



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DNA FTALOSİYANİN ETKİLEŞİMLERİNİN
UV- GÖRÜNÜR BÖLGE, FLORESANS
SPEKTROSKOPİSİ, JEL ELEKTROFOREZ VE ERİME
YÖNTEMLERİ İLE İNCELENMESİ**

BÜŞRA PEKPAZAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANA BİLİM DALI

SIVAS-2021

**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DNA FTALOSİYANİN ETKİLEŞİMLERİNİN
UV- GÖRÜNÜR BÖLGE, FLORESANS
SPEKTROSKOPİSİ, JEL ELEKTROFOREZ VE ERİME
YÖNTEMLERİ İLE İNCELENMESİ**

BÜŞRA PEKPAZAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ANALİTİK KİMYA
ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ESRA BAĞDA**

SİVAS-2021

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından Ecz- 061 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Büşra PEKPAZAR, 2021



Canım eşime ve aileme...

ÖZET

DNA FTALOSİYANİN ETKİLEŞİMLERİNİN UV- GÖRÜNÜR BÖLGE, FLORESANS SPEKTROSKOPİSİ, JEL ELEKTROFOREZ VE ERİME YÖNTEMLERİ İLE İNCELENMESİ

Büşra PEKPAZAR

Yüksek Lisans Tezi

Analitik Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Esra BAĞDA

2021, 78+xvii sayfa

Genetik bilginin taşınması ve saklanması gibi en bilinen özelliklerinin yanında hücre proliferasyonundaki aktif görevinden dolayı DNA molekülü oldukça önemli bir ilaç hedefidir.

Normal hücrelere nazaran kanserli hücrelerin metabolizması oldukça hızlıdır ve bu hücrelerde transkripsiyon ve DNA replikasyonu oldukça artmıştır. Bu biyolojik süreçlerin durdurulabilmesi ya da sekteye uğratılabilmesi kanser tedavisinde umut verici bir yaklaşımdır. DNA ile etkileşen moleküller hücre proliferasyonunu değiştirebileceği/sekteye uğratabileceğinden dolayı kanser ilacı olabilme potansiyellerine sahiptir. Ftalosiyanın singlet oksijen verimi yüksek bileşiklerdir ve yeni sentezlenen ftalosiyanın bileşiklerinin fotodinamik kemoterapi ajanı olarak kullanılma potansiyelleri vardır. Bu tez kapsamında DNA ile etkileşebileceği düşünülen ftalosiyanın molekülünün ct-DNA ile etkileşimi UV- Görünür bölge, floresans spektroskopisi, jel elektroforez ve erime yöntemleri ile incelenmiştir.

Tez kapsamında suda çözünür İndiyum merkez atomlu 4-(N-metil)-merkaptopiridin sübstitüe ftalosiyanın bileşiğinin çift sarmal DNA etkileşimi araştırılmıştır. Ftalosiyanın molekülünün DNA ile etkileşimi farklı tekniklerle araştırılmıştır. Ftalosiyanın bileşiğinin ct-DNA etkileşimine dair UV-Gör. spektroskopik çalışmaları sonucunda bağlanma sabiti (K_b) 10^7 M^{-1} mertebelerinde bulunmuştur. Stern-Volmer eşitliğinden sönmüleme sabiti $8,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen sonuçlar kapsamında yeni sentezlenen ftalosiyanın bileşiğinin ct-DNA ile etkileştiği ve bileşiğin kanser tedavisinde kullanılma potansiyeli olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler DNA, ftalosiyanın, antikanser

ABSTRACT

INVESTIGATION OF INTERACTION OF PHTHALOCYANINE WITH DNA WITH FLUORESCENCE SPECTROSCOPY, GEL ELECTROPHORESIS AND MELTING METHODS

Büşra PEKPAZAR

Master of Science Thesis

Department of Analytical Chemistry

Supervisor: Ass. Prof. Esra BAĞDA

2021, 78+xvii pages

The DNA molecule is a very important drug target due to its active role in cell proliferation as well as its most well-known features such as transport and storage of genetic information.

Compared to normal cells, the metabolism of cancer cells is quite rapid and transcription and DNA replication are considerably increased in these cells. Being able to stop or disrupt these biological processes is a promising approach in cancer treatment. Molecules interacting with DNA have the potential to be cancer drugs, as they can change/disrupt cell proliferation. Phthalocyanines are compounds with high singlet oxygen yield and newly synthesized phthalocyanine compounds have the potential to be used as photodynamic chemotherapy agents. In this thesis, the interaction of phthalocyanine molecule with ct-DNA, which is thought to interact with DNA, was investigated by UV-Visible, fluorescence spectroscopy, gel electrophoresis and melting methods.

Within the scope of the thesis, the double-stranded DNA interaction of the water-soluble 4-(N-methyl)-mercaptopyridine substituted indium phthalocyanine compound was investigated. The interaction of the phthalocyanine molecule with DNA has been investigated with different techniques. As a result of UV-Vis. spectroscopic studies, the binding constant (K_b) of interaction of the phthalocyanine with ct-DNA was found to be in the order of 10^7 M^{-1} . The fluorescence quenching constant was calculated as $8.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ from the Stern-Volmer equation.

Within the scope of the results obtained, it was found that the newly synthesized phthalocyanine compound interacts with ct-DNA and the compound has the potential to be used in cancer treatment.

Keywords: DNA, phthalocyanine, anticancer

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK.....	i
ONAY	ii
ETİK.....	vi
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
İÇİNDEKİLER.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
SİMGELER	xvi
KISALTMALAR.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ftalosiyaninler	3
2.1.1. Ftalosiyaninlerin Tarihçesi.....	3
2.1.2. Ftalosiyaninlerin Yapısı	5
2.1.3. Ftalosiyaninlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması	8
2.1.4. Ftalosiyaninlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	11
2.1.5. Ftalosiyaninlerin Kullanım Alanları	14
2.2. Deoksiribonükleik Asitler.....	15
2.2.1 Deoksiribonükleik Asit Tarihçesi	15
2.2.2 Deoksiribonükleik Asit Yapısı ve Özellikleri.....	17
2.2.2.1 Majör ve Minör Oyuk.....	23
2.2.3 Calf Thymus DNA (ct-DNA)	24
2.3. Deoksiribonükleik Asitlerin Küçük Moleküller ile Etkileşimi.....	25
2.3.1 Kovalent Etkileşimlerle DNA Bağlanma.....	26
2.3.2 Nonkovalent Etkileşimlerle DNA Bağlanma.....	29
2.3.2.1 Elektrostatik Etkileşimlerle DNA Bağlanma	30
2.3.2.2 İnterkalasyon Etkileşimlerle DNA Bağlanma.....	31

2.3.2.3 Oluğa Bağlanma Etkileşimleri	34
2.4. Literatür	36
3. MATERYAL VE METOD	40
3.1 Çalışmada Kullanılan Çözeltiler.....	40
3.2 DNA ile Ftalosiyanin Bileşğinin Bağlanma Özelliklerinin İncelenmesi	42
3.2.1 UV-Görünür Bölge Absorpsiyon Spektroskopik Çalışmalar.....	42
3.2.2 Ethidium Bromür (EtBr) Yer Değiştirme (Floresan) Çalışmaları ...	43
3.2.3 Termodinamik parametrelerin araştırılması.....	44
3.2.4 DNA-Ftalosiyanin Etkileşimlerinin Erime Sıcaklığının Belirlenmesi Çalışması	44
3.2.5 Jel Elektroforez çalışmaları.....	44
4. BULGULAR	45
4.1 Ftalosiyanin ct-DNA etkileşimine dair termodinamik değlendirmeler	50
4.2 Floresans Yer Değiştirme	58
4.3 ct-DNA Erime Çalışmaları	60
4.4 Jel Elektroforez Çalışmaları	61
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. 1 Azot atomu içeren, bazı altı üyeli halkalar .	2
Şekil 2. 1 Ftalimitden oluşan metalsiz ftalosiyanin.....	3
Şekil 2. 2 O-dibromobenzenden bakır ftalosiyanin eldesi	3
Şekil 2. 3 İlk sentezlenen demir (II) ftalosiyanin (FeFs) bileşiği.....	4
Şekil 2. 4 Yapısı X-ray ile aydınlatılan ftalosiyanin bileşiği	5
Şekil 2. 5 Metalsiz ftalosiyanin (H ₂ Fs) ve metalli ftalosiyanin (MFs).....	6
Şekil 2. 6 Metalli ftalosiyanin sentez yöntemleri.....	6
Şekil 2. 7 Metalsiz ftalosiyanin sentez yöntemleri.....	7
Şekil 2. 8 Periferel ve non preiferel kısımlar	8
Şekil 2. 9 M: Metalin eklenebileceği bölge L: Farklı aksiyal ligandların bağlanabileceği bölge S,X: çeşitli yan grupların bağlanabileceği bölge	8
Şekil 2. 10 Ftalosiyaninlerde numaralandırma.....	9
Şekil 2. 11 Ftalosiyanin halkalı yapısının kolay adlandırma şeması	10
Şekil 2. 12 Ftalosiyanin komplekslerinin sınıflandırılması.....	11
Şekil 2. 13 Ftalosiyaninlerin merkezine bağlanabilen elementlerin periyodik tablo gösterimi	12
Şekil 2. 14 Ftalosiyanin molekülün geometrik yapısı.....	13
Şekil 2. 15 Ftalosiyaninlerde kristal yapı formları.....	14
Şekil 2. 16 Franklin tarafından B-tipi DNA kristalinin X-ışını fotoğrafı	16
Şekil 2. 17 Çift sarmallı DNA yapısı	17
Şekil 2. 18 (a) Tek halkalı pirimidin yapısı , (b) Çift halkalı pürin yapısı...	18
Şekil 2. 19 DNA ve RNA yapısında bulunan bazların yapısı	18
Şekil 2. 20 Adenin ve timin arasındaki hidrojen bağları ile guanin ve sitozin arasındaki hidrojen bağları	19
Şekil 2. 21 DNA sarmalındaki zıt yönlü zincirler.....	20
Şekil 2. 22 DNA sarmalının çeşitli görünümleri	22
Şekil 2. 23 DNA’da süper burulma gösterimi.....	23
Şekil 2. 24 DNA’da major ve minör oyuk gösterimi	24

Şekil 2. 25 Akridin molekül yapısı	25
Şekil 2. 26 Küçük moleküllerin DNA ve ilaç etkileşim çeşitleri.....	26
Şekil 2. 27 DNA ile cisplatinin yaptığı bağlanma.....	27
Şekil 2. 28 DNA ile cisplatinin yaptığı bağlanma formları	28
Şekil 2. 29 Cisplatinin DNA ile yaptığı tek ve çift bağlı koordinasyonu	29
Şekil 2. 30 DNA ile non-kovalent etkileşimler	29
Şekil 2. 31 DNA çift sarmalına elektrostatik bağlanma şekli	30
Şekil 2. 32 DNA çift sarmalına interkalasyon bağlanma şekli	31
Şekil 2. 33 İnterkalasyon bağlanma yapan moleküllerin yapısı.....	32
Şekil 2. 34 a) Klasik interkalasyon bağlanma şekli ve b) Düğümlleme interkalasyon bağlanma şekli.....	33
Şekil 2. 35 10 baz çiftine sahip DNA ve interkalasyon sonrası DNA boyu.	33
Şekil 2. 36 DNA üzerinde ki büyük ve küçük oluğa bağlanma	34
Şekil 2. 37 N ¹ , N ⁵ -bis[piridin-2-metilen] tiyokarbohidrazonun Ni (II) ve Zn (II) metal komplekslerinin oluğa bağlanması.....	35
Şekil 3. 1 Tez kapsamında kullanılan ftalosiyanın bileşiğinin açık formülü.....	40
Şekil 3. 2 Ethidium bromür (EtBr).....	43
Şekil 3. 3 Stern-Volmer Denklemi.....	43
Şekil 4. 1 Oda sıcaklığında gerçekleştirilen UV-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.....	48
Şekil 4. 2 25 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.	51
Şekil 4. 3 30 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.	52
Şekil 4. 4 35 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.	53
Şekil 4. 5 40 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.	54
Şekil 4. 6 45 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.	55

Şekil 4. 7 50 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.	56
Şekil 4. 8 1/T'ye karşı $\ln K_b$ grafiği.	57
Şekil 4. 9 EtBr- ct-DNA kompleksinin InFs ile sönümlenmesine ait Stern-Volmer eğrisi.....	60
Şekil 4. 10 Jel elektroforez bant profili.....	62



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 4. 1 Ftalosiyenin ct-DNA etkileşimlerine dair termodinamik veriler.....	57
Tablo 4. 2 Literatürde benzer çalışmalar için elde edilen termodinamik parametreler.....	58



SİMGELER

N	Azot
C	Karbon
H	Hidrojen
G	Guanin
T	Timin
C	Sitozin
A	Adenin
°C	Celsius
nm	Nanometre
Å	Angstrom
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
K_b	Bağlanma Sabiti
K_{sv}	Stern-Volmer Sabiti (Stern-Volmer Denklemi)

KISALTMALAR

DNA	Deoksiribonükleik Asit
miRNA	Mikroribon�kleik Asit
CTC	Dolaşımdaki Tümör Hücreleri
Fs	Ftalosiyenin
UV-Gör.	Ultraviyole (Morötesi ışınım) Görünür
Abs	Absorbans
MFs	Metalli Ftalosiyenin
H₂Fs	Dihidrojenftalosiyenin (Metalsiz Ftalosiyenin)
IR	InfraRed (Kızılötesi Işınım)
RNA	Ribonükleik Asit
ct-DNA	Buzağı Tim�s DNA (Calf Thymus DNA)
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EtBr	Etidyum (Ehidium) Bromür
BSA	Sığır serum Albümini
HD	Hoechst Boyası
InFs	Indiyum Ftalosiyenin

1.GİRİŞ

Kanser tedavisinde DNA'nın hedeflenmesi oldukça önemlidir. DNA'ya bağlanabilen kimyasallar tümör hücrelerinin çoğalmasını ve büyümesini yavaşlatabilir, ayrıca DNA'nın kendini eşlemesini (replikasyon) farklılaştırarak antikanser tedavisinde kullanılabilir (Barut, 2016). Antikanser ilaçlar ile DNA arasındaki etkileşimler oldukça karmaşıktır. Antikanser ilaçlar ve DNA arasında oluklara bağlanma, elektrostatik çekim, hidrojen bağları ve interkalasyon gibi farklı bağlanma türleri vardır. İnterkalatif (interkalasyon) bağlanma DNA amplifikasyonunun (sayısal çoğaltılması) ve replikasyonunun inhibisyonu için oldukça önemlidir (Huang vd., 2019; Yang vd., 2013).

Çift sarmallı DNA'da büyük ve küçük oluklar, moleküllerin DNA ile birleşmesi için bazlarda bulunan hidrojenlerin yönlendirmesiyle moleküler bilgi kanalları gibi davranır. Büyük moleküller büyük oluklardaki özgül etkileşimlerden dolayı nükleik asitlere bağlanır. Küçük moleküller ise baz çiftleri arasına veya daha küçük oluklara ya da her ikisine birden bağlanabilir (Banti vd., 2014). DNA'nın nanopartiküller yani küçük moleküller ile etkileşimi klinik ve ilaç sentezleme açısından oldukça önemlidir (Biswas vd., 2017).

DNA'ya bağlanan küçük moleküller tekli veya çoklu mekanizmalarla etkileşim gösterir. Bu mekanizmalar genellikle Coulombic ve Van der Waals, hidrojen bağı, elektrostatik çekim ve istifleme kuvvetleriyle gerçekleşir. Halkalı yapıda ki kimyasallardan yapılarında heterosiklik ve/veya aromatik halkalar bulunduran ilaç ve ligandlar farmakolojik etki gösterebilirler. Antiviral, antibakteriyel ve antikanser ilaçların hedefleri genellikle DNA'dır (Ataci, Ozcelik, & Arsu, 2018).

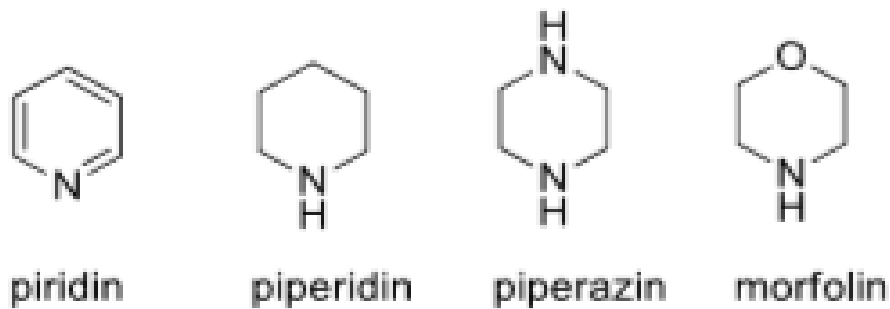
Ftalosiyanın (Fs) kelime kökü yunancaya dayanmaktadır ve yunanca nafta (kaya yağı) ve siyanin (koyu mavi) ifadelerinden oluşmaktadır. Ftalosiyanınlar 18- π elektron sistemi olan azo-metin bağlarına sahip dört tane pirol türevinin bir araya gelmesiyle oluşan makrosiklik bileşiklerdir. Ftalosiyanınların maviden sarımsı yeşile kadar renkleri değişmektedir. Yapısal bakımdan porfirinlere benzerlik gösterirler. Fakat porfirinler gibi doğal olarak bulunmazlar (Ece & Saka, 2012).

Ftalosiyanimler çok karalı düzlemsel yapıdaki makrohalkadır. Bu halkaya bir metal iyonu veya iki proton bağlanması durumunda nötrallik sağlanır. Periyodik cetvelde ki metal iyonlarının neredeyse tamamının kullanımı sonucunda çok sayıda metalli ftalosiyanimler sentezlenmiştir (Yildirim, 2014).

Metalli ftalosiyanimler vakum altında 900 °C 'ye kadar bozunmaya karşı dayanıklıdır. Genel olarak ftalosiyanimlerin kaynama ve erime noktaları çok yüksektir. 18- π delokalize elektron yapısına sahip olması sebebi ile UV-görünür bölgede spesifik absorpsiyon bandları oluştururlar. Bu bandların 270-230 nm'de oluşan absorpsiyon bandlarına L bandı, 285-330 nm'de oluşan absorpsiyon bandlarına N bandı, 420-320 nm'de oluşan absorpsiyon bandlarına B bandı veya Soret bandı, 600-720 nm'de oluşan absorpsiyon bandlarına Q bandı adı verilmektedir (Çetinkaya, 2015).

Ftalosiyanimlerin periferel ve non periferel olarak adlandırılan iki konumu vardır. Bu konumlara farklı grupların bağlanması ile farklı ftalosiyanimler ve türevleri sentezlenebilir. Ftalosiyanimlerin çözünürlük özelliklerini ve spektroskopik özelliklerini periferel veya non periferel uçlara eklenen süstitüent grupları etkiler ve değıştirir (Karakaş, 2019).

Azot atomu içeren halkalı yapılardan piridin, piperidin ve piperazin gibi altılı halka yapısına sahip olan gruplar ftalosiyanimlerle süstitüent olarak bir araya geldiklerinde biyoloji, tıp ve endüstri gibi alanlarda kullanılırlar (Koçan, 2019).



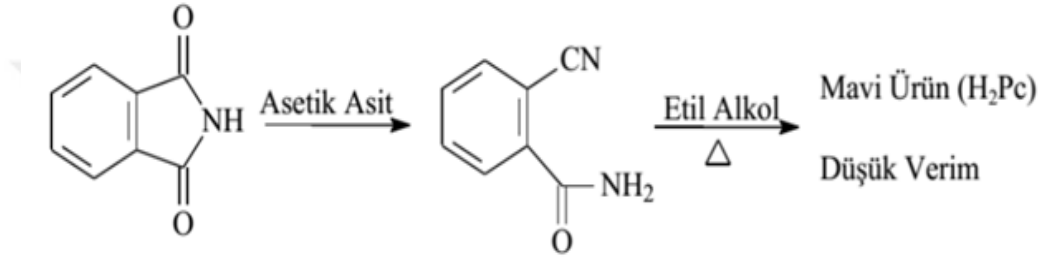
Şekil 1. 1 Azot atomu içeren, bazı altı üyeli halkalar (Youtricha, 2019).

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Ftalosiyaninler

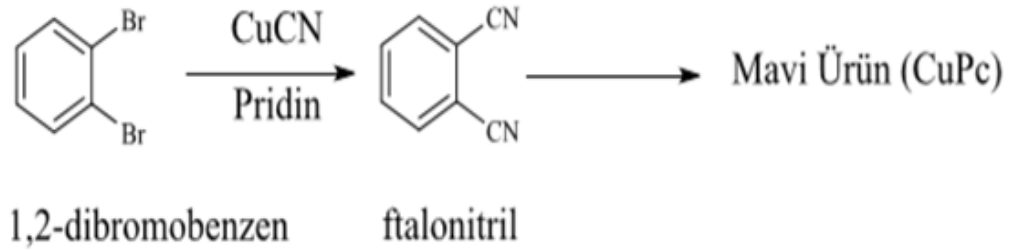
2.1.1. Ftalosiyaninlerin Tarihçesi

Ftalosiyaninler ilk olarak 1907 yılında mavi-yeşil renkli ve yapısı bilinmeyen bir yan ürün olarak ortaya çıkmıştır. Bu yan ürünü Braun ve Tcherniac isimli iki bilim insanı sentezlemiştir. Yapısı çözümlenemeyen bu ürün ftalimit ve asetik asit ile yapılan o-siyanobenzamidin sentezi sırasında ortaya çıkmıştır (Çakır, 2014).



Şekil 2. 1 Ftalimitden oluşan metallsiz ftalosiyanin (Çakır, 2014).

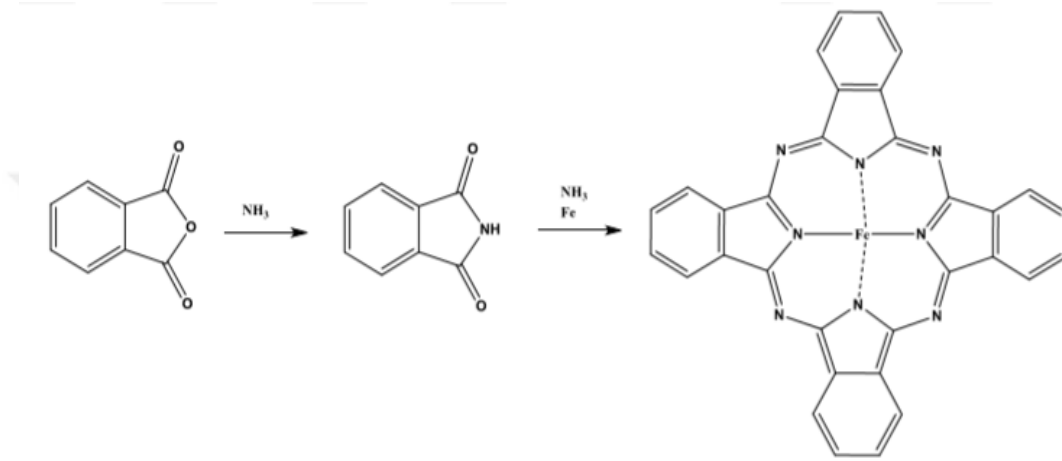
1927 yılında yani 20 yıl sonra Diesbach ve Van Der Weid ilk metalli ftalosiyanin bileşiğini elde etmişlerdir. 200 °C’ de piridin içerisinde ısıtılan o-dibromobenzenin bakır (I) siyanürle tepkimesi sonucu yan ürün olarak bakır ftalosiyanin kompleksi ortaya çıkmıştır (Sarkı, 2014).



Şekil 2. 2 O-dibromobenzenden bakır ftalosiyanin eldesi (Pişkin, 2019).

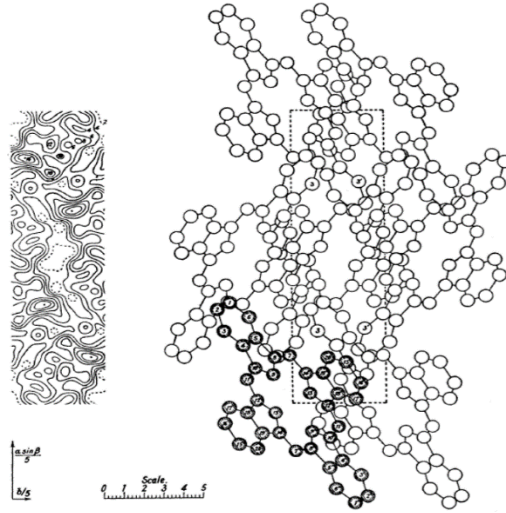
1928 yılında İskoçya’da bulunan bir şirkette endüstriyel anlamda ftalik anhidrit ve amonyak ftalimid sentezleri sırasında bir anormallik fark edilmiştir. Scottish Dyes Limited Şirketi’nde Grangemounth tesislerinde gerçekleşen mavi-

yeşil renklerinde görülen bu anormallik, yani homojen olmama durumunun kaynağına bakıldığında reaktör üzerinde ki sistemden sızan ftalimidin demir ile yaptığı bir kompleksten meydana geldiği anlaşılmıştır. Bu kompleksin çok kararlı ve pigment özelliği gösteren bir ürün olduğu anlaşılmıştır. Ürünün çözünmeyen pigment özellik taşıması onun üzerinde ki araştırmaları sıklaştırmıştır. Ürün yapısı hakkında bilgi sahibi olunmadığından araştırma yapabilmesi için bir miktar ürün Prof. Reginal P. Linstead tarafına gönderilmiştir (Çakır, 2014).



Şekil 2. 3 İlk sentezlenen demir (II) ftalosiyanın (FeFs) bileşiği (Bayğu, 2019).

1933 yılında Prof. Reginal P. Linstead ve arkadaşları tarafında yapılan araştırmalar sonucu ftalosiyanınların yapısı hakkında ki ilk öneriler sunulmuştur. Robertson'ın X-ray cihazı ile yapmış olduğu analiz sonucunda, ortaya koydukları önerileri kanıtlamışlardır (Bayğu, 2019).

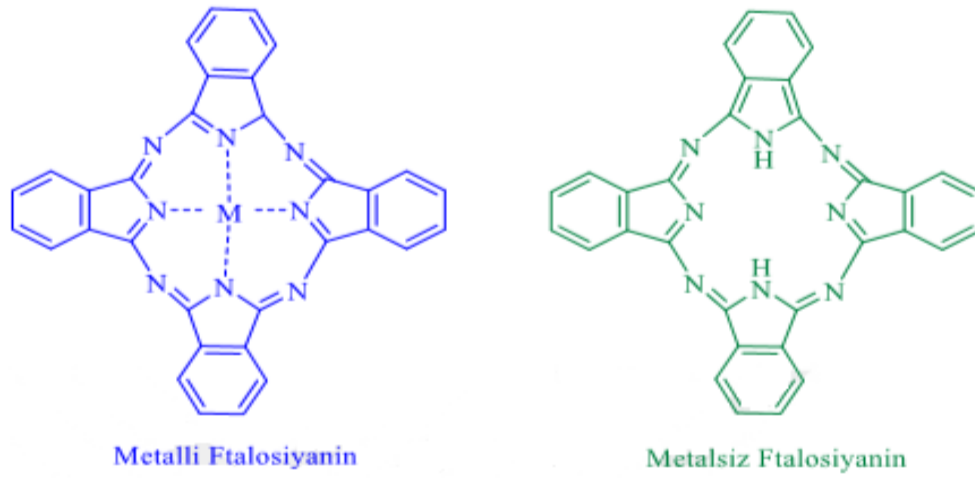


Şekil 2. 4 Yapısı X-ray ile aydınlatılan ftalosiyanin bileşiği (Bayğu, 2019).

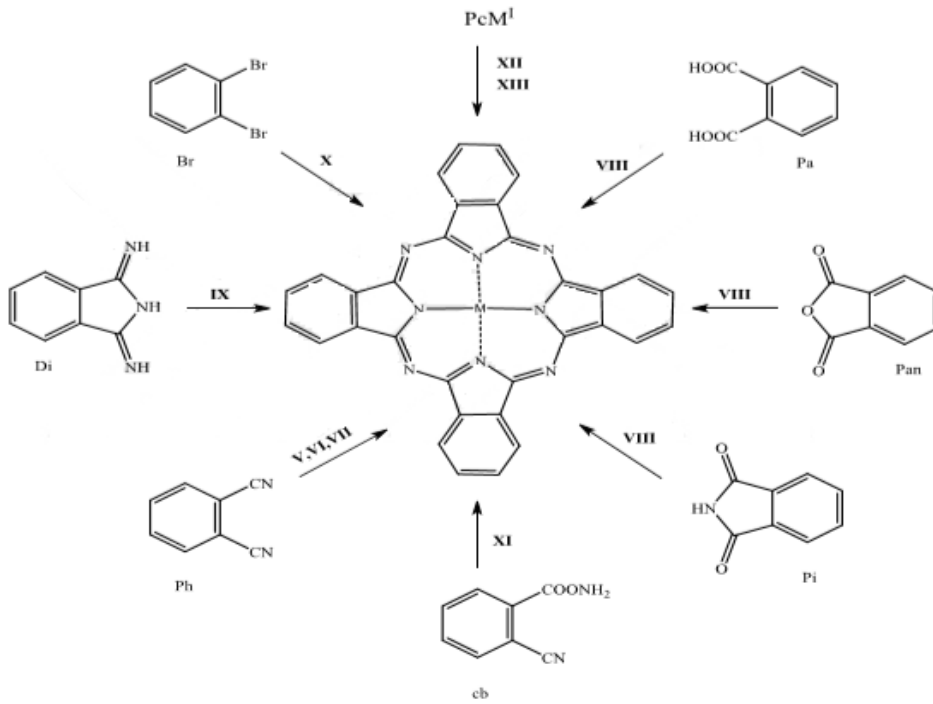
2.1.2. Ftalosiyaninlerin Yapısı

Ftalosiyaninler makro-heterohalkalı bileşiklerdir. Bu bileşikler mezo konumdaki azot atomlarının birbirlerine bağlanması ile oluşan toplamda dört adet olan izoindol ünitelerinden oluşur. Ftalosiyaninlere bağlanan metaller makrosiklik yapının fotokimyasal, yükseltgenme-indirgenme özelliklerini önemli derecede etkiler. Çoğunlukla metal tuzları ile ftalimid, ftalonitril, ftalik anhidrit ve bunların türevleri ile oluşan reaksiyonlar sonucunda ftalosiyaninler elde edilir (Arucu, 2019). Metal atomlarının neredeyse hepsi ftalosiyaninler ile kompleks bileşikler oluşturabilirler. Çoğunlukla kaynama noktası yüksek bir çözücü içerisinde metal tuzu ile ftalosiyanin türevlerinden (ftalik asit, ftalimid, 1,2-dibromobenzen vb.) kullanılması sonucunda metalli ftalosiyanin türevi elde edilir.

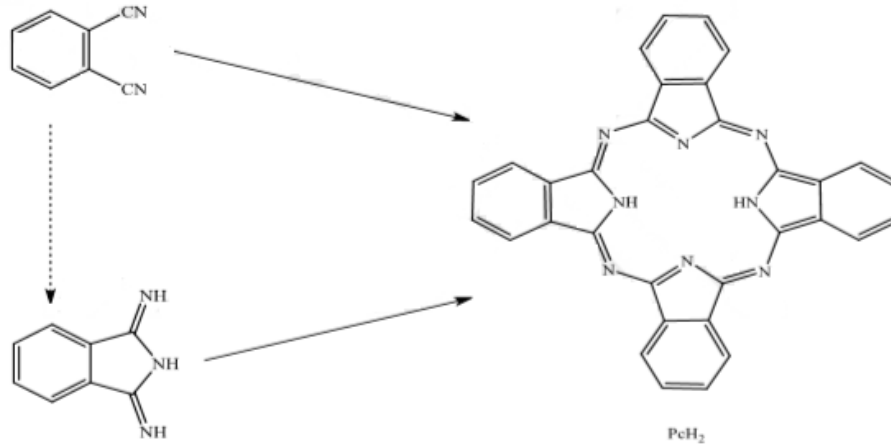
Bir ftalosiyaninin merkez atomunda metal atomu var ise MFs ifadesi ile belirtilir. Ftalosiyaninin merkezin de metal atomu yok ise Fs ifadesi veya H₂Fs ifadesi ile belirtilir (Şen, 2019).



Şekil 2. 5 Metalsız ftalosiyenin (H₂Fs) ve metalli ftalosiyenin (MFs) (Çakılkaya, 2019).

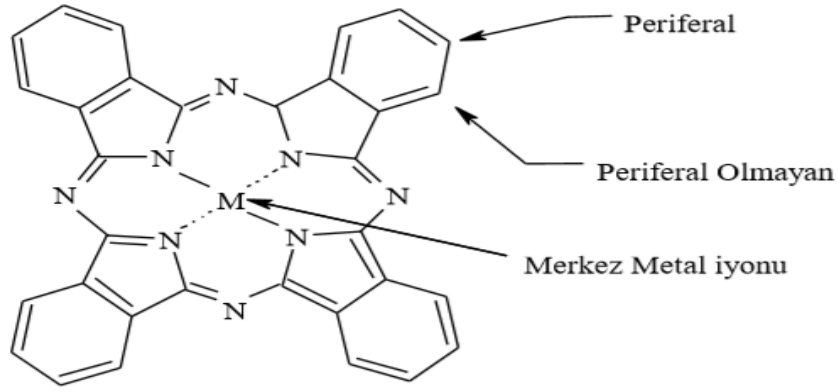


Şekil 2. 6 Metalli ftalosiyenin sentez yöntemleri (Pişkin, 2019).

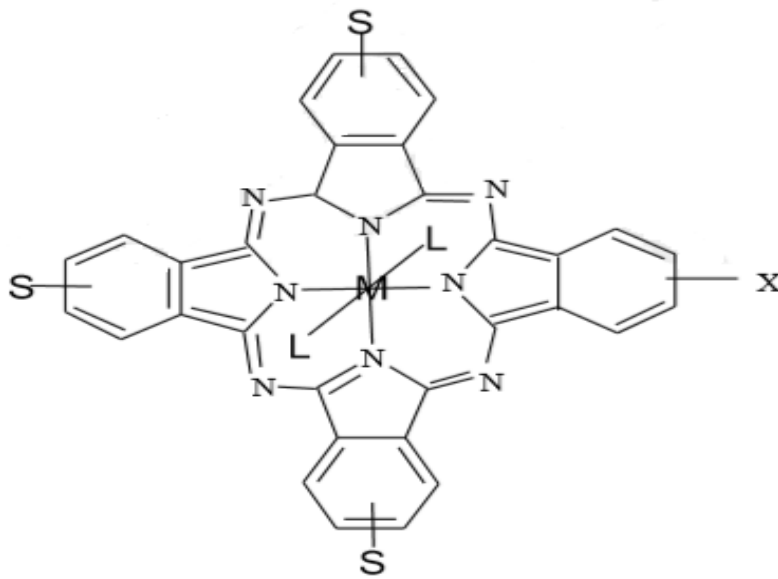


Şekil 2. 7 Metalsiz ftalosiyenin sentez yöntemleri (Pişkin, 2019).

Aromatik, düzlemsel ve halkalı yapıya sahip olan ftalosiyaninlerin, halkalı yapısı sayesinde merkez boşluğunda çeşitli metal iyonları bulundurabilmesi ile çeşitli metal içerikli ftalosiyaninler sentezlenir. Modifiye edilebilmelerinden dolayı hidrofiliklik ve spektroskopik özellikleri birbirinden farklı ftalosiyaninler sentezlenebilir. Metalli ftalosiyaninler, metal iyonundan dolayı yüksek singlet oksijen kuantum verimleri ve triplet uyarılmış durumda kalma ömürlerinden kaynaklı, fotodinamik terapi için uygun fotosensitizerdirler. Düzlemsel yapıda olmalarından dolayı ftalosiyaninler çözelti ortamlarında agregasyona meyillidirler (Nalçaoğlu, 2019). Ftalosiyaninlerin metal elementleri ve germanyum, silisyum, bor ve arsenik gibi metaloitlerle birlikte yaklaşık olarak 70 farklı elementle koordine kovalent bağ yaptığı bilinmektedir. Ftalosiyaninlerde meydana gelen π -istifi (π -stacking) yapısında ki 18- π elektronik sisteminden kaynaklanır. Bu durum ftalosiyaninlerin çözünürlüğünü olumsuz yönde etkilemektedir. Bileşiklerdeki π -istifi engellendikçe çözünürlük artmaktadır. Ligantların merkez atoma aksiyal konumda bağlanması, geniş hacimli süstitüentlerin periferel veya non-periferel bölgeye bağlanması ile π -istifi engellenebilir (Sofuoğlu, 2019). Ftalosiyaninde periferel bölge, nitril grubunda beta konumlarındaki karbonlardır. Non-periferel bölge ise alfa konumundaki karbonlardır (Uluşan, 2019).



Şekil 2. 8 Periferal ve non preiferal kısımlar (Uluşan, 2019).

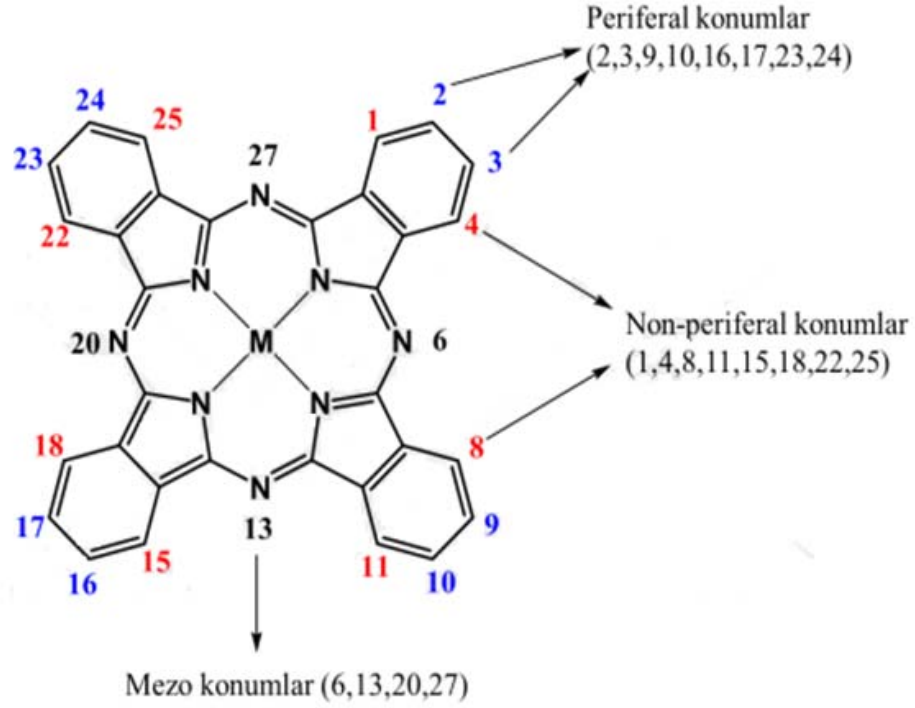


Şekil 2. 9 **M:** Metalin eklenebileceği bölge **L:** Farklı aksiyal ligandların bağlanabileceği bölge **S,X:** çeşitli yan grupların bağlanabileceği bölge (Uluşan, 2019).

2.1.3. Ftalosiyanınların Adlandırılması ve Sınıflandırılması

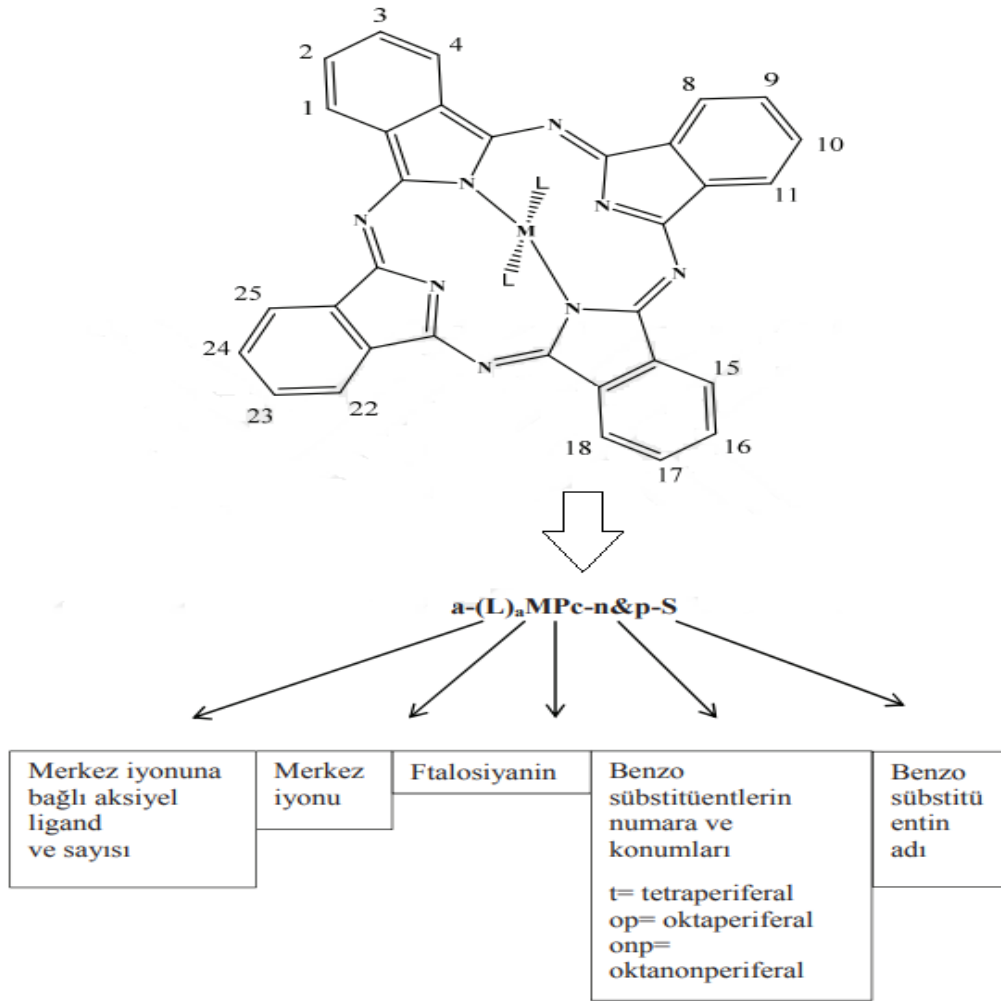
Ftalosiyanınlar adlandırılırken metal bulundurup bulundurmamasına göre metalli ftalosiyanınlar ve metallsiz ftalosiyanınlar olarak adlandırılır. NiFs gibi metalli ftalosiyanınlar de adlandırma yapılırken önce metal okunur. Co₂Fs₂, LuFs₂ gibi top-tipi ftalosiyanınlar son zamanlarda sentezlenen ftalosiyanınlardır. Bu ftalosiyanınlerde adlandırma yapılırken M₂Fs₂ veya MFs₂ formülleri kullanılır. Makrosiklik yapıya sahip olan ftalosiyanınların sisteminde bulunan dört adet benzen halkasına bağlanabilmek için on altı konum mevcuttur. Bu konumlardan 8 tanesi 2, 3, 9, 10, 16, 17, 23, 24 numaralı karbon atomları dışa ait yani periferal

konumlardır. 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25 numaralı karbon atomları ise periferol olmayan yani non-periferol konumlardır (Kökci, 2020; Yetgin, 2019).



Şekil 2. 10 Ftalosiyeninlerde numaralandırma (Yetgin, 2019)

IUPAC isimlendirmesi kullanılan makrohalkaya sahip ftalosiyenin kompleksleri “a-(L)-n&p-S-FsM” formülü kullanılarak isimlendirilir. Periferol konumlara bağlanan ligandlar (Cl^- , OH^- , F^-) β-süstitüe ftalosiyenin kompleksi olarak adlandırılır. Non-periferol konumlara bağlanan ligandlar ise α-süstitüe ftalosiyenin kompleksi olarak adlandırılır.

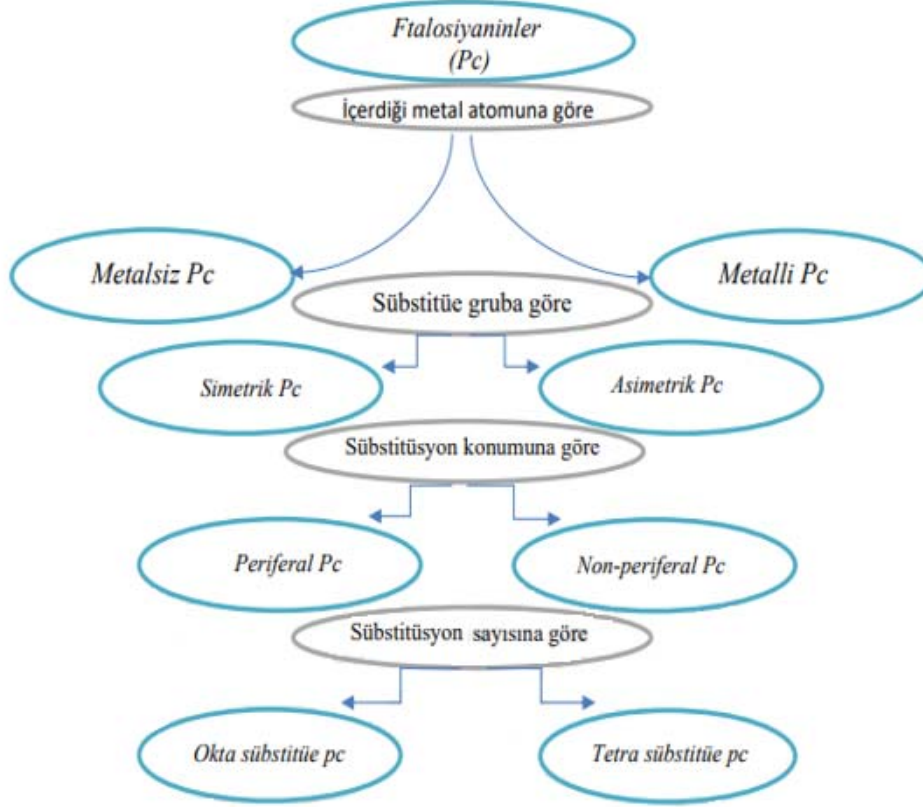


Pc ; ftalosiyanın
 NPc ; naftalosiyanın
 M ; merkez katyon
 Süstitüentlerin Numaraları ve Pozisyonları (n&p)
 tp ; tetra-periferel= 2, 9(10), 16(17), 23(24)
 tnp ; tetra-nonperiferel= 1, 8(11), 15(18), 22(25)
 op ; okta-periferel= 2, 3, 9, 10, 16,17, 23, 24
 onp; okta-nonperiferel= 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25
 Merkez Katyona (M) Bağlı Aksiyel (a) Ligandlar (L)
 Cl⁻ ; klorür
 OH⁻ ; hidroksil
 F⁻ ; florür

Benzo süstitüent (S)
 Cn ; alkil = -CnH2n+1
 OCn ; alkoksi = -OCnH2n+1
 CO2Cn ; alkil ester = -CO2CnH2n+1
 CO2H ; karboksilik asit = -CO2H
 CN ; nitril (siyano)

Şekil 2. 11 Ftalosiyanın halkalı yapısının kolay adlandırma şeması (Sağlam, 2020; Mutlu, 2019).

Ftalosiyanimler içerdği metal atomuna göre, süstitüe grubuna göre, süstitüsyon konumuna göre ve süstitüsyon sayısına göre sınıflandırılır (Mutlu, 2019).

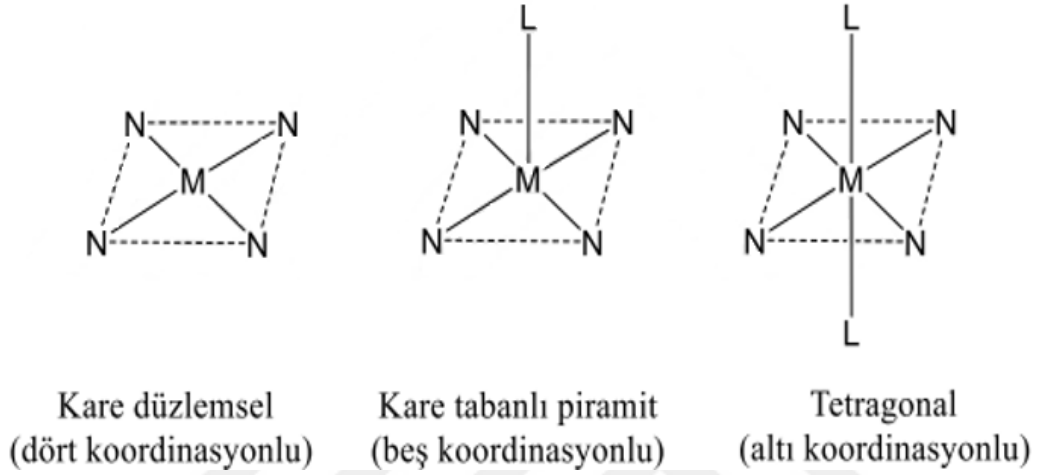


Şekil 2. 12 Ftalosiyanim komplekslerinin sınıflandırılması (Mutlu, 2019).

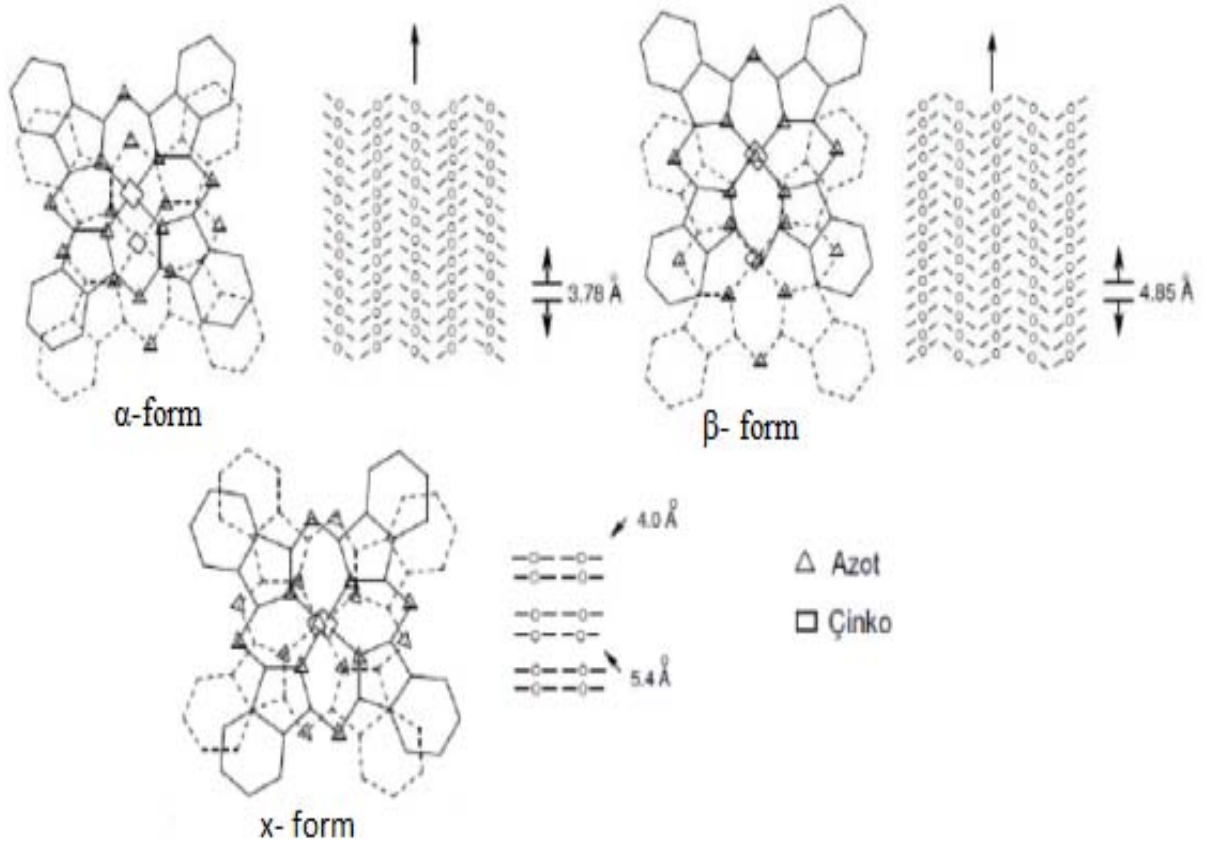
2.1.4. Ftalosiyanimlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kimyasal ve fiziksel özelliklerinden kaynaklanan termal kararlılıkları, eşsiz optik özellikleri, asit ve alkalilere karşı dirençleri, görünür bölgede yüksek absorpsiyon yapmabilmeleri ftalosiyanim bileşikleri üzerindeki çalışmaların artmasına neden olmuştur. Asitlere karşı dayanıklı olması ftalosiyanimlerin sülfürik asit çözeltisinde kristallendirilerek saflaştırılmasına olanak sağlar. Ftalosiyanimlerin çözünürlüğünün az olmasının nedeni geometrik şekli ve $18-\pi$ elektron sisteminde oluşan güçlü etkileşimlerdir. Fakat polar veya apolar organik çözücülerde çözünürlükleri, ftalosiyanimlerin periferik, non-periferik ve eksenel pozisyonlarına lipofilik süstitüentler eklenerek artırılabilir (Özdemir, 2019).

olan ftalosiyaninlerin en önemlileri α -formu ve β - formudur. En sık karşımıza β -formu çıkmaktadır. β - formunun en bilindik özelliği termodinamik anlamda en kararlı yapıya sahip olmasıdır. Diğer bir kristal yapı olan α -formun da ise ftalosiyanin molekül sayısı çok daha fazladır bunun sebebi üst üste istiflenmiş olmasıdır. X- ışını difraksiyonu ile bu yapılar birbirinden ayrılabilir. Ayrıca kristal yapı formlarında görülen, başka bir kristal yapı ise x- formudur. Bu yapı α -formundan türetilmektedir (Waesama-Ae, 2020).



Şekil 2. 14 Ftalosiyanin molekülün geometrik yapısı (Waesama-Ae, 2020)



Şekil 2. 15 Ftalosiyeninlerde kristal yapı formları (Waesama-Ae, 2020).

2.1.5. Ftalosiyeninlerin Kullanım Alanları

Ftalosiyeninler sentezlenirken kullanım alanına uygun bir şekilde sübstitüe edilmelidir. Çünkü ftalosiyeninlerin yapısındaki metaller ile yapmış olduğu bağlanmalar ftalosiyenin yapısında kimyasal, fiziksel, fotokimyasal ve fotofiziksel değişikliklere neden olmaktadır (Demir, 2020). Ftalosiyeninlerin kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre kullanım alanları değişir (Bekaroğlu, 2000).

Agrege olma özelliklerinden ve çözünürlük problemlerinden dolayı ftalosiyeninlerin kullanım alanları kısıtlanmaktadır. Fakat buna rağmen yapılan araştırmalar sonucunda ftalosiyeninlerin çeşitli gruplar ile sübstitüe edilmesiyle birlikte çeşitli kullanım alanları için birçok istenilen özellikleri kazandıkları kanıtlanmıştır. Böylece ftalosiyeninler sıvı kristal, optik veri depolama, güneş pili, fotodinamik terapi, IR radyasyon absorplayıcı, katalizör gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Temizel, 2019). Ftalosiyeninler çok bilindik renklendiricilerdir.

Yoğun renkleri yanı sıra, 18- π elektron konjuge sistemleri sayesinde daha dikkat çekici özellikleri keşfedilmiştir (Kulaç vd., 2007).

Deterjan, sabun, yüzey renklendirme, tekstil, baskı, mürekkep gibi ürünlerin renklendirilmesinde boyar madde olarak kullanılmasının yanı sıra endüstri alanlarında da ftalsiyoninler aktif olarak kullanılmaktadır. Endüstri alanlarında Fs'lerin tercih edilmesinin en önemli nedeni maviden yeşile uzanan renk tonlarıdır. Ayrıca ftalosiyoninler, periyodik tablodaki bileşiklerin geneli ile bağ kurabilmesi ve redoks aktif metal iyonlarının da yardımı ile birçok kimyasal tepkimeyi hızlandırmasından dolayı katalizör olarak kullanılmaktadır. Ftalosiyoninler indirgeyici ve yükseltgeyici katalizörler olarak kullanılmaktadır. Metalik ftalosiyoninler genellikle indirgeme tepkimelerinde kullanılan bir katalizör olsa da her zaman bu durum böyle değildir. Örneğin kobalt ve demir elementlerine sahip ftalosiyoninlerin heterojen yükseltgeyici katalizör etkileri bulunmaktadır. Heterojen yükseltgeyici katalizörler ham petrolardan kokulu tiyollerin arındırılmasında kullanılır.

Sıvı kristal olarak kullanılan ftalosiyoninlere hem katı hem sıvı faz özelliklerini gösterebildiği ve termodinamik olarak kararlı bir yapıya sahip maddeler oldukları için sıvı kristal denilmiştir. Sıvı kristal maddelerin yapısı sıvılara göre daha ince ve uzundur. Kalite kontrol cihaz ekranları, havacılık sanayi, bilgisayar gibi dijital ürünler, otomotiv sanayi, güneş pili, yarı iletken ürünler gibi birçok alanda sıvı kristal özelliğinden dolayı kullanılmaktadır (Çetinkaya, 2019).

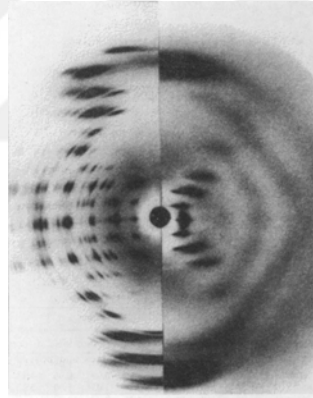
2.2. Deoksiribonükleik Asitler

2.2.1 Deoksiribonükleik Asit Tarihçesi

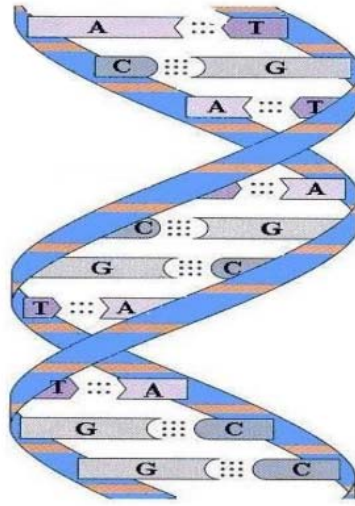
Hoppe Seyler'in öğrencisi olan Friedrich Miescher hücre yaşamının nasıl olduğu, temellerinin neye dayandığı kısacası hücrenin kimyasal yapısı hakkında bilgi sahibi olmak istemiş ve bu yolda en yalın ve bağımsız hücre tipi olan lenfositlerden yararlanmıştır. Fakat lenf düğümleri üzerinden lenfositleri saflaştırmak zor ve analiz için yeterli miktarda lenfosit bulmak neredeyse imkânsız bir hal almıştı. Friedrich Miescher, öğretmenin önerisi ile akyuvarları (lökosit) araştırmaya başladı ve bunun için Tübingen yakınlarında, sağlık merkezlerinde ki

sargı bezlerinde bulunan irin, yara tabakasından izole ettiği lenfositler ile 1869 senesinde ilk kez hücre çekirdeğinde DNA varlığını belirlemiş ve nükleus (hücre çekirdeği) isminden esinlenerek asidik bir yapı olan bu yapıya “n klein” adını vermiştir. Daha sonra çalışmalarına devam eden Friedrich Miescher somon balığı ile yaptığı çalışmada balığın spermasından yararlanarak ilk kez DNA’yı saflaştırmıştır (Dahm, 2005; Kiraz, 2019).

Rosalind Franklin’in de yardımları ile Watson ve Crick’in DNA model yapısı üzerinde ki çalışmaları sonucunda Watson’ın A her zaman T bazı ile G her zaman C bazı ile eşleştiğini bulması, Crick’in şeker ve baz arasındaki bağların konumunu bulması ve Franklin’in X-ışını kırımı ile yaptığı çalışmalar sonucunda B- tipi DNA kristalinin bulunması ve X-ışını verilerinin ikili sarmal modeli desteklemesi ile 1953 yılında DNA modelinin çift sarmallı bir yapıya sahip olduğu bulunmuştur (Bansal, 2003).



şekil 2. 16 Franklin tarafından B-tipi DNA kristalinin X-ışını fotoğrafı (Bansal, 2003).

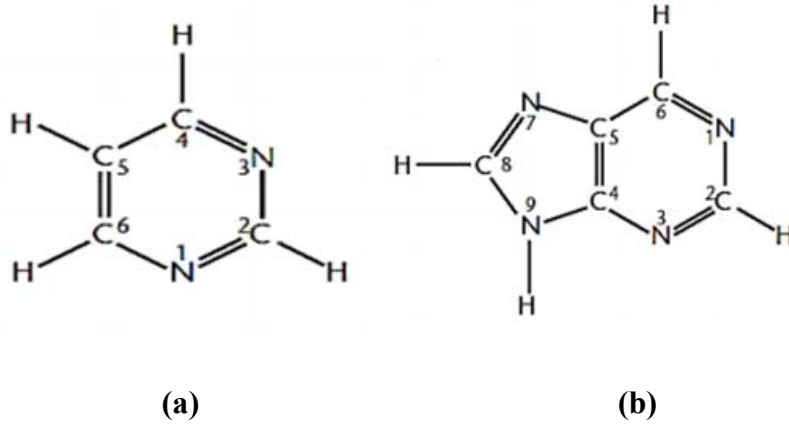


Şekil 2. 17 Çift sarmallı DNA yapısı (Dursun, 2009).

2.2.2 Deoksiribonükleik Asit Yapısı ve Özellikleri

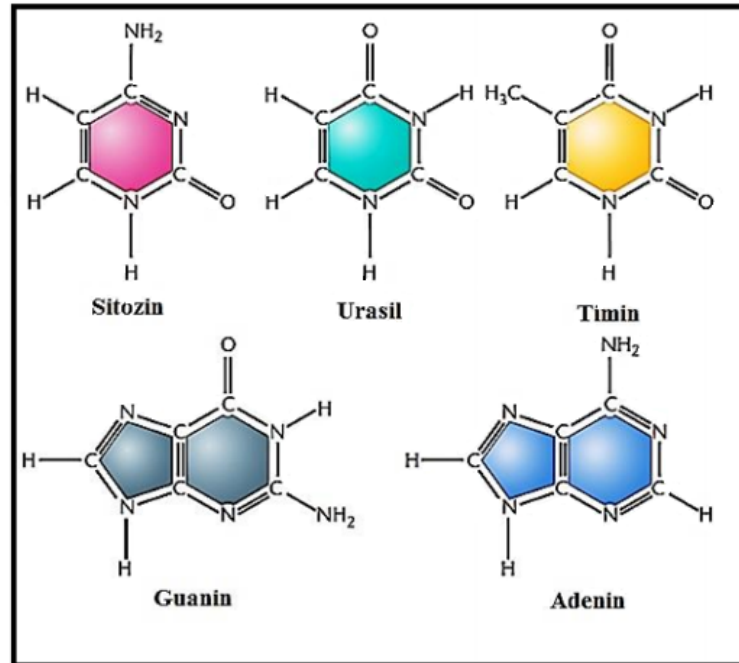
İsminden de anlaşılacağı üzere DNA molekülleri nükleotid adı verilen nükleik asit moleküllerinden oluşur. Nükleik asitlerin yapı taşı olan bu nükleotidler iki uzun polimer zincir ve baz, şeker, fosfat grupları olmak üzere üç bileşenden oluşur. Fosfat grubu ve pentoz şekeri arasında fosfodiester bağı bulunurken pentoz ve azotlu baz grubu arasında glikozit bağı bulunur. İki halkalı yapıya sahip olan pürin ve tek halkalı yapıya sahip olan pirimidinler azotlu baz türleridir. Nükleotitleri oluşturan nükleozitler ester bağları ile fosfat grubuna bağlanır böylece azotlu baz ve şeker grubundan oluşan yapının nükleozit olarak adlandırıldığı anlaşılır. Kısacası nükleozitler şeker ve baz bileşenlerinden oluşur. Nükleotidler ise fosfat, şeker ve baz bileşenlerinden oluşur. Nükleozitler ve fosfat bileşenlerinin oluşturduğu bu iki iplik zıt yönlüdür.

DNA'nın en önemli özelliği genetik bilgiyi muhafaza etmesidir. Böylece genetik çeşitlilik ve canlılığın devam etmesini sağlayan biyolojik etkenleri taşımış olur. Bu genetik bilgi kodları canlıdan canlıya, şeker grubuna bağlanan dört çeşit baz molekülleri ile sağlanır. Bu baz molekülleri protein sentezi esnasında okunur ve proteinlerin yapı taşı olan aminoasit dizilimini belirler. Bu esnada transkripsiyon denilen durum gerçekleşir. Transkripsiyon, DNA'nın taşıdığı kodun veya bilginin DNA yapısına çok benzeyen RNA (ribonükleik asit) üzerine kopyalanmasına denir (Kapçak, 2017; Salem, 2016).



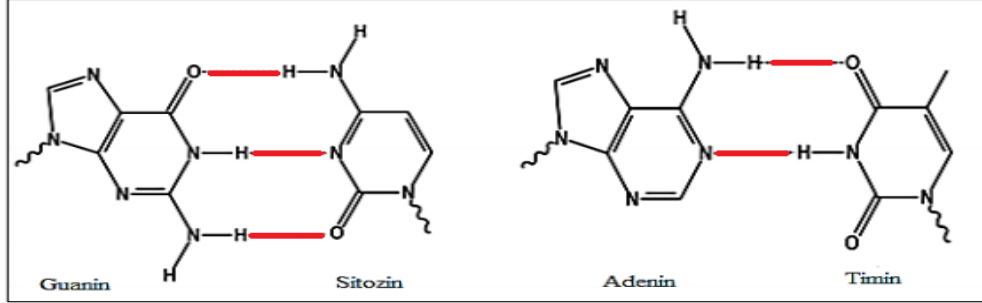
Şekil 2. 18 (a) Tek halkalı pirimidin yapısı , **(b)** Çift halkalı pürin yapısı (Salem, 2016)

Yaklaşık olarak üç milyar baz çifti bulunan insan DNA'sının çok büyük bir kısmı diğer insanlar ile aynıdır. Bu bazlar C-G ve A-T olarak eşleşir. Azotlu baz türlerinden olan pürin ve pirimidinler bu bazlardan oluşur. Pürin bazları adenin ve guanindir. Pürin bazları diğer bazlara göre daha büyük yapıya sahiptir. Pirimidin bazları ise timin ve sitozindir. Urasil' de bir pirimidin bazıdır fakat DNA'da değil RNA'da bulunur. Pürin ve pirimidin bazları hidrofobiktir. Yani nötr moleküller ve apolar çözücüler ile etkileşimlerinde kararlılık gösterirler ve su içerisinde kümelenme gösterirler (Mohammed, 2016).



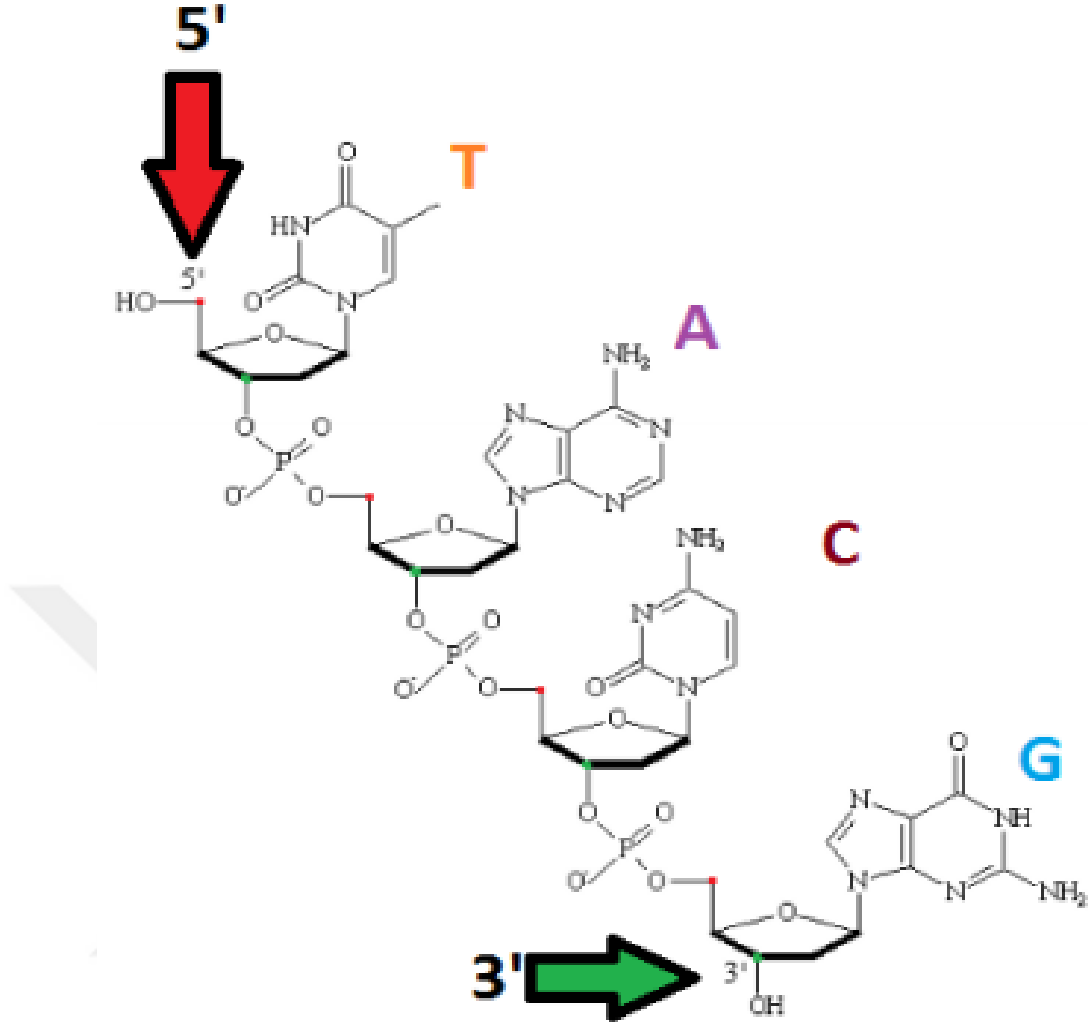
Şekil 2. 19 DNA ve RNA yapısında bulunan bazların yapısı (Salem, 2016).

Genel olarak incelediğimizde hücerede asıl faaliyetler DNA tarafından yönetilir. Yani canlı için en önemli biyolojik etkinlikler DNA molekülü tarafından karşılanır. Dıştan içe doğru bakıldığında kromozomları DNA'lar oluşturur, DNA'ları genler oluşturur ve genleride nükleotitler oluşturur.



Şekil 2. 20 Adenin ve timin arasındaki hidrojen bağları ile guanin ve sitozin arasındaki hidrojen bağları (Özbeden, 2018).

Çift sarmal yapıya sahip olan DNA molekülünde ki bu zincirler fosfat ve şeker iskeleti üzerinde 5' ucundan 3' ucuna doğru zıt yönlü olarak bağlanır ve çift sarmal yapıyı bu şekilde oluştururlar. DNA'da adenin bazı her zaman karşı iplikteki timin bazına bağlanır ve adenin ile timin bazı arasında ikili hidrojen bağı meydana gelir. Guanin bazı ise her zaman karşı iplikteki sitozin bazına bağlanır ve guanin ile sitozin bazı arasında üçlü hidrojen bağı meydana gelir (Özbeden, 2018). Birbirlerine zıt olarak konumlanan bu zincirler bir merkez eksen çevresinde sağ-el ikili sarmalını oluştururlar. İkili sarmal içerisinde ki bazlar düzlemsel bir yapıdadır ve zincirlere dik olarak bağlanmaktadır. Hidrojen bağı ile birbirine bağlanarak kendisini eşleştiren baz grupları arasındaki bağların mesafesi 3,4 Å'dır. DNA sarmalının çapı 20 Å'dur. Bu dizilim sebebinden dolayı DNA sarmalı üzerinde büyük ve küçük oluklar oluşur. Bu sarmal yapının birbirinden ayrılmadan sarmal yapısını koruyabilme sebebi, bazlar içerisinde ki güçlü hidrojen bağları, sarmalın içinde ve dışında korunan kısımlar, polar özellikte olan hidrofilik yapılar ve apolar özellikte olan hidrofobik yapılardır (Kapçak, 2017).



Şekil 2. 21 DNA sarmalındaki zıt yönlü zincirler (Kapçak, 2017).

DNA molekülünün hücrede iki görevi vardır. İlk görevi hücre bölünmesinde kromozomlar ikiye bölünürken kendini eşlemesidir. Çift sarmallı yapı içerisinde hidrojen bağları koparak, çift sarmalı oluşturan zincirler yani dış omurga ayrılır ve içerde kalan nükleotit uçları hücrede serbest halde bulunan önceden üretilmiş nükleotitler ile tamamlanır ve iki eş DNA oluşur. DNA'nın kendi kopyasını oluşturmasına duplikasyon denir. DNA'nın ikinci görevi ise transkripsiyondur. Transkripsiyon sonucu RNA'ya aktarılan bilgi hücrenin protein, enzim üretiminde yer alan ribozom tarafından kullanılır (Bostancı, 2016).

Nükleotidlerin oluşturduğu bağları parçalayan bazı enzimlerden nükleaz olarak bilinen enzimlere endonükleaz denir. Eğer nükleotidlerin oluşturduğu bağlar iki uçtan parçalanıyor ise ekzonükleaz denir. DNA sarmalında, iskelet yapısı gereği

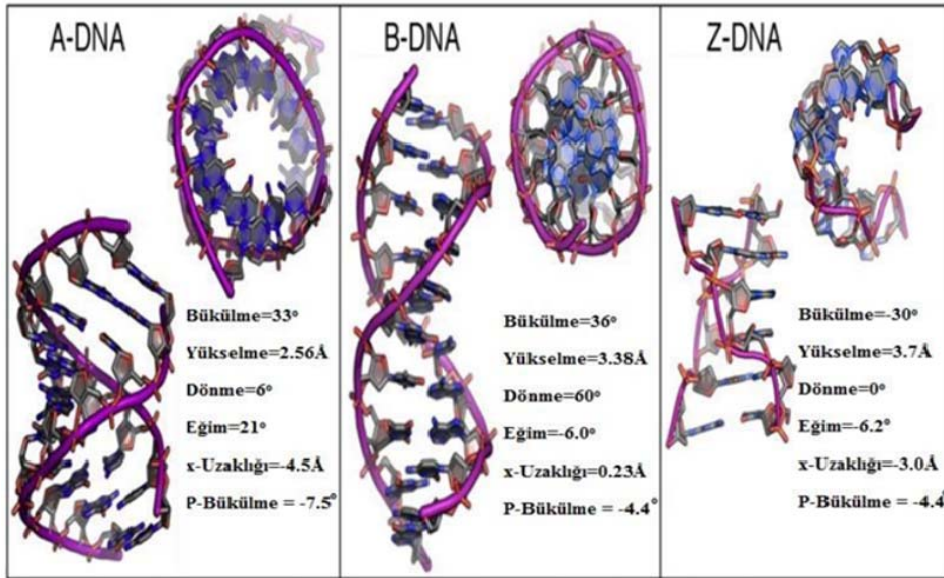
dış kısmında şeker ve fosfat olması DNA'nın dış kısmının hidrofilik özelliğe sahip olmasına neden olurken iç kısmında ise bazlar bulunduğu için hidrofobik özelliğe sahip olmasına neden olur. Pürin ve pirimidin bazlarının birleşmesi çok özeldir. Öyle ki DNA molekülünün yapısında bulunan nükleotidlerin birleşerek oluşturduğu polinükleotid yapılar her zaman ikinci zincirin devamı niteliğindedir. Yani bir zincirdeki baz dizilimi verildiğinde ikinci zincirin baz dizilimi tespit edilebilir. Sıcaklık DNA yapısı için önemli bir parametredir. DNA çift sarmallı yapısının bozunmasına denatürasyon denir ve bu yapının bozunup bozunmadığı 260 nm'de ölçülen absorbands değerleri ile belirlenir. Sitozin ve guanin arasında üçlü hidrojen bağ olduğu için adenin ve timin arasında ki ikili hidrojen bağına göre daha geç ayrılır ve daha yüksek sıcaklıklar da denatüre olur. Fakat DNA denatüre olmasına rağmen uygun ortam şartları sağlandığında tekrar çift zincirli yapısına dönüşebilir ve bu dönüşüme renatürasyon denir (Özkan, 2003).

DNA konformasyonu replikasyon, rekombinasyon ve organik olgu ile ilgili proteinlerin bağlantıları için gereklidir. B-DNA olmayan yani yaygın olmayan çeşitli DNA şekilleri mevcuttur. DNA konformasyonları nükleozom ve deoksiribonükleik asit içerir fakat yanında çok farklı ve dizilimde farklı moleküller de içerirler. Normalde DNA sıralı değişimleri A veya B-DNA olarak düzensiz ve karmaşık sıralı olarak bilinir. Fakat olağanüstü sıralama ya da kare yapısına benzer ana hatlar oluşması durumunda sola dönümlü, üç katlı blok inşası, dört kat, atlamalı sarmal, paralel sarmal ve eşleniği olmayan yapılar gibi farklı yapılar oluşur (Mohammed, 2016).

A-DNA, B-DNA ve Z-DNA en önemlileri olmak üzere yedi farklı DNA tipi tanımlanmıştır. Bu yedi farklı DNA tipleri C-DNA, D-DNA, E-DNA ve P-DNA şeklinde laboratuvar şartlarında sentezlenmiştir. B-DNA üzerinde bulunan büyük oluk Z-DNA üzerinde yok denecek kadar azdır. C-DNA sarmalı daha sıkı bir sarmal yapısına sahiptir. Çünkü tam döndüğü zaman sarmalında 9,3 baz yer almaktadır. Sarmal çapı ise 19 Å olarak tespit edilmiştir. Yapısında guanin bazını bulundurmayan formlar ise D-DNA ve E-DNA'dır. D-DNA yapısında 8 baz çifti bulunur. E- DNA yapısında ise 7 baz çifti bulunur. Laboratuvar koşullarında sentezlenen bir diğer DNA formu olan P-DNA adını Linus Pauling'den almıştır ve

B-DNA formuna göre uzun ince bir yapıya sahiptir. Fosfat grupları P-DNA modelinde iç kısımda, bazlı gruplar ise dış kısma yakın olarak konumlanmıştır. P-DNA sarmal yapısında her bir dönüşde 2,6 baz çifti bulunur (Patıbay, 2018).

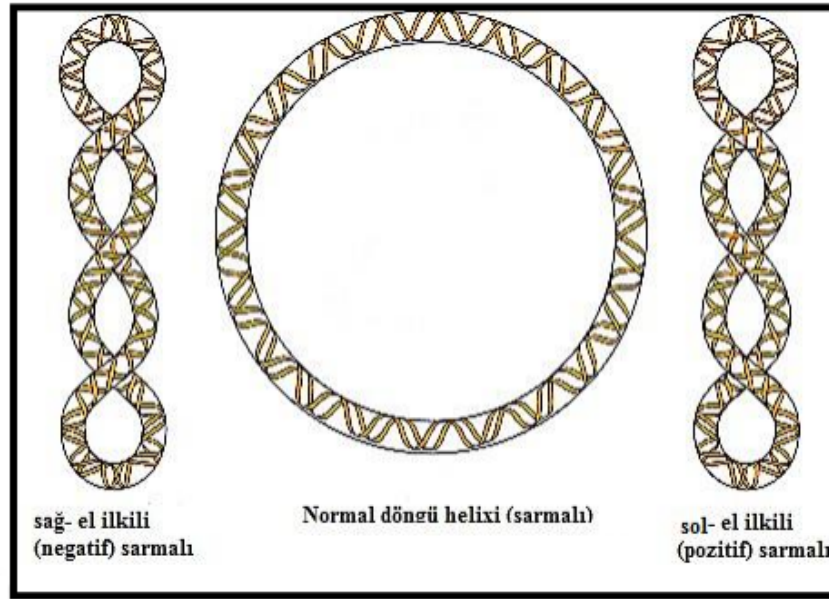
A-DNA sarmalının her bir dönüşü 23 Å yani 2,3 nm'dir. Bu forma sahip DNA modeli sağa dönümlü sarmal yapıda bulunan yüksek tuzlu sulu ortamda veya susuz ortam koşullarında baskınlık gösteren bir yapıdır. Sarmalın bir tam dönüşünde 9 adet baz çifti bulunur. B-DNA'da sağa dönümlü sarmal bir yapıdır, fakat düşük tuzlu sulu ortamda bulunan bir yapı modelidir. B-DNA sarmalının tam bir dönüşü 34 Å yani 3,4 nm olmakla birlikte her tam dönüşünde 10,4 baz çifti bulunmaktadır. B-DNA formunun yapısı Watson ve Crick'in çalışmaları sonucunda ortaya çıkan modele dayanmaktadır. 1979 tarihinde Andrew Wang, Alexander Rich ve arkadaşları yalnızca guanin ve sitozin baz çifti bulunan yapay DNA oligonükleotitleri incelenirken Z-DNA formunu tespit etmişlerdir. Z-DNA, A ve B-DNA model yapılarından farklı olarak molekül dizilimleri (konfigürasyon) sola dönümlü sarmal yapıdır. Sarmal çapı 18 Å olmakla birlikte her bir dönüşte 12 baz çifti bulunmakatadır. Z-DNA konfigürasyonu zik zak bir yapıya sahiptir (Erer, 2015).



Şekil 2. 22 DNA sarmalının çeşitli görünümüleri (Mohammed, 2016).

Çift sarmallı DNA bükülerek süper sarmalı meydana getirebilen bir yapıdır. Süper sarmalın iki tipi mevcuttur. Eğer DNA'da bükülme çift sarmal ile aynı yönde

ise pozitif süper sarmal (sol sarmal), çift sarmalın tersi yönünde ise negatif süper sarmal (sağ sarmal) olarak adlandırılır. Pozitif süper sarmal oluştuğunda bazlar sıklaşır ve birbirlerinden ayrılmaları oldukça zorlaşır. Negatif süper sarmalda ise bazlar seyrekleşir ve birbirlerinden ayrılmaları oldukça kolaylaşır. DNA'da süper sarmal reaksiyonun oluşmasından topoizomerez enzimleri sorumludur. DNA'dan RNA'ya genetik bilgi aktarılırken (transkripsiyon) ve DNA'nın kendini eşlemesi (replikasyon) olayları sırasında bu enzim sayesinde bükülmelerin oluşturduğu gerilimler rahatlar (Salem, 2016).

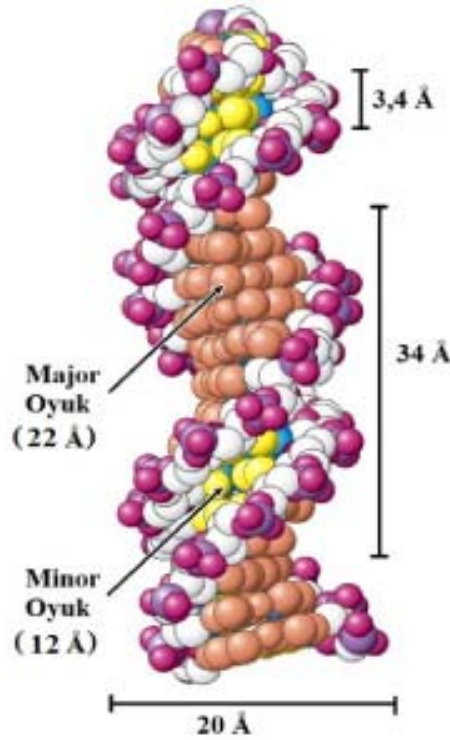


Şekil 2. 23 DNA'da süper burulma gösterimi (Salem, 2016).

2.2.2.1 Majör ve Minör Oyuk

Çift zincirli DNA modelinde bu zincirler DNA omurgasını oluştururken bazı boşluklar oluşur. Bu boşluklar takip edilir ise iki adet boşluk veya oyuk olduğu görülür. Bu oyuklar sayesinde baz çiftlerine bağlanma sağlanabilir, çünkü bu oyuklar baz çiftlerine bitişik haldedir. Oyukların büyüklükleri birbirleri ile eşit değildir çünkü oyuklar karşı karşıya konumlanmamıştır. Büyük olan oyuya büyük oyuk (majör oyuk) denilir. Küçük olan oyuya ise küçük oyuk (minör oyuk) denilir (Gökçe, 2012). Majör oyukların genişliği 22 Å ve minör oyukların genişliği ise 12 Å'dır. Minör oyuktaki bu darlık nedeni ile baz çiftlerinin kenarlarına erişmek majör oyuklara göre çok daha zordur. Transkripsiyon işlemi sırasında büyük moleküle sahip proteinler, DNA üzerinde ki belirli baz dizilimlerine sahip büyük oyuklara

yerleşirler. Ancak netropsin gibi bir poliamid ve DAPI gibi bileşikler DNA’da küçük oyuklara yerleşerek, DNA ile etkileşim sağlarlar (Biltekin, 2015).



Şekil 2. 24 DNA’da major ve minör oyuk gösterimi (Biltekin, 2015).

2.2.3 Calf Thymus DNA (ct-DNA)

Calf thymus DNA kısaltması ct-DNA isminden de anlaşılacağı üzere buzağı timüs dokusundan hazırlanır. Çift ve tek sarmallı yapıya sahip DNA’nın maksimum seviyede polimerize edilmiş çift sarmal yapısının daha fazla bulunduğu bir yöntem ile ct-DNA elde edilir.

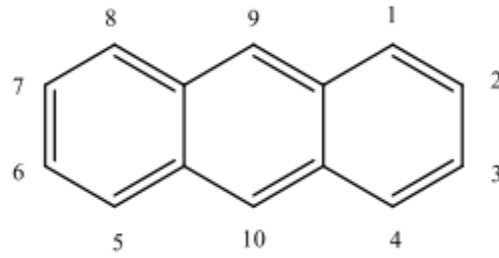
DNA molekülünün yapısı ve işlevine büyük etkileri olan; antikanser DNA bağlayıcı ajanların deneylerinde ve DNA davranışlarının fizikokimyasal çalışmalarında doğal bir DNA olan ct-DNA’nın kullanımı oldukça yaygındır.

DNA çözeltileri uygun şartlarda 4 °C’de bozulmadan birkaç ay saklanabilir. DNA çözeltilerinin pH 8’den daha yüksek alkali çözelti içerisinde saklanması tavsiye edilmez. DNA derişimleri düşük hazırlanmış ise plastik tüp yüzeyinde emme eğilimleri gösterir ve ct-DNA suda çözülebilir. Örneğin 2 mg/ml’lik bir çözelti içerisinde ct-DNA kolaylıkla çözünebilir. Tercihen nükleazların aktivite

göstememesi için DNA'nın 1 mM EDTA ortamında saklanması önerilir (Pehlivan, 2019).

2.3. Deoksiribonükleik Asitlerin Küçük Moleküller ile Etkileşimi

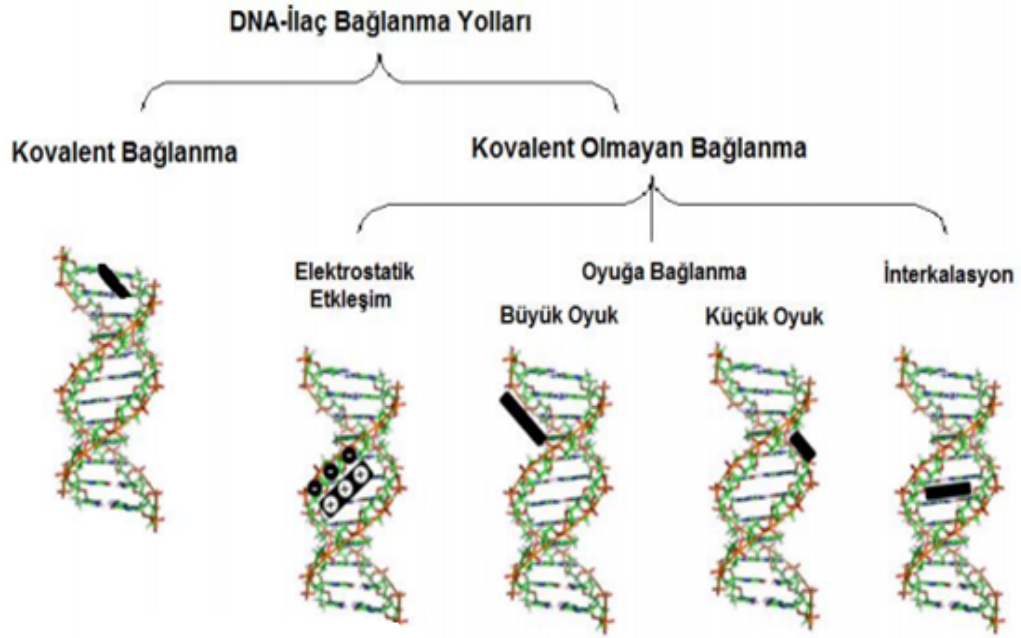
Genetik bilgiyi saklayan ve hücre için hayati fonksiyonları yerine getiren DNA molekülü yapısı üzerine yapılan çalışmalar sonucunda üç boyutlu bir modelinin de oluşturulması ile birlikte DNA-ilaç etkileşimleri dikkat çekmeye başlamıştır. 1961 senesinde Lerman çalışmaları ile ilk defa DNA ve küçük moleküllerin etkileşebildiğini gözlemlemiştir. Çalışmasında düzlemsel, aromatik ve üç halkalı yapıya sahip heterosiklik bir bileşik olan akridin molekülünün interkalasyon etkileşimi ile DNA'da bulunan baz çiftleri arasına yerleştiği tespit edilmiştir (Yılmaz, 2017; Al Mousa, 2017).



Şekil 2. 25 Akridin molekül yapısı (Mousa, 2017)

1844 yılında Michele Peyrone tarafından sentezlenmiş cisplatini kullanarak Rosenberg ve ekibi DNA üzerinde ki cisplatin etkilerini araştırmışlardır. Rosenberg ve ekibinin yaptığı çalışmalar sonucunda, cisplatinin DNA ile kovalent bağ oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Bu tespit sonucunda küçük moleküller ile DNA etkileşimleri bilim insanlarının ilgi odağı haline gelmiştir (Göçmen, 2014). Son otuz yıllık dönemde ilgi odağı olan küçük moleküllerin DNA ile etkileşimlerinin çalışmaları sonucunda, antikanser ilaç tasarımlarında önemli adımlar atıldı. İlaçların bulunmasında, geliştirilmesinde nükleik asitler önemli bir rol oynadığı için önemli ilaç hedefleri olmuşlardır. Antikanser yani kanser önleyici ilaçların DNA ile etkileşimleri en çok moleküler farmakoloji, biyoloji ve kimya alanlarında ilgi görmüştür. Birçok kanser önleyici ajanlar DNA ile bağlanarak etkileşime geçer. Bu bağlanmalar kovalent bağlanmalar ve kovalent olmayan bağlanmalar olarak ikiye ayrılır (Abdulhasanov, 2018). Kovalent olmayan bağlanmalarda DNA iskelet

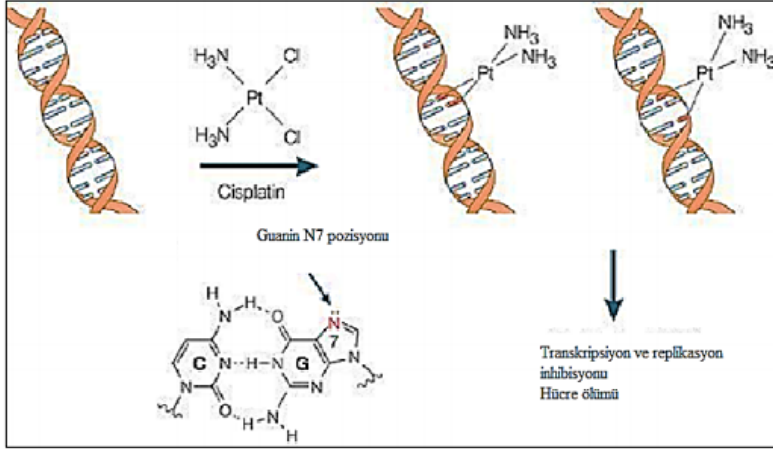
yapısında bulunan fosfat ve şeker gruplarında elektrostatik bir etkileşim söz konusudur. Ayrıca bu etkileşimler interkalasyon, majör ve minör oyuklara bağlanma şeklinde de gerçekleşir (Caymaz, 2019).



Şekil 2. 26 Küçük moleküllerin DNA ve ilaç etkileşim çeşitleri (Caymaz, 2019).

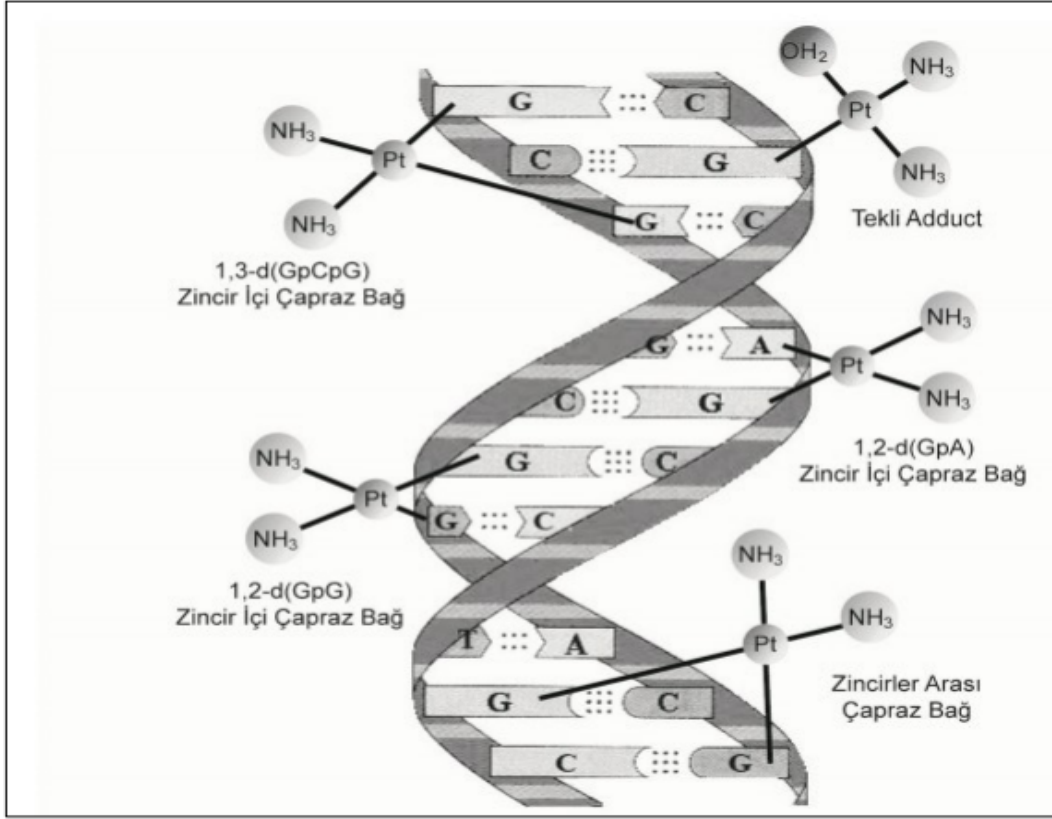
2.3.1 Kovalent Etkileşimlerle DNA Bağlanma

DNA'nın küçük moleküller ile kovalent etkileşimlerinin geri dönüşü olmamaktadır. Çünkü DNA'nın transkripsiyonu, replikasyonu, RNA ve protein sentezini gibi hücre için hayati önem taşıyan olayların gerçekleşmesini engelleyerek hücreyi ölüme sürükler. Kovalent bağlanma ile DNA'da en iyi etkileşim sağlayan kanser önleyici ilaç cisplatindir. Cisplatin molekül yapısında klor grupları bulunur bu gruplar DNA çift sarmalı üzerinde ki azot grupları ile DNA çift sarmalı içinde veya arasında çapraz bağlar yaparak DNA'nın bükülmesine neden olur (Çelik, 2018).



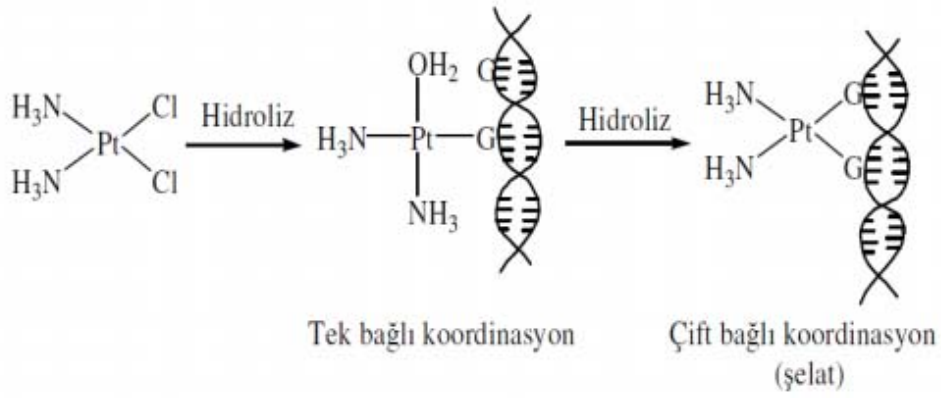
Şekil 2. 27 DNA ile cisplatinin yaptığı bağlanma (Çelik, 2018).

DNA molekül yapısından kaynaklı üzerinde nükleofilik bölümler bulunur. Cisplatin, antikanser ilaçları bu nükleofilik alanlar ile tepkimeye girerek pozitif yüklü platin kompleksleri meydana getirir. Cisplatin doğrudan damar yoluna, yani intravenöz yoldan kan dolaşımına verilir. Fakat bu durum klor miktarının artmasına neden olur ve kandaki klor miktarı yaklaşık olarak 100 mM klor konsantrasyonuna ulaşır. Yüksek klor konsantrasyonuna sahip ajanlar hücre içine girdiği zaman klor konsantrasyonu yaklaşık olarak 4 mM'ye kadar düşer ve böylece cisplatin klor iyonlarından ayrılarak +2 yüklü hale dönüşür. Pozitif yüklü cisplatin böylelikle protein, RNA, DNA gibi makromoleküller ile etkileşime geçebilir (Çam, 2018).



Şekil 2. 28 DNA ile cisplatinin yaptığı bağlanma formları (Çam, 2018).

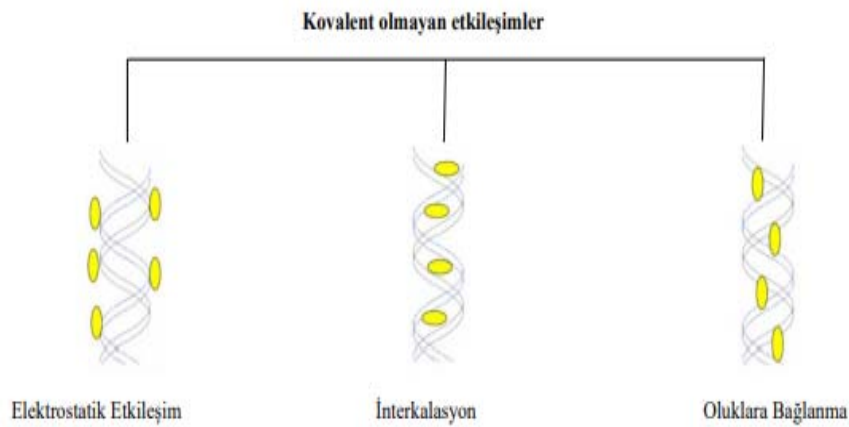
Akciğer, yumurtalık ve mesane kanserleri cisplatin ilaçları ile tedavi edilmektedir. Cisplatin hücre duvarını aşması durumunda hücre stoplazma sıvısı içerisine geçer ve burda kararlı olmayan cisplatinde klor molekülleri su molekülleri ile yer değiştirerek hidrolize uğrar. Pozitif yüklü cisplatin elektrostatik bir çekim ile DNA'ya yaklaşır. DNA yaklaşan katyonik yapı genellikle guanin bazı ile bağlanır, fakat bazen adenin bazı ile de tek bağlanma gösterebilir. Önemli bir antikanser olan cisplatin ilaçları çok fazla yan etkiye sahip olması ve zamanla kanserli yapıların cisplatin ilaçlarına direnç göstermelerinden dolayı daha etkili antikanser ilaçları için çalışmalar başlamıştır. Amaçlanan ilaç özellikleri suda çok daha iyi çözünme göstermesi ve yan etkilerinin çok daha az olmasıdır. Bu hedef doğrultusunda karboplatin, okzaliplatin ve nedaplatin gibi ilaçlar geliştirilmiştir (Şahin, 2020).



Şekil 2. 29 Cisplatinin DNA ile yaptığı tek ve çift bağı koordinasyonu (Şahin, 2020).

2.3.2 Nonkovalent Etkileşimlerle DNA Bağlanma

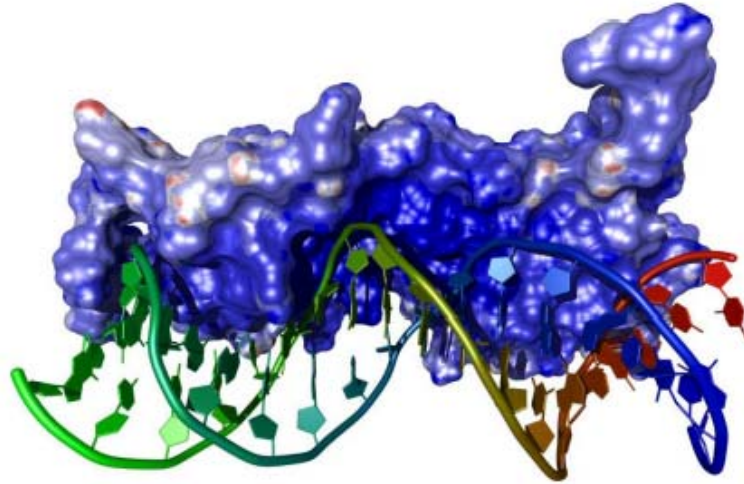
Kovalent olmayan bağlanmalarda bağlanmanın geri dönüşümü mümkündür. Bu tür bağlanmalar DNA'nın konformasyonunu ve torsiyon potansiyelini değiştirir. Bunun sonucunda çift sarmal yapısında kırılmalar meydana gelerek bozulmalar oluşur (Çam, 2018). Kovalent olmayan bağlanmalar üç gruba ayrılır. Bunlar araya girme anlamına gelen interkalasyon, elektrostatik bağlanmalar ve majör-minör oyuklara olan bağlanmalardır. Oyuğa bağlanan ve interkalatör olarak bağlanan ajanlar klinik kullanımlarında potansiyel olarak daha uygun bağlanma türleridir. Elektrostatik bağlanma türleri, DNA üzerinde şeker-fosfat polianyonik iskelet yapısı ile elektriksel bir çekim oluşturarak bağlanır. Böylece DNA yapısı deformeye uğramadan etki sağlar (Tekin, 2014).



Şekil 2. 30 DNA ile non-kovalent etkileşimler (Karakodak, 2020).

2.3.2.1 Elektrostatik Etkileşimlerle DNA Bağlanma

Elektrostatik bağlanma, interkalasyon ve oyuklara bağlanma gibi etkileşim türleri içerisinde etkileşimi çok daha zayıf olan bir türdür. Bu bağlanma türü pozitif yüklü metal iyonları ile DNA sarmalı üzerindeki negatif yüklü fosfat grupları arasında oluşan çekim kuvvetinin esasına dayanır. DNA sarmalı üzerinde ki negatif yüklü fosfat grupları nötrleşerek ortadan kaldırılır. DNA daha kararlı bir yapıya sahip olur. Elektrostatik etkileşim diğer etkileşimler gibi DNA yapısında büyük deformasyonlar oluşturmaz. Ancak ilaçların biyolojik aktivitelerinde aldıkları rol önemlidir (Saka, 2019). Dış bağlanma şekli olan elektrostatik bağlanmada floresans özelliğine sahip bir bileşik, DNA çift zincirine bağlandığında çoğunlukla karşı yüklü olan iyonları uzaklaştırarak DNA yapısında ayrılmalara neden olur (Bulut, 2015).



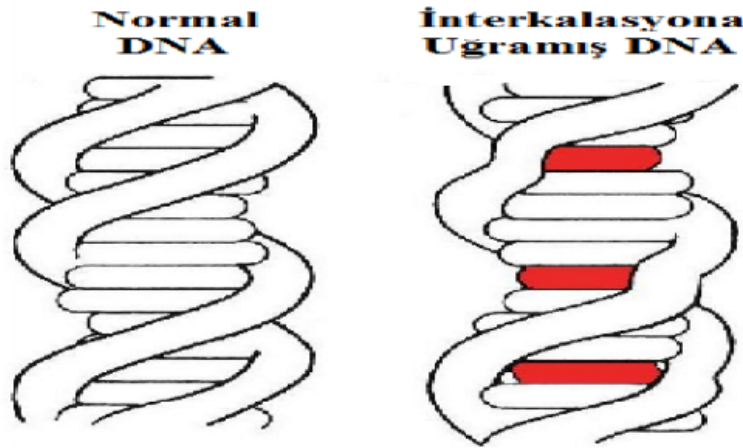
Şekil 2. 31 DNA çift sarmalına elektrostatik bağlanma şekli (Tekin, 2014)

Elektrostatik etkileşimlerde bağlanma büyüklüğü hidrofobik ve hidrofilik özelliğe, DNA ile etkileşen bileşenin elektron yoğunluğuna ve bu bileşenlerin boyutuna bağlı olduğu öngörülmektedir. Fakat bu etmenlerin bağıl önemi ve yapısal detayları etkileşim kuvveti ile eşleştirecek net bilgiler bulunmamaktadır. Metal komplekslerin DNA ile etkileşime girdiği elektronik absorpsiyon spektroskopisi ile tespit edilebilir. Örneğin metal kompleksleri ct-DNA ile etkileşime girdiğinde hiperkromik ve hipokromik etkiler ile absorbans değerlerinde değişimlere neden olur ve bu değişimler DNA ile yapılan bağlanma hakkında bilgi

verir. Eğer absorbans değerlerinde azalış yani hipokromik etki var ise metal kompleksi ve DNA arasında interkalasyon bir bağlanma olduğu düşünülebilir. Eğer tam tersi bir durum söz konusu ise metal kompleksi ve DNA arasında hidrojen bağları ile bağlanma, elektrostatik bağlanma ve oyuklara bağlanma gibi bağlanma türleri olduğu düşünülebilir (İnci, 2013).

2.3.2.2 İnterkalasyon Etkileşimlerle DNA Bağlanma

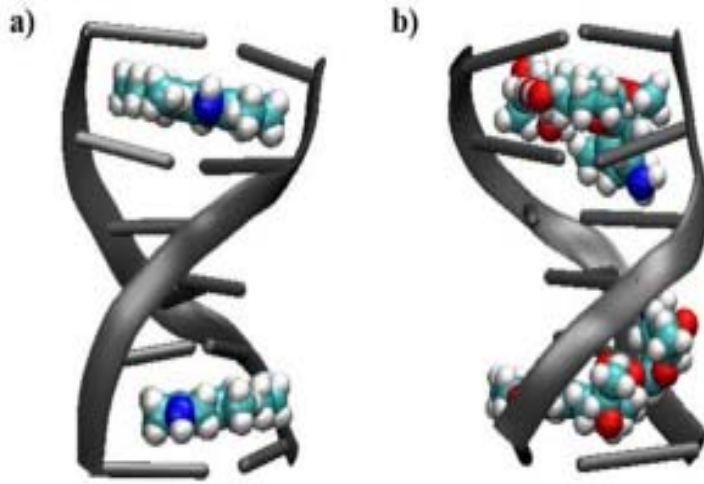
DNA çift sarmal yapısında ki baz gruplarının arasına mutasyona neden olacak bir maddenin girmesi interkalasyon olarak adlandırılır. DNA sarmalı zıt yönde eylem gösterdiğinde sarmalların arasında açıklıklar oluşur yani DNA sarmalı gevşer böylece interkalasyon için uygun bir ortam hazırlanmış olur. İnterkalasyon sonucunda DNA’da deformeler, zehirlenmeler, mutasyonlar gibi olaylar gerçekleşir ve buna neden olan interkalatörler çoğunlukla kanserojendir. Ancak kanser hastalarının kemoterapi tedavilerinde DNA transkripsiyonunu engelleme özelliğinden dolayı bu interkalatörler tercih edilir (Yılmaz, 2021).



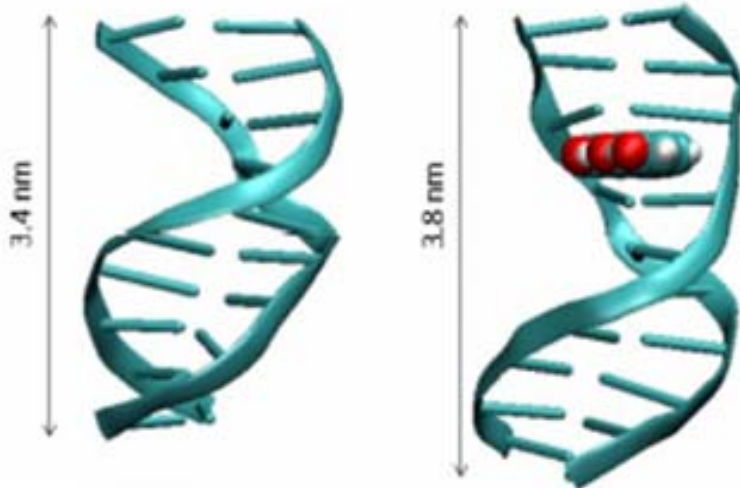
Şekil 2. 32 DNA çift sarmalına interkalasyon bağlanma şekli (Erdem, 2020).

İnterkalasyon etkileşimi sağlayan ajanlar düzlemsel, heteroaromatik veya aromatik yapıya sahiptirler. İnterkalasyon etkileşiminde etkin kuvvetler, transfer yük kuvvetleri, hidrojen bağları ve elektrostatik kuvvetler rol oynar. İnterkalasyon bağlanma ilk olarak 1961 yılında Lerman’ın heliks eksenine üzerine ilacın rijit bir konumda dik olarak kovalent bağ göstermeden bağlandığını gösteren çalışması ile açıklığa kavuşmuştur. İnterkalasyon etkileşimi sonrası interkalatör madde ile baz grupları arasında oluşan Van der Waals çekim kuvvetleri normal baz grupları

poliaromatik yapılardır (İçsel, 2013; Gürcan, 2014). Klasik olmayan interkalatörler düğümlenme olarak bilinen interkalatörlerdir. Klasik interkalasyonda interkalatörler komşu baz çiftleri arasına yerleşirken düğümlenme interkalasyonun da molekülün aromatik düzlemsel halkalı yapısı DNA'nın baz çiftleri arasına yerleşirken farklı bir düzlemdeki aromatik olan veya olmayan uçları ise DNA'nın etrafındaki oyuklara yerleşirler. İnterkalasyon sırasında komşu baz çiftleri arasında genişliğin artmasından dolayı DNA boyunda uzama gerçekleşir (Akın, 2020).



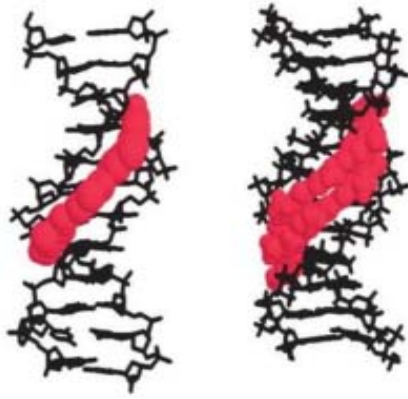
Şekil 2. 34 a) Klasik interkalasyon bağlanma şekli ve b) Düğümlenme interkalasyon bağlanma şekli (Akın, 2020).



Şekil 2. 35 10 baz çiftine sahip DNA ve interkalasyon sonrası DNA boyu (Akın, 2020).

2.3.2.3 Oluğa Bağlanma Etkileşimleri

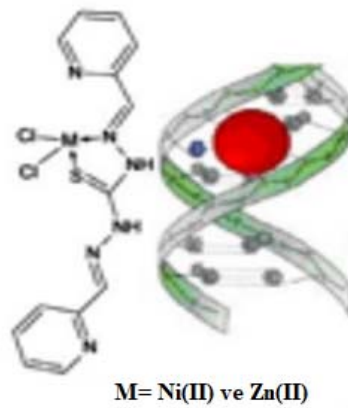
Küçük moleküllerin DNA veya RNA ile etkileşime girmesi için belirtilen alanlarda seçicilik düzeyi yüksek olacak molekül sentezi oldukça ilgi görmektedir. Kanser hastalarının aldığı kemoterapide iyileştirmelerin sağlanması için, moleküler biyoloji gibi alanlar da küçük ve büyük oyukların DNA ile etkileşimini inceleyen çalışmalar şüphesiz yıllarca devam edecektir (Topkaya, 2017). DNA'da bulunan büyük ve küçük olukları oluşturan nükleik asit üzerinde ki baz çiftlerinin oluğa doğru yönelmiş olan fonksiyonel grupları ile diğer moleküllerin bu gruplar ile olan etkileşimlerine oluğa bağlanma denilmektedir. Bir molekülün oluğa bağlanabilmesi için uygun büyüklükte olması gerekir. Molekül ile oluk arasında ki etkileşim oldukça güçlüdür. Oluğa bağlanma ile oluşan etkileşimler DNA yapısında büyük değişikliklere neden olmamakla birlikte DNA'nın sarmal yapısını küçük oranda değiştirmektedir (Akkaya, 2016).



Şekil 2. 36 DNA üzerinde ki büyük ve küçük oluğa bağlanma (Akkaya, 2016).

Oluk ile gerçekleşen etkileşimlerde moleküller, interkalatörler gibi sert olmamalı tam tersi esnek yapılara sahip olmalıdırlar. İkili sarmal, üçlü sarmal veya G-dörtlü sarmal yapılarındaki oluklara bağlanan ilaçlar interkalasyon bağlama ile oluşan DNA iskelet yapısındaki ayrılmalardan çok daha küçük ayrılmalara neden olur. Moleküler olarak oluklar farklı niteliklere sahiptirler. Büyük oluklarda bağlanma çok daha güçlü bir etkileşime sahiptir. Çünkü büyük oluklarda çok daha fazla etkileşim alanı bulunmaktadır. Büyük oluklarda genişlik 11,6 Å, derinlik ise 8,5 Å olarak ölçülmüştür. Bu özelliklerinden dolayı büyük oluklar daha büyük yapıya sahip olan moleküller ile çok daha kolay etkileşim sağlarlar. Küçük olukların boyutları çok daha küçüktür ve 8,2 Å derinliğe sahiptirler. Bu

özelliklerinden dolayı çok daha az sayıda molekül ile etkileşim sağlamaktadırlar. Fakat bu özelliği küçük moleküllerin bağ yapması için tercih edilen uygun alanlar ve esneklik avantajı sağlar. Antikanser ilaçları ve antibiyotikler molekül yapısı olarak küçük moleküllerdir ve DNA ile etkileşimlerinde temel bağlanma noktaları küçük oluklardır (Su, 2015). DNA oluklarında elektrostatik çekim kuvveti çok fazladır. Oluğa bağlanan moleküller A-T baz çiftinin yoğun olduğu bölgeleri tercih etmektedirler. Çünkü adenin ve timin baz çiftine sahip alanların, guanin ve sitozin baz çiftlerinin olduğu alanlara göre daha dar bir yapıda olması, adenin ve timin baz çiftine sahip bölgelerin elektrostatik çekim kuvvetinin daha yüksek olması ve daha az sterik engellerin olmasından dolayı tercih edilmektedir. Ayrıca adenin bazının C2 hidrojen atomları ile aromatik halkalı yapılar arasındaki hidrofobiklik özelliği ve timin bazının C2 karbonil grupları sayesinde ve molekül üzerinde ki hidrojen bağları yardımı sayesinde DNA'nın moleküllerle kolayca etkileşime girmesi sağlanır. Oluklara bağlanan moleküller çoğunlukla rotasyonel özgürlüğü olan heterosiklik veya aromatik hidrokarbon halkalı yapılarına sahiptirler ve bu moleküllerin oluklar ile etkileşimi su molekülünün ayrılmasına sebep olur. DNA ile etkileşime girmesi için üretilen ilaç moleküllerinin öncelikli amacı spesifik DNA dizilerini tanımasıdır. İlaç moleküllerinin tanınması gereken alan 16-18 baz çiftinden oluşan bir alandır. Daha sonra kovalent olmayan bağlanma modelleri ile DNA üzerinde etkileşim sağlarlar. Bu moleküller doğrudan etkileşimi büyük ve küçük oluklara bağlanarak sağlarlar (Yılmaz, 2019; Özeltay, 2020).



Şekil 2. 37 N¹, N⁵ -bis[piridin-2-metilen] tiyokarbohidrazonun Ni (II) ve Zn (II) metal komplekslerinin oluğa bağlanması (Atmaca, 2020).

2.4. Literatür

Özçeşmeci ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; pH 7,4 olan tris tamponu içerisinde kuaternize çinko ftalosiyanın ile ct-DNA arasındaki etkileşimleri absorpsiyon ve floresans spektroskopisi yöntemleri ile incelenmiştir. Sentezlenen tetrakanyonik çinko ftalosiyanın ve ct-DNA bağlanma çalışmaları sonuçları incelendiğinde termal denatürasyon profilleri ile ct-DNA'nın erime noktasındaki değişimler belirlenmiştir. Katyonik ftalosiyanın ve anyonik DNA arasında elektrostatik bağlanma ve π - π istifi gerçekleşmiştir. Fotodinamik tedavide yeni ftalosiyanınlar ile çalışılması için umut verici bir çalışma olduğunu açıklamışlardır (Özçeşmeci vd., 2013).

Bağda ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; 4,8 piridiloksi grubunu içeren iki adet kuaternize indiyum (III) ftalosiyanın molekülü ile G-quadruplex DNA ve ct-DNA etkileşimleri; floresans, erime sıcaklığı, viskozite ölçümleri gibi metodlar ile incelenmiştir. Tel 21 hariç, piridiloksi grubu daha fazla olan **OInFs** için bağlanma sabitlerinin, **TInFs**'den daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeninin ise elektrostatik bağlanmalar olduğu düşünülmüştür. Kuaternize tetra ve okta piridiloksi gruplarına sahip indiyum (III) ftalosiyanın bileşiklerinin her ikisinde de farklı DNA'lar ile etkileşimlere girdiği görülmüştür (Bağda vd., 2017).

Amitha ve Vasudevan tarafından yapılan bir çalışmada; yeni sentezlenen tetrakasyonik betti baz süstitüe bakır (II) ve çinko (II) ftalosiyanınlarının ct-DNA ile etkileşimleri incelenmiştir. Ftalosiyanın bileşiklerinin (**qCuBBFs** ve **qZnBBFs**), ct-DNA ile etkileşimleri UV-Gör. spektroskopik titrasyonları, floresans titrasyonları ve viskozite ölçümleri yapılarak araştırılmıştır. UV-Gör. spektroskopik titrasyonlar sonucunda elde edilen K_b (bağlanma sabiti) değerleri, standart interkalatörler ile karşılaştırılarak interkalatif bir etkileşim türü önerilmiştir. Floresans titrasyonları sonucunda elde edilen K_{sv} değerlerinin EtBr interkalatör yer değiştirmede, HD küçük oluk bağlayıcı yer değiştirme ölçümlerine göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Viskozite ölçümleri ile DNA çözeltisinin bağlı vizkozitesinde metaloftalosiyanın artışı ile artan bir eğim gözlenmiştir (Amitha ve Vasudevan, 2020).

Yuan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; amfifilik çinko ftalosiyenin ve ct-DNA etkileşimlerini fotofiziksel, fotobiyolojik ve fotokimyasal çalışmalar ile incelenmiştir. Sentezlenen β -tetra sülfonik sübtitüe çinko ftalosiyeninlerin interkalasyon yöntemi ile ct-DNA'ya bağlandığı gözlenmiştir. Ayrıca **SNZnFs**'nin uygun dalga boyunda ışınlı ct-DNA'yı tesirli bir şekilde kırabileceğini belirtilmiştir (Yuan vd., 2016).

Wang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; suda çözünebilen 3-(4metoksibenzilamino) propanoik asit sübtitüe çinko ftalosiyenin ile ct-DNA arasında ki etkileşimler incelenmiştir. Çalışmada **CNFsZn**'nin ct-DNA üzerinde kuvvetli bir afinite ve fotobozunma aktivitesi gösterdiğini gözlenmiştir. Böylece **CNFsZn**'nin fotodinamik terapi alanında tesirli bir fotosensitizör olabileceği belirtilmiştir (Wang vd., 2013).

Uslan ve Sesalan tarafından yapılan bir çalışmada; bakır heksametilenimino-etoksi sübtitüe ftalosiyenin (**2**) ve kuaternize türevleri (**2Q**) sentezlenmiştir. Kuaternize bakır (**2Q**), kuaternize kobalt (**3Q**) ve çinko (**4Q**) ftalosiyeninlerinin ct-DNA ile etkileşimi incelenmiştir. İlgili ftalosiyenin ve ct-DNA etkileşimini UV-Gör. spektrofotometre ve jel elektroforez yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmaları sonucunda bileşiklerin ct-DNA ile verimli bir bağlanma aktivitesi olduğunu gözlenmiştir (Uslan ve Sesalan, 2012).

Özel ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; suda çözünür periferik tetra sübtitüe titanyum (IV) ftalosiyeninlerin (**Fs1**, **Fs2**, **Fs3**) ct-DNA ile etkileşimleri UV-Gör. spektroskopisi ve termal denatürasyon yöntemleri ile incelenmiştir. DNA bağlanma sabitleri (K_b) ve termal denatürasyon sonuçları, **Fs1**, **Fs2** ve **Fs3**'ün farklı bağlanma afinitesi ile ct-DNA üzerine bağlanabildiğini gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda; **Fs1**, **Fs2** ve **Fs3** bileşiklerinin fotodinamik tedavi için uygun ajanlar olduğu belirtilmiştir (Özel vd., 2016).

Baş ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; 1-asetilpiperazin sübtitüe silikon (IV) ftalosiyenin, naftalosiyenin **2**, **3** ve suda çözünen türevleri **2a** ve **3a**'nın ct-DNA ile olan etkileşimleri incelemiştir. **2a** ve **3a** bileşikleri bağlanma sabiti değerleri (K_b) $1,25 \pm (0,01) \times 10^4$ ve $1,13 \pm (0,03) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuştur.

Çalışmaları sonucunda **3a** bileşiğinin antikanser ilaç olarak potansiyeli olduğu belirtilmiştir (Baş vd., 2019).

Barut ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; periferik veya periferik olmayan tetra süstitüe suda çözünür çinko (II) ftalosiyaninler (**5a** ve **5b**) ile ct-DNA arasında bağlanma özellikleri incelenmiştir. Söz konusu incelemede UV-Gör. spektroskopisi kullanılmıştır. Fotokimyasal çalışmalar sonucunda **5a** ve **5b** singlet oksijen kuantum verimleri sırası ile 0,76 ve 0,78 olarak ve fotostabilite oranları ise % 82,12 ve % 85,28 olarak bulmuşlardır. Ayrıca bağlanma sabiti (K_b) değerleri $2,92 \pm (0,20) \times 10^5$ ve $1,30 \pm (0,16) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur (Barut vd., 2020).

Barut ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; ilk kez periferik tetra 3-morfolinofenol süstitüe çinko (II) ftalosiyanin (**4**) ve suda çözünen kuaternize çinko (II) ftalosiyanin (**ZnQ**) sentezlenmiştir. **ZnQ** ve DNA etkileşimleri UV-Gör. absorpsiyon titrasyonu, rekabetçi EtBr, termal bozunma ve viskozite yöntemleri ile araştırılmıştır, **ZnQ**'in interkalasyon ile ct-DNA'ya bağlandığı gözlenmiştir (Barut vd., 2017).

Evren ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; 4-((7-(triflorometil)kinolin-4-yl)oksi) grublarına sahip tetrakasyonik çinko (**1Q**) ve metal içermeyen (**2Q**) ftalosiyaninleri sentezlenmiş ve ct-DNA ile olan etkileşimleri araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda bağlanma sabitine bakıldığında **1Q**'nun **2Q**'dan daha iyi bağlandığını gözlenmiştir. **1Q** ve **2Q** bileşikleri EtBr göre daha az kansorejen oldukları için biyolojik süreçlerde yeni boya olarak tercih edilebileceği belirtilmiştir (Evren vd., 2013).

Demirbaş ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; absorpsiyon titrasyonları ve termal denatürasyon yöntemleri ile ct-DNA ve suda çözünebilen kuaternize tetra süstitüe periferik çinko (II) (**6a**) ve bakır (II) (**7a**) ftalosiyaninleri arasındaki etkileşim araştırılmıştır. **6a** bileşiği için K_b değeri $6,53 \pm (0,04) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ **7a** bileşiği için ise $1,14 \pm (0,02) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. **6a** ve **7a** bileşikleri ile ct-DNA arasında etkileşimine dair ΔT_m değerleri sırası ile 7.55 °C ve 5.75 °C olarak bulunmuştur. Yapılan deneyler sonucunda her iki ftalosiyanin bileşiğininde kanser tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Demirbaş vd., 2019).

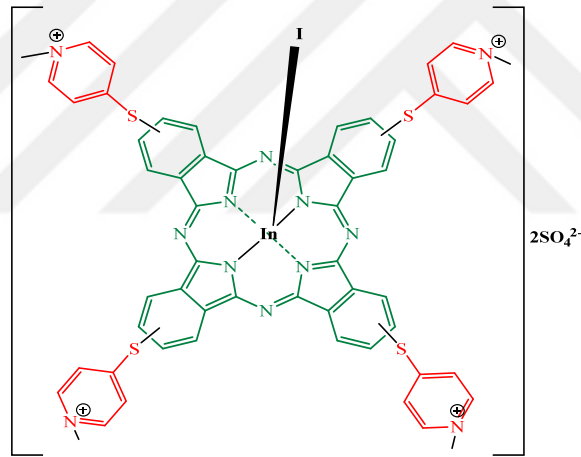
Turanlı-Yıldız ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; kobalt (I) ve paladyum (II) ftalosiyanınların ct-DNA (calf thymus DNA) ile etkileşimleri UV-Gör. spektrofotometresi ve jel elektroforez yöntemleri ile incelenmiştir. Kobalt ftalosiyanınin yüksek ΔT_m ve yüksek bağlanma sabiti değerine sahip olması paladyum ftalosiyaninine göre biyolojik ve biyomedikal alanlar için daha iyi bir tercih olabileceğini belirtilmiştir (Turanlı-Yıldız vd., 2011).

Baran ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; üç adet yeni ftalosiyanın sentezlenmiştir. Bunlardan ikisi metaloftalosiyanın iken bir tanesi metalsiz ftalosiyanindir. Yapılan ölçüm ve deneyler sonucunda **3a** bileşiğinin fotodinamik terapi için daha uygun olduğu belirtilmiştir. ct-DNA ile **3a** bileşiği arasındaki bağlanma sabiti $5,2 \pm (0,52) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu sabitin bir DNA interkalatörü olan EtBr'ün bağlanma sabitiden ($1,23 \pm 0,07 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) daha düşük olduğunu belirtilmiştir (Baran vd., 2019).

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışmada, Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Mahmut Durmuş tarafından sentezlenen InFs (İndiyum Ftalosiyanın) bileşiği kullanılmıştır. Tez kapsamında suda çözünen $C_{56}H_{40}N_{12}O_8S_6In$ kapalı formülüne sahip indium ftalosiyanınin, biyolojik alanlarda kullanılma potansiyeli araştırılmak için ct-DNA ile etkileşimi incelenmiştir. InFs ve ct-DNA etkileşimlerini incelemek üzere;

- Spektroskopik titrasyon çalışmaları,
- EtBr floresans probu ile yer değiştirme çalışmaları,
- Termodinamik çalışmalar,
- Erime sıcaklığı çalışmaları,
- Jel elektroforez çalışmaları gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 1 Tez kapsamında kullanılan ftalosiyanın bileşiğinin açık formülü.

3.1 Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

İndiyum ftalosiyanın çözeltisi, 100 mM KCl içeren pH'ı 7,4 fosfat tamponunda, ct-DNA çözeltisi ise distile suda hazırlandı. Tam çözünmenin gerçekleşmesi için en az 24 saat beklendi. Tüm deneylerde, seyreltme işlemleri için 100 mM KCl içeren pH'ı 7,4 fosfat tamponu kullanıldı.

➤ **Fosfat Tamponu**

<u>Kimyasal</u>	<u>Derişim(mM)</u>
KH ₂ PO ₄	0,2
K ₂ HPO ₄	0,2
KCl	100

Fosfat tamponu hazırlamak için her iki çözeltide de 100 mM KCl içeren; 0,2 mM KH₂PO₄ çözeltisi ve 0,2 mM K₂HPO₄ çözeltisi distile suda hazırlandı. 0,2 mM KH₂PO₄ çözeltisi ile 0,2 mM K₂HPO₄ çözeltisi karıştırılarak pH 7,4'e ayarlandı ve çözelti +4 °C muhafaza edildi. Çözelti hazırlanırken kullanılan pH metre, Sartorius Basic marka cam elektrodlu pH metredir. pH metrenin kalibrasyonu pH 4,0; pH 7,0; pH 10,01 standart tampon çözeltileri ile belirli aralıklar ile yapıldı.

➤ **Ftalosiyanin Çözeltisi**

<u>Kimyasal</u>	<u>Derişim (M)</u>
C ₅₆ H ₄₀ N ₁₂ O ₈ S ₆ InI	1,5×10 ⁻⁴

100 mM KCl içeren fosfat tamponu içerisinde InFs derişimi 1,5×10⁻⁴ M olacak şekilde hazırlandı ve ışık almayacak şekilde oda sıcaklığında saklandı.

➤ **ct-DNA Çözeltisi**

ct-DNA ticari olarak temin edildi ve firma önerisi ile distile su içerisinde 2 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. +4 °C'de ışık almayacak şekilde muhafaza edildi. 260 nm dalga boyunda okunan absorbans değerinden ct-DNA derişimi belirlendi.

➤ **10×TBE (Tris - Borik asit – EDTA) Tamponu**

<u>Kimyasal</u>	<u>Derişim (M)</u>
Tris base	0,89
Borik asit	0,89
EDTA	0,01

Jel elektroforez çalışmaları için 0,89 M Tris base, 0,89 M Borik asit ve 0,01 M EDTA pH 8,2 olacak şekilde hazırlandı ve 121 °C’ de 20 dk otoklavlandı. +4 °C’de muhafaza edildi.

➤ **Ethidium Bromide (Etidyum Bromür) Çözeltisi**

Ticari olarak satın alınan 10 mg/ml derişiminde EtBr kullanıldı. Işık almayacak bir biçimde +4 °C’de muhafaza edildi.

3.2 DNA ile Ftalosiyanin Bileşiğinin Bağlanma Özelliklerinin İncelenmesi

Ftalosiyaninlerin DNA ile etkileşimini araştırmak için kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler içerisinde UV-Gör. ve floresans spektroskopisi, jel elektroforez gibi yöntemler kullanılarak küçük moleküllerin DNA ile etkileşiminin incelenmesi hedeflenmiştir. Tercih edilen bu yöntemler hem pratiktir hem de oldukça önemli veriler sağlamaktadır. Ayrıca bu yöntemler de etkileşim söz konusu olduğunda spektral değişikliklerin takibi ile etkileşim mekanizması ve bağlanma sabiti gibi verilerin elde edilmesi sağlanır.

3.2.1 UV-Görünür Bölge Absorpsiyon Spektroskopik Çalışmalar

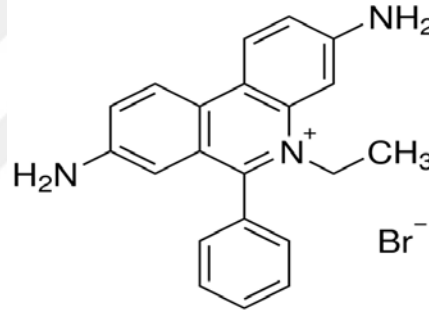
InFs ve ct-DNA etkileşimi, öncelikli olarak UV-Gör. absorpsiyon spektrofotometrik olarak incelendi. Bu çalışmalarda Shimadzu UV 1800 model UV-Gör. absorpsiyon spektrofotometresi cihazı kullanıldı. Deneylerde 3,5 ml hacim ve 10 mm’lik ışık yoluna sahip kuvarz küvetleri kullanıldı. Tüm spektral ölçümler uygun şartlarda hazırlanan reaktif körlerine karşı okundu.

Spektrofotometrik titrasyon çalışmaları için öncelikli olarak InFs çözeltisinin absorpsiyon spektrumu tarandı. Daha sonra piklerde ki değişim sabitleninceye kadar ct-DNA çözeltisi eklendi. Her bir spektrum taraması yaklaşık 3 dakika inkübasyon sonrası yapılarak sistemin dengeye gelmesi sağlandı. Titrasyonlar 3 tekrar olacak şekilde yapıldı. Spektrum taramaları 300-800 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirildi. Ayrıca ftalosiyanınin tampon çözelti ile seyreltilmesinin spektrumunda meydana getirdiği değişim, ftalosiyanın çözeltisi üzerine tampon ilave edilerek araştırıldı.

3.2.2 Ethidium Bromür (EtBr) Yer Değiştirme (Floresan) Çalışmaları

Ethidium bromür ile yer değiştirme (floresans) deneylerinde Agilent Carry Eclipse Spektroflorometre (USA) cihazı ve 3,5 ml hacim ve 10 mm'lik ışık yoluna sahip kuvarz floresans küvetleri kullanıldı. Floresans prob olarak çift sarmal DNA'ya interkalasyonla bağlandığı bilinen EtBr tercih edildi. EtBr çözeltisinin floresans şiddeti ortama ilave edilen ct-DNA ile artar.

Ethidium bromür ile yer değiştirme deneylerinde 50 µl ct-DNA ve 2940 µl tampon çözelti üzerine, 10 µl EtBr eklenerek floresans emisyon spektrumları tarandı. Daha sonra spektrumlardaki değişimi sıfırlanmaya veya durana kadar üzerine ftalosiyanın çözeltisi eklenerek titrasyona devam edildi. Her ilave de pipet yardımı ile homojen bir karışım elde etmek için dikkatlice pipetaj yapıldı. 2 dakika inkübasyon ile sistemin dengeye gelmesi sağlandı.



Şekil 3. 2 Ethidium bromür (EtBr).

Ethidium bromür ile yapılan yer değiştirme deneyinde uyarma (excitation) dalga boyu 526 nm ve uyarma slit aralığı 5 nm olarak ayarlandı. Emisyon spektrumu 526-800 nm dalga boyu aralığında kayıt edildi. Deneyler 3 tekrar olacak şekilde yapıldı. Floresans emisyon şiddeti verileri kullanılarak Stern-Volmer grafiği çizildi. Stern-Volmer, grafiğinin doğrusal olduğu derişim aralığı için K_{sv} sabitleri hesaplandı.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Fs]$$

Şekil 3. 3 Stern-Volmer Denklemi.

3.2.3 Termodinamik parametrelerin araştırılması

InFs ve ct-DNA etkileşimlerine dair termodinamik parametreler 25 °C-50 °C sıcaklık aralığında araştırıldı. Deneyler Mikrotest model soğutmalı sirkülatör cihazına bağlı Shimadzu UV 1800 model UV-Gör. absorpsiyon spektrofotometresi cihazı ile 3,5 ml hacim ve 10 mm'lik ışık yoluna sahip kuvarz küvetlerle gerçekleştirildi.

Çalışma da her sıcaklık için ftalosiyanin çözeltisinin spektrumları tarandı ct-DNA çözeltisi eklenerek titrasyona devam edildi. Tüm sıcaklıklar için deneyler 3 tekrar olacak şekilde yapıldı. Spektrum taramaları 300-800 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirildi.

3.2.4 DNA-Ftalosiyanin Etkileşimlerinin Erime Sıcaklığının Belirlenmesi Çalışması

Farklı bağlanma mekanizmalarını ayırmak için erime deneyleride kullanılmaktadır. Küçük moleküllerin, DNA çift zincirine interkalasyonu DNA konformasyonunda farklılaşmaya neden olur. Bu durum erime sıcaklığında 8-12 °C'lık bir yükselişe neden olur. Küçük moleküllerin oluğa bağlanması sırasında ise belirgin bir sıcaklık değişimi gözlenmez (Barut, 2016).

Sadece ct-DNA çözeltisi ve ct-DNA + ftalosiyanin çözeltisinin 260 nm'deki absorbans değerleri 95 °C ile 30 °C sıcaklıkları arasında, dakikada 2 °C düşülerek okundu. Çalışmalarda reaktif körü olarak ct-DNA + ftalosiyanin çözeltisi için aynı derişimde ftalosiyanin çözeltisi kullanıldı. Deneyler 3 tekrar olacak şekilde çalışıldı.

3.2.5 Jel Elektroforez çalışmaları

0,8 g Agaroza tartıldı ve üzerine 10×TBE (Tris-borik asit-EDTA) ilave edildi. Çözelti saf su ile 100 ml'ye seyreltilip tamamen çözüldü. Üzerine DNA'nın görüntülenebilmesi için EtBr ilave edilip jelleşmesi sağlandı. ct-DNA ve artan miktarda InFs çözeltilerden bir seri hazırlandı ve jel kuyucuklarına yüklendi. Yürütmeler 1×TBE tamponu içerisinde gerçekleştirildi. Jel görüntüsü UV ışık altında incelendi.

4. BULGULAR

Küçük moleküllerin DNA ile etkileşiminin araştırılması, antikanser ilaç gelişme çalışmaları için oldukça önemlidir. Hücre proliferasyonunun benzersiz işlevi DNA'yı kemoterapi ajanları için önemli bir hedef haline getirmektedir. DNA ile etkileşebilen moleküller DNA'nın işlevinde dolayısı ile hücrenin proliferasyonunda farklılaşmalara neden olmaktadır. Bu durum hücrenin farklı yollarla ölümünü sağlayabilir. Bu nedenle DNA ile etkin bir şekilde etkileşen bileşikler antikanser ilaç olabilme potansiyeline sahiptir.

Biyomoleküllerin çeşitli ligandlarla etkileşimine dair UV-Gör. absorpsiyon spektrofotometrik olarak çeşitli çalışmalar yapılabilir. Ortama ilave edilen ligand/biyomolekül ile gözlenen spektral değişimler yorumlanabilir, elde edilen verilerle bağlanma sabiti gibi önemli sabitler hesaplanabilir.

Tez kapsamında In merkez atomlu ve 4-(N-metil)-merkaptopiridin süstitüe gruplar içeren ftalosiyanın bileşiğinin ct-DNA ile etkileşimi öncelikli olarak spektrofotometrik olarak incelenmiştir. Fosfat tamponu içerisinde çözünen InFs bileşiğine ait spektrum Şekil 4.1'de görülmektedir. InFs bileşiğinin spektrumu 650 nm civarında Q bandı ve 350 nm civarında Soret bandı ile tipik metalli ftalosiyanın spektrumuna sahiptir.

Ortama ilave edilen ct-DNA ile hem Q bandında hemde Soret bandında hipokromik etki gözlenmiştir. Ayrıca her iki bantta da 2-3 nm civarlarında batokromik kayma gözlenmiştir.

Absorpsiyon titrasyonu deneylerinden ct-DNA ftalosiyanın etkileşiminin bir göstergesi olan bağlanma sabiti hesaplanabilir. Bard ve arkadaşları tarafından türetilen (1) numaralı denklemden bağlanma sabiti hesaplanır. Ligandın (L), DNA'nın toplan nükleotid sayısının (N) baz çiftinden oluşan bağlanma bölgesi D ile etkileşiminden oluşmuş D-L türü aşağıdaki gibi gösterilebilir (Türler için sadece tek tür bağlanma bölgesinin olduğu ve ligandın sekans seçimi göstermediği non-kooperatif etkileşim olduğu kabul edilerek).

$$L + D \xrightleftharpoons{K_b} D - L \quad (1)$$

$$K_b = \frac{C_b}{C_f C_d} \quad (2)$$

Denklemden C_b , C_f ve C_d bağımlı ligand, serbest ligand ve serbest bağlanma noktasını göstermektedir. Toplam ligand derişimi, C_t

$$C_t = C_b + C_f \quad (3)$$

olarak verilir. Monomer birimindeki toplam DNA derişimi

$$\frac{[DNA]}{2s} = C_b + C_d \quad (4)$$

olarak verilir. s , ligand ile etkileşen baz çiftlerinin sayısıdır.

$$K_b C_b^2 - (1 + K_b C_t + \frac{K_b [DNA]}{2s}) C_b + \frac{K_b C_t [DNA]}{2s} = 0 \quad (5)$$

Görünen absorpsiyonuna, serbest ve bağımlı türün absorpsiyonun toplamı olduğu kabul edilirse,

$$A_a = A_f + A_b \quad (6)$$

dir. Absorbans değerleri yerine Lambert yasasından molar absortivite katsayılı şekilde denklemi yazarsak,

$$\epsilon_a C_t = \epsilon_f C_f + \epsilon_b C_b = \epsilon_f (C_t - C_b) + \epsilon_b C_b \quad (7)$$

denklemini elde ederiz. Denklemden C_b 'yi çekersek

$$C_b = C_t \frac{\epsilon_a - \epsilon_f}{\epsilon_b - \epsilon_f} \quad (8)$$

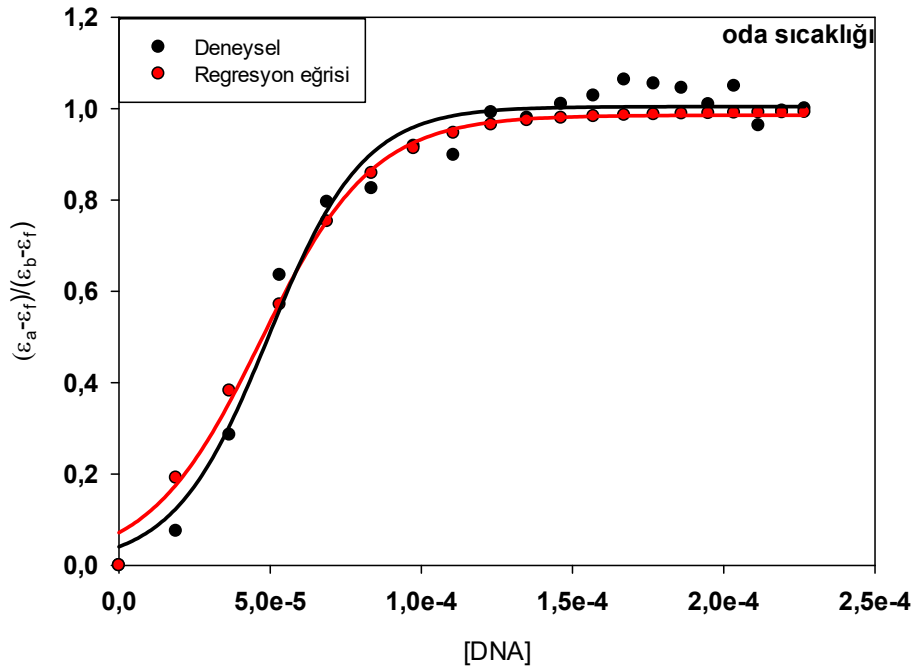
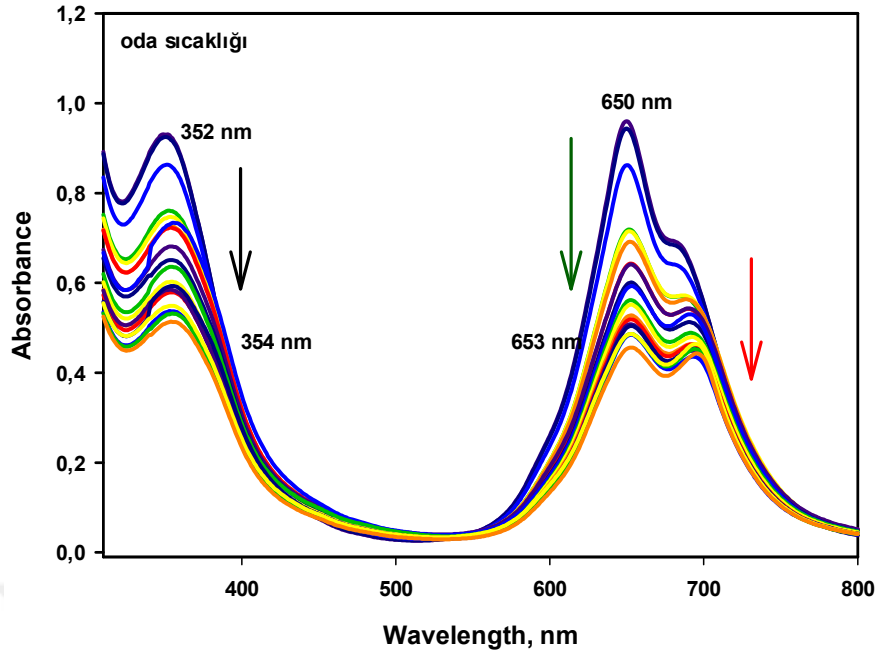
Böylece,

$$\frac{\epsilon_a - \epsilon_f}{\epsilon_b - \epsilon_f} = \frac{b - \sqrt{b^2 - \frac{4K_b^2 C_t [DNA]}{2s}}}{2K_b C_t} \quad (9)$$

denklemini elde edilir. Bu denklemin doğrusal olmayan regresyon yöntemi ile çözümünden bağlanma sabiti elde edilir. 9. denklemdeki b ifadesi 10. denklemde verilmiştir.

$$b = 1 + K_b C_t + \frac{K_b [DNA]}{2s} \quad (10)$$

Tez kapsamında 4-(N-metil)-merkaptopiridin süstitüe İn ftalosiyenin bileşiğinin ct-DNA etkileşimine dair bağlanma sabitleri UV-Gör. spektroskopik çalışmalar ile elde edilen veriler nonlineer denklem çözümünden elde edildi. Oda sıcaklığı ve diğer sıcaklıklarda elde edilen nonlinneer bağlanma grafikleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 - 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4. 1 Oda sıcaklığında gerçekleştirilen UV-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.

Oda sıcaklığında elde edilen K_b değerleri 10^7 M^{-1} mertebelerindedir. Bu değer literatürdeki birçok K_b sabitinden yüksektir. Bağda vd. (2021); 2-merkaptot-N-metilpiridinyum sübstitüe Galyum ftalosiyenin bileşiği ile farklı DNA türlerinin etkileşimini incelemişler ve bileşiğin ct-DNA'ya etkileşimine dair bağlanma sabiti $2,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur (Bağda vd., 2021). Bağda vd. (2017); diğer bir çalışmada tetra ve okta piridiloksi sübstitüe indium (III) ftalosiyenin ile farklı DNA türlerinin etkileşimlerini incelenmiştir. Spektral verilerdeki değişim tetra indiyum ftalosiyeninle ct-DNA etkileşimi için non-spesifik karakterde olabileceği ve mekanizmanın çoklu adım içerebileceği ön görülmüştür. Okta galyum ftalosiyenin bileşiğinin ct-DNA ile etkileşimi için ise oluklara bağlanma ya da elektrostatik olarak etkileşim gerçekleştiği gözlenmiştir (Bağda vd., 2017). Khezami vd. (2020); suda çözünür tetra ve okta 3-(morfolinometil)fenil sübstitüe çinko ftalosiyenin bileşiklerinin ct-DNA'ya bağlanma sabitlerini $6,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $1,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuşlardır (Khezami, 2020). Khezami vd. (2021); diğer bir çalışmalarında tetra ve okta 4-(4-metilpiperazin-1-yl) fenil sübstitüe çinko ftalosiyenin bileşiklerinin ct-DNA'ya bağlanma sabitlerini $6,87 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $1,09 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuşlardır (Khezami, 2021). Dustkami ve Mansouri-Torshizi (2017); ct-DNA'nın yeni tasarlanmış Pd (II) kompleksleri ile etkileşimini incelemişler ve ct-DNA bağlanma çalışmalarında bağlanma sabitlerini düşük derimlerde $3,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $10,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuşlardır. Daha yüksek derimlerde ise $1,03 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $1,59 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuşlardır (Dustkami & Mansouri-Torshizi, 2017). Baş vd. (2019); suda çözünür silikon (IV) ftalosiyenin ve 1-asetilpiperazin birimleri taşıyan naftalosiyeninlerin ct-DNA ile bağlanma sabiti değerlerini $1,25 \pm (0,01) \times 10^4$ ve $1,13 \pm (0,03) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuşlardır. (Baş vd., 2019). Barut vd. (2020); periferik veya periferik olmayan tetra sübstitüe suda çözünür çinko (II) ftalosiyeninler (**5a** ve **5b**) ile ct-DNA'ya bağlanma sabiti değerlerini $2,92 \pm (0,20) \times 10^5$ ve $1,30 \pm (0,16) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuşlardır (Barut vd., 2020). Karmakar vd. (2018); 4'-N, Ndimetilamino-3-hidroksiflavon (DMAHF)'nın ct-DNA'ya bağlanma sabitini $0,64 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuşlardır (Karmakar vd., 2018). Demirbaş vd. (2019); suda çözünebilir kuarternize tetra sübstitüe periferik çinko ve bakır ftalosiyeninlerinin ct-DNA ile bağlanma sabitlerini sırası ile $6,53 \pm (0,04) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $1,14 \pm (0,02) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak

bulmuşlardır (Demirbaş vd., 2019). Baran vd. (2020); çinko ftalosiyanın ile ct-DNA ile bağlanma sabitini $5,2 \pm (0,52) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ bulmuşlardır (Baran vd., 2020)

4.1 Ftalosiyanın ct-DNA etkileşimine dair termodinamik değerlendirmeler

Farklı sıcaklıklarda yapılan UV-Gör. titrasyonları ile elde edilen verilerden K_b bağlanma sabitleri hesaplandı. Hesaplanan K_b sabitleri düşük sıcaklıklarda yüksek sıcaklıklardan daha büyük çıkmıştır. 20 °C’de $3,68 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ mertebelerinde olan K_b değeri 50 °C’da $3,84 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur (Tablo 4.1). Dolayısı ile çalışılan sıcaklık aralığında K_b ’de yaklaşık 10 katlık bir azalma söz konusudur.

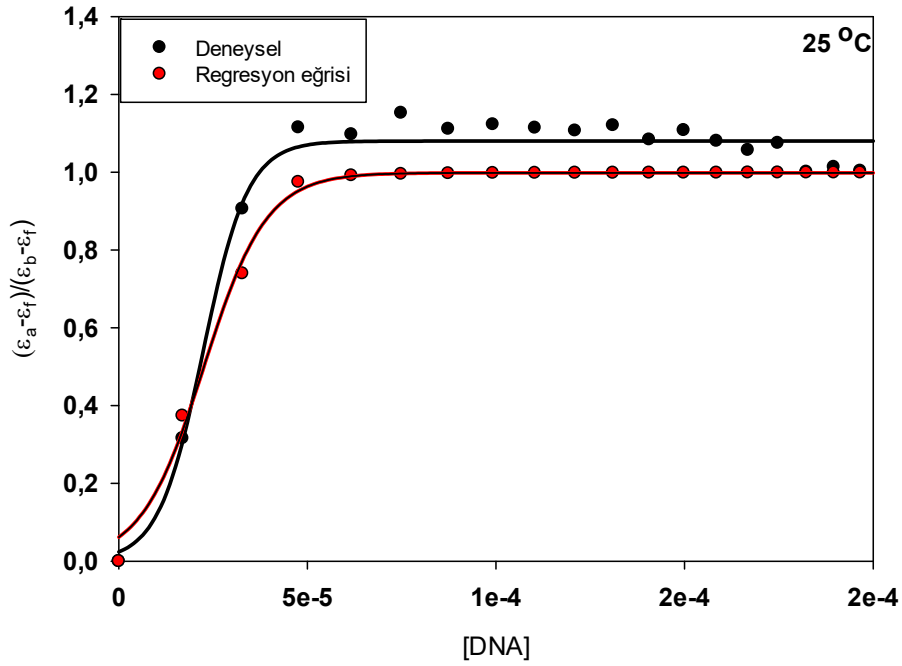
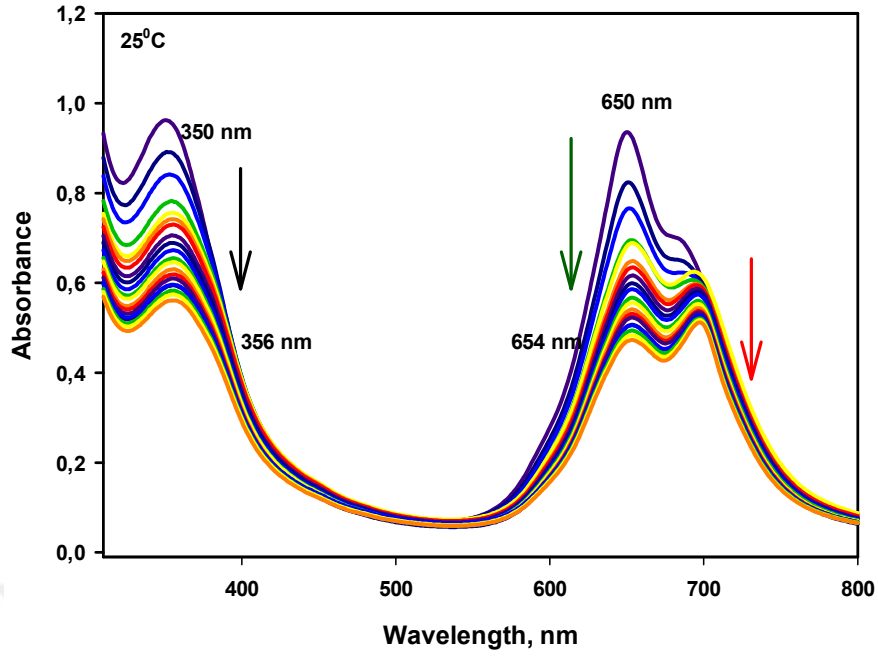
Farklı sıcaklıklarda elde edilen bağlanma sabiti değerlerinden Gibbs serbest enerjisi, entalpi, entropi değişimi değerleri aşağıdaki eşitliklerle hesaplanmıştır.

$$\ln K_b = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (11)$$

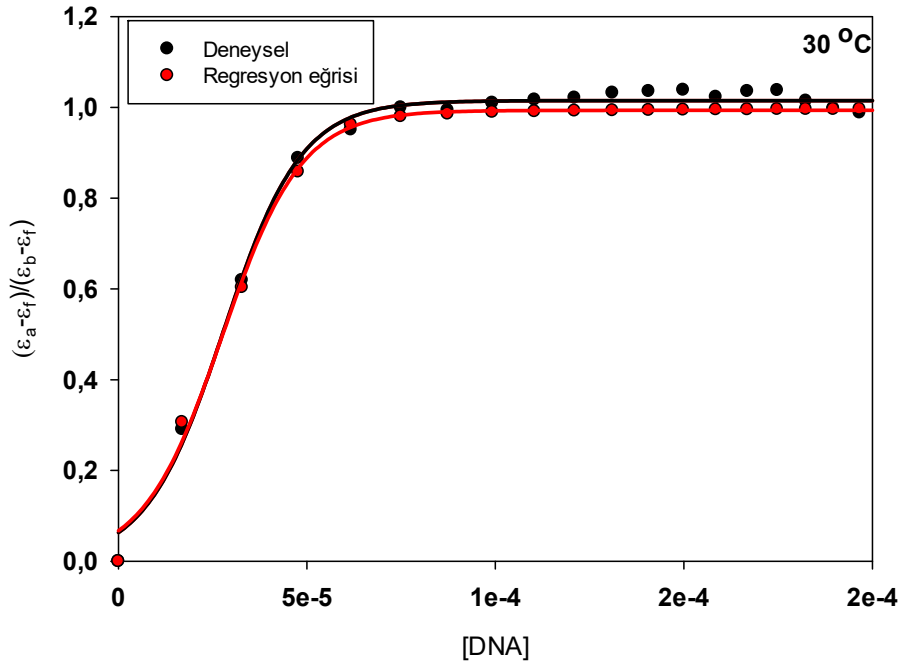
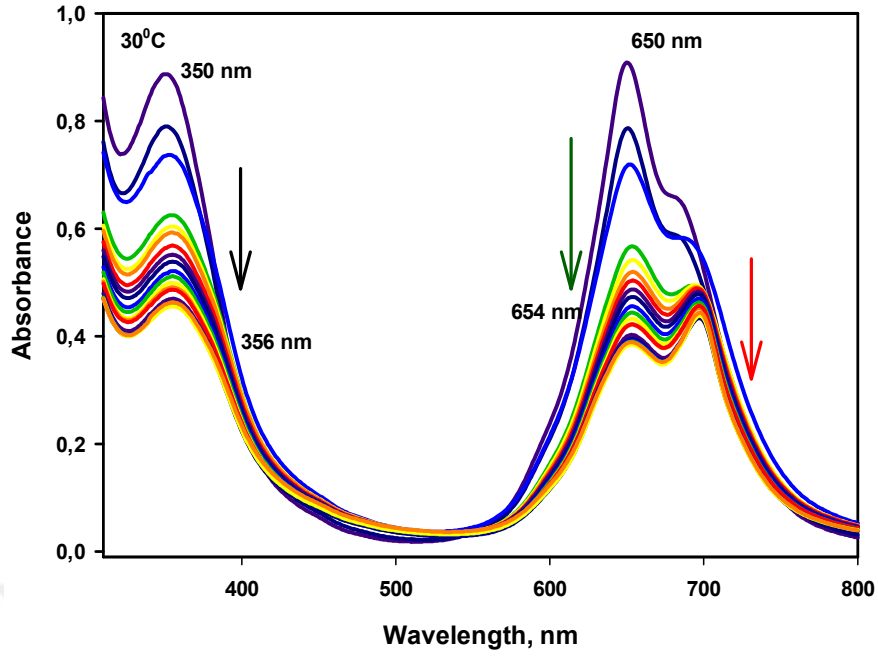
$$\Delta G = -RT \ln K_b \quad (12)$$

$1/T$, $\ln K_b$ grafiğinin eğimi $-\Delta H/R$, kesim noktası $\Delta S/R$ ’ye eşittir. ΔG değeri ise 12 numaralı eşitlikte R , T , $\ln K_b$ değerleri yerine yazılarak hesaplanmıştır.

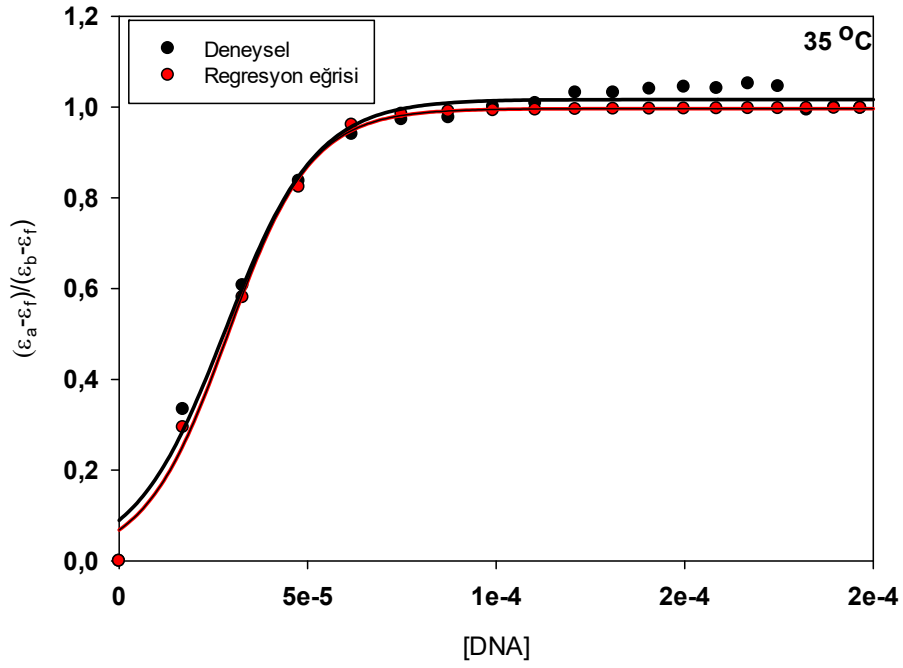
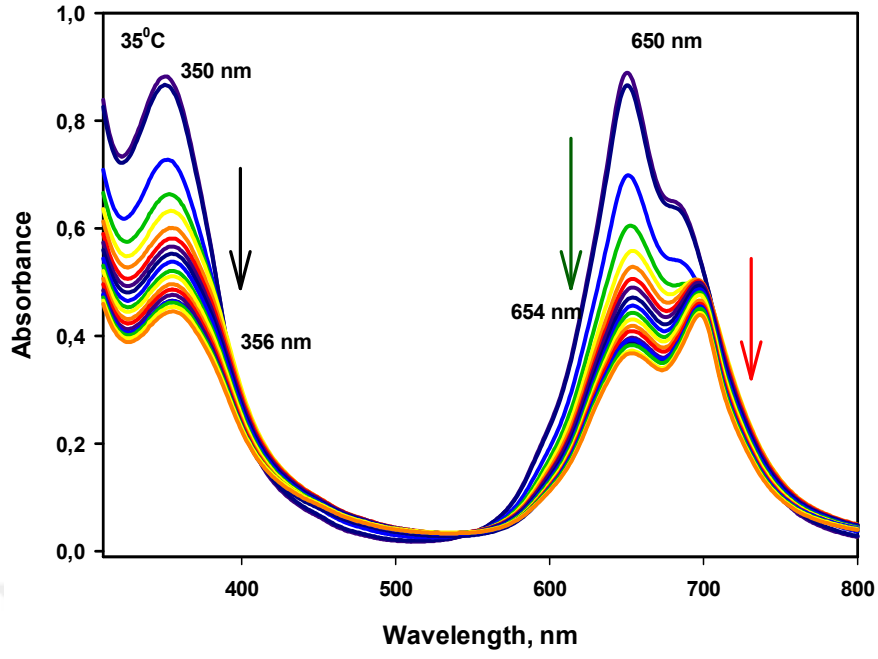
Bağlanmaya dair entalpi değişimi -65 kJ/mol , entropi değişimi ise $-78,3 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ olarak bulunmuştur (Tablo 4.1). Tablodan görüldüğü gibi Gibbs serbest enerji değişimi, entalpi ve entropi değişimi negatiftir. Bu durum tepkimenin entalpi kaynaklı yürüyen bir tepkime olduğunu işaret etmektedir. Benzer çalışmalar için termodinamik veriler Tablo 4.2’de verilmiştir.



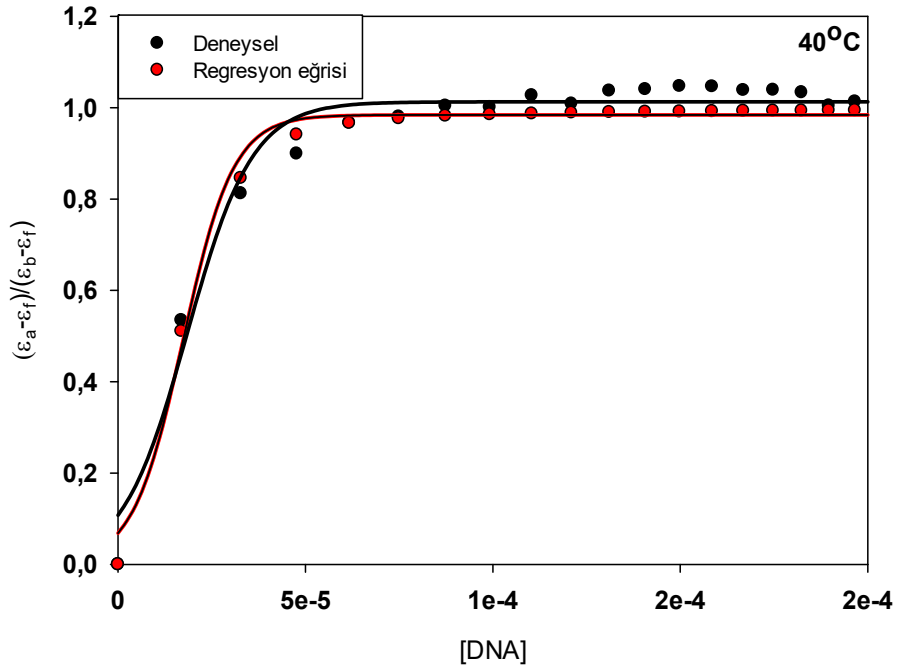
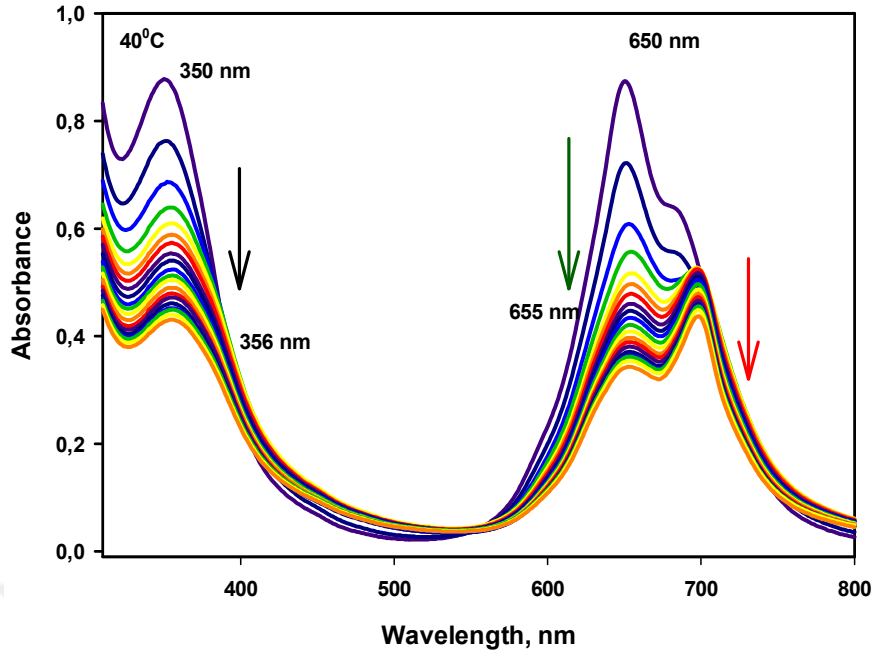
Şekil 4. 2 25 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.



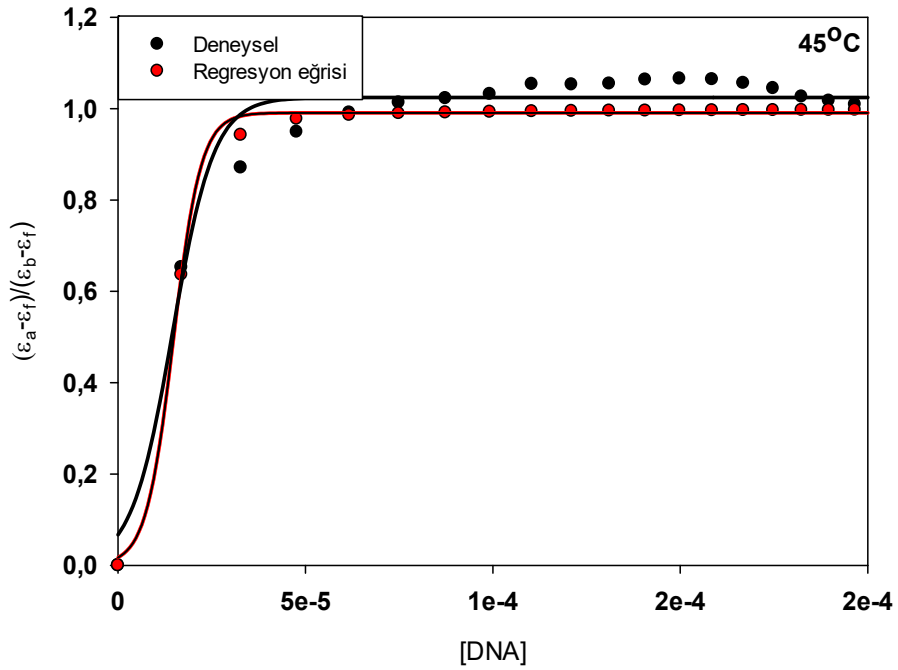
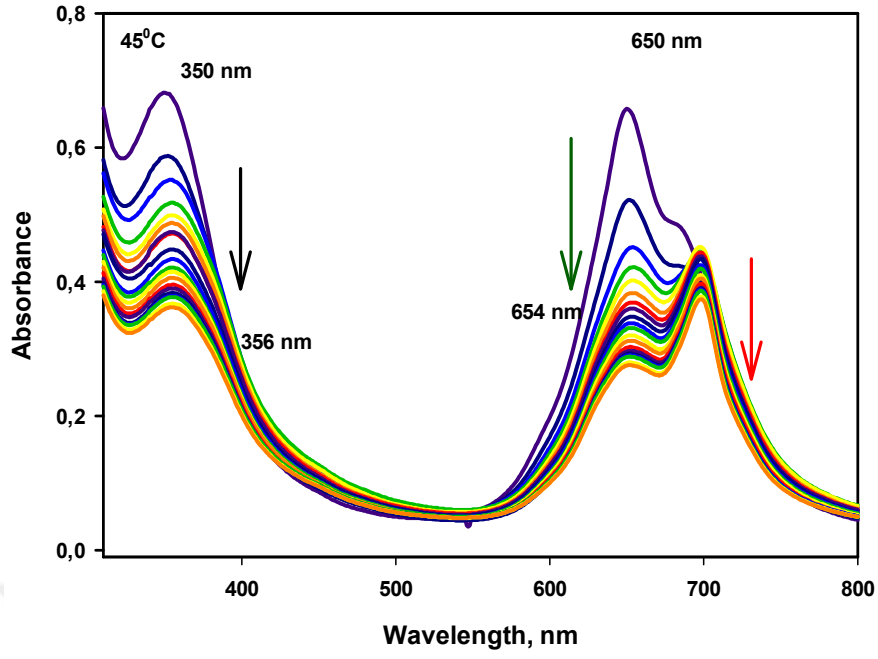
Şekil 4. 3 30 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.



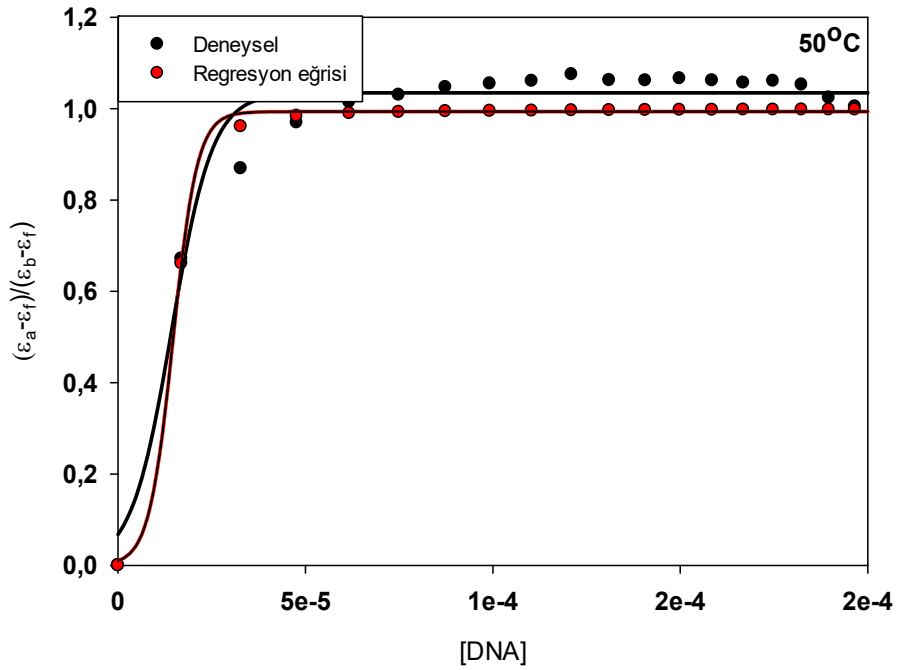
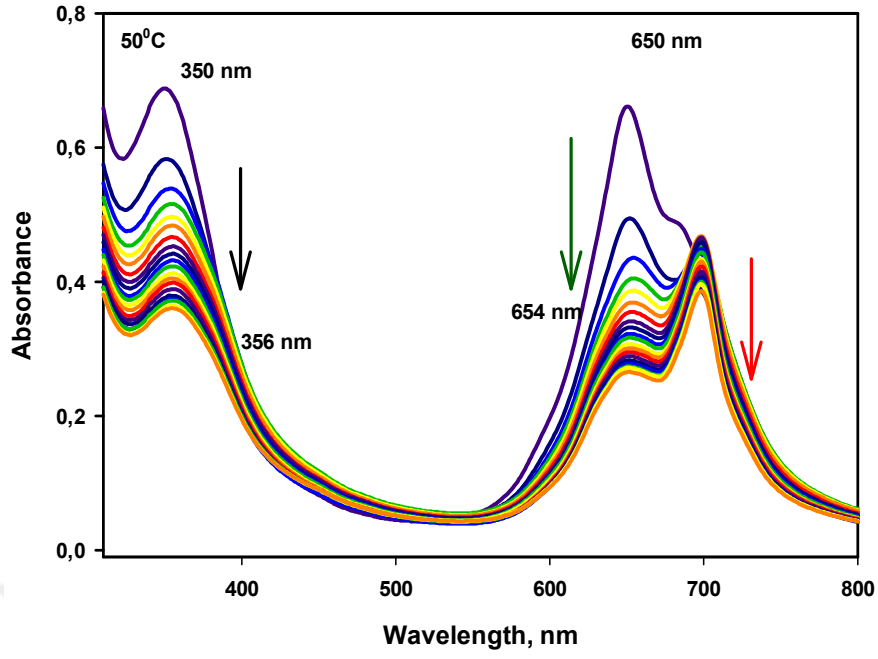
Şekil 4. 4 35 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.



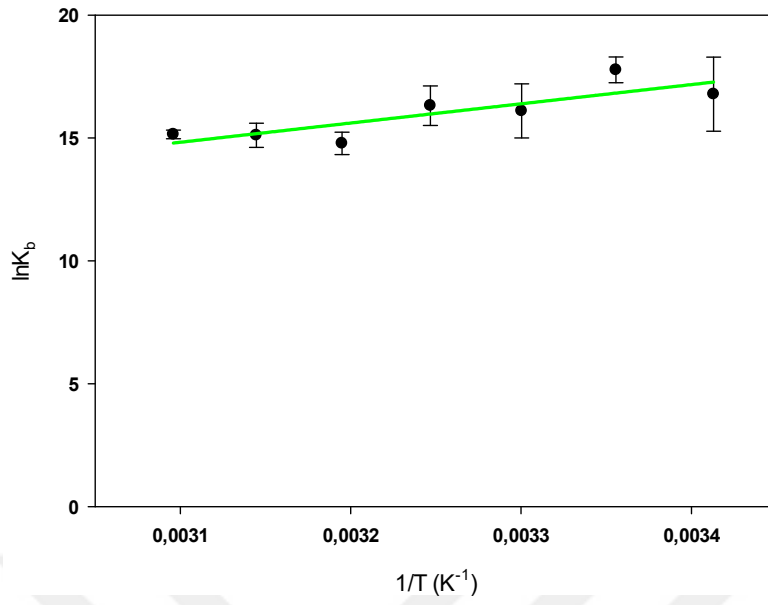
Şekil 4. 5 40 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.



Şekil 4. 6 45 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.



Şekil 4. 7 50 °C gerçekleştirilen Uv-Gör. bölgesi titrasyon verileri, doğrusal olmayan regresyonu.



Şekil 4. 8 $1/T$ 'ye karşı $\ln K_b$ grafiği.

Tablo 4. 1 Ftalosiyanin ct-DNA etkileşimlerine dair termodinamik veriler.

T (K)	K _b M ⁻¹	ΔH (kJmol ⁻¹)	ΔS (Jmol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔG (kJmol ⁻¹)
293	3,68×10 ⁷			-40,9
298	5,78×10 ⁷			-44,0
303	1,42×10 ⁷			-40,6
308	1,47×10 ⁷	-65,0	-78,3	-41,8
313	2,83×10 ⁶			-38,5
318	3,94×10 ⁶			-40,0
323	3,84×10 ⁶			-40,7

Tablo 4. 2 Literatürde benzer çalışmalar için elde edilen termodinamik parametreler

Bileşik	Sıcaklık,K	K _b , M ⁻¹	ΔH, kJmol ⁻¹	ΔG, kJmol ⁻¹	Kaynak
3	298	2036	55,7	-18,9	Bagda vd.,2017
CoTsFs	298	4,6×10 ⁴	53,7	-26,6	Monajjemi vd.,2007
FeTsFs	298	5,3×10 ⁴	50,7	-27,0	Monajjemi vd.,2007
TSPP	298	37,4×10 ⁴	76,7	-31,8	Monajjemi vd., 2007
H ₂ Fs (3Q)	293	5,3×10 ⁴	- 34,1	- 27,8	Koçan vd.,2017
ZnFs (4Q)	293	33,1×10 ⁴	- 15,8	- 31,4	Koçan vd.,2017
InFs (5Q)	293	18,9×10 ⁴	7,8	- 29,6	Koçan vd.,2017
Q-ZnFs	293	(LnK _b): 6,21	26,0	-15,5	Alishah vd.,2018
Q-CoFs	293	(LnK _b): 12,01	35,0	-28,3	Alishah vd.,2018
5	293	2100,9	11,3	-18,6	Uslan vd.,2019
6	293	68,0	53,9	-10,5	Uslan vd.,2019
7	293	24,0	22,3	-16,2	Uslan vd.,2019

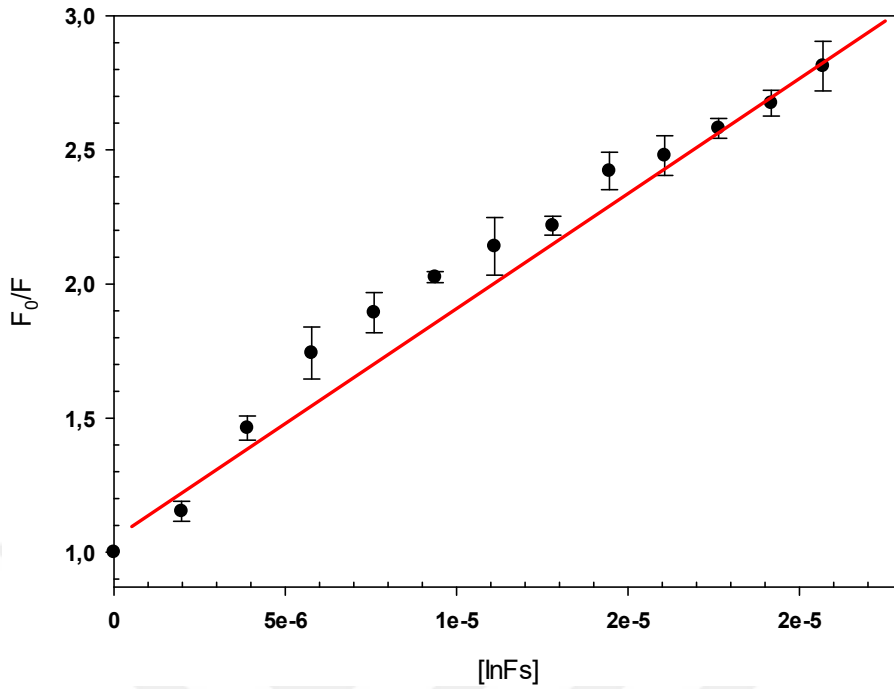
4.2 Floresans Yer Değiştirme

Floresans yer değiştirme çalışmaları DNA-küçük moleküllerin etkileşiminin incelenmesinde çok sık kullanılan bir yöntemdir. DNA ile etkileştiği bilinen bir

prob ile etkileştirilir. Ardından etkileşim türü bilinmeyen bileşik ortama ilave edilerek prob ile yarışmacı olarak tepkimeye girip girmediği araştırılır.

Mevcut tez kapsamında ethidium bromür probu kullanıldı. Etidium bromür çift sarmal DNA ile etkileşerek çok kuvvetli floresans emisyonu yapmaktadır. Bu bileşiğin InFs molekülü ile yer değiştirmesi bileşiğin EtBr-DNA kompleksinin floresans emisyonunu sönmelenmesine neden olur. Sönmelme sadece EtBr'le yerdeğıştirdiğini göstermiyor olabilir. Ortama eklenen InFs aynı zamanda floresans inaktif bir molekül oluşumuna neden olabilir ve bu nedenle de sönmelme gerçekleşebilir. Öte yandan ortamda artan molekül sayısı ile de uyarılan moleküller çarpışarak enerjilerini ışımasız yoldan verebilirler.

Tüm bu noktalarda göz önünde bulundurularak floresans yer değıştirme verileri Stern-Volmer eşitliğı ile muamele edilerek sönmelme sabiti $8.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplandı. Bimoleküler sönmelme sabiti ise $8.5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ olarak bulundu. Bu değır Einstein-Smoluchowski dinamik sönmelme sabitinden (10^{10} M^{-1}) yüksektir. O halde EtBr ve ct-DNA kompleksinin InFs ile sönmelmesi difüzyon kontrollü dinamik sönmelmeden çok statik sönmelme olarak değırlendirilebilir.



Şekil 4. 9 EtBr- ct-DNA kompleksinin InFs ile sönmelenmesine ait Stern-Volmer eğrisi

4.3 ct-DNA Erime Çalışmaları

Çift sarmal heliks DNA yapısı bazlar arasındaki hidrojen bağlarından dolayı ve istiflenmeden dolayı belirgin olarak kararlıdır. Sıcaklığın artırılması çift sarmaldaki bağlar zayıflar. Bu durum çift sarmallı yapının açılarak tek iplikli yapıların oluşmasını sağlar. Çift sarmal DNA'nın yarısının tek zincirli hale dönüştüğü sıcaklık erime sıcaklığı olarak isimlendirilir. Erime sıcaklığı makromolekülün kararlılığına bağlıdır ve ligandlarla ekileşim ile bu sıcaklık değişebilir (Alam vd., 2018).

95 °C' de denatüre olmuş ct-DNA tek sarmallı yapısının 260 nm'de DNA bazlarının molar absorblama katsayısı ct-DNA çift sarmallı formuna göre daha yüksektir. Bu nedenle DNA çözeltisinin sıcaklığı artırıldığında 260 nm'de absorpsiyonu artar. Sıcaklığa karşı absorbans değerleri grafiğe geçirilerek erime sıcaklığı belirlenebilir.

DNA ile etkileşen moleküller erime sıcaklığını etkilerler. Oluklara bağlanma ve elektrostatik olarak etkileşimler erime sıcaklığında küçük farklara neden olur. Öte yandan interkalasyon gibi kuvvetli bir etkileşim ise erime sıcaklığında daha yüksek değişimlere neden olur (Bhattacharya ve Mandal, 1997; Rehman vd., 2015).

Erime deneylerine göre sadece ct-DNA varlığında erime sıcaklığı 62 °C iken InFs varlığında 69 °C olarak bulunmuştur. Erime sıcaklığındaki fark ise 7 °C olarak bulunmuştur. Bu fark InFs'nin ct-DNA ile etkin bir şekilde etkileştiğini göstermektedir.

4.4 Jel Elektroforez Çalışmaları

Jel elektroforez yöntemi DNA-küçük molekül etkileşimlerinde sıklıkla kullanılan yöntemlerden bir tanesidir. Jel elektroforez yönteminde, uygulanan bir elektrik potansiyeli varlığında moleküllerin jel de büyüklük ve yükü gibi faktörlere bağlı olarak ilerlemesinde farklılıklar meydana gelir. Herhangi bir molekülün jel içerisinde ilerlemesini etkileyen farklı parametreler de vardır. Örneğin uygulanan potansiyelin büyüklüğü, süresi ve molekülün konformasyonu gibi özellikler biyomoleküllerin jel içerisinde hareketini etkiler.

Tez kapsamında ct-DNA ile InFs molekülünün etkileşimi jel elektroforez yöntemi ile de incelenmiştir. Sabit miktarda ct-DNA üzerine artan miktarda InFs eklenerek yaklaşık 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası örnekler loading dye ile jele yüklenmiştir. Jel görüntüleri Şekil 4.10'da görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi InFs'in ortama eklenmesi ct-DNA'nın şiddetli parlaklığını azaltmakta ve daha sonra parlaklık tamamen kaybolmaktadır. Bu durum InFs ile ct-DNA'nın etkili bir şekilde etkileştiğini ve dolayısı ile EtBr'nin ct-DNA ile etkileşimini engellediğini göstermektedir.



Şekil 4. 10 Jel elektroforez bant profili

1: Dna ladder, **2:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=0$, **3:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=0.23$, **4:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=0.48$; **5:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=0.71$, **6:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=0.95$, **7:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=1.2$, **8:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=1.4$, **9:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=1.7$, **10:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=1.9$, **11:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=2.1$, **12:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=2.4$, **13:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=2.6$, **14:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=2.9$, **15:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=3.1$, **16:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=3.3$, **17:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=3.6$, **18:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=3.8$, **19:** $n_{\text{InFs}}/n_{\text{ct-DNA}}=4.0$, **20:** sadece InFs.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

DNA'yı hedefleyen kemoterapi ajanları kanser tedavisi için oldukça önemlidir. Tedavi süreçlerinde hasta konforunun sağlanabilmesi için yan etkilerin ve maliyetin düşük olduğu yeni protokollerin geliştirilmesine dair bilimsel araştırmalar oldukça önemlidir.

DNA ile non-kovalent etkileşen bileşiklerin sentezi özellikle son yıllarda oldukça popüler araştırma konularının başında gelmektedir. Bu bileşiklerin normal somatik hücre DNA'larına da bağlanmaları yani kanser hücrelerine seçici olmamaları tedavi sürecinde hastaların ağız kuruluğu, aftlar, tat alma hissinde kötüleşmeler, gastrik problemler, saç dökülmesi gibi birçok yan etkiye neden olmaktadır.

Terapi ajanlarının kanser hücrelerinde toksiklik göstermesi ve diğer hücrelere zarar vermemesi için oldukça farklı yaklaşımlar geliştirilmektedir. Bunlardan bir tanesi ışık ile aktivasyonu sağlanan fotosensitif ajanların geliştirilmesidir.

Ftalosiyaninler ışık ile aktive olabilen fotoduyarlı bileşiklerdir. Bu bileşikler geniş π - π sistemleri nedeni ile DNA'yla istiflenme, oluğa bağlanma, interkalasyon gibi birçok yolla bağlanabilmektedirler.

Bu tez kapsamında da yeni sentezlenen ftalosiyanin bileşiğinin ct-DNA ile etkileştiği ve bileşiğin kanser tedavisinde kullanılma potansiyeli olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdulhasanov, B. (2018). Yeni dipirido [3,2-a:2',3'-c] fenazin türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimlerinin çalışılması. Yüksek Lisans Tezi Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Akın, Ç. (2020). Moleküler katkılarının DNA'nın moleküler yapısı ve elektriksel iletkenliği üzerindeki etkilerinin incelenmesi (Master's thesis, TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Akkaya, Ş. (2016). Ferrosen birimi içeren benzimidazol türevli bileşiklerin DNA bağlanma, DNA kesim ve antioksidan aktivitelerinin tayini. Yüksek Lisans Tezi Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Al Mousa, S. (2017). Enzotiyazol süstitüe pirazol-4-karbaldehidin, çeşitli akridin türevlerinin sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Alam, M. F., Varshney, S., Khan, M. A., Laskar, A. A., & Younus, H. (2018). In vitro DNA binding studies of therapeutic and prophylactic drug citral. International journal of biological macromolecules, 113, 300-308.
- Amitha, G. S., & Vasudevan, S. (2020). DNA binding and cleavage studies of novel Betti base substituted quaternary Cu (II) and Zn (II) phthalocyanines. Polyhedron, 190, 114773.
- Arucu, S. (2019). 1, 1'-TİYOBİS (2-Naftol) grupları taşıyan Ftalosiyenin bileşiklerinin Elektrokimyasal Spektroeletrokimyasal Ve Elektrokatalitik İncelenmesi (Doctoral dissertation, Marmara Üniversitesi (Turkey)).
- Ataci, N., Ozcelik, E., & Arsu, N. (2018). Spectrophotometric study on binding of 2-thioxanthone acetic acid with ct-DNA. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 204, 281-286.

- Atmaca, L. (2020). Antineoplastik İlaçların DNA ile Etkileşmelerinin UV-Görünür Bölge Spektroskopisi ile İncelenmesi.
- Bağda, E., Bağda, E., & Durmuş, M. (2017). G-quadruplex and calf thymus DNA interaction of quaternized tetra and octa pyridyloxy substituted indium (III) phthalocyanines. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 175, 9-19.
- Bağda, E., Bağda, E., Kocak, A., & Durmuş, M. (2021). Investigation of Binding behaviour of a water-soluble gallium (III) phthalocyanine with double-stranded and G-quadruplex DNA via experimental and computational methods. *Journal of Molecular Structure*, 130536.
- Bansal, M. (2003). DNA structure: Revisiting the Watson–Crick double helix. *Current Science*, 1556-1563.
- Banti, C. N., Gkaniatsou, E. I., Kourkoumelis, N., Manos, M. J., Tasiopoulos, A. J., Bakas, T., & Hadjikakou, S. K. (2014). Assessment of organotins against the linoleic acid, glutathione and ct-DNA. *Inorganica Chimica Acta*, 423, 98-106.
- Baran, A., Col, S., Karakılıç, E., & Özen, F. (2020). Photophysical, photochemical and DNA binding studies of prepared phthalocyanines. *Polyhedron*, 175, 114205.
- Barut, B. (2016). Suda çözünür Ti (IV) ftalosiyanin bileşiklerinin DNA bağlanma, DNA kesim, antioksidan, antimikrobiyal aktivitelerinin ve topoizomeras I inhibisyonunun incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Barut, B., Demirbaş, Ü., Özel, A., & Kantekin, H. (2017). Novel water soluble morpholine substituted Zn (II) phthalocyanine: Synthesis, characterization, DNA/BSA binding, DNA photocleavage and topoisomerase I inhibition. *International journal of biological macromolecules*, 105, 499-508.

- Barut, B., Yalçın, C. Ö., Demirbaş, Ü., Akçay, H. T., Kantekin, H., & Özel, A. (2020). The novel Zn (II) phthalocyanines: Synthesis, characterization, photochemical, DNA interaction and cytotoxic/phototoxic properties. *Journal of Molecular Structure*, 1218, 128502.
- Baş, H., Barut, B., Biyiklioglu, Z., & Özel, A. (2019). Synthesis, DNA interaction, topoisomerase I, II inhibitory and cytotoxic effects of water soluble silicon (IV) phthalocyanine and naphthalocyanines bearing 1-acetylpiperazine units. *Dyes and Pigments*, 160, 136-144.
- Bayğu, Y. (2019). Fotodinamik terapi ve yakın-IR uygulamaları için kalkojen donörlü yeni ftalosiyanınların sentezi ve karakterizasyonu.
- Bekaroğlu, Ö. (2000). Synthesis of phthalocyanines and related compounds. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 4(5), 465-473.
- Bhattacharya, S., & Mandal, S. S. (1997). Interaction of surfactants with DNA. Role of hydrophobicity and surface charge on intercalation and DNA melting. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1323(1), 29-44.
- Biltekin, M. (2015). Yeni Oksim Metal Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Dna Etkileşimlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Biswas, S., Samui, S., Chakraborty, A., Biswas, S., De, D., Ghosh, U., ... & Naskar, J. (2017). Insight into the binding of a non-toxic, self-assembling aromatic tripeptide with ct-DNA: spectroscopic and viscositic studies. *Biochemistry and biophysics reports*, 11, 112-118.
- Bostancı, E. (2016). İlaç DNA etkileşiminin elektrokimyasal sensörler ile incelenmesi ve geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bulut, S. (2015). Sentetik metalloenzim tipinde yeni ligandlar ve metal komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimlerinin

incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Sütçü İmam Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.

Caymaz, B. (2019). İmidazo(1,2-a)piridin türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimlerinin çalışılması. Yüksek Lisans Tezi Bülent Ecevit Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.

Çakılkaya, E. (2019). Ftalosiyanın konjuge edilmiş polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanarak antikanser etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Çakır, N. (2020). Klik reaksiyonu ile yeni 1,2,3-triazol sübstitüe ftalosiyanınların sentezi ve asetilkolinesteraz enzimi üzerine aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Çakır, V. (2014). Tetra sübstitüe ftalosiyanınların sentezi ve elektropolimerizasyon özelliklerinin incelenmesi (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü).

Çam, M. (2018). No donörlü mono(4-florobenzil) spiro siklotetrafosfazenlerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri ve DNA etkileşimleri. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Çelik, S. P. (2018). Bis-ferrosenil-sübstitüe siklotetrafosfazen türevlerinin antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri ve DNA etkileşimleri. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Çetinkaya, M. (2015). Periferik ve non periferik pozisyonda oksijen köprüsü ile halkaya bağlı trimetilbenzen sübstitüentleri içeren ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Çetinkaya, A. E. (2019). Suyun elektroliz ile hidrojen elde edilmesinde bakır ftalosiyanın kompleksinin paslanmaz çelik elektrotlar üzerine etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Dahm, R. (2005). Friedrich Miescher and the discovery of DNA. *Developmental biology*, 278(2), 274-288.
- Demir, S. (2020). Yeni tetra süstitüe ftalosiyeninler. Yüksek Lisans Tezi. Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Demirbaş, Ü., Barut, B., Özel, A., Çelik, F., Kantekin, H., & Sancak, K. (2019). Synthesis, characterization and DNA interaction properties of the novel peripherally tetra 4-(3-methyl-4-(3-morpholinopropyl)-5-oxo-4, 5-dihydro-1H-1, 2, 4-triazol-1-yl) substituted water soluble Zn (II) and Cu (II) phthalocyanines. *Journal of Molecular Structure*, 1177, 571-578.
- Dursun, Ö. (2009). An application of information theory for DNA structure (Doctoral dissertation, DEÜ Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Dustkami, M., & Mansouri-Torshizi, H. (2017). Refolding and unfolding of ct-DNA by newly designed Pd (II) complexes. Their synthesis, characterization and antitumor effects. *International journal of biological macromolecules*, 99, 319-334.
- Erdem, K. (2020). Yeni sentezlenmiş ferrosen temelli iridyum (III) - fosfinit komplekslerinin antioksidan, antimikrobiyal, DNA bağlanma ve DNA kırma aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Erer, O. (2015). Donör azot atomlu yeni 2-süstitüe 1,2,3- triazol n-oksit ligandlar ve Ni (II) kompleksleri: sentez, karakterizasyon ve DNA etkileşimleri. Yüksek Lisans Tezi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Evren, D., Burat, A. K., Özçeşmeci, İ., & Sesalan, B. Ş. (2013). Synthesis of novel tetracationic phthalocyanines and investigation of their DNA-binding properties. *Dyes and Pigments*, 96(2), 475-482.
- Göçmen, E. (2014). Bazı tek ve çift dişli tersiyer fosfin ligantları içeren yeni gümüş (I) sakkarinat komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu, yapıları, DNA

bağlanma ve biyolojik aktivite çalışmaları (Master's thesis, Uludağ Üniversitesi).

Gökçe, C. (2012). Bazı Geçiş Metallerinin Yeni Hidrazon Schiff Bazı Ligandları ile Koordinasyon Bileşiklerinin Hazırlanması, Yapılarının Aydınlatılması, DNA Etkileşimlerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Muğla).

Gökçe, S. (2013). Metalli ve metalsiz ftalosiyanınların sentezi, karakterizasyonu ve kobalt (II) ftalosiyanın siklohegzen oksidasyonu üzerine katalitik aktivitesinin incelenmesi (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü).

Gürçan, N. (2014). Ferrosen aktif birimi içeren yeni azin türevlerinin DNA bağlanma, DNA kesim ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Huang, S., Li, H., Liu, Y., Liang, Y., Su, W., & Xiao, Q. (2019). Comparable investigation of in vitro interactions between three ruthenium (II) arene complexes with curcumin analogs and ct-DNA. Polyhedron, 167, 51-61.

İçsel, C. (2013). 2-(hidroksimetil) piridin ve 2-(2-hidroksietil) piridin ligantları içeren palladyum (II) ve platin (II) komplekslerinin sentezi, kristal yapıları, spektroskopik, termik ve DNA bağlanma özellikleri (Master's thesis, Uludağ Üniversitesi).

İnci, D. (2013). Bakır (II) iyonunun L-amino asitler ve aromatik diiminler ile oluşturduğu komplekslerin sentezi, yapılarının aydınlatılması, kararlılık sabitlerinin ve DNA etkileşimlerinin araştırılması (Master's thesis, Uludağ Üniversitesi).

- Kapçak, E. (2017). Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) yöntemi ile kanser tedavisinde kullanılan ilaçların miktar tayini ve ilaç-DNA etkileşimlerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Karakaş H. (2019). Biyosensör uygulamaları için redoks mediyatörü olarak lutesyum ftalosiyanınların sentezi ve karakterizasyonu.. Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Karakodak, N. (2020). Morfolin ve piperazin grupları içeren suda çözünür çinko ftalosiyanınların DNA etkileşimleri ve antimikrobiyal fotodinamik terapi uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Karmakar, A., Mallick, T., Alam, M. N., Das, S., Batuta, S., Chandra, S. K., ... & Begum, N. A. (2018). Understanding of the interactions of ct-DNA with an antioxidant flavone analog: Exploring the utility of the small molecule as fluorescent probe for biomacromolecule. *Journal of Molecular Structure*, 1165, 276-287.
- Khezami, K., Harmandar, K., Bağda, E., Bağda, E., Şahin, G., Karakodak, N., ... & Durmuş, M. (2020). The new water soluble zinc (II) phthalocyanines substituted with morpholine groups-synthesis and optical properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 401, 112736.
- Khezami, K., Harmandar, K., Bağda, E. vd. BSA/DNA binding behavior and the photophysicochemical properties of novel water soluble zinc(II)phthalocyanines directly substituted with piperazine groups. *J Biol Inorg Chem* (2021). <https://doi.org/10.1007/s00775-021-01868-6>
- Kiraz, S. (2019). Bakır (II), nikel (II) ve çinko (II) iyonlarının 1, 10-fenantrolin türevleri ve glutamin ile oluşturduğu komplekslerin sentezi, karakterizasyonu, kararlılık sabitlerinin, dna etkileşimlerinin ve antikanser aktivitelerinin araştırılması (Master's thesis, Bursa Uludağ Üniversitesi).

- Koçan, H. (2019). Azot içeren heterohalkalı gruplar ile sübstitüe ftalosiyanınların sentezi ve özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kökci, Ü. (2020). Hidrotermal sentez yöntemi kullanılarak periferik konumlarda antresan grupları taşıyan yeni ftalosiyanınların sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kulaç, D., Bulut, M., Altındal, A., Özkaya, AR, Salih, B., & Bekaroğlu, Ö. (2007). Yeni 4-nitro-2- (oktiloksi) fenoksi ikameli simetrik ve simetrik olmayan Zn (II), Co (II) ve Lu (III) ftalosiyanınların sentezi ve karakterizasyonu. Çokyüzlü , 26 (18), 5432-5440.
- Mohammed, N. A. M. (2016). tiyosemikarbazon türevlerinin DNA etkileşimlerinin ve antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Mutlu, F. (2019). Yeni ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Nalçaoğlu, A. (2019). Farklı meme kanseri hücre hatlarında yeni piperazin çevreli silisyum ftalosyaninleri fotodinamik terapi (PDT) etkinliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Özaltay A. (2020). Antibakteriyel etkili ofloksasin'in multispektroskopik olarak DNA ile etkileşimi ve moleküler kenetlenme çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Özbeden, P. (2018). 2-piridil-siklotrifosfazenlerin ve tuzlarının antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri ve DNA etkileşimleri. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Özçeşmeci, M., Ecevit, Ö. B., Sürgün, S., & Hamuryudan, E. (2013). Tetracationic fluorinated zinc (ii) phthalocyanine: Synthesis, characterization and DNA-binding properties. *Dyes and Pigments*, 96(1), 52-58.
- Özdemir, M. (2019). Yeni 7-oksi-3-etil-6-hekzil-4-metilkumarin İçeren Metal Ftalosiyanın Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Bazı Fiziksel Özelliklerinin İncelenmesi (Doctoral dissertation, Marmara Üniversitesi (Turkey)).
- Özel, A., Barut, B., Demirbaş, Ü., & Biyiklioglu, Z. (2016). Investigation of DNA binding, DNA photocleavage, topoisomerase I inhibition and antioxidant activities of water soluble titanium (IV) phthalocyanine compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 157, 32-38.
- Özkan, D. (2003). Elektrokimyasal hibridizasyon indikatörleri ve DNA biyosensörlerinde kullanılmasının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Patıbay, E. (2018). Yeni 2-sübsitüe 1,2,3-triazol-n-oksit temelli topoizomera I ve II inhibitörü geçiş metal komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimleri. Yüksek Lisans Tezi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Pehlivan, V. (2019). Sülfametizolden türeyen bazı schiff bazlarının DNA ile etkileşimlerinin voltametrik ve spektroskopik incelenmesi. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Pişkin, Y. (2019). 1,8-dihidroksi-3,6-ditiyooktan içeren metalli ve metalsiz ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Rehman, S. U., Sarwar, T., Ishqi, H. M., Husain, M. A., Hasan, Z., & Tabish, M. (2015). Deciphering the interactions between chlorambucil and calf thymus

DNA: a multi-spectroscopic and molecular docking study. Archives of biochemistry and biophysics, 566, 7-14.

Sağlam, S. (2020). Yeni tip triazol içeren ftalosiyaninlerin sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Saka, E. T. (2012). Periferal tetra süstitüe ftalosiyaninlerin sentezi, karakterizasyonu ve kobalt ftalosiyaninlerin siklohegzen oksidasyonu üzerine katalitik etkinlerinin incelenmesi (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü).

Saka, E. (2019). Benzotiyadiazole (2,1,3-) türevi işaretleyici bileşiklerin türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimlerinin çalışılması. . Yüksek Lisans Tezi. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Salem, A. T. A. (2016). 1,3,4-Tiyadiazol türevlerinin DNA etkileşimlerinin ve antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Sarkı, G. (2014). Metallsız ve metalli ftalosiyaninlerin sentezi, karakterizasyonu ve kobalt (II) ftalosiyaninin benzil alkol oksidasyonu üzerine katalitik etkilerinin incelenmesi (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü).

Sofuoğlu, A. (2019). Periferal ve non-periferal pozisyonlarda pirol grupları içeren kobalt, mangan ftalosiyaninler ve elektrokimyasal özellikleri (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya Anabilim Dalı).

Su, E. (2015). Oksijen köprülü iki çekirdekli Mn (II) antranilik asit ve 4-florobenzoik asit komplekslerinin sentezi, katalaz ve DNA bağlanma aktivitelerinin araştırılması (Master's thesis, Anadolu Üniversitesi).

- Şahin, S. (2013). Makromoleküler ağ örgülü polimerik ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Şahin, G. (2020). Suda çözünür bakır ve okso-titanyum (IV) ftalosiyanın bileşiklerinin G-quadrupleks DNA etkileşimlerinin CD spektroskopisi ve izotermal titrasyon kalorimetrisi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Şen, Z. (2019). Grafen-ftalosiyanın kompozit yapılarının gaz sensör özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tekin, T. (2014). Hidrazon oksim içeren farklı metal komplekslerin sentezlenmesi, karakterizasyonu ve DNA etkileşimlerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Temizel, S. (2019). Terminal grup olarak simetrik olmayan kobalt ftalosiyanın içeren polistiren ve polimetil metakrilat polimerlerinin sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Topkaya, C. G. (2017). Oksim grubu içeren potansiyel N₄-tipi yeni schiff bazı ligandlarının metal kompleksleri: sentez, karakterizasyon ve DNA etkileşimleri. Doktora Tezi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Turanlı-Yıldız, B., Sezgin, T., Çakar, Z. P., Uslan, C., Sesalan, B. Ş., & Gül, A. (2011). The use of novel photobleachable phthalocyanines to image DNA. *Synthetic metals*, 161(15-16), 1720-1724.
- Uluşan, H. (2019). Oktadodesiloksi silikon (IV) ftalosiyanın fotokimyasal özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

- Uslan, C., & Sesalan, B. Ş. (2012). Synthesis of novel DNA-interacting phthalocyanines. *Dyes and Pigments*, 94(1), 127-135.
- Waesama-Ae, N. (2020). Siklododesiloksi içeren ftalosiyanın sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Wang, T., Wang, A., Zhou, L., Lu, S., Jiang, W., Lin, Y., ... & Wei, S. (2013). Synthesis of a novel water-soluble zinc phthalocyanine and its ct-DNA damaging studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 115, 445-451.
- Yang, C., Ma, F., Tang, J., Han, L., Wei, S., Zhou, L., ... & Ge, X. (2013). Comparing the interaction of vanadyl-hypocrellin A complex and hypocrellin A with ct-DNA. *Journal of Molecular Structure*, 1036, 127-132.
- Yetgin, A. (2019). Fonksiyonel gruplar içeren yeni tip ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yıldırım, Y. (2014). Yeni sepet ve simetrik kumarin türevi ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve karakterizasyonu.
- Yılmaz, H. E. (2017). Suda çözünabilen tetra ve okta süstitüye galyum ftalosiyanın bileşiklerinin DNA etkileşimlerinin belirlenmesi ve antimikrobiyal uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Yılmaz Z. K. (2019). Potansiyel DNA hedefli bir antikanser ilaç adayı olarak yeni sentezlenen asimetrik diimine schiff bazının biyolojik aktivitelerinin ve DNA etkileşimlerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Yılmaz, Ş. (2021). Tetrasiklin ve oksitetrasiklin'in DNA biyosensörleri ile incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

Yuan, L., Gui, L., Wang, Y., Zhang, Q., Zhou, L., & Wei, S. (2016). Photophysical and photochemical studies of a novel amphiphilic zinc phthalocyanine and its interaction with calf thymus DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 158, 1-8.

