



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

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FOTODİNAMİK, FOTOTERMAL VE SONODİNAMİK TERAPİ
YAPABİLEN AZABODİPY**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gölnur ŞAHİN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Fatih ALGI**

AKSARAY, 2024

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 212330406 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Gülnur ŞAHİN tarafından hazırlanan “**FOTODİNAMİK, FOTOTERMAL VE SONODİNAMİK TERAPİ YAPABİLEN AZABODİPY**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Meltem AŞAN ÖZÜSAĞLAM

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Cemalettin BEKPEN

Bahçeşehir Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 25/06/2024

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinallliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Gölnur ŞAHİN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca her türlü bilgi ve deneyimini bizimle paylaşan, bana ışık tutan maddi ve manevi emeğini esirgemeyen, çok değerli saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fatih ALGI'ya saygılarımla teşekkürü bir borç bilirim.

Bilgi ve tecrübesini yüksek lisans eğitimim boyunca gösteren, güler yüzü ile bizleri motive eden saygıdeğer Prof. Dr. Melek PAMUK ALGI hocama en içten şekilde teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren her türlü fedakarlığı gözünü kırpmadan yapan, mücadeleyi ve insanın yaşam yolunda ilerlediğinde karşılaştığı fırtınalarda dimdik ayakta durmayı öğreten canım annem Döne ŞAHİN ve babam Hüseyin ŞAHİN'e, bu süreçte desteklerini hep gösteren canım ablalarım Ayşe Nur KOZ ve Gülcan ŞAHİN'e varlığıyla bana güç veren canım kardeşim Mehmet ŞAHİN'e en içten şekilde teşekkür ederim.

Laboratuvarında ve çalışmalarında bana yardımcı olan bilgilerini, güler yüzünü ve deneyimlerini eksik etmeyen Sümeyye SEÇTİ ve Hülya TAMER'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca manevi desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Yuşa Altar TUNÇ'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarımı gerçekleştirmemde bilgi ve tecrübeleriyle yardımcı olan Dilek Sadife ERKAN'a ve çalışmamı gerçekleştirirken bana destek olan Şafak ZENGİN'e teşekkür ederim. Hücre çalışmalarını gerçekleştiren Dönay ÇUNGUR'a teşekkür ederim.

Laboratuvardaki yardımlarından dolayı Memduh Bilmez BiyoNanoTeknoloji çalışma grubu arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu süreçte bana sağlanan burs için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK, Proje No: 121Z391) ayrıca teşekkür ederim.

Gülnur ŞAHİN
AKSARAY, 2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Fotodinamik Terapi	2
1.2 Fototermal Terapi	7
1.3 Sonodinamik Terapi	8
1.4 AzaBODIPY	9
1.5 Click Kimyası	10
1.6 Kemilüminesans	11
2. KAYNAK ÖZETLERİ	14
2.1 AzaBODIPY ve Terapi.....	14
2.2 Kemilüminesans	29
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	34
3.1 Malzeme	34
3.2 Bileşik 3 Sentezi: 3-bromo-4-(dimetilamino)benzaldehit (3).....	34
3.3 Bileşik 5 Sentezi: 1-(4-(prop-2-in-1-iloksi) fenil) etan-1-on (5)	34
3.4 Bileşik 6 Sentezi: 3-(3-brom-4-(dimetilamino) fenil)-1-(4- (prop-2-in-1-iloksi) fenil) prop-2-en-1-on (6)	35
3.5 Bileşik 7 Sentezi: 3-(3-brom-4-(dimetilamino) fenil)-4-nitro-1-(4- (prop-2-in-1-iloksi)fenil)butan-1-on (7)	36
3.6 Bileşik 8 Sentezi:	36
3.7 Hedef Bileşik 1 Sentezi:	37
3.8 Molar Soğurma Katsayıları	38
3.9 Floresans Kuantum Verimleri (Φ_F)	38
3.10 AzaBODIPY 1 Bileşiğinin Kimyasal Tuzak ile Fotoduyarlastırıcı Testleri.	38
3.11 AzaBODIPY 1'in ROT belirteci testleri:	39
3.12 1O_2 Tuzak Testleri:	39
3.13 1O_2 Verimlerinin Hesaplanması:.....	39
3.14 AzaBODIPY 1'in pH Çalışmaları:	39
3.15 Hücre Kültürü	39
3.16 AzaBODIPY 1 ile A549 Hücre Hattında <i>In Vitro</i> Testler	40
3.17 AzaBODIPY 1 L929 Hücre Hattında Sitotoksikite Testi	40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	41
4.1 Hedef Bileşik AzaBODIPY 1 Sentezi	41
4.1.1 Kemilüminesans deneyleri	63
4.1.2 <i>In vitro</i> çalışmalar.....	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	70
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ.....	80

YÜKSEK LİSANS TEZİ
FOTODİNAMİK, FOTOTERMAL VE SONODİNAMİK TERAPİ
YAPABİLEN AZABODIPY

Gölnur ŞAHİN

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

ÖZET

Kanser, herhangi bir organ ya da dokudaki hücrelerin kontrolsüz biçimde büyümesi ve çoğalması ile meydana gelen hastalıktır. Kanserın tedavisi için radyoterapi, kemoterapi, ameliyat ve immünoterapi gibi dört temel yöntem klinikte kullanılmaktadır. Bu geleneksel yöntemlerin yanı sıra yeni tedavi yöntemleri ve bunlara uygun malzemeler geliştirilmektedir. Sonodinamik, fotodinamik ve fototermal terapi bu gelişmekte olan tedavilerin başında gelmektedir.

Bu tez çalışmasında AzaBODIPY ve dihidroftalazindion ünitelerini aynı anda içinde barındıran yeni bir bileşik **1** sentezlenmiştir. Sentezlenen yapı ^1H NMR, ^{13}C NMR, kütle, soğurma ve floresans spektrumları ile karakterize edilmiştir. Ardından yapılan kimyasal testlerle hedef bileşiğın **1** kemilüminojenik, sonodinamik, fotodinamik ve fototermal ve etkinlikleri belirlenmiştir. Elde edilen veriler hedef bileşiğın **1** hidrojen peroksit'e karşı duyarlı olduğunu ve kimyasal ışımaya yapabildiğini, sonodinamik, fotodinamik ve fototermal olarak aktive edilebildiğini göstermektedir. Son aşamada ise hedef bileşik **1** ile *in vitro* çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler hedef bileşiğın **1** etkin bir şekilde sonodinamik terapi (SDT), fotodinamik (FDT) ve fototermal terapi (FTT) ve yapabildiğini göstermektedir. Literatürde SDT, FDT ve FTT'ye yani üçlü terapiye olanak veren AzaBODIPY türevleri bilinmemektedir. Bu bakımdan tez çalışması bir ilki gerçekleştirmiştir.

Anahtar Kelimeler: AzaBODIPY, Sonodinamik Terapi, Fotodinamik Terapi, Fototermal Terapi, Kemilüminesans, Sensör, Organik Sentez

Haziran, 2024; 80 sayfa

M.Sc. THESIS

**AZABODIPY FOR PHOTODYNAMIC, PHOTOTHERMAL AND
SONODYNAMIC THERAPY**

Gölnur ŞAHİN

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology**

Supervisor: Prof. Dr. Fatih ALGI

ABSTRACT

Cancer is a disease characterized by the uncontrolled growth and proliferation of cells within any organ or tissue. Traditional treatment methods in the clinical management of cancer include radiotherapy, chemotherapy, surgery, and immunotherapy. In addition to these conventional approaches, novel treatment modalities and appropriate materials are being developed. Among these emerging therapies are sonodynamic therapy, photodynamic therapy and photothermal therapy.

In this thesis, a novel compound (**1**) containing both AzaBODIPY and dihydrophthalazindione units was synthesized. The structure of the synthesized compound was confirmed using various techniques, including ¹H NMR, ¹³C NMR, mass spectrometry, absorption and fluorescence spectroscopy. The chemiluminogenic, sonodynamic, photodynamic and photothermal activities of compound **1** were assessed through chemical tests. The results indicate that compound **1** is sensitive to hydrogen peroxide and can induce chemiluminescence. Furthermore, this novel compound **1** exhibits sonodynamic, photodynamic and photothermal features. Subsequently, *in vitro* studies demonstrated that compound **1** is effective in sonodynamic therapy (SDT), photodynamic therapy (PDT) and photothermal therapy (PTT). To the best of our knowledge, AzaBODIPY derivatives capable of triple therapy (PDT, PTT, and SDT) have not been previously reported in the literature. Thus, this thesis represents pioneering work in the field.

Keywords: AzaBODIPY, Sonodynamics Therapy, Photodynamic Therapy, Photothermal Therapy, Chemiluminescence, Sensor, Organic Synthesis.

June, 2024; 80 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Normal hücre ve kanser hücre çoğalması.....	1
Şekil 1.2. Jablonski diyagramıyla fotodinamik terapi çalışma prensibi	3
Şekil 1.3. Photofrin türevi özellikleri.....	4
Şekil 1.4. M-Tetrahidroksifenilin yapısı.....	5
Şekil 1.5. Ce6 yapısı	6
Şekil 1.6. Aminolevulinik asitin yapısı.....	6
Şekil 1.7. Fototermal terapinin şematik gösterimi.	7
Şekil 1.8. BODIPY ve AzaBODIPY	9
Şekil 1.9. Click kimyasının bazı kullanım alanları	11
Şekil 1.10. Kemilüminesans	12
Şekil 2.1. Bileşik 9'un kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.2. Bileşik 10'un kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.3. Bileşik 11'in kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.4. Bileşik 12A-12B'nin kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.5. Bileşik 13'ün kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.6. Bileşik 14'ün kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.7. Bileşik 15-16 kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2.8. Bileşik 17'nin kimyasal yapısı	18
Şekil 2.9. Bileşik 18 ve bileşik 19'un kimyasal yapısı	18
Şekil 2.10. Bileşik 20-21 kimyasal yapısı.....	19
Şekil 2.11. Bileşik 22-23 kimyasal yapısı.....	19
Şekil 2.12. Bileşik 24'ün kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.13. Bileşik 25'in kimyasal yapısı	20
Şekil 2.14. Bileşik 26'nın kimyasal yapısı	21
Şekil 2.15. Bileşik 27'nin kimyasal yapısı	21
Şekil 2.16. Bileşik 28'in kimyasal yapısı	22
Şekil 2.17. Bileşik 29'un kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.18. Bileşik 30'un kimyasal yapısı.....	23
Şekil 2.19. Bileşik 31-32 kimyasal yapısı.....	23
Şekil 2.20. Bileşik 33-34 kimyasal yapısı.....	24
Şekil 2.21. Bileşik 35'in kimyasal yapısı	24
Şekil 2.22. Bileşik 36-37-38 kimyasal yapısı	25
Şekil 2.23. Bileşik 39-40'ın kimyasal yapısı	25
Şekil 2.24. Bileşik 41'in kimyasal yapısı	26
Şekil 2.25. Bileşik 42'nin kimyasal yapısı	26
Şekil 2.26. Bileşik 43'ün kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.27. Bileşik 44'ün kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.28. Bileşik 45'in kimyasal yapısı	28
Şekil 2.29. Bileşik 46'nın kimyasal yapısı	28
Şekil 2.30. Bileşik 47'nin kimyasal yapısı	29
Şekil 2.31. Bileşik 48'in kimyasal yapısı	29
Şekil 2.32. Bileşik 49'un kimyasal yapısı.....	30
Şekil 2.33. Bileşik 50A-50B'nin kimyasal yapısı.....	30
Şekil 2.34. Bileşik 51'in kimyasal yapısı	31
Şekil 2.35. Bileşik 52A-52B'nin kimyasal yapıları	31
Şekil 2.36. Bileşik 53'ün kimyasal yapısı.....	32
Şekil 2.37. Bileşik 54'ün kimyasal yapısı.....	32
Şekil 2.38. Bileşik 55-56'nın kimyasal yapısı	33

Şekil 2.39. Bileşik 57'nin kimyasal yapısı	33
Şekil 3.1. Bileşik 3 sentezi	34
Şekil 3.2. Bileşik 5 Sentezi	34
Şekil 3.3 Bileşik 6 Sentezi	35
Şekil 3.4. Bileşik 7 Sentezi	36
Şekil 3.5. Bileşik 8'in kimyasal yapısı.....	36
Şekil 3.6. Bileşik 1'in kimyasal yapısı.....	37
Şekil 4.1. AzaBODIPY 1 genel sentezinin basamakları.....	41
Şekil 4.2. Bileşik 3 sentezi	41
Şekil 4.3. Bileşik 3 için ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 600 MHz)	42
Şekil 4.4. Bileşik 3 için ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)	42
Şekil 4.5. Bileşik 3 için HRMS spektrumu.....	43
Şekil 4.6. Bileşik 5 sentezi	43
Şekil 4.7. Bileşik 5 ^1H NMR spektrumu (600 MHz, CDCl_3)	44
Şekil 4.8. Bileşik 5 için ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)	44
Şekil 4.9. Bileşik 5 HRMS kütle spektrumu.....	45
Şekil 4.10. Bileşik 12 sentezi	45
Şekil 4.11. Hedef bileşik 6 için ^1H NMR spektrumu (600 MHz, CDCl_3)	46
Şekil 4.12. Bileşik 6 ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)	47
Şekil 4.13. Bileşik 6 için LC-MS kütle spektrumu.....	47
Şekil 4.14. Bileşik 6 için HRMS kütle spektrumu.....	48
Şekil 4.15. Bileşik 7 sentezi	48
Şekil 4.16. Bileşik 7 için ^1H NMR spektrumu (600 MHz, CDCl_3)	49
Şekil 4.17. Bileşik 7 için ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)	49
Şekil 4.18. Bileşik 7 için HRMS kütle spektrumu.....	50
Şekil 4.19. Bileşik 8 sentezi	50
Şekil 4.20. Bileşik 8 için ^1H NMR spektrumu (600 MHz, DMSO- d_6).....	51
Şekil 4.21. Bileşik 8 için ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)	51
Şekil 4.22. Bileşik 8 için LC-MS (üstte) ve HRMS (altta) kütle spektrumları.....	52
Şekil 4.23. AzaBODIPY 8 için soğurma spektrumu (7.0×10^{-6} M, DMSO, $\lambda_{\text{max}} = 720$ nm).....	53
Şekil 4.24. Beyaz ışığa maruz bırakılan AzaBODIPY 8'in soğurma spektrumunda zamanla meydana gelen değişimler	53
Şekil 4.25. AzaBODIPY 8'in (3.22×10^{-5} M) DPBF (3.22×10^{-5} M) ile farklı ortam ve pH'larda fotodinamik testleri; A) DMSO, C) DMSO + PBS (pH:7,4) (1:9, v/v), C) DMSO + HCl (12M) (1:9, v/v), D) DMSO + NaOH (0,05 M) (1:9, v/v) çözeltilerinin ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları.	54
Şekil 4.26. A) AzaBODIPY 8' in ($0.0-0.5$ mg mL^{-1}) 808 nm lazer (0.5 W cm^{-2}) ışınlaması süresince meydana gelen sıcaklık değişimleri. B) AzaBODIPY 8' in (0.25 mg mL^{-1}) 808 nm lazer ($0.25-0.75$ W cm^{-2}) ışınlaması süresince meydana gelen sıcaklık değişimleri. C) AzaBODIPY 8'in (0.25 mg mL^{-1}) 808 nm lazer (0.5 W cm^{-2}) ile fototermal testlerinden elde edilen ısınma-soğuma eğrileri. D) A ve B'de verilen testlerin termal kamera görüntüleri.	55
Şekil 4.27. Hedef Bileşik 1 sentezi	56
Şekil 4.28. Hedef Bileşiğin 1 ^1H NMR spektrumu (600 MHz, DMF- d_7).....	56
Şekil 4.29. Hedef Bileşiğin 1 ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, DMF- d_7).....	57
Şekil 4.30. Hedef Bileşiğin MALDI TOF kütle spektrumu.....	57

Şekil 4.31. AzaBODIPY 1 için soğurma spektrumu (2.05×10^{-5} M, DMSO, $\lambda_{\max} = 727$ nm).....	58
Şekil 4.32. AzaBODIPY 1 (3.1×10^{-3} M) için floresans spektrumu. Mavi spektrum; %1 CrEL içeren 0.01 M PBS, pH 7.4. Kırmızı spektrum asidik ortam, pH 1.0 ($\lambda_{\max} = 750$ nm).....	58
Şekil 4.33. Beyaz ışığa maruz bırakılan AzaBODIPY 1'in soğurma spektrumunda zamanla meydana gelen değişimler.....	59
Şekil 4.34. Hedef Bileşik 1'in (1.40×10^{-5} M) DPBF (3.22×10^{-5} M) ile farklı ortam ve pH'larda fotodinamik testleri; A) DMSO, B) DMSO + HCl (12M) (1:9, v/v), C) DMSO + PBS (pH:7,4) (1:9, v/v), D) DMSO + NaOH (0,05 M) (1:9, v/v) çözeltilerinin ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları	60
Şekil 4.35. A) Hedef Bileşik 1'in (0.031 - 0.125 mg mL ⁻¹) PBS (pH 7.4) ortamında 808 nm lazer (0.5 W cm ⁻²) ışınlaması süresince meydana gelen sıcaklık değişimleri. B) Hedef Bileşik 1'in (0.015 mg mL ⁻¹) PBS (pH 7.4) ortamında 808 nm lazer (0.5 - 1.5 W cm ⁻²) ışınlaması süresince meydana gelen sıcaklık değişimleri. C) Hedef Bileşik 1'in (0.062 mg mL ⁻¹) PBS (pH 7.4) ortamında 808 nm lazer (0.5 W cm ⁻²) ile fototermal testlerinden elde edilen ısınma-soğuma eğrileri. D) A ve B'de verilen grafiklerin termal kamera görüntüleri	61
Şekil 4.36. AzaBODIPY 1'in ($4\mu\text{g mL}^{-1}$) DPBF ($6,66\mu\text{g mL}^{-1}$) ile farklı ortam ve pH'larda sonodinamik testleri; A) DMSO, B) DMSO + PBS (pH:7,4) (1:9, v/v), C) DMSO + HCl (12M) (1:9, v/v), D) DMSO + NaOH (0,05 M) (1:9, v/v) çözeltilerinin ultrases dalgalarıyla etkileşimi süresince kaydedilen soğurma spektrumları.....	62
Şekil 4.37. AzaBODIPY 1'in ($4\mu\text{g mL}^{-1}$) DPBF ($6,66\mu\text{g mL}^{-1}$) ile farklı ortam ve pH'larda sonofotodinamik testleri; A) DMSO, B) DMSO + PBS (pH:7,4) (1:9, v/v), C) DMSO + HCl (12M) (1:9, v/v), D) DMSO + NaOH (0,05 M) (1:9, v/v) çözeltilerinin ultrases dalgalarıyla ve kırmızı ışıkla etkileşimi süresince kaydedilen soğurma spektrumları.....	63
Şekil 4.38. AzaBODIPY 1 (4.5×10^{-6} M) için çeşitli analitler varlığında kaydedilen kimyasal ışımaya spektrumları 1) H ₂ O ₂ , 2) ClO ⁻ , 3) KO ₂ , 4) tBuO ₂ , 5) tBuOOH, 6) KCN, 7) Bu ₄ NBr, 8) Bu ₄ NOH, 9) Bu ₄ NI, 10) Bu ₄ NCl, 11) Bu ₄ PF ₆ , 12) Bu ₄ NF, 13) K ₂ HPO ₄ , 14) NaNH ₃ , 15) Bu ₄ NO ₄ , 16) NaNO ₂ , (pH: 12.0, $\lambda_{\max}$: 430 nm).....	64
Şekil 4.39. AzaBODIPY 1 (4.5×10^{-6} M) için çeşitli analitler (4.5×10^{-6} M,) varlığında kaydedilen kimyasal ışımaya spektrumları 1) ¹ O ₂ 2) H ₂ O ₂ , 3) ClO ⁻ , 4) KO ₂ , 5) tBuO ₂ , 6) tBuOOH, 7) KCN, 8) Bu ₄ NBr, 9) Bu ₄ NOH, 10) Bu ₄ NI, 11) Bu ₄ NCl, 12) Bu ₄ PF ₆ , 13) Bu ₄ NF, 14) K ₂ HPO ₄ , 15) NaNH ₃ , 16) Bu ₄ NO ₄ , 16) NaNO ₂ (fosfat tamponu, pH = 8.0, CuSO ₄ .5H ₂ O varlığında, $\lambda_{\max}$: 430 nm).....	64
Şekil 4.40. A) Hedef bileşik 1'in farklı pH'larda (pH:2.0-12.0) soğurma spektrumları. B) Hedef bileşik 1 için farklı pH'larda (aşağıdan yukarıya doğru: 6.00-0.08) kaydedilen floresans spektrumları.	65
Şekil 4.41. Farklı konsantrasyonlarda (0 - 50 $\mu\text{g/mL}^{-1}$) AzaBODIPY 1 maddesiyle inkübe edilen L929 hücrelerinin canlılık oranları.....	66

Şekil 4.42. AzaBODIPY 1'in A549 kanser hücresinde, fotoduyarlaştırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri	66
Şekil 4.43. AzaBODIPY 1'in A549 kanser hücresinde, fotoduyarlaştırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri	67
Şekil 4.44. AzaBODIPY 1 ile <i>in vitro</i> SDT ve biyouyumluluk testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.....	68
Şekil 4.45. AzaBODIPY 1 ile <i>in vitro</i> dual (FDT, FTT ve FDT+FTT) terapi ve biyouyumluluk testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.	68
Şekil 4.46. AzaBODIPY 1 ile <i>in vitro</i> üçlü (SDT+FDT+FTT) terapi testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.	69
Şekil 5.1. Hedef bileşiğin 1 sentezi.....	70



SİMGELER VE KISALTMALAR

CDCl₃	Kloroform
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPBF	1,3-Difenilizobenzofuran
DMSO	Dimetil Sülfoksit
FDT	Fotodinamik Terapi
FTT	Fototermal Terapi
SDT	Sonodinamik Terapi
SFDT	Sonofotodinamik Terapi
FD	Foto Duyarlaştırıcı
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
HRMS	Yüksek Çözünürlüklü-Kütle Spektrometresi
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
UV-VIS	Morötesi ve Görünür Işık Soğurma Spektroskopisi
¹³C NMR	Karbon Çekirdek Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹H NMR	Hidrojen Çekirdek Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹O₂	Singlet oksijen
°C	Santigrat
λ	Dalga boyu
λ_{max}	Maksimum soğurma dalga boyu
λ_{exc}	Uyarma dalga boyu

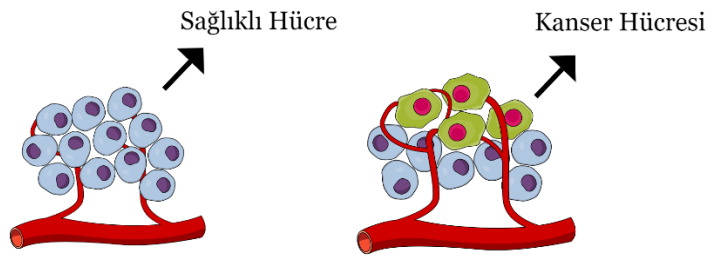
1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucunda kontrolsüz biçimde hızlı ve anormal şekilde büyüeyebilen bir hastalıktır (**Şekil 1.1.**) (Kareliotis vd., 2020).

Geçmiş yıllarda erkeklerde kanser hastalığının kadınlara göre daha fazla görüldüğü tespit edilmişti. Ancak 2013 yılı itibari ile bu oranın erkeklerde sabit kaldığı tespit edilmiştir. Kanser hastalığının kadınlarda ise 1990 yılından beri görülme sıklığının arttığını özellikle melanom, meme, rahim kanseri ve olarak belirlenmiştir. Böylelikle cinsiyet ayrımı ve yaş faktörleri fark etmeksizin kanser hastalığı ortaya çıktığı belirlenmiştir (Dizon ve Kamal, 2024).

Kanser hastalığı hormonlar, bağışıklığın düşük olması, stres, radyasyon, sigara, alkol gibi vücudumuzu etkileyen iç ve dış etkenlerin sonucunda meydana gelir (Liao vd., 2019). Kanser tedavisinde kullanılan ilk yöntem cerrahi yöntem olup bu tedavi geleneksel yöntemdir. Diğer iki geleneksel yöntem radyoterapi ve kemoterapidir (Roy ve Saikia, 2016). Bu tedavilerin yan etkilerinin olması, ilaca karşı direnç gösterme, immün sistemimize hasar verme gibi olumsuz etkileri vardır. Geleneksel tedavilere alternatif olarak İmmünoterapi, fotodinamik terapi (FDT), ve Fototermal terapi (FTT) tedaviler geliştirilmektedir (Kong ve Chen, 2022).

Geliştirilen bu tedavilerin minimal invaziv olması, yüksek özgüllük sergilemesi, esnek uygulaması kanser tedavisi için büyük kolaylık sağlayacaktır (Zhao vd., 2024).



Şekil 1.1. Normal hücre ve kanser hücre çoğalması.

1.1 Fotodinamik Terapi

Kanser, hastalığında geleneksel tedavilerin yetersiz kalması nedeniyle fotodinamik tedavi gibi yeni yöntemler kullanılmaya başlamıştır (Alvarez ve Sevilla, 2024).

Çin, Mısır ve eski Hint uygarlıkları cilt kanseri, sedef, vitiligo, raşitizm ve psikoz gibi hastalıkları güneş ışığı ile tedavi etmek için kullanmışlardır. Antik Yunan çağında ise hastalığı tedavi etmek için çıplak şekilde tüm vücutlarını güneşe bırakarak helyoterapi yapmışlardır. Fransa’da ise 18. ve 19. Yüzyıllarda iskorbüt, raşitizm, tüberküloz, felç, romatizma gibi hastalıkların tedavisinde güneş ışığını kullanmışlardır (Ackroyd vd., 2001).

1900 yılında Almanya’da Profesör Herman Von Tappeinerin öğrencisi Oscar Raab akridin kırmızısının ve ışığın Infusoria adı verilen paramesyum türünü öldürdüğünü keşfetmiştir. Bu keşfin sadece akridin kırmızısının ya da sadece ışık ile etkileştirip paramesyuma ilave edilen akridin kırmızısından daha etkili olduğunu göstermiştir. Oscar Raab bu keşfi floresansın optik özelliği ile ilişkilendirdi (Hamblin, 2020).

1948 yılında ise Figge, ekzojen porfirinlerin farelerin kanserli bölgelerinde biriktiğini ispatlayan çalışmalar sunmuştur. Bu çalışmadan hematoporfirin preparatının enjeksiyonu seçici tümör floresansına sebep oldu. Çalışma kanser hastalarını dahil edecek biçimde ilerlendi (Kessel, 2019).

1960 yılında Lipson ve ekibi tümörün tespit edilebilmesi için hemotoporfirini asetik asit ve sülfürik asitle işleme tabi tuttular ve tümörlü dokularda porfirin karışımını oluşturdular. Oluşan porfirinlere, hemotoporfirinin türevi (HpD) denildi ve tümörlerin tespitinde bu HpD’yi kullandılar (Gunaydin vd., 2021).

1967’de Lipson ve ekibi, mesane, meme, bademcik, rektum gibi lezyonlarda hemotoporfirinin türevinin (HpD) hastalarda kullanıldığını bu çalışmanın tümörlü bölgelerin tespiti ve tedavisi açısından faydalı olabileceğini belirtmişlerdir. HpD’nin mesane tümörü tedavisinde kullanımı ise 1976 yılında Kelly ve Snell tarafından rapor edilmiştir (Gunaydin vd., 2021).

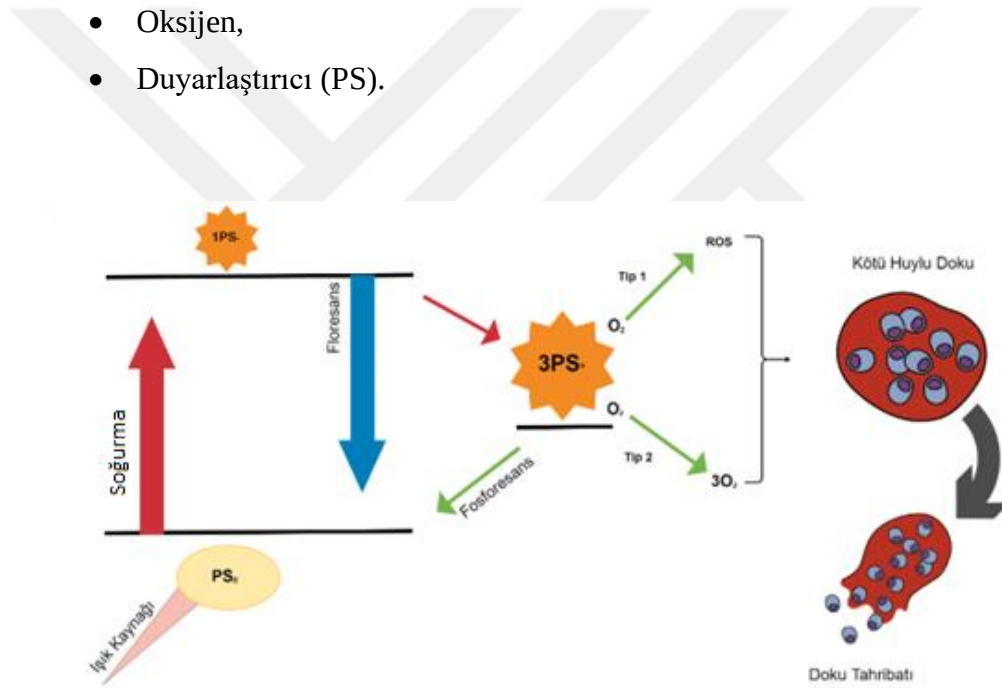
Sonraki senelerde Dougherty tarafından HpD ilaç formuna çevrilmiştir. 1978 senesinde Dougherty ve ekibi, deriye metastatik meme tümörü olan hastada ilk klinik Fotodinamik terapi vakasını rapor etmişlerdir (Gunaydin vd., 2021).

1889-1992 seneleri arasında Furuse ve ekibi, akciğer kanserinin erken evresi için Photofrin (Profimer Sodyum) kullanarak faz II klinik denemeleri gerçekleştirdiler. Kanada’da 1993 senesinde Photofrinli fotodinamik terapi mesane tümörü için ilk klinik onayını aldı. 1995 senesinde Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) Photofrin’i özafagos tümörü için, 1998 senesinde ise akciğer kanserinin erken tedavisi için onayladı (Gunaydin vd., 2021).

Günümüzde FDT bir kanser tedavisi olarak yaklaşık 25 senedir kullanılmaktadır (Mansoori vd., 2019).

Fotodinamik terapi mekanizmasında üç bileşen rol oynar:

- Işık
- Oksijen,
- Duyarlaştırıcı (PS).



Şekil 1.2. Jablonski diyagramıyla fotodinamik terapi çalışma prensibi

Duyarlaştırıcı (PS) belli bir dalga boyunda ışıkla temel halden (S_0), kısa ömürlü uyarılmış (S_1) hale uyarılır. Bundan sonra sistemler arası geçiş olur ve molekül daha uzun ömürlü, uyarılmış triplet T_1 hale gelir. PS’ler uyarılmış halde kararsız bir durumdadır. T_1 haldeki PS iki halden birisinde fotokimyasal tepkimeye girebilirler. Tip1 reaksiyonunda, Uyarılmış PS’lerin etrafındaki herhangi bir molekül ile serbest radikallerin oluşumuna sebep olan bir elektron transfer yoluyla reaksiyon gerçekleştirilir. Bu reaksiyon sonucunda serbest radikaller biyomoleküller (proteinler,

lipitler, peptitler, nükleik asitler) ile hızlı bir biçimde oluşur ve etkileşime girerler ve hücre ölümüne sebep olurlar.

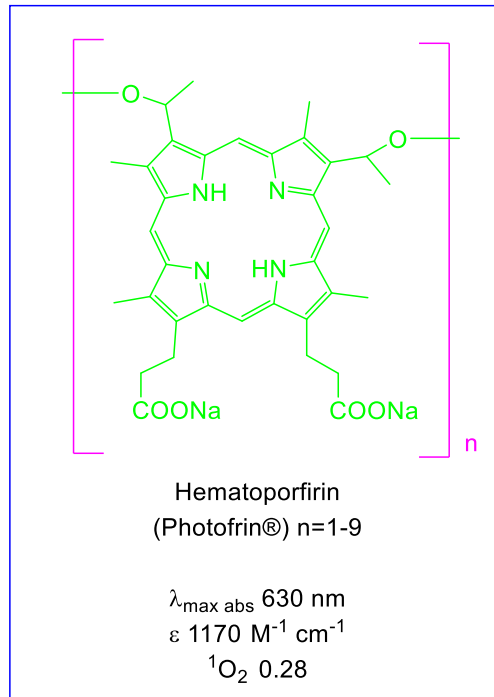
Tip2 reaksiyonlarda ise, üçlü PS'den yine üçlü olan temel haldeki oksijen molekülüne direkt enerji transferi ile oluşur. Bu süreç sonunda ve uyarılmış haldeki olan singlet oksijen üretir. ROT'ların sebep olduğu hasar bölgeseldir çünkü hem serbest radikallerin hem de singlet oksijenin ömrü kısadır (Mansoori vd., 2019).

Fotodinamik terapinin geleneksel tedavi yöntemine göre avantajları şunlardır:

- Seçicilik
- Düşük yan etki
- İlaç direncinin olmaması
- Diğer terapötik maddeler ile birleştirilmesi sinerjik etki yapabilir (Lan vd., 2019).

Foto duyarlaştırıcılar

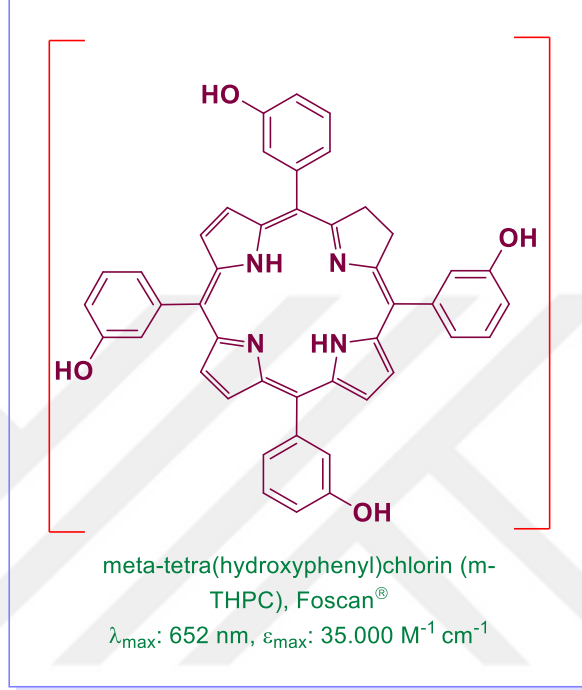
Hematoporfirin türevi: Dougherty'nin 1970 senesinde piyasaya sunduğu bir PS, ticari olarak elde edilebilir. Tedavi süresi her kanserli bölgede en az 20 dakika sürer ve ilaç hasarlı bölgede 6-8 hafta tutulur. Bu da insanlarda güneş ışığına maruz kalınca cilt yanıklarına sebep olur.



Şekil 1.3. Photofrin türevi özellikleri.

M-Tetrahidroksifenil klor(mTHPC) (Foscan):

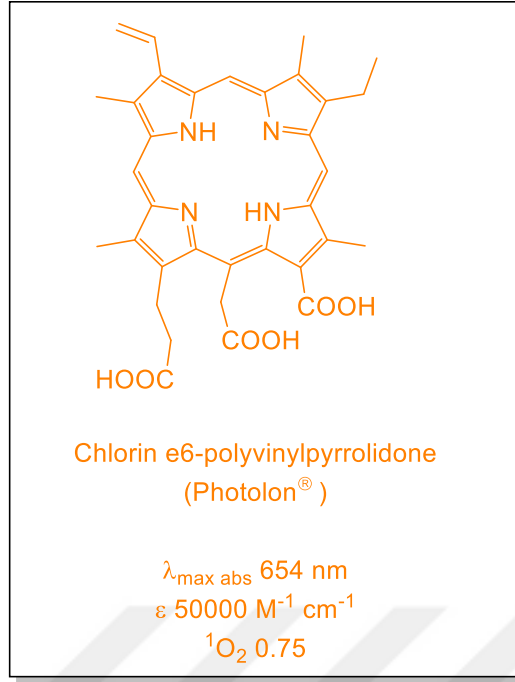
M-Tetrahidroksifenil klor birinci derece baş ve boyun tümörlerinin tedavisinde etkilidir. Tedavi süreleri ise saniye olarak belirlenmiştir. Tedaviden sonra hastaların karanlıkta 24 saat karanlık odada kalmaları gerekir. Diğer bir dezavantajı ise tedavi ağrılı olduğu için anestezi olarak tedavi gerçekleşir.



Şekil 1.4. M-Tetrahidroksifenilin yapısı.

Klorin e6 (Ce6):

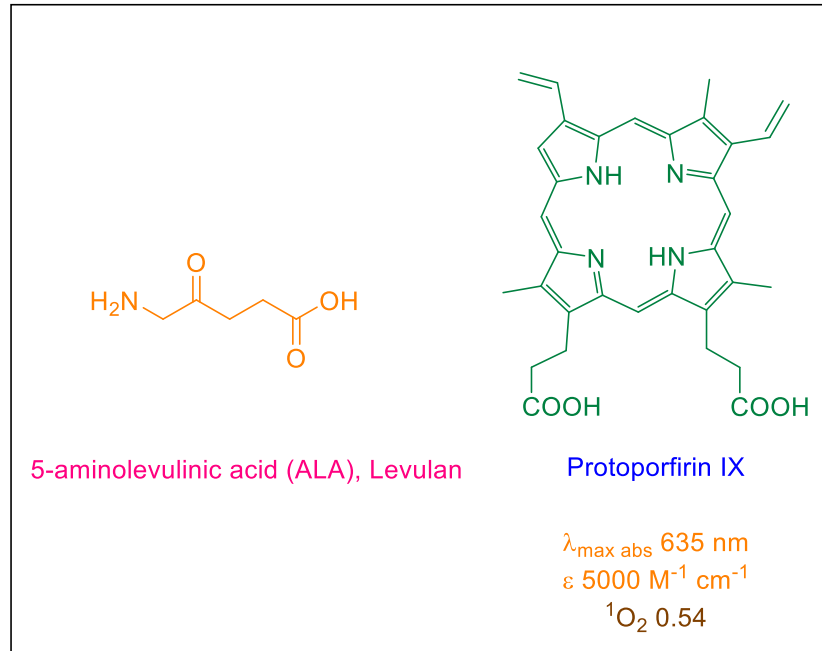
Ce6, aynı gün içerisinde tedaviye olarak sağlar. Fakat bu yapıyı saflaştırmak zordur ve FDT etkinliği kısadır.



Şekil 1.5. Ce6 yapısı

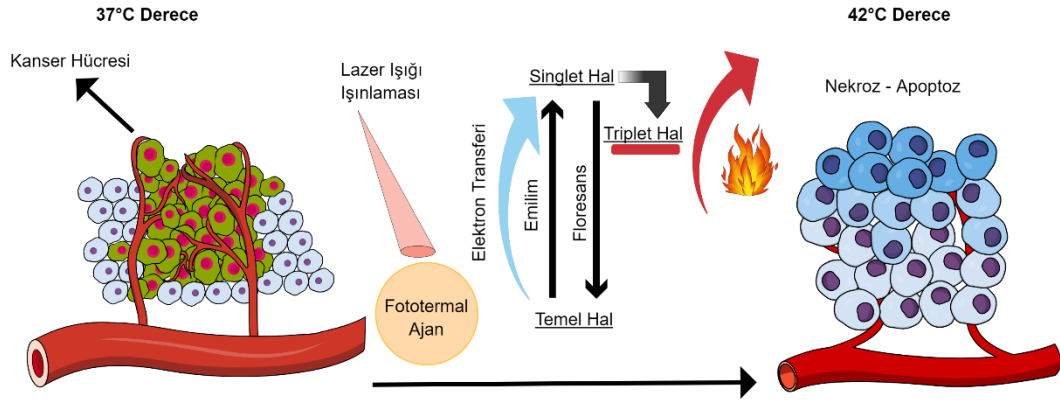
Aminolevulinik Asit (ALA):

Bu duyarlaştırıcı cilt kanserlerinde uygulanır. ALA Proto-Porfirin IX'ya dönüşür. Bu ilaç ağız yoluyla veya damar içine verilir. Topikal olarak uygulanınca derinlere etki etmez (Kwiatkowski vd., 2018).



Şekil 1.6. Aminolevulinik asitin yapısı.

1.2 Fototermal Terapi



Şekil 1.7. Fototermal terapinin şematik gösterimi.

Fototermal terapi, kanser hücrelerinin tedavisi için umut vadeden bir yöntemdir. Fototermal terapide, ışık enerjisi ısıya dönüştürülür. Bunun sonucunda kanserli doku nekroz ya da apoptoza uğrar. Kanser hücrelerinin elimine edilmesi için, fototermal terapide tümörlü bölgenin yüksek sıcaklığa ulaşması gerekir (Doughty vd., 2019). Tümörlü bölgedeki sıcaklık 41 °C dereceye çıktığında ısı şoku meydana gelir. Bu tepki sonucunda gen ekspresyonunda bir takım hızlı değişiklik oluşarak ısı şokunun etkisi azalır. Sıcaklık 10 dakika içerisinde 42-46 °C 'ye çıktığında tümörlü dokuda ciddi hasar meydana gelerek nekroz olur. Sıcaklık 42-52 °C sıcaklığa çıktığında ise mikrovasküler tromboz ve iskemi sebebi ile kanserli hücreler kısa sürede ölürler (Zou vd., 2016).

Fototermal terapi geleneksel yöntemlere göre:

- Yüksek özgüllük
- Minimal invazivlik
- Uzaysal seçicilik vb. gibi avantajlara sahiptir (Zou vd., 2016).

Fototermal terapide hedef dokudaki ısı oluşumunu artırmak için Altın, bakır sülfid nanopartiküller, karbon nanotüp, molibden disülfid, gibi inorganik maddeler kullanılarak ısı üretimi başarıyla artırılır. Fakat inorganik fototermal ajanlar

biyobozunur değildir ve uzun vadede toksik etkiler bilinmemektedir (Zhang vd., 2018). O nedenle organik malzemeler daha avantajlıdır.

1.3 Sonodinamik Terapi

Sonodinamik terapi (SDT), fotodinamik terapiden (FDT), geliştirilen invaziv olmayan bir terapi yöntemidir. 1989 yılında SDT, Yumita ve Umemura tarafından keşfedilmiştir (Rengeng vd., 2017). 1990 yılında aynı ekip tarafından SDT'nin in vivo gösterimi gerçekleştirilmiştir. 1992 yılında Umemura ve ekibi porfirinin sebep olduğu toksik etkiyi açıklamak için sonodinamik yaklaşım terminolojisini geliştirmişlerdir. 1993 senesinde ise aynı ekip SDT'nin olası mekanizmalarından biri olarak singlet oksijen üretimini rapor etmişlerdir. Umemura ve ekibinin yapmış olduğu araştırmalar sayesinde yeni sonosensitizerler ve kombine SDT uygulamalar geliştirilmiştir (Pan vd., 2018).

Sonodinamik terapi (SDT) üç bileşenden oluşur:

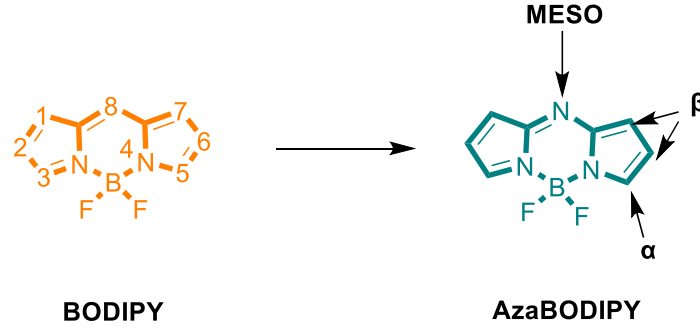
- 1) Ultrason (US)
- 2) Sonoduyarlaştırıcı (SS)
- 3) Oksijen

Sonodinamik Terapinin Mekanizmaları

Sonodinamik terapide güncel kullanılan mekanizmalar, kararlı kavitasyon ve ataletsel kavitasyon olarak gruplanan ultrasonik kativasyondur. Ultrasonik dalgalar sıvılarda basınç değişikliğine sebep olduklarından ötürü mikro kabarcık oluşumuna sebep olurlar. Oluşan mikro kabarcıkların bazıları büyümeye devam eder ve uygun ultrason koşullarının sürekli uyarımı altında patlar buna eylemsiz kavitasyon denir. Diğer mikro kabarcıklar ise artar ve küçülür buna kararlı kavitasyon denir. Eylemsiz kavitasyon kabarcıkların çökmesi 10.000 °K'nın üzerinde yüksek sıcaklıklar ve 81 MPa'ya kadar basınca sebep olur, mikro ortam yaratır ve çevredeki tümörlü hücreleri öldürmek için sonolüminesans, sonotermal ve sonomekanik etkiler üretir (Jiang vd., 2023).

Sonodinamik Terapide (SDT), ultrases kullanılması daha uygun maliyetli, güvenli görüntüleme imkanı sunar ve frekansa bağlı olarak 10 santimetreye kadar dokulara nüfuz ederek diğer terapi yöntemlerine göre avantaj sağlar (Costley vd., 2015).

1.4 AzaBODIPY



Şekil 1.8. BODIPY ve AzaBODIPY

AzaBODIPY, BODIPY'nin meso kısmında bulunan Karbon (C) atomu yerine Azot atomu (N) türevidir ve çekici bir florofor olarak tanınır (Zhang vd., 2024). AzaBODIPY boyalarının ilk örneği 1943'te Rogers tarafından rapor edilmiştir. Sathyamoorthy ve ekibi ise sonraki yıllarda AzaBODIPY boyalarının kalıcı özelliklerini ve spektroskopik özelliklerini rapor etmişlerdir. Fakat AzaBODIPY boyaları, kolay sentez yollarının eksik olması ve erişebilirliklerindeki sıkıntılar nedeni ile yakın zamana kadar yeterince ilgi görmedi. 2002 yılında O'Shea ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalar sonucunda bu boyalar ile ilgili sentetik yöntemler geliştirmiş ve AzaBODIPY boyaları dikkat çekmeye başlamıştır (Sonkaya vd., 2023). 2005 yılında O'Shea ve arkadaşları AzaBODIPY türevinin pH ile aktive edilebilen fotoduyarlastıcı olarak çalıştığını tespit etmişlerdir (Hu vd., 2024).

AzaBODIPY boyalarının absorpsiyon spektrumları, flatosiyanın, skuarin, porfirin BODIPY, gibi organik bazlı boyalara göre yakın kızılötesi bölgeye (700-1700 nm) kayar. Ayrıca diğer organik bazlı boyalara oranla daha yüksek fizyolojik kararlılık ve fotostabilite sergiler (Chen vd., 2020). AzaBODIPY'lerin sentez ve saflaştırması, yüksek molar absorpsiyon katsayıları bu boyaya optik ve elektronik özellik kazandırır.

AzaBODIPY'ler, fotodinamik terapi, fototermal terapi, fotoakustik görüntüleme, güneş pilleri, kemosensörler, pH sensörleri, anyon sensörleri, katyon sensörleri, reaktif oksijen ve nitrojen türleri için problemler gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahiptir (Sonkaya vd., 2023).

AzaBODIPY, sahip olduğu üstün özellikler nedeniyle bu tez çalışmasında fotoduyarlastırıcı olarak seçilmiştir. Özellikle, yüksek fotostabilite ve güçlü soğurma özellikleri, bu bileşiğin fotoduyarlastırıcı uygulamalarda etkin bir şekilde

kullanılmasını sağlamaktadır. Bu özellikleri, AzaBODIPY'yi diğer fotoduyarlaştırıcı bileşenlere kıyasla öne çıkaran unsurlar olarak değerlendirilmektedir.

1.5 Click Kimyası

Click kimyası güvenilir ve pratik dönüşümleri kullanan moleküler sentezdir (Kolb ve Sharpless, 2003). 2001 yılında ilk defa Sharpless ve arkadaşları tarafından click kimyası keşfedilmiştir. İstenilen özelliklere sahip molekülleri bulmak için tasarlanan sentez olarak ortaya atılmıştır. Sentezler, kolay reaksiyon koşulları, yüksek verimlilik gibi kriterlerle tamamlandı. Click tepkimeleri oldukça seçici reaksiyonlardır, çabucak tamamlanırlar ve in vivo deneyleri gibi çeşitli fonksiyonellik aralığının bulunduğu çalışmalar için önemlidir.

2002 senesinde Sharpless ve Mendal laboratuvarları, Bakır katalizörü kullanılan Huisgen katılma tepkimesinin hızında gözle görülür artış olduğunu rapor etmiştir. Bakır katalizli alkin azid siklokatılımı (CuACC) denilen tepkime click kimyasında önemli hale gelmiştir. Bu tepkime 2004 yılından beri birçok yeni malzemenin sentezlenmesinde kullanılmıştır (Such vd., 2012).

Click kimyası, güvenilir olması, özgül olması, biyouyumlu olması ve etkin olması sebebi ile yaygın olarak kullanılmaktadır (Song vd., 2014).



Şekil 1.9. Click kimyasının bazı kullanım alanları

1.6 Kemilüminesans

Luminol, kristal ve sarı renkli bir toz olup çoğunlukla polar organik çözücülerde çözünür. Luminol ışığa karşı oldukça duyarlıdır fakat bu çözeltiler yüksek sıcaklıkta bozulurlar. Asit, baz, güçlü oksitleyiciler ve güçlü indirgeyicilere karşı duyarlıdır. Hidrojen Peroksit luminolün ışıma verimini artıran önemli oksitleyicidir (Khan vd., 2014).



Şekil 1.10. Kemilüminesans

Lüminesans, uyarılmış haldeki bir molekülün temel duruma geri geldiğinde meydana gelen emisyonu adlandırmak için kullanılan bir kavramdır. Uyarılmış hali meydana getirmek için farklı türde uyarıcılar kullanılabilir (Dodeigne vd., 2000).

Kemilüminesans, kimyasal tepkimeden türetilen ışığın emisyonudur. Kimyasal sentezde meydana gelen enerji bir elektronun temel halden uyarılmış hale geçişine sebep olur. Kimyasal indüklenme ile oluşan ışık, analitik amaçlar ve tespit için kullanılır (Pantelia vd., 2019).

1928 yılında Albrecht, luminolün kemilüminesans özelliğini bulmuştur. 1928 senesinden bu yana luminolün özellikleri detaylı biçimde araştırılmıştır.

Kemilüminesans analizlerinin bazı avantajları şunlardır (Pantelia vd., 2019):

- Hızlı ölçüm
- Doğrusal yanıt
- Yüksek hassasiyet
- Yüksek seçicilik
- Işık kaynağına gerek olmadan basit enstrümantasyon

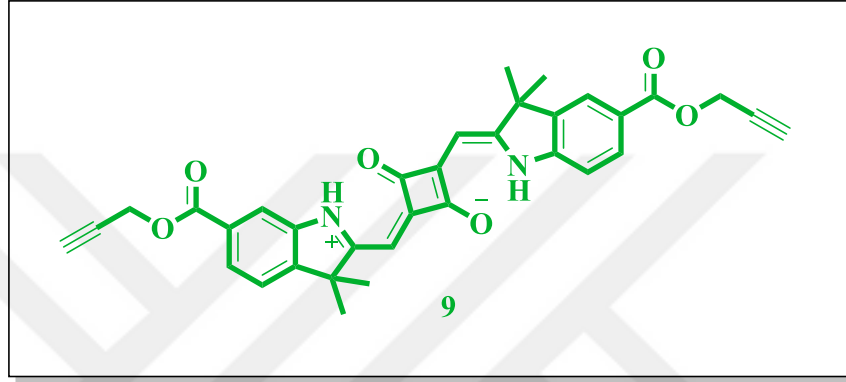
Alkali ortamda lumunol n tepkimesi, en iyi bilinen Kemilüminesans tepkime mekanizmasıdır. Uyarılmış haldeki aminoftalat iyonunun meydana gelmesini sağlar ve temel hale geri dönerek ışık yayılır (Potamia ve Calokerinos, 2013).



2. KAYNAK ÖZETLERİ

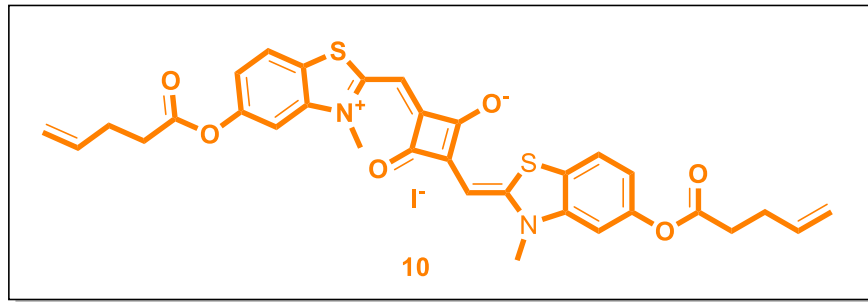
2.1 AzaBODIPY ve Terapi

Algı ve ekibi skuarin boyasını sentezlemişlerdir. Sentezi gerçekleştiren boyanın fotofiziksel özellikleri incelenmiştir. Asidik ortamda boyanın FDT etkinliği test edilmiştir ve FDT ajanı olabileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca kanser hücre hattı ve bakteriler üzerindeki etkinliği de araştırılmıştır. Kanser hücrelerinde FDT etkinliği başarı ile sonuç vermiş ve bakterileri inhibe etmiştir (Toksoy vd., 2022).



Şekil 2.1. Bileşik 9'un kimyasal yapısı

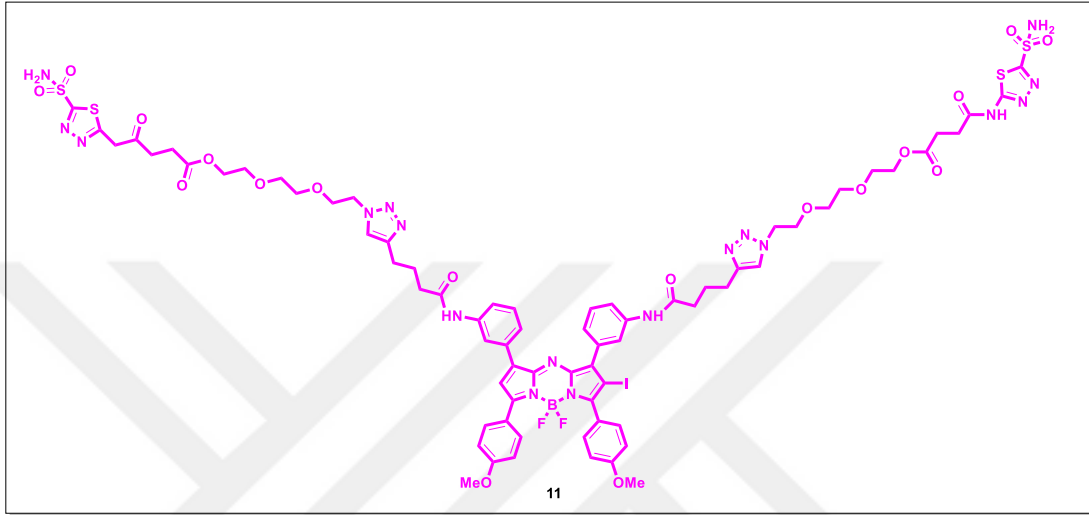
Pamuk Algı ve ekibi yeni bir skuarin sentezlemişlerdir ve Pluronic F127 ile sentezi kapsüllemişlerdir. Sentezlenen yapının iyi bir fotodinamik ve fototermal özellik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca kanser hücreleri üzerinde FDT ve FTT etkinliğini test etmişlerdir. %57 hücre ölümü gerçekleşerek etkin bir FDT ve FTT ajanı olabileceğini ön görmüşlerdir (Pamuk Algı ve Sarıgöl, 2024).



Şekil 2.2. Bileşik 10'un kimyasal yapısı

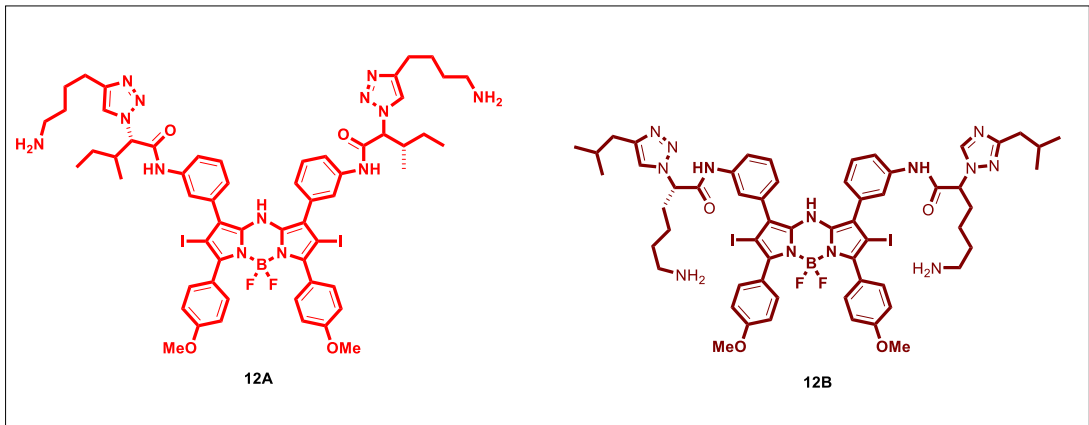
Pamuk Algı ve ekibi skuarin boyası (Bileşik 10) ile hidrojel sentezi yapmışlardır. Sentezlenen hidrojin kanser hücresi üzerinde FTT etkinliğini test etmişler ve %70 oranında inhibisyonu başarı ile gerçekleştirmişlerdir (Pamuk Algı ve Sarıgöl, 2023).

Pewklang ve ekibi 2022 senesinde Fotodinamik terapideki hipoksi sorununu çözmek amacıyla yeni bir AzaBODIPY bileşiği **11**'i sentezlemişlerdir. Daha sonra meme kanseri hücreleri üzerinde FDT etkinliğini test etmişlerdir. 660 nm ışığa maruz bırakılan AzaBODIPY'nin tekli oksijen ürettiğini gözlemlemişlerdir. Daha sonra fareler üzerinde test etmişlerdir ve tümör kütesini azalttığını rapor etmişlerdir (Pewklang vd., 2022).



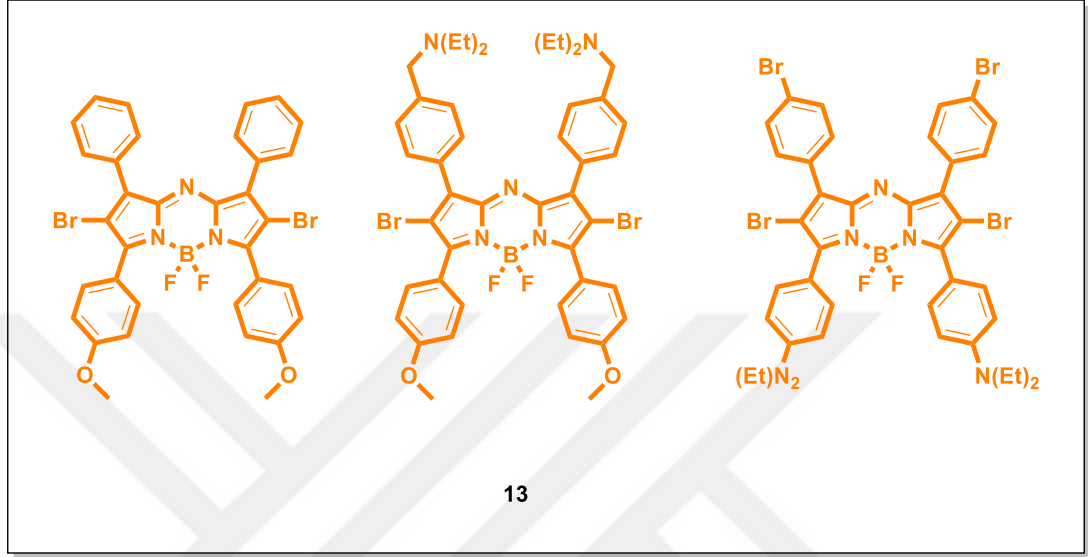
Şekil 2.3. Bileşik **11**'in kimyasal yapısı

Ng ve ekibi 2020 senesinde melanoma hücreleri üzerinde FDT etkinliği test etmek amacıyla yeni AzaBODIPY'ler (**12A-12B**) sentezlemişlerdir. AzaBODIPY türevleri ile *in vitro* ve *ex vivo* çalışmalar, **12A** ve **12B**'nin melanoma hücrelerinde etkili olduğunu gösterdi. Fare deneylerinde, **12B**'nin tümör hacmini %96 azalttığı ve 12. Günde ise tümörün büyümesini bastırdığı rapor ettiler (Ng vd., 2020).



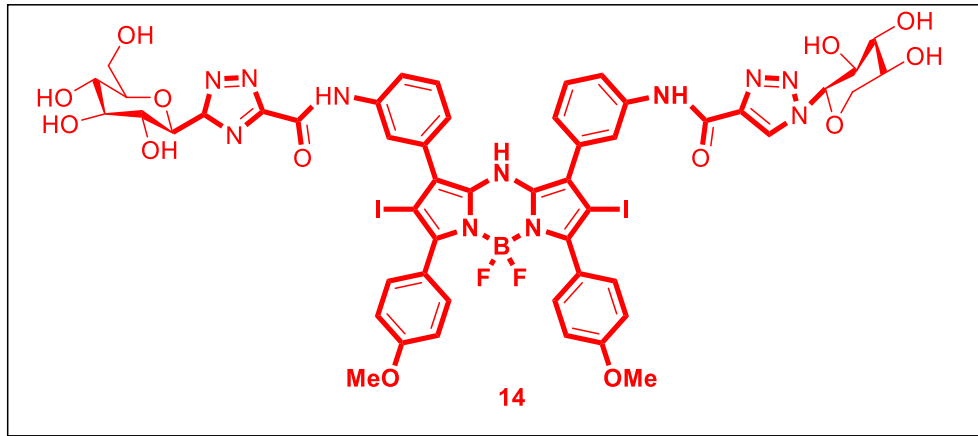
Şekil 2.4. Bileşik **12A-12B**'nin kimyasal yapısı

Hlogyik ve ekibi 2023 senesinde fotodinamik terapi etkinliğini artırmak için AzaBODIPY'ler (13) sentezlemişlerdir. Sentezi tamamlanan AzaBODIPY'leri A431 epidermoid kanser hücresinde fotodinamik terapi testlerini gerçekleştirmişlerdir. AzaBODIP'ler arasındaki yapısal farklardan dolayı fotodinamik aktivite sonuçları değişiklik göstermiştir (Hlogyik vd., 2023).



Şekil 2.5. Bileşik 13'ün kimyasal yapısı

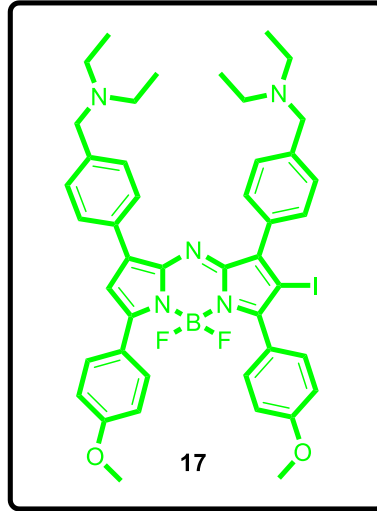
Treekoon ve ekibi, kanser hücrelerinin, normal hücelere göre daha fazla glikoz almasının özelliğinden yararlanarak fotodinamik terapi için yeni bir glikoz taşıyıcı AzaBODIPY 14 sentezlemiştir. Kanser hücrelerinde sentezlenen AzaBODIPY yüksek toksisite gösterdi ve yüksek singlet oksijen üretimini gözlemlemişlerdir (Treekoon vd., 2021).



Şekil 2.6. Bileşik 14'ün kimyasal yapısı

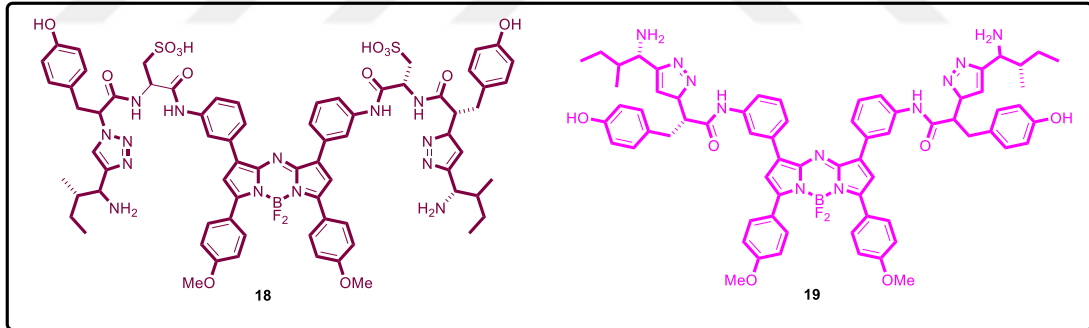
[illegible]

Hu ve ekibi, Bileşik 17' yi sentezleyip özelliklerini incelemişlerdir. Bileşik 17 güçlü NIR soğurma göstermiş olup PBS' de yüksek singlet oksijen verimine sahip olduğu belirtilmiştir. Bu bulgular, pH aktive edilebilir ve etkili bir FDT ajanının geliştirilebileceğine işaret etmektedir (Hu vd., 2024).



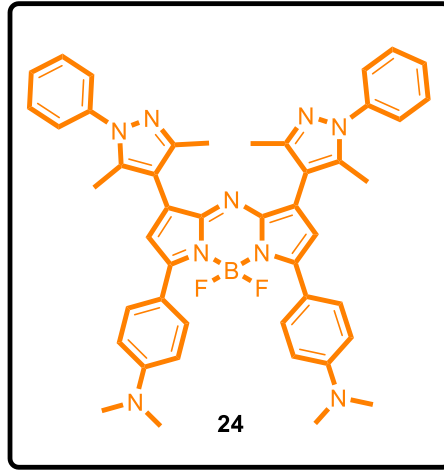
Şekil 2.8. Bileşik 17'nin kimyasal yapısı

Kamkaew ve ekibi, TrkC reseptörünü hedefleyen sentetik ligandların fotodinamik terapi için potansiyelini araştırmışlardır. Bu amaçla, "AzaBODIPY" tabanlı bileşik **18** ve bileşik **19** probunun sentezini gerçekleştirmişlerdir. Bileşikler, TrkC+ meme kanseri hücrelerinde ve fare modellerinde başarılı bir şekilde TrkC+ dokulara bağlanmıştır. Ayrıca, sağlıklı dokulara göre iyi kontrast sağlamış ve negatif bir kontrol bileşiğinden daha güçlü bir bağlanma gösterdiği rapor edilmiştir (Kamkaew vd., 2017).



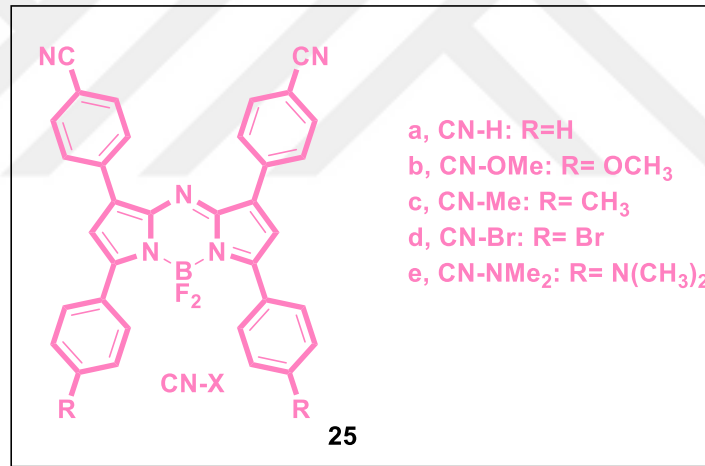
Şekil 2.9. Bileşik 18 ve bileşik 19'un kimyasal yapısı

Wang ve arkadaşları, kanser hücrelerinde mitokondri veya lizozomlara hedeflenmek üzere iki yeni hidrofilik AzaBODIPY türevi bileşik **20-21'** i sentezlemişlerdir. Bu türevler, fotodinamik terapi için potansiyel organel özgül duyarlaştırıcılar olarak etkili singlet oksijen üreticileridir. Özellikle, lizozom hedefli türev, daha yüksek bir fotodinamik terapi etkinliği sergilediğini belirtmişlerdir (Wang vd., 2018).



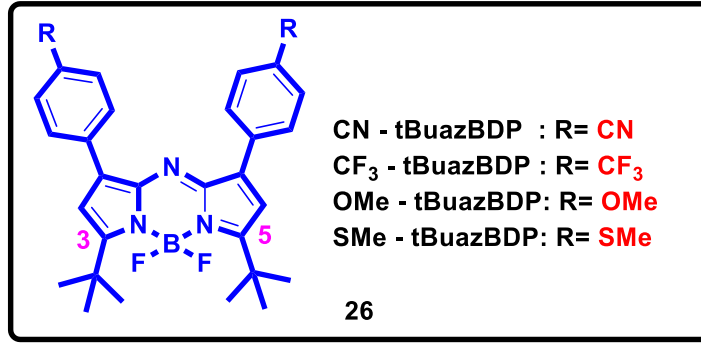
Şekil 2.12. Bileşik 24'ün kimyasal yapısı

Rattanopas ve ekibi (2020) fototermal dönüşümü iyileştirmek amacı ile yeni bileşik 25'i sentezlemişler. Moleküler ve içerisindeki PET yolu ile fototermal dönüşümü iyileştirmeyi rapor etmişlerdir. Ayrıca NIR floresans görüntüleme ajanları olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (Rattanopas vd., 2020).



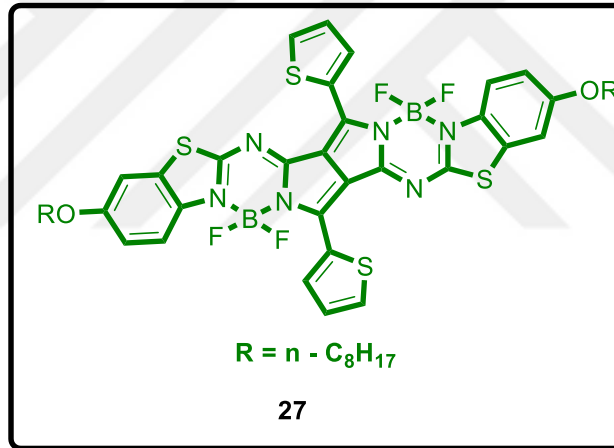
Şekil 2.13. Bileşik 25'in kimyasal yapısı

Li ve ekibi AzaBODIPY çekirdeğine tBu gruplarının eklenmesiyle yeni bir fototermal terapi ajanı olan bileşik 26'yı sentezlemişlerdir. Bu bileşikler düşük floresans kuantum verimine ve yüksek fototermal dönüşüm verimliliğine sahiptir (Li vd., 2022).



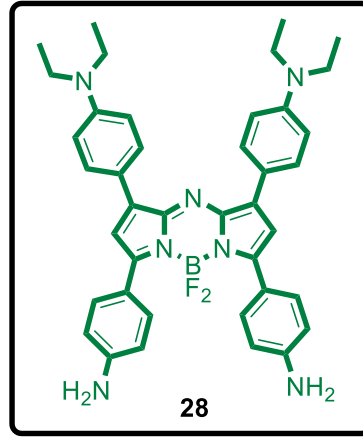
Şekil 2.14. Bileşik 26'nın kimyasal yapısı

Wu ve ekibi, Pyrrolopyrrole AzaBODIPY 27' nin sentezini rapor etmişlerdir. Bileşik 27' nin fototermal ajan olarak, *in vivo* fotoakustik görüntüleme ve NIR floresans görüntülemeyi mümkün kılmaktadır. Ayrıca, düşük konsantrasyonlarda bile, tümör hücrelerinin etkili fototermal etkinliği hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak gerçekleştirilebilir olduğunu belirtmişlerdir (Wu vd., 2019).



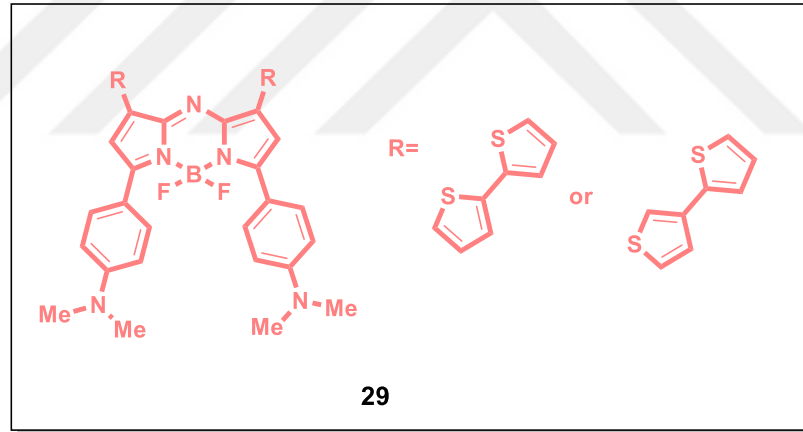
Şekil 2.15. Bileşik 27'nin kimyasal yapısı

Liu ve ekibi AzaBODIPY temelli bileşik 28'i yeni bir fototermal ajan olarak geliştirmişlerdir. Bu bileşik, NIR lazer ışığı altında yüksek fotostabilite göstermekte ve % 50 fototermal dönüşüm verimliliği sağlamaktadır. AzaBODIPY 'nin tümör inhibisyonu deneylerinde, uzun süreli stabil floresans gözlemlemişlerdir ve fototermal tedavinin, *in vitro* ve *in vivo* deneylerde tümör büyümesini etkili bir şekilde baskıladığı belirtilmiştir. Ayrıca, NIR soğurması görüntüleme sistemi kullanılarak tespit edilebilir ve terapötik takip sağlanabilmiştir (Liu vd., 2018).



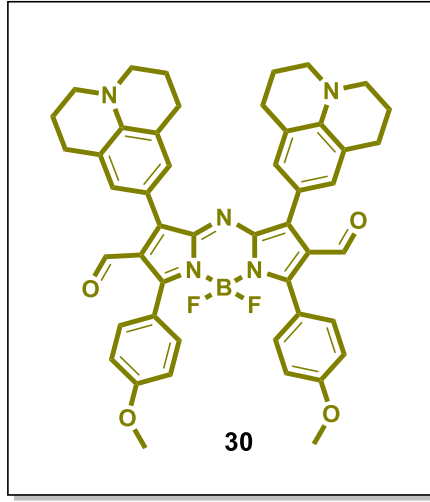
Şekil 2.16. Bileşik 28'in kimyasal yapısı

Yong ve ekibi bu çalışmada yüksek soğurma katsayılarına ve kırmızıya kaydırılmış dalga boylarına sahip iki bitiyofen AzaBODIPY NIR fotoduyarlastırıcıyı (29) başarıyla sentezlediler. 808 nm lazerle ısı ve singlet oksijen üretme yeteneği gösteriren malzemelerin fototoksisite deneylerinde, 4T1 tümör hücrelerini etkili bir şekilde öldürdüğü görüldü. (Yong vd., 2023).



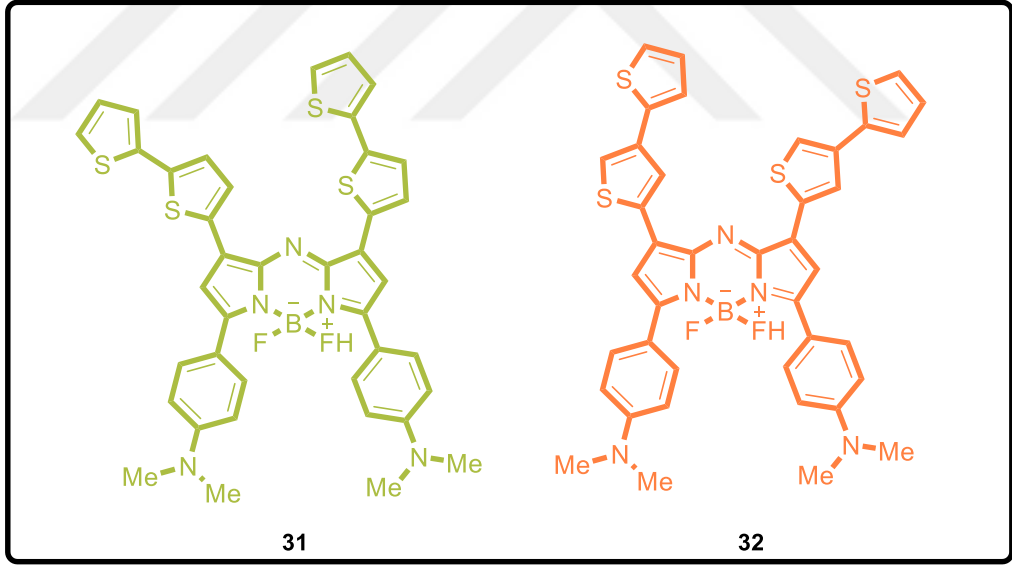
Şekil 2.17. Bileşik 29'un kimyasal yapısı

Derin doku tümörlerinde etkili bir terapi için NA1020-NO@PLX adlı gaz/fototeranostik nanokompozitin geliştirilmiştir. Bu nanokompozit, aza-boron-dipirrometen (AzaBODIPY 30) ve termal duyarlı nitrik oksit (NO) vericisini (S-nitroso-N-asetilpenisilamin, SNAP) yüksek fototermal dönüşüm verimi ve tümör işaretleme için uygun NIR-II emisyonu sağlarken, NO ve düşük sıcaklık PTT'nin osteosarkoma üzerindeki sinerjik etkisini göstermiştir. Bu strateji, derin doku tümörlerinde tekrarlanabilir ve atraumatik bir fototermal tedavi süreci sunarak potansiyel klinik uygulamalar için umut veriyor (Fang vd., 2023).



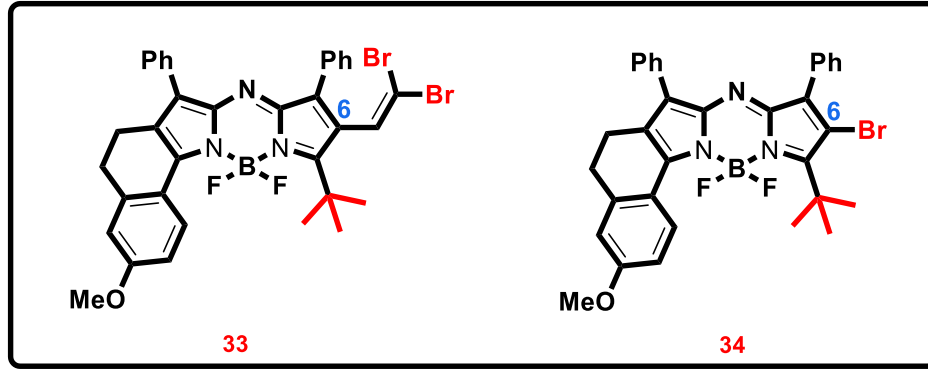
Şekil 2.18. Bileşik 30'un kimyasal yapısı

Yong ve ekibi, yüksek soğurma katsayılarına ve kırmızıya kaydırılmış dalga boylarına sahip iki AzaBODIPY NIR fotoduyarlastırıcı olan bileşik **31** ve bileşik **32**'yi sentezlemişlerdir. Bu fotoduyarlastırıcılar, 808 nm lazer ışınıyla ısı ve singlet oksijen üretme yeteneklerine sahip oldukları belirtilmiştir (Yong vd., 2023).



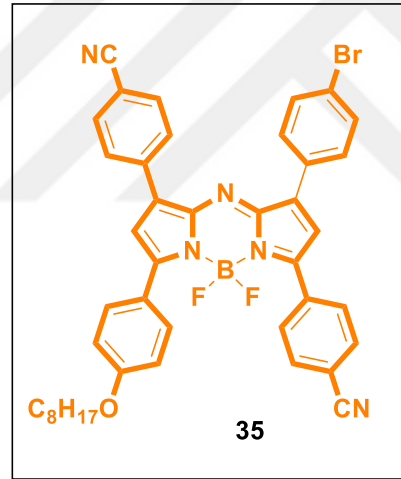
Şekil 2.19. Bileşik 31-32 kimyasal yapısı

Sun ve ekibi 6-pozisyonundaki asimetrik mono ve dibromürlerin AzaBODIPY türevlerini (bileşik **33-34**) sentezlemişlerdir. Monobromür, singlet oksijen veriminde dibromüre göre daha yüksek bir performans sergilemiş olup FDT-FTT kombinasyonu ile etkili bir terapötik ajan olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, dibromür daha yüksek floresan kuantum verimi ve molar soğurma katsayısına sahip olduğu rapor edilmiştir (Sun vd., 2024).



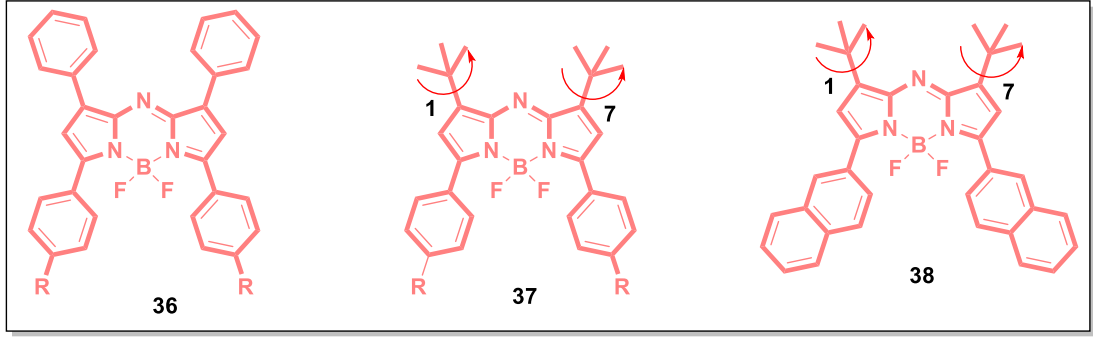
Şekil 2.20. Bileşik 33-34 kimyasal yapısı

Ruan ve ekibi fotodinamik terapi ve fototermal terapi için asimetrik yapıda ve brom atomu ile ışığa duyarlaştırıcı **35**'i (NBDP) sentezlediler. Biyouyumlu NP'ler F127 ile kapsüllenerek üretildi. Üretilen NBDP verimli singlet oksijen ve fototermal dönüşüm verimliliği gösterdi. Ayrıca *in vivo* deneylerde NBDP'lerin kanserli dokularda 6 saat süre içinde biriktiğini gözlemlemişlerdir (Ruan vd., 2023).



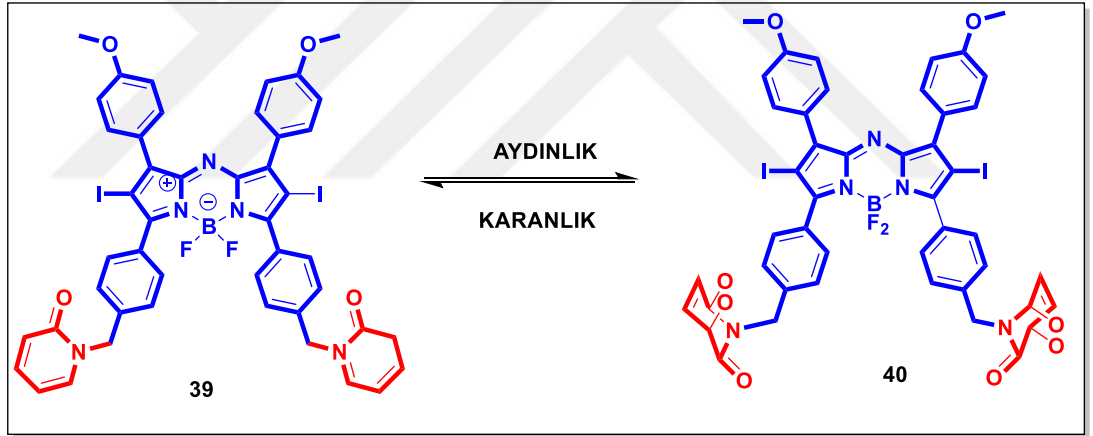
Şekil 2.21. Bileşik 35'in kimyasal yapısı

Su ve ekibi, pirivaldehit kullanarak 1,7 pozisyonlarında tbu gruplarına sahip yeni bir bileşik **36-37-38** sentezleyip karakterize etmişlerdir. Sentezlenen bu yapılar X ışını kristal analizi ile doğrulanmıştır. Tbu-AzaBODIPY'lerin fototermal dönüşümü ve singlet oksijen üretiminin yüksek olduğunu ispat etmişlerdir (Su vd., 2022).



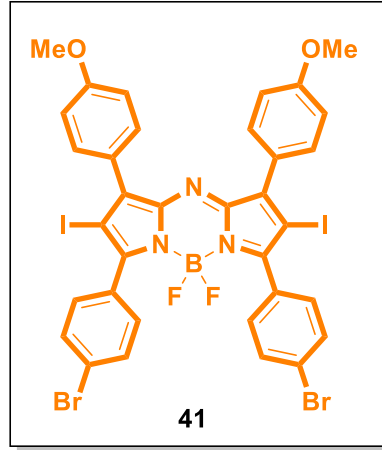
Şekil 2.22. Bileşik 36-37-38 kimyasal yapısı

Xiao ve ekibi, 2-piridon grubuna sahip yeni yakın kızılötesi AzaBODIPY **39-40** (BDY) sentezlemişlerdir. Sentezin amacı görüntüleme kılavuzlu fototermal sinerjistik sürdürülebilir fotodinamik terapiyi geliştirmektir. Sentez sonucunda ışık kaynağını çıkardıktan sonra bile singlet oksijen($^1\text{O}_2$) üretmesini devamlı kılar. Ayrıca sentezlenen boyanın kanser hücresi tarafından test edildiği zaman düşük sitotoksisite ve yüksek fototoksisite sergilediğini gözlemlemişlerdir (Xiao vd., 2018).



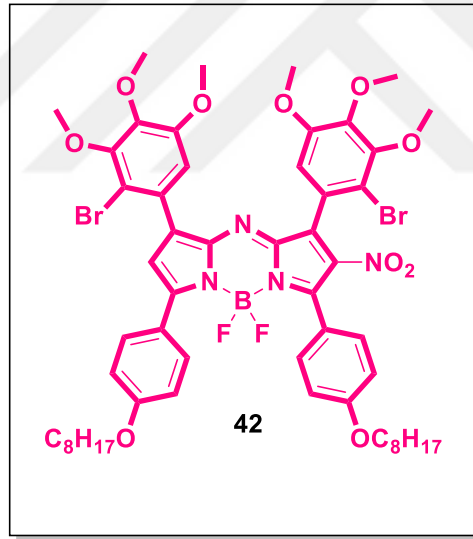
Şekil 2.23. Bileşik 39-40'ın kimyasal yapısı

Tang vd. (2017) foto duyarlaştırıcı ve fototermal dönüşüm verimliliğini içeren yeni bir AzaBODIPY (**41**) sentezlemişlerdir. Sentezlenen yapının geniş bant ışınlaması altında fototermal görüntüleme ve fotoakustik görüntülemesi başarı ile gerçekleşmiştir. Ayrıca fotodinamik ve fototermal terapiler için basit, tekrar edilebilen bir çalışma gerçekleşmiştir (Tang vd., 2017).



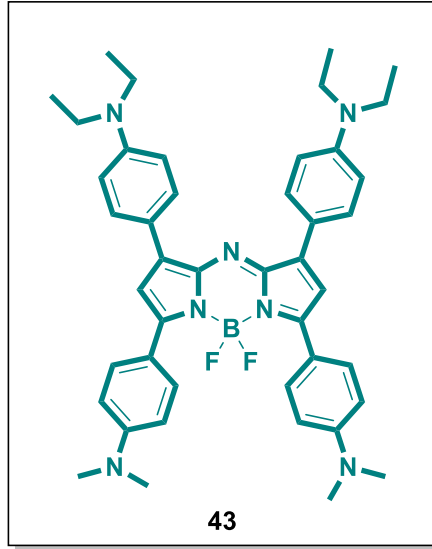
Şekil 2.24. Bileşik **41**'in kimyasal yapısı

Wang ve ekibi, sinerjik fototermal ve fotodinamik tedavi için **42** sentezledi ve F127 ile kapsüllendirilerek nanoparçacık haline getirildi. Sentezlenen maddenin fotofiziksel testleri yapılmış. *In vitro* fototermal görüntüleme testlerinde 660 nm altında kanser hücrelerinin 53.6 °C'ye ulaştığını gözlemlediler (Wang vd., 2024).



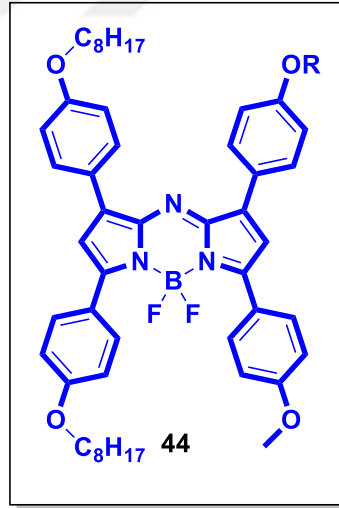
Şekil 2.25. Bileşik **42**'nin kimyasal yapısı

Liu ve ekibi 2020 senesinde, fototerapötik nanoplatform oluşturmak amacıyla **43**'ü sentezlemişlerdir. Sentezi gerçekleşen madde hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamlarda testlere tabi tutularak FDT-FTT etkinlikleri incelenmiştir (Liu vd., 2020).



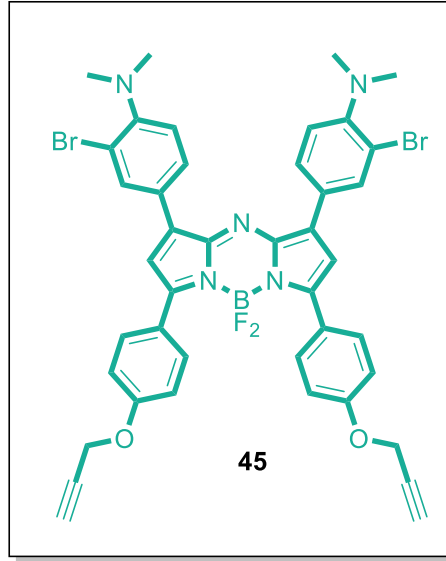
Şekil 2.26. Bileşik **43**'ün kimyasal yapısı

Zhao ve ekibi sinerjistik fototerapi için yeni bir AzaBODIPY ve manganaz dioksit nanokompozit **44**'ü geliştirmişlerdir. Geliştirilen AzaBODIPY polimer ile kaplanmıştır. Aynı zamanda oksijen üretmek için H_2O_2 'yi katalize ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca *in vivo* ve *in vitro* ortamında fototermal görüntüleme etkisi göstermiştir (Zhao vd., 2019).



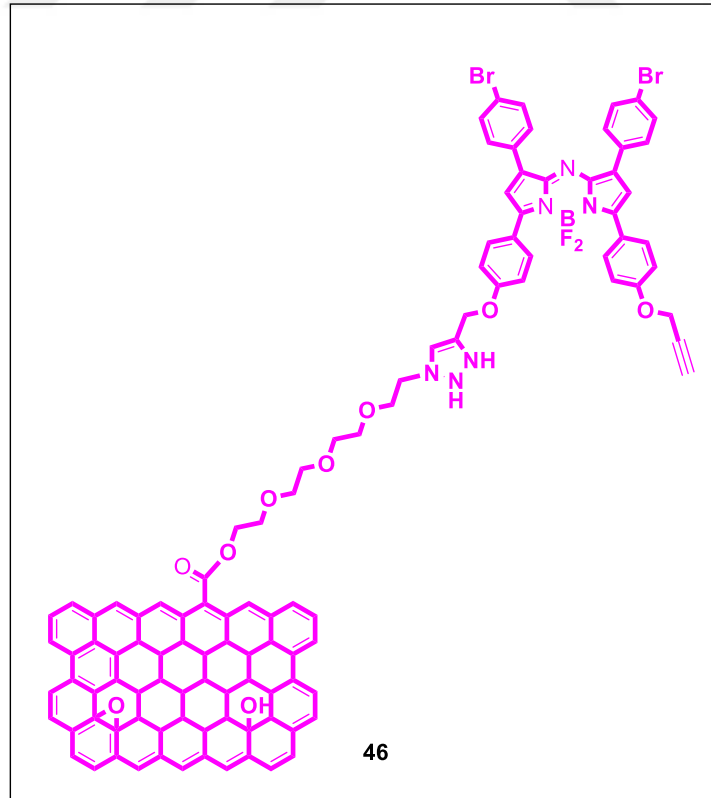
Şekil 2.27. Bileşik **44**'ün kimyasal yapısı

Grubumuz üyelerinden Esmâ Soylukan tez çalışmasında pH duyarlı yeni bir çoklu terapi ajanı olan AzaBODIPY **45** sentezlemiştir. Sentezlenen yapı FDT, FTT ve antimikrobiyal etkileri üzerinde durmuştur. Sentezlenen yapının iyi bir FDT, FTT ajanı olarak kanser hücrelerinin tedavisinde ve bakterin sebep olduğu hastalıkların tedavi edilmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir (Soylukan, 2022).



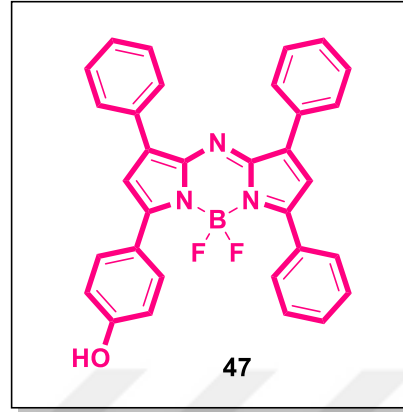
Şekil 2.28. Bileşik 45'in kimyasal yapısı

Grubumuz üyelerinden Soylukan tez çalışmasında yeni bir AzaBODIPY 46 sentezlemiş ve indirgenmiş grafen oksit ile yapıyı konjuge etmiştir. Sentezlenen yapının FDT ve FTT etkinliği test edilmiştir. AzaBODIPY'nin yapılan testler ile FDT ve FTT yapabildiği gözlenmiştir. FDT ve FTT için elverişli olduğu belirtilmiştir (Soylukan, 2020).



Şekil 2.29. Bileşik 46'nın kimyasal yapısı

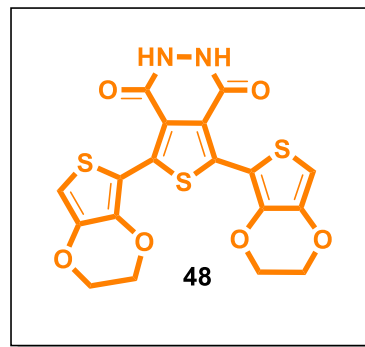
You ve ekibi 2022 senesinde yeni bir AzaBODIPY **47** boyası sentezlemişlerdir. Sentezlenen maddenin sonodinamik (SDT) etkinliğini test etmişlerdir. *In vivo* ve *in vitro* deneyleri yapılan AzaBODIPY'nin, kanser hücrelerini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir (You vd., 2022).



Şekil 2.30. Bileşik 47'nin kimyasal yapısı

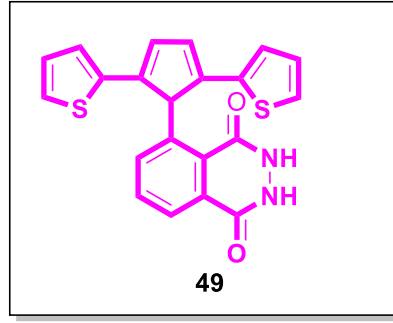
2.2 Kemilüminesans

Algı ve ekibi redoks tahrikli kemilüminesans yapılar sentezlemişler ve karakterize etmişlerdir. Sentezlenen kemilüminesans malzeme **48** hem organik ortamda hem de bazik sulu ortamda çözülme özelliğine sahiptir. Sentezi gerçekleşen ajanın **47** sensör olarak kullanılma ve adli bilimlerde kan lekelerinin tespiti için kullanılabileceği belirtilmiştir (Atılğan vd., 2009).



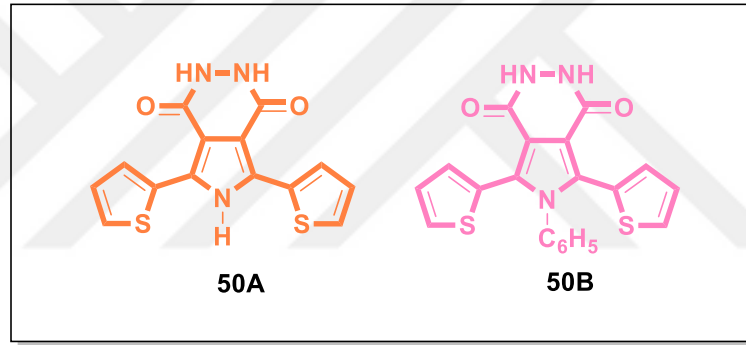
Şekil 2.31. Bileşik 48'in kimyasal yapısı

Grubumuzun yaptığı bir çalışmada, yeni ve benzersiz bir kemilüminesans probu **49**'u sentezlenmiştir. Sentezlenen yapı **49** çeşitli uyaranlara yanıt verme özelliğine sahiptir. Nötr koşullarda süper oksit radikal anyonuna (SRA) karşı duyarlıdır. Ortamda SRA olduğunda kemilüminesans özellik sergilediği tespit edilmiştir (Asil vd., 2010).



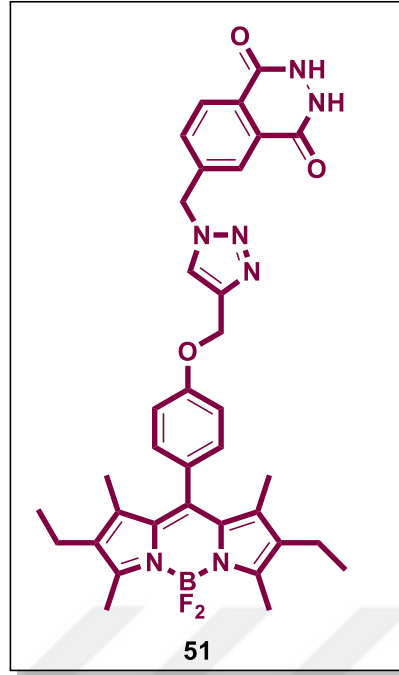
Şekil 2.32. Bileşik **49**'un kimyasal yapısı.

Algı ve ekibi piridazin tabanlı iki yeni kemilüminesans yapı **50A-50B** sentezlediler. Sentezlenen iki ajanında etkin biçimde kimyasal ışıma yapabildiğini tespit ettiler. Sentezlenen maddelerin eser miktarda Demir (Fe^{3+}), kan ve hemin (1 ppm) ile kimyasal ışıma yaptığını rapor etmişlerdir. Bileşiklerin adli tıp ve analitik kimya için umut verici olduğunu belirtmişlerdir (Pamuk Algi vd., 2017).



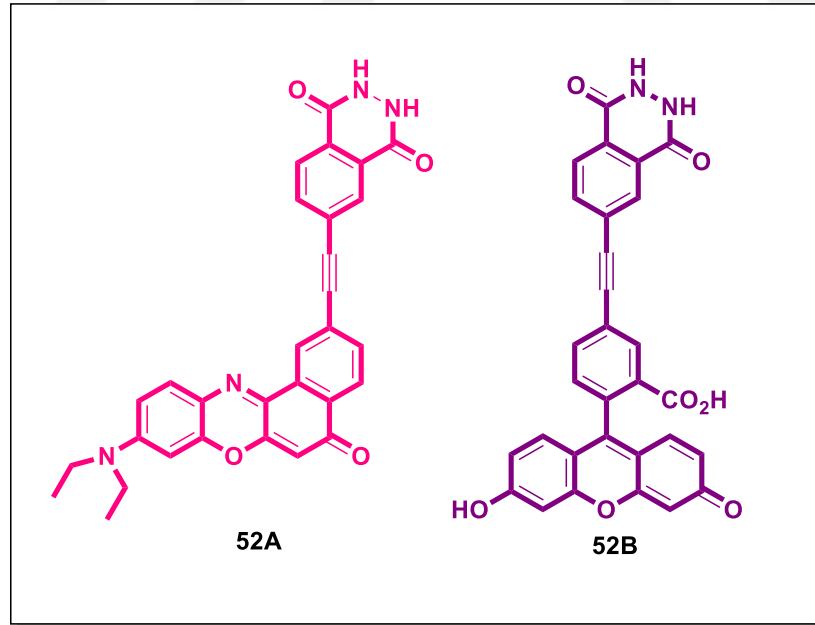
Şekil 2.33. Bileşik **50A-50B**'nin kimyasal yapısı.

Grubumuzun yaptığı bir çalışmada, BODIPY ile 2,3 dihidroftalazin-1,4-dion yapılarından oluşan yeni bir yapı **51**'i sentezlemişlerdir. Sentezlenen yapının **51** kemilüminesans ve floresans (CRET-FRET) etkinlikleri üzerinde durulmuştur. Bu yapının Demir (Fe^{3+}) iyonu ve H_2O_2 ile reaksiyona tabi tutulunca kemilüminesansı indüklediği rapor edilmiştir (Degirmenci ve Algi, 2017).



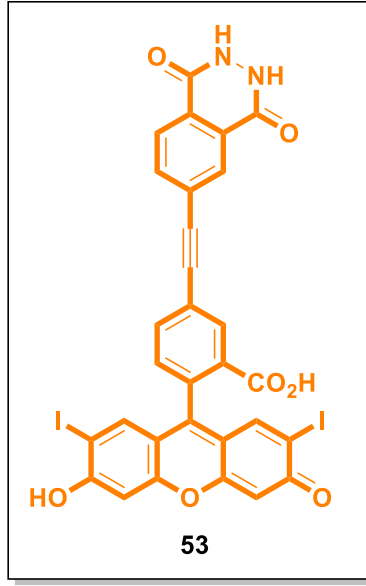
Şekil 2.34. Bileşik 51'in kimyasal yapısı

Han ve ekibi, enerji transferi ve ışıma etkinliğini test etmek için iki yeni kemilümenesans bileşik 52 sentezi gerçekleştirmişlerdir. Yapıların H_2O_2 ile etkinleşebildiğini rapor etmişlerdir (Han vd., 2007).



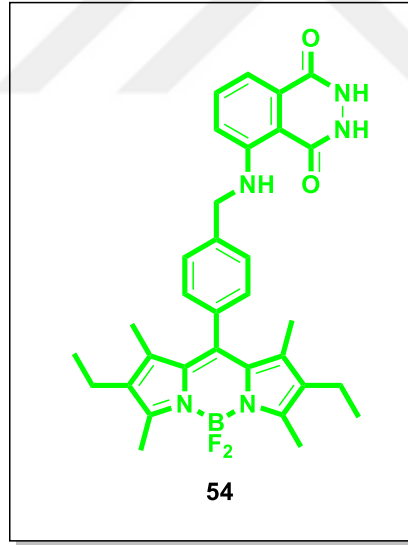
Şekil 2.35. Bileşik 52A-52B'nin kimyasal yapıları

Yesilgul ve ekibi, 52B yapısına İyot atomları entegre ederek 53 sentezini gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen maddenin kimyasal olarak uyarılabileceğini ve DMSO ortamında 1O_2 ürettiğini rapor etmişlerdir (Yesilgul vd., 2017).



Şekil 2.36. Bileşik 53'ün kimyasal yapısı

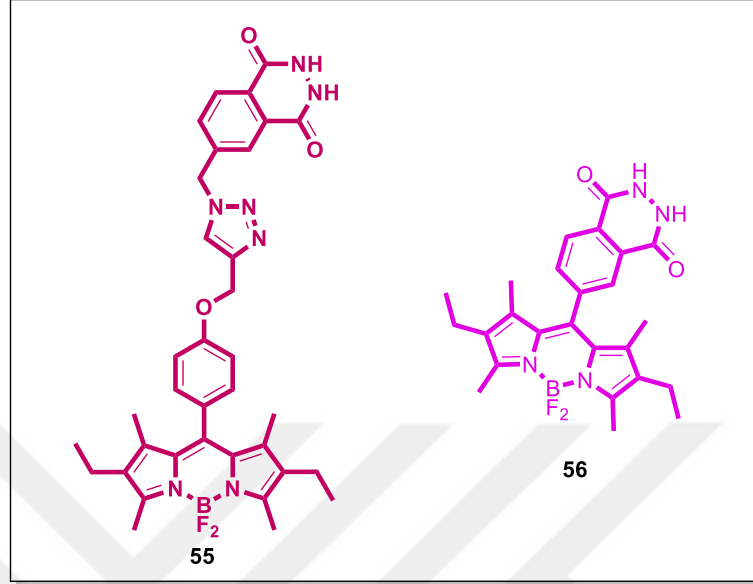
Bag ve ekibi yeni bir kemilüminesans ajanı **54** sentezini gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen ajanın **54** süper oksit ile kimyasal ışıma yaptığı ve enerji transferi gerçekleştirdiğini rapor etmişlerdir (Bag vd., 2015).



Şekil 2.37. Bileşik 54'ün kimyasal yapısı

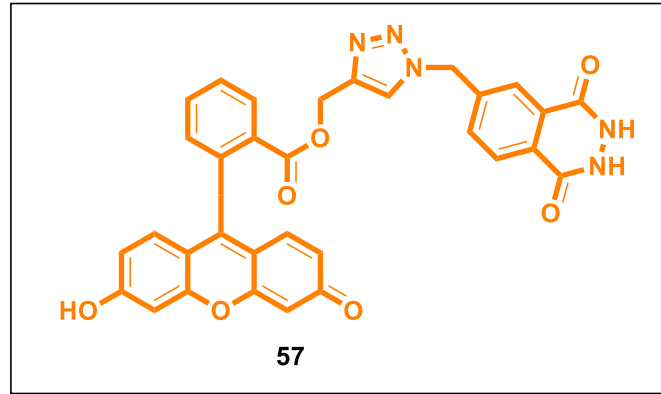
Grubumuz, ağır atom içermeyen kemilüminojenik fotosensitörlerin geliştirilmesi üzerine çalışmıştır. Bu bağlamda, boron-dipirrometen (BODIPY) ve 2,3-dihidrofitalazin-1,4-dion ünitelerinden oluşan bileşik **55-56** üzerinde durmuştur. Araştırmada, bu bileşiklerin fotofiziksel özellikleri ve singlet oksijen üretimi değerlendirilmiştir. Özellikle, BODIPY'nin 2,3-dihidrofitalazin-1,4-dion ile modifikasyonunun, singlet oksijen üretimini artırdığı bulunmuştur. Bu özellik,

konjugatların fotodinamik terapi (PDT) potansiyelini artırmaktadır. Ayrıca Hep-2 hücrelerinde canlı hücre görüntülemesi yaptığını da rapor etmişlerdir (Degirmenci vd., 2021).



Şekil 2.38. Bileşik 55-56'nın kimyasal yapısı

Grubumuz, kendiliğinden aydınlatıcı unimoleküler sistemler için yeni bir platform 57'yi geliştirmiştir. Bu platform hem fizyolojik pH'ta ışık yayabilmekte hem de yüksek asidik ortamlarda fotodinamik terapi (FDT) sağlayabilmektedir. Konjugat 1 adı verilen bu sistem, KO_2 ile muamele edildiğinde kemilüminesans indüklemekte ve singlet oksijen üretimini artırmaktadır. Ayrıca, konjugat 1, kanserli hücrelerin %79' unu ortadan kaldırarak etkili bir antikanser ajanı olarak öne çıkmaktadır. Son olarak, bu sistem, bakteri üremesini engelleme ve asidik içeceklerin raf ömrünü uzatma potansiyeline sahiptir (Toksoy vd., 2023).



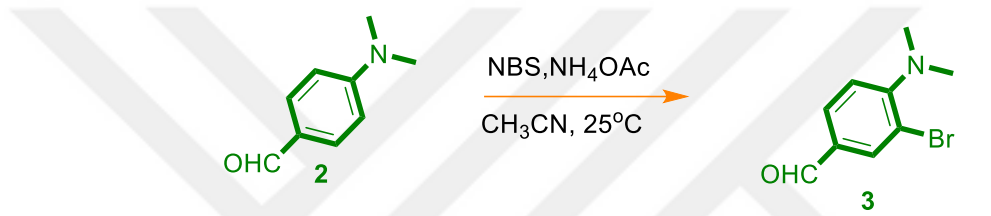
Şekil 2.39. Bileşik 57'nin kimyasal yapısı

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Malzeme

Kullanılan kimyasalların tümü ve çözücüler Merck firması ve Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çözücüler ise literatürde olan yöntemler aracılığıyla saflaştırılma yapılmıştır (Furniss, 2004). Basamakların bir kısmı grubumuzda daha önce yapılan çalışmalardan uyarlanmıştır (Soylukan, 2022).

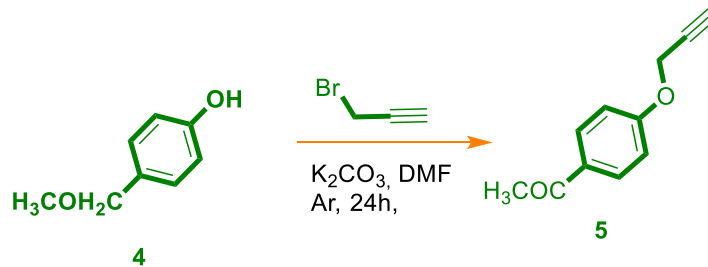
3.2 Bileşik 3 Sentezi: 3-bromo-4-(dimetilamino)benzaldehit (3)



Şekil 3.1. Bileşik 3 sentezi

Balon içerisinde 4-(N,N-dimetil) aminobenzaldehit 2 (400 mg, 2,69 mmol) 10 ml asetonitril ile çözüldü ve amonyum asetat (20 mg, 0,269 mmol) eklendi. Karışıma katı NBS (502 mg, 2,82 mmol) eklendi ve 1 dakika boyunca 25 °C de reaksiyon karışıma bırakıldı. Çözücü vakum yardımı sayesinde uzaklaştırıldı, kalan kısım etil asetat ve su ile çekme yapıldı (3x50 ml). Magnezyum Sülfat MgSO₄ eklenerek karıştırıldı ve çözücüsü çekme yardımıyla uzaklaştırıldı. Elde edilen ürün kolon yöntemi (10:1, Hekzan: Etilasetat) yardımı ile saflaştırıldı. Ürün Sarı katı renkli elde edildi, e.n.: 53 °C.

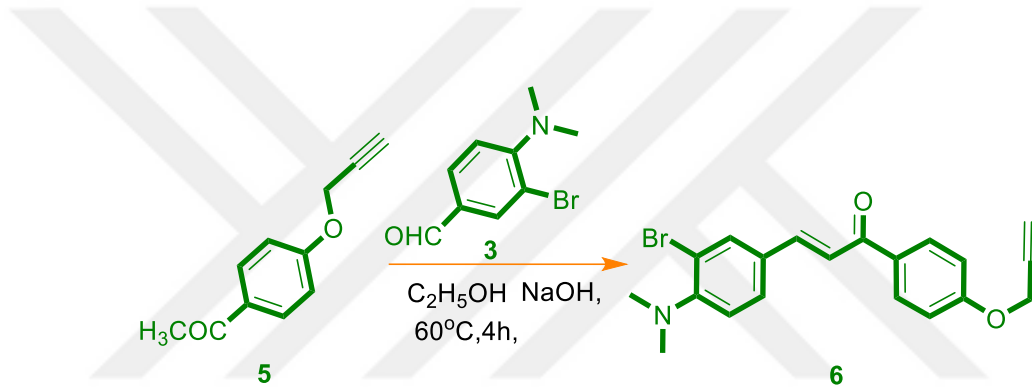
3.3 Bileşik 5 Sentezi: 1-(4-(prop-2-in-1-iloksi) fenil) etan-1-on (5)



Şekil 3.2. Bileşik 5 Sentezi

4-hidroksiasetofenon (**4**), (600 mg, 4,40 mmol) bir balon içerisine alındı ve 4 ml kuru DMF ilave edilerek, inert ortamda çözüldü. Ardından ortama susuz K₂CO₃ (913,52 mg, 6,6 mmol) eklendi ve karışım 20 dakika oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra proparjil bromür (629 mg, 5,8 mmol) eklendi. Reaksiyon, oda sıcaklığında ve inert atmosfer altında 24 saat manyetik olarak karıştırıldı. TLC ile takip edilen reaksiyonda başlangıç maddeleri tükenince karışıma buz parça parça eklendi. Çöken katılar vakum ile süzöldü, su ile yıkandı ve kurutuldu. Beyaz katı madde elde edildi, verim %86; e.n.: 79 °C.

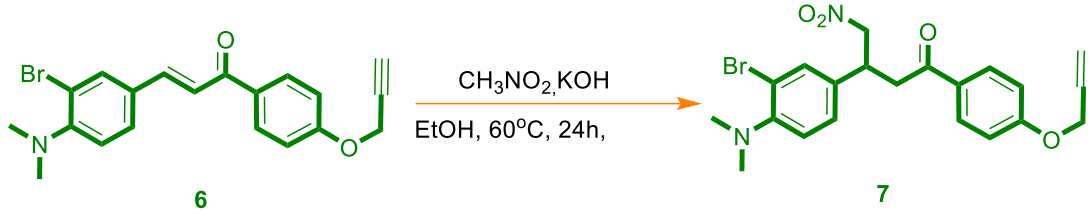
3.4 Bileşik 6 Sentezi: 3-(3-brom-4-(dimetilamino) fenil)-1-(4-(prop-2-in-1-iloksi) fenil) prop-2-en-1-on (**6**)



Şekil 3.3 Bileşik 6 Sentezi

Bileşik **5** (1.115 g, 6.4 mmol) ve **3** (0.69 mg, 6.4 mmol) balona alınarak 10 ml etanolde çözüldü. Üzerine NaOH (%10, 5 ml) yavaş yavaş eklendikten sonra karışım 24 saat 25°C’de reaksiyon karışımına bırakıldı. TLC ile takip edilen tepkime ortamına buz eklendi ve çöken sarı katı vakum ile süzdüröldü. %85 verim, e.n.: 110 °C. LC-MS C₂₀H₁₈BrNO₂ için hesaplanan: 383.05 [M⁺]; ölçümü yapılan: 383.77 [M⁺]. HRMS C₂₀H₁₈BrNO₂ için hesaplanan: 383.0521 [M]⁺ ölçölen: 384.0592 [M+H]⁺. FTIR (cm⁻¹): 3180, 2937, 2869, 2842, 2111, 1653, 1605, 1587, 1574, 1494, 1449, 1415, 1391, 1365, 1335, 1322, 1311, 1261, 1217, 1187, 1161, 1137, 1119, 1097, 1051, 1020, 1000, 959, 943, 927, 905, 897, 857, 833, 806, 784, 746, 719, 703, 678, 667, 641, 608.

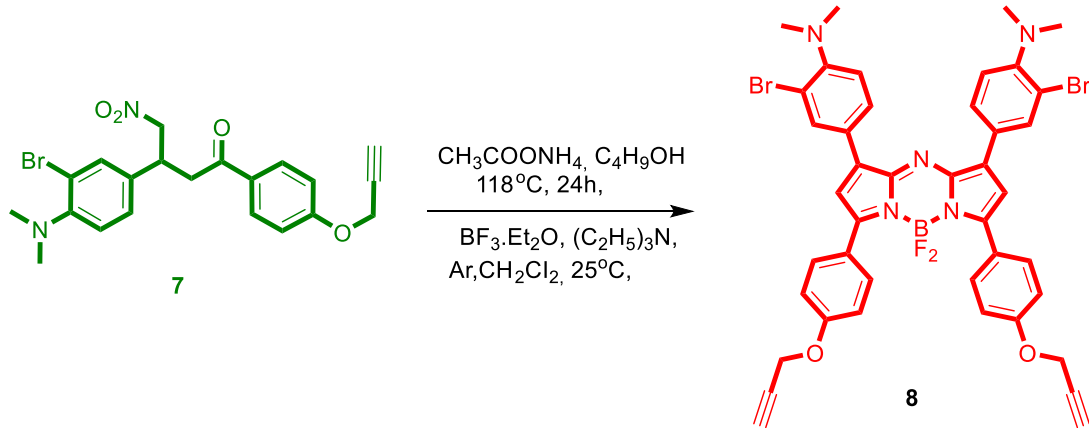
3.5 Bileşik 7 Sentezi: 3-(3-brom-4-(dimetilamino) fenil)-4-nitro-1-(4-(prop-2-in-1-iloksi)fenil)butan-1-on (7)



Şekil 3.4. Bileşik 7 Sentezi

Bileşik **6** (628.1 mg, 2 mmol) balona alındı ve 2,46 ml nitrometan eklendikten sonra 20 dakika karıştırıldı. Etanol (10 ml) içerisinde KOH (120 mg, 3 mmol) çözdürüldü ve damla damla ilave edildi. 80 °C'ye ısıtıldı. TLC ile takip edilen tepkimenin 24 saat sonunda çözücüsü uzaklaştırıldı. Etil asetat ve su ile saflaştırılma yapıldı, MgSO₄ ilave edilerek çözücü uzaklaştırıldı. Yağımsı Kahverengi madde **7** meydana geldi. %83 verimle elde edildi. LC-MS hesaplanan C₂₁H₂₁BrN₂O₄ [M⁺]: 446.07 ölçümü yapılan [M⁺]: 446.79.

3.6 Bileşik 8 Sentezi:

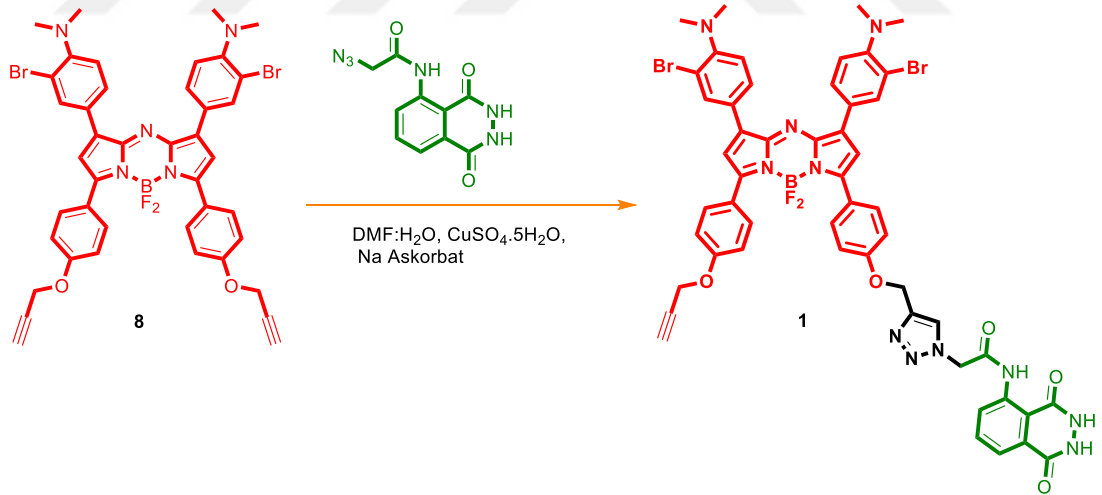


Şekil 3.5. Bileşik 8'in kimyasal yapısı

AzaBODIPY **8** iki kademede elde edildi. **7** (800 mg, 2 mmol) 50 ml bir balona alındı ve 15 ml bütanol ile çözüldü. Balona CH₃CO₂NH₄ (3.06 g, 38 mmol) eklendi. 118 °C'de inert atmosfer altında reaksiyon kuruldu. 24 saat sonunda reaksiyon sonlandırıldı. Karışım sıcaklığı normale gelene kadar bekletildi ve çözücü vakum yardımı ile giderildi. Mavi katı madde su, etanol ve diklorometan ile yıkandı, vakum

altında kurutuldu. İkinci kademede 25 ml bir balona 60 mg katı mavi renkli ürün alındı ve ortam inert hale getirildi ve 10 ml kuru diklorometan ile çözüldü. Balona kuru N, N-diizopropiletilamin (110 µl, 0.8 mmol) ilave edildi ve karışım buz banyosu yardımı ile soğutuldu. BF₃.Et₂O (304 µl, 2.250 mmol) damla damla eklendikten sonra karışım inert hale getirilerek 25°C’de karıştırıldı. Ürün TLC ile kontrol edilerek sonlandırıldı. Reaksiyonun çözücüsü çekme yapılarak uzaklaştırıldı. Madde su ve diklorometan ile (3x50) ile saflaştırıldı. Ardından Kolon kromatografisinin (9.5:0.5 Diklorometan: Metanol) ardından mavi renkli ürün **8** elde edildi. Verim %34, LC-MS C₄₂H₃₄BBBr₂F₂N₅O₂ için hesaplanan [M⁺]: 849.11 ölçülen [M⁺]: 849.37. HRMS C₄₂H₃₄BBBr₂F₂N₅O₂ için hesaplanan [M]⁺: 849.1120 ölçülen: 850.1194 [M+H]⁺. FTIR (cm⁻¹): 3290, 2919, 2849, 2786, 2122, 1726, 1592, 1524, 1503, 1483, 1469, 1432, 1404, 1375, 1338, 1313, 1283, 1273, 1251, 1233, 1183, 1143, 1123, 1103, 1071, 1040, 1013, 986, 970, 948, 897, 879, 848, 819, 807, 769, 723, 679, 663, 645, 606, 588, 577, 559, 538, 514, 448, 413.

3.7 Hedef Bileşik 1 Sentezi:



Şekil 3.6. Bileşik **1**'in kimyasal yapısı

Azit (0.10 mmol) ve AzaBODIPY **8** (0.11 mmol) 1 ml DMF-THF (1:3) karışımında çözüldü. Üzerine 0.1 ml suda çözülmüş CuSO₄·5H₂O ve sodyum askorbat damla damla ilave edildi. Reaksiyon, 25 °C’de ve argon atmosferinde, başlangıç maddeleri bitene kadar TLC ile takip edildi. Çöken kısım süzüldü ve THF ile yıkandı. Mavi renkli katı ürün **1** elde edildi. Verim %55, e.n. >300 °C. ¹H NMR (600 MHz, DMF-d₇) δ 13.43

(s, 1H), 12.23 (bs, 2H), 9.05 (d, J= 8.2 Hz, 1H), 8.67 (d, J= 7.3 Hz, 2H), 8.46-8.43 (m, 3H), 8.18 (s, 1H), 8.08 (t, J= 8.0 Hz, 1H), 7.90 (d, J= 7.8 Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.54 (d, J= 8.5 Hz, 1H), 7.47 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 5.82 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 3.79 (bs, 2H), 3.66 (bs, 12H). ¹³C NMR (151 MHz, DMF-d₇) δ 170.31, 169.09, 165.50, 163.71, 161.7, 161.40, 157.86, 153.00, 150.50, 148.00, 145.16, 143.24, 140.99, 140.58, 134.85, 134.62, 132.19, 132.12, 129.51, 128.00, 127.72, 126.74, 124.35, 124.00, 121.05, 121.00, 119.50, 119.01, 118.79, 117.77, 115.34, 115.23, 67.47, 62.01, 53.52, 43.43, 25.51. MALDI TOF MS hesaplanan C₅₂H₄₂BBR₂F₂N₁₁O₅ [M]⁺: 1109.177 ölçülen [M]⁺: 1109.006. FTIR (cm⁻¹): 3061, 2922, 2785, 2658, 2575, 2258, 2162, 2114, 1982, 1969, 1689, 1664, 1598, 1564, 1528, 1492, 1439, 1416, 1363, 1327, 1292, 1238, 1179, 1152, 1106, 1042, 1023, 986, 946, 818, 768, 729, 704, 672, 641, 593, 519, 491, 467, 414.

3.8 Molar Soğurma Katsayıları

AzaBODIPY **1** farklı derişim aralıklarında (10⁻² M-10⁻⁶ M) çözeltiler hazırlandı. Sırasıyla soğurma spektrumları kaydedildi. Kaydedilen sonuçların Beer-Lambert formülüne göre hesaplamalarının yapılmasıyla ε sayıları bulundu.

3.9 Floresans Kuantum Verimleri (Φ_F)

AzaBODIPY **1**, kuantum verimleri floresan emisyon bandına bağı olarak bilinen standartlar (Rodamin B) (Lu vd., 2018) kullanılarak şu formüle göre hesaplanacaktır: $\Phi_x(\lambda) = \Phi_{st}(\lambda) \times F_x/F_{st} \times A_{st}(\lambda)/A_x(\lambda) \times n_x^2/n_{st}^2$ Formüle göre Φ_F floresan kuantum verimi, A: uyarma dalga boyuna karşılık gelen absorbans, F: düzeltilmiş emisyon dalga fonksiyonu altında kalan alan, n: çözücünün refraktif indeksi, s: standart ve λ: numunedir.

3.10 AzaBODIPY **1** Bileşiminin Kimyasal Tuzak ile Fotoduyarlastırıcı Testleri.

AzaBODIPY **1** DPBF içeren DMSO çözeltisi kırmızı ışığa maruz bırakılarak fotoduyarlastırıcı testleri yapılmıştır. Işınlama süresi boyunca çözeltinin soğurma şiddetindeki değişimler kaydedildi. DPBF bileşiği ortamda ROT bulunması halinde tepkime verir ve soğurma şiddetinde (λ_{max}: 419 nm) azalma gözlenen değişimler farklı zaman aralıklarında kaydedildi.

3.11 AzaBODIPY 1'in ROT belirteci testleri:

PBS, HEPES, tris, karbonat-bikarbonat gibi tamponlar içerisinde çözölen hedef yapılar üzerine ROT ilave edilerek bilinen spektroskopik yöntemlerle yapıldı(Maeda vd., 2004).

3.12 ¹O₂ Tuzak Testleri:

Tuzak molekölü bileşik çözeltisine eklendi. Çözelti karanlık bir yerde belirli bir süre bekletildi ve belirli zaman aralıklarında soğurma spektrumları alındı. Daha sonra çözelti kırmızı ışığa (FDT), ultrases dalgasına (SDT) ve son olarak ultrases-kırmızı ışığa (SFDT) maruz edilerek bellirleme sürelerinde soğurma spektrumu ölçöldü. Spektrumda meydana gelen değışiklikler kaydedildi ve fotoduyarlaştırıcı etkinlikleri bellirlendi.

3.13 ¹O₂ Verimlerinin Hesaplanması:

Literatüre uygun olarak metilen mavisi alınarak hesaplamalar yapıldı (Adarsh vd., 2010).

3.14 AzaBODIPY 1'in pH Çalışmaları:

AzaBODIPY 1'in farklı pH değerlerine sahip tampon çözeltileri hazırlanıp spektrumları kaydedildi. Her bir spektrumda değışen maksimum değerler oranlanarak şiddete karşı pH grafiğı çizildi ve pKa değerleri bellirlendi. Ayrıca yapıların bulunduğı ortamdaki kimyasal bilgi (analit türü, sayısı vb) dikkate alınarak hedef bileşiklerin işlev görüp göremeyeceğı bellirlendi.

3.15 Hücre Kültürü

Hücre kültürü çalışmaları laminar flow adı verilen steril kabin içerisinde, literatürde bilinen reçeteler kullanarak çalışmalar yapıldı(Bonifacino vd., 2001). Kanseri hücre hattı A549 (akciğer kanseri) ve sağlıklı hücre hattı olan L929(fibroblast) çalışmalarda kullanıldı. Hücre hatlarına uygun besiyerleri seçilerek flasklarda %5 CO₂ ve 37 °C ortamında inkübe edildi. Hücre canlılığı %70-80 yoğunluğuna geldiğinde tripsin-EDTA ile tripsinizasyon yöntemiyle pasajları yapıldı. Daha sonra uygun well platelere, bellirlenen oranlarda hücre ekimleri yapabilmek için 100 mikrolitre hücreden

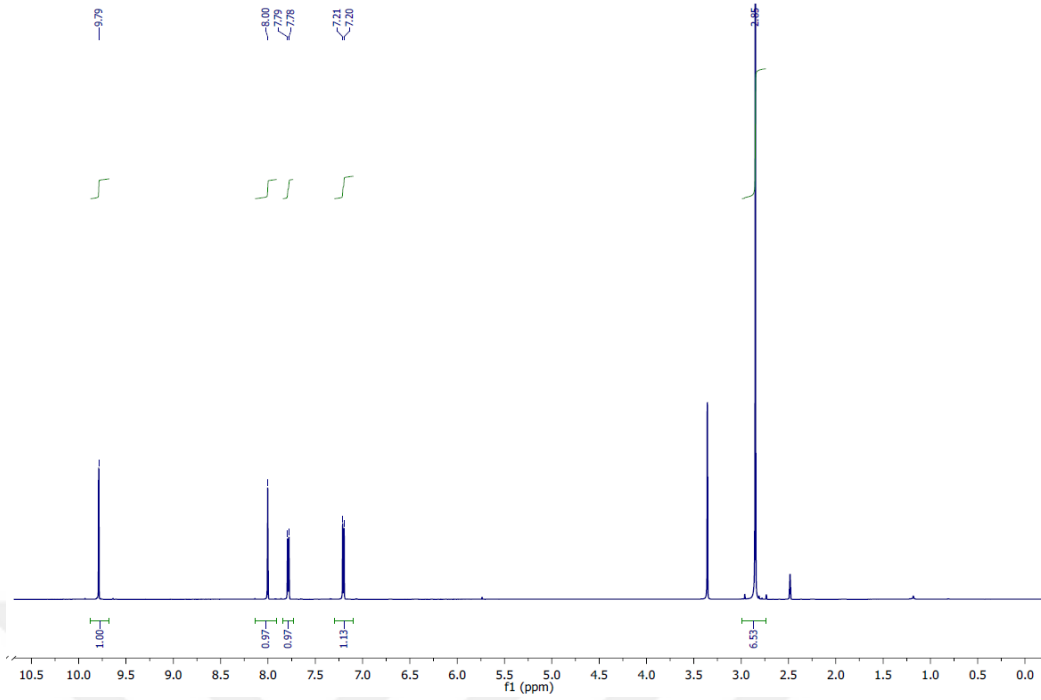
100 mikrolitre tripsin mavisi karıştırılarak thoma lamına 10 mikrolitre alındı. Hücrenin alan sayımı yapıldı. Formül olarak $A \times SF \times 16 \times 10.000$ kullanıldı.

3.16 AzaBODIPY 1 ile A549 Hücre Hattında *In Vitro* Testler

Pasajı yapılan hücreler 96'lık kuyulu well plate ekildi ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra belirlenen miktarlarda ($1-25 \mu\text{g mL}^{-1}$) AzaBODIPY 1 ilave edilerek inkübasyona bırakıldı. 24 saat onunda well plate PBS ile üç kere yıkandı. Kırmızı ışığa, 808 nm lazere ve ultrasese maruz bırakılan hücreler daha sonra 24 saat inkübe edildi. Daha sonra besiyeri ortamdan uzaklaştırılarak üç defa PBS ile well plate yıkandı ve boş kuyucuklara 100 μl besiyeri ilave edildi. Besiyerinin üzerine 11 μl MTT (1 mg/ml) çözeltisi kuyucuklara ilave edildi. 37°C ' de üç saat inkübasyona bırakıldı. Sonra besiyeri ortamdan uzaklatırılarak, 100 μl dimetil sülfoksit: izopranoöl (1:1) eklenerek formazan kristalleri çözünmüş oldu ve plaka okuyucuda 490 nm'de absorbans ölçülmesi sağlandı(Adarsh vd., 2019).

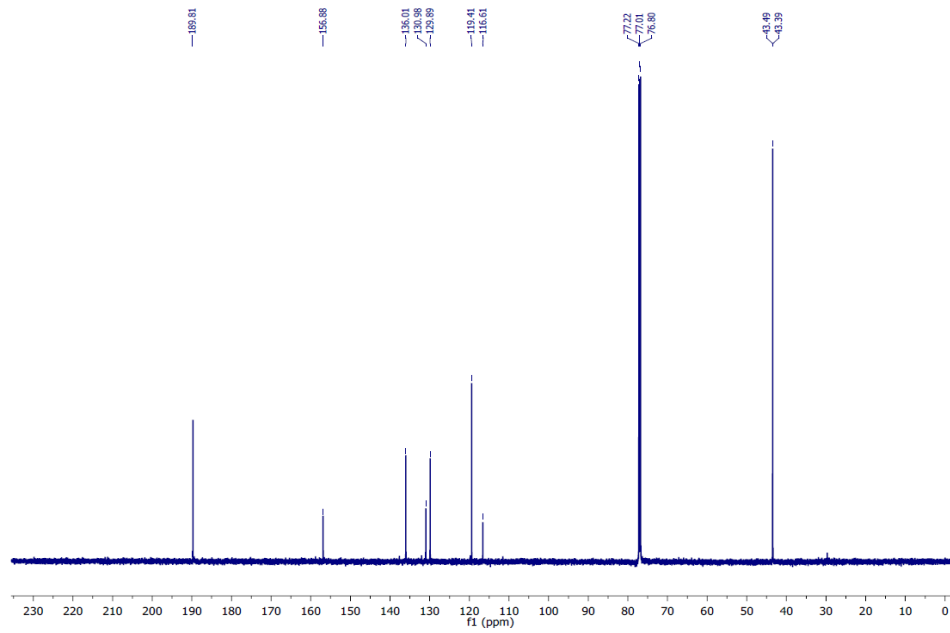
3.17 AzaBODIPY 1 L929 Hücre Hattında Sitotoksosite Testi

Hücre hattı olan L929 (ATCC® CRL-6364™) (fibroblast) pasajı yapılarak 96'lık well plate kuyucuklarına ekimleri yapıldı ve inkübe edildi. 24 saat sonunda belirlenen miktarlarda ($1-50 \mu\text{g mL}^{-1}$) AzaBODIPY 1 edildi ve inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında well plate üç defa PBS ile yıkandı ve kuyucuklara 100 μl besiyeri eklendi ve 11 μl MTT (1 mg/ml) çözeltisi ilave edildi. İnkübasyondan üç saat well plate alındı ve içerisindeki besiyerleri uzaklaştırıldı. 100 μl dimetil sülfoksit:izopranoöl (1:1) çözeltileri eklendi ve formazan kristallerinin çözünmesi gerçekleştirildi. Plaka okuyucuda 490 nm'de absorbans ölçülmesi sağlanarak yüzde canlılık hesaplandı. Hücre canlılığı formülü $R_v = ((A_1 - A_0) / (A_2 - A_0)) \times 100 \%$ ile hesaplaması yapıldı.

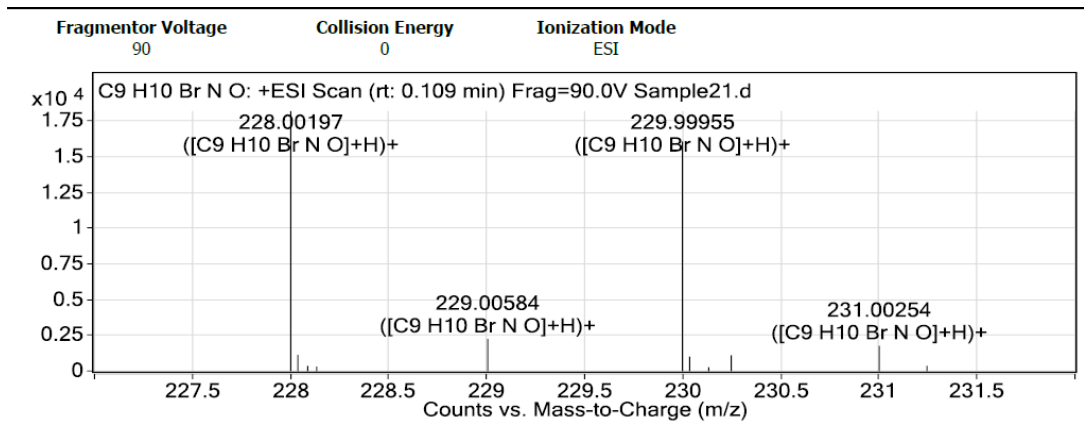


Şekil 4.3. Bileşik 3 için ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 600 MHz)

Bileşiğin 3 ^{13}C NMR spektrumu (Şekil 4.4.) ile karbon sinyallerinin (189.81, 156.88, 136.01, 130.98, 129.89, 119.41, 116.61, 43.4) yapıyı doğruladığı tespit edilmiştir. Bileşik 3 için kütle spektrumunun (HRMS, Şekil 4.5.) yapıyla uyumlu olduğu gözlenmiştir.

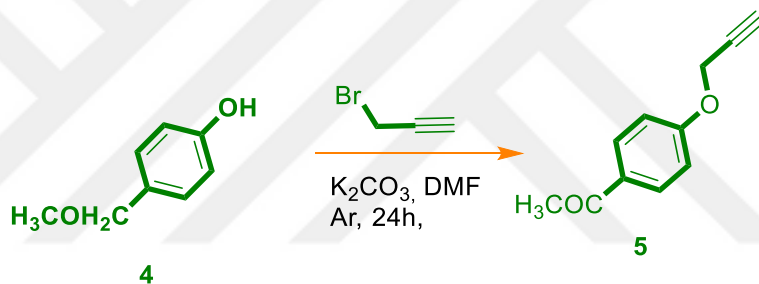


Şekil 4.4. Bileşik 3 için ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)



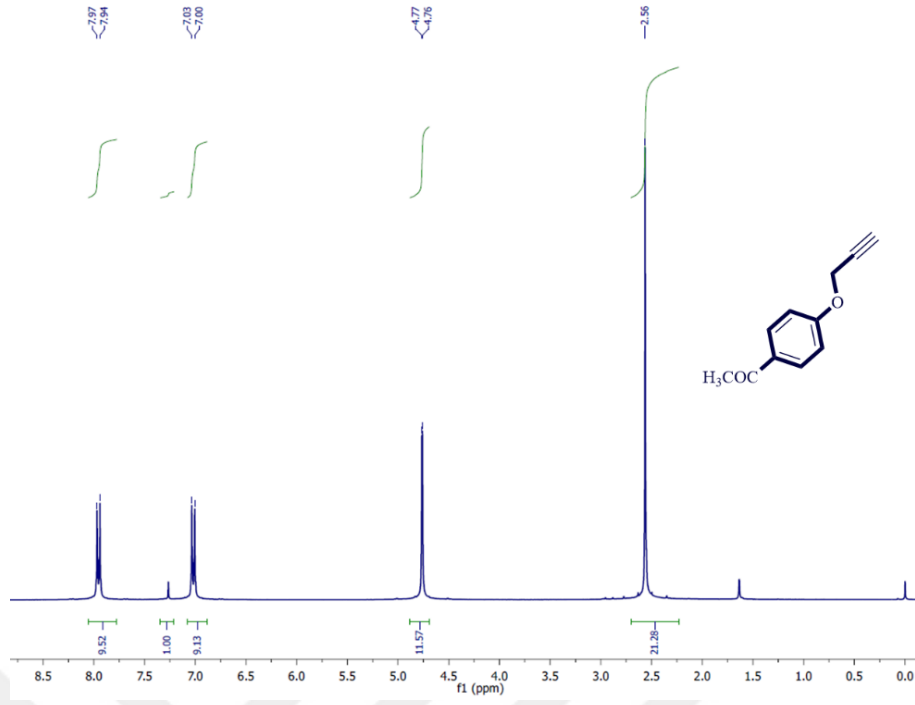
Şekil 4.5. Bileşik 3 için HRMS spektrumu

İkinci kademede 4'-hidroksiasetofenon **4** ve propargil bromür DMF içerisinde K_2CO_3 varlığında tepkimeye sokulmuş ve bileşik **5** sentezi gerçekleştirilmiştir.



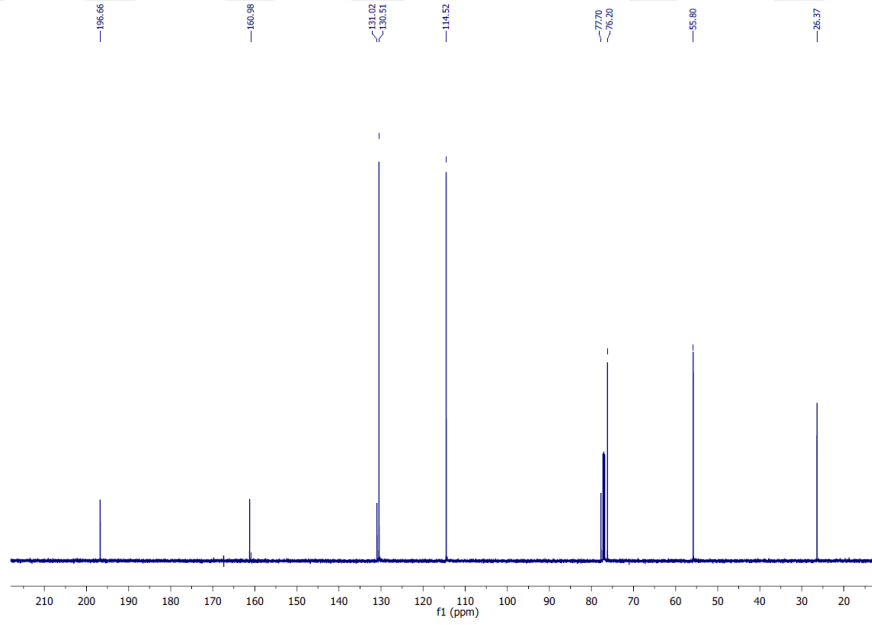
Şekil 4.6. Bileşik 5 sentezi

Bileşiğin **5** 1H NMR spektrumunda (Şekil 4.7.) olefinik protonların 5.18, 5.29 ve 5.90 ppm'de ve metilenik protonların 5.00 ppm sinyali görülmektedir. Bileşik **5**'in başarılı biçimde sentezlendiğini göstermektedir.

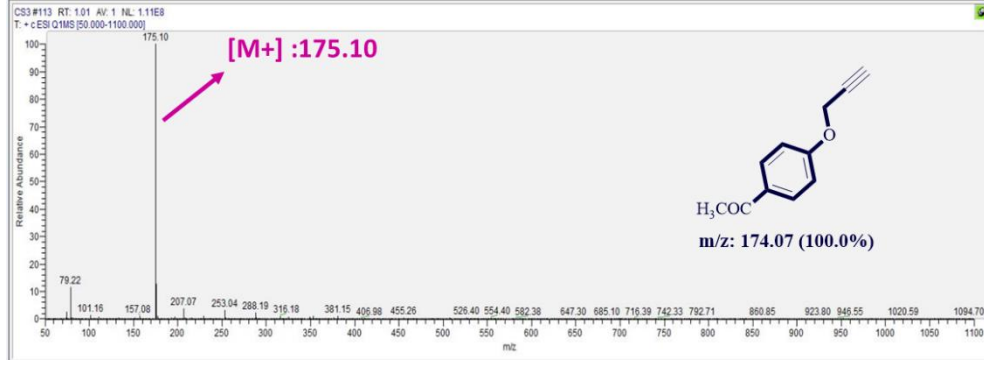


Şekil 4.7. Bileşik 5 ^1H NMR spektrumu (600 MHz, CDCl_3)

Bileşiğin 5 ^{13}C NMR (Şekil 4.8.) ve HRMS kütle (Şekil 4.9.) spektrumları sentezin başarılı olduğunu ispatlamaktadır.

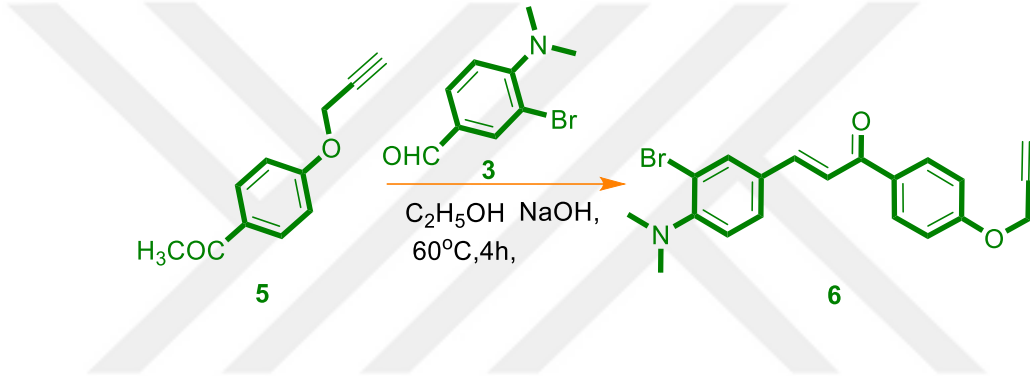


Şekil 4.8. Bileşik 5 için ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)



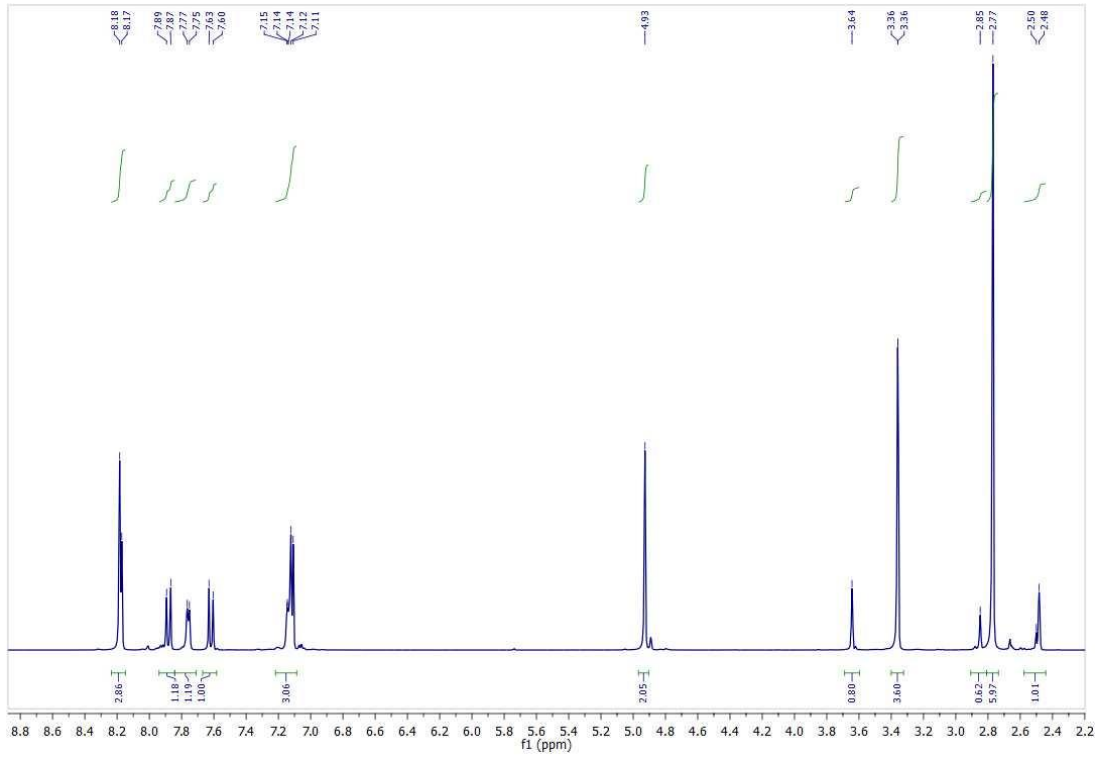
Şekil 4.9. Bileşik 5 HRMS kütle spektrumu

Bileşiklerin 3 ve 5 NaOH varlığında kondenzasyon tepkimesi sonucunda 6 elde edilmiştir.



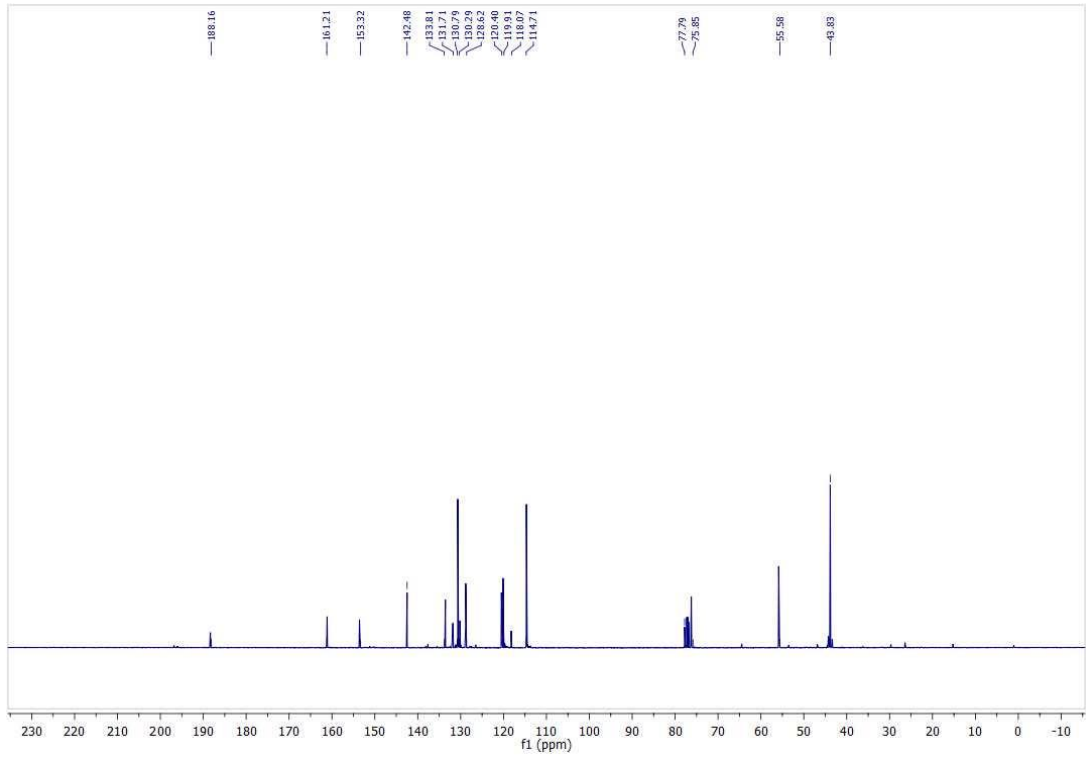
Şekil 4.10. Bileşik 12 sentezi

Bileşiğin 6, ^1H NMR spektrumu Şekil 4.11 de gösterilmiştir. Bileşik 6 incelendiğinde aromatik protonların 8.18-8.17 (m, 3H), 7.88 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H) ve 7.15-7.11 (m, 3H) ppm, 4.93 (s, 2H) ppm, 2.77 (s, 6H), asetilenik protonun 2.48 (bs, 1H) ppm de sinyallerin olduğu tespit edildi.



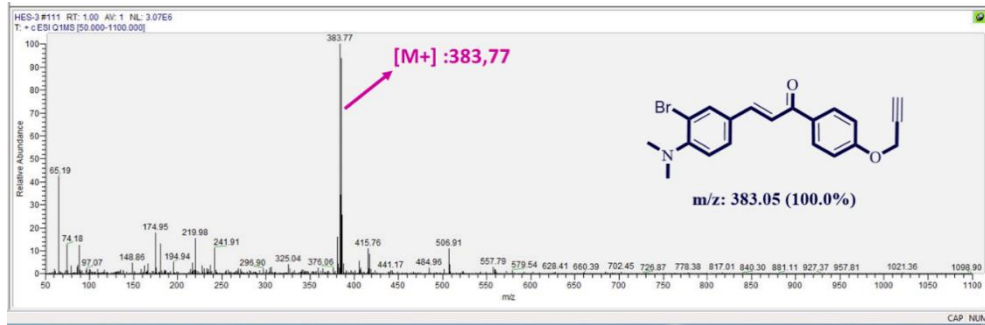
Şekil 4.11. Hedef bileşik **6** için ^1H NMR spektrumu (600 MHz, CDCl_3)

Bileşik **6** ^{13}C NMR spektrumu Şekil 4.12 'de verilmiştir. Aromatik ve olefinik karbonların 188.49, 160.94, 153.40, 142.48, 133.81, 131.71, 130.79, 130.29, 128.62, 120.40, 119.91, 118.07 ve 114.71 ppm de, alkin karbonlarının 77.79 ve 75.85 ppm de ve alifatik karbonların ise 55.58 ve 43.83 ppm de sinyal verdiği belirlenmiştir.

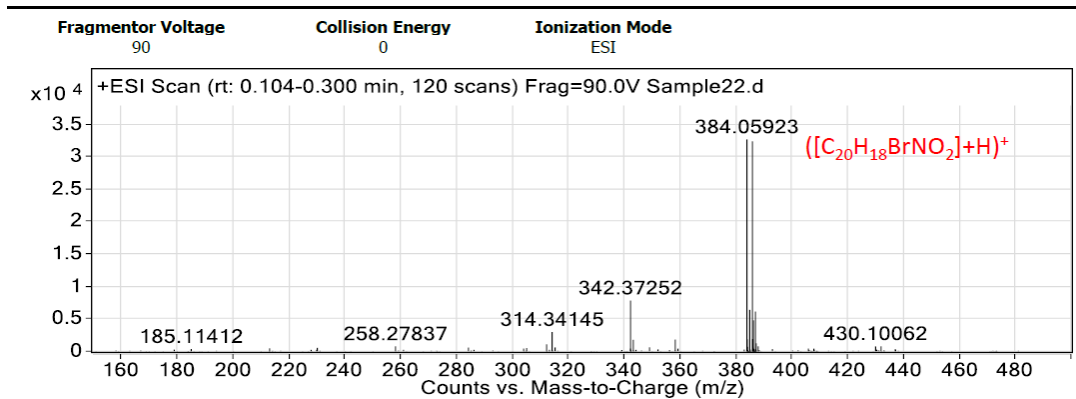


Şekil 4.12. Bileşik **6** ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)

Bileşik **6** yapısı HRMS ve LC-MS ile aydınlatılmış olup (Şekil 4.14) verilen m/z: 383,77 ve M/z: 383,05 sinyalleri yapıyı doğrulamaktadır.

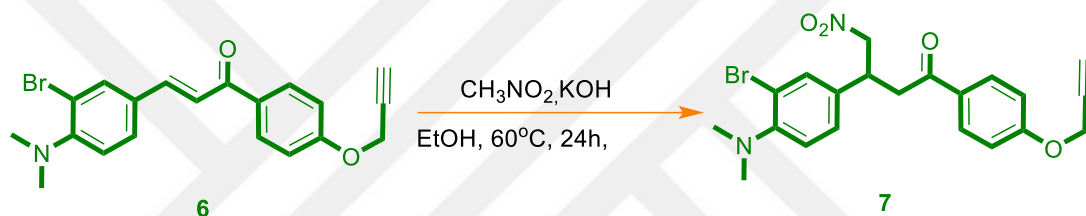


Şekil 4.13. Bileşik **6** için LC-MS kütle spektrumu



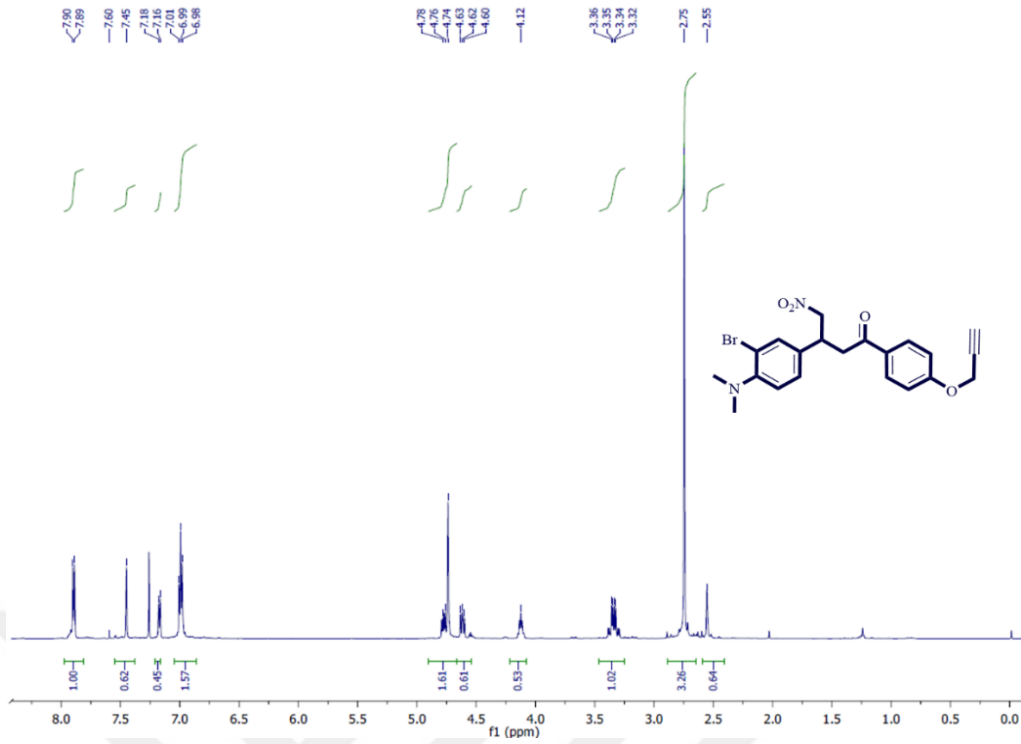
Şekil 4.14. Bileşik 6 için HRMS kütle spektrumu

Bileşik 6 etanol içerisinde 80 °C’de KOH varlığında nitrometan ile etkileştirilerek kondenzasyon ürünü 7 elde edilmiş ve yapısı NMR ve kütle spektrumları ile doğrulanmıştır.



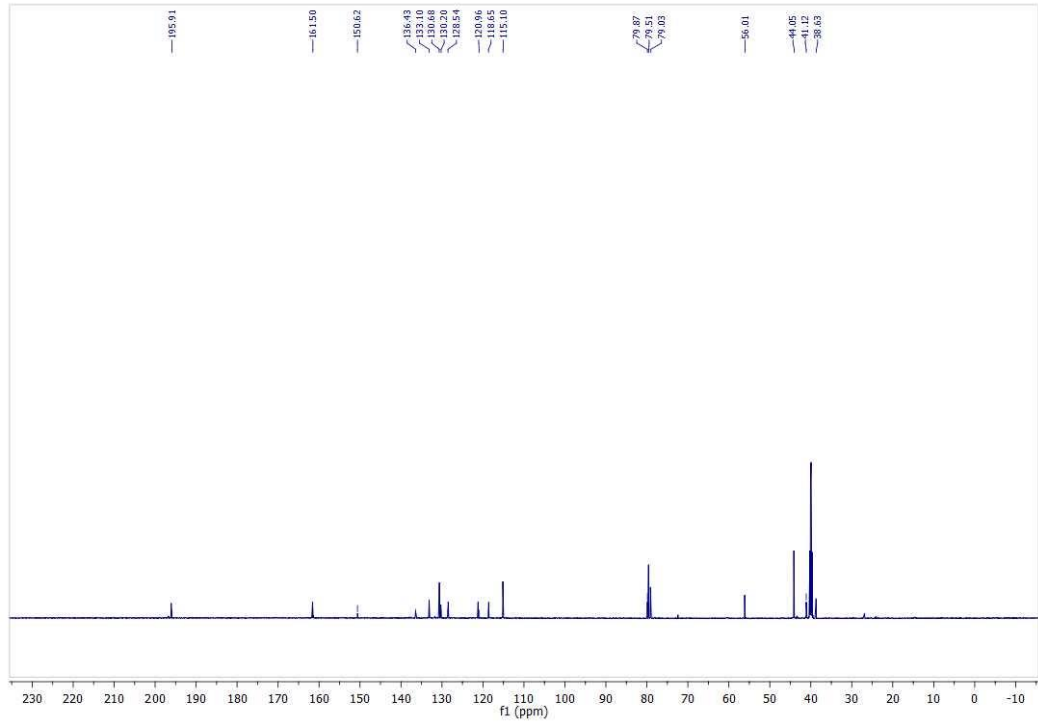
Şekil 4.15. Bileşik 7 sentezi

Bileşik 7 ^1H NMR Şekil 4.16 da verilmiştir. Bileşik 7’ ye bakıldığında Yapıda aromatik protonların 7.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.17 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H) ve 7.01-6.98 (m, 3H) ppm de, alifatik protonlarının 4.78-4.76 (m, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.62 (dd, $J = 12.5$ ve 8.4 Hz, 1H), 4.12 (p, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.36-3.32 (m, 2H) ve 2.75 (s, 6H) ppm de öte yandan alkin protonunun ise 2.55 (s, 1H) ppm de rezonans olduğu belirlenmiştir.

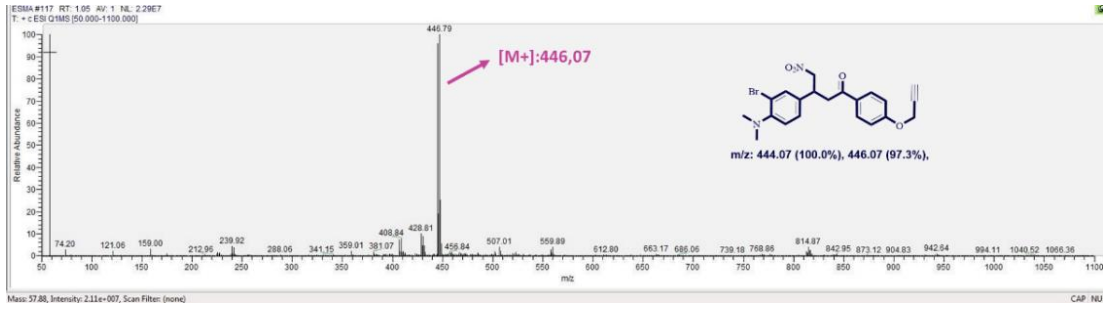


Şekil 4.16. Bileşik 7 için ¹H NMR spektrumu (600 MHz, CDCl₃)

Bileşik 7 için 11 sp², 5 sp³ ve 2 alkin karbon sinyali olmak üzere 18 sinyalden oluşan ¹³C NMR spektrumu (Şekil 4.17) ve kaydedilen kütle spektrumu (Şekil 4.18.) yapı ile uyumludur.

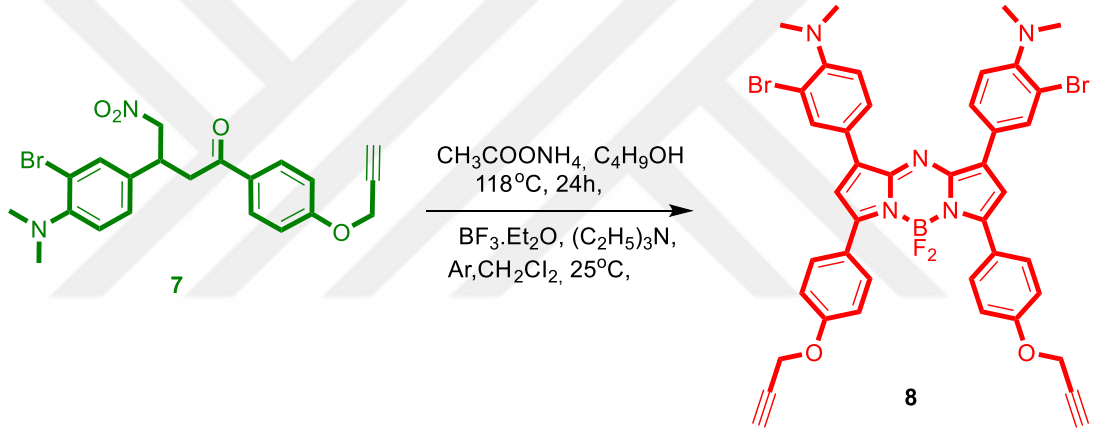


Şekil 4.17. Bileşik 7 için ¹³C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl₃).



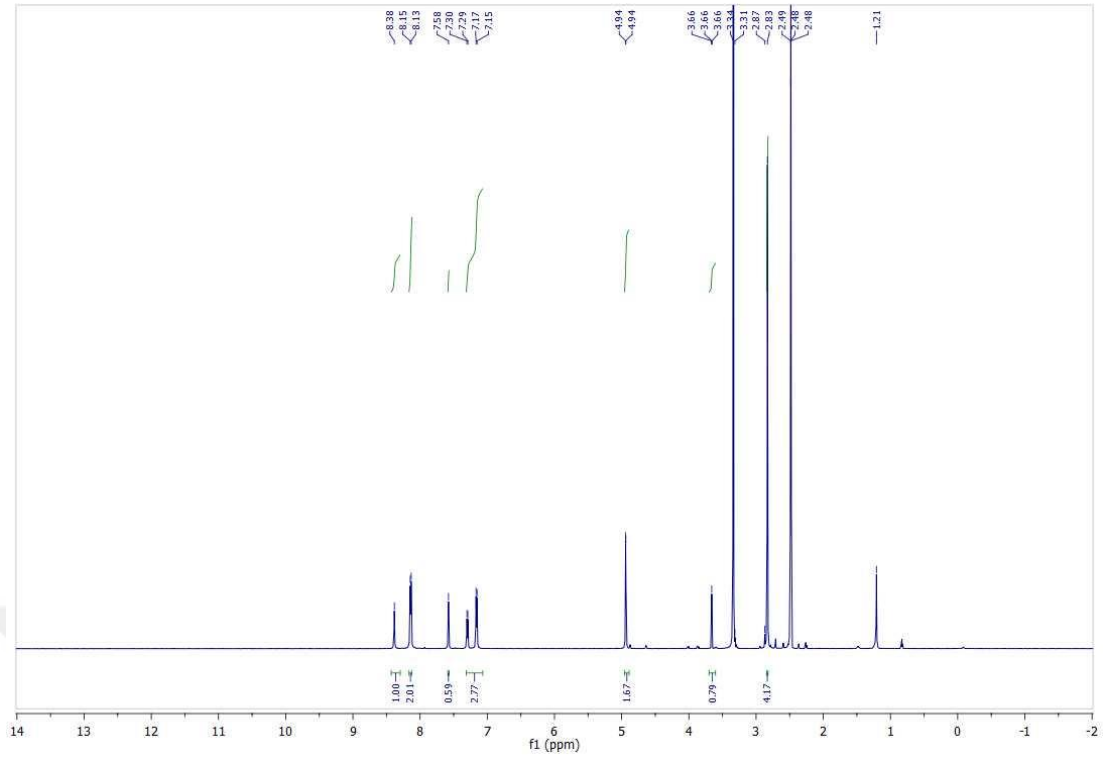
Şekil 4.18. Bileşik 7 için HRMS kütle spektrumu

AzaBODIPY iskeletinin elde edilmesi için 7 ilk aşamada bütanol içerisinde amonyum asetat ile muamele edilmiş ardından ise N,N-diizopropiletilamin (DIPEA) ve bor triflorür eterat ile reaksiyona sokulmuştur. Kolon kromatografisi ile saflaştırılan ürün spektroskopik yöntem sayesinde karakterize edilmiştir.



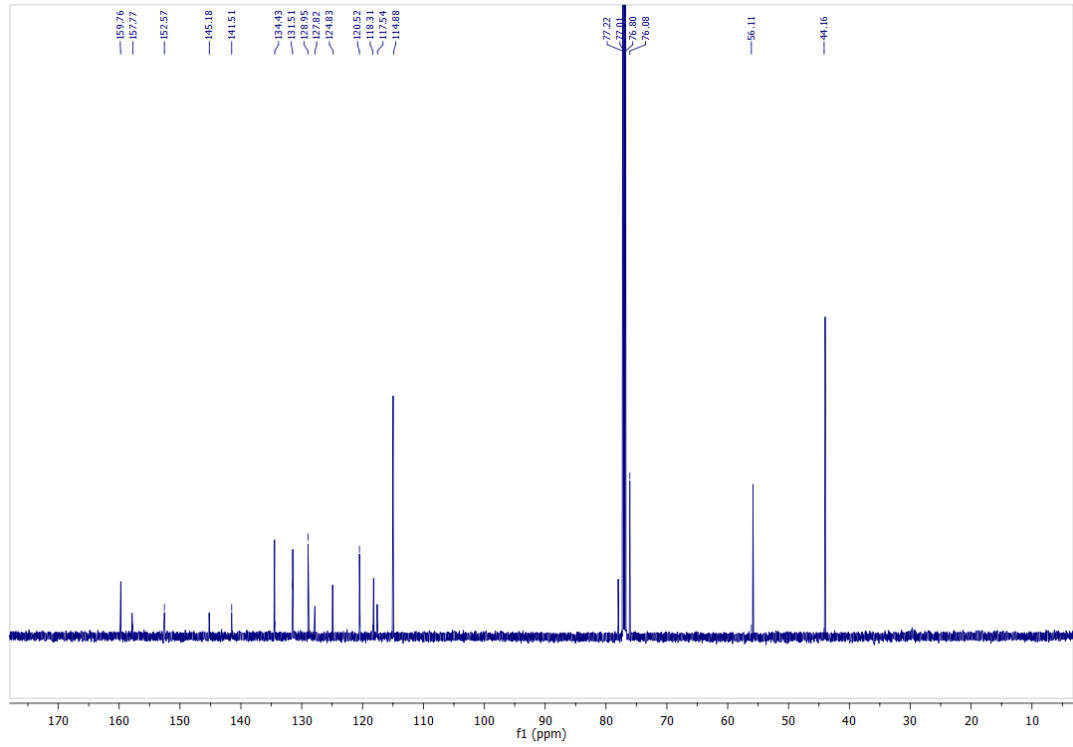
Şekil 4.19. Bileşik 8 sentezi

Bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil 4.20) aromatik protonların 8.38 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.30 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H) ve 7.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 3H) ppm de, alifatik protonların 4.94 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 3.66 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H) ppm de asetilenik protonların ve 2.83 (s, 6H) ppm de metil protonlarının sinyal verdiği kanıtlanmıştır.

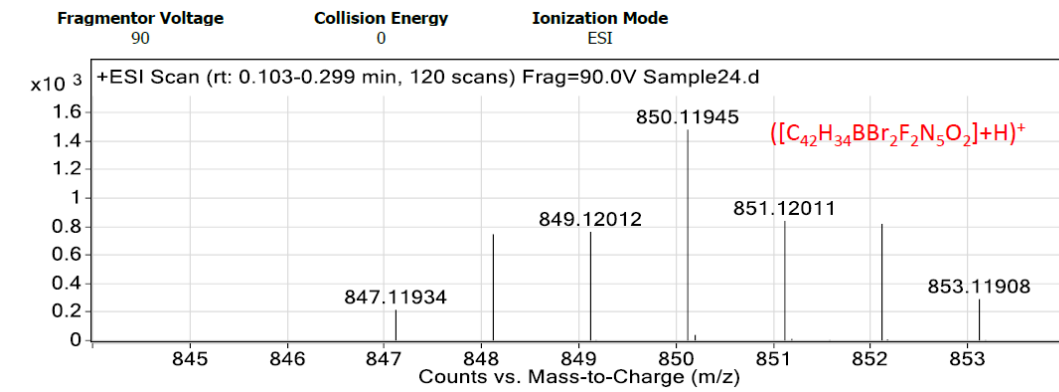
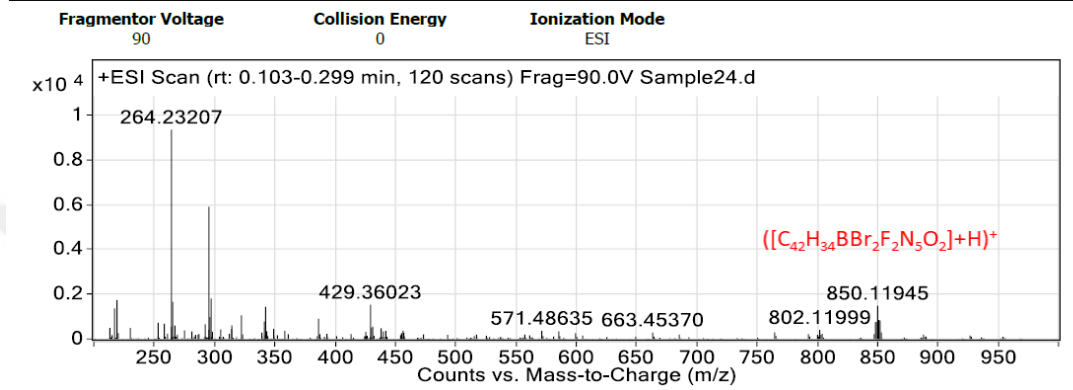
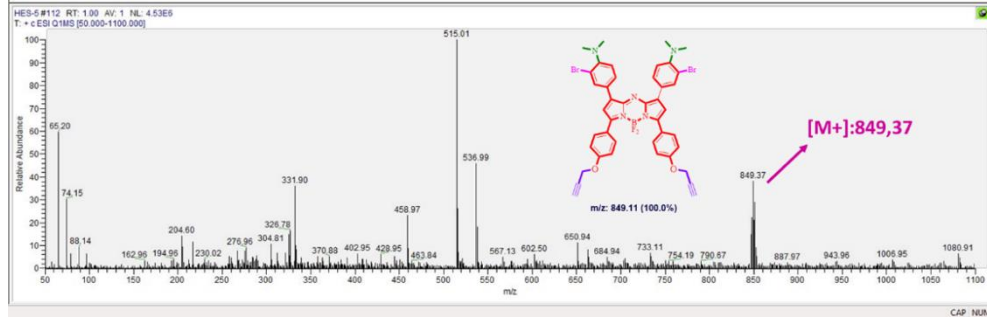


Şekil 4.20. Bileşik **8** için ^1H NMR spektrumu (600 MHz, DMSO-d_6)

Bileşiğin **8** on sekiz sinyalden oluşan ^{13}C NMR spektrumu (Şekil 4.21) ve kütle spektrumu (Şekil 4.22) sentezin doğruluğunu ispatlamaktadır.

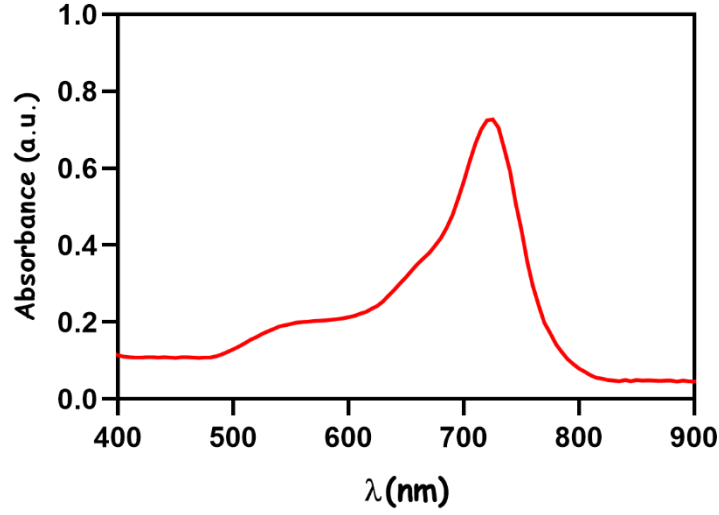


Şekil 4.21. Bileşik **8** için ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3)



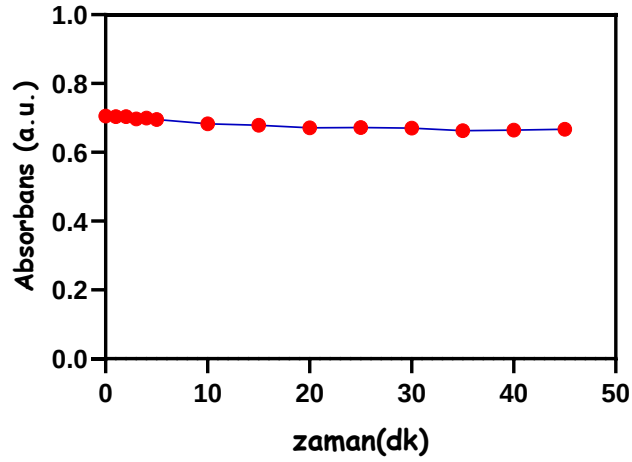
Şekil 4.22. Bileşik 8 için LC-MS (üstte) ve HRMS (altta) kütle spektrumları

Sentez ve karakterizasyonu gerçekleştirilen **8**' in fotofiziksel özellikleri incelenmiştir. Soğurma dalga boyu maksimum değerinin (λ_{max}) 720 nm olduğu ($\epsilon = 103700$) görülmektedir. Bileşiğin floresans özellik göstermediği ve floresans kuantum veriminin (Φ_F) 0.02'den düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.23. AzaBODIPY **8** için soğurma spektrumu (7.0×10^{-6} M, DMSO, $\lambda_{\max} = 720$ nm)

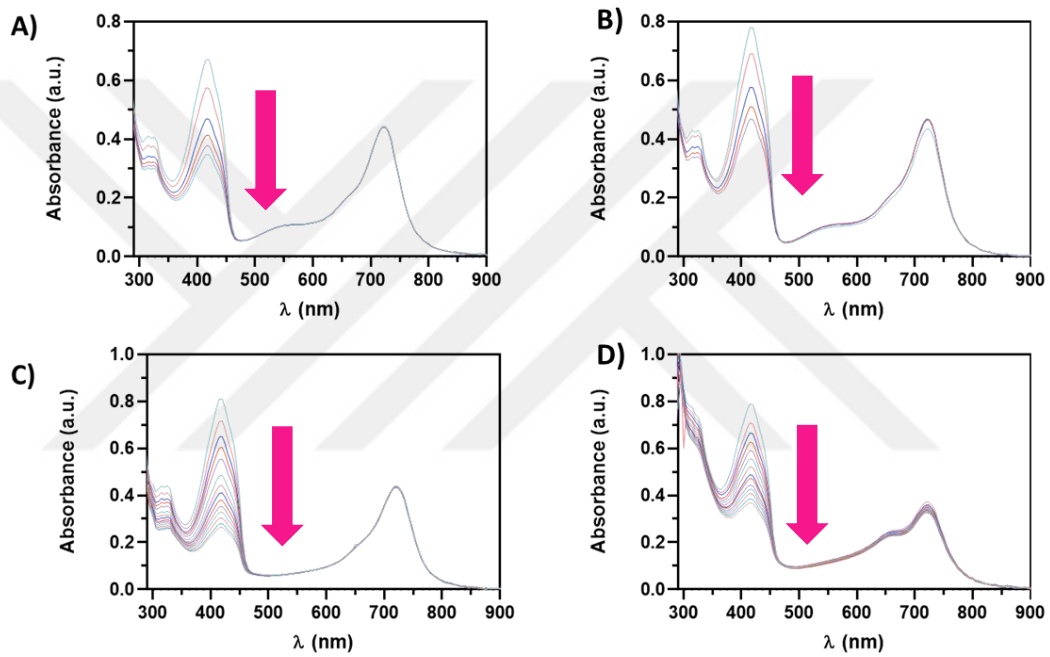
AzaBODIPY **8**'in fotokararlılığının belirlenmesi için çözelti beyaz ışığa maruz bırakıldı ve zaman içerisinde meydana gelen soğurma spektrumundaki değişimler kaydedilmiştir. Kaydedilen sonuçlarda, AzaBODIPY **8**'in soğurma şiddetinde %5.1 oranında bir azalma olduğunu ve AzaBODIPY **8**'in foto kararlılığının yüksek olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.24. Beyaz ışığa maruz bırakılan AzaBODIPY **8**'in soğurma spektrumunda zamanla meydana gelen değişimler

Sentez ve karakterizasyonu gerçekleştirilen AzaBODIPY **8** 'in fotodinamik etkinliğini belirlemek için bu bileşiğin DMSO, asit, baz ve pbs olmak üzere dört farklı çözeltisine

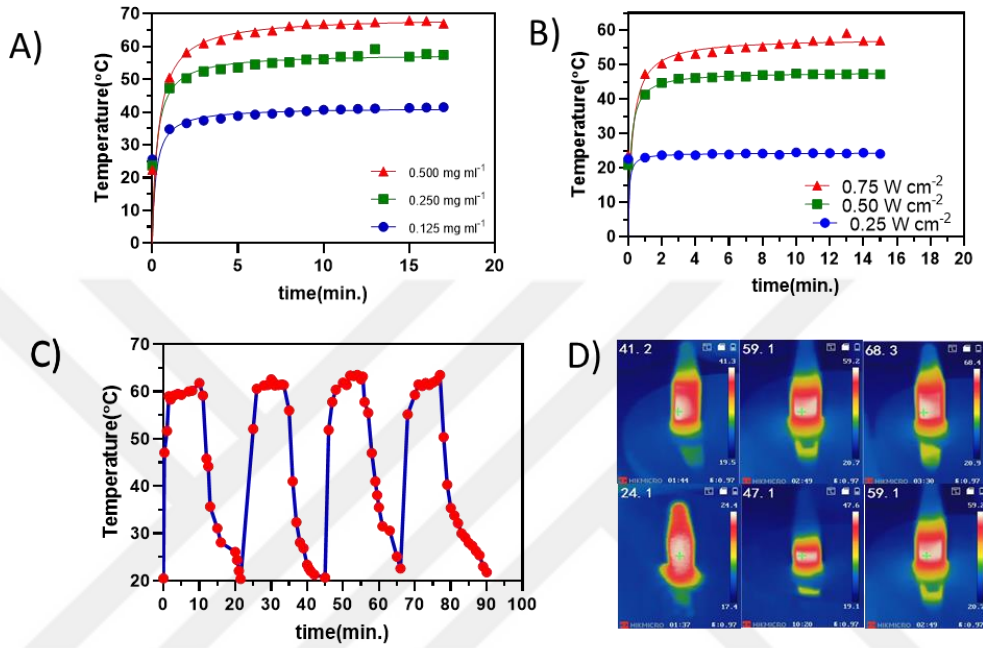
ışıksız ortamda DPBF kimyasalı eklenmiştir. Daha sonra bu çözeltiler ışığa ($\lambda_{\max}$ 540 nm) maruz bırakılarak belirli zaman aralıklarında soğurma spektrumları gözlemlenmiştir. Sonuç olarak veriler DPBF'e ait soğurma şiddetinin ($\lambda_{\max}$ = 419 nm) zamanla spektrumların düştüğü göstermektedir (Şekil 4.25A). Bu veriler AzaBODIPY **8** 'in $^1\text{O}_2$ oluşturabildiğini ve dolayısı ile arzu edildiği şekilde asit (HCl) (Şekil 4.25B), PBS (Şekil 4.25C) ve baz (NaOH) (Şekil 4.25D) gibi farklı pH'ya sahip ortamlarda da fotodinamik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. AzaBODIPY **8** 'in $^1\text{O}_2$ verimi (Φ_Δ) standart olarak metilen mavisi (Φ_Δ) 0.52) alınarak literatürde bilinen yöntemler üzerinden hesaplanmış ve 0.24 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.25. AzaBODIPY **8** 'in (3.22×10^{-5} M) DPBF (3.22×10^{-5} M) ile farklı ortam ve pH'larında fotodinamik testleri; A) DMSO, C) DMSO + PBS (pH:7,4) (1:9, v/v), C) DMSO + HCl (12M) (1:9, v/v), D) DMSO + NaOH (0,05 M) (1:9, v/v) çözeltilerinin ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları.

AzaBODIPY **8**'in fototermal testleri için bileşiğin değişik konsantrasyonlarda (0.0 - 0.5 mg ml $^{-1}$) çözeltileri hazırlanmış ve 808 nm lazer ile ışınlanmıştır. AzaBODIPY **8**'in madde miktarı (0.0 - 0.5 mg ml $^{-1}$) ile orantılı bir şekilde ortam sıcaklığını maksimum 68.3 °C'ye kadar artırabildiğini göstermektedir (Şekil 4.26A). AzaBODIPY **8**'in lazer gücü (0.25 - 0.75 W cm $^{-2}$) ile doğru orantılı şekilde sıcaklığın maksimum 59.1 °C'ye kadar artırabildiğini göstermektedir (Şekil 4.26B) Aynı koşullarda AzaBODIPY **8**'in ortamda olmadığı zaman (0.0 mg ml $^{-1}$) yapılan kontrol deneylerinde sıcaklığın 25.7 °C'yi geçmediği gözlemlenmiştir. Ek olarak, sabit bir derişimde madde alınarak

yapılan fototermal kararlılık testleri yapılmıştır Madde miktarı (0.25 mg mL^{-1}) ve lazer gücü (0.5 W cm^{-2}) sabit tutularak yapılan fototermal testleri gerçekleştirilmiş ve ısınma-soğuma eğrileri Hedef Bileşik 1'in oldukça kararlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.26C). Ortam sıcaklığında meydana gelen değişimler termal kamera (HIK MICRO E1L) ile kaydedilmiştir (Şekil 4.26D)



Şekil 4.26. A) AzaBODIPY 8' in ($0.0\text{-}0.5 \text{ mg mL}^{-1}$) 808 nm lazer (0.5 W cm^{-2}) ışınlaması süresince meydana gelen sıcaklık değişimleri. B) AzaBODIPY 8' in (0.25 mg mL^{-1}) 808 nm lazer ($0.25\text{-}0.75 \text{ W cm}^{-2}$) ışınlaması süresince meydana gelen sıcaklık değişimleri. C) AzaBODIPY 8' in (0.25 mg mL^{-1}) 808 nm lazer (0.5 W cm^{-2}) ile fototermal testlerinden elde edilen ısınma-soğuma eğrileri. D) A ve B'de verilen testlerin termal kamera görüntüleri.

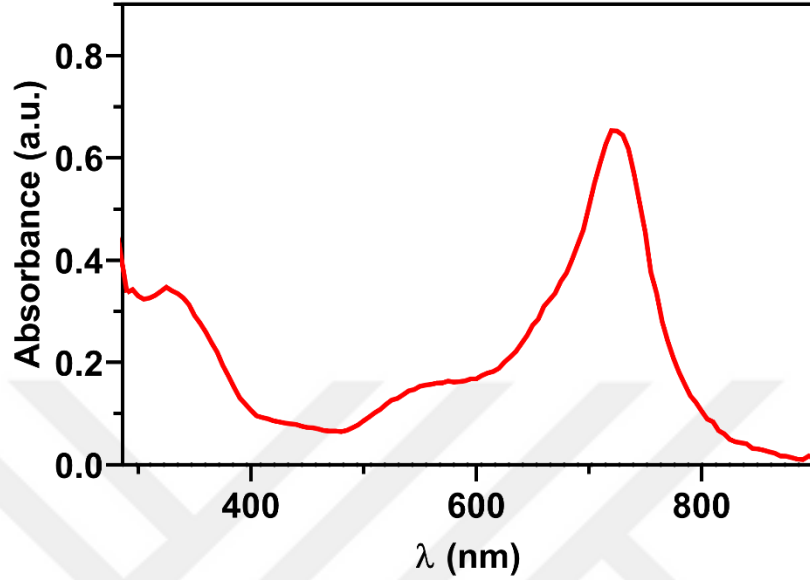
Hedef bileşiğin 1 sentezi için son basamakta lüminol, 8, sodyum askorbat ve bakır katalizörlüğünde klik tepkimesine tabi tutulmuş ve hedef bileşik AzaBODIPY 1 elde edilmiştir.



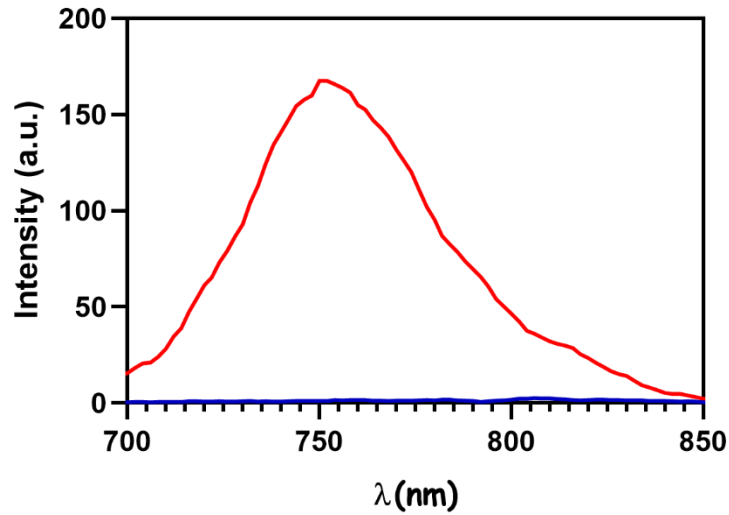
¹H NMR spectrum of compound 10b in CDCl₃. The spectrum shows peaks from 0.0 to 10.0 ppm. Key features include a broad peak at ~13.4 ppm (NH), a multiplet at ~8.5 ppm (H-1), a multiplet at ~7.5 ppm (H-2), a doublet at ~5.8 ppm (H-3), a doublet at ~3.8 ppm (H-4), a doublet at ~2.0 ppm (H-5), and a doublet at ~1.5 ppm (H-6). Integration values are shown below the peaks: 2.26, 1.47, 2.82, 3.87, 1.00, 1.44, 1.28, 1.41, 2.38, 2.71, 2.91, 2.79, 3.78, 3.76, 3.66, 3.67, 3.66, 3.60, 3.58, 3.56, 3.54, 3.52, 1.94, 1.93, 1.92, 1.42.

Şekil 4.28. Hedef Bileşiğin **1** ^1H NMR spektrumu (600 MHz, DMF- d_7)

göstermediği ve floresans kuantum veriminin (Φ_F) 0.01'den düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak hedef bileşiğin düşük pH'ya sahip (asidik) ortamlarda floresans sinyali verebildiği not edilmiştir (Şekil 4.32).

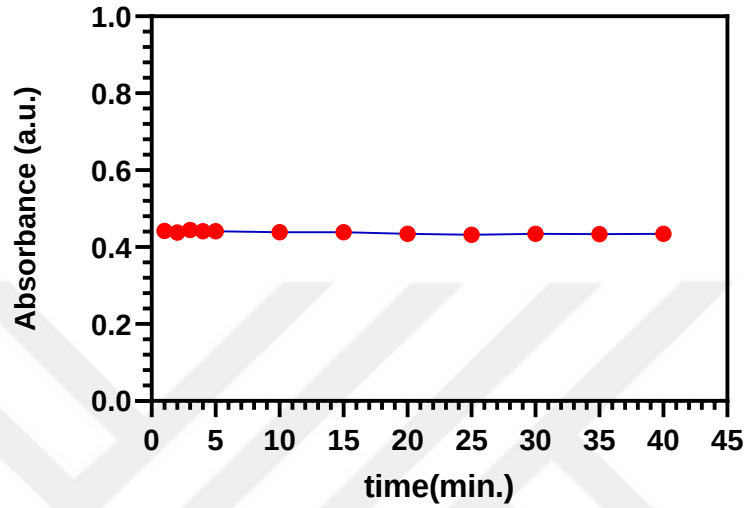


Şekil 4.31. AzaBODIPY 1 için soğurma spektrumu (2.05×10^{-5} M, DMSO, $\lambda_{\max} = 727$ nm).



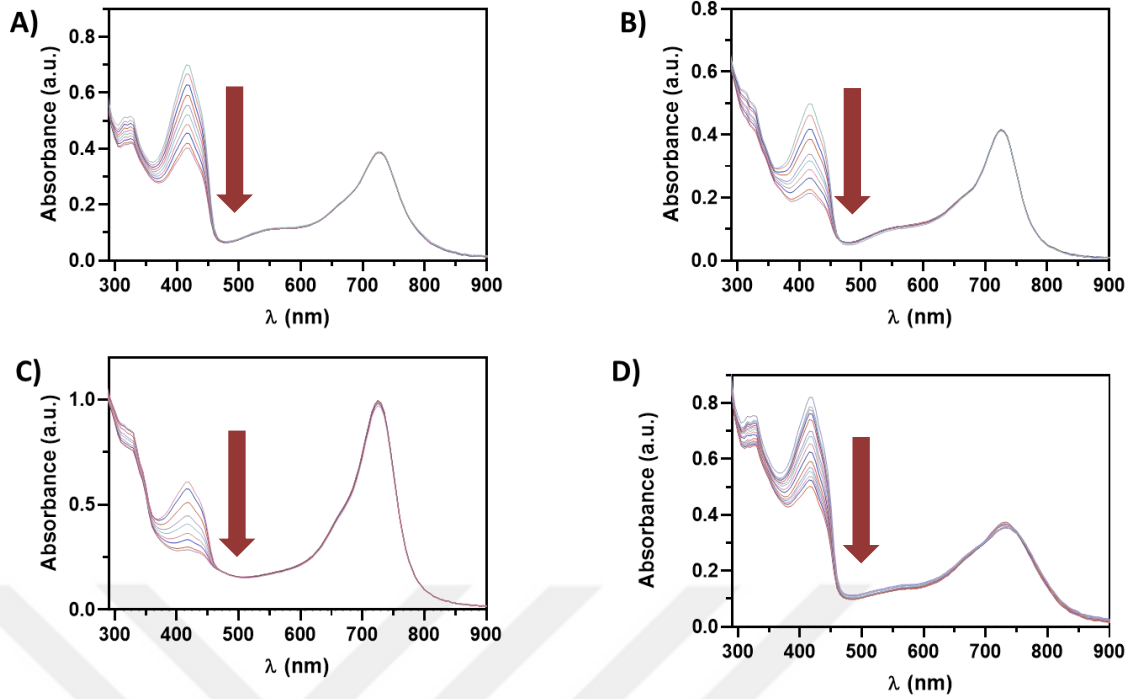
Şekil 4.32. AzaBODIPY 1 (3.1×10^{-3} M) için floresans spektrumu. Mavi spektrum; %1 CrEL içeren 0.01 M PBS, pH 7.4. Kırmızı spektrum asidik ortam, pH 1.0 ($\lambda_{\max} = 750$ nm).

AzaBODIPY **1**'in fotokararlılığının belirlenmesi için çözelti beyaz ışığa maruz bırakıldı ve zaman içerisinde meydana gelen soğurma spektrumundaki değişimler kaydedilmiştir. Kaydedilen sonuçlarda, AzaBODIPY **1**'in soğurma şiddetinde %1.7 oranında bir azalma olduğunu ve AzaBODIPY **1**'in foto kararlılığının yüksek olduğunu göstermektedir. (Şekil 4.33).



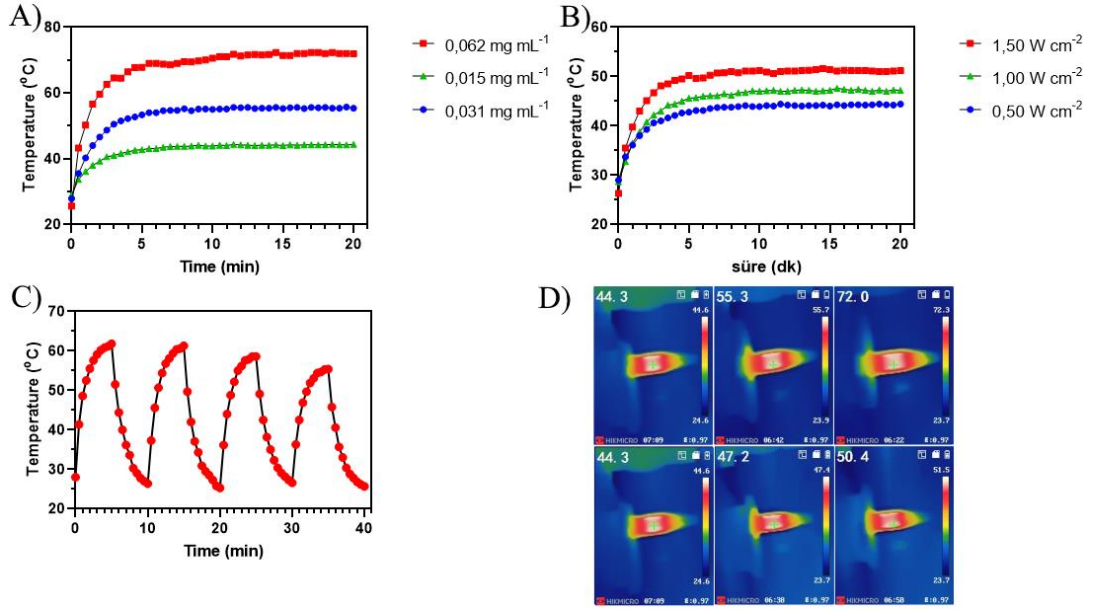
Şekil 4.33. Beyaz ışığa maruz bırakılan AzaBODIPY **1**'in soğurma spektrumunda zamanla meydana gelen değişimler.

AzaBODIPY **1** 'in sentez ve karakterizasyonu gerçekleştirildikten sonra fotodinamik etkinliğinin belirlenmesi için bu bileşiğin DMSO, asit, baz ve pbs olmak üzere dört farklı çözeltisine karanlık ortamda DPBF ilave edilmiştir. Daha sonra bu çözelti ışığa (630 nm) maruz bırakılarak çeşitli zamanlarda soğurma pikleri kaydedilmiştir. Sonuç olarak veriler DPBF'e ait soğurma şiddetinin ($\lambda_{max} = 419$ nm) zaman içerisinde azalmasını gösterdi. (Şekil 4.34A). Bu veriler Hedef Bileşik **1**'in 1O_2 oluşturabildiğini ve dolayısı ile arzu edildiği şekilde asit (HCl) (Şekil 4.34B), PBS (Şekil 4.34C) ve baz (NaOH) (Şekil 4.34D) gibi farklı pH 'ya sahip ortamlarda da fotodinamik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Hedef Bileşik **1**'in 1O_2 verimi (Φ_Δ) standart olarak metilen mavisi ($\Phi_\Delta: 0.52$) alınarak literatürde bilinen yöntemler üzerinden hesaplanmış ve 0.2467 olarak hesaplanmıştır.



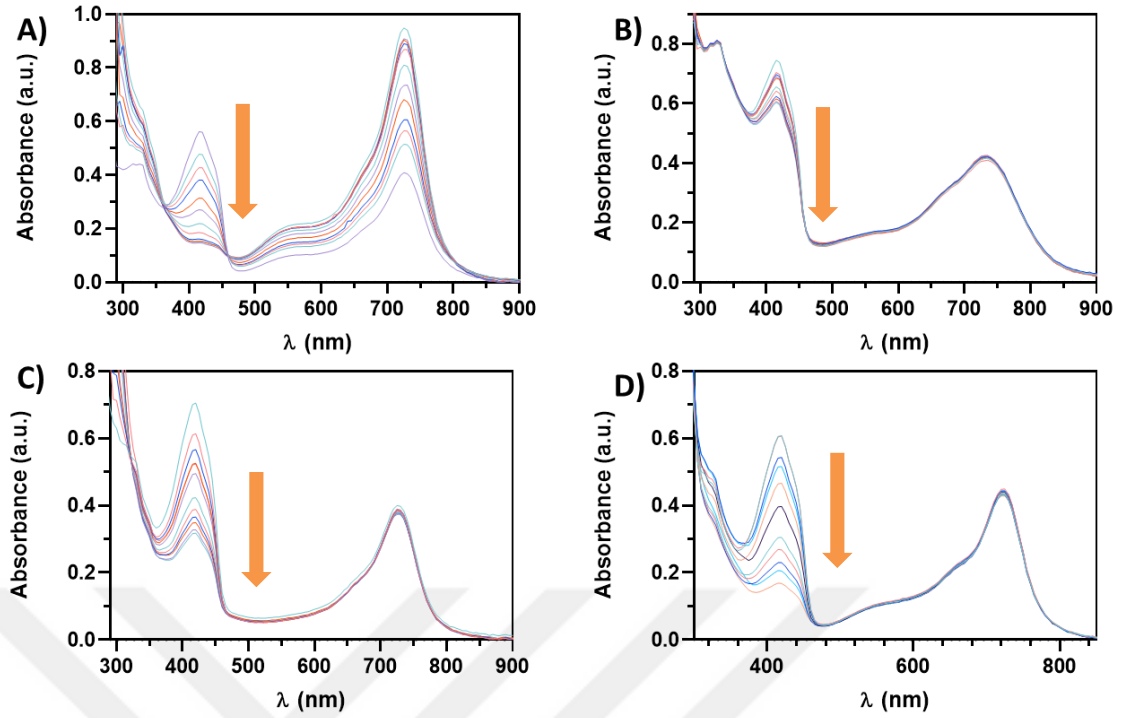
Şekil 4.34. Hedef Bileşik 1'in (1.40×10^{-5} M) DPBF (3.22×10^{-5} M) ile farklı ortam ve pH'larda fotodinamik testleri; A) DMSO, B) DMSO + HCl (12M) (1:9, v/v), C) DMSO + PBS (pH:7,4) (1:9, v/v), D) DMSO + NaOH (0,05 M) (1:9, v/v) çözeltilerinin ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları

Fototermal testler için Hedef Bileşik 1'in değişik konsantrasyonlarda (0.0 - 0.062 mg mL⁻¹) PBS (pH 7.4) çözeltileri hazırlanmış ve 808 nm lazer ile ışınlanmıştır. Hedef Bileşik 1'in madde miktarı (0.0 - 0.062 mg mL⁻¹) ile orantılı bir şekilde ortam sıcaklığını maksimum 72.0 °C'ye kadar artırabildiğini göstermektedir (Şekil 4.35 A). Hedef bileşik 1'in lazer gücü (0.50 - 1.50 W cm⁻²) ile doğru orantılı şekilde sıcaklığın maksimum 50.4 °C'ye kadar artırabildiğini göstermektedir (Şekil 4.35B). Aynı koşullarda Hedef Bileşik 1'in ortamda olmadığı zaman (0.0 mg mL⁻¹) kontrol deneylerinde sıcaklığın 25.0 °C'yi geçmediği gözlemlenmiştir. Ek olarak Hedef Bileşik 1'in fototermal kararlılığı test edilmiştir. Madde miktarı (0.062 mg mL⁻¹) ve lazer gücü (0.5 W cm⁻²) sabit tutularak yapılan fototermal testleri gerçekleştirilmiş ve ısınma-soğuma eğrileri Hedef Bileşik 1'in oldukça kararlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.35C). Işınlama süresince ortamın sıcaklığında meydana gelen değişimler gerçek zamanlı olarak termal kamera (HIK MICRO E1L) yardımıyla kaydedilmiştir (Şekil 4.35D).



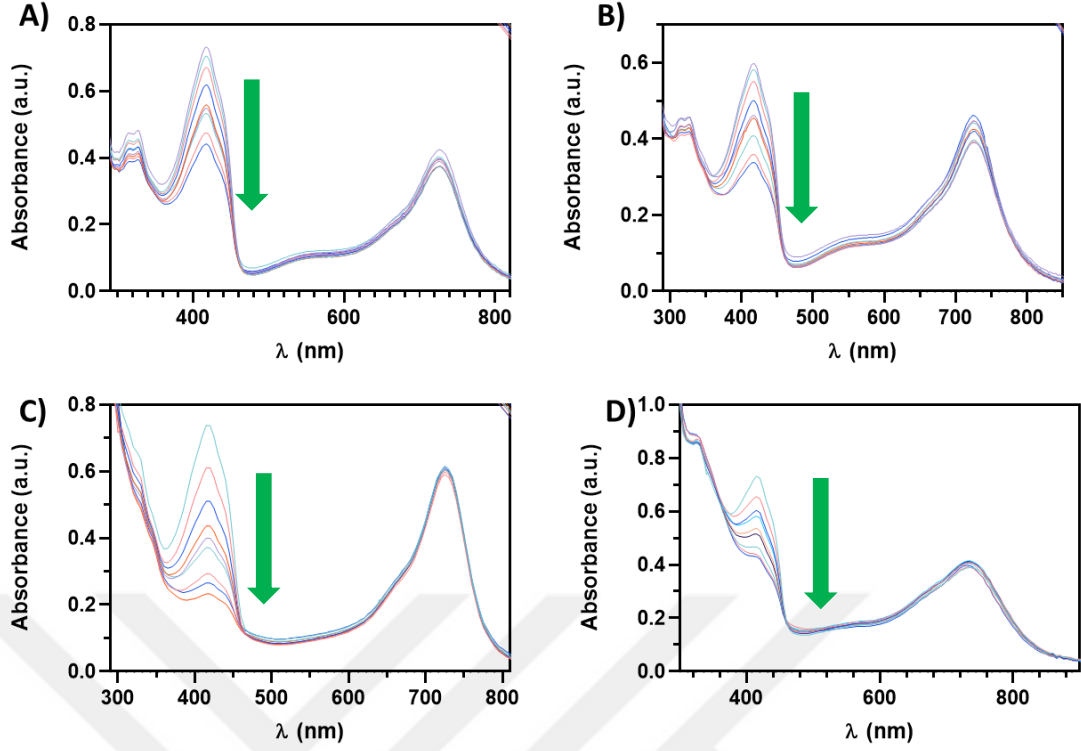
Şekil 4.35. A) Hedef Bileşik 1'in (0.031-0.125 mg mL⁻¹) PBS (pH 7.4) ortamında 808 nm lazer (0.5 W cm⁻²) ışınlaması süresince meydana gelen sıcaklık değişimleri. **B)** Hedef Bileşik 1'in (0.015 mg mL⁻¹) PBS (pH 7.4) ortamında 808 nm lazer (0.5-1.5 W cm⁻²) ışınlaması süresince meydana gelen sıcaklık değişimleri. **C)** Hedef Bileşik 1'in (0.062 mg mL⁻¹) PBS (pH 7.4) ortamında 808 nm lazer (0.5 W cm⁻²) ile fototermal testlerinden elde edilen ısınma-soğuma eğrileri. **D)** A ve B'de verilen grafiklerin termal kamera görüntüleri

AzaBODIPY 1'in sonodinamik etkinliğini belirlemek için bileşiğin DMSO, asit, baz ve pbs olmak üzere dört farklı çözeltisine karanlık ortamda DPBF ilave edilmiştir. Daha sonra çözeltiler ultrases dalgalarına maruz bırakılarak farklı zaman dilimlerinde soğurma spektrumları ölçülmüştür. Elde edilen veriler DPBF bileşiğine ait soğurma şiddetinin ($\lambda_{\text{max}} = 419 \text{ nm}$) zamanla azaldığını göstermektedir. Bu veriler AzaBODIPY 1'in ROT oluşturabildiğini ve dolayısı ile Hedef bileşiğin 1 asit (HCl), baz (NaOH) ve PBS gibi farklı pH'ya sahip ortamlarda da sonodinamik aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır.



Şekil 4.36. AzaBODIPY 1'in ($4\mu\text{g mL}^{-1}$) DPBF ($6,66\mu\text{g mL}^{-1}$) ile farklı ortam ve pH'larda sonodinamik testleri; **A)** DMSO, **B)** DMSO + PBS (pH:7,4) (1:9, v/v), **C)** DMSO + HCl (12M) (1:9, v/v), **D)** DMSO + NaOH (0,05 M) (1:9, v/v) çözeltilerinin ultrases dalgalarıyla etkileşimi süresince kaydedilen soğurma spektrumları.

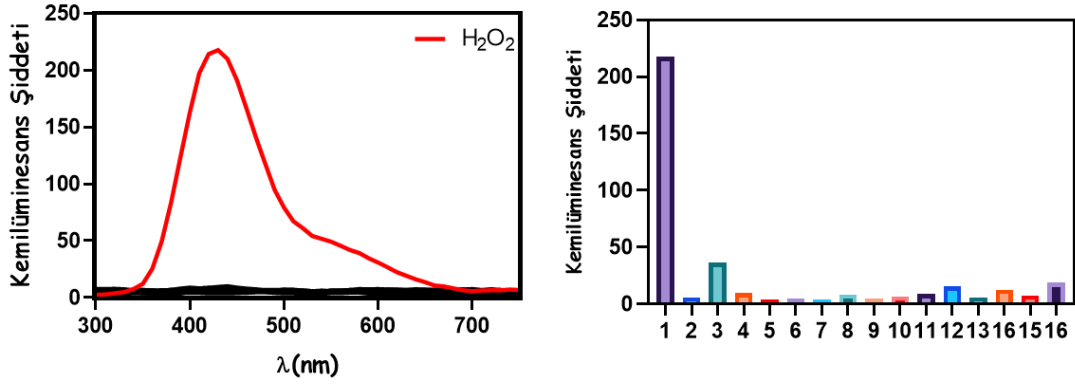
AzaBODIPY 1'in sonofotodinamik etkinliğini belirlemek için bileşiğin DMSO, asit, baz ve pbs olmak üzere dört farklı çözeltisine karanlık bir yerde DPBF eklenmiştir. Daha sonra bu çözelti hem kırmızı ışığa hem de ultrases dalgalarına aynı zamanda maruz bırakılarak çeşitli zaman aralıklarında soğurma spektrumları ölçülüp kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar DPBF bileşiğine ait soğurma şiddetinin ($\lambda_{\text{max}} = 419 \text{ nm}$) zamanla azaldığını göstermektedir. Bu veriler Hedef bileşik 1'in ROT oluşturabildiğini ve dolayısı ile Hedef bileşiğin 1 asit (HCl), PBS ve baz (NaOH), gibi farklı pH'ya sahip ortamlarda da sonofotodinamik aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır. AzaBODIPY 1'in $^1\text{O}_2$ verimi (Φ_{Δ}) standart olarak metilen mavisi ($\Phi_{\Delta}: 0.52$) alınarak literatürde bilinen yöntemler üzerinden hesaplanmış ve 0.8653 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.37. AzaBODIPY **1**'in ($4\mu\text{g mL}^{-1}$) DPBF ($6,66\mu\text{g mL}^{-1}$) ile farklı ortam ve pH'larda sonofotodinamik testleri; **A)** DMSO, **B)** DMSO + PBS (pH:7,4) (1:9, v/v), **C)** DMSO + HCl (12M) (1:9, v/v), **D)** DMSO + NaOH (0,05 M) (1:9, v/v) çözeltilerinin ultrases dalgalarıyla ve kırmızı ışıkla etkileşimi süresince kaydedilen soğurma spektrumları

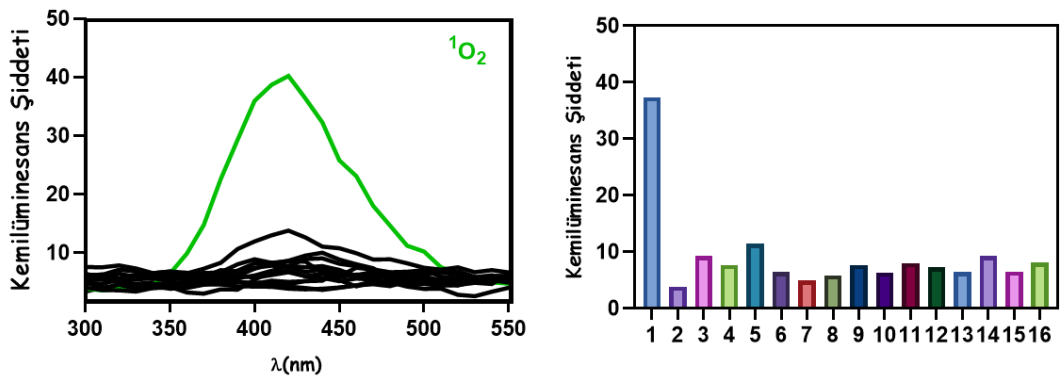
4.1.1 Kemilüminesans deneyleri

Hedef bileşiğin **1** çeşitli ROT ve analitler varlığında kimyasal ışıması incelenmiştir. ClO^- , KO_2 , $\text{tBuO}^\cdot$, tBuOOH , KCN , Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaNH_3 , Bu_4NO_4 , NaNO_2 , sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH , KIO_3 , Bu_4NClO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4 gibi biyolojik olarak önemli ROT ya da iyonlarla etkileşmediği gözlemlenmiştir. Fakat Hedef bileşiğin **1** hidrojen peroksitine karşı oldukça seçici bir şekilde kimyasal ışıma tepkimesi verdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.36). Bu veriler bileşiğin **1** kemilüminojenik olarak H_2O_2 tespiti yapabilecek bir belirteç olduğunu göstermektedir.



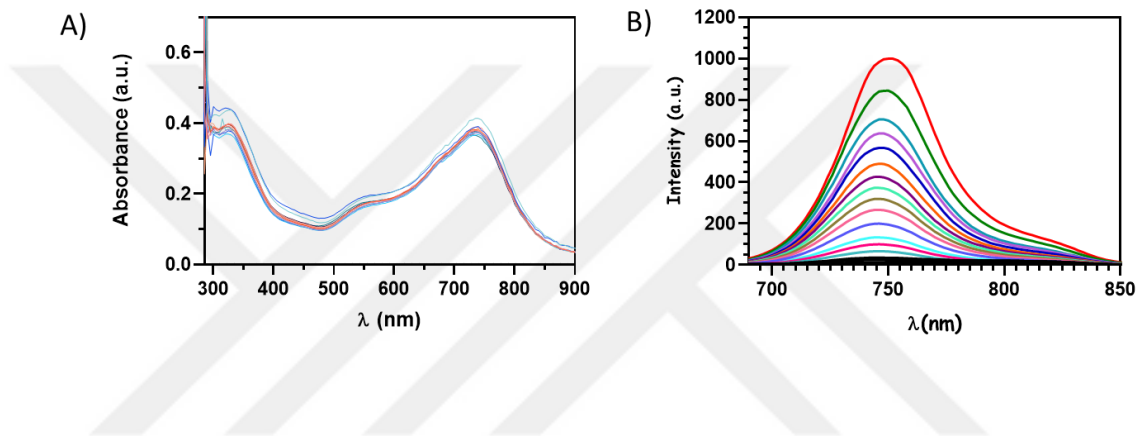
Şekil 4.38. AzaBODIPY **1** (4.5×10^{-6} M) için çeşitli analitler varlığında kaydedilen kimyasal ışıma spektrumları 1) H₂O₂, 2) ClO⁻, 3) KO₂, 4) tBuO., 5) tBuOOH, 6) KCN, 7) Bu₄NBr, 8) Bu₄NOH, 9) Bu₄NI, 10) Bu₄NCl, 11) Bu₄PF₆, 12) Bu₄NF, 13) K₂HPO₄, 14) NaNH₃, 15) Bu₄NO₄, 16) NaNO₂, (pH: 12.0, λ_{max} : 430 nm)

Hedef bileşiğin **1**, H₂O₂, ClO⁻, KO₂, tBuO., tBuOOH, KCN, Bu₄NBr, Bu₄NOH, Bu₄NI, Bu₄NCl, Bu₄PF₆, Bu₄NF, K₂HPO₄, NaNH₃, Bu₄NO₄, NaNO₂, sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH, KIO₃, Bu₄NClO₄, K₃PO₄, Na₂CO₃, Bu₄NBF₄, Na₂SO₄, NaNO₃, NaHSO₄, NaHCO₃, KH₂PO₄ gibi biyolojik olarak önemli ROT ve/veya iyonlar ile kesinlikle etkileşmediği belirlenmiştir. Ancak hedef bileşiğin **1** (H₂O₂ ve NaOCl kimyasal olarak elde edilen) ¹O₂ varlığında oldukça seçici bir şekilde kimyasal ışıma yaptığı belirlenmiştir (Şekil 4.39). Hedef bileşik **1**'in düşük pH'da (8.0) kemilüminojenik olarak ¹O₂ tespiti yapabilecek bir belirteç olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.39. AzaBODIPY **1** (4.5×10^{-6} M) için çeşitli analitler (4.5×10^{-6} M,) varlığında kaydedilen kimyasal ışıma spektrumları 1) ¹O₂ 2) H₂O₂, 3) ClO⁻, 4) KO₂, 5) tBuO., 6) tBuOOH, 7) KCN, 8) Bu₄NBr, 9) Bu₄NOH, 10) Bu₄NI, 11) Bu₄NCl, 12) Bu₄PF₆, 13) Bu₄NF, 14) K₂HPO₄, 15) NaNH₃, 16) Bu₄NO₄, 16) NaNO₂ (fosfat tamponu, pH = 8.0, CuSO₄.5H₂O varlığında, λ_{max} : 430 nm).

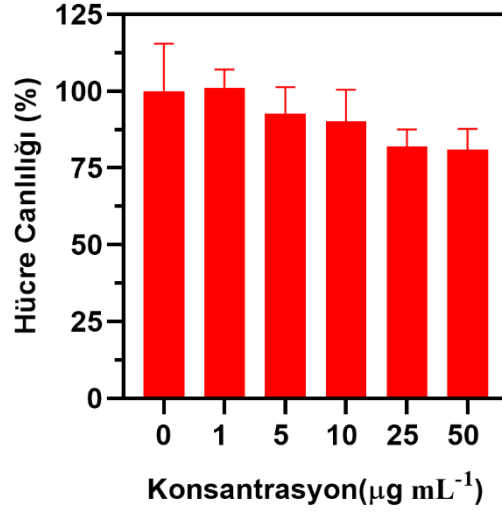
Hedef bileşik **1**'in pH duyarlılığı belirlenerek bileşiğin pH algılayıcı olarak işlev görüp göremeyeceği test etmek amacı ile Hedef bileşik **1**'in farklı pH'lardaki (pH:2.0-12.0) soğurma spektrumları verilmiştir. Soğurma spektrumunda verilen pH aralığında önemli değişiklik olmadığı ve Hedef bileşik **1**'in kararlı olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.41A). Bileşiğin **1** farklı pH'ya sahip çözeltilerde emisyon spektrumlarına bakıldığında ise elde edilen veriler sonucunda hedef bileşiğin **1** pH duyarlı olduğunu ve azalan pH ile floresans sinyal şiddetinde belirgin artışların meydana geldiği tespit edilmiştir. (Şekil 4.40B)



Şekil 4.40. A) Hedef bileşik **1**'in farklı pH'larda (pH:2.0-12.0) soğurma spektrumları. **B)** Hedef bileşik **1** için farklı pH'larda (aşağıdan yukarıya doğru: 6.00-0.08) kaydedilen floresans spektrumları.

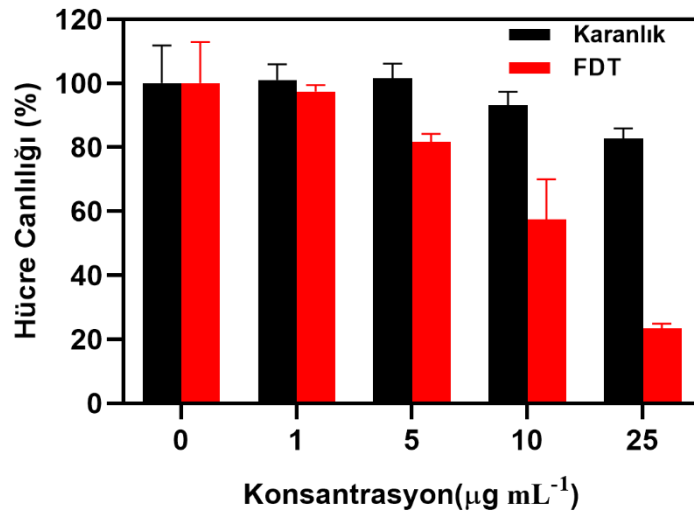
4.1.2 *In vitro* çalışmalar

AzaBODIPY **1**'in biyoyumluluğunu belirlemek amacıyla, kontrol hattı olan fibroblast hücresi L929 (ATCC® CRL-6364™) tercih edilmiştir. L929 fibroblast hücreleri farklı konsantrasyonlarda (1,5,10,25,50 μ M) AzaBODIPY **1** ile 24 saat inkübasyon edilmiştir. AzaBODIPY **1** hücre canlılığına etkisi MTT testi ile belirlenmiştir. Bulgular Şekil 4.41'de verilmiştir. AzaBODIPY **1**'in yüksek konsantrasyonlarda bile toksisite göstermediğini, sağlıklı hücrelerin %88 oranlarında canlılıklarını sürdürdükleri görülmüştür.



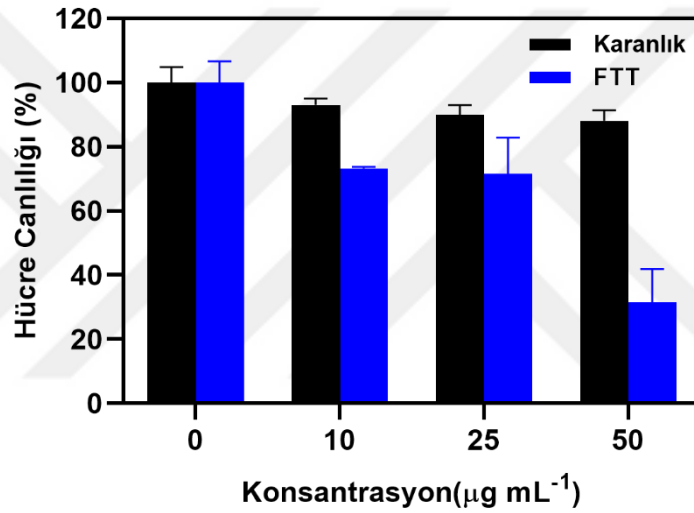
Şekil 4.41. Farklı konsantrasyonlarda (0-50 µg/mL⁻¹) AzaBODIPY 1 maddesiyle inkübe edilen L929 hücrelerinin canlılık oranları

AzaBODIPY 1'in, in vitro Fotodinamik testleri yapılarak kanser hücrelerinde ROT üretilme etkinliği belirlenmiştir (Şekil 4.42) AzaBODIPY 1'in farklı (1-25 µg/mL⁻¹) konsantrasyonlarında inkübe edilen A549 (ATCC®CCL-185™) kanser hücreleri kırmızı ışığa maruz bırakıldı ve 24 saat inkübe edildi. 24 saat sonunda FDT aktivitesi MTT yöntemi ile incelendi. Sonuç AzaBODIPY 1'in derişime bağılı olarak fotodinamik özelliklerinin kademeli şekilde arttığı gözlemlenmiş ve 25 µg/mL⁻¹ konsantrasyonunda % 77 oranında hücre ölümünün gerçekleştiği belirlenmiştir.



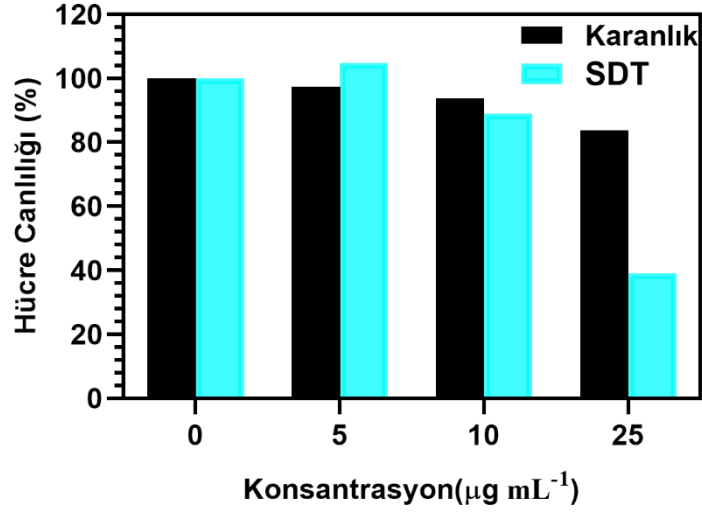
Şekil 4.42. AzaBODIPY 1'in A549 kanser hücresinde, fotoduyarlastırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri

AzaBODIPY 1' in A549 (ATCC®CCL-185™) akciğer kanser hücrelerinde Fototermal terapi etkinliğine bakılmıştır. A549 akciğer kanseri ile inkübe edilen değişik konsantrasyonlardaki (0-50 $\mu\text{g/mL}^{-1}$) AzaBODIPY 1 test grupları 808 nm lazer ile ışınlanmış (Şekil 4.43 mavi barlar) kontrol grupları (Şekil 4.43 siyah barlar) ise lazerle ışınlanmaksızın karanlıkta bırakılmıştır. AzaBODIPY 1'in fototermal etkinliği test ve kontrol grupları (mavi ve siyah barlar) arasındaki farkların MTT testleri ile belirlenmesi neticesinde sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen hücre canlılık verileri aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.43). AzaBODIPY 1'in 50 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ derişimde hücre canlılığını %69 oranında azalttığı görülmüştür. Bu veriler AzaBODIPY 1'in etkin bir FTT ajanı olduğuna işaret etmektedir.



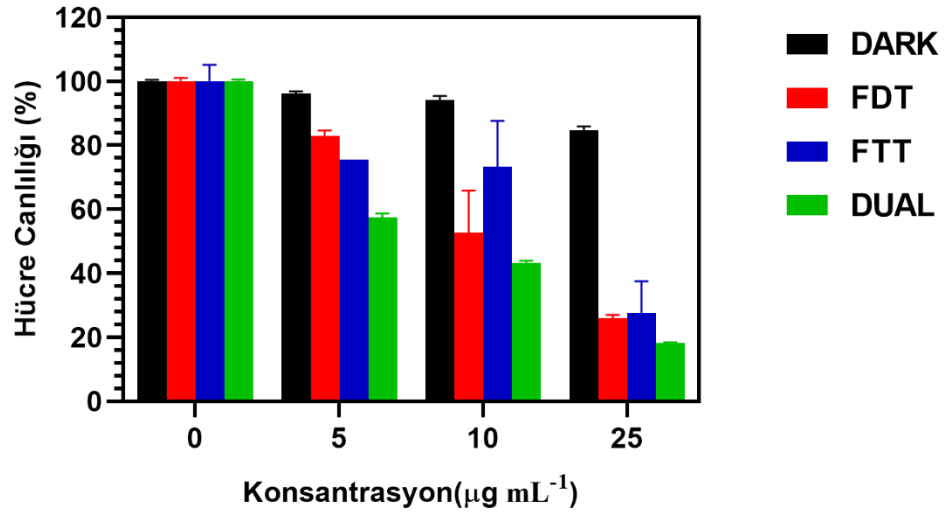
Şekil 4.43. AzaBODIPY 1'in A549 kanser hücresinde, fotoduyarlastırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri

AzaBODIPY 1' in A549 (ATCC®CCL-185™) akciğer kanser hücrelerinde Sonodinamik terapi etkinliğine bakılmıştır. A549 akciğer kanseri ile inkübe edilen değişik konsantrasyonlardaki (0-25 $\mu\text{g/mL}^{-1}$) AzaBODIPY 1 test grupları ultrases dalgalarına maruz bırakılmış (Şekil 4.44 yeşil barlar) kontrol grupları (Şekil 4.44. siyah barlar) ise ultrases ile etkinleştirilmeksizin karanlıkta bırakılmıştır. AzaBODIPY 1'in sonodinamik etkinliği test ve kontrol grupları (yeşil ve siyah barlar) arasındaki farkların MTT testleri ile belirlenmesi neticesinde sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen hücre canlılık verileri aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.44). AzaBODIPY 1'in 25 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ derişimde hücre canlılığını %61 oranında azalttığı görülmüştür. Bu veriler AzaBODIPY 1'in etkin bir SDT ajanı olduğuna işaret etmektedir.



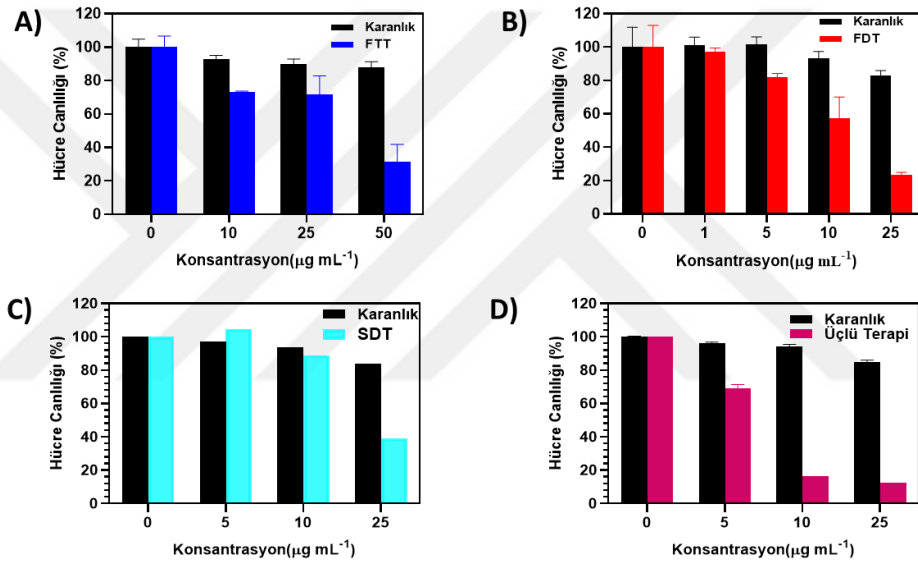
Şekil 4.44. AzaBODIPY 1 ile *in vitro* SDT ve biyoyumluluk testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri

AzaBODIPY 1 ile dual terapi testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.45). AzaBODIPY 1, 25 µg mL⁻¹ derişimde hücre canlılığını %18,12 seviyesine kadar düşürdüğü görülmüştür. Bu veriler AzaBODIPY 1 etkin bir dual terapi ajanı olduğunu göstermektedir. Kombine terapilerde sinerjik etki görüldüğü önemle not edilmelidir.



Şekil 4.45. AzaBODIPY 1 ile *in vitro* dual (FDT, FTT ve FDT+FTT) terapi ve biyoyumluluk testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.

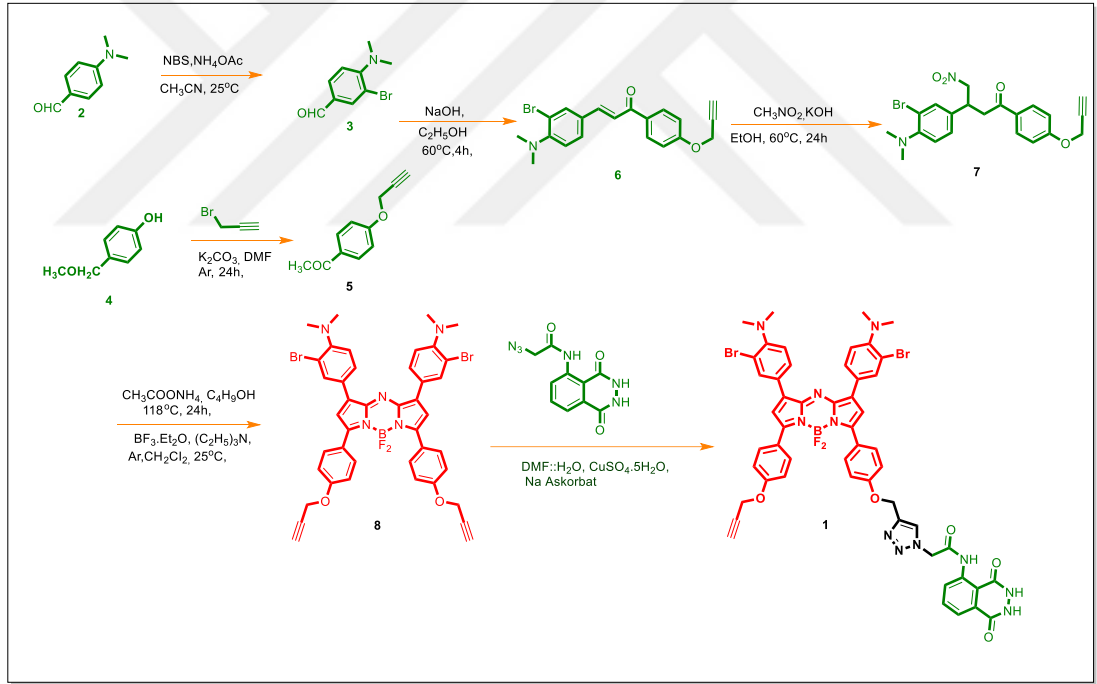
Son aşamada ise üçlü terapi (SDT-FDT-FTT) etkinliği *in vitro* ortamda test edilmiştir. A549 akciğer kanseri ile inkübe edilen değişik konsantrasyonlardaki (0-25 $\mu\text{g/mL}^{-1}$) AzaBODIPY 1 test grupları kırmızı ışığa, 808 nm lazere ve ultrases dalgalarına maruz bırakılmıştır (Şekil 4.46 mor barlar) kontrol grupları (Şekil 4.46 siyah barlar) ise yalnızca karanlıkta bırakılmıştır. AzaBODIPY 1'in üçlü terapi etkinliği test ve kontrol grupları (mor ve siyah barlar) arasındaki farkların MTT testleri ile belirlenmesi neticesinde sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ derişimde hücre canlılığının %12,56 seviyesine kadar düştüğü görülmektedir. Bu veriler AzaBODIPY 1'nin etkin bir üçlü terapi ajanı olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.46. AzaBODIPY 1 ile *in vitro* üçlü (SDT+FDT+FTT) terapi testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında tasarlanan hedef bileşiğin **1** sentezi **6** basamakta gerçekleştirilmiştir. Basamakların bir kısmı grubumuzda daha önce yapılan çalışmalardan uyarlanmıştır (Soylukan, 2022). İlk basamakta 4-dimetilaminobenzaldehit (**2**) ve NBS amonyum asetat varlığında etkileştirilmiştir. Daha sonra bileşik **4** ile proparjil bromürün tepkimelerinden **5** ve bileşik **3** ile **5** kondenze edilerek ise **6** elde edilmiştir. Bileşik **6** nitrometan ile reaksiyona sokularak **7**'ye çevrilmiştir. Bileşik **8** sentezi iki aşamada gerçekleşmiştir: **7** önce amonyum asetat ile reaksiyona sokularak azadipirometana (AzaDIPY) çevrilmiş ve ardından bor triflorür eterat ile inert ortamda etkileştirilerek **8** elde edilmiştir. Son basamakta ise **8** ve kimyasal ışımaya ünitesi, sodyum askorbat ve bakır sülfat varlığında click tepkimesine tutulmuş ve AzaBODIPY **1** elde edilmiştir. AzaBODIPY **1**'in yapısı spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır.



Şekil 5.1. Hedef bileşiğin **1** sentezi

Fotodinamik testlerle, hedef bileşik **1** DMSO, asidik DMSO, bazık DMSO ve PBS ortamlarında ışığa maruz bırakılarak fotodinamik etkinliği incelenmiştir. Veriler AzaBODIPY **1** boyasının etkin bir fotodinamik ajanı olduğunu göstermektedir.

FTT testleri için hedef bileşik **1** 808 nm dalga boyundaki lazer ile ışınlanmış ve termal

kamera yardımı ile sıcaklık değişimi izlenmiştir. Hedef bileşiğin **1** ortam sıcaklığını kısa sürede 26 °C'den 72 °C'ye çıkarabildiği ve etkin bir FTT ajanı olduğu kanıtlanmıştır.

Hedef bileşik **1**'in sonodinamik etkinliği de incelenmiş ve ultrases dalgaları ile etkileşimi neticesinde reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturabildiği belirlenmiştir.

Hedef bileşik **1**'in ROT'a karşı bir seçicilik gösterip göstermediğinin belirlenmesi ve ROT belirteci olarak işlev görüp göremeyeceklerinin ortaya konması için kemilüminesans testler yapılmıştır. Elde edilen veriler bazik ortamda H₂O₂ ile kimyasal ışıma yaptığını ve ROT belirteci olarak işlev görebildiğini ispatlamaktadır. Bu durum elde edilen hedef bileşiğin **1** H₂O₂ sensörü olabileceğini göstermektedir.

Son aşamada ise L929 ve A549 hücre hatları kullanılarak *in vitro* testlere geçilmiştir. İlk olarak hedef bileşik **1** L929 fibroblast hücreleri ile farklı konsantrasyonlarda 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda hedef bileşik **1**'in sitotoksik etki göstermediğini ve biyouyumlu olduğu gözlemlendi. Daha sonra hedef bileşik **1**'in antikanser etkileri A549 hücre hattı üzerinde test edildi. Hedef bileşik **1**'in kanser hücreleri üzerinde ışıksız ortamda toksik bir etkisinin olmadığını fakat kırmızı ışıkla uyarıldığında 25 µg/mL⁻¹ derişiminde kanser hücrelerini %77 gibi bir oranda inhibe ettiği gösterilmiştir. Öte yandan hedef bileşik **1** 808 nm lazerle ışınlандığında 50 µg/mL⁻¹ derişimde hücre canlılığını %69 gibi bir oranda azalttığı belirlenmiştir. Son olarak hedef bileşik **1** in ultrases dalgaları ile uyarıldığında 25 µg/mL⁻¹ derişiminde hücre canlılığını %61 gibi bir oranda azalttığı belirlenmiştir.

Son aşamada SDT, FDT ve FTT nin ikili ve üçlü kombinasyonlarının test edildiği belirtilmelidir. Kombine terapilerin sinerjik etki yaptığı gözlenmiştir. Literatürde daha önce üçlü terapi (SDT-FDT-FTT) yapabilen bir AzaBODIPY türevinin olmadığı o nedenle tez kapsamında elde edilen AzaBODIPY **1**'in üçlü terapiye olanak veren ilk örnek olduğu belirtilmelidir. Üstelik üçlü terapinin (SDT-FDT-FTT) sinerjik etki gösterdiği daha etkili bir tedavi yöntemi sunabileceği tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasından elde edilen veriler, kanser tedavisine yönelik çoklu terapi yapabilen moleküler yapılar, kanser gibi önemli hastalıkların tedavisine anlamlı bir katkı sağlayabileceğimiz yönündeki inancımızı pekiştirmektedir. Üçlü terapinin üstün

etkinliği, daha az miktarda madde ile yüksek terapötik etki sağlama kapasitesiyle dikkat çekmektedir. Bu çalışmalar, kanser tedavisinde etkili bir yaklaşım sunarak, mevcut tedavi yöntemlerine ve hedefe yönelik çözümler geliştirilmesine katkı sağlamaktadır. Üstelik geliştirilen moleküler platformun ilaca dirençli bakterilerin eradikasyonunda da kullanılabileceği önemle not edilmelidir.



KAYNAKLAR

- Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N. ve Reed, M., 2001. The history of photodetection and photodynamic therapy, *Photochemistry and Photobiology*, 74, 5, 656-669.
- Adarsh, N., Avirah, R.R. ve Ramaiah, D., 2010. Tuning photosensitized singlet oxygen generation efficiency of novel aza-BODIPY dyes, *Organic letters*, 12, 24, 5720-5723.
- Adarsh, N., Babu, P.S., Avirah, R.R., Viji, M., Nair, S.A. ve Ramaiah, D., 2019. Aza-BODIPY nanomicelles as versatile agents for the in vitro and in vivo singlet oxygen-triggered apoptosis of human breast cancer cells, *Journal of Materials Chemistry B*, 7, 14, 2372-2377.
- Alvarez, N. ve Sevilla, A., 2024. Current Advances in Photodynamic Therapy (PDT) and the Future Potential of PDT-Combinatorial Cancer Therapies, *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 2, 1023.
- Asil, D., Cihaner, A., Algı, F. ve Önal, A.M., 2010. A diverse-stimuli responsive chemiluminescent probe with luminol scaffold and its electropolymerization, *Electroanalysis*, 22, 19, 2254-2260.
- Atılğan, N., Algı, F., Önal, A.M. ve Cihaner, A., 2009. Synthesis and properties of a novel redox driven chemiluminescent material built on a terthienyl system, *Tetrahedron*, 65, 29-30, 5776-5781.
- Bag, S., Tseng, J.-C. ve Rochford, J., 2015. A BODIPY-luminol chemiluminescent resonance energy-transfer (CRET) cassette for imaging of cellular superoxide, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 13, 6, 1763-1767.
- Current protocols in cell biology, 2001. John Wiley & Sons, Inc., Erişim. Erişim adresi, <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/journal/19342616>.
- Chen, D., Zhong, Z., Ma, Q., Shao, J., Huang, W. ve Dong, X., 2020. Aza-BODIPY-based nanomedicines in cancer phototheranostics, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12, 24, 26914-26925.
- Costley, D., Mc Ewan, C., Fowley, C., McHale, A.P., Atchison, J., Nomikou, N. ve Callan, J.F., 2015. Treating cancer with sonodynamic therapy: a review, *International Journal of Hyperthermia*, 31, 2, 107-117.
- Degirmenci, A. ve Algı, F., 2017. Synthesis, chemiluminescence and energy transfer efficiency of 2, 3-dihydrophthalazine-1, 4-dione and BODIPY dyad, *Dyes and Pigments*, 140, 92-99.
- Degirmenci, A., Sonkaya, O., Soylukan, C., Karaduman, T. ve Algı, F., 2021. BODIPY and 2, 3-dihydrophthalazine-1, 4-dione conjugates as heavy atom-free chemiluminogenic photosensitizers, *ACS Applied Bio Materials*, 4, 6, 5090-5098.

- Dizon, D.S. ve Kamal, A.H., 2024. Cancer statistics 2024: All hands on deck, CA: a cancer journal for clinicians, 74, 1.
- Dodeigne, C., Thunus, L. ve Lejeune, R., 2000. Chemiluminescence as diagnostic tool. A review, Talanta, 51, 3, 415-439.
- Doughty, A.C., Hoover, A.R., Layton, E., Murray, C.K., Howard, E.W. ve Chen, W.R., 2019. Nanomaterial applications in photothermal therapy for cancer, Materials, 12, 5, 779.
- Dutta, D., Nair, R.R., Mangalath, S., Nair, S.A., Joseph, J., Gogoi, P. ve Ramaiah, D., 2023. Biocompatible Aza-BODIPY-Biotin Conjugates for Photodynamic Therapy of Cancer, ACS omega, 8, 29, 26180-26190.
- Fang, Z., Zhang, J., Shi, Z., Wang, L., Liu, Y., Wang, J., Jiang, J., Yang, D., Bai, H. ve Peng, B., 2023. A Gas/phototheranostic Nanocomposite Integrates NIR-II-Peak Absorbing Aza-BODIPY with Thermal-Sensitive Nitric Oxide Donor for Atraumatic Osteosarcoma Therapy, Advanced materials, 35, 35, 2301901.
- Gawale, Y., Rhyman, L., Elzagheid, M.I., Ramasami, P. ve Sekar, N., 2018. Excited State and Non-linear Optical Properties of NIR Absorbing β -Thiophene-Fused BF 2-Azadipyrrromethene Dyes—Computational Investigation, Journal of fluorescence, 28, 243-250.
- Gunaydin, G., Gedik, M.E. ve Ayan, S., 2021. Photodynamic therapy for the treatment and diagnosis of cancer—a review of the current clinical status, Frontiers in chemistry, 9, 686303.
- Hamblin, M.R., 2020. Photodynamic therapy for cancer: what's past is prologue, Photochemistry and Photobiology, 96, 3, 506-516.
- Han, J., Jose, J., Mei, E. ve Burgess, K., 2007. Chemiluminescent energy-transfer cassettes based on fluorescein and nile red, Angewandte Chemie International Edition, 46, 10, 1684-1687.
- Hlogyik, T., Laczkó-Rigó, R., Bakos, É., Poór, M., Kele, Z., Özvegy-Laczka, C. ve Mernyák, E., 2023. Synthesis and in vitro photodynamic activity of aza-BODIPY-based photosensitizers, Organic & Biomolecular Chemistry, 21, 29, 6018-6027.
- Hu, M., Dong, X. ve Zhao, W., 2024. Lysosome-targeted Aza-BODIPY photosensitizers for anti-cancer photodynamic therapy, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 99, 117583.
- Jiang, Z., Xiao, W. ve Fu, Q., 2023. Stimuli responsive nanosensitizers for sonodynamic therapy, Journal of Controlled Release, 361, 547-567.
- Kamkaew, A., Li, F., Li, Z. ve Burgess, K., 2017. An agent for optical imaging of TrkC-expressing, breast cancer, Royal Society Of Chemistry Medicinal Chemistry, 8, 10, 1946-1952.

- Kareliotis, G., Tremi, I., Kaitatzi, M., Drakaki, E., Serafetinides, A.A., Makropoulou, M. ve Georgakilas, A.G., 2020. Combined radiation strategies for novel and enhanced cancer treatment, *International Journal of Radiation Biology*, 96, 9, 1087-1103.
- Kessel, D., 2019. Photodynamic therapy: a brief history, *Journal of clinical medicine*, 8, 10, 1581.
- Khan, P., Idrees, D., Moxley, M.A., Corbett, J.A., Ahmad, F., von Figura, G., Sly, W.S., Waheed, A. ve Hassan, M.I., 2014. Luminol-based chemiluminescent signals: clinical and non-clinical application and future uses, *Applied biochemistry and biotechnology*, 173, 333-355.
- Kolb, H.C. ve Sharpless, K.B., 2003. The growing impact of click chemistry on drug discovery, *Drug discovery today*, 8, 24, 1128-1137.
- Kong, C. ve Chen, X., 2022. Combined photodynamic and photothermal therapy and immunotherapy for cancer treatment: a review, *International journal of nanomedicine*, 17, 6427.
- Kwiatkowski, S., Knap, B., Przystupski, D., Saczko, J., Kędzierska, E., Knap-Czop, K., Kotlińska, J., Michel, O., Kotowski, K. ve Kulbacka, J., 2018. Photodynamic therapy—mechanisms, photosensitizers and combinations, *Biomedicine & pharmacotherapy*, 106, 1098-1107.
- Lan, M., Zhao, S., Liu, W., Lee, C.S., Zhang, W. ve Wang, P., 2019. Photosensitizers for photodynamic therapy, *Advanced healthcare materials*, 8, 13, 1900132.
- Li, R., Ren, J., Zhang, D., Lv, M., Wang, Z., Wang, H., Zhang, S., Du, J., Jiang, X.-D. ve Wang, G., 2022. Attachment of t Bu groups to aza-BODIPY core at 3, 5-sites with ultra-large Stokes shift to enhance photothermal therapy through apoptosis mechanism, *Materials Today Bio*, 16, 100446.
- Liao, Z., Chua, D. ve Tan, N.S., 2019. Reactive oxygen species: a volatile driver of field cancerization and metastasis, *Molecular cancer*, 18, 1, 65.
- Liu, N., Zhu, M., Niu, N., Ren, J., Yang, N. ve Yu, C., 2020. Aza-BODIPY probe-decorated mesoporous black TiO₂ nanoplatform for the highly efficient synergistic phototherapy, *ACS applied materials & interfaces*, 12, 37, 41071-41078.
- Liu, Y., Song, N., Chen, L., Liu, S. ve Xie, Z., 2018. Synthesis of a near-infrared BODIPY dye for bioimaging and photothermal therapy, *Chemistry—An Asian Journal*, 13, 8, 989-995.
- Maeda, H., Fukuyasu, Y., Yoshida, S., Fukuda, M., Saeki, K., Matsuno, H., Yamauchi, Y., Yoshida, K., Hirata, K. ve Miyamoto, K., 2004. Fluorescent probes for hydrogen peroxide based on a non-oxidative mechanism, *Angewandte Chemie International Edition*, 43, 18, 2389-2391.

- Mansoori, B., Mohammadi, A., Doustvandi, M.A., Mohammadnejad, F., Kamari, F., Gjerstorff, M.F., Baradaran, B. ve Hamblin, M.R., 2019. Photodynamic therapy for cancer: Role of natural products, Photodiagnosis and photodynamic therapy, 26, 395-404.
- Ng, S.Y., Kamkaew, A., Fu, N., Kue, C.S., Chung, L.Y., Kiew, L.V., Wittayakun, J., Burgess, K. ve Lee, H.B., 2020. Active targeted ligand-aza-BODIPY conjugate for near-infrared photodynamic therapy in melanoma, International journal of pharmaceutics, 579, 119189.
- Pamuk Algi, M., Oztas, Z., Tirkeş, S., Cihaner, A. ve Algi, F., 2017. Atomistic engineering of chemiluminogens: synthesis, properties and polymerization of 2, 3-dihydro-pyrrolo [3, 4-d] pyridazine-1, 4-dione scaffolds, Journal of fluorescence, 27, 509-519.
- Pamuk Algi, M. ve Sarıgöl, R., 2023. Cross-linker engineering of hydrogel enables photothermal therapy and controlled drug release, Journal of Drug Delivery Science and Technology, 89, 104993.
- Pamuk Algi, M. ve Sarıgöl, R., 2024. Squaraine-containing polymeric nanoparticles enable photodynamic and photothermal therapy of cancer cells, Dyes and Pigments, 226, 112138.
- Pan, X., Wang, H., Wang, S., Sun, X., Wang, L., Wang, W., Shen, H. ve Liu, H., 2018. Sonodynamic therapy (SDT): a novel strategy for cancer nanotheranostics, Science China Life sciences, 61, 415-426.
- Pantelia, A., Daskalaki, I., Cuquerella, M.C., Rotas, G., Miranda, M.A. ve Vougioukalakis, G.C., 2019. Synthesis and chemiluminescent properties of amino-acylated luminol derivatives bearing phosphonium cations, Molecules, 24, 21, 3957.
- Pewklang, T., Chansaenpak, K., Bakar, S.N., Lai, R.-Y., Kue, C.S. ve Kamkaew, A., 2022. Aza-BODIPY based carbonic anhydrase IX: Strategy to overcome hypoxia limitation in photodynamic therapy, Frontiers in Chemistry, 10, 1015883.
- Pewklang, T., Saiyasombat, W., Chueakwon, P., Ouengwanarat, B., Chansaenpak, K., Kampaengsri, S., Lai, R.Y. ve Kamkaew, A., 2024. Revolutionary Pyrazole-based Aza-BODIPY: Harnessing Photothermal Power Against Cancer Cells and Bacteria, ChemBioChem, 25, 3, e202300653.
- Potamia, M.T. ve Calokerinos, A.C., 2013. Applications of sensitized fluorescence in chemiluminescence: A review, Analytical Letters, 46, 17, 2657-2672.
- Rattanopas, S., Chansaenpak, K., Siwawannapong, K., Ngamchuea, K., Wet-osot, S., Treekoon, J., Pewklang, T., Jinaphon, T., Sagarik, K. ve Lai, R.Y., 2020. Synthesis and Characterization of Push-Pull Aza-BODIPY Dyes Towards Application in NIR-II Photothermal Therapy, ChemPhotoChem, 4, 11, 5304-5311.

- Rengeng, L., Qianyu, Z., Yuehong, L., Zhongzhong, P. ve Libo, L., 2017. Sonodynamic therapy, a treatment developing from photodynamic therapy, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 19, 159-166.
- Roy, P. ve Saikia, B., 2016. Cancer and cure: A critical analysis, Indian journal of cancer, 53, 3, 441-442.
- Ruan, X., Wei, M., He, X., Wang, L., Yang, D., Cai, Y., Shao, J. ve Dong, X., 2023. Asymmetric aza-BODIPY photosensitizer for photoacoustic/photothermal imaging-guided synergistic photodynamic/photothermal therapy, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 231, 113547.
- Song, M., Sun, Z., Han, C., Tian, D., Li, H. ve Kim, J.S., 2014. Calixarene-based chemosensors by means of click chemistry, Chemistry-An Asian Journal, 9, 9.
- Sonkaya, Ö., Soylukan, C., Pamuk Algi, M. ve Algi, F., 2023. Aza-BODIPY-Based Fluorescent and Colorimetric Sensors and Probes, Current Organic Synthesis, 20, 1, 20-60.
- Soylukan, C., 2020, Azabodipy ve indirgenmiş grafen oksit tabanlı yeni bir nanoteranostik: tasarım ve sentez, Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Soylukan, H.E., 2022, pH duyarlı yeni bir çoklu terapi ajanı, Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Su, Y., Hu, Q., Zhang, D., Shen, Y., Li, S., Li, R., Jiang, X.D. ve Du, J., 2022. 1, 7-Di-tert-butyl-Substituted aza-BODIPYs by Low-Barrier Rotation to Enhance a Photothermal-Photodynamic Effect, Chemistry–A European Journal, 28, 2, e202103571.
- Such, G.K., Johnston, A.P., Liang, K. ve Caruso, F., 2012. Synthesis and functionalization of nanoengineered materials using click chemistry, Progress in Polymer Science, 37, 7, 985-1003.
- Sun, Y.-n., Dong, C., Zhang, D., Tang, J., Lv, M., Sun, C., Shang, R., Zhao, J., Jiang, X.-D. ve Du, J., 2024. tert-Butyl substituted aza-BODIPY-based bromides for phototherapy, Dyes and Pigments, 228, 112213.
- Tang, Q., Si, W., Huang, C., Ding, K., Huang, W., Chen, P., Zhang, Q. ve Dong, X., 2017. An aza-BODIPY photosensitizer for photoacoustic and photothermal imaging guided dual modal cancer phototherapy, Journal of Materials Chemistry B, 5, 8, 1566-1573.
- Toksoy, A., Pekcan, S., Susam, A., Erkan, D.S., Pamuk Algi, M. ve Algi, F., 2023. A generic platform for self-illuminating unimolecular systems enabling photodynamic therapy, Dyes and Pigments, 219, 111577.

- Toksoy, A., Sonkaya, Ö., Erkan, D.S., Boran Gulen, R., Pamuk Algi, M. ve Algi, F., 2022. Norsquaraine endowed with anticancer and antibacterial activities, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 40, 103110.
- Treekoon, J., Pewklang, T., Chansaenpak, K., Gorantla, J.N., Pengthaisong, S., Lai, R.-Y., Ketudat-Cairns, J.R. ve Kamkaew, A., 2021. Glucose conjugated aza-BODIPY for enhanced photodynamic cancer therapy, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 19, 26, 5867-5875.
- Wang, L., Mei, A., Li, N., Ruan, X., Sun, X., Cai, Y., Shao, J. ve Dong, X., 2024. Aza-BODIPY dye with unexpected bromination and high singlet oxygen quantum yield for photoacoustic imaging-guided synergetic photodynamic/photothermal therapy, *Chinese Chemical Letters*, 35, 6, 108974.
- Wang, Q., Ng, D.K. ve Lo, P.-C., 2018. Functional aza-boron dipyrromethenes for subcellular imaging and organelle-specific photodynamic therapy, *Journal of Materials Chemistry B*, 6, 20, 3285-3296.
- Wu, C., Huang, X., Tang, Y., Xiao, W., Sun, L., Shao, J. ve Dong, X., 2019. Pyrrolopyrrole aza-BODIPY near-infrared photosensitizer for dual-mode imaging-guided photothermal cancer therapy, *Chemical Communications*, 55, 6, 790-793.
- Xiao, W., Wang, P., Ou, C., Huang, X., Tang, Y., Wu, M., Si, W., Shao, J., Huang, W. ve Dong, X., 2018. 2-Pyridone-functionalized Aza-BODIPY photosensitizer for imaging-guided sustainable phototherapy, *Biomaterials*, 183, 1-9.
- Yesilgul, N., Uyar, T.B., Seven, O. ve Akkaya, E.U., 2017. Singlet oxygen generation with chemical excitation of an erythrosine–luminol conjugate, *ACS omega*, 2, 4, 1367-1371.
- Yong, Z., Wen, B., Dou, Q., Guo, H., Hu, C., Bi, J., Zhang, M., Zhao, J., Lin, Y. ve Wang, J., 2023. Design, synthesis, and characterization of pH-responsive near infrared bithiophene Aza-BODIPY, *Dyes and Pigments*, 219, 111614.
- You, C., Li, X., Wang, D., Chen, H., Liang, L., Chen, Y., Zhao, Y. ve Xiang, H., 2022. Self-Assembled Aza-Boron-Dipyrromethene for Ferroptosis-Boosted Sonodynamic Therapy, *Angewandte Chemie International Edition*, 61, 41, e202210174.
- Zhang, D., Liu, L., Zhang, X., Lu, J. ve Jiang, X.-D., 2024. Rational design of photofunctional dyes BODIPYs/aza-BODIPYs and applications for photocatalysis, photoelectric conversion and thermochromic materials, *Resources Chemicals and Materials*.
- Zhang, S., Li, J., Wei, J. ve Yin, M., 2018. Perylenediimide chromophore as an efficient photothermal agent for cancer therapy, *Science Bulletin*, 63, 2, 101-107.

Zhao, M., Xie, M., Guo, J., Feng, W., Xu, Y., Liu, X., Liu, S. ve Zhao, Q., 2019. Facile phototherapeutic nanoplatform by integrating a multifunctional polymer and MnO₂ for enhancing tumor synergistic therapy, *Advanced healthcare materials*, 8, 15, 1900414.

Zhao, Y.-Y., Kim, H., Nguyen, V.-N., Jang, S., Jang, W.J. ve Yoon, J., 2024. Recent advances and prospects in organic molecule-based phototheranostic agents for enhanced cancer phototherapy, *Coordination Chemistry Reviews*, 501, 215560.

Zou, L., Wang, H., He, B., Zeng, L., Tan, T., Cao, H., He, X., Zhang, Z., Guo, S. ve Li, Y., 2016. Current approaches of photothermal therapy in treating cancer metastasis with nanotherapeutics, *Theranostics*, 6, 6, 762.

URL-1< <https://www.chemistryandlight.eu/theory/chemiluminescence/> > Erişim Tarihi: 20.05.2024



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Gülnur ŞAHİN

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, 2017-2021

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 2021-2024

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Projeler

1. 121Z391, Kemilüminojenik Teranostikler, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No.121Z391) 01.12.2021- 20.01.2023 Bursiyer

Kongrelerde Sunulan Bildiri

1. **Gülnur ŞAHİN**, Fatih ALGI, Melek PAMUK ALGI 2023. Synthesis and Properties of a New Near Infrared Therapy Agent. 11. Drug Chemistry Congress, Turkish Chemists Society, Kemer, Antalya, 9-12 March.