



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

**MORFOLİN VE PİPERAZİN GRUPLARI İÇEREN SUDA
ÇÖZÜNÜR ÇİNKO FTALOSİYANİNLERİN DNA
ETKİLEŞİMLERİ VE ANTİMİKROBİYAL FOTODİNAMİK
TERAPİ UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nurşen KARAKODAK

(20169247004)

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Efkan BAĞDA

SIVAS

OCAK 2020

Nurşen KARAKODAK'ın hazırladığı ve “Morfolin Ve Piperazin Grupları İçeren Suda Çözünür Çinko Ftalosiyanınların DNA Etkileşimleri Ve Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi Uygulamaları” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı **Doç. Dr. Efkân BAĞDA**
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi



Jüri Üyesi **Doç. Dr. Hüseyin ALTUNDAĞ**
Sakarya Üniversitesi



Jüri Üyesi **Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ATAŞ**
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi



Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özlem Pelin CAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından F-587 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.



Bütün hakları saklıdır.
Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Nurşen KARAKODAK, 2020

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

06.01.2020

Nurşen KARAKODAK

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım, tezin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Efkan BAĞDA'ya çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü'nden Doç. Dr. Esra BAĞDA'ya çok teşekkür ederim.

Tez çalışmasında kullanılan ftalosiyanın bileşiklerini sentezleyen Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mahmut DURMUŞ'a çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışmamda her adımında yanımda olup ve hiçbir emeğini esirgemeyen gerek lisans hayatım olsun gerek yüksek lisans hayatım olsun her zaman yanımda olan kardeşim Gamze ŞAHİN'e çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışmamda maddi ve manevi yanımda olup hiçbir fedakârlıklarımı esirgemeyen ve desteklerini daima hissettiğim canım aileme çok teşekkür ederim.

ÖZET

MORFOLİN VE PİPERAZİN GRUPLARI İÇEREN SUDA ÇÖZÜNÜR ÇİNKO FTALOSİYANİNLERİN DNA ETKİLEŞİMLERİ VE ANTİMİKROBİYAL FOTODİNAMİK TERAPİ UYGULAMALARI

Nurşen KARAKODAK

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Efkan BAĞDA

2020, 62+xvii sayfa

Enfeksiyon hastalıkları, insan ölümlerinin nedenlerinden biri olarak hala ilk sıralarda yer almaktadır. Tedavide kullanılan antibiyotik ve antibiyotik türevlerine karşı son yıllarda hızla gelişen direnç bu hastalıklarla mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle antimikrobiyal stratejiler geliştirmek zorunlu hale gelmiştir.

Antimikrobiyal fotodinamik tedavi bakteriler, virüsler, mantarlar ve prion gibi patojenlerin neden olduğu geniş spektrumlu enfeksiyonların tedavisinde uygulanan nonivazif bir yaklaşımdır. Uygulama, mikroorganizmada hücre içi organelleri ve biyomolekülleri hasar yoluyla etkileyerek sitotoksik etki meydana getirmektedir. Bu yöntemde fotoduyarlayıcı bir bileşiğin uygun dalga boyundaki bir ışıkla uyarılması sonucu oksidatif hasar oluşturularak (reaktif oksijen türleri (ROT) ve/veya tekil oksijen ile) mikroorganizma hücrelerinin öldürülmesi hedeflenmektedir. Bu yaklaşım direnç gelişimine yol açmaz ve kısa süreli tedavi sunar. Son yıllarda antibiyotik direnç sorununa farklı bir çözüm olarak gösterilen antimikrobiyal fotodinamik tedaviye olan ilgi artmış ve enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek yeni fotoduyarlayıcı ilaç arayışları hız kazanmıştır.

Bu kapsamda, yapılan bu tez çalışması ile morfolin ve piperazin grupları içeren suda çözünür çinko ftalosiyanın bileşiklerinin DNA etkileşimleri ile antimikrobiyal fotodinamik terapi etkinlikleri araştırılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında Fs bileşiklerinin ct-DNA ve plazmid DNA ile etkileşimleri Uv-Gör., floresans spektroskopisi ve jel elektroforez yöntemleri ile çalışılmıştır. Her iki bileşiminde ct-DNA ile oluklara bağlanma şeklinde etkileştiği belirlenmiştir. Uv-Gör. Spektrofotometrik titrasyon sonucunda ct-DNA, Kb bağlanma sabiti Fs 1 için $6,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, Fs 2 için ise $6,87 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak belirlendi. Çalışılan Fs bileşiklerinin plazmid DNA ile olan etkileşimlerinin ihmal edilebilir seviyede olduğu görülmüştür.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise; Fs bileşiklerinin AFDT etkinlikleri *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC-29213) ve *Candida albicans* (ATCC-10231) organizmaları ve diyot lazer ışık kaynağı (635 nm) kullanılarak araştırılmıştır. 1,1 mM'da sitotoksik olduğu belirlenen Fs 1 bileşiğinin 250 J/cm^2 'de 1 mM derişimde sitotoksik etki göstermediği gözlenmiştir. Bu sonuç, Fs 1 bileşiğinin tek başına sitotoksik olduğu ve geniş spektrumlu antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilme potansiyelinin yüksek olduğunu işaret etmektedir. Fs 2 bileşiğinin ise 250 J/cm^2 ışık şiddetinde; *S. aureus* için $62,5 \mu\text{M}$, *P. aeruginosa* $600 \mu\text{M}$ ve *C. albicans* $500 \mu\text{M}$ derişimlerinde sitotoksik olduğu. Bu durum, Fs 2 bileşiğinin geniş spektrumlu AFDT ajanı olarak kullanılabilme potansiyelini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: DNA Etkileşimi, Ftalosiyenin, Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi

ABSTRACT

DNA INTERACTIONS AND ANTIMICROBIAL PHOTODYNAMIC THERAPY APPLICATIONS OF WATER SOLUBLE ZINC PHTHALOCYANINES CONTAINING MORPHOLINE AND PIPERAZINE GROUPS

Nurşen KARAKODAK

Master of Science Thesis

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Efkan BAĞDA

2020, 62+xvii pages

Infectious diseases are still in the first place as one of the causes of human deaths. Rapidly developing resistance against antibiotics and antibiotic derivatives used in treatment makes it difficult to fight these diseases. Therefore, it has become imperative to develop antimicrobial strategies.

Antimicrobial photodynamic therapy is a noninvasive approach for the treatment of broad-spectrum infections caused by pathogens such as bacteria, viruses, fungi and prion. Application creates cytotoxic effect in microorganism by affecting intracellular organelles and biomolecules through damage. In this method, it is aimed to kill microorganism cells by generating oxidative damage (with reactive oxygen species (ROT) and / or singular oxygen) as a result of the excitation of a photosensitizing compound with a light of appropriate wavelength. This approach does not cause development of resistance and provides short-term treatment. The interest in antimicrobial photodynamic therapy, which is shown as a different solution, has increased and searches for new photo-stabilizing drugs that can be used in the treatment of infections have accelerated.

In this context, with this thesis, the DNA interactions of water soluble zinc phthalocyanine (Pc) compounds containing morpholine and piperazine groups and antimicrobial photodynamic therapy activities were investigated.

In the first stage of the study, interactions of Pc compounds with ct-DNA and plasmid DNA were studied by Uv-Vis., Fluorescence spectroscopy and gel electrophoresis methods. It was determined that both compounds interact with ct-

with groove binding mechanism. Kb binding constants were determined from UV-Vis. spectrophotometric titration as $6.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ for **Pc 1** and $6.87 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ for **Pc 2** with ct-DNA . The interactions of the studied Pc compounds with plasmid DNA were negligible.

In the second stage of the study; AFDT activities of Pc compounds were investigated using *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC-29213) and *Candida albicans* (ATCC-10231) organisms and with using diode laser light source (635 nm). It was observed that the **Pc 1** compound, which was determined to be cytotoxic at 1.1 mM, had no cytotoxic effect at a concentration of 1 mM at 250 J/cm^2 . This result indicated that the **Pc 1** compound was cytotoxic alone and had a high potential for use as a broad spectrum antimicrobial agent. The **Pc 2** compound was cytotoxic at a concentration of $62.5 \text{ }\mu\text{M}$ for *S. aureus*, $600 \text{ }\mu\text{M}$ for *P. aeruginosa* and $500 \text{ }\mu\text{M}$ for *C. albicans* at 250 J/cm^2 . This indicated the usage potential of **Pc 2** as a broad spectrum AFDT agent.

Key Words: DNA Interaction, Phthalocyanine, Antimicrobial Photodynamic Therapy

İÇİNDEKİLER

ETİK	v
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ŞEKİLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Ftalosiyeninler.....	4
1.1.1.Ftalosiyeninlerin Sınıflandırılması ve Adlandırılması.....	6
1.1.2. Ftalosiyeninlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	6
1.1.3. Ftalosiyeninlerin Kullanım Alanları.....	7
1.2. Deoksiribonükleik Asit (DNA) Yapı ve Özellikleri.....	8
1.2.1. Plazmid DNA.....	10
1.3. DNA ile Küçük Moleküllerin Etkileşimi.....	11
1.3.1. DNA ile Kovalent Bağlanma.....	12
1.3.2. DNA ile Kovalent Olmayan Bağlanma.....	12
1.4. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT).....	16
1.4.1. AFDT Etki Mekanizması.....	17
1.4.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Kullanım Alanları.....	18
1.4.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapinin Mikroorganizmalara Etkisi ..	19
1.5. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar.....	21
1.5.1. Pseudomonas aeruginosa.....	21
1.5.2. Staphylococcus aureus.....	22
1.5.3. Candida albicans.....	23
2. MATERYAL VE METOD	25
2.1. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Besiyerleri.....	26
2.2. Ftalosiyenin Bileşiklerinin DNA Bağlanma Özelliklerinin Araştırılması.....	32
2.2.1. Uv-Gör. Spektrofotometre Deneyleri.....	32
2.2.2. Floresans Yerdeğiştirme Deneyleri.....	32
2.2.3. Jel Elektroforezi Yöntemi.....	33
2.2.4. CD (Circular Dichroism) Spektrofotometre Deneyleri.....	33

2.3 Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT) Deneyleri.....	33
3.BULGULAR.....	36
3.1. DNA Bağlanma alışmaları.....	36
3.1.1. Uv-Gör. Spektrofotometre Deneyleri.....	36
3.1.2 Floresans Yer Değiştirme Deneyleri	39
3.1.3. Jel Elektroforez Yöntemi	40
3.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT) Deneyleri.....	41
4. TARTIşMA VE SONUÇ.....	46
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİş.....	60



ŞEKİLER DİZİNİ

Şekil 1.1 (a): metallsiz (H ₂ Fs) ve (b): metalli (MFs) ftalosiyanın	5
Şekil 1.2 Fs bileşiklerinin sentezinde kullanılan elementlerin periyodik tabloda gösterimi	5
Şekil 1.3 Fs bileşiklerinin sınıflandırılması	6
Şekil 1.4 MPc (kırmızı) ve H ₂ Pc (mavi) UV/Gör. spektrumu	7
Şekil 1.5 DNA molekülünün yapısı	8
Şekil 1.6 (a) DNA'nın sarmal yapısı, (b) DNA sarmalında oluşan küçük ve büyük ...	9
Şekil 1.7 Plazmid DNA'nın formları ve agaroz jel pozisyonları	10
Şekil 1.8 Cisplatinin DNA'ya kovalent bağlanması	12
Şekil 1.9 DNA ile kovalent olmayan etkileşimler	13
Şekil 1.10 Elektrostatik etkileşim	13
Şekil 1.11 Küçük oluklara girebilen moleküller a) Distamycin A ve b) DAPI	14
Şekil 1.12. a) küçük oluğa bağlanma b) büyük oluğa bağlanma	15
Şekil 1.13 İnterkalatör etkileşim	15
Şekil 1.14 a) Etidyum Bromür, b) Proflavin, c) Daunomycin	16
Şekil 1.15 Antimikrobiyal fotodinamik tedavinin şematik gösterimi	18
Şekil 1.19 Gr (+) ve Gr (-) bakteri duvarı yapısı	20
Şekil 1.20 Fungus hücre duvarı yapısı	21
Şekil 1.21 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> görüntüsü	22
Şekil 1.22 <i>Staphylococcus aureus</i> SEM görüntüsü	23
Şekil 1.23 <i>Candida albicans</i> mikroskop görüntüsü	24
Şekil 2.1 Çalışmada kullanılan Fs bileşikleri	25
Şekil 2.2 Benesi Hildebrand denklemi	32
Şekil 2.3 Stern-Volmer denklemi	33
Şekil 3.1 ct-DNA ile (a) Fs 1 ve (b) Fs 2 bileşiklerinin Uv-Gör. Spektrum titrasyonları	37
Şekil 3.2 Plazmid DNA ile (a) Fs 1 ve (b) Fs 2 bileşiklerinin Uv-Gör. spektrum titrasyonları	38
Şekil 3.3 ct-DNA - EtBr ile (a):Fs 1 (b); Fs 2 yer değiştirme grafiği	40
Şekil 3.4 Fs 1 ve Fs 2 bileşiklerinin ct-DNA ile jel elektroforez görüntüsü	41
Şekil 3.5 Fs 1 ve Fs 2 bileşiklerinin plazmid DNA ile jel elektroforez görüntüsü	41
Şekil 3.6 Işık grubu deney sonuçları	42

Şekil 3.7 Fs 1 ve Fs 2 bileşiklerinin karanlık sitotoksite deney sonuçları.....	43
Şekil 3.8 Fs 1 bileşiğinin AFDT deney sonuçları.....	43
Şekil 3.9 Fs 2 bileşiğinin <i>P. aeruginosa</i> için AFDT deney sonuçları.....	44
Şekil 3.10 Fs 2 bileşiğinin <i>S. aureus</i> için AFDT deney sonuçları.....	44
Şekil 3.11 Fs 2 bileşiğinin <i>C. albicans</i> için AFDT deney sonuçları	45



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Çalışmada kullanılan kimyasallar	26
Çizelge 3.1 Fs bileşiklerin bağlanma sabitleri	36
Çizelge 3.2. Fs bileşiklerinin K_{sv} sabitleri.....	39



KISALTMALAR DİZİNİ

AFDT	: Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi
CD	: Circular Dichroism
CFU	: Koloni Oluşturan Birim
ct-DNA	: Calf thymus (sığıır timusu) DNA'sı
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EtBr	: Etidyum Bromür
FDT	: Fotodinamik Terapi
Fs	: Ftalosiyanın (Phthalocyanine)
K_{BH}	: Benisi- Hildebrant Sabiti
K_{sv}	: Stern-Volmer Sabiti
LED	: Işık Yayan Diyot (Light Emitting Diode)
MBK	: Minimum Bakteriyasidal Konsantrasyonu
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
NA	: Nutrient Agar
NB	: Nutrient Broth
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
TBE	: Tris- Borik Asit- EDTA
UV	: Ultra-Viyole (Mor Ötesi)
Gör	: Görünür
Gr (+)	: Gram pozitif
Gr (-)	: Gram negatif
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
A	: Adenin
C	: Sitozin
Cl	: Klor
dk	: Dakika

G	: Guanin
M	: Molar
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
T	: Timin
U	: Urasil



1. GİRİŞ

Bakteri, mantar, helmint, protozoa, virüs, prion gibi patojenlerin sebep olduğu hastalıklar hızla yayılmalarını sağlayan bulaşıcı özellikleri, sahip oldukları çoklu direnç geliştirme potansiyelleri ve yüksek mortalite kapasiteleri ile insan, toplum ve çevre sağlığı için ciddi bir risk oluşturmaktadır. Yıllık 14 milyon ölüm ile bulaşıcı hastalıklar dünya üzerindeki insan ölümlerinin % 25'inden sorumludur. Özellikle geri kalmış ülkelerde daha yüksek mortalite değerlerine sahiptirler. Ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak varlığını koruyan bulaşıcı hastalıkların önemli bir kısmı bakteri ve mantar kaynaklıdır. Bakterisit, fungusit tip ilaçların insan sağlığı, tarım ve hayvancılıkta hatalı, kontrolsüz ve aşırı kullanımı ile ilaç ve ilaç metabolitlerinin denetimsiz doğaya salınımı sonucunda hızla artan bir ilaç dirençliliği söz konusudur. Genellikle, bu sürece çoklu ilaç dirençliliği de eşlik etmektedir (Cohen, 2000).

Son birkaç yıl da farklı hükümet ve bölgesel sağlık otoritelerinden gelen rapor ve açıklamalar, antimikrobiyal ilaç direncinin halk sağlığı üzerinde oluşturduğu tehdidin ciddiyetine vurgu yapmaktadır. Her yıl tüm dünyada antibiyotik direncine bağlı, mikropların sebep olduğu bütün ölümlerin % 45'ine karşılık gelen, fazladan 700.000 ölüm meydana geldiği hesaplanmaktadır (Nyamu vd., 2018). Yapılan matematiksel bir modellemeye göre ise antimikrobiyal ilaç direncine bağlı olarak 2050 yılında, yıllık 10 milyon ölüm ve 10 trilyon Amerikan doları maddi kayıp yaşanacağı tahmin edilmektedir (URL 1). Bu hesaba göre, ilaç dirençliliğinin halk sağlığı ile küresel kalkınma ve refah için zamanla artan önemli bir tehdit olacağı beklenmektedir. Bu bulgular nedeniyle; Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, Avrupa Komisyonu, G7 Zirvesi ve sanayileşmiş ülkelerin ulusal hükümetleri gibi birçok siyasi ve sivil otorite antimikrobiyal tedaviler için yeni çalışmaların teşvik edilerek, desteklenmeleri gerektiğini kabul etmişlerdir (Albu, 2015; Wainwright, 2017).

İlk antibiyotik, Alexander Fleming tarafından 1928 yılın da *Penicillium notatum* adlı küfte keşfedilen penisilindir. Prokaryotik hücre yapılarına özgü antibiyotikler ile tedavi, mikropların direnç göstermediği durumlarda oldukça kolaydır ve özellikle II. Dünya Savaşı'nda çok sayıda hayat kurtarmıştır. Antibiyotiklerin seçici, yan etkisinin sınırlı ve kullanımının kolay olmasından dolayı keşfinin ardından kullanımı hızla artmıştır (Ligon, 2004). Örneğin, Sağlık Bakanlığı'nca yapılan bir çalışmaya

göre, 2000 - 2010 yılları arasında antibiyotik tüketiminin eski yıllara nazaran % 36 arttığı görülmüştür (URL 2).

Mikroorganizmaların çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı hızlı bir şekilde direnç oluşturduğu ve enfeksiyon hastalıklarına bağlı mortalitede artışa neden olduğu bilinmektedir (Berendonk, 2015; Wainwright, 2017). Antibiyotiklerin aşırı ve bilinçsiz kullanılmasına bağlı gelişen ilaç dirençliliği yan etkilerde ve tedavi maliyetlerinde artışı da beraberinde getirmektedir. Bakteriyel, fungal enfeksiyonlar antibiyotik tedavisine karşı son derece dirençlidirler ve yok edilmeleri için önemli çabalar gerektirmektedirler (Teichert, 2002; Gardlo, 2003; George, 2018). Bununla birlikte piyasada bulunan antibiyotikler, enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede tedavi hızına yetişmekte yetersiz kalmaktadır. Başarısız olan antimikrobiyal ilaçlar, yeni tedavi yöntemleri için yoğun istek uyandırır. Bu sebeple, yeni antibiyotik ajanların geliştirilmesine yönelik çalışmalar artarak devam etmektedir. Ancak, yeni antimikrobiyal ajanlar genellikle önceki antibiyotiklerin türevleri şeklinde olduklarından, mikroorganizmalar tarafından dirençlilik kısa sürede oluşturulmaktadır. Mevcut durum, enfeksiyon tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesini teşvik eder (Hamblin, 2004; Ling, 2015). Direnç gelişimini önleme ve dirençli mikroorganizmaları öldürmede izlenen önemli bir taktik; çoklu moleküler hedeflerle etkileşime girebilen ve bakteri, mantar, protozoa, virüs gibi farklı patojenlere (geniş spektrumlu) karşı etkili mekanizmalar veya terapötik ajanlara odaklanmaktır. Bu nedenle, antibiyotiğe dayalı mevcut geleneksel tedavilerin yanı sıra bakteriyofajlar, antimikrobiyal peptitler terapötik ajanlar ve dirençlilik gelişimine fırsat vermeyen antimikrobiyal fotodinamik terapi (AFDT) gibi alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi yoğunlukla çalışılmaktadır (Ragas, 2001).

Artan ilaç dirençliliğine bağlı dezavantajları aşmak için alternatif bir yöntem olarak AFDT geliştirilmiştir (Wainwright, 1998; Spagnul, 2015). Fotodinamik antimikrobiyal etkiye ilişkin ilk rapor 1900'de Oscar Raab tarafından yayınlanmıştır. Raab, akridin ve eozin boya ları uygulanan *Paramecium caudatum*'un güneş ışığına maruz kaldığında öldüğünü gözlemlemiştir. Daha sonra, Von Tappeiner ve Jesionek, bu yöntemi tümör hücrelerine uygulayarak, sonuçlarını 1905'de yayınlamışlardır (Raab, 1900; Jesionek ve Von Tappeiner, 1905). Dolayısı ile fotodinamik tedavinin hem antimikrobiyal, hem de antikanser yaklaşımları bir asırdan fazla süredir bilinmektedir (Agostinis, 2011). Ancak, antibiyotiklerin keşfi ile antimikrobiyal uygulamalar için uzun süre arka planda kalmıştır.

Artan ilaç dirençliliği ile tekrar dikkatleri üzerine çeken AFDT uygulamaları hem Gram pozitif (Gr (+)), hem de Gram negatif (Gr (-)) bakterilere karşı etkili olmasının yanı sıra, mantar, viral ve protozoal hedeflere karşıda etkilidir (Wainwright, 2017; Mahmoudi vd., 2018). Ayrıca, öldürme etkileri saatler veya günler sürebilen geleneksel antimikrobiyal ajanlardan çok daha hızlı şekilde etki ederler (Tegos, 2012; Banerjee, 2012). AFDT son yıllarda bulaşıcı hastalıkların tedavisinde uygulanan nonivazif bir yaklaşım olup, antibiyotiklerin kullanımına alternatif olabilecek yeni yaklaşımlar sunmaktadır (Yin vd., 2015).

AFDT yönteminde, fotoduyarlaştırıcı olarak isimlendirilen bir kimyasal ajan ve bu kimyasal ajanın maksimum absorpsiyon gösterdiği uygun dalga boyunda ışık kullanılarak, ölümcül hücre hasarı oluşturulur. Işık ile uyarılan fotoduyarlaştırıcı ajan, hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROT) miktarını artırmaktadır. Artan ROT miktarı ile oluşan oksidatif reaksiyonlar sonucu, mikroorganizmada geri dönüşümsüz ölümcül hasar oluşmaktadır (Wainwright, 2017; Abdel, 2016). Yöntem oldukça etkilidir ve inaktivasyon için mikroplarla doğrudan temas gerektirmez (Rosa, 2014). Buna ek olarak, AFDT direnç oluşturmaz ve ilaca dirençli kültürler ve patojenlere de uygulanır (Ryskova vd., 2010). Ayrıca, singlet oksijen hava ve su içinde yayılabildiğinden AFDT uygulamalarının kullanım alanını genişletmektedir (George, 2018).

AFDT'nin başarılı bir şekilde uygulanması için moleküler oksijen, fotoduyarlaştırıcı kimyasal ve uygun ışık kaynağı gereklidir (George, 2018). İdeal fotoduyarlaştırıcının yüksek fotokimyasal aktivite, güçlü ışık absorblama kapasitesi ve yüksek absorpsiyon katsayısına sahip olma gibi özellikleri bulunmalıdır (Bissonnette ve Lui, 1997). Fotoduyarlaştırıcı olarak kullanılabilen, çeşitli doğal ve sentetik maddelerden oluşan çok sayıda bileşik bilinmektedir. Bunlardan yaygın olarak kullanılanlar akridin boyaları, metilen mavisi, porfirin, klorin, ftalosiyanimler ve türevleridir (Wardlaw vd., 2012; Gökçe, 2013).

Doğal olarak oluşan porfirinlerin sentetik analogları olan ftalosiyanimler (Fs) 1928'de tanımlanmış olup o andan itibaren, birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Fs'ler genel olarak mavi ve yeşil renklidir. Oldukça sağlam ve iki boyutlu 18 π -elektron konjuge sistemine sahip aromatik makrosiklik bileşiklerdir. Fs bileşikleri periferel ve nonperiferel pozisyonlarına çeşitli süstitüentlerin bağlanmasıyla elektiriksel iletkenlik, fotoiletkenlik, ışık absorpsiyonu ve foto uyarıcı gibi çeşitli özellikler kazandırmak mümkündür (Jiang, 2010).

Fs bileşikleri elektriksel özellikleri ve termal kararlılıklarıyla nükleer kimya, elektrokromik görüntüleme, kimyasal sensör ve fotodinamik terapi alanlarında sıkça kullanılan bileşikler haline gelmiştir (Demirbaş vd., 2016). Ftalosiyanınlerin antikanser, antibakteriyel etkileri ile DNA, RNA ve proteinlere bağlanmaları üzerine ciddi araştırmalar ve çalışmalar yapılmaktadır (Hassani vd., 2013; Barut vd. 2017).

Genetik bilginin saklanması, işlenmesi ve aktarılmasından sorumlu olan molekül DNA'dır. DNA molekülü hücrel süreçlerde önemli rol oynamaktadır. DNA'nın primer, sekonder ve tersiyer yapıları ise oynadığı rol için kritiktir. Bu özelliklerinden dolayı, DNA dizi kompozisyonları ile yapısal konformasyonları birçok hastalığın teşhis ve tedavisinde önemli moleküler hedefler olarak günümüzde çalışılmaktadır (Bağda vd., 2017; Evren vd., 2013).

Ligandların DNA moleküllerine bağlanması, replikasyon ve gen ekspresyonu gibi önemli hücrel süreçleri etkiler. İlaç moleküllerinin DNA'ya bağlanması, bu nedenle önemlidir (Aslantaş ve Ağırtaş, 2018). Ftalosiyanın bileşiklerinin, farklı DNA formları ile etkileşimi üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Hassani vd., 2014; Evren vd., 2013). Değişik fonksiyonel gruplar içeren ftalosiyanın bileşikleri, kovalent ve kovalent olmayan mekanizmalar yoluyla DNA ile etkileşimde bulunmaktadır (Barut, 2016).

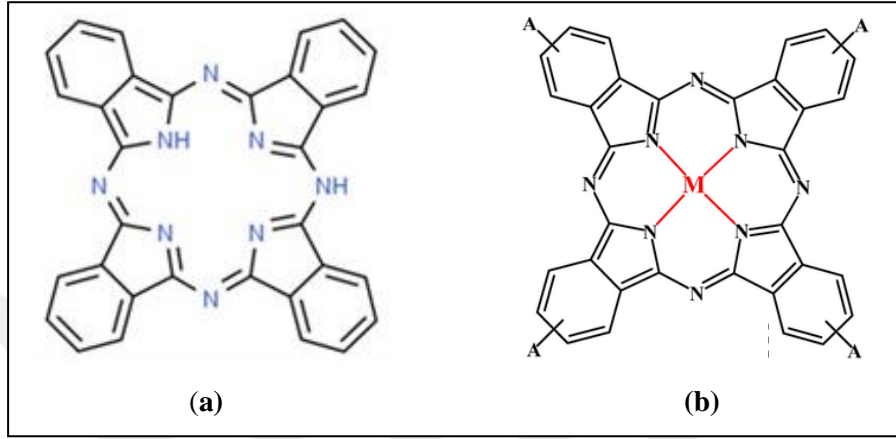
Son 20 yıl içerisinde birçok Fs sentezlenmesine rağmen, uygulamaya yönelik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu nedenle, Fs bileşiklerinin DNA ile etkileşimlerinin tayini ve AFDT uygulamaları için kullanılabilirliğinin belirlenmesi gibi konular bilimsel öneme sahiptir. Bu motivasyonla, yapılan tez çalışması ile piperazin ve morfolin gruplarına sahip suda çözünür yeni çinko (Zn) Fs bileşiklerinin ct-DNA ve plazmid DNA ile etkileşim tiplerinin ve AFDT'de kullanılmaları araştırılacaktır. Bulguların literatürde var olan eksikliğin giderilmesine katkı sunması amaçlanmıştır.

1.1. Ftalosiyanınler

Fs bileşiği ilk kez 1907 yılında Braun ve Tcherniac tarafından ftalimit ve asetik asitten, siyanobenzamidin sentezi sırasında koyu renkli bir yan ürün olarak elde edilmiştir. Fakat yapısı karakterize edilememiştir (Berthold, 2009). Fs bileşiklerinin yapısının tam olarak ortaya çıkması 1928 yılından 1933 yılına kadar sürmüştür. Linstead ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmalar sonunda bazı metalli Fs bileşiklerinin de sentezini gerçekleştirmişlerdir (Lapok, 2006). Fs bileşiğinin adlandırılmasını Reginal P. Linstead yapmıştır. İsmi ise ftalik asit türevlerini

temsilen ‘*phthal*’ ve Yunancada mavi anlamına gelen ‘*cyanine*’ kelimelerinin birleşmesiyle ftalosiyanın ismini almıştır (Thomas, 1990).

Fs bileşikleri, çok sağlam yapıları renkli makrosiklik bileşikler olup, yüksek konjugasyonlu 18- π elektrona sahip 8 karbon, 8 azot (16 üyeli) içeren bileşiklerdir (Akkuş, 2011). Merkezde iki hidrojen atomu olduğunda metallsiz Fs (H_2Fs), merkezde hidrojen atomunun yerine metal atomu geçince metalli Fs (MFs) adını alır (Şekil 1).



Şekil 1.1 (a): metallsiz (H_2Fs) ve **(b):** metalli (MFs) ftalosiyanın (Özdemir ve Özgüney, 2017)

Bugüne kadar yaklaşık 70 farklı element Fs bileşiklerinde merkez atom olarak kullanılmıştır (Şekil 1.2) (Barut, 2016).

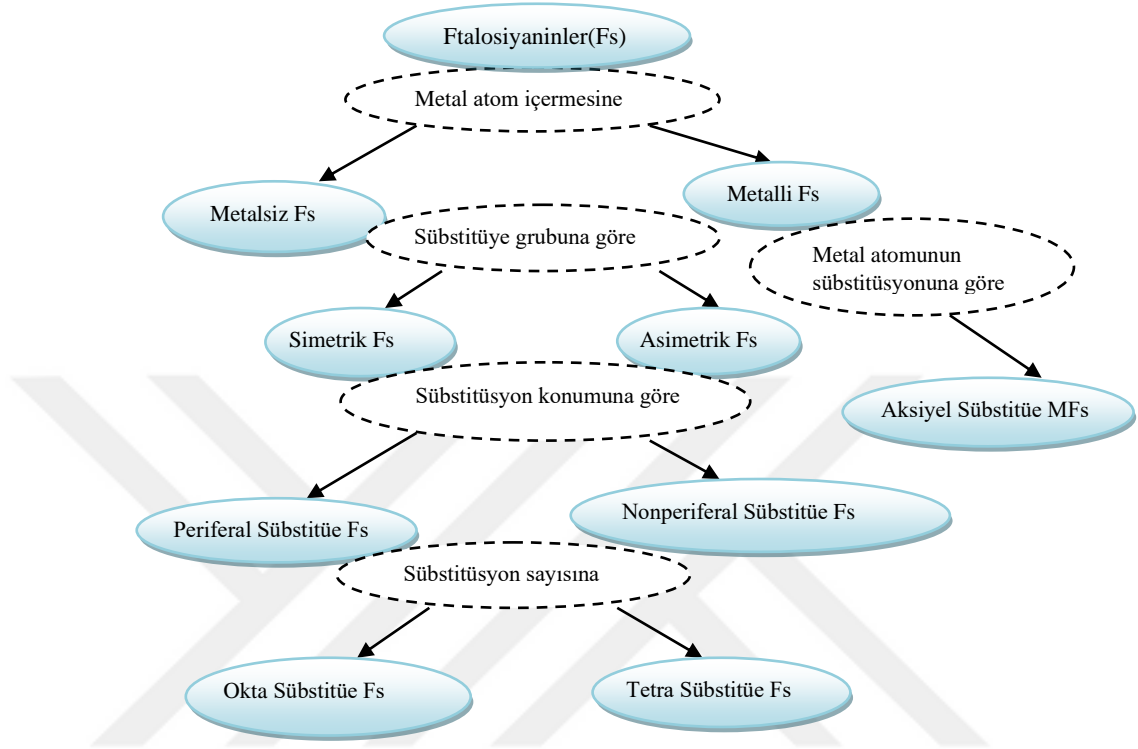
H																		
Li	Be											B	C					
Na	Mg											Al	Si	P				
K	Ca	Se	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As				
	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb				
	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi				

La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
Ac	Th	Pa	U		Am									

Şekil 1.2 Fs bileşiklerinin sentezinde kullanılan elementlerin periyodik tabloda gösterimi (Barut, 2016)

1.1.1.Ftalosiyanın Sınıflandırılması ve Adlandırılması

Fs bileşiklerinin sınıflandırılması metal atomu bulundurup bulundurmamasına, süstitüe grubun çeşitliliğine, süstitüe grubun konumuna ve sayısına göre yapılmaktadır (Çakır, 2015).



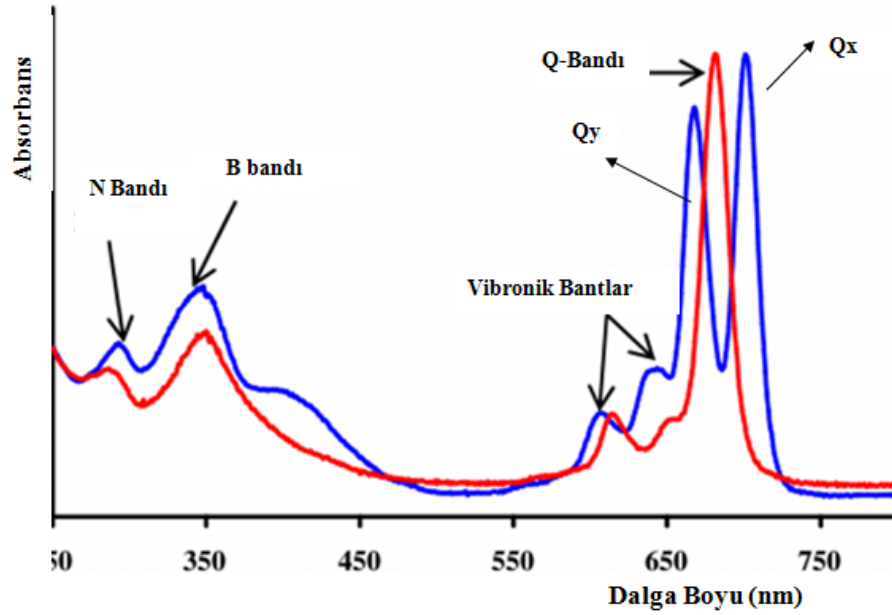
Şekil 1.3 Fs bileşiklerinin sınıflandırılması (Çakır, 2015)

1.1.2. Ftalosiyanın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Fs bileşiklerinin en önemli fiziksel özelliği renkleri ve yüksek kararlılıklarıdır. Fs bileşiklerinin rengi Fs halkasına süstitüe olan ligandların kimyasal özellikleri ve Fs bileşiğinin kristal yapısına bağlı olarak maviden yeşile kadar farklılık göstermektedir (Barut, 2016). Renk tonunu ise kimyasal yapısının yanı sıra partikülün şekli, boyutu ve kristal yapısı önemli derecede etkileyip değiştirmektedir (Gökçe, 2013).

Fs bileşikleri oldukça yüksek kimyasal ve termal kararlılığa sahip olup çoğunun erime noktası çok yüksektir. Havada, 400-500 °C'ye kadar önemli bir bozunmaya uğramazlar. Vakumda ise metal komplekslerinin büyük bir kısmında 900 °C'den önce bozulma gözlenmez. Kuvvetli asitlere ve bazlara karşı dayanıklılık gösterirler (Albay, 2006). Fs bileşikleri kolaylıkla sülfolanırken, nitrik asitte bozulduklarından dolayı nitrolanmazlar. Makrosiklik halkadaki 18- π elektron sistemi, morötesi (UV) spektrumunda 400-700 nm arasında şiddetli absorpsiyona sebep olur. UV-Gör. spektrumunda karakteristik; 650-700 nm civarında dar, şiddetli Q- bandı ve 350 nm

civarında ise Soret (B) bandı gözlemlenir. Metallsiz Fs bileşiklerinde ise Q bandı ikiye (Q_x ve Q_y) bölünmüştür (Şekil 1.4) (Yalçınkaya, 2010).



Şekil 1.4 MPc (kırmızı) ve H₂Pc (mavi) UV/Gör. spektrumu (Namlı, 2013)

Fs bileşiklerinin büyük bir kısmında makrosiklik halka düzlemsel yapıdadır. Düzlemsellikten sapma $0,3 \text{ \AA}$ olurken Fs molekülünün kavitesinin çapı $1,35 \text{ \AA}$ ve kalınlığı $3,4 \text{ \AA}$ 'dur. Metalli Fs bileşiklerinin kararlı olmalarında Fs halkasının kavite çapı ile kaviteye yerleşecek metal iyonunun çapı arasındaki uyum oldukça önem taşımaktadır. Metal iyonunun çapı, Fs halkasının çapından küçük veya büyük olması durumunda metalli Fs kompleksi kararsız olur. Böyle durumlarda ise metal iyonu kaviteden kolaylıkla ayrılır (Gökçe, 2013).

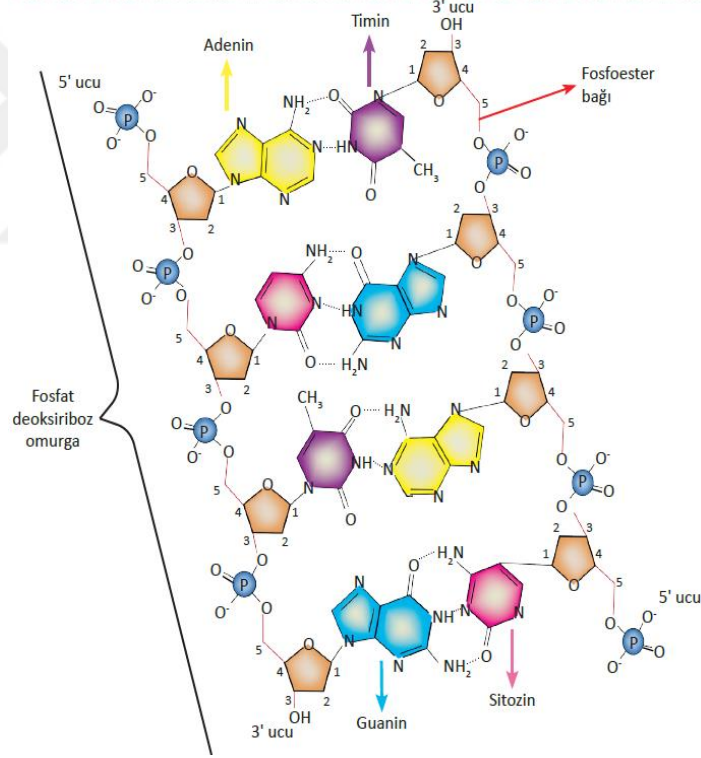
1.1.3. Ftalosiyanın Kullanım Alanları

Fs bileşikleri dayanıklı ve sağlam bir yapıya sahip olduklarından dolayı pigment ve boyar madde olarak kullanılırlar. Bunların yanı sıra yüksek teknolojide tıptan elektronik sanayiye kadar geniş bir kullanım alanına sahiptir. Fs bileşiklerinin genel kullanım alanları ise; boya ve pigment molekülü, katalizör, fotoiletken materyal ve gaz sensörü olarak kullanılır. Ayrıca elektron transfer ve yükseltme-indirgeme yeteneği nedeniyle; elektrofotografide, optik veri kayıt sistemlerinde, fotovoltajik hücrelerde, yakıt hücreleri ve elektrokromik görüntü araçlarında kullanılmaktadır (Harputlu, 2014; Yalçınkaya, 2010). Son zamanlarda ise biyosensör ve fotodinamik kemoterapötik ajan olarak kullanılmaktadır (Barut, 2016).

1.2. Deoksiribonükleik Asit (DNA) Yapı ve Özellikleri

DNA molekülünün yapısı ilk defa Watson ve Crick adlı araştırmacılar tarafından 1953 yılında tanımlanmıştır. DNA, tüm organizmalar ve bazı virüslerin canlılık işlevleri ve biyolojik gelişimleri ve kalıtları için gerekli olan genetik talimatları taşıyan bir nükleik asittir. DNA molekülünün iskeletini şeker- fosfat birimleri oluşturur ve bu moleküller fosfodiester bağı ile birbirine bağlıdır. DNA molekülünde bazlar genetik bilginin saklanması ve depolanmasından sorumlu iken, şeker ve fosfat gruplarının ise yapısal özellikleri vardır (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

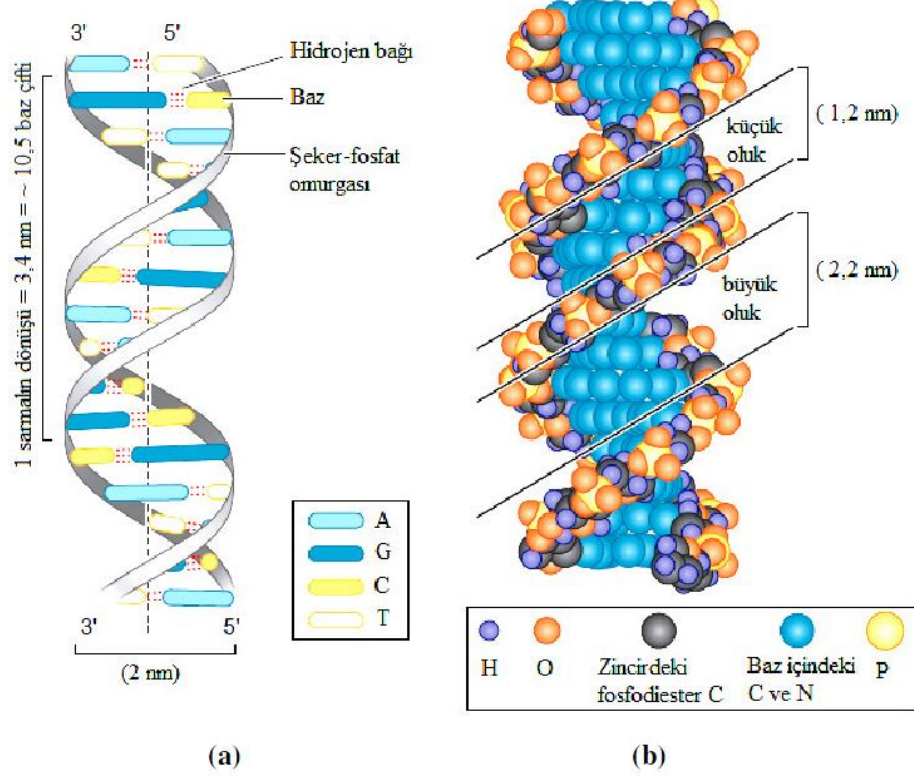
Her bir DNA zincirinde şeker molekülünün 3' karbonuna bağlı bir fosfat grubu diğer şeker biriminin 5' karbonu ile esterleşmiş durumdadır. Bu şekilde yeni şeker birimlerinin 3' ucuna bağlanması ile DNA zinciri 5' ucundan 3' ucuna doğru ilerler. Böylece fosfat - deoksiriboz iskeleti 5' →3' şeklinde bir ilerleme gösterir ve DNA dizilerinin okunması bu sıra doğrultusunda olur (Şekil 1.5) (Güner, 2007).



Şekil 1.5 DNA molekülünün yapısı (Gürcan, 2014)

James Watson ve Francis Crick tarafından önerilen DNA'nın üç boyutlu formuna B-DNA denir ve bir eksen boyunca sağa dönen birbirine antiparalel, çift zincir sarmaldan oluşmaktadır. Zincirlerden birinin 3'-OH ucu diğerinin 5'-P ucu ile aynı tarafta bulunmaktadır. DNA'nın omurgasını oluşturan deoksiriboz, hidrofilik özelliğe sahip ve negatif yüklü fosfat grubu, çift sarmalın dışa bakan yüzünde ve kendilerini

saran su moleküllerine dönüktür. Hidrofobik özellikte olan pürin ve pirimidin bazları ise çift sarmalın iç yüzünde ve ana eksene dik olarak yerleşmişlerdir. Heliksteki bu yerleşim Şekil 1.6'da görüldüğü gibi sarmallar arasında büyük ve küçük oluk oluşmasına neden olur (Hantz vd., 2001).



Şekil 1.6 (a) DNA'nın sarmal yapısı, **(b)** DNA sarmalında oluşan küçük ve büyük Oluklar (İçsel, 2013)

Çift sarmalın çapı 2,0 nm olup, birbirini takip eden bazlar 36° dönüş göstererek dizilmektedir. Ona yakın bazın arka arkaya gelmesi çift sarmalın bir tam dönüş yapmasına neden olmaktadır. DNA eksen boyunca çift zincir sarmalı meydana getirmektedir. DNA yapısında bulunan bazlar birbirine hidrojen bağları ile bağlıdır. Adenin (A) ve timin (T) arasında iki, guanin (G) ve sitozin (C) arasında üç hidrojen bağı bulunmaktadır (Şekil 1.5-6).

DNA'nın molekül ağırlığı, içerdiği baz çifti sayısına ya da içerdiği GC ve AT baz çiftlerinin yüzdesine göre hesaplanır. DNA'yı oluşturan bir çift nükleotidin ortalama molekül ağırlığı 660 Dalton'dur (İçsel, 2013).

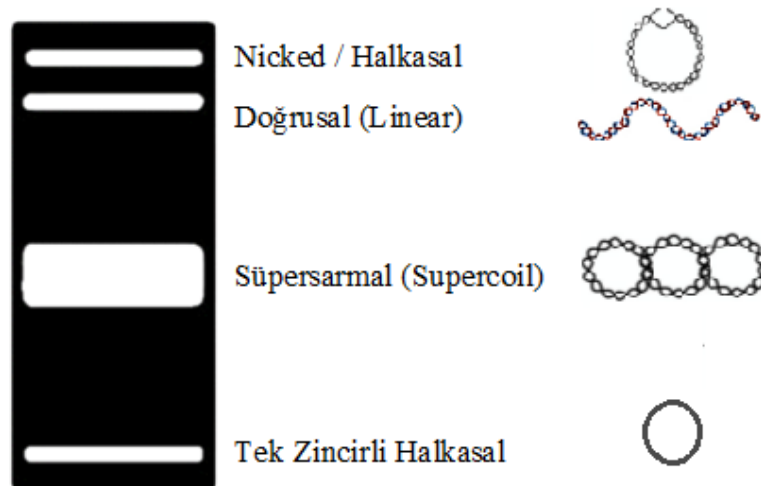
DNA'nın maksimum absorpsiyon verdiği dalgaboyu 260 nm'dir. UV ışığını, bazların konjuge aromatik yapılarına bağlı olarak soğurmaktadır. DNA'nın absorpsiyon özellikleri ise miktar tayininde ve saflığının belirlenmesinde kullanılır (Gürcan, 2014).

1.2.1. Plazmid DNA

Plazmidler, bakteri hücreleri içerisinde doğal olarak bulunan, çeşitli genetik bilgi taşıyan, bakteri kromozomunun dışında, bağımsız olarak replikasyona uğrama yeteneği olan dairesel çift zincirli DNA molekülleridir (Klug ve Cummings, 2000; Levinson ve Jawetz, 2008).

Plazmid DNA olmadan da bakteriler normal yaşamlarını sürdürebirler. Sebebi ise plazmid DNA bakterilere sonradan transfer olmuşlardır ve özel koşullar altında da bakteriden ayrılırlar. Plazmidler genellikle kromozom dışında olmalarına rağmen, bakteri kromozomu ile bütünleşebilirler. Bunlar bakterinin genomunda olmayan bazı özel karakterleri bakteriye kazandırarak avantaj sağlarlar. Bakterilerin, plazmidler tarafından kodlandığı bilinen fenotipik özellikleri, antibiyotiklere, ağır metal iyonlarına ve ultraviyole ışınlarına gösterdikleri direnç ile çeşitli enzim ve toksinleri oluşturma sayılabilir (Wing vd., 1980).

Plazmid DNA beş farklı konformasyonda bulunur. Bunlar; (i) çentikli, açık halkasal DNA, (ii) doğrusal DNA, (iii) gevşek halkasal DNA, (iv) süper sarmal DNA ve (v) denatüre tek zincirli halkasal DNA'dır. Çentikli (nicked) açık dairesel DNA'nın bir zinciri kesiktir. Doğrusal DNA'nın iki ucu açık, bir ucu da diğer ucuna takılı olmayan durumda bulunur. Gevşek halkasal DNA'da iki zincirde sağlamdır, ancak topoizomerez tarafından süpersarmal yapıları gevşetilmiştir (Klug ve Cummings, 2000; Funnel ve Philips, 2004). Plazmid DNA en çok süpersarmal formda bulunur (Şekil 1.7).



Şekil 1.7 Plazmid DNA'nın formları ve agaroz jel pozisyonları

1.3. DNA ile Küçük Moleküllerin Etkileşimi

DNA'nın moleküler yapısının keşfinin ardından, organizmaların fiziksel ve biyokimyasal özelliklerini üretebilen proteinlerin, DNA dizisi ile belirlendiği anlaşılmıştır. Buna göre gen ekspresyonu denilen bu süreçte, genetik bilgi DNA'dan RNA ve proteine doğru aktarılır. DNA'dan RNA sentezini ifade eden transkripsiyon, hücrelerin proliferasyonuna, farklılaşmasına ve homeostaziyi korumasına izin veren gen ifadesinin önemli bir belirleyicisidir. Bu süreçler, genlerin ekspresyonu için önemli bir moleküler "açma / kapama" anahtarı (switch on/off) görevi görür (Paul ve Bhattacharya, 2012).

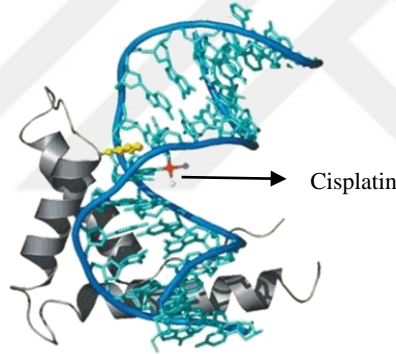
Nükleik asitler, metal iyonları, küçük organik moleküller, proteinler gibi birçok kimyasal ile etkileşime girer. DNA molekülü ile etkileşebilen kimyasallar, hücre proliferasyonunun iki temel mekanizmasını oluşturan replikasyon ve/veya transkripsiyona engel olabilme yeteneklerinden dolayı önemli terapötik ajan adaylarıdır. Bu nedenle tedavi amaçlı kullanılan ilaç moleküllerinin DNA ile etkileşiminin hızlı ve güvenilir yöntemlerle belirlenmesi, ilaç geliştirme çalışmaları için büyük önem taşımaktadır (Brana vd., 2001).

DNA'nın çift sarmal yapısının ilk kez 1953 yılında Watson ve Crick tarafından açıklanmasından kısa bir süre sonra Lerman, DNA ile küçük moleküller arasındaki etkileşime ait ilk çalışmayı yapmıştır (Lerman, 1961). Çalışma sonucunda, düzlemsel, aromatik akrinin molekülünün DNA'nın baz çiftleri arasına yerleştiği (interkalasyon) gösterilmiştir. İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalarda Rosenberg vd. tarafından cisplatinin DNA'ya kovalent olarak bağlandığı ve tümörün uzaklaştırılmasında son derece etkili bir ilaç olduğu gösterilmiştir (Rosenberg vd., 1967). Genomik ve plazmid DNA ile farklı ligandların etkileşimleri ve bunların antimikrobiyal etkinliklerine ait bazı çalışmalarda mevcuttur (Kawasaki vd., 2008; Yan vd., 2013; Bolhuis ve Aldrich-Wright, 2014; Hassani vd., 2013).

Ligandlar DNA ile kovalent ya da kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanma gerçekleştirirler. Küçük moleküllerin DNA'ya bağlanması, küçük moleküllerin yapısal özelliklerine, bazların dizilimine ve DNA moleküllerinin konformasyonuna bağlıdır (Strekowski ve Wilson, 2007).

1.3.1. DNA ile Kovalent Bağlanma

Çeşitli ilaç moleküllerinin sitotoksik etki gösterebilmesi için DNA ile kovalent etkileşim göstermesi gerekir. Klinikte rutin olarak reçete edilen platin kompleksleri (cisplatin, oksaliplatin), azot mustardlar (melfalan), nitroz üreler (lomustin) ve çapraz bağlanma ajanları (mitomisin C) ile halihazırda klinik denemeleri devam eden yeni bileşiklerin antitümör etkileri bu yöntemle gerçekleşir (David-Cordonnier vd., 2005). Başarılı antikanser ilaçlardan biri olarak bilinen cisplatin {cisdiamindikloroplatin(II), cis-[PtCl₂(NH₃)₂]}, DNA'daki iki komşu guanin bazının azot atomları [N(7)] ile kovalent bağlar oluşturur (Brabec ve Kasparkova, 2005). Cisplatinin DNA'ya kovalent olarak bağlanması geri dönüşümsüzdür. Cisplatin DNA ile etkileşime girdikten sonra DNA'nın replikasyonunu durdurur ve transkripsiyonu engeller. Cisplatinin, kanser tedavisindeki önemli başarısına rağmen, bazı tümörlerde direnç gelişiminin görülmesi ve birçok yan etkileri nedeniyle yalnızca belli kanser türlerinde etkilidir (Lippert, 1999).

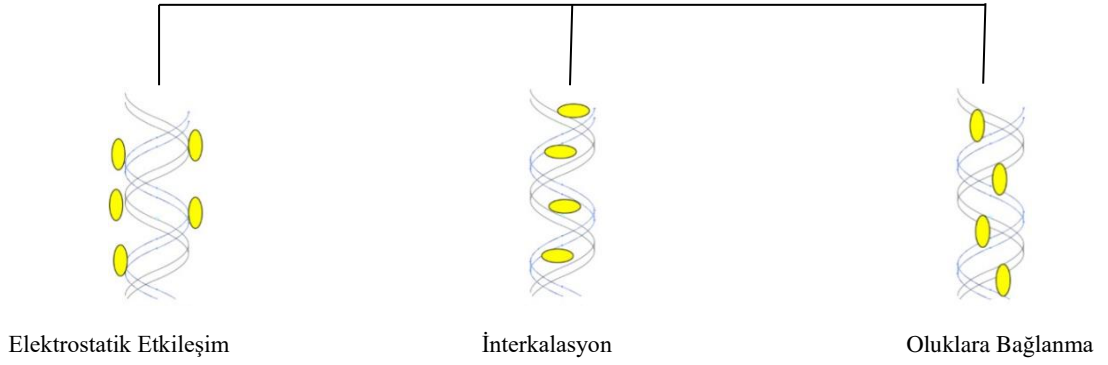


Şekil 1.8 Cisplatinin DNA'ya kovalent bağlanması (İçsel, 2013)

1.3.2. DNA ile Kovalent Olmayan Bağlanma

DNA ile kovalent olmayan etkileşimler 3 farklı şekilde gerçekleşir. Bunlar (i) elektrostatik etkileşim, (ii) oluğa bağlanma ve (iii) interkalasyon bağlanma olarak üç sınıfta incelenmektedir. Bu bağlanma çeşitleri moleküllerin geometrisine, büyüklüğüne ve stereokimyasal özelliklerine bağlıdır (Palchadhuri ve Helgenruther, 2007).

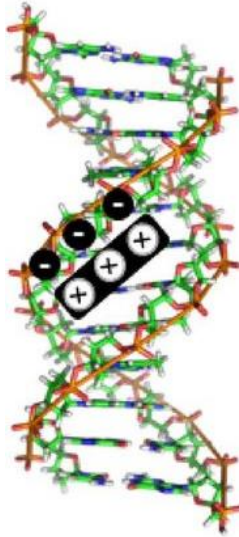
Kovalent olmayan etkileşimler



Şekil 1.9 DNA ile kovalent olmayan etkileşimler

➤ Elektrostatik Etkileşimler

DNA, alkali şartlarda negatif yüklü fosfat gruplarından oluşan polianyonik bir zincir olarak düşünülebilir. Bu durum, DNA ile elektrostatik etkileşimin genel olarak çift sarmalın dış yüzeyi boyunca meydana gelmesini sağlar. DNA ile çözeltideki metal iyonları arasında oluşan elektrostatik etkileşim DNA konformasyonunda kararlılık sağlar. Bu şekilde DNA'ya bağlanan yükler, bağlanma serbest enerjisine katkıda bulunan ve uygun bir entropiye neden olan organik katyonlar, diğer elektrostatik etkileşimler tarafından negatif fosfat omurga yükünün nötralleşmesi ile salınır (Blackburn vd., 2006).

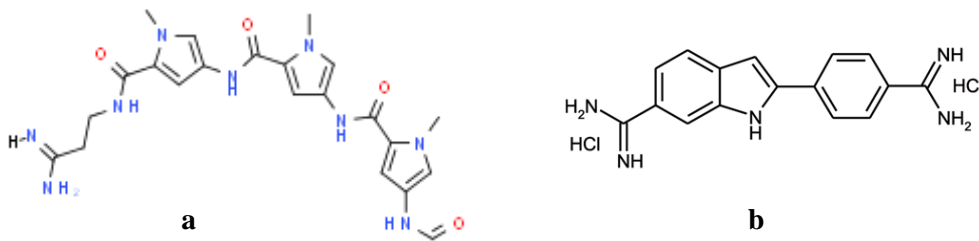


Şekil 1.10 Elektrostatik etkileşim (de Almeida vd., 2017)

➤ Oluklara Bağlanma

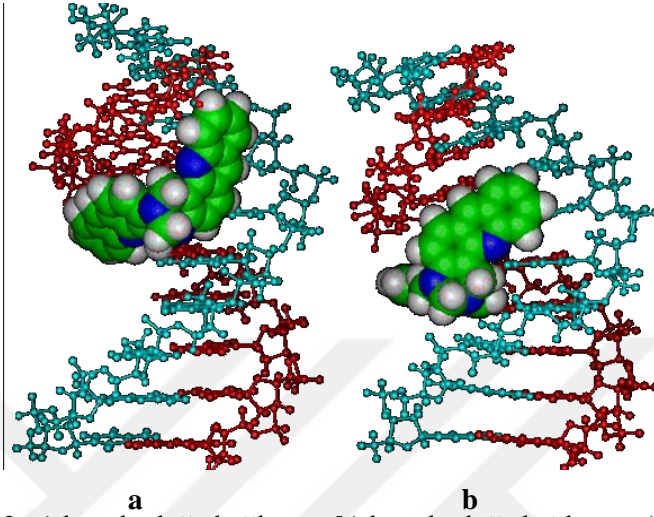
Bu eşleştirilmiş ipliklerin omurgası, içinde heterosiklik bazların kenarlarının açığa çıktığı sarmal olukları tanımlar. DNA çift sarmalının biyolojik olarak alakalı B-formu, sığ geniş ana oluk ve derin dar küçük oluk ile karakterizedir. Belirli bir DNA dizisindeki moleküler yüzeylerin kimyasal özelliği her iki olukta da farklıdır. Bu, dubleks DNA'nın küçük moleküller ve proteinler tarafından moleküler olarak tanınmasının temelini oluşturur. Çift sarmal DNA'nın yapısında küçük ve büyük oluk olarak adlandırılan iki ayrı oluk bulunmaktadır. Küçük moleküllerin çoğunluğu küçük olukları seçerken, proteinler ve oligonükleotidler gibi büyük yapılar büyük oluklara bağlanır. Oluklar arasında kimyasal özelliklerin farklı olmasının sebebi, elektrostatik potansiyel değişimi, hidrojen bağ karakteri, sterik etkiler ve hidrasyon yeteneği gibi etkenlerdir (Bischoff ve Hoffman, 2002).

Küçük oluklara bağlanan moleküller oluğun şeklini alarak van der Waals etkileşimlerin oluşumuna yardımcı olur ve bağlanmayı kolaylaştırır. Ayrıca, bu moleküller genellikle adenin ve timin bazlarının atomları ile hidrojen bağları oluşturabilmektedir. Küçük oluklara bağlanan moleküllerin büyük çoğunluğu, A-T oranı fazla olan dizilere bağlanır. Bunun sebebi A-T bölgelerinin G-C bölgelerinden daha dar olması, bu bölgede daha az sterik engel ve daha çok elektrostatik potansiyelin olmasıdır (Blackburn vd., 2006). Küçük oluklara bağlanan moleküllerin en yaygın olanları distamycin A doğal bileşiği ve sentetik diarilamidinler (DAPI ve pentamidin) olarak bilinmektedir (Şekil 1.11). Distamycin bir küçük oluk bağlayıcı olarak işlev gören bir poliamid - antibiyotiktir. Transkripsiyonu inhibe eder ve topoizomerez II'nin aktivitesini arttırır. Distamycin türevleri, tümörlerle savaşmak için alkilleyici antineoplastik ajanlar olarak kullanılır. Oluğa bağlanma etkileşimi gösteren moleküller genellikle uzun ve hilal şeklinde yapılara sahip olup, küçük ve büyük oluklardaki bazlarla etkileşime girerler (Şekil 1.12) (Barut, 2016).



Şekil 1.11 Küçük oluklara girebilen moleküller a) Distamycin A ve b) DAPI

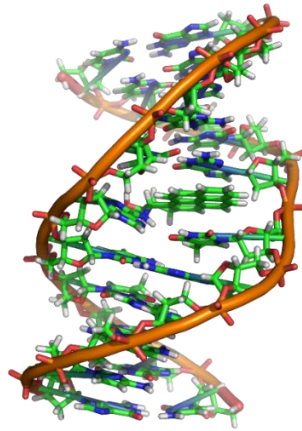
DNA bazları ile oluğa bağlanan moleküller arasında hidrojen bağları ya da van der Waals etkileşimleri gözlemlendiğinde DNA'nın yapısında büyük bir değişiklik meydana gelmez. Oluğa bağlanma, anahtar kilit modeline benzer bir yapıya benzetilerek tanımlanabilir (Dorin, 2010).



Şekil 1.12. a) küçük oluğa bağlanma b) büyük oluğa bağlanma (de Almeida vd., 2017)

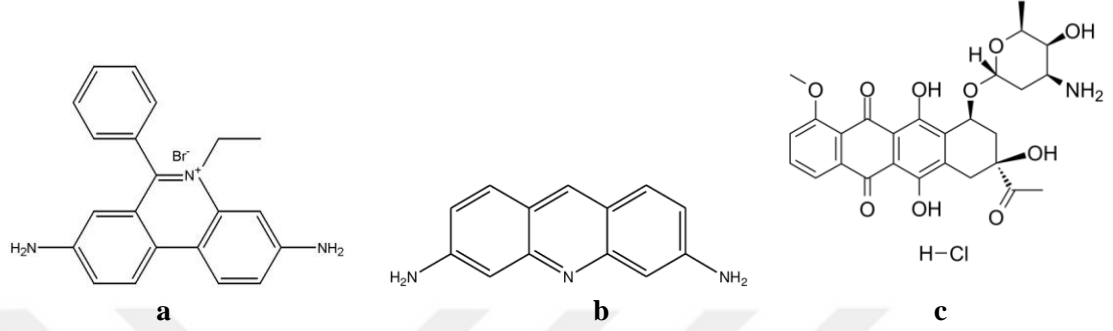
➤ İnterkalasyon Etkileşimler

Lerman tarafından 1961 yılında yapılan çalışmada akridin grubu boyanın DNA ile etkileşimi üzerine birtakım bulgular rapor edilmiştir. İnterkalasyon olarak adlandırılan bu modelde aromatik moleküllerin DNA'ya eksenine dik bir şekilde girerek kovalent olmayan bir etkileşim gösterdiğini açıklamıştır. İnterkalasyon etkileşimde, bağlanan molekülün DNA bazlarının arasındaki boşluğa uyması için şeker fosfat omurgasında değişiklikler meydana gelir (Martinez ve Garcia, 2005).



Şekil 1.13 İnterkalatör etkileşim (URL 3)

İnterkalasyon yapan moleküller DNA’da yapısal bozukluklara sebep olmaktadır. İnterkalatör molekül, bağlandığı iki baz çifti arasındaki mesafeyi artırır ve DNA'nın toplam uzunluğunun artmasına neden olur. Ek olarak, çift sarmalın bükülmesini etkiler. İnterkalatörlere örnek olarak etidyum bromür (EtBr), proflavin ve daunomycin gibi birçok madde sayılabilir (Barut, 2016).



Şekil 1.14 a) Etidyum Bromür, b) Proflavin, c) Daunomycin

Etidyum bromür (EtBr) aromatik, düzlemsel katyonik bir molekül ve floresan bir boyadır. Ayrıca bu molekül morötesi ışığa maruz bırakıldığı zaman turuncu bir renk ışıması yapmaktadır. Zayıf floresans etkiye sahip olan EtBr molekülü DNA ile güçlü bir interkalasyon yapar ve DNA yapısında EtBr’ün floresans şiddetini 20 kat artırır. Ayrıca bu özelliği jel elektroforez tekniğinde DNA görüntülemesinde kullanılmaktadır (Barut, 2016).

1.4. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT)

Işığın tedavi edici özelliği eski Mısır, Roma ve Yunan medeniyetlerinde yüzyıllar öncesinden bilinmektedir. *Fototerapi* olarak adlandırılan bu yöntem farklı hastalıkların tedavisinde günümüzde de kullanılmaktadır. Doğrudan ışığın sağaltıcı etkisinin görülmediği ve ışıkla birlikte ışığa duyarlı bir kimyasal ajanın kullanıldığı fototerapi yöntemi ise *fotokemoterapi* olarak adlandırılmaktadır. Prensip olarak, kendiliğinden sitotoksik olmayan, ışığa maruz bırakıldığında sitotoksik etki gösteren ışığa duyarlı bir kimyasal ajan ile bu kimyasal ajanın absorpsiyon bandıyla uyumlu dalgaboyuna sahip ışığın kullanıldığı fotokemoterapi yöntemine ise “*fotodinamik kemoterapi*” denir (Abdel-Kader, 2016).

Fototerapinin modern çağda kullanımı 1903 yılında Danimarkalı doktor Niels Finsen tarafından çiçek hastalığının tedavisinde rapor edilmiştir. Niels Finsen bu yöntemi deri tüberkülozu (*Lupus vulgaris*) hastalığının tedavisinde başarılı bir şekilde uygulamış ve bu çalışmasıyla Nobel ödülü kazanmıştır. AFDT olgusu ise, Oscar

Raab'ın akridin boyası uygulanmış *Paramecium* örneklerine ışık uygulandığında öldürücü etkisinin olduğunu tesadüfen gözlemlemesiyle bilinir olmuştur. Daha sonra 1905 yılında Von Tappenier vd., ışıkla aktive olabilen bir kimyasal ajan kullanarak hastalıklı hücreleri yok etmeyi başarmışlardır ve bu yöntemi “fotodinamik tedavi” olarak adlandırmışlardır (Abdel-Kader, 2016). FDT ilerleyen yıllarda kanser, enfeksiyon tedavileri ve dermatoloji çalışmalarının ilgi odağı olmuştur. Ancak, antibiyotiklerin keşfiyle antimikrobiyal uygulamalar için cazibesini kaybetmiştir. Antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların direnç geliştirmesi AFDT yöntemini yeniden gündeme taşımıştır. Son 20 yılda enfeksiyon hastalıklarıyla mücadelede alternatif bir yaklaşım olarak AFDT ile ilgili çalışmaların sayısında artış olmuştur (Wainwright vd., 2017; Maisch vd., 2004).

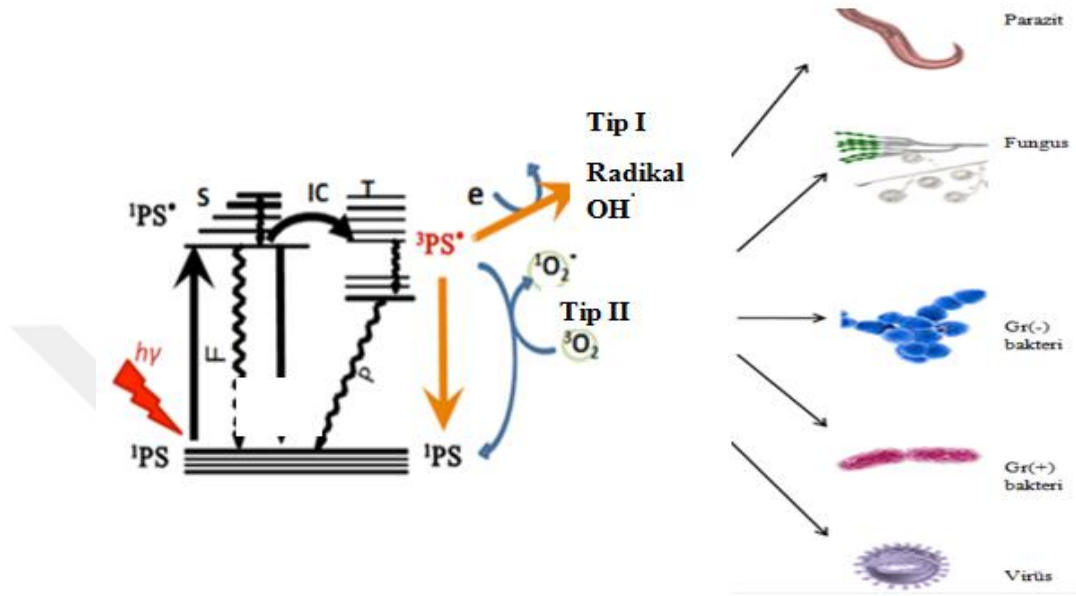
1.4.1. AFDT Etki Mekanizması

Fotodinamik terapi 20. yüzyılın başında tesadüfi olarak keşfedilmesinden bu yana hücrelerin, mikroorganizmaların ve moleküllerin ışık yoluyla inaktive edilmesi amacıyla birçok alanda kullanılmaktadır (Nyamu vd., 2018).

AFDT yöntemi, fotoduyarlaştırıcının ışık ile aktivasyonu sonucu oluşan reaktif oksijen radikallerinin, hücre yapı ve fonksiyonlarına geri dönüşümsüz olarak hasar vermesidir. AFDT temel olarak üç bileşenden oluşmaktadır. (i) Işık, (ii) Toksik olmayan fotoduyarlaştırıcı madde ve (iii) Moleküler oksijendir. AFDT, fotoduyarlaştırıcı maddenin hücreye alınması, belli bir dalga boyundaki ışık ile aktive edilmesi prensibine dayanmaktadır. Işığın uygulanması ile fotoduyarlaştırıcının aktive olması, hücreler ve mikroorganizmalar üzerinde yüksek toksik etkileri olan tekil oksijen veya diğer bazı reaktif ajanları ortaya çıkarır (Maisch vd., 2004; Konopka vd., 2007).

Fotoduyarlaştırıcının en çok emilim gösterdiği belirli dalgaboyunda en etkili reaksiyon oluşur. Belli bir dalga boyunda ve dozda verilen ışık, fotoduyarlaştırıcı tarafından absorblanmaktadır. Işık absorpsiyonu ile uyarılarak temel halden uyarılmış hale geçen fotoduyarlaştırıcı molekülün temel hale geçişinde fosforesans etki gösteren elektronların akışı sonucunda iki tip reaksiyon meydana gelmektedir (Şekil 1.15). **Tip 1** reaksiyonda, ışık tarafından yüksek triplet enerji durumuna uyarılan fotoduyarlaştırıcı, ortamda bulunan bir substrat ile reaksiyona girerek serbest radikallerin oluşmasına neden olur. **Tip 2** reaksiyonda ise ışık ile uyarılmış fotoduyarlaştırıcı, enerjisini moleküler oksijene transfer ederek yüksek derecede

reaktif olan tekil oksijen oluşturur. Oluşan bu tekil oksijen, aldığı enerjiyi transfer eder ya da karbon-karbon çift bağlı substratlarla tepkimeye girerek kovalent bağlanır. Oluşan bu serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri (ROT) geri dönüşümsüz olarak hücrel hasara ve protein inaktivasyonuna sebep olarak hücre ölümüne neden olurlar (O'riordan vd., 2005; Wainwright vd., 2017).



Şekil 1.15 Antimikrobiyal fotodinamik tedavinin şematik gösterimi (Hu vd., 2018)

1.4.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Kullanım Alanları

FDT, deri hastalıkları, diş tedavisi ve kanser hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Wardlaw, 2012; Oniszczuk vd., 2016). AFDT genel olarak lokal cilt enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak, endoskopi ve fiberoptik aletlerin gelişimine bağlı olarak farklı vücut bölgelerine ait enfeksiyonlarda da tedavi amaçlı kullanılabilir (Wainwright vd., 2017).

Fotoduyarlaştırıcı kimyasalların Gr (+) ve Gr (-) bakteriler, mantarlar, virüsler ve protozonlar gibi geniş spektrumlu AFDT etkinliğini gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Carpenter vd., 2015; Tegos, 2012). Bu nedenle yüksek AFDT etkinliğine sahip yeni fotoduyarlaştırıcıların sentezi ve terapötik kapasitelerinin araştırılması kritiktir (Scalise ve Durantini, 2005; Baltazar vd., 2015).

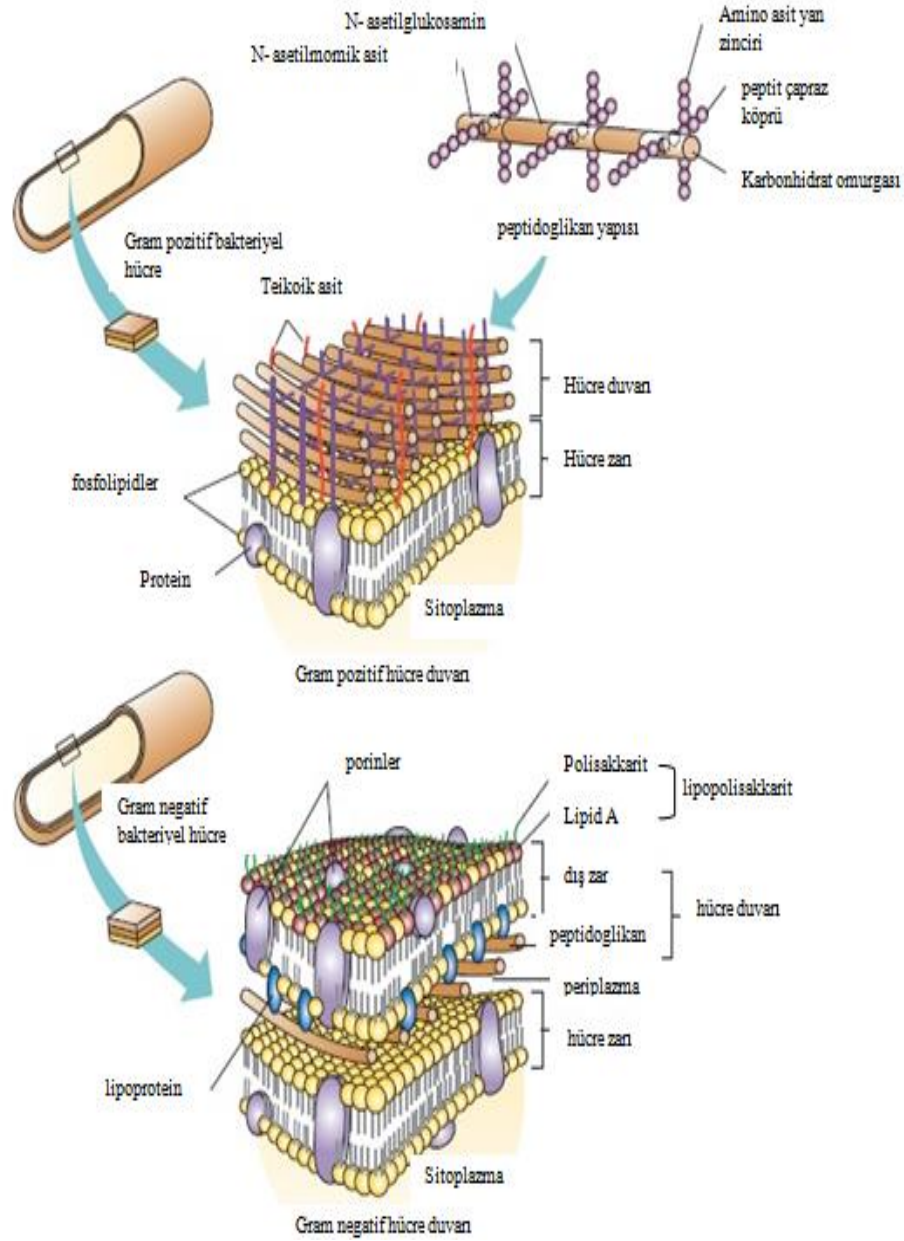
AFDT ile hastaların tedavisinde, mikroorganizmaya afinitesi olan fotoduyarlaştırıcı ajan, uygun ışık kaynağı ve doğru protokolle çalışmak oldukça önemlidir. Fotoantimikrobiyallerin aktivasyonu oldukça basit olup, lazer veya LED kullanılarak

aktif hale getirilebilir (Wainwright vd., 2017). Fotoaktivasyonda kullanılan ışık kaynağı seçilirken fotoduyarlaştırıcının özellikleri ve dokuya zarar verip vermediği gibi faktörlere dikkat edilmesi gerekmektedir. AFDT uygulamalarında enfeksiyon kaynağını yok edilirken, konak dokuya en az yan etki oluşmalı ya da hiç oluşmamalıdır (Baltazar vd., 2015).

1.4.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapinin Mikroorganizmalara Etkisi

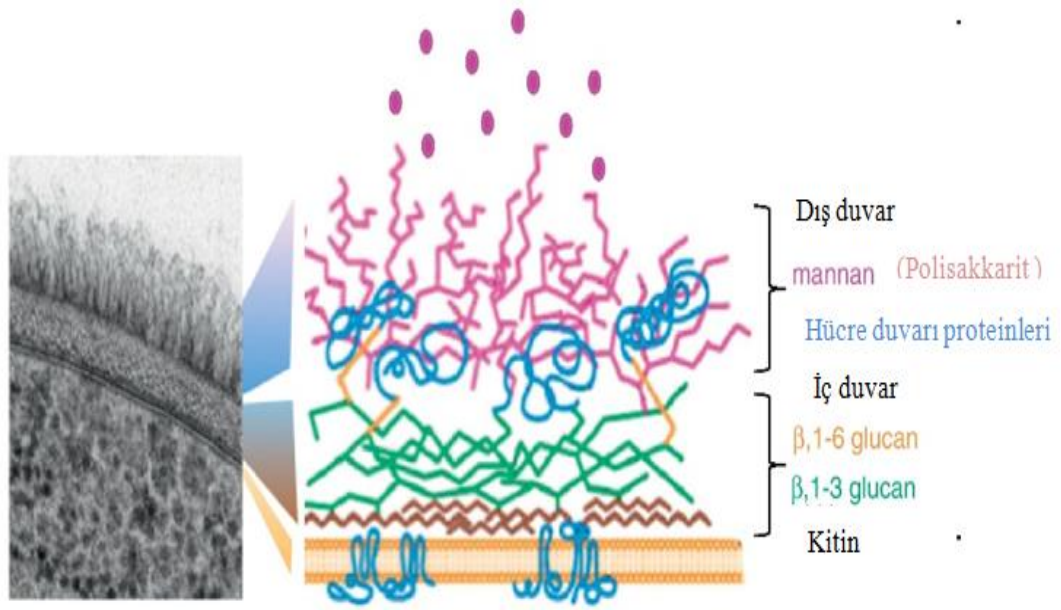
Son yıllarda ki AFDT araştırmaları, fotoduyarlaştırıcı moleküllerin, kimyasal yapılarının yanısıra iyonik yüklerinin etkinliğine dikkat çekmektedir. Bu sebepten dolayı, mikroorganizmaların hücre dışı yapılarındaki farklılıklar fotoduyarlaştırıcı seçiminde kritik noktalardır (Gabor vd., 1997).

Mikroorganizmaların hücre duvar/zar yapısındaki farklılıklardan dolayı, fotoduyarlaştırıcıların iyonik yükleri ile etkileşmeleride farklılık gösterir (Gobar vd., 1997; Wardlaw vd., 2012) (Şekil 1.19). Katyonik fotoduyarlaştırıcı maddeler Gr (+) bakterilere etkili bir şekilde bağlanıp, görünür ışıkla inhibe ederken, Gr (-)'lerin aynı dozda ve ışıkta inhibasyona uğramadıkları gözlenmiştir. Katyonik fotoduyarlaştırıcıların Gr (+) bakterileri inhibe etmeleri, hücre duvar yapısında bulunan anyonik teikoik asit yapıdan kaynaklanmaktadır. Gr (-) bakterilerin, peptidoglikan yapısını dıştan örten lipid tabakasının üzerinde düşük bir geçirgenliğe sebep olan yoğun bir anyonik lipopolisakkarit tabaka bulunmaktadır. Bu yapı oluşturduğu sterik etki ile ligand moleküllerin hücre duvarını geçmesini engellemektedir (O'Riordan vd., 2005; Sperandio vd., 2013; Ruiz-Gozalet vd., 2015). Buna karşın, katyonik Zn Fs'nin bileşiklerinin Gr (-) bakterilerin membran yapısını bozmadan etkili olduğu gözlenmiştir (Scalise ve Durantini, 2005).



Şekil 1.19 Gr (+) ve Gr (-) bakteri duvarı yapısı (Pommerville., 2010)

Candida gibi mantarların hücre duvarı, ligandlara karşı, Gram (+) ve Gram (-) bakteriler arasında bir geçirgenlik gösterir (Sperandio vd., 2013). Bu nedenle, fotodinamik terapi bakteriler üzerinde olduğu kadar mantarlar üzerinde de etkili görülmektedir (Wainwright vd., 2017).



Şekil 1.20 Fungus hücre duvarı yapısı (Gow ve Hube, 2012)

Ftalosiyanimle, diğer ışığa duyarlılaştırıcılara kıyasla yapısına birçok elementin dahil edilmesine izin veren olağanüstü fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Kimyasal esnekliği periferik pozisyonda farklı süstitüentlerin bağlanmasını mümkün kılar ve birçok kullanıma sahip olmasını sağlar (Nyamu, 2018; Ertem vd., 2008). Bu özellikleri ftalosiyanimlerin, mikropların fotodinamik inaktivasyonunda etkinlik göstermesini mümkün kılar. Fs bileşikleri farklı türevler tasarlamak için geniş bir yelpaze sunar. Fs bileşiklerinin antimikrobiyal özellikleri temel olarak **Tip II** kimyasal reaksiyonu sonucu üretilen sitotoksik tekli oksijenden kaynaklanır. Antimikrobiyal olarak kullanılacak iyi bir ftalosiyanimin, tekli oksijen üretmek için yüksek kuantum verime sahip olması istenir (Nyamu vd., 2018).

1.5. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

1.5.1. *Pseudomonas aeruginosa*

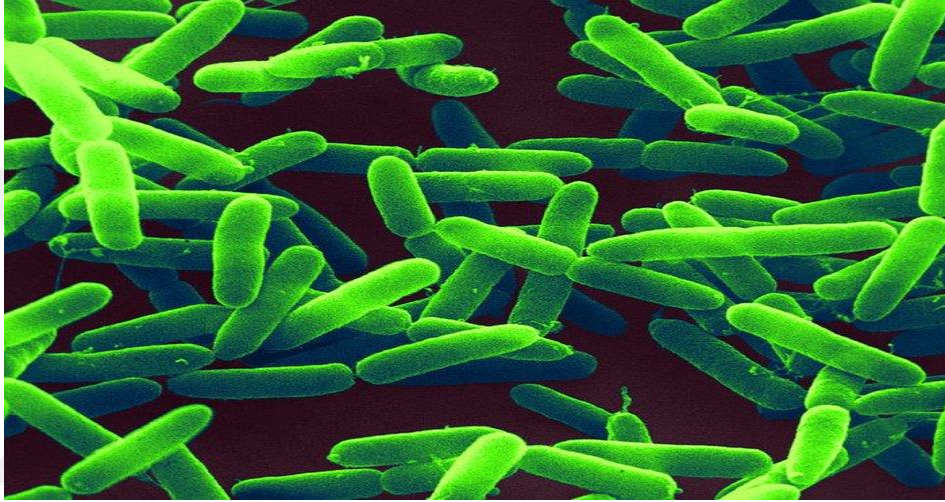
Pseudomonas aeruginosa, 1850'de Sedlitz tarafından tanımlanmıştır. Ancak bu organizma, Gessard tarafından 1822'de saf kültür halinde izole edilmiştir. Daha sonraki yıllarda ise bakteri olduğu tanımlanmıştır (Aydın, 2001).

P. aeruginosa, uzunluk olarak değişiklik göstermesine rağmen, 1,5-3 µm genişliğinde, bazen ikili bazende kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz ve çubuk (basil) şeklinde aerob bakteridir. Gr (-) olup kolay boyanırlar (Davis vd., 1968). Sıvı besiyerinde yüzeyde zar şeklinde yoğun bir yapı oluştururlar. Homojen

bir üreme gösterirler ve zarın hemen altında mavi yeşil pigment ayırt edilir. Katı besiyerinde ise üç tip koloni oluştururlar (İlgaz, 1999).

P. aeruginosa, ısıya dirençsiz bir bakteridir. Çevre sıcaklığında sulara karıştığında aylarca canlı kalabilirler. Hastane ortamında organik kalıntıların bulunmasına bağlı olarak uzun süre canlı kalabilmektedir (Şen ve Halkman, 2006).

Yapmış olduğu hastalıklara kısaca değinecek olursak, idrar yolu, göz, dış kulak, orta kulak, yanık ve yara enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Yeni doğan çocuklarda ölümle sonuçlanan epidemik ishale neden olduğu bildirilmiştir (Şen ve Halkman, 2006).



Şekil 1.21 *Pseudomonas aeruginosa* görüntüsü (Dosunmu vd., 2015)

1.5.2. Staphylococcus aureus

Stafilokoklar ilk kez 1878’de Robert Koch tarafından tanımlanmıştır. Yaklaşık 1 µm çapında ve tekli, ikili, dörtlü hücreler halinde bulunabilirler, üç veya dört hücreden oluşan zincirler yapabilirler ve düzensiz üzüm salkımı benzeri kümeler oluşturabilirler. *Staphylococcus aureus*’a ait koloniler geniş, düz ve yarı şeffaf görünümlüdür. Renkleri krem-sarı, portakal rengi pigmentasyon gösterirler. Kolay boyanırlar ve Gr (+)’lerdir. Sporsuz ve kapsülsüzdürler (Waldvogel, 2000).

S. aureus, hem oksijenli hem de oksijensiz ortamda üreyebilirler. Oldukça dayanıklı bakterilerdir (Bilgehan, 2000). Stafilocoklar birçok gıda üzerinde yaşayabilir ve gıdaların dezenfeksiyonu iyi yapılmadığında gıda zehirlenmesine sebep olurlar. Bunun sonucunda da kusma, bulantı, ishal ve karın ağrısı gibi belirtilerle ortaya çıkar (Murray, 2005). Ciddi lokal ve sistemik komplikasyonlara yol açabilen patojenler olan *S. aureus* sellülit, apse ve cerrahi sonrası enfeksiyonlar gibi en yaygın bakteriyel enfeksiyonların etkenidir. *S. aureus*, küçük cilt enfeksiyonlarından pnömoni,

menenjit, osteomyelit, endokardit, toksik şok sendromu, bakteriyemi ve sepsis gibi hayatı tehdit eden hastalıklara kadar bir dizi hastalığa neden olabilmektedir. Son 60 yılda, bu bakterilerin ve diğer mikropların neden olduğu bulaşıcı hastalıklarla mücadelede antibiyotikler kritik öneme sahiptir. Günümüzde hastanelerde enfeksiyona neden olan bakterilerin yaklaşık % 70'i tedavi için en yaygın kullanılan ilaçlardan en az birine karşı dirençlidir. *S. aureus* tehdidi sadece dağılımı ve patojenitesinden değil, aynı zamanda antimikrobiyal ajanların üstesinden gelme yeteneğinden de kaynaklanmaktadır (Chen vd., 2016).



Şekil 1.22 *Staphylococcus aureus* SEM görüntüsü (Kong vd., 2018)

1.5.3. *Candida albicans*

1920'li yılların başında Roth Berkhout ağızda oluşan pamukçukların etkeni olan mikroorganizmanın *Candida* olduğunu belirtmiştir. 1940'lı yıllardan itibaren antibiyotiklerin kullanımının artmasıyla *Candida* enfeksiyonlarının sıklığının arttığı görülmüş ve konuyla ilgili çalışmalara ağırlık verilmiştir (Filler vd., 2002).

Ökaryot, klorofilsiz mikroorganizmalar olan mantarlar genellikle yuvarlak ya da oval şekillidirler. Hücre duvarları serttir, kitin ve selüloz içerir. Genellikle tek ya da çok hücreli olup, birden fazla çekirdek bulunur. Tomurcuklanarak ürerler. *Candida* türleri ince duvarlı, oval, kapsülsüzdür. Fakültatif anaerob mayalardır (Koneman vd., 1997).

Candida albicans insanda ağız, boğaz, gastrointestinal sistem gibi mukoza normal florasın da bulunmakla birlikte patojen olarak tüm vücut bölgelerinden izole edilmektedir. *C. albicans* doğada memelilerin dışında bitkilerde, toprak ve suda da bulunabilirler (Yücel, 1999).

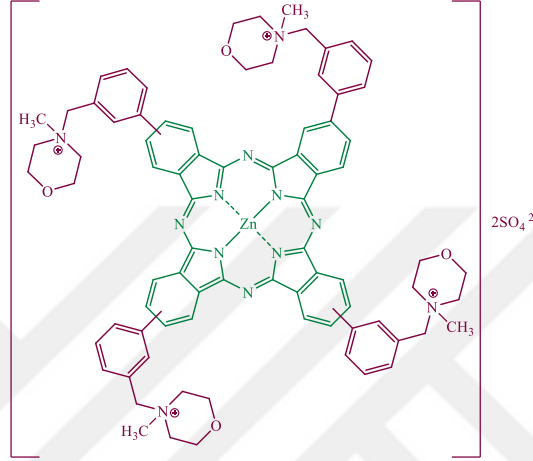


Şekil 1.23 *Candida albicans* mikroskop görüntüsü (López-Ribot, 2005)

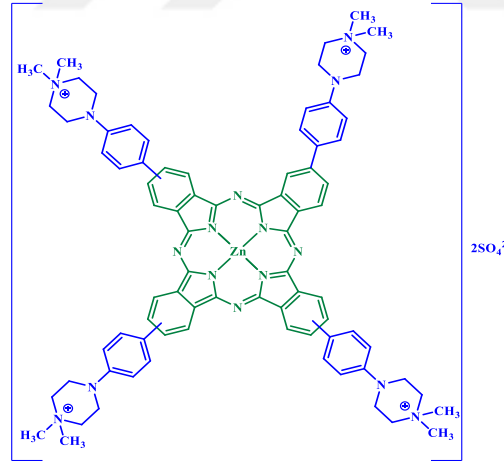


2. MATERYAL VE METOD

Çalışmada kullanılan suda çözünür, morfolin ve piperazin grupları içeren çinko ftalosiyanın bileşikleri Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mahmut DURMUŞ tarafından sentezlenerek saflaştırma ve karakterizasyonu yapıldı. Tez kapsamında, çinko ftalosiyanın bileşiklerinin farklı DNA molekülleri ile olan etkileşimleri belirlenerek, antimikrobiyal fotodinamik kemoterapi uygulamaları gerçekleştirildi.



Fs1. 2(3),9(10),16(17),23(24)-Tetrakis{4-[4-(N-metil)metilpiperazin-1-yl]} ftalosiyaninato çinko(II) sülfat (MA:1338,958 g/mol)



Fs 2. 2(3),9(10),16(17),23(24)-Tetrakis[3-(4-N-metilmorfolinilmetil)benzen] ftalosiyaninato çinko(II) sülfat (MA:1334 g/mol)

Şekil 2.1 Çalışmada kullanılan Fs bileşikleri

2.1. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Besiyerleri

DNA bağlanma çalışmalarında tüm çözeltiler 150 mM KCl içeren Tris-HCl tamponunda hazırlandı. Çözelti pH'ları Sartorius Basic marka pH metre (cam elektrod) ile kontrol edildi. pH metre kalibrasyonu haftalık olarak yapıldı.

Çizelge 2.1 Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	Marka
Agar	Acumedia
BaCl ₂ .2H ₂ O	Merck
ct-DNA	Sigma Aldrich
EDTA	Applichem Panreac
EtBr	Biomatik
Glasiyel asetik asit	Merck
Glukoz	Merck
H ₂ SO ₄	Merck
HCl	Sigma Aldrich
KCl	Merck
MHA (Mueller Hinton Agar)	Biolab
MHB (Mueller Hinton Broth)	Himedia
NaCl	Merck
NaOH	Merck
Pepton	Conda
Potasyum asetat	Merck
SDS	Merck
Tris base	Merck
Tripton	Merck
Yeast Extract	Merck

A. DNA Bağlanma alışmaları

(i) Tris-HCl tamponu

<u>Kimyasal</u>	<u>Derişim (mM)</u>	<u>Miktar (g)</u>
Tris base	10	1,2114
EDTA	1	0,2923
KCl	150	11,19

Her bir kimyasal için hesaplanan miktarlar tartularak bir miktar dH₂O içerisinde ozdrld. HCl ile pH 7,4'e ayarlandı. Son hacim 1 L'ye dH₂O ile tamamlandı. HCl ile pH 7,4'e ayarlandı. Hazırlanan tampon +4  Cde saklandı.

(ii) ct-DNA ve Plazmid DNA ozeltileri

✓ ct-DNA

Ticari olarak satın alınan ct-DNA firma tarafından önerilen değerler dikkate alınarak dH₂O içerisinde 70 mM olacak şekilde hazırlandı. DNA'nın derişimi 260 nm dalga boyunda okunan absorbans değerlerinden kontrol edildi (Shimadzu UV-1800).

✓ Plazmid DNA

Plazmid DNA izolasyonu GF-1 Plazmid DNA Extraction kiti (Vivantis, Malezya) ve alkali lizis protokolü uygulanarak iki farklı şekilde gerçekleştirildi (Sambrook vd., 1989). Elde edilen DNA moleküllerinin kalite ve kantitesi spektroskopik ve jel elektroforezi yöntemleri ile görüntülendi.

Alkali Lizis Plazmid DNA  zolasyonu (Sambrook vd., 1989)

✓ Kullanılan tampon ve ozeltiler

➤ Listeria Broth (LB)

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktar (g)</u>
Trypton	10
Yeast Extract	5
NaCl	10

Belirtilen miktarlarda tartılan kimyasallar bir miktar dH₂O içerisinde ozdrld. pH 7'ye ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. 121  C'de 15 dk otoklavlanarak +4  C'de saklandı.

➤ **Alkali lizis çözeltisi 1**

<u>Kimyasal</u>	<u>Derişim (mM)</u>	<u>Miktar (g)</u>
Glukoz	10	0,9
Tris base	25 (pH 8,0)	0,3
EDTA	10 (pH 8,0)	0,29

Her bir kimyasal için hesaplanan miktarlar tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. Son hacim 100 mL'ye dH₂O ile tamamlandı., 121 °C'de 15 dk otoklavlandı ve +4 °C'de saklandı.

➤ **Alkali lizis çözeltisi 2**

<u>Kimyasal</u>	<u>Derişim</u>	<u>Miktar (g)</u>
NaOH	0,2 N	2
SDS	% 0,1	2

Belirtilen miktarlarda tartılan kimyasallar bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. Son hacim 100 mL olacak şekilde taze olarak hazırlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

➤ **Alkali lizis çözeltisi 3**

<u>Kimyasal</u>	<u>Derişim (M)</u>	<u>Miktar (mL)</u>
Potasyum asetat	5	60,0
Glasiyel asetikasit	-	11,5
dH ₂ O	-	28,5

Solüsyon 100 mL olacak şekilde hazırlandı ve -20 °C'de saklandı.

Plazmid DNA İzolasyon Protokolü

1. Plazmid DNA izolasyonu için kanamisin içeren LB besiyeri ortamında 24 saat, 37 °C'de inkübasyona bırakılan *E. coli* (DH5a) bakterisi kullanıldı.
2. İnkübasyon sonrasında, sıvı besiyerinden 1,5 mL temiz mikrosantrifüj tüplere alındı. Bakteriler, bir sanrifüj yardımı ile, 200 g'de çöktürüldü (Hettich). Pellete dikkat edilerek ve üst faz uzaklaştırıldı.
3. Bakteriyel pelleti üzerine, 100 µL soğuk *Alkali lizis çözeltisi 1* eklendi ve vorteksleme ile tekrar süspanse edildi.

4. Her bir bakteri süspansiyonuna 200 µL taze hazırlanmış *Alkali lizis çözeltisi 2* ilave edildi. Tüpler sıkıca kapatıldı ve beş-altı kez alt üst edilerek karıştırıldı. Tüpler buz üzerine alındı.
5. 150 µL soğuk *Alkali lizis çözeltisi 3* eklendi. Tüp sıkıca kapatıldı ve beş-altı kez alt üst edilerek karıştırıldı. Tüp buz içinde 5 dakika bekletildi.
6. Bakteriyel lizat 5 dakika boyunca 200 g'de santrifüjlendi. Süpernatat yeni temiz bir tüpe aktarıldı.
7. Üzerine eşit hacimde fenol : kloroform (v:v, 25:24) eklendi. Organik ve sulu fazları vorteksleyerek karıştırıldı ve sonra emülsiyon 2 dakika boyunca santrifüjlendi. Sulu üst faz yeni bir tüpe aktarıldı.
8. Oda sıcaklığında 2 hacim soğuk saf etanol ilave edilerek DNA çöktürüldü. Solüsyon vortekslenerek karıştırıldı ve oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi.
9. 5 dakika 200 g'de santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı.
- 10.
11. Pellet 1 mL % 70'lik etanol ile yıkandı. DNA'nın geri kazanımı için 2 dakika 200 g'de santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı.
11. Tüpün ağzı açık şekilde oda sıcaklığın da bekletilerek kalan alkolün uzaklaştırılması sağlandı.
12. Pellet 50 µl 1xTE'de (pH 8,0) çözdürülerek ve -20 °C'de saklandı.
13. İzole edilen plazmid DNA'nın konsantrasyonu nanodrop (Thermo) cihazıyla belirlendi ve çalışmalar için 70 mM'a seyreltirildi.

(iii) Ftalosiyanın Çözeltileri

Fs çözeltilerinin stok derişim $1,5 \times 10^{-4}$ M olacak şekilde, 150 mM KCl içeren 50 mL Tris-HCl tamponunda çözdürüldü.

(iv) Etidyum Bromür Çözeltisi (10 mg/mL)

EtBr (Biomatik) ticari olarak satın alınan 10 mg/mL derişimde kullanıldı. Çözelti +4 °C de, ışık almayacak şekilde saklandı.

(v) 10xTBE (Tris- Borik asit- EDTA) çözeltisi

<u>Kimyasal</u>	<u>Derişim (M)</u>	<u>Miktar (g)</u>
Tris base	0,89	107,815
Borik Asit	0,89	55,029
EDTA	0,01	3,7224

Hesaplanan miktarlar tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 8,2'ye ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti 121 °C'de 20 dk otoklavlanarak +4 °C'de saklandı.

B. Antimikrobiyal Aktivite ve Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi Çalışmaları

(i) Nutrient Broth Besiyeri (NB)

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktar (g)</u>
Pepton	5
Yeast Extract	3

Belirtilen miktarlarda tartılan kimyasallar bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 7'ye ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak +4 °C'de saklandı.

(ii) Nutrient Agar Besiyeri (NA)

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktar (g)</u>
Pepton	5
Yeast Extract	3
Agar	12

Kimyasallar belirtilen miktarlar da tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 7'ye ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak petrilere yaklaşık 25 mL olacak şekilde döküldü. Hazırlanan besi yerleri +4 °C'de saklandı. Kullanmadan önce 37 °C'de 1 gece inkübe edildi.

(iii) Mueller Hinton Broth (MHB)

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktar (g)</u>
MHB	34

Hesaplanan miktarlar tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 7'ye ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamladı. 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak +4 °C'de saklandı.

(iv) Mueller Hinton Agar (MHA)

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktar (g)</u>
MHA	34

Hesaplanan miktarlar tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 7'ye ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak petrilere yaklaşık 25 mL olacak şekilde döküldü. Hazırlanan besiyerleri +4 °C'de saklandı. Kullanmadan önce 37 °C'de 1 gece inkübe edildi.

(v) Ftalosiyanın Çözeltileri

Stok derişim Fs 1 için 2 mM, Fs 2 için ise 1 mM olacak şekilde dH₂O içerisinde çözdürülerek hazırlandı.

(vi) 0,5 McFarland standardı

McFarland cihazının kalibre edilmesi ve bakteri koloni sayımlarında kullanılan (cfu/mL) değerlerinin tahmininde kullanıldı. 0,5 McFarland standartına göre yapılan ölçümlerin doğruluğunu test etmek için Biosan marka McFarland cihazı ile kontrolü yapıldı.

%1'lik Sülfürik Asit Çözeltisi

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktar (mL)</u>
H ₂ SO ₄	1

90 mL dH₂O içerisine 1 mL H₂SO₄ eklendi. Son hacim dH₂O ile 100 mL'ye distile su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltinin ağzı kapatılarak oda sıcaklığında saklandı.

%1,175'lik Baryum Klorür Çözeltisi

<u>Kimyasal</u>	<u>Miktar (mg)</u>
BaCl ₂ .2H ₂ O	1,175

BaCl₂.2H₂O tartılarak 50 mL dH₂O içerisinde çözüldü. Son hacim dH₂O ile 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltinin ağzı kapatılarak oda sıcaklığında saklandı.

0,5 McFarland standardının hazırlanması

Hazırlanan sülfürik asit çözeltisinden 99,5 mL alınarak üzerine BaCl₂.2H₂O çözeltisinden 0,5 mL eklendi. İyi karıştırılan çözeltinin Uv-Gör. spektrofotometrede 625 nm'de absorbansı 0,08-0,1 arasında ayarlandı. Hazırlanan çözeltiden 10 mL alınarak deney tüpüne kondu. Ağzı hava almayacak şekilde parafilm ile kapatılarak oda sıcaklığında saklandı. Çözelti her kullanımdan önce vortekslendi.

2.2. Ftalosiyenin Bileşiklerinin DNA Bağlanma Özelliklerinin Araştırılması

DNA -ligand komplekslerinin etkileşim tiplerini incelemek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları UV-Gör, floresans ve circular dikromizm spektroskopi teknikleridir. Çok sayıdaki teknikler arasından özellikle, UV-Gör. ve floresans spektroskopi yöntemleri, küçük moleküllerin DNA ile etkileşimlerinin spektroskopik pik cevaplarındaki yoğunluk ve pozisyon değişiklikleriyle deneysel olarak takip edilebilmesinden dolayı tercih edilmektedir.

Antikanser, antimikrobiyal ilaç moleküllerinin DNA ile etkileşimi tedaviler için çoğu durumda kritik adımdır. Bu yüzden öncelikle ligandların ct-DNA ve plazmid DNA'ya bağlanması öncelikli olarak UV-Gör. ve floresans absorpsiyonu kullanılarak çalışılır.

2.2.1. Uv-Gör. Spektrofotometre Deneyleri

DNA-Fs etkileşimi UV-Gör spektrofotometrede titrasyon yöntemi kullanılarak çalışıldı. Okumalar 3 mL hacimde, 1 cm ışık yollu kuvarz küvetlerde Shimadzu UV-1800 model spektrofotometre (Japonya) cihazında yapıldı. Çalışma, sabit Fs çözeltisi üzerine, artan miktarlarda ct-DNA'dan (ve plazmid DNA) eklenmesiyle gerçekleştirildi. Tüm çözeltiler Tris-HCl (pH 7,4) tamponu ile seyreltilerek çalışıldı. Çözeltilerin spektrumları 190–800 nm dalgaboyları arasında tampon çözeltiye karşı izlendi. Eklenen DNA moleküllerinin, ftalosiyenin bileşiğine ait Q- bandı üzerine olan etkisi araştırıldı. Okumalar pikler sabitleninceye kadar devam ettirildi. Uygulamalar üç tekrar olacak şekilde çalışıldı. Spektrofotometrik absorbans değerleri Benesi-Hildebrand denklemi ile işlenerek bağlanma sabitleri (K_{BH}) hesaplandı.

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{(\Delta A)_{\infty}} + \frac{1}{(\Delta A)_{\infty} K [DNA]}$$

Şekil 2.2 Benesi Hildebrand denklemi

2.2.2. Floresans Yerdeğiştirme Deneyleri

Ligandların DNA ile etkileşimini daha ileri düzeyde ortaya koymak amacıyla iyi bilinen bir interkalatör ajan olan EtBr kullanılarak gerçekleştirildi. Okuma DNA-EtBr kompleksi üzerine Fs bileşikleri eklenerek yarışmalı bağlanma denemesi şeklinde gerçekleştirildi. Floresans çalışma aralığı 526-600 nm olarak ayarlandı. 526 nm'de maksimum absorpsiyona sahip olan serbest EtBr'ün DNA ile etkileşmesi sonucu absorbanstaki düşmeyle beraber, absorbansı daha yüksek dalgaboyuna

kaymaktadır. Bu durum, EtBr'nin DNA baz yığınları arasına interkalasyonunun bir göstergesidir.

Floresans yerdeğiştirme alışmaları Agilent Carry Eclipse Spektrofluorometre (USA) cihazında yapıldı. Deneyler için sabit DNA - EtBr derişimlerine artan miktarda Fs özeltisi eklendi. Oda sıcaklığında 10 dk inkübasyon ardından floresans emisyon spektrumları tarandı. EtBr denemeleri için uyarma dalga boyu 526 nm olarak ayarlandı. Ölçümlere emisyon değeri sabit kalana ya da sıfırlanana kadar devam edildi. Floresans emisyon şiddeti verileri, Stern-Volmer denklemi ile işlenerek Stern-Volmer grafikleri çizildi. Stern-Volmer grafiğinin doğrusal olduğu derişim aralığı için K_{SV} sabitleri hesaplandı. alışmalar üç tekrar olacak şekilde gerçekleştirildi.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[FS]$$

şekil 2.3 Stern-Volmer denklemi

2.2.3. Jel Elektroforezi Yöntemi

Jel elektroforezi çalışmaları için örnekler, DNA derişimi sabit tutularak, üzerine farklı derişimlerde Fs çözeltileri eklenerek hazırlandı. Hazırlanan örnekler % 0,8'lik agaroz jelde 2 V/cm akımda yürütüldü. Yürütmeler 1xTBE (Tris-borik asit-EDTA) tamponu içerisinde gerçekleştirildi. DNA'nın görüntülenebilmesi için agaroz jel hazırlanırken ortama EtBr (10 mg/mL) ilave edildi. UV ışık altında incelendi.

2.2.4. CD (Circular Dichroism) Spektrofotometre Deneyleri

Fs bileşiklerinin DNA etkileşimlerinin DNA konformasyonunda oluşturdukları değişimlerin aydınlatılması için Circular Dichroism (CD) spektroskopisi yöntemi kullanılır. Fakat Uv-Gör. spektrofotometre deneyleri sonucunda ftalosiyanın ve DNA etkileşimleri düşük seviyede gözlemlendiğinden dolayı CD alışmaları yapılamadı.

2.3 Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT) Deneyleri

➤ Mikroorganizmaların Uyandırılması

-80 °C'de saklanan stok kültürden halka öze ile kazıma yapılarak 5 mL NB'a ekim yapıldı. 37 °C de 24 saat çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakıldı. NB'da uyandırılan kültürler katı besiyerine halka öze ile çizgi ekimi yapıldı. 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üreme gözlenen katı besiyerinden halka öze ile tek koloni alınarak sıvı besiyerine ekim yapıldı. 37 °C de 24 saat çalkalamalı inkübatöre bırakıldıktan sonra uyandırılmış kültür +4 °C ye kaldırıldı.

➤ AFDT Deney Aşamaları

Aktif olarak büyüyen sıvı besiyerinde ki kültürün türbiditesi, 0,5 Mc Farland standardına eşdeğer olacak şekilde steril sıvı besi yeri ile ayarlandı. Her bir deney ortamında yaklaşık 5×10^5 CFU / mL olacak şekilde seyreltmeler yapıldı.

AFDT çalışmaları, düz tabanlı 96 kuyucuklu plaka içinde gerçekleştirildi (Wiegand vd., 2008; Balouiri vd., 2016). Çalışma grupları aşağıdaki şekilde düzenlendi:

- a) **Kontrol grubu:** Fs ve ışık olmadan.
- b) **Işık grubu:** Fs olmadan, ışık sitotoksite testi.
- c) **Fs grubu:** Işık, Fs sitotoksite testi.
- d) **AFDT grubu:** Fs ve ışık sitotoksite testi.

Çalışmalar bağımsız üç deney her bir deney üç tekrar olacak şekilde gerçekleştirildi.

a) **Kontrol Grubu:**

Her bir çalışma grubu için kontrol grupları, pozitif kontrol (+) ve negatif kontrol (-) olmak üzere iki şekilde düzenlendi. Her bir kuyucuğa 0,5 Mc Farland standardına göre hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 100 µL bakteri süspansiyonu ile (+) kontrol oluşturuldu. (-) kontrol olarak 100 µL NB besiyeri kullanıldı. Hazırlanan deney ortamları 30 dk 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Deney sonrası her bir örnekten 20 µL alınarak katı besiyerine nokta ekimi yapıldı. 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve üreme durumları takip edildi.

b) **Işık Grubu:**

Işık grubu deneyleri için, her bir kuyucukta 5×10^5 bakteri veya mantar olacak şekilde seyreltilmiş bakteri süspansiyonlarından 100'er µL her bir kuyucuğa dağıtıldı. 30 dk 37 °C de inkübasyona bırakıldı. Farklı doz ve sürelerde 635 nm dalgaboyunda lazer ışığı uygulandı. Örneklerden 20 µL alınarak katı besiyerine nokta ekimi yapıldı. 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve üremeleri takip edildi.

c) **Fs grubu (Karanlık Sitotoksitesi):**

5×10^5 adet organizma içeren her bir kuyucuktaki bakteri süspansiyonları üzerine hazırlanan farklı derişimlerde ki Fs çözeltilerinden 50'şer µL eklendi. Karanlık ortamda çalkalamalı etüvde 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Örneklerden 20 µL alınarak katı besiyerine nokta ekimi yapıldı. 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve üremeleri takip edildi.

d) AFDT Grubu:

Fs grubu deneylerinin tamamı karanlık laboratuvar ortamında gerçekleştirildi. Çalışmalar düz tabanlı 96 kuyucuklu plaka içerisinde hazırlandı. Çalışılacak her bir bakteri ve mantar örneği için 3'er tekrar olacak şekilde çalışıldı. 0,5 Mc Farland standardına göre hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 50'şer μL bakteri-mantar süspansiyonu herbir kuyucukta 5×10^5 adet organizma olacak şekilde 96 kuyucuklu plakaya dağıtıldı. 37 °C'de 30 dk inkübe edildi. Süspansiyonlara, ışık uygulamaları grubun sonucunda elde edilen optimum güç ve sürede lazer ışığı uygulandı. Sonuçlar, MİK değerlerinin belirlenmesi için gözle için kontrol edildi. Bulanık olan en yüksek derişim bulunduğu kuyucuktaki örnek ile üstündeki derişimlere sahip örneklerden 20 μL alınarak katı besiyerine nokta ekimi yapıldı. 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve üremeleri takip edilerek MBK değerleri araştırıldı (Wiegand vd., 2008).

3.BULGULAR

3.1. DNA Bağlanma Çalışmaları

3.1.1. Uv-Gör. Spektrofotometre Deneyleri

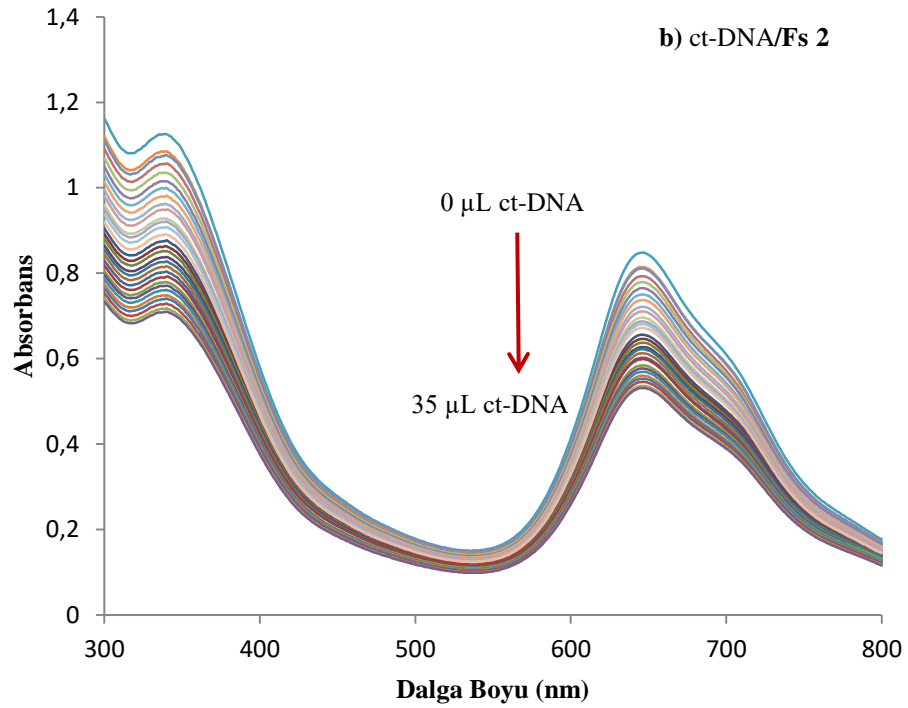
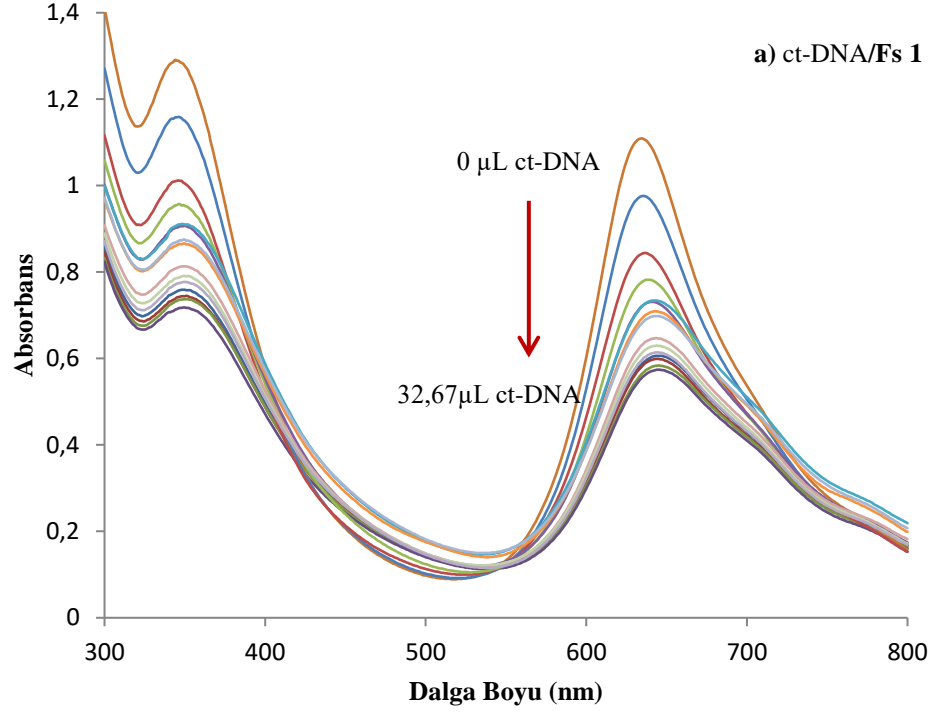
Ortamda ct-DNA veya plazmid DNA, varlığında ve yokluğunda yapılan deneylerde ftalosiyanın bileşiğinin gözlenen absorpsiyon spektrumu bileşiklerin DNA'ya bağlanma modu hakkında bilgi vermektedir. Fs bileşikleri DNA'ya kovalent ya da kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanabilirler. Genellikle interkalatif ajanlar, kromofor grupların arasında π - π etkileşim yaptığından dolayı büyük dalga boyuna doğru kayma gösterirken, oluğa bağlanma olduğunda dalga boyunda küçük değişimler meydana gelmektedir (Gürcan, 2014).

Tez kapsamında çalışılan Fs bileşiklerinin ct- DNA ve plazmid DNA'ya bağlanması Uv-Gör. absorpsiyonları ölçülerek belirlendi. Sabit derişimde Fs çözeltileri üzerine belli hacimlerde ct-DNA veya plazmid DNA çözeltisi ilave edilerek ve absorpsiyon spektrumunda ki değişiklikler kaydedildi.

Fs 1 ve **Fs 2** bileşiklerinin ct-DNA ile Uv-Gör. titrasyonuna ait grafikler Şekil 3.1'de görülmektedir. Ortama ct-DNA eklenmesi, **Fs 1** bileşiğinin spektrumunda önemli değişikliğe yol açmıştır. Q bandında hipokromik etkiyle birlikte 634 nm'den 645 nm'ye 11 nm'lik bir batokromik kayma gözlenmiştir. Titrasyonda elde edilen verilerle K_b sabiti hesaplandı. K_b bağlanma sabiti **Fs 1** için $6,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulundu (Çizelge 3.1). **Fs 2** titrasyonu için ct-DNA'sının kademeli olarak artması ile birlikte batokromik kaymayla (3 nm) birlikte bir hipokromik etki gözlemlenmiştir. K_b bağlanma sabiti **Fs 2** için $6,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak belirlendi (Çizelge 3.1). Yapıda hipokromik değişim görülmesi, dalga boyundaki kaymaların küçük olması ve K_b değerinin 10^6 M^{-1} 'dan küçük olması Fs bileşiklerinin ct-DNA ile etkileşiminin oluğa bağlama şeklinde olduğunu desteklemektedir.

Çizelge 3.1 Fs bileşiklerin bağlanma sabitleri

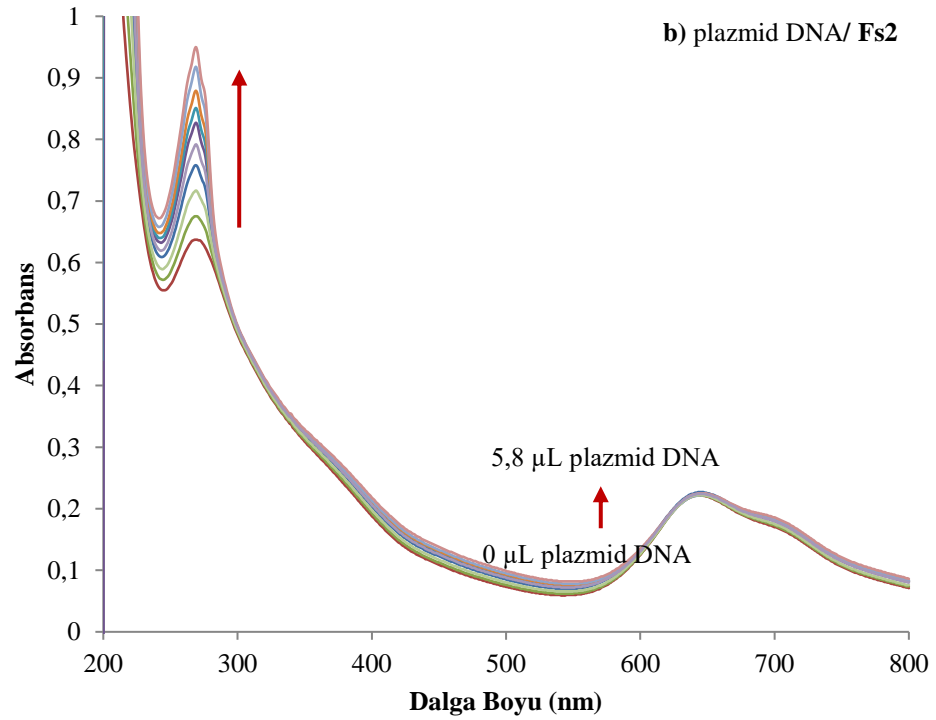
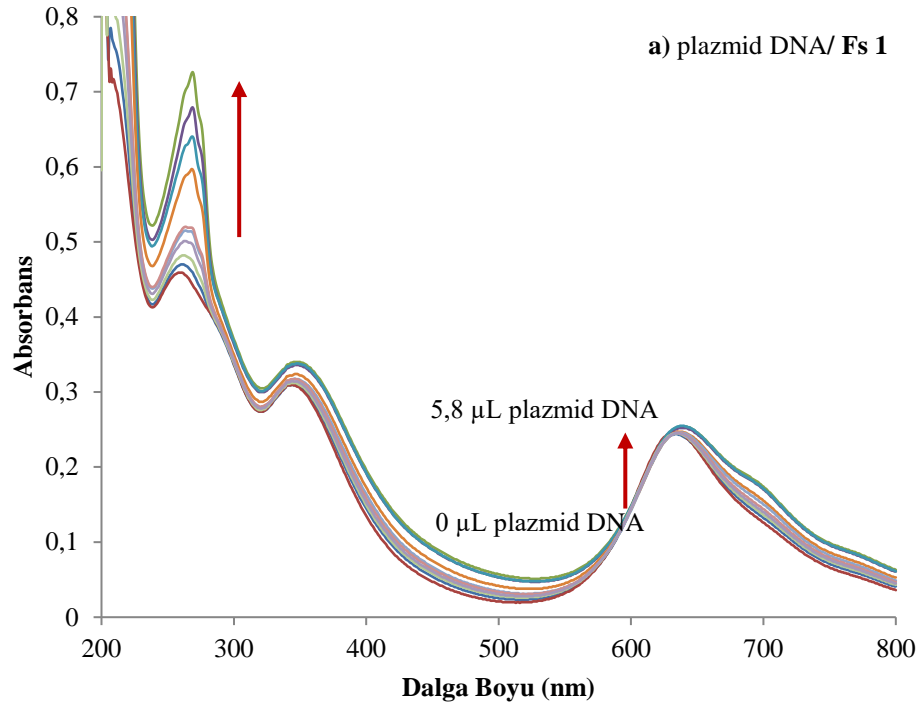
Bileşik	$C_{ct-DNA} \mu\text{M}$ (İlk-Son)	K_b, M^{-1}	Plazmid DNA
Fs 1	2,34-32,67	$6,3 \times 10^4$	Belirlenemedi
Fs 2	1,17-35	$6,9 \times 10^4$	Belirlenemedi



Şekil 3.1 ct-DNA ile (a) Fs 1 ve (b) Fs 2 bileşiklerinin Uv-Gör. spektrum titrasyonları

Fs 1 ve Fs 2'nin plazmid DNA ile olan absorpsiyon spektrumu Şekil 3.2'de gösterilmektedir. Şekilde de görüldüğü gibi plazmid DNA ortama eklendiğinde çalışılan Fs 1 ve Fs 2 bileşikleri için Q bandında ihmal edilebilir seviyede hiperkromik etki gözlenmesine karşın, 260 nm'de dikkat çekici hiperkromik bir artış

gözlendi. Meydana gelen hiperkromik artışın ortama eklenen plazmid DNA kaynaklı olması, DNA ile Fs bileşikleri arasında ihmal edilebilir bir etkileşim olduğuna işaret eder.



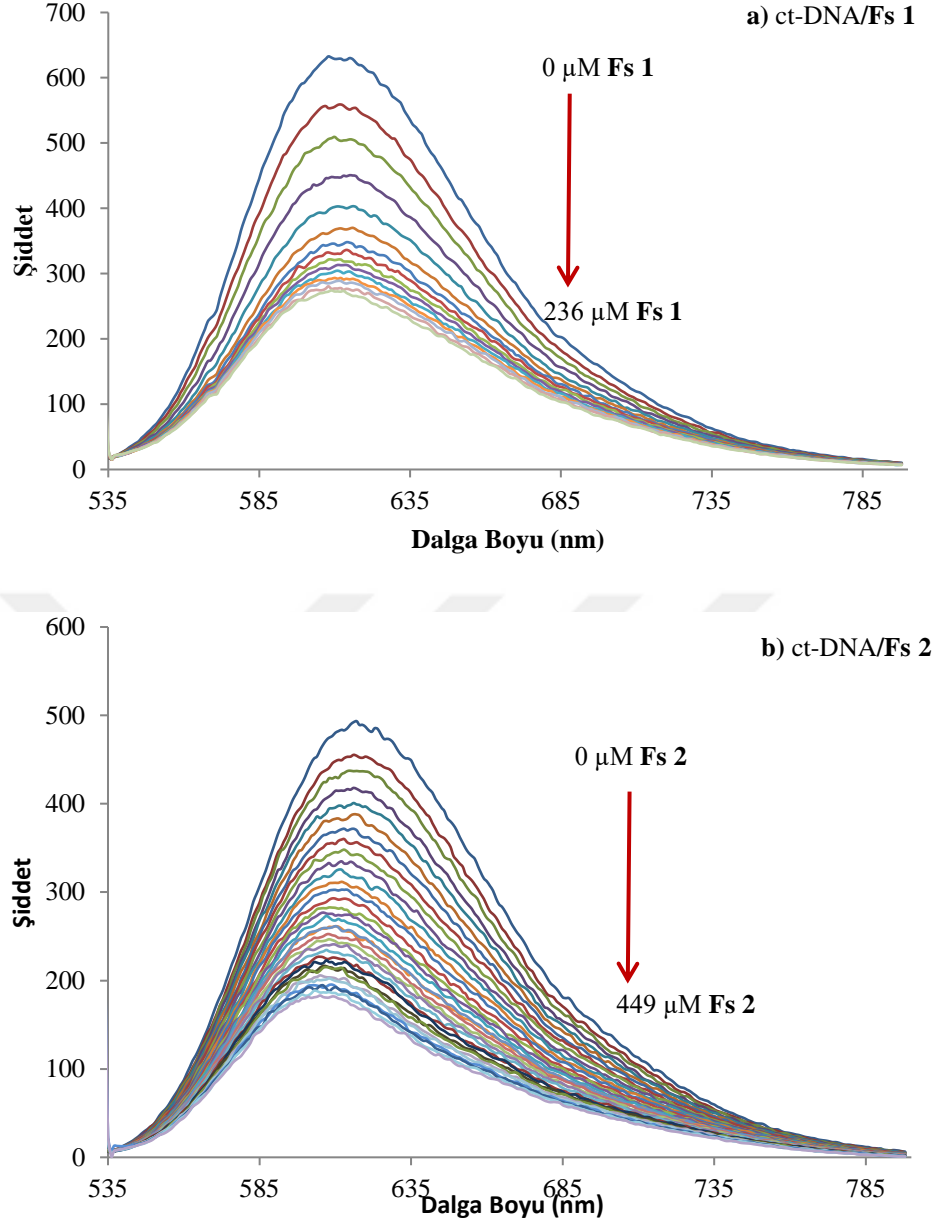
Şekil 3.2 Plazmid DNA ile (a) Fs 1 ve (b) Fs 2 bileşiklerinin Uv-Gör. spektrum titrasyonları

3.1.2 Floresans Yer Değiştirme Deneyleri

Küçük moleküllerin DNA etkileşimlerinin çalışıldığı bir diğer teknik floresans spektrofotometresi kullanılarak yapılan yer değiştirme çalışmalarıdır. EtBr düzlemsel bir molekül olup DNA ile interkalasyon yaparak etkileşir (İçsel, 2013). Tek başına zayıf floresans özelliğe sahip EtBr molekülleri DNA ile etkileşimlerinde kuvvetli emisyon şiddetine sahip olurlar. DNA ile etkileşime giren başka bir molekül ortama eklendiğinde, DNA-EtBr kompleksindeki EtBr ile yer değiştirmesinden dolayı emisyon şiddetini düşürür. Meydana gelen azalma ise EtBr yerine ortama eklenen molekülün DNA sarmalına bağlandığını göstermektedir (Baguley ve LeBret, 1984). Tez kapsamında EtBr yer değiştirme deneyi, **Fs 1** ve **Fs 2** bileşikleriyle ile ct-DNA'sı ile bağlanmanın teyit edilmesi için yapıldı. Sabit tutulan DNA ve EtBr derişimlerine karşı ortama artan miktarda Fs bileşiği eklenerek her ekleme sonunda floresans emisyon değişimi izlendi. K_{sv} sönmleme sabiti, Stern - Volmer denkleminde elde edildi. **Fs 1** için K_{sv} değeri $6,0 \times 10^4$ ve **Fs 2** için ise $4,1 \times 10^4$ 'dir.

Çizelge 3.2. Fs bileşiklerinin K_{sv} sabitleri

Bileşikler	$C_{Fs}, \mu M$	K_{sv}, M^{-1}	$Kq, M^{-1}s^{-1}$
Fs 1	0-236	6.0×10^4	6.0×10^{12}
Fs 2	0-449	4.1×10^4	4.1×10^{12}



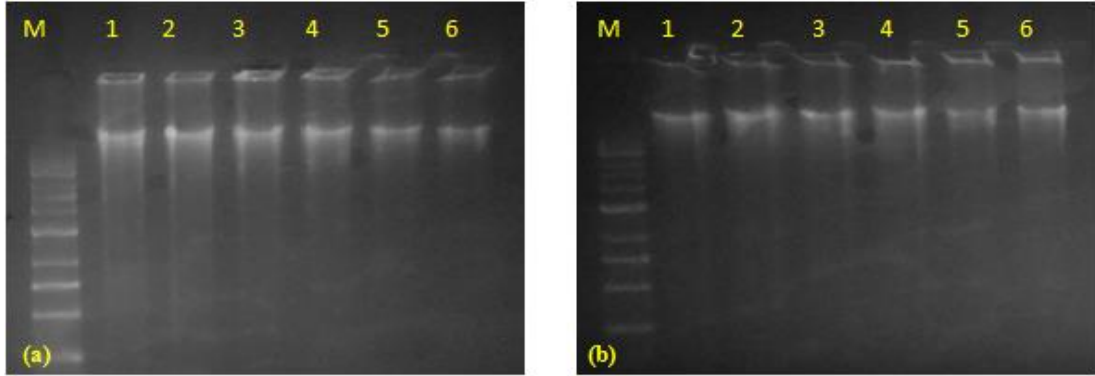
Şekil 3.3 ct-DNA - EtBr ile (a):Fs 1 (b); Fs 2 yer değiştirme grafiği

3.1.3. Jel Elektroferez Yöntemi

DNA- küçük molekül etkileşimlerinin aydınlatılmasında jel-elektroferez yöntemi sıklıkla kullanılır. Tez kapsamında plazmid DNA ve ct-DNA'nın **Fs 1** ve **Fs 2** ile etkileşimi % 0,8 'lik agaroz jelde yürütülerek çalışıldı (Şekil 3.4).

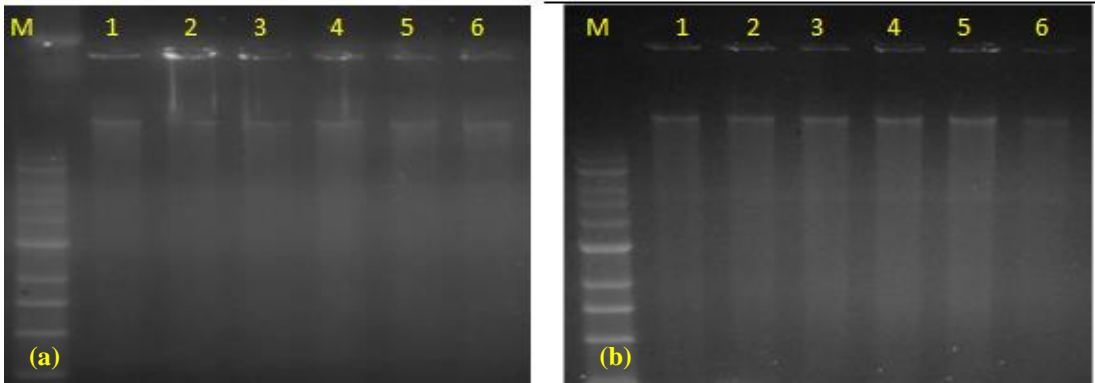
Sabit miktarda plazmid ve ct-DNA çözeltilerine artan miktarda **Fs 1** ve **Fs 2** eklenerek yürütüldü. ct-DNA'nın jel elektroferez sonuçlarına bakıldığında **Fs 1** ve **Fs 2** miktarı arttıkça bant profilinde ki parlaklıkta azalma olduğu gözlemlendi (Şekil 3.4). Bu durum ct-DNA ile Fs bileşiklerinin etkileştiğini göstermektedir. Plazmid DNA ile jel elektroferez çalışmasına bakıldığında **Fs 1** ve **Fs 2** miktarı arttıkça Uv-Gör.

spektroskopi verileriyle uyumlu olarak bant profilinde önemli bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 3.5). Bu da etkileşimin ihmal edilebilir seviyede ya da hiç olmadığını gösterir.



Şekil 3.4 Fs 1 ve Fs 2 bileşiklerinin ct-DNA ile jel elektroforez görüntüsü

Açıklama: Şekil 3.4'te gösterilen jellerin numaralarına göre sıralaması şu şekildedir. **(a)** M: DNA Lader (1 kb, BioLabs), 1-5: ct-DNA + **Fs 1** **(b)** M: DNA Lader, 1: sadece ct-DNA, 2-6: ct DNA + **Fs 2**. ct-DNA derişimi kuyucuklarda 20 ng/ μ L, ftalosiyanın bileşigi $1,5 \times 10^{-5}$ M hazırlandı ve kuyucuklara artan miktarda eklendi.



Şekil 3.5 Fs 1 ve Fs 2 bileşiklerinin plazmid DNA ile jel elektroforez görüntüsü

Açıklama: Şekil 3.5'de gösterilen jellerin numaralarına göre sıralaması şu şekildedir **(a)** M: DNA Lader, 1-5: plazmid DNA + **Fs 1** **(b)**; M: DNA Lader, 1: sadece plazmid DNA, 2-6: plazmid DNA + **Fs 2** plazmid DNA derişimi kuyucuklarda 200 ng/ μ L, ftalosiyanın bileşigi $1,5 \times 10^{-4}$ M hazırlandı ve kuyucuklara artan miktarda eklendi.

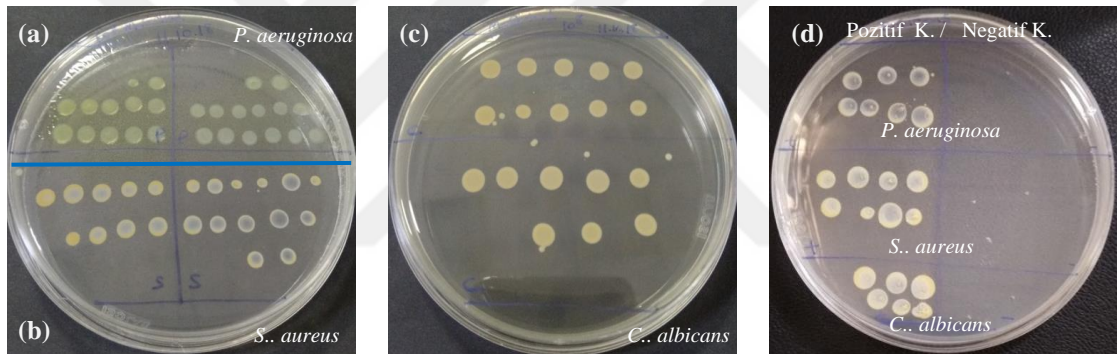
3.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT) Deneyleri

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK), organizmanın büyümesini engelleyen en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonudur. Deney ortamları gözle kontrol edildiğinde bulanıklığın (büyümenin) olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilir. Bulanıklığın belirgin olmadığı durumlarda ise nokta ekim

yapılarak sonuçlar kontrol edilir (Hecht vd., 2007). Minimum bakterisidal (fungisidal) konsantrasyon (MBK) ise, organizmanın en az % 99'unun öldüğü en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonudur (Krishnan vd., 2015).

Tez kapsamındaki ftalosiyenin bileşiklerinin antimikrobiyal aktivite deneyleri *P. aeruginosa* (ATCC-27853), *S. aureus* (ATCC-29213) ve *C. albicans* (ATCC-10231) mikroorganizmaları kullanılarak gerçekleştirildi. Mikroorganizmalar uygun besiyeri ortamında ve uygun koşullarda çoğaltıldıktan sonra Mc Farland standardına (0,5) göre her bir deney ortamında yaklaşık 5×10^5 organizma olacak şekilde ayarlanarak çalışıldı. Kenar mühendislik (Ankara) tarafından üretilen 635 nm dalga boyundaki lazer cihazı kullanılarak deneyler gerçekleştirildi.

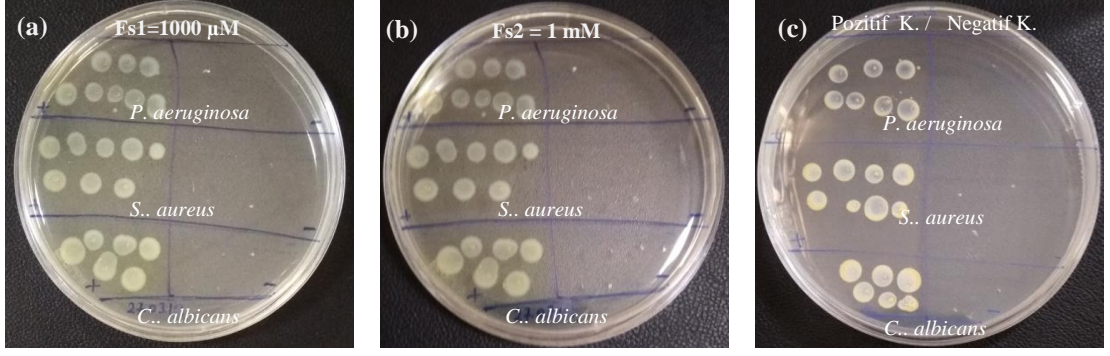
AFDT çalışmaları öncesinde, ışık sitotoksitesinin belirlenmesi için örnekler 332 J/cm² lazer ışığı uygulaması yapıldı. Uygulama sonucunda kullanılan ışık şiddetinin örnekler üzerinde her hangi bir sitotoksik etkisinin olmadığı gözlemlendi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Işık grubu deney sonuçları

Açıklama: Şekil 3.6'da gösterilen deney sonuçlarının ekim sırası şu şekildedir. (a) *P. aeruginosa*, mavi çizginin üst tarafı (b) *S. aureus*, mavi çizginin alt tarafı (c) *C. albicans* ve (d) pozitif ve negatif kontrol grubu ışık grubu deney sonucu

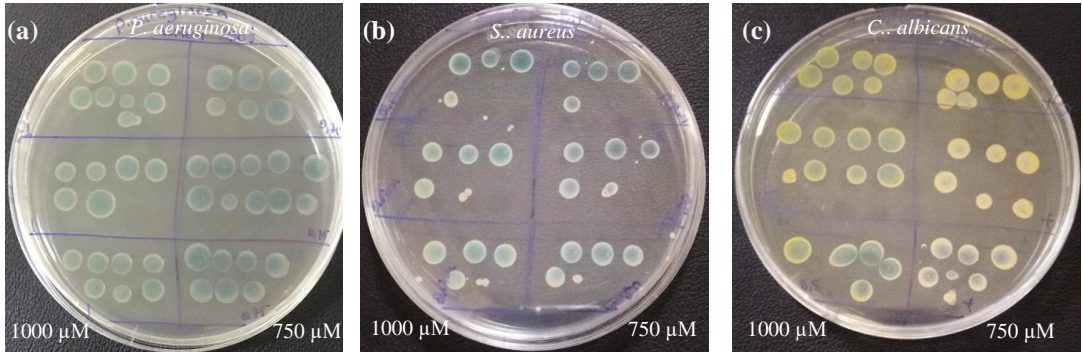
Fs bileşiklerinin karanlık sitotoksitelerinin belirlenmesi deneylerinde, **Fs 1** için 1000 µM, **Fs 2** için ise 900 µM derişimlerinin her hangi bir sitotoksik etkiye sahip olmadığı gözlemlendi (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Fs 1 ve Fs 2 bileşiklerinin karanlık sitotoksite deney sonuçları

Açıklama: Şekil 3.7’de gösterilen karanlık sitotoksite deney sonuçlarının ekim sırası şu şekildedir. (a) Fs 1 karanlık sitotoksite sonuçları sırasıyla *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* karanlık grubu deney sonucu (b) Fs 2 karanlık sitotoksite sonuçları sırasıyla *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* ışık grubu deney sonucu (c) pozitif ve negatif kontrol.

Bütün AFDT çalışmalarında toksik olmayan ışık gücü 250 J/cm^2 olarak kullanıldı. Fs 1 bileşiğinin $1000 \mu\text{M}$, $750 \mu\text{M}$ ve $500 \mu\text{M}$ derişimleri kullanılarak MİK ve MBK değerleri araştırıldı. Uygulama sonucunda Fs 1 çözeltisinin çalışılan derişimlerde hiçbir mikroorganizma üzerinde öldürücü etkisinin olmadığı gözlemlendi (Şekil 3.8).

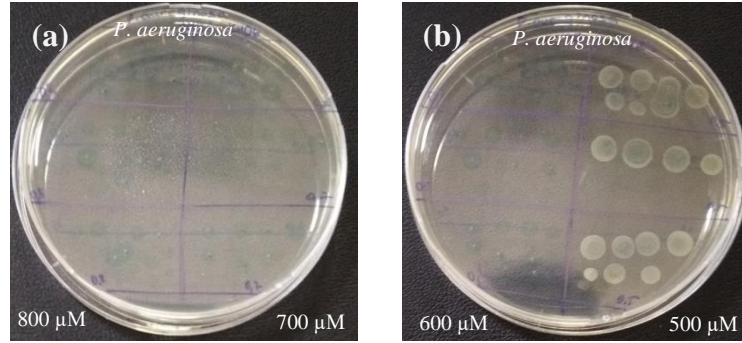


Şekil 3.8 Fs 1 bileşiğinin AFDT deney sonuçları

Açıklama: Şekil 3.8’de gösterilen Fs 1 bileşiğinin mikroorganizmalar üzerindeki AFDT etkinliği deney sonuçları (a) *P. aeruginosa*, Fs 1 derişimi $1000 \mu\text{M}$ ve $750 \mu\text{M}$ uygulama sonucu (b) *S. aureus* Fs 1 derişimi $1000 \mu\text{M}$ ve $750 \mu\text{M}$ uygulama sonucu ve (c) *C. albicans* Fs 1 derişimi $1000 \mu\text{M}$ ve $750 \mu\text{M}$ uygulama sonucu.

Fs 2 bileşiğine ait AFDT sitotoksite değerlerinin belirlenmesi deneylerinde *P. aeruginosa* için $800 \mu\text{M}$, $700 \mu\text{M}$, $600 \mu\text{M}$ ve $500 \mu\text{M}$ derişimleri uygulandı.

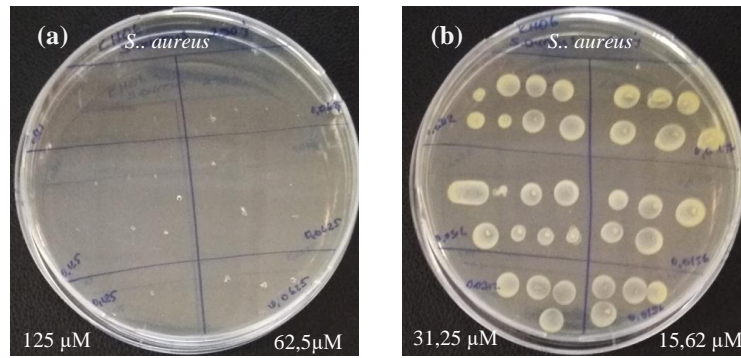
Uygulama sonucunda *P. aeruginosa* için **Fs 2** bileşiğinin 0,6 mM derişimi MİK ve MBK değeri olarak belirlendi.



Şekil 3.9 **Fs 2** bileşiğinin *P. aeruginosa* için AFDT deney sonuçları

Açıklama: Şekil 3.9'de gösterilen **Fs 2** bileşiğinin mikroorganizmalar üzerindeki AFDT etkinliği deney sonuçları (a) soldan sağa sırasıyla **Fs 2** çözeltisinin *P. aeruginosa*, üzerine 800 µM ve 700 µM derişim uygulama sonucu (b) soldan sağa sırasıyla **Fs 2** çözeltisinin *P. aeruginosa*, üzerinde uygulanan 600 µM ve 500 µM derişimi sonucu.

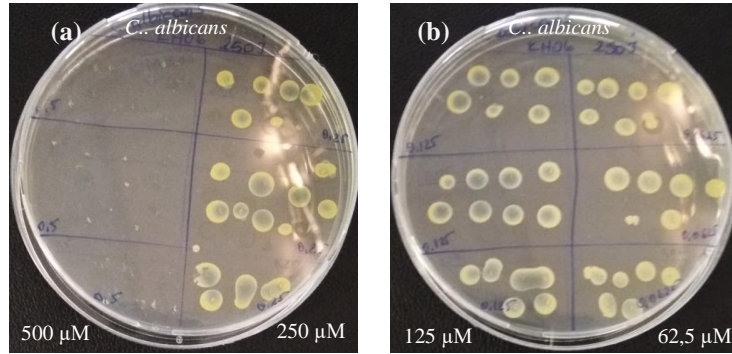
Fs 2 bileşiğinin *S. aureus* AFDT uygulamaları 125 µM, 62,5 µM, 31,25 µM ve 15,62 µM derişimlerinde gerçekleştirildi. Uygulama sonucunda 62,5 µM **Fs 2** bileşiğinin *S. aureus*, üzerinde sitotoksik olduğu belirlendi.



Şekil 3.10 **Fs 2** bileşiğinin *S. aureus* için AFDT deney sonuçları

Açıklama: Şekil 3.10'de gösterilen **Fs 2** bileşiğinin mikroorganizmalar üzerindeki AFDT etkinliği deney sonuçları (a) soldan sağa sırasıyla **Fs 2** çözeltisini *S. aureus*, üzerinde uygulanan 125 ve 62,5 µM derişimi sonucu (b) soldan sağa sırasıyla **Fs 2** çözeltisini *S. aureus*, üzerinde uygulanan 31,25 ve 15,62 µM derişimi sonucu

C. albicans AFDT uygulamaları için, **Fs 2** bileşiği 500 μ M, 250 μ M, 125 μ M ve 62,5 μ M derişimlerinde uygulandı. Uygulama sonucunda *C. albicans* için **Fs 2** bileşiğinin 250 μ M'ı MİK değeri olarak belirlenirken, 500 μ M'ı MBK değeri olarak belirlendi.



Şekil 3.11 Fs 2 bileşiğinin *C. albicans* için AFDT deney sonuçları

Açıklama: Şekil 3.11'de gösterilen Fs 2 bileşiğinin mikroorganizmalar üzerindeki AFDT etkinliği deney sonuçları (a); soldan sağa sırasıyla **Fs 2** çözeltisinin *C. albicans*, üzerinde uygulanan 500 μ M ve 250 μ M derişimi sonucu (b); soldan sağa sırasıyla **Fs 2** çözeltisinin *C. albicans*, üzerinde uygulanan 125 μ M ve 62,5 μ M derişim sonucu

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

DNA molekülleri kalıtsal bilginin aktarılması ve gen ekspresyonu süreçlerinden sorumlu olduğundan, hücre canlılığının ve metabolizmasının kontrolüne dayalı çalışmalar için önemli hedefler olarak değerlendirilirler. Baz dizisi ve konformasyonu açısından farklı DNA molekülleri bilinmektedir ve bu farklılıklara özgü ligandların dizaynı moleküler süreçlerin kontrolünde anahtar rol oynamaktadır. Örneğin; tek zincirli DNA moleküllerinin guanince zengin bölgelerinde açığa çıkan G-guadrupleks yapılarının stabilizasyonuna yönelik ligandlar hücrelerin inaktivasyonunda kullanılırlar (Bidzinska vd., 2013).

Aynı motivasyonla prokaryotik bakterilere ait halkasal süperkoil yapıdaki plazmid DNA'ya afinitesi olan ligandların kullanılması antimikrobiyal etki gösterecektir. Antimikrobiyal ilaç dirençliliğinin plazmidlerle ilgili olduğu gözlemlenirse, bu durum da dirençli suşların bu tarz ligandlarla etkisiz hale getirilebileceği düşünülebilir. Bu sebepten dolayı fotoduyarlayıcı özelliğe sahip Fs bileşiklerinin farklı prokaryotik ve ökaryotik DNA türleri ile olan afinitesinin belirlenmesi önemlidir. Fs bileşiklerinin özellikle süperkoil plazmid DNA'ya afinitesinin yüksek olması bu bileşiğin seçici olarak hücre içinde birikmesini sağlar. Fs bileşiklerinin hücre içinde birikmesinde AFDT etkinliğini artacağı aşıkardır.

Çalışılan Fs bileşikleri ile ct-DNA etkileşimi spektrofotometrik olarak incelendi. Fs bileşiklerinin ct-DNA varlığında Uv-Gör. spektrumlarında önemli değişimler gerçekleştiği gözlemlendi. **Fs 1** - ct-DNA etkileşimi ile hipokromik etki ve 11 nm'lik batokromik kayma; **Fs 2** için ise hipokromik etkiyle birlikte 3 nm'lik batokromik kayma gözlemlendi. Spektral veriler K_b sabiti ile hesaplandı ve sırasıyla $6,3 \times 10^4$ ve $6,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplandı. Bileşiklerin hipokromik, batokromik kaymalar göstermesi ile K_b değerinin 10^6 'dan daha düşük bağlanma sabiti göstermesi bileşiklerin oluğa bağlanma yolu ile etkileşim gerçekleştiğini desteklemektedir. Bileşiklerin DNA bağlanma özelliklerine bakıldığında birbirine yakın olduğu görülmektedir. Benzer deneyler bileşiklerin plazmid DNA ile etkileşimi için gerçekleştirilmiştir. Spektral veriler ve jel elektroforez çalışmaları **Fs 1** ve **Fs 2** bileşiklerinin plazmit DNA'ya affinite göstermediklerini ya da etkileşimlerinin çalışılan yöntemlerle belirlenemeyecek kadar ihmal edilebilir seviyede olduğunu desteklemektedir. Her iki sonuçta agaroz jel elektroforez verileri ile desteklenmiştir.

DNA türlerinin, Fs bileşikleri ile etkileşimlerini araştırıldığı diğer bir yöntem olarak floresans yer değiştirme çalışmaları gerçekleştirildi. ct-DNA için interkalatör bir ajan olan EtBr probu kullanılmıştır. Floresans yer değiştirme verileri Stern-Volmer eşitliği ile de muamele edilerek sönümlenme mekanizması hesaplanmıştır. **Fs 1** ve **Fs 2** bileşiklerinin K_{sv} değerleri sırasıyla $6,0(\pm 0,2) \times 10^4$ ve $4,1 \times 10^4$ olarak hesaplanmıştır. Sönümlenmenin, reaksiyon ortamının kalabalıklaşmasına bağlı olarak moleküllerin birbirleri ile çarpışması sonucu gerçekleştiği öngörülmektedir (Bagda vd., 2017).

Elde edilen bulgular sonucunda Fs bileşiklerinin, ct-DNA'nın oluklarına bağlandığı ancak plazmid DNA'ya afinitesinin olmadığı belirlenmiştir. Süperkoil yapıların yaptığı ekstra kıvrımlar, B DNA yapılarına nazaran oluk formlarının farklılaşması ve ligand moleküllerinin oluk yapılarına yönelmesini önleyen sterik engellerin açığa çıkmasıyla karakterize edilir. Çalışmada, ct-DNA oluklarına bağlandığı belirlenen **Fs 1** ve **Fs 2** bileşiklerinin plazmid DNA ile etkileşimlerinin belirlenmemesinin bu etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Farklı DNA molekülleri ile olan etkileşimleri belirlenmiş Fs bileşiklerinin 635 nm dalga boyunda diyot lazer ışık kaynağı kullanılarak AFDT etkinlikleri *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* mikroorganizmaları üzerinde incelenmiştir. Her iki Fs bileşiğinin de sitotoksik olmadığı derişimler ile ışık kaynağının fotositoksite göstermediği değerler belirlenerek AFDT uygulamaları gerçekleştirildi. **Fs 1** bileşiğinin 1000 μM derişim ve 250 J/cm^2 lazer ışığına maruz bırakılan deney gruplarında, mikroorganizmalar üzerinde herhangi bir öldürücü etkisi belirlenemedi. **Fs 2**'nin (mikroorganizmaların MBK değerleri; *P. aeruginosa* 600 μM , *S. aureus* 62,5 μM ve *C. albicans* 500 μM) ise Gr (+) bakterilerde diğer mikroplara göre daha düşük derişimlerde öldürücü etkisi belirlenmiştir. Fs bileşiklerinin, farklı organizmalarda farklı derişimlerde etki göstermesinin sebebi mikroorganizmaların hücre duvar yapısında ki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Katyonik Fs bileşiklerinin Gr (+) bakterileri inhibe etmeleri, hücre duvar yapısında bulunan teikoik ve kalın peptitoglikan yapıdan kaynaklanmaktadır. Gr (-)'lerin, hücre duvarlarının dış yüzeylerinin yoğun lipopolisakkarit yapıyla kalpı olması ligant moleküllerin hücreye geçişini engellemektedir.

Fs 1 bileşiğinin 1,1 mM'da sitotoksik olduğu ve 1 mM, 250 J/cm^2 ışık uygulamasında fotositotoksik etkinin oluşmadığı belirlenmiştir. Bu sonuç, **Fs 1**

bileşiminin tek başına sitotoksik olduğu ve geniş spektrumlu antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilme potansiyelinin yüksek olduğunu işaret etmektedir.

Fs bileşiklerinin kullanıldığı AFDT uygulamalarına yönelik daha önce yapılmış çalışmalarda farklı mikroorganizmalarla farklı ışık şiddeti (3-1620 J/cm²) ve Fs derişimleri (0.01-50 µM) kullanılmıştır (Chen vd, 2016; Giuliani vd., 2010; Sindelo vd., 2019; Revuelta-Maza vd., 2019; Tunçel vd., 2019; Reynoso vd., 2019; Liu vd., 2018; Kussovski vd., 2018; Silva vd., 2018; Goa vd., 2018). Literatürde, Gr (+) bakteriler için 0,03-75 µM Fs, 2- 270 J/cm² ışık (Dlugaszewska vd., 2017; Ribeiro vd., 2015; Ke vd., 2014; Vecchio vd., 2013; Giuliani vd., 2010; Dimaano vd., 2015; Zhao vd., 2014; İşçi vd., 2016; Mantavera vd., 2007), Gr (-) bakteriler için ise 1-100 µM Fs, 6- 1620 J/cm² ışık (Dlugaszewska vd., 2017; Kevd., 2014; Giuliani vd., 2010; Briggs vd, 2018; Dimaano vd., 2015; Mantareva vd., 2016; Zhao vd., 2014; Mantavera vd., 2007; Sindelo vd., 2019), *C. albicans* için ise 0,01-20 µM Fs, 30-122 J/cm² (Dlugaszewska vd., 2017; Giuliani vd., 2010; Alves vd., 2018; Mantareva vd., 2016; Di Palma vd., 2013; Mantavera vd., 2007) ışık uygulamalarında sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Tez kapsamında , 250 J/cm² ışık şiddetinde *S. aureus* için 62,5 µM *P. aeruginosa* 600 µM ve *C. albicans* 500 µM derişimlerinde AFDT etkisinin olduğu belirlenen **Fs 2** bileşiminin, literatür verileri ile kıyaslandığında, AFDT ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdel-kader, M. H. (2016).** The Journey of PDT Throughout History: PDT from Pharos to Present.
- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., & Korbek, M. (2011).** Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA: a cancer journal for clinicians*, 61 (4), 250-281.
- Akkuş, F. (2011).** Nonperifal grup taşıyan benzopirrolük bileşiklerin sentezi, karakterizasyonu ve kompleks oluşumlarının incelenmesi *Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.*
- Albay, A. (2006).** 4-kloro-3nitrofenol Süstitüe Metalli ve Metalsiz Ftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi. *Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.*
- Albu, C., Brusin, S., Dias, J. G., & Ciancio, B. (2015).** ECDC surveillance report. Annual epidemiological report, 2014. *Vaccine-preventable diseases invasive bacterial diseases.*
- Altuner, E. M. (2008).** Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara*
- Alves, F., Alonso, G. C., Carmello, J. C., de Oliveira Mima, E. G., Bagnato, V. S., & Pavarina, A. C. (2018).** Antimicrobial Photodynamic Therapy mediated by Photodithazine® in the treatment of denture stomatitis: A case report. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 21, 168-171.
- Arslandaş, A., & Ağırtaş, M. S. (2018).** The interaction between a zinc (II) phthalocyanine compound bearing octakis phenoxyacetamide substituents and calf thymus DNA. *Turkish Journal of Chemistry*, 42(5), 1310-1320.
- Aydın, F., 2001.** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının değişik yöntemlerle çeşitli antimikrobiyallere duyarlılıklarının araştırılması. *A.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara.*
- Baguley, B.C. ve LeBret, M. (1984).** Quenching of DNA-ethidium fluorescence by amsacrine and other antitumor agents: a possible electron-transfer effect. *Biochemistry*, 23, 937-943.
- 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.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.

- Baltazar, L. M., Ray, A., Santos, D. A., Cisalpino, P. S., Friedman, A. J., & Nosanchuk, J. D. (2015).** Antimicrobial photodynamic therapy: an effective alternative approach to control fungal infections. *Frontiers in microbiology*, 6, 202.
- Banerjee, I., Douaisi, M. P., Mondal, D., & Kane, R. S. (2012).** Light-activated nanotube porphyrin conjugates as effective antiviral agents. *Nanotechnology*, 23 (10), 105101.
- Barut, B. (2016).** Suda Çözünür Ti (IV) Ftalosiyenin Bileşiklerinin DNA Bağlanma, DNA Kesim, Antioksidan, Antimikrobiyal Aktivitelerinin ve Topoizomeraz I İnhibisyonunun İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon. (Iv).*
- Barut, B., Demirbaş, Ü., Şenocak, A., Özel, A., & Kantekin, H. (2017).** Water soluble axially morpholine disubstituted silicon phthalocyanines: Synthesis, characterisation, DNA/BSA binding, DNA photocleavage properties. *Synthetic Metals*, 229, 22-32.
- Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., & Kreuzinger, N. (2015).** Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 310-317.
- Berthold, H. (2009).** Synthesis of a Phthalocyanine Scaffold as a Core of Highly Glycosylated Dendritic Structures and a Novel Fluorenyl Spiro-Annulated Phthalocyanine. *Biochemistry*, 25. Baskı, Starmford, Appleton & Lange.
- Bidzinska, J., Cimino-Reale, G., Zaffaroni, N., & Folini, M. (2013).** G-quadruplex structures in the human genome as novel therapeutic targets. *Molecules*, 18(10), 12368-12395.
- Bilgehan H., 2000.** Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. *Fakülteler Kitabevi, İzmir; 239-268.*
- Bischoff, G., & Hoffmann, S. (2002).** DNA-binding of drugs used in medicinal therapies. *Current medicinal chemistry*, 9(3), 321-348.
- Bissonnette, R., & Lui, H. (1997).** Current status of photodynamic therapy in dermatology. *Dermatologic clinics*, 15 (3), 507-519.
- Blackburn, G. M., Gait, M. J., Loakes, D., Williams, D. M., Egli, M., Flavell, A., & Grasby, J. A. (2006).** *Nucleic acids in chemistry and biology.* Royal Society of Chemistry.
- Bolhuis, A., & Aldrich-Wright, J. R. (2014).** DNA as a target for antimicrobials. *Bioorganic chemistry*, 55, 51-59.
- Brabec, V., & Kasparkova, J. (2005).** Modifications of DNA by platinum complexes: relation to resistance of tumors to platinum antitumor drugs. *Drug resistance updates*, 8(3), 131-146.
- Brana, M. F., Cacho, M., Gradillas, A., Pascual-Teresa, B. D., & Ramos, A. (2001).** Intercalators as anticancer drugs. *Current pharmaceutical design*, 7(17), 1745-1780.

- Briggs, T., Blunn, G., Hislop, S., Ramallete, R., Bagley, C., McKenna, D., & Coathup, M. (2018).** Antimicrobial photodynamic therapy—a promising treatment for prosthetic joint infections. *Lasers in medical science*, 33(3), 523-532.
- Carpenter, B. L., Muli, D. K., Mayukh, M., Ghiladi, R. A., & McGrath, D. V. (2015).** Dendritic near-IR absorbing zinc phthalocyanines for antimicrobial photodynamic therapy. *Tetrahedron letters*, 56(23), 3541-3545.
- Chen, Z., Zhang, Y., Wang, D., Li, L., Zhou, S., Huang, J. H., & Huang, M. (2016).** Photodynamic antimicrobial chemotherapy using zinc phthalocyanine derivatives in treatment of bacterial skin infection. *Journal of biomedical optics*, 21(1), 018001.
- Cohen, M. L. (2000).** Changing patterns of infectious disease. *Nature*, 406(6797), 762.
- Çakır D (2015).** Suda çözünebilen yeni çinko ftalosiyanınların sentezi ve fotodinamik terapi özelliklerinin incelenmesi *Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.*
- David-Cordonnier, M. H., Laine, W., Lansiaux, A., Rosu, F., Colson, P., De Pauw, E., ... & Pierré, A. (2005).** Covalent binding of antitumor benzoacronycines to double-stranded DNA induces helix opening and the formation of single-stranded DNA: unique consequences of a novel DNA-bonding mechanism. *Molecular cancer therapeutics*, 4(1), 71-80.
- Davis, D. B., Dulbecco, R., Eisen, H., Ginsberg, H. S., & Wood, W. B. (1968).** Microbiology. 756-757., 774 s. *Hober Medical Division, New York.*
- de Almeida, S. M. V., Ribeiro, A. G., de Lima Silva, G. C., Alves, J. E. F., Beltrão, E. I. C., de Oliveira, J. F., & de Lima, M. D. C. A. (2017).** DNA binding and Topoisomerase inhibition: How can these mechanisms be explored to design more specific anticancer agents. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, 1538-1556.
- Demirbaş, Ü., Akyüz, D., Barut, B., Bayrak, R., Koca, A., & Kantekin, H. (2016).** Electrochemical and spectroelectrochemical properties of thiadiazole substituted metallo-phthalocyanines. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153, 71-78.
- Di Palma, M. A., Alvarez, M. G., Ochoa, A. L., Milanesio, M. E., & Durantini, E. N. (2013).** Optimization of cellular uptake of zinc (II) 2, 9, 16, 23-tetrakis [4-(N-methylpyridyloxy)] phthalocyanine for maximal photoinactivation of *Candida albicans*. *Fungal biology*, 117(11-12), 744-751.
- Dimaano, M., Rozario, C., Nerandzic, M., Donskey, C., Lam, M., & Baron, E. (2015).** The photodynamic antibacterial effects of silicon phthalocyanine (Pc) 4. *International journal of molecular sciences*, 16(4), 7851-7860.
- Długaszewska, J., Szczolko, W., Koczorowski, T., Skupin-Mrugalska, P., Teubert, A., Konopka, K., ... & Goslinski, T. (2017).** Antimicrobial and anticancer photodynamic activity of a phthalocyanine photosensitizer with N-methyl morpholiniummethoxy substituents in non-peripheral positions. *Journal of inorganic biochemistry*, 172, 67-79.

- Dorin, I. M. (2010).** Thiophene-based DNA binders for sensing, nano-bioelectronics, and therapeutic purposes (*Doctoral dissertation, Cardiff University*).
- Dosunmu, E., Chaudhari, A. A., Singh, S. R., Dennis, V. A., & Pillai, S. R. (2015).** Silver-coated carbon nanotubes downregulate the expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes: a potential mechanism for their antimicrobial effect. *International journal of nanomedicine*, 10, 5025.
- Ertem, B., Bilgin, A., Gök, Y., & Kantekin, H. (2008).** The synthesis and characterization of novel metal-free and metallophthalocyanines bearing eight 16-membered macrocycles. *Dyes and Pigments*, 77(3), 537-544.
- 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.
- Ferreira, G. N. (2005).** Chromatographic approaches in the purification of plasmid DNA for therapy and vaccination. *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 28(11), 1285-1294.
- Funnell, E. Barbara, Philips, J.G., 2004.** Plasmid Biology. ASM Press, Washington
- Gabor, F., Csik, G., & Ronto, G. (1997).** Interaction of Zinc-phthalocyanine--tetrasulphonate with different types of bacterial cells. *Medical Science Monitor*, 3(3), BR294-BR298.
- Gao, Y., Mai, B., Wang, A., Li, M., Wang, X., Zhang, K., & Wang, P. (2018).** Antimicrobial properties of a new type of photosensitizer derived from phthalocyanine against planktonic and biofilm forms of *Staphylococcus aureus*. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 21, 316-326.
- Gardlo, K., Horska, Z., Enk, CD, Rauch, L., Megahed, M., Ruzicka, T. ve Fritsch, C. (2003).** Kutanöz leishmaniasis'in fotodinamik tedavi ile tedavisi. *Amerikan Dermatoloji Akademisi Dergisi*, 48 (6), 893-896.
- George, L. (2018).** Light-Activated Antimicrobial Materials Based on Perylene Imides and Phthalocyanines.
- Giuliani, F., Martinelli, M., Cocchi, A., Arbia, D., Fantetti, L., & Roncucci, G. (2010).** In vitro resistance selection studies of RLP068/Cl, a new Zn (II) phthalocyanine suitable for antimicrobial photodynamic therapy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(2), 637-642.
- Gow, N. A., & Hube, B. (2012).** Importance of the *Candida albicans* cell wall during commensalism and infection. *Current opinion in microbiology*, 15(4), 406-412.
- Gökçe S (2013).** Metalli ve Metalsiz Ftalosiyeninlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Kobalt (II) Ftalosiyenin Siklohegzen Oksidasyonu Üzerine Katalitik Aktivitesinin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.*

- Güner S (2007).** Biyokimya-I, Biyomoleküllerin Yapısı ve İşlevi. *KTÜ Fen Ed. Yayınları, No.224, Trabzon, 231-243.*
- Gürçan N (2014).** Ferrosen Aktif Birimi İçeren Yeni Azin Türevlerinin DNA Bağlanma, DNA Kesim ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.*
- Hamblin, M. R., & Hasan, T. (2004).** Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease. *Photochemical & Photobiological Sciences, 3(5), 436-450.*
- Hantz, E., Larue, V., Ladam, P., Le Moyec, L., Gouyette, C., & Dinh, T. H. (2001).** Solution conformation of an RNA–DNA hybrid duplex containing a pyrimidine RNA strand and a purine DNA strand. *International journal of biological macromolecules, 28(4), 273-284.*
- Harputlu E. (2014).** Malzemeler, N. V. İ., & Dalı, A. B. Yeni Tür Makrohalkalı Yapıların Sentezi Ve Kanser Tedavi Potansiyelinin İn Vitro Saptaması.
- Hassani, L., Hakimian, F. ve Safaei, E. (2014).** Bakır porfirazinlerin ve ftalosiyanınin insan telomerik G-quadruplex DNA'sı ile etkileşimi üzerine spektroskopik inceleme. *Biyofiziksel kimya , 187 , 7-13.*
- Hassani, L., Hakimian, F., Safaei, E., & Fazeli, Z. (2013).** Antibacterial effect of cationic porphyrazines and anionic phthalocyanine and their interaction with plasmid DNA. *Journal of Molecular Structure, 1052, 221-227.*
- Hecht, D. W., Citron, D. M., Cox, M., Jacobus, N., Jenkins, S. G., Onderdonk, A., & Wexler, H. M. (2007).** *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria: Approved Standard* (pp. 1-47). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- URL 1** <https://www.titck.gov.tr/haber/ulusal-antibakteriyel-ilac-tuketim-surveyansi-2011-27122018173511>
- URL 2** <https://www.wikizeroo.org/index.php?q=aHR0cHM6Ly9lbi53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvRmlsZTpCZW56b3B5cmVuZV9ETkFfYWWRkdWN0XzFKREcucG5n>
- URL 3** https://www.wipo.int/edocs/mdocs/mdocs/en/wipo_who_wto_ip_ge_16/wipo_who_wto_ip_ge_16_www_356156.pdf
- Hu, X., Huang, Y. Y., Wang, Y., Wang, R., & Hamblin, M. R. (2018).** Antimicrobial photodynamic therapy to control clinically relevant biofilm infections. *Frontiers in microbiology, 9, 1299.*
- İçsel C (2013).** 2-(Hidroksimetil)Piridin ve 2-(2-Hidroksietil)Piridin Ligantları İçeren Palladyum (II) ve Platin (II) Komplekslerinin Sentezi, Kristal Yapıları Spektroskopik ve DNA Bağlanma Özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.*
- İlgaz, A. (1999).** Özel Mikrobiyoloji *Medison Yayınları* 91-96.

- İşci, Ü., Beyreis, M., Tortik, N., Topal, S. Z., Glueck, M., Ahsen, V., ... & Plaetzer, K. (2016).** Methylsulfonyl Zn phthalocyanine: A polyvalent and powerful hydrophobic photosensitizer with a wide spectrum of photodynamic applications. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 13, 40-47.
- Jesionek, A., & Von Tappeiner, H. (1905).** Zur behandlung der hautcarcinome mit fluorescierenden stoffen. *Dtsch Arch Klin Med*, 85, 223-239.
- Jiang, J. (Ed.). (2010).** Functional phthalocyanine molecular materials (Vol. 135). *Springer*.
- Kawasaki, H., Koyama, T., Conlon, J. M., Yamakura, F., & Iwamuro, S. (2008).** Antimicrobial action of histone H2B in Escherichia coli: evidence for membrane translocation and DNA-binding of a histone H2B fragment after proteolytic cleavage by outer membrane proteinase T. *Biochimie*, 90(11-12), 1693-1702.
- Ke, M. R., Eastel, J. M., Ngai, K. L., Cheung, Y. Y., Chan, P. K., Hui, M., ... & Lo, P. C. (2014).** Oligolysine-Conjugated Zinc (II) Phthalocyanines as Efficient Photosensitizers for Antimicrobial Photodynamic Therapy. *Chemistry–An Asian Journal*, 9(7), 1868-1875.
- Keha E, Küfrevioğlu İ (2012).** Biyokimya. *Aktif Yayın Evi*. 9.Baskı, 521-544.
- Klug, W. S., Cummings, M. R., 2000.** Genetik Kavramlar. (çev. Prof. Dr. Cihan Öner), *Palme yayıncılık, Ankara*.
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., & Winn, W. C. (1997).** Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, Lippin Cott, Philadelphia, USA. 11-Yean, FM (2000). *Biochemical test of identification of medical bacteria*.
- Kong, C., Chee, C. F., Richter, K., Thomas, N., Rahman, N. A., & Nathan, S. (2018).** Suppression of Staphylococcus aureus biofilm formation and virulence by a benzimidazole derivative, UM-C162. *Scientific reports*, 8(1), 2758.
- Konopka, K. R. Y. S. T. Y. N. A., & Goslinski, T. O. M. A. S. Z. (2007).** Photodynamic therapy in dentistry. *Journal of dental research*, 86(8), 694-707.
- Krishnan, R., Arumugam, V., & Vasaviah, S. K. (2015).** The MIC and MBK of silver nanoparticles against Enterococcus faecalis-a facultative anaerobe. *J Nanomed Nanotechnol*, 6(3), 285.
- Kussovski, V., Mantareva, V., Durmuş, M., & Angelov, I. (2018).** Quaternized Zn (II) phthalocyanines for photodynamic strategy against resistant periodontal bacteria. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 73(5-6), 221-228.
- Lapok, L. (2006).** Synthesis and photocatalytic properties of new water-soluble phthalocyanines and related compounds. *University of Bremen*.
- Lerman, L. S. (1961).** Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of molecular biology*, 3(1), 18-IN14.
- Levinson, W., Jawetz E., 2008.** Medical Microbiology and Immunology. The McGraw Hill Companies, ISBN 978-0-07-149620-9, *United States*, 11p.

- Ligon, B. L. (2004, January).** Penicillin: its discovery and early development. In *Seminars in pediatric infectious diseases* (Vol. 15, No. 1, pp. 52-57). WB Saunders.
- Ling, L. L., Schneider, T., Peoples, A. J., Spoering, A. L., Engels, I., Conlon, B. P., & Jones, M. (2015).** A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*, 517(7535), 455.
- Lippert, B. (1999).** Impact of Cisplatin on the recent development of Pt coordination chemistry: a case study. *Coordination chemistry reviews*, 182(1), 263-295.
- Liu, D., Li, L., Chen, J., Chen, Z., Jiang, L., Yuan, C., & Huang, M. (2018).** Dissociation of zinc phthalocyanine aggregation on bacterial surface is key for photodynamic antimicrobial effect. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 22(09n10), 925-934.
- López-Ribot, J. L. (2005).** Candida albicans biofilms: more than filamentation. *Current biology*, 15(12), R453-R455.
- Mahmoudi, H., Bahador, A., Pourhajibagher, M., & Alikhani, M. Y. (2018).** Antimicrobial photodynamic therapy: an effective alternative approach to control bacterial infections. *Journal of lasers in medical sciences*, 9(3), 154.
- Maisch, T., Szeimies, R. M., Jori, G., & Abels, C. (2004).** Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 3(10), 907-917.
- Mantareva, V., Kussovski, V., Angelov, I., Borisova, E., Avramov, L., Schnurpfeil, G., & Wöhrle, D. (2007).** Photodynamic activity of water-soluble phthalocyanine zinc (II) complexes against pathogenic microorganisms. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(14), 4829-4835.
- Mantareva, V., Kussovski, V., Durmuş, M., Borisova, E., & Angelov, I. (2016).** Photodynamic inactivation of pathogenic species *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* with lutetium (III) acetate phthalocyanines and specific light irradiation. *Lasers in medical science*, 31(8), 1591-1598.
- Martinez R, Garcia LC (2005).** The Search of DNA-Intercalators as Antitumoral Drugs: what it Worked and What did not Work. *Current Medicinal Chemistry* 12(2): 127-151.
- Mathews, C.K., Van Holde, K.E. 1996.** Biochemistry, Redwood City, California, The Benjamin /Cummings Publishing Company.
- Murray, R. J. (2005).** Recognition and management of Staphylococcus aureus toxin-mediated disease. *Internal medicine journal*, 35, S106-S119.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W. (2000).** Harper's Biochemistry, 25th. Appleton & Lange Publications.
- Namlı M. 2013** Bazı izokinolin içeren ftalosiyeninlerin mikrodalga yardımcı sentezi, karakterizasyonu ve Fotosensitizer Özelliklerinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize, Türkiye*,

- Nyamu, S. N., Ombaka, L., Masika, E., & Ng'ang'a, M. (2018).** Antimicrobial Photodynamic Activity of Phthalocyanine Derivatives. *Advances in Chemistry*, 2018.
- O'Riordan, K., Akilov, O. E., & Hasan, T. (2005).** The potential for photodynamic therapy in the treatment of localized infections. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2 (4), 247-262.
- Oniszczyk, A., Wojtunik-Kulesza, K. A., Oniszczyk, T., & Kasprzak, K. (2016).** The potential of photodynamic therapy (PDT)—Experimental investigations and clinical use. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 912-929.
- Özdemir, P. S., & Özgüney, A. T. (2017).** Ftalosiyanin esaslı boyarmaddelerin kimyasal yapıları ve fonksiyonel tekstillerin üretilmesinde kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 23(7), 809-817.
- Palchaudhuri, R., & Hergenrother, P. J. (2007).** DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action. *Current opinion in biotechnology*, 18(6), 497-503.
- Paul, A., & Bhattacharya, S. (2012).** Chemistry and biology of DNA-binding small molecules. *Current Science*, 212-231.
- Polto, J. S., de Carvalho, L. M. M., Bonilla, R., de Araújo, A. D., Arroyo, F., Suárez, J., & Sánchez-Andrade, R. (2014).** Horse handling conditions and emergence of neglected infections: fasciolosis. *breeding, health disorders and effects on performance and behavior*, 127.
- Pommerville, J. C. (2011).** Alcamo's fundamentals of microbiology. *Jones & Bartlett Publishers*.
- Raab O 1900.** Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe aus Infusorien. *Z Biol*; 39: 524 (in German).
- Ragàs, AX (2001).** Antimikrobiyal Fotodinamik Terapide Tekli Oksijen: Biyolojik etkiler, Mekanistik Çalışmalar ve Gelecek Yönler *Doktora tezi, Doktora tezi, Bracelona, Universitat Ramon LLull*.
- Revuelta-Maza, M. Á., González-Jiménez, P., Hally, C., Agut, M., Nonell, S., de la Torre, G., & Torres, T. (2019).** Fluorine-substituted tetracationic ABAB-phthalocyanines for efficient photodynamic inactivation of Gram+ and Gram-bacteria. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 111957.
- Reynoso, E., Ferreyra, D. D., Durantini, E. N., & Spesia, M. B. (2019).** Photodynamic inactivation to prevent and disrupt *Staphylococcus aureus* biofilm under different media conditions. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*.
- Ribeiro, A. P. D., Andrade, M. C., Bagnato, V. S., Vergani, C. E., Primo, F. L., Tedesco, A. C., & Pavarina, A. C. (2015).** Antimicrobial photodynamic therapy against pathogenic bacterial suspensions and biofilms using chloro-aluminum phthalocyanine encapsulated in nanoemulsions. *Lasers in medical science*, 30(2), 549-559.

- Rosa, L. P., & da Silva, F. C. (2014).** Antimicrobial photodynamic therapy: a new therapeutic option to combat infections. *Journal of Medical Microbiology & Diagnosis*, 3(4), 1.
- Rosenberg, B., Van Camp, L., Grimley, E. B., & Thomson, A. J. (1967).** The inhibition of growth or cell division in *Escherichia coli* by different ionic species of platinum (IV) complexes. *Journal of Biological Chemistry*, 242(6), 1347-1352.
- Ruiz-González, R., Agut, M., Reddi, E., & Nonell, S. (2015).** A comparative study on two cationic porphycenes: Photophysical and antimicrobial photoinactivation evaluation. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 27072-27086.
- Ryskova, L., Buchta, V., & Slezak, R. (2010).** Photodynamic antimicrobial therapy. *Open Life Sciences*, 5(4), 400-406.
- Sambrook, J., Fritsch, EF ve Maniatis, T. (1989).** *Moleküler klonlama: bir laboratuvar el kitabı* (No. Ed. 2). Soğuk bahar liman laboratuvarında basın.
- Scalise, I., & Durantini, E. N. (2005).** Synthesis, properties, and photodynamic inactivation of *Escherichia coli* using a cationic and a noncharged Zn (II) pyridyloxophthalocyanine derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 13(8), 3037-3045.
- Sindelo, A., Kobayashi, N., Kimura, M., & Nyokong, T. (2019).** Physicochemical and photodynamic antimicrobial chemotherapy activity of morpholine-substituted phthalocyanines: Effect of point of substitution and central metal. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 374, 58-67.
- Spagnul, C., Turner, L. C., & Boyle, R. W. (2015).** Immobilized photosensitizers for antimicrobial applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 150, 11-30.
- Sperandio, F.F., Huang, Y.Y. ve R Hamblin, M. (2013).** Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-negative bacteria. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, 8(2), 108-120.
- Strekowski, L., & Wilson, B. (2007).** Noncovalent interactions with DNA: an overview. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 623(1-2), 3-13.
- Şen, A., & Halkman, A. K. (2006).** Çiğ sütte *Pseudomonas aeruginosa* sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmalar". *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 4(2), 2-13.
- Tegos, G., Dai, T., Fuchs, B. B., Coleman, J. J., Prates, R. A., Astrakas, C., ... & Hamblin, M. R. (2012).** Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform. *Frontiers in microbiology*, 3, 120.
- Teichert, M. C., Jones, J. W., Usacheva, M. N., & Biel, M. A. (2002).** Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 93(2), 155-160.
- Thomas, A. L. (1990).** Phthalocyanine research and applications. *CRC Press*.

- Tunçel, A., Öztürk, İ., Ince, M., Ocakoglu, K., Hoşgör-Limoncu, M., & Yurt, F. (2019).** Antimicrobial photodynamic therapy against *Staphylococcus aureus* using zinc phthalocyanine and zinc phthalocyanine-integrated TiO₂ nanoparticles. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 23(01n02), 206-212.
- Vasudevan, S., Joseph, H. A., Swamy, S. S., & Solomon, A. P. (2019).** Antibiotic Resistance in Biofilms. In *Introduction to Biofilm Engineering* (pp. 205-224). American Chemical Society.
- Vecchio, D., Dai, T., Huang, L., Fantetti, L., Roncucci, G., & Hamblin, M. R. (2013).** Antimicrobial photodynamic therapy with RLP068 kills methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and improves wound healing in a mouse model of infected skin abrasion PDT with RLP068/CI in infected mouse skin abrasion. *Journal of biophotonics*, 6(9), 733-742.
- Wainwright, M. (1998).** Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 42(1), 13-28.
- Wainwright, M., Maisch, T., Nonell, S., Plaetzer, K., Almeida, A., Tegos, G. P., & Hamblin, M. R. (2017).** Photoantimicrobials are we afraid of the light?. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(2), e49-e55.
- Waldvogel F.A., 2000.** *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone; 2069-2092.
- Wardlaw, J. L., Sullivan, T. J., Lux, C. N., & Austin, F. W. (2012).** Photodynamic therapy against common bacteria causing wound and skin infections. *The Veterinary Journal*, 192(3), 374-377.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008).** Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature protocols*, 3(2), 163.
- Wing, R., Drew, H., Takano, T., Broka, C., Tanaka, S., Itakura, K., Dickerson, R., 1980.** Crystal Structure Analysis of A Complete Turn of B-DNA. 287 (5784); 755-8.
- Yalçınkaya H., 2010.** Tiyofen Grupları İçeren Ftalosiyanınleri Sentezi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi İstanbul, Türkiye.
- Yan, J., Wang, K., Dang, W., Chen, R., Xie, J., Zhang, B., ... & Wang, R. (2013).** Two hits are better than one: membrane-active and DNA binding-related double-action mechanism of NK-18, a novel antimicrobial peptide derived from mammalian NK-lysin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(1), 220-228.
- Yin, R., & R Hamblin, M. (2015).** Antimicrobial photosensitizers: drug discovery under the spotlight. *Current medicinal chemistry*, 22(18), 2159-2185.
- Yücel, A. (1999).** Medical mycology: yesterday and today. *Cerrahpasa Journal of Medicine*, 30 (2), 191-198.

Zhao, Z., Li, Y., Meng, S., Li, S., Wang, Q., & Liu, T. (2014). Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to photodynamic antimicrobial chemotherapy with α -d-galactopyranosyl zinc phthalocyanines: in vitro study. *Lasers in medical science*, 29(3), 1131-1138.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyad : Nurşen KARAKODAK
Adres : SİVAS-Merkez
Telefon No : 05343013797
E-mail : karakodak.n@gmail.com
Doğum Tarihi : 20/06/1990
Sürücü Belgesi : B (2010)



EĞİTİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik	2017 - 2020
Lisans	Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji	2009 - 2014
Lise	Halil Rıfat Paşa	2004-2007

İŞ DENEYİMİ

- **Stajyer**
- **Sivas Devlet Hastanesi Biyokimya ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı (Biyolog)**
06.2011/08.2011

TEZ & PROJELER

Yüksek Lisans Tezi: Morfolin Ve Piperazin Grupları İçeren Suda Çözünür Çinko Ftalosiyanın DNA Etkileşimleri Ve Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi Uygulamaları

- Kulak Yolu Küreti Dezenfeksiyonunda Yeni Yöntem Geliştirme: Fotodinamik Dezenfeksiyon (Devam Ediyor)
- Morfolin Ve Piperazin Grupları İçeren Suda Çözünür Çinko Ftalosiyanın DNA Etkileşimleri Ve Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi Uygulamaları (Tamamlandı)
- İndiyum Merkez Atomlu Ftalosiyanın Fotoduyarlayıcı Moleküllerin ct-DNA ve G-quadruplex DNA'lar ile Etkileşiminin İncelenmesi (Tamamlandı)

YAYINLAR

- Synthesis and photophysicochemical properties of novel water soluble zinc(II)phthalocyanines directly substituted with morpholine groups (Yayın aşaması)

KONGRELER

- Biomed 2018 23. Biyomedikal Bilim ve Teknoloji Sempozyumu
15.12.2018/16.12.2018
- Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi'ne Karşı Yeni, Milli ve Modern Antiviral İlaç Geliştirilmesi
12.01.2019

POSTER SUNUMLARI

- Çinko Ftalosiyanınin Moleküllerinin Antimikrobiyal Fotodinamik Etkisi
- Farklı Ftalosiyanın Moleküllerinin DNA ile Etkileşimleri
- CdTe QD- Ftalosiyanın Entegre Biyosensör Geliştirme ve Analitik Uygulamaları
- Kuantum Nokta ile Entegre Galyum ve İndium Merkez Atomlu ftalosiyanın Bileşiklerinin DNA Biyosensör Özellikleri
- Topoizomeraz Enzimlerinin Magnezyum Ftalosiyanın Bileşiği ile Etkileşimleri
- CD Spectroscopic Melting Temperature Investigation For Estimating G-Quadruplex DNA Stabilization
- Development Of Quantum Dot Based G-Quadruplex DNA Light On-Off Probe

KURS / SERTİFİKA BİLGİLERİ

- TSC Akademi ISO 9001 : 2008 Kalite Yönetim Sistemleri
2013
- TSC Akademi ISO 15189 : 2012 Tıbbi Laboratuvarlar Kalite Ve Yeterlilik İçin Gereklilikler
2013
- TSC Akademi ISO 13485 : 2012 Tıbbi Cihazlar Kalite Yönetim Sistemi
2013

BİLGİSAYAR BİLGİSİ

- Word, Excel, Powerpoint, Outlook

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce Orta