



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

**SUDA ÇÖZÜNÜR BAKIR VE OKSO-TİTANYUM (IV)
FTALOSİYANİN BİLEŞİKLERİNİN G-QUADRUPLEKS
DNA ETKİLEŞİMLERİNİN CD SPEKTROSKOPİSİ ve
İZOTERMAL TİTRASYON KALORİMETRİSİ İLE
ARAŞTIRILMASI**

GAMZE ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANA BİLİM DALI

SIVAS-2020

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SUDA ÇÖZÜNÜR BAKIR VE OKSO-TİTANYUM (IV)
FTALOSİYANİN BİLEŞİKLERİNİN G-QUADRUPLEKS
DNA ETKİLEŞİMLERİNİN CD SPEKTROSKOPİSİ ve
İZOTERMAL TİTRASYON KALORİMETRİSİ İLE
ARAŞTIRILMASI

GAMZE ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA
ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ESRA BAĞDA

SİVAS-2020

“Suda Çözünür Bakır ve Okso-Titanyum (IV) Ftalosiyanın bileşiklerinin G-quadrupleks DNA Etkileşimlerinin CD Spektroskopisi ve İzotermal Titrasyon Kalorimetrisi ile Araştırılması” adlı Yüksek Lisans Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hüseyin Altundağ (Başkan)



Doç. Dr. Tülay Oymak



Doç. Dr. Esra Bağda (Danışman)



ONAY

Bu tez çalışması, 06.01.2020 Tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ


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

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından ECZ-062 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.



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

© Gamze ŞAHİN, 2020



Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyen
aileme...

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık 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 ya da bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

06.01.2020

Gamze Şahin

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım bu araştırmada, konunun seçiminde, hazırlanmasında ve yürütülmesi sürecinde her aşamada bana destek olan, laboratuvara girdiğim ilk günden itibaren bana her zaman destek veren, motive eden, laboratuvar tecrübemin temelini oluşturan, tecrübe ve bilgi birikiminden yararlandığım yalnızca akademik olarak değil hayata ilişkin her konuda başarılarıyla kendime örnek aldığım değerli hocam tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Esra BAĞDA'ya bana ayırdığı zaman ve ilgi için sonsuz teşekkür ederim

Tez çalışmamda kullandığım ftalosiyanın moleküllerini temin eden Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Mahmut DURMUŞ'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışması süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden Doç. Dr. Efkan BAĞDA'ya teşekkür ederim.

Yaklaşık on yılı geçen, lisans ve yüksek lisans hayatımda her konuda yanımda yer alan, sabrını, fedakârlığını, emeğini hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşım Nurşen Karakodak'a ve ailesine sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her anında beni daima destekleyen, bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan, her konuda varlığını ve desteğini hissettiğim aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Projeler Araştırma Birimi tarafından *ECZ-062* numaralı projeye desteklenmiştir.

ÖZET

SUDA ÇÖZÜNÜR BAKIR VE OKSO-TİTANYUM (IV) FTALOSİYANİN BİLEŞİKLERİNİN G-QUADRUPLEKS DNA ETKİLEŞİMLERİNİN CD SPEKTROSKOPİSİ ve İZOTERMAL TİTRASYON KALORİMETRİSİ İLE ARAŞTIRILMASI

Gamze ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi

Analitik Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Esra BAĞDA

2020, 78 + xviii sayfa

G-quadrupleksler, guanince zengin DNA dizilerinin standart olmayan bir şekilde, dört guanin nükleotidinin sekiz Hoogsten hidrojen bağı ile birbirine bağlanmasıyla oluşan dörtlü yapıların π - π istiflenmeleri sonucunda oluşmaktadır. Bu yapılar genomun telomer bölgelerinde, promotorlerde ve 5' UTR'lerde bulunurlar.

G-quadrupleksler genom üzerinde biyolojik olarak önemli bölgelerde bulduklarından dolayı birçok hastalığın tedavisinde ilaç hedefleri olarak yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. G-quadrupleks DNA ile etkileşen moleküller organizmanın hücre proliferasyonunda farklılıklara neden olabilmektedir. Bundan dolayı G-quadrupleks DNA'larla etkileşimler, G-quadrupleks konformasyonlarındaki değişimlerin araştırılması, G-quadrupleks yapılarına afinite gösteren bileşiklerin sentezlenmesi önemli bilimsel çalışmalardır.

Bu çalışmada suda çözünür bakır ftalosiyanın ve titanyum ftalosiyanınların, farklı konformasyona sahip G-quadrupleksler ile etkileşimleri çalışılmıştır. Çalışılan deneysel şartlarda paralel konformasyondaki AS1411, hibrit konformasyondaki Tel-21 ve Tel-45 oligomerleri tercih edilmiştir. Etkileşimler UV-Gör., floresans, circular dichroism (CD) spektrofotometrik yöntemlerle araştırılmıştır. Ayrıca termodinamik parametreler izotermal titrasyon kalorimetrisi (ITC) ile belirlenmiştir. Bakır ftalosiyanın ve titanyum ftalosiyanınların çalışılan G-quadrupleks aptamerleri ile etkileştiği, etkileşimlerin konformasyonel değişikliklere neden olduğu, bazı durumlarda ise konformasyonlar arası geçişler olduğu gözlenmiştir. Etkileşimlerin ftalosiyanın bileşiklerinin fotodinamik terapi uygulamaları için önemli bir sorunu olan agregasyonu engellediği gözlenmiştir. Bakır ftalosiyanınların G-quadrupleks DNA ile etkileşimlerinin titanyum ftalosiyanınlere göre daha kuvvetli olduğu

bulunmuştur. Titanyum ftalosiyanınin AS1411 ile etkileşiminin stokiyometrisinin yüksek olması ve konformasyonda değişikliğe neden olmaması bu kompleksin ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilme potansiyelini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: DNA etkileşimi, Ftalosiyanınin, G-quadrupleks, ITC



ABSTRACT

INVESTIGATION OF G-QUADRUPLEX DNA INTERACTIONS OF WATER SOLUBLE COPPER AND OXO-TITANIUM (IV) PHTHALOCYANINE COMPOUNDS BY CD SPECTROSCOPY AND ISOTHERMAL TITRATION CALORIMETRY

Gamze ŞAHİN

Master of Science Thesis

Department of Analytical Chemistry

Supervisor: Ass. Prof. Esra BAĞDA

2020, 78 + xviii pages

G-quadruplexes are formed by π - π stacking of G-tetrads, which are formed by linking four guanine nucleotides with eight Hoogsten hydrogen bonds in guanine-rich region of genome. These structures are found in the telomere regions of the genome, promoters and 5'UTRs.

Since G-quadruplexes are located in biologically important regions on the genome, they are extensively studied as drug targets in the treatment of many diseases. Molecules interactions with G-quadruplex DNA may cause differences in cell proliferation of the organism. As a result, interactions with G-quadruplex DNAs, investigation of changes in G-quadruplex conformation, synthesis of molecules that show affinity to G-quadruplex structures are important scientific studies.

In this study, the interactions of water soluble copper phthalocyanines and titanium phthalocyanines with different conformation G-quadruplexes were studied. In the experimental conditions, AS1411 in parallel conformation, TEL 21 and TEL 45 oligomers in hybrid conformation were preferred. Interactions were investigated by UV-Vis., Fluorescence, Circular Dichroism (CD) spectrophotometric methods. In addition, thermodynamic parameters were determined by Isothermal Titration Calorimetry (ITC). It was observed that copper phthalocyanine and titanium phthalocyanines interacted with studied G-quadruplex aptamers, interactions caused conformational changes and in some cases transitions between conformations were observed. It has been observed that interactions prevent aggregation, which is an important problem of phthalocyanine compounds for photodynamic therapy applications. Interactions of copper phthalocyanines with G-quadruplex DNA were found to be stronger than titanium phthalocyanines. The interaction of titanium

phthalocyanine with AS1411 has high stoichiometry and did not cause any change in conformation, which showed the potential of this complex to be used as a drug delivery system.

Key words: DNA interaction, Phthalocyanine, G-quadruplex, ITC



İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK.....	i
ONAY.....	ii
YÖNERGE	iii
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	x
İÇİNDEKİLER.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
KISALTMALAR/SİMGELER.....	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Ftalosiyanin	3
2.1.1. Ftalosiyanin ve Tarihçesi	3
2.1.2. Ftalosiyaninlerin Yapısı	3
2.1.3. Ftalosiyaninlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	5
2.1.4. Ftalosiyaninlerin Kullanım Alanları	7
2.2. Deoksiribonükleik Asit (DNA).....	7
2.2.1. DNA'nın Tarihsel Gelişimi.....	7
2.2.2. DNA'nın Yapısı	8
2.2.3. G-quadrupleks	15
2.3. Küçük Molekül DNA Etkileşimleri	18
2.3.1. DNA ile Kovalent Bağlanma	19
2.3.2. DNA ile Kovalent Olmayan Bağlanma	21
2.3.2.1. Elektrostatik Etkileşimler.....	22
2.3.2.2. Oluğa Bağlanma ile Etkileşimi	23
2.3.2.3. İnterkalasyon ile Etkileşimler	25
2.4. Literatür.....	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler	32

3.2. Ftalosiyenin Bileşiklerinin DNA Bağlanma Özellikleri İncelenmesi.....	32
3.2.1. UV- Görünür Absorpsiyon Titrasyonları	33
3.2.2. Floresans Yer değiştirme Deneylei.....	33
3.2.3. CD (Circular Dichroism) Spektrofotometre Deneylei.....	34
3.2.4. İzotermal Titrasyon Kalorimetresi (ITC).....	34
4. BULGULAR.....	36
4.1. DNA Bağlanma Çalışmaları	36
4.1.1. UV-Gör. Spektrofotometre Deneylei.....	36
4.1.2. Floresans Yer Değiştirme Deneylei.....	42
4.1.3. İzotermal Titrasyon Kalorimetre (ITC).....	45
4.1.4. Circular Dichroism (CD) Spektrofotometre Deneylei.....	51
5. TARTIŞMA.....	57
KAYNAKLAR	64

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 4.1: Fs bileşiklerinin K_{SV} sabitleri	42
Tablo 4.2: CuFs bileşinin oligomerlerle etkileşimlerine ait termodinamik parametreler	46
Tablo 4.3: TiFs bileşinin oligomerlerle etkileşimlerine ait termodinamik parametreler	49



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1 Ftalosiyanimlerde merkez atomu olarak kullanılabilen elementlerin gösterimi.....	4
Şekil 2.2 a) Porfirin, b) Metalsiz ftalosiyanim (H ₂ Fs), c) Metalli ftalosiyanim (MFs)..	4
Şekil 2.3 Ftalosiyanimlerin α ve β kristal yapıları.....	6
Şekil 2.4 Metalli ftalosiyanimlerin kristal yapılarının şematik olarak gösterimi	6
Şekil 2.5 Watson-Crick; çift sarmallı DNA yapısı	8
Şekil 2.6 DNA'nın yapısını oluşturan nükleotid birimi	9
Şekil 2.7 Nükleotitlerde bulunan pürin ve pirimidin türevli azotlu bazların yapısı	9
Şekil 2.8 Nükleik asit zincirinin yapısı.....	10
Şekil 2.9 (a) DNA'nın sarmal yapısı, (b) DNA sarmalında oluşan küçük ve büyük oluklar.....	11
Şekil 2.10 G-C ve A-T baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları.....	12
Şekil 2.11 DNA'nın denatürasyonu	13
Şekil 2.12 DNA'nın A, B ve Z formları	15
Şekil 2.13 Telomerik DNA'nın potasyum iyonları varlığında bir G-4 yapıya katlanmasının şematik diyagramı.....	16
Şekil 2.14 (A) G-quadrupleks yapısının şematik gösterimi ve bir intramoleküler G-dörtlü yapının oluşması. (B) Moleküler ve intramoleküler olarak düzenlenmiş farklı G-quadrupleks topolojileri	16
Şekil 2.15 DNA-ilaç etkileşim türleri.....	19
Şekil 2.16 Cisplatinin öngörülen etki mekanizması	20
Şekil 2.17 Cisplatinin öngörülen etki mekanizması	20
Şekil 2.18 DNA ile kovalent olmayan etkileşimler	21
Şekil 2.19 Moleküllerinin DNA'ya bağlanma şekilleri.....	22
Şekil 2.20 DNA ile moleküllerin elektrostatik bağlanma modeli	23
Şekil 2.21 DNA ile moleküllerin majör ve minör oluklara bağlanması.....	24
Şekil 2.22 Küçük oluğa bağlanma gösteren moleküller	24
Şekil 2.23 Çift sarmal DNA'ya interkalasyon şeklinde bağlanma.....	25
Şekil 2.24 İnterkalasyon yapan bileşikler	26
Şekil 2.25 Etidyum bromürün interkalasyonu	26

Şekil 2.26 İnterkalasyon modları: a) klasik interkalasyon, b) majör ya da minör oyuk üzerinden interkalasyon, c) bis-interkalasyon	27
Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan (a) CuFs ve (b) TiFs bileşikleri	31
Şekil 3.2 Thiazole orange (TO)	33
Şekil 3.3 Stern-Volmer denklemi	34
Şekil 4.1 UV-Vis spektrumunda oluşan kaymalar	36
Şekil 4.2 (a) AS1411 (0-0,0089 mM) – CuFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları (b)AS1411 (0,0089- 0,024 mM) - CuFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları	38
Şekil 4.3 (a) Tel 21 (0- 0,0075 mM) - CuFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları (b) Tel 21 (0,0075- 0,02 mM) - CuFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları	38
Şekil 4.4 (a) Tel 45 (0- 0,0081 mM) - CuFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları	39
(b) Tel 45 (0,0081- 0,02 mM) - CuFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları	39
Şekil 4.5 Fosfat tamponu - CuFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları.....	39
Şekil 4.6 (a) AS1411 (0-0,006 mM) - TiFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları (b) AS1411 (0,006- 0,02 mM) - TiFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları	40
Şekil.4.7 (a) Tel 21 (0 - 0,002 mM) - TiFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları (b) Tel 21 (0,002 – 0,02 mM) - TiFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları.....	40
Şekil 4.8 (a) Tel 45 (0 – 0,004 mM) - TiFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları (b) Tel 45 (0 – 0,004 mM) - TiFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları.....	41
Şekil 4.9 Fosfat tamponu - TiFs bileşiğinin UV-Vis spektrumları	41
Şekil 4.10 AS1411- CuFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği	43
Şekil 4.11 Tel 21 - CuFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği	43
Şekil 4.12 Tel 45 - CuFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği	43
Şekil 4.13 AS1411- TiFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği.....	44
Şekil 4.14 Tel 21 - TiFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği.....	44
Şekil 4.15 Tel 45 - TiFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği.....	44
Şekil 4.16 CuFs bileşiğinin AS1411 oligomeri ile ITC diyagramı.(Reverse titrasyon, enjeksiyon : 40 µL 0,223 mM AS1411, hücre : 280 µL 0,01087 mM CuFs)	46
Şekil 4.17 CuFs bileşiğinin Tel 21 oligomeri ile ITC diyagramı.(Reverse titrasyon, enjeksiyon: 40 µL 0,165 mM Tel 21, hücre : 280 µL 0,01087 mM CuFs)	47

- Şekil 4.18** CuFs bileşiğinin Tel 45 oligomeri ile ITC diyagramı.(Reverse titrasyon, enjeksiyon: 40 µL 0,22 mM Tel 45, hücre : 280 µL 0,01087 mM CuFs)48
- Şekil 4.19** TiFs bileşiğinin As1411 oligomeri ile ITC diyagramı.(Reverse titrasyon, enjeksiyon : 40 µL 0,223 mM AS1411, hücre : 280 µL 0,02162 mM TiFs)49
- Şekil 4.20** TiFs bileşiğinin Tel 21 oligomeri ile ITC diyagramı.(Reverse titrasyon, enjeksiyon: 40 µL 0,165 mM Tel21, hücre : 280 µL 0,02162 mM TiFs) .50
- Şekil 4.21** TiFs bileşiğinin Tel 45 oligomeri ile ITC diyagramı.(Reverse titrasyon, enjeksiyon : 40 µL 0,22 mM Tel 45, hücre : 280 µL 0,02162 mM TiFs) .51
- Şekil 4.22** Tel 21'in CuFs bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu (cTel 21=2,5 µM; cCuFs=0-22,5 µM)53
- Şekil 4.23** Tel 45'in CuFs bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu (cTel 45=2,5 µM; cCuFs=0-22,5 µM)54
- Şekil 4.24** AS1411'in TiFs bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu (cAs1411=2,5 µM; cTiFs=0-22,5 µM).....55
- Şekil 4.24'de AS1411 G-quadrupleks yapısı üzerine TiFs bileşiğinin etkisi görülmektedir. Şekilden görüldüğü gibi As1411'in CD spektrumuna eklenen TiFs'nin önemli bir etkisi olmamıştır.....55
- Şekil 4.25** Tel 21'in TiFs bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu (cTel 21=2,5 µM; cTiFs=0-22,5 µM).....55
- Şekil 4.26** Tel 45'in TiFs bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu (cTel 45=2,5 µM; cTiFs=0-22,5 µM).....56

KISALTMALAR/SİMGELER

KISALTMALAR

CD	Circular Dicroism
ITC	İzotermal Titrasyon Kalorimetre
UV-Gör.	Ultraviyole Görünür
DNA	Deoksiribonükleik asit
EB	Etidyum Bromür
Fs	Ftalosiyenin
G4	G-dörtlü
H₂Fs	Metalsiz Ftalosiyenin
MFs	Metalli Ftalosiyenin
Tel-21	Telomer 21
Tel-45	Telomer 45
TO	Thiazole Orange

SİMGELER

Kb	Bağlanma Sabiti
Ksv	Stern-Volmer Sabiti
T_m	Erime Sıcaklığı
µL	Mikrolitre
mL	mililitre
µM	Mikromolar
mM	Milimolar
M	Molar
nm	Nanometre
G	Guanin
T	Timin
A	Adenin
C	Sitozin
U	Urasil
Cl	Klor
N	Azot
Ti	Titanyum
Cu	Bakır
Å	Angstrom
dk	Dakika

1. GİRİŞ

Ftalosiyanın (Fs) terimi ilk kez 1933 yılında Prof. P. Linstead tarafından metallsiz ve metalli Fs ve bunların türevleri olan organik bileşikler sınıfını tanımlamak için kullanılmıştır (Şen, 2013). Fs'ler yüksek konjugasyonlu $18-\pi$ elektronuna sahip, düzlemsel, sağlam yapılı renkli makrosiklik bileşiklerdir. Renkleri maviden yeşile kadar değişebilmektedir (Özdemir ve Özgüney, 2017). Fs'ler hemoglobin, klorofil A, B12 gibi porfirinlere yapısal olarak benzer olmalarına rağmen doğada bulunmayan sentetik ürünlerdir. Fs'ler porfirinler gibi yüksek aromatik özellik göstermektedirler (Barut, 2016).

Fs bileşikleri biyomedikal uygulamalarda ümit vaad eden malzemeler olarak son yıllarda dikkat çekmektedir (Lim vd., 2012; Sokolov, 1995). Elektriksel özellikleri ve termal kararlılıkları ile son zamanlarda boyama, nükleer kimya, kimyasal sensör, fotodinamik terapi ve kanser tedavisi alanlarında sıkça kullanılan bileşiklerdir. Bu nedenle Fs bileşiklerinin protein ve küçük moleküller ile etkileşimleri incelenmiştir (Barut, 2017). Bu bileşikler, fotodinamik tedavide fotoduyarlayıcı olarak kullanılmaktadırlar çünkü Fs bileşikleri yakın IR bölgesinde yoğun bir absorbansa sahiptir (Liu vd., 2018).

Deoksiribonükleik asit (DNA), kararlı yapısına bağlı olarak genetik bilginin depolanmasını ve nesilden nesile aktarılmasını sağlayan canlılığın temel yapı taşıdır. DNA yapısındaki küçük miktardaki değişimler dahi, hücreler için fizyolojik olarak büyük önem taşımaktadır (Barut, 2016). DNA'nın yaygın olarak bilinen çift sarmal primer yapısının dışında sekonder yapıları da mevcuttur. DNA'nın sekonder yapısı olan dört zincirli G-dörtlü (G4) yapısı bulunmaktadır. G4'lü gruplar, guanin bakımından zengin bölgelerde ve ayrıca onkogen promotör bölgelerde bulunan DNA yapılarından oluşmaktadır. G4'lülerinin istiflenmesi ile G-quadrupleks yapısı oluşur. Bu yapılar, Hoogsteen hidrojen bağları ile oluşan G4'lülerin, potasyum ve sodyum gibi tek yüklü katyonlar ve ligandlar varlığında stabilize olarak dikey istiflenmesi ile oluşmaktadır (Głuszyńska vd., 2018).

DNA; antibiyotik, antiviral ve antikanser ilaçların geliştirilmesinde hedef olarak seçilen önemli biyomoleküllerdendir. DNA'nın hücre döngüsündeki rollerinden

dolayı, bu yapıya bağlanan birçok ilaç ve bileşik geliştirilmiştir. Küçük moleküllerin DNA'ya bağlanma çalışmaları ilaç-DNA etkileşimlerini incelemenin yanı sıra yeni ve etkili ilaçların geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Antikanser ve antibiyotik ilaçlarının çoğu hücre içinde DNA'yı hedef alır. Son yıllarda DNA ile etkileşebilen küçük moleküllere yönelik çalışmalar büyük ilgi çekmektedir. DNA'ya bağlanan bileşikler DNA'nın aktivitesini etkiler. Metal komplekslerin DNA ile etkileşiminin araştırılması etkili kemoterapötik ajanların ve antikanser ilaçların dizaynı için önemlidir. (Gilad ve Senderowitz, 2013).

Tez kapsamında iki farklı, suda çözünür Cu ve Ti ftalosiyanın bileşiğinin G-quadrupleks DNA yapıları ile etkileşimleri incelenmiştir. Etkileşimler spektroskopik olarak Uv-Gör. spektroskopik titrasyon yöntemi, Thiazole orange (TO) yer değiştirme yöntemi ve circular dikroisim (CD) spektroskopisi ile incelenmiştir. Termodinamik parametreler izotermal titrasyon kalorimetresi (ITC) ile elde edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ftalosiyanın

2.1.1. Ftalosiyanın ve Tarihçesi

Ftalosiyanınlar, adını Yunancada mineral yağı anlamına gelen *naphta* ve koyu mavi anlamındaki *cyanine* kelimelerinden almıştır. 18- π 16 üyeli (8 karbon, 8 azot) makrosiklik bileşik olan ftalosiyanınlar ilk kez 1907 yılında Braun ve Tcherniac tarafından asetik asit ve ftalimitten *o*-siyanobenzamid sentezi sırasında bir yan ürün olarak elde edilmiştir. Yapıları ise 1928'den 1933'e kadar Linstead ve grubu tarafından yapılan araştırmalar ile aydınlatılmıştır. Linstead çalışmaları neticesinde çeşitli fizikokimyasal ölçümlerle Fs'lerin yapılarını doğrulamıştır ve X-ışını ya da elektron mikroskobu gibi metotlarla da ftalosiyanınların düzlemselliğini tespit etmiştir (Aktaş Kamiloğlu, 2016). Böylelikle ilk kez 1933 yılında Reginald P. Linstead tarafından, ftalosiyanın ismi; metalli ve metallsiz ftalosiyanınlar ve modifikasyonlarının oluşturduğu organik bileşikler sınıfını tanımlamak için kullanılmıştır. Hemoglobın ve klorofil gibi doğada bulunan porfirinlere yapısal olarak benzeyen Fs, yapılan araştırmalar sonucunda birçok farklı uygulama alanında, benzersiz özelliklerinin bulunması ile porfirin gibi türevlerinden daha önemli hale gelmiştir. (Linstead, 1934).

2.1.2. Ftalosiyanınların Yapısı

Ftalosiyanınların renkleri maviden sarımsı yeşile kadar farklılık gösterip, merkezi boşluğuna birden fazla metal iyonu alabilen ve koordinasyon bileşikleri oluşturan makrosiklik bileşiklerdir (Yazıcı ve Yılmazer , 2013).

Fs'ler, kompleks oluşumuna doğrudan katılan pirol halkarındaki dört azot atomu ile iki imino hidrojen atomu içeren dört iminoizoindolin biriminden oluşur ve 18- π elektron sistemli, simetrik, düzlemsel yapılu bir makro halkadır (Stuzhin ve Ol'ga, 1996). Bu merkezin yapısı molekülün bir bütün olarak geometrisini ve elektron yapısını belirler. Aynı zamanda metal komplekslerinin oluşumundaki kinetik parametrelerin belirlenmesinde de büyük önem taşımaktadır. Elektronik yapı N-H arası bağların kararlılığını ve solvent molekülü bağlama yatkınlığını belirlemektedir

(Zorlu, 2013). Yapısal olarak porfirinlere benzemelerine rağmen yapılarında bulunan dört benzo birimi ve mezo konumunda bulunan dört azot atomu nedeniyle porfirinlerden ayrılır (Bekaroğlu, 2014).

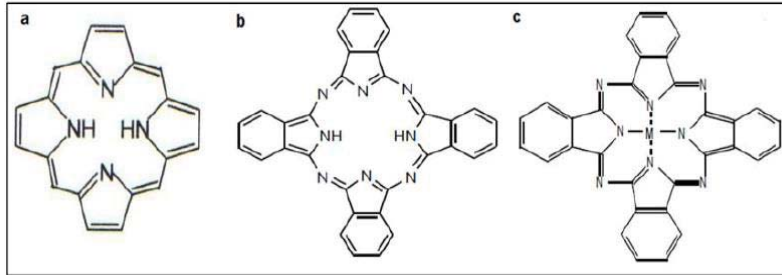
Fs molekülünün merkezinde yer alan iki hidrojen atomunun periyodik tablonun hemen hemen tüm metal iyonlarıyla yer değiştirmesi sonucunda metalli Fs türevi sentzlenebilmektedir. Günümüze kadar 70'e yakın sayıda farklı element, ftalosiyanın merkez atomu olarak kullanılmıştır (Dini ve Hanack, 2003).

H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg							

Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr

Şekil 2.1 Ftalosiyaninlerde merkez atomu olarak kullanılabilen elementlerin gösterimi (Dini ve Hanack, 2003)

Ftalosiyaninlerin merkezinde metal atomu bulundurmaz ise dihidrojenftalosiyanin (H_2Fs) ya da sadece ftalosiyanin (Fs), merkezinde metal atomu yer alır ise MFs şeklinde ifade edilebilmektedir (Ziminov vd., 2006).



Şekil 2.2 (a) Porfirin, (b) Metalsiz ftalosiyanin (H_2Fs), (c) Metalli ftalosiyanin (MFs) (Şen, 2019)

2.1.3. Ftalosiyenin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Ftalosiyenin moleküllerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri, periferik konumlarına çeşitli makro halkalar, substitüentler ve koordinasyon boşluğuna farklı metal atomları eklenerek değiştirilebilmektedir (Arslanoğlu, 2004).

Fs'lerin en önemli fiziksel özelliklerinden biri renkleridir. Boyar madde olduklarından renkleri çok geniş bir yelpazede çeşitlilik göstermektedir. Fs bileşiklerinin renkleri maviden sarımsı yeşile kadar farklılık gösterir. Renk oluşumundaki farklılığa neden olan unsurlar, Fs halkasına substitüe olan ligandların kimyasal özellikleri ve ftalosiyenin kristal yapısıdır. Eklenen grubun etkisine göre bakır ftalosiyenin kompleksi normalde maviyken sülfolandığında yeşil renge dönüştüğü görülmüştür (Kobayashi ve Lever, 1987; Barut, 2016).

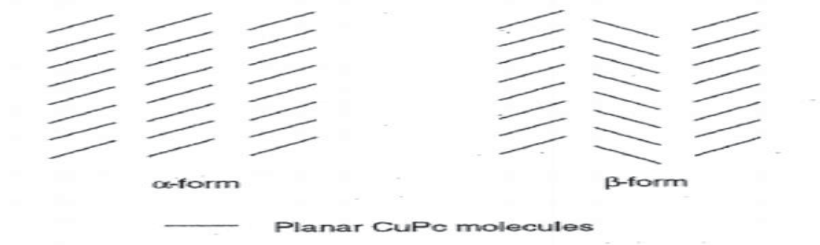
Fs'ler yüksek kimyasal ve termal kararlılığa sahiptirler ve 400-500 °C'ye kadar sıcaklıkta bozunmadan kalabilirler. Çok saf olarak elde edilebilen bileşiklerdir çünkü kolay kristallenirler ve bozunmadan sublimleşebilmektedirler (Arslanoğlu, 2004).

Fs'ler yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları ile kolayca yükseltgenir ya da indirgenmektedirler. Yükseltgenme ve indirgenme metal atomunda ya da ftalosiyenin halkasında şartlara bağlı olarak da tersinir ya da tersinmez olabilir. Bütün ftalosiyenler kuvvetli yükseltgenlerle (nitrik asit, potasyum permanganat vb.) yükseltgenbilirler (Erbahar, 2012; Barut, 2016).

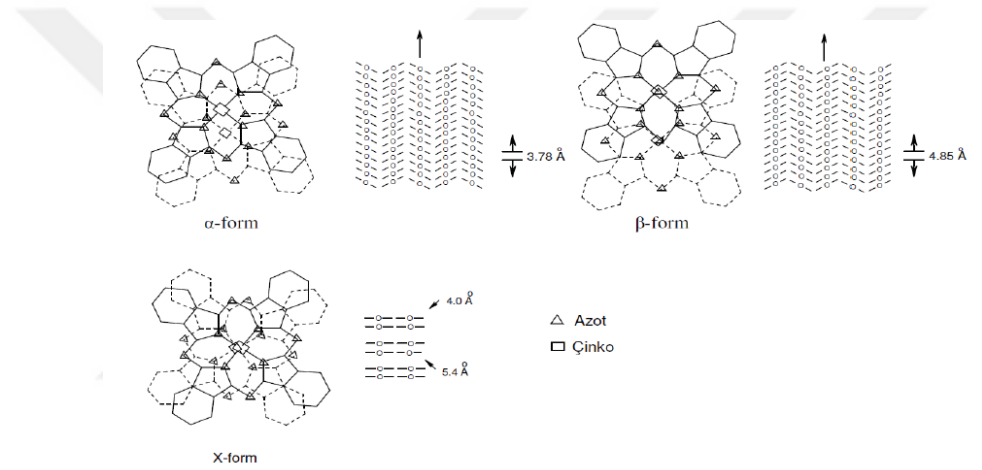
Ftalosiyenin makro halkası 18- π elektron sistemine sahip, aromatik özelliktedir ve 0,3 Å sapma ile düzlemsel olup molekülün kalınlığı 3,4 Å civarında ve D_{4h} simetrisindedir. Ftalosiyenin molekülünün kavitesinin çapı 1,35 Å ve kalınlığı 3,4 Å'dur. Metalli Fs'ler oluşurken ftalosiyenin halkasının kavite çapı ile kaviteye yerleşecek metal iyonunun çapı arasındaki uyum son derece önemlidir çünkü metal iyonunun çapı ftalosiyenin halkasının kavite çapından küçük ya da büyük ise oluşacak metalli ftalosiyenin kompleksi kararsız olmaktadır. Bunun nedeni ise böyle durumlarda metal iyonunun kaviteden kolaylıkla ayrılabilmesidir (Gökçe, 2013).

Fs'ler izomorfik kristal yapıdadır. Substitüentsiz ftalosiyenlerde α -yapısı ve β -yapısı olmak üzere iki kristal yapıları vardır. Bu yapılar arasında çözünürlük, renk,

termodinamik kararlılık açısından farklılıklar bulunur. En sık rastlanan yapısı β -formudur ve α -formuna kıyasla daha kararlı durumdadırlar. X-ışını difraksiyonu yöntemi ile bu yapılar ayrılabilirler. Üçüncü bir diğer yapı ise X-formudur (Eken Korkut, 2013).



Şekil 2.3 Ftalosiyanın α ve β kristal yapıları (Öztürk, 2019)



Şekil 2.4 Metalli ftalosiyanın kristal yapılarının şematik olarak gösterimi (Öztürk, 2019)

Fs'lerin çözünürlüğü, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin araştırılması açısından oldukça önemlidir. Çoğu ftalosiyanınin suda ve organik çözücülerdeki çözünürlüğü oldukça azdır. Bunun nedeni ftalosiyanınin hacimli ve düzlemsel yapıda olup kolay istiflenmeleridir. Bu istiflenmenin azalması için halkanın periferal ve aksiyel konumlarına değişik substituentlerin ($-\text{SO}_3^-$, $-\text{NR}^{3+}$, $-\text{COO}^-$ gibi) eklenmesiyle ftalosiyanınin çözünürlüğünün artırılması mümkündür (Matsuzawa vd., 1997; Kalkan, 2003).

Apolar organik çözücüler içerisinde çözünürlüğünü sağlamak için Fs moleküllerine uzun alkil ya da alkoksi zincirleri, büyük substituentler ya da taç eter gibi makrosiklik yapıların eklenmesi gerekmektedir (Çakır vd., 2014).

2.1.4. Ftalosiyeninlerin Kullanım Alanları

Endüstriyel alanda genellikle boyar madde ve renklendirici olarak kullanılmakta olan ftalosiyeninler son yıllarda açığa çıkan fiziksel ve kimyasal özellikleri ile pek çok alanda kullanım imkânı bulmuştur. Çok yönlü özelliklere sahip olmasının yanı sıra amaca göre dizayn edilebilir olmaları ile kullanım alanları çeşitlilik göstermektedir. Geniş π -konjuge elektron sistemi ile düşük enerjili görünür bölgede absorban yapmaları optik-elektronik cihazlarda kullanılmalarına olanak sağlamaktadır. Ayrıca, elektriksel iletkenlik, fotoiletkenlik ve non-lineer optik özellikleri de optik-manyetik kayıt cihazlarında ve fotokopi makinelerinde rol almalarına alan açmaktadır (Demir, 2019).

Isı, ışık ve kimyasallara karşı dayanıklılıkları bilinmesine ek olarak fotofiziksel ve fotokimyasal özelliklerinin ortaya çıkarılması ile birlikte ftalosiyenin kompleksleriyle farklı uygulama alanlarında yeni çalışmalar yapılmaktadır. Birçok kimyasal modifikasyonla ftalosiyenin halkasının yapısının değiştirilmesi yoluyla istenilen özelliklerde moleküller sentezlenebilmesinin yanı sıra kimyasal reaksiyonlarda homojen ve heterojen kataliz olarak yer almaktadırlar (Demir, 2019).

Pillerde ve likit kristallerde sensör olarak kullanılan ftalosiyeninler, özellikle diskotik sıvı kristal türevleri fotovoltajik pil çalışmalarında ilgi çekmelerine ek olarak tıp alanında foto hassaslaştırıcı olarak fotodinamik kanser tedavilerinde (PDT) kullanılmaktadırlar (Barut, 2016; Demir, 2019).

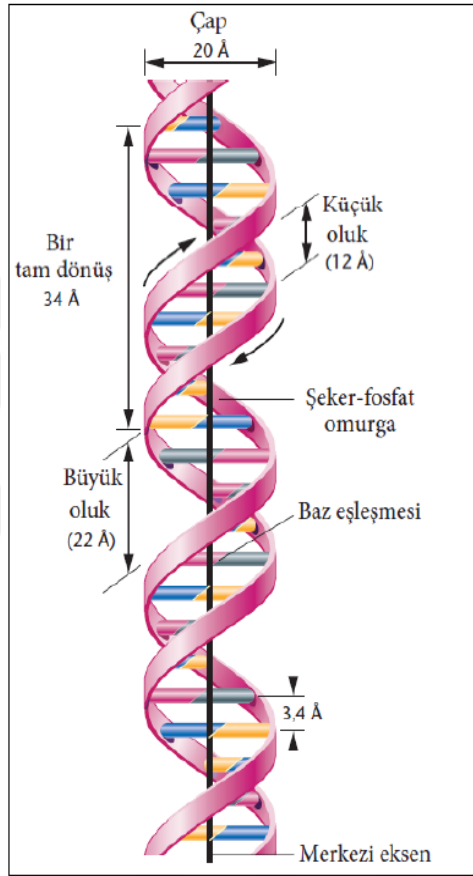
2.2. Deoksiribonükleik Asit (DNA)

2.2.1. DNA'nın Tarihsel Gelişimi

Deoksiribonükleik asit (DNA) İsviçreli bilim adamı Friedrich tarafından 1869 yılında ilk kez izole edilmiştir (Portugal ve Cohen, 1977). Miescher'ın çalışmaları neticesinde keşfetmiş olduğu madde hücre çekirdeğinde (nükleus) bulunduğu için bu maddeye "nüklein" adını vermiştir (Dahm, 2005).

Albert Kossel, DNA ve RNA'nın yapısında bulunan beş bazın (guanin (G), adenin (A), timin (T), sitozin (C) ve urasil (U)) keşfinde önemli bir rol oynamıştır. 1919'da ise Levene, DNA molekülünün nükleotid birimlerden oluşan bir zincir olduğunu ve

bu nükleotid birimlerini oluşturan baz, şeker ve fosfatı tanımlamıştır (Levene, 1919). 1937’de ise William Astbury, ilk X ışını kırınım görüntülerini elde ederek DNA’nın düzenli bir yapıda olduğunu göstermiştir. 1944 yılında Avery ve çalışma grubu DNA’nın genetik madde olarak taşınabileceğini önermiştir ve bu hipotez, Hershey ve Chase tarafından 1952 yılında doğrulanmıştır (Watson ve Crick, 1953). Böylece DNA’nın üç boyutlu yapısının belirlenmesi modern moleküler biyolojinin temellerini oluşturmuştur.

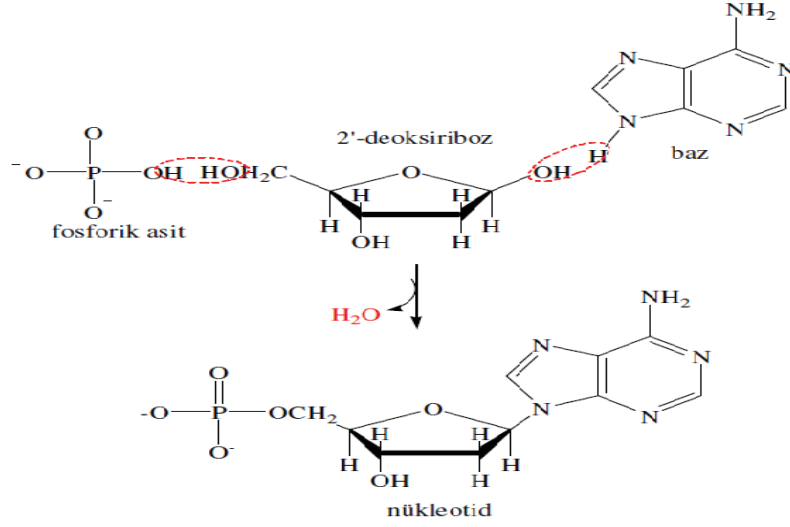


Şekil 2.5 Watson-Crick; çift sarmallı DNA yapısı (Wing vd., 1980)

2.2.2. DNA'nın Yapısı

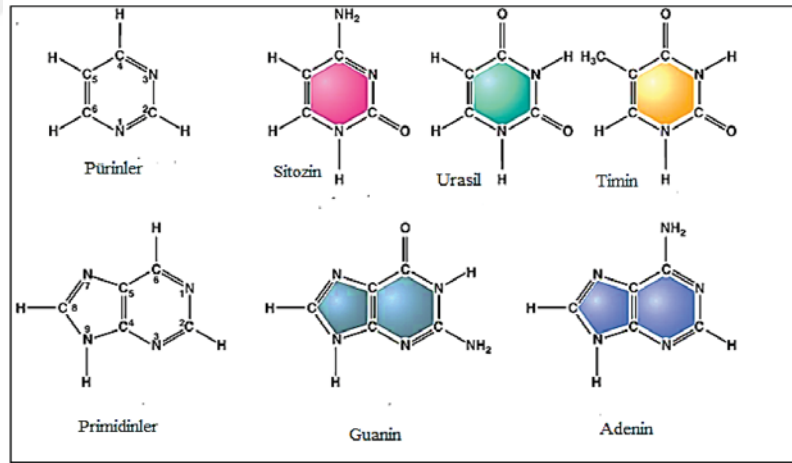
DNA; karbon, hidrojen, oksijen, azot, fosfor atomlarından oluşup hücrenin hayati fonksiyonlarında görev alan bir moleküldür. DNA, canlıya ait kalıtsal bilginin depolanması ve taşınmasından sorumludur. Ayrıca, hücrenin canlılığı için gerekli olan RNA, proteinler, enzimler gibi önemli biyomoleküllerin sentezlenmesinde görev alır (Murray vd., 2003; Rauf vd., 2005). Watson ile Crick'in aydınlatığı DNA molekülü nükleotitlerin bir araya gelmesinden oluşan doğrusal yapıda bir polimerdir.

Her nükleotid, pürin ya da pirimidin bazlı azotlu organik bir baz (nükleobaz), pentoz şeker (2'-deoksiriboz) ve fosfat grubundan oluşmaktadır (Watson ve Crick, 1953)



Şekil 2.6 DNA'nın yapısını oluşturan nükleotid birimi (İçsel, 2013)

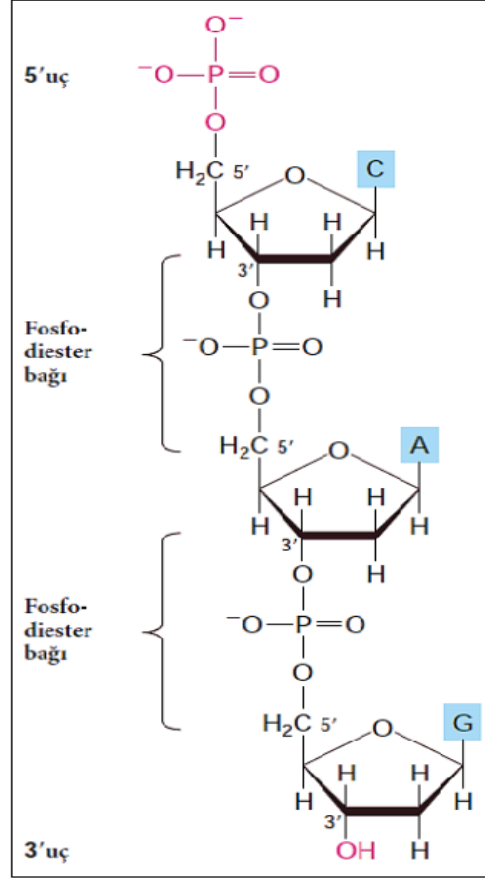
Nükleotidi oluşturan azotlu bazlar, pürin ve pirimidin türevli, düzlemsel, heterosiklik moleküllerdir. Pürin bazları adenin (A) ve guanindir (G). Pirimidin bazları ise sitozin (C) ve timin (T) olarak sınıflandırılmaktadır (Klug vd., 2009).



Şekil 2.7 Nükleotitlerde bulunan pürin ve pirimidin türevli azotlu bazların yapısı (Klug vd., 1997).

Nükleik asitler zincir meydana getirirken nükleotitler arasında kurulan bağa fosfodiester bağı denilmektedir. Oluşan zincir yapısı belli bir yöne doğru yönelir ve bu yön daima 5' uçta bulunan son şekerin 5' de bulunan karbona bağlı hidroksil grubu ya da fosfat bulunurken 3' uçta bulunan şekerin 3' de bulunan karbona bağlı hidroksil grubu yer almaktadır (Watson ve Crick, 1953; Wing vd., 1980).

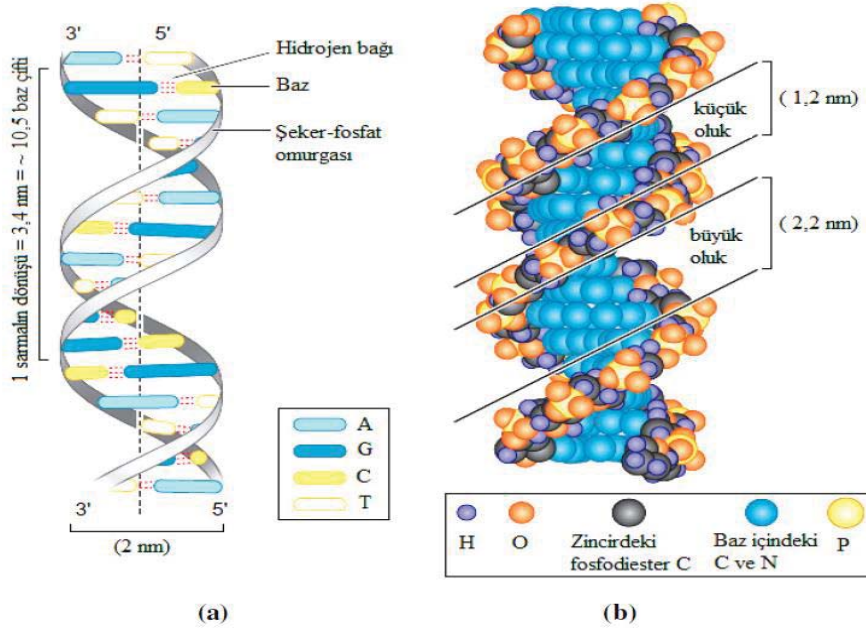
Nükleik asitlerin yapısı, nükleotitlerin yönleri 5' ucundan 3' ucuna doğrudur. Kovalent bağlarla birbirine bağlanmaları ile oluşmaktadır. Fosfodiester bağları ard arda gelen nükleotidleri birbirine bağlamaktadır. Spesifik olarak bir nükleotit birimindeki 5'-fosforil grubu bir sonraki nükleotidin 3'-hidroksil grubu ile fosfodiester bağı ile birleştirilir (Hantz vd., 2001).



Şekil 2.8 Nükleik asit zincirinin yapısı (Lodish vd., 2016)

Watson ve Crick'in DNA'nın üç boyutlu yapısına ait önerdikleri modelde çift zincirden oluşan DNA, bir eksen boyunca sağa dönen çift sarmalı oluşturmaktadır. Önerilen DNA çift sarmalı birbirine antiparaleldir. Yani zincirlerden birinin 3' ucu ile diğerinin 5' ucu aynı tarafta bulunmaktadır. DNA'nın omurgasını oluşturan şeker ve negatif yüklü fosfat çift sarmalın dışa bakan yüzünde ve kendilerini saran su moleküllerine dönüktür. Yani bu kısım hidrofilik (suda çözünebilen) yapıdadır. Pürin ve pirimidin bazları ise çift sarmalın içe bakan yüzünde olup hidrofobik (suda çözünemeyen) özelliğe sahiptir ve ana eksene dikey olarak yer almışlardır. Bu şekilde düzenlenen DNA molekülünde major ve minör olarak adlandırılan büyük ve

küçük oluklar meydana gelmektedir (Hantz vd., 2001). Bu oluklar birbirlerinin tam karşısında olmadıklarından büyüklükleri aynı değildir. Büyük oluk (major) olarak adlandırılan 22 Å genişliğinde, küçük oluk (minor) ise 12 Å genişliğindedir (Klug vd., 2009). Bu oluklar baz çiftlerine bitişik bir vaziyettedir ve onlara bağlanmak için bir yer oluşturabilmektedirler. Küçük oluk büyük oluğa göre daha dar olduğundan bazların kenarlarına erişmek daha kolay olmaktadır. Böylece, DNA'daki belli baz dizilerine bağlanan, transkripsiyon faktörü gibi proteinler büyük oluktan bazların kenarlarına temas ederler (Pabo ve Sauer, 1984).

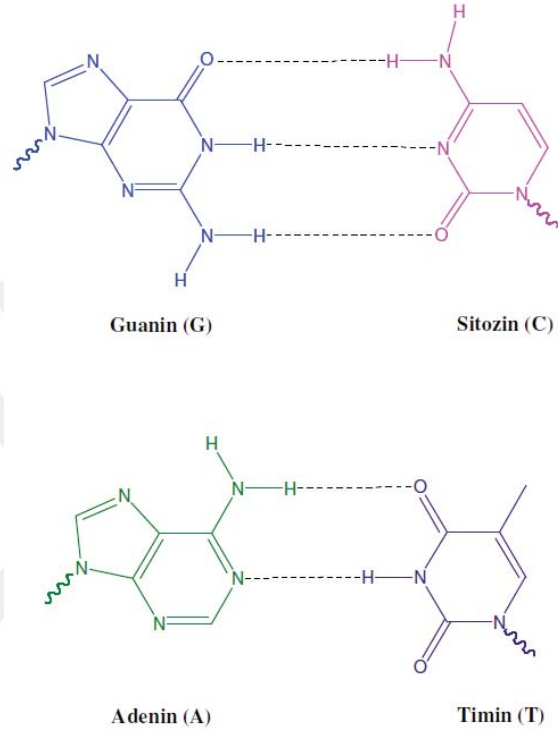


Şekil 2.9 (a) DNA'nın sarmal yapısı, (b) DNA sarmalında oluşan küçük ve büyük oluklar (İçsel, 2013)

Çift sarmalın bir tam dönüş yapması, birbirini takip eden bazların 36° dönerek dizilmesi ve on bazın arka arkaya gelmesi ile gerçekleşmektedir. Çift sarmalın çapı 2,0 nm'dir ve bir tam dönüşte çift sarmalın boyu 3,4 nm uzunlukta olup her baz ise 0,34 nm'lik bir boy artışı sağlamaktadır. DNA'nın iki zinciri bu şekilde çift sarmal meydana getirmektedir (Clausen-Schaumann vd., 2000).

Sekonder yapı meydana gelirken en büyük etken baz eşleşmeleridir. DNA'nın bir ipliğinde yer alan bir baz tipi, diğer iplikteki tek bir baz tipi ile bağ kurmaktadır. Buna tümleyici (komplementer) baz eşleşmesi denilmektedir. Bu baz eşleşmesinde A yalnızca T'ne bağlanırken, C de yalnızca G'ye bağlanmaktadır. Çift sarmalda karşılıklı olarak birbirine bağlı iki baza bir baz çifti denmektedir (Yakovchuk vd.,

2006). Pürin ve pirimidin halkaları aromatikdir ve düzlemsel yapıdadır. Bu yüzden baz eşleşmesi ile meydana gelen sistemin de tümü düzlemseldir. Bazlar birbirlerine hidrojen bağı ile bağlıdır ve bu bazlar arasındaki hidrojen bağlarının uzunluğu yaklaşık 0,3 nm' dir. Burada oluşan hidrojen bağları, kararlı yapıdadırlar (Hantz vd., 2001).

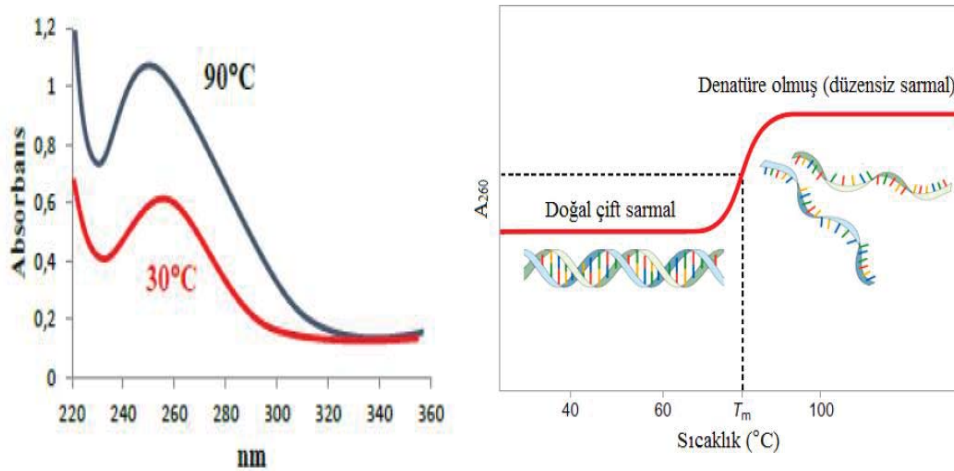


Şekil 2.10 G-C ve A-T baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları (İçsel, 2013)

İki iplikçikli DNA yapısı içerisinde, polinükleotidlerin düzenlenmesi komşu nükleobazlar arasında oluşan hidrojen bağları ve π - π istiflenmesi gibi kovalent olmayan etkileşimlerde görülmektedir. Hidrojen bağları, zayıf bağlar olduklarından kopup tekrar oluşabilirler. Böylece DNA yapısında bulunan iki iplikçikli zincir mekanik güç ile ya da yüksek sıcaklığa bağlı olarak bir fermuar gibi kolayca birbirinden ayrılıp kapanabilmektedir. Bu durum DNA'nın replikasyonuna ve protein sentezine imkân sağlar. DNA sarmalındaki iki iplikli dizide bulunan tüm bilgiler ipliklerin her birinde kopyalanmış durumdadır. Bu durum DNA kopyalanması için esas bir özelliktir. DNA'nın canlılardaki işlevleri komplementer baz çiftleri arasındaki spesifik ve tersinir etkileşimler için şarttır (Clausen-Schaumann vd., 2000).

İki tip baz çifti farklı sayıda hidrojen bağları oluşturmaktadır. A ve T arasında iki hidrojen bağı bulunurken G ve C arasında üç hidrojen bağı bulunmaktadır ve G-C çiftleri A-T baz çiftlerinden daha güçlü yapıdadır. Buna bağlı olarak iki DNA ipliğinin birbirine bağlanma gücünü belirleyen, hem DNA çift sarmalının uzunluğu hem de G-C baz çiftlerinin yüzde oranıdır. G-C oranları fazla olan DNA' ların iplikleri birbirine daha sıkı bağlıdır, A-T oranı yüksek iplikleri ise birbiriyle daha zayıf etkileşmektedir (Chalikian vd., 1999).

DNA'nın içerisinde bulunduğu ortamın pH'sı değiştirildiğinde ya da ortamın sıcaklığı arttırıldığında bazlar arasındaki hidrojen bağları etkilenecek, çift sarmal yapı açılabilir ve DNA çift sarmalın açılması durumuna denatürasyon adı verilmektedir. Yapısı bozulan DNA uygun şartlar altında tekrar eski haline gelebilir. Buna renatürasyon denmektedir. Denatürasyona uğrayan çift iplikli yapıya dönüşüğünde absorbans artışı görülmektedir. Çünkü yapı tek zincirli hale geldiğinde ışık, ortamda bulunan bazlara daha kolay ulaşabilmektedir. Sıcaklık artışı başlamadan önce, molekül tamamen çift sarmaldır. Sıcaklık artışı ile beraber, molekülün çeşitli kısımlarındaki baz çiftleri ayrılıp baz çifti sayısı, sıcaklık artışı ile artmaktadır. Sarmal yapının yarısının tek iplikçığe açıldığı sıcaklığa, DNA'nın erime sıcaklığı (T_m) denir yani 260 nm'deki absorbans artışının yarısının tamamlandığı sıcaklıktır. T_m değeri G-C baz çifti oranına bağlıdır. Çünkü DNA molekülünde ne kadar çok G-C baz çifti var ise iki ipliğin ayrılması için gereken enerji de o kadar fazla olmaktadır (Kuetche, 2016; Hernández-Pérez vd., 2016; Yıldırım vd., 2007)

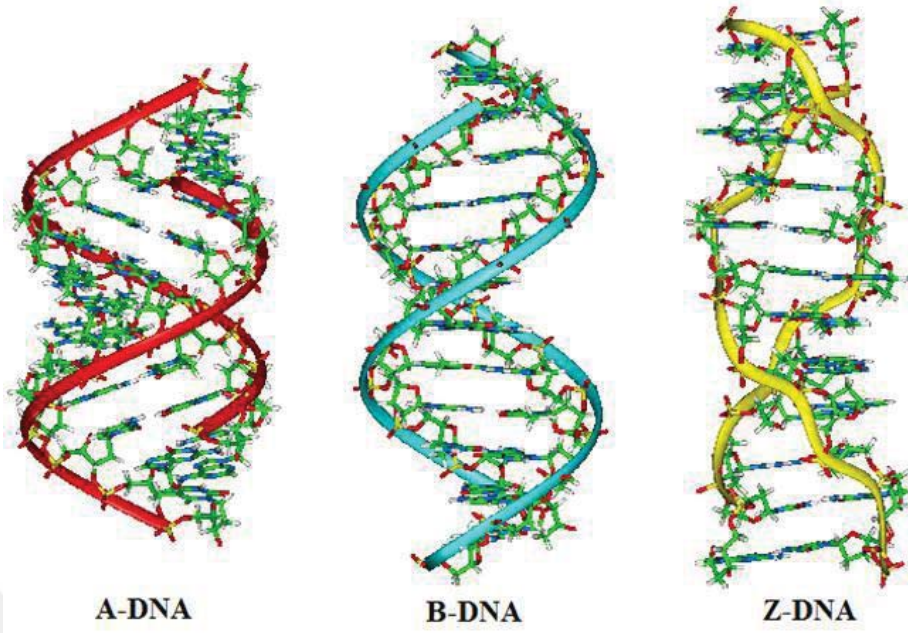


Şekil 2.11 DNA'nın denatürasyonu (İçsel, 2013; Gürcan, 2014)

DNA'nın başlıca üç farklı formu vardır. DNA çift sarmalı için bu konformasyonlar; A-DNA, B-DNA ve Z-DNA olarak adlandırılmıştır. Bu türlerinin çift sarmal yapılarında farklılıklar mevcuttur. Tüm konformasyonlar iki tane antiparalel polinükleotid zincirinin Watson-Crick hidrojen bağlarıyla birbirlerine bağlanması sonucu oluşup heliks şekilleri farklıdır. B formu, hücrelerde fizyolojik şartlar altında mevcut olan en kararlı konformasyondur. DNA moleküllerinin çoğu B formunda bulunmaktadır. Sağa dönümlü bir sarmaldır. DNA'daki sağ el heliks yapısı sol el heliks yapısından daha kararlı bir yapı şeklindedir. Çift zincirin bir tam dönüşünün tamamlanması 10 baz çifti (3,4 nm) içermektedir ve baz çiftleri sarmal eksenine dikey olarak yer almaktadır.

DNA'nın A formu da sağa dönümlüdür ve bir tam dönüş yapması için yapı 11 baz çifti (2,8 nm) içerir. A-DNA'nın B-DNA'ya göre büyük olukları daha büyük, küçük olukları ise daha küçüktür (Murray vd., 2003; Gökçe, 2012).

Z-DNA, DNA'nın ender görülen bir formudur. Sol el dönümlü heliks yapısındadır ve her dönüşünde 12 baz çifti kapsamaktadır. Z-DNA formu, DNA'nın özel bölgelerinde kendiliğinden ortaya çıkıp ve gen ekspresyonunun kontrolünde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Normal DNA'nın bazı kısımlarında Z-DNA yapısı görülebilir. A-DNA, B-DNA molekülüne göre daha kısa ve kalın, Z-DNA ise B-DNA molekülüne göre daha ince ve uzun bir yapıdadır (Mathews ve Van Holde, 1996)

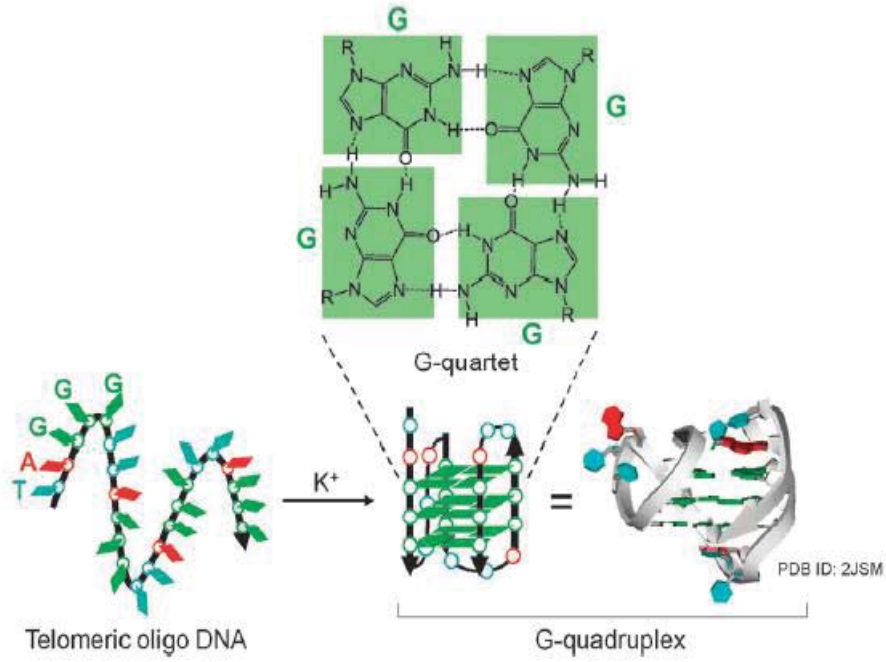


Şekil 2.12 DNA' nın A, B ve Z formları (Caymaz, 2019)

2.2.3. G-quadrupleks

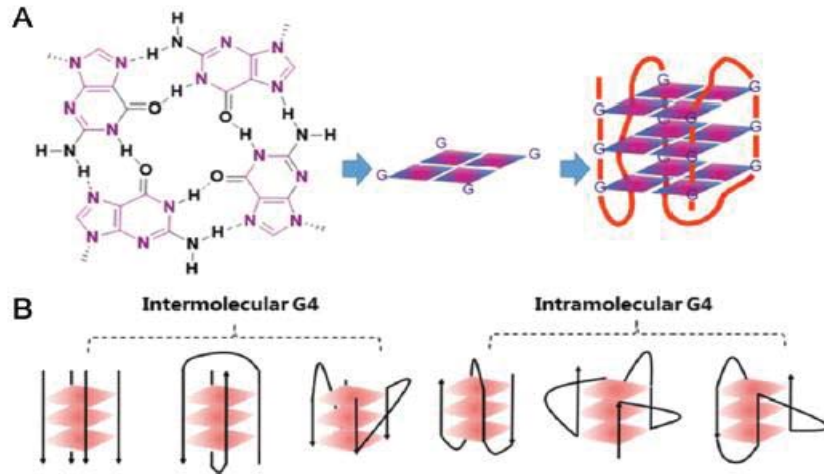
Çift zincirli sarmal yapı, transkripsiyon ve replikasyon gibi metabolik olaylar sonunda tek zincirli hale gelmektedir. Oluşan tekli DNA zincir üzerinde bulunan tekrarlı dizilerin olduğu bölgelerde, belli koşullarda saç tokası, haç biçimi, üçlü ve G-quadrupleks gibi özel yapılar oluşmaktadır (Bağda, 2017).

G-quadrupleks DNA, G-dörtlüsü (G4) oluşturmak üzere guanince zengin DNA dizilerinden oluşmaktadır. Bir G-dörtlüsü, dört guanin bazının kare düzlemsel bir düzende sekiz Hoogsteen hidrojen bağı ile bir arada tutulması ile oluşmaktadır. G4'lerin stabilitesi sodyum ve potasyum iyonları gibi tek yüklü katyonlara dayanmaktadır. G4 olarak adlandırılan yapıların üst üste π - π istiflenmeleri sonucunda G-quadrupleks DNA yapısı oluşmaktadır (Baker vd., 2006).



Şekil 2.13 Telomerik DNA'nın potasyum iyonları varlığında bir G4 yapıya katlanmasının şematik diyagramı (Yaku vd., 2012)

G4'leri bağlayan dış halkaların ve tetra sarmallı iplikçiklerin yönelimlerinin farklı olması ile, G-quadrupleksler farklı topolojiler (paralel, anti-paralel, hibrit vb.) sergilemektedir (Hazel vd., 2004).



Şekil 2.14 (A) G-quadrupleks yapısının şematik gösterimi ve bir intramoleküler G4'lü yapının oluşması. (B) Moleküler ve intramoleküler olarak düzenlenmiş farklı G-quadrupleks topolojileri (Cao vd., 2017).

Guanince zengin nükleik asit sekansları insan genlerinde, özellikle telomer sonlarında ve bazı fonksiyonel olarak önemli proto-onkogenlerin promotör bölgelerinde yaygın olarak bulunmaktadır (Wei vd., 2015).

Telomerler, kromozomların DNA ve protein içeren uç bölgeleridir. Temel fonksiyonları, enzimatik degradasyonlara karşı kromozom uçlarını koruyarak genomik ve kromozomal stabiliteyi sağlamak, hücre bölünmelerinde genetik bilginin kusursuz kopyalanmasını devam ettirmek ve tümör varlığı ile sonuçlanan genetik mutasyonların oluşumunu önlemektir (Schrank vd., 2018; Nandakumar vd., 2013).

Normal somatik hücrelerde, replikasyon sırasında uçlarda bulunan kesintili zincirler kopyalanamadığından burada bulunan telomer bölgeleri kromozomu korumak için kısalmaktadır. Telomerin hücre bölünmesi için sürekli kısalması, kromozomun kısalmasına neden olur bu da hücre bölünmesini durdurup hücre ölümüne yol açmaktadır. Telomeraz ise, reverstranskriptaz enzimidir. Bu enzim kanser hücrelerinde yüksek aktivite göstermektedir (Cech, 2004; Kim vd., 1994). Telomeraz, telomer sonlarına baz ekleyerek kısalmasını engellemektedir. Böylece bu özel hücrelere sınırsız bölünme yeteneği sağlamış olmaktadır. Telomerazın terminal alanının stabilizasyonu ile aktivitesi inhibe edilebilmektedir. Bu nedenle bu enzim etkin teröpatik hedefdir (Hurley vd., 2000; Oganessian ve Bryan, 2007).

G-quadrupleks DNA'yı stabilize edip telomeraz aktivitesini durdurabilen bileşikler kanser terapisinde ilgi çekmeye başlamıştır. Yani bu bileşikler G-quadrupleks DNA yapısını stabilize ederek telomeraz enziminin telomere ulaşmasını engellemektedir (Bağda vd., 2017; Leczkowska vd., 2018).

Protoonkogenler, apoptosis düzenlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Protoonkogenlerin anormal aşırı ekspresyonu son zamanlarda tümörlerde gözlenmektedir. Örneğin, c-myc proto-onkogen, mide, bağırsak, meme ve yumurtalık kanseri gibi zor tümörlerin % 80'ine kadar eksprese edilmektedir (Pelengaris vd., 2002). Küçük moleküller ile G-quadrupleksi hedefleyerek protoonkogenler bastırılabilirler. Bu nedenle, G-quadrupleks, antikanser ilaçlarının dizaynını hedefleyen yeni bir sınıf olarak düşünülmektedir. (Buchholz vd., 2017; Leczkowska vd., 2018).

2.3. Küçük Molekül DNA Etkileşimleri

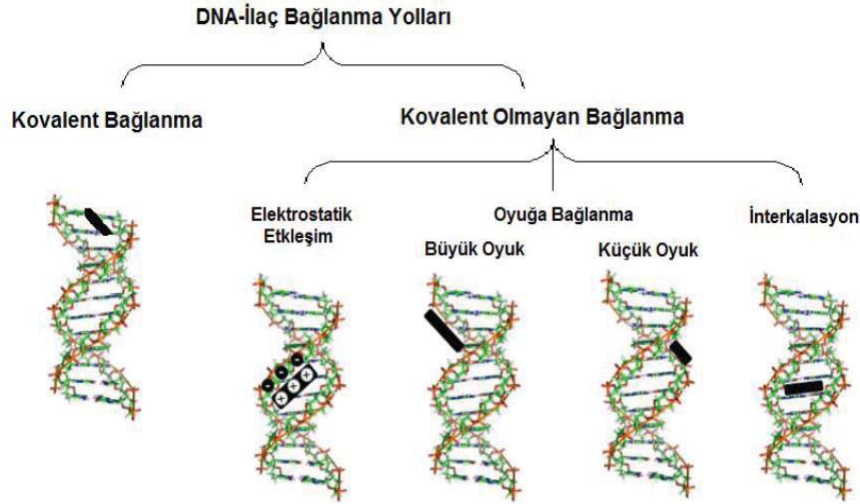
DNA, başta antikanser ve antiviral ilaçlar olmak üzere birçok ilacın farmakolojik hedefidir. İlaçların DNA'ya bağlanması, DNA transkripsiyonunu, replikasyonunu ve hücrelerdeki genetik bilginin ekspresyonunu etkilemektedir. Böylece DNA fizyolojik fonksiyonunu yerine getiremez hale gelmektedir. Bu da bazı durumlarda hücrenin ölümüyle sonuçlanmaktadır. Kanserli hücrelerin çoğalmaması ve yok olması için hücre ölümü istenen bir durumdur. Bu durum ise DNA'ya bağlanan küçük moleküller ile mümkündür (Lown, 1988; Ocak ve Kara, 2018)

DNA'nın çift sarmal yapısının açıklanmasından birkaç yıl sonra Lerman yapmış olduğu çalışmada DNA ile küçük moleküller arasındaki etkileşimin ilk çalışmalarını rapor etmiştir (Lerman, 1961). Bu çalışma ile düzlemsel ve aromatik bir molekül olan akridinin DNA baz çiftleri arasına yerleştiği (interkalasyon) görülmüştür. Rosenberg ve arkadaşları cisplatinin DNA'ya kovalent olarak bağlanıp tümörlerin uzaklaştırılmasında oldukça etkili olduğunu göstermiştir (Rosenberg vd., 1967). Bu araştırmalardan sonra DNA ile moleküllerin etkileşimleri çok ilgi çekmiştir.

Yapılan birçok araştırma neticesinde nükleik asitlerin su, metal iyonları ve bu iyonların kompleksleri, küçük organik moleküller ve proteinlerle tersinir olarak etkileşime girdiği gözlenmiştir. Bu gruptaki moleküllere ve iyonlara çeşitli metal kompleksleri, antikarsinogen ve antiviral ilaçları ile kompleks antibiyotikler örnek olarak verilebilir (Krugh, 1994).

Tersinir etkileşimler, nükleik asitlerin yapı ve fonksiyonu üzerinde oldukça önemlidir. Birinci önemi bütün nükleik asit konformasyonları su, metal iyonları ya da organik katyonlarla tersinir etkileşimler ile dengelenmektedir. Nükleik asitlerin konformasyonu iyonik şiddet ve organik moleküllerin varlığı gibi çevresel şartlardan etkilenebilmektedir. İkinci önemi, kanser ve viral hastalıklara karşı geliştirilen ilaçların en önemlileri nükleik asitlerle tersinir olarak etkileşen ilaçlardır. Üçüncü önemi ise, bu maddelerin nükleik asitlerle etkileşimleri nükleik asitlerin hücre içi görevleri hakkında bilgi vermektedir (Bailly, 2000; Kaim ve Schwederski, 1994; Pindur vd., 1993).

Moleküller, DNA'ya kovalent ya da kovalent olmayan (elektrostatik etkileşim, oluğa bağlanma, interkalasyon) etkileşimlerle bağlanabilmektedir (Blackburn ve Gait, 2006).



Şekil 2.15 DNA-ilaç etkileşim türleri (Caymaz, 2019)

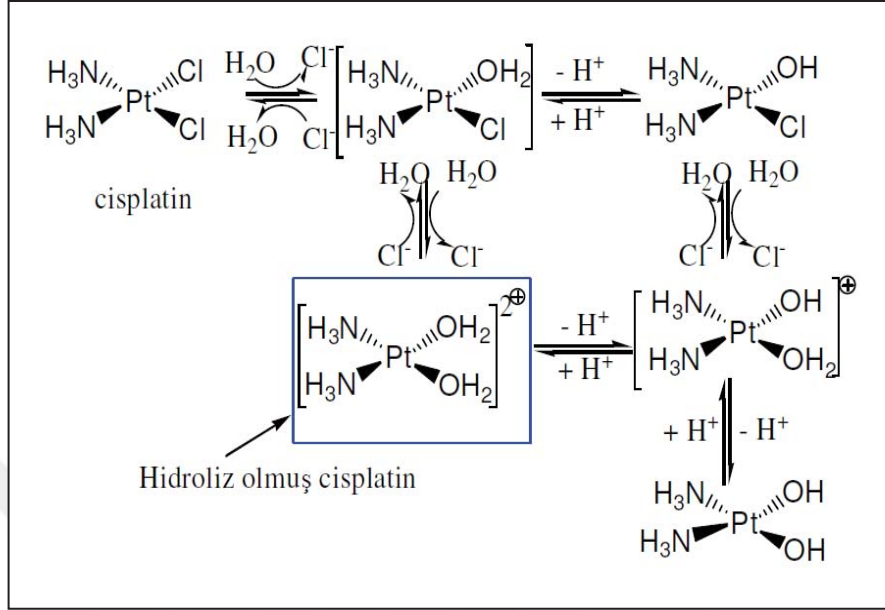
2.3.1. DNA ile Kovalent Bağlanma

DNA ile kovalent etkileşimler, DNA proseslerinin tamamen inhibe olmasına ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Kovalent olarak bağlanan moleküllerin bir diğer avantajı ise bağlanma kuvvetlerinin çok yüksek olmasıdır. Bu yüzden DNA'ya bağlanan molekül DNA omurgasında bozulmalara neden olur böylece transkripsiyon ve replikasyon proseslerini etkiler (Tekin, 2014).

Kovalent bağ yapan Cisplatin {cisdiamindikloroplatin(II), cis-[PtCl₂(NH₃)₂]}, akciğer, yumurtalık ve mesane kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır. En başarılı kanser ilaçlarından birisidir ve DNA'daki iki komşu guanin bazının N(7) azot atomları ile kovalent bağ oluşturmaktadır (Sherman vd., 1987; Brabec ve Kasparikova, 2005). Cisplatin DNA'ya bağlandığında DNA replikasyonunu durdurur ve protein oluşumunu engeller. Böylece DNA uğradığı hasarı tamir edemez ve hücre çoğalamayıp ölür.

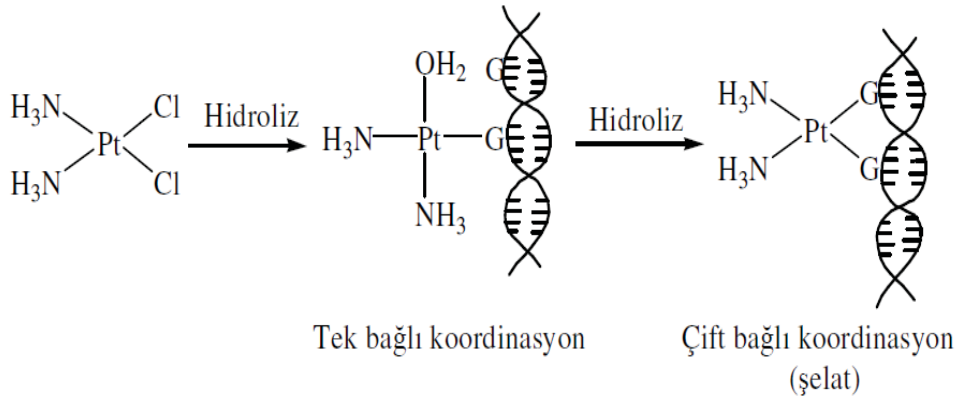
Hücre duvarını geçen cisplatin sitoplazma içerisine yerleşir. Hücre içerisinde klor (Cl) derişimi düşüktür. Sulu çözeltide kararlı olmayan cisplatin iki Cl ligandının, su ile yer değıştirmesi sonucu hidroliz olmaktadır (Chu, 1994; Jung ve Lippard, 2007).

Oluşan katyonik kompleks DNA tarafından kolaylıkla elektrostatik olarak çekilmektedir.



Şekil 2.16 Cisplatinin öngörülen etki mekanizması (Göçmen, 2014)

Oluşan katyonik yapı DNA'ya iyice yaklaşır ve ilk olarak guanin ya da nadiren de adenin bazının N7 atomuna tek bağla koordine olur. İkinci bir koordinasyon bağı oluşturarak yakınında bulunan bir başka guaninin ya da adenin bazının N7 atomu ile tepkimeye girer (Takahara vd., 1996 a,b).



Şekil 2.17 Cisplatinin DNA ile koordinasyonu (Göçmen, 2014)

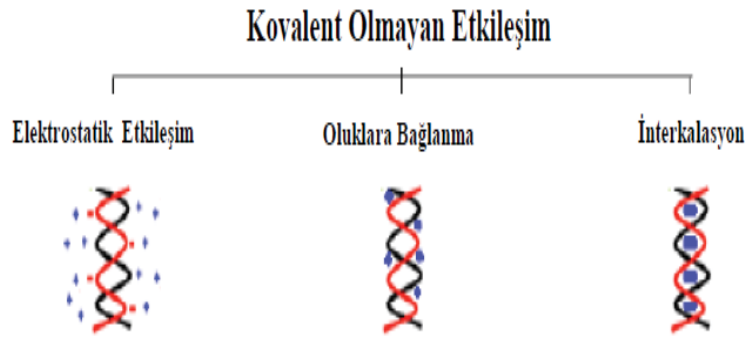
Cisplatinin yan etkilerinin fazla olması ve kanserli hücrelerin zamanla cisplatine karşı direnç göstermelerinden dolayı yeni antikanser ilaç araştırmaları başlamıştır. Böylece, suda iyi çözünen ve yan etkileri daha az olan karboplatin, okzaliplatin ve nedaplatin gibi yeni antikanser ilaçlar geliştirilmiştir (İçsel, 2013).

2.3.2. DNA ile Kovalent Olmayan Bağlanma

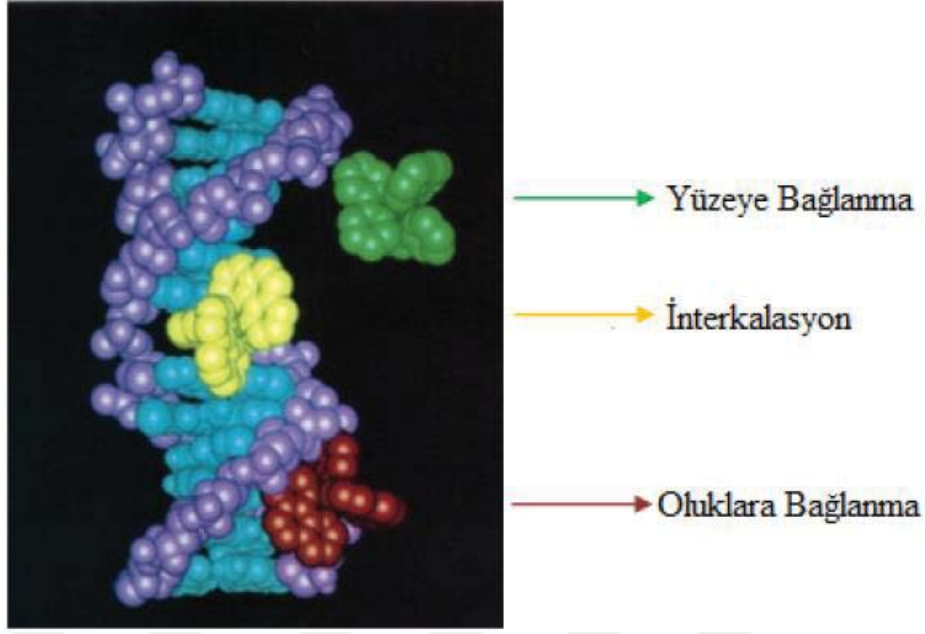
DNA ile etkileşimin tersinir olarak gerçekleştiği kovalent olmayan etkileşimlerin hücrede DNA'nın yapısını, DNA-protein ilişkilerini, torsiyon potansiyelini ve mitokondriyal DNA'nın aktivitesini etkilediği bilinmektedir. Fakat bu değişimleri hangi moleküler ve biyokimyasal yollar üzerinden yaptığı tam olarak bilinmemektedir (Sirajuddin vd., 2013).

Küçük moleküllerin DNA ile kovalent olmayan etkileşimleri şu şekilde özetlenebilmektedir (Palchaudhuri ve Hergenrother, 2007; Streckowski ve Wilson, 2007) :

- 1) DNA'nın şeker-fosfat omurgasına elektrostatik olarak bağlanması: Bu şekilde gerçekleşen bağlanma örneğin Mg^{2+} gibi katyonik türlerin varlığı durumunda söz konusudur.
- 2) Moleküllerin DNA çift sarmal yapısında bulunan büyük ve küçük oluklara bağlanması.
- 3) Moleküllerin DNA'nın baz çiftleri arasına girerek interkalasyonu. Bu bağlanma şekli genellikle aromatik ve düzlemsel molekül ya da iyonlar varlığında gerçekleşmektedir.



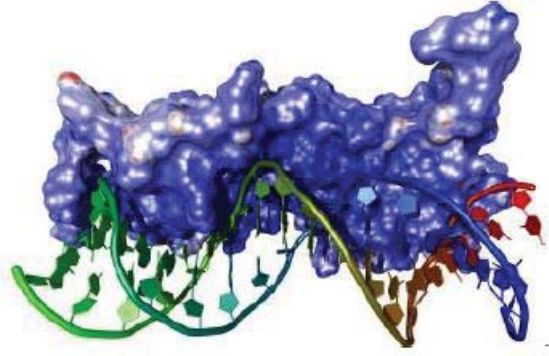
Şekil 2.18 DNA ile kovalent olmayan etkileşimler (Göçmen, 2014)



Şekil 2.19 Moleküllerinin DNA'ya bağlanma şekilleri (İçsel, 2013)

2.3.2.1 Elektrostatik Etkileşimler

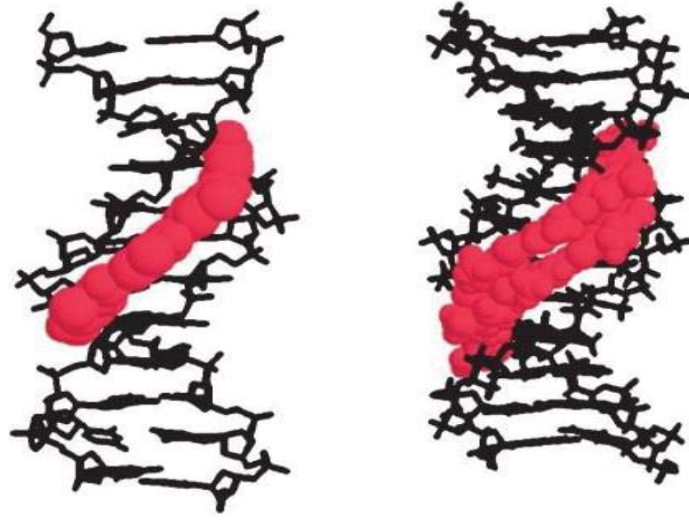
DNA ile molekül arasında kovalent olmayan bağlanma türlerinden biri elektrostatik etkileşimdir. Genellikle DNA çift sarmalının dış yüzeyi boyunca gerçekleşmektedir. DNA dış yüzeyinde şeker-fosfat gruplarının bulunması nedeni ile negatif yük taşımaktadır. Ortamda bulunan ve karşıt iyon olarak adlandırılan pozitif yüklü metal iyonları ile (Na^+ ve Mg^{2+} gibi) elektrostatik olarak etkileşebilmektedir. Bu şekilde DNA molekül arasında gerçekleşen etkileşim ile katlı DNA konformasyonlarının kararlılığını sağlamaktadır (Manning, 1978; Streckowski ve Wilson, 2007). Pozitif yüklü iyonlar, DNA'nın negatif yüklü büyük bir kısmının nötrale olmasına neden olmaktadır. Organik katyonların DNA ile etkileşimi sonucu fosfat yükü nötr hale gelip karşıt iyonlar serbest kalmaktadır. Böylece DNA yapısında değişim meydana gelebilmektedir. DNA ile elektrostatik olarak etkileşmesi beklenen küçük moleküllerin yapılarında katyonik bileşenler olması gerekmektedir ve bu moleküller, ortamda tuz derişiminin azalması ile DNA'ya daha fazla bağlanma göstermektedirler (Streckowski ve Wilson, 2007).



Şekil 2.20 DNA ile moleküllerin elektrostatik bağlanma modeli (Gökçe, 2012)

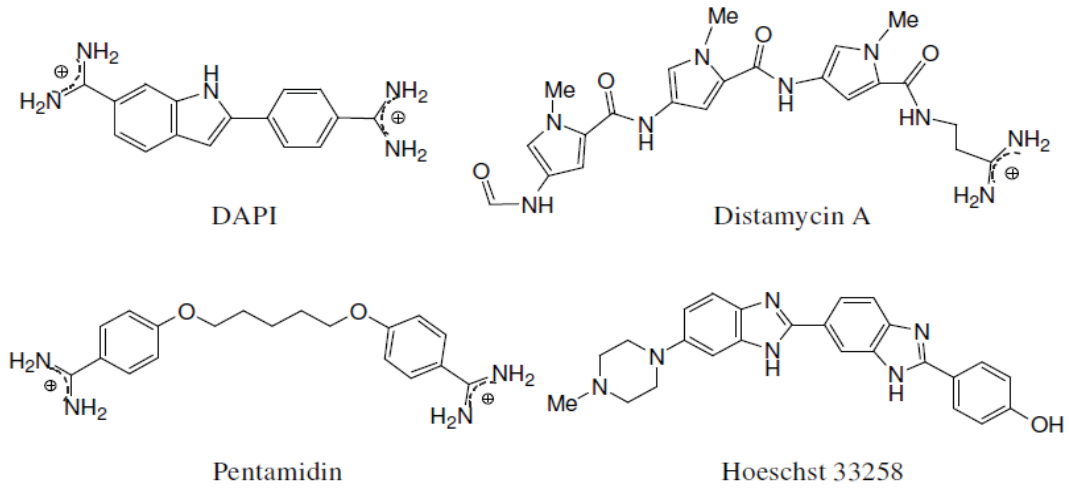
2.3.2.2. Oluğa Bağlanma ile Etkileşimi

DNA zinciri boyunca majör ve minör olmak üzere iki oluk bulunur. Bu etkileşim yolu ile DNA üzerindeki belirgin boşluklar doldurularak enzimlerin bu bölgelere bağlanması engellenmektedir. DNA'nın yapısında meydana gelen küçük oluklar ile daha çok küçük moleküller etkileşmeyi tercih ederken büyük oluklar ile genel olarak protein ve oligonükleotidler gibi büyük hacimli moleküller etkileşim göstermektedir. Oluklar arasındaki kimyasal özelliklerin farklı olmasının nedeni ise elektrostatik potansiyel değişimi, hidrojen bağ karakteri, sterik etkiler ve hidrasyon yeteneğidir. Küçük oluklara bağlanan moleküller, olukların şeklini alarak (yarım ay) ve Van der Waals etkileşimlerinin oluşumuna katkı sağlayarak bağlanmayı kolaylaştırmaktadır. (Gökoğlu vd., 2009). Bu moleküller genellikle adenin (N3) ve timin (O2) bazlarının atomları ile hidrojen bağı oluşturabilmektedir. Küçük oluklara bağlanan moleküllerin çoğu, A-T oranı bakımından zengin olan dizilere bağlanmaktadır. (İçsel, 2013; Bischoff ve Hoffman, 2002). G-C baz çiftleri arasında da benzer fonksiyonel gruplar bulunmaktadır fakat guaninin amino grubu ve sitozinin karbonil oksijeni arasındaki güçlü hidrojen bağları, küçük oluklara moleküllerin girmesini zorlaştırmaktadır (Blackburn ve Gait, 2006). DNA bazları ile oluğa bağlanan moleküller arasında hidrojen bağları ya da Van der Waals etkileşimleri olduğundan DNA yapısında belirgin bir değişime yol açmamaktadır.



Şekil 2.21 DNA ile moleküllerin majör ve minör oluklara bağlanması (Gökçe, 2012)

Küçük oluklara bağlanma gösteren moleküllerin en yaygın olanları, Şekil 2.22’de görüldüğü gibi distamycin A doğal bileşiği, sentetik diarilamidinler (DAPI ve pentamidin) ve bis(benzimidazoller) (Hoechst 33258) olarak gösterilmektedir (Yıldız, 2012).

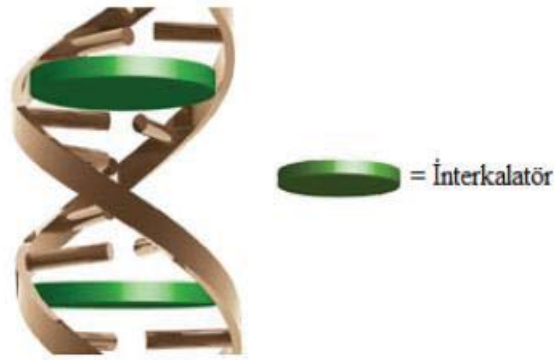


Şekil 2.22 Küçük oluğa bağlanma gösteren moleküller (Yıldız, 2012).

1970’lerin sonunda Sigman ve arkadaşları $[Cu(phen)_2]^+$ katyonik kompleksinin DNA oluklarına bağlandığını gösteren bir çalışma rapor etmişlerdir (Sigman vd., 1979). Sonrasında yapılan araştırmalar, bazı metal komplekslerinin DNA oluklarına bağlanabilme yeteneğine sahip olduklarını göstermiştir.

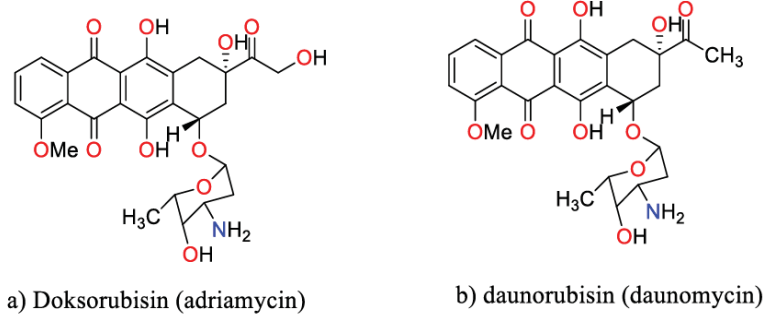
2.3.2.3 İnterkalasyon ile Etkileşimler

İlk olarak Lerman 1960'ların başında, akrininler gibi belirli heterosiklik aromatik boyaların DNA ile etkileşimleri üzerine bir takım çalışmalar gerçekleştirip etkileşim türünü "interkalasyon" olarak adlandırmışlardır. Aromatik moleküller, kovalent bağ oluşturmadan, bazlar arasındaki hidrojen bağlarını parçalamadan; Van der Waals, hidrojen bağı, hidrofobik ya da elektrostatik kuvvetler ya da bunların bir kaçı ile DNA omurgasına dik olarak bağlanan moleküllerdir (Baginski, 1997; Martinez ve Chacon-Garcia, 2005). DNA interkalatör kompleksi, π - π örtüşmesi ile daha kararlı hale gelmektedir. Bu nedenle oluk bağlayıcı ve elektrostatik etkileşimlere göre iyonik etkilere karşı daha az duyarlıdır (Bauer ve Vinograd, 1970). İnterkalatörün DNA bazlarının arasındaki boşluğa uyması için şeker-fosfat omurgasında değişiklikler meydana gelmektedir. Bu durum sonucunda interkalasyon bölgesinin oluşumu, DNA çift sarmalını uzatır, güçlendirir, gevşetir ve daha kararlı hale getirir. Her ilaç molekülü bağlanmasında DNA yapısını yaklaşık 3 Å kadar uzar, topoizomerazın eylemi ile replikasyon durur ve transkripsiyon gerçekleşmemektedir. DNA ve topoizomeraz arasında oluşan bu güçlü kompleks çoğalan hücreleri öldürmektedir. Bu yüzden interkalatörler daha toksik yapılardır (Thurston, 2006).



Şekil 2.23 Çift sarmal DNA'ya interkalasyon şeklinde bağlanma (Göçmen, 2014)

Kanser kemoterapisinde kullanılan antibiyotik kökenli kemoterapötik ilaçlardan bir kaçı Doksorubisin, Daunorubisin ve Epiribusindir. Bunlar interkalasyon yapan bileşiklerdir. Antikanser ilaç olarak etkileri kanıtlanmıştır fakat bu bileşiklerin tedavi sırasında önemli yan etkileri ve bazı kanser hücrelerinin bu ilaçlara karşı zamanla direnç kazanması bu ilaçların kullanımını sınırlandırmaktadır. Çoğu interkalasyonla DNA'yı bloke etmektedir. DNA baz çiftleri arasına girerek DNA replikasyonunu ve mRNA üretimini durdurmaktadır (Casciato, 2004).

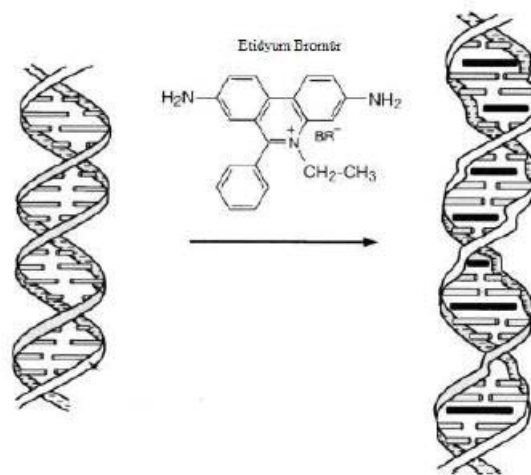


Şekil 2.24 İnterkalasyon yapan bileşikler (Casciato, 2004)

DNA ile güçlü interkalasyon oluşturan bileşiklere en bilindik örnek etidyum bromürdür (EB) (Waring, 1965). EB, aromatik düzlemsel bir molekül olup, nükleik asit sentezini inhibe etmektedir (Meyer-Almes vePorschke, 1993).

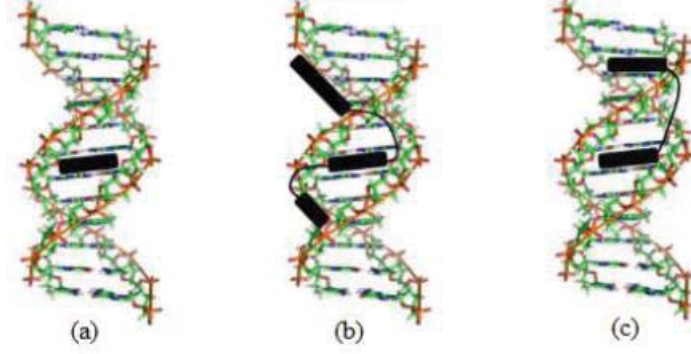
EB tek başına zayıf floresans özellik gösterirken DNA ile etkileşime girdiği andan itibaren floresans spektrumunda 610 nm civarında oldukça şiddetli (25 kat daha fazla) emisyon göstermektedir (Lepecq, 1967).

EB-DNA çözeltilerine, EB'den daha güçlü interkale olabilen bileşikler ilave edildiklerinde çözeltinin emisyon şiddetini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Emisyon şiddetini azaltan bu bileşikler söndürücü olarak tanımlanmaktadır. Bu durum daha güçlü interkalasyon yapan bileşiğin EB ile kolaylıkla yer değiştirerek DNA'ya bağlanması şeklinde ifade edilmektedir (Frederick vd., 1990).



Şekil 2.25 Etidyum bromürün interkalasyonu (Barut, 2016)

Tamamen düzlemsel yapıda olan moleküller DNA bazları arasına kolayca girebilir fakat geniş hacimli ve düzlemsel moleküller majör ya da minör oluk üzerinden DNA'ya interkalasyon yapar. Çift taraflı düzlemsel yapılar ise bis interkalasyon yani aynı anda iki farklı baz çifti arasına girebilmektedir (Strekowski ve Wilson, 2007)



Şekil 2.26 İnterkalasyon modları: a) klasik interkalasyon, b) majör ya da minör oluk üzerinden interkalasyon, c) bis-interkalasyon (Strekowski ve Wilson, 2007)

2.4. Literatür

Hassani ve arkadaşları 2018'de yapmış oldukları çalışmada G-quadrupleks DNA ile suda çözünür iki anyonik Fs ve iki tane suda çözünür katyonik CuFs'lerle [Cu (2,3-tmtpa)]⁴⁺ ve [Cu (3,4)] etkileşimlerini incelemişlerdir. Etkileşimi belirlemek için floresans yer değiştirme yöntemi sonucunda elde ettikleri bulgulara göre bakır porfirazinlerin G-quadrupleks DNA'ya bağlanması, bakır ftalosiyaninden daha güçlü olduğunu belirtmiştir. Porfirazinlerin, anti-kanser bileşikleri olarak kullanılma potansiyeline sahip ve farmasötik çalışmalar için uygun kompleks olduklarını açıklamışlardır (Hassani vd, 2018).

Wiling ve Hennecke'nin 2013'te yapmış oldukları çalışmada G-quadrupleks DNA ile porfirin TMPyP4'ün etkileşimini Uv-Gör. ve CD spektroskopisi ile incelemişlerdir. Çalışmada porfirinlerin güçlü bir şekilde G-quadruplekslere bağlandığını bulunmuşdur (Wiling ve Hennecke, 2013).

Ren ve arkadaşları 2007'de yapmış oldukları çalışmada suda çözünür, oktakatyonik çinko ftalosiyanin (ZnFs) ile G-quadrupleks DNA etkileşimini incelemişlerdir. Çalışmada UV spektroskopik termal denatürasyon yöntemi, CD spektroskopik yapı analizi ve CD spektroskopik erime yöntemleri kullanmışlardır. CD spektroskopik

çalışmalar ZnFs'nin G-quadrupleks yapısını anti-paralelden paralel forma indükleyebildiğini göstermiştir (Ren vd., 2007).

Zhang ve arkadaşları 2012' de yapmış oldukları makale çalışmasında G-quadrupleks ile bazı liganların etkileşimlerini derlemiştirlerdir. Bu çalışmada, metal komplekslerinin, G-quadruplekslere bağlandığını, telomeraz aktivitesini inhibe ettiğini ve belirli onkogenlerin gen ekspresyonunu düzenleyebildiğini göstermişlerdir. Metal komplekslerinin, yüksek afinite ve seçicilikle G-quadruplekslere bağlanması için, metal komplekslerinin katyonik grupları ile G-quadrupleks'in anyonik omurgası arasındaki iyonik etkileşimler, oluk bağlanması ve interkalasyon olması gibi etkileşimlerin olması gerektiği sonucuna varılmıştır (Zhang vd., 2012).

Hassani ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada, bakır merkezli Fs (Cu(PcTs)) ve iki tetrapiridinoporphyrazines grubu taşıyan ($[Cu(2,3-tmtppa)]^{4+}$ ve $[Cu(3,4-tmtppa)]^{4+}$) Fs bileşiklerinin Tel22 G-quadrupleks molekülü ile olan etkileşimini spektroskopik yöntemler kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, Cu(PcTs) bileşiğinin diğer iki moleküle göre daha zayıf etkileştiği gösterilmiştir. Bununla beraber yapılan CD spektroskopisi çalışması sonucunda Cu(PcTs) bileşiğinin G-quadrupleks yapısında her hangi bir değişime neden olmadığı gözlenmiştir. ($[Cu(2,3-tmtppa)]^{4+}$ and $[Cu(3,4-tmtppa)]^{4+}$) bileşiklerinin süstitüent gruplarının periferde olup olmamasının bağlanma üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (Hassani vd., 2014).

Bağda ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları çalışmada, sandviç tip Fs bileşiğinin Tel-21 ve c-myc G-quadrupleks yapılarıyla olan etkileşimi incelenmiştir. Spektrofotometrik titrasyon, CD spektroskopisi ve EB yerdeğiştirme yöntemleri kullanılan çalışma sonucunda söz konusu Fs bileşiğinin Tel-21 G-quadrupleksinin konformasyonunda önemli değişikliklere yol açtığı bildirilmiştir (Bağda vd., 2017).

Bağda ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları diğer bir çalışmada, top tipi Fs bileşiğinin Tel-21 ve c-myc G-quadrupleks yapılarıyla olan etkileşimi incelenmiştir. UV-Vis spektroskopisi, floresans yerdeğiştirme ve CD spektroskopisi yöntemleri kullanılan çalışma sonucunda, çalışılan Fs bileşiğinin her iki G-quadrupleks yapısı ile

etkileştiği, etkileşim sonucunda konformasyonel değişiklikler ve yapı stabilizasyonu gözlenmiştir (Bağda vd., 2017).

Ramos ve arkadaşları 2019 yılında ZnFs türevleri ile G-quadrupleks DNA etkileşimini araştırmışlardır. Bu çalışmada, Uv-görünür, floresans ve CD gibi farklı spektroskopik teknikler kullanılarak, G-quadrupleks stabilize edici ligandlar olarak dört ya da sekiz pozitif yük taşıyan ftalosiyanınlerin potansiyeli değerlendirilmiştir. Çalışmada ftalosiyanın yapısındaki pozitif yüklerin sayısı ve pozisyonu ile G-quadrupleks yapılarına seçiciliği arasında bir ilişki olduğu sonucuna varmışlardır. İncelenen ftalosiyanınlerden ikisinin, biri dört periferik pozitif yükü (ZnFs1) ve diğeri sekiz pozitif yükü (ZnFs4) G-quadrupleks DNA yapıları üzerinde yüksek seçicilik ve afinite gösterdiğini söylemişlerdir (Ramos vd., 2019).

Yaku ve arkadaşları yaptıkları çalışmada G-quadrupleks DNA'nın Fs bileşiği ile bağlanma mekanizmalarını araştırmışlardır. Sonuç olarak G-quadrupleks istiflenme ve Fs bileşiği ile elektrostatik etkileşim olduğunu belirlemişlerdir (Yaku vd., 2012).

Shamsuddin ve arkadaşları 2017'de yapmış oldukları çalışmada (N, N'-bis[4-[1-(2-hidroksietoksi)] salisiliden] -fenildiamin ve metal Ni (II) ve Cu (II) kompleksleri sentezlemişlerdir. Sentezlenmiş metal kompleksleri ile G-quadrupleks DNA arasındaki etkileşimi, UV-Gör. Spektroskopi titrasyon çalışması kullanılarak araştırılmıştır. Ni (II) ve Cu (II) kompleksleri, uç istifleme modu vasıtasıyla G-quadrupleks DNA'ya güçlü bir şekilde bağlanmış olduğunu göstermişlerdir (Shamsuddin vd., 2017).

Yaku ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları çalışmada anyonik Fs'lerin G-quadruplekse karşı sergiledikleri seçiciliği araştırıp katyonik bir porfirin olan TMPyP4 ile kıyaslamışlardır. Bu Fs'lerin, dsDNA varlığında bile telomeraz aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Sonuç olarak, anyonik gruplara sahip bileşiklerin, G-quadrupleks hedefli ligandları geliştirmek için kullanılabilirliğini göstermişlerdir (Yaku vd., 2010).

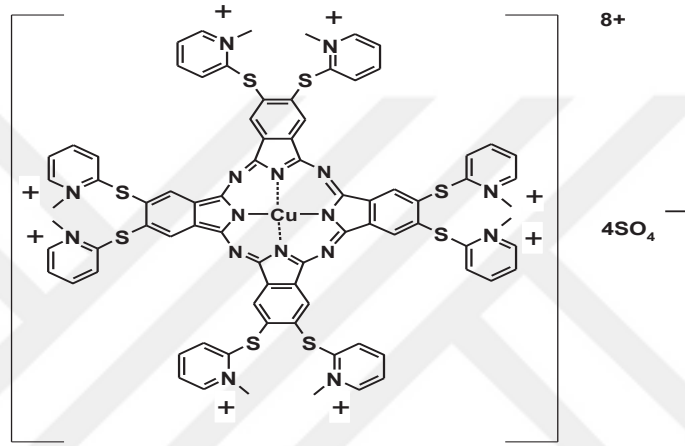
Alzeer ve Luedtke 2009 yılında değişken amino asitlerin tetraamino çinko ftalosiyanın ile reaksiyona sokulması ile sentezledikleri amido Fs ile G-quadrupleks etkileşimini araştırmışlardır. Sonuç olarak elektrostatik ve istiflenme etkileşimlerinin olduğunu göstermişlerdir (Alzeer ve Luedtke, 2009).

Birçok porfirin ve Fs bileşimini sentezlenmesine rağmen, G-quadrupleks DNA ile etkileşimine yönelik ileri çalışmalar ve bu alandaki termodinamik veriler sınırlıdır. Bu nedenle, Fs'lerin farklı G-quadrupleks yapıları ile etkileşimlerinin araştırılması (1) antikanser ilaç geliştirilmesi, (2) yeni tedavi yöntemlerinin kurgulanması ve (3) biyosensör geliştirilmesi açısından bilimsel öneme sahiptir. Bu motivasyonla, yapılan tez çalışması ile bahsedilen amaçlara temel oluşturarak literatürde varolan eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.

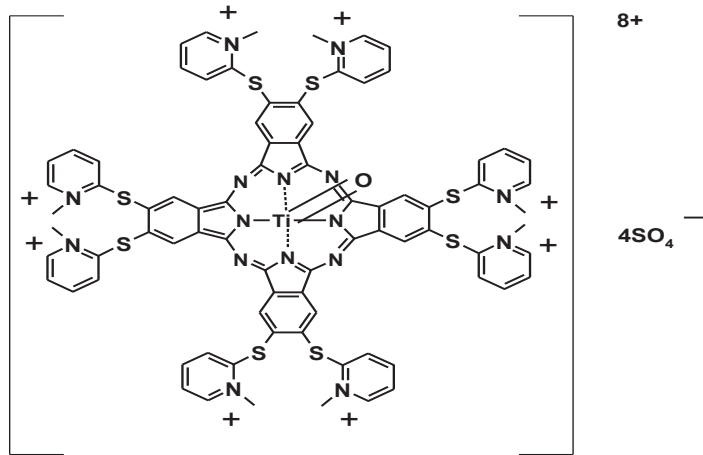


3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Mahmut DURMUŞ tarafından sentezlenmiş, suda çözünen okta süstitüye bakır ve titanyum atomu içeren ftalosiyanın bileşiklerinin farklı biyolojik alanlarda kullanılma potansiyelleri araştırılmıştır. Bu amaçla, söz konusu ftalosiyanın bileşiklerinin, farklı DNA molekülleri ile olan etkileşimleri belirlenmiştir.



a) **CuFs** : 2,3,9,10,16,17,23,24-Oktakis-[(N-metil-2-merkaptopiridin) ftalosiyanimato] bakır (II) sülfat ftalosiyanın



b) **TiFs**: 2,3,9,10,16,17,23,24- Oktakis-[(N-metil-2-merkaptopiridin) ftalosiyanimato] oksotitanyum (IV)) sülfat ftalosiyanın

Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan (a) **CuFs** ve (b) **TiFs** bileşikleri

3.1. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

Tüm çalışma boyunca distile su kullanıldı. DNA bağlanma çalışmalarında tüm çözeltiler 100 mM KCl içeren fosfat tamponunda çözüldü.

➤ Fosfat Tamponu

100 mM KCl içeren, 0,2 mM KH_2PO_4 ve 0,2 mM K_2HPO_4 çözeltileri hazırlandı. Uygun oranlarda karıştırılarak pH metre ile $\text{pH}=7,4$ 'e ayarlanıp $+4\text{ }^\circ\text{C}$ ' de muhafaza edildi. Çözelti pH'ları Sartorius Basic marka pH metre (cam elektrod) ile kontrol edildi. pH metrenin kalibrasyonu belirli aralıklarla standart tampon ($\text{pH}=4,0$; $7,0$; $10,0$) çözeltileri ile yapıldı.

➤ Oligonükleotid Çözeltileri

Oligonükleotid çözeltileri 100 mM KCl içeren fosfat tamponu içerisinde satın alınan firma tarafından önerilen derişimlerde (oligomerlerin derişimi 260 nm'deki absorbans değerlerinden belirlendi) çözüldü. Çözeltiler, $95\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 10 dk denatürasyon işleminden sonra oda sıcaklığında soğutularak $+4\text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklandı.

➤ Ftalosiyenin Çözeltileri

Ftalosiyenin çözeltileri $1,5 \times 10^{-4}$ M olacak şekilde 100 mM KCl içeren fosfat tamponu içerisinde hazırlandı.

➤ Thiazole Orange (TO) Çözeltisi

Thiazole orange çözeltisi $200\text{ }\mu\text{M}$ olacak şekilde 100 mM KCl içeren fosfat tamponu içerisinde hazırlandı.

3.2. Ftalosiyenin Bileşiklerinin DNA Bağlanma Özellikleri İncelenmesi

DNA ile metal komplekslerin etkileşimini incelemek için birçok teknik bulunmaktadır. Uv-Gör. Spektrofotometrik titrasyonlar, floresans problarla yer değişimi takibi, circular dikroizm (CD) spektroskopik olarak yapı değişimlerinin takibi ve termodinamik verilerin izotermal titrasyon kalorimetresi (ITC) ile incelenmesi bu tez kapsamında kullanılan yöntemlerdir.

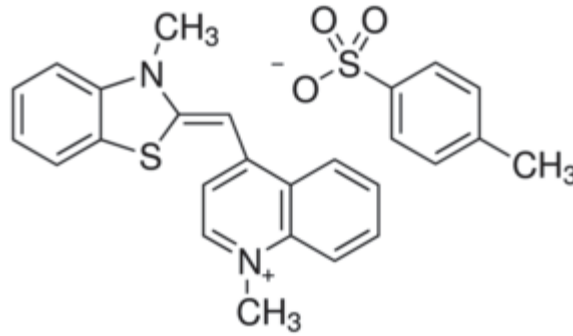
3.2.1. UV- Görünür Absorpsiyon Spektroskopisi ile Titrasyonlar

Uv-Gör. Spektrofotometrik yöntemlerle, küçük moleküllerin DNA ile etkileşimleri kolay ve pratik bir şekilde takip edilebilmektedir. Etkileşim nedeni ile moleküllerde meydana yük yoğunluğu ve yapısal farklılaşmalar spektral değişimlere neden olur ve bu değişimler Uv-Gör. Spektrofotometre ile takip edilebilir.

Tez kapsamında sentezlenen Fs bileşiklerinin G-quadrupleks yapıları ile etkileşimleri Uv-Gör. spektrofotometrik yöntemlerle incelendi. Çalışmada ortama eklenen DNA çözeltisinin ftalosiyanın bileşiğine ait Q bandı üzerine olan etkisi araştırıldı. Optimum koşulları belirlemek, çözeltileri ve yöntemin uygulanabilirliğini test etmek açısından Fs ve DNA molekülleri ile ön denemeler yapıldı. Bu ön denemeler sonucunda deneylerin fosfat tamponu pH=7,4'te yapılmasına karar verildi.

Fs çözeltilerinin derişimleri ($2,5 \times 10^{-5}$ M) sabit tutularak 190-800 nm aralığında spektrum tarandı. Ardından G-quadrupleks çözeltilerinden artan miktarda eklendi ve her seferinde pipet yardımıyla karıştırılarak 2 dk inkübe edildi. Tampon çözeltiye karşı belirtilen dalga boyu aralığında spektrumu kaydedildi. Bu işleme DNA konsantrasyonu aşamalı olarak artırılarak ve spektrumda değişim gözlenmeyene kadar devam edildi. Ölçümler Shimadzu Uv-1800 model spektrofotometre (Japonya) cihazı ile ve 1 cm ışık yoluna sahip kuvarz küvetlerde gerçekleştirildi.

3.2.2. Floresans Yer değiştirme Deneyleri



Şekil 3.2 Thiazole orange (TO)

Thiazole orange ile yer değiştirme deneyleri için 200 μ M TO üzerine G-quadrupleks oligomeri eklenerek 2 dk inkübe edildi. Daha sonra artan miktarda Fs çözeltisi ilave

edildi. Her seferinde pipet yardımıyla karıştırılarak 2 dk inkübe edildi ve emisyon spektrumu kaydedildi. Spektrumda değişim durana kadar ya da sıfırlanana kadar titrasyona devam edildi. Bu deneylerde uyarma dalga boyu 510 nm ve slit aralıkları 5 nm'ye ayarlanarak emisyon spektrumu 520-600 nm arası kaydedildi. 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. Floresans yer değiştirme alışmaları Agilent Carry Eclipse Spektroflorometre (USA) cihazında yapıldı.

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

şekil 3.3 Stern-Volmer denklemi

3.2.3. CD (Circular Dichroism) Spektrofotometre Deneyleri

Fs bileşiklerinin G-quadrupleksler ile etkileşiminin, G-quadrupleks konformasyonunda oluşturdukları değişimlerin aydınlatılması için CD spektroskopisi yöntemi kullanıldı. Sabit G-quadrupleks derişimlerinde artan miktarda Fs eklenerek 10 dk inkübe edildi. 230-300 nm arasında CD spektrumları tarandı. Her tarama için iki tekrar yapılarak ortalaması alındı. Spektrumlar tampon çözeltiye karşı tarandı. 240, 260 ve 290 nm'lerdeki pozitif ve negatif eliptisite değerlerinden G-quadruplekslerin paralel, anti-paralel ve hibrit yapıları belirlendi. Fs eklenmesiyle yapılardaki farklılaşmalar izlendi. CD lümleri Bilkent Üniversitesi UNAM'da Jasco J 815 CD spektrofotometre cihazıyla yapıldı.

3.2.4. İzotermal Titrasyon Kalorimetresi (ITC)

DNA-Fs etkileşimini termodinamik açıdan incelenmesi için izotermal titrasyon kalorimetre yöntemi kullanıldı. Çalışmada reverse titrasyon yöntemi kullanıldı. Fs özeltisi (CuFs:0,01087 mM, TiFs: 0,02162 mM) numune hücresine eklendi. DNA özeltisi (Tel-21: 0,165 mM, Tel-45: 0,22 mM, AS1411: 0,223 mM, 40 L) cihazın otomatik enjektör sistemine konuldu. 25 enjeksiyonla Fs hücresine DNA özeltisi ilave edildi. Karıştırma hızı 400 rpm, enjeksiyonlar arası süre ise 180 saniye, kalorimetrenin hücre sıcaklığı 25°C'ye ayarlandı. Referans hücre distile su ile

dolduruldu. ITC ölçümleri, ITC-200 MicroCal cihazında (Bilkent-UNAM) yapıldı.
Titrasyon verileri cihaz yazılımı ile değerlendirildi.



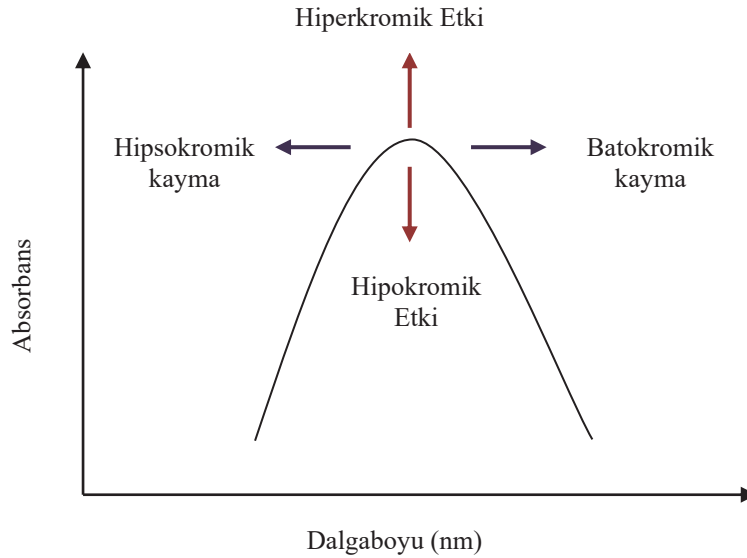
4. BULGULAR

4.1. DNA Bağlanma Çalışmaları

4.1.1. UV-Gör. Spektrofotometre Deneyleri

DNA'nın UV-Görünür absorpsiyon spektrumunda, elektronik geçişlerden sorumlu pürin ve pirimidin halkalarındaki kromofor grupların UV bölgesindeki absorpsiyonu nedeni ile 200–350 nm arasında bir bant gözlenir (Gonzalez-Ruiz vd., 2011).

UV-Gör. absorpsiyon spektroskopisi, DNA ile küçük moleküllerin etkileşimini incelemek için kullanılan basit ve en etkili yöntemlerden biridir. DNA ile küçük moleküllerin etkileşimi sonucu oluşan kompleks, absorpsiyon spektrumunda değişikliklere yol açar. DNA çözeltisine artan miktarda ligand eklenmesi ya da tam tersi deneysel prosedürle spektrofotometrik titrasyon gerçekleştirilir. Etkileşime dair spektral değişimlerin izlenmesi ile bağlanma hakkında yorum yapılabilmektedir. Etkileşim sonucu elektron yoğunluğu ve sterik farklılaşmalarla elektronik spektrumda iki temel değişim meydana gelir; hiperkromik etki (absorbansta artış) ve hipokromik (absorbansta azalış) etki (Akdi vd., 2005).



Şekil 4.1 UV-Vis spektrumunda oluşan kaymalar

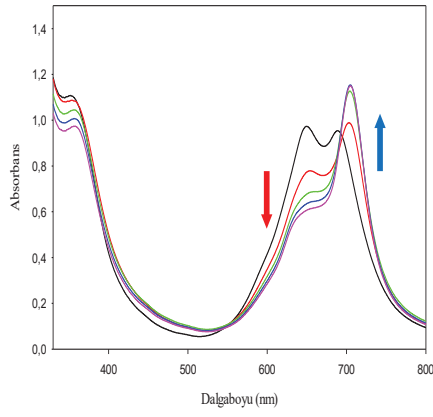
Hiperkromizm, absorpsiyon bandında artışı gösterirken, hipokromizm ise absorpsiyondaki azalışı gösteren özelliklerdir (şekil 4.1). 260 nm’de gözlenen hiperkromik etki, DNA’nın ikincil yapısının kırılması ya da denatürasyonu anlamına gelirken hipokromizm, DNA’nın daha kararlı hale geldiği anlamına gelir (Arjmand vd., 2012; Song vd., 2014).

Hiperkromizm, elektrostatik bağlanma nedeniyle ya da DNA'nın sarmal yapısının açılmasından kaynaklanmaktadır (Pratviel vd., 1998; Shahabadi vd., 2010). DNA omurgasının fosfat grubuna elektrostatik bağlanan maddeler, çift sarmal yapıyı bir arada tutan hidrojen bağları etkileşimini bozarak DNA'nın ikincil yapısında bir hasara neden olur. DNA sarmalı rastgele sarılmış konformasyonda olan iki tek iplik halinde ayrılarak birçok baz serbest kalır ve baz-baz etkileşimi azalır. DNA çözeltilisinin elektronik spektrumunda absorpsiyonunu artırır (Arjmand ve Jamsheera, 2011).

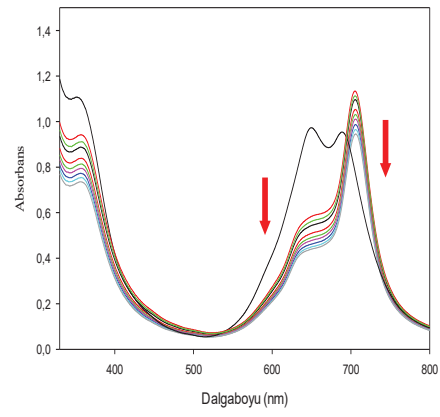
Yüksek dalga boylarında gözlenen hipokromizm, DNA baz çiftlerinin arasına yerleşen bir madde ile DNA bazlarının orbitallerinin çakışmasından kaynaklanmaktadır ve bu madde bazlar arasına girerek DNA’yı kararlı hale getirmektedir. Böylece orbitaller arası geçiş olasılığı azalarak hipokromik etki gözlenir (Long ve Barton, 1990; Pyle, 1989).

İnterkalasyonda, % 35’den büyük hipokromizm ve 15 nm’den büyük batokromizm (kırmızıya kayma) gerçekleşebilmektedir (Wang, 2013). Oluklara bağlanma ya da elektrostatik etkileşimlerde ise 6–8 nm batokromizm ya da hiç batokromizm gözlenmemektedir (Rehman, 2015). Etkileşim zayıf ise kaymalarda önemli değişiklikler olmaksızın yalnızca hipokromik ya da hiperkromik etkiler gözlenmektedir (Gonzalez-Ruiz vd., 2011).

Tez kapsamında, artan DNA derişimlerinde Fs bileşiklerinin Q bandındaki derişimler incelenmiştir. Seyrelmeden kaynaklanacak derişimleri belirlemek için ise sabit Fs derişiminin üzerine artan miktarlarda fosfat tamponu ilavesi ile absorbans derişimi gözlemlenmiştir.

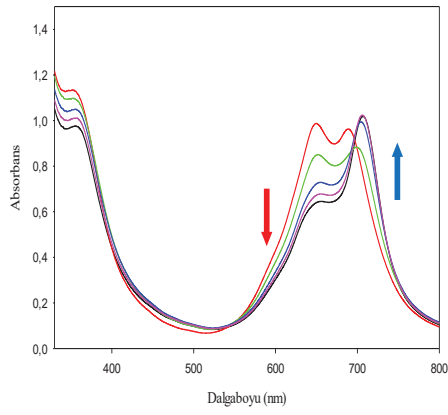


(a)

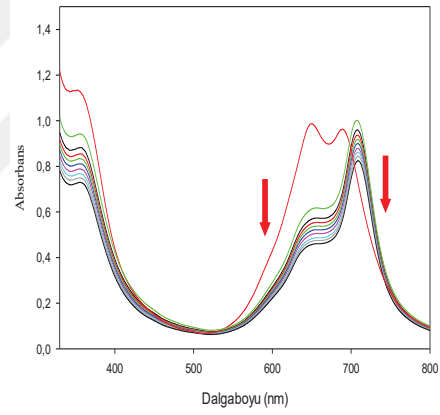


(b)

Şekil 4.2 (a) AS1411 (0-0,0089 mM)-CuFs bileşiminin UV-Gör. spektrumları **(b)**AS1411 (0,0089-0,024 mM)-CuFs bileşiminin UV-Gör. spektrumları

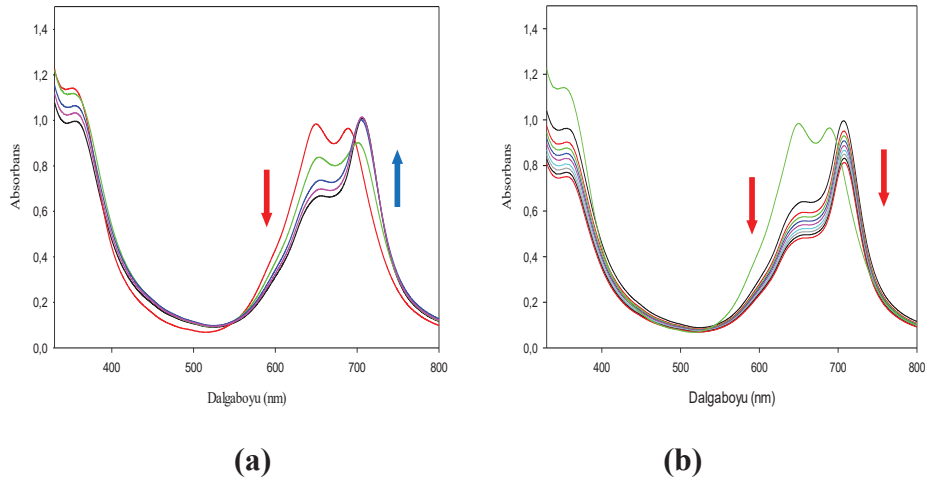


(a)

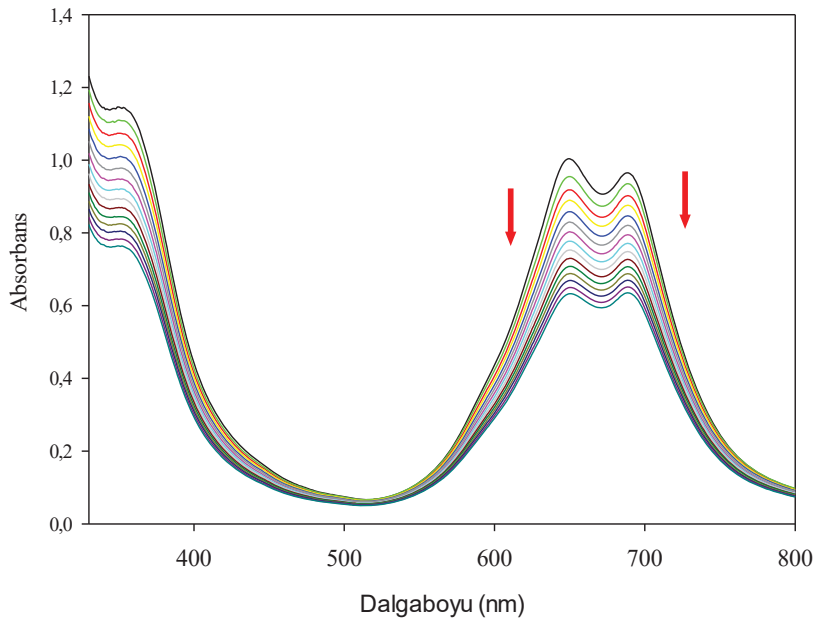


(b)

Şekil 4.3 (a) Tel-21 (0- 0,0075 mM)-CuFs bileşiminin UV-Gör. spektrumları **(b)** Tel-21 (0,0075-0,02 mM)-CuFs bileşiminin UV-Gör. spektrumları



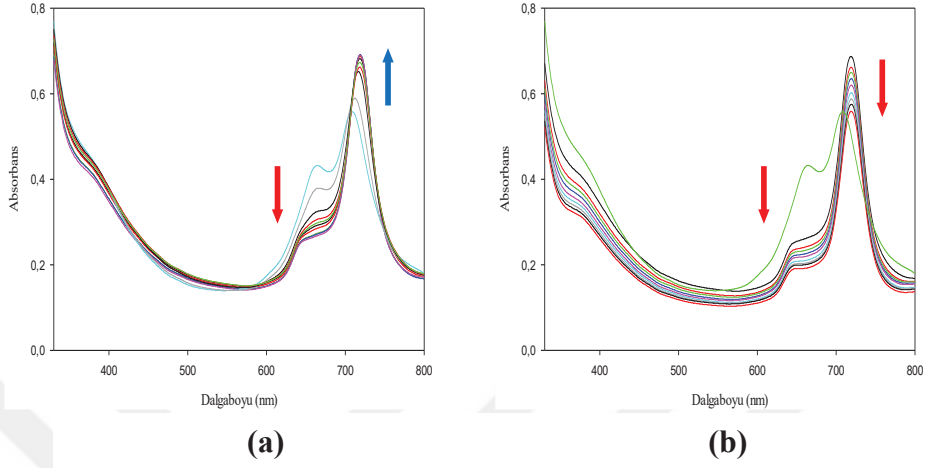
Şekil 4.4 (a) Tel-45 (0-0,0081 mM)-CuFs bileşiğinin UV-Gör. spektrumları **(b)** Tel-45 (0,0081-0,02 mM)-CuFs bileşiğinin UV-Gör. spektrumları



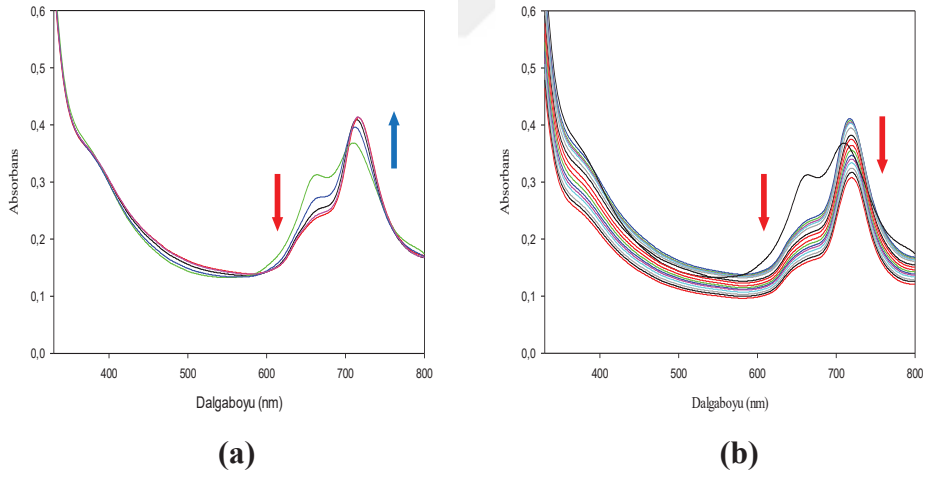
Şekil 4.5 Fosfat tamponu - CuFs bileşiğinin UV-Gör. spektrumları

Şekil 4.2a'da görüldüğü gibi CuFs bileşiği 353 nm de B bandı ve 650 ve 689 nm de yarılmış Q bandına sahiptir. Ortama ilave edilen AS1411, Q bandının 650 nm de hipokromik etkiye neden olmaktadır. Öte yandan 703 nm civarında yeni bir bandın oluşumu (ya da 689 nm'de gözlenen bandın 703 nm'ye kayması) söz konusudur. Bu bantta 0-0,0089 mM AS1411 derişimine kadar batokromik kayma (703-705 nm) ile birlikte hiperkromik etki gözlenmişken, daha yüksek AS1411 derişimlerinde ise

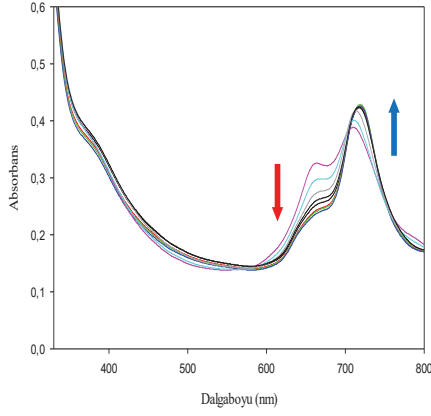
dalgaboyunda kayma olmaksızın hipokromik etki gözlenmiştir (Şekil 4.2b). Benzer durumlar hem Tel-21 hem de Tel-45 CuFs etkileşimleri için de gözlenmiştir (Şekil 4.3a ve b; Şekil 4.4 a ve b).



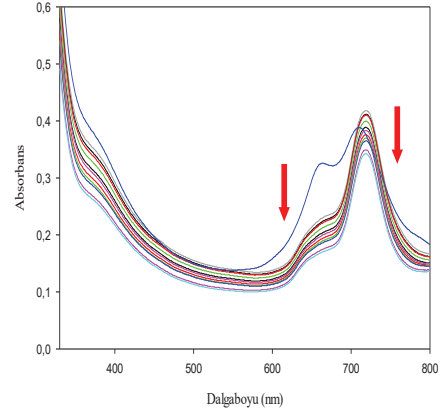
Şekil 4.6 (a) AS1411 (0-0,006 mM)-TiFs bileşiğinin UV- Gör. spektrumları (b) AS1411 (0,006-0,02 mM)-TiFs bileşiğinin UV-Gör. spektrumları



Şekil.4.7 (a) Tel-21 (0-0,002 mM)-TiFs bileşiğinin UV- Gör. spektrumları (b) Tel-21 (0,002-0,02 mM)-TiFs bileşiğinin UV- Gör. spektrumları

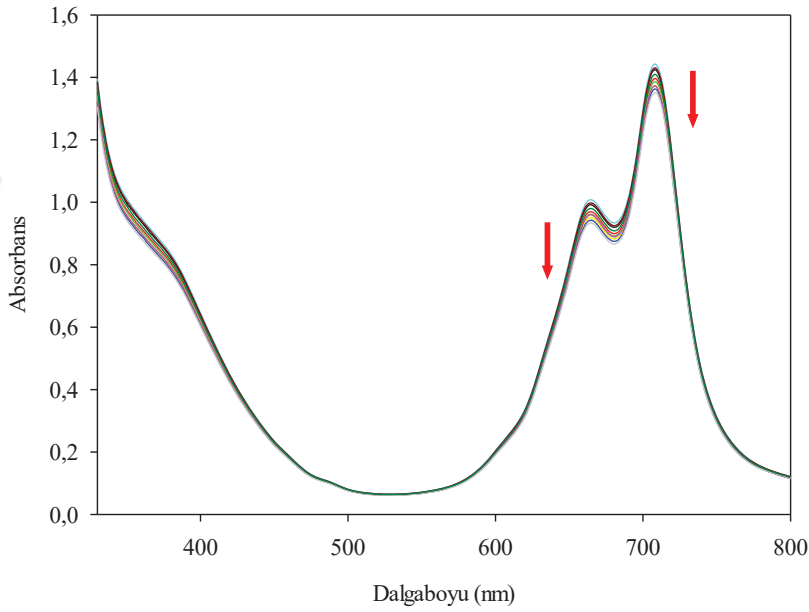


(a)



(b)

Şekil 4.8 (a) Tel-45 (0–0,004 mM)-TiFs bileşiminin UV- Gör. spektrumları (b) Tel-45 (0,004–0,02 mM)-TiFs bileşiminin UV- Gör. spektrumları



Şekil 4.9 Fosfat tamponu - TiFs bileşiminin UV- Gör. spektrumları

Şekil 4.6a'da görüldüğü gibi **TiFs** bileşiği 664 ve 709 nm de ikiye yarılmış Q bandına sahiptir. Ortama eklenen AS1411, 709 nm'deki bantta batokromik kaymaya neden olmuştur (712 nm). **CuFs** bileşiminde gözlemlendiği gibi, 712 nm'de oluşan bantta düşük G-quadruplex derişimlerinde hiperkromik etki, yüksek derişimlerde ise

hipokromik etki gözlenmiştir. Benzer durumlar hem Tel-21 hem de Tel-45 **TiFs** etkileşimleri için de gözlenmiştir (Şekil 4.7.a ve b; Şekil 4.8. a ve b).

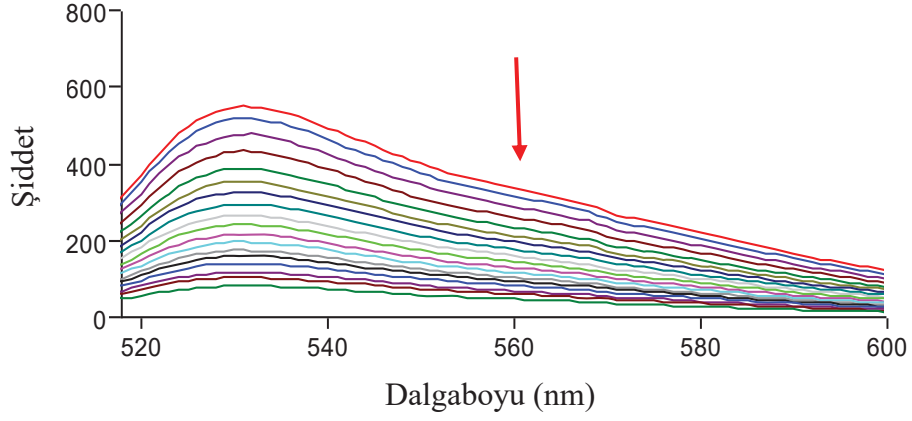
4.1.2. Floresans Yer Değiştirme Deneyleri

DNA-ligand etkileşiminin incelenebildiği diğer bir spektroskopik yöntem floresans probolar kullanarak gerçekleştirilen yer değiştirme çalışmalarıdır. Bu çalışmalarda kullanılan ethidium bromür, thiazole orange, syber green gibi floresans proboların DNA'ya bağlanması çalışılmış ve kanıtlanmıştır. Bu yöntemde, DNA önceden prob ile etkileştirilir ve floresans emisyonu kaydedilir. Daha sonra incelenen ligandla bu kompleks (prob-DNA) titre edilir. Eğer ilave edilen ligand, floresans şiddetinde azalma meydana getiriyorsa bağlanmış olan probu yerinden çıkarttığını ve ligandın DNA'ya bağlandığı düşünülmektedir (bu durum diğer tüm deneysel veriler de destekliyorsa geçerlidir) (Barone, 2013). Tek başına zayıf floresans özelliğe sahip Thiazole Orange (TO), DNA ile etkileştiğinde 520-600 nm'ler arasında kuvvetli emisyon gösterir. DNA ile etkileşebilen başka bir ligandın ortama eklenmesi DNA-TO kompleksindeki TO'nun ligand ile yer değiştirmesi emisyon şiddetini düşürmektedir. Meydana gelen azalma, prob molekülünün yerine ortama eklenen molekülün DNA ile etkileştiğini gösterir. Sabit tutulan oligomer, TO derişimlerine karşı ortama artan miktarda Fs bileşikler eklenerek her ekleme sonunda floresans emisyon değişimi izlendi. **CuFs** ve **TiFs** bileşikler için Stern Volmer sabitleri ve elde edildikleri denklemin r^2 değerleri Tablo 4.1 de verilmiştir.

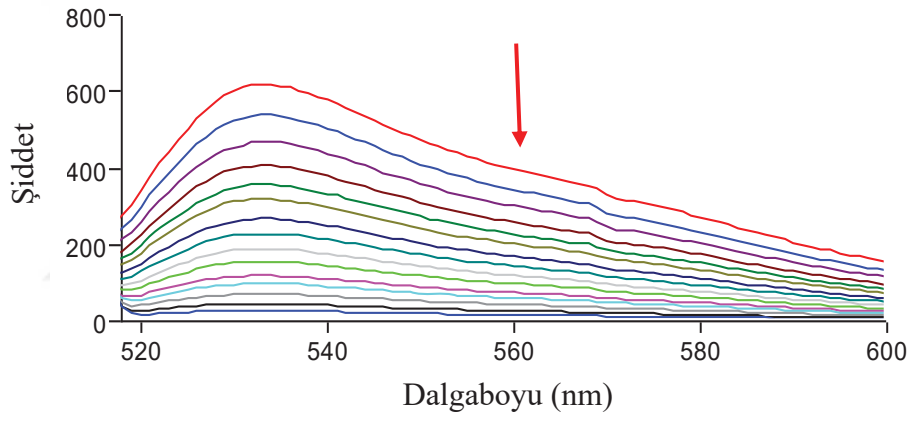
Tablo 4.1: Fs bileşiklerinin K_{SV} sabitleri

	Oligomer	$K_{sv} \pm SS^*$	r^2 aralığı	Kesim noktası $\pm SS^*$	[Fs], M
CuFs	AS1411	50236 \pm 8739	0,98-0,99	0,986 \pm 0,003	0-1,28x10 ⁻⁵
	Tel-21	85271 \pm 15917	0,96-0,99	0,984 \pm 0,014	0-1,28x10 ⁻⁵
	Tel-45	64655 \pm 26286	0,95-0,99	0,978 \pm 0,004	0-1,28x10 ⁻⁵
TiFs	AS1411	36303 \pm 2581	0,98-0,99	0,993 \pm 0,004	0-1,28x10 ⁻⁵
	Tel-21	171791 \pm 20507	0,98-0,99	0,977 \pm 0,019	0-1,28x10 ⁻⁵
	Tel-45	228634 \pm 23256	0,93-0,95	0,879 \pm 0,013	0-1,28x10 ⁻⁵

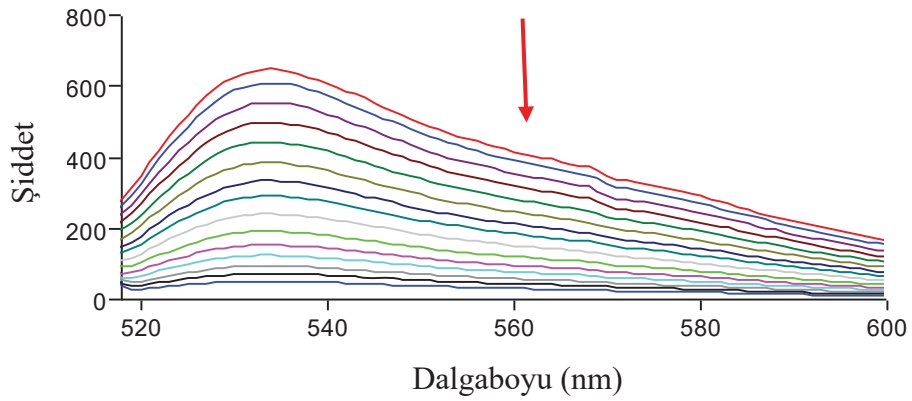
*SS, n=3 için hesaplanan standart sapma



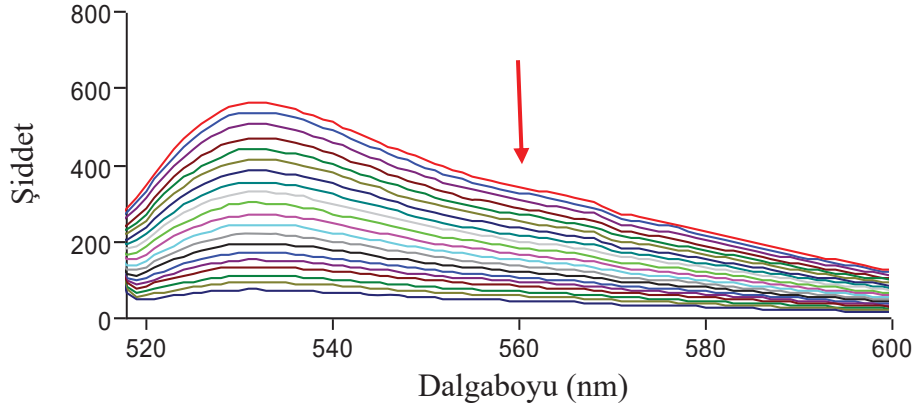
Şekil 4.10 AS1411- CuFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği



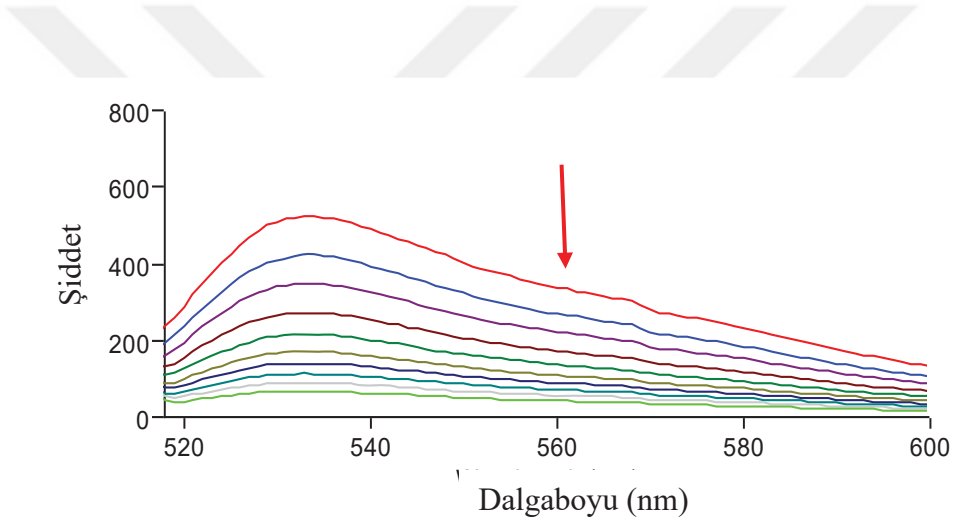
Şekil 4.11 Tel-21 - CuFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği



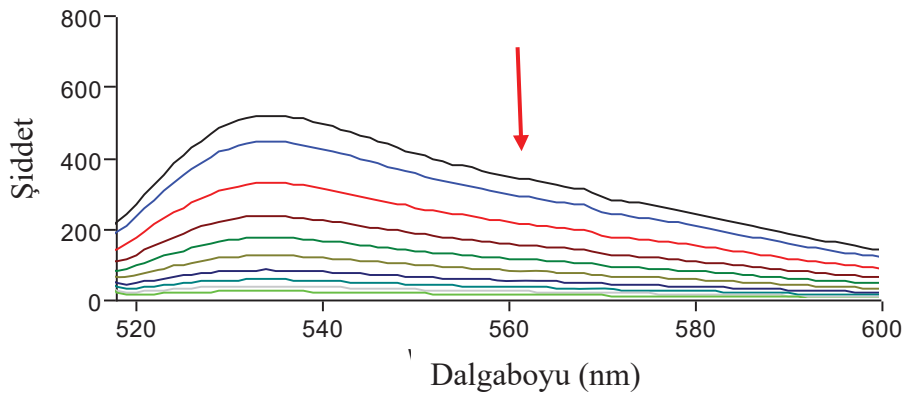
Şekil 4.12 Tel-45 - CuFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği



Şekil 4.13 AS1411- TiFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği



Şekil 4.14 Tel-21 - TiFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği



Şekil 4.15 Tel-45 - TiFs bileşiğinin floresans yer değiştirme grafiği

4.1.3. İzotermal Titrasyon Kalorimetri (ITC)

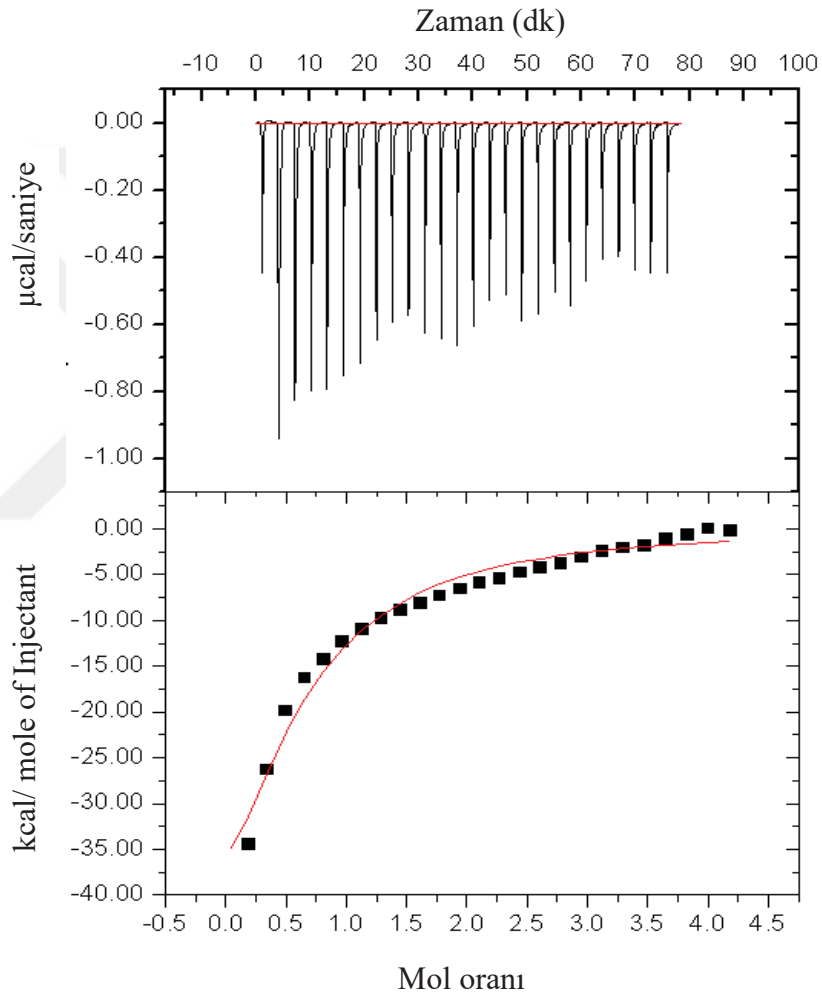
G-quadrupleks DNA ile ftalosiyanın etkileşimlerinin termodinamik yönden incelenmesi için izotermal titrasyon kalorimetrisi (ITC) yöntemi kullanıldı. Bu titrasyon yöntemi küçük moleküllerin biyomakromoleküllere bağlanmasını karakterize etmek için kullanılan etkili ve hassas araçlardan bir tanesidir. Kompleks oluşumunu, bağlanma stokiyometrisini ve bağlanma enerjilerini harekete geçiren moleküler kuvvetler hakkında önemli bilgiler vermektedir (Buck vd., 2013).

Tez kapsamında ITC çalışmalarında öncelikli olarak deneysel parametrelerin optimizasyonu gerçekleştirildi. Ligand ve biyomolekül derişimleri, titrasyon türü, karıştırma hızı, enjeksiyon sayısı, enjeksiyonlar arası süre gibi ITC deneylerini etkileyen parametreler araştırıldı. Optimizasyon çalışmalarında **CuFs** ve AS1411 oligomeri kullanıldı ve derişimler dışında elde edilen optimum koşullar diğer liganda ve oligomerlere uygulandı. Optimizasyon çalışmaları sonucu reverse titrasyon yönteminin uygun olduğu görüldü. 1+25 defa enjeksiyon yapılmasına, enjeksiyonlar arası sürenin 180 s ve karıştırma hızının 400 rpm olmasına karar verildi. Elde edilen ham veriler ITC-200 MicroCal cihazının programı ile değerlendirildi. Elde edilen ham data ve ITC diyagramları Şekil 4.16- Şekil 4.21’de verilmiştir.

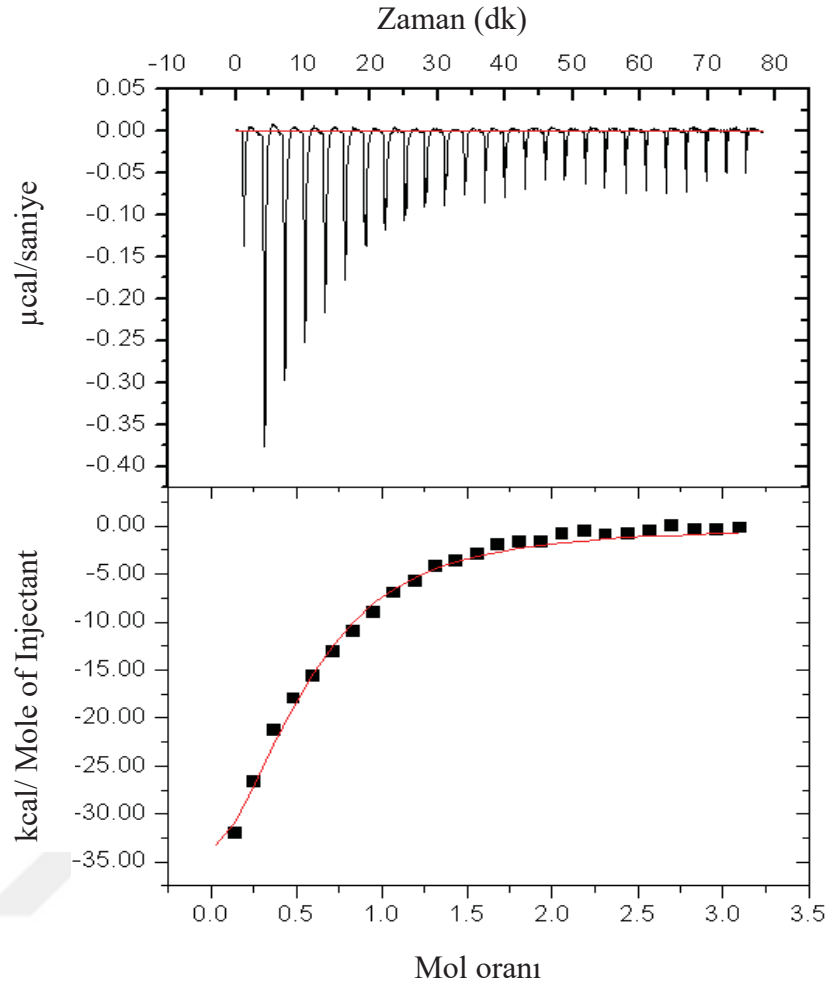
Tablo 4.2’de **CuFs**, Tablo 4.3’de ise **TiFs** bileşinin oligomerlerle etkileşimlerine ait termodinamik parametreler görülmektedir.

Tablo 4.2: CuFs bileşiminin oligomerlerle etkileşimlerine ait termodinamik parametreler

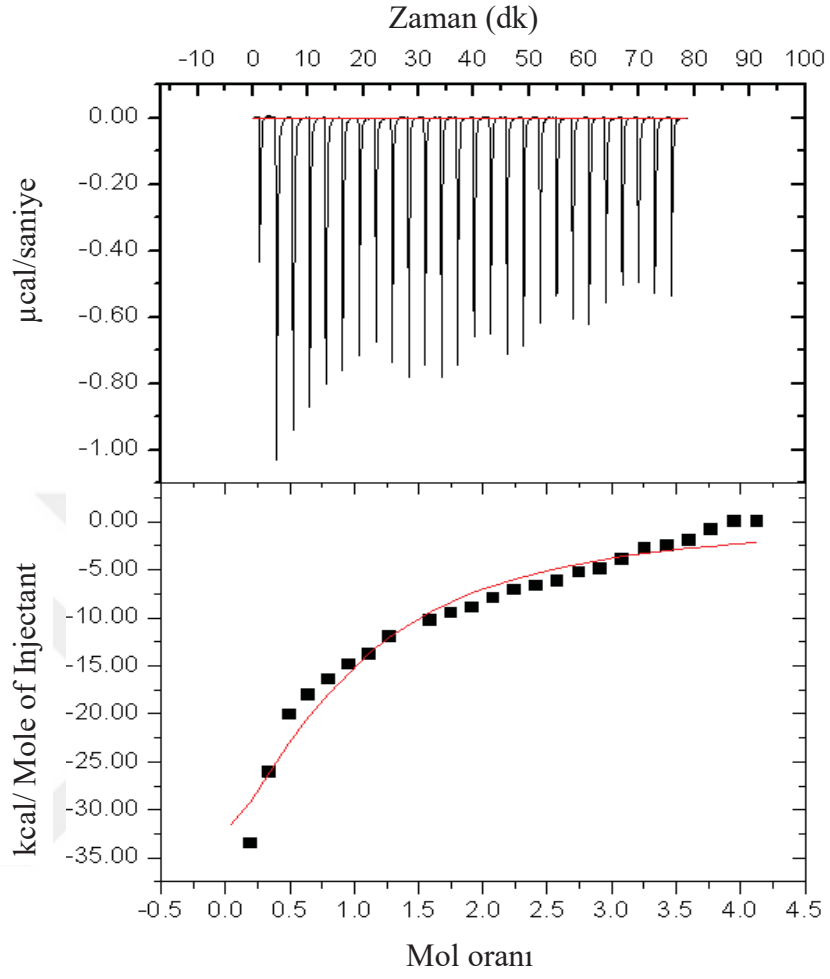
	N	K, M ⁻¹	ΔH (cal/mol)	ΔG (kcal/mol)	ΔS (cal/mol/deg)
AS1411	2,0±0,16	1,33x10 ⁵ ±3,37x10 ⁴ M ⁻¹	-8,58x10 ⁴ ±3,13 x10 ⁴	-7,1	-264
Tel-21	2,0±0,04	3,21x10 ⁵ ±3,76x10 ⁴ M ⁻¹	-6,62 x10 ⁴ ±4,94x10 ³	-7,5	-197
Tel-45	1,5±0,23	1,09x10 ⁵ ±3,43x10 ⁴ M ⁻¹	-9,23 x10 ⁴ ± 3,55x10 ⁴	-6,8	-287



Şekil 4.16 CuFs bileşiminin AS1411 oligomeri ile ITC diyagramı (Reverse titrasyon, 0,223 mM AS1411, 0,01087 mM CuFs)



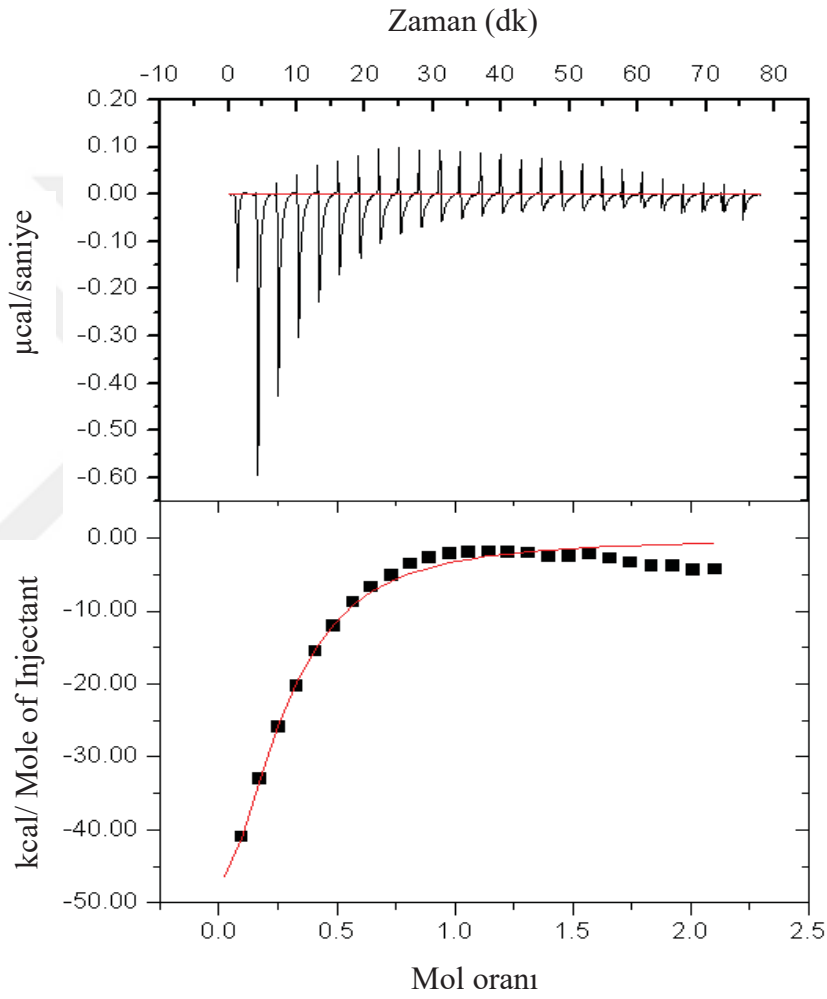
Şekil 4.17 CuFs bileşiğinin Tel-21 oligomeri ile ITC diyagramı (Reverse titrasyon, 0,165 mM Tel-21, 0,01087 mM CuFs)



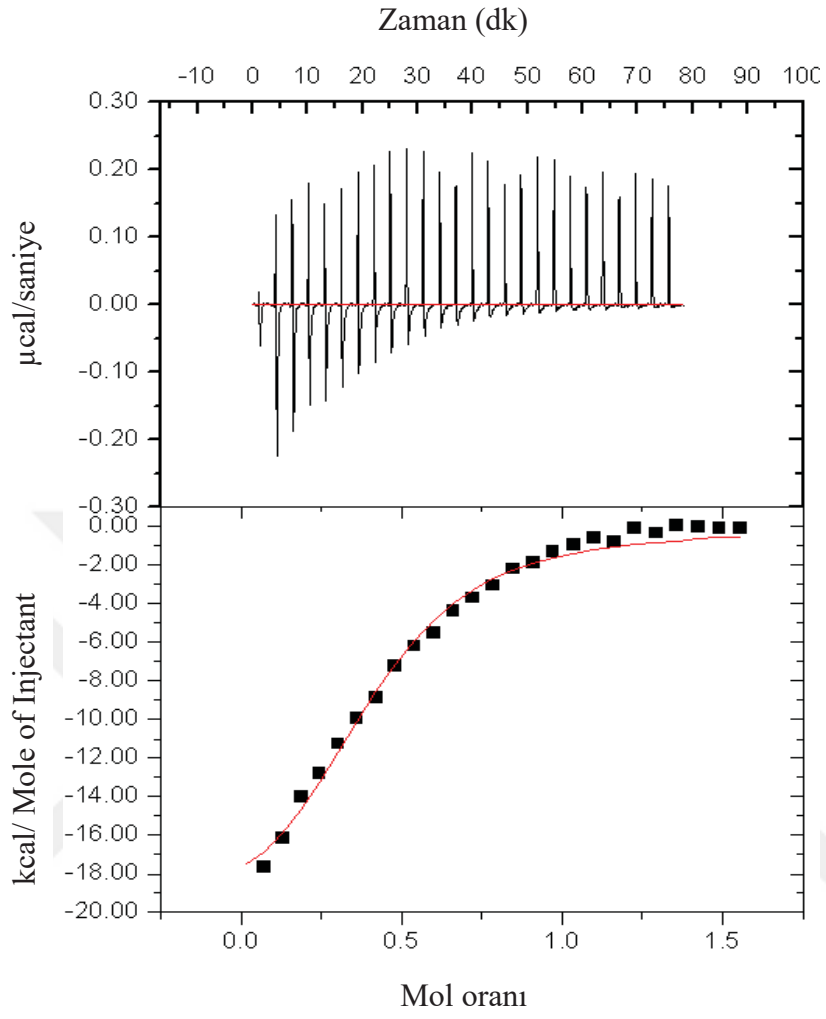
Şekil 4.18 CuFs bileşiminin Tel-45 oligomeri ile ITC diyagramı (Reverse titrasyon, 0,22 mM Tel-45, 0,01087 mM CuFs)

Tablo 4.3: TiFs bileşiminin oligomerlerle etkileşimlerine ait termodinamik parametreler

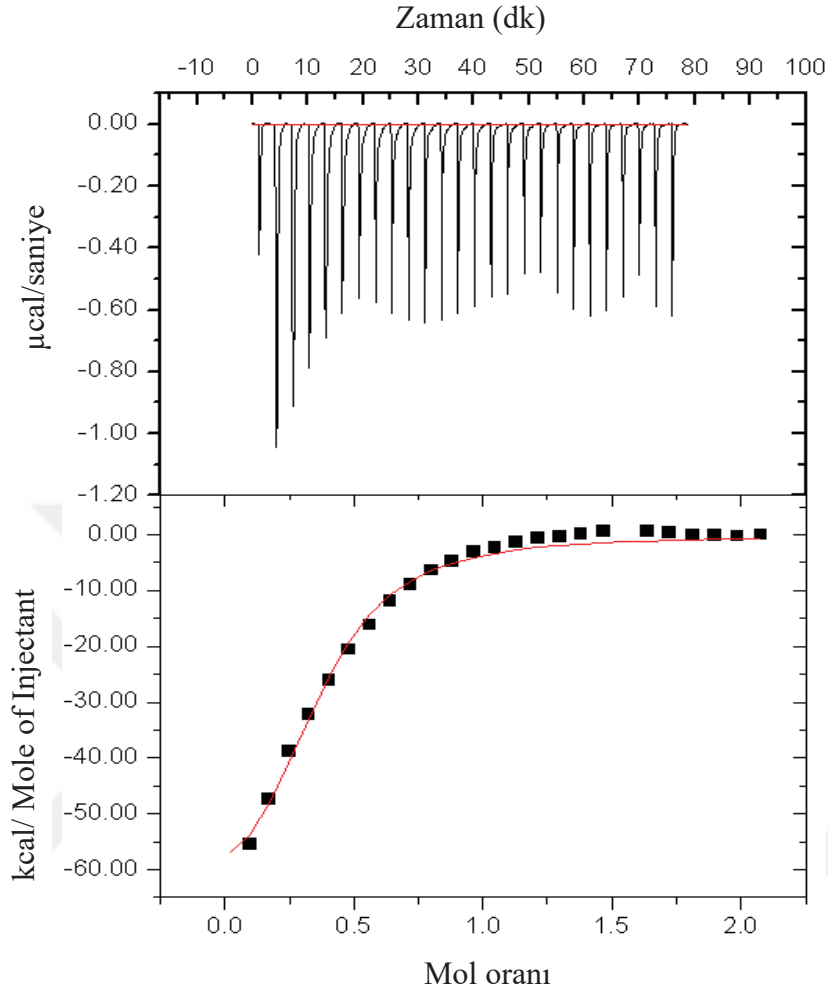
	N	K, M ⁻¹	ΔH (cal/mol)	ΔG (kcal/mol)	ΔS (cal/mol/deg)
AS1411	5,2±0,57	1,08x10 ⁵ ±2,88x10 ⁴ M ⁻¹	-1,18x10 ⁴ ±5,7 x10 ²	-6,7	-17
Tel-21	2,0±0,04	3,17x10 ⁵ ±5,39x10 ⁴ M ⁻¹	-1,40x10 ⁴ ±1,16x10 ³	-7,1	-23
Tel-45	3,2±0,17	1,81x10 ⁵ ±4,99x10 ⁴ M ⁻¹	-1,65x10 ⁴ ± 5,03x10 ²	-7,3	-31



Şekil 4.19 TiFs bileşiminin AS1411 oligomeri ile ITC diyagramı (Reverse titrasyon, 0,223 mM AS1411, 0,02162 mM TiFs)



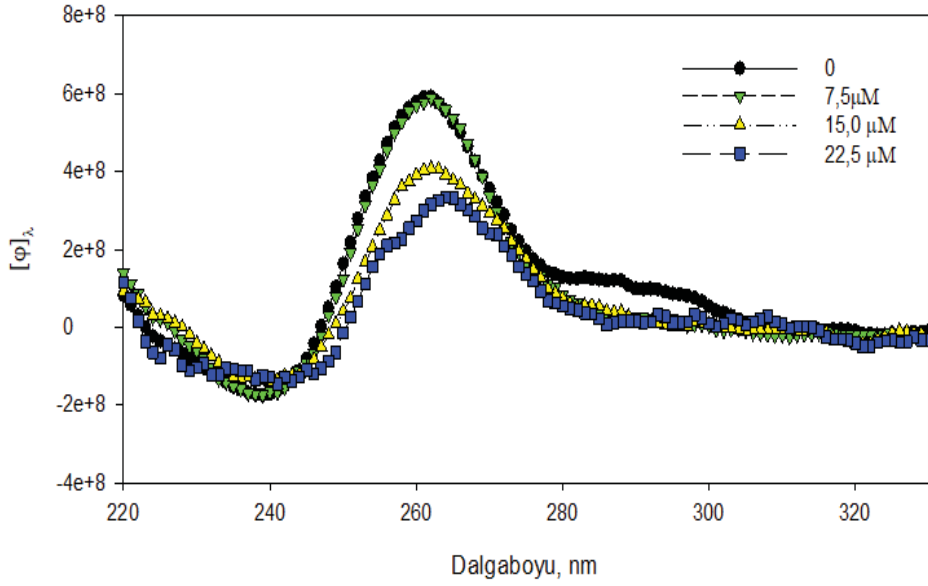
Şekil 4.20 TiFs bileşiğinin Tel-21 oligomeri ile ITC diyagramı (Reverse titrasyon, 0,165 mM Tel-21, 0,02162 mM TiFs)



Şekil 4.21 TiFs bileşiğinin Tel-45 oligomeri ile ITC diyagramı (Reverse titrasyon, 0,22 mM Tel-45, 0,02162 mM TiFs)

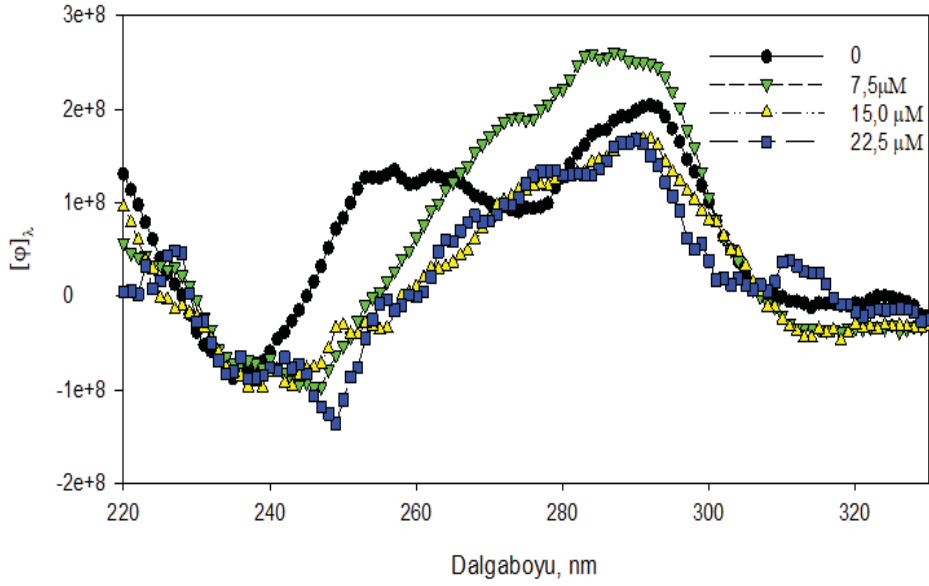
4.1.4. Circular Dichroism (CD) Spektrofotometre Deneyleri

CD spektroskopisi, G-quadrupleks yapılarının karakterizasyonunu belirlemek için kullanılan önemli yöntemlerden biridir. Tez kapsamında, çalışılan G-quadruplekslerin ftalosiyeninlerle etkileşimine bağlı olarak yapısal değişikliklerini incelemek için CD spektroskopi tekniği kullanıldı. Bu kapsamda, G-quadrupleks DNA içeren çözeltilere artan derişimlerde Fs çözeltileri eklenerek, son hacimleri 1 mL olacak şekilde tampon çözelti ile seyreltilmiştir. Çözeltiler 10 dk inkübasyondan sonra 1,5 mL hacimli, 1 cm ışık yollu kuvarz küvetlere aktarılarak 230-330 nm arası CD spektrumları taranmıştır (mol oranları Fs: DNA yaklaşık 0-9).



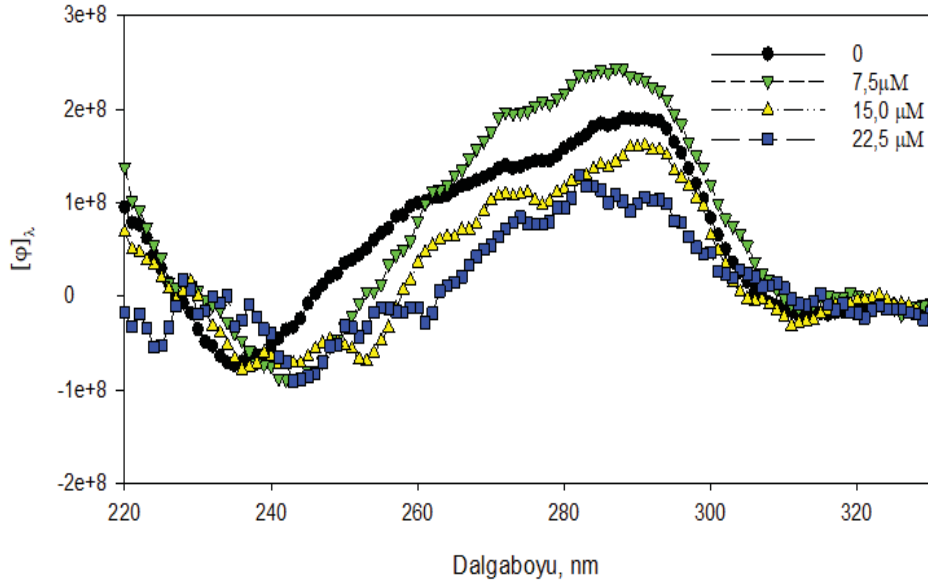
Şekil 4.21 AS1411'in **CuFs** bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu
($c_{AS1411}=2,5 \mu M$; $c_{CuFs}=0-22,5 \mu M$)

Şekil 4.21 görüldüğü gibi çalışılan deneysel şartlarda AS1411 G-quadrupleks yapısının CD spektrumunda 260 nm de pozitif, 240 nm civarında negatif eliptisite değerine sahip pikler gözlenmiştir. Ortama 7,5 μM derişimine kadar **CuFs** ilave edilmesi (n_{CuFs}/n_{AS1411} yaklaşık 3 kat) eliptisite değerinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. **CuFs**'nin derişiminin daha fazla artırılması ise 260 nm civarındaki pikte hipokromik etkiye neden olmuştur. 22,5 μM **CuFs** derişiminde (n_{CuFs}/n_{AS1411} yaklaşık 9 kat) CD spektrumunun 310 nm civarında indüklenmiş zayıf bir pik gözlenmiştir.



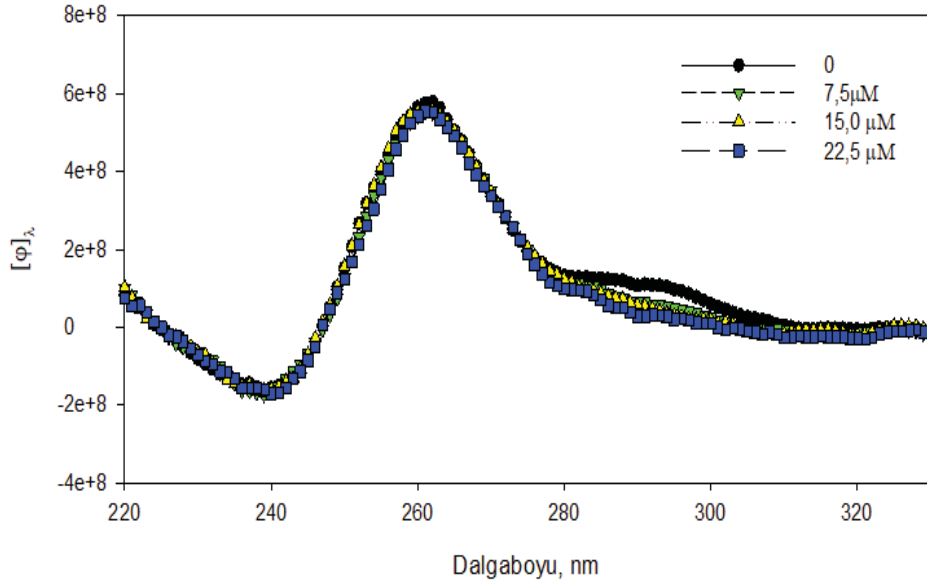
Şekil 4.22 Tel-21'in **CuFs** bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu ($c_{\text{Tel-21}}=2,5 \mu\text{M}$; $c_{\text{CuFs}}=0-22,5 \mu\text{M}$)

Şekil 4.22'de Tel-21 G-quadrupleks yapısı üzerine **CuFs**'nin etkisi görülmektedir. Tel-21'in CD spektrumunda 240 nm civarında negatif, 250-260 nm ve 280-290 nm aralığında pozitif eliptisite değerlerine sahip pikler gözlenmektedir. Ortama ilave edilen **CuFs** (mol oranı olarak yaklaşık 3 kat oranında) 280-290 nm aralığındaki bantta hiperkromik etkiye neden olmuş, 250-260 nm civarındaki pikte ise hiperkromik etki ile birlikte batokromik kayma gözlenmiştir. **CuFs** mol oranının 9 kata kadar artırılması 250-260 nm civarındaki pikin önemli ölçüde yok olmasına ve 315 nm civarı pozitif eliptisiteye sahip bir pikin oluşmasına neden olmuştur.



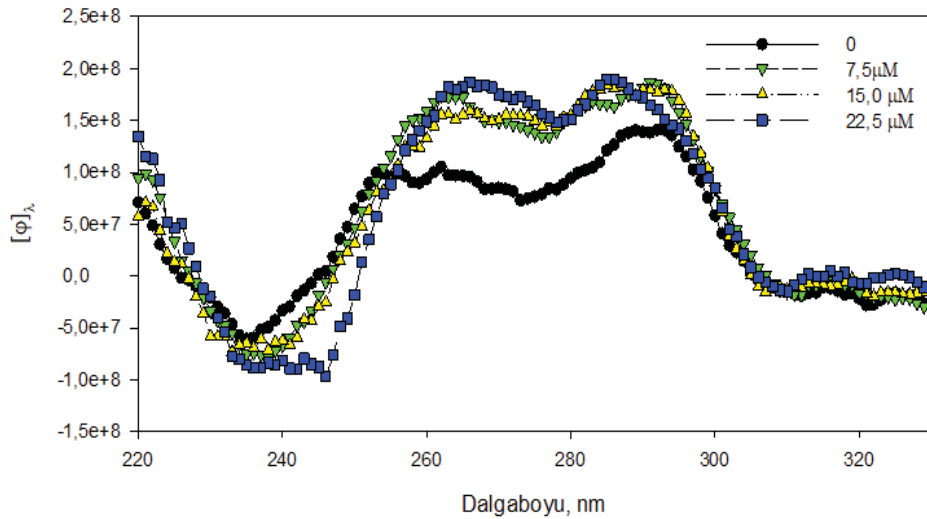
Şekil 4.23 Tel-45'in **CuFs** bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu ($c_{\text{Tel-45}}=2,5 \mu\text{M}$; $c_{\text{CuFs}}=0-22,5 \mu\text{M}$)

Şekil 4.23'den görüldüğü gibi Tel-45 G-quadrupleks yapısı ve **CuFs** ile etkileşimi Tel-21 G-quadrupleks durumuna benzemektedir. Tel-45 CD spektrumunda da, Tel-21'de gözlemlendiği gibi 260 ve 280-290 nm aralıklarında pozitif, 240 nm civarında negatif eliptisite değerlerine sahip pikler mevcuttur. Ortama **CuFs**'nin ilave edilmesi (mol oranı olarak 3 katı oranında) 260 nm civarındaki pikte batokromik kayma ve hiperkromik etki, 280-290 nm aralığındaki pikte ise hiperkromik etki gözlenmiştir. **CuFs** bileşiğinin miktarının daha da fazla artması piklerde hipokromik etkiye neden olmuştur.



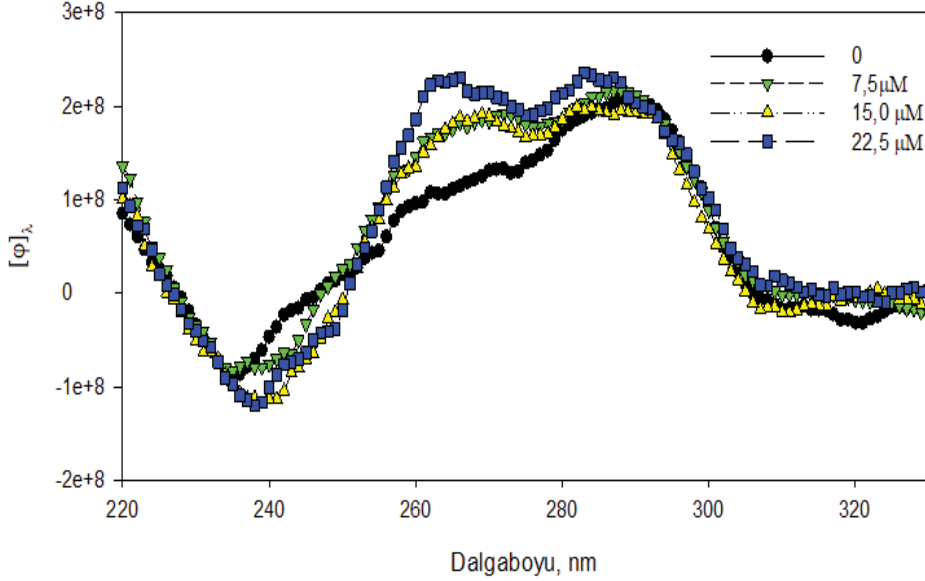
Şekil 4.24 AS1411'in **TiFs** bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu ($c_{AS1411}=2,5 \mu\text{M}$; $c_{TiFs}=0-22,5 \mu\text{M}$)

Şekil 4.24'de AS1411 G-quadrupleks yapısı üzerine **TiFs** bileşiğinin etkisi görülmektedir. Şekilden görüldüğü gibi, 9 kat oranında **TiFs**'nin eklenmesi dahi AS1411 CD spektrumunda önemli bir değişikliğe neden olmamıştır.



Şekil 4.25 Tel-21'in **TiFs** bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu ($c_{Tel-21}=2,5 \mu\text{M}$; $c_{TiFs}=0-22,5 \mu\text{M}$)

Şekil 4.25'den görüldüğü gibi Tel-21'in 260 ve 290 nm civarlarında pozitif eliptisiteye sahip piklerinde ortama **TiFs** ilave edildiği zaman hiperkromik etki gözlenmiştir. Ortama eklenen **TiFs** miktarının Tel-21'in 9 katı kadar olduğu durumda ise 280-290 nm civarındaki pikte maviye kayma ve bununla birlikte 300 nm'nin üstünde iki tane yeni pik oluşumu söz konusudur.



Şekil 4.26 Tel-45'in **TiFs** bileşiği ile titrasyonuna ait CD spektrumu ($c_{\text{Tel-45}}=2,5 \mu\text{M}$; $c_{\text{TiFs}}=0-22,5 \mu\text{M}$)

Şekil 4.26'den görüldüğü gibi ortama **TiFs** ilave edildiği zaman Tel-45'in 290 nm civarlarındaki pikinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bununla birlikte 260 nm civarında gözlenen pikte ise hiperkromik etki gözlenmiştir. Ortama eklenen **TiFs** miktarının Tel-45'in 9 katı kadar olduğu durumda ise 290 nm civarındaki pikte hipsokromik kayma gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Tez kapsamında **CuFs** ve **TiFs** bileşiklerinin G-quadrupleks etkileşimleri incelendi. Deneysel şartlarda paralel konformasyona sahip AS1411, paralel ve antiparalel konformasyona sahip Tel-21 ve Tel-45 G-quadrupleks oligomerleri kullanıldı.

Çalışmada ilk olarak G-quadrupleks yapılarının sentezlenen **CuFs** ve **TiFs** molekülleri ile etkileşimi UV-Gör. spektrofotometrik titrasyon yöntemi ile incelenmiştir. **CuFs** bileşiğinin AS1411, Tel-21 ve Tel-45 ile etkileşimi Şekil 4.2-4.4'de, bileşiğin tamponda seyrelmesine dair spektrum Şekil 4.5'de verilmiştir. Şekil 4.2 incelendiğinde tek başına **CuFs** bileşiğinin spektrumu ile AS1411 ilave edilen çözeltinin spektrumu arasında önemli farklar gözlenmiştir. Öncelikli olarak 700 nm civarında bir bant, bu bantta 0-0,0089 mM AS1411 ilavesi ile hiperkromik etki ve daha sonra hipokromik etki (0,0081-0,02 mM derişimleri arasında) gözlenmiştir. Bu durum şu şekilde yorumlanabilir. Ortama eklenen AS1411 molekülleri **CuFs** moleküllerinin arasına girerek etkileşmiştir. AS1411 molekülleri, agreg **CuFs** moleküllerinin π - π istiflenmesini engellemiştir. Dolayısı ile agreg haldeki **CuFs**'ler AS1411'e bağlanarak monomerik hale gelmiştir. Oluşan yeni kompleksin π - π geçişinin enerjisi daha düşüktür. DNA derişiminin daha da artırılması (yani 0,0089 mM dan daha yüksek derişimlerde) dalgaboyunda 1 nm'lik bir batokromik etkiye neden olmuş yanı sıra hipokromik etki gözlenmiştir. O halde UV-Gör. spektrofotometrik titrasyon sonuçları özetle şöyle değerlendirilebilir:

Eklenen AS1411 **CuFs**'nin π orbitalleri ile etkileşerek agregasyonu engellemiş (689 nm'den \longrightarrow 703 nm'e kayma ve hiperkromik etki), AS1411 derişiminin daha da artırılması ile monomerik **CuFs**'ler ile AS1411'in bağlandığı gözlenmiştir (703 nm'den \longrightarrow 705 nm'e kayma ve hipokromik etki). Bağlanma mekanizmasına dair daha ileri yorumlar CD ve ITC verileri ışığında yapılacaktır. Benzer spektral veriler Tel-21 ve Tel-45'in **CuFs** etkileşimi içinde gözlenmiştir.

Şekil 4.6-4.8 de **TiFs** bileşiğinin AS1411, Tel-21 ve Tel-45 ile etkileşimine ait UV-Gör. spektrofotometrik titrasyonu görülmektedir. **CuFs** bileşiğinin titrasyonunda gözlemlenen spektral davranışlar **TiFs** bileşiğinde de gözlenmiştir. Bu titrasyonda 712 nm de hiperkromik etki ve ardından hipokromik etki gözlenmiştir. Yukarıda da bahsedildiği gibi 712 nmdeki hiperkromik etkinin gözlendiği bant Fs moleküllerinin arasına giren G-quadruplekslerin Fs'nin π - π istiflenmesini engellemesi sonucu

oluşmaktadır. **TiFs**'nin bileşiğinin AS1411 ile etkileşmesi sonucu dalgaboyundaki kayma yaklaşık 3 nm civarındadır (709 nm → 712 nm) . Gözlenen batokromik kayma ve hiperkromik etki **TiFs** moleküllerinin AS1411 ile etkileşimini kanıtlamakla ve agregasyonu engellediğini göstermektedir. Bununla birlikte etkileşim **CuFs** bileşiğinin gösterdiği etkileşimlerden daha zayıftır.

Fs bileşiklerinin etkileşimlerini incelemek için kullanılan diğer bir yöntem de yer değiştirme çalışmalarıdır. Uygun bir probun (TO) DNA ile etkileşimi sonucu floresans şiddetinin artması, eklenen diğer bir bileşikle (bu çalışmada Fs molekülleri) floresansının sönümlenmesi, etkileşimi (diğer tüm çalışmalarında beraber bu durumu desteklemesiyle birlikte) göstermektedir. Tablo 4.1'de sönümlenmeye ait K_{sv} sabitleri, Şekil 4.10-4.15'de ise sönümlenmeye ait emisyon spektrumları verilmiştir. Tablodan ve ilgili şekillerden, çalışılan G-quadruplekslerin Fs'ler ile etkileştiği görülmüştür.

CuFs ve **TiFs** bileşiklerinin G-quadrupleks yapıları ile etkileşimine ait termodinamik parametreleri izotermal titrasyon kalorimetrisi yöntemi ile belirlenmiştir. Bağlanma mekanizmaları için cihaz yazılımında mevcut olan one sites ve two sites opsiyonları denenmiştir. Etkileşimlerin daha çok one sites bağlanma modeline uygun olduğu bulunmuştur.

CuFs bileşiğinin G-quadrupleks yapıları ile etkileşimine ait termodinamik veriler Tablo 4.2'de verilmiştir. Tablodan görüldüğü gibi etkileşimlere ait Gibbs serbest enerji değişimleri negatiftir. Etkileşimler istemli yürümektedir. **CuFs** bileşiğinin Tel-21 ile etkileşimine ait K sabiti diğer G-quadruplekslerin bu bileşikle etkileşimlerine dair K sabitlerinden yüksektir. CD spektroskopik yöntemlerle elde edilen bulgularda göz önüne alındığında **CuFs** bileşiğinin G-quadrupleks yapıları ile etkileşimleri bu yapıları destabil edecek kadar güçlü olduğunu göstermektedir. Bağlanma ile entropinin azalması ($\Delta S < 0$) tepkimelerin entalpi destekli ilerlediğini göstermektedir.

CuFs bileşinin her üç G-quadrupleks yapısı ile etkileşimine dair ΔH değerleri göreceli olarak yüksektir. Literatürde benzer durumlar mevcuttur (Pattanayak vd., 2018; Zhang vd., 2017) .Bu durumun en önemli nedenlerinden bir tanesi ortama eklenen G-quadrupleks moleküllerinin Fs agregatlarının arasına girerek agregatı oluşturan Fs'ler arasındaki π - π istifini kırmasıdır. Öte yandan G-quadrupleks

yapılarının konformasyonlarındaki değişimlerde ΔH değerlerinin yüksek çıkmasına neden olabilir (Majhi vd., 2008).

TiFs bileşiklerinin G-quadrupleks yapıları ile etkileşimlerine ait termodinamik veriler Tablo 4.3'de verilmiştir. **TiFs** bileşiklerinin G-quadrupleks yapıları ile etkileşimlerine ait ΔG değerlerinin negatif olması etkileşimlerin istemliliğini göstermektedir. Her üç G-quadrupleks yapısının **TiFs** ile etkileşimine dair entropi ve entalpi değişiminin negatif olması tepkimenin entalpi destekli ilerlediğini göstermektedir. Bu bileşiğin AS1411, Tel-21 ve Tel-45 G-quadrupleks yapılarına bağlanmalarına ait K sabitleri sırası ile $1,08 \times 10^5$, $3,17 \times 10^5$ ve $1,81 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Elde edilen her üç bağlanma sabiti **CuFs** ile G-quadrupleks DNA larının etkileşimlerine ait K sabitlerinden düşük bulunmuştur. Bileşiklerin kimyasal yapılarına bakıldığında bu tablonun ortaya çıkmasına sebep olarak **TiFs** bileşiğindeki TiO_2 yapısının neden olduğu sterik engellerin olduğu söylenebilir. Merkeze bağlı olan TiO_2 nedeni ile G-quadruplekslerle gerçekleştirilen π - π istiflenmesi daha zayıf olduğu söylenebilir.

G-quadrupleks yapısını oluşturan G-dörtlüleri birbirine bağlayan dış halkanın ve helikslerin yönünün farklı olması ile paralel, antiparalel ve hibrit yapıları oluşmaktadır (Hazel vd.,2004). Paralel yapı G-quadrupleks DNA 260 nm'de pozitif, 240 nm'de negatif eliptisite gösterirken antiparalel yapı G-quadrupleks DNA 290 nm'de pozitif, 260 nm'de negatif eliptisite göstermektedir. (Balagurumoorthy vd.,1992; Lu vd.,1993). Hibrit yapıdaki G-quadrupleks ise 290 ve 260 nm'de pozitif, 240 nm'de negatif eliptisite göstermektedir (del Villar, 2018).

Şekil 4.21'den görüldüğü gibi AS1411, çalışılan deneysel şartlarda paralel konformasyona sahiptir. Ortama $7,5 \mu\text{M}$ derişimine kadar **CuFs** ilave edilmesi eliptisite değerinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu durum **CuFs** nin AS1411 ile etkileşmesinin AS1411 konformasyonunda önemli bir değişikliğe neden olmadığını göstermektedir. **CuFs** derişiminin daha fazla artırılması ise (mol oranı olarak yaklaşık 9 katı oranında) G-quadrupleks konformasyonundan düz zincirli oligomer oluşumu (ya da relaksasyonu) yönünde dengenin kaymasına neden olmaktadır. Bu durum şu şekilde açıklanabilir, düşük **CuFs** derişimlerinde G-quadrupleks yapısının dışından Fs'lerin yaklaştığı ve G-quadrupleks π orbitalleri ile **CuFs** makrosiklik π orbitallerinin üstüste gelerek bağlanmanın olduğu

düşünülmektedir. Bu bağlanmada yapının değişmemesi bağlanmanın G-quadrupleks yapısının alt ve üst kısımlarından olabileceğini (end stacking) ya da interkalasyonla olabileceğini göstermektedir (ITC ile elde edilen stokiyometrik oran ile end stacking ile bağlanmanın olabileceği söylenebilir). **CuFs**'nin derişiminin daha da artması bu bileşğin moleküllerinin G-dörtlülerinin arasındaki π istiflenmesini açarak quadrupleks yapıyı düz zincirli forma dönüştürdüğü (relaksasyon) tahmin edilmektedir. Bu aşamada **CuFs**/AS1411 mol oranının 9 katı olduğu durumda Fs'nin oluklara da yaklaşarak etkileştiği azda olsa indüklenmiş CD pikinden gözlenmektedir.

Şekil 4.22'den görüldüğü gibi çalışılan deneysel şartlarda Tel-21 hibrit konformasyona sahiptir. Ortama 7,5 μ M derişimine kadar **CuFs** ilave edilmesi (yani mol oranı olarak 3 katı **CuFs** ilave edilmesi) antiparalel konformasyon yönüne doğru dengeyi kaydırmakta aynı zamanda antiparalel G-quadrupleks yapısının stabilizasyonunu sağlamaktadır. **CuFs** derişimini daha fazla artırmak dengenin antiparalel konformasyona kaymayı artırmakla birlikte yapının bir miktar destabil hale gelmesine neden olmaktadır. Mol oranının 9 kat artması 310 nm civarında pozitif eliptisiteye sahip yeni bir pikin oluşumunu indüklemektedir. Bu durum bu mol oranlarında **CuFs** bileşiklerinin G-quadrupleks yapısının oluklarına bağlanmanın başladığını da göstermektedir.

Şekil 4.23'den görüldüğü gibi 7,5 μ M derişimine kadar **CuFs** ilave edilmesi Tel-45 G-quadrupleks yapısında paralel konformasyon lehinde bir artışa neden olmuştur. Ortama daha fazla ligandın eklenmesi ise G-quadrupleks yapısından düz zincirli yapıya dönüşü (relaksasyon) yani konformasyonun destabil hale gelmesini indüklemektedir.

Şekil 4.24'de görüldüğü gibi AS1411'in CD spektrumuna eklenen **TiFs**'nin önemli bir etkisi olmamıştır. Çalışılan deneysel şartlarda, eklenen **TiFs** bileşğinin AS1411 G-quadrupleks yapısının paralel konformasyonunu değıştirmedeğı düşünölmektedir. Bu durumda ya AS1411 ile **TiFs**'nin etkileşmediğı (ki bu durum diğere veriler göz önüne alınırsa olası değıldir), ya da **TiFs** moleküllerinin G-quadruplekslerin üst ve alt uçlardan etkileştiğı, böylelikle paralel konformasyonun korunduğı düşünölebilir. Diğere bir olasılık ise yapının korunduğı interkalasyon yolu ile etkileşimdir. **TiFs** molekülünün yapısı göz önüne alındığında (ve termodinamik verilerle birlikte

düşünüldüğünde, stokiyometrik oran **TiFs**/AS1411 yaklaşık 5 dir), interkalasyonla birlikte üst ve alt uçlardan etkileşimin beraber gerçekleştiği söylenebilir.

Şekil 4.25'den görüldüğü gibi Tel-21 konformasyonu üzerine **TiFs**'in ilave edilmesi ile G-quadrupleks yapısı stabil hale gelmekte ve G-quadrupleks oluşumu yönünde denge kaymaktadır. Bu durum **TiFs** ligandlarının G- quadrupleks yapısına dıştan yanaşarak π orbitallerinin G-quadrupleks yapılarındaki alt ve üst boşluklarda bulunan π orbitalleriyle çakışması ile etkileşimin gerçekleştiği şeklinde yorumlanabilir (stokiyometrik oran **TiFs**/ Tel-21 yaklaşık 2 dir). Bununla birlikte yüksek **TiFs**/Tel-21 mol oranlarında **TiFs** moleküllerinin G-quadrupleks oluklarına da bağlandığı indüklenmiş CD pikleri nedeni ile söylenebilir.

Şekil 4.26'de Tel-45 G-quadrupleks yapısı ile **TiFs**'in etkileşimi görülmektedir. Çalışılan deneysel şartlarda ortama eklenen **TiFs** bileşiğinin G-quadrupleks yapısının antiparalel konformasyonunu çok değiştirmedeği fakat paralel konformasyon oluşumu yönünde tepkimeyi indüklediği söylenebilir. Bu durum etkileşimin **TiFs** moleküllerinin G-quadrupleks konformasyonlarının alt ve üst uç kısımlarında π - π istiflenmesi ile olduğu şeklinde yorumlanabilir. ITC verilerine göre tepkime stokiyometrisinin 3 olması (**TiFs**/Tel-45 mol oranı) interkalasyon ve loop bağlanmalarında olası olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

G-quadrupleks DNA yapıları kanser tedavisi için oldukça önemli ilaç hedefleridir. Bu yapılarla etkileşen bileşiklerin sentezi tedavi için umut vaadedicidir. Öte yandan bu bileşiklerin G-quadrupleksler ile konjugasyonu hedeflenebilir ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesi açısından önemlidir. Biyomedikal uygulamalar için sentezlenen bileşiklerin suda çözünür olması önemli bir avantajdır. Ftalosiyanın yakın IR bölgesinde uyarılmaları ve singlet oksijen verimleri bu bileşikleri FDT uygulamaları için önemli kılar. Ftalosiyanın ve benzer türevlerinin en önemli dezavantajları biyolojik uygulamalarında sıkıntılara yol açan agregasyon yapabilme özellikleridir.

Tez kapsamında, yeni sentezlenen **CuFs** ve **TiFs** bileşiklerinin farklı yapılarıdaki G-quadrupleks DNA'lar ile etkileşimleri araştırılmıştır. Elde edilen deneysel veriler, hem bağlanma mekanizmalarının oldukça kompleks olduğunu hemde çalışılan **Fs** bileşiklerinin merkez metallerinin farklı olmasının bağlanma mekanizmalarını, enerjilerini, stokiometrilereğini değiştirdiğini göstermektedir.

CuFs bileşiklerinin G-quadrupleks DNA'lar ile etkileşimlerini daha kuvvetli olduğu ve bu durumun **CuFs**'nin kimyasal yapısının lineerliğe daha yakın olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yine bu bileşiğin belirli derişime kadar özellikle AS1411 konformasyonunu değiştirmedeği ve AS1411 ile etkileşiminin agregasyonunu engellediği gözlenmiştir. AS1411'in özellikle kanser hücrelerinde overekspres olan nükleolin proteinine afinitesi düşünüldüğü zaman **CuFs**-AS1411 etkileşiminin kanser tedavisi için umut verici ve araştırılması gereken bir durum olduğu düşünülmektedir. Yine aynı ftalosiyanın bileşiğinin diğer G-quadrupleksler ile etkileşiminin konformasyonda değişikliklere neden olması bu bileşiğin G-quadrupleks oluşturan dizilerin hücre proliferasyonunda sekteler yaratabileceği söylenebilir. Bu durum G-quadruplekslerin hücre içi görevlerinin aydınlatılmasında kullanılabilir.

TiFs bileşiğide benzer şekilde çalışılan G-quadruplekslerle etkileşmiştir. Bu etkileşimler **TiFs** bileşiğinin agregasyonunu engellemektedir. Aynı şekilde bu bileşiğinde biyomedikal uygulamalar için potansiyel vadettiği söylenebilir. Özellikle **TiFs** bileşiğinin AS1411 ile etkileşerek stokiyo-metrik olarak 5:1 oranında kompleks

oluşturması, oluşan bu kompleks yapının AS1411'in konformasyonunu 9 kat oranında dahi etkilememesi meme kanseri fotodinamik terapisi için olduğa umut vaadedicidir. İleri çalışmalarla bu kompleks yapının serum stabilitesinin yüksek olduğunun kanıtlanması, hücre hatları ve uygun meme kanseri modelleri oluşturulan deney hayvanlarında prelinik çalışmaların yapılması olduğa önemlidir.



KAYNAKLAR

- Akdi, K., Vilaplana, R. A., Kamah, S., & González-Vílchez, F. (2005). Effects of Tris and Hepes buffers on the interaction of palladium–diaminopropane complexes with DNA. *Journal of inorganic biochemistry*, 99(6), 1360-1368.
- Aktaş Kamiloğlu, A. (2016). Flor fonksiyon grupları içeren periferel tetra sübstitue kobalt ftalosyaninlerin sentezi, karakterizasyonu ve katalitik aktiviteleri (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Alzeer, J., & Luedtke, N. W. (2010). pH-mediated fluorescence and G-quadruplex binding of amido phthalocyanines. *Biochemistry*, 49(20), 4339-4348.
- Arjmand, F., & Jamsheera, A. (2011). DNA binding studies of new valine derived chiral complexes of tin (IV) and zirconium (IV). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78(1), 45-51.
- Arjmand, F., Parveen, S., Afzal, M., Toupet, L., & Hadda, T. B. (2012). Molecular drug design, synthesis and crystal structure determination of CuII–SnIV heterobimetallic core: DNA binding and cleavage studies. *European journal of medicinal chemistry*, 49, 141-150.
- Arslandoğlu Y., (2004), “Yeni Tip Çözünür Titanyum Ftalosiyaniinlerin Sentezi”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi.
- Baginski, M., Fogolari, F., & Briggs, J. M. (1997). Electrostatic and non-electrostatic contributions to the binding free energies of anthracycline antibiotics to DNA. *Journal of molecular biology*, 274(2), 253-267.
- Bağda, E., Bağda, E., & Durmuş, M. (2017). G-quadruplex and calf thymus DNA interaction of quaternized tetra and octa pyridyloxy substituted indium (III) phthalocyanines. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 175, 9-19.
- Bağda, E., Bağda, E., & Yabaş, E. (2017). A versatile water soluble ball-type phthalocyanine as potential antiproliferative drug: the interaction with G-quadruplex formed from Tel 21 and cMYC. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 4(2), 579-596.
- Bağda, E., Bağda, E., & Yabaş, E. (2017). Circular dichroism spectroscopic investigation of double-decker phthalocyanine with G-Quadruplex as promising telomerase inhibitor. *Journal of Molecular Structure*, 1127, 716-721.

- Bailly, C. (2000). Topoisomerase I poisons and suppressors as anticancer drugs. *Current medicinal chemistry*, 7(1), 39-58.
- Baker, E. S., Bernstein, S. L., Gabelica, V., De Pauw, E., & Bowers, M. T. (2006). G-quadruplexes in telomeric repeats are conserved in a solvent-free environment. *International Journal of Mass Spectrometry*, 253(3), 225-237.
- Balagurumorthy, P., Brahmachari, S. K., Mohanty, D., Bansal, M., & Sasisekharan, V. (1992). Hairpin and parallel quartet structures for telomeric sequences. *Nucleic acids research*, 20(15), 4061-4067.
- Barone, G., Terenzi, A., Lauria, A., Almerico, A. M., Leal, J. M., Busto, N., & García, B. (2013). DNA-binding of nickel (II), copper (II) and zinc (II) complexes: Structure–affinity relationships. *Coordination Chemistry Reviews*, 257(19-20), 2848-2862.
- Barut, B., Demirbaş, Ü., Özel, A., & Kantekin, H. (2017). Novel water soluble morpholine substituted Zn (II) phthalocyanine: Synthesis, characterization, DNA/BSA binding, DNA photocleavage and topoisomerase I inhibition. *International journal of biological macromolecules*, 105, 499-508.
- Barut, Burak. (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”.
- Bauer, W., & Vinograd, J. (1970). The interaction of closed circular DNA with intercalative dyes: III. Dependence of the buoyant density upon superhelix density and base composition. *Journal of molecular biology*, 54(2), 281-298.
- Bekaroğlu, Ö. (2014). History, development, and a new concept of phthalocyanines in Turkey. *Turkish Journal of Chemistry*, 38(6), 903-922.
- Bischoff, G., & Hoffmann, S. (2002). DNA-binding of drugs used in medicinal therapies. *Current medicinal chemistry*, 9(3), 321-348.
- 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.
- 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.

- Buchholz, I., Karg, B., Dickerhoff, J., Sievers-Engler, A., Lämmerhofer, M., & Weisz, K. (2017). Selective Targeting of G-Quadruplex Structures by a Benzothiazole-Based Binding Motif. *Chemistry—A European Journal*, 23(24), 5814-5823.
- Buck, A. T., Paletta, J. T., Khindurangala, S. A., Beck, C. L., & Winter, A. H. (2013). A noncovalently reversible paramagnetic switch in water. *Journal of the American Chemical Society*, 135(29), 10594-10597.
- Cao, Q., Li, Y., Freisinger, E., Qin, P. Z., Sigel, R. K., & Mao, Z. W. (2017). G-quadruplex DNA targeted metal complexes acting as potential anticancer drugs. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 4(1), 10-32.
- Caymaz B (2019) İmidazo(1,2-A)Piridin Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu Ve Dna Etkileşimlerinin Çalışılması, Yüksek Lisans Tezi, Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.
- Cech, T. R. (2004). Beginning to understand the end of the chromosome. *Cell*, 116(2), 273-279.
- Chalikian, T. V., Völker, J., Plum, G. E., & Breslauer, K. J. (1999). A more unified picture for the thermodynamics of nucleic acid duplex melting: a characterization by calorimetric and volumetric techniques. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(14), 7853-7858.
- Chu, G. (1994). Cellular responses to cisplatin. The roles of DNA-binding proteins and DNA repair. *Journal of Biological Chemistry*, 269(2), 787-790.
- Clausen-Schaumann, H., Rief, M., Tolksdorf, C., & Gaub, H. E. (2000). Mechanical stability of single DNA molecules. *Biophysical journal*, 78(4), 1997-2007.
- Çakır, D., Göl, C., Çakır, V., Durmuş, M., Bıyıklıoğlu, Z., & Kantekin, H. (2015). Water soluble {2-[3-(diethylamino) phenoxy] ethoxy} substituted zinc (II) phthalocyanine photosensitizers. *Journal of Luminescence*, 159, 79-87.
- Dahm, R. (2005). Friedrich Miescher and the discovery of DNA. *Developmental biology*, 278(2), 274-288.
- del Villar-Guerra, R., Trent, J. O., & Chaires, J. B. (2018). G-Quadruplex Secondary Structure Obtained from Circular Dichroism Spectroscopy. *Angewandte Chemie International Edition*, 57(24), 7171-7175.

- Demir, Faruk. (2019). Tiyazol Sübstitüe Ftalosiyeninlerin Sentezi ve Biyosensör Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Diebach, H., & Von Der Weid, E. (1927). Derivatives of cumidinic and pyromellitic acids. *Helvetica Chimica Acta*, 10, 886-888.
- Dini, D. ve Hanack, M. (2003). 107 Ftalosiyenin Esaslı Malzemelerin Fiziksel Özellikleri. *Porfirin el kitabı*, 11, 1.
- Eken Korkut, S. (2013). *Yeni tip ftalosiyeninlerin sentezi* (Doctoral dissertation, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Erbahar D., (2012), “Kuartz Kristal Mikrobalsan (QCM) Sensorlerin Sıvılardaki Zehirli Organik Kirleticilerin Tespitinde Kullanımı”, Doktora Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü.
- Frederick, C. A., Williams, L. D., Ughetto, G., Van der Marel, G. A., Van Boom, J. H., Rich, A., & Wang, A. H. (1990). Structural comparison of anticancer drug-DNA complexes: adriamycin and daunomycin. *Biochemistry*, 29(10), 2538-2549.
- Gilad, Y., & Senderowitz, H. (2013). Docking studies on DNA intercalators. *Journal of chemical information and modeling*, 54(1), 96-107.
- Głuszyńska, A., Juskowiak, B., Kuta-Siejkowska, M., Hoffmann, M., & Haider, S. (2018). Carbazole ligands as c-myc G-quadruplex binders. *International journal of biological macromolecules*, 114, 479-490.
- Göçmen E (2014). Bazı Tek ve Çift Disli Tersiyer Fosfin Ligantları İçeren Yeni Gümüş(I) Sakkarinat Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Yapıları, DNA Bağlanma ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Gökçe, C. (2012). Bazı Geçiş Metallerinin Yeni Hidrazon Schiff Bazı Ligandları ile Koordinasyon Bileşiklerinin Hazırlanması, Yapılarının Aydınlatılması, DNA Etkileşimlerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Muğla).
- Gökçe, S. (2013). Metalli ve metalsiz ftalosiyeninlerin sentezi, karakterizasyonu ve kobalt (II) ftalosiyenin siklohegzan oksidasyonu üzerine katalitik aktivitesinin incelenmesi (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Gökoğlu, E., Seferoglu, Z., Akbay, N. (2009). Nükleik asitlerin tayininde kullanılabilir yeni floresant uçların sentezlenmesi ve etkileşimlerin spektrofotometrik yöntemle incelenmesi. TÜBİTAK 109T391_ Nolu Proje Kesin Raporu, Ankara.
- Gürçan N (2014). Ferrosen Aktif Birimi İçeren Yeni Azin Türevlerinin DNA Bağlanma, DNA Kesim ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- 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.
- Hassani, L., Hakimian, F., & Safaei, E. (2014). Spectroscopic investigation on the interaction of copper porphyrines and phthalocyanine with human telomeric G-quadruplex DNA. *Biophysical chemistry*, 187, 7-13.
- Hassani, L., Safaei, E., Hakimian, F., & Soufian, S. (2018). Thermodynamic Investigation of Copper Porphyrines and Phthalocyanine Interaction with Human Telomeric G-Quadruplex DNA. *Modares Journal of Biotechnology*, 9(3), 395-402.
- Hazel, P., Huppert, J., Balasubramanian, S., & Neidle, S. (2004). Loop-length-dependent folding of G-quadruplexes. *Journal of the American Chemical Society*, 126(50), 16405-16415.
- Hernandez-Perez, S., Cabrera, E., Amoedo, H., Rodríguez-Acebes, S., Koundrioukoff, S., Debatisse, M., ... & Freire, R. (2016). USP37 deubiquitinates Cdt1 and contributes to regulate DNA replication. *Molecular oncology*, 10(8), 1196-1206.
- Hurley, L. H., Wheelhouse, R. T., Sun, D., Kerwin, S. M., Salazar, M., Fedoroff, O. Y., ... & Von Hoff, D. D. (2000). G-quadruplexes as targets for drug design. *Pharmacology & therapeutics*, 85(3), 141-158.
- İçsel, C. (2013). 2-(Hidroksimetil)Piridin ve 2-(2-Hidroksietil)Piridin ligantları içeren palladyum(II) ve platin(II) komplekslerinin sentezi, kristal yapıları, spektroskopik, termik ve DNA bağlanma özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı, Bursa.
- Jung, Y., & Lippard, S. J. (2007). Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chemical reviews*, 107(5), 1387-1407.

- Kaim, W., Schwederski, B. ve Klein, A. (2013). *Biyoinorganik Kimya - Yaşam Kimyasında İnorganik Elementler: Giriş ve Rehber*. John Wiley ve Oğulları.
- Kalkan, A. (2003). Yeni Bir Ftalosiyanın-porfirazin Hibrit Bileşiğinin Sentezi (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Kim, N. W., Piatyszek, M. A., Prowse, K. R., Harley, C. B., West, M. D., Ho, P. D. L., ... & Shay, J. W. (1994). Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, 266(5193), 2011-2015.
- Klug, W. S., Cummings, M. R., Spencer, C. A., & Öner, C. (2009). *Genetik kavramlar*. Palme Yayıncılık.
- Kobayashi, N., & Lever, A. B. P. (1987). Cation or solvent-induced supermolecular phthalocyanine formation: crown ether substituted phthalocyanines. *Journal of the American Chemical Society*, 109(24), 7433-7441.
- Krugh, T. R. (1994). Drug-DNA interactions. *Current Opinion in Structural Biology*, 4(3), 351-364.
- Kuetche, V. K. (2016). Ab initio bubble-driven denaturation of double-stranded DNA: Self-mechanical theory. *Journal of theoretical biology*, 401, 15-29.
- Leczowska, A., Gonzalez-Garcia, J., Perez-Arnaiz, C., Garcia, B., White, A. J., & Vilar, R. (2018). Binding studies of metal–salphen and metal–bipyridine complexes towards G-Quadruplex DNA. *Chemistry–A European Journal*, 24(45), 11785-11794.
- LePecq, J. B., & Paoletti, C. (1967). A fluorescent complex between ethidium bromide and nucleic acids: physical—chemical characterization. *Journal of molecular biology*, 27(1), 87-106.
- Lerman, L. S. (1961). Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of molecular biology*, 3(1), 18-IN14.
- Levene, P. A. (1919). The structure of yeast nucleic acid. *Studies from the Rockefeller Institute for Medical Research*, 30, 221.
- Lim, C. K., Shin, J., Lee, Y. D., Kim, J., Oh, K. S., Yuk, S. H., ... & Kim, S. (2012). Phthalocyanine-aggregated polymeric nanoparticles as tumor-homing near-infrared absorbers for photothermal therapy of cancer. *Theranostics*, 2(9), 871.
- Linstead, R. P. (1934). 212. Phthalocyanines. Part I. A new type of synthetic colouring matters. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1016-1017.

- Liu, W., Zhong, Y. F., Liu, L. Y., Shen, C. T., Zeng, W., Wang, F., ... & Mao, Z. W. (2018). Solution structures of multiple G-quadruplex complexes induced by a platinum (II)-based tripod reveal dynamic binding. *Nature communications*, 9(1), 3496.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Amon, A. and Martin, K. C. (2016). *Molecular Cell Biology*. (Seventh Edition). *United States of America: W. H. Freeman Company*, 6-22.
- Long, E. C., & Barton, J. K. (1990). On demonstrating DNA intercalation. *Accounts of Chemical Research*, 23(9), 271-273.
- Lown, J. (1988). Lexitropsins: rational design of DNA sequence reading agents as novel anti-cancer agents and potential cellular probes. *Anti-cancer drug design*, 3(1), 25-40.
- Lu, M., Guo, Q., & Kallenbach, N. R. (1993). Thermodynamics of G-tetraplex formation by telomeric DNAs. *Biochemistry*, 32(2), 598-601.
- Majhi, P. R., Qi, J., Tang, C. F., & Shafer, R. H. (2008). Heat capacity changes associated with guanine quadruplex formation: an isothermal titration calorimetry study. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 89(4), 302-309.
- Manning, G. S. (1978). The molecular theory of polyelectrolyte solutions with applications to the electrostatic properties of polynucleotides. *Quarterly reviews of biophysics*, 11(2), 179-246.
- Martinez, R., & Chacon-Garcia, L. (2005). The search of DNA-intercalators as antitumoral drugs: what it worked and what did not work. *Current medicinal chemistry*, 12(2), 127-151.
- Mathews, C.K., Van Holde, K.E. 1996. *Biochemistry*, Redwood City, California, The Benjamin /Cummings Publishing Company.
- Matsuzawa, Y., Seki, T., & Ichimura, K. (1997). Spontaneous aggregation of octaalkoxyphthalocyanine metal complexes at an air–water interface. *Thin Solid Films*, 301(1-2), 162-168.
- Mehta, J., Van Dorst, B., Devriese, L., Rouah-Martin, E., Bekaert, K., Somers, K., ... & Robbens, J. (2011). *Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies*.

- Meyer-Almes, F. J., & Porschke, D. (1993). Mechanism of intercalation into the DNA double helix by ethidium. *Biochemistry*, 32(16), 4246-4253.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W. (2003). *Illustrated Biochemistry*.
- Nandakumar, J., & Cech, T. R. (2013). Finding the end: recruitment of telomerase to telomeres. *Nature reviews Molecular cell biology*, 14(2), 69.
- Ocak, I., & Kara, H. E. S. (2018). Phosphorescent detection of DNA-drug interaction based on emission quenching of ZnS quantum dots via photoinduced electron transfer. *Journal of Luminescence*, 197, 112-118.
- Oganesian, L., & Bryan, T. M. (2007). Physiological relevance of telomeric G-quadruplex formation: a potential drug target. *Bioessays*, 29(2), 155-165.
- Özdemir, P. S., & Özgüney, A. T. (2017). Ftalosiyenin esaslı boyarmaddelerin kimyasal yapıları ve fonksiyonel tekstillerin üretilmesinde kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 23(7), 809-817.
- Öztürk, Ece. (2019). İzotiyosiyanat Grubu İçeren Asimetrik Ftalosiyenin Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Pabo, C. O., & Sauer, R. T. (1984). Protein-DNA recognition. *Annual review of biochemistry*, 53(1), 293-321.
- 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.
- Pattanayak, R., Barua, A., Das, A., Chatterjee, T., Pathak, A., Choudhury, P., ... & Bhattacharyya, M. (2018). Porphyrins to restrict progression of pancreatic cancer by stabilizing KRAS G-quadruplex: In silico, in vitro and in vivo validation of anticancer strategy. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 125, 39-53.
- Pelengaris, S., Khan, M., & Evan, G. (2002). c-MYC: more than just a matter of life and death. *Nature Reviews Cancer*, 2(10), 764.
- Pindur, U., Haber, M., & Sattler, K. (1993). Antitumor active drugs as intercalators of deoxyribonucleic acid: Molecular models of intercalation complexes. *Journal of chemical education*, 70(4), 263.
- Portugal, F. H., & Cohen, J. S. (1977). *A Century of DNA: A History of the Discovery of the Structure and Function of the Genetic Substance*.

- Pratviel, G., Bernadou, J., & Meunier, B. (1998). DNA and RNA cleavage by metal complexes. In *Advances in Inorganic Chemistry* (Vol. 45, pp. 251-312). Academic Press.
- Pyle, A. M., Rehmann, J. P., Meshoyrer, R., Kumar, C. V., Turro, N. J., & Barton, J. K. (1989). Mixed-ligand complexes of ruthenium (II): factors governing binding to DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 111(8), 3051-3058.
- Ramos, C. I., Almeida, S. P., Lourenço, L. M., Pereira, P. M., Fernandes, R., Faustino, M. A. F., ... & Neves, M. G. P. M. S. (2019). Multicharged Phthalocyanines as Selective Ligands for G-Quadruplex DNA Structures. *Molecules*, 24(4), 733.
- Rauf, S., Gooding, J. J., Akhtar, K., Ghauri, M. A., Rahman, M., Anwar, M. A., & Khalid, A. M. (2005). Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 37(2), 205-217.
- Rehman, S. U., Sarwar, T., Husain, M. A., Ishqi, H. M., & Tabish, M. (2015). Studying non-covalent drug–DNA interactions. *Archives of biochemistry and biophysics*, 576, 49-60.
- Ren, L., Zhang, A., Huang, J., Wang, P., Weng, X., Zhang, L., ... & Zhou, X. (2007). Quaternary ammonium zinc phthalocyanine: Inhibiting telomerase by stabilizing g quadruplexes and inducing g-quadruplex structure transition and formation. *ChemBioChem*, 8(7), 775-780.
- 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.
- Schrank, Z., Khan, N., Osude, C., Singh, S., Miller, R., Merrick, C., ... & Puri, N. (2018). Oligonucleotides targeting telomeres and telomerase in cancer. *Molecules*, 23(9), 2267.
- Shahabadi, N., Kashanian, S., Khosravi, M., & Mahdavi, M. (2010). Multispectroscopic DNA interaction studies of a water-soluble nickel (II) complex containing different dinitrogen aromatic ligands. *Transition Metal Chemistry*, 35(6), 699-705.
- Shamsuddin, R., Sahudin, M. A., Hassan, N. H., & Karim, N. H. A. (2017). Interaction Of N, N'-Bis [4-[1-(2-Hydroxyethoxy)] Salicylidene]-Phenyldiamine-Nickel (II) And Copper (II) Complexes With G-Quadruplex Dna. *Malaysian Journal Of Analytical Sciences*, 21(3), 544-551.

- Sherman, S. E., & Lippard, S. J. (1987). Structural aspects of platinum anticancer drug interactions with DNA. *Chemical Reviews*, 87(5), 1153-1181.
- Sigman, D. S., Graham, D. R., D'aurora, V., & Stern, A. M. (1979). Oxygen-dependent cleavage of DNA by the 1, 10-phenanthroline. cuprous complex. Inhibition of Escherichia coli DNA polymerase I. *Journal of Biological Chemistry*, 254(24), 12269-12272.
- Sirajuddin, M., Ali, S., & Badshah, A. (2013). Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, 1-19.
- Sokolov, V. V., Stranadko, E. F., Zharkova, N. N., Iakubovskaia, R. I., Filonenko, E. V., & Astrakhankina, T. A. (1995). The photodynamic therapy of malignant tumors in basic sites with the preparations photohem and photosens (the results of 3 years of observations). *Voprosy onkologii*, 41(2), 134-138.
- Song, Y., Zhong, D., Luo, J., Tan, H., Chen, S., Li, P., ... & Wang, T. (2014). Binding characteristics and interactive region of 2-phenylpyrazolo [1, 5-c] quinazoline with DNA. *Luminescence*, 29(8), 1141-1147.
- Strekowski, L., & Wilson, B. (2007). Noncovalent interactions with DNA: an overview. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 623(1-2), 3-13.
- Stuzhin, P. A., & Ol'ga, G. K. (1996). Azaporphyrins: structure of the reaction centre and reactions of complex formation. *Coordination chemistry reviews*, 147, 41-86.
- Şen, B. N. (2013). Terminal Alkinil Süstitüe Simetrik ve Asimetrik Ftalosiyeninler (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Şen, Zafer. (2019). Grafen-Ftalosiyenin Kompozit Yapılarının Gaz Sensör Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Takahara, P.M., Frederick, C.A., Lippard, S.J. 1996a. Crystal structure of the anticancer drug cisplatin bound to duplex DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 118: 12309–12321.
- Takahara, P.M., Rosenzweig, A.C., Frederick, C.A. Lippard, S.J. 1996b. Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin. *Nature (Lond)*, 377: 649–652.

- Tekin T (2014). Hidrazon Oksimi İçeren Farklı Metal Komplekslerinin Sentezlenmesi, Karakterizasyonu ve DNA Etkileşimlerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Thurston, D. E. (2006). *Chemistry and pharmacology of anticancer drugs*. CRC press.
- Wang, L., Wu, Y., Chen, T., & Wei, C. (2013). The interactions of phenanthroline compounds with DNAs: Preferential binding to telomeric quadruplex over duplex. *International journal of biological macromolecules*, 52, 1-8.
- Waring, M. J. (1965). Complex formation between ethidium bromide and nucleic acids. *Journal of molecular biology*, 13(1), 269-282.
- Watson, J. D., & Crick, F. H. (1953). Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 171(4356), 737-738.
- Wei, D., Husby, J., & Neidle, S. (2014). Flexibility and structural conservation in a c-KIT G-quadruplex. *Nucleic acids research*, 43(1), 629-644.
- Wilking, M., & Hennecke, U. (2013). The influence of G-quadruplex structure on DNA-based asymmetric catalysis using the G-quadruplex-bound cationic porphyrin TMPyP4·Cu. *Organic & biomolecular chemistry*, 11(40), 6940-6945.
- Wing, R., Drew, H., Takano, T., Broka, C., Tanaka, S., Itakura, K., & Dickerson, R. E. (1980). Crystal structure analysis of a complete turn of B-DNA. *Nature*, 287(5784), 755.
- Yakovchuk, P., Protozanova, E., & Frank-Kamenetskii, M. D. (2006). Base-stacking and base-pairing contributions into thermal stability of the DNA double helix. *Nucleic acids research*, 34(2), 564-574.
- Yaku, H., Fujimoto, T., Murashima, T., Miyoshi, D., & Sugimoto, N. (2012). Phthalocyanines: a new class of G-quadruplex-ligands with many potential applications. *Chemical Communications*, 48(50), 6203-6216.
- Yaku, H., Murashima, T., Miyoshi, D., & Sugimoto, N. (2010). Anionic phthalocyanines targeting G-quadruplexes and inhibiting telomerase activity in the presence of excessive DNA duplexes. *Chemical Communications*, 46(31), 5740-5742.
- Yaku, H., Murashima, T., Miyoshi, D., & Sugimoto, N. (2012). Specific binding of anionic porphyrin and phthalocyanine to the G-quadruplex with a variety of in vitro and in vivo applications. *Molecules*, 17(9), 10586-10613.

- Yazıcı, A., & Yilmazer, E. (2013). Geranioksi Sübstitüentli Mononükleer Metalli Ftalosiyaninlerin Sentezi ve Karakterizasyonu. *Adıyaman Üniversitesi Eğitim Bilimleri Dergisi*, 3(2), 71-78.
- Yıldırım A, Bardakçı F, Karataş M, Tanyolaç B (2007). Moleküler Biyoloji. İkinci baskı. Nobel Yayın Dağıtım, No.1170, Ankara, 613.
- Yıldız U (2012). Bazı Metal Komplekslerinin DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.
- Zhang, J., Zhang, F., Li, H., Liu, C., Xia, J., Ma, L., ... & Wang, S. (2012). Recent progress and future potential for metal complexes as anticancer drugs targeting G-quadruplex DNA. *Current medicinal chemistry*, 19(18), 2957-2975.
- Zhang, S., Wu, Q., Zhang, H., Wang, Q., Wang, X., Mei, W., ... & Zheng, W. (2017). Microwave-assisted synthesis of ruthenium (II) complexes with alkynes as potential inhibitor by selectively recognizing c-myc G-quadruplex DNA. *Journal of inorganic biochemistry*, 176, 113-122.
- Ziminov, A. V., Ramsh, S. M., Terukov, E. I., Trapeznikova, I. N., Shamanin, V. V., & Yurre, T. A. (2006). Correlation dependences in infrared spectra of metal phthalocyanines. *Semiconductors*, 40(10), 1131.
- Zorlu, M. B. (2013). Farklı Sübstitüe Ftalonitril Ve Ftalosiyanin Türevlerinin Sentezi (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyad :Gamze ŞAHİN
Adres : SİVAS-Merkez
Telefon No: 0541 302 07 41
E-mail :saahin.gamze@gmail.com
Doğum Tarihi :20/02/1991
Sürücü Belgesi : B (2010)



EĞİTİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya 2017 - 2020
Lisans Giresun Üniversitesi, Eğitim Fakültesi – Pedagojik Formasyon 2015-2016
Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji 2009 - 2014
Lise Fatih Lisesi 2005 - 2009

İŞ DENEYİMİ

- **BioGen Medikal Cihazlar Tic. A.Ş**
03.2016/05.2016

Stajyer

- **İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Kardiyoloji Enstitüsü Transfüzyon Ve Kan Merkezi(Biyolog)**
06.2011/08.2011

TEZ & PROJELER

- Yüksek Lisans Tezi:** Suda Çözünür Bakır ve Okso-Titanyum (IV) Ftalosiyanın Bileşiklerinin G-quadrupleks DNA Etkileşimlerinin CD Spektroskopisi ve İzotermal Titrasyon Kalorimetrisi ile Araştırılması
- Kulak Yolu Küreti Dezenfeksiyonunda Yeni Yöntem Geliştirme: Fotodinamik Dezenfeksiyon (Devam Ediyor)
 - Suda Çözünür Bakır ve Okso-Titanyum (IV) Ftalosiyanın Bileşiklerinin G-quadrupleks DNA Etkileşimlerinin CD Spektroskopisi ve İzotermal Titrasyon Kalorimetrisi ile Araştırılması (Tamamlandı)
 - İndiyum Merkez Atomlu Ftalosiyanın Fotoduyarlaştırıcı 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

- Tel-21 G-quadrupleksDna-Bakır Ftalosiyanın Etkileşimi
- Çinko Ftalosiyanınin Moleküllerinin Antimikrobiyal Fotodinamik Etkisi
- 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

BURSLAR

- 'Nükleolin hedefli G-quadruplex taşıyıcı sisteme dayalı akıllı kemoterapötik ajan geliştirilmesi ve fotodinamikterapide uygulamaları' Tübitak-1001 Projesi (Bursiyer)

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
- BilgeAdam Akademi Mc.Office Sertifikası 2010

BİLGİSAYAR BİLGİSİ

- Word, Excel, Powerpoint, Outlook

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce Orta

REFERANSLAR

Esra Bağda	Cumhuriyet Üniversitesi	Doç.Dr	0530 501 16 64
Efkan Bağda	Cumhuriyet Üniversitesi	Doç.Dr.	0530 501 16 63
Uğur Tutar	Cumhuriyet Üniversitesi	Doç.Dr	0506 303 03 43

