



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



**SEÇİLEN BİTKİSEL AKTİF MOLEKÜLLERİN  
NÜKLEOBAZLAR VE BAZI NÜKLEOTİD  
DİZİMLERİYLE ETKİLEŞİMLERİNİN  
BİYOİNFORMATİK VE MOLEKÜLER  
MODELLEME YÖNTEMLERİYLE İNCELENMESİ**

**Doktora Tezi**

Tuğçe ŞENER RAMAN

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

İzmir  
2021



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

**SEÇİLEN BİTKİSEL AKTİF MOLEKÜLLERİN  
NÜKLEOBAZLAR VE BAZI NÜKLEOTİD DİZİMLERİYLE  
ETKİLEŞİMLERİNİN BİYOİNFORMATİK VE MOLEKÜLER  
MODELLEME YÖNTEMLERİYLE İNCELENMESİ**

Tuğçe ŞENER RAMAN

Danışman: Prof. Dr. Nursel AÇAR SELÇUKİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Doktora Programı

İzmir  
2021



## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Seçilen Bitkisel Aktif Moleküllerin Nükleobazlar ve Bazı Nükleotid Dizilimleriyle Etkileşimlerinin Biyoinformatik ve Moleküler Modelleme Yöntemleriyle İncelenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

25 /06 / 2021

İmzası



**ÖZET****SEÇİLEN BİTKİSEL AKTİF MOLEKÜLLERİN  
NÜKLEOBAZLAR VE BAZI NÜKLEOTİD DİZİMLERİYLE  
ETKİLEŞİMLERİNİN BİYOİNFORMATİK VE MOLEKÜLER  
MODELLEME YÖNTEMLERİYLE İNCELENMESİ**

ŞENER RAMAN, Tuğçe

Doktora Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nursel AÇAR SELÇUKİ

Haziran 2021, 164 sayfa

Bu tez çalışmasında, bitkisel aktif molekül olan Luteolin molekülü ile nükleoidler (dAMP, dCMP, dGMP ve dTMP) arasındaki etkileşimlerin bağlanma bölgeleri, enerjileri ve konformerlerindeki değişikliklerin incelenmesi ve Luteolin ile nükleotid dimerlerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda sistematik olarak miR-155 ile Luteolin arasındaki etkileşimlerin bağlanma bölgelerinin saptanması amaçlanmıştır.

Hesapsal çalışmada, öncelikle Luteolin ve nükleotidlerin detaylı konformasyonel analizi yapılmıştır. Konformasyonel analizden elde edilen konformerler su fazında  $\omega$ B97XD/6-31+G(d,p) seviyelerinde optimizasyon prosedürleri kullanılarak elektronik enerji hesaplanmıştır ve en kararlı yapılar belirlenmiştir. Luteolin molekülü ile nükleotid molekülleri arasındaki kompleks oluşumları belirlenerek, kompleksler arasındaki bağlanma bölgeleri, kuvvetleri ve aralarında meydana gelen yük geçişleri hesaplanmıştır. Nükleotidler arasında en kararlı Luteolin-dCMP kompleksi olarak bulunmuştur. Deneysel çalışmada ise, Luteolin, dCMP ve Luteolin-dCMP kompleksi'nin UV/Vis spektroskopisi, floresans spektroskopisi ve voltametri ölçümlerin yapılarak deneysel ve hesapsal veriler karşılaştırılmıştır. Ayrıca, biyolojik modellerde bu kapsamda Lutolin molekülü ile miR-155 dizisi olası etkileşim bölgeleri için öneride bulunulmuştur.

**Anahtar sözcükler:** Luteolin, Nükleotid, miR-155, Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi, Moleküler Modelleme.



**ABSTRACT****INVESTIGATION OF INTERACTIONS OF SELECTED  
PLANT-BASED ACTIVE MOLECULES WITH NUCLEOBASES  
AND SOME NUCLEOTIDE SEQUENCES USING  
BIOINFORMATIC AND COMPUTATIONAL TOOLS**

ŞENER RAMAN, Tuğçe

PHD in Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Nursel AÇAR SELÇUKİ

June 2021, 164 pages

In this thesis, it was aimed to investigate the changes in the binding sites, energies, and conformers of the interactions between the herbal active molecule Luteolin and nucleotides (dAMP, dCMP, dGMP and dTMP), and systematically determine the binding sites of the interactions between miR-155 and Luteolin in line with the results obtained from Luteolin and nucleotide complex.

In the computational study, the first, a detailed conformational analysis of luteolin and nucleotides was performed. Electronic energy was calculated using optimization procedures at  $\omega$ B97XD/6-31+G(d,p) levels in the water phase of conformers obtained from the conformational analysis and the most stable structures were determined. By determining the complex formations between the Luteolin molecule and the nucleotide molecules, the binding sites between the complexes, their energies, and the charge transitions between them were calculated. Among the nucleotides, it has been found to be the most stable Luteolin-dCMP complex. In the experimental study, UV/Vis spectroscopy, fluorescence spectroscopy, voltammetry measurements of Luteolin, dCMP, and Luteolin-dCMP complex were performed, and then experimental and computational data were compared. Finally, in biological models, possible interaction sites of the Luteolin molecule and the miR-155 sequence have been suggested.

**Keywords:** Luteolin, Nucleotide, miR-155, Density Functional Theory, Molecular Modeling.



## ÖNSÖZ

Doktora ders aşamasında üniversitemiz Biyokimya Bölümü hocalarından Prof. Dr. Cenk SELÇUKİ tarafından verilen Protein Yapı ve Dinamiklerinde Bilgisayara Dayalı Yöntemler ile Biyopolimerler ve Biomateryaller dersleri kapsamında hazırladığım proje ödevleri ve de Biyomühendislik Bölümü hocalarından Prof. Dr. Bahattin Tanyolaç tarafından verilen Genetik dersi, doktora tezimin konusunu belirleme hususunda bana ilk fikri verdi. Dönem sonunda, ödevler ve yapmış olduğum okumalar ile ilgili fikirlerimi Danışman Hocam Prof. Dr. Nursel AÇAR SELÇUKİ ile paylaştığımda, hocamın değerli tavsiyeleri ve yapmış olduğum ön araştırmalar sayesinde fikirlerim daha da olgunlaştı ve birkaç ay içerisinde tez konum belirlendi.

Tez konusunun belirlenmesi ile birlikte azim ve şevkle çalışmaya başladım. Literatür taramalarında konuyla ilgili hesapsal çalışmalara rastlamamam ve konunun ilgi çekiciliği motivasyonumu artırdı.

Kimi zaman yorucu, kimi zaman heyecanlı, kimi zaman da stresli geçen günlere rağmen tezimi sorunsuz olarak tamamlamış olmanın mutluluğu içindeyim.

İZMİR

07/05/2021

Tuğçe ŞENER RAMAN



**İÇİNDEKİLER**Sayfa

İÇ KAPAK .....	ii
KABUL ONAY SAYFASI .....	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xviii
TABLolar DİZİNİ.....	xxiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxviii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Flavonoidler.....	5
2.1.1. Luteolin.....	6
2.2. Nükleotik Asit.....	8
2.2.2. Ribonükleik asit (RNA).....	12
2.3. MicroRNA .....	13

2.3.1. miRNA'ların Kanser ile İlişkisi .....	13
2.3.2. miRNA-155.....	15
2.4. İlaç-DNA Etkileşim Türleri .....	17
2.4.1. DNA'ya Kovalent Bağlanma .....	18
2.4.2. Kovalent Olmayan Bağlanma .....	19
2.5. İlaç ve DNA Arasındaki Etkileşimlerini İncelemek İçin Kullanılan Bazı Teknikler .....	23
2.5.1. DNA-İlaç Etkileşmelerinin Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi ile İncelenmesi .....	23
2.5.2. DNA-İlaç Etkileşmelerinin Floresans Spektroskopisi ile İncelenmesi.....	33
2.5.3. Dönüşümlü Voltametri (DV) ile DNA-İlaç Etkileşmelerinin İncelenmesi .	39
2.6.1 Konformasyonel Analiz .....	48
2.6.2. Moleküler Mekanik Metotlar .....	51
2.6.3. Yarı deneysel (SE) yöntemler .....	51
2.6.4. Ab initio Yöntemler .....	52
2.6.5. Moleküler Orbital Kuramı (MOK) .....	52
2.6.6. Yoğunluk Fonksiyonel Teori (DFT).....	57
2.6.7. Temel Setler .....	59
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	61

3.1.Deneysel ve Metodolojik Temeller .....	61
3.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	61
3.1.2.Kullanılan Cihaz ve Yöntemler .....	61
3.2. Hesapsal ve Metodolojik Temeller.....	62
4. BULGULAR .....	65
4.1. Deneysel Bulgular .....	65
4.1.1. UV/Vis Spektrumu .....	65
4.1.2. Floresans Spektrumu .....	69
4.1.3. Döngüsel Voltamogram.....	71
4.2. Hesapsal Bulgular.....	75
4.2.1. Monomerler .....	75
4.2.2. Luteolin - dAMP Kompleksi .....	83
4.2.3. Luteolin - dCMP Kompleksi .....	94
4.2.4. Luteolin-dGMP Kompleksi .....	105
4.2.5. Luteolin-dTMP Kompleksi.....	116
4.2.6. miR-155 .....	126
4.2.7. miR-155'in DNA'da Karşılık Gelen Dizi .....	129
5. SONUÇ ve TARTIŞMA .....	133

Sayfa

KAYNAKLAR DİZİNİ.....	137
TEŞEKKÜR.....	159
ÖZGEÇMİŞ.....	161



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Flavonoidlerin genel yapısı .....	5
Şekil 2.2. Luteolin yapısı.....	6
Şekil 2.3. DNA ve RNA'yı oluşturan alt birimler.....	9
Şekil 2.4. Pürin ve pirimidin nükleotitlerin yapısı .....	10
Şekil 2.5. DNA zinciri .....	11
Şekil 2.6. Çift sarmal DNA'nın konformerleri.....	12
Şekil 2.7. DNA ile Kovalent/ Kovalent Olmayan Bağlarla Bağlanan İlaçlar .....	19
Şekil 2.8. Kovalent Olmayan Bileşiklerin Etkileşimleri .....	20
Şekil 2.9. Sitozin-Guanin ve Adenin-Timin Arasında Küçük Ve Büyük Oyuğa Bağlanma Yerleri.....	22
Şekil 2.10. Elektromanyetik Spektrum.....	26
Şekil 2.11. UV/Vis Spektrometresinin Şematik Gösterimi .....	26
Şekil 2.12. Absorpsiyon Spektrumu .....	27
Şekil 2.13. Işığın Geçişi, I <sub>0</sub> : Gelen Işık ve I: Geçen Işık.....	28
Şekil 2.14. Kalibrasyon Eğrisi.....	29
Şekil 2.15. Moleküler Orbitallere Göre Geçiş Tipleri.....	31
Şekil 2.16. Absorpsiyon Pikindeki Olası Kaymalar .....	32

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.17. (a) Bir İnterkelatör Olan Etidinyum Bromür; (b) Küçük Oluk Bağlayıcı Olan Netropsin İlaçlarının Artan Konsantrasyonda DNA Varlığında Floresans Şiddetlerindeki Değişimi.....	34
Şekil 2.18. Enerji Seviyeleri Diyagramı .....	36
Şekil 2.19. Genel Floresans Spektrometresinin Yapısı.....	37
Şekil 2.20. (a) Floresein ve (b) Lucifer Yellow VS (suda) Örneklerinin Uyarma (B) Ve Emisyon (A) Spektrumları. Floresein: $\lambda_{EX} = 465 \text{ nm}$ ; $\lambda_{EM}=535 \text{ nm}$ . Lucifer Yellow VS: $\lambda_{EX} = 429 \text{ nm}$ ; $\lambda_{EM}=535 \text{ nm}$ (Miller, 1984).....	39
Şekil 2.21. Voltametri Hücresi .....	42
Şekil 2.22. Dönüşümü Voltametrde Dalga Şekli.....	43
Şekil 2.23. Dönüşümlü Voltamogram .....	44
Şekil 2.24. Sistematik Konformasyonel Araştırma Metodu Protokolü .....	50
Şekil 4.1. PBS Tampon Çözeltisinde $1.6 \times 10^{-7} \text{ M}$ dCMP UV/Vis Spektrumu.....	65
Şekil 4.2. PBS Tampon Çözeltisinde $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ Luteolin UV/Vis Spektrumu .....	66
Şekil 4.3. PBS Çözeltisinde Luteolin ve dCMP-Luteolin Kompleksinin UV/Vis Spektrumları.....	67
Şekil 4.4. PBS Tampon Çözeltisinde dCMP-Luteolin Kompleksinin Deneysel ve Teorik UV/Vis Spektrumları.....	67
Şekil 4.5. PBS Tampon Çözeltisinde Luteolin-dCMP Kompleksinin Floresans Spektrumları.....	69
Şekil 4.6. Luteolinin $E_{00}=488 \text{ nm}$ 'de PBS Tampon Çözeltisinde Normalize Edilmiş Absorpsiyonu ve Floresans Spektrumu .....	71

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.7. $4 \times 10^{-5}$ M Molekülünün 7.4 pH'ta Döngüsel Voltamogramının 100 mV/s'lik Tarama Hızı .....	72
Şekil 4.8. $4 \times 10^{-5}$ M Luteolin ve Farklı Derişimlerde dCMP ile Luteolin-dCMP Kompleksinin 7.4 pH'ta Döngüsel Voltamogramının 100 mV/s'lik Tarama Hızı	72
Şekil 4.9. Luteolin-dCMP Kompleksinin 7.4 pH'ta Döngüsel Voltamogramı a 100, b 125, c 150, ç 175, d 200mV/s'lik Tarama Hızı ( $4 \times 10^{-5}$ M Luteolin, $1 \times 10^{-7}$ M dCMP) .....	74
Şekil 4.10. Çalışılan Monomer Yapıların İki Boyutlu Yapıları .....	76
Şekil 4.11. Optimize Edilen Monomer Yapılar .....	76
Şekil 4.12. Monomer Yapıların Uyarılmış Halleri ve $E_{gap}$ Enerjileri.....	78
Şekil 4.13. Luteolin Molekülünün UV/Vis Spektrumu.....	79
Şekil 4.14. (a) dAMP, (b) dCMP, (c) dGMP ve (d) dTMP Nükleotidlerinin UV/Vis Spektrumu.....	80
Şekil 4.15. Optimize Edilen (a) Luteolin, (b) dAMP, (c) dCMP, (d) dGMP ve (e) dTMP Moleküllerinin MEP Haritası .....	82
Şekil 4.16. Optimize Edilen En Karalı İlk Dört Lt-dAMP Kompleks Yapıları ....	85
Şekil 4.17. En Karalı Kompleks Lt-dAMP-kompleks-11 .....	86
Şekil 4.18. NCI Analizi Kullanılarak İkincil Etkileşimlerin Lt-dAMP-Kompleks-11 Üzerinde Gösterimi.....	87
Şekil 4.19. NCI Analizi Kullanılarak Lt-dAMP-Kompleks-11 Arasında İkincil Etkileşimleri Gösteren Dağılım Grafiği.....	88
Şekil 4.20. En Düşük Uyarılmış Singlet Durumlarının CI Tanımında Yer Alan Çalışılan Moleküllerin Sınır Moleküler Orbitaleri .....	90

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.21. (a) Su Fazında Lt-dAMP-kompleks-11 UV/Vis Spektrumu; (b) Su Fazında Luteolin, dAMP ve Lt-dAMP-kompleks-11 UV/Vis Spektrumu. ....	91
Şekil 4.22. Lt-dAMP-Kompleks-11'in S <sub>1</sub> 'den S <sub>6</sub> 'ya Kadar Yük Yoğunluk Farklarının Gösterimi.....	93
Şekil 4.23. Dimer Kompleks Yapıların Elektrostatik Potansiyel Haritası Gösterimi .....	94
Şekil 4.24. Optimize Edilen Lt-dCMP-kompleks Yapılar.....	96
Şekil 4.25. Lt-dCMP-kompleks-6 Kompleksi .....	97
Şekil 4.26. NCI Analizi Kullanılarak İkincil Etkileşimlerin Lt-dCMP-kompleks-6 Üzerinde Gösterimi .....	98
Şekil 4.27. Lt-dCMP-kompleks-6 Kompleksi Arasında İkincil Etkileşimleri Gösteren Dağılım Grafiği.....	99
Şekil 4.28. En Düşük Uyarılmış Singlet Durumlarının CI Tanımında Yer Alan Çalışılan Moleküllerin Sınır Moleküler Orbitaleri .....	101
Şekil 4.29. (a) Su Fazında Lt-dCMP-kompleks-6 kompleksi UV/Vis Spektrumu; (b) Su Fazında Luteolin, d(CMP) ve Lt-dCMP-kompleks-6 kompleksi UV/Vis Spektrumu .....	102
Şekil 4.30. Lt-dCMP-Kompleks-6'in S <sub>1</sub> 'den S <sub>6</sub> 'ya Kadar Yük Yoğunluk Farklarının Gösterimi.....	104
Şekil 4.31. Dimer Kompleks Yapıların Elektrostatik Potansiyel Haritası Gösterimi .....	105

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.32. Optimize Edilen En Kararlı İlk Dört Lt-dGMP-kompleks Yapılar....	107
Şekil 4.33. Lt-dGMP-kompleks-3 Yapısı.....	108
Şekil 4.34. NCI Analizi Kullanılarak İkincil Etkileşimlerin Lt-dGMP-kompleks-3 Üzerinde Gösterimi.....	109
Şekil 4.35. Lt-dGMP-kompleks-3 Kompleksi Arasında İkincil Etkileşimleri Gösteren Dağılım Grafiği .....	110
Şekil 4.36. En Düşük Uyarılmış Singlet Durumlarının CI Tanımında Yer Alan Çalışılan Moleküllerin Sınır Moleküler Orbitalleri .....	112
Şekil 4.37. (a) Su Fazında Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksi UV/Vis Spektrumu; (b) Su Fazında Luteolin, dGMP ve Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksi UV/Vis Spektrumu.....	113
Şekil 4.38. Lt-dGMP-kompleks-3 Kompleks Yapıların Yük Yoğunluk Farklarının gösterimi .....	115
Şekil 4.39. Lt-dGMP-kompleks-3'ün Elektrostatik Potansiyel Haritası Gösterimi .....	116
Şekil 4.40. Optimize edilen Lt-dTMP-kompleks Yapılar .....	118
Şekil 4.41. Lt-dTMP-kompleks-4 Yapısı .....	119
Şekil 4.42. NCI Analizi Kullanılarak İkincil Etkileşimlerin Lt-dTMP-kompleks-4 Kompleksi Üzerinde Gösterimi .....	119
Şekil 4.43. Lt-dTMP-kompleks-4 Kompleksi Arasında İkincil Etkileşimleri Gösteren Dağılım Grafiği .....	120
Şekil 4.44. En Düşük Uyarılmış Singlet Durumlarının CI Tanımında Yer Alan Çalışılan Moleküllerin Sınır Moleküler Orbitalleri .....	122

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Şekil 4.45.</b> (a) Su fazında Lt-dTMP-kompleks-4 kompleksi UV/Vis Spektrumu; (b) Su fazında Luteolin, dTMP ve Lt-dTMP-kompleks-4 kompleksi UV/Vis Spektrumu .....	123
<b>Şekil 4.46.</b> Lt-dTMP-kompleks-4 Kompleks Yapıların Yük Yoğunluk Farklarının Gösterimi.....	125
<b>Şekil 4.47.</b> Lt-dTMP-kompleks-4'in Elektrostatik Potansiyel Haritası Gösterimi .....	126
<b>Şekil 4.48.</b> miR-155 Dizilimi için Elde Edilen İkincil Yapılar .....	127
<b>Şekil 4.49.</b> miR-155 Diziliminin Üç Boyutlu Yapısı.....	128
<b>Şekil 4.50.</b> miR-155'in DNA'da Karşılık Gelen Dizi İçin Elde Edilen İkincil Yapılar.....	130
<b>Şekil 4.51.</b> Anti-miR-155-a'nın Üç Boyutlu Dizisi.....	131

## TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 2.1.</b> Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez tepkimeler.....	47
<b>Tablo 4.1.</b> Lutolin ve Luteolin-dCMP komplekslerinin pH 7.4'te PBS tampon çözelti ortamındaki elektrokimyasal karakteristik özelliklerinin karşılaştırılması	73
<b>Tablo 4.2.</b> $4 \times 10^{-5} \text{M}$ Luteolin + $1 \times 10^{-7} \text{M}$ dCMP kompleksinin pH 7.4'te PBS tampon çözelti ortamında farklı tarama hızlarında elektrokimyasal karakteristik özelliklerinin karşılaştırılması.....	74
<b>Tablo 4.3.</b> Monomerlerin su fazında $\omega$ -B97XD/6-31+(d,p) seviyesinde konformerinin dipol momentleri ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri, sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerjisi ( $E_{\text{elek}} + \text{ZPE}$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerjisi ( $E_{\text{elek}} + \Delta G$ , Hartree), frekans( Frek., $\text{cm}^{-1}$ ) .....	77
<b>Tablo 4.4.</b> İncelenen Monomerler için Temel Elektronik Geçişler ve Karşılık Gelen Dalga Boyları.....	79
<b>Tablo 4.5.</b> Lt-dAMP-komplekslerinin su fazında $\omega$ -B97XD/6-31+(d,p) seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}} + \text{ZPE}$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}} + \Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri.....	84
<b>Tablo 4.6.</b> Lt-dAMP-kompleks-11 için kuantum kimyasal model kullanılarak elde edilen uyarılma durum özellikleri.....	89
<b>Tablo 4.7.</b> Lt-dAMP-kompleks-11'in uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) ....	92

## TABLOLAR DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 4.8.</b> Lt-dCMP-komplekslerinin su fazında $\omega$ -B97XD/6-31+(d,p) seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}+ZPE$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri .....	95
<b>Tablo 4.9.</b> Lt-dCMP-kompleks-6 kompleksi için kuantum kimyasal model kullanılarak elde edilen elektronik geçişler .....	100
<b>Tablo 4.10.</b> Lt-dCMP-Kompleks-6'in uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) .....	103
<b>Tablo 4.11.</b> Lt-dGMP-komplekslerinin su fazında $\omega$ -B97XD/6-31+(d,p) seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}+ZPE$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri .....	106
<b>Tablo 4.12.</b> Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksi için kuantum kimyasal model kullanılarak elde edilen uyarılma durum özellikleri .....	111
<b>Tablo 4.13.</b> Lt-dGMP-kompleks-3'ün uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) .....	114

## TABLOLAR DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 4.14.</b> Lt-dTMP-komplekslerinin su fazında $\omega$ -B97XD/6-31+(d,p) seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{elec}+ZPE$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{elec}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{elek}$ , kcal/mol) değerleri.....	117
<b>Tablo 4.15.</b> Lt-dTMP-kompleks-4 Kompleksi için kuantum kimyasal model kullanılarak elde edilen uyarılma durum özellikleri.....	121
<b>Tablo 4.16.</b> Lt-dTMP-kompleks-4'in uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) ..	124
<b>Tablo 4.17.</b> miR-155 dizilimi.....	127
<b>Tablo 4.18.</b> miR-155'in DNA'da karşılık gelen dizi .....	129
<b>Tablo 5.1.</b> Komplekslerin su fazında $\omega$ -B97XD/6-31+G(d,p) seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{elec}+ZPE$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{elec}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{elek}$ , kcal/mol) değerleri.....	133



**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
$T$	Mutlak sıcaklık (Kelvin)
$\epsilon$	Enerji
$\text{Å}$	Angstrom
$\mu$	Mikron
$\nu$	Frekans
s	Saniye
$I_0$	Gelen Işın
I	Geçen Işın
T	Transmittans
$\epsilon$	Molar absorpsiyon katsayısını
$\sigma$	Sigma orbitali
$S_0$	Singlet temel hal
$i_p^a$	Anodik pik akımı
$i_p^k$	Katodik pik akımı
$E_p^k$	Katodik pik potansiyeli ise
$I_p$	Pik akımı; birimi, Amper

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

$D_0$	O'nun difüzyon katsayısı; birimi, $\text{cm}^2/\text{s}$
$v$	Tarama hızı, birimi, $\text{V}/\text{s}$
$C_0$	O'nun ana derişimi; birimi, $\text{mol}/\text{cm}^3$
$M$	Termodinamik dengedeki konformer sayısı
$R$	Molar ideal gaz sabiti
$Q$	Partisyon fonksiyonu
$S^N$	Konformasyon sayısı
$\hat{H}$	Hamiltonyen işlemcisi
$\Psi$	Dalga fonksiyonu
$Q_N$	$N$ parçacıklı sistemin kuantum durumu
$R_N$	$N$ parçacıklı sistemin elektron konumu
$V_k$	Coulomb etkileşme enerjisi
$\rho(r_j)$	Yük yoğunluğu dağılımı
$h_i$	Elektronun çekirdek alanındaki hareketini ifade eden tek elektron koordinatına bağlı elektron etkileşimini ifade eden işlemci
$g_{ij}$	Elektronun çekirdek alanındaki hareketini ifade eden iki elektron koordinatına bağlı elektronların etkileşimini ifade eden işlemci

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

$P_{ij}$	Elektron koordinatlarının tüm muhtemel permütasyonlarını üreten permütasyon işlemcisi
$J_{ij}$	Klasik itmeyi ifade eden Coulomb integrali
$K_{ij}$	Değiştokuş integrali
$F_i$	Fock matrisi xxvii
$\varphi$	Pseudo-özdeğer denkleminin özdeğeri
$V_{\text{eff}}$	Efektif potansiyel
$T$	Kinetik enerji işlemcisi
$E_{\text{xc}}$	Değiştokuş enerjisi
$\nabla$	Nabla işlemcisi, Diverjans
$\zeta$	Perdeleme sabiti
$\Phi_{\sigma}$	Çözücü reaksiyon potansiyeli
$q_{\sigma}$	Monoelektronik işlemci
$Q_M$	Çözünen M maddesinin yükü
$M$	Dielektrik ortamdaki kavite içinde çözünen madde
$\Phi_M$	M tarafından üretilen potansiyel

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

$q_1, \dots, q_N$	N parçacıklı sistemin elektronlarının koordinatları
$Q_1, \dots, Q_N$	N parçacıklı sistemin çekirdeklerinin koordinatları
$\varepsilon$	Dielektrik sabiti
$g_s$	Lineer eşyönlü sürekli dağılıma sahip çözücü moleküllerinin ifadesi
$Z_a$	Çekirdek yükü
$i$	Çözücü ve çözünenin karşılıklı polarizasyon etkisi ile ilgili yaklaşım seviyesi
$G_{el}$	Elektrostatik Gibbs serbest enerjisi
$\Delta G_{sol}$	Çözünme serbest enerjisi
$\ell$	Toplam açısal momentum kuantum sayısı
$\alpha$	Sınır koşulu
$\lambda_c$	Çoğaltma faktörü
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
Lt	Luteolin

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

T	Timin
C	Sitozin
U	Urasil
G	Guanin
A	Adenin
dAMP	Deoksiadenozinmonofosfat
dCMP	Deoksisitidin monofosfat
dGMP	Deoksiguanozin monofosfat
dTMP	Deoksitimidin monofosfat
vdW	van-der Waals etkileşimleri
TS-miR	Tümör supressör miRNA
AGTR1	Anjiotensin II tip 1 reseptörü
UV/Vis	UV Görünür Bölge Spektroskopisi
MOK	Moleküler Orbital Kuramı
MM	Moleküler Mekanik
SE	Yarı Deneysel
GCE	Camsı Karbon Elektrot

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

DFT	Yoğunluk Fonksiyonel Teori
K	Denge Sabitleri
DV	Dönüşümlü Voltametri
TD-DFT	Zamana Bağlı Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi
LSDA	Yerel Spin Yoğunluk Yaklaşımı (Local Spin Density Approximation)
GGA	Genelleştirilmiş Gradyan Yaklaşımı (Generalized Gradient Approximation)
MP2	Møller-Plasser
HF	Hartree-Fock
CC	Çiftlenmiş Küme (Coupled Cluster)
ST	Slater tipi fonksiyon
GT	Gaussian tipi fonksiyon
CSM	Sürekli Ortam Çözücü Modelleri (Continuum Solvent Models)
RAM	Reaksiyon Alan Modeli (Reaction Field Model)
ZPE	Sıfır Nokta Titreşim Enerjisi (Zero Point Vibrational Energy)





## 1.GİRİŞ

Deoksiribonükleik asit (DNA), hayati öneme sahip olan mekanizmaların büyümesi, farklılaşması ve hücre yaşlanması gibi genetik olayların anlaşılmasını sağlayan doğal bir biyomoleküldür (Zubay et al., 1995; Voet et al., 2008). Bazı küçük organik moleküllerin DNA'ya bağlanması, DNA transkripsiyonu ve DNA eşleşmesi gibi DNA'nın katıldığı sayısız biyolojik süreçleri etkiler. DNA'nın doğal sürecinde, düzenleyici proteinler DNA'nın ilgili kısmına bağlanarak başlar fakat bazı bileşiklerin düzenleyici protein yerine dışarıdan bir etki ile DNA'ya bağlanması DNA işlevinin bozulmasına aktive ya da inhibe olmasına neden olabilir (Kennard, 1993). Bu düzensizlikler ve bozukluklar pek çok hastalığın kaynağını oluşturmaktadır. Bu hastalıklardan biri de kanserdir. Kanser, DNA'nın hasarı sonucunda veya DNA'da meydana gelen bozukluklar ile kontrolsüz veya anormal bir yönde hücrelerin büyümesi ve çoğalmasıdır.

Araştırmaların çoğu genelde DNA dizisinin çözümlenmesine ve DNA dizisi sayesinde kodlanan proteinlerin belirlenmesi ile ilgilidir. İnsan genomundaki DNA'nın çoğu RNA'yı kodlasa da, bu genomun az bir kısmı (% 1.5) fonksiyonel proteinlerin sentezi için kullanılır. Yakın zamana kadar, genomun geri kalanının çok az önemi olduğu düşünülüyordu. Ancak bu görüş, küçük RNA moleküllerinin keşfedilmesiyle bozuldu. Bu gruba dahil olan mikroRNA'lara (miRNA'lar) kodlamayan RNA dizileri adı verilir.

miRNA'ların pek çok temel hücresel fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynadığını, ancak hücredeki normal koşulların dışındaki miRNA seviyelerinin insanlarda kanser gelişimi ile ilişkili olduğu araştırmacılar tarafından bildirmişlerdir (Wijnhoven et al., 2007). Böylelikle miRNA'ların tümör gelişiminde onkojenler veya tümör baskılayıcılar olarak işlev gördüğü ortaya çıkmıştır. Bu nedenle kanserin önceden teşhisi ve tedavi edilmesi için bu konuda bir çalışma bilgisinin önemli olabileceği çok açıktır.

miRNA'lar, genom üzerindeki proteinleri kodlayan intron veya ekson bölgelerinden ve proteini kodlamayan kısımlardaki RNA genlerinden kopyalanan ancak proteine çevrilmeyen fonksiyonel RNA molekülleridir. miRNA, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde fonksiyonel olarak rol oynayan, 18-24 nükleotid uzunluğunda tek sarmallı bir RNA molekülüdür (Shenouda and Alahari, 2009).

miRNA'lar, hücre metabolizması ve immünoregülasyon gibi çeşitli hücresel işlemlere dahil edilir ve farklı türde tümörlerde anormal şekilde eksprese edildiği bilinmektedir. Tümör baskılayıcı miRNA'lardan farklı olarak, onkojenik miRNA'lar, kanser türlerinde genellikle kontrolsüz bir büyüme hızlandırıcı ve/veya anti-apoptotik yönde işlev görür. Bu nedenle kanser teşhisi, tedavisi ve prognozunda yaygın olarak uygulanırlar. Keşfedilen ilk onkojenik RNA'lardan biri, proteini kodlamayan bir gen olan BIC (B hücre Entegrasyon Kümesi) ile birlikte ifade edilen miR-155'tir. Son yıllardaki çalışmalarda, miR-155'in B hücreli lenfoma (Eis et. al., 2005), meme (Iorio et. al., 2005), pankreas (Gironella et. al., 2007), akciğer (Lin et. al., 2010) ve Hodgink's lenfoma (Kluiver et. al., 2005) benzer kanserlerde yüksek ekspresyon gösterilmiştir.

miR-155, son yıllarda büyük ilgi görmüştür, çünkü birkaç farklı bağışıklık hücresinin gelişiminde ve/veya işlevinde önemli bir oyuncu olarak yer almış ve ayrıca kanser oluşumunda ve kontrolünde rol oynadığı gösterilmiştir. miR-155'in artışında meme kanser hücresi olan MDA-MB-231 hücrelerinin çoğalmasında önemli ölçüde arttırdığı, anti-miR-155 varlığında ise MDA-MB-231 hücrelerindeki hücre çoğalmasının önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir (Jiang et al., 2010).

Sun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada anti-miR-155 özelliği gösteren bileşiklerden biri de Luteolindir. Bitkilerde yaygın olarak bulunan Luteolin (3', 4', 5,7-tetrahidroksiflavon) (genellikle kekik, adaçayı, kereviz, yeşil biber, perilla (biftekotu) yaprağı ve papatya çayı (Lv et al., 2009)) antioksidan, pro-oksidan anti-enflamatuar, anti-kanserojen, anti-anjiyogenez ve anti-metastatik aktivasyonlu bir flavonoiddir. Son dönemlerde Luteolin yoğun şekilde kanser tedavi araştırmalarında yer almaya başlamasının nedenleri; vücutta hücre döngüsünün durması için indüksiyon yapması, tümör hücresi proliferasyonunun inhibe etmesi veya sinyal yollarıyla apoptozun indüklenmesi yoluyla kanserojen tetikleyicilerden korumasıdır (Shi et al., 2004; Seelinger et al., 2008).

Yapılan çalışmada Luteolin-nükleotid komplekslerinin belirlenmesi, sistematik olarak Luteolin-miR-155 komplekslerinin yaptıkları bağların ve etkileşimlerin incelenmesi oldukça önemlidir. Çünkü Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DNA-ilaç kompleksleri arasında oluşan kovalent bağların, DNA

kompleksinin bozulmasına neden olduğu; bunun da, protein transkripsiyonunu engelleyerek hem transkripsiyonu hem de replikasyonu etkilediği belirtilmiştir. Ni ve arkadaşları ise ilaçların DNA'ya kovalent olmayan bağlar ile bağlanması geridönüşümlü olduğunu göstermiştir ve ilaç metabolizmasında, potansiyel toksik etkiler göz önüne alındığında, kovalent bağlara göre bu durumun daha istenir olduğunu belirtmiştir. Bununla birlikte, kovalent olmayan bağlar ve DNA ile etkileşen maddeler, DNA yapısını, DNA burulma stresini, protein-DNA etkileşimini kesintiye uğratarak potansiyel olarak DNA ipliği kırılmalarına neden olabilir. Bu kovalent olmayan etkileşimler; elektrostatik, hidrojen bağları ve van der Waals (dipol-dipol) etkileşimleridir (Ni et al., 2006; Kennard, 1993).

Yapılacak çalışmada hesapsal ve deneysel yöntemler ile hem Luteolin ve nükleoitler arasındaki etkileşimlerin hem de sistematik olarak miR-155 ile Luteolin arasındaki etkileşimlerin bağlanma bölgeleri ve güçleri, konformerlerindeki değişiklikler incelenerek Luteolin-miR-155 etkileşiminin anlaşılması hedeflenmektedir. Bu sayede yeni anti kanser ajanlarının geliştirilmesi, etkin ilaçların tasarımının önü açılacağı ve bilgisayar destekli moleküler modelleme çalışmaları yardımıyla sistemin daha iyi anlaşılması ve açıklanması için bu çalışma önem arz etmektedir.

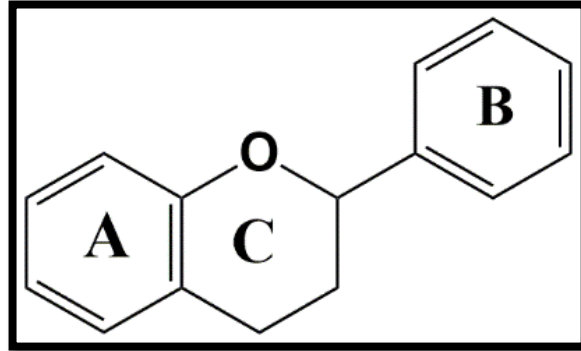


## 2.GENEL BİLGİLER

Bu bölümde flavonoid sınıfında bulunan antioksidan, antianjiyogenez, antiinflamatuvar ve antikanserojen özelliğine sahip olan Luteolin molekülünden, Luteolin ile DNA ve Luteolin ile miRNA-155 arasındaki etkilişiminin daha iyi anlaşılması için hayati öneme sahip olan DNA, DNA'yı oluşturan nükleik asitler ve nükleotitlerden, mRNA kodlamayan, çoğunlukla gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde görev alan miRNA'lerden, miRNA çeşidi olan miRNA-155'in kanser hücreleri ile olan ilişkilerinden ve DNA-ilaç etkileşimleri ile ilgili olarak genel bilgilere yer verilmiştir.

### 2.1. Flavonoidler

Flavonoid, latince sarı anlamına gelen "flavus" kelimesinden türetilmiştir. Biyolojik etkilerinden dolayı bitkilerin sekonder metabolitleri arasında flavonoidler en önemli bileşik sınıflarındandır. Bitkilerin tüm organlarında bu bileşiklere rastlanmaktadır. Bugüne kadar 6000 civarında flavonoid içeren madde bitkilerde bulunmuştur.



Şekil 2.1 Flavonoidlerin Genel Yapısı

Flavonoidler, fenil halkasının Şekil 2.1. gibi birleşmesinden oluşan maddelerdir. Halkaların birbirine farklı yönelimlerle bağlanması nedeniyle, alt sınıflara ayrılan flavonoidler, fenolik bileşik olarak isimlendirilmektedir (Iyama et al., 2013; Mcnaught et al., 1997). Flavon halkasında iki bölge bulunmaktadır. Bu bölgelerden biri nötralizasyonda görev alırken diğeri ise serbest radikallerin

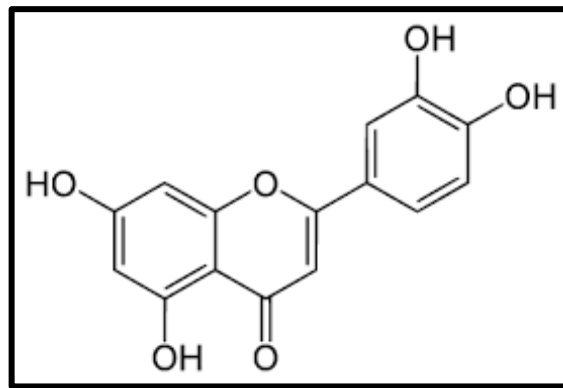
oluşumunda metallerin (demir, bakır) bağlanma bölgesini oluşturmaktadır (Rice-Evans et al., 1996; Mira et al., 2002).

Flavonoidlerin yapısal çeşitliliği için, difenilpropan iskeletinin farklı yapılarda düzenlenmesinin yanı sıra, substituentlerin (metil grupları, hidroksil grupları ve mono-, di- ve trisakkaritlerle glikatlanmış gruplar) yapısı, sayısı ve bağlanma pozisyonları molekülün aromatik (A ve B) halkaları flavonoidlerin yapı çeşitliliğine neden olur.

### 2.1.1. Luteolin

Luteolin (3',4',5,7-tetrahidroksi), bitkilerin yeşil kısımlarında bulunan bir flavondur. Luteolinin yapısındaki hidroksil grupları ve 2-3 çift bağı yapısı nedeniyle biyolojik ve biyokimyasal aktivitesi bulunmaktadır. Luteolinin hidroksil grupları karbonun 5, 7, 3' ve 4' pozisyonlarında bulunur (Lin et al., 2008) ve yapısı Şekil 2.2.'de gösterilmektedir. Luteolin sıklıkla glikozidlerle birleşerek glikozit formları oluşmaktadır (Pandurangan et al., 2014; Berg et al., 2002).

Luteolinin glikozid formları nane, yeşilbiber, adaçayı, enginar, kekik, zeytinyağı, havuç, kereviz, karabiber ve biberiye gibi birçok bitkilerde bulunup diyet için kullanılırken (Miguel, 2009) bu bitkilerin dışında ağaç kabuğu, yonca çiçeği, papatya çayı, karahindiba, portakal ve meyve kabuğunda da bulunmaktadır (Stagos et al., 2012). Bir insanın ortalama günlük Luteolin tüketimi 16 mg olarak saptanmıştır. Ortalama bir insanın, günlük Luteolin tüketim miktarı 16 mg olarak belirlenmiştir (Tsai et al., 2013).



Şekil 2.2. Luteolin yapısı

Bir flavon türevi olan Luteolinin, antimetastatik, antioksidan, antianjiyogenez, antiinflamatuvar ve antikanserojen özellikleri gösterdiği çalışmalarla desteklenmektedir (Miguel, 2009; Harbone et al., 2000). Lutolin içeren gıdaların tüketilmesinin, kronik hastalıklara yakalanma oranının azalmasına neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Lopez-Lazaro, 2009).

Kanserler genellikle hücre bölünmesi kontrolsüz olduğunda ortaya çıkar. Luteolin ise genellikle G1/S ya da G2/S kontrol noktasında kanser hücrelerinin bölünmesini inhibe ederek kanserin gelişimini durdurmaktadır (Ise et al., 2005; Knowles et al., 2000; Zi and Agarwal, 1998; Lindenmeyer et al., 2001). Yapılan çalışmalarda, luteolinin mide, prostat ve melanom hücrelerde G1 fazında hücre bölünmesini bloke ettiğine dair sonuçlar bildirilmiştir (Lindenmeyer et al., 2001; Matsukawa et al., 1993). Bu durumun nedeninin melanom OCM-1 ve kolon kanseri HT-29 hücrelerinin inhibisyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu durdurulmanın, CDK inhibitörleri p27/kip1 ve p21/waf1'nin up-regülasyonu ya da CDK2 aktivitesinde direkt inhibisyon ile gerçekleştiğini ve luteolinin etkisiyle p53 aracılı p21/waf1'in ekspresyonu ile olduğunu ifade etmişlerdir (Casagrande ve Darbon, 2001; Lim et al., 2007).

Lin ve arkadaşları Luteolin'in kanser önleme ve tedavi potansiyeli olan bir flavonoid olduğunu belirtmekte ve son epidemiyolojik çalışmalar ise Luteolin'in kanser önleme özelliğine değinmektedirler. Bu çalışmalarda kanser hücre apoptozunu indüklediği ve aynı zamanda hücre proliferasyonunu azaltarak potansiyel anti-kanser özellik gösterdiği bildirilmiştir (Lin et al., 2008). Sabzichi ve arkadaşları MDA-MB 231 hücrelerinde, fitozomlara yüklenen luteolinin, biyoyararlanımı arttırdığı ve meme kanseri hücrelerinde pasif hedeflemeyi arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca, hücrelerin luteolin ve doksorubisin içeren nanopartiküller ile kombine tedavisi en yüksek kanserli hücre ölüm yüzdesi ile sonuçlanmıştır.

Meme kanseri hastalarından alınan veriler sonucunda miR-155 seviyesi artışı ile meme kanser hücresi olan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde anlamlı bir artış tespit edilmiştir (Jiang et al., 2010). Sun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada anti-miR-155 özelliği gösteren bileşiklerden biri de Luteolin'dir ve miR-155 seviyesini azaltır (Sun et al., 2015). Luteolin, kanser hücreleri için gerekli olan

birkaç sinyali ve transkripsiyon yolunu etkisiz hale getirerek tümör gelişimini büyük ölçüde önler.

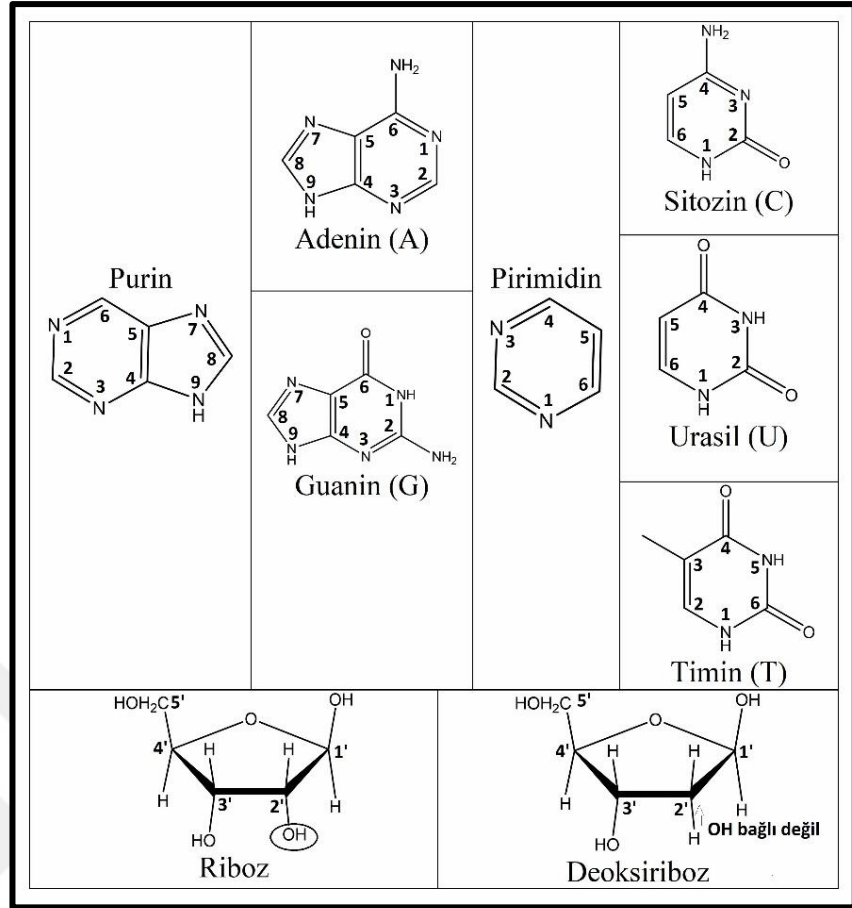
## **2.2. Nükleotik Asit**

Nükleik asitler kalıtsal bilginin kullanılmasını sağlayan ve bu bilgiyi taşıyan büyük kütleli biyopolimerlerdir. Ayrıca bu bilginin protein sentezi için de aktarılmasını sağlarlar. Nükleik asitler, vücudun sadece %2'sini oluşturmalarına rağmen yaşamsal faaliyetlerin sürdürülmesi için gereklidir. Nükleotid denilen monomerlerden meydana gelerek Deoksiribonükleik asit (DNA) ve Ribonükleik asit (RNA) oluştururlar.

### **2.2.1. Deoksiribonükleik Asit (DNA)**

DNA molekülü, dört farklı nükleotid alt biriminin bulunduğu uzun iki polinükleotid zincir (iplikçik) diziliminden oluşur. Nükleotidler de bir ya da daha fazla fosfat grubu içeren beş karbonlu bir deoksiriboz şekerine bağlı pürin veya pirimidin bazlarını içerir (Şekil 2.3.).

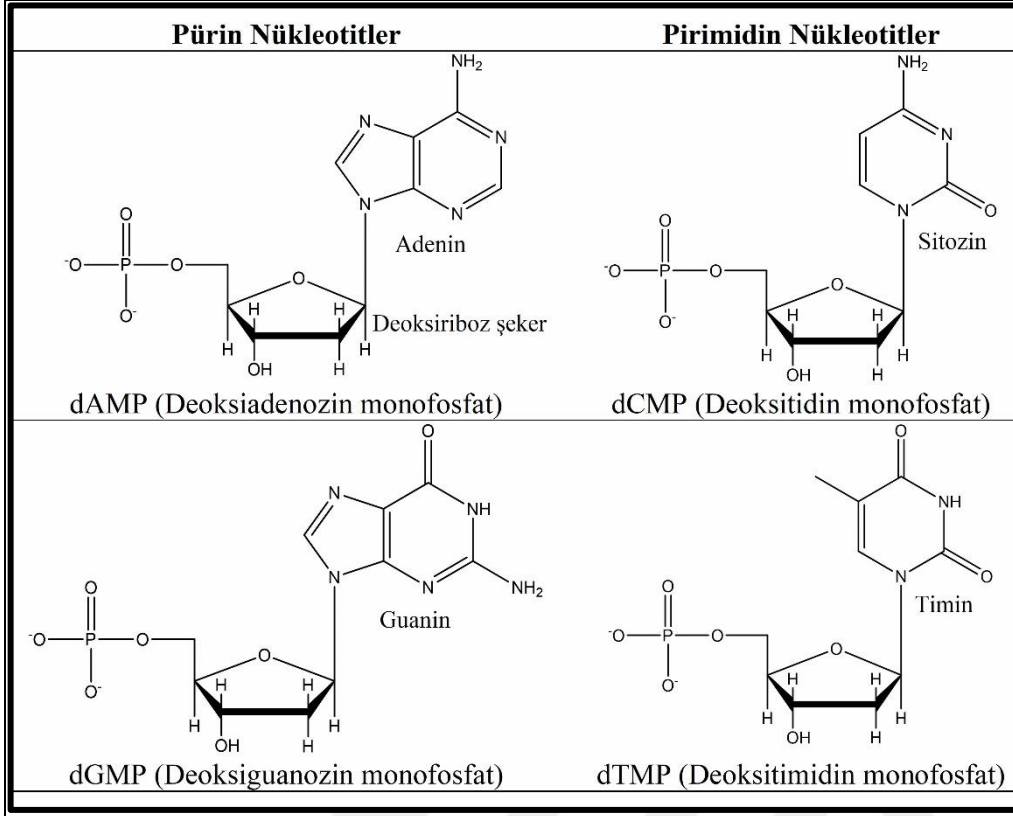
Azot içeren pirimidinler timin (T), sitozin (C) ve urasil (U), pürinler ise guanin (G) ve adenin (A)'dir. Adenin ile guanin pürinlerini ve sitozin ile timin pirimidinlerini DNA molekülü içerir.



Şekil 2.3. DNA ve RNA'yı Oluşturan Alt Birimler

Nükleotidler D-riboz ve D-2-deoksiriboz adı verilen iki tür şekerden oluşur. DNA, deoksiriboz moleküllerinden oluşturulur ve D-2-deoksiriboz molekülünün 2 numaralı karbon atomunda ribozun aynı konumunda bulunan hidroksil grubu yerine bir hidrojen atomu mevcuttur.

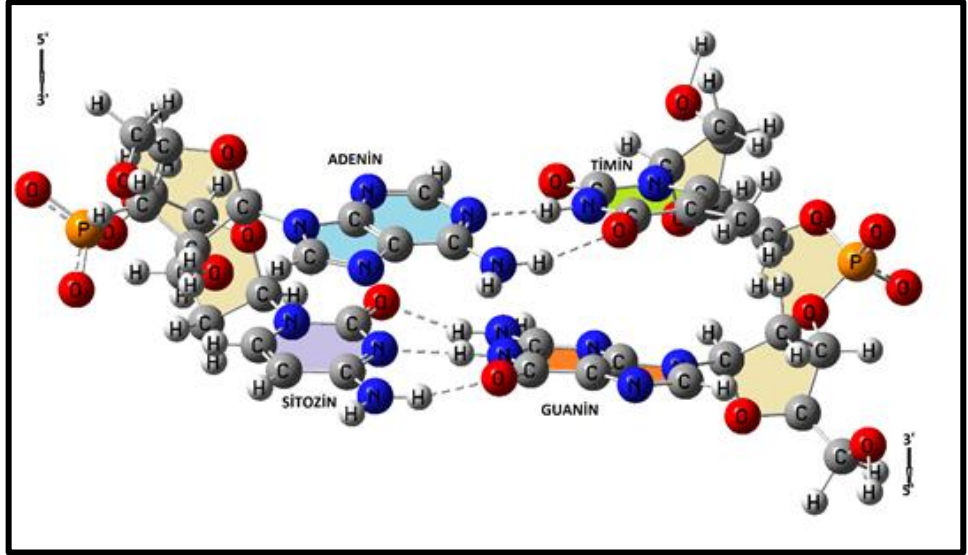
DNA çok sayıda nükleotidin bir araya gelmesinden oluşmuştur. Her nükleotit bir aromatik baz (pürin veya pirimidin), deoksiriboz şeker (D) ve bir fosfat grubu içerir (Şekil 2.4.) (Swift and Golsteyn, 2014). Şeker ve fosfat grupları, DNA'nın tüm nükleotidlerinde aynıdır. Ayrıca bazlar ve şekerler birbirine glikozidik bağlarla bağlıdır.



Şekil 2.4. Pürin Ve Pirimidin Nükleotitlerin Yapısı

Polinükleotid zincirinde (iplikçik) yer alan nükleotidler, birbirlerine fosfat ve şekerden oluşan omurga sayesinde kovalent bağla bağlıdırlar. Bu şekilde DNA alt birimlerinin bir düzen içinde dizilimi DNA'ya bir polarite kazandırır. DNA'daki iki iplikçik birbirlerine ters yönde uzanırlar. İki komşu şekerden birinin 3 numaralı karbonu ile diğerinin 5 numaralı karbon atomu arasındaki fosfat grubu, bir fosfodiester bağı oluşturarak şekerleri birbirine bağlar (Şekil 2.5.).

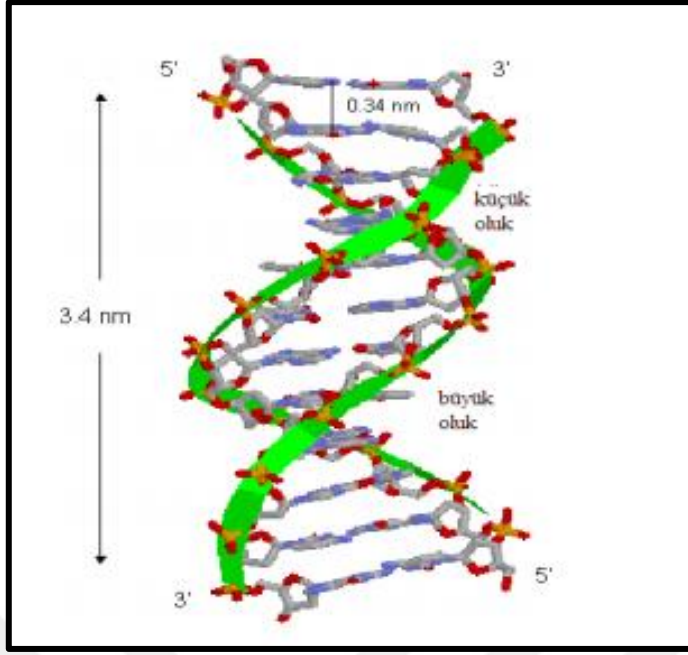
DNA ipliğinin tek yönü vardır çünkü fosfodiester bağı asimetriktir. Çift sarmal bir yapıda, bir iplikçikteki nükleotidlerin yönü birbirine zıttır. DNA ipliklerinin bu düzenlemesine antiparalel denir. DNA ipliklerinin asimetrik uçları 5' (beş üssü) ve 3' (üç üssü) olarak adlandırılır, 5' ucu bir fosfat grubu taşır ve 3' ucu bir hidroksil grubu taşır (İstanbulu, 2011).



Şekil 2.5. DNA Zinciri

DNA yapısında bulunan adenin (A), daima iki hidrojen bağı ile timine (T), guanin (G) ise üç hidrojen bağı ile daima sitozine (C) bağlanır. Birbirine bazlar arasında hidrojen bağları ile bağlanmış iki antiparalel polinükleotid zinciri çift sarmal adında ikincil bir yapı oluşturur ve bu ikincil yapıda DNA'nın bazları çift sarmalın içinde kalırken fosfat-şeker omurga kısmı ise çift sarmalın dışına doğru yönelmiştir. Bu yapıda her bir DNA iplikçisindeki baz çiftleri, kendisini tamamlayıcı diğer iplikçikteki baz çiftleriyle eşleşip en düşük enerjili olacak şekilde paketlenmiştir.

DNA molekülüyle etkileşebilen küçük moleküller; elektrostatik etkileşimlerle negatif yüklü fosfat gruplardan, hidrojen bağları ile küçük veya büyük oluklardaki hidrojen kabul edici/verici bölgelerden, van-der Waals etkileşimler ile fosfat grubunun oksijen atomu üzerinden veya aromatik hidrofobik yüzeylerden DNA molekülüne bağlanabilir. Öte yandan çift sarmal DNA farklı konformasyonlarda bulunabildiği için küçük ve büyük oluklardaki genişlik, derinlik farklı olabilir (Şekil 2.6.). Baz dizilimleri tarafından kontrol edildiği düşünülen hidrasyon (su katılma) DNA-ilaç kompleksinde de olduğu gibi DNA molekülünün kararlılığı için çok önemlidir (Aleksić and Kapetanovic, 2014).



Şekil 2.6. Çift Sarmal DNA'nın Konformerleri

Kromozom adı verilen yapıların içinde DNA bulunur. Kromozomlar, hücre bölünmesinden önce çiftlenir ve bu sırada DNA kendini kopyalar. Bu bazların DNA'nın omurgası boyunca dizilişi genetik bilgiyi kodlar (Çimen, 2010). Bu bilgi, protein sentezi sırasında genetik kod üzerinden okunduğunda proteinlerin amino asit dizisini belirler.

### 2.2.2. Ribonükleik asit (RNA)

RNA (Ribonükleik Asit), DNA'dan farklı olarak tek sarmallı bir polimer molekülüdür. Bu nedenle genellikle kendi üzerinde kavisli bir yapıya sahiptir. DNA gibi, yukarıda belirtilen nükleobazlardan oluşur, ancak bir RNA zinciri T'ye sahip olamaz, bunun yerine Urasil (U) adı verilen bir nükleobaza sahiptir. Urasil nükleobaz aşağıdaki şekilde gösterilmektedir. RNA ve DNA arasındaki diğer bir fark, nükleobazların eklendiği şekerlerdir. RNA, ikinci konumunda hidroksil grubu içeren beşgen bir riboz şekere sahipken, 5 DNA'daki şeker bu hidroksil grubuna sahip değildir.

Şekil 2.3.'de riboz ve deoksiriboz şekerlerinin karşılaştırılması, DNA ve RNA'yı oluşturan alt birimler sunulmuştur. Bazı virüslerin genetik kodlamasında, organizmaların proteinlerinin sentezini sağlayan genetik bilginin aktarılmasında ve

biyolojik reaksiyonların katalize edilmesinde RNA'nın önemli bir role vardır. Bu tür farklı işlevler nedeniyle, RNA molekülünün birçok formu vardır. Bunlar haberci RNA (mRNA), transfer RNA, ribozomal RNA, küçük nükleer RNA ve kodlamayan RNA olarak gruplandırılır (Shaw and Dev, 2008).

### **2.3. MicroRNA**

MiRNA'lar 1990'lı yıllarda keşfedilmiş olsa da, 2000'li yıllardan sonra, hücre moleküler biyolojisi ve kanser ile ilgili araştırmalarda miRNA moleküllerinin öneminden bahsedilmeye başlanmıştır. MiRNA'ların keşfine kadar geçen süreç içerisinde, genomda bulunan kodlamayan bölgelerin fonksiyonu bilinmemektedir. Bu yüzden çoğu bilim insanının kabul ettiği tabirle, kodlama yapmayan gen bölgeleri "çöp" DNA olarak adlandırılmaktaydı. Günümüzde ise, bu bölgelerin büyük çoğunluğunun miRNA'ları kodladığı açık ve net olarak kanıtlanmıştır. MiRNA'lar, 17-25 nükleotid büyüklüğünde, mRNA kodlamayan, çoğunlukla gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde görev alan ve tüm ökaryotik hücrelerde bulunan moleküllerdir (Park et al., 2011). MiRNA'ların hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması, strese karşı cevap, apoptozis, immünite ve transkripsiyonel düzenleme gibi hemen hemen tüm hücre fonksiyonlarında rol aldıkları ve bu yolların durdurulması ya da bozulmasının da kanser oluşumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Lu et al., 2005). Böylece, miRNA'ların tümör gelişiminde hem onkogen hem de tümör baskılayıcı fonksiyon gösterdikleri ortaya çıkmaktadır. Darwinist model ile uyum gösteren miRNA'ların canlı yaşamında üstlenmiş oldukları düzenleyici görev; onların evrimsel süreçte türler arasında yapı ve fonksiyonel değişiklik olmaksızın korunmasına neden olmuştur.

#### **2.3.1. miRNA'ların Kanser ile İlişkisi**

MiRNA'lar işlevsel olarak hedef genlerin mRNA'larının 3'UTR bölgesine bağlanarak mRNA degradasyonu ya da translasyonel inhibisyon yoluyla gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlamaktadır. MiRNA'ların mRNA'lara bağlanma özelliklerine dayanarak yapılan hesaplamalar, her bir miRNA'nın yaklaşık 100 farklı mRNA'yı hedefleyebildiğini teorik olarak ortaya koymaktadır.

Birçok kanser türünde etkili olan onkogen ve tümör supresör genlerin, 3'UTR bölgelerine bağlanan miRNA'ların sayısı ve çeşidinin bu bölgede belirlenen varyasyonlar sonucunda değiştiği gözlenmektedir. Bu şekilde spesifik 3'UTR genotipi içeren kanser hastalarında 3'UTR'ye bağlanan miRNA'ların sayısının ve çeşidinin değişmesi, etkili genin mRNA'sını destabilize ederek kanser gelişiminin tetiklendiği düşünülmektedir (White et al., 2011).

İnsanlarda mRNA'nın fonksiyonu, miRNA tarafından translasyonun başlangıcının baskılanması, translasyonun uzama fazının baskılanması ve poli(A) kuyruğunun kısalması gibi basamaklarda düzenlenmektedir. Protein kodlayan genleri etkileyen amplifikasyon, translokasyon, delesyon, nokta mutasyonlar ve epigenetik mekanizmalar kanserli hücrelerde miRNA'nın da fonksiyonunu etkilemektedir. İnsan miRNA'larının yaklaşık %50'si, DNA üzerinde kanserle ilişkili genomik bölgelerden ve kromozomlarda boşluklar, kırıklar oluşması ve kromozomların yeniden düzenlenmesi sonucu meydana gelen hassas ve kırılabilir bölgeler olarak tanımlanan, kromozomlar üzerinde lokalize olmuş frajil bölgelerden kodlanmaktadır. Bu durum, miRNA'ların bugüne kadar açıklanamayan biyolojik olaylarda yer alan hedef moleküller olabileceğini düşündürmektedir (Juan et al., 2010).

Günümüze kadar farklı kanser tiplerinde miRNA ekspresyon düzeyindeki değişiklikleri tanımlayan birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Genom genelinde yapılan çalışmalar miRNA'ların tümörigenez süresince olan rollerini destekler nitelikte olup, bu moleküllerin kanserle ilişkili genomik bölgelerde lokalize olduğunu ve değişen derecedeki ekspresyonlarının onkogen ve tümör supressör gen fonksiyonu ile ilgili olduğunu göstermektedir. Kanserleşme sürecinde bazı miRNA'ların hücre proliferasyonunu artırırken, diğerlerinin azalttığı bildirilmektedir. MiRNA'ların bu iki sınıfı kanser gelişiminde onkogenler ve tümör supressör genler gibi merkezi bir rol oynamaktadır. MiRNA'ların büyük çoğunluğunun kanserli hücrelerde düşük seviyede eksprese olduğu ifade edilmektedir. Normal dokularda, bu miRNA'ların bazılarının proto-onkogenlerin inhibe ettiği (mRNA'ların 3' ucunu hedef alarak) bildirilmiştir. Bu nedenle bu miRNA'lara "tümör supressör miRNA'lar (TS-miR) denmektedir (Lee et al., 2003). Çünkü bunların normal fonksiyonları, onkogenlerin ekspresyonlarını

kontrol altında tutmaktır. Bazı miRNA'ların ise kanserli hücrelerde yüksek seviyelerde eksprese oldukları belirlenmiştir. Bu miRNA'lar ise oncomiR'ler (onco-miR) olarak tanımlanmaktadır. MiRNA'ların birden fazla potansiyel hedefleri olduğu için, hücresel durumuna göre bir miRNA, TS-miR ya da onco-miR özelliği gösterebilmektedir.

Literatürdeki son bulgular bazı miRNA'ların ekspresyonundaki değişimlerin bazı kanser tipleri ile ilişkili olabileceği tespit edilmiştir. Let-7, miR-15a/miR-16-1 kümesi ve bunun komşuluğunda bulunan miR-143/miR145'in ekspresyonunun pek çok kanser türünde azaldığı, bu miRNA'ların potansiyel tümör supresör olarak görev görebileceği öne sürülmüştür (Michael et al., 2003; Calin et al., 2002; Takamizawa et al., 2004; Bottoni et al., 2005). Bunun tam tersi miR-17-92 kümesi ve miR-155/BIC kümesi için geçerlidir. Bu miRNA'ların aşırı ekspresyonunun onkojenik potansiyel taşıdığı tespit edilmiştir (Kluiver et al., 2005; Kluiver et al., 2006). Tüm bunlara ek olarak bazı miRNA'ların genlerinde olabilecek delesyon, amplifikasyon ve mutasyon gibi durumlar, ekspresyon düzeylerini etkileyebilir.

### **2.3.2. miRNA-155**

Keşfedilen ilk onkojenik miRNA'lardan biri, proteini kodlamayan bir gen olan BIC (B hücre Entegrasyon Kümesi) ile birlikte ifade edilen miR-155'tir. Son zamanlardaki çalışmalarda, miR-155'in B hücreli lenf kanseri (Eis et al., 2005), meme (Iorio et al., 2005), pankreas (Gironella et al., 2007), akciğer (Lin et al., 2010) ve Hodgink's lenfoma (Kluiver et al., 2005) gibi kanserlerde yüksek ekspresyon sergilediği gösterilmiştir. miR-155'in, kanser ile ilişkili olan bir microRNA (oncomir) olduğu saptanmıştır.

miRNA-155, insanlarda primer akciğer fibroblastlarında, anjiyotensin II tip 1 reseptörü (AGTR1) eksprese eden mRNA'ya bağlandığı ve bu proteinin ekspresyonunu azalttığı tespit edilmiştir. TGF- $\beta$ 1 tedavisinin miRNA-155 ekspresyonunu azaltarak AGTR1 ekspresyonunu arttırdığı ve büyümeyi durdurduğu gösterilmiştir (Martin et al., 2006).

Meme kanserinde miR-155'in ekspresyonunun önemli ölçüde yükseldiği, bunun da iltihaplanma ve kanser arasında bir köprü görevi gördüğü saptanmıştır. Shuai ve arkadaşları çalışmalarında miR-155'in meme kanserinde gelişme gösterdiği ve miR-155'in meme kanseri tedavisinde potansiyel bir hedef olabileceğini ortaya koymaktadır (Jiang et al., 2010).

Sun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada anti-miR-155 özelliği gösteren bileşiklerden biri de Luteolindir. Luteolin (3',4',5,7-tetrahydroxyflavone) bitkilerde yaygın olarak bulunan (genellikle kekik, adaçayı kereviz, yeşilbiber, perilla (biftekotu) yaprağı ve papatya çayı (Lv et al., 2009) antioksidan, pro-oksidan, anti inflamatuvar, anti kanserojen, anti anjiyogenez ve anti metastaz aktivitelere sahip bir flavonoiddir.

Luteolin, kanser hücreleri için gerekli olan birkaç sinyali ve transkripsiyon yolunu etkisiz hale getirerek tümör gelişimini büyük ölçüde önler. Ayrıca Luteolin, hem MCF-7 hem de MDA-MB-231 hücrelerinde miR-155 seviyesini azaltır (Sun et al., 2015).

Bitkisel flavonoidlerden seçilen Luteolin'in miR-155 seviyesini düşürerek kanser hücresi olan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerini olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (Wang et al., 2018). Ancak, Luteolin ve miR-155 arasındaki etkileşimin mekanizması bilinmemektedir. Planlanan çalışmada miR-155 ile Luteolin etkileşimi sistematik olarak incelenerek Luteolin'in miR-155 sekansı ile etkileşimine ek olarak miR-155'in DNA sarmalından ayrılan tekli dizi (miR-155'in DNA'da karşılık gelen sekans) ve miR-155'in DNA sarmalından ayrılmadan önceki DNA'nın çiftli dizi (DNA sarmal yapısı) ile etkileşimi araştırılacaktır. Bu sayede Luteolinin, hangi dizi ile etkileşimin kuvvetli olduğu ve hangi bölgede nasıl bağlar oluşturduğu hakkında bilgi edinilecektir. Luteolin-nükleotid kompleksi ve sistematik olarak Luteolin-miR-155 kompleksleri arasındaki etkileşim, kuantum mekaniksel ve deneysel çalışmalarla (spektrum ve voltametri çalışmalarıyla) incelenerek, literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## 2.4. İlaç-DNA Etkileşim Türleri

Organik, inorganik doğal veya sentetik olarak sentezlenmiş ilaç moleküller DNA molekülü ile kompleks oluşturabilir. Genellikle ilaçların hedef molekülü olan çift zincirli DNA'ya kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanabilir.

DNA, klinik kullanımda olan ve ileri klinik çalışmalarda kullanılan birçok ilaç için farmakolojik hedeftir (Kennard, 1993). Çünkü hücrenin yönetim molekülü olan DNA, solunum, beslenme ve üreme gibi tüm yaşam aktivitelerini yönlendirir. Ayrıca DNA transkripsiyon (RNA sentezi) yoluyla hücre fonksiyonlarını düzenler ve hücre bölünmesinin hazırlıkları sırasında kendini kopyalar (replikasyon) (Brett et al., 1997). İlaç DNA ile etkileştiği zaman ya DNA'nın fonksiyonlarını yapay olarak değiştirir ya da inhibe eder. İlacın DNA'nın fonksiyonunu değiştirme ve inhibe etme işlemi bir hastalığın kontrolü ve tedavisi için çok önemlidir (Kennard, 1993). Geniş bir kullanım alanı olan antibiyotik ve antikanser ilaçlarının hücre içi hedefi DNA'dır (Hurley and Boyd, 1988). Son zamanlarda birçok kötü huylu tümöre karşı mevcut tedavilerin hem yetersizliğinden hem de yan etkilerinden dolayı ilaç ve DNA etkileşimini incelemek hastalığı tedavi etmek için önemlidir. Bu yüzden kimyasal biyoloji laboratuvarlarında, hem akademi ve hem de endüstri alanında canlı hücrede doğrudan DNA odaklı yapıyı tanımayı hedef alan yeni ilaçlar tasarlanmaktadır (Haq, 2002). Bu ilaçlar, ileride gen aktivitesinin spesifik modülatörleri olarak davranacaklardır (Lander et al., 2001).

İlaç ve DNA etkileşiminin incelenmesi, hem etkileşim mekanizmasının anlaşılmasında hem de yeni DNA hedefli ilaçların tasarımında ve ilgili süreçlerin geliştirilmesinde yer alan en önemli faktörlerden biridir. (Hajian et al., 2009). Bu süreçlerin birisi de DNA biyosensörleridir. DNA biyosensörleri, DNA ile analizi yapılacak maddenin etkileşime girmesi sonucu onu algılayacak biyolojik gereç olarak kullanılan sensörlerdir (Wang, 1998; Wang, 2002). Bu biyosensörler, bazı DNA hedefli ilaçların veya maddelerin DNA üzerindeki etkilerini belirlemek için kullanılır (Wang, 1998). Bu süreçte DNA-ilaç etkileşim mekanizması etkileşimden önce ve sonra ölçülen sinyaller arasındaki farktan yararlanılarak açıklanabilir (Erdem ve Ozsoy, 2001). Ayrıca analiz edilen ilaçların miktarlarının belirlenmesi

yeni DNA hedefli ilaçların nasıl olacağı konusunda bir ön bilgi vermektedir (Rauf vd., 2005).

Bir ilacın DNA ile etkileşmesi üç farklı şekilde olmaktadır (Graves and Velea, 2000; Blackburn and Gait, 1990).

1) Transkripsiyon faktörleri ve polimeraz kontrolü vasıtasıyla DNA'ya bağlanan proteinlerle ilaçlar etkileşirler.

2) Nükleik asit üçlü sarmal yapısını oluşturmak için DNA'nın çift sarmalını RNA'ya bağlanması veya DNA-RNA hibritlerini oluşturan DNA tek sarmal bölgelerini açıkta bırakan RNA hibritleşmesi transkripsiyonel aktiviteyi engeller.

3) Küçük aromatik ligant molekülleri DNA çift sarmal yapılarına bağlanırlar. Bu bağlanma üç şekilde olmaktadır:

a) Nükleik asit yapısındaki negatif yüklü şeker-fosfat gruplarına elektrostatik bağlanarak DNA ile etkileşebilir.

b) DNA çift sarmal yapısının iki oluşuna bağlanarak DNA ile etkileşebilir.

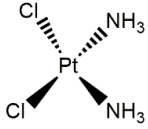
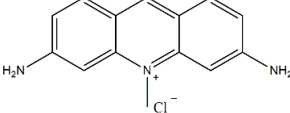
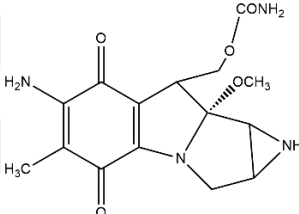
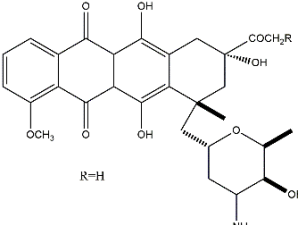
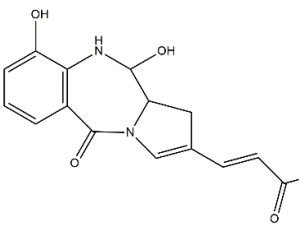
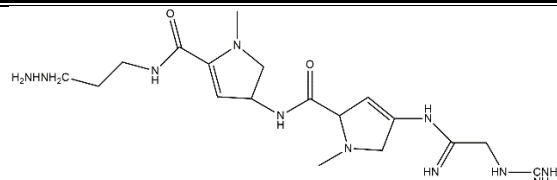
c) DNA'nın baz çiftleri arasına interkalasyon yaparak DNA ile etkileşebilir.

#### **2.4.1. DNA'ya Kovalent Bağlanma**

Bileşiklerin kovalent bağla DNA'ya bağlanması tersinmezdir ve DNA fonksiyonunun tamamen işlevinin yerine getirememesine sebep olur ve sonrasında hücre ölümü gerçekleşir. Bu kovalent bağlayıcıların en önemli yönü iyi derecede bağlanma kabiliyetine sahip olmalarıdır. Dahası, kovalent bağlı büyük gruplar, protein-DNA kompleksinin ve çoğu DNA omurgasında bozulmalara neden olduğu için hücrede transkripsiyona ve replikasyona etki eder (Liu and Sadler, 2011). DNA'ya 3 tür kovalent bağlanma vardır;

İp içinde veya teller arasında teller arası ve tel içi çapraz bağlama da, sentezlenmiş modifiye formlarla Pürin ve pirimidin bazlarının değiştirilmesi, iplikçik içinde veya iplikçikler arasında çapraz bağlanma (inter and intra-strand cross linking), Pürin ve pirimidin bazlarının alkilasyonu belirtilebilir.

DNA ile kovalent olmayan bağlanma ve kovalent bağlanma yapan bazı ilaçlar molekülleri Şekil 2.7.'de gösterilmektedir.

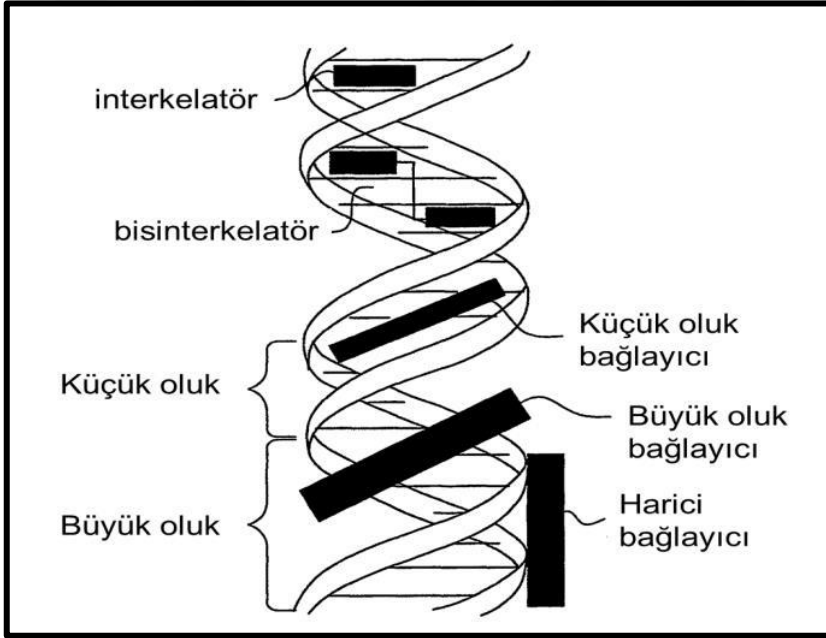
DNA'ya kovalent bağlanan	DNA'ya kovalent bağlanmayan
 <p>Sisplatin</p>	 <p>Akriflavin</p>
 <p>Mitomisin</p>	 <p>Daunorubisin</p>
<b>Küçük oluk bağlayıcılar</b>	
 <p>Antramisin</p>	 <p>Netropsin</p>

Şekil 2.7. DNA ile Kovalent/ Kovalent Olmayan Bağlarla Bağlanan İlaçlar

#### 2.4.2. Kovalent Olmayan Bağlanma

Kovalent olmayan bağlanmada ilaçlar DNA'ya tersinir bağlanırlar, ilaç etki mekanizması ve zehir etkisi göz önüne alındığında kovalent bağlanan ilaçlara göre kullanımı daha fazla yeğlenir. Öte yandan kovalent olmayan DNA etkileşim

ajanları, DNA ile etkileştiğinde DNA'nın konformasyon değişikliği, DNA'daki torsiyonel açı gerginliği, protein-DNA etkileşimini etkilemesi ile DNA iplikçiklerinin kırılmasını sağlar. Moleküler tanımlama, DNA kimyasının en önemli temelidir ve bu süreçte, DNA molekülü ile etkileşime giren küçük veya büyük moleküllerin seçimli olarak DNA'ya bağlanması önem taşımaktadır. Bu bağlanma farklı şekillerde meydana gelebilir. Bunlar, hidrojen bağları, van der Waals etkileşimleri ve dipol-dipol etkileşimleri olarak ifade edilebilir. Meydana gelen DNA-ilaç yapısını stabilitesi, yukarıda bahsedilen etkileşimlerin çokluğuna bağlıdır. Kovalent bağlanma olmadan DNA ile etkileşime giren ilaçlar şu şekilde sınıflandırılabilir ve Şekil 2.8.'de gösterilmektedir. Bunlar interkelatörler, Küçük ve büyük oluk bağlayıcılar, harici bağlayıcılar olarak ifade edilir.



Şekil 2.8. Kovalent Olmayan Bileşiklerin Etkileşimleri

#### 2.4.2.1. İnterkelatörler

İnterkalasyon ilk defa 1961 yılında Leonard Lerman tarafından DNA ile akrininler arasındaki heterosiklik aromatik boyaların güçlü ilgisini açıklamak için önerilmiştir (Lerman, 1961). İnterkalasyon, düzlemsel yapıya sahip aromatik bazı bileşiklerin DNA'daki komşu baz çiftleri arasına yerleşmesi olayıdır. Düzlemsel heterosiklik bileşikler  $\pi$ -elektronlarını komşu DNA baz çiftleri arasına istifleyerek interkalatör olarak görev yapar. İnterkalatörler, DNA baz çiftleri arasındaki

hidrojen bağlarını bozmadan ve kovalent bağ oluşturmadan DNA omurgasına dik olarak yerleşmiş moleküllerdir. DNA-enterkelasyon kompleksinin stabilitesi devam ettiren etkileşimler van der Waals, hidrojen bağları, hidrofobik veya yük transfer kuvvetleridir (Martínez and García, 2005; Shui et al., 2000; Waring and Bailly, 1994; Rehn and Pindur, 1996; Baginski et al., 1997). DNA interkelatörleri, büyüyen kanser hücrelerinde DNA eşleşmesini önlemek için kemoterapötik terapide kullanılır. DNA-enterkelatör yapısı  $\pi$ - $\pi$  istiflenmiş etkileşiminden dolayı iyonik güç ile ilgili olan diğer bağlanma türlerinden (oyuk bağlanması ve elektrostatik etkileşimler) daha kararludur (Sirajuddin et al., 2013).

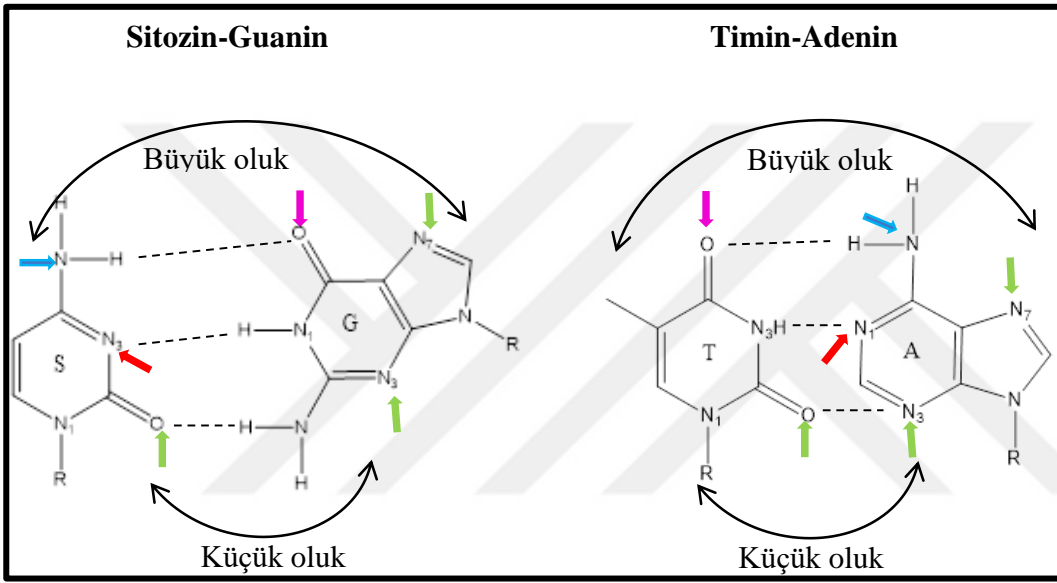
İnterkalatörler, DNA'nın yapısında güçlü değişimlere yol açarlar. Buna göre DNA çift sarmalı uzar, sertleşir veya açılır (Bauer and Vinograd, 1970). Ayrıca interkalatörlerin yapısına bağlı olarak DNA'ya tersinir ve tersinmez bir şekilde bağlanmaktadır. İnterkalatorlar, DNA zincirini kırarak Topoizomeraz (II) enzimini inhibe ederler (Wang et al., 1996).

İnterkalasyonla DNA'ya bağlanan ilaçlara örnek olarak; doksorubisin, daunorubisin, bleomisin ve daktinomisin verilebilir. Bu ilaçlar kanser tedavisinde antibiyotik olarak kullanılan maddelerdir. Ayrıca DNA'ya interkalasyonla bağlanan organik floresans özelliğe sahip interkalatorlar hem farklı spektroskopik teknikler kullanarak DNA'yı görüntülemekte hem de kanser tedavisinde sadece tümör hücrelerinin yanında toplanarak tümör hücrelerinin gelişmesini durdurmaktadırlar (Top vd., 2016).

#### **2.4.2.2. Oluk bağlayıcılar**

Küçük bazı moleküllerin DNA'nın küçük oyuklarına hidrojen bağları ve van der Waals etkileşimleriyle bağlanmasıdır. Proteinler ve oligonükleotitler gibi makromoleküller ise büyük oyuk etkileşimlerini tercih ederler. Küçük oyuga bağlanan ilaçlar pirol, furan ve benzen gibi burulma özelliğine sahip aromatik halkalar içerir. Bu ilaçlar eş sarmaldaki küçük oyukların kavislerinde olukların şeklini alacak biçimde (yarım ay) van der Waals etkileşimleriyle DNA'ya bağlanırlar. Ayrıca bu ilaçlar adeninin 3 nolu azot atomu ve timinin 2 nolu oksijen atomlarıyla hidrojen bağları yaparlar. Oluklara bağlanan moleküller, genellikle

adenin ve timin seçiciliği gösteren bileşiklerdir. Bu seçiciliğin sebebi etkileşimin olduğu bölgede adenin ve timin dizilerinin elektrostatik eğiliminin fazla olması, adenin-timin bölgelerinin guanin-sitozin bölgelerinden dar olması ve daha az sterik engel göstermesidir (Mei and Barton, 1986). Adenin-timin ve guanin-sitozin arasında büyük ve küçük oyuk bağlanma yerleri Şekil 2.9.'te görülmektedir. İmidazol-pirol poliamitleri ve leksitropsinler gibi guanin-sitozin seçiciliği gösteren küçük oyuk bağlayıcıları da vardır (Lown, 1994). Netropsin de oyuk bağlayıcı bir antibiyotik ilaçtır (Kopka et al., 1985).



Şekil 2.9. Sitozin-Guanin ve Adenin-Timin Arasında Küçük Ve Büyük Oyuğa Bağlanma Yerleri

### 2.4.2.3. Elektrostatik Dış Bağlanma

Molekül ve DNA arasındaki bağlanma elektrostatik karaktere de sahiptir. Bu bağlanma DNA çift sarmalının dış yüzeyinde meydana gelmektedir. DNA çift sarmalı, hem yapısını hem de fonksiyonlarını etkileyen negatif yüklü fosfat grupları ile ortamda bulunan pozitif yüklü iyonlar arasında elektrostatik etkileşim gösterirler. DNA ve molekül arasında gerçekleşen elektrostatik etkileşim spesifik değildir (Manning, 1978; Sterkowski and Wilson, 2007). Rutenyum(II)'nin bazı metal kompleksleri ve  $Mg^{+2}$  gibi kationlar DNA'ya bu şekilde bağlanmaktadır (Kelly et al., 1985).

## 2.5. İlaç ve DNA Arasındaki Etkileşimlerini İncelemek İçin Kullanılan Bazı Teknikler

Bir ilacın antitümör aktivitesi ve DNA ikincil yapısına etkisi, ancak çağdaş ve ölçülebilir biyofiziksel parametrelerin sitotoksite değerleri ile bağlantılı olduğunda anlamlıdır. Değişiklikleri ortaya koyan, yenilenmiş analitik teknikler ve uygulamaları bu anlamda etkileşimlerin belirlenmesi ve açıklanması adına da önemlidir.

### 2.5.1. DNA-İlaç Etkileşmelerinin Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi ile İncelenmesi

DNA'nın UV/Vis absorpsiyon spektrumunda 260 nm'de maksimumu olan geniş bir band (200-350 nm) vardır. Bu maksimum elektronik geçişlerden sorumlu pürin ve pirimidin halkalarından kaynaklanır. Ortam pH'ının ve iyon şiddeti değişikliğinin DNA'nın genelde molar absorptivite katsayısına ve absorpsiyon maksimumuna etkisi çok azdır. İnterelasyon ile DNA'ya bağlanma hipokromizm (absorbansın azalması) ile beraber maviye (hipsokromik) veya kırmızıya kayma (batokromik) şeklinde sonuçlanır. Aromatik kromoforlar ile baz çiftleri arasında etkileşim sonucu meydana gelen interelasyonun gücü hipokromik etki ile ilişkilidir (Nakamoto et al., 2008; Gürcan, 2014; Seferoğlu vd., 2016). Eğer bir bileşik ile DNA arasında elektronik etkileşim söz konusu ve bu etki UV/Vis bölge spektrumunda hiperkromik (absorbansın artması) etki şeklinde gözlemleniyorsa, bu durum etkileşim sonucunda DNA'nın yapısında konformasyonel veya yapısal değişiklikler olduğunu gösterir. Öte yandan bileşiklerin DNA'yı kararlı kılma etkisi artan sıcaklıkla 260 nm'deki absorpsiyon pikinin takip edilmesiyle öngörülebilir.

UV/Vis. bölge spektroskopisi ilaç-DNA etkileşimlerinde kullanılan en basit ve en yaygın yöntemlerden birisidir. İlaç-DNA etkileşim çalışması DNA'nın ya da ilaç molekülünün absorpsiyon özelliklerinin değişmesi ile uygulanır. Genellikle ilaç olarak kullanılan moleküller görünür bölgede açıkça ayırt edilebilen bir absorpsiyon bandı gösterir. İlaç-DNA etkileşimi DNA varlığında ilacın maksimum absorpsiyon bandının kayması ile kolayca incelenir. Bu kaymanın büyüklüğü ilaç

ve DNA arasındaki etkileşim gücünün bir belirtisi olarak yorumlanır (Sun et al., 2011a; Jaumot and Gargallo, 2012; Wei et al., 2010; Bhadra and Kumar, 2011).

DNA'nın UV/Vis bölge absorpsiyon spektrumu 200-350 nm arasında geniş bir bant verir ve 260 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir. Bu maksimum absorpsiyon DNA'nın adenin ve guanin bazlarının kromofor grupları ile sitozin ve timin bazlarının elektronik geçişlerinden kaynaklanır. Bu geçişlerin olasılığı yüksektir ve molar absorpsiyon katsayısı  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  civarındadır (Gonzalez-Ruiz et al., 2011). Bu teknik 260 nm'de absorpsiyonun ölçülmesiyle DNA'nın molar derişiminin belirlenmesine izin verir. 260 ve 280 nm'deki absorpsiyon oranları (A260/A280) ise DNA'nın saflığını belirler. Bu oranın 1,8-1,9 olması DNA'nın protein içermediğini göstermektedir (Benesi and Hildebrand, 1949). Literatürde saf DNA'ya ait A260/A280 oranının 1,8 ile 2 arasında olduğu rapor edilmiştir (Bravo-Anaya et al., 2016). Molar absorpsiyon gibi absorpsiyon maksimumdaki hafif değişimler çözeltinin iyonik şiddeti veya pH gibi etkenlerle meydana gelir.

İlaç-DNA etkileşimleri serbest ilaç ve ilaç-DNA kompleksinin UV/Vis bölge absorpsiyon spektrumlarının karşılaştırılmasıyla çalışılmaktadır. İnterkalasyonla DNA'ya bağlanan bu ilaçlar genellikle hipokromizm (absorpsiyon şiddetinde azalma) ve batokromizm (dalga boyunun artması veya kırmızıya kayma) göstermektedir (Liu et al., 2002). DNA baz çiftleri ile ilacın aromatik kromofor grupları arasında bir istiflenme etkileşimini içeren interkalatif bağlanmadan dolayı hipokromizm derecesi genellikle interkalatif etkileşimin gücüne bağlıdır. İnterkalasyonun gücü DNA ve interkale olan molekül arasındaki uzaklığa bağlıdır. DNA ile interkale olan molekül arasındaki uzaklık azaldığı zaman hipokromizm artar. Böylece DNA bazlarının  $\pi$  elektronları ile bileşimin  $\pi$  elektronlarının uygun şekilde örtüşüğünün bir göstergesi olarak,  $\pi$  ve  $\pi^*$  enerji seviyeleri arasındaki fark azalır ve bileşimin  $\pi$  bağı orbitalinden polinükleotidin  $\pi^*$  orbitaline elektron transferi daha kolay meydana gelir. Sonuç olarak dalga boylarında kırmızı veya maviye kayma görülür (Sirajuddin et al., 2012).

İlaç ve DNA arasındaki etkileşim elektrostatik bağlanma şeklinde olursa UV/Vis. bölge spektroskopisinde hiperkromizm (absorpsiyon şiddetinde artma) görülür. Bu hiperkromik etki ilaç-DNA kompleksi oluştuktan sonra DNA'nın

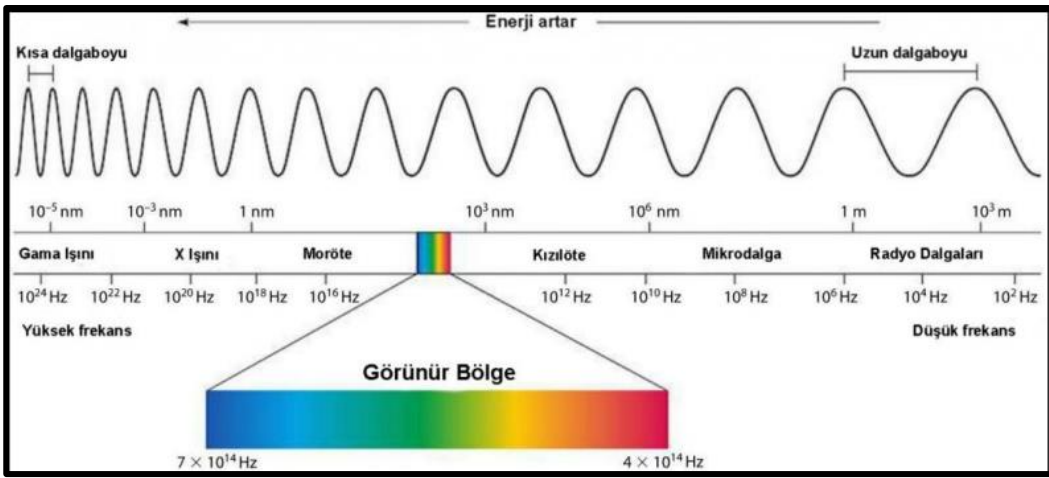
yapısında ve konformasyonundaki birtakım değişikliklerden meydana gelir. Ayrıca DNA'nın absorpsiyonu gözle görülür bir şekilde artmaktadır. DNA çift sarmalı birbirini tamamlayan baz çiftleri arasındaki istiflenmiş etkileşimlerle, hidrojen bağlarıyla ve hidrofobik etkileşimlerle bir arada durmaktadır. DNA çift sarmalı denatüre edici ajanlarla bir araya geldiğinde çift sarmal yapıyı bir arada tutan kuvvetler bozulur. Böylece DNA çift sarmalı birbirinden ayrılarak rastgele konformasyonel durum gösterir, baz çiftleri arasındaki etkileşim azalır ve DNA çözeltisinin absorpsiyonu artar. Çünkü bazlar serbest durumdadır ve eşleşmiş bazlar arasında hidrojen bağları oluşmamıştır. Sonuç olarak DNA'nın absorpsiyonu aynı derişimdeki çift sarmal absorpsiyonundan % 40 daha fazla olur (Sirajuddin et al., 2013). Ayrıca DNA'nın omurgasında bulunan fosfat grupları ile elektrostatik etkileşimlerle DNA'ya bağlanan pozitif yüklü katyonların varlığı hiperkromik etkiyi artırır ve DNA'nın yapısında hasar meydana getirir (Arjmand ve Jamsheera, 2011). İlaç ve DNA arasında zayıf bir etkileşim varsa dalga boyunda herhangi bir kayma olmaksızın hipokromik veya hiperkromik etki gözlenir (Gonzalez-Ruiz et al., 2011; Kumar et al., 2009a).

UV-Gör. bölge (Vis) spektroskopisinde, çoğunlukla hiperkromik etki elektrostatik etkileşim ve 15 nm'den daha büyük batokromik kayma interkalasyonu ile birlikte hipokromik etki gösterirken, 8 nm'den küçük batokromik kayma oluşa bağlanmayı gösterir (Arjmand and Jamsheera, 2011; Kalanur et al., 2009).

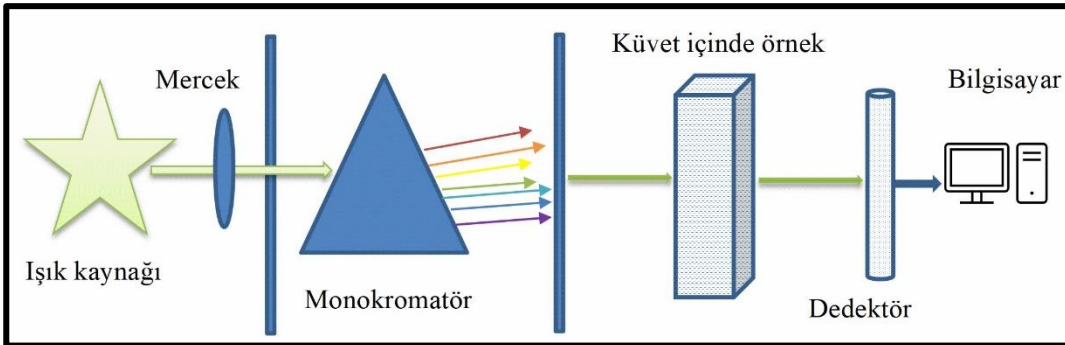
### 2.5.1.1. UV/Vis Spektroskopisi

Spektroskopi, en temel anlamıyla, ışık ve maddenin etkileşimi üzerine yapılan çalışmadır. Spektroskopik analiz yöntemleri; molekülerin veya atomların absorpladığı, yansıttığı ve saçtığı ışık miktarının ölçülmesi temeline dayanır (Skoog et al., 2004). Bir madde, özelliklerine bağlı olarak, üzerine düşen radyo dalgalarından UV ışınlarına kadar çeşitli dalga boylarındaki ışınların bir kısmını absorbe eder, diğerleri ise hiç etkileşmez. Maddenin bu özelliği kullanılarak yapısı ve konsantrasyonu belirlenebilir, yani kalitatif ve kantitatif analizler yapılabilir. Bu amaçla çok farklı dalga boylarına sahip ışınlar malzeme üzerine gönderilir ve özelliklerine göre bunlardan hangisinin madde tarafından absorbe edildiği cihaz tarafından belirlenir. Ancak tüm bu dalga boylarında radyasyon yayacak tek bir

cihaz yapmak ve aralarında hangisinin absorbe ettiğini belirlemek uygun olmadığından cihazlar belirli dalga boyları arasında çalışacak şekilde üretilmiştir. Örneğin; Binlerce metreye kadar dalga boyuna sahip cihazlara Nükleer Manyetik Rezonans, UV Görünür Bölge de çalışanlar 200-750 nm arasında ve Kızılötesi Spektrofotometreler 2500-25000 nm dalga boyundaki ışınlarla çalışan cihazlara denir. Bu cihazları kullanan analiz yöntemleri, sırasıyla NMR, UV Görünür Bölge ve IR Spektroskopisi olarak adlandırılır. Bütün elektromanyetik dalgaları barındıran ölçek olan elektromanyetik spektrum Şekil 2.10.'da gösterilirken, Şekil 2.11.'de UV/Vis spektrofotometresinin şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 2.10. Elektromanyetik Spektrum

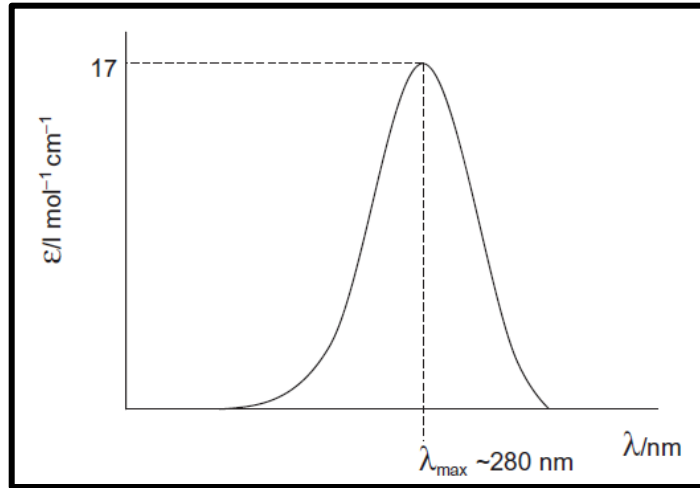


Şekil 2.11. UV/Vis Spektrometresinin Şematik Gösterimi

Işının dalga boyu, frekansı, dalga sayısı ve hızı gibi özellikleri vardır. Işık hem tanecik hem de dalga özelliği taşır ve bu parçacıkların her birine foton adı verilir. Başka bir deyişle, ışının hem dalga hem de parçacık özellikleri vardır ve tipi, foton başına frekans veya enerji ile belirlenir. Işığın yoğunluğu, ışık demetindeki

fotonların sayısı ile ilgilidir ve enerji birimleri ile ölçülür. Işık enerjisinin emilmesinde molekül, nicelleştirilmiş oranda enerji aldığı ve verdiği için belirli bir seviyedeki tek frekanslı bir ışını emer. Maddenin tüm molekülleri için bu özellik geçerlidir ve bu nedenle spektrumda absorpsiyon çizgileri belirir. Ancak belirli bir elektronik seviyedeki her molekül aynı zamanda farklı titreşim ve dönme seviyelerine sahip olduğundan, spektrumda absorpsiyon bantları olarak çıkar.

10-200 nm arası ışınlar havadaki oksijen tarafından emilir. Bu bölge, özel mekanizmalar yardımıyla havasız ortamda (vakum) çalıştırıldığı için Vakum UV (Far UV) olarak adlandırılır. 200-400 nm'deki ışınların kullanıldığı bölgeye ultraviyole bölgesi denir. Görünür bölge sınırları 400-780 nm'dir. Cihazlarda farklı dalga boylarında ışınlar elde etmek için UV ve görünür alanlar için farklı tipte ışık kaynakları kullanılmaktadır. Gelişmiş spektrofotometreler, frekansı yumuşak ve otomatik olarak değiştiren her iki tür ışın kaynağına sahiptir. Sonuç olarak, gönderilen ışınlar arasından emilen ışın veya ışınlar, dedektör aracılığıyla cihaz tarafından hassas bir şekilde algılanır ve bir absorbans bandı olarak spektruma aktarılır. UV absorpsiyon spektrumu, dalga boyu veya ışığın frekansıyla absorpsiyon şiddetinin grafiğidir (Şekil 2.12.).



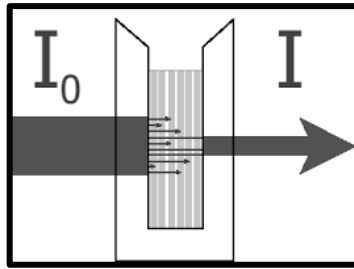
Şekil 2.12. Absorpsiyon Spektrumu

Işının dalga yapısında arka arkaya gelen iki tepe noktası arasındaki mesafeye, ışınımın dalga boyu denir. Dalga boyu, metre, cm, mm, mikron ( $\mu$ ) olabileceği gibi daha çok nanometre (nm), angstrom ( $\text{\AA}$ ) gibi birimlerle gösterilir. Bu birimler arasında:  $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 10 \text{ \AA}$  şeklinde ilişki vardır. Birim zamanda yani saniyedeki

titreşim sayısı frekans ( $\nu$ ) olarak ifade edilir ve hertz olarak da gösterilir. Birimi saniye (s) olan ve ard arda iki dalga tepesinin belli bir noktadan geçmesi için gereken süreye Periyot denir. Işının birim zamanda aldığı yol hız olarak ifade edilir ve ( $c = 3.10^{10}$  cm/s) ile gösterilir. Vakumdan başka bir ortama geçerken ışığın hızı azalır,  $c \cdot 1/\lambda$  olarak ifade edilen, örneğin 1 cm'deki (birim uzaklıktaki) dalga sayısına dalga sayısı denir.

Enerji  $E = h\nu = hc/\lambda$  denkleminde hesaplanır, burada  $h$ , Planck sabiti=  $6.62 \times 10^{-27}$  erg.s). Absorban materyalin analizinde absorbe edilen ışınların spektrofotometre ile tespit edilerek değerlendirilmesiyle elde edilen spektrum, analizin sonuçlanmasını sağlar. Atom veya moleküllerin uyarılması, madde ile ışının etkileşmesi sonucu elektronların yüksek enerjili hale gelmesi demektir.

Atom veya moleküller, uyarılmış halde  $10^{-8}$  saniye kalır ve temel enerji düzeyine geri dönerek, sahip oldukları enerjini ışımali ve ışımali olarak geri verebilirler. Enerjinin ışık olarak yavaş geri dönüşüne fosforesans, enerjinin daha kısa sürede (anında) salınmasına floresans denir. Sonuç olarak, maddeye belli bir yönde gelen  $I_0$  gücüne sahip bir ışığın gücü, maddeyi aynı yönde bırakıp  $I$  haline geldikçe azalır ve  $I$  olur. Işığın bir bölümü çözelti tarafından emilir, bir bölümü ise dağınık ve bir kısmı yansıtılır (Şekil 2.13.).



Şekil 2.13. Işığın Geçişi,  $I_0$ : Gelen Işık ve  $I$ : Geçen Işık

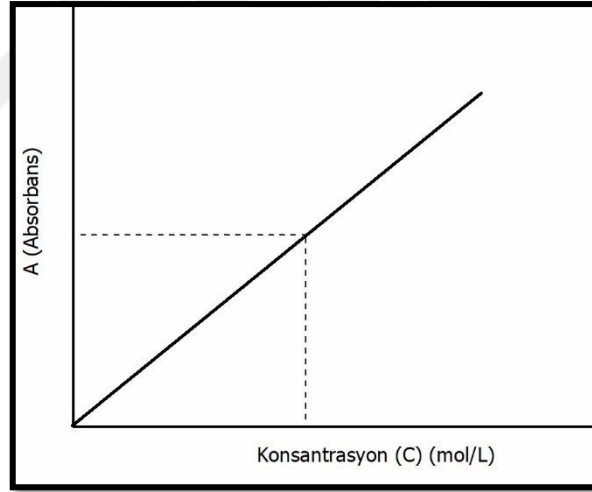
Lambert-Beer Yasası ile gelen ışık ( $I_0$ ) ve geçen ışık ( $I$ ) miktarları arasındaki bağıntı gösterilir ve bu yasa UV/Vis spektroskopisinde kantitatif analizde kullanılır. Bu kanuna göre; Şeffaf bir çözeltiye gönderilen ışının yoğunluğundaki azalma, ışının yoğunluğu ile doğrudan orantılı olduğu gibi, içinden geçtiği çözelti içindeki moleküllerin konsantrasyonu ve gönderilen ışının geçtiği yolun mesafesi ile de ilgilidir ve doğru orantılıdır. Bu nedenle, iletilen ışığın yoğunluğu ve kat ettiği

mesafe açısından çalışma koşulları sabit tutulursa, sonuç doğrudan çözeltideki atomların ve moleküllerin konsantrasyonu ile ilgili olur ve bu, UV/Vis. spektroskopisinde kantitatif analiz için kullanılır. Lambert-Beer yasası Eşitlik 2.1'de gösterilir:

$$A = \epsilon C l = \log I_0/I \quad (2.1)$$

Burada  $l$ , ışık yolunu,  $C$  derişimi ve  $\epsilon$  = molar absorpsiyon katsayısını gösterir. Transmittans,  $T$ ,  $I/I_0$  değeribe eşit olup,  $A$ , Absorpsiyon değerinin tersidir.

Lambert-Beer Yasası ile Soğurmanın; Konsantrasyon, hücre kalınlığı ve ışık yoğunluğundan bağımsız olarak sabit olduğu belirtilmektedir. Absorbans ( $A$ ), konsantrasyon ( $C$ ) 'ye göre çizilirse, Lambert-Beer yasasına göre sıfır noktasından geçen bir düzgün çizgi elde edilir (Şekil 2.14.).



Şekil 2.14. Kalibrasyon Eğrisi

Bazen Lambert-Beer yasasından sapmalar görülebilir. Bunlar genellikle çözücü, polimerizasyon ve cihaz ile kimyasal numune etkileşiminden kaynaklanan sapmalar şeklindedir. Belirli bir bileşik için konsantrasyona karşı absorbans ( $AC$ ) grafiğinde elde edilen bu çizgi kalibrasyon eğrisi olarak adlandırılır ve bir bileşiğin bilinmeyen derişiminin absorbansı ile eğriden miktar tayininde kullanılır. Bu tip çalışmalarda gerekli olmadıkça 0.2-0.9 absorbans değerlerinin aşılması

gerekmektedir. Çözeltinin derişiminin  $10^{-3}$  ile  $10^{-5}$  arasında olduğunda en iyi sonuçlar elde edilebilir.

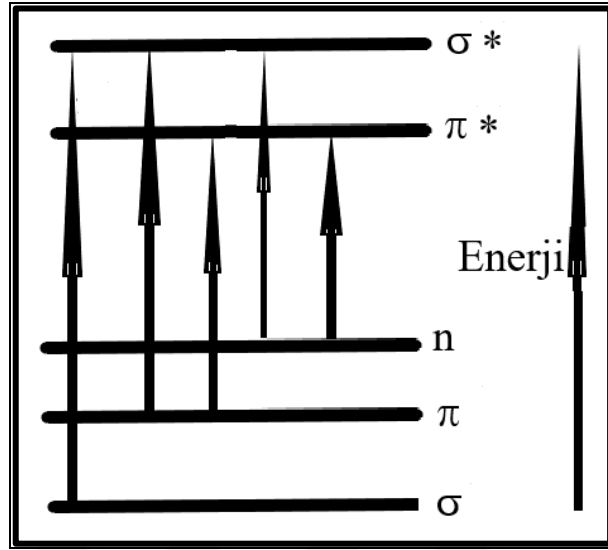
Konuyla ilgili diğer bazı teorilerin yanı sıra, spektrumların absorpsiyonunu ve oluşumunu açıklamada kullanılan ana teori, Moleküler Orbital Teorisidir. Teorinin temeli, analiz edilen moleküllerde absorpsiyondan sorumlu moleküler bağ orbitallerinin, anti-bağ orbitallerinin ve elektronların varlığına dayanmaktadır.

İki atom arasında elektronların bağlanmasıyla işgal edilen (bağ elektronları) lokalize olmayan elektron bulutu veya örtüşen atomik orbitallere moleküler orbitaller denir. İki atom orbitalinin birbiri üstüne binmesiyle moleküler bağ orbitali meydana gelir ve bunun enerjisi, atomların orbitallerinin enerji değerinden küçük ise moleküler bağ orbitali olarak adlandırılır. Elektronların tek bağ oluşturduğu orbitale sigma orbitali ( $\sigma$ ) ve çift bağ yaptığı orbitale  $\pi$  molekül orbitali adı verilir. İki atomik orbitalin üst üste binmesi (iç içe geçmesi) ile oluşan ve bu atomların yörüngelerinin enerji seviyelerinin toplamından daha yüksek bir enerji seviyesinde meydana gelen yörünge anti-bağ orbitali olarak adlandırılır ve  $\sigma^*$  ve  $\pi^*$  şeklinde ifade edilir. Organik moleküllerde absorpsiyondan sorumlu olan elektronlar şu şekilde gösterilir:

Atomları molekül içinde birbirine bağlayan elektronlar:  $\sigma$  elektronları olarak tek bağ,  $\pi$  elektronları şeklinde çift bağ ve n moleküldeki heteroatomlarda paylaşılmayan elektronlar (O, S, N ve X gibi) olarak ifade edilir. Bunların anti-bağ yapıları  $\sigma^*$  ve  $\pi^*$  enerjili iken geçilir ve n elektronlarından da bu seviyelere geçilebilir.

Molekül enerji aldığıında, bir elektronun bağ orbitalinden daha yüksek enerjili bir orbitale sıçraması sonucu absorpsiyon spektrumunda pikler meydana gelir. Örneğin, basit bir fonksiyonlu grup, örneğin  $-C=C-$  çifte bağı, genellikle benzer bölgede ışığı absorbe eder. Bu gruplara kromofor adı verilir. Ortaklanmamış n (bağ yapmayan) elektronların enerji düzeyleri, bağ yapan elektronların (moleküler bağ  $\sigma$  ve  $\pi$  orbitalleri) enerji düzeyleri ile anti bağ elektronların ( $\sigma^*$  ve  $\pi^*$ ) enerji düzeyleri arasındadır. Şekil 2.15.'ten görülebileceği gibi, sigma ( $\sigma$ ) ve pi ( $\pi$ )

orbitalindeki bir elektron ışın enerjisi absorpladığında, yalnızca üst enerji seviyesine, anti-bağ moleküler orbitallere ( $\sigma\text{-}\sigma^*$  ve  $\pi\text{-}\pi^*$ ) geçer.



Şekil 2.15. Moleküler Orbitallere Göre Geçiş Tipleri

Geçişlerin kendilerine has özellikleri şu şekilde açıklanabilir:

**$\sigma\text{-}\sigma^*$  Geçişleri:**  $\sigma\text{-}\sigma^*$  geçişleri en çok enerji gerektiren geçişlerdir. 125-150 nm civarındadır. C-H bağında bir elektronun uyarılıp  $\sigma^*$  düzeyine yükseltmek için 125 nm dalga boyunda bir ışına ihtiyaç vardır. C-C bağındaki bir elektronu  $\sigma^*$  seviyesine yükseltmek için ise 135 nm dalga boyunda bir ışın gerekir. Örneğin, metan ve etan spektrumları alındığında, metan 125 nm'de tek bir pik verir ve etan, 125-135 nm'de iki pik verir.

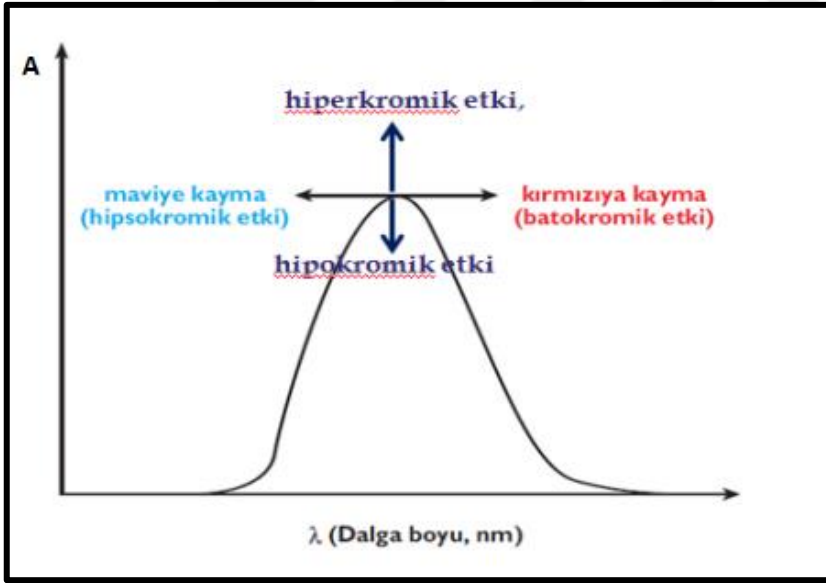
**$\pi\text{-}\pi^*$  Geçişleri:** 200-700 nm arasında en çok rastlanan geçişlerden biridir. Bu tür geçişler için uygun olan çift bağlı maddelerin spektrumları daha kolay alınır. Bu tür geçişlerin bir yönü, çözücünün polaritesi çözeltiliye bağlı olarak arttıkça soğurma tepe noktasının daha uzun bir dalga boyuna kaymasıdır. Çözücü nedeniyle meydana gelen bu kayma, batokromik kayma veya kırmızı kayma olarak adlandırılır.

**$n\text{-}\sigma^*$  Geçişleri:** Bu geçişler, üzerinde ortaklanmamış serbest elektron çifti bulunduran bileşiklerde 150-250 nm civarında görülür. Yüksek enerjili geçişlerdir. Solvent polarize hale geldikçe, maksimum absorbans daha düşük dalga boyuna

doğru gider. Bu kaymaya hipokromik kayma veya mavi kayma denir. Tespit etmesi çok zordur ve vakumda çalışmak gerekir.

**n- $\pi^*$  Geçişleri:** UV alanda yapılan çalışmalar da çoğunlukla elde edilen pikler n- $\pi^*$  geçişlerinden kaynaklanan 200-700 nm arasında olan geçişlerdir. Bunların tespit edilmesi çok kolaydır çünkü çoğunlukla görünür alanda görünürler. Bu geçişi oluşturan malzemelerde n elektronun yanı sıra elektronların da bulunması gerekir. Çözücünün artan polaritesiyle, absorpsiyon zirveleri kısa dalga boyuna doğru kayar (hipokromik kayma - mavi kayma). Bu bazen 30 nm'ye kadar sürebilir. Hipokromik kaymanın nedeni; Moleküle, paylaşılmamış elektron çiftleriyle hidrojen bağları veren DNA'daki organik bazlardır.

Absorpsiyon şiddetindeki artmaya hiperkromik etki, azalmaya ise hipokromik etki adı verilir. Bunlar Şekil 2.16. ile belirtilmiştir.



Şekil 2.16. Absorpsiyon Pikiindeki Olası Kaymalar

### 2.5.2. DNA-İlaç Etkileşmelerinin Floresans Spektroskopisi ile İncelenmesi

Küçük moleküller ile DNA arasındaki etkileşimlerin belirlenmesinde en çok kullanılan tekniklerden biri de floresans spektroskopisidir. Bu tekniğin diğerlerine göre avantajı, yüksek hassaslık, seçicilik ve geniş bir konsantrasyon aralığında çalışılabilir olmasıdır. En şiddetli ve kullanılır floresans en düşük enerji farkına sahip olan  $\pi$ - $\pi$  geçişlerinden sorumlu aromatik fonksiyonlu gruplardan kaynaklanır. Alisiklik ve alifatik karbonil grubu ihtiva eden veya çok sayıda konjuge bağlar içeren çift bağlar da floresanstırlar fakat elektronik geçişler aromatik yapılu bileşiklere oranla daha azdır (Lakowicz, 2006).

Floresans sönümlenme deneyleri ek olarak ilacın konumu ve DNA ile etkileşiminin türü ile ilgili bilgiler de verir (González-Ruiz et al., 2011). Floresans sönümlenme, bileşiğin floresans şiddetindeki azalma olup, uyarılmış hal reaksiyonları, moleküler düzenlenme, enerji transferi ve kompleks oluşumu şeklinde sönümlenen süreçlerin sonucu gözlemlenebilir. Floresansın sönümlenmesi Stern-Volmer eşitliği ile tanımlanır (Eşitlik 2.2)

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte;

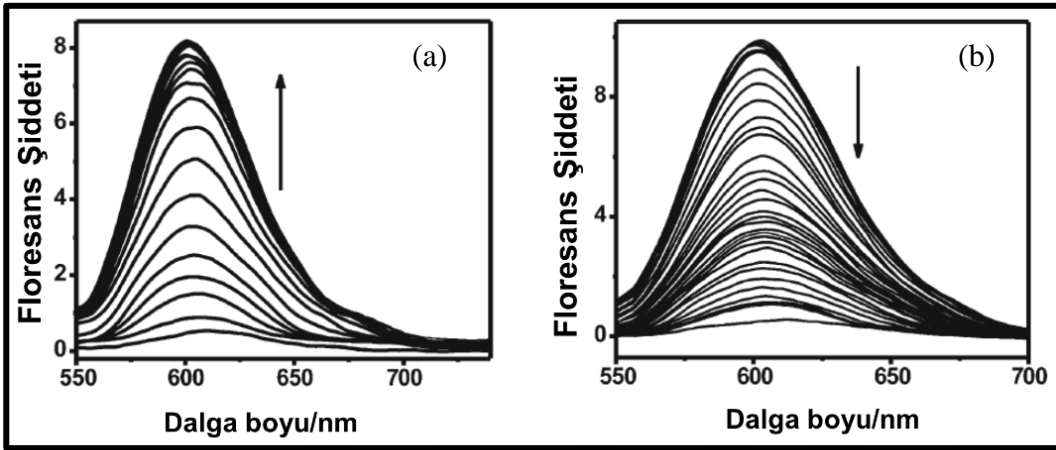
$I_0$  : sönümleyici olmadığı ortamda floresans şiddeti

$I$ : sönümleyici olduğu ortamda floresans şiddeti

$[Q]$ : sönümleyicinin konsantrasyonudur.

Floresans emisyonu şiddeti floroforun bulunduğu ortama çok hassastır. Bu yüzden floroforun yüksek polarlı ortamdaki düşük polarlı ortama aktarılması ilaçların absorpsiyon ve emisyon spektrumlarında genelde spektral kaymalara neden olur (10-20 nm) (Suh and Chairs, 1995). DNA ile etkileşimler sonucu floresans şiddetindeki belirgin artış çok farklı etkenlerin sebebi olabilir (Wu et al., 2009). Çift sarmaldaki bazların arasına girerek konumlanan interkalsiyon ilaçlarında, serbest moleküllerin dönmeleri sonucu uyarılmış halin ışınımsız

deaktivasyonu söz konusu olabilir. Ancak, ilaç DNA molekülüne bağlanırsa floresans sönümlenme yeğlenir ve DNA eklenmeden önceki spektrumu ile karşılaştırıldığında floresans emisyonunda belirgin bir artış gözlemlenir (Şekil 17. (a)). Oluk bağlayıcı bileşikler, elektrostatik, hidrojen bağı, moleküllerin şeker-fosfat bağına yakın olması durumunda artan oranda DNA eklenmesi, bileşiğin floresans şiddetinde azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 2.17. (b)) (Joshi et al., 2014; Mati et al., 2013; Cui et al., 2011).



Şekil 2.17. (a) Bir İnterkelatör Olan Etidinyum Bromür; (b) Küçük Oluk Bağlayıcı Olan Netropsin İlaçlarının Artan Konsantrasyonda DNA Varlığında Floresans Şiddetlerindeki Değişimi

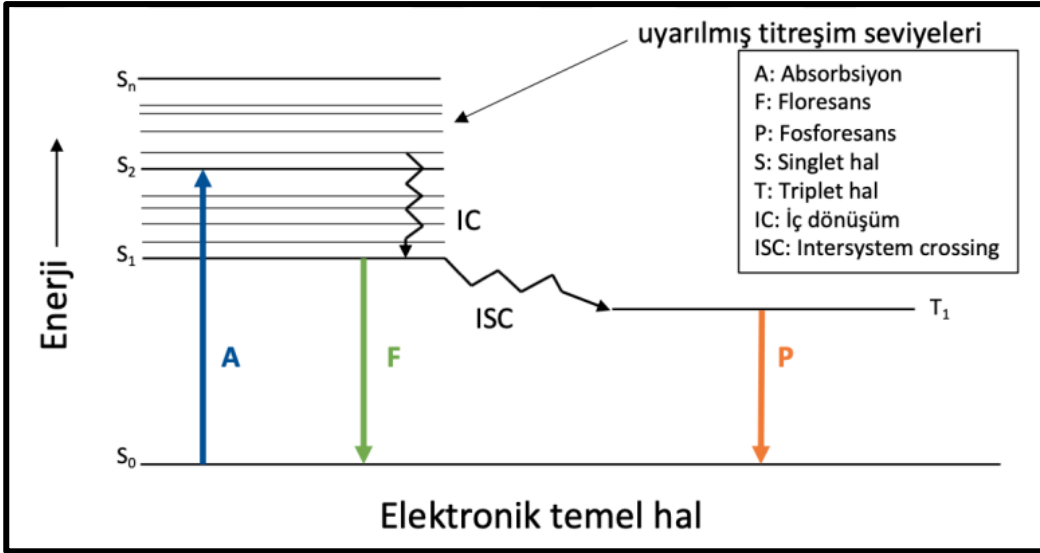
### 2.5.2.1. Floresans Spektroskopisi

Doğada iki ışımaya türünden biri olan lüminesans, kelime olarak Latince'den (lümen=ışık) gelen ve ilk olarak 1888 yılında diğer ışımaya türü olan akkorluğun aksine 'sadece sıcaklık artışı ile koşullandırılmayan tüm ışık olayları' şekliyle Alman fizikçi ve bilim tarihçisi Eilhardt Wiedemann tarafından tanımlanmıştır. Akkorluk, sıcak ışık iken; lüminesans genellikle soğuk ışık olarak kabul edilmektedir. Lüminesans daha net olarak şu şekilde tanımlanır: "Elektronik olarak uyarılmış bir türden veya çevresiyle termal dengede olmayan titreşimsel olarak uyarılmış bir türden spontane gelişen radyasyon emisyonu". Uyarma modlarına göre lüminesans; termolüminesans, fotolüminesans, radyolüminesans, biyolüminesans, kemilüminisans, elektrolüminesans gibi türlere ayrılmıştır. Fotolüminesans, lüminesansın özel bir durumudur (Valeur and Berberan-Santos,

2021). Fotolüminesans, bir molekülün ultraviyole, görünür veya yakın kızılötesi radyasyonun absorplanması yoluyla elektronik olarak uyarılmış bir duruma yükseltildiği bir tür optik spektroskopidir. Uyarılmış molekül, daha sonra temel düzeye veya daha düşük uyarılmış elektronik düzeye ışık yayarak döner. Yayılan ışık tespit edilir. Fotolüminesans, uyarılmış enerji seviyesinin durumlarına göre floresans ve fosforesans olarak iki gruba ayrılmaktadır:



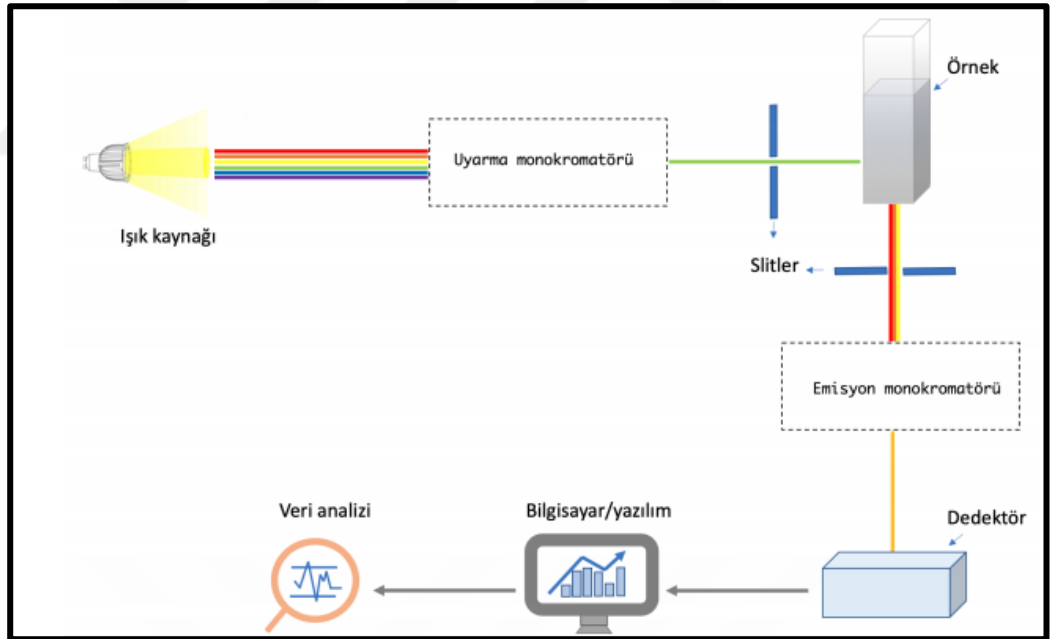
Bir atom veya molekülün temel enerji düzeyi ya da temel hali, yapıda bulunan elektronların en düşük enerjili orbitallerde yerleşmesi ile oluşmaktadır. Işık ile uyarılmış aromatik bir molekülün uyarılmış birinci singlet durumundan temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yaydığı ışığa floresans denir. Uyarılma ortadan kalktıktan sonra gerçekleşen floresans olayı yaklaşık  $10^{-5}$ - $10^{-8}$  sn sürmektedir. Uyarılmış molekülün triplet seviyesinden temel halde bulunan singlet sisteme geçişi esnasında yaptığı ışımaya ise fosforesans denir ve floresansa göre ışımaya süresi daha uzundur ( $>10^{-3}$ ). Bu süreler gösteriyor ki; floresans özellik gösteren birçok madde enerji kaynağı uzaklaştırıldıktan sonra ışımaya yapmazken, fosforesans özellik gösteren maddeler fosforesans ışımaya yapmaya devam edebilirler. İlk kez Alexander Jablonski tarafından önerdiği Enerji Seviyeleri Diyagramı ile floresans ve fosforesans mekanizması açıklanmaya çalışılmıştır (Şekil 2.18.).



Şekil 2.18. Enerji Seviyeleri Diyagramı

Şekil 2.18.'de tipik bir enerji seviyeleri diyagramı gösterilmiştir. Singlet temel hal, birinci ve ikinci uyarılmış haller sırasıyla  $S_0$ ,  $S_1$  ve  $S_2$  olarak gösterilir.  $T_1$  ise birinci uyarılmış triplet halidir. Floroforlar elektronik enerji seviyelerinin her birinde, bir dizi titreşim enerjisi seviyelerinde bulunabilirler. Seviyeler (states) arasındaki geçişler, ışık absorpsiyonun anlık durumunu göstermek için dikey çizgilerle ifade edilmiştir. Geçişler,  $10^{-15}$  gibi çok kısa sürede gerçekleşmektedir. Bu 'Franck-Condon' ilkesidir. Belirtilen ışık absorpsiyonu mekanizmasında birkaç işlem gerçekleşmektedir. Bir florofor genellikle daha yüksek titreşim seviyelerine  $S_1$  veya  $S_2$  düzeylerine uyarılır. Bazı istisnalar dışında yoğunlaşmış fazdaki moleküller hızlıca en düşük  $S_1$  titreşim seviyesine kadar gevşer. Bu işleme iç dönüşüm (internal conversion) denir ve genellikle  $10^{-12}$  sn veya daha kısa sürede gerçekleşir. Floresans ömrü tipik olarak  $10^{-8}$  sn'ye yakın olduğundan iç dönüşüm genellikle emisyon öncesinde tamamlanır. Bu nedenle floresans emisyonu genellikle termal olarak dengelenmiş bir uyarılmış durumdan yani  $S_1$ 'in en düşük enerji titreşim halinden kaynaklanır.  $S_1$  seviyesindeki moleküller ayrıca birinci triplet hali  $T_1$ 'e geçip oradan ışık yayabilirler.  $T_1$ 'den emisyon, fosforesans olarak adlandırılır ve genellikle floresansa göre daha uzun dalga boyuna (daha düşük enerji) sahiptir.  $S_1$ 'den  $T_1$ 'e dönüşüme, sistemler arası geçiş (intersystem crossing) denir (Settle, 1997). Tüm floresan enstrümanları ışık kaynağı, örnek tutucu ve detektör olmak üzere üç bileşenden oluşur. Analitik kullanımlarda ek olarak, gelen ışımının dalga boyunun seçilebilir ve detektör sinyalinin hassas bir şekilde aldığı

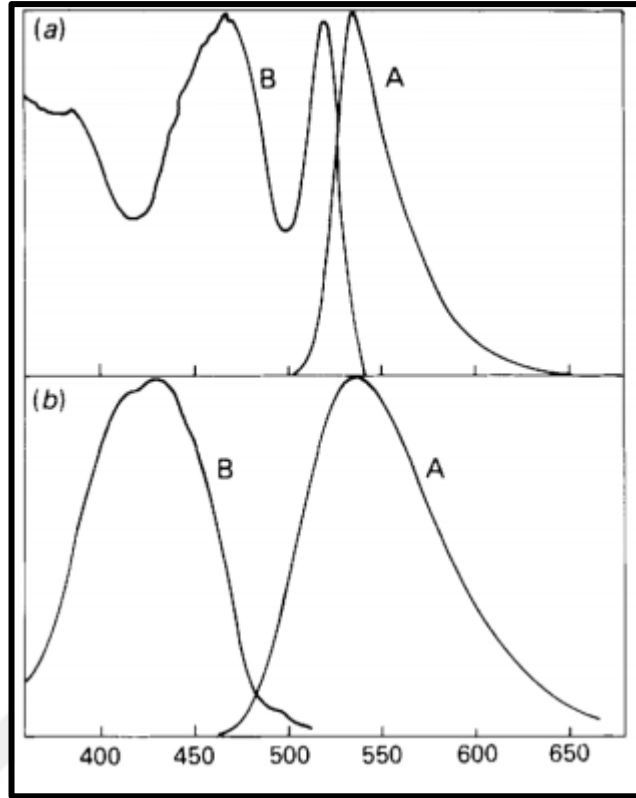
sinyalleri sunabilir nitelikte olması gerekmektedir. Floresans spektroskopisinde civa buharlı lamba, ksenon ark lambası veya tungstenhalojen lamba ışık kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ancak çıkışı sürekli olan ve en sık kullanılan lamba ksenon ark lambasıdır. Uyarma ve emisyon dalga boylarını izole etmek için en basit sistemlerde sabit filtreler kullanılmaktadır. Çoğu modern enstrümanlarda ise filtreler yerine uyarma ve emisyon dalga boylarını seçmek için monokromatörler bulunmaktadır. Bu amaçla en sık olarak kırınım ızgaralı monokromatörler (diffraction grating monochromators) kullanılır. Böyle floresans spektrometrelerinde uyarma ve emisyon dalga boyları eşzamanlı olarak kaydedilebilmektedir. Monokromatörlerin kullanıldığı sistemlerde, uyarma ve emisyon monokromatörlerine ait slit genişlikleri kullanıcının isteği doğrultusunda değiştirilebilmektedir. Detektör olarak fotoçoğaltıcı tüpler (photomultiplier tubes, PMT) bu tür ticari enstrümanlarda kullanılmaktadır. Genel bir floresans spektrometrenin yapısı Şekil 2.19.'da gösterilmiştir (Williams, 1981).



Şekil 2.19. Genel Floresans Spektrometresinin Yapısı

Floresans spektrometrede bir foton kaynağı olarak kullanılan uyarıcı kaynaktan çıkan ışık, belirli bir dalga boyunun seçilebildiği bir monokromatörden geçer. Slit genişlikleri değiştirilerek ışık yoğunluğunun ayarlanmasına izin verilir ve çözünürlüğü artırılmış monokromatik dalga boyu numunenin üzerine odaklanır. Gelen ışığın bir kısmı numune tarafından emilir ve numunedeki floresans özellikli

moleküller ışığa yaparak floresans ışık her yöne yayılır. Floresans sinyalinin kalitesini arttırmak için slit genişliği ayarlanır. Slit boşluğundan çıkan floresans ışığın bir kısmı monokromatörden geçer ve iletilen uyarıcı ışığın parazitini önlemek için genellikle ışık kaynağına 90 derecelik açıyla yerleştirilen detektöre ulaşır. Spektrum üreten detektöre bağlı bilgisayar yazılımı, örneğin hangi dalga boylarını absorpladığını gösteren grafiksel bir gösterim oluşturur ve gerekli kemometrik veri analizleri gerçekleştirilerek analiz tamamlanır. Çoğu floresans spektrometresinde iki monokromatör bulunması iki basit spektrum tipinin toplanmasına izin verir. Uyarma monokromatörünü sabit bir emisyon dalga boyunda taramak uyarma spektrumunu; emisyon monokromatörü sabit bir uyarma dalga boyunda taramak ise uyarma spektrumuna nazaran daha uzun dalga boylarında floresans veya emisyon spektrumunu verir. Elektronlar uyarılmış halden temel hale dönerken, ortamda bir titreşimsel enerji kaybı gözlenir. Bunun sonucu olarak, emisyon spektrumu uyarma spektrumuna kıyasla daha uzun bir dalga boyuna kayar. Bu durum, 'Stokes kanunu' ya da 'Stokes kayması' olarak bilinir. Stokes kayması ne kadar büyükse, uyarma ışımalarını emisyon ışımalarından ayırmak o kadar kolay olmaktadır. Benzer emisyon dalga boylarına sahip iki tür, farklı uyarma dalga boylarına sahip olabilirler (veya tam tersi). Bu duruma örnek olarak Lucifer Yellow VS ile floresein boylarının gösterildiği Şekil 2.20.'de verilebilir. Şekil 2.20. (b)'de Lucifer Yellow VS ait uyarma ve floresans spektrumu gösterilmektedir. Şekil 2.20. (a)'da ise floresansın önemli bir genel özelliği olan uyarma dalga boyuna bakılmaksızın aynı floresans emisyon spektrumunun gözlemlenebildiği görülmektedir. Molekül daha yüksek elektronik ve titreşim seviyelerine uyarıldığında, fazla enerji hızla dağılır ve florofor en düşük titreşim seviyesi  $S_1$ 'e döner. Bu gevşeme yaklaşık  $10^{-12}$  saniye içerisinde gerçekleşir ve büyük olasılıkla yaklaşık olarak eşit enerjili durumlar arasında güçlü bir örtüşmeyle sonuçlanır. Bu hızlı gevşemeden dolayı emisyon spektrumları genellikle uyarma dalga boyundan bağımsızdır.



**Şekil 2.20.** (a) Floresein ve (b) Lucifer Yellow VS (suda) Örneklerinin Uyarma (B) ve Emisyon (A) Spektrumları. Floresein:  $\lambda_{EX} = 465 \text{ nm}$ ;  $\lambda_{EM}=535 \text{ nm}$ . Lucifer Yellow VS:  $\lambda_{EX} = 429 \text{ nm}$ ;  $\lambda_{EM}=535 \text{ nm}$  (Miller, 1984)

### 2.5.3. Dönüşümlü Voltametri (DV) ile DNA-İlaç Etkileşmelerinin İncelenmesi

Küçük moleküllerin zayıf absorpsiyon bantları ve DNA ile etkileşime girerken elektronik geçişlerinin çakışmasından dolayı UV/Vis. spektroskopisi gibi yöntemlerle çalışılması pek uygun değildir. Küçük moleküllerin DNA ile etkileşimi imkan dahilinde voltametrik teknikler kullanılarak çalışılabilir. Bu yöntemler, birkaç etkileşen türlerin karışımının yanı sıra aynı türlerin birden fazla oksidasyon durumunu eş zamanlı olarak gözlemleyebilmektedir. Metal komplekslerin DNA ile etkileşimleri için denge sabitleri (K) eklenen DNA miktarı kadar bağlı türlerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sırasında akım geçişini esas alarak interkalatif, elektrostatik veya hidrofobik etkileşimi içeren bağlanmalardan ve pik potansiyelindeki kaymalardan belirlenebilir. Bununla birlikte bazı durumlarda akım ve potansiyel ölçümlerinden kinetik veri belirlemek de mümkündür. Çünkü

voltametik teknikler art arda elektron transfer basamaklı kimyasal tepkimelere karşı duyarlıdır (Carter and Bard, 1987).

DV, ilaç ve DNA etkileşiminin bağlanma kuvvetini ve etkileşim modunu belirleyebilmek için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Bu teknik metal bazlı bileşiklerin mümkün olan redoks durumlarından dolayı ağırlıklı olarak kullanılır. DV’de tarama ileri ve geri yönlü olmak üzere iki türlü olduğundan geri taramada diğer türlerin durumu da çalışılabilir (Sirajuddin et al., 2013). DNA varlığında ilaç ile DNA etkileştiği zaman ilacın pik akımı ve pik potansiyeli değişir. Pik akımı ve pik potansiyeli bağlanma parametrelerinin belirlenebilmesi için kullanılır. Artan miktarda DNA ilaveleriyle ilacın pik akımındaki azalma bağlanma sabitini belirlemek için kullanılırken, pik potansiyelindeki kayma bağlanma biçimini belirler (Feng et al., 1997). Carter ve Bard, DNA varlığında serbest ilacın pik potansiyelinin pozitif kaymasını DNA-ilac etkileşiminin interkalasyon yoluyla gerçekleştiğini, negatife kaymasını ise etkileşimin elektrostatik biçimde olduğunu belirtmişlerdir (Carter and Bard, 1987). 1:1 molar oranda ilaç-DNA etkileşimi için bağlanma sabiti ise aşağıdaki eşitlikle hesaplanır (Eşitlik 2.3):

$$\log \left[ \frac{1}{[DNA]} \right] = \log K + \log \left[ \frac{I}{I_0 - I} \right] \quad (2.3)$$

Burada K bağlanma sabiti, I ve I<sub>0</sub> sırasıyla DNA varlığında ve yokluğunda ilacın pik akımları, [DNA] ise DNA derişimidir. Bağlanma sabiti K, log [I/(I<sub>0</sub> - I)]’a karşı log (1/[DNA]) grafiğinin kesim noktasından bulunur (Feng et al., 1997).

### 2.5.3.1. Voltamogram

Voltametrde, elektroliz hücresinde maddelerin elektrolizi ile oluşan akım-potansiyel eğrilerine voltamogram denir. Voltametrde kullanılan elektrot çeşitleri aşağıda açıklanmaktadır (Şekil 2.21.).

### 2.5.3.1.1. Voltametri de Kullanılan Elektrot Türleri

#### Çalışma (indikatör) elektrodu

Çalışma elektrodu olarak kullanılacak olan elektrodun polarlanabilir özelliğinin olması gerekir. Bu elektrotların potansiyel çalışma aralıkları farklılık gösterir. Bu aralıklar çözücüye, pH'ye, kullanılan elektrot ve elektrolitin çeşidine göre değişmektedir.

Voltametri yöntemlerinde kullanılan elektrotların kimyasal ve elektrokimyasal özellikleri oldukça önemlidir (Şen, 2014).

Voltametri de kullanılan çalışma elektrotları:

1. Cıvalı elektrotlar
2. Modifiye elektrotlar
3. Katı elektrotlar
4. Dönen elektrotlar

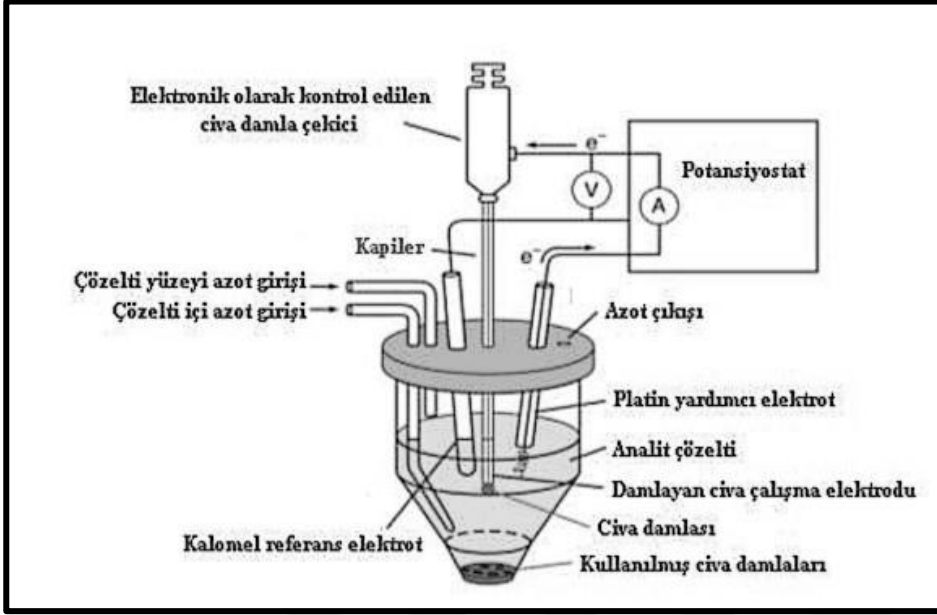
#### Yardımcı (karşı) elektrot

Çalışma elektrotları ile karşılaştırma elektrotları arasında değeri zamanla değiştirilerek uygulanan potansiyele karşı, yardımcı elektrotlar ve çalışma elektrotları arasındaki akım miktarı ölçülmektedir. Platin, grafit ve tungsten en çok tercih edilen yardımcı elektrotlardır (Tural vd., 2003).

#### Karşılaştırma (Referans) elektrodu

Karşılaştırma elektrodu olarak polarize olmayan metal-metal iyonu elektrotlar kullanılmaktadır. En çok tercih edilen karşılaştırma elektrotları kalomel ve Ag/AgCl'dir. Bu tür elektrotlardan bir anodik akım geçirildiğinde metaller yükseltgenip ortamdaki aşırı miktardaki klorürle çökelirler. Sonuç olarak, elektrot yüzeyindeki derişimleri sabit kalırken potansiyelleri akımdan bağımsız bir şekilde kalır. Eğer katodik akım geçirilirse, metal iyonları indirgenir, çökeleğın elektrodun

yüzeyinde ayrıştırılmasıyla aynı denge seviyesinde metal iyonu oluşur ve potansiyeli değişmez (Şen, 2014).



Şekil 2.21. Voltametri Hücresi

### 2.5.3.1.2. Voltametrik Yöntemler

#### Dönüşümlü Voltametri (DV)

Dönüşümlü voltametri (DV), yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde yaygın kullanılan bir yöntemdir (Farghaly et. al, 2014). DV bir çalışma elektrodu potansiyelinin bir döngü yapması sonucu elde edilen akımın ölçülmesiyle meydana gelir (Bard et. al., 1980).

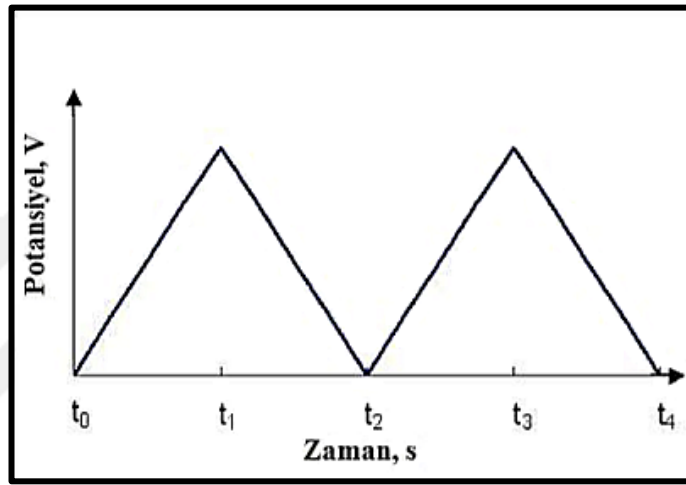
DV’de, elektrot yüzey alanı, elektroaktif maddelerin derişimi, elektron sayısı, elektrotun yüzey alanı ve difüzyon katsayısı pik akımının büyüklüğünü etkiler (Çekirdek, 2005).

DV yöntemi, elektrokimyasal tepkimelerde kantitatif (nicel) amaçlı çok az kullanılırken kalitatif (nitel) amaçlı çok kullanılır. Bu durumun nedeni, yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinin termodinamiği, adsorpsiyon olayları,

heterojen elektron-transfer tepkimelerinin kinetiği ve kimyasal tepkimelerle ilgili bilgileri hızlı bir şekilde oluşturmasıdır.

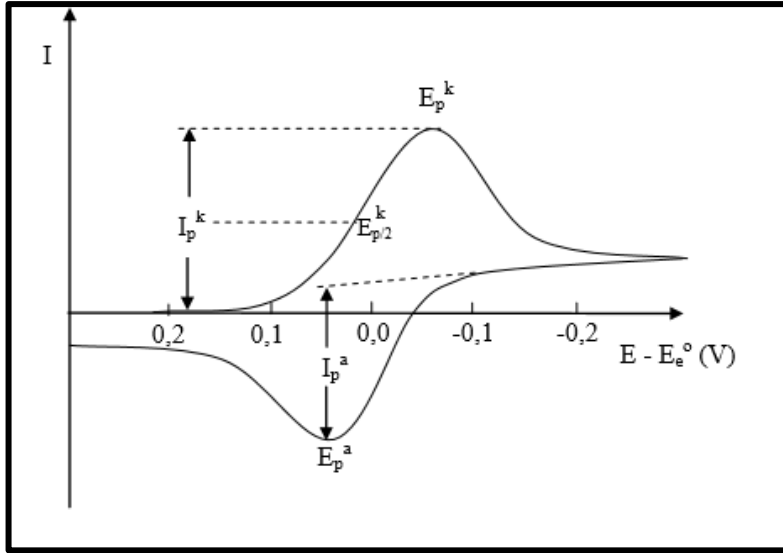
DV elektroanalitik çalışmalarda, ilk tercih edilen deneysel basamak olmakla birlikte elektroaktif türlerin yükseltgenme-indirgenme potansiyellerinin hızlı bir şekilde ölçülmesini sağlar (Wang, 2000).

DV'de; potansiyel, üçgensel potansiyel döngüsü şeklindedir ve bu durum şekil 2.22.'de görülmektedir.



şekil 2.22. Dönüşümlü Voltametrde Dalga şekli

Hücrede meydana gelen akımın potansiyelin bir fonksiyonu şeklinde elde edilmesiyle oluşan akım-potansiyel eğrisine dönüşümlü voltamogram denir (Izutsu, 2002). şekil 2.23.'te bir dönüşümlü voltamogram rneği görülmektedir.



Şekil 2.23. Dönüşümlü Voltamogram

Şekil 2.23.'te, yükseltgenen  $+ ne^- \rightarrow$  indirgenen tepkimesi tersinir sistemlerde oluşur. İleri taramalarda indirgenme ile katodik bir pik oluşurken geri taramalarda ise yükseltgenmeden dolayı anodik pik oluşur. Tersinir tepkimelerde, anodik ( $i_p^a$ ) ve katodik ( $i_p^k$ ) pik akımlarının büyüklükleri mutlakça eşittir. Bu durum, ( $|i_p^k| = |i_p^a|$ ) şeklinde gösterilir. Katodik pik potansiyeli ise ( $E_p^k$ ) şeklinde gösterilir ve ( $E_p^a$ ) şeklinde gösterilen anodik pik potansiyelinden ( $59/n$ ) mV daha negatiftir. Tersinir sistemler için bu değerler oldukça önemlidir. Tersinirliğin azaldığı sistemlerde, iki pikin potansiyelleri arasındaki fark artar.

#### a) Tersinir tepkimelerde dönüşümlü voltametri

DV yönteminde tersinirlik için bazı kriterler bulunmaktadır. Bu kriterleri aşağıdaki gibidir.

1.  $E_p^k - E_p^a = 59/n$  mV ya da  $E_p - E_{p/2} = 59/n$  mV olması gerekir.
2.  $E_p$  değeri tarama hızının değişmesi ile değişmemelidir.
3. Çizilen  $i_p - v^{1/2}$  grafiği doğrusal olmak zorundadır.
4. Akım değerinin  $t^{-1/2}$  ile orantılı olduğu durum  $E_p$ 'nin daha negatif potansiyelde olduğu durumdur.

5. Tersinir durumda  $i_p^a / i_p^k = 1$  olmalıdır. Tarama hızının değişmesi ile bu oran değişmemelidir.

Bir sistemin tersinir olmasından söz edebilmek için bu kriterlerin hepsini taşıması gerekir (Greef et. al., 1990).

Elektrot tepkimesi;

$O + ne \rightarrow R$  şeklindedir.

Bu tür tepkimede başlangıçta çözelti içerisinde sadece O maddesi bulunur. Elektron aktarımından başka herhangi bir kimyasal tepkime bulunmaz ve elektrotun yüzeyinde adsorpsiyon oluşmazsa akım-potansiyel grafiği pik şeklinde olur. Eğer tarama hızında bir artış meydana gelirse buna bağlı olarak pik yüksekliği de artar. Dönüşümlü voltametri de  $E_p$ , akımın maksimum değer aldığı noktadaki pik potansiyelidir.

Tersinir bir tepkimenin pik akımı  $25^\circ C$ 'ta Randles – Sevcik eşitliği ile gösterilir. Bu eşitlik 2.4'te gösterilir:

$$(I_p)_{ter} = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} A D_o^{1/2} C_o v^{1/2} \quad (2.4)$$

$I_p$ : Pik akımı; birimi, Amper

$D_o$ : O'nun difüzyon katsayısı; birimi,  $cm^2/s$

$v$ : Tarama hızı, birimi,  $V/s$

$C_o$ : O'nun ana derişimi; birimi,  $mol/cm^3$

### b) Tersinmez tepkimelerde dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri tersinmez tepkimeler için bazı kriterler vardır. Bunlar (Greef et. al., 1990).

1.  $i_p^k$  ile tarama hızının karekökü arasında bir doğru orantı vardır.
2. Anodik pik gözlenmemektedir.
3.  $|E_p - E^{p/2}| = 48/(\alpha cn\alpha)$  mV'dur.
4.  $E_p^k$ 'deki kayma, tarama hızında oluşan 10 kat artmada  $30/\alpha cn\alpha$  kadardır.

Nernst eşitliği, tersinmez sistemlerde elektron aktarım hızı yeterli olmadığı için elektrot yüzeyinde geçerli olmaz. Böylece tersinmez tepkimelerin dönüşümlü voltamogramlarının şekilleri tersinir voltamogramların şekillerinden farklıdır. Tarama hızının artmasıyla kütle aktarım hızı elektron aktarım hızı ile aynı seviyeye ulaşır. Standart hız sabiti tersinmez tepkimelerde tersinir tepkimelere göre daha düşüktür. Tamamen tersinmez sistemlerde anodik pik gözlenmemektedir, ancak bu durum her zaman sistemin tersinmez bir sistem olduğunu göstermez. Elektron aktarım basamağının ardından hızlı bir kimyasal tepkime sonucunda oluşan ürün hızlıca başka bir ürüne dönüşebilir bu durumda da anodik pik gözlenmeyebilir.

### c) Yarı tersinir tepkimelerde dönüşümlü voltametri

Akım yarı tersinir tepkimelerde difüzyon hızı ve elektron aktarım hızıyla beraber kontrol edilmektedir. Dönüşümlü voltametri gözlenen yarı tersinirlik kriterleri aşağıdaki gibidir (Greef et. al., 1990).

1.  $I_p$ ,  $v^{1/2}$  ile doğrusal olmayacak şekilde bir artış gösterir.
2.  $\alpha = 0,5$  ise  $i_p^a / i_p^k = 1$ 'dir.
3. Düşük tarama hızlarında,  $E_p^k - E_p^a$  farkı  $59/n$ 'e yakın olmalıdır.

4.  $E_p^k$ , tarama hızının arttığı durumlarda genellikle negatif değerlere doğru kayması  $E_p^k$ 'nin tarama hızıyla değiştiğini gösterir.

Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez tepkimeleri kısa bir tabloda özetlersek (Tural vd., 2003):

**Tablo 2.1.** Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez tepkimeler

Tersinir tepkime	Yarı tersinir tepkime	Tersinmez tepkime
$\Delta E_p  E_{pa} - E_{pk}  = \frac{59}{n} mV$ $ E_p - E_{p/2}  = \frac{59}{n} mV$	$\Delta E_p > \frac{59}{n} mV$ (v ile artar)	$ E_p - E_{p/2}  = \frac{48}{\alpha_c n_a} mV$
$ i_{pa}/i_{pk}  = 1$	$\alpha_c = \alpha_A = 0,5$ ise $ i_{pa}/i_{pk}  = 1$	Geri pik gözlenmez
$I_p \propto v^{1/2}$	$ i_p , v^{1/2}$ ile artar ancak doğrusal değildir	$\dot{I}_{pk} \propto v^{1/2}$
$E_p$ v'den bağımsızdır	v arttıkça $E_{pk}$ negatife kayar	v'deki her artış 10 kat artış için kayma miktarı $E_{pk} - \frac{30}{\alpha_c n_a} mV$
$E > E_p$ için $i = k t^{-1/2}$		

Günümüzde teorik kimya ve hesaplamalı kimya, kimyasal olayları açıklamada yaygın olarak kullanılmaktadır. kimyayı matematiksel ifadelerle gösteren teorik kimya, kimyasal reaksiyonları kuantum kimyası prensiplerine göre ifade eder. Hesaplamalı kimya, kuantum mekaniğiyle ilgili metotlar uygulanmakta ve hesaplamalı olarak varılan sonuçları yorumlanarak deneysel ve teorik kimya arasında bir bağlantı benzerlik kurmaktadır.

Hesaplamalı kimya ara ürünleri, geçiş durumları gibi deneysel yollarla elde edilemeyen moleküller ve reaksiyonlar hakkında tahminlerde bulunmak mümkündür. Ayrıca deneysel verileri analiz etmek ve deney öncesi bir moleküler

model oluşturmak için de kullanılabilir. Ayrıca deneysel verilerin yetersiz olduğu ve veri alınmadığı durumlarda teorik hesaplama yöntemleri ile moleküler yapı analizi, moleküler enerjiler, konformasyonel durumlar, dipol momentler, titreşim frekansları ve termodinamik büyüklüklerle ilgili bilgiler elde edilebilir. Deneysel reaksiyonları, deney çalışması olmadan ön görmek için de kullanılabilir (Dorsett and White, 2000; Foresman and Frisch, 1996).

Hesaplamalı kimyada üç ana metot kabul edilir bunlar moleküler mekanik (MM), yarı deneysel (SE) ve ab initio moleküler orbital metotlarıdır.

Konformasyonel analiz, hesaplamalı kimyada kullanılan yöntemler, çözücü etkisinin matematiksel uygulamalarla ilgili orbitallere dahil edilmesine ilişkin Polarize Sürekli Ortam Modeli (PCM-Polarize Edilebilir Sürekli Model) ve bu hesaplamalarda kullanılan enerji hesaplamaları, genel kimya, bu hesaplamalardaki moleküler orbitaller ve hesaplamalar kullanılan genel analizde yer alır.

### **2.6.1 Konformasyonel Analiz**

Konformasyon, yapısal düzenlenme anlamına gelmektedir. Üç boyutlu uzayda, moleküllerin  $\sigma$  bağı (tekli bağ) etrafında dönmesi sonucu oluşan sonlu sayıdaki düzenlenmeleri (konfigürasyonu) ile moleküllerin konformasyonel izomerleri başka bir deyişle konformerleri veya rotamerleri oluşmaktadır. Konformasyonel analiz; moleküllerin atomlarının üç boyutlu uzaydaki konfigürasyonlarının bu konfigürasyonların popülasyonunun, kinetik ve termodinamik özellikler açısından incelenmesi anlamına gelmektedir (Anslyn and Dougherty, 2006). Başka bir ifadeyle, moleküllerin enerji yüzeylerinin ve en düşük enerjili konformerin belirlenmesidir. Farklı izomerlerin stabilitesinin anlaşılması, kimyasal reaksiyonların mekanizmasının anlaşılması, reaksiyon hızları ve ürünlerin seçiciliğinin belirlenmesi ve açıklanması ve aynı zamanda yapı temelli ilaç tasarımı açısından konformasyonel analiz oldukça önem taşımaktadır (Barton, 2013).

Modern konformasyonel analizin temelleri; 1890'da Hermann Sachse tarafından metanın (doymuş karbonun) tetrahedral yapısının önerilmesini takiben 1918 Ernst Mohr tarafından elmasın yapısının analizi, 1934 yılındaki William

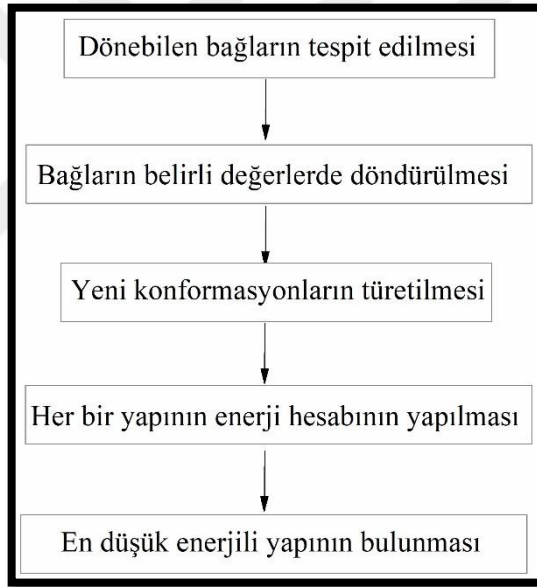
Penney'in benzen halkasının stabilitesi ile ilgili teorik çalışması ve 1950 yılında kompleks moleküllerin üç boyutlu yapısının Derek Barton tarafından (ki bu çalışması ile Barton 1969 yılında Nobel Kimya ödülü almıştır.) çalışılması ile oluşturulmuştur (Dragojlovic, 2015).

Herhangi bir molekülün potansiyel enerji yüzeyindeki konformasyonel dağılımının belirlenmesi için; o molekülün serbestlik derecesine göre tekli bağların dönmesi sonucu oluşturacağı konfigürasyonların moleküler mekanik yöntemlerle geometrik olarak optimize edilmesi gerekmektedir. Moleküler mekanik hesaplamalar 0 Kelvin için enerji değerlerini ifade etmektedir. Oysa ki, bu sıcaklıkta moleküller en düşük enerjili konformasyon durumundadır. Farklı sıcaklık değerlerinde moleküllerin yüksek enerjili konformasyonlarının Boltzmann faktörü ile belirlenebilen fraksiyonları bulunmaktadır (Hinchliffe, 2008). Boltzmann faktörü;  $\exp(-\varepsilon/kBT)$  ile verilmektedir. Burada  $kB$ ; Boltzmann sabiti,  $T$ ; Kelvin cinsinden sıcaklık değeri ve  $\varepsilon$  enerji değerini ifade etmektedir. Farklı konformerlerin fraksiyonel popülasyon dağılımı, Eşitlik 2.5 ile ifade edilen Boltzmann dağılımına uymaktadır (Rzepa, 2014).

$$\frac{N_i}{N_{toplam}} = \frac{e^{-E_K/RT}}{\sum_{k=1}^M e^{-E_K/RT}} \quad (2.5)$$

Burada  $M$ ; termodinamik dengedeki konformer sayısı,  $R$ ; molar ideal gaz sabiti (1,987 cal/(mol.K)),  $T$  (Kelvin); mutlak sıcaklık ve  $N_i/N_{toplam}$  oranı da  $i$  nci konformerin termodinamik dengedeki  $M$  tane konformere oranını göstermektedir. Sağ taraftaki payda ise,  $Q$  partiyon fonksiyonu olarak ifade edilmektedir. Oda sıcaklığında tek bağın dönmesi serbest olarak ve kendiliğinden gerçekleşmektedir ancak bu serbest dönmenin, herhangi bir enerji engeli olmadan gerçekleştiği anlamına gelmemektedir (Dragojlovic, 2015). Tekli bağların dönmesi genel olarak 3-5 kcal.mol<sup>-1</sup> enerji engeli aralığında gerçekleşmektedir (Hornback, 2006). Konformasyonel analiz stratejisine göre, küçük moleküllerin bile oldukça fazla sayıda konformasyonel izomerin üretilmesi olasılığı bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır (Leach, 2001). Öyle ki; oldukça fazla sayıdaki konformerin incelenmesi için ciddi zaman gerekmektedir.

Konformasyonel araştırma sistematik ve rastgele olarak iki yöntemle yapılabilir. Sistematik araştırmada (örneğin: Grid metodu); incelenecek molekülün dönebilen bağlarının torsiyon (dihedral) açılara belli değerler verilerek konformasyonlar sistematik olarak üretilmektedir (Bruni et al., 2001). Konformasyonların sayısı,  $S^N$  olarak verilmektedir. Burada N; serbest olarak dönebilen açılarının sayısı, S ise; her döndürülen açı için verilen değerlerin sayısıdır ki  $S=360/\theta_i$  olarak ifade edilir. Burada  $\theta_i$  ifadesi; i açısının dihedral artışıdır. Deterministik yaklaşımdır ve konformasyonel uzayın sistematik olarak belirlenebilmesini mümkün kılmaktadır. Büyük sistemler için uygun değildir ancak genellikle 10-15 atomu olan küçük moleküller için daha avantajlıdır. Sistematik konformasyonel araştırma metoduna ilişkin izlenen protokol Şekil 2.24.'te görülmektedir.



Şekil 2.24. Sistematik Konformasyonel Araştırma Metodu Protokolü

Rastgele araştırmada ise (Örneğin: Monte Carlo Metodu); seçilen başlangıç yapısının atomik kartezyen koordinatları ya da dönebilen bağların torsiyon açılarını değiştirerek rastgele modifikasyonları tekrarlayarak konformasyonları üretmektedir (Uthuppan and Soni, 2013). Bu işlem önceden belirlenen yineleme sayıları ile yeni konformer üretilmeye dek sürmektedir. Büyük ve esnek sistemler için daha uygun bir yöntemdir.

Rasgele araştırmada ise (Örneğin: Monte Carlo Metodu); seçilen başlangıç yapısının atomik kartezyen koordinatları ya da dönebilen bağların torsiyon alarını değiştirerek rastgele modifikasyonları tekrarlayarak konformasyonları üretmektedir (Uthuppan and Soni, 2013). Bu işlem önceden belirlenen yineleme sayıları ile yeni konformer üretilmeye dek sürmektedir. Büyük ve esnek sistemler için daha uygun bir yöntemdir.

### **2.6.2. Moleküler Mekanik Metotlar**

MM yönteminde, bir kimyasal sistemdeki atomlar arasındaki etkileşimler klasik fizik kuralları ile gösterilir ve moleküler sistemdeki elektronlara uygulanamaz. Bu nedenle MM yöntemleriyle yapılan hesaplamalarda elektronik bağlantılı özellikler elde edilememektedir (Jensen, 2007). Bu yöntemlerde hesaplama süresi çok kısadır. Moleküler mekanik yöntemlerini içeren MM1, MM2, MM+, CHARM, MMFF gibi çeşitli paket programlar geliştirilmiştir.

### **2.6.3. Yarı deneysel (SE) yöntemler**

Elektronik yapıya dayalı SE ve ab initio hesaplamaları kuantum mekaniğine dayanmaktadır. Bu yöntemlerde hesaplama süresi MM yöntemlerine göre çok daha uzundur. Çözüm matematiksel yaklaşımlarla yapılır. Elektronik yapıya dayalı her iki yöntem de aynı temel hesaplamaları gerçekleştirir. Bu yöntemler kullanılarak aşağdaki hesaplamalar yapılabilir: Belli bir moleküler yapı için enerji hesaplama; Geometri optimizasyonu yapma; Molekülün titreşim frekanslarını hesaplama verilebilir.

Kuantum mekaniğine göre, bir molekülün enerjisi ve diğer enerji ile ilgili özellikleri, Schrödinger denklemi çözümlenerek elde edilebilir. Deneysel parametreler, yarı deneysel moleküler orbital yöntemlerde hesaplamayı kolaylaştırmak için kullanılır. Yani bu yöntemde moleküler özelliklerin deneysel değerlerine yakın sonuçlar verecek parametreler bulunmaktadır. Çok küçük sistemler için olduğu kadar büyük moleküler sistemler için de kullanılabilir. CNDO, INDO, MINDO/3, AM1, PM3 gibi birçok yarı deneysel hesaplama

yöntemi vardır. Bu yöntemler pratik olarak çok büyük moleküllere uygulanabilir (Pople and Beveridge, 1970).

#### 2.6.4. Ab initio Yöntemler

Ab initio moleküler orbital yöntemleri yarı deneysel moleküler orbital yöntemlerinden daha detaylı bir yöntemdir. Ab initio terimi, başlangıç, başlangıç anlamına gelen Latince bir kelimedir ve sistemin sahip olduğu tüm elektronların dikkate alındığını belirtir. Başlangıçtaki moleküler yörünge yöntemleri, kuantum mekaniği temellerine dayanır ve hesaplamalarda deneysel parametreler kullanılmaz. Hesaplama süresi diğer yöntemlerden binlerce kat daha uzundur. Öte yandan deneysel değerlerle daha uyumlu sonuçlar elde edilmektedir. Hem gaz fazı hem de çözücü fazı hesaplamaları Ab initio moleküler orbital yöntemlerle yapılabilir. En güvenilir sonuçları veren Ab initio yöntemlerinin temeli, moleküler orbital teorisine (MOK) dayanmaktadır.

#### 2.6.5. Moleküler Orbital Kuramı (MOK)

Moleküler orbital teorisine göre, atomlar bir molekül oluşturmak için bir araya geldiğinde, atomların atomik yörüngeleri yeni yörüngeler oluşturmak için etkileşime girer. Oluşan yeni orbitallere moleküler orbitaller denir. Molekülün elektronları, oluşan bu yeni moleküler orbitallere yerleşir. Moleküler orbitallerin sayısı, onları oluşturan atomik orbitallerin sayısına eşittir. Moleküler orbitalleri oluşturan atomik orbitaller özelliklerini kaybeder. Oluşan moleküler orbitaller farklı şekillere, yeni dalga fonksiyonlarına ve enerjilere sahiptir. Teorik olarak, bir molekülün özellikleri matematiksel olarak ifade edilen Schrödinger denkleminin çözümünden türetilir. Schrödinger denklemi kısaca şu şekilde ifade edilir.

$$H \psi = E \psi \quad (2.6)$$

Eşitlik (2.6) deki H Hamiltonian işlemcisini,  $\psi$  elektronun dalga fonksiyonunu ve E ise elektronik enerjiyi göstermektedir.

### 2.6.5.1. Moleküler Hamiltonian

Schrödinger denkleminin tam olark çözümü, tek elektronlu sistemler dışında yapılamamaktadır. Ancak çeşitli ihmaller ve yaklaşımlar kullanarak çok elektronlu sistemler için Schrödinger denkleminin çözümü sağlanabilmektedir. Çözüm yapılırken yapılan yaklaşımlardan biri Hamiltonian işlemcisi hakkında yapılır.

Hamiltonian işlemcisi, kinetik ve potansiyel enerji işlemcilerinin toplamı olan toplam enerji işlemcisidir (Eşitlik 2.7).

$$H = T + V \quad (2.7)$$

M. Born ve J. R. Oppenheimer tarafından ortaya atılan Hamiltonian işlemcisi yaklaşımı Born-Oppenheimer yaklaşımı olarak bilinir (Atkins and Paula, 2010). Bu yaklaşım, çekirdek ve elektronların hareketlerinin ayrı ayrı göz önüne alınmasını ifade eder. Çekirdekler elektronlardan daha yavaş hareket ettiklerinden Schrödinger denklemi çekirdek koordinatlarına ve elektron koordinatlarına bağlı olarak yazılabilir. Molekülün tam Hamiltonian işlemcisi atomik birimlerde aşağıdaki gibi ifade edilir (Eşitlik 2.8) (çekirdekler  $\alpha$ ,  $\beta$  ve elektronlar  $i$ ,  $j$  ile gösterilir) (Lowe, 1978).

$$H = -\frac{1}{2} \sum_{\alpha} \frac{\nabla_{\alpha}^2}{\mu_{\alpha}} - \frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 + \sum_{\alpha} \sum_{\beta > \alpha} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta}}{r_{\alpha\beta}} - \sum_i \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{i > j} \frac{1}{r_{ij}} \quad (2.8)$$

Eşitlikte ilk terim çekirdeğin kinetik enerji ( $T_{\text{ç}}$ ) işlemcisini gösterir. İkinci terim elektronun kinetik enerji ( $T_{\text{e}}$ ) işlemcisidir. Üçüncü terim atom numarası  $Z_{\alpha}$  ve  $Z_{\beta}$  ve  $\alpha$ ,  $\beta$  çekirdekleri arası uzaklık  $r_{\alpha\beta}$  olan çekirdekler arası itme potansiyel enerjisi ( $V_{\text{çç}}$ ) işlemcisidir. Dördüncü terim  $i$  elektronu ile  $\alpha$  çekirdeği arasındaki uzaklık  $r_{i\alpha}$  olmak üzere çekirdek ve elektronlar arasındaki çekme potansiyel enerji ( $V_{\text{eç}}$ ) işlemcisidir. Son terim ise,  $i$  ve  $j$  elektronları arasındaki uzaklık  $r_{ij}$  olmak üzere elektronlar arasındaki itme potansiyel enerji ( $V_{\text{ee}}$ ) işlemcisidir. Bu değerlere bağlı olarak Hamiltonian Eşitlik 2.9'daki gibi ifade edilir.

$$H = T_{\text{ç}} + T_{\text{e}} + V_{\text{çç}} + V_{\text{eç}} + V_{\text{ee}} \quad (2.9)$$

Çok elektronlu sistemler için, tam elektronik hamiltonian çekirdeğin kinetik enerji işlemcisi ve çekirdekler arasındaki itme potansiyel enerji işlemcisi ihmal edilerek atomik birimlerde aşağıdaki gibi ifade edilir. Çok elektronlu sistemler için sadece elektronik Hamiltonian kullanıldığında da Schrödinger eşitliğinin tam çözümü imkansızdır (Eşitlik 2.10).

$$H_{el} = -\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 + -\sum_i \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}} \quad (2.10)$$

### 2.6.5.2. Moleküler Orbital Dalga Fonksiyonu

Atomik orbitallerin doğrusal bileşiminden (LCAO) yöntemine göre  $\phi_{\mu}$  atomik orbitallerinden oluşmuş bir moleküler orbital dalga fonksiyonu şu şekilde verilir. Eşitlik 2.11'deki  $\psi$  moleküler orbitalin dalga fonksiyonudur.  $\psi$  matematiksel olarak atomik orbitallerin ( $\phi_{\nu}$ ) doğrusal bileşiminden (LCAO) elde edilir.

$$\Psi_i = \sum_{\mu=1}^N c_{\mu i} \phi_{\mu} \quad (2.11)$$

Bu denklemde  $c_{\mu i}$ , atomik yörünge dalga fonksiyonlarının katsayılarıdır ve  $\phi_{\mu}$  bu atomik orbitallerin dalga fonksiyonudur. Bir dalga fonksiyonunda, büyük  $c_{\mu i}$  katsayısına sahip bir yörünge, bu moleküler yörüngeye daha fazla katkıda bulunduğu anlamına gelir. Diğer bir deyişle, oluşan moleküler orbital, büyük bir katsayılı orbitalin özelliklerine çoğunlukla sahiptir.

Elektronik yapıya bağlı olarak hesaplamalar yapan programlar, moleküler orbitalleri oluşturmak için hidrojen benzeri orbitalleri kullanır. Bir molekülün moleküler orbitallerinin dalga fonksiyonlarının matematiksel temsili ( $\psi_i$ ), temel kümeler olarak belirtilir. Denklemde Eşitlik 2.11'de  $\phi_{\mu}$  ile gösterilen atomik orbitaller, temel fonksiyonlar olarak adlandırılır. Elektronik yapıya göre yapılan hesaplamalarda Slater tipi (STO) ve Gauss tipi olmak üzere iki temel fonksiyon kullanılmaktadır. Gauss tipi temel fonksiyonlar  $g$  ile gösterilir ve bu fonksiyonlar da STO gibi normalleştirilir (Foresman and Frisch, 1996) (Eşitlik 2.12).

$$\int_{-\infty}^{+\infty} g^2 d\tau = 1 \quad (2.12)$$

Örneğin  $s$ ,  $p_y$  ve  $d_{xy}$  orbitallerinin Gaussian tipi temel fonksiyonları matematiksel olarak Eşitlik 2.13'de belirtilir:

$$g_{xy}(\alpha, \vec{r}) = \left( \frac{2048a^7}{\pi^3} \right)^{\frac{1}{4}} ye^{-ar^2} \quad (2.13)$$

Gaussian tipi temel fonksiyonlar ilkel (primitive) Gaussianlar olarak tanımlanır. Örneğin p-tipi temel fonksiyon, p-tipi Gaussianların doğrusal birleşiminden oluşur (Eşitlik 2.14).

$$\phi_\mu = \sum_p d_{\mu p} g_p \quad (2.14)$$

Bu tip temel fonksiyonlar kısaltılmış (contracted) Gaussianlar olarak adlandırılır. Sonuç olarak bu eşitlikler birleştirildiğinde bir temel set matematiksel olarak Eşitlik 2.15'te tanımlanır.

$$\psi_i = \sum_{\mu=1}^N c_{\mu i} \phi_\mu = \sum_{\mu=1}^N c_{\mu i} \left( \sum_p d_{\mu p} g_p \right) \quad (2.15)$$

### 2.6.5.3. Molekül Orbital Enerjileri

Eşitlik 2.16'da verilen Schrödinger denkleminde  $E$  toplam enerji molekülün kinetik ve potansiyel enerji değerlerinin toplamıdır. Elektronik enerjiyi veya moleküler yörünge enerjilerini elde edebilmek için, denklemin integral hali hesaplanır (Atkins and Paula, 2010).

$$E = \int \frac{\Psi H \Psi d\tau}{\Psi^2 d\tau} \quad (2.16)$$

Born-Oppenheimer yaklaşımına ek olarak, çok elektronlu sistemlerde Schrödinger denkleminin çözümünü gerçekleştirmek için kendi kendine uyumlu alan (SCF) yaklaşımı metodu türetilmiştir (Orchin and Jaffe,1971). Bu metot ayrıca HF yöntemi (Hartree-Fock) olarak bilinir. Serbest tanecik sistemi temel alınır ve her bir elektronun, diğer elektronların ve çekirdeğin yarattığı bir elektrostatik alanın içerisinde hareket ettiği kabulüne dayanır.

Ancak, tüm elektronların dalga fonksiyonlarının da bilinmesi gerekir. Bu zorluğun atlatılabilmesi için 1928'de Hartree-Fock varyasyon kuramını tanıttı. Bu ilkede, MO (molekül orbital) dalga fonksiyonlarının atomik orbitallerin lineer toplamından elde edildiği ve her MO'ye göre  $c_{\mu i}$  katsayılarının belirlenmesi gerektiği belirtilir (Eşitlik (2.15)) ve enerjinin birinci türevi her bir katsayıya göre sıfır değerine eşittir (Eşitlik (2.17)). Elektron-elektron itme terimi, bir yörüngedeki bir elektronun moleküldeki diğer tüm elektronların yarattığı ortalama potansiyel tarafından itilmesi olarak belirtilir.

$$\left( \frac{\partial E}{\partial c_{\mu i}} \right)_{c_{\mu j}} = 0 \quad (2.17)$$

Bu hesaplamalar için SCF yöntemi sayesinde işlemler yapılır ve sonunda enerji sabit bir minimum değere varıncaya dek her çevrimdeki katsayıları geliştirmeye devam eder. Son yapılan hesaplamalar arasında büyük bir tutarsızlık yoksa işlem bitmiş olur. Tutarsızlık varsa,  $c_{\mu i}$  katsayılarına bağlı olarak fonksiyonlar arasında tutarlık sağlanıncaya dek hesaplama devam eder. Bu yöntem bu yüzden öz uyumlu alan (SCF) metodu denilir.

Ab initio hesaplamaları için önce HF metodu kullanılarak Schrödinger denklemi çözülür ve hesaplama başlar. Başlangıçta göz önüne alınmayan elektron-elektron itmesi terimi daha sonra düzeltme olarak hesaba ilave edilir. Hesaplama başladıktan sonra, korelasyon yöntemleri olarak isimlendirilen elektron-elektron itmesi düzeltmeleri ile devam eder (Orchin and Jaffe,1971). Bunlar Møller-Plesset perturbasyon (MP) teorisi, yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) ve konfigürasyon etkileşimi yöntemi (CI) dir.

### 2.6.6. Yoğunluk Fonksiyonel Teori (DFT)

Son yıllarda yaygın olarak kullanılan popüler bir elektron korelasyon yöntemi olan DFT, bir atom veya molekülün elektronik yapısını incelemek için fizik, kimya ve malzeme biliminde kullanılmaktadır. Bu teoride, çok elektronlu sistemlerin özellikleri fonksiyonel olarak tanımlanır ve özellikle elektron yoğunluğuna bağlıdır. Geleneksel korelasyon yöntemlerinden daha az hesaplama gücü gerektirir. DFT ile hesaplama süresi diğer ab initio yöntemlerine göre daha kısa olduğu için birçok atom içeren sistemlerde geniş olarak kullanılmaktadır. DFT ayrıca elektron çiftlerinin zıt spinli anlık etkileşimlerini de hesaba katar. HF hesaplamaları ortalama bir etki olarak yalnızca elektronlar arasındaki itmeleri hesaba katarken, DFT hesaplamalarında toplam elektron yoğunluğu, tek elektron dalga fonksiyonlarından oluşan tek elektron yoğunluklarına bölünür. HF yönteminde sistemin elektronik enerjisi dalga fonksiyonuna  $\psi$ , DFT yönteminde ise elektronik enerji elektron olasılık yoğunluğu  $\rho$  ya bağlıdır.

1964'te Hohenberg ve Kohn, Hohenberg-Kohn teoremi olarak ifade edilen toplam elektronik enerjiyi elektron olasılık yoğunluğunun ( $\rho$ ) bir fonksiyonu olan ifadeyi Eşitlik 2.18'de gösterilir:

$$E[\rho]=T[\rho]+V[\rho]+J[\rho]+E_{xc}[\rho] \quad (2.18)$$

Bu denklemdaki ilk terim, birbirleriyle etkileşmeyen elektronlar için kinetik enerji terimidir. İkinci terim,  $i$  elektronu ve  $\alpha$  çekirdek arasındaki etkileşimden kaynaklanan dış potansiyel olarak tanımlanır. Elektron korelasyon katkısını gösteren ve bütün elektron-elektron etkileşimlerini içeren terimler sırasıyla üçüncü ve dördüncü terimlerdir.

Kohn-Sham teoremi 1965'te tanımlanmış ve Coulomb itme terimi ve elektronlar arasındaki etkileşimleri içerir. Bu etkileşimler, karşılıklı elektron değişimi olan değişim ve korelasyon terimine atıfta bulunur. Sonuç olarak, bütün büyüklükler elektron olasılık yoğunluğunun bir fonksiyonu olarak gösterilmektedir.

Toplam elektronik enerjiye en büyük katkıyı ilk üç büyüklük vermektedir, bunlar,  $E_{xc}$  terimi, değişim (EX) ve korelasyon (EC) enerjisi olmak üzere iki terime ayrılmıştır. Aşağıdaki denklemde bu iki terim toplam olarak verilmiştir (Eşitlik 2.19).

$$E_{xc} = E_x + E_f \int \rho(r) \epsilon_x [\rho(r)] dr + \int \rho(r) \epsilon_c [\rho(r)] dr \quad (2.19)$$

Denklemde  $\epsilon_x$  ve  $\epsilon_c$  parçacık başına enerjiyi gösterir.  $E_{xc}$  nin tanımlamak amacıyla lokal yoğunluk yaklaşımı (LDA), genelleştirilmiş gradient yaklaşımı (GGA) ve hibrit yaklaşımı (HA) olarak üç yaklaşım yapılmıştır. LDA, molekülün elektron yoğunluğunun sabit ama yük yoğunluğunun çok yavaş olarak değiştiğini söylerken, GGA yaklaşımı elektron yoğunluğundaki değişimine dayalı olarak ifade edilir. Lokal olmayan yoğunluk yaklaşımı çoğunlukla GGA, LDA deki iyileştirmeler ile yapılandırılır.

$E_{xc}$ ,  $E_X^{HF}$  ile  $E_X^{DFT}$  nin lineer toplamından meydana gelir Eşitlik 2.20'de ifade edilir:

$$E_{xc} \cong \frac{1}{2} (E_X^{HF} + E_X^{DFT}) \quad (2.20)$$

Burada  $E_X^{DFT}$ , elektron yoğunluğuna bağlı değişim ve korelasyon enerjilerini gösterir. Değişim ve korelasyon enerjilerini ( $E_{xc}$ ), hibrit yaklaşımı daha iyi hesaplayabilir. Bu yüzden gerçekçi enerji için, sadece HF veya sadece DFT yaklaşımları yerine hibrit DFT yaklaşımları daha iyidir. Hibrit metotlar, toplam  $E_{xc}$  kullanımı ile türetilmiştir. Örneğin, BLYP simgesi ile ifade edilen hibrit yaklaşımı,  $E_{xc}$  enerjisi, Becke tarafından tanımlanan değişim terimi ile Lee, Yang ve Parr (LYP) sayesinde belirtilen korelasyon terimlerinin lineer toplamından meydana gelir. Çok kullanılan hibrit metotlardan biri B3LYP yönteminde  $E_{xc}$  enerjisi, Becke tipi üç parametrelilik değişim terimi ve LYP korelasyon büyüklüklerinden meydana gelir ve aşağıdaki Eşitlik 2.21'de verilir.

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a)E_X^{LDA} + aE_X^{HF} + b\Delta E_X^{B88} + (1 - c)E_C^{LDA} + c\Delta E_C^{LYP} \quad (2.21)$$

Eşitlikte, a, b ve c değerleri, değişim ve korelasyon terimlerinin B3LYP hibrit metodu terimlerine katkılarını belirtir ve atomlaşma enerjisi, iyonlaşma enerjisi ve proton ilgisi gibi deneysel verilere göre ayarlanmış ve değerleri sırayla 0.20, 0.72 ve 0.81 olarak ifade edilmiştir. Dolayısıyla, B3LYP hibrit fonksiyonelinin meydana gelmesinde en büyük payın LYP korelasyon değerinden geldiği görülmektedir (Foresman and Frisch, 1996).

### 2.6.7. Temel Setler

Moleküler orbital dalga fonksiyonları yani temel setler slater tipi orbitallerin (STO) veya Gaussian tipi orbitallerin (GTO) lineer kombinasyonundan oluşur. Hesaplamaların yapılabilmesi için metot ve sembollerle gösterilen bir temel set seçilmesi gerekir. Pek çok baz seti Gaussian programı içinde fonksiyonlara bağlı olarak bulunur. Baz setleri moleküldeki çeşitli atomlar için temel fonksiyonları ifade eder. Temel fonksiyon atomik fonksiyonların lineer kombinasyonundan meydana gelir. Baz setleri uygulanacak fonksiyonun cinsine göre 3-21G, 6-1G(d,p), 6-311++G(d,p) gibi çeşitli şekillerde ifade edilir. Temel bir kümedeki temel işlevlerin sayısı ne kadar fazlaysa, hesaplamalar o kadar doğru olur. Ancak temel fonksiyonların sayısı arttıkça daha güçlü bilgisayarlar kullanılmalıdır. Temel setlerin sınıflandırılması şu şekilde yapılır (Foresman and Frisch, 1996): Minimal baz setleri, yarılmış değerlik (Split Valance) baz settleri, polarize temel settler, diffüze fonksiyonları içeren baz settleridir.

#### 2.6.7.1. Minimal Temel Setler

Atom için gerekli olan temel fonksiyonları en az sayısında ihtiva eden settlerdir. STO-2G, STO-3G simgeleriyle ifade edilen settler örnek olarak verilebilir. Slater tipi orbitallerin kullanıldığı STO ile ifade edilirken, 2G veya 3G temel fonksiyon başına iki ve üç tane gaussian fonksiyonunun kullanıldığını ve bu fonksiyonların lineer kombinasyonundan meydana geldiğini gösterir.

### 2.6.7.2. Split Valens Temel Setler

Split valens çift zeta temel setler (3-21G, 4-21G, 6-31G, 6-311G....vb) olarak gösterilen setler, temel fonksiyon sayısını iki katına çıkarır. Bu setlerin oluşumunda iç kabuk orbitalleri ve değerlik orbitalleri iki temel fonksiyonla tanımlanır. Örneğin, 3-21G baz seti, iç yörüngenin üç temel gaussian fonksiyonunun birleşmesinden oluştuğunu ve 2 diğerinin 1 temel gaussian fonksiyonundan oluştuğunu gösterir.

### 2.6.7.3. Polarize Temel Setler

Polarize baz setleri, C, N, O gibi atomlara d-fonksiyonları, geçiş metallerine f-fonksiyonlarını ve H atomlarına p-fonksiyonları ilave edilerek meydana getirilir. Örneğin, çok yaygın olarak kullanılan 6-31G(d) yada 6-31G\* baz seti polarize bir baz setidir ve d-fonksiyonunun ilave edildiğini gösterir.

### 2.6.7.4. Difüz Fonksiyonları İçeren Baz Setleri

Difüz fonksiyona sahip temel kümeler, elektronların genellikle çekirdekte uzak olduğu sistemler için önemlidir. + işareti, hidrojen atomu dışında kalan ağır atomlar için baz setlerine difüz fonksiyonların ilave edildiğini belirtir. ++ işareti ise hem ağır atomlar için hem de hidrojen atomu için difüz fonksiyonlarının katıldığını gösterir. Difüz fonksiyonu genellikle negatif yüklü, ortaklanmamış elektronlu ve uyarılmış durumdaki sistemler için kullanılır. Ayrıca, dipol moment ve polarizabilite gibi bilgileri hesaplanırken difüz fonksiyonlarının ilave edilmesi uygun olur. Ancak hesaplama yapılırken her ilave zaman demektir, bu yüzden hedefe uygun baz seti tercih edilmelidir (Foresman and Frisch, 1996).

### **3.GEREÇ VE YÖNTEMLER**

#### **3.1.Deneysel ve Metodolojik Temeller**

Bu bölümde Luteolin, dCMP ve Luteolin-dCMP çözeltilerinin hazırlanması, bu çözeltilerin spektrokimyasal ve elektrokimyasal davranışlarının incelenmesinde kullanılan cihazlar, kimyasallar ve yöntemler hakkında bilgi verilmiştir.

##### **3.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar Luteolin (3',4',5,7-Tetrahidroksiflavon) ( $\geq 90\%$ , Merck, HPLC) ve 2'-Deoksisitidin 5'-Monofosfat ikisodyum tuzu (dCMP) ( $> 99\%$ , Lee bio, HPLC) 'tır. Fosfat Tampon Salin çözeltisi; NaCl (Merk),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (Merk), KCl (Merk) ve  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Carloebra) kimyasalları ile ultra saf distile su kullanılarak 7.4 pH'ta hazırlandı.

##### **3.1.2.Kullanılan Cihaz ve Yöntemler**

Tüm absorpsiyon çalışmaları Perkin Elmer Lambda 35 RF-5301PC Spectrometer Shimadzu cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Kullanılan kuartz kuvvetin kalınlığı ise 1 cm'dir.

Emisyon çalışmalarında Perkin Elmer LS-55 Spectrofluorophotometer cihazı kullanılmıştır. Floresan yoğunluklarının ölçümleri sırasında çözeltideki oksijeni uzaklaştırmak için azot gazı kullanılarak oksijen varlığından kaynaklanan floresan sönümlemenin önüne geçildi.

Döngüsel Voltametri ölçümleri için BASi Epsilon cihazıyla üç elektrot elektrokimyasal hücre kullanılmıştır. Çalışma elektrodu için camsı karbon elektrot (GCE), referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot ve karşı elektrot için platinyum tel kullanılmıştır. Döngüsel voltametri ölçümlerinde camsı karbon elektrotun cam gibi parlak olabilmesi için her ölçümden sonra alumina slurry(0.05lm) ile parlatıldıktan sonra saf su ile temizlenmiştir. Hazırlanan örneklerin herbiri ölçümden önce oksijenin uzaklaşması için yaklaşık 20dk. azot

gazından geçirilmiştir. Ayrıca, Ag/AgCl elektrodu ölçümlerde kullanıldıktan sonra 3 M KCl çözeltisine konularak saklanmıştır.

Yapılan tüm deneyler oda sıcaklığındadır ve ultra saf su kullanılarak 7.4 pH'ta PBS tampon çözeltisinde hazırlandı. 1 litre PBS tampon çözeltisi 137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 12H<sub>2</sub>O, 1.76 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> içermektedir.

### 3.2. Hesapsal ve Metodolojik Temeller

Bu çalışmada Luteolin, deoksiadenozin monofosfat (dAMP), deoksisitidin monofosfat (dCMP), deoksiguanozin monofosfat (dGMP) ve deoksitimidin monofosfat (dTMP) yapılarının üç boyutlu çizimi ve konformasyon analizi **Spartan Programı** kullanılarak yapıldı. Moleküllerden elde edilen tüm komformer yapılarının optimizasyonu **Gaussian 09 Programı** ile su fazda yapıldı (Frisch et al., 2009). Giriş dosyaları **Gaussview5.0 Programı**'nda hazırlandı (Dennington et al., 2009). Optimize edilen monomer yapıları içerinden en kararlı yapılar tespit edildi ve monomerlerin molekül yapıları dikkate alınarak donör-akseptör ilişkisi (olası H bağı, ikincil etkileşimler) öngörülen şekilde Luteolin-dAMP kompleksi, Luteolin-dGMP kompleksi, Luteolin-dCMP kompleksi ve Luteolin dTMP kompleksi Gaussview5.0 programında hazırlanarak Gaussian 09 programı ile su fazda optimize edildi. Hesaplamalar yoğunluk fonksiyonel teori (DFT) temelinde özellikle çalışılacak ikili sistemlerde van der Waals etkileşimleri, dispersif etkileşimler ve  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi ( $\pi$ - $\pi$  stacking) gibi zayıf etkileşimler önemli olabileceğinden bu tür etkileşimleri dikkate alan  $\omega$ B97XD fonksiyoneli (Grimme, 2006; Chai ve Head-Gordon, 2008) 6-31+G(d,p) (Petersson and Al-Laham, 1991; Petersson et al., 1988) baz seti ile birlikte kullanıldı.

Optimize edilen monomer ve kompleks yapılarının absorpsiyon spektrumlarının elde edilebilmesi ve yük/elektron transferi olup olmadığının belirlenebilmesi için temel halde elde edilen geometriler kullanılarak Zamana Bağlı Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (Time-Dependent Density Functional Theory, TD-DFT) yaklaşımı kullanılarak uyarılmış hal hesaplamaları yapıldı (Bauernschmitt ve Ahlrichs, 1988; Stratmann et al., 1988). Luteolin-nükleotid kompleks çalışmalarında uzun mesafeli korelasyon terimleri içeren (long-range correlation)

ve bu tür hesaplamalar için geliştirilmiş olan  $\omega$ B97XD/6-311++G(d,p) baz seti kullanılması literatürdeki çalışmalarda yapılan hesaplamaların deneysel veriler ile en uyumlu sonuçları verdiği görüldüğünden hesaplamalar öncelikle bu seviyede yapılmıştır. Elektronik geçişler, en düşük enerjili 40 singlet uyarılmış hali ( $S_0$ - $S_{40}$ ) kapsayacak şekilde yapılmıştır. En kararlı kompleks yapıların yük yoğunluk farkı (Charge density difference) ve moleküller arasındaki etkileşim türlerinin (Noncovalent interaction (NCI)) gösterilmesi ise Multiwfn Programı (Lu et al., 2012) ile yapıldı. Ayrıca, dimer komplekslerinin molekül elektrostatik potansiyel analizi yapıldı ve böylelikle molekülün şeklini, boyutunu, dipol momentini ve göreceli polaritesi gösterildi.



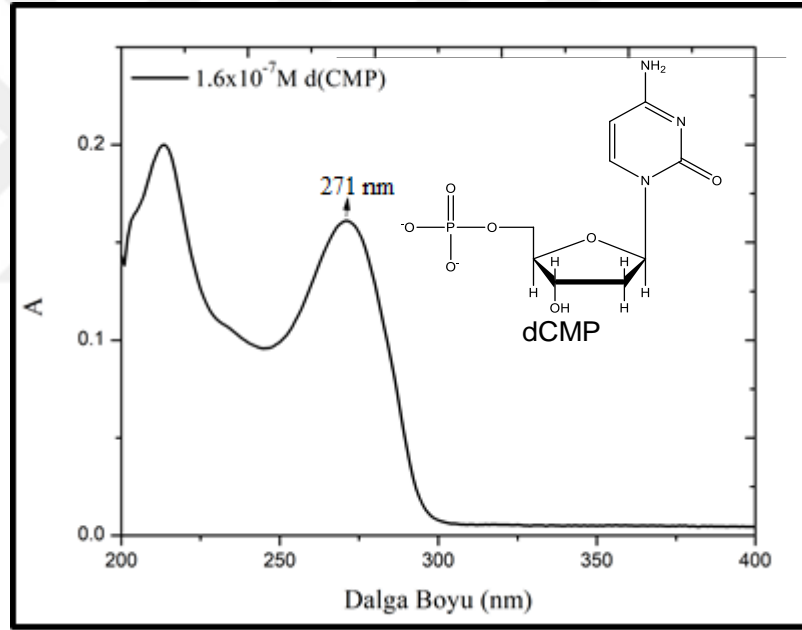


## 4. BULGULAR

### 4.1. Deneysel Bulgular

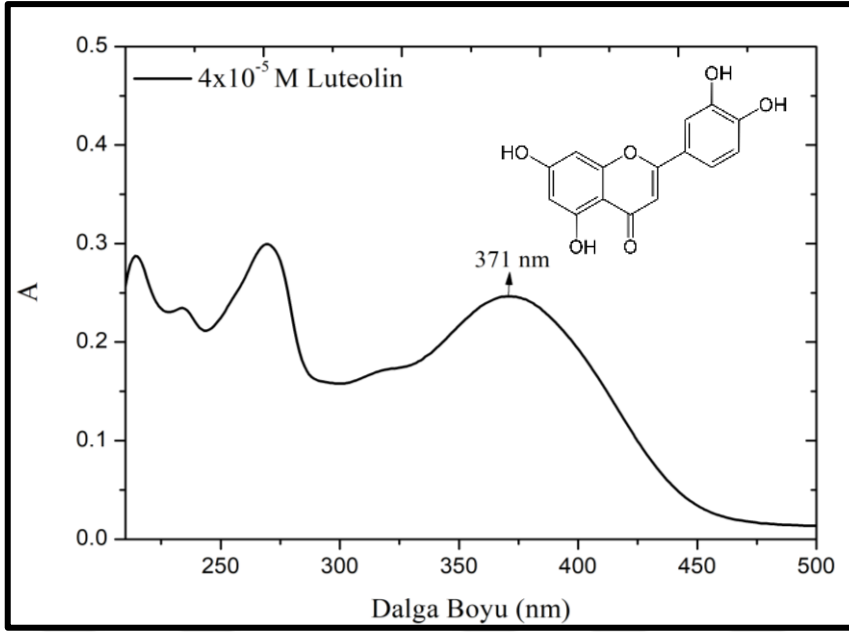
#### 4.1.1. UV/Vis Spektrumu

dCMP, Luteolin ve Luteolin-dCMP kompleksinin uygun absorpsiyon ölçümlerini belirleyebilmek için öncelikle çeşitli derişimlerde çözeltiler hazırlanmış ve bu ölçümlerin sonucunda uygun derişimler saptanmıştır. PBS tampon çözeltilisiyle 7.4 pH'ta  $1.6 \times 10^{-7}$  M dCMP ve  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin çözeltileri hazırlanmıştır ve çözeltilerin absorpsiyon spektrumları sırasıyla Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'te gösterilmektedir.



Şekil 4.1. PBS Tampon Çözeltilisinde  $1.6 \times 10^{-7}$  M dCMP UV/Vis Spektrumu

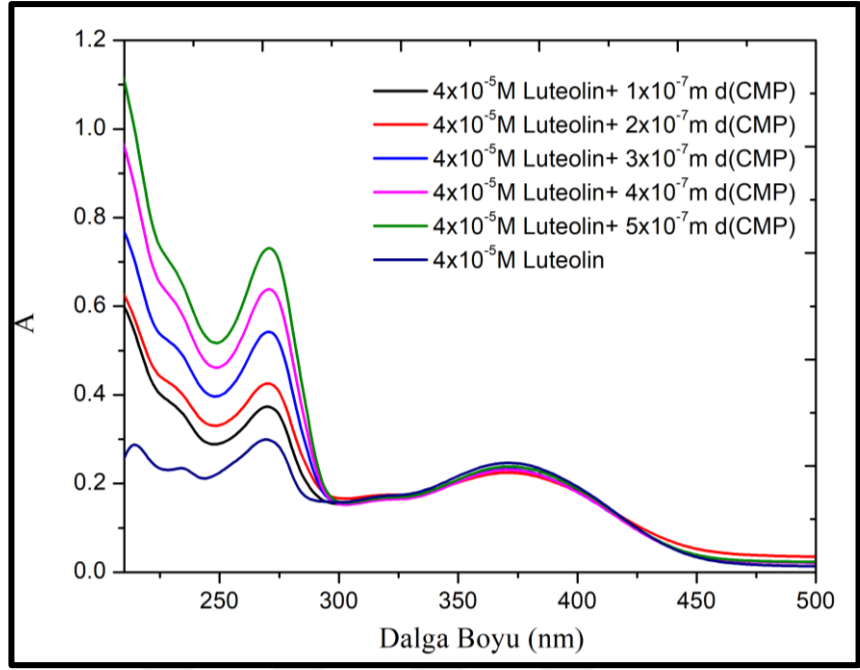
Elde edilen ölçümler sonucunda  $1.6 \times 10^{-7}$  M dCMP molekülünün iki absorpsiyon piki gözlenmiştir sırasıyla 213 nm ve 271 nm'dir. Şekil 4.2.'de  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin molekülünün absorpsiyon spektrumunda ise 265 nm ve 371 nm'de pikleri gözlenmiştir.



Şekil 4.1. PBS Çözeltisinde  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin UV/Vis Spektrumu

Elde edilen Luteolin ve dCMP absorpsiyon spektrumlarına göre Luteolin molekülü daha yüksek dalga boyunda uyarılırken dCMP molekülü ise daha düşük dalga boyunda uyarılır. Bu bilgi doğrultusunda Luteolin-dCMP kompleksinin aralarında donör akseptör ilişkisi için floresan spektrumu incelenmesinde hangi molekülün uyarılıp hangi molekülün temel seviyede tutulacağına karar verilmiştir.

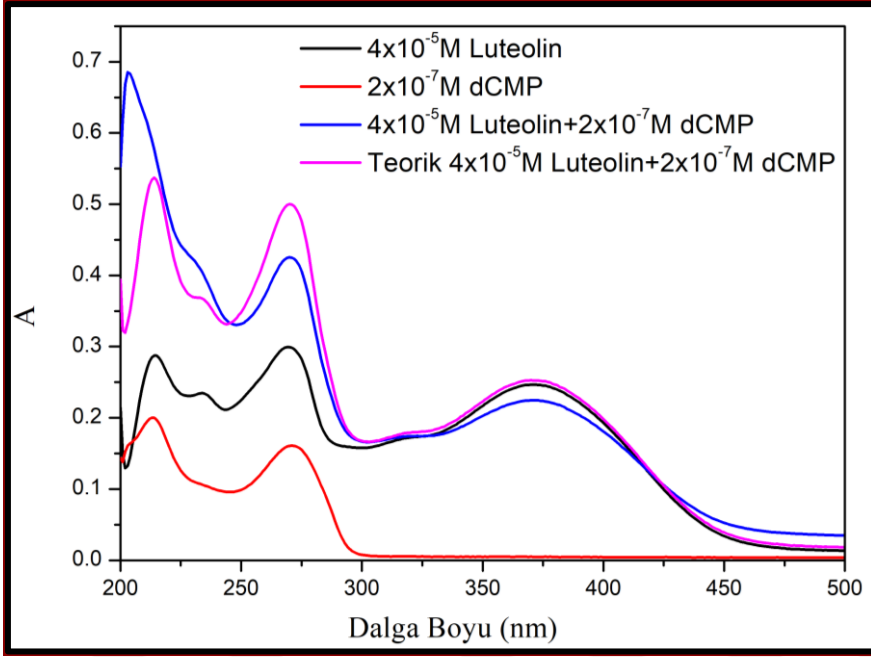
Luteolin-dCMP kompleksleri arasındaki etkileşimin anlaşılabilmesi için, UV/Vis spektroskopisi ölçümlerinde, Luteolin molekülü  $4 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonda sabit tutulmuş ve dCMP'nin sırayla  $1.0 \times 10^{-7}$  M,  $2.0 \times 10^{-7}$  M,  $3.0 \times 10^{-7}$  M,  $4.0 \times 10^{-7}$  M ve  $5.0 \times 10^{-7}$  M konsantrasyonlarıyla Luteolin- dCMP kompleksleri oluşturulmuştur. Çeşitli derişimlerde hazırlanan kompleksin absorpsiyon verileri Şekil 4.3.'te gösterilmektedir.



Şekil 4.2. PBS Tampon Çözeltilisinde Luteolin ve dCMP-Luteolin Kompleksinin UV/Vis Spektrumları

Şekil 4.3.'te gösterilen UV/Vis spektrumunda Luteolin-dCMP kompleksinde 371nm'de pik gözlenmektedir. Komplekste bulunan bu pikin nedeni Luteolin'in 371nm'de uyarılmasından kaynaklanmaktadır. Diğer pik ise 270 nm'de gözlenmektedir. Burada ise Luteolin-dCMP kompleksinde dCMP'inin derişimin artıka absorpsiyon şiddetinin arttığı ve 1 nm kaymaya (**maviye kayma**) neden olduğu saptanmıştır. Rezonans etkisi, n elektronlarına sahip heteroatom ile karbonilin konjuge olmasında gerçekleşen etkidir. Bağ oluşumunda kullanılmayan n elektronları ile karbonilin p elektronları rezonansa girer. Rezonans, heteroatomlar üzerindeki n elektronlarının yerel (lokal) değil system üzerine dağılmasına (delokalize) neden olur. Sonuçta n elektronlarını çok daha sıkı tutar. Bunun sonucunda  $n \rightarrow \pi^*$  absorpsiyonu yüksek enerjiye yani düşük  $\lambda$  değerine kayar (maviye kayma (hipsokromik etki)).

Ayrıca bu bölgede hem Luteolin hem de dCMP molekülü de uyarıldığından dolayı komplekste dCMP derişiminin artması absorpsiyon miktarının artmasına da neden olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.4. PBS Tampon Çözeltisinde dCMP-Luteolin Kompleksinin Deneysel ve Teorik UV/Vis Spektrumları

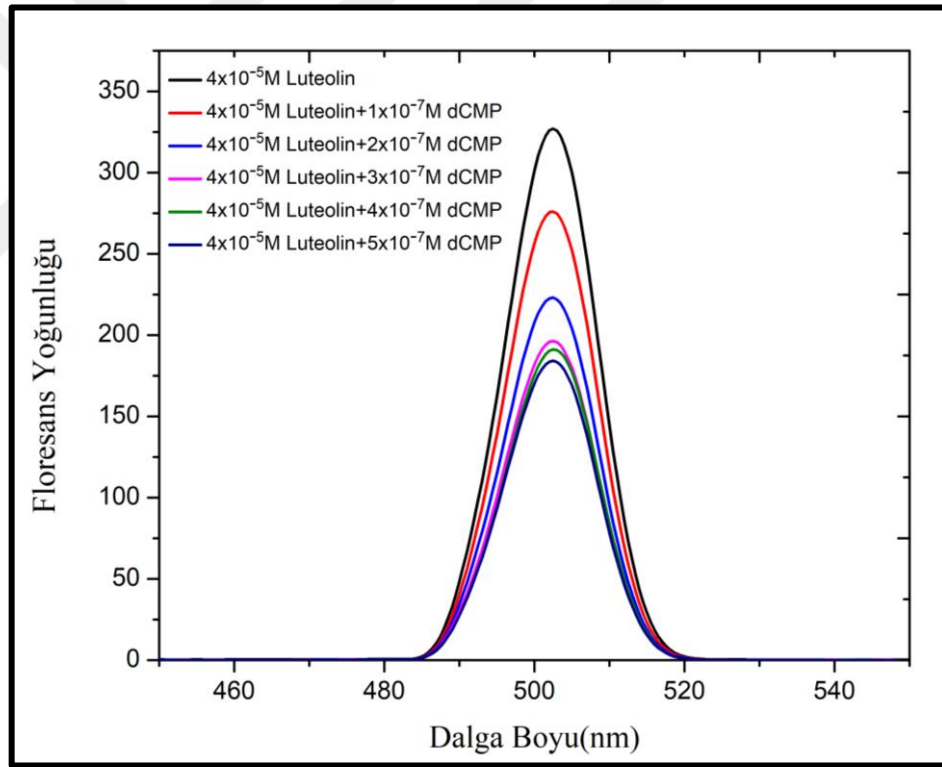
Şekil 4.4.'teki UV/Vis spektrumlarına bakıldığında  $2 \times 10^{-7} \text{ M}$  dCMP ve  $4 \times 10^{-5} \text{ M}$  Luteolin spektrumlarından yararlanılarak teorik Luteolin-dCMP kompleksi'nin UV/Vis spektrumu elde edilmiştir. Luteolin-dCMP kompleksinin toplam ve deneysel spektrumları karşılaştırıldığında 271nm'de absorpsiyon şiddetleri sırasıyla 0.50 ve 0.42 olarak tespit edilerek spektrumun **hipokromizm** etki yaptığı gözlemlendi.

Liu ve Sirajuddin arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalara göre interkalasyonla DNA'ya bağlanan bu ilaçlar genellikle hipokromizm (absorpsiyon şiddetinde azalma) ve batokromizm (dalga boyunun artması veya kırmızıya kayma) gösterir. Nükleotidler ile ilacın aromatik kromofor grupları arasında bir istiflenme etkileşimini içeren interkalatif bağlanmadan dolayı hipokromizm derecesi genellikle interkalatif etkileşimin gücüne bağlıdır. İnterkalasyonun gücü nükleotidler ve interkale olan molekül arasındaki uzaklığa bağlıdır. Nükleotid ile interkale olan molekül arasındaki uzaklık azaldığı zaman hipokromizm artar. Böylece DNA bazlarının  $\pi$  elektronları ile bileşiğin  $\pi$  elektronlarının uygun şekilde örtüştüğünün bir göstergesi olarak,  $\pi$  ve  $\pi^*$  enerji seviyeleri arasındaki fark azalır ve bileşiğin  $\pi$  bağı orbitalinden polinükleotidin  $\pi^*$  orbitaline elektron transferi daha kolay meydana gelir. Sonuç olarak dalga boylarında kırmızı veya maviye kayma

görülür. Bu durumda Luteolin ile dCMP arasında,  $\pi$  ve  $\pi^*$  etkileşimin varlığı saptanmıştır.

#### 4.1.2. Floresans Spektrumu

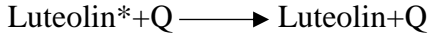
Luteolin-dCMP kompleksinin emisyonunun incelemek için Floresans spektroskopisi kullanılmıştır. Sabit konsantrasyon Luteolin molekülü ( $4 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile  $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ ,  $2.0 \times 10^{-7} \text{M}$ ,  $3.0 \times 10^{-7} \text{M}$ ,  $4.0 \times 10^{-7} \text{M}$  ve  $5.0 \times 10^{-7} \text{M}$  konsantrasyonlarda hazırlanan dCMP çözeltileriyle kompleks oluşturularak 430 nm'de Luteolin molekülünün uyarılıp dCMP molekülünün temel halde durumunda ve Luteolin-dCMP kompleksinin emisyonları incelenmiştir. Emisyon sonucu Şekil 4.5.'de yer almaktadır.



Şekil 4.5. PBS Tampon Çözeltisinde Luteolin-dCMP Kompleksinin Floresans Spektrumları

UV/Vis absorpsiyon ölçümlerinde 430nm'de Luteolin molekülünün piki varken dCMP molekülünü uyarılmamaktadır. Bu bilgi doğrultusunda emisyon işleminde 430nm'de Luteolin molekülü uyarılmıştır.

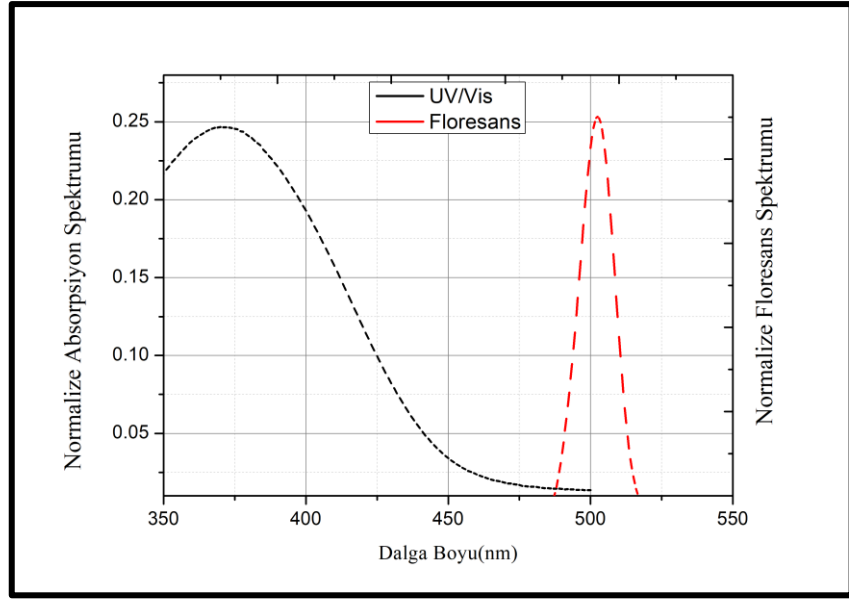




Luteolin-dCMP kompleksinde, Luteolin molekülünün uyarılma enerjisi dCMP molekülü tarafından sönmelenmektedir. Sönmelenme şiddetleri sırasıyla  $5.0 \times 10^{-7} \text{M}$  dCMP+  $4.0 \times 10^{-5} \text{M}$  Luteolin kompleksi >  $4.0 \times 10^{-7} \text{M}$  dCMP+  $4.0 \times 10^{-5} \text{M}$  Luteolin kompleksi >  $3.0 \times 10^{-7} \text{M}$  dCMP+  $4.0 \times 10^{-5} \text{M}$  Luteolin kompleksi >  $2.0 \times 10^{-7} \text{M}$  dCMP+  $4.0 \times 10^{-5} \text{M}$  Luteolin kompleksi >  $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$  dCMP+  $4.0 \times 10^{-5} \text{M}$  Luteolin kompleksi'dir. dCMP molekülünün komplekste konsantrasyonu arttıkça sönmelenme şiddetinin arttığı gözlenmiştir.

Joshi, Mati ve Cui arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma sonucunda ilaç DNA molekülüne bağlanırsa floresans sönmelenme gerçekleştiği ve DNA eklenmeden önceki spektrumu ile karşılaştırıldığında floresans emisyonunda belirgin bir artış olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Oluk bağlayıcı bileşikler, elektrostatik, hidrojen bağı, moleküllerin şeker-fosfat bağına yakın olması durumunda artan oranda nükleotid eklenmesi, bileşiğin floresans şiddetinde azalmaya sebep olmuştur. Bu bilgiler doğrultusunda Şekil 4.5.'te artan dCMP konsantrasyonu ile birlikte sönmelenmenin artması Luteolin molekülü ile dCMP nükleotidi arasınada ikincil etkinin varlığını kanıtlamaktadır.

Kuantum sisteminde bir atom ya da molekül, bir foton soğurduğunda enerji kazanarak uyarılmış duruma geçer. Ancak sistem kararlı hale gelmek için foton yayar, yani ışımaya yaparak enerji verir. Yayılan bu fotonun enerjisi soğrulan fotonun enerjisinden daha az bir enerjiye sahiptir. Bu enerji farkı Stokes Kayması olarak adlandırılır.

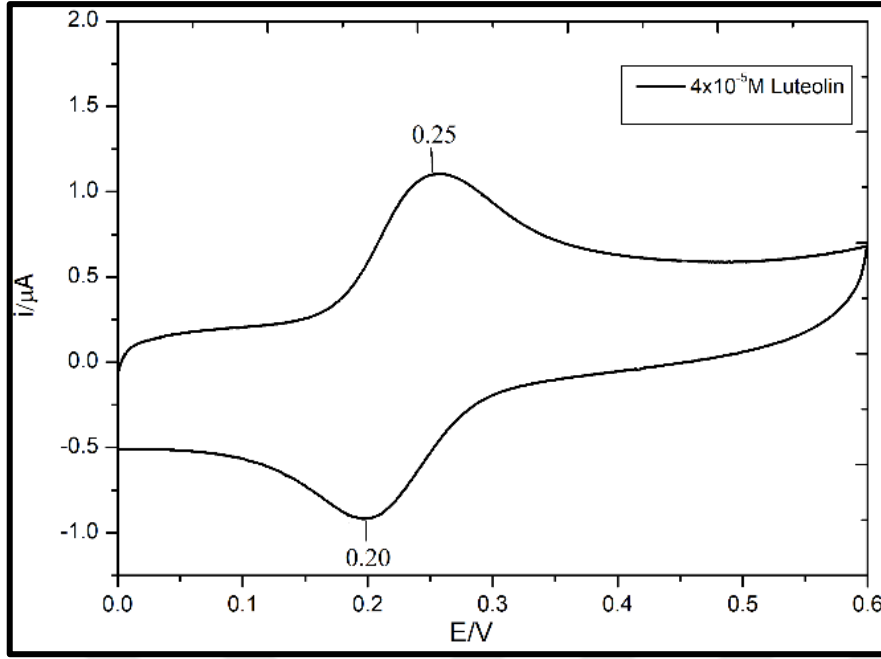


**Şekil 4.6.** Luteolinin  $E_{00}=488$  nm’de PBS Tampon Çözeltilisinde Normalize Edilmiş Absorpsiyonu ve Floresans Spektrumu

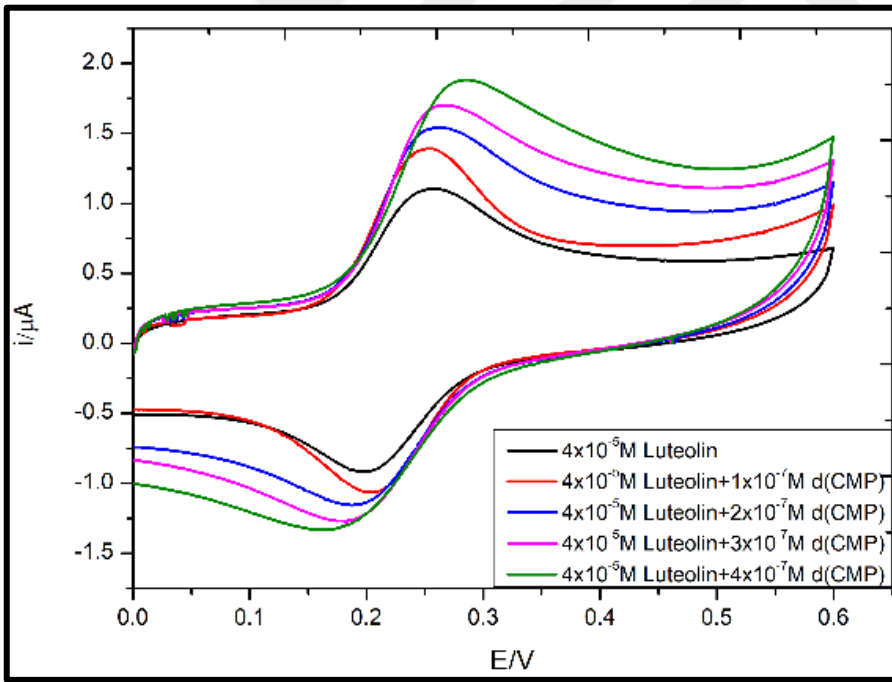
Luteolin molekülünün Normalize edilen absorpsiyon ve floresans spekturmu Şekil 4.6.’de gösterilmektedir. Resonans dalgaboyu 488 nm ‘dir ( $E_{00} = 488$ nm (2.54 eV)).

#### 4.1.3. Döngüsel Voltamogram

Döngüsel voltametri ile Luteolin molekülü ve çeşitli derişimlerde bulunan Luteolin-dCMP kompleksinin 100mV/s tarama hızıyla gerçekleşen voltamogramı Şekil 4.7.’de yer almaktadır.



Şekil 4.7.  $4 \times 10^{-5} \text{ M}$  Molekülünün 7.4 pH'ta Döngüsel Voltamogramının  $100 \text{ mV/s}$ 'lik Tarama Hızı



Şekil 4.8.  $4 \times 10^{-5} \text{ M}$  Luteolin ve Farklı Derişimlerde dCMP ile Luteolin-dCMP Kompleksinin 7.4 pH'ta Döngüsel Voltamogramının  $100 \text{ mV/s}$ 'lik Tarama Hızı

Luteolin molekülü ve farklı derişimlerde döngüsel voltametri analizi yapılan Luteolin-dCMP kompleksinin daha iyi anlaşılması için Şekil 4.8.'te bulunan voltamogramları kullanılarak Tablo 4.1.'de molekül ve komplekslerin anodik

( $i_p^a$ ) ve katodik ( $i_p^k$ ) pik akımlarının büyüklükleri, katodik ( $E_p^k$ ) ve anodik potansiyeli ( $E_p^a$ ) incelenmiştir. Tersinir sistemler için bu değerler oldukça önemlidir.

**Tablo 4.1.** Luteolin ve Luteolin-dCMP komplekslerinin pH 7.4'te PBS tampon çözelti ortamındaki elektrokimyasal karakteristik özelliklerinin karşılaştırılması

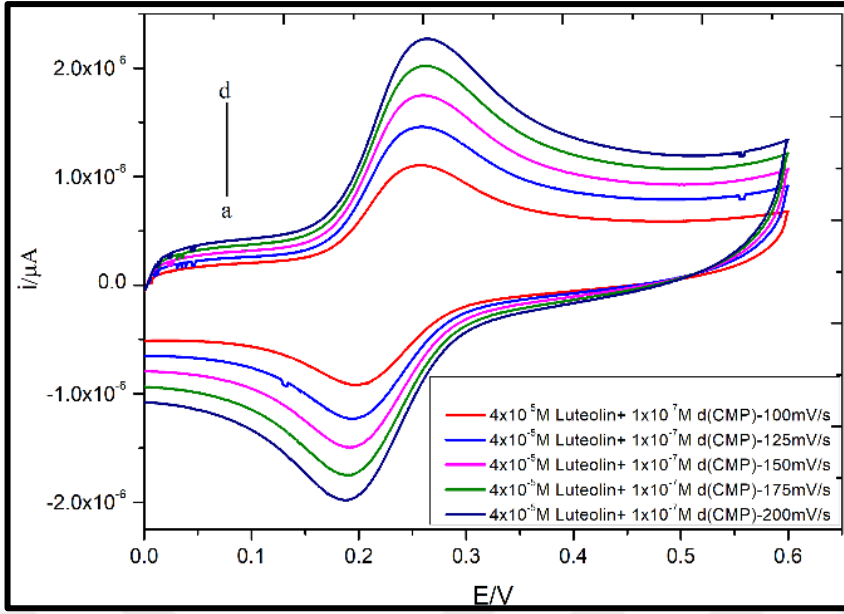
Elektrot	$E_p^a$ / V	$E_p^k$ / V	$\Delta E_p$ / V	$i_p^a$ / $\mu A$	$i_p^k$ / $\mu A$	$i_p^k / i_p^a$
a	0.200	0.250	0.05	1.23	1.32	1.07
b	0.206	0.252	0.046	1.39	1.58	1.13
c	0.193	0.261	0.068	1.50	1.71	1.14
d	0.182	0.266	0.084	1.61	1.87	1.16
e	0.165	0.283	0.118	1.71	2.04	1.19

a:  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin,

b:  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin +  $1 \times 10^{-7}$  M dCMP, c:  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin +  $2 \times 10^{-7}$  M dCMP,

d:  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin +  $3 \times 10^{-7}$  M dCMP, e:  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin +  $4 \times 10^{-7}$  M dCMP

Elektrotların katodik pik akımının ( $i_p^k$ ) anodik pik akımına ( $i_p^a$ ) oranı tepkime hakkında yorum yapmamızı sağlamaktadır. Elde edilen sonuçlarda Luteolin molekülü ve artan dCMP konsantrasyonları ile elde edilen Luteolin-dCMP komplekslerinin  $i_p^k / i_p^a$  oranlarına bakıldığında değerlerin 1'e yakın olması nedeniyle Luteolin ile dCMP nükleotidi arasında tersinir tepkimeye sahip olduğu söylenebilir fakat bundan daha emin olmak Şekil 4.9.'da Luteolin-dCMP kompleksinin oksidasyon ve reduksiyon pikleri farklı tarama hızlarında incelenmiştir.



**Şekil 4.9.** Luteolin-dCMP Kompleksinin 7.4 pH'ta Döngüsel Voltamogramı a:100, b:125, c:150, ç:175, d:200mV/s'lik Tarama Hızı ( $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin,  $1 \times 10^{-7}$  M dCMP)

Tarama hızı 100 mV/s'den 200 mV/s aralığında bakılarak tarama hızı arttıkça lineer bir şekilde tarama oranında arttığı gözlemlenmiştir. Tablo 4.2.'de Lutolin-dCMP kompleksinin farklı tarama hızlarından elde edilen voltamogramlarından katodik **pik akımının** ( $i_p^k$ ) anodik **pik akımına** ( $i_p^a$ ) oranı hesaplandı. Tarama hızının artışı ile  $i_p^k/i_p^a$  oranının sabit kalması Luteolin-dCMP kompleksinin tersinir tepkimeye sahip olduğunu kanıtlamaktadır.

**Tablo 4.2.**  $4 \times 10^{-5}$  M Luteolin+ $1 \times 10^{-7}$  M dCMP kompleksinin pH 7.4'te PBS tampon çözelti ortamında farklı tarama hızlarında elektrokimyasal karakteristik özelliklerinin karşılaştırılması

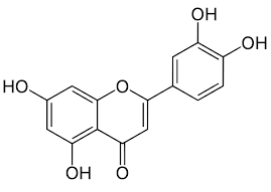
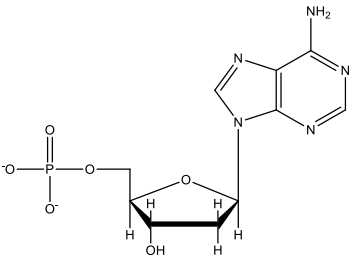
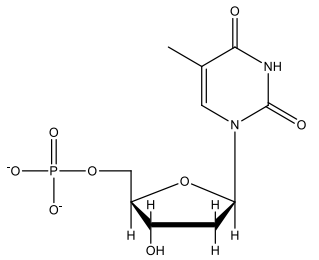
Tarama hızı (mV/s)	$E_p^a$ / V	$E_p^k$ / V	$\Delta E_p$ / V	$i_p^a$ / $\mu$ A	$i_p^k$ / $\mu$ A	$i_p^k / i_p^a$
100	0.250	0.255	0.005	1.38	1.33	0.97
125	0.195	0.250	0.055	1.56	1.69	1.09
150	0.192	0.258	0.066	1.90	2.08	1.09
175	0.190	0.256	0.066	2.19	2.34	1.07
200	0.190	0.261	0.071	2.50	2.65	1.06

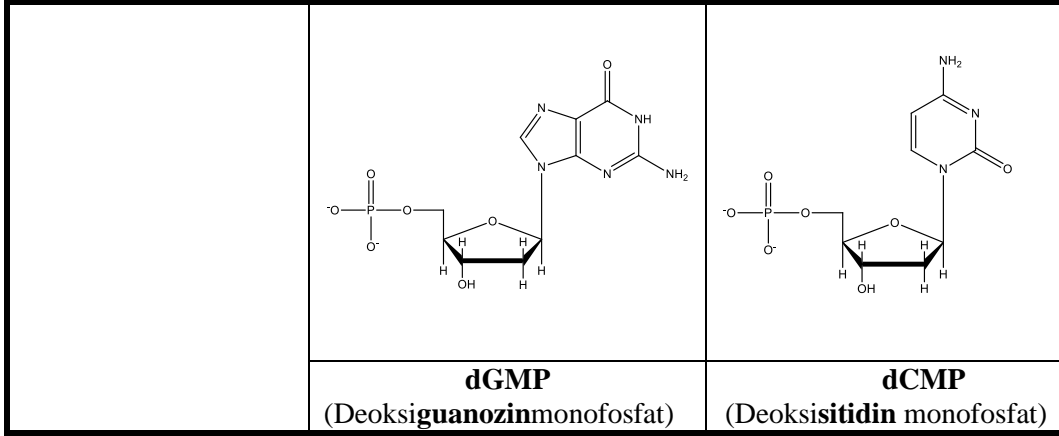
## 4.2. Hesapsal Bulgular

Bu bölümde, yöntem kısmında belirtildiği şekilde konformasyonel analiz, optimizasyon ve frekans analizleri yapılan Luteolin, dAMP, dCMP, dGMP ve dTMP için toplam elektronik enerji, sıfır nokta titreşim enerjisi, moleküler geometri, dipol moment, molekül içi hidrojen bağları gibi bilgilere ilişkin tablo ve şekiller verilerek, verilen bu bilgilerin tartışmaları yapılacaktır. Optimize edilen moleküllerin absorpsiyon spektrumları ve elektronik geçişlerin belirlenecektir. İkinci aşamada ise Luteolin ile nükleotidler arasında oluşacak komplekslerin olası moleküler geometrileri, toplam elektronik enerji, sıfır nokta titreşim enerjisi, dipol moment bilgileri şekil ve tablo olarak verilerek, bu bilgilerin tartışması yapılacaktır. Optimize edilen dimer komplekslerinin aralarındaki etkileşimlerinin hangi türe ait olduğunu net olarak söylebilmek için kovalent olmayan etkileşim (NCI) Analizi'nin Azaltılmış Yoğunluk Gradyanı (Reduced Density Gradient (RDG)) (Johnson et al., 2010) methodundan yararlanılarak her bir dimer kompleks için Luteolin ile nükleotidler arasındaki ikincil etkileşimlerinin tespit edilmesi sağlanacaktır.

### 4.2.1. Monomerler

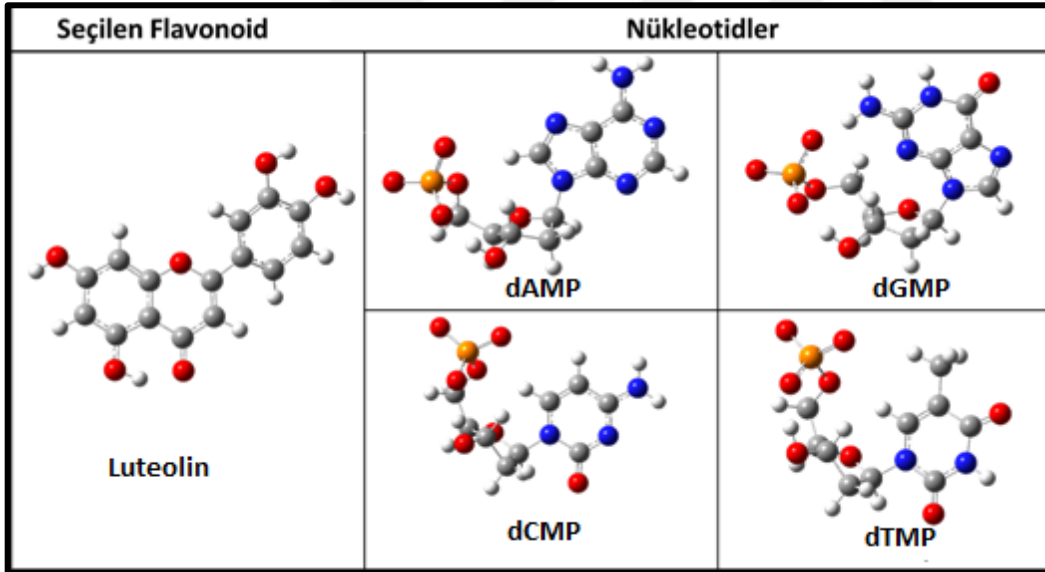
Hesapsal çalışmada öncelikli olarak Şekil 4.10.'da gösterilen Luteolin, dAMP, dCMP, dGMP ve dTMP gösterilen iki boyutlu monomerlerin üç boyutlu yapıları Spartane Programı kullanılarak elde edildi.

Seçilen flavonoidin iki boyutlu yapısı	Nükleotidler	
 <p><b>Luteolin</b></p>	 <p><b>dAMP</b> (Deoksiadenozin monofosfat)</p>	 <p><b>dTMP</b> (Deoksitimidinmonofosfat)</p>



Şekil 4.10. Çalışılan Monomer Yapıların İki Boyutlu Yapıları

Şekil 4.11.'de belirtilen üç boyutlu her bir monomer yapıları için konformasyon analizi yapıldı ve konformasyon analizi sonucunda Luteolin molekülünün 32 adet ve nükleotid moleküllerinin herbiri için 100 adet konformerler saptandı.



Şekil 4.11. Optimize Edilen Monomer Yapılar

Luteolin ve nükleotidlerin (dAMP, dCMP, dGMP ve dTMP) konformerleri belirlendikten sonra her bir monomerin konformer yapıları su fazında Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT)  $\omega$ B97XD/ 6-31+G(d,p) basis seti kullanılarak optimize edilmiştir. Elde edilen optimize edilmiş tüm monomer yapılarının enerjileri karşılaştırılarak en düşük enerjiye sahip olan en kararlı yapılar saptanmıştır ve kararlı yapıların sonuçları Tablo 4.3.'de verilmiştir.

**Tablo 4.3.** Monomerlerin su fazında  $\omega$ -B97XD/6-31+(d,p) seviyesinde konformerinin dipol momentleri ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri, sıfır nokta titreşim enerjisi ( $ZPE$ , Hartree), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerjisi ( $E_{\text{elek}}+ZPE$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerjisi ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree), frekans ( $\text{Frek.}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ )

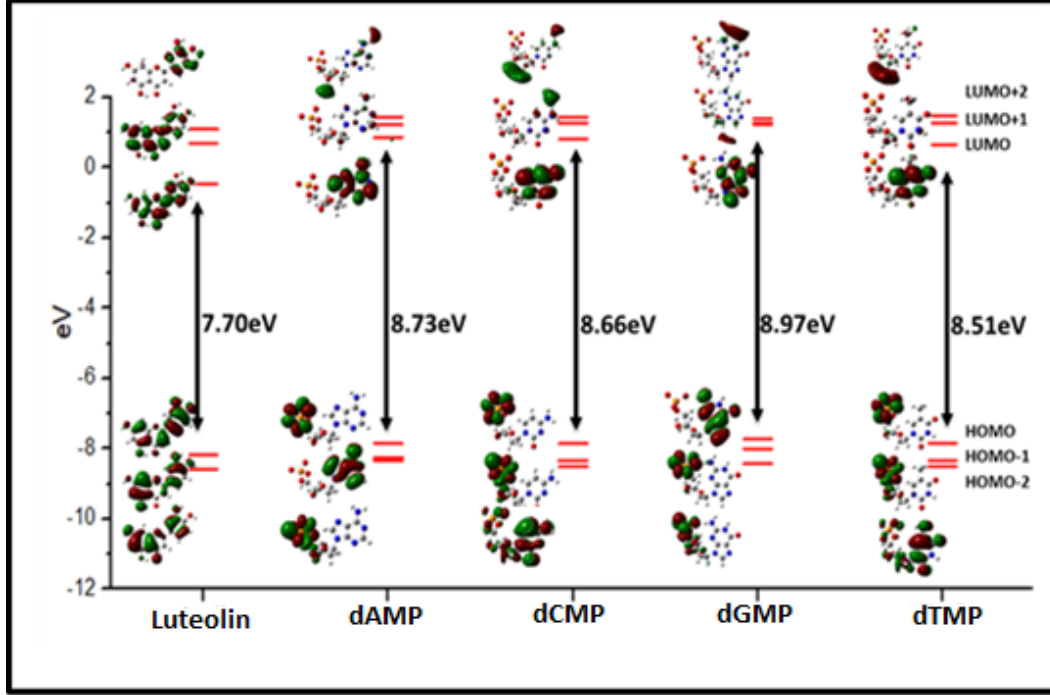
Suda	$\mu$ (D)	$E_{\text{elek}}$ (Hartree)	$ZPE$ (Hartree)	$E_{\text{elek}} + ZPE$ (Hartree)	$E_{\text{elek}}+\Delta G$ (Hartree)	$\text{Frek.}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )
<b>Luteolin</b>	6.46	-1028.71518	0.228	-1028.48718	-1028.53208	23.00
<b>dAMP</b>	34.52	-1454.87544	0.252	-1454.62286	-1454.67319	9.14
<b>dCMP</b>	22.68	-1382.51778	0.239	-1382.27837	-1382.32453	15.27
<b>dGMP</b>	23.18	-1530.11587	0.258	-1529.85816	-1529.90498	7.31
<b>dTMP</b>	25.39	-1441.70179	0.255	-1441.44651	-1441.49420	33.99

Tablo 4.3.'te verilen monomerlerin frekans değerlerinin sıfırdan büyük, pozitif değerlerde olması optimize edilen kararlı yapıların reel yapılar olduğunu göstermektedir. Dipol moment sonuçlarına bakıldığında ise nükleotidlerin dipol moment değerleri, Luteolin molekülünden daha fazla olmasının nedeni nükleotidlerin anyonik yapıda olmalarından dolayı kaynaklanmaktadır.

Monomerlerin absorpsiyon spektrumlarının elde edilebilmesi ve yük/elektron transferi olup olmadığının belirlenebilmesi için temel halde elde edilen geometriler kullanılarak Zamana Bağlı Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (Time-Dependent Density Functional Theory, TD-DFT) yaklaşımı kullanılarak uyarılmış hal hesaplamaları yapılmıştır. Elektronik geçişler, en düşük enerjili 40 singlet uyarılmış hali (S0-S40) kapsayacak şekilde belirlenmiştir.

En yüksek dolu moleküler orbital (HOMO) ve en düşük dolu olmayan moleküler orbital (LUMO) geçişlerinin enerjisi su fazında gösterilmiştir. HOMO ve LUMO orbitalleri için temel hal durumu ve bileşiklerin uyarılmış durum denge geometrisi için elektron yoğunluk grafikleri kompleksler için gösterilmiştir.

Şekil 4.12.'de Luteolin, dAMP, dCMP, dGMP ve dTMP moleküllerinin uyarılmış halleri HOMO-LUMO geçişleri ve HOMO'dan LUMO'ya geçiş için gerekli olan en düşük enerji ( $E_{\text{gap}}$ )elektrovolt olarak hesaplanarak şematik olarak verilmiştir.



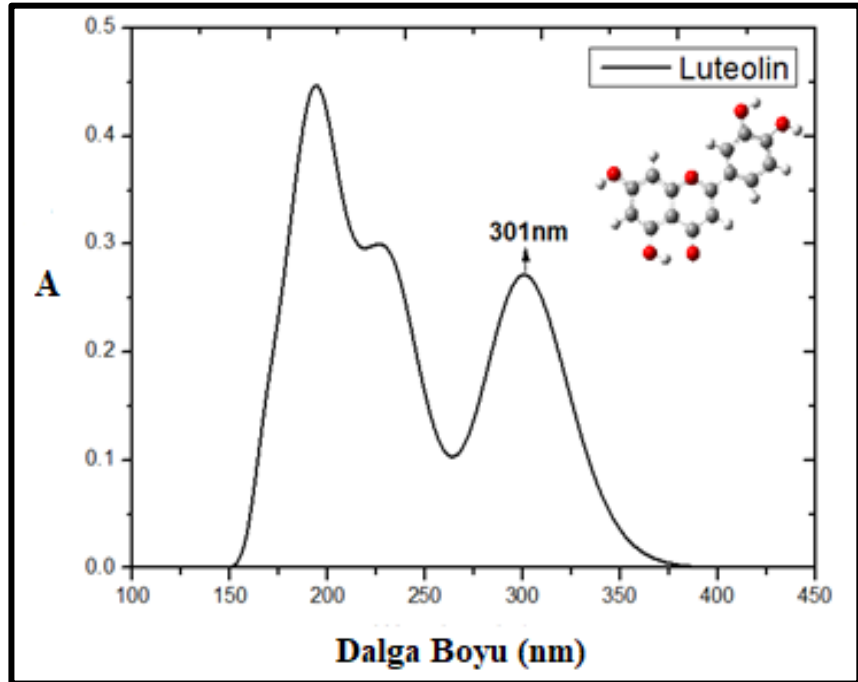
Şekil 4.12. Monomer Yapıların Uyarılmış Halleri ve  $E_{\text{gap}}$  Enerjileri

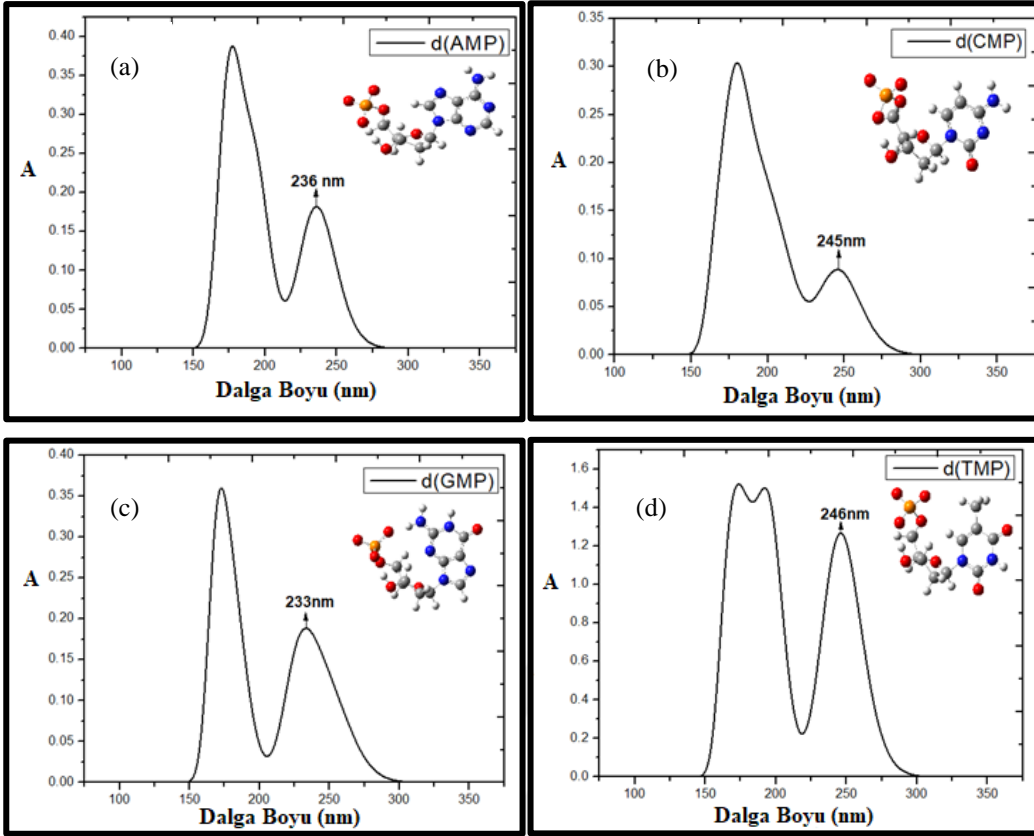
Moleküllerin HOMO-LUMO geçişleri incelendiğinde, dAMP için HOMO'da elektron yoğunluğu fosfat grubunda iken uyarılma gerçekleştirildiğinde LUMO'da elektron yoğunluğu fosfat grubundan nükleobaza kaydığı görülmektedir. Benzer durum dCMP ve dTMP nükleotidlerde görülürken, dGMP molekülünde ise HOMO-1'de elektron yoğunluğu fosfat grubunda iken uyarılma sonucunda elektron yoğunluğu LUMO'da nükleobaza kaymıştır. İncelenen monomer yapılar içerisinde HOMO-LUMO arasındaki elektronik geçişin farkı sırasıyla; dGMP (8.97eV) > dAMP (8.73eV) > dCMP (8.66eV) > dTMP (8.51eV) > Luteolin (7.70eV)'dir. Bu sıralamaya göre  $E_{\text{gap}}$  büyüklüğü en düşük olan Luteolin'in elektronik geçişi nükleotidlere göre daha az enerji ile gerçekleşmektedir. Tablo 4.4.'de ise monomerlerin temel haldeki elektronik geçişleri ve bu geçişlere karşılık gelen dalga boyları yer alırken Şekil 4.13. ve Şekil 4.14.'de monomerlerin hesapsal çalışmalar sonucunda elde edilen UV/Vis spektrum sonuçları gösterilmektedir.

**Tablo 4.4.** İncelenen Monomerler için Temel Elektronik Geçişler ve Karşılık Gelen Dalga Boyları

Monomer	Su fazında	
	Geçişler	$\lambda$ (nm)
Luteolin	$S_0 \rightarrow S_1$	301.82
dAMP	$S_0 \rightarrow S_1$	236.26
dCMP	$S_0 \rightarrow S_1$	252.11
dGMP	$S_0 \rightarrow S_1$	245.90
dTMP	$S_0 \rightarrow S_1$	246.01

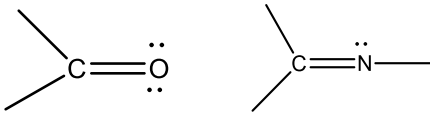
Monomerlerin temel elektronik geçişlerinde temel halden ilk singlet uyarılmış hale gelmesi için gerekli olan enerji sırası dAMP>dGMP> dTMP> dCMP> Luteolin'dir. Bölüm 2.5.1.1. UV/Vis Spektroskopisi'nde değinildiği gibi dalgaboyunun 200 nm' den büyük olduğu durumlarda foton absorpsiyonu n veya  $\pi$  elektronlarının geçişlerini başlatır. Monomerlerin elektronik geçişlerinin 200 nm'den büyük olması  $n \rightarrow \pi^*$  veya  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişleri yapıldığını göstermektedir.

**Şekil 4.13.** Luteolin Molekülünün UV/Vis Spektrumu

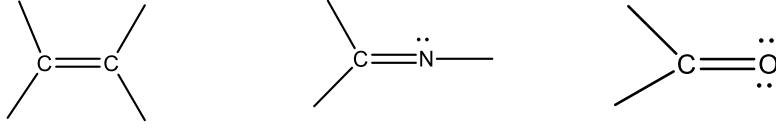


Şekil 4.14. (a) dAMP, (b) dCMP, (c) dGMP ve (d) dTMP Nükleotidlerinin UV/Vis Spektrumu

Nükleotidlerin 200nm'den uzun dalga boyunda absorpsiyon yapmalarının nedenlerinden biri  $n - \pi^*$  geçişlerinden ileri gelir. Nükleotidlerde bulunan  $n$  eşleşmemiş elektronları ve  $\pi$  elektronlarının varlığından kaynaklanmaktadır. Bu geçişler aşağıdaki grublarda gerçekleşir.

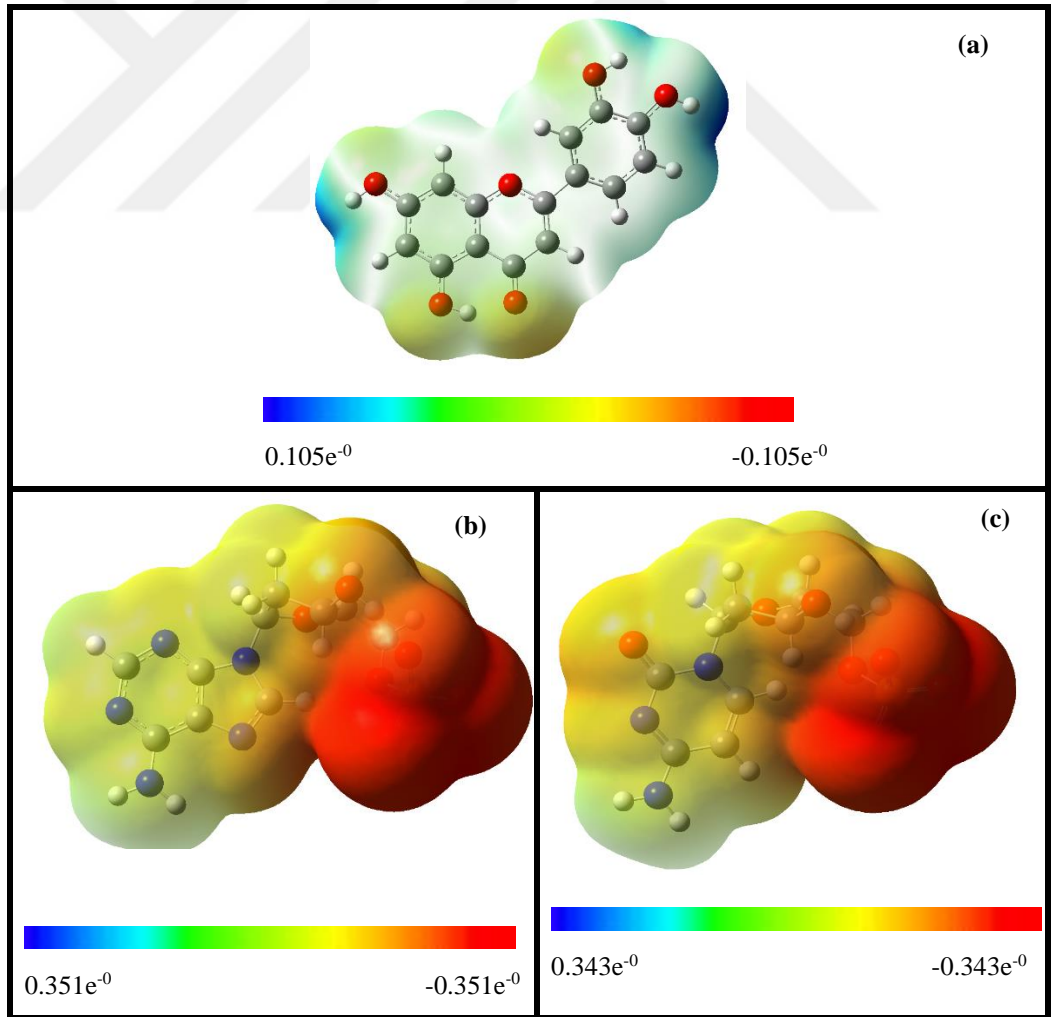


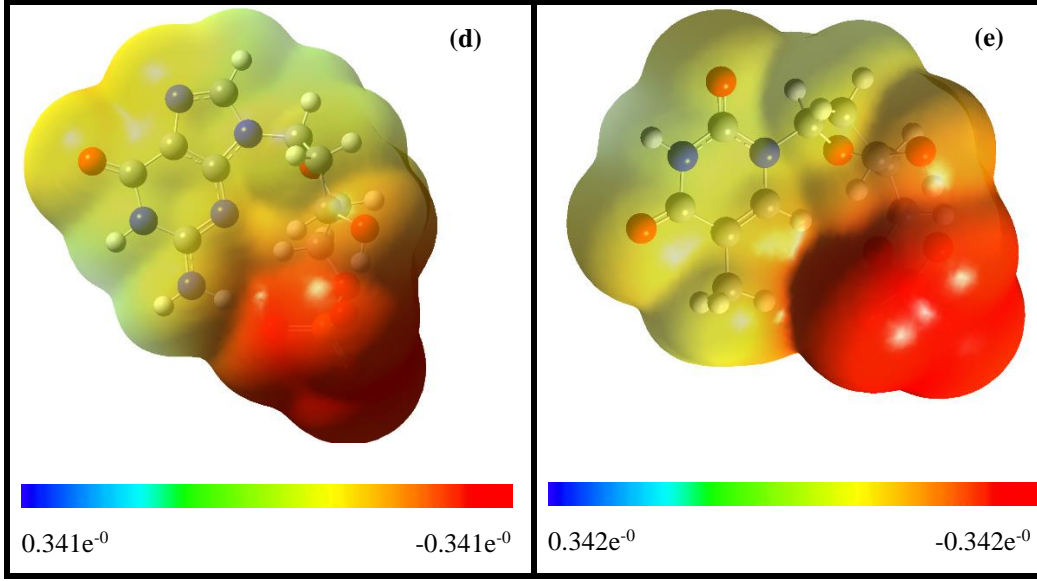
Ayrıca, Luteolin ve nükleotidlerde alken yapılarında  $\pi$  elektronlarının bulunmasından dolayı  $\pi - \pi^*$  geçişlerine meydana gelmektedir. Çok rastlanan geçişlerden biridir. Bu geçişler, dalga boyu 200-700 nm olan daha az enerjili ışınlarla gerçekleştirilebilirler. Bu geçişler monomerlerin yapısında bulunan aşağıda belirtilen grupların uyarılmasıyla gerçekleşmektedir.



Molekülün elektrostatik potansiyeli (MEP), elektronegatiflik ve farklı atomlar üzerindeki kısmi yüklerle ilgili bir analiz türüdür. MEP yüzey analizi çalışması, charge-dipol, dipol-dipol ve quadropol-dipol etkileşimlerini içeren biyolojik moleküllerle bağ yapabilme özelliklerinin anlaşılması için kullanışlı bir yöntemdir (Murray ve Sen 1996).

MEP haritası, molekülün şeklini, boyutunu, dipol momentini ve göreceli polaritesini gösterir. Molekülün elektrofilik ve nükleofilik reaktif bölgeleri de MEP haritası yardımıyla tanımlanabilir. Şekil 4.15.'te monomer moleküllerinin MEP haritası gösterilir.





**Şekil 4.15.** Optimize Edilen (a) Luteolin, (b) dAMP, (c) dCMP, (d) dGMP ve (e) dTMP Moleküllerinin MEP Haritası

Monomerlerin MEP haritasına göre molekülün elektrostatik potansiyel seviyelerine bakıldığında nükleotidlerin elektrostatik potansiyeli birbirine yakındır ve büyükten küçüğe dAMP, dCMP, dTMP, dGMP ve Luteolin'dir.

Luteolin molekülünün MEP haritasında oksijen atomlarının buldukları alanlar kırmızıya daha yakınken nükleofilik, hidroksi(-OH) gruplarında bulunan H atomlarının buldukları alanlar ise maviye daha yakın olarak elektrofilik yapıdadır.

Nükleotidlerin MEP haritasına bakıldığında ortak olan özellikleri herbirinin de fosfat grupları anyonik yapıda ve oksijen atomlarında bulunan eşleşmemiş elektronlarından dolayı yoğun kırmızı renkte olup nükleofilik özelliktedir. dAMP ve dCMP moleküllerinde bulunan amin gruplarının (-NH<sub>2</sub>) buldukları alanların maviye döndüğü diğer alanlara göre daha fazla elektrofilik özelliğe sahiptirler.

MEP haritasında, monomerlerin nükleofilik ve elektrofilik özellikleri dikkate alınarak olası Luteolin-dAMP kompleks, Luteolin-dCMP kompleks, Luteolin-dGMP kompleks ve Luteolin-dTMP kompleks konformerlerinin oluşturulmasında kaynak olarak kullanılmıştır.

#### 4.2.2. Luteolin - dAMP Kompleksi

Luteolin-dAMP kompleks yapısının elde edilmesi için optimize edilen Luteolin ve dAMP yapıları kullanılmıştır. Dimer kompleks yapıların konformerleri belirlenirken monomer yapıların moleküler elektrostatik potansiyel haritasından yararlanılmıştır. Dimer kompleksinde, donör ve akseptör olma olasılığı ve Luteolin-dAMP arasındaki H bağı, dipol dipol ve  $\pi$ - $\pi$  etkileşimleri gibi ilişkiler düşünülerek birçok konformer yapı oluşturuldu. Belirlenen her bir dimer kompleks yapıların su fazında DFT/  $\omega$ B97XD/ 6-31+G(d,p) basis seti kullanılarak en kararlı yapıları saptanmıştır. Tablo 4.5.'te Luteolin, dAMP ve Luteolin-dAMP kompleks yapılarının optimizasyonu sonucunda konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerjisi ( $E_{\text{elek}} + \text{ZPE}$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerjisi ( $E_{\text{elek}} + \Delta G$ , Hartree), sıfır nokta titreşim enerjisi ( $\text{ZPE}$ , Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri belirlenmiştir. Optimize edilen tüm Luteolin-dAMP kompleks yapılarının toplam elektronik enerjileri sıralanarak en düşük enerjili olan en kararlı yapı belirlendi. İlgili tablo da hesaplanan en kararlı ilk dört Luteolin-dAMP kompleksleri yer almaktadır.

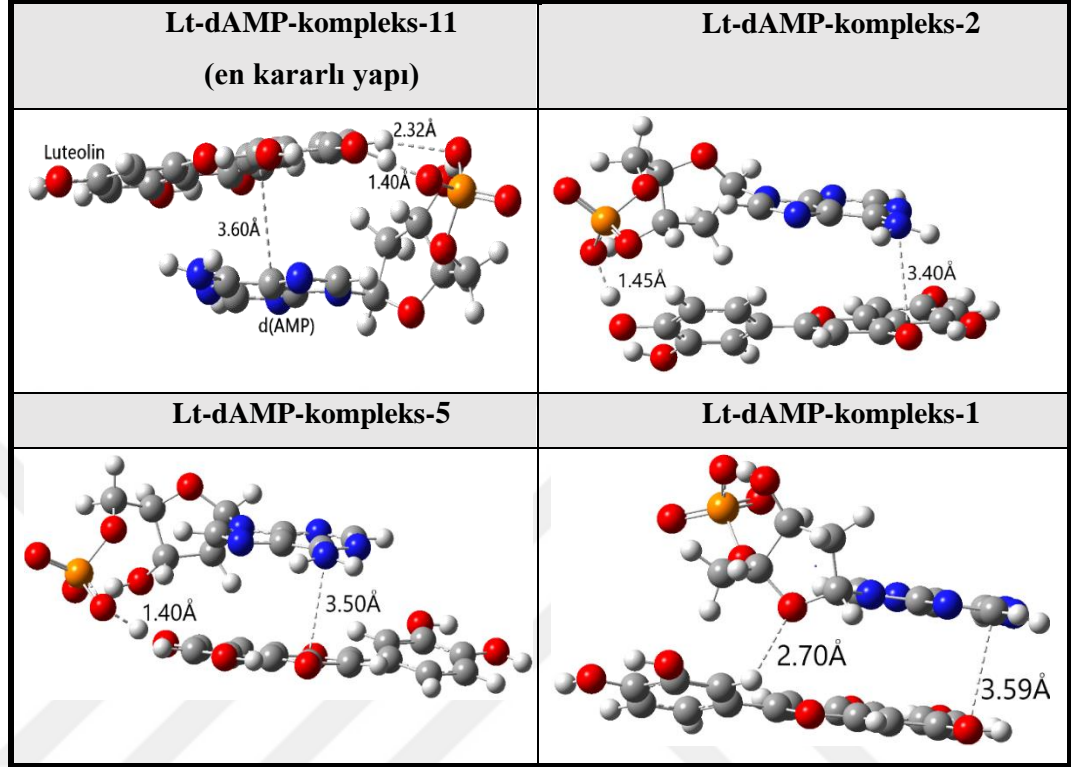
**Tablo 4.5.** Lt-dAMP-komplekslerinin su fazında  $\omega$ -B97XD/6-31+(d,p) seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}+\text{ZPE}$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren göreceli elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri

Suda	$\mu$ (D)	$E_{\text{elek}}+\text{ZPE}$ (Hartree)	$E_{\text{elek}}+\Delta G$ (Hartree)	$\Delta E_{\text{C}}^{\text{a}}$ (kcal/mol)	$\Delta\Delta G_{\text{C}}^{\text{b}}$ (kcal/mol)
<b>dAMP</b>	34.52	-1454.622864	-1454.673190		
<b>Luteolin (Lt)</b>	6.46	-1028.487177	-1028.532084		
<b>Lt-dAMP- kompleks-11</b>	<b>38.99</b>	<b>-2483.156615</b>	<b>-2483.227219</b>	<b>-29.23</b>	<b>-13.77</b>
<b>Lt-dAMP- kompleks-2</b>	39.24	-2483.153047	-2483.219109	-26.97	-8.68
<b>Lt-dAMP- kompleks-5</b>	50.71	-2483.151212	-2483.219522	-25.82	-8.94
<b>Lt-dAMP- kompleks-1</b>	41.50	-2483.132685	-2483.203053	-14.20	1.39

$$^{\text{a}}\Delta E_{\text{C}} = E_{\text{Kompleks}} - (E_{\text{dAMP}} + E_{\text{Luteolin}}); \quad ^{\text{b}}\Delta\Delta G_{\text{C}} = \Delta G_{\text{Kompleks}} - (\Delta G_{\text{dAMP}} + \Delta G_{\text{Luteolin}})$$

Tablo 4.5.'e göre komplekslerin kararlılık sıralaması en kararlıdan düşüğe doğru Lt-dAMP-kompleks-11, Lt-dAMP-kompleks-2, Lt-dAMP-kompleks-5, Lt-dAMP-kompleks-1'dir. Lt-dAMP-kompleks-11, incelenen tüm konformerler arasında en düşük enerji olan -2483.156615 Hartree ile en kararlı yapıdadır ve Ayrıca,  $\Delta\Delta G_{\text{C}}$  ile hesaplanan Lt-dAMP-kompleks-11'in Gibbs serbest enerjisinden, Luteolin ve dAMP monomerlerinin toplam Gibbs enerjileri farkının sıfırın altında -13.77 kcal/mol olması oluşan Lt-dAMP-kompleks-11'in istemli olarak spontane kompleks oluşturabildiğini göstermektedir. Lt-dAMP kompleks 2 ve Lt-dAMP-kompleks-5' e bakıldığında  $\Delta\Delta G_{\text{C}}$  değerleri sırasıyla -8.68 kcal/mol ve -8.94 kcal/mol'dür ve bu iki kompleksinde istemli olarak kompleks oluşturdıkları belirlenirken, Lt-dAMP-kompleks-1'in  $\Delta\Delta G_{\text{C}}$  değerleri 1.39 kcal/mol ile kompleksin istemsiz olduğu ve bu kompleksin oluşabilmesi için dışarıdan enerjiye gereksinim olduğu saptandı.

Şekil 4.16.'da olası Lt-dAMP kompleks konformerlerinin optimize edilmesi sonucunda Tablo 4.5.' te verilen en kararlı ilk dört kompleksin üç boyutlu yapıları gösterilmektedir.

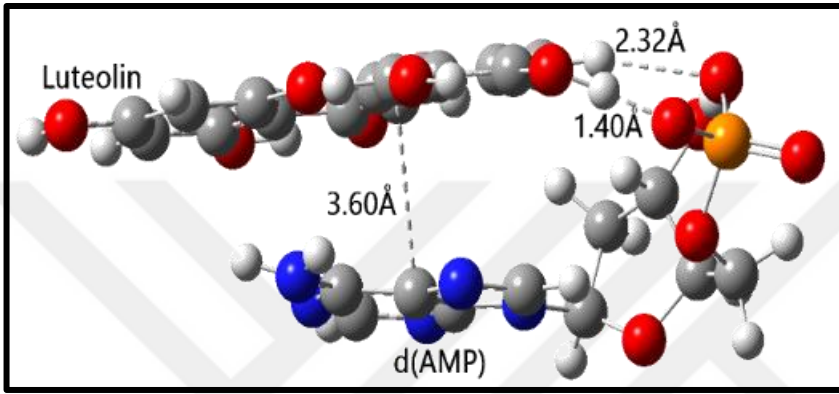


Şekil 4.16. Optimize Edilen En Kararlı İlk Dört Lt-dAMP Kompleks Yapıları

Lt-dAMP-kompleks-2' ye bakıldığında nükleotidin fosfat bölümündeki oksijen atomu (-O) ile Luteolin'in tek halkalı alanında bulunan hidroksi(-OH) atomu arası 1.45 angstrom olduğu ve kuvvetli bir bağ yaptığı, ayrıca nükleotidin baz bölümü (Adenozin) ile Luteolin'in halkalı yapısı birbirine paralel olup  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi yapabileceği ve aralarındaki mesafenin yaklaşık 3.40 Angstrom olduğu belirlenmiştir. Aynı durumun bir benzeri Lt-dAMP-kompleks-5'te gözlenmektedir. dAMP'nin fosfat grubunda oksijen atomu (-O) ile Luteolin molekülünün çift halkasında bulunan hidroksi (-OH) atomu arasında kuvvetli bir çekim sonucunda ve bu mesafenin 1.40 angstrom olduğu saptandı, diğer bir etkileşimin ise Luteolin molekülünün çift halkalı yapısı ile nükleotidin Adenozin baz yapısının birbiri ile paralel konumlanması  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi yapabileceğini ve aralarındaki mesafe 3.50 Angstrom olarak hesaplanmıştır. İncelenen yapılar arasından en kararsız yapı Lt-dAMP-kompleks-1'dir. Burada ise Luteolin ile dAMP molekülü arasında daha uzak

bir mesafede konumlandıkları Luteolin'in halkalı yapısı ile Adenozin arasında  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca nükleotidin fosfat grubundaki oksijen molekülü (-O) ile şeker grubunda bulunan hidroksi (-OH) grubu arasında molekül içi kuvvetli bir çekim olduğu gözlemlendi.

Luteolin-dAMP kompleksinin en karalı yapısı olan Lt-dAMP-kompleks-11 daha detaylı incelenmesi için görüntüsü Şekil 4.17.'de verilmiştir.

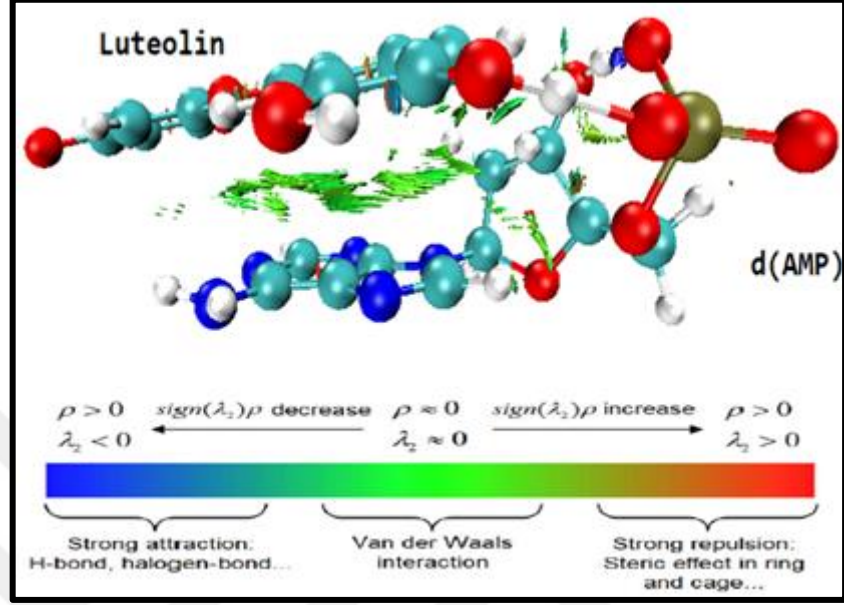


Şekil 4.17. En Karalı Kompleks Lt-dAMP-kompleks-11

Lt-dAMP-kompleks-11'de belirgin olarak Luteolin tekli halkasında bulunan hidroksi (-OH) ile dAMP nükleotidinin fosfat grubu (-PO<sup>-</sup>) aralarında 1.40Å mesafe olduğu saptandı. Luteolin molekülünün halkalı yapısındaki C atomuna bağlı H atomu ile dAMP nükleotidinin fosfat grubundaki (-PO<sup>-</sup>) oksijen atomu aralarında 2.32 Å mesafe bulunur. Ayrıca Luteolin'in halkalı yapısı ile dAMP'nin Adenozin bazı arasında  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi olduğu düşünülmektedir ve aralarındaki mesafe ise 3.60 Å'dur. Ayrıca, Adenozin bazındaki amin grubunda (-NH<sub>2</sub>) bulunan H atomlarının Luteolin molekülüne yönelimi gözlenmektedir. Bunlardan birinin dAMP nükleotidinde fosfat grubundaki (-PO<sup>-</sup>) ile Adenozin şekerinde bulunan hidroksi (-OH) grubu ile gerçekleşirken bir diğer molekül içi etkileşim Luteolin molekülünde hidroksi (-OH) grubundaki H atomu ile karboksil grubundaki (-C=O) oksijen molekülü arasındadır.

Optimize edilen dimer komplekslerinin aralarındaki etkileşimlerinin hangi türe ait olduğunu net olarak söylebilmek için Kovalent Olmayan Etkileşim (NCI) Analizi'nin Reduced Density Gradient (RDG) methoduna ihtiyaç duyulmaktadır.

Bundan dolayı Şekil 4.18.'de Lt-dAMP-kompleks-11 arasındaki ikincil etkileşimlerinin tespit edilmesi için Kovalent Olmayan Etkileşim (NCI) Analiz sonuçlarından yararlanıldı.

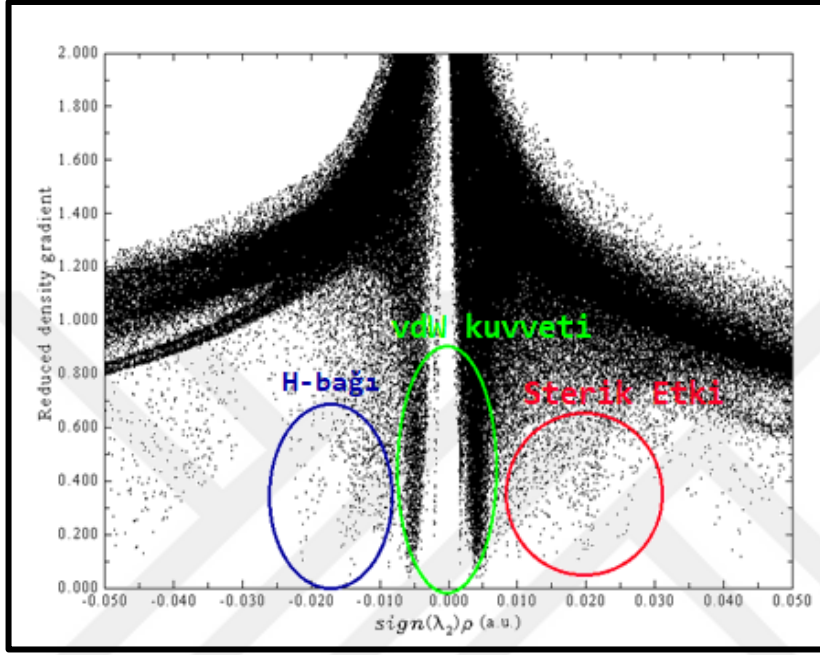


Şekil 4.18. NCI Analizi Kullanılarak İkincil Etkileşimlerin Lt-dAMP-Kompleks-11 Üzerinde Gösterimi

NCI analizinde Luteolin ve dAMP molekülleri arasında yer alan renkli bölgeler kompleks arasında gerçekleşen ikincil etkileşimlerin anlaşılmasını sağlar. Bu renkli bölgelerden mavi alan kuvvetli bir etkileşim olan H bağı, yeşil alan Van der Waals etkileşimi ve kırmızı alan ise halkalı yapıların oluşturduğu sterik engeli göstermektedir. Şekil 4.17.'de Lt-dAMP-kompleks-11'deki sonuçta Luteolin tekli halkasında bulunan hidroksi (-OH) ile dAMP nükleotidinin fosfat grubu (-PO) aralarında 1.40Å mesafe olduğu saptanmıştır. NCI analizi sonucunda bu iki atom arasında kovalent bağ yaptığı saptandı. Diğer bir etkileşim Luteolin molekülünün halkalı yapısındaki (C-H) H atomu ile dAMP nükleotidinin fosfat grubundaki (-PO) oksijen atomu arasında 2.32 Å mesafe ile gerçekleşir. Şekil 4.18.'de ise bu alan koyu yeşil olarak Van der Waals kuvveti ile H-bağı arasında bulunmaktadır. Luteolin'in halkalı yapısı ile dAMP'in bazı arasındaki alan yeşil alan burada Van der Waals kuvvetinin baskın olduğunu açıklamaktadır. Ek olarak, dAMP nükleotidinde molekül içi, fosfat grubundaki (-PO) oksijen atomu ile şeker

yapısındaki hidroksi (-OH) grubundaki H atomu arasındaki renk koyu mavidir, böylelikle bu iki atom arasında kuvvetli bir H bağı yaptığı saptanmıştır.

Genel olarak Luteolin dAMP kompleksinin ikincil etkileşimlerinin daha iyi anlaşılması için Şekil 4.19.'da ikincil etkileşimlerin dağılım grafiği gösterilmektedir.



Şekil 4.19. NCI Analizi Kullanılarak Lt-dAMP-Kompleks-11 Arasında İkincil Etkileşimleri Gösteren Dağılım Grafiği

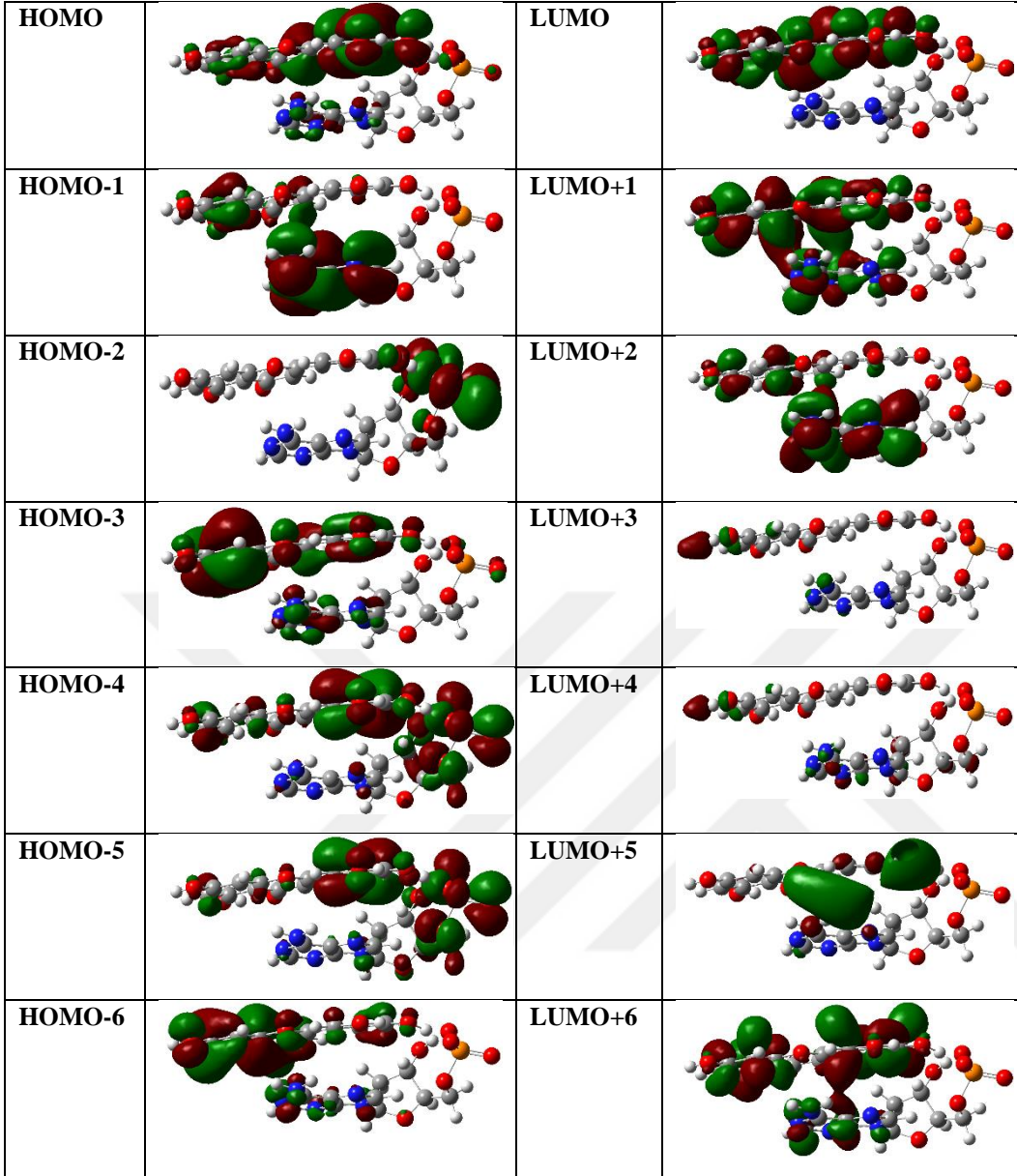
NCI analizi dağılım grafiğinde bu kompleks içerisinde yeşil daire ile belirtilen alanın yoğun olması komplekste kuvvetli Van der Waals kuvvetinin olduğunu, mavi daire içine alınan noktalar ise Van der Waals kuvvetinden daha az yoğunlukta H-bağı olduğunu, kırmızı daire içine alınan noktalar ise dağınık bölgelerde sterik etkinin var olduğunu göstermektedir.

Temel hal geometrisi kullanılarak Lt-dAMP-kompleks-11'in absorpsiyon özelliğini incelemek için en düşük enerjili 40 singlet uyarılmış hali hesaplanmıştır. Tablo 4.6.'te ilk 6 singlet hali yer alınmaktadır.

**Tablo 4.6.** Lt-dAMP-kompleks-11 için kuantum kimyasal model kullanılarak elde edilen uyarılma durum özellikleri

<b>suda</b>	<b><math>\Delta E</math> (eV)</b>	<b><math>\lambda</math> (nm)</b>	<b>f</b>	<b>Baskın Geçiş</b>
S <sub>1</sub>	3.80	326.04	0.6596	H→L (%66)
S <sub>2</sub>	4.44	278.99	0.0085	H-3→L(%55)
S <sub>3</sub>	4.58	270.87	0.0114	H-5→L(%35)
S <sub>4</sub>	4.63	267.76	0.0001	H-11→L(%65)
S <sub>5</sub>	4.74	261.59	0.0505	H-6→L(%20)
S <sub>6</sub>	4.90	253.02	0.0430	H-6→L(%47)

En düşük enerji olan temel halden S<sub>1</sub> seviyesine geçişin, %66'sinin HOMO'dan LUMO'ya 326.04 nm dalga boyunda olduğu hesaplandı ve bu geçiş için enerji farkı 3.80 eV'dir. Uyarılma seviyeleri arttıkça temel hal ile uyarılma enerji farkı gittikçe arttığı belirlendi. Şekil 4.20'de ise Tablo 4.6.'da yer alan en düşük enerjili 6 singlet uyarılmış hallerin elektron geçişlerinin görseli verilmiştir.



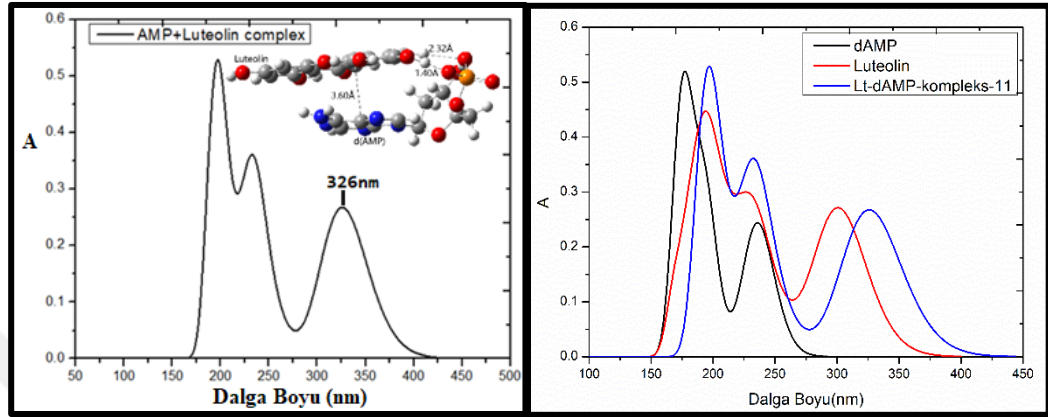
**Şekil 4.20.** En Düşük Uyarılmış Singlet Durumlarının CI Tanımında Yer Alan Çalışılan Moleküllerin Sınır Moleküler Orbitalleri

En düşük uyarılma olan  $S_1$  elektron geçişin baskın geçişi %66 ve HOMO→LUMO'ya gerçekleşmiştir. Burada dAMP nükleobazının Adenozin kısmında az miktarda bulunan elektron yoğunluğu uyarılmadan sonra elektron yoğunluğunun tümü Luteolin molekülüne geçmiştir.

$S_3$ 'te ise elektronik geçiş HOMO-5→LUMO ve HOMO-4→LUMO arasındadır. HOMO-4 ve HOMO-5'te elektron yoğunluğu dAMP'nin fosfat

grubunda ve Luteolin molekülünde görülürken, uyarılmadan sonra tüm elektron yoğunluğunun Luteolin molekülünde olduğu gözlenmektedir.

Elektron/ yük geçişlerinin anlaşılması için Şekil 4.21.'de Luteolin, dAMP ve Lt-dAMP-kompleks-11'nin hesapsal UV/Vis Spektrumları yer almaktadır.



Şekil 4.21. (a) Su Fazında Lt-dAMP-kompleks-11 UV/Vis Spektrumu; (b) Su Fazında Luteolin, dAMP ve Lt-dAMP-kompleks-11 UV/Vis Spektrumu

Şekil 4.21. (a) göre Lt-dAMP-kompleks-11'in 326 nm dalga boyunda ilk uyarılması gerçekleşmiştir. Şekil 4.21. (b)'de ise Luteolin ve dAMP monomerlerinin UV/Vis spektrumunun ilk uyarılma dalga boyları sırasıyla 301 nm ve 236 nm'dir. Lt-dAMP-kompleks-11'in ise ilk uyarılmanın 326 nm'de olduğu saptanmıştır. Bu bölgeye yakın sadece Luteolin molekülünün uyarılması nedeniyle Luteolin molekülünün 301 nm'den 326 nm kaydığı saptanmıştır.

Optimize edilen ve elektronik geçişleri hesaplanan Lt-dAMP-Kompleks-11 yapısı için hangi molekülün donör hangi molekülün akseptör olduğunu saptamak adına yük yoğunluk farkından yararlanılmıştır. Buna ek olarak moleküller arasında gerçekleşen yük transferi (CT), lokal uyarılmaları (LE) ve molekül içi elektron hareketleri hakkında yorum yapabilmemizi sağlar. Bunun için uyarılmış kompleksin boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) sonucuna bakılır. D ile S arasında ilişki ile incelenen kompleks için yük transferi (CT) ve lokal uyarılma (LE) hakkında şu şekilde bir bağlantı vardır (Lu et al., 2012).

	D	S
LE	Küçük	Büyük
CT	Büyük	Küçük

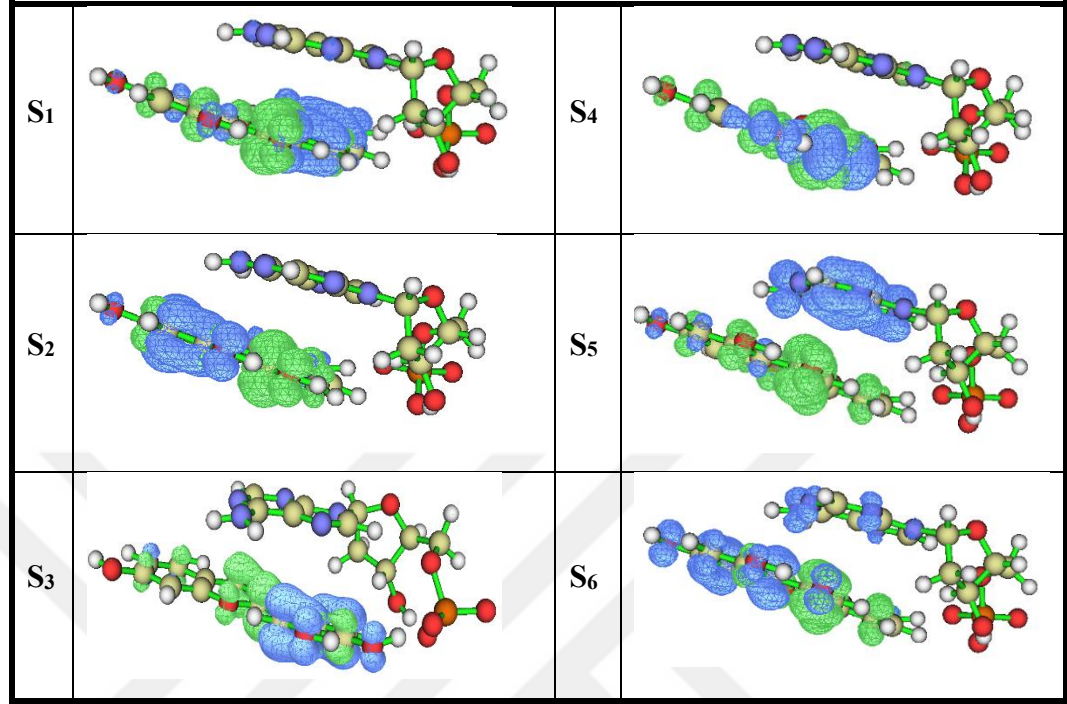
Boşluk-elektron dağılımının örtüşmesinin integrali, boşluk ve elektronun uzamsal ayrımının bir ölçüsüdür. Boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafe yük transferi (CT) uzunluğunun bir ölçüsüdür; bu değer ne kadar büyükse, yük transferinin aktarıldığı mesafede de o kadar uzundur. Tablo 4.7.'de Lt-dAMP-Kompleks-11'in uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) gösterilir.

**Tablo 4.7.** Lt-dAMP-Kompleks-11'in uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D)

	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
S(hartree)	0.302	0.317	0.378	0.173	<b>0.143</b>	0.300
D(Å)	2.564	1.370	1.828	1.989	<b>2.771</b>	1.823

Elde edilen verilere göre S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya kadar incelenen uyarılma sonuçlarına bakıldığında içlerinden en düşük boşluk-elektron örtüşmesinin integrali 0.143 hartree ile S<sub>5</sub> iken, en büyük boşluk ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi 2.771 Angstrom ile S<sub>5</sub>'dir. Bu sonuçların doğrultusunda S<sub>5</sub> uyarılmasında komplekste yük transferinin olduğu saptandı. Buna ek olarak diğer uyarılmaların ise boşluk ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi 1 Angstromdan büyük olması nedeniyle burada da yük transferi olduğu söylenebilir fakat S<sub>2</sub> uyarılmasında bu değer 1 Angstroma daha yakın mesafede olmasından dolayı lokal uyarılma (LE) olasılığında olabileceği düşünülebilir. Lt-dAMP-Kompleks-11'in S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya kadar yük yoğunluk farklarının gösterimi Şekil 4.22.'de verilmiştir. Komplekslerin yük yoğunluk farkları verilmiştir, yeşil olarak belirtilen alan alanlar elektronlar yoğunluğunu, mavi alanlar ise boşlukları belirtmektedir. Bu şekillere

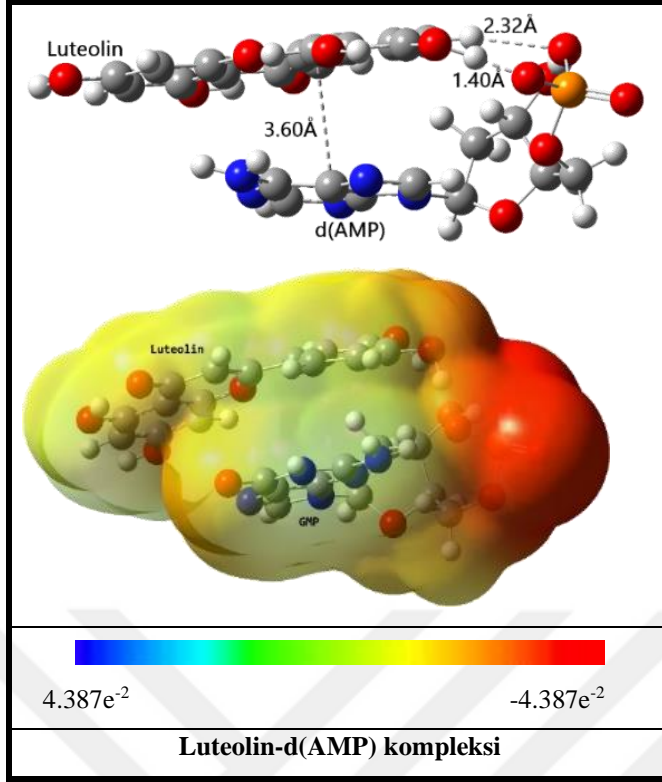
bakarak uyarılma sonucunda molekül içi veya moleküller arası gerçekleşen yük yoğunluğu dağılımları daha iyi anlaşılır.



Şekil 4.22. Lt-dAMP-Kompleks-11'in S1'den S6'ya Kadar Yük Yoğunluk Farklarının Gösterimi

S<sub>5</sub> uyarılma seviyesine bakıldığında mavi ile belirtilen boşluğun dAMP molekülünde **adenozin bazında** yer alırken yeşil renkle ifade edilen elektronların Luteolin molekülündedir. Burada meydana gelen CT'nin moleküller arasında olduğu elektronları uyarılması sonucunda dAMP'den Luteolin molekülüne geçtiği anlaşılırken, dAMP molekülünün donör ve Luteolin molekülünün akseptör olduğu anlaşılır. Diğer uyarımlara bakıldığında ise elektron ve boşlukların sadece Luteolin molekülünde bölgesel dağılımı nedeniyle Luteolin molekülü içinde yük dağılımının gerçekleştiği söylenebilir.

Kompleks molekülünün elektrostatik potansiyeli, elektronegatiflik ve farklı atomlar üzerindeki kısmi yüklerin incelenmesiyle, molekülün şeklini, boyutunu, dipol momentini ve göreceli polaritesini gösterilir. Şekil 4.23.'te gösterilen Lt-dAMP-Kompleks-11'in MEP haritası yardımıyla elektronca zengin bölge kırmızı renkten başlayarak daha az zengin bölgeler mavi renkle belirlendi.



Şekil 4.23. Dimer Kompleks Yapıların Elektrostatik Potansiyel Haritası Gösterimi

Lt-dAMP-Kompleks-11 kompleksinin MEP yüzey analizi, dAMP molekülündeki fosfat grubunda bulunan ( $-\text{PO}_3^-$ ) oksijen atomlarının elektronca en zengin bölge olduğunu göstermektedir (kırmızı renk). Bunun nedenleri, bir oksijen atomunun anyonik yapıda olması, oksijen atomları üzerindeki çiftleşmemiş ve proton çekici olan elektron çiftlerinin olmasından kaynaklanmaktadır.

Molekülün kalan kısmının etrafındaki bölgelerde (yeşil ve sarı renk), elektron yoğunluğunun daha az olduğu bulunmuştur. Yeşil renkli kısımlar, C-H hidrojenlerinin elektrofilik bölgede olduğunu göstermektedir.

### 4.2.3. Luteolin - dCMP Kompleksi

Luteolin molekülü ile dCMP molekülünün en karalı yapıları kullanılıp kompleks oluşumu için moleküllerin elektrofilik ve nükleofilik etkileşim noktaları göz önünde bulundurularak (donör ve akseptör olarak görev alacak atomlar,  $\pi-\pi$  etkileşimi ve H bağı oluşturabilecek alanlar v.b) olası kompleks yapılar belirlenmiştir. Belirlenen yapıların her biri optimize edilmiş ve en düşük enerjili

kompleks yapı saptanarak karalı yapı tayin edilmiştir. Tablo 4.8.'de Lt-dCMP kompleks yapılarının içerisinde en karalı yapı tayini için konformerlerin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}+ZPE$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi ( $ZPE$ , Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görece elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri verilmektedir.

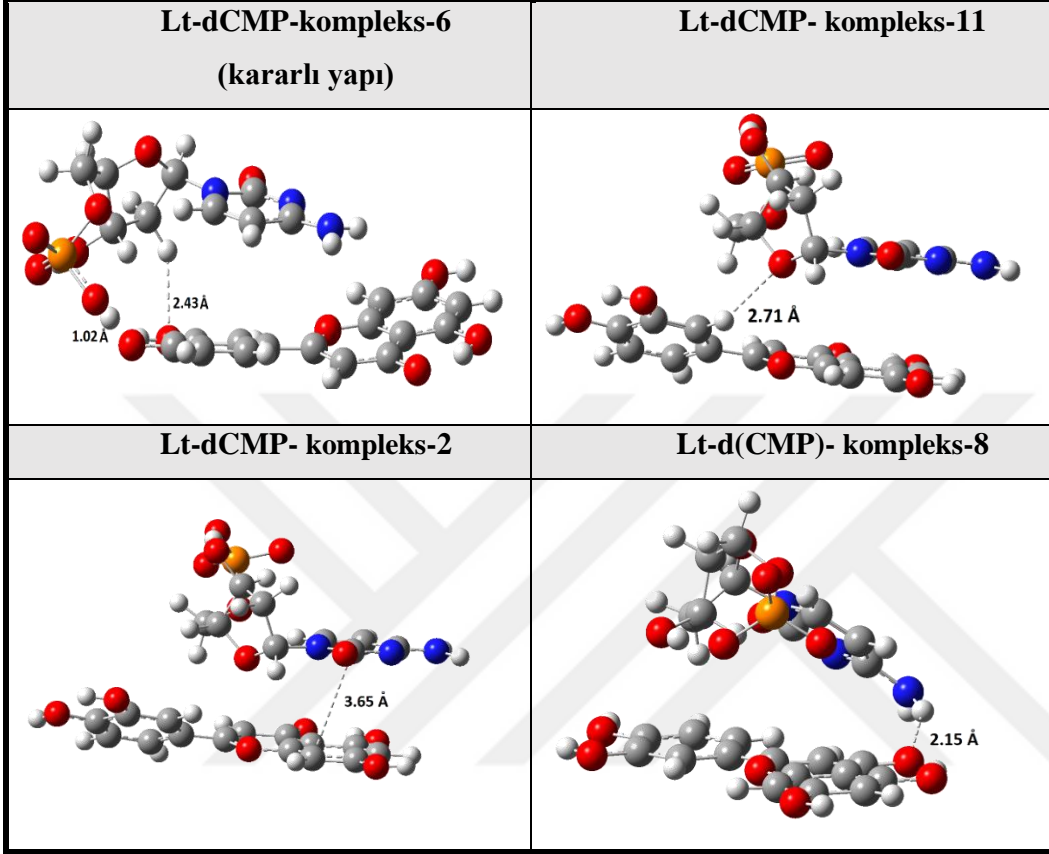
**Tablo 4.8.** Lt-dCMP-komplekslerinin su fazında  $\omega$ -B97XD/6-31+G(d,p) seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}+ZPE$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi ( $ZPE$ , Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görece elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri

suda	$\mu$ (D)	$E_{\text{elek}}+ZPE$ (Hartree)	$E_{\text{elek}}+\Delta G$ (Hartree)	$\Delta E_C^a$ (kcal/mol)	$\Delta\Delta G_C^b$ (kcal/mol)
<b>dCMP-6</b>	22.68	-1382.278372	-1382.324531		
<b>Lt-3</b>	6.46	-1028.487177	-1028.532084		
<b>Lt-dCMP-kompleks-6</b>	<b>31.78</b>	<b>-2410.810318</b>	<b>-2410.878994</b>	<b>-28.10</b>	<b>-14.04</b>
<b>Lt-dCMP-kompleks-11</b>	37.56	-2410.787399	-2410.858325	-13.71	-1.07
<b>Lt-dCMP-kompleks -2</b>	7.96	-2410.787353	-2410.858002	-13.68	-0.87
<b>Lt-d(CMP)-kompleks -8</b>	25.05	-2410.782632	-2410.849183	-10.72	4.67

$$^a\Delta E_C = E_{\text{Kompleks}} - (E_{\text{dCMP}} + E_{\text{Li}}); \quad ^b\Delta\Delta G_C = \Delta G_{\text{Kompleks}} - (\Delta G_{\text{dCMP}} + \Delta G_{\text{Li}})$$

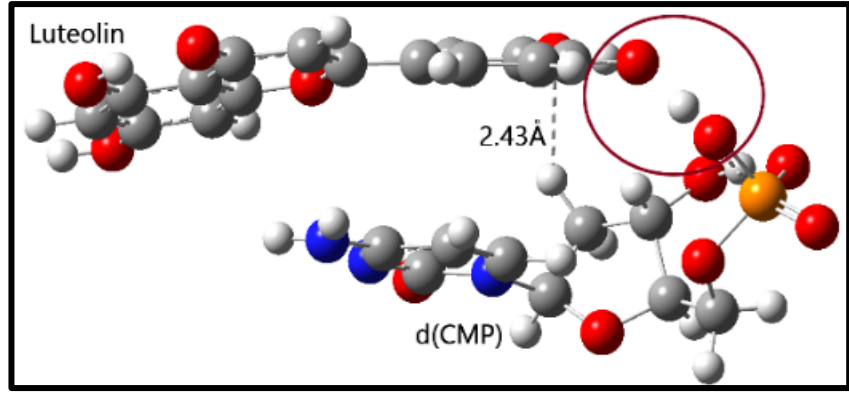
Tablo 4.8.'de hesaplanan komplekslerin  $\Delta\Delta G_C$  serbest enerjisi; oluşan kompleksin Gibbs serbest enerjisinden, karalı monomer olan dCMP-6 ve Lt3 Gibbs serbest enerjilerinin farkı olarak bulunur. Elde edilen sonuca göre komplekslerin kararlılık sırası en kararlı kompleksten daha kararsız komplekse doğru olarak şu şekilde sıralanmaktadır; Lt-dCMP-kompleks-6, Lt-dCMP-kompleks -11, Lt-dCMP-kompleks -2 ve Lt-d(CMP)-kompleks-8'dir. Bu komplekslerin içerisinde en düşük elektronik enerjiye (-2410.878994 Hartree) sahip olan kompleks Lt-dCMP-kompleks-6'dir ve  $\Delta\Delta G_C$  değerinin sıfırın altında -14.04 kcal/mol olması

bu kompleksin istemli olarak kendiliğinden gerçekleştiğini göstermektedir. Şekil 4.24.'de ise tespit edilen en kararlı ilk dört kompleksin üç boyutlu optimize yapıları verilmiştir.



Şekil 4.24. Optimize Edilen Lt-dCMP-kompleks Yapılar

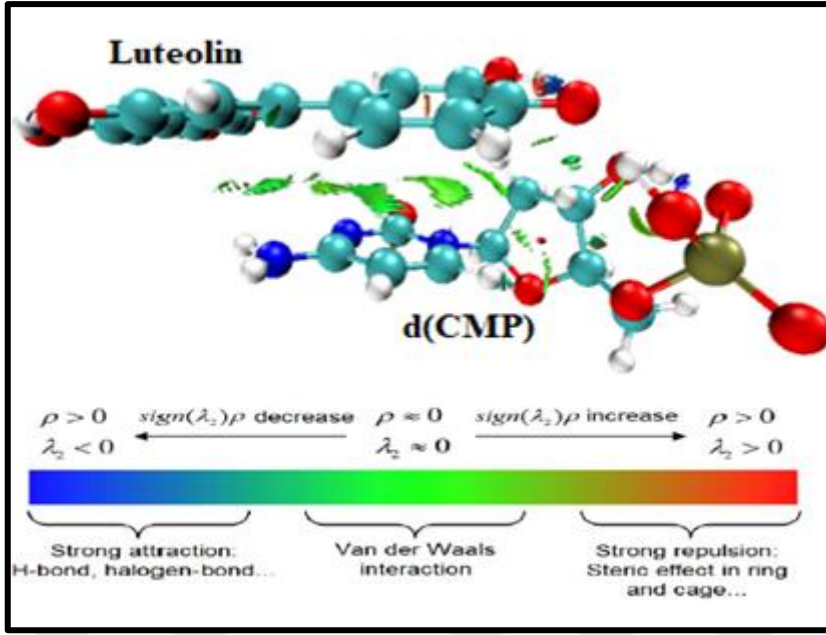
Komplekslerin üç boyutlu yapılarına bakıldığında Lt-dCMP-kompleks-11 ve Lt-dCMP-kompleks-2 yaklaşımlarının birbirine benzediği ve her ikisinde de dCMP molekülünde bulunan fosfat grubunun kompleks birleşiminde dış alanda kaldığı gözlemlendi. Lt-dCMP-kompleks-11 ve Lt-dCMP-kompleks-2'lerinin Luteolin ve dCMP molekülü arasındaki mesafeler sırasıyla 2.71 Angstrom ve 3.65 Angstrom olarak tespit edilmiştir. Ayrıca Luteolin molekülünün halkalı yapısı ile sitidin bazı arasında  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi yapar. Lt-d(CMP)-kompleks-8'in de ise dCMP nükleotidinde sitidin bazında bulunan (-NH<sub>2</sub>) amin grubundaki H atomu ile Luteolin'in halkalı yapındaki karboksil grubundaki (=O) oksijen atomu arasında yakınlaşma görülmektedir, aralarındaki mesafe 2.15 Angstrom olarak saptandı. En kararlı kompleks Lt-dCMP-kompleks-6 Şekil 4.25.'te daha detaylı incelendi.



Şekil 4.25. Lt-dCMP-kompleks-6 Kompleksi

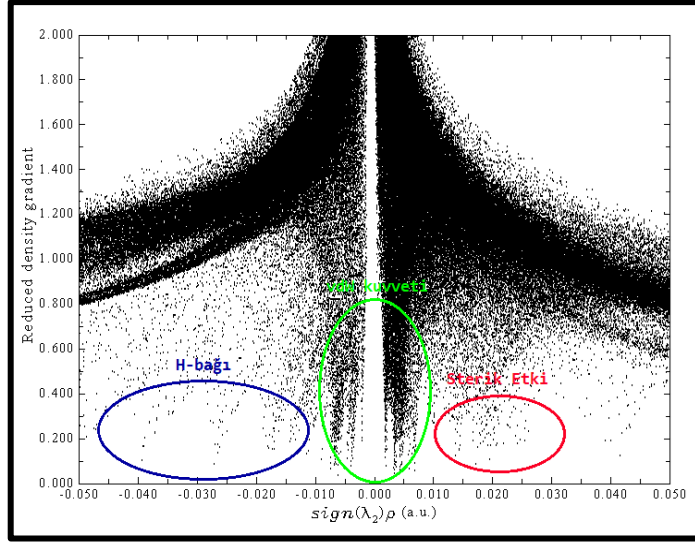
Çalışılan Lt-dCMP-komplekslerinin içinde en karalı yapı Lt-dCMP-kompleks-6'dir. Şekil 4.25'te Lt-dCMP-kompleks-6'ya bakıldığında nükleotidin fosfat bölümündeki(-PO<sub>3</sub>) oksijen atomu ile Luteolin'in tek halkalı alanında bulunan hidroksi(-OH) grubundaki H atomu arası 1.02 angstrom olduğu ve kuvvetli bir bağ yaptığı, ayrıca nükleotidin baz bölümü (Sitidin) ile Luteolin'in halkalı yapısı birbirine paralel olup  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi yaptığı aralarındaki mesafenin yaklaşık 2.43 angstrom olduğu belirlenmiştir.

Kompleksler arasında gerçekleşen ikincil etkileşimlerin daha iyi saptanması için Kovalent Olmayan Etkileşim (NCI) Analizi'nin Reduced Density Gradient (RDG) methoduna incelenmiştir. Bundan dolayı Şekil 4.26.'da Lt-dCMP-kompleks-6 arasındaki ikincil etkileşimlerinin tespit edilmesi için Kovalent Olmayan Etkileşim (NCI) Analiz sonuçlarından faydalanıldı.



Şekil 4.26. NCI Analizi Kullanılarak İkincil Etkileşimlerin Lt-dCMP-kompleks-6 Üzerinde Gösterimi

Dimer kompleksinin NCI analizi sonucunda, dimer arasında görülen mavi renk kuvvetli bir bağ olan H bağı, yeşil renk ise dimerler arasındaki van der Waals kuvvetlerini, kırmızı renk ise sterik engelin varlığını göstermektedir. Şekil 4.25.'te moleküller arasında bulunan 1.02 Angstrom bulunan mesafenin, NCI analiz sonucunda H atomunun dCMP molekülünde bulunan fosfat grubunda oksijen atomu ile bağ yaptığı gözlemlendi. Luteolin'in halkalı yapısı ile dCMP'nin nükleobaz arasındaki yoğun olan yeşil alan bu kompleks arasında van der Waals kuvvetinin olduğunu gösterir. dCMP molekülü içerisinde fosfat grubundaki oksijen atomu ile şeker grubunda bulunan hidroksi (-OH) arasındaki rengin koyu mavi olması bu atomlar arasında (-PO...HO-) H bağı vardır. Ayrıca, Luteolin molekülünün halkalı yapısında karboksi(-C=O) molekülü ile hidroksi (-OH) arasındaki renginde mavi olması bu molekül içi (-C=O...HO-) H bağı olduğunu göstermektedir. Luteolin ve d(CMP)'de bulunan halkalı yapıların arasındaki kırmızı alan ise sterik etkiyi göstermektedir. Bu kompleksin arasında oluşan ikincil etkileşimlerin dağılım grafiği Şekil 4.27'de gösterilmektedir.



**Şekil 4.27.** Lt-dCMP-kompleks-6 Kompleksi Arasında İkincil Etkileşimleri Gösteren Dağılım Grafiği

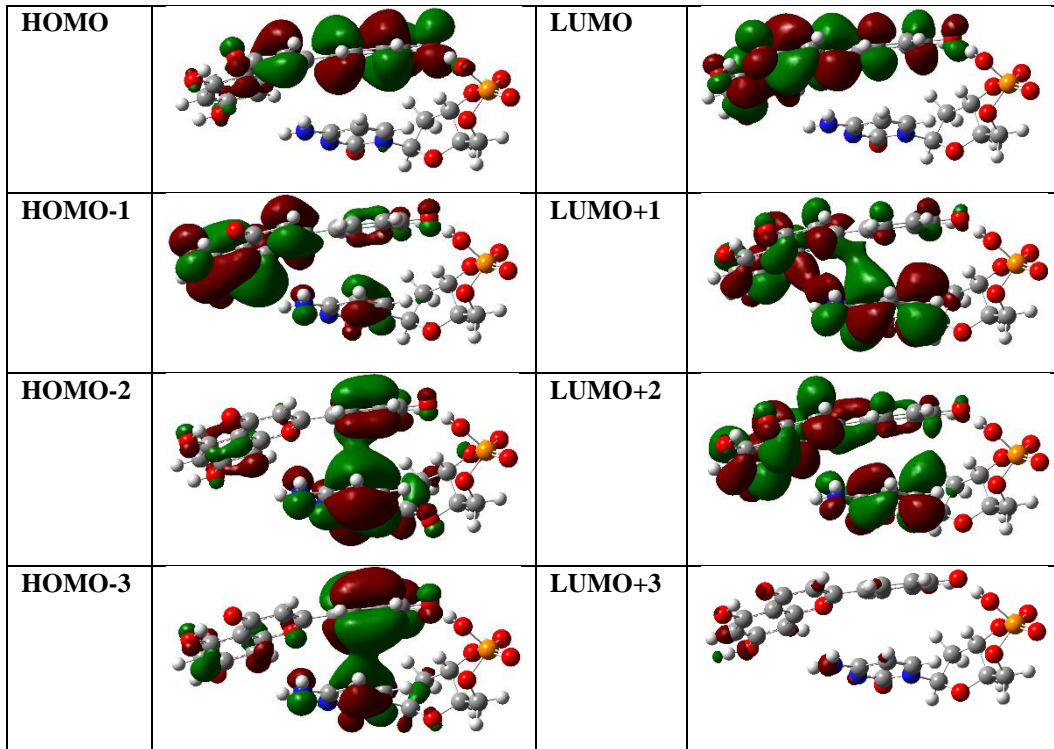
İkincil etkileşimleri gösteren dağılım grafiği, molekül içi oluşan H bağlarını, moleküller arasında gerçekleşen van der Waals etkileşim yoğun olduğunu ve molekül içindeki halkalı yapılar nedeniyle meydana gelen sterik etkinin varlığını açıkça göstermektedir.

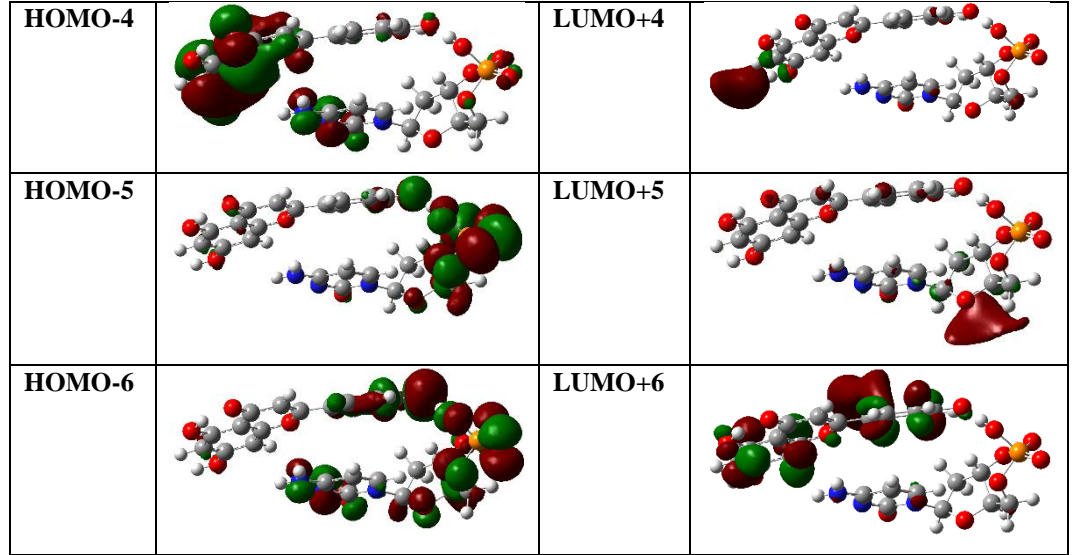
Lt-dCMP-kompleks-6 kompleksinin absorpsiyon çalışmaları için temel hal geometrisi kullanılarak kompleksin en düşük enerjili 40 singlet uyarılmış hali hesaplanmıştır. Tablo 4.9.'de ilk 6 singlet geçişi için temel halden uyarılmış hale geçerken hesaplanan enerji farkı  $\Delta E$  (eV), dalga boyu  $\lambda$  (nm), osilatör kuvveti  $f$  ve baskın olan geçişler yer almaktadır.

**Tablo 4.9.** Lt-dCMP-kompleks-6 kompleksi için kuantum kimyasal model kullanılarak elde edilen elektronik geçişler

suda	$\Delta E$ (eV)	$\lambda$ (nm)	f	Baskın Geçiş
S <sub>1</sub>	3.51	352.85	0.8549	H→L (%66)
S <sub>2</sub>	4.48	277.06	0.0317	H-1→L(%56)
S <sub>3</sub>	4.51	274.74	0.0059	H-3→L(%40)
S <sub>4</sub>	4.65	266.59	0.0225	H→L+1(%57)
S <sub>5</sub>	4.70	263.34	0.0004	H-11→L(%64)
S <sub>6</sub>	4.90	252.89	0.0095	H-4→L(%40)

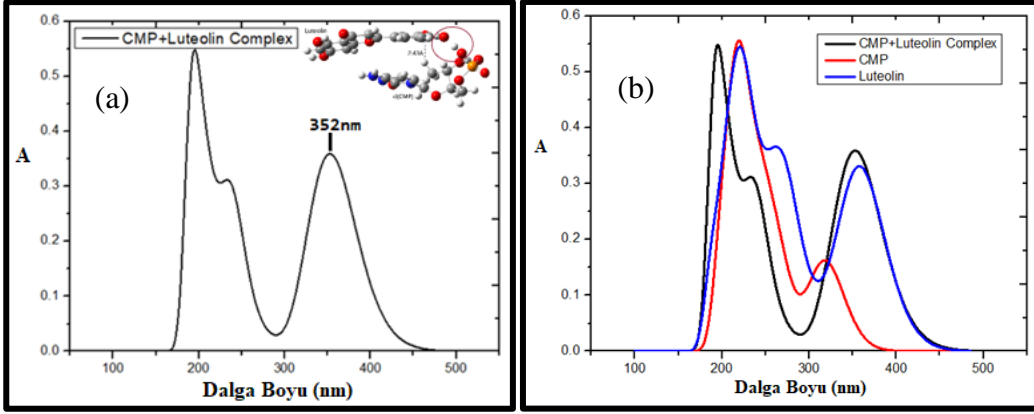
Kompleksin elektronik geçiş verilerine göre S<sub>1</sub>'in %66 oranı ile HOMO'dan LUMO'ya 352.85 nm'de uyarıldığı ve osilatör kuvvetinin 0.8549 ile diğer elektronik geçişler içerisinde en kuvvetli osilatör kuvvetine sahip olduğu belirlendi. S<sub>2</sub>'de elektronik geçiş ise %56 oran ile HOMO-1'den LUMO'ya olarak 277.06 nm dalga boyunda gerçekleşir. Bu geçişlerin dimer üzerindeki gösterimi Şekil 4.28.'de verilir.





**Şekil 4.28.** En Düşük Uyarılmış Singlet Durumlarının CI Tanımında Yer Alan Çalışılan Moleküllerin Sınır Moleküler Orbitaleri

En düşük uyarılma olan  $S_1$ 'de elektron geçişlerinin baskın geçişi %66 ile HOMO→LUMO arasında gerçekleşmiştir.  $S_2$ ' de ise HOMO-1→LUMO geçişi %56 oran ile gerçekleşmektedir ve HOMO-1'de dCMP'nin nükleobazında az miktarda bulunan elektron yoğunluğunun tamamı elektronun uyarılmasıyla LUMO'da Luteolin molekülünün yoğunlukla halkalı yapısına geçmiştir.  $S_3$ 'te ise HOMO-3'te dCMP'nin nükleobazında ve Luteolin'in tekli halkasında bulunan elektron yoğunluğu uyarılmadan sonra LUMO'da elektron yoğunluğunun tümü Luteolin molekülüne geçtiği gözlenmiştir. Şekil 4.29.'da elektron/yük geçişlerinin anlaşılması için dCMP, Luteolin ve Lt-dCMP-kompleks-6'nin hesapsal UV/Vis Spektrumları yer almaktadır.



**Şekil 4.29.** (a) Su Fazında Lt-dCMP-kompleks-6 kompleksi UV/Vis Spektrumu; (b) Su Fazında Luteolin, d(CMP) ve Lt-dCMP-kompleks-6 kompleksi UV/Vis Spektrumu

Şekil 4.29. (a) 'da verilen spektrumda dimer kompleksinin UV/Vis Spektrumunun 352 nm dalga boyunda uyarıldığı görülür. Şekil 4.29. (b)'de Luteolin, dCMP ve dimer kompleksin UV/Vis Spektrumları karşılaştırıldığında, Luteolin molekülünün ilk uyarılması 355 nm'de iken dCMP molekülü 322nm'de uyarılmaktadır. Oluşan dimer ile monomerlerin ilk uyarılma dalga boyları karşılaştırıldığında 350nm civarında sadece Luteolin molekülünün uyarılması nedeniyle Luteolin pikinin 355nm'den 352nm'ye 3nm maviye kaydığı saptanmıştır.

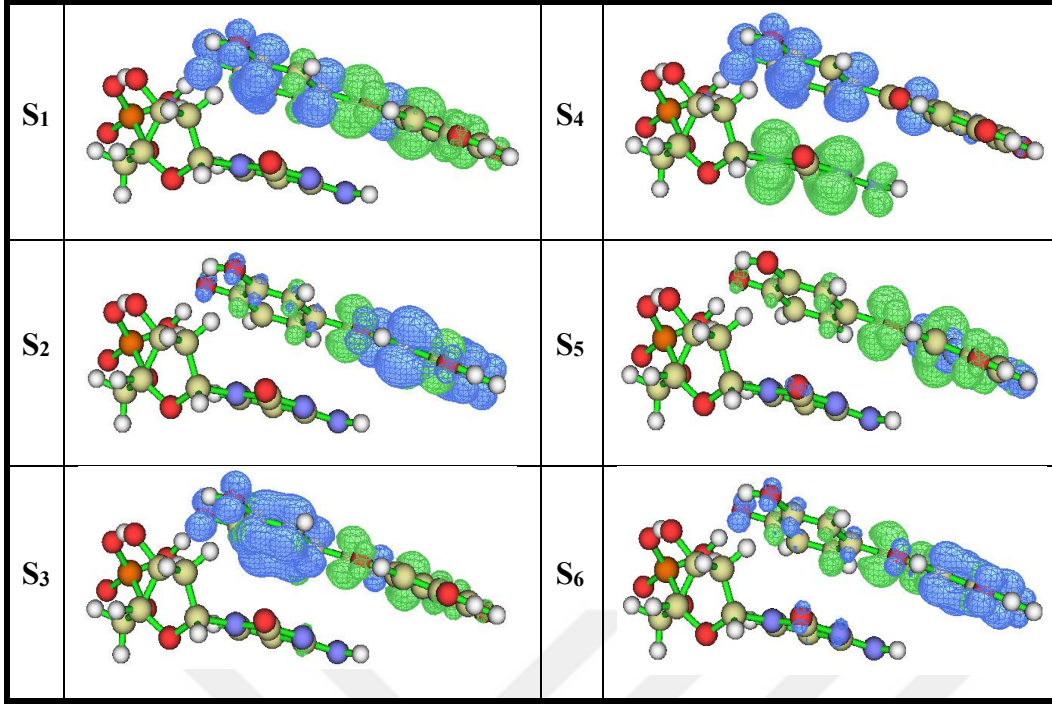
Optimize edilen ve elektronik geçişleri hesaplanan Lt-dCMP-Kompleks-6 yapısı için hangi molekülün donör hangi molekülün akseptör olduğunun anlaşılması için yük yoğunluk farkı hesaplaması incelenmiştir. Burada moleküller arasında gerçekleşen yük transferi (CT), lokal uyarılmaları (LE) ve molekül içi elektron hareketleri saptandı. Uyarılmış kompleksin boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafe (D), yük transferi (CT) ve lokal uyarılma (LE) hakkında bilgi verir ve Tablo 4.10.'da verilir.

**Tablo 4.10.** Lt-dCMP-Kompleks-6'in uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D)

	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
<b>S (hartree)</b>	0.275	0.349	0.385	<b>0.054</b>	0.176	0.381
<b>D(Å)</b>	3.442	1.097	1.685	<b>3.483</b>	1.789	1.205

S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya kadar incelenen uyarılma sonuçlarına bakıldığında içlerinden en düşük boşluk-elektron örtüşmesinin integrali 0.054 hartree ile **S<sub>4</sub>** iken, en büyük boşluk ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi 3.483 Angstrom ile **S<sub>4</sub>**'dir. Yük transferinin (CT) **S<sub>4</sub>** uyarılmasında olduğu belirlendi. S<sub>6</sub>'da ise uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integralinin (S) 0.381 hartree ile yüksek olup, boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesinin (D) 1.205 Angstrom ile düşük olması nedeniyle lokal uyarılmıştır (LE).

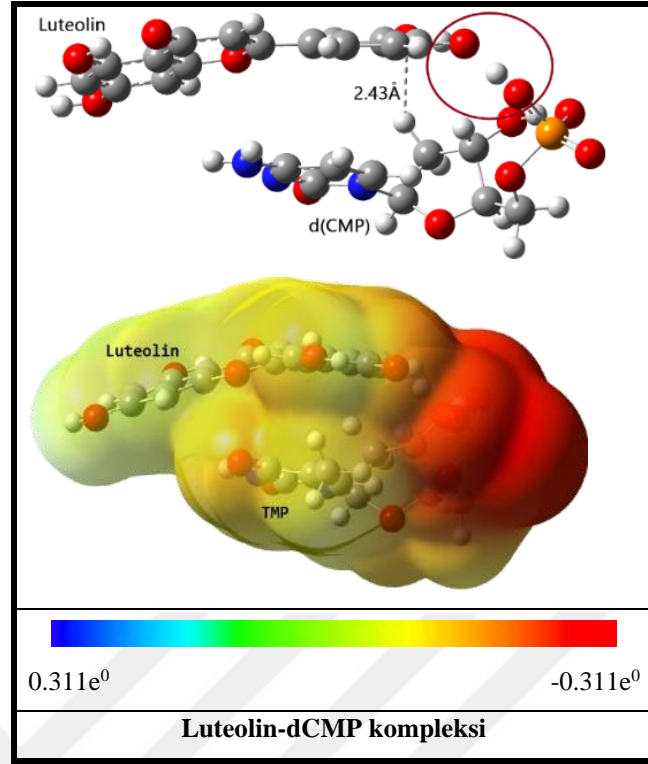
Şekil 4.30.'da Lt-dCMP-Kompleks-6'in S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya kadar yük yoğunluk farklarının gösterimi verilmiştir. Komplekste gerçekleşen yük transferi CT ve elektronların lokal uyarılmalarını LE, yük yoğunluk farkları ile saptanır. Yeşil olarak belirtilen alan alanlar elektronlar yoğunluğunu, mavi alanlar ise boşlukları belirtmektedir.



Şekil 4.30. Lt-dCMP-Kompleks-6'in S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya Kadar Yük Yoğunluk Farklarının Gösterimi

Yük transferinin meydana geldiği S<sub>4</sub> uyarılma seviyesine bakıldığında yeşil ile belirtilen boşluğun dCMP molekülünde sitidin bazında yer alırken mavi renkle ifade edilen elektronların Luteolin molekülündedir. Burada meydana gelen CT'nin moleküllerarasında olduğu elektronları uyarılması sonucunda Luteolin molekülünden dCMP kompleksine geçtiği anlaşılırken, dCMP molekülünün akseptör ve Luteolin molekülünün donör olduğu anlaşılır. Diğer uyarımlara bakıldığında ise elektron ve boşlukların sadece Luteolin molekülünde bölgesel dağılımı nedeniyle Luteolin molekülü içinde yük dağılımının gerçekleştiği söylenebilir.

Kompleksin elektrostatik potansiyeli, elektronegatiflik ve farklı atomlar üzerindeki kısmi yüklerin incelenmesiyle, molekülün şeklini, boyutunu, dipol momentini ve göreceli polaritesini gösterilir. Şekil 4.31.'de gösterilen Lt-dCMP-Kompleks-6'da MEP haritası yardımıyla elektronca zengin kısım kırmızı renkten başlayarak daha az zengin bölgeler mavi renkle belirlendi.



Şekil 4.31. Dimer Kompleks Yapıların Elektrotatik Potansiyel Haritası Gösterimi

Lt-dCMP-Kompleks-6 kompleksinin elektrotatik potansiyeli -0.311 ile 0.311 aralığındadır. Komplekste elektron yoğunluğunun en fazla alanı kırmızı ile belirlenen, Luteolin ile dCMP'nin H atomu transferinin gerçekleştiği ve aynı zamanda fosfat grubunun (-PO<sub>3</sub>) bulunduğu alandır. Elektrotatik potansiyelinin sarı renkte gösterilen alan Luteolin molekülünün halkalı yapısı ile dCMP molekülündeki sitidin yapısı arasındaki  $\pi$ - $\pi$  etkileşimini göstermektedir.

#### 4.2.4. Luteolin-dGMP Kompleksi

Luteolin'in en karalı yapısı ile dGMP molekülünün en karalı yapıları kullanılıp kompleks oluşumu için moleküllerin birçok etkileşim noktaları göz önünde bulundurularak (donor ve akseptör olarak görev alacak atomlar,  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi ve H bağı oluşturabilecek alanlar v.b) olası yapılar belirlenmiştir. Belirlenen yapıların her biri optimize edilmiş ve en düşük enerjili kompleks yapı saptanarak karalı yapı tayin edilmiştir. Tüm kompleks yapılar bu sistem ile belirlenmiştir.

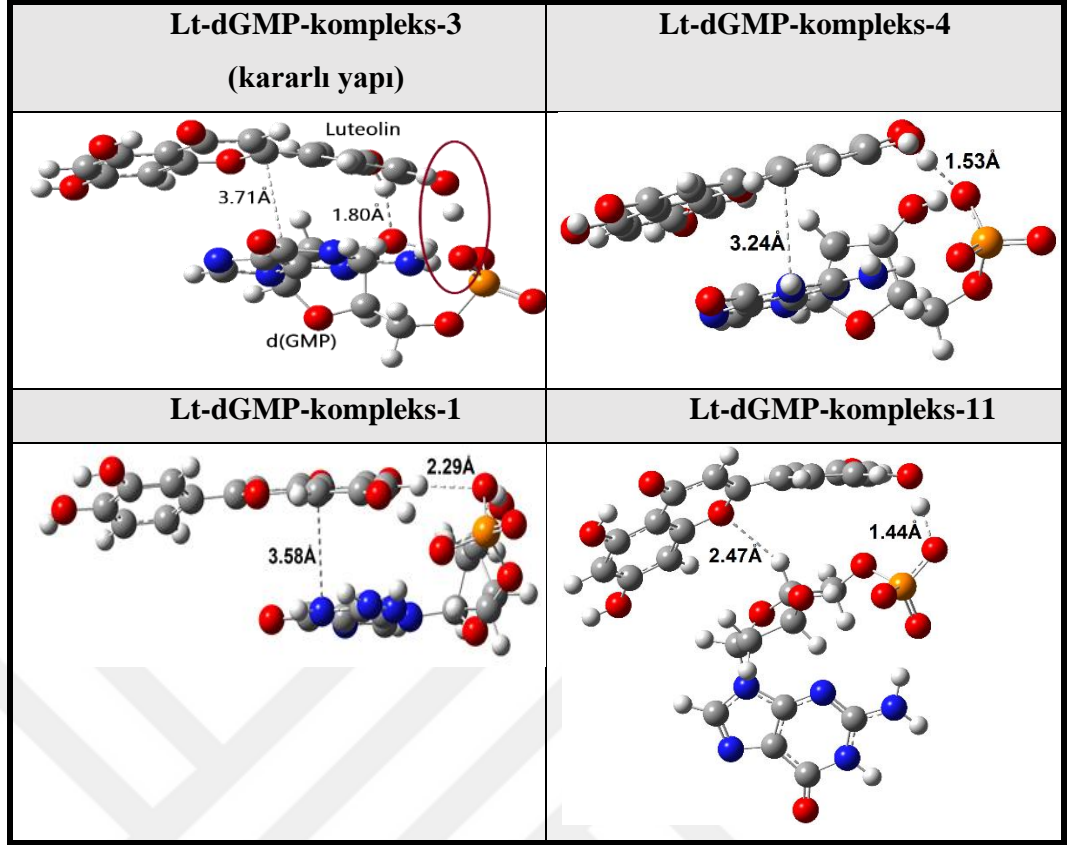
Lt-dGMP kompleks yapılarının içerisinde en karalı yapı tayini için Tablo 4.11.'de konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}+\text{ZPE}$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri belirlendi.

**Tablo 4.11.** Lt-dGMP-komplekslerinin su fazında  $\omega\text{-B97XD/6-31+G(d,p)}$  seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}+\text{ZPE}$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi (ZPE, Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri

suda	$\mu$ (D)	$E_{\text{elek}}+\text{ZPE}$ (Hartree)	$E_{\text{elek}}+\Delta G$ (Hartree)	$\Delta E_C^a$ (kcal/mol)	$\Delta\Delta G_C^b$ (kcal/mol)
<b>dGMP-6</b>	23.18	-1529.858160	-1529.90498		
<b>Lt-3</b>	6.46	-1028.487177	-1028.532084		
<b>Lt-dGMP-kompleks-3</b>	33.85	-2558.383038	-2558.449289	<b>-23.65</b>	<b>-7.67</b>
<b>Lt-dGMP-kompleks-4</b>	30.09	-2558.379974	-2558.447580	-21.73	-6.60
<b>Lt-dGMP-kompleks-1</b>	42,22	-2558.378335	-2558.446946	-20.70	-6.20
<b>Lt-dGMP-komplek-11</b>	23.75	-2558.374762	-2558.445017	-18.46	-4.99

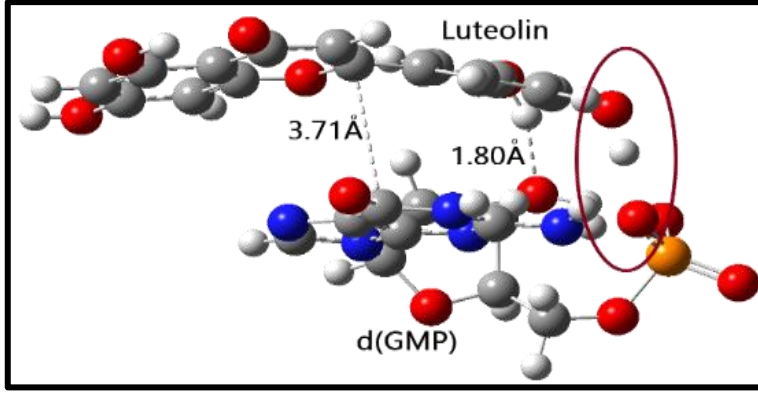
$$^a\Delta E_C = E_{\text{Kompleks}} - (E_{\text{dGMP}} + E_{\text{Lt}}); \quad ^b\Delta\Delta G_C = \Delta G_{\text{Kompleks}} - (\Delta G_{\text{dGMP}} + \Delta G_{\text{Lt}})$$

Komplekslerin  $\Delta\Delta G_C$  Gibbs serbest enerjisi; oluşan kompleksin Gibbs serbest enerjisinden karalı monomer olan dGMP-6 ve Lt-3 Gibbs serbest enerjilerinin farkı olarak bulunur. Böylelikle hesaplanan -7.67 kcal/mol ile Lt-dGMP-kompleks-3'nin istemli olarak kendiliğinden gerçekleşen bir mekanizma olduğu saptanmıştır. Şekil 4.32.'de ise üç boyutlu optimize yapılar verilmiştir.



Şekil 4.32. Optimize Edilen En Kararlı İlk Dört Lt-dGMP-kompleks Yapılar

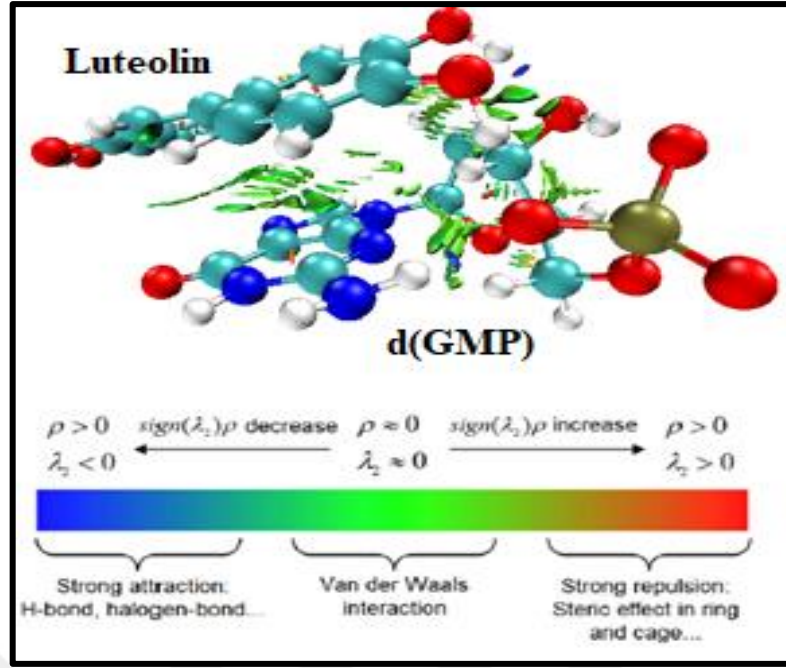
Optimize edilen kararlı komplekslerin yapılarına bakıldığında her bir kompleksini dGMP yapısında bulunan fosfat grubundaki (-PO<sub>3</sub>) oksijen atomu ile Luteolin molekülünde bulunan hidroksi yapısındaki (-OH) H atomu arasında şiddetli yaklaşmanın (-PO.....HO-) olduğu saptandı. Lt-dGMP-kompleks-4 ve Lt-dGMP-kompleks-1 komplekslerine bakıldığında Guanin bazı ile Luteolin molekülü arasındaki mesafenin sırasıyla 3.24 Angstrom ve 3.58 Angstrom'dur. Lt-dGMP-kompleks-11 kompleksinde ise Guanin bazı Luteolin molekülünün uzağında yer alırken, dGMP nükleotidindeki şeker ile Luteolin'in halkalı yapısının birbirine paralel konumlanmaktadır ve aralarındaki mesafe 2.47 Angstrom'dur. Yapılan hesaplama sonucunda en kararlı yapı olan Lt-dGMP-kompleks-3'ün yapısı Şekil 4.33.'te gösterilir.



Şekil 4.33. Lt-dGMP-kompleks-3 Yapısı

Lt-dGMP-kompleks-3'ün diğer kompleksler göre Luteolin ve dGMP molekülü arasında daha fazla yaklaşım olduğu görülür. Öncelikle dGMP'de bulunan fosfat grubundaki ( $-\text{PO}_3$ ) oksijen atomu ile Lutolin'de bulunan hidroksi grubundaki ( $-\text{OH}$ ) H atomu etkileşip, H atomu moleküller arasında ( $-\text{PO}\dots\text{H}\dots\text{O}-$ ) bağ yapar. Bunun dışında dGMP'de şeker molekülünde bulunan ( $-\text{OH}$ ) grubundaki O atomu ile Lutolin'inde bulunan ( $-\text{OH}$ ) grubundaki H atomu arasında 1.80 Angstrom mesafe vardır. Ayrıca Guanin bazı ile Luteolin'in halkalı grubu arasındaki mesafe ise 3.71 Angstrom'dur.

Optimizasyon hesaplamaları sonucunda tespit edilen moleküllerarasındaki mesafenin, oluşabilecek bağların ve ikincil etkileşimlerin tespit edilmesi için NCI analizi kullanılmıştır. Bu analiz sonucunda dimer komplekste moleküllerarasında ve molekül içinde meydana gelen H bağları, van der Waals etkileşimleri ve sterik engeller belirlenir. Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksinin NCI analizi Şekil 4.34.'te verilmiştir.

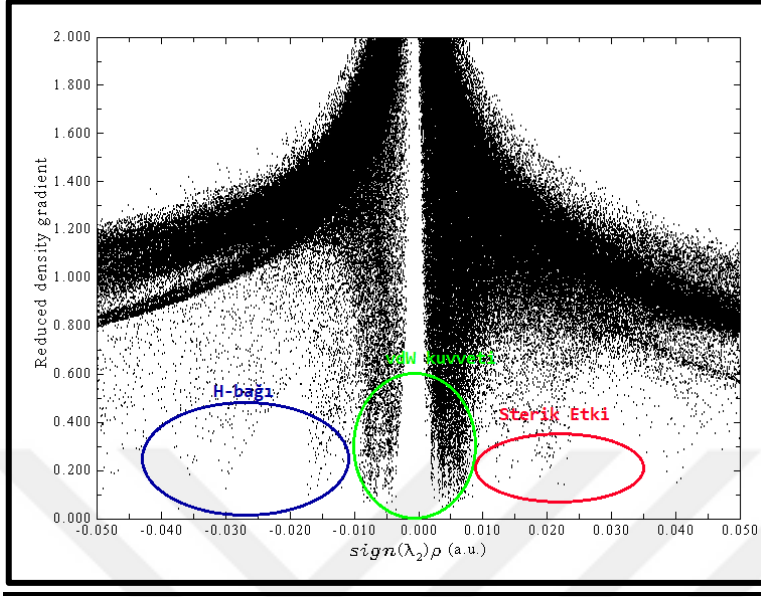


**Şekil 4.34.** NCI Analizi Kullanılarak İkincil Etkileşimlerin Lt-dGMP-kompleks-3 Üzerinde Gösterimi

NCI analizinde mavi renk H bağı, yeşil renk van der Waals etkileşimini ve kırmızı renk ise sterik etkiyi göstermektedir. Şekil 4.33.'te Luteolin'in hidroksi molekülündeki (-OH) H atomu ile dGMP'de şeker yapısındaki (-OH) oksijen atomundaki mesafe 1.80 Angstrom olarak tespit edilmiştir ve NCI analizine bakıldığında bu alanın koyu mavi renk olması Luteolin-dGMP arasında H bağı olduğunu gösterir. Ayrıca dGMP molekül içinde bazda bulunan amin molekülü ile şeker molekülünde bulunan oksijen atomu (-N-H...O-) arasındaki mavi renk H-bağının olduğunu göstermektedir.

Luteolin'in halkalı yapısı ile dGMP'nin Guanin bazı arasındaki yoğun olan yeşil alan bu kompleks arasında van der Waals kuvvetinin olduğunu göstermektedir. En yoğun yeşil alan Luteolin halkalı yapısı ile dGMP bazı arasında ve Luteolin'in hidroksi grupları ile dGMP'in şeker grubu arasında görülmektedir. Luteolin ve dGMP'de bulunan halkalı yapıların arasındaki kırmızı alan ise sterik etkiyi göstermektedir.

Şekil 4.35.'te ise dimer yapının arasında gerçekleşen ikincil etkileşimler dağılım grafiğinde de görülmektedir.



Şekil 4.35. Lt-dGMP-kompleks-3 Kompleksi Arasında İkincil Etkileşimleri Gösteren Dağılım Grafiği

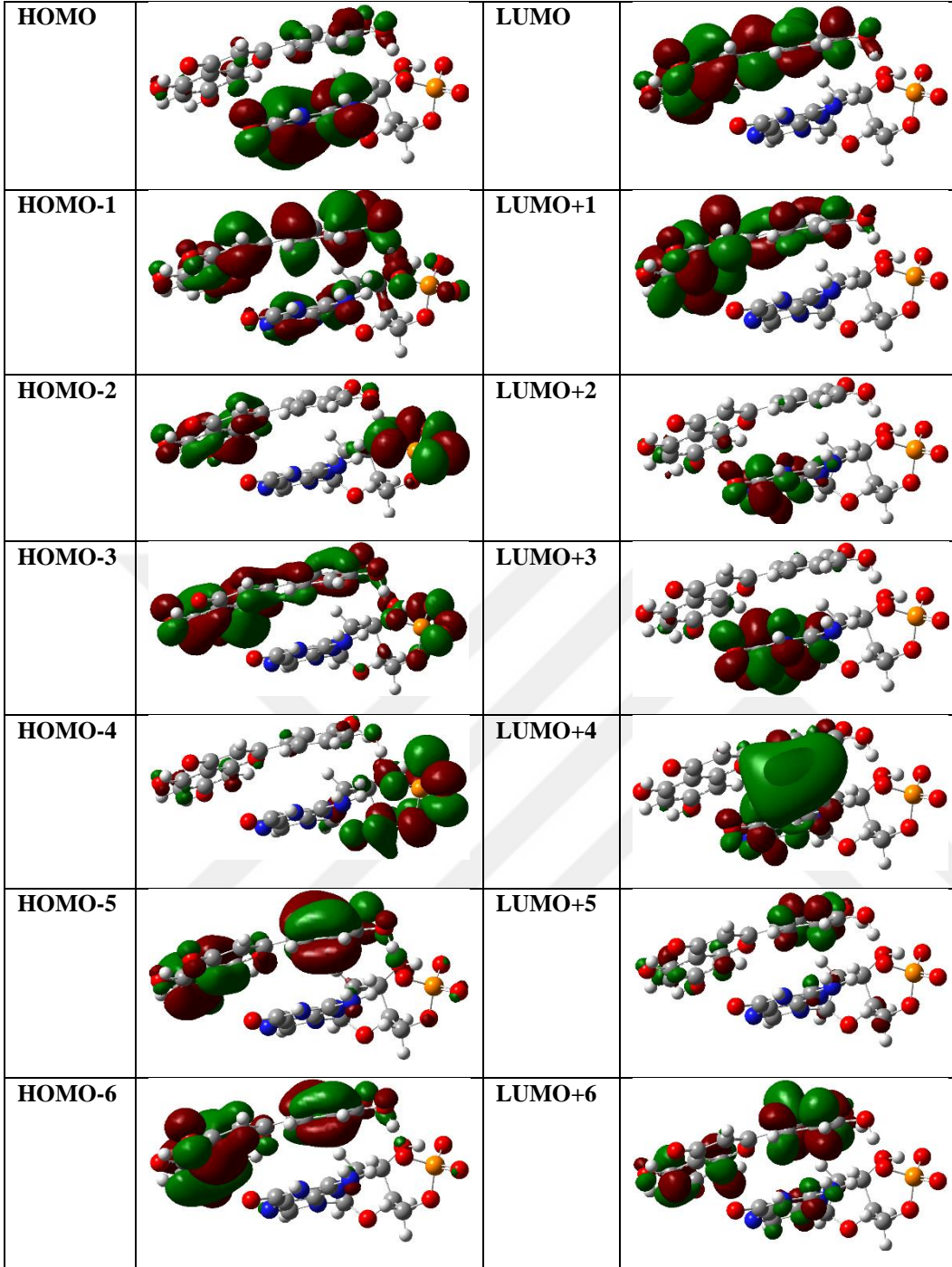
NCI dağılım grafiği göre Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksinde en yoğun etkileşimin grafiğin ortasında bulunan yeşil daire ile belirtilen alandan dolayı van der Waals etkileşiminin olduğu bunun da nedeni moleküllerde bulunan rezonans olabilen halkalı yapılar arasındaki  $\pi-\pi$  etkileşimlerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca grafiğin sol tarafında mavi daire içerisinde alınan bölge ise dimerler arasındaki H bağına gösterirken, kırmızı daire içerisindeki alan ise sterik etkinin varlığını gösterir. Bu grafiğe göre dimerde bulunan sterik etkinin diğer etkileşimlerden çok daha az olduğu söylenebilir.

Temel hal geometrisi kullanılarak Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksinin en düşük enerjili 40 singlet uyarılmış hali hesaplanmıştır Tablo 4.12.'de kompleksin ilk 6 singlet hali yer alınmaktadır ve temel halden uyarılmış hale geçerken hesaplanan enerji farkı  $\Delta E$  (eV), dalga boyu  $\lambda$  (nm), f ve baskın olan geçişler yer almaktadır.

**Tablo 4.12.** Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksi için kuantum kimyasal model kullanılarak elde edilen uyarılma durum özellikleri

<b>suda</b>	<b><math>\Delta E</math> (eV)</b>	<b><math>\lambda</math> (nm)</b>	<b>F</b>	<b>Baskın Geçiş</b>
<b>S<sub>1</sub></b>	4.02	308.27	0.6065	H-1→L (%57)
<b>S<sub>2</sub></b>	4.37	283.09	0.0291	H→L (%61)
<b>S<sub>3</sub></b>	4.49	276.12	0.0022	H-3→L(%52)
<b>S<sub>4</sub></b>	4.62	267.87	0.0029	H-11→L(%60)
<b>S<sub>5</sub></b>	4.69	264.37	0.0166	H-5→L(%53)
<b>S<sub>6</sub></b>	4.9	276.12	0.0022	H-3→L(%52)

Verilere göre temel halden uyarılan dimer kompleks S<sub>1</sub>'de 308 nm dalga boyunda 0.6065 osilatör kuvvetiyle en büyük osilatör kuvvetine sahipken, dimer kompleksin uyarılan hali ile temel hal arasında bulunan enerjinin 4.02 eV sahiptir. Bu singlet uyarılmanın ise en baskın geçişi %57 oranı ile HOMO-1'den LUMO'ya geçiştir. S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya singlet uyarılma hallerinin artışı ile enerji farkının ve dalga boyunda arttığı belirlendi. Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksinin HOMO LUMO geçişleri için moleküllerin sınır moleküler orbitalleri Şekil 4.36.'da gösterilmiştir.

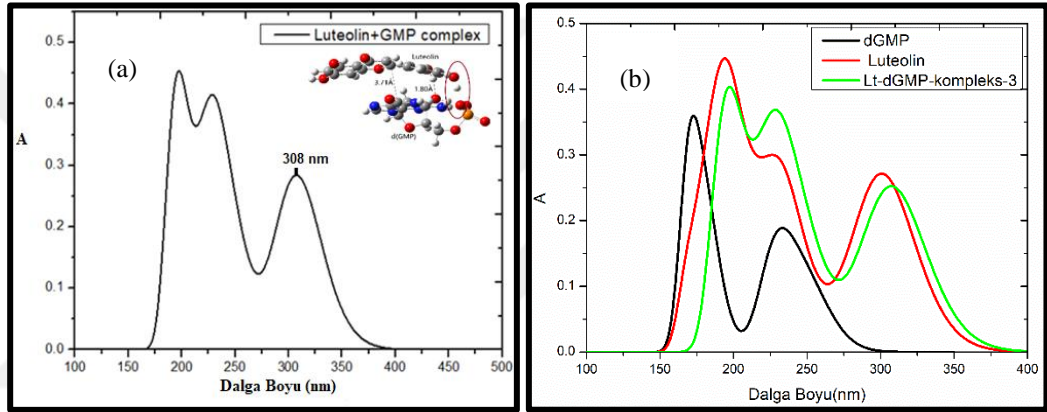


**Şekil 4.36.** En Düşük Uyarılmış Singlet Durumlarının CI Tanımında Yer Alan Çalışılan Moleküllerin Sınır Moleküler Orbitalleri

Şekil 4.36’da en düşük uyarılma olan  $S_1$ ’de elektron geçişlerinin baskın geçişi %57 ile HOMO-1→LUMO arasında gerçekleşmiştir. HOMO-1’de elektronun büyük yoğunluğu dGMP molekülündedir. Uyarılmanın ardından LUMO’da ise dGMP’de bulunan elektron yoğunluğunun tamamı Luteolin molekülüne geçmiştir.  $S_2$ ’ de ise HOMO→LUMO geçişi %61 oran ile gerçekleşmektedir ve HOMO’da

elektron yoğunluğunun neredeyse tamamı dGMP iken uyarılmanın ardından LUMO'da ise elektronların tamamı Luteolin molekülüne aktarılmıştır. S3'te ise HOMO-3'te dGMP'nin fosfat grubunda ve Luteolinin genelinde bulunan elektron yoğunluğu uyarılmadan sonra LUMO'da elektron yoğunluğunun tümü Luteolin molekülüne geçtiği gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlardan Luteolin molekülünün akseptör dGMP nükleotidin ise donör olarak düşünülebileceği fakat bunu desteklemek için CDD analizinden faydalanır.

Elektron/yük geçişlerinin anlaşılması için dGMP, Luteolin ve Luteolin-dGMP Kompleksi'nin hesapsal UV/Vis Spektrumları Şekil 4.37.'de yer almaktadır.



Şekil 4.37. (a) Su Fazında Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksi UV/Vis Spektrumu; (b) Su Fazında Luteolin, dGMP ve Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksi UV/Vis Spektrumu

Şekil 4.37. (a) 'da verilen Luteolin-dGMP kompleksinin UV/Vis Spektrum sonucunda 308nm dalga boyunda ilk uyarılmayı yapmaktadır. Şekil 4.37. (b)' de Luteolin, dGMP ve Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksi UV/Vis Spektrumları verilmektedir. Luteolin ve dGMP moleküllerinin en düşük uyarılma dalga boyları sırasıyla 301nm ve 233 nm'dir. dGMP-Luteolin arasındaki etkileşimi incelerken, dGMP spektrumunun daha kısa dalga boyunda 233nm'de bir spektrum verdiği için Luteolin molekülü spektrumunun 301'den 308 nm'ye 7nm kaydığı kırmızıya kaydığı saptanmıştır.

Optimize edilen ve elektronik geçişleri hesaplanan dimer kompleks yapıları için hangi molekülün donör hangi molekülün akseptör olduğunu saptamak için yük yoğunluk farkı hesaplandı. Moleküller arasında gerçekleşen yük transferi (CT), lokal uyarılmaları (LE) ve molekül içi elektron hareketleri hakkında yorum

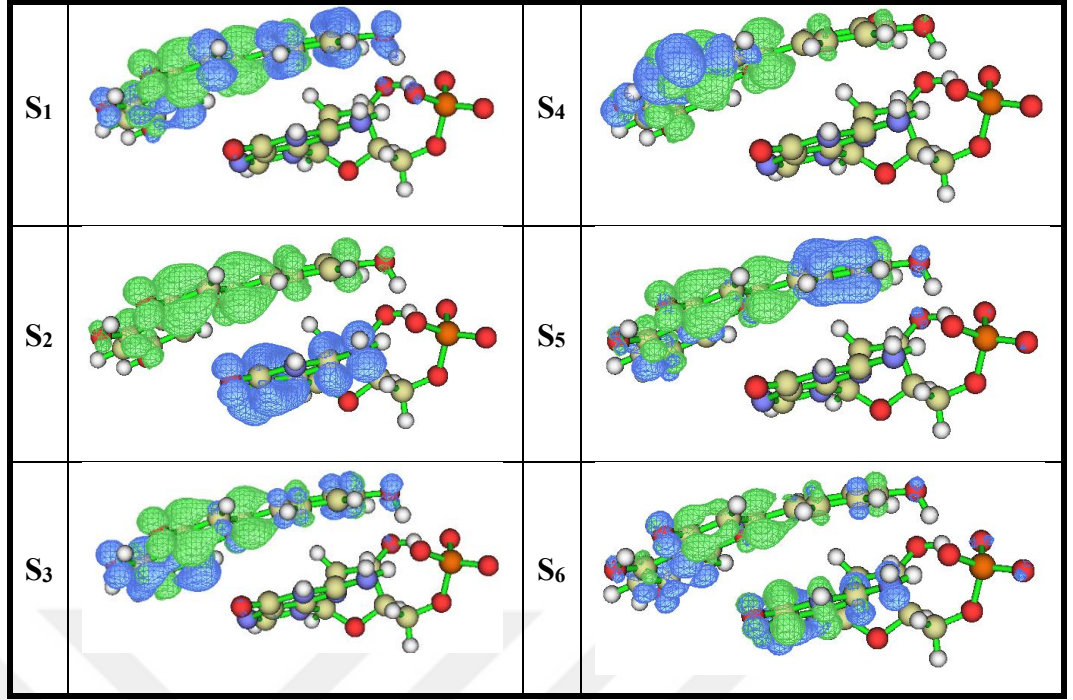
yapabilmemiz için uyarılmış kompleksin boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) sonucuna bakıldı.

Boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafe yük transferi (CT) uzunluğunun bir ölçüsüdür; bu değer ne kadar büyükse, yük transferinin aktarıldığı mesafede de o kadar uzundur. Tablo 4.13.'de Lt-dGMP-kompleks-3'in uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) gösterilir.

**Tablo 4.11.** Lt-dGMP-kompleks-3'ün uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D)

	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
<b>S(hartree)</b>	0.338	<b>0.335</b>	0.331	0.181	0.315	0.351
<b>D(Å)</b>	1.570	<b>3.783</b>	1.099	1.850	1.641	0.734

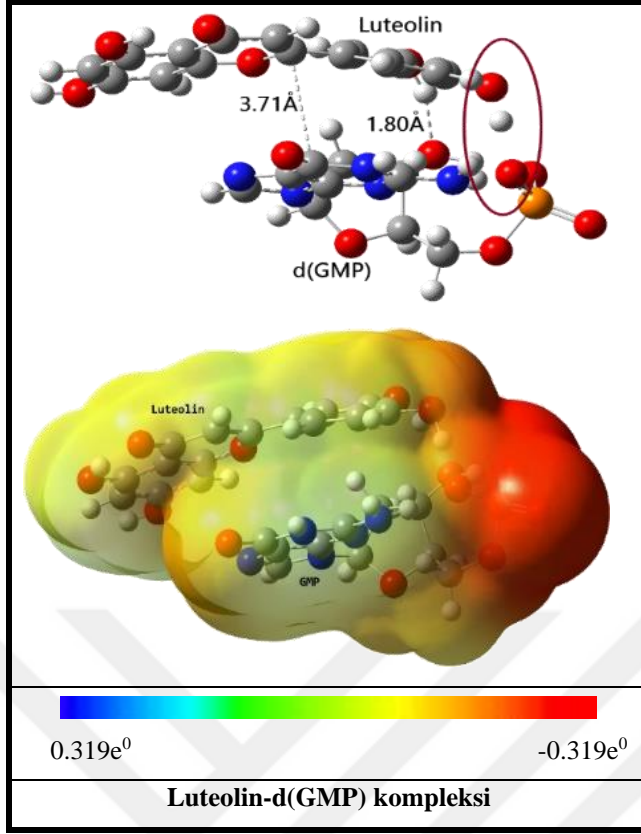
Elde edilen Tablo 4.13.'te S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya kadar incelenen uyarılma sonuçlarına bakıldığında içlerinden düşük boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (0.335 hartree) ve en büyük boşluk ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesiye (3.783 Angstrom) sahip uyarılma S<sub>2</sub>'dir. Bu uyarılmada dimer kompleks arasında yük transferinin olduğu belirlendi. S<sub>6</sub>'da ise D'nin düşük olması nedeniyle burada gerçekleşen elektron hareketinin local uyarılma (LE) olduğu tespit edilmiştir. Komplekste yük transferinin hangi moleküller arasında gerçekleştiğini belirlemek ve lokal uyarılmalarının nasıl olduğunu anlamak için Şekil 4.38.'de Lt-dGMP-kompleks-3 kompleksinin ilk altı singlet uyarılmalarının yük yoğunluk farkları incelenmiştir.



Şekil 4.38. Lt-dGMP-kompleks-3 Kompleks Yapıların Yük Yoğunluk Farklarının Gösterimi

Dimer kompleksin yük yoğunluk farklarının gösteriminde yeşil olarak belirtilen alan alanlar elektronlar yoğunluğunu, mavi alanlar ise boşlukları göstermektedir. Tablo 4.13.'te belirlenen S<sub>2</sub> uyarılmasında yük transferi olduğu yük yoğunluğu farkı gösteriminde de görmekteyiz. Elektronlar Luteolin molekülde yoğunlaşırken, tüm boşlukların ise dGMP molekülündedir. Bu da dGMP'den Luteolin molekülüne elektron transferi olduğunu net olarak gösterir. Ayrıca bu sonuç Luteolin molekülünün akseptör gibi davranıp, dGMP nükleotidin ise donör olarak davrandığı saptanmıştır. S<sub>6</sub>' uyarılmasına bakıldığında hem Luteolin hem de dGMP moleküllerinde elektron ve boşlukların varlığı görülmektedir ve uyarılma sonucunda lokal uyarılmanın (LE) olduğu saptanmıştır.

Kompleksin elektrostatik potansiyelinin incelenmesinde, kompleksin hangi bölgelerinin elektronegatiflik, nükleofilik olduğunu ve kompleksin dipol momenti hakkında bilgi edinilebilir Şekil 4.39.'da gösterilen Lt-dGMP-kompleks-3'te MEP haritası yardımıyla elektronca zengin kısım kırmızı renkten başlayarak daha az zengin bölgeler mavi renkle belirlendi.



Şekil 4.39. Lt-dGMP-kompleks-3'ün Elektrotatik Potansiyel Haritası Gösterimi

Dimer kompleksin MEP haritası  $-0.319e^0$  ile  $0.319e^0$  değeri arasındadır. Diğer komplekslerde olduğu gibi kırmızı ile belirtilen elektron yoğunluğu en fazla olan alan dGMP molekülünde fosfat ( $-PO_3^-$ ) grubunun bulunduğu alandır. Bunun nedeni ise fosfat ( $-PO_3^-$ ) grubunun anyonik yapıda olması ve eşleşmemiş elektronu bulunan oksijen atomunun varlığından kaynaklanmaktadır. Buna ek olarak bu bölgeye Luteolin molekülünde bulunan hidroksi grubundaki ( $-OH$ ) oksijen atomu da katkı yapmaktadır. Komplekste açık mavi alan ise Guanin bazında bulunan azot atomunun bulunduğu alandır.

#### 4.2.5. Luteolin-dTMP Kompleksi

Luteolin-dTMP Kompleksi oluşumu için Luteolin ve dTMP monomerlerinin en kararlı yapıları kullanılarak çeşitli kompleks oluşumu için monomerlerin birçok etkileşim noktaları göz önünde bulundurularak (donör ve akseptör olarak görev alacak atomlar,  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi ve H bağı oluşturabilecek alanlar v.b) olası yapılar belirlenmiştir. Belirlenen yapıların her biri optimize edilmiştir. Optimize edilen

yapılar düşük enerjiden yüksek enerjiye doğru sıralanarak içlerinden en düşük enerjili yapı belirlenerek kararlı yapı tayini yapılmıştır. İncelenen Lt-dTMP komplekslerin içerisinde en kararlı ilk dört kompleksin optimize edilmesiyle Tablo 4.14.'de su fazında sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerjileri ( $E_{\text{elek}}+\text{ZPE}$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerjileri ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree), sıfır nokta titreşim enerjileri ( $\text{ZPE}$ , Hartree), dipol momentleri ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren göreceli elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri hesaplandı.

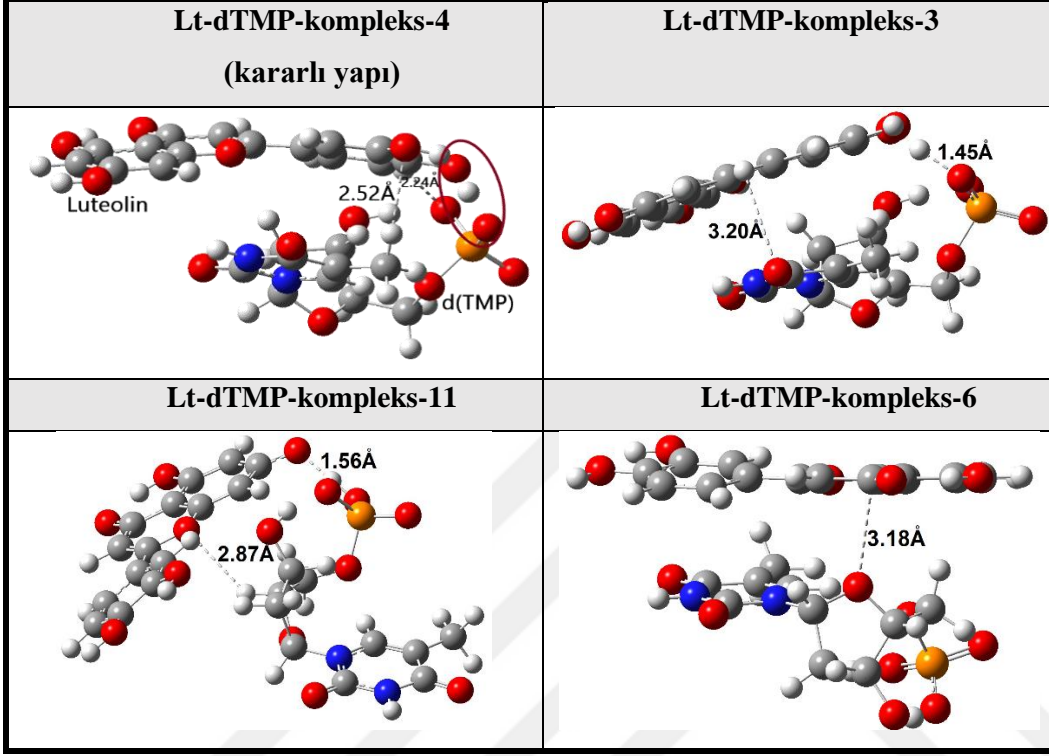
**Tablo 4.14.** Lt-dTMP kompleksinin su fazında  $\omega\text{-B97XD/6-31+G(d,p)}$  seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}+\text{ZPE}$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{\text{elek}}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi ( $\text{ZPE}$ , Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren göreceli elektronik enerji ( $E_{\text{elek}}$ , kcal/mol) değerleri

suda	$\mu$ (D)	$E_{\text{elek}}+\text{ZPE}$ (Hartree)	$E_{\text{elek}}+\Delta G$ (Hartree)	$\Delta E_C^a$ (kcal/mol)	$\Delta\Delta G_C^b$ (kcal/mol)
<b>Lt-3</b>	6.46	-1028.487177	-1028.532084		
<b>dTMP-6</b>	25.39	-1441.446510	-1441.494200		
<b>Lt-dTMP kompleks-4</b>	39.24	-2469.978642	-2470.046612	<b>-28.21</b>	<b>-12.76</b>
<b>Lt-dTMP kompleks-3</b>	32.68	-2469.969970	-2470.038752	-22.77	-7.82
<b>Lt-dTMP kompleks-11</b>	34.31	-2469.967561	-2470.039116	-21.26	-8.05
<b>Lt-dTMP kompleks-6</b>	42.13	-2469.956701	-2470.027089	-14.44	-0.51

$$^a\Delta E_C = E_{\text{Kompleks}} - (E_{\text{dTMP}} + E_{\text{Lt}}); \quad ^b\Delta\Delta G_C = \Delta G_{\text{Kompleks}} - (\Delta G_{\text{dTMP}} + \Delta G_{\text{Lt}})$$

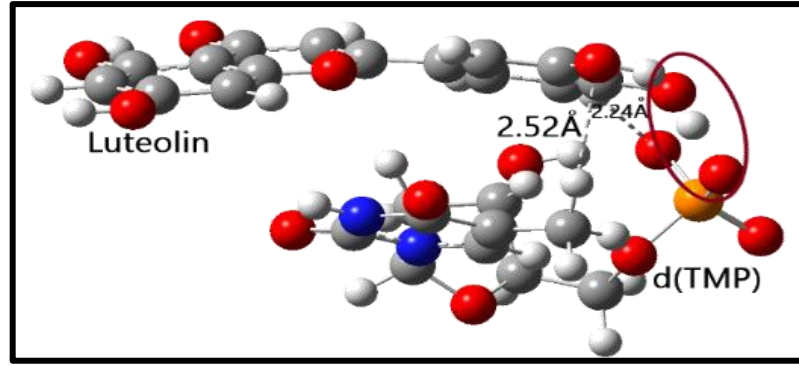
Komplekslerin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji sıraları küçükten büyüğe Lt-dTMP kompleks-4, Lt-dTMP kompleks-3, Lt-dTMP kompleks-11, Lt-dTMP kompleks-6'dır. Yapılan sıralamaya göre komplekslerin içerisinde en kararlı yapı **Lt-dTMP kompleks-4**'tür. İlgili kompleksin istemli olarak kompleks oluşumunu incelemek için; kompleksin Gibbs serbest enerjisinden, kararlı monomer olan dTMP-6 ve Lt3 Gibbs serbest enerjilerinin farkından yararlanılır. Yapılan hesaplama sonucunda oda sıcaklığında

Lt-dTMP-kompleks-4 kompleksinin -12.76 kcal/mol ile istemli olarak kendiliğinden gerçekleşen bir tepkime yaptığı saptanmıştır. Optimize edilerek kararlı dört kompleksin üç boyutlu yapıları Şekil 4.40.'ta verilmiştir.



Şekil 4.40. Optimize edilen Lt-dTMP-kompleks Yapılar

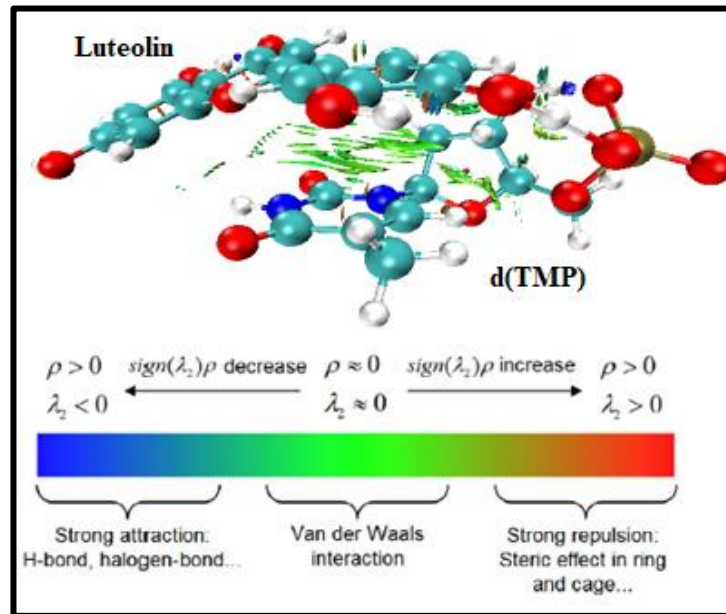
İncelenen kompleks yapılardan Lt-dTMP-kompleks-3 ve Lt-dTMP-kompleks-11'de en çok etkileşim yaklaşım dTMP molekülündeki fosfat grubu ile Luteolin molekülünün hidroksi grubu arasında gerçekleşmiştir ve komplekslere göre sırasıyla bu grupların arasındaki mesafe 1.45 Angstrom ve 1.56 Angstrom olarak belirlendi. Lt-dTMP-kompleks-3'ünde dTMP molekülündeki Timin bazı ile Luteolin molekülü arasında 3.20 Angstrom mesafe bulunur. Lt-dTMP-kompleks-11'in dTMP molekülündeki şeker grubu ile Luteolin arasındaki ortalama mesafe 2.87 Angstromdur. Dört kompleksin içerisinde Lt-dTMP-kompleks-6 kompleksinde dTMP molekülünde bulunan fosfat grubu etkileşimin dışında kalırken, dTMP molekülündeki Timin bazı ile Luteolin molekülündeki halkalı yapının yakınlaştığı saptandı. Hesaplamalar sonucunda en kararlı kompleks olan Lt-dTMP-kompleks-4'ün gösterimi Şekil 4.41.'de verilmiştir.



Şekil 4.41. Lt-dTMP-kompleks-4 Yapısı

Dimer komplekste Luteolin'de (-OH) molekülündeki -H atomu ile dTMP'deki (-PO<sup>-</sup>)'nun -O atomu ile kuvvetli bir bağ oluşturmaktadır. Ayrıca Luteolin molekülünde halkalı yapıdaki -H atomu ile dTMP'deki (-PO<sup>-</sup>) arasında bir etkileşim bulunur ve aralarındaki mesafe 2.24 Angstrom'dur. Bir diğer yaklaşım ise dTMP molekülündeki Timin bazı ile Lutolin molekülündeki halkalı yapı arasında gerçekleşirken aralarındaki mesafe ise 2.52 Angstromdur.

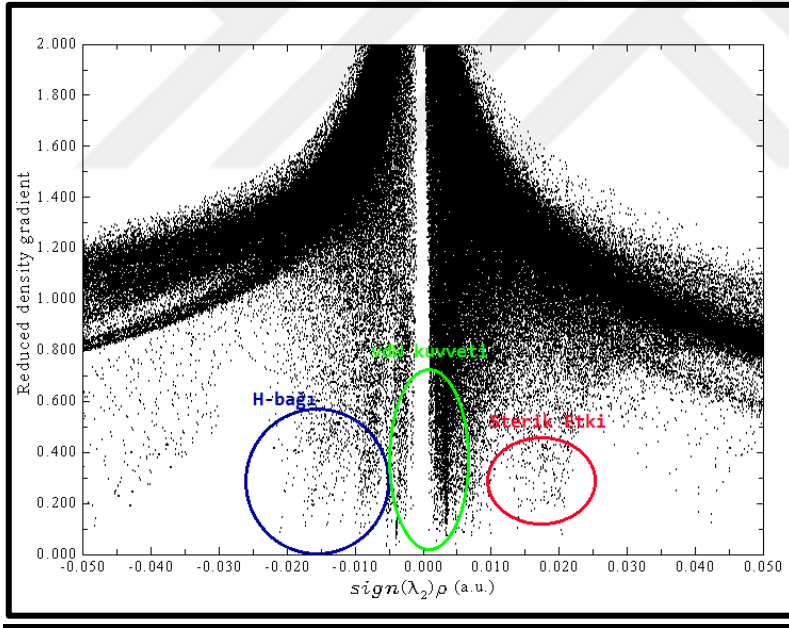
Dimer komplekste monomerlerin birbirlerine yaklaştığı alanlardan yaptığı bağı ve ikincil etkileşimlerin tespiti için NCI analizinden yararlanılmıştır. Şekil 4.42.'de Lt-dTMP-kompleks-4 kompleksinin NCI analizi gösterilmektedir.



Şekil 4.42. NCI Analizi Kullanılarak İkincil Etkileşimlerin Lt-dTMP-kompleks-4 Kompleksi Üzerinde Gösterimi

NCI analizinde mavi renk oluşan H bağı, yeşil renk moleküller arasında gerçekleşen van der Waals etkileşimini ve kırmızı renk ise moleküllerde meydana gelen sterik etkiyi gösterir. Analize göre, Luteolin'in hidroksi grubu (-OH) ile dTMP'nin fosfat grubu (-PO<sup>-</sup>) arasında (-PO-HO-) kovalent bir bağ oluşmuştur. dTMP molekülünde şeker yapısındaki hidroksi grubundaki (-OH) H atomu ile fosfat grubundaki (-PO<sup>-</sup>) oksijen atomu arasında (-PO...HO-) ve Luteolin'in molekül içi hidroksi grupları arasındaki (-OH...OH) alanın maviye dönmesi H bağı oluştuğunu göstermiştir. Luteolin'in halkalı yapısı ile dTMP'nin Timin bazı arasındaki yoğun olan yeşil alan bu kompleks arasında van der Waals kuvvetinin olduğunu göstermektedir. Luteolin ve dTMP'de bulunan halkalı yapıların arasındaki kırmızı alan ise sterik etkiyi göstermektedir.

Dimer kompleksteki H bağı, van der Waals etkileşimi ve sterik etkiyi Şekil 4.43.'de dağılım grafiğinde görülmektedir.



**Şekil 4.43.** Lt-dTMP-kompleks-4 Kompleksi Arasında İkincil Etkileşimleri Gösteren Dağılım Grafiği

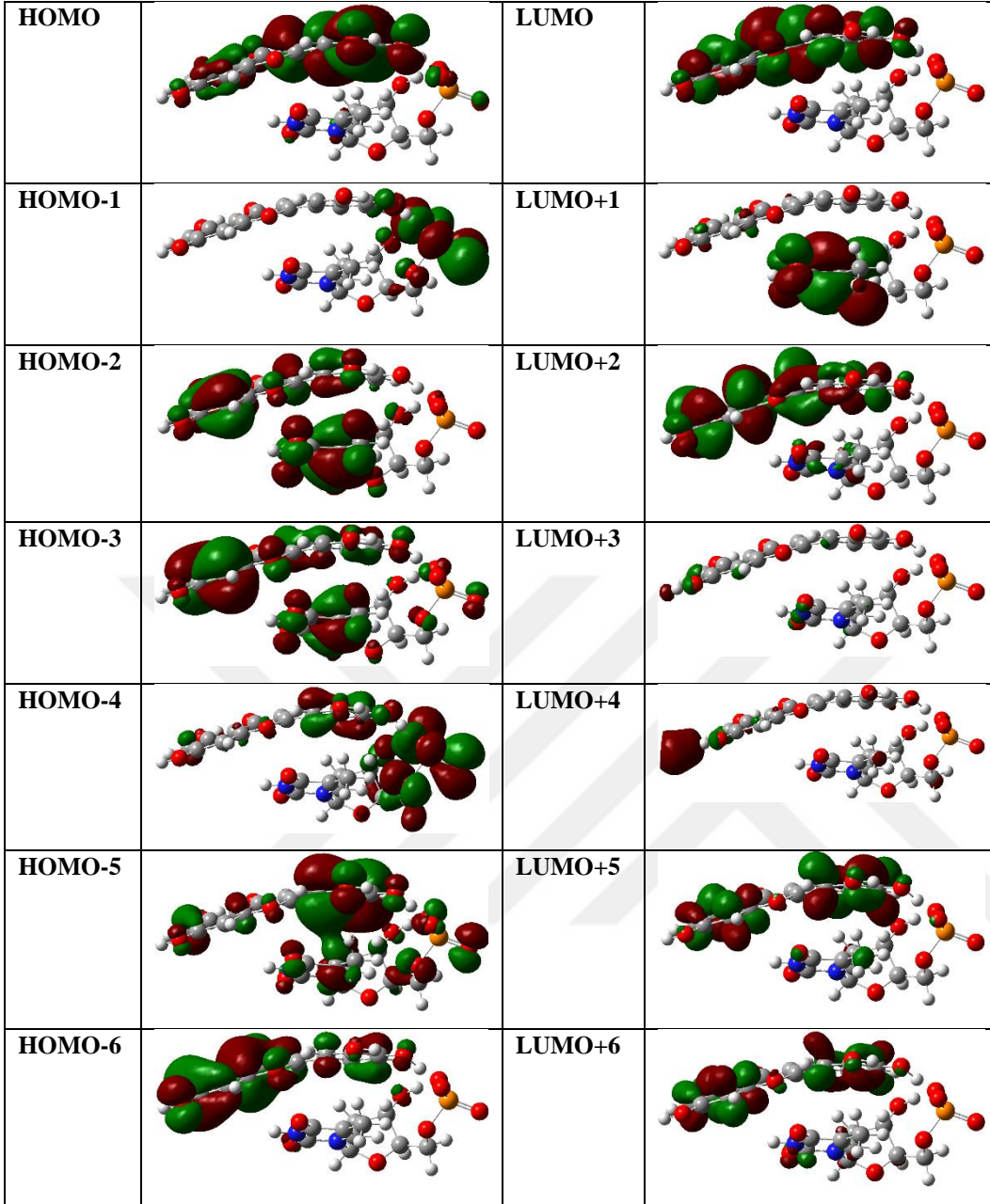
Dağılım grafiğine göre mavi daire içerisinde belirtilen alan kompleksteki H-bağı, yeşil daire ile belirtilen alan van der Waals etkileşimini ve kırmızı daire ise sterik etkiyi gösterir. Komplekste van der Waals etkileşiminin H-bağından ve sterik etkiden daha fazladır.

Lt-dTMP-kompleks-4 kompleksinin temel hal geometrisi kullanılarak en düşük enerjili 40 singlet uyarılmış hali hesaplanmıştır. Kompleksin ilk 6 singlet hali Tablo 4.15.'de yer alınmaktadır ve temel halden uyarılmış hale geçerken hesaplanan enerji farkı  $\Delta E$  (eV), dalga boyu  $\lambda$  (nm), f ve baskın olan geçişler yer almaktadır.

**Tablo 4.15.** Lt-dTMP-kompleks-4 Kompleksi için kuantum kimyasal model kullanılarak elde edilen uyarılma durum özellikleri

suda	$\Delta E$ (eV)	$\lambda$ (nm)	f	Baskın Geçiş
S <sub>1</sub>	3.89	318.64	0.7001	H→L (%65)
S <sub>2</sub>	4.48	277.01	0.0056	H-3→L+2(%56)
S <sub>3</sub>	4.62	268.08	0.0008	H-10→L(%64)
S <sub>4</sub>	4.63	267.54	0.0245	H-5→L(%45)
S <sub>5</sub>	4.91	252.77	0.0368	H-6→L(%49)
S <sub>6</sub>	4.99	248.55	0.1294	H-2→L+1(%51)

Dimer komplekste en düşük uyarılma olan S<sub>1</sub> uyarılması, 318.64 nm dalga boyunda temel hal ile uyarılmış hal enerji arasındaki fark 3.89 eV'tur ve en yüksek osilatör kuvvetine 0.7001 değeriyle sahiptir. Bu singlet uyarılmanın ise en baskın geçişi %65 oranı ile HOMO'dan LUMO'ya geçiştir. S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya singlet uyarılma hallerinin artışı ile enerji farkının ve dalga boyunda arttığı belirlendi. Lt-dTMP-kompleks-4 kompleksinin HOMO'dan LUMO'ya geçişleri Şekil 4.44.'te moleküllerin sınır moleküler orbitalleri gösterilmiştir.

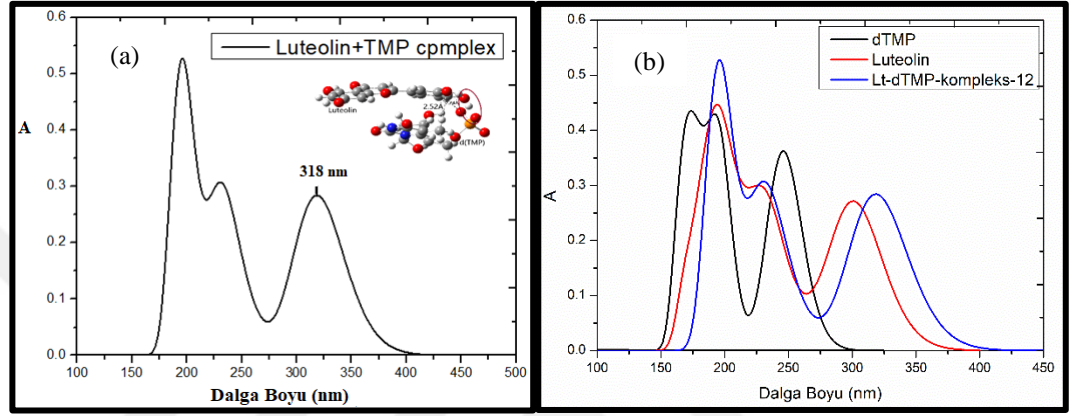


**Şekil 4.44.** En Düşük Uyarılmış Singlet Durumlarının CI Tanımında Yer Alan Çalışılan Moleküllerin Sınır Moleküler Orbitalleri

En düşük uyarılma olan  $S_1$ 'de elektron geçişlerinin baskın geçişi %65 ile HOMO→LUMO arasında gerçekleşmiştir. HOMO'da elektronun yoğunluğu Luteolin molekülündedir. Uyarılmanın ardından HOMO'dan LUMO'ya geçişte ise dTMP nükleotinin fosfat grubunda bulunun az miktardaki elektron yoğunluğunun tamamen Luteolin molekülüne geçtiği ve elektron yoğunluğunun Luteolin molekülünde kaldığı görülmektedir.  $S_2'$  de ise %58 oranı ile HOMO-3→LUMO+2 geçişi gerçekleşmektedir ve HOMO-3'te hem dTMP hem de Luteolin molekülünde

elektron yoğunluğu görülürken, LUMO+2'ye uyarıldığında dTMP'de olan tüm elektronunun Luteolin molekülüne aktarıldığı görülmektedir. Bu geçişlerin yük transferi veya lokal uyarılma tespiti ve monomerlerin donör – akseptör ilişkisini yapmak için CDD analizi sonucundan yararlanır.

Şekil 4.45.'te dTMP, Luteolin ve Lt-dTMP-kompleks-4'nin hesapsal UV/Vis Spektrumları gösterilir.



Şekil 4.45. (a) Su fazında Lt-dTMP-kompleks-4 kompleksi UV/Vis Spektrumu; (b) Su fazında Luteolin, dTMP ve Lt-dTMP-kompleks-4 kompleksi UV Spektrumu

Şekil 4.45. (a) 'da verilen UV Spektrum sonucunda Luteolin-d(TMP) kompleksi 318 nm dalga boyuna sahiptir. Şekil 4.45. (b)' de Luteolin, d(TMP) ve Luteolin-d(TMP) kompleksi UV/Vis Spektrumları verilmiştir. Luteolin-d(TMP) kompleksi oluşumuyla Luteolin molekülünün spektrumu 17nm kırmızıya kaydığı saptanırken dTMP molekülünün Luteolin molekülüne kıyasla daha küçük dalga boyunda uyarıldığı gözlemlendi.

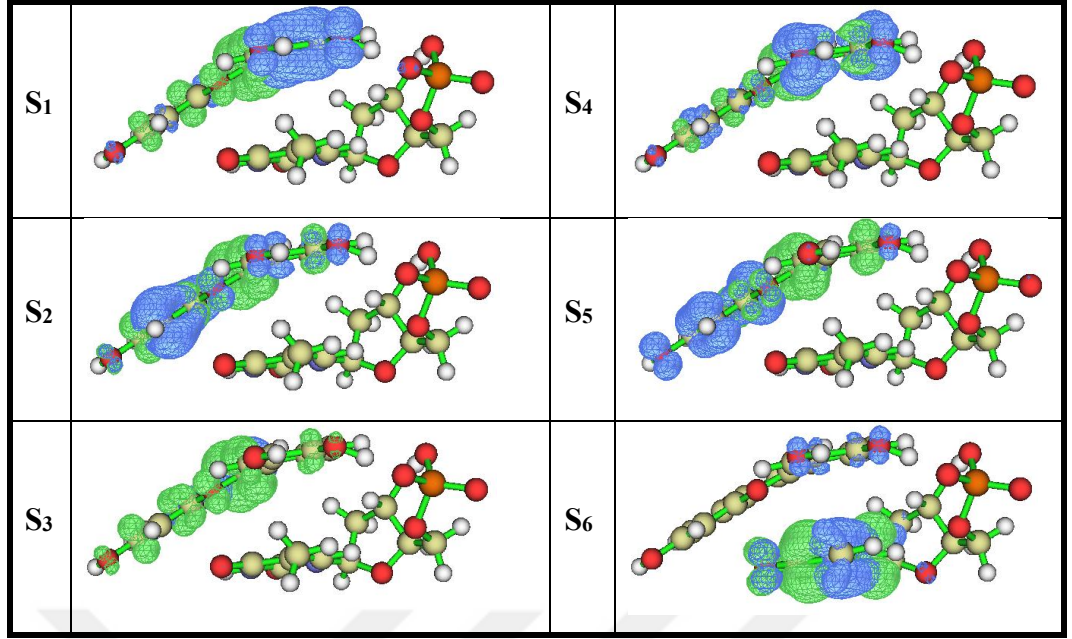
Optimize edilen ve elektronik geçişleri hesaplanan dimer kompleks yapıları için hangi molekülün donör hangi molekülün akseptör olduğunu saptamak için yük yoğunluk farkı hesaplandı. Moleküller arasında gerçekleşen yük transferi (CT), lokal uyarılmaları (LE) ve molekül içi elektron hareketleri hakkında yorum yapabilmemiz için uyarılmış kompleksin boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) sonucuna bakıldı.

Tablo 4.16.'da Lt-dTMP-kompleks-4'ün uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D) gösterilir.

**Tablo 4.16.** Lt-dTMP-kompleks-4'in uyarılmış halde boşluk-elektron örtüşmesinin integrali (S) ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D)

	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
<b>S (hartree)</b>	0.286	0.319	0.178	0.405	0.341	0.359
<b>D(Å)</b>	2.872	1.137	1.875	1.677	1.987	0.632

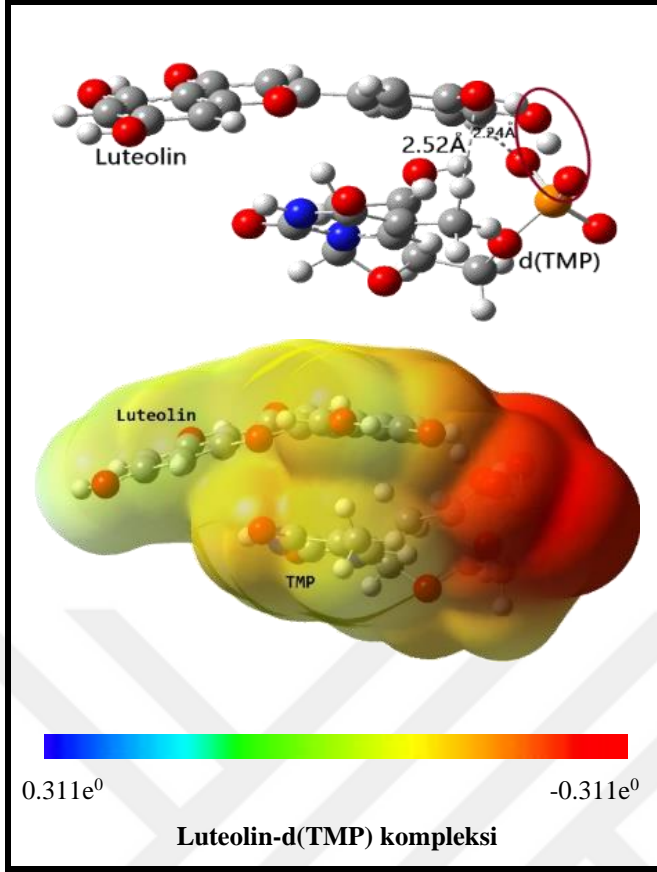
S<sub>1</sub>'den S<sub>6</sub>'ya kadar incelenen uyarılma sonuçlarına bakıldığında içlerinden en büyük boşluk ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesiye (2.872 Angstrom) sahip uyarılma S<sub>1</sub>'dir. S<sub>6</sub>'da ise D değeri 0.632 Angstrom ile en düşük mesafeye sahiptir. Düşük D değeri ve yüksek S değeri nedeniyle S<sub>6</sub>'da gerçekleşen elektron hareketinin local uyarılma (LE) olduğu tespit edilmiştir. Komplekste yük transferinin hangi moleküller arasında gerçekleştiğini belirlemek ve lokal uyarılmalarının nasıl olduğunu anlamak için Şekil 4.46.'da Lt-dTMP-kompleks-4'in kompleksinin ilk altı singlet uyarılmalarının yük yoğunluk farkları incelenmiştir.



Şekil 4.46. Lt-dTMP-kompleks-4 Kompleks Yapılarının Yük Yoğunluk Farklarının Gösterimi

Dimer kompleksin yük yoğunluk farklarının gösteriminde yeşil olarak belirtilen alan alanlar elektronlar yoğunluğunu, mavi alanlar ise boşlukları göstermektedir. Tablo 4.16.'da belirlenen uyarılmalarında S<sub>6</sub> uyarılması haricinde hem boşlukların hem de elektron yoğunluğunun Luteolin molekülü üzerinde olduğu belirlendi. S<sub>6</sub> uyarılmasında ise elektron yoğunluğunun dTMP molekülünün üzerinde bulunurken, az miktarda boşluk ise Luteolin molekülünün üzerinde görülmektedir. dTMP ile Luteolin molekülü arasında CT varlığı net olarak söylenemez.

Dimer kompleksinin polaritesini ve dipol momentinin anlaşılmasına yardımcı olan elektrostatik potansiyel haritası gösterimi Şekil 4.47.'de bulunur.



Şekil 4.47. Lt-dTMP-kompleks-4'in Elektrostatik Potansiyel Haritası Gösterimi

Dimer kompleksin elektrostatik potansiyel değeri  $-0.311e^0$  ile  $0.311e^0$  arasında değişmektedir. Kırmızı ile belirtilen renk elektrofilik alanı belirtirken, mavi ile belirtilen alan nükleofilik alanı göstermektedir. dTMP molekülünün fosfat grubunun anyonik yapısından ve oksijen atomlarında bulunan eşleşmemiş elektronlardan dolayı kırmızı renktedir. Luteolin'in dTMP molekülünden uzak olan ve etkileşime girmeyen alan yeşildir ve diğer bölgelere göre elektron yoğunluğu daha azdır.

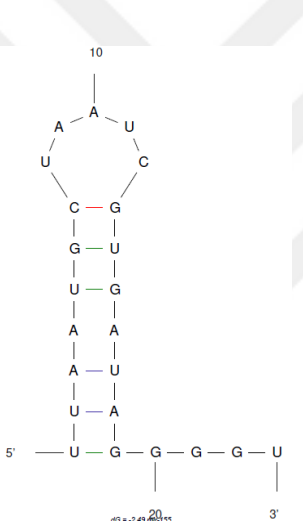
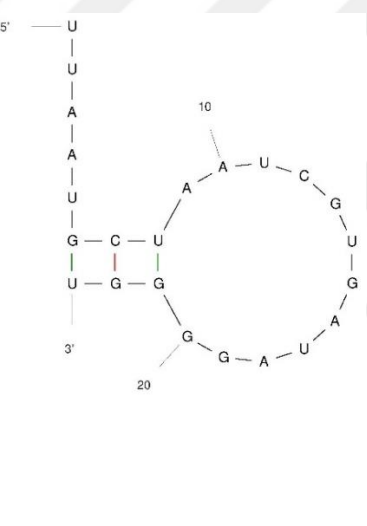
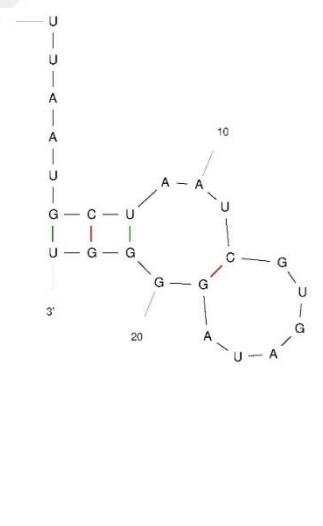
#### 4.2.6. miR-155

Onkogenik miRNA'lardan bir tanesi olan miR-155'in, yapısının anlaşılması ve Luteolin molekülü ile hangi bölgeden nasıl etkileşim yapma olasılıklarının saptanması özellikle bazı hastalıkların tedavisi için oldukça önem arz etmektedir. 23 nükleotidden oluşan miR-155 dizilimi Tablo 4.17.'de gösterilir.

**Tablo 4.17.** miR-155 dizilimi

miR-155	5'-UAAUGCUGAAUCGUGAUAGGGGU-3'
---------	-------------------------------

miR-155 dizisinin en karalı yapısını tayin edebilmek için öncelikle miR-155 dizisinin ikincil yapılarının belirlenmesi gerekmektedir. Bunun için biyoinformatik uygulamalardan yararlanılarak serbest enerji minimizasyonuna dayanan mfold web sunucusu (<http://mfold.rna.albany.edu/?0mfold>) (Zuker, 2003) yardımıyla miR-155 dizisinin başlangıç yapısının ikincil yapısı elde edildi (<http://mfold.rna.albany.edu/?0mfold>). Elde edilen yapılar Şekil 4.48.'de verilir.

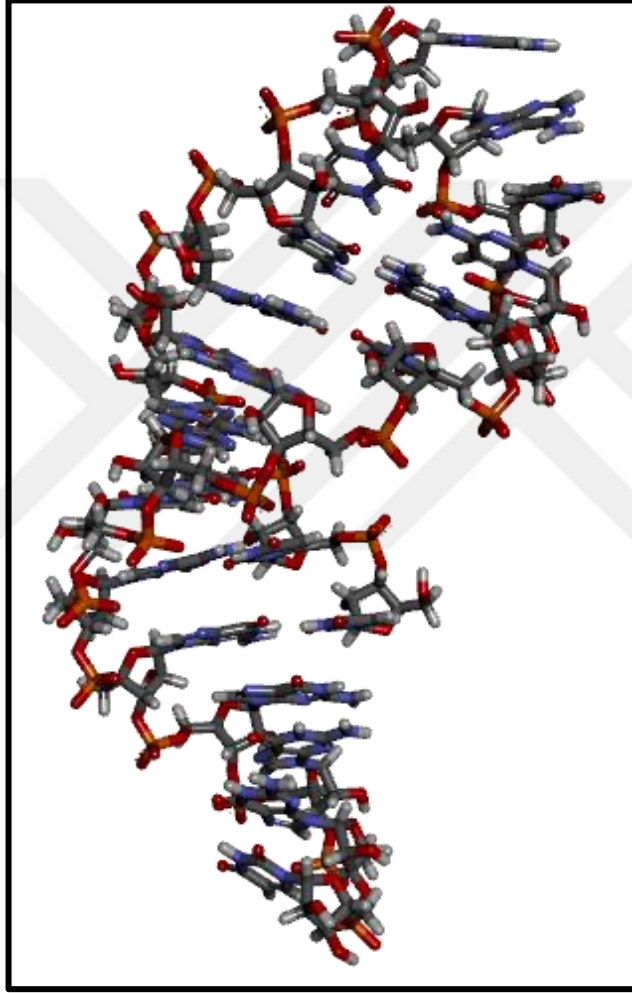
miR-155-a	miR-155-b	miR-155-c
		
$\Delta G = -2.49 \text{ kcal/mol}$ $\Delta H = -36.80 \text{ kcal/mol}$ $\Delta S = -115.5 \text{ cal/(K.mol)}$	$\Delta G = -1.78 \text{ kcal/mol}$ $\Delta H = -21.20 \text{ kcal/mol}$ $\Delta S = -65.1 \text{ cal/(K.mol)}$	$\Delta G = -1.57 \text{ kcal/mol}$ $\Delta H = -33.70 \text{ kcal/mol}$ $\Delta S = -107.7 \text{ cal/(K.mol)}$

**Şekil 4.48.** miR-155 Dizilimi için Elde Edilen İkincil Yapılar

İlgili mfold biyoinformatik web sunucusu kullanılarak en düşük enerjiye sahip üç adet farklı iki boyutlu miR-155 sekansı elde edilmiştir. miR-155 sekansının 3 adet iki boyutlu yapıları ve bu yapılar için Gibbs serbest enerjileri, entalpileri ve entropileri tespit edilmiş ve Şekil 4.48.'de gösterilmektedir. İki boyutlu miR-155 yapılarına bakıldığında miR-155-a diziliminin diğer iki dizilime göre dizilim içerisinde 6 farklı noktadan birleşerek H-bağı yaptığı

saptandı. Elde edilen verilerden en karalı yapının belirlenmesi için Gibbs serbest enerjisi en düşük olan iki boyutlu miR-155-a sekansı seçilmiştir.

Belirlenen iki boyutlu en karalı yapılar olan miR-155-a dizisinin üç boyutlu yapısı elde edilebilmesi için RNA composer, biyoinformasyon web sitesi kullanılmıştır. Buradan elde edilen miR-155-a'nın üç boyutlu yapısı ssRNA yapısı Şekil 4.49.'da gösterilir.



Şekil 4.49. miR-155 Diziliminin Üç Boyutlu Yapısı

#### 4.2.7. miR-155'in DNA'da Karşılık Gelen Dizi

Luteolin'in miR-155 sekansı ile etkileşimine ek olarak miR-155'in DNA sarmalından ayrılan tekli dizi (miR-155'in DNA'da karşılık gelen dizi) etkileşimi araştırılacaktır. Bu sayede Luteolinin, hangi dizi ile etkileşimin kuvvetli olduğu ve hangi bölgede nasıl bağlar oluşturduğu hakkında bilgi edinilecektir.

**Tablo 4.18.** miR-155'in DNA'da karşılık gelen dizi

miR-155'in DNA'da karşılık gelen dizi	3'-AATTACGATTAGCACTATCCCCA-5'
---------------------------------------	-------------------------------

miR-155'in iki boyutlu yapısının elde edilme aşamalarının aynısı Tablo 4.18.'de verilen miR-155'in DNA'da karşılık gelen dizisi için uygulandı. Bunun için biyoinformatik uygulamalardan mfold web sunucusu yardımıyla miR-155'in DNA'da karşılık gelen dizisinin başlangıç yapısının ikincil yapısı ile birlikte kararlı ilk üç dizininin Gibbs serbest enerjileri, entalpi ve entropi enerjileri hesaplandı ve Şekil 4.50.'de gösterildi.

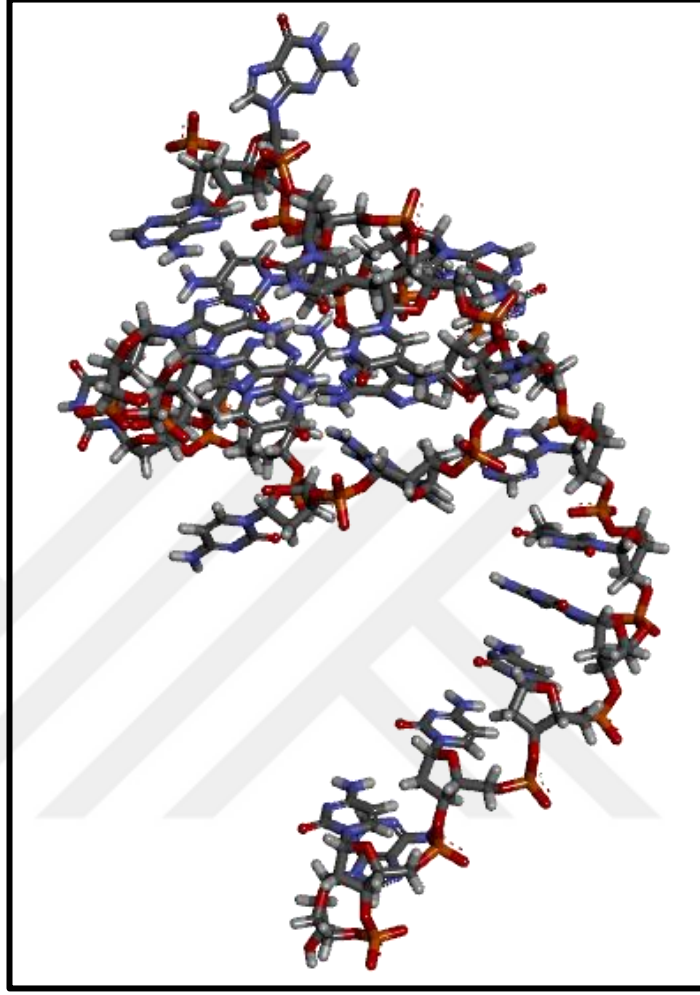
anti-miR-155-a	anti-miR-155-b	anti-miR-155-c
$\Delta G = -0.11 \text{ kcal/mol}$ $\Delta H = -14.00 \text{ kcal/mol}$ $\Delta S = -46.5 \text{ cal/(K.mol)}$	$\Delta G = 0.18 \text{ kcal/mol}$ $\Delta H = -19.50 \text{ kcal/mol}$ $\Delta S = -66 \text{ cal/(K.mol)}$	$\Delta G = 0.86 \text{ kcal/mol}$ $\Delta H = 8.50 \text{ kcal/mol}$ $\Delta S = 25.6 \text{ cal/(K.mol)}$

Şekil 4.50. miR-155'in DNA'da Karşılık Gelen Dizi İçin Elde Edilen İkincil Yapılar

Optimize edilen üç ikincil dizinin enerjileri küçükten büyüğe anti-miR-155-a, anti-miR-155-b ve anti-miR-155-c'dir. Bu sıralamaya göre enerjisi en düşük olan dizi en kararlı dizidir ve bundan sonraki aşamalar için **anti-miR-155-a** dizisi ile devam edildi. Dizinin iki boyutlu yapısı incelendiğinde ardışık olarak üç adet Adenin-Timin nükleotidlerinin H-bağı ile etkileşimde bulunduğu belirlendi.

Belirlenen iki boyutlu anti-miR-155a dizilimi ssRNA yapılarıdır fakat anti-miR-155-a dizisi ssDNA yapısında olduğundan dolayı dizilim üç boyutlu yapıya dönüştürülürken bazı değişiklikler yapılmalıdır. Bu değişiklikler; anti-miR-155-a dizisinde bulunan tüm Urasil bazları üzerindeki H5 atomu yerine metil grubu eklendi ve riboz halkaları deoksiriboz halkalarına dönüştürüldü. Tüm bu

işlemlerinde **discovery studio visualize** programı kullanılmıştır. Program sonunda elde edilen anti-miR-155-a'nın üç boyutlu dizisi Şekil 4.51.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.51. Anti-miR-155-a'nın Üç Boyutlu Dizisi



## 5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Hesapsal çalışmalar sonucunda incelenen komplekslerin su fazında oluşum enerjileri Tablo 5.1’de karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

**Tablo 5.1.** Komplekslerin su fazında  $\omega$ -B97XD/6-31+G(d,p) seviyesinde konformerinin sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren toplam elektronik enerji ( $E_{elec}+ZPE$ , Hartree), toplam elektronik enerji ve serbest enerji ( $E_{elec}+\Delta G$ , Hartree) sıfır nokta titreşim enerjisi ( $ZPE$ , Hartree), dipol momentler ( $\mu$ , Debye), sıfır nokta titreşim enerji düzeltmelerini içeren görel elektronik enerji ( $E_{elek}$ , kcal/mol) değerleri

suda	$\mu$ (D)	$E_{elec}+ZPE$ (Hartree)	$E_{elec}+\Delta G$ (Hartree)	$\Delta E_C^a$ (kcal/mol)	$\Delta \Delta G_C^b$ (kcal/mol)
<b>Luteolin</b>	6.46	-1028.487177	-1028.532084		
<b>d(AMP)</b>	34.52	-1454.622864	-1454.673190		
<b>d(CMP)</b>	22.68	-1382.278372	-1382.324531		
<b>d(GMP)</b>	23.18	-1529.858160	-1529.90498		
<b>d(TMP)</b>	25.39	-1441.44651	-1441.49420		
<b>Lt-d(AMP)-complex</b>	38.99	-2483.156615	-2483.227219	<b>-29.23</b>	<b>-13.77</b>
<b>Lt-d(CMP)-complex</b>	31.78	-2410.810318	-2410.878994	<b>-28.10</b>	<b>-14.04</b>
<b>Lt-d(GMP)-complex</b>	33.85	-2558.383038	-2558.449289	<b>-23.65</b>	<b>-7.67</b>
<b>Lt-d(TMP)-complex</b>	39.24	-2469.978642	-2470.046612	<b>-28.21</b>	<b>-12.76</b>

$$^a\Delta E_C = E_{Complex} - (E_{d(AMP)} + E_{Luteolin}); \quad ^b\Delta \Delta G_C = \Delta G_{Complex} - (\Delta G_{d(AMP)} + \Delta G_{Luteolin})$$

Luteolin’in ve nükleotidler arasında d(CMP) ile daha kolay kompleks yapı oluşturduğu saptanmıştır. Hesaplanan komplekslerin Gibbs serbest enerjisi; oluşan kompleksin gibbs serbest enerjisinden karalı monomer olan Luteolin ve d(CMP) Gibbs serbest enerjilerinin farkı olarak bulunur. Böylelikle hesaplanan -14.04 kcal/mol ile **Lt-dCMP-complex**’in istemli olarak kendiliğinden gerçekleşen bir mekanizma olduğu saptanmıştır. Dimer kompleks yapıların herbiri spontone kompleks oluşturma eğilimindedir. Bunun yanı sıra dimer istenimleri karşılaştırılırsa; **Lt-d(CMP)-complex**> **Lt-d(AMP)-complex**> **Lt-d(TMP)-complex**> **Lt-d(GMP)-complex** ‘dir.

Luteolin-nükleotid komplekslerinin yük transfer yoğunlukları karşılaştırıldığında, Luteolin-dCMP kompleksinin uyarılmış halde boşluk-elektron

örtüşmesinin integralinin (S) en düşük ve boşluğun ağırlık merkezi ile elektron arasındaki mesafesi (D)  $S_4$ 'te en yüksek mesafeye sahiptir. Bu sonuç Luteolin-dCMP kompleksinin diğer komplekslere göre yük transferinin daha fazla olduğu ve bu yük transferinde kompleks içerisinde Luteolin molekülünün donör, dCMP nükleotidin akseptör olarak davrandığı belirlendi.

Ayrıca Dimer kompleks yapıların elektrostatik potansiyel haritasında kırmızı ile belirtilen alanlar elektronca fakir olan nükleotidlerin fosfat grubunun anyon kısmının bulunduğu alanı gösterirken elektronca daha zengin olan yeşilden maviye geçiş gösteren alanlar fosfat grubunun tam aksi yönünde yer alan ve azot molekülünün bulunduğu alanlar göze çarpmaktadır. Elektrostatik potansiyel skalasının en geniş olduğu dimer kompleks sıralaması şu şekildedir; Luteolin-d(GMP) kompleksi > Luteolin-d(CMP) kompleksi = Luteolin-d(TMP) kompleksi > Luteolin-d(AMP) kompleksi'dir.

Hesapsal çalışmalar sonucunda Luteolin-dCMP kompleksinin diğer komplekslere kıyasla istemli mekanizmaya sahip olması ve yük transferinin gerçekleşmesi nedeniyle deneysel olarak UV/Vis ve Floresans Spektroskopi ve Voltametrik çalışmaları yapılmıştır.

Deneysel çalışmalarda; UV/Vis Spektroskopi ölçümlerinde Luteolin-dCMP kompleksinin absorpsiyon şiddetinin azalarak hipokromizm etki yapması dCMP ile Luteolin arasında interkalatif etkileşimin olduğu ve Luteolin molekülünün  $\pi$  elektronları ile dCMP nükleotidin  $\pi$  elektronlarının uygun şekilde örtüştüğünün bir göstergesidir. Floresans Spektroskopi ölçümlerinde ise Luteolin-dCMP kompleksinde dCMP konsantrasyonun artmasıyla Floresans Spektrumunun sönümlenmesi Luteolin'in dCMP arasında ikincil bir etkileşim olduğunu kanıtlar.

Döngüsel voltametri verilerine bakıldığında Luteolin-dCMP kompleksinin farklı derişim ve tarama hızı voltamogramları incelenmiştir. Elde edilen verilerde katodik pik akımının ( $i_p^k$ ) anodik pik akımına ( $i_p^a$ ) oranının 1 olması ve artan tarama hızı ile değişmemesi Luteolin-dCMP kompleksinin tersinir bir tepkime yaptığını göstermektedir.

Luteolin-dCMP kompleksi için deneysel ve hesapsal verilere bakıldığında birbiri ile uyumlu olduğu sonuçlar elde edilmiş olup kompleks arasında ikincil etkileşimin olduğunu desteklemektedir.

Son olarak mir-155 ve anti-mir-155 dizilimlerinin üç boyutlu yapıları çizilerek en karalı yapıları saptanmıştır. Nükleotidler içerinden Luteolin molekülünün dCMP ile daha kuvvetli bir etkileşime girmesi mir-155 ve anti-mir-155'in bu bölgelerden etkileşim yapacağı öngörölmüştür.





## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aleksić, M. M., and Kapetanović, V.,** 2014, An overview of the optical and electrochemical methods for detection of DNA–drug interactions. *Acta Chimica Slovenica*, 61(3); 555-573pp.
- Anslyn, E. and Dougherty, D.,** 2006, Modern Physical Organic Chemistry, University Science, p.95, California. ISBN 978-1891389313.
- Arjmand, F. and Jamsheera, A.,** 2011, DNA binding studies of new valine derived chiral complexes of tin(IV) and zirconium(IV), *Spectrochimica Acta A*, 78:1, 45–51pp . Doi:10.1016/j.saa.2010.06.009
- Atkins, P., Paula, J. D.,** 2010, Physical Chemistry Oxford University Press
- Baginski, M., Fogolari, F. and Briggs, J. M.,** 1997, Electrostatic and non-electrostatic contributions to the binding free energies of anthracycline antibiotics to DNA, *Journal of Molecular Biology*, 274 (2): 253-267 pp. Doi:10.1006/jmbi.1997.1399.
- Bard, A.J., Faulkner, L.R., Leddy, J. and Zoski, C. G.,** 1980, *Electrochemical methods-fundamental and applications (Second edition)*, John Wiley and Sons New York.
- Barton, D.,** 2013, The Principles of Conformational Analysis, *Nobel Media AB*, Elsevier Publishing Co.
- Bauer, W. and Vinograd, J.,** 1970, The interaction of closed circular DNA with intercalative dyes: III. Dependence of the buoyant density upon superhelix density and base composition, *Journal of Molecular Biology*, 54:2, 281–298 pp. Doi:10.1016/0022-2836(70)90430-4.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Bauernschmitt, R. And Ahlrichs, R.,** 1988, Treatment of electronic excitations within the adiabatic approximation of time dependent density functional theory, *Chem. Phys. Lett.*, 256(4), 454-464 pp. Doi: 10.1016/0009-2614(96)00440-X.
- Benesi, H. A. and Hildebrand, J. H.,** 1949, A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons, *Journal of the American Chemical Society*, 71(8): 2703-2707 pp. Doi: 10.1021/ja01176a030.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L.,** 2002, DNA Polymerases Require a Template and Primer, *In Biochemistry* (5th ed. section 27.2.4). New York.
- Bhadra, K. and Kumar, G. S.,** 2011, Interaction of berberine, palmatine, coralyne, and sanguinarine to quadruplex DNA: a comparative spectroscopic and calorimetric study, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1810(4): 485–496 pp. Doi:10.1016/j.bbagen.2011.01.011.
- Blackburn, G. M. and Gait, M. J.,** 1990, *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*, IRL Press, 297-332 pp, New York.
- Bottoni, A., Piccin, D., Tagliati, F., Luchin, A., Zatelli, M.C., Uberti, E.C.D.,** 2005, miR-15a and miR-16-1 down-regulation in pituitary adenomas, *J Cell Physiol*, 204(1): 280-5 pp. Doi:10.1002/jcp.20282.
- Bravo-Anaya, L.M., Rinaudo, M. and Martinez, F.A.M.,** 2016, Conformation and rheological properties of Calf-Thymus DNA in solution, *Polymers*, 8(2): 1-19 pp. Doi:10.3390/polym8020051.
- Brett, A. M. O., Serrano, S. H. P., Gutz, I., La-Scala, M. A. and Cruz, M. L.,** 1997, Voltammetric behaviour of nitroimidazoles at a DNA biosensor, *Electroanalysis*, 9(14): 1132-1137 pp. Doi:10.1002/elan.1140091419.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Bruni, A.T., Leite, V.B.P., Ferreira, M.M.C.,** 2001, Conformational analysis: A new approach by means of chemometrics, *J. Comp. Chem.*, 23(2): pp 222-236. Doi: 10.1002/jcc.10004.
- Calin, G.A., Dumitru, C.D., Shimizu. M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., Aldler, H., Rattan, S., Keating, M., Rai, K., Rassenti, L., Kipps, T., Negrini, M., Bullrich, F., Croce C. M.,** 2002, Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci*, 99(24): 15524-9 pp. Doi:10.1073/pnas.242606799.
- Carter, M. T., and Bard, A. J.,** 1987, Voltammetric studies of the interaction of tris(1,10-phenanthroline)cobalt(III) with DNA, *Journal of the American Chemical Society*, 109(24): 7528–7530 pp. Doi: 10.1021/ja00258a046.
- Casagrande, F., and Darbon, JM.,** 2001, Effects of structurally related flavonoids on cellcycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin-dependentkinases CDK2 and CDK1, *Biochem. Pharmacol*, 61(10):1205-15 pp. Doi: 10.1016/s0006-2952(01)00583-4.
- Çekirdek, P.,** 2005, Voltametric metotlarla ditiyofosfonat anyonlarının elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi, *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı*, 136 s, Ankara.
- Chai, J.D. and Head-Gordon, M.,** 2008, Longe-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 10, 6615–6620 pp. Doi:10.1039/B810189B.
- Çimen, C.,** 2010, Sitogenetik ve Moleküler Tekniklerin Klinikte Uygulama Alanlari, *Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı*,25-30 s., Edirne.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Cui, F., Huo, R., Hui, G., Lv, X., Jin, J., Zhang, G. and Xing, W.**, 2011, Study on the interaction between aglycon of daunorubicin and calf thymus DNA by spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*, 1001(1): 104-110 pp. Doi: 10.1016/j.molstruc.2011.06.024.

**Dennington, R., Keith, T. and Millam, J.**, 2009, Gauss View, Version 5. Semichem Inc., Shawnee Mission.

**Dorsett, H. and White, A.**, 2000, Overview of Molecular Modelling and Ab initio Molecular Orbital Methods Suitable for Use with Energetic Materials, *Defence Science Technology Organization (DSTO) Aeronautical and Maritime Research Laboratory*, 5108 Australia.

**Dragojlovic, V.**, 2015, Conformational analysis of cycloalkanes, *ChemTexts*, 1, 14. Doi: 10.1007/s40828-015-0014-0.

**Eis, P.S., Tam, W., Sun, L., Chadburn, A., Li, Z., Gomez, M.F., Lund, E., Dahlberg, J. E.**, 2005, Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas, *Proc Natl Acad Sci*, 102(10): 3627-32 pp. Doi: 10.1073/pnas.0500613102.

**Erdem, A., ve Ozsoz, M.**, 2001, Interaction of the anticancer drug epirubicin with DNA, *Analytica Chimica Acta*, 437(1): 107-114 pp. doi:10.1016/S0003-2670(01)00942-4).

**Farghaly, O. A., Hameed, R. A. and Abu-Nawwas, A.A.H.**, 2014, Analytical application using modern electrochemical techniques, *Internal Journal of Electrochemical Science*, 9, 3287 – 3318 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Feng, Q., Li, N. Q. and Jiang Y. Y.**, 1997, Electrochemical studies of porphyrin interacting with DNA and determination of DNA, *Analytica Chimica Acta*, 344, 97–104 pp. Doi: 10.7717/peerj.10061.

**Foresman, J.B. and Frisch, C.**, 1996, Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods, 2nd ed. *Gaussian Inc.*, Pittsburgh, PA.

**Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery, J.A., Peralta, Jr., J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, K.N., Staroverov, V.N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox, J.E., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, Ö., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cioslowski, J., Fox, D.J.**, 2009, Gaussian Inc, Wallingford CT.

**Gironella, M., Seux, M., Xie, M.J.**, 2007, Tumor protein 53- induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development, *Proc Natl Acad Sci*, 104(41): 16170–16175 pp. Doi: 10.1073/pnas.0703942104.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Gonzalez-Ruiz, V., Olives, A. I., Martin, M. A., Ribelles, P., Ramos, M. T. and Menendez, J. C.,** 2011, An overview of analytical techniques employed to evidence drug–DNA interactions, Applications to the design of genosensors, in: M.A. Komorowska, S. Olszynska-Janus (Eds.). *Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies, In Tech*, 65-90. doi:10.5772/13586.

**González-Ruiz, V., Olives, A.I., Menéndez, J.C., Martín, M.A., Ramos, M.T., and Ribelles, P.,** 2011, An overview of analytical techniques employed to evidence drug-DNA interactions, Applications to the design of genosensors, *Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies*, 66-86 pp. Doi: 10.5772/13586.

**Graves, D. E., and Velea, L. M.,** 2000, Intercalative binding of small molecules to nucleic acids, *Current Organic Chemistry*, 4(9):915-929. Doi:10.2174/1385272003375978;

**Greef, R., Peat, R., Peter, L. M., Pletcher, D., and Robinson, J.,** 1985, *Instrumental Methods in Electrochemistry*. Ellis Horwood, 559, Chichester.

**Gregory, R.I., Chendrimada, T.P., Cooch, N., Shiekhattar, R.,** 2005, Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing, *Cell*, 123(4): 631-640 pp. Doi: 10.1016/j.cell.2005.10.022.

**Grimme, S.,** 2006, Semiempirical GGA-Type Density Functional Constructed with a Long-Range Dispersion Correction, *J Comput Chem*, 27(15): 1787-1799 pp. Doi: 10.1002/jcc.20495.

**Gündüz, T.,** 1999, Enstrumental Analiz, *Gazi Kitapevi*, 1035-1114 s, Ankara.

**Gür, B.,** 2015, Merosiyanin 540 DYE Bileşiminin İnce Filmlerinin Hazırlanması ve Fotofiziksel Özelliklerinin İncelenmesi ,*Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı*, Ankara.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Gürcan, N.**, 2014, Ferrosen aktif birimi içeren yeni azin türevlerinin DNA bağlanma, DNA kesim ve antidioksan aktivitelerinin incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 30-50 s., Trabzon.
- Hajian, R., Shams, N. and Mohagheghian, M.**, 2009, Study on the Interaction between doxorubicin and Deoxyribonucleic acid with the use of methylene blue as a probe, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(8):1399-1405 pp. doi:10.1590/S0103-50532009000800003.
- Hamilton, P. L., and Arya, D. P.**, 2012, Natural product DNA major groove binders, *Natural Product Reports*, 29(2): 134-143 pp. Doi:10.1039/C1NP00054C.
- Haq, I.**, 2002, Thermodynamics of drug–DNA interactions, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 403(1): 1-15 pp. Doi:10.1016/S0003-9861(02)00202-3.
- Harborne, J.B. and Williams, C.A.**, 2000, Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry*, 55: 481–504 pp. Doi: 10.1016/s0031-9422(00)00235-1.
- Hinchliffe, A.**, 2008, Molecular Modelling for Beginners, *Second Edition, John Wiley and Sons, Ltd, Publication*, 411 p, UK. ISBN 978-0-470-51314-9.
- Hornback, J.M.**, 2006, Organic Chemistry, *Second Edition, Thomson Learning Inc.*, Belmont, CA, 1220 p, USA. ISBN 0-534-38951-1.
- Hurley, L. H., and Boyd, F. L.**, 1988, DNA as a target for drug action, *Trends in Pharmacological Sciences*, 9(11): 402–407 pp. Doi:10.1016/0165-6147(88)90067-3.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ihmels, H., and Otto, D.,** 2005, Intercalation of Organic Dye Molecules into Double-Stranded DNA General Principles and Recent Developments, *Top Curr Chem*, 258: 161-204 pp, Berlin Heidelberg. Doi: 10.1007/b135804.
- Iorio, M.V., Ferracin, M., Liu, C.G., Veronese, A., Spizzo, R., Sabbioni, S., Magri, E., Pedriali, M., Fabbri, M., Campiglio, M., Ménard, S., Palazzo, J.P., Rosenberg, A., Musiani, P., Volinia, S. Nenci, I., Calin, G. A, Querzoli, P., Negrini, M., Croce, C.M.,** 2005, MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer, *Cancer Res*, 65(16): 7065-70 pp. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1783.
- Ise, R., Han, D., Takahashi, Y., Terasaka, S., Inoue, A., Tanji, M.,** 2005, Expression profiling of the estrogen responsive genes in response to phytoestrogens using a customized DNA microarray, *FEBS Lett*, 579(7):1732-40 pp. Doi:10.1016/j.febslet.2005.02.033.
- İstanbulu, H.,** 2011, Potansiyel antikanser bileşikler olarak tasarlanan mannich bazlarının sentez ve biyoaktiviteleri, *Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 24-40 s.
- Iyama, T. and Wilson, DM.,** 2013, DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells, *DNA Repair (Amst)*, 12(8): 620-36 pp. Doi: 10.1016/j.dnarep.2013.04.015.
- Izutsu, K.,** 2002, Electrochemistry in nonaqueous solutions, *Wiley-VCH. Verlag GmbH*, 401 pp, Weinheim.
- Jaumot, J., and Gargallo, R.,** 2012, Experimental methods for studying the interactions between G-quadruplex structures and ligands, *Current Pharmaceutical Design*, 18(14): 1900–1916 pp. Doi: 10.2174/138161212799958486.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Jensen, F.**, 2007, Introduction to Computational Chem., *Second Ed.*, Wiley.
- Jiang, S., Zhang, H.W., Lu, M.H., He, X.H., Li, Y., Gu, H., Liu, M.F., Wang, E.D.**, 2010, MicroRNA-155 functions as an OncomiR in breast cancer by targeting the suppressor of cytokine signaling 1 gene, *Cancer Res.*, 70(8): 3119-3127 pp. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4250.
- Joshi, H., Sengupta, A., Gavvala, K. and Hazra, P.**, 2014, Unraveling the mode of binding of the anticancer drug topotecan with dsDNA, *RSC Advances*, 4(2): 1015-1024 pp.
- Juan, D., Alexe, G., Antes, T., Liu, H., Madabhushi, A., Delisi, C., Ganesan, S., Bhanot, G., Liou, L. S.**, 2010, Identification of a MicroRNA Panel for Clear-cell Kidney Cancer. *Urology*, 75(4); 835–841 pp. Doi: 10.1016/j.urology.2009.10.033.
- Kahraman, A., Serteser, M., Koken, T.**, 2002, Flavonoidler, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3: 1-8.  
<https://dergipark.org.tr/tr/pub/kocatepetip/issue/17433/182601>.
- Kalanur, S.S., Katrahalli, U., Seetharamappa, J.**, 2009, Electrochemical studies and spectroscopic investigations on the interaction of an anticancer drug with DNA and their analytical applications, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 636(1-2):93-100 pp. Doi:10.1016/j.jelechem.2009.09.018.
- Kelly, J. M., Tossi, A. B., McConnell, D. J. and Ohuigin, C.**, 1985, A study of the interactions of some polypyridylruthenium (II) complexes with DNA using fluorescence spectroscopy, topoisomerisation and thermal denaturation, *Nucleic Acids Research*, 13(17): 6017-6034 pp. Doi: 10.1093/nar/13.17.6017.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Kennard, O.**, 1993, DNA–drug interactions, *Pure and Applied Chemistry*, 65:6, 1213–1222 pp. Doi:10.1351/pac199365061213.

**Kim, S. K., and Nordén, B.**, 1993, Methyl green, *Federation of the European Biochemical Societies Letters*, 315(1), 61-64 pp. Doi:10.1016/0014-5793(93)81133-K.

**Kluiver J, Haralambieva E, De Jong D, Blokziyl, T., Jacobs, S., Kroesen, B.J, van den Berg, A.**, 2006, Lack of BIC and microRNA miR-155 expression in primary cases of Burkitt lymphoma, *Genes Chromosom Cancer*, 45(2): 147-53 pp. Doi:10.1002/gcc.20273.

**Kluiver, J., Poppema, S., de Jong, D., Blokziyl, T., Harms, G., Jacobs, S., Kroesen, B.J, van den Berg, A.**, 2005, BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas, *J Pathol*, 207(2): 243-9 pp. Doi:10.1002/path.1825333–336.

**Knowles, L.M., Zigrossi, D.A., Tauber, R.A., Hightower, C., Milner, J.A.**, 2000, Flavonoids suppress androgen-independent human prostate tumor proliferation, *Nutr. Cancer* 38: 116–20. Doi: 10.1207/S15327914NC381\_16.

**Kopka, M. L., Yoon, C., Goodsell, D., Pjura, P. and Dickerson, R. E.**, 1985, Binding of an antitumor drug to DNA: netropsin and C-G-C-G-A-A-T-T-BrC-G-C-G, *Journal of Molecular Biology*, 183(4): 553-563 pp. Doi: 10.1016/0022-2836(85)90171-8.

**Kumar, K. A., Reddy, K. L., Vidhisha, S. and Satyanarayana, S.**, 2009, Synthesis, characterization and DNA binding and photocleavage studies of [Ru(bpy)2BDPPZ]2+, [Ru(dmb)2BDPPZ]2+ and [Ru(phen)2BDPPZ]2+ complexes and their antimicrobial activity, *Applied Organometallic Chemistry*, 23, 409–420 pp. Doi:10.1002/aoc.1534.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Lakowicz, J.**, 2006, Principles of Fluorescence Spectroscopy, *3rd edn Springer*, New York.
- Lander, E. S., Chen, C., Linton, L. M. and Rowen, L.**, 2001, Initial sequencing and analysis of the human genome, *Nature*, 409(6822): 860–921 pp. Doi: 10.1038/35057062.
- Leach, A. R.**, 2001, Molecular Modelling Principles and Applications, *Second Edition, Pearson Education Ltd*, 410, 457-460, 464-469, Essex England.
- Lee, Y., Ahn, C., Han, J., Choi, H., Kim, J., Yim, J., Lee, J., Provost, P., Rådmark, O., Kim, S., Kim, V. N.**, 2003, The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 425(6956): 415–419 pp. Doi: 10.1038/nature01957.
- Lerman, L. S.**, 1961, Structural considerations in the interaction of DNA and acridines, *Journal of Molecular Biology*, 3:18-30 pp. Doi: 10.1016/s0022-2836(61)80004-1.
- Lewars, E.G.**, 2004, Computational Chemistry, Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics, *Kluwer Academic Publishers*, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow.
- Lim, D. Y., Jeong, Y., Tyner, A.L., Park, J.H.**, 2007, Induction of cell cycle arrest and apoptosis in HT-29 human colon cancer cells by the dietary compound luteolin, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 292(1): G66-75 pp. Doi: 10.1152/ajpgi.00248.2006.
- Lin Y., Shi R., Wang, X., and Shen, H.M.**, 2008, Luteolin, a flavonoid with potentials for cancer prevention and therapy, *Current Cancer Drug Targets*, 8(7):634-646 pp. Doi: 10.2174/156800908786241050.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Lin, P.Y., Yu, S.L., Yang, P.C.**, 2010, MicroRNA in lung cancer, *Brit J Cancer*, 103, 1144-1148 pp.
- Lindenmeyer, F., Li, H., Menashi, S., Soria, C., Lu, H.**, 2001, Apigenin acts on the tumor cell invasion process and regulates protease production. *Nutr. Cancer*, 39(1):139-47 pp. Doi: 10.1207/S15327914nc391\_19.
- Liu, H. K., and Sadler, P. J.**, 2011, Metal complexes as DNA intercalators. *Accounts of Chemical Research*, 44(5): 349-359 pp. Doi:10.1021/ar100140e.
- Liu, J., Zhang, T., Lu, T., Qu, L., Zhou, H., Zhang, Q. and Ji, L.**, 2002, DNA-binding and cleavage studies of macrocyclic copper(II) complexes, 91(1):269-76 pp. Doi: 10.1016/s0162-0134(02)00441-5.
- Lowe, J. P.**, 1978, Quantum Chemistry, *Academic Press New York*, San Francisco, London.
- Lown, J. W.**, 1994, DNA recognition by lexitropsins, minor groove binding agents, *Journal of Molecular Recognition*, 7:2, 79-88 pp. Doi:10.1002/jmr.300070205.
- Lu, J., Getz, G., Miska, E. A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Sweet-Cordero, A., Ebert, B. L., Mak, R. H., Ferrando, A. A., Downing, J. R., Jacks, T., Horvitz, H. R., Golub, T. R.**, 2005, MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, 435(7043); 834–838 pp. Doi:10.1038/nature03702.
- Lv, P., Li, H., Xue, J., Shi, L., Zhu, H.**, 2009, Synthesis and biological evaluation of novel luteolin derivatives as antibacterial agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 908-914 pp. Doi: 10.1016/j.ejmech.2008.01.013.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Manning, G. S.**, 1978, The molecular theory of polyelectrolyte solutions with applications to the electrostatic properties of polynucleotides, *Quarterly Reviews of Biophysics*, 11(2):179-246 pp. Doi:10.1017/S0033583500002031.
- Martin, M.M., Lee, E.J., Buckenberger, J.A., Schmittgen, T.D., Elton, T.S.**, 2006, MicroRNA-155 regulates human angiotensin II type 1 receptor expression in fibroblast. *J Biol Chem.*, 281(27): 18277-84 pp. Doi:10.1074/jbc.M601496200.
- Martínez, R., and Chacon-Garcia, L.**, 2005, The search of DNA-intercalators as antitumoral drugs: what it worked and what did not work, *Current Medicinal Chemistry*, 12(2):127–151 pp. doi:10.2174/0929867053363414.
- Mati, S. S., Roy, S. S., Chall, S., Bhattacharya, S. and Bhattacharya, S.C.**, 2013, Unveiling the groove binding mechanism of a biocompatible naphthalimide-based organoselenocyanate with calf thymus DNA: An “ex vivo” fluorescence imaging application appended by biophysical experiments and molecular docking simulations, *The Journal of Physical Chemistry B*, 117(47): 14655-14665. Doi: 10.1021/jp4090553.
- Matsukawa, Y., Marui, N., Sakai, T., Satomi, Y., Yoshida, M., Matsumoto, K., Nishino, H., Aoike, A.**, 1993, Genistein arrests cell cycle progression at G2-M. *Cancer Res*, 53(6):1328-31 pp.
- Mcnaught, AD., Wilkinson, A.**, 1997, Flavonoids (isoflavonoids and neoflavonoids) *Compendium of Chemical Terminology*. (2 ed.), Oxford: Blackwell Scientific. ISBN 0-9678550-9-8. Doi:10.1351/goldbook.
- Mei, H. Y., and Barton, J. K.**, 1986, Chiral probe for a-form helices of DNA and RNA tris(tetramethylphenanthroline)ruthenium(II), *Journal of the American Chemical Society*, 108(23):7414–7416 pp. Doi: 10.1021/ja00283a050.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Michael, M.Z., O'Connor, S.M., Van Holst Pellekaan, N.G., Young, G.P., James, R.J.**, 2003, Reduced Accumulation of Specific MicroRNAs in Colorectal Neoplasia, *Mol Cancer Res.* 1(12); 882-91 pp.
- Miguel, L.N.**, 2009, Distribution and biological activities of luteolin. *Med Chemistry*, 9:(1): 31-59 pp. Doi: 10.2174/138955709787001712.
- Miller J.N.**, 1984, Recent developments in fluorescence and chemiluminescence analysis. Plenary lecture, *Analyst*, Issue 3.
- Mira, L., Fernandez, M.T., Santos, M., Rocha,, R., Florencio M.H., Jennings, K.R.**, 2002, Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free Rad. Res.*, 36(11): 1199-208 pp. Doi: 10.1080/1071576021000016463.
- Morávek, Z., Neidle, S. and Schneider, B.**, 2002, Protein and drug interactions in the minor groove of DNA, *Nucleic Acids Research*, 30(5): 1182-1191 pp. Doi: 10.1093/nar/30.5.1182.
- Murray, J.S., and Sen, K.**, 1996, Molecular Electrostatic Potentials, *Volume 3 1st Edition Concepts and Applications*, Amsterdam.
- Nakamoto, K., Tsuboi, M. and Strahan, G. D.**, 2008, Drug-DNA interactions: structures and spectra. *John Wiley & Sons.* 3-15pp.
- Neidle, S.**, 2010, Principles of Nucleic Acid Structure, *Academic Press*, ISBN: 9780123695079.
- Ni, Y., Lin, D., Kokot, S.**, 2006, Synchronous fluorescence, UV-visible spectrophotometric, and voltammetric studies of the competitive interaction of bis(1,10-phenanthroline) copper(II) complex and neutral red with DNA, *Anal. Biochem.*, 352, 231–242 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Orchin, M., Jaffe, H. H.**, 1971, *Symmetry, Orbitals and Spectra (SOS)* Wiley, *New York, Wiley-Interscience*, Toronto.

**Özden, S., Ertan, R., Şener, E.A., Yalçın, İ., Nebioğlu, D., Büyükbingöl, E., Göker, H., Yıldız, İ., Altuntaş-Dinlenç, T.G., Tunçbilek, M., Ayhan-Kılıçgil, G., Ölgün, S., Temiz-Arapacı, Ö., Kuş, C., Bozdağ-Dündar, O., Tekiner-Gülbaş, B., Ateş-Alagöz, Z.**, 2004, *Farmasötik Kimya Pratikleri*, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi*, Ankara.

**Palek, E., and Fojta, M.**, 2001, Peer Reviewed: Detecting DNA Hybridization and Damage, *Analytical Chemistry*, 73(3):74 A-83 A pp. Doi:10.1021/ac0123936.

**Pandurangan, A.K., and Esa, N.M.**, 2014, Luteolin, a bioflavonoid inhibits colorectal cancer through modulation of multiple signaling pathways, *A Review. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(14): 5501 pp. Doi: 10.7314/apjcp.2014.15.14.5501.

**Park, J. Y., Helm, J., Coppola, D., Kim, D., Malafa, M., Kim, S. J.**, 2011, MicroRNAs in pancreatic ductal adenocarcinoma, *World Journal of Gastroenterology*, 17(7); 817–827 pp. Doi:10.3748/wjg.v17.i7.817.

**Pensak, D. A.**, 1989, Molecular modelling: scientific and technological boundaries, *Pure & Appl. Chem.*, 61(3): 601-603 pp.

**Petersson, G.A., and Al-Laham, M.A.**, 1991, A complete basis set model chemistry II. Open-shell systems and the total energies of the first-row atoms, *J. Chem. Phys.*, 94, 6081–6090. Doi: 10.1063/1.460447.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Petersson, G.A., Bennett, A., Tensfeldt, T.G., Al-Laham, M.A., Shirley, W.A., Mantzaris, J.**, 1988, A complete basis set model chemistry. I. The total energies of closed-shell atoms and hydrides of the first-row elements, *J. Chem. Phys.*, 89, 2193-2218. Doi:10.1063/1.455064.
- Pletcher, D., Greff, R., Peat, R., Peter, L. M., Robinson, J.**, 1990, Instrumental Methods In Electrochemistry, 1st Edition, University of Southampton, ISBN: 9781898563808.
- Pople, J.A. and Beveridge, D.L.**, 1970, Approximate Molecular Orbital Theory. *McGraw-Hill*, New York.
- Quesne, L.J. and Caldas, C.**, 2010, Micro-RNAs and breast cancer, *Molecular Oncology*, 4(3):230-41 pp. Doi: 10.1016/j.molonc.2010.04.009.
- Rauf, S., Gooding, J. J., Akhtar., K., Ghauri, M. A., Rahman, M., Anwar, M. A. and Khalid A. M.**, 2005, Electrochemical approach of anticancer drugs-DNA interaction, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(2): 205-217 pp. Doi:10.1016/j.jpba.2004.10.037.
- Rehn, C., and Pindur, U.**, 1996, Molecular modeling of intercalation complexes of antitumor active 9-aminoacridine and a [d,e]-annelated isoquinoline derivative with base paired deoxytetranucleotides, *Monatshefte für Chemie Chemical Monthly*, 127, 645–658 pp. Doi:10.1007/BF00817256.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G.**, 1996, Structure anti-oxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.*, 20(7): 933-56 pp. Doi: 10.1016/0891-5849(95)02227-9.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Riley, T. R. and Tomlinson, C.**, 1987, Principles of electroanalytical methods, *West Sussex, Published on behalf of ACOL, Wiley*, 145pp., Chichester, New York, London.
- Rzepa, H.**, 2014, Conformational Analysis, [http://www.ch.ic.ac.uk/local/organic/conf/c1\\_definitions.html](http://www.ch.ic.ac.uk/local/organic/conf/c1_definitions.html) (28.02.2020)
- Seelinger, G., Merfort, I., Wölfle, U., Schempp, C.M.**, 2008, Anticarcinogenic Effects of the Flavonoid Luteolin, *Molecules*, 13, 2628–2651 pp.
- Seferoğlu, Z., Mahmoud, M. M., ve Ihmels, H.**, 2016, Studies of the binding interactions of dicationic styrylimidazo [1, 2-a] pyridinium dyes with duplex and quadruplex DNA, *Dyes and Pigments*, 125, 241-248 ss. Doi: 10.1016/j.dyepig.2015.10.008.
- Settle F.A.**, 1997, Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, *Prentice Hall: Upper Saddle River*, 995 pp. ISBN 0-13-177338-0.
- Shaw, N.N. and Dev, A., P.**, 2008, Recognition of the unique structure of DNA: RNA hybrids, *Biochimie*, 90(7); 1026-1039 pp. Doi: 10.1016/j.biochi.2008.04.011.
- Shenouda, S.K. and Alahari, S.K.**, 2009, MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor?, *Cancer Metastasis Rev.*, 28, 369–378 pp.
- Shi, R.X., Ong, C.N., Shen, H.M.**, 2004, Luteolin sensitizes tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced apoptosis in human tumor cells, *Oncogene*, 23, 7712–7721 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Shui, X., Peek, M. E., Lipscomb, L. A., Gao, Q., Ogata, C., Roques, B. P., Garbay- Jaureguiberry, C., Wilkinson, A. P. and Williams, L. D.,** 2000, Effects of cationic charge on three-dimensional structures of intercalative complexes structure of a bisintercalated DNA complex solved by MAD phasing, *Current Medicinal Chemistry*, 7(1): 59–71pp. Doi: 10.2174/0929867003375470.

**Sirajuddin, M., Ali, S. and Badshah, A.,** 2013, Drug–DNA interactions and their study by UV–visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry, *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 124, 1-19. Doi:10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013.

**Sirajuddin, M., Ali, S., Haider, A., Shah, N. A., Shah, A. and Khan, M. R.,** 2012, Synthesis, characterization, biological screenings and interaction with calf thymus DNA as well as electrochemical studies of adducts formed by azomethine [2-((3,5-dimethylphenylimino)methyl)phenol] and organotin(IV) chlorides, *Polyhedron*, 40(1): 19-31pp . doi:10.1016/j.poly.2012.03.048.

**Spartan08** for Windows, Wavefunction, Inc., Irvine, CA 92612 USA.

**Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R.,** 2004, Analitik Kimya Temel İlkeler, 8. Baskı, Ankara: Bilim Yayıncılık, Ankara.

**Stagos, D., Amoutzias, G.D., Matakos, A., Spyrou, A., Tsatsakis, A.M., and Kouretas, D.,** 2012, Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols, *Food and Chemical Toxicology*, 50(6): 2155-70 pp. Doi: 10.1016/j.fct.2012.04.002.

**Sterkowski, L. and Wilson, B.,** 2007, Noncovalent interactions with DNA: an overview, *Mutation Research*, 623, 3-13 pp. Doi:10.1016/j.mrfmmm.2007.03.008

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Stratmann, R.E., Scuseria, G.E., Frisch, M.J.**, 1988, An efficient implementation of time-dependent density-functional theory for the calculation of excitation energies of large molecules, *J. Chem. Phys.*, 109, 8218-8224 pp. Doi:10.1063/1.477483.
- Suh, D. and Chairs, J. B.**, 1995, Criteria for the mode of binding of DNA binding agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 3(6): 723-728 pp. Doi: 10.1016/0968-0896(95)00053-j.
- Sun, D. W., Zhang, H. D., Mao, L., Mao, C. F., Chen, W., Cui, M., Ma, R., Cao, H. X., Jing, C. W., Wang, Z., Wu, J. Z., Tang, J. H.**, 2015, Luteolin Inhibits Breast Cancer Development and Progression In Vitro and In Vivo by Suppressing Notch Signaling and Regulating MiRNA, *Cell Physiol Biochem*, 37(5): 1693-711 pp. Doi: 10.1159/000438535.
- Sun, H., Xiang, J., Liu, Y., Li, L., Li, Q., Xu, G. and Tang, Y.**, 2011, A stabilizing and denaturing dual-effect for natural polyamines interacting with G-quadruplexes depending on concentration, *Biochimie*, 93(8): 1351–1356 pp. Doi:10.1016/j.biochi.2011.06.007.
- Swift, L. H., and Golsteyn, R. M.**, 2014, Genotoxic anti-cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells, *International Journal of Molecular Sciences*, 15(3): 3403-3431 pp. Doi: 10.3390/ijms15033403.
- Şen, S.**, 2014, Tetra Sodyum;3-[[4-[[4-[(6-amino-1-hidroksi-3-sülfonato-2-naftilazo)]-6-ülfonato -1-naftilazo]-1-naftil]azo] naftalin-1,5 disülfonat (Direct blue71)' in elektrokimyasal indirgenme davranışının belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı*, 88 ss, Giresun.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Takamizawa, J., Konishi, H., Yanagisawa, K., Tomida, S., Hirotaka, O., Endoh, H., Harano, T., Yatabe, Y., Nagino, M., Nimura, Y., Mitsudomi, T., Takahashi, T.,** 2004, Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival, *Cancer Res.*, 64(11): 3753-6 pp. Doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-0637.

**Top, M., Er, O., Congur, G., Erdem, A. and Lambrecht, F. Y.,** 2016. Intracellular uptake study of radiolabeled anticancer drug and impedimetric detection of its interaction with DNA, *Talanta*, 160, 157-163 pp. Doi:10.1016/j.talanta.2016.06.058.

**Tsai, S.,** 2002, An Introduction to Computational Biochemistry, *Wiley-Liss, Inc.*, New York. ISBN: 0-471-40120-X.

**Tsai, Y.D., Chen, H.J., Hsu, H.F., Lu, K., Liang, C.L., Liliang, P.C., and Houng, J.Y.,** 2013, Luteolin inhibits proliferation of human glioblastoma cells via induction of cell cycle arrest and apoptosis, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(6): 837-45 pp. Doi:10.1016/j.jtice.2013.03.005.

**Tural, H., Gökçel, H. İ. ve Ertaş, F. N.,** 2006, *Enstrümental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler* (ikinci baskı), *Ege Üniversitesi Basımevi*, 131-144 ss, İzmir.

**Uthuppan, J., and Soni, K.,** 2013, Conformational Analysis: A Review, *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 4(1); 34-41 pp. Doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.4(1).34-41.

**Valeur,, B., Berberan-Santos, M.N.,** 2012, Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Second Edition, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, 141-179 pp, DOI:10.1002/9783527650002.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Voet, D.J., Voet, J.G. and Pratt, C.W.**, 2008, Principles of Biochemistry, *New Jersey*, 40-76 pp, USA.
- Wang, J.**, 1998, DNA biosensors based on peptide nucleic acid (PNA) recognition layers, *A review. Biosensors and Bioelectronics*, 13, 757-762 pp. Doi:10.1016/S0956-5663(98)00039-6.
- Wang, J.**, 2000, Analytica Electrochemistry, 2nd Edition, *Wiley&Sons Inc.*, 107-108 pp, New York.
- Wang, J.**, 2002, Electrochemical nucleic acid biosensors, *Analytica Chimica Acta*, 469(1): 63-71 pp. Doi:10.1016/S0003-2670(01)01399-X.
- Wang, J., Rivas, G., Cai, X., Shiraishi, H., Farias, P. A. M., Dontha, N., and Luo, D.**, 1996, Accumulation and trace measurements of phenothiazine drugs at DNA-modified electrodes, *Analytica Chimica Acta*, 332, 139-144. Doi:10.1016/0003-2670(96)00248-6.
- Wang, Y., Wang, J., Gong, X., Wen X., Gu, X.**, 2018, Luteolin: Anti-breast Cancer Effects and Mechanisms, *Journal of Exploratory Research in Pharmacology*, 3(3):85-90 pp. Doi: 10.14218/JERP.2018.00011.
- Waring, M. J. and Bailly, C.**, 1994, The purine 2-amino group as a critical recognition element for binding of small molecules to DNA, *Gene*, 149:1, 69–79 pp. Doi:10.1016/0378-1119(94)90414-6.
- Wei, C., Wang, J. and Zhang, M.**, 2010, Spectroscopic study on the binding of porphyrins to (G4T4G4)<sub>4</sub> parallel G-quadruplex, *Biophysical Chemistry*, 148, 51–55 pp. Doi:10.1016/j.bpc.2010.02.009.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- White, N. M. A., Bao, T. T., Grigull, J., Youssef, Y. M., Girgis, A., Diamandis, M., Fatoohi, E., Metias, M., Honey, R. J., Stewart, R., Pace, K. T., Bjarnason, G. A., Yousef, G. M.,** 2011, MiRNA profiling for clear cell renal cell carcinoma: Biomarker discovery and identification of potential controls and consequences of miRNA dysregulation, *Journal of Urology*, 186(3); 1077–1083 pp. Doi: 10.1016/j.juro.2011.04.110.
- Williams, A.T.R.,** 2000, An Introduction to Fluorescence Spectroscopy, *PerkinElmer Ltd*, United Kingdom.
- Wijnhoven, B.P., Michael, M.Z., Watson, D.I.,** 2007, MicroRNAs and cancer, *Br J Surg*, 94, 23–30.
- Wu, F.Y., Xiang, Y.L., Wu, Y.M. and Xie, F.Y.,** 2009, Study of interaction of a fluorescent probe with DNA, *Journal of Luminescence*, 129(11): 1286-1291 pp. Doi:10.1016/j.jlumin.2009.06.010.
- Zhang, L., Huang, J., Yang, N., Greshock, J., Megraw, M.S., Giannakakis, A.,** 2006, MicroRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer, *Proc Natl Acad Sci USA*, 103(24): 9136-41 pp. Doi: 10.1073/pnas.0508889103.
- Zi, X., Feyes, D.K., Agarwal, R.,** 1998, Anticarcinogenic effect of a flavonoid antioxidant, silymarin, in human breast cancer cells MDA-MB 468: induction of G1 arrest through an increase in Cip1/p21 concomitant with a decrease in kinase activity of cyclin-dependent kinases and associated cyclins. *Clin. Cancer Res*, 4:1055–64pp.
- Zubay, G., Parson, W., Vance, D.,** 1995, Principles of Biochemistry, *McGraw-Hill College*, 622-627 pp, Boston, USA.

**TEŞEKKÜR**

Doktora eğitimim boyunca çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, bilimsel konulara farklı açılardan bakabilmeyi öğreten, beni cesaretlendirerek her konuda desteğini esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nursel AÇAR SELÇUKİ'ye,

Tez konusunun belirlenmesinde ve biyokimya konusunda bana destek veren Prof. Dr. Cenk AÇAR SELÇUKİ'ye, tez izleme toplantılarında değerli katkılarını ve önerilerini aldığım sayın öğretim üyesi Doç. Dr. Nilgün YENER ve Doç. Dr. Sevil ŞENER'e,

Hesapsal kimyaya bakış açımı geliştiren görüşlerinden yararlandığım Kimya Bölümü Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Armağan KINAL'a

Tez araştırmasında yer alan kısmi nümerik hesaplamalar için TÜBİTAK ULAKBİM, Yüksek Başarım ve Grid Hesaplama Merkezi'ne (TRUBA kaynaklarında),

Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne doktora tezimi 20886 numaralı proje ile desteklediği için,

Her zaman koşulsuz sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme ve sevgili eşim Cem RAMAN'a,

Arkadaşlıkları ve fikir paylaşımları için değerli arkadaşlarım Gülden Aydın'a, Ersin Gündeğer'e ve Işıl Öztürk'e

teşekkürü bir borç bilirim.



## ÖZGEÇMİŞ

Tuğçe ŞENER RAMAN, M.Sc.

### EĞİTİM

#### **Doktora (Ph.D.)**

**2020 (beklenen)**

Ege Üniversitesi, Biyoteknoloji Anabilimdalı

Tez başlığı: “Seçilen Bitkisel Aktif Moleküllerin Nükleobazlar ve Bazı Nükleotid Dizilimleriyle Etkileşimlerinin Biyoinformatik Ve Moleküler Modelleme Yöntemleriyle İncelenmesi”

Danışman: Prof. Dr. Nursel AÇAR SELÇUKİ

#### **Yüksek Lisans (M.Sc.)**

**2016**

Ege Üniversitesi, Fizikokimya Anabilimdalı

Tez başlığı: “Promozin Molekülünün Seçilen Biyomoleküllerle Etkileşiminin Fotofiziksel ve Hesapsal Yöntemlerle İncelenmesi”

Danışman: Prof. Dr. Nursel AÇAR SELÇUKİ

#### **Lisans (B.Sc)**

**2012**

Anadolu Üniversitesi, Kimya Bölümü

### PROJELER

- 1. Araştırmacı: TÜBİTAK 1002, Proje No: 119Z782,** Seçilen Bitkisel Aktif Molekül Luteolin’in Nükleotidler ve Bazı Nükleotid Dizilimleriyle Etkileşimlerinin Deneysel ve Hesapsal Yöntemlerle İncelenmesi, 2019- 2021, Yürütücü: Prof.Dr. Nursel Açar Selçuki, (Bütçe: 45 000 TL)
- 2. Araştırmacı: BAP, Proje No: FDK-2019-20886,** Seçilen Bitkisel Aktif Moleküllerin Nükleobazlar ve Bazı Nükleotid Dizilimleriyle

Etkileşimlerinin Biyoinformatik ve Moleküler Modelleme Yöntemleriyle İncelenmesi, 2019-2021, Yürütücü: Prof.Dr. Nursel Açar Selçuki, (Bütçe: 16 000 TL)

3. **Araştırmacı: BAP, Proje No: 2013/FEN/063**, Promazin Molekülünün Seçilmiş Biyomoleküllerle Etkileşimlerinin Fotofiziksel ve Hesapsal Yöntemlerle İncelenmesi, Yürütücü: Prof. Dr. Nursel Açar Selçuki, 2013- 2015, (Bütçe: 3650 TL)

### **YAYINLAR**

**T. Şener Raman**, Nursel Acar\*, “Interactions of Promazine with Selected Biomolecules: Photophysical and Computational Investigation”, **Chemical Physics**, 517, (2019), 161-176. doi: 10.1016/j.chemphys.2018.10.010. ISSN: 0301-0104. WOS:000452311700021

### **BİLİMSEL ETKİNLİKLER**

1. **Poster Sunumu: Nursel Acar Selçuki, Tuğçe Şener**, “Intermolecular interactions between dopamine and promazine using computational methods” 33th Molecular Modelling Workshop, 8-10 Nisan 2019, Erlangen, Almanya, P. 70.
2. **Poster Sunumu: Tuğçe Şener Raman**, Nursel Açar Selçuki, “Investigation of Interactions of Luteolin with Deoxycytidine Monophosphate Using Computational Methods” 12. International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics, HIBIT, İzmir, 17-19 Ekim 2019, P. 107.
3. **Poster Sunumu: Tuğçe Şener Raman**, Nursel Acar ‘Selçuki, Computational Investigated of Intermolecular Interactions between Melatonin and Promazine’, XII. Chemical Physics Congress, 12-13 Ekim 2018, Safranbolu.
4. Workshop Program: **Tuğçe Şener Raman**, Biophysics Summer School/Workshop Program, 25-29 Haziran 2018, İstanbul.
5. **Poster Sunumu: Tuğçe Şener**, Nursel Acar, ‘Intermolecular Interactions Between Serotonin And Promazine Using Computational

Methods',4th International Conference on New Trends in Chemistry, 11-13 Mayıs 2018, St. Petersburg, Russia.

6. **Poster Sunumu: Tuğçe Şener**, Nursel Acar, "Promazinin Bazı Biyolojik Moleküllerle Etkileşimlerinin Hesapsal Yöntemlerle İncelenmesi ", XXV. Ulusal Biyokimya Kongresi, 03–06 Eylül 2013, İzmir, **Türk Biyokimya Dergisi** (Turk J Biochem), 2013: 38,1, 165. P. 165.
7. **Poster Sunumu: Tuğçe Günay, Tuğçe Şener**, Yasemin Çimen, Turgay Tay, 'Demir Tetrafenilporfirin İçeren Polimerik Kürecik Sentezi ve Fenolik Bileşiklerin Oksidasyonunun Araştırılması'26. Uluslararası Katılımlı Ulusal Kimya Kongresi, 01-06 Ekim 2012, Muğla.
8. **Poster Sunumu: Tuğçe Şener**, Tuğçe Günay, Yasemin Çimen, Turgay Tay, 'Mangan Tetrafenilporfirin İçeren Polimerik Kürecik Sentezi ve Fenolik Bileşiklerin Oksidasyonunun Araştırılması' III. Fiziksel Kimya Günleri, 12-15 Temmuz 2012, Balıkesir.
9. **Katılımcı:** I.Farmasötik Biyoteknoloji Çalıştayı" Biyoteknolojik ilaçlarda Üretim ve Uygulamaları", 03-04 Şubat 2017, İzmir.
10. **Katılımcı:** 6.Kozmetik Kongresi, 26-28 Şubat 2016, Antalya.
11. **Katılımcı:** Mibelle Biochemistry Eğitim, 13-16 Ocak 2016, Zermatt, İsviçre.
12. **Katılımcı:** In Cosmetics, 12-14 Nisan 2015, Barselona, İspanya.
13. **Katılımcı:** 5.Kozmetik Kongresi, 06-08 Şubat 2015, Antalya.
14. **Katılımcı:** Safety Assessment for Cosmetics, 02 Aralık 2014, İstanbul

### **PROGRAM BİLGİSİ**

1. Spartan '08
2. Gaussian 03, 09, 16
3. Gaussview 5.0, 6.0
4. ChemBioOffice 2010
5. Discovery Studio 3.1

**BURSLAR**

1. **100/2000 Öncelikli alanlar YÖK bursiyeri** : BİYOTEKNOLOJİ : Tuğçe Şener Raman, 2016-2019.

