



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

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**FOTODİNAMİK TERAPİ YAPABİLEN POTANSİYEL
BİR BNCT AJANININ TASARIMI VE SENTEZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Simge PEKCAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatih ALGI

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Sedat SÜRDEM

AKSARAY, 2021

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 182330409 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Simge PEKCAN tarafından hazırlanan **“FOTODİNAMİK TERAPİ YAPABİLEN POTANSİYEL BİR BNCT AJANININ TASARIMI VE SENTEZİ”** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OYBİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Ana bilim 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. Selehattin YILMAZ

Çanakkale Onsekiz mart Üniversitesi

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

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KARADUMAN

Aksaray Üniversitesi

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

.....

Tez Savunma Tarihi: 14/09/2021

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

Doç. Dr. Mehmet Ali HİNİS

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 orijinalliğini 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.

Simge PEKCAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca sahip olduğu bilgi birikimi ile bana her zaman yol gösteren, tecrübeleriyle yoluma ışık tutan maddi manevi desteğini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Fatih ALGI'ya teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans öğrenim hayatım boyunca bilgi birikimleriyle yardımını esirgemeyen saygı değer hocam Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca karşıma çıkan her zorlukta yanımda olan, sahip olduğu tecrübeleri benimle paylaşan, desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Ömer SONKAYA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans hayatım boyunca yardımlarını esirgemeyen Biyonanoteknoloji Araştırma Laboratuvarı arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her döneminde beni sevgi ve saygıyla kucaklayan, verdiğim kararlarda beni destekleyen, örgenim hayatım boyunca her türlü fedakârlığı karşılık beklemeksizin yapan, benim ben olmamı sağlayan annem Fikriye PEKCAN, babam Muzaffer PEKCAN ve kardeşim Mehmet PEKCAN'a sevgi ve saygılarımı sunarım.

Tezimin gerçekleşmesinde 2018-31-07-25-002 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü'ne teşekkür ederim.

Simge PEKCAN
AKSARAY, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Fotodinamik Terapi	2
1.2 Fotodinamik Terapide Kullanılan Klinik Ajanlar	3
1.3 Siyanin Boyaları.....	6
1.4 İndosiyanın Yeşili	7
1.5 Polihedral Bor Bileşikleri.....	8
1.6 Bor Nötron Yakalama Terapisi (BNCT).....	10
1.7 Klinik Onaylı BNCT Ajanları.....	11
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1 Materyal	23
3.2 2,3,3-trimethyl-3H-indole-5-carboxylic acid (17) Sentezi.....	23
3.3 prop-2-yn-1-yl 2,3,3-trimethyl-3H-indole-5-carboxylate (19) Sentezi.....	24
3.4 Bileşik 20 Sentezi.....	24
3.5 Bileşik 22 Sentezi.....	25
3.6 Bileşik 23 Sentezi.....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	27
4.1 Hedeflenen Yapının Sentezi.....	27
4.2 Bileşik 22'nin Fotofiziksel Özellikleri.....	38
4.3 Hedef Bileşikler 1 ile Kanser Hücrelerinin Görüntülenmesi	40
4.4 Fotositotoksosite Çalışmaları	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR	44
EKLER.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	49

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FOTODİNAMİK TERAPİ YAPABİLEN POTANSİYEL BİR BNCT AJANININ TASARIMI VE SENTEZİ

Simge PEKCAN

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI
İkinci Danışman: Doç. Dr. Sedat SÜRDEM

ÖZET

Kanser, DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalmasdır. Günümüzde kanserin tedavisinde ameliyat, kemoterapi, radyoterapi ve hormon tedavisi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan bu yöntemler bazı dezavantajları nedeniyle bireylerin yaşam standartlarını olumsuz yönde (ciltte hassasiyet, kusma, bağışıklık sisteminin bozulması, sağlıklı doku ve organların zarar görmesi vb.) etkileyebilmektedir. Bu olumsuz etkileri ortadan kaldırmak amacıyla yeni tedavi yöntemleri geliştirilmektedir. Bu yöntemlerden biri bor nötron yakalama terapisi (BNCT) olarak bilinmektedir. BNCT çeşitli kanser türlerinin özellikle beyin tümörleri ve melanom kanserlerinin tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen ve yan etkileri düşük önemli bir tedavi yöntemidir.

Bu tez çalışmasında fotoduyarlayıcı özellikte ve potansiyel olarak BNCT' ye olanak veren yeni bir terapi ajanının tasarımı ve sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapı ve özellikleri çeşitli spektroskopik yöntemlerle; ¹H NMR, ¹³C NMR ve MALDI TOFF, UV-Vis-NIR soğurma ve floresans spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Tasarımı ve sentezi gerçekleştirilen bu yeni bileşiğin kanserli hücrelere internalize olabildiği in vitro çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalar hedef yapının fotoduyarlayıcı özellik gösterdiğine işaret etmektedir. Son olarak elde edilen yapının bor içermesi sebebiyle potansiyel bir BNCT ajanı olduğu öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fotodinamik Terapi (FDT), Bor Nötron Yakalama Terapisi (BNCT), Polihedral bor bileşikleri, *in vitro*

Eylül, 2021; 49 sayfa

M.Sc. THESIS

DESIGN AND SYNTHESIS OF A POTENTIAL BNCT AGENT WITH PHOTODYNAMIC THERAPY

Simge PEKCAN

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

**Supervisor: Prof. Dr. Fatih ALGI
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Sedat SÜRDEM**

ABSTRACT

Cancer is the uncontrolled or abnormal growth and proliferation of cells as a result of damage to DNA in cells. Currently, methods such as surgery, chemotherapy, and hormone therapy are used to treat cancer. However, there are some disadvantages (sensitivity to the skin, vomiting, impaired immune system, damage to healthy tissues and organs etc.) of these methods, which negatively affect the life standards of individuals. To eliminate the negative effects, new treatment modalities are being developed. One of these methods is known as boron neutron capture therapy (BNCT). BNCT is an important modality developed for the treatment of various types of cancer, especially brain tumors and melanoma cancers.

In this thesis, the design and synthesis of a new therapy agent with photosensitizing capacity and potentially enabling BNCT was carried out. The structure and properties of synthesized compounds were determined by various spectroscopic methods; ^1H NMR, ^{13}C NMR and MALDI TOFF were illuminated by UV-Vis-NIR absorption and fluorescence spectroscopy. It has been proven by *in vitro* studies that this new compound can be internalized into cancer cells. In addition, studies indicate that the target structure is an efficient photosensitizer. Finally, it is envisaged that the target compound has potential as a BNCT agent due to its high boron content.

Keywords: Photodynamic Therapy (PDT), Boron Neutron Capture Therapy (BNCT), Polyhedral boron clusters, Cyanine, *in vitro*

September, 2021; 49 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. FDT’de kullanılan ilk ajanlar.	2
Şekil 1.2. Sodyum porfimer.	3
Şekil 1.3. Verteporfirin.	4
Şekil 1.4. 5-Aminolevulinik Asit.	4
Şekil 1.5. Temoporfirin.	5
Şekil 1.6. Klorin e6-polivinilpirolidon.	5
Şekil 1.7. Siyaninler.	7
Şekil 1.8. Polihedral bor bileşikleri (Sibakoti, 2015).	8
Şekil 1.9. Aktif kompleksin oluşum reaksiyonu (Ali vd., 2020).	9
Şekil 1.10. 6,9-L ₂ B ₁₀ H ₁₂ için moleküler yapı.	9
Şekil 1.11. BNCT (Hu vd., 2020).	11
Şekil 1.12. Klinik onaylı BNCT ajanları.	12
Şekil 2.1. 5,15-di [3,5- (o- karboranilmetil) fenil] porfirin.....	13
Şekil 2.2. Porfirin NLS konjugatı (Dozzo vd., 2005).	13
Şekil 2.3. Karboranilklorin kompleksi (Luguya vd., 2006).	14
Şekil 2.4. ZnB ₄ Pc yapısı (Friso vd., 2006).	15
Şekil 2.5. Kobalt-bis (dikarbollid) konjugatı (Efremenko vd., 2014).	16
Şekil 2.6. Nido-carboranylphenyl porfirin yapısı (H ₂ TCP) (Jori vd., 2009).	17
Şekil 2.7. Bor içeren klor türevi (Asano vd., 2014).	18
Şekil 2.8. Metal-ftalosiyanın kompleksi (Nar vd., 2015).	19
Şekil 2.9. p –Karboraniltio-Tetraflorofenil klor (TPFC) (Hiramatsu vd., 2015).	20
Şekil 2.10. Silikon ftalosiyanın (Atmaca vd., 2015).	20
Şekil 2.11. Karboran içeren üç bloklu kopolimer (Ruan vd., 2016).	21
Şekil 2.12. Galaktoz hedefli glikopolimer (Ruan vd., 2018,a).	22
Şekil 2.13. pH duyarlı karboran ve siyanin boya konjuge polipeptit ve miseller.....	22
Şekil 3.1. Bileşik 17 sentezi.	23
Şekil 3.2. Bileşik 19 sentezi.	24
Şekil 3.3. Bileşik 20 sentezi.	24
Şekil 3.4. Bileşik 22 sentezi.	25
Şekil 3.5. Bileşik 23 sentezi.	25
Şekil 3.6. Bileşik 1 sentezi.	26
Şekil 4.1. Bileşik 17 sentez şeması.	27
Şekil 4.2. Bileşiğin 17 ¹ H NMR Spektrumu (600 MHz, CDCl ₃).	28
Şekil 4.3. Bileşiğin 17 ¹³ C NMR Spektrumu (151 MHz, CDCl ₃).	29
Şekil 4.4. Bileşik 19 Sentez Şeması.	29
Şekil 4.5. Bileşiğin 19 ¹ H NMR Spektrumu (600 MHz, CDCl ₃).	30
Şekil 4.6. Bileşiğin 19 ¹³ C NMR Spektrumu (151 MHz, CDCl ₃).	30
Şekil 4.7. Bileşiğin 19 LCMS spektrumu.	31
Şekil 4.8. Bileşik 20 Sentez Şeması.	31
Şekil 4.9. Bileşiğin 20 ¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃).	32
Şekil 4.10. Bileşiğin 20 ¹³ C NMR spektrumu (101 MHz, CDCl ₃).	32
Şekil 4.11. Bileşiğin 20 LCMS Kütle Spektrumu.	33
Şekil 4.12. Bileşik 22 Sentez Şeması.	33
Şekil 4.13. Bileşiğin 22 ¹ H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl ₃).	34
Şekil 4.14. Bileşiğin 22 ¹³ C NMR spektrumu (101 MHz, CDCl ₃).	34
Şekil 4.15. Bileşiğin 22 LCMS Kütle Spektrumu.	35
Şekil 4.16. Şekil 23 Sentez Şeması.	35
Şekil 4.17. Bileşiğin 23 ¹ H NMR spektrumu (600 MHz, CDCl ₃).	36

Şekil 4.18. Bileşik 23 ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3).....	36
Şekil 4.19. Bileşik 23 MALDI-TOFF kütle spektrum.	37
Şekil 4.20. Bileşik 1 yapısı.	37
Şekil 4.21. Bileşik 1 MALDI-TOFF kütle spektrumu.	38
Şekil 4.22. a) Bileşik 22 (10^{-3} M) için soğurma spektrumu b) emisyon spektrumu ($\lambda_{\text{exc}}=790$ nm) c) DPBF (10^{-3} M) varlığında CH_3OH içerisinde ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları.	39
Şekil 4.23. a) Hedef bileşik 1 ($50\mu\text{M}$, THF) için soğurma spektrumu b) emisyon spektrumu ($\lambda_{\text{exc}}=818$ nm) (THF) c) hedef bileşik 1 ($56\mu\text{M}$), DPBF ($33\mu\text{M}$) varlığında THF içerisinde ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları.	39
Şekil 4.24. Hedef Bileşik 1@BSA (1mg/mL), DPBF ($2,2\mu\text{M}$) varlığında PBS ortamında ($\text{pH}:7.4$) ışınlaması ile kaydedilen soğurma spektrumları. ..	40
Şekil 4.25. Kanser hücrelerinin (Hep-2) 1@BSA ($50\mu\text{g}$) ile 24 saat inkübasyonu sonucu floresans mikroskop ile alınan görüntüler. Skala bar = $50\mu\text{m}$. Filtre λ_{ex} : $620/60$ nm.	40
Şekil 4.26. Hedef bileşik 1@BSA ($0-50\mu\text{g}$) ile inkübe edilen kanser hücrelerinin (Hep-2) ışınlaması sonucunda yapılan MTT testlerine ait hücre canlılıkları.....	41
Şekil 5.1. Genel sentez şeması.	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ar	Argon
BNCT	Bor Nötron Yakalama Terapisi
FDT	Fotodinamik Terapi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPBF	1,3-Difenilizobenzofuran
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kırmızı Ötesi Spektrofotometresi
IR	Kızılötesi
ICG	İndosiyanin Yeşili
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
mL	Mililitre
mg	Miligram
NIR	Yakın Kızılötesi
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
UV-Vis	Morötesi ve Görünür Işık
¹³C NMR	Karbon Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi
¹H NMR	Hidrojen Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi
¹O₂	Singlet Oksijen
°C	Santigrat

1. GİRİŞ

Çağın en önemli hastalıklarından biri kanserdir. Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalmasdır. Sağlıklı vücut hücreleri bölünebilme yeteneğine sahiptir. Aynı zamanda kendilerini yenileyebilme yeteneğine de sahiptirler. Bu sayede ölen hücrelerin yerini sağlıklı hücreler gelebilmektedir, yaralanan hasar oluşan dokular tekrar eski hallerine dönebilmektedirler (Liu vd., 2017).

Sağlıklı hücreler nerede ne zaman bölüneceğinin ve eski hücrelerin yerine yeni hücreler üretmenin bilincindedir, böylece vücudun fizyolojisini ve homeostazını korumaktadır. Fakat kanserli hücreler bu bilinci kaybederek kontrolsüz şekilde bölünmeye başlayarak çoğalırlar. Kanser hücreleri toplanarak tümör hücrelerini oluştururlar. Oluşan bu tümörler sağlıklı dokuları sıkıştırarak içine sızabilirler ve dokuları tahrip edebilirler. Kanser hücreleri oluştukları tümörden ayrılarak kan dolaşımı ya da lenf dolaşım sistemleri aracılığı ile vücudun diğer bölgelerine taşınabilirler. Kanser hücreleri saçıldıkları bölgelerde tümör kolonileri oluşturarak büyümeye devam ederler. Bu olaya metastaz faz denir.

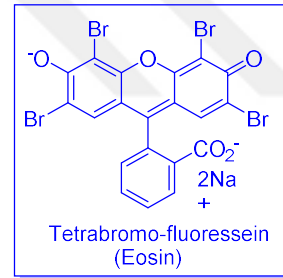
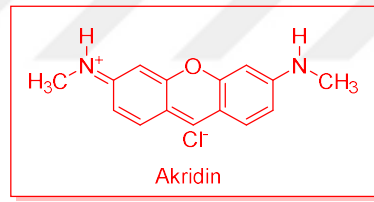
Farklı kanser türleri aynı yapıya sahip değildir; farklı hızlarda büyürler, farklı yayılma biçimleri gösterirler ve farklı tedavilere yanıt verirler. Bu nedenle kanser hastalarının tedavisinde, var olan kanser türüne göre farklı tedaviler uygulanır.

Kanserin erken teşhisi ve tedavisi için uzun zamandır çalışmalar yapılmaktadır. Son yıllarda araştırmacılar anti-tümör çalışmaları üzerinde durmuştur. Bu çalışmalarda asıl amaç tümörlü hücre ve dokuları hedefleyerek sağlıklı hücre ve dokulara zarar vermeksizin hastalığı sona erdirmektir (Thakkar vd., 2020). Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi, ameliyat, immünoterapi, hormon tedavisi olmak üzere beş temel tedavi uygulanmaktadır. Bu uygulamalar hasta bireylerde bağışıklık sistemini zayıflatmakta, saç kaybına, diyareye, iştahsızlığa, cilt reaksiyonlarına, şiddetli ağrılara, yorgunluğa, kanserli hücrelerin mutasyona uğramasına sebep olmaktadır (Erdem vd., 2017). Bu tedavilere ek olarak günümüzde fotodinamik terapi (FDT) ve bor nötron yakalama terapisi (BNCT) üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Bu terapi yöntemleriyle hasta bireylerin bağışıklık sistemini zayıflatmadan, şiddetli ağrılara,

saç dökülmesine ve kanserli hücrelerin mutasyona uğramadan tedavi edilmesi hedeflenmektedir. Her kanser türü aynı yapıya sahip olmadığından; görüntüleme, teşhis, tedavi için uygulanan her strateji de kendine özgü ajanlar ile yapılabilmektedir. Kullanılan her ajanın tümörlere karşı davranımı farklıdır. Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan tedaviler; görüntüleme, teşhis ve tedaviyi tek bir ajanla yapamamaktadır. Bizim çalışmamızın ile kanser için belirtilen özelliklere sahip yeni nesil görüntüleme, teşhis ve iki yönlü tedaviye (ikili terapi, FDT ve BNCT) imkan sağlayan teranostik bir ajanı geliştirmektedir.

1.1 Fotodinamik Terapi

FDT ilk deneysel olarak gözlemi 1900 yılında “Oscar Raab” isimli bir tıp öğrencisi yapmıştır. Raab yaptığı çalışma sonucunda akridinin düşük konsantrasyonlarda ışığın etkisiyle öldürücü olduğunu gözlemlemiştir (Agostinis vd., 2004). Sonraki yıllarda ışık etkisi ile toksisitesi artan maddeler bulunmuştur. Bunlardan en önemlisi tetrabromo-fluoressein (eozin) klinik olarak uygulanmaya başlamıştır (Şekil 1.1)



Şekil 1.1. FDT’de kullanılan ilk ajanlar.

FDT, fotoduyarlaştırıcı ajanlar yardımıyla ışık ve oksijen arasındaki fotokimyasal reaksiyon ile aktive olabilen tedavi yöntemidir. FDT’de en önemli üç unsur oksijen, ışık ve fotoduyarlaştırıcıdır.

FDT’de görünür bölge ya da görünür bölgeye yakın ışık kullanılmaktadır. FDT iki aşamadan oluşan bir tedavidir. İlk olarak fotoduyarlaştırıcı ajan farklı yollardan hasta vücuduna verilerek hedef hücreler tarafından alınması sağlanır. Ardından ışık kaynağı ile fotoduyarlaştırıcı ajan aktive edilir. Bu tedavi yöntemiyle tümörler seçici olarak yok edilebilir (Chen vd., 2015).

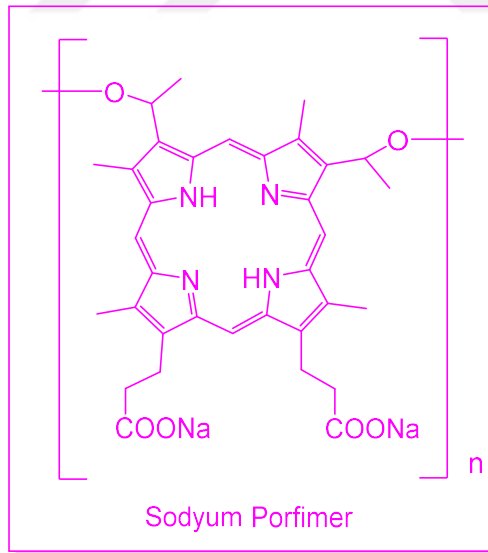
FDT'nin avantajları;

- yan etkileri en az seviyededir,
- diğer tedavi uygulamalarına göre daha az invazivdir,
- gerekli görüldüğü takdirde aynı bölgede birden fazla tekrarlanabilmektedir,
- diğer tedavi uygulamalarına göre daha az maliyetlidir.

1.2 Fotodinamik Terapide Kullanılan Klinik Ajanlar

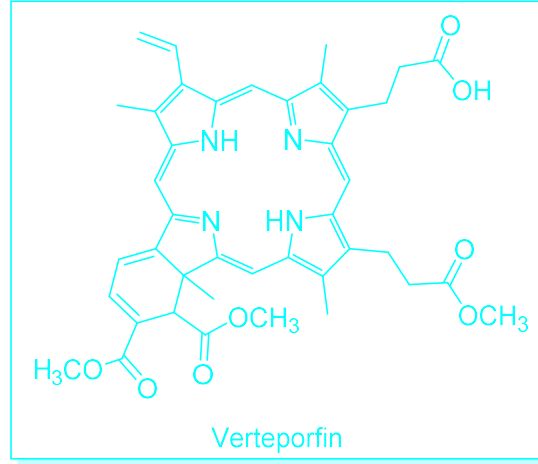
FDT'de klinikte kullanılan ajanlar; porfimer sodyum, verteporfin, 5-aminolevulinik asit-Levulan (ALA), temoporfin, klorin e6-polivinilpirolidon'dur.

Porfimer sodyum klinikte kullanılan ajanlardan biridir (Şekil 1.2). Hematoporfirinin türevlerindendir. Porfimer sodyum, solunum ve sindirim sistemi karsinomlarının palyatif tedavisi için FDT ve radyasyon tedavisinde kullanılan bir fotoduyarlılaştırıcıdır. 630 nm'de yayılan kırmızı spektrumdaki ışıkla uyarılmaktadır. En büyük dezavantajı yüksek enerjili enerji kaynağına gerek duyulmasıdır. Ancak vücuttan geç atılması dezavantajlarından biridir (Hosokawa vd., 2020).



Şekil 1.2. Sodyum porfimer.

Verteporfin FDT'de kullanılan klinik ajanlardandır (Şekil 1.3). 690 nm spektrumdaki ışıkla uyarılmaktadır. Verteporfinler etkinlikleri sona erdikten sonra hızla vücuttan atılabilmektedir. Fakat sulu çözeltide zamanla çökmektedir (Kuramoto vd., 2020).



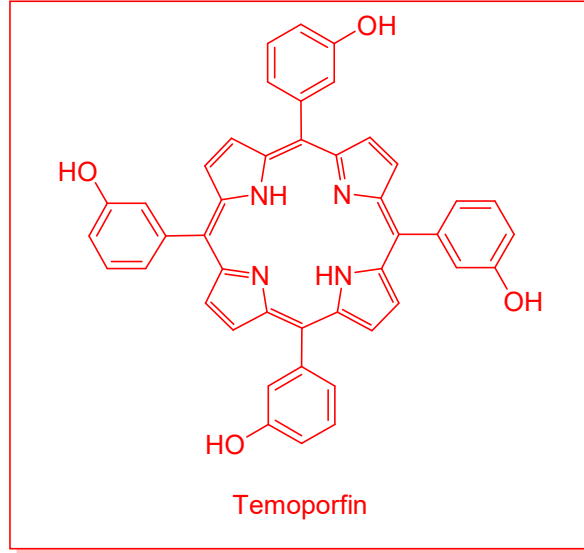
Şekil 1.3. Verteporfirin.

5-aminolevulinik asit-Levulan (ALA) FDT’de kullanılan klinik ajanlarından biridir (Şekil 1.4). ALA kanser tiplerinden cilt kanseri tedavisinde etkilidir. En büyük avantajı vücuttan kısa süre içerisinde atılabilesidir. En büyük dezavantajı ise düşük dalga boyunda uyarılmasından kaynaklı olarak yüzeysel dokularda etki göstermektedir (Kiesslich vd., 2007).



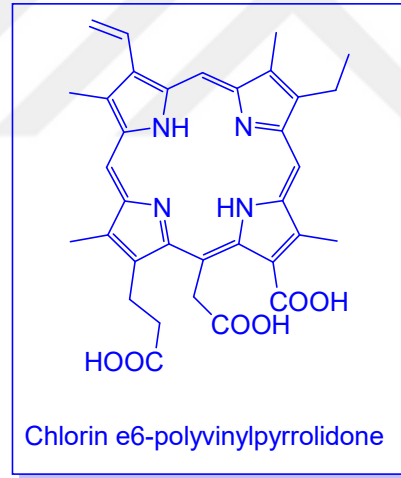
Şekil 1.4. 5-Aminolevulinik Asit.

FDT’de kullanılan ajanlardan biri de temaporfirindir (Şekil 1.5). Kanser tiplerinden baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomunun tedavisinde kullanılmak üzere klinik olarak onaylanmıştır (O’Connor vd., 2009).



Şekil 1.5. Temoporfin.

Klorin e6-polivinilpirolidon FDT’de kullanılan bir diğer ajandır (Şekil 1.6). Klorin türevidir. Bu yapının sentezi, saflaştırılması zordur (Çağan vd., 2017).



Şekil 1.6. Klorin e6-polivinilpirolidon.

FDT en önemli etken fotoduyarlastırıcıdır. İdeal fotoduyarlastırıcı şu özelliklere sahip olmalıdır (O’Connor vd., 2009);

- saf olmalı,
- sudaki çözünürlüğü yüksek olmalı,
- uzun dalga boyunda ışığı absorbe edebilmeli,
- singlet oksijen üretebilme yeteneği yüksek olmalı,

- toksik olmamalı,
- vücuda alınıp tümörlü hücreleri ölüme sürükledikten sonra vücuttan hızlıca atılabilmeli,
- yalnızca tümör hücrelerinde birikip sağlıklı hücrelere zarar vermemeli,
- biyouyumlu olmalı,
- basit ve kararlı ilaç formülasyonuna sahip olmalı.

Günümüzde kullanılan FDT klinik ajanlar ;

- tümör hücrelerine karşı seçici değildir.
- terapötik pencerede (700-850 nm) aralığında soğurma yapamamaktadır.
- vücuttan atılma süreleri uzun zaman almaktadır.
- genellikle mide bulantısı, baş ağrısı, eklem ağrıları gibi yan etkiler göstermektedirler.

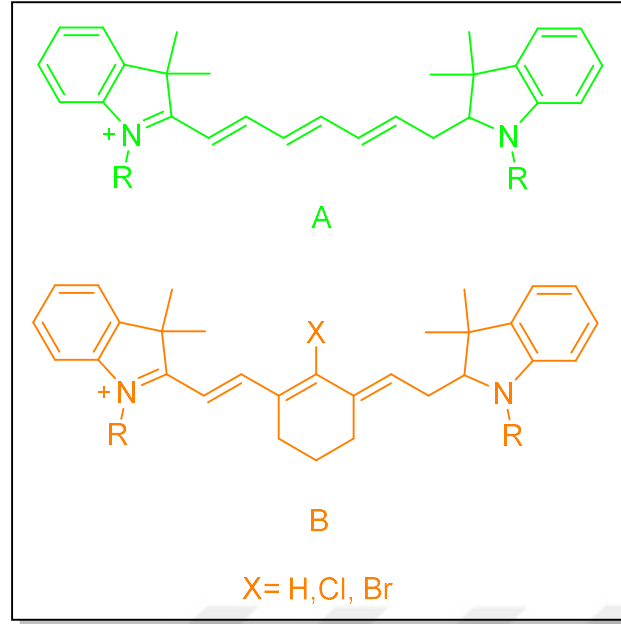
FDT genellikle, reaktif oksijen türlerini (ROS) üretmek için izlenen fotokimyasal reaksiyon sürecine bağlı olarak tip I ve tip II olarak adlandırılan iki mekanizmaya göre çalışmaktadır. FDT sonucunda ortaya çıkan sitotoksik etki ile kanserli hücrelerin apoptoza, nekroza, otofajiye sebep olarak ölmelerini sağlamaktadır (Erdem vd., 2017). FDT'nin kanserli hücreler üzerinde seçici olmasından dolayı sağlıklı doku ve organlarda tahribat gerçekleşmemektedir.

1.3 Siyanin Boyaları

Heptametin siyanin boyaları, siyanin boyaları ailesine bağlı bir alt sınıfı içermektedir.

Heptametin siyanin boyaları 750-850 nm aralığında yakın kızılötesi (NIR) bölgede soğurma ve emisyon vermektedirler. Kanser görüntülemeye, hedefli tedavilerde ve FDT'de umut verici araçlar olarak ortaya çıkmıştır.

Altı üyeli karbosiklik halkalı heptametin siyaninlerin (bileşik B) , floresan kuantum verimi daha yüksektir ve diğer heptametin siyaninlere göre (bileşik A) agregasyonda azalma görülmektedir (Şekil 1.7) (Usama vd., 2018).



Şekil 1.7. Siyaninler.

Heptametin siyanin boyası ajanları (IR-780 (Yi vd., 2015), IR-783 (Shao vd., 2014), IR-808 (Yi vd., 2014) ve MHI-148) ikili görüntülemeye, hedefleyebilme yeteneklerine sahip heterosilik polimetin siyaninlerdir (Yang vd., 2013). Heptametin siyanin boyaları mitokondri ve lizozomlarda yüksek alımlı sayesinde sağlıklı hücrelerde yığılma yapmadan, kimyasal konjugasyona gerek kalmadan tümörlü hücreleri hedefleyebilmektedirler. (Yang vd., 2013)

Heptametin siyanin boyaları florofor olarak kullanıldıklarında birçok avantaj sağlamaktadırlar. FDT’de ışığa duyarlaştırmacı olarak kullanılmaktadırlar. FDT’de tekli oksijen (1O_2) kuantum verimleri nedeniyle düşük fototoksositeye sahiptirler. Heptametin siyanin boyaları FDT için ağır atom içermemektedirler (Yang vd., 2020).

Heptametin siyanin boyalarının avantajları;

- yakın kızılötesi bölgede soğurma ve emisyon yapabilmeleri,
- kanser hücrelerinde yığılmasının fazla olması,
- sağlıklı hücrelerden çabuk atılmaları.

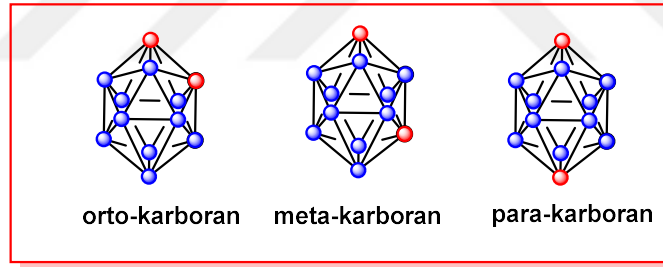
1.4 İndosiyanin Yeşili

İndosiyanin yeşili (ICG) FDA tarafından onaylanmış ilk boyalardır. ICG heptametin siyanin ailesine ait kızılötesine yakın floresan boyalardır. Ömrünün kısa olması

çeşitli fizikokimyasal özellikler ICG uygulamalarını sınırlar (Kirchherr vd., 2009). Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için, çeşitli protein, zar veya misel sistemleri içinde ICG'nin kapsüllenmesi ve ICG'nin birkaç yüklü polimerle kombinasyonu elde edilmeye çalışılmıştır. Ayrıca, bazı ICG içeren poli (laktik- *ko*- glikolik asit) PLGA nanopartiküller ve nanopartikül montajlı kapsüller (NAC'ler) ile plazma yarı ömrü ve kararlılığı arttırılmaya çalışılmıştır (Wu vd., 2013).

1.5 Polihedral Bor Bileşikleri

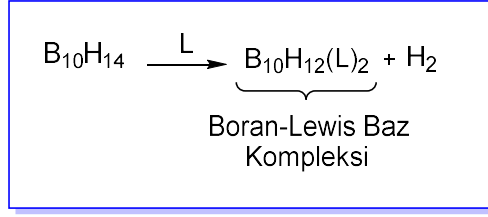
Periyodik cetvelde IIIA grubuna ait metal ametal arasında bulunan yarı iletkenlik gösteren bor elementi birçok farklı bileşiği oluşturabilmektedir (Smith vd.,2000). Genel olarak dikarba-close-dodekarboranlardan oluşan karboranlar $C_2B_{10}H_{12}$ olarak formülize edilmektedir. Karboranlar, çok çeşitli 3D geometrik şekillerde kolayca kümeler oluştururlar (Şekil 1.8) . Kan-beyin bariyerini (BBB) geçmek için faydalı olan hidrofobiklikleri, enzimatik bozulmayı önleyen inorganik yapıları, doğal düşük toksisite düşürücü yan etkileri, BNCT için yüksek bor içeriği nedeniyle oldukça ilgi çekici yapıdır (Schwarze vd., 2019).



Şekil 1.8. Polihedral bor bileşikleri (Sibakoti, 2015).

Birlikte kullanıldıkları bileşiklerde farklı özellikler göstermelerinden dolayı BNCT'de kullanılmaktadırlar.

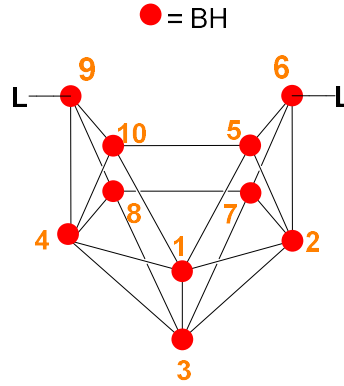
o-Karboranların en yaygın sentez yöntemi nido-dekaboran ve alkinlerin (iç alkinler, uç alkinler, mono- ve di- alkinler vb.) tepkimelerini içermektedir. Dekaboran önce bir Lewis bazı ile aktifleştirilmekte ve sonra izole edilmeden alkin türevleriyle direkt tepkimeye sokulabilmektedir (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. Aktif kompleksin oluşum reaksiyonu (Ali vd., 2020).

Dekaboranın Lewis bazları ile reaksiyonları 1957 yılında ilk defa Riley Schaeffer tarafından çalışılmıştır (Ali vd., 2020). Schaeffer çalışmasında alifatik bir Lewis bazı olan asetonitril ile dekaboranın reaksiyonu sonucunda 6 ve 9 pozisyonlarından bağlı Boran-Lewis baz kompleksini elde etmiştir (Şekil 1.9) (Ali vd., 2020). Alifatik nitriller, N,N-dimetil anilin, dimetil sülfid, dietil sülfid, dioksan ve tetrahidrofuran literatürde bilinen ve sık kullanılan Lewis bazlarıdır (Şekil 1.10).

Sağlık alanında karboranların seçilmesindeki en büyük özellikleri hidrofobik olmalarıdır. Bu sayede hücresel membran ve kan akışı boyunca taşımayı arttırabilirler. İnorganik yapıları sayesinde biyolojik koşullar altında ilaç taşıma stabiliteleri yüksektir. Sulu çözeltilerde kendiliğinden bir araya gelebilirler. Kendi kendilerine toplanma davranışı sergilerler (Stockmann vd., 2019).

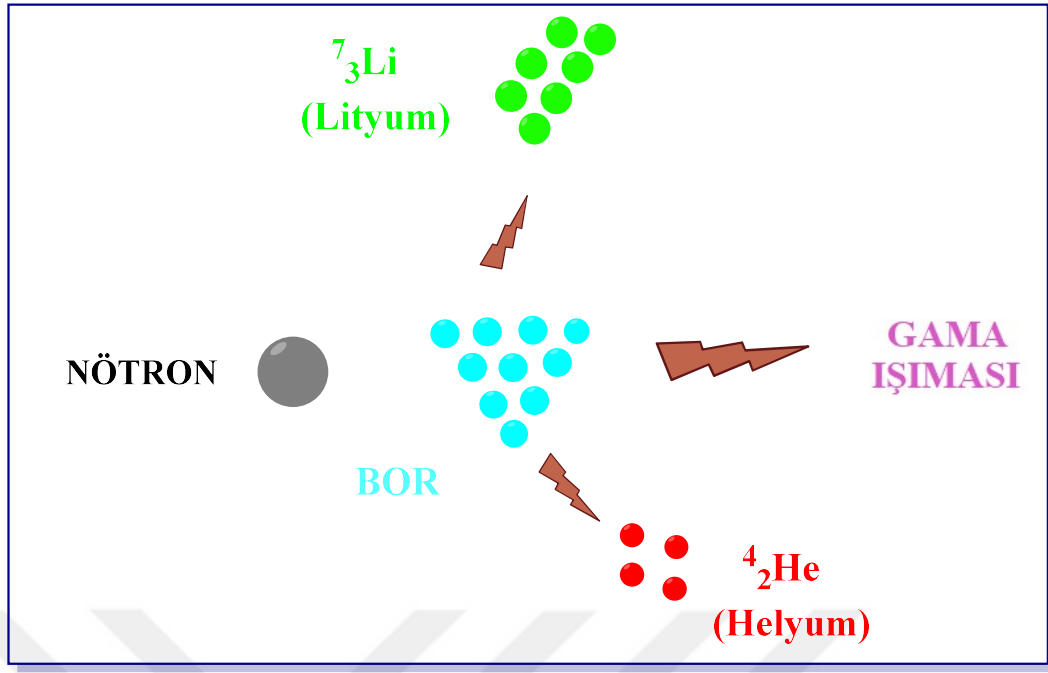


L = Alifatik nitriller, dialkil sülfürler, N,N-dimetil anilin, tetrahidrofuran, dioksan vb.

Şekil 1.10. 6,9-L₂B₁₀H₁₂için moleküler yapı.

1.6 Bor Nötron Yakalama Terapisi (BNCT)

BNCT 1936 yılında Gordon Locher tarafından önerilmiştir. BNCT kararlı bir izotop olan ^{10}B yüksek enerjili alfa parçacıklarını üretmek için nötronlar ile ışınlanması sonucu meydana gelen nükleer yakalama ve fisyon reaksiyonlarına dayanan ikili bir radyoterapotik yöntemdir (Terlizzi vd., 2004). Yüksek enerjili nötron ışıını, BNCT başarısı için kritik olan kalın dokuların ve kafatasının penetrasyonuna izin verir. Radyasyon sonucu sağlıklı hücrelerden ziyade tümör hücrelerinin tahribatı söz konusudur. BNCT'nin etkinliği büyük ölçüde tümör hücrelerinde ^{10}B 'nin spesifik birikimine dayanır. Bu da çevredeki sağlıklı doku ve kanı korurken hedeflenen kanser hücrelerinin tahribatına neden olur (Hu vd., 2020). BNCT'nin mekanizması iki ana bileşenden oluşmaktadır. İlki ^{10}B izotopunu taşıyan bor bileşenidir. İkincisi düşük enerjili nötron kaynağıdır. Vücuda verilen bor bileşiği tümörlü hücrelerin içerisinde ya da çevresinde birikir. Bor izotopuna (^{10}B) nötron kaynağından nötronlar gönderilir. Bor izotopu nötronları yakaladıktan sonra parçalanır. Bu parçalanma sonucunda yüksek enerjili parçacıklar (^7Li ve ^4He) meydana gelir. Bu yüksek enerjili parçacıklar 4-5 μm ve 9-10 μm boyunca yol kat edebilmektedirler (Şekil 1.11). Yüksek enerjili tanecikler hücrenin DNA'sında çift sarmal kırıklarına yol açarlar fakat kısa mesafede etkinlikleri olduğu için tümörlü hücrelerden fazla uzaklaşamazlar ve yalnızca tümörlü hücreleri tahrip ederler. Bu sayede sağlıklı hücrelere zarar verememektedirler¹⁶. BNCT'ni diğer tedavi yöntemlerinden ayıran özellik tümör seçici olmasıdır. Başarılı bir BNCT tedavi elde etmek için, yaklaşık olarak verilmesi için gerekli olan $\sim 20\text{-}50 \text{ ug } ^{10}\text{B}$ tümör gramı başına B ($\sim 10^9$ atomuna / hücre) ve nüfuz etmelidir ve başlatmak için hücreler tarafından emilecek nötron yeterli bir miktarı ölümcül $^{10}\text{B}(\text{n}, \alpha)^7\text{Li}$ fisyon reaksiyonu olmalıdır (Hu vd., 2020).



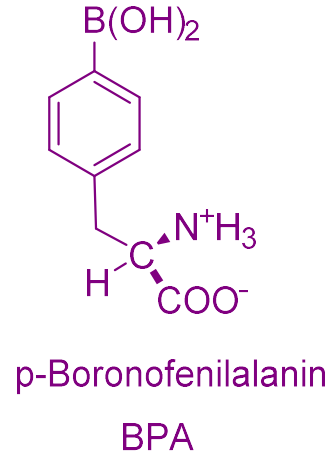
Şekil 1.11. BNCT (Hu vd., 2020).

BNCT'nin ikinci bileşeni düşük enerjili nötron kaynaklarını üretebilen reaktörler ve hızlandırıcılardır. Hızlandırıcılar aynı zamanda epitermal nötronları üretmek için de kullanılmaktadırlar. Günümüzde kullanımı daha az maliyetli hızlandırıcılar tercih edilmektedir. Reaktörler ise yüksek maliyetlidirler ve ülkemizde henüz mevcut değildir. Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, birkaç Avrupa ülkesi ve Arjantin'de çeşitli reaktörler mevcuttur (Moss, 2014).

1.7 Klinik Onaylı BNCT Ajanları

Klinik olarak onaylanmış iki adet BNCT ajanı mevcuttur. Bunlar sodyum borokaptat ($\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$, BSH) ve boronofenilalanindir (BPA) (Moss, 2014) (Şekil 1.12).

BNCT bir diğer ajanı BPA dihidroksifenilalanine (DOPA) kimyasal yapı olarak benzetmektedir. BPA malin melanom hücrelerinde kolaylıkla birikebilmektedir. BPA amino asit analogu olmasından kaynaklı hücre içerisine kolaylıkla alınabilmektedir. Kan-beyin bariyerini geçerek hücrede ve hücre çekirdeğinde birikmektedirler (Mukawa vd., 2011). Düşük toksisiteye sahiptirler.



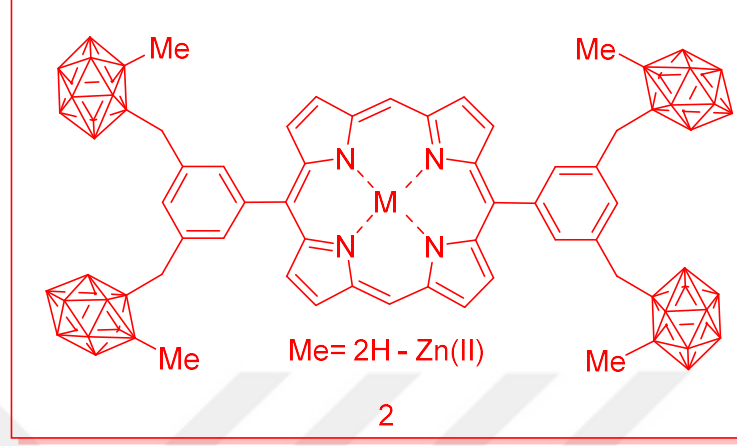
Şekil 1.12. Klinik onaylı BNCT ajanları.

İdeal bir BNCT ajanı (Onrat, 2004);

- radyoaktif olmamalı
- toksik olmamalı
- seçici olarak tümör hücrelerinde birikmeli
- sağlıklı hücelere zarar vermemeli
- biyoyumlu olmalı
- kısa süre içerisinde dokudan ve kandan uzaklařabilmelidir
- yüksek bor içeriğine sahip olmalıdır
- yeterli bor içeriğine sahip olmalıdır.

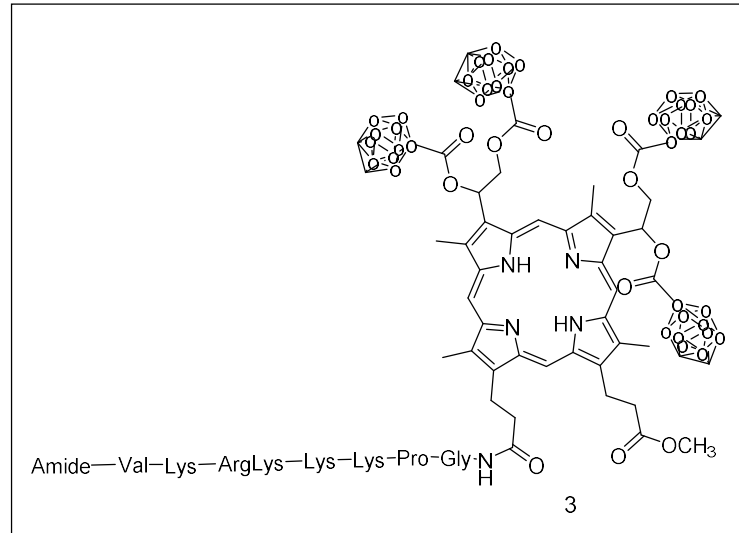
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Vicente vd. (2003) yılında 5,15-di [3,5- (o- karboranilmetil) fenil] porfirin sentezlemişlerdir (Şekil 2.1). BNCT için yeni bor dağıtım ajanı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Vicente vd., 2003).



Şekil 2.1. 5,15-di [3,5- (o- karboranilmetil) fenil] porfirin (Vicente vd., 2003).

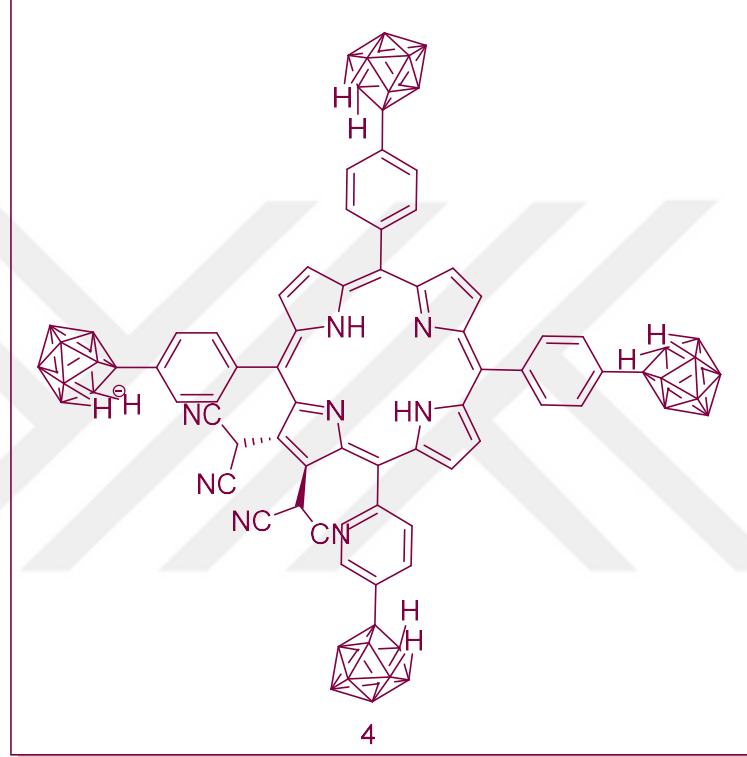
Dozzo vd. (2005) yılında bir peptit konjugatı (Porfirin NLS) sentezlemişlerdir (Şekil 2.2). Bu konjugat İn vitro ağırlıklı olarak düşük yoğunluklu lipoproteinlerle birleşmektedir. Bunun sonucunda NLS reseptörünün malign hücrelere potansiyel olarak seçici bir geçiş yolu sağlamaktadır (Dozzo vd., 2005).



Şekil 2.2. Porfirin NLS konjugatı (Dozzo vd., 2005).

Dozzo ve grubunun sentezlemiş oldukları porfirin NLS konjugatının görünür bölgede PDT yaptığına dair herhangi bir sonuca rastlanmamıştır.

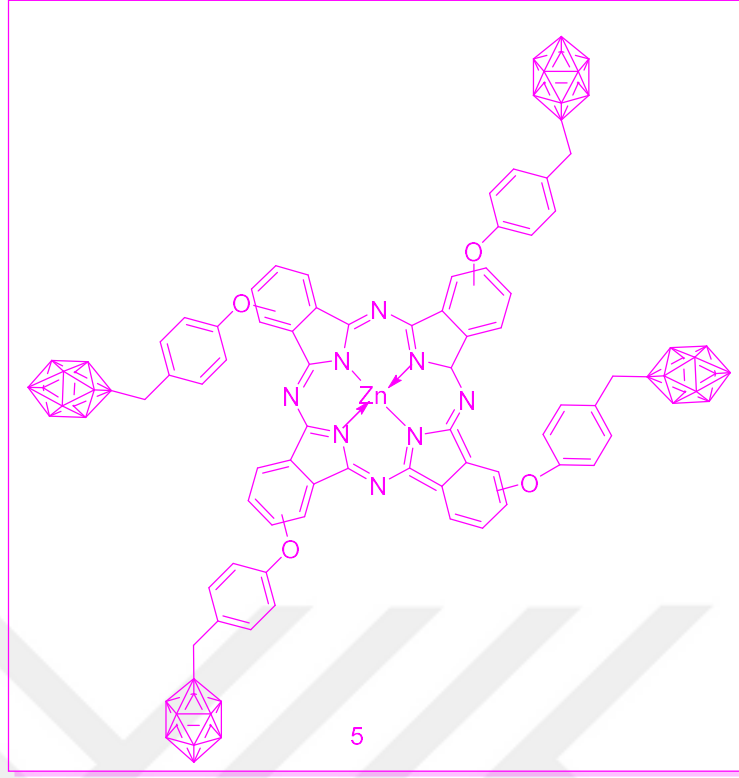
Luguya vd. (2006) yılında suda çözünebilen karboranilklorin sentezlemişlerdir (Şekil 2.3). Elde ettikleri karboronilklorinin karanlıkta düşük toksisiteye sahip olduğunu, ışık varlığında toksik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Karboranilklorin fototoksik olduğu, esas olarak lizozomlar içinde lokalize olan T98G hücreleri tarafından verimli bir şekilde alındığı ve karanlıkta toksik olmadığını belirlediklerinden, hem BNCT hem de PDT’de kötü huylu tedavi için ikili uygulama için umut verici bir duyarlılaştırıcı olduğunu belirtmişlerdir (Luguya vd., 2006).



Şekil 2.3. Karboranilklorin kompleksi (Luguya vd., 2006).

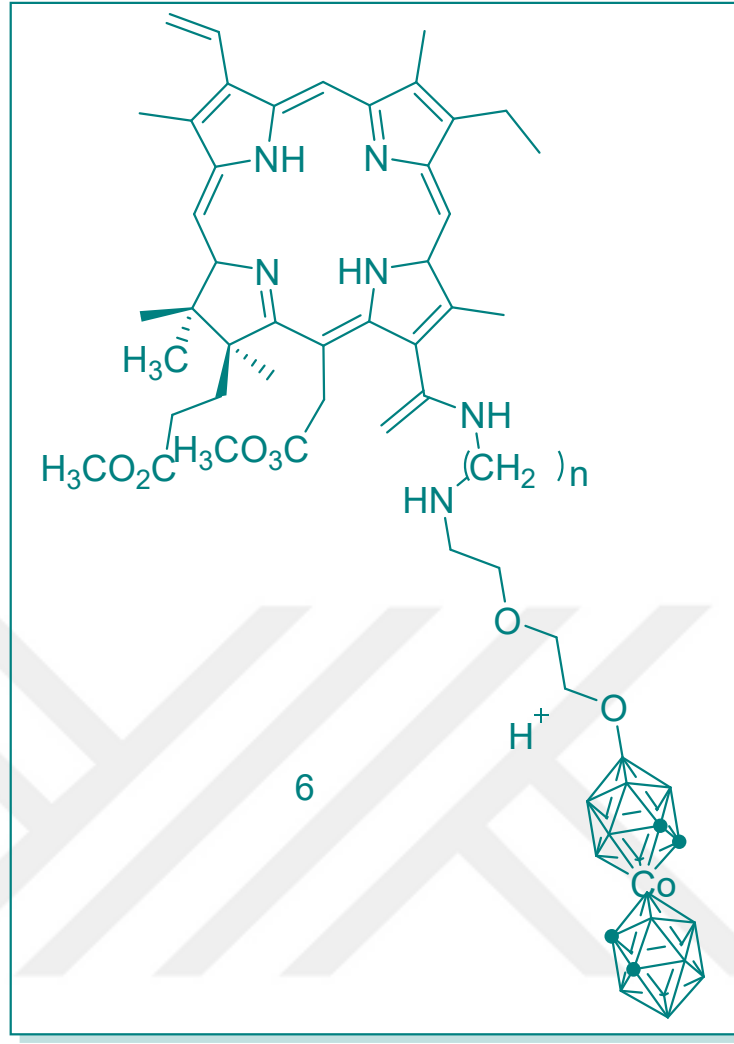
Luguya ve grubunun sentezlemiş oldukları karboranilklorin kompleksinin düşük ışık dozları altında toksik olduğu görülmektedir.

Friso vd. (2006) yılında sentezlemiş oldukları ZnB_4Pc , terapötik olarak tümör hedefleme ve PDT özellikleri gösterdiğini bildirmişlerdir (Şekil 2.4) (Friso vd., 2006).



Şekil 2.4. ZnB₄Pc yapısı (Friso vd., 2006).

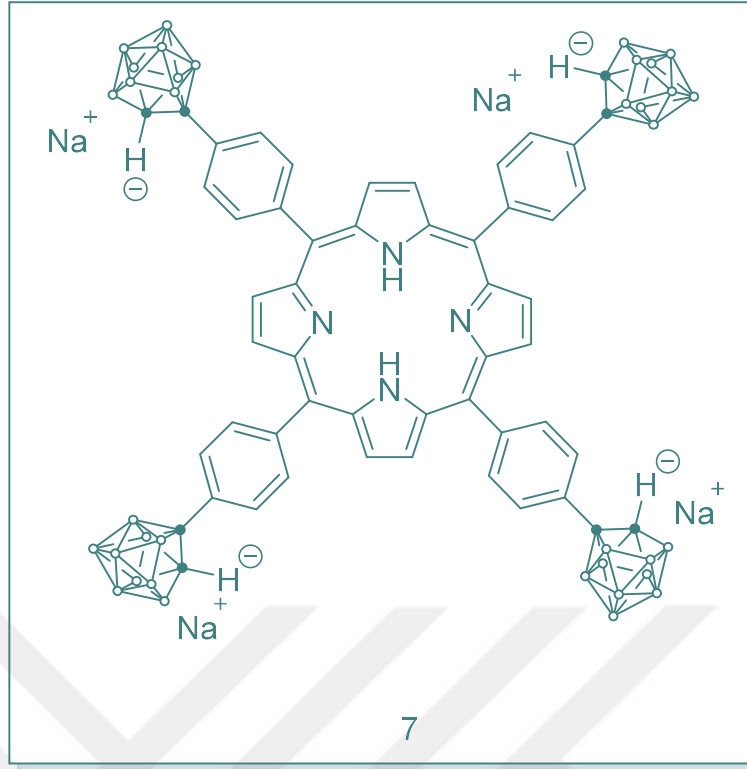
Efremenko vd. (2013) klorin e₆ türevleri ile kobalt-bis (dikarbollid) konjugatını geliştirmişlerdir (Şekil 2.5). Bu konjugatın tümör hücrelerinde yüksek miktarlarda bor dağıtımına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Elde ettikleri konjugatın kanser hücrelerinin ışıkla indüklenerek öldürülmesinde etkin olduğunu bildirmişlerdir (Efremenko vd., 2014).



Şekil 2.5. Kobalt-bis (dikarbollid) konjugatı (Efremenko vd., 2014).

Efremenko ve grubunun sentezlemiş oldukları kobalt-bis (dikarbollid) konjugatının suda çözünür olmaması en büyük dezavantajıdır.

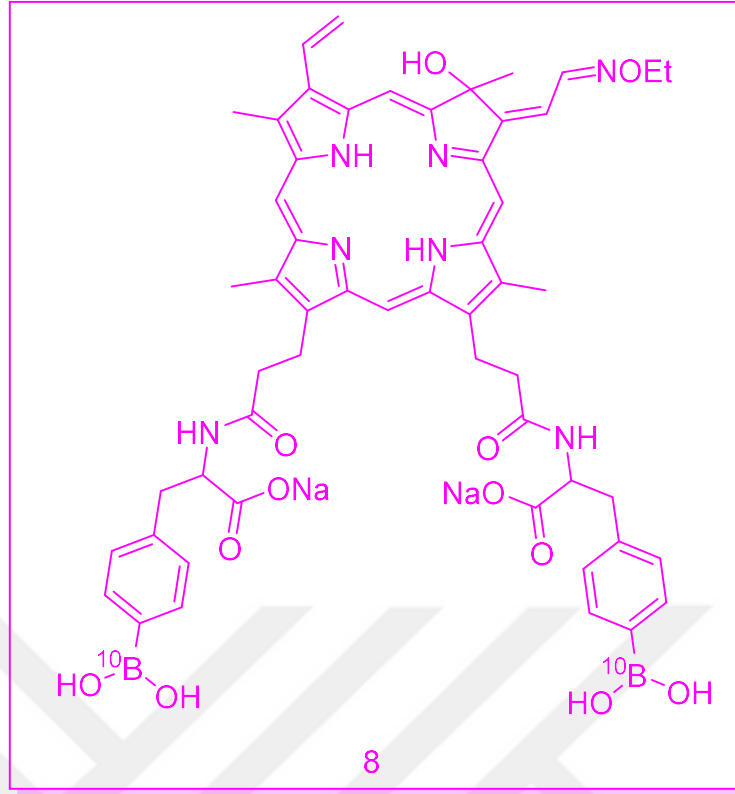
Jori vd. (2009) yılında nido-carboranylphenyl porfirin (H_2TCP) sentezlemişlerdir (Şekil 2.6). FDT ve BNCT için uygun bir ajan olabileceğini ifade etmişlerdir (Jori vd., 2009).



Şekil 2.6. Nido-carboranylphenyl porfirin yapısı (H₂TCP) (Jori vd., 2009).

Jori ve grubunun sentezlemiş olduğu H₂TCP'nin serum, karaciğer ve dalakta yalnızca eser miktarda porfirine rastlanmıştır. Bu da H₂TCP'nin genel kan dolaşımına sızdığını göstermektedir.

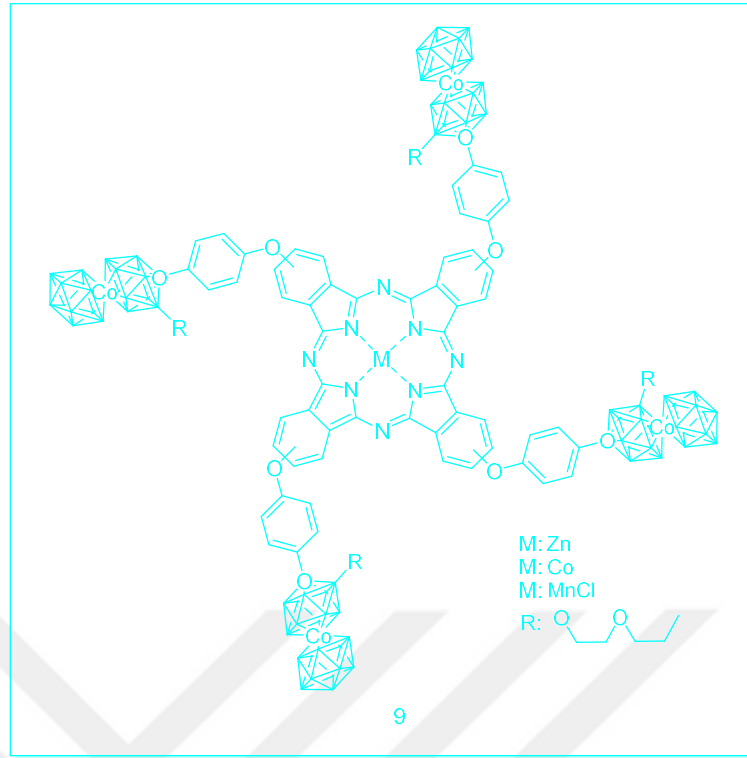
Asono vd. (2014) yılında yapmış oldukları bor içeren aynı zamanda suda çözünebilen klor türevi olan boronofenilalaninin (Şekil 2.7) iyi bir tümör seçici olduğunu ve normal doku hücrelerinden hızlı bir şekilde atılabildiklerini belirtmişlerdir. Bileşiğin FDT üzerinde etkisin olumlu olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 2.7. Bor içeren klor türevi (Asano vd., 2014).

Asono ve grubunun elde ettikleri bor içeren klor türevinin BNCT’de kullanılabilecek hale gelmesi için uygun dozunun optimize edilmediği görülmektedir. Gerekli bor konsantrasyonunun ilerleyen çalışmalarda belirleyeceklerini bildirmişlerdir (Asano vd., 2014).

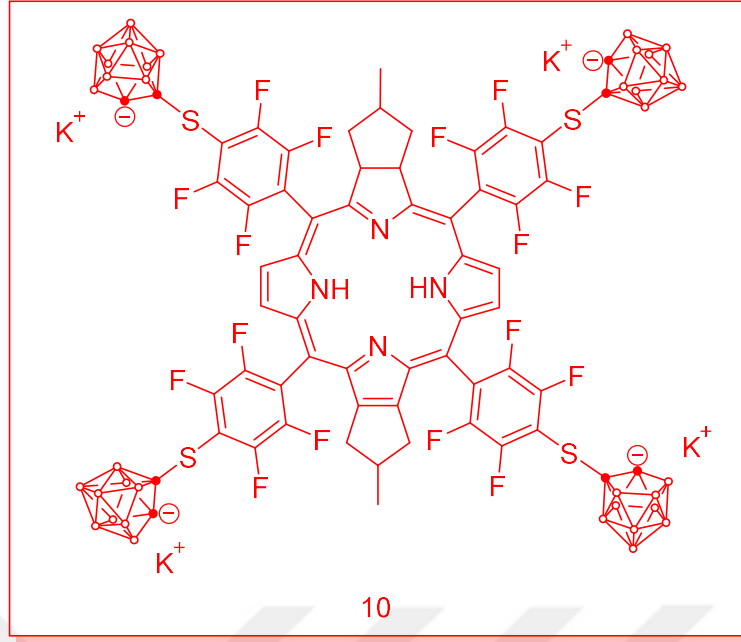
Nar vd. (2015) metalo-ftalosiyenin kompleksi sentezlemişlerdir (Şekil 2.8). Kobalt karboran birimlerinin metalo-ftalosiyeninlerin redoks zenginliğini genişlettiğini bildirmişlerdir. Çinko ftalosiyenin fotofiziksel özelliklerinin tümörlerin PDT ve BNCT tedavisinde ikili duyarlılaştırıcılar olarak potansiyel uygulamaya sahip olabileceğini göstermişlerdir (Nar vd., 2015).



Şekil 2.8. Metalo-ftalosiyenin kompleksi (Nar vd., 2015).

Nar ve grubunun sentezlemiş oldukları metalo-ftalosiyenin düşük çözünürlüğe sahip olduğu görülmektedir. Çözünürlüğüne bağlı olarak elde ettikleri maddelerin verimlerinin düşük olduğunu görmekteyiz.

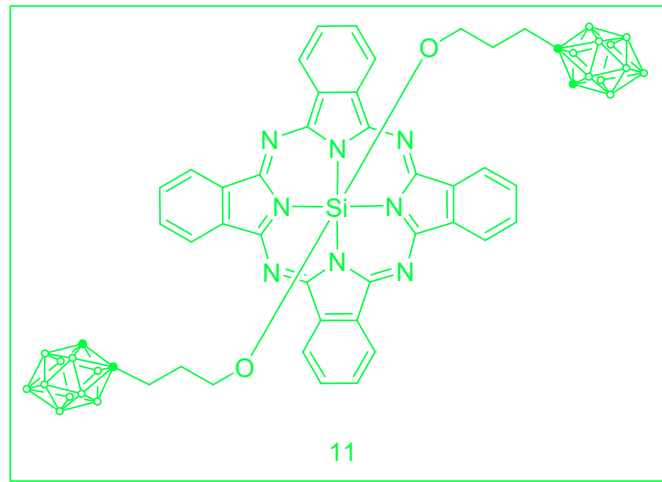
Hiramitsu vd. (2015) yılında tetrakis (*p* –Karboraniltio-Tetraflorofenil) klor (TPFC) sentezlemişlerdir (Şekil 2.9). Elde ettikleri TPFC’nin F98 sıçan gliomalarının FDT ve BNCT’si için umut verici bir ikili terapi ajanı olduğunu belirtmişlerdir (Hiramitsu vd., 2015).



Şekil 2.9. p –Karboraniltio-Tetrafluorofenil klor (TPFC) (Hiramatsu vd., 2015).

Hiramatsu ve grubunun sentezlemiş oldukları TPFC'nin *in vitro* çalışmalarda yüksek derecede fototoksik olduğu ve hücre çekirdeklerinin yakınında lokalize olduğu görülmektedir.

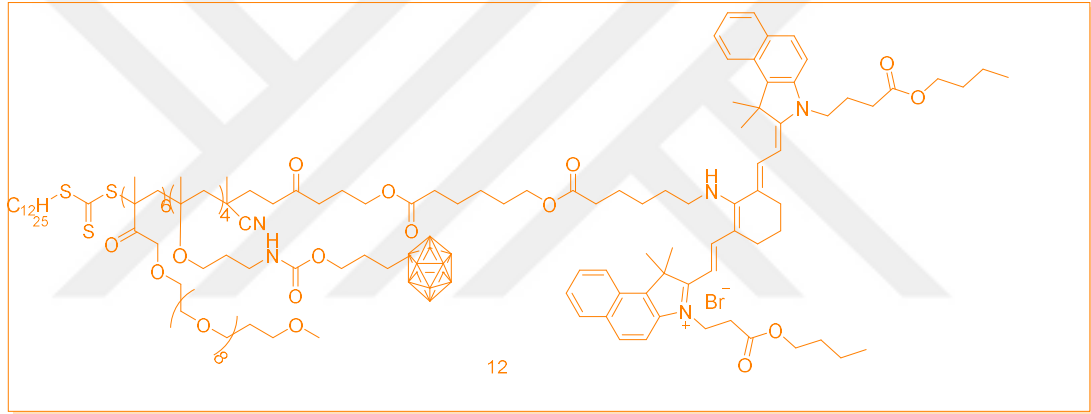
Atmaca vd. (2015) yılında bor içeren silikon ftalosiyanın sentezlediklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.10) (Atmaca vd., 2015). Silikon ftalosiyanın kompleksinin kullanılan singlet oksijen kuantum verim değeri, literatürdeki ftalosiyanın türevlerine kıyasla daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.



Şekil 2.10. Silikon ftalosiyanın (Atmaca vd., 2015).

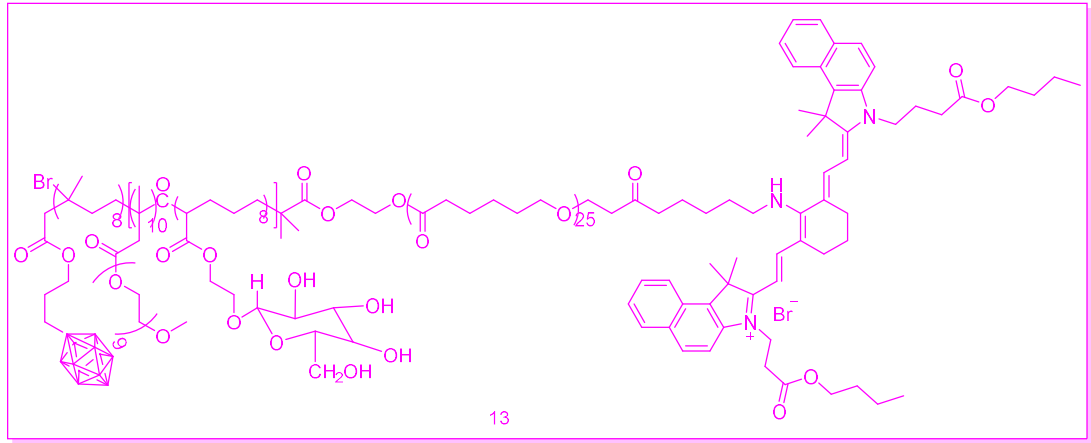
Atmaca ve grubunun sentezlemiş olduğu silikon ftalosiyanınin organik çözücülerde analizlerinin yapıldığı görölmektedir. Suda çözünürlüğü hakkında herhangi bir bilgi yer almamaktadır. Aynı zamanda silikon ftalosiyanınin sitotoksitesinin olup olmadığı bilinmemektedir.

Ruan vd. (2016) yılında yakın kızılötesi (NIR) floresan probu ile konjuge edilmiş bir karboran içeren üç bloklu kopolimer sentezlediklerini ifade etmişlerdir (Şekil 2.11). Elde ettikleri bu kopolimerin, NIR bölgesinde yüksek fluorensanlı miseller halinde kendi kendine birleşebilir olduğunu belirtmişlerdir. MTT çalışmaları sonucunda kopolimerin biyoyumlu olduğunu ve kanser veya normal hücrelerdeki nanopartiküllerin endositozunun floresan mikroskobu aracılığıyla izlenebileceğini göstermişlerdir (Ruan vd., 2016).



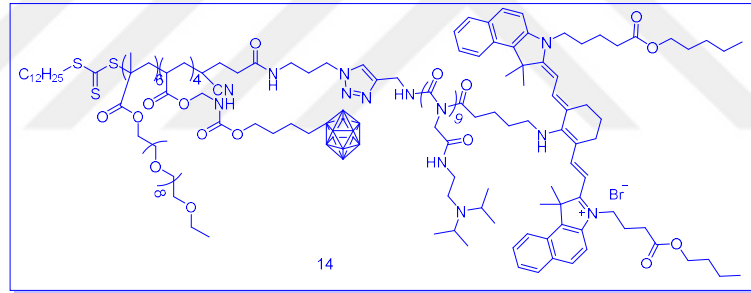
Şekil 2.11. Karboran içeren üç bloklu kopolimer (Ruan vd., 2016).

Ruan (2018,a) yılında karboran içeren galaktoz hedefli glikopolimer sentezlediklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.12). Elde edilen kopolimerin HepG2 hücreleri için sitotoksik etki göstermediğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda bu kopolimer NIR aralığında güçlü emisyon göstermektedir (Ruan vd., 2018,a).



Şekil 2.12. Galaktoz hedefli glikopolimer (Ruan vd., 2018,a).

Ruan (2018,b) yılında pH duyarlı karboran ve siyaninin boya konjuge polipeptit ve miseller sentezlediklerini bildirmişlerdir (Şekil 2.13). Potansiyel olarak yakın kıızılötesi floresan görüntülemeye BNCT’de kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Ruan vd., 2018,b).



Şekil 2.13. pH duyarlı karboran ve siyanin boya konjuge polipeptit ve miseller (Ruan vd., 2018,b).

Bu tez kapsamında hedeflenen ajanın karboran ve siyanin boyası içermesi sayesinde hem oldukça dayanıklı (kararlı) olması hem de potansiyel olarak BNCT ajanı olarak görev yapması, hem de FDT ajanı olarak işlev görmesi ve hastalıklı dokuları hedefleyerek, sağlıklı dokulara hiçbir zarar vermeden teranostik etki göstermesi beklenmektedir.

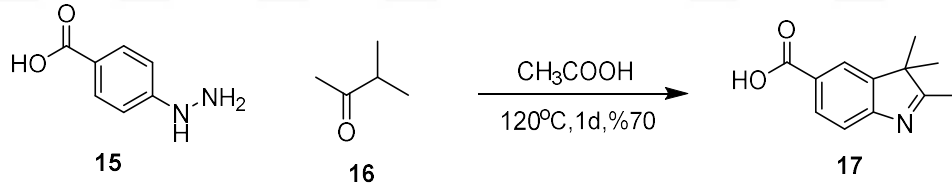
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Kullanılan kimyasal malzemeler ve çözücüler Aldrich ve Merck firmalarından temin edilmiştir. Çözücüler literatürde bilinen yöntemler ile saflaştırılmıştır (Vogel vd., 1989).

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK), Merck 0,2 mm silika jel 60 F254 Analitik Alüminyum Plakalar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Fourier Dönüşümlü Kırmızı Ötesi Spektrofotometresi (FTIR) spektrumları ID5 ATR aparatlı Thermoscientific Nicolet IS5, soğurma spektrumları Varian Cary 50 model Morötesi ve Görünür Işık (UV-Vis) ve emisyon (yayınma) ölçümleri ise Varian Cary Eclipse Fluorescence spektrofotometre cihazlarıyla kaydedilmiştir. Hidrojen Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi (^1H NMR) (600, 400, 300 MHz) ve Karbon Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi (^{13}C NMR) (150 veya 75 MHz) spektrumları FT-NMR cihazları kullanılarak elde edilmiştir.

3.2 2,3,3-trimethyl-3H-indole-5-carboxylic acid (17) Sentezi

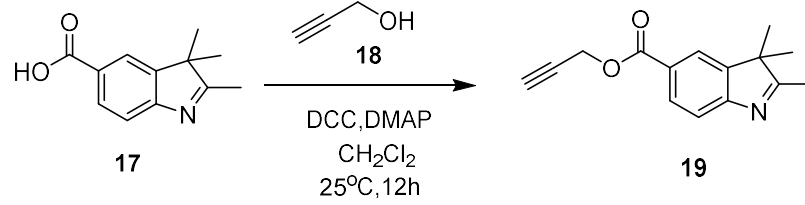


Şekil 3.1. Bileşik 17 sentezi.

100 mL'lik balona bileşik 15 (456 mg, 0,65 mmol) asetik asit ile çözüldü. Üzerine bileşik 16 (0,460 mL, 1,15 mmol) ilave edilerek 118°C'de ısıtıldı. Tepkime İTK ile takip edildi. 24 saat sonunda karışım oda sıcaklığında soğutuldu. Çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Kristallendirme yapıldı (9:1 metanol:su). Kristallenme sonunda madde CH₂Cl₂ ve saf su ile çekme işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem 3-4 defa tekrarlandı. CH₂Cl₂ döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Madde vakum altında kurutuldu (Pavlik, C. vd., 2011). Kahverengi katı madde elde edildi. %43, e.n. 210°C. ^1H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 11.65 (s, 1H), 8.15 (dd, J = 8.1, 0.8 Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.66 (m, 1H), 2.39 (s, 3H), 1.36 (s, 6H). ^{13}C NMR

(151 MHz, CDCl₃) δ 192.52, 170.81, 156.63, 145.15, 130.61, 127.50, 123.31, 119.13, 53.28, 22.66, 15.39.

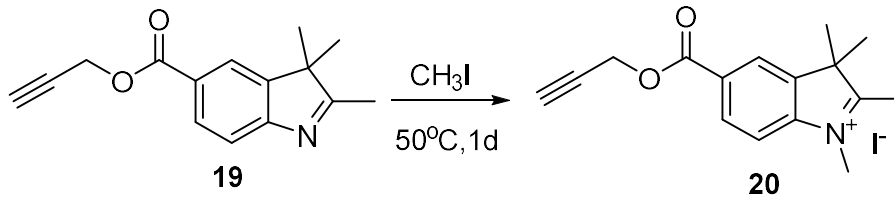
3.3 prop-2-yn-1-yl 2,3,3-trimethyl-3H-indole-5-carboxylate (19) Sentezi



Şekil 3.2. Bileşik 19 sentezi.

50 mL'lik balona bileşik 17 (203 mg, 1 mmol) tartılıp alındı. Bileşik 18 (84 mg, 1,2 mmol) üzerine eklendi. DCC (206 mg, 1 mmol) ve DMAP (122 mg, 1 mmol) tartılıp eklendi. 20mL diklorometan içerisinde çözülerek oda sıcaklığında 1 gün boyunca karıştırıldı. 24 saatin sonunda çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Ürün kolon kromatografisi yardımıyla (hekzan:etil asetat 3:1) saflaştırıldı. Çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Vakum altında kurutuldu. Sarı renkte katı madde elde edildi (Tang vd., 2017). %62 verim ile elde edildi e.n. 127°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.99 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.94 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 2.53 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 1.34 (s, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 192.01, 165.99, 158.13, 145.82, 130.46, 126.10, 122.92, 119.75, 95.68, 74.93, 53.92, 52.40, 22.86, 15.74.

3.4 Bileşik 20 Sentezi

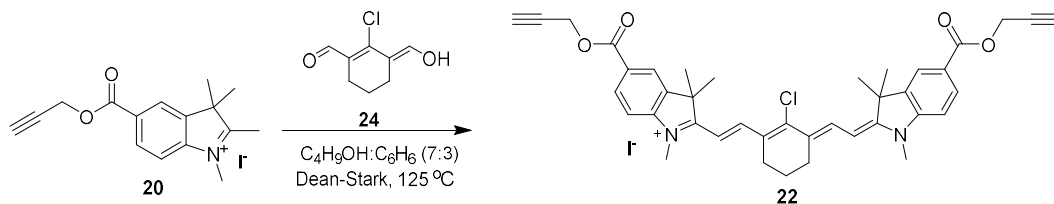


Şekil 3.3. Bileşik 20 sentezi.

50 mL yuvarlak dipli bir balona bileşik 20 (100 mg, 0.414 mmol) ile metil iyodür (4.14 mmol, 2,57 ml) alındı ve karışım geri soğutucu altında 50°C'ye ısıtılarak karıştırıldı. Tepkime İTK ile takip edildi. Başlangıç maddesi bileşik 20 bitince ortama eter ilave edilerek çöktürme yapıldı. Krem rengi katı elde edildi; %80 verim,

e.n. 218 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.32 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.75 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.99 (d, J = 2.1 Hz, 2H), 4.31 (s, 3H), 3.16 (s, 1H), 2.58 (s, 3H), 1.75 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 164.21, 145.29, 141.60, 131.69, 131.30, 124.55, 115.37, 77.23, 75.76, 55.08, 53.32, 37.56, 23.14, 17.60. ESI-MS (M^+) $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2^+$; m/z (hesaplanan): 256.13, m/z (ölçülen): 255.95

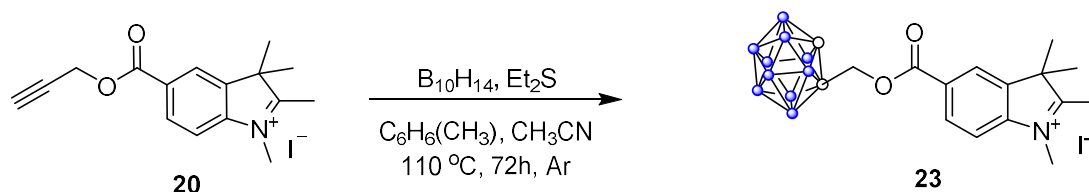
3.5 Bileşik 22 Sentezi



Şekil 3.4. Bileşik 22 sentezi.

50 mL'lik yuvarlak dipli balona bileşik **20** (80 mg, 0,208 mmol) tartılıp alındı. Bileşik **21** (18 mg, 0,104 mmol) tartılıp eklendi. 7:3 bütanol benzen dean stark ile karışım 4 saat boyunca 125°C ısıtıldı. Saat başı İTK ve UV-Vis ile spektrum kontrol edildi. 4 saatin sonunda 800 nm absorbands verdiği gözlemlendi. Karışım oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Geriye kalan kısım dietileter ile yıkandı. Vakum altında kurutma yapıldı. Yeşil renkte katı madde elde edildi. %80 verim e.n. 241°C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.39 (d, J = 14.0 Hz, 2H), 8.16 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.04 (s,), 7.21 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.41 (d, J = 14.1 Hz, 2H), 4.96 (d, J = 2.3 Hz, 3H), 3.82 (s, 6H), 2.83 (s, 4H), 2.55 (t, J = 2.3 Hz, 1H), 1.76 (s, 12H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 173.44, 165.05, 151.72, 146.82, 144.99, 141.04, 131.58, 130.05, 125.96, 123.63, 110.44, 103.54, 75.24, 52.70, 48.95, 32.99, 28.10, 26.93, 20.59. ESI-MS (M^+) $\text{C}_{40}\text{H}_{40}\text{ClN}_2\text{O}_4$; m/z (hesaplanan): 647.27, m/z (ölçülen): 647.11

3.6 Bileşik 23 Sentezi

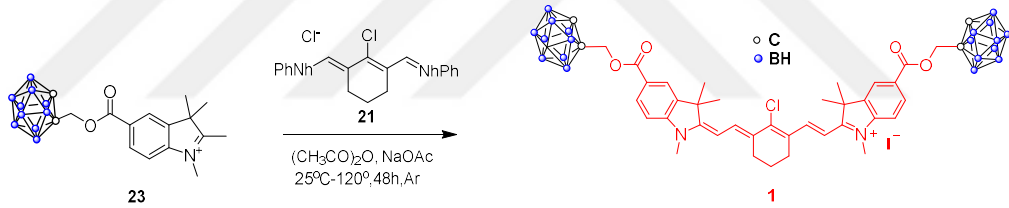


Şekil 3.5. Bileşik 23 sentezi.

25mL'lik yuvarlak dipli balon içerisine bileşik **20** (70 mg, 0,182 mmol) ve dekaboran (44 mg, 0,365 mmol) tartılıp eklendi. Kuru asetonitril (10 mL) ve toluen (5 mL) içerisinde çözüldü. Oda sıcaklığında yarım saat argon atmosferi altında karıştırıldı. Üzerine bileşik Et₂S (265mg, 0,455mmol) 1 mL toluen içerisinde çözülüp karışımın içerisine damla damla eklendi. Karışım üç gün boyunca 110°C ısıtıldı. İTK ile tepkime takip edildi. Döner buharlaştırıcı yardımıyla çözücü uzaklaştırıldı. Ürün kolon kromatografisi yardımıyla saflaştırıldı (hekzan etil asetat, 5:1). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.81 (d, 1H), 7.62 (s, 1H), 6.44 (d, 1H), 4.74 (s, 2H), 3.90 (s, 1H), 3.19 (m, 1H), 2.82 (s, 3H), 2.28 (m, 10H), 1.31 (s, 3H), 1.21 (d, 3H), 1.08 (s, 3H)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 165.29, 133.11, 131.98, 131.43, 123.99, 122.75, 121.94, 108.84, 77.22, 77.01, 76.80, 72.61, 64.62, 64.43, 59.48, 42.81, 30.17, 30.05, 29.69, 29.36, 28.58, 27.01, 26.69, 26.02, 23.32, 23.12, 22.84, 22.69, 12.45, 11.62

3.7 Bileşik 1 Sentezi



Şekil 3.6. Bileşik 1 sentezi.

10 mL'lik yuvarlak dipli balon içerisine bileşik **23** (30 mg, 0,08 mmol) ve bileşik **21** (Hyun vd., 2012) (6,9 mg, 0,04 mmol) eklendi. 500 uL asetik anhidrit eklendi. Oda sıcaklığında argon atmosferi ile 2 saat boyunca karıştırıldı. 2 saatin sonunda karışım 120°C ısıtıldı. İTK ile tepkime takip edildi. 2 günün sonunda karışım oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Döner buharlaştırıcı yardımıyla çözücü uzaklaştırıldı. Ürün kolon kromatografisi yardımıyla saflaştırıldı (tolüen:THF, 5:1). C₄₀H₆₂B₂₀ClN₂O₄⁺ için hesaplanan m/z (MALDI-TOFF): 885,74 [M⁺],ölçülen m/z: 887,63[M⁺].

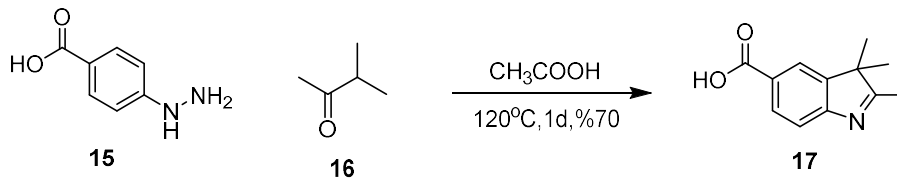
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada karboranlar ve heptametin siyanin boyaları rasyonel bir tasarımla bir araya getirilerek yeni nesil teranostik ajanlar için jenerik bir platform oluşturulması hedeflenmiştir. Elde edilen platform ile karboranların ve siyaninlerin optik, elektronik, termal, nükleer vb. önemli özellikleri melez yeni bir yapı **1** altında toplanacaktır.

Literatürde karboran içeren yapılar bulunmasına rağmen NIR bölgede absorbans ve emisyon verebilen, FDT yapabilen malzemeler çok azdır. Bildirilen malzemelerin de çözünürlük problemi olduğu görülmektedir. Hedef yapının elde edilmesi için karboran ve siyanin içeren iki farklı ünite ayrı ayrı sentezlenip birleştirilmiştir. Hedef yapının karboran içermesi sayesinde hem oldukça dayanıklı (kararlı) olması potansiyel olarak BNCT ajanı olarak işlev görmesini siyanin boyası içermesi sayesinde FDT ajanı olarak işlev görmesini sağlayacaktır. Aynı zamanda hedef yapının hastalıklı dokuları hedeflemesi, sağlıklı dokulara hiçbir zarar vermeden teranostik etki göstermesi beklenmektedir. Bu doğrultuda 5 basamaktan oluşan genel sentez şeması izlenerek hedef yapı **1** sentezlenmiştir.

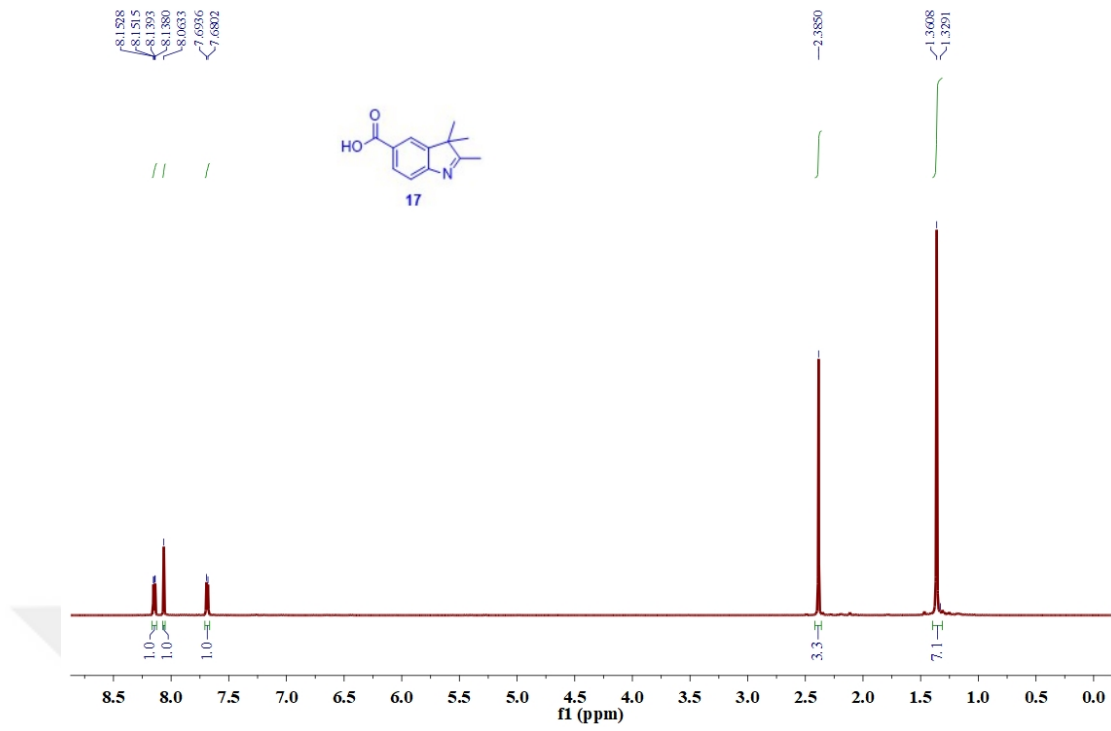
4.1 Hedeflenen Yapının Sentezi

Bu amaçla karboksifenilhidrazin **15** ile 3-metil-2-bütanon (**16**) asit katalizörlüğünde etkileştirilerek indolin **17** elde edildi.

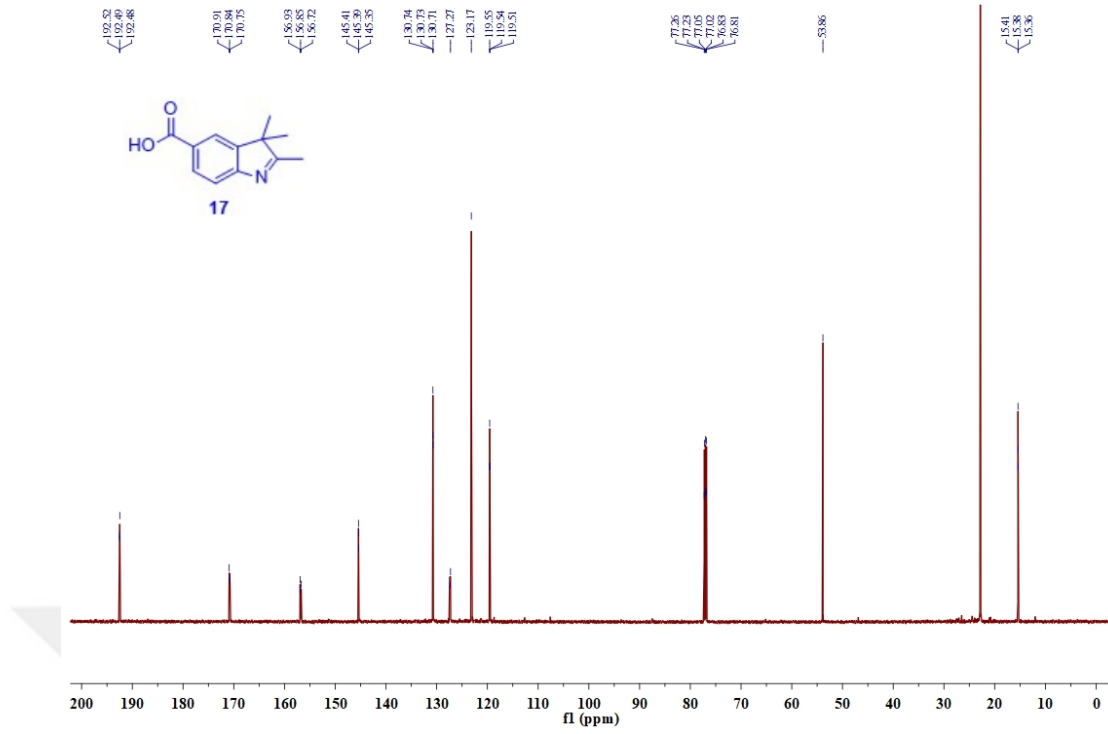


Şekil 4.1. Bileşik **17** sentez şeması.

İndolinin **17** yapısı ¹H (Şekil 4.2) ve ¹³C NMR (Şekil 4.3) spektrumları üzerinden doğrulanmıştır. Spektral verilerin literatürle uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

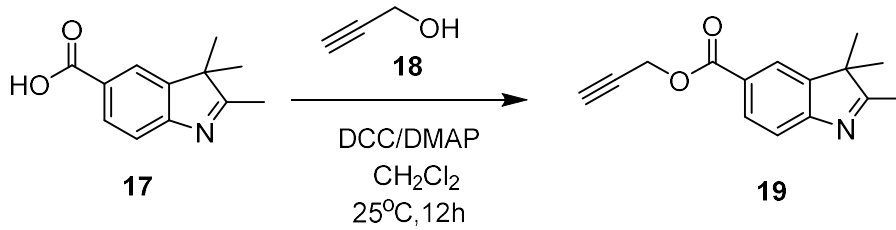


Şekil 4.2. Bileşiğin 17 ¹H NMR Spektrumu (600 MHz, CDCl₃).



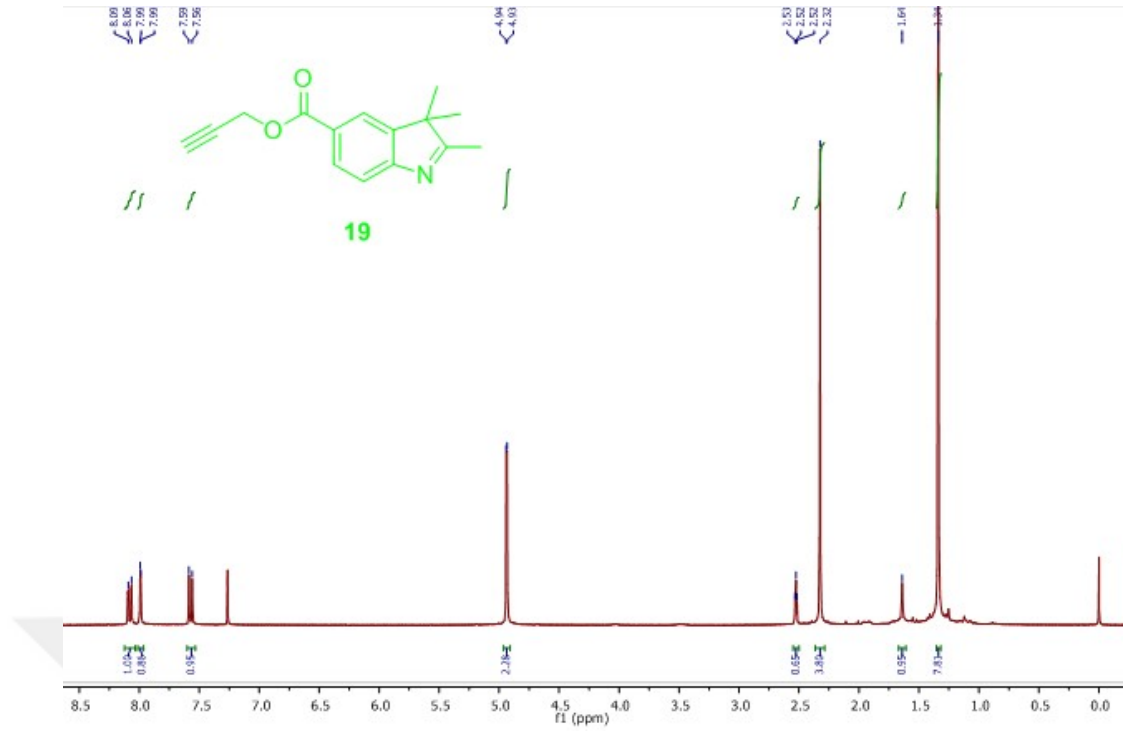
Şekil 4.3. Bileşiğin 17 ¹³C NMR Spektrumu (151 MHz, CDCl₃).

İkinci basamakta elde edilen indolin 17, DCC ve DMAP varlığında propargil alkol 18 ile etkileştirildi (Şekil 4.4).

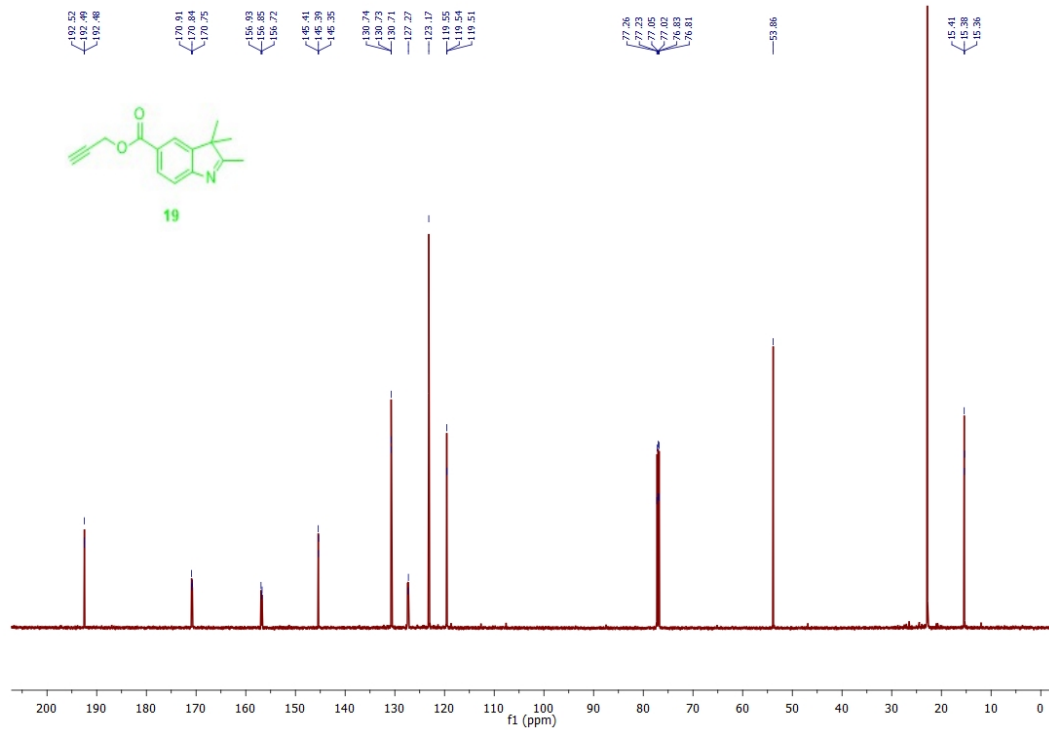


Şekil 4.4. Bileşik 19 Sentez Şeması.

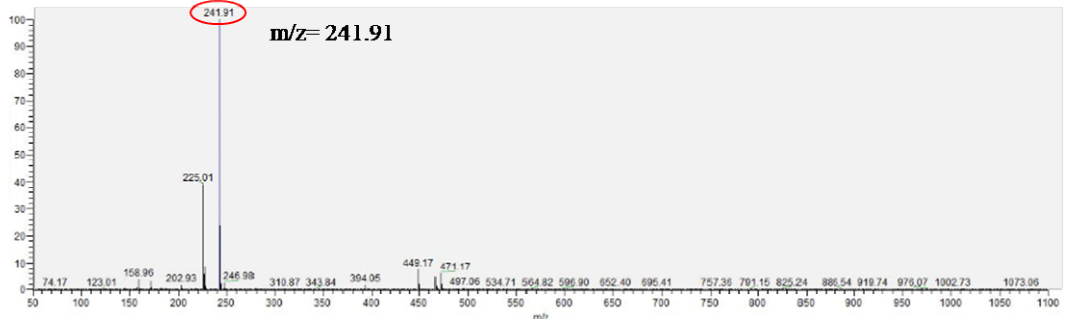
Esterin ¹H NMR spektrumu (Şekil 4.5) incelendiğinde 4.94 ppm'de propargil metilenine (-CH₂) ve 2.53 ppm'de metin protonuna ait sinyaller gözlemlendiği önemle not edilmelidir ki bu da esterleşmenin gerçekleştiğine işaret etmektedir. Ayrıca onüç sinyalden oluşan ¹³C NMR spektrumu (Şekil 4.6) ve m/z: 241.91 değerindeki LCMS (Şekil 4.7) spektrumunun yapıyı doğruladığı belirtilmelidir.



Şekil 4.5. Bileşiğin 19 ¹H NMR Spektrumu (600 MHz, CDCl₃).

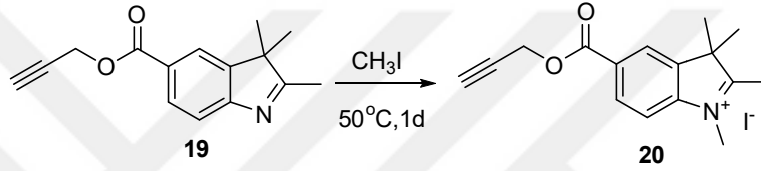


Şekil 4.6. Bileşiğin 19 ¹³C NMR Spektrumu (151 MHz, CDCl₃).



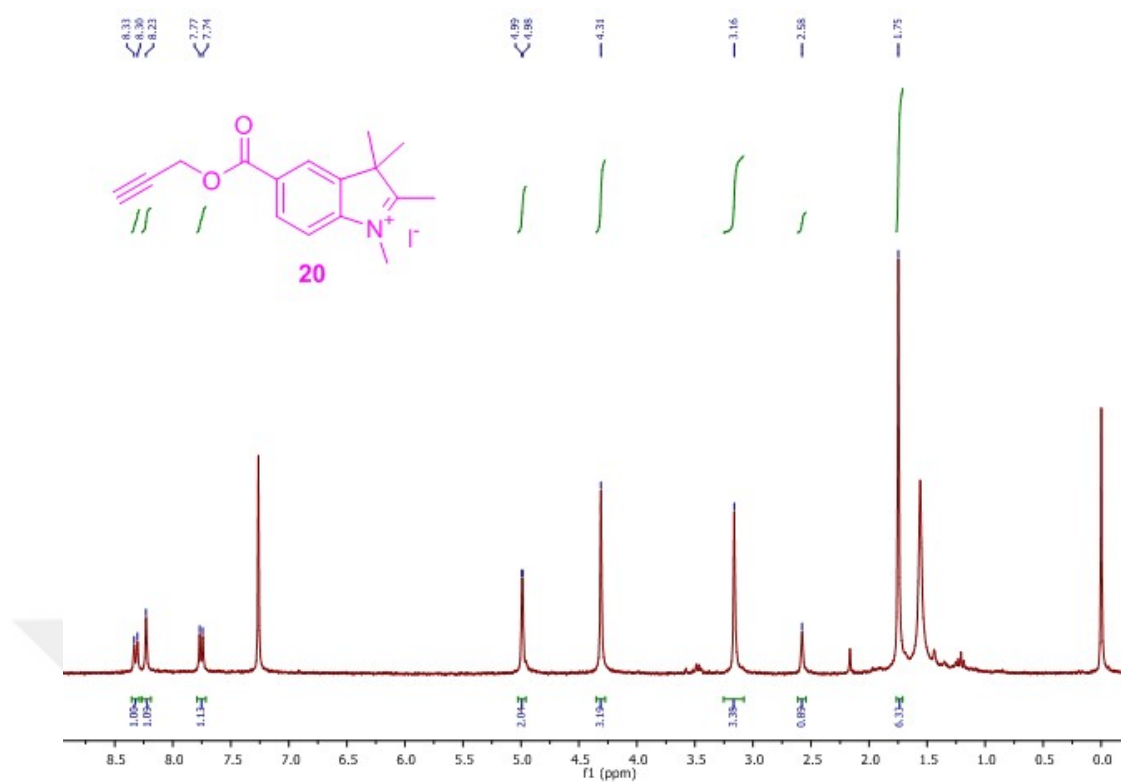
Şekil 4.7. Bileşiğin 19 LCMS spektrumu.

Bileşik 19 ve metil iyodür 50°C'yi geçmeyecek şekilde geri soğutucu altında 1 gün boyunca karıştırılarak metilleme reaksiyonu gerçekleştirildi (Şekil 4.8).

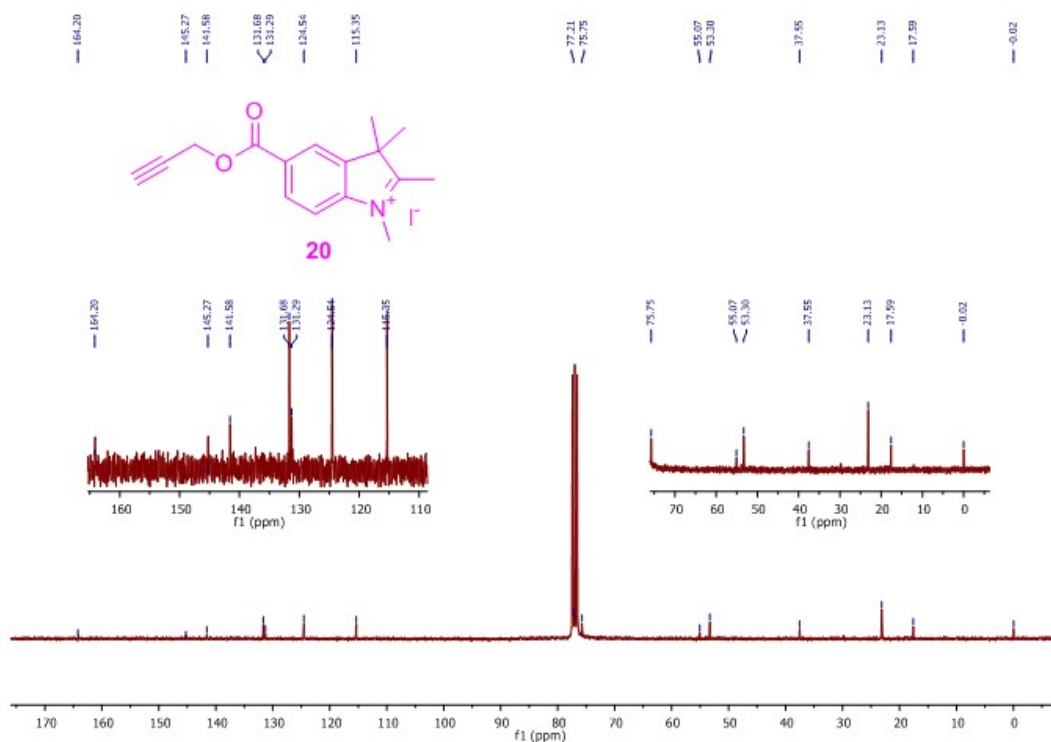


Şekil 4.8. Bileşik 20 Sentez Şeması.

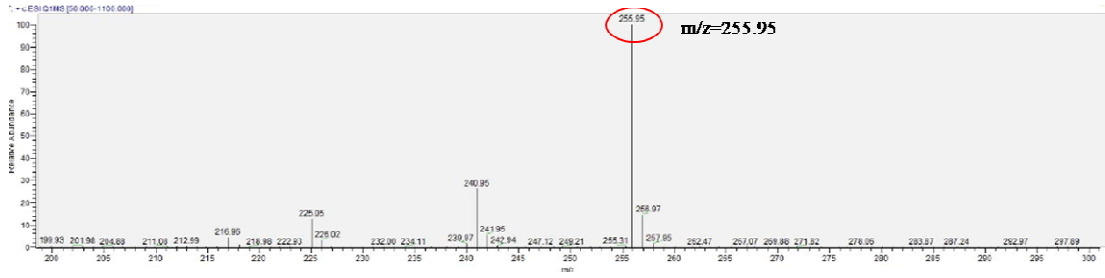
Bileşiğin yapısı ^1H NMR (Şekil 4.9), ^{13}C NMR (Şekil 4.10) ve LCMS kütle spektrumları (Şekil 4.11) ile doğrulanmıştır. ^1H NMR spektrumuna bakıldığında alkin indolinin 5.0 ppm'de gelen pik propargil metilenine ($-\text{CH}_2$) ve metilleme reaksiyonuna ait azota bağlı olan metil grubunun 3 protonu 4.35 ppm civarında ($-\text{N}^+-\text{CH}_3$) gözlemlenmiştir. Aromatik bölgede gelen 2 adet dublet ve 1 adet singlet pik aromatik halkadaki protonlara aittir. ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında 14 adet farklı kimyasal ve fiziksel ortama sahip C atomuna ait pikler yapının doğruluğunu göstermektedir.



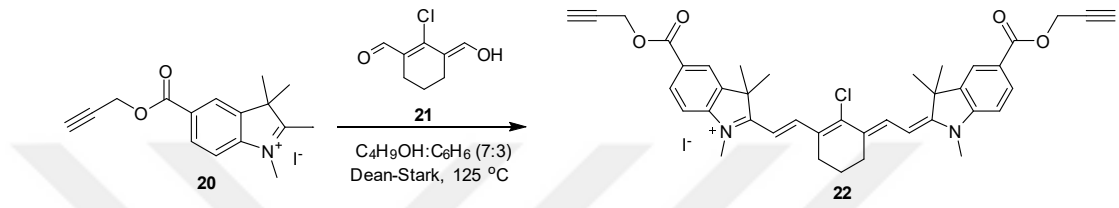
Şekil 4.9. Bileşiğin 20 ^1H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl_3).



Şekil 4.10. Bileşiğin 20 ^{13}C NMR spektrumu (101 MHz, CDCl_3).

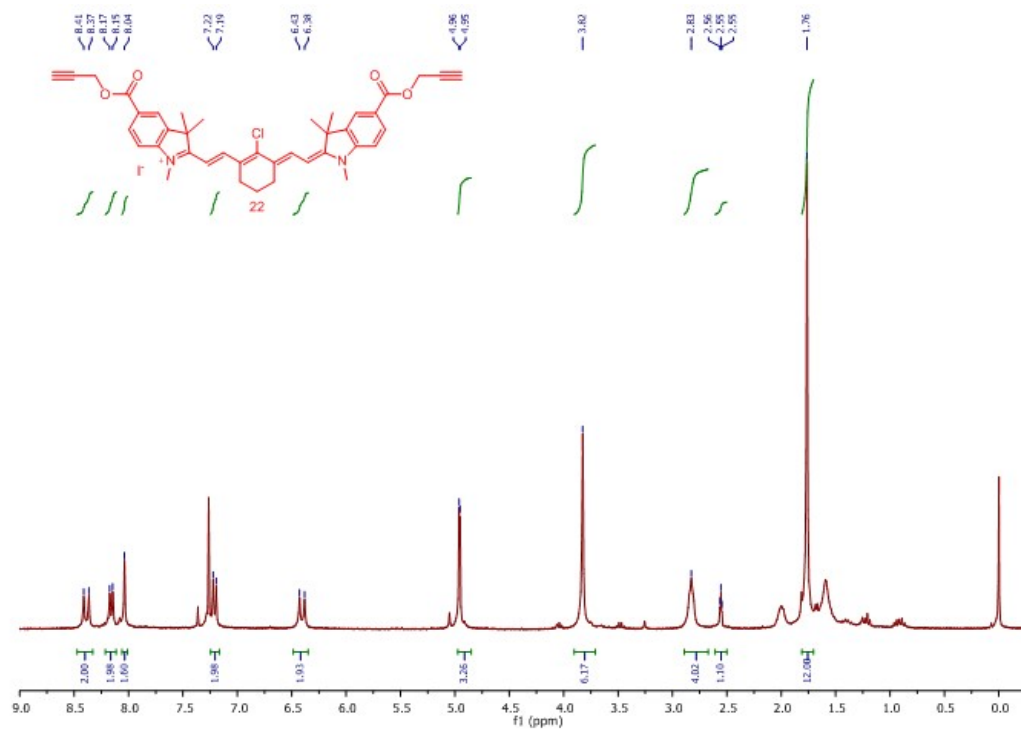


Şekil 4.11. Bileşiğin **20** LCMS Kütle Spektrumu.

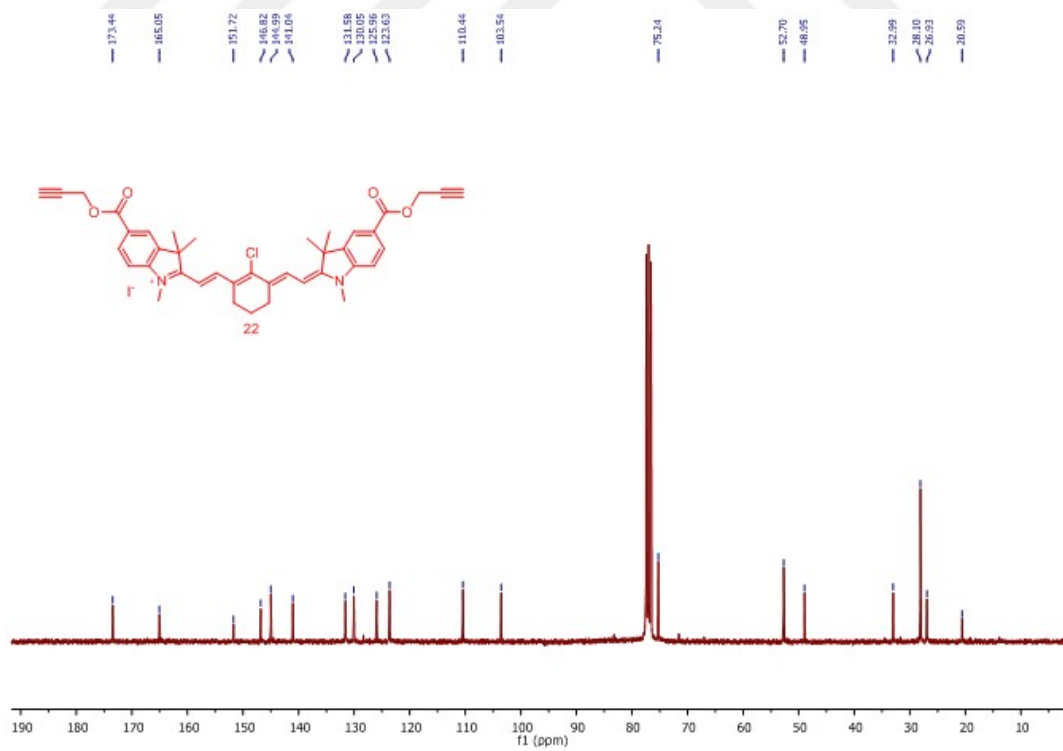


Şekil 4.12. Bileşik **22** Sentez Şeması.

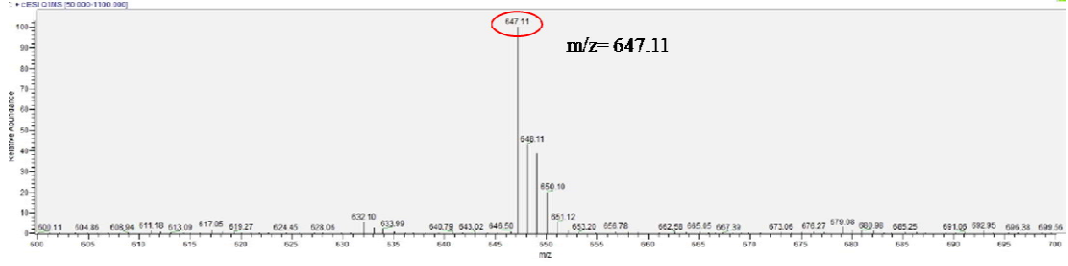
Elde edilen **20** ile bisaldehit **21** bütanol-benzen karışımında Dean-Stark tuzağı kullanılarak 125°C'ye ısıtılmıştır (Şekil 4.12). Ardından yapılan saflaştırma işlemleri neticesinde bileşik **22** elde edilmiştir. Bileşik **22** yapısı ^1H NMR (Şekil 4.13), ^{13}C NMR (Şekil 4.14) ve kütle spektrumu (Şekil 4.15) ile doğrulanmıştır.



Şekil 4.13. Bileşiğin 22 ^1H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl_3).



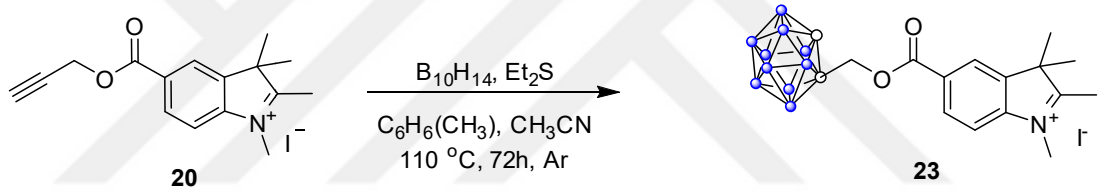
Şekil 4.14. Bileşiğin 22 ^{13}C NMR spektrumu (101 MHz, CDCl_3).



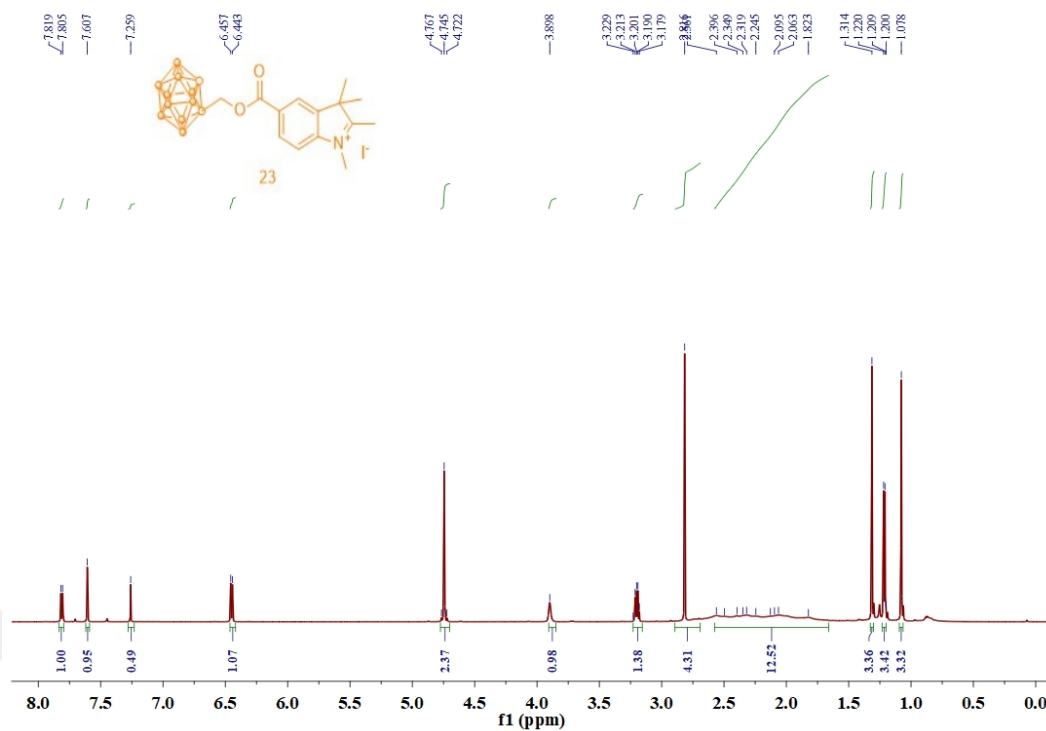
Şekil 4.15. Bileşiğin **22** LCMS Kütle Spektrumu.

^1H NMR spektrumunda 8.39 ve 6.41 ppm'deki dublet pikinin $J=14.0$ Hz'lik bağlanma sabitinin varlığı metinprotonlarına aittir. Azota göre alfa karbonuna bağlı metil pikinin de kaybolduğu bağlanmagerçekleştiğini göstermektedir. Ek olarak, ^{13}C spektrumundaki 19 sinyal varlığı yapıyı doğrulamaktadır.

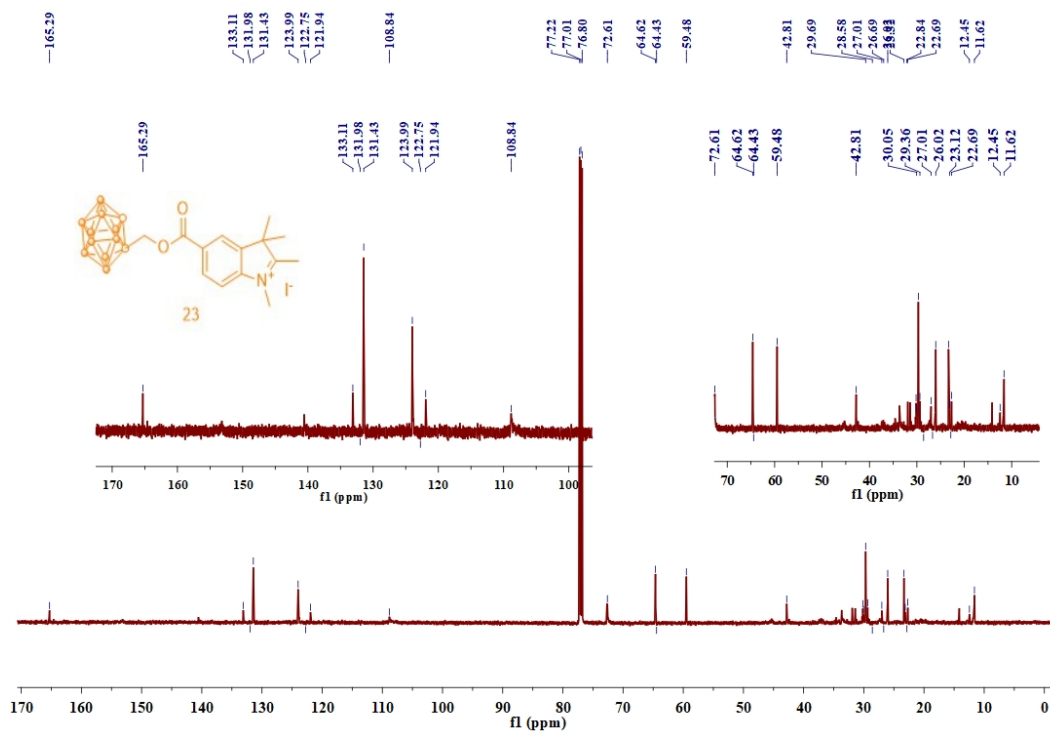
Bileşik **20** ve dekaboran uygun koşullarda geri soğutucu altında 3 gün boyunca schlenk düzeneği yardımıyla kaynatılarak elde edildi (Şekil 4.16).



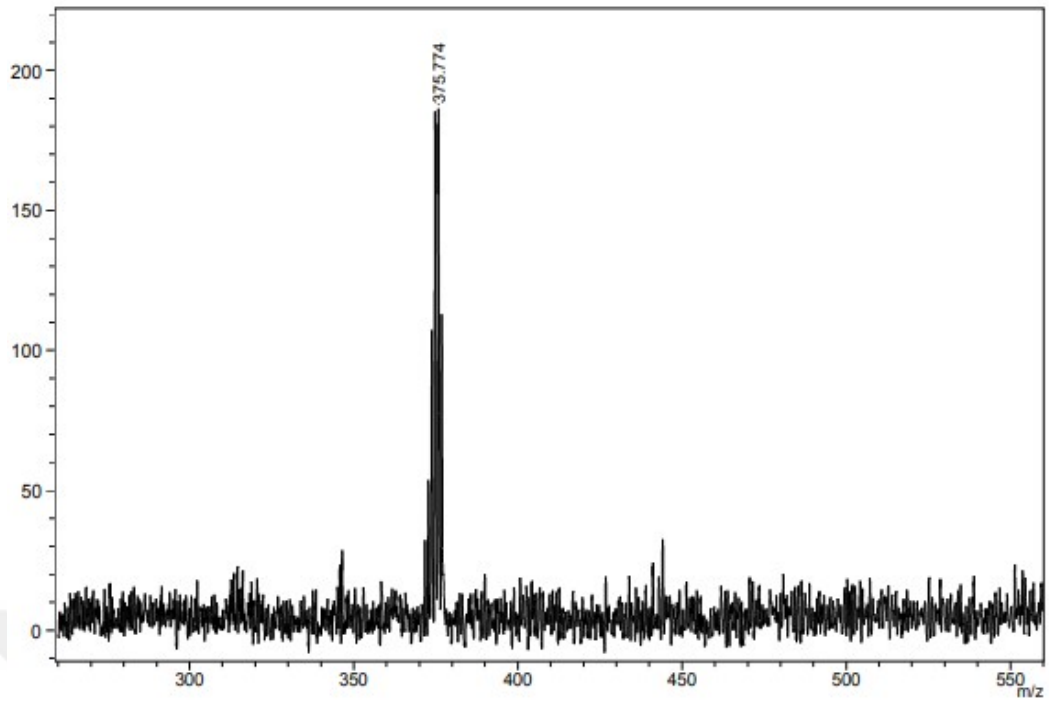
Şekil 4.16. Şekil 23 Sentez Şeması.



Şekil 4.17. Bileşiğin 23 ^1H NMR spektrumu (600 MHz, CDCl_3).

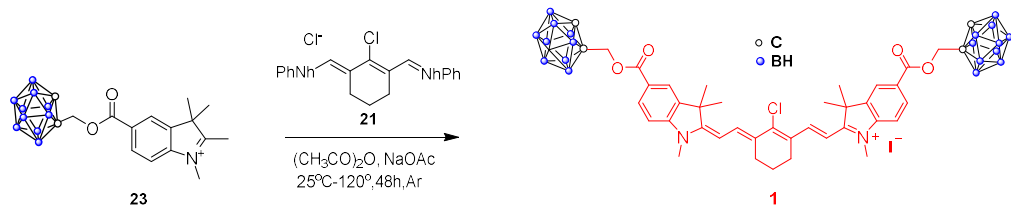


Şekil 4.18. Bileşik 23 ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3).



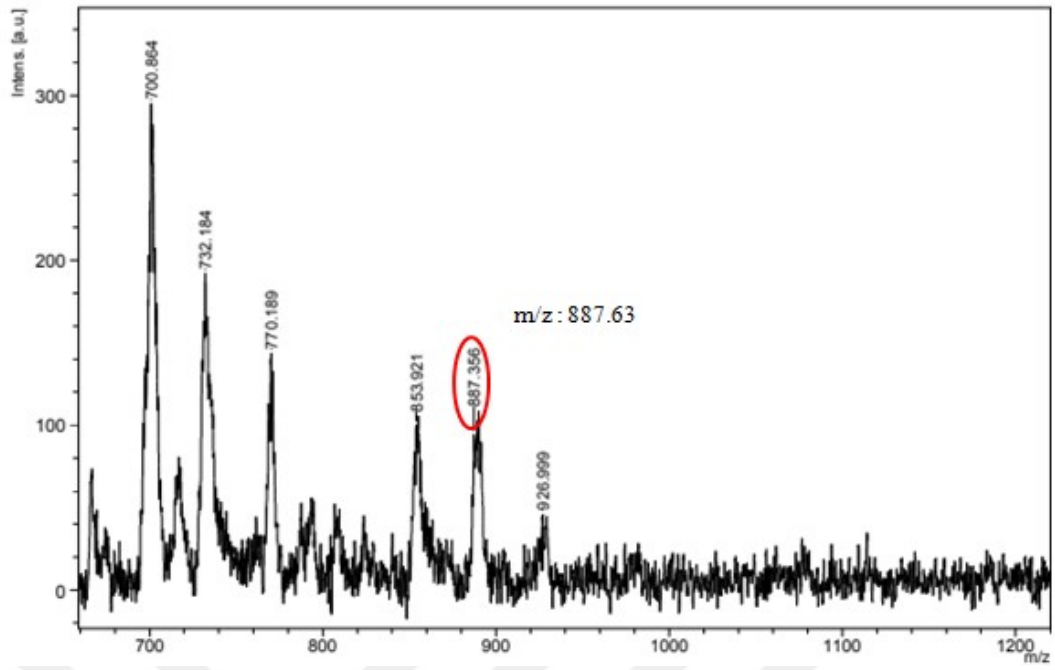
Şekil 4.19. Bileşik 23 MALDI-TOFF kütle spektrum.

Bileşik **23**'in doğruluğu ^1H NMR (Şekil 4.17) ^{13}C NMR (Şekil 4.18) ve MALDI-TOFF kütle spektrumu (Şekil 4.19) ile doğrulanmıştır. NMR spektrumuna bakıldığında aklın grubuna ait 2 karbonun karboran eldesi için halka kapanmasıyla üçlü bağa ait 2.1 ppm'de gelen propargil metin (-CH) ve 4.01 ppm'de $\text{C}_{\text{karboran}}$ H'a ait sinyallerin varlığı yapının doğruluğunu göstermektedir. Hesaplanan m/z (MALDI-TOFF): m/z: 375.31 ölçülen: 375.774. $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{B}_{10}\text{NO}_2^+$



Şekil 4.20. Bileşik 1 yapısı.

Hedef bileşiğin sentezi için bileşik **23** ve bileşik **21** asetik anhidrit içerisinde ile schlenk düzeneği yardımıyla etkileştirildi (Şekil 4.20).

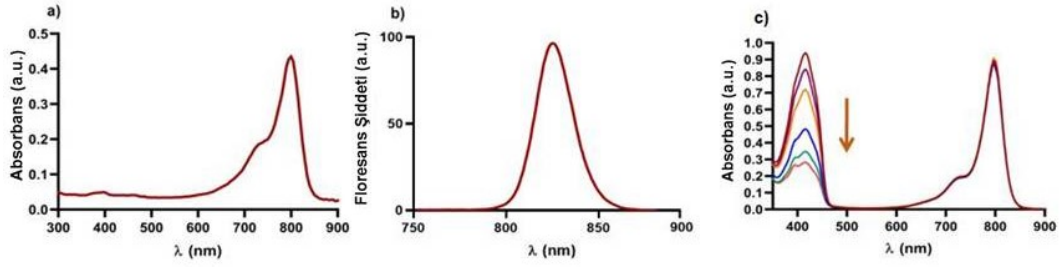


Şekil 4.21. Bileşik 1 MALDI-TOFF kütle spektrumu.

Bileşik 1'in doğruluğu MALDI-TOFF kütle spektrumu ile belirlenmiştir. MALDI-TOFF spektrumlarında m/z : 887.63 gelen pikin siyaninin her iki ucunda dekaboranın yer aldığını göstermektedir (Şekil 4.21).

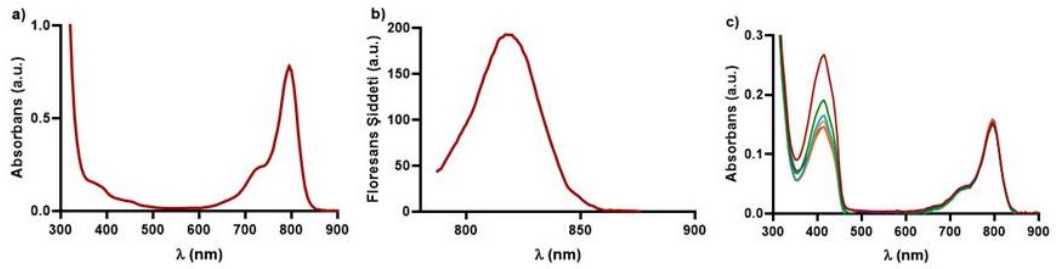
4.2 Bileşik 22'nin Fotofiziksel Özellikleri

Sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilen bileşik 22'nin fotofiziksel özellikleri incelenmiştir. Soğurma spektrumu emisyon spektrumu ve FDT etkinliği gösterilmektedir. Bileşik 22 (9 μM) metanol içerisinde absorbands spektrumu (Şekil 4.22.a)'da verilmiştir. Aynı madde $\lambda_{\text{exc}} = 790 \text{ nm}$ uyarılarak $\lambda_{\text{max}} = 817 \text{ nm}$ emisyon spektrumu elde edilmiştir. Bileşik 22 (16 μM) ve DPBF (2 μM) varlığında ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları (Şekil 4.22. c)'de belirtilmiştir. İç kısımlar: FDT testi süresi boyunca DPBF'nin soğurma şiddetinde meydana gelen azalmaları göstermektedir. Soğurma şiddetindeki azalmalar bileşik 22'nin FDT yaptığını göstermektedir.



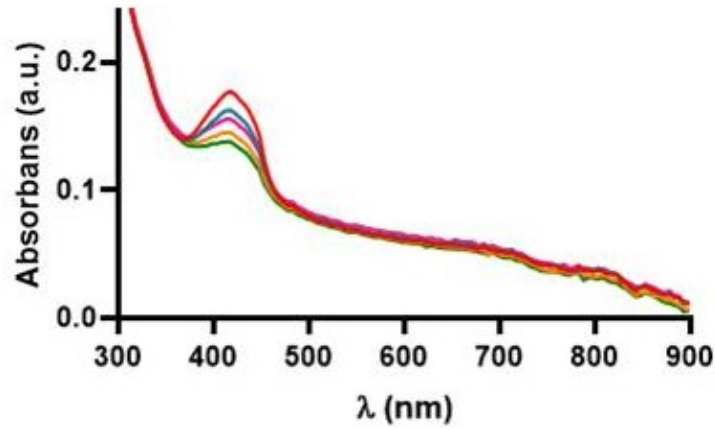
Şekil 4.22. a) Bileşik **22** (10^{-3} M) için soğurma spektrumu **b)** emisyon spektrumu ($\lambda_{exc}=790$ nm) **c)** DPBF (10^{-3} M) varlığında CH_3OH içerisinde ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları.

Hedef bileşik **1** ($6,25 \times 10^{-5} \mu M$) metanol ve dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde soğurma spektrumu bakılmıştır (Şekil 4.23. a). Emisyon spektrumu için hedef bileşik **1** $\lambda_{exc}=800$ nm uyarılarak $\lambda_{max}=810$ nm’de emisyon spektrumu elde edilmiştir. (Şekil 4.23. b).



Şekil 4.23. a) Hedef bileşik **1** ($50 \mu M$, THF) için soğurma spektrumu **b)** emisyon spektrumu ($\lambda_{exc}=818$ nm) (THF) **c)** hedef bileşik **1** ($56 \mu M$), DPBF ($33 \mu M$) varlığında THF içerisinde ışınlaması süresince kaydedilen soğurma spektrumları.

Hedef bileşik **1** BSA ile etkileştirilerek ilaç formülasyonları (1@BSA) geliştirilmiştir. Bu ilaç formülasyonlarının FDT etkinlikleri fizyolojik pH’da (PBS, pH:7.4) kimyasal tuzak (DPBF) kullanılarak test edilmiştir.



Şekil 4.24. Hedef Bileşik 1@BSA (1mg/mL), DPBF (2,2 μ M) varlığında PBS ortamında (pH:7.4) ışınlanması ile kaydedilen soğurma spektrumları.

4.3 Hedef Bileşikler 1 ile Kanser Hücrelerinin Görüntülenmesi

Geliştirilen ilaç formülasyonları hedef bileşik 1 ile kimyasal testlerde olumlu sonuçlar alınması üzerine in vitro çalışmalara geçilmiştir. Öncelikle malzemelerin 1@BSA canlı hücre özellikle kanser hücrelerini görüntüleme yetenekleri araştırılmıştır. In vitro çalışmalar için Human epidermoidlaryncarcinoma (Hep-2) hücre hattı seçilmiştir. Kanser hücrelerinin canlı görüntülenmesi için bu hücreler 1@BSA (50 μ g) ile inkübe edilmiş ve floresans mikroskop yardımıyla kırmızı kanalda hücrelerin görüntülenmesi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.25).

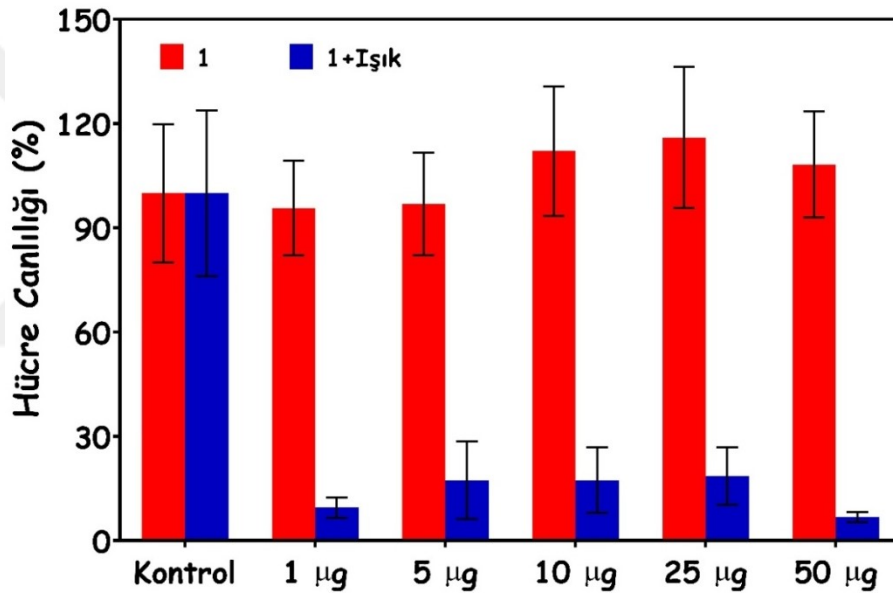


Şekil 4.25. Kanser hücrelerinin (Hep-2) 1@BSA (50 μ g) ile 24 saat inkübasyonu sonucu floresans mikroskop ile alınan görüntüler. Skala bar = 50 μ m. Filtre λ_{ex} : 620/60 nm.

Elde edilen veriler geliştirilen malzemelerin 1@BSA kanser hücreleri tarafından internalize edilerek hücre içine alındığını ve kanser hücrelerinin floresans görüntülenmesi amacıyla kullanılabileceğini göstermektedir.

4.4 Fotositotoksisite Çalışmaları

Elde edilen hedef bileşik **1** in vitro FDT etkinliklerinin araştırılmasına geçilmiş ve fototoksisite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kanser hücreleri (Hep-2) nihayi yapı **1@BSA** (0-50 μg) ile 96-kuyucuklu plakalar içerisinde 12 saat boyunca inkübe edilmiştir. Hedef yapıların hücelere internalizasyonu sağlandıktan sonra (kontrol grubu dışındaki) hücreler ışınlanarak FDT testleri gerçekleştirilmiştir. Işınlamadan sonra MTT testi ile hücre canlılıkları belirlenmiş ve kontrol gruplarına göre hücre canlılıklarında meydana gelen değişimler belirlenmiştir. Buna göre hedef yapıların **1@BSA** oldukça düşük dozajlarda dahi (0-50 μg) kanser hücrelerini FDT yok edebildikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.26).

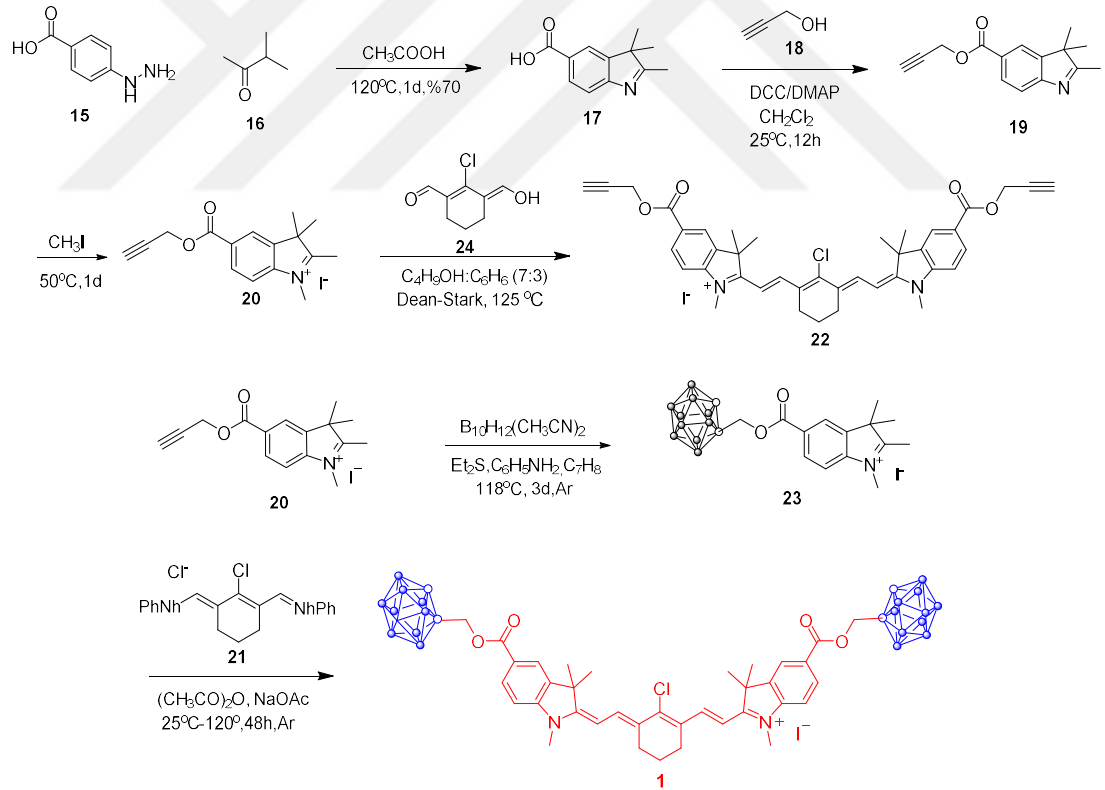


Şekil 4.26. Hedef bileşik **1@BSA** (0-50 μg) ile inkübe edilen kanser hücrelerinin (Hep-2) ışınlanması sonucunda yapılan MTT testlerine ait hücre canlılıkları.

In vitro fototoksisite çalışmalarında elde edilen verilere göre hedef bileşik **1**'in **1@BSA** FDT'de kullanılabilecek etkin birer fotoduyarlaştırıcı ajan olduğu görülmektedir. Aynı zamanda hedef bileşik oldukça düşük dozlarda dahi (5-50 μg) etkili olduğu gözlemlenmiştir. Dahası hedef bileşik **1**'in kısa süreli (30 dakika) ışınlamalarda dahi yüksek etkinlik gösterdiği görülmektedir. Son olarak elde edilen hedef bileşik **1**'in ışınlama yapılmadığı sürece toksik etki göstermediğini (yani karanlık toksisitelerinin oldukça düşük olduğu) belirtmeliyiz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında literatürde aynısı veya benzeri bulunmayan yeni nesil görüntüleme ve çift terapi ajanı olarak çift işlev görebilen hedef bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.1). Hedef bileşiğin sentezi için bileşik **15** ve **16** asit katalizörlüğünde uygun koşullarda altında ısıtılarak bileşik **17** elde edilmiştir. Bileşik **17** propargil alkol ile oda sıcaklığında karıştırılarak bileşik **19** elde edilmiştir. Bileşik **19** metil iyodür ile uygun koşullarda karıştırılarak bileşik **20** elde edilmiştir. Bileşik **20**'nin bisaldehit ile uygun koşullarda karıştırılması sonucunda bileşik **22** elde edilmiştir. Bileşik **20** ve dekaboranın Et_2S ile uygun koşullarda altında schlenk düzeneği yardımıyla bileşik **23** elde edilmiştir. Bileşik **23**'ün saflaştırılıp karakterize edilmesi sonucunda bisaldehit ile uygun koşullar altında 2 gün boyunca karıştırılması sonucunda hedef bileşik **1** sentezlenmiştir. Kolon kromatografisi yardımıyla saflaştırılmıştır.



Şekil 5.1. Genel sentez şeması.

Yeni nesil FDT ajanlarında hem FDT hem de BNCT yapabilen malzemeler literatürde yeni yeni yer almaktadır.

Literatüre baktığımızda sentezlenen birçok yapının organik çözücülerde ve suda çözünürlüklerinin düşük olduğunu görmekteyiz. Aynı zamanda sentezlenen birçok yapının veriminin düşük olduğu da görülmektedir. Yapıların sentezlenmesi esnasında ve saflaştırılmasında da birçok zorluklarla karşılaşılabilir. Aynı zamanda tümörlü hücrelerin yanı sıra sağlıklı hücre ve dokularda da yapıların kalıntılarına rastlanılabilmektedir. Sentezlenen yapıların çoğunda sitotoksik etkiye rastlanmıştır.

Karboranlar eklendikleri platformlara düşük nükleofilisite, yüksek moleküler hacim, yüksek hidrofobisite, kimyasal tesirsizlik, polarize olabilir sigma, aromatik karakter, yüksek elektrokimyasal kararlılık, termal dayanıklılık/kararlılık aynı zamanda BNCT birimi özellikleri eklemektedirler.

Heptametin siyaninler ise eklendikleri platformlara NIR absorpsiyon, NIR emisyon, yüksek absorpsiyon katsayısı, yüksek kuantum verimi, yüksek parlaklık, biyoyumluluk, canlı hücre görüntüleme, kanserli doku hedefleme, FDT birimi gibi çeşitli özellikler yüklemektedir.

Karboranların ve heptametin siyanin boyalarının birçok avantajı göz önüne alınarak her iki platform uygun koşullar altında birleştirilmiştir. Bu tez kapsamında hedeflenen ajanın karboran içermesi sayesinde hem oldukça dayanıklı (kararlı) olması hem de potansiyel olarak BNCT ajanı olarak işlev görmesi, siyanin boyası içermesi sayesinde FDT ajanı olarak işlev görmesi ve hastalıklı dokuları hedeflemesi, sağlıklı dokulara hiçbir zarar vermeden teranostik etki göstermesi beklenmektedir.

Bu çalışma ile çağın en önemli hastalıklarından biri olan kanserin görüntülenmesi, teşhisi ve tedavisini aynı anda yapabilen moleküler teranostiklerin geliştirilmesine yönelik önemli bir adım atılmıştır.

KAYNAKLAR

- Agostinis, P., Buytaert, E., Breysens, H. ve Hendrickx, N., 2004. Regulatory pathways in photodynamic therapy induced apoptosis, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 3, 8, 721-729.
- Ali, F., S Hosmane, N. ve Zhu, Y., 2020. Boron chemistry for medical applications, *Molecules*, 25, 4, 828.
- Asano, R., Nagami, A., Fukumoto, Y., Miura, K., Yazama, F., Ito, H., Sakata, I. ve Tai, A., 2014. Synthesis and biological evaluation of new boron-containing chlorin derivatives as agents for both photodynamic therapy and boron neutron capture therapy of cancer, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24, 5, 1339-1343.
- Atmaca, G.Y., Dizman, C., Eren, T. ve Erdoğan, A., 2015. Novel axially carborane-cage substituted silicon phthalocyanine photosensitizer; synthesis, characterization and photophysical properties, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, 244-249.
- Chen, Y.-C., Lou, X., Zhang, Z., Ingram, P. ve Yoon, E., 2015. High-throughput cancer cell sphere formation for characterizing the efficacy of photodynamic therapy in 3D cell cultures, *Scientific reports*, 5, 1, 1-12.
- Çağan, M., Kolkiran, A. ve Topaloğlu, N., Year. The effect of ethanol on photoinactivation of *Pseudomonas aeruginosa* with chlorin e6 as an adjuvant therapy, 2017 Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO), 1-4.
- Dozzo, P., Koo, M.-S., Berger, S., Forte, T.M. ve Kahl, S.B., 2005. Synthesis, characterization, and plasma lipoprotein association of a nucleus-targeted boronated porphyrin, *Journal of medicinal chemistry*, 48, 2, 357-359.
- Efremenko, A.V., Ignatova, A.A., Grin, M.A., Sivaev, I.B., Mironov, A.F., Bregadze, V.I. ve Feofanov, A.V., 2014. Chlorin e 6 fused with a cobalt-bis (dicarbollide) nanoparticle provides efficient boron delivery and photoinduced cytotoxicity in cancer cells, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 13, 1, 92-102.
- Erdem, S.S., Parlar, R.E., Akgül Obeidin, V. ve Şahin, U., 2017. Skov-3 over kanseri hücre hattında FDT uygulaması.
- Friso, E., Roncucci, G., Dei, D., Soncin, M., Fabris, C., Chiti, G., Colautti, P., Esposito, J., De Nardo, L. ve Rossi, C.R., 2006. A novel 10 B-enriched carboranyl-containing phthalocyanine as a radio-and photo-sensitising agent for boron neutron capture therapy and photodynamic therapy of tumours: in vitro and in vivo studies, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 5, 1, 39-50.
- Hiramatsu, R., Kawabata, S., Tanaka, H., Sakurai, Y., Suzuki, M., Ono, K., Miyatake, S.-I., Kuroiwa, T., Hao, E. ve Vicente, M.G.H., 2015. Tetrakis (p-carboranylthio-tetrafluorophenyl) chlorin (TPFC): application for photodynamic therapy and boron neutron capture therapy, *Journal of pharmaceutical sciences*, 104, 3, 962-970.
- Hosokawa, S., Takahashi, G., Sugiyama, K.-I., Takebayashi, S., Okamura, J., Takizawa, Y. ve Mineta, H., 2020. Porphyrin-mediated photodynamic

- therapy in patients with head and neck squamous cell carcinoma, *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 29, 101627.
- Hu, K., Yang, Z., Zhang, L., Xie, L., Wang, L., Xu, H., Josephson, L., Liang, S.H. ve Zhang, M.-R., 2020. Boron agents for neutron capture therapy, *Coordination Chemistry Reviews*, 405, 213139.
- Hyun, H., Bordo, M.W., Nasr, K., Feith, D., Lee, J.H., Kim, S.H., Ashitate, Y., Moffitt, L.A., Rosenberg, M. ve Henary, M., 2012. cGMP-Compatible preparative scale synthesis of near-infrared fluorophores, *Contrast media & molecular imaging*, 7, 6, 516-524.
- Jori, G., Soncin, M., Friso, E., Vicente, M., Hao, E., Miotto, G., Colautti, P., Moro, D., Esposito, J. ve Rosi, G., 2009. A novel boronated-porphyrin as a radio-sensitizing agent for boron neutron capture therapy of tumours: in vitro and in vivo studies, *Applied Radiation and Isotopes*, 67, 7-8, S321-S324.
- Kiesslich, T., Berlanda, J., Plaetzer, K., Krammer, B. ve Berr, F., 2007. Comparative characterization of the efficiency and cellular pharmacokinetics of Foscan®- and Foslip®-based photodynamic treatment in human biliary tract cancer cell lines, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6, 6, 619-627.
- Kirchherr, A.-K., Briel, A. ve Mäder, K., 2009. Stabilization of indocyanine green by encapsulation within micellar systems, *Molecular pharmaceutics*, 6, 2, 480-491.
- Kuramoto, K., Yamamoto, M., Suzuki, S., Sanomachi, T., Togashi, K., Seino, S., Kitanaka, C. ve Okada, M., 2020. Verteporfin inhibits oxidative phosphorylation and induces cell death specifically in glioma stem cells, *The FEBS journal*, 287, 10, 2023-2036.
- Liu, Q., Zhang, H., Jiang, X., Qian, C., Liu, Z. ve Luo, D., 2017. Factors involved in cancer metastasis: a better understanding to “seed and soil” hypothesis, *Molecular cancer*, 16, 1, 1-19.
- Luguya, R., Jensen, T.J., Smith, K.M. ve Vicente, M.G.H., 2006. Synthesis and cellular studies of a carboranylchlorin for the PDT and BNCT of tumors, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14, 17, 5890-5897.
- Moss, R.L., 2014. Critical review, with an optimistic outlook, on Boron Neutron Capture Therapy (BNCT), *Applied Radiation and Isotopes*, 88, 2-11.
- Mukawa, T., Matsumoto, T. ve Nita, K., 2011. Study on microdosimetry for boron neutron capture therapy, *Progress in Nuclear Science and Technology*, 2, 242-246.
- Nar, I., Gül, A., Sivaev, I.B. ve Hamuryudan, E., 2015. Cobaltacarborane functionalized phthalocyanines: Synthesis, photophysical, electrochemical and spectroelectrochemical properties, *Synthetic Metals*, 210, 376-385.
- O'Connor, A.E., Gallagher, W.M. ve Byrne, A.T., 2009. Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: preclinical and clinical advances in photodynamic therapy, *Photochemistry and photobiology*, 85, 5, 1053-1074.
- Onrat, S. ve Konuk, M., 2004. BNCT (Boron Neutron Capture Therapy) ile Kanser Tedavisi, II. Uluslararası Bor Sempozyumu, *Bildiriler Kitabı*, 549-551.

- Pavlik, C., Biswal, N.C., Gaenzler, F.C., Morton, M.D., Kuhn, L.T., Claffey, K.P., Zhu, Q. ve Smith, M.B., 2011. Synthesis and fluorescent characteristics of imidazole–indocyanine green conjugates, *Dyes and Pigments*, 89, 1, 9-15.
- Ruan, Z., Liu, L., Fu, L., Xing, T. ve Yan, L., 2016. An amphiphilic block copolymer conjugated with carborane and a NIR fluorescent probe for potential imaging-guided BNCT therapy, *Polymer Chemistry*, 7, 26, 4411-4418.
- Ruan, Z., Yuan, P., Jing, T., Xing, T. ve Yan, L., 2018 (a). pH-Sensitive polypeptide conjugated with carborane clusters and cyanine for NIR bioimaging and multi-therapies, *Macromolecular Research*, 26, 3, 270-277.
- Ruan, Z., Yuan, P., Liu, L., Xing, T. ve Yan, L., 2018 (b). Carborane and cyanine conjugated galactose targeted amphiphilic copolymers for potential near infrared imaging-guided boron neutron capture therapy (BNCT), *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 67, 12, 720-726.
- Schwarze, B., Jelača, S., Welcke, L., Maksimović-Ivanić, D., Mijatović, S. ve Hey-Hawkins, E., 2019. 2, 2'-Bipyridine-Modified Tamoxifen: A Versatile Vector for Molybdacarboranes, *ChemMedChem*, 14, 24, 2075-2083.
- Shao, C., Liao, C.-P., Hu, P., Chu, C.-Y., Zhang, L., Bui, M.H., Ng, C.S., Josephson, D.Y., Knudsen, B. ve Tighiouart, M., 2014. Detection of live circulating tumor cells by a class of near-infrared heptamethine carbocyanine dyes in patients with localized and metastatic prostate cancer, *PloS one*, 9, 2, e88967.
- Sibakoti, T.R., 2015. Synthesis and characterization of carborane-appended biomolecules.
- Smith, R.A. ve McBroom, R.B., 2000. Boron oxides, boric acid, and borates, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.
- Stockmann, P., Gozzi, M., Kuhnert, R., Sárosi, M.B. ve Hey-Hawkins, E., 2019. New keys for old locks: Carborane-containing drugs as platforms for mechanism-based therapies, *Chemical Society Reviews*, 48, 13, 3497-3512.
- Tang, S., Zhang, Y., Thapaliya, E.R., Brown, A.S., Wilson, J.N. ve Raymo, F.M., 2017. Highlighting cancer cells with halochromic switches, *ACS sensors*, 2, 1, 92-101.
- Terlizzi, R., Colonna, N., Bisceglie, E., Colangelo, P., Marrone, S., Raino, A., Tagliente, G. ve Variale, V., 2004. Feasibility of an epithermal neutron source for BNCT based on RFQ accelerator, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 213, 210-213.
- Thakkar, S., Sharma, D., Kalia, K. ve Tekade, R.K., 2020. Tumor microenvironment targeted nanotherapeutics for cancer therapy and diagnosis: A review, *Acta biomaterialia*, 101, 43-68.
- Usama, S.M., Thavornpradit, S. ve Burgess, K., 2018. Optimized heptamethine cyanines for photodynamic therapy, *ACS Applied Bio Materials*, 1, 4, 1195-1205.
- Vicente, M.G.H., Wickramasinghe, A., Nurco, D.J., Wang, H.J., Nawrocky, M.M., Makar, M.S. ve Miura, M., 2003. Synthesis, toxicity and biodistribution of

- two 5, 15-di [3, 5-(nido-carboranylmethyl) phenyl] porphyrins in EMT-6 tumor bearing mice, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 11, 14, 3101-3108.
- Vogel, A.I., Tatchell, A., Furnis, B., Hannaford, A. ve Smith, P., 1989. Vogel's textbook of practical organic chemistry, Harlow Longman, London.
- Wu, L., Fang, S., Shi, S., Deng, J., Liu, B. ve Cai, L., 2013. Hybrid polypeptide micelles loading indocyanine green for tumor imaging and photothermal effect study, *Biomacromolecules*, 14, 9, 3027-3033.
- Yang, X., Bai, J. ve Qian, Y., 2020. The investigation of unique water-soluble heptamethine cyanine dye for use as NIR photosensitizer in photodynamic therapy of cancer cells, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 228, 117702.
- Yang, X., Shao, C., Wang, R., Chu, C.-Y., Hu, P., Master, V., Osunkoya, A.O., Kim, H.L., Zhau, H.E. ve Chung, L.W., 2013. Optical imaging of kidney cancer with novel near infrared heptamethine carbocyanine fluorescent dyes, *The Journal of urology*, 189, 2, 702-710.
- Yi, X., Wang, F., Qin, W., Yang, X. ve Yuan, J., 2014. Near-infrared fluorescent probes in cancer imaging and therapy: an emerging field, *International Journal of nanomedicine*, 9, 1347.
- Yi, X., Yan, F., Wang, F., Qin, W., Wu, G., Yang, X., Shao, C., Chung, L.W. ve Yuan, J., 2015. IR-780 dye for near-infrared fluorescence imaging in prostate cancer, *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 21, 511.

EKLER

EK A 32. Ulusal Kimya Kongresi Bildiri Özeti

Yeni Nesil Moleküler Teranostik Ajan

Alihan Toksoy¹ (0000-0003-2108-0452), **Simge Pekcan¹** (0000-0002-8781-2014),
Kardelen Göksu² (0000-0003-4095-6923), **Sedat Sürem²** (0000-0001-8220-793),
Fatih Algr¹ (0000-0001-9376-1770)

¹Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı M. Bülmez BiyoNanoTek Lab, Aksaray

²Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü (Boren), Ankara

Teranostik, terapi ve teşhis kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşturulmuş bir terim olup teşhis ve tedaviyi aynı anda yapabilen malzemeleri tanımlar. Teranostik kavramı ilk kez 2002 yılında John Funkhouser tarafından tanımlanmıştır [1]. Polihedral bor hidrürler olarak bilinen karboranlar, toksik olmamaları, kararlı yapıya sahip olmaları ve nötron yakalama özellikleri sebebiyle Bor Nötron Yakalama Terapisi (BNCT) [2] için kullanılabilen önemli bor bileşiklerindendir. BNCT kanser tedavisinde uygulanan oldukça seçici bir terapi yöntemidir. Ancak BNCT’de kullanılabilen yalnızca iki klinik ajan bulunmaktadır. Farklı kanser türleri dikkate alındığında klinik BNCT ajanlarının sayısının oldukça az olduğu belirtilmelidir.

Bu çalışmada, polihedral bor üniteleri içeren yeni nesil moleküler bir teranostik ajan 1 tasarlanmış ve sentezi üzerinde durulmuştur. Ajanın 1 optik, elektronik, termal, nükleer vb özellikleri incelenmiştir. Malzeme 1 potansiyel bir BNCT ajanı olarak umut vaat etmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmaya finansal destek sağlayan Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü (Boren)’ne teşekkür ederiz (Proje No: 2018-31-07-25-002).

Kaynakça

- [1].Funkhouser, J. (2002) Reintroducing pharma: Theranostic revolution. Current Drug Discovery.
- [2].Miyatake, S., Kawabata, S., Hiramatsu, R., Kuroiwa, T., Suzuki, M., Kondo, N., & Ono, K. (2016). Boron Neutron Capture Therapy for Malignant Brain Tumors. Neurologia Medico-chirurgica, 56(7), 361-371. doi:10.2176/nmc.ra.2015-0297

Anahtar Kelimeler: Sentez tasarımı, Polihedral Bor Hidrürler (Karboran), Kanser, BNCT, Teranostik.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : **Simge PEKCAN**

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler
Biyoloji Bölümü, 2014-2018

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler
Biyoloji Anabilim Dalı, 2018- 2021

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Aksaray Devlet Hastanesi 2017-2018 / Yaz Stajı

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Projeler

1.Yeni Nesil Moleküler Teranostik Ajanlar İçin Jenerik Bir Platform: Tasarım ve
Sentez Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü (BOREN, Proje No:2018-31-07-25-002)

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1.ALGI F., **Simge PEKCAN** Alihan TOKSOY., 2020 Yeni Nesil Moleküler
Teranostik Ajan 32. Ulusal Kimya Kongresi Türkiye Kimya Derneği (Sözlü Sunum)

Patentler

1.Fotodinamik Ve Bor Nötron Yakalama Terapileri İçin Dual Teranostik Ajanlar
(incelemede) (2020) Patent Buluş Sahipleri: Fatih ALGI, Simge PEKCAN, Alihan
TOKSOY, Sedat SÜRDEM, Kardelen GÖKSU

