



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

**SUDA ÇÖZÜNEBİLEN TETRA VE OKTA
SÜBSTİTÜYE GALYUM FTALOSİYANİN
BİLEŞİKLERİNİN DNA ETKİLEŞİMLERİNİN
BELİRLENMESİ VE ANTİMİKROBİYAL
UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Hasan Emre YILMAZ
(201592021188)**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Efkan BAĞDA**

**SİVAS
MAYIS 2017**

HASAN EMRE YILMAZ'ın hazırladığı ve “**Suda Çözünebilen Tetra ve Okta Sübstitüye Galyum Ftalosiyanın Bileşiklerinin DNA Etkileşimlerinin Belirlenmesi ve Antimikrobiyal Uygulamaları**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : **Yrd. Doç. Dr. Efkan BAĞDA**
Cumhuriyet Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Mahmut DURMUŞ**
Gebze Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ
Cumhuriyet Üniversitesi

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

Prof. Dr. İdris ZORLUTUNA
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

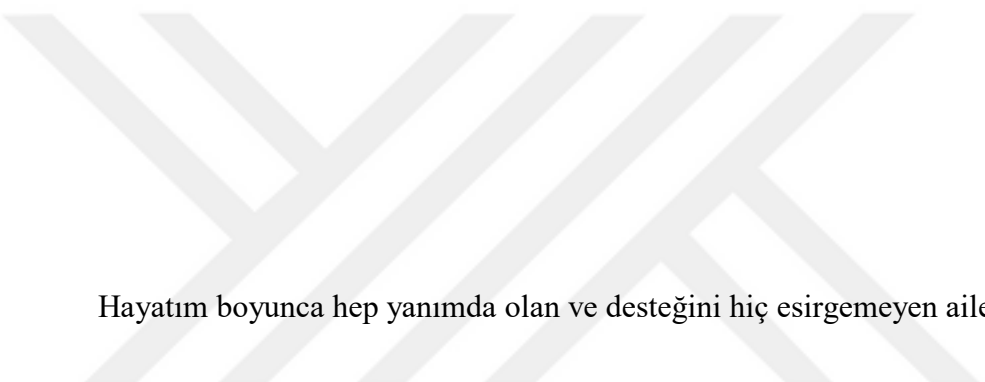
Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından F-504 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.



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

© Hasan Emre YILMAZ, 2017



Hayatım boyunca hep yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyen aileme...

ETİK

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

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

03.05.2017

Hasan Emre YILMAZ

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

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

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

Bu tez çalışması süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. Esra BAĞDA ve İmranlı MYO Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. Ebru YABAŞ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen yüksek lisans arkadaşlarım Neslihan BAŞGÖZ, Gamze ŞAHİN ve Nurşen KARAKODAK'a teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca benim için her türlü fedakârlıkta bulunan, maddi ve manevi hiçbir desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Projeler Araştırma Birimi tarafından F-504 numaralı projeye desteklenmiştir.

ÖZET

SUDA ÇÖZÜNEBİLEN TETRA VE OKTA SÜBSTİTÜYE GALYUM FTALOSİYANİN BİLEŞİKLERİNİN DNA ETKİLEŞİMLERİNİN BELİRLENMESİ VE ANTİMİKROBİYAL UYGULAMALARI

Hasan Emre YILMAZ

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Efkan BAĞDA

2017, 70+xvii sayfa

DNA molekülü, hücrel süreçlerin devamlılığı ve kontrolü için kilit rol oynar. Bu yönü ile hastalık teşhis ve tedavisinde sıklıkla hedef molekül olarak çalışılmaktadır. Farklı dizi ve konformasyona sahip çok sayıda DNA molekülü farklı hücrel fonksiyonlarda önemli rol oynar. DNA'nın bilinen çift sarmal yapısının yanında, farklı sekonder yapılar da oluşturduğu bilinmektedir. Bu yapılardan guanince zengin bölgelerde oluşan G quadrupleks konformasyonları birçok hastalığın teşhisinde ve tedavisinde önemli ilaç hedefleri olarak günümüzde yoğun olarak çalışılmaktadır. G-quadrupleks yapıları ökaryotik ve prokaryotik genomlarda *in vivo* şartlarda oluşabilmektedir. G-quadrupleks yapıların uygun bir ligantla stabilizasyonu organizmanın hücrel fonksiyonlarında farklılıklara neden olabilmektedir.

Mevcut çalışmada, tetra ve okta sübstitüye galyum ftalosiyaninlerin, G-quadrupleks DNA ligantı olarak kullanılabilirliği UV-Vis spektrofotometresi, floresans spektrofotometresi, CD (Circular Dichroism) spektrofotometresi, viskozite ölçümleri, jel elektroforezi ve erime noktası analizleri yapılarak araştırılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise bahsi geçen galyum ftalosiyaninlerin antimikrobiyal fotodinamik terapi (AFDT) özellikleri *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC-29213) ve *Candida albicans* (ATCC-10231) mikroorganizmaları üzerinde incelenmiştir. Her iki ftalosiyanin için de gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda farklı konsantrasyonlarda karanlıkta sitotoksik etki göstermedikleri saptanmıştır. Diyet lazer ışık kaynağı kullanılarak

ışığın tek başına sitotoksik etki göstermediği değerler belirlenmiştir. Diyot lazer ışık kaynağı kullanılarak gerçekleştirilen AFDT uygulamaları sonucunda iki Pc'nin de etkili bir şekilde mikroorganizmaları öldürdüğü gözlenmiştir. Yapılan alışmalar sonucunda okta galyum ftalosiyaninin (**OGaPc**), tetra galyum ftalosiyanine (**TGaPc**) göre daha iyi fotodinamik aktivite gsterdiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ftalosiyanin, DNA Bağlanma, Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT)



ABSTRACT
DETERMINATION OF DNA INTERACTIONS AND ANTIMICROBIAL
APPLICATIONS OF WATER SOLUBLE TETRA AND OCTA
SUBSTITUTED GALLIUM PHTHALOCYANINE COMPOUNDS

Hasan Emre YILMAZ

Master of Science Thesis, Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Efkân BAĞDA

2017, 70+xvii pages

The DNA molecule plays a key role in the continuity and control of cellular processes. In this respect, it is frequently studied as a target molecule in diagnosis and treatment of disease. The DNA molecule plays an important role in different cellular functions. DNA has secondary structures besides its known double helix. A well known secondary structure, G quadruplex DNA occur in guanine rich regions of genome. G quadruplex conformation is currently being studied extensively as important drug targets in the diagnosis and treatment of many diseases. G-quadruplex structures can occur in eukaryotic and prokaryotic genomes *in vivo*. Stabilization of G-quadruplex structures with a suitable ligand can lead to differences in cellular functions

In the present study, the availability of tetra- and octa-substituted gallium phthalocyanines as G-quadruplex DNA ligand was investigated by UV-Vis spectrophotometer, fluorescence spectrophotometer, CD (Circular Dichroism) spectrophotometer, viscosity measurements, gel electrophoresis and melting point analyzes.

In the second phase of the study, antimicrobial photodynamic therapy (APDT) properties of the tetra and octa substituted phthalocyanines were studied on microorganisms of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC-29213) and *Candida albicans* (ATCC-10231). Studies conducted on both phthalocyanines revealed that they did not show cytotoxic effect in the dark at different concentrations. It has been observed that there is no cytotoxic effect on the light microorganisms used after applications using laser light with different gusts. As a

result of APDT applications using diode laser light source, it was observed that two Pcs effectively killed microorganisms. It has been determined that octa substituted phthalocyanine (**OGaPc**) has better photodynamic activity than tetra substituted phthalocyanine (**TGaPc**).

Key Words: Phthalocyanine, DNA Binding, Antimicrobial Photodynamic Therapy (APDT)



İÇİNDEKİLER

ETİK	vi
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Küçük Molekül (Small Molecule) DNA Etkileşimleri.....	2
1.1.1. DNA Molekülü ile Kovalent Etkileşimler.....	3
1.1.2. DNA Molekülü ile Kovalent Olmayan Etkileşimler.....	3
1.1.2.1. Elektrostatik Etkileşimler.....	4
1.1.2.2. Oluklara Bağlanma.....	4
1.1.2.3. İnterkalasyon Etkileşimi.....	5
1.2. Fotodinamik Terapi (FDT).....	5
1.2.1. FDT Etki Mekanizması.....	6
1.2.2. Işık Kaynakları.....	7
1.2.3. Fotoduyarlayıcı Ajanlar.....	9
1.2.4. Singlet Oksijen.....	9
1.2.5. Fotoduyarlayıcıların Hücreye Girişi ve Hücre İçi Lokalizasyonu....	9
1.2.6. Fotodinamik Terapide Hücre Ölümü.....	10
1.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT).....	11
1.4. Ftalosiyanınlar.....	14
1.5. Literatür.....	15
2. MATERYAL VE METOD	21
2.1. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Besiyerleri.....	22
2.2. Ftalosiyanın Bileşiklerinin DNA Bağlanma Özellikleri.....	24
2.2.1. UV-Vis Spektrofotometre Deneyleri.....	24
2.2.2. Floresans Yerdeğiştirme Deneyleri.....	24
2.2.3. Erime Sıcaklığı Tayini.....	25
2.2.4. Jel Elektrofrezisi Yöntemi.....	25
2.2.5. Viskozite Ölçümleri.....	25
2.2.6. CD (Circular Dichroism) Spektrofotometre Deneyleri.....	25
2.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT) Deneyleri.....	26
3. BULGULAR	28
3.1. DNA Bağlanma Çalışmaları.....	28
3.1.1. UV-Vis Spektrofotometre Deneyleri.....	28
3.1.2. Floresans Yer Değiştirme Deneyleri.....	35

3.1.3. Erime Sıcaklığı Tayini	43
3.1.4. Jel Elektroforezi Yöntemi	44
3.1.5. Viskozimetrik Ölçümler.....	45
3.1.6. CD (Circular Dichroism) Spektrofotometre Deneyleri.....	46
3.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT) Deneyleri.....	52
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	58
KAYNAKLAR.....	62

ÖZGEÇMİŞ



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Kovalent olmayan DNA etkileşimleri (Ruiz vd., 2011).....	4
Şekil 1.2	FDT, Tip I ve Tip II reaksiyonları (Hamblin vd., 2015).....	7
Şekil 1.3	Fototerapötik pencere (Dabrowski ve Arnaut, 2015).....	8
Şekil 1.4	FDT öldürme mekanizması (Abrahamse ve Hamblin, 2016).....	10
Şekil 1.5	Gram (+), gram (-) bakteri ve mantar hücre duvarı yapısı (Sperandio vd., 2013).....	13
Şekil 2.1	Çalışmada kullanılan Pc bileşikleri.....	16
Şekil 2.2	Benisi-Hildebrant denklemi.....	19
Şekil 2.3	Stern-Volmer desnklemi.....	19
Şekil 3.1	<i>Tel21</i> -Pc bileşiklerinin UV-Vis spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc....	29
Şekil 3.2	<i>KRAS</i> -Pc bileşiklerinin UV-Vis spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc...30	
Şekil 3.3	<i>cMYC</i> -Pc bileşiklerinin UV-Vis spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc..31	
Şekil 3.4	<i>Nükleolin</i> -Pc bileşiklerinin UV-Vis spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	32
Şekil 3.5	<i>VEGF</i> -Pc bileşiklerinin UV-Vis spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	33
Şekil 3.6	ctDNA-Pc bileşiklerinin UV-Vis spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	34
Şekil 3.7	<i>Tel21</i> -Pc bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	36
Şekil 3.8	<i>KRAS</i> -Pc bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	37
Şekil 3.9	<i>Nükleolin</i> -Pc bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	38
Şekil 3.10	<i>cMYC</i> -Pc bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	39
Şekil 3.11	<i>VEGF</i> -Pc bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	40
Şekil 3.12	ctDNA-Pc bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	41
Şekil 3.13	TGaPc bileşiğinin Stern-Volmer K_{SV} sabiti grafiği.....	42
Şekil 3.14	OGaPc bileşiğinin Stern-Volmer K_{SV} sabiti grafiği.....	43
Şekil 3.15	Jel Elektroforezi (Marker 1kb)	44
Şekil 3.16	Pc-DNA molekülleri viskozite grafiği.....	45
Şekil 3.17	<i>Tel21</i> -Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	47
Şekil 3.18	<i>KRAS</i> -Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	48
Şekil 3.19	<i>cMYC</i> -Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	49
Şekil 3.20	<i>Nükleolin</i> -Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	50
Şekil 3.21	<i>VEGF</i> -Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc.....	51
Şekil 3.22	TGaPc AFDT sonuç grafiği (10 J/cm ²).....	53
Şekil 3.23	TGaPc AFDT sonuç grafiği (20 J/cm ²).....	54
Şekil 3.24	OGaPc AFDT sonuç grafiği (10 J/cm ²).....	55
Şekil 3.25	OGaPc AFDT sonuç grafiği (20 J/cm ²).....	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Pc bileşiklerinin bağlanma sabitleri (K_{BH}).....	28
Çizelge 3.2	Pc bileşiklerinin K_{SV} sabitleri.....	42
Çizelge 3.3	G-quadruplex DNA ve ctDNA erime profilleri (T_{m1} , DNA erime sıcaklığı, T_{m2} , Pc-DNA erime sıcaklığı).....	44
Çizelge 3.4	TGaPc AFDT sonuçları (10 J/cm^2).....	53
Çizelge 3.5	TGaPc AFDT sonuçları (20 J/cm^2).....	54
Çizelge 3.6	OGaPc AFDT sonuçları (10 J/cm^2).....	55
Çizelge 3.7	OGaPc AFDT sonuçları (20 J/cm^2).....	56



KISALTMALAR DİZİNİ

AFDT	: Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi
CD	: Circular Dichroism
cMYC	: Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog
ctDNA	: Calf thymus (sığıır timusu) DNA'sı
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EtBr	: Etidyum Bromür
Ps	: Fotoduyarlaştırıcı (Photosensitizer)
FDT	: Fotodinamik Terapi
Pc	: Ftalosiyenin (Phthalocyanine)
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
K_{BH}	: Benisi- Hildebrant Sabiti
KRAS	: Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
K_{SV}	: Stern-Volmer Sabiti
LED	: Işık Yayan Diyot (Light Emitting Diode)
MBK	: Minimum Bakteriyasidal Konsantrasyonu
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
NA	: Nutrient Agar
NB	: Nutrient Broth
NIR	: Yakın-Kırmızı Işık
OD	: Optik Dansite
OGaPc	: Okta-Süstitüye Galyum Ftalosiyenin
PBS	: Fosfat Tamponu (Phosphate Buffered Saline)
RNA	: Ribonükleik Asit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
TBE	: Tris- Borik Asit- EDTA
Tel21	: Telomer 21
TGaPc	: Tetra-Süstitüye Galyum Ftalosiyenin
TO	: Thiazole Orange

UTR : Translasyona Uğramayan Bölğeler (Un-translated Regions)
UV : Ultra-Viyole (Mor Ötesi)
VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
Vis : Görünür



1. GİRİŞ

Genetik bilginin saklanması, işlenmesi ve aktarılmasından sorumlu olan molekül DNA'dır. DNA molekülü bu özelliği ile hücrel süreçlerde kilit rol oynamaktadır. DNA'nın primer, sekonder ve tersiyer yapıları ise oynadığı rol için kritiktir. DNA yapılarının stabilitesi ile yapılar arası geçişlerin kontrolü birçok hastalığın teşhis ve/veya tedavisinde önemli ilaç hedefleri olarak günümüzde yoğun olarak çalışılmaktadır (Wells vd., 2005; Wang ve Vasquez, 2006; Bacolla ve Wells, 2009).

İlk kez 1953 yılında Watson ve Crick tarafından, sağ el döngülü, ikili sarmal yapı olarak tanımlanan DNA molekülü, B-DNA olarak adlandırılır. Tamamlayıcı iki DNA zincirinin birbiri etrafında dönüşü ile oluşan bu ikili sarmal yapı replikasyon, transkripsiyon gibi metabolik süreçlerde kısmen açılarak tekli zincirler oluştururlar. Tekli DNA zincirleri, tekrarlı dizilerin bulunduğu bölgelerde, belirli koşullar altında saç tokası (hairpin), üçlü (triplex), haç biçimi (curiciform), sol el dönüşlü Z-DNA, G-quadrupleks gibi B-DNA olmayan özel yapılar oluştururlar. DNA dizilerinde görülen bu olağandışı sekonder yapılar, gen ekspresyon sürecini etkileyebilir ve biyolojik açıdan önemli bazı süreçlere katılabilirler. Ayrıca, bu özel DNA yapılarının oluşması ve stabilizasyonu genetik kararsızlığı uyararak çeşitli hastalıklara neden olurlar. Bu nedenle farklı DNA formlarına affinitesi yüksek, seçici moleküllerin dizaynı, DNA konformasyonuna bağlı biyolojik süreçlerin çalışılması ile farklı hastalıkların teşhis ve tedavisi için alternatif yöntemlerin geliştirilmesinde kritiktir (Bacolla ve Wells, 2009; Choi ve Majima, 2011; Duquette vd., 2004; Wang ve Vasquez, 2006).

Özel DNA yapılarından olan G-quadrupleksler, telomer ve onkogenler gibi önemli biyolojik işlevlere sahip DNA bölgelerinde yer alırlar (Bacolla ve Wells, 2009; Choi ve Majima, 2011; Duquette vd., 2004; Phan vd., 2006; Wang ve Vasquez, 2006; Wells vd., 2005; Zhao vd., 2010; Zhang vd., 2014). Bu yapılar, guanince zengin DNA dizilerinin standart olmayan bir şekilde, her dört guanin nükleotidinin planar düzlemde sekiz Hoogsten hidrojen bağı ile birbirine bağlanmasıyla açığa çıkan dörtlü yapıların π - π istiflenmeleri sonucunda oluşur. Bu yapı, G-dörtlüsü (G4), tetrat ya da G-tetrat olarak isimlendirilen yapıların üst üste istiflenmesi ile oluşur. Bu yapının stabilitesi farklı kationların (K^+ , Na^+ , Li^+) varlığına dayanmaktadır. Bu iyonlar, tetrat yapı düzleminin içinde veya düzlemler arasında yer alarak yapının 'koordinatörü' olarak rol oynarlar. Yapısal konformasyon; merkez iyonun çeşidi, yapıdaki bağların paralel

ya da antiparalel olması, glikozidik konformasyon, bağı katılan dizilerin uzunluğu ve G-dörtlülerinin istiflenme sayısı gibi birçok parametreden etkilenmektedir (Millevoi vd., 2012).

G-quadrupleks-oluşturabilen diziler, insanda dahil olmak üzere virüsler, bakteriler ve diğer genomlarda da yaygın olarak bulunurlar. Genom içinde, G-quadruplekslerin yerleşimi rastgele değildir ve farklı türler arasında korunmuştur. G-quadrupleksler, genomun fonksiyonel bölgeleri ile birlikte yer değiştirirler. Bu durum, dizilerin genom içinde dağılımı üzerinde bir seçim baskısı oluşturur. Bu koruma, en yüksek memeli türleri arasında görülür. G-zengin diziler ökaryotik telomerlerde, promotorlarda ve 5' UTR'lerinde sıklıkla gözlenmektedir. Replikasyon, transkripsiyon ve translasyon basamaklarında açığa çıkan quadrupleks yapılar helikaz aktivitesi ile kısa sürede etkili şekilde çözülebilirler. Organizmalarda *in vivo* oluşumu gösterilmiş bu yapıların stabilizasyonu, açığa çıktıkları DNA/RNA dizilerince kontrol edilen metabolik yolun bozulmasına neden olur (Bacolla ve Wells, 2009; Choi ve Majima, 2011; Rhodes ve Lipps, 2015). G-quadrupleks yapılarının destabilizasyonu sonucunda ise ilgili metabolik yolun işler hale gelmesi mümkün olur (Waller vd., 2009).

G-quadrupleksler, genotip ve fenotip üzerindeki etkileri nedeniyle üzerinde durulması gereken önemli DNA yapılarıdır. G-quadrupleksler genom üzerinde buldukları bölgeler ve üstlendiği görevler nedeni ile kanser başta olmak üzere, aneminin çeşitli formları, koroner kalp hastalıkları kronik karaciğer hastalıkları, nörodejeneratif rahatsızlıklar, kronik HIV virüsü enfeksiyonları ve bakteriyel enfeksiyonlar gibi birçok hastalıkta rol almaktadırlar (Wu, 2011; Simone vd., 2015). Bu nedenle, önemli ilaç hedefleri olarak sıklıkla çalışılmaktadırlar.

1.1. Küçük Molekül (Small Molecule) DNA Etkileşimleri

DNA molekülünün üç boyutlu yapısının aydınlatılmasından hemen sonra, genetik bilginin taşıyıcısı olan DNA molekülü, hücrenin hayati fonksiyonlarını düzenlemesi yeteneğinden dolayı ilaç etkileşimi çalışmalarının odağı haline gelmiştir. İlk kez 1961 yılında Lerman tarafından, DNA ile küçük moleküllerin etkileşebildiğinin gösterildiği çalışmada, piridin halkasının iki yanında benzen halkalarının yer aldığı akridin molekülünün DNA'nın baz çiftleri arasında yerleştiği (interkalasyon) gösterilmiştir (Lerman, 1961). Daha sonra Rosenberg vd. (1967) yaptıkları çalışmada, Peyrone (1844) tarafından sentezlenen cisplatin molekülünün DNA'ya kovalent olarak

bağlandığını ve bu yolla kanser hücrelerinin kolayca yok edilebildiğini göstermişlerdir.

Yapılan birçok çalışma sonucunda, DNA molekülünün metal iyonları, küçük moleküller, su ve proteinler gibi birçok organik ve inorganik molekül ile tersinir olarak etkileşime girme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu etkileşimler, kovalent ve kovalent olmayan etkileşimler olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşebilmektedir (Göçmen, 2014)

1.1.1. DNA Molekülü ile Kovalent Etkileşimler

Cisplatin molekülü {*cis*-diamindikloroplatin(II), *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂]}, akciğer ve mesane kanseri ile kanserli yumurtalık hücrelerinin tedavisinde kullanılan en başarılı antikanser ilaçlarından biri olarak bilinmektedir. Hücre zarından içeri giren cisplatin molekülü, hücre içindeki düşük Cl⁻ iyonu varlığında (sulu ortamda) kararlılığını kaybederek hidroliz olur. Açığa çıkan katyonik molekül DNA'ya elektrostatik etkileşimler yoluyla iyice yaklaşır. Yaklaşan molekül, DNA üzerinde komşu iki guanin bazının yedinci azot atomuna (N7) kovalent olarak bağlanır (Sherman ve Lippard, 1987; Brabec ve Kasparkova, 2005; Takahara vd., 1996). Bağlanan cisplatin molekülü replikasyonu ve transkripsiyonu inhibe ederek hücre proliferasyonunu engeller. Böylece kanserli hücreler yok edilmiş olur.

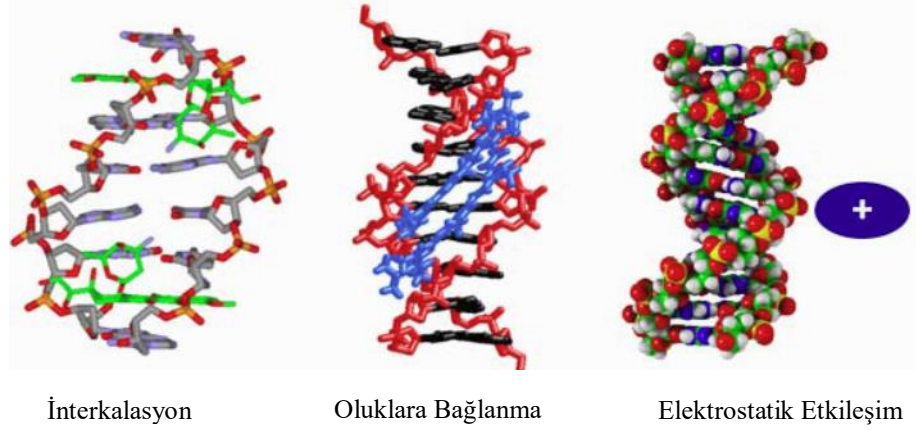
Bu başarısına rağmen, yan etkilerinin fazla olması ve zamanla kanser hücrelerinin cisplatine direnç göstermesi nedeniyle bilim insanları yeni ilaç molekülleri araştırmaya başlamışlardır. Araştırmalar sonucunda suda daha iyi çözünebilen ve daha etkin ilaç maddeleri (karboplatin, okzaplatin gibi) keşfedilmiştir (Mckeage vd., 2000).

1.1.2. DNA Molekülü ile Kovalent Olmayan Etkileşimler

Bu etkileşim tipinde, molekülün ve DNA'nın yapısal özelliklerine bağlı olarak birden fazla etkileşim tipi gözlenebilmektedir. Bu etkileşimler moleküllerin geometrisine, büyüklüğüne ve stereokimyasal özelliklerine bağlı olarak değişmektedir (Vijayalakshmi vd., 2006). Küçük moleküllerin ve iyonların DNA ile kovalent olmayan etkileşimi birbirinden farklı üç yolla gerçekleşmektedir (Braña vd., 2001):

1. Elektrostatik etkileşimler ile DNA dış yüzeyine (şeker-fosfat omurgasına) non-spesifik bağlanma
2. DNA'nın büyük ve küçük oluklarına bağlanma

3. Düzlemsel DNA baz çiftleri arasında girerek (interkalasyon mekanizması ile) bağlanma.



Şekil 1.1 Kovalent olmayan DNA etkileşimleri (Ruiz vd., 2011)

1.1.2.1. Elektrostatik Etkileşimler

DNA molekülünün dış yüzeyini oluşturan şeker-fosfat omurgası, içerdiği fosfat grupları nedeniyle fizyolojik pH değerlerinde yüksek derecede negatif yüklüdür. Bu nedenle pozitif yüklü iyonlar (Na^+ , Mg^{+2} vb.) DNA molekülü ile elektrostatik etkileşimlere girebilmektedir (Manning 1978; Streckowski ve Wilson 2007). Bu şekilde bağlanan iyonlar DNA molekülünün kararlılığına katkı sunmaktadır. Bu mekanizma ile bağlanan iyon ya da moleküllerin salınması, şeker-fosfat omurgasının negatif yükünün diğer elektrostatik etkileşimlerle nötralize edilmesi sonucunda gerçekleştirilir. DNA'nın konformasyonel düzenlenmesinde ve proteinler gibi diğer moleküllerin DNA'ya bağlanmasında seçici olmayan elektrostatik etkileşimler rol oynamaktadır (Blackburn ve Gait, 1990).

1.1.2.2. Oluklara Bağlanma

Oluğa bağlanma etkileşimleri moleküllerin, nükleik asitlerin büyük veya küçük oluklarında yer alan baz çiftlerinin oluğa bakan yüzeydeki fonksiyonel grupları ile doğrudan etkileşimi şeklinde gerçekleşir (Blackburn ve Gait, 1996). Oldukça güçlü bir bağlanma çeşidi olan oluğa bağlanma modelinde küçük moleküller genellikle küçük oluklarla etkileşirken, protein ve oligonükleotidler gibi büyük hacimli moleküllerde büyük oluklarla etkileşmektedir. A-T bölgelerinin G-C bölgelerine göre daha dar olması bu bölgelerin elektrostatik potansiyelini artırırken sterik engelini azalttığından, oluklara bağlanma genellikle A ve T seçiciliğine sahip moleküllerde gözlenmektedir. Küçük olukla DNA konformasyonunda önemli bir değişikliğe neden olmayan bu bağlanma tipinde, standart anahtar-kilit modeline benzer bir mekanizma ile etkileşim

gerçekleşir. Küçük oluklar ile etkileşen moleküller genellikle hilal biçimini alarak olukların şeklini alır ve Van der Waals bağları ile oluğa bağlanırlar (Gökoğlu vd., 2009).

1.1.2.3. İnterkalasyon Etkileşimi

İnterkalasyon terimi ve mekanizması ilk defa 1960'ların başlarında Lerman tarafından kullanılarak açıklanmıştır (Lerman, 1963). İnterkalasyon etkileşimi, kovalent bağlar oluşturmaksızın düzlemsel aromatik moleküllerin DNA zincirleri arasına dik bir şekilde girerek bağlanması olarak tanımlanmaktadır (Braña vd., 2001; Martinez ve Garcia, 2005). İnterkalasyon yapan moleküller, bazlar ile istiflenme etkileşimlerine girmektedir. Bu nedenle interkalasyon özelliği taşıyacak moleküllerin, komşu DNA bazları arasında istiflenmeye uygun düzlemsel heterosiklik halkalar içermesi gerekmektedir. İnterkalasyon etkileşiminde, molekülün bazlar arası boşluklara girebilmesi için şeker-fosfat omurgasında bükülme ve bağların rotasyonu gibi değişimler meydana gelir. Bu değişimler sonucunda interkalasyon bölgesi oluşumu ile oluşan bölgedeki sarmal dönüşü azalır ve çift sarmalın uzamasıyla baz çiftleri birbirlerinden uzaklaşır (Lerman, 1963).

İnterkalasyon özelliği gösteren bileşikler DNA çift sarmalının yapısını bozar. İnterkalatörün yapıya katılmasıyla birlikte baz çiftleri arasındaki bükülme açısı azalır ve DNA molekülünün uzunluğu artar. Gerçekleşen bu yapısal değişiklikler DNA'nın hücre için hayati öneme sahip fonksiyonlarını yerine getirememesine neden olmaktadır. Bu nedenle interkalatör moleküller özellikle kanser kemoterapilerinde ilaç olarak kullanılmaktadır (Lerman, 1963; Waring 1970; Göçmen, 2014; Gürcan, 2014; İçsel, 2013).

1.2. Fotodinamik Terapi (FDT)

Fototerapi terimi ultraviyole (UV), görünür (Vis) ya da yakın kızılötesi (NIR) bölgedeki ışığın tedavi amaçlı kullanıldığı tüm uygulamalar için kullanılmaktadır. Fotokemoterapi ise ışığa duyarlı bir fotokemoterapotik ajanın kullanıldığı fototerapik yöntemdir. Fotodinamik terapi (FDT), fotokemoterapi uygulamasının bir alt dalı olarak karşımıza çıkmaktadır (Bonnett, 2000).

Temel olarak FDT, organizma için toksik olmayan ışığa duyarlı bir ajanın (fotoduyarlaştırıcı ajan), hedef doku ya da hücrelere gönderilerek uygun dalga boyuna sahip bir ışık kaynağıyla uyarılması ve uyarma sonucunda oluşan serbest oksijen

radikallerinin hedef doku ya da hücreye hasar vererek apoptoz veya nekroz süreciyle öldürmesidir (Öztürk, 2009).

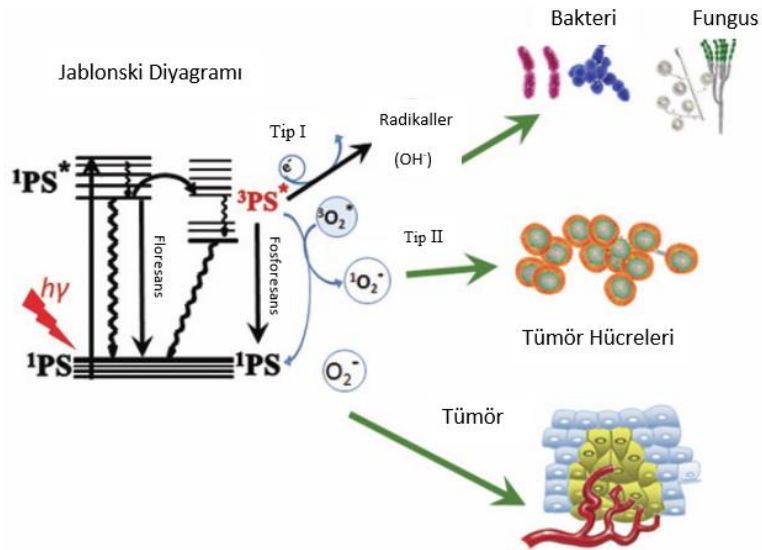
Ftoterapide en büyük atılımlardan biri 19. yüzyılın sonlarında Finsen tarafından yapılmıştır. Finsen, kırmızı ışık kullanarak yaptığı çalışmada çiçek hastalığını tedavi ettiğini ve sivilcelerin cerahat toplamasını engellediğini keşfetmiş, böylece ışık kaynaklarının modern tıp uygulamalarında kullanılabileceğini göstermiştir. Ayrıca güneşten topladığı UV ışığı kullanarak *Lupus vulgaris*'i (deri tüberkülozu) tedavi etmiş ve bu çalışma sonucunda Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür. FDT ise 1900 yılında Oscar Raab'ın, akridin boyası ile ışığı birlikte kullandığında *Paramecium* üzerinde öldürücü olduğunu gösterdiği çalışması ile başlamıştır. Aynı yılda von Tappeiner, FDT terimini ilk kez kullanmış ve "ışığa duyarlı bir ajan ve oksijen varlığında gerçekleşen kimyasal reaksiyon" olarak tanımlamıştır (Tappeiner, 1900). İlk klinik FDT uygulaması 1903 yılında Tappeiner ve Jesionek tarafından eozin boyası ve beyaz ışığın deri tümörlerini tedavi etmede kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. 1913 yılına gelindiğinde Meyer-Betz, fareler üzerinde yaptığı çalışmada hematoporfirin türevlerinin kanser tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir. (Ackroyd vd., 2001; Moan ve Peng, 2003; Wilson ve Patterson, 2008; Öztürk, 2009; Taşkın, 2014).

1.2.1. FDT Etki Mekanizması

Normal şartlarda, uyarılan bir molekülün ısı ya da floresans oluşturarak temel haline dönmesi oldukça kısa (nanosaniye) süren bir durumdur. FDT için kullanılacak fotoduyarlayıcı maddelerde ise bu sürenin en azından mikro ya da milisaniye düzeyinde korunması önemlidir. Böylece fotoduyarlayıcı madde üçlü duruma (triplet-state) geçerek enerjisini bir başka moleküle aktarabilir. Bu mekanizma ile doğrudan ışıkla uyarılamayacak moleküller, (oksijen vb.) uyarılabilmektedir. FDT'nin temelini oluşturan mekanizma da budur (Taşkın, 2014).

FDT, sitotoksite göstermeyen fotoduyarlayıcı bir maddenin en fazla soğurum yaptığı dalga boyundaki bir ışık kaynağı ile uyarılması ile başlar. Elde edilen enerji ortamda bulunan moleküller oksijene aktararak serbest oksijen radikallerini oluştururlar. Oluşan bu oksijen radikalleri hedef dokunun zar bileşenleri ve hücre proteinleri gibi alt yapılarını hasarlarlar. Sürecin son basamağında, hücre apoptoza ya da nekroza sürüklenir (Foote, 1991; Sharman vd., 1999).

Fotoduyarlaştırıcı maddelerin ışık ile uyarılarak oksijen molekülleri ile etkileşmesi, iki farklı mekanizma üzerinden gerçekleşmektedir. **Tip I** olarak adlandırılan reaksiyonda "ROT" (reaktif oksijen türleri) oluşturulurken **Tip II** reaksiyonlarında "singlet oksijen" oluşumu gerçekleşir (Şekil 1.1). Tip I reaksiyonlarda, uyarılan fotoduyarlaştırıcı madde sahip olduğu hidrojen atomlarını hücre içerisindeki moleküler oksijene aktarır. Bunun sonucunda ortaya hidroksil ve hidrojen peroksit gibi radikaller çıkar. Oluşturulan radikaller hücre bileşenlerine zarar verir ve hedef doku apoptoza veya nekroza sürüklenir. FDT uygulamaları genellikle Tip II reaksiyonları üzerinden ilerlemektedir. Tip II reaksiyonlarda fotoduyarlaştırıcı maddenin uyarılmasıyla oluşturulan enerji, elektronlar yardımı ile doğrudan moleküler oksijene aktarılır. Böylece oldukça yüksek reaktif özellik gösteren singlet oksijen üretilmiş olur. Oluşan singlet oksijen, Tip I mekanizmada olduğu gibi hücreyi hasarlayarak apoptoza veya nekroza sürükler. Tip II reaksiyonlar, oluşturduğu singlet oksijen nedeniyle Tip I reaksiyonlardan daha etkilidir (Josefsen ve Boyle, 2008; Dai vd., 2012; Göl, 2016).

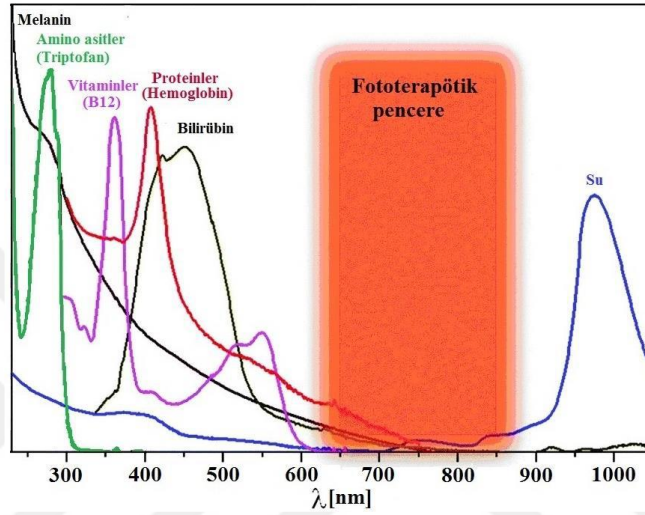


Şekil 1.2 FDT, Tip I ve Tip II reaksiyonları (Hamblin vd., 2015)

1.2.2. Işık Kaynakları

Işığın dalga boyu FDT çalışmalarındaki en önemli parametrelerden biridir. Ayrıca, kullanılan ışığın doku penetrasyonunun yüksek olması gerekmektedir. Bu nedenle FDT’de kullanılan ışık kaynakları genellikle kırmızı ya da kızıl ötesi olarak bilinen uzun dalga boyuna sahip ışıklardır. Düşük enerji düzeyine sahip bu dalga boyundaki ışıklar dokuya iyi bir şekilde penetre olabilir ve ayrıca hemoglobin molekülünün ışığı

absorblamasından doğacak zararlardan kaçınılabilir. Bu şekilde, yüksek dalga boyuna sahip ışık kaynaklarının kullanılması FDT'nin yan etkilerini en aza indirger. Kullanılacak ışığın dalga boyu genellikle 630 ile 850 nm (Fototerapötik Pencere) arasında değişmektedir (Şekil 1.2). Fototerapötik pencerenin altındaki dalga boylarında hemoglobin molekülü, üzerindeki dalga boylarında ise su molekülleri ışığı absorblamaktadır. Bu durum ışığın dokuya penetrasyonunu azaltmakta ve söz konusu yapılara zarar vermektedir (Sibata vd., 2000; Göl, 2016).



Şekil 1.3 Fototerapötik pencere (Dabrowski ve Arnaut, 2015)

FDT'de ışık kaynağı olarak başlıca lazer, LED (Light Emitting Diodes) ve filtreli lambalar kullanılmaktadır. Lazer ışık kaynakları, ışık ışınlarını odaklaması, dalga boyunda çok az sapmalar olması, monokromatik olması ve ışık dalgalarını senkronize vermesi açısından avantajlıdır. Ayrıca fiber optik kablolar vasıtası ile aktarılabildiklerinden uygulanması oldukça kolaydır. LED ışık kaynakları ise geniş bir dalga boyu aralığına sahiptir. Lazer kaynakları kadar yüksek ışık gücüne sahip olmasalar da maliyetleri oldukça düşük, temini kolay ve kullanımları basittir (Leznoff ve Lever, 1989; Wilson, 2002).

Kullanılacak ışık kaynağının seçimi büyük ölçüde fotoduyarlaştırıcı maddenin absorpsiyon dalga boyuna bağlıdır. Fotoduyarlaştırıcı maddeler geniş bir spektrumda absorpsiyon yapma potansiyeline sahip olsalar da en yüksek absorpsiyon dalga boyunu kullanmak singlet oksijen verimini artıracığından uygulamanın başarısını da aynı ölçüde artıracaktır (Yanık, 2010).

1.2.3. Fotoduyarlaştırıcı Ajanlar

Fotoduyarlaştırıcı (Ps) maddeler, uygun dalga boyunda ışığı absorbe ederek, triplet durumda başka bir moleküle enerji transferi yapabilen moleküllerdir. Kullanılan Ps'nin fizikokimyasal özellikleri, uygulamanın etkinliği açısından önemli bir rol oynamaktadır (Mang, 2004; Nowis vd., 2005). Kullanışlı Ps kimyasallarının sahip olması gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir:

- ✓ Kırmızı ve yakın kızılötesi dalga boylarını (600-850 nm) güçlü bir şekilde absorbe edebilmelidir. Böylece doku penetrasyonu artacak ve daha derindeki dokularda da etkin FDT uygulanabilecektir.
- ✓ Ps'nin triplet halinin kuantum verimi ve yarı ömrü uzun olmalıdır. Böylece singlet oksijen verimi artarak FDT'nin etkinliğini güçlendirecektir.
- ✓ Singlet oksijen ve ROT verimi yüksek olmalıdır. Böylece etkin bir şekilde hedef hücreleri öldürebilecektir.
- ✓ Karanlıkta toksisite göstermemelidir. Sadece ışık uygulanan bölgede aktif olan Ps'ler hedef dokuyu öldürürken diğer sağlıklı hücelere zarar vermeyecektir.
- ✓ Hedef dokuya spesifik birikebilmelidir.
- ✓ FDT sonrasında vücuttan hızlı bir şekilde uzaklaştırılabilmelidir.
- ✓ İlaç formülü basit ve iyi bir kararlılığa sahip olmalıdır (Taşkın, 2014).

1.2.4. Singlet Oksijen

Diradikal yapıya sahip olan oksijen molekülü, dış orbitalinde paylaşılmamış iki elektron içermektedir. Temel halde dış yörüngede bulunan iki elektrondan birinin yönünün değiştirilmesiyle oksijen molekülü uyarılmış olur ve oldukça reaktif olan singlet oksijen açığa çıkar (Şekil 1.3). Oluşan singlet oksijen, enerjisini ya başka bir moleküle transfer eder ya da kovalent bağlar oluşturur. Singlet oksijen özellikle C=C çift bağlarına etki etmektedir. Bu özelliği singlet oksijenin biyomolekülleri tahrip etmesini sağlamaktadır (Yaşa, 2012; Göl, 2016).

1.2.5. Fotoduyarlaştırıcıların Hücreye Girişi ve Hücre İçi Lokalizasyonu

FDT yönteminin hücresel hedefleri mitokondri, plazma membranı, lizozomlar ve endoplazmik retikulumdur (ER). Bu nedenle iyi bir Ps, hedef hücre içerisine girebilmeli ve orada birikebilmelidir. Ps'nin lipofilik özellikleri ve birikme derecesi, hedef hücrede birikim ve konumlanmayı belirleyen temel faktörlerdir (Kalka vd., 2000; Luksiene, 2003). Hidrofobik ve lipofilik özellikte olan Ps'ler, düşük ve yüksek yoğunluklu lipoproteinlerle güçlü bağ yapabildiklerinden endositoz yoluyla hücre

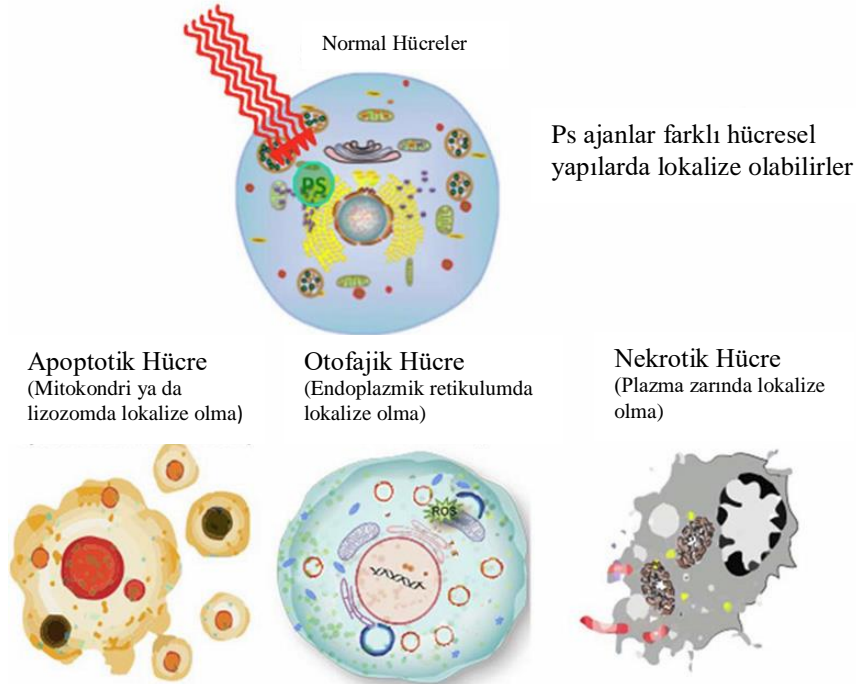
içine alınmaları mümkündür. Ps'lerin hücre içine girmesiyle birlikte, lipofilik özellik taşıyanları nedeniyle plazma zarı, ER, mitokondri, çekirdek ve lizozom da birikir.

Hidrofobik (lipofilik) Ps'ler tümör dokularında birikebildiklerinden “doğrudan”, hidrofilik Ps'ler ise hücre içerisine giremediklerinden “dolaylı yoldan” etki gösterirler. Hidrofilik Ps'ler, kanser hücrelerinin beslenmesini sağlayan kan damarlarını tahrip ederek dokunun beslenmesini engellerler (Luksiene, 2003; Göl, 2016).

1.2.6. Fotodinamik Terapide Hücre Ölümü

FDT sürecinde hücreyi ölüme götüren temel yaklaşım, hedef bölgedeki damar yapısının tahrip edilmesi ve bağışıklık sisteminin tetiklenmesidir. Hedef bölgedeki tümör dokusunun damarlanma yoğunluğu, dokudaki oksijen düzeyi, metabolizması gibi özelliklerinin bilinmesi uygulamada büyük öneme sahiptir. Bunlarla birlikte kullanılan Ps çeşidi, derişimi, ışık dalga boyu, ışık gücü ve uygulama süresi gibi parametreler de FDT verimi üzerinde etkilidir.

FDT'de elde edilen singlet oksijenin ömrünün çok kısa olması ($<0,05 \mu s$), kullanılan Ps'lerin lokalizasyonunu önemli kılar. Ps'nin lokalizasyonuna göre hücreler apoptoz, nekroz ya da hem apoptoz hem de nekroz sürecine girerler (Şekil 1.4) (Moor, 2000; Plaetzer vd., 2003).



Şekil 1.4 FDT öldürme mekanizması (Abrahamse ve Hamblin, 2016)

Nekroz, hücre dışı uyarılar sonucunda gerçekleşen istenmeyen hücre ölümüdür. Nekroz sürecine giren hücrelerde Ps bileşiklerinin daha çok plazma zarında biriktiği görülmüştür. Işık uygulaması sonucunda oluşan singlet oksijen, plazma membranında bulunan kolesterol ve doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu sağlar. Bunun sonucunda plazma zarı, en önemli özelliklerinden olan yarı-akışkan yapısını ve seçici geçirgenliğini kaybeder. Membran üzerindeki enzim ve reseptörler inaktive olur. Zar taşıma sisteminin bozulmasıyla beraber plazma membranının depolarizasyonu gerçekleşir. Mitokondriyal, sitozolik ve lizozomal enzimler inaktive olur. Tüm bu süreç sonunda iç dengenin (homeostasi) bozulmasıyla beraber nekroz meydana gelir (Geiger vd., 1995; Plaetzer vd., 2003; Göl, 2016).

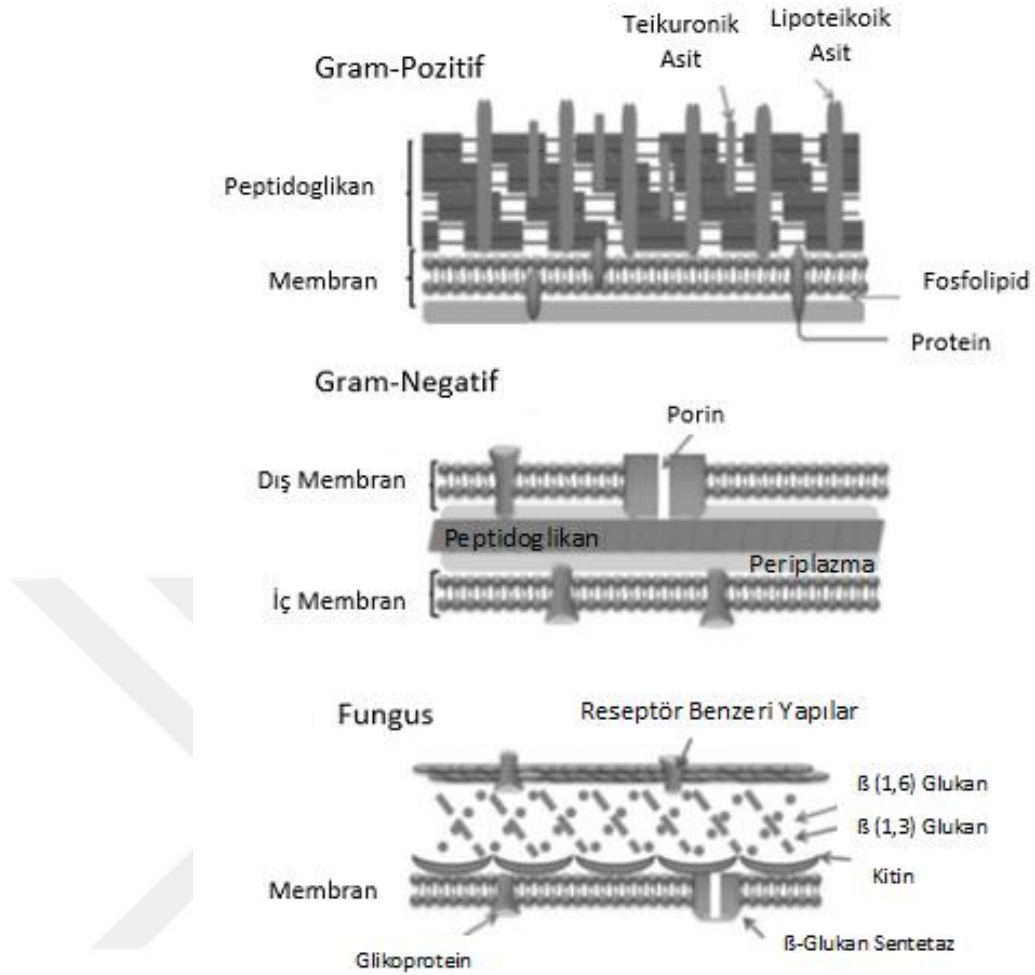
Nekrozdan farklı olarak apoptoz, hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda meydana gelebilen kontrollü hücre ölümüdür. FDT'de hücrenin apoptoza gitmesine sebep olan durum mitokondri ve sitoplazmada açığa çıkan ROT türleridir. ROT'lar, mitokondriyi tahrip ederek apoptoz tetikleyicilerinin sitoplazmaya salınmasını sağlamaktadır. Sitozolde apoptozom komplekslerinin oluşumu gerçekleşir. Apoptozom kompleksinde bulunan hidrolitik enzimlerin aktivasyonu sonucunda hücre proteinler ve DNA parçalanır. Sonuç olarak hücre yok edilmiş olur (Johnson ve Walker, 1999; Levy ve Nelson, 2000; Göl, 2016).

1.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT)

Fotodinamik terapi üzerine ilk deneysel gözlem 1900'lü yılların başında Alman mikrobiyolog Raab tarafından yapıldıktan sonra antimikrobiyal uygulamaları hızla ilgi alanı olmuştur. Bununla birlikte aynı yüzyılın ilk çeyreğinde antibiyotiklerin keşfi ile ikinci plana itilmiştir. Geçen yıllar ile antibiyotiklerin yanlış ve aşırı kullanımına bağlı olarak artan antibiyotik dirençliliği bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunların yaşanmasına yol açmıştır. Bu durum artan ölüm oranları ile ağır ve pahalı tedavi süreçleri anlamına gelmektedir. Ağır mali bir yükü beraberinde getiren zorlu tedavi süreçlerine alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Bu nedenle, alternatif tedavi yöntemlerinden biri olan AFDT yeniden gündeme gelmiştir. AFDT antibiyotiklerin aksine sadece bakteriler üzerine değil ayrıca mantar, protozoonlar ve virüsler üzerinde etkili olmasıyla da daha geniş antimikrobiyal etkiye sahiptir (Redmond ve Kochevar, 2006; Calzavara, 1999).

Antimikrobiyal fotodinamik terapi (AFDT), toksik olmayan bir fotoduyarlaştırıcı molekülün mikroorganizma tarafından tutulması ve maksimum soğurum yaptığı dalgaboyunda ışıkla uyarılarak ROT üretmesiyle sitotoksik etki göstermesi üzerine kuruludur. Üç temel bileşenden oluşmaktadır: (i) fotoduyarlaştırıcı molekül, (ii) uygun dalga boyunda ışık ve (iii) moleküler oksijen. Fotokimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan aktif oksijen türlerine bağlı olarak gerçekleşen reaksiyonlar Tip I ve Tip II olarak sınıflandırılır. Tip I reaksiyon, uyarılan fotoduyarlaştırıcının organik substratlarla tepkimeye girerek serbest radikaller oluşturmasına dayanır. Tip II reaksiyonlarda ise uyarılan fotoduyarlaştırıcı enerjisini moleküler oksijene verir ve yüksek derecede reaktif singlet oksijen (1O_2) oluşturur. Reaktif oksijen, biyomoleküllerle çok hızlı bir şekilde tepkimeye girerek hücre bileşenlerine hasar verir. Hasarlı hücre ise apoptoz veya nekroz yoluyla ölür. Bu yöntemde, singlet oksijenin yarılanma süresinin kısa olması hasarın lokal olarak gerçekleştirilebilmesini sağlar ve böylece sağlıklı çevre dokular hasar görmezler (Wainwright, 1998; Kutlubay vd., 2011).

Bakteriler, ökaryotik hücrelerden farklı olarak peptidoglikan tabaka içermektedirler. Bu da AFDT uygulamalarını etkileyen önemli faktörlerden biridir. Gram (+) bakteriler, hücre membranını çevreleyen kalın ve porlu bir hücre duvarına sahiptir. Gram (-) bakterilerde ise bir dış membran, ince bir peptidoglikan tabaka ve sitoplazmik membrandan oluşmaktadır (Şekil 1.5). Gram (-) bakterilerin sahip olduğu dış membran yapısı, Gram (+)'ler üzerinde etkili olan novobiocin, rifamycin ve lincomycin gibi birçok antibiyotiğe karşı direnç göstermelerine neden olmaktadır. Bu da Gram (-) bakterilerin patojenitesini artırmaktadır (Nikaido ve Vaara, 1985; Bourre vd., 2010; Lambert vd., 2002). Bununla birlikte, AFDT uygulamasında kullanılan küçük moleküller, bu sınırlı basit difüzyon özelliğe sahip membran bariyerine takılmaktadır (Bertoloni vd., 1992). Bu durum Pc'lerin Gram (-) bakterilerine girişini zorlaştırmakta, hücre içerisinde birikmesini azaltmakta ve AFDT'nin etkisinin düşmesine sebep olmaktadır. Bu da Gram (-) bakterilerin, Gram (+)'lere göre daha zor öldürülmesine neden olur. *Candida* gibi mantarlarının küçük moleküllere olan geçirgenliği ise Gram (-) ve Gram (+) bakterileri suşlarının arasındadır (Sharma vd., 2011; Sperandio vd., 2013).



Şekil 1.5 Gram (+), gram (-) bakteri ve mantar hücre duvarı yapısı (Sperandio vd., 2013)

Tüm bunlar dikkate alındığında etkili AFDT’de kullanışlı Ps bileşiklerinin bazı özelliklere sahip olması gerekir. Bunlar aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

1. Konak hücrelere nazaran patojen mikroorganizmalara seçici olmalıdır.
2. Patojen organizmaların spesifik morfolojik özelliklerine uyumlu yapıda ve afinitesi yüksek olmalıdır.
3. Patojen organizmalar, konak hücrelere nazaran Ps maddeyi daha etkin bir şekilde hücre içine almalıdır.

AFDT, (i) DNA hasarı ve (ii) uygulama sırasında ortaya çıkan ROS moleküllerinin hücreyi hasarlaması olmak üzere iki yolla etki göstermektedir. Hücre hasarı ile membran taşıma sisteminin bozulması, plazma membranında bulunan enzimlerin inhibe edilmesi, zar lipidlerinin peroksidasyonu gibi çeşitli mekanizmalar sonucunda bakterinin sitoplazmik membranı hasara uğratılır. Her ne kadar DNA hasarı AFDT

uygulamasının öldürme mekanizmalarından biri olsa da, asıl etken kullanılan Ps maddenin ışık ile aktivasyonu sonucu oluşan ROT'ların başta bakteriyel hücre duvarı ve sitoplazmik membran olmak üzere hücre bileşenlerini onarılması mümkün olmayan bir şekilde okside etmesi ve nekroza sürüklemesine dayanmaktadır (Sharman vd., 1999; Öncü, 2013).

Fotoduyarlaştırıcı moleküllerin geniş antimikrobiyal etkiye sahip olması gıda güvenliği, sterilizasyon, çevre temizliği gibi uygulamalar için bu molekülleri birçok yöntemle kıyasla daha kullanışlı kılar. Ayrıca fotofuyarlaştırıcı moleküllerin, antibiyotikler gibi hızla direnç oluşturmaması, ölü hücrelerde dahi etkili olması, ucuz ve kolay uygulanabilir olması, oldukça hızlı etki göstermesi, hedef dokulara seçici bağlanabilmesi ve birikebilmesi, lokal tedavilerin yapılabilmesi, yan etki göstermemesi ve suda çözünebilir tiplerinin vücuttan kolayca atılması gibi avantajları mevcuttur (Foote, 1991; Wilson ve Patterson, 2008; Sharma vd., 2011; Sperandio vd., 2013).

1.4. Ftalosiyaninler

Sahip oldukları fiziksel ve kimyasal özelliklerden dolayı son yıllarda temel bilim ve klinik çalışmalarında dikkatleri üzerine çeken ftalosiyanin (Pc) bileşiği bir tetraisoindol türevidir ve sentetik olarak elde edilen boyar bir maddedir. Ftalosiyaninler ilk kez Braun ve Tcherniac (1907) tarafından ftalimit ve asetik asitten orto-siyanobenzamid eldesi sırasında koyu mavi renkli bir yan ürün olarak elde edilmiştir (Braun ve Tcherniac, 1907). Elde edilmesi gibi yapısının aydınlatılması da bir rastlantı sonucu olan ftalosiyaninler, 1928 yılında Dandringe ve Dunsworth tarafından çalışılmıştır. Dandringe ve Dunsworth, tepkime kabındaki bir çatlak üzerinde oluşan mavi-yeşil kalıntıyı (FePc) olarak incelemişler ve ilk izlenimler sonucunda bu bileşiğin yüksek kararlılığa sahip olup suda çözünmeyen bir pigment molekülü olduğunu söylemişlerdir. 1929 yılından 1933'e kadar Linstead ve grubu tarafından yapılan çalışmalar neticesinde ftalosiyaninlerin yapısı aydınlatılmıştır. Linstead, çeşitli fizikokimyasal ölçümler, X-ışını ve elektron mikroskopisi gibi teknikleri kullanarak yapılarını ve düzlemselliğini belirlemiştir (Linstead, 1934).

Adını Yunanca'da yer alan mineral yağı (naphta) ve koyu mavi (cyanine) kelimelerinden alan ftalosiyaninler, 18- π elektron sistemine sahip 16 üyeli (sekiz karbon ve sekiz azot atomu) düzlemsel aromatik makro halkalardan oluşmaktadır.

Doğada bulunan hemoglobin ve klorofil gibi porfirinlere yapısal olarak oldukça benzer olan Pc'ler, çok gergin yapıda olup dört iminoizoindolin biriminin kondenzasyon ürünleridirler. Renkleri maviden kahverengiye kadar değişebilen Pc'ler, eşsiz özelliklerinin keşfedilmesiyle bilimsel ilgiyi üzerine çekerek birçok alanda üzerinde çalışılan koordinasyon ve makrosiklik bileşikler olmuşlardır (Saka, 2012; Sarkı, 2014; Çakır, 2014;).

İlginç elektrokimyasal ve elektrokromik özelliklere sahip, kararlı radikaller oluşturabilen ftalosiyeninler, singlet oksijen üretme kapasitesinden dolayı fotodinamik terapide fotoduyarlaştırıcı kimyasallar olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, ftalosiyenin bileşikleri, gıda boyası, sterilizasyon, antimikrobiyal ajan, antikanser ajan, biyosensör, moleküler iletken teller, elektrokromik görüntüleme aygıtları ve güneş pilleri gibi çok sayıda farklı alanda kullanılmaktadır (Saja vd., 2005; Açıkbaş vd., 2009).

Farklı ftalosiyeninlerin antikanser ve/veya antimikrobiyal terapötik ajanlar olarak geliştirilmesi inovasyona yönelik önemli Ar-Ge çalışmalarıdır. Bu nedenle çalışma kapsamında, sentezi (Durmuş ve Nyokong, 2007; Çamur vd., 2011) tarafından yapılmış, merkezde Galyum atomu içeren tetra ve okta süstitüye ftalosiyeninler ile farklı DNA formlarına (ctDNA ve farklı G-quadrupleksler) bağlanma affinitelerinin ve seçiciliklerinin spektral ve termal yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın, klinik uygulamaya yönelik ikinci kısmında ise, ftalosiyenin bileşikleri kullanılarak antimikrobiyal fotodinamik terapi (Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa*, Gram (+) *Staphylococcus aureus* ile ökaryotik *Candida albicans*) uygulamaları için kullanışlılığının test edilmesi hedeflenmiştir. Böylece çalışılan ftalosiyeninlerin (i) DNA etkileşimleri ve (ii) antimikrobiyal terapötik ajan potansiyelleri belirlenerek kullanım alanları tartışılmıştır.

1.5. Literatür

Üç farklı anahtar kelime ile yapılan literatür taramasıyla (Web of Science, 01.06.2017) konunun literatürdeki durumu ortaya konulmuştur. Verilere göre ftalosiyenin temalı 22872 adet, Pc-ctDNA temalı 24 adet, Pc-G-Quadrupleks temalı ise 30 adet araştırma makalesi hâlihazırda bulunmaktadır. Ftalosiyenin - DNA etkileşimlerine ait bilimsel çalışmaların yakın tarihli ve sınırlı sayıda olması konunun yeni (güncel) ve yeterince çalışılmamış olduğuna işaret etmektedir. Yapılan literatür taraması sonuçlarından

bazıları aşağıda özetlenmiştir. Sıralama sadece ctDNA çalışmaları, sadece G-quadruplex çalışmaları ve ctDNA ile G-quadruplex çalışmaları şeklinde düzenlenmiştir.

Özçeşmeci vd. (2013) yaptıkları çalışmada, tetra sübstitüye çinko (II) Pc (periferal pozisyonunda dört adet 2',3',5',6'-tetrafluoro-4-(2- dimethylaminoetanethio) benzyloxy substitüenti taşıyan) bileşiklerinin ctDNA ile olan etkileşimi incelenmiştir. UV-Vis ve floresans spektroskopisi yöntemi ile birlikte termal denatürasyon yöntemi kullanılan çalışma sonucunda söz konusu Pc bileşiğinin DNA ile elektrostatik etkileşimlere girdiği belirlenmiştir.

Barut vd. (2013) yaptıkları çalışmada, 1-morpholinopropan-2-ol disübstitüye silikon Pc ve aksiyel 3-morpholinophenol disübstitüye silikon Pc 5 ve bunların suda çözünebilen kuaternize türevleri kullanılarak ctDNA etkileşimlerini UV-vis spektroskopisi, EtBr ile yerdeğiştirme ve termal denatürasyon yöntemleriyle incelenmiştir. Çalışma sonucunda söz konusu moleküllerin interkalatör olduğu bildirilmiştir.

Wang vd. (2013) yaptıkları çalışmada, 3-(4-methoxybenzylamino) propanoik asit sübstitüye suda çözünebilir çinko Pc (CNPcZn) bileşiğinin ctDNA ile olan etkileşimi ve ctDNA'da oluşturduğu hasarı çalışılmıştır. Çalışma sonucunda, kullanılan Pc bileşiğinin güçlü bir interkalatör olduğu gösterilmiştir.

Evren vd. (2013) yaptıkları çalışmada, tetra katyonik çinko Pc (1Q) and metalsiz Pc (periferal 4-((7-(trifluoromethyl)quinolin-4-yl)oxy) grubu taşıyan) bileşiklerinin ctDNA ile olan etkileşimleri çalışılmıştır. Çalışma sonucunda kullanılan 1Q molekülünün 2Q molekülüne göre daha iyi bir etkileşim gösterdiği belirtilmiştir.

López Zeballos vd. (2014) yaptıkları çalışmada çinko (II) merkez atomlu ftalosiyaninlerin ctDNA etkileşimlerini UV-Vis spektroskopisi, floresans spektroskopisi ve termal denatürasyon yöntemleriyle incelemiştir. Çalışma sonucunda kullandıkları Pc bileşiklerinin yüksek bağlanma sabitine sahip oldukları gösterilmiştir. Yaptıkları termal denatürasyon çalışmaları sonucunda Pc bileşiklerinin interkalasyon mekanizmasıyla değil, elektrostatik etkileşimlerle ctDNA molekülüne bağlandığı belirtilmiştir.

Çakır vd. (2015) yaptıkları çalışmada, tetra sübstitüye çinko (II) Pc bileşiklerinin BSA ve DNA bağlanma özelliklerini incelenmiştir. Floresans ve absorpsiyon spektroskopisi yöntemlerini kullanarak gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda söz konusu Pc bileşiklerinin BSA ve DNA ile etkileştiği bildirilmiştir.

Bağda vd. (2017) yaptıkları çalışmada, suda çözünebilen Lu (III) sandviç tip Pc bileşiğinin ctDNA ile olan etkileşimi incelenmiştir. UV-Vis spektroskopisi, floresans yerdeğiştirme, jel elektroforezi, viskozite ölçümü ve termal denatürasyon yöntemi kullanılan çalışma sonucunda söz konusu Pc bileşiğinin ctDNA'ya interkalatör olduğu bildirilmiştir.

Yabaş vd. (2015) yaptıkları çalışmada, top tipi Pc bileşiğinin ctDNA ile etkileşimi incelenmiştir. Spektrofotometrik titrasyon, EtBr yerdeğiştirme, termal denatürasyon viskozimetrik ölçüm ve jel elektroforezi yöntemleri kullanılan çalışma sonucunda, söz konusu Pc bileşiğinin çift zincirli DNA'ya interkale olduğu gösterilmiştir.

Yuan vd. (2016) yaptıkları çalışmada, sentezledikleri β -tetra (aminofenoksi) sülfonik sübstitüye çinko (SNZnPc) Pc bileşiğinin ctDNA ile etkileşimini UV-Vis spektroskopisi, EtBr yerdeğiştirme ve termal denatürasyon yöntemleriyle incelemiştir. Çalışma sonucunda SNZnPc bileşiğinin ctDNA ile güçlü bir şekilde etkileştiği ve kullanılan Pc bileşiğinin ctDNA'ya interkale olduğu gösterilmiştir.

Hassani vd. (2014) yaptıkları çalışmada, çinko merkezli Pc (Cu(PcTs)) ve iki tetrapiridinoporphyrines grubu taşıyan ([Cu(2,3-tmtppa)]⁴⁺ ve [Cu(3,4-tmtppa)]⁴⁺) Pc bileşiklerinin *Tel22* G-quadrupleks molekülü ile olan etkileşimini spektroskopik yöntemler kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, Cu(PcTs) bileşiğinin diğer iki moleküle nazaran daha zayıf etkileştiği gösterilmiştir. Bununla beraber yapılan CD spektroskopisi çalışması sonucunda Cu(PcTs) bileşiğinin G-quadrupleks yapısında her hangi bir değişime neden olmadığı gözlenmiştir. ([Cu(2,3-tmtppa)]⁴⁺ and [Cu(3,4-tmtppa)]⁴⁺) bileşiklerinin sübstitüent gruplarının periferde olup olmasının bağlanma üzerinde etkili olduğu not edilmiştir.

Bağda vd. (2017) yaptıkları çalışmada, sandviç tip Pc bileşiğinin *Tel21* ve *cMYC* G-quadrupleks yapılarıyla olan etkileşimi incelenmiştir. Spektrofotometrik titrasyon, CD spektroskopisi ve EtBr yerdeğiştirme yöntemleri kullanılan çalışma sonucunda söz

konusu Pc bileşiminin *Tel21* G-quadrupleksinin konformasyonunda önemli değişikliklere yol açtığı bildirilmiştir.

Bağda vd. (2017) yaptıkları çalışmada, top tipi Pc bileşiminin *Tel21* ve *cMYC* G-quadrupleks yapılarıyla olan etkileşimi incelenmiştir. UV-Vis spektroskopisi, floresans yerdğiştirme ve CD spektroskopisi yöntemleri kullanılan çalışma sonucunda, çalışılan Pc bileşiminin her iki G-quadruplex yapısı ile etkileştiği, etkileşim sonucunda konformasyonel değişiklikler ve yapı stabilizasyonu gözlenmiştir.

AFDT'ye yönelik yapılan literatür taraması sonucunda ftalosiyenin ve AFDT anahtar kelimeleriyle yapılan tarama sonucunda (Web of Science, 01.06.2017) sınırlı sayıda (75 adet) araştırma makalesi olduğu görülmüştür. Çeşitli gram (+) bakteri, Gram (-) bakteri ve funguslarla yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan bir kısmı aşağıda özetlenmiştir:

Soncin vd. (2002) yaptıkları çalışmada, bir takım çinko merkez atomlu Pc bileşiklerinin fotodinamik inaktivasyon özelliklerini araştırmışlardır. *S. Aureus* (ATCC 25923) ve metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) mikroorganizmaları üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, 0,01-10 µM Pc derişimlerinde 1-5 dk inkübe ettikleri bakteri örneklerine 1-5 dk 10-50 mW/cm² ışık uygulaması sonucunda patojen popülasyonunda 4- 5 log ((10⁴-10⁵ kat) azalma görülmüştür.

Mantareva vd. (2011) katyonik, suda çözünebilen Ga(III) merkez atomlu Pc bileşiklerini kullanarak yaptıkları çalışmada, Pc bileşiklerinin metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), *P. Aeruginosa* ve *C. albicans* mikroorganizmaları üzerindeki fotodinamik inaktivasyon özelliklerini incelemişlerdir. Karanlıkta 10 µM derişime kadar her iki Pc moelkülünün de toksik olmadığını bildirmişlerdir. 3 µM Pc derişiminde, 60 mW/cm² de 15 dk ışık uygulaması sonucunda yaşayan bakteri sayısında 4- 5 log (10⁴-10⁵ kat) azalma gözlenmiştir.

Ke vd. (2014) yaptıkları çalışmada, iki monosübstitüye zinc(II) Pc bileşiminin bakteri metisilin duyarlı *S. aureus* (ATCC 25923), metisilin dirençli *S. aureus* (ATCC BAA-43), *E. coli* (ATCC 35218) ve *P. aeruginosa* (ATCC 27853)), virüsler ve bakteriyal biyofilmler üzerindeki fotodinamik inaktivasyon özelliklerini incelemişlerdir. Karanlıkta sitotoksik etkiye sahip olmayan Pc bileşiklerinin, halojen lambaya sahip ışık kaynağı ile 48 J/cm² 20 dk ışık uygulaması sonucunda sitotoksik etkinin yüksek

düzeyleme çıktığı gösterilmiştir. *S. Aureus* için 5 nM Pc derişiminde hücre sayısının 4log (on bin kat) kadar düştüğü gösterilmiştir.

Dimaano vd. (2015) silikon Pc bileşikleri kullanarak yaptıkları çalışmada, metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA, ATCC 25923) ve metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA, ATCC 43300) mikroorganizmaları üzerinde fotodinamik antibakteriyal etkisini araştırmışlardır. 0,1-1 µM derişim aralığında Pc bileşiklerini 2 J/cm² ışığa 1 saat maruz bırakarak yapılan AFDT çalışması sonucunda 1 µM derişimindeki Pc çözeltisinin tüm suşları öldürdüğü bildirilmiştir.

Osifeto vd. (2015) yaptıkları çalışmada mono- ve tetra-piridiloksi sübstitüye indiyum (III) ftalosiyanın fotodinamik antimikrobiyal kemoterapötik etkilerini *E. coli* (ATCC 25922) mikroorganizması üzerinde araştırmışlardır. Yapılan çalışmada ftalosiyanın bileşikleri ile 30 dk karanlık ortamda inkübasyonun ardından 23,99 mW gücünde 1 saat ışık uygulanmıştır. Uygulama sonucunda tetra sübstitüye Pc bileşiğinin mono sübstitüye Pc bileşiğine göre daha etkili olduğu gösterilmiştir.

İşçi vd. (2016) yaptıkları çalışmada, hidrofobik methylsulfonyl çinko ftalosiyanın bileşiğini kullanarak *S. aureus* (Gram +) ve *E. coli* (Gram -) mikroorganizmaları ve insan epidermoid karsinoma hücreleri (A431, ATCC CRL-1555) üzerindeki fotodinamik terapötik etkisini araştırmışlardır. 0.5-10 µM derişim aralığında ftalosiyanın bileşiği ile karanlıkta inkübasyonun ardından 50J/cm² kırmızı ışığa maruz bırakılan örneklerde, *S. aureus* mikroorganizmasını etkili bir biçimde öldürürken ($a > 5 \log_{10}$) *E. coli* mikroorganizması üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir öldürme etkisi gözlenmemiştir.

Chen vd. (2016) Çinko merkez atomlu Pc türlerinin bakteri kaynaklı deri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanışlılığını incelemiştir. *P. acnes* (ATCC 6919) ve *S. aureus* subsp. *aureus* (ATCC 6538) kullanılan çalışmada, 3 ve 6 J/cm² gücünde LED ışık kaynağı kullanılarak 1-2 dk AFDT uygulanmıştır. Kullanılan Pc (1 µM) bileşiklerinden bir tanesi (ZnPc-S₄) AFDT uygulaması sonucunda etki göstermezken diğerinin (ZnPc-(Lys)₅) uygulanan doza bağlı olarak bakteri büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Pc bileşiklerinin 10 µM konsantrasyona kadar karanlık toksisitelerinin olmadığı belirtilmiştir. 1 µM konsantrasyonda 6 J/cm² dozunda ışık uygulaması

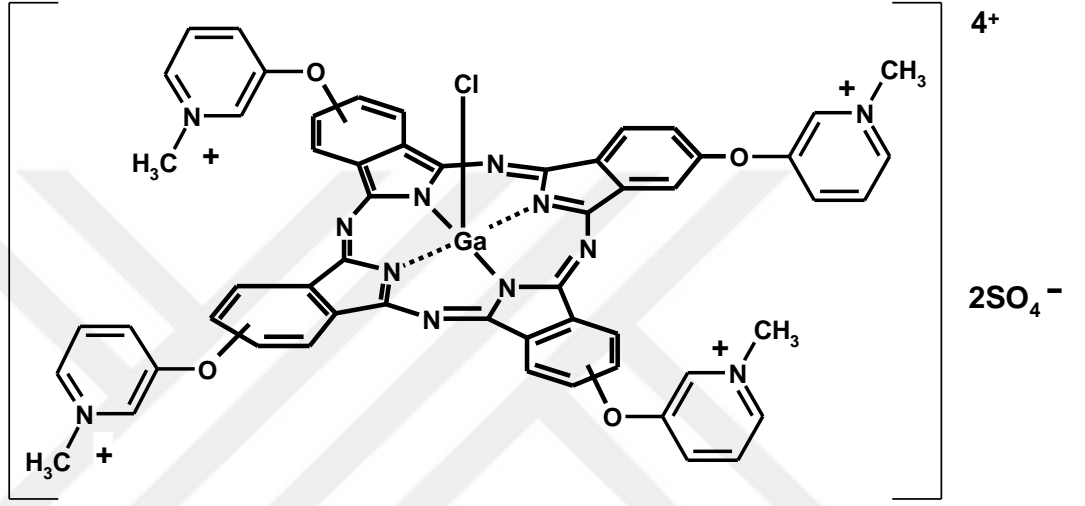
sonucunda *P. acnes* mikroorganizmasının koloni sayısında 5 ila 6 log azalma gözlenmiştir. Bu değer *S. aureus*'ta gözlenenden oldukça düşük bulunmuştur.

Dlugaszewska vd. (2017) non perifer konumunda N-metil morpholiniumethoxy grupları bulunan Mg(II) merkez atomlu Pc bileşiklerinin antikanser ve antimikrobiyal fotodinamik aktivitelerini incelemiştir. *S. aureus* (NCTC 4163), *S. epidermidis* (ATCC 49134), *E. faecalis* (ATCC 49474), metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA), metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), metisilin duyarlı *S. epidermidis* (MSSE), vancomycin dirençli *Enterococcus* (VRE), *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (NCTC 6749), *S. marcescens* (ATCC 8100), *C. albicans* (ATCC 10231) ve *A. niger* (ATCC 16404) mikroorganizmalarını kullanarak yaptıkları çalışma sonucunda dirençli suşlar ile normal suşların AFDT'ye yanıtının benzer olduğu, 100 µM konsantrasyonda etkili bir şekilde mikroorganizmaların öldürüldüğü ve ökaryotik *C. albicans* için istatistiksel açıdan anlamsız sonuç alınırken, *A. niger* için AFDT etki gözlenmemiştir.

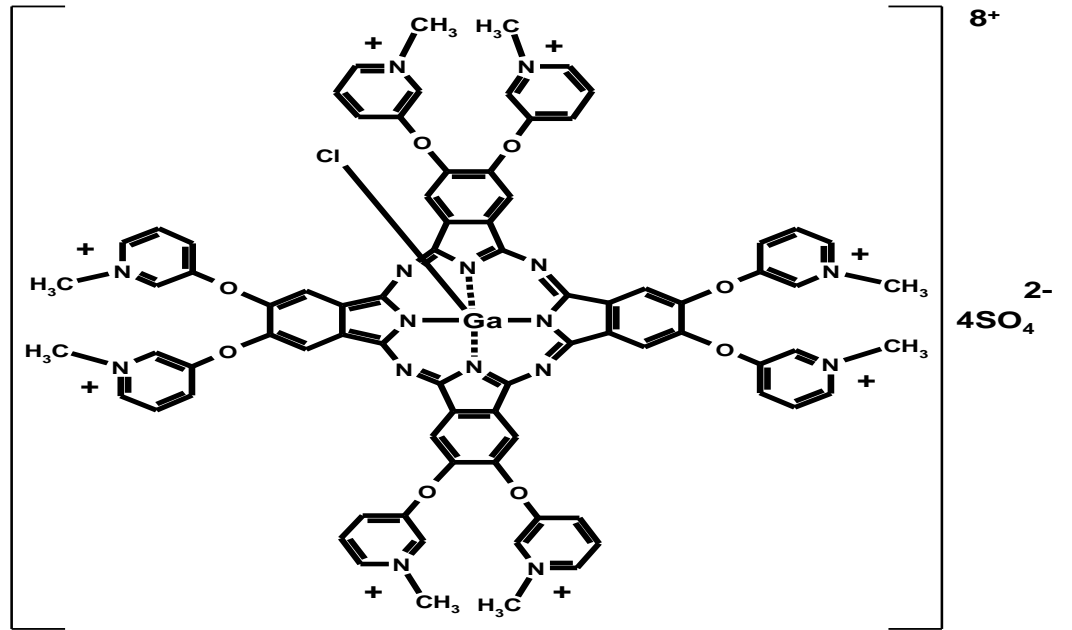
Son 20 yıl içerisinde birçok Pc sentezlenmesine rağmen, uygulamaya yönelik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu nedenle, Pc'lerin farklı DNA tipleri ile etkileşimlerinin tayini ve AFDT uygulamaları için kullanılabilirliğinin belirlenmesi gibi konular bilimsel öneme sahiptir. Bu motivasyonla, yapılan tez çalışması ile literatürde varolan eksikliğin giderilmesine katkı sunulması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada daha önce Çamur vd. (2011) ve Durmuş ve Nyokong (2007) tarafından sentezlenmiş, suda çözünen, tetra ve okta sübstitüye galyum atomu içeren ftalosiyanın bileşiklerinin farklı biyolojik alanlarda kullanılma potansiyelleri araştırılmıştır. Bu amaçla, söz konusu ftalosiyanın bileşiklerinin, farklı DNA molekülleri ile olan etkileşimleri belirlenerek, antimikrobiyal fotodinamik kemoterapi uygulaması gerçekleştirilmiştir.



(a) TGaPc bileşiği



(b) OGaPc bileşiği

Şekil 2.1 Çalışmada kullanılan Pc bileşikleri, a) TGaPc b) OGaPc

2.1. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Besiyerleri

Tüm çalışma boyunca dH₂O kullanıldı. DNA bağlanma çalışmalarında tüm çözeltiler 150 mM KCl içeren 1xTris-EDTA (1xTE) tamponunda çözüldü (ctDNA hariç). Çözelti pH'ları Sartorius Basic marka pH metre (cam elektrod) ile kontrol edildi. pH metre kalibrasyonu haftalık olarak yapıldı.

A. DNA Bağlanma

(i) Tris-EDTA-KCl Tamponu

Tris-HCl (10 mM) (Merck)	107,815 g
KCl (150 mM) (Merck)	11,183 g
EDTA (1 mM) (Sigma)	3,7224 g

Hesaplanan miktarlar tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 7.4'e ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti +4 °C'de saklandı.

(ii) Oligonükleotid Çözeltileri

Oligonükleotid çözeltileri 150 mM KCl içeren 1xTE tamponu içerisinde satın alınan firma tarafından önerilen derişimlerde (oligomerlerin derişimi 260 nm'deki absorbans değerlerinden belirlendi) çözüldü. Çözelti, 95 °C'de 10 dk inkübe edilip daha sonra oda sıcaklığına yavaş yavaş soğutuldu. Hazırlanan oligomer çözeltisindeki G-quadrupleks oluşumu CD-spektroskopisiyle kontrol edildi.

(iii) Ftalosivanin Çözeltileri (1,5x10⁻⁴ M)

TGaPc	0,0086 g
OGaPc	0,0140 g

Hesaplanan miktarda Pc katısının 150 mM KCl içeren 50 mL 1xTE tamponunda çözünmesiyle hazırlandı.

(iv) Thiazole Orange (TO) Çözeltisi (200 µM)

Thiazole Orange (Sigma)	0,0048 g
-------------------------	----------

0,0048 mg TO tartılarak 150 mM KCl içeren 50 mL 1xTE tamponunda çözüldü.

Son hacim 50 mL'ye yine aynı tampon ile tamamlandı.

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

EtBr (Etidyum Bromid) (Sigma)	50 mg
-------------------------------	-------

50 mg EtBr tartılarak 5 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı üzerinde çözdürüldü. Amber cam şişe içinde +4 °C de saklandı.

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

Tris (0,89 M) (Merck)	107,815 g
Borik Asit (0,89 M) (Merck)	55,029 g
EDTA (0,01 M) (Sigma)	3,7224 g

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

B. Antimikrobiyal Aktivite ve Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi

(i) Fosfat Tamponu (PBS – Phosphate Buffered Saline)

NaCl (Merck)	8,0 g
KCl (Merck)	0,2 g
Na ₂ HPO ₄ (Merck)	1,44 g
KH ₂ PO ₄ (Merck)	0,24 g

Hesaplanan miktarlar tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 7,4'e ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. 121 °C'de 20 dk otoklavlanarak +4 °C'de saklandı.

(ii) Nutrient Broth Besiyeri

Pepton (Merck)	5 g
Yeast Extract (Merck)	3 g

Hesaplanan miktarlar tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 7'ye ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. 121 °C'de 20 dk otoklavlanarak +4 °C'de saklandı.

(iii) Nutrient Agar Besiyeri

Pepton (Merck)	5 g
Yeast Extract (Merck)	3 g
Agar (Sigma)	12 g

Hesaplanan miktarlar tartılarak bir miktar dH₂O içerisinde çözdürüldü. pH 7'ye ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlandı. 121 °C'de 20 dk otoklavlanarak petrilere yaklaşık 25 mL olacak şekilde döküldü. Hazırlanan besiyerleri +4 °C'de saklandı. Kullanmadan önce 37 °C'de 1 gece inkübe edildi.

(iv) Ftalosiyenin Çözeltileri

DNA bağlanma çalışmaları için hazırlanan Pc çözeltilerinden uygun miktarlarda PBS ile seyreltmeler yapılarak hazırlandı.

(v) Mc Farland Standardı

%1'lik Sülfürik Asit Çözeltisi

H₂SO₄ (Merck) 1 mL

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

%1,175'lik Baryum Klorür Çözeltisi

BaCl₂.2H₂O (Merck) 1,175 mg

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

0,5 McFarland standardının hazırlanması

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

2.2. Ftalosiyanın Bileşiklerinin DNA Bağlanma Özellikleri

2.2.1. UV-Vis Spektrofotometre Deneyleri

UV-Vis spektrofotometrik bağlanma çalışmaları için Pc çözeltilerinin derişimleri sabit tutularak üzerlerine artan miktarlarda G-quadrupleks ya da ctDNA çözeltilerinden eklendi. Tüm çözeltilerin son hacimleri eşit olacak şekilde 150 mM KCl içeren Tris-EDTA tamponu ile seyreltildi. Çözeltiler oda sıcaklığında 30 dk inkübe edildi. Çözeltilerin spektrumları 220–830 nm dalga boyları arasında tampon çözeltiye karşı izlendi. Spektrofotometrik absorban değerleri Benisi-Hildebrant denklemi (Şekil 2.2) ile işlenerek bağlanma sabitleri (K_{BH}) hesaplandı. Ölçümler Shimadzu UV-1800 model spektrofotometre (Japonya) cihazında yapıldı.

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

Şekil 2.2 Benisi-Hildebrant denklemi

2.2.2. Floresans Yerdeğiştirme Deneyleri

Floresans yerdeğiştirme çalışmaları Agilent Carry Eclipse Spektrofluorometre (USA) cihazında yapıldı. Deneyler için sabit oligomer, TO derişimlerine artan miktarda Pc çözeltisi eklendi. Oda sıcaklığında 10 dk inkübasyon ardından floresans emisyon

spektrumları tarandı. TO denemeleri için uyarma dalga boyu 510 nm, EtBr denemeleri için uyarma dalga boyu 526 nm olarak ayarlandı. Ölçümlere emisyon değeri sabit kalana ya da sıfırlanana kadar devam edildi. Floresans emisyon şiddeti verileri, Stern-Volmer denklemi (Şekil 2.3) ile işlenerek Stern-Volmer grafikleri çizildi. Stern-Volmer grafiğinin doğrusal olduğu derişim aralığı için K_{SV} sabitleri hesaplandı.

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

Şekil 2.3 Stern-Volmer denklemi

2.2.3. Erime Sıcaklığı Tayini

DNA erime noktası tayini için 260 nm'deki absorbans verileri sadece DNA içeren çözelti ve DNA+Pc içeren çözeltiler için izlendi. 40 °C-95 °C arasında, sıcaklık 2 °C artırılarak ölçüm alındı. Sıcaklığa karşı absorbans grafiği çizilerek erime noktası belirlendi.

2.2.4. Jel Elektrofrezisi Yöntemi

Jel elektrofrezisi çalışmaları için örnekler DNA derişimi sabit tutularak, üzerine farklı derişimlerde Pc çözeltileri eklenerek hazırlandı. Hazırlanan örnekler 0,8'lik agaroz jelde 2 V/cm akımda yürütüldü. Yürütmeler 1xTBE (Tris-borik asit-EDTA) tamponu içerisinde gerçekleştirildi. DNA'nın görüntülenebilmesi için agaroz jel hazırlanırken ortama 15 µL etidium bromür (10 mg/mL) ilave edildi. UV ışık altında incelendi.

2.2.5. Viskozite Ölçümleri

ctDNA-Pc etkileşimlerinin aydınlatılmasında viskozimetrik yöntemler kullanıldı. Bunun için sabit miktardaki ctDNA çözeltilerine artan miktarlarda ilgili Pc bileşiği eklendi. Her çözelti 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. $[Pc]/[DNA]$ 'ne karşı $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ grafiği çizilerek Pc bileşiklerinin bağlanma mekanizması incelendi.

2.2.6. CD (Circular Dichroism) Spektrofotometre Deneyleri

Pc bileşiklerinin G-quadrupleks etkileşimlerinin G-quadrupleks konformasyonunda oluşturdukları derişimlerin aydınlatılması için CD (Circular Dichroism) spektroskopisi yöntemi kullanıldı. Sabit G-quadrupleks derişimlerinde artan miktarda Pc eklenerek 10 dk inkübe edildi. 230-300 nm arasında CD spektrumları tarandı. Her tarama için üç tekrar yapılarak ortalaması alındı. Spektrumlar tampon çözeltiliye karşı tarandı. 240, 260 ve 290 nm'lerdeki pozitif ve negatif eliptisite değerlerinden G-quadruplekslerin paralel, anti-paralel ve hibrit yapıları belirlendi. Pc eklenmesiyle

yapılardaki farklılaşmalar izlendi. CD ölçümleri, Jasco J 815 spektrofotometre (Oklahoma, ABD) cihazında (Bilkent-UNAM) yapıldı.

2.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT) Deneyleri

-80 °C’de saklanan bakteri ve mantar suşları NB besiyerine ekildi ve 37 °C’de 24 saat inkübe edilerek uyandırıldı. İnkübasyon sonunda öze ile NA besiyeri üzerine tek koloni ekimi yapılarak 1 gece 37 °C’de inkübe edildi. Oluşan kolonilerden iyi izole olmuş bir koloni seçilerek NB besiyerine pasajlandı. 37 °C’de 1 gecelik inkübasyonun ardından bakteri ve mantar süspansiyonları, NB besiyeri kullanılarak 0,5 Mc Farland standardına göre ayarlandı (yaklaşık $1-2 \times 10^8$ cfu/mL).

Ftalosiyanın çözeltileri 1,5 mM’lık stok çözeltiden başlanarak 1 mM, 150 µM, 100 µM, 50 µM, 25 µM, 15 µM, 12,5 µM, 10 µM, 5 µM ve 2,5 µM olacak şekilde PBS ile seyreltilerek hazırlandı.

AFDT çalışmaları, 96 kuyucuklu plakalar (well plateler) içinde gerçekleştirildi. Çalışma grupları aşağıdaki şekilde düzenlendi:

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

a) **Kontrol grubu:** Her bir çalışma grubu için kontrol grupları, pozitif kontrol ve negatif kontrol olmak üzere iki şekilde düzenlendi. 50 µL bakteri süspansiyonu üzerine 150 µL PBS solüsyonu eklenerek pozitif kontrol oluşturuldu. Negatif kontrol olarak 200 µL NB besiyeri kullanıldı.

b) **Işık grubu:** Işık grubu deneyleri için, her bir kuyucuğa 0,5 Mc Farland standardına göre hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 50 µL eklendi. Üzerinde 150 µL PBS eklenerek farklı doz ve sürelerde lazer ışığı uygulandı. 37 °C’de 24 saat inkübe edilen örnekler kontrol edilerek bulanıklık gözlenmeyen ilk değer MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) değeri olarak kaydedildi. Bulanıklık gözlenmeyen tüm kuyucuklardan 10 µL alınarak 10^4 kat seyreltildi ve her bir örnek iki farklı NA besiyerine ekildi. NA besiyerlerinde koloni oluşumu gözlenmeyen ilk değer ise MBK (minimum bakteriyesidal konsantrasyon) değeri olarak kaydedildi. Tüm deneyler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi.

c) Pc grubu: Pc grubu deneylerinin tamamı karanlık laboratuvar ortamında gerçekleştirildi. Çalışmalar 96 well plate kullanılarak son hacim 200 µL olacak şekilde yapıldı. Her bir kuyucuğa 0,5 Mc Farland standardına göre hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 50 µL eklendi. Her bir kuyucuktaki bakteri süspansiyonları üzerine hazırlanan Pc çözeltilerinden 50 µL eklenerek karanlık ortamda çalkalamalı etüvde 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon ardından her bir kuyucuk kontrol edilerek bulanıklık gözlenmeyen ilk değer MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) değeri olarak kaydedildi. Bulanıklık gözlenmeyen tüm kuyucuklardan 10 µL alınarak 10⁴ kat seyreltildi ve her bir örnek iki farklı NA besiyerine ekildi. NA besiyerlerinde koloni oluşumu gözlenmeyen ilk değer ise MBK (minimum bakteriyesidal konsantrasyon) değeri olarak kaydedildi. Tüm deneyler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi.

d) AFDT grubu: AFDT grupları için Pc grubu deneyleri sırasında tespit edilen MİK değerinin altında kalan konsantrasyonlardaki Pc çözeltilerinden her bir kuyucuğa 50 µL eklendi. Üzerine 0,5 Mc Farland standardına göre hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 50 µL eklendi. 37 °C'de 15 dk inkübe edilen süspansiyonlara, ışık uygulamaları sonucunda elde edilen optimum güç ve sürede lazer ışığı uygulandı. Uygulama ardından her bir kuyucuktaki süspansiyondan 10 µL alınarak 10⁴ kat seyreltildi ve NA besiyerine ekildi. Oluşan koloniler sayılarak tablo haline getirildi. Sonuçlar, deney petrilerindeki koloni sayılarının ortalamaları alınarak ve istatistiksel hesaplamaları yapılarak değerlendirildi.

3. BULGULAR

3.1. DNA Bağlanma Çalışmaları

3.1.1. UV-Vis Spektrofotometre Deneyleri

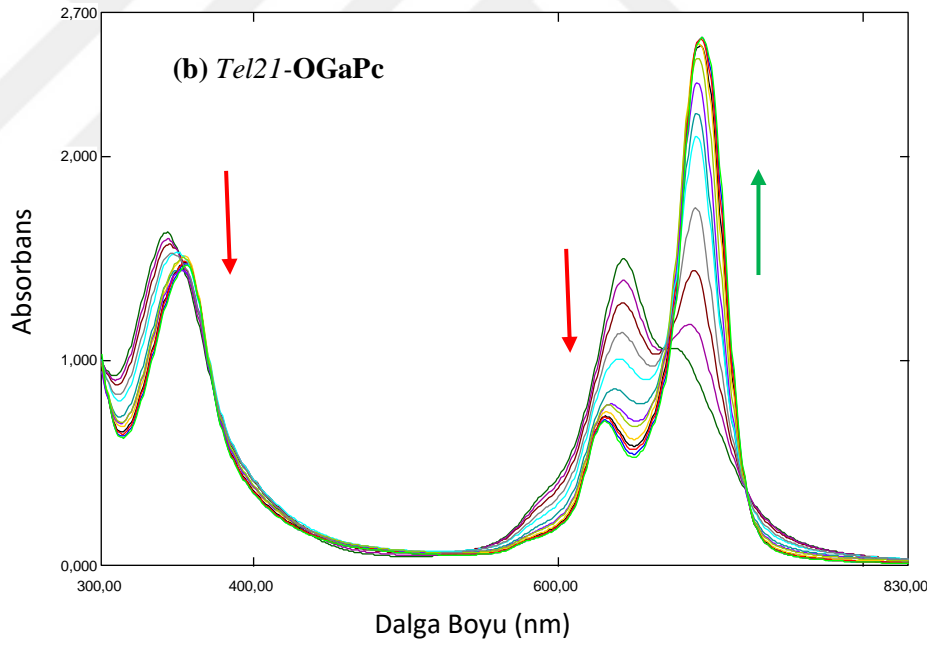
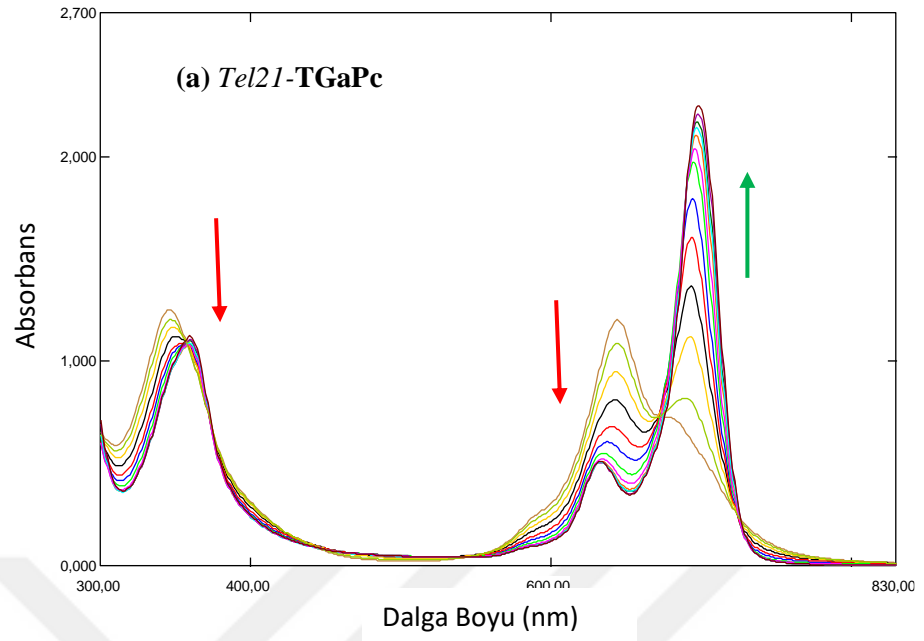
UV-Vis spektroskopisi DNA-küçük molekül etkileşimlerinin aydınlatılmasında kullanılan bir yöntemdir. Gözlenen hipokroizm, hiperkroizm ve dalga boyu değerlerinde kayma (kırmızıya ve maviye kayma) verileri bağlanma mekanizmasının aydınlatılmasında kullanışlı bilgiler sağlar. Genellikle küçük moleküllerin kuvvetli etkileşimleri absorbans ve dalga boyu değerlerinde büyük değişikliklere neden olurken daha zayıf etkileşimler daha az değişikliklere neden olur. Diğer yöntemlerle de desteklenerek UV-Vis spektroskopisinden elde edilen veriler bağlanma modellerinin öngörülmesinde kullanılır.

Tez kapsamında, Pc bileşiklerinin DNA etkileşimlerinin incelenmesinde UV-Vis spektrumları 220-830 nm aralığında taranmıştır. Çalışmalarda son hacim sabit tutulmak koşulu ile artan DNA derişimlerinde Pc bileşiklerinin Q ve B bantlarındaki değişimler izlendi (Şekil 3.1 – 3.6). Son hacim sabit tutularak, gözlenen absorbans değerlerinde seyrelmeden kaynaklanacak değişimler bertaraf edilmiştir. Yapılan çalışma sonuçları Çizelge 3.1’de özetlenmiştir. Tablodan görüldüğü gibi tüm G-quadrupleks DNA'ların **TGaPc** ile etkileşimlerine dair bağlanma sabitleri, **OGaPc**’e göre daha yüksek bulunmuştur.

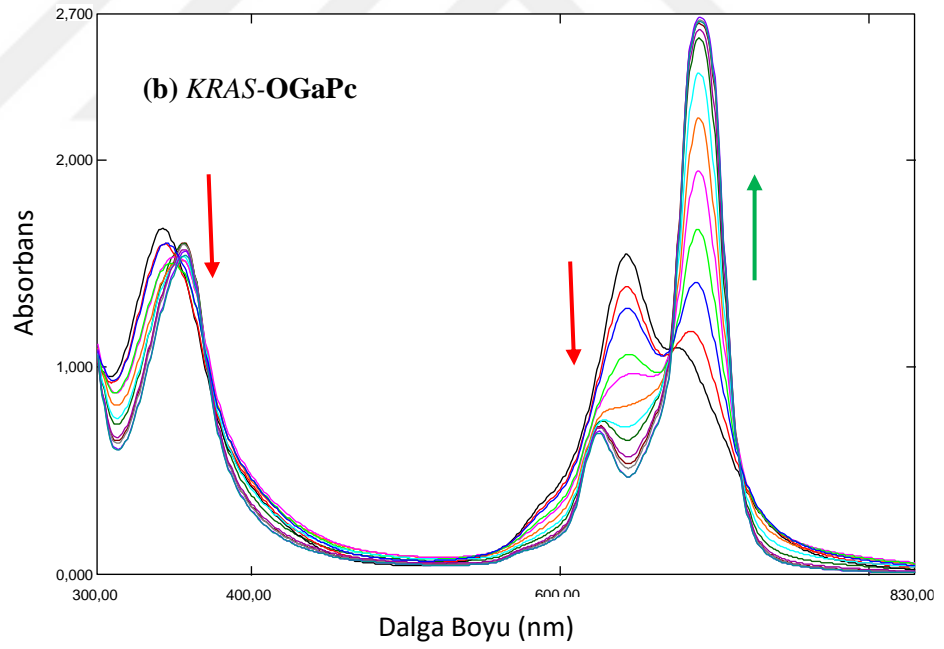
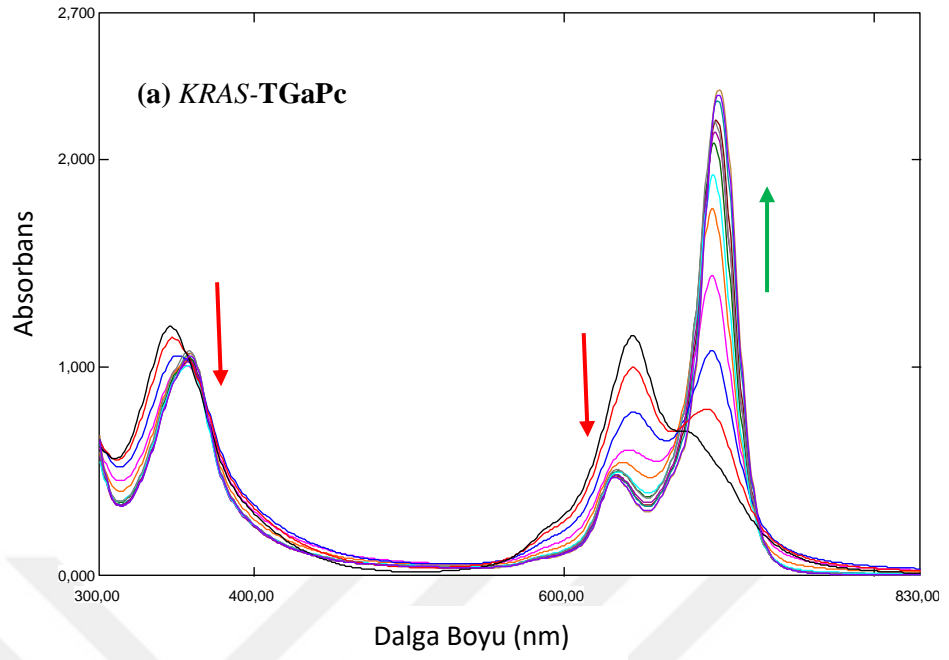
Çizelgede görülen başka bir önemli nokta ise Pc bileşiklerinin G-quadrupleks yapılarına olan seçiciliğidir. Çizelgeden de görüldüğü gibi G-quadrupleks, Pc etkileşimleri için K_{BH} sabitleri (*cMYC* hariç) ctDNA ile etkileşimlerine dair K_{BH} değerlerinden en düşük 5 kat daha yüksektir. Bu durum Pc'lerin G-quadrupleks yapılara seçiciliği açısından önemlidir.

Çizelge 3.1 Pc bileşiklerinin bağlanma sabitleri (K_{BH})

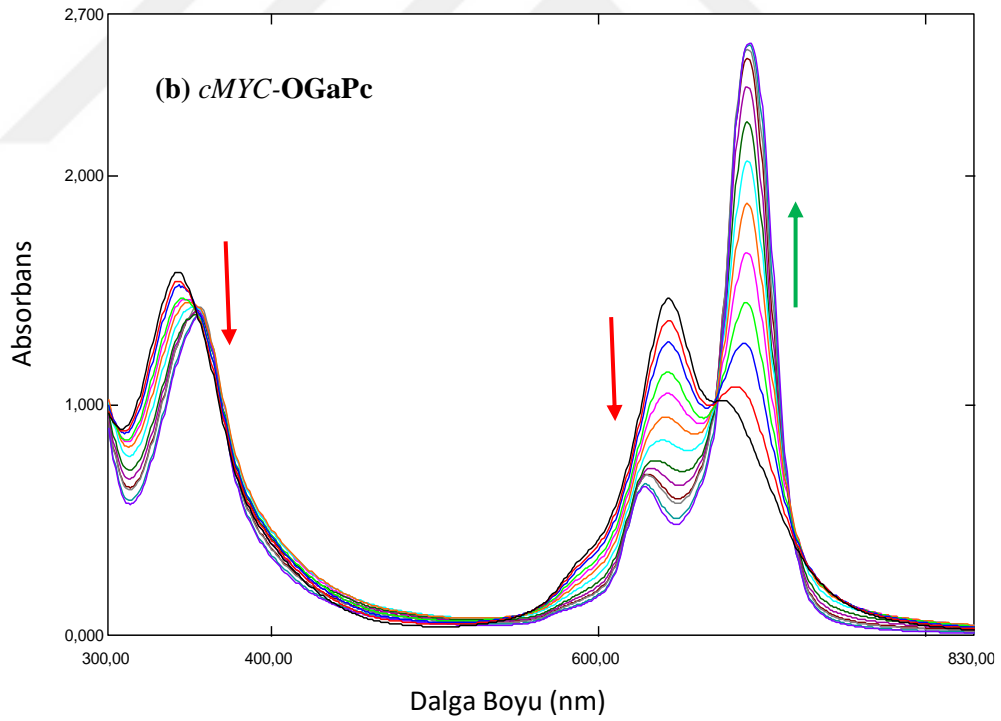
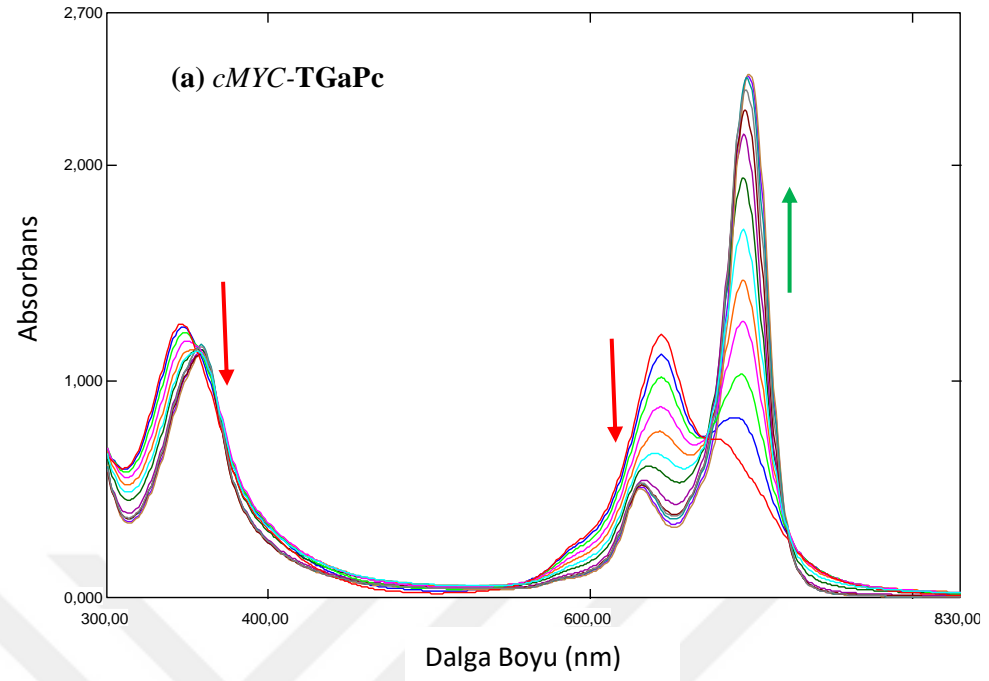
	TGaPc		OGaPc	
	C_{oligomer}, μM	K_{BH}, mM^{-1}	C_{oligomer}, μM	K_{BH} mM^{-1}
<i>Tel21</i>	2,13-12,84	83,5	2,20-13,21	24,5
<i>KRAS</i>	2,05-12,34	260,5	2,07-12,45	146,5
<i>cMYC</i>	2,17-13,05	19,0	2,11-12,65-	5,0
<i>Nükleolin</i>	2,93-14,34	43,5	2,35-14,11	25,0
<i>VEGF</i>	2,39-14,35	189,5	2,39-14,35	93,5
ctDNA	20,15-120,91	8,0	20,03-121,82	10,5



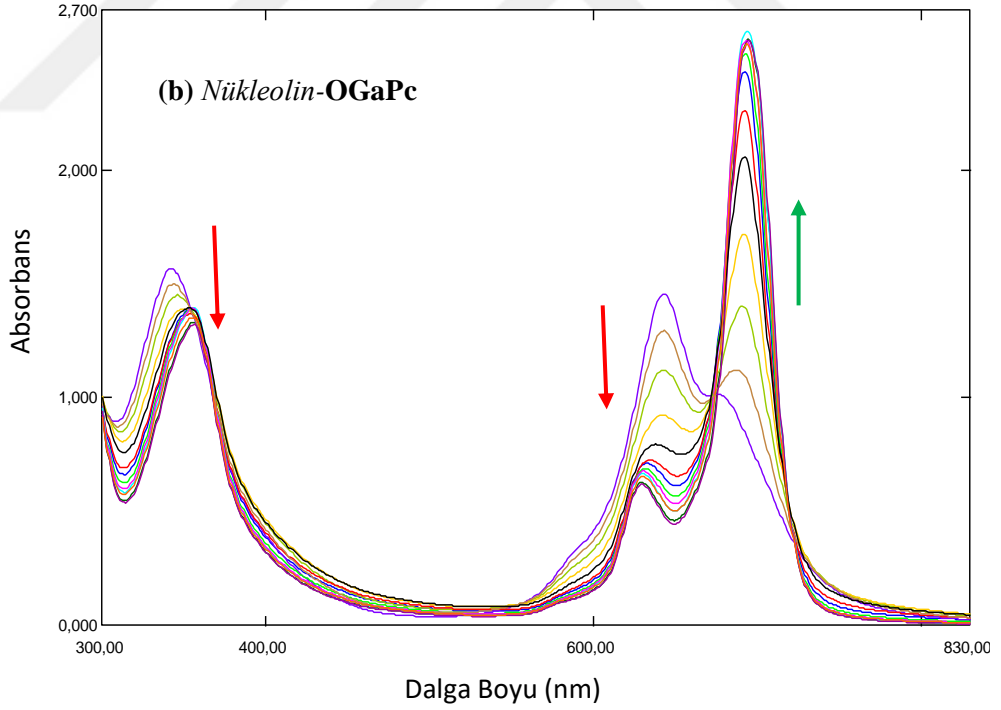
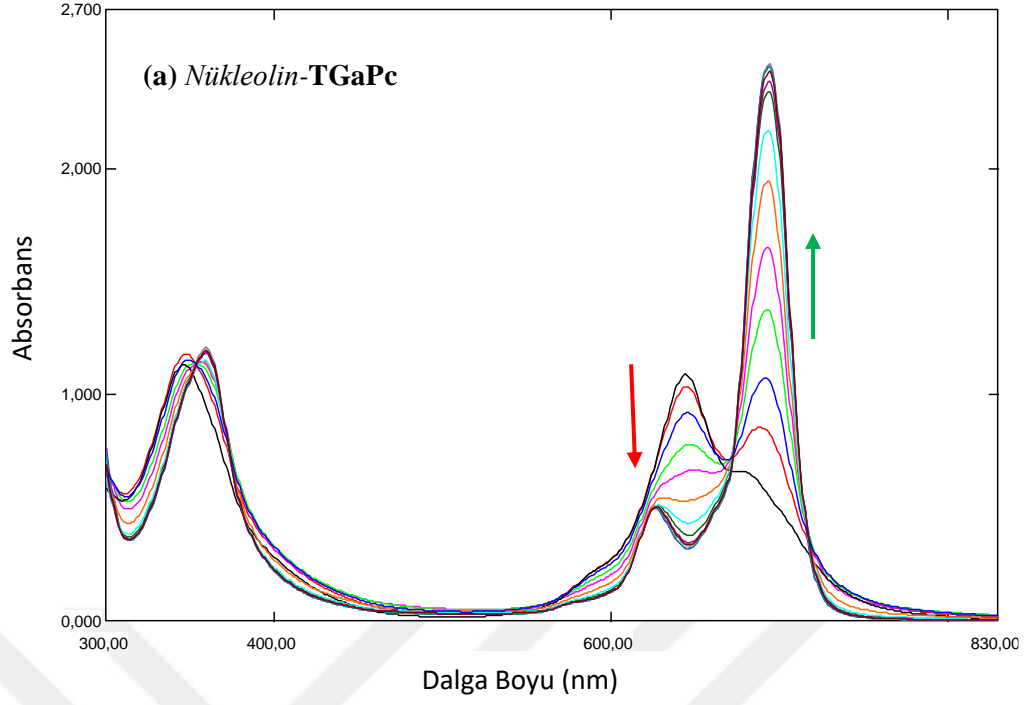
Şekil 3.1 *Tel21-Pc* bileşiklerinin UV-Vis spektrumları
(a) TGaPc, (b) OGaPc



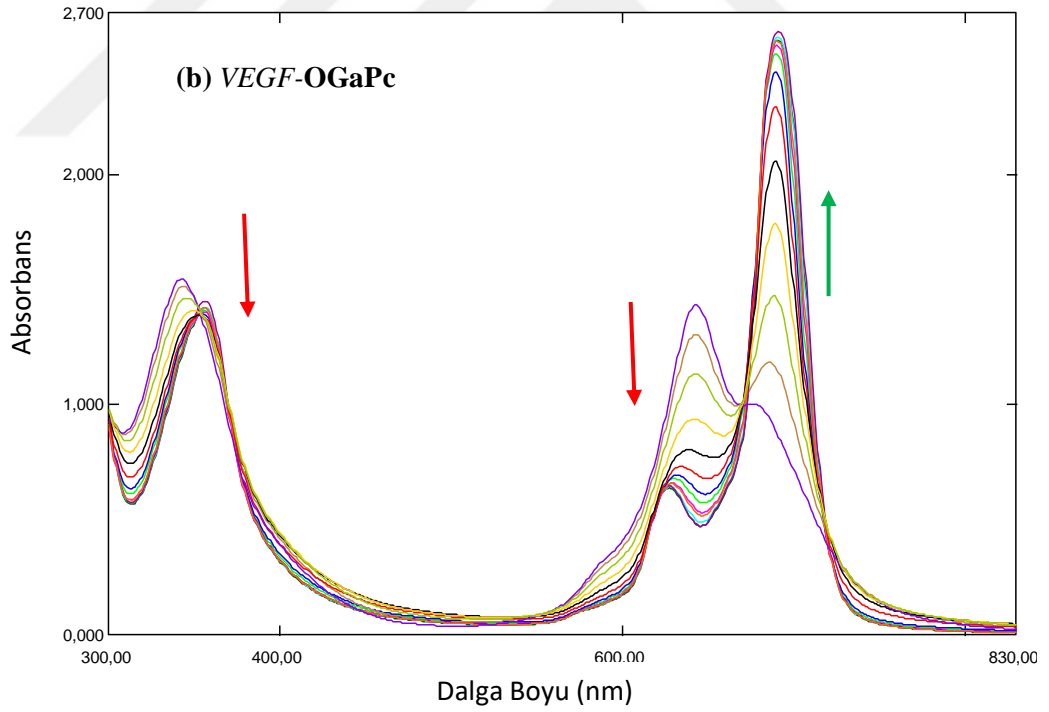
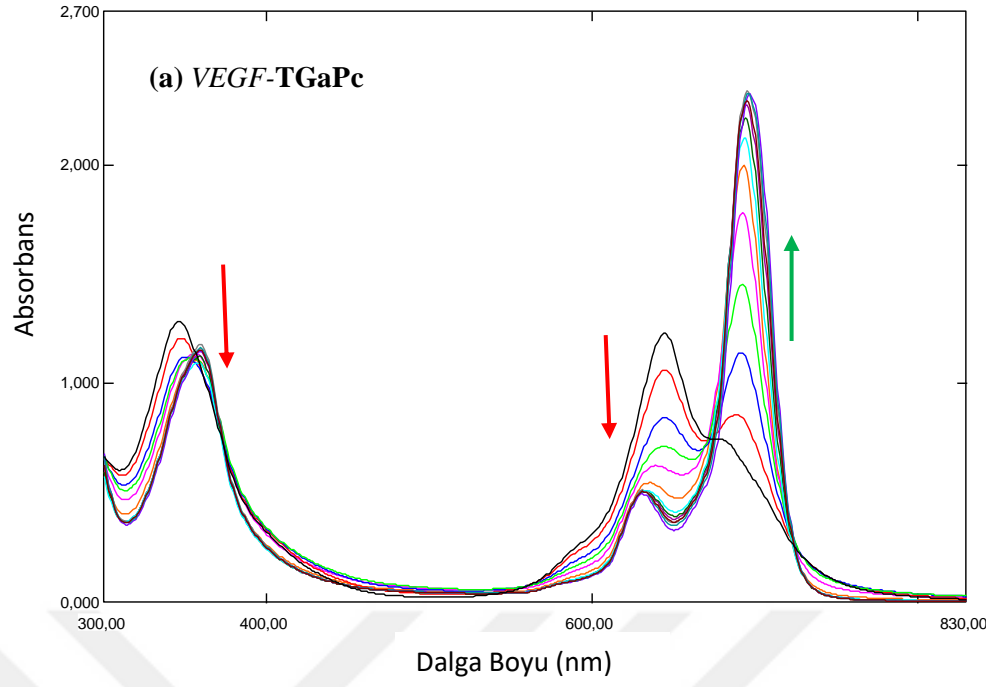
Şekil 3.2 *KRAS-Pc* bileşiklerinin UV-Vis spektrumları
(a) *TGaPc*, (b) *OGaPc*



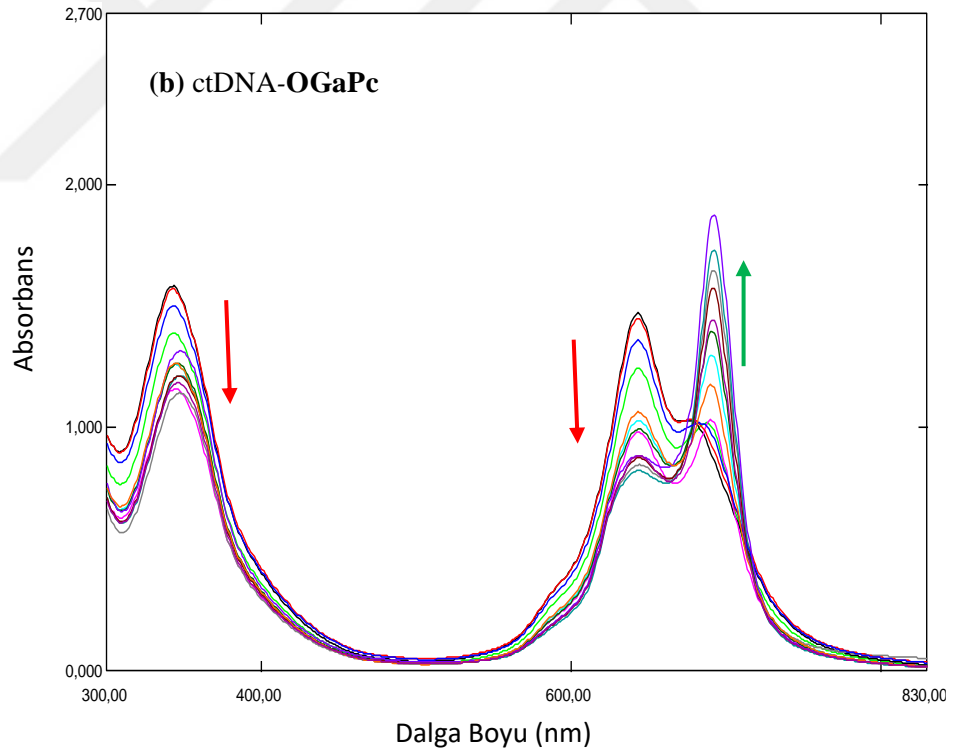
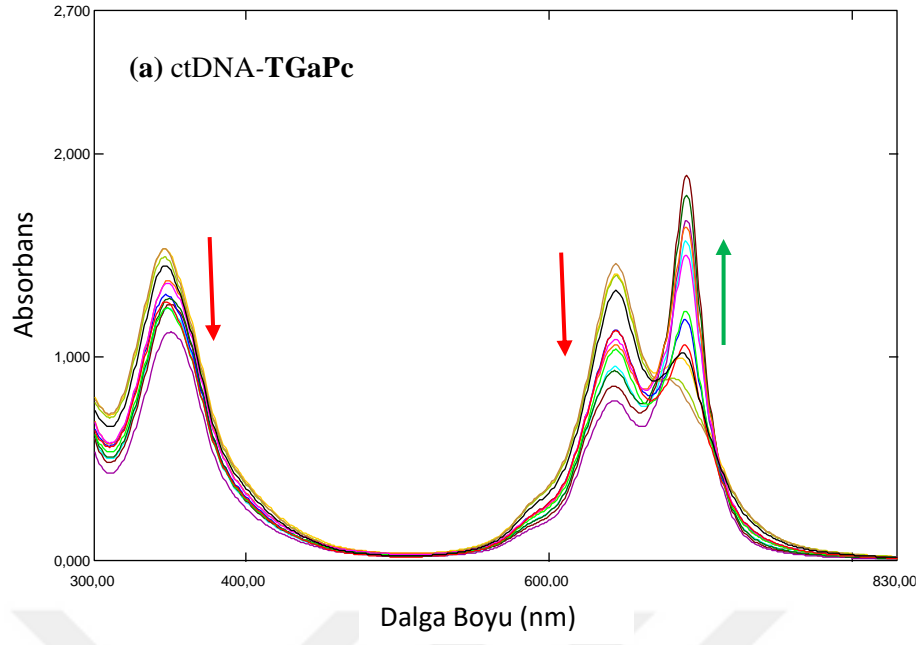
Şekil 3.3 *cMYC-Pc* bileşiklerinin UV-Vis spektrumları
(a) TGaPc, (b) OGaPc



Şekil 3.4 Nükleolin-Pc bileşiklerinin UV-Vis spektrumları
(a) TGaPc, (b) OGaPc



Şekil 3.5 *VEGF-Pc* bileşiklerinin UV-Vis spektrumları
(a) *TGaPc*, (b) *OGaPc*



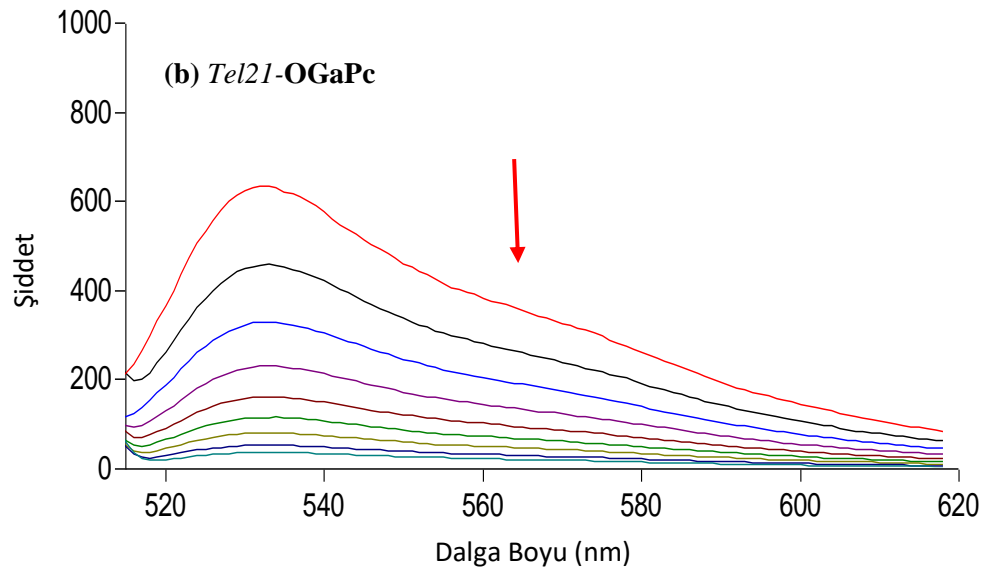
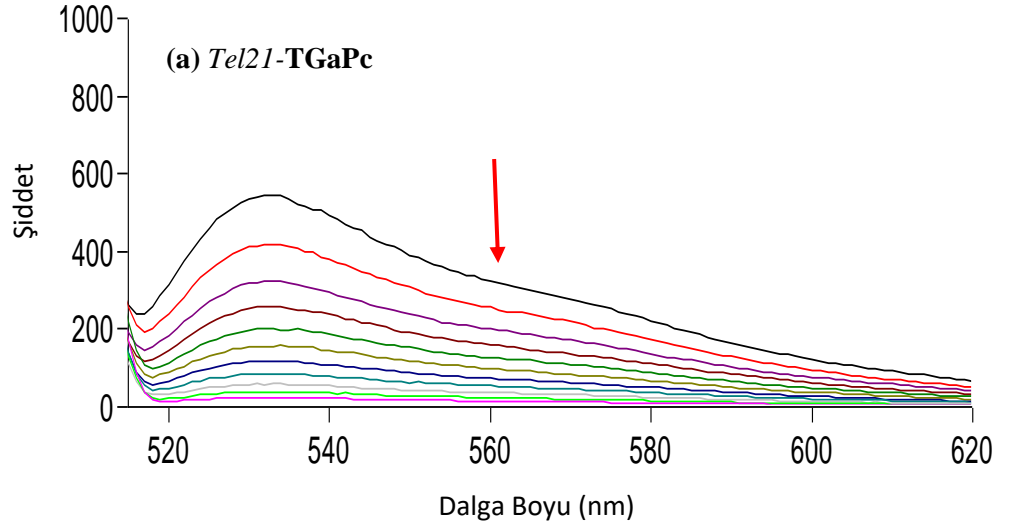
Şekil 3.6 ctDNA-Pc bileşiklerinin UV-Vis spektrumları
(a) TGaPc, (b) OGaPc

3.1.2. Floresans Yer Değiştirme Deneyleri

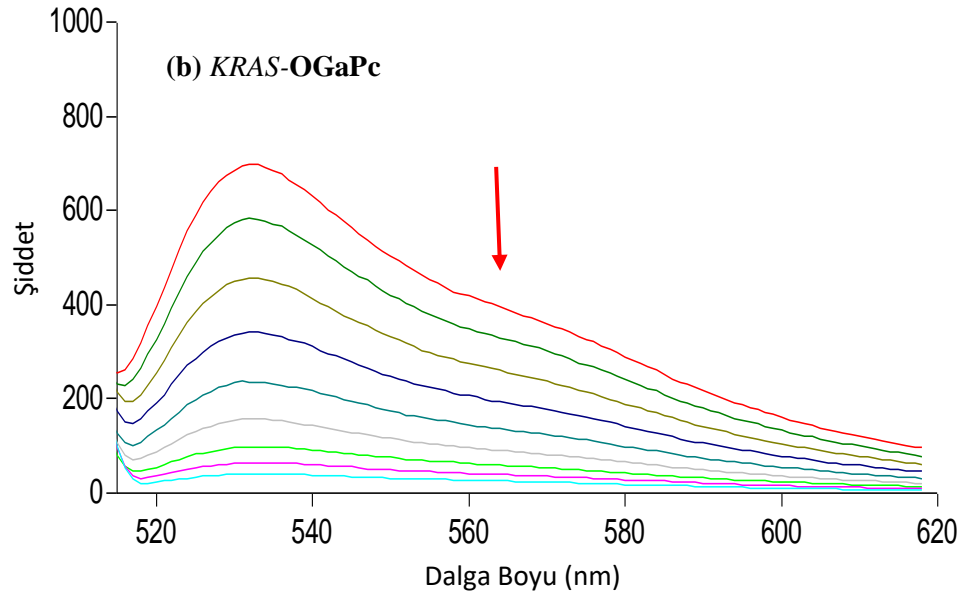
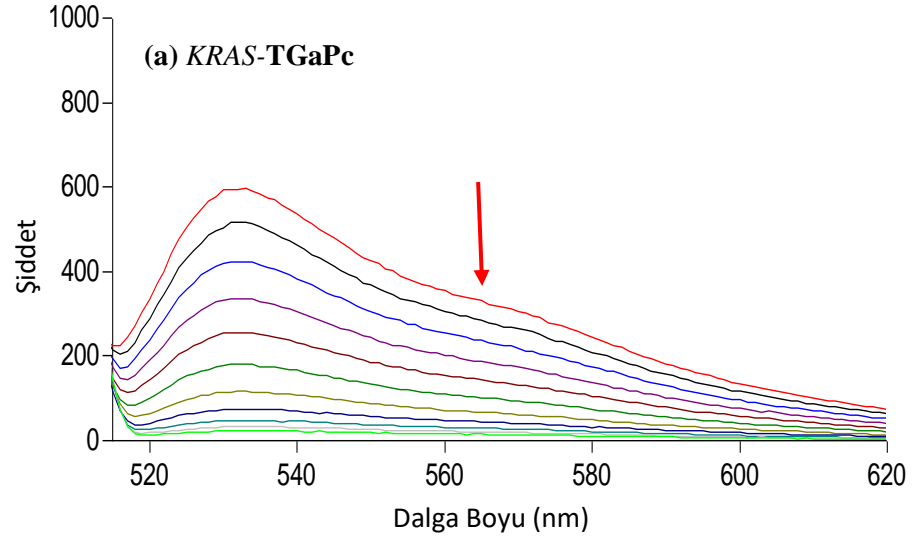
Küçük moleküllerin DNA etkileşimlerinin çalışıldığı bir diğer önemli teknik floresans spektrofotometresi kullanılarak yapılan yer değiştirme çalışmalarıdır. Tek başına zayıf floresans özelliğe sahip Thiazole Orange (TO) ve etidyum bromür (EtBr) gibi moleküller DNA ile etkileştiklerinde kuvvetli emisyon şiddetine sahip olurlar. DNA ile etkileşebilen başka bir molekülün ortama eklenmesi DNA-TO (ya da EtBr gibi) kompleksindeki TO (ya da EtBr)'ın ilgili moleküllerle yer değiştirmesi emisyon şiddetini düşürmektedir. Meydana gelen azalma, referans olarak kullanılan molekülün yerine ortama eklenen molekülün DNA sarmalına bağlandığını göstermektedir (Baguley ve LeBret 1984). Bununla birlikte referans olarak kullanılan molekülün bağlanma modeli biliniyorsa bu model üzerinden çalışılan molekülün bağlanma mekanizmasıda tahmin edilebilir.

Tez kapsamında yapılan floresans yerdeğiştirme çalışmalarında G-quadrupleks DNA ile etkileşimi yüksek olan TO ve çift sarmal DNA interkalatörü olan EtBr kullanıldı.

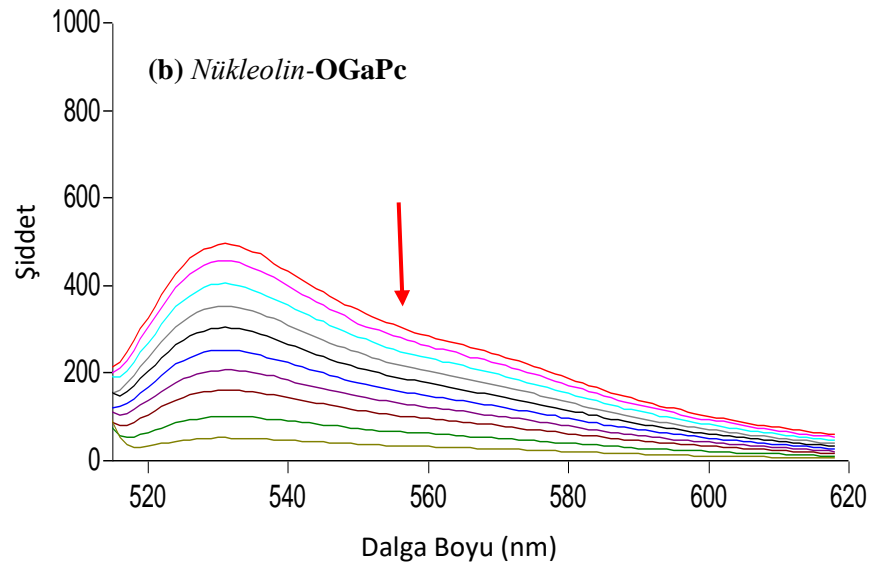
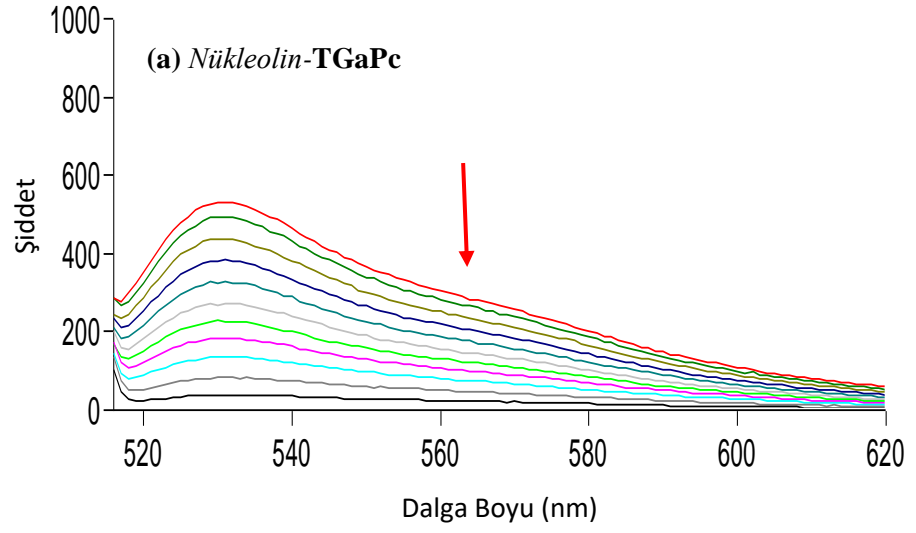
Sabit tutulan oligomer, TO ve EtBr derişimlerine karşı ortama artan miktarda Pc bileşikleri eklenerek her ekleme sonunda floresans emisyon değişimi izlendi (şekil 3.7 - 3.12).



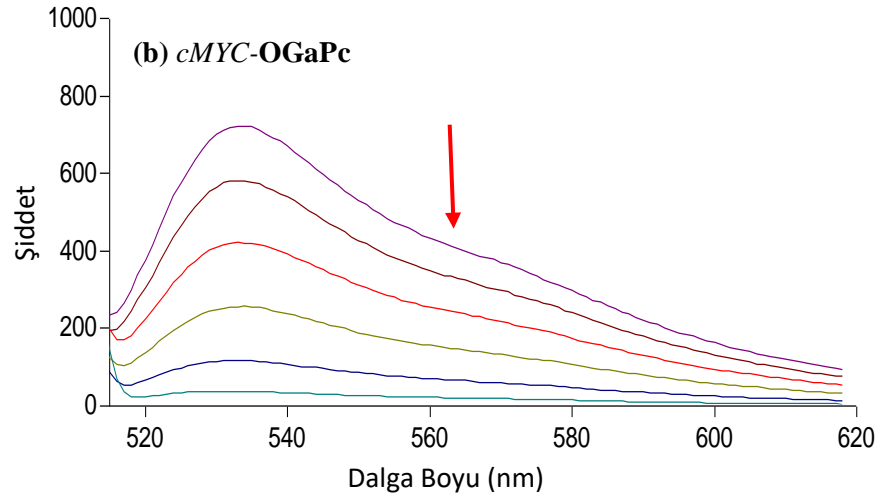
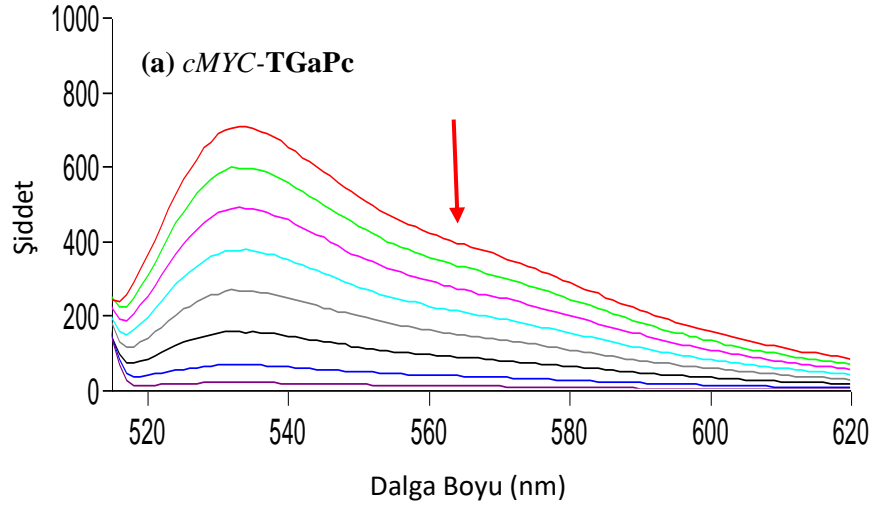
Şekil 3.7 *Tel21-Pc* bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri
(a) *TGaPc*, (b) *OGaPc*



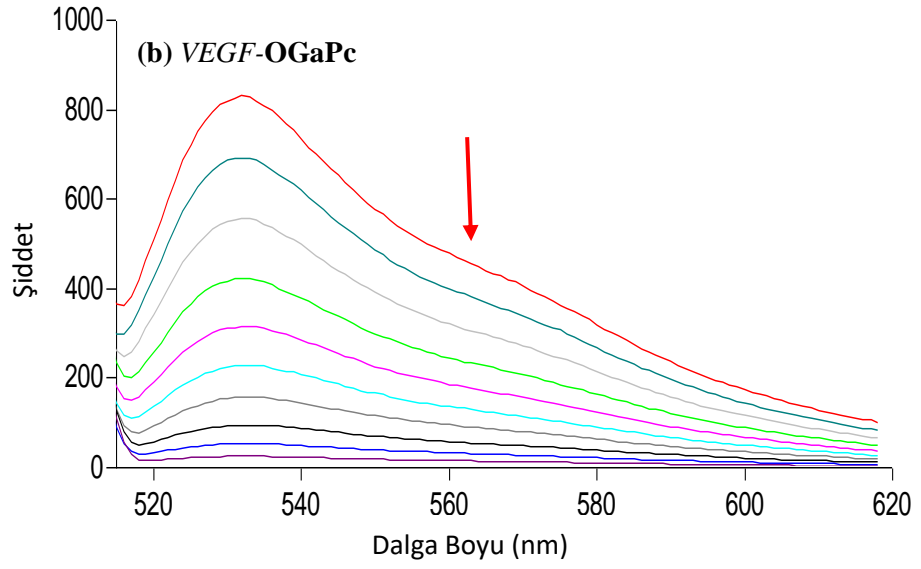
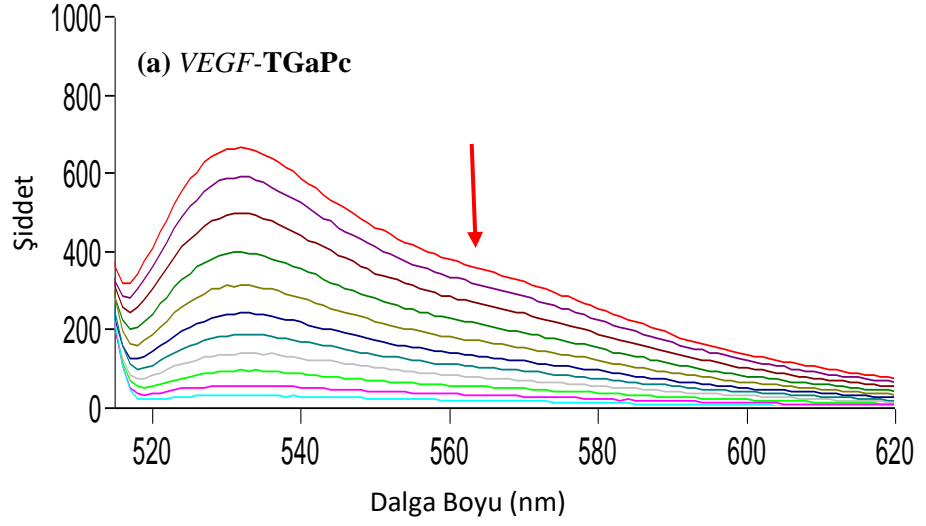
Şekil 3.8 *KRAS-Pc* bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri
(a) *TGaPc*, (b) *OGaPc*



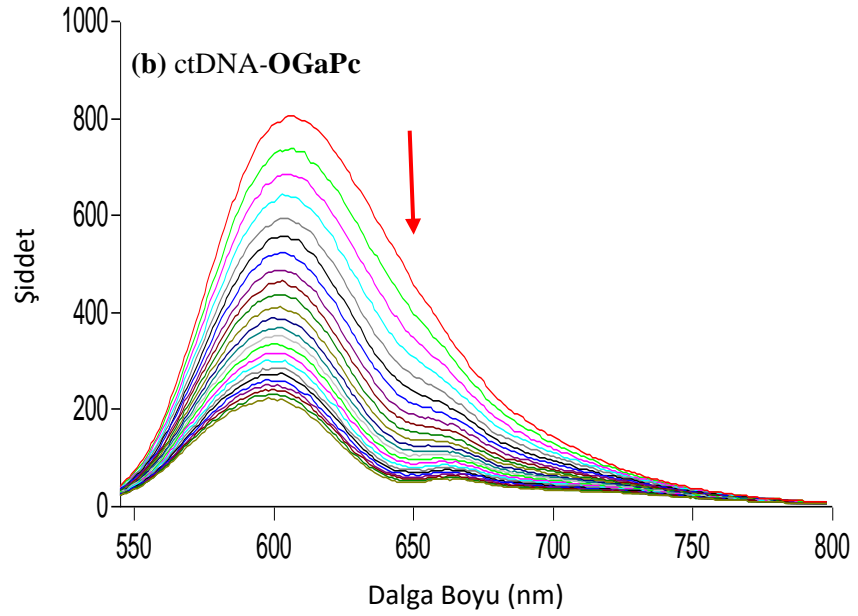
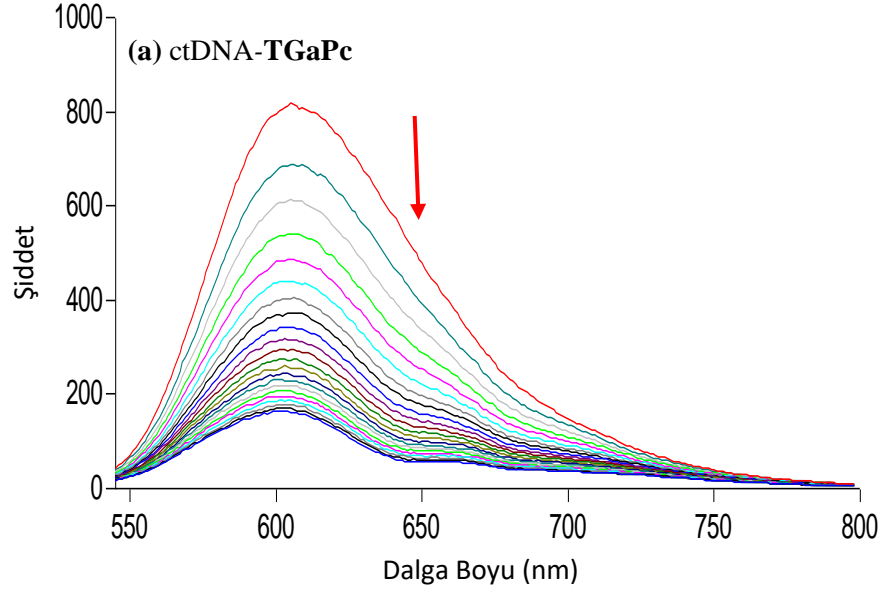
Şekil 3.9 Nükleolin-Pc bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri
(a) TGaPc, (b) OGaPc



Şekil 3.10 *cMYC-Pc* bileşiklerinin floresans yerdęiřtirme grafikleri
(a) TGaPc, (b) OGaPc



Şekil 3.11 *VEGF-Pc* bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri
(a) *TGaPc*, (b) *OGaPc*



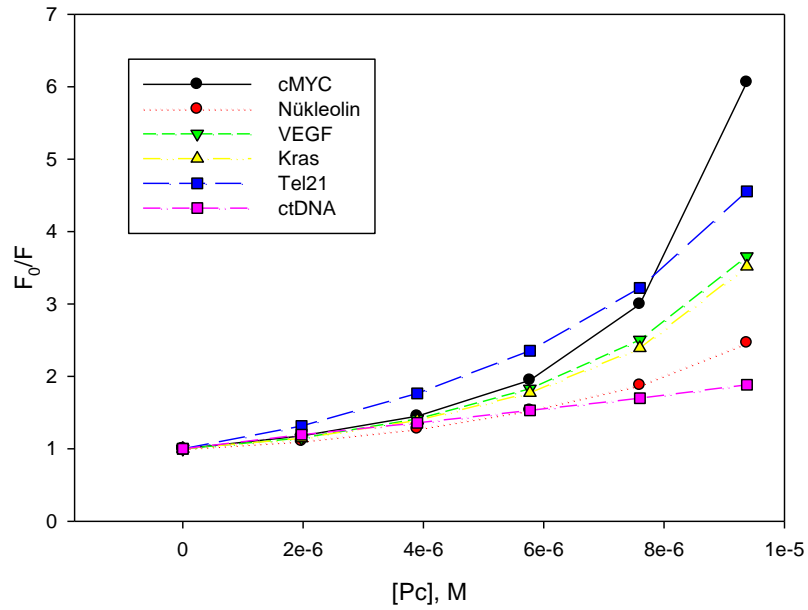
Şekil 3.12 ctDNA-Pc bileşiklerinin floresans yerdeğiştirme grafikleri
(a) TGaPc, (b) OGaPc

Thiazole Orange (TO) kullanılarak yapılan çalışmalarda, uyarma (excitation) dalga boyu 510 nm, emisyon dalga boyu aralığı ise 510–620 nm olarak belirlendi. EtBr kullanılarak yapılan çalışmalarda ise uyarma (excitation) dalga boyu 526 nm, emisyon dalga boyu aralığı ise 526–800 nm olarak belirlendi. En yüksek dalga boyundaki

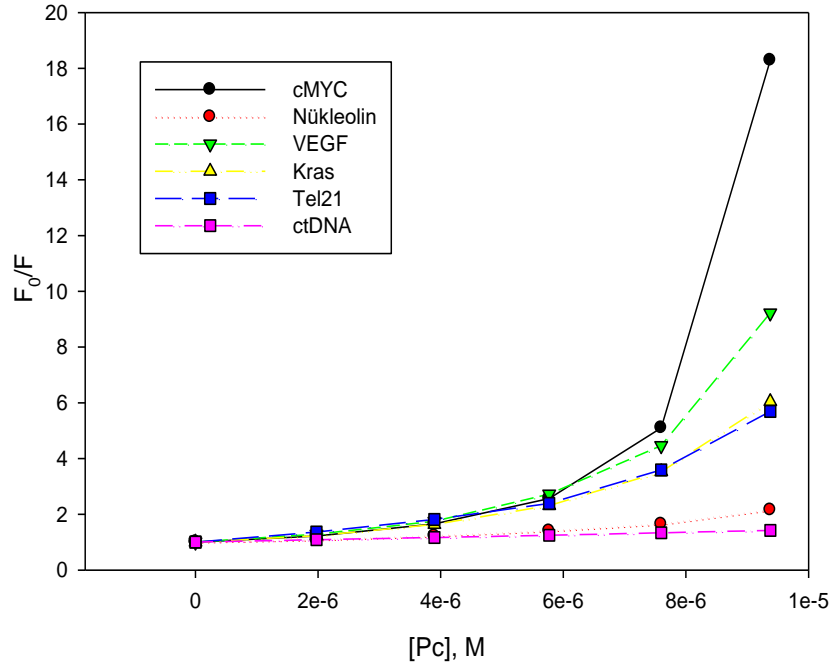
emiyon değerleri analizler için kaydedildi. Elde edilen sonuçlar Stern-Volmer denklemini kullanılarak K_{sv} sabitleri hesaplandı (izelge 3.2). K_{sv} değerlerine ait grafik çizildi (ekil 3.13, 3.14).

Çizelge 3.2 Pc bileşiklerinin K_{sv} sabitleri

	TGaPc		OGaPc	
	$C_{TGaPc}, \mu M$	K_{sv}, M^{-1}	$C_{OGaPc}, \mu M$	K_{sv}, M^{-1}
Tel21	$0-5,77 \times 10^{-6}$	$2,341 \times 10^5$	$0-7,59 \times 10^{-6}$	$2,892 \times 10^5$
KRAS	$0-7,59 \times 10^{-6}$	$1,790 \times 10^5$	$0-5,77 \times 10^{-6}$	$2,478 \times 10^5$
cMYC	$0-5,77 \times 10^{-6}$	$1,616 \times 10^5$	$0-5,77 \times 10^{-6}$	$2,659 \times 10^5$
Nükleolin	$0-7,59 \times 10^{-6}$	$6,002 \times 10^4$	$0-1,11 \times 10^{-5}$	$1,595 \times 10^5$
VEGF	$0-5,77 \times 10^{-6}$	$1,425 \times 10^5$	$0-2,77 \times 10^{-6}$	$3,574 \times 10^5$
ctDNA	$0-2,64 \times 10^{-5}$	$1,161 \times 10^5$	$0-3,16 \times 10^{-5}$	$6,399 \times 10^5$



Şekil 3.13 TGaPc bileşiklerinin Stern-Volmer K_{sv} sabiti grafiği



Şekil 3.14 OGaPc bileşiminin Stern-Volmer K_{sv} sabiti grafiği

3.1.3. Erime Sıcaklığı Tayini

Erime sıcaklığı (T_m) DNA çift zincir sarmalının yarısının açıldığı sıcaklık olarak adlandırılır. Erime sıcaklığı, DNA baz kompozisyonu, derişimi, ortamın iyonik şiddeti gibi parametrelere bağlıdır. Erime sıcaklığının belirlenmesi DNA- küçük molekül etkileşimlerinin aydınlatılması açısından önemlidir. DNA sarmalının relaksasyonunu engelleyecek tür etkileşimler genellikle erime sıcaklığının artmasına neden olur. Ayrıca kuvvetli etkileşimler de erime sıcaklığında önemli farklılıklara neden olur. Tez kapsamında erime noktası deneyleri için öncelikli olarak ctDNA ve G-quadruplex moleküllerinin daha sonra ise ilgili Pc-DNA komplekslerinin erime sıcaklığı belirlenmiştir. Erime deneyleri için sıcaklık 40-95 °C aralığında ikişer °C aralıklarla artırılarak çözeltilerin absorbansları ölçülmüştür. T (°C) - A grafiğinden erime sıcaklıkları belirlenmiştir.

Çizelge 3.3'te G-quadruplex-OGaPc ve -TGaPc bileşikleri için erime sıcaklığı ve erime sıcaklığında kayma değerleri görülmektedir. TGaPc varlığı; *Tel21*, *KRAS* ve *VEGF* G- quadruplexlerinin erime sıcaklığını önemli derecede değiştirmiştir (> 5°C). *cMYC*, *Nükleolin* ve ctDNA'nın erime sıcaklığında OGaPc'nin etkisi daha azdır (< 3°C). Benzer şekilde *Tel21* ve *KRAS*'ın erime noktası değeri TGaPc varlığında değişiklik gösterirken diğer DNA'lar için daha az bir fark gözlenmiştir. Erime

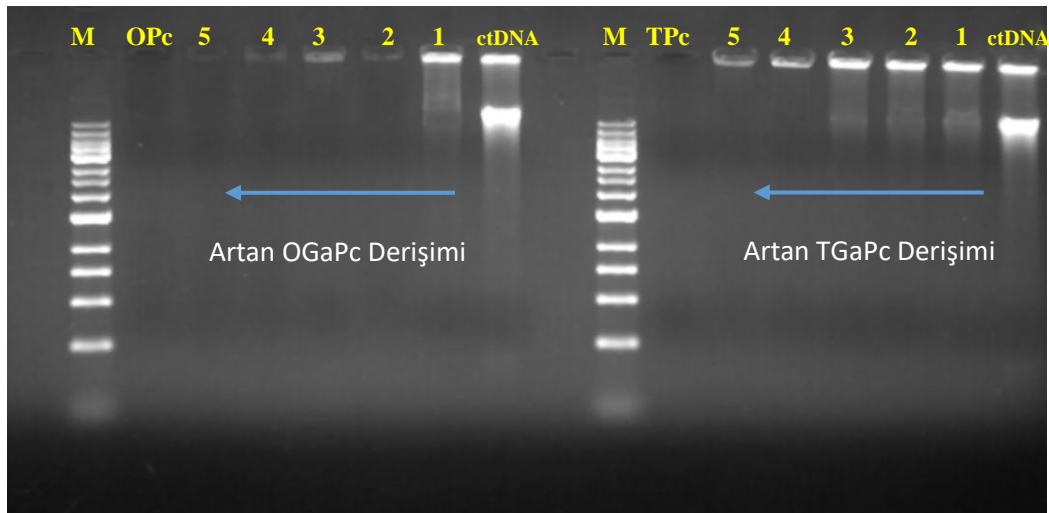
sıcaklığında gözlenen bu kayma değerleri istisnalar göz ardı edildiğinde K_{BH} değerleri ile uyum göstermektedir.

Çizelge 3.3 G-quadruplex DNA ve ctDNA erime profilleri (T_{m1} , DNA erime sıcaklığı; T_{m2} , Pc-DNA erime sıcaklığı)

	TGaPc			OGaPc		
	T_{m1} , °C	T_{m2} , °C	ΔT_m , °C	T_{m1} , °C	T_{m2} , °C	ΔT_m , °C
Tel21	81	74	-7	81	72	-9
KRAS	70	80	10	70	74	4
cMYC	76	77	1	76	76	0
Nükleolin	78	78	0	78	77	-1
VEGF	78	73	-5	78	77	1
ctDNA	76	79	3	76	77	1

3.1.4. Jel Elektrofrez Yöntemi

Çift sarmal DNA- küçük molekül etkileşimlerin aydınlatılmasında jel-elektroforez yöntemi sıklıkla kullanılır. Tez kapsamında ctDNA'nın **TGaPc** ve **OGaPc** ile etkileşimi jel elektroforez yöntemi ile de çalışılmıştır. Sabit miktarda DNA çözeltilerine artan miktarda **TGaPc** ve **OGaPc** eklenerek %0,8 'lik agaroz jelde yürütülerek görüntülenmiştir. Şekil 3.15'te görüldüğü gibi K_{BH} değeri daha yüksek olan **OGaPc** ctDNA ile daha kuvvetli etkileşmiştir. Artan ftalosiyanın miktarına bağlı olarak DNA bant parlaklığı **TGaPc**'e oranla daha fazla azalma gözlenmiştir.

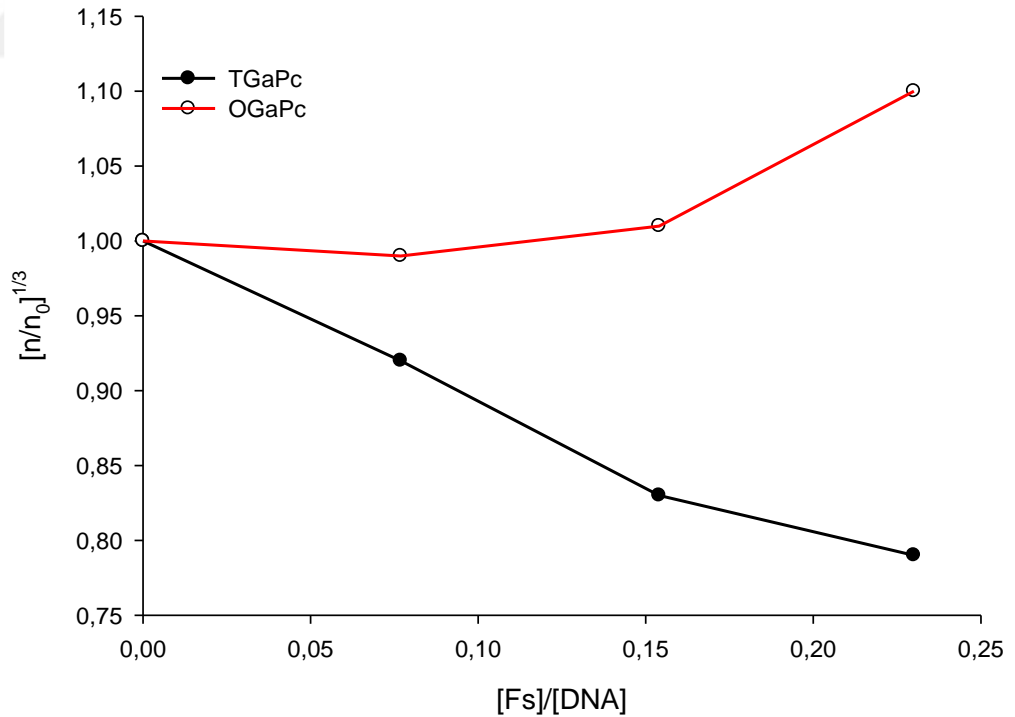


Şekil 3.15 Jel Elektrofrez (Marker 1kb)

3.1.5. Viskozimetrik Ölçümler

Küçük moleküllerin DNA ile etkileşimleri kompleks bir süreçtir. Bağlanma mekanizmaları tek bir yöntem ile kolaylıkla açıklanamaz. Viskozimetrik ölçümler molekül uzunluklarına duyarlı yöntemlerdir ve küçük moleküllerin DNA ile etkileşimlerinin incelenmesinde önemli bir araçtır. Küçük bir molekülün DNA çift sarmalına interkalasyonuna ya da oluklara bağlanmasına dair verilerin desteklenmesi ve bağlanma modelinin açıklığa kavuşması için viskozite yöntemlerine başvurulur. Tipik interkalatör ajanlar DNA çift sarmalına interkale olduklarında komşu baz çiftlerinin arasındaki mesafe artar ve heliks yapısının açılmasına neden olur. Bu durum DNA zincirinin boyunun uzaması ile sonuçlanır. İnterkalatör ajanların DNA'nın gevşemesi ve uzamasına etkisi interkalatör/DNA oranı arttıkça artar. Bu durum artan interkalatör/DNA oranlarında çözeltinin artan viskozitesi ile sonuçlanır.

Tez kapsamında incelenen Pc'lerin çift sarmal DNA ile etkileşimlerine dair veriler bağlanma mekanizmasının tam olarak aydınlatılmasında yetersiz kalmıştır. Bu nedenle viskozite deneyleri ile veriler test edilmiştir.



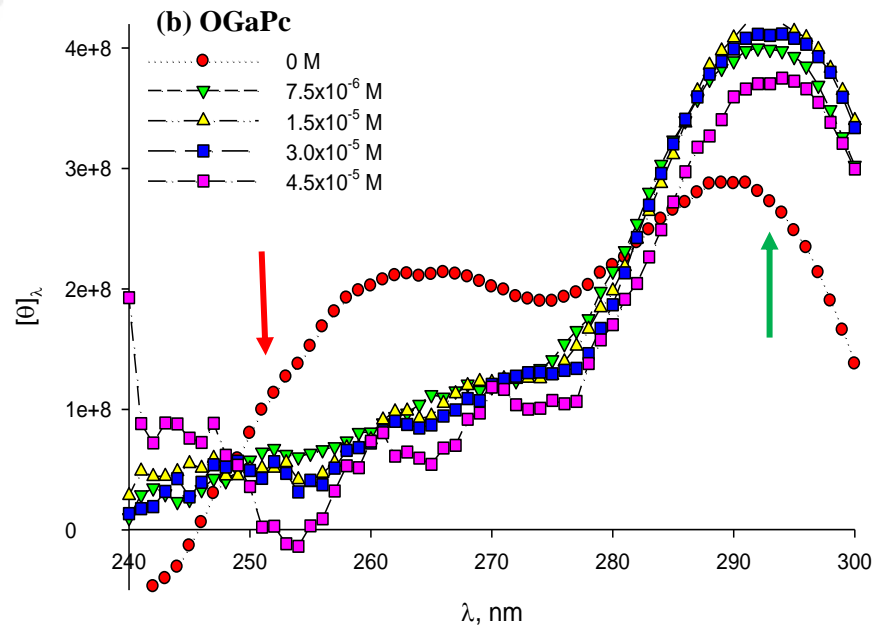
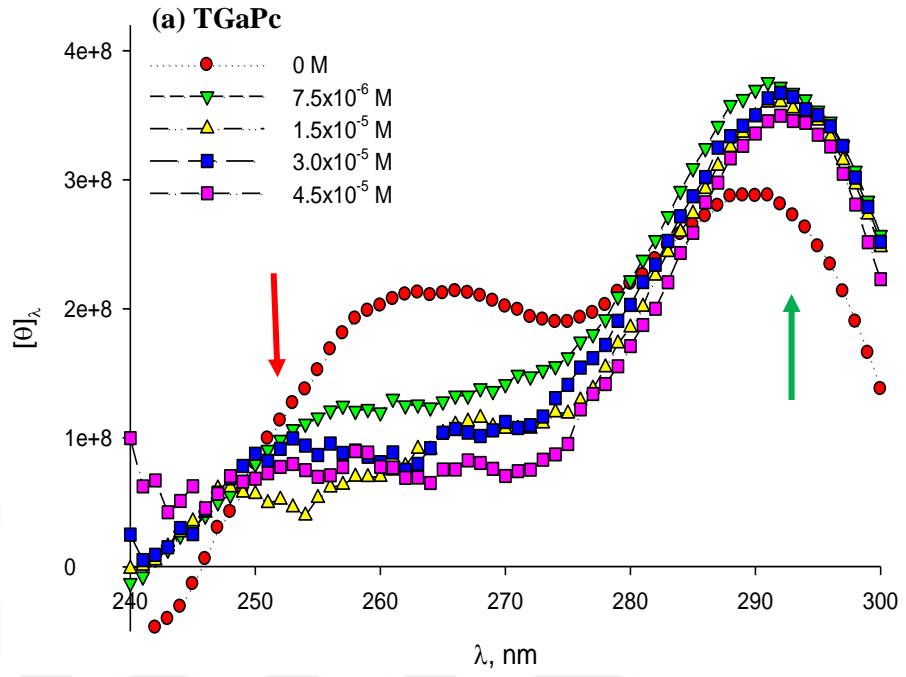
Şekil 3.16 Pc-DNA bileşikleri viskozite grafiği

Şekil 3.16'da görüldüğü gibi artan Pc derişimlerinde, DNA çözeltisinin viskozitesi önemli ölçüde değişmemiştir. Dolayısı ile **TGaPc** ve **OGaPc** bileşiklerinin bu derişim aralığında, DNA çift sarmalına interkale oldukları söylenemez.

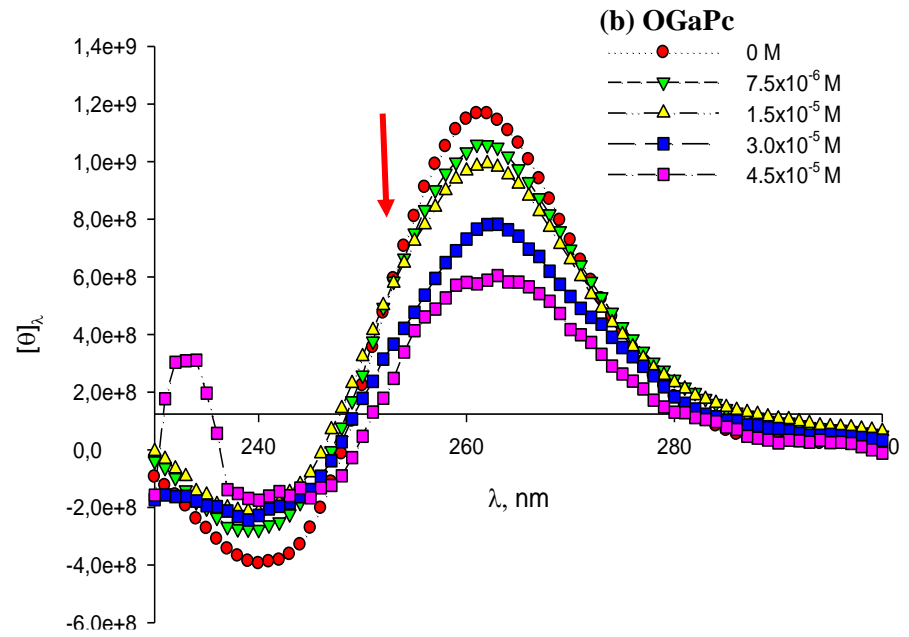
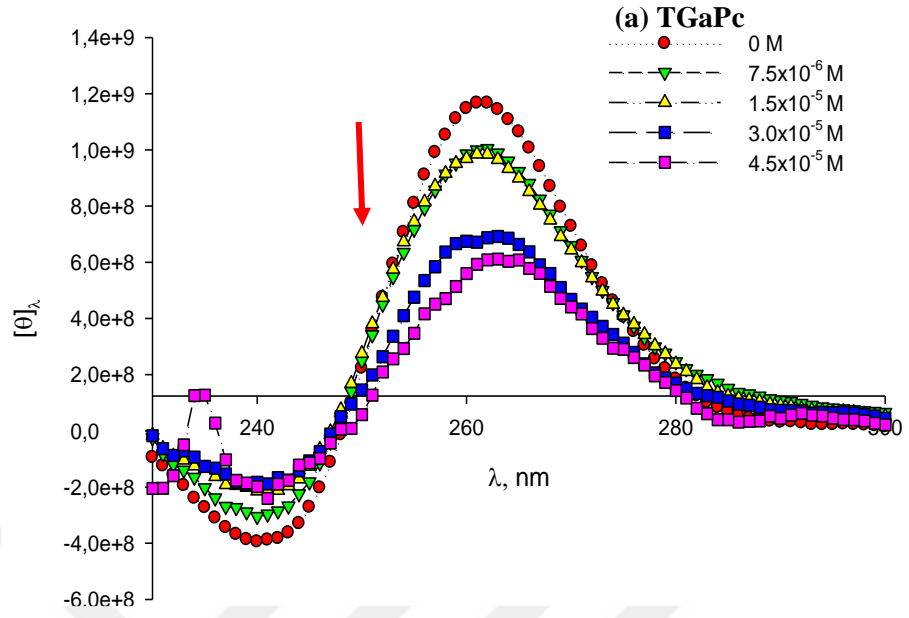
3.1.6. CD (Circular Dichroism) Spektrofotometre Deneyleri

CD spektroskopik analizler Jasco J 815 model spektrofotometre (ABD) ile oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Sabit derişimde G-quadrupleks DNA içeren çözeltilere artan derişimlerde Pc çözeltileri eklenerek, son hacimleri 1,5 mL olacak şekilde tampon çözelti ile seyreltilmiştir. Çözeltiler 10 dk inkübasyondan sonra 1,5 mL hacimli, 1 cm ışık yollu kuvarz küvetlere aktarılarak 230-300 nm arası CD spektrumları taranmıştır (Şekil 3.17 – 3.21). Tüm deneysel çözeltiler ortamın iyonik şiddeti ve K⁺ derişimi (150 mM) sabit tutabilecek şekilde 150 mM tampon çözeltisi ortamında gerçekleştirilmiştir.

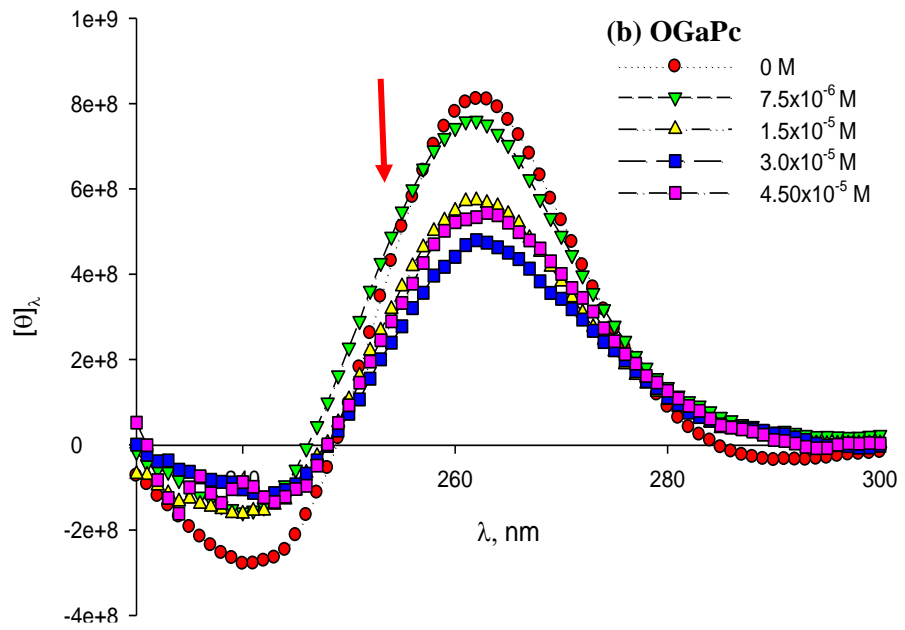
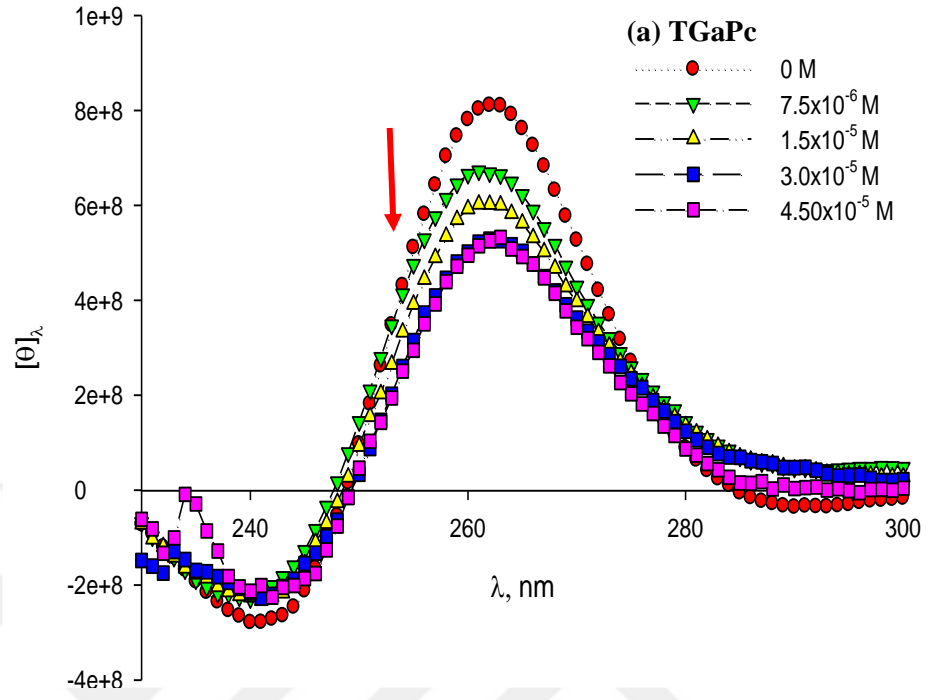
Şekilden de anlaşıldığı gibi 150 mM KCl ortamında çalışılan G-quadrupleks dizilerinden *Tel21* hibrit konformasyona sahiptir (Şekil 3.17, 3.18). Bununla birlikte diğer G-quadrupleks DNA'lar paralel konformasyona sahiptirler (Şekil 3.18 – 3.21). Yapıların eklenen Pc'ler ile konformasyonel değişimler 240, 260, 290 nm'deki eliptisite değerlerindeki değişikliklerden izlendi.



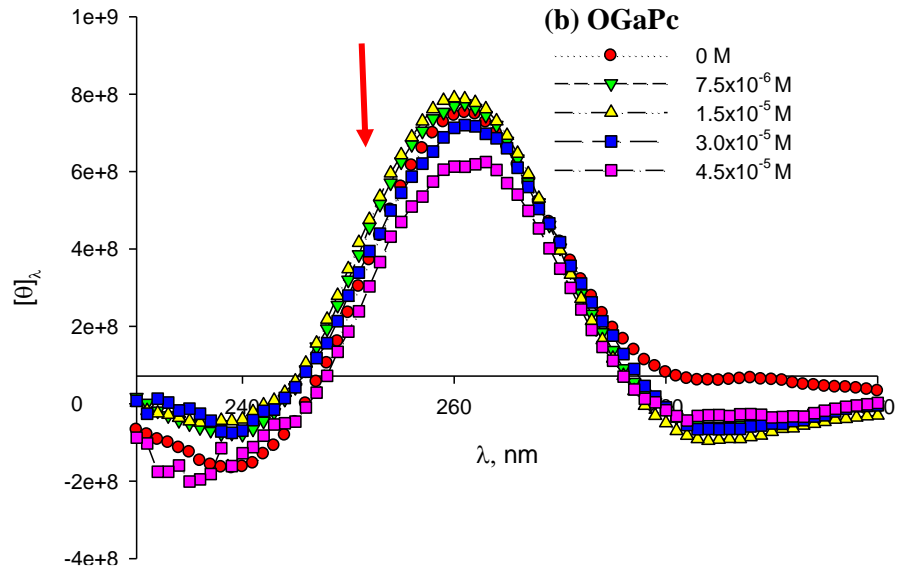
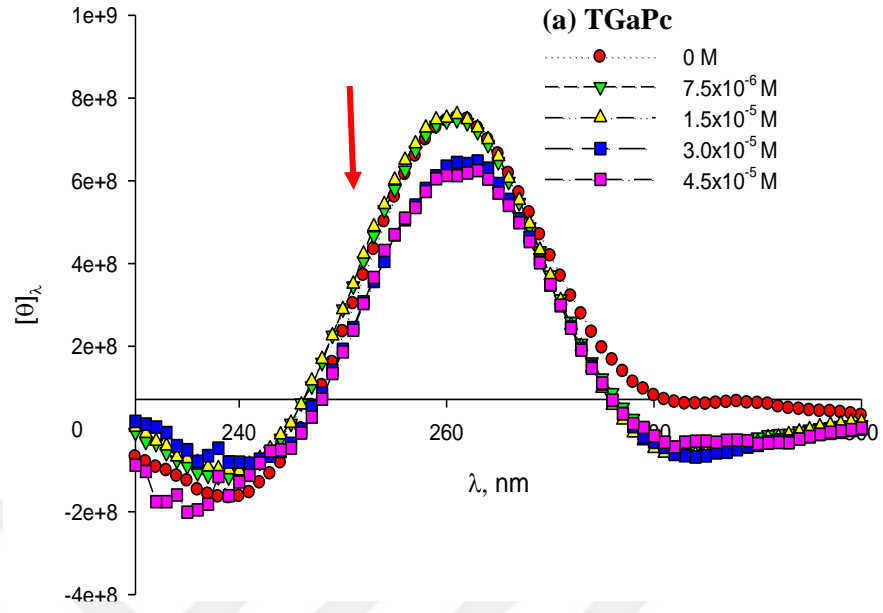
Şekil 3.17 *Tel21*-Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGApc, (b) OGApc



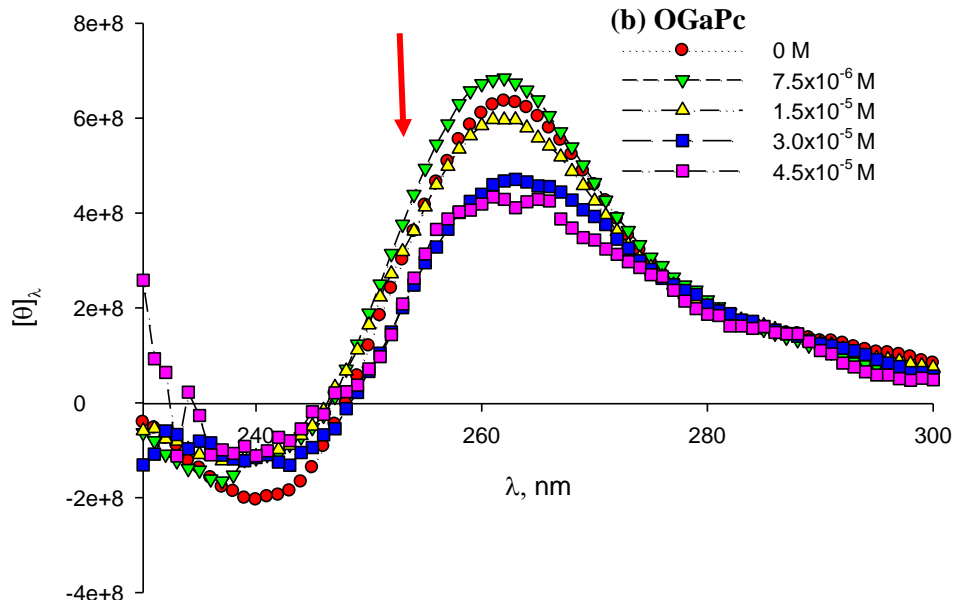
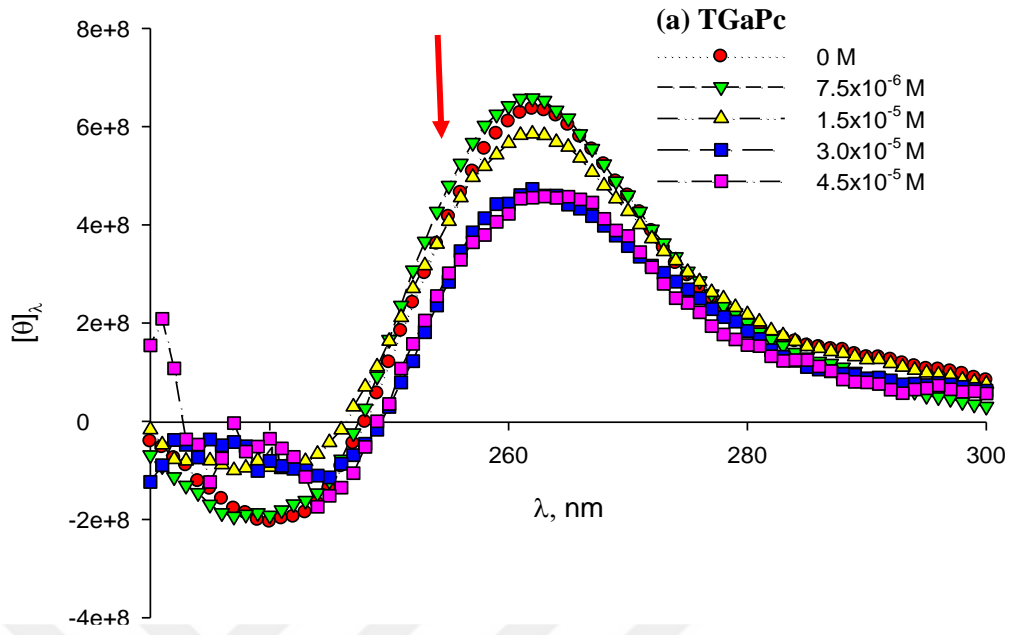
Şekil 3.18 KRAS-Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGApc, (b) OGApc



Şekil 3.19 *cMYC*-Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc



Şekil 3.20 Nükleolin-Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc



Şekil 3.21 VEGF-Pc bileşiklerinin CD spektrumları (a) TGaPc, (b) OGaPc

Hibrit konformasyona sahip olan *Tel21* ile Pc bileşiklerinin etkileşimi sonucu önemli derecede konformasyon değişikliği gözlemlendi (Şekil 3.17, 3.18). *Tel21*, **TGaPc** ve **OGaPc**'in dereceli miktarda artırılması ile denge paralel konformasyondan antiparalel konformasyona kaydı. Diğer G-quadrupleks yapıları için konformasyonel değişikliklerin paralel konformasyondan düz zincirli konformasyona kaydığı gözlemlendi (Şekil 3.18 - 3.21).

3.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi (AFDT) Deneyleri

Tez kapsamındaki ftalosiyanın bileşiklerinin antimikrobiyal aktivite deneyleri *P. aeruginosa* (ATCC-27853), *S. aureus* (ATCC-29213) ve *C. albicans* (ATCC-10231) mikroorganizmaları kullanılarak gerçekleştirildi. Mikroorganizmalar uygun besiyeri ortamında ve uygun koşullarda çoğaltıldıktan sonra Mc Farland standardına göre ayarlanarak spektral yöntemle (625 nm'de O:D:~0,6) kontrol edildi.

AFDT çalışmaları kapsamında ışık grubu deneyleri için 640 nm dalga boyunda, 5, 10, 20, 25 ve 50 J/cm² gücündeki diyot lazer ışığı 15 dk boyunca 3 s'de 1 atım (5 ms) olacak şekilde (toplam 320 atım) örnekler üzerine uygulanmıştır. Uygulama sonucunda kullanılan lazer ışığının örnekler üzerinde herhangi bir sitotoksik etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.

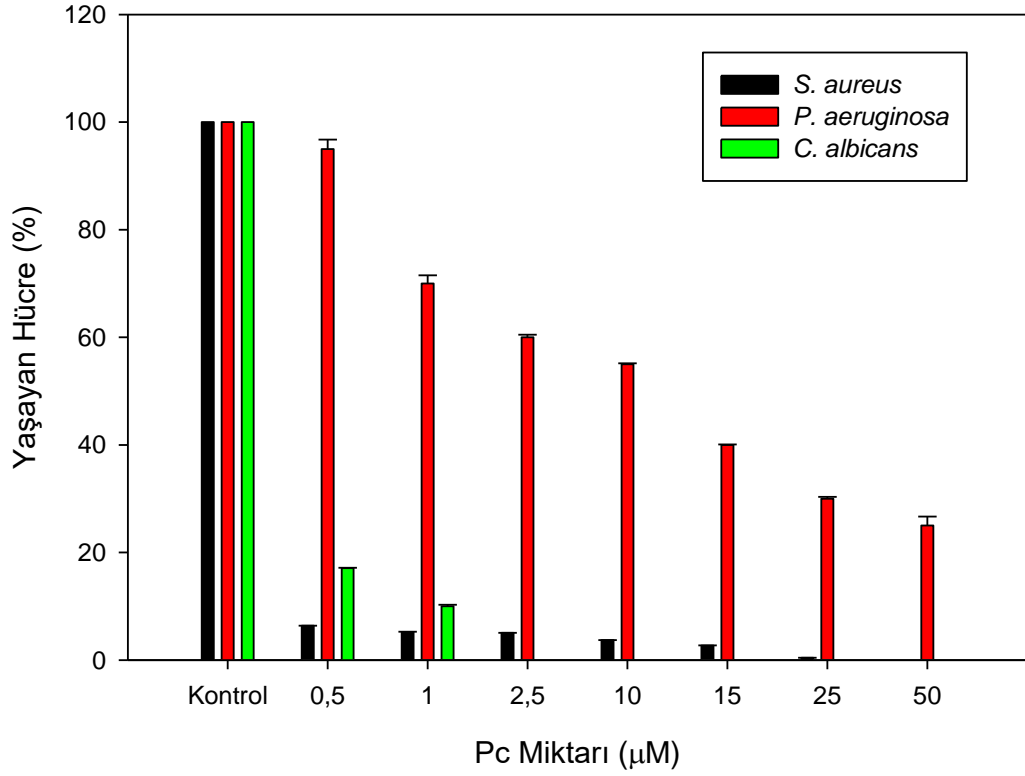
Ftalosiyanın grubu deneylerinde, tez kapsamında kullanılan her iki Pc bileşiğinden 0,5-1500 µM konsantrasyonlarında hazırlanan Pc çözeltilerinin herhangi bir sitotoksik etkiye sahip olmadığı gözlemlenmiştir.

AFDT çalışmalarında toksik olmayan en düşük ışık gücü olan 10 J/cm² ve 20 J/cm² kullanılırken, Pc çözeltilerinin derişimleri de 0,5, 1, 2,5, 10, 15, 25, 50 µM olarak uygulanmıştır. Mikroorganizmalar farklı derişimlerdeki Pc çözeltileri eklenerek, 640 nm dalga boyuna sahip 10 ve 20 J/cm² gücündeki lazer ışığına 15 dk maruz bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.4 – 3.7 ve Şekil 3.22 – 3.25'te özetlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar SPSS v24.0 (SPSS, 2012) programında non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis Testi (Breslow, 1970) ile sınanmıştır. Elde edilen p değerleri oldukça yüksek olup (>0,953) sonuçları desteklemektedir.

Çizelge 3.4 TGaPc AFDT sonuçları (10 J/cm²)

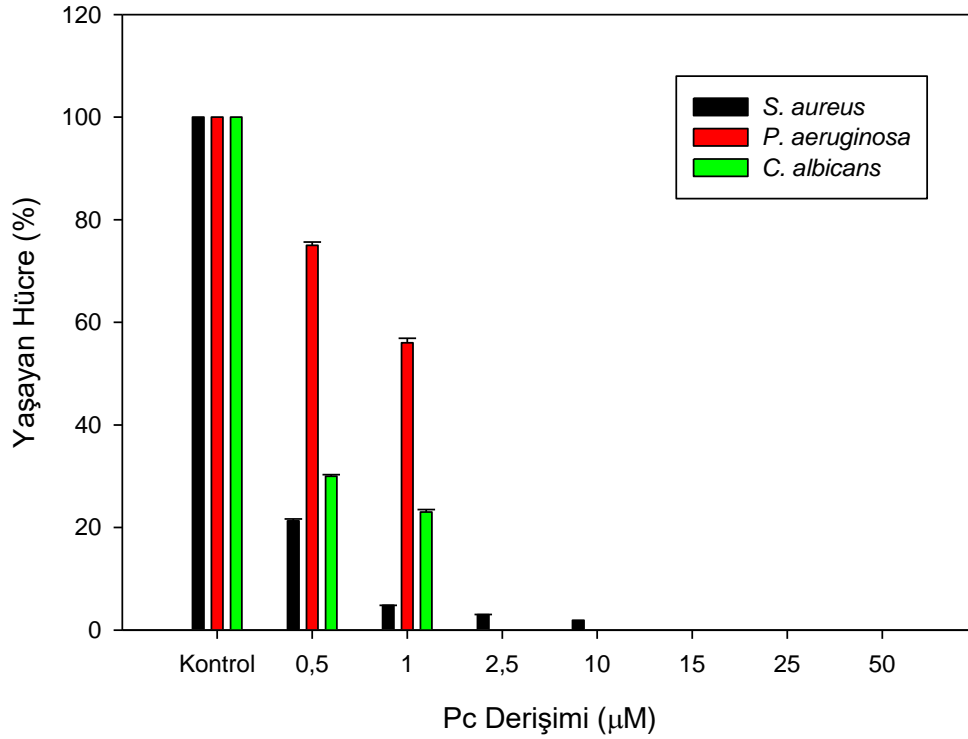
TGaPc (µM)	Yaşayan bakteri (%)		
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
0,5	6,38 ± 0,002	95,00 ± 1,732	17,10 ± 0,058
1	5,23 ± 0,025	70,00 ± 1,530	10,00 ± 0,265
2,5	5,06 ± 0,017	60,00 ± 0,459	0
10	3,70 ± 0,015	55,00 ± 0,173	0
15	2,70 ± 0,019	40,00 ± 0,072	0
25	0,43 ± 0,003	30,00 ± 0,337	0
50	0	25,00 ± 1,667	0



Şekil 3.22 TGaPc AFDT sonuç grafiği (10 J/cm²)

Çizelge 3.5 TGaPc AFDT sonuçları (20 J/cm²)

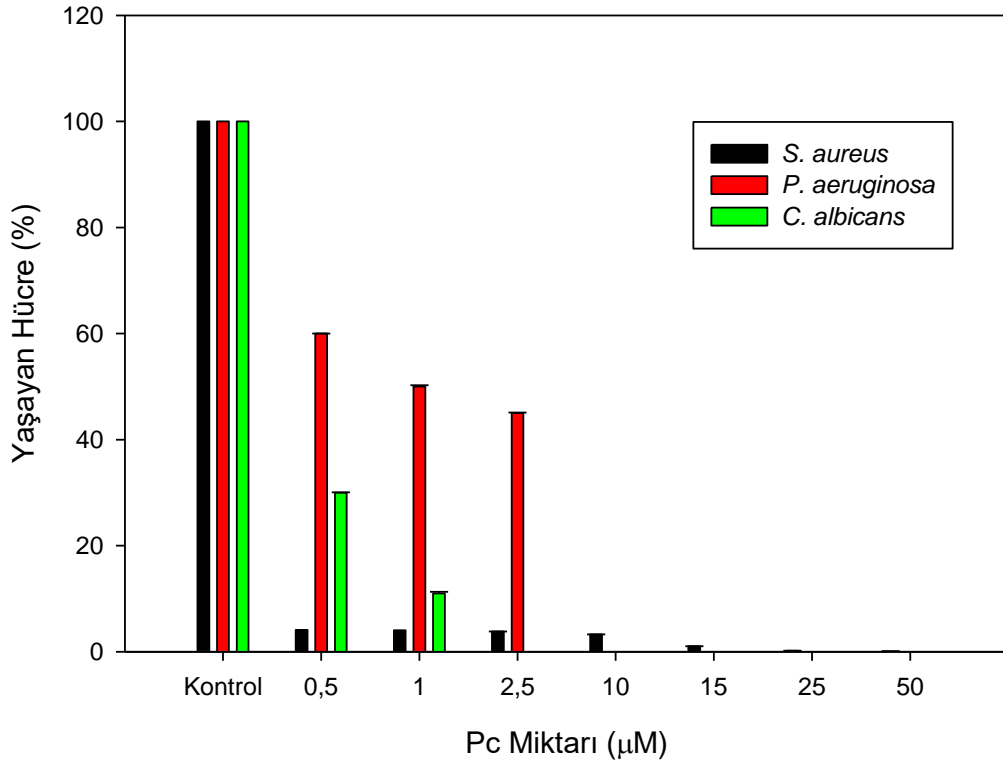
TGaPc (µM)	Yaşayan bakteri (%)		
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
0,5	21,30 ± 0,343	75,00 ± 0,661	30,00 ± 0,280
1	4,81 ± 0,019	56,00 ± 0,887	23,00 ± 0,493
2,5	3,00 ± 0,022	0	0
10	1,90 ± 0,03	0	0
15	0	0	0
25	0	0	0
50	0	0	0



Şekil 3.23 TGaPc AFDT sonuç grafiği (20 J/cm²)

Çizelge 3.6 OGaPc AFDT sonuçları (10 J/cm²)

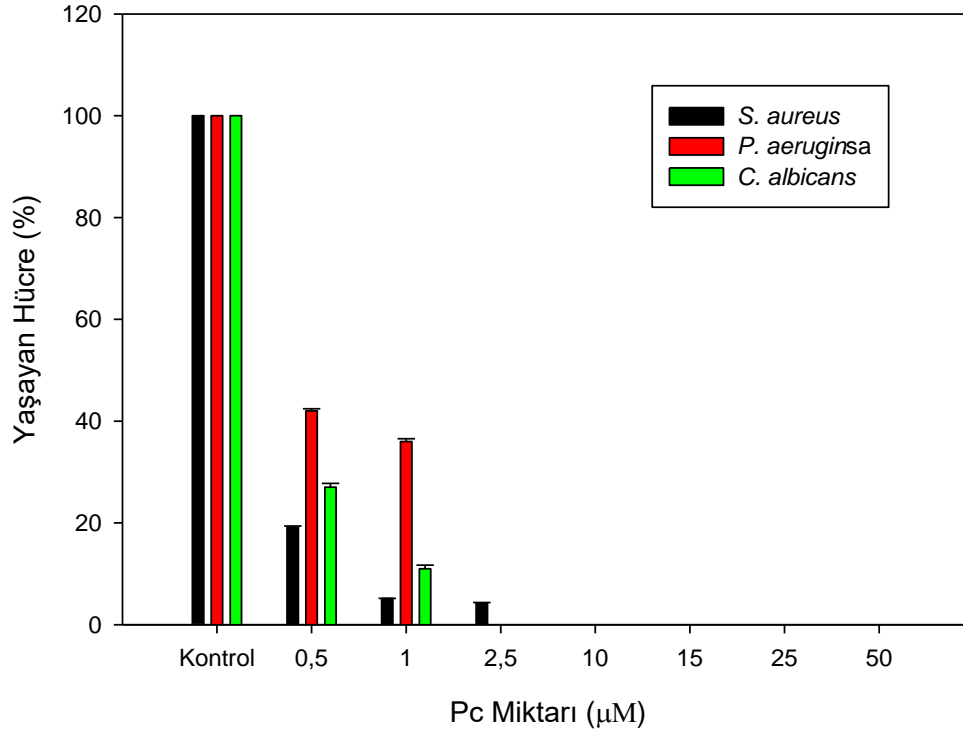
OGaPc (µM)	Yaşayan bakteri (%)		
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
0,5	4,11 ± 0,000	60,00 ± 0,005	30,00 ± 0,058
1	4,04 ± 0,000	50,00 ± 0,241	11,00 ± 0,289
2,5	3,80 ± 0,003	45,00 ± 0,000	0
10	3,26 ± 0,000	0	0
15	1,04 ± 0,000	0	0
25	0,19 ± 0,001	0	0
50	0,11 ± 0,001	0	0



Şekil 3.24 OGaPc AFDT sonuç grafiği (10 J/cm²)

Çizelge 3.7 OGaPc AFDT sonuçları (20 J/cm²)

OGaPc (µM)	Yaşayan bakteri (%)		
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
0,5	19,15 ± 0,246	42,00 ± 0,416	27,00 ± 0,764
1	5,15 ± 0,026	36,00 ± 0,520	11,00 ± 0,693
2,5	4,30 ± 0,051	0	0
10	0	0	0
15	0	0	0
25	0	0	0
50	0	0	0



Şekil 3.25 OGaPc AFDT sonuç grafiği (20 J/cm²)

Yapılan deneyler sonucunda 20 J/cm² gücündeki lazer ışığının 10 J/cm² gücündeki lazer ışığına göre daha etkili olduğu görülmüştür. Kullanılan Pc bileşikleri, ökaryotik

C. albicans'ı 2,5 µM derişimde dahi etkin bir şekilde öldürmektedir. *P. aeruginosa* AFDT uygulamasından en az etkilenen (yaşayan bakteri > %25) mikroorganizma iken *S. aureus* en çok etkilenen (yaşayan bakteri < %21,3) mikroorganizma olmuştur.

10 J/cm² gücünde lazer ışığı uygulanan gruplarda, her iki Pc bileşigi de *S. aureus*'u 2,5 µM'a kadar olan derişimlerde etkin bir biçimde öldürmüştür. **TGaPc** en yüksek derişim olan 50 µM derişimde, *P. aeruginosa* mikroorganizmasını %75 oranında öldürürken, **OGaPc**'de bu oran %100'e çıkmıştır. Her iki Pc de 2,5 µM'a kadar olan derişimlerde *C. albicans* mikroorganizmasını %100 oranında öldürürken, **TGaPc** (%17,1), **OGaPc** bileşigine (%30) göre düşük konsantrasyonlarda daha iyi etki göstermiştir.

20 J/cm² gücünde lazer ışığına maruz bırakılan gruplarda, 10 J/cm² gücüne göre daha iyi bir sonuç alındığı görülmektedir. Her iki Pc'de 2,5 µM derişime kadar oldukça etkili bir şekilde mikroorganizmaları öldürmüştür. Düşük Pc konsantrasyonlarında, **TGaPc**, *P. aeruginosa* mikroorganizmasını en fazla %25 oranında öldürürken, **OGaPc**'de bu oran %58 olarak görülmektedir. *C. albicans* mikroorganizması, her iki molekülde benzer oranlar verirken **OGaPc**, *C. albicans* üzerinde daha etkili olmuştur.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser ve mikrobiyal enfeksiyonlar yüksek mortalite oranlarına sahip yaygın hastalıklardır. Genellikle pahalı ve ağır yan etkiye sahip tedavilerin uygulanması ile ciddi sağlık ve ekonomik sorunlar listesinin ilk sıralarında yer alırlar. Bu yönüyle kanser ve mikrobiyal enfeksiyonların tedavisine yönelik seçici, etkili, ucuz ve yan etkisi az tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi önemli bilimsel hedefler arasındadır. Bu tür hastalıkların tedavisinde seçiciliği yüksek kimyasallar kullanılması yüksek iyileşme oranı, minimum yan etki ve düşük maliyetten dolayı istenilmektedir. Bu çalışma ile suda çözünen tetra ve okta sübstitüye galyum atomu içeren ftalosiyanın bileşiklerinin antikanser ve antimikrobiyal fotokemoterapötik ajan olma özellikleri araştırılarak yeni tedavi yöntemleri için uygunlukları araştırılmıştır.

Bu çalışma sonucunda iki alanda katkı aranmıştır. (i) fotoduyarlaştırıcı ftalosiyanın bileşiklerinin G-quadrupleks DNA yapılarıyla etkileşimleri belirlenerek antikanser potansiyellerinin belirlenmesi (ii) AFDT uygulaması ile Pc bileşiklerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip terapötik ajan olma kapasitelerinin belirlenmesi.

Tez kapsamında Pc bileşiklerinin çift sarmal DNA ve farklı G-quadrupleks DNA türleri ile etkileşimleri farklı spektroskopik tekniklerle incelenmiştir. UV-Vis spektroskopisi analiz sonuçları **TGaPc**'in **OGaPc**'ye göre G-quadrupleks DNA molekülleri ile etkileşim değerlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. **OGaPc**'in G-quadrupleks etkileşimlerine ait K_{BH} değerleri **TGaPc**'inkinden düşük olup, birçok durumda yaklaşık yarısı kadardır. Bununla birlikte çarpıcı olan bir sonuçta her iki Pc bileşiğinde çift sarmal DNA'ya nazaran G-quadrupleks DNA'ya bağlanma sabiti daha yüksektir. Bu durum her iki molekülünde G-quadruplekslere daha seçici bağlandığını göstermektedir. Ayrıca **OGaPc**'in ctDNA'ya bağlanmasına ait K_{BH} sabiti **TGaPc**'inkinden nispeten daha büyüktür. **OGaPc** 8 tane, **TGaPc** ise 4 tane quarternize piridiloksi grubu içermektedir. Negatif yüklü DNA yapıları (fosfat omurga) düşünüldüğü zaman **OGaPc** ile etkileşimin daha güçlü olması gerektiği düşünülebilir. Ancak UV sonuçlarına göre **TGaPc**'in DNA molekülleri ile daha kuvvetli etkileştiği görülmektedir. Her iki Pc yapısı göz önüne alındığında, bunun en önemli nedeninin Pc yapılarındaki farklılıklar olabileceği çıkarılabilir. **OGaPc** daha büyük ve sterik olarak kalabalık bir yapıya sahiptir. Bu yapının G-quadrupleks yapısının içerisine girebilmesi çok daha zor görünmektedir. **TGaPc** ise sterik olarak

daha az kalabalık bir moleküldür ve G-quadrupleks yapılarına hem kolaylıkla istiflenerek hem de arasına girerek etkileşimi mümkün görülmektedir.

DNA türlerinin, Pc bileşikleri ile bağlanma şekillerinin açıklanması için gerçekleştirilen ikinci analiz yöntemi floresans yerdeğiştirme çalışmalarıdır. G-quadrupleksler için affinitesi yüksek olan TO, ctDNA için ise EtBr molekülü floresans prob olarak kullanılmıştır. Floresans yerdeğiştirme verileri Stern-Volmer eşitliği ile de muamele edilerek sönümlenme mekanizması aydınlatılmıştır. Stern-Volmer grafiklerinden ctDNA ve *Nükleolin* hariç diğer tüm G-quadruplekslerin **OGaPc**'le sönümlenmelerin statik ve dinamik, ctDNA ve *Nükleolin* ile sönümlenmelerinin ise statik sönümlenme olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan ctDNA hariç diğer tüm G-quadruplekslerin **TGaPc**'le sönümlenmelerin statik ve dinamik, ctDNA ile sönümlenmelerinin ise statik sönümlenme olduğu gözlenmiştir.

Termal denatürasyon verileri de G-quadrupleksler ve ctDNA ile her iki Pc bileşiğinin etkileştiğini göstermiştir. Bununla birlikte **TGaPc**'in *Tel21*, *KRAS* ve *VEGF* G-quadruplekslerle, **OGaPc**'in ise *Tel21* ve *KRAS* ile etkileşiminin Tm değerlerini önemli ölçüde değiştirdiği gözlenmiştir (**TGaPc** için sırasıyla -7, 10 ve -5 °C; **OGaPc** için sırasıyla -9 ve 4 °C).

Jel elektroforez deneyleri Pc bileşiklerinin ctDNA ile etkileşimlerini incelemek için gerçekleştirildi. **OGaPc**'in ctDNA ile daha kuvvetli etkileştiği gözlemlendi. Bu sonuç floresans ve UV-Vis sonuçları ile uyumludur.

Viskozite deneyleri ile çift sarmal DNA yapısına **OGaPc** ve **TGaPc**'in interkale olup olmadığı belirlenmeğe çalışıldı. Elde edilen grafiklerden her iki molekülünde interkalasyon göstermediği belirlendi. Olası bağlanma modelinin oluşa bağlanma olabileceği düşünülebilir.

CD analizleri ile G-quadrupleks DNA konformasyonlarına, Pc bileşiklerinin etkisi araştırıldı. Şekil 3.17'de görüldüğü üzere, 150 mM KCl ortamında *Tel21*, 260 ve 290 nm'de pozitif eliptisite değerlerine sahiptir. *Tel21*'in bu ortamda paralel ve antiparalel konformasyonların dengede bulunduğu bir hibrit yapı halinde olduğu düşünülebilir. Bununla birlikte eklenen **TGaPc** ve **OGaPc** ile *Tel21* konformasyonun da önemli değişiklikler gözlemlendi. Pc ilavesi ile denge, paralel konformasyondan antiparalel konformasyon oluşumuna doğru kaydı.

TGaPc ve **OGaPc** bileşiklerinin *KRAS* G-quadrupleksi ile etkileşiminde 260 nm’de önemli miktarda düşme gözlemlendi. Benzer durum *cMYC*, *Nükleolin* ve *VEGF* ile de gözlemlendi. Bununla birlikte dikkat çeken diğer bir husus **TGaPc**’in *KRAS*, *Nükleolin* ve *VEGF* ile etkileşiminin incelendiği CD spektrumlarında gözlemlendi. Spektrumlarında, 3×10^{-5} M Pc derişiminde CD spektrumlarında ani bir düşüş (sıçrama) gerçekleşti. Bu derişime kadar eklenen Pc’lerin G-quadrupleks yapısına dıştan bağlandığı bununda yapıda önemli bir konformasyonel değişime neden olmadığı, bu derişimden sonra ise Pc bileşiklerinin derişiminin artması ile araya giren Pc’lerin konformasyon dengesini düz zincirli oligomer oluşumu yönüne kaydırıldığı söylenebilir. Benzer durum **OGaPc** için *KRAS*, *cMYC* ve *VEGF* için de gözlemlendi. Bununla birlikte **TGaPc**’in *cMYC* ile ayrıca **OGaPc**’in *Nükleolin* ile etkileşiminde, artan Pc derişimine bağlı olarak 260 nm’deki eliptisite düzenli bir şekilde azaldığı görüldü. Bu durum, dengenin düz zincirli oligomer oluşumu yönüne kaydığını işaret etmektedir.

Farklı DNA molekülleri ile olan etkileşimleri belirlenmiş Pc bileşiklerinin 640 nm dalgaboyunda diyot lazer ışık kaynağı kullanılarak AFDT etkinlikleri *P. aeruginosa* (ATCC-27853), *S. aureus* (ATCC-29213) ve *C. albicans* (ATCC-10231) mikroorganizmaları üzerinde incelenmiştir. Her iki Pc bileşiğinin de sitotoksik olmadığı konsantrasyonlar ile ışık kaynağının fotositoksite göstermediği değerler belirlenerek AFDT uygulamaları gerçekleştirildi. 10 ve 20 J/cm²’de 15 dk (her 3 sn’de bir atım (5 ms)) lazer ışığına maruz bırakılan gruplarda, her iki Pc bileşiğinin de 2,5 µM derişime kadar oldukça etkili bir şekilde mikroorganizmaları öldürdüğü görülmüştür. Bununla beraber her iki ışık dozu uygulamasında da **OGaPc**, gram (-) *P. aeruginosa* organizmasını **TGaPc**’ye göre daha iyi öldürdüğü görülmektedir. Bunun nedeni ise **OGaPc**’in sahip olduğu katyonik yükün **TGaPc**’den daha fazla olmasıdır. Sahip olduğu yüksek katyonik yükten dolayı **OGaPc**, anyonik karakterdeki gram (-) hücre zarında daha iyi birikmiştir ve bunun sonucunda ışık uygulamasıyla birlikte daha etkin bir öldürme oranı gözlenmiştir.

Ftalosiyanın- DNA bağlanma ve ftalosiyanın- G-quadrupleks bağlanma anahtar kelimeleriyle yapılan literatür taramaları sonucunda, Pc bileşiklerinin bağlanma özelliklerinin yoğunluklu olarak ctDNA kullanılarak incelendiği görülmüştür (Barut vd., 2013; Özçeşmeci vd., 2013; Evren vd., 2013; Wang vd., 2013; Bağda vd., 2015; Yuan vd., 2016; López Zeballos vd., 2014; Yabaş vd., 2015). Son zamanlarda yapılan çalışmalar arasında sınırlı sayıda G-quadrupleks (Hassani vd., 2014; Bağda vd., 2016;

Bağda vd., 2017). Yapılan tez çalışması hem ctDNA hem de farklı onkogenik ve telomerik G-quadrupleks yapılarını içerdiğinden oldukça önemlidir. Böylece ctDNA ve G-quadrupleks yapıları kıyaslanabilmiş ve literatüre kazandırılmıştır.

AFDT'ye yönelik yapılan literatür taraması sonucunda yine sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Çeşitli gram (+) bakteri, Gram (-) bakteri ve funguslarla yapılan çalışmalar bulunmaktadır (Soncin vd., 2002; Mantareva vd., 2011; Dimaano vd., 2012; Ke vd., 2014; Osifeto vd., 2015; İşçi vd., 2016; Chen vd., 2016; Dlugaszewska vd., 2017). Işık kaynaklarının farklı olmasına rağmen tez kapsamında yapılan çalışma sonucunda düşük derişimde Pc bileşığının kısa süreli ışık uygulaması sonucunda mikroorganizmaları etkin bir şekilde öldürdüğü gözlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmada kullanılan **TGaPc** ve **OGaPc** bileşiklerinin G-quadrupleks DNA moleküllerine afinitesinin, ctDNA (B-DNA) molekülüne nazaran daha yüksek olduğu ve yüksek fotositotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abrahamse, H., ve Hamblin, M.R.** (2016). New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochemical Journal*, 473(4), 347-364.
- Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N. ve Reed, M.** (2001). The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochemistry and photobiology*, 74(5), 656-669.
- Açıkbaş, Y., Evyapan, M., Ceyhan, T., Çapan, R. ve Bekaroğlu, Ö.** (2009). Characterization and organic vapor sensing properties of Langmuir–Blodgett film using a new three oxygen-linked phthalocyanine incorporating lutetium. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 135(2), 426-429.
- Bacolla, A. ve Wells, R.D.** (2009). Non-B DNA conformations as determinants of mutagenesis and human disease. *Molecular Carcinogenesis*, 48(4), 273–285.
- Baguley, B.C. ve LeBret, M.** (1984). Quenching of DNA-ethidium fluorescence by amsacrine and other antitumor agents: a possible electron-transfer effect. *Biochemistry*, 23, 937–943.
- Bağda, E., Bağda, E. ve Yabaş E.** (2017) A versatile water soluble ball-type phthalocyanine as potential antiproliferative drug: the interaction with G-quadruplex formed from Tel 21 and cMYC. *JOTCSA*, 4(2):103–20.
- Bağda, E., Bağda, E. ve Yabaş, E.** (2017). Circular dichroism spectroscopic investigation of double-decker phthalocyanine with G-Quadruplex as promising telomerase inhibitor. *Journal of Molecular Structure*, 1127, 716-721.
- Bağda, E., Yabaş, E. ve Bağda, E.** (2017). Analytical approaches for clarification of DNA-double decker phthalocyanine binding mechanism: As an alternative anticancer chemotherapeutic. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 172, 199-204.
- Barut, B., Demirbaş, Ü., Şenocak, A., Özel, A. ve Kantekin, H.** (2017). Water soluble axially morpholine disubstituted silicon phthalocyanines: Synthesis, characterisation, DNA/BSA binding, DNA photocleavage properties. *Synthetic Metals*, 229, 22-32.
- Bertoloni, G., Rossi, F., Valduga, G., Jori, G., Ali, H. ve van Lier, J.E.** (1992). Photosensitizing activity of water and lipid-soluble phthalocyanines on prokaryotic and eukaryotic microbial cells. *Microbios*; 71:33–46.
- Blackburn G.M. ve, Gait M.J.** (1996). DNA and RNA structure: nucleic Acids in Chemistry and Biology. 3rd ed. Blackburn GM, Gait MJ. *England: Oxford University Press*, 28-39.
- Blackburn, G.M., ve Gait, M.J.** (1990). Nucleic Acids in Chemistry and Biology, *Oxford University Baskı*, New York.
- Bonnett R.**, (2000)., Chemical aspects of photodynamic therapy. 1st. Edition, *Gordon and Breach Science Publishers*.
- Bourre, L, Giuntini, F, Eggleston, I.M., Mosse, C.A., Macrobert, A.J. ve Wilson, M.** (2010). Effective photoinactivation of Gram-positive and Gram-negative bacterial strains using an HIV-1 Tat peptide-porphyrin conjugate. *Photochem Photobiol Sci.*; 9:1613–20.
- Brabec, V. ve Kasparkova, J.** 2005. Modifications of DNA by platinum complexes - Relation to resistance of tumors to platinum antitumor drugs,. *Drug Resistance Updates*, 8(3): 131–146.
- Braña M.F., Cacho M., Gradillas A., Pascual-Teresa B. ve Ramos A.** (2001). Intercalators as Anticancer Drugs. *Curr Pharm Des* 7(17): 1745-1780.

- Braun A., ve Tcherniac T.** (1907), Über die Producte der Einwirkung von Acetanhydrid auf Phthlamid., *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 40, 2709-2714.
- Breslow, N.** (1970). A generalized Kruskal-Wallis test for comparing K samples subject to unequal patterns of censorship. *Biometrika*, 579-594.
- Calzavara, P.G.** (1999). Photodynamic therapy: The present and the future. *J Eur Acad Dermatol Venereol*.
- Chen, Z., Zhang, Y., Wang, D., Li, L., Zhou, S., Huang, J. H., Chen, J., Hu, P. ve Huang, M.** (2016). Photodynamic antimicrobial chemotherapy using zinc phthalocyanine derivatives in treatment of bacterial skin infection. *Journal of biomedical optics*, 21(1), 018001-018001.
- Choi, J. ve Majima, T.** (2011). Conformational changes of non-B DNA. *Chem. Soc. Rev.*, 40(12), 5893–5909.
- Çakır, V.** (2014). Tetra süstitüe ftalosiyeninlerin sentezi ve elektropolimerizasyon özelliklerinin incelenmesi. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı* (Doktora Tezi), 101s, Trabzon.
- Çakır, V., Çakır, D., Göksel, M., Durmuş, M., Bıyıklıoğlu, Z. ve Kantekin, H.** (2015). Synthesis, photochemical, bovine serum albumin and DNA binding properties of tetrasubstituted zinc phthalocyanines and their water soluble derivatives. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 299, 138-151.
- Çamur, M., Ahsen, V. ve Durmuş, M.** (2011). The first comparison of photophysical and photochemical properties of non-ionic, ionic and zwitterionic gallium (III) and indium (III) phthalocyanines. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 219(2–3), 217–227.
- Dabrowski, J. M. ve Arnaut, L.G.** (2015). Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from local to systemic treatment. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 14(10), 1765-1780.
- Dai T., Fuchs B.B., Coleman J.J., Prates R.A., Astrakas C., Denis T.G. St., Ribeiro M.S., Mylonakis E., Hamblin, M.R. ve Tegos, G.P.** (2012). Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform. *Frontiers in Microbiology*, 3 (120), 1-16.
- Dimaano, M.L., Rozario, C., Nerandzic, M.M., Donskey, C.J., Lam, M. ve Baron, E.D.** (2015). The photodynamic antibacterial effects of silicon phthalocyanine (Pc) 4. *International journal of molecular sciences*, 16(4), 7851-7860.
- Długaszewska, J., Szczolko, W., Koczorowski, T., Skupin-Mrugalska, P., Teubert, A., Konopka, K., Kucinska, M., Murias, M., Düzgüneş, N., Mielcarek, J. ve Goslinski, T.** (2017). Antimicrobial and anticancer photodynamic activity of a phthalocyanine photosensitizer with N-methyl morpholiniumethoxy substituents in non-peripheral positions. *Journal of Inorganic Biochemistry*.
- Duquette, M.L., Handa, P., Vincent, J.A., Taylor, A.F. ve Maizels, N.** (2004). Intracellular transcription of G-rich DNAs induces formation of G-loops, novel structures containing G4 DNA. *Genes and Development*, 18(13), 1618–1629. <http://doi.org/10.1101/gad.1200804>
- Durmuş, M. ve Nyokong, T.** (2007). The synthesis, fluorescence behaviour and singlet oxygen studies of new water-soluble cationic gallium(III) phthalocyanines. *Inorganic Chemistry Communications*, 10(3), 332–338.

- Evren, D., Burat, A.K., Özçeşmeci, İ. ve Sesalan, B.Ş.** (2013). Synthesis of novel tetracationic phthalocyanines and investigation of their DNA-binding properties. *Dyes and Pigments*, 96(2), 475-482.
- Foot C.S.**, (1991). Definition of type I and type II photosensitized oxidation., *Photochemistry and Photobiology*, 54(5), 659-659.
- Geiger P.G., Korytowski W. ve Girotti A.W.**, (1995). Photodynamically generated 3- β -hydroxy-5 α -cholest-6-ene-5-hydroperoxide: toxic reactivity in membranes and susceptibility to enzymatic detoxification. *Photochemistry and Photobiology*, 62(3), 580-587.
- González-Ruiz, V., Olives, A. I., Menéndez, J. C., Martín, M. A., Ramos, M. T. ve Ribelles, P.** (2011). An overview of analytical techniques employed to evidence drug-DNA interactions. *Applications to the design of genosensors*. INTECH Open Access Publisher.
- Göçmen, E.** (2014). Bazı tek ve çift dişli tersiyer fosfin ligantları içeren yeni gümüş(I) sakkarinat komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu, yapıları, dna bağlanma ve biyolojik aktivite çalışmaları. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi), 152s, Bursa.
- Gökoğlu, E., Seferoğlu, Z. ve Akbay, N.** (2009). Nükleik asitlerin tayininde kullanılabilecek yeni floresant uçların sentezlenmesi ve etkileşimlerin spektrofotometrik yöntemle incelenmesi. *TÜBİ TAK 109T391_ No'lu Proje Kesin Raporu*, Ankara.
- Göl, C.** (2016). Fotodinamik terapi amaçlı direkt konjuge ftalosiyanın-bodipy fotosensitizerlerin sentezi ve özelliklerinin incelenmesi. *Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Doktora Tezi)*, 146s, Gebze.
- Gürcan, N.** (2014). Ferrosen aktif birimi içeren yeni azin türevlerinin dna bağlanma, dna kesim ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi)*, 125s, Trabzon.
- Hamblin, M. R., Chiang, L. Y., Lakshmanan, S., Huang, Y. Y., Garcia-Diaz, M., Karimi, M., Rastelli, A.N.S. ve Chandran, R.** (2015). Nanotechnology for photodynamic therapy: a perspective from the Laboratory of Dr. Michael R. Hamblin in the Wellman Center for Photomedicine at Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School. *Nanotechnology reviews*, 4(4), 359-372.
- Hassani, L., Hakimian, F. ve Safaei, E.** (2014). Spectroscopic investigation on the interaction of copper porphyrines and phthalocyanine with human telomeric G-quadruplex DNA. *Biophysical chemistry*, 187, 7-13.
- İçsel, C.** (2013). 2-(Hidroksimetil)Piridin ve 2-(2-Hidroksietil)Piridin ligantları içeren palladyum(II) ve platin(II) komplekslerinin sentezi, kristal yapıları, spektroskopik, termik ve DNA bağlanma özellikleri. *Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi)*, 111s, Bursa.
- İşci, Ü., Beyreis, M., Tortik, N., Topal, S. Z., Glueck, M., Ahsen, V., Dumoulin, F., Kiesslich, T. Ve Plaetzer, K.** (2016). Methylsulfonyl Zn phthalocyanine: A polyvalent and powerful hydrophobic photosensitizer with a wide spectrum of photodynamic applications. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 13, 40-47.
- Johnson D.G. ve Walker C.L.**, (1999). Cyclins and cell cycle checkpoints. *Annual Review Pharmacology and Toxicology*, 39, 295-312.

- Josefsen L.B. ve Boyle R.W.**, (2008). Photodynamic therapy: novel third-generation photosensitizers one step closer?. *British Journal of Pharmacology*, 154(1), 1-3.
- Kalka K., Merk H. ve Mukhtar H.**, (2000). Photodynamic therapy in dermatology. *Journal of American Academy Dermatology*, 42(3), 389-413.
- Ke, M.R., Eastel, J.M., Ngai, K.L., Cheung, Y.Y., Chan, P.K., Hui, M., Ng, D.K. ve Lo, P.C.** (2014). Photodynamic inactivation of bacteria and viruses using two monosubstituted zinc (II) phthalocyanines. *European journal of medicinal chemistry*, 84, 278-283.
- Kutlubay, Z., Pehlivan, Ö. ve Engin, B.** (2011). Fotodinamik tedavi. *Dermatoz*, 2(4), 391-404.
- Lambert P.A.** (2002). Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in gram-positive bacteria and mycobacteria. *Symp Ser Soc Appl Microbiol*: 46S–54S.
- Lerman, L.S.** (1961). Structural Considerations in Interaction of DNA and Acridines. *Journal of Molecular Biology*, 3(1): 18–24.
- Lerman, L.S.** (1963). Structure of DNA-acridine complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 49(1): 94–98.
- Levy R. ve Nelson D.M.**, (2000). To be, or not to be, that is the question. Apoptosis in human trophoblast. *Placenta*, 21(1), 1-13.
- Leznoff, C.C. ve Lever, A.B.P.**, (1989). Phthalocyanines Properties and Application. *VCH*, 3: 139 - 289.
- Linstead, R.P.** (1934). Phthalocyanines I. A New Type of Synthetic Coloring Matters. *J.Chem. Soc.*, 28 1016-1017.
- Luksiene Z.** (2003). Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment. *Medicina (Kaunas)*, 39(12), 1137-1150
- Mang T. S.**, (2004). Lasers and light sources for PDT: past, present and future. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1(1), 43-48.
- Manning, G.S.** (1978). The molecular theory of polyelectrolyte solutions with applications to the electrostatic properties of polynucleotides. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 11: 179–246.
- Mantareva, V., Kussovski, V., Angelov, I., Wöhrle, D., Dimitrov, R., Popova, E. ve Dimitrov, S.** (2011). Non-aggregated Ga (III)-phthalocyanines in the photodynamic inactivation of planktonic and biofilm cultures of pathogenic microorganisms. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 10(1), 91-102.
- Martinez R. ve Garcia L.C.** (2005). The Search of DNA-Intercalators as Antitumoral Drugs: what it Worked and What did not Work. *Curr Med Chem*, 12(2): 127-151.
- McKeage, M.J.** (2000). Clinical toxicology of platinum-based cancer chemotherapeutic agents. *Platinum-based drugs in cancer therapy*, (ed.) Kelland LR and Farrell N, pp.251–275, *Humana Baskı: Totowa NJ*.
- Millevoi, S., Moine, H. ve Vagner, S.** (2012). G-quadruplexes in RNA biology. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 3(4), 495–507.
- Moan J. ve Peng O.** (2003). An outline of the hundred-year history of PDT. *Anticancer Research*; 23: 3591-3600.
- Moor A.C.**, (2000). Signaling pathways in cell death and survival after photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 57(1), 1-13.
- Nikaido H. ve Vaara M.** (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol Rev.*; 49:1–32.

- Nowis, D., Makowski, M., Stoklosa, T., Legat, M., Issat, T. ve Jakub, G.** (2005). Direct Tumor Damage Mechanisms of Photodynamic Therapy,. *Acta Biochim. Pol.*, 52 339–352.
- Osifeko, O. L., Durmuş, M. ve Nyokong, T.** (2015). Physicochemical and photodynamic antimicrobial chemotherapy studies of mono-and tetra-pyridyloxy substituted indium (III) phthalocyanines. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 301, 47-54.
- Öncü, B.** (2013). Antimikrobiyal fotodinamik terapinin, alt 20 yaş dışı çekimlerinin postoperatif dönemine olan etkilerinin incelenmesi. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş Ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı* (Doktora Tezi), 137s, İstanbul.
- Özçeşmeci, M., Ecevit, Ö.B., Sürgün, S. ve Hamuryudan, E.** (2013). Tetracationic fluorinated zinc (ii) phthalocyanine: Synthesis, characterization and DNA-binding properties. *Dyes and Pigments*, 96(1), 52-58.
- Öztürk, A.F.** (2009). Yaşa bağlı maküla dejenerasyonu tedavisinde intravitreal pegaptanib sodyum uygulaması ile fotodinamik terapi ve düşük doz fotodinamik terapi kombinasyonlarının karşılaştırılması. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı* (Uzmanlık Tezi), 99s, İzmir.
- Peyrone, M.** (1844). Ueber die einwirkung des ammoniaks auf platinchlorür [On the influence of ammonia on platinum chloride]. *Liebigs Annalen der Chemie*, 51(1): 1–29.
- Phan, A. T., Kuryavyi, V. ve Patel, D. J.** (2006). DNA architecture: from G to Z. *Current Opinion in Structural Biology*.
- Plaetzer K., Kiesslich T., Verwanger T. ve Krammer B.** (2003). The modes of cell death induced by PDT:: An overview., *Medical Laser Application*, 18(1), 7-19. 115
- Redmond, R.W. ve Kochevar, I.E.** (2006). Spatially resolved cellular responses to singlet oxygen. *Photochem. Photobiol.* 82, 1178–1186.
- Reuters, T.** (2012). Web of Science
- Rhodes, D. ve Lipps, H.J.** (2015). G-quadruplexes and their regulatory roles in biology. *Nucleic acids research*, gkv862.
- Rosenberg, B., Van Camp, L., Grimley, E.B. ve Thomson, A.J.** (1967). Inhibition of growth or cell division in Escherichia Coli by different ionic species of platinum complexes. *Journal of Biological Chemistry*, 242(6): 1347–1350.
- Saja, J. A. ve Rodriguez-Mendez, M. L.** (2005). Sensors based on double-decker rare earth phthalocyanines. *Advances in colloid and interface science*, 116(1), 1-11.
- Saka, E.T.** (2012). Periferal Tetra Sübstitüe Ftalosiyeninlerin Sentezi, Karakterizasyonu Ve Kobalt Ftalosiyeninlerin Siklohegzen Oksidasyonu Üzerine Katalitik Etkinliklerinin İncelenmesi. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı* (Doktora Tezi), 106s, Trabzon.
- Sarkı, G.** (2014). Metallsiz ve metalli ftalosiyeninlerin sentezi, karakterizasyonu ve kobalt (II) ftalosiyenin benzil alkol oksidasyonu üzerine katalitik etkilerinin incelenmesi. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 64s, Trabzon.
- Sharma S.K., Chiang L.Y. ve Hamblin M.R.** (2011). Photodynamic therapy with fullerenes in vivo: reality or a dream?, *Nanomedicine (Lond)*. 2011; 6:1813–25.
- Sharman W. M., Allen C. M. ve van Lier J. E.,** (1999). Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications., *Drug Discovery Today*, 4(11), 507-517.

- Sharman W.M., Allen C.M. ve van Lier J.E.** (1999). Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discov Today* 1999; **4**: 507–517.
- Sherman, S.E. ve Lippard, S.J.** (1987). Structural aspects of platinum anticancer drug interactions with DNA. *Chemical Reviews*, **87**: 1153–1181.
- Sibata C.H., Colussi V.C., Oleinick N.L. ve Kinsella T.J.** (2000). Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment,. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*, **33**(8), 869-880.
- Simone, R., Fratta, P., Neidle, S., Parkinson, G. N. ve Isaacs, A. M.** (2015). G-quadruplexes: Emerging roles in neurodegenerative diseases and the non-coding transcriptome. *FEBS Letters*.
- Soncin, M., Fabris, C., Buseti, A., Dei, D., Nistri, D., Roncucci, G. ve Jori, G.** (2002). Approaches to selectivity in the Zn (II)–phthalocyanine-photosensitized inactivation of wild-type and antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **1**(10), 815-819.
- Sperandio, F.F., Huang, Y.Y. ve R Hamblin, M.** (2013). Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-negative bacteria. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, **8**(2), 108-120.
- SPSS, I.** (2012). Statistical package for the social sciences. *Data analysis software packages. Version, 21*.
- Strekowski, L. ve Wilson, B.** (2007). Noncovalent interactions with DNA: An overview. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **623**: 3–13.
- Takahara, P.M., Frederick, C.A. ve Lippard, S.J.** (1996). Crystal structure of the anticancer drug cisplatin bound to duplex DNA. *Journal of the American Chemical Society*, **118**, 12309–12321.
- Tappeiner V.H.** (1900). Ueber die Wirkung fluorescierenden Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von O.Raab. *Münchener Medizinische Wochenschrift*, **5**, 47-48.
- Taşkın, G.C.** (2014). Fotodinamik terapi uygulamaları için ışığa duyarlı yeni silisyum ftalosiyanimler. *Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi)*, 90s, Gebze.
- Vijayalakshmi, R., Kanthimathi, M., Parthasarathi, R. ve Nair, B.U.** (2006). Interaction of chromium(III) complex of chiral binaphthyl tetradentate ligand with DNA. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14**: 3300–3306.
- Wainwright, M.** (1998). Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *Journal of antimicrobial chemotherapy*, **42**(1), 13-28.
- Waller, Z.A., Sewitz, S.A., Hsu, S.T.D. ve Balasubramanian, S.** (2009). A small molecule that disrupts G-quadruplex DNA structure and enhances gene expression. *Journal of the American Chemical Society*, **131**(35), 12628-12633.
- Wang, G., ve Vasquez, K. M.** (2006). Non-B {DNA} structure-induced genetic instability. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **598**(1–2), 103–119.
- Wang, T., Wang, A., Zhou, L., Lu, S., Jiang, W., Lin, Y., Zhou, J. ve Wei, S.** (2013). Synthesis of a novel water-soluble zinc phthalocyanine and its CT DNA-damaging studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **115**, 445-451.
- Waring, M.** (1970). Variation of the supercoils in closed circular DNA by binding of antibiotics and drugs: evidence for molecular models involving intercalation,. *Journal of Molecular Biology*, **54**(2): 247–279.
- Wells, R.D., Dere, R., Hebert, M.L., Napierala, M. ve Son, L. S.** (2005). Advances in mechanisms of genetic instability related to hereditary neurological diseases.

- Nucleic Acids Research*, 33(12), 3785–3798.
- Wilson B.C. ve Patterson M.S.** (2008). The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy. *Phys Med Biol*; 53(9): R61-109.
- Wilson, B.C.** (2002). Photodynamic Therapy for Cancer: Principles., *Can. J. Gastroenterol.*,16 (2002) 393–396.
- Wu, Y. ve Brosh, R. M.** (2011). G-quadruplex nucleic acids and human disease. *FEBS Journal*, 277(17), 3470–3488.
- Yabaş, E., Bağda, E. ve Bağda, E.** (2015). The water soluble ball-type phthalocyanine as new potential anticancer drugs. *Dyes and Pigments*, 120, 220-227.
- Yanık, H.** (2010). Yeni İndiyum Ftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Özelliklerinin İncelenmesi, *G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), Gebze.
- Yaşa, G.** (2012). Fotodinamik terapi amaçlı çözünür yeni ftalosiyanın sentezi. *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 108s, İstanbul.
- Yuan, L., Gui, L., Wang, Y., Zhang, Q., Zhou, L. ve Wei, S.** (2016). Photophysical and photochemical studies of a novel amphiphilic zinc phthalocyanine and its interaction with calf thymus DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 158, 1-8.
- Zeballos, N.L., Gauna, G.A., Vior, M.G., Awruch, J. ve Dicelio, L.E.** (2014). Interaction of cationic phthalocyanines with DNA. Importance of the structure of the substituents. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 136, 29-33.
- Zhang, S., Wu, Y., ve Zhang, W.** (2014). G-Quadruplex Structures and Their Interaction Diversity with Ligands.. *ChemMedChem*, 9(5), 899–911.
- Zhao, J., Bacolla, A., Wang, G., ve Vasquez, K.M.** (2010). Non-B DNA structure-induced genetic instability and evolution. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(1), 43–62. article.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Ad / Soyad Hasan Emre YILMAZ
e-posta yilmaz.hasanemre@gmail.com
Uyruk T.C.
Doğum tarihi 18.10.1993
Cinsiyet Erkek



Eğitim ve Öğretim

18.11.2008 – 17.06.2011	Antalya Lisesi	Lise	88,07 / 100
05.09.2011 – 16.06.2015	Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Bölüm İkincisi	Lisans	3,33 / 4
10.09.2015 –	Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik A.B.D.	Yüksek Lisans	(Devam Ediyor)

Yer Aldığı Projeler

20.01.2016 - 20-07-2017 (Devam ediyor)	(KMYO-004) Yeşil Deniz Kaplumbağası (Chelonia mydas) Yavrularında Morfolojiye ve Moleküler Analize Dayalı Cinsiyet Belirlenmesi	Yardımcı Araştırmacı
27.04.2016 – 27.09.2017 (Devam ediyor)	(T-670) Suda Çözünen Mono- ve Sandviç Tip Ftalosiyanın Ames/Mikrozom Mutajenite Testleri	Yardımcı Araştırmacı
17.05.2016 – 17.11.2017 (Devam ediyor)	(T-675) Medikal Amaçlı Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi ve İnaktivasyon	Yardımcı Araştırmacı
27.12.2016 – 27.06.2018 (Devam ediyor)	(F-504) Suda Çözünebilen Tetra ve Okta Süstitüye Galyum Ftalosiyanın Bileşiklerinin DNA Etkileşimlerinin Belirlenmesi ve Antimikrobiyal Uygulamaları	Yardımcı Araştırmacı

Katıldığı Seminerler

23.12.2011	2. Kök Hücre Sempozyumu	İstanbul
21.10.2015	Olympus Mikroskopi Semineri	Sivas
16.02.2016 – 17.02.2016	İlaç Endüstrisinde Analiz Yöntemleri	Sivas

Sertifikalar

02.06.2016 – 03.06.2016	HPLC ve UV-1800 Spektrofotometresi
15.06.2016 – 16.06.2016	NMR Yüksek Çözünürlüklü Spektrometresi

Yabancı Dil İngilizce

**Bilimsel İlgil ve
Çalışma Alanları**

Moleküler Sistematiik, Mikrobiyoloji, Küçük
Molekül – DNA Etkileşimleri, Fotodinamik
Terapi

