ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KOZMETİK ÜRÜNLERDE KULLANILAN BAZI MADDELERİN DNA İLE ETKİLEŞİMİNİN ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

Maryam Mohanad Mahdı MAHDI

KİMYA ANABİLİM DALI

ANKARA
2023

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KOZMETİK ÜRÜNLERDE KULLANILAN BAZI MADDELERİN DNA İLE ETKİLEŞİMİNİN ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

Maryam Mohanad Mahdı MAHDI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zehra YAZAN

Bu tez kapsamında, bazı kozmetik ürünlerde kullanılan etken maddelerden ketokonazol (KA) ve arbutin (AR)'nin buzağı timus DNA (dsDNA) ile etkileşimi voltametrik yöntemler ile incelenmiştir. (KA-dsDNA) ve (AR-dsDNA) etkileşimleri arbutin ve ketokonazolün yükseltgenme piklerinden yararlanarak iki fizyolojik pH değerinde (asetat tamponu pH 4,8 ve fosfat tamponu pH 7,4) çözelti ortamında incelenmiştir. pH 4,8'de KA ve AR' e ait yükseltgenme pikleri yaklaşık 0.70 V' da gözlenirken pH 7,4' de ise, KA'ya ait yükseltgenme piki 0,70 V'de, AR' e ait yükseltgenme piki 0,60 V' de gözlenmiştir. Maddelerin dsDNA ile etkileşimini etkileyen parametreler (dsDNA derişimi, etkileşim süresi, tuz etkisi ve sıcaklık etkisi) diferansiyel puls voltametrisi ile inclenmiştir. Optimum dsDNA derişimi ve etkileşim süresi şartlarında, KA-dsDNA ve AR-dsDNA etkileşimin bağlanma sabiti ve Gibbs serbest enerjisi $\Delta G°$ pH 4,8'de ve pH 7,4'de belirlenmiştir. Söz konusu maddelerin DNA ile etkileşimlerini daha iyi anlayabilmek için termodinamik parametreler hesaplanmıştır. Termodinamik parametrelerden entalpi değişimi ($\Delta H°$) ve entropi değişimi ($\Delta S°$), Van't Hoff denklemi yardımıyla hesaplanmıştır. Ayrıca, etkileşim öncesi ve etkileşim sonrası difüzyon katsayısı (D), heterojen hız sabiti (k_s) ve elektrot yüzey derişimi (Γ) dönüşümlü voltamterisi ile belirlenmiştir.

Aralık 2023, 67 sayfa

Anahtar kelimeler: Arbutin, ketokonazol, buzağı timus DNA etkileşimi, voltametri, kalem grafit elektrot, kozmetik ürünler

ABSTRACT

MSc. Thesis

ELECTROCHEMICAL INVESTIGASTION OF SOME SUBSTANCES USED IN COSMETIC PRODUCTS AND THEIR INTERACTION WITH DNA

Maryam Mohanad Mahdı MAHDI

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Zehra YAZAN

In this thesis, the interaction of active ingredients, such as ketoconazole (KA) and arbutin (AR), used in some cosmetic products with calf thymus DNA (dsDNA) was investigated using voltammetric methods. The interactions (KA-dsDNA) and (AR-dsDNA) were examined in a solution media with two physiological pH values (acetate buffer pH 4.8 and phosphate buffer pH 7.4) by using the oxidation peaks of arbutin and ketoconazole. While the oxidation peaks of KA and AR were observed at approximately 0.70 V at pH 4.8, at pH 7.4, the oxidation peak for KA was at 0.70 V, and for AR, it was at 0.60 V. The parameters affecting the interaction of substances with dsDNA (dsDNA concentration, interaction time, salt effect, and temperature effect) were optimized using differential pulse voltammetry. Under optimal dsDNA concentration and interaction time conditions, the binding constant and Gibbs free energy (ΔG°) of KA-dsDNA and AR-dsDNA interaction were determined at pH 4.8 and pH 7.4. Thermodynamic parameters, including enthalpy change (ΔH°) and entropy change (ΔS°), were calculated using the Van't Hoff equation to understand the interactions of these substances with DNA. Additionally, diffusion coefficient (D), heterogeneous rate constant (k_s), and electrode surface concentration (Γ) were determined using cyclic voltammetry before and after the interaction.

December 2023, 67 pages

Key Words: Arbutin, ketoconazole, calf thymus DNA interaction, voltammetry, pencil graphite electrode, cosmetic products

TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans tamamlamak için fırsat veren ANKARA ÜNİVERSİTESİ' ne, Yüksek lisans sürecinde ve konu seçiminde bana yön veren, her aşamasında öneri ve sabırla karşılaşan danışman hocam Prof. Dr. Zehra YAZAN' a, tüm deneylerin çalışmasında, her ihtiyaç duyduklarımda ve bana daima destek veren çok değerli hocam Doç. Dr. Dilek ESKİKÖY BAYRAKTEPE' ye ve Ceren YILDIZ' a, laboratuvarda huzurlu ortam sağlayan ve bilgi veya yardım esirgenmeyen tüm değerli arkadaşlarıma teşekkür etmek isterim.

Her zaman yanımda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana güven, güç ve enerji veren sevgili aileme sonsuz teşekkür ediyorum.

Maryam Mohanad Mahdı MAHDI
Ankara, Aralık 2023

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI
ETİK ..... **i**
ÖZET ..... **ii**
ABSTRACT ..... **iii**
TEŞEKKÜR ..... **iv**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
2. KURAMSAL TEMELLER **3**
2.1 Kozmetik Ürünler **3**
2.1.1 Ketokonazol **3**
2.1.2 Arbutin **4**
2.2 Voltametrik Yöntemler **5**
2.2.1 Dönüşümlü voltametri (DV) **6**
2.2.2 Diferansiyel puls voltamterisi (DPV) **12**
2.3 Madde-DNA Etkileşimi **14**
2.3.1 DNA'nın yapısı **14**
2.3.2 İlaç-DNA etkileşiminin önemi **17**
2.3.3 İlaç-DNA etkileşiminin voltametrik yöntemlerle incelenmesi **20**
2.4 Kaynak Araştırması **22**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **26**
3.1 Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar **26**
3.2 Tez Çalışmasında Kullanılan Elektrokimyasal Cihazlar **26**
3.3 Tez Çalışmasında Hazırlanan Çözeltiler **30**
3.3.1 Ketokonazol çözeltisinin hazırlanması **30**
3.3.2 Arbutin çözeltisinin hazırlanması **30**
3.3.3 0,10 M HCl çözeltisinin hazırlanması **30**
3.3.4 0,10 M NaOH çözeltisinin hazırlanması **30**
3.3.5 0,04 M Britton-Robinson tamponu çözeltisinin hazırlanması **30**
3.3.6 0,05 M fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması **31**
3.3.7 1,0 M asetat tampon çözeltisinin hazırlanması **31**
3.3.8 Stok ds-DNA çözeltisinin hazırlanması **31**
3.4 Voltametrik Çalışmalar **31**
3.4.1 pH çalışması **32**
3.4.2 İlaç-dsDNA etkileşiminin Diferansiyel puls voltametri tekniği ile incelemesi **32**
3.4.3 Etkileşim süresi **32**
3.4.4 Tuz etkisi **32**
3.4.5 Sıcaklık etkisi **33**
4. BULGULAR VE TARTIŞMA **34**
4.1 Ketokonazol-dsDNA Etkileşimi ile Yapılan Voltametrik Çalışmalar **34**
4.1.1 Destek elektrolit ve pH etkisi **34**
4.1.2 Tarama hızı çalışması **36**
4.1.3 KA-dsDNA etkileşiminin DPV incelenmesi **38**

4.1.4 Etkileşim süresi 40
4.1.5 Tuz etkisi 40
4.1.6 Sıcaklık etkisi 42
4.1.7 DV ile elde edilen bulgular 43
4.2 Arbutin-dsDNA Etkileşimi ile Yapılan Voltametrik Çalışmalar 45
4.2.1 Destek elektrolit ve pH etkisi 45
4.2.2 Tarama hızı çalışması 48
4.2.3 AR-dsDNA etkileşiminin DPV incelenmesi 49
4.2.4 Etkileşim süresi 51
4.2.5 Tuz etkisi 51
4.2.6 Sıcaklık etkisi 53
4.2.7 DV ile elde edilen bulgular 55
5. SONUÇ 57
KAYNAKLAR 61
ÖZGEÇMİŞ 67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

E	Potansiyel
E_a	Anodik pik potansiyeli
E_k	Katodik pik potansiyeli
ΔE_p	Anodik ve katodik pik potansiyelleri farkı
İ	Akım
i_a	Anodik pik akımı
i_k	Katodik pik akımı
µA	mikroamper

Kısaltmalar

ABS	Asetat tampon çözeltisi
AR	Arbutin
DsDNA	Çift sarmal deoksiribonükleik asit
DV	Dönüşümlü voltametri
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
KA	Ketokonazol
KGE	Kalem grafit elektrot
PBS	Fosfat tampon çözeltisi

UV-görünür bölge: Ultraviyole-görünür bölge

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 KA' nın kimyasal yapısı 3

Şekil 2.2 AR' nin kimyasal yapısı 4

Şekil 2.3 Voltametrik tekniklerde uyarma sinyalleri 6

Şekil 2.4 İleri ve geri taramada gerçekleşen reaksiyonlar..... 7

Şekil 2.5 Dönüşümlü voltametrede: a) hızlı tarama, b) yavaş tarama eğrileri 8

Şekil 2.6 Tersinir sistemlerde DV'de kullanılan parametreler: Pik akımı i_a,i_k, pik potansiyeli E_a,E_k 9

Şekil 2.7 Potansiyel tarama hızı ile voltamogramların değişimi..... 9

Şekil 2.8 Tersinmez sistemlerde potansiyel tarama hızı kaybedilen voltamgram a) 0,13 Vs-1, b) 1,3 Vs-1, c) 4,0 Vs-1, d) 13,0 Vs-1..... 11

Şekil 2.9 Potansiyel taraması üzerine bindirilen pulsların a) diferansiyel puls dalganın oluşum şekli b) akımın- potansiyel voltammogram (Brett ve Brett, 1994). 12

Şekil 2.10 Grafit yapısı (Brad vd., 2009)..... 14

Şekil 2.11 DNA'nın eşleşen baz çiftleri..... 15

Şekil 2.12 DNA'nın nükleotit birimlerinin şeker ve fosfot di-ester bağlaması (Minchin ve Lodge 2019) 16

Şekil 2.13 Baz çiftlerinin majör ve minör oluk bağlanma alanı 17

Şekil 2.14 DNA'ya kovalent ve kovalent olmayan bağlanma modları (Ramotowska Vd., 2021) 18

Şekil 2.15 Üç boyutlu yapında triplatin Pt(II)-DNA kompleksi 18

Şekil 2.16 Actinomycin DNA'nın interkalasyonu 19

Şekil 2.17 Üç boyutlu yapında Esperamicin A1-DNA kompleksi..... 19

Şekil 2.18 İlaç-DNA etkileşimi voltametrik yöntemlerle incelenmesi a) elektrot yüzeyinde, b) çözeltinin içinde 20

Şekil 3.1 CHI 760B elektrokimyasal analiz cihazı 27

Şekil 3.2 Üç elektrotlu sistem ile BAS C3 çalışma ünitesi..... 27

Şekil 3.3 Deneylerde kullanılan kalem grafit uçları..... 28

Şekil 3.4 Deneylerde kullanılan a) BASi marka Ag/AgCl (3,0 M NaCl) referans elektrotu b) BASi MW1032 marka (platin tel) karşıt elektrot 28

Şekil 3.5 Deneylerde kullanılan a) pH metre ve b) hassas terazi cihazları 29

Şekil 3.6 Deneylerde kullanılan a) ultrasonik banyo ve b) karıştırıcı cihaz 29

Şekil 3.7 Sıcaklık etkisi için hazırlanan hücre 33

Şekil 4.1 $1,0 \times 10^{-5}$ M KA' nın BR tampon ortamında farklı pH'larda DV voltamogramları (ν: 0,1 V/s) İç grafikler: a) i_p - pH ve b) E_p - pH grafiği 35

Şekil 4.2 $1,0 \times 10^{-5}$ M KA' nın elektrokimyasal yükseltgenmesine elektrolitlerin etkisi 35

Şekil 4.3 $1,0 \times 10^{-5}$ M KA'nın pH çalışmalarında kaydedilen dönüşümlü voltamgramları, a) Fosfat tamponu, b) Asetat tamponu 36

Şekil 4.4 $1,0 \times 10^{-5}$ M KA'nın DV yöntemi ile farklı tarama hızlarında elde edilen voltamogramları iç grafikler, a) i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}$, b) log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$ (pH 4,8) 37

Şekil 4.5 $1,0 \times 10^{-5}$ M KA'nın DV yöntemi ile farklı tarama hızlarında elde edilen voltamogramları iç grafikler, a) i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}$, b) log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$ (pH 7,4) 37

Şekil 4.6 $1,0 \times 10^{-5}$ M KA'nın DPV ait sinyaline artan dsDNA derişimin etkisi (içindeki grafik: C_{DNA} – 39

Şekil 4.7 KA-dsDNA etkileşimin farklı sürelerde elde edilen i_p- etkileşim süre grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4 40

Şekil 4.8 KA'nın dsDNA içerdiği ortamın C_{NaCl} ile i_{pKA} grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4 41

Şekil 4.9 (log $İ_{KA\text{-}dsDNA}/İ_{KA}\text{-}İ_{KA\text{-}dsDNA}$) ile log (1/[dsDNA]) grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4 42

Şekil 4.10 (LnK - 1/T) grafikleri, a) ABS pH 4,8, b) PBS pH 7,4 43

Şekil 4.11 $5,0 \times 10^{-4}$ M AR' nin BR tampon ortamında farklı pH'larda DV voltamogramları (ν: 0,1 V/s) İç grafikler: a) i_p - pH ve b) *Ep* - pH grafiği 46

Şekil 4.12 $5,0 \times 10^{-4}$ M AR' in elektrokimyasal yükseltgenmesine elektrolit etkisi 47

Şekil 4.13 $5,0 \times 10^{-4}$ M AR'nin pH çalışmalarında kaydedilen dönüşümlü voltamgramları a) asetat tamponu, b) fosfat tamponu 47

Şekil 4.14 $5,0 \times 10^{-4}$ M AR'nin DV yöntemi ile farklı tarama hızlarında elde edilen voltamgramları iç grafikler, a) i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}$, b) log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$, pH 4,8 48

Şekil 4.15 $5,0 \times 10^{-4}$ M AR'nin DV yöntemi ile farklı tarama hızlarında elde edilen Voltamgramları iç grafikler, a) i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}$, b) log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$, pH 7,4 48

Şekil 4.16 AR' nin DPV ait sinyaline artan dsDNA derişimin etkisi (içindeki grafik: C_{DNA} – i_{pAR}), a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4 50

Şekil 4.17 AR-dsDNA etkileşimine ait farklı sürelerde elde edilen i_p - etkileşim süre grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4 51

Şekil 4.18 AR'nin dsDNA içerdiği ortamın C_{NaCl} ile i_{pAR} grafikleri, a) ABS pH 4,8
b) PBS pH 7,4 52

Şekil 4.19 (log $İ_{AR\text{-}dsDNA}/İ_{AR}\text{-}İ_{AR\text{-}dsDNA}$) ile log (1/[dsDNA]) grafikleri, a) ABS pH 4,8
b) PBS pH 7,4 53

Şekil 4.20 (LnK - 1/T) grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4..... 54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler 26

Çizelge 4.1 KA-dsDNA kompleksinin bağlanma sabitleri ve termodinamik parametreleri 43

Çizelge 4.2 serbest KA' nın ve KA-dsDNA kompleksinin hesaplandığı difüzyon katsayısı (D), heterojen hız sabiti (k_s) ve elektrot yüzeyin derişimi (Γ) 45

Çizelge 4.3 AR-dsDNA kompleksinin bağlanma sabitleri ve termodinamik parametreleri 54

Çizelge 4.4 AR' nin ve AR-dsDNA kompleksinin hesaplandığı difüzyon katsayısı (D), heterojen hız sabiti (k_s) ve elektrot yüzeyin derişimi (Γ) 56

1. GİRİŞ

Kozmetik ürünler uzun zamandır genç görünmek, güzelleşmek, güneşten veya soğuk hava şartlarından korunmak için kullanılmaktadır. Kişisel bakıma giren bu preparatlar saça, kıllara, tırnaklara veya dişlere ve ağıza uygulanmaktadır. Güzel koku vermek, görünümü değiştirmek, kendini iyi hissetmek veya temizlenmek amacıyla hazırlanan çeşitli preparatlar; losyonlar, kremler, merhemler olarak kullanılmaktadır. Bu klasik kozmetik ürünlerini halen inceleyen ve geliştiren bilim alanı kozmetoljidir.

Kozmesötikler son yıllarda klasik kozmetik ürünlerine tedavi edici maddeler eklenerek yeni grup preparatlardır. Kozmetik ürünler ile ilaç arasındaki bu tip preparatlar deri fonksiyon ve yapısın üzerine çalıştığı için fonksiyonel kozmetikler veya aktif kozmetikler olarak isimlendirilmeleri önerilmiştir (Sencan vd., 2008; Çomoğlu, 2012).

Kozmetik endüstrisi, ekonomik krizlerden etkilenmeyen ülke ekonomisinde önemli bir paya sahip endüstri dalıdır. Kozmetik ürünlerin yaygın kullanmasıyla içeriğinde bulunan kimyasallara maruz kalma süresi daha da uzamaktadır. Kozmetikler derinin dış tabakasına uygulanmaktadır, ancak içindeki kimyasallar derinin bariyeri geçecek şekilde sistemik dolaşımı etkileyebilmektedir. Ayrıca kişisel bakım ürünlerini kullanırken ağız yoluyla alımı veya solunum yolu ile sistemik olarak etkilenme görülebilmektedir (Aksu Aarıca vd., 2017; Yaşar ve Akdeniz, 2020).

Kozmetik endüstrisinde yaygın olarak kullanılan dermokozmetik şampuanlar ve cildin rengini açmada kullanılan kremler etken maddelerin ve içerikleri biyo-uyumlu tasarlanması ve geliştirmesi için DNA ile etkileşimlerinin araştırılması önemli olmaktadır.

İlaç-dsDNA etkileşimi, çeşitli yöntemlerde incelenmektedir. Bu amaçla kullanılan bazı teknikler UV-görünür spektroskopisi, floresan spektroskopisi ve voltametrik yöntemler olarak teknikler ayrılabilir. Spektroskopik teknikler küçük moleküller zayıf absorpsiyon bantları veya elektronik geçişlerinin dsDNA molekülü örtüşmesi, cihazların maliyetini

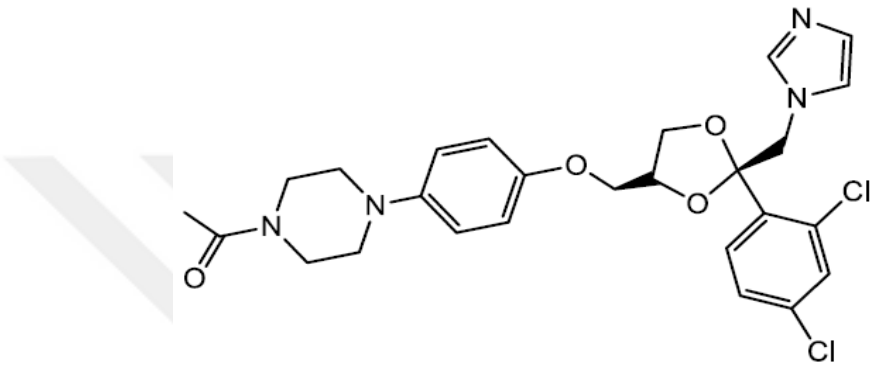
yüksek olması, uzun deneysel prosedürleri olması gibi dezavantajlara sahiptir. Buna karşın, voltametrik yöntemlerle madde-dsDNA etkileşimini incelemek için kullanılan cihazların ucuz, hızlı, basit ve düşük derişimlerde analiz imkân sağlanması gibi avantajlara sahiptir (Sirajuddin vd. 2013, Ramotowska vd., 2021).

Bu tez kapsamında, günlük yaşamamızda sıklıkla kullanılan kozmetik ürünlerde bulunan etkin maddelerden arbutin (AR) ve ketokonazol (KA) 'nın dsDNA ile etkileşimi, çözelti ortamında kalem grafit elektrot yüzeyinde iki farklı tampon ortamında (pH:4.8 ve pH: 7.4) söz konusu etken maddelerin yükseltgenme piklerinden yola çıkarak diferansiyel puls voltametri (DPV) ve dönüşümlü voltametri (DV) ile incelenmiştir. Her iki molekülün dsDNA etkileşimi, dsDNA ortamda iken ve yok iken bağlanma sabiti, tuz etkisi, etkileşim süresi ve çeşitli kinetik (heterojen hız sabiti ve difüzyon katsayısı) ve termodinamik parametreleri ($\Delta G°$, $\Delta S°$, $\Delta H°$) incelenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Kozmetik Ürünler

2.1.1 Ketokonazol



Şekil 2.1 KA' nın kimyasal yapısı

Sistematik (IUPAC) isimlendirmesi: 1-[4-[4-[[(2R,4S)-2-(2,4-diklorofenil)-2-(imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioksolan-4-il]metoksi]fenil]piperazin-1-il]etanon

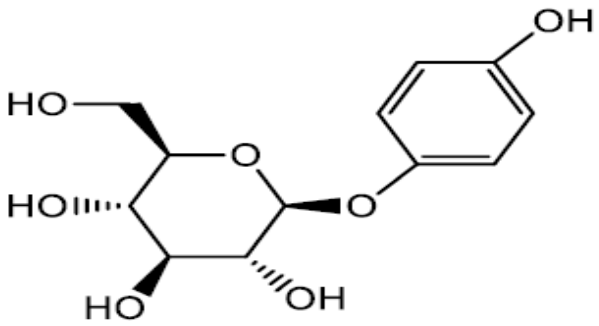
Molekül Formülü: $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$

Molekül Kütlesi: 531,434 g/mol

Medikal şampuanların, derideki yağı ve kepeği uzaklaştırmanın yanı sıra, antibakteriyel ve antifungal etkileri de vardır. Düşük toksisite uygulamasının çok yönlü olması nedeniyle son yıllarda tedavi edici maddelere eklenmiştir. Derideki kepeklere karşı ketokonazol, katran, salisilik asit ilave edilmiş çeşitli medikal şampuanlar tedavi amacıyla uzun süre kullanılabilir (Shamsipur ve Farhadi, 2000; Selçuki, 2002). Hem topikal hem de sistemik etkisi olan ketokonazol, çeşitli kozmetik ürünlerde antifungal etken madde olarak uygulanmaktadır. Ketokonazol içeren şampuanlar saç yağlanmasında, kepeğin yeniden oluşmamasında, saç dokusunun pürüzsüzleştirilmesinde daha iyi sonuç vermiştir

(Uzuner, 2002; Gökçay, 2007). Ketokonazol sentetik bir piperazindir ve imidazol ailesine aittir. Düşük toksisitesine ve diğer mantar önleyici ilaçlara göre birçok avantajına rağmen sitokrom inhibisyonu, adrenal steroidlerin inhibisyonu ve insan vücudunda testosteron hormonu ve kortizol üretiminin baskılanması gibi yan etkileri vardır. Ketokonazol gibi birçok biyoaktif maddeler, ilaçlar ve küçük moleküller DNA ile etkileşebilmektedir (Łukasiewicz vd. 2011; Alshalalfeh vd., 2016).

2.1.2 Arbutin



Şekil 2.2 AR' nin kimyasal yapısı

Sistematik (IUPAC) isimlendirmesi: 2-(hidroksimetil)-6-(4-hidroksifenoksi)okzan-3,4,5-triol

Molekül Formülü: $C_{12}H_{16}O_7$

Molekül Kütlesi: 272,25 g/mol

Cilt beyazlatıcı kozmetikler, güneş lekeleri gibi pigmentasyon lekelerinin düzeltilmesini sağlayan kozmetik endüstrisinde büyük bir önem sahip olan kozmetiklerdir (Aydar, 2019). Kortikosteroidler, tretinoin ve hidrokinon gibi beyazlatıcı ajanlar, kozmetik olarak kullandıklarında çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. Alternatif olarak arbutin ve türevleri kojik asit ve nikotinamid gibi kimyasallar kozmetik amaçla daha yaygın olarak

kullanılmaktadır (Desmedt, vd., 2016). Arbutin, doğal tıbbi bitkilerde bulunan bir glikozittir. İdrar yolları enfeksiyonlarının tedavisi kullanılan arbutin, aynı zamanda cilt kanseri tedavisi, yetişkinlerin cildinde görülen bazı rahatsızlıkların tedavisinde cilt beyazlatma keremler veya serumlar içinde kullanılmaktadır (Gökçe, 2016). Arbutin, tirozinin melanine transformasyon yardımıyla katalizleyen tirosinaz enziminin inhibisyonuyla melanin pigmenti üretiminin engellenmesi sağlar. Çok sayıda çalışmada arbutinin hidrokinon kadar etkili olduğu, ancak daha az toksik olduğu bildirilmektedir (Couteau, 2016; Libansky vd. 2011, Shih ve Zen, 2000).

2.2 Voltametrik Yöntemler

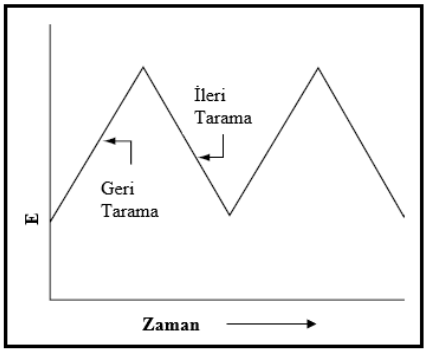
Voltametrik yöntemler çalışma elektroduna uygulanan potansiyeli indirgenme ve yükseltgenme olayları ve fiziksel değişlikleri inceleyen bir grup elektro analitik yöntemlere verilen isimdir. Elektrokimya, elektrokimyasal analizinde elektriksel miktarları (akım, potansiyel veya yük) ve kimyasal parametrelerle bağlantı kuran önemli bir bilim dalıdır. Akım- potansiyel ve derişim ilişkisini sağlayan voltametrik teknikler diğer tekniklere göre büyük avantaj sağlamaktadır (Wang, 2006; Tural vd., 2010).

Voltametrik tekniklerinde kullanılan maddeler az miktarda bile yeterli olup maddenin aynı anda çoklu analizi yapılabilmektedir. Bu tekniklerin sayesinde kimyasal tepkimelerin hızı, elektrodun üzerindeki adsorpsiyon olayları, difüzyon katsayılarının bulunması ve denge sabitlerinin tespiti gibi kantitatif ve kalitatif bilgiler edinilebilir. İnorganik veya organik maddelerin (iyon ve moleküler) türleri tayin edilebilmekle beraber bu türlerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi çalışma elektrodunun yüzeyinde mümkün olabilmektedir (Scholz, 2015). Polarografinin aslında voltametrik yöntemlerinin bir sınıfı olduğunu belirlenmiştir. Voltametri keşfedildikten sonra özel bir tipi olan polarografi ismiyle cıva elektrot kullanılarak yeni bir yöntem geliştirildi. Oksijen dalgaları ve potansiyel aralığı başta olmak üzere cıva elektrodun önemli sorunlar bulunmaktadır. Ayrıca cıva elektrodun elektro aktif maddelerin indirgenme olaylarının incelenmesi açısında bir üstünlüğü vardır. Ancak anodik bölgesi (daha pozitif potansiyeller) çalışılamadığı için katı elektrotlar yükseltgenme olaylarında daha rahat

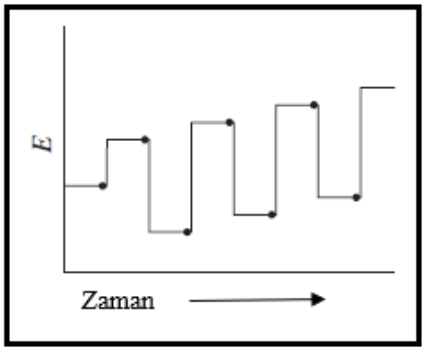
kullanılabilir. Bu sebeple polarografik prensibine (*i-E* eğrisi) dayanarak katı elektrotlarla çalışılabileceği söylenmiştir (Bard ve Faulkner, 2001; Beşergil, 2015).

Bu tez çalışmada kullanılan voltametrik tekniklerinin dalga şekli ve tekniğin isimleri şekil 2.3' de verilmiştir.

a) Üçgen Dönüşümlü voltametri



b) Diferansiyel puls diferansiyel puls voltametri



Şekil 2.3 Voltametrik tekniklerde uyarma sinyalleri

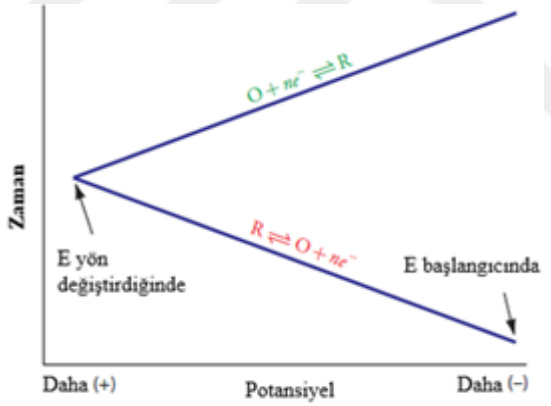
Uyarma sinyalleri kullanılan bu teknikler, elektrokimyasalda çeşitli amaçlarla kullanıp kolaylığı, ucuzluğu ve duyarlılığı açısından oldukça zengin tekniklerdir. Aşağıdaki önemli tekniklerin tanımı, elektrokimyada ki uygulamaları kısaca anlatmaktadır.

2.2.1 Dönüşümlü voltametri (DV)

Elektrot yüzeyinde elektron transferini incelemek için gerçekleşen difüzyon veya adsorpsiyon olayları dönüşümlü voltametri ile yapılmaktadır. Organik maddelerin yükseltgenme ve indirgenme basamakları ve mekanizmaları veya inorganik ligand oluşturması dönüşümlü voltametrik yöntemiyle incelenebilmektedir. Dönüşümlü

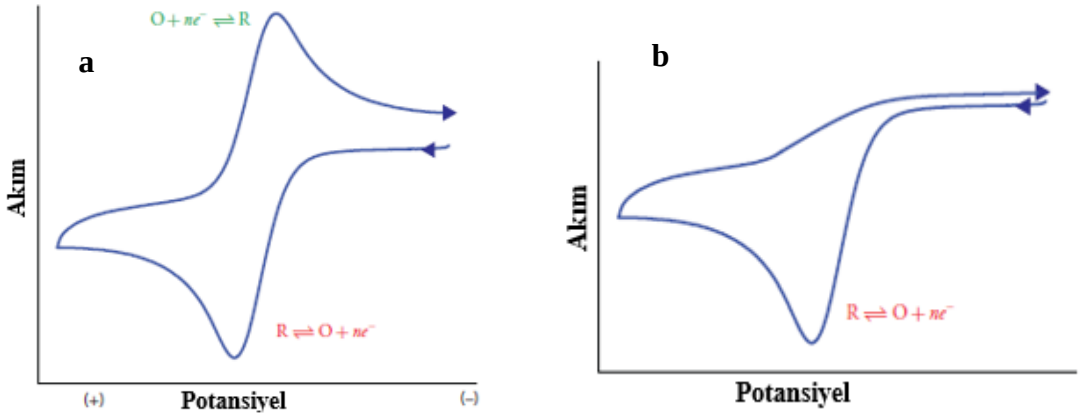
voltametri kullanılırken redoks işlemlerinin termodinamiği, heterojen elektron transfer reaksiyonunun kinetiği veya adsorpsiyon olayları hızlı ve çok önemli detayları verebilmektedir (Mabbat, 1983; Wang, 2006).

Diğer voltametri yöntemlerinde analizi yaparken, potansiyeli tek yönüyle çalışırken (pozitif potansiyel veya negatif potansiyel), dönüşümlü voltametride iki yönüyle bir döngü ile üçgen dalga şeklindedir. Tarama prosesinde potansiyel E_1'den E_2'ye belirli bir hızla giderse ters yönünde potansiyeli çevirip aynı hızla E_1 yine döner. Voltamogramları ise, yükseltgenme veya indirgenme olayları, potansiyel piki ve akım piki ile belirlenir. İleri taramada indirgenme olayı gerçekleşirken geri taramada yükseltgenme olayı ile tamamlar (Şekil 2.4). Akım potansiyeli eğrileri indirgenme ve yükseltgenme olayları karşı gelen katodik ve anodik akım pikleri elde edilir (Kissinger ve Heinemen, 1983; Tural vd., 2010).



Şekil 2.4 İleri ve geri taramada gerçekleşen reaksiyonlar

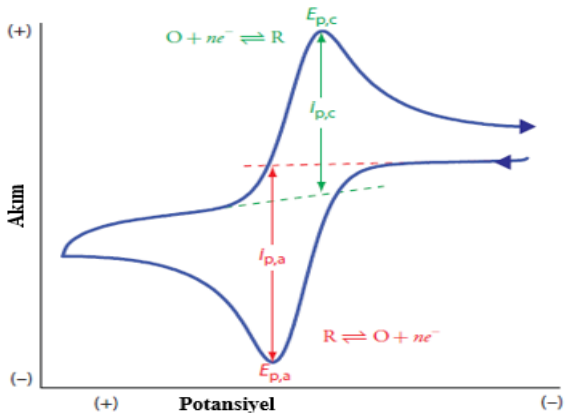
Potansiyeli her iki yönde tarayınca elektrotta üretilen türlerin elektrokimyasal davranışlarını keşfetme fırsatı verir. Hızlı taramalarda gözlenen pik yavaş taramalarda kaybolur (Şekil 2.5.a, b). Bunun sebebi elektro aktif olmayan türlerin yavaş taramalarda yeterli vakti bulup reaksiyona dahil olmasıdır (Harvey, 2000).



Şekil 2.5 Dönüşümlü voltametrede: a) hızlı tarama, b) yavaş tarama eğrileri

Tersinir- tersinmez olayları: Elektrokimyasal deneylerde takip edilebilmesi gereken en önemli faktör, kütle aktarım yollarıdır. Konveksiyon veya migrasyon gerçekleşse bile difüzyonla kıyaslandığında göz ardı edilebilir. Bu sebeple elektrokimyasal sistemlerde redoks türlerinin teorik olarak difüzyon katsayısını bulmak önemli bir rol oynar (Koski, 2007). Dönüşümlü voltametri teknik kullanarak, reaksiyon tersinir olup olmadığı, difüzyon katsayısı ve elektrot yüzey derişimi hesaplanabilmektedir.

Tersinir sistemler: DV'deki tersinir sistemlerde (Şekil 2.6), tarama başlarken yükseltgenmiş şekli O negatif potansiyele ilerlediği zaman indirgenme olayı başlar ve R şekli oluşur, katodik akım artmış olacaktır. Bu halde elektrot yüzeyindeki O derişimi çözeltideki değerine göre daha az görünecektir. Potansiyeli ters yöne gittiğinde oluştuğu R şekli yine yükseltgenir ve bu sefer anodik pikinde bir artış göstermektedir. İleri taramada olduğu gibi bu halde R derişimi azalacaktır.



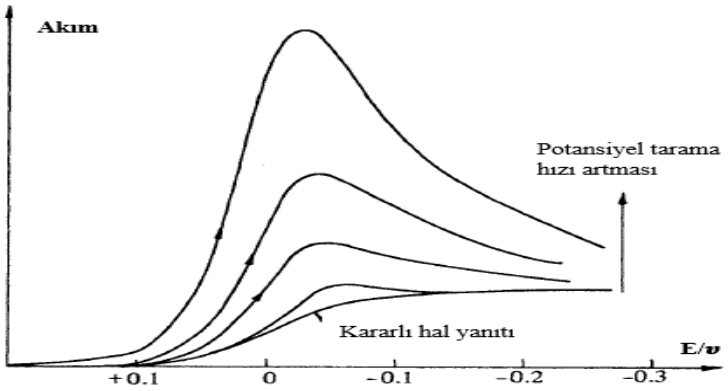
Şekil 2.6 Tersinir sistemlerde DV'de kullanılan parametreler: Pik akımı i_a,i_k, pik potansiyeli E_a,E_k

Derişim ile pik akımının ilişkisi Randles-Sevcik eşitliği, tersinir tepkimeler için verilebilir (Eşitlik 2.1) (Bard ve Faulkner, 2001).

$$İp = 2,69 \times 10^5 \; n^{3/2} \, A \, D^{1/2} \, C \, \upsilon^{1/2} \qquad 2.1$$

n: aktarılan elektron sayısı, A elektrot alanı (cm^2), C : derişim (mol/Cm^3), D: difüzyon katsayısı cm^2/s, $\boldsymbol{\upsilon}$: potansiyel tarama hızı V/s.

Potansiyel yavaş tarama hızlarında *i-E* eğrileri birlikte artışı gözlenmektedir (Şekil 2.7). Ama daha hızlı taramalarda belli bir potansiyele ulaşınca, akım ile potansiyelden bağımsız bir duruma gelir (Nicholson ve Shain, 1965).



Şekil 2.7 Potansiyel tarama hızı ile voltamogramların değişimi (Yılmaz, 2016).

Tersinir olaylarda Katodik ve anodik piklerin yükseklikleri birbirine neredeyse eşittir. Pik potansiyeli arasında farkı aşağıdaki Eşitlikle hesaplanır:

$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pk} = 59/n$ mV

Pik potansiyel ayırım değeri heterojen hız sabitini ile elektron aktarım sürecine bağlı olarak Ficin'in ikinci kanunu pik akımını hesaplamada kullanılır. Tarama hızları artırıldığı zaman potansiyel pik ayırım değeri artarken, heterojen elektron transfer sabiti azalır (Kissinger, 1996; Chu vd., 1998; Skooj vd., 2013)

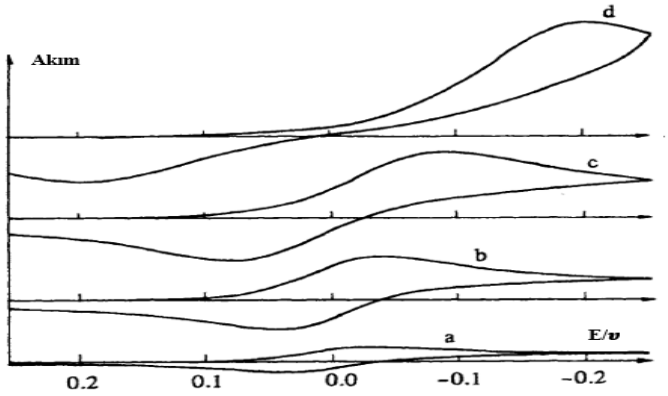
Tersinmez sistemler: Tersinmez reaksiyonlar elektro aktif maddenin indirgenebileceği veya yükseltgenebileceği reaksiyonlardır. Tersinir sistemlerde elektron transferi büyük olurken redoks sistemlerde olduğu gibi Nernest eşitliğine uymaktadır. Bu durumda elektron transfer hızı kütle transfer hızından daha büyük olacaktır. Ancak tersinmez sistemlerde elektrottaki elektron transferi yeterince büyük olmayınca Nernest eşitliğine uyarlanamayacaktır. Tersinmez bir elektrot reaksiyon pik akımı 25°C'de aşağıdaki (Eşitlik 2.2) verilmektedir:

$$İp = 2.99 \times 10^5 \, n \, (\alpha_c n_\alpha)^{1/2} \, ACoDo^{1/2} \upsilon^{1/2} \qquad 2.2$$

α; elektron transfer katsayısı, n; aktarılan elektron sayısı, A; elektrot alanı (cm^2), C; derişim (mol/Cm^3), D; difüzyon katsayısı cm^2/s ve $\boldsymbol{\upsilon}$; potansiyel tarama hızı V/s.

Eşitlik 2.2'ye göre $i_p - \upsilon^{1/2}$ grafikleri yardımıyla tersinmez sistemlerde difüzyon katsayısı hesaplanır (Radi vd., 2014).

Potansiyel tarama hızının düşük olduğu durumda tersinir bir reaksiyon da elektron transfer aktarım hızı kütle aktarım hızından daha hızlı olmaktadır (Şekil 2.8). Ancak tarama hızları artıkça kütle aktarım hızını ve elektron aktarım hızı ile hemen hemen aynı olmaktadır. Bu durumda katodik ve anodik piklerin birbirine uzaklaştığı ve daha belirgin bir hale gelir (Greef, 1990).



Şekil 2.8 Tersinmez sistemlerde potansiyel tarama hızı kaybedilen voltamgram a) 0,13 Vs-1, b) 1,3 Vs-1, c) 4,0 Vs-1, d) 13,0 Vs-1

Tersinmez olaylarda tarama hızı artıkça potansiyelde negatif kaymalar olmaktadır. Ayrıca, dalga şeklindeki değişimin ölçümü için kullanılan $\left|\mathrm{Ep} - \mathrm{E}_{p/2}\right|$ kayması ise aşağıdaki eşitlik ile verilmektedir (Yılmaz, 2016).

$$\left|\mathrm{Ep} - \mathrm{E}_{p/2}\right| = \frac{48}{\alpha_c n_\alpha} \qquad 2.3$$

Eşitlik 2.3'e göre, dönüşümlü voltametriden elde edilen E_p potansiyellerindeki $\left|\mathrm{Ep} - \mathrm{E}_{p/2}\right|$ kaymalarından $\alpha_c n_\alpha$hesaplanabilir (Fotouhi vd. 2013).

Tersinmez reaksiyonlarda, heterojen hız sabiti Laviron eşitliği (Jiao vd., 2005) ile hesaplanabilir:

$$Ep = E° - \frac{\mathrm{RT}}{\alpha n F}\left[ln\left(\frac{RTk_s}{\alpha n F}\right) + \left(\frac{RT}{\alpha n F}\right) lnv\right] \qquad 2.4$$

E_p; pik potansiyeli, E^o; standart hücre redoks potansiyeli, α ; elektron transfer katsayısı, n; aktarılan elektron sayısı, k_s ; heterojen hız sabiti, R; gaz sabiti, υ; tarama hızı ve T; mutlak sıcaklık.

Adsorpsiyon-difüzyon özelliklerin incelenmesi: Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak elektrot ara yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonun difüzyon kontrollü veya

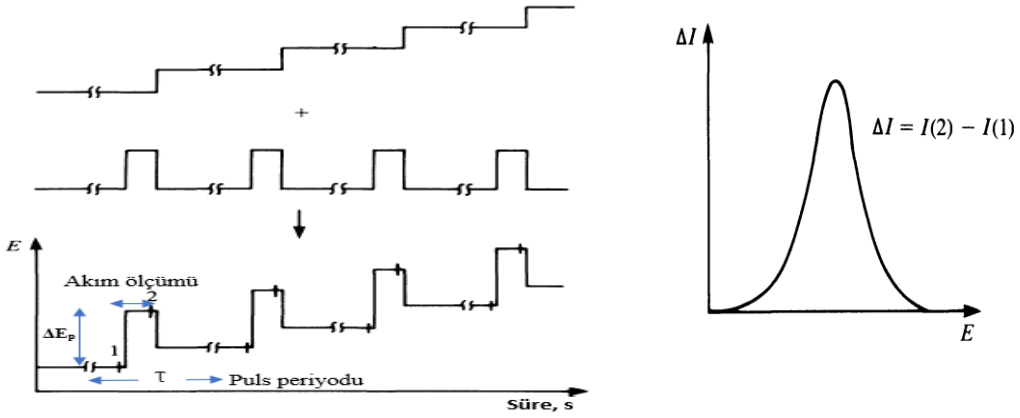
adsorpsiyon kontrollü proses olup olmadığı incelenebilir. Tarama hızları artırılarak elektrokimyasal reaksiyonun difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü prosesi ile yürüdüğü söylenebilir. Log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$ grafiği çizildiğinde doğrunun eğiminden elde eden değeri 1'e yakın ise adsorpsiyon kontrollü, 0.5 civarında ise reaksiyon difüzyon kontrollü proses olduğunu gösterir. Elektrot yüzeyinde maddenin yüzeyindeki derişimi Eşitlik 2.5'den hesaplanabilir (Yılmaz, 2016):

$$\text{İp} = \frac{\text{n}^2\text{F}^2}{4RT}\ \upsilon A\Gamma \qquad 2.5$$

Eşitlik 2.5'e göre, n; aktarılan elektron sayısı, F; Faraday sabiti, A; elektrot yüzey alanı (cm^2), Γ; elektrot yüzey derişim (mol cm^{-1}), $\boldsymbol{\upsilon}$; potansiyel tarama hızı, R; gaz sabiti ve T; mutlak sıcaklık.

2.2.2 Diferansiyel puls voltamterisi (DPV)

DPV yönteminde doğrusal bir şekilde artan potansiyel üzerine pulslar uygulanır ve her pulsun öncesinde ve sonrasında iki kez akım kaydedilir (Brad vd., 2009). İki noktada oluşan akım farkı, uygulanan potansiyele karşı voltamogramı grafiği elde edilir (Şekil 2.9). Yöntemin hassasiyeti bu iki noktadan ölçülmekle olan faradayik akım ile kapasitif akım i_f/i_k oranı büyük olduğu için kapasitif akım elenmiş olacaktır. Bu sebeple Voltametrik tekniklerden en hassas olan yöntemlerden biridir (Brad vd. 2009; Scholz, 2015)



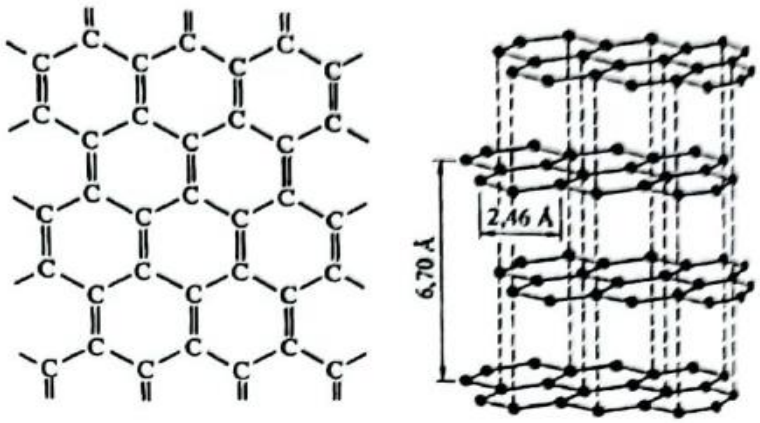
Şekil 2.9 Potansiyel taraması üzerine bindirilen pulsların a) diferansiyel puls dalganın oluşum şekli b) akımın- potansiyel voltammogram (Brett ve Brett, 1994).

Voltametride kullanılan Katı elektrotlar: Elektrokimyasal reaksiyonlar elektrot yüzeyi üzerinde gerçekleşir. Bu kapsamda elektrotların geniş potansiyel aralığı ve iletkenliği sayesinde elektro analitik tayininde önemli rol oynar. Katı elektrodun yüzey modifikasyonu kaplanarak hassasiyeti ve tekrarlanabirliği artabilmektedir. Ancak aynı elektrotların devamlı kullanmasıyla elektro aktif maddelerin elektrot yüzeyinde oluşturduğu birikmeden dolayı yüzey kirlenmesi olur ve buna bağlı tekrarlanabirliğini azalır (Tural, 2010). Bir elektrodun iyi bir katı elektrot olması için bazı özeliklere sahip olması gerekir: elektriksel iletkenliği, elektrokimyasal kararlılığı, çok çeşitli redoks sistemleri için hızlı elektron transferi ve elektriksel yenilenebilmesi için işlev görmesi gerekmektedir. Katı elektrotlardan bilinen karbon elektrotlar, düşük maliyeti, kimyasal inertliği ve geniş potansiyeli aralığı olduğu için elektro analitik uygulamalarda çeşitli karbon elektrotların formaları ile yüzey modifikasyon yöntemleri kullanılmaktadır (Mccreery, 1991; Zoski, 2007). Bu elektrotlardan biri; kalem grafit elektrottur (KGE), kolay bulunabilirliği ve tek kullanımlık olabilmesi nedeniyle elektrokimyasal deneylerinde çok kullanılmaktadır.

Çalışma elektrodu olarak kalem grafit uçları: Karbon elektrotları elektrokimyasal uygulamalarda birçok avantaj sağladığı için daha yaygın kullanılmaktadır. Camsı karbon ve karbon pasta elektrotların pahalılığı ve zor temizliğine karşın daha ucuz ve tek kullanımlık kalem grafit elektrotlar daha yaygın kullanılmaya başladı (Wang, 2001, Masawat, 2002). Grafit elektrot düşük maliyetli olmasından dolayı analiz maliyetlerini düşürmekle ekonomik açıdan avantaj sağlamaktadır. Ucuz olan kalem grafit elektrodu üzerine temizlik veya modifikasyon yapılmadan kullanılabilmektedir.

Piyasada birçok çeşidi bulunan kurşun kalem uçlarının ana maddesi grafit olarak yer almaktadır. Çeşitli materyallerde ve boylardaki kalem grafit elektrotların yüzey ile büyük avantaj sağlamaktadır (Wang, 2000). 90'lardan beri el yapımı veya ticari olarak hazırlanmış kalem grafit uçları farklı voltametrik yöntemlerde kullanılmaktadır (Bond, 1997, Wang ve Kawde, 2001). Grafit gözenekli bir yapıya sahip olduğu için yüksek kapasiteye sahiptir. Bunun sebebi, Sp^2 karbon atomlarına sahip grafit elektrotlarının, düzlemsel tabakalar halindedir, üstteki ve alttaki tabaklar zayıf bir bağlantı kurup istiflenmiştir (Şekil 2.10). Grafit tabakalar üst üste dizildiğinden elektronlar içinde daha

hızlı bir şekilde hareket ederler ve bu şekilde iletkenliği daha iyi olur. Grafit elektrotların bu istiflenmenin yanı sıra diğer avantajı ise, analizlerin arasında temizleme ve ön hazırlık işi gerektirmez (Brad vd. 2009; Scholz, 2010).



Şekil 2.10 Grafit yapısı (Brad vd., 2009)

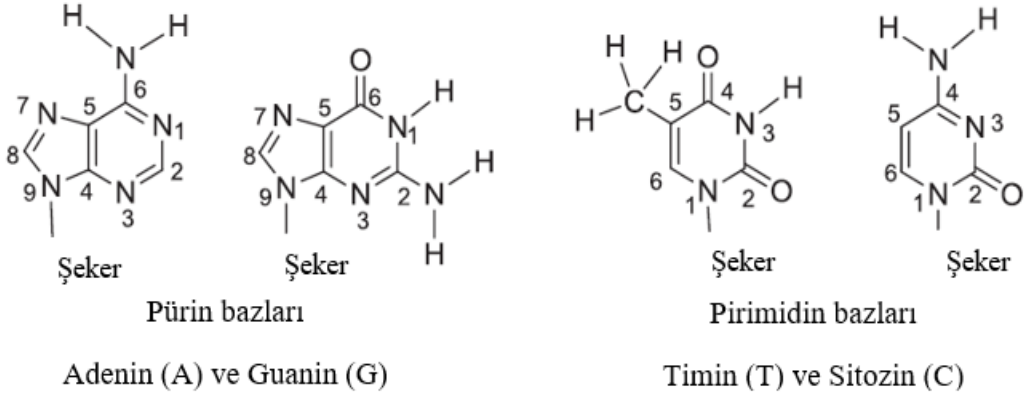
Kalem grafit iki önemli materyalden (grafit ve kil) yapılmış olup, oranları değiştirilerek kullanılan kalemin uçlarının sertliği ve siyahlığı kontrol edilebilmektedir. Kalem uçlarının B türleri (grafit oranı fazla) daha siyah olurken H türleri daha sert olma özeliği gösterir (Zoski, 2007; David, 2016).

Kalem grafit elektrotların kolay bulunması ve ön işlem gerektirmemesi biyo analitik amaçla kullanılması elektrokimyasal alanda birçok yenilik getirmiştir (Findik vd., 2021; Aslan vd., 2023)

2.3 Madde-DNA Etkileşimi

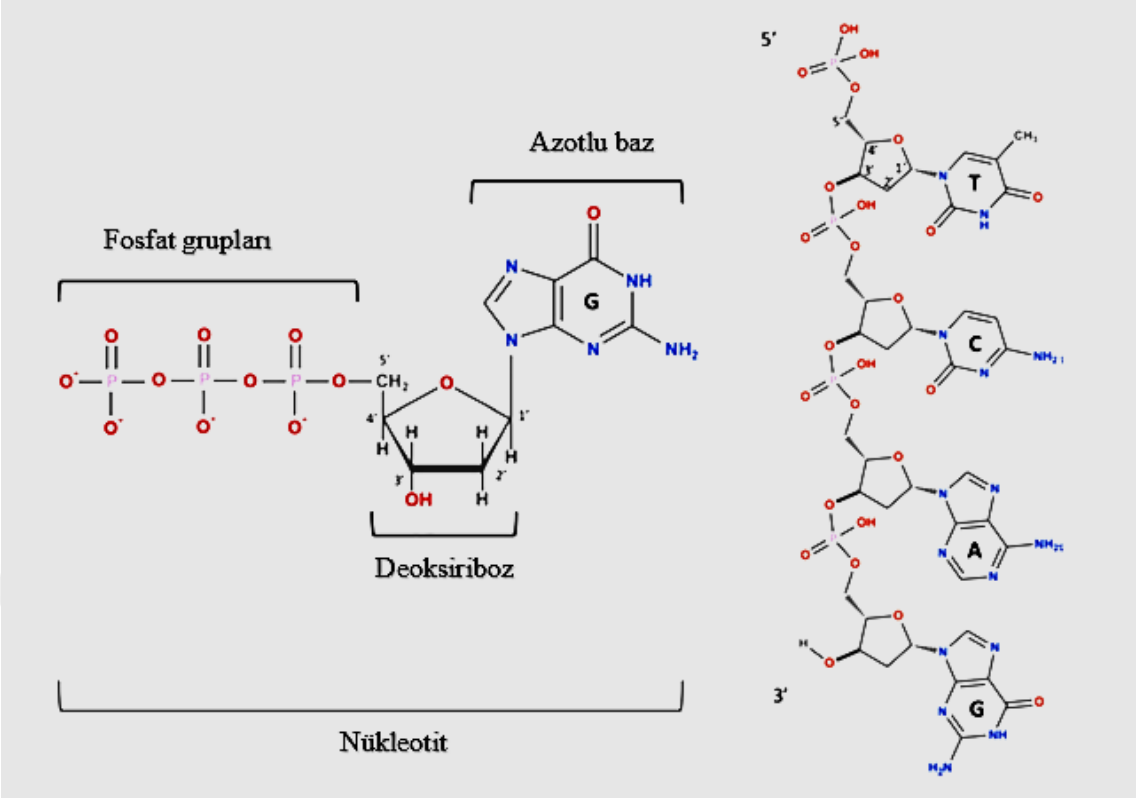
2.3.1 DNA'nın yapısı

DNA molekülün biyolojik sistemlerde enerji iletimi ve metabolik kofaktörleri sağlayan kimyasal bir polimerdir. Deoksiribonükleik asitlerin yapısında çift halkalı sahip olan organik pürin bazları, adenin (A) ve guanin (G), ve tak halkalı sahip olan organik pirimidin bazları olarak timin (T) ve sitozin (S veya C) (Şekil 2.11) (Saenger, 1984).



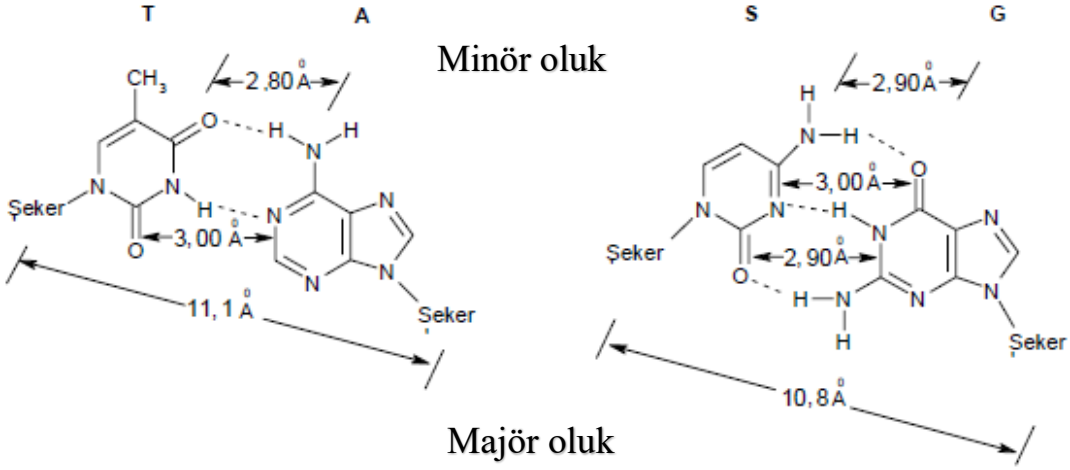
Şekil 2.11 DNA'nın eşleşen baz çiftleri

Pürin ve pirimidin azotlu bazlar ile deoksiriboz şekeri ve fosfat grubundan oluşan DNA molekülüne nükleotit adı verilmiştir (Şekil 2.12). DNA'nın sarılmış iki iplikten oluşan şeker ve fosfat grupları ester bağlarıyla uzun bir zincir teşekkül etmektedir. DNA iki ipliğindeki bulunan azotlu bazlar arasındaki hidrojen bağları yoluyla bağlanır ve tamamlayıcı işi görür: A ile T bağlanırken G ile C bağ oluşturur.



Şekil 2.12 DNA'nın nükleotit birimlerinin şeker ve fosfot di-ester bağlaması (Minchin ve Lodge 2019)

DNA'nın iki sarmalını ihtiva eden azotlu bazlar (pürin ve pirimidin) birbiriyle hidrojen bağları bağlanması neticesinde DNA zincirleri daha sağlam bir hale gelecektir. Bu baz çiftlerinin majör ve minör olukların oluşmasından ibarettir (Şekil 2.13). Majör oluk birden fazla etkileşim alanı sahiptir ve hacimli moleküllerle daha sağlam bir bağ oluşmaktadır. Buna karşın, minör oluk daha az etkileşim alanı sahiptir ve küçük moleküllerle bağ yapılmaktadır (Toptancı. vd., 2016).

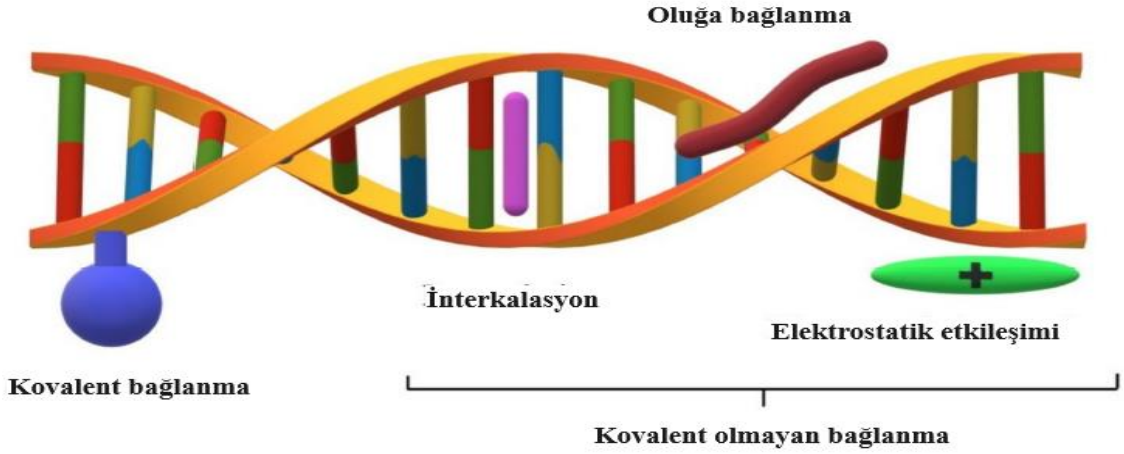


Şekil 2.13 Baz çiftlerinin majör ve minör oluk bağlanma alanı

2.3.2 İlaç-DNA etkileşiminin önemi

Deoksiribonükleik asit (DNA) zincirlerindeki baz çiftlerin sıralamasında gerekli olan bilgi (genler) üretmesiyle canlı hücrenin proteinleri oluşturması ve metabolizmasını düzenlemesi için hayati önem taşır (Rauf vd. 2005). Ancak bazı ilaç etken maddelerin DNA'ya bağlanırken DNA'nın görevi engelleyebilir veya değiştirebilir (Shahabadi, ve Moghadam, 2012; Morawska vd., 2018).

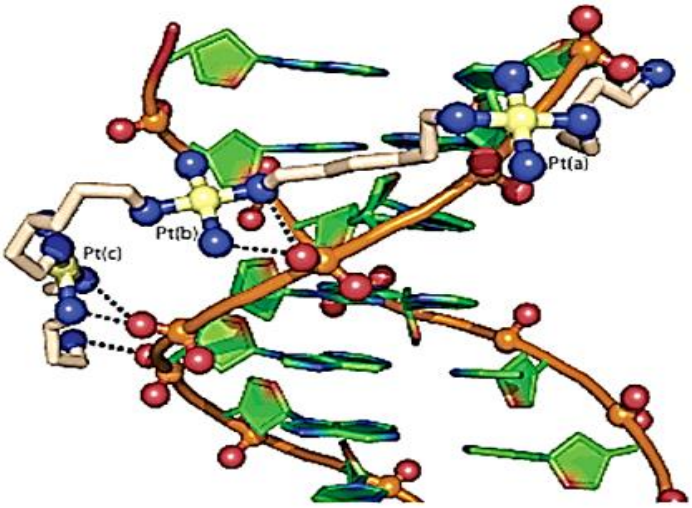
İlaç DNA'ya iki tür bağlanma ile gerçekleşir: kovalent bağlanma ve kovalent olmayan bağlanmasıdır. Kovalent bağlanma şekli geri dönüşümsüz ve DNA işlemlerinin tam inhibisyonuna ve sonrasında hücre ölümüne neden olabileceği bir tür bağlanmasıdır. Bunun tersine, kovalent olmayan bağlanmasında reaksiyon dönüşümlü olur ve kovalent bağlanmasından daha az zararlı olur. Şekil 2.14'de ilaç DNA'ya kovalent ve kovalent olmayan bağlanma modları.



Şekil 2.14 DNA'ya kovalent ve kovalent olmayan bağlanma modları (Ramotowska Vd., 2021)

Küçük moleküllerin deoksiribonükleik aside (DNA) kovalent olmayan bağlanma türleri aşağıda anlatılmıştır:

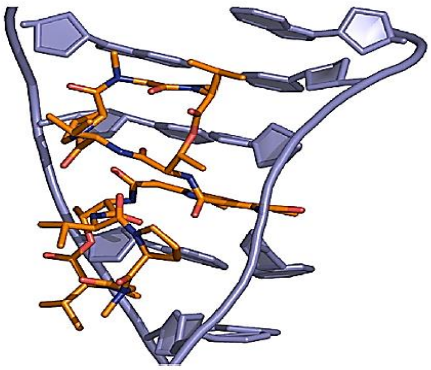
a- Elektrostatik bağlanma: DNA'nın negatifli fosfat grupların, bazı pozitifli ligandlar elektrostatik olarak bağlanabilir. Şekil 2.15' de bir antikanser ilacı olan triplatin Pt (II), DNA'nın ile elektrostatik bağlanmasını gösteriyor (Komeda vd. 2006)



Şekil 2.15 Üç boyutlu yapında triplatin Pt(II)-DNA kompleksi

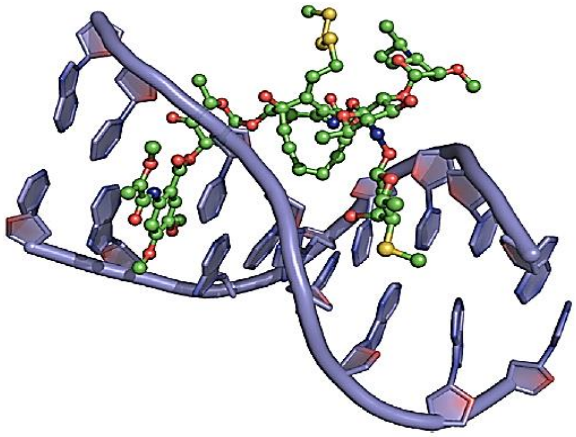
b- İnterkalasyon: ilaç molekülerinin DNA çift sarmalı arasına girmesi şeklindedir. İlaç DNA'nın interkalasyon etkileşimde, van der waals ve hidrofobik bağların üzerinde

gerçekleşir. Şekil 2.16’ da bir anti kanser ilacı olan actinomycin D (turuncu renkte) ile DNA çift sarmalının arasındaki interkalasyon bağlanmasını göstermektedir (Hasanzadeh ve Shadjou, 2016).



Şekil 2.16 Actinomycin DNA’nın interkalasyonu

c- DNA’nın oluklara bağlanma: DNA’de bulunan küçük ve büyük oluklara da ilaç molekülerinin bağlanmaları gerçekleşebilir. Bu tür etkileşimlerde oluğun duvarlarıyla ve bazlarla fosfat omurgası arasında çok sayıda van der waals, hidrofobik, hidrojen bağı ve elektrostatik etkileşimi kapsar (Erdem ve Ozsoz 2002; Paul ve Bhattacharya, 2012). Şekil 2.17’ de bir antibiyotik olarak Esperamicin, DNA’nın minör oluk bağlanmasını göstermektedir (Hasanzadeh ve Shadjou, 2016).

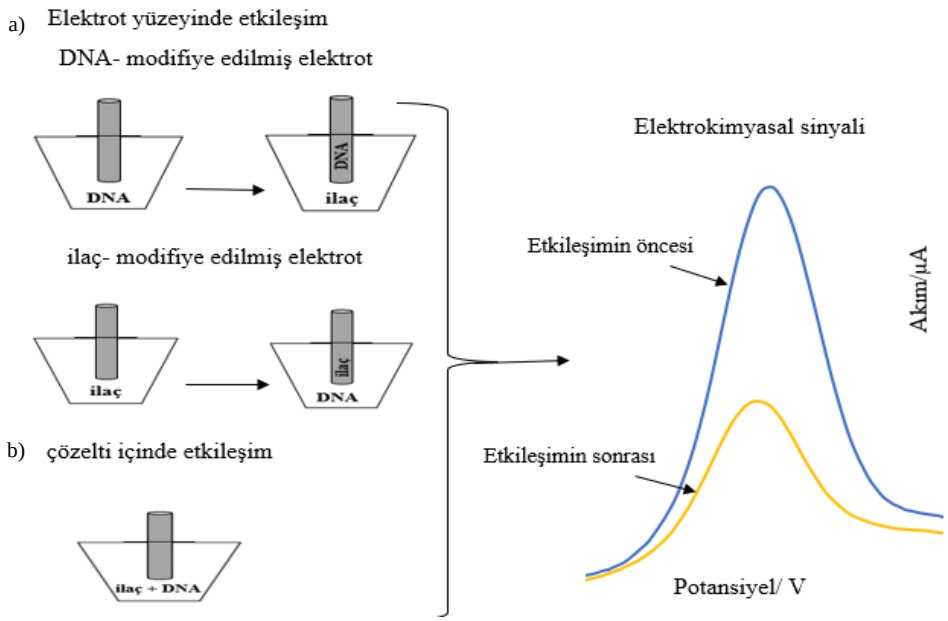


Şekil 2.17 Üç boyutlu yapında Esperamicin A1-DNA kompleksi

Kovalent olmayan ilaç-DNA bağlanma modlar inceleyen çok sayda analittik yöntemleri geliştirmiştir. Her teknikte belirli bir uygulama alanına ve sağlayabileceği bilgilere sahiptir. Bazı tekniklerde bağlanma modun doğası incelenirken diğer tekniklerde termodinamik ve kinetik özellikleri incelenmektedir. Bu konuda en çok kullanılan teknikler: spektroskopik teknikler (Saha vd. 2021; Bhattacharjee. vd. 2021) ve voltametrik tekniklerdir. voltametrik teknikler deneyin kısa olması, ölçüm ekipmanının düşük maliyetleri, analizde fazla çözücü kullanılmaması, hızlı ve pratik olması gibi avantajlara sahiptir (Ur Rehman vd. 2015; Ramotowska vd., 2021).

2.3.3 İlaç-DNA etkileşiminin voltametrik yöntemlerle incelenmesi

İlaç-DNA etkileşimi elektrokimyasal deneylerde farklı yöntemlerle incelenebilir. Şekil 2.18'de görüldüğü üzere, DNA'nın veya ilacın elektrot yüzeyine modifiye edilmesi ile incelenmesi veya çözeltinin içinde ilaç-DNA etkileşiminin ile incelenmesi şeklindedir. Elektrot yüzeyinde, elektro aktif ilacın yükseltgenme veya indirgenme piklerinden veya DNA'nın adenin veya guanin yükseltgenme piklerinden takip ederek incelenebilir. İlaç-DNA etkileşiminden önce ve sonra akım okumaları gerçekleştirir. Bu sinyallerden yola çıkarak etkileşim incelenir (Palecek, E. 1996; Cai vd., 1997; Erdem ve Ozsoz, 2002).



Şekil 2.18 İlaç-DNA etkileşimi voltametrik yöntemlerle incelenmesi a) elektrot yüzeyinde, b) çözeltinin içinde

Çözelti ortamında ilaç-DNA etkileşiminin incelemesi yaparken hem DNA hem de ilaç molekülün aynı çözeltiye ilave edilir. Öncelikle ilaç veya DNA molekülün çözelti ortamında sinyalleri okunur. Ardından ilaç-DNA kompleksinin sinyali kaydedilir ve daha önceki elde edilen sinyaller ile karşılaştırarak ilgili hesaplamalar yapılır. Maddenin DNA ile etkileşimi aşağıda (Eşitlik 2.6) gibi yazılabilir (Shahabadi ve Moghadam, 2012)

$$\text{DNA} + \text{madde} \leftrightarrow \text{madde} - \text{DNA} \qquad 2.6$$

Kompleks oluşturma sabiti aşağıdaki Eşitlikten hesaplanabilir:

$$K = \frac{[DNA - madde]}{[DNA][madde]} \qquad 2.7$$

Buradaki kompleks oluşturma sabitine ilaç-DNA bağlanma sabiti de denebilir. Elektro analitik yöntemler ile ilaç-DNA etkileşim araştıracak olursak, ilaç veya DNA'nın miktarı sabit tutmakla diğer maddenin derişimi artıp veya azaltıp değiştirilebilmektedir. İlaç-DNA etkileşiminden önce ve sonra akım okumaları ile Eşitlik 2.8'e göre bağlanma sabiti hesaplanabilir (Bialobrzeska vd. 2019; Douadi vd., 2020):

$$\log\left(\frac{1}{[\text{DNA}]}\right) = \log \text{K} + \log\left(\frac{\text{I}}{\text{I}_0 - \text{I}}\right) \qquad 2.8$$

Eşitlik 2.8'e göre başlangıçta okunan akım I_0, (DNA veya ilaç eklenmeden) ile I, DNA veya ilaç ortama eklendiğinde okunan akım yararlanarak $\log\left(\frac{1}{[\text{DNA}]}\right)$ - $\log\left(\frac{\text{I}}{\text{I}_0 - \text{I}}\right)$ grafik çizilir. Elde edilen doğrunun kesim noktasından bağlanma sabiti K hesaplanabilir.

Bağlanma sabiti hesapladıktan sonra, ilaç-DNA etkileşimin bazı termodinamik parametreleri bulunması mümkündür. Eğimden hesaplanmış olan bağlanma sabiti kullanılarak Gibbs serbest enerjisi $\Delta G°$ (Eşitlik 2.9) hesaplanabilir. Entropi değişimi $\Delta S°$ ve entalpi değişimi $\Delta H°$ Vant's Hoff eşitliğinden (Eşitlik 2.10) ile hesaplanabilir (Temrek vd, 2016).

$$\Delta G° = -RT\ln K \quad (2.9)$$

$$\ln K = -\frac{\Delta H°}{RT} + \frac{\Delta S°}{R} \quad (2.10)$$

Eşitlikler 2.9 ve 2,10'da: K; bağlanma sabiti, R; gaz sabiti, T; mutlak sıcaklık, ΔG°, Gibbs serbest enerjisi, ΔH°; entalpi değişimini, ΔS°; entropi değişimini.

2.4 Kaynak Araştırması

Son yıllarda ketokonazol ve arbutinin DNA ile etkileşimi üzerine literatürde yapılan çalışmalar araştırılmıştır. Ketokonazolün DNA ile etkileşimin elektrokimyasal incelenmesine ait sadece bir çalışma bulunmaktadır (Gowda vd. 2014). Arbutin için herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ketokonazol-DNA ve ilaç-DNA etkileşimleri aşağıda özetlenmiştir.

Gowada ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmada, öncellikle ketokonazolün elektrokimyasal yükseltgenme davranışını camsı karbon elektrot yüzeyinde fosfat tamponunda (pH: 7,4) dönüşümlü voltametri ile incelenmiştir. Buna göre, ketokonazolün +0,667 V'de bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. Geri taramada herhangi pike rastlanmamıştır. Bu yükseltgenme pikine ait aktarılan elektron sayısı $2e^-$ olarak belirlenmiştir. Daha sonra ketokonazolün balık spermi DNA ile etkileşimi elektrokimyasal, UV-görünür spektroskopisi ve floresans spektroskopisi ile incelenmiştir. Elde edilen elektrokimyasal sonuçlara göre, KA-DNA etkileşiminin bağlanma sabiti DPV yöntemiyle 1.24×10^4 L mol^{-1} bulunmuştur. KA'nın heterojen hız sabiti (k_s) DNA varken ve yok iken hesaplanmıştır. Buna göre, DNA var iken 1.38×10^2 s^{-1} ve DNA ortamda yok iken 1.27×10^2 s^{-1} olarak belirlenmiştir. Heterojen hız sabiti değerlerinin birbirine yakın olması DNA'nın KA'nın yükseltgenme kinetiğini değiştirmediği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda, KA-DNA etkileşiminin bağlanma modu KA'ya ait yükseltgenme piklerinin potansiyelinin DNA ilavesiyle negatif kaydığı belirtilmiştir. KA-DNA etkileşiminin elektrostatik olduğu sonucuna varılmıştır. Floresans spektroskopisi ile bazı termodinamik parametreleri hesaplanmıştır. ΔH°, ΔG°

ve ΔS° değerleri sırasıyla, -16.87,-22.958 ve 20.49 belirlenmiştir. Sonuçlara göre, KA-DNA etkileşiminin floresans spektroskopisi ile de elektrostatik olduğu belirlenmiştir. UV-görünür spektroskopisi ile KA-DNA etkileşiminde DNA ilavesi ile KA'nın absorbanını kırmızıya kaydığı gözlenmiştir. Buna göre, KA'nın DNA oluğa bağlanma şeklinde bağlanabileceği belirtilmiştir.

Bayraktepe'nin 2020'de yaptığı çalışmada antikanser ilacı dasatinib'in (DSB) ile calf thymus DNA etkileşimi tek kullanımlık kalem grafit elektrot yüzeyinde asetat tamponun çözeltisinde (pH 4,8) bağlanma modu ve termodinamik parametreleri dönüşümlü voltametresi (DV) ve diferansiyel puls voltametresi (DPV) yöntemleri ile incelenmiştir. Bu amaçla, DSB'in elektrokimyasal davranışı dönüşümlü voltametri ile gözlenmiştir. Buna göre, DSB'in ait + 0,9 V'de bir yükseltgenme pik gözlenmiştir. Bu yükseltgenme pikine aktarılan elektron sayısı $2e^-$ olarak belirlenmiştir. DSB ve (DSB-DNA) kompleksinin difüzyon katsayısı (D), heterojen hız sabiti (k_s) ve elektrot yüzey derişimi (Γ) gibi bazı kinetik parametreler DV verileri kullanılarak hesaplandı. DSB-DNA etkileşiminin bağlanma sabiti ve Gibs serbest enerjisi ΔG° DPV yöntemi ile hesaplanmıştır. DSB-DNA etkileşimin bağlanma modu DSB' ya ait yükseltgenme pik potansiyelinin DNA ilavesiyle pozitif kaydığı belirtilmiştir. Buna göre, DSB-DNA etkileşiminin interkalasyon olduğu sonucuna varılmıştır. DPV' den elde edilen bağlanma sabit değeri, UV-görünür spektroskopi ile elde edilen sonuçları birbirine uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Temrek ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada bir anti kanser ilacı olan Lomustin'in (LMT) çift sarmallı buzağı timus DNA (dsDNA) ve tek sarmallı buzağı timus DNA (ssDNA) ile etkileşimi, damla cıva elektrodu (DCE) yüzeyinde incelenmiştir. Öncelikle LMT'e ait indirgenme pikinden yola çıkılarak fosfat tamponun çözeltisinde (pH: 7,4 ve 4,7) dönüşümlü voltametri ile incelenmiştir. LMT'in indirgenmesine ait tek bir katodik pikini gözlenmiştir. LMT'in elektrokimyasal indirgenmesinin adsorpsiyon etkili olduğu bildirmiştir. LMT-DNA arasındaki etkileşimi, dönüşümlü voltametri, kare dalga voltametri, UV-görünür bölge spektroskopisi ve floresans emisyon spektroskopisi ile incelenmiştir. LMT'in heterojen hız sabiti (k_s) elektrot yüzey derişimi (Γ) ve difüzyon katsayısı (D), DNA var iken ve yok iken hesaplanmıştır. LMT ve LMT'in DNA etkileşimi

bağlanma sabit (K), Gibbs serbest enerjisi ΔG° ve diğer termodinamik parametreler, kare dalga voltametri, UV-görünür bölge spektroskopisi ve floresans emisyon spektroskopisi ile hesaplanmıştır.

Ponkarpagam ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada, bir anti-diyabet ilacı olan rosiglitazon'un (RG) buzağı timus DNA ile etkileşimi, HEPES tampon ortamında (pH 7,4) dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri, UV–görünür bölge spektroskopisi, floresans spektroskopisi ile incelenmiştir. Öncelikle RG'un elektrokimyasal davranışını dönüşümlü voltametri ile incelenmiştir. Rosiglitazon'a ait +0,58V'de tek bir indirgenme piki gözlenmiştir. RG'un elektrokimyasal indirgenmesinin adsorpsiyon etkili olduğu bildirmiştir. RG-DNA etkileşiminin bağlanma sabiti diferansiyel puls voltametri için 4.2×10^2 M^{-1} bulunurken UV- görünür bölge spektroskopisi $3{,}4 \times 10^3$ M^{-1} olarak bulunmuştur. RG-DNA etkileşiminin bağlanma modu RG'ya ait indirgenme piklerinin potansiyelinin DNA ilavesiyle negatif kaydığı belirtilmiştir. RG-DNA etkileşiminin termodinamik parametreleri floresans spektroskopisi ile hesaplanmıştır. Sonuçlara göre, RG-DNA etkileşiminin oluk bağlanma olduğu sonucuna varılmıştır.

Baytak ve arkadaşlar 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada, kozmetik ürünlerde kullanmış olan paraben türevlerinden (metil paraben) MPB'nin DNA ile etkileşimi fosfat tmapon ortamında (pH: 7,0) dönüşümlü voltametri (DV) ile incelenmiştir. Bu amaçla hazırlanan camsı karbon elektrodun yüzeyin karbon nanofiberlerin (KNF) ve (Co, Ni, Pd) nanoparçacıklarının kompoziti modifiye edilmiştir. Öncelikle elektrokimyasal davranışı, DV yöntemi ile incelenmiştir. MPB'ya ait 0,768 V'de tek bir anodik piki gözlenmiştir. Geri taramada ise, hiçbir pike rastlanmamıştır. MPB-DNA etkileşiminin bağlanma sabiti dönüşümlü voltamertri ile 1.56×10^4 M^{-1} olarak bulunmuştur. MPB-DNA etkileşiminin bağlanma modu MPB'ye ait yükseltgenme piklerinin potansiyelinin DNA ilavesiyle pozitif kaydığı belirtilmiştir. Bu sonuca göre, MPB-DNA etkileşiminin interkalasyon olduğunu söylenmiştir.

Zeybek ve arkadaşları 2022'de yaptıkları bir çalışmada, öncelikle camsı karbon elektrot (CKE) yüzeyinde bromokrezol moru (BCP) monomerinin elektrokimyasal

polimerizasyonu ile modifiye edilmiştir ve ardından DNA ile immobilize edilmiştir. Daha sonra kanser ilacı olan 2-tiyourasil (2-TU)'in balık spermi dsDNA ile etkileşimi, diferansiyel puls voltametri ve UV-görünür bölge spektroskopisi ile incelenmiştir. DNA'nın guanin elektrokimyasal yükseltgenme sinyali takip ederek izlenmiştir. DNA'nın 2TU ile etkileşiminin süresi ve 2-TU derişim çalışmaları, asetat tampon çözeltisinde (pH: 4,8) incelenmiştir. DNA'nın 2-TU ile etkileşiminin bağlanma sabiti DPV ve UV görünür bölge spektroskopisi ile hesaplanmıştır. DNA-(2-TU) etkileşiminin bağlanma modu DNA'ya ait yükseltgenme pik potansiyelinin 2-UT ilavesiyle pozitif kaydığı belirtilmiştir. Sonuçlara göre, DNA-(2-TU) etkileşiminin interkalasyon olduğu sonucuna varılmıştır.

Topkaya ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada, diyabetik ilacı olan Linagliptin'in (Lin) balık spermi çift sarmallı DNA ile etkileşimi, asetat tamponunda (pH: 4,8) DV ve DPV yöntemleri ile incelenmiştir. dsDNA, aktive edilmiş kalem grafit elektrodu (KGE) yüzeyine immobilize edilmiştir. Öncelikle Lin'in elektrokimyasal özelliklerinin dönüşümlü voltametri ile incelenmiştir. Lin'in +0,9 V'de bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. Lin'in elektrokimyasal yükseltgenmesinin difüzyon etkili olduğu bildirmiştir. DNA'nın Lin ile etkileşiminin süresi ve Lin derişim çalışmaları, diferansiyel puls voltametri ile incelenmiştir. DNA'nın adenin yükseltgenme pik sinyalleri takip ederek izlenmiştir. Lin'in DNA üzerinde etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Bolat'nın 2020'de yaptığı bir çalışmada, tek kullanımlık grafit elektrotlar (KGE) yüzeyinde setyl trimetilamonyum bromür-çok duvarlı karbon nanotüp kompoziti (poli(CTAB-ÇDKNT/KGE)) ile modifiye edilmiştir ve ardından balık spermi çift sarmallı dsDNA immobilize edilmiştir. Daha sonra antikanser ilacı olan irinotecan (CPT-11) ile dsDNA arasındaki etkileşimi, asetat tampon ortamında (pH 4,8) diferansiyel puls voltametri ve UV-görünür bölge spektroskopisi ile incelenmiştir. DNA'nın guanin elektrokimyasal yükseltgenme sinyali takip ederek izlenmiştir. DNA ile CPT-11 etkileşiminin DPV yöntemi ile $6.84 \times 10^4\ M^{-1}$ olarak bulunmuştur. DNA-(CPT-11) etkileşiminin bağlanma modu DNA'ya ait yükseltgenme pik potansiyelinin CPT-11 ilavesiyle negatif kaydığı belirtilmiştir. Sonuçlara göre, (CPT-11)-DNA etkileşiminin oluğa bağlanma olduğu sonucuna varılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeleri, elektrokimyasal cihazlar ve hücrelerin kullanılan elektrotları kısaca anlatılmıştır. Çalışmaların sürecine takip eden yöntemlere ve hazırlanan çözeltilere bahsedilmiştir.

3.1 Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasallar çizelge 3.1' de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

Madde	**Firma**	**Saflık değeri**
Ketokonazol	MERCEK	98,0
Arbutin	MERCEK	98,0
Hidroklorik asit	MERCEK	36,7-38,0
ds-DNA sodyum tozu	MERCEK	Saf
Sodyum hidroksit	MERCEK	98,0-100,5
Borik asit	MERCEK	99,5
Asetik asit	MERCEK	99,8-100,5
Fosforik asit	MERCEK	85,0-88,0
Disodyum monohidrojen fosfat hepta hidrat ($Na_2HPO_4.7H_2O$)	MERCEK	98,0-100,5
Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($NaH_2PO_4.2H_2O$)	MERCEK	Saf
Sodyum klorür	MERCEK	Saf

3.2 Tez Çalışmasında Kullanılan Elektrokimyasal Cihazlar

Madde-DNA etkileşimi CHI 760B elektrokimyasal analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 CHI 760B elektrokimyasal analiz cihazı

Voltametrik ölçümlerde kullanılan üç elektrotlu sistem olan BAS C3 cell stand marka çalışma ünitesine bağlanmıştır (Şekil 3.2).



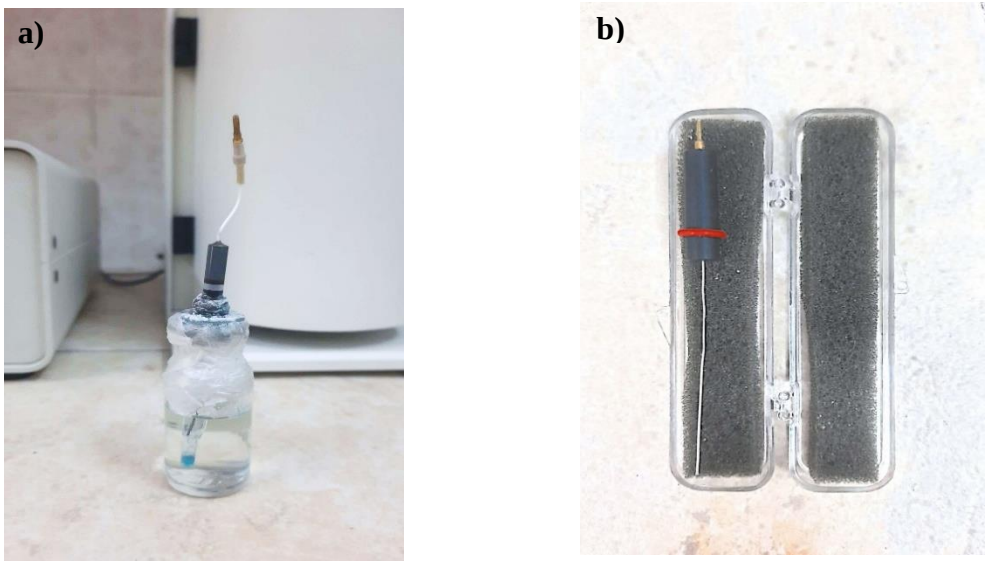
Şekil 3.2 Üç elektrotlu sistem ile BAS C3 çalışma ünitesi

Hücrede çalışma elektrodu olarak kalem grafit uçların 2B 0.7 mm çapı ile 75 mm uzunluk FABER CASTELL marka Ankara'daki yerel kırtasiye mağazalarından temin edilerek ön işlem görmeden kullanılmıştır (Şekil 3.3).



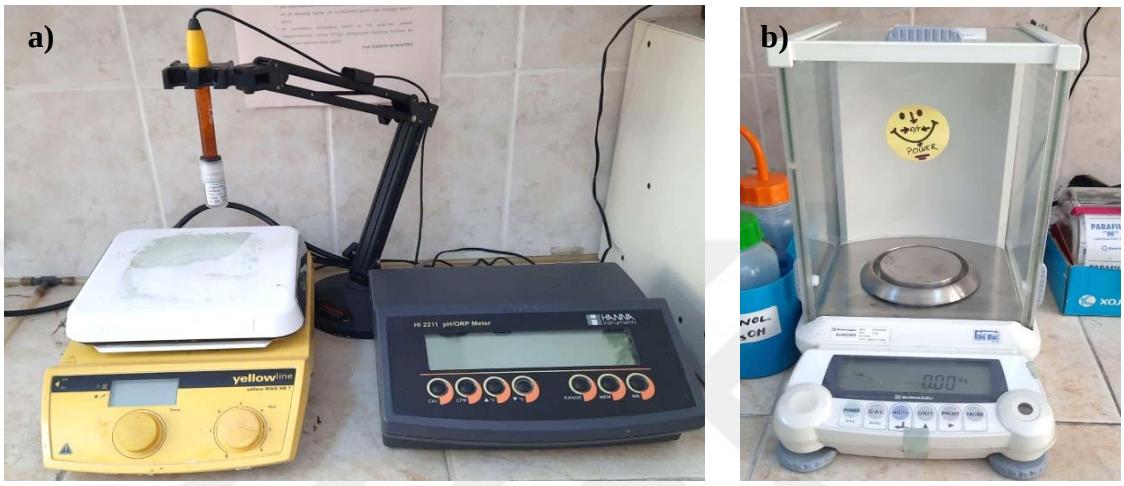
Şekil 3.3 Deneylerde kullanılan kalem grafit uçları

Hücredeki diğer elektrotları ise, referans elektrot olarak Ag/AgCl (3,0 M NaCl) BASi marka (Şekil 3.4.a), karşıt elektrot olarak (platin tel) elektrot BASi MW1032 marka kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4.b). Voltametrik çalışmalarda kullanılan referans ve karşıt elektrot deneylere başlamadan önce ve bittikten sonra saf su ile yıkanmıştır.



Şekil 3.4 Deneylerde kullanılan a) BASi marka Ag/AgCl (3,0 M NaCl) referans elektrotu b) BASi MW1032 marka (platin tel) karşıt elektrot

Deneylerde pH çalışmaları ve ölçümleri HANNA marka HI 2211 model pH/ORP metre ile yapılmıştır (Şekil 3.5.a). Cihazın pH kalibrasyonu ayarlamak için ticari tampon çözeltileri kullanılarak (pH 4,0, 7,0 ve 10,0) değerlerinde ayarlanmıştır. Deneylerin sırasında tartılan maddelerin hassas terazi Shimadzu marka AUW220D model cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.5.b).



Şekil 3.5 Deneylerde kullanılan a) pH metre ve b) hassas terazi cihazları

Deney esnasında çözeltiler hazırlanırken mpMINIpure marka ultra saf su cihazı kullanarak saf su elde edilmiştir. Hazırlanan DNA çözeltilerin ve maddelerin çözünmelerini sağlamak amacıyla Ultrasonic banyo (LC 30 H) marka olarak kullanılmıştır (Şekil 3.6.a). DNA'nın hazırlanan çözeltileri homojenleştirmek için Weightlab İnstruments marka WN-2800 model vorteks karıştırıcı kullanılmıştır (Şekil 3.6.b).



Şekil 3.6 Deneylerde kullanılan a) ultrasonik banyo ve b) karıştırıcı cihaz

3.3 Tez Çalışmasında Hazırlanan Çözeltiler

3.3.1 Ketokonazol çözeltisinin hazırlanması

Ketokonazol standardından 5,81 mg tartıldıktan sonra tam çözünmüş hali elde edilmek için birkaç damla 0,1 M HCl çözeltisi eklenip ultra sonik banyoda karıştırmıştır. Sonra ölçülü balon içerisinde saf su ile 25 mL' ye tamamlanarak ($1,0 \times 10^{-3}$) M çözelti hazırlanmıştır ve buzdolabında +4˚C' de saklanmıştır. Hazırlanan stok çözelti deney sürecinde kullanılan çözeltiden belirli miktarlarda alınıp tampon çözeltiler seyreltilmiştir.

3.3.2 Arbutin çözeltisinin hazırlanması

Arbutin standardından 2,72 mg tartıldıktan sonra saf su ile 25 mL' ye tamamlanarak ($1,0 \times 10^{-4}$) M çözelti hazırlanmıştır ve buzdolabında +4˚C' de saklanmıştır. Hazırlanan stok çözeltiden belirli miktarlarda alınıp tampon çözeltiler seyreltilmiştir.

3.3.3 0,10 M HCl çözeltisinin hazırlanması

Yoğunluğu 1,2 g/mL ve Kütlece yüzdesi %37,0 olan derişik hidroklorik asit çözeltisinden 1,2 mL alınarak saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.4 0,10 M NaOH çözeltisinin hazırlanması

0,40 g NaOH tartılmıştır ve saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.5 0,04 M Britton-Robinson tamponu çözeltisinin hazırlanması

0,04 M BR tamponu hazırlamak için 1,15 mL asetik asit, 1,24 g borik asit ve 1,35 mL % 85,0'lik fosforik asit karıştırılmıştır ve 0,5 L'ye ultra saf su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltinin pH'sı ayarlamak için 0,10 M HCl ve 0,10 M NaOH çözeltileri kullanılarak 2,0 ile 12,0 aralığında değiştirilmiştir.

3.3.6 0,05 M fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması

Belli miktarda $Na_2HPO_4.7H_2O$ ve $Na_2H_2PO_4.2H_2O$ tuzlarından tartılarak 100,0 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltinin pH'ı 0,1 M NaOH veya 0,1 M H_3PO_4 çözeltileri kullanılarak ayarlandı.

3.3.7 1,0 M asetat tampon çözeltisinin hazırlanması

Behere önce saf su sonra da derişik asetik asit çözeltisinden 5,0 mL alarak yavaşça ilave edilmiştir. Daha sonra aynı behere 4-5 tane NaOH peleti atılmıştır. pH 4,8 olduktan sonra toplam hacim 100,0 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır.

3.3.8 Stok ds-DNA çözeltisinin hazırlanması

DNA'nın derişimi 1000 ppm hazırlamak için dsDNA'nın sodyum tuzundan belli miktarda tartılarak 5,0 mL'lik ölçülü balonda saf suda çözülmüştür ve bu çözelti +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

DNA saflığı belirlemek için hazırlanan DNA çözeltisi UV-Vis spektroforometresi ile 260 nm'deki absorbansı ölçülmüş ve derişimi $2,0\times10^{-4}$ M bulunmuştur (Radi vd., 2014; Bayraktepe, 2017).

3.4 Voltametrik Çalışmalar

Tüm voltametrik ölçümler (dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi) elektrokimyasal analiz cihazı ile kaydedilmiştir. Elektrokimyasal hücreye toplam hacim 10,0 mL olacak şekilde destek elektrolit ve etken madde içeren çözelti koyulmuştur. Bölüm 3.2'de bahsedilen üç elektrotlu sistem kurulmuştur ve elektrotları hücrenin içine daldırılmıştır. Her voltametrik ölçümleri almadan önce azot gazı geçirip çözelti karıştırılmıştır. Öncelikle maddelerin elektrokimyasal davranışlarını incelenmek için

potansiyel penceresi seçilmiştir. Daha sonra maddelerin-DNA etkileşimi incelemek için seçilmiş olan aynı potansiyel voltamogramları kaydedilmiştir.

3.4.1 pH çalışması

Tez kapsamında madde-dsDNA etkileşimi farklı destek elektrolit (Britton-Robinson tamponu (BR), asetik asit / sodyum asetat tamponu (ABS) ve fosfat tamponu (PBS)) ve farklı pH'larda DV tekniği ile (+0,2) V − (+1,2) V aralığında incelenmiştir.

3.4.2 İlaç-dsDNA etkileşiminin Diferansiyel puls voltametri tekniği ile incelemesi

DNA etkileşim çalışmaları için iki farklı ortamda iki fizyolojik pH değerlerinde (ABS 4,8 ve PBS 7,4) incelenmiştir. Maddenin belli miktarı ile DNA'nın farklı derişimlerde eklemeler yapılmıştır. Her eklemeden sonra DPV voltamogramları kaydedilerek en az üç kez tekrarlanmıştır.

3.4.3 Etkileşim süresi

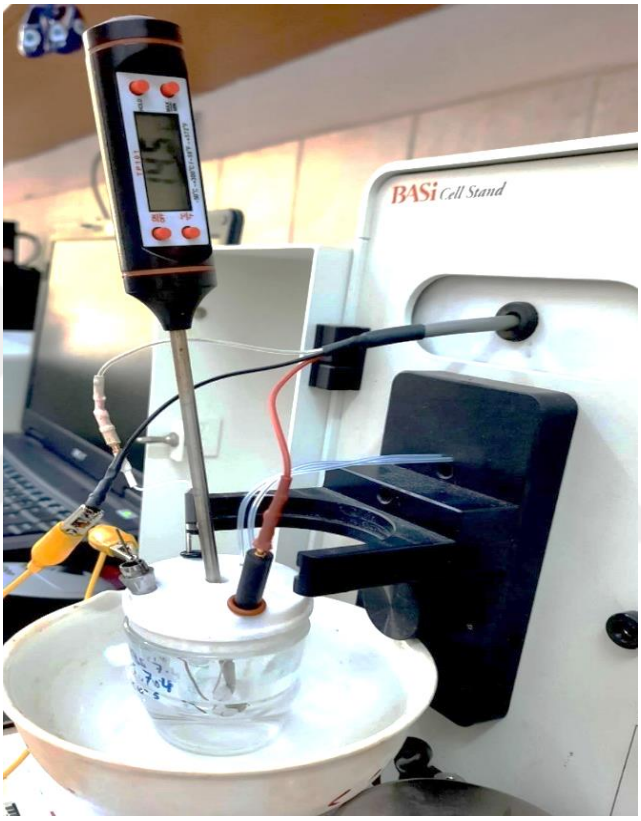
Madde-dsDNA etkileşim süresi incelenmek için ortamda dsDNA ve madde farklı etkileşim sürelerinde (5, 10, 15, 20, 25, 30) dakika (dk) bekletilmiş ve 300 rpm de karıştırılmıştır. Ardından DPV voltamogramları kaydedilerek en en az üç kez tekrarlanmıştır.

3.4.4 Tuz etkisi

Maddenin dsDNA ile etkileşimi ve etkileşimin süresinin belirlenmesinin ardından, NaCl miktarının etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla, madde-dsDNA etkileşimin ile NaCl belli derişimlerde (0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5) M eklenmiştir. Ardından DPV voltamogramları kaydedilerek en az üç kez tekrarlanmıştır.

3.4.5 Sıcaklık etkisi

Madde-dsDNA etkileşimin iki farklı ortamında değişiklik gösteren bazı termodinamik parametreleri ΔH^o entalpi değişimi ve ΔS^o entropi değişimi incelenmiştir. Termodinamik parametreler 288, 298 ve 310 K olmak üzere üç sıcaklık için gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık çalışması (Şekil 3.7) gösterilen sistemde yapılmıştır.



Şekil 3.7 Sıcaklık etkisi için hazırlanan hücre

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

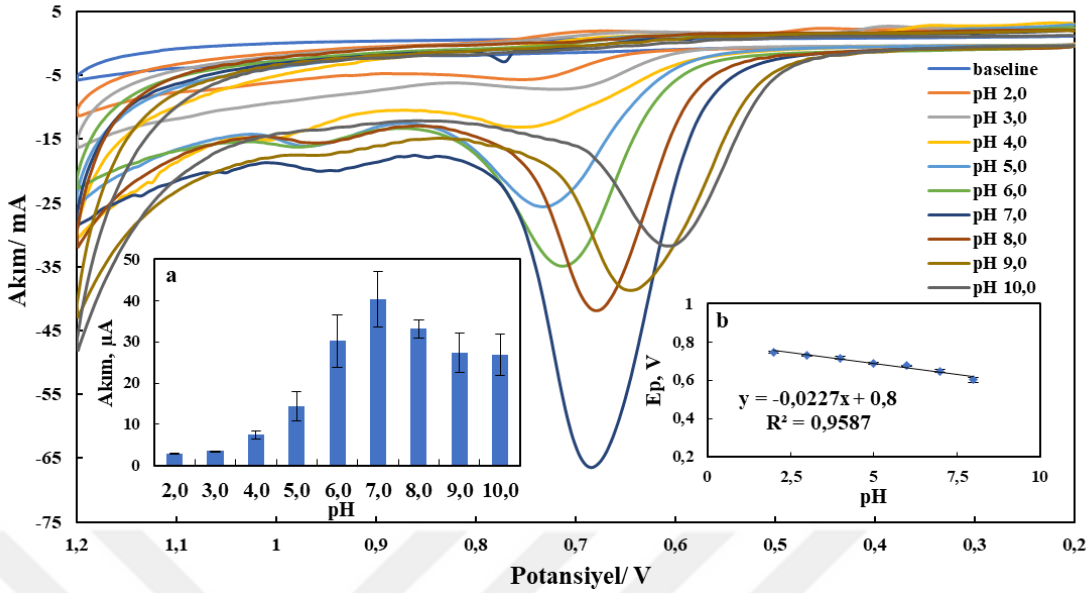
Tez kapsamında çalışılan KA ve AR'nin öncelikle elektrokimyasal davranışları, farklı destek elektrolit ortamında incelenmiştir. Daha sonra madde-dsDNA etkileşimi incelenmiştir.

4.1 Ketokonazol-dsDNA Etkileşimi ile Yapılan Voltametrik Çalışmalar

4.1.1 Destek elektrolit ve pH etkisi

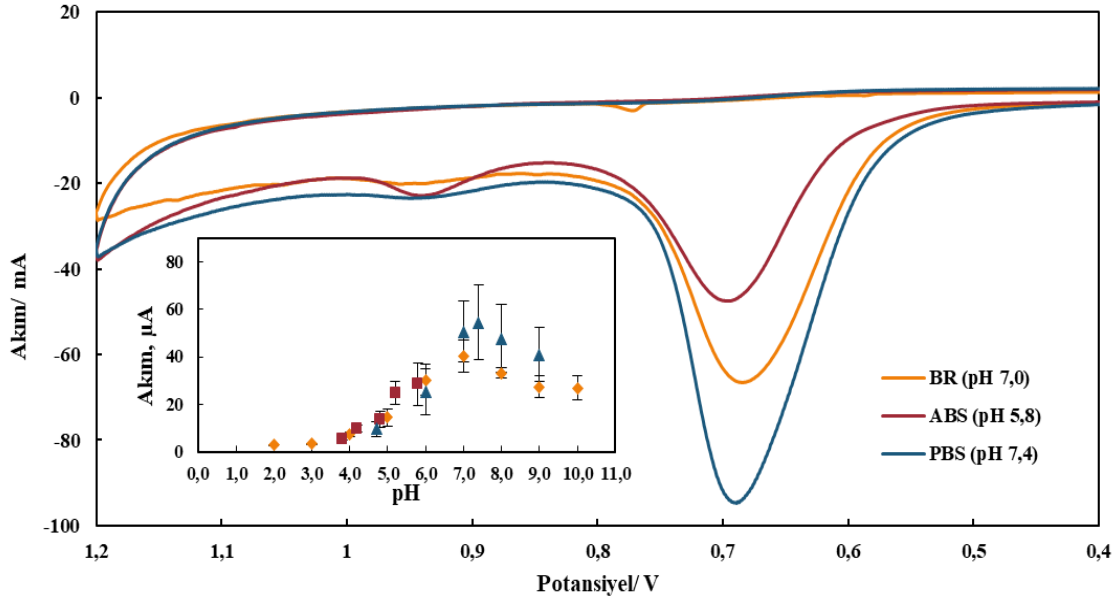
KA'nın elektrokimyasal davranışı, öncelikle geniş bir pH aralığına sahip olan 0,04 M BR tampon ortamında (pH 2,0-10,0) DV yöntemi ile incelenmiştir. Bu amaçla, $1{,}0 \times 10^{-5}$ M KA'nın potansiyel aralığı (+0,2) V– (+1,2) V ve tarama hızı (0,1 V/s) ile voltamogramları alınmıştır. Şekil 4,1'de görüldüğü gibi, KA'nın yaklaşık 0,7 V' de yükseltgenme piki meydana gelmiştir. Geri taramada ise, KA'nın hiçbir indirgenme pike rastlanmamıştır.

KA'nın yükseltgenme pikinin i_p-pH ve E_p-pH grafikleri şekil 4.1.a, b ile gösterilmiştir. Şekil 4.1.a incelendiğinde maksimum pik akım pH 7,0'de görülmüştür. Şekil 4.1.b'ye göre pH artıkça pik potansiyel negatif potansiyellere kaymaktadır. Elde edilen sonuca göre pH ile pik potansiyelinin değişmesi elektrokimyasal reaksiyonda proton yer aldığı düşünülmüştür (Wang, 2006).



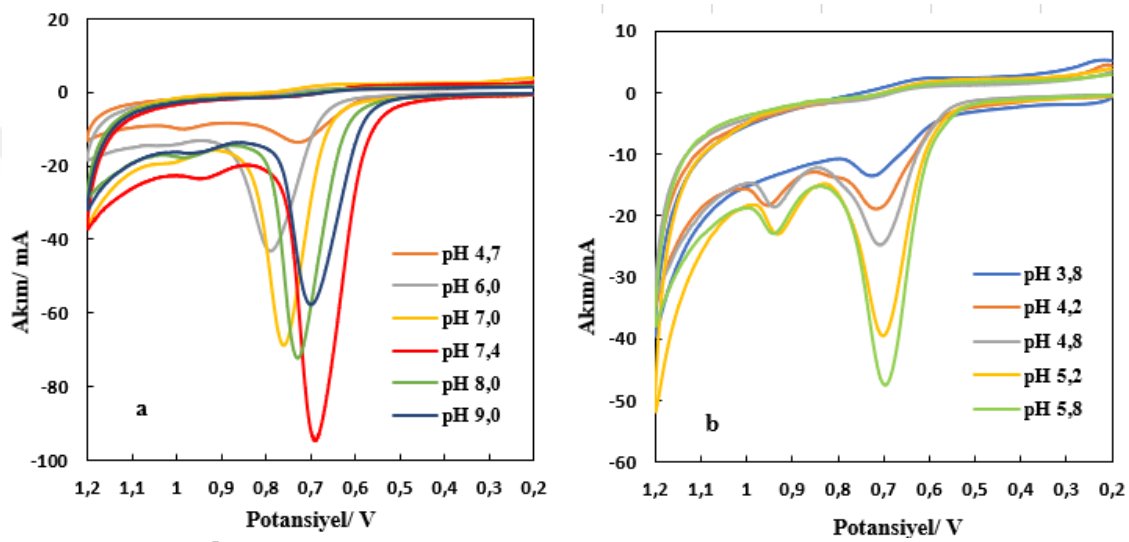
Şekil 4.1 1,0 × 10^{-5} M KA' nın BR tampon ortamında farklı pH'larda DV voltamogramları (ν: 0,1 V/s) İç grafikler: a) i_p - pH ve b) E_p - pH grafiği

Ketokonazolün elektrokimyasal yükseltgenme davranışı farklı elektrolit (BR, fosfat tamponu ve asetik asit asetat tamponu) ortamında DV yöntemi ile incelenmiştir (Şekil 4.2). Şekil 4.2 incelendiğinde, en yüksek pik akımı fosfat tamponunda pH 7,4'de kaydedilmiştir.



Şekil 4.2 1,0 × 10^{-5} M KA' nın elektrokimyasal yükseltgenmesine elektrolitlerin etkisi

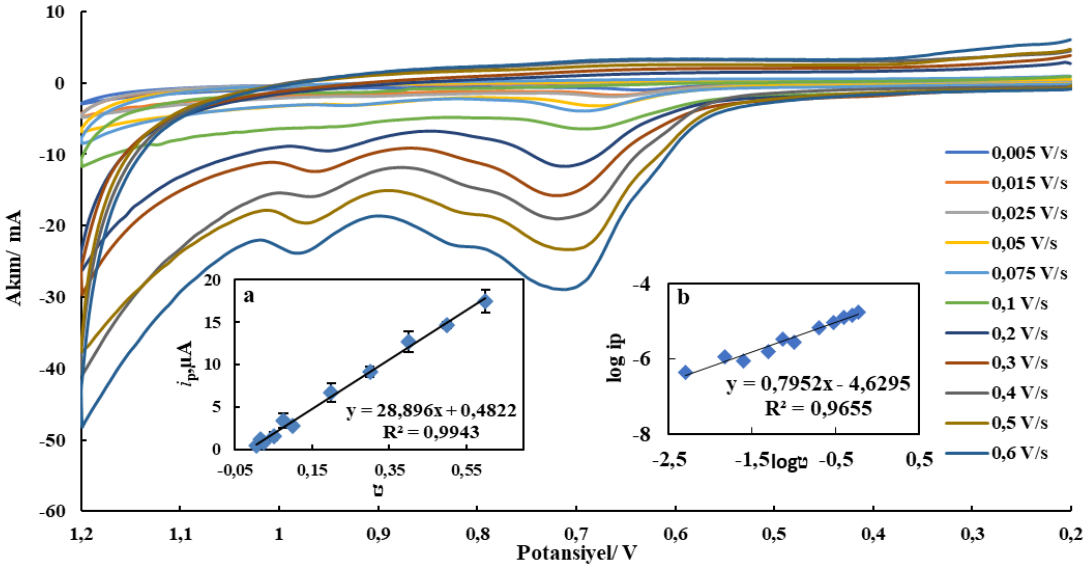
Bununla birlikte, fosfat tamponu ve asetat tamponu deneyler detaylandırılmıştır. Bu amaçla, fosfat tamponu için (pH 4,7; 6,0; 7,0; 7.4; 8,0; 9,0) aralığında yapılmıştır (Şekil 4.3.a). Asetat tampon için (pH 3,8; 4,2; 4,8; 5,2; 5,8) aralığında çalışılmıştır (Şekil 4.3.b). Şekil 4.3.a incelendiğinde, KA'nın yükseltgenme piki için en yüksek ve en belirgin pik akımı fosfat tampon ortamında pH: 7,4'de gözlenmiştir. Şekil 4.3.b asetat ortamında ise, pH: 5,2 ve pH: 5,8 yüksek akım gözlenmiştir. Ancak DNA ile etkileşim için pik tekrarlanabilirliği göz önüne alındığında, pH 4,8 optimum pH olarak seçilmiştir.



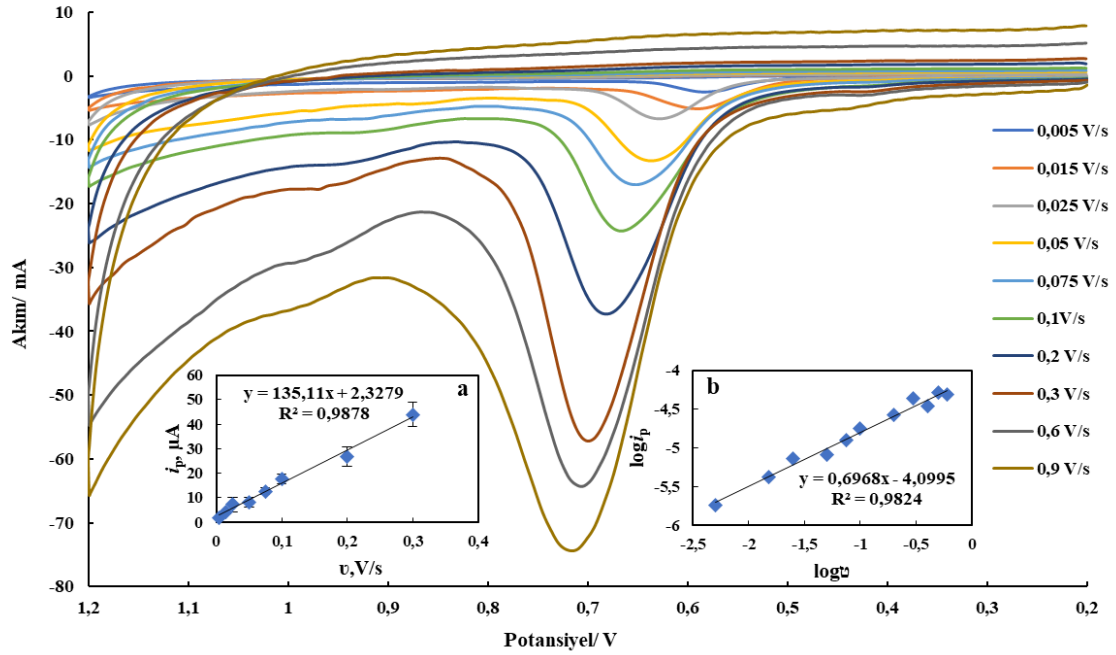
Şekil 4.3 $1,0 \times 10^{-5}$ M KA'nın pH çalışmalarında kaydedilen dönüşümlü voltamgramları, a) Fosfat tamponu, b) Asetat tamponu

4.1.2 Tarama hızı çalışması

KA'nın kalem grafit elektrot yüzeyinde elektrokimyasal davranışı (tersinirlik, tersinmezlik, adsorpsiyon özellikleri) pH 4,8 ve pH 7,4'de DV yöntemi ile incelenmiştir (Şekil 4.4 ve 4.5). Bu çalışmalar için $1,0 \times 10^{-5}$ M KA içerdiği ortamın pH 7,4'de 0,005-0,600 V/s^{-1} ve pH 7,4'de 0,005-0,900 Vs^{-1} aralığında tarama hızı çalışması yapılmıştır.



Şekil 4.4 1,0 × 10^{-5} M KA'nın DV yöntemi ile farklı tarama hızlarında elde edilen voltamogramları iç grafikler, a) i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}$, b) log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$ (pH 4,8)



Şekil 4.5 1,0 × 10^{-5} M KA'nın DV yöntemi ile farklı tarama hızlarında elde edilen voltamogramları iç grafikler, a) i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}$, b) log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$ (pH 7,4)

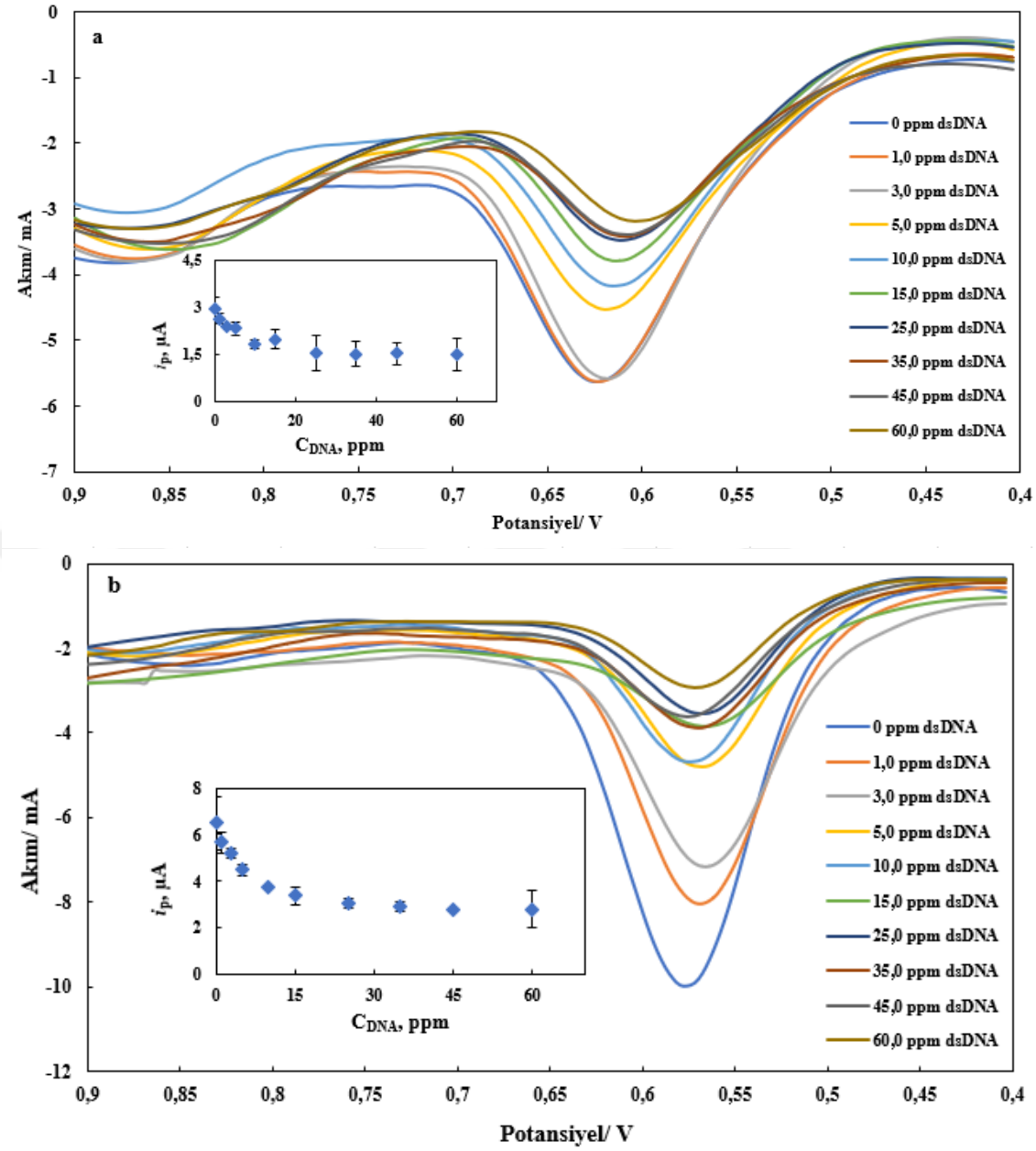
Şekil 4.4 ve 4.5'de görüldüğü üzere, tarama hızı arttıkça KA'nın pik akımının arttığı gözlenmiştir. KA'nın yükseltgenme pik potansiyelinin ise pozitif potansiyel değerlerine kaydığı görülmektedir. KA'nın geri taramada hiçbir indirgenme pike rastlanmadığı için

KA'nın tersinmez bir elektrokimyasal davranışı gösterdiği sonucuna varılmıştır (Łukasiewicz vd. 2011).

KA' nın KGE yüzeyinde taşınmasının şekli incelemek için asetat tamponunda (pH 4,8) ve fosfat tamponunda (pH 7,4) belirtilen tarama hızı aralıklarında yükseltgenme pik akımlarının tarama hızıyla değişimini gösteren grafikler (i_p - $\boldsymbol{\upsilon}$ ve log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$) çizilmiştir (Şekil 4.4 ve 4.5). Şekil 4.4.a ve 4.5.a incelendiğinde, tarama hızı artışıyla pik akımının doğrusal olarak değişmesi gözlenmiştir. Aynı zamanda, (log i_p – log $\boldsymbol{\upsilon}$) grafiğinin eğim değerinin pH 4,8'de 0,79 ve pH 7,4'de 0,69 olarak bulunmuştur (Şekil 4.4.b ve 4.5.b). Elde edilen sonuçlara göre, KA'nın elektrot yüzeyine adsorpsiyon yoluyla taşındığı söylenebilir (Shamsipur ve Farhadi, 2000).

4.1.3 KA-dsDNA etkileşiminin DPV incelenmesi

KA-dsDNA etkileşiminin pH 4,8 ve pH 7,4' de incelemek amacıyla, 1,0 × 10^{-5} M KA içeren ortamlara dsDNA çözeltisinden belli derişimlerde (1,0 ppm; 3,0 ppm; 5,0 ppm; 10,0 ppm; 15,0 ppm; 25,0 ppm; 35,0 ppm; 45,0 ppm; 60,0 ppm) eklemeler yapılmıştır. KA'ya ait yükseltgenme pik akımlar ve pik potansiyellerinde değişikler DPV yöntemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.6). Kaydedilen akımlar dsDNA derişim ile grafikler çizilmiştir (Şekil 4.6.a, b). Her iki pH ortamında, KA'ye ait yükseltgenme pik akımı dsDNA ilavesi ile (1,0 ile 25,0 ppm aralığında) doğrusal olarak değişmektedir. 25ppm'den sonra KA'nın pik akımı sabit kaldığı gözlenmiştir. Buna göre, her iki pH değerinde DNA'nın optimumum derişim 30 ppm olarak seçilmiştir.

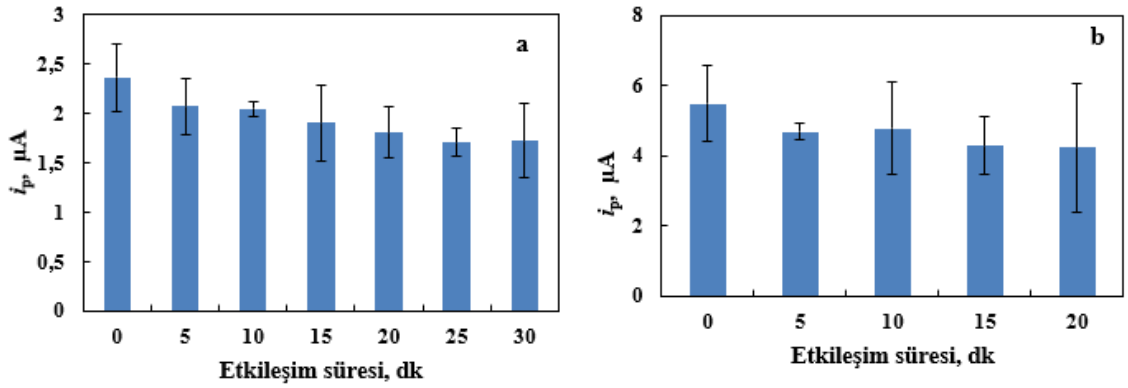


Şekil 4.6 $1{,}0 \times 10^{-5}$ M KA'nın DPV ait sinyaline artan dsDNA derişimin etkisi (içindeki grafik: $C_{DNA} - i_p$KA), a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

KA-dsDNA etkileşiminin bağlanma modu ise, her iki ortamda KA'ya ait yükseltgenme piklerinin potansiyelinin dsDNA ilavesiyle negatif kaydığı gözlenmiştir. Bu sonuca göre, KA'nın dsDNA ile etkileşiminin elektrostatik veya oluğa bağlanma şeklinde olabileceği düşünülmüştür (Gowad vd. 2014; Ponkarpagam vd. 2020).

4.1.4 Etkileşim süresi

Madde-dsDNA etkileşim süresi incelenmek için çözelti ortamında 1,0 × 10^{-5} M KA ve 30 ppm dsDNA varken etkileşim süresi değiştirilmiştir. Bu amaçla, pH 4,8' de etkileşim süresi (5, 10, 15, 20, 25, 30) dk ve pH 7,4'de etkileşim süresi (5, 10, 15, 20) dk olarak değiştirilmiştir. Her bir etkileşim süresi sonrasında şekil 4.7'de görüldüğü gibi, DPV voltamogramlar kaydedilmiştir. Şekil 4.7.a'de görüldüğü gibi, pH 4,8 etkileşim süresi 20 dk' ye kadar pik akımını azaldığı gözlenmiştir. 20 dk' den ise neredeyse sabit kaldığı gözlenmiştir. Bu sonuca göre, KA-dsDNA etkileşimi için optimum etkileşim süresi 20 dk olarak belirlenmiştir. pH 7,4 ise (Şekil 4.7.b), 5 dk etkileşim süresinden sonra pik akımında belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Bu sonuca göre, optimum etkileşim süresi 5 dk olarak belirlenmiştir.

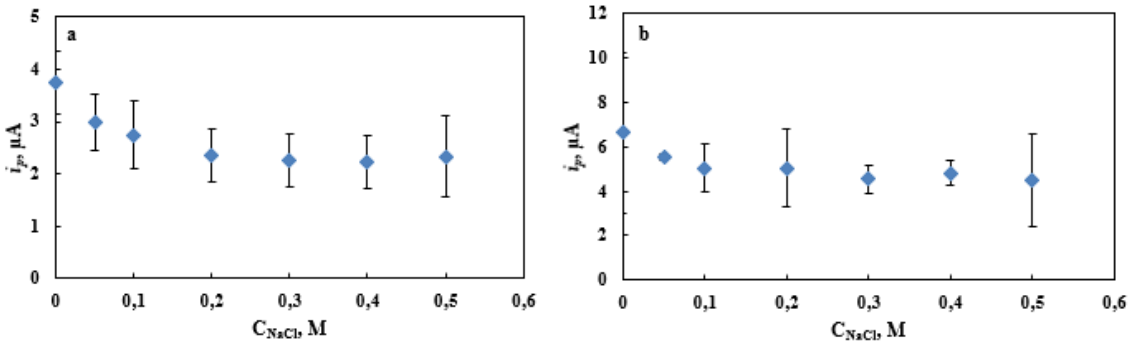


Şekil 4.7 KA-dsDNA etkileşimin farklı sürelerde elde edilen i_p- etkileşim süre grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

4.1.5 Tuz etkisi

Optimum dsDNA derişimi 30 ppm, optimum etkileşimin süresi pH 4,8'de 20 dk ve pH 7,4'de 5 dk belirledikten sonra KA ve dsDNA'nın arasındaki etkileşimin elektrostatik olup olmadığını ve olası diğer bağlanma türler hakkında bilgi edinmek için tuz etkisi çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 1,0 × 10^{-5} M KA ile optimum dsDNA'nın derişimin bulunduğu ortama farkı derişimlerde (0,05M; 0,1M; 0,2M; 0,3M; 0,4M ve 0,5 M) NaCl tuzu ilave edilerek pH 4,8'de ve pH 7,4'de DPV ile voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.8.a, b). Her iki pH ortamında, KA'ya ait yükseltgenme pik

akımında NaCl'in derişimi 0,1 M' a kadar bir azalma olurken 0,1 M' dan daha yüksek NaCl derişimlerde pik akımını nispeten aynı seviyede kaldığı gözlenmiştir.



Şekil 4.8 KA'nın dsDNA içerdiği ortamın C_{NaCl} ile i_{pKA} grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

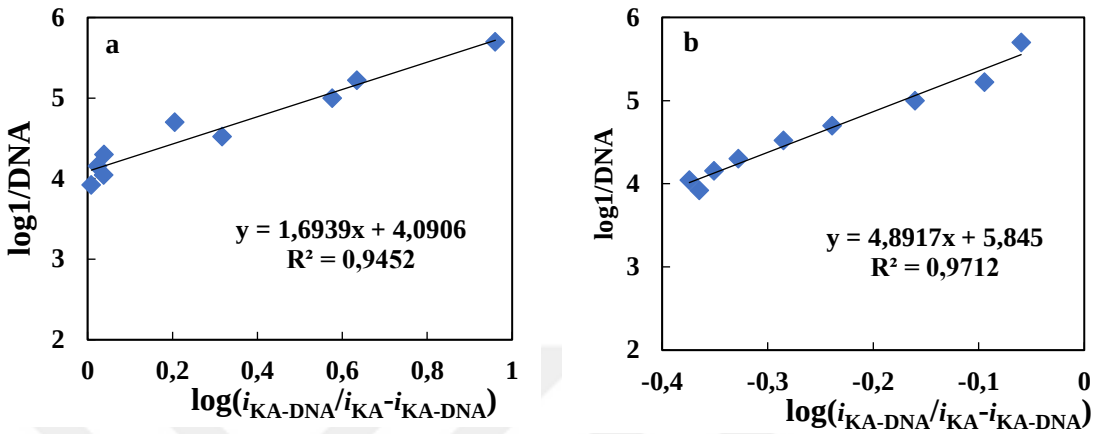
Bu sonuca göre, KA-dsDNA etkileşiminin hem elektrostatik hem de oluğa bağlanma şeklinde olabileceği düşünülmüştür (Ataci vd., 2018). Literatürde madde dsDNA'nın oluklarına bağlanırken elektrostatik, van der waals, hidrofobik ve hidrojen bağı etkileşimlerinin de dahil olduğu belirtilmektedir (Andrezalova, ve Orszaghova, 2021). Bu sonuçlara göre, iyonik şiddeti artıkça KA'nın dsDNA'nın negatif fosfat gruplarına zayıf bir şekilde bağlandığı söylenebilir. Yüksek NaCl derişimlerde, dsDNA'nın çevresi Na^+ iyonları ile çevrildiği için KA, dsDNA ile elektrostatik olarak etkileşemez hale gelir. Buna göre, KA-DNA etkileşiminin oluğa bağlanma ile gerçekleştiğini söylenebilir (Radi vd., 2003).

Bağlanma sabiti K ve Gibbs serbest enerjisi ΔG^o: KA-dsDNA etkileşiminin bağlanma sabiti iki farklı tampon ortamında (pH 4,8 ve pH 7,4) hesaplanmıştır. KA'nın dsDNA ile oluşturduğu kompleksin aşağıdaki reaksiyona göre verilmiştir:

$$KA + dsDNA \leftrightarrow KA - dsDNA$$

Burada KA'nın sabit derişimde olduğu ortama dsDNA'nın belli derişimlerde eklenmiştir. Buna göre, her bir DNA eklenmeden önce ve ekledikten sonra hesaplanan $\log\left(\frac{i_{KA-dsDNA}}{i_{KA}-i_{KA-dsDNA}}\right)$ ve ona karşılık gelen log (1/[dsDNA]) değerleri grafiğe geçirilmiştir

(Şekil 4.9.a, b). Şekil 4.9.a, b'de elde edilen grafiğin kesim noktası sırasıyla 4,09 ve 5,84 olarak verilmiştir.



Şekil 4.9 (log $İ_{KA\text{-}dsDNA}/İ_{KA}\text{-}İ_{KA\text{-}dsDNA}$) ile log (1/[dsDNA]) grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

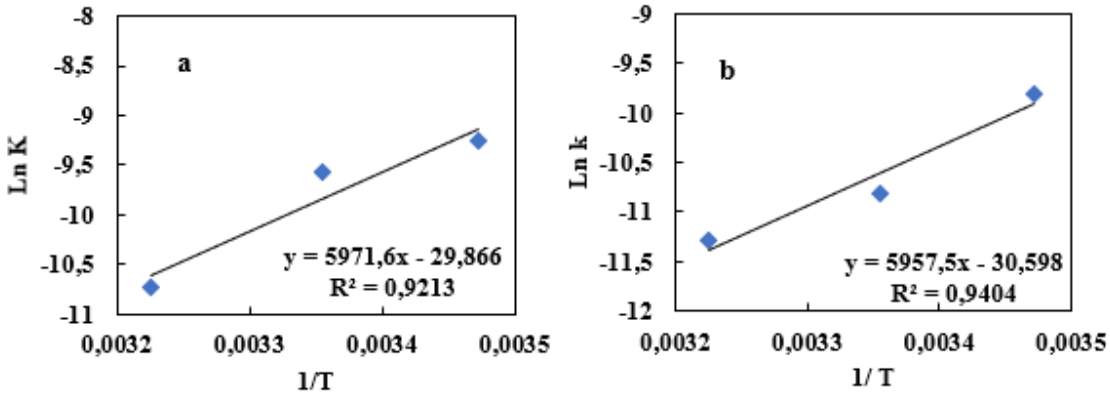
Belirlenen kesim noktalarından ve Eşitlik 2.8' den yararlanarak KA-dsDNA etkileşiminin bağlanma sabitleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.1). Çizelge 4.1'de verildiği gibi, pH 4,8'de bulunan bağlanma sabiti 1,34 × 10^4 $mol^{-1}L$ iken pH 7,4'de 6,99 × 10^4 $mol^{-1}L$ olarak hesaplanmıştır. KA- dsDNA arasındaki etkileşimin, asetat ortamına göre fosfat tampon ortamında nispeten daha kuvvetli bir kompleks oluştuğu söylenebilir (Temerk vd., 2016).

KA ile dsDNA etkileşiminin Gibbs serbest enerjisi ΔG^o, Eşitlik 2,9 yardımıyla hesaplanmıştır (Çizelge 4.1). Çizelge 4.1'de verildiği gibi, Gibbs serbest enerjisi ΔG^o değerleri pH 4,8'de -23,54 kJ mol^{-1} ve pH 7,4'de -33,34 kJ mol^{-1} olarak hesaplanmıştır. Gibbs serbest enerjisi ΔG^o değeri negatif olması reaksiyon kendiliğinden gerçekleştiğini belirtmektedir (Temerk ve vd., 2016).

4.1.6 Sıcaklık etkisi

Termodinamik parametreleri (ΔH^o, ΔS^o) hesaplamak için sıcaklık çalışma gerçekleştirilmiştir. Bölüm 4.1.3'de belirtildiği gibi, 1,0 × 10^{-5} M KA bulunan çözeltiye farklı derişimdeki dsDNA eklemeleri 3 farklı sıcaklıklarda (288, 298 ve 310 K) DPV

yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Her bir sıcaklıkta elde edilen ln K değerleri 1/T'ye karşı grafiği geçirilmiştir (Şekil 4.10.a, b). Grafiklerde elde edilen doğrunun eğiminden ΔH° değeri bulunurken kesim noktasından ise ΔS° değeri belirlenmiştir. ΔHº ve ΔSº Eşitlik 2.10 'den yararlanarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.1'de özetlenmiştir.



Şekil 4.10 (LnK - 1/T) grafikleri, a) ABS pH 4,8, b) PBS pH 7,4

Çizelge 4.1 KA-dsDNA kompleksinin bağlanma sabitleri ve termodinamik parametreleri

pH	**Ortam bileşimi**	**K (mol^{-1} L) × 10^4**	**ΔGº (kJ mol^{-1})**	**ΔHº (kJ mol^{-1})**	**ΔSº (J mol^{-1} k^{-1})**
4.8	KA+ dsDNA	1,34± 0,002	-23,54 ± 0,004	-49,64 ± 0,007	-284,30 ± 0,005
7.4	KA+ dsDNA	6,99± 0,008	-33,34 ± 0,002	-49,53 ± 0,001	-254,39 ± 0,001

Çizelge 4.1'e göre, elde edilen ΔSº ve ΔHº' nın negatif değerde olması, KA-dsDNA etkileşiminin van der Waals veya hidrojen bağları üzerinden olabileceğini düşündürmüştür (Temerk vd, 2016).

4.1.7 DV ile elde edilen bulgular

dsDNA içermeyen ve 30 ppm dsDNA olduğu ortamda difüzyon katsayısı (D), heterojen hız sabitinin (k_s) ve elektrot yüzeyin derişimin (Γ) değerleri belirlemek için farklı tarama

hızlarında DV voltamogramları alınmıştır. Pik akımları ve pik potansiyelleri yardımıyla hesaplamalar yapılmıştır.

Difüzyon katsayısının (D) hesaplaması: Difüzyon katsayısı Eşitlik 2.2'den ve i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}^{1/2}$ grafiğin eğiminden yararlanarak hesaplanmıştır. İki farklı fizyolojik ortamda dsDNA yok iken ve dsDNA var iken difüzyon katsayıları hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Çizelge 4.2'de verildiği gibi, pH 4,8'de KA' nın $1{,}00 \times 10^{-5}$ cm^2s^{-1}, DNA eklendiğinde $0{,}88 \times 10^{-5}$ cm^2s^{-1}' ye değeri düşmektedir. pH 7,4'de KA'nın $0{,}91 \times 10^{-5}$ cm^2s^{-1}, dsDNA eklendiğinde $0{,}58\times 10^{-5}$ cm^2s^{-1}' ye düşmektedir. Bu sonuca göre, serbest elektro aktif KA'nın elektrot yüzeyine olan difüzyonunun azaldığı düşünülmüştür (Temerk vd., 2016).

Heterojen hız sabitinin (k_s) hesaplaması: Heterojen elektron aktarım hız sabiti Eşitlik 2.4'den ve ln*v-Ep* grafiğinden yararlanarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Çizelge 4.2' de verildiği k_s değerlere göre, pH 4,8'de KA'nın 0,0337 s^{-1} ve KA-dsDNA 0,0265 $s^{-1,}$ dir. pH 7,4'de ise k_s değerleri, KA'nın 0,0435 s^{-1} ve KA-dsDNA 0,0419 $s^{-1,}$ dir. Bu sonuçlara göre, KA'nın heterojen hız sabiti değerlerinin dsDNA eklenmeden önce ve sonra neredeyse değişmemiştir. KA'nın elektrokimyasal özelliğinde bir değişiklik olmadığı ve KA-dsDNA kompleks oluşumunda elektro aktif özellik göstermediği sonucuna varılmıştır (Jiao, 2005).

Elektrot yüzeyin derişimin (Γ) hesaplaması: Elektrot yüzey derişimleri Eşitlik 2.5 'den ve i_p - $\boldsymbol{\upsilon}$ grafiğinden yararlanarak her iki ortamda dsDNA yok iken ve dsDNA var iken hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Çizelge 4.2'de verildiği gibi pH 4,8'de KA' nın elektrot yüzey derişimi $1{,}90 \times 10^{-8}$ mol cm^{-2} ve dsDNA ilave edilirken $1{,}62 \times 10^{-8}$ mol cm^{-1} olarak bulunmuştur. pH 7,4'de ise KA' nın $8{,}89 \times 10^{-8}$ mol cm^{-2}, dsDNA eklendiği halde $3{,}73 \times 10^{-8}$ mol cm^{-2}'ye değeri düştüğünü gözlenmiştir. Bu sonuca göre, pH 7,4'de KA'nın elektrot yüzeyindeki derişimi dsDNA ilave edildiğinde neredeyse yarıya düştüğünü gözlenmiştir (Fotouhi vd., 2013; Bayraktepe, 2020).

Çizelge 4.2 serbest KA' nın ve KA-dsDNA kompleksinin hesaplandığı difüzyon katsayısı (D), heterojen hız sabiti (k_s) ve elektrot yüzeyin derişimi (Γ)

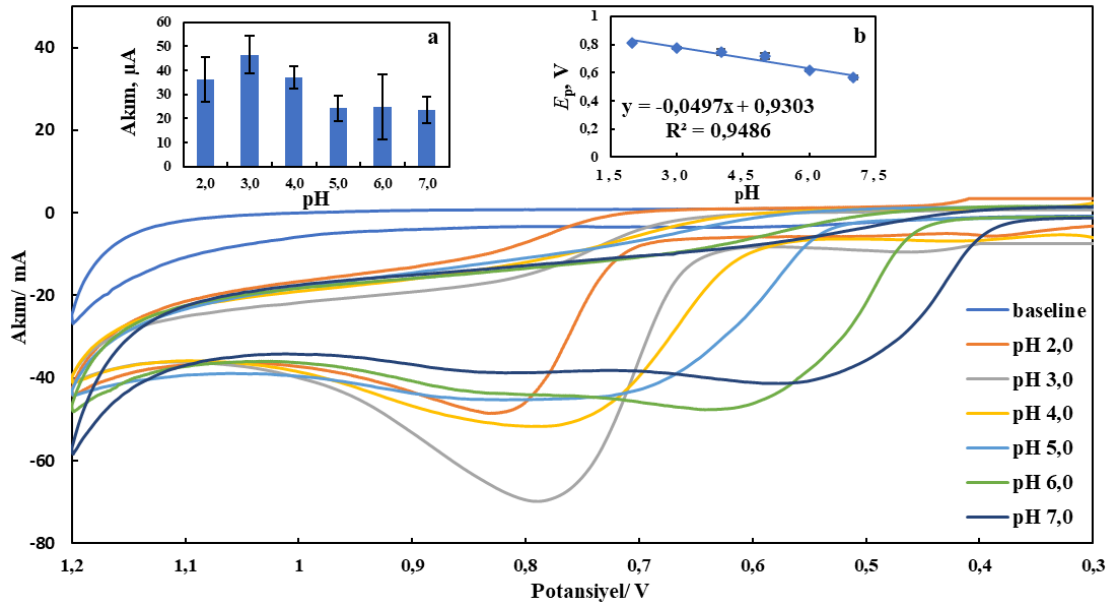
pH	Ortam bileşeni	D, $cm^2/s \times 10^{-5}$	k_s, 1/s	Γ, mol/ cm × 10^{-8}
ABS 4,8	KA	1,00 ±0,001	0,0337	1,90 ± 0,002
	KA + dsDNA	0,88 ±0,0004	0,0365	1,62 ± 0,007
PBS 7,4	KA	0,91 ± 0,0006	0,0435	8,89 ± 0,005
	KA + dsDNA	0,58 ± 0,0005	0,0419	3,73 ± 0,001

4.2 Arbutin-dsDNA Etkileşimi ile Yapılan Voltametrik Çalışmalar

4.2.1 Destek elektrolit ve pH etkisi

AR'nin elektrokimyasal davranışı, geniş bir pH aralığına sahip olan 0,04 M BR tampon ortamında (pH 2,0-7,0) DV yöntemi ile incelenmiştir. Bu amaçla, $5,0 \times 10^{-4}$ M AR'nin potansiyel aralığı (+0,2) V – (+1,2) V ve tarama hızı (0,1 V/s) ile v voltamogramları alınmıştır. Şekil 4.11'de görüldüğü gibi, AR'nin pH 3,0'de yaklaşık 0,8 V' de yükseltgenme piki meydana gelmiştir. Geri taramada ise, AR' e ait hiçbir indirgenme pike rastlanmamıştır.

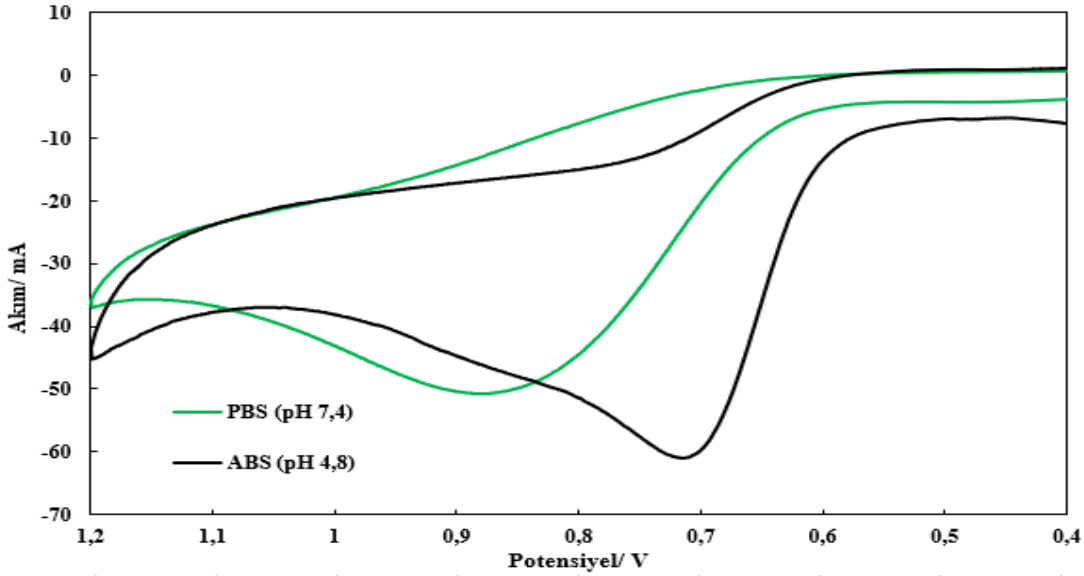
AR'nin yükseltgenme pikinin pH ile değişimine ait i_p-pH ve E_p-pH grafikleri şekil 4.11.a, b. ile gösterilmiştir. Şekil 4.11.a incelendiğinde, pH artışıyla pik akımlarının azaldığı ve ve pikini yayvanlaştığı görülmüştür. En yüksek pik akımı değeri pH 3,0'de kaydedilmiştir. Şekil 4.11.b'de görüldüğü gibi, Arbutin'e ait yükseltgenme pik potansiyellerin negatif değerine doğru kaydığı gözlenmiştir.



Şekil 4.11 5,0 $\times 10^{-4}$ M AR' nin BR tampon ortamında farklı pH'larda DV voltamogramları (v: 0,1 V/s) İç grafikler: a) i_p - pH ve b) *Ep* - pH grafiği

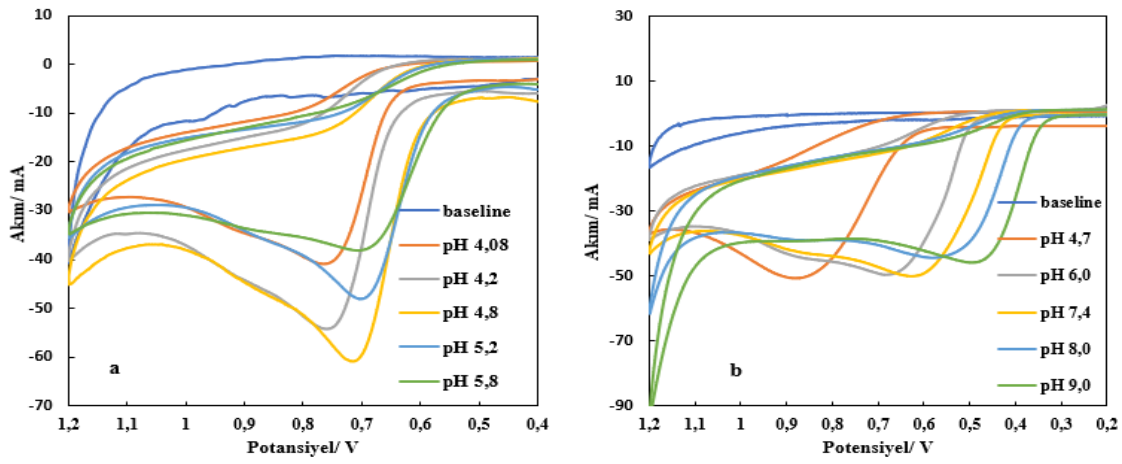
Pik potansiyellerinin ile pH değişmesi, AR'nin elektrokimyasal yükseltgenmesinde protonun yer aldığını gözlenmiştir. *E*p ile pH arasındaki doğru denkleminin eğimini 49,7 mV/pH, teorik Nernstian değeri olan (59 mV/pH) değerine yakın bulunmuştur. Bu sebeple, AR' nin yükseltgenme reaksiyonunda yer alan proton sayısı elektron sayısına eşit olduğu sonucuna varılmıştır (Wang, 2006).

Arbutinin elektrokimyasal yükseltgenme davranışı geniş bir pH aralığında (2,0-7,0) BR tamponunda çalışıldıktan sonra, DNA etkileşimlerinin inceleneceği asetat tamponunda pH 4,8 ve fosfat tamponunda pH 7,4'de voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 5,0 × 10^{-4} M AR' in elektrokimyasal yükseltgenmesine elektrolit etkisi

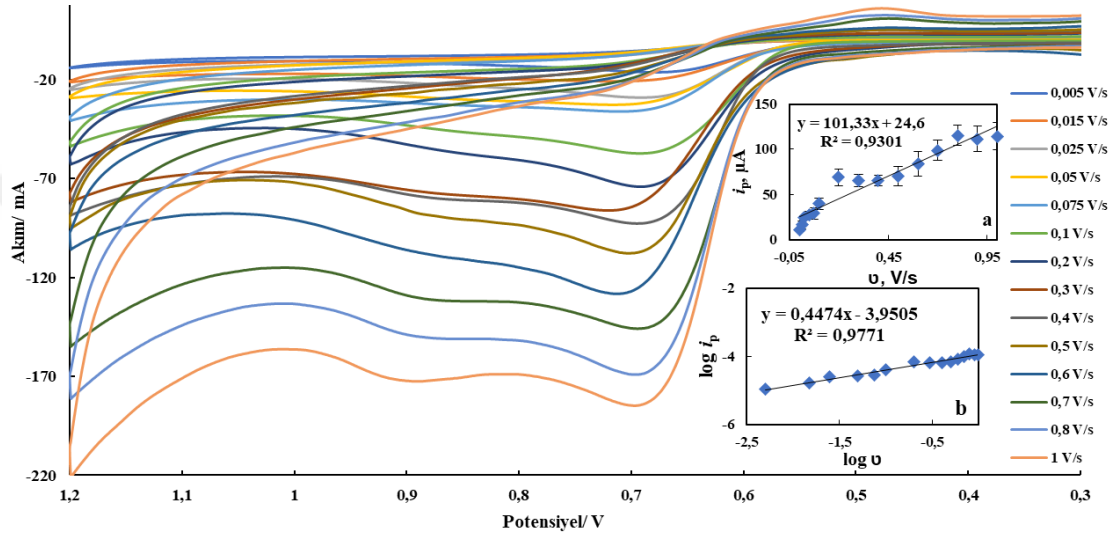
Şekil 4.12 incelendiğinde, pH 4,8 AR'nin keskin bir yükseltgenme piki var iken fosfat tamponunda pik yayvanlaşmıştır. Daha sonra asetat tamponu ve fosfat tamponu için pH aralıkları daha ayrıntılı değiştirerek deneyler yapılmıştır. Bu amaçla, asetat tamponu pH aralığında (4,08, 4,2, 4,8, 5,2, 5,8), fosfat tamponu ise (pH 4,7; 6,0; 7,4; 8,0; 9,0) AR'nin DV voltamogramları alınmıştır (Şekil 4.13). (Şekil 4.13.a)'ye göre, AR'nin yükseltgenme piki için en yüksek pik akımı asetat tampon ortamında pH 4,8'de gözlenmiştir. Fosfat tamponunda ise (Şekil 4.13.b), pH arttıkça yükseltgenme pikinin nispeten yayvanlaştığı gözlenmiştir. En yüksek pik akımı ise, pH 7,4'de gözlenmiştir.



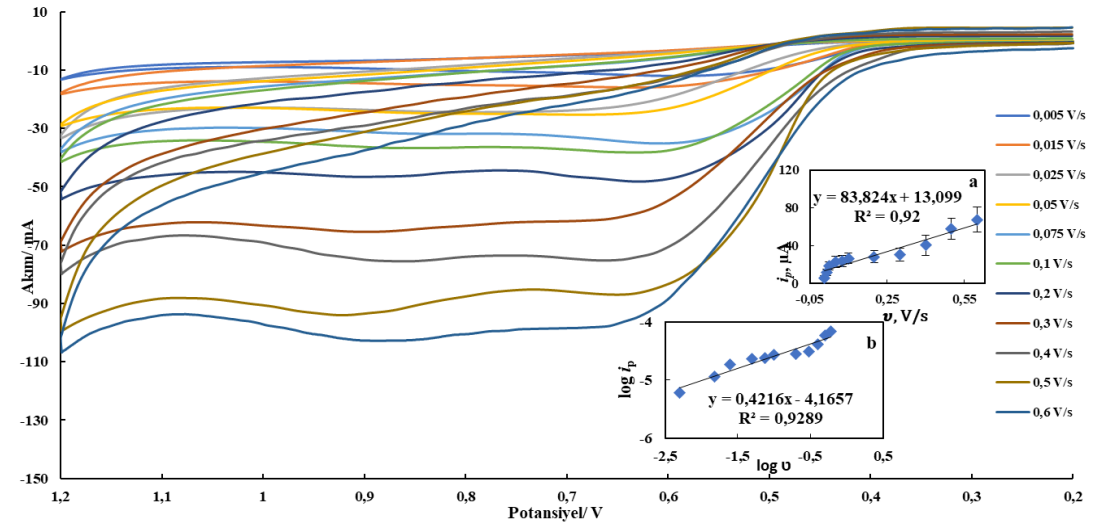
Şekil 4.13 5,0 ×10^{-4} M AR'nin pH çalışmalarında kaydedilen dönüşümlü voltamgramları a) asetat tamponu, b) fosfat tamponu

4.2.2 Tarama hızı çalışması

AR'nin kalem grafit elektrot yüzeyinde elektrokimyasal davranışı (tersinirlik, tersinmezlik, adsorpsiyon özellikleri) pH 4,8 ve pH 7,4'de DV yöntemi ile incelenmiştir (Şekil 4.14 ve 4.15). Bu çalışmalar için 5,0 × 10^{-4} M AR içerdiği ortamın pH 4,8'de 0,005-1000 V/s^{-1} ve pH 7,4'de 0,005-0,600 Vs^{-1} aralığında tarama hızı çalışması yapılmıştır.



Şekil 4.14 5,0 × 10^{-4} M AR'nin DV yöntemi ile farklı tarama hızlarında elde edilen voltamgramları iç grafikler, a) i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}$, b) log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$, pH 4,8



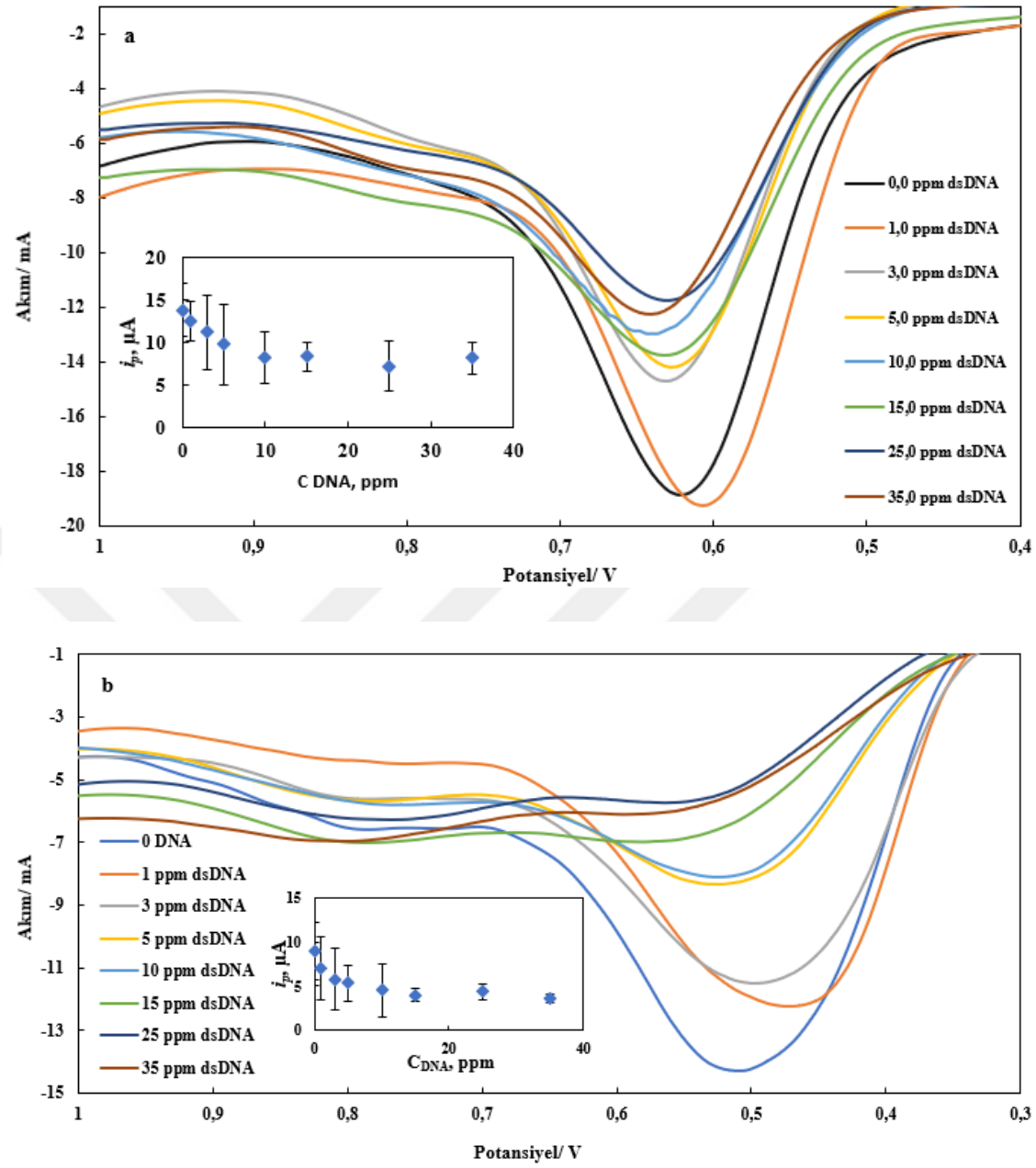
Şekil 4.15 5,0 × 10^{-4} M AR'nin DV yöntemi ile farklı tarama hızlarında elde edilen Voltamgramları iç grafikler, a) i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}$, b) log i_p ile log $\boldsymbol{\upsilon}$, pH 7,4

Şekil 4.14 ve 4.15'de görüldüğü üzere, her iki pH değerinde tarama hızı arttıkça AR'in pik akımının arttığı gözlenmiştir. Ancak, yüksek tarama hızlarında yükseltgenme piklerinde yarılmalar gözlenmiştir. AR'nin Yükseltgenme pik potansiyelinin ise pozitif potansiyel değerlerine kaydığı görülmektedir. AR'nin geri taramada hiçbir indirgenme pike rastlanmadığı için AR'nin tersinmez bir elektrokimyasal davranışı gösterdiği sonucuna varılmıştır.

AR' nin KGE yüzeyinde taşınmasının şekli incelemek için asetat tamponunda (pH 4,8) ve fosfat tamponunda (pH 7,4) belirtilen tarama hızı aralıklarında yükseltgenme pik akımlarının tarama hızıyla değişimini gösteren grafikler (i_p-ν ve logi_p ile log$\boldsymbol{\nu}$) çizilmiştir (Şekil 4.14 ve 4.15). Grafik 4.14.a ve 4.15.a incelendiğinde, tarama hızı artışıyla pik akımının doğrusal değişmediği gözlenmiştir. Aynı zamanda, (logi_p – log$\boldsymbol{\nu}$) grafiğinin eğim değerinin pH 4,8'de 0,45 ve pH 7,4'de 0,38 olarak bulunmuştur (Şekil 4.14.b ve 4.15.b). Elde edilen sonuçlara göre, AR'nin elektrot yüzeyine difüzyon yoluyla taşındığı söylenebilir (Bard ve Faulkner, 2001, Ayder, 2019).

4.2.3 AR-dsDNA etkileşiminin DPV incelenmesi

AR-dsDNA etkileşiminin pH 4,8 ve pH 7,4' de incelemek amacıyla, 5,0 × 10^{-4} M AR içeren ortamlara dsDNA çözeltisinden belli derişimlerde (1,0 ppm; 3,0 ppm; 5,0 ppm; 10,0 ppm; 15,0 ppm; 25,0 ppm; 35,0 ppm) eklemeler yapılmıştır. AR' e ait yükseltgenme pik akımlar ve pik potansiyellerinde değişikler DPV yöntemi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.16). Kaydedilen akımlar dsDNA derişim ile grafikler çizilmiştir (Şekil 4.16.a, b). Her iki pH ortamında, AR' e ait pik akımı dsDNA ilavesi ile (1,0 ile 10,0 ppm aralığında) doğrusal olarak değişmektedir. 25 ppm'den sonra ise, AR'nin pik akımı sabit kaldığı gözlenmiştir. Buna göre, her iki pH değerinde DNA'nın optimumum derişim 30 ppm olarak seçilmiştir.

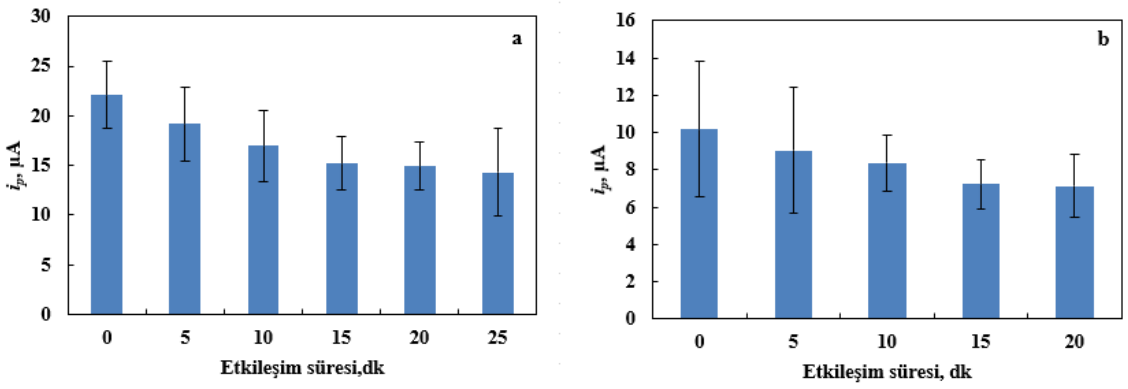


Şekil 4.16 AR' nin DPV ait sinyaline artan dsDNA derişimin etkisi (içindeki grafik: C_{DNA} –i_{pAR}), a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

AR-dsDNA etkileşiminin bağlanma modu, her iki ortamda AR'e ait yükseltgenme piklerinin potansiyelinin dsDNA ilavesiyle pozitif kaydığı gözlenmiştir (Şekil 4.16.a, b). Bu sonuca göre, AR'nin dsDNA ile etkileşiminin interkalasyon şeklinde olabileceği düşünülmüştür (Shahabadi ve Moghadam 2012; Bialobrzeska vd., 2019).

4.2.4 Etkileşim süresi

Madde-dsDNA etkileşim süresi incelenmek için çözelti ortamında 5,0 × 10^{-4} M AR ve 30ppm dsDNA varken etkileşim süresi değiştirilmiştir. Bu amaçla, pH 4,8' de (0, 5, 10, 15, 20, 25) dk ve pH 7,4'de (0, 5, 10, 15, 20) dk olarak değiştirilmiştir. Her bir etkileşim süresi sonrasında şekil 4.17'de görüldüğü gibi, DPV voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 4.17.a'de görüldüğü gibi, pH 4,8 etkileşim süresi 10 dk' ye kadar pik akımını azaldığı gözlenmiştir. 10 dk' den ise neredeyse sabit kaldığı gözlenmiştir. Bu sonuca göre, AR-dsDNA etkileşimi için optimum etkileşim süresi 10 dk olarak belirlenmiştir. pH 7,4 ise (Şekil 4.17.b), 15 dk etkileşim süresinden sonra pik akımında belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Bu sonuca göre, optimum etkileşim süresi 15 dk olarak seçilmiştir.

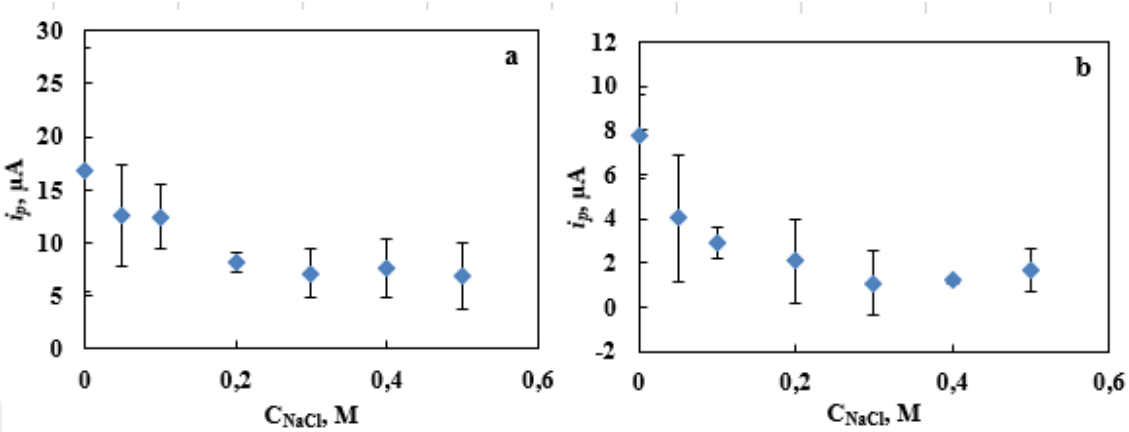


Şekil 4.17 AR-dsDNA etkileşimine ait farklı sürelerde elde edilen i_p - etkileşim süre grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

4.2.5 Tuz etkisi

Optimum DNA derişimi 30 ppm, optimum etkileşimin süresi pH 4,8'de 10 dakika ve pH 7,4'de 15 dakika belirledikten sonra AR ve dsDNA'nın arasındaki etkileşimin elektrostatik olup olmadığını ve olası diğer bağlanma türler hakkında bilgi edinmek için tuz etkisi çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 5,0 × 10^{-4} M AR ile optimum DNA'nın derişimin bulunduğu ortama farkı derişimlerde (0,05 M; 0,1 M; 0,2 M; 0,3 M; 0,4 M ve 0,5 M) NaCl tuzu ilave edilerek pH 4,8'de ve pH 7,4'de DPV ile voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.18.a, b). Her iki pH ortamında, AR'e ait

yükseltgenme pik akımı NaCl'in derişimi 0,1 M'a kadar bir azalma olurken 0,1 M'dan daha yüksek NaCl derişimlerde pik akımını nispeten aynı seviyede kaldığı gözlenmiştir.



Şekil 4.18 AR'nin dsDNA içerdiği ortamın C_{NaCl} ile i_{pAR} grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

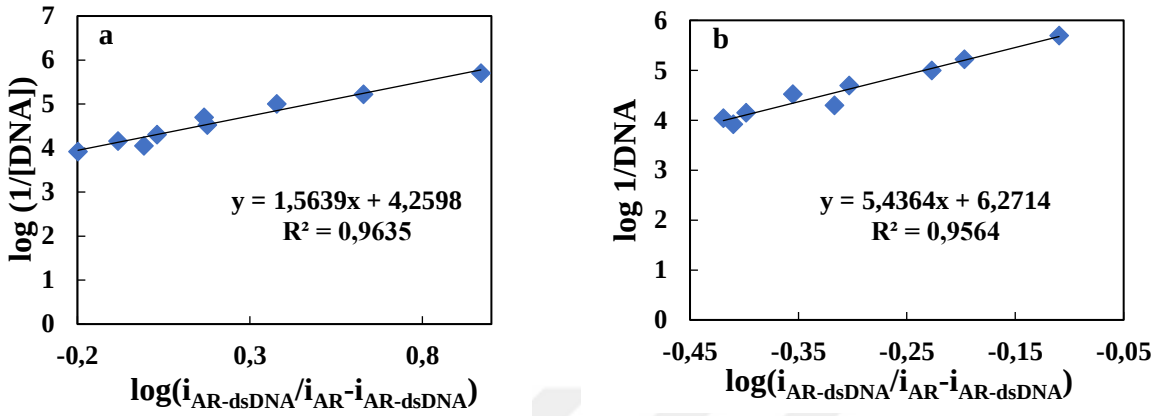
Düşük NaCl derişimlerinde, pozitif yüklü AR'nin dsDNA'nın negatif fosfat gruplarına elektrostatik olarak bağlandığı varsayılabilir. Ancak NaCl derişimi arttıkça, dsDNA'nın çevresi Na^+ iyonları ile çevrildiği için AR, dsDNA ile elektrostatik olarak etkileşemez hale gelir ve akım değişmez. Bu sonuçlara göre, düşük tuz derişimlerinde pik akımının azalması, yüksek tuz derişimlerinde ise akımın neredeyse sabit kalması AR ile dsDNA arasındaki etkileşimde hem elektrostatik hem de interkalasyonun baskın olduğu sonucuna varılmıştır (Radi vd., 2003; Paul ve Bhattacharya, 2012).

Bağlanma sabiti K ve Gibbs serbest enerjisi ΔG^o: AR-dsDNA etkileşiminin bağlanma sabiti iki farklı tampon ortamında (pH 4,8 ve pH 7,4) hesaplanmıştır. AR'nin dsDNA oluşturduğu kompleksin aşağıdaki reaksiyona göre verilmiştir (Bialobrzeska vd., 2019):

$$AR + dsDNA \leftrightarrow AR - dsDNA$$

Burada AR'nin sabit derişimde olduğu ortama DNA'nın belli derişimlerde eklenmiştir. Buna göre, her bir dsDNA eklenmeden önce ve ekledikten sonra hesaplanan $\log\left(\frac{i_{AR-DNA}}{i_{AR}-i_{AR-DNA}}\right)$ ve ona karşılık gelen log (1/[dsDNA]) değerleri grafiğe geçirilmiştir

(Şekil 4.19.a, b). Şekil 4.19.a, b'de elde edilen grafiğin kesim noktası sırasıyla 4,26 ve 6,27 olarak verilmiştir.



Şekil 4.19 (log $İ_{AR\text{-}dsDNA}/İ_{AR}\text{-}İ_{AR\text{-}dsDNA}$) ile log (1/[dsDNA]) grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

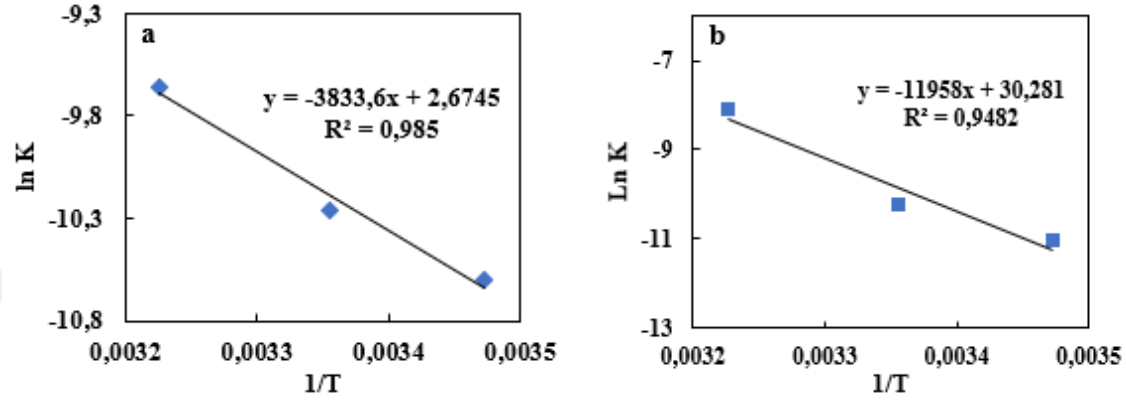
Belirlenen kesim noktalarından ve Eşitlik 2.8' den yararlanarak AR-DNA etkileşiminin bağlanma sabitleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Çizelge 4.3'de verildiği gibi, pH 4,8'de bulunan bağlanma sabiti 1,91 × 10^4 mol^{-1} L iken pH 7,4'de 2,13 × 10^4 mol^{-1} L olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bağlanma sabit değerleri, AR ile dsDNA etkileşiminin bağlanma modunu interkalasyon olduğunu işaret etmektedir (Shahabadi ve Moghadam 2012)

AR ile dsDNA etkileşiminin Gibbs serbest enerjisi ΔG^o, Eşitlik 2,9 yardımıyla hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Çizelge 4.3'de verildiği gibi, Gibbs serbest enerjisi ΔG^o değerleri pH 4,8'de −24,25 kJ mol^{-1} ve pH 7,4'de −24,69 kJ mol^{-1} olarak hesaplanmıştır. Gibbs serbest enerjisi ΔG^o değeri negatif olması reaksiyon kendiliğinden gerçekleşmesi göstergesidir (Temerk ve vd., 2016)

4.2.6 Sıcaklık etkisi

Termodinamik parametreleri (ΔH^o, ΔS^o) hesaplamak için sıcaklık çalışması gerçekleştirilmiştir. Bölüm 4.2.3'de belirtildiği gibi, 5,0 × 10^{-4} M AR bulunan çözeltiye farklı derişimdeki dsDNA eklemeleri 3 farklı sıcaklıklarda (288, 298 ve 310 K) DPV

yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Her bir sıcaklıkta elde edilen ln K değerleri 1/T'ye karşı grafiği geçirilmiştir (Şekil 4.20.a, b). Grafiklerde elde edilen doğrunun eğiminden ΔH° değeri bulunurken kesim noktasından ise ΔS° değeri belirlenmiştir ΔHº ve ΔSº Eşitlik 2.10 'den yararlanarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.3'de özetlenmiştir.



Şekil 4.20 (LnK - 1/T) grafikleri, a) ABS pH 4,8 b) PBS pH 7,4

Çizelge 4.3 AR-dsDNA kompleksinin bağlanma sabitleri ve termodinamik parametreleri

pH	**Ortam bileşimi**	**K ($mol^{-1}L$) × 10^4**	**ΔGº (kJ mol^{-1})**	**ΔHº (kJ mol^{-1})**	**ΔSº (J mol^{-1} k^{-1})**
4.8	AR + dsDNA	1,91±0,002	-24,24±0,002	31,87± 0,002	22,23± 0,005
7.4	AR + dsDNA	2,13±0,006	-24,69±0,002	99,41± 0,008	251,75± 0,006

Çizelge 4.3'e göre, ΔHº ve ΔSº pozitif değerde olması, AR'nin DNA'ya bağlanmasının endotermik olabileceğini (Sun vd. 2009) aynı zamanda AR'nin yapısında bulunan fenil halkanın DNA ile hidrofobik etkileşim kurabileceği düşünülmüştür (Paul ve Bhattacharya, 2012; Temerk ve vd., 2016).

4.2.7 DV ile elde edilen bulgular

dsDNA içermeyen ve 30 ppm dsDNA olduğu ortamda difüzyon katsayısı (D), heterojen hız sabitinin (k_s) ve elektrot yüzeyin derişimin (Γ) değerlerini belirlemek için farklı tarama hızlarında DV voltamogramları alınmıştır. Pik akımları ve pik potansiyelleri yardımıyla hesaplamalar yapılmıştır.

Difüzyon katsayısının (D) hesaplaması: Difüzyon katsayısı Eşitlik 2.2'den ve i_p ile $\boldsymbol{\upsilon}^{1/2}$ grafiğin eğiminden yararlanarak, iki farklı fizyolojik ortamda dsDNA yok iken ve dsDNA var iken difüzyon katsayıları hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Çizelge 4.4'de verildiği gibi, pH 4,8'de AR' nin $1,0 \times 10^{-6}$ cm^2s^{-1}, dsDNA eklendiğinde $0,8 \times 10^{-6}$ cm^2s^{-1}' ye değeri düşmektedir. pH 7,4'de AR'nin $1,1 \times 10^{-3}$ cm^2s^{-1}, dsDNA eklendiğinde $0,6 \times 10^{-3}$ cm^2s^{-1}' ye düşmektedir. Bu sonuca göre, serbest elektro aktif AR'nin elektrot yüzeyine olan difüzyonunun azaldığı düşünülmüştür (Janjua vd., 2014).

Heterojen hız sabitinin (k_s) hesaplaması: Heterojen elektron aktarım hız sabiti Eşitlik 2.4'den ve lnυ-Ep grafiğinden yararlanarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Çizelge 4.4' de verildiği k_s değerlere göre, pH 4,8'de AR'nin 0,0174 s^{-1} ve AR-dsDNA 0,0168 $s^{-1,}$ dir. pH 7,4'de ise k_s değerleri, AR'nin 0,0103 s^{-1} ve AR-dsDNA 0,0099 $s^{-1,}$ dir. Bu sonuçlara göre, AR'nin heterojen hız sabiti değerlerinin dsDNA eklenmeden önce ve sonra neredeyse değişmemiştir. AR'nin elektrokimyasal özelliğinde bir değişiklik olmadığı ve AR-dsDNA kompleks oluşumunda elektro aktif özellik göstermediği sonucuna varılmıştır (Jiao, 2005).

Elektrot yüzeyin derişimin (Γ) hesaplaması: Elektrot yüzey derişimleri Eşitlik 2.5 'den ve i_p - $\boldsymbol{\upsilon}$ grafiğinden yararlanarak her iki ortamda dsDNA yok iken ve dsDNA var iken hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Çizelge 4.4'de verildiği gibi pH 4,8'de AR'nin elektrot yüzey derişimi $6,67 \times 10^{-8}$ mol cm^{-2} ve dsDNA ilave ederken $6,52 \times 10^{-8}$ mol cm^{-1} olarak bulunmuştur. pH 7,4'de ise AR'nin $5,51 \times 10^{-8}$ mol cm^{-2}, dsDNA eklendiği halde $4,47 \times 10^{-8}$ mol cm^{-2}'dir.

Çizelge 4.4 AR' nin ve AR-dsDNA kompleksinin hesaplandığı difüzyon katsayısı (D), heterojen hız sabiti (k_s) ve elektrot yüzeyin derişimi (Γ)

pH	**Ortam bileşeni**	**D, cm^2 /s $\times 10^{-6}$**	**k_s, 1/s**	**Γ, mol/ cm^{-1} $\times 10^{-8}$**
ABS 4,8	AR	1,0 ± 0,004	0,0174	6,67 ± 0,002
	AR + dsDNA	0,8 ± 0,005	0,0168	6,52 ± 0,005
PBS 7,4	AR	1,1 ± 0,002	0,0103	5,51 ± 0,009
	AR + dsDNA	0,6 ± 0,005	0,0099	4,47 ± 0,001

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, ketokonazol ve arbutin'in DNA ile etkileşimi, çözelti ortamında tek kullanımlık kalem grafit elektrot yüzeyinde incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar özetlenmiştir:

- Ketokanozolün elektrokimyasal yükseltgenmesi (pH 4,8 ve pH 7,4) yaklaşık +0,70 V da gerçekleştiği ve tersinmez ve adsorpsiyon kontrollü olduğu sonucuna varılmıştır.

- KA'nın yükseltgenme piki için en yüksek ve en belirgin pik akımı fosfat tampon ortamında pH: 7,4'de gözlenmiştir.

- KA'nın dsDNA ile etkileşiminin etkileyen parametreler (dsDNA derişimi, etkileşim süresi, tuz etkisi, sıcaklık etkisi) optimize edilmiştir.

- KA'ya ait yükseltgenme piklerinin potansiyelinin dsDNA ilavesiyle negatif kayması, KA'nın dsDNA ile etkileşiminin elektrostatik veya oluğa bağlanma şeklinde olabileceği sonucuna varılmıştır.

- KA'nın dsDNA ile etkileşimine ait bağlanma sabiti, pH 4,8 de $1{,}34\times10^{4}$ mol^{-1} L iken pH 7,4 ise $6{,}99\times10^{4}$ mol^{-1} L olarak hesaplanmıştır. KA- dsDNA arasındaki etkileşimin, asetat tamponu ortamına göre fosfat tampon ortamında nispeten daha kuvvetli bir kompleks oluştuğu sonucuna varılmıştır.

- KA ile dsDNA etkileşiminin Gibbs serbest enerjisi (ΔG^{o}) değerleri pH 4,8'de -23,54 kJ mol^{-1} ve pH 7,4'de -33,34 kJ mol^{-1} olarak hesaplanmıştır. Gibbs serbest enerjisi ΔG^{o} değeri negatif olması reaksiyon kendiliğinden gerçekleştiğini belirtmektedir.

- Farklı sıcaklıklarda KA-dsDNA etkileşimi incelenmiştir ve bazı termodinamik parametreler (ΔH° ve ΔS°) hesaplanmıştır. ΔSº ve ΔHº' nın negatif değerde olması, KA-dsDNA etkileşiminin van der Waals veya hidrojen bağları üzerinden olabileceğini sonucuna varılmıştır

- KA-dsDNA etkileşimin öncesi ve etkileşimin sonrası difüzyon katsayıları, pH 4,8'de KA' nın 1,0 × 10^{-5} cm^2s^{-1}, DNA eklendiğinde 0,88 × 10^{-5} cm^2s^{-1}' ye değeri düşmektedir. pH 7,4'de KA'nın 0,91 × 10^{-4} cm^2s^{-1}, dsDNA eklendiğinde 0,58× 10^{-5} cm^2s^{-1}' ye düşmesi, serbest elektro aktif KA'nın elektrot yüzeyine olan difüzyonunun azaldığı sonucuna varılmıştır.

- KA'nın elektrokimyasal yükseltgenmesinin heterojen hız sabitleri pH 4,8'de KA'nın 0,0337 s^{-1} ve KA-DNA 0,0265 $s^{-1,}$ dir. pH 7,4'de ise KA'nın 0,0435 s^{-1} ve KA-DNA 0,0419 $s^{-1,}$ dir., KA'nın heterojen hız sabiti değerlerinin dsDNA eklenmeden önce ve sonra neredeyse değişmemiştir. KA'nın elektrokimyasal özelliğinde bir değişiklik olmadığı ve KA-dsDNA kompleksin elektro aktif özellik göstermediği sonucuna varılmıştır.

- Yapılan literatür araştırmasına göre, KA'nın dsDNA ile etkileşimi bu tez kapsamında voltametri ile ilk defa detaylı olarak incelenmiştir.

- Arbutinin elektrokimyasal yükseltgenmesi pH 4,8'de yaklaşık +0,6 V ve pH 7,4'de yaklaşık +0,70 V da gerçekleştiği ve tersinmez ve difüzyon kontrollü olduğu sonucuna varılmıştır.

- AR'nin yükseltgenme piki için en yüksek ve en belirgin pik akımı asetat tampon ortamında pH: 4,8'de gözlenmiştir.

- AR'nin dsDNA ile etkileşiminin etkileyen parametreler (dsDNA derişimi, etkileşim süresi, tuz etkisi, sıcaklık etkisi) optimize edilmiştir.

- AR'e ait yükseltgenme piklerinin potansiyelinin dsDNA ilavesiyle pozitif kayması, AR'nin dsDNA ile etkileşiminin interkalasyon şeklinde olabileceği sonucuna varılmıştır.

- AR'nin dsDNA ile etkileşimine ait bağlanma sabiti, pH 4,8 de $1{,}91\times10^{4}$ mol^{-1} L iken pH 7,4 ise $2{,}13\times10^{4}$ mol^{-1} L olarak hesaplanmıştır. AR- dsDNA arasındaki etkileşimin, asetat tamponu ortamına göre fosfat tampon ortamında nispeten daha kuvvetli bir kompleks oluştuğu sonucuna varılmıştır.

- AR ile dsDNA etkileşiminin Gibbs serbest enerjisi (ΔG^{o}) değerleri pH 4,8'de -- 24,25 kJ mol^{-1} ve pH 7,4'de -24,69 kJ mol^{-1} olarak hesaplanmıştır. Gibbs serbest enerjisi ΔG^{o} değeri negatif olması reaksiyon kendiliğinden gerçekleştiğini belirtmektedir.

- Farklı sıcaklıklarda AR-dsDNA etkileşimi incelenmiştir ve bazı termodinamik parametreler ($\Delta H°$ ve $\Delta S°$) hesaplanmıştır. ΔS^{o} ve ΔH^{o}' nın pozitif değerde olması, AR -dsDNA etkileşiminin hidrofobik bağları üzerinden olabileceğini sonucuna varılmıştır

- AR-dsDNA etkileşimin öncesi ve etkileşimin sonrası difüzyon katsayıları, pH 4,8'de AR'nin $1{,}0 \times 10^{-6}$ $cm^{2}s^{-1}$, dsDNA eklendiğinde $0{,}8\times 10^{-6}$ $cm^{2}s^{-1}$' değeri düşmektedir. pH 7,4'de $1{,}1 \times 10^{-6}$ $cm^{2}s^{-1}$, dsDNA eklendiğinde $0{,}6 \times 10^{-6}$ $cm^{2}s^{-1}$' ye düşmesi, serbest elektro aktif AR'nin elektrot yüzeyine olan difüzyonunun azaldığı sonucuna varılmıştır.

- AR'nin elektrokimyasal yükseltgenmesinin heterojen hız sabitleri pH 4,8'de AR'nin 0,0174 s^{-1} ve AR-dsDNA 0,0168 s^{-1} $s^{-1,}$ dir. pH 7,4'de ise AR'nin 0,0103 s^{-1} ve AR'nin -dsDNA 0,0099 $s^{-1,}$ dir., AR'nin heterojen hız sabiti değerlerinin dsDNA eklenmeden önce ve sonra neredeyse değişmemiştir. AR'nin elektrokimyasal özelliğinde bir değişiklik olmadığı ve AR-dsDNA kompleksin elektro aktif özellik göstermediği sonucuna varılmıştır.

- AR’nin dsDNA ile etkileşimi literatürde hiçbir yöntem ile çalışılmamıştır. Bu tez çalışmasıyla ilk defa voltametrik yöntemle incelenmiştir.

KAYNAKLAR

Arıca, D., Baykal Selçuk, L., Aran, T., Ateş, E., Yaylı, S., ve Bahadır, S. 2017, Gebelikte kozmetik ve kişisel bakım ürünü kullanımı. Turk J Dermatol. 11, 22-7. doı: 10.4274/tdd.3210.

Alshalalfeh, M.M., Sohail, M., Saleh, T.A. ve Aziz, M.A. 2016, Electrochemical Investigation of Gold Nanoparticle-Modified Glassy Carbon Electrode and its Application in Ketoconazole Determination, Australian Journal of Chemistry, 69 (11), 1314-1320.

Andrezalova, L. ve Orszaghova, Z. 2021, Covalent and noncovalent interactions of coordination compounds with DNA: An overview, Journal of Inorganic Biochemistry 225, 111624.

Ataci, N., Ozcelik, E. ve Arsu, N. 2018, Spectrophotometric study on binding of 2-thioxanthone acetic acid with ct-DNA, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 204, 281–286.

Atmaca, L. 2020, Antineoplastik İlaçların DNA ile Etkileşmelerinin UV-Görünür Bölge Spektroskopisi ile İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Aslan, M., Aydın, F. ve Levent, A. 2023, Voltammetric studies and spectroscopic investigations of the interaction of an anticancer drug bevacizumab-DNA and analytical applications of disposable pencil graphite sensor, Talanta 265, 124893.

Aydar, S., 2019, Modifiye karbon pasta elektrotlar kullanılarak bazı kozmetik ürünlerde kullanılan maddelerin voltametrik tayini, doktora tezi, İstanbul üniversitesi Cerrahpaşa, lisansüstü eğitim enstitüsü, İstanbul.

Bard, A. J. ve Faulkner, L. R. 2001, Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, John Wiley & Sons, Inc, 2. Baskı, New York.

Bard, A. J., İnzelt, G. ve Scholz, F. 2009, Electrochemical Dictionary, Springer-verlag, 1.baskı, Berlin.

Bayraktepe, D. E. 2017, antikanser özellik gösteren bazı maddelerin voltametrik yöntemlerle tayini için modifiye karbon pasta elektrotların geliştirilmesi ve ds-DNA ile etkileşimlerinin incelenmesi, doktora tezi, Ankara üniversitesi, fen bilimleri enstitüsü, Ankara

Bayraktepe, D. E 2020, A voltammetric study on drug-DNA interactions: Kinetic and thermodynamic aspects of the relations between the anticancer agent dasatinib and ds-DNA using a pencil lead graphite electrode, Microchemical Journal 157, 104946.

Baytak, A. K., Duzmen, S., Teker, T. ve Aslanoglu, M. 2017, Voltammetric determination of methylparaben and its DNAinteraction using a novel platform based on carbon nanofibers andcobalt-nickel-palladium nanoparticles, Sensors and Actuators B 239, 330–337

Beşergil, B. 2015, Enstürmental Analiz temel ilkeler, Gazi kitabevi, İzmir

Bialobrzeska, W., Niedzialkowski, P., Malinowska, N., Cebula, Z. ve Ossowski, T. 2019, Analysis of interactions between calf thymus DNA and 1,5-di(piperazin-1-yl) anthracene-9,10-dione using spectroscopic and electrochemical methods, Journal of Molecular Liquids 289, 111080

Bolat, G. 2020, Investigation of poly(CTAB-MWCNTs) composite based electrochemical DNA biosensor and interaction study with anticancer drug Irinotecan, Microchemical Journal 159, 105426

Bond, A.M., Mahon, P.J., Schgewe, J. ve Vgcente-Beckett, V. 1997, An inexpensive and renewable pencil electrode for use in field-based stripping voltammetry. Anal. Chim. Acta, 345: 67-74.

Brett C. M. A. Ve Brett A.M.O. 1994, Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications, Oxford University Press Inc., New York

Chu, X., Shen, G. L., Jiang, J. H., Kang, T.F., Xiong, B. ve Yu, R.Q. 1998, Voltammetric studies of the interaction of daunomycin anticancer drug with DNA and analytical applications, Analytica Chimica Acta 373, 29-38.

Couteau, C. ve Coiffard, L. (2016), Overview of Skin Whitening Agents: Drugs and Cosmetic Products, Cosmetics, 3, 27; doi:10.3390/cosmetics 3030027.

Çomoğlu, T., 2012, Kozmetikler, Marmara Pharmaceutical Journal, 16, 1-8.

Desmedt, B., Courselle, P., De Beer, J.O., Rogiers, V., Grosber, M., Deconinck, E. ve De Paepe, K. 2016, Overview of skin whitening agents with an insight into the illegal cosmetic market in Europe, DOI: 10.1111/jdv.13595.

Douadi, K., Chafaa, S., Douadi, T., Al-Noaimi, M. ve Kaabi, I. 2020, Azoimine quinoline derivatives: Synthesis, classical and electrochemical evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activities and the DNA / BSA binding, Journal of Molecular Structure 1217, 128305

Erdem, A. ve Ozsoz, M. 2002, Electrochemical DNA Biosensors Based on DNA-Drug Interactions, Electroanalysis, 14, No. 14

Findik, M., Bingol, H., Erdem, A. 2021, Electrochemical detection of interaction between daunorubicin and DNA by hybrid nanoflowers modified graphite electrodes, Sensors & Actuators: B. Chemical 329, 129120.

Fotouhi,L., Atoofi, Z. ve Heravi, M.M. 2013, Interaction of ciprofloxacin with DNA studied by spectroscopy and voltammetry at MWCNT/DNA modified glassy carbon electrode, Talanta 103 (2013) 194–200.

Greef, R., Peat, R., Peter, L.M. ve Pletcher, D. 1990, Instrumental methods in electrochemistry, Ellis Horwood Lit, Chichter.

Gowda, B. G., Mallappa M., Shivakumar A. ve Sharma, J. 2014, Electrochemical and spectroscopic studies on the interaction of Ketoconazole with Herring Sperm DNA, Der Pharma Chemica, 6(5):256-264

Gökçay, E. 2007, Kepeğe karşı etkili şampuan formüllerinin hazırlanması ve etkinliklerinin değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara üniversitesi, sağlık bilimleri enstitüsü, İstanbul.

Gökçe, S., Bulduk, İ. ve Bozkurt, S. 2016, Arbutinin LC-MS/MS Tekniği ile Zorlanmış Koşullardaki Bozunurluk Ürünlerinin Tayini, Fırat Üniv. Fen Bilimleri Dergisi, 28(2), 17-23.

Hasanzadeh, M. ve Shadjou, Nasrin. 2016, Pharmacogenomic study using bio- and nanobioelectrochemistry: Drug–DNA interaction, Materials Science and Engineering C 61, 1002–1017

Harvey, D. 2000, analytical chemistry, bölüm 11: electrochemical motheds, McGraw-Hill Companies, California.

Kissinger, P.T. ; Heineman, W.R. 1983, Cyclic voltammetry, J. Chem, Edu., 60, 702-706.

Kissinger, P.T. ; Heineman, W.R. 1996, Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, Marcel Dekker Inc, 2. baskı, New York.

Komeda, S., Moulaei, T., Woods, K. K., Chikuma, M. Farrell, N. P. ve Williams, L. D 2006, A Third Mode of DNA Binding: Phosphate Clamps by a Polynuclear Platinum Complex, J. AM. CHEM. SOC., 128, 16092-16103.

Libánský, M., Zima, J., Barek, J. ve Dejmková, H., 2011, Voltammetric Determination of Arbutin on Carbon Paste Electrode, Sensing in Electroanalysis, 6, 281- 287.

Łukasiewicz, K. M., Tarasiewicz, H. P. ve Niedzielko, A. 2011, Electrooxidation of some antifungel and their square wave voltammetric determination in cosmetics and pharmaceutic, Analytical Letters, 44: 955–967.

Janjua, N. K., Akhter,Z., Jabeen, F. ve Iftikhar B. 2014, Cyclic Voltammetric Investigation of Interactions between Bisnitroaromatic Compounds and ds.DNA, Journal of the Korean Chemical Society, Vol. 58, No. 2.

Jiao, K., Li, Q. J., Sun, W. ve Wang, Z. Y. 2005. Studies on the Recognition Interaction of Rhodamine B and DNA by Voltammetry. Chemical Research in Chinese Universities 21:145–148.

Masawt, P., Lgawruangrath, S., Vaneesorn, Y. ve Lgawruangrath, B., 2002, Design and fabrication of a low-cost flow-through cell for the determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations by flow injection cyclic voltammetry. Talanta. 58: 1221-1234.

Mabbott, G. A. 1983, An introduction to cyclic voltammetry, J. Chem, Edu., 60, 697-702.

Minchin, S. ve Lodge, J. 2019, Understanding biochemistry: structure and function of nucleic acids, Essays in Biochemistry, 63 433–456

Morawska, K., Popławski, T., Ciesielski, W. ve Smarzewska, S. 2018, Electrochemical and spectroscopic studies of the interaction of antiviral drug Tenofovir with single and double stranded DNA, Bioelectrochemistry 123, 227–232.

Nicholson, R.S. ve Shain, I., 1964, Theory of stationary electrode polarography.Anal.Chem. 36: 706 – 723.

Oğuzcan, E. 2020, Psiko-uyarıcı modafinil ile nükleik asitlerin etkileşim mekanizmasının floresans spektroskopisi ile incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul medeniyet Üniversitesi, adli Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Özkan, S. A., Uslu,B. ve Aboul-Enein, H. Y. 2003, Analysis of pharmaceutical and biological fluids using modern electroanalytical techniques, Analytical chemistry, 33(3): 155-181.

Paul, A. ve Bhattacharya, S. 2012, Chemistry and biology of DNA-binding small molecules, Current science, Vol. 102, NO. 2, 25.

Palecek, E. 1996, From Polarography of DNA to Microanalysis with Nucleic Acid-Modified Electrodes, Electroanalysis, 8, No. 1.

Ponkarpagam, S., Mahalakshmi,G. Vennila, K. ve Elango K. 2020, Multi-spectroscopic, voltammetric and molecular docking studies on binding of anti-diabetic drug rosigiltazone with DNA, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 234, 118268.

Radi, A., El Ries, M. A., ve Kandil, S. 2003. Electrochemical study of the interaction of levofloxacin with DNA. Analytica Chimica Acta, 495**,** 61-67.

Radi, A., El-Naggar, A. ve Nassef, H. M. 2014, Electrochemical and Spectral studies on the Interaction of the Antiparasitic Drug Nitazoxanide with DNA, Electrochimica Acta 129, 259–265

Ramotowska, S., Ciesielska, A. ve Makowski, M. 2021, What Can Electrochemical Methods Offer in Determining DNA–Drug Interactions, Molecules, 26, 3478.

Rauf, S., Gooding, J. J., Akhtar, K., Ghauri, M. A., Rahman, M., Anwar, M. A. ve Khalid, A. M. 2005, Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 37(2), 205-217.

Saenger W. 1984, Principles of Nucleic Acid Structure, Springer-Verlag New York Inc., New York.

Saha, U., Dolai, M., Konar, S., Das, A., Butcher, R.J., Kumar, G. S. ve Mukhopadhyay, S. 2021, Design and synthesis of a sulphur containing Schiffbase drug: DNA binding studies and theoreticalcalculations, Journal of biololecular structure and dynamics, VOL. 39, NO. 1, 263–271

Selçuki Kocabalkan D. 2002, Saç Bakım Ürünleri ve Şampuanların Kullanımında Klinik Seçim Kriterleri. T. Klin. Kozmetoloji, 3: 102- 104.

Sencan, N., Duman, G. ve Koparan, M. 2008, Serbest eczacılar ve kometikler: Türkiye'deki durum, Ankara Ecz. Fak. Derg.,37 (4) 269 – 284.

Scholz, F. 2010, Electroanalytical methods; Guide to experments and applications, springer-verlag Berlin Heidelberg, 2. Baskı, London.

Scholz, F. 2015, Voltammetric techniques of analysis: the Essentials, ChemTexts 1:17.

Shahabadi, N. ve Moghadam, N. H. 2012, Determining the mode of interaction of calf thymus DNA with the drug sumatriptan using voltammetric and spectroscopic techniques, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 99, 18–22.

Shamsipur, M. ve Farhadi, K. 2000, Adsorptive stripping voltammetric determination of ketoconazole in pharmaceutical preparations and urine using carbon paste electrodes, Analyst, 125, 1639–1643.

Shih, Y. ve Zen, J. M., 2000, An electrochemical sensor based on a clay-coated screen-printed electrode for the determination of arbutin, Analytica Chimica Acta, 412, 63–68.

Sun, Y., Bi, S., Song, D., Qiao, C., Mu, D. ve Zhang, H. 2009, Study on the interaction mechanism between DNA and the main active components in Scutellaria baicalensis Georgi, Sensors and Actuators B 129, 799–810.

Temerk, Y., Ibrahim, H., Ibrahim, H. ve Kotb, M. 2016, Interactions of an anticancer drug lomustine with single and double stranded DNA at physiological conditions analyzed by electrochemical and spectroscopic methods, Journal of Electroanalytical Chemistry 769, 62–71.

Toptanci, BÇ., Kizil, G. ve Kizil, M., 2016, DNA Damage Mechanisms Of Anti-Cancer Drugs, Middle East Journal of Science, 232–49.

Topkaya, S. N., Kaya, H. O. ve Cetin, A. E. 2021, Linagliptinin Elektrokimyasal Tespiti ve DNA ile Etkileşimi, Turk J Pharm Sci;18(5):645-651.

Tural, h., Gökçel, İ. ve Ertaş, N. 2010, entürmental analiz 1, ege üniversitesi yayınları, 3. Baskı,İzmir.

Ur Rehman, S., Sarwar, T., Husain, M. A., Ishqi, H. M. ve Tabish, M. 2015, Studying non-covalent drug–DNA interactions, Archives of Biochemistry and Biophysics 576, 49–60

Uslu, B. ve Özkan S.A. 2007, Electroanalytical application of carbon based electrodes to the Pharmaceuticals. Anal.Lett. 40: 817 – 853.

Uzuner A. 2002, Kepeğe Karşı Etkili Şampuanlar. T. Klin. Kozmetoloji, 3 : 79-84.

Wang, J., Rivas, G., Fernandes, J. R. Jiang, M., Paz, J. L. L., Waymire, R. Nielsen, Thor W.ve Getts, R.C. 1998, Adsorption and Detection of DNA Dendrimers at Carbon Electrodes, Electroanalysis, 10, No. 8, WILEY-VCH Verlag GmbH, D-69469 Weinheim.

Wang, J. ve Kawde,A.N., (2001). Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization. Anal.Chim.Acta, 431:219-224.

Wang, J. 2006. Analytical Electrochemistry, John Wiley & Sons, Inc., 3. Baskı, New Jersey.

Yaşar, Ö. ve Akdeniz, Ş. 2020, Kozmetikler ve Kişisel Bakım Ürünlerinin Sağlığa Olumsuz Etkileri ve Hemşirenin Rolleri, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Cilt 1, Sayı 3, 118-125.

Zeybek, D K, Doğancı B. D. ve Karaşallı, M. Ö. 2020, 2-Tiyourasilin Tayini için Poli(Bromokrezol moru) ile Modifiye Camsı Karbon Elektroda Dayalı Elektrokimyasal DNA Sensörü Geliştirilmesi, BSEU Journal of Science DOI: 10.35193/bseufbd. 642171, 229-242.

Zoski, C. G. 2007. Handbook of Electrochemistry, Elsevier Science B.V., 2. Baskı, Amsterdam.