

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BENZOTİYADİAZOLE (2,1,3-) TÜREVİ İŞARETLEYİCİ BİLEŞİKLERİN
TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE DNA
ETKİLEŞİMLERİNİN ÇALIŞILMASI

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ENGİN SAKA

TEMMUZ 2019

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BENZOTİYADİAZOLE (2,1,3-) TÜREVİ İŞARETLEYİCİ BİLEŞİKLERİN
TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE DNA
ETKİLEŞİMLERİNİN ÇALIŞILMASI

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Engin SAKA

DANIŞMAN: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

ZONGULDAK

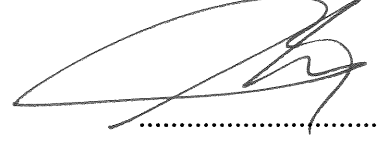
Temmuz 2019

KABUL:

Engin SAKA tarafından hazırlanan “Benzotiyadiazole (2,1,3-) Türevi İşaretleyici Bileşiklerin Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve DNA Etkileşimlerinin Çalışılması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 12/07/2019

Danışman: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



Üye : Prof. Dr. İrfan KANDEMİR

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Atakan TOPRAK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Devrek Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimya İşleme Teknolojileri Bölümü



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.


..../..../2019



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
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.”

Engin SAKA



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BENZOTİYADİAZOLE (2,1,3-) TÜREVİ İŞARETLEYİCİ BİLEŞİKLERİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE DNA ETKİLEŞİMLERİNİN ÇALIŞILMASI

Engin SAKA

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burak ÇOBAN

Temmuz 2019, 77 sayfa

Bu çalışmada, 4-bromo-7-imidazo[4,5-*ff*][1,10]fenanthrolin-2-yl)benzo[*c*][1,2,5]tiyodiazol ligandı ve nikel (II) kompleksinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimleri üzerinde çalışılmıştır. Elde edilen ligandların karakterizasyonu FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS analiz yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyonu, floresans, viskozimetri ve agaroz jel elektroforezi metotlarıyla çalışılmıştır.

UV-Vis titrasyonu sonuçları kompleksin DNA'ya oyuk bağlayıcı olarak bağlandığını göstermektedir. Bağlanma sabiti $K_b = 6,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 'dir. Yapılan viskozimetri çalışmaları da bu sonucu desteklemektedir.

ÖZET (devam ediyor)

Floresans çalışmalarına göre de sentezlenen kompleksin zayıf oyuk bağlayıcı olduğu tespit edildi. Ayrıca kompleksin DNA ile elektrostatik olarak da etkileştiği düşünülmektedir. Elektroforez çalışmalarında kompleks tek başına DNA üzerinde herhangi bir kırılma gerçekleştirilememiştir. Ancak yüksek konsantrasyonda DNA'nın çökmesine neden olmuştur. Peroksid varlığında ise kompleks DNA'da önemli hasarlara yol açmıştır. Yüksek konsantrasyonlardaki çökme kompleksin DNA ile yaptığı elektrostatik etkileşimden dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Benzotiyadiazole (2,1,3-), BTB, DNA, oyuk bağlayıcı, elektroforez, nükleaz aktivitesi,

Bilim Kodu: 405.05.01

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND DNA INTERACTION OF 2,1,3-BENZOTHIADIAZOLE DERIVATIVES

Engin Saka

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

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Burak ÇOBAN

July 2019, 77 pages

In this study, the synthesis of 4-bromo-7-imidazo[4,5-*f*][1,10]phenanthroline-2-yl)benzo[*c*][1,2,5] thiodiazole ligand and its nickel metal complex, characterization and DNA interactions have been studied. The characterization of the ligands was carried out by FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS analysis methods. DNA interactions of compounds were studied by UV-Vis titration, fluorescence, viscosimetry and agarose gel electrophoresis methods.

UV-Vis titration results show that the complex binds to DNA as a groove binder. As well as this the complex electrostatically interacts with DNA. The binding constant is $6.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. Viscosimetry studies support this result.

According to the fluorescence studies, the complex synthesized was found to be a weak groove binder. In the electrophoresis studies, the complex by itself did not cause any breakage on the DNA. However, it caused the DNA precipitation at high concentrations.

ABSTRACT (continued)

In the presence of peroxide, the complex resulted severe DNA damage along with the precipitation at high concentrations. It is thought that the positive charges of the complex may have neutralized by closing the negative charges of DNA.

Keywords: Benzothiadiazole (2,1,3-), BTD, DNA, groove binder, electrophoresis, nuclease activity,

Science Code: 405.05.01



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca desteğini, yardımını, tecrübesini esirgemeyen hep kendimi geliştirmemi sağlayan, tecrübesiyle bana yol gösteren, birlikte çalışmaktan son derece mutluluk duyduğum değerli hocam ve danışmanım Doç. Dr. Burak ÇOBAN'a,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca göstermiş olduğu hoşgörü ve sabır ile yanımda olup çalışmalarım sırasındaki her aksilikte yardımını isteyebildiğim ve sadece akademik olarak değil her alanda verdiği fikir ve tavsiyelerden ötürü değerli hocam Arş. Grv. Dr. Ufuk YILDIZ'a,

Çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için gerekli olan laboratuvar ve cihaz desteğini sağlayan Prof. Dr. Abdurrahman ŞENGÜL ve Doç. Dr. Zuhale GERÇEK'e, çekinmeden yardımını isteyebildiğim ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Arş. Grv. Fatih PEKDEMİR'e,

Tez çalışmam boyunca, laboratuvar çalışmalarım ve sosyal hayatımda pozitif enerjileriyle yanımda olup her konuda bana yardımcı olan Biyokimya çalışma grubu üyeleri, Yük. Kim. Bahar CAYMAZ Yük. Kim. Bahruz ABULHASANOV ve Sedef ŞENTÜRK'e, ayrıca çeşitli anabilim dallarından olan ve her konuda desteklerini hissettiğim çok değerli meslektaş ve arkadaşlarım Melike EREN ve Yük. Kim. Gözde DURSUN, Hüseyin KORKMAZ, Uzman Klinik Psikolog Gizem Şeyma Karagöz ve Esra Ay'a

Bu yola beraber baş koyduğum, acımı, sevincimi paylaştığım ve her daim yanımda olan kıymetli dostum Yüksek Mühendis Can Bahadır'a

Ve hayatımın her döneminde olduğu gibi bu dönemde de beni maddi manevi destekleyen ve bu süreçte hep yanımda olan KIYMETLİ AİLEME 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.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xix
BÖLÜM 1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1.1 NÜKLEİK ASİTLER VE DNA	2
1.2 DNA-İLAÇ ETKİLEŞİMİ	8
1.3 DNA-İLAÇ ETKİLEŞİMİ TÜRLERİ.....	11
1.3.1. Elektrostatik Etkileşimler Yapanlar	12
1.3.2. İnterkalasyon	13
1.3.3. Oyuk bağlayıcılar	14
1.4 METAL KOMPLEKSLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER.....	16
1.4.1. UV-Gör Titrasyon Yöntemi	16
1.4.2 Floresans Spektroskopisi.....	19
1.4.3 Viskozimetri	22
1.4.4. Agaroz Jel Elektroforezi.....	23
1.5 1,10-FENANTROLİN VE TÜREVLERİ	25
1.6 BENZOTİYADİAZOLE (2,1,3-) VE TÜREVLERİ	27
1.7 NİKEL KİMYASININ DNA'YA UYGULANMASI	32

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOD.....	37
2.1 MATERYALLER	37
2.1.1 Çözücü ve Kimyasallar	37
2.2 KULLANILAN CİHAZLAR	38
2.2.1 Infrared Spektrofotometresi	38
2.2.2 ¹ H-NMR Spektrofotometresi.....	38
2.2.3 UV/Vis Spektrofotometresi.....	38
2.2.4 Floresans Spektrometresi	38
2.2.5 ESI-MS.....	38
2.2.6 Jel Elektroforez	38
2.3 BİLEŞİKLERİN SENTEZİ.....	39
2.3.1 4-bromo-7-imidazo[4,5- <i>f</i>][1,10]fenanthrolin-2-il)benzo[<i>c</i>][1,2,5]tiyodiazol Sentezi.....	39
2.3.2 2,2'-bis(imidazo[1,2- <i>a</i>]piridin-8-il)-3H,3'H-5,5'-bibenzo[<i>d</i>]imidazol Sentezi.....	40
2.4 UV TİTRASYONU	40
2.5 FLORESANS TİTRASYONU	41
2.5.1 Floresans Değişimi.....	41
2.5.2 EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması	41
2.5.3 Hoechst 33258 ile Yarışmalı Floresans Çalışması.....	41
2.6 VİSKOZİTE ÇALIŞMASI.....	42
2.7 AGOROZ JEL ELEKTROFOREZ ÇALIŞMASI.....	42
BÖLÜM 3 SONUÇLAR.....	45
3.1 SENTEZ	45
3.1.1 4-bromo-7-imidazo[4,5- <i>f</i>][1,10]fenanthrolin-2-il)benzo[<i>c</i>][1,2,5]tiyodiazol sentezi.....	45
3.1.2 [Ni(phen) ₂ (ipBTD)] ⁺² Kompleksinin Sentezi	52
3.2 BİLEŞİKLERİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİ	55
3.2.1 UV Titrasyon Sonuçları	55
3.2.2 Floresans Titrasyon Sonuçları.....	57

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.2.2.1 Floresans Değişimi.....	57
3.2.2.2 Yarışmalı Floresans Spektroskopisi Sonuçları.....	59
3.2.2.3 EtBr ve Hoechst-32258 ile Yarışmalı Floresans	60
3.2.3 Viskozite Sonuçları	61
3.2.4 Elektroforez.....	62
3.3 SONUÇ.....	64
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ	77





ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 DNA'nın Yapısında Bulunan Bazlar.	2
Şekil 1.2 Hidrojen Bağları.....	3
Şekil 1.3 DNA'nın dönmesi sonucunda oluşan büyük ve küçük oluklar.....	4
Şekil 1.4 DNA konformasyonları.....	4
Şekil 1.5 DNA sarmalı üzerindeki boşluklar.	6
Şekil 1.6 Semikonservatif DNA replikasyonu.	7
Şekil 1.7 mRNA sentezi.	8
Şekil 1.9 Antikanser ilaçlarının etki mekanizması özeti.	10
Şekil 1.10 A-T açısından zengin ve G-C açısından zengin DNA'ya ait erime eğrileri.	11
Şekil 1.11 Kovalent olmayan DNA etkileşim türleri.	12
Şekil 1.12 Elektrostatik bağlanma.....	12
Şekil 1.13 DNA'da interkalasyon etkileşim.....	13
Şekil 1.14 a) doksorubisin b) daunorubisin yapısı.	14
Şekil 1.15 DNA'ya büyük ve küçük oluk üzerinden bağlanma.	15
Şekil 1.16 DNA oyuğa bağlanma aktivitesi gösteren distamisin ve netropsin bileşikleri.	15
Şekil 1.17 UV-Gör spektrumunda oluşan kaymalar.	17
Şekil 1.18 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ moleküllerin yapısı.	18
Şekil 1.19 Bağlanma sabiti (K_b) hesaplamak için kullanılan örnek grafik.....	19
Şekil 1.20 EtBr molekül yapısı.	20
Şekil 1.21 a) DAPI bileşiği b) Hoechst33258 bileşiği.	21
Şekil 1.22 Bağlanma sabiti (K_{sv}) hesaplamak için kullanılan örnek grafik.....	21
Şekil 1.23 EtBr için örnek titrasyon grafiği.	22
Şekil 1.24 Örnek viskozite grafiği.....	23

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.25 Plazmid DNA formları ve elektrofez üzerinde göç hızları.	24
Şekil 1.26 [Pt(bpy)(pip)] ²⁺ ve [Pt(bpy)(hpip)] ²⁺ komplekslerin molekül yapısı.	24
Şekil 1.27 [Pt(bpy)(pip)] ²⁺ ve [Pt(bpy)(hpip)] ²⁺ kompleksleri için elektroforez sonuçları.....	25
Şekil 1.28 Fenantrolin heterosiklik halka sistemleri.	26
Şekil 1.29 1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiğinin yapısı.....	26
Şekil 1.30 Tpphz ligandının yapısı.....	27
Şekil 1.31 1,3-bis(1,10)fenantrolin-(5,6-d)imidazol -2il – benzen bileşiğinin yapısı	27
Şekil 1.32 4,7 türevlendirilmiş BTD bileşikleri.	29
Şekil 1.33 Türevlendirilmiş BTD bileşikleri.....	29
Şekil 1.34 Çekirdek DNA'sına bağlanan BTD bileşikleri (X=NH, S).	29
Şekil 1.35 BTDBI ve BTDBT bileşiklerinin türevleri.	30
Şekil 1.36 Katyonik BTD bileşikleri.....	31
Şekil 1.37 BTDPyMe, BTDPy ve ddsDNA ile BTDSHiny'nin spektrofotometrik (üstte) ve spektrofluorimetrik (altta) titrasyonları. (Boyalar konsantrasyonları: Spektrofotometrik titrasyon için 10.0 mmol L ⁻¹ ve spektrofluorimetrik titrasyon için 1.0 mmol L ⁻¹).	31
Şekil 1.38 Hipoksik tümör hücrelerine özgü geliştirilmiş BTD türevi DNA boyaları	32
Şekil 1.39 Schiff bazı içeren Ni (II) metal komplekslerinin molekül yapısı.....	33
Şekil 1.40 Schiff baz ligandın ve Co(II) ve Ni(II) kompleksinin molekül yapısı.....	34
Şekil 1.41 [M(phen) ₂ (qdppz/dicqq)] ⁿ⁺ molekülünün yapısı.	35
Şekil 2.1 4-bromo-7-imidazo[4,5-f][1,10]fenanthrolin-2-il)benzo[c][1,2,5]tiyodiazol (1) sentezi.	39
Şekil 2.2 2,2'-bis(imidazo[1,2-a]piridin-8-il)-3 <i>H</i> ,3' <i>H</i> -5,5'-bibenzo[<i>d</i>]imidazol (2) sentezi.....	40
Şekil 2.3 Ubbelohde vizkozimetresi.....	42
Şekil 3.1 BTD türevi ligant (ipBTD) ve [Ni(phen) ₂ (ipBTD)] ²⁺ kompleksinin sentez şeması. 45	
Şekil 3.2 Liganda (ipBTD) ait IR spektrumu.....	47
Şekil 3.3 Liganda (ipBTD) ait kütle spektrumu.	48

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.4 Liganda (ipBTD) ait ^1H NMR spektrumunun açık hali.....	49
Şekil 3.5 Liganda (ipBTD) ait ^1H NMR spektrumu.....	50
Şekil 3.6 Liganda (ipBTD) ait ^{13}C NMR spektrumu.	51
Şekil 3.7 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksine ait IR spektrumu.	53
Şekil 3.8 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksine ait kütle spektrumu	54
Şekil 3.9 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin kütle spektrumuna ait yapılar	54
Şekil 3.10 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{+2}$, $[\text{Ni}(\text{phen})_2]^{2+}$ komplekslerinin ve Ligandın (ipBTD) UV spektrumlarının karşılaştırılması	55
Şekil 3.11 Ligant (ipBTD) ($40\ \mu\text{M}$) çözeltisinin DNA çözeltisi ($0-12\ \mu\text{M}$) ile titrasyonu sonucu UV-gör spektrumda oluşan değişim.....	56
Şekil 3.12 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin ($40\ \mu\text{M}$) çözeltisinin DNA çözeltisi ($0-8\ \mu\text{M}$) ile titrasyonu sonucu UV-Gör spektrumda oluşan değişim.	56
Şekil 3.13 Ligant (ipBTD) ($40\ \mu\text{M}$) çözeltisinin DNA çözeltisi ($0-30\ \mu\text{M}$) ile titrasyonu sonucu floresans spektrumda oluşan değişim.....	58
Şekil 3.14 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin ($40\ \mu\text{M}$) çözeltisinin DNA çözeltisi ($0-15\ \mu\text{M}$) ile titrasyonu sonucu floresans spektrumda oluşan değişim.	58
Şekil 3.15 EtBr-DNA kompleksinin ($20\ \mu\text{M}$ EtBr ve $100\ \mu\text{M}$ DNA) $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksi ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.....	60
Şekil 3.16 Hoechst-33258-DNA kompleksinin ($1,25\ \mu\text{M}$ Hoechst-33258 ve $12,5\ \mu\text{M}$ DNA) $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksi ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.....	61
Şekil 3.17 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin $100\ \mu\text{M}$ DNA viskozitesine etkileri.	62
Şekil 3.18 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin pBR322 plazmit DNA'ya tek başına ve peroksit varlığında etkisinin elektroforez görüntüsü	63



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 Sentezlenen bileşiklerin fiziksel özellikleri	55
Çizelge 3.2 Bileşiklerin floresans titrasyonu sonuçları.....	59





SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Santigrat derece
%T	: Geçirgenlik
g	: Gram
L	: Ligand
mL	: Mililitre
nm	: Nanometre
R	: Alkil veya aril grubu
λ	: Dalga boyu
ν	: Frekans
π	: Pi bağı

KISALTMALAR

EtBr	: Etidyum bromür
DPPZ	: Dipirido[3,2-a:2',3'-c]Fenazin
ESI-MS	: Elektronsprey iyonizasyonlu kütle spektrometresi
FT-IR	: Fourier transformlu infrared spektrofotometre
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
UV	: Ultraviyole



BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

DNA, tüm proteinlerin ve enzimlerin sentezi için gerekli kalıtsal bilgi kodlarını taşıdığından biyolojik süreçlerde önemli rol oynar.

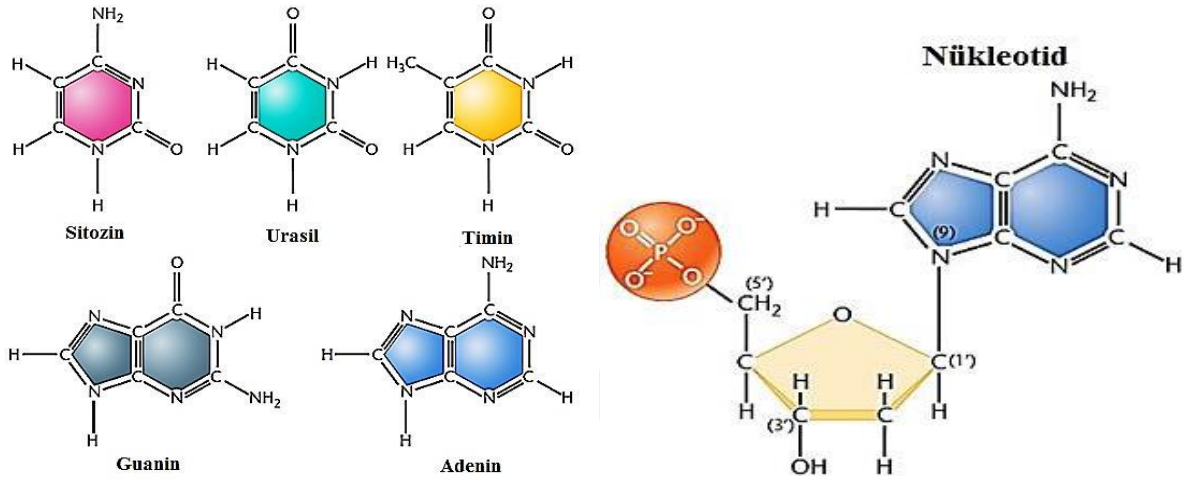
DNA genetik bilginin taşınması, bu bilgiyi kopyalanması protein ve enzimlerin biyolojik sentezini yönetmesi dolayısıyla hayatsal işlemlerde çok önemli bir rol oynar. Genellikle DNA kanserojen, steroid ve birçok çeşit ilaç gibi biyolojik önemi bulunan daha küçük moleküllerin ana hedefi durumundadır. İlaç-DNA etkileşimlerinin araştırılması özellikle yeni DNA hedefli ilaçların tasarımında ve bunların aktivitesinin çalışılmasında güncel ilgi kaynağıdır.

Benzotiyadiazol türevleri potansiyel olarak anti-mikrobiyal, antiviral, anti-HIV konuları üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Kuvvetli flüoresans özelliklerinden dolayı işaretçi moleküller olarak biyokimya, tıp, moleküler biyoloji alanlarında çeşitli benzotiyadiazol türevleri kullanılmaktadır. Aynı zamanda düzlemsel özellik gösteren bu bileşiklerin DNA ile etkileşimleri işaretçi ajan araştırmalarında popüler bir konuyu oluşturacaktır (Ling et al. 2008; Tjahjono et al. 1999).

Bu projede, yeni düzlemsel 2,1,3-benzotiyadiazol türevlerinin DNA ile etkileşimleri ilk defa çalışılarak potansiyel DNA işaretleyici etkisi ortaya çıkarılacak ve literatüre kazandırılacaktır. Düzlemsel benzotiyadiazol türevlerinin DNA'ya bağlanabileceği düşünülen bileşikler sentezlenerek UV titrasyon yöntemi, flüoresans, DNA erime noktası tayini, viskozimetri ve agaroz jel elektroforez yöntemleri ile ilk defa çalışılarak potansiyel DNA işaretleyici etkisi ortaya çıkarılacak ve literatüre kazandırılması amaçlanmıştır.

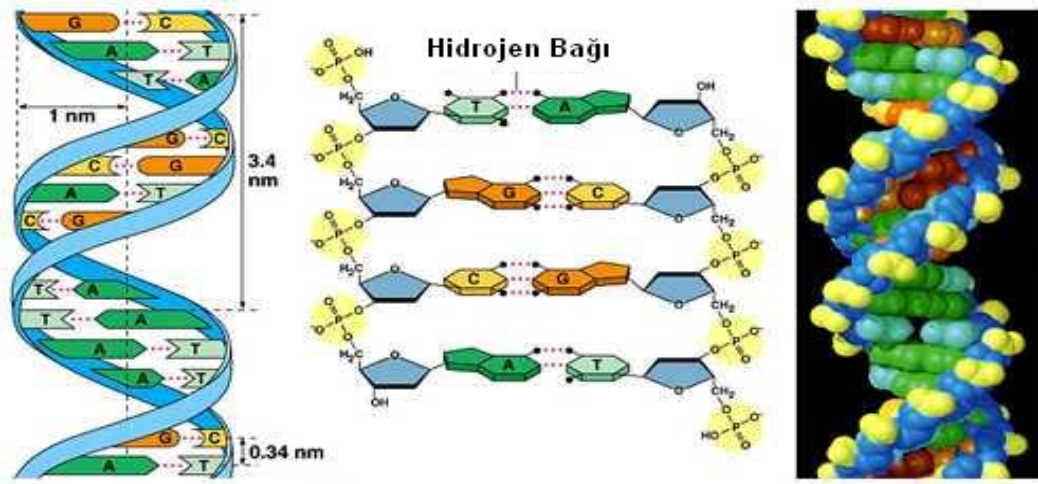
1.1. NÜKLEİK ASİTLER VE DNA

Nükleotid denilen 3 temel birimlerden oluşan polimerleşebilen yapılara nükleik asitler denir. Bu yapılar genetik bilginin saklanması ve transfer edilmesi açısından önemlidir. 3 temel birimden ilki iki halkalı pürin ve tek halkalı pirimidin bazlarıdır. Bu bazlar heterosiklik bileşiklerdir. Pürin bazları Adenin ve Guanin, pirimidin bazları Timin, Sitozin ve Urasil'dir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 DNA'nın Yapısında Bulunan Bazlar.

Bu bazlar aralarında oluşturdukları hidrojen bağlarıyla bir arada tutulmaktadır. Adenin ve Timin baz çiftleri arasında iki, Guanin ve Sitozin arasında üç bağ bulunmaktadır. Diğer birimler ise 5 karbonlu pentoz şekeri ve fosfat gruplarıdır. Nükleotit zinciri; bir zincirdeki şeker grubunda bulunan 3'-karbonuyla diğerinin zincirdeki 5'-karbonu arasında oluşan fosfodiester bağıyla oluşur (Şekil 1.2).



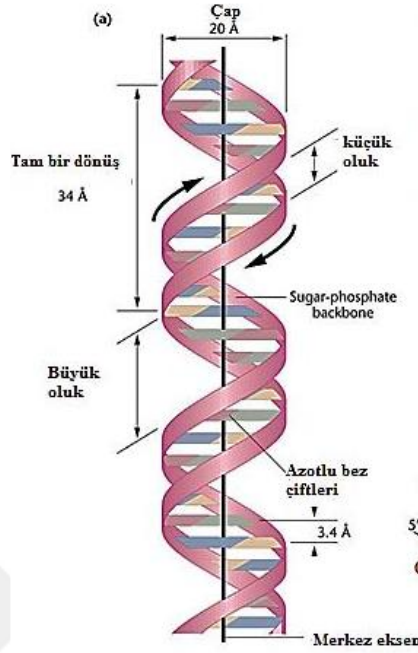
Şekil 1.2 Hidrojen Bağları.

DNA organizmanın genetik bilgisini içeren ve kalıtımında önemli rol oynayan organik moleküldür. Watson ve Crick 1953 yılında çalışmalarına başlarken yalnızca DNA'nın önemli olduğunu kabul etmemekle birlikte virüslerinde DNA'nın kendi kendine çoğalma kapasitesinde ve genetik özgünlüğünü kazanmasında etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Yaptıkları çalışmalar sonucunda onlar DNA'nın iki zincirden ilk önce DNA'nın uzun yapılı bir molekül olduğunu gösteren fiziksel ve kimyasal verileri ve bulunan X-ray sonuçlarının DNA'nın yapısal birimini değil de bu sonuçların neden iki polipeptit zincirini gösterdiğini açıklamışlardır. Ardından bu sonuçların ışığında ortaya koydukları stereokimyasal bir yapı sayesinde, bazı genetik etkiler tespit edilip çeşitli yorumlar yapılmıştır ve DNA'nın temel yapısını tahmin edilebilmiştir (Watson et al. 1953).

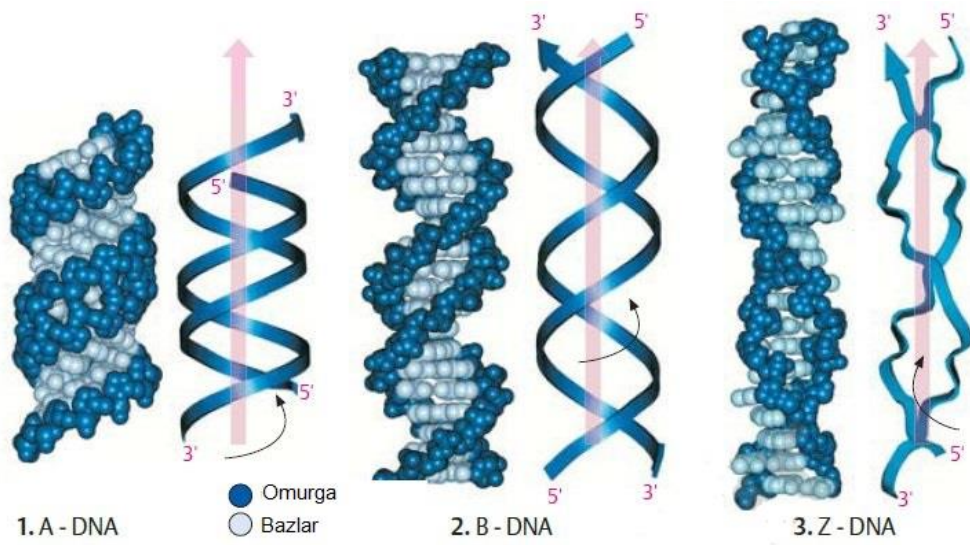
Nükleik asitler taşıdıkları nükleotidlerin polimerleşmesi sonucu oluşmuşlardır. DNA (dezoksiribonükleik asit) ve RNA (ribonükleik asit) olmak üzere iki farklı çeşit nükleikasit bulunmaktadır. Ribonükleotidlerin polimerleşmesiyle RNA oluşurken, dezoksiribonükleotidlerin polimerleşmesi sonucunda DNA molekülü meydana gelir. Yapısı gereği ikisi de fosfat grubu içermektedir. Yapılarındaki farklılıklar içerdikleri şekerden ve azotlu bazdan kaynaklanmaktadır. DNA da deoksiriboz şekeri bulunurken RNA da riboz şekeri bulunmaktadır. DNA da Adenin, Guanin, Sitozin ve Timin bazları bulunurken, RNA'da Timin bazı yerine Urasil bazı bulunmaktadır. Çift sarmalın çap genişliği 20\AA 'dur. DNA da bulunan bazlar birbirleri üzerine istiflenmiş biçimdedir ve bu baz çiftleri arasında 0.34 nm mesafe bulunur. DNA'nın baz çiftlerinden dolayı iç kısmı apolarken sarmalın dışını oluşturan şeker ve fosfat grupları sayesinde polardır.

DNA sarmalının tekrar eden bir dönüşü 10 baz çifti içermektedir ve her dönüş 3.4 nm uzunluğundadır. DNA'nın tekrar eden dönüşleri sırasında ise majör (büyük oluk) ve minör(küçük oluk) denen boşluklar meydana gelmektedir (Berg et al. 2012). (Şekil 1.3).



Şekil 1.3 DNA'nın dönmesi sonucunda oluşan büyük ve küçük oluklar.

DNA esnek yapılı bir nükleik asittir. Bu özelliği sayesinde DNA için olası pek çok formlar meydana gelmektedir (Berg et al. 2002). Bu formlar A-DNA, B-DNA ve Z-DNA'dır. Hem B-DNA hem de A-DNA sağ sarmal Z-DNA sol sarmaldır. Watson ve Crick'in tanımladığı (Şekil 1.4) DNA özelliklerini yansıtan formu ise B-DNA'dır (Berg et al. 2012).



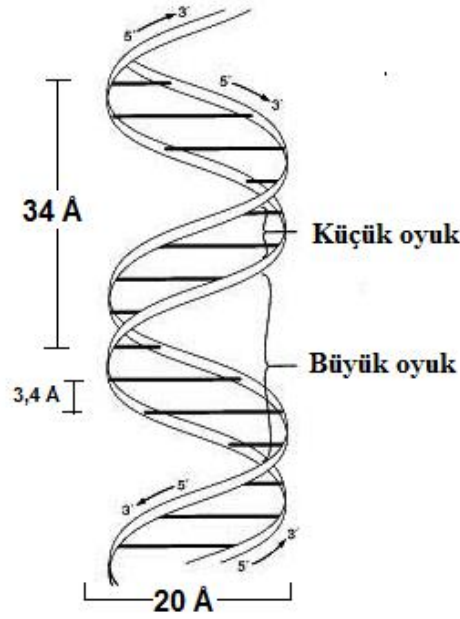
Şekil 1.4 DNA konformasyonları.

Watson ve Crick tarafından B-DNA'ya ait bazı özellikler açıklanmıştır. A-DNA'nın X-ışınları çalışmaları sonucunda B-DNA ya göre sık ve düzensiz olduğu fark edilmiştir. A-DNA sarmalının her bir dönüşünde 11 nükleotid çifti olduğu ve çapının 26 ile 29 Å arasında değiştiği de bu çalışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır (Berg et al. 2012). A-DNA ve B-DNA'nın fosfat gruplarının hidrate olduğu ve bu gruplar arasındaki çekimden kaynaklanan değişiklik olduğu zamanlarda ortaya çıkar (Brett et al. 1998). Z-DNA, B-DNA'da guanin ve sitozin bazlarının yoğunlukta olduğu bölgelerde meydana gelmektedir. Z-DNA çap özelliği açısından B-DNA'dan daha dardır. Z-DNA sarmalının çapı 18 Å'dur. Ve her bir dönüşte 12 baz çifti bulunmaktadır. Z-DNA görünüm olarak zig zag şeklinde olduğu için bu adı almıştır. Z-DNA sol el heliks şeklinde kıvrımlı olup büyük oyuk bulunmamaktadır. Üzerinde bulunan minor denilen küçük oyuklar ise dar ve küçüktür (Koolman et al. 2005).

Watson ve Crick B-DNA formunu keşfetse de bugün bilinen halini açıklayamamıştır (Watson and Crick 1953, Franklin and Gosling 1953). En baskın form sağa dönümlü, her bir sarmal dönüşünde 10 nükleotid çifti içeren ve dönüş sırasında majör ve minör boşluklar oluşturan B formudur (Hanlon 1966, Beak 1977).

B-DNA sarmalında bazlar arası uzaklık 3,4 Å boyu 3,4 Å dur. B-DNA sarmalının üzerinde oluşan majör ve minör oyuklar üzerine bağlanacak moleküller büyüklüklerine göre uygun olan oyuklara yerleşirler. Protein gibi büyük moleküller majör boşluklara yerleşir (Takeda et al. 1983, Pabo et al. 1984, Kielkopf et al. 1999).

Antibiyotik, antikanser gibi küçük moleküller minör boşlukları tercih ederler (Neidle 1999; Gao et al. 1992). Moleküllerin DNA'ya bağlanmaları Van der Waals bağları ile gerçekleşmektedir (Zhu et al. 2014).

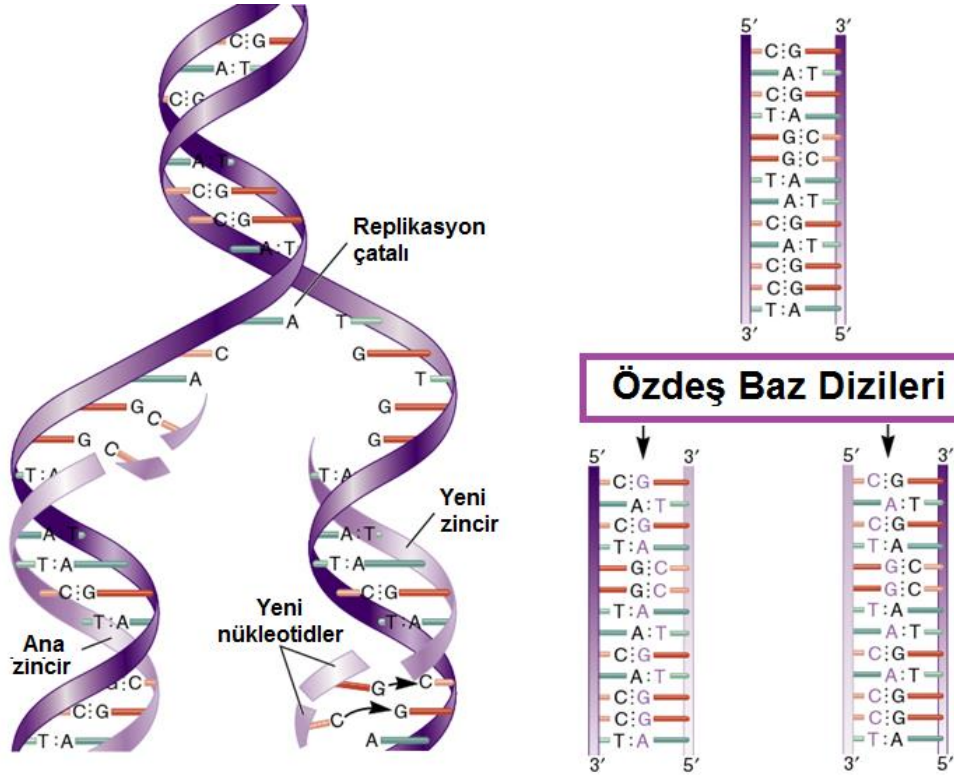


Şekil 1.5 DNA sarmalı üzerindeki boşluklar.

DNA sarmalını bir arada tutan kuvvet hidrojen bağlarıdır. Ortamın pH'sı DNA molekülü üzerindeki bağların kararlılığını önemli ölçüde etkilemektedir. Belirli pH aralığı dışında DNA molekülü kararsız hale gelmekte ve DNA sarmalı açılmaktadır. DNA çift sarmalını bir arada tutan ortam için en uygun pH 4,0 ile 11,0 arasında belirlenmiştir (Zhu 2014). Bu aralık dışında DNA sarmalı ayrılabilir ve replikasyon için uygun hale gelir (Frank-Kamenetskii et al. 2014).

DNA'nın kendi kendini kopyalamasına kısaca replikasyon denir. Replikasyonun gerçekleşmesi için öncelikle sarmalın açılması gerekmektedir. DNA kendi kopyasını oluşturması sayesinde taşıdığı genetik bilgileri bir sonraki nesle aktarabilmesi açısından önemlidir. Bu esnada görev alan enzimler sayesinde replikasyon engellenebilir. Bu da replikasyonu deaktive ederek istenmeyen hücrelerin bölünerek çoğalmasını engeller (Kwakye-Berko and Mesnick 1989).

DNA zincirini açan enzim helikaz enzimidir. Açılan DNA'da çatallama meydana gelirken topoizomeraz enzimi sayesinde DNA molekülü tekrar kapatılır. Açılan DNA sarmalında her bir tek zincir yeni bir DNA sarmalı için bir kaynak ifade eder. Bu DNA polimerizasyonu esnasında ise DNA kıvrımı açıldığı zaman kopyalama işlemine başlamadan RNA primer üretilir. Yeni oluşan DNA molekülünün bir zinciri eski DNA'dan diğeri ise bundan kodlanarak oluşan yeni DNA zincirinden meydana gelir. İşlem bu şekilde devam eder (Şekil 1.6).

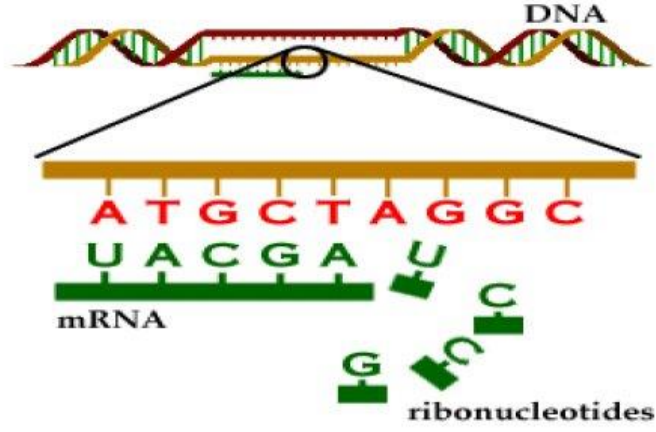


Şekil 1.6 Semikonservatif DNA replikasyonu.

DNA topoizomerazları açılan DNA molekülünü kapatıcı enzimlere denir. DNA zinciri açıldıktan sonra primaz denen RNA polimeraz, DNA'nın replikasyonunun başlangıç noktasını ve primer RNA ve öncü RNA denen RNA şeridi sentez eder. DNA polimerazların etkisiyle DNA polimerizasyonu başlar ve devam eder (Şekil 1.7).

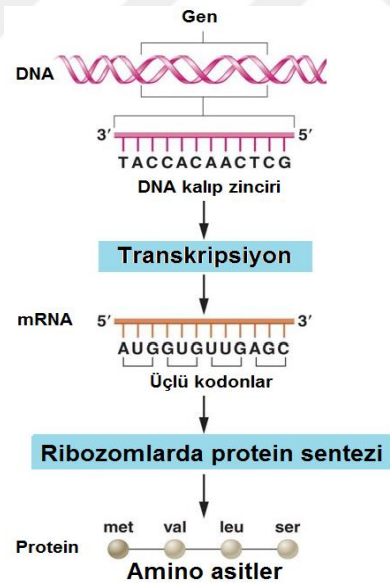
Sentez tamamlandıktan sonra RNA primeri çıkar; DNA ligaz, sarmalı kapatır. Yeni bir DNA şeridinin sentezi tamamlanır. DNA giraz, kopyalanmış DNA'nın tekrar doğal haline gelmesini sağlar.

DNA'nın önemli görevlerinden biri de gen ekspresyonudur. DNA'da gizli bazı genetik bilgilerin bir RNA molekülü şeklinde kopyalanması veya yazılmasına transkripsiyon adı verilir. Bu esnada RNA'nın 3 türü (mRNA, tRNA, rRNA) görev yapmaktadır.



Şekil 1.7 mRNA sentezi.

DNA üzerinden RNA molekülü 5'→3' yönünde sentezlenir. Açılmış olan DNA sarmalının bir tarafında olan deoksiribonükleotit baz dizilişinin karşıtı olarak RNA molekülünün karşılık gelen ribonükleotidleriyle ile tamamlanır. Translasyon; Transkripsiyon işleminde oluşan RNA'ya kopyalanan bilginin protein molekülüne dönüştürülmesidir. Transkripsiyon ve translasyon olaylarının hepsine birden ise gen ifadesi (gen ekspresyonu) denilmektedir (Şekil 1.8).



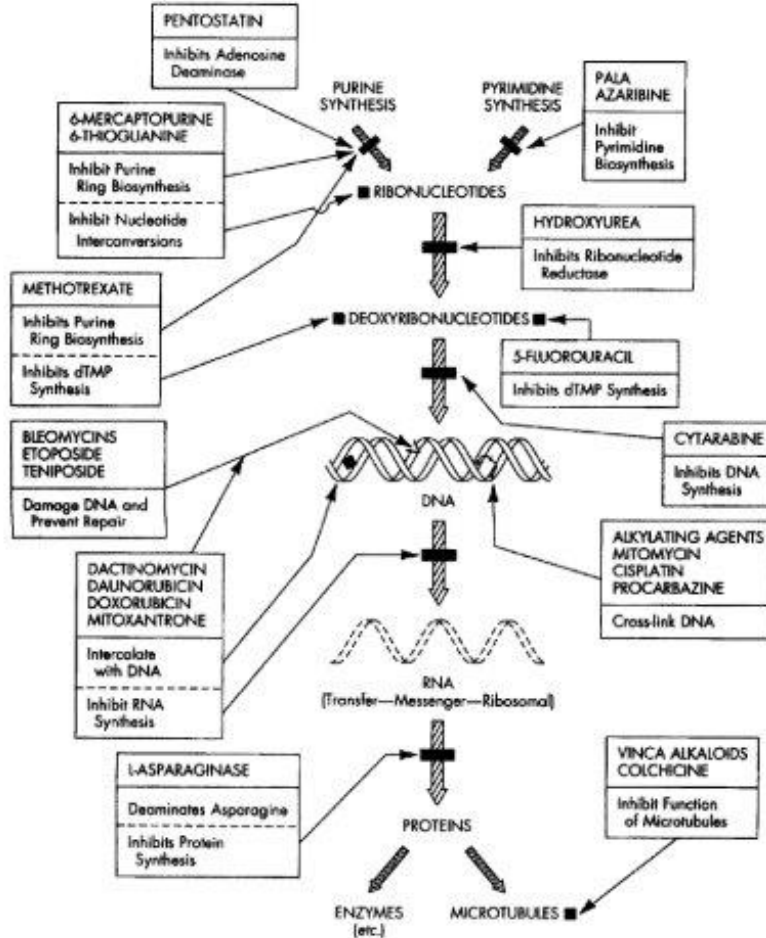
Şekil 1.8 Gen Ekspresyonu.

1.2. DNA-İLAÇ ETKİLEŞİMİ

Canlı organizmaların yaşamlarını devam ettirebilmeleri ve kalıtsal bilgileri kuşaktan kuşağa taşıyabilmelerine olanak sunan deoksiribonükleik asit (DNA), öncelikle antikanser ve antiviral ilaçlar olmak üzere birçok ilacın hedefi halindedir (Lown 1998, Sparks and Scholz

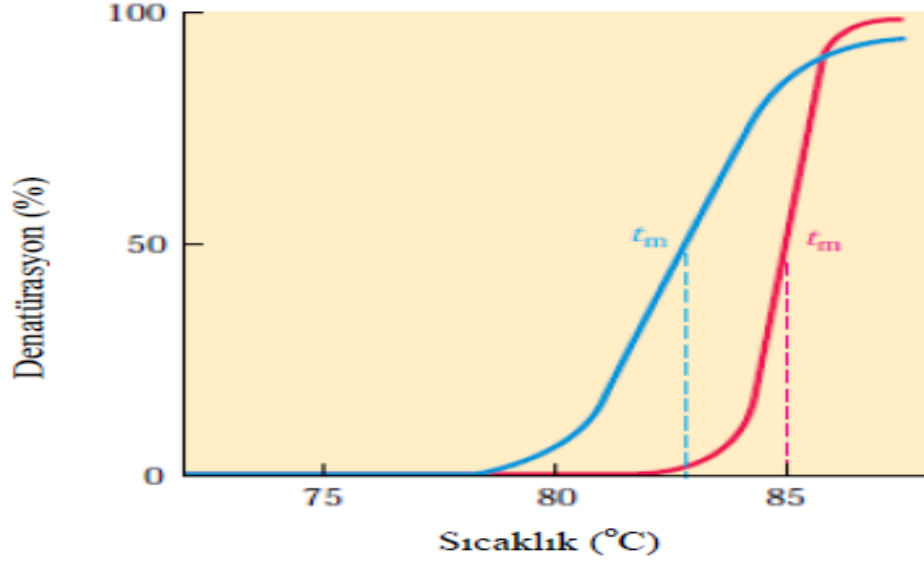
2009, Singh et al. 1992, Pham et al. 2004, Wang et al. 2005). Genetik bilginin aktarılmasının yanı sıra replikasyon ve transkripsiyon işlemlerinde ve özellikle insan hastalıklarının tanısı ve tedavisinde de önemli rol oynamaktadır (Paul et al. 2012). Bu açıdan DNA'nın insan hayatındaki yeri ve önemi çok büyüktür (Rauf et al. 2005). İlaçların DNA üzerine fizyolojik fonksiyonunu yerine getiremeyecek biçimde bağlanması yani hastalıklı ve kanserli hücrelerin bu şekilde çoğalamaması ve yok olması istenen bir durumdur. Bu bağlanma DNA'nın kendini kopyalamasından genetik bilginin aktarımına kadar birçok işlevini etkilediği için hasarlı hücrenin ölümüyle sonuçlanır. Bu hasarlı ve kanserli hücrelerin bağlanması ise DNA üzerine bağlanan küçük moleküller ile olmaktadır (Ocak et al. 2018). İlaç-DNA mekanizmasını daha iyi anlayabilmek ve açıklayabilmek için farklı araştırma metotları geliştirilmiştir. Bu ilaç ve DNA'ya farklı bağlanma çalışmaları ve daha az toksik ilaçların tasarlanması da bunlardan bir kaçıdır (Singh et al. 1992). Bu çalışmalar ilaçların işlevsel mekanizmalarını daha iyi anlamada ve yeni ilaçların geliştirilebilmesi için bir dayanak sağlamaktadır (Liang et al. 2010, Froehlich et al. 2011). Son yıllarda özellikle antikanser ilaçları ile DNA arasında meydana gelen etkileşim ve meydana çıkan farklı analiz yöntemleri ve çalışmaları giderek artmaktadır. Çünkü DNA'ya bağlandığı zaman onun yapısını bozarak işlevini etkiler ve kanserli hücre veya dokuların ölümü gerçekleşir.

DNA ilaç etkileşimi sonucu bir mekanizma ortaya konulur. Bu mekanizma sayesinde uygun ilaçlar ve kullanım miktarları belirlenir. DNA'ya bağlanacak yeni ilaçlar tasarlanır. Yeni tasarlanan bu ilaçların termodinamik kararlılıkları ve DNA'nın işlevsel özellikleri ve geometrisi değişir (Graves et al. 2000). X-Ray, Jel-elektroforezi, absorpsiyon spektroskopisi, NMR spektroskopisi, UV ve floresans spektrofotometrisi gibi spektroskopik yöntemler ile de DNA-metal komplekslerin etkileşimi belirlenir.



Şekil 1.9 Antikanser ilaçlarının etki mekanizması özeti.

İlaç-DNA etkileşimlerinde bağlanan ilacın DNA erime sıcaklığına etkisi çok önemlidir. DNA sarmalının ayrılması baz çiftleri arasındaki hidrojen bağlarının kopmasıyla gerçekleşir. Bu sarmalın arasındaki bağların ayrılması ise bazların iyonik çözünmesinin sağlanması veya DNA sıvısının ısıtılmasıyla sağlanabilir. Bu sırada fosfodiester bağları kırılmaz. Denatürasyon da denilen DNA sarmalının bozunmasında sarmalın yarısının kaybolması için gerekli olan ısıya erime sıcaklığı (T_m) denilmektedir. Bu sıcaklık DNA'nın UV absorpsiyonunda baz çiftlerinin 260 nm'de verdikleri absorbans değerlerinden de gözlenebilmektedir. Denatüre olmuş tek zincirli DNA'nın verdiği absorbans değeri ayrılmamış zincire göre daha yüksektir. Ayrılan zincirde bulunan baz çeşidi ve sayısı da erime sıcaklığını etkilemektedir. Tek zincirde G-C arasında üç, A-T arasında iki hidrojen bağı olduğundan G-C'le zengin olan zincir daha yüksek erime sıcaklığında denatüre olacaktır.

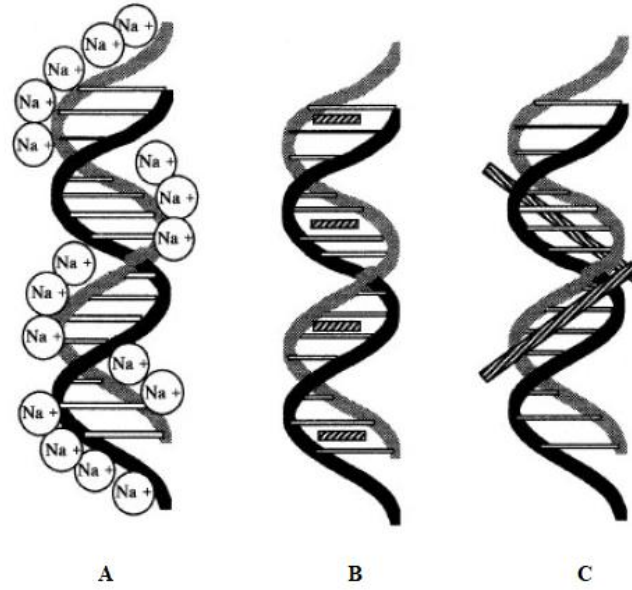


Şekil 1.10 A-T açısından zengin ve G-C açısından zengin DNA'ya ait erime eğrileri.

1.3. DNA-İLAÇ ETKİLEŞİMİ TÜRLERİ

Küçük moleküllerin DNA ile etkileşimleri, kovalent ya da kovalent olmayan etkileşimler olarak iki ana sınıfta incelenir. Bu moleküllerin DNA ile ilişkisi özellikle antikanser ilaç tasarımı konusunda dikkat çekmektedir (David et al. 2000). Yeni tasarlanan DNA ile etkileşim halinde olan bu ilaçlar özellikle farmakolojik alanda da çok dikkat çekmiştir. Birçok antikanser özellik gösteren bu yapılar DNA üzerine kovalent olmayan 3 farklı yolla bağlanır (Anastassopoulou 2003).

Bunlar, DNA üzerindeki negatif uçlu fosfat-şeker omurgasına elektrostatik olarak bağlanma, DNA üzerindeki baz çiftleri arasına interkalasyon yapma ve oyuk bağlayıcı denilen DNA üzerindeki küçük ve büyük oyuklara bağlanarak DNA'ya etki edebilirler (Kelly et al. 1985). Bu küçük moleküllerin bağlanması kimyasal yapısına ve geometrisine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Anastassopoulou 2003).

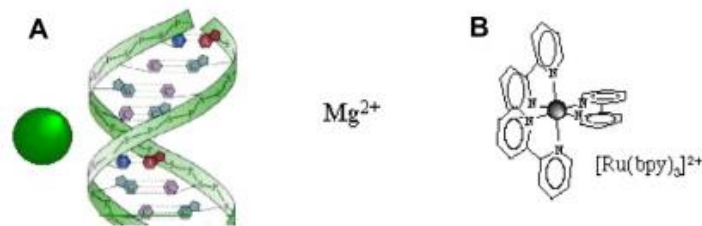


Şekil 1.11 Kovalent olmayan DNA etkileşim türleri.

Yukarıda adı gösterilen etkileşim mekanizmalarını sırasıyla açıklayalım:

1.3.1. Elektrostatik Etkileşimler Yapanlar

Elektronik Etkileşimler DNA'nın dış yüzeyindeki gruplarla meydana gelen etkileşimlerdir (Berg 1988). Diğer DNA etkileşim türlerine göre daha zayıf bir etkileşim türüdür. DNA molekülünün dışında yer alan negatif yüklü fosfat gruplarıyla pozitif yüklü metal iyonlarının etkileşmesi sonucu meydana gelir. DNA'nın yüklü fosfat gruplarıyla Na^+ , Mg^+ gibi pozitif yüklü metal iyonlarının etkileşmesiyle gerçekleşir ve DNA'nın kararlılığını artırır (Frederick et al. 1990). Fosfat gruplarının sahip olduğu negatif yük nötralize edilerek ortadan kaldırılır (Bauer 1970). Bu etkileşim diğer etkileşim türleri gibi DNA yapısında büyük değişiklikler meydana getirmese de ilaçların biyolojik aktivitelerinde önemli rol oynarlar. Bu tür etkileşimler sonucu zıt yükler arasındaki etkileşimiyle DNA'nın kararlılığı artar (Anastassopoulou 2003).

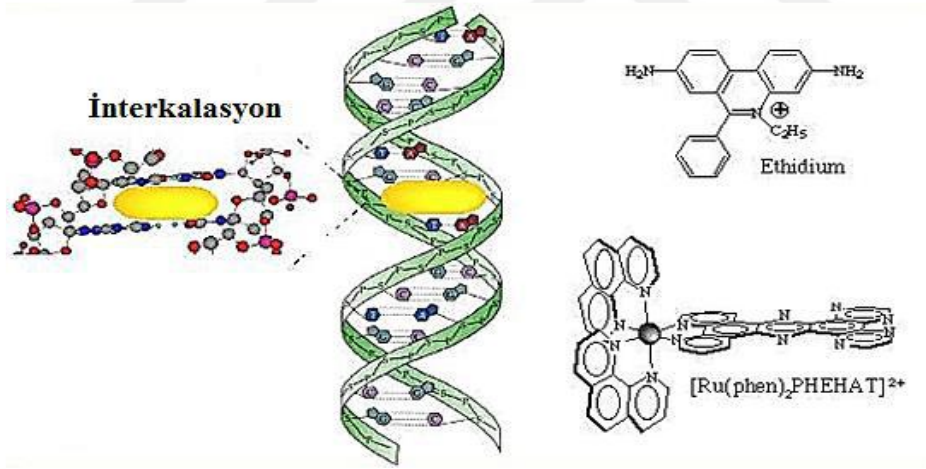


Şekil 1.12 Elektrostatik bağlanma.

1.3.2. İnterkalasyon

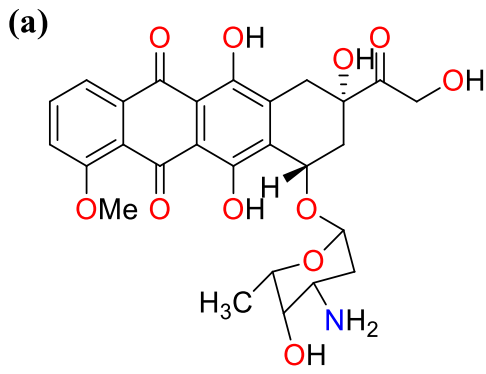
Mainwaring ve arkadaşları interkalasyonu bir DNA sarmalındaki baz çiftleri arasında bir molekül veya grubun tersinir şekilde girmesiyle oluşan etkileşim şeklinde tanımlamıştır (Berg 1988). Bu etkileşimde molekül ve baz çiftleri arasında Van der Waals kuvvetleri etkindir ve interkalasyon sonucunda DNA sarmalında genişleme ve uzanma gibi değişimler meydana gelir. DNA molekülündeki baz çiftleri arasında yerleşen gruplar veya moleküller sonucu DNA'yı stabilize edilebilir. İnterkalasyon etkileşimi tersinir olup, DNA çift zinciri bundan zarar görmez (Lerman 1961). Bu etkileşim türü DNA molekülünde uzunluğunda dik duruşunda şeklinde değişiklikler meydana getirebilmektedir (Şekil 1.13).

DNA ile interkalasyon yapacak moleküllerin oluşturduğu yapı daha kararlı hale gelebilmek için, π - π örtüşmesi yapar bu sayede oyuk bağlayıcı ve elektrostatik etkileşimlere göre iyonik etkilere karşı daha az duyarlı hale gelirken DNA sarmalını daha kararlı hale getirir (Bauer et al. 1970).

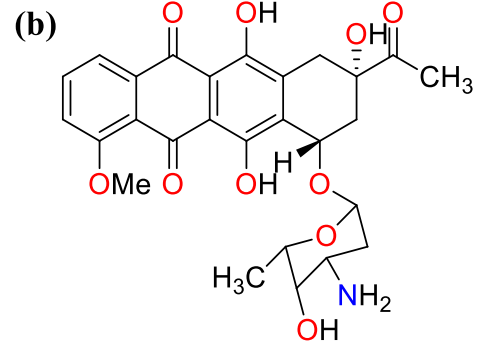


Şekil 1.13 DNA'da interkalasyon etkileşim.

Kanser tedavisinde geçerlilikleri kanıtlanmasın rağmen çok büyük yan etkilere sahip hatta DNA yapısındaki transkripsiyon ve transkripsiyon gibi yaşamsal faaliyetleri engelleyen antibiyotik ailesinin en önemlilerinden daunomisin ve adriamisin bu tür ajanlardır (Frederick et al. 1990, Neidle 1999).



Doksorubisin (adriamycin)



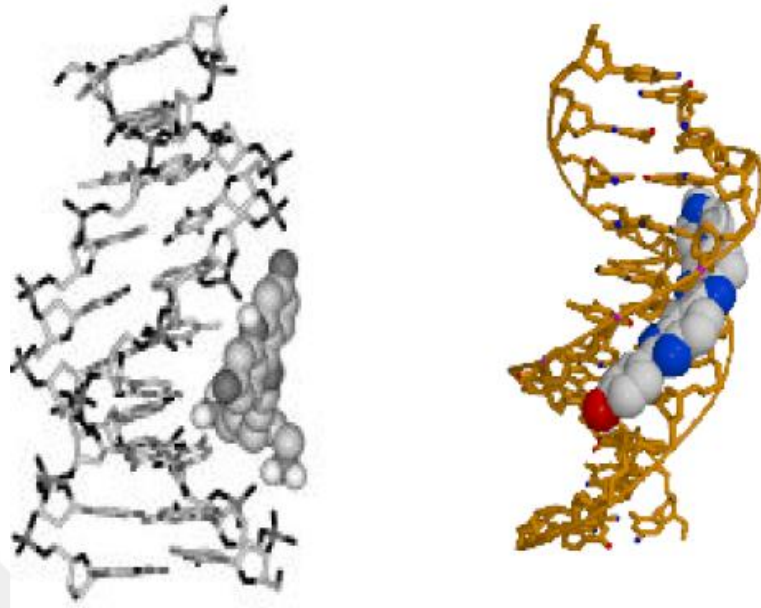
daunorubisin (daunomycin)

Şekil 1.14 a) doksorubisin b) daunorubisin yapısı.

1.3.3. Oyuk bağlayıcılar

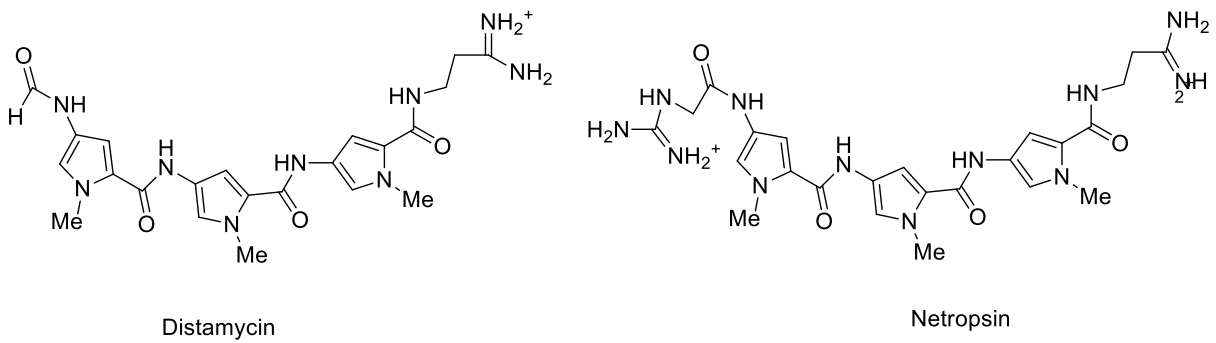
DNA, baz çiftlerinin konumundan ve sarmal yapısından dolayı majör ve minör denilen boşluklar içeren bir yapıdır. Bu boşluklara güçlü bir etkileşim türü olan oyuk bağlanma ile kovalent olmayan moleküller yerleşebilmektedir (Kim et al.1993). Bu sayede enzimlerin bu bölgeye bağlanması engellenmektedir. Oyuk bağlanma ile yarı bağlayıcı maddeler DNA üzerinde büyük değişiklikler yapmadan DNA'ya bağlanır ve bu da diğer bir etkileşim türü olan interkalasyondan önemli bir farkıdır.

Gale ve arkadaşlarının 1918'de yaptıkları çalışmada bağlanan moleküllerin türü ve büyüklüğü boşluklar için spesifik bir seçicilik sağlamaktadır. Küçük moleküller minör boşlukları tercih ederken protein ve nükleotidler gibi daha uzun yapılar majör boşluklara yerleşmektedir (Gale et al. 1981). Bu oyuk bağlayıcılar DNA'ya Van der Waals etkileşimleri ile boşlukların üzerinden ve zemininden bağlanırlar. Bağlanmanın hangi boşluk üzerinden gerçekleşeceğini etkileyen faktörler arasında hidrojen bağı potansiyeli ve elektrostatik farklılıklar da rol oynamaktadır (Marrington et al. 2004).



Şekil 1.15 DNA'ya büyük ve küçük oluk üzerinden bağlanma.

En çok bilinen minör yarı bağlayıcı maddelerin başında Hoechst 33258, distamicin ve netropsin gelmektedir. Bu ilaçlar üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde DNA üzerinde Adenin ve Timin bazının oranının yüksek olduğu bölgeleri tercih ettiği görülmektedir (Marrigton et al. 2004). Minör boşluk üzerindeki bağlanmalarda fosfat grupları ve bazlar üzerindeki atomların elektronegativitesi yüksek atomlar sayesinde yapılan elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları ve Van der Waals etkileşimleri ile daha kararlı bir hal almaktadır. Yinede bu tarz etkileşimlerin interkalasyon yapan moleküller kadar bozulma yaratmadığı görülmektedir. Oyuk bağlama yoluyla yapılan etkileşim boşluklara enzimlerin bağlanmasını engellemesi esasına dayanır.



Şekil 1.16 DNA oyuğa bağlanma aktivitesi gösteren distamicin ve netropsin bileşikleri.

1.4 METAL KOMPLEKSLERİN DNA İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER

Metal komplekslerin DNA ile etkileşim türlerinin belirlenmesinde çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu kullanılan tekniklerin başında UV titrasyon yöntemi, DNA erime noktası tayini, agaroz jel elektroforez ve vizkozimetri gibi DNA-ilaç etkileşimini niteliğini karakterize eden yöntemler gelmektedir. Aşağıda bu yöntemlerin temelleri ve DNA etkileşimlerinde ne şekilde kullanıldıkları açıklanacaktır.

1.4.1. UV-Gör Titrasyon Yöntemi

UV-Gör; elektronik absorpsiyon spektroskopisi DNA ile etkileşim yapan moleküllerin bağlanma modunu ve absorbansta getirmiş olduğu değişikliğe bağlı olarak yorum yapmamıza olanak sağlayan en etkili metotlardan biridir. Bu değişiklik çoğu zaman absorbansta artmaya veya azalmaya yol açmaktadır (Marrington et al. 2004, Sirajuddin et al. 2013).

DNA'da yer alan bazlar üzerindeki bazı kromofor gruplar 260 nm absorpsiyon maksimum değerinde ölçülür. Bu ölçülen değerler 280 nm'daki absorpsiyon değeri DNA'nın saflığı hakkında bilgi vermektedir (Marrington et al. 2004, Gonzalez-Ruis et al. 2011).

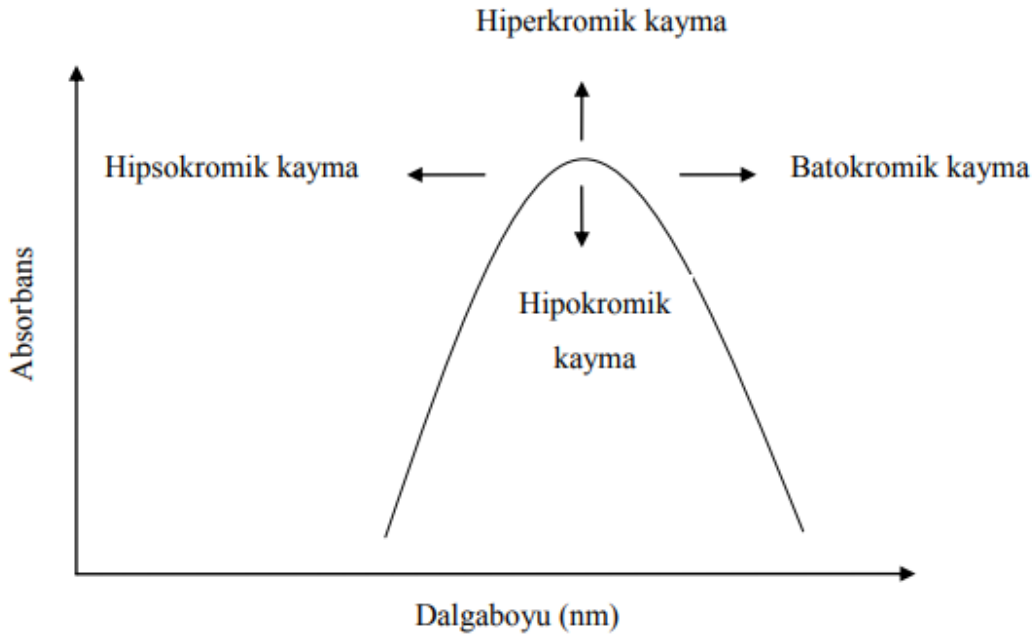
DNA üzerindeki π -elektronları ile metal komplekslerin ligandlarında bulunan elektronlar birbirlerini etkileyerek kompleksin ve DNA'nın UV-Gör absorbanсында değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler bize metal kompleksi ile DNA arasındaki etkileşimin hakkında çeşitli bilgiler verir.

Absorbansta artış gösteren etkiye hiperkromik etki azalma gösteren etkiye hipokromik etki denilmektedir. Bu değişim küçük moleküllerle etkileşen DNA sarmalında meydana gelen değişimle bağlantılıdır. DNA ile etkileşen maddelerin bağlanmaları ile ilgili yorum yapmamıza da olanak sağlar. Hiperkromizm ise DNA'nın ikincil yapısının değiştiğini gösterirken, absorbanstaki azalmayı ifade eden hipokromik kayma ise DNA'nın daha karalı hale geldiği anlamına gelmektedir (Marrington et al. 2014, Song et al. 2014).

DNA-ilaç etkileşimlerinin belirlenmesinde bu yöntem sabit DNA konsantrasyonuna karşı küçük moleküllerin artan konsantrasyonları ya da sabit küçük moleküllerin konsantrasyonuna karşı artan DNA miktarı eklenmesine dayanmaktadır. Absorbanstaki değişime dair yorumlar aşağıdaki şekilde yapılmaktadır (Akdi et al. 2005).

Hiperkromizm; DNA sarmalının omurgasını oluşturan fosfat grubuna bağlanan maddeler yapıyı bir arada tutan hidrojen bağlarını kırar. Fosfat grubuna elektrostatik çekim yoluyla DNA'ya bağlanan yüklü katyonların varlığına bağlı olarak ortaya çıkar. Fosfat grubuna türler elektrostatik yani dıştan temasla bağlanır. Bu da DNA'nın ikincil sekonder yapısını bozmakta ve hasara neden olmaktadır. Çift Sarmal tek iplik haline gelirken A-T ve G-C gibi bazlar ve bazlar serbest hale geçtiğinden aralarındaki etkileşim azalır ve UV-Gör absorbanı artar. Bu bozulma ile birlikte DNA'nın absorpsiyonu artar bu da hipokromik etkiye neden olmaktadır (Arnjmand et al. 2012, Song et al. 2014, Akdi et al. 2005, Jamsheera et al. 2011).

Hipokromizm; maddelerin DNA baz çiftleri arasına girip bazlarla etkileştiği için meydana gelmektedir. Bu şekilde bağlanmanın gücü mesafe azaldıkça düşecektir. Çünkü mesafe azaldıkça maddeler ve DNA üzerindeki π elektronları arasındaki etkileşim artar. Böylece π - π geçiş enerjisi azalır. Bu da batokromik kaymaya neden olmaktadır (Aleksic et al. 2014).



Şekil 1.17 UV-Gör spektrumunda oluşan kaymalar.

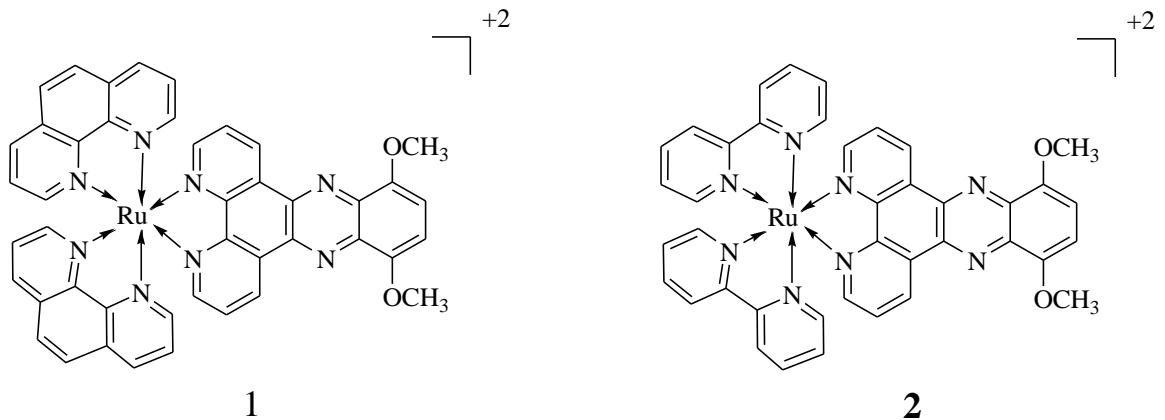
UV-Gör spektrumunda meydana gelen değişimler sonucu elde edilen verilerden bağlanma sabiti birbirine yakın olan metal komplekslerinin ligantlarının DNA'ya bağlanma kuvvetlerinin karşılaştırabiliriz. Bunun için DNA'ya bağlanma kuvvetini ifade eden önemli bir sabitten bahsedebiliriz. Bu sabit bağlanma sabitidir (K_b) hesaplanabilmesi için bir formül geliştirilmiştir (Chao et al. 2002, Wolfe et al. 1985).

$$[\text{DNA}] / (\varepsilon_A - \varepsilon_f) = [\text{DNA}] / (\varepsilon_B - \varepsilon_f) + 1 / K_b (\varepsilon_B - \varepsilon_f)$$

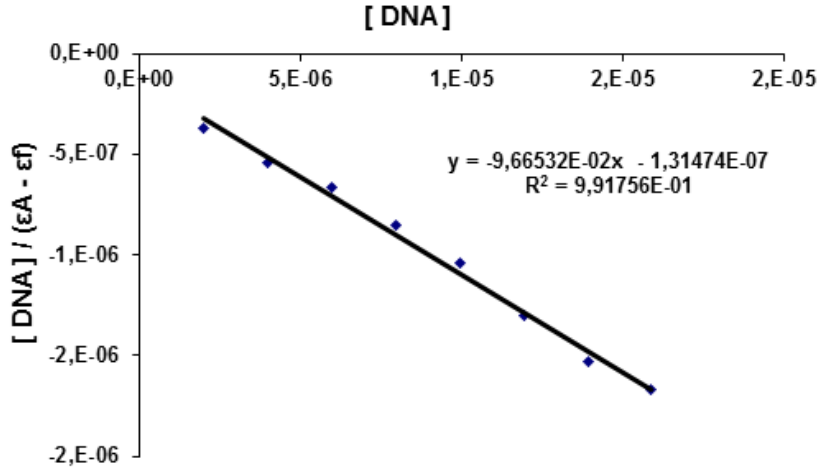
Geliştirilen formülde ε_A ; ölçülen konsantrosyadaki sönüm katsayısı,

ε_B ; DNA'ya tüm komplekslerin bağlanması sonrasındaki sönüm katsayısı ve ε_f ; serbest haldeki kompleksin sönüm katsayısı olarak açıklanabilir. Burada $[\text{DNA}]/(\varepsilon_A - \varepsilon_f)$ karşı $[\text{DNA}]$ değerleri grafiğe geçirilir ve eğimden K_b değeri bulunur (Pyle et al. 1989).

$[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ (Şekil 1.18'de 1 ve 2) gibi bağlanma sabitleri birbirine yakın veya aynı ligantların metal komplekslerinin DNA'ya bağlanma kuvvetleri UV-Gör spektrumunda meydana gelen değişimler sonucu elde edilen verilerden yararlanarak hesaplanmış bağlanma sabitleri K_b , ardışık olarak $6,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $3,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bağlanma kuvvetlerini ve $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ düzlemselliğinin daha fazla olduğunu göz önüne alarak 1'in DNA'ya daha iyi bağlandığı kanıtlanmıştır. Bağlanma sabiti sayesinde kompleksler karşılaştırılabilmiştir (Jiang et al. 2014).



Şekil 1.18 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ ve $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dmdppz})]^{2+}$ moleküllerinin yapısı.



Şekil 1.19 Bağlanma sabiti (K_b) hesaplamak için kullanılan örnek grafik.

1.4.2 Floresans Spektroskopisi

Floresans spektroskopisi; küçük moleküllerin DNA ile etkileşmesini incelemek için ve bağlanma alanının büyüklüğünün belirlemede kullanılan diğer yöntemlerden biri olup aynı UV-Gör gibi artan DNA konstanstrasyonlarına karşı ilacın floresansında meydana gelecek değişimler takip edilecektir. DNA'nın floresan özelliğinin çok düşük olmasından dolayı ilacın yoğunluğundaki değişimler rahatça gözlemlenebilecektir (Rehman et al. 2015).

Maddelerin yüksek derece floresans gösterebilme özelliği aromatik fonksiyonel gruplar içeren bileşikler üzerinde yer alan π elektronlarının halkaya dağılması sayesinde oluşur. Üzerinde konjuge olacak π elektronu bulunmayan alifatik benzeri bileşiklerin ise floresans özelliği çok düşüktür (Jaumot et al. 2012, Lakowicz 2006).

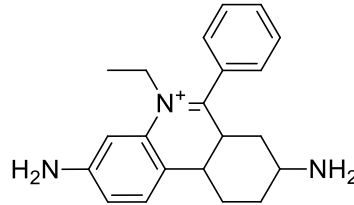
Metal kompleksleri su molekülleri tarafından sarılır. Bu kompleksler DNA ile etkileştiği zaman ise DNA'nın iç kısmının hidrofobik özellik gösterdiği için bileşik çevresini saran sudan kurtulur ve floresansı yükselir (Wu et al. 1999). Baz çiftlerinin arasına girme yoluyla (interkalasyon) bağlanan bu maddelerde ise genellikle floresans artmaktadır.

Floresansda gözlemlenen absorbans değerinde azalma ise DNA ile etkileşimde bağlanma alanındaki hareketliliğin kısıtlanması frekansı azaltacağı için olur (Li et al. 1997).

Floresans spektrumundaki meydana gelen değişimleri gözlemek için Devi ve arkadaşlarının yaptığı bazı deneysel çalışmalar olmuştur. Tıpkı UV titrasyonundaki gibi metal kompleks çözeltisi üzerine artan porsiyonlar halinde DNA çözeltisi eklemiş ve her seferinde spektrumları kaydetmiştir. Floresans spektrumunda artış gözlemlemişlerdir. Bu artışın nedenin ise metal kompleksinin DNA baz çiftleri arasına girip interkalasyon yaptığından kaynaklandığını söylemişlerdir (Devi et al. 2017).

Floresans özellik göstermeyen ilaçların DNA ile etkileşimini gözlemleyebilmek için ise çeşitli boyalar kullanılmaktadır. DNA önceden boya ile etkileştirilir daha sonra çalışılacak molekül ile DNA-boya etkileşimi titre edilir. Floresans şiddetinde azalma meydana geliyorsa boyayı çıkarttığını ve DNA'ya bağlanabildiğini anlabiliriz. Bu şekilde ilave edilen ikinci molekül ile yer değiştirmesiyle açıklanır. En çok kullanılan boya maddelerinden etidyum bromür (EtBr), Hoechst-33258 ve DAPI gelmektedir.

EtBr (Şekil 1.20) DNA molekülünün birçok fonksiyonel işlevine müdahale edebilecek kadar güçlü bağlandığı görülmüştür (Waring 1965). EtBr molekülü sulu çözeltilerinde düşük bir floresansa sahiptir. Ancak DNA'da bulunan baz çiftleri arasına girmesiyle çok yüksek bir floresansa sahip olur.

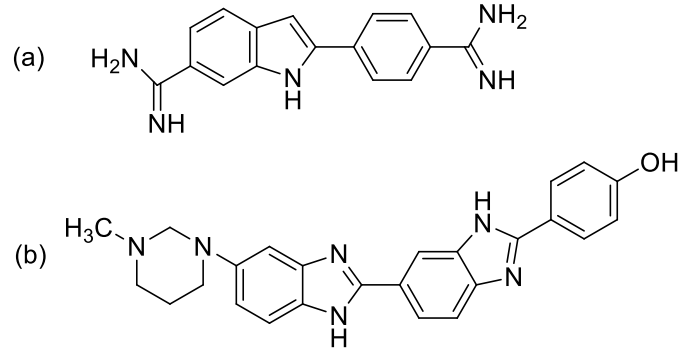


Şekil 1.20 EtBr molekül yapısı.

Floresans spektrumu ile DNA etkileşiminin türü belirlenirken kullanılan yöntemlerden biri de interkalasyon yaptığı kesin olarak bilinen EtBr ile yapılan yarışmalı bağlanmadır. Ortamda EtBr dışında interkalasyon yapan başka bir molekül varsa bu molekülün EtBr molekülünün yerine DNA'ya bağlanmak üzere kompleksin yerine geçmesine dayanmaktadır. EtBr-DNA kompleksinin emisyon spektrumu incelendiğinde düşüş olduğu gözlemlenirse denemesi yapılan ilaç molekülünün interkalasyon yaptığı düşünülür (Haribabu et al. 2017).

DAPI ve Hoechst-33258 (Şekil 1.21) ise sırasıyla minör oyuk bağlayıcı ve majör oyuk bağlayıcı olacak şekilde DNA ile etkileşirler. Bu boyalar da sulu çözeltilerinde düşük

floresans özellik göstermektedirler. Ancak DNA ile etkileşimlerinde floresans özellikleri artmaktadır (Barone et al. 2013).

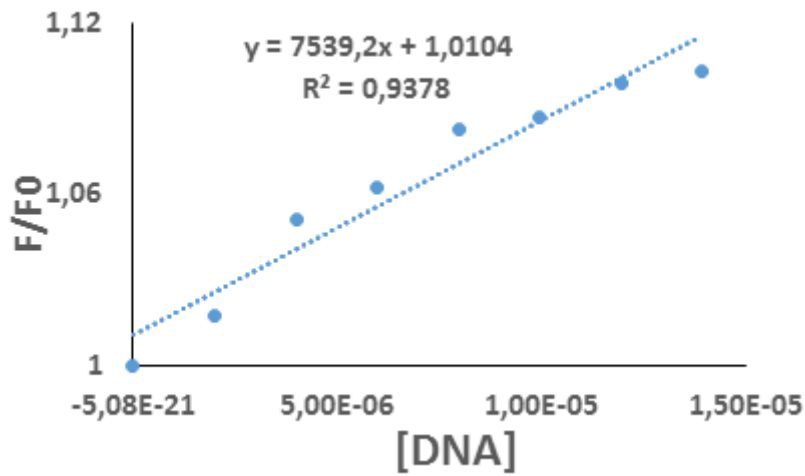


Şekil 1.21 a) DAPI bileşiği b) Hoechst33258 bileşiği.

Floresans titrasyonu sonucu veriler klasik Stern-Volmer eşitliği yardımıyla komplekslerin DNA ile bağlanma gücü hesaplanabilir.

$$F_0 / F = 1 + K_S [Q]$$

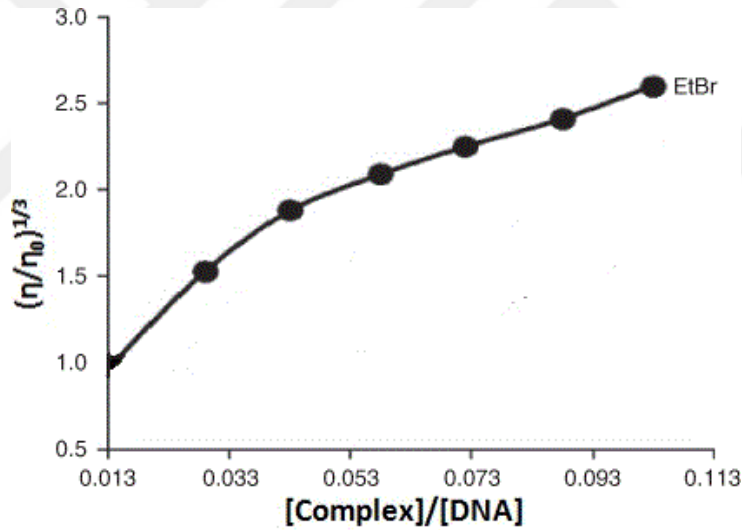
Eşitlikte ölçüm yapılan dalga boyundaki floresans yoğunluğu F, ilaç üzerine DNA eklendikçe değişen floresans yoğunluğunu F₀, baskılayıcı molekül derişimi [Q], bağlanma derecesi K_S ile verilmektedir. F₀/F değerine karşı [Q] değerleri grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun eğiminden K_S bulunur (Kalanur et al. 2009).



Şekil 1.22 Bağlanma sabiti (K_{sv}) hesaplamak için kullanılan örnek grafik.

1.4.3 Viskozimetri

Viskozite, bir akışkanın yüzey gerilimi altında akmaya karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanır. Viskozimetrik yöntemle uzunluk arttığında hidrodinamik ölçümler sayesinde DNA üzerinde meydana gelecek değişimler ve bağlanma modları incelenmektedir. DNA ile etkileşen moleküllerin DNA'nın çift zincirinde uzamaya veya kısalmaya yol açabilir. DNA ile interkalasyon yapan moleküller baz çiftleri arasına girebildiği için DNA sarmalının boyunu uzatır ve bazlar arası mesafeyi arttırır. Bu şekilde DNA'nın viskozitesi artmış olur. Buna örnek olarak DNA ile kesin bir biçimde interkalasyon yaptığı bilinen EtBr molekülü örnek gösterilebilmektedir. Oyuğa bağlanan moleküller ise DNA'yı bükebildiği için boyunu kısaltıp viskozitesini yani akış hızını düşürebilmektedir. Klasik interkalasyonda DNA'nın baz çiftleri arasına bağlanma ile DNA boyunda uzama olduğundan viskoziteyi artırır (Barone et al. 2013). Ancak kısmi interkalasyon yapan moleküllerde tersi durum gözlemlenebilir.



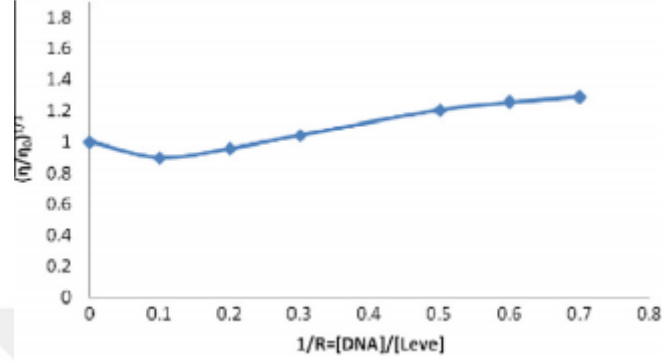
Şekil 1.23 EtBr için örnek titrasyon grafiği.

Viskozite; DNA-ilaç çözeltisinin kolonun iki noktası arasından geçme süresinin ölçülmesi ile hesaplanır. Genelde Ubbelohde viskozimetresi kullanılmaktadır.

Grafikteki, η_0 başlangıç viskozitesi, η DNA'ya EtBr eklendikten sonra ölçülen viskoziteyi, η/η_0 ise bağıl viskozite değerini belirtmektedir.

Shahbadi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sentezlenen bileşiğin baz çiftleri arasına girebilecek ligandı olmadığı halde viskozitesinde azalma olduğunu belirlemişlerdir. Viskozite

grafığı incelendiğinde ise viskozite değerlerinin önce düştüğü sonra ise yükseldiğini gözlemlemiştirler. Bunun nedeni olarak ise DNA molekülündeki çözünürlük, konformasyon gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmüştür. Diğer spektroskopik yöntemlerle ise bu bileşiğin DNA ile kısmi interkalsyon yaptığı sonucuna ulaşılmıştır (Shadabadi et al. 2010).



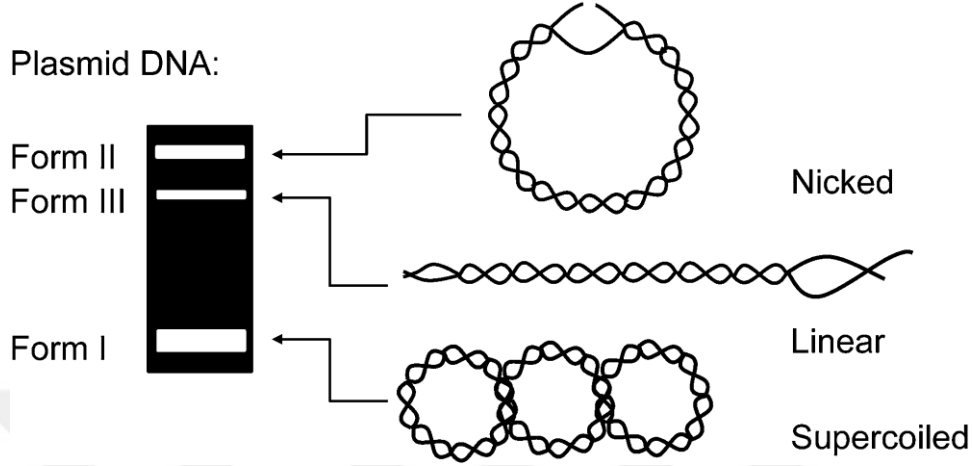
Şekil 1.24 Örnek viskozite grafiği.

1.4.4. Agaroz Jel Elektrofrezisi

Elektrofrezisi; yüklü moleküllerin proteinlerin, nükleik asitlerin ayrılması bunun yanı sıra DNA-ilaç etkileşimlerinin incelenmesinde kullanılan diğer yöntemlerden birisidir (Shadabadi et al. 2009; Shadabadi et al. 2010; Shadabadi et al. 2011). Teknik olarak bu etkileşimlerin incelenmesinde moleküllerin yük ve kütle büyüklükleri rol almaktadır. Yüklü moleküllerin sıvı bir ortamda elektriksel alandan faydalanarak ayrıştırılmasına ve analiz edilmesine dayanmaktadır. Yüklü parçacıkların hızındaki farklar ayırmayı etkilemektedir (Tiselius 1937). Jel elektrofrezisi farklı boyut, yük ve konformasyondaki DNA moleküllerini ayırabilmektedir ve saflaştırabilmektedir. Elektrofrezide büyük moleküller küçük moleküllere göre daha yavaş anoda doğru hareket ederler. Bu hız ise molekülün boyutuna, jelde kullanılan agaroz konsantrasyonuna, iyonik kuvvete ve elektrik akımına bağlı olarak değişmektedir. Moleküller arasındaki hız farkından yararlanarak DNA etkileşimleri hakkında bilgiler vermektedir.

Agaroz jel, poliakrilamid veya agarozdan oluşur. Kullanılan DNA ise genellikle plazmid DNA tercih edilmektedir. Bu DNA çeşidinin en önemli özelliği 5 değişik konformasyonda bulunabilmesi ve elektrik alan uygulandığında farklı yürüme hızları sayesinde etkileşim hakkında yorum yapabilme şansı vermektedir. Plazmid DNA elektrofrezide form I'i

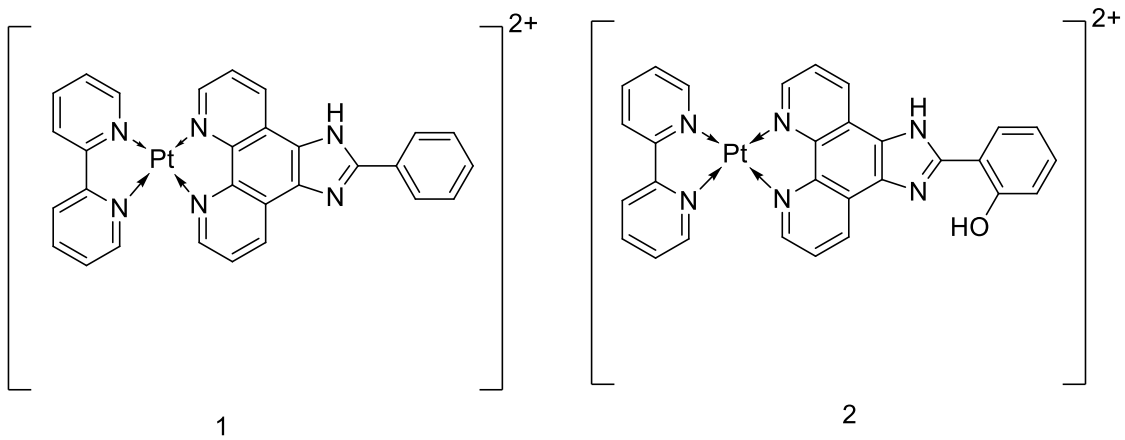
oluşturur. En uzağa sürüklenen plazmid DNA süpersarmal şeklindedir. DNA çift sarmalının tek zincirinde meydana gelen kırılma sonucu en yavaş olan form II oluşur. Sarmalın diğer zincirindeki kırılma linear bir hal alır, bu form III adını alır ve form I ile form II arasında bulunur (Tabassum et al. 2012).



Şekil 1.25 Plazmid DNA formları ve elektrofez üzerinde göç hızları.

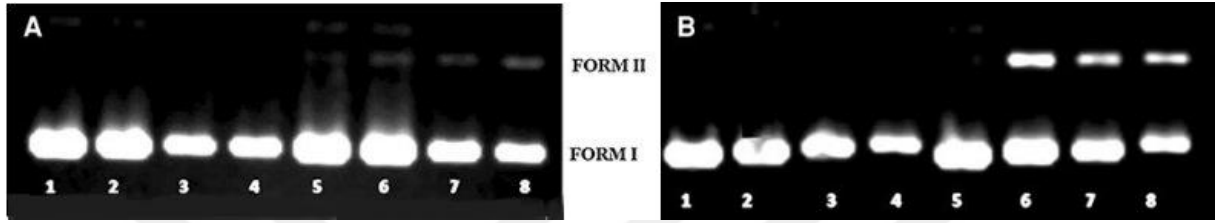
DNA–ilaç etkileşimlerinin incelenmesinde sürüklenme hızı farkından yararlanılmaktadır. EtBr molekülünün DNA ile interkalasyon yaptığı ve uv ışığı altında floresans özellik göstermesinden yararlanarak çeşitli konstrasyonlarda jel üzerinde yeri belirlenebilir.

$[Pt(bpy)(pip)]^{2+}$ ve $[Pt(bpy)(hpip)]^{2+}$ şeklindeki 2 farklı platin kompleksinin DNA ile etkileşimi agaroz jel elektrofez yöntemiyle incelenmiştir (Şekil 1.26'de 1 ve 2) (Coban ve ark. 2013).



Şekil 1.26 $[Pt(bpy)(pip)]^{2+}$ ve $[Pt(bpy)(hpip)]^{2+}$ komplekslerin molekül yapısı.

Sonuçlar incelendiğinde (Şekil 1.27) 1 nolu kompleksin artan miktarıyla DNA'nın form I yapısının orantılı olarak azaldığı ve bu azalmanın nedeninin $[Pt(bpy)(hpip)]^{2+}$ 'nin DNA'yı bozmasından ileri geldiği anlaşılmaktadır. 2 nolu kompleksin elektroforez sonucunda ise 1 kompleksinden çok daha düşük derişimlerde DNA'nın sarmal yapısını açarak DNA'nın jel üzerindeki yürümesinde değişiklikler meydana getirdiği gözlenmiştir. Sonuç olarak $[Pt(bpy)(hpip)]^{2+}$ molekülü DNA'yı $[Pt(bpy)(pip)]^{2+}$ 'ya göre daha fazla bozduğunu söylenebilir (Coban ve ark. 2013).

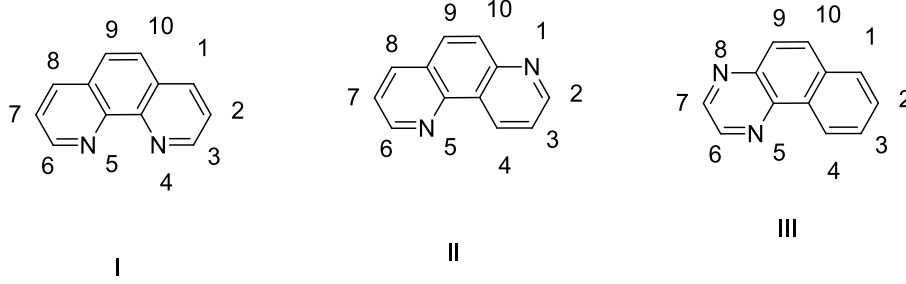


Şekil 1.27 $[Pt(bpy)(pip)]^{2+}$ ve $[Pt(bpy)(hpip)]^{2+}$ kompleksleri için elektroforez sonuçları.

1.5. 1,10-FENANTROLİN VE TÜREVLERİ

Heterohalkalı ligand ve türevleri biyolojik etkileri ve fonksiyonları açısından tıpta ve endüstride kullanılan oldukça önemli bileşiklerdir. Heterosiklik bileşikler kısaca heterosiklikler olarak da bilinen halkalı ve bünyesinde karbon dışında N (aziridin), O (furan) veya S (tiyofen) gibi atomlar bulunduran bileşiklerdir. Azot atomu bulunduran heterosiklik bileşik üç üyeli diğerleri dört üyelidir. Fenantrolin çalışmaları ise ilk olarak redoks titrasyonlarında indikatör olarak kullanılacak kompleksleri oluşturma nedeniyle başlamıştır.

Heterosiklik halka sistemlerini ifade etmede kullanılan isim fenantrendir. Fenantrolin bileşiği heterosiklik halkalardaki $-CH=$ gruplarının yerine $-N=$ gruplarının yerine geçmesi ile oluşur. Bu değişen halka sistemleriyle I, II ve III'de gösterilen o-fenantrolin, m-fenantrolin ve p-fenantrolin gibi fenantrolin çeşitleri oluşmaktadır (Şekil 1.28).

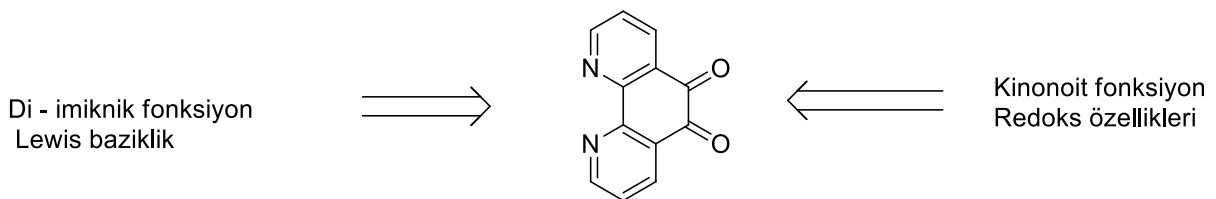


Şekil 1.28 Fenantrolin heterosiklik halka sistemleri.

Fenantrolin konformasyon olarak düzlemsel bir yapıya sahiptir. Bu sayede DNA baz çiftleri arasına girip DNA ile etkileşebilir. Fenantrolin ve türevleri, bu özelliğinden dolayı DNA-ilaç etkileşmesiyle ilgili birçok çalışmalara konu olmuştur.

1,10-fenantrolin; üç benzen halkasına bağlı iki azottan oluşan bir yapıdır. 1,10-fenantrolin ve türevi bileşikler üzerinde birden fazla dış bulundurduğu için özellikle geçiş metalleri ile çok kararlı koordinasyon bileşikleri oluşturmaktadır. Bu metallerle kompleks oluşturduğu için azo boyar madde olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca 1,10-fenantrolin ve türevlerinin bazı bakterileri öldürdüğü belirlenmiş ve diğer fenantrolin türevlerinin de pek çok farklı biyolojik etkinlik gösterdikleri de görülmüştür (Chang et al. 1999, Chao et al. 1999, Calderazzo et al. 2002).

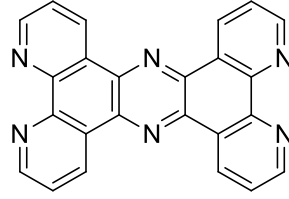
Fenantrolin türevlerinin sentezinde kullanılan en önemli madde 1,10-fenantrolin-5,6-diondur. 1,10-fenantrolin-5,6-dion, elektriksel özellikler gösteren maddelerin sentezinde kullanılan bir maddedir (Wilmer ve Daryleh 1959). 1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiği Kinonoit fonksiyonu sayesinde redoks aktiftir ve azot atomlarının sayesinde de Lewis bazı olarak davranmaktadır (Hambley 2007).



Şekil 1.29 1,10-fenantrolin-5,6-dion bileşiğinin yapısı.

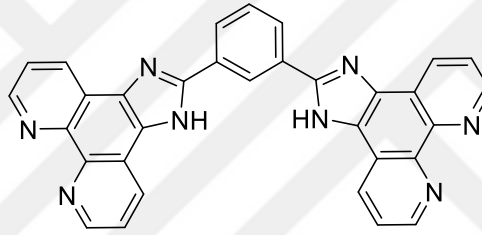
Fenantrolin ile ilgili yapılan çalışmalara örnek olarak Joseph-Bolger ve arkadaşları (1996), Tetrapirido[3,2-*a*:2',3'-*c*:3'',2''-*h*:2''',3'''-*j*]fenazin (tpphz), ligandını sentezlemiştir. Bu liganttan sentezlenen Ru(II) ve Os(II) komplekslerinin indirgen özellik taşıdıklarını anlaşılmıştır. Bu

komplekslerin DNA’da üzerine proton ve elektron gibi parçacıkların aktarımını yaptığı, özellikle ligandlardaki azotların proton aktarımında etkili olduğu belirtilmiştir.



Şekil 1.30 Tpphz ligandının yapısı.

Hui Chao ve arkadaşları (2000), 1,3-bis(1,10) fenantrolin-(5,6-d)imidazol-2-il benzen bileşiğinin rutenyum koordinasyon bileşiğini sentezleyip asidik ve bazik karakterlerini incelemişlerdir.



Şekil 1.31 1,3-bis(1,10)fenantrolin-(5,6-d)imidazol -2il – benzen bileşiğinin yapısı

1.6 BENZOTİYADİAZOLE (2,1,3-) VE TÜREVLERİ

Son otuz yılda sentezlenen metal komplekslerinin temeli organik bileşiklere ve doğal ürünlere dayanmaktadır. Bu sayede farmakolojik alanda ki antikanser ilaçlar ve teşhis ajanslarına olan ilgi artmıştır (Zhang 2003, Marzano et al. 2009).

DNA ve RNA’nın doğrudan tanınmasına odaklanan biyosensör teknolojisi klinik, adli ve farmasötik kimya alanlarında önemli rol oynamaktadır. Nükleik asitler ve proteinler için emisyon, absorbansta artış sağlayıp spektroskopik yöntem olarak avantaj sağlayacaktır. Bunlar DNA’nın bu moleküller ile ilişkisini doğrudan gösteren metotlardır (Valis et al. 2006). Metal içeren antikanser etki gösteren ilaçlar kemoterapide önemli rol üstlenmektedir. Örnek olarak cis-platin ciddi miktarda toksisite içermesine rağmen bilinen en iyi ilaçlardan biridir. Buradan yola çıkarak yapılan çalışmalar ile ilaçların zararlı etkilerinin azaltılması ve aktivite alanının genişletilmesi ile kanser ilaçlarının çalışma alanını genişletilmiştir. Platin dışındaki

metal kompleksleri özellikle bakır kompleksleri antikanser ajanı olarak dikkat çekmiştir. Uzun yıllardır yapılan çalışmalarda daha az toksisiteye sahip olduğu varsayılan bakır bileşiklerinin aktif olarak araştırılmasına yol açmıştır (Kelland 2000).

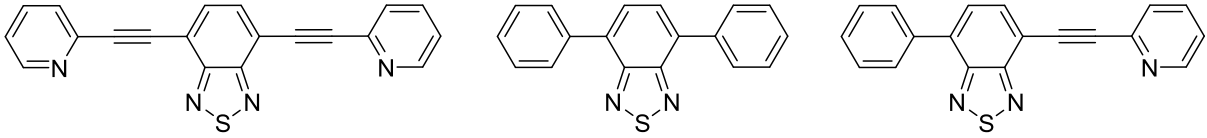
Cis-platin kompleksinin biyolojik olarak oral olarak kullanılamaması kompleksin kalıtsal olarak tedavide uygulanmasını sınırlanmaktadır (Petering 1980). Bu dezavantajlar geliştirilen antikanser ilaçları için yeni araştırmalar yapılmaya teşvik etmiştir. Tartışma konusu olarak yeni organik ajanlara karşı metal komplekslerinin tasarlanması vurgulanmıştır. Sentezlenen metal kompleksli ilaçların üç boyutlu bir konformasyonu kesin olarak belirlenebilirse yeni moleküllerin uyarlanması ve bu moleküllerin hedefini tanıyıp etkileşim kurabilmesi için gerekli bilgileri sağlar (Tisato et al. 2010). Normal metabolik olan bazı metaller ise organizma içindeki komplekslerde ise çok toksik olabilir ve ajan görevi görebilir (Marzano et al. 2009).

(2,1,3-) (BTD) çeşitli alanlarda uygulamaları olan önemli maddelerin heterosiklik bileşiklerin öncülleridir. Farmakolojik bileşiklerden, floresans malzemelere, organik iletkenlerden moleküler tanıma sensörlerine kadar birçok uygulamada BTD türevleri önemli rol oynar (Marzano et al. 2009; Welch et al. 2009).

Florür iyonunun tayini bir 2,1,3-benzotiadiazol türevi sentezlenmiştir. Bu sentezlenen bileşik florür için etkileşimli bölgeler oluştururken aynı zamanda çeşitli fonksiyonel gruplar meydana getirmiştir. Proton NMR titrasyonuna bakıldığında sentezlenen bileşikler ve florür iyonu arasındaki etkileşimin: düşük florür iyon konsantrasyonunda hidrojen bağı, yüksek florür iyon konsantrasyonunda proton ayrılması şeklinde olduğunu kanıtladı. Bunun yanı sıra 2,1,3-benzotiadiazol (BTD) türevleri yoğun floresans özellik göstermekte ve birçok hidroelektrik malzemede kullanıldığı görülmüştür (Hou et al. 2008).

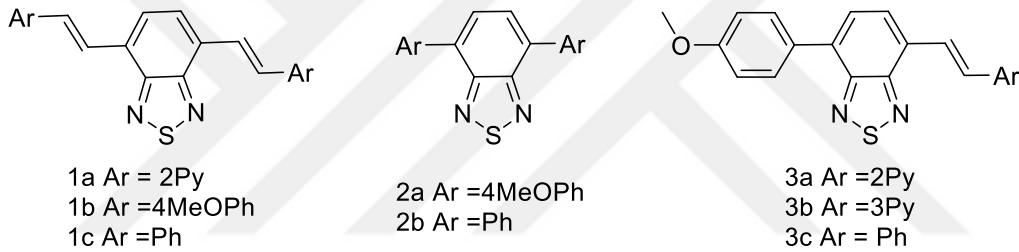
DNA işaretleyicileri biyomoleküllerin görselleştirilmesinde kullanılan nötr veya kutuplu boyalardan meydana gelmektedir. Bu işaretleyici bileşiklere BTD türevleri dışında örnek olarak kinoksalinler, benzimidazoller gibi gruplar da örnek gösterilebilir.

Bazı 4,7 pozisyonlarından türevlendirilen BTD bileşikleri DNA işaretleyicisi olarak rapor edilmiştir. Bileşiklerden birincisi interkalasyon yaparken diğer ikisi oyuk bağlayıcı olarak görev yapmış ve her biri yüksek floresans artışı ile DNA işaretleyici olarak rapor edilmiştir (Şekil 1.33) (Neto et al. 2007).



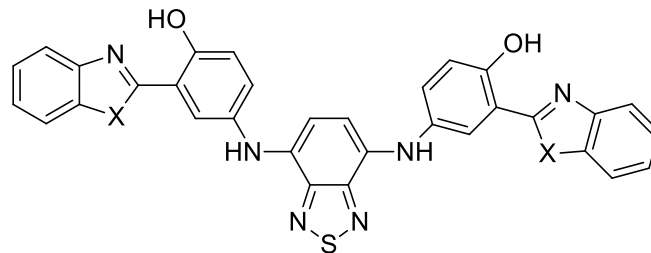
Şekil 1.32 4,7 türevlendirilmiş BTB bileşikler.

Aşağıda verilen bazı BTB boya türevi bileşiklerin UV spektrumu 390 nm’de absorbans gösterdiği için ~260 nm’de absorbans veren DNA’dan iyi biçimde ayırt edilebilmiştir. Titrasyon sırasında negatif sonuçlar (Şekil 1.34’te 2a, b) elde edilmesinin nedeni ise araya giren ajanların konsantrasyonunun DNA konsantrasyonundan yüksek olmasındandır. Bununla beraber DNA tespiti; C≡C gibi π aralayıcı içeren gruplar (Şekil 1.34’te 1a-c, 2a-c) sayesinde başarıyla yapılmaktadır. Bu gruplar boyanın DNA’ya bağlanmasını kolaylaştırmak amacıyla gereklidir (Yapıcı et al. 2012). Ayrıca sentezlenen Ar-C=C- ve PhOMe grubu içeren BTB türevlerinin DNA’nın tespiti için uygun moleküller olduğu görülmüştür (Neto et al. 2005).



Şekil 1.33 Türevlendirilmiş BTB bileşikler.

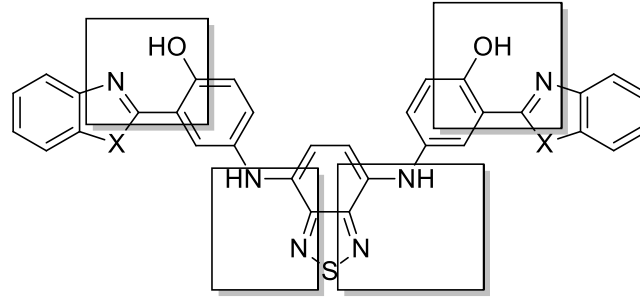
Katyonik olmayan BTB bileşikler çekirdek DNA’ına spesifik bağlanarak geleneksel olarak kullanılan birçok boyadan çok daha iyi performans göstermişlerdir (Oliveria et al. 2010).



Şekil 1.34 Çekirdek DNA’ına bağlanan BTB bileşikler (X=NH, S).

Diğer bir çalışma da proton transferi yapılabilecek dört bölgeye sahip 2,1,3-benzotiadiazol (BTB) bileşiğinin sentezini içerir. Bu bileşik kök hücreler için DNA üzerinde seçici bir boya olarak kabul edilmiştir (Neto et al. 2005). Sentezlenen BTDBI (x= NH) ve BTDBT (X=S)

boya türevleri dört farklı proton transferi yapabilecek şekilde tasarlanmıştır (Şekil 1.35). Proton aktarımı yapılacak dört bölgeden ikisinde molekül içi proton aktarımı yapılarak altı üyeli veya beş üyeli halkalı bir sistem meydana gelmektedir Ayrıca simetrik şeklinden dolayı molekül içi proton transferi de gerçekleşebilmektedir (Oliveira et al 2010).

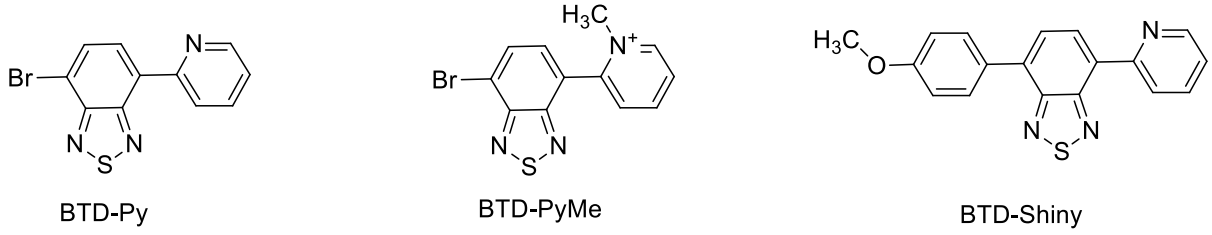


BTDBI (X=NH)
BTDBT (X=S)

Şekil 1.35 BTDBI ve BTDBT bileşiklerinin türevleri.

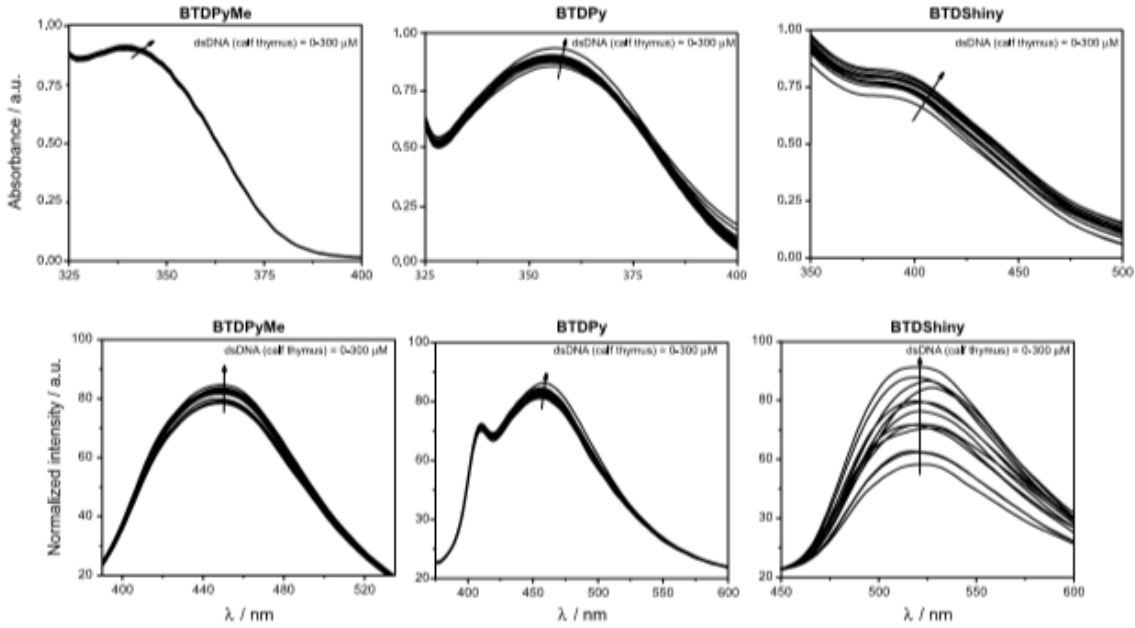
BTDBI ve BTDBT bileşiklerinin floresans sonuçlarına bağlı pH aralığına bağlı olarak nötr, anyonik ve katyonik olmaktadır. BTDBI ve BTDBT bileşiklerinin pH çözeltisine kararlı olacak şekilde bağımlı iken spektrumun şekli çözeltinin pH'sinden bağımsızdır. Bununla birlikte, BTDBI ve BTDBT'nin fizyolojik pH değerleri aralığında en yüksek floresansa sahip olması, biyolojik uygulamalar için iyi bir boya olduğunu göstermektedir (Oliveria et al.2010). Sentezlenen yeni boyalar BTDBI ve BTDBT'nin yapısını ve proton aktarma işlemlerine katılacak 4 bölgeyle birlikte son derece etkili stabilizasyonu sağlandığı görüldü. Canlı hücre görüntüleme deneylerinde BTDBT'nin DNA boyanması için iyi bir işaretleyici olduğu sonucuna varıldı (Wang et al. 2012). 2,1,3-Benzotiadiazol türevleri ışık teknolojisinin birçok alanında da kullanılmaktadır. Bu BTDBI türevlerinin biyolojik uygulamalar için kullanımı yeni çalışmalardandır. Örneğin, çözelti içerisinde çift sarmallı DNA'yı tespit etmek ve ölçmek için bazı küçük polimerik bir türev olan BTDBI türevleri kullanılmıştır. Son zamanlarda küçük molekül BTDBI-İçeren türevlerinin hücre organelleri seçici olarak boyamak için yeni BTDBI türevlerinin potansiyelini göstermiştir (Oliveria et al. 2010).

Aşağıdaki katyonik BTDBI bileşikleri ise (Şekil 1.36) spesifik olarak çift sarmallı DNA'ya bağlanarak konsantrasyona bağlı olarak absorbans ve floresans artışıyla miktar tayini yapılmasına olanak tanımaktadırlar (Netto et al. 2012).



Şekil 1.36 Katyonik BTD bileşikleri.

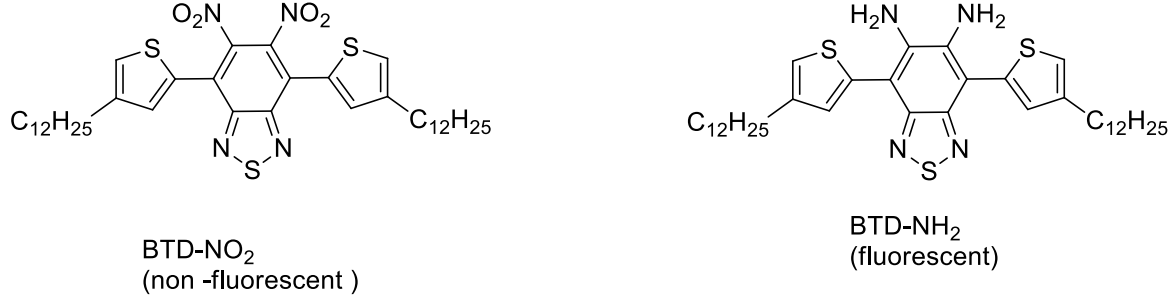
BTD türevleri hem spektrofotometrik hem de spektrofluorimetrik titrasyonlarla dsDNA'ya karşı analiz edildi. Boyaların hazırlanan seyreltik çözeltileri de spektrumda önemli değişiklikleri gösterememiş çalışılan üç molekülün de DNA ile önemli derece etkileşmediğini açıkça gösterdi. Sadece BTDShiny, spektrofluorimetrik titrasyonlarda fark edildiği gibi sadece zayıf bir etkileşim gösterdi (Şekil 1.37) (Netto et al. 2012).



Şekil 1.37 BTDPyMe, BTDPy ve dsDNA ile BTDShiny'nin spektrofotometrik (üstte) ve spektrofluorimetrik (altta) titrasyonları. (Boyalar konsantrasyonları: Spektrofotometrik titrasyon için 10.0 mmol L^{-1} ve spektrofluorimetrik titrasyon için 1.0 mmol L^{-1}).

Yapılan araştırmalar benzotiyadiazolün hücrelerin mitokondrisi üzerinde seçici olarak etiketleyebildiğini gösterdi. Bu nedenle benzotiyadiazolün tümör hücreleri için yeni bir türevi sentezlenmiştir (Jiang et al. 2013).

Floresans olmayan dinitro- bileşiği hipoksik tümör hücrelerinde yüksek aktiviteye sahip nitroredüktaz enzimi sayesinde kırmızı floresans veren diamino bileşiğine dönüşerek hipoksik tümör hücrelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Şekil 1.38) (Jiang et al. 2013).



Şekil 1.38 Hipoksik tümör hücrelerine özgü geliştirilmiş BTD türevi DNA boyaları

1.7 NİKEL KİMYASININ DNA'YA UYGULANMASI

Elektronik konfigürasyonu d^6 ve d^8 ile biten geçiş grubu metalleri DNA ile kovalent olmayacak şekilde etkileşebilmektedir. Etkileşme sonucunda merkezde metal iyonu olacak şekilde etrafında DNA ile etkileşime girecek olan ligandlar bulunmaktadır.

Sigman ve arkadaşları geçiş metalleri ile ilgili ilk çalışmaları yapmışlardır. Sentezlenen $[Cu(phen)_2]^+$ metal kompleksinin DNA üzerinde bulunan büyük oyuğa bağlandığı belirtilmiştir (Sigman 1986).

Ligantların sahip olduğu geometri bize DNA ile etkileşecek metaller ile oluşturacakları yeni komplekslerin etkileşim türü ve geometrisi hakkında da bilgi vermektedir. Ligandın geometrisine göre daha düz olan bileşikler DNA baz çiftleri arasına daha kolay girerek DNA üzerine bağlanmış olur. Bu şekilde geçiş metallerinin oluşturduğu kompleksler DNA üzerine bağlanarak özellikle biyoloji ve tıp alanında kullanılan önemli ilaçlar haline gelmektedir (Barone et al. 2013).

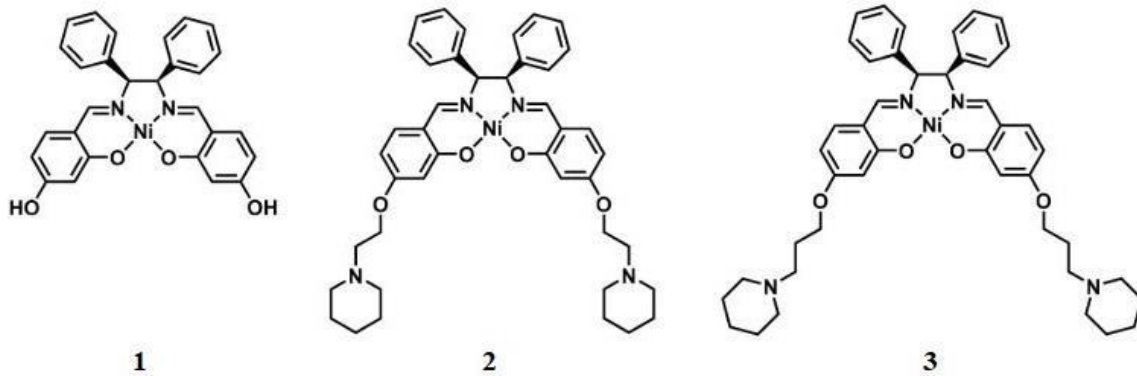
Geçiş metalleri özelliği gösteren metallardan özellikle nikel ve kobalt komplekslerinin DNA ile çalışılması yoğun bir olarak bulunan temel elementlerden olmasındandır. Son yıllarda yürütülen bilimsel çalışmalardan görüldüğü üzere geçiş metallerini antibakteriyel, antikanser vs özellik gösteren ilaçların sentezinde önemli olduğu görülmüştür (Chitrapria et al. 2010).

Geçiş metali komplekslerinin biyolojik etkileri ve DNA ile ilişkisi bilinmektedir. Nikel kompleksinin DNA'nın kendini kopyalamasında ve onarımında rol aldığı bulunmuştur. Fakat DNA üzerinde konformasyonel bir farklılık yaratacak etki henüz gösterememektedir (Shamsi et al. 2014).

DNA ile nikel çalışmalarını içeren kimya çalışmaları literatürde mevcuttur. Yapılan çalışmalar incelendiğinde nikel komplekslerinin DNA'nın kendini kopyalamasında ve DNA onarımında görev almıştır. DNA tamirinde rol alan enzim ve proteinlere karşı çalışarak DNA tamirini engelleyebilmiştir (Tan et al. 2010).

Tan ve arkadaşları spesifik olarak G-C seçiciliği yüksek bir nikel kompleksi sentezlemişlerdir (Sastri et al. 2003). Antikanser özellik gösteren maddelerin birçoğu DNA üzerinde G-C ile zengin olduğu kısımlara bağlanırlar. Bu nedenle bu nikel komplekslerin DNA'ya bağlanması çok önemli hale gelmiştir. Bu etkileşim sonucu kompleks transkripsiyon veya gen aktarımı olaylarını da bloke edebilir duruma gelmiştir (Wang et al. 2005).

Son çalışmalara göre Schiff bazı metal kompleksleri ile DNA etkileşimi yoğun olarak çalışılmaya başlanmıştır. Bu bileşiklerin en önemli özelliğinin ise DNA üzerinde belirli bölgelere spesifik olarak bağlanabilmeleri ve antikanser özellik gösteren bileşik sentezinde önemli rol oynamaktadır (Wang et al. 2005).



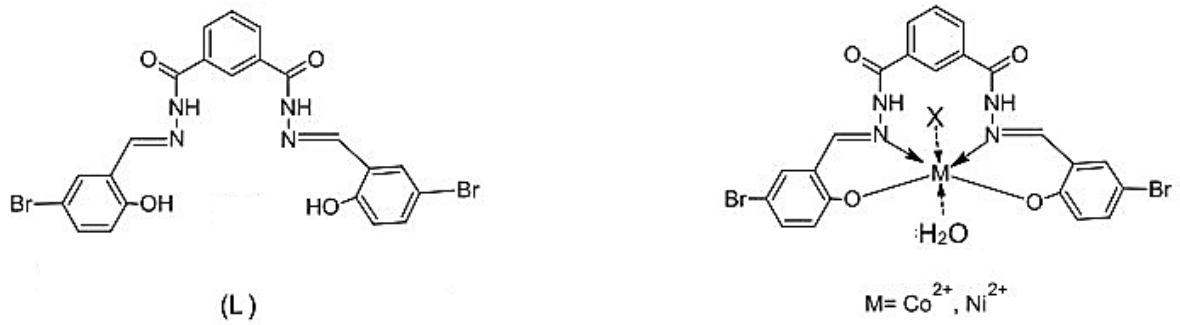
Şekil 1.39 Schiff bazı içeren Ni (II) metal komplekslerinin molekül yapısı

Davis ve arkadaşları Şekil 1.51'deki Schiff bazı ve Ni(II) kompleksleri sentezlenmiş ve oluşturulan yeni komplekslerin DNA'ya bağlanma değerleri artmıştır. MS sonuçları mezo-1,2-difeniletilediamin grubunu içeren metal komplekslerin DNA'ya bağlanma seçiciliğini de

arttırdığı gözlemlenmiştir. Schiff bazı içeren Ni(II) kompleksi DNA etkileşimleri incelendiğinde, komplekslerin DNA'ya interkalasyon yoluyla daha iyi bağlandığı gözlemlenmiştir (Davis et al. 2015).

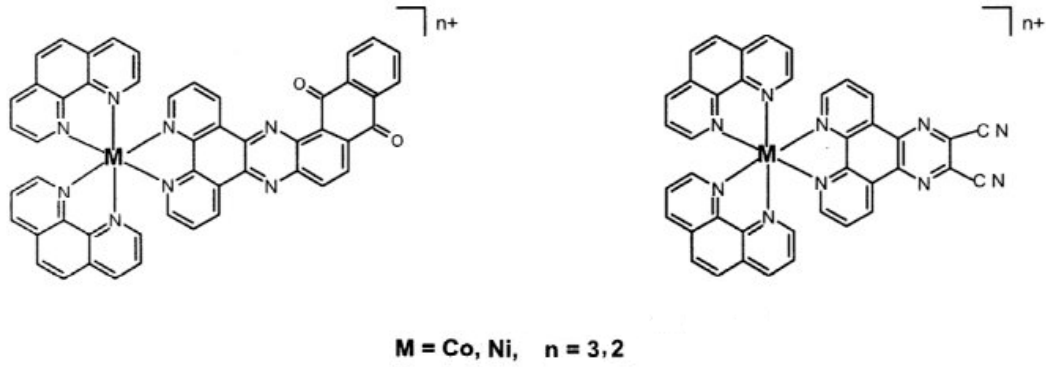
Xu ve arkadaşlarının sentezlediği kobalt ve nikel komplekslerin, başlangıçta DNA ile interkalasyon yapacağı düşünülmüştür. Fakat DNA etkileşimleri incelendikten sonra komplekslerin DNA'ya oluk üzerinden bağlandığı sonucuna ulaşmışlardır. Elde edilen bu komplekslerin DNA ile etkileştiğinde UV absorpsiyon değerinin 190-280 nm arasında hiperkromizm olduğu belirlenmiştir. Bu komplekslerin 412 nm'de floresans göstermiştir. Artan DNA derişimiyle floresans şiddetinin arttığı görülmüştür. Floresans şiddetindeki bu artış çeşitli spektroskopik yöntemlerle incelendiğinde sonucun interkalasyon bağlanma özelliği gösteren diğer bileşiklerden göre az olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Sonuç olarak bu sentezlenen komplekslerin DNA üzerinde ki oluğa bağlandığı gözlemlenmiştir. UV-Gör ve viskozite sonuçları incelendiğinde ise nikel kompleksinin kobalta göre DNA'ya daha iyi bağlandığını belirlenmiştir (Xu et al. 2008).

Pradeepa ve arkadaşları tarafından bir Schiff bazının Co(II) ve Ni(II) metal kompleksleri sentezlenmiş ve komplekslerin DNA etkileşimleri çeşitli yöntemler ile analiz edilmiştir (Pradeepa et al. 2013). Bu komplekslerin DNA ile etkileşim çalışmaları incelenirse, UV de olarak %20'lik değişim hipokromik etkisi, viskozitedeki meydana gelen artış da kobalt ve nikel komplekslerinin düşük derişimlerde DNA'yı bozması, bu komplekslerin DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığını göstermektedir. UV-Gör sonuçlarına göre de Co(II) kompleksinin DNA'ya bağlanma gücü Ni(II) kompleksinden daha fazla olduğu bulunmuştur (Sastri et al. 2003).



Şekil 1.40 Schiff baz ligandın ve Co(II) ve Ni(II) kompleksinin molekül yapısı.

Sastri ve arkadaşlarının sentezlediği nikel (II) veya kobalt (III) içeren ligand kompleksinin DNA etkileşimlerini çalışmışlardır. Yapılan analizlere dayanarak bu kompleksler için qdppz/dicnq için DNA ile bağlanma türü belirlenmiştir. Bu bağlanma türünün ise interkalasyon olduğu belirtilmiştir (Sastri et al. 2003). Bu çalışmadan çıkan sonuç ise qdppz/dicqq'un kobalt(III) ve nikel(II) bileşiklerinin DNA bağlanma sabitleri incelendiğinde nikel komplekslerinin daha güçlü etkileştiği sonucuna varılmıştır (Sastri et al. 2003).



Şekil 1.41 $[M(\text{phen})_2(\text{qdppz}/\text{dicqq})]^{n+}$ molekülünün yapısı.

Tüm bu çalışmalar ışığında, BTD ve türevlerinin DNA'ya iyi bağlanan bileşikler olduğu anlaşılmaktadır. Fenantrolin ve türevlerinin de yine DNA'ya bağlanan bileşiklerden olduğu giriş bölümünde detaylarıyla özetlenmiştir. Ayrıca organik düzlemsel ligandların nikel ile yaptığı komplekslerini içeren birçok DNA'ya bağlanma çalışması da literatürde bulunmaktadır.

Bu çalışmada BTD grubu ile genişletilmiş yeni bir fenantrolin türevi ligand (ipBTD) ve bu ligandın oktahedral nikel kompleksi $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ sentezlenerek DNA etkileşimleri araştırılacaktır.



BÖLÜM 2

MATERYAL VE METOD

2.1 MATERYALLER

2.1.1 Çözücü ve Kimyasallar

Bütün kimyasallar ve çözücüler analitik derecede ve saflaştırma yapılmadan kullanılmıştır. Reaksiyonlarda ve etkileşimlerde kullanılacak bütün sulu çözeltilerin hazırlanmasında Milli-Q su saflaştırma ünitesi kullanılmıştır. DNA etkileşim çalışmalarında pH'sı 7,5 olan 10 mM KCI-Tris tampon kullanılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan 1,10-fenantrolin (%99),7-Bromo-2,1,3-benzotiyadiazol-4-karboksaldehit, KCI, ve eter Aldrich firmasından, etanol, kloroform Merck firmasından temin edilmiştir.

DNA;

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 üç günden fazla buzdolabında saklanmamıştır. Bütün titrasyon işlemlerinde bu stok çözelti kullanılmıştır.

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

Elektroforez için 10xTBE tampon çözeltisi 10 kere seyreltilerek kullanılmıştır. Agaroz jel %1'lik agarozun kaynatılarak çözünmesiyle oluşan çözeltinin yavaşça soğutulmasıyla elde

edilmiştir. Jel üzerinde yürüme mesafesinin görülebilmesi için tüm karışımlara boya çözeltisi eklenmiştir. Boya çözeltisi bromofenol mavisinin %40'lık sükröz çözeltisinde çözülmesiyle elde edilmiştir. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel EtBr ile 30 d boyanmıştır. Daha sonra 30 d su ile yıkandıktan sonra görüntüleme cihazı kullanılarak fotoğrafları çekilmiştir.

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

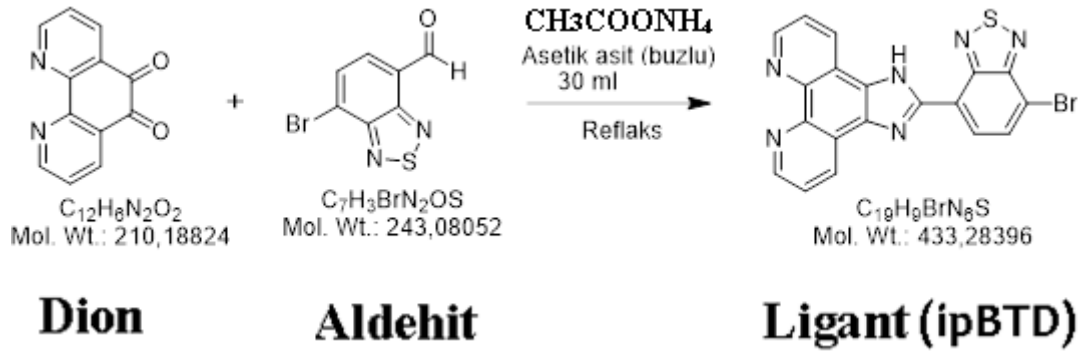
Tandem Gold

2.2.6 Jel Elektroforez

Thermo Electron Corporation EC-330 Midicell Primo

2.3 BİLEŞİKLERİN SENTEZİ

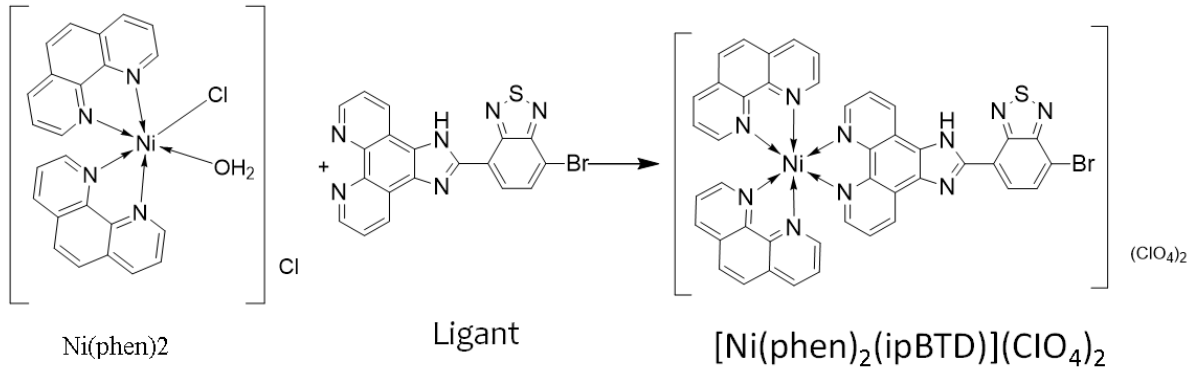
2.3.1 4-bromo-7-imidazo[4,5-f][1,10]fenanthrolin-2-il)benzo[c][1,2,5]tiyodiazol sentezi



Şekil 2.1 4-bromo-7-imidazo[4,5-f][1,10]fenanthrolin-2-il)benzo[c][1,2,5]tiyodiazol (1) sentezi.

30 ml Asetik asit (HAc) üzerine 1,10-Fenantrolin-5,6-dion (231 mg, 1,1mmol) eklenerek karıştırıldı ve karışıma 7-bromo-2,1,3-benzotiyodiazol-4-karboksialdehit (243 mg, 1,0 mmol) ve 0,5 g Amonyum asetat ilave edilerek 170°C'de geri soğutucu altında 4 saat karıştırıldı. Turuncu çökelek oluşuktan sonra reaksiyon sonlandırıldı. Karışım bir beher içerisine alınarak damla damla amonyak ilavesi ile nötralize olması sağlandı. Çökelek süzülerek ayrıldıktan sonra kalan süzüntü içerisine buz ilave edilerek çökmesi sağlandı. Elde edilen çökelekler birleştirildikten sonra etüvde kurumaya bırakıldı. 415 mg 4-bromo-7-imidazo[4,5-f][1,10]fenanthrolin-2-il)benzo[c][1,2,5]tiyadiazol sentezi %95,8 verimle elde edildi. **FT-IR** (ν cm^{-1}): 3275, 3029 (N-H), 2161, 1613 (C=N), 1561, 1504, 1491, 1470, 1440, 1425, 1362, 1324, 1257, 1230, 1190, 1117, 1087, 1023, 965, 939, 915. **¹H NMR:** (400 MHz, DMSO, λ_{ppm}), 13,80 (s, 1H, H9), 9,22 (dd, 1H, H8), 9,06 (dd, 2H, H5, H6), 8,98 (dd, 1H, H3), 8,48 (d, 1H, H2), 8,29 (d, 1H, H1), 7,86 (t, 2H, H4, H7). **MALDI-MS:** m/z (M)= (M+H) hesaplanan 433; bulunan (M+H)= 433.

2.3.2 2,2'-bis(imidazo[1,2-*a*]piridin-8-il)-3*H*,3'*H*-5,5'-bibenzo[*d*]imidazol Sentezi



Şekil 2.2 2,2'-bis(imidazo[1,2-*a*]piridin-8-il)-3*H*,3'*H*-5,5'-bibenzo[*d*]imidazol (**2**) sentezi.

Ligant (100mg 0,23mmol) ayrı bir beherde kloroformda çözünerek hazırlandı. 25 ml etanolde (117mg 0,23mmol) $[\text{Ni(phen)}_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$ çözeltisi hazırlanarak üzerine önceden hazırlanmış L1 çözeltisi ilave edildi. Geri soğutucu altında 3,5 saat boyunca karıştırıldı. Sarı çökelek oluşunca reaksiyon sonlandırıldı ve soğutulduktan sonra süzülerek ayrılan çökelek etüvde kurumaya bırakıldı. 121 mg $[\text{Ni(phen)}_2(\text{BTD})]^{2+}$ %71,2 verimle elde edildi. EN: 320-330 °C. **FT-IR** ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 3275, 3079(N-H), 1609, 1583, 1537, 1518, 1495, 1473, 1456, 1426, 1404, 1365, 1342, 1326, 1243, 1191, 1144, 939, 917, 881, 869, 844, 811, 784, 725, 710, 660. **MALDI-MS**: m/z (M)= (M)²⁺= 426; (M)= (M-H)⁺= 851, (M)= (M-HBr)⁺= 711.

2.4 UV TİTRASYONU

2,5 ml kompleks çözeltisi 5 mM KCl-TRIS (pH=7,5) tamponu kullanılarak UV kuvarz küvetinde hazırlandı. Absorbsiyon spektrumu kaydedildi. Üzerine 2µl porsiyonlar halinde aynı tamponda hazırlanan 2,5 mM DNA çözeltisi eklendi ve her seferinde Pastör pipet yardımıyla karıştırılarak inkübe olması için 5 dk beklendikten sonra absorpsiyon spektrumu kaydedildi. Spektrumda değişim durana kadar titrasyona devam edildi. Elde edilen veriler grafiğe geçirilerek ligantın bağlanma sabiti hesaplandı. Ölçüm boyunca küvet ısısı 25 °C'de sabit tutuldu.

2.5 FLORESANS TİTRASYONU

2.5.1 Floresans Değişimi

2,5 ml kompleks çözeltisi 5 mM KCl-TRIS (PH=7,5) tamponu kullanılarak cam küvete hazırlandı ve uygun dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumu kaydedildi. Titrasyon için, 2µl porsiyonlar halinde aynı tamponda hazırlanan 2,5 mM DNA çözeltisi eklendi ve her seferinde Pastör pipet yardımıyla karıştırılarak inkübe olması için 5 dk beklendikten sonra emisyon spektrumu kaydedildi. Spektrumda değişim durana kadar titrasyona devam edildi. Elde edilen verilerden bağlanma sabiti hesaplandı. Ölçüm boyunca küvet ısısı 25 °C'de sabit tutuldu.

2.5.2 EtBr ile Yarışmalı Floresans Çalışması

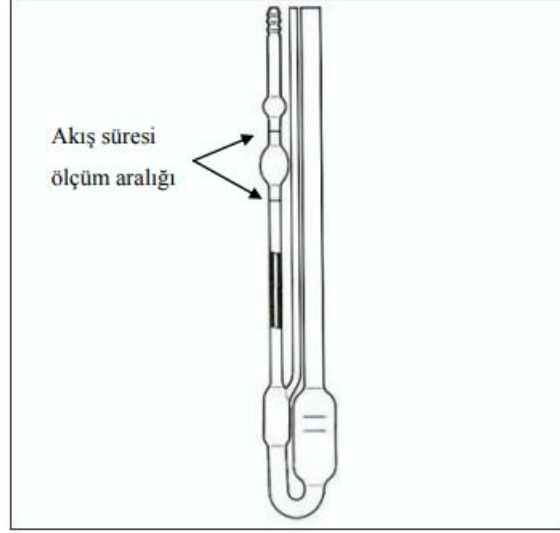
Yarışmalı floresans çalışması için, 5 mM KCl-TRIS (PH=7,5) tamponunda hazırlanan EtBr çözeltisi 2,5 ml 20 µM olacak şekilde cam küvette hazırlandı. 543 nm dalga boyunda uyarıldı ve 550-750 nm arasında emisyon spektrumu kaydedildi (slit= 2,5-2,5). Daha sonra EtBr çözeltisine aynı tamponda hazırlanan 100 µM DNA çözeltisi ilave edildi ve etkileşim için 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 30 dk sonunda 543 nm dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumu kaydedildi. Üzerine aynı tamponda hazırlanan 10 µL porsiyonlar halinde 1mM kompleks çözeltisi eklenerek inkübasyon için 5 dk beklendikten sonra spektrum kaydedildi. Spektrumda değişim durana kadar titrasyona devam edildi. Ölçüm boyunca küvet ısısı 25 °C'de sabit tutuldu.

2.5.3 Hoechst 33258 ile Yarışmalı Floresans Çalışması

Hoechst ile yarışmalı floresans çalışması için, 5 mM KCl-TRIS (PH=7,5) tamponunda hazırlanan Hoechst çözeltisi 2,5 ml 1,25 µM olacak şekilde cam küvette hazırlandı. 365 nm dalga boyunda uyarıldı ve 370-640 nm arasında emisyon spektrumu kaydedildi (slit=2,5-2,5). Daha sonra Hoechst çözeltisine aynı tamponda hazırlanan 12,5 µM DNA çözeltisi ilave edildi ve etkileşim için 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve emisyon spektrumu kaydedildi. Üzerine 10 µL porsiyonlar halinde 1mM kompleks çözeltisi eklenerek inkübasyon için 5 d beklendikten sonra spektrum kaydedildi. Spektrumda değişim durana kadar titrasyona devam edildi. Ölçüm boyunca küvet ısısı 25 °C'de sabit tutuldu.

2.6 VİSKOZİTE ÇALIŞMASI

Viskozimetri çalışmasında Ubbelohde viskozimetresi kullanıldı (Şekil 2.3). Digital su banyosu sıcaklığı 30 °C ayarlandı.



Şekil 2.3 Ubbelohde vizkozimetresi.

Ölçümünde kullanmak için KCl-TRIS tamponu içerisinde 12 ml 100 μ M DNA ve 2 mM kompleks çözeltisi hazırlandı. İlk olarak DNA çözeltisi kolona eklendi ve dijital bir kronometre kullanılarak akış hızı süresi ölçüldü. Daha sonra kompleks çözeltisinden 50 μ l'lik porsiyonlar halinde DNA çözeltisine eklendi, her eklemenin ardından karışım çalkalanarak 5dk etkileşimin tamamlanması için beklendi ve dijital kronometre yardımıyla akış hızı süresi 3 defa ölçüldü. Değişim durana kadar ölçüme devam edildi. Kaydedilen verilerin ortalaması alınarak bağıl viskozite değeri hesaplandı ve DNA derişimine karşı grafiğe geçirildi.

2.7 AGOROZ JEL ELEKTROFOREZ ÇALIŞMASI

Agoroz jel; 1,5 gr agaroz 15 ml TBE ve 135 ml saf su içinde kaynatılıp iyice çözüldükten sonra oda sıcaklığında ilk sıcaklığı geçene kadar bekletildi ve kalıp kabına döküldü. Kullanılan DNA(20 ng/ μ L plazmid DNA çözeltisi), bileşikler KCl-TRIS tamponu içinde hazırlandı.

Jele yüklenecek çözeltiler karanlık ortam ve DNA nötralizasyon deneyleri için: 10 µl plazmid DNA + 10 µl bileşik,

Hidrojen peroksit deneyleri için, 10 µl plazmid DNA + 8 µl bileşik ve 2 µl H₂O₂.

Hazırlanan çözeltiler 1 saat karanlıkta 38 °C’de inkübe edildi. İnkübe işlemi bittikten sonra her çözeltiliye 5 µl bromo fenol mavisi boya eklenip iyice karıştırıldıktan sonra çözeltilerden 10 µl alınarak jele ekildi. 35 Voltta 180 dakika yürütüldükten sonra jel EtBr içinde (5 mg/ml etidyum bromürün 30 µl’si 500 ml suya eklenerek hazırlanmıştır.) 30 dk boyandı ve 30 dk EtBr’nin fazlası alınması için saf su içinde bekletildikten sonra fotoğrafı çekildi.



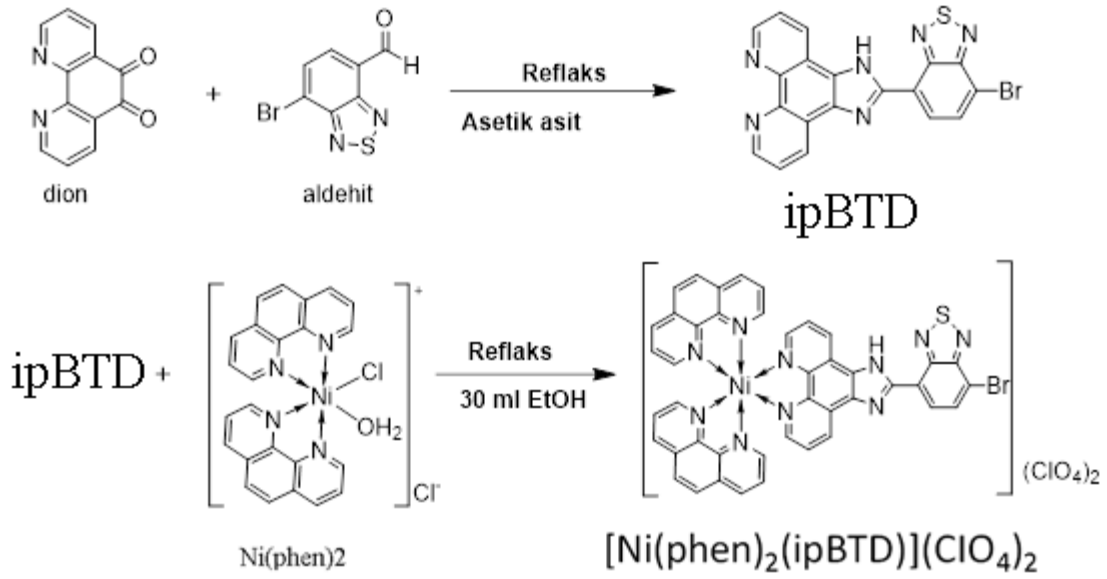


BÖLÜM 3

SONUÇLAR

3.1 SENTEZ

BTD türevi ve onun Nikel kompleksi aşağıdaki şemaya uygun olarak sentezlenmiştir.



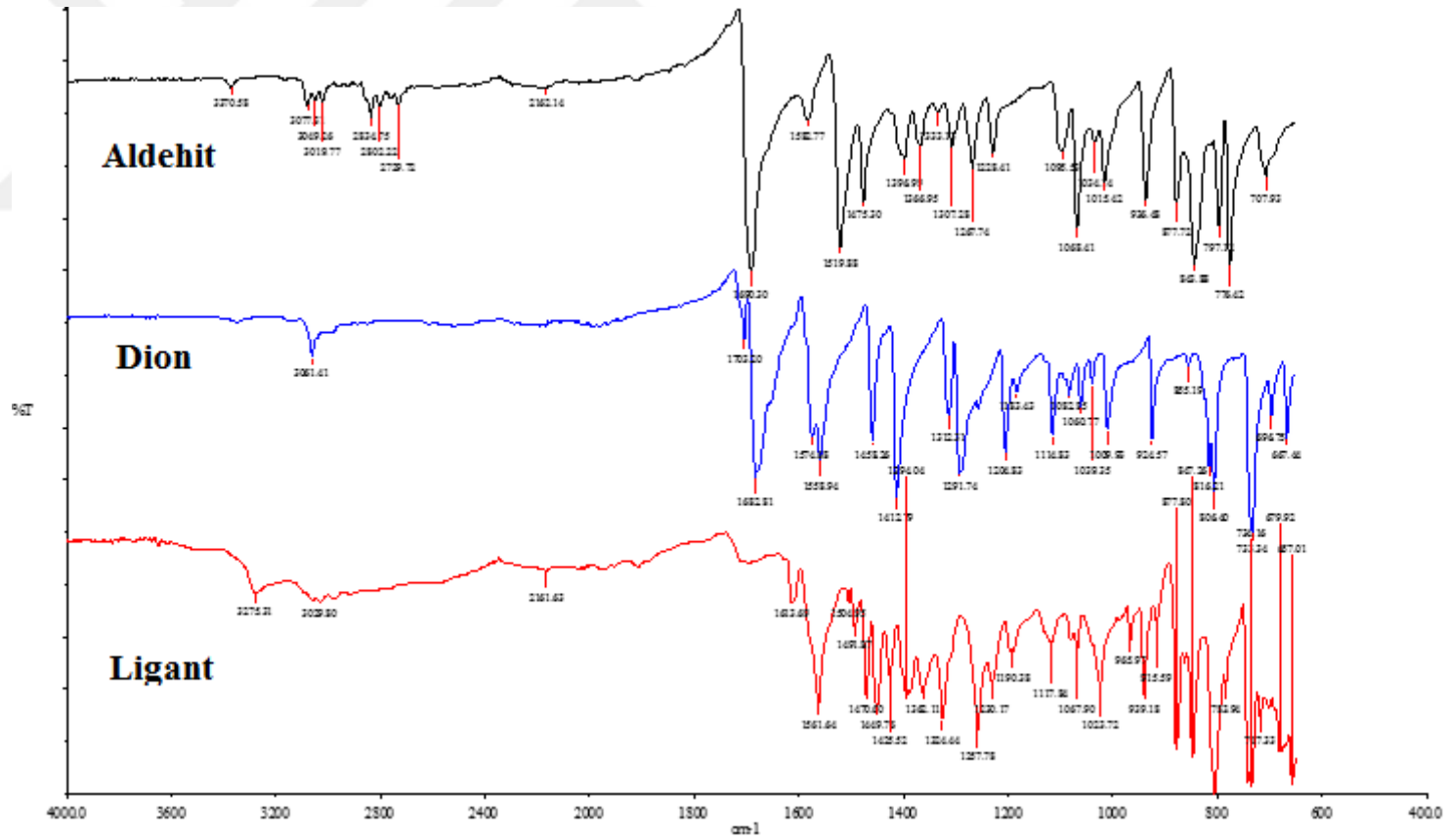
Şekil 3.1 BTD türevi ligant (ipBTD) ve [Ni(phen)₂(ipBTD)]²⁺ kompleksinin sentez şeması.

3.1.1 4-bromo-7-imidazo[4,5-f][1,10]fenanthrolin-2-il)benzo[c][1,2,5]tiyodiazol sentezi

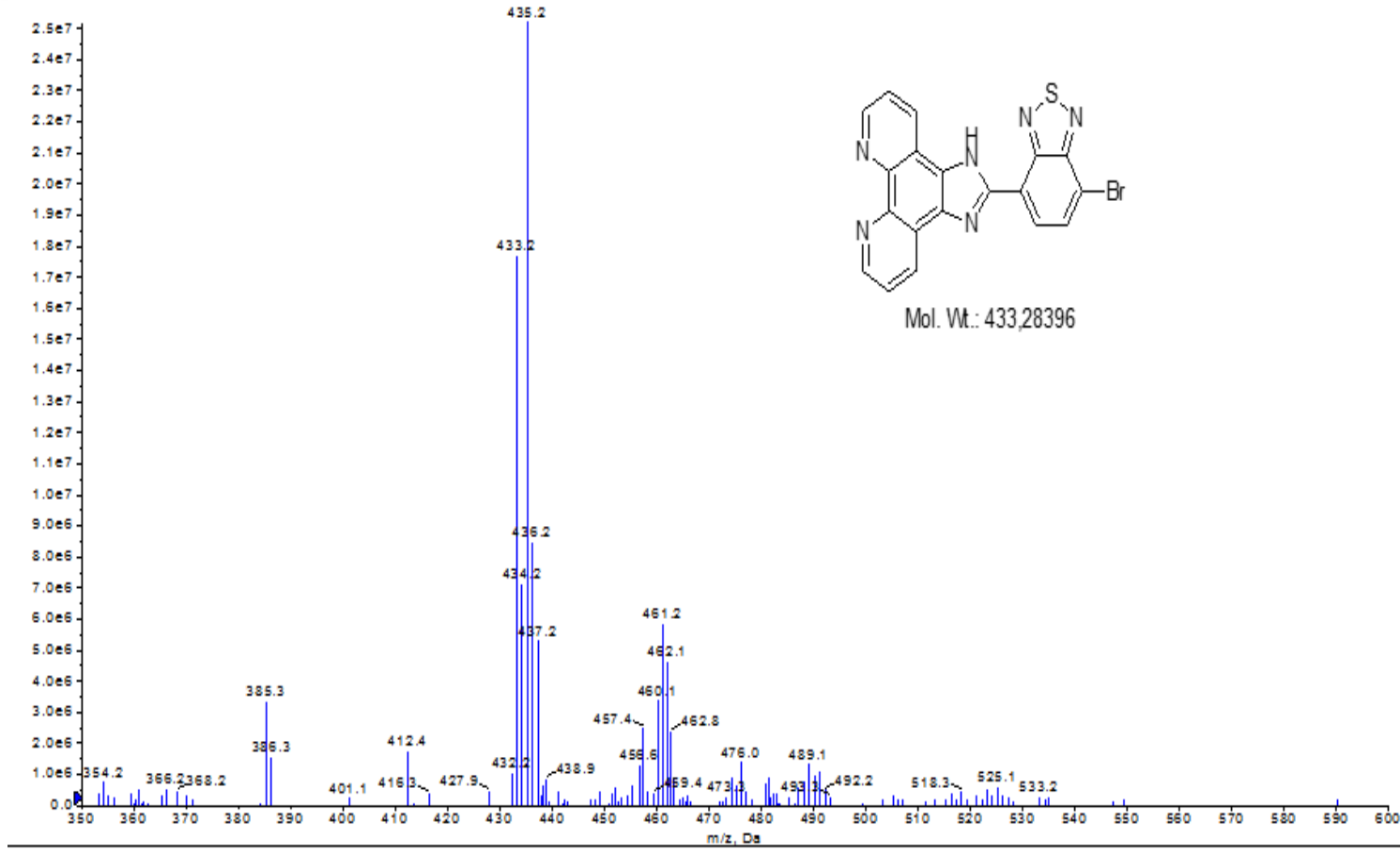
4-bromo-7-imidazo[4,5-f][1,10]fenanthrolin-2-il)benzo[c][1,2,5]tiyodiazol (1) (Şekil3.1), Asetik asit içerisinde 1,10-Fenantrolin-5,6-dion çözüldükten sonra 7-bromo-2,1,3-benzotiyodiazol-4-karboksialdehit ve Amonyum asetat ilave edilerek 4 saat geri soğutucu altında karıştırılmasıyla % 95.8 verimle elde edildi.

FT-IR spektrumunda başlangıç maddelerinin her ikisinde de karbonil grubu bulunduğundan bu maddelerde 1720 cm⁻¹'de çok şiddetli C=O gerilme piki görülmektedir. Ancak reaksiyon sonunda oluşan ürüne ait IR spektrumunda (Şekil 3.1) bu pik görülmemektedir. Bu durum başlangıç maddelerinin karbonil gruplarının değiştiğini, oluşan ürünün IR spektrumunda

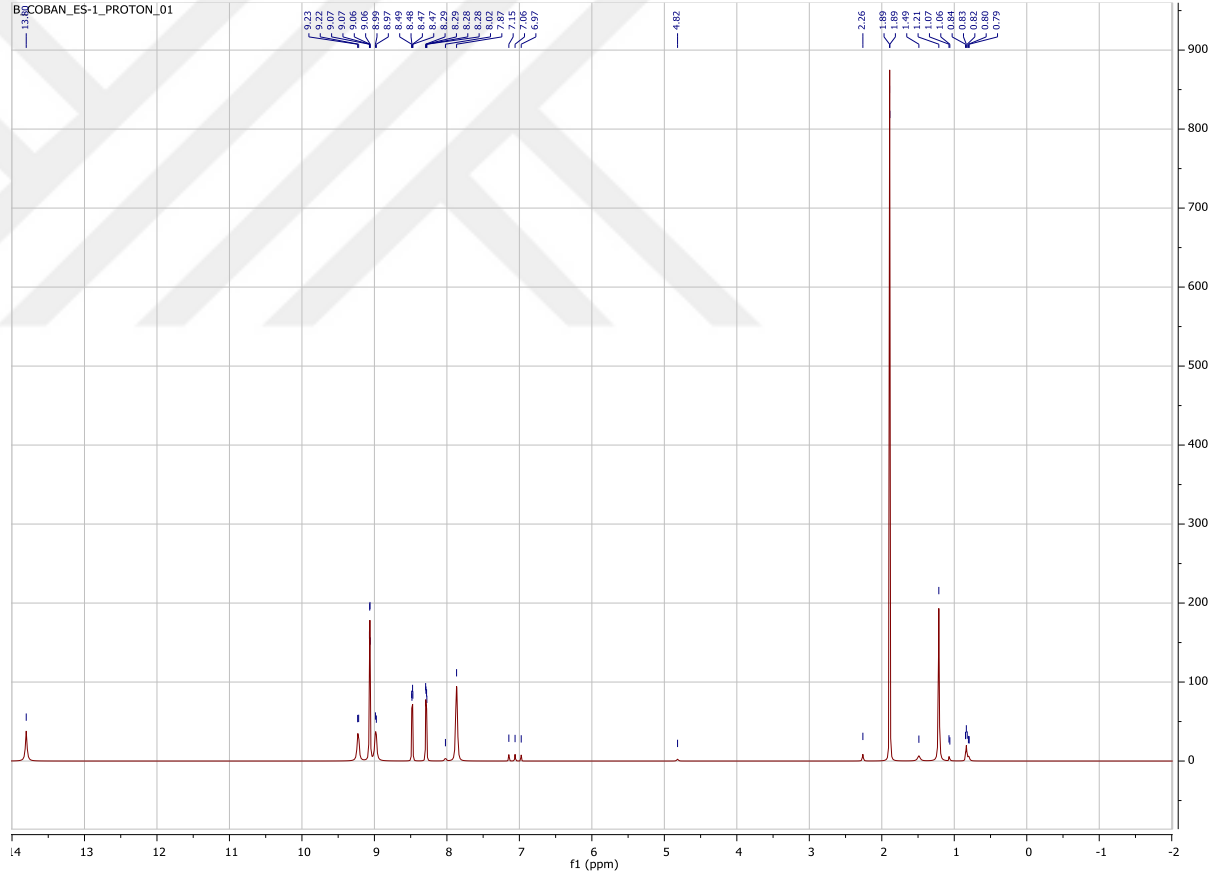
gözlendiği 1613 cm^{-1} de C=N ve 3275 cm^{-1} de N-H piki sentezin gerçekleştiğini göstermektedir. ESI-MS spektrumunda (Şekil 3.3) $m/z=433$ 'te görülen M+H piki tasarlanmış olan bileşiğin sentezlendiğini kanıtlamaktadır. Ligand'a ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (Şekil 3.5) molekülün yapısı ile uyumludur. Ligandın aromatik pikler beklendikleri yerlerde gelmişlerdir. İmidazol halkasında bulunan 9 numaralı -NH protonu halkadaki rezonanstan dolayı yüksek alana kaymıştır. Fenantrolin halkasındaki azotlara komşu olan 5 ve 6 numaralı protonlar daha yüksek alanda gelirken 8 ve 3 numaralı protonlar halkadaki elektronegatif kükürt ve azot atomlarından etkilenerek yarılmış ve daha yüksek alanda gelmiştir. 1 ve 2 numaralı protonlar arasında ise 2 numaralı proton daha elektronegatif atom olan broma yakın olduğu için 1 numaralı protona göre daha yüksek alanda pik vermiştir. $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda, görünen 19 pik karbon sayısının tuttuğunu göstermektedir. Fenantrolin halkasına bağlı azota atomlarına yakın karbonların daha yüksek alana kaymış olduğu düşünülmektedir.



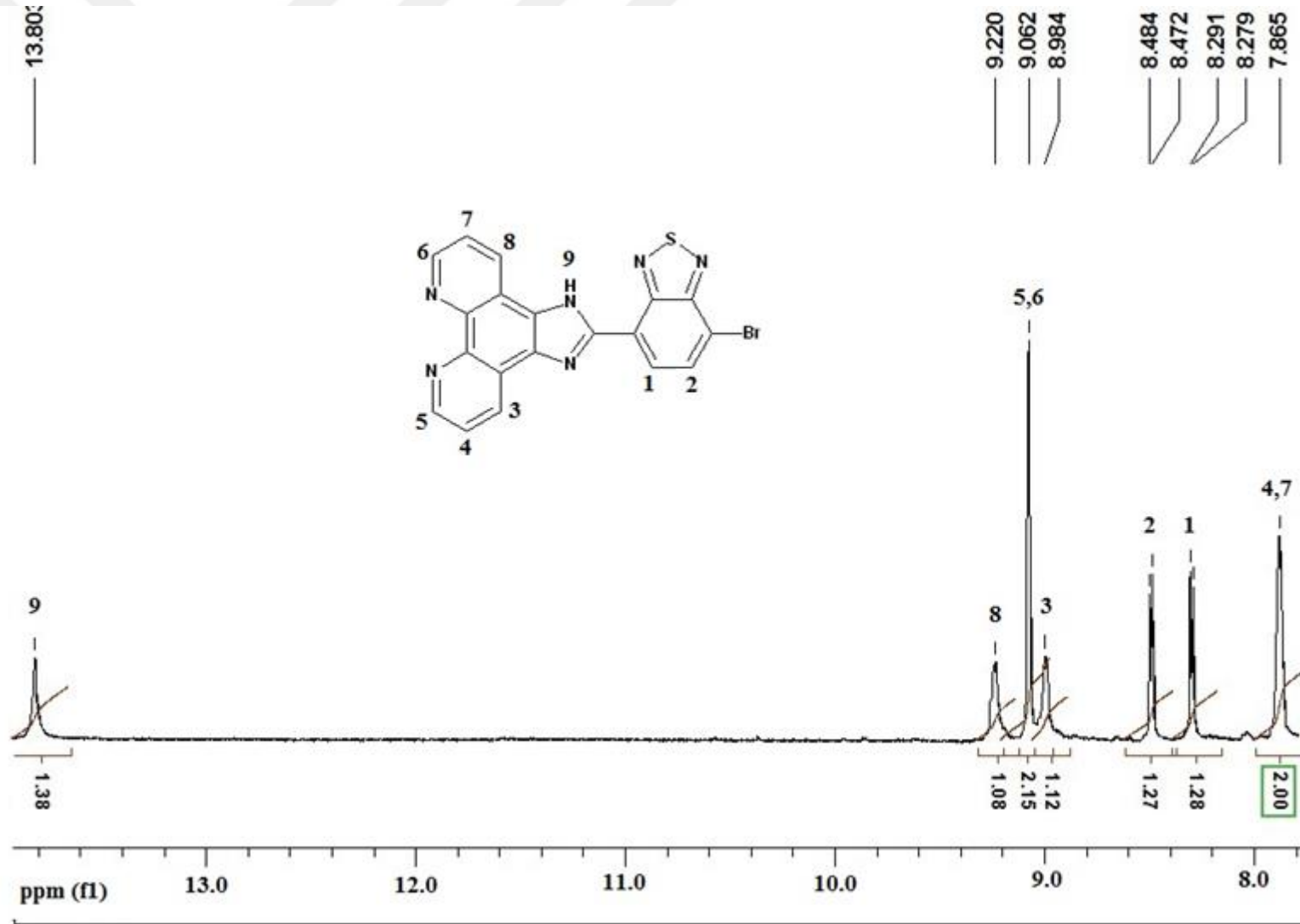
Şekil 3.2 Liganda (ipBTD) ait IR spektrumu.



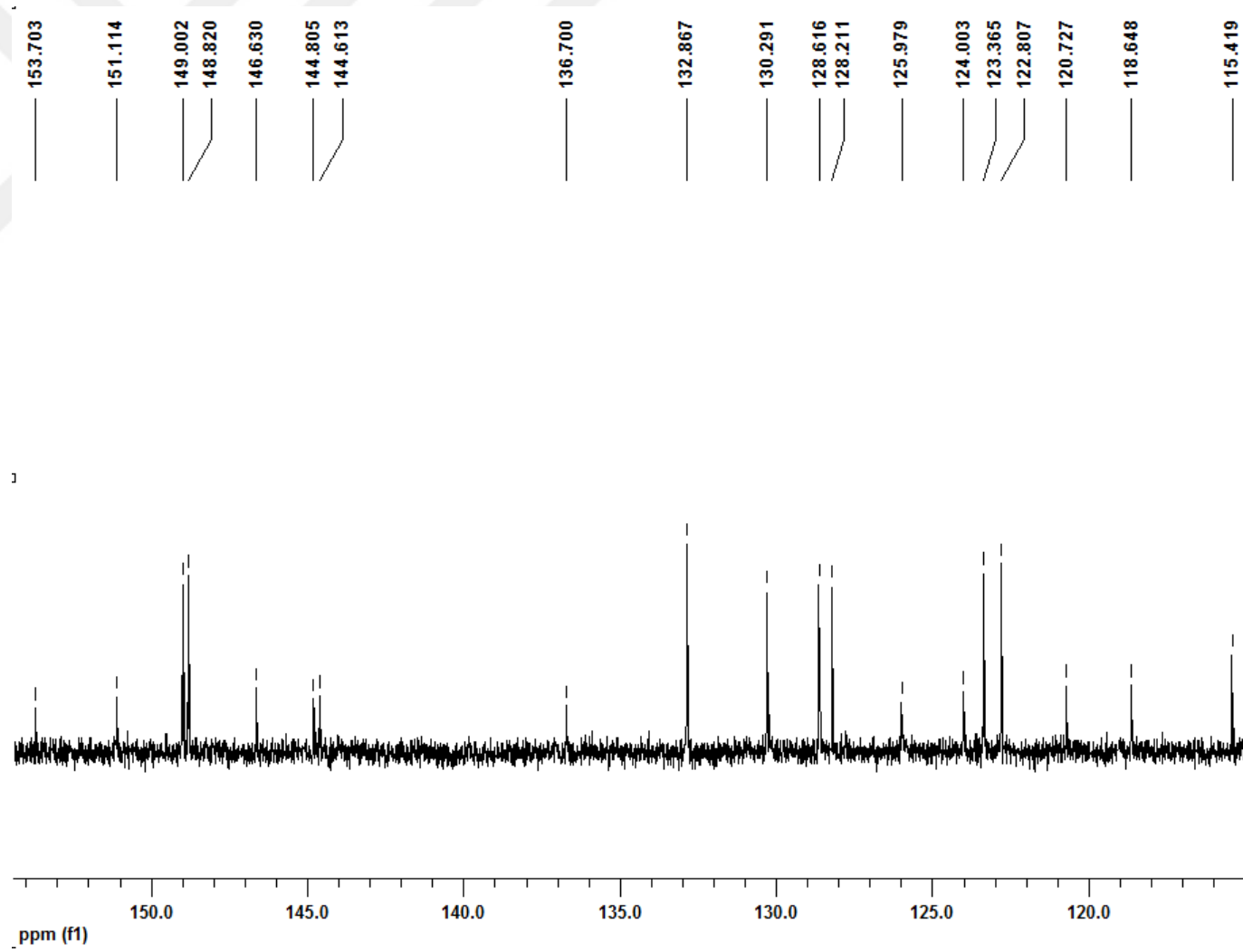
Şekil 3.3 Liganda (ipBTD) ait kütle spektrumu.



Şekil 3.4 Liganda (ipBTD) ait ^1H NMR spektrumunun açık hali.



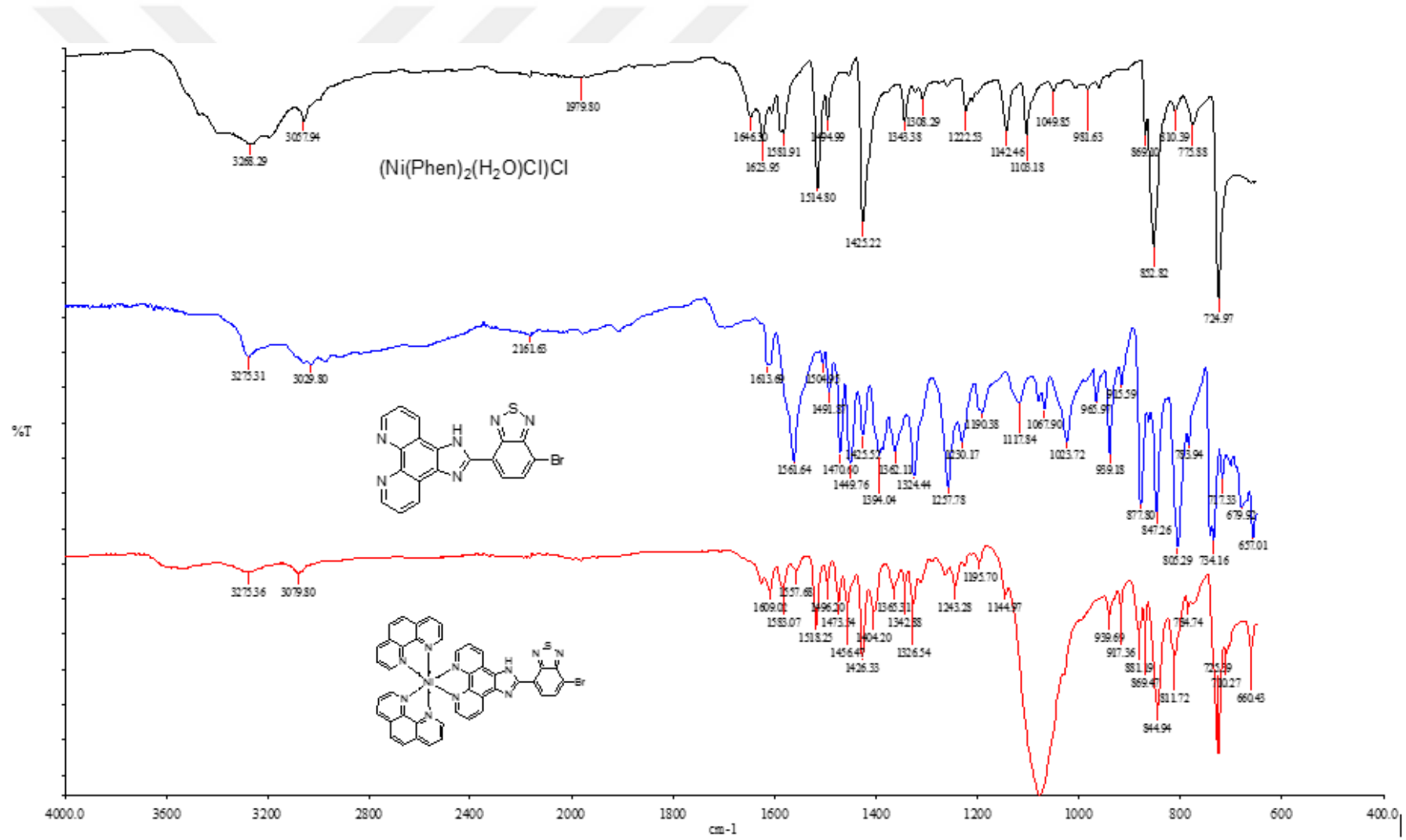
Şekil 3.5 Liganda (ipBTD) ait ^1H NMR spektrumu.



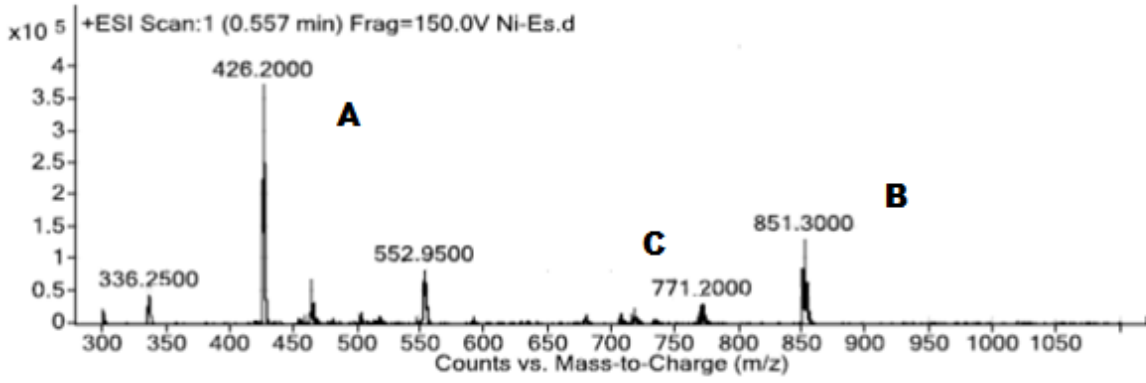
Şekil 3.6 Liganda (ipBTD) ait ^{13}C NMR spektrumu.

3.1.2 [Ni(phen)₂(ipBTD)]⁺² Kompleksinin Sentezi

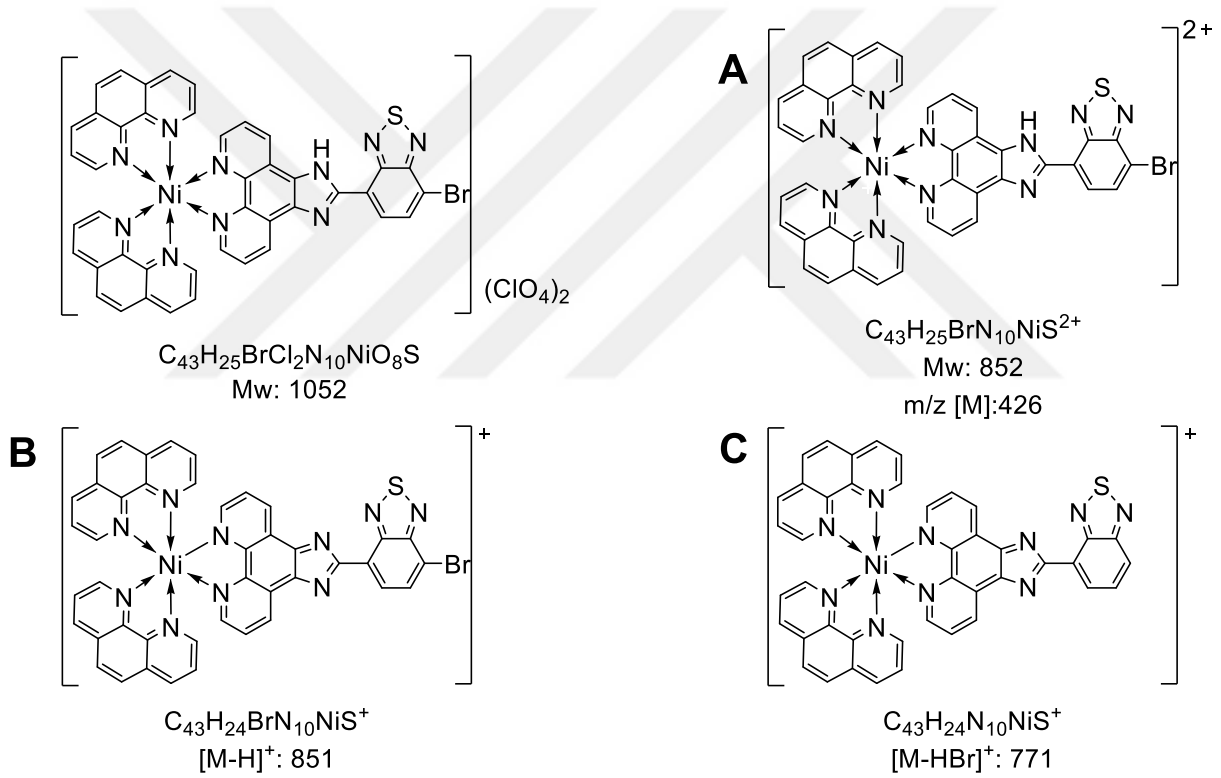
[Ni(phen)₂(ipBTD)]⁺² kompleksinin sentezi (Şekil 3.1), kloroformda çözünen Ligant ve önceden hazırlanmış olan [Ni(phen)₂(H₂O)Cl]Cl bileşiği etanol içerisinde 3,5 saat geri soğutucu altında karıştırılarak % 71,2 verimle [Ni(phen)₂(ipBTD)](ClO₄)₂ kompleksi sarı pudra olarak (C₄₃H₂₅BrCl₂N₁₀NiO₈S) elde edildi. FT-IR spektrumunda (Şekil 3.7) 3265 cm⁻¹ civarı oluşan pikin, komplekste 3275 cm⁻¹'ye kayması liganta metalin bağlanarak kompleksin oluştuğunu göstermektedir. ESI-MS spektrumunda (Şekil 3.8) [C₄₃H₂₅BrN₁₀NiS-Cl₂O₈] molekülü için [C₄₃H₂₅BrN₁₀NiS]²⁺ hesaplanan M= 852,20 (% 97), bulunan m/z= 851 [M-H]⁺, m/z= 771'de görülen [M-HBr]⁺ ve m/z= 426'da [M]²⁺ pikleri (Şekil 3.9) tasarlanan kompleksin sentezlenmiş olduğunu göstermektedir. Ayrıca sentezin gerçekleştiğini kanıtlayabilmek için reaksiyona giren maddelerin ve sentezlenen kompleksin UV spektrumları karşılaştırılmıştır (Şekil 3.10). Liganta ait spektrumda 272 nm'de ve 423 nm'de iki pik bulunmaktadır. [Ni(phen)₂]²⁺'de ise 269 nm'de geniş bir band ve 295 nm'de bir omuz bulunmaktadır. Kompleksin spektrumuna gelindiğinde piklerin birleşerek 267 nm'de daha büyük bir pik ve yine 295 nm'de geniş omuzu görülmektedir. Liganda ait 423 nm'deki diğer geniş bandın 408 nm'ye kayması [Ni(phen)₂(ipBTD)]⁺² kompleksinin oluştuğunu kanıtlamaktadır. Nikel kompleksi paramanyetik özellik gösterdiğinden NMR spektrumu kaydedilememiştir.



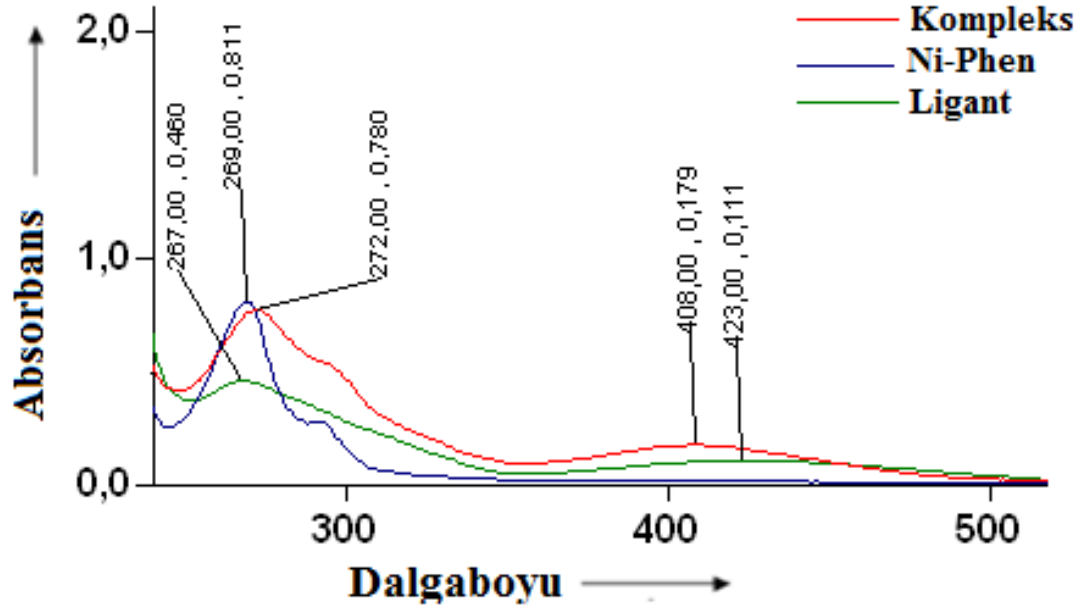
Şekil 3.7 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksine ait IR spektrumu.



Şekil 3.8 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksine ait kütle spektrumu



Şekil 3.9 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin kütle spektrumuna ait yapılar



Şekil 3.10 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$, $[\text{Ni}(\text{phen})_2]^{2+}$ komplekslerinin ve Ligandın (ipBTD) UV spektrumlarının karşılaştırılması

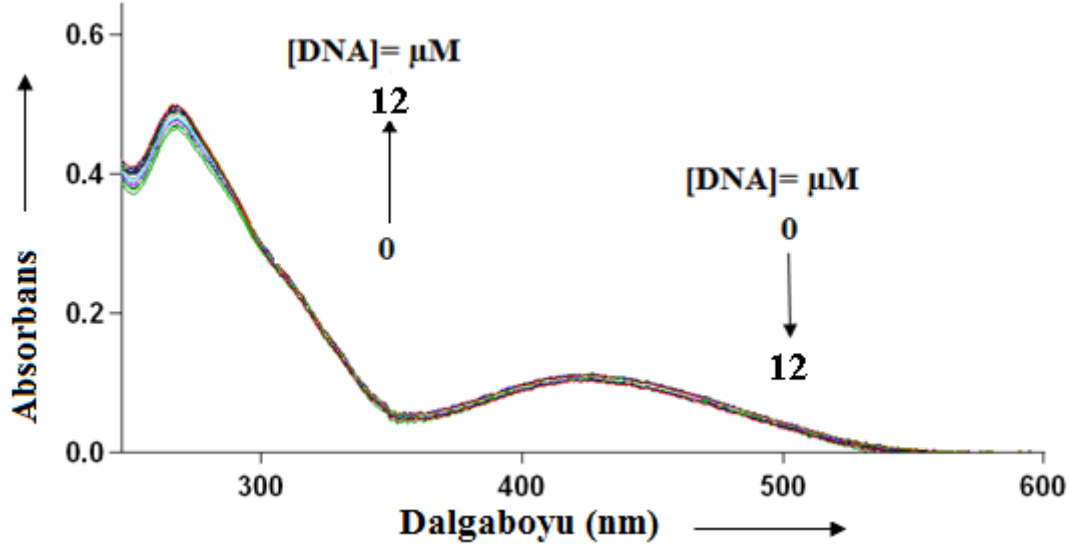
Çizelge 3.1 Sentezlenen bileşiklerin fiziksel özellikleri

Bileşikler	Erime Noktası (°C)	Renk	Çözücü	Kütle (g/mol)	λ_{max} (nm)	λ_{em} (nm)
Ligant	260-280	Turuncu	DMSO, DMF, Kloroform	433,2	408	420
Kompleks	320-330	Sarı	DMSO, DMF, Kloroform	1051,3	423	427

3.2 BİLEŞİKLERİN DNA İLE ETKİLEŞİMLERİ

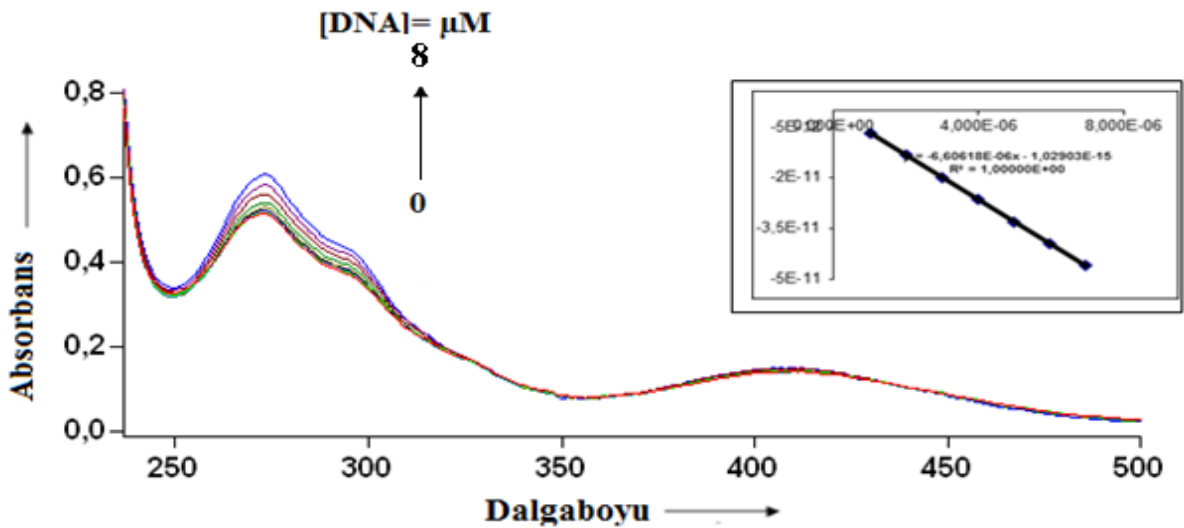
3.2.1 UV Titrasyon Sonuçları

UV-Gör titrasyon spektrumlarında 5 mM KCl-Tris tamponu içinde hazırlanan **ligant** ve **kompleks** çözeltilerinin absorpsiyonu kaydedilmiştir. Çözelti üzerine artan miktarda aynı tampon içerisinde hazırlanan DNA eklenmesiyle bileşiklerin absorbasında oluşan değişim gözlemlenmeye çalışılmıştır.



Şekil 3.11 Ligant (ipBTD) ($40 \mu\text{M}$) çözeltisinin DNA çözeltisi ($0-12 \mu\text{M}$) ile titrasyonu sonucu UV-gör spektrumda oluşan değişim.

$40 \mu\text{M}$ ligant çözeltisinin KCl-Tris tamponu içerisinde hazırlanan çözeltisine artan derişimde DNA çözeltisi eklenmesiyle absorbansında oluşan değişim görülmektedir (Şekil 3.11). Ligantın absorpsiyon spektrumunda 275 ve 408 nm 'de maksimum absorbans pikleri görülmektedir. Ayrıca 350 nm 'de izosbestik nokta bulunmaktadır. 275 nm 'deki hiperkromizm ve 408 nm 'deki hipokromizm $\%10$ 'dan az olduğu için bağlanma sabiti hesaplanamamıştır.



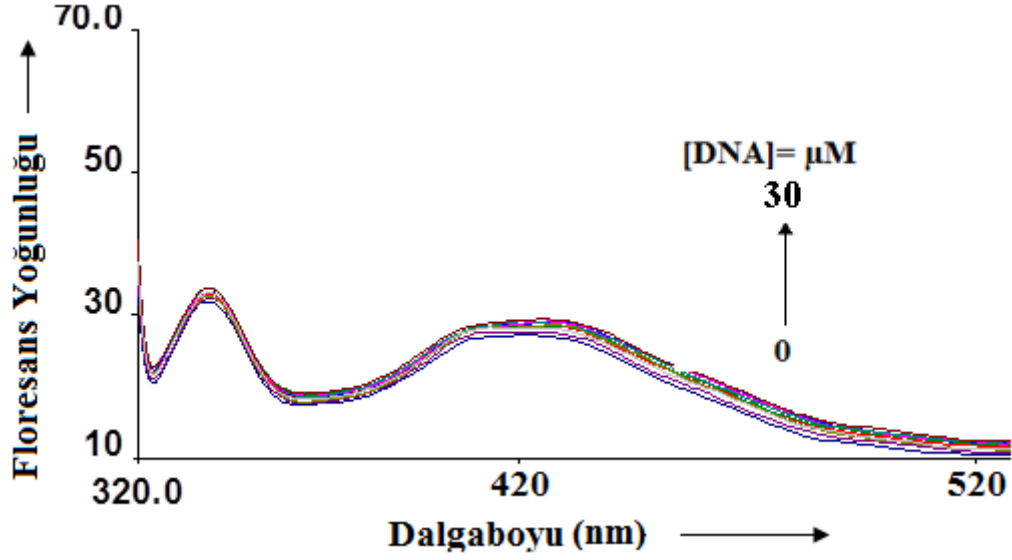
Şekil 3.12 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin ($40 \mu\text{M}$) çözeltisinin DNA çözeltisi ($0-8 \mu\text{M}$) ile titrasyonu sonucu UV-Gör spektrumda oluşan değişim.

Kompleksinin tamponda hazırlanan 40 µM çözeltisinin absorpsiyon spektrumu görülmektedir (Şekil 3.12). Sentezlenen $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin absorpsiyon spektrumu incelendiğinde kompleks 267 ve 423 nm’de iki absorpsiyon vermektedir. Kompleks çözeltisine DNA eklenmesiyle 267 nm’deki fenantrolin pikinde absorbansta meydana gelen artış (hiperkromizm), 423 nm’deki pikte ise değişiklik görülmemektedir. Komplekste gözlemlenen hiperkromizm oranı %18’dir. 267 nm’deki pik baz alınarak hesaplanan bağlanma sabiti değeri; $6,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ’dir. Kompleksin bağlanma sabiti göz önünde bulundurulunca interkalasyon yapması beklense de absorbandsa gözlemlenen %18’lik hiperkromizm, DNA’nın ikincil yapısının bozularak konformasyonun değiştiğini, kompleksin oyuklardan ya da elektrostatik çekim ile DNA’nın dış kısmındaki fosfat gruplarından bağlanmış olabileceğini göstermektedir. Xu ve arkadaşlarının sentezlediği nikel komplekslerinin, daha önceki gibi DNA ile interkalasyon yapacak şekilde etkileşeceği beklense de, DNA-Kompleks çalışma sonuçları DNA’ya interkalasyon yoluyla değil de oluk üzerinden bağlandığı tespit edilmiştir (Xu et al. 2008). Literatürdeki diğer nikel kompleksleriyle karşılaştırıldığında ortalama bir bağlanma sabiti olduğunu görüyoruz, $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{qbdp})]^{2+}$ ve $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{dppz-idzo})]^{2+}$ komplekslerinin sırasıyla bağlanma sabitleri $6,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $3,7 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur (Prabhakara et al. 2002; Abulhasanov, 2018).

3.2.2 Floresans Titrasyon Sonuçları

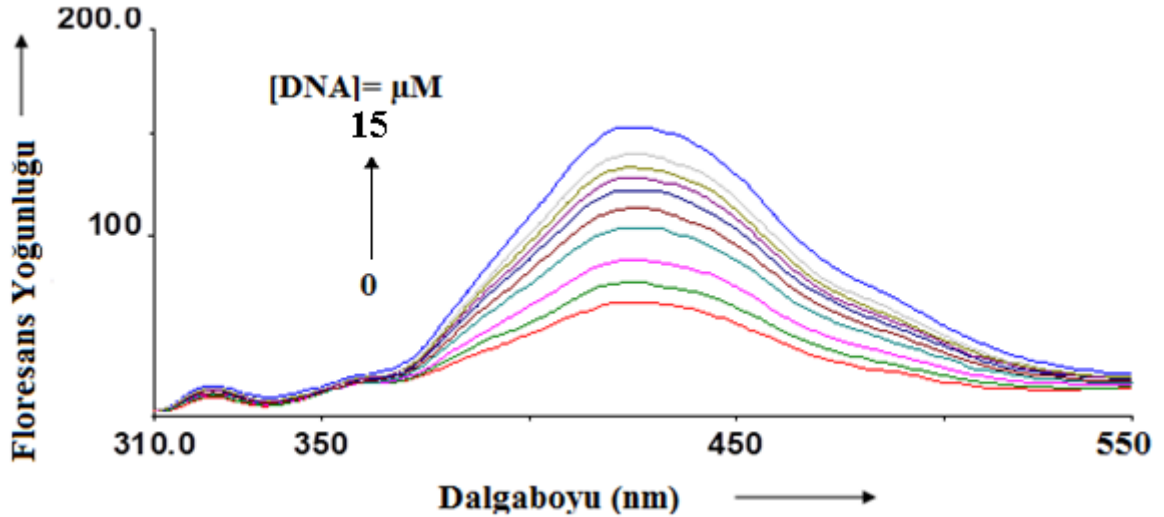
3.2.2.1 Floresans Değişimi

Floresans titrasyon spektrumlarında 5 mM KCl-Tris tamponu içinde hazırlanan ligant ve kompleks çözeltileri uygun dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumları kaydedilmiştir. Çözeltiler üzerine aynı tampon içerisinde hazırlanan DNA eklenmesiyle bileşiklerin emisyonunda oluşan değişimler gözlemlenmeye çalışılmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.13 Ligant (ipBTD) (40 μM) çözeltisinin DNA çözeltisi (0-30 μM) ile titrasyonu sonucu floresans spektrumunda oluşan değişim.

40 μM ligant, 275 nm’de uyarılarak 420 nm’de emisyon spektrumu kaydedilmiştir. Ligantın düşük floresans özelliğe sahip olduğu görülmektedir (Şekil 3.13). Artan DNA ilavesi ile hiperkromizm gözlenmiş olsa da hiperkromizm oranı %10’dan azdır ve zayıf bir etkileşim olduğu düşünülmektedir. Aynı durum UV titrasyonunda da görülmüştür. Bu yüzden ligant ve DNA arasındaki bağlanma sabiti hesaplanamamıştır.



Şekil 3.14 $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksinin (40 μM) çözeltisinin DNA çözeltisi (0-15 μM) ile titrasyonu sonucu floresans spektrumunda oluşan değişim.

Kompleksin aynı tamponda hazırlanan çözeltisi 275 nm’de uyarılarak emisyon spektrumu kaydedilmiştir (Şekil 3.14). Kompleks 310-550 nm arası 427 nm’de geniş emisyon bandına sahiptir (slit= 10–10). 40 µM olarak hazırlanan kompleks çözeltisine DNA eklenmesiyle floresans şiddetinde yükselme görülmektedir. Metal kompleksleri, DNA baz çiftleri arasına girerek ya da oluklar içerisinde bağlanarak sulu ortamdan korunmuşlar ve bu sayede emisyon yoğunluğunda artma meydana gelmiştir (Li et al. 1997). Kompleks için gözlemlenen hiperkromizm oranı %66’dır.

Çizelge 3.2 Bileşiklerin floresans titrasyonu sonuçları.

Bileşikler (X)	[X], µM	[DNA], µM	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	Floresans değişimi	$\Delta E\%$	$K_{sv} \times 10^4$ (M ⁻¹)
Ligant	40	12	275	410	Hiperkromizm	<10	-
Kompleks	40	15	270	427	Hiperkromizm	66	6,4

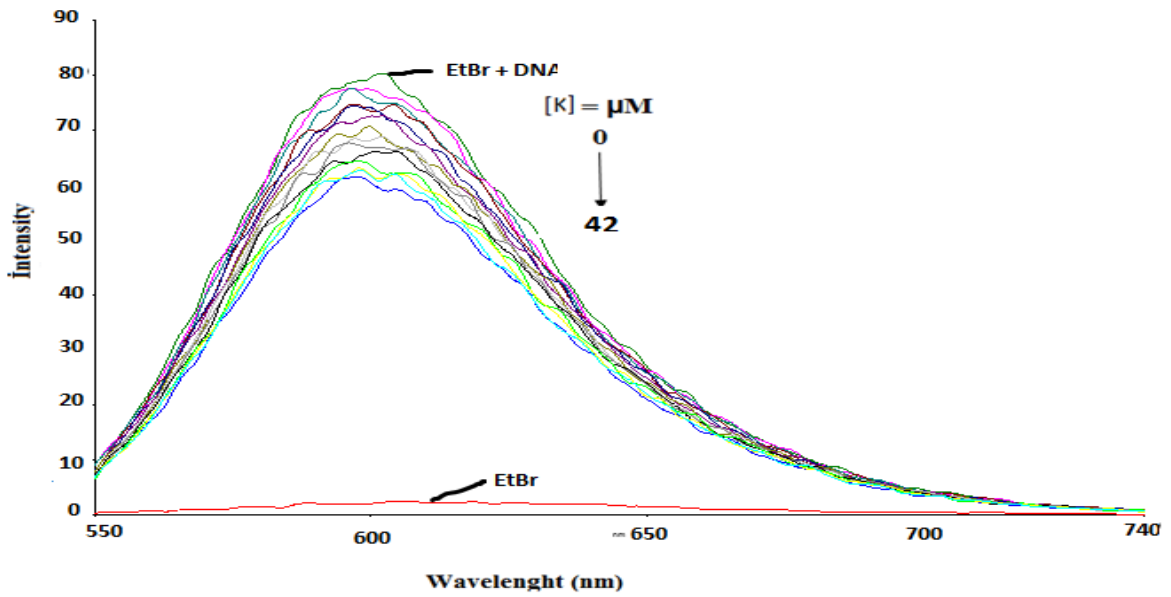
Elde edilen sonuçlar klasik Stern-Volmer eşitliği (Eşitlik 1.2) ile uygulanarak kompleksin bağlanma derecesi hesaplanmıştır. Kompleks derişimine karşı floresans yoğunluğu oranı grafiğe geçirildiğinde eğim değeri K_{sv} değerini vermektedir. Yapılan hesaplamalar sonucu K_{sv} değerleri kompleks için $6,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Ligantın sahip olduğu hiperkromizm oranı çok düşük olduğu için hesaplama yapılamamıştır. Bu çalışmada kullanılan parametreler ve hesaplanan veriler çizelge 3.2’de görülmektedir.

3.2.2.2 Yarışmalı Floresans Spektroskopisi Sonuçları

Floresans boyalar kullanılarak gerçekleştirilen yarışmalı yer değiştirme analizlerinde, önceden DNA'ya bağlanmış olan bir boyayı yerinden alabilen herhangi bir küçük molekül, yer değiştirmiş boya ile aynı modda DNA'ya bağlanıyor demektir. Yaygın olarak kullanılan boyalar EtBr ve Hoechst-32258’dir. EtBr ve Hoechst-32258 sulu çözeltilerinde düşük floresans özellik gösteren boyalardır. Ancak DNA ile bağlandıkları zaman floresans özellikleri artmaktadır. Eklenen ilaç boyayı yerinden çıkarttıkça floresans özellikleri tekrar düşmeye başlayacaktır.

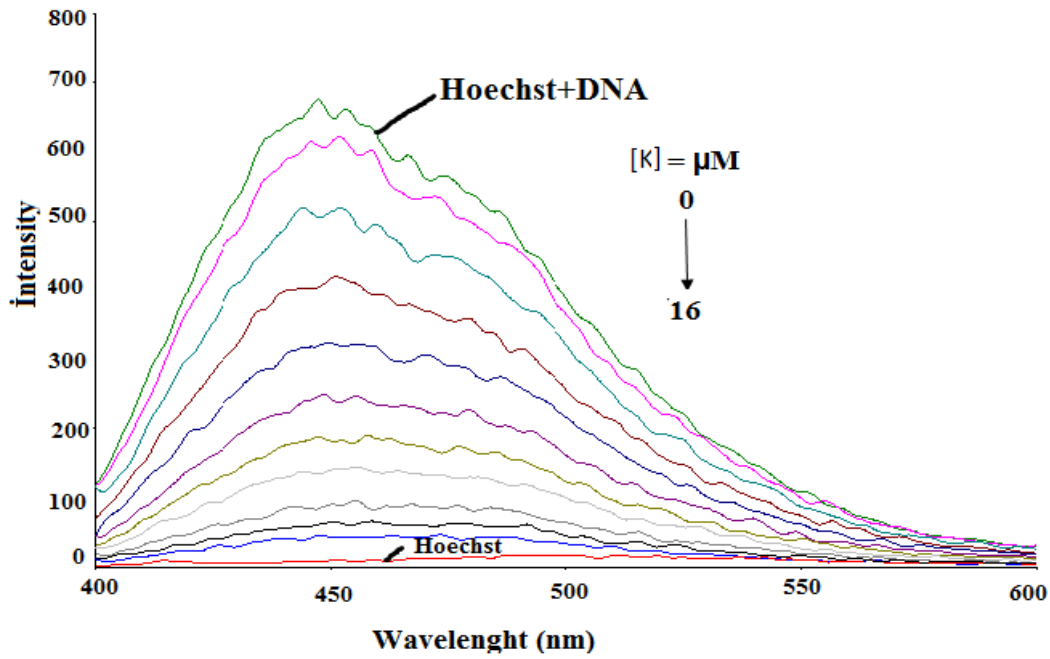
3.2.2.3 EtBr ve Hoechst-32258 ile Yarışmalı Floresans

Bileşiklerin DNA ile etkileşimini anlayabilmek için DNA ile etkileşim modları bilinen çeşitli bileşikler ile çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan biri de DNA'ya interkalasyon ile bağlanan EtBr ile yapılan çalışmadır. Şekil 3.15'te 20 μM EtBr ile 100 μM sığır DNA'sı içeren çözeltinin artan derişimlerde kompleks ilavesi ile floresans spektrumunda oluşan değişim gösterilmiştir.



Şekil 3.15 EtBr-DNA kompleksinin (20 μM EtBr ve 100 μM DNA) $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksi ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.

Tris-KCl tamponu (pH= 7,5) içerisinde 20 μM EtBr hazırlanıp 543 nm dalga boyunda uyarılmıştır. EtBr'nin 628 nm'de oluşan emisyon yoğunluğu çok düşüktür. Ancak EtBr çözeltisine 100 μM DNA eklendiği zaman EtBr DNA baz çiftleri arasına girer ve emisyon yoğunluğunda kuvvetli bir artış görülmektedir. Bu EtBr-DNA sistemine aynı tamponda hazırlanan 5 μL 'lik porsiyonlar halinde 1 mM'lık kompleks çözeltisi eklenip her seferinde spektrum kaydedilmiştir (Şekil 3.15). Kompleksin DNA-EtBr sistemine çok az etki göstermişlerdir. Bu durum kompleksin DNA'ya interkalasyonla bağlanmadıklarını gösterir. Bu durum kompleksin interkalasyon yapmadığını fakat oluklardan bağlanarak yüksek konsantrasyonlarda EtBr bileşimini yerinden çıkarttığı düşünülmektedir



Şekil 3.16 Hoechst-33258-DNA kompleksinin (1,25 μM Hoechst-33258 ve 12,5 μM DNA) $[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{ipBTD})]^{2+}$ kompleksi ile titrasyonu sonucu elde edilen floresans değişimi.

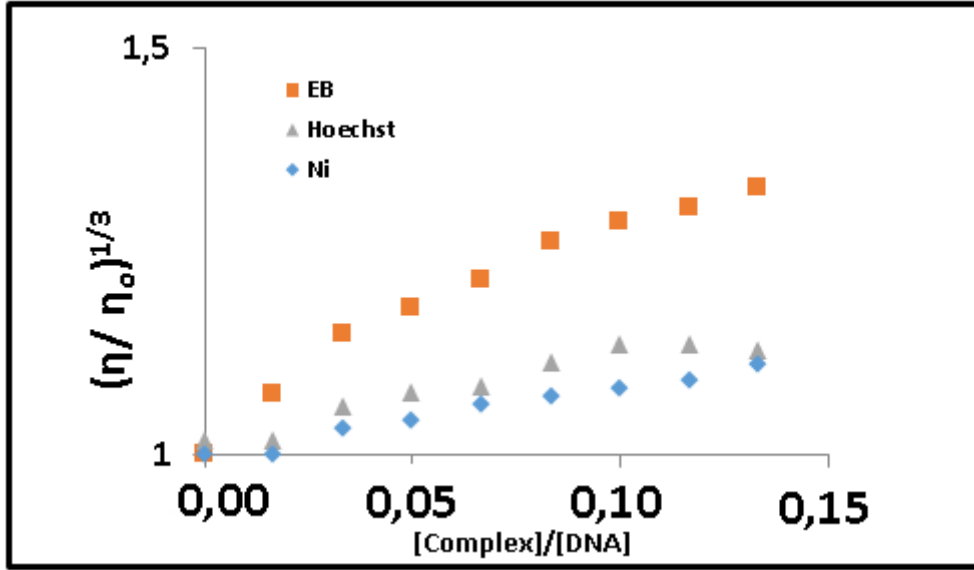
1,25 μM Hoechst çözeltisi 365 nm dalga boyunda uyarılmıştır ve 450 nm’de düşük emisyon vermektedir. Bu çözeltiye 12,5 μM DNA eklendiğinde Hoechst-33258 DNA’nın küçük oyuğuna bağlanarak floresans yoğunluğunu arttırmaktadır (Şekil 3.16).

Hoechst-33258-DNA çözeltisine her defasında 20 μL 1 mM kompleks çözeltisi eklenerek floresanstaki değişim gözlenmiştir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda bileşik çözeltisi eklenmesiyle floresans yoğunluğunda azalma görülmüştür (Şekil 3.16). 16 μM kompleks ilavesinde Hoechst-33258 bileşiği tamamen DNA’ya bağlandığı yerden çıkmıştır. Bu Nikel kompleksinin küçük derişimlerde bile hoechstü çıkarması, maddenin DNA’ya hoechst’ten daha iyi bağlandığını gösteriyor.

3.2.3 Viskozite Sonuçları

Vizkozite çalışmasında, kompleks oluk bağlayıcı Hoechst-33258 ve interkalasyon yapan EtBr molekülü ile karşılaştırılmıştır. EtBr molekülü DNA baz çiftleri arasına girerek DNA’nın boyunu yaklaşık 2 Å kadar uzatır. Bu da vizkozitede bir artış meydana getirir. Oyuk bağlayıcı maddelerde ise DNA’nın yüzeyinde oyuklardan bağlanma olduğu için DNA’nın boyunda bir

değişim olmaz ya da oyuklar bağlanmadan dolayı birbirine yaklaştığı için DNA'nın boyu biraz daha kısalmır. Bu nedenle de viskozitede değişim olmaz ya da azalma olur.



Şekil 3.17 [Ni(phen)₂(ipBTD)]²⁺ kompleksinin 100 µM DNA viskozitesine etkileri.

Viskozite çalışmalarında ilk olarak DNA'nın KCl-Tris (pH= 7,5) tamponunda hazırlanan çözeltisinin 35°C'de viskozitesi ölçülmüştür. Daha sonra üzerine aynı tamponda hazırlanan kompleks çözeltisi eklenerek DNA viskozitesi üzerine nasıl etki gösterdiklerini göstermektedir (Şekil 3.17). Karşılaştırma yapabilmek için EtBr ve Hoechst-33258 bileşiğinin de DNA viskozitesi üzerine etkisi ölçülmüştür. Şekilde [Ni(phen)₂(ipBTD)]²⁺ kompleksinin, interkalasyon ve oyuk bağlayıcı olduğu bilinen sırasıyla, EtBr ve Hoechst-33258 moleküllerinin DNA viskozitesi üzerine etkisi görülmektedir. Artan Hoechst-3258 ve Ni kompleksi DNA'nın bağıl viskozitesini EtBr kadar yükseltmemiştir.

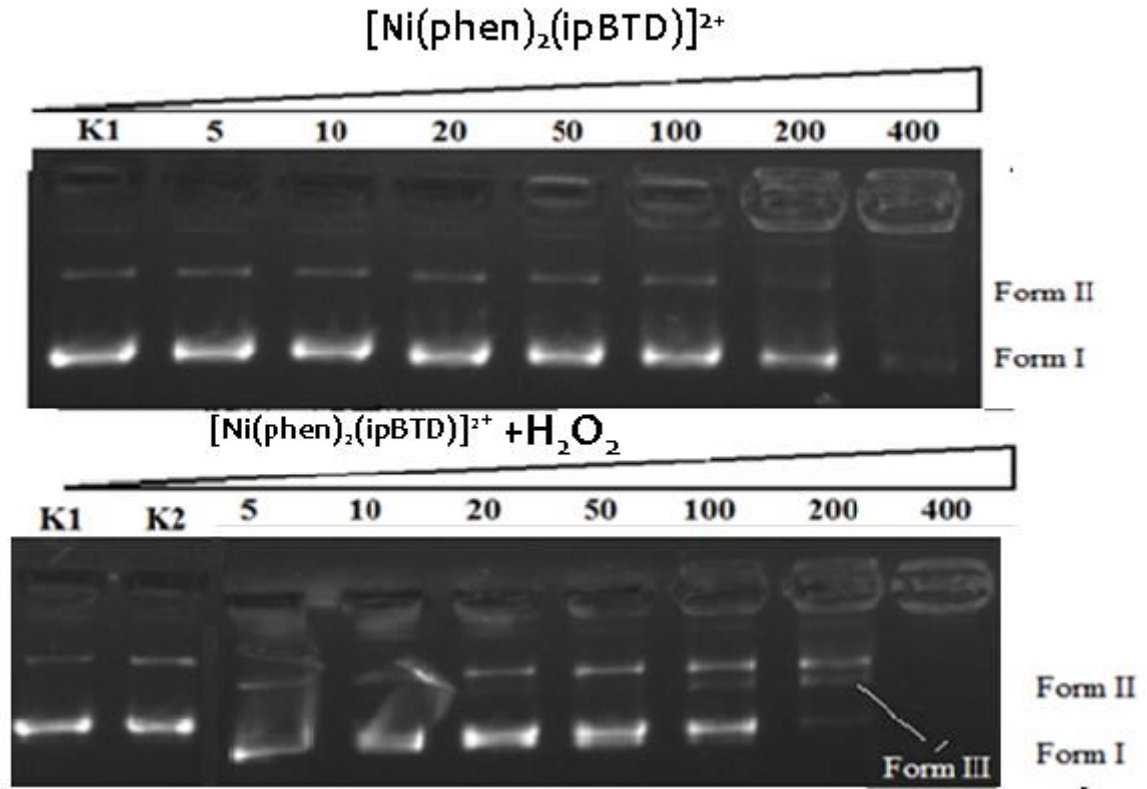
Genellikle çeşitli interkalatör ve fenantrolin ligantlarıyla hazırlanmış metal kompleksleri DNA viskozitesini artırmaktadır. Komplekslerin yapısında fenantrolin olduğu halde DNA'nın viskozitesi üzerinde önemli bir etki gösterememişlerdir (Gao et al. 2011, Sun et al. 2011)

3.2.4 Elektroforez

Agaroz jel elektroforezi sentezlenen bileşiklerin DNA hasarı gerçekleştirdiği en küçük derişimi bulabilmek için yapılmıştır. Burada plazmit DNA üzerine kompleksin tek başına ve

peroksit varlığında etkisinin çalışıldığı elektroforez görüntüsü görülmektedir (Şekil 3.18). Hidrojen peroksit (H_2O_2), tek başına zararlı bir yapı olmadığı halde geçiş metalleri ve süperoksit radikalının ($\bullet O_2^-$) varlığında en güçlü radikal olan hidroksil radikalini ($\bullet OH$) oluşturur. Oluşan hidroksil radikali DNA bazları ile reaksiyona girerek DNA hasarı gerçekleştirir (Saito et al. 2000).

1 numaralı hat (K1) kontrol olarak plazmit DNA, diğer hatlar plazmid DNA ve artan miktarda kompleks içermektedir. H_2O_2 ile yapılan çalışmada ise, K1 hattı kontrol olarak plazmid DNA, K2 hattında yine kontrol olarak plazmid DNA+ H_2O_2 , geri kalan hatlarda ise H_2O_2 ve artan konstrasyonlarda kompleks karışımlarının plazmid DNA'ya etkisi gösterilmektedir.



Şekil 3.18 $[Ni(phen)_2(ipBTD)]^{2+}$ kompleksinin pBR322 plazmit DNA'ya tek başına ve peroksit varlığında etkisinin elektroforez görüntüsü

$[Ni(phen)_2(ipBTD)]^{2+}$ kompleksinin plazmid DNA üzerine etkisi öğrenilebilmek için plazmid DNA içeren çözelti üzerine tek başına ve H_2O_2 aktivatörü varlığında artan miktarda eklenen kompleks eklendi ve $38^\circ C$ 'de, karanlıkta, 1 saat bekletildi. Sonrasında jel üzerine uygulanarak elektroforeze maruz bırakıldı. Sonuçlar EtBr ile boyanarak fotoğrafları çekildi (Şekil 3.18).

İlk elektrograma bakıldığında bütün hatlardaki DNA izleri birbirinin aynısıdır. Yani hiçbir değişiklik olmamıştır. Çeşitli konsantrasyonlardaki kompleks tek başına DNA hasarı gerçekleştirememektedir. Ancak kompleks aktivatör H₂O₂ varlığında 50 µM'dan itibaren plazmid DNA'ya ait form I'in azalıp form II'nin artışı DNA'ya hasar vermeye başlamış olduğunu göstermektedir. 200 µM'dan itibaren form III'ün oluşması kompleksin DNA'da çift çentik oluşturarak DNA hasarını arttırdığını göstermektedir. Aynı zamanda hem aktivatör varlığında hem de aktivatör yokluğunda 200 µM'dan itibaren DNA'nın jel üzerinde çökmeye başladığı da görülmektedir.

Kompleks Nikelden kaynaklı olarak artı yüke sahiptir. Kompleksin sahip olduğu artı yük, ilaç-DNA etkileşimini artırmaktadır ve eksi yüke sahip DNA-fosfat omurgasına kompleksin tutunmasını sağlamaktadır. Kompleksin artı yükleri DNA'nın sahip olduğu eksi yükleri kapatarak nötralizasyon gerçekleştirmiş ve bir kısım DNA'nın çökmüş olabileceği düşünülmektedir (Bağda ve ark. 2017).

3.3 SONUÇ

Bu çalışmada, 4-bromo-7-imidazo[4,5-f][1,10]fenanthrolin-2-yl)benzo[c][1,2,5]tiyodiazol ligandı ve bunun nikel metaliyle oluşturduğu kompleksinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimleri üzerinde çalışılmıştır. Elde edilen ligand ve kompleksin karakterizasyonu FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS analiz yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin DNA etkileşimleri UV-Vis titrasyonu, floresans, viskozimetri ve agaroz jel elektroforezi metotlarıyla çalışılmıştır.

UV-Vis titrasyonu sonuçları kompleksin DNA'ya dış bağlanma ve/veya oyuk bağlayıcı olarak bağlandığını göstermektedir. Bağlanma sabiti $6,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 'dir. Yapılan viskozimetri çalışmalarında bu sonuç desteklenmektedir. Floresans çalışmalarına göre sentezlenen kompleksin zayıf oyuk bağlayıcı olduğu ve bağlanmayla birlikte floresansında artma olduğu tespit edildi. Bu durum kompleksin potansiyel DNA işaretleyicisi olarak kullanılabileceğinin göstergesidir.

Elektroforez çalışmalarında kompleks ortamda tek başına DNA üzerinde herhangi bir kırılma gerçekleştirememiştir. Ancak yüksek konsantrasyonda DNA'nın çökmesine neden olmuştur. Peroksit varlığında ise kompleks yüksek DNA hasarına sebep olmuştur. Yüksek

konsantrasyonlardaki çökme kompleksin artı yüklerinin DNA'nın sahip olduğu eksi yükleri kapatarak nötralizasyon gerçekleştirmesinden dolayı olabileceği düşünölmektedir. Kompleksin peroksit varlığında DNA hasarına yolaçtığından toksik özellik göstereceği düşünölmektedir.





KAYNAKLAR

- Abulhasanov B** (2018) Yeni dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazin türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimlerinin çalışılması. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Zonguldak, 105 s.
- Akdi K, Vilaplana R A, Kamah S and González-Vilchez F** (2005) Effects of Tris and Hepes Buffers on The Interaction of Palladium–Diaminopropane Complexes with DNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99(6): 1360-1368.
- Aleksic M M and Kapetanovic V** (2014) An overview of the optical and electrochemical methods for dedection of DNA-drug interactions. *Acta Chimica Slovenia*, 2014: 555-573.
- Anastassopoulou J** (2003) Metal DNA interactions. *Journal of Molecular Structure*, 651: 19-26.
- 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(1): 45-51.
- 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.
- 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.
- Bauer W and Vinograd J** (1970) The Interaction of Closed Circular DNA With Intercalative Dyes: III. Dependence of The Buoyant Density upon Superhelix Density and Base Composition. *Journal of Molecular Biology*, 54(2): 281-298.
- Beak P** (1977) Energies and Alkylations of Tautomeric Heterocyclic Compounds: Old Problems-New Answers. *Accounts of Chemical Research*, 10(5): 186-192.
- Berg J M, Tymoczko J L and Stryer L** (2012). *Biochemistry*. 7th edition, Basingstoke: W.H. Freeman, New York, 1514 pp/s.
- Berg, J M** (1988) Proposed structure for the zinc-binding domains from transcription factor IIIA and related proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(1): 99-102.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Brett A M O, Macedo T R A, Raimundo D, Marques M H and Serrano S H P** (1998) Voltammetric Behaviour of Mitoxantrone at a DNA-Biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 13(7): 861-867.
- Bronstein H, Frost J M, Hadipour A, Kim Y, Nielsen C B, Ashraf R S, Rand B P and Watkins S** (2013) Effect of Fluorination on the Properties of a Donor–Acceptor Copolymer for Use in Photovoltaic Cells and Transistors. *McCulloch Chemistry of Materials*, 25: 277-285.
- Calderazzo F, Pampaloni G and Passarelli V** (2002) 1,10-Phenanthroline-5,6-dione as a building block for the synthesis of homo- and heterometallic complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 330(1): 136-142.
- Chang J, T Kuo, Chao Y, Ho J and Lin P** (1999) “Azo Dye Decolorization With a Mutant Escherichia Coli Strain”. *Biotechnology Letters*, 22: 807-812.
- Chao H, Mei W-J, Huang Q-W and Ji L-N** (2002) DNA binding studies of ruthenium(II) complexes containing asymmetric tridentate ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 92(3-4): 165-170.
- Chao H, Zhang Q L and Ji L N** (1999) Luminescent pH Sensor Based on a Diruthenium(II) Complex: ‘off-on-off’ Switching Via The Protonation/Deprotonation of an Imidazole-Containing Ligand. *Inorganic Chemistry Communications*, 2: 338-340.
- Chitrapriya N, Karuppanan N and Viswanathan M** (2010) Synthesis, characterization, crystal structures and DNA binding studies of nickel(II) hydrazone complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 363(14): 3685-3693.
- Coban, B, Yildiz U ve Sengul A.** (2013) Synthesis, characterization, and DNA binding of complexes [Pt(bpy)(pip)]²⁺ and [Pt(bpy)(hpip)]²⁺. *JBIC Journal of Biological Inorganic*, 18: 461-471.
- David E G and Luminita M V** (2000) Intercalative Binding of Small Molecules to Nucleic Acids. *Current Organic Chemistry*, 4(9): 915-929.
- Davis K J, Richardson C, Beck J L, Knowles B M, Guedin A, Mergny J-L, Willis A C and Ralph S F** (2015) Synthesis and characterisation of nickel Schiff base complexes containing the meso-1,2-diphenylethylenediamine moiety: selective interactions with a tetramolecular DNA quadruplex. *Dalton Trans*, 44: 3136-3150.
- Devi C 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*, 2119-2130.
- Oliveira F F, Santos D C, Lapis A A, Corrêa JR, Gomes A F, Gozzo F C, Moreira P F Jr, Oliveira V C, Quina F H and Neto B A** (2010) On the use of 2,1,3-Benzothiadiazol derivatives as selective live cell fluorescence imaging probes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20: 6001-6007.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Frank-Kamenetskii M D and Prakash S** (2014) Fluctuations in the DNA Double Helix: a Critical Review. *Physics of Life Reviews*, 11(2): 153-170.
- Franklin R E and Gosling R G** (1953) The Structure of Sodium Thymonucleate Fibres. I. The Influence of Water Content. *Acta Crystallographica*, 6(8-9): 673-677.
- Frederick C A, Williams L D, Ughetto G, Van der Marel G A, Van Boom J H, Rich A and Wang A H J** (1990) Structural comparison of anticancer drug-DNA complexes: adriamycin daunomycin. *Biochemistry*, 29(10): 2538-2549.
- Froehlich E, Mandeville J S, Weinert C M, Kreplak L and Tajmir-Riahi H A** (2011) Bundling and Aggregation of DNA by Cationic Dendrimers. *Biomacromolecules*, 2(2): 511-517.
- Gale E F, Reynolds P E, Richmod M H and Waring M J.** (1981) *The Molecular basis of antibiotic action*. 2nd edition, ISBN 10: 0471279153 / ISBN 13: 9780471279150, John Wiley & Sons, U.S.A., 646 pp/s.
- Gao X, Mirau P and Patel D J** (1992) Structure Refinement of The Chromomycin Dimer-DNA Oligomer Complex in Solution. *Journal of Molecular Biology*, 223(1): 259-279.
- Gao J, Wang Z-P, Yuan C-L, Jia H-S and Wang K-Z** (2011) A Ru(II) complex with 2-(4(methylsulfonyl)phenyl)-1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline: Synthesis, characterization, and acid-base and DNA-binding properties. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79 (5): 1815-1822
- González-Ruiz V, Olives A I, Martín M A, Ribelles P, Ramos M T and Menéndez J C** (2011) In Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies, an Overview of Analytical Techniques Employed to Evidence Drug-DNA Interactions. *Applications to The Design of Genosensors*, ISBN 978-953-307-514-3, Intech, 644 pp/s.
- Graves D E and Velea L M** (2000) Intercalative Binding of Small Molecules to Nucleic Acids. *Current Organic Chemistry*, 4(9): 915-929.
- Hambley T W** (2007) Metal-Based Therapeutics. *Science*, 318 (5855): 1392-1393.
- Hanlon S** (1966) The Importance of London Dispersion Forces in The Maintenance of The Deoxyribonucleic Acid Helix. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 23(6): 861-867.
- Haribabu J, Kumaramangalam J and Yuvaraj A** (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.
- Hou J, Park M H, Zhang S, Yao Y, Chen L M and Li J H** (2008) Bandgap and molecular energy level control of conjugated polymer photovoltaic materials based on benzo[1,2-b:4,5-b'] dithiophene. *Macromolecules*, 41(16): 6012 6018.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Hui Chao, Bao Hui Ye and Hong Li** (2000) Synthesis, electrochemical and spectroscopic properties of ruthenium(II) complexes containing 1,3-bis([1,10]phenanthroline-[5,6-d]imidazol-2-yl)benzene. *Polyhedron*, 19(16-17): 1975-1983.
- Jaumot J, Gargallo R** (2012) Experimental Methods for Studying The Interactions Between G-Quadruplex Structures and Ligands. *Current Pharmaceutical Design*, 18(14): 1900-1916.
- 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.
- Jiang Q, Zhang Z, Lu J, Huang Y, Lu Z, Tan Y and Jiang Q A** (2013) A novel nitro-substituted benzothiadiazole as fluorescent probe for tumor cells under hypoxic condition. *Journal of Medicinal Chemistry*, 21: 7735-7741.
- Kalanur S S, Katrahall U and Seetharamappa J** (2009) Electrochemical studies and spectroscopic investigations on the interaction of an anticancer drug with DNA and their analytical applications. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2009. 636(1): 93-100.
- Kelland L R** (2000) Preclinical perspectives on platinum resistance. *Drugs*, 59: 1-8.
- Kelly J M, Tossi A B, McConnell D J and OhUigin C** (1985) A Study of the Interactions of Some Polypyridylruthenium(II) Complexes with DNA Using Fluorescence Spectroscopy, Topoisomerisation and Thermal Denaturation. *Nucleic Acids Research*, 13(17): 6017-6034.
- Kielkopf C L, White S, Szewczyk J W, Turner J M, Baird E E, Dervan P B and Rees D C** (1998) Recognition of AT and TA Base Pairs in the Minor Groove of: B-DNA. *Science*, 282: 111-115.
- Kim, S K and Nordén B** (1993) Methyl green: a DNA major-groove binding drug. *FEBS Letters*, 315(1): 61-64.
- Koolman, J. And Röhm K H** (2005) Color Atlas of Biochemistry, Thieme, p.467.
- Kwakye-Berko F and Meshnick S R** (1989) Binding of chloroquine to DNA. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 35(1): 51-55.
- Lakowicz J R** (2006) Plasmonics in Biology and Plasmon-Controlled Fluorescence. *Plasmonics*, 1(1): 5-33.
- LeGourrierec D, Kharlanov V A, Brown R G and Rettig W J** (2000) Excited-state intramolecular proton transfer (ESIPT) in 2-(2'-hydroxyphenyl)-oxazole and -thiazole. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 130: 101-111.
- Lerman L** (1961) Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of Molecular Biology*, 3(1): 18-14.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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(5): 781-787.
- Liang M, Liu X, Liu G, Dou S, Cheng D, Liu Y, Rusckowski M and Hnatowich D J** (2010) Reducing the Background Fluorescence in Mice Receiving Fluorophore/Inhibitor DNA Duplexes. *Molecular Pharmaceutics*, 8(1): 126-132.
- Ling X, Zhong W Y, Huang Q and Ni K** (2008) Spectroscopic studies on the interaction of pazufloxacin with calf thymus DNA. *Journal of Photochemistry Photobiology B: Biology*, 93: 172-176.
- Lown J W** (1988) Lexitropsins: Rational Design of DNA Sequence Reading Agents as Novel Anti-Cancer Agents and Potential Cellular Probes. *Anti-Cancer Drug Design*, 3(1): 25-40.
- Marrington, R., Rodger A and Halsall D J** (2004) Micro-volume Couette flow sample orientation for absorbance and fluorescence linear dichroism. *Biophysical Journal*, 87(3): 2002-2012.
- Marzano C, Pellei M, Tisato F and Santini C** (2009) Anticancer Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 9(2): 185-211.
- Neidle S**, (1999) *Oxford Handbook of Nucleic Acid Structure*, 1st Edition, ISBN: 198500386, Oxford University Press on Demand, 680 pp/s.
- Neto B A D, Corrêa J R, Carvalho P H P R, Santos D C B D, Guido B C, Gatto C C, Oliveira H C B, Fasciotti M and Eberlin M N** (2012) Synthesis, properties and highly selective mitochondria staining with novel, stable and superior benzothiadiazole fluorescent probes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23: 770-781.
- Neto B, Lapis A, Mancilha F S, Vasconcelos I B, Thum C, Basso L A, Santos D S and Dupont J** (2007) New Sensitive Fluorophores for Selective DNA Detection. *Organic Letters*, 9(20): 4001-4004.
- Neto B A D, Corrêa J R, Carvalho P H P R, Santos D C B D, Guido B C, Gatto C C, Oliveira H C Bd, Fasciotti M, Eberlin M N and Silva Jr. E** (2012) Selective and Efficient Mitochondria Staining with Designed 2,1,3-Benzothiadiazole Derivatives as Live Cell Fluorescence Imaging Probes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23: 770-781.
- Neto B. A. D, Lopes A S, Wust M, Cost V E U, Ebeling G and Dupont J** (2005) Photophysical and electrochemical properties of π -extended molecular 2,1,3-benzothiadiazoles. *Journal Tetrahedron. Letters*, 46: 10975-10982.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ocak I and Kara H E S** (2018) Phosphorescent Detection of DNA- Drug Interaction Based on Emission Quenching of Zns Quantum Dots via Photoinduced Electron Transfer. *Journal of Luminescence*, 197: 112-118.
- Oliveira F F D, Santos D, Lapis A A M, Correa J R, Gomes A F, Gozzo F C, Moreira P F, de Oliveira V C, Quina F H and Neto B A D** (2010) Selective and efficient mitochondrial staining with designed 2,1,3-benzothiadiazole derivatives as live cell fluorescence imaging probes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20: 6001-6007.
- Pabo C O and Sauer R T** (1984) Protein-DNA Recognition. *Annual Review of Biochemistry*, 53(1): 293-321.
- Paul, A and Bhattacharya S** (2012) Chemistry and biology of DNA-binding small molecules. *Current Science*, 102(2): 212-231.
- Petering D H** (1980) Carcinostatic copper complexes. *Metal Ions in Biological Systems*, 11: 197-229.
- Pham W, Choi Y, Weissleder R and Tung C-H** (2004) Developing a Peptide-Based Near-Infrared Molecular Probe for Protease Sensing. *Bioconjugate Chemistry*, 15(6): 1403-1407.
- Pradeepa S M, Bhojya Naik H S, Vinay Kumar B, Indira Priyadarsini K, Barik A and Ravikumar Naik T R** (2013) Cobalt(II), Nickel(II) and Copper(II) complexes of a tetradentate Schiff base as photosensitizers: Quantum yield of $1O_2$ generation and its promising role in anti-tumor activity. *Spectrochimica Acta Part A*, 101: 132-139.
- Pyle A M, Rehmann J P, Kumar C V, Meshoyrer R and Turro N J** (1989) Mixed-ligand complexes of ruthenium(II): factors governing binding to DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 111(8): 3051-3058.
- Rauf S, Gooding J J, Akhtar K, Ghauri M A, Rahman M, Anwar M A and Khalid A M** (2005) Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(2): 205-217.
- Rehman S U, Sarwar T, Husain M A, Ishqi H M and Tabish M** (2015) Studying Non-Covalent Drug–DNA Interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 576: 49-60.
- Saito S, Yamauchi H, Hasui Y, Kurashige, J, Ochi, H and Yoshida K** (2000) Quantitative determination of urinary 8-hydroxydeoxy-guanosine (8-OH-dG) by using ELISA. *Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology*, 107: 39-44.
- Sastri C V, Eswaramoorthy D, Giribabu L and Maiya B G** (2003) DNA interactions of new mixed-ligand complexes of cobalt(III) and nickel(II) that incorporate modified phenanthroline ligands. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 94: 138-145.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Shahabadi N, Darabi F, Maghsudi M and Kashanian S** (2010) DNA binding and gel electrophoresis studies of a copper (II) complex containing mixed aliphatic and aromatic dinitrogen ligands. *DNA Cell Biology*, 29(6): 329-336.
- Shahabadi N, Kashanian S and Ahmadipour Z**, (2011) DNA binding and gel electrophoresis studies of a new silver(I) complex containing 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline ligands. *DNA Cell Biology*, 30(3): 187-194.
- Shahabadi N, Kashanian S, Khosravi M and Mahdavi M** (2010) Multispectroscopic DNA Interaction Studies of a Water-Soluble Nickel (II) Complex Containing Different Dinitrogen Aromatic Ligands. *Transition Metal Chemistry*, 35(6): 699-705.
- Shahabadi N, Kashanian S, Shalmashi K and Roshanfekar H** (2009) DNA interaction with PtCl₂(LL) (LL = chelating diamine ligand: N,N-dimethyltrimethylenediamine) complex. *Applied Biochemistry Biotechnology*, 158(1): 1-10.
- 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 Cell Biology*, 30: 187-94.
- Shamsi M, Yadav S, Arjmand F** (2014) Synthesis and characterization of new transition metal {Cu(II), Ni(II) and Co(II)} l-phenylalanine–DACH conjugate complexes: In vitro DNA binding, cleavage and molecular docking studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 136: 1-11.
- Sigman D S** (1986) Nuclease activity of 1,10-phenanthroline-copper ion. *Accounts of Chemical Research*, 19(6): 180-186.
- Singh M P, Joseph T, Kumar S, Bathini Y and Lown J W** (1992) Synthesis and Sequence-Specific DNA Binding of a Topoisomerase Inhibitory Analog of Hoechst 33258 Designed for Altered Base and Sequence Recognition. *Chemical Research In Toxicology*, 5(5): 597-607.
- 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*, 124: 1-19.
- 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, 5C] Quinazoline With DNA. *Luminescence*, 29(8): 1141-1147.
- Sparks J and Scholz C** (2009) Evaluation of a Cationic Poly(β-hydroxyalkanoate) as a Plasmid DNA Delivery System. *Biomacromolecules*, 10(7): 1715-1719.
- Sun J, Wu S, Chen H-Y, Gao F, Liu J, Ji L-N and Mao Z-W** (2011) Synthesis, characterization and DNA-binding and DNA-photocleavage studies of two Ru(II) complexes containing two main ligands and one ancillary ligand. *Polyhedron*, 30 (12): 1953-1959.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.
- Takeda Y, Ohlendorf D, Anderson W and Matthews B** (1983) DNA-Binding Proteins, *Science*, 221(4615): 1020-1026.
- Tan J, Zhu L and Wang B.** (2010) From GC-rich DNA binding to the repression of survivin gene for quercetin nickel (II) complex: implications for cancer therapy. *BioMetals*, 23(6): 1075-1084.
- Tisato F, Marzano C, Porchia M, Pellei M and Santini C** (2010) A novel copper complex induces paraptosis in colon cancer cells via the activation of ER stress signalled. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16(1): 142–151.
- Tiselius A** (1937) A New Apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures. *Transactions of The Faraday Society*, 33: 524-531.
- Tjahjono D H, Akutsu T, Yoshioka N and Inoue H** (1999) Cationic porphyrins bearing diazolum rings: synthesis and their interaction with calf thymus DNA. *Biochimica Biophysica Acta*, 1472: 333-334.
- Valis L, Enthart E M and Wagenknecht H-A** (2006) 8-(Pyren-1-yl)-2'-deoxyguanosine as an optical probe for DNA hybridization and for charge transfer with small peptides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16: 3184-3187.
- Wang F, Tan W B, Zhang Y, Fan X and Wang M** (2005) Luminescent Nanomaterials for Biological Labelling. *Nanotechnology*, 17(1): R1.
- Waring M J** (1965) Complex formation between ethidium bromide and nucleic acids. *Journal of Molecular Biology*, 13(1): 269-282.
- Watson J D and Crick F H** (1953) Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, 171(4356): 737-738.
- Watson J D and Crick F H** (1953) The structure of DNA. in Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. 18: 123-131.
- Welch G C, Coffin R, Peet J and Bazan G C** (2009) Band gap control in conjugated oligomers via lewis acids. *Journal of the American Chemical Society*, 131(31): 10802-10803.
- Wilmer S and Daryleh B** (1959) The Complexes of pyridinaldazine with iron(II) and nickel(II). *Journal of the American Chemical Society*, 13: 135-144.
- 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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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: 299-303.
- 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-carboylhydrazone. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 196: 77-83.
- Wang Y, Huang J, Zhou H, Ma G, Qian S and Zhu X** (2012) Synthesis, optical properties and ultrafast dynamics of a 2,1,3-benzothiadiazole-based red emitter with intense fluorescence and large two-photon absorption cross-section. *Dyes and Pigments*, 92: 573-579.
- Zhang C X and Lippard, S J** (2003) New metal complexes as potential therapeutics. *Current Opinion in Chemical Biology*, 7(4): 481-489.
- 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.



ÖZGEÇMİŞ

Engin SAKA 1990 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Zonguldak'ta tamamladı. 2009 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kimya Bölümü'ne yerleşti. 2013 yılında mezun olduktan sonra bir süre çalıştı ve 2014 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında tezli yüksek lisans eğitimine başladı.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Terakki Mah. Nadir Polat Sok. No:65/B Kat:3 ZONGULDAK

Tel: 05416856989

E-posta: EnginSaka5567@hotmail.com