

**T. C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI KİMYASAL MADDELERİN DNA  
İLE ETKİLEŞMESİNİN BİYOSENSÖRLER  
İLE ALGILANMASI**

**Analitik Kimya (Eczacılık) Programı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Eczacı  
Görkem YALÇIN**

**Danışman  
Doç. Dr. Özlem SÖĞÜT**

**İkinci Danışman  
Prof. Dr. M. E. Şengün ÖZSÖZ**

**İZMİR  
2007**



**DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ**

**(Adı Soyadı)**

**(İmza)**

**Başkan** : Doç. Dr. Özlem SÖĞÜT .....

**(Danışman)**

**Üye** : Prof. Dr. M. E. Şengün ÖZSÖZ .....

**(İkinci Danışman)**

**Üye** : Prof. Dr. Aysun PABUÇÇUOĞLU .....

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: .....

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocalarım sayın Doç. Dr. Özlem SÖĞÜT ve sayın Prof. Dr. M. E. Şengün ÖZSÖZ' e, ayrıca Anabilim Dalımızdaki diğer tüm öğretim üyelerine teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Fakültemizdeki tüm çalışma arkadaşlarıma, her zaman desteklerini gördüğüm aileme teşekkür ederim.

İZMİR – 2007

Ecz. Görkem Yalçın

# İÇİNDEKİLER

## BÖLÜM I

<b>GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	4
1. Elektrokimya .....	4
1.1. Elektrokimyasal Bir Olayda Kütle Aktarım Yolları .....	5
1.2. Voltametrik Elektrokimyasal Analizde Kullanılan Elektrotlar.....	6
1.2.1. Referans Elektrotlar.....	6
1.2.1.1. Referans Elektrot Çeşitleri .....	7
1.2.2. Çalışma Elektrotları.....	8
1.2.2.1. Çalışma Elektrotları Çeşitleri .....	9
1.2.3. Yardımcı Elektrot.....	13
1.3. Voltametri .....	13
1.3.1. Uyarma Sinyalinin Çeşidine Göre Voltametrik Yöntemler.....	14
1.3.1.1. Dönüşümlü Voltametri .....	14
1.3.1.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi .....	17
1.3.1.3. Doğrusal Taramalı Voltametri.....	18
1.3.1.4. Kare Dalga Voltametrisi.....	18
1.3.2. Voltamogramlar.....	18
1.3.2.1. Faraday Yasası ve Faradaik Akım.....	19
1.3.2.2. Kapasitif Akım.....	20

1.3.3. Voltametrik Akımlar .....	21
1.3.4. Nernst Eşitliği .....	22
2. Biyosensör .....	23
2.1. İdeal Bir Biyosensörün Sahip Olması Gereken Özellikler.....	23
2.2. Nükleik Asitler.....	26
2.2.1. Peptik Nükleik Asitler.....	28
2.2.2. DNA ile İlgili Bazı Terimlerin Tanımlamaları .....	29
2.2.2.1. DNA Baz Dizilerinin Yazılımı ve Bazı Terimler ile İlgili Temel Bilgiler .....	29
2.3. DNA Biyosensörleri .....	29
2.3.1. DNA – İlaç Etkileşmesine Dayalı DNA Biyosensörleri .....	30
2.3.2. DNA veya Prob Dizilerinin Elektrot Yüzeyine İmmobilize Edilme Yöntemleri .....	32

## BÖLÜM II

<b>GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>33</b>
2.1. Kullanılan Cihazlar.....	33
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddelere .....	33
2.2.1. Çalışmalarda Kullanılan Şalkonlar Hakkında Genel Bilgi.....	34
2.2.2. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı.....	36
2.2.2.1. Tampon Çözeltilerinin Hazırlanışı .....	36
2.2.2.2. Oligonükleotit Çözeltilerinin Hazırlanışı .....	37

2.2.2.3. Şalkon Stok Çözeltilerinin Hazırlanışı.....	37
2.3. Kullanılan Yöntem .....	37
2.3.1. Kullanılan Elektrotların Hazırlanışı .....	38
2.3.1.1. Karbon Pastası Elektrodunun (CPE) Hazırlanışı.....	38
2.3.1.2. Kalem Grafit Elektrot (PGE) Hazırlanışı .....	38
2.3.2. Şalkon Türevlerinin Dönüşümlü Voltametri Tekniği Kullanılarak Yükseltgenme/İndirgenme Sinyalinin Saptanması .....	38
2.3.3. Çözelti Ortamındaki Farklı Konsantrasyonlardaki dsDNA' ya Ait Guanin Yükseltgenme Sinyalinin Tayini.....	39
2.3.4. MC. ile dsDNA etkileşmesinin Diferansiyel Puls Voltametri Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi .....	39
2.3.4.1. pH Değişiminin MC. Sinyalindeki Değişikliğe Etkisi .....	40
2.3.4.2. PGE Yüzeyine İmmobilize Edilen dsDNA ile MC. Etkileşmesinin Guanin Yükseltgenme Sinyalindeki Değişim Üzerinden İncelenmesi.....	40
2.3.4.3. Elektroda Tutturulmuş DNA' nın MC. ile Zamana Göre Etkileşmesinin İncelenmesi.....	41

2.3.4.4 MC. ile dsDNA' nın Çözelti Ortamında Etkileşmesinin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerinden İncelenmesi .....	42
2.3.5. DMC. ile dsDNA Etkileşmesinin Diferansiyel Puls Voltametri Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi .....	43
2.3.5.1. PGE Yüzeyine İmmobilize Edilen dsDNA ile DMC. Etkileşmesinin Guanin Yükseltgenme Sinyalindeki Değişim Üzerinden İncelenmesi.....	43
2.3.5.2. Elektroda Tutturulmuş DNA' nın DMC. ile Zamana Göre Etkileşmesinin İncelenmesi .....	44
2.3.5.3. DMC. ile dsDNA' nın Çözelti Ortamında Etkileşmesinin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerinden İncelenmesi .....	45
2.3.6. BC. ile dsDNA Etkileşmesinin Diferansiyel Puls Voltametri Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi .....	46
2.3.6.1. PGE Yüzeyine İmmobilize Edilen dsDNA ile BC. Etkileşmesinin Guanin Yükseltgenme Sinyalindeki Değişim Üzerinden İncelenmesi.....	46
2.3.6.2 Elektroda Tutturulmuş DNA' nın BC. ile Zamana Göre Etkileşmesinin İncelenmesi .....	47



2.3.6.3. BC. ile dsDNA' nın Çözelti Ortamında Etkileşmesinin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerinden İncelenmesi .....	48
--	----

### **BÖLÜM III**

<b>BULGULAR.....</b>	<b>50</b>
----------------------	-----------

3.1. Çalışılan Şalkon Türevlerine Ait Yükseltgenme/İndirgenme Sinyallerinin Dönüşümlü Voltametri Tekniği Kullanılarak Saptanmasına Ait Bulgular.....	50
3.2. Çözelti Ortamında Farklı Konsantrasyonlardaki dsDNA' ya Ait Guanin Yükseltgenme Sinyaline Ait Bulgular .....	51
3.3. MC. ile dsDNA Etkileşiminin Diferansiyel Puls Voltametri Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Ait Bulgular.....	53
3.3.1. pH Değişiminin MC.' nin Yükseltgenme Sinyalindeki Değişikliğe Etkisinin İncelenmesine Ait Bulgular .....	53
3.3.2. PGE Yüzeyine İmmobilize Edilen dsDNA ile MC. Etkileşmesinin Guanin Yükseltgenme Sinyalindeki Değişim Üzerinden İncelenmesine Ait Bulgular .....	54
3.3.3. MC. Etkileşim Süresindeki Değişimin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....	55

3.3.4. MC. ile dsDNA' nın Çözelti Ortamında Etkileşiminin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerinden İncelenmesine Ait Bulgular .....	56
3.4. DMC. ile dsDNA Etkileşiminin Diferansiyel Puls Voltametri Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Ait Bulgular .....	57
3.4.1. PGE Yüzeyine İmmobilize Edilen dsDNA ile DMC. Etkileşiminin Guanin Yükseltgenme Sinyalindeki Değişim Üzerinden İncelenmesine Ait Bulgular .....	57
3.4.2. DMC. Etkileşim Süresindeki Değişimin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....	58
3.4.3. DMC. ile dsDNA' nın Çözelti Ortamında Etkileşiminin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerinden İncelenmesine Ait Bulgular .....	59
3.5. BC. ile dsDNA Etkileşiminin Diferansiyel Puls Voltametri Tekniği ile Elektrokimyasal Olarak İncelenmesine Ait Bulgular .....	61
3.5.1. PGE Yüzeyine İmmobilize Edilen dsDNA ile BC. Etkileşiminin Guanin Yükseltgenme Sinyalindeki Değişim Üzerinden İncelenmesine Ait Bulgular .....	61
3.5.2. BC. Etkileşim Süresindeki Değişimin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....	62
3.5.3. BC. ile dsDNA' nın Çözelti Ortamında Etkileşiminin Guanin Yükseltgenme Sinyali Üzerinden İncelenmesine Ait Bulgular .....	63

3.6. PGE Yüzeyine İmmobilize Edilen dsDNA ile Etkileşen Şalkon Türevlerine Ait Bağlanma Katsayılarının Hesaplanması .....	64
---	----

## **BÖLÜM IV**

<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>66</b>
-----------------------	-----------

4.1. dsDNA ile Şalkon Türevlerinin Etkileşimlerinin Genel Olarak İncelenmesi .....	66
--	----

## **BÖLÜM V**

<b>SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>70</b>
--------------------------------	-----------

<b>ÖZET .....</b>	<b>73</b>
-------------------	-----------

<b>SUMMARY .....</b>	<b>74</b>
----------------------	-----------

<b>YARARLANILAN KAYNAKLAR.....</b>	<b>75</b>
------------------------------------	-----------

<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>87</b>
----------------------	-----------

# BÖLÜM I

## GİRİŞ ve AMAÇ

Biyosensörler, biyolojik yanıtları elektriksel sinyallere çeviren analitik aletlerdir. Bir elektrokimyasal sensörün yapısına enzim, hücre, doku, antikor, nükleik asit gibi biyolojik maddelerin katılmasıyla biyosensörler elde edilir (79). Biri elektrokimyasal diğeri biyokimyasal iki çevirici sistemden oluşurlar. Biyokimyasal çevirici, analizi yapılacak maddeyle etkileşerek onu tanıırken, elektrokimyasal kısım bu etkileşimi okunabilir sayısal bir değere çevirir.

DNA' nın, analizi yapılacak maddeyle etkileşerek onu tanıyan biyolojik materyal olarak kullanıldığı biyosensörlere DNA biyosensörü denir. Son yıllarda DNA biyosensörlerine olan ilgi oldukça artmıştır (7, 8, 9, 12, 48, 49, 59, 67, 87).

DNA biyosensörleri, DNA hedefli bazı ilaçların ya da maddelerin DNA' ya olan etkilerinin aydınlatılmasında, bu maddelerin etkileşim mekanizmalarının belirlenmesinde ya da nokta mutasyonların tayininde kullanılabilir (21, 22, 38, 41, 45, 49, 51-53, 83, 84, 88, 89, 91). DNA' daki elektroaktif bazlara ait sinyallerdeki değişiklikler ya da analizi yapılacak maddeye ait elektrokimyasal sinyaldeki değişiklikler, analit ile DNA arasındaki etkileşimleri güvenilir bir şekilde ortaya koymaktadır (33-36, 43, 47, 54, 59, 62, 72, 74, 78, 85, 86, 90, 93).

Günümüzde tanıma yüzeyi olarak DNA' nın kullanıldığı biyosensörler, genetik ve bulaşıcı hastalıkların hızlı bir şekilde teşhis edilmesine olanak sağlamaktadır. Ayrıca DNA ile etkileşerek ona hasar veren maddelerin saptanmasını da mümkün kılmaktadır. Özellikle antikanser özellik taşıyan ilaç moleküllerinin DNA ile etkileşimlerinin hızlı ve güvenilir bir şekilde belirlenmesi, ilaç geliştirme çalışmaları için oldukça önem taşımaktadır (32, 39, 40, 42).

Çalışmamızda bazı şalkon türevlerinin DNA ile etkileşimleri elektrokimyasal olarak saptandı. Tek kullanımlık kalem grafit elektrot (PGE) çalışma elektrodu olarak kullanıldı. Elektrokimyasal tayin tekniklerinden diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği etkileşimlerin belirlenmesi için kullanıldı.

DNA – ilaç etkileşimlerinde, etkileşimler iki şekilde gerçekleştirilir. Bunlar; çözelti fazında etkileşim, elektrot yüzeyinde etkileşim (DNA modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde etkileşim, ilaç modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde etkileşim) olarak sınıflandırılabilir. Çalışmamızda, çözelti fazında ve DNA modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde etkileşimler gerçekleştirildi. DNA' ya ait elektroaktif baz guanin sinyalindeki değişikliklere göre etkileşimler hakkında yorumlar yapıldı. Ayrıca şalkon türevlerinin konsantrasyonu değiştirildiğinde guanin sinyalinin yanıtı, etkileşimlere ait süre çalışması ve tekrarlanabilirlik gibi parametreler incelendi. DNA modifiye edilmiş elektrot yüzeyindeki etkileşim için görünen bağlanma katsayısı (apparent binding constant) çalışılan her bir şalkon türevi için hesaplandı. Bu şekilde her bir şalkon türevinin DNA ile etkileşimleri hakkında, birbirlerine göre kıyaslanabilir yorumlar yapıldı.

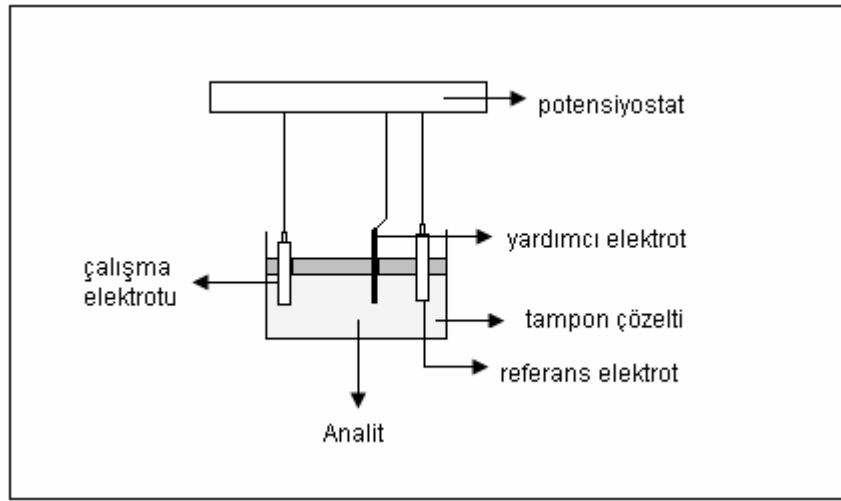
Bitkilerde flavonoidlerin sentezlenmesi için temel yapı olan şalkonların pek çok türevi; kanser, malaria, leishmaniase, tüberküloz, kardiovasküler hastalıklara karşı ilaç geliştirme çalışmaları için son zamanlarda oldukça fazla sentezlenmektedir (17). Ayrıca şalkonların; sitotoksik (2, 14, 15, 18), antitümöral (2, 16, 68, 80, 94, 95), antioksidan (2), antimikrobiyal (25), antiviral (18), antifungal (57), antimalaryal (65), antienflammatuvar (28, 29, 30, 69) ve antinosiseptif (10) etkileri pek çok çalışmada bildirilmiştir. Literatürde, şalkon türevleri ile ilgili yapılmış pek çok çalışma olmasına rağmen(17), DNA biyosensörleri kullanılarak elektrokimyasal olarak yapılmış çalışma sayısı çok azdır. Bu nedenle pek çok hastalığa karşı etkisi saptanmış şalkon türevlerinin, DNA ile etkileşiminin çalışmamızda olduğu gibi hızlı ve ucuz bir şekilde ortaya konması bu hastalıklara karşı ilaç geliştirme çalışmalarına katkıda bulunacaktır. Ayrıca çalışmamızda kullanılan üç şalkon türevinin yapısal olarak birbirinden çok küçük farklarla ayrılması; bu küçük farkların, DNA' ya olan etkide bir farklılık yaratıp yaratmayacağı hakkında yorumlar yapılmasına olanak sağlayacaktır.

# GENEL BİLGİLER

## 1. ELEKTROKİMYA

Elektrokimya maddenin elektriksel davranışını ve elektrik enerjisi ile kimyasal tepkime arasındaki ilişkiyi inceleyen bilim dalıdır. Elektrokimyasal tepkimeler, elektronların bir yerden başka bir yere geçişiyle, elektrokimyasal hücre adı verilen bir hücrede gerçekleşir. Elektrokimyasal tepkimelerin gerçekleşebilmesi için;

- Analizi yapılacak maddeyi içeren bir çözelti (Elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla tampon çözelti kullanılır.),
  - Maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı genellikle üçlü olan elektrot sistemi,
  - Elektrotları birbirine bağlayan çevirim sistemi,
- gereklidir.



**Şekil 1-** Genel elektrokimyasal hücre şeması.

Maddenin elektrokimyasal özelliklerinin analiz işlemlerinde kullanılan yöntemlere elektroanalitik yöntemler denir. Bu yöntemler için kullanılan cihazlar diğer yöntemlerde kullanılanlara nazaran daha ucuzdur. Elektroanalitik yöntemler ile analizi yapılacak maddenin çok düşük tayin sınırlarına kadar ulaşılabilir. Ayrıca elde edilen elektrokimyasal ölçümler çoğu kez bir elementin ya da molekülün özel bir yükseltgenme basamağı için spesifiktir (1, 5).

Doğru akım, diferansiyel puls ve dönüşümlü voltametri gibi tekniklerle elektrokimyasal ölçüm yapılırken belirli potansiyel aralığında tarama yapılarak meydana gelen akım şiddeti ölçülür. Oluşan akım difüzyona bağlıdır ve ölçülen difüzyon akımıdır. Difüzyon, elektrot yüzeyinin yakınındaki difüzyon tabakasında oluşur. Oluşan akım ile difüzyon hızı doğru orantılıdır. Ölçüm esnasında elektrot yüzeyi ile analiz edilecek maddeyi içeren çözelti arasında heterojen tabakalar oluşur. Bunlar; türbülent akış tabakası, laminer akış bölgesi, nernst difüzyon tabakası olarak adlandırılır.

### 1.1. Elektrokimyasal bir olayda kütle aktarım yolları

Bir maddenin elektrokimyasal olarak analizi yapılırken tampon çözelti içinde bulunan analit elektrot yüzeyine üç farklı yolla aktarılır (19).

**Göç:** Elektriksel göç yüklü parçacıkların elektrik alan kuvvetiyle hareket ettirilmesidir.

**Konveksiyon:** Çözelti içinde bulunan indirgenebilen veya yükseltgenen maddelerin, çözümlerde oluşan fiziksel hareketlerle elektrot yüzeyine taşınmasıdır.



**Difüzyon:** Maddeler yüksek derişimli bölgelerden düşük derişimli bölgelere doğru hareket ederek derişim farkını ortadan kaldırmaya çalışırlar. Difüzyon derişim farkına dayanan kütle aktarım yollarından biridir.

Deneysel koşullara bağlı olarak bu yollardan biri veya birkaçı kütle aktarımına katkıda bulunur.

## **1.2. Voltametrik elektrokimyasal analizde kullanılan elektrotlar**

### **1.2.1. Referans elektrotlar ( 1, 19, 26, 63, 77)**

Elektrokimyasal analizler sırasında potansiyeli dış ortamdan etkilenmeyen ve analiz süresince sabit kalan elektrotlardır. Referans elektrotlar çalışılan maddelere karşı duyarsızdırlar.

İdeal bir referans elektrotta aranan özellikler aşağıdaki gibidir;

- Kolay hazırlanabilmeli
- Tersinirdir ve nernst eşitliğine uyar
- Potansiyeli zamanla sabit kalır
- Çok küçük akımlara maruz bırakıldıklarında eski orijinal potansiyellerine geri dönerler
- Referans elektrotlar, sıcaklık değişimlerine karşı ufak değişimler gösterir.

### 1.2.1.1. Referans elektrot çeşitleri

#### Standart hidrojen elektrot (SHE)

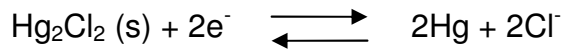
Elektrokimyada ilk olarak standart hidrojen elektrotlar kullanılmıştır. Hazırlanması güç olduğundan pratik çalışmalarda diğer referans elektrotlar öncelikle tercih edilir.

#### Kalomel referans elektrot

Doygun kalomel elektrotun hazırlanması oldukça kolay olduğundan çalışmalarda pratiklik sağladığı için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ancak kullanımı tüm sistemler için elverişli değildir. En büyük sakıncası büyük sıcaklık katsayılarına sahip olmalarıdır.

Doygun kalomel elektrotun elektrot potansiyeli 25 °C' de standart hidrojen elektrotuna göre +0,244 V ' dur.

Oluşan elektrot tepkimesi şu şekildedir;



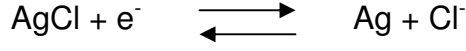
#### Gümüş – gümüş klorür referans elektrot

Gümüş – gümüş klorür referans elektrotları da doymuş kalomel elektrotlar gibi oldukça yaygın kullanılırlar. Gümüş – gümüş klorür elektrotu doymuş kalomel elektrota göre daha yüksek sıcaklıklarda kullanılabilirler. Ayrıca gümüş iyonları civa (I) iyonlarına göre daha az sayıda analitle reaksiyona girerler.

Bir gümüş – gümüş klorür referans elektrot gümüş bir telin, elektrolitik yoldan AgCl ile kaplanarak Cl<sup>-</sup> iyonu içeren bir çözeltiye daldırılmasıyla elde

edilir. Doygun KCl çözeltisi kullanıldığı zaman 25 °C' de standart hidrojen elektrota göre potansiyeli +0,222 V' dur.

Oluşan tepkime şu şekildedir;

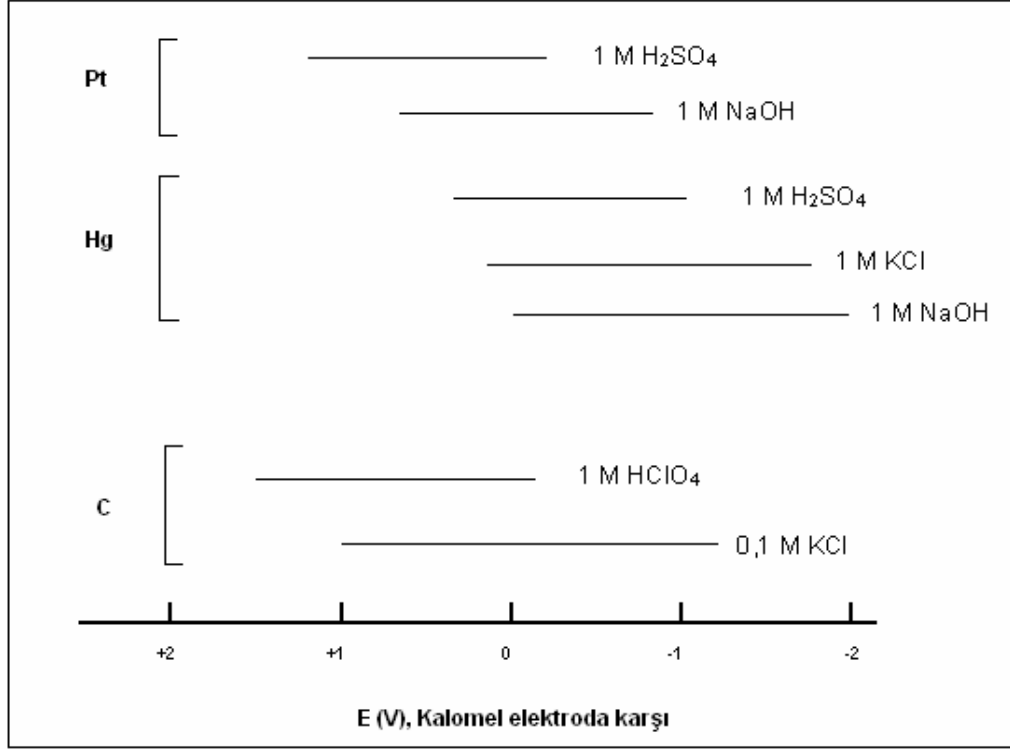


### **Civa – civa (I) sülfat referans elektrot**

Doygun kalomel elektrota benzer. Elektrot potansiyeli sülfat iyonlarının aktifliği ile bulunur.

### **1.2.2. Çalışma elektrotları**

Zamanla potansiyeli doğrusal olarak değişen, yüzeyinde analitin yükseltgendiği veya indirgendiği mikroelektrotlardır. Yapımında platin veya altın gibi iletken bir metal, pirolitik grafit ya da camı karbon; kalay oksit ya da indiyum oksit gibi yarı iletken veya bir civa filmi ile kaplanmış bir metal kullanılabilir. Çalışma elektrotları biyosensör tasarımına uygun bir şekilde geliştirilebilir.

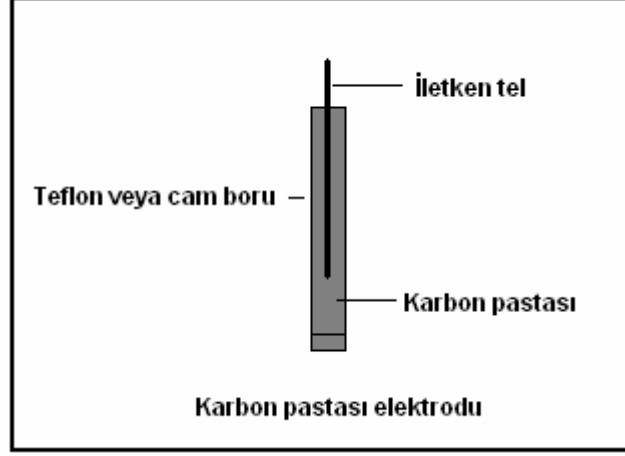


**Şekil 2-** Çeşitli çalışma elektrotlarına ait çalışma potansiyeli aralıkları

### 1.2.2.1. Çalışma elektrotları çeşitleri

#### **Karbon pastası elektrotu**

Karbon pastası elektrotu; %70 grafit, %30 bağlayıcı maddeden homojen olarak elde edilen karışımın, 2 – 4 mm. çapında camdan ya da teflondan yapılmış borulara sıkıştırılmasıyla hazırlanır. Elektriksel iletkenlik, bir ucundan iletken bir telin borunun 2/3' üne kadar uzatılmasıyla sağlanır.



**Şekil 3-** Karbon pastası elektrotunun şematik olarak gösterimi.

Karbon pastasının hazırlanmasında bağlayıcı madde olarak mineral yağ, parafin yağı, silikon yağı, bromonaftalen kullanılabilir. Bağlayıcı madde ve grafit karışımının elektrot etkinliği üzerine etkisi vardır. Örneğin bağlayıcı olarak kullanılan maddenin karışımdaki oranı arttıkça, elektrotun elektron transfer hızı azalmaktadır.

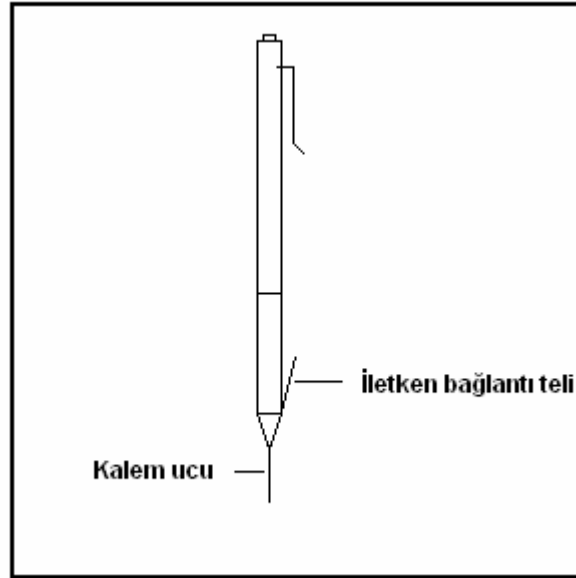
Karbon pastası elektrotu; hazırlanan karışıma, çalışmaya uygun maddelerin eklenmesiyle modifiye edilebilir. Ayrıca hazırlanmasının pratik ve ucuz olması, yüzey yenilenmesinin kolay olması gibi nedenlerden dolayı çalışmalarda sıklıkla tercih edilir.

### **Camsı karbon elektrot**

Mikrometre boyutlu grafit tozu partiküllerinin, sert ve yapıştırıcı madde ile, inert malzemeden yapılmış elektrot gövdesi içerisine sıkıştırılmasıyla elde edilir. Çalışmalarda genellikle tekrarlanabilir yüzeyler sağlanır. Kimyasal tepkimelere girmez. Geniş bir potansiyel aralığında çalışılmasına olanak sağlar. Karbon pastası elektrotlarına göre daha düzgün ve pürüzsüz elektrot yüzeyleri elde edilir. Fiziksel dayanıklılığı daha fazladır.

### **Kalem grafit elektrot**

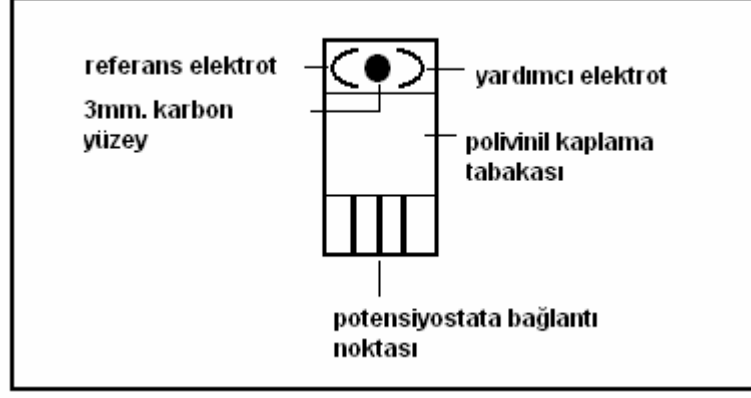
Tek kullanımlık ve hazırlanmasının zahmetsiz ve ucuz olmasından dolayı son yıllarda kalem grafit elektrotuna olan ilgi daha fazla artmaktadır (37, 84). Ayrıca bu elektrot ile alınan sonuçlar daha tekrarlanabilir. Analizi yapılacak maddelerin, uygun elektrokimyasal teknikler kullanılarak daha düşük tayin sınırlarına ulaşılabilir.



**Şekil 4-** Kalem grafit elektrotun şematik olarak gösterimi

### **Perde baskılı karbon elektrotlar (44, 46)**

Gelişen DNA mikroçip teknolojisine uygunluğu açısından oldukça etkin olan perde baskılı karbon elektrotlar elektrokimyasal analizlerde son yıllarda oldukça tercih edilmektedirler.



**Şekil 5-** Perde baskılı karbon elektrotun şematik olarak gösterimi

### **Civa elektrot**

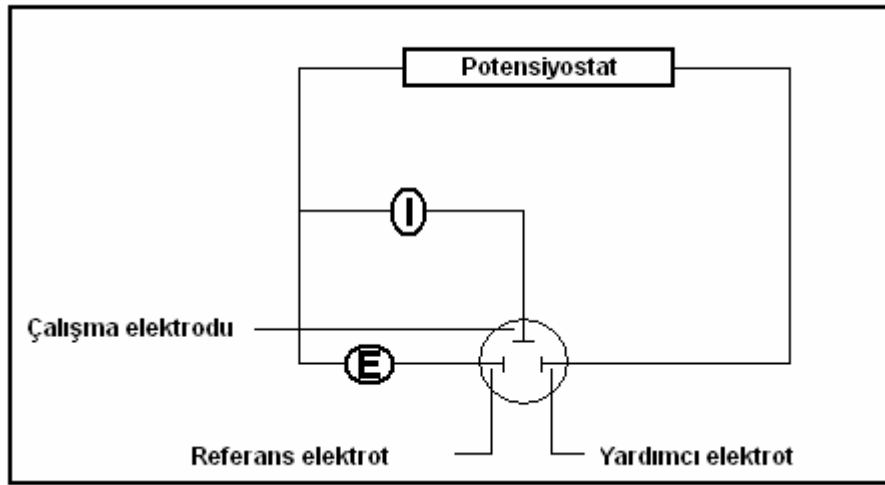
Civa elektrotlar elektrokimyasal analizde oldukça yaygın kullanılmaktadır. Büyük negatif potansiyel aralıklarında çalışılmasına imkân sağlar. Bunun yanında civa kolayca yükseltgenebilir. Bu özelliğinden dolayı anot olarak kullanılabilirdiği potansiyel aralığı oldukça düşüktür. En büyük üstünlüklerinden bir tanesi her seferinde yeni bir metal yüzeyi oluşturulmasıdır. Bunun yanında civa toksik bir metal olduğu için kullanımı zahmetlidir. Civa elektrotunun; disk elektrot, asılı civa damla elektrot, damlayan civa elektrot, durgun civa damla elektrot gibi çeşitleri vardır.

### **Diğer elektrotlar**

- Metal elektrotlar
- Ultramikro elektrotlar
- Nano elektrotlar
- Karbon fiber elektrotlar

### 1.2.3. Yardımcı elektrot

Karşit elektrot olarak da adlandırılır. Platin tel ya da civa havuzu yardımcı elektrot olarak kullanılabilir. Sinyal kaynağından alınan elektriğin çözelti içinden geçip çalışma elektrotuna aktarılmasını sağlar.



**Şekil 6-** Üçlü elektrot sisteminin potansiyostata yerleşiminin şematik olarak gösterimi

### 1.3. Voltametri (1)

Voltametri polarize olmuş çalışma elektrotuna uygulanan potansiyelin fonksiyonu olarak akımın ölçülmesine dayanan elektroanalitik bir yöntemdir. Uygulanan potansiyelin ölçülen akım değerine karşı çizilen grafiğe voltomogram denir. Voltametrik analizde uygulanacak potansiyel aralığı; kullanılan çalışma elektrodu, çözelti ve elektrolit türlerine bağlıdır.

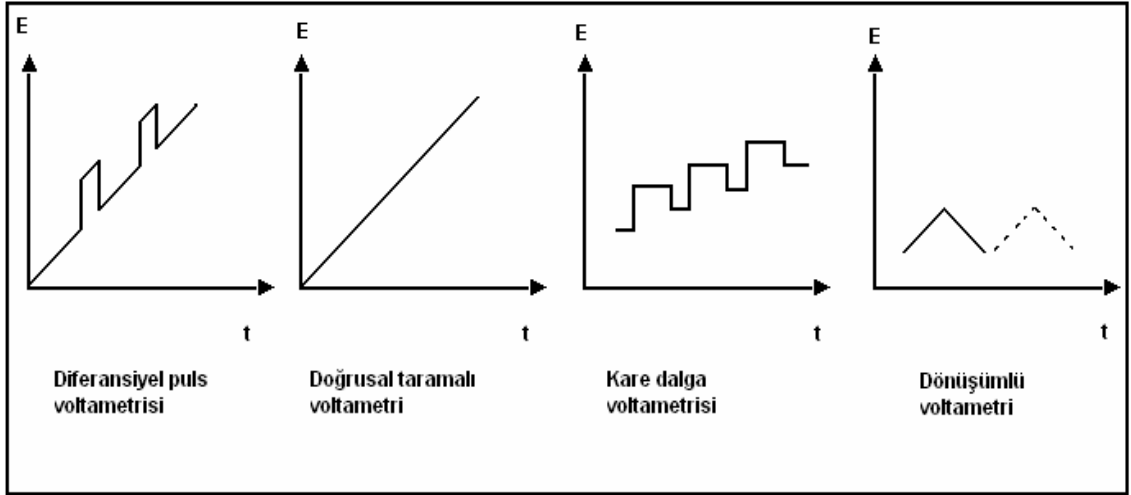
Çekoslavak kimyacı Jaroslav Heyrovsky 1920' lerin başında voltametrinin özel bir tipi olan polarografiyi bulmuştur. Bundan sonra voltametri, polarografi tekniğine dayandırılarak geliştirilmiştir. Polarografinin



diğer voltametri tiplerinden farkı çalışma elektrodu olarak damlayan civa elektrodunun kullanılmasıdır.

Voltametri; inorganik, fiziko ve biyokimyacılar tarafından temel bir takım analizler için kullanılmaktadır.

Voltametrde, çalışma elektrodu içeren elektrokimyasal hücreye değıştirilebilen potansiyelde uyarma sinyalleri uygulanır. Bu uyarma sinyallerinin çeşidine göre farklı akım cevapları oluşur. En çok kullanılan uyarma sinyalleri; doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalgadır.



**Şekil 7-** Voltametrde kullanılan uyarma sinyalleri

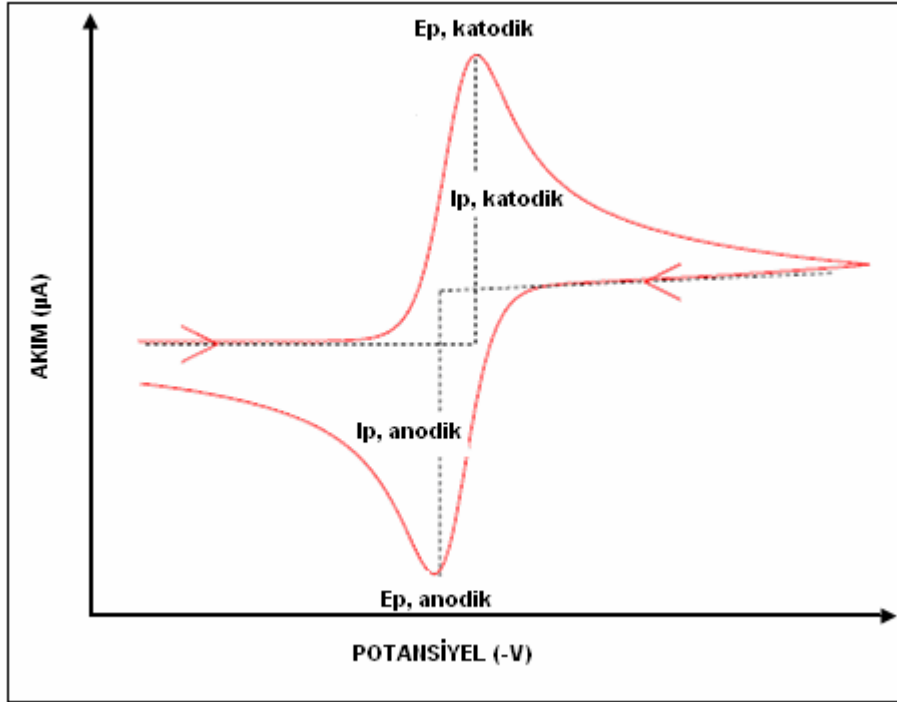
### 1.3.1. Uyarma sinyalinin çeşidine göre voltametrik yöntemler (1)

#### 1.3.1.1. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal bir analizde elektroaktif türün yükseltgenme – indirgenme tepkimelerinin mekanizmalarının aydınlatılmasında önemli bir rol oynar. Elektrokimyasal bir analize başlamadan önce sistemdeki

maddelerin elektriksel davranışlarının saptanmasında sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Fakat miktar tayinine dayalı analizlerde kullanım alanları sınırlıdır.

Bu yöntemde, belirlenen bir başlangıç potansiyelinden bitiş potansiyeline doğru sabit hızda bir gerilim uygulanır. Bu gerilim pozitif ya da negatif yönde uygulanabilir. Daha sonra uygulanan bu gerilim, aynı sabit hızla bitiş potansiyelinden başlangıç potansiyeline doğru tekrar uygulanır. Bu esnada elektroaktif türlerin yükseltgenmesi ve indirgenmesi voltamogramda incelenebilmektedir.



**Şekil 8-** Pik potansiyellerini ve akımlarını gösteren klasik bir dönüşümlü voltamogram

Belirli potansiyel aralıklarında yapılan taramanın hızı değiştirildiğinde oluşan pik maksimumlarında, şekil değişikliği ve kaymalar olabilir. Voltamogramların, pik şekillerinden analitin elektrokimyasal özellikleri hakkında önemli bilgiler edinilebilir.

Tersinir bir elektrokimyasal tepkimede analite ait pik akımı aşağıdaki eşitlikle bulunur.

$$I_p = 0,27 n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2}$$

$I_p$  = analite ait pik akımı

$n$  = Elektron sayısı

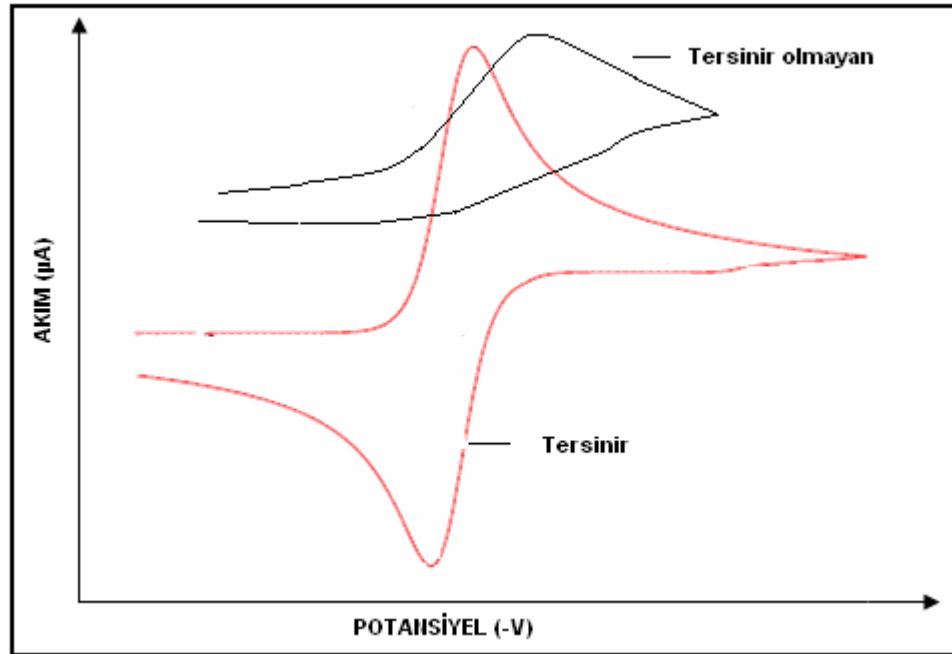
$A$  = Elektrot yüzey alanı ( $\text{cm}^2$ )

$D$  = Difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )

$C$  = Analit derişimi (mM)

$v$  = Tarama hızı (V/s)

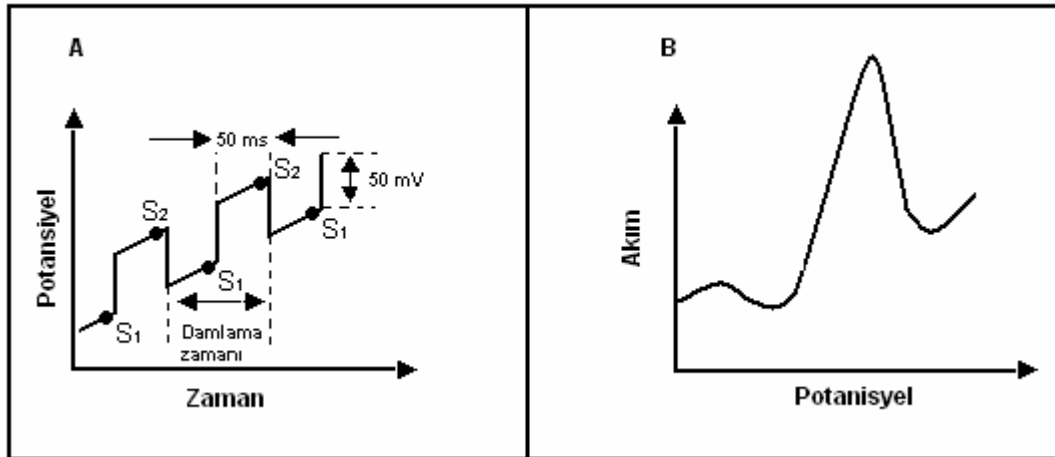
Dönüşümlü voltametri de analitin duyarlılık sınırı  $10^{-5}$  M' dir.



**Şekil 9-** Belirli bir potansiyel aralığında yapılan tarama sonucu oluşan, analite ait elektrokimyasal tepkimenin, tersinir olup olmadığını gösteren voltamogram

### 1.3.1.2. Diferansiyel puls voltametrisi

Diferansiyel puls voltametrisinde uyarma sinyalleri; doğrusal bir tarama esnasında periyodik pulsların oluşturulmasıyla gerçekleştirilir. Bu yöntemle, yarı – dalga potansiyelleri arasında yaklaşık 0,05 V fark olan maddelerin bile pik maksimumları elde edilebilmektedir. Duyarlılık sınırı  $10^{-7} - 10^{-8} M$  dır. Duyarlılığın yüksek olmasının nedeni; ölçümün, faradayik akımın en yüksek, kapasitif akımın en düşük olduğu anda yapılmasından kaynaklanır. Potansiyel aniden arttırıldığında, elektrot yüzeyi etrafındaki analit tabakasında, analit derişimini yeni potansiyel tarafından belirli bir seviyeye düşürecek akım artışı gerçekleşir. Ancak bu potansiyel için gerekli denge derişimine erişilince, akım difüzyonu karşılayacak seviyeye gelir. Buna difüzyon kontrollü akım denir.



**Şekil 10-** A) Analog cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali, B) Diferansiyel puls voltametrisine ait bir voltamogram

### **1.3.1.3. Doğrusal taramalı voltametri**

Bu yöntemde uyarma sinyali; doğru akım potansiyelinin zamanla doğrusal bir şekilde artırılmasıyla elde edilir. Uygulanan bu potansiyel sonrasında analizlenen maddeye özgü akım cevapları potansiyelin bir fonksiyonu olarak voltamogramlarda incelenir. Doğrusal taramalı voltametride, iyi pik maksimumları elde edebilmek için yarı – dalga potansiyel farkı en az 0,2 V civarında olmalıdır.

### **1.3.1.4 Kare dalga voltametrisi**

Kare dalga voltametrisi, hızlı ve duyarlı bir voltametri tekniğidir. 10 milisaniyeden daha az bir sürede voltamogramın tamamı elde edilir. Bu yöntemde ölçüm oldukça hızlı alınabildiğinden yapılan ölçümlerin sayısı arttırıldıkça sonuçların kesinliğini arttırmak mümkündür. Kare dalga voltametrisinde tayin sınırı  $10^{-7} - 10^{-8}$  M' dir.

### **1.3.2. Voltamogramlar**

Genelde voltametrik dalga adı verilen sigmoidal (S şeklinde) şeklindeki eğriler doğrusal taramalı voltamogramları oluşturur. Akım çok keskin bir şekilde arttıktan sonra sabit akım haline gelir. Buna sınır akımı denir. Sınır akımı; analizi yapılacak maddenin kütle aktarım yollarıyla elektrot yüzeyine taşınma hızıyla sınırlıdır. Oluşan sınır akımları genellikle analit konsantrasyonuyla doğru orantılıdır.

$$i_s = k \cdot C_A$$

$C_A$  = Analit konsantrasyonu

$k$  = sabit

$i_s$  = sınır akımı

Sınır akımlarının hızlı bir şekilde elde edilebilmesi için çözelti veya elektrot sürekli hareket halinde olmalı ya da damlayan (damlayan civa elektrodu gibi) bir elektrot kullanılmalıdır.

Çözelti veya elektrodun sürekli hareket halinde olduğu doğrusal taramalı voltametriye hidrodinamik voltametri denir. Damlayan civa elektrodunun kullanıldığı voltametriye polarografi denir.

Akımın sınır akımının yarısına eşit olduğu potansiyele yarı – dalga potansiyeli denir ve  $E_{1/2}$  ile gösterilir. Yarı – dalga potansiyeli, yarı – reaksiyonun standart potansiyeli ile yakından ilgilidir fakat genellikle ona eşit değildir.

### **1.3.2.1. Faraday yasası ve faradayik akım**

Bir elektrokimyasal analiz sırasında elektrokimyasal hücreye dışarıdan bir gerilim uygulanır. Bu gerilim sonucu elektrotlardan herhangi birinde elektroaktif maddeye ait yükseltgenme – indirgenme tepkimeleri oluşur. Bu tepkimeler sonucu oluşan ürün miktarı ya da elektrolizlenen madde, tüketilen elektrik miktarıyla orantılıdır.

$$Q = I \cdot t$$

Bir devreden t saniyede I amper akım geçirildiğinde kulon cinsinden harcanan elektrik miktarı Q' dur. Analizi yapılacak tek bir türe ait maddenin tümünün elektrolizlenebilmesi için gereken elektrik miktarı;

$$Q = n \cdot F \cdot C \cdot V$$

eşitliği ile bulunur. Burada n; molekül ya da iyon başına tüketilen elektron sayısı, V; hacim (L), C; analitin konsantasyonu (M), F; faraday sabitini (96485 kulon) gösterir. Bu eşitliğe faraday yasası denir. Analizi yapılacak maddenin kimyasal dönüşümü için harcanan ve yalnızca elektron alışverişine dayanan akıma faradayik akım denir. Faraday yasasının geçerli olabilmesi için devreden geçen akımın tek bir elektrokimyasal olay için tüketilmesi gerekir.

### **1.3.2.2. Kapasitif akım**

Analiz esnasında analit çözeltisine daldırılan elektrot negatif yükle yüklenirse, çözeltideki pozitif yükler elektroda doğru çekilir. Böylelikle ara yüzeyde bir potansiyel farkı oluşur. Dolayısıyla zıt işaretli yüklerin ara yüzeyde birikmesi ile bu bölgede elektriksel bir çift tabaka oluşur. Bu çift tabaka bir kapasitör gibi davranır ve bu kapasitörü yüklemek için ortamda elektroaktif bir madde olmasa dahi bir akım oluşur. Sistemden kaynaklanan

bu akıma kapasitif akım denir ve ne kadar küçük olursa analizi yapılacak maddenin duyarlılığı o kadar artar.

### 1.3.3 Voltametrik akımlar

Elektroliz işleminde; herhangi bir noktadaki akım, analiz edilecek maddenin, difüzyon tabakasının dış kısmından elektrot yüzeyine doğru aktarım hızına bağlıdır. Bu aktarımın difüzyonla sağlandığı durumlarda faradayik akım cottrell denkleminde ifade edilir.

$$i = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}}$$

i = t zamanındaki akım

n = elektrokimyasal tepkimeye giren elektron sayısı

D = difüzyon katsayısı (cm<sup>2</sup>/saniye)

F = faraday sabiti

A = elektrodun yüzey alanı (cm<sup>2</sup>)

C = analitin konsantrasyonu (mol/L)

t = zaman (saniye)

Cottrell denkleminde analiz esnasında gerçekleşen tepkimelerin difüzyon kontrollü olup olmadığı hakkında bilgi verir.



### 1.3.4. Nernst eşitliği

Elektrokimyasal hücrede analit içeren çözelti ve elektrot arasında, uygulanan gerilime göre bir akım oluşur. Bu akımın iletimi esnasında elektrotlarda yükseltgenme veya indirgenme tepkimeleri meydana gelir. Elektroaktif türün elektrot yüzeyindeki konsantrasyonunu bulmak için elektrot potansiyellerinin kullanılması Nernst denklemine göre açıklanabilir.



Bu tepkimede O ve R, redoks çiftinin yükseltgenmiş ve indirgenmiş şeklini ifade etmektedir. Bu tepkimeye göre Nernst denklemi yazılırsa;

$$E = E^0 + \frac{2,3 RT}{nF} \log \frac{[O]}{[R]}$$

$E^0$  = standart elektrot potansiyeli

R = gaz sabiti,  $8,314 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

T = sıcaklık, Kelvin

n = transfer edilen elektron sayısı

F = faraday sabiti

[O], [R] = tepkimedeki türlerin konsantrasyonu (mol/L)

## 2. BİYOSENSÖR

Biyosensörler, genel olarak analizi yapılacak madde ile seçimli olarak etkileşime giren bir biyokimyasal kısım ile bu etkileşim sonrası oluşacak sinyalleri algılayabilen elektriksel iki kısımdan oluşan biyoanalitik aletlerdir. Bir biyosensörün biyokimyasal kısmı; enzim, hücre, doku, antikor, nükleik asit gibi biyolojik maddelerden oluşur (11, 64).

### 2.1 İdeal bir biyosensörün sahip olması gereken özellikler(27, 70)

**Seçimlilik:** Yöntemin seçimliliği; analiti örnekte varlığı tespit edilmiş analit ile girişim yapabilen diğer bileşenlerden farklı olarak ölçme yeteneğidir. Seçimlilik ideal bir biyosensörün sahip olması gereken en önemli özelliklerden bir tanesidir. Seçimlilik yeterli değilse, bunu sağlamak için yöntem modifikasyonuna gidilebilmektedir.

**Kullanım ömrü:** Biyolojik çeviricinin aktivitesindeki azalma biyosensörlerin kullanım ömürlerini kısıtlayan en önemli faktördür. İdeal bir biyosensörün kullanım ömrü uzun olmalıdır.

**Kalibrasyon:** Biyosensör tasarımı için kullanılan cihazın kalibrasyon gereksiniminin mümkün olabilecek en az miktarda olması istenmektedir.

**Tekrarlanabilirlik:** Tekrarlanabilirlik, aynı kişi tarafından aynı şartlarda kısa zaman zarfında sabit bir örneğin belli bir yöntem kullanılarak yapılan bir

dizi işlemin, kesinliği olarak tanımlanır. Eczacılıkta, kalite kontrol analizi için bağıl standart sapma %1' den daha iyi olan kesinlik kolaylıkla başarılabilirken, biyolojik örnek için %15' den fazla ve diğer konsantrasyon seviyelerinde %10 bağıl standart sapma ile kesinlik sağlanabilir. İdeal bir biyosensör yüksek tekrarlanabilirliğe sahip olmalıdır. Fakat pratikte bu durum pek mümkün değildir. Tekrarlanabilirlik ne kadar iyi olursa, biyosensörün uygulamalarının o denli iyi olduğundan söz edilebilir. Dolayısıyla çalışmalarda tekrarlanabilirlik parametresi mutlaka incelenmelidir.

**Stabilite:** Stabilite, kullanılan biyolojik materyelin fiziksel dayanıklılığına bağlıdır. pH, ısı, nem, oksijen derişimi stabiliteyi etkileyen faktörlerdir. İdeal bir biyosensör stabil olmalıdır.

**Duyarlılık:** Duyarlılık, test işleminin konsantrasyonundaki küçük değişimleri kaydetme kapasitesidir. Kalibrasyon eğrisinin eğimidir. Biyosensördeki biyolojik materyelin duyarlılığının yüksek olması gerekir.

**Tayin sınırı:** Tayin sınırı, analitin analitik bir işlemlle tayin edilebilecek en düşük konsantrasyonudur. Tayin sınırı, elektrot yüzeyinin büyüklüğü, biyolojik materyelin tayin edilecek maddeye afinitesi, elektrot yüzeyine tutturulan madde miktarı gibi faktörlerden etkilenir. Tasarlanan biyosensörün yeterli düzeyde tayin sınırına sahip olması istenir.

**Ölçüm aralığı:** Biyosensörden elde edilen akım – konsantrasyon eğrilerinin doğrusal olması ve doğrusal olduğu konsantrasyon aralığının geniş olması istenir.

**Cevap zamanı:** Akım – zaman eğrilerinden cevap zamanı hakkında bilgiler edinilebilir. Elde edilen eğrilerde basamakların şekli yayvan ve genişse cevap zamanı yavaş, tersi söz konusu ise cevap zamanı hızlıdır. Biyosensörün cevabının hızlı olması gerekmektedir.

**Geriye dönme zamanı:** Amperometrik çalışmalarda, ilk örnekten ne kadar süre sonra ikinci örneğin ölçülebileceği geriye dönme zamanı olarak ifade edilebilir. İdeal bir biyosensör hızlı geriye dönme zamanı özelliği göstermelidir.

**Basitlik ve ucuzluk:** İdeal bir biyosensörün kullanımı kolay olmalıdır. Tasarımı karmaşık olmamalı, maliyeti mümkün olduğunca düşük olmalıdır.

**Küçültülebilirlik ve sterilize edilebilirlik:** Biyosensör bünyesinde bulunan materyellerin mümkün olduğu kadar küçültülebilmesi, biyosensörün tasarımı açısından önemlidir. Ayrıca bünyesindeki biyolojik materyelin fiziksel dayanıklılığı, sterilizasyon açısından önemlidir. İdeal bir biyosensör küçültülebilir ve sterilize edilebilir özelliklere sahip olmalıdır.

## 2.2. Nükleik asitler (13)

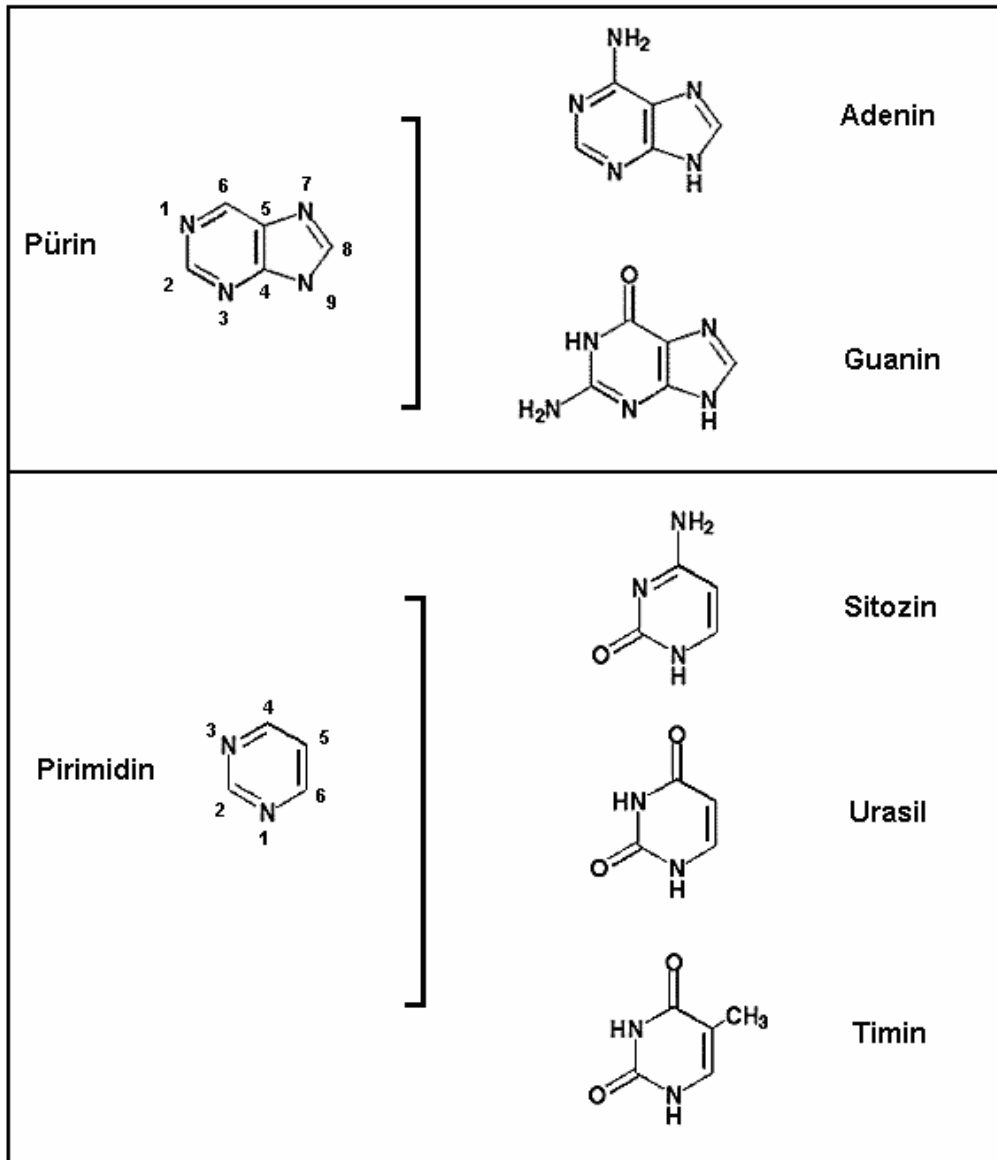
Nükleik asitler genetik bilgilerin kodlandığı ve bunların nesilden nesile aktarılmasını sağlayan makro moleküllerdir. İki tip nükleik asit vardır. Bunlar DNA (deoksiribonükleik asit) ve RNA (ribonükleik asit) olarak isimlendirilirler.

Nükleik asitler, nükleotitlerin bir araya gelmesiyle oluşur. Bir nükleotit yapısında şeker grubu, purin veya pirimidin bazı ve fosfat grubu içerir. Nükleotit, yapısındaki şeker molekülünün 3' konumundaki karbonunun, kendinden sonra gelen nükleotitin şeker molekülünün, 5' konumundaki karbonuna fosfat grubu sayesinde fosfodiester bağları ile bağlanır. Bu şekilde 3' → 5' yönünde birçok nükleotitin bir araya gelmesiyle nükleik asitler meydana gelir. Nükleik asit yapısındaki şekere göre deoksiribonükleik asit (DNA) ya da ribonükleik asit (RNA) adını alır.

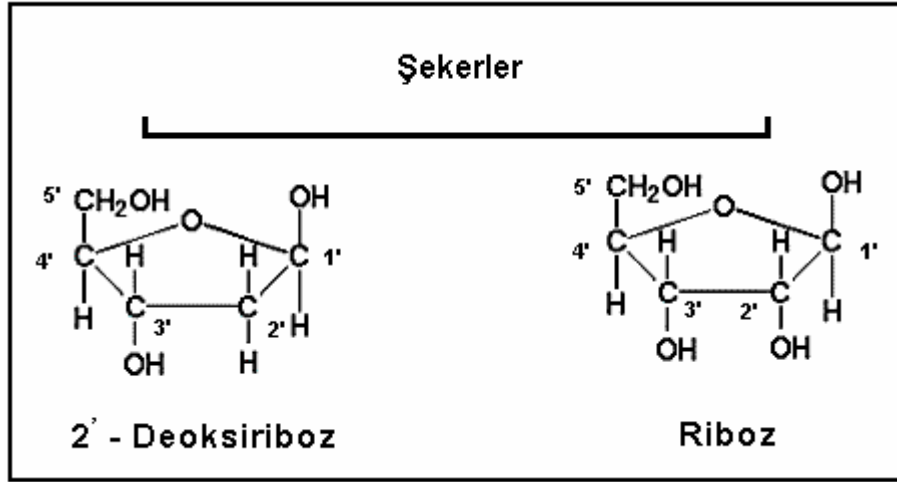
Pürin (Adenin, guanin) ve pirimidin (Urasil, timin, sitozin) bazları nükleik asitlerin önemli organik bileşikleridir. Bunlardan pirimidin bazlarına dâhil olan urasil yalnızca RNA' da bulunur. Nükleotitlerin yapısında bulunan şeker grubu da nükleik asitlerin ana omurgalarını oluşturduğu için pürin ve pirimidin bazları kadar önemli moleküllerdir. Bir nükleotit bazık yapıda olmasına rağmen omurgasında bulunan fosfat gruplarından dolayı bir araya gelerek oluşturulan polinükleotitler asidik karakterlidir.

1950 yıllarında Watson, Crick ve Wilkins DNA yapısının çift zincirli heliks şeklinde bir yapı olduğunu ortaya koymuştur. Buna göre; DNA molekülü, heliks şeklinde kıvrılan ve birbirine pürin ve pirimidin bazları arasındaki hidrojen bağları ile bağlanan iki zincirden oluşmuştur. Çift zincirde karşılıklı olarak bulunan pürin ve pirimidin bazları birbirleri ile spesifik bir

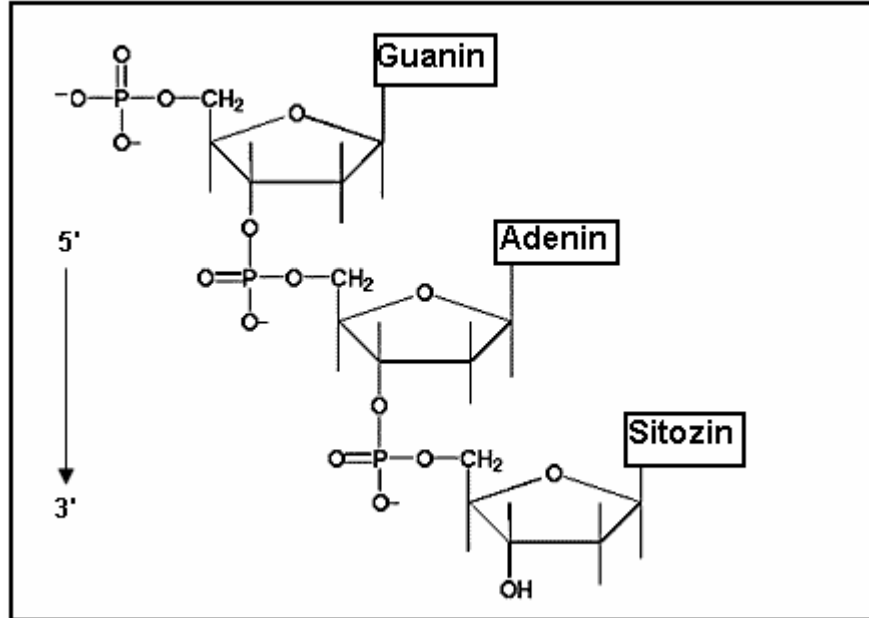
şekilde bağlanır. Buna göre yapıda; Adenin ( A ) – Timin ( T), Guanin ( G ) – Sitozin ( C) baz çiftleri oluşur. A – T baz çiftinde iki, G – C çiftinde üç hidrojen bağı bulunmaktadır. Bazlar arasında bulunan bu hidrojen bağları zayıf oldukları için DNA molekülü ısıtıldığında bu bağlar açılır, DNA' nın çift zincirli heliks yapısı bozulur. Buna denatürasyon denir. Denatüre olan DNA uygun şartlar sağlanırsa tekrar çift zincirli hale gelebilir. Buna da renatürasyon denir.



**Şekil 11-** Nükleik asitte bulunan organik bazların kimyasal yapısı ve sınıflandırılması



**Şekil 12-** Nükleik asitte bulunan şekerlerin kimyasal yapısı



**Şekil 13-** 5' → 3' yönünde ssDNA' nın yapısı

### 2.2.1. Peptik nükleik asitler (PNA)

PNA, DNA' nın omurgasını oluşturan negatif yüklü deoksiriboz – fosfat omurgasının, amit bağları ile bağlı peptiğe benzer nötral bir yapıyla değiştirilmesiyle elde edilir. DNA analogudur. PNA' nın nötral yüklü olması hibridizasyona dayalı çalışmalarda negatif yüklü iki DNA dizisinin elektrostatik

olarak birbirini itmesi dezavantajını ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca PNA' lar sıcaklığa ve enzimlere dayanıklıdır. Yüksek ısılarda denatüre olmazlar.

## **2.2.2. DNA ile ilgili bazı terimlerin tanımlamaları**

### **2.2.2.1. DNA baz dizilerinin yazılımı ve bazı terimler ile ilgili temel bilgiler (13)**

**Oligonükleotid:** Birden fazla nükleotitin bir araya gelmesiyle oluşan yapıya oligonükleotid denir.

**Dinükleotid:** İki nükleotitin bir araya gelerek oluşturduğu yapıya denir.

**Trinükleotid:** Üç nükleotitin bir araya gelerek oluşturduğu yapıya denir.

**Tekrarlayan oligonükleotidler:** Polimer içerisindeki tekrarlayan oligonükleotidler, tekrarlan tek bir nükleotiti, iki nükleotiti veya üç nükleotiti ifade eder. Tekrarlayan mononükleotide poly (C), dinükleotide poly (CT), trinükleotide poly (CAT) örnek verilebilir.

## **2.3. DNA biyosensörleri**

Bir biyosensör, birbiri içine geçmiş biri biyokimyasal diğeri elektrokimyasal özellikteki iki çevirici sistemden oluşmaktadır. Biyokimyasal kısım, analizi yapılacak madde ile etkileşime girerek onu tanır. Biyosensör, biyokimyasal



kısmını oluşturan biyolojik materyel DNA olduğunda, DNA biyosensörü adını alır (50, 55, 59, 61, 82). DNA biyosensörleri, dizisi belli hibridizasyon olaylarının izlenmesinde (54, 77), DNA ile etkileşime giren bazı maddelerin (karsinogen maddeler, ilaçlar vb.) belirlenmesinde kullanılabilir (3, 71, 73, 77).

Son yıllarda DNA' ya dayalı elektrokimyasal biyosensörler alanındaki gelişmeler oldukça dikkat çekicidir (4, 60, 64, 66, 81).

### **2.3.1. DNA – İlaç etkileşmesine dayalı DNA biyosensörleri**

Yeni sentezlenen birçok maddenin, ilacın, DNA hedefli ilacın tasarımı gerçekleştirilirken, bu maddelerin DNA ile etkileşimlerinin hızlı ve etkin bir şekilde aydınlatılması; bu çalışmaların amacı doğrultusunda daha hızlı bir şekilde ilerlemesini sağlayacaktır. Ayrıca çevresel atıkların, kimyasal maddelerin DNA ile etkileşimlerinin saptanması, bu maddelerin insan üstündeki olumsuz etkileri ile mücadele edebilmek açısından önemlidir.

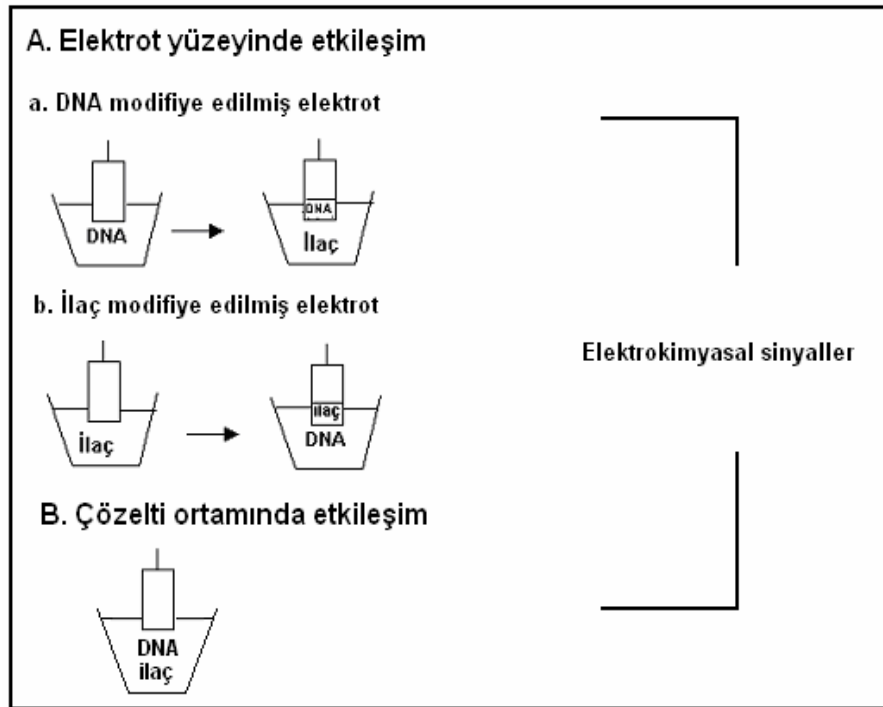
Analizi yapılacak maddelerin DNA ile etkileşimleri üç yolla olur. Bunlar;

- Maddenin, nükleik asitin negatif yüklü şeker – fosfat omurgasına elektrostatik olarak bağlanması ile
  - DNA çift sarmal yapısındaki büyük ve küçük oluklara bağlanma ile
  - DNA' nın baz çiftleri arasına interkalasyon yapması
- şeklinde sınıflandırılabilir.

DNA biyosensörleri kullanılarak DNA – ilaç etkileşimleri başarılı bir şekilde algılanabilmektedir. Bu algılama DNA' ya ait elektroaktif bazlar olan

guanin/adenin sinyali üzerinden ya da analizi yapılacak ilacın elektrokimyasal sinyali üzerinden sağlanabilir. Bu sinyallerdeki değişimlere göre DNA – ilaç etkileşimleri hakkında yorumlar yapılabilir (24).

DNA – ilaç etkileşimine dair literatürde pek çok yayın vardır. Bunlardan bir tanesinde; L. Wang ve arkadaşlarının antikanser bitkisel bir ilaç olan emodin ile diferansiyel puls voltametri tekniği ve siklik voltametri tekniği kullanarak yaptıkları çalışmada, emodin DNA çift sarmal yapısının içine interkale olarak, DNA ile etkileştiği sonucunu bulmuşlardır (92). Bir diğer çalışmada; H. Nawaz ve arkadaşlarının, kinolin türevi antibakteriyel etkiye sahip ciprofloksacin ile yaptıkları çalışmaya göre; ciprofloksacinin DNA' ya elektrostatik olarak ve interkalasyon yaparak bağlandığını göstermişlerdir (56).



**Şekil 14-** DNA – ilaç etkileşimlerinin saptanması için uygulanan çalışma prosedürü, **A)** Etkileşimin çalışma elektrodunun yüzeyinde gerçekleştirilmesi, **a)** DNA, **b)** ilaç, tutturulmuş elektrotta etkileşim. **B)** DNA ve ilacın çözelti fazında etkileştirilmesi.

### **2.3.2. DNA veya prob dizilerinin elektrot yüzeyine immobilize edilme yöntemleri**

DNA biyosensörlerinde analizi yapılacak maddenin en etkin bir şekilde tanınması için, tanımayı gerçekleştirecek biyolojik materyel DNA' nın elektrot yüzeyine sağlam bir şekilde tutturulması gerekmektedir. Tuturma işlemi DNA biyosensörleri ile yapılan analizlerin temel aşamalarını oluşturmaktadır.

DNA elektrot yüzeyine üç teknikle tutturulur. Bunlar;

- Elektrostatik bağlanma
- Kovalent bağlanma
- -SH (Tiyol) grubu ile işaretli oligonükleotitin altın elektrot yüzeyine

afinitesinden dolayı bağlanması' dır.

## **BÖLÜM II**

### **GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **2.1. Kullanılan cihazlar**

Ölçümler ve deney sırasında kullanılan tüm cihaz, donanım ve yazılımlar şunlardır;

Terazi (Sartorius-Analytic A-200)

Ses titreşimli temizleyici (Ultrasonic LC 30 H)

pH-metre (Schott-Mainz CG 710)

Manyetik karıştırıcı ( Elektro-mag ve ARE 2-Velp )

Potansiyostat; AUTOLAB 30 (Eco Chemie, Hollanda)

Ag/AgCl referans elektrot

Platin tel (Yardımcı elektrot olarak kullanıldı.)

#### **2.2. Kullanılan kimyasal maddeler**

Şalkon türevleri (Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya A. B. D.' da sentezlenmiştir.)

Etanol (Merck)

Asetik asit ( %99-100) (Merck)

Hidroklorik asit (%37) (Merck)

Sodyum Hidroksit (Merck)

Di potasyum mono hidrojen fosfat (Riedel-de Haen)

Potasyum dihidrojen fosfat (Riedel-de Haen)

Grafit tozu (Fisher)

Mineral yağ (Acheson 38)

Trizma hidroklorik asit (Sigma)

Sodyum klorür (Sigma)

Fish sperm dsDNA (Serva)

Tüm çalışmalarda Mili Q distile su (18 Mega – ohm' luk) kullanıldı.

Deneysel çalışmaları oda sıcaklığında ( $25,0 \pm 0,5$ ) °C' de gerçekleştirildi.

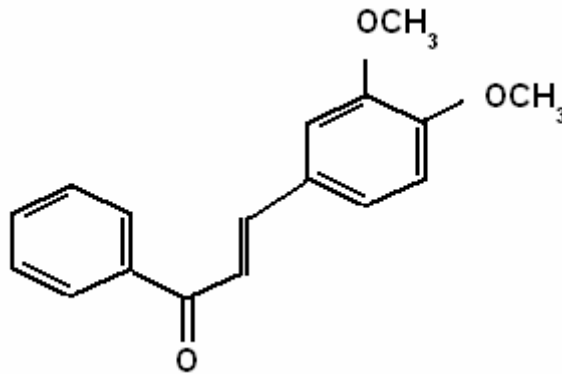
### 2.2.1. Çalışmalarda kullanılan şalkonlar hakkında genel bilgi

**A-**

Kimyasal adlandırma

3-(3,4-dimetoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**MC**)

Kimyasal yapısı



Kapalı kimyasal formül

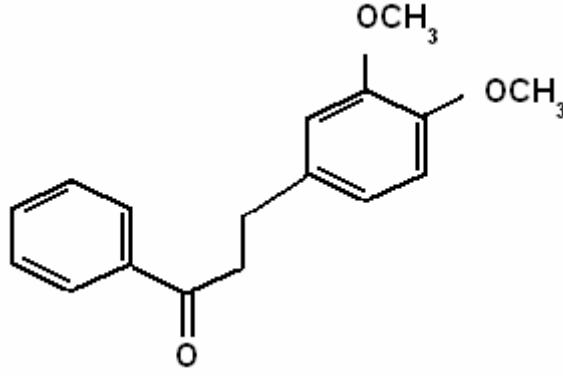
$C_{17}H_{16}O_3$

**B-**

Kimyasal adlandırma

3-(3,4-dimetoksifenil)-1-fenilpropan-1-on (**DMC**)

Kimyasal yapısı



Kapalı kimyasal formül

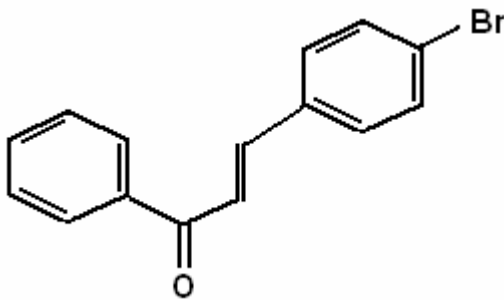
$C_{17}H_{18}O_3$

**C-**

Kimyasal adlandırma

3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**BC**)

Kimyasal yapısı



Kapalı kimyasal formül

$C_{15}H_{11}OBr$

### Şalkonların farmakolojik özellikleri

Şalkonların pek çok türevi; kanser, malaria, leishmaniase, tüberküloz, kardiovasküler hastalıklara karşı ilaç geliştirme çalışmaları için son zamanlarda oldukça fazla sentezlenmektedir (17). Ayrıca şalkonların; sitotoksik (2, 14, 15, 18), antitümöral (2, 16, 68, 80, 94, 95), antioksidan (2), antimikrobiyal (25), antiviral (18), antifungal (57), antimalaryal (65), antienflammatuvar (28, 29, 30, 69) ve antinosiseptif (10) etkileri pek çok çalışmada bildirilmiştir.

### **2.2.2. Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı**

#### **2.2.2.1. Tampon çözeltilerinin hazırlanışı**

Tüm tampon çözeltilerin hazırlanışında Mili Q distile su kullanıldı. Tampon çözeltiler hazırlandıktan sonra plastik şişelerde, buzdolabında saklandı. İyonik kuvveti sağlamak için tüm tampon çözeltilerin litresine derişimi 0,02 M olacak şekilde 1,168 g NaCl eklendi.

#### **0,05 M fosfat tampon çözeltisinin hazırlanışı (pH 7,4)**

Ölçümler sırasında kullanılan 0,05 M fosfat tampon çözeltisi litresinde 1,36 g (0,01 mol)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 6,96 g (0,04 mol)  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  içermektedir. Hazırlanan tampon çözeltisinin pH değeri yaklaşık 7,4 olmaktadır. Gerekliyse pH , 0,1 N NaOH ve / veya 0,1 N HCl ilavesiyle pHmetre ile 7,4'e ayarlanır.

### **0,50 M asetat tampon çözeltisinin hazırlanışı (pH 4,8) (ABS)**

Kullanılan 0,50 M asetat tampon çözeltisi litresinde 0,2722 g (0,002 mol) sodyum asetat trihidrat ve 0,1154 mL asetik asit içermektedir. Çözeltinin pH'sının 4,8 değerine ayarlanması, 0,1 N NaOH ve / veya 0,1 N HCl ilavesiyle, pHmetre ile ölçülerek gerçekleştirilir.

### **0,02 M Tris HCl tampon çözeltisinin hazırlanışı (pH 7,0)**

Kullanılan 0,02 M Tris HCl tampon çözeltisi litresinde 3,152 g (0,02 mol) Trizma HCl içermektedir. Çözeltinin pH'sının 7,0 değerine ayarlanması, 0,1 N NaOH ve / veya 0,1 N HCl ilavesiyle, pHmetre ile ölçülerek gerçekleştirilir.

### **2.2.2.2. Oligonükleotit çözeltilerinin hazırlanışı**

Tüm oligonükleotit stok çözeltileri Mili Q distile su ile 1000 µg/mL konsantrasyonunda hazırlandı ve sıfır derecenin altında saklandı.

### **2.2.2.3. Şalkon stok çözeltilerinin hazırlanışı**

Tüm şalkon stok çözeltileri etanol ile hazırlandı. MC., DMC. ve BC.' den gerekli miktar tartılıp 1000 µg/mL olacak şekilde etanolde çözdürüldü.

## **2.3. Kullanılan yöntem**

Kullanılan elektrotların aktivasyonu, elektrot yüzeyine dsDNA immobilize edilmesi (tutturulması), DNA materyalinin madde ile elektrot



yüzeyinde ve/veya çözültü fazında etkileşmesinde, mevcut literatürlerde (20, 23, 58) rapor edilen yol aşağıdaki basamaklarda izlenmiştir.

### **2.3.1. Kullanılan elektrotların hazırlanışı**

#### **2.3.1.1. Karbon pastası elektrotunun (CPE) hazırlanışı**

CPE, iç çapı 3 mm olan cam borudan hazırlandı. İç kısmında karbon pastası içeren elektrotta elektriksel iletkenlik bakır tel ile sağlandı. Karbon pastası, grafit tozu ile mineral yağın 70:30 % (a/a) oranında homojen bir şekilde karıştırılmasıyla hazırlandı. Elektrot (CPE) hazırlandıktan sonra elektrot yüzeyi, yağlı kağıt ile homojen bir yüzey haline çevrildi. Her deneyden önce elektrotun yüzeyi yenilendi (6, 7, 75, 76).

#### **2.3.1.2. Kalem grafit elektrot (PGE) hazırlanışı**

Çalışmada kullanılan kalem ucu elektrot, Tombo marka kalem uçlarının 3 cm boyunda kesilmesiyle hazırlandı (37, 84).

### **2.3.2. Şalkon türevlerinin dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak yükseltgenme/indirgenme sinyalinin saptanması**

Karbon pastası elektrodundaki oranı %6,5 olacak şekilde şalkon türevleri karbon pastası elektroduna ilave edildi (Grafit tozu ile mineral yağın 70:30 % (a/a) oranında karıştırılmasıyla hazırlanan karbon pastasından,

%6,5 oranında şalkon türevi içerecek şekilde belli bir miktar karbon pastası karışımı çıkarıldı. Yerine şalkon türevi ilave edildi). Çalışma ortamı olarak 0,50 M asetat tamponu (pH 4,8) kullanıldı. Asetat tamponu içinde 50 mV/s tarama hızıyla ölçüm alındı.

### **2.3.3. Çözelti ortamındaki farklı konsantrasyonlardaki dsDNA'ya ait guanin yükseltgenme sinyalinin tayini**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M asetat tampon çözeltisi içinde (pH 4,8) +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**Ölçüm:** Asetat tamponu içerisinde hazırlanan değişen konsantrasyonlardaki dsDNA 120 saniye dış ortamda karıştırıldıktan sonra ABS ile +0,75 V ile + 1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak ölçüm alındı.

### **2.3.4. MC. ile dsDNA etkileşmesinin diferansiyel puls voltametri tekniği ile elektrokimyasal olarak incelenmesi**

1000 µg/mL MC. stok çözeltisi etanol ile hazırlandı. 0,50 M ABS (pH 4,8) çalışma ortamı olarak kullanıldı.

#### **2.3.4.1. pH değişiminin MC. sinyalindeki değişikliğe etkisi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**PGE yüzeyine MC. immobilizasyonu:** Yüzeyi aktive edilmiş PGE, pH' ları farklı olan tampon çözeltilerle hazırlanmış 5 µg/mL konsantrasyondaki MC. çözeltisine daldırıldı. MC. , potansiyel uygulanmaksızın 120 saniye süreyle karışan ortamda PGE yüzeyine immobilize edildi. Çalışılan pH' daki tampon çözeltisi ile yıkama işlemi gerçekleştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, çalışılan pH' daki tampon çözeltisi ortamında ölçüm gerçekleştirildi.

#### **2.3.4.2. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile MC. etkileşmesinin guanin yükseltgenme sinyalindeki değişim üzerinden incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**PGE yüzeyine dsDNA immobilizasyonu:** Yüzeyi aktive edilmiş PGE, ABS (pH 4,8) içinde hazırlanmış olan 10 µg/mL konsantrasyonda dsDNA çözeltisine daldırıldı. +0,50 V potansiyel 300 saniye süreyle karışan ortamda uygulanarak dsDNA elektrot yüzeyine tutturuldu. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**MC.' nin dsDNA ile etkileşimi:** dsDNA immobilize edilmiş PGE, potansiyel uygulanmaksızın ABS (pH 4,8) içerisinde değişen konsantrasyonlarda hazırlanan MC. ile 120 saniye süreyle karışan ortamda etkileştirildi. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında ölçüm gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.

#### **2.3.4.3. Elektroda tutturulmuş DNA'nın MC. ile zamana göre etkileşmesinin incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**PGE yüzeyine dsDNA immobilizasyonu:** Yüzeyi aktive edilmiş PGE, ABS (pH 4,8) içinde hazırlanmış olan 10 µg/mL konsantrasyonda dsDNA

çözeltisine daldırıldı. +0,50 V potansiyel 300 saniye süreyle karışan ortamda uygulanarak dsDNA elektrot yüzeyine tutturuldu. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**MC.' nin dsDNA ile etkileşimi:** dsDNA immobilize edilmiş PGE, potansiyel uygulanmaksızın ABS (pH 4,8) içerisinde 5 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan MC. ile 1-10 dakika arasında değişen sürelerde, karışan ortamda etkileştirildi. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında ölçüm gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.

#### **2.3.4.4. MC. ile dsDNA' nın çözelti ortamında etkileşmesinin guanin yükseltgenme sinyali üzerinden incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**MC. ile dsDNA' nın çözelti fazında etkileşimi:** ABS (pH 4,8) ile hazırlanan 5 µg/mL dsDNA çözeltisi içerisine değişen konsantrasyonlarda MC. ilave edildi ve 120 saniye dış ortamda karıştırılarak etkileştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında karışımın ölçümü gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.

### **2.3.5. DMC. ile dsDNA etkileşmesinin diferansiyel puls voltametri tekniği ile elektrokimyasal olarak incelenmesi**

1000 µg/mL DMC. stok çözeltisi etanol ile hazırlandı. 0,50 M (pH 4,8) ABS çalışma ortamı olarak kullanıldı.

#### **2.3.5.1. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile DMC. etkileşmesinin guanin yükseltgenme sinyalindeki değişim üzerinden incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**PGE yüzeyine dsDNA immobilizasyonu:** Yüzeyi aktive edilmiş PGE, ABS (pH 4,8) içinde hazırlanmış olan 5 µg/mL konsantrasyonda dsDNA çözeltisine daldırıldı. +0,50 V potansiyel 300 saniye süreyle karışan ortamda uygulanarak dsDNA elektrot yüzeyine tutturuldu. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**DMC.' nin dsDNA ile etkileşimi:** dsDNA immobilize edilmiş PGE, potansiyel uygulanmaksızın ABS (pH 4,8) içerisinde değişen konsantrasyonlarda hazırlanan DMC. ile 120 saniye süreyle karışan ortamda etkileştirildi. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında ölçüm gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.

#### **2.3.5.2. Elektroda tutturulmuş DNA'nın DMC. ile zamana göre etkileşmesinin incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**PGE yüzeyine dsDNA immobilizasyonu:** Yüzeyi aktive edilmiş PGE, ABS (pH 4,8) içinde hazırlanmış olan 5 µg/mL konsantrasyonda dsDNA çözeltisine daldırıldı. +0,50 V potansiyel 300 saniye süreyle karışan ortamda uygulanarak dsDNA elektrot yüzeyine tutturuldu. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**DMC.' nin dsDNA ile etkileşimi:** dsDNA immobilize edilmiş PGE, potansiyel uygulanmaksızın ABS (pH 4,8) içerisinde 5 µg/mL

konsantrasyonda hazırlanan DMC. ile 1-10 dakika arasında değişen sürelerde, karışan ortamda etkileştirildi. Yıkama işlemleri ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında ölçüm gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.

### **2.3.5.3. DMC. ile dsDNA' nın çözelti ortamında etkileşmesinin guanin yükseltgenme sinyali üzerinden incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**DMC. ile dsDNA' nın çözelti fazında etkileşimi:** ABS (pH 4,8) ile hazırlanan 5 µg/mL dsDNA çözeltisi içerisine değişen konsantrasyonlarda DMC. ilave edildi ve 120 saniye dış ortamda karıştırılarak etkileştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında karışımın ölçümü gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.



### **2.3.6. BC. ile dsDNA etkileşmesinin diferansiyel puls voltametri tekniği ile elektrokimyasal olarak incelenmesi**

1000 µg/mL BC. stok çözeltisi etanol ile hazırlandı. 0,50 M ABS (pH 4,8) çalışma ortamı olarak kullanıldı.

#### **2.3.6.1. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile BC. etkileşmesinin guanin yükseltgenme sinyalindeki değişim üzerinden incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**PGE yüzeyine dsDNA immobilizasyonu:** Yüzeyi aktive edilmiş PGE, ABS (pH 4,8) içinde hazırlanmış olan 10 µg/mL konsantrasyonda dsDNA çözeltisine daldırıldı. +0,50 V potansiyel 300 saniye süreyle karışan ortamda uygulanarak dsDNA elektrot yüzeyine tutturuldu. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**BC.' nin dsDNA ile etkileşimi:** dsDNA immobilize edilmiş PGE, potansiyel uygulanmaksızın ABS (pH 4,8) içerisinde değişen konsantrasyonlarda hazırlanan BC. ile 120 saniye süreyle karışan ortamda etkileştirildi. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında ölçüm gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.

### **2.3.6.2. Elektroda tutturulmuş DNA'nın BC. ile zamana göre etkileşmesinin incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**PGE yüzeyine dsDNA immobilizasyonu:** Yüzeyi aktive edilmiş PGE, ABS (pH 4,8) içinde hazırlanmış olan 10 µg/mL konsantrasyonda dsDNA çözeltisine daldırıldı. +0,50 V potansiyel 300 saniye süreyle karışan ortamda uygulanarak dsDNA elektrot yüzeyine tutturuldu. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**BC.' nin dsDNA ile etkileşimi:** dsDNA immobilize edilmiş PGE, potansiyel uygulanmaksızın ABS (pH 4,8) içerisinde 5 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan BC. ile 1-10 dakika arasında değişen sürelerde, karışan ortamda etkileştirildi. Yıkama işlemi ABS (pH 4,8) ile gerçekleştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında ölçüm

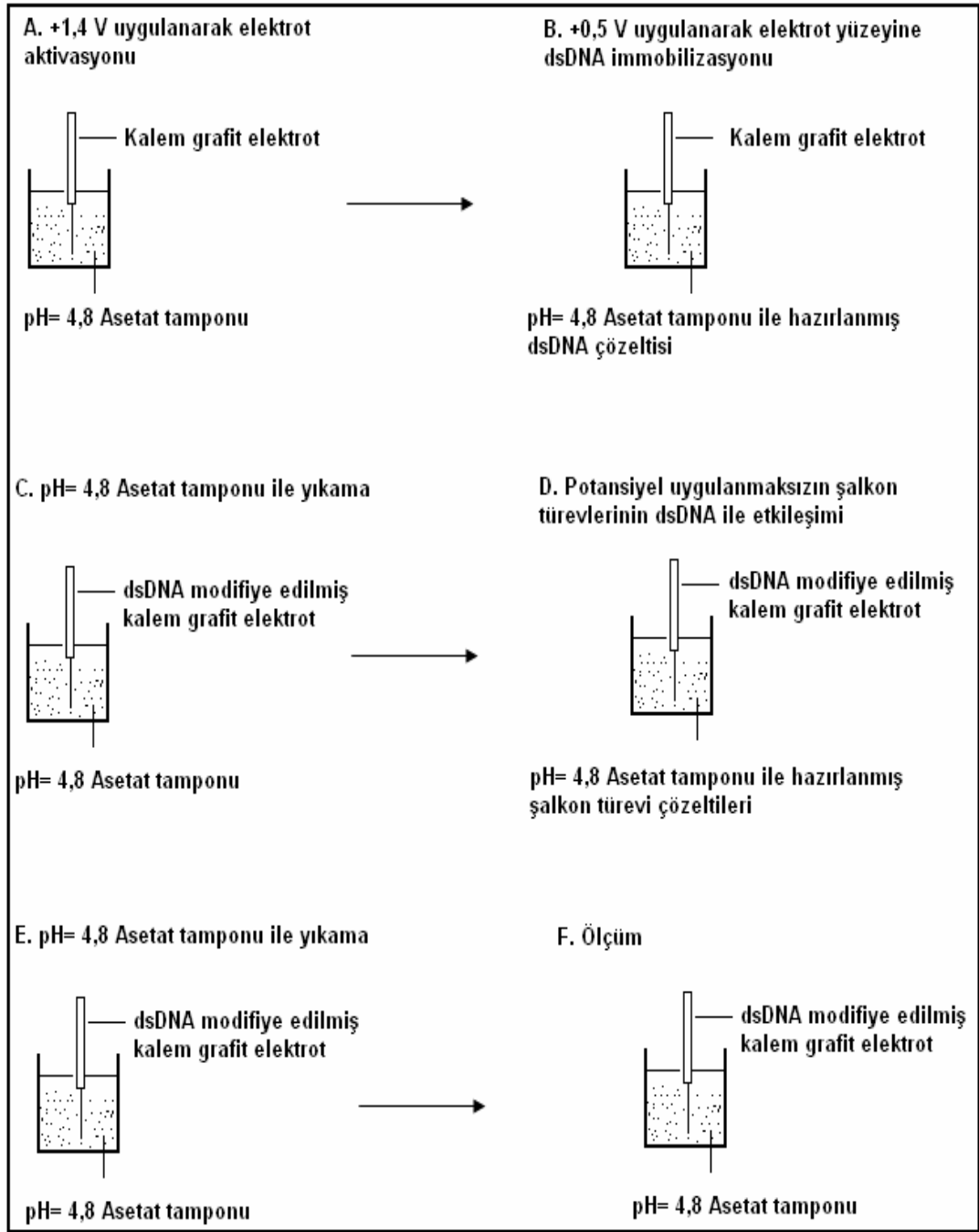
gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.

### **2.3.6.3. BC. ile dsDNA' nın çözelti ortamında etkileşmesinin guanin yükseltgenme sinyali üzerinden incelenmesi**

**PGE aktivasyonu:** Kalem grafit elektrot yüzeyi, 0,50 M ABS (pH 4,8) içinde +1,40 V uygulanarak 60 saniye süreyle karışmayan ortamda aktive edildi.

**BC. ile dsDNA' nın çözelti fazında etkileşimi:** ABS (pH 4,8) ile hazırlanan 5 µg/mL dsDNA çözeltisi içerisine değişen konsantrasyonlarda BC. ilave edildi ve 120 saniye dış ortamda karıştırılarak etkileştirildi.

**Ölçüm:** +0,75 V ile +1,40 V arasında 15 mV/s tarama hızıyla 50 mV'luk puls genliğinde tarama yapılarak, ABS (pH 4,8) ortamında karışımın ölçümü gerçekleştirildi. +1,00 V civarında gözlenen guanin bazına ait yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi.



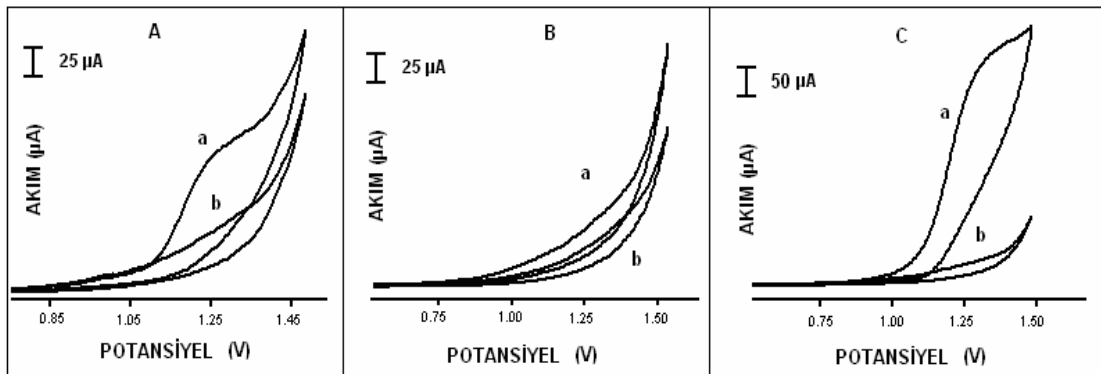
**Şekil 15-** PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile şalkon türevlerinin etkileşiminde izlenen deneysel yolun şematik olarak gösterimi

## BÖLÜM III

### BULGULAR

#### 3.1. Çalışılan şalkon türevlerine ait yükseltgenme/indirgenme sinyallerinin dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak saptanmasına ait bulgular

Şalkon türevlerinin siklik voltametri tekniği kullanılarak yükseltgenme/indirgenme sinyallerinin saptanmasında, çalışma ortamı olarak ABS (pH 4,8) kullanıldı. Karbon pastası elektrotundaki oranı %6,5 olacak şekilde MC., BC., DMC. karbon pastasına ilave edildi. ABS (pH=4,8) ortamında yapılan ölçümden sonra elde edilen akım – potansiyel grafikleri şekil 16’ da verilmiştir.

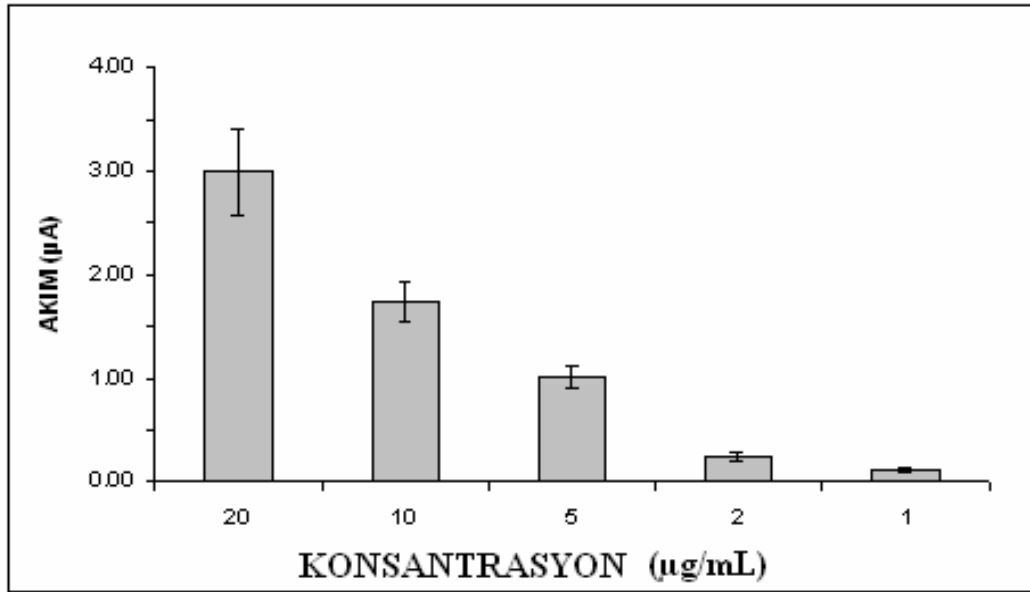


**Şekil 16-** Şalkon türevlerinin dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak tespit edilen yükseltgenme sinyali. **A) MC. B) BC. C) DMC.;** **a)** % 6,5 oranında şalkon türevlerini içeren CPE, **b)** şalkon türevlerini içermeyen CPE (kör) ile yapılan ölçüm.

0,00 V ile +1,50 V arasında yapılan taramada BC.' ye ait herhangi bir sinyal gözlenmezken (Şekil 16B), MC. ve DMC. için +1,25 V civarında tersinir olmayan bir sinyal gözlendi (Şekil 16A, 16C).

### 3.2. Çözelti ortamında farklı konsantrasyonlardaki dsDNA' ya ait guanin yükseltgenme sinyaline ait bulgular

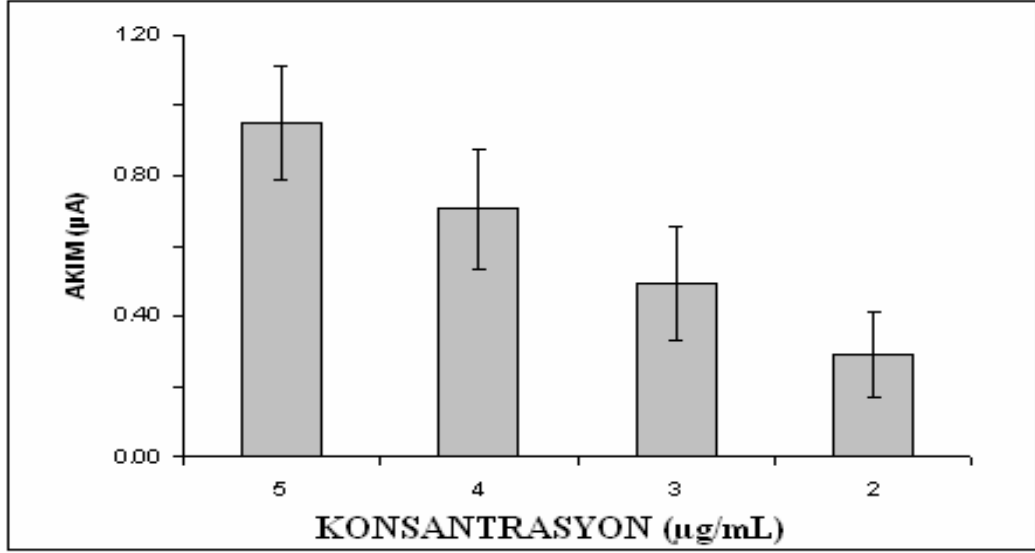
Tek kullanımlık elektrot (PGE) ile çözelti ortamındaki, 1-20  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyon aralığındaki dsDNA' nın, diferansiyel puls voltametri tekniği ile elektrokimyasal tayini gerçekleştirildi. Her bir konsantrasyon için ardışık üçer ölçüm alındı. Elde edilen bu veriler şekil 17' de gösterilmiştir.



**Şekil 17-** 1, 2, 5, 10, 20  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlardaki dsDNA' ya ait guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklükleri.

Şekil 17' de görüldüğü gibi; dsDNA konsantrasyonu azaldıkça guanin sinyalinde azalma gözlenmiştir. Daha düşük dsDNA konsantrasyonuna bağlı

optimum çalışma koşullarını bulabilmek için aynı yöntem 2-5  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyon aralığında tekrar yapıldı. Elde edilen ölçüm sonuçları Şekil 18' de verilmiştir.



**Şekil 18-** 2, 3, 4, 5  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlardaki dsDNA' ya ait guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklükleri.

2-5  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyon aralığında elde edilen sinyalin, konsantrasyonuna bağlı olarak azalması nedeniyle optimum çalışma konsantrasyonu olarak 5  $\mu\text{g/mL}$  olarak belirlendi.

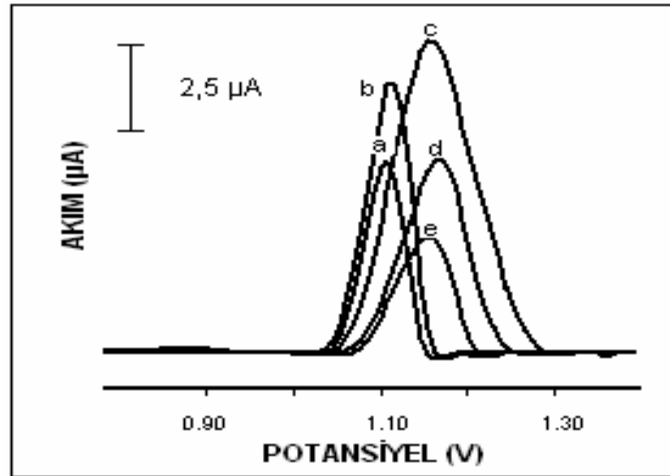
5  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki dsDNA' dan ortalaması 1,01  $\mu\text{A}$  ve bağlı standart sapması (RSD) %10,8 (n=3) olan anlamlı bir sinyal elde edilmiştir.

Tayin sınırı S/N=3 oranına göre 0,282  $\mu\text{g/mL}$  olarak hesaplanmıştır.

### 3.3. MC. ile dsDNA etkileşiminin diferansiyel puls voltametri tekniği ile elektrokimyasal olarak incelenmesine ait bulgular

#### 3.3.1. pH değişiminin MC.' nin yükseltgenme sinyalindeki değişikliğe etkisinin incelenmesine ait bulgular

1-9 pH aralığında 5 µg/mL konsantrasyondaki MC.' nin yükseltgenme sinyaline etkisi incelendi. Değişik pH' larda MC. yükseltgenme sinyali diferansiyel puls voltametri tekniği kullanılarak saptandı. Şekil 19' da görüldüğü gibi en uygun çalışma pH' sı 4,8 asetat tamponu (ABS) olarak belirlenmiştir.

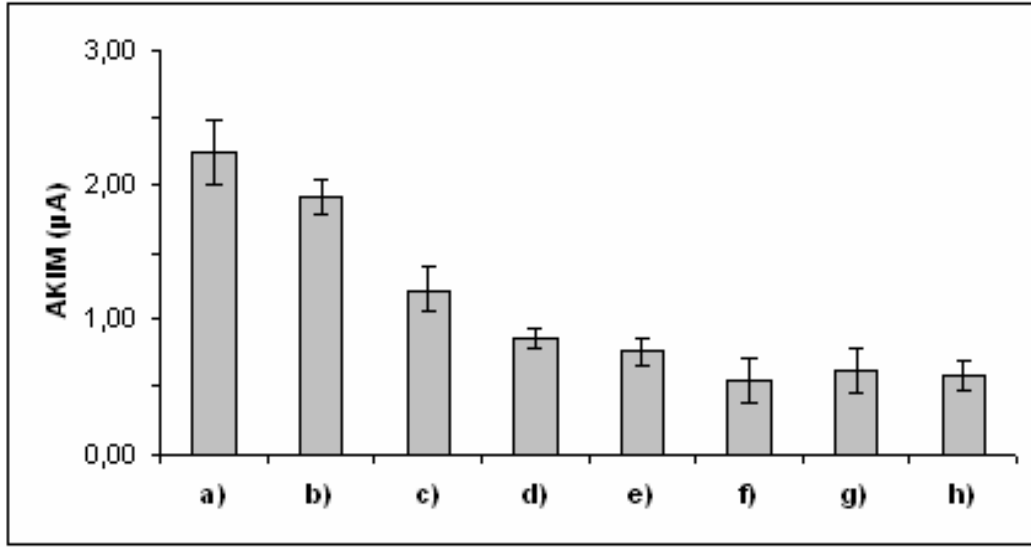


**Şekil 19-** Farklı pH' ların MC. yükseltgenme sinyaline etkisini gösteren diferansiyel puls voltamogramları; **a)** ABS pH=1,0 **b)** ABS pH=3,0 **c)** ABS pH=4,8 **d)** TBS pH=7,0 **e)** TBS pH=9,0



### 3.3.2. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile MC. etkileşiminin guanin yükseltgenme sinyalindeki değişim üzerinden incelenmesine ait bulgular

PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA' nın 1-100 µg/mL konsantrasyon aralığında değişen MC. ile etkileşiminden elde edilen guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklüklerini gösteren grafik Şekil 20' deki gibidir.



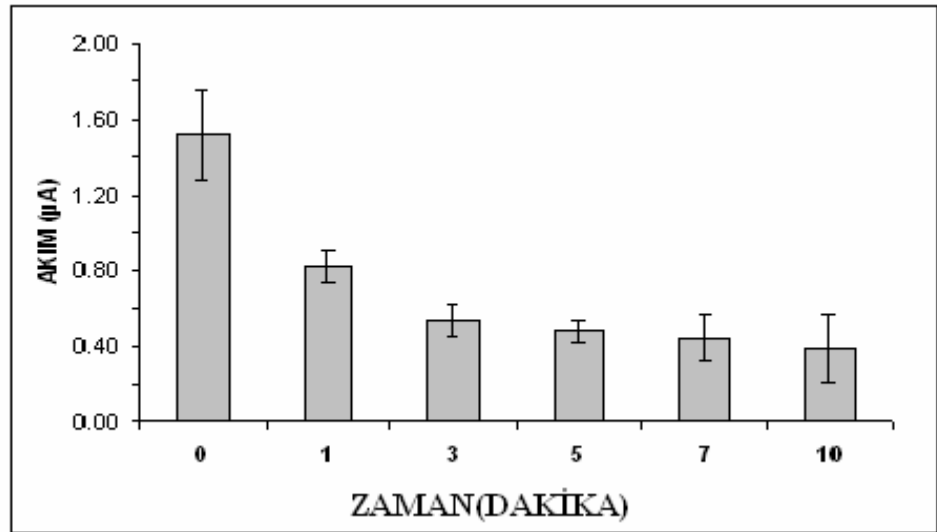
**Şekil 20-** Guanin yükseltgenme sinyaline ait histogramlar; **a)** 10µg/mL dsDNA ile **MC.** etkileşmeden önce **b)** Etanol/Asetat tamponu karışımı ile etkileştikten sonra **c)** 1 **d)** 5 **e)** 10 **f)** 20 **g)** 50 **h)** 100 µg/mL konsantrasyonlarda **MC.** ile etkileştikten sonra elde edilen sinyallerin ortalama büyüklükleri.

Şekil 20' de elde edilen verilere göre, MC.' nin konsantrasyonu arttırıldıkça guanin yükseltgenme sinyalinde düşüş olduğu gözlenmiştir. Ancak bu düşüş 5 µg/mL MC.' den sonra sabitlendi. Grafiğe göre uygun MC. konsantrasyonu 5 µg/mL' dir.

5 µg/mL konsantrasyondaki MC.' in 10 µg/mL konsantrasyondaki dsDNA ile etkileşimine dair diferansiyel puls ölçümlerinde, ortalaması 0,87 µA ve bağıl standart sapması (RSD) % 8,0 (n=3) olan anlamlı bir guanin yükseltgenme sinyali elde edilmiştir.

### 3.3.3. MC. etkileşim süresindeki değişimin guanin yükseltgenme sinyali üzerine etkisinin incelenmesi

3.3.2.' den elde edilen veriler doğrultusunda 5 µg/mL MC.' nin 10 µg/mL dsDNA ile etkileşiminde sürenin etkisini inceleyebilmek için etkileşim süresi 1-10 dakika arasında artırıldı ve sonuçlardan Şekil 21' deki grafik çizdirilmiştir.



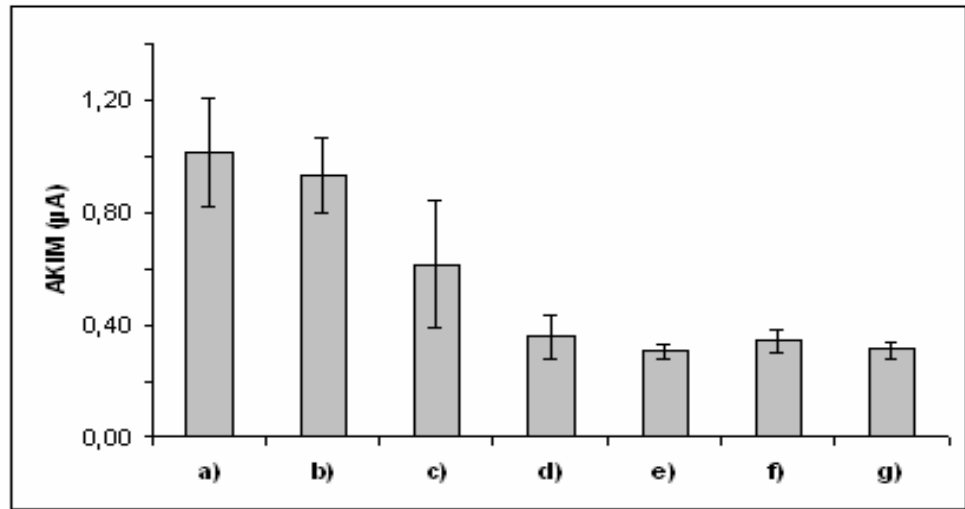
**Şekil 21-** 10µg/mL dsDNA ile 5µg/mL MC.' nin farklı sürelerde etkileşmesine ait guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklükleri.

Guanin yükseltgenme sinyalinde etkileşim süresi arttırıldıkça bir düşüş gözlemlendi. Bu düşüşün 3. dakikadan sonra sabitlenmesi nedeniyle optimum etkileşim zamanı olarak 3. dakika saptandı.

5 µg/mL konsantrasyondaki MC.' nin 10 µg/mL dsDNA ile 3 dakika boyunca etkileşimine ait diferansiyel puls ölçümlerinde, ortalaması 0,54 µA ve bağıl standart sapması (RSD) % 14,2 olan (n=3) anlamlı guanin yükseltgenme sinyali elde edilmiştir.

### 3.3.4. MC. ile dsDNA' nın çözelti ortamında etkileşiminin guanin yükseltgenme sinyali üzerinden incelenmesine ait bulgular

Çözelti fazında 5 µg/mL dsDNA ile 1-20 µg/mL konsantrasyonları arasında değişen MC.' nin etkileşiminden elde edilen guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklüklerini gösteren grafik Şekil 22' deki gibidir.



**Şekil 22-** Çözelti fazında etkileşen guanin yükseltgenme sinyaline ait histogramlar; **a)** 5µg/mL dsDNA ile **MC.** etkileşmeden önce **b)** Etanol/Asetat tamponu karışımı ile etkileştikten sonra **c)** 1 **d)** 2 **e)** 5 **f)** 10 **g)** 20 µg/mL konsantrasyonlarda **MC.** ile etkileştikten sonra elde edilen sinyallerin ortalama büyüklükleri.

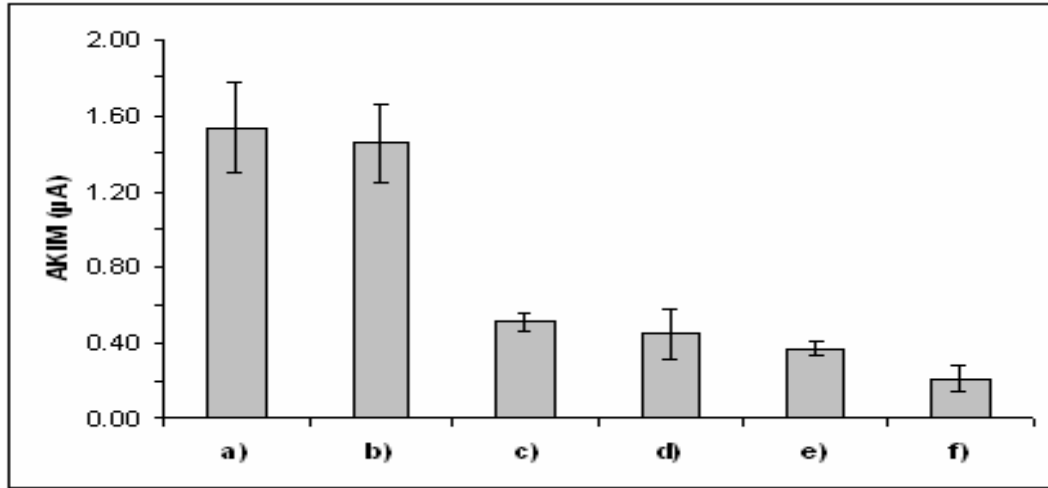
Şekil 22' ye göre MC.' nin konsantrasyonu arttırıldıkça guanin yükseltgenme sinyalinde düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş MC.' nin 2 µg/mL konsantrasyonundan sonra sabitlendi ve optimum konsantrasyon olarak 2 µg/mL belirlendi.

2 µg/mL konsantrasyondaki MC.' nin 5 µg/mL konsantrasyondaki dsDNA ile etkileşimine ait diferansiyel puls ölçümlerinde, ortalaması 0,36 µA ve bağıl standart sapması (RSD) % 19,4 (n=3) olan anlamlı bir guanin yükseltgenme sinyali elde edilmiştir.

### **3.4. DMC. ile dsDNA etkileşiminin diferansiyel puls voltametri tekniği ile elektrokimyasal olarak incelenmesine ait bulgular**

#### **3.4.1. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile DMC. etkileşiminin guanin yükseltgenme sinyalindeki değişim üzerinden incelenmesine ait bulgular**

PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA' nın 5-50 µg/mL konsantrasyon aralığında değişen DMC. ile etkileşiminden elde edilen guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklüklerini gösteren grafik Şekil 23' deki gibidir.



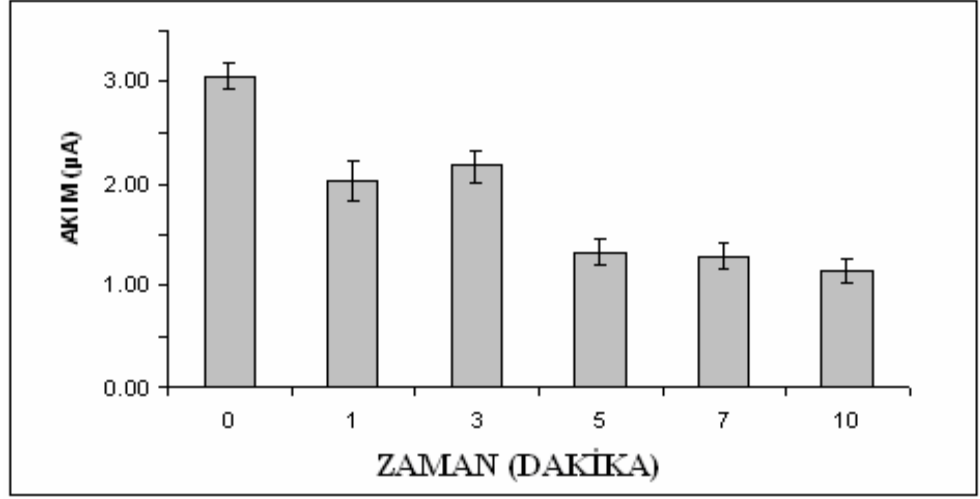
**Şekil 23-** Guanin yükseltgenme sinyaline ait histogramlar; **a)** 5µg/mL dsDNA ile **DMC.** etkileşmeden önce **b)** Etanol/Asetat tamponu karışımı ile etkileştikten sonra **c)** 5 **d)** 10 **e)** 20 **f)** 50 µg/mL konsantrasyonlarda **DMC.** ile etkileştikten sonra elde edilen sinyallerin ortalama büyüklükleri.

Şekil 23' e göre DMC.' nin konsantrasyonu arttırıldıkça guanin yükseltgenme sinyalinde düşüş gözlemlendi. Ancak bu düşüş 5 µg/mL DMC.' den sonra sabitlendi. Grafiğe göre uygun DMC. konsantrasyonu 5 µg/mL' dir.

5 µg/mL konsantrasyondaki DMC.' nin 5 µg/mL konsantrasyondaki dsDNA ile etkileşimine dair diferansiyel puls ölçümlerinde, ortalaması 0,51 µA ve bağıl standart sapması (RSD) % 8,3 (n=3) olan anlamlı bir guanin yükseltgenme sinyali elde edilmiştir.

### **3.4.2. DMC. etkileşim süresindeki değişimin guanin yükseltgenme sinyali üzerine etkisinin incelenmesi**

3.4.1.' den elde edilen veriler doğrultusunda 5 µg/mL DMC.' nin 5 µg/mL dsDNA ile etkileşiminde sürenin etkisini inceleyebilmek için etkileşim süresi 1-10 dakika arasında arttırıldı ve sonuçlardan Şekil 24' deki grafik elde edilmiştir.



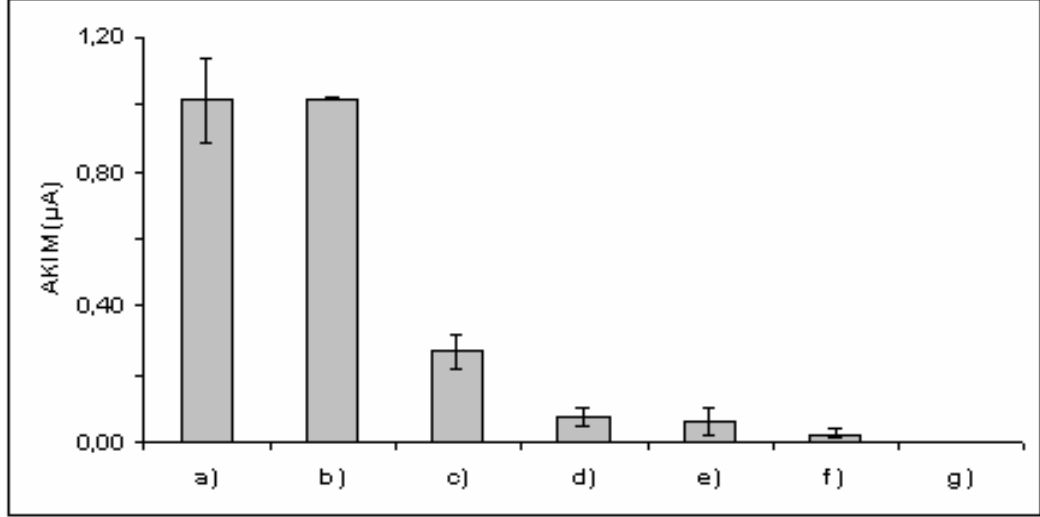
**Şekil 24-** 5 µg/mL dsDNA ile 5 µg/mL **DMC.**' nin farklı sürelerde etkileşmesine ait guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklükleri.

Guanin yükseltgenme sinyalinde etkileşim süresi arttırıldıkça bir düşüş gözlemlendi. Bu düşüşün 5. dakikadan sonra sabitlenmesi nedeniyle optimum etkileşim zamanı olarak 5. dakika saptandı.

5 µg/mL konsantrasyondaki DMC.' nin 5 µg/mL dsDNA ile 5 dakika boyunca etkileşimine ait diferansiyel puls ölçümlerinde, ortalaması 1,33 µA ve bağıl standart sapması (RSD) % 9,3 (n=3) olan anlamlı guanin yükseltgenme sinyali elde edilmiştir.

### **3.4.3. DMC. ile dsDNA' nın çözelti ortamında etkileşiminin guanin yükseltgenme sinyali üzerinden incelenmesine ait bulgular**

Çözelti fazında 5 µg/mL dsDNA ile 10-50 µg/mL konsantrasyonları arasında değişen DMC.' in etkileşiminden elde edilen guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklüklerini gösteren grafik Şekil 25' deki gibidir.



**Şekil 25-** Çözelti fazında etkileşen guanin yükseltgenme sinyaline ait histogramlar; **a)** 5 µg/mL dsDNA ile **DMC.** etkileşmeden önce **b)** Etanol/Asetat tamponu karışımı ile etkileştikten sonra **c)** 10 **d)** 20 **e)** 30 **f)** 40 **g)** 50 µg/mL konsantrasyonlarda **DMC.** ile etkileştikten sonra elde edilen sinyallerin ortalama büyüklükleri.

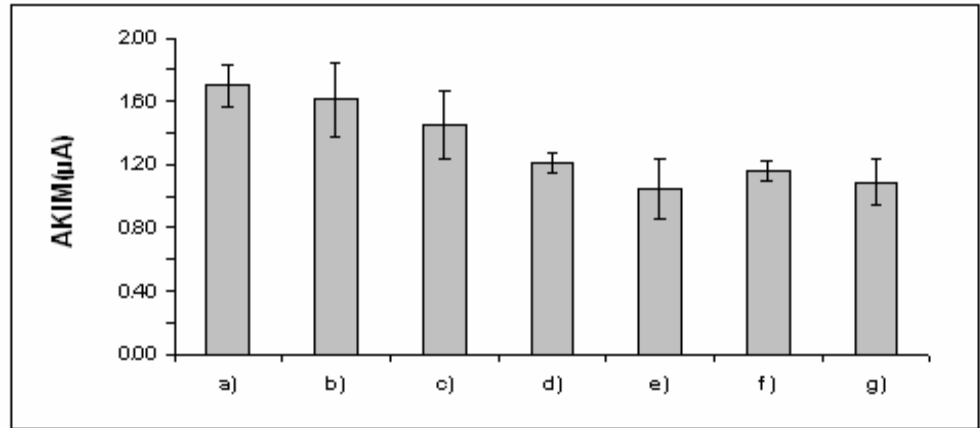
Şekil 25' e göre DMC.' nin konsantrasyonu arttırıldıkça guanin yükseltgenme sinyalinde düşüş gözlemlendi. Bu düşüş DMC.' in 20 µg/mL konsantrasyonundan sonra sabitlendiği için optimum konsantrasyon olarak 20 µg/mL belirlenmiştir.

20 µg/mL konsantrasyondaki DMC.' nin 5 µg/mL konsantrasyondaki dsDNA ile etkileşimine ait diferansiyel puls ölçümlerinde, ortalaması 0,09 µA ve bağıl standart sapması (RSD) % 15,5 (n=3) olan anlamlı bir guanin yükseltgenme sinyali elde edilmiştir.

### 3.5. BC. ile dsDNA etkileşiminin diferansiyel puls voltametri tekniği ile elektrokimyasal olarak incelenmesine ait bulgular

#### 3.5.1. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile BC. etkileşiminin guanin yükseltgenme sinyalindeki değişim üzerinden incelenmesine ait bulgular

PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA' nın 2-25 µg/mL konsantrasyon aralığında değişen BC. ile etkileşiminden elde edilen guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklüklerini gösteren grafik Şekil 26' daki gibidir.



**Şekil 26-** Guanin yükseltgenme sinyaline ait histogramlar; **a)** 10µg/mL dsDNA ile **BC.** etkileşmeden önce **b)** Etanol/Asetat tamponu karışımı ile etkileştikten sonra **c)** 2 **d)** 5 **e)** 10 **f)** 15 **g)** 25 µg/mL konsantrasyonlarda **BC.** ile etkileştikten sonra elde edilen sinyallerin ortalama büyüklükleri.

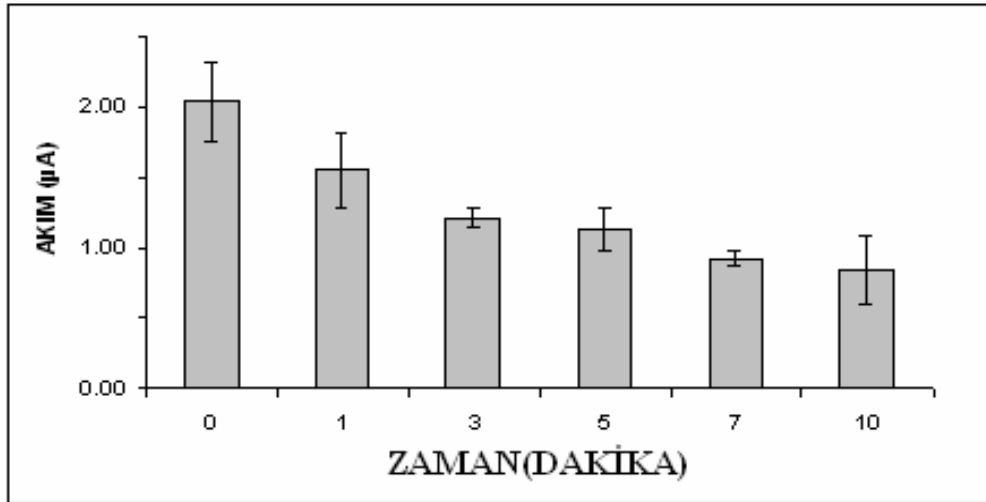
Şekil 26' ya göre BC. konsantrasyonundaki artış guanin yükseltgenme sinyalini önemli ölçüde değiştirmemiştir. Ancak 5µg/mL konsantrasyonundaki BC. ile etkileşim sonuçlarına bakıldığında, sinyalde çok az bir farklanma ve konsantrasyon arttırıldıkça bu farklanmanın sabit kaldığı gözlenmiştir.



5 µg/mL konsantrasyondaki BC.' nin 10 µg/mL konsantrasyondaki dsDNA ile etkileşimine dair diferansiyel puls ölçümlerinde, ortalaması 1,21 µA ve bağıl standart sapması (RSD) % 4,9 (n=3) olan anlamlı bir guanin yükseltgenme sinyali elde edilmiştir.

### 3.5.2. BC. etkileşim süresindeki değişimin guanin yükseltgenme sinyali üzerine etkisinin incelenmesi

3.5.1.' den elde edilen veriler doğrultusunda 5 µg/mL BC.' nin 10 µg/mL dsDNA ile etkileşiminde sürenin etkisini inceleyebilmek için etkileşim süresi 1-10 dakika arasında arttırıldı ve sonuçlardan Şekil 27' deki grafik elde edilmiştir.



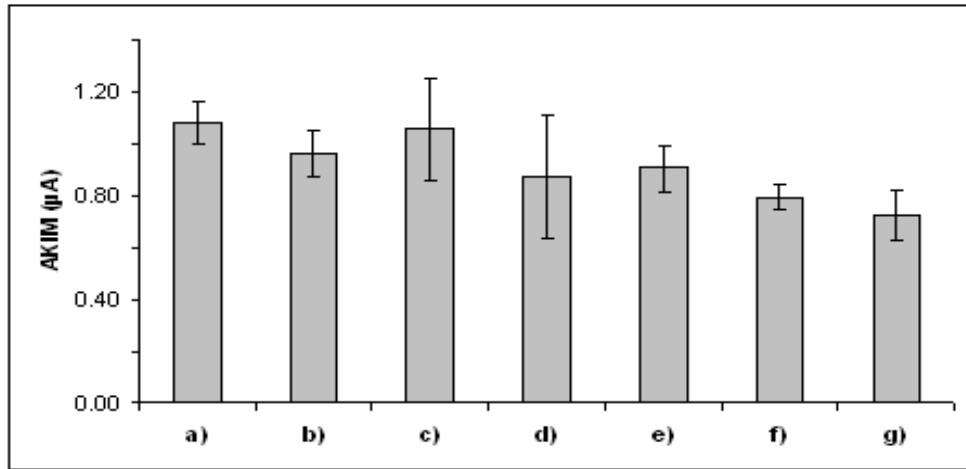
**Şekil 27-** 10µg/mL dsDNA ile 5µg/mL BC.' nin farklı sürelerde etkileşmesine ait guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklükleri.

Guanin yükseltgenme sinyalinde etkileşim süresi arttırıldıkça bir düşüş gözlemlendi. Bu düşüşün 3. dakikadan sonra sabitlenmesi nedeniyle optimum etkileşim zamanı olarak 3. dakika saptandı.

5 µg/mL konsantrasyondaki BC.' nin 10 µg/mL dsDNA ile 3 dakika boyunca etkileşimine ait diferansiyel puls ölçümlerinde, ortalaması 1,21 µA ve bağıl standart sapması (RSD) % 5,7 (n=3) olan anlamlı guanin yükseltgenme sinyali elde edilmiştir.

### 3.5.3. BC. ile dsDNA' nın çözelti ortamında etkileşiminin guanin yükseltgenme sinyali üzerinden incelenmesine ait bulgular

Çözelti fazında 5 µg/mL dsDNA ile 2-30 µg/mL konsantrasyonları arasında değişen BC.' nin etkileşiminden elde edilen guanin yükseltgenme sinyallerinin ortalama büyüklüklerini gösteren grafik Şekil 28' deki gibidir.



**Şekil 28-** Çözelti fazında etkileşen guanin yükseltgenme sinyaline ait histogramlar; **a)** 5µg/mL dsDNA ile **BC.** etkileşmeden önce **b)** Etanol/Asetat tamponu karışımı ile etkileştikten sonra **c)** 2 **d)** 5 **e)** 10 **f)** 20 **g)** 30 µg/mL konsantrasyonlarda **BC.** ile etkileştikten sonra elde edilen sinyallerin ortalama büyüklükleri.

Grafiğe göre BC. konsantrasyonundaki artış guanin yükseltgenme sinyalini önemli ölçüde değiştirmedigi tespit edilmiştir.

### 3.6. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile etkileşen şalkon türevlerine ait bağlanma katsayılarının hesaplanması

Şalkon türevlerinin DNA ile etkileşimlerine ait bağlanma katsayılarının değeri aşağıdaki Eşitlik 2 kullanılarak hesaplandı (56).

$$\text{DNA} + \text{İlaç} \leftrightarrow \text{DNA} - \text{İlaç} \quad 1$$
$$\text{Log} (1/\text{İlaç}) = \text{Log} K + \text{Log} \left( \frac{I_{\text{DNA} - \text{İlaç}}}{I_{\text{DNA}} - I_{\text{DNA} - \text{İlaç}}} \right) \quad 2$$

K = Görünen bağlanma katsayısı (apparent binding constant)

$I_{\text{DNA}}$  = Tek başına DNA' dan alınan sinyal

$I_{\text{DNA} - \text{İlaç}}$  = İlacın DNA ile etkileşmesinden sonra, DNA' dan alınan sinyal

I = Elde edilen akım

$\text{Log}(1/\text{İlaç})$ ' dan elde edilen sayısal değere karşı,  $\text{Log} (I_{\text{DNA} - \text{İlaç}} / I_{\text{DNA}} - I_{\text{DNA} - \text{İlaç}})$ ' dan elde edilen sayısal değere göre çizilen doğrusal çizgiden K değeri hesaplanır. K elde edilen doğrunun formülündeki interseptten bulunur. Tablo I bu çalışmadan elde edilen ve bazı literatüre girmiş çalışmalardan elde edilen bağlanma katsayılarını içermektedir.(31, 56)

Yapılan çalışmada; şalkon türevlerinin DNA ile etkileşimlerine ait hesaplanan bağlanma katsayıları (apparent binding constant), daha önce

yapılmış ve dünya literatürüne girmiş diğer çalışmalarda hesaplananlarla tutarlıdır. Elde edilen değerler göstermiştir ki; MC ve DMC' nin DNA ile olan etkileşimleri BC' ye göre daha fazladır ve birbirine yakındır. BC' nin ise DNA ile etkileşimi diğer türevlere göre oldukça azdır.

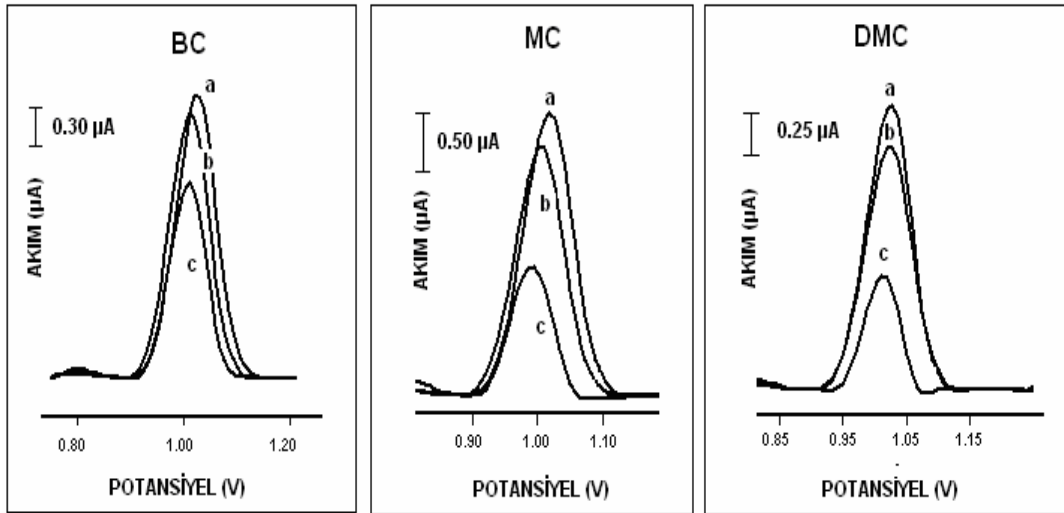
**Tablo 1-** DNA – İlaç etkileşimlerine ait bağlanma katsayı değerleri

<b>Kompleks</b>	<b>Bağlanma katsayısı <math>K(M^{-1})10^4</math></b>	<b>Referans</b>
DNA - MC	15,8 ± 4,2	Bu çalışma
DNA – DMC	25,7 ± 4,5	Bu çalışma
DNA – BC	1,7 ± 0,2	Bu çalışma
DNA – Ciprofloxacın	1,32 ± 0,08	56
Nogalamycin – DNA	45,0 ± 11,2	31
Adriamycin – DNA	18,2 ± 3,6	31
Daunomycin – DNA	8,9 ± 2,1	31
4' – deoxyadriamycin – DNA	9,3 ± 2,7	31

## BÖLÜM IV

### TARTIŞMA

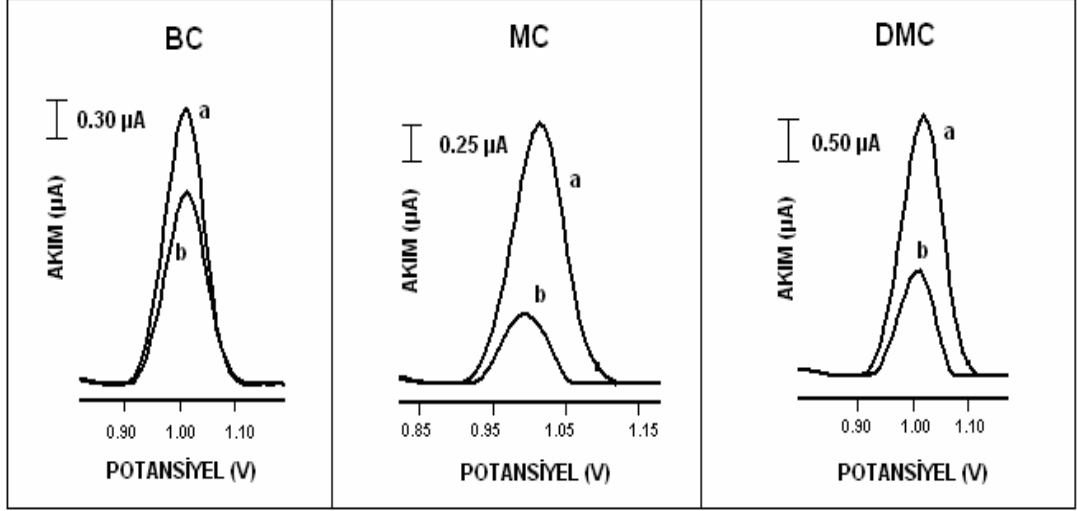
#### 4.1. dsDNA ile şalkon türevlerinin etkileşimlerinin genel olarak incelenmesi



**Şekil 29-** PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile etkileşimden elde edilen guanin yükseltgenme sinyaline ait diferansiyel puls voltamogramları; **a)** dsDNA ile şalkon türevleri etkileşmeden önce **b)** Etanol/Asetat tamponu karışımı ile etkileştikten sonra **c)** Şalkon türevleri ile etkileştikten sonra

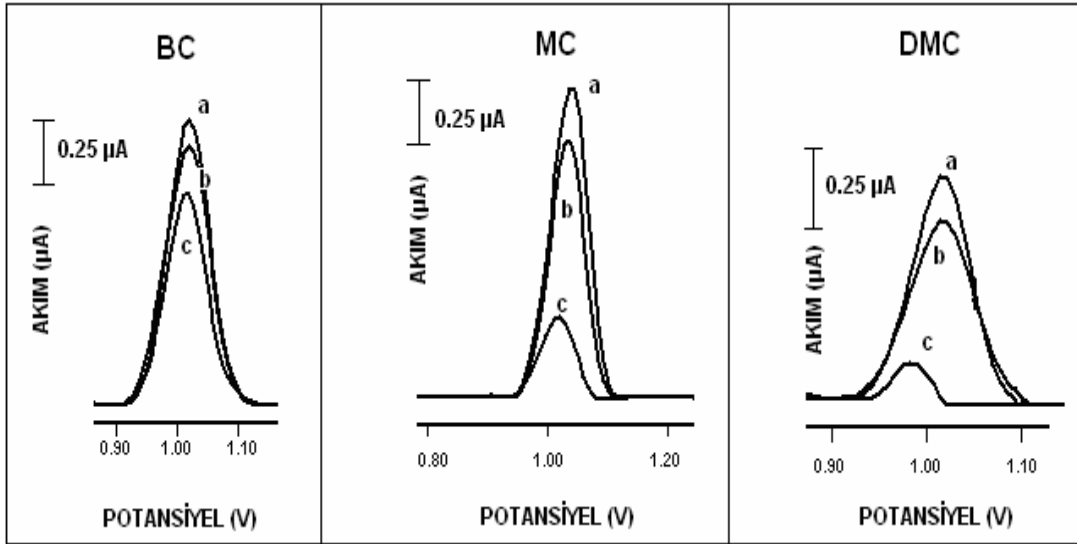
Şeki 29' a göre; PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile etkileşen şalkon türevleri incelenildiğinde BC. türevinin DNA' ya ait olan elektroaktif baz guaninin yükseltgenme sinyalini çok az düşürdüğü gözlenirken, DMC. ve

MC.' nin guanin sinyalini BC.' ye göre daha fazla düşürdüğü gözlemlendi. DMC. ve MC. birbirleriyle kıyaslandığında guanin bazının yükseltgenme sinyalini birbirine yakın oranlarda etkilediği saptandı. Bütün şalkon türevlerinin guanin sinyaline etkisi türevlerin 5 µg/mL konsantrasyonundan sonra sabitlenmiştir.



**Şekil 30-** Farklı sürelerde etkileşen dsDNA ile şalkon türevlerinin guanin yükseltgenme sinyalini gösteren diferansiyel puls voltamogramları; **a)** dsDNA ile şalkon türevleri etkileşmeden önce **b)** etkileşimden sonra

Şekil 30' a göre; etkileşimler süre bakımından incelendiğinde; BC. ile MC.' nin guanin sinyaline etkisi 3. dakikadan sonra sabitlenirken, DMC.' in etkisi 5. dakikadan sonra sabitlendiği görülür. DMC.' nin 5. dakikadaki etkisiyle MC.' nin 3. dakikadaki etkileri birbirine yakın BC.' nin ise yine diğer türevlere nazaran daha azdır.



**Şekil 31-** dsDNA ile şalkon türevlerinin çözelti fazında etkileşimlerinden elde edilen guanin yükseltgenme sinyaline ait diferansiyel puls voltamogramları; **a)** dsDNA ile şalkon türevleri etkileşmeden önce **b)** Etanol/Asetat tamponu karışımı ile etkileştikten sonra **c)** Şalkon türevleri ile etkileştikten sonra

Şekil 31' e göre; çözelti fazında etkileşimlere bakıldığında BC. için, 20 µg/mL konsantrasyonda kullanılmasına rağmen guanin yükseltgenme sinyaline etkisinin çok az olduğu görülür. Diğer türevlerin guanin yükseltgenme sinyaline etkisi oldukça fazladır. MC. incelendiğinde, etkinin sabitlenmesi için 2 µg/mL konsantrasyon yetmiştir. DMC. için konsantrasyon arttıkça guanin yükseltgenme sinyali düşmüş, elde edilen sinyalin sayısal değeri 0,1 µA' inde aşağısına inmiştir. Çözelti fazında etkileşen dsDNA ile DMC. için; guanin yükseltgenme sinyalinin, diğer türevlere nazaran daha fazla etkilenmesinin sebebi, DMC.' nin yapısındaki alken grubunun 2 konumundaki karbonuna ait çifte bağın doyurulmasıyla daha serbest hareket edebilme özelliği kazanan DMC.' nin, çözelti fazında daha fazla guanin yakalayarak etkileştiği şeklinde açıklanabilir.

Etkileşimlere genel olarak bakıldığında, bitkilerde flavonoidlerin sentezlenmesi için temel yapı olan şalkonlar sentez basamaklarındaki farklılıklara göre dsDNA ile etkileşimlerinde farklı davranışlar sergilemişlerdir.

Bağlanan sübstitüentleri dışında bütün yapısı aynı olan BC. ile MC.' nin guanin sinyaline etkileri de farklıdır. Bu farklanma temel şalkon yapısına eklenen sübstitüentlerden ileri gelebilir. Bu durum DMC.' nin guanin ile etkileşiminin, MC.' nin guanin ile etkileşimiyle birbirine yakın oranlarda olmasıyla desteklenir. Öte yandan DMC. ile MC.' nin, yapılarında bulunan alken grubunun 2 konumundaki karbona ait doyurulan çifte bağın dışında bütün yapısı aynıdır. Fakat iki türevde guanin sinyalinin oldukça düşürmüştür. Bu durumun guanine etkinin, temel şalkon yapısından ziyade ona bağlanan sübstitüentden olduğunu düşündürmektedir. BC.' nin de guanin yükseltgenme sinyaline etkisinin MC.' ye göre daha az olması guanin sinyaline etkinin temel şalkon yapısına göre daha çok şalkona bağlanan sübstitüentden ileri geldiği düşüncesini desteklemektedir.



## BÖLÜM V

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, MC., DMC. ve BC.' nin dsDNA ile etkileşimleri kalem grafit elektrot ile diferansiyel puls voltametri tekniği kullanılarak çalışıldı. Etkileşimler DNA' ya ait elektroaktif baz guanin yükseltgenme sinyalindeki değişimlere göre incelendi. Ayrıca; çalışmanın yapılacağı aralıkta, türevlere ait herhangi bir yükseltgenme/indirgenme sinyalinin olup olmadığı karbon pastası elektrotu ile dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak tespit edildi. MC. ve DMC.' ye ait +1,25 V civarında tersinir olmayan bir yükseltgenme sinyali belirlenirken BC.' ye ait herhangi bir sinyal belirlenmedi.

Üç şalkon türevinin DNA ile çözelti fazında etkileşimi çalışmasında; optimum dsDNA konsantrasyonunu belirleyebilmek için konsantrasyon çalışması yapıldı. 5 µg/mL dsDNA konsantrasyonu çalışma için optimum konsantrasyon olarak belirlendi. DNA ile çözelti fazında etkileşen MC ve DMC için sırasıyla optimum konsantrasyonlar 2 ve 20 µg/mL olarak saptandı. BC.' nin ise artan konsantrasyonlarının guanin sinyalini önemli ölçüde değiştirmediği gözlemlendi. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile etkileşen MC., DMC. ve BC. için optimum konsantrasyonlar hepsi için 5 µg/mL olarak belirlendi. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile etkileşen MC., DMC. ve BC. için etkileşim süreleri incelendiğinde, optimum etkileşim süreleri sırasıyla 3, 5 ve 3 dakika olarak saptandı. Ayrıca +1,25 V civarında

yükseltgenme sinyali tespit edilen türevlerden MC. için, çalışma ortamının pH' sı değiştirildiğinde sinyalde nasıl bir değişiklik olduğu diferansiyel puls voltametri tekniği kullanılarak incelendi. Buna göre asetat tamponu (pH=4,8) çalışma ortamı olarak kullanıldı.

Şalkon türevlerinin dsDNA ile etkileşimlerine dair üç farklı parametre incelendi. Bunlar;

- Kalem grafit elektrot yüzeyine immobilize edilmiş dsDNA ile etkileşim
- Çözelti fazında etkileşim
- Etkileşim süresi' dir

Her bir maddenin yukarıdaki üç farklı parametreye göre dsDNA ile etkileşimlerinden elde edilen guanin yükseltgenme sinyalindeki değişiklikler incelendi. Bu değişikliklere göre her bir maddenin dsDNA' ya etkisi hakkında yorum yapıldı. MC. ve DMC. guanin yükseltgenme sinyalini oldukça düşürürken BC. sinyali diğerlerine göre daha az oranda düşürdü. Buradan MC. ve DMC.' nin, BC.'ye göre DNA' yı daha çok etkilediği yorumuna varıldı. Ayrıca çalışılan şalkon türevlerinin yapısal olarak birbirine çok benzemesi, temel şalkon yapısındaki küçük değişikliklerin etkileşimi nasıl etkilediği ya da etkilemediği hakkında yorum yapılabilmesini sağladı. Her bir şalkon türevinin dsDNA' ya etkisi birbirine göre kıyaslandı. PGE yüzeyine immobilize edilen dsDNA ile etkileşen şalkon türevlerine ait görünen bağlanma katsayı (apparent binding constant) değerleri hesaplandı. MC., DMC. ve BC. için sonuçlar sırasıyla ( $K=$ )  $15,8 \pm 4,2 \times 10^4$ ,  $25,7 \pm 4,5 \times 10^4$ ,  $1,7 \pm 0,2 \times 10^4$  olarak bulundu.

Türevlerden MC. ve DMC. guanin yükseltgenme sinyalini oldukça düşürürken BC. onlara nazaran sinyalin daha az düşmesini sağladı. Bu

durum  $-CH_3O$  grubunun  $-Br.$ ' a nazaran guanin bazının yükseltgenmesini daha fazla etkilediği şeklinde açıklanabilir. Temel şalkon yapısına farklı sübstitüentlerin eklenmesi dsDNA' ya olan etkiyi değiştirdiği sonucuna da varılabilir.

Günümüzde insanların yiyecek olarak bolca tükettiği bitkilerde bulunan flavonoidlerin sentezinde temel yapı olan şalkonlar, çok çeşitli farmokolojik özellikleri bakımından son zamanlarda hastalıklara karşı ilaç geliştirmede oldukça fazla sentezlenmektedir. Bunun gibi yeni sentezlenen ilaçların DNA ile etkileşimlerinin hızlı ve güvenilir bir biçimde ortaya konması, bilim ve teknolojinin çok hızlı geliştiği günümüzde DNA hedefli ilaç geliştirme çalışmalarına katkıda bulunmaktadır.

Sonuç olarak çalışmalarda; dsDNA ile ilaç etkileşimi tek kullanımlık sensör kalem grafit elektrot ile elektrokimyasal olarak incelenebilmiştir. Geliştirilen yöntemin hızlı, güvenilir ve ucuz maliyetli olması bu alanda daha çok çalışma yapılmasına dolayısıyla DNA – ilaç etkileşimi hakkında edinilen bilgilerin daha çok gelişmesine olanak sağlamaktadır. DNA ile etkileşime giren maddelerin tayini, DNA hedefli ilaçların geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır.

## ÖZET

Yapılan çalışmada bazı şalkon türevlerinin DNA ile olan etkileşimleri elektrokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Etkileşimlerin belirlenebilmesi için elektrokimyasal tayin tekniklerinden diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği ile tek kullanımlık kalem elektrot (PGE) çalışma elektrodu olarak kullanıldı. Şalkon türevlerinin DNA ile etkileşimi; DNA modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde ve çözelti fazında olmak üzere iki şekilde gerçekleştirildi. Ayrıca etkileşimler için konsantrasyon, etkileşim süresi ve tekrarlanabilirlik gibi parametreler incelenip, DNA modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde etkileşim için her bir şalkon türevine ait görünen bağlanma katsayısı (apparent binding constant) değeri hesaplanmıştır.

Etkileşimleri incelenen şalkon türevlerinden DMC ve MC, DNA' ya ait guanin yükseltgenme sinyalini oldukça düşürürken, BC ise sinyali diğerlerine göre daha az oranda düşürmüştür. Yapısal olarak birbirleri arasında çok küçük farklılıklar taşıyan şalkon türevlerinin, DNA' ya olan etkileri de farklı olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak; yapılan çalışmada bazı şalkon türevlerinin DNA ile etkileşimlerini hızlı ve güvenilir bir şekilde ortaya koyan, biyosensör tasarımı yapılmıştır.

## SUMMARY

In the study, the interaction of some chalcone derivatives with DNA structure was examined with electrochemical methods. For the determination of interactions, Differential Pulse Voltammetry (DPV) technique that is an electrochemical designation technique was used. Disposable pencil graphite electrode (PGE) was used for a working electrode. Interaction of chalcone derivatives with DNA structure was done in two ways; on DNA modified electrode surface and in solution phase. And furthermore the parameters that are concentration, interaction time and repeatability were examined for interactions. The apparent binding constant values of every chalcone derivatives were calculated for the interaction on DNA modified electrode surface.

From chalcone derivatives that interactions have been studied; DMC and MC quite reduced the oxidation signal of guanine. BC reduced the signal less than the others. Chalcone derivatives that have quite differences between their structures effected to DNA structure differently.

At result; in the study, a biosensor designation was done that brings up the interaction of some chalcone derivatives with DNA structure quickly and reliable.

## YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Analitik Kimyanın Temelleri, Skoog, D. A., West, D.A., Holler, F.J., Çeviri editörleri; Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, (1996), Bilim Yayıncılık, 7. Baskı, 303-495.
2. Anto, R. J., Sukumaran, K., Kuttan, G., Rao, M. N. A., Subbaraju, V. and Kuttan, R. (1995). Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds, *Cancer Letters*, 97: 33-37.
3. Brett, A.M. Oliveira, Serrano, S.H.P., Gutz, I., La-Scalea, M.A., Cruz, M.L. (1997). Voltammetric behaviour of nitroimidazoles at a DNA-biosensor, *Electroanalysis*, 9: 1132-1137.
4. Brett, A.M. Oliveira, Serrano, S.H.P., Macedo, T.A., Raimundo, D., Marques, M. H., La-Scalea, M.A. (1996). Electrochemical determination of Carboplatin in serum using a DNA-modified glassy carbon electrode, *Electroanalysis*, 8: 992-995.
5. Brett, C.M.A., Brett, A.M.O. (1992). *Electrochemistry*, Oxford University Press, 3.baskı.
6. Cai, X., Rivas, G., Farias, P.A.M., Shiraishi, H., Wang, J., Fojta, M., Palecek, E. (1996). Trace measurements of plasmid DNAs by adsorptive stripping potentiometry at carbon paste electrodes, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 40: 41-47.

7. Cai, X., Rivas, G., Shirashi, H., Farias, P., Wang, J., Tomschik, M., Jelen, F., Palecek, E. (1997). Electrochemical analysis of formation of polynucleotide complexes in solution and at electrode surfaces, *Anal. Chim. Acta*, 344: 65-76.
8. Carter, M.T. and Bard, A. J. (1987). Voltammetric studies of the interaction of tris (1,10-phenanthroline) cobalt (III) with DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, 109: 7528-7530.
9. Carter, M.T., Rodriguez, M., Bard, A.J. (1989) Voltammetric studies of the interaction of metal chelates with DNA. 2. Tris chelated complexes of Cobalt (III) and Iron (II) with 1,10-phenanthroline and 2, 2'-Bipyridine, *J. Am. Chem. Soc.*, 111: 8901-8911.
10. Correa, R., Pereira, M. A. S., Buffon. D., Dos Santos, L., Filho, V. C., Santos, A. R. S. and Nunes, R. J.(2001). Antinociceptive properties of chalcones. Structure – activity relationships, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 334: 332-334.
11. Coulet, P. R. (1991). What is a Biosensor?, *Chapter 1; Biosensor principles and applications*, Editörler; L.J.Blum, P.R. Coulet, Marcel Dekker Inc., New York, 1-6.
12. Deforce, D.L.D., Ryniers, F.P.K., Van den Eeckhout, E.G., Lemiere, F. Esmans, E.L.(1996). Analysis of DNA adducts in DNA hydrolysates by capillary zone electrophoresis and capillary zone electrophoresis-electrospray mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 68: 3575-3584.
13. Dervan, P.B. (1998). Sequence specific recognition of double helical DNA. A synthetic approach, *Nucleic Acids and Molecular Biology*, Vol.2: Ed. Eckstein, F. and Lilley, D.M.J., Springer-Verlag, Berlin, s.49-64.

14. Dimmock, J. R., Erciyas, E., Kumar, P., Hetherington, M., Quail, J. W., Pugazhenthii, U., Arpin, S. A., Hayes, S. J., Allen, T. M., Halleran, S., De Clercq, E., Balzarini, J. and Stables, J. P. (1997). Mannich bases of phenolic azobenzenes possessing cytotoxic activity, *Eur. J. Med. Chem.*, 32: 583-594.
15. Dimmock, J. R., Kandepu, N. M., Hetherington, M., Quail, J. W., Pugazhenthii, U., Sudom, A. M., Chamankhah, M., Rose, P., Pass, E., Allen, T. M., Halleran, S., Szydowski, J., Mutus, B., Tannous, M., Manavathu, E. K., Myers, T. G., De Clercq, E. and Balzarini, J. (1998). Cytotoxic activities of mannich bases of chalcones and related compounds, *J. Med. Chem.*, 41: 1014-1026.
16. Ducki, S., Forrest, R., Hadfield, J. A., Kendall, A., Lawrence, N. J., McGown, A. T. and Rennison, D. (1998). Potent antimitotic and cell growth inhibitory properties of substituted chalcones, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 8: 1051-1056.
17. Eddarir S., Cotelle N., Bakkour Y., Rolando C. (2003). An efficient synthesis of chalcones based on the Suzuki reaction, *Tetrahedron Letters*, 44: 5359-5363.
18. El – Subbagh, H. I., Abu – Zaid, S. M., Mahran, M. A., Badria, F. A. and Al – Obaid, A. M. (2000). Synthesis and biological evaluation of certain  $\alpha,\beta$  – unsaturated ketones and their corresponding fused pyridines as antiviral and cytotoxic agents, *J. Med. Chem.*, 43: 2915-2921.
19. Enstrümental Analiz, Prof. Dr. Atilla Yıldız ve Prof. Dr. Ömer Genç, Hacettepe Yayınları A-64, 1993, sayfa;289-384.
20. Erdem A, Ozsoz M. (2001). Interaction of the anticancer drug epirubicin with DNA, *Anal. Chim. Acta*, 437: 107-114.



21. Erdem A., Kerman K., Meriç B., Akarca U.S., Ozsoz M. (2000). Novel hybridization indicator methylene blue for the electrochemical detection of short DNA sequences related to the hepatitis B virus, *Anal. Chim. Acta*, 422: 139-149.
22. Erdem A., Kerman K., Meriç B., Akarca U.S., Ozsoz M. (1999). DNA electrochemical biosensor for the detection of short DNA sequences related to the hepatitis B virus, *Electroanalysis*, 11: 586-588.
23. Erdem A., Ozsoz M. (2001). Voltammetry of the anticancer drug mitoxantrone and DNA, *Turk. J. Chem*, 25: 469-475.
24. Erdem A., Ozsoz M. (2002). Electrochemical DNA biosensors based on DNA- Drug interactions, *Electroanalysis*, 14: 965-974.
25. Erciyas, E., Erkaleli, H. İ. and Cosar, G.(1994). Antimicrobial evaluation of some styryl ketone derivatives and related thiol adducts, *J. Pharm. Sci.*, 83: 545-548.
26. Evans; A.(1991). Potentiometry and ISE , ACOL, London, s.106-198.
27. Hall, E.A.H.(1990). Biosensors, Ch.1: Biosensors in context , Open University Press, İngiltere; s.3-30.
28. Herencia, F., Ferrandiz, M. L., Ubeda, A., Dominguez, J. N., Charris, J. E., Lobo, G. M. and Alcaraz, M. J.(1998). Synthesis an anti – inflammatory activity of chalcone derivatives, *Biorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 8: 1169-1174.
29. Herencia, F., Ferrandiz, M. L., Ubeda, A., Guillen, I., Dominguez, J. N., Charris, J. E., Lobo, G. M. and Alcaraz, M. J.(1999). Novel anti – inflammatory chalcone derivatives inhibit the induction of nitric oxide synthase and cyclooxygenase – 2 in mouse peritoneal macrophages, *FEBS Letters*, 453: 129-134.

30. Hsieh, H. K., Tsao, L., Wang, J. and Lin, C. (2000). Synthesis and anti – inflammatory effect of chalcones, *J. Pharm. Pharmacol.*, 52: 163-171.
31. Ibrahim, M. S. (2001). Voltammetric studies of the interaction of nogalamycin antitumor drug with DNA, *Analytica Chimica Acta*, 443: 63-72.
32. Jelen, F., Erdem A., Palecek, E. (2002). Cyclic voltammetry of echinomycin and its interaction with double-stranded and single-stranded DNA adsorbed at the electrode, *Bioelectrochemistry*, 55: 165-167.
33. Johnston, D.H., Glasgow, K.C., Thorp, H.H. (1995). Electrochemical Measurement of the solvent accessibility of nucleobases using electron transfer between DNA and Metal complexes, *J. Am. Chem. Soc.*, 117: 8933-8938.
34. Johnston, D.H., Thorp, H.H. (1996). Cyclic voltammetry studies of polynucleotide binding and oxidation by metal complexes: Homogeneous electron-transfer kinetics, *J. Phys. Chem.*, 100: 13837-13843.
35. Johnston, D.H., Welch, T.W., Thorp, H.H. (1996). Electrochemically activated nucleic acid oxidation; Metal Ions in Biological systems, Ed. Sigel, A., Sigel, H.; Vol. 33: *Marcel Dekker*, Inc, NY; 299-324.
36. Ju, H., Zhou, J., Cai, C., Chen, H. (1995). The electrochemical behavior of methylene blue at a microcylinder carbon fiber electrode, *Electroanal.*, 7: 1165-1170.
37. Karadeniz H., Gulmez B., Sahinci F., Erdem A., Irem Kaya G., Unver N., Kivcak B., Ozsoz M. (2003). Disposable electrochemical biosensor for the detection of the interaction between DNA and lycorine based on guanine and adenine signals, *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 33: 295-302.

38. Kelley, S. O., Barton, J.K. (1997). Electrochemistry of methylene blue bound to a DNA-modified electrode, *Bioconjugate Chem.*, 8: 1997, 31-37.
39. Kelley, S. O., Holmlin, R. E., Stemp, E.D.A. and Barton, J.K. (1997). Photoinduced electron transfer in Ethidium-modified DNA duplexes: dependence on distance and base stacking, *J. Am. Chem. Soc.*, 119: 9861-9870.
40. Kolakowski, B., Battaglini, F., Lee, Y.S., Giannoula, K., Mikkelsen, S.R. (1996). Comparison of an intercalating dye and an intercalant-enzyme conjugate for DNA detection in a microtiter-based assay, *Anal. Chem.*, 68: 1197-1200.
41. Labuda J., Buckova M., Heilerova L., Caniova-Ziakova A., Brandsteterova E., Mattusch J., Wennrich R. (2002). Voltammetric detection of antioxidative properties of flavanoids using electrically heated DNA modified Carbon Paste Electrode, *Sensors*, 2: 1-10.
42. Liu, J., Abid, S., Hail, M.E., Lee, M.S., Hangeland, J., Zein, N. (1998). Use of affinity capillary electrophoresis for the study of protein and drug interactions, *Analyst*, 123: 1455-1459.
43. Liu, S., Ye, J., He, P. ve Fang, Y. (1996). Voltammetric determination of sequence-specific DNA by electroactive intercalator on graphite electrode, *Anal. Chim. Acta*, 335: 239-243.
44. Lucarelli, F., Palchetti, I., Marazza, G., Mascini, M. (2002). Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and wastewater samples, *Talanta*, 56: 949-957.
45. Lukasova, E., Jelen, F. and Palecek, E. (1982). Electrochemistry of Osmium-Nucleic acid complexes: A probe for single-stranded and distorted double-stranded regions in DNA, *Gen. Physiol., Biophys.*, 1: 53-70.

46. Marazza, G., Chianella, I., Macsini, M. (1999). *Anal. Chim. Acta*, 387: 297-307.
47. Marin, D., Perez, P., Teijeiro, C., Palecek, E. (1998). Interactions of surface-confined DNA with acid-activated mitomycin C, *Biophysical Chemistry*, 75: 87-95.
48. Mascini, M. (2001). Affinity electrochemical biosensors for the pollution control, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 73: No. 1, pp.23-30.
49. Mikkelsen, S.R. (1996). Electrochemical biosensors for DNA sequence detection- a review, *Electroanalysis*, 8 (1): 15-19.
50. Mikkelsen, S. (1994). Sequence-selective DNA Sensors for the diagnosis of inherited diseases (Voltametric), *A.B.D Patent no: 5,312,527 (05/17/1994)*.
51. Millan, K.M., Mikkelsen, S.R. (1993). Sequence-selective biosensor for DNA Based on electroactive hybridization indicators, *Anal. Chem.*, 65: 2317-2323.
52. Millan, K.M., Saraullo, A., Mikkelsen, S.R. (1994). Voltammetric DNA Biosensor for cystic fibrosis based on a modified carbon paste electrode, *Anal. Chem.*, 66: 2943-2948.
53. Millan, K.M., Spurmanis, A. J., Mikkelsen, S.R. (1992). Covalent immobilization of DNA onto glassy carbon electrodes, *Electroanalysis*, 4: 929-932.
54. Molinier-Jumel, C., Malfroy, B., Reynaud, J. A. and Aubel-Sadron, G. (1978). Electrochemical study of DNA-Anthracyclines interactions, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 84(2): 441-449.

55. Müller, W., Crothers, D.M. (1975). Interactions of heteroaromatic compounds with nucleic acids, *Eur. J. Biochem.*, 54: 267-277.
56. Nawaz, H., Rauf, S., Akhtar, K., Khalid, A. M. (2006). Electrochemical DNA biosensor for the study of ciprofloxacin – DNA interaction, *Analytical Biochemistry*, 354: 28-34.
57. Opletalova, V., Buchta, V., Hartl, J. and Patel, A. (1998). Antifungal properties of 2', 5' Chalcones in vitro, *2<sup>nd</sup> European Symposium on Antimicrobial Agents: Mechanism of Action and Structure – Activity Relationships, Hradec Kralove, Czech Republic, July 1-4.*
58. Ozsoz M., Erdem A., Kara P., Kerman K., Ozkan D. (2002). Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on guanine signal, *Electroanalysis*, 15: 613-619.
59. Palecek, E. (1996). From Polarography of DNA to Microanalysis with Nucleic Acid Modified Electrodes, *Electroanalysis*, 8 (1): 7-14.
60. Palecek, E. (1995). Nucleic acids: electrochemical and immunochemical methods, *Encyclopedia of Analytical Science* (ed. by Alan Townshend), London, *Academic press*, Vol. 6: 3600-3609.
61. Paz, M.M., Das, A., Tomasz, M. (1999). Mitomycin C linked to DNA minor groove binding and cross-linking properties and in vitro antitumor activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 7: 2713-2726.
62. Perez, P., Teijeiro, C., Marin, D. (1999). Interactions of surface-confined DNA with electroreduced mitomycin C comparison with acid-activated mitomycin C, *Chemico-Biological Interactions*, 117: 65-81.
63. Pietrzyk, D.J.; Frank, C.W. (1979). *Analytical Chemistry*, 2. Baskı, *Academic press*: s.226- 239.

64. Pividori, M.I., Merkoçi, A., Alegret, S. (2000). Electrochemical genosensor design: immobilisation of oligonucleotides onto transducer surfaces and detection methods, *Biosensors and Bioelectronics*, 15: 291-303.
65. Ram, V. J., Saxena, A. S., Srivastava, S. and Chadra, S.(2000). Oxygenated chalcones and bis chalcones as potential antimalarial agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 10: 2159-2161.
66. Richardson, C. L., Springfield, G.E.S. et al., Intercalation inhibition assay for compounds that interact with DNA or RNA, *Amerikan patent no*; 4,257,774 / 24 Mart 1981).
67. Service R.F.(1998). New focus: Microchip arrays put DNA on the spot, *Science*, 282: 396.
68. Shibata, S.(1994). Anti – tumorigenic chalcones, *Sten Cells*, 12: 44-52.
69. Singh, G. B., Leach, G. D. H. and Atal, C. K.(1987). Antiinflammatory actions of methyl – and phenyl – 3 – methoxy – 4 – hydroxy styryl ketones, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 37: 435-440.
70. Söğüt, E., Ö., Kayalı, A.(2005). Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 34(1): 41-57.
71. Steinbach, P.B., Hurtubise, R.J.(2000). Fluorescence of tetrols, tetrols complexed with DNA and benzo[a]pyrene-DNA adducts in methanol / water solutions, *Appl. Spect.*, 54: 287-293.
72. Takenaka, S., Ihara, T., Takagi, M.(1990). Bis-9 acridinyl derivative containing a viologen linker chain: electrochemically active intercalator for reversible labelling of DNA, *J. Chem. Soc., Chem. Communications*, 21: 1485-1487.

73. Takeuchi, K.J., Thompson, M.S., Pipes, D.W., Meyer, T. J. (1984). Redox and spectral properties of monooxo polypyridyl complexes of ruthenium and osmium in Aqueous media, *Inorg. Chem.*, 23: 1845-1851.
74. Teijeiro, C., Perez, P., Marin, D., Palecek, E.(1995). Cyclic voltammetry of mitomycin C and DNA , *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 38: 77-83.
75. Temel Biyokimya 2, (1997). Bölüm 8: Bilgi Kaynağı olan Makromoleküller; Editörler, Prof. Dr. Taner Onat, Prof. Dr. Kaya Emerk; Saray Medikal Yayıncılık, 2. Baskı: sayfa 565-567.
76. Thayer, A.M. (30 Ağustos 1999). Deciphering Diseases, Chemical & Engineering News, Ed. by M. Jacobs, American Chemical Society, North Carolina, 19-28.
77. Tomschik, M., Jelen, F., Havran, L., Trnkova, L., Nielsen, P.E., Palecek, E.(1999). Reduction and oxidation of peptide nucleic acid and DNA at mercury and carbon electrodes, *J. Electroanal. Chem.*, 476: 71-80.
78. Tuite, E., Norden, B.(1994). Sequence-specific interactions of methylene blue with polynucleotides and DNA : A spectroscopic study, *J. Am. Chem. Soc.*, 116: 7548-7556.
79. Turner, A.P.F.(1987). Biosensors: Fundamentals and Applications, Editörler; Turner, A.P.F., Karube, I. and Wilson, G.S.; Oxford University Press, Oxford, sayfa v-vii.
80. Vincenzo, R. D., Ferlini, C., Distefano, M., Gaggini, C., Riva, A., Bombardelli, E., Morazzoni, P., Valenti, P., Belluti, F., Ranelletti, F. O., Mancuso, S. and Scambia, G.(2000). In vitro evaluation of newly developed chalcone analogues in human cancer cells, *Cancer Chemomother. Pharmacol.*, 46: 305-312.

81. Wang et al. (1997). DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. A Review, *Anal. Chim. Acta* , 347: 1.
82. Wang, A.H.-J.(1987). Interactions between antitumor drugs and DNA, *Nucleic Acids and Molecular Biology*, Vol.1: 52-69. (Editörleri; Eckstein, F., Lilley, D.M.J., Springer-Verlag Berlin Heidelberg - Germany)
83. Wang, J., Cai, X., Rivas, G., Shiraishi, H., Farias, P.A.M., Dontha, N.(1996). DNA electrochemical biosensor for the detection of short DNA sequences related to the human immunodeficiency virus, *Anal. Chem.*, 68: 2629-2634.
84. Wang, J., Kawde, A.N., Erdem, A., Salazar, M.(2001). Magnetic bead-based label-free electrochemical detection of DNA hybridization, *Analyst*, 126: 2020-2024.
85. Wang, J., Ozsoz, M., Cai, X., Rivas, G., Shiraishi, H., Grant, D.H., Chicarro, M., Fernandes, J. R. and Palecek, E.(1998). Interactions of antitumor drug daunomycin with DNA in solution and at the surface, *Bioelectrochem. and Bioenerg.*, 45: 33 - 40.
86. Wang, J., Rivas, G., Cai, X., , Shiraishi, H., Farias, A.M.P., Dontha, N., Luo, D.(1996). Accumulation and trace measurements of phenothiazine drugs at DNA-modified electrodes , *Anal. Chim. Acta*, 332: 139-144.
87. Wang, J., Rivas, G., Fernandes, J.R., Jiang, M., Paz, J.L.L., Waymire, R., Nielsen, T.W., Getts, R.C.(1998). Adsorption and detection of DNA dendrimers at carbon electrodes , *Electroanalysis*, 10(8): 553-556.
88. Wang, J., Rivas, G., Fernandes, J.R., Paz, J.L.L., Jiang, M., Waymire, R.(1998). Indicator-free electrochemical DNA hybridization biosensor, *Anal. Chim. Acta*, 375: 197-203.



89. Wang, J., Rivas, G., Luo, D., Cai, X., Valera, F.S., Dontha, N. (1996). DNA-modified electrode for the detection of aromatic amines, *Anal. Chem.*, 68: 4365-4369.
90. Wang, J., Rivas, G., Luo, D., Cai, X., Valera, F.S., Dontha, N., Farias, P. A. M., Shiraishi, H. (1996). DNA Biosensor for the detection of hydrazines, *Anal. Chem.*, 68: 2251-2254.
91. Wang, J., Rivas, G., Ozsoz, M., Grant, D.H., Cai, X., Parrodo, C.(1997). Microfabricated electrochemical sensor for the detection of radiation-induced DNA damage, *Anal. Chem.*, 69: 1457-1460.
92. Wang, L., Lin, L., Ye, B.(2006). Electrochemical studies of the interaction of the anticancer herbal drug emodin with DNA, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42: 625-629.
93. Xia, C., Guoli, S., Jianhui, J., Ruqin, Y.(1999). Intercalation of Pharmorubicin anticancer drug to DNA studied by cyclic voltammetry with analytical applications, *Anal. Lett.*, 32 (4): 717-727.
94. Xia, Y., Yang, Z. Y., Xia, P., Bastow, K. F., Nakanishi, Y. and Lee, K.-H.(2000). Antitumor agents. Part 202: Novel 2'- Aminochoalcones: Design, synthesis and biological evaluations, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 10: 699-701.
95. Yamamoto, S., Aizu, E., Nakadate, T., Kiyoto, I., Wang, J. W. and Kato, R. (1991). The potent anti – tumor – promoting agent isoliquiritigenin, *Carcinogenesis*, 12: 317-323.

## Arş. Gör. Ecz. Görkem YALÇIN' ın Özgeçmiş

### Kişisel Bilgiler

Doğum Tarihi: 04/04/1980  
Doğum Yeri: Akhisar

### Yüksek Lisans Eğitim

Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Programı. 2004 –

### Lisans Eğitimi

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi. 2004

### Yabancı Dil

İngilizce: Üniversite Dil Sınavı (60). 2003

### Projelerde Aldığı Görevler

1- İzmir yöresinde tüketilen midyede çeşitli eser elementlerin tayini ve yöntem validasyonu, Ege Üniversitesi Araştırma Projesi, 2002/ECZ/010, Proje yürütücüsü. 2005

### Uluslar Arası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1- Sogut, O., **Yalcin, G.**, “ Determination of Trace Metal Levels in Mytilus Galloprovincialis Collected from Izmir Bay Turkey”, *Fresenius Environmental Bulletin* 14(9): 777-782. 2005

### Uluslar Arası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

- 1- **Yalcin, G.**, Ertas, O. S., Percin, F., Konyalioglu, S., “Determination of trace amounts of Fe, Mg, Zn in Bluefin Tuna ( Thunnus Thynnus)”, *4<sup>th</sup> Aegean Analytical Chemistry Days, 272-274, Kuşadası, TURKEY.* (Poster bildiri) 2004
- 2- Ergücü, Z., Dalgar, H., **Yalcin, G.**, Ertas, O. S., Tezel, H., “The effect of NaF gel on hydrogen peroxide applied enamel surfaces”, *3<sup>rd</sup> Black Sea*

*Basin Conference on Analytical Chemistry, Constanta, ROMANIA.*  
(Poster bildiri) 2005

- 3- **Yalcin, G.**, Çizmecioğlu, M., Kara Kadayıfçılar, P., Ariksoysal, D., Çavdar, S., Meriç, B., Sogut, O., Ozsoz, M., "Electrochemical biosensor for the interaction of DNA and antitumoral and cytotoxic chalcone derivatives", *8<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical Sciences.* (Poster bildiri) 2006
- 4- Ariksoysal, D. O., Ozsoz, M., Kara Kadayıfçılar, P., **Yalcin, G.**, Cavdar, S., Meric, B., " Use of carbon nanotubes in biosensor system for signal enhancement", *8<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical Sciences.* (Poster bildiri) 2006
- 5- Ozsoz, M., Erdem, A., Ozkan Ariksoysal, D., Kara Kadayıfçılar, P., Karadeniz, H., **Yalcin, G.**, Cavdar, S., Meric, B., "Electrochemical DNA biosensors", *8<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical Sciences.* (Sözlü Bildiri) 2006

### **Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler**

- 1- Ertas, O. S., **Yalcin, G.**, "Ölçüm sonuçlarının belirsizliği" *II. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 63, MALATYA.* ( Sözlü bildiri) 2004
- 2- **Yalcin, G.**, Ertas, O. S., "İzmir yöresinde tüketilen midyede *Mytilus Galloprovincialis*' de eser element tayini" *II Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 126, MALATYA.* ( Poster bildiri) 2004
- 3- Sogut, O., Meral, G. E., **Yalcin, G.**, "Üç Hypericum L. türünde kalsiyum ve magnezyum düzeylerinin alev atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayini" *IX. Ulusal Spektroskopi Kongresi, ANKARA.* ( Poster bildiri) 2005