



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FTALOSİYANİNLERİN DNA'YA BAĞLANMASININ İNCELENMESİ

GAMZE ÇAKIRCA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayşe OGAN

EŞ-DANIŞMAN

Öğr. Gör. Dr. Ali Sadi BAŞAK

İSTANBUL, 2016



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FTALOSİYANİNLERİN DNA'YA BAĞLANMASININ İNCELENMESİ

GAMZE ÇAKIRCA

520612002

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayşe OGAN

EŞ-DANIŞMAN

Öğr. Gör. Dr. Ali Sadi BAŞAK

İSTANBUL, 2016

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Gamze.ad soyad Gökürca in “Flavosiyaniminler” başlıklı tez çalışması, ..29.06.2016.. tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ayşe OGAN (Danışman)

Marmara Üniversitesi

Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL (Üye)

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Serap DEMİR (Üye)

Marmara Üniversitesi

Ayşe Ogan
Ayşegül Peksel
S. Demir

ONAY

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 18.07-2016 tarih ve 2016/17-02 sayılı kararı ile ... ad-soyad Gamze ÇAKIRCA'ın Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof.Dr. Uğur YAŞI

Uğur Yaşı

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
ÖNSÖZ	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
SEMBOLLER.....	vii
KISALTMALAR	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	xi
BÖLÜM 1-GİRİŞ	1
1.1.Ftalosiyanın Tarihçesi.....	1
1.2. Ftalosiyanın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	2
1.3. Ftalosiyanın Çeşitleri	5
1.4. Ftalosiyanın Bileşiklerinin Yapı Tayinleri.....	7
1.4.1. Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spektroskopisi.....	7
1.4.2. UV-Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi	8
1.4.3. Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi	10
1.4.4. Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon (MALDI) Kütle Spektrometresi.....	11
1.5. Ftalosiyanın Kullanım Alanları	12
1.6. Ftalosiyanın Bileşiklerinde Çözünürlük.....	13
1.7. Deoksiribonükleik asit (DNA).....	14
1.8. Foto Dinamik Terapi (PDT).....	17
1.8.1. PDT Etki Mekanizması	17

1.8.2. Ftalosiyaninlerin Fotosensitizör Ajan Özellikleri	18
1.9. İlgili Literatür Işığı Altında Çalışmanın Yeri.....	21
BÖLÜM 2 – MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
2.1. Deneylerde Kullanılan Malzeme ve Aletler.....	23
2.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	23
2.3. Ligand Sentezi [4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril].....	24
2.3.1. 4-Nitroftalimid Bileşiğinin Eldesi.....	24
2.3.2. 4-Nitroftalamid Bileşiğinin Eldesi.....	25
2.3.3. 4-Nitroftalonitril Bileşiğinin Eldesi	25
2.3.4. 4-Aminoftalonitril Bileşiğinin Eldesi.....	26
2.3.5. 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril Bileşiğinin Eldesi	26
2.4. {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril}	27
çinko(II)ftalosiyanin Bileşiğinin Eldesi	27
2.5. {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril}	28
çinko(II)ftalosiyanin Bileşiğinin Kuaternerleştirilmesi	28
2.6. {2,10,16,24-tetrakis-4-((4(dimethylamino)phenyl)diazenyl)phthalonitrile)} phthalocyaninatozinc(II) Bileşiğinin Karakterizasyonu	29
2.7. DNA'ya Bağlanma Özellikleri.....	30
2.7.1. UV/Vis denemesi	30
2.7.2. Floresans denemesi ile bağlanma sabitinin belirlenmesi	30
2.7.3. DNA-DAPI Kompleksinin Florometrik Olarak Sönümlenme Etkisinin Belirlenmesi	30
2.7.4. DNA-SYBR Kompleksinin Florometrik Olarak Sönümlenme Etkisinin Belirlenmesi	31
BÖLÜM 3 – BULGULAR ve TARTIŞMA	32
3.1. Sentezlenen Bileşiklerin Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi	32

3.1.1. Çinko(II)Ftalosiyenin ($C_{73}H_{98}ZnN_{13}$) ve Ligand ($C_{16}H_{13}N_5$) için MALDI Spektrumları.....	34
3.1.2. Çinko(II)Ftalosiyenin ($C_{73}H_{98}ZnN_{13}$) için FT-IR Spektrumları	36
3.1.3. Ftalosiyenin için UV-Vis Spektrumu.....	37
3.2. Kuaterner Çinko(II)ftalosiyenin DNA'ya Bağlanma Özelliklerinin İncelenmesi	38
3.2.1. UV/Vis denemesi	39
3.2.2. Floresans Denemesi İle Bağlanma Sabitinin Belirlenmesi	42
3.2.3. DNA-DAPI kompleksinin florometrik olarak sönümlenme etkisinin belirlenmesi.....	45
3.2.4. DNA-SYBR Kompleksinin Florometrik Olarak Sönümlenme Etkisinin Belirlenmesi	47
BÖLÜM 4 – SONUÇLAR.....	51
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	61

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Araştırma Laboratuvarı ve Biyokimya Anabilim Dalı, Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Yüksek lisans tez konusu olan bu çalışma, yeni sentezlenen katyonik çinko ftalosiyanınin DNA'ya bağlanma özelliklerinin incelenmesini içermektedir.

Eğitimim sırasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tez konumun hazırlanması ve gerekli imkanların sunulmasında desteğini gördüğüm tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ayşe OGAN'a ve ikinci danışmanım değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Ali Sadi BAŞAK'a,

Çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, tezimin her aşamasında sabırla yardımcı olan Kimya Bölümü değerli hocalarım, Yrd. Doç. Dr. Başak YÜCE DURSUN'a ve Öğr. Gör. Dr. Soner ÇUBUK'a,

Tezimde kullandığım organik bileşiklerin temininde, büyük ilgi ve yardımlarını gördüğüm Sayın Doç. Dr. Zafer ODABAŞ ve Sayın Yard. Doç. Dr. Selçuk ALTUN'a,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bana anlayış gösteren, birçok durumda yardımlarından faydalandığım arkadaşım Ali HAYTAM'a ve tezimin bitirme aşamasında her türlü manevi desteği sağlayan arkadaşım Damla ANBAR ÜLKER'e,

Tüm hayatım boyunca her türlü maddi manevi desteği benden esirgemeyen, bugünlere gelmemde çok büyük emeği bulunan, her zaman yanımda olacaklarını bildiğim AİLEM'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Haziran 2016

Gamze ÇAKIRCA

ÖZET

FTALOSİYANİNLERİN DNA'YA BAĞLANMASININ İNCELENMESİ

Kendilerine özgü yapıları nedeniyle ftalosiyaninler (Pcler), çok çeşitli alanlarda uygulama imkanı bulabilmektedir. Pcler, geniş düzlemsel yapıları ve π sistemleri nedeniyle kolaylıkla modifiye edilebilen geniş makromolekül sınıflarından biridir. Katyonik Pclerin DNA ile etkileşimine ait çalışmalar son yıllarda artan bir ilgiye sahiptir. Replikasyon ve transkripsiyondaki merkezi rolü nedeniyle DNA, antibiyotik, antikanser ve antiviral ilaçlar için ana hedef durumundadır. Bu nedenle, DNA'nın metal kompleksleri ile etkileşimleri ve reaksiyonları biyoteknoloji ve tıp alanında yapılan araştırmalarda bir süredir ilgi çeken bir konudur. DNA/RNA yapılarını incelemek için geliştirilmiş çok sayıda sentetik bileşik olmasına karşın DNA görüntüleme için kullanılan az sayıda molekül bulunmaktadır. Özellikle ZnPc kompleksleri fotodinamik kanser terapisinde potansiyel fotosensitizör olarak ilgi çekici özellikler göstermektedir.

Tez çalışmamızda, Marmara Üniversitesi Kimya Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda [4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril] ligandı kullanılarak yeni bir bileşik olan {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril)} çinko (II) ftalosiyanin türevi sentezlenmiştir. Negatif yüklü olduğu bilinen DNA'ya daha kolay bağlanmasını sağlamak için katyonik hale getirilen türevin karakterizasyonu Fourier transform infrared, nükleer manyetik rezonans ve matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon spektroskopisi yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sentezin başarılı olduğu gösterilmiştir. Elde edilen ZnPc türevinin DNA'ya bağlanma özellikleri çeşitli spektrofotometrik ve florometrik yöntemlerle tayin edilmiştir. Sonuçlar, yeni sentezlenen Pc türevinin DNA'ya uygun afinite gösterdiği ve bağlanmanın bazı bölgelerde elektrostatik, çoğu bölgede interkalasyon ile gerçekleştiğini göstermiştir.

Haziran, 2016

Gamze ÇAKIRCA

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF DNA BINDING PROPERTIES OF PHTHALOCYANINES

Because of their unique structure, phthalocyanine compounds (Pcs) are widely exploited in a variety of applications. Pcs are one of a family of macromolecule classes with a wide planar structure and π electron system. In recent years, studies on the interaction of cationic phthalocyanines with DNA have received great interest. DNA has a key role in replication and transcription processes, so it is a main target for antibiotics, anticancer and antiviral agents. Therefore, interaction and reaction of metal complexes with DNA has long been the subject of intense investigation in relation to the development of new reagents for biotechnology and medicine. Although many synthetic compounds have been developed to explore a variety of DNA/RNA structures, few molecules can be used to photocleave DNA in the concept of photodynamic therapy. Especially Zinc Pc complexes display interesting properties as potential photosensitisers in photodynamic cancer therapy.

In this thesis, we have reported the synthesis of novel {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimethylamino)phenyl)diazanyl)phthalonitrile} Zinc (II) Phthalocyanine which was peripherally bridged with [4-((4-(dimethylamino)phenyl) diazenyl) phthalonitrile] group. The experiments were carried out in Chemistry Research Laboratories at Marmara University. Synthesized Pc derivative was quaternized for to ensure easier binding to negatively charged DNA. This derivative was characterized successfully with Fourier Transform Infrared, Nuclear Magnetic Resonance and Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization methods. DNA binding properties of this Pc was investigated using different absorption and fluorescence spectroscopic techniques. The results indicated that the novel Pc derivative have affinity to most regions of DNA with an intercalative and to some regions with an electrostatic binding mode.

June, 2016

Gamze ÇAKIRCA

SEMBOLLER

%	: Yüzde
±	: Artı-Eksi
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar konsantrasyon
cm	: Santimetre
Da	: Dalton
dk	: Dakika
g	: Gram
K _a	: Bağlanma sabiti
K _{sv}	: Sönümlenme sabiti
M	: Molar konsantrasyon
m/z	: Kütle-yük oranı
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar konsantrasyon
mmol	: Milimol
nm	: Nanometre
°C	: Santigrad Derece
V	: Volt
v/v	: Hacim/Hacim
π	: Pi

KISALTMALAR

ATR	: Attenuated Total Reflectance
Co	: Kobalt
Cu	: Bakır
DAPI	: 2-(4-Amidinofenil)-6-indolkarbamidindihidroklorür
DBU	: 1,8-Diazabisiklo[5.4.0]undek-7-en
DMF	: Dimetilformamid
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
ISC	: Sistemler Arası Geçiş
MALDI	: Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Kütle Spektrometresi
NMR	: Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
Pc	: Ftalosiyanın
PDT	: Foto Dinamik Terapi
PS	: Fotosensitizör
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
THF	: Tetrahidro furan
ZnPc	: Çinko(II)ftalosiyanın

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Orto-Siyanobenzamid Sentezi Sırasında Metalsiz Ftalosiyanın Eldesi... 1	1
Şekil 1.2 Hidrojen-Metal Değişimi ile Metalli Ftalosiyanın Oluşumu..... 2	2
Şekil 1.3 Metalli (MPc) ve Metalsiz (H ₂ Pc) Ftalosiyanınin UV-Görünür Bölge Spektroskopisi..... 3	3
Şekil 1.4 Ftalosiyanın Bileşiğindeki Periferel ve Non-periferel Konumlar..... 4	4
Şekil 1.5 Sandviç Tipi Çift Katlı (Pc ₂ M) veya Üç Katlı (Pc ₃ M ₂) Kompleksin Yapısı 6	6
Şekil 1.6 Sepet Tipi Ftalosiyanın Yapısı 6	6
Şekil 1.7 Subftalosiyanın (SubPc) ve Süperftalosiyanın (SuperPc) Yapıları 7	7
Şekil 1.8 Bazı Metalli Ftalosiyanınlerin UV-Vis Spektrumları..... 9	9
Şekil 1.9 Örnek ¹ H-NMR Spektrumu 10	10
Şekil 1.10 Örnek MALDI-TOF-MS Spektrumu..... 12	12
Şekil 1.11 A-DNA, B-DNA ve Z-DNA'nın Yapıları 15	15
Şekil 1.12 DNA'ya Bağlanma Modelleri..... 16	16
Şekil 1.13 PDT Etki Mekanizması..... 18	18
Şekil 2.1 4-Nitroftalimidin Bileşiğinin Eldesi 25	25
Şekil 2.2 4-Nitroftalamid Bileşiğinin Eldesi..... 25	25
Şekil 2.3 4-Nitroftalonitril Bileşiğinin Eldesi..... 26	26
Şekil 2.4 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril Bileşiğinin Eldesi..... 27	27
Şekil 2.5 {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil) 28	28
Şekil 2.6 Kuaterner ZnPc Yapısı 29	29
Şekil 3.1 C ₁₆ H ₁₃ N ₅ Bileşiğine Ait MALDI-TOF-MS Spektrumu (337 nm Dalga Boyunda)..... 35	35

Şekil 3.2 $C_{73}H_{98}ZnN_{13}$ Bileşiğine Ait Pozitif İyon Ve Reflekton Modunda Alınmış MALDI-TOF-MS Spektrumu (337 nm Dalga Boyunda)	35
Şekil 3.3 ZnPc Bileşiği İçin FT-IR Spektrumu.....	37
Şekil 3.4 Kuaterner ZnPc Bileşiğine Ait UV-Vis Spektrumu	38
Şekil 3.5 ct-DNA-ZnPc Kompleksinin UV-Vis Spektrumu.....	40
Şekil 3.6 Spektrofotometrik Yolla Kuaterner ZnPc-DNA Kompleksinin Bağlanma Sabitinin Belirlenmesinde Kullanılan $[DNA]- [DNA]/\epsilon a - \epsilon f$ Grafiği.....	41
Şekil 3.7 Pc-DNA Kompleksinin Floresans Spektrumu.....	43
Şekil 3.8 Pc-DNA Kompleksinin Bağlanma Sabitinin Belirlenmesinde Kullanılan $\text{Log}(F_0-F)/F - \text{Log}[DNA]$ Grafiği.....	44
Şekil 3.9 DNA-DAPI-Pc Kompleksinin Floresans Spektrumu	46
Şekil 3.10 DNA-DAPI-Pc kompleksi için K_{sv} Değerinin Belirlenmesinde Kullanılan $F_0/F - [Pc]$ Grafiği.....	47
Şekil 3.11 DNA-SYBR-Pc Kompleksinin Floresans Spektrumu	48
Şekil 3.12 DNA-SYBR-Pc kompleksi için K_{sv} Değerinin Belirlenmesinde Kullanılan $F_0/F - [Pc]$ Grafiği.....	49

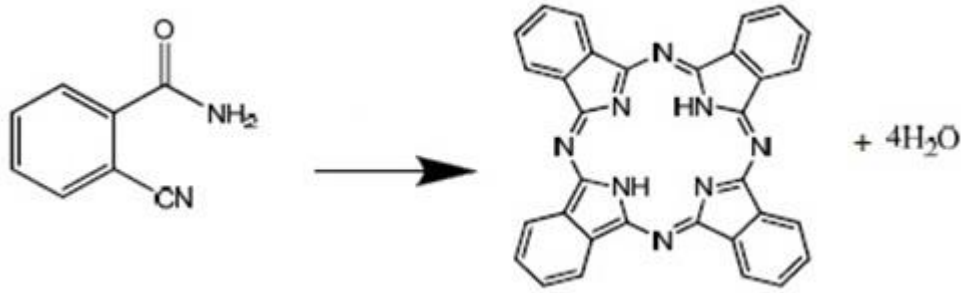
TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1 PDT’de Kullanılan Bazı Fotosensitizör Ajanlar	20
Tablo 3.1 4-Nitroftalimid, 4-Nitroftalamid, 4-Nitroftalonitril ve 4-aminoftalonitril Bileşiklerinin Bazı Özellikleri.....	32
Tablo 3.2 Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Miktarları.....	33
Tablo 3.3 ZnPc Bileşiğine Ait Karakteristik FT-IR Değerleri	36

BÖLÜM 1-GİRİŞ

1.1.Ftalosiyanın Tarihçesi

Ftalosiyanın (Pc), ilk kez 20. yüzyılda Braun tarafından elde edilmiştir. 1907 yılında yaptığı çalışmada asetik anhidrit ve ftalimid'den *o*-siyanobenzamid sentezi sırasında yan ürün olarak koyu renkli çözünmeyen bir madde üretmiştir. (Braun ve Tcherniac, 1907). Bu yan ürünün ftalosiyanın adını alması ilk kez Linstead tarafından 1933 yılında olmuştur. Linstead ve arkadaşları magnezyum oksitleri, karbonatları etil alkol içinde asitle karıştırarak ftalosiyanını %40 verimle sentezlemişlerdir (Linstead, 1934). Linstead'in çalışmaları göz önüne alınarak ftalosiyanınların, X-ışını, elektron mikroskobu gibi farklı yöntemlerle yapıları doğrulanmıştır. Yapıları doğrulandıktan sonra ftalosiyanınların fotoiletkenlik, çözünürlük, indirgenme, spektral gibi özellikleri araştırılmıştır (Robertson, 1935).



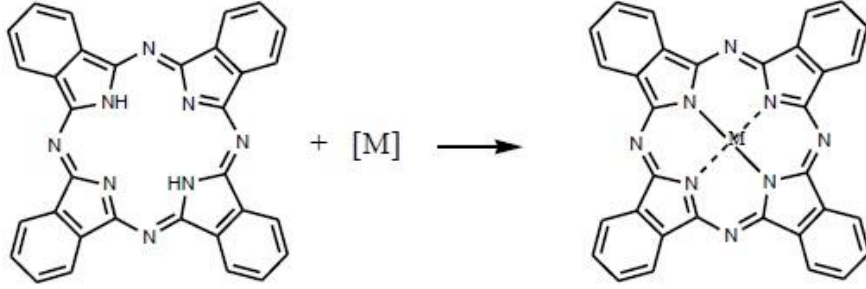
Şekil 1.1 Orto-Siyanobenzamid Sentezi Sırasında Metalsiz Ftalosiyanın Eldesi (Birsöz, 2013)

Bir başka çalışmada, De Diesbach ve Von Der Weid tarafından 1,2-disiyanobenzen bileşiği sentezi yapılırken yan ürün olarak bakır kompleksli ftalosiyanın elde edildiği görülmüştür (De Diesbach ve Von Der Weid, 1927).

Geçmişten günümüze kadar ftalosiyanınların geniş bir uygulama alanının olmasından dolayı, ftalosiyanınların sentezi ve özellikleri birçok makalede yayımlanmıştır (Yılmaz, 1996).

1.2. Ftalosiyeninlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Makro halkalı bileşikler, üç veya daha fazla hetero atom bulunduran bileşiklerdir. Bu bileşikler dokuz veya daha fazla üyeye sahiptirler. Ftalosiyeninler de dört iminoizoindolin ünitesine sahip makro halkalı bileşikler sınıfında bulunmaktadır. Ayrıca yüksek kararlılık gösteren çok yönlü aromatik yapılarıdır. Merkezlerinde boşluk bulunur. Bu boşluğa birçok metal iyonu alabilirler (Dumoulina ve ark., 2010-Acar ve ark., 2012). Metalli Pc'ler, metalsiz Pc'lerin merkezindeki hidrojen atomlarının metallerle yer değiştirmesi sonucu elde edilir (Akkuş, 2011) (bkz. Şekil 1.2).

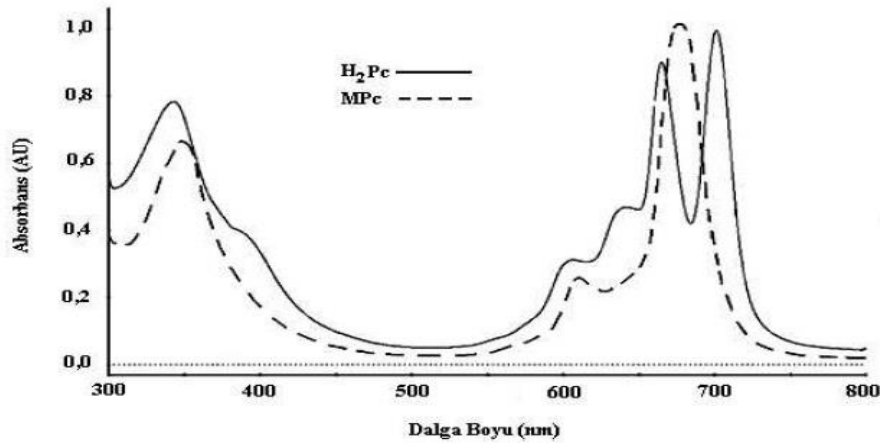


Şekil 1.2 Hidrojen-Metal Değişimi ile Metalli Ftalosiyenin Oluşumu (Alemdar, 2009)

Ftalosiyeninler neredeyse bütün metaller ile kompleks oluşturabilmektedirler (Terekkov, 1997). Oluşturdukları bu kompleksler, metallerin özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Koordinasyon sayısı dört olan metaller ile kompleks oluşturduklarında kare düzlem yapı, koordinasyon sayısı dörtten büyük olan metaller ile kompleks oluşturduklarında ise kare piramit ve oktahedral yapıları gözlenmektedir. Bir ftalosiyenin en kararlı hali, metal iyonunun çapının, merkezinde bulunan boşluğun çapına uygun olduğunda görülmektedir. Eğer metalin çapı büyük ya da küçük olursa metal atomları kolaylıkla kopmaktadır (Birsöz, 2013).

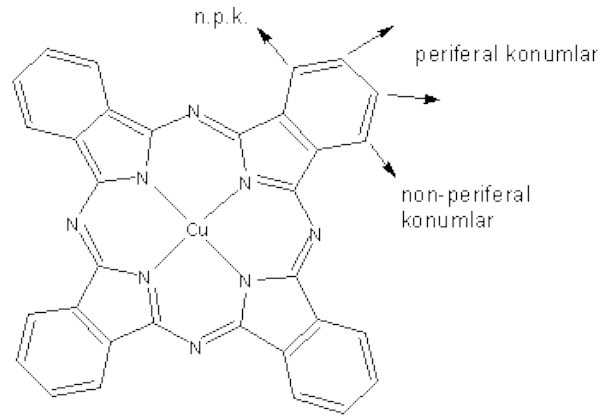
Ftalosiyanine bağlanan metal onun sadece yapısını değil spektroskopik özelliklerini de etkilemektedir. Bu da ftalosiyeninlere geniş bir kullanım alanı

sağlamaktadır. Örneğin; Ftalosiyaninler çinko (Zn) ve alüminyum (Al) gibi metal içerdiklerinde uygun dalga boylu ışıkta uzun ömürlü triplet ürünler vermektedirler. Zn ve Al gibi metal içeren ftalosiyaninlerin bu özelliği fotodinamik terapide (PDT) ışığın kanserli hücreyle etkinliğini artırdığı için önemlidir (Altun, 2011). Özellikle, çinko(II)ftalosiyanin (ZnPc) klinik araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. ZnPc; Zn^{2+} iyonunun d^{10} konfigürasyonu optik spektrada komplike bandlar vermemektedir. Bundan dolayı en çok çalışılan ftalosiyanin olmuştur. ZnPc'nin, yoğun kırmızı görünür bölge absorpsiyonu ve yüksek singlet ve triplet bölgelerine sahip olması onu PDT uygulamalarında önemli bir fotosensitizör yapmaktadır (Bıyıklıoğlu ve ark., 2010). Spektrumun kırmızı bölgesindeki yüksek molar absorpsiyon katsayıları ve fotostabiliteleri nedeniyle ftalosiyaninler yararlı fotosensitizör olarak da bilinmektedirler. Ftalosiyaninler, 18 π -elektron sistemine sahip mavi veya yeşil renkli bileşiklerdir (Bıyıklıoğlu ve ark., 2010). Sahip oldukları mavi veya yeşil renklerinin yoğunluğu, 18 π - elektronlarının elektronik delokalizasyonuna bağlıdır. Bu özellikleri Pc'lerin boya ve pigmentlerde kullanılmasına da olanak sağlamaktadır. Ayrıca ftalosiyaninler, elektronca zengin (18 π -elektron) olmaları nedeniyle UV-Görünür bölge spektroskopisinde şiddetli absorpsiyon pikleri vermektedirler (Koçak ve ark., 2000). 650-700 nm arasında verdikleri karakteristik pik ftalosiyaninlerin metalli olup olmadığını göstermektedir (bkz. Şekil 1.3).



Şekil 1.3 Metalli (MPc) ve Metalsiz (H₂Pc) Ftalosiyaninin UV-Görünür Bölge Spektroskopisi (Birsöz,2013)

Ftalosiyeninlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, periferel konumlarına bağlanan süstitüentlere göre değişmektedir (Yabaş ve ark., 2012). Pc'lerdeki periferel pozisyonlara bağlanan süstitüentler, ftalosiyeninlerin kullanım alanlarında çeşitlilik sağlamakla birlikte çözünürlüklerini de etkilemektedir. Suda çözünürlüğü olmayan Pc'lerin uygun süstitüentler ile çözünürlükleri sağlanabilir. (Özer ve ark., 2008 – Yağlıoğlu ve ark., 2008). Böylece Pc'lerden farklı özellikte sınırsız yeni materyaller üretmek mümkün olmaktadır (Ceyhan ve ark., 2007).



Şekil 1.4 Ftalosiyenin Bileşiğindeki Periferel ve Non-periferel Konumlar

Ftalosiyenin halkasına eklenen fonksiyonel gruplar eğer zengin elektron verici bir birime sahip ise bileşiğin çözünürlüğünün ve ftalosiyenin kendine has özelliklerinin (optik, elektrokimyasal gibi) artmasında etkili olmaktadır (Ceyhan ve ark., 2006). Süstitüenti kükürt içeren metaller Pc'ler, metaller olmayanlara göre daha çeşitli spektroskopik ve fotokimyasal özelliklere sahip olmaktadır. Ftalosiyenin periferel pozisyonlarda kükürt gruplarının varlığı, elektron verici özellik göstermektedir. Bu da Q-bandındaki kaymanın 700 nm'den daha büyük dalga boylarına olmasını sağlamaktadır (Zugle ve ark., 2013). Bu özellik ftalosiyeninlerin yakın kızılötesi cihazlarda ve PDT uygulamalarında kullanımlarına olanak sağlamaktadır (Zakharov ve ark., 2008).

Ftalosiyenin içeren bileşikler zengin koordinasyon kimyasına sahiptir. Bu yüzden, araştırmacıların spesifik özellikli çeşitli bileşikler sentezleyerek, yüksek teknolojik uygulamalar için ftalosiyeni kullanmaları mümkün olmuştur. Yeni

sentezlenebilen bileşiklerin sonucu olarak ftalosiyaninlerin önemi, çeşitli bilim ve teknoloji alanlarında hızlı bir şekilde artmaktadır (Ceyhan ve ark., 2007).

1.3. Ftalosiyanin Çeşitleri

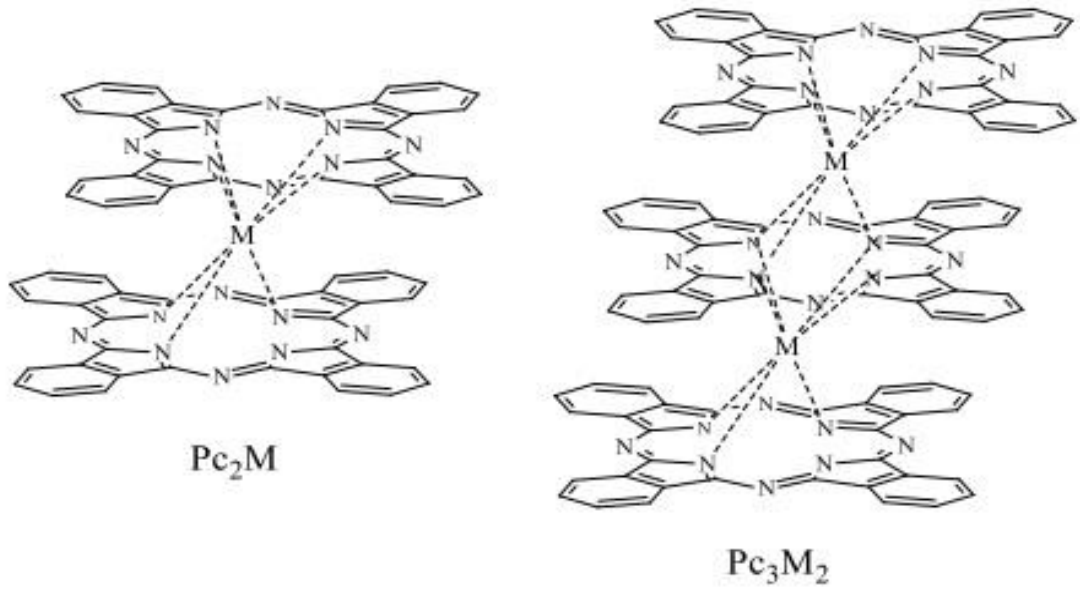
Ftalosiyanin çeşitleri temelde 4 başlık altında toplanabilir.

1. *Sandviç tipi ftalosiyaninler*, iki veya daha fazla ftalosiyaninin metal iyonları yardımıyla birbirine bağlanması ile oluşturmaktadır (bkz. Şekil 1.5). Bu komplekslerin halkalarındaki azotların bağ sayısının 8 olduğu, yapılan X ışını difraksiyon çalışmalarıyla gösterilmiştir. Bu sandviç yapılı kompleksler organik yarı-iletken olarak özellik göstermektedirler (Sesalan ve ark., 1999 – Day ve ark., 1974).

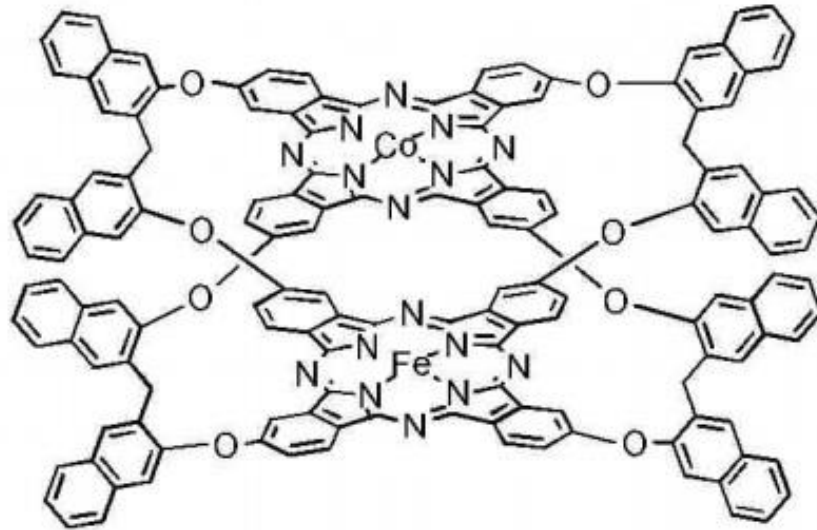
2. *Sepet tipi ftalosiyaninlerin* ilk sentezi 2002 yılında Tomoliva tarafından gerçekleştirilmiştir (bkz. Şekil 1.6). İki adet ftalosiyanin halkasının üst üste konularak birbirine 4 adet köprü ile bağlanması sonucu bu yapılar meydana gelmektedir (Altun, 2011).

3. *Subftalosiyaninler*, delokalize olmuş 14 π elektrona sahiptirler. Non-lineer yapıdadırlar ve yüksek absorpsiyon katsayısına sahiptirler. Bu özellikleri subftalosiyaninlerin ışıkla çalışan cihazlarda kullanılmasını sağlamaktadır (bkz. Şekil 1.7).

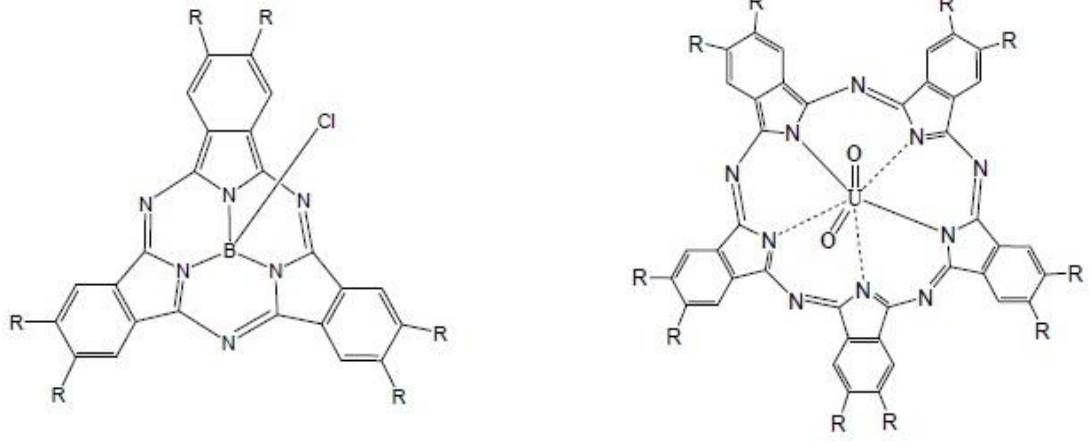
4. *Süperftalosiyaninler* ise 22 π elektron sistemine sahip makro halkalı bileşiklerdir (bkz. Şekil 1.7). Spektrumda 914 nm'de yoğun bir band göstermeleri sebebiyle güneş pilleri ve fotodinamik terapi için kullanılabilen yapılardır (McKeown, 2003).



Şekil 1.5 Sandviç Tipi Çift Katlı (Pc_2M) veya Üç Katlı (Pc_3M_2) Kompleksin Yapısı (Birsöz, 2013)



Şekil 1.6 Sepet Tipi Ftalosiyanin Yapısı (Birsöz, 2013)



Şekil 1.7 Subftalosiyanin (SubPc) ve Süperftalosiyanin (SuperPc) Yapıları (Birsöz, 2013)

1.4. Ftalosiyanin Bileşiklerinin Yapı Tayinleri

- Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spektroskopisi
- UV-Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi
- Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi
- Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon (MALDI) Kütle Spektrometresi

1.4.1. Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spektroskopisi

İnfrared (IR) spektroskopisi; bilinmeyen bir bileşiği, bilinen bir yapı ile tanımda ve ayrıca fonksiyonel grupları saptamada kullanılmaktadır (Alemdar ve ark., 2009). Bu spektroskopide molekülde oluşan küçük titreşimlerden yararlanılır (Yelekçi, 1991).

IR spektrumunda parmak izi bölgesi ve fonksiyonel grup bölgesi olmak üzere iki önemli bölge bulunmaktadır. Fonksiyonel grup bölgesi, $4000-1300\text{ cm}^{-1}$ arasındaki bölge olup, fonksiyonel grupların gerilme piklerini göstermektedir. Diğer bölge parmak izi bölgesi ise bileşiğin kendisine ait karakteristik bölgedir. Spektrumda bu bölge $1300-909\text{ cm}^{-1}$ arasında görülmektedir (Yazıcı ve ark., 2014).

Ftalosiyenin bileşiklerinde ligandların esneme titreşimi ve aza gerilimleri gibi bantlar IR spektrumları sayesinde gözlenmektedir. Bu titreşim bandı metalli Pc'lerde görülmezken, metalsiz Pc'lerin karakteristik N-H pikleri yaklaşık 3289 cm^{-1} 'de gözlenmektedir (Altun, 2011-Birsöz, 2013). Ayrıca ftalosiyeninlerin makro halkalı yapılarından dolayı C-H gerilme bandları 3000-3050 cm^{-1} ve C-C gerilme bandları ise 1450-1600 cm^{-1} aralığında görülmektedir (Birsöz, 2013).

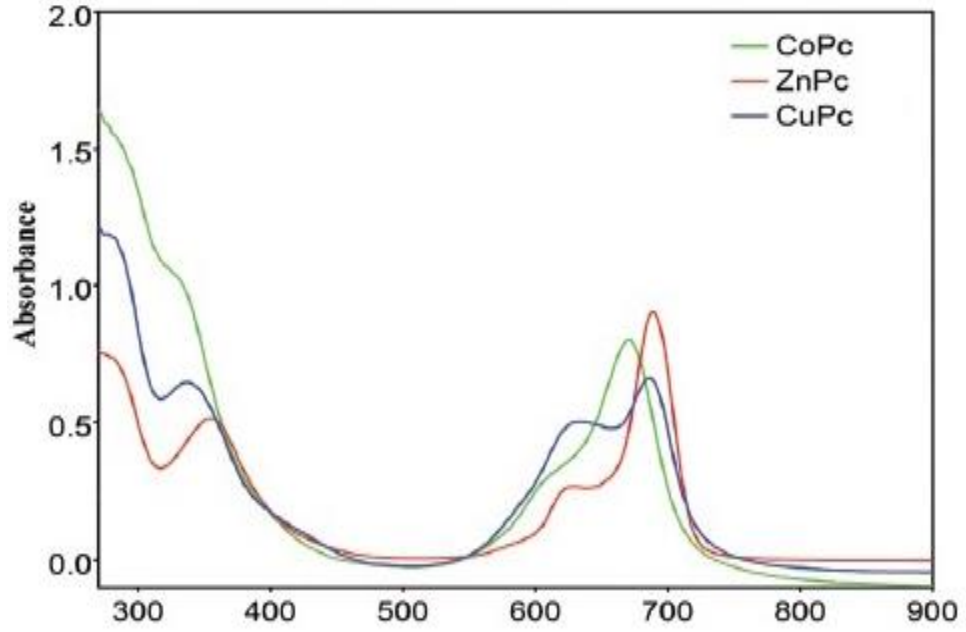
Sentezlenecek olan bir bileşikteki fonksiyonel gruplar (amin, karbonil, alkol gibi) IR spektroskopisi ile kolay bir şekilde tanımlanabilmektedir. Bu nedenle bu fonksiyonel grupları taşıyan yapıların aydınlatılması için IR spektroskopisi önem arz etmektedir. Bölümümüzde yapılan bir çalışmada; Pc sentezinin başlangıç maddelerinden biri olan ftalonitril türevinin IR spektroskopisinde verdiği nitril piki sentez sonucu kaybolmaktadır. Bu veri ftalosiyenin oluştuğunu kanıtlamaktadır. Mono Pc oluşumunda da nitril pikinin kaybolması ftalosiyenin varlığını gösterirken, sepet tipi ftalosiyeninde nitril piki varlığı yapının oluşmadığı anlamına gelmemektedir. IR spektroskopisi, bileşiği saptamada yarar sağlamasına rağmen, tek başına yeterli görülmemektedir. Bileşiğin analizi IR spektroskopisinin yanı sıra UV-Görünür bölge spektroskopisi, MALDI-TOF kütle spektroskopisi gibi farklı tekniklerle de çalışılmalıdır (Odabaş ve ark., 2007).

1.4.2. UV-Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi

UV-Vis spektroskopisi ftalosiyenin bileşiğinin varlığını, varsa metal içerip içermediğini anlamak için kullanılmaktadır. Ftalosiyeninlerin spektrumunda verdiği pikler Q, B, N ve L bandı olarak adlandırılmaktadır. Pc'lerin sahip olduğu $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişleri Q bantların oluşmasını, $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri ise B bantlarının oluşmasını sağlamaktadır. 500-720 nm aralığında Q bandı, 320-420 nm aralığında B veya Soret bandı ve 330-230 nm aralığında ise N ve L bandları görülmektedir (Koçak ve ark., 2000). UV spektrumunda gözlenen diğer pikler ise ligand ile metal arasındaki yük geçişlerinden kaynaklanabilir (Birsöz,2013).

Ftalosiyeninlerin Q bandına ait pikleri karakteristik özelliklerini göstermektedir (Stillman ve Thomson, 1974). Molekülün simetrisini tanımlamada Q bandı belirleyicidir. Simetri özellikleri açısından bakıldığında; D_{2h} simetrisi

metalsiz ftalosiyeninler gösterdiği bir özellikken, D_{4h} simetrisi metalli ftalosiyeninlerin bir özelliğidir. Q bandındaki yarılmış ve yarılmamış pikler ftalosiyeninlerin bu simetri farklılığından oluşmaktadır. D_{4h} simetrisi gösteren Pc molekülünde Q bandında tek bir pik, D_{2h} simetrisi gösteren Pc molekülünde ise çift pik görülmektedir (Ok, 2006).



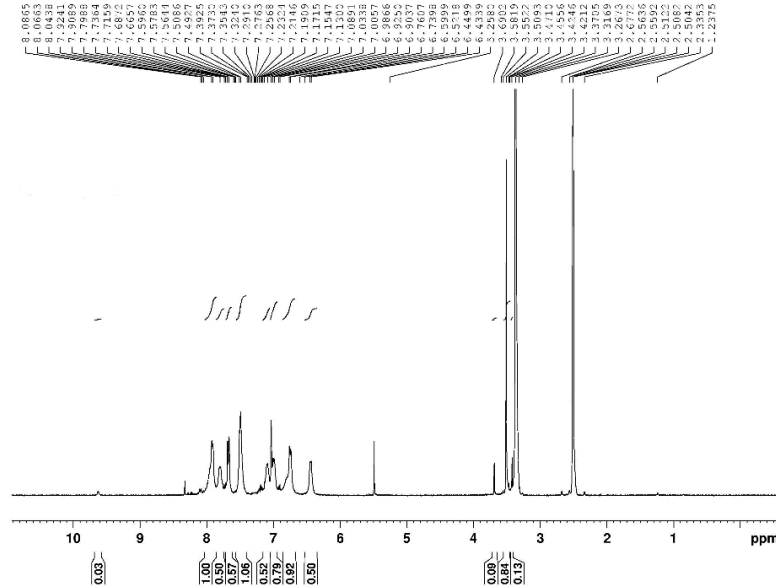
Şekil 1.8 Bazı Metalli Ftalosiyeninlerin UV-Vis Spektrumları (Başak ve ark., 2014)

Ftalosiyenin spektral özelliklerini; merkezinde bulunan metal atomu, molekülün yapısı, fonksiyonel grupların periferik konumları, ftalosiyenin agregasyonu gibi etkenler de değiştirmektedir. Agregasyon; bir solvent içinde bulunan bileşiklerin kümeleşmesidir. Ftalosiyeninlerin moleküler arası çekimleri sonucu üst üste birikmeleri şeklinde oluşur. Agregasyon, yüksek derişim ve polar çözücü kullanıldığında artmaktadır. Bu durumda agregasyondan kaynaklı Q bandında bir omuz oluşmaktadır. Oluşan bu omuz Q bandının şiddetinde azalmaya sebep olmaktadır (Özçşemeci ve ark., 2007-Birsöz, 2013).

1.4.3. Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi

Çekirdek sayılarını ve çekirdeklerin tiplerini belirlemek için nükleer manyetik rezonans spektroskopisi kullanılmaktadır. NMR spektroskopisi prensibi çekirdeklerin spin durumunun değişmesine dayanır. Kimyasal etkileşim sonucu iki çekirdeğin arasındaki mesafeden eşleşme katsayısı bulunarak çekirdeklerin stereokimyası tayin edilir. ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR yapı tayininde en çok bakılan çekirdeklerdir (Yelekçi, 1991).

Solvent ortamdaki ftalosiyanın halkaları arasındaki agregasyon özellikleri, onların ^1H -NMR spektrumlarında olumsuzluğa neden olmaktadır. Metalli ftalosiyaninlerde merkezdeki metalin, halkalar arası etkileşimi yani agregasyonu artırdığı görülmektedir. Kullanılan solventin elektronca zengin olması bu etkileşimi azaltmaya yöneliktir. Elektronca zengin solvent merkezdeki metal ile etkileşip halkaların arasına girerek agregasyonu önlemektedir (Terekkov, 1997). Ayrıca metalli ftalosiyaninlerdeki süstitüentler de ^1H -NMR spektrumunu etkileyebilmektedir. Metalli ftalosiyaninlerde elektron verici süstitüentler bulunuyorsa sinyaller düşük alana, elektron alıcı süstitüentler bulunuyorsa sinyaller kuvvetli alana kaymaktadır (Tau ve Nyokong, 2006).



Şekil 1.9 Örnek ^1H -NMR Spektrumu (Başak ve ark., 2014)

Metalsiz ftalosiyanınların $^1\text{H-NMR}$ 'da verdikleri N-H pikleri incelendiğinde; çözünürlüğü az ve agregasyon özelliği fazla olan ftalosiyanınların N-H piklerinin, çözünürlüğü daha fazla ve agregasyonu az olan ftalosiyanınlardaki N-H piklerine kıyasla daha yüksek bölgelere kaydığı gözlenmektedir. Ayrıca bunların geniş band oldukları görülmektedir.

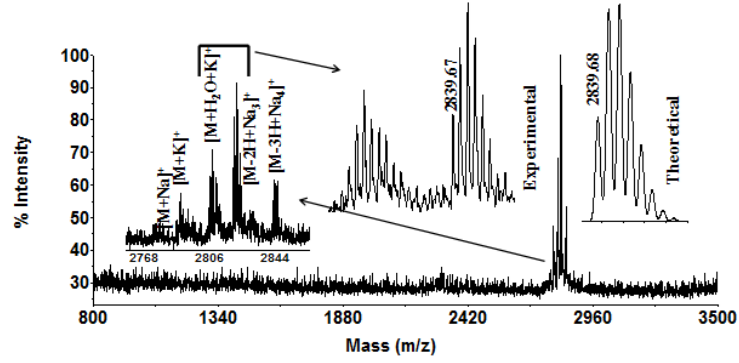
Agregasyonun fazlalığından dolayı protonların büyük bir kayma değeri göstermesinin engellenebilmesi için ftalosiyanine aksiyel ligandlar ve uzun yan zincirler eklenebilmektedir. Çözünürlüğü fazla olan ftalosiyanınlarda ise durum tam tersi yöndedir (Terekov, 1997)

1.4.4. Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon (MALDI) Kütle Spektrometresi

MALDI metodu; molekül ağırlığı en fazla 200,000 Da kadar olan bileşiklerin tespitinde kullanılabilir. Ayrıca bileşik içinde bulunan metali kaybetmeden ve safsızlıktan kaynaklanan pikleri, iyonların piklerinden ayırarak sonuç verebilmektedir. Bu açıdan önemli kullanım alanı bulunmaktadır. MALDI tekniği dışındaki tüm tekniklerde numunenin saf olması gerekmektedir. Numune, ultraviyole ışığı absorbe eden bir matriks bileşiğiyle karıştırılır. Bu karışıma azot lazer atışı kontrollü bir şekilde yapılır (Altun, 2011). Numunenin ve matriksin çözeltileri hazırlanıp karıştırılır. Karıştırılan numune ve matriks hedef plakaya uygulanır. MALDI metodunda solvent seçimi önem arz etmektedir. Hazırlanacak olan matriks ve numunenin solvent içinde iyi çözünmesi gerekir. Bu teknikte numunenin çözüldüğü solvent daha sonra buharlaştırıldığı için solventin kolay buharlaşabilir olması ve kalıntı bırakmaması gerekmektedir. Bu solventlere; kloroform ve diklorometan örnek olarak gösterilebilir. Solventi buharlaşan numune belirli bir vakum değerinde cihaza yerleştirilir ve lazer atımı yapılır. Lazer atımı yapılan numune gaz halinde dedektöre ulaştıktan sonra TOF (time of flight) analizörü iyonların verilerini kütle spektrumu olarak kaydeder.

MALDI yönteminde hazırlanan matriks, lazer ışığının fazla enerjisini soğurmaktadır. Böylece molekülün parçalanması önlenmektedir. İyonlaşmayı etkilemesi sebebiyle matriks seçimi net MALDI-TOF spektrumu elde etme için önemlidir. Bazı numunelerde matriks kullanmaya gerek duyulmayabilir. Ancak bu,

numunenin kolay iyonlaşma özelliğine ve yan ürünler oluşturmamasına bağlıdır (Kobayashi ve ark., 2006).



Şekil 1.10 Örnek MALDI-TOF-MS Spektrumu (Başak ve ark., 2014)

1.5. Ftalosiyanın Kullanım Alanları

Ftalosiyanın çeşitli kullanım alanları mevcuttur. Bunların içinde ftalosiyaninlerden en çok yararlanılan alanlar sıralanmıştır. (Ahmed ve ark., 2012- Wang ve ark., 2012)

- Elektrofotograf
- Fotovoltaik
- Güneş pilleri
- Gaz sensörleri
- Non-lineer optik
- Fotodinamik kanser terapisi
- Boya ve pigmentler
- Optik diskler
- Likit kristaller
- Mürekkepler
- Fotoiletken ajan
- Yakıt pilleri
- Fotokopi makineleri
- Plastik ve kauçuk
- Lüminesans kimyası
- Spektrofotometrik analiz

1.6. Ftalosiyenin Bileşiklerinde Çözünürlük

Pc'ler genel olarak suda çözünür yapıda değildirler. Organik çözücülerde çözünürlükleri azdır (Leznoff ve ark., 1993). Organik çözücülerde çözünmemeleri, ftalosiyenin uygulamalarında birçok zorluğa sebep olmaktadır. Bu nedenle kimya alanında yapılan çalışmalar Pc'lerin çeşitli çözücülerdeki çözünürlüklerini artırma yönünde olmaktadır (Pekbelgin ve ark., 2008). Bu da ftalosiyeninleri katyonik türevlere, aksiyal süstitüentlere ve periferel-nonperiferel yapılara dönüştürerek sağlanabilmektedir (Wie ve ark., 2003). Ayrıca ftalosiyenin çözünür olması boyasız güneş pili çalışmalarında kolaylık sağlamaktadır. Bu amaçla en çok araştırılan çinko(II)ftalosiyenin türevleri olmuştur (Jin ve Chen, 2012).

Ftalosiyeninlerin sudaki çözünürlüğü polar ortamlarda kümelenmeye (agregasyon) yatkınlık göstermesine rağmen avantaj sağlamaktadır. Periferel konumlara bağlanan uzun zincirli hidrofobik yapılar, hacimli gruplar ftalosiyeninlerin apolar çözücülerde çözünmesini sağlarken; sülfonil, karboksil ya da amino gruplar ftalosiyeninlerin su gibi polar çözücülerde çözünmesini de mümkün kılmaktadır (Weber ve ark., 1964). Ayrıca sülfonil ve karboksil gruplar elektron çeken gruplardır. Bunlar ftalosiyanine bağlandığı zaman ftalosiyanini indirgemekte böylece fotoelektrokimyasal çalışmalarda kullanılmalarını sağlamaktadırlar (Schlettwein ve ark., 2001).

Aynı şekilde süstitüentlerin azo gruplarının ya da amino gruplarının kuaterner hale getirilmesi geniş pH aralıklarında çözünürlüğü artırmada yarar sağlamaktadır (Gürsoy ve ark., 2001). Ftalosiyenin çevresindeki halkalarda yerini alan hidrofilik kısımlar; sülfat tuzları, karboksil tuzları, fosfor tuzları ve kuaternize amino grupları içerir. Ayrıca suda çözünmeyi en iyi kolaylaştıran yapılar ftalosiyeninlerin tetra- ve okta- yapılarıdır. Bir başka suda çözünen ftalosiyenin çeşidi ise merkezdeki metal iyona koordine olmuş ligand içeren hidrofilik grupların bulunduğu ftalosiyeninlerdir (Bıyıklıoğlu ve ark., 2010).

Çözünür ftalosiyeninler gelecek vadede fotosensitizördürler (Çamur, 2012). Bu ftalosiyeninlerin en önemli özelliklerinden biri duyarlılıklarıdır. Bu duyarlılığa örnek olarak, bazı ftalosiyeninlerin DNA üzerinde tutunarak tümörlere karşı biyolojik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Akçay ve ark., 2012). Ayrıca

organik çözücüde çözünebilen kuaterner ftalosiyanın uzun dalga boylarındaki Q bandı absorpsiyonu vermediği gözlenmiştir (Matsuda ve ark., 1990). Bu özellik, kuaterner ftalosiyanın IR absorber ve PDT'de fotosensitizör olarak kullanılmalarını sağlamıştır (Gürsoy ve ark., 2001).

1.7. Deoksiribonükleikasit (DNA)

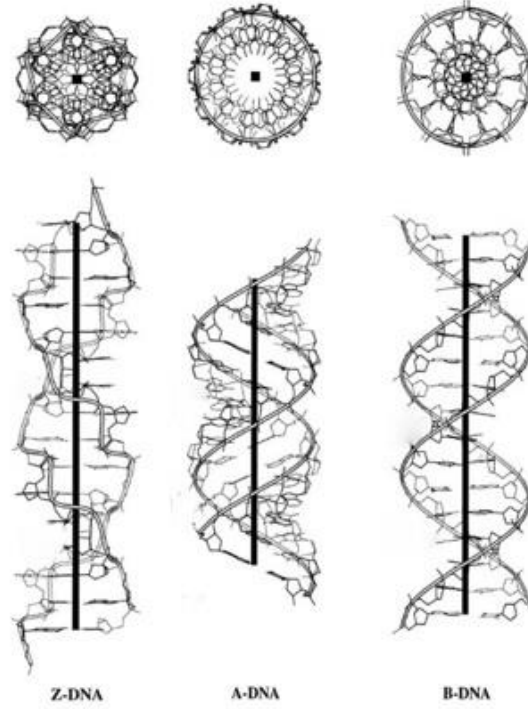
Deoksiribonükleikasit, kalıtımı sağlayan ipliğimsi bir makromoleküldür. Yapısında çok sayıda deoksiribonükleotid bulunmaktadır. James Watson ve arkadaşları DNA'nın üç boyutlu yapısını X-ışını kırınım fotoğraflarıyla 1953 yılında aydınlatmışlardır (Watson ve ark., 1953).

DNA çift sarmallı yapıdadır. Bu çift sarmal boyunca sıralanmış 4 çeşit baz (adenin, guanin, sitozin, timin) bulunmaktadır. Bazların sıralanmasındaki farklılık genetik bilgileri taşımaktadır. Aralarındaki mesafe ve yaptıkları hidrojen bağları sebebiyle adenin bazı timin ile (A-T), sitozin bazı guanin ile (C-G) eşleşmektedir.

Çift sarmallı DNA'nın 6 yapısal şekli bulunmaktadır. Ancak bunlardan en önemli 3 tanesi; B-DNA, A-DNA ve Z-DNA olarak belirtilmiştir (bkz. Şekil 1.7). Bu DNA'lar dönme açısı, dönüş yönü ve eğiklik gibi özelliklerde birbirlerinden ayrılmaktadırlar. DNA'nın en çok bulunmayı tercih ettiği yapı B- yapısıdır. B-DNA dehidratize olduğunda ortaya A- formu çıkmaktadır. DNA-RNA hibritleri bu formda bulunmaktadır. A- ve B- formundaki DNA sarmal eksenine sağ el yönünde sarılırken Z-DNA tam tersi yönde sarılmaktadır. Art arda gelen pürin-pirimidin dizilişleri zig-zag bir yapı oluşturdukları için Z- formunda DNA'ya örneklerdir.

DNA molekülü sulu çözeltilerde birtakım özellikler göstermektedir. DNA'da bulunan baz çiftlerinin hidrojen bağlarının kararlılığı $4 \leq \text{pH} \leq 11$ olduğunda maksimumdur. Bu pH aralıkları dışında çift sarmallı yapı açılıp bozulmaktadır. pH ≤ 4 olduğunda DNA tamamen iyonlaşır ve çok protonlu bir asit özelliği gösterir. Sarmalın yapısında bulunan fosfat grupları hidrofiliktir ve suya yönelim göstermektedir. Bu durum iki değerlikli katyonlara ve aminlere kolaylıkla bağlanmasını sağlamaktadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2005). Katyonik boyalar nükleik asitlerin yapısını ve dinamiğini anlayabilmek için çok iyi bir probtur. Bunun en önemli nedeni kromoforik özelliklerinin kolaylıkla izlenebilmesidir.

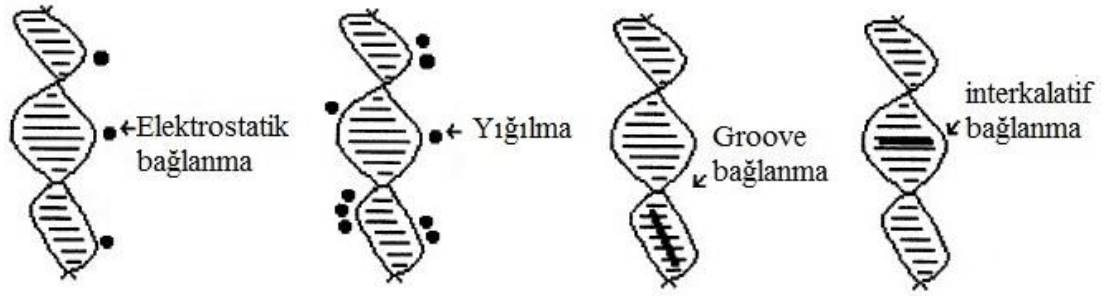
Sentetik ve doğal DNA molekülleri ile olan etkileşimler, UV-Vis ve floresans spektroskopileri ile yaygın olarak çalışılmakta aynı zamanda NMR, FT-IR, Raman spektroskopisi, sirküler dikroizm ve elektrokimyasal metotlar gibi çeşitli yöntemlerle de uygulama alanı bulmaktadır. Bu etkileşimlerin anlaşılması, DNA hedefli yeni ve daha verimli ilaçların tasarlanmasını da sağlamaktadır (Duan ve ark., 2009).



Şekil 1.11 A-DNA, B-DNA ve Z-DNA'nın Yapıları (Keha ve Küfrevioğlu, 2005)

Yeni ilaçlar üzerine son yıllarda yapılan araştırmalar, nükleik asitlerin bu çalışmalar için önemli bir hedef noktası olduğunu göstermektedir. Özellikle katyonik metaloporfirinler nükleik asitler için iyi bir afinite sağlamaktadır. Bunu, deoksiriboz birimlerinin C-H bağlarını yükseltgeyerek gerçekleştirir. Katalizör bağlanmış DNA'nın oksidasyon kimyası iki farklı şekilde olmaktadır. Birincisinde oksidasyon direkt olarak DNA'ya yönlendirilmekte ve kimyasal nükleazlara yol açmaktadır. İkincisinde ise oksidasyon gövdedeki küçük substratlara

yönlendirilmekte ve DNA bu kataliz için uygun çevreyi sağlamaktadır (Pratviel, 2016). Katyonik metaloporfirinler de bu oksidasyon için ortam sağlamaktadırlar. Görünür ışık ve oksijen varlığında suda çözünebilen katyonik metaloporfirinler DNA iplikçiklerinin ayrılmasını tetiklemektedir. DNA'nın ilaçlara bağlanması kanser, AIDS ve diğer bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için kullanılmaktadır (Evren ve ark., 2013). Küçük molekülleri ile etkileşebilme yeteneği sayesinde özellikle antikanser ilaçlarının geliştirilmesinde DNA birincil intraselüler hedefdir. DNA'ya bağlanabilme özelliği gösteren moleküller kanserli hücrelerde DNA hasarına sebep olurlar, kanserli hücrelerin bölünmesini engellerler ve böylece kanserli hücrenin ölümünü sağlarlar (Khorasani-Motlagh ve ark., 2010).



Şekil 1. 12 DNA'ya Bağlanma Modelleri (Cao ve He, 1998)

Küçük moleküllerin DNA'ya bağlanması dört şekilde olmaktadır; 1.Elektrostatik bağlanma, 2.Yığılma 3.Oyuklara bağlanma ve 4.İnterkatif bağlanma (bkz. Şekil 1.12). Yapılan araştırmalar, elektrostatik bağlanma göstermeyen küçük moleküllerin DNA'ya bağlanmada yüksek miktarda seçici olduğunu ortaya koymaktadır. Küçük moleküllerin ve DNA'nın sterik yapısı, bu küçük moleküllerin bağlanma özelliklerini (afinite ve bağlanma bölgesi gibi) ve elektronik hallerini belirler. Düzlemsellik, interkalatörün yüksek verimle bağlanması için gerekli olan önemli özelliklerden biridir (Cao ve He, 1998).

1.8. Foto Dinamik Terapi (PDT)

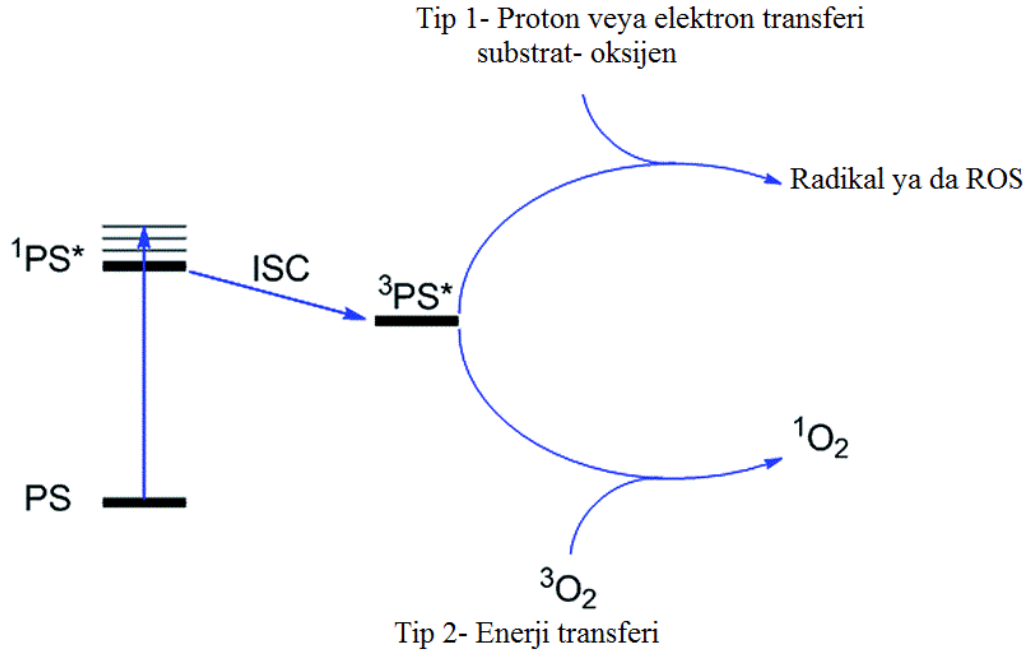
Foto dinamik terapi; ışın tedavisinin izlendiği, fotosensitizör tarafından IR ya da görünür ışıkta uygun dalgaboyunu absorbe eden kanser tedavilerini kapsamaktadır (Paola De Filippis ve ark., 2000). Ameliyat, kemoterapi ve radyasyon terapileri gibi geleneksel kanser tedavileri, hastalıklı hücreleri ortadan kaldırmayı amaçlamaktadır. Ancak bu yöntemler aşırı hassasiyet gerektirmektedir. Sadece hastalığın olduğu hücreler değil sağlıklı olan hücreler de sitotoksik özellikten dolayı tahribe uğrayabilmektedir (Bıyıklıoğlu ve ark., 2011). PDT; toksisite göstermemekle birlikte sadece hedef dokuya etki etmektedir. Ayrıca çok sayıda lezyonun tedavisi tek seferde sağlanmakta ve kozmetik açıdan da olumlu sonuçlar vermektedir. Bu da foto dinamik tedavinin diğer tedavilere göre daha avantajlı olduğunu göstermektedir (Kutlubay ve ark., 2011).

PDT çalışmalarının temelleri Oscar Raab tarafından, 1900 yılında atılmıştır. Raab, akrinin boya ile ışığın protozoalar üzerinde öldürücü etki gösterdiğini gözlemlemiştir. 1903 yılında yapılan başka bir çalışmada da Tappeiner ve arkadaşları tarafından deri tümörlerinin tedavisinde eozin ve beyaz ışık kullanılmıştır (Allison ve Sibata, 2010).

1.8.1. PDT Etki Mekanizması

PDT'nin oksijen, ışın kaynağı ve fotosensitizör olmak üzere üç temel bileşeni bulunmaktadır (Jori, 1996). Hedeflenen dokuda biriken fotosensitizör (PS), görünür ışığa maruz bırakılarak emilim sağlanmaktadır. Işığı absorblayan fotosensitizör yüksek enerjili duruma uyarılmaktadır ($^1PS^*$). Uyarılma ile PS sistemlerarası geçişe (ISC) uğrar ve böylece uyarılmış hal triplet özellik kazanır ($^3PS^*$). Daha sonraki süreçte iki durum söz konusu olmaktadır (bkz. Şekil 1.12). Fotosensitizör bir substrat ile reaksiyona girip radikal ve reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturmaktadır. Bu durum tip 1 reaksiyon olarak ifade edilmektedir. Diğer durumda ise yüksek enerjili fotosensitizör oksijeni aktifleştirerek singlet konumuna getirmektedir. Aktifleşen oksijen radikalleri kanser hücrelerini okside ederek hasar oluşturmaktadır. Bu durum ise tip 2 reaksiyon olarak ifade edilmektedir. Singlet oksijenin yaşam süresinin kısa olmasından dolayı klinik PDT'de tip 2 reaksiyon

daha fazla kullanılmaktadır. Yaşam süresinin kısalığı hasarın lokalize olmasını sağlamaktadır (Tedesco ve ark., 2003- Kutlubay ve ark., 2011).



Şekil 1.13 PDT Etki Mekanizması (Mari ve ark., 2015)

1.8.2. Ftalosiyenin Fotosensitizör Ajan Özellikleri

Fotosensitizör; sulu ortamlarda dağılmayı sağlayacak kadar hidrofilik ve kötü huylu hücrelere tutunabilecek kadar hidrofobik özellikte olmalıdır. Fotosensitizör ilaçların hidrofilik ve hidrofobik bölgeleri arasındaki denge, onların en önemli karakteristik özelliğidir. Ftalosiyenin hem hidrofobik hem hidrofilik bölgeler bulundurabilmesi ile amfifilik özellik gösterdiğinden dolayı tedavi için en uygun fotosensitizördür. Amfifilik ftalosiyaninde bulunan hidrofobik gruplar hücreyi kavrama özelliğine sahiptirler (Bıyıklıoğlu ve ark., 2011). Ftalosiyanine eklenen π -elektron yoğunluğuna sahip sübstituentler ftalosiyenin daha hidrofilik olmasını sağlamaktadır (Tedesco ve ark., 2003). Bu bileşikler arasında, en çok dikkati sulfo-, karboksi-, fosfono- türevleri gibi iyonik olmayan türevler ve tümör tedavisi için kullanılan katyonik ftalosiyenin türevleri çekmektedir (Paola De Filippis ve ark., 2000).

Pc türevlerinden; katyonik sübstütient içerenlerin, anyonik ve nötr Pc'lere nazaran sudaki çözünürlüğü artırması ve agregasyonu önlemesi gibi daha çeşitli avantajları vardır. Bu Pc'ler hücreleri kavrayan etkili bir PDT ajanıdır, hücrelerin apoptozise sebep olan mitokondrilerinde konumlanabilmektedir (Durmuş ve ark., 2009).

PDT'de çeşitli türevlerin fotosensitizör olarak kullanımı; kanser, enfeksiyon hastalıkları gibi birçok patolojik durum için etkili bir stratejidir (bkz. Tablo 1.1). Pc'ler, porfirin bazlı yapıları ve merkezlerinde bulunan metaller sayesinde de fotosensitizör ajan olarak avantaj sağlamaktadır. Merkezlerinde buldukları çinko, alüminyum gibi metallerle singlet oksijen miktarını artırmakta ve 670 nm'de kuvvetli absorpsiyon bandları vermektedirler (Allison ve Sibata, 2010). PDT için kullanılan bir Pc türevinin görünür spektrumun kırmızı bölgesinde yüksek absorpsiyona, geniş bir ekstinksiyon katsayısına, fotostabiliteye, düşük toksisiteye sahip olması gerekir (Paola De Filippis ve ark., 2000). Pclerin en büyük dezavantajı ise ulaşılması ve uygulaması kolay olmasına rağmen suda çözünürlüğünün az olmasıdır. Bu da onların *in vivo* ve *in vitro* ortamda yönelimlerini sınırlamaktadır. Bunun için Pc türevlerinin suda çözünürlükleri ve yüksek singlet oksijen üretme kapasiteleri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Sobotta ve ark., 2016).

Pc türevlerinin sahip olduğu suda çözünebilirlik, onları PDT uygulamaları için en iyi seçenek haline gelmelerini sağlamaktadır (Garland ve ark., 2009). Suda çözünen bazı ftalosiyanın türevleri PDT uygulamaları sırasında kana direkt enjekte edilebilmektedir. Hidrofilik kısımlar ftalosiyanın halkasındaki sülfonat, karboksilat, fosfanat ve kuaternize amino grup içeren sübstitüentlerle birleşmektedir. Suda çözünen diğer grup ftalosiyanınler, hidrofilik kısımları aksiyal ligand olarak metal iyonu merkezine bağlamaktadır (Bıyıklıoğlu ve ark., 2010).

Suda çözünürlüğü olan Pc türevleri, *in vivo* ve biyoyararlılık üzerinde güçlü etkiye sahiptir. Damar sistemi hidrofilik olduğundan dolayı PDT uygulamasında ilaç hastanın damar yoluna direkt verilmektedir. Damar içine verilen fotosensitizör ilk önce hastalıklı hücrenin olduğu bölgeye ulaşır. Hücre yapısındaki hidrofobik yağ tabakasının konumu, hidrofobik sensitizör tarafından belirlenir. Daha sonra sensitizöre uygun dalga boylu ışık bu bölgeye uygulanır. Sensitizör ışığı absorplar.

Absorplanan enerji moleküler oksijene transfer edilir. Triplet durumundaki oksijen bu enerji ile birlikte singlet yapıya geçer (Bıyıklıoğlu ve ark., 2011).

Tablo 1.1 PDT’de Kullanılan Bazı Fotosensitizör Ajanlar (Kutlubay ve ark., 2011)

Porfirinler	Hematoporfirin türevleri, Porfimer sodyum (fotofrin)
Porfirin öncülleri	5-aminolevulinik asit ve esterleri: metil, propil, etil, pentilester
Klorinler	N-aspartil klorin e6 Benzoporfirin türevleri
Porfisiner (Sentetik porfirinoidler)	N-propil porfisiner
Ftalosiyanimler	Kloroalüminyumterasülfonftalosiyanim Çinko ftalosiyanim Silikon naftalosiyanim
Diğer	Purpurinler: Kalay etiopurpurin-SnET2 Floresinler, furokumarinler, klorofil türevleri, metilen mavisi, Rose Bengal, lutetium teksapirin

Birçok makalede ikinci kuşak fotosensitizör olan ftalosiyanimlerin uzun süre triplet halde kalmaları ve singlet oksijen oluşumunda iyi bir etkinlik göstermeleri sayesinde PDT araştırmaları ve klinik denemelerde kullanıldığı ortaya konulmuştur (Ben-Hur ve Rosenthal, 1985- Bonnett, 1995).

Pc’ler ve metalik türevleri; kataliz, ilaç, elektronik ve optoelektronik gibi fonksiyonel moleküler materyallerin gelişmesini sağlamaktadır. Ftalosiyanimlerin kanserin fotodinamik tetavisinde ikincil fotosensitizör olarak kullanılması bu gelişmelerin en önemlileri arasında bulunmaktadır. Son dönemlerde ftalosiyanimine dayalı fotosensitizör hazırlanması PDT için geliştirilmesi, foto fiziksel özelliklerinden dolayı silikon, çinko ve alüminyum üzerinde yoğunlaşmaktadır (Yanık ve ark., 2009-Bıyıklıoğlu ve ark., 2011).

1.9. İlgili Literatür Işığında Çalışmanın Yeri

Katyonik porfirinlerin DNA'ya bağlanma afinitesinin belirlenmesi Fiel ve çalışma arkadaşları tarafından 1979 yılında başlamış ve sonraki yıllarda yapılan çok sayıda çalışmayı da tetiklemiştir (Fiel ve ark., 1979). Son yıllarda da, katyonik ftalosiyanın DNA'ya bağlanması üzerine çok sayıda çalışma yapılmaktadır. 2014 yılında yapılan bir çalışmada ct-DNA ve oktakatyonik çinko(II)ftalosiyanın arasındaki etkileşim UV/Vis ve floresans titrasyon yöntemleri tayin edilmiş ve bu çalışmalar DNA ile ftalosiyanın arasında güçlü bir bağ kurulduğunu göstermiştir (Lopez ve ark., 2014). Metal komplekslerin ışın yardımıyla DNA'ya bağlanma çalışmaları PDT için büyük öneme sahiptir. Çünkü bu bağlanma sağlıklı olan hücrelerde değil, tümörlü hücrelerde ilaçların foto aktivasyonunu sağlamaktadır (Sudhamani ve ark.,2015).

Cao ve He'nin 1998 yılında yaptığı araştırmalarda, düzlemsel fenazin halkası içeren pozitif yüklü Safranin-T boyasının DNA ile interkalatif olarak bağlandığı gösterilmiştir (Cao ve He, 1998).

2003 yılında yapılan bir çalışmada sülfonil gruplar içeren ftalosiyanın enfeksiyonları önlemede etkili oldukları bulunmuş ve bu Pc'lerin, HIV virüsünün yayılmada kullandığı proteini blokladıkları görülmüştür (Vzorov ve ark., 2003).

Zhang ve arkadaşları 2007 yılında, suda çözünür okta-katyonik çinko ftalosiyanınin ct-DNA'ya interkalatif olmayan şekilde bağlandığını göstermiştir (Zhang ve ark., 2007). 2008 yılında yapılan metal içermeyen tetrakatyonik-porfirinlerin DNA'ya bağlanması ile ilgili bir çalışmada, porfirinlerin DNA'nın minor oyuklarına ve özellikle A-T'den zengin bölgelere bağlandığı gösterilmiştir. Aynı zamanda yüksek konsantrasyonda da bu bileşiklerin DNA'nın major oyuklarında yığılmalar gösterdikleri bulunmuştur (Lee ve ark., 2008).

2009 yılında Duan ve arkadaşları, sentezledikleri tetra-katyonik çinko ftalosiyanın türevinin yüksek DNA konsantrasyonlarında, DNA oyuklarına bağlandığını, düşük DNA konsantrasyonlarında ise DNA üzerine yığılmalar gerçekleştirdiğini bulmuşlardır. Aynı çalışmada türevin, nükleik asitler ile

etkileşiminde elektrostatik bağlanmanın önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Duan ve ark., 2009).

2011 yılında yapılan bir başka çalışmada, ftalosiyanimler çözünür hale getirildikten sonra PDT’de kullanımları incelenmiştir. Suda çözünen Pc’lerin serum albümin ile kuvvetli bir bağ oluşturmaları sonucu kanda kolayca hareket ettikleri görülmüştür (Bıyıklıoğlu, 2011). Çeşitli metaller (Cu, Co, Zn) ile yapılan metalli Pc’lerin ct-DNA ile etkileşimleri incelendiğinde bu Pc’lerin elektrostatik olarak DNA’ya bağlandığı gösterilmiştir. Bu bağlanma sonucu Pc’lerin hücrel bileşenlere zarar veren singlet oksijen özelliği gösterdikleri ortaya konmuştur (Uslan ve Sesalan, 2012).

2013 yılında yapılan tetrakatyonik florlu çinko(II)ftalosiyanimlerle yapılan bir çalışmada Pc-DNA bağlanmasının elektrostatik olduğu absorbans ve floresans titrasyon yöntemleriyle bulunmuştur (Özçeşmeci ve ark., 2013). Metal içeren ftalosiyanimler ile yapılan bir başka çalışmada da; CuPc’lerin düşük toksisite ve antiviral özellik gösterdikleri ortaya konmuştur. Ayrıca bu Pc’lerin yüksek sıcaklıklarda kararlı oldukları da bilinmektedir (Ok, 2006). Ftalosiyanimlerin bağlanma özelliklerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, PDT’nin uygulandığı tümör hücrelerinde fotosensitizör olarak çinko metali içeren ftalosiyanimin metalsiz ftalosiyanimine kıyasla DNA’ya bağlanmada daha başarılı olduğu görülmüştür (Evren, 2013).

BÖLÜM 2 – MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. DeneYlerde Kullanılan Malzeme ve Aletler

Buzdolabı	: Regal (Türkiye)
Destile Su Cihazı	: Millipore, Rios-DI UV (A.B.D.)
Etüv	: Nüve FN400 (Türkiye)
Floresans Spektrofotometre	:Agilent Technologies, Varian Carry Eclipse Fluorescence Spectrophotometer (Santa Clara, CA, A.B.D.)
Infrared Spektroskopisi	: Perkin–Elmer, Spectrum 100 FTIR (Waltham, MA, A.B.D.)
Hassas Terazi	: Sartorius Analytic, A200S ±0,0001(Almanya)
Kütle Spektrometresi	: Applied Biosystems, Voyager-DE™ PRO MALDI- TOF (Foster City, CA, A.B.D.)
Manyetik Karıştırıcı	: Velp Scientifica, ARE (İtalya)
Otomatik Pipetler	: Gilson, Pipetman (Fransa)
pH metre	: Mettler Toledo, pH S20-K (Columbus, OH, A.B.D.)
Spektrofotometre	:Thermo Scientific, UV-Vis Helios Zeta (Swedesboro, NJ, A.B.D.)
Vorteks Karıştırıcı	: Fisons, Whirlimixer (İngiltere)

2.2. DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

1,8-Diazabisiklo[5.4.0]undek-7-en (DBU, 139009-Sigma Aldrich)
2-(4-Amidinofenil)-6-indolecarbamidindihidroklorit (DAPI, D9542 Sigma- Aldrich)
Amonyum hidroksit (NH ₄ OH, 338818 Sigma-Aldrich)
Asetik asit (CH ₃ COOH, 1005706 USP)
Buzağı timus-DNA Na tuzu (ct-DNA, D1501-Sigma Aldrich)

Çinko asetat ($(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Zn}$, 383317-Sigma Aldrich)

Dimetil sülfoksit (DMSO, D8418-Sigma Aldrich)

Dimetilformamid (DMF, PHR1553 Sigma-Aldrich)

Ftalimid ($\text{C}_8\text{H}_5\text{NO}_2$, 36734 Sigma-Aldrich)

Metanol (CH_3OH , 34860 Sigma Aldrich)

Nitrik asit (HNO_3 , 309079 Sigma-Aldrich)

N-N-dimetilanilin ($\text{C}_6\text{H}_5\text{N}(\text{CH}_3)_2$, 515124 Sigma-Aldrich)

Sodyum bikarbonat (NaHCO_3 , S6014 Sigma-Aldrich)

Sodyum hidroksit (NaOH , 306576 Sigma-Aldrich)

Sodyum nitrit (NaNO_2 , 563218 Sigma-Aldrich)

Sülfirik asit (H_2SO_4 , 339741 Sigma-Aldrich)

SYBR Gold nükleik asit boyası (S11494, Invitrogen)

Tiyonil klorür (SOCl_2 , 230464 Sigma-Aldrich)

2.3. Ligand Sentezi [4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril]

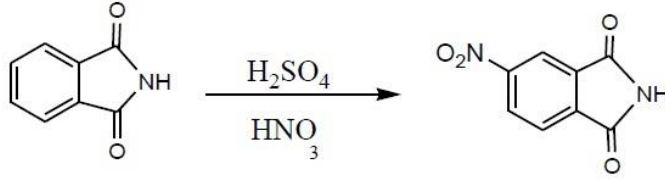
Ftalosiyenin sentezinde ligand olarak 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril kullanılmıştır. Ligand sentezlendikten sonra Pc eldesine geçilmiştir.

Ligandın sentezi; 4-Nitroftalimid sentezi, 4-Nitroftalamid sentezi, 4-Nitroftalonitril sentezi, 4-aminoftalonitril sentezi ve 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril sentezi olmak üzere 5 aşamada gerçekleştirilmiştir.

2.3.1. 4-Nitroftalimid Bileşiğinin Eldesi

50 mL dumanlı HNO_3 ve 200 mL H_2SO_4 karışımı buz banyosunda soğutuldu. Sıcaklık 10-15 °C arasında tutularak 1 saat içerisinde yavaşça karışıma 40 g (2.27 mol) ftalimid ilave edildi. Karışım yarım saat buz banyosunda bekletildi ve sıcaklığının 35 °C'ye çıktığı görüldü. Bu sıcaklıkta 1 saat daha karışmaya bırakıldı. Daha sonra karışım 0 °C'ye soğutulularak çökmesi için buzlu suya döküldü.

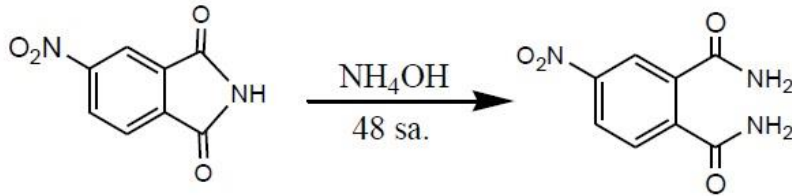
Çöken ürün asitliği gidene kadar su ile yıkanarak vakum altında süzöldü. Saflığı kontrol edildi (İnce tabaka kromatografisi ile) ve etüvde kurutuldu.



Şekil 2.1 4-Nitroftalimidin Bileşğinin Eldesi

2.3.2. 4-Nitroftalamid Bileşğinin Eldesi

35 g (0.18 mol) 4-Nitroftalamid, amonyum hidroksit (NH₄OH) (300 mL, %25) içine eklenerek 1 gün boyunca karıştırıldı. Üzerine 176.5 mL %35'lik NH₄OH daha eklendi ve yeniden karışmaya bırakıldı. Oluşan çökelti vakumla süzöldükten sonra saf su ile yıkandı. İnce tabaka kromatografisi kullanılarak ürünün saflığı kontrol edildi, kurutma işlemi etüvde gerçekleştirildi.

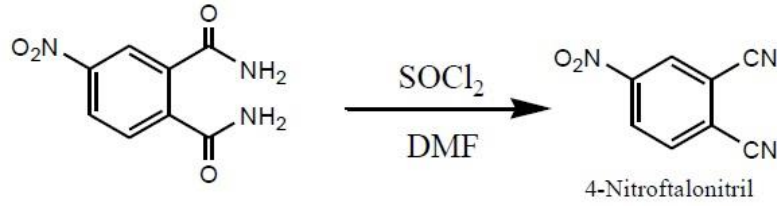


Şekil 2.2 4-Nitroftalamid Bileşğinin Eldesi

2.3.3. 4-Nitroftalonitril Bileşğinin Eldesi

Üç boyunlu balonda 140 mL kuru dimetilformamid (DMF), argon gazı altında 0 °C'ye soğutuldu. Sıcaklık 5 °C'yi geçmeyecek şekilde yavaşça SOCl₂ (14.5 mL) eklendi. CaCl₂ tüpü takıldı ve argon gazı kesildi. Çözeltinin rengi sarı olarak gözlemlendi. 24.4 g (0.12 mol) 4-Nitroftalamid iki saat boyunca argon gazı varlığında sıcaklık değeri 0-5 °C' de tutularak yavaş yavaş karışıma eklendi. Madde

1 saat boyunca karışmaya bırakıldı. Daha sonra oda sıcaklığına alınan karışım 500 mL buzlu suya dökülerek çöktürme işlemi uygulandı. Çöken beyaz ürün vakumla süzülde. Sırasıyla saf su, NaHCO₃ çözeltisi ve yeniden saf su ile yıkanarak saflık kontrolü için ince tabaka kromatografisi yapıldı. Son olarak elde edilen ürün etüvde kurutuldu.



Şekil 2.3 4-Nitroftalonitril Bileşiğinin Eldesi

2.3.4. 4-Aminoftalonitril Bileşiğinin Eldesi

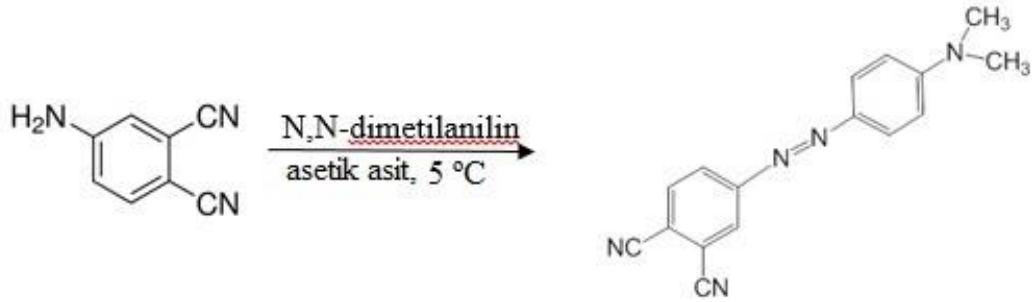
30 mmol (4.34 g) 4-nitroftalonitril tartıldı. İki boyunlu balon jofeye konuldu. Balona uygun bir soğutucu takıldıktan sonra 4-nitroftalonitril üzerine 90 mL su ve 15 ml hidroklorik asit ilave edilerek 80 °C sıcaklıkta karıştırıldı. Balon jofenin ağzından yavaşça 65 mmol (9.2 g) Kalay(II)klorür eklendi. Balon jofedeki karışımın rengi sarımtırak oldu. Düzenek 1 gece bekleme bırakıldıktan sonra oda sıcaklığına getirildi. Madde su trompundan süzülerek çökelti halindeki 4-aminoftalonitril kurumaya bırakıldı.

2.3.5. 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril Bileşiğinin Eldesi

1.4 g (10 mmol) 4-aminoftalonitril, 100 mL %50'lik H₂SO₄'de yavaş yavaş çözüldü. Karışım sarımtırak rengini aldığıında buz banyosuna konularak sıcaklık 0-5 °C arasına düşene kadar beklendi. Bu sırada 0.3 g NaNO₂ alınarak suda çözüldü ve karışıma damla damla ilave edildi. 3-4 saat arasında karıştırıcı üzerine alınarak karışmaya bırakıldı. Karıştırıcıdan alınan madde rengi şeffaf olana kadar buzlukta bekletildi.

Buzluktan alınan maddeye 0.6 mL N,N-dimetilanilin ve 0.2 mL asetik asit yavaşça ilave edildi. Bu işlemler sırasında maddenin buz banyosunda olmasına ve sıcaklık değerinin 5 °C'yi geçmemesine dikkat edildi. Maddeler 1 saat karıştırıcıda karışmaya bırakıldı. Karışımın turuncu renk aldığı gözlemlendi. Oluşan karışım NaOH kullanılarak bazik yapıldı. İşleme hafif çökme görülene kadar devam edildi. Ekleme işlemi bittikten sonra buzdolabında çökme işlemi tamamlanana kadar bırakıldı. Buzdolabından alınan maddenin içinde bordo renkli çökeltiler görüldü ve bunlar su trombu yardımıyla süzülüp kurumaya bırakıldı.

Kuruyan madde ($C_{16}H_{13}N_5$), ftalosiyanın için ligand olan 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril'i oluşturdu.



Şekil 2.4 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril Bileşiğinin Eldesi

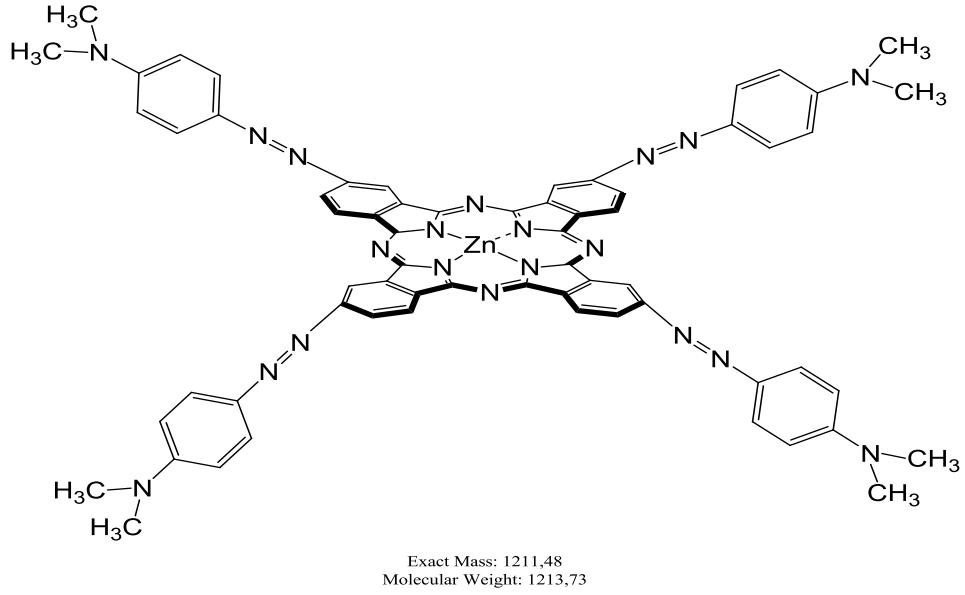
2.4. {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril}}

çinko(II)ftalosiyanın Bileşiğinin Eldesi

0.023 g çinkoasetat (CH_3CO_2)₂Zn ve 0.1024 g $C_{16}H_{13}N_5$ tartılarak reaksiyon tüpü içerisine konuldu. Tüpe magnet atılarak karıştırıcı üzerine asıldı. Ortam asitliğini düzenlemek için 5 damla DBU ve çözücü olarak 5-6 damla DMF ilave edildi. Isı tabancası ile 350 °C'de 5 dk boyunca ısıtıldı. Isıtma boyunca madde aynı zamanda karıştırıcıyla karıştırıldı. Isıtılan karışımın koyu yeşil renk aldığı görüldü. Renk değiştikten sonra tüpün 2/3'lik kısmına asetik asit, 1/3'lik kısmına su ilave edilerek ftalosiyanın bileşiğinin çökmesi sağlandı.

Çöken çinko ftalosiyanimleri saflaştırılmak için soksalet düzeneği hazırlandı. Soksaletteki saflaştırma işlemi metanol ile yapıldı. Saflaşan ftalosiyanim kurumaya bırakıldı ve tartıldı.

Sentezlenen liganda ve ftalosiyanine, kütle spektrumu alınmak üzere MALDI tekniği uygulandı.



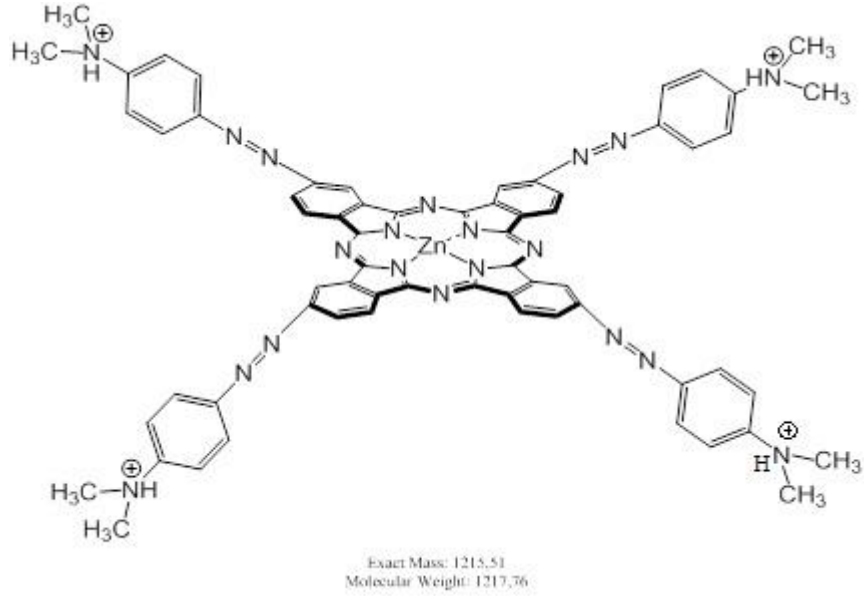
Şekil 2.5 {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)

ftalonitril}}çinko(II)ftalosiyanim Bileşiğinin Yapısı (C₇₃H₉₈ZnN₁₃)

2.5. {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril}}

çinko(II)ftalosiyanim Bileşiğinin Kuaternerleştirilmesi

Elde edilen ftalosiyanim karıştırıcı yardımıyla DMSO'da çözüldü. Daha sonra buz banyosuna alınarak 5 mL H₂SO₄ damla damla eklenerek kuaternerleşmesi sağlandı.



Şekil 2.6 Kuarterner ZnPc Yapısı

2.6.{2,10,16,24-tetrakis-4-((4(dimethylamino)phenyl)diazenyl)phthalonitrile} phthalocyaninatozinc(II) Bileşiğinin Karakterizasyonu

C₇₃H₉₈ZnN₁₃ bileşiğinin elemental analizi;

Hesaplanan değerler: C: 78.23, H: 3.95, N: 8.29%

Bulunan değerler: C:78.42, H:3.96, N:8.31%

C₇₃H₉₈ZnN₁₃ bileşiğinin UV analizi;

UV/Vis (DMSO), nm (log ε): 689(4.65), 629(4.13), 355(4.41).

C₇₃H₉₈ZnN₁₃ bileşiğinin IR analizi;

IR ν, cm⁻¹: 744, 806, 880, 1031, 1083, 1112, 1176, 1241, 1327, 1383, 1459, 1508, 1583, 1708, 2933.

C₇₃H₉₈ZnN₁₃ bileşiğinin MALDI analizi;

MS (MALDI-TOF): m/z 1214,38[M + H]⁺

C₁₆H₁₃N₅ bileşiğinin elemental analizi;

Hesaplanan değerler: C:69.46, H:4.31, N:24.89 %

Bulunan değerler: C:69.30, H:4.54, N:24.86 %

C₁₆H₁₃N₅ bileşğinin MALDI analizi;

MS (MALDI-TOF): m/z 298,28 [M + Na]⁺, m/z 314,39 [M + K]⁺

2.7. DNA'ya Bağlanma Özellikleri

Ct-DNA 2 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde destile suda hazırlandı ve tamamen çözünmesi için bir gece buzdolabında (+4 °C) bekletildi. Hazırlanan bu DNA çözeltisi 48 saat stabil olduğundan denemeler bu süre içerisinde gerçekleştirildi.

2.7.1. UV/Vis denemesi

Çözünebilir kuaterner Pc'nin DNA'ya bağlanma özelliği UV-Vis spektrum ile oda sıcaklığında ölçüldü. Kuaterner Pc (50 µM) ve ct-DNA (0.4 mg/mL) çözeltileri ultra saf su ile çözülerek hazırlandı. Hazırlanan Pc küvete (800 µL) konuldu ve 200-820 nm dalgaboyunda spektrumu kaydedildi. Daha sonra her seferinde üzerine 10 µL ct-DNA ilave edilerek spektrumu alındı. Titrasyon işlemine, ftalosiyaninin Q bandı ct-DNA eklenmesine rağmen sabit kalıncaya kadar devam edildi.

2.7.2. Floresans denemesi ile bağlanma sabitinin belirlenmesi

Çözünebilir kuaterner Pc'nin DNA'ya bağlanma özelliği spektrofloreometre ile oda sıcaklığında ölçüldü. 1.0 µM Pc çözeltisi destile su ile çözülerek hazırlandı. Hazırlanan Pc çözeltisi üzerine her seferinde 20 µL ct-DNA çözeltisi ard arda eklenerek titrasyon işlemi yapıldı. Çözeltiler 244 nm'de uyarıldı ve 285-900 nm dalgaboyu arasında spektrum alındı. Ölçümler, 800V, 10 nm slit aralığında kaydedildi. Ölçümler 3 kez tekrarlandı ve standart hataları hesaplandı.

2.7.3. DNA-DAPI Kompleksinin Florometrik Olarak Sönümlenme Etkisinin Belirlenmesi

Pc'nin DNA'ya bağlanmasını belirlemek amacıyla, DNA-DAPI kompleksinin 486 nm'deki emisyonundaki azalma ölçüldü. Bu işlem DAPI ile Pc arasındaki bağlanma yarışını göstermektedir.

Ölçümler için 6 ayrı küvet kullanıldı. Her bir küvet içerisine 250 µL, 0.025 mM DAPI çözeltisi ve 2250 µL, 5 µM ct-DNA çözeltisi konuldu. Sabit konsantrasyonda DAPI-DNA kompleksi içeren bu küvetlerin üzerine 250 µL, 0.1 µM, 0.25 µM, 0.50 µM, 0.75 µM ve 1.0 µM konsantrasyonlarında Pc çözeltisi ayrı ayrı ilave edilerek spektrofotometrik ölçümler alındı. Küvetler 353 nm.'de uyarıldı ve floresans spektrumları 380-680 nm arasında, 600 V, 5 nm slit aralığında kaydedildi. Tüm çözeltiler destile su ile hazırlandı ve deney üç kez tekrar edildi.

2.7.4. DNA-SYBR Kompleksinin Florometrik Olarak Sönümlenme Etkisinin Belirlenmesi

Pc'nin DNA'ya bağlanmasını belirlemek amacıyla, DNA-SYBR kompleksinin emisyonundaki düşüş 537 nm'de ölçüldü. Bu işlem SYBR ile Pc arasındaki bağlanma yarısını göstermektedir.

Ölçümler için 6 ayrı küvet kullanıldı. Tüm çözeltiler destile su ile hazırlandı. 10000X olarak satın alınan SYBR Gold çözeltisi destile su ile 1X'e seyreltildikten sonra her bir küvet içerisine 250 µL 1X-SYBR Gold çözeltisi ve 2250µL, 5 µM ct-DNA çözeltisi konuldu. Sabit konsantrasyonda SYBR-DNA kompleksi içeren bu küvetlerin üzerine 250 µL, 0.1 µM, 0.25 µM, 0.50 µM, 0.75 µM ve 1.0 µM konsantrasyonlarında Pc çözeltisi ayrı ayrı ilave edilerek spektrofotometrik ölçümler alındı. Çözeltiler 497 nm de uyarıldı ve floresans spektrumları 520-650 nm arasında, 900 V, 10 nm slit aralığında kaydedildi.

BÖLÜM 3 – BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Sentezlenen Bileşiklerin Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi

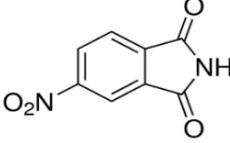
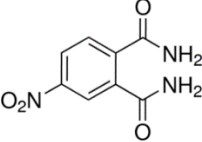
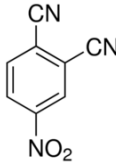
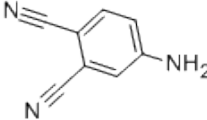
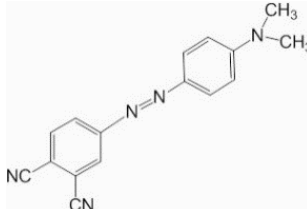
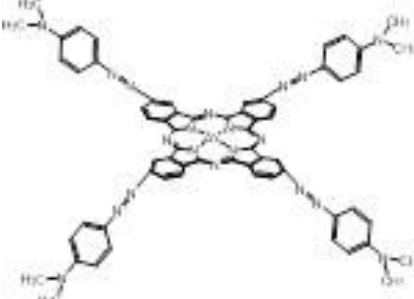
Ligand ($C_{16}H_{13}N_5$) sentezi sırasında elde edilen 4-nitroftalimid, 4-nitroftalamid, 4-nitroftalonitril ve 4-aminofталonitril bileşiklerin erime noktaları tayin edilmiş ve Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Çalışmamızda sentezlenen bileşiklerin miktarları kaydedilmiştir (bkz. Tablo 3.2).

Tablo 3.1 4-Nitroftalimid, 4-Nitroftalamid, 4-Nitroftalonitril ve 4-aminofталonitril Bileşiklerinin Bazı Özellikleri

Bileşiğin Adı	Molekül Formülü	Molekül Ağırlığı	Erime Noktası
4-Nitroftalimid	$C_8H_4O_4N_2$	176.02 g	195 °C
4-Nitroftalamid	$C_8H_7O_4N_3$	209.4 g	197 °C
4-Nitroftalonitril	$C_8H_3O_2N_3$	173.02 g	141 °C
4-Aminofталonitril	$H_2NC_6H_3-1,2-(CN)_2$	143.15 g	179 °C

Tablo 3.2 Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Miktarları

Bileşğin adı	Molekül Yapısı	Pratik Verim
4-Nitroftalimid		36.2 g
4-Nitroftalamid		25.8 g
4-Nitroftalonitril		1.02 g
4-Aminoftalonitril		3.6 g
4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril		0.7741 g
{2,10,16,24-tetrakis-4-((4(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril}}çinko(II)ftalosiyanın		0.1045g

Sentezi yapılan ligand ve ZnPc bileşiklerinin karakterizasyonu IR, Uv-Vis, MALDI kütle analizi yapılarak tayin edildi.

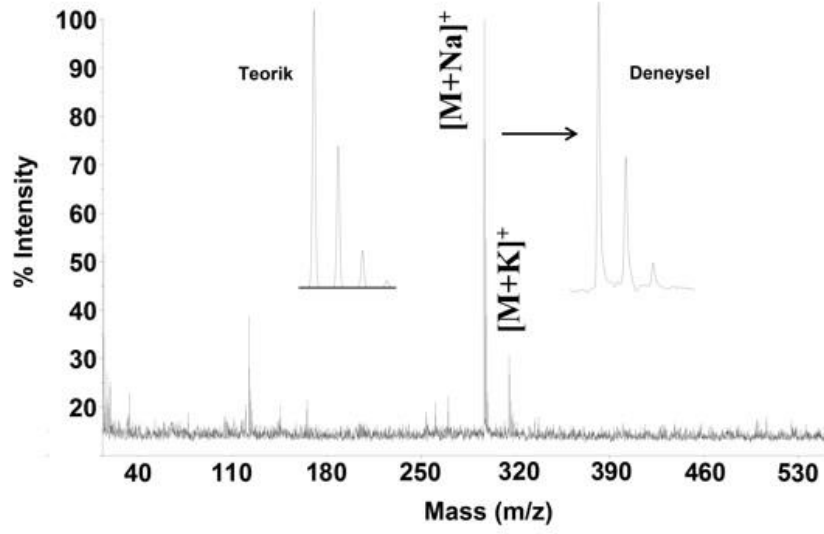
3.1.1. Çinko(II)Ftalosiyanın ($C_{73}H_{98}ZnN_{13}$) ve Ligand ($C_{16}H_{13}N_5$) için MALDI Spektrumları

MALDI tekniğinde öncelikli olarak matris hazırlığı yapıldı. MALDI matrisi, 2,5-dihidroksibenzoik asitin 20 mg/mL konsantrasyonda 1:1 oranında THF:H₂O karışımında çözülmesi ve %0.1'lik trifloroasetik asit ile asitlendirilerek hazırlandı. Örnekler MALDI matrisi ile 0.5 mL'lik Eppendorf® tüplerde karıştırılarak (1:10, v/v) analiz için hazır hale getirildi ve kütle spektroskopisi alındı.

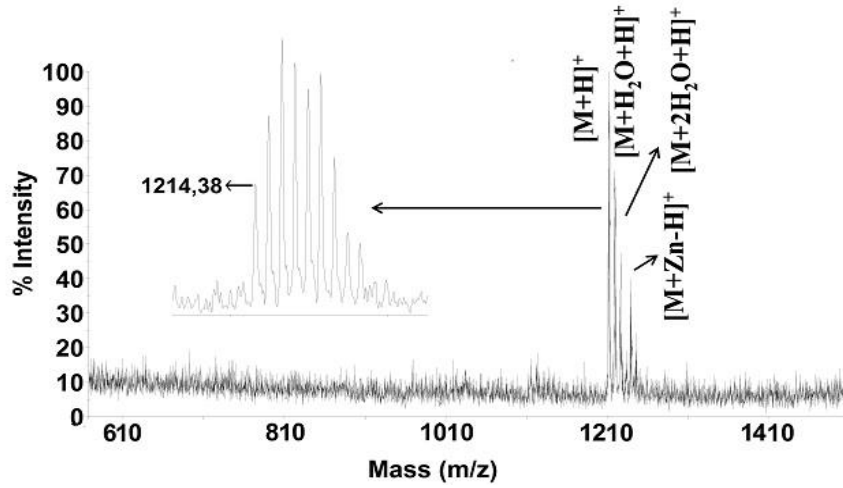
$C_{16}H_{13}N_5$ ligandının ve $C_{73}H_{98}ZnN_{13}$ (ZnPc) kompleksinin diğer geleneksel MALDI matrisleri yerine daha düzgün yoğunlukta sonuç verebilmesi için 2,5-dihidroksibenzoik asit kullanılarak MALDI-MS spektrumları alındı (bkz. Şekil 3.1 ve şekil 3.2). Liganda ait sadece protonlanmış moleküler iyon pikleri gözlenirken, Çinko ftalosiyanın'e ait 3 adet su bağlanmış kompleks piki gözlemlendi. Liganda ait piklerde cihazın madde tablasının maruz kaldığı yoğun lazer nedeniyle kopan Na⁺ ve K⁺ iyonlarının liganda kenetlenmiş yapılarının da spektrumlarına rastlanmıştır.

Çinko kompleksi tek merkezli yani açık bir yapı olduğu için yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğundan, komplekse ait su ilaveli pikler gözlemlenmiştir. Kompleksin protonlanmış iyonuna ait deneysel ve teorik izotopik kütle dağılımları karşılaştırıldı ve piklerin mükemmel bir şekilde üst üste çakıştığı tespit edildi. Aynı zamanda deneysel ve teorik monoizotopik pik kütleleri karşılaştırıldı ve değerlerin birbirine son derece yakın olduğu gözlemlendi. Değerlerin yakın olması deneysel ve teorik mono izotopik kütle değerlerinin son derece doğru ölçüldüğünü göstermektedir. Diğer yandan safsızlık belirten herhangi bir MALDI-MS spektrumu gözlemlenmemiştir.

Bütün bu gözlemler hem ligandın hem de kompleksin arzu edildiği şekilde sentezlendiğini ispat etmektedir. MALDI-MS spektrumları aynı zamanda maddelerin son derece saf bir şekilde elde edildiğini de göstermektedir.



Şekil 3.1 $C_{16}H_{13}N_5$ Bileşiğine Ait MALDI-TOF-MS Spektrumu (337 nm Dalga Boyunda)



Şekil 3.2 $C_{73}H_{98}ZnN_{13}$ Bileşiğine Ait Pozitif İyon Ve Reflekton Modunda Alınmış MALDI-TOF-MS Spektrumu (337 nm Dalga Boyunda)

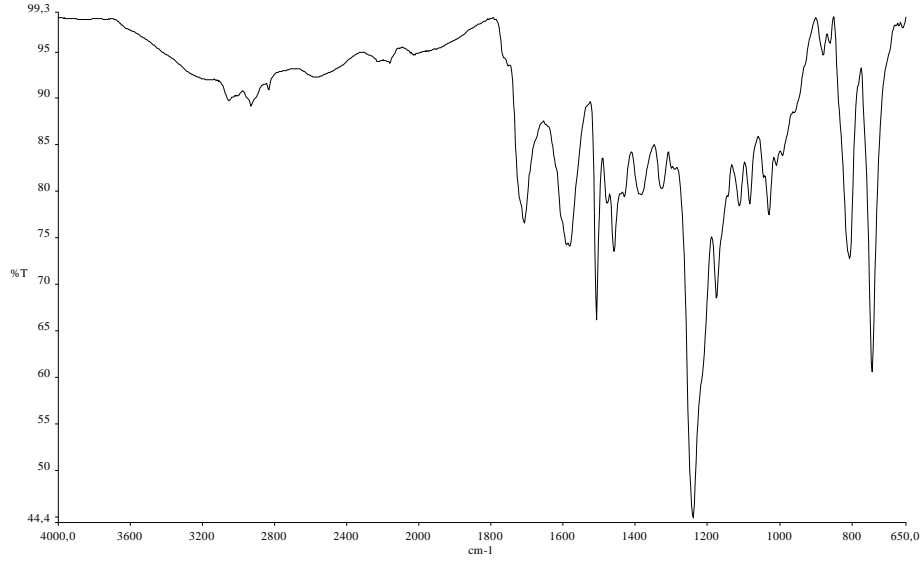
3.1.2. Çinko(II)Ftalosiyenin (C₇₃H₉₈ZnN₁₃) için FT-IR Spektrumları

Sentezlenen ZnPc için IR spektrumu, Perkin-Elmer 100 FT-IR (Waltham, Ma, USA), ZnSe/elmas Attenuated Total Reflectance (ATR) ünitesi ile kaydedilmiştir. Spektrum analizleri 2 cm⁻¹ çözünürlükte 400-4000 cm⁻¹ aralığında ve oda sıcaklığında 3 tekrar olacak şekilde kaydedilmiştir.

ZnPc bileşiğinin 1241,14 cm⁻¹'de verdiği pik Ar-O-Ar gerilme titreşimini göstermektedir (bkz. Şekil 3.3). Bu gerilme piki ftalosiyaninler için karakteristiktir. Yapının sentezlendiğini göstermektedir. Metallsiz ftalosiyaninlerin 2228 cm⁻¹ civarında verdiği karakteristik C=N gerilme titreşim piki metalli ftalosiyaninlerde görülmemektedir. Sentezi yapılan ZnPc bileşiğinde de bu pikin görülmemesi yapıya Zn metalinin bağlandığını desteklemektedir. ZnPc bileşiğinin kuaternizasyonu sonunda da FT-IR spektrumunda büyük değişiklikler gözlemlenmemiştir.

Tablo 3.3 ZnPc Bileşiğine Ait Karakteristik FT-IR Değerleri

FT-IR Değeri	Özellik
2933,49 cm ⁻¹	Aromatik C-H gerilme titreşimi
1508,60 cm ⁻¹	Aromatik C=C gerilme titreşimi
1583,06 cm ⁻¹	C=N gerilme titreşimi
1241,14 cm ⁻¹	Ar-O-Ar gerilme titreşimi



Şekil 3.3 ZnPc Bileşiği İçin FT-IR Spektrumu

3.1.3. Ftalosiyanın için UV-Vis Spektrumu

Uv-Vis spektrumları ftalosiyanın bileşiğinin oluşup oluşmadığını ve çinko metalinin Pc merkez boşluğuna bağlanıp bağlanmadığını analiz etmek için kullanılmıştır. Uv-Vis ölçümleri 200-820 nm aralığında absorptans kaydedilerek yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde, ftalosiyaninlere özgü karakteristik bandlar gözlemlenmiştir. Q bandı, 700 nm civarında; B bandı, 350 nm civarında görülmektedir (bkz. Şekil 3.4).

Bu bandların oluşması ftalosiyanın bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ispat etmektedir. Metalli (Zn) ve metallsiz Pc bileşiklerinin karakteristik Q bandları onların yapıları hakkında bilgi vermektedir. Metallsiz Pcler'nin Q bandında yarıma, metalli Pcler'nin Q bandında tek pik görülmektedir. Sentezi yapılan ZnPc bileşiğinin Uv-Vis sonucu incelendiğinde Q bandında tek pik gözlemlenmiştir. Bu da çinko(II) metalinin ftalosiyanindeki merkez boşluğa bağlandığını göstermektedir. Q bandı civarındaki diğer küçük pikler ftalosiyaninlerin agregasyon özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Sentezlenen ZnPc bileşiğinin uçlarındaki metil gruplarının konumlarından ve molekülün çok büyük olmamasından dolayı spektrumda agregasyon kaynaklı piklere pek rastlanmamıştır.



Şekil 3.4 Kuaterner ZnPc Bileşiğine Ait UV-Vis Spektrumu

3.2. Kuaterner Çinko(II)ftalosiyanınin DNA'ya Bağlanma Özelliklerinin İncelenmesi

Pozitif yüklü Pcler, korunmasız intraselüler bölgeleri hedef olarak seçmeleri nedeniyle etkin bir DNA fotohasarına sebep olurlar. Bu nedenle de pozitif yüklü bu Pcler araştırmalarda tercih nedenidirler. Pc'nin merkezinde bulunan metal iyonu ve periferel sübstütüentler Pc'nin fotofiziksel özelliklerinde önemli rol oynarlar. DNA ile Pc arasında yapılan bugüne kadarki farklı çalışmalar da, pozitif yüklü türevlerin, nötral ve negatif yüklü türevler ile karşılaştırıldıklarında daha iyi DNA'ya bağlanma ve kırma etkisi gösterdiklerini ortaya koymaktadır (Uslan ve Sesalan, 2013).

Pozitif yüklü hale getirilen kuaterner ZnPc'nin ct-DNA'ya bağlanma modunu belirleyebilmek için spektroskopik ve florometrik titrasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda bağlanma sabitleri bulunmuştur. SYBR-DNA ve DAPI-DNA komplekslerinin floresans şiddetindeki azalmanın kuaterner Pc türevinden kaynaklanan sönmüleme etkileri de Stern-Volmer bağıntısı ile hesaplanmıştır.

Denemelerde kullanılan ct-DNA ticari olarak satılmaktadır ve yaklaşık olarak Guanin-Sitozin içeriği %41.9 mol ve Adenin-Timin içeriği ise %58.1 mol'dür. ~50 µg çift-zincirli DNA, 260 nm'deki 1.0 absorbans değerine karşılık gelmektedir.

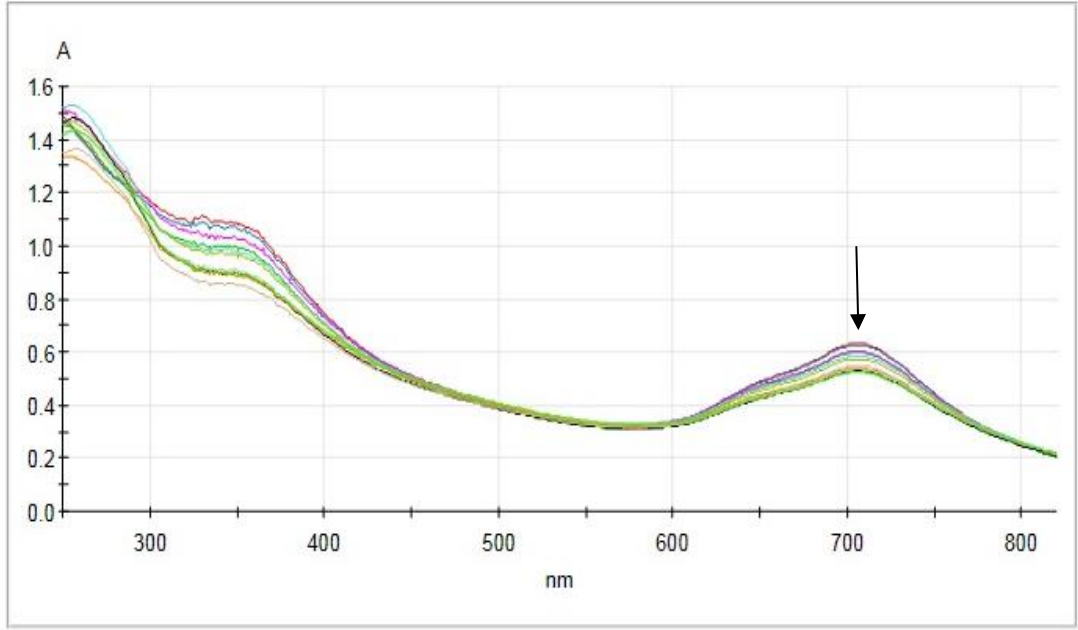
Yapılan tüm denemeler oda sıcaklığında ve ultra saf su kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Denemelerde kullanılan ct-DNA'nın absorbansı, 1 cm ışık yolu kullanılarak 260 nm'de ölçülmüş ve molar konsantrasyonu Lambert-Beer bağıntısına göre hesaplanmıştır. ($\epsilon_{\text{DNA}}: 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c \text{ (Lambert-Beer Bağıntısı)}$$

A ; DNA'nın 260 nm'deki absorbansı, ϵ ; ekstinksiyon katsayısı, l ; ışığın aldığı yol, c ; DNA'nın molar konsantrasyonu olmak üzere, DNA'nın molar konsantrasyonu 4.05 mM olarak bulunmuştur.

3.2.1. UV/Vis denemesi

Kuaterner ZnPc ($[\text{C}_{73}\text{H}_98\text{ZnN}_{13}]^{4+}$) ile ct-DNA arasındaki bağlanma UV-Vis spektrumu ile 200-820 nm arasında kaydedilmiştir. Küvetlere eklenen DNA miktarındaki her bir 10 µL'lik artış spektrumda Pc'nin karakteristik olan ve 707 nm de maksimum absorbans veren Q bandında azalmaya sebep olmuştur. ct-DNA ilavesi absorpsiyon spektrumunda ~3 nm'lik bir kaymaya yol açmıştır. DNA eklendikçe absorbansta azalma olması katyonik ZnPc türevinin DNA'ya bağlandığını göstermektedir. Tüm bantlar üstüste çakıştırılarak elde edilen grafik incelendiğinde 90 µL DNA ilavesinden sonra Q bandındaki absorbans azalmasının durduğu, titrasyonun sonlandığı gözlenmiştir. Bu da ortamda DNA ile Pc arasında maksimum etkileşimin oluştuğunu göstermektedir.



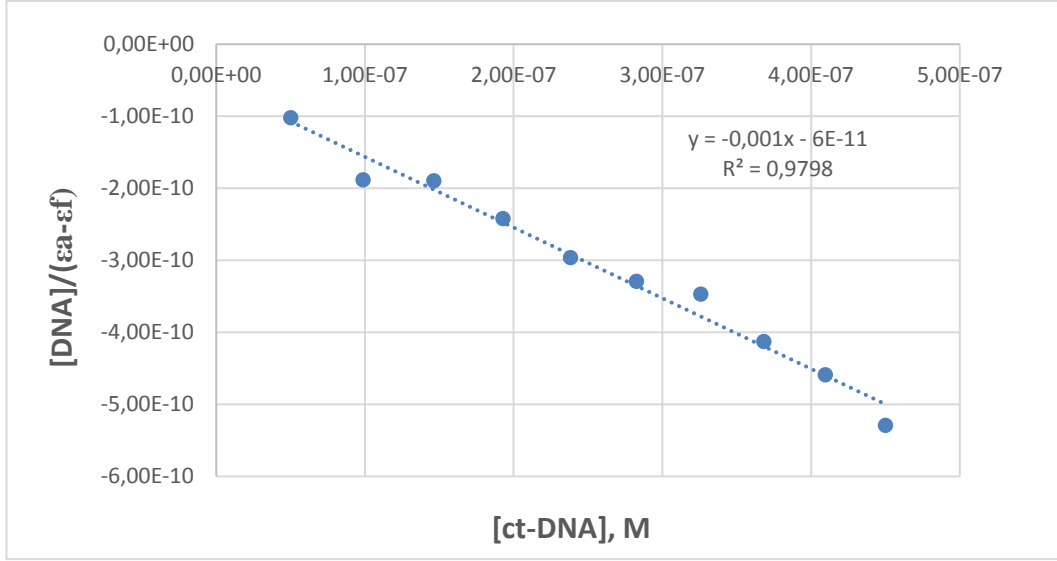
Şekil 3.5 ct-DNA-ZnPc Kompleksinin UV-Vis Spektrumu

UV-Vis denemeleri sonucunda elde edilen verilerle Pc'nin DNA'ya bağlanma sabiti K_b aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır.

$$\frac{[DNA]}{\varepsilon_a - \varepsilon_f} = \frac{[DNA]}{\varepsilon_b - \varepsilon_f} + \frac{1}{K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)}$$

[DNA]: Çözeltideki DNA konsantrasyonu, ε_b : Pc-DNA kompleksinin ekstinksiyon sabiti; ε_f : DNA içermeyen Pc çözeltisinin ekstinksiyon sabiti; ε_a : $A/[Pc]$ 'dan elde edilen görünür ekstinksiyon sabitini ifade eder.

[DNA]; x eksenine, $[DNA]/\varepsilon_a - \varepsilon_f$; y eksenine gelecek şekilde çizilen grafikte eğim K_b değerini vermektedir (Khorasani-Motlagh ve ark., 2010). Buna göre çizilen grafiğin eğiminden K_b değeri $1 \times 10^3 \pm 0.02 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bu bağlanma değeri, etidyum bromür gibi klasik interkalatörler (10^6 - 10^7 M^{-1}) ile karşılaştırıldığında daha düşük kalmaktadır. Bu da bağlanmanın interkalasyon dışındaki bir yolla gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 3.6 Spektrofotometrik Yolla Kuaterner ZnPc-DNA Kompleksinin Bağlanma Sabitinin Belirlenmesinde Kullanılan [DNA]- [DNA]/ $\epsilon_a - \epsilon_f$ Grafiği

DNA'ya interkalatif yolla bağlanan ajanlar dalgaboylarında geniş kaymalara sebep olurken, oyuklara bağlanma ve yığılmalar daha küçük değişikliklere neden olmaktadır (Duan ve ark., 2009). Yapılan ölçümlerde DNA titrasyonu sonucunda kuaterner Pc'nin Q-bandı ve Soret bandında geniş bir kayma oluşmadığı, Q bandı üzerinde 2-3 nm'lik küçük bir kayma gerçekleştiği görülmüştür. Bu bantlarda geniş kaymanın oluşmaması ve az miktarda hipokromisite meydana gelmesi pozitif yüklü Pc ile negatif fosfat iskeletinin elektrostatik olarak etkileşimini de doğrulamaktadır (Uslan ve Sesalan, 2013). Pc halkasına süstitüye küçük aksiyal ligandların bulunması yığılmayı engelleyen bir özelliktir. Ancak sentezlediğimiz Pc bileşiğinde aksiyal ligand yer almaması yığılma şeklinde bağlanma ihtimalini de düşündürmektedir. Agregasyonun artması maksimum absorbansta azalmaya sebep olabilmektedir. Kuaternize aminlerin Q-bandında az miktarda hipokromisiteye neden olması ve herhangi bir yarımla oluşmaması da az miktarda agregasyona işaret etmektedir (Evren ve ark., 2013).

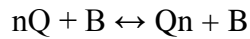
Pcler makromolekül yapıda olduklarından küçük ve düzlemsel süstitüentlerinin olması interkalatif bağlanmayı sağlayabilir (Lee ve ark.,2008). Aynı zamanda küçük katyonik süstitüentler DNA'ya daha yüksek afinite

gösterirler. Sentezlediğimiz $[C_{73}H_{98}ZnN_{13}]^{4+}$ bileşiğindeki süstitüentler de küçük ve düzlemsel yapıdadır. Bu da bileşiğin DNA'ya olan afinitesini artıran bir özelliktir. Ancak, interkalatif bağlanmanın absorpsiyon spektrumunda elde ettiğimizden daha büyük spektral kaymalara ve daha yüksek hipokromisiteye sebep olduğu bilinmektedir. Buna karşın dış kısımdan monomerik bağlanmalar olması ya da Pc düzlemi ile DNA baz çiftleri arasında π - π etkileşimleri nedeniyle yığılmalar olması daha küçük hipokromisiteye ve kaymaya sebep olmaktadır (Zhang ve ark., 2007-Özçeşmeci ve ark., 2013). Pc uçlarında katyonik küçük gruplar bulunmasının yanısıra bu uçlarda fenil halkasının da yer alması π - π etkileşimlerini de akla getirmekte, bu da bize elektrostatik bağlanmalar olduğunu düşündürmektedir.

3.2.2. Floresans Denemesi İle Bağlanma Sabitinin Belirlenmesi

Pc-DNA kompleksinin floresans spektrumu incelendiğinde, Pc'nin 480–520 nm'de verdiği floresans şiddetinin DNA miktarı arttıkça azaldığı gözlemlenmiştir (bkz. Şekil 3.7). Floresans şiddetindeki bu azalma Pc'nin sönmüleme etkisinden kaynaklanmaktadır (Lopez ve ark., 2014). Eklenen DNA, Pc ile bağlandıkça floresans şiddetinde azalmaya neden olmaktadır.

Yapılan spektroflorometrik titrasyon ölçümleri, DNA'nın bağlanma bölgelerinin sayısının (n) ve bağlanma sabitinin (K_b) belirlenmesinde kullanıldı.



B ; bağlanmamış Pc, nQ ; n bağlanma sayısı olan DNA, Q_n+B ; DNA ile bağlı olan Pc olmak üzere,

$$\text{Bağlanma sabiti } K_b = \frac{[nQ+B]}{[Q]^n [B]}$$

Eğer Pc'nin tümüne B_0 denilir ise; o halde $[B_0] = [B] + [Q_n + B]$ olur.

$[B]$; bağlanmamış Pc konsantrasyonu.

Bu bağıntılar göz önüne alınırsa floresans ölçümleriyle bağlanmamış Pc

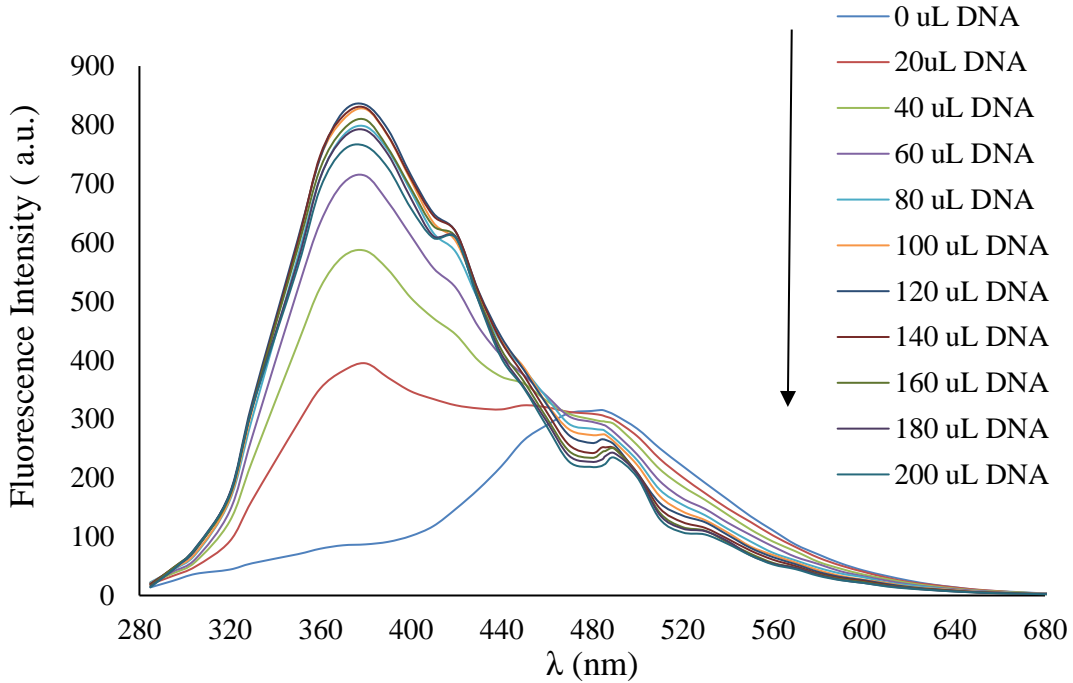
konsantrasyonu arasındaki bağıntı $\frac{[B]}{[B_0]} = \frac{F}{F_0}$ şeklinde tanımlanır.

F ; DNA eklenmesi sırasında bağlanmamış Pc'nin floresansını ve F_0 ; başlangıçtaki Pc floresansını göstermektedir.

Buna göre;

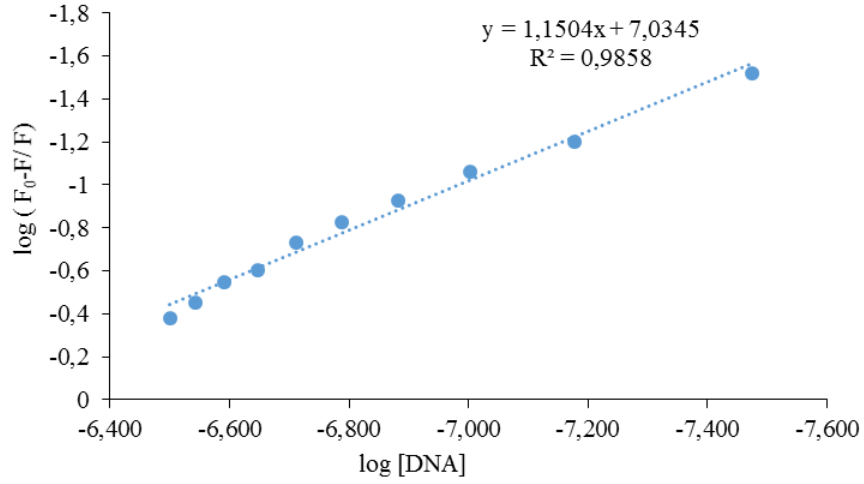
$$\log(F_0 - F)/F = \log K_b + n \log [DNA]$$

F_0 ve F ; DNA öncesi ve sonrasındaki Pc floresans yoğunluğu, K_b ; bağlanma sabiti, n ; DNA'daki bağlanma bölgelerinin sayısı ve $[DNA]$; DNA konsantrasyonunu göstermektedir.



Şekil 3.7 Pc-DNA Kompleksinin Floresans Spektrumu

K_b bağlanma sabiti ve n bağlanma sayısı, $\log(F_0-F)/F - \log[DNA]$ grafiği çizilerek bulunmaktadır. Grafiğin eğimi bağlanma sayısı olan n 'yi ve y eksenini kestiği nokta ise bağlanma sabiti K_b 'nin logaritma değerini ($\log K_a$) göstermektedir. Çizilen grafikten, $n=1.1504$ ve $\log K_b=7.0345$ L/mol olarak elde edilmiştir. Yapılan dönüşüm ile $K_b=10.83 \times 10^6 \pm 0.97$ L/mol olarak bulunmuştur.



Şekil 3.8 Pc-DNA Kompleksinin Bağlanma Sabitinin Belirlenmesinde Kullanılan $\log(F_0-F)/F - \log[DNA]$ Grafiği

Küçük hidrofilik katyonik gruplar DNA'ya olan afiniteyi artırmaktadır. Van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağları da küçük moleküllerin minor oyuklara bağlanmasını sağlayan bağlar olarak bilinmektedir. Buna karşın, fenil halkaları gibi yığılmayı kolaylaştıran sübstitüentler bağlanmayı güçleştirmekte ve DNA'ya olan afiniteyi azaltmaktadır. Bu nedenle, sentezlediğimiz kuaterner ZnPc bileşiğinde bulunan fenil halkalarının da $\pi-\pi$ etkileşimleri nedeniyle afiniteyi azalttığı düşünülmektedir (Uslan ve Sesalan, 2013).

Pc'de yer alan katyonik grupların DNA'da bulunan fosfat grupları ile etkileşimi sırasında, ortada bulunan Zn metali koordinasyon küresini genişletebilir ve fosfatlar üzerindeki oksijene bağlanarak daha kompakt bir yapı oluşturabilir. Bulunan K_b değeri; Zn'nin oksijenlerle koordinasyonu, molekülün DNA ile güçlü bir bağlanma yaptığını da göstermektedir. Bu değer büyüklüğü molekülün DNA ile yaptığı bağın sağlamlığını da göstermektedir (Evren ve ark., 2013).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde; 2013 yılında Evren ve arkadaşlarının, sentezledikleri ZnPc türevinin DNA'ya bağlanma özelliklerini inceledikleri ve ZnPc-DNA kompleksinin K_b değerini 4.493×10^3 L/mol olarak hesapladıkları görülmüştür. 2014 yılında yapılan başka bir çalışmada da Zeballos ve arkadaşları çeşitli sübstitüentler içeren ZnPc'lerin ct-DNA'ya bağlanma özelliklerini floresans

denemesiyle araştırmış, K_b değerlerini 8.9×10^6 , 9.7×10^6 ve 4.2×10^6 L/mol olarak hesaplamışlardır. Spektrumları incelendiğinde ise floresans şiddetindeki azalmanın ftalosiyaninin sönümlleme etkisinden kaynaklandığını gözlemlemişlerdir. Silisyum içeren Pc türevleri ile yapılan çalışmada 3 farklı bileşik için K_b değerleri $2.08-7.05 \times 10^3$ L/mol aralığında bulunmuş ve bağlanmanın interkalatif olmayan minor oyuklara bağlanma olduğu gösterilmiştir (Uslan ve Sesalan, 2013).

Çalışmamızda hesaplanan K_b değerinin diğer çalışmalarda bulunan değerlerden büyük olması sentezlediğimiz kuaterner ZnPc'nin DNA'ya daha sıkı bir şekilde bağlandığını göstermektedir. Ayrıca K_b değeri 10^6 'dan büyük olması bu bağlanmanın interkalatif özellikte olduğunu göstermektedir.

3.2.3. DNA-DAPI kompleksinin florometrik olarak sönümlleme etkisinin belirlenmesi

DAPI, DNA'nın minör oyuklarına bağlanarak etki gösteren ve biyolojik uygulamalarda kullanılan bir boyadır. Özellikle A-T bazları bakımından zengin olan çift sarmallı DNA ile kompleks oluşturduğunda tek başına olduğundan 20 kat daha zengin floresans değeri vermektedir. DNA'ya bağlanmasıyla birlikte 461 nm'de yüksek emisyon değeri göstermektedir. Bu nedenle, DAPI ve kuaterner Pc arasındaki bağlanma yarışı DNA ile etkileşimlerini ortaya koymaktadır.

Pc'nin, DNA-DAPI kompleksinin floresansı üzerindeki sönümlleme etkisi Sterne Volmer bağıntısı kullanılarak hesaplandı. Denkleme göre:

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

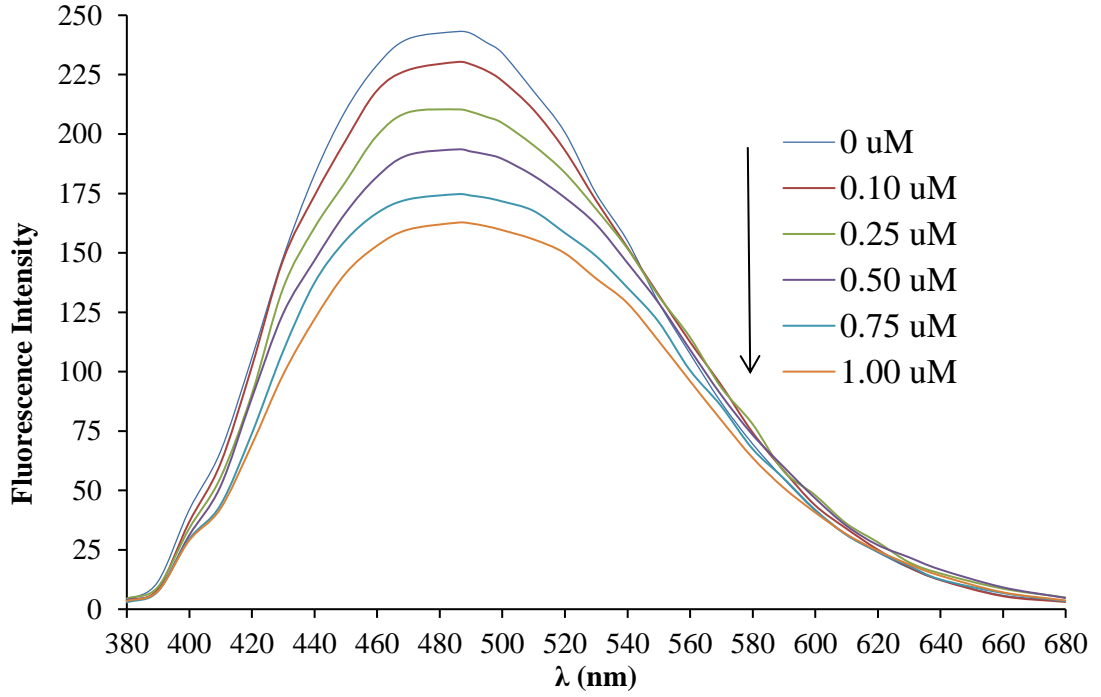
F_0 ; Pc yokluğunda, uyarılmış DNA-DAPI kompleksinin floresansı.

F ; Pc varlığında, uyarılmış DNA-DAPI kompleksinin floresansı.

$[Pc]$; Pc'nin konsantrasyonu.

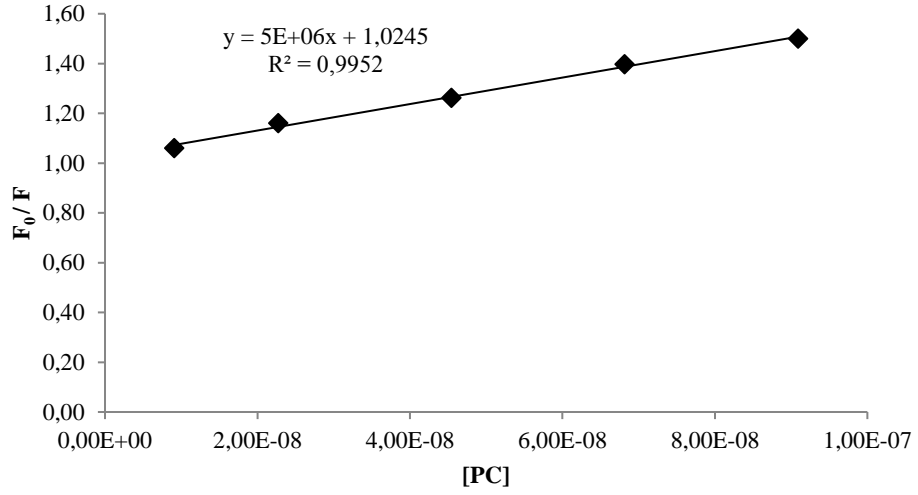
K_{sv} ; Sterne Volmer sabiti.

$F_0/F - [Fs]$ grafiğinin eğimi, kuaterner Pc'nin ct-DNA'ya bağlanma derecesini gösteren K_{sv} sabitinin değerini vermektedir.



Şekil 3.9 DNA-DAPI-Pc Kompleksinin Floresans Spektrumu

Sterne Volmer bağıntısından K_{sv} değeri $5 \times 10^6 \pm 0.15$ L/mol olarak bulunmuştur. Bulunan bu değer; Zn'nin fosfat gruplarındaki oksijen ile etkileşiminden dolayı Pc'nin DNA'ya olan afinitesindeki artışı göstermektedir. K_{sv} değeri 10^6 mertebesinde olması kuaterner Pc'nin DNA'ya bağlanmasının interkalasyon olarak gerçekleştiğini göstermektedir. Pc'nin kuaterner yapıda olması ve Zn metalinin varlığı, ftalosiyaninin DAPI ile yarışarak DNA'ya daha iyi bağlanmasını sağlamaktadır. 2013 yılında Evren ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DAPI-DNA kompleksine ZnPc eklenmesiyle elde edilen grafikten K_{sv} değerini 5.294×10^3 olarak buldukları görülmüştür. Çalışmamızda bulunan değer ile bu değer karşılaştırıldığında interkalatif bağlanmanın daha kuvvetli olduğu çalışmamızda görülmüştür.

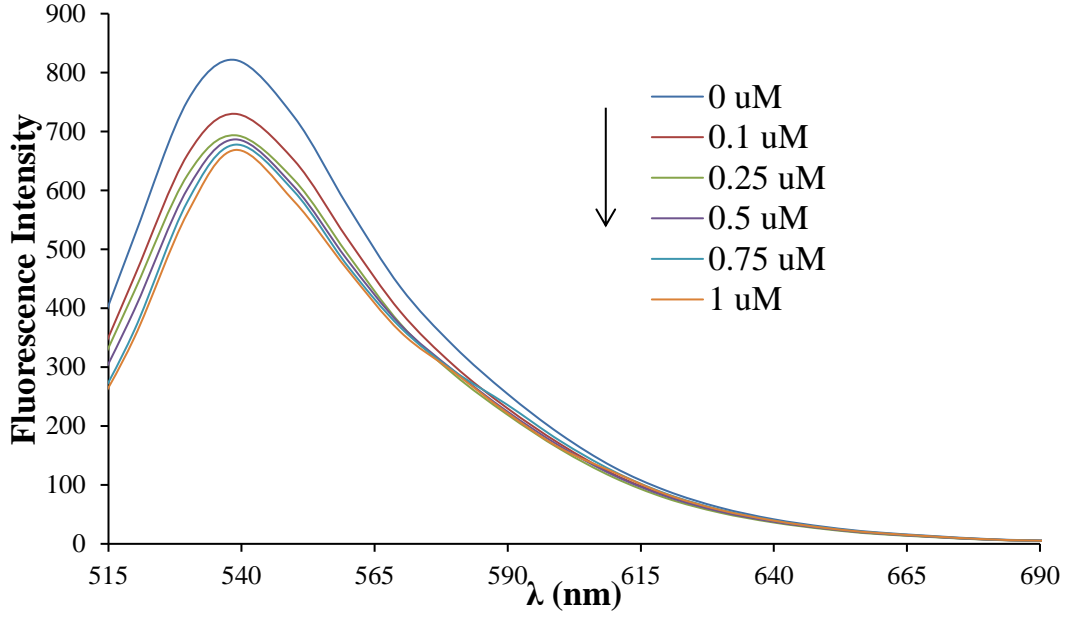


Şekil 3.10 DNA-DAPI-Pc kompleksi için K_{sv} Değerinin Belirlenmesinde Kullanılan $F_0/F - [Pc]$ Grafiği

Yapılan çalışmada görülüyor ki serbest DAPI-DNA kompleksinin floresans değerindeki dikkate değer düşüş, kuaterner yapının sönmüleme etkisinden kaynaklanmaktadır. Şekil 3.9'da görüldüğü gibi eklenen kuaterner Pc miktarı arttıkça sönmüleme etkisi de arttığından DAPI-DNA kompleksinin floresans değeri azalma göstermektedir. Bu da Pc'nin DNA'ya bağlanmada DAPI'den daha kuvvetli olduğunu göstermektedir.

3.2.4. DNA-SYBR Kompleksinin Florometrik Olarak Sönmüleme Etkisinin Belirlenmesi

SYBR Gold, nükleik asitlere bağlanabilen bir siyanin boyasıdır. RNA'ya, tek ya da çift zincirli DNA'ya yüksek verimle bağlanarak floresansı >1000-kat arttırmaktadır. Nükleik asit-SYBR kompleksi için maksimum uyarılma 495 nm ve 300 nm civarında, maksimum emisyon ise 537 nm civarında olmaktadır.



Şekil 3.11 DNA-SYBR-Pc Kompleksinin Floresans Spektrumu

Pc'nin, DNA-SYBR kompleksinin floresansı üzerindeki sönümleme etkisi Sterne Volmer bağıntısı kullanılarak hesaplandı. Denkleme göre:

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

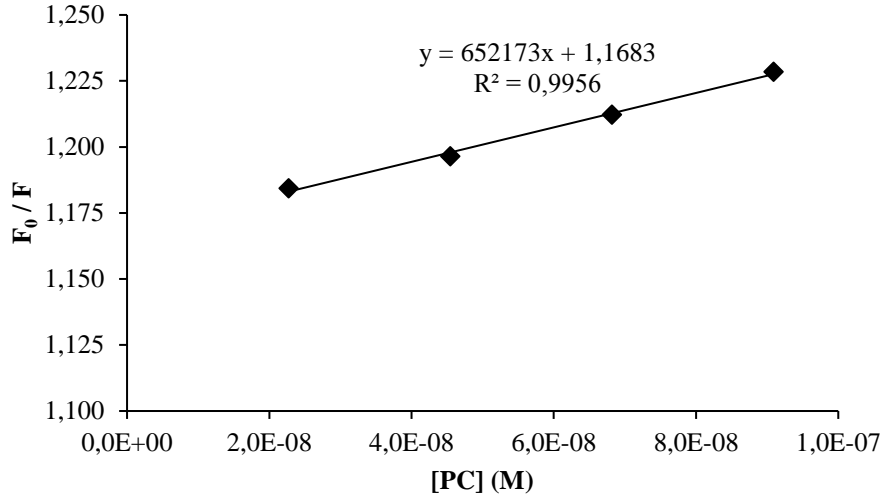
F_0 ; Pc yokluğunda, uyarılmış DNA-SYBR kompleksinin floresansı.

F ; Pc varlığında, uyarılmış DNA-SYBR kompleksinin floresansı.

$[Pc]$; Pc'nin konsantrasyonu.

K_{sv} ; Sterne Volmer sabiti.

$F_0/F - [Fs]$ grafiğinin eğimi, kuaterner ftalosiyaninin DNA bağlanma derecesini gösteren K_{sv} sabitinin değerini vermektedir. Elde edilen grafikten, $K_{sv} = 6.5 \times 10^5 \pm 0.87 \text{ L/mol}$ olarak bulunmuştur.



Şekil 3.12 DNA-SYBR-Pc kompleksi için K_{sv} Değerinin Belirlenmesinde Kullanılan $F_0/F - [Pc]$ Grafiği

Çözelti içerisinde bağlı halde bulunmayan SYBR az miktarda floresans verirken, DNA'ya bağlı halde çok yüksek miktarda floresans verme özelliğine sahiptir. DAPI gibi diğer minor oyuklara bağlanan boyalar ile kıyaslandığında, SYBR tek ya da çift sarmal tercih etmeden bağalanabilir. Aynı zamanda yapı asidik ve bazik ortamlarda daha kararlı davranır (Cosa ve ark., 2001). Bu nedenle SYBR ile Pc arasındaki DNA'ya bağlanma yarışı, DNA ile etkileşim şeklini bulmada kullanılan kolay gerçekleştirilebilir bir yöntemdir. Serbest SYBR-DNA kompleksinin floresansı, kuaternize Pc bileşikleri tarafından sönmülenererek hızlı bir şekilde azalır. Bu sönmüleme etkisi K_{sv} değeri ile ifade edilir. Grafik yoluyla hesaplanan bu değer, Pc'nin sönmüleme etkisini göstermektedir. K_{sv} değeri ne kadar büyükse sönmüleme etkisi o kadar büyük demektir.

Küçük katyonik grupların DNA'ya daha kolay bağlanmaları nedeniyle SYBR-DNA kompleksi üzerinde daha yüksek sönmüleme etkisi göstermeleri beklenmektedir. Sönmüleme işlemi daha kararlı bir Pc-DNA kompleksi oluşana kadar sürer. Daha kararlı Pc-DNA kompleksinin oluşumu daha az miktarda floresans göstermesiyle anlaşılır. Burada DNA, SYBR yerine Pc'yi tercih etmektedir. Sönmülemenin büyük olması, DNA'ya bağlanma yarışında Pc'nin SYBR'dan daha kuvvetli olduğunu da göstermektedir. Bu nedenle floresans

emisyondaki azalma Pc ile DNA arasındaki etkileşimin bir göstergesi olarak kabul edilir.

Silisyum içeren Pc türevleri ile yapılan çalışmada 3 farklı bileşik için K_{sv} değerleri 0.47-1.35 L/mol aralığında bulunmuş ve DNA'nın fosfat gruplarına elektrostatik bağlanma gerçekleştiğini göstermiştir (Uslan ve Sesalan, 2013).

Çalışmamızda, SYBR-DNA kompleksinin floresansında Pc eklenmesiyle dikkate değer bir azalma görülmüştür (bkz. Şekil 3.11). Bu azalma, Pc'nin sönmleme etkisinin kuvvetini yansıtmaktadır. Pc'nin kuaterner yapıda olması ve Zn metali içermesi DNA'ya daha sağlam bağlanmasını kolaylaştırmış bu da sönmleme etkinin artmasını sağlamıştır.

BÖLÜM 4 – SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında ftalimid bileşiğinden başlayarak sırasıyla; 4-Nitroftalimid, 4-Nitroftalamid, 4-Nitroftalonitril, 4-Aminoftalonitril, 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril ve {2,10,16,24-tetrakis-4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril}çinko(II) ftalosiyenin bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin sentez sırasında sıcaklığı kontrol edilerek gerektiğinde buz banyosu kullanılmıştır. Her aşamada dikkat edilecek hususlar sentezlenen bileşiğe özgü olarak farklılık göstermektedir. Ftalosiyenin sentezi için 4-((4-(dimetilamino)fenil)diazenil)ftalonitril ligand olarak seçilmiştir. Sentezlenen ftalosiyenin açık uçlu yapıda ve uçlarında metil sübstütientleri bulunmaktadır. UV-Vis spektrum bilgileri ve yapı tayin yöntemleri ZnPc bileşiğinin oluştuğunu desteklemektedir.

Katyonik karakterdeki bileşiklerin DNA'ya interkalatif ya da elektrostatik yollarla bağlanabildikleri bilinmektedir. Bileşiklerin suda çözünür yapıda olması PDT'de ilacın hücre sel alınımını artırmaktadır. Bu nedenle, sentezlenen ZnPc'nin çözünürlüğünü artırmak ve negatif yüklü olan DNA'ya bağlanmasını kolaylaştırmak için kuaternerleştirme işlemi yapılmış ve kuaterner türevin yapısı tayin yöntemleri ile desteklenmiştir. Tüm denemeler sırasında solvent olarak su kullanılmıştır ve ct-DNA'ya bağlanma özellikleri çeşitli spektrometrik yöntemler ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, yeni sentezlenen Pc türevinin DNA iskeletinin dış kısmında bulunan fosfat gruplarına yüksek afinite ile bağlandığı ve bağlanmanın bazı bölgelerde elektrostatik, çoğu bölgede interkalasyon ile gerçekleştiği bulunmuştur. Pc yapısında yer alan substitüentlerin ve merkezde yer alan metal atomunun molekülün biyolojik aktivitesini etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle sentezlenen bu türev orjinaldir ve biyolojik uygulamalar ve PDT çalışmaları için uygun bir aday olabilir. Gelecekte bu türev ile *in vivo* çalışmalar yapılabilir ve elde edilen bulgular ile daha detaylı sonuçlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

Acar, İ., Bıyıklıoğlu, Z., Durmuş, M., Kantekin H. (2012) Synthesis, Characterization and Comperative Studies on The Photophysical And Photochemical Properties of Peripherally and Non-Peripherally Tetra-Substituted Zinc(II) Phthalocyanines. *Journal of Organometallic Chemistry*, 65, 708-709.

Ahmed, J., Yuan, Y., Zhou, L., Kim, S. (2012) Carbon Supported Cobalt Oxide Nanoparticles-İron Phthalocyanine As Alternative Cathode Catalyst for Oxygen Reduction in Microbial Fuel Cells. *Journal of Power Sources*, 208, 170-175.

Akçay, H.T., Bayrak, R., Karşlıoğlu, S., Şahin, E. (2012) Synthesis, Characterization and Spectroscopic Studies of Novel Peripherally Tetra-İmidazole Substituted Phthalocyanine and İts Metal Complexes, The Computational and Experimental Studies of The Novel Phthalonitrile Derivative. *Journal of Organometallic Chemistry*, 713, 1-10.

Akkuş, F. (2011) Nonperiferal Grup Taşıyan Benzopirrolük Bileşiklerin Sentezi, Karakterizasyonu Ve Kompleks Oluşumlarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, Türkiye, 11.

Alemdar, A., Özkaya, A. R., Bulut, M. (2009) Synthesis, Spectroscopy, Electrochemistry an in situ Spectroelectrochemistry of Partly Halogenated Coumarin Phthalonitrile and Coresponding Metal-Free, Cobalt and Zinc Phthalocyanines. *Polyhedron*, 28, 3788-3796.

Alemdar, A. (2009) 7-Okso-3-(2-Kloro-4-Florofenil) Kumarin Süstitüentleri İçeren Metalli ve Metalsiz Ftalosiyeninlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

Allison, R.R., Sibata, C.H. (2010) Oncologic Photodynamic Therapy Photosensitizers: A Clinical Review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7, 61-75.

Altun, S. (2011) Bazı Lakton Halkalı Ftalosiyanin Bileşiklerinin Sentezi ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

Başak, A.S., Özkaya, A.R., Altındal, A., Salih, B., Şengül, A., Bekaroğlu, Ö. (2014) Synthesis, Characterization, Oxygen Electrocatalysis and OFET Properties of Novel Mono- and Ball-Type Metallophthalocyanines. Dalton Transactions, 43, 5858-5870.

Ben-Hur, E., Rosenthal, I. (1985) Photosensitized Inactivation of Chinese Hamster Cells by Phthalocyanines. Photochemistry and Photobiology, 42, 129-133.

Bıyıklıoğlu, Z., Durmuş, M., Kantekin, H. (2010) Synthesis, Photophysical and Photochemical Properties of Quinoline Substituted Zinc(II) Phthalocyanines and Their Quaternized Derivatives. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 211, 32-41.

Bıyıklıoğlu, Z., Durmuş, M., Kantekin, H. (2011) Tetra-2-[2-(dimethylamino)ethoxy]ethoxy Substituted Zinc Phthalocyanines and Their Quaternized Analogs: Synthesis, Characterization, Photophysical and Photochemical Properties. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 222, 87-96.

Birsöz, B. (2013) Tıbbi Uygulamalar İçin Bor İçeren Ftalosiyaninler. Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 6-7.

Braun, A., Tcherniac, J. (1907) Über die Produkte der Einwirkung von Acetanhydrid auf Phthalamid. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft. Deutsche Chemische Gesellschaft, 40 (2), 2709–2014.

Bonnett, R. (1995) Photosensitizers of The Porphyrin and Phthalocyanine Series for Photodynamic Therapy. Chemical Society Reviews, 24, 19-33.

Cao, Y., He, X. (1998) Studies of Interaction Between Safranin T and Double Helix DNA by Spectral Methods. Spectrochimica Acta Part A, 54, 883-892.

Ceyhan, T., Altındal, A., Erbil, M.K., Bekaroğlu, Ö. (2006) Synthesis, Characterization, Conduction and Gas Sensing Properties of Novel Multinuclear Metallo Phthalocyanines (Zn, Co) with Alkylthio Substituents. *Polyhedron*, 25, 737–746.

Ceyhan, T., Altındal, A., Özkaya, A.R., Çelikbıçak, Ö., Salih, B., Erbil, M.K., Bekaroğlu, Ö. (2007) Synthesis, Characterization and Electrochemical Properties of Novel Metal Free And Zinc(II) Phthalocyanines of Ball and Clamshell Types. *Polyhedron*, 26, 4239-4249.

Cosa, G., Focsaneanu, K.S., McLean, J.R., McNamee, J.P., Scaiano, J.C. (2001) Photophysical properties of fluorescent DNA-dyes bound to single- and double-stranded DNA in aqueous buffered solution. *Photochemistry and Photobiology*, 73(6), 585–599.

Çamur, M., Durmuş, M., Bulut, M. (2012) Highly Singlet Oxygen Generative Water-Soluble Coumarin Substituted Zinc(II) Phthalocyanine Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Polyhedron*, 41, 92-103.

Day, V.W., Marks, T.J., Wachter, W.A. (1974) Large Metal Ion-Centered Template Reactions - Crystal and Molecular-Structure of A Uranyl Complex of Cyclopentakis (2-Iminoisoindoline) - Super Phthalocyanine. *Abstracts of Papers of The American Chemical Society*, 68-68.

De Diesbach, H., Von Der Weid, E. (1927) Quelques Sels Complexes Des O-Dinitriles Avec Le Cuivre et La Pyridine. *Helvetica Chimica Acta*, 10, 886–888.

Duan, W., Wang, Z., Cook, M.J. (2009) Synthesis of tetra(trimethylammonio)phthalocyanato zinctetraiodide, [ZnPc(NMe₃)₄]I₄, and a spectrometric investigation of its interaction with calf thymus DNA. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 13(12), 1255.

Dumouлина, F., Durmuş, M., Ahsena, V., Nyokong, T. (2010) Synthetic Pathways to Water-Soluble Phthalocyanines and Close Analogs. *Coordination Chemistry Reviews*, 254, 2792-2847.

Durmuş, M., Erdoğan, A., Oğunsipe, A., Nyokong, T. (2009) The Synthesis and Photophysical Behaviour of Novel Water-Soluble Cationic Indium(III) Phthalocyanine. *Dyes and Pigments*, 82, 244-250.

Evren, D., Kalkan Burat, A., Özçesmeci, İ., Sesalan B.Ş. (2013) Synthesis of Novel Tetracationic Phthalocyanines and Investigation of Their DNA-Binding Properties. *Dyes and Pigments*, 96, 475-482.

Fiel, R.J., Howard, J.C., Mark, E.H., Dattagupta, N. (1979) Interaction of DNA With A Porphyrin Ligand: Evidence For Intercalation. *Nucleic Acids Research*, 6(9), 3093–3118.

Garland, M.J., Cassidy, C.M., Woolfson, D., Donnelly, R.F. (2009) Designing Photosensitizers for Photodynamic Therapy: Strategies, Challenges and Promising Developments. *Future Medicinal Chemistry*, 1(4), 667-691.

Gürsoy, S., Cihan, A., Burkut Koçak, M., Bekaroğlu Ö. (2001) Synthesis of New Metal-Free and Metal-Containing Phthalocyanines with Tertiary or Quaternary Aminoethyl Substituents. *Monatshefte für Chemie*, 132, 813-819.

Jin, L., Chen, D. (2012) Enhancement in Photovoltaic Performance of Phthalocyanine-Sensitized Solar Cells by Attapulgite Nanoparticles. *Electrochimica Acta*, 72, 40-45.

Jori, G. (1996) Tumour Photosensitizers: Approaches to Enhance The Selectivity and Efficiency of Photodynamic Therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 36, 87–93.

Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ. (2005) *Biyokimya*, 4. Baskı, Aktif Yayınevi, Erzurum, Türkiye.

Khorasani-Motlagh, M., Noroozifar, M., Mirkazehi-Rigi, S. (2010) Fluorescence and DNA-binding spectral studies of neodymium (III) complex containing 2,20-bipyridine, [Nd(bpy)₂Cl₃-OH₂]. *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 75, 598–603.

Kobayashi, N., Fukuda, T. (2006) Recent progress in phthalocyanine chemistry: Synthesis and characterization. In *Functional Dyes*; Kim, Sung-Hoon, Ed.; Elsevier, B.V., Amsterdam, 1-45.

Koçak, M., Cihan, A., Okur A.İ., Gül A., Bekaroğlu, Ö. (2000) Novel Crown Ether-Substituted Phthalocyanines. *Dyes and Pigments*, 45, 9-14.

Kutlubay, Z., Pehlivan, Ö., Engin, B. (2011) Fotodinamik Tedavi. *Dermatoz*, 2(4), 391-404.

Lee, M., Jin, B., Lee, H. M., Jung, M. J., Kim, S. K., Kim, J. (2008) Direct Stacking of Non-metallic Planar Porphyrin to DNA. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 29, 1533-1538.

Leznoff, C.C., Lever, A.B.P. (1993) *Phthalocyanines Properties and Applications Volume 3*. VCH Publishers, New York.

Linstead, R.P. (1934) Phthalocyanines. Part I. A new type of synthetic colouring matters. *Journal of the Chemical Society*. 1016-1017.

Lopez Zeballos, N.C., Gauna, G.A., Garcia Vior, M.C., Awruch, J., Dixelio, 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.

Matsuda H., Okada S., Masaki A., Nakanishi H., Suda Y., Shigara K., Yamada A. (1990) Molecular Structural View on The Large Third Order Nonlinearity of Phthalocyanine Derivatives. *The International Society for Optical Engineering*, 105, 1337.

Mari, C., Pierroz, V., Ferrari, S., Gasser, G. (2015) Combination of Ru(II) Complexes and Light: New Frontiers in Cancer Therapy. *Chemical Science*, 6, 2660–2686.

McKeown, N.B. (2003) 98-The Synthesis of Symmetrical Phthalocyanines. *The Porphyrin Handbook, Phthalocyanines: Synthesis*, 61-124.

Odabaş, Z., Altındal, A., Özkaya, A.R., Bulut, M., Salih, B., Bekaroğlu, Ö. (2007) Synthesis, Characterization, and Electrochemical and Electrical Properties of Novel Mononuclear and Binuclear Ball-Type Zn(II) And Co(II) Phthalocyanines Substituted With 1a,8b-Dihydronaphtho[B]Naphthofuro-[3,2-D]Furan-7,10-Diyl. *Polyhedron*, 26, 3505-3512.

Ok, S. (2006) Synthesis of Asymmetrically Substituted Fluorinated Phthalocyanines. Master of Science, York Universty, Toronto.

Özçeşmeci, İ., Okur, A.İ., Gül, A. (2007) New Phthalocyanines Bearing Tetra(Hydroxyethylthio) Functionalities. *Dyes and Pigments*, 75, 761-765.

Özçeşmeci, M., Ecevit, Ö.B., Sürgün, S., Hamuryudan, E. (2013) Tetracationic Fluorinated Zinc(II)Phthalocyanine: Synthesis, Characterization and DNA-Binding Properties. *Dyes and Pigments*, 96, 51-58.

Özer, M., Altındal, A., Salih, B., Bulut, M., Bekaroğlu, Ö. (2008) Synthesis and Characterization of Novel Cofacial Bis-Phthalocyanines Containig 16-Crown-5 Ether Groups. *Tetrahedron Letters*, 49, 896-900.

Paola De Filippis, M., Dei, D., Fantetti, L., Roncucci, G. (2000) Synthesis of a New Water-Soluble Octa-Cationic Phthalocyanine Derivative for PDT. *Tetrahedron Letters*. 41, 9143-9147.

Pekbelgin Karaoğlu, H.R., Gül, A., Burkut Koçak, M. (2008) Synthesis and Characterization of A New Tetracationic Phthalocyanine. *Dyes and Pigments*, 76, 231-235.

Pratviel, G. (2016) Porphyrins in Complex With DNA: Modes of İnteraction and Oxidation Reactions. *Coordination Chemistry Reviews*, 308, 460-477.

Robertson, M.J. (1935) An X-Ray Study of The Structure of The Phthalocyanines. Part I. The Metal-Free, Nickel, Copper, and Platinum Compounds. *Journal of The Chemical Society*, 29, 615-621.

Schlettwein, D., Hesse, K., Gruhn, N.E., Lee, P.A., Nebesny, K.W., Armstrong, N.R. (2001) Electronic Energy Levels in Individual Molecules, Thin Films, and Organic Heterojunctions of Substituted Phthalocyanines. *Journal of Physical Chemistry B*, 105, 4791–4800.

Sesalan F.U., Okur A.İ. (1999) Synthesis and Characterization of Novel Phthalocyanines with Four 17-Membered Diazadithiamonooxa Macrocycles. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 29, 1525-1537.

Sobotta, L., Wierzchowski, M., Mierzwicki, M., Gdaniec, Z., Mielcarek, J., Persoons, L., Goslinski, T., Balzarini, J. (2016) Photochemical Studies and Nanomolar Photodynamic Activities of Phthalocyanines Functionalized With 1,4,7-Trioxanonyl Moieties at Their Non-Peripheral Positions. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 155, 76-81.

Stillman, M.J., Thomson, A.J. (1974) Assignment of The Charge-Transfer Bands in Some Metal Phthalocyanines. Evidence for The $S=1$ State of Iron (II) Phthalocyanine in Solution. *Journal of The Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*, 70, 790-804.

Sudhamani, C.N., Bhojya Naik, H.S., Sangeetha Gowda, K.R., Giridhar, M., Girija, D., Prashanth, P.N. (2015) Synthesis, DNA Interactions and Antibacterial PDT of Cu(II) Complexes of Phenanthroline Based Photosensitizers Via Singlet Oxygen Generation, 138, 780-788.

Tau, P., Nyokong, T. (2006) Synthesis, Electrochemical and Photophysical Properties of Phthalocyaninato Oxotitanium(IV) Complexes Tetrasubstituted At The Alpha and Beta Positions with Arylthio Groups. *Dalton Transactions*, 37, 4482-4490.

Tedesco, A.C., Rotta, J.C.G., Lunardi, C.N. (2003) Synthesis, Photophysical and Photochemical Aspects of Phthalocyanines for Photodynamic Therapy. *Current Organic Chemistry*, 7, 187-196.

Terekkov, D.S. (1997) The Synthesis of Halogenated Phthalocyanines and Their Use for The Synthesis of Mononuclear and Binuclear Phthalocyanines, 1st Edition., Doctor of Philosophy, York Universty, Toronto, Canada.

Uslan, C., Sesalan, B.Ş. (2012) Synthesis of Novel DNA-Interacting Phthalocyanines. *Dyes and Pigments*, 94, 127-135.

Uslan, C., Sesalan, B.Ş. (2013) The Synthesis, Photochemical and Biological Properties of New Silicon Phthalocyanines. *Inorganica Chimica Acta*, 394, 353-362.

Vzorov, A.N., Marzilli, L.G., Compans, R.W., Dixon, D.W. (2003) Prevention of HIV-1 Infection by Phthalocyanines. *Antiviral Research*, 59, 99-109.

Wang, F., Yuan, G., Liu, Y., Pan, G. (2012) Synthesis and Optoelectronic Properties of Helical Nanowires of Cobalt Phthalocyanine. *Materials Letters*, 83, 56-58.

Watson, J.D., Crick, F.H. (1953) A structure for deoxyribose nucleic acids. *Nature*, 171, 737-738.

Weber, J.H., Busch, D.H. (1964) Complexes Derived from Strong Field Ligands. XX. The Effect of Extrapanar Ligands on the Properties of Transition Metal 4,4',4'',4'''-Tetrasulfophthalocyanines. *Inorganic Chemistry*, 12, 469.

Wie, S., Huang, D., Li, L., Meng, Q. (2003) Synthesis and Properties of Some Novel Soluble Metallophthalocyanines Containing The 3-Trifluoromethylphenoxy Moiety. *Dyes and pigments*, 56, 1-6.

Yabaş, E., Sülü, M., Dumludağ, F., Özkaya, A.R., Salih, B., Bekaroğlu, Ö. (2012) Electrical and Electrochemical Properties of Double-Decker Lu(III) and Eu(III) Phthalocyanines with Four İmidazoles and N-alkylated İmidazoles. *Polyhedron*, 42, 196-206.

Yağlıoğlu, H.G., Arslan, M., Abdurrahmanoğlu, Ş., Ünver, H., Elmalı, A., Bekaroğlu, Ö. (2008) The Nonlinear Refraction and Nonlinear Absorption in 4-

(4,6-diaminopyrimidin-2-ylthio) Substituted Double-Decker Lu(III) Phthalocyanine. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 69, 161-167.

Yanık, H., Aydın, D., Durmuş, M., Ahsen, V. (2009) Peripheral and Non-Peripheral Tetrasubstituted Aluminium, Gallium and Indium Phthalocyanines: Synthesis, Photophysics And Photochemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 206, 18-26.

Yazıcı, A., Dalbul, N., Salih, B. (2014) Synthesis and Characterization of 1,2-Benzenedimethoxy Substituted Novel Ball-Type and Mononuclear Metallo Phthalocyanines. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 36, 707.

Yelekçi, K. (1991) Modern Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi ve Uygulamaları, Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Matbaası, İstanbul, Türkiye.

Yılmaz, İ., (1996) 16-Üyeli Diazaditia-Makrohalkaları İçeren Yeni Tip Ftalosiyanimler, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

Zakharov, A.V., Girichev, G.V. (2008) Theoretical Study of The Structure, Vibrational Spectra, and Electronic Spectra of Oxotitanium Porphyrin, Octamethylporphyrin, Porphyrazine, and Phthalocyanine Complexes. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 851, 183-196.

Zhang, A., Huang, J., Weng, X., Li, J., Ren, L., Song, Z., Xiong, X., Zhou, X., Cao, X., Zhou, Y. (2007). A Water-Soluble, Octacationic Zinc Phthalocyanine as Molecular Probe for Nucleic Acid Secondary Structure. *Chemistry & Biodiversity*, 4, 215-223.

Zugle, R., Nyokong, T. (2013) Zinc(II)2,9,16,23-Tetrakis[4-(N-Methylpyridyloxy)]-Phthalocyanine Anchored on An Electrospun Polysulfone Polymer Fiber: Application for Photosensitized Conversion of Methyl Orange. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 366, 247-253.

ÖZGEÇMİŞ



Gamze ÇAKIRCA

Doğum Tarihi ve Yeri: 08.05.1989 - Sakarya

Tel: 0554 821 33 18

E-posta: gamzacakirca@gmail.com

Adres: Kılavuzçayırı Cad. Doğu Sok. Taşan Apt. No:
15 B Blok D:28 Altın-tepe/ Maltepe/İstanbul

Eğitim:

2012-2016 **Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Ens.** – Biyokimya Programı

2007-2012 **Marmara Üniversitesi, Atatürk Eğitim Fak.** – Kimya Öğretmenliği

2002-2006 **Figen Sakallıoğlu Anadolu Lisesi (Sakarya)**

Çalışma Deneyimi:

2012 **Mustafa Saffet Anadolu Lisesi** – Staj

2011- 2012 **İstanbul Fen Lisesi** – Staj

2010 **Özel Referans Dershanesi** – Kimya Öğretmeni

2009 **Marmara Üniversitesi** – Laboratuvar Asistanlığı

Poster Bildiriler:

Yuce-Dursun B., Basak A.S., Danis O., Cubuk S., Cakirca G., Demir S. Synthesis, characterization and investigation of their DNA-binding properties of novel phthalocyanines. International Congress on Chemical, Biological and Environmental Sciences (ICCBES2015), Kyoto, JAPAN, MAY 7-9, 2015, Page: 888.

Sertifikalar:

GMP –Good Manufacturing Practice, TSC Management Systems Academy (03.2014)

GLP-Good Laboratory Practice, TSC Management Systems Academy (03.2014)

ISO/ IEC 17025 :2005 (TS EN ISO/EC 17025 April 2012)- Competence of testing and calibration laboratories, TSC Management Systems Academy (03.2014)

ISO 22716:2007- Cosmetics good manufacturing practices GMP, TSC Management Systems Academy (03.2014)