

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BUPROPİON ANTİDEPRESANININ, ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI, DNA'YA BAĞLANMASININ İN VİTRO VE İN SİLİCO ANALİZİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ELİF KARA**

**MAYIS 2019**

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BUPROPİON ANTİDEPRESANININ, ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI, DNA'YA BAĞLANMASININ İN VİTRO VE İN SİLİCO ANALİZİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Elif KARA**

**DANIŞMAN : Dr. Öğretim Üyesi Ebrahim VALİPOUR**

**İKİNCİ DANIŞMAN : Dr. Öğretim Üyesi Arzu EROL**

**ZONGULDAK**

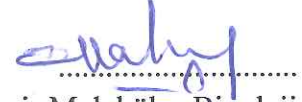
**Mayıs 2019**

**KABUL:**

Elif KARA tarafından hazırlanan “Bupropion Antidepresanının, Antibakteriyel Etkilerinin Araştırılması, DNA’ya Bağlanması in Vitro ve in Silico Analizi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir.  
27/05/2019

**Danışman:** Dr. Öğretim Üyesi Ebrahim VALIPOUR

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü



**Üye** : Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü



**Üye** : Dr. Öğretim Üyesi Fahriye ZEMHERİ

Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik 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.”*

  
Elif KARA

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BUPROPİON ANTİDEPRESANININ, ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI, DNA'YA BAĞLANMASININ İN VİTRO VE İN SİLİCO ANALİZİ

Elif KARA

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Ebrahim VALİPOUR

İkinci Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Arzu EROL

Mayıs 2019, 55 sayfa

Dopamin Gerilim İnhibitörleri sınıfında yer alan, Bupropion hidroklorür majör depresif bozukluğun birinci basamak tedavisi ve nikotin tedavisinin ana ajanı için önerilen maddeler arasında yer alan antidepresan bir ilaçtır. Bupropion hidroklorür kullanımı Türkiye de her gün artmakta ve bazı antidepresan ilaçların genotoksitesi ve antibakteriyel etkisini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

DNA'da meydana gelecek hasarı gözlemek için; süper-coil plazmid DNA'nın (pUC19) Bupropion hidroklorür ile inkübe edilip, agaroz jel elektroforezi ile gözlenip, spektrofotometrik ve in silico analiz ile ilacının DNA'ya bağlanma sabiti hesaplanmıştır. Gastrointestinal sistemden emilimi olan bupropionun bağırsak flora bakterileri üzerinde olumsuz etkilerinin gösterilmesinde çalışılmak üzere *E. coli* ve *E. faecalis* tercih edilmiştir.

## ÖZET (devam ediyor)

Sigara kullanımı, askorbik asit tüketimini artırmaktadır. Farklı ilaç konsantrasyonlarının askorbik asit varlığında DNA ile muamele edildiğinde, DNA üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı tesbit edilmiştir. Demir elementi organizmaların enerji metabolizmasında önemli role sahiptir. DNA'yı sabit derişimde demir ve hidrojen peroksit varlığında bupropionun farklı derişimi ile muamele ettiğimizde DNA'daki kırık oranı ilaç derişimine bağı artış gösterdiği tespit edilmiştir. Malignit dokularda bakır konsantrasyonu artmaktadır. DNA bakır ile muamele edildiğin de DNA'da kırılmaya sebep olmamıştır. Bupropion, oksidatif ajan olan hidrojen peroksit varlığında DNA'nın kırılmasını tetiklediği, indirgeyici ajan olan askorbik asit varlığında DNA üzerinde herhangi bir kırma etkisi olmadığı gösterilmiştir. Spektrofotometre analize göre; bupropionun DNA'ya bağlanma sabiti ( $K_b 3,72 \times 10^7 M^{-1}$ ) ilacın DNA'ya güçlü bir şekilde bağlandığını göstermektedir. İn-siliko analizi bupropion ilacının DNA'ya bağlanma sabiti ( $5,72E+05$ ) spektrofotometreden elde edilen sonucu desteklemiştir. *E.coli* ve *E.faecalis* üzerinde Bupropion'un 40mM derişimi her iki suşuda öldürdüğü gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, bu ilacın flora bakterilerini öldürerek dysbiosis ve radikal hidroksitleri oluşturarak DNA'ya zarar verme riski vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Bupropion, DNA hasarı, antibakteriyel etki, *E.coli*, *E.faecalis*

**Bilim Kodu:** 401.02.00

## **ABSTRACT**

**M. Sc. Thesis**

### **INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL EFFECTS OF BUPROPION ANTIDEPRESSANT, IN VITRO AND IN SILICO ANALYSIS OF DNA BINDING**

**Elif KARA**

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

**Thesis Advisor: Assist. Prof. Dr. Ebrahim VALIPOUR**

**Co-Advisor: Assist. Prof. Dr. Arzu EROL**

**May 2019, 55 pages**

Bupropion hydrochloride, a class of dopamine reuptake inhibitors, is an antidepressant drug that is recommended for the first-line treatment of major depressive disorder and for the nicotine therapy. Bupropion hydrochloride usage is increasing every day in Turkey. There are studies showing the genotoxicity and antibacterial effect of some antidepressant drugs.

In this study, the effect of different concentrations of Bupropion on DNA, alone and in the presence of ascorbic acid, hydrogen peroxide, iron and copper was investigated by agarose gel electrophoresis method. DNA binding of Bupropion was examined by UV-Vis spectrophotometer and in-silico method. In addition, the effect of this drug on the growth of some bacterial flora strains was investigated by serial dilution and disc diffusion method.

## **ABSTRACT (devam ediyor)**

When DNA was treated with different concentrations of the drug in the presence of ascorbic acid, it was found to have no negative effect on DNA. When we treat DNA with a different concentration of bupropion in the presence of iron and hydrogen peroxide at constant concentration, it has been found that the fracture rate in DNA increases due to drug concentration. No breakage occurred when the DNA was treated with copper. Bupropion has been shown to induce DNA breakage in the presence of hydrogen peroxide, an oxidative agent, and no breaking effect on DNA in the presence of ascorbic acid, the reducing agent. According to the spectrophotometer analysis; bupropion binding constant to DNA ( $K_b 3.72 \times 10^7 M^{-1}$ ) indicates that the drug binds strongly to DNA. In-silico analysis of the bupropion drug's DNA binding constant ( $5.72E + 05$ ) supported the result obtained from the spectrophotometer. The 40mM of Bupropion was observed to kill both *E.coli* and *E.faecalis* strains.

In conclusion, this drug has the risk of causing dysbiosis by killing the flora bacteria and, and damaging DNA by creating radical hydroxides.

**Keywords:** Bupropion, DNA damage, antibacterial effect, *E.coli*, *E.faecalis*

**Science Code:** 401.02.00



## TEŞEKKÜR

Tezimin konusunun belirlenmesinde, araştırma aşamasında, yön tayininde ve tamamlanmasına destek olan değerli danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Ebrahim VALİPOUR'a teşekkür ederim. Gerek ilmi bilgisiyle gerekse ahlaki kişiliğiyle bana destek ve örnek olan tezimin yazım aşamasında ve izlenmesinde yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer ikinci danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Arzu EROL'a minnetlerimi sunar, teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimin boyunca bana yardımlarını sunan bölüm hocalarım Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL, Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK, Dr. Öğretim Üyesi Tolga ACUN, Araş. Gör. Utku Can ATILGAN hocalarıma teşekkür ederim. Laboratuvarında yalnız kaldığım süre zarfında her türlü soru ve ihtiyaçlarıma cevap veren, öğretmeyi çok seven güler yüzlü hocam Araş. Gör. Aycan ÇELİK'e en içten dileklerle teşekkür ederim. Kimya Bölümü Araş. Gör. Ufuk YILDIZ hocama desteklerini esirgemediği ve gerekli ekipmanlara ulaşmamızda bize yardımcı olduğu için teşekkür ederim.

Bu günlere ulaşmamda ve yaşamımın her alanında desteklerini esirgemeyen, her daim yanımda olan çok değerli aileme teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

|   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| KABUL .....   | ii           |
| ÖZET .....  | iii          |
| ABSTRACT .....  | v            |
| TEŞEKKÜR .....  | vii          |
| İÇİNDEKİLER.....  | x            |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....  | xi           |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                     | xiii         |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                         | xv           |
| <br>  |              |
| BÖLÜM 1 GİRİŞ .....   | 1            |
| <br>  |              |
| 1.1 NÜKLEİK ASİTLER.....                                    | 1            |
| 1.1.1 Deoksiribonükleik Asit (DNA) Yapısı .....             | 1            |
| 1.1.2 Çift Sarmal DNA'nın Yapısı .....                      | 3            |
| 1.1.3 DNA Eşlenmesi Ve Transkripsiyon.....                  | 3            |
| 1.1.4 DNA'nın Farklı Sarmal Formları.....                   | 4            |
| 1.1.4.1 Halkasal ve Süper Kıvrımlı DNA .....                | 6            |
| 1.2 İLAÇ DNA ETKİLEŞİMİ.....                                | 7            |
| 1.2.1 DNA'ya Kovalent Bağlanma .....                        | 7            |
| 1.2.2 Kovalent Olmayan Bağlanma .....                       | 9            |
| 1.2.2.1 İnterkatörler .....                                 | 9            |
| 1.2.2.2 Küçük Oluk Bağlayıcılar .....                       | 12           |
| 1.2.2.3 Büyük Oluk Bağlayıcılar .....                       | 13           |
| 1.2.2.4 Harici Bağlayıcılar .....                           | 13           |
| 1.2.2.5 Metal-İlaç Kompleksleri .....                       | 13           |
| 1.3 BUPROPİON HİDROKLORÜR .....                             | 14           |
| 1.3.1 Bupropion'un Yapısı.....                              | 14           |
| 1.3.2 Bupropion'un Farmakokinetiği ve Farmakodinamiği ..... | 14           |

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

|   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 1.3.2.1 Bupropion'un Farmakodinamiği .....  | 16           |
| 1.3.2.2 Bupropion'un Farmakokinetiği .....  | 17           |
| 1.3.3 Bupropion'un Emilimi .....  | 17           |
| 1.3.4 Bupropion'un Dağılımı .....   | 17           |
| 1.3.5 Bupropion'un Metabolizması .....  | 18           |
| 1.3.6 Farmakolojik Özellikleri .....  | 18           |
| 1.3.6.1 Antidepresan Etki .....   | 18           |
| 1.3.6.2 Sigara Bıraktırma .....   | 19           |
| 1.3.7 Bupropionla Uzun Süreli Tedavi ve Tedavi Dozu.....  | 21           |
| 1.3.8 Kontrendikasyonlar .....  | 21           |
| 1.3.9 Yan Etkiler .....   | 22           |
| <b>BÖLÜM 2 MATERYAL METOD .....</b>   | <b>25</b>    |
| 2.1 KULLANILAN EKİPMANLAR .....   | 25           |
| 2.2 KULLANILAN KİMYASALLAR .....  | 25           |
| 2.2.1 DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar .....  | 25           |
| 2.2.2 Elektroforez İçin Kullanılan Kimyasallar .....  | 25           |
| 2.2.3 İlaç DNA Etkileşiminde Kullanılan Çözeltiler ve Solüsyonlar .....   | 26           |
| 2.3 METOD .....   | 26           |
| 2.3.1 Plazmid DNA İzolasyonu .....  | 26           |
| 2.3.2 Farklı İlaç Konsantrasyonlarının Hazırlanması .....   | 27           |
| 2.3.3 Bupropion'un DNA Üzerindeki Etkisi .....  | 27           |
| 2.3.4 Bupropion'un Askorbik Asit Varlığında DNA Üzerine Etkisi.....   | 27           |
| 2.3.5 Bupropion'un Demir Varlığında DNA'ya Olan Etkisi.....   | 28           |
| 2.3.5.1 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlarının FeSO <sub>4</sub> ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Varlığında<br>DNA Üzerine Etkisi.....                         | 28           |
| 2.3.5.2 Bupropion'un Farklı FeSO <sub>4</sub> (30 mM, 0,3 mM ve 0,03 Mm)<br>Konsantrasyonları ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi..... | 28           |
| 2.3.6 Bupropion'un FeSO <sub>4</sub> varlığında DNA Üzerine Etkisi.....   | 28           |
| 2.3.7 Bupropion'un Bakır Eşliğinde DNA Üzerine Etkisi .....   | 29           |

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

|   |           |
|---|-----------|
| 2.3.7.1 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlarının CuCl <sub>2</sub> ve Askorbik Asit Varlığında DNA Üzerine Etkisi.....                                | 29        |
| 2.3.7.2 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlardaki CuCl <sub>2</sub> (40 µM, 20 µM, 2 µM ve 0,2 µM ) Varlığında DNA Üzerine Etkisi .....                | 29        |
| 2.3.8 Bupropion'un H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi .....  | 29        |
| 2.3.9 Bupropion'un Antibakteriyal Etkisi .....  | 30        |
| 2.3.9.1 Bupropion'un Enterococcus Faecalis Üzerine Etkisi.....  | 30        |
| 2.3.9.2 Bupropion'un E.coli Üzerine Etkisi .....  | 30        |
| 2.3.10 Bupropion'un DNA'ya Bağlanması Analizi.....  | 31        |
| 2.3.10.1 UV Tarama yoluyla Bupropion'un DNA'ya Etkisi .....   | 31        |
| 2.3.10.2 İn-siliko Yoluyla Bupropion DNA Etkileşimi .....   | 31        |
| <b>BÖLÜM 3 BULGULAR.....</b>  | <b>33</b> |
| 3.1 BUPROPİONUN DNA ÜZERİNDEKİ ETKİSİ .....   | 33        |
| 3.2 BUPROPİONUN ASKORBİK ASİT VARLIĞINDA DNA ÜZERİNE ETKİSİ.....  | 33        |
| 3.3 BUPROPİONUN DEMİR VARLIĞINDA DNA'YA OLAN ETKİSİ .....   | 34        |
| 3.3.1 Bupropionun Farklı Konsantrasyonlarının FeSO <sub>4</sub> ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi .....                  | 34        |
| 3.3.2 Bupropion'un FeSO <sub>4</sub> (30 mM, 0,3 mM ve 0,03 Mm) Konsantrasyonları ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi..... | 35        |
| 3.4 BUPROPİONUN FeSO <sub>4</sub> VARLIĞINDA DNA ÜZERİNE ETKİSİ.....  | 35        |
| 3.5 BUPROPİONUN BAKIR EŞLİĞİNDE DNA ÜZERİNE ETKİSİ.....   | 36        |
| 3.5.1 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlarının CuCl <sub>2</sub> ve Askorbik Asit Varlığında DNA Üzerine Etkisi.....                                  | 36        |
| 3.5.2 Bupropionun Farklı Konsantrasyonlardaki CuCl <sub>2</sub> (40µM, 20µM, 2µM ve 0.2µM) Varlığında DNA Üzerine Etkisi.....                         | 37        |
| 3.6 BUPROPİONUN H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> VARLIĞINDA DNA ÜZERİNE ETKİSİ.....  | 37        |
| 3.7 BUPROPİONUN ANTİBAKTERİYAL EFEKTİ.....  | 38        |
| 3.7.1 Bupropionun Enterococcus Faecalis Üzerine Etkisi.....   | 38        |
| 3.7.2 Bupropionun E.coli Üzerine Etkisi .....   | 39        |

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

|   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 3.8 BUPROPİON'UN DNA'YA BAĞLANMASININ ANALİZİ.....      | 41           |
| 3.8.1 UV Tarama yoluyla Bupropionun DNA'ya Etkisi ..... | 41           |
| 3.8.2 İn-siliko Yoluyla Bupropion DNA Etkileşimi .....  | 41           |
| <br>  |              |
| BÖLÜM 4 TARTIŞMA .....                                  | 43           |
| <br>  |              |
| BÖLÜM 5 SONUÇ VE ÖNERİLER.....                          | 47           |
| <br>  |              |
| KAYNAKLAR.....  | 49           |
| ÖZGEÇMİŞ .....  | 55           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>No</u>   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Şekil 1.1 Nükleik asitlerin yapısında nükleotitlerin düzenlenişinin gösterilmesi. ....  | 2            |
| Şekil 1.2 DNA replikasyon çatalı ve moleküler bileşenlerinin şematik taslağı ve replisomun enzimatik aktiviteleri .....   | 3            |
| Şekil 1.3 A-DNA (kırmızı), BI-DNA (mavi) ve hipotetik BII-DNA (gri) modelleri, temel eşleştirilmiş dinükleotitlerin oluşturduğu yapı blokları.....  | 5            |
| Şekil 1.4 DNA ile ilaç molekülleri etkileşimleri.....   | 7            |
| Şekil 1.5 Cisplatin bileşiğinin guanin(G) bazına kovalent bağlanması .....  | 8            |
| Şekil 1.6 Interkalator ligandlarının kimyasal yapıları ve ortaya çıkan ligand-DNA komplekslerinin modelleri .....   | 10           |
| Şekil 1.7 İnterkelasyon, baz çifti arasına bağlanması .....   | 11           |
| Şekil 1.8 Kovalent olmayan bileşiklerin etkileşimleri. ....   | 12           |
| Şekil 1.9 Bupropion Yapısal formül (National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=444) .....  | 14           |
| Şekil 1.10 Nikotinik reseptör agonist ve antagonistleri .....   | 20           |
| Şekil 1.11 Bupropion Kontrendikasyonları .....  | 22           |
| Şekil 3.1 Bupropion ilacının pUC19 plasmid DNA üzerine etkisinin 1%'lik jelde görüntülenmesi. ....  | 33           |
| Şekil 3.2 pUC19 plasmid DNAsının Bupropionun farklı konsantrasyonları ile Askorbik asit(0,0185mM) eşliğinde muamele edilmesinin 1 %'lik agaroz jel üzerinde yürütülmesi. ....                       | 34           |
| Şekil 3.4 Bupropionun FeSO <sub>4</sub> (30 mM, 0,3 mM ve 0,03 Mm) Konsantrasyonları ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisinin 1 %'lik agaroz jel çözeltisinde analizi..... | 35           |
| Şekil 3.5 Bupropionun FeSO <sub>4</sub> (15 mM) varlığında DNA Üzerine Etkisinin 1 %'lik agaroz jel çözeltisinde analizi. ....  | 36           |
| Şekil 3.6 Bupropionun Farklı Konsantrasyonlarının CuCl <sub>2</sub> (60µM) ve Askorbik Asit Varlığında DNA Üzerine Etkisinin 1 %' lik agaroz jel çözeltisinde analizi. ....                         | 36           |
| Şekil 3.7 Bupropionun Farklı Konsantrasyonlardaki CuCl <sub>2</sub> (40 µM, 20 µM, 2 µM ve 0.2 µM) Varlığında DNA Üzerine Etkisi. ....  | 37           |
| Şekil 3.8 Bupropion'un H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisinin 1 %'lik agaroz jel elektroforezinde gözlenmesi.....   | 38           |
| Şekil 3.9 Muller Hinton sıvı besiyerinde Bupropionun farklı konsantrasyonlarının Enterococcus faecalis üzerine inoküle edilmesi. ....   | 38           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

| <u>No</u>   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Şekil 3.10 Müller Hinton agar katı besiyerinde Bupropion'un farklı konsantrasyonlarının Enterococcus faecalis üzerindeki inhibe edici etkisinin incelenmesi. .... | 39           |
| Şekil 3.11 Enterococcus faecalis'in farklı konsantrasyonlarda Bupropion içeren besiyerinde gelişimi.....  | 39           |
| Şekil 3.12 Müller Hinton sıvı besiyerinde Bupropion'un farklı konsantrasyonlarının E.coli üzerine aşılması. ....  | 40           |
| Şekil 3.13 Müller Hinton agar katı besiyerinde Bupropion farklı konsantrasyonlarının E.coli üzerindeki inhibe edici etkisinin incelenmesi. ....                   | 40           |
| Şekil 3.14 E.coli' nin farklı konsantrasyonlarda Bupropion içeren besiyerinde gelişimi. ....  | 41           |
| Şekil 3.15 DNA-Bupropion Absorbans Dalga boyu grafiği. ....   | 41           |
| Şekil 3.16 DNA-Bupropion bağlanmasının moleküler modellenmesi.....  | 42           |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

No

Sayfa

Çizelge 1.1 Bupropion ilaç etkileşimleri..... 16





## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER

|                    |                           |
|--------------------|---------------------------|
| $\alpha$           | : Alfa                    |
| $^{\circ}\text{C}$ | : Santigrad Derece        |
| %                  | : Yüzde                   |
| g                  | : Gram                    |
| mg                 | : Miligram                |
| L                  | : Litre                   |
| mL                 | : Mililitre               |
| $\mu\text{l}$      | : Mikrolitre              |
| rpm                | : Dakikadaki devir sayısı |
| mM                 | : Milimolar               |
| $\mu\text{M}$      | : Mikromolar              |

### KISALTMALAR

|                                   |                                 |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| <b>A</b>                          | : Adenin                        |
| <b>Bup</b>                        | : Bupropion                     |
| <b>bp</b>                         | : Baz çifti                     |
| <b>C</b>                          | : Sitozin                       |
| <b>Cu</b>                         | : Bakır                         |
| <b>Cl</b>                         | : Klor                          |
| <b>CFU</b>                        | : Koloni oluşturma birimi       |
| <b>DNA</b>                        | : Deoksiribonükleik asit        |
| <b>DA</b>                         | : Dopamin                       |
| <b>FDA</b>                        | : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi |
| <b>Fe</b>                         | : Demir                         |
| <b>G</b>                          | : Guanin                        |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen peroksit             |
| <b>HO<sup>·</sup></b>             | : Hidroksil radikali            |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>             | : Su                            |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

|                       |  |
|-----------------------|--|
| <b>KOB</b>            | : Küçük oluk bağlayıcılar                        |
| <b>MAO</b>            | : Monoamin oksidaz inhibitörleri                 |
| <b>MIC</b>            | : Minimum inhibisyon derişim                     |
| <b>MBC</b>            | : Minimum bakterisidal derişim                   |
| <b>Mg</b>             | : Magnezyum                                      |
| <b>NA</b>             | : Noradrenalin                                   |
| <b>NH<sub>3</sub></b> | : Amonyak  |
| <b>NDGI</b>           | : Noradrenalin ve Dopamin Gerialım İnhibitörleri |
| <b>NRT</b>            | : Nikotin vererek tedavi                         |
| <b>NNRT</b>           | : Nikotin içermeyen tedavi                       |
| <b>Pt</b>             | : Platin   |
| <b>ROS</b>            | : Reaktif oksijen türleri                        |
| <b>RNA</b>            | : Ribonükleik asit                               |
| <b>SE</b>             | : Seratonin                                      |
| <b>SOD</b>            | : Süperoksit dismutaz                            |
| <b>SSS</b>            | : Santral sinir sistemi                          |
| <b>TAE</b>            | : Tris asetik asit EDTA                          |
| <b>U</b>              | : Urasil   |

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

#### 1.1 NÜKLEİK ASİTLER

Kalıtsal bilgiyi taşıyan ve kullanılmasını sağlayan moleküllerdir. Bu bilgiyi protein sentezine de aktarırlar. Nükleik asitler proteinlerin polipeptid zincirlerinden oluşması gibi nükleotidlerden oluşurlar (Harteis ve Schneider 2014). Nükleotidler de üç tane birleşenden oluşurlar.

Bunlar;

- Azotlu baz
- Pentoz şekeri
- Fosfat grubu

Nükleik asitlerin isimlendirilmesi yapısında bulunan pentoz şeker grubuna göre olur.

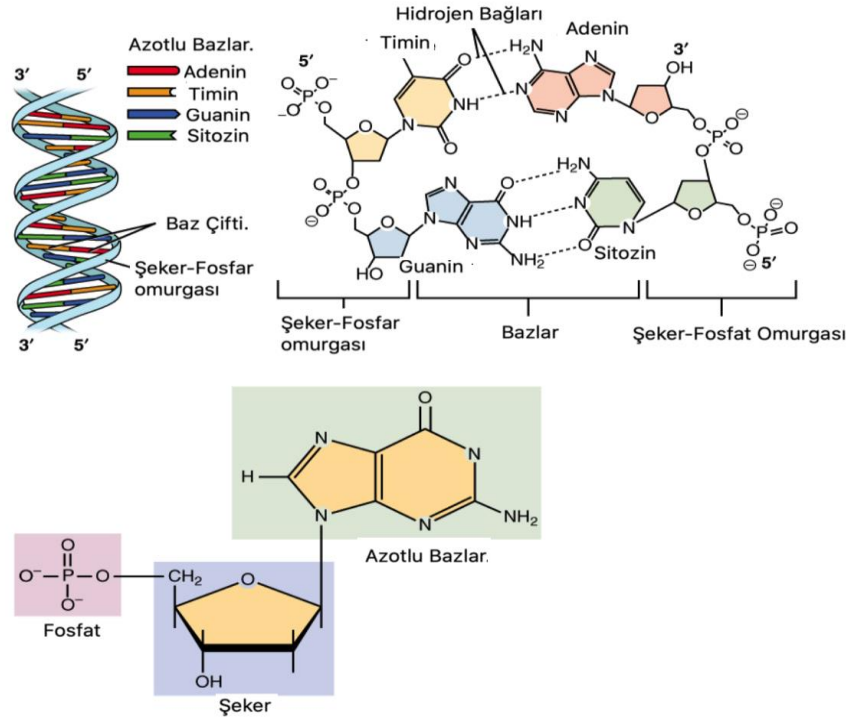
##### 1.1.1 Deoksiribonükleik Asit (DNA) Yapısı

DNA (Deoksiribonükleik asit)'nin isimlendirilmesi yapısında bulunan pentoz şekerinden gelmektedir. DNA'da deoksiriboz şekeri bulunmaktadır (Harteis ve Schneider 2014).

Nükleotit adı verilen basit birimleri içeren iki uzun polimer zincirinden oluşan DNA, tüm organizmalar ve bazı virüslerin canlılık işlevleri ve biyolojik gelişmeleri için gerekli genetik bilgiyi taşıyan bir nükleik asittir (Fogg vd. 2012).

DNA'nın yapısını 1953 yılında Watson ve Crick adlı araştırmacılar hazırladıkları modeller üzerinde açıklamaya çalışmışlardır. Bu açıklamaya göre DNA molekülü, iki kollu kıvrılmış bir ip merdivene benzemektedir (Cartwright ve Graur 2011). Bu benzetmeye göre merdivenin kenarlarını, şeker (deoksiriboz) ve fosfat molekülleri oluşturmaktadır. Şeker ve fosfat grupları

ester bağlarıyla birbirlerine bağlanmışlardır. DNA üzerinde bütün nükleotidlerin şeker ve fosfat grupları aynıdır. Buna rağmen nükleotidlerin farklılığı taşıdıkları bazlardan kaynaklıdır. Nükleotidleri oluşturan azotlu bazlar, pürin ve pirimidin olarak ikiye ayrılırlar. Pürinler iki halkalı, dokuz atomlu, adenin (A) ve guanin (G), pirimidinler tek halkalı, altı atomlu, sitozin (S), timin (T) ve urasildir (U). DNA'da bu nükleotidlerden, A,T,G ve S bulunmaktadır.



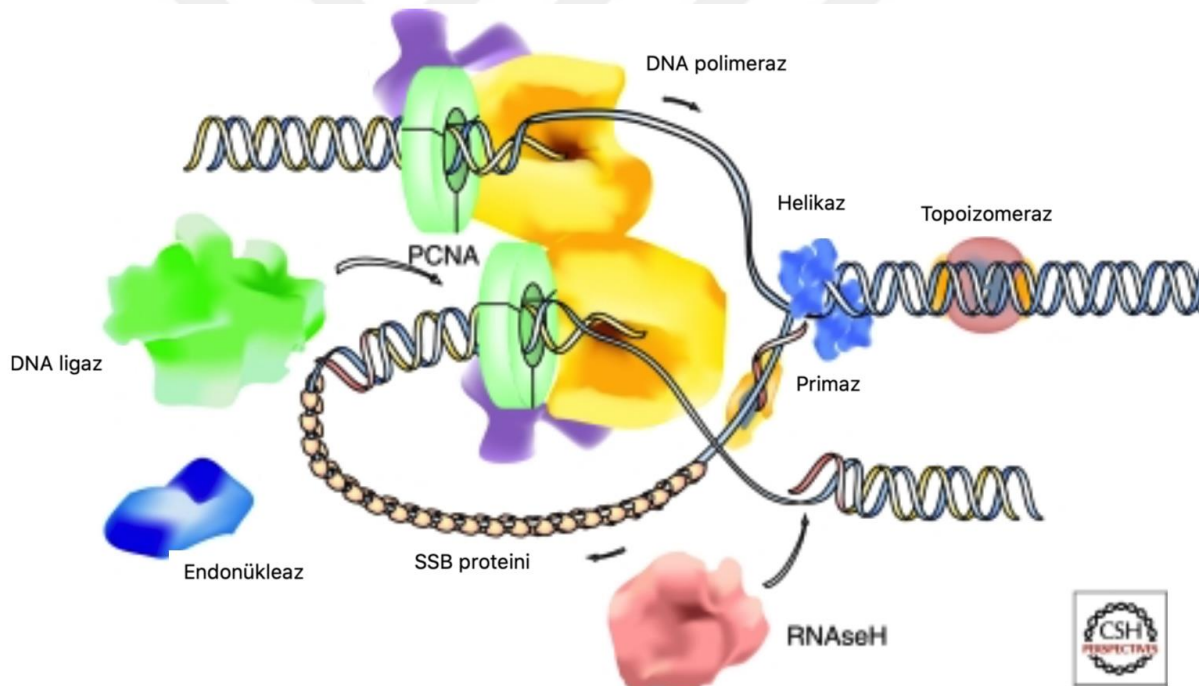
**Şekil 1.1** Nükleik asitlerin yapısında nükleotidlerin düzenlenişinin gösterilmesi.

Sol altta, bir monofosfat nükleotit; Azotlu baz bir baz çiftinin bir tarafını temsil eder. Sağ üstte dört nükleotid iki baz çifti oluşturur: timin ve adenin (çift hidrojen bağları ile bağlanır) ve guanin ve sitozin (üçlü hidrojen bağları ile bağlanır). Tek tek nükleotid monomerler, şeker ve fosfat moleküllerine zincirle birleştirilir, sol üstte gösterilen bir nükleik asidin iki "omurga" (çift sarmal) oluştururlar.

Yirminci yüzyıldaki en büyük keşiflerden biri James Watson ve Francis Crick tarafından DNA'daki iki ipliğin birbirinin tam olarak tamamlayıcısı olduğunu, merdiveni oluşturan basamakların her zaman A=T ya da G=C baz çiftlerinden birinden oluştuğunu bulmuş olmalarıdır. Bazlar arasında oluşan yani A=T ile G=C arasındaki bu tamamlayıcı (complementer) ilişki genetik işlev açısından çok önemlidir (Stovall vd. 2014).

### 1.1.2 Çift Sarmal DNA'nın Yapısı

DNA'nın iki önemli görevi vardır. Bunlardan ilki hücre bölünmesi hazırlık safhasında kendini kopyalamasıdır. Kromozomlar ikiye bölünürken DNA kendisinin bir kopyasını yapar, bu olaya dublikasyon denir (Chagin vd. 2010). DNA kendi kopyasını yaptığı sırada iki sarmal ipliği bir arada tutan hidrojen bağları bir fermuar gibi açılır, açıkta kalan bazların yani pürin ve pirimidinlerin uçları hücrede daha önceden sentezlenmiş olarak bulunan nükleotidlerle tamamlanır. Bu şekilde birbirinin aynı olan iki tane DNA molekülü meydana gelmiş olur. DNA'nın ikinci görevi ise genetik bilgiyi yani kendisinde toplanmış olan bilgiyi RNA'ya (Ribonükleik asit) aktarmasıdır. Bu işleme de transkripsiyon adı verilir. Transkripsiyon işlemi sonucunda RNA 'da toplanan bilgi ribozomlarda protein, enzim gibi maddelerin sentezinde kullanılır.



**Şekil 1.2** DNA replikasyon çatalı ve moleküler bileşenlerinin şematik taslağı ve replisomun enzimatik aktiviteleri (Chagin vd. 2010).

### 1.1.3 DNA Eşlenmesi Ve Transkripsiyon

DNA molekülünün yapısı ilk defa 1950'li yıllarda Watson ve Crick adlı araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır (Cartwright ve Graur 2011). Bu yapıya göre, bir DNA molekülünde temel iskeleti şeker–fosfat birimleri oluşturur ve bu moleküller birbirlerine fosfodiester

bağları ile bağlıdır. DNA zincirlerinde şeker-fosfat iskeletinin sadece yapı görevi vardır ve herhangi bir genetik bilgi içermez. DNA zincirindeki bazlar ise genetik bilginin depolanmasından sorumludur. Bazların sırası ise nükleik asidin birincil (primer) yapısı olarak adlandırılır (Chagin vd. 2010).

Bütün yapılan çalışmalar sonucu DNA molekülünün bir sarmal olacağı sonucuna varılmış ve purinlerin pirimidinlerle eşleştiği dikkate alınarak bu sarmalın muhtemel yapısı önerilmiştir. Bu yapıda DNA molekülü bir çift sarmal halinde iki oldukça uzun deoksiribonükleotit zincirinden oluşmaktadır. Bu iki zincirin fosfat–deoksiriboz iskeleti hidrofilik olduğundan sulu ortam ile etkileşecek şekilde çift sarmalın dışında yer alır (Frouin vd. 2003).

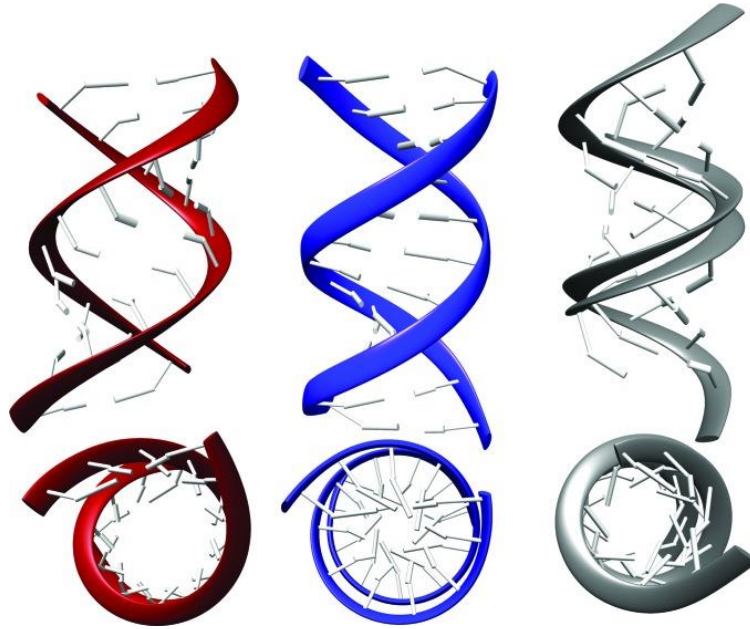
Birbirleri ile hidrojen bağları ile eşleşmiş purin/pirimidin bazları ise sarmalın iç kısmında, sarmalın uzun eksenine dik bir düzlem üzerinde ve her bir eşleşmiş baz çifti birbiri üzerine istiflenmiş gibi yer alır. Böyle bir istiflenme ise eşleşmiş bazların kuvvetli van der Waals etkileşimleri yapmalarını sağlar (O'Donnell vd. 2013). Ayrıca, sarmalda yer alan iki zincir birbirine göre antiparalel olarak yönlenmişlerdir. Böyle bir konumda her iki zincir çok sayıda purin/pirimidin bazları arasındaki hidrojen bağları ile bir arada tutulur. Bütün bu gözlemler ayrıca, lifler halindeki (Prioleau ve MacAlpine 2016) DNA moleküllerinin düzenli bir 3-boyutlu yapıya sahip olması gerektiğini göstermiştir. Polinükleotitlerdeki baz dizisinin oluşturduğu birincil yapı ile belirlenmiş bu düzenli katlanmalar ikincil yapı olarak tanımlanır ve bu ikincil yapı bir sarmal olarak ortaya çıkar.

#### **1.1.4 DNA'nın Farklı Sarmal Formları**

DNA oldukça esnek bir molekül olup, şeker fosfat omurgası içindeki çok sayıda bağ etrafında dönüşler yapması mümkündür. Sıcaklık dalgalanmaları yapıda baz eşleşmesinin önemli derecede bozulmasına, bükülme ve gerilmelere sebep olabilir. Hücresel DNA'da Watson-Crick DNA yapısından önemli sapmalar görülebilir ve bunlardan bazıları DNA metabolizmasında önemli görevlerde rol oynayabilir (Bacolla vd. 2013). Bu yapısal değişiklikler genellikle Watson-Crick tarafından tanımlanan (iplik komplementerliği, antiparalel iplikler ve A=T ile G≡C baz eşleşmesi gibi) DNA'nın önemli kilit özelliklerini etkilemektedir.



İki zincirli polinükleotid sarmallarının üç farklı konformasyona sahip olabileceği gözlenmiş ve DNA çift sarmalı için bu konformasyonlar; A–DNA, B–DNA ve Z–DNA olarak adlandırılmıştır (Dickerson ve Ng 2001). Bu konformasyonlar değişik geometrik özellikleri ile farklılıklar gösterirler ve her üç konformasyondaki sarmalın yüzeyleri de farklıdır. B sarmalında iki farklı oluk (yiv) bulunur ki bunlar büyük oluk ve küçük oluk şeklinde tanımlanırlar (Dickerson ve Ng 2001) (Schneider vd. 2018). A sarmalında ise bu oluklar derinlik açısından birbirine oldukça benzer. B-DNA formu DNA'nın fizyolojik koşullar altında en kararlı halde bulunduğu formdur. Bu nedenle, DNA özelliklerinin çalışılması esnasında bu form standart başlangıç noktası olarak kabul edilir. A formu sudan yoksun çözeltilerde, sağ-el durumundaki çift sarmal yapısında düzenlenmiştir. Su ortamında B–DNA formu daha baskın olup su molekülleri, bu küçük oluklara yerleşerek hidrojen bağları ile B formunun daha kararlı olmasını sağlar. Su molekülleri uzaklaştırıldığında ise A–formu daha baskın olur. Belirli bir molekülde A formu, B formuna göre daha kısa ve daha geniş çaplıdır. A formunda geniş oluk, daha derin olması ve fosfat gruplarının uçta asılı olması sebebiyle daha az ulaşılabilir (Dickerson ve Ng 2001, Fogg vd. 2012; Prioleau ve MacAlpine, 2016, Schneider vd. 2018). Sonuç olarak bireysel bazlar bu olukta daha derine gömülüdür. Ancak dar oluk tam belli değildir.



**Şekil 1.3** A-DNA (kırmızı), B-DNA (mavi) ve hipotetik BII-DNA (gri) modelleri, temel eşleştirilmiş dinükleotitlerin oluşturduğu yapı blokları (Schneider et al. 2018).

Bu konformasyonlardan farklı olarak Z-DNA sarmalında deoksiriboz halkalarına göre bazların oryantasyonunda farklılıklar vardır. A-DNA ve B-DNA'da bazlar deoksiriboz halkasına göre anti-oryantasyonunda iken Z-DNA'da pirimidinler daima anti- ve purinler ise syn- konumuna sahiptir (Dumat vd. 2016). Z form birbirini sıra ile izleyen purin ve pirimidin dizilimlerine sahip polimerlerde meydana gelir. Örneğin, bu tipte DNA formu meydana getiren iki sarmal incelendiğinde GC ve AC ikili tekrarlarının bulunduğu gösterilmiştir. Z-DNA in vitro koşullarda (Dumat vd. 2016), Z-DNA çift sarmalının daha ince olan yapısı içinde sıkışan nükleotitler arasındaki artan elektrostatik itmeye karşı koymak için yüksek tuz konsantrasyonunun kullanıldığı alışılmamış koşullarda keşfedilmiştir. Z-DNA'nın in vivo koşullardaki varlığı hakkında bilgiler sınırlıdır. Z-form diğer formlar ile karşılaştırıldığında daha ince yapıdadır ve sol el durumunda çift sarmala sahiptir (Champ vd. 2004, Dumat vd. 2016, Wu vd. 1981).

#### **1.1.4.1 Halkasal ve Süper Kıvrımlı DNA**

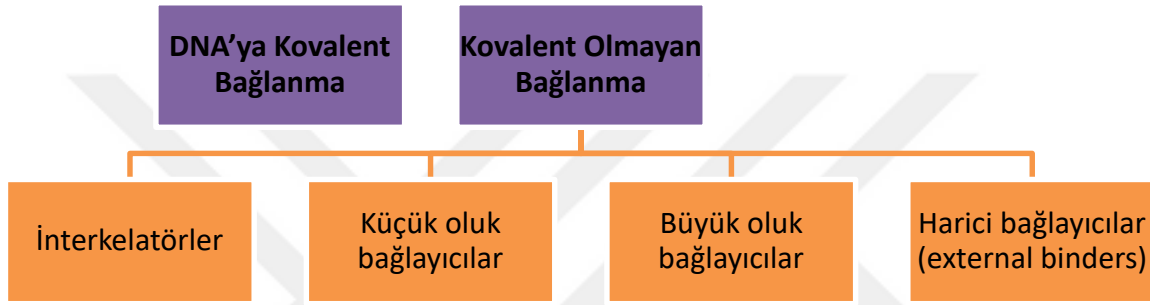
Hüresel DNA hücre içinde yerleşmek için çok sıkı olarak yoğun bir yapı içinde olmalıdır. Bu yoğun yapılanma, fazla miktarda yapısal bir organizasyonu ifade etmektedir (Prakash ve Kool 1992). Ancak, DNA'nın küçük bir alan içine yerleşebilmesi için sadece katlanması yeterli değildir.

Paketlenme işlemi, replikasyon ve transkripsiyon gibi olayların gerçekleşmesi için DNA'da bulunan bilginin ulaşılmasına da olanak sağlamalıdır (Kool 1998). DNA çift zincirinin uzayda kendi ekseninde dönmesi veya eğilmesi DNA'nın süper kıvrım özelliği olarak tanımlanır. Bunun tersine, eğer DNA'nın ekseninde eğilmesi söz konusu değilse istirahat halindedir (Wang vd. 2014). DNA yoğunlaşmasının bazı süper kıvrımlı formları içerdiği muhtemeldir. Muhtemelen replikasyona veya transkripsiyona uğrayan DNA da süper kıvrılmayı teşvik etmektedir. Hüresel DNA'nın süper kıvrım oluşturmasının olağanlığı, çoğu halkasal DNA molekülünün, protein ve diğer hüresel bileşenlerden ayrı olarak saflaştırılsalar bile, oldukça süper kıvrımlı durumda kalması ile açıklanabilir (Sharif vd. 2017). Süper kıvrım, DNA'nın üçüncül yapısının önemli ve esas olan yönünü oluşturup, hüresel DNA'da hali hazırda bulunmakla birlikte her hücre tarafından fazla miktarda düzenlenmektedir (Chakraborty vd. 2016).

## 1.2 İLAÇ DNA ETKİLEŞİMİ

Yeni organik, inorganik doğal veya sentetik olarak sentezlenmiş olan ilaç moleküller DNA'ya bağlanabilir ve onunla etkileşime girebilirler (Rehman vd. 2015). Bu etkileşim DNA'nın farklı yöntemlerle özelliklerinin belirlenmesi ve yeni hedef odaklı ilaçların üretilmesine olanak sağlamış olur.

DNA ile ilaç molekülleri temelde kovalent ve kovalent olmayan iki şekilde etkileşirler (Şekil 1.4).



Şekil 1.4 DNA ile ilaç molekülleri etkileşimleri.

### 1.2.1 DNA'ya Kovalent Bağlanma

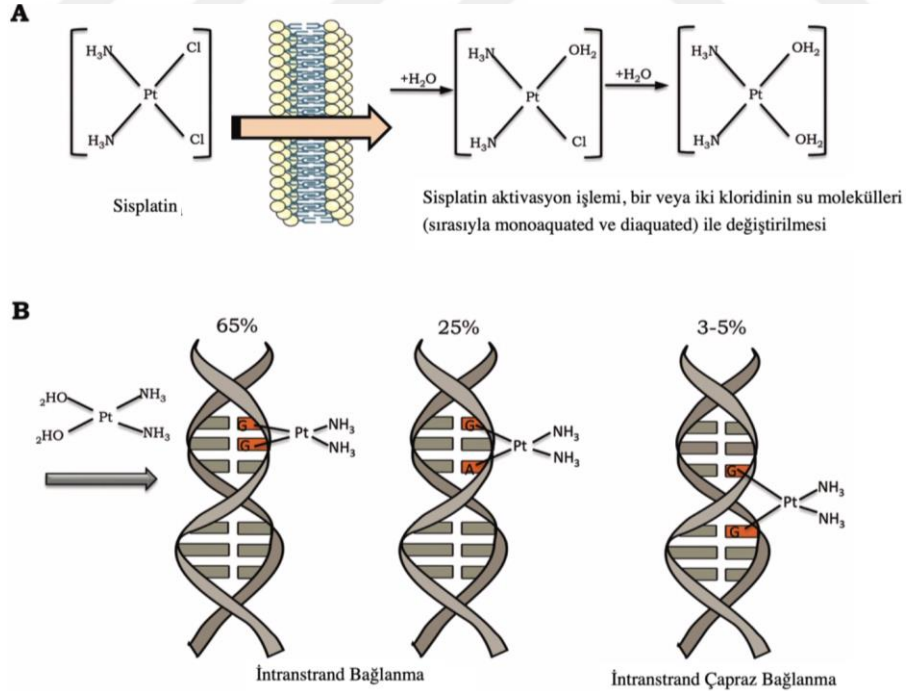
Birleşiklerin DNA'ya kovalent bağla bağlanması tersinmezdir. DNA ile meydana gelen tersinmez etkileşim sonucu DNA'nın görevlerini yerine getirememesine hatta hücre ölümüne yol açan süreçler gözlemlenir (Rehman vd. 2015). Kovalent bağlayıcıların en önemli avantajı yüksek bağlanma gücüne sahip olmaları ve hatta protein DNA kompleksinde ve DNA omurgasında bozulmalara sebep olduğundan hücre içerisinde transkripsiyona ve replikasyona etki ederler (McGurk vd. 2001). DNA'ya kovalent olarak 3 tür bağlanma şekli vardır.

- Pürin ve pirimidin bazlarının sentezlenmiş modifiye halleri ile yer değiştirilmesi
- İplikçik içinde veya iplikçikler arasında çapraz bağlanma (inter and intra-strand cross linking)
- Pürin ve pirimidin bazlarının alkilenmesi

En yaygın kullanılan kovalent bağlayıcı antikanser ilacı cisplatin bu grubun temsilcilerindedir. Yapısındaki klor gruplarıyla DNA bazlarındaki azot gruplarının

etkileşmesiyle etkisini gösterir. Kovalent bağlanan moleküller, kanser tedavilerinde DNA'nın yapısına alkil grupları bağlanarak görev aldıklarından alkilleyici ajanlar olarak da adlandırılmaktadır.

Cisplatin pratik uygulamalarda damar yolu ile verilir. Cisplatin hücre dışı ortamda  $\text{Cl}^-$  derişimi konsantrasyonu yüksek olduğu için hidroliz olmaz. Hücre içerisinde ise  $\text{Cl}^-$  derişimi oldukça düşüktür ve sulu çözelti içinde kararlı olmayan cisplatin  $\text{Cl}^-$  ligandları  $\text{H}_2\text{O}$  molekülleri ile yer değiştirir. Bu işlem sonucunda cis-[Pt( $\text{H}_2\text{O}$ )( $\text{NH}_3$ ) $_2\text{Cl}$ ] $^-$  ve cis-[Pt( $\text{H}_2\text{O}$ )( $\text{NH}_3$ ) $_2$ ] $^{+2}$  bileşikleri oluşur (Şekil 1.5). Bu iki pozitif yüklü birleşik azot atomunun bulunduğu bölgelerde olduğu gibi DNA'nın elektronca zengin bölgelerine bağlandığı kabul edilir (Zhou vd. 2015). Nükleobazlar arasında elektronca en zengin guanin olduğundan cisplatin için DNA'daki guanin bazları hedef bölgesidir. Kanserli hücrelerin zamanla cisplatin direnç göstermesi ve yan etkilerinin fazla olmasından dolayı alternatif yeni antikanser ilaç araştırmaları başlamıştır. Yan etkileri daha az ve suda daha iyi çözünebilen kaboplatin (Karasawa vd. 2013), okzaliplatin ve nedaplatin gibi yeni antikanser ilaçları geliştirilmiştir (Jiang vd. 2015, Karasawa vd. 2013).



Şekil 1.5 Cisplatin bileşiminin guanin(G) bazına kovalent bağlanması (Rocha vd. 2018).

Cisplatin aktivasyonu ve DNA hasar indüksiyonu. A) Cisplatin aktivasyon işlemi, bir veya iki kloridinin su molekülleri (sırasıyla monoaquated ve diaquated) ile değiştirilmesi ile gerçekleşir. B) Cisplatin DNA ile kovalent bağlar oluşturabilir. Cisplatin platin atomu, 1,2 veya 1,3-intranrand çapraz bağları ve interstrand çapraz bağları oluşturmak için pürinlerin N7 pozisyonuna kovalent olarak bağlanır. Cisplatin-DNA eklentileri, replikasyon tutulması, transkripsiyon inhibisyonu, hücre döngüsü tutukluğu, DNA onarımı ve apoptoz gibi çeşitli hücresele tepkilere neden olur.

## 1.2.2 Kovalent Olmayan Bağlanma

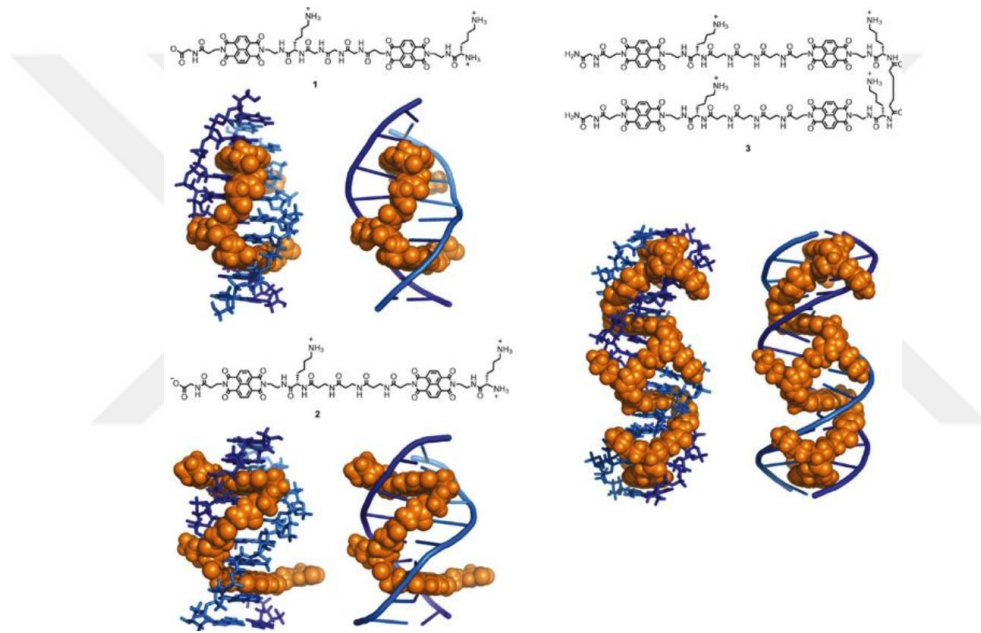
İlaçlar kovalent olmayan bağlanmada DNA'ya tersinir bağlanırlar, kovalent bağlanan ilaçlara göre ilaç etki mekanizması ve zehir etkisi düşünüldüğünde daha fazla tercih edilir. Kovalent olmayan DNA etkileşim ajanları, DNA ile etkileşime girdiğinde DNA'da konformasyonel değişikliği, torsiyonel açı gerginliği, protein-DNA etkileşimini etkileyerek DNA ipçiklerinin kırılmasına neden olur. Moleküler tanımlama (molecular recognition) sırasında DNA molekülü ile etkileşen küçük ve büyük moleküllerin seçici olarak DNA'ya bağlanması önemlidir (Rehman vd. 2015). Bu bağlanma elektrostatik, hidrojen bağları, van der Waals ve dipol-dipol etkileşimler sonucu olur. Yeni oluşan DNA-ilaç kompleksinin kararlılığı sözü geçen etkileşimlerin fazlalığına bağlıdır. Kovalent bağlanmadan DNA ile etkileşen ilaçlar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir:

- İnterkelatörler
- Küçük oluk bağlayıcılar
- Büyük oluk bağlayıcılar
- Harici bağlayıcılar (external binders)

### 1.2.2.1 İnterkelatörler

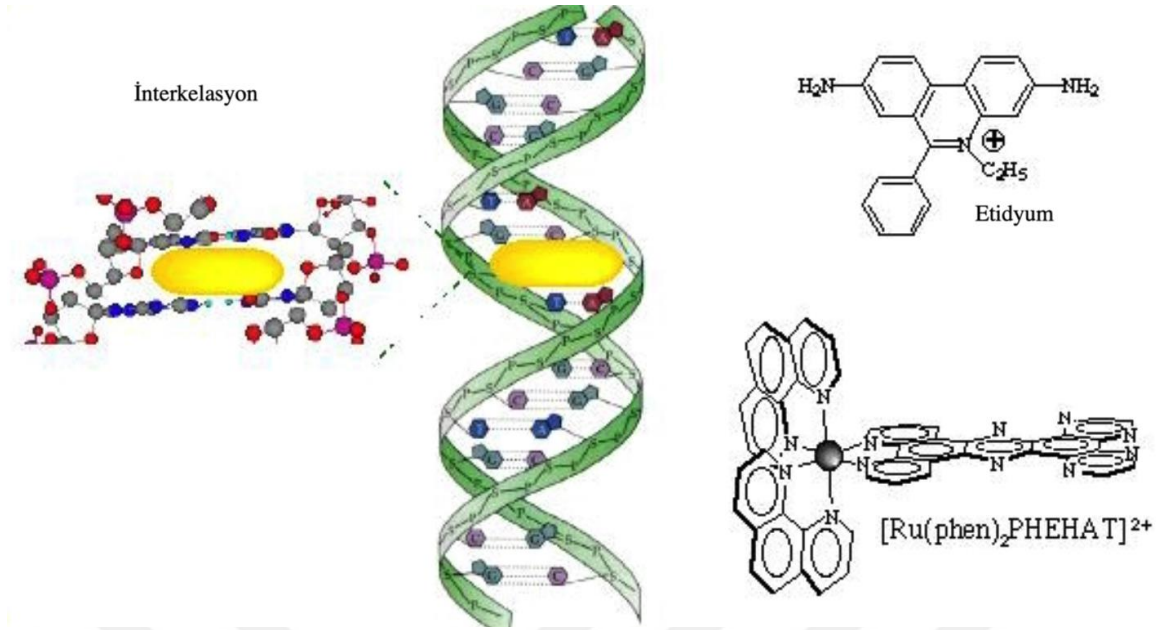
DNA bazlarının arasındaki hidrojen bağlarına etki etmeden ve kovalent bağlanmadan kümelenen DNA omurgasına dik moleküllerdir. DNA-interkelatör kompleksinin kararlılığını tek başına DNA'ya göre van der Waals, hidrojen bağları, hidrofobik, yük transfer kuvvetleri (charge transfer complex) sağlar (Chaires 2015). İnterkelasyon, çift sarmal DNA'yı kararlı kılabılır, uzatabılır, güçlendirebilir veya çözer. İnterkelatörler h-düzlemsel heterohalkalar

içerir ve bitişik olan baz çiftlerinin arasına girerek kompleks oluşumuna sebep olur. Böylece DNA-ilaç arasında  $\pi$ - $\pi$  istiflenmesinden kaynaklı bir etkileşim olur. İnterkatörler içerdikleri aromatik parçaya bağlı olarak mono interkatörler veya çift interkatörler olarak ayrılırlar (Banerjee vd., 2014). Mono interkatörler aromatik akrinin halkası içeren yapılar olabileceği gibi 7 ve 9 konumlarından süstitüe yanyana dört bitişik altı üyeli halkalardan oluşan daunomycin ve adriamycindeki gibi kompleks bileşikler de olabilir. Bu interkatörler, sarmal interkatörler olarak bilinir ve interkelyasyon yapmış ve baz çiftleri arasında kümelenmiş aromatik halkanın karşı tarafından da süstitüentlerle DNA'yı sarmalayan aromatik halka yapısına sahiptirler (Şekil 1.6).



**Şekil 1.6** İnterkatör ligandlarının kimyasal yapıları ve ortaya çıkan ligand-DNA komplekslerinin modelleri (Holman vd. 2011).

İnterkatörlerde ilaç molekölünün aromatik kısmı, baz çiftinin arasına konumlanır (Şekil 7).



Şekil 1.7 İnterkelasyon, baz çifti arasına bağlanması (Mathew vd. 2014).

İnterkelatör bileşikler hidrofobik etkileşimlerle DNA'ya bağlanır, çünkü bileşiğin aromatik kısımları baz çiftlerinin aromatik kısımları ile etkileşimi tercih ederler. Bu ajanlar, bitişik baz çiftleri arasında mesafeyi arttırdıkları için DNA'da güçlü düzensizlikler oluşturur. Bir interkatörün baz çiftleri arasına yerleşebilmesi için DNA'nın dinamik olarak bazlar arasında yeterli mesafe açması gerekir. Bu açılma gerginlik, DNA'nın omurgasında şeker-fosfat grupları arasındaki gevşeme ile sağlanır (Biebricher vd. 2015). Bir ilaç molekülü, interkatör bölgesinde guanin bazının N2 ve N3 veya sitozin bazının O2 kısmı ile hidrojen bağları yapabilecek (A halkasının -OH grubu veya daunomycin'in 3' pozisyonundaki NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) fonksiyonel grupları içermesine rağmen bazlar arasına interkatörlerle olan istiflenme, kompleks kararlılığına en fazla katkı yapan etkileşim türüdür. Her şekilde kompleks oluşumundan sonra yüzeyde tutulan su molekülü miktarı azalır (Wheate vd. , Aldrich-Wright 2007). Öte yandan DNA ve ilaç arasındaki etkileşim, interkatör bölgesine bitişik bazların dizilimine ve interkatör ilacın kimyasal modifikasyonuna da bağlıdır.

Bifonksiyonlu interkatörler (bisinterkatör) DNA molekülüne iki farklı yoldan bağlanabilirler:

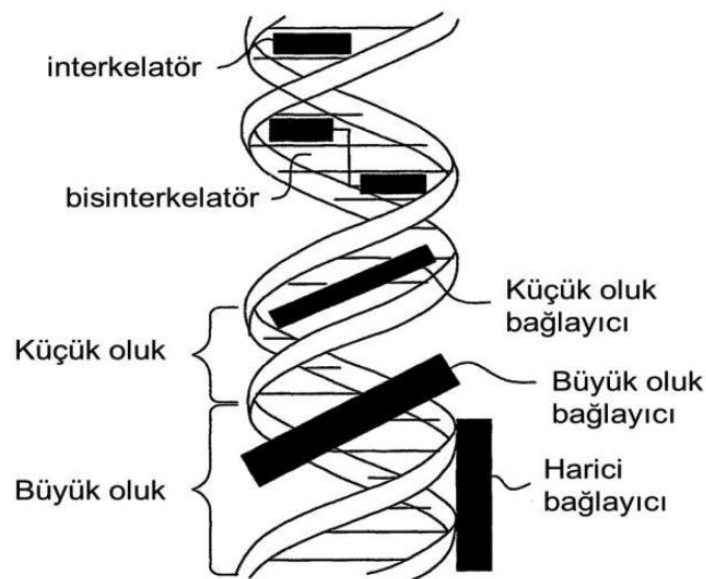
- I- İnterkelatörün aromatik bölgesi aynı DNA molekülü ile interkatör yapar (intramolecular cross-linking).
- II- İnterkelatörün aromatik bölgesi ayrı DNA molekülleriyle interkatör yapar (intermolecular cross-linking.)



### 1.2.2.2 Küçük Oluk Bağlayıcılar

En önemli küçük oluk bağlayıcılar (KOB), berenil, netropsin, distamycin ve mithramycin'dir. Bu ilaçlar, genelde oluk kısımları tamamlayacak hilal şeklinde olup van der Waals etkileşimlerle DNA'ya bağlanırlar (Şekil 1.8). KOB yapısındaki ilaçlar furan, pirol, benzen gibi aromatik halkaların tek bağ etrafında dönerek burulma serbestliği kazanmış bileşiklerdir (Bolt ve Laib 1980). Ayrıca bu ilaçlar, genelde DNA'nın adenin-timince zengin dizilimleriyle hidrojen bağları kurarlar.

Bütün komplekslerde ilaç, DNA'nın küçük oluk kısmına konumlanır ve su moleküllerini bu bölgeden çıkarır. Bundan dolayı kompleksleşme olayına bakıldığında göreceli olarak DNA yapısında küçük değişimler meydana geleceği beklenirken durum pek de öyle değildir. Çünkü kompleks oluştuğunda DNA'nın sarmal olarak bükülmesi imkansız hale gelir (Alarcón 2017, Catone vd. 2014). Bazlardan bir tanesi hidrojen bağları kuracak şekilde ilaç molekülüne doğru yönelir. Bazen DNA ve ilaç molekülleri arasındaki su molekülleri hidrojen bağına aracılık eder ve kompleks kararlılığına büyük oranda katkıda bulunur. Van der Waals etkileşimleri de önemli ölçüde kompleksin kararlılığına etki eder ve DNA'nın normal Watson/Crick geometrisinden düzensiz bir DNA sarmalına dönüşmesine sebep olur. Öte yandan DNA'daki değişimler dışında DNA-ilaç etkileşimleri, ilaç molekülünün kendisinde de konformasyonel farklılıklar meydana getirir (Alarcón vd. 2017).



Şekil 1.8 Kovalent olmayan bileşiklerin etkileşimleri.



### 1.2.2.3 Büyük Oluk Bağlayıcılar

Genellikle çoğu oluk bağlayıcı ilaçlar, DNA'nın küçük oluklarını hedef bölgesi olarak seçerler. Bu ilaçlar genelde düzlemsel ve katyonik yüklü olup bitişik olmayan halka içerirler. Böylece küçük olukların elektronegatif yüklü kısımları ile etkileşirken DNA'nın bu kısımları ile şekilsel olarak da birbirini tamamlayormuşçasına eşleşebilir. Öte yandan az sayıda da olsa büyük oluklara bağlanan bileşikler de vardır. DNA sarmalında baz çiftlerindeki azot ve oksijen atomları, çift sarmalın eksenine doğru yönelmiş böylece proteinler tarafından tanınır hale gelmiştir. Bu sayede proteinler, belirli baz çiftlerini tanıyarak bu dizilimler ile özgün olarak bağlanabilirler. DNA-protein etkileşimini engellemek için sentezlenen veya doğal olarak elde edilen bütün bileşikler büyük oluk bağlayıcı ajanlar olarak kabul edilir. Bu alanda ilk sağlam kanıtlar metil yeşili ile elde edilmiş olup sonrasında bazı akridin karboksamid iskeletine sahip bileşikler ile aflatoksin, bramycin gibi bileşikler de sentezlenmiştir. Etkileşimlerin daha detaylı incelenmesi ve anlaşılması için daha etkili analog bileşiklerin sentezine ihtiyaç duyulmaktadır.

### 1.2.2.4 Harici Bağlayıcılar

Bu tür etkileşimler doğada elektrostatik çekim kaynaklıdır. Bazı ligandlar DNA'nın omurgasında yer alan fosfat gruplarıyla dış kenar yüzeyde istiflenme ile etkileşir ve bu kısımlarda kendiliğinden birikirler. Böylece ligand, anyonik DNA'nın omurgası ile istif oluşturarak kendi molekülleri arasında yük-yük itmelerini azaltmış olur. Bazı metal kompleksleri bu şekilde DNA'ya bağlanır (Misiak ve Beretta 2016). Bunlardan biri olan  $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ , DNA'ya bağlandığında iyon şiddetine bağlı olarak luminesansında (Jenkins 1997) artış görülür. Aynı şekilde  $Mg^{+2}$  katyonu içeren kompleksler de bu yolla bağlayıcı olarak davranırlar (Deiana vd. 2015).

### 1.2.2.5 Metal-İlaç Kompleksleri

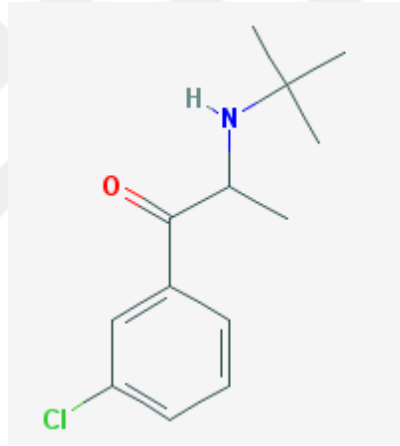
DNA, metal kompleksler için de önemli bir hedeftir. Geçiş metallere komplekslerinin kovalent veya kovalent olmayan bağla DNA'ya bağlanabildikleri bilinmektedir. Kovalent bağlanmada guanin bazının N7 konumu ile kompleksin kararsız ligandı etkileşir. Kovalent olmayan bağlanmada etkileşimler (Reyzer vd. 2001), DNA sarmalının dış kısmı boyunca

interkelasyon, elektrostatik ve metal kompleksin yüzeyinden olabilir (Kljun 2011). Metal içerikli ilaçlar arasında en çok kinolon kompleksleri içeren antibiyotikler çalışılmıştır.

## 1.3 BUPROPİON HİDROKLORÜR

### 1.3.1 Bupropion'un Yapısı

Bupropion hidroklorürün diğer isimleri; Wellbutrin, Zyban, Voxra, Budeprion veya Aplenzindir. Kimyasal adı (DL-2-tertbutilamino-3-kloropropiofenon hidroklorür) bupropionun kapalı kimyasal formülü  $C_{13}H_{18}ClNO$ .HCl ve molekül ağırlığı 276.2 dir. Bupropion hidroklorür tozu, beyaz kristallidir ve suda çok çözünür. Acı tadı vardır ve ağız mukozasında lokal anestezi hissi üretir (Fava vd. 2005).



**Şekil 1.9** Bupropion Yapısal formül (National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=444)

Bupropion Noradrenalin ve Dopamin Gerilim İnhibitörleri (NDGI) sınıfında yer alan bir antidepresan ilaçtır. Bupropion bu grubun tek örneğidir. Türkiye’de antidepresan olarak değil daha düşük dozda farklı bir preparat şeklinde sigara bırakma tedavisinde kullanılmak üzere endikasyonu vardır (Khan vd. 2016). Dirençli olgularda tek veya diğer ilaçlara ek olarak kullanılabilir.

### 1.3.2 Bupropion'un Farmakokinetiği ve Farmakodinamiği

Bupropion sürekli salınımın insanlardaki hızlı salınım formülasyonu ile biyoesdeğer olduğu belirlenmiştir. Bupropionun 150 mg’lık tabletleri vardır. Oral alınımdan yaklaşık 3 saat sonra

maksimum plazma konsantrasyonu olan 140 mg / L'a ulaşır. Kararlı plazma düzeyine ise sekiz gün içerisinde erişir. İlacın % 85'i plazma proteinlerine bağlanır (Jefferson vd. 2005, Khan vd. 2016).

Bupropion sağlıklı gönüllülerde 3 aktif metabolite metabolize edilmiştir (hidroksibupropion, trihidrobupropion ve eritrohidrobupropion). Bupropion ve metabolitleri major idrar metaboliti olan meta-klorohipürik asit'i oluşturmak için daha ileri biyotransformasyon ve konjugasyon sürecine girerler. Böylece sadece az miktar bupropion (200mg oral dozun % 0.6 veya daha azı) idrarla değişmemiş olarak atılır. Bupropionun farmakokinetiği ilacın aşırı ilk geçiş metabolizmasıyla uyumludur (Jefferson vd. 2005).

İnsan karaciğer mikroenzimlerinde yapılan in vitro çalışmalar, bupropionun aktif metaboliti olan hidroksibupropiona dönüşümünün sitokrom P450 (CYP) izoenzimleri 2B6, 1A2, 2A6, 2C9, 2E1 ve 3A4 tarafından katalize edildiğini ve CYP2B6'nin ilişkili majör izoenzim olduğunu göstermiştir. Diğer aktif metabolit trihidrobupropion ise CYP izoenzimleri tarafından katalize edilmez. Bu süreçte karbonil redüktaz'ın yer alıyor olabileceği bildirilmiştir (Jefferson vd. 2005).

Bupropiona yanıtın genetik açıdan incelendiği çalışmalarda sigara bırakmada başarıyı belirleyici faktörün CYP2B6 genindeki değişimler olduğunu düşündüren sonuçlar bildirilmektedir. İlacın eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 18-19 saattir. Oral doz bupropion alınımından 72 saat sonra yaklaşık % 84 civarında meta-klorohipürik asit olarak idrarda , %9 civarında gaitada saptanır. Sigara kullanımı bupropionun kendisinin ve metabolitlerinin farmakokinetiğini etkilememektedir (Jefferson vd. 2005). Alkolik karaciğer hastalığı olanlarda ise sağlıklı bireylere göre hidroksibupropionun yarılanma ömründe artış gözlemlenmiştir.

Erkeklerde ilaç yarılanma süresi kadınlara göre kısmen daha kısa olmakla birlikte cinsiyetler arasında farmakokinetik farklılık saptanmamıştır. Bupropion metabolize olurken sitokrom P450 sistemi üzerinden antidepresanlar, antipsikotikler, antiaritmikler ve beta blokerler ile etkileşebilir (Jefferson vd. 2005) (Çizelge 1.1).

**Çizelge 1.1** Bupropion ilaç etkileşimleri.

| <b>ETKİLEŞİM</b>                                     | <b>ÖRNEK</b>   | <b>ÖNERİLEN YAKLAŞIM</b>   |
|--|--|--|
| <i>MAO* İnhibitörleri</i>                            | Tranycypomine<br>Phenelzine<br>Moclobemide   | Kontrendike<br>Bupropion kullanımından enaz 14 gün önce MAO İnhibitörleri kesilmelidir.                          |
| <i>CYP2D6 Tarafından Metabolize Edilen İlaçlar</i>   | Antidepresanlar(Desipramin,Paroksetin,İmi pramin)<br>Antipsikotikler(Risperidon,Thiroridazin)<br>Beta-blokerler(Metaprolol<br>Tip 1C<br>antiaritmikler(Flecainidin,Propofenon) | Birlikte tedavi verilecekse Bupropion tedaviye eklendiğinde en alt doz basamağına inilmeli veya doz azaltılmalı. |
| <i>CYP2A2 Tarafından Metabolize Edilen İlaçlar</i>   | Teofilin<br>Clozapin   | Uyarı ile verilir.   |
| <i>Konvülzyon Eşiğini Düşüren İlaçlar</i>            | Antipsikotikler<br>Antidepresanlar<br>Teofilin<br>Sistemik steroidler<br>Benzodiazepin ani kesilmesi<br>Kinolonlar (Ciprofloksasin)  | Ciddi anlamda uyarı gerekli.   |
| <i>Bupropion Metabolizmasını İnhibe Eden İlaçlar</i> | Simetidin<br>Sodyum valproat   | Uyarı ile verilir.<br>Doz günlük 150 mg'a düşürülür.   |
| <i>Bupropion Metabolizmasını Hızlandıran İlaçlar</i> | Karbamezapin<br>Fenobarbital<br>Fenitoin   | Uyarı ile verilir.<br>Eski ve devam eden nöbet öyküsü bulunanlarda Bupropion kontrendikedir.                     |
| <i>CYP2B6 Tarafından Metabolize Edilen İlaçlar</i>   | Orfenadrin<br>Siklofosfomid<br>İfosfamid   | Uyarı ile verilir.   |
| <i>Diğer</i>   | Levodopa   | Uyarı ile verilir.   |
| <i>*Monoaminooksidaz</i>                             |  |  |

### 1.3.2.1 Bupropion'un Farmakodinamiği

Bupropionun antidepresan etkisinin nörokimyasal mekanizması bilinmemektedir. Bupropion, norepinefrin, serotonin ve dopaminin nöronal alımının nispeten zayıf bir inhibitörüdür ve

monoamin oksidazı inhibe etmez. Bupropion, artmış lokomotor aktivitesi, programlı kontrollü çeşitli işlemsel davranış görevlerinde ve yüksek dozlarda hafif klişeleşmiş davranışın uyarılmasında artmış cevap verme hızlarında kanıtlandığı gibi, hayvanlarda doza bağlı merkezi sinir sistemi uyarıcı etkiler üretir. Bupropion, insan antidepresan dozu olarak önerilen dozu yaklaşık on misli dozlarda kemirgenlerde ve köpeklerde kasılmalara neden olur.

### **1.3.2.2 Bupropion'un Farmakokinetiği**

Bupropion rasemik bir karışımdır. Bireysel enantiyomerlerin farmakolojik aktivitesi ve farmakokinetiği henüz çalışılmamıştır. İnsanlarda, Bupropion'in oral yollanmasını takiben, pik plazma bupropion konsantrasyonları genellikle 2 saat içinde elde edilmekte, ardından bifazik bir düşüş meydana gelmektedir. Terminal faz 8 ila 24 saat aralığında, ortalama 14 saatlik bir yarı ömre sahiptir. Dağılım aşaması, ortalama 3 ila 4 saatlik bir yarı ömre sahiptir. Kronik dozlama sonrası ortalama bupropionun yarı ömrünün ( $\pm$  SD) ortadan kalkması 21 ( $\pm$  9) saattir ve 8 gün içinde sabit durumdaki plazma bupropion konsantrasyonlarına ulaşılır. Plazma bupropion konsantrasyonları, 100 ila 250 mg'lik tekli dozların ardından doz orantılıdır; ancak, doz ve plazma seviyesi arasındaki orantılığın kronik kullanımda korunup korunmadığı bilinmemektedir.

### **1.3.3 Bupropion'un Emilimi**

Bupropion tabletlerin insanlarda mutlak biyoyararlanımı belirlenmemiştir çünkü insan kullanımı için bir intravenöz formülasyon mevcut değildir. Bununla birlikte, oral yoldan verilen herhangi bir dozun sadece küçük bir kısmının sistemik dolaşıma sağlam bir şekilde ulaşması muhtemel görünmektedir.

### **1.3.4 Bupropion'un Dağılımı**

İn vitro testler, bupropionun, 200 mcg / mL'ye kadar konsantrasyonlarda insan plazma proteinine % 84 bağlı olduğunu göstermektedir. Hidroksibupropion metabolitinin protein bağlanmasının kapsamı, bupropion ile aynıdır, oysa threohidrobupropiyon metabolitinin protein bağlanmasının kapsamı, bupropion ile görülen oranın yaklaşık yarısı kadardır.

### **1.3.5 Bupropion'un Metabolizması**

Bupropion, insanlarda yaygın olarak metabolize edilir. Üç metabolitin aktif olduğu gösterilmiştir: tert-butil bupropion grubunun hidroksilasyonu ile oluşturulan hidroksibupropion ve karbonil grubunun indirgenmesi ile oluşan amino-alkol izomerleri, treohidrobupropion ve eritrohidrobupropion. İn vitro bulgular sitokrom P450IIB6'nın (CYP2B6) hidroksibupropion oluşumunda rol oynayan başlıca izoenzim olduğunu gösterirken, sitokrom P450 izoenzimleri treohidrobupropion oluşumunda yer almaz. Bupropion yan zincirinin oksidasyonu, daha sonra ana idrar metaboliti olarak salgılanan meta klorobenzoik asidin bir glisin konjugatının oluşumuyla sonuçlanır. Metabolitlerin bupropiyona göre etki ve toksisiteyi tam olarak karakterize edilmemiştir. Bununla birlikte, farelerde bir antidepresan tarama testinde, hidroksibupropionun bupropion kadar güçlü olduğu, threohydrobupropion ve eritrohidrobupropionun bupropiondan 5 kat daha az etkili olduğu gösterilmiştir. Bu klinik öneme sahip olabilir, çünkü plazma konsantrasyonları bupropioninkinden daha yüksek veya daha yüksektir.

### **1.3.6 Farmakolojik Özellikleri**

#### **1.3.6.1 Antidepresan Etki**

Bupropion depresyon tedavisi için endikedir. Majör depresyon; fazla üzüntü, karamsarlık, suçluluk duygusu, konsantrasyon kaybı, ilgisizlik, zihinsel yavaşlama, uykusuzluk-aşırı uyku, iştahta artma-azalma, pek çok endokrin fonksiyon değişikliği, normal günlük aktivitede azalma, beden ısısında azalma şeklinde gözlemlenen belirtilerin eşik ettiği önemli bir hastalıktır (Preskorn ve Othmer 2018).

Depresyonun üzerinde yapılan yoğun çalışmalara rağmen hala tam olarak asıl nedenine ulaşılamamıştır. En çok kabul gören ise monoamin hipotezi, depresyonun beyin monoaminlerinin işlevsel yetersizliğinden kaynaklandığı ön görülür (Khan vd. 2016). Depresyonda eksikliği söz konusu olan monoaminler, serotonin (5-HT) ve noradrenalin (NA)'dır. Dopamin (DA) eksikliğinin depresyona katkısı sınırlı olduğu düşünülse de DA-depresyon ilişkisini gösteren çalışmalar da vardır. Antidepresan etkinlik için serotonerjik aktivite artışının gerekli olduğu, noradrenerjik (NA) aktivitenin antidepresan etkinin

sürekliğini sağladığı, DNA'nın ise uyarıcı etkiden sorumlu olduğu benimsenmektedir (Maneeton vd. 2013).

Bupropion zayıf fakat oldukça seçici bir DNA geri alım (re-uptake) inhibitörüdür. Sinaptik aralığa salıverilen DA etkisinin, geri alım mekanizması (sinir ucu tarafından) ile sonlandırılmasını, böylece DA eliminasyonunu önler. Bupropionun NA geri alım inhibisyonundaki rolü ise DA için olanın yarısı kadardır ve etkin maddenin serotonerjik sisteme olan ilgisi çok düşüktür (Khan vd. 2016, Maneeton vd. 2013). Bupropionun etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır, fakat noradrenerjik kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Bupropionun antidepresan etkisine DA katkısını gösteren bazı kanıtlar mevcutsa da bunlar çok açık değildir. Bupropionun antidepresan etkisinin serotonerjik kaynaklı olmadığı bilinmektedir.

### **1.3.6.2 Sigara Bıraktırma**

Sigara bıraktırıcı yöntemler dışarıdan nikotin vererek tedavi(NRT) ve nikotin içermeyen tedavi (NNRT) olarak ele alınır. Bupropion antidepresanı da nikotin içermeyen sigara bıraktırma tedavilerinin içinde kullanılan bir ilaçtır (Wilkes 2008).

#### ***Nikotin İçermeyen Tedavi (NNRT)***

Hücrelerarası iletişimi sağlayan doğal postacı moleküller nörotaşıyıcı (asetilkolin, dopamin) ve hormonlardır (adrenalin, östrojen) (Stasiuk vd. 2017). Bu moleküller gelen mesajı hücre içine iletir ve biyokimyasal reaksiyonun başlamasını sağlarlar (Khan vd. 2016). Vücudun üretmiş olduğu postacı moleküllerin azlığı veya çokluğu bir çok hastalığa sebep olur. Bu durumda vücudumuza dışarıdan taklitçi posta molekülleri ilaç veya besin kimyasalları ile alınır (Carroll vd. 2010). Reseptörle iletişime giren ilaçlara agonist veya antagonist denir. Agonistler postacı molekül azlığında onlar gibi davranır yani taklit postacı molekül gibi davranır. Antagonistler ise postacı moleküller fazla ise postacı moleküller ile reseptörün etkileşime girmesine mani olurlar (Preskorn ve Othmer 2018).



**Şekil 1.10** Nikotinik reseptör agonist ve antagonistleri

Bupropionun antidepresan olarak kullanılmasına karşın yapılan araştırmalar sonucunda uzun süreli kullanımda sigarayı bıraktırıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (Wilkes 2008). Yapılan çalışmalar bupropion'un nikotinik-asetilkolin reseptör antagonisti olduğunu ve sigaranın içilmesini baskılayıcı etki gösterdiği hipotezini desteklemiştir (Stasiuk vd. 2017). Bupropion nikotinik-asetilkolin reseptörüne bağlanarak bu reseptörün nikotin ile etkileştiğinde ortaya çıkan dopamin salgısına etkisini ortadan kaldırır.

Bupropion ile yapılan çalışmalar depresyon tedavisinde etkili olduğunu gösterince sıra bu ilacın sürekli salınım durumunda etkinliğinin ne olduğunu araştırmaktı. Bupropion halen sigara bırakmada Food and Drug Administration (FDA) tarafından 1997'de onaylanmış tek nikotin dışı farmakolojik tedavi ajanıdır (Barlas 2014). Avrupa Birliği'nin 'de de sigara bırakma tedavisi için kayıtlıdır. Bu ilacın sigara bırakma tedavisinde denenmesinin sebebi etki mekanizmasının norepinefrin ve dopamin geri alım inhibitörü şeklinde olduğunun bilinmesi ve depresyon ilacı olarak kullanıldığında yan etki oluşturabileceğinin gözlenmesi etkili olmuştur. Dopamin'in ödüllendirme yolağı üzerinde ve noradrenalin'in yoksunluk belirtileri üzerinde olmak üzere, bu iki nörotransmitterin nikotin bağımlılığında etkileri olduğu hipotez edilmiştir (Wilkes 2008).



### 1.3.7 Bupropionla Uzun Süreli Tedavi ve Tedavi Dozu

Bupropion 7-12 haftalık standart tedavi rejiminin uzatılması ile tedavi sonunda ve izlemde; sigaradan uzak durma ve tekrar başlamanın önlenmesinde verimli sonuçlar alınabilmektedir. Cox ve arkadaşları yedi hafta boyunca bupropion uygulanan ve sigaradan uzak durmayı başaran katılımcıları bir yıl boyunca bupropiona devam eden veya plasebo (Reimherr vd. 2005) uygulanan gruplara randomize etmişlerdir. Tedavinin sonunda bupropion grubunda sigaradan uzak durma başarısı plasebodan daha fazla iken 104. haftada yapılan değerlendirmede iki grup arasındaki farkın artık anlamlı olmadığı görülmüştür. Nüks riski yüksek olgularda bupropion tedavi süresi uzatılabilir (Khan vd. 2016). Tedavi kürünün süresini uzatmak nikotinden daha uzun süre uzak kalmayı sağlamaktadır.

Bupropion dozu 65 yaş üzeri olgularda, ciddi karaciğer ve böbrek yetmezliği olanlarda ve ağırlığı 45 kg'ın altında olan olgularda günlük 150 mg olarak kullanılmalıdır. Yan etkiler nedeni ile tam dozu tolere edemeyen olgularda da 150 mg tercih edilebilir (Reimherr vd. 2005).

### 1.3.8 Kontrendikasyonlar

Bupropion tedavisinin kontrendike olduğu durumlar;18 yaş altı sigara içenler, gebelik (kategori C), laktasyon, konvülziyon veya konvülziyon eşliğini düşüren ilaç (alkol, nöroleptik) kullanımı, santral sinir sistemi (SSS) travması veya tümörü öyküsü bulunanlar, anoreksi nevroza, bulumia gibi yeme bozuklukları ve MAO inhibitörü kullanma öyküsü olanlar, bipolar hastalık, kontrolsüz hipertansiyon, ağır hepatik siroz, bupropion veya inaktif bileşenlerine karşı aşırı duyarlılığın bulunmasıdır (Khan vd. 2016, Wilkinson ve Bevins, 2007) (Şekil 1.11). Gebelik durumu bilinmeden sigara bırakma ve/veya depresyon için bupropion kullanılmış ise majör teratojenik etkide artış bildirilmemiş olmakla birlikte spontan abortus riski açısından yakın takip gerekmektedir. Bupropion ve metabolitleri anne sütüne geçer, laktasyonda kullanımı önerilmemektedir.

## Bupropion Kontrendikasyonları

- 18 yaş altı sigara içenler
- Gebelik, Laktasyon
- SSS travma ve tümörü öyküsü
- Yeme bozuklukları
- Konvülziyon veya konvülziyon eşliğini düşüren ilaç kullanımı
- Bipolar hastalık
- MAO inhibitör kullanımı
- Ağır hepatik siroz
- Kontrolsüz hipertansiyon
- Aşırı duyarlılık.

**Şekil 1.11** Bupropion Kontrendikasyonları

### 1.3.9 Yan Etkiler

Klinik çalışmalarda özetlenen ve plaseboya göre anlamlı düzeyde daha sık görülen yan etkiler uykusuzluk (%30-40), ağız kuruluğu (%10), bulantı ve baş ağrısıdır. Ağız kuruluğu ve uykusuzluk bupropion metabolit konsantrasyonu ile ilişkilidir (Ravindran 2015). Ağız kuruluğu ve baş ağrısını önlemek için gün boyunca alınan sıvı miktarının artırılması önerilmektedir. Uykusuzluk için ise bupropion akşam dozunun uykudan en az dört saat önce alınması veya ilaç dozunun günlük 150 mg'a azaltılması önerilir. İlacın kullanımı sırasında kaşıntı, döküntü, deride kızarıklık gibi alerjik reaksiyonlar bildirilmiştir. Çok nadir olarak anjiyo ödem ve uygunsuz antidiüretik hormon salgılanmasına bağlı hipernatremi gelişebilir. İlacın kesilmesini gerektirecek ciddi alerjik reaksiyon riski 1/1000-10000'dir (Demyttenaere ve Jaspers 2008).

Sinirlilik, konsantrasyon güçlüğü, baş dönmesi, kabızlık, yüksek kan basıncı, glukoz regülasyon bozukluğu, anksiyete-depresyon sendromu, görme bozukluğu, üriner retansiyon da diğer istenmeyen etkilerdir. Tedavi gerektiren hipertansiyon, bupropion ve nikotin bandının birlikte kullanıldığı olgularda daha fazla bildirilmiştir (Patel vd. 2016).

Konvülziyon nadir görülen bir yan etki olup sigara bırakma amacı ile kullanılan dozda konvülziyon gelişme olasılığı 1/1000 olarak bildirilmiştir. Bupropion kullanımı ile nöbet gelişim riski doza bağımlı olup yatkinlik oluşturan risk faktörlerinin bulunması sıklığını artırmaktadır. Bupropionla ilişkili olarak hipomani, akut psikoz, görsel varsanı gibi psikiyatrik

tablolar da görülmektedir. Nadir bildirilen bir yan etkisi de subakut kutanöz lupus eritematozusdur (Demyttenaere ve Jaspers 2008, Patel vd. 2016).

Konvülziyon, anafilatik reaksiyonlar ve aşırı duyarlılık, anjioödem, serum hastalığı semptomları gelişmesi durumlarında bupropion tedavisi sonlandırılmalıdır (Patel vd. 2016). Davranış bozuklukları, ajitasyon, duygu durum bozukluğu, intihar düşüncesi veya girişimi gibi belirti ve bulguların bulunması durumunda da tedavi kesilmelidir. Yüksek doz bupropion kullanımı konvülziyon, hipertansiyon, kardiyotoksik yan etkiler ile taşikardi, aritmi ve ölüme neden olabilir. Ayrıca uyuşukluk, tremor, bulantı ve/veya kusma, baş dönmesi, bulanık görme ve görsel halüsinasyon aşırı doz alımı sonrası bildirilen diğer semptomlardır (Demyttenaere ve Jaspers 2008, Ravindran vd. 2015). Sigara bırakma amaçlı bupropion kullanımı ile ilişkili ölüm bildirilmemiştir. Aşırı alkol tüketimi ve aniden kesmeler konvülziyon eşliğini düşürebildiği için bupropion kullanırken alkol alınmaması önerilir (Ravindran vd. 2015).



## BÖLÜM 2

### MATERYAL METOD

#### 2.1 KULLANILAN EKİPMANLAR

Buzdolabı (Asus), derin dondurucu, santrifüj (Elektro.mag-M4800 M), vorteks (Wisemix VM-10), Etüv (Nüve EN 500), mikrodalga fırın (Altus ALMD 17B), elektroforez güç kaynağı (Thermo Scientific EC 300XL), elektroforez tankı (JUNYI®), jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat Bio-Print ST4), otoklav (Nüve), hassas terazi (Rad-Wag), manyetik karıştırıcı (PHOENIX Instrument RSM-01HS), mikropipet seti (CAPP Bravo -Single Channel Pipette), pH metre, kuvars küvet, spektrofotometre (optizen 2120), laminar flow (LN090 Nüve).

#### 2.2 KULLANILAN KİMYASALLAR

Distile su (Eczacıbaşı), Ethidium Bromide, Mueller Hinton Broth (Sigma-Aldrich), agar, LB (Sigma-Aldrich), Bupropion HCL (Merck), FeSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hydrogen Peroxide) (J.T Baker), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Potassium phosphate dibasic anhydrous Pure) (Carlo Erba Reagents), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Potassium phosphate monobasic(Carlo Erba Reagents)), Asetik asit, Cu, Etanol, Tris ve EDTA (Ethylenediamine tetra acetic acid).

##### 2.2.1 DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar

EZ-10 Spin Kolonlu Plasmid DNA MiniPreps Kit (bio basic).

##### 2.2.2 Elektroforez İçin Kullanılan Kimyasallar

TAE Tamponu (50X Stok Solüsyonu): 242 g Tris base, 57,1 ml glacial acetic acid, 37,2 g Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O ile 1 litreye tamamlandı. pH 8,0 ile 8,5 arasında ayarlanmalı.

Yürütme Tamponu; 1 litre 1X Tris-Asetik Asit-EDTA(TAE) için; 20 ml 50X Stok Solusyona 980 ml H<sub>2</sub>O eklenir.

% 1 Agaroz Jel Çözeltisi; 150 ml 1X TAE Buffer, 1,5g Agarose, 3µl Ethidium Bromide

### **2.2.3 İlaç DNA Etkileşiminde Kullanılan Çözeltiler ve Solüsyonlar**

Fosfat Tamponu (0,05M) : 0,05 M'lar KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> hazırlamak için 0,68 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tartılıp 100 ml suda çözdürüldü. 0.005 M'lık K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> hazırlamak için 0,87 gr K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> tartılıp 100ml suda çözdürüldü. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>'dan 16 ml, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>'den 84 ml alınıp pH'ı 7,5 olan fosfat tamponu hazırlandı.

Askorbik Asit (1.85mM) : 1,85 mM'lık askorbik asit çözeltisi hazırlamak için 0,0064 gr askorbik asit tartılıp 20 ml suda çözdürüldü.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (60mM) : 30 %'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den 23 µl alınıp hacmi 4,977 ml su ile 5 ml'ye tamamlandı. Bu şekilde 60 mM'lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi elde edildi.

FeSO<sub>4</sub> (30mM) : 0,0205 gr FeSO<sub>4</sub> tartılıp 2,5 ml fosfat tamponunda çözdürüldü.

## **2.3 METOD**

Bupropion antidepresanı ile yaptığımız deneysel çalışmalarda ilacımız toz halinde Bupropion hidroklorür (katalog No: B102-1G) Merck'ten satın alındı ve test maddesi olarak kullanıldı. Antibakteriyel efekt çalışmalarında Enterococcus faecalis ve Escherichia coli bakterileri kullanıldı. Bu bakteriler Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edildi.

### **2.3.1 Plazmid DNA İzolasyonu**

pUC19 plazmid DNA, daha önce plazmid ile transforme edilmiş Escherichia coli NEB5a'dan saflaştırıldı. Saflaştırma işlemi EZ-10 Spin Kolonlu Plazmid DNA MiniPreps Kit (bio basic) talimatları kullanılarak gerçekleştirildi. DNA'nın saflığı 1 %'lik agaroz jel elektroforezi ve Beer-Lambert Yasası ile kontrol edildi. Plazmid pröfikasyonu sonucunda elde edilen DNA'nın konsantrasyonu OD 260: 0,008 için 8 µg / ml'dir.

### **2.3.2 Farklı İlaç Konsantrasyonlarının Hazırlanması**

Jel deneyleri için; Bupropion antidepresanı fosfat tamponunda molaritesi 18,5 mM olacak şekilde çözdürüldü. Çözdürülen ilaç fosfat tamponu ile seyreltilerek molaritesi (18,5  $\mu$ M, 1,85  $\mu$ M, 0,185  $\mu$ M, 0,0185  $\mu$ M, 0,00185  $\mu$ M ve 0,000185  $\mu$ M) birbirinden farklı altı ilaç konsantrasyonu elde edildi.

Antibakteriyel efekt çalışmaları için; Bupropion antidepresanı 15 ml Muller Hinton sıvı besiyerinde derişimi 40 mM olacak şekilde çözdürüldü. İlaç konsantrasyonu (40  $\mu$ M, 20  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 5  $\mu$ M ve 2,5  $\mu$ M) şeklinde seyreltildi.

UV Spektrofotometrede İlaç DNA taraması için; Bupropion Tris-EDTA tamponunda molaritesi 48,26  $\mu$ M olacak şekilde çözdürüldü.

### **2.3.3 Bupropion'un DNA Üzerindeki Etkisi**

İlacın DNA üzerindeki etkisini incelemek maksadıyla daha önceden hazırlamış olduğumuz ilaç konsantrasyonlarına (18,5  $\mu$ M, 1,85  $\mu$ M, 0,185  $\mu$ M, 0,0185  $\mu$ M, 0,00185  $\mu$ M ve 0,000185  $\mu$ M) fosfat tamponu ve pUC19 plazmid DNAsı eklendi. Bir tane de kontrol amaçlı Bupropionun bulunmadığı fosfat tamponu ve pUC19 plazmid DNAsının bulunduğu kontrol solüsyonu hazırlandı. Elde etmiş olduğumuz solüsyonlar 45 dakika 37 °Cde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işlemi bittikten sonra hazırlamış olduğumuz 1 %'lik agaroz jel elektroforezinde 55 dakika 90 voltta solüsyonlar yürütüldü.

### **2.3.4 Bupropion'un Askorbik Asit Varlığında DNA Üzerine Etkisi**

Askorbik asit varlığında Bupropion'nun DNA üzerinde koruyucu mu yoksa kırıcı bir etki mi gösterdiğini anlamak maksadıyla 0,0185 mM'lık askorbik asit çözeltisi fosfat tamponu içerisinde farklı ilaç konsantrasyonları (18,5  $\mu$ M, 1,85  $\mu$ M, 0,185  $\mu$ M, 0,0185  $\mu$ M, 0,00185  $\mu$ M ve 0,000185  $\mu$ M) ile muamele edildi. Üzerlerine pUC19 plazmid DNAsı eklendi ve 45 dakika 37 °Cde inkübasyona bırakıldı. Bir tane pUC 19 plazmid DNAsı ve fosfat tamponu içeren, bir tane de pUC 19 plazmid DNAsı, fosfat tamponu ve Askorbik asit içeren kontrol grupları aynı şekilde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 90 voltta 55 dakika 1 %'lik agaroz jelde yürütüldü.

### **2.3.5 Bupropion'un Demir Varlığında DNA'ya Olan Etkisi**

#### **2.3.5.1 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlarının FeSO<sub>4</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi**

Bupropionun FeSO<sub>4</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin etkileşime girmesi sonucunda ortaya çıkan OH<sup>-</sup> radikalinin varlığında DN'ya olan etkisini incelemek için Ul-Haq ve arkadaşları tarafından kullanılan prosedür temel alındı. Farklı ilaç konsantrasyonları (18,5 µM, 1,85 µM, 0,185 µM, 0,0185 µM, 0,00185 µM ve 0,000185 µM) üzerlerine 60 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 15 mM FeSO<sub>4</sub> çözeltileri, fosfat tamponu ve pUC19 plasmid DNAsı eklendi. Bir tane FeSO<sub>4</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bir tane de DNA kontrol grubu aynı miktarda pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tamponu eşliğinde oluşturuldu. 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında 55 dakika 90 voltta 1 %'lik jelde yürütüldü.

#### **2.3.5.2 Bupropion'un Farklı FeSO<sub>4</sub> (30 mM, 0,3 mM ve 0,03 Mm ) Konsantrasyonları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi**

0,362 µM ilaç konsantrasyonu hazırlanıp üç farklı ependorf tüpüne koyuldu. Üzerlerine sırası ile 30 mM, 0,3 mM ve 0,03 mM konsantrasyonlu FeSO<sub>4</sub> ve 60 mM'lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi eklendi. 0,147µM pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tamponu da eklenip 37 °C de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Aynı miktar pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tamponu içeren bir tane kontrol grubu oluşturuldu. Sonrasında 55 dakika 90 volt ayarlanıp 1 % 'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü.

### **2.3.6 Bupropion'un FeSO<sub>4</sub> varlığında DNA Üzerine Etkisi**

Altı farklı ilaç konsantrasyonlarından (18,5 µM, 1,85 µM, 0,185 µM, 0,0185 µM, 0,00185 µM ve 0,000185 µM) alıp altı farklı tüpe sırasıyla koyuldu. Üzerlerine 0,247 µM pUC19 plasmid DNAsı, 15 mM FeSO<sub>4</sub> ve fosfat tamponu eklendi. İçerisinde pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tamponu olan bir tane de kontrol grubu oluşturuldu. 1 saat 37 °Cde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işlemi bittikten sonra 90 voltta 55 dakika 1 %'lik jelde yürütüldü.



### **2.3.7 Bupropion'un Bakır Eşliğinde DNA Üzerine Etkisi**

#### **2.3.7.1 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlarının CuCl<sub>2</sub> ve Askorbik Asit Varlığında DNA Üzerine Etkisi**

Farklı ilaç konsantrasyonlarından alıp (18,5 µM, 1,85 µM, 0,185 µM, 0,0185 µM, 0,00185 µM ve 0,000185 µM) altı farklı ependorf tüpüne koyulduktan sonra üzerlerine 60 µM'lık CuCl<sub>2</sub>, pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tamponu eklendi. Bir tane pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tamponunun bulunduğu DNA kontrol grubu, bir tane pUC19 plasmid DNAsı, CuCl<sub>2</sub> ve fosfat tamponu içeren kontrol grubu, bir tane de pUC19 plasmid DNAsı, CuCl<sub>2</sub>, tampon ve Askorbik asit içeren kontrol grubu oluşturuldu. Solüsyonlar hazırlandıktan sonra 1 saat 37 °C de inkübasyona bırakıldı ve sonrasında 1 %'lik agaroz jelde 55 dakika 90 voltta yürütüldü.

#### **2.3.7.2 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlardaki CuCl<sub>2</sub> (40 µM, 20 µM, 2 µM ve 0,2 µM ) Varlığında DNA Üzerine Etkisi**

0,362 µM Bupropion ilaç çözeltisi hazırlamış olduğumuz dört farklı CuCl<sub>2</sub> (40 µM, 20 µM, 2 µM ve 0,2 µM) konsantrasyonlarını içeren ependorf tüplerinin üzerine koyuldu. Ardından pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tampon çözeltisi de eklenerek 37 °C de 45 dakika inkübasyona bırakıldı. Bir tane DNA kontrol grubu aynı miktarda pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tamponu koyularak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işlemi bittikten sonra 90 votta 55 dakika 1 %'lik agaroz jelde yürütüldü.

### **2.3.8 Bupropion'un H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi**

Bupropion'un OH<sup>-</sup> radikali varlığında DNA'yı koruyucu ya da kırıcı etkisinin olup olmadığını anlamak için Ul-Haq ve arkadaşları tarafından kullanılan prosedür temel alındı. Bupropionun farklı konsantrasyonları (18,5 µM, 1,85 µM, 0,185 µM, 0,0185 µM, 0,00185 µM ve 0,000185 µM) ependorf tüplerine koyuldu. Üzerlerine pUC19 plasmid DNAsı, fosfat tamponu ve 60 mM'lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklendi. Kontrol amaçlı bir tane pUC19 plasmid DNA, fosfat tamponu ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren kontrol grubu bir tane de pUC19 plasmid DNAsı ve fosfat tamponu içeren DNA kontrol grubu oluşturuldu. 1 saat 37 °C de inkübasyona bırakıldı. 1 %'lik agaroz jel çözeltisinde 55 dakika 90 voltta yürütüldü.

## **2.3.9 Bupropion'un Antibakteriyal Etkisi**

### **2.3.9.1 Bupropion'un Enterococcus Faecalis Üzerine Etkisi**

Bir gün önce 100 ml Muller Hinton sıvı besiyeri hazırlanıp erlende otoklav yapıldı. Otoklavdan sonra Enterococcus faecalis için cam tüplere Müller Hinton sıvı besiyeri koyuldu. Besiyerlerinin üzerlerine de 100'er µl Enterococcus faecalis koyuldu ve 37 °C de gecelik inkübasyona bırakıldı.

Saf halde aldığımız Bupropion antidepresanından alınıp Muller Hinton sıvı besiyerinde çözdürüldü ve molaritesi 40 mM olan ilaç konsantrasyonu elde edildi.

Enterococcus faecalis bakteri suşu yoğunluğu Mcfarland 0,5 olacak şekilde farklı konsantrasyonunda (40 mM, 20 mM, 10 mM, 5 mM ve 2,5 mM) Bupropion ilacı içeren Muller Hinton sıvı besiyerine inoküle edildi. Bir gece 37 °C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra bakteri üreme yoğunlukları UV spektrofotometre (Optizen 2120 UV) ve koloni oluşturma birimi (CFU) sayma yöntemleriyle belirlendi. Sonrasında MIC (minimum inhibisyon derişim) büyümeyi engelleyen en düşük ilaç derişimi ve MBC (minimum bakterisal derişim) bakteri suşunu öldüren en düşük ilaç derişimi belirlendi.

### **2.3.9.2 Bupropion'un E.coli Üzerine Etkisi**

İlacın farklı konsantrasyonlarını (40 mM, 20 mM, 10 mM, 5 mM ve 2,5 mM) içeren Müller Hinton besiyerleri hazırlandı. Bir gece önce hazırlamış olduğumuz ve 37 °C de üremeye bırakmış olduğumuz E.coli çalkalamalı inkübatörden çıkarıldı. Mcfarland değeri 0,008-0,1 arasında olacak şekilde ölçüm yapıldı. Besiyeri ve ilaç konsantrasyonlarını içeren tüplerin içine ölçüm sonucu belirlenen değer inoküle edildi. Bir gece 37 °C de çalkalamalı inkübasyon işleminde sonra bakterileri üreme miktarları UV spektrofotometre ve koloni oluşturma birimi (CFU) yöntemleriyle belirlendi. Bunun sonucunda MIC ve MBC değerleri de belirlendi.

## 2.3.10 Bupropion'un DNA'ya Bağlanmasının Analizi

### 2.3.10.1 UV Tarama yoluyla Bupropion'un DNA'ya Etkisi

İlacımızı çözmek için 50 mM Tris-EDTA tamponu hazırlandı ve molatitesi 48,26 µM olan Bupropion elde edildi. Daha önceden Calf Thymus DNA'nın orijinal OD değeri 3,3 olarak belirlendi. DNA Tris-EDTA çözeltilisinden spektro fotometrede 225-300nm dalga boyunda ölçüm yapıldı buradan ne kadar DNA eklememiz gerektiği bulundu. DNA miktarı sabit tutularak üzerine önce 1 µl Bupropion eklendi ve 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Beşinci adıma kadar 1µl ilaç 5 dakika inkübasyon işlemi tekrarlandı. Daha sonra Bupropion miktarı 2 µl'ye çıkarıldı ve DNA üzerine Bupropion titrasyonu işlemi tamamlanmış oldu.

Elde etmiş olduğumuz grafikten Bupropionun DNA'ya bağlanma sabiti (Kb) 260 nmde denklemler kullanılarak belirlendi.

$$\frac{1}{A - A_0} = \frac{1}{A_{\infty} - A_0} + \frac{1}{K(A_{\infty} - A_0)} \cdot \frac{1}{C \text{ ligand}}$$

Denklemdaki A<sub>0</sub> 260 nm deki DNA ilk absorbans değeri, A Bupropion –DNA kompleks derişiminde elde edilen absorbans değeri, A<sub>∞</sub> DNA-Bupropion bağlanma absorbansı. C ligand ise Bupropionu ifade etmektedir.

### 2.3.10.2 İn-siliko Yoluyla Bupropion DNA Etkileşimi

Protein Data Banktan (PDB) 1BNA DNA dizisi alındı. PubChem veri bankasından (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) Bupropion ligand bilgileri 3D konformasyonunda kaydedildi ve sonrasında değiştirildi. DNA reseptör ve ligand Bupropion 3D konformasyon bilgileri PDB formatında kaydedildi. İn-silico analizi için, UCSF Chimera programı (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera>), AutoGrid4 ve AutoDock4'e giriş yapılarını hazırlamak için kullanıldı. Reseptör ve ligand yani DNA ve Buproipn dosyaları AutoDock programı kullanılarak hazırlandı. Sonrasında yazılım programından su molekülleri silindi DNA'ya polar hidrojen atomları eklenip, polar olmayanlar ise birleştirildi. Kompleks sistem, x \* y \* z yönlerinde (64, 76, 124) grid noktalarının sayısı ve 0,375 Å'lık bir grid aralığı bulunan bir kutu içine alınacaktır. Auto Dock'da uygulanan Lamarckian genetik algoritmaları, yerleştirme hesaplamalarını yapmak için kullanıldı.

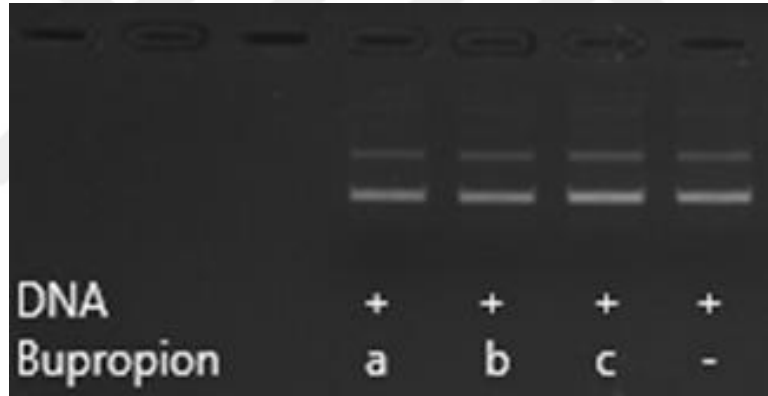


## BÖLÜM 3

### BULGULAR

#### 3.1 BUPROPİON'UN DNA ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

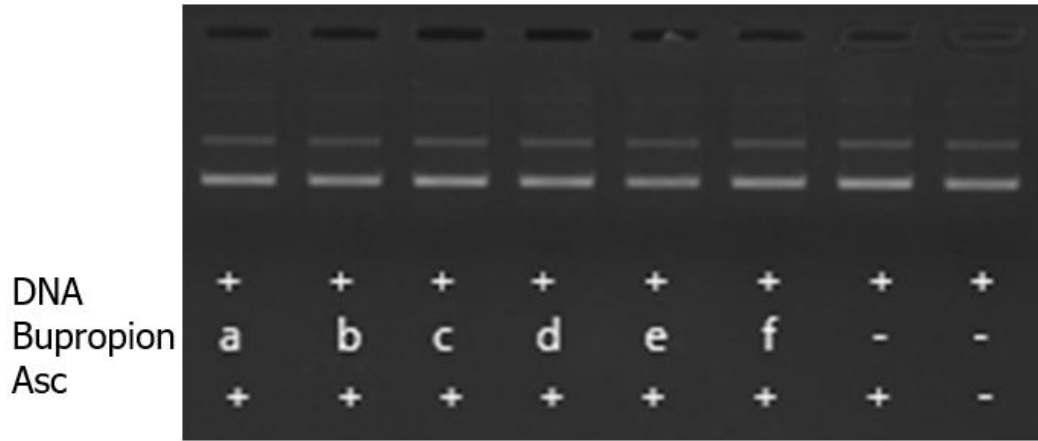
İlacın DNA üzerindeki etkisini incelemek için hazırlamış olduğumuz ilaç konsantrasyonlarının (18,5  $\mu$ M, 0,0185  $\mu$ M ve 0,000185  $\mu$ M) pUC19 plasmid DNA'sı üzerinde hiçbir etki göstermediği ve test maddesi eklenmemiş kontrol grubundaki pUC19 plasmid DNA'sından bir farkı olmadığı görüldü (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1** Bupropion ilacının pUC19 plasmid DNA üzerine etkisinin 1%'lik jelde görüntülenmesi. a, b ve c derişimleri sırasıyla ( 18,5  $\mu$ M, 0,0185  $\mu$ M, 0,000185  $\mu$ M ).

#### 3.2 BUPROPİON'UN ASKORBİK ASİT VARLIĞINDA DNA ÜZERİNE ETKİSİ

Farklı ilaç konsantrasyonlarının (18,5  $\mu$ M, 1,85  $\mu$ M, 0,185  $\mu$ M, 0,0185  $\mu$ M, 0,00185  $\mu$ M ve 0,000185  $\mu$ M) askorbik asit varlığında DNA üzerinde hiçbir etki yaratmadığı görüldü. Tek başına askorbik asit DNA üzerinde kırıcı etki göstermedi (Şekil 3.2).

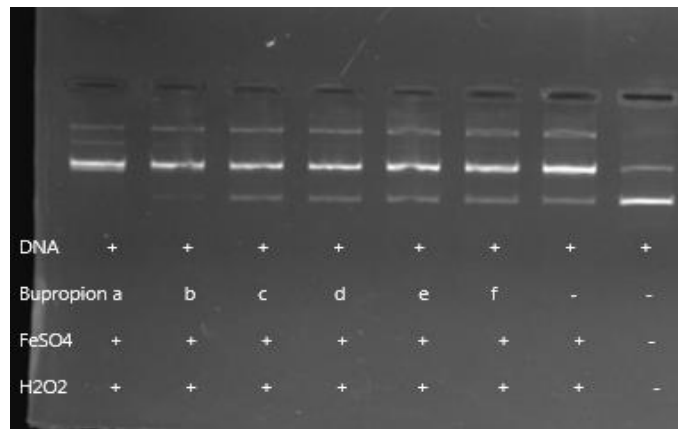


**Şekil 3.2** pUC19 plasmid DNAsının Bupropionun farklı konsantrasyonları ile Askorbik asit(0,0185mM) eşliğinde muamele edilmesinin 1 %'lik agaroz jel üzerinde yürütülmesi. a, b, c, d, e ve f sırası ile (18,5  $\mu$ M, 1,85  $\mu$ M, 0,185  $\mu$ M, 0,0185  $\mu$ M, 0,00185  $\mu$ M ve 0,000185 $\mu$ M).

### 3.3 BUPROPİON'UN DEMİR VARLIĞINDA DNA'YA OLAN ETKİSİ

#### 3.3.1 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlarının FeSO<sub>4</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi

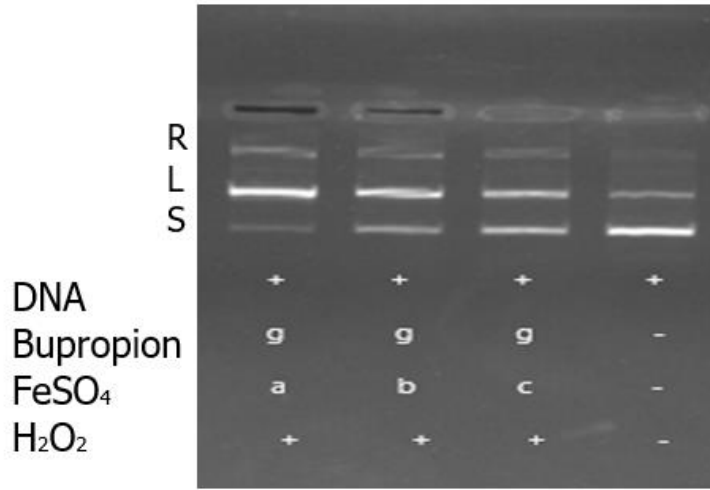
FeSO<sub>4</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında ortaya çıkan hidroksil radikaline karşı DNA'yı koruyamamış Bupropion'un farklı konsantrasyonları pUC19 plasmid DNAsını koruyamamış ve kırılmalara sebep olduğu görülmüştür. İlacın konsantrasyonu arttıkça kırılmanın da arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.3).



**Şekil 3.3** pUC19 plasmid DNAsının Bupropion, 60 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 15mM FeSO<sub>4</sub> ile muamelesinin 1 %'lik agaroz jel çözeltisinde analizi. a, b, c, d, e ve f sırasıyla (18,5  $\mu$ M, 1,85  $\mu$ M, 0,185  $\mu$ M, 0,0185  $\mu$ M, 0,00185  $\mu$ M ve 0,000185  $\mu$ M).

### 3.3.2 Bupropion'un FeSO<sub>4</sub> (30 mM, 0,3 mM ve 0,03 Mm) Konsantrasyonları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisi

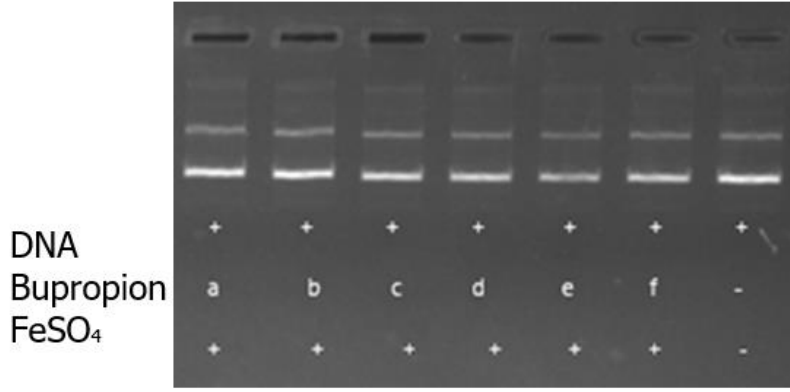
Bupropionun 0,362 µM'lık derişimi ile yapılan analizde FeSO<sub>4</sub>'ün farklı konsantrasyonlarına karşı ilacımız koruyucu etki gösterememiş ve ilacın bu konsantrasyonu DNAda kırılmalara sebep olmuştur. pUC19 plasmid DNAsı süper coil formdan lineer forma geçmiştir (Şekil 3.4).



**Şekil 3.4** Bupropionun FeSO<sub>4</sub> (30 mM, 0,3 mM ve 0,03 Mm) Konsantrasyonları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisinin 1 %'lik agaroz jel çözeltisinde analizi. a, b ve c sırası ile (30 mM, 0,3 mM ve 0,03 Mm ). g (0,362 µM). R, L, S sırasıyla (relax, linear, süper coil)

### 3.4 BUPROPİON'UN FeSO<sub>4</sub> VARLIĞINDA DNA ÜZERİNE ETKİSİ

İlacın farklı konsantrasyonları ile yapılan deneyde pUC19 plasmid DNAsı üzerinde herhangi bir kırılma olmadığı ve ilacın ortamda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yokluğunda FeSO<sub>4</sub> ile birleşerek DNA üzerinde herhangi bir olumsuz etki oluşturmadığı gözlemlendi (Şekil 3.5).

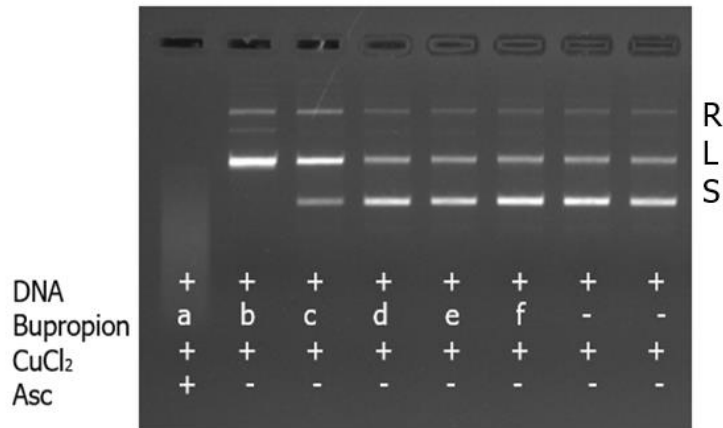


**Şekil 3.5** Bupropionun FeSO<sub>4</sub>(15 mM) varlığında DNA Üzerine Etkisinin 1 %'lik agaroz jel çözeltisinde analizi. a, b, c, d, e ve f sırası ile (18,5 μM, 1,85 μM, 0,185 μM, 0,0185 μM, 0,00185 μM ve 0,000185 μM).

### 3.5 BUPROPİON'UN BAKIR EŞLİĞİNDE DNA ÜZERİNE ETKİSİ

#### 3.5.1 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlarının CuCl<sub>2</sub> ve Askorbik Asit Varlığında DNA Üzerine Etkisi

Bupropion'un farklı konsantrasyonları (18,5 μM, 1,85 μM, 0,185 μM, 0,0185 μM, 0,00185 μM ve 0,000185 μM), CuCl<sub>2</sub> (60μM) varlığında pUC19 plasmid DNA'sının kırılmasını tetiklemiş ve ilaç konsantrasyonu arttıkça DNA'nın da aynı oranda kırılmasının artığı gözlenmiştir. Askorbik asid bakırın kırma etkisini tetiklemiştir süper coil DNA hem lineer hem relax forma dönüşmüştür (Şekil 3.6).

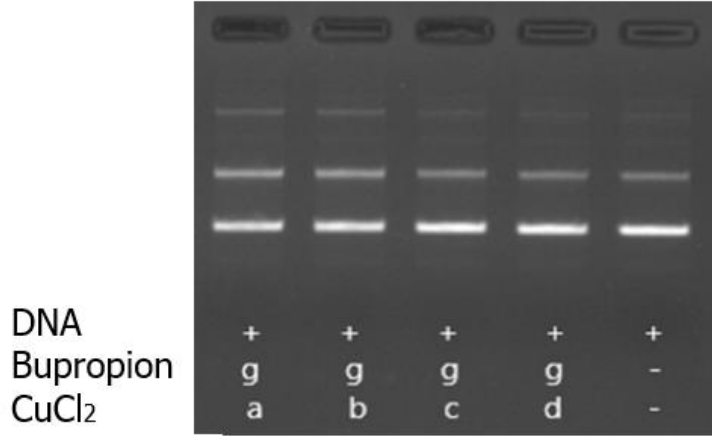


**Şekil 3.6** Bupropionun Farklı Konsantrasyonlarının CuCl<sub>2</sub> (60μM) ve Askorbik Asit Varlığında DNA Üzerine Etkisinin 1 %' lik agaroz jel çözeltisinde analizi. a, b, c, d, e ve f sırası ile (18,5 μM, 1,85 μM, 0,185 μM, 0,0185 μM, 0,00185 μM ve 0,000185 μM). R (relax), L (lineer), S (süper coil)



### 3.5.2 Bupropion'un Farklı Konsantrasyonlardaki CuCl<sub>2</sub> (40µM, 20µM, 2µM ve 0.2µM) Varlığında DNA Üzerine Etkisi

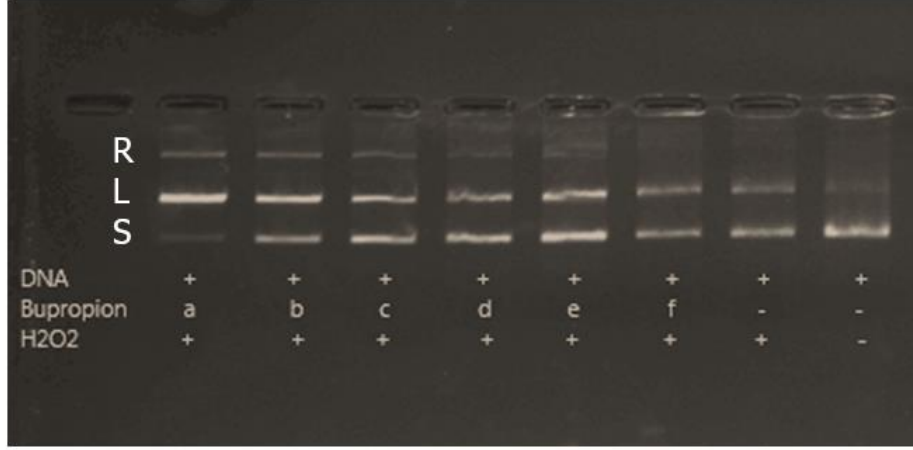
Bupropionun 0,362 µM konsantrasyonu, CuCl<sub>2</sub> ile muamele edildiğinde pUC19 plasmid DNA üzerinde kırma etkisini ilaç konsantrasyonu düşük olduğu için gösterememiştir. DNA üzerinde herhangi bir kırılma gözlenmemiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Bupropionun Farklı Konsantrasyonlardaki CuCl<sub>2</sub> (40 µM, 20 µM, 2 µM ve 0.2 µM) Varlığında DNA Üzerine Etkisi. a, b, c ve d sırası ile (40 µM, 20 µM, 2 µM ve 0.2 µM). g (0,362 µM).

### 3.6 BUPROPİON'UN H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> VARLIĞINDA DNA ÜZERİNE ETKİSİ

İlacın farklı konsantrasyonlarında (18,5 µM, 1,85 µM, 0,185 µM, 0,0185 µM, 0,00185 µM ve 0,000185 µM) yapılan deneyde Bupropionun yüksek konsantrasyonlarında işlev görmüş pUC19 plasmid DNAsı üzerinde değişiklikler görüldü. İlacımız H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında hidroksil radikali üretti ve DNA üzerinde kırılmalara sebep oldu. Süper coil pUC19 plasmid DNAsı kırılarak lineer forma dönüştü (Şekil 3.8).

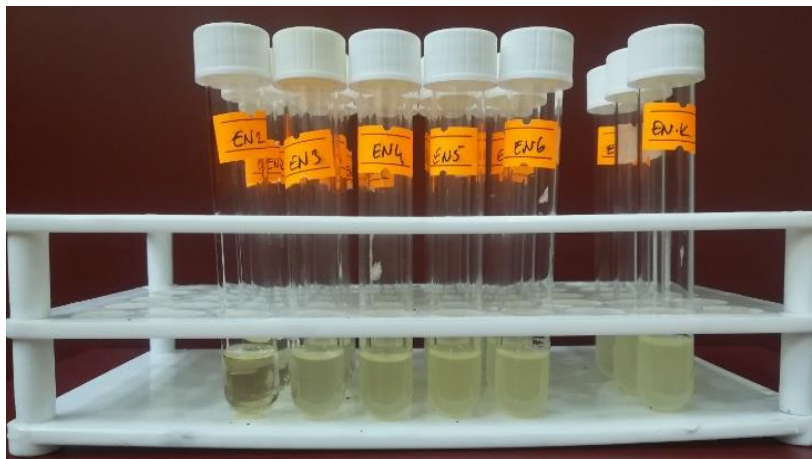


**Şekil 3.8** Bupropion'un H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Varlığında DNA Üzerine Etkisinin 1 %'lik agaroz jel elektroforezinde gözlenmesi. a, b, c, d, e ve f sırasıyla (18,5 µM, 1,85 µM, 0,185 µM, 0,0185 µM, 0,00185 µM ve 0,000185 µM). R, L, S sırasıyla (relax, lineer ve süper coil)

### 3.7 BUPROPİON'UN ANTİBAKTERİYAL EFEKTİ

#### 3.7.1 Bupropion'un Enterococcus Faecalis Üzerine Etkisi

Bupropion'un farklı konsantrasyonlarının (40 mM, 20 mM, 10 mM, 5 mM ve 2,5 mM) Enterococcus faecalis üzerine inoküle edilmesi ile yapılan deneyde ilacın 40 mM'lık derişiminde bakteri üremesi görülmedi. Bu değer MIC olarak belirlendi. Fakat diğer ilaç konsantrasyonlarında bakteriler üzerinde hiçbir inhibitör etkisi olmadı (Şekil 3.9).

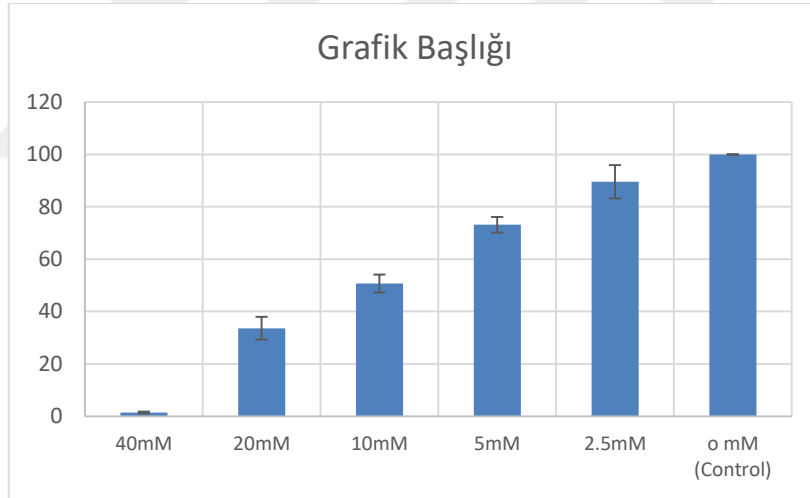


**Şekil 3.9** Muller Hinton sıvı besiyerinde Bupropionun farklı konsantrasyonlarının Enterococcus faecalis üzerine inoküle edilmesi. EN2, EN3, EN4, EN5 ilacın farklı konsantrasyonları (40 mM, 20 mM, 10 mM, 5 mM ve 2,5 mM). EN6 ilaç içermeyen kontrol grubu.

İlacın farklı derişimleri ile muamele edilen kültürleri (40mM, 20mM, 10mM) katı besiyerine aktardığımızda 40mM derişim ile muamele edilen kültürde canlı hücre bulunmadı (Şekil 3.10). Dolayısıyla ilacın 40mM derişimi MBC değeri olarak belirlendi.



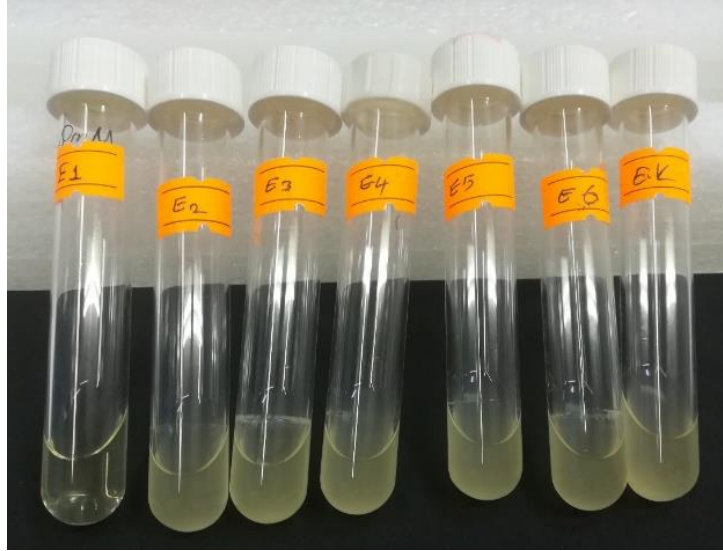
**Şekil 3.10** Müller Hinton agar katı besiyerinde Bupropion'un farklı konsantrasyonlarının *Enterococcus faecalis* üzerindeki inhibe edici etkisinin incelenmesi. 2, 3 ve 4 numaralı petripler ilacın 40 mM, 20 mM ve 10 mM'lık derişimlerini içerir.



**Şekil 3.11** *Enterococcus faecalis*'in farklı konsantrasyonlarda Bupropion içeren besiyerinde gelişimi

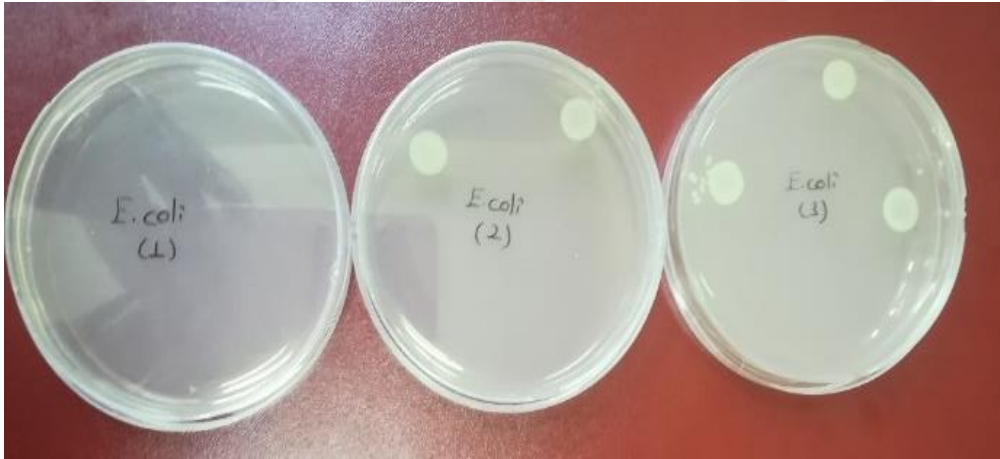
### 3.7.2 Bupropion'un *E.coli* Üzerine Etkisi

Bupropion'un farklı konsantrasyonlarının (40 mM, 20 mM, 10 mM, 5 mM ve 2,5 mM) *E.coli* üzerindeki inhibe edici etkisi ilacın birinci konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyonlarında gözlenmedi. Yani diğer ilaç konsantrasyonları *E.coli* bakterisinin üremesini engelleyici yönde olumsuz bir etki göstermedi. 40 mM'lık Bupropion'un derişimi MIC olarak belirlendi (Şekil 3.12).

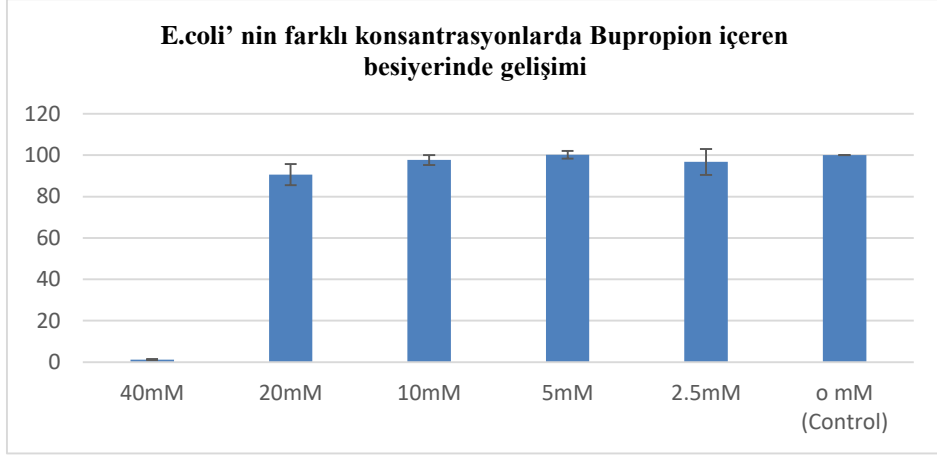


**Şekil 3.12** Müller Hinton sıvı besiyerinde Bupropion'un farklı konsantrasyonlarının E.coli üzerine aşılması. 1, 2, 3, 4, 5 ilacın farklı konsantrasyonları (40 mM, 20 mM, 10 mM, 5 mM ve 2,5 mM). 6 Bupropion içermeyen kontrol grubu.

Bupropionun üç yüksek konsantrasyonunu (40 mM, 20 mM ve 10 mM) katı besiyerine aktardığımızda 40mM ilaç derişimi ile muamele edilen kültürde E.coli canlı hücreleri gözlenmedi. Bu değer MBC olarak belirlendi (Şekil 3.13).



**Şekil 3.13** Müller Hinton agar katı besiyerinde Bupropion farklı konsantrasyonlarının E.coli üzerindeki inhibe edici etkisinin incelenmesi. 1, 2 ve 3 ilacın (40 mM, 20 mM ve 10 mM) derişimleri.

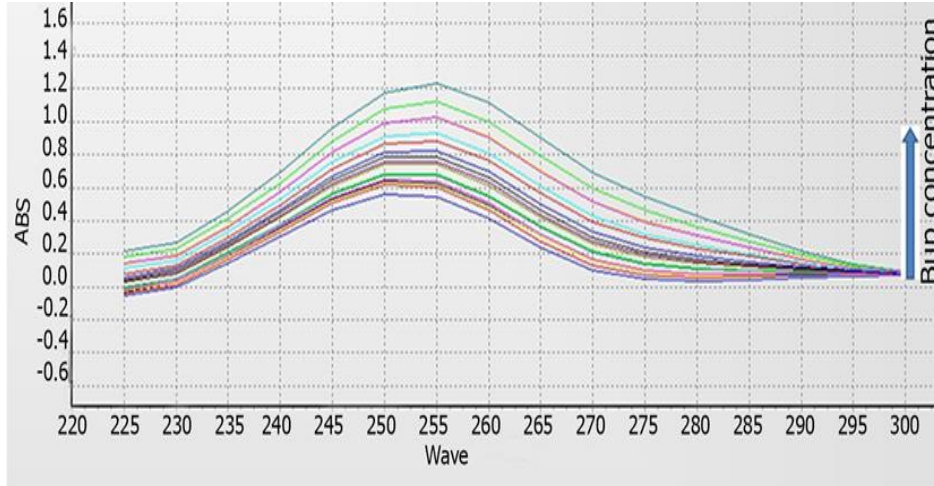


Şekil 3.14 E.coli' nin farklı konsantrasyonlarda Bupropion içeren besiyerinde gelişimi.

### 3.8 BUPROPİON'UN DNA'YA BAĞLANMASININ ANALİZİ

#### 3.8.1 UV Tarama yoluyla Bupropion'un DNA'ya Etkisi

Bupropion DNA bağlanması deneyi sonucunda  $K_b = 3,72 \cdot 10^7$  değeri belirlenmiştir. Bupropion DNA'ya bağlanmış ve ilaç konsantrasyonu arttıkça bağlanmanın da arttığı görülmüştür (Şekil 3.15).



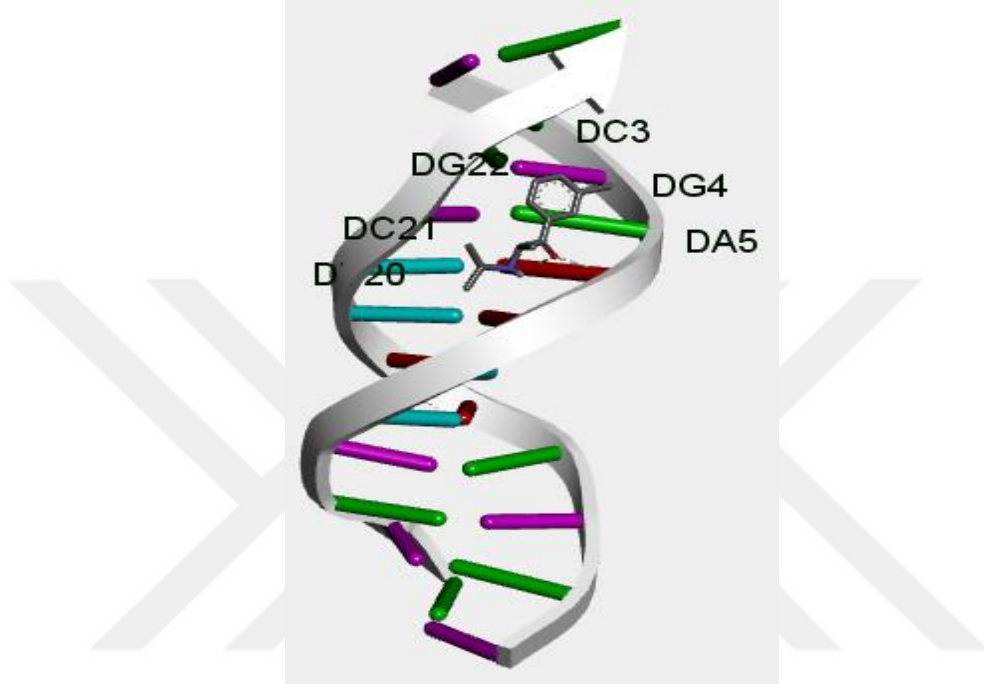
Şekil 3.15 DNA-Bupropion Absorbans Dalga boyu grafiği.

#### 3.8.2 İn-siliko Yoluyla Bupropion DNA Etkileşimi

İlacımızın DNA'ya bağlanma modellenmesinin yapıldığı in siliko analizinde Bupropionun DNA ile DA5 bölgesinde 1 tane hidrojen bağı yaptığı Bupropiondaki aromatik halkalarla

DNA'daki aromatik halkaların bağ oluşturduğu gözlemlendi. Bunun sonucunda Bupropion DNA ile hem hidrofobik hem de hidrojen bağı ile bağlandığı görüldü (Şekil 3.16).

Sonrasında  $C_{1}RMS=0$  yani hata payının sıfır olduğu sonucuna ulaşıldı. Elektrostatik enerji ise -7,85 olarak belirlendi.



Şekil 3.16 DNA-Bupropion bağlanmasının moleküler modellenmesi.

## BÖLÜM 4

### TARTIŞMA

Çalışmamızda kullandığımız Bupropion hidroklorür, Noradrenalin ve Dopamin Gerilim İnhibitörleri (NDGI) sınıfında yer almaktadır. Antidepresanların potansiyel genotoksik ve kanserojen etkisi büyük dikkat çekmiştir. Bazı epidemiyolojik çalışmalar, antidepresan kullanımı ile kanser riskinde artış olduğunu göstermiştir (Brambilla vd. 2009) (Arimochi ve Morita 2006). Bu ilaçlar depresyon tedavisinde hastalara oral yoldan verildiğinden, gastrointestinal flora bakterilerle doğrudan temastadırlar.

Hücrel DNA'da meydana gelecek herhangi bir hasar mutajenez ve kanser gelişiminde etkili olur. Sentetik, organik veya inorganik olarak sentezlenmiş ilaç molekülleri DNA'ya bağlanır ve DNA ile etkileşime girer (Davis ve Lin 2011). Kimyasalların neden olduğu DNA hasarını araştırmak için, ucuz, hızlı ve değerli yöntemlerden biri süper-coil plazmid DNA'nın seçilen kimyasal madde ile inkübe edilmesi ve ardından agaroz jel elektroforezidir (Moraes 2004).

PUC19 plazmid DNA'sının doğal yapısı süper coildir. Çift sarmallardan herhangi birinin kırılması, süper sarılı formu açık dairesel yani relax forma dönüştürürken, her iki sarmalda aynı pozisyonda kırılma lineer plazmid DNA'yı oluşturur. Lineer formun agaroz jeli yoluyla, hareketi süper coil formdan daha yavaş ve arelax formundan daha hızlıdır (Moreno vd. 2007). İlacın DNA üzerindeki etkisini incelemek için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Bupropionun agaroz jel elektroforezinde incelenmesi sonucunda pUC19 plasmid DNAsı üzerinde olumsuz bir etki göstermediği görülmüştür.

Oral yolla alınan plazmadaki Askorbik Asit konsantrasyonunun çeşitli yaş guruplarındaki farklı cinsiyetlerde ve sigara içme alışkanlığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Sigara içenlerde içmeyenlere oranla daha düşük Askorbik Asit düzeyi görülmesine bağlı olarak bu kişilerde Askorbik Asit'in yararlı kullanımının daha az bir düzeyde olduğu belirtilmektedir.

Askorbik asit tüketiminin artması durumunda, plazma askorbik asidi, lökosit ve doku askorbik asidi düşmektedir. Sigara kullanımı, askorbik asit tüketimini artıran nedenlerden biridir. Sigara içmeyenlerde lökosit ve plazma askorbik asit düzeyleri artarken, sigara içenlerde sadece lökosit askorbik asit düzeyleri artmaktadır. Bu nedenle bupropion'un askorbik asit ile etkileşimi ve iki etkin maddenin DNA üzerinde ki etkisi önemlidir.

Farklı ilaç konsantrasyonlarının (18,5 µM, 1,85 µM, 0,185 µM, 0,0185 µM, 0,00185 µM ve 0,000185 µM) askorbik asit varlığında DNA ile muamele edildiğinde, genomik materyal üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı tesbit edilmiştir. Tüm konsantrasyonlar birbiri arasında karşılaştırıldığında fark görülmemiştir.

Demir elementi organizmaların enerji metabolizmasında önemli role sahiptir. Dokulara oksijen taşınması, elektron transferi, DNA sentezi, bir çok biyokimyasal reaksiyonda önemli yol oynayan enzimlerin yapısında bulunmaktadır. İnsan plazmasında ferröz (Fe<sup>++</sup>) ve fenik (Fe<sup>+++</sup>) şeklinde değişebilen kimyasal formları mevcuttur. İnsanın yaşamsal döngülerinin devamı demire bağlıdır. Demir metabolizmasında olası değişiklikler insan sağlığını direkt etkilemektedir. Dolayısıyla, Bupropion ilacının demir varlığında Kalıtım materyali üzerinde olası etkisinin in-vitro koşulda incelenmesi önemli olduğu düşünülüp araştırıldı ve bu ilacın demir varlığında DNA üzerinde kırma etkisinin olmadığı gözlemlendi. DNA'yı sabit derişimde demir ve hidrojen peroksit varlığında bupropionun farklı derişimi ile muamele ettiğimizde DNA'daki kırık oranı ilaç derişimine bağlı artış gösterdi.

Bakır ve demir kromozom yapısının korunmasında önemli unsurlardır. Geçiş elementleridir ve iki durum gösterirler, okside olmuş durumları (Cu<sup>+2</sup> ve Fe<sup>+3</sup>) veya indirgenmiş durumları (Cu<sup>+</sup> ve Fe<sup>+2</sup>). İndirgenmiş formları toksik etkiye sahip zararlı reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu katalize ederler. Demir alımı ile kolorektal kanser gibi çoklu kanser riski arasındaki korelasyonun varlığını gösteren birçok çalışma vardır (Ptitz 1996). Mutajenik ya da mutajenik olmayan kanserojenlerin çoğunluğunun metal kaynaklı DNA hasarı yoluyla kanserojenliği uyardığı bilinmektedir.



Bakır ve demirin hidrojen peroksit ile reaksiyonu sonucunda hidroksil radikalı oluşur ve ROS varlığında DNA'ya oksidatif hasarın desteklendiği bilinmektedir. Oluşan bu serbest hidroksil radikali DNA hasarına sebep olur ve oldukça reaktiftir. Bupropion hidroklorürün plazmid DNA'ya karşı etkisi indirgeyici ajan varlığında (Asc) değişmemiş, oksidatif ajan varlığında (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ise DNA'ya zarar verdiği görülmüştür.

Erkekler için normal serum ferritin aralığı 15-320 mg / mL ve kadınlar için 6-155 mg / mL'dir (Brewer 2010). İnsan fizyolojik plazmasında demir ve bakırın serbest ve bağlı toplam konsantrasyonları sırasıyla (11-31µM) ve (14-19µM) arasında değişmektedir (Letelier vd. 2010). Bakır, hücrelerde bulunan en redoks aktif metal iyonlarından biridir ve kromatin ile yakından ilişkilidir. Çeşitli malignitelerde dokularda bakır konsantrasyonu artar (Li vd. 2012). Bupropion hidroklorür, Fenton reaksiyonlarının DNA üzerindeki kırma etkilerine karşı koruma yerine kırma oranını arttırmıştır. Bu ilaç oksidatif ajan olan hidrojen peroksit varlığında DNA'nın kırılmasını tetikledi fakat indirgeyici ajan olan Asc varlığında DNA üzerinde herhangi bir kırma etkis göstermedi. Bizim elde ettiğimiz veri Ahmadian ve arkadaşları bu ilacın reaktif oksijen (ROS) oluşturarak hücrelerin ölümüne neden olduğunu gösteren raporları ile örtüşmektedir.

Spektrofotometre analizinde elde edilen sonuçta göre bupropion ilacının DNA'ya bağlanma sabiti (K<sub>b</sub>)  $3,72 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$  olarak elde edilmesi bu ilacın DNA'ya güçlü bir şekilde bağlanmasını göstermektedir. Etidyum Bromür'ün DNA'ya bağlanma sabitinin  $10^6 \text{ M}^{-1}$  (Doglia vd. 2000). olduğunu dikkate aldığımızda bupropion ilacının DNA'ya ne kadar güçlü bir şekilde tutunduğu görmekteyiz.

İn-siliko analizi bupropion ilacının DNA'ya bağlanma sabitini 5,72E+05 olarak göstererek spektrofotometreden elde edilen sonucu destekledi. İn-siliko araştırmamıza göre; Bupropion DNA'nın küçük oluğa yerleşerek 1 tane hidrojen bağı oluşturduğu aynı zaman da hidrofobik etkileşim meydana getirdiği verisine ulaşılmıştır. Bhattacharya ve arkadaşları (2013) yaptıkları araştırma sonucunda bupropion hydrochloride'in insan periferik lymphocyte hücrelerinde Kardeş kromatin değişimi ve mikronükleus oluşumuna neden olduğunu göstermişler. bizim araştırmamızın sonucu bupropionun K<sub>b</sub> değerinin yüksek olduğunu göstermesi Bhattacharya ve arkadaşları'nın elde ettikleri sonuç ile örtüşmektedir.

Oral alınımından yaklaşık 3 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonu olan 140 mg / L'a ulaşır. Kararlı plazma düzeyine ise sekiz gün içerisinde erişir. Bupropion sağlıklı gönüllülerde 3 aktif metabolite metabolize edilmiştir (hidroksibupropion, trihidrobupropion ve eritrohidrobupropion). Bupropion ve metabolitleri major idrar metaboliti olan meta-klorohipürik asit'i oluşturmak için daha ileri biyotransformasyon ve konjügasyon sürecine girerler. Gastrointestinal sistemden emilimi olan bupropionun bağırsak flora bakterileri üzerinde olumsuz etkilerinin olması durumu düşünülerek, antibakteriyel etkinin gösterilmesinde çalışılmak üzere *E. coli* (gram negatif) ve *E. faecalis* (gram pozitif) tercih edilmiştir. Bupropion'un 40 mM derişimi her iki suşuda öldürdüğü gözlemlendi. İnsanın ince bağırsağının hacmi ortalama  $105 \pm 72$  ml ve  $54 \pm 41$  ml ( $P < 0.01$ ) olarak bilinmektedir (Iessman vd. 2005). Drugbank'dan elde ettiğimiz bilgiye göre bu ilaç 150, 300, 348 ve 522 mg dozlarda kullanılmaktadır. Bu bilgileri dikkate aldığımızda bu ilacın 522 mg dozunun flora bakteri suşlarına çok zararlı ve öldürücü bir doz olduğunu görmekteyiz.

## BÖLÜM 5

### SONUÇ VE ÖNERİLER

NDG sınıfında yer alan Bupropion antidepresan ilacı tek başına, bakır varlığında, demir varlığında ve indirgeyici ajan olan Asc varlığında süper sarmal pUC19 plasmid DNAsı üzerinde herhangi bir hasar ve kırma etkisi görülmemiştir. Fakat bu ilaç oksidatif ajan olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında süper sarmal pUC19 plasmid DNA'sının kırılmasına neden olduğu gözlenmiştir. Spektrofotometre ve in-siliko analizleri birbirini destekleyerek bu ilacın güçlü bir şekilde DNA'ya bağlanmasını gösterdiler. Ayrıca bu araştırmada bupropion ilacının 522 mg dozu flora bakterileri öldürerek disbiosis oluşumuna neden olabileceği gözlenmiştir. Antidepresan ilaçlar günümüzde her geçen gün kullanımı artmakta olan ilaçlardır. Yaptığımız bu çalışmadan Bupropion antidepresanının depresyon veya sigara bırakma tedavisinde hastalara reçete edilirken hekimler tarafından daha dikkatli olunması gerekir. Kullanan hastaların da aynı şekilde bu ilaç beraberinde kullandıkları başka ilaçlarda bulunan etken maddelerle olan etkileşiminin olumsuz sonuç doğurmayacağı bilgisinin hekimlerce teyit edilmesi gerekir.



## KAYNAKLAR

- Alarcón L P Baena, Y and Manzo R H** (2017) Interaction between DNA and Drugs Having Protonable Basic Groups: Characterization through Affinity Constants, Drug Release Kinetics, and Conformational Changes. *Scientia Pharmaceutica*, 85(1): 1.
- Arimochi H and Morita K** (2006) Characterization of cytotoxic actions of tricyclic antidepressants on human HT29 colon carcinoma cells. *European Journal of Pharmacology*, 541, 17–23.
- Bacolla A, Cooper D N and Vasquez K M** (2013) DNA structure matters. *Genome Medicine*, 5(6): 51.
- Banerjee A, Majumder P, Sanyal S, Singh J, Jana K, Das C and Dasgupta D** (2014) The DNA intercalators ethidium bromide and propidium iodide also bind to core histones. *FEBS Open Bio*, 4, 251–259.
- Barlas S** (2014) FDA devotes new resources to upgrading generic drug safety: but in some instances, the industry is pushing back. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 39(5): 353–364.
- Bhattacharya S K, Nathawat L S, Damani P, Choksi A K, Banik A, Sinha K and Bhattacharya A S** (2013) Assessment of potential in vitro genotoxic and cytotoxic effects of bupropion hydrochloride (wellbutrin) in human peripheral lymphocytes and human cortical neuron. *Toxicology international*, 20(1): 11.
- Biebricher A S, Heller I, Roijmans R F H, Hoekstra T P, Peterman E J G and Wuite G J L** (2015) The impact of DNA intercalators on DNA and DNA-processing enzymes elucidated through force-dependent binding kinetics. *Nature Communications*, 6, 7304.
- Bolt H M and Laib R J** (1980) Covalent binding of drug metabolites to DNA — a tool of predictive value? *Archives of Toxicology*, 46(1): 171–180.
- Brambilla G, Mattioli F and Martelli A** (2009) Genotoxic and carcinogenic effects of antipsychotics and antidepressants. *Toxicology*, 261: 77–88.
- Brewer G J** (2010) Risks of Copper and Iron Toxicity during Aging in Humans. *Chemical Research in Toxicology*, 23(2): 319–326.
- Carroll F I, Blough B E, Mascarella S W, Navarro H A, Eaton J B, Lukas R J and Damaj M I** (2010) Synthesis and biological evaluation of bupropion analogues as potential pharmacotherapies for smoking cessation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(5): 2204–2214.

## KAYNAKLAR (devam ediyör)

- Cartwright R A and Graur D** (2011) The multiple personalities of Watson and Crick strands. *Biology Direct*, 6, 7.
- Catone M V, Ruiz J A, Castellanos M, Segura D, Espin G and López N I** (2014) High polyhydroxybutyrate production in *Pseudomonas extremaustralis* is associated with differential expression of horizontally acquired and core genome polyhydroxyalkanoate synthase genes. *PLoS One*, 9(6): e98873–e98873.
- Chagin V O, Stear J H and Cardoso M C** (2010) Organization of DNA replication. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(4): a000737–a000737.
- Chaires J B** (2015) A small molecule--DNA binding landscape. *Biopolymers*, 103(9): 473–479.
- Chakraborty K, Veetil A T, Jaffrey S R and Krishnan Y** (2016) Nucleic Acid-Based Nanodevices in Biological Imaging. *Annual Review of Biochemistry*, 85: 349–373.
- Champ P C, Maurice S, Vargason J M, Camp T and Ho P S** (2004) Distributions of Z-DNA and nuclear factor I in human chromosome 22: a model for coupled transcriptional regulation. *Nucleic Acids Research*, 32(22): 6501–6510.
- Davis J D and Lin S-Y** (2011) DNA damage and breast cancer. *World journal of clinical oncology*, 2(9): 329-338
- Deiana M, Matczyszyn K, Massin J, Olesiak-Banska J, Andraud C and Samoc M** (2015) Interactions of Isophorone Derivatives with DNA: Spectroscopic Studies. *PLoS One*, 10(6): e0129817–e0129817.
- Demyttenaere K and Jaspers L** (2008) Review: Bupropion and SSRI-induced side effects. *Journal of Psychopharmacology*, 22(7): 792–804.
- Dickerson R E and Ng H L** (2001) DNA structure from A to B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(13): 6986–6988.
- Doglia S, Graslund A and Ehrenberg A** (2000) Binding of Ethidium Bromide to Self-Complementary Deoxydinucleotides. *European Journal Of Biochemistry*, 179.
- Dumat B, Larsen A F and Wilhelmsson L M** (2016) Studying Z-DNA and B- to Z-DNA transitions using a cytosine analogue FRET-pair. *Nucleic Acids Research*, 44(11): e101–e101.
- Fogg J M, Randall G L, Pettitt B M, Sumners D W L, Harris S A and Zechiedrich L** (2012) Bullied no more: when and how DNA shoves proteins around. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 45(3): 257–299.
- Frouin I, Montecucco A, Spadari S and Maga G** (2003) DNA replication: a complex matter. *EMBO Reports*, 4(7): 666–670.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Harteis S and Schneider S** (2014) Making the bend: DNA tertiary structure and protein-DNA interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(7): 12335–12363.
- Holman G G, Zewail-Foote M, Smith A R, Johnson K A and Iverson B L** (2011) A sequence-specific threading tetra-intercalator with an extremely slow dissociation rate constant. *Nature Chemistry*: 3, 875.
- Iessman T G N, Nd W S and Mo H** (2005) Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms as assessed by magnetic resonance imaging. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 971–979.
- Jefferson J W, Pradko J F and Muir K T** (2005) Bupropion for major depressive disorder: Pharmacokinetic and formulation considerations. *Clinical Therapeutics*, 27(11): 1685–1695.
- Jenkins T C** (1997) Optical Absorbance and Fluorescence Techniques for Measuring DNA-Drug Interactions BT - *Drug-DNA Interaction Protocols* (K. R. Fox, ed.).
- Jiang S, Pan A W, Lin T, Zhang H, Malfatti M, Turteltaub K- Pan C** (2015) Paclitaxel Enhances Carboplatin-DNA Adduct Formation and Cytotoxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 28(12): 2250–2252.
- K R, S G, Mathew B B, Sudhamani C N and Naik H S B** (2014) Mechanism of DNA Binding and Cleavage. *Biomedicine and Biotechnology*, 2(1): 1–9.
- Karasawa T, Sibrian-Vazquez M, Strongin R M and Steyger P S** (2013) Identification of cisplatin-binding proteins using agarose conjugates of platinum compounds. *PloS One*, 8(6): e66220–e66220.
- Khan S R, Berendt R T, Ellison C D, Ciavarella A B, Asafu-Adjaye E, Khan M A and Faustino P J** (2016) Chapter One - *Bupropion Hydrochloride* (H. G. B. T.-P. of D. S. Brittain Excipients and Related Methodology, ed.).
- Kljun I T and J** (2011) Interactions of Metal Ions with DNA, Its Constituents and Derivatives, which may be Relevant for Anticancer Research. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, Vol. 11: pp. 2661–2687.
- Kool E T** (1998) Recognition of DNA, RNA, and Proteins by Circular Oligonucleotides. *Accounts of Chemical Research*, 31(8): 502–510.
- Letelier M E, Sánchez-Jofré S, Peredo-Silva L, Cortés-Troncoso J and Aracena-Parks P** (2010) Mechanisms underlying iron and copper ions toxicity in biological systems: Pro-oxidant activity and protein-binding effects. *Chemico-Biological Interactions*, 188(1): 220–227.
- Li Z, Yang X, Dong S and Li X** (2012) DNA breakage induced by piceatannol and copper ( II ): mechanism and anticancer properties. *Oncology letters*, 3(5): 1087–1094.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Maneeton N, Maneeton B, Eurviriyankul K and Srisurapanont M** (2013) Efficacy, tolerability, and acceptability of bupropion for major depressive disorder: a meta-analysis of randomized-controlled trials comparison with venlafaxine. *Drug Design, Development and Therapy*, 7, 1053–1062.
- McGurk C J, McHugh P J, Tilby M J, Grimaldi K A and Hartley J A B T-M in E** (2001) Measurement of covalent drug-DNA interactions at the nucleotide level in cells at pharmacologically relevant doses. In *Drug-Nucleic Acid Interactions* (Vol. 340, pp. 358–376).
- Misiak M and Beretta F M and G L** (2016) Methods for Elucidation of DNA-Anticancer Drug Interactions and their Applications in the Development of New Drugs. *Current Pharmaceutical Design*, Vol. 22, pp. 6596–6611.
- Moraes M O** (2004) Agarose gel electrophoresis system in the classroom: Detection of DNA strand breaks through the alteration of plasmid topology. *Biochemistry and molecular biology education*, 32(4): 254–257.
- Moreno R G, Alipázaga M V, Gomes O F, Linares E, Medeiros M H and Coichev N** (2007) DNA damage and 2'-deoxyguanosine oxidation induced by S(IV) autoxidation catalyzed by copper(II) tetraglycine complexes: Synergistic effect of a second metal ion. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101(5): 866–875.
- O'Donnell M, Langston L and Stillman B** (2013) Principles and concepts of DNA replication in bacteria, archaea, and eukarya. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(7): 10.1101/cshperspect.a010108 a010108.
- Patel K, Allen S, Haque M N, Angelescu I, Baumeister D and Tracy D K** (2016) Bupropion: a systematic review and meta-analysis of effectiveness as an antidepressant. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, 6(2): 99–144.
- Prakash G and Kool E T** (1992) Structural Effects in the Recognition of DNA by Circular Oligonucleotides. *Journal of the American Chemical Society*, 114(9): 3523–3527.
- Preskorn S H and Othmer S C** (2018) Evaluation of Bupropion Hydrochloride: The First of a New Class of Atypical Antidepressants. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 4(1): 20–32.
- Prioleau M-N and MacAlpine D M** (2016) DNA replication origins-where do we begin? *Genes and Development*, 30(15): 1683–1697.
- Ptitz W A** (1996) Measurement of copper-dependent oxidative DNA damage by HOCl and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with the ethidium-binding assay. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, (49).
- Ravindran P P, Zang W, Renukunta S, Mansour R and Denduluri S** (2015) Effect of comedication of bupropion and other antidepressants on body mass index. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, 5(3): 158–165.



## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.
- Reimherr F W, Hedges D W, Strong R E, Marchant B K and Williams E D** (2005) Bupropion SR in adults with ADHD: a short-term, placebo-controlled trial. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 1(3): 245–251.
- Reyzer M L, Brodbelt J S, Kerwin S M and Kumar D** (2001) Evaluation of complexation of metal-mediated DNA-binding drugs to oligonucleotides via electrospray ionization mass spectrometry. *Nucleic Acids Research*, 29(21): E103-e103.
- Rocha Clarissa Ribeiro Reily, Silva Matheus Molina, Quinet Annabel, Cabral-Neto Januario Bispo, M C F M** (2018) DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. *Clinics, Epub Septe*, e478s.
- Schneider B, Boáíková P, Nečasová I, Čech P, Svozil D and Černý J** (2018) A DNA structural alphabet provides new insight into DNA flexibility. *Acta Crystallographica. Section D, Structural Biology*, 74(Pt 1), 52–64.
- Sharif H, Li Y, Dong Y, Dong L, Wang W L, Mao Y and Wu H** (2017) Cryo-EM structure of the DNA-PK holoenzyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(28): 7367–7372.
- Stasiuk W, Szopa A, Serefko A, Wyska E, Świąder K, Dudka J, Poleszak E** (2017) Influence of the selective antagonist of the NR2B subunit of the NMDA receptor, traxoprodil, on the antidepressant-like activity of desipramine, paroxetine, milnacipran, and bupropion in mice. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 124(3): 387–396
- Stovall G M, Bedenbaugh R S, Singh S, Meyer A J, Hatala P J, Ellington A D and Hall B** (2014) In vitro selection using modified or unnatural nucleotides. *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, 56, 9.6.1-9.6.33.
- Wang X, Lim H J and Son A** (2014) Characterization of denaturation and renaturation of DNA for DNA hybridization. *Environmental Health and Toxicology*, 29, e2014007–e2014007.
- Wheate N J, Brodie C R, Collins J G and Aldrich-Wright S K and J R** (2007) DNA Intercalators in Cancer Therapy: Organic and Inorganic Drugs and Their Spectroscopic Tools of Analysis. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, Vol. 7, pp. 627–648.
- Wilkes S** (2008) The use of bupropion SR in cigarette smoking cessation. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 3(1): 45–53.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

**Wilkinson J L and Bevins R A** (2007) Bupropion hydrochloride produces conditioned hyperactivity in rats. *Physiology & Behavior*, 90(5): 790–796.

**Wu H M, Dattagupta N and Crothers D M** (1981) Solution structural studies of the A and Z forms of DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78(11): 6808–6811.

**Zhou Z, Hu Y, Shan X, Li W, Bai X, Wang P and Lu X** (2015) Revealing Three Stages of DNA-Cisplatin Reaction by a Solid-State Nanopore. *Scientific Reports*, 5, 11868.



## ÖZGEÇMİŞ

Elif KARA 13.04.1993 Zonguldak'ın Devrek ilçesinde doğdu. Öğrenim hayatına Devrek Gazi ilköğretim Okulu'nda başladı. İlk ve ortaöğretimini burada tamamladıktan sonra liseyi Devrek Anadolu Lisesi'nde okudu. Bartın Üniversitesi ve bir dönem Sivas Cumhuriyet Üniversitesinde Moleküler Biyoloji ve Genetik lisans eğitimine devam etti. 2012-2016 yılları arasında lisans öğretimini tamamladı. 2016 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansına başladı ve halen devam etmektedir.

### **ADRES BİLGİLERİ:**

Adres: Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi (Yeni Eğitim Bloğu), Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,

Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Laboratuvarı

İncivez/ ZONGULDAK

Tel: (+90) 372 291 11 00

E-posta: Elif026.kara@hotmail.com