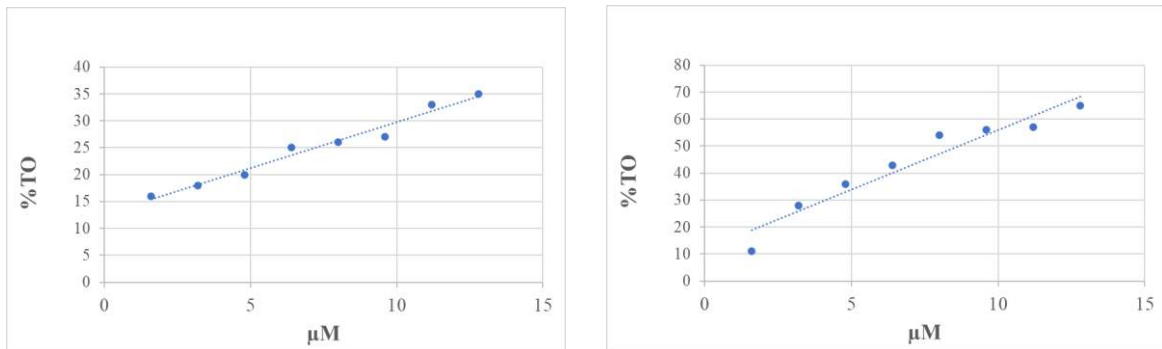
Düşük floresansa sahip TO ancak DNA eklendiği zaman 520 nm’de yüksek floresans özellik gösterir ve DNA ile etkileşerek TO-DNA kompleksini oluşturur. Bu çözeltiye G1 ve G2 çözeltileri artan konsantrasyonlarda eklenip spektrum kaydedilmiştir (Şekil 3.21).

Spektrofotometre küveti içinde hazırlanan TO-DNA çözeltisine G1 bileşiği ilave edildikçe floresans şiddetinde düşüş görülmüştür ve titrasyon ilerledikçe floresans şiddeti neredeyse

yarıya kadar düşmüş ve değişim durmuştur. G2 bileşiğinin eklenmesi ise TO-DNA kompleksinin floresans şiddetini neredeyse söndürmüştür. TO, DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığından floresans şiddetinde görülen bu azalmalar iki maddenin de interkalasyon yapabileceğini düşündürmüştür. G1 bileşiğinin DC_{50} değeri 21,8 G2 bileşiğinin DC_{50} değeri 8,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.22). Yarışmalı floresans (TO) deneyinden elde edilen DC_{50} ile UV titrasyonu ile elde edilen K_b değerleri göz önüne alındığında G2 bileşiğinin TO boyasıyla daha kuvvetli etkileşim gösterdiği anlaşılmıştır. TO ile yarışmalı floresans sonuçları ise Yıldız ve arkadaşlarının (2018) sentezlediği bileşiklerinde olduğu gibi benzer kuvvette bağlanmış sentezlenen katyonik bileşiğinin daha kuvvetli etkileşime sahip olduğunu göstermiştir.



Şekil 3.21 TO-DNA kompleksinin G1 ve G2 bileşikleriyle titrasyonu sonucu elde edilen yarışmalı floresans çalışması.

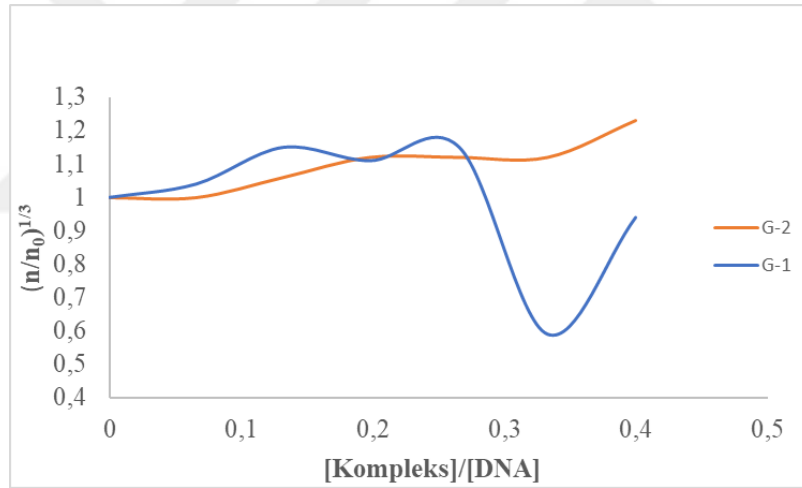


Şekil 3.22 TO- DNA kompleksi üzerine artan miktarlarda G1 ve G2 eklenmesiyle elde edilen emisyon spektrumu hesaplaması.

3.2.4 Viskozimetre Sonuçları

Viskozite sonuçlarına göre G1 bileşiği konsantrasyonu arttıkça viskozitede bir miktar artış görülmüş ve sonrasında viskozite tekrar azalmıştır. Bu durum minor veya major oyuklardan molekülün bir miktar interkalasyonla beraber bağlandığını fakat klasik interkalasyon gibi molekülü uzatmadan bükerek etki ettiğini anlamaktayız. Baz çiftlerine tek taraftan bağlandığı için DNA'nın boyunda uzama yerine azalmaya neden olur. Bütün bunlar G1 bileşiğinin kısmi interkalasyon yaptığını gösterir (Şekil 3.23). G2 bileşiği ise konsantrasyona bağlı olarak DNA viskozitesini artırmıştır. Bu durum G2 bileşiğinin ise interkalasyon yapabileceğini göstermiştir.

Sentezlenen bileşiklerin viskozite sonuçları Yıldız ve Çoban'ın (2019) $[Cu(dtb)(phen)]^{2+}$ kompleksiyle Jia ve arkadaşları (2018) ferrosen ekli 1,8-naftalimid türevlerinin viskozite sonucuna benzer şekildedir ve sarmalda bükülmeye ve DNA'nın viskozitesinde bir azalmaya neden olur.



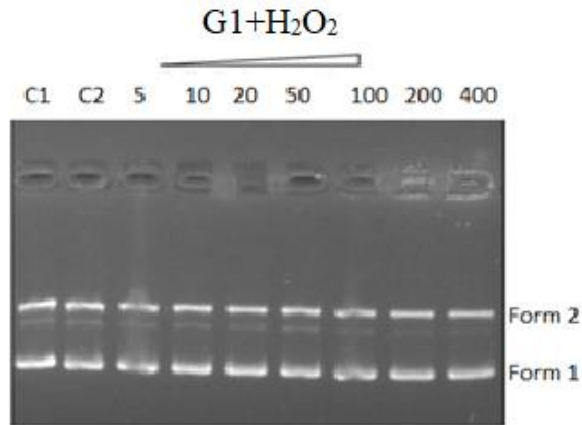
Şekil 3.23 G1 ve G2 bileşiklerinin DNA viskozitesine etkileri.

3.2.5 Agaroz Jel Elektroforez Sonuçları

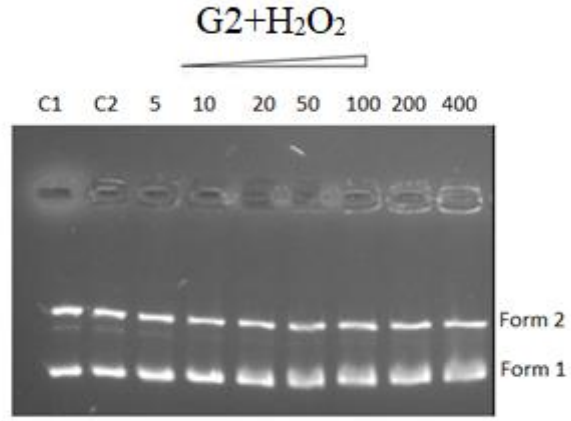
Agaroz jel elektroforezi sentezlenen bileşiklerin DNA'nın hasara uğrayıp ya da hasara uğramadığını bulabilmek için kullanılır. Plazmid DNA ile etkileşen moleküller DNA'nın yapısında birtakım değişiklikler meydana getirir. İnterkalasyon yolu ile etkileşen bileşikler, DNA'nın formunun değişmesine ve boyunda uzamalara neden olmaktadır. Bu değişim ile süper sarmal DNA'nın elektroforetik davranışlarında farklılıklar meydana gelir ve bu farklılıklar sonucunda DNA'nın yapısındaki bozulmalar gözlenebilmektedir.

Elektroforez jelinde C1 hattı kontrol olarak plazmid DNA, C2 hattında yine kontrol olarak plazmid DNA+H₂O₂, geri kalan hatlarda ise DNA+H₂O₂ ve artan konsantrasyonlarda G1 ve G2 bileşiklerinin karışımlarının plazmid DNA'ya etkisi gösterilmektedir. Aynı işlemler G2 bileşiği için de yapılmıştır.

Jel üzerinde (Şekil 3.24) G1 bileşiğinin DNA'ya bir etki etmediği gözlenmiştir. Konsantrasyon arttıkça form 1 ve form 2 miktarları aynı kalmıştır ve DNA hasarı görülmemiştir. Ancak katyonik olan G2 bileşiğinin DNA'yı bağlandığı ölçüde hareketini yavaşlatmıştır. Bir miktar DNA'nın 20 µM konsantrasyondan itibaren artarak form 1'in dağıldığı görülmüştür. Yani eksi yüklü DNA artı yüklü G2 ile elektrostatik olarak etkileşerek DNA'nın toplam yükünü azalttığından sürüklenme hızını azaltmıştır (Şekil 3.25). Agaroz jel elektroforez sonuçlarında aynı bizim sonuçlarımızda olduğu gibi Yıldız ve arkadaşlarının (2018) sentezlediği katyonik bileşik diğer bileşiğe göre daha fazla etkileşim göstermiştir ve katyonik bileşikte bizimkinden farklı olarak DNA'yı aynı zamanda form 1 form 2 ve form 3'e dönüştürmüştür.



Şekil 3.24 Aktivatör varlığında pBR322 ve artan G1 karışımına ait elektroforez görüntüsü.



Şekil 3.25 Aktivatör varlığında pBR322 ve artan G2 karışımlarına ait elektroforez görüntüsü.

BÖLÜM 4

SONUÇ

Sonuç olarak Yıldız ve arkadaşlarının (2018, 2020) ve Baker ve arkadaşlarının rapor ettikleri naftalimitlerden esinlenerek sentezlenen, G1 ve G2 bileşikleri literatür doğrultusunda sentezlenip IR, ¹H-NMR ve ESI-MS yöntemleriyle karakterize edildi. Sentezlenen bileşiklerin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyon, floresans titrasyon, viskozite ve agaroz jel elektroforez yöntemleriyle belirlendi.

UV-Vis titrasyonu sonuçları maddelerin DNA ile etkileştiğini göstermektedir. UV-vis titrasyon sonucunda G1 ve G2 bileşiklerinin bağlanma sabiti K_b değerleri sırası ile $8,89 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $1,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplandı.

Floresans spektrofotometresi çalışmalarında da bileşiklerin DNA ile etkileştiği anlaşılmıştır ve bağlanma sabiti (K_{sv}) değerleri sırası ile $1,11 \times 10^3$ ve $2,02 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplandı.

Yarışmalı floresans titrasyonlarında EtBr, DAPI ve Hoechst boylarıyla sağlıklı bir ölçüm yapılamamış fakat TO boyasında her iki bileşik de floresans şiddetinde azalma meydana getirmiştir. Bu sonuç bileşiklerin interkalasyon yapabileceğini göstermiştir. Yarışmalı floresans deneylerinde elde edilen DC_{50} değerleri UV titrasyonu ve floresans titrasyonu bağlanma sabitleriyle orantılıdır. G2 daha kuvvetli bağlanmıştır.

Viskozite sonuçlarında G1 bileşiğinin kısmi interkalasyon G2 bileşiğinin ise interkalasyon yapabileceğini doğrulamıştır.

Agaroz jel elektroforez sonuçları incelendiğinde G2 bileşiği peroksit varlığında DNA'ya G1 bileşiğine göre daha fazla etkileşim göstermiştir.



KAYNAKLAR

- [1] **Dursun Ö** (2009) An application of information theory for DNA structure. *Yüksek Lisans Tezi*, Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 49 s.
- [2] **Raymond F and Gosling R** (1953) Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate. *Nature Publishing Group*, 171-740.
- [3] **Lerman L** (1961) Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of Molecular Biology*, 3: 18-30.
- [4] **Swift L and Golsteyn R** (2014) Genotoxic anti-cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 15 (3): 3403-3431.
- [5] **Brett AMO, Diculescu V and Piedade J** (2002) Electrochemical oxidation mechanism of Guanine and Adenine using a glassy carbon microelectrode. *Bioelectrochem*, 55: 61-62.
- [6] **Kamal S, Ripon S, Dey N, Ashour A and Santhi V** (2016) A map reduce approach to diminish imbalance parameters for big deoxyribonucleic acid dataset. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 131: 191-206.
- [7] **Chalikian T, Völker J, Plum G and Breslauer K** (1999) A more unified picture for the thermodynamics of nucleic acid duplex melting: a characterization by calorimetric and volumetric techniques. *Proceedings National Academy of Science*, 96 (14): 7853-7858.
- [8] **Wing R, Drew H, Takano T, Broka C, Tanaka S, Itakura K and Dickerson R** (1980) Crystal structure analysis of a complete turn of B-DNA. *Nature*, 287: 755-758.
- [9] **Mandelkern M, Elias J, Eden D and Crothers D** (1981) The dimensions of DNA in solution. *Journal of Molecular Biology*, 152: 153-161.
- [10] **Zhu K, Hu X, Ge Q and Sun Q** (2014) Fluorescent recognition of deoxyribonucleic acids by a quantum dot/meso-tetrakis (*N*-methylpyridinium-4-yl) porphyrin complex based on a photo induced electron-transfer mechanism. *Analytica Chimica Acta*, 812: 199-205.
- [11] **Chelton E, Jones A and Walker R** (1968) The chemical composition of the nucleic acids and the proteins of some mycoplasma strains. *Journal of General Microbiology*, 50: 305-312.
- [12] **Richmond T J and Davey C A** (2003) The structure of DNA in the nucleosome core. *Nature*, 423: 145-150.
- [13] **Dickerson R E** (1992) DNA Structure Form A to Z. *Methods in Enzymology*, 211: 67-111.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [14] **Rehman S U, Sarwar T, Husain M A, Ishqi H M and Tabish M** (2015) Studying noncovalent drug–DNA interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 576: 49-60.
- [15] **Ha S C, Lowenhaupt K, Rich A, Kim Y G, Kim and K K** (2005) Crystal structure of a junction between B-DNA and Z-DNA reveals two extruded bases. *Nature Letters*, 437: 1183-1186.
- [16] **Zengin A and Zhang S** (2003) Z-DNA: the long road to biological function. *Nature Reviews Genetics*, 4 (7): 566-572.
- [17] **Kamanetskii M and Prakash S** (2014) Fluctuations in the DNA double helix: A critical review. *Physics of Life Reviews*, 11: 153-170.
- [18] **Turan A** (2009) İlaç-DNA etkileşimi ve DNA analizleri için elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Programı, İzmir, 123 s.
- [19] **Richardson C L** (1981) Intercalation inhibition assay compounds that interact with DNA or RNA. *United States Patent*, 4: 257-774.
- [20] **Mostafa K R, Ahmad Desoky M M and Nabawia M I & Ali A M** (2013) Synthesis, characterization, DNA interaction, thermal and in vitro biological activity investigation of some Ni (II)-İsatin bishydrazone complexes. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 11: 1147-1163.
- [21] **Chatterji T, Kızıl M, Keerthi K, Chowdhury G, Pospilis T and Gates K S** (2003) Small Molecules That Mimic the Thiol-Triggered Alkylating Properties Seen in the Natural Product Leinamycin. *Journal of the American Chemical Society*, 125: 4996-4997.
- [22] **Çeken B** (2005) Sentetik maddeler ile DNA kesimi. *Doktora Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.
- [23] **Blackburn G M and Gait M J** (1990) Nucleic Acids in Chemistry and Biology. *Oxford University Baskı*, New York.
- [24] **Strekowski L and Wilson B** (2007) Noncovalent interactions with DNA: An overview. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 623: 3-13.
- [25] **Silvestri C and Brodbelt J S** (2012) Tandem mass spectrometry for characterization of covalent adducts of DNA with anticancer therapeutics. *Mass Spectrometry Reviews* 32: 247-266.
- [26] **Liu H K and Sadler P J** (2011) Metal complexes as DNA intercalators. *Accounts of Chemical Research*, 44: 349-359.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [27] **Yunus G, Srivastava S, Kuddus M and Gupta V** (2013) Drug DNA interaction: A theoretical study on the binding of thionine with DNA's of varying base composition, *Current Applied Physics*, 13: 322-326.
- [28] **Sirajuddin M, Ali S and Badshah A** (2013) Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124: 1-19.
- [29] **Sies H** (1986) Biochemistry of Oxidative Stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25: 1058-1071.
- [30] **Silverman R B** (1991) The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action. *Academic Press Illinois, China*, ISBN: 978-0-12-382030-3
- [31] **Takeda Y, Ohlendorf D H, Anderson W F and Matthews B W** (1983) DNA-binding proteins. *Science*, 221: 1020-1026.
- [32] **Harman D** (1962) Role of free radicals in mutation, cancer, aging, and the maintenance of life. *Radiation Research*, 16: 753-763.
- [33] **Alberti E, Zampakou M and Donghi D** (2016) Covalent and non-covalent binding of metal complexes to RNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 163: 278-291.
- [34] **Palchaudhuri R and Hergenrother P J** (2007) DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action. *Current Opinion in Biotechnology*, 18: 497-503.
- [35] **Rajendiran V, Palaniandavar M, Periasamy V and Akbarsha M** (2012) New [Ru (5,6-dmp/3,4,7,8-tmp)2(diimine)]²⁺ complexes: Non-covalent DNA and protein binding, anticancer activity and fluorescent probes for nuclear and protein components. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 116: 151-162.
- [36] **Berman H M and Young P R** (1981) The intercalation of intercalating drugs with nucleic acids. *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*, 10: 87-114.
- [37] **Waring M J** (1981) DNA modification and cancer. *Annual Review of Biochemistry*, 50: 159-192.
- [38] **Denny W A** (2002). Acridine derivatives as chemotherapeutic agents. *Current Medicinal Chemistry*, 9: 1655-1655.
- [39] **Lenglet G and David-Cordonnier M H** (2010) DNA-destabilizing agents as an alternative approach for targeting DNA: Mechanisms of action and cellular consequences. *Journal of Nucleic Acids*, 1-17.
- [40] **Müller W and Crothers D M** (1975) Interactions of heteroaromatic compounds with nucleic acids. 2. Influence of substituents on the base and sequence specificity of intercalating ligands. *European Journal of Biochemistry*, 54: 279-291.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [41] **Karacan P ve Okay O** (2013) Ethidium bromide binding to DNA cryogels. *Reactive & Functional Polymers*, 73: 442-450.
- [42] **Bischoff G and Hoffman S** (2002) DNA-Binding of Drugs Used in Medicinal Therapies. *Current Medicinal Chemistry*, 9: 321-348.
- [43] **Martínez R and Chacon-García L** (2005) The search of DNA-intercalators as antitumoral drugs: What it worked and what did not work. *Current Medicinal Chemistry*, 12: 127-151.
- [44] **Özkan Ş** (2016) Çeşitli Hidrojen Türevleri ile Nükleik Asitlerin Bağlanma Mekanizmasının Florimetrik Yöntemle İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Tekirdağ, 46 s.
- [45] **Neidle S** (2001) DNA minor groove recognition by small molecules. *Journal of Nucleic Acids*, 18: 291-309.
- [46] **Aleksic M M and Kapetanovic V** (2014) An overview of the optical and electrochemical methods for detection of DNA-drug interactions. *Acta Chimica Slovenica*, 61: 555-573.
- [47] **Wheate N J, Brodie C R, Collins J G, Kemp S and Aldrich-Wright J R** (2007) DNA intercalators in cancer therapy: Organic and inorganic drugs and their spectroscopic tools of analysis. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 7 (6): 627-648.
- [48] **Nafisi S, Saboury A A, Keramat N, Neault J F and Tajmir-Riahi H A** (2007). Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue. *Journal of Molecular Structure*, 827: 35-43.
- [49] **Karavelioğlu H** (2016) Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi Kullanılarak Pirimidin Türevi Bakır (II) Kompleksinin Moleküler Yapı İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı, Harran, 58 s.
- [50] **Arjmand F, Parveen S, Afzal M, Toupet L and Hadda T B** (2012) Molecular Drug Design, Synthesis and Crystal Structure Determination of Cu II–Sn IV Heterobimetallic Core: DNA Binding and Cleavage Studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 49: 141-150.
- [51] **Song Y, Zhong D, Luo J, Tan H, Chen S, Li P, Wang L and Wang T** (2014) Binding Characteristics and Interactive Region of 2-Phenylpyrazolo [1, 5-C] Quinazoline With DNA. *The Journal of Biological Chemical Luminescence*, 29 (8): 141-147.
- [52] **Arjmand F and Jamsheera A** (2011) DNA Binding Studies of New Valine Derived Chiral Complexes of Tin (IV) and Zirconium (IV). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78: 45-51.
- [53] **Akdi K, Vilaplana R A, Kamah S and González-Vílchez F** (2005) Effects of Tris and Hepes Buffers on The Interaction of Palladium–Diaminopropane Complexes with DNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99: 1360-1368.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [54] Pyle A, Rehmann J, Meshoyrer R, Kumar C, Turro N and Barton J K (1989) Mixed Ligand Complexes Of Ruthenium (II): Factors Governing Binding to DNA. *Journal of The American Chemical Society*, 111: 3051-3058.
- [55] Liu J, Zhang T, Lu T, Qu L, Zhou H and Zhang Q ve ark. (2002) DNA-binding and cleavage studies of macrocyclic copper (II) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 91: 269–276.
- [56] Sirajuddin M, Ali S, Shah N A, Khan M R and Tahir M N (2012) Synthesis, characterization, biological screenings and interaction with calf thymus DNA of a novel azomethine 3-((3,5 dimethylphenylimino) methyl) benzene-1,2-diol. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 94: 134–142.
- [57] Wolfe A, Shimer Jr G H and Meehan T (1987) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Physically Intercalate into Duplex Regions of Denatured DNA. *Biochemistry*, 26 (20): 6392-6396.
- [58] Jiang G B, Zheng X, Yao J H, Han B J, Li W, Wang J, Huang H L and Liu Y J (2014) Ruthenium (II) polypyridyl complexes induce BEL-7402 cell apoptosis by ROS mediated mitochondrial pathway. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 141: 170-179.
- [59] Xu Z H, Chen F J, Xi P X, Liu X H and Zeng Z Z (2008) Synthesis, characterization, and DNA-binding properties of the cobalt (II) and nickel (II) complexes with salicylaldehyde 2-phenylquinoline-4-carboxylhydrazone. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 196: 77-83.
- [60] Saito T S, Silva G, Pungartnik C and Brendel M (2012) Study of DNA-emodin interaction by FTIR and UV-vis Spectroscopy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 111: 59-63.
- [61] Ataci N, Kazancioglu E K, Kalindemirtas F D, Kuruca S E ve Arsu N (2020) The interaction of light-activatable 2-thioxanthone thioacetic acid with ct-DNA and its cytotoxic activity: Novel theranostic agent. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 239:118491.
- [62] Gan C, Huang X, Zhan J, Liu X, Huang Y and Cui J (2020) Study on the interactions between B-norcholesteryl benzimidazole compounds with ct-DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 227: 117525.
- [63] Nan L, Ying M, Yanga C, Guoc L and Yang X (2005) Interaction of anticancer drug mitoxantrone with DNA analyzed by electrochemical and spectroscopic methods. *Biophysical Chemistry*, 116: 199-205.
- [64] Shankara S K, Umesha K and Jaldappagari S (2009) Electrochemical studies and spectroscopic investigations on the interaction of an anticancer drug with DNA and their analytical applications. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 636: 93-100.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [65] **Shahabadi N, Falsafi M and Maghsudi M** (2016) DNA-binding study of anticancer drug cytarabine by spectroscopic and molecular docking techniques. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 36 (1): 49-65.
- [66] **Zeinab M K** (2018) In vitro binding interaction of atorvastatin with calf thymus DNA: multispectroscopic, gel electrophoresis and molecular docking studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 161: 101-109.
- [67] **Maryam M, Daryoush A, Saeed E M, Ali M and Masoud T M** (2015) Spectroscopic and electrochemical studies of the interaction between oleuropein, the major bio-phenol in olives, and salmon sperm DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 148: 260-265.
- [68] **Shahabadi N, Soraya M F and Fahimeh K** (2013) Study on the interaction of the drug mesalamine with calf thymus DNA using molecular docking and spectroscopic techniques. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 128: 20-26.
- [69] **Abhijit M and Bula S** (2016) Binding interaction of pharmaceutical drug captopril with calf thymus DNA: a multispectroscopic and molecular docking study. *Journal of Luminescence*, 190: 319-327.
- [70] **Shuyun B, Bo P, Tingting Z, Tianjiao W, Yu W and Lili Yan** (2012) Binding characteristics of salbutamol with DNA by spectral methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 111: 182-187.
- [71] **Jie H S, Yan Y L, Kai L Z and Dong Q P** (2017) Probing the behavior of calf thymus DNA upon binding to a carboxamide fungicide boscalid: insights from spectroscopic and molecular docking Approaches. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 35: 2738-2745.
- [72] **Tarique S, Sayeed U R, Mohammed A H, Hassan M I and Mohammad T** (2014) Interaction of coumarin with calf thymus DNA: Deciphering the mode of binding by in vitro studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73: 9-16.
- [73] **Jaumot J and Gargallo R** (2012) Experimental methods for studying the interactions between G-quadruplex structures and ligands. *Current Pharmaceutical Design*, 18 (14): 1900-1916.
- [74] **Lakowicz J R** (2006) Instrumentation for Fluorescence Spectroscopy. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 27-61.
- [75] **Wu J Z and Ji L N** (1999) Synthesis and spectroscopic DNA binding studies of homoleptic and heteroleptic ruthenium (II) complexes with imidazo[4,5-f] [1,10] phenanthroline or its derivatives. *Transition Metal Chemistry*, 24 (3): 299-303.
- [76] **Li W Y, Xu J G, Guo X Q, Zhu Q Z and Zhao Y B** (1997) Study on The Interaction Between Rivanol and DNA And Its Application to DNA Assay. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 53: 781-787.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [77] **Devi S, Thulasiram B, Satyanarayana S and Nagababu P** (2017) Analytical Techniques Used to Detect DNA Binding Modes of Ruthenium (II) Complexes with Extended Phenanthroline Ring, *Journal of Fluorescence*, 27: 2119-2130
- [78] **Shahabadi N and Hashempour S** (2017) DNA binding studies of antibiotic drug cephalixin using spectroscopic and molecular docking techniques. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 38: 428-447.
- [79] **Waring M J** (1965) Complex formation between ethidium bromide and nucleic acids. *Journal of Molecular Biology*, 13 (1): 269-282.
- [80] **Kuypers N J, James K T, Enzmann G U, Magnuson D S K and Whittemore S R** (2013) Functional consequences of ethidium bromide demyelination of the mouse ventral spinal cord. *Experimental Neurology*, 247: 615-622.
- [81] **Haribabu J, Jeyalakshmi K, Arun Y, Bhuvanesh N S P, Perumal P T and Karvembu R** (2017) Synthesis of Ni (II) complexes bearing indole-based thiosemicarbazone ligands for interaction with biomolecules and some biological applications. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 22 (4): 461-480.
- [82] **Biancardi A, Biver T, Marini A, Mennucci B and Secco F** (2011) Thiazole orange (TO) as a light-switch probe: a combined quantum-mechanical and spectroscopic study. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13: 12595-12602.
- [83] **Hard T, Fan P and Kearns D R** (1990) A Fluorescence Study of The Binding of Hoechst-33258 and Dapi to Halogenated Dnas. *Photochemistry and Photobiology*, 51 (1): 77-86.
- [84] **Shuyun B, Xiaoyue S0 Xu L, Rui, Z and Di S** (2019) Depicting the binding of furazolidone/furacilin with DNA by multiple spectroscopies, voltammetric as well as molecular docking. *Wiley Analytical Science Journals Magazine*, 35 (4): 493-502.
- [85] **Alam M F, Varshney S, Khan M A, Lasker A A and Younus H** (2018) In vitro DNA binding studies of therapeutic and prophylactic drug citral. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113: 300-308.
- [86] **Shahabadi N and Somayeh B** (2014) Spectroscopic and molecular docking studies on the interaction of the drug olanzapine with calf thymus DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136: 1454-1459.
- [87] **Subramani K, Ganesan B, Rajendiran M, Shanmugavel C, Ragavan S, Krishnaswamy G, Kandasamy S, Mani G, Prakasarao A and Singaravelu G** (2017) A cytotoxicity, optical spectroscopy and computational binding analysis of 4-[3-acetyl-5-(acetylamino)-2-methyl-2,3-dihydro-1,3,4-thiadiazole-2-yl]phenyl benzoate in calf thymus DNA. *The Journal of Biological and Chemical Luminescence*, 33: 731-741.
- [88] **Yıldız U** (2017) Quadruple DNA'ya Seçici Olarak Bağlanabilecek Bileşiklerin Geliştirilmesi. *Doktora Tezi*, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Zonguldak, 207 s.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [89] Liu C S, Zhang H, Chen R, Shi X S, Bu X H and Yang M (2007) Two New Co(II) and Ni(II) Complexes with 3-(2-Pyridyl)pyrazole-Based Ligand: Synthesis, Crystal Structures and Bioactivities. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55: 996–1001.
- [90] Barone G, Terenzi A, Lauria A, Almerico A M, Leal J M, Busto N and García B (2013) DNA-Binding of Nickel (II), Copper (II) And Zinc (II) Complexes: Structure–Affinity Relationships. *Coordination Chemistry Reviews*, 257 (19): 2848-2862.
- [91] Sudhamalla B, Gokara M, Ahalawat N, Amooru D G and Subramanyam R J (2010) Molecular dynamics simulation and binding studies of b-Sitosterol with Human Serum Albumin and its biological relevance. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114: 9054-9062.
- [92] Shahabadi N, Kashanian S and Ahmadipour Z (2010) DNA Binding and Gel Electrophoresis Studies of a New Silver(I) Complex Containing 2,9-Dimethyl-1,10-Phenanthroline Ligands. *DNA and Cell Biology*, 30: 187-94.
- [93] Abulhasanov B, Yıldız U, Akkoç S ve Coban B (2020) Synthesis, characterization, duplex-DNA interactions, and anticancer activities of novel octahedral $[\text{Ni}(\text{phen})^2(\text{dppzidzo})]^{2+}$ and $[\text{Co}(\text{phen})^2(\text{dppz-idzo})]^{3+}$ complexes, *Applied Organometallic Chemistry*, 34: e5866.
- [94] Shahabadi N and Moghadam N H (2012) Determining the mode of interaction of calf thymus DNA with the drug sumatriptan using voltammetric and spectroscopic techniques. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 99: 18-22.
- [95] Shumaila A, Yusra R, Tarique S, Mohammed A H, Abad A, Shamsuzzaman B and Mohammad T (2017) Molecular spectroscopic and thermodynamic studies on the interaction of anti-platelet drug ticlopidine with calf thymus DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 186: 66-75.
- [96] Shahabadi N and Binding L H (2012) Studies of the antidiabetic drug, metformin to calf thymus DNA using multispectroscopic methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97: 406-410.
- [97] Xiong X L, You C, Xue K, Huang J H and Wang C L (2016) Synthesis, characterization, and DNA binding studies of the hematoxylin-Zn(II) complex. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 47: 794-799.
- [98] Yıldız U ve Çoban B (2018) Chemical and photo-induced nuclease activity of a novel minor groove DNA binder Cu(II) complex. *Journal of the Serbian Chemical Society* 84 (6): 563-574.
- [99] Tiselius A (1937) A New Apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures. *Transactions of The Faraday Society*, 33: 524-531.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [100] **Turner P C, McLennan A G, Bates A D and White M R H** (2004) Moleküler Biyoloji, Konuk M (ed.), 2. Baskı, ISBN; 975-591-596-6. Ankara.
- [101] **Tabassum S, Asim A, Arjmand F, Afzal M and Bagchi V** (2012) Synthesis and Characterization of Copper(II) and Zinc(II)-Based Potential Chemotherapeutic Compounds: Their Biological Evaluation Viz. DNA Binding Profile, Cleavage and Antimicrobial Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 58: 308-316.
- [102] **Yao W and Qian X** Oxazolonaphthalimides and their hydroperoxides: photophysical and photobiological properties. *Dyes and Pigments*, 48: 43-47.
- [103] **Li X, Lin Y, Yuan Y, Liu K and Qian X** (2010) Novel efficient anticancer agents and DNA-intercalators of 1,2,3-triazol-1,8-naphthalimides: design, synthesis, and biological activity. *Tetrahedron*, 67: 2299-2304.
- [104] **Coban B, Yildiz U ve Sengul A** (2013) Synthesis, characterization, and DNA binding of complexes $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{pip})]^{2+}$ and $[\text{Pt}(\text{bpy})(\text{hpi})]^{2+}$. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 18 (4): 461-471.
- [105] **Kirthan B R, Prabhakara M C, Bhojya N H S, Amith N P H and Indrajith N E** (2020) Synthesis, characterization, DNA interaction and anti-bacterial studies of Cu(II), Co(II) and Ni(II) metal complexes containing azo-dye ligand. *Chemical Data Collection*, 29: 100506.
- [106] **Wang R, Li J, Niu D B, Xu F Y and Zeng X A** (2020) Protective effect of baicalein on DNA oxidative damage and its binding mechanism with DNA: An in vitro and molecular docking study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 23: 119605.
- [107] **Haris P, Mary V, Aparna P, Dileep K and Sudarsanakumar C** (2016) A comprehensive approach to ascertain the binding mode of curcumin with DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 175: 155-163.
- [108] **Kamal A, Bolla N R, Srikanth P S, Srivastava A K** (2013) Naphthalimide derivatives with therapeutic characteristics: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 23: 299-317.
- [109] **Gellerman G** (2016) Recent Developments in the synthesis and applications of anticancer aconafide derivatives. *A mini review Letters in Drug Design & Discovery*, 13: 47-63.
- [110] **Tandon R, Luxami V, Kaur H, Tandon N and Paul K** (2017) 1,8-Naphthalimide: A Potent DNA intercalator and Luxami target for cancer therapy. *The Chemical Record*, 17: 956-993.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [111] **Tomczyk M D, Byczek-Wyrostek A, Strama K, Wawszków M, Kasprzycki P and Walczak K Z** (2019) Anticancer activity and Topoisomerase II inhibition of naphthalimides with ω -hydroxylalkylamine side-chains of different lengths. *Medicinal Chemistry*, 15: 550-560.
- [112] **Banerjee S, Veale E B, Phelan C M, Murphy S A, Tocci G M, Gillespie L J, Frimannsson D O, Kelly J M and Gunnlaugsson T** (2013) Recent advances in the development of 1,8-naphthalimide based DNA targeting binders, anticancer and fluorescent cellular imaging agents. *Chemical Society Reviews*, 42: 1601-1618.
- [113] a) **Brana M F and Ramos A** (2001) Naphthalimides as anticancer agents: Synthesis and biological activity. *Current Medicinal Chemistry, Anticancer Agents*, 1:237-255 (b) **M. F. Brana, J. M. C. Berlanga and C. M. Roldan** (1973) 106: 236.
- [114] **Pain A, Samanta S, Dutta S, Saxena A K, Shanmugavel M, Kampasi H, Quazi G N and Sanyula U** (2003) Synthesis and evaluation of substituted naphthalimide nitrogen mustards as rationally designed anticancer compound. *Acta Poloniae. Pharmaceutica* 60: 285-291.
- [115] **Lv M and Xu H** (2009) Overview of naphthalimide analogs as anticancer agents. *Current Medicinal Chemistry*, 16: 4797-4813.
- [116] **Chua E Y, Davey E, Chin C F, Dröge P, Ang W H, Davey C A** (2015) Stereochemical control of nucleosome targeting by platinum-intercalator antitumor agents. *Nucleic Acids Research*, 43: 5285-5296.
- [117] **Herrera J M, Mendes F and Gama S** (2014) Design and Biological Evaluation of New Platinum(II) Complexes Bearing Ligands with DNA-Targeting Ability. *Inorganic Chemistry*, 53-12627-12634.
- [118] **Mohammadkhodaei Z, Mokhtari J and Nouri M** (2010) Novel anti-bacterial acid dyes derived from naphthalimide: synthesis, characterisation and evaluation of their technical properties on nylon 6. *Coloration Technology*, 126: 81-5.
- [119] **Singh I, Luxami V, Paul K** (2020) Synthesis of naphthalimide-phenanthro[9,10-d]imidazole derivatives: In vitro evaluation, binding interaction with DNA and topoisomerase inhibition. *Bioorganic Chemistry*, 96: 103631.
- [120] **Wang K, Wang Y, Yan X, Chen H, Ma G, Zhang P, Li J, Li X and Zhang J** (2011) DNA binding and anticancer activity of naphthalimides with 4-hydroxyl-alkylamine side chains at different lengths. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22: 937-941.
- [121] **Rao N S, Nagesh N, Nayak V L, Sunkari S, Tokala R, Kiranmai G, Regur P, Shankaraiah N and Kamal A** (2018) Design and synthesis of DNA-intercalative naphthalimidebenzothiazole/cinnamide derivatives: cytotoxicity evaluation and topoisomeraseIIa inhibition. *The Royal Society of Chemistry*, 10: 172-79.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [122] Deng-Guo Jia a, Jia-An Zheng, Yan-Ru Fan, Jian-Qiang Yu, Xiu-Li Wu, Bo-Jin Wang, Xin-Bin Yang and Yu Huang (2018) Ferrocene appended naphthalimide derivatives: Synthesis, DNA binding, and in vitro cytotoxic activity. *Journal of Organometallic Chemistry*, 888: 16-23.
- [123] Nekvinda J, Rozycka D, Rykowski S, Wyszko E, Fedoruk-Wyszomirska A, Gurda D, Orlicka-Plocka M, Giel-Pietraszuk M, Kiliszek A, Rypniewski W, Bachorz R, Wojcieszak J, Gruner B and Olejniczak A B (2020) Synthesis of naphthalimidecarborane and metallacarborane conjugates: Anticancer activity, DNA binding ability. *Bioorganic Chemistry*, 94: 103432.
- [124] Ryan G J, Elmes R B P, Quinn S J and Gunnlaugsson T (2012) Synthesis and photophysical evaluations of fluorescent quaternary bipyridyl-1,8-naphthalimide conjugates as nucleic acid targeting agents. *Supramolecular Chemistry*, 24:175-188.
- [125] Rad A, Jarrahpour A, Aseman M D, Nabavizadeh M, Pournajati R, KarbalaieHeidari H R and Turos E (2019) Design, synthesis DNA binding, cytotoxicity, and molecular docking studies of amonafide-linked β -lactam. *Chemistry Select*, 4 (9): 2741-2746.
- [126] Wang Q, Li G, Liu Z, Tan X, Ding Z, Ma J, Li L, Li D, Han J and Wang B (2018) Naphthalimide platinum (IV) compounds as antitumor agents with dual DNA damage mechanism to overcome cisplatin resistance. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 40: 4442-4451.
- [127] Rong R X, Wang S S, Liu X, Li R F, Wang K R, Cao Z R and Li X L (2018) Lysosomestargeting imaging and anticancer properties of novel bis-naphthalimide derivatives. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 28:742-747.
- [128] Huang Y, Wu C X, Song Y, Huang M, Tian D N, Yang X B and Fan Y R (2018) Synthesis, DNA binding, and anticancer properties of bis-naphthalimide derivatives with lysine-modified polyamine linkers. *Molecules*, 23: 2-266.
- [129] Tian Z, Huang Y, Zhang Y, Song L, Qiao Y, Xu X and Wang C (2016) Spectroscopic and molecular modeling methods to study the interaction between naphthalimide-polyamine conjugates and DNA. *Journal Photochemistry Photobiology B*, 158: 1-15.
- [130] Li F, Cui J, Guo L, Qian X, Ren W, Wang K and Liu F (2007) Molecular design, chemical synthesis, and biological evaluation of 4-1pentacyclic aryl/heteroaryl-imidazonaphthalimides. *Bioorganic& Medicinal Chemistry*, 15: 5114-5121.
- [131] Yang Q, Yang P, Qian X and Tong L (2008) Naphthalimide intercalators with chiral amino side chains: effects of chirality on DNA binding, photodamage and antitumor cytotoxicity. *Bioorganic& Medicinal Chemistry Letters*, 18: 6210-6213.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [132] Brana M F, Cacho M, Ramos A, Dominguez M T, Pozuelo J M, Abradelo C, Rey-Stolle M F, Yuste M, Carrasco C. and Bailly C (2003) Synthesis, biological evaluation and DNA binding properties of novel mono and bisnaphthalimides. *Organic& Biomolecular Chemistry*, 1: 648-654.
- [133] Li Z, Yang Q. and Qian X (2005) Novel 2-aminothiazonaphthalimides as visible light activatable photonucleases: effects of intercalation, heterocyclic-fused area and side chains. *Bioorganic& Medicinal Chemistry Letters*, 15: 1769-1772.
- [134] Xu Y F, Qu B Y, Qian X H and Li Y G (2005) Five-member thio-heterocyclic fused naphthalimides with aminoalkyl side chains: intercalation and photocleavage to DNA. *Bioorganic& Medicinal Chemistry Letters*, 15: 1139-1142.
- [135] Verma M, Luxami V and Pau K (2015) Synthesis, in vitro evaluation and DNA interaction studies of N-allyl naphthalimide analogues as anticancer agents. *The Royal Society of Chemistry*, 5: 41803-41813.
- [136] Fan Y R, Wang B J, Jia D G, Yang X B and Huang Y (2021) Synthesis, electrochemistry, DNA binding and in vitro cytotoxic activity of tripodal ferrocenyl bis-naphthalimide derivatives. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 219-111425.
- [137] Yıldız U ve Çoban B (2018) Novel Naphthalimide Derivatives as Selective G-Quadruplex DNA Binders. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 186: 547-562.
- [138] Yıldız U, Kandemir I, Cömert F, Akkoç S ve Çoban B (2020) Synthesis of naphthalimide derivatives with poteential anticancer activity, their comparative ds-and G-quadruplex-DNA binding studies and related biological activities. *Molecular Biology Reports*, 47: 1563-1572.
- [139] Baker J R Pollard B I, Lin A J S, Gilbert J, Paula S, Zhu X, Sakoff J A and Mccluskey A (2021) Modelling and Phenotypic Screening of NAP-6 and 10-Cl-BBQ, AhR Ligands Displaying Selective Breast Cancer Cytotoxicity in vitro. *Chem Med Chem*, 16: 1499-1512.

ÖZGEÇMİŞ

Gözde GÜLBOY, ilk, orta ve lise öğrenimini Çaycuma’da tamamladı. 2011 yılında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesinde İngilizce Kimya Bölümü’nde okumaya başladı. 2020 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında tezli yüksek lisans eğitimine başladı.

