



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

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**FOTOTERMAL TERAPİ VE ÇOKLU TERAPİ İÇİN İKİ YENİ
AJANIN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Şafak ZENGİN**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Fatih ALGI**

AKSARAY, 2025

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 232330005 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Şafak ZENGİN tarafından hazırlanan “**FOTOTERMAL TERAPİ VE ÇOKLU TERAPİ İÇİN İKİ YENİ AJANIN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**” 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: Doç. Dr. Neslihan TEKİN KARACAER

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: 05/12/2025

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

Prof. Dr. Fazliye KARABÖRK

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.

Şafak ZENGİN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın başından sonuna kadar her aşamada, maddi ve manevi her türlü desteği ile yanımda duran, her konuda yardımcı olan, bilgilerini ve tecrübelerini paylaşan, bilim ve bilim ahlakı konularında bizlere yol çizen çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Fatih ALGI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmamda ve daha pek çok laboratuvar uygulamalarında karşılaştığım pek çok zorluğu aşmamda yardımcı olan, hem pratik hem teorik bilgi açısından bizlere ışık tutan, çok değerli hocam Prof. Dr. Melek PAMUK ALGI'ya teşekkür ederim.

Benimle farklı alanlarda olsalar da, akademiye olan bağlılıklarıyla yolumu aydınlatan, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi destekleri ile yanımda duran, annem Mevlüde ZENGİN ve babam Bekir ZENGİN'e teşekkür ederim.

Bu vetirede hem çalışma arkadaşı hem de yol arkadaşı olarak yanımda olan; bilgilerini, güler yüzünü ve deneyimlerini paylaşarak beni her konuda destekleyen Dönay ÇUNGUR'a teşekkür ederim.

Laboratuvar uygulamaları esnasında yardım ve desteklerine binaen Memduh Bilmez BiyoNanoTeknoloji çalışma grubumuza teşekkür ederim. Hücre çalışmalarında yardımcı olan Dönay ÇUNGUR ve Münevver DAYAN'a ayrıca teşekkür ederim.

Antimikrobiyal çalışmalarda yardımcı olan Ali SAĞLAM'a ve Prof. Dr. Meltem AŞAN ÖZÜSAĞLAM'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışması süresince burs imkânı sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No: 123R074), ayrıca TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Lisansüstü Burs Programı kapsamında Biyoteknolojik İlaç Teknolojileri öncelikli alanında burs desteği (Başvuru No: 1649B022406105) sağladığı için teşekkür ederim.

Şafak ZENGİN
AKSARAY, 2025

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1.GİRİŞ	1
1.1 Fototerapi.....	1
1.2 Sono-fotodinamik Terapi	3
1.3 NIR Boyalar	6
1.4 Hipoksi	7
1.5 Albumin Proteini	8
2. KAYNAK ÖZETLERİ	10
2.1 Siyaninler.....	10
2.2 Krokoninler	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1 Malzeme	14
3.2 Bileşik 5 Sentezi: 2,3,3-trimetil-3H-indol	14
3.3 Bileşik 7 Sentezi: 2,3,3-trimetil-1-propil-3H-indolyum.....	15
3.4 Bileşik 9 Sentezi: 2-((E)-2-((E)-2-kloro-3-(2-((E)-3,3-dimetil-1-propilindolin-2-iliden)ethyliden)siklohekzenil)vinil)-3,3-dimetil-1-propil-3H-indolyum	15
3.5 Bileşik 1 Sentezi: 2-((E)-2-((E)-2-((2-carboksietil)tio)-3-(2-((E)-3,3-dimetil-1-propilindolin-2-ilidene)etiliden)siklohekz-1-en-1-il)vinil)-3,3-dimetil-1-propil-3H-indolyum.....	16
3.6 Bileşik 13 Sentezi: 5-metoksi-2,3,3-trimetil-3H-indol.....	17
3.7 Bileşik 15 Sentezi: 2,3,3-trimetil-3H-indol-5-ol	17
3.8 Bileşik 17 Sentezi: 5-(alliloksi)-2,3,3-trimetil-3H-indol.....	18
3.9 Bileşik 19 Sentezi: 3-(5-(alliloksi)-2,3,3-trimetil-3H-indolyum-1-il)propansulfonat	19
3.10 Bileşik 2 Sentezi: 3-((Z)-5-(alliloksi)-2-((E)-3-((5-(alliloksi)-3,3-dimetil-1-(3-sulfonatopropil)-3H-indolyum-2-il)metilene)-2-oksid-4,5-dioksosiklopent-1-en-1-il)metilen)-3,3-dimetilindolin-1-il)propan-1-sulfonat	19
3.11 gC ₃ N ₄ Sentezi	20
3.12 Fe ₃ O ₄ @gC ₃ N ₄ Sentezi	21
3.13 Nanokompozit 1 Sentezi	21
3.14 Nanokompozit 1'in Oksijen Testi	22
3.15 FDT Testleri	22
3.16 FTT Testleri.....	22
3.17 Hücre Kültürü.....	23
3.18 Sitotoksikite Testleri	23
3.19 MCF-7 Kanser Hücre Hattı ile Antikanser Aktivite Testleri	23
3.20 Antimikrobiyal FTT Testleri	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1 Bileşik 1 Sentezi	25
4.2 Bileşik 2 Sentezi	32

4.3 Nanokompozit 1	40
4.4 Nanokompozit 1'in Oksijen Testi	41
4.5 Fototermal Testler	42
4.6 Nanokompozit 1'in Fotodinamik Testi	43
4.7 Nanokompozit 1'in Sono-fotodinamik Testi.....	44
4.8 Nanokompozit 1'in <i>In Vitro</i> Testleri	44
4.9 Bileşik 2'nin Antimikrobiyal FTT Testleri	46
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	48
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ.....	56



YÜKSEK LİSANS TEZİ

FOTOTERMAL TERAPİ VE ÇOKLU TERAPİ İÇİN İKİ YENİ AJANIN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

Şafak ZENGİN

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

ÖZET

Geleneksel kanser tedavisi ve antimikrobiyal tedavilerin ortak dezavantajlarından biri ilaç direnci gelişimidir. Ayrıca kanser tedavisinde kullanılan yöntemlerin yan etkileri nedeniyle genellikle doz kısıtlaması söz konusu olabilmektedir. Fotodinamik terapi (FDT), sonofotodinamik terapi (SFDT), ve fototermal terapi (FTT) bu kısıtlamaları aşmayı amaçlayan yeni nesil tedavi yöntemlerindendir. Fakat FDT ve SFDT bazı koşullarda özellikle hipoksik ortamda yüksek etki gösteremeyebildiğinden klinikte birincil değil yardımcı (adjuvant) tedaviler olarak kullanılabilir. Ayrıca organik duyarlaştırıcıların suda topaklanması suretiyle etkisini yitirmesi tedaviyi güçleştiren en önemli faktörlerden biridir. Bu tez çalışmasında biri antikanser diğeri antimikrobiyal çalışmalarda test edilmek üzere iki farklı organik duyarlaştırıcı sentezlenmiştir. Suda topaklanma sorunu duyarlaştırıcı tasarımında göz önüne alınan iki farklı yaklaşımla çözülmüştür; suda çözünmeyen duyarlaştırıcı 1, serum albümin ile nanoformüle edilerek kompozit haline getirilirken; bileşik 2 kimyasal modifikasyonlarla suda çözünebilir bir duyarlaştırıcı olarak sentezlenmiştir. Tez kapsamında yapılan çalışmalar nanokompozitin FDT, SFDT ve FTT gibi terapiler için uygun bir multiterapi ajanı olduğunu göstermektedir. Luminal Meme Kanseri (MCF-7 ATCC® HTB-22™) kanser hücre hattı üzerinde yapılan *in vitro* çalışmalar nanokompozitin yüksek sitotoksikite gösterdiğine işaret etmektedir. Öte yandan duyarlaştırıcı 2 ile yapılan *in vitro* çalışmalar, 2'nin hem gram pozitif hem gram negatif bakteriler üzerinde oldukça etkili bir FTT ajanı olduğunu kanıtlamıştır. Özetle, tezde antikanser ve antimikrobiyal etki gösteren iki yeni organik duyarlaştırıcı geliştirilmiş ve terapi etkinlikleri *in vitro* çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fotodinamik Terapi, Fototermal Terapi, Sonofotodinamik Terapi, Hipoksi, Nanomalzeme.

Aralık, 2025; 56 sayfa

M.Sc. THESIS

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF TWO NEW AGENTS FOR PHOTOTHERMAL THERAPY AND MULTIPLE THERAPY

Şafak ZENGİN

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

Supervisor: Prof. Dr. Fatih ALGI

ABSTRACT

One of the common disadvantages of traditional cancer treatment and antimicrobial therapies is the development of drug resistance. Furthermore, side effects of cancer treatment methods often lead to dose limitations. Photodynamic therapy (PDT), sonophotodynamic therapy (SPDT), and photothermal therapy (PTT) are new-generation treatment methods that aim to overcome these limitations. However, because PDT and SPDT may not be highly effective under certain conditions, especially hypoxic conditions, they are used clinically as adjuvant therapies rather than primary therapies. Furthermore, the loss of effectiveness of organic sensitizers due to aggregation in water is a major factor complicating treatment. In this thesis, two different organic sensitizers were synthesized, one for anticancer and the other for antimicrobial testing. The aggregation problem in water was addressed by two different approaches to sensitizer design: water-insoluble sensitizer 1 was nanoformulated with serum albumin to form a composite, while compound 2 was synthesized as a water-soluble sensitizer through chemical modifications. Studies conducted within the scope of this thesis demonstrate that the nanocomposite is a suitable multitherapy agent for therapies such as PDT, SPDT, and PTT. *In vitro* studies on the Luminal Breast Cancer (MCF-7 ATCC® HTB-22™) cell line indicate that the nanocomposite exhibits high cytotoxicity. Furthermore, *in vitro* studies with sensitizer 2 demonstrated that sensitizer 2 is a highly effective PTT agent against both gram-positive and gram-negative bacteria. In summary, two new organic sensitizers with anticancer and antimicrobial properties were developed in this thesis, and their therapeutic efficacy was demonstrated via *in vitro* studies.

Keywords: Photodynamic Therapy, Photothermal Therapy, Sonophotodynamic Therapy, Hypoxia, Nanomaterial.

Dec, 2025; 56 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Fototerapinin hücrelere uygulanması.	2
Şekil 1.2. FDT'nin temel çalışma prensibi.	3
Şekil 1.3. FTT'nin temel çalışma prensibi.	3
Şekil 1.4. SDT'nin temel çalışma prensibi.	4
Şekil 1.5. Organik sonoduyarlaştırıcıların (OSD) yapıları.	5
Şekil 1.6. SDT için nanoformülize edilen bazı OSD'ler.	5
Şekil 1.7. Yaygın olarak kullanılan boyaların temel yapıları.	6
Şekil 2.1. Sonoduyarlaştırıcı olarak kullanılan heptametin siyanin'in yapısı.	10
Şekil 2.2. Sono-fotoduyarlaştırıcı olarak kullanılan siyanin türevi bileşikler.	10
Şekil 2.3. ER'yi hedef alan siyanin dimeri.	11
Şekil 2.4. Kanser görüntülemeye ve fototerapi denemelerinde kullanılan bazı siyanin türevi boyalar.	12
Şekil 2.5. FDT ve FTT ajanı olarak kullanılan krokonin türevi boya.	13
Şekil 2.6. FTT ve SDT ajanı olarak kullanılan krokonin türevi boya.	13
Şekil 2.7. Gram negatif ve gram pozitif türler üzerinde etkili olan FTT ajanı.	13
Şekil 3.1. Bileşik 5'in sentezi.	14
Şekil 3.2. Bileşik 7'nin sentezi.	15
Şekil 3.3. Bileşik 9'un sentezi.	15
Şekil 3.4. Bileşik 1'in sentezi.	16
Şekil 3.5. Bileşik 13'ün sentezi.	17
Şekil 3.6. Bileşik 15'in sentezi.	17
Şekil 3.7. Bileşik 17'nin sentezi.	18
Şekil 3.8. Bileşik 19'un sentezi.	19
Şekil 3.9. Bileşik 2'nin sentezi.	19
Şekil 3.10. gC ₃ N ₄ 'ün sentezi.	20
Şekil 3.11. Fe ₃ O ₄ @gC ₃ N ₄ sentezi.	21
Şekil 3.12. Nanokompozit 1 sentezi.	21
Şekil 3.13. H ₂ O ₂ varlığında oksijen molekülü oluşumu.	22
Şekil 4.1. Bileşik 1'in genel sentez şeması.	25
Şekil 4.2. Bileşik 5'in ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 400 MHz).	26
Şekil 4.3. Bileşik 5'in ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 101 MHz).	26
Şekil 4.4. Bileşik 5'in kütle spektrumu.	27
Şekil 4.5. Bileşik 7'nin ¹ H NMR spektrumu (DMSO-D ₆ , 400 MHz).	27
Şekil 4.6. Bileşik 7'nin ¹³ C NMR spektrumu (DMSO-D ₆ , 101 MHz).	28
Şekil 4.7. Bileşik 7'nin kütle spektrumu.	28
Şekil 4.8. Bileşik 9'un ¹ H NMR spektrumu (DMSO-D ₆ , 400 MHz).	29
Şekil 4.9. Bileşik 9'un ¹³ C NMR spektrumu (DMSO-D ₆ , 101 MHz).	29
Şekil 4.10. Bileşik 9'un kütle spektrumu.	30
Şekil 4.11. Bileşik 1'in ¹ H NMR spektrumu (DMSO-D ₆ , 600 MHz).	30
Şekil 4.12. Bileşik 1'in kütle spektrumu.	31
Şekil 4.13. Bileşik 1'in soğurma spektrumu (1,093 x 10 ⁻⁶ M, CH ₃ OH, λ _{max} : 785 nm).	31
Şekil 4.14. Bileşik 2'nin genel sentez şeması.	32
Şekil 4.15. Bileşik 13'ün ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).	33
Şekil 4.16. Bileşik 13'ün ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 151 MHz).	33
Şekil 4.17. Bileşik 13'ün kütle spektrumu.	34
Şekil 4.18. Bileşik 15'in ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).	34
Şekil 4.19. Bileşik 15'in ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 151 MHz).	35

Şekil 4.20. Bileşik 15'in kütle spektrumu.....	35
Şekil 4.21. Bileşik 17'nin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	36
Şekil 4.22. Bileşik 17'nin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 151 MHz).....	36
Şekil 4.23. Bileşik 17'nin kütle spektrumu.....	37
Şekil 4.24. Bileşik 19'un ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 400 MHz).....	37
Şekil 4.25. Bileşik 19'un ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 101 MHz).....	38
Şekil 4.26. Bileşik 19'un kütle spektrumu.....	38
Şekil 4.27. Bileşik 2'nin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 400 MHz).....	39
Şekil 4.28. Bileşik 2'nin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 101 MHz).....	39
Şekil 4.29. Bileşik 2'nin kütle spektrumu.....	40
Şekil 4.30. Bileşik 2'in soğurma spektrumu (29,95 x 10 ⁻⁶ M, DMSO, λ _{max} : 820 nm).....	40
Şekil 4.31. Nanokompozit 1'in soğurma spektrumu (6,66 x 10 ⁻³ mg/mL, PBS pH=7.4, λ _{max} : 795 nm).....	41
Şekil 4.32. Nanokompozit 1'in H ₂ O ₂ çözeltisinde ultrasese maruz bırakılması ile meydana gelen değişim.....	41
Şekil 4.33. a) Derişime bağlı sıcaklık değişimi. b) Lazer gücüne bağlı sıcaklık değişimi. c) Isınma soğuma eğrileri. d) Termal kamera görüntüsü.....	42
Şekil 4.34. a) Derişime bağlı sıcaklık değişimi. b) Lazer gücüne bağlı sıcaklık değişimi. c) Isınma soğuma eğrileri. d) Termal kamera görüntüsü.....	43
Şekil 4.35. Işık uygulamasıyla DPBF soğrumunda meydana gelen değişim.	43
Şekil 4.36. Işık ve ultrases uygulamasıyla DPBF soğrumunda meydana gelen değişim.....	44
Şekil 4.37. Nanokompozit 1'in L929 hücre hattı üzerinde biyouyumluluk testi.....	44
Şekil 4.38. Dört farklı derişim ile denenen <i>in vitro</i> testlerin a) FTT, b) FDT, c) SFDT d) üçlü terapi ölüm oranları.	45
Şekil 4.39. a) Canlı sayım sonuçları (KOB/mL), b) Ölüm oranları (%), c) Canlı sayım sonuçlarına ait Petri görüntüleri.	46
Şekil 4.40. a) Canlı sayım sonuçları (KOB/mL), b) Ölüm oranları (%), Canlı sayım sonuçlarına ait Petri görüntüleri.	47
Şekil 5.1. Bileşik 1'in genel sentez şeması.	48
Şekil 5.2. Bileşik 2'nin genel sentez şeması.	49
Şekil 5.3. Nanokompozit 1'in şematik gösterimi.	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Au	Altın
ATP	Adenozin Trifosfat
BSA	Sığır Serum Albumin
Cu	Bakır
DPBF	Difenilizobenzofuran
ER	Endoplazmik Retikulum
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
FDT	Fotodinamik Terapi
Fe	Demir
Fe₃O₄	Demir Oksit
FT	Fototerapi
FTT	Fotothermal Terapi
gC₃N₄	Grafitik Karbon Nitrür
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
ICG	İndosiyanin Yeşili
İSD	İnorganik Sonoduyarlaştırıcı
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
MCF	McFarland Standardı
mm³	Milimetre Küp
Mn	Mangan
MnO₂	Mangan (II) Oksit
Mo	Molibdenyum
MS	Kütle Spektrumu
MTT	Methylthiazolyl Tetrazolium Tuzu
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Brot
NIR	Yakın Kızılötesi
nm	Nanometre
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NP	Nano Parçacık
O₂	Oksijen Molekülü
OD	Optik Yoğunluk
OSD	Organik Sonoduyarlaştırıcı
PBS	Fosfat Tuzu Tampon Çözeltisi
Pd	Paladyum
Pt	Platin
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SA	Serum Albumin
SDT	Sonodinamik Terapi
SF	Serum Fizyolojik
SFDT	Sonofotodinamik Terapi
TiO₂	Titanyum Dioksit
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
W	Watt
ZnO	Çinko Oksit
λ	Dalgaboyu
μ	Mikro

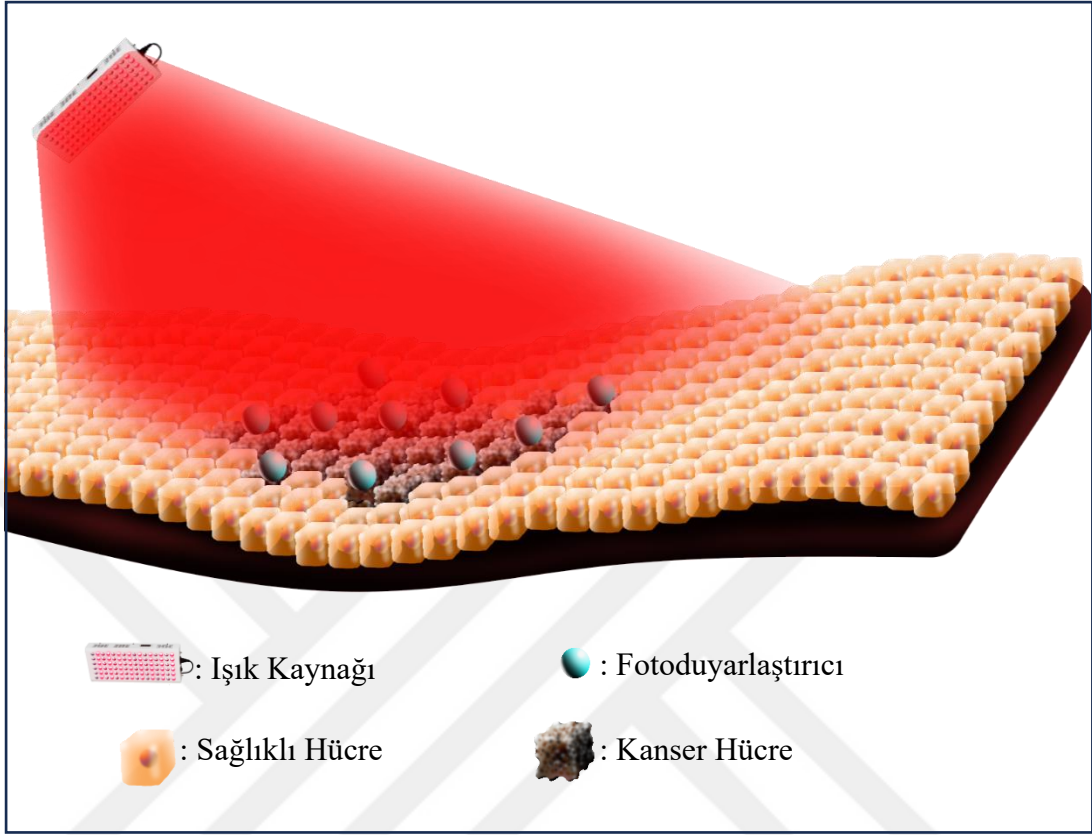
1.GİRİŞ

Kanser, vücudun hemen hemen her organında veya dokusunda görülebilen, anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, normal sınırlarını aşarak yakın bölgelere ve/veya diğer organlara yayılarak istila etmesiyle oluşan bir hastalık çeşididir. Dünya genelinde ikinci önde gelen ölüm nedeni olup, 2018 yılında tahmini olarak 9,6 milyon ölüme veya her 6 ölümden 1'ine neden olmuştur (URL-1). Kemoterapi, radyoterapi ve ameliyat kanser için uygulanan geleneksel tedavi yöntemleridir. Ancak geleneksel kanser tedavi yöntemlerinin çeşitli dezavantajları vardır ve bu nedenle tedavi için yeterli olamayabilmektedir. Bunlara örnek olarak kemoterapide kullanılan ilaçların bağışıklık sistemine zarar vermesi (Sharma vd., 2024), kanser hücrelerin kemoterapi ilacına direnç geliştirmesi; ilacın inaktivasyonu yada hücrelerin apoptozdan kaçması (Eslami vd., 2024) veya tekrarlayan kansere karşılık tekrar radyoterapi veya kemoterapi yöntemlerine başvurulamaması yani doz ile sınırlı yöntemler olması (Eslami vd., 2024; Sharma vd., 2024) verilebilir. Bahsedilen dezavantajlar sebebiyle yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilme ihtiyacı hasıl olmuştur. Yeni nesil tedavi yöntemlerinden fotodinamik terapi (FDT) ilk defa 1900'lerin başında boyaların ışık varlığında mikroorganizmaları inhibe etmesi şeklinde rapor edilmiştir (Kessel, 2019). FDT, çeşitli onkolojik, kardiyovasküler, dermatolojik ve oftalmik hastalıklar için Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmış klinik bir tedavi yöntemidir (Tufano vd., 2020). Fakat hala günümüzde FDT kanser tedavisinde öncelikli olarak tercih edilen bir yöntem değildir. Bunun sebebi, kullanılan fotoduyarlaştırıcıların veya tedavi yönteminin tek başına yeterli gelmemesi yani istenilen sonucu verememesidir. FDT'nin yeterli bir yöntem olamamasına dair açıklamalar literatürde; hipoksi koşullarında tedavi mekanizmasının aksaması (Hong vd., 2022) veya FDT mekanizmasının istenen oranda apoptozu tetiklememesi (Veld vd., 2023) şeklinde yer almaktadır. FDT'nin bu dezavantajları aşılabılırsa kanser tedavi yöntemlerine önemli bir katkı sağlanabilecektir. Bu tez çalışmasında yüksek molar soğurma katsayısına sahip fototerapi ajanlarının sentezlenmesi amaçlanmıştır.

1.1 Fototerapi

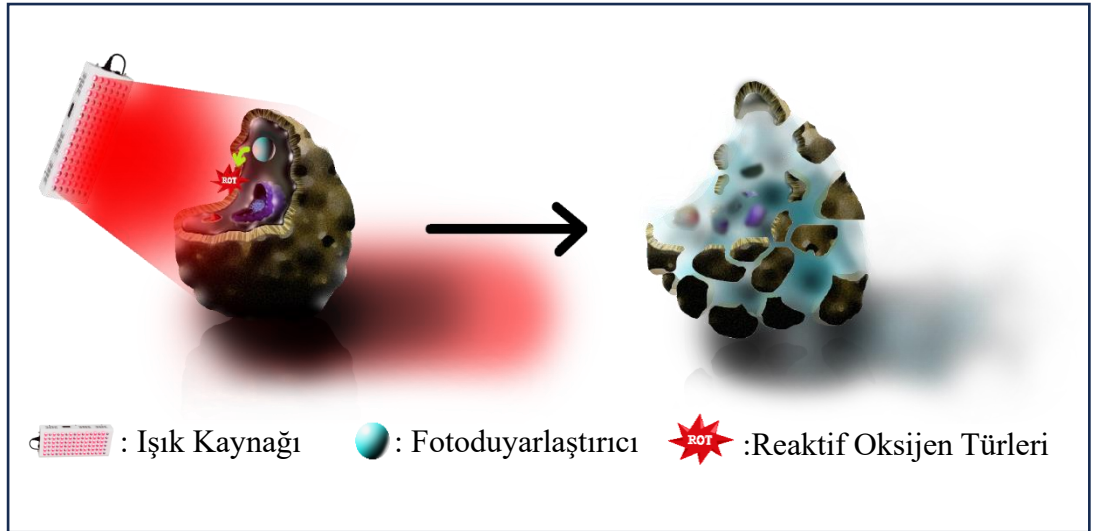
Fototerapi, hastalıklı bölgenin ışığa maruz bırakılarak tedavi edilmesini esas alan bir yöntemdir (Şekil 1.1). İnaktif formda olan FD'nin ışık ile aktive olması ve toksik etki göstermesi şeklinde tanımlanabilir (Simoes vd., 2020). Dolayısıyla FD'nin karanlıkta

en az toksisite, belirli bir dalga boyundaki ışığın varlığında ise yüksek toksisite göstermesi beklenmektedir (Simoes vd., 2020).



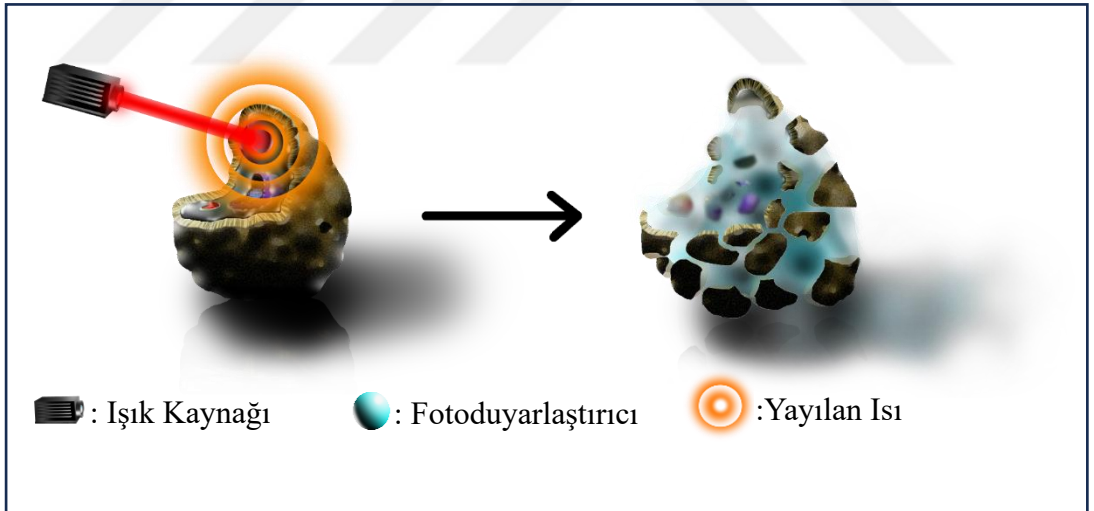
Şekil 1.1. Fototerapinin hücelere uygulanması.

Fototerapi, başlıca FDT ile fototermal terapi (FTT) olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır. FDT; ışık, oksijen ve bir fotoduyarlastırıcı ajanın etkileşimine dayanan yenilikçi bir tedavi yöntemidir (Li vd., 2020). Işık uygulaması ile fotoduyarlastırıcının ışığı soğurması ve sitotoksik reaktif oksijen türlerini (ROT) oluşturması yöntemidir (Şekil 1.2). FDT, çeşitli onkolojik, kardiyovasküler, dermatolojik ve oftalmolojik hastalıkların tedavisinde FDA raporunda onaylanmış klinik bir uygulamadır (Tufano vd., 2020). FTT'de ise, hücre ve dokularda lokal sıcaklık artışı oluşturabilen fototermal ajanlar kullanılır (Chen vd., 2022). Bu ajanlar ışığı soğurarak uyarılmış singlet hale geçer; ardından bu uyarılmış halin enerjisi, ışımasız geçişler aracılığıyla ısı enerjisine dönüşür (Şekil 1.3). Ortam sıcaklığı 42°C'ye ulaştığında doku hasarı meydana gelirken, 42–46°C aralığında nekroz, daha yüksek sıcaklıklarda ise hızlı hücre ölümü gözlemlenir (Li vd., 2020).



Şekil 1.2. FDT'nin temel çalışma prensibi.

Fototerapinin başlıca avantajları arasında tedavi süresinin kısa olması, düşük maliyetli oluşu, yalnızca ışık uygulanan bölgede etki göstermesi sayesinde yüksek uzamsal seçicilik sağlaması, düşük toksisite, noninvazif doğası ve minimal yan etki profili yer almaktadır (Lagos vd., 2021; Lin vd., 2020; Pham vd., 2021). Bu nedenlerle, fototerapi ajanlarının geliştirilmesine yönelik kapsamlı araştırmalar yürütülmektedir.

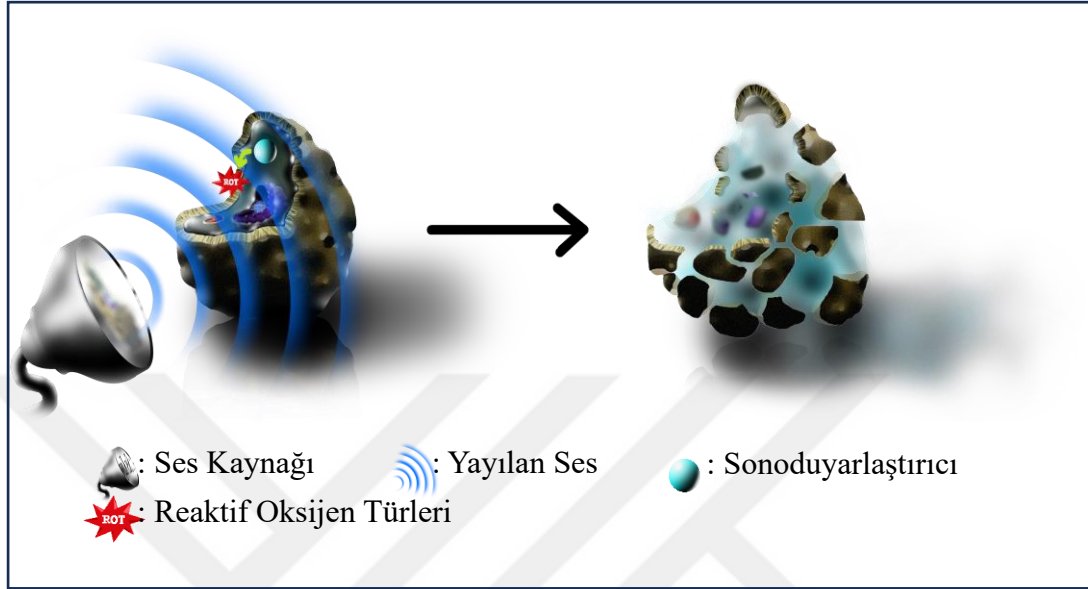


Şekil 1.3. FTT'nin temel çalışma prensibi.

1.2 Sono-fotodinamik Terapi

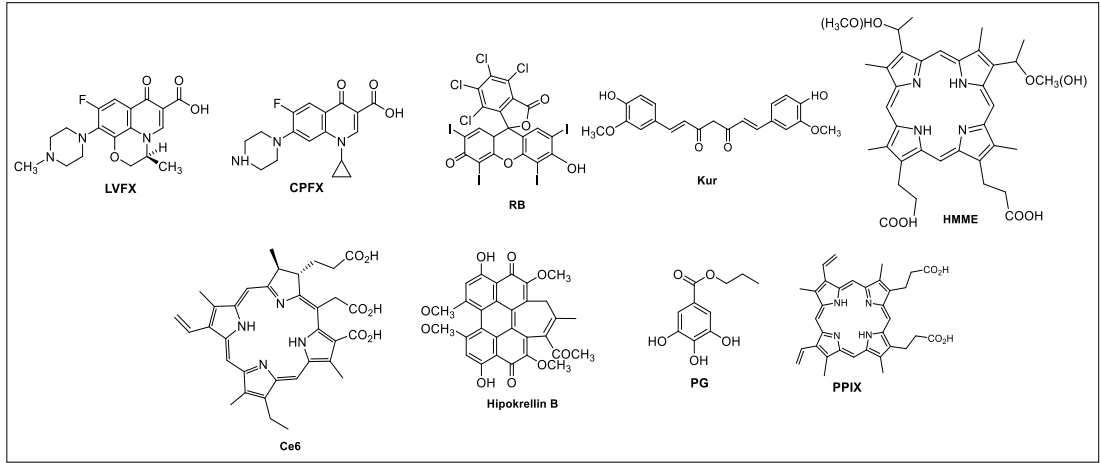
Bu tez çalışmasında terapi yöntemleri kombinlenirken, kullanılacak bir diğer terapi yöntemi de SDT'dir. SDT, düşük yoğunluklu ultrases dalgalarının sonoduyarlaştırıcı (SD) ile etkileşimi sonucu başlayan sonokimyasal bir tepkimenin lokal olarak sitotoksisite göstermesi esasına dayanır. Temel prensip FDT prensibine oldukça

benzer ve ROT oluşturması şeklinde etki eder (şekil 1.4). Ayrıca, duyarlaştırıcıyı aktive eden ses dalgalarının tek başına (duyarlaştırıcı olmadan) toksik etki göstermemesi bu terapi yöntemini uygulanabilir kılmaktadır. Ultrases dalgaları hastane ve kliniklerde teşhis amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.



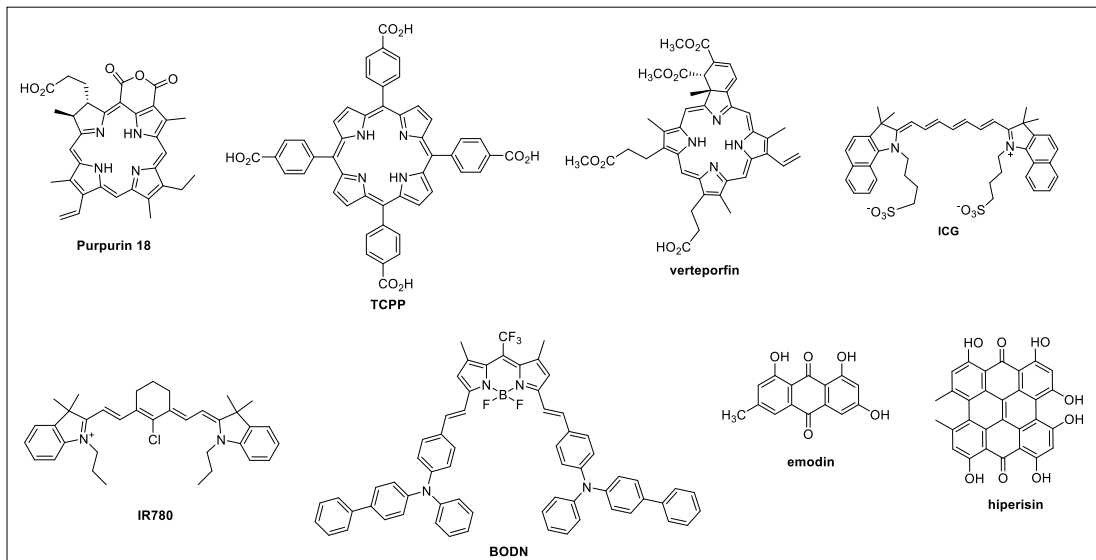
şekil 1.4. SDT'nin temel çalışma prensibi.

SDT'de ultrases, oksijen ve sonoduyarlaştırıcı bir ajan gereklidir. SDT'ye ilişkin ilk çalışma 1989 yılında yapılmıştır: Yumita vd. ultrases dalgaları ile aktive edilen porfirin türevinin kanser hücrelerini hasara uğrattığını ilk kez göstermiştir (Yumita vd., 1989). Bu nc çalışmalardan sonra SDT'nin özellikle organik sonoduyarlaştırıcı (OSD)'lerle birlikte gelişmeye başladığı söylenebilir. ZnO (Bahrami vd., 2023; Dolan vd., 2018), TiO₂ (Pourhajibagher ve Bahador, 2021), Mo (Zong vd., 2023), Au, Ag, Cu (Lopes vd., 2024) gibi inorganik nanomalzemelerin yanı sıra organik-inorganik hibrit malzemelerin (Hu vd., 2024; Huang vd., 2024; Sun vd., 2024; Wang vd., 2023; Wang vd., 2020; Yu vd., 2021) de SDT'de kullanılabileceği gösterilmiştir. Ancak OSD'lerin sonoduyarlılıkları inorganik sonoduyarlaştırıcı (İSD)'lere kıyasla daha iyi olduğundan OSD'lerin klinik potansiyelleri daha yüksektir. SDT'de kullanılan bazı organik sonoduyarlaştırıcıların yapıları şekil 1.5'te gösterilmiştir.



Şekil 1.5. Organik sonoduyarlastırıcıların (OSD) yapıları.

SD'ler SDT'nin en önemli parçasıdır ve ideal olarak akustik duyarlılıklarının yüksek olması beklenir. Zira ultrasese maruz kaldıklarında temel halden uyarılmış hale geçerek aktifleşirler ve temel hale dönerken saldıkları enerji ile ROT oluştururlar. Araştırmacılar SDT'nin etkinliğini arttırmak için (kapsülleme, nanoparçacık (NP) haline getirme ve/ya nanoparçacıklarla taşıma gibi) nano formülasyonlar geliştirilmiştir. SDT için nanoformülize edilen bazı OSD'lerin yapısı Şekil 1.6'da gösterilmiştir.



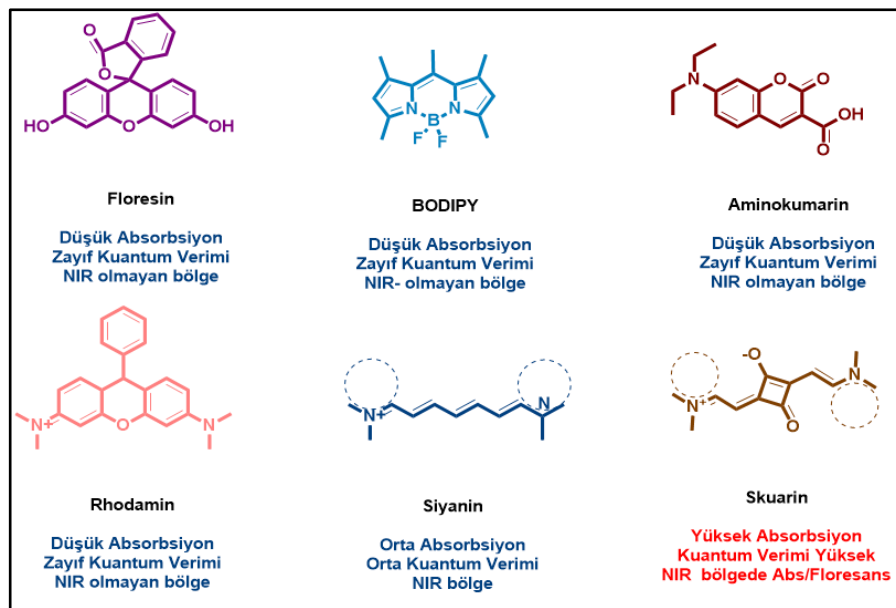
Şekil 1.6. SDT için nanoformülize edilen bazı OSD'ler.

SDT noninvazif bir yöntem olmasına rağmen yeni yeni rağbet görmeye başlamış ve SDT mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak ultrasese yarattığı mekanik stres, kavitasyon etkisi ve ROT'nin sitotoksik etki mekanizmasında rol aldığı

kabul edilmektedir (Wysocki vd., 2022). Bununla birlikte sonoduyarlaştırıcıların ROT üretme etkinlikleri (fotoduyarlaştırıcılardan genelde daha) düşük olduğundan SDT ile sinerjik etki yaratabilecek FDT ve FTT gibi yöntemler kombine edilerek uygulanmakta, böylece tedavi süresi kısaltılabilmekte ve daha etkili sonuçlar alınabilmektedir (Alagha ve Gulsoy, 2025; He vd., 2024). SDT'nin yönteminin FDT yöntemiyle kombinasyonu sonofotodinamik terapi (SFDT) olarak adlandırılmaktadır. Duyarlaştırıcının hem ışık ile hem ultrases ile etkileşimiyle oluşan sinerjistik etki; tekli terapi yöntemlerinin ROT üretim verimine kıyasla, SFDT'nin daha yüksek ROT üretme verimine sahip bir metod olarak kullanılmasına imkan sağlar. Literatürde SDT ve FDT'nin kombinasyonu olan SFDT çalışmalarında iki terapi metodunun sinerjistik etkisiyle daha yüksek verime sahip olduğu yer almaktadır (Alagha ve Gulsoy, 2025; He vd., 2024).

1.3 NIR Boyalar

NIR (yakın kızılötesi) bölgede soğurma yapabilen boyalar (Şekil 1.7) genellikle bir elektron alıcı (akseptör) ve elektron verici en az bir grubun (donör) konjugasyonu şeklinde tasarlanır (Yadav vd., 2020). Molekül boyunca uzanan çift bağ konjugasyonu, tasarlanan molekülün en fazla soğrum yaptığı dalgaboyunu 600-850nm aralığına çeker. Bu aralığa terapötik pencere denir ve biyolojik bileşenlerin bu aralıkta soğurma yapmaması, NIR boyaın terapötik uygulamalar amacıyla kullanılmasında ışıktan en fazla verim ile yararlanabileceği anlamına gelmektedir (Simoes vd., 2020).



Şekil 1.7. Yaygın olarak kullanılan boyaın temel yapıları.

1.4 Hipoksi

Kanser hücrelerinde çoğu biyolojik aktivitenin bozulması ve sadece bölünmesine yönelik yapım olaylarının (anabolizmanın) artması sonucu hücrelerde aşırı adenozin trifosfat (ATP) tüketimi görülmektedir (Urry vd., 2020). Hızlı bölünme sürecine eşlik eden sentez vetiresi; protein sentezi için amino asit aktivasyonu, ribozomun amino asit zincirlerinin uzamasını devam ettirmesi, pürin ve pirimidin sentezleri, membran üretimi için lipid sentezi ve hücre iskeleti sentezi gibi pek çok anabolik olayı kapsar (Lodish vd., 2021). Her biri ATP tüketimi ihtiva eden bu yapım olaylarının ATP tüketim hızına karşılık gelecek bir üretim hızı ihtiyaç haline gelir. Kanser hücreleri ATP sentezleyebilmek için laktik asit fermentasyonu, yağ asidi oksidasyonu ve oksijenli solunum gibi pek çok yolu aynı anda aktif olarak kullanır (Lodish vd., 2021). Hücre içerisinde bulunan ve pasif olarak taşınan ekstraselüler matriksten alınan çözünmüş oksijen; yağ asidi oksidasyonu ve oksijenli solunum yollarında kullanılır (Lodish vd., 2021; Nelson ve Cox, 2017). Dolayısıyla kanser, hücre içinde sitoplazmada ve doku genelinde hücreler arası boşukta giderek azalan çözünmüş oksijen derişimi ile karakterize edilir. Bu duruma hipoksi adı verilir. Öyle ki tümörlerde gözlenen anjiyogenezin başlamasında da hipoksinin bir rolü vardır. Prolin hidroksilazların hipoksik ortamda aktivitesi azalması sonucu HIF-1 α yıkılmaz ve fazla HIF-1 α , çekirdek içerisinde HIF-1 β ile birlikte VEGF dahil birçok anjiyogenezinin transkripsiyon faktörü olarak işlev görür. VEGF tümör mikroçevresindeki endotelial hücrelere etki eder. Endotel hücreleri bölünmeye, göç etmeye ve tüp (damar öncül yapısı) oluşturmaya başlar. Bu süreç var olan damarların dallanması (anjiyogenezi), primitif damar oluşumu (vazkülogenez) ve damar genişlemesi (arteriyogenezi) olarak görülebilmektedir. Kan ile tümöre alınan çözünmüş oksijen yine tümörün büyümesi için kullanılacağından oksijen tüketimi ve üretimi arasındaki fark kapanmaz yani hipoksik koşullar kanser dokularda genellikle değişmeyen bir koşul olarak kendini gösterir (Lodish vd., 2021). Hipoksi, tümör mikroçevresinde kontrolsüz büyümeyi, anjiogenezi, metastazı ve ilaç dirençliliğini destekleyici bir ortam oluşur. Hücre bölünmesi hipoksik ortamda durmaz fakat bir miktar yavaşlar. Bu durum bölünen hücreler üzerinde etkili olan kemoterapi yöntemini nispeten etkisiz kılar. Radyoterapide kullanılan iyonize radyasyon serbest oksijen molekülünün uyarımı mekanizmasıyla ilerlediğinden hipoksik koşullarda radyoterapi de yüksek aktivite gösteremez. Aynı zamanda fibroblast ve immün hücrelerin hipoksik dokularda

artan aktivitesi tedavi yanıtını baskılayan bir mikroçevre oluşturur. Yeni nesil tedavi yöntemlerinden SDT ve FDT de ortamda bulunan temel haldeki oksijene bağlı yöntemlerdir. Yani hipoksik koşullarda ROT üretimi duracaktır, bu da yine tedavi sürecinin baskılandığı anlamına gelmektedir. Bu nedenlerden yola çıkarak; hipoksi, kanser tedavisinde belki de öncelikli olarak aşılması gereken önemli bir engeldir denebilir.

Hipoksi engelini aşılmasında pek çok farklı yaklaşım literatürde yer almaktadır. FDT'nin FTT ile kombinasyonu bu yaklaşımlardan biridir. FDT çözünmüş oksijene ihtiyaç duyarken, FTT'de fotoduyarlaştırıcı soğurduğu enerjiyi etrafına ısı olarak vereceğinden oksijenden bağımsız bir yöntemdir. Dolayısıyla tedavinin etkisini artırabilecek bir kombinasyon yöntemi olarak literatürde yer almaktadır (Pamuk Algi ve Sarıgol, 2024).

Hipoksiye karşı bir diğer yaklaşım da ortamda bulunan çözünmüş oksijen miktarını H_2O_2 ile artırmaktır. Yapılan çalışmalarda özellikle endojen H_2O_2 'yi O_2 'ye çevirebilen (katalaz, Pd, Pt, Mn, MnO_2 , Fe_3O_4 NP gibi) katalizörler dikkat çekmektedir. Zira kanser bölgesinde yüksek miktarda bulunan H_2O_2 bu tür katalizörler vasıtasıyla O_2 'ye çevrilmekte ve hipoksik ortam yatıştırılarak terapi etkinliği artırılabilir. Örneğin, mezo-tetra(4-karboksifenil)porfirin (T790) ile dekore edilen Pd@Pt nanozimin (Pd@Pt-T790) katalaz benzeri aktivitesinin bloke olduğu ancak nanozimin ultrasesle etkileştirildiğinde aktifleşerek endojen H_2O_2 'yi O_2 'ye çevirebildiği literatürde yer almaktadır (Sun vd., 2020). Fe_3O_4 NP Fenton reaksiyonu ile endojen H_2O_2 'yi O_2 ve $HO\cdot$ dönüştürerek terapötik etkinliği arttırabilmektedir. Buna örnek olarak ise, Fe_3O_4 NP yüklenmiş ICG modifiye lipozomların ultrasesle parçalanarak Fe_3O_4 NP saldığı ve Fe_3O_4 NP'ların hipoksiyi hafifletebilecek O_2 ve bakterileri apoptoza sürükleyecek $HO\cdot$ oluşturduğu bilgisi literatürde yer almaktadır (Zhang vd., 2023).

1.5 Albumin Proteini

Terapi etkinliğini sınırlayan en önemli faktörler, suda çözünmeyen duyarlaştırıcıların vücutta dağılmaması veya suda çözünbilme özelliği taşıyan duyarlaştırıcıların vücutta rastgele dağılmasıdır. Oysa duyarlaştırıcıların seçimli olarak hastalıklı dokularda yığılması sağlanabilirse terapötik etkinlik de arttırılabilir. Tezde tasarlanan

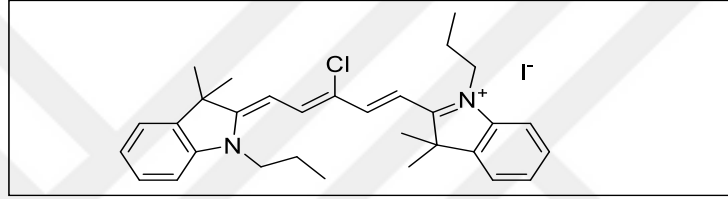
antikanser nanoparçacığın kanser bölgesinde yığılma gösterebilmeleri için serum albümin (SA) ile formülizasyon planlanmıştır. Albumin proteinleri lizozomal yıkıma uğramak üzere kanser hücrelerine amino asit kaynağı olarak kullanılması amacıyla albumin spesifik reseptörler üzerinden hücrelere çekilir (Nelson ve Cox, 2017). Kanser hücrelerindeki geçirgenlik arttığından özellikle 40–70 kDa proteinler tümöre kolay girer ama dışarı çıkamaz (Nelson ve Cox, 2017). Plazmada en bol bulunan protein olan SA yüksek biyoyoumluluğu ve biyobozunurluğunun yanı sıra nonimmunojenik olması ve toksik etki göstermemesi gibi üstün özellikleri nedeniyle klinik uygulamalar için son derece elverişli ve FDA tarafından onaylanmış bir ilaç taşıma sistemidir (Kratz, 2014).



2. KAYNAK ÖZETLERİ

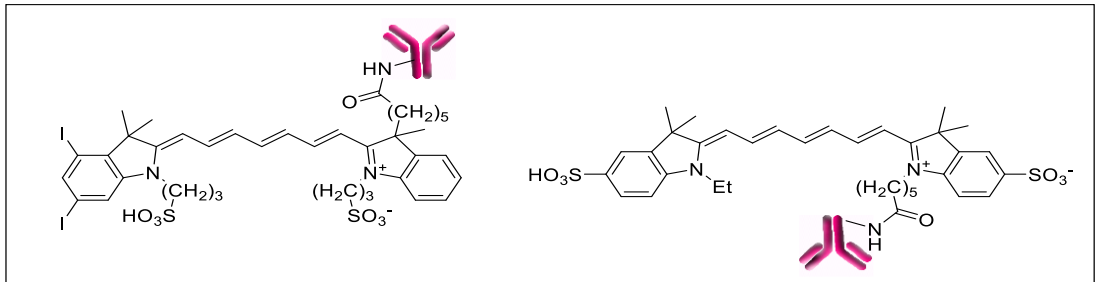
2.1 Siyaninler

Li vd. (2015), sentezledikleri sonoduyarlaştırıcı (Şekil 2.1) ile yaptıkları çalışmada, 4T1 kanser hücre hattı üzerinde SDT denemesi yapmışlardır. Sonoduyarlaştırıcının hücre içerisine alınabildiği gösterilmiştir. Hücre içerisine alınan sonoduyarlaştırıcıya ultrases uygulandığında ROT derişiminde önemli ölçüde artış olduğu gözlenmiştir. Kanser hücrelerinde apoptoz ve nekroz gerçekleştiği gözlenmiş ve TUNEL boyama ile fotoğraflanmıştır. Ayrıca BALB-c (Bagg Albino-c) fareler üzerinde yapılan denemelerde tümör büyümesini önemli ölçüde baskıladığı rapor edilmiştir (Li vd., 2016).



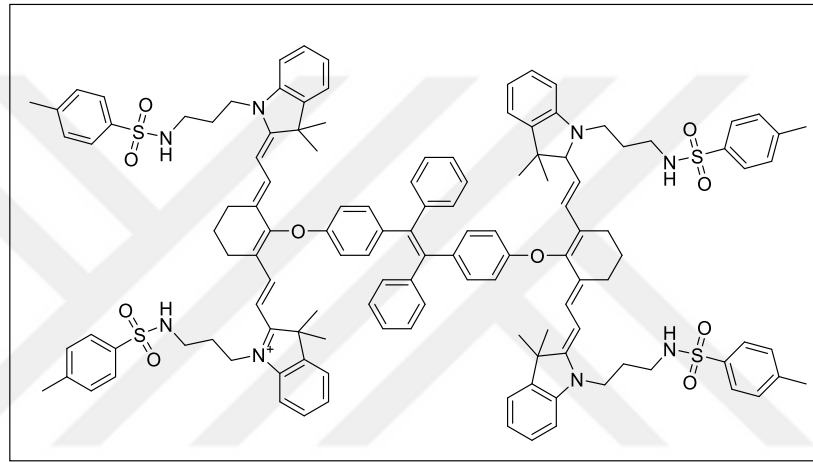
Şekil 2.1. Sonoduyarlaştırıcı olarak kullanılan heptametin siyanin'in yapısı.

Kobzev vd. (2024), siyanin türevlerini (Şekil 2.2) kullanarak SDT ve FDT metodlarının birleşimi yani SFDT yöntemini test etmişlerdir. Bu çalışmada ek olarak sono-foto duyarlaştırıcının antibody ile etkileşimi ve nihai ürünün aktivitesi incelenmiştir. Fareler üzerinde yapılan uygulamada sağlıklı doku hücrelerinde bir sitotoksikite göstermediği sonucuna dayanarak tasarlanan ajanın hedefleme kapasitesi vurgulanmıştır. Tümör üzerindeki etkisi ise, 45 gün içerisinde tümör hacminde 3,5 kat azalma olması sayesinde oldukça etkili bir duyarlaştırıcı olduğu şeklinde yorumlanmıştır (Kobzev vd., 2024).



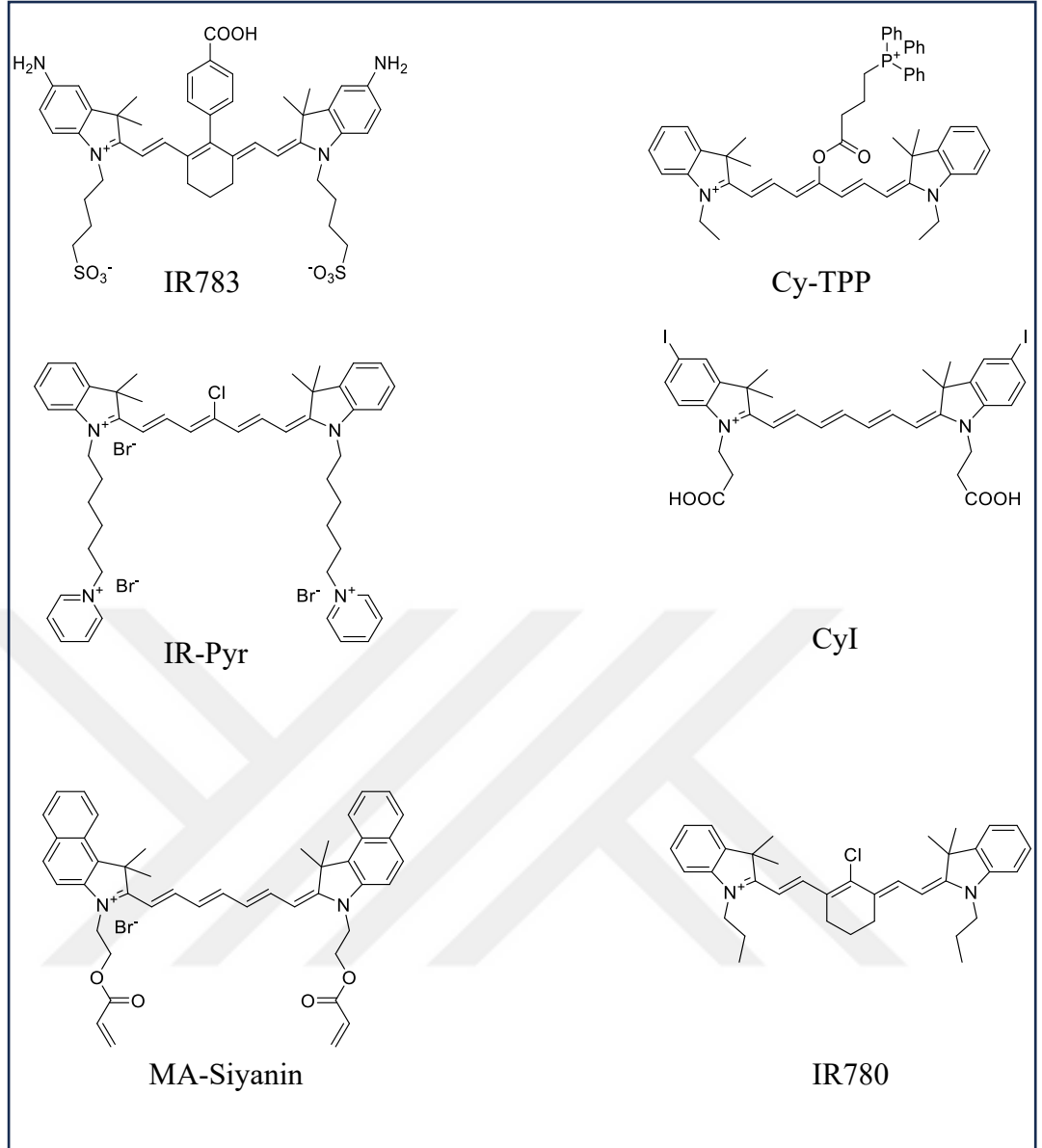
Şekil 2.2. Sono-fotoduyarlaştırıcı olarak kullanılan siyanin türevi bileşikler.

Ma vd. (2025), endoplazmik retikulumu (ER) hedef alan bir siyanin dimeri (Şekil 2.3) tasarlamışlardır. Fotoduyarlastırıcı 808 nm ışığa maruz bırakılarak hem fototermal hem FDT’de etkili olduğu gösterilmiştir. 4T1 kanser hücre hattı üzerindeki etkileri açıklanmış, ışığa maruz bırakılmayan gruplarda ROT üretimi yokken ışık uygulaması yapılan deney gruplarında ROT üretimi gözlenmiştir. A549 ve 4T1 hücre hatları üzerinde lazer uygulanan ve uygulanmayan gruplarda da benzer şekilde ışık varlığında ölüm gözlenmiştir. Fareler üzerinde yapılan terapi denemelerinde tümör hacmi mm³ cinsinden kaydedilmiş ve 100 mm³ tümör hacmiyle başlanan deneyde 21 günde 50 mm³’e yakın bir boyuta kadar gerileme olduğu kaydedilmiştir (Ma vd., 2025).



Şekil 2.3. ER’yi hedef alan siyanin dimeri.

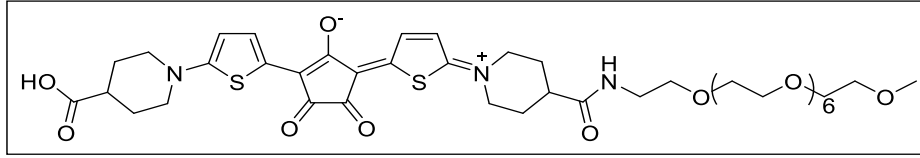
Zang vd. (2022), yayınladıkları derlemede pek çok siyanin türevi boyayı karşılaştırmış (Şekil 2.4) ve kanser teşhisi, gerçek zamanlı görüntüleme, FDT, FTT, ve FDT-FTT kombine tedavi yöntemlerinde kullanıldığı bildirilmiştir. Organik boyalarda suda çözünürlük sınırlı olduğu için ya suda çözünmeyi artıracak fonksiyonel gruplarla modifiye edilerek ya da bir ilaç taşıma sistemine yüklenerek nanoparçacık formunda terapi denemeleri yapılmıştır. Bu tür malzemelerdeki ortak özellik terapötik pencerede soğurma yapmaları ve soğurdıkları ışıkla aktive olabilmeleridir. Bazı boyalar soğurduğu ışığı, ortamda bulunan temel haldeki oksijene ileterek ROT oluştururken; bazı boyalar soğurduğu enerjiyi ışımasız olarak etrafa titreşim olarak dağıtır (Zhang vd., 2022). Bu titreşim ortamın sıcaklığının artması olarak ifade edilebilir. Sonuç olarak FDT ajanları ürettikleri ROT ile antikanser aktivite gösterirken, FTT ajanları ortam sıcaklığını artırarak kanser hücrelerde stres oluşturur ve apoptoz veya nekrozla kanser hücrelerini öldürdüğü belirtilmiştir. Ayrıca bazı siyaninlerde hem FDT hem FTT özelliği gösterdiği rapor edilmiştir (Zhang vd., 2022).



Şekil 2.4. Kanser görüntülemeye ve fototerapi denemelerinde kullanılan bazı siyanin türevi boyalar.

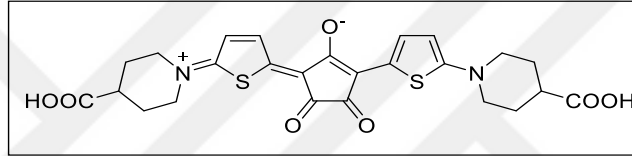
2.2 Krokoninler

Tang vd. (2017), 780nm'de güçlü soğurma sahip krokonin türevi boya (Şekil 2.5) sentezlemişlerdir. Sulu ortamda çözünürlüğü artırmak amacıyla fotoduyarlastırıcıyı bir ilaç taşıma sistemine yüklemişlerdir. Taşıma sistemi olarak polietilen glikol (PEG) kullanmışlardır ve nanoparçacık formunda elde ettikleri malzemeyi FTT ve FDT uygulamalarıyla test etmişlerdir. Kısa süre içerisinde ışık uygulamasıyla ortamda ROT artışı ve sıcaklık artışı kaydedilmiştir. "Kolayca sentezlenen bu moleküler nanoprobolar, çok yönlü bir teranostik ajan olarak klinikte büyük potansiyel göstermiştir" (Tang vd. 2017) şeklinde yorumlamışlardır.



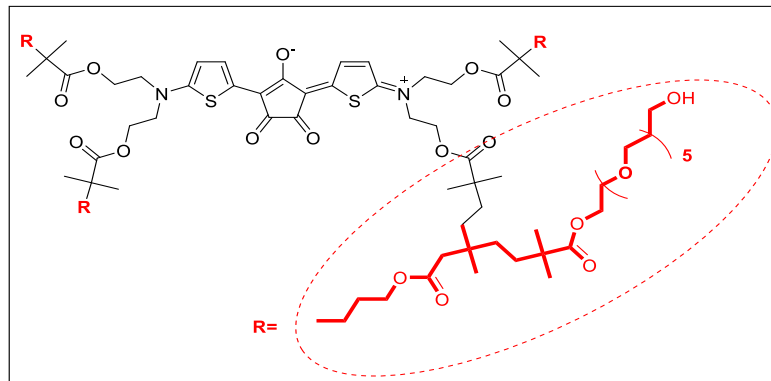
Şekil 2.5. FDT ve FTT ajanı olarak kullanılan krokonin türevi boya.

Li vd. (2022), hem fotoduyarlastırıcı hem sonoduyarlastırıcı olarak kullanılabilecek bir krokonin boyası (Şekil 2.6) sentezlemişlerdir. Dünya üzerinde en çok ölümlle ilişkilendirilen kanser türü olan heptaselüler karsinoma tedavisi için tasarlanan bu polietilen glikol (PEG) ilaç taşıma sistemine yüklenerek terapi denemeleri yapılmıştır. HUH7 (insan hepatoma kanser hücre hattı) üzerinde terapi gruplarında %80'in üzerinde ölüm gözlemlendiği rapor edilmiştir (Li vd., 2022).



Şekil 2.6. FTT ve SDT ajanı olarak kullanılan krokonin türevi boya.

Krokonin türevi boyalar literatürde antimikrobiyal çalışmalar için yaygın bir biçimde yer almamakla birlikte hem gram negatif hem gram pozitif türler üzerinde yapılan çalışmalar da mevcuttur. Örnek olarak; Xu vd. (2024), sentezledikleri krokonin türevi boyanın (Şekil 2.7) hem gram pozitif bakteriler üzerinde hem de gram negatif bakteriler üzerinde yapılan denemelerin sonuçlarını yayınlamışlardır. *S. aureus* ve *E. coli* türlerini 808nm ışık varlığında FTT mekanizmasıyla inhibe etmeyi başarmışlardır. Bu uygulamada 1,3 W şiddetinde lazer uygulamasıyla %100'e yakın bakteri inhibisyonu gözlenmiştir (Xu vd., 2024).



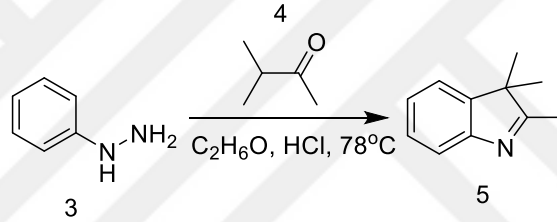
Şekil 2.7. Gram negatif ve gram pozitif türler üzerinde etkili olan FTT ajanı.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Malzeme

Bütün kimyasal malzemeler ve solventler Merck ve Aldrich firmalarından alınmıştır ve solventler literatürde uygulanan metodlara göre saflaştırılmıştır (Hart vd., 2012). İTK (İnce Tabaka Kromatografisi), Merck 0,2 mm silika 60 F254 Analitik Alüminyum Plakalar vasıtasıyla yapılmıştır. Soğurma spektrumları Varian marka Cary 50 model UV-Vis cihazıyla kaydedilmiştir. ¹H NMR (600 veya 400 MHz) ve ¹³C NMR (101 veya 151 MHz) spektrumları Varian marka Inova 600 MHz model cihazı ile kaydedilmiştir. Kütle Spektrumları (MS), Bruker marka Microflex LT modeli ile kaydedilmiştir.

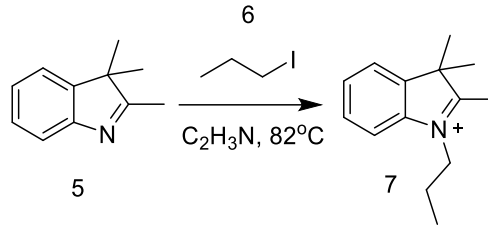
3.2 Bileşik 5 Sentezi: 2,3,3-trimetil-3H-indol



Şekil 3.1. Bileşik 5'in sentezi.

Bileşik 5'in sentez şeması Şekil 3.1'de verilmiştir. Bileşik 3 (10.8 g, 100 mmol) dibi yuvarlak bir cam balon içerisinde etanol (9,8 mL) ile çözülmüştür. Bileşik 4 (9,3 g, 107 mmol) 11,5 mL dibi yuvarlak bir cam balon içerisinde etanol (11,5mL) ile çözülmüştür ve +5 °C'de bileşik 3 çözeltisi üzerine damla damla eklenmiştir. Ekleme işlemi tamamlandığında damla damla 12 M HCl (5 mL) eklenmiştir. Karışım geri soğutucu altında 6 saat kaynatılmıştır. Etanol evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Su ve etil asetat vasıtasıyla ekstraksiyon yapılmıştır. Sarı sıvı ürün: 9,7 g verim %86,7; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.53 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 6.3 Hz, 3H), 7.23 – 7.12 (m, 3H), 2.24 (s, 5H), 1.25 (s, 11H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.86, 153.57, 145.60, 129.15, 127.52, 125.10, 121.25, 119.80, 114.99, 77.67, 77.35, 77.03, 53.51, 22.98, 15.22. FT-IR (cm⁻¹): 613, 633, 654, 694, 8861, 935, 1013, 1039, 1106, 1150, 1200, 1249, 1300, 1360, 1376, 1427, 1453, 1575, 2965, 3302. MS C₁₁H₁₃N için hesaplanan (m/z): 159,10 ölçülen 159,011.

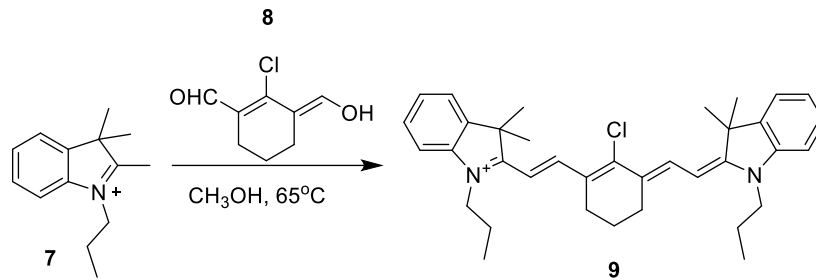
3.3 Bileşik 7 Sentezi: 2,3,3-trimetil-1-propil-3H-indolyum



Şekil 3.2. Bileşik 7'nin sentezi.

Bileşik 7'nin sentez şeması Şekil 3.2'de verilmiştir. Bileşik 5 (2,0 g, 12,5 mmol) ve bileşik 6 (3,2 g, 18,8 mmol), 10 mL asetonitril ile çözülmüştür. 48 saat geri soğutucu altında kaynatılmıştır. Süzülerek beyaz katı ürün toplanmıştır: 1,5 g verim: %83,2; e.n. : 240°C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ 8.01 (dd, J = 5.9, 2.7 Hz, 1H), 7.86 (dd, J = 5.9, 2.6 Hz, 1H), 7.75 – 7.56 (m, 2H), 4.45 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.41 (s, 5H), 2.86 (s, 3H), 2.51 (s, 2H), 1.88 (dd, J = 14.9, 7.4 Hz, 3H), 1.55 (s, 6H), 1.00 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ = 196.62, 141.89, 141.12, 129.45, 128.96, 123.53, 115.55, 54.20, 48.86, 40.22, 40.01, 39.80, 39.59, 39.39, 39.18, 38.97, 22.12, 20.81, 14.09, 10.78. FT-IR (cm⁻¹): 907, 936, 958, 992, 1020, 1031, 1122, 1167, 1204, 1256, 1292, 1331, 1363, 1388, 1432, 1458, 1476, 1594, 1609, 1623, 1683, 1829, 1957, 2004, 2357, 2812, 2869, 2978, 3023.. MS C₁₄H₂₀N⁺ için hesaplanan (m/z): 202,16 [M]⁺ ölçülen 202,020 [M]⁺.

3.4 Bileşik 9 Sentezi: 2-((E)-2-((E)-2-kloro-3-(2-((E)-3,3-dimetil-1-propilindolin-2-iliden)ethyliden)siklohekzenil)vinil)-3,3-dimetil-1-propilindolin-2-iliden)ethyliden)siklohekzenil)vinil)-3,3-dimetil-1-propil-3H-indolyum

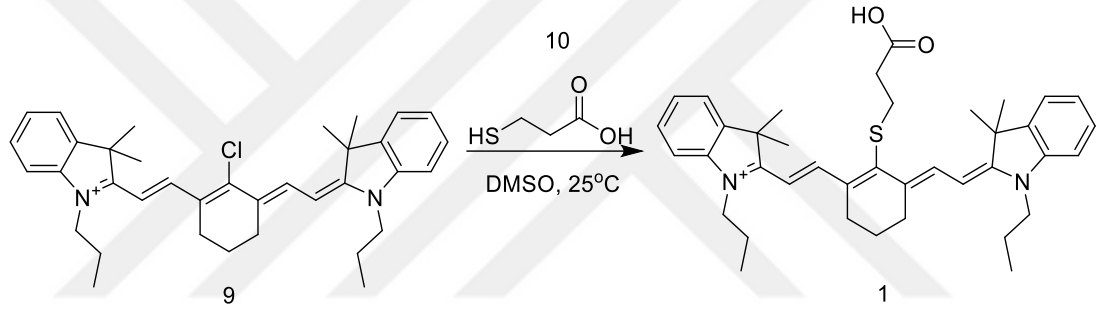


Şekil 3.3. Bileşik 9'un sentezi.

Bileşik 9'un sentez şeması Şekil 3.3'te verilmiştir. Bileşik 7 (3,8 g, 11,6 mmol), ve bileşik 8 (1,0 g, 5,8 mmol), 10 mL metanol ile çözülmüştür. 4 saat geri soğutucu altında kaynatılmıştır. Yeşil katı ürün süzülerek alınmıştır: 4,5 g verim: %91,1; e.n :250 °C ¹H

NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ 8.27 (d, J = 14.1 Hz, 15H), 7.65 (d, J = 7.4 Hz, 17H), 7.56 – 7.27 (m, 51H), 7.18 (dd, J = 33.1, 23.7 Hz, 2H), 6.36 (d, J = 14.2 Hz, 16H), 4.22 (t, J = 6.9 Hz, 34H), 2.72 (s, 35H), 2.51 (d, J = 1.6 Hz, 23H), 1.84 – 1.64 (m, 137H), 0.97 (t, J = 7.4 Hz, 52H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ = 172.41, 143.00, 142.20, 141.06, 128.61, 126.19, 125.16, 122.51, 111.61, 101.66, 49.02, 45.16, 40.23, 40.02, 39.81, 39.60, 39.39, 39.18, 38.97, 27.54, 25.89, 20.50, 11.10. FT-IR (cm⁻¹): 934, 1019, 1068, 1112, 1168, 1205, 1247, 1336, 1365, 1399, 1452, 1427, 1480, 1515, 1550, 1665, 1668, 1670, 2868, 2925, 2963. MS C₃₆H₄₄ClN₂⁺ için hesaplanan (m/z): 539,32 [M]⁺ ölçülen 540,039 [M+H]⁺.

3.5 Bileşik 1 Sentezi: 2-((E)-2-((E)-2-((2-carboksietil)tio)-3-(2-((E)-3,3-dimetil-1-propilindolin-2-ilidene)etiliden)sikloheks-1-en-1-il)vinil)-3,3-dimetil-1-propil-3H-indolyum

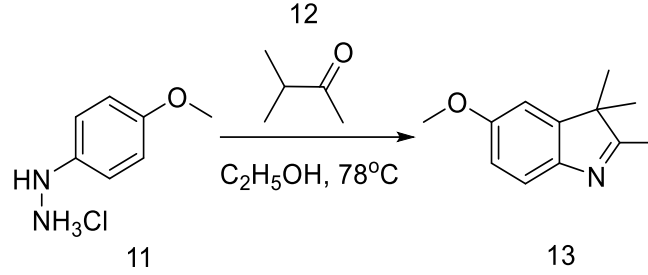


Şekil 3.4. Bileşik 1'in sentezi.

Bileşik 1'in sentez şeması Şekil 3.4'te verilmiştir. Bileşik 9 (1,0 g, 1,8 mmol), ve bileşik 10 (0,5 g, 1,8 mmol) 1,4 mL dimetil sulfoksit ile çözülmüştür. Karışım 24 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Su ve diklorometan vasıtasıyla ekstraksiyon yapılmıştır. Diklorometan evaporatör ile uzaklaştırılır. Yeşil katı ürün elde edilmiştir: 1,2 g verim: %89,6; e.n :155 °C ¹H NMR (600 MHz, DMSO-D₆) δ 8.23 (d, J = 13.4 Hz, 12H), 7.61 (s, 7H), 7.44 (s, 6H), 7.32 (d, J = 86.4 Hz, 12H), 7.04 (d, J = 48.8 Hz, 3H), 6.32 (d, J = 13.3 Hz, 11H), 4.18 (s, 14H), 3.47 (s, 13H), 3.00 (d, J = 379.0 Hz, 31H), 2.63 – 2.58 (m, 1H), 2.47 (s, 8H), 2.47 (s, 13H), 2.15 (d, J = 387.5 Hz, 25H), 2.48 – 1.70 (m, 33H), 1.67 (d, J = 33.5 Hz, 29H), 1.19 (s, 35H), 0.93 (s, 20H), 0.81 (s, 9H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-D₆) δ = 173.31, 172.98, 162.84, 142.77, 141.33, 129.02, 125.31, 122.91, 111.76, 49.28, 49.04, 45.86, 45.44, 40.78, 40.38, 40.30, 40.21, 40.13, 40.04, 39.87, 39.71, 39.54, 39.37, 29.49, 27.91, 26.21, 20.91, 11.58, 8.97. FT-IR (cm⁻¹): 909, 993, 1032, 1126, 1084, 1151, 1204, 1232, 1313, 1365, 1394, 1417,

1427, 1451, 1476, 1506, 1549, 2327, 2362, 2869, 2926, 2963, 3005. MS $C_{39}H_{49}N_2O_2S^+$ için hesaplanan (m/z): 609,35 $[M]^+$ ölçülen 632,164 $[M+Na]^+$.

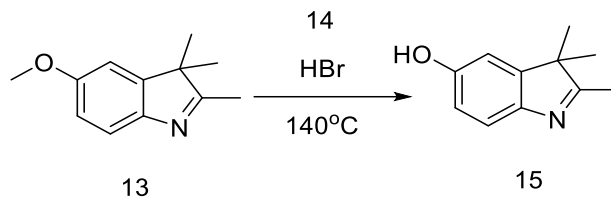
3.6 Bileşik 13 Sentezi: 5-metoksi-2,3,3-trimetil-3H-indol



Şekil 3.5. Bileşik 13'ün sentezi.

Bileşik 13'ün sentezi Şekil 3.5'te verilmiştir. Bileşik 11 (2,0 g, 11,5 mmol), ve bileşik 12 (1,6 g, 23,0 mmol) 10 mL etanol ile çözülmüştür. 24 saat geri soğutucu altında kaynatılmıştır. Oda sıcaklığında soğutulan karışıma su ve diklorometan ile ekstraksiyon yapılmıştır. Diklorometan evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Sarı sıvı ürün elde edilmiştir: 2,3 g verim: %77,9; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.40 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.79 (dd, $J=8.3-2.5$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.25(s, 6H). ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 185.6, 157.8, 147.3, 147.2, 120.0, 111.9, 108.0, 55.6, 53.7, 23.3, 15.2. FT-IR (cm^{-1}): 3010, 2964, 2931, 2862, 2837, 1621, 1595, 1573, 1474, 1462, 1434, 1378, 1335, 1294, 1270, 1179, 1146, 1068, 1032, 943, 901, 821, 747, 698, 615. HRMS $C_{12}H_{15}NO$ için hesaplanan: 189.11536 $[M]^+$; ölçülen: 190.12206 $[M+H]^+$.

3.7 Bileşik 15 Sentezi: 2,3,3-trimetil-3H-indol-5-ol

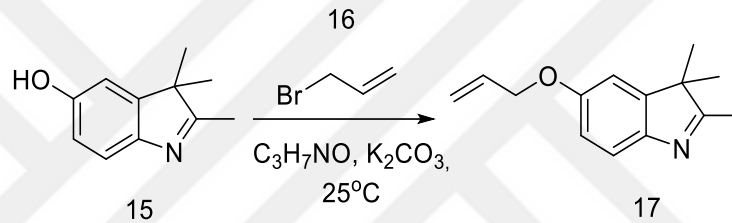


Şekil 3.6. Bileşik 15'in sentezi.

Bileşik 15'in sentezi Şekil 3.6'da verilmiştir. Bileşik 13 (5,0 g, 26,5 mmol), balon içerisinde 10M (20 mL) hidrobromik asit (Bileşik 14) ile çözülmüştür. Karışım 24 saat geri soğutucu altında kaynatılmıştır. 24 saatin sonunda soğumaya bırakılmıştır ve

sodyum bikarbonat katı halde ortama eklenerek pH değeri 7'ye ayarlanmıştır. Su ve diklorometan vasıtasıyla ekstraksiyon uygulanmıştır. Diklorometan evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Beyaz katı ürün elde edilmiştir: 4,5 g verim: %84,0; e.n :180 °C ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 10.44 (bs, 1H), 7.30 (d, J= 8.3 Hz, 1H), 6.85 (d, J= 2.3 Hz, 1H), 6.80 (dd, J= 8.3- 2.3 Hz, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.26 (s, 6H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃): δ 185.8, 155.9, 147.1, 119.7, 114.2, 109.8, 53.5, 23.0, 14.8. HRMS C₁₁H₁₃NO için hesaplanan:175.09971. FT-IR (cm⁻¹): 2966, 1699, 1683, 1652, 1592, 1577, 1558, 1539, 1460, 1389, 1361, 1294, 1273, 1190, 1117, 1060, 943, 910, 835, 815, 761, 667, 628. HRMS C₁₁H₁₃NO için hesaplanan:175.09971 [M]⁺; ölçülen: 174.08229 [M-H]⁺.

3.8 Bileşik 17 Sentezi: 5-(alliloksi)-2,3,3-trimetil-3H-indol

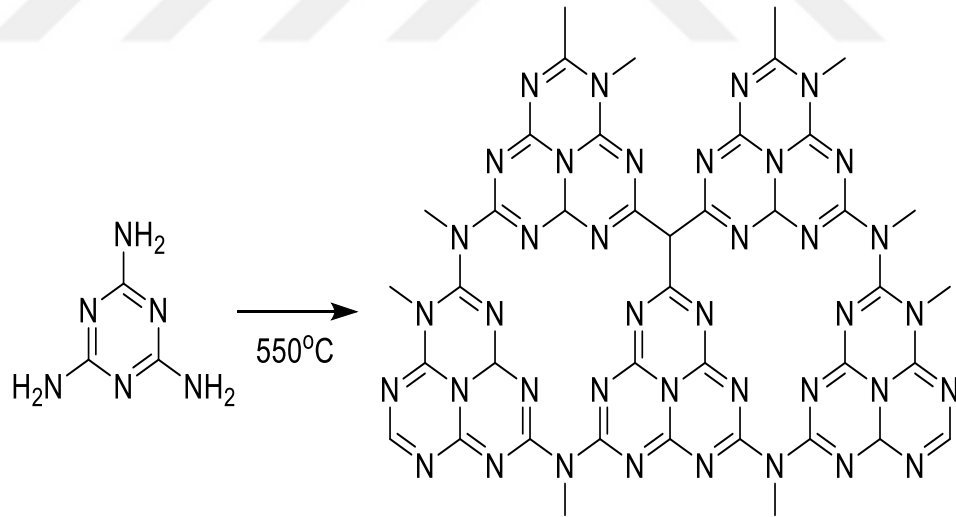


Şekil 3.7. Bileşik 17'nin sentezi.

Bileşik 17'nin sentez şeması Şekil 3.7'de verilmiştir. Bileşik 15 (5,0 g, 28,6 mmol), bir cam balon içerisinde 5 mL dimetil formamid ile çözülmüştür. Bileşik 16 (4,9 g, 57,1 mmol), bir cam balon içerisinde 5 mL dimetil formamid ile çözülmüştür. Buz banyosunda bileşik 15 çözeltisi üzerine bileşik 16 çözeltisi damla damla eklenmiştir. Potasyum karbonat (15,8g, 114mmol) reaksiyon ortamına katı halde eklenmiştir. 24 oda sıcaklığında karıştırılmıştır. 24 saatin sonunda su ve dikloro metan vasıtasıyla ekstraksiyon uygulanmıştır. Dikloro metan evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Sarı sıvı ürün elde edilmiştir: 4,2 g verim: %81,6; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.38 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.83 (d, J= 2.5 Hz, 1H), 6.80 (dd, J=8.3-2.5 Hz, 1H), 6.06-6.01 (m,1H), 5.40 (m,1H), 5.26 (m,1H), 4.52- 4.51 (m, 2H), 2.21 (s, 3H),1.25 (s, 6H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃): δ 185.8, 156.8, 147.5, 147.2, 133.3, 119.9, 117.5, 112.8, 109.0, 69.3, 53.7, 23.37, 15.24. FT-IR (cm⁻¹): 2962, 2862, 1578, 1458, 1423, 1379, 1361, 1331, 1286, 1193, 1144, 1110, 1064, 1019, 996, 925, 867, 811, 734, 699. HRMS C₁₄H₁₇NO için hesaplanan: 215,29600 [M]⁺; ölçülen: 214.11365 [M-H]⁺.

Bileşik 2'nin sentez şeması şekil 3.9'da verilmiştir. Bileşik 19 (1,0 g, 2,9 mmol) ve bileşik 20 (0,2 g, 1,4 mmol), 40 mL metanol ile çözülmüştür. Karışımın üzerine 5 mL (4,9 mg, 62 mmol) piridin eklenmiştir. 8 geri soğutucu altında kaynatılmıştır. Metanol evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Yeşil katı ürün elde edilmiştir: 0,8 g verim: %62,5; e.n :200 °C ¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ 7.48 (d, J = 8.8 Hz, 31H), 7.48 (d, J = 8.8 Hz, 7H), 7.19 (ddd, J = 48.3, 11.2, 5.6 Hz, 41H), 6.34 – 6.07 (m, 11H), 6.07 – 5.46 (m, 14H), 5.42 (d, J = 1.7 Hz, 7H), 5.15 (ddd, J = 258.8, 153.1, 3.5 Hz, 33H), 4.24 (d, J = 7.0 Hz, 7H), 3.31 (d, J = 19.7 Hz, 84H), 2.57 – 1.93 (m, 46H), 1.91 (s, 2H), 1.54 (d, J = 19.9 Hz, 23H), 1.28 – 1.21 (m, 6H), -0.00 (d, J = 3.3 Hz, 18H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ = 185.28, 172.86, 156.73, 143.39, 135.78, 133.56, 117.64, 114.11, 113.04, 110.02, 91.93, 68.90, 50.40, 48.06, 40.43, 40.15, 39.94, 39.73, 39.52, 39.31, 39.11, 38.90, 29.69, 25.78, 23.44. FT-IR (cm⁻¹): 3846, 3835, 3756, 3654, 3598, 3584, 3563, 3513, 3453, 3398, 3065, 2971, 2930, 2865, 2588, 2164, 1682, 1605, 1567, 1481, 1440, 1425, 1393, 1345, 1292, 1178, 934, 877, 818, 756, 724, 682, 604. MS C₉₃H₄₂N₂O₁₁S₂ için hesaplanan: 778,890 [M]⁺; ölçülen: 779,994 [M+H]⁺.

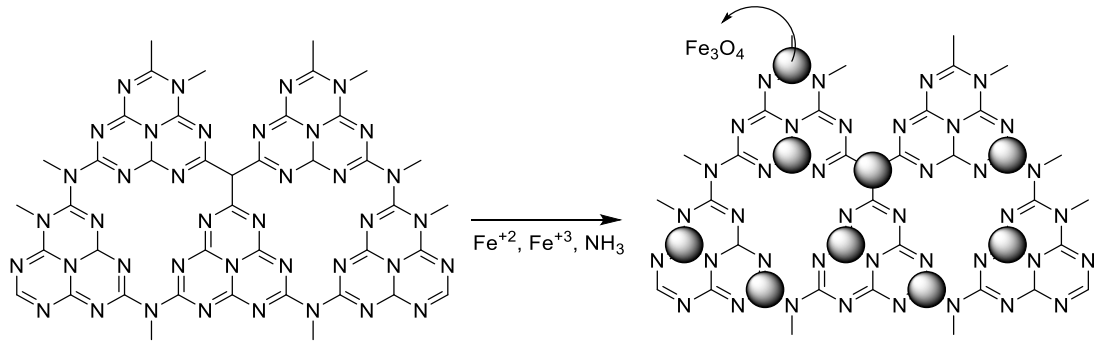
3.11 gC₃N₄ Sentezi



Şekil 3.10. gC₃N₄'ün sentezi.

Grafitik karbon nitrürün (gC₃N₄) sentezi literatürde yer alan metodlarla sentezlenmiştir (Cheng vd., 2021). Melaminin 550 °C 4 saat ısıtılmıştır (Şekil 3.10). Sarı toz ürün elde edilmiştir. FT-IR (cm⁻¹): 1224, 1313, 1393, 1448, 1505, 1538, 1557, 1622, 2160, 3159.

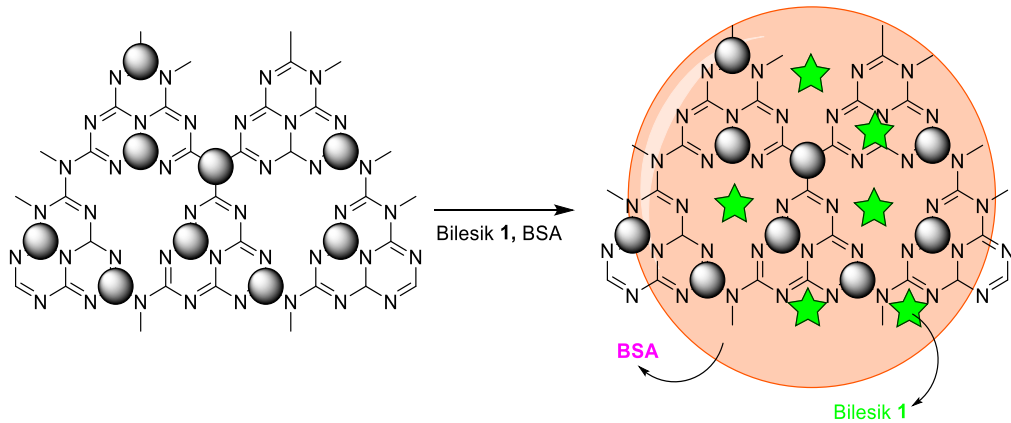
3.12 Fe₃O₄@gC₃N₄ Sentezi



Şekil 3.11. Fe₃O₄@gC₃N₄ sentezi.

Fe₃O₄@gC₃N₄'ün sentez şeması Şekil 3.11'de gösterilmiştir. Grafitik karbon nitrürün demir oksit ile modifikasyonu bilinen metodlarla sentezlenmiştir (Cheng vd., 2021). gC₃N₄'ün (0,10g) 250 mL etanol/su (1:2) karışımında 10 dakika sonikasyonundan sonra, FeCl₃·6H₂O (0.90 g) ile FeCl₂·4H₂O (0.35 g) katı halde ortama eklenmiştir ve 10 dakika daha ultrasonik işleme tabi tutulmuştur. 10 dakika sonunda geri soğutucu altında 1 saat boyunca kaynatılmıştır. 1 saat tamamlandığında amonyak (NH₄OH) hızlıca eklenerek oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Siyah katı ürün süzülerek toplanmıştır. FT-IR (cm⁻¹): 1029, 1123, 1169, 1294, 1394, 1455, 1538, 1645, 2359, 2827, 2961, 3287, 3460, 3564, 3608.

3.13 Nanokompozit 1 Sentezi



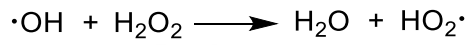
Şekil 3.12. Nanokompozit 1 sentezi.

Nanokompozit 1'in sentez şeması Şekil 3.12'de gösterilmiştir. Bileşik 1, Fe₃O₄@gC₃N₄ ve BSA; DMSO/su (1:1) içerisinde karıştırılmıştır ve sonikasyona tabi tutulmuştur. FT-IR (cm⁻¹): 929, 998, 1039, 1090, 1112, 1127, 1153, 1166, 1205, 1223,

1247, 1313, 1336, 1397, 1451, 1479, 1514, 1548, 1633, 2837, 2868, 2886, 2904, 2961, 3282, 3453, 3819, 3837, 3934.

3.14 Nanokompozit 1'in Oksijen Testi

H₂O₂ demir iyonları varlığında parçalanarak hidroksil radikali ve oksijen molekülü oluşturur (Walling vd., 1975). Oluşum mekanizması Şekil 3.13'te gösterilmiştir (Walling vd., 1975). Nanokompozit 1 H₂O₂ çözeltisi içerisinde ultrasese maruz bırakılmıştır ve fenilendiamin'in oksitlenmesi soğurma spektrumu ile ölçülmüştür.



Şekil 3.13. H₂O₂ varlığında oksijen molekülü oluşumu.

3.15 FDT Testleri

Nanokompozit 1 ve DPBF (difenilizobenzofuran) içeren PBS (fosfat tampon) çözeltisi FDT ve SFDT aktivitesini test etmek amacıyla ultrases varlığında ışığa maruz bırakılarak ROT üretme testleri literatürde yer alan yöntemlere uygun olarak yapılmıştır (Kobzev vd., 2024; Pamuk Algi ve Sarıgol, 2024). Deney süresince DPBF'in soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler kaydedilmiştir.

3.16 FTT Testleri

Nanokompozit 1, PBS çözeltisi içerisinde muhtelif miktarlarda çözülerek farklı konsantrasyonlarda plastik tüplerde birden çok deney grubu oluşturulmuştur. Bu deney grupları en derişikten en seyreltiğe doğru; 250 µg/mL, 125 µg/mL, 0,062 µg/mL derişimlerde nanokompozit 1 içermektedir. Her bir deney grubu 808 nm lazer ışığına maruz bırakılmıştır ve termal kamera ile deney ortamında meydana gelen sıcaklık derişimleri kaydedilmiştir. Aynı derişimde (250 µg/mL) nanokompozit 1 içeren üç farklı deney grubu daha hazırlanarak bu deney gruplarına farklı şiddetlerde lazer ışığı uygulanmıştır. En şiddetliden en zayıf ışık şiddetine sahip deney grupları; 1,50 W (Watt), 1,00 W, 0,50 W olmak üzere her bir deney grubunda zamanla meydana gelen sıcaklık derişimleri kaydedilmiştir.

Bileşik 2, PBS çözeltisi içerisinde muhtelif miktarlarda çözülerek farklı konsantrasyonlarda plastik tüplerde birden çok deney grubu oluşturulmuştur. Bu deney grupları en derişikten en seyreltiğe doğru; 350, 300, 250 µg/mL derişimlerde bileşik 2 içermektedir. Her bir deney grubu 808 nm lazer ışığına maruz bırakılmıştır ve termal kamera ile deney ortamında meydana gelen sıcaklık değişimleri kaydedilmiştir. Aynı derişimde (350 µg/mL) bileşik 2 içeren üç farklı deney grubu daha hazırlanarak bu deney gruplarına farklı şiddetlerde lazer ışığı uygulanmıştır. En şiddetliden en zayıf ışık şiddetine sahip deney grupları; 0,50 W, 0,25 W, 0,10 W olmak üzere her bir deney grubunda zamanla meydana gelen sıcaklık değişimleri kaydedilmiştir.

3.17 Hücre Kültürü

Hücre kültürü çalışmaları, içi sterilize edilen laminar akış kabini içerisinde, literatürde yer alan yöntemlere uygun olarak yapılmıştır. MCF-7(ATCC® HTB-22™) meme kanseri hücre hattı terapi denemelerinde kullanılmak üzere ve fibroblast L929 (ATCC® CRL-6364™) sağlıklı hücre hattı deney grubu olarak ve uygun besiyeri seçilerek ayrı flasklar içerisinde %5 CO₂ ve 37°C ortamında inkübasyona bırakıldı. Yaklaşık %75 yoğunluğa ulaştığında tripsin-EDTA çözeltisiyle pasajlaması yapıldı. 48 kuyucuklu plakalara hücre ekimi yapılarak deneylere hazırlık tamamlanmıştır.

3.18 Sitotoksite Testleri

Logaritmik evredeki hücreler 48 kuyucuklu plakalara ekilir ve belirlenen derişimde Nanokompozit 1 ile inkübe edilmiştir. 24 saat inkübasyonun ardından sıvı besiyeri uzaklaştırılmıştır. Kuyucuklara taze besiyeri ve MTT çözeltisi (20 µL) eklenerek 3 saat 37 °C' de inkübasyona bırakılmıştır. 3 saatin ardından besiyeri tekrar uzaklaştırılmıştır ve DMSO (100 µL) eklenmiştir. Mikroplaka okuyucuda 490 nm absorbans değerleri kaydedilmiştir. Bu absorbans değerleri, $R_v = ((A_1 - A_0) / (A_2 - A_0)) \times 100$ formülünde yerine yazılarak hücre canlılığı hesaplanmıştır. A₀ boş kontrol grubunun 490 nm absorbans şiddeti (A.U.), A₁ deney grubunun 490 nm absorbans şiddeti ve A₂ kontrol grubunun absorbans şiddetidir.

3.19 MCF-7 Kanser Hücre Hattı ile Antikanser Aktivite Testleri

MCF-7 kanser hücre hattı hücreleri 48 kuyucuklu plakaya ekilir. 24 saat sonra logaritmik evreye geldiklerinde belirlenen dozlarda nanokompozit 1 eklenmiştir.

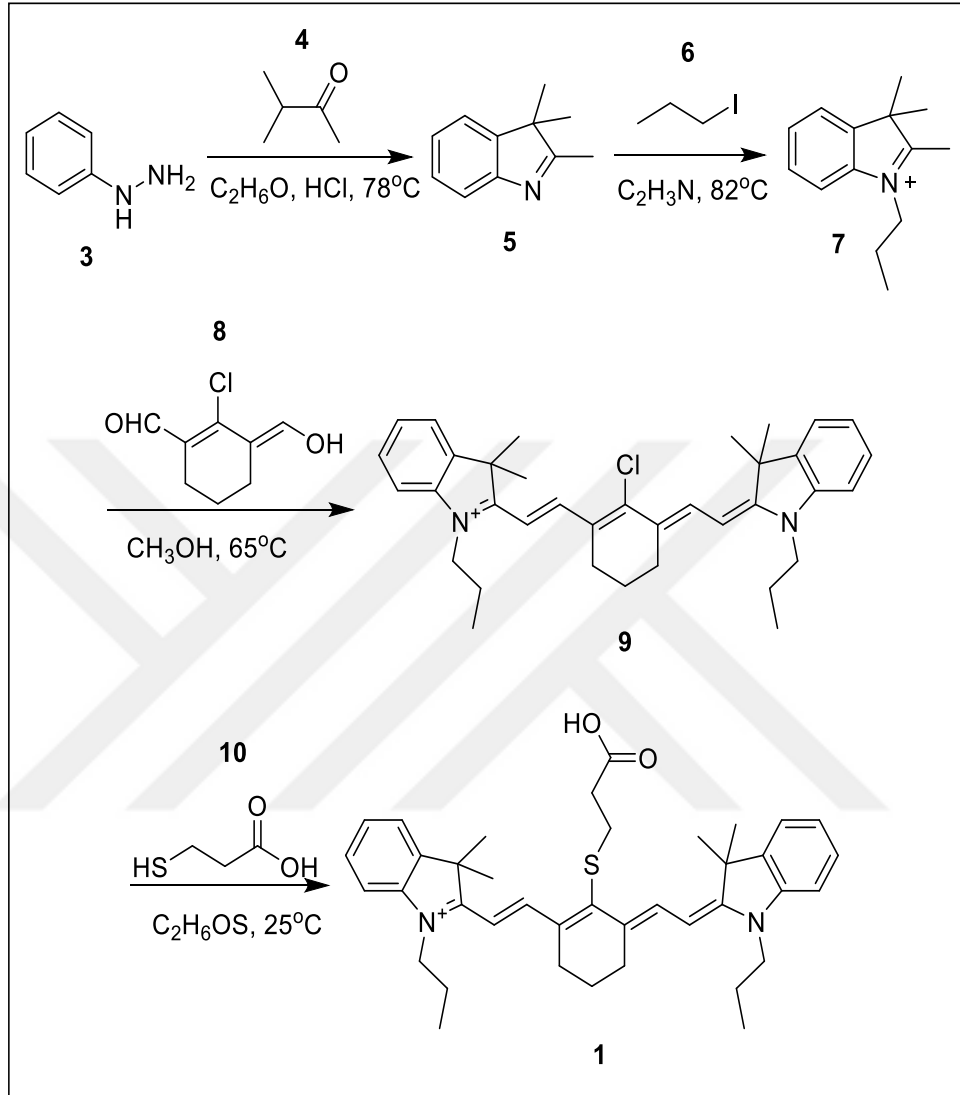
Belirlenen sürede ışığa (FDT deney grubu), ultrasese (SDT deney grubu), lazere (FTT grubu) ve bu üç terapi çeşidinin ikili ve üçlü kombinasyonlarına (kombine tedavi deney grupları) tabi tutulmuştur. 24 saat inkübasyondan sonra besiyeri ortamdan uzaklaştırılmıştır ve her bir kuyucuk PBS ile 3 defa yıkanmıştır. Her bir kuyucuğa 100 µL besiyeri ve 11 µL MTT çözeltisi (1 mg/ml) eklenmiştir. 37 °C’ de üç saat inkübasyon ardından besiyeri uzaklaştırılmıştır. 150 µL DMSO: izoprapanol (1:1) çözeltisi eklenerek formazanın çözünmesi sağlanmıştır. 490 nm’de absorbans değerleri mikropłaka okuyucu ile ölçölerek yüzde canlılık hesabı yapılmıştır.

3.20 Antimikrobiyal FTT Testleri

Antimikrobiyal çalışmaların tamamı içerisi sterilize edilmiş güvenlik kabininde yapılmıştır. *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) 37°C’de ve Nutrient Broth (NB) besi ortamında çoğaltılmış ve 0,5 MCF’ye seyreltilmiştir. Kontrol ve farklı derişimlerde terapi denemesi grupları plastik ependorflar etiketlenerek ayrılmıştır. Her bir deney grubu eşit konsantrasyonda (0,5 MCF) bakteri içerecek şekilde, deney grupları üzerine bileşik 2 muhtelif konsantrasyonlarda (200, 250, 300, 350 µg/mL) deney grupları üzerine eklenmiştir. Terapi denemesi yapılan gruplar 0,50 W 808 nm ışığa maruz bırakılmıştır. Deney ortamında meydana gelen sıcaklık değışimleri termal kamera ile ölçölmüş ve kaydedilmiştir. FTT uygulaması sonrasında deney ortamından belirlenen miktarlarda seyreltilerek Nutrient Agar (NA) katı besiyerine ekim yapılmıştır. Deney grupları katı besi ortamında 24 saat inkübasyondan sonra fotoğraflanmış ve koloni sayımı gerçekleştirilmiştir.

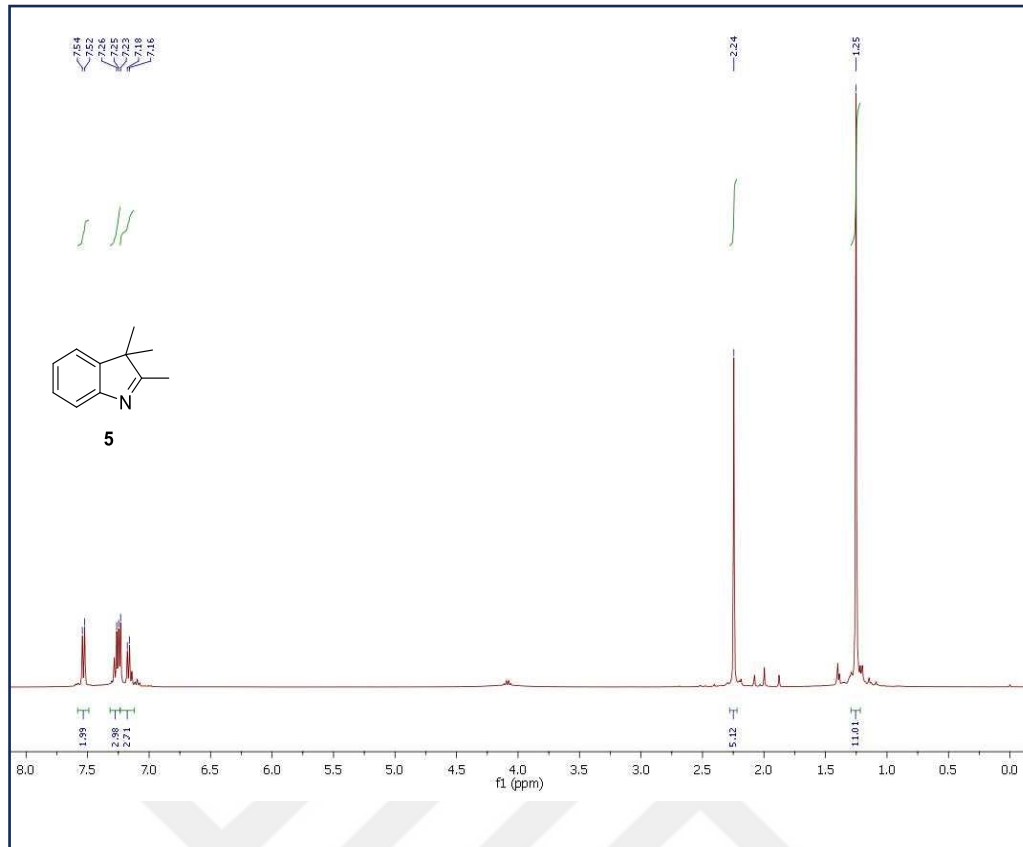
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Bileşik 1 Sentezi

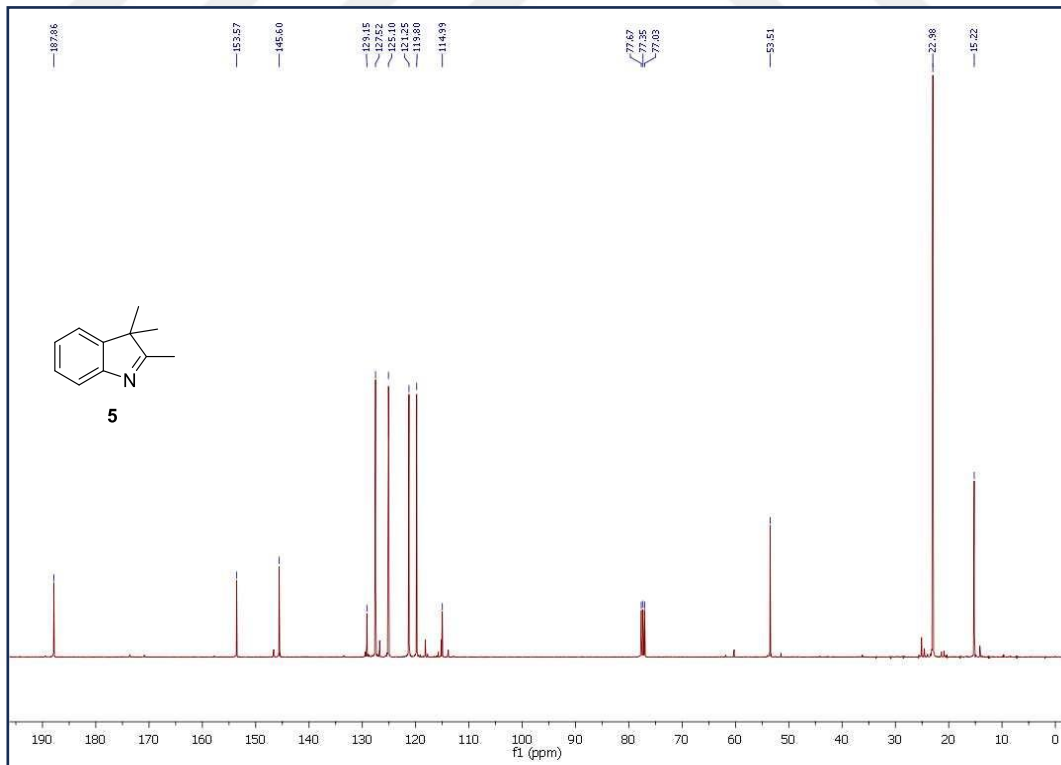


Şekil 4.1. Bileşik 1'in genel sentez şeması.

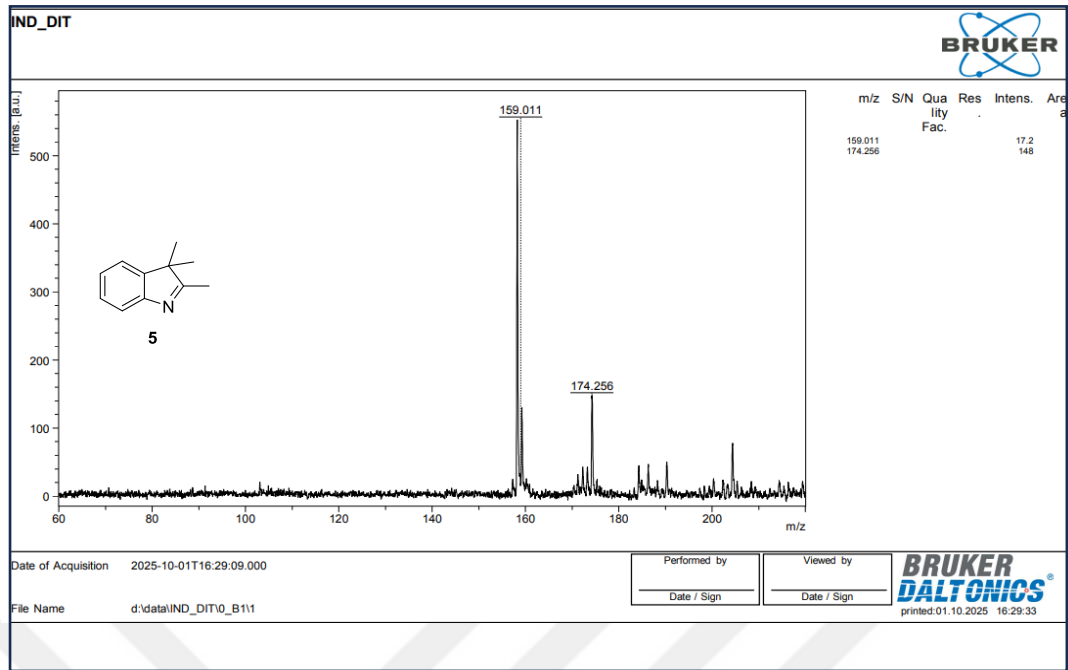
Bileşik 1'in genel sentez şeması Şekil 4.1'de verilmiştir. Her bir sentez basamağı için ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumları ile yapı doğruluğu kontrol edilmiştir. Sentezin ilk basamağında fenil hidrazin ve izopropil metil keton'un etanol ile çözülerek asidik ortamda 6 saat kaynatılması sonucu bileşik 5 sentezlenmiştir. Su ve etilasetat vasıtasıyla ekstraksiyon yapılmıştır. Bileşik 5'in ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.



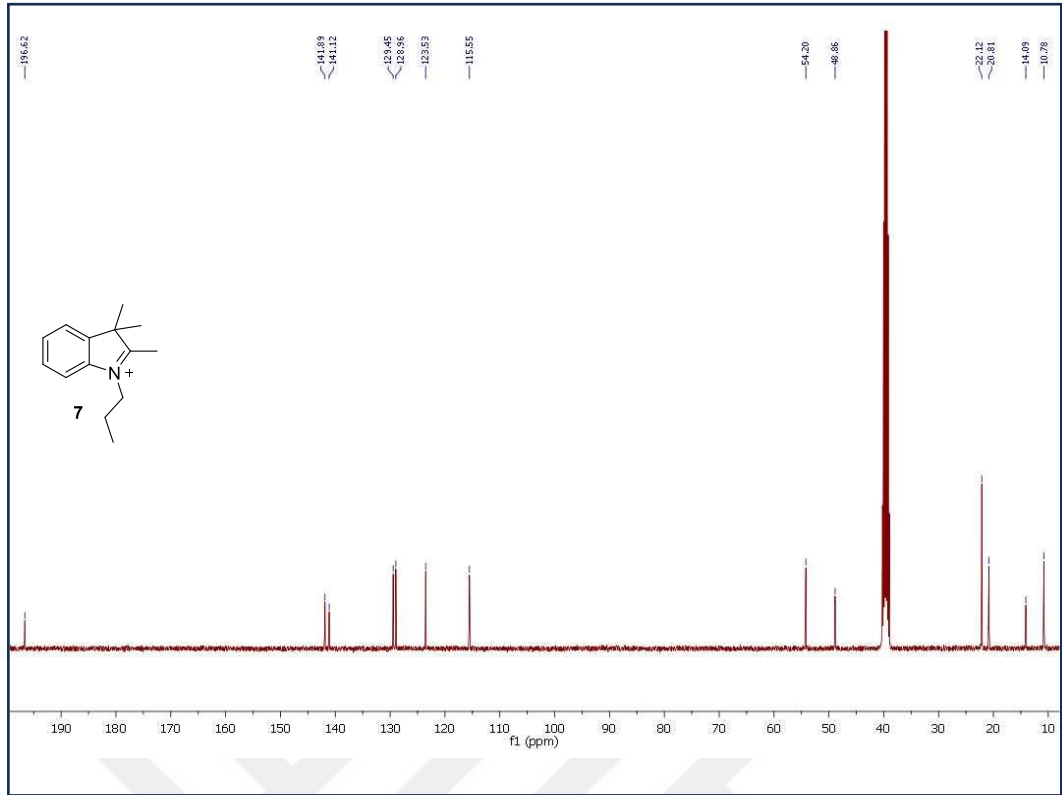
Şekil 4.2. Bileşik 5'in ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz).



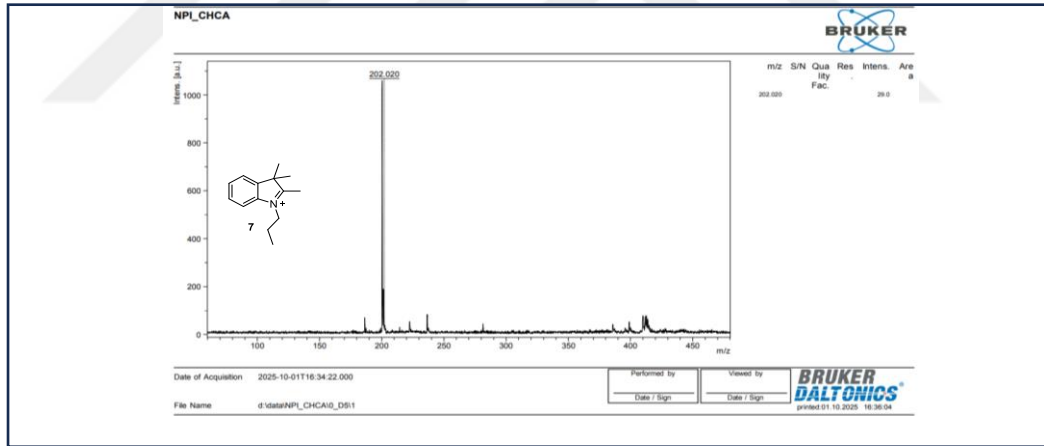
Şekil 4.3. Bileşik 5'in ¹³C NMR spektrumu (CDCl₃, 101 MHz).



Bileşik 5'in propilasyonu iyodopropan asetonitrilde çözülerek 48 saat kaynatılması ile gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşik 7 süzülerek beyaz toz olarak elde edilmiştir. Bileşik 7'nin ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.

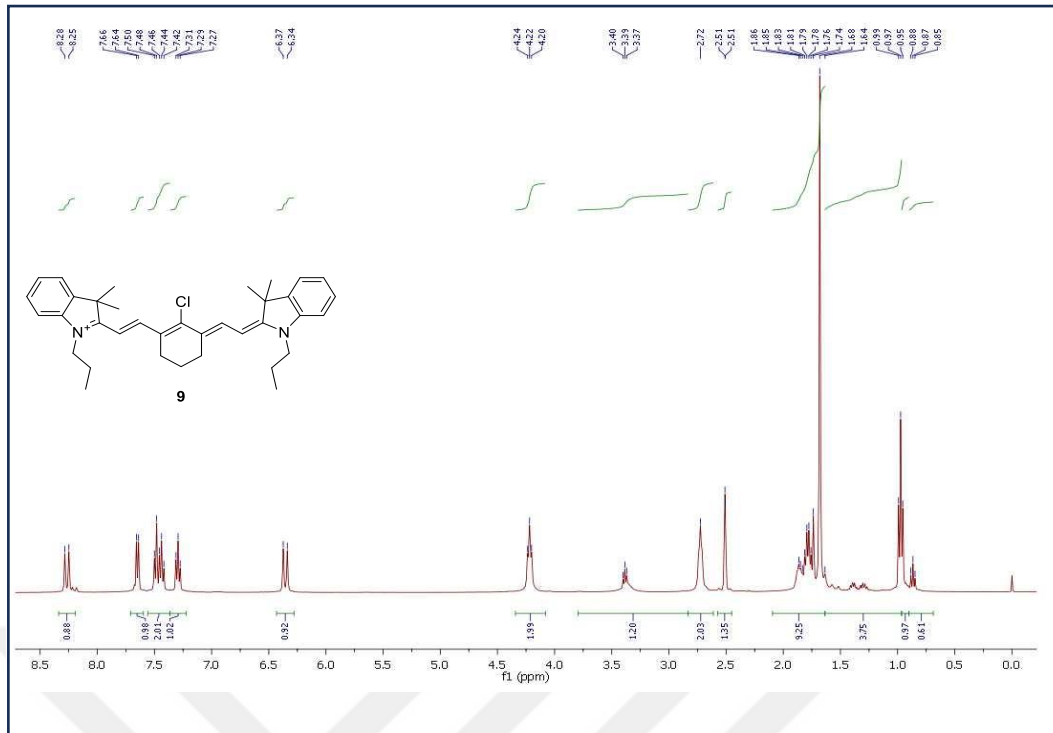


Şekil 4.6. Bileşik 7'nin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- D_6 , 101 MHz).

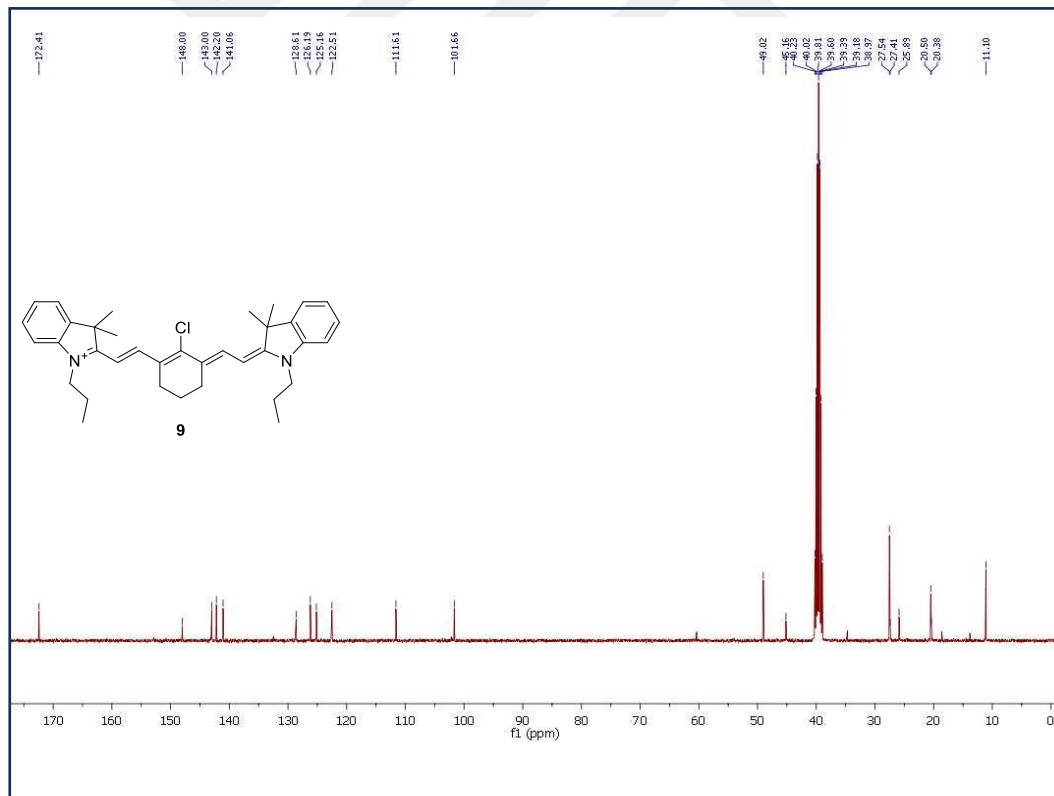


Şekil 4.7. Bileşik 7'nin kütle spektrumu.

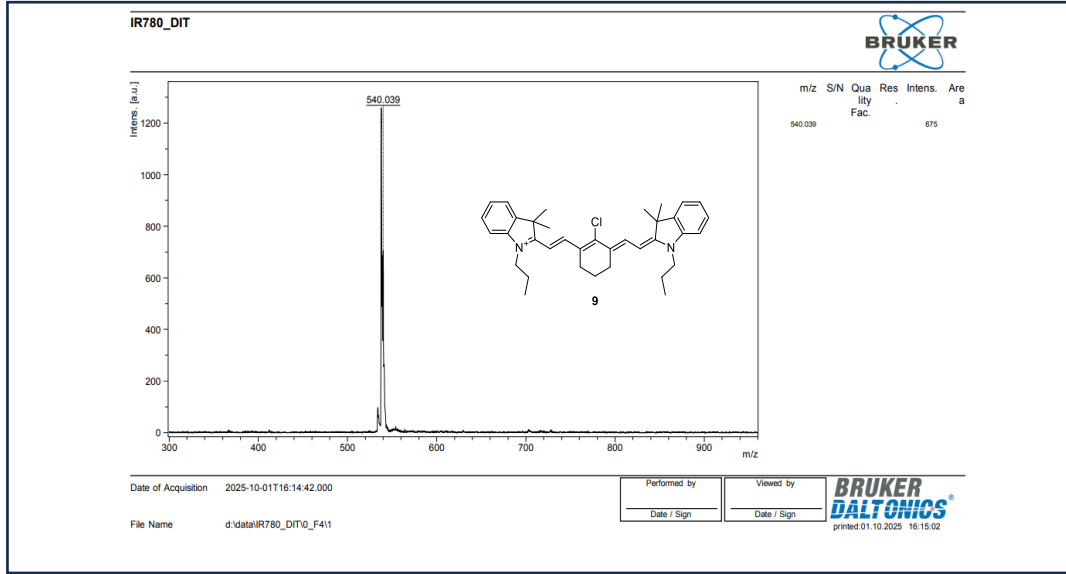
Bileşik 7 ile bileşik 8'in kondenzasyonu metanol içerisinde 4 saat kaynatılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Yeşil toz halde bileşik 9 elde edilmiştir. Bileşik 9'un ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.8. Bileşik 9'un ¹H NMR spektrumu (DMSO-D₆, 400 MHz).

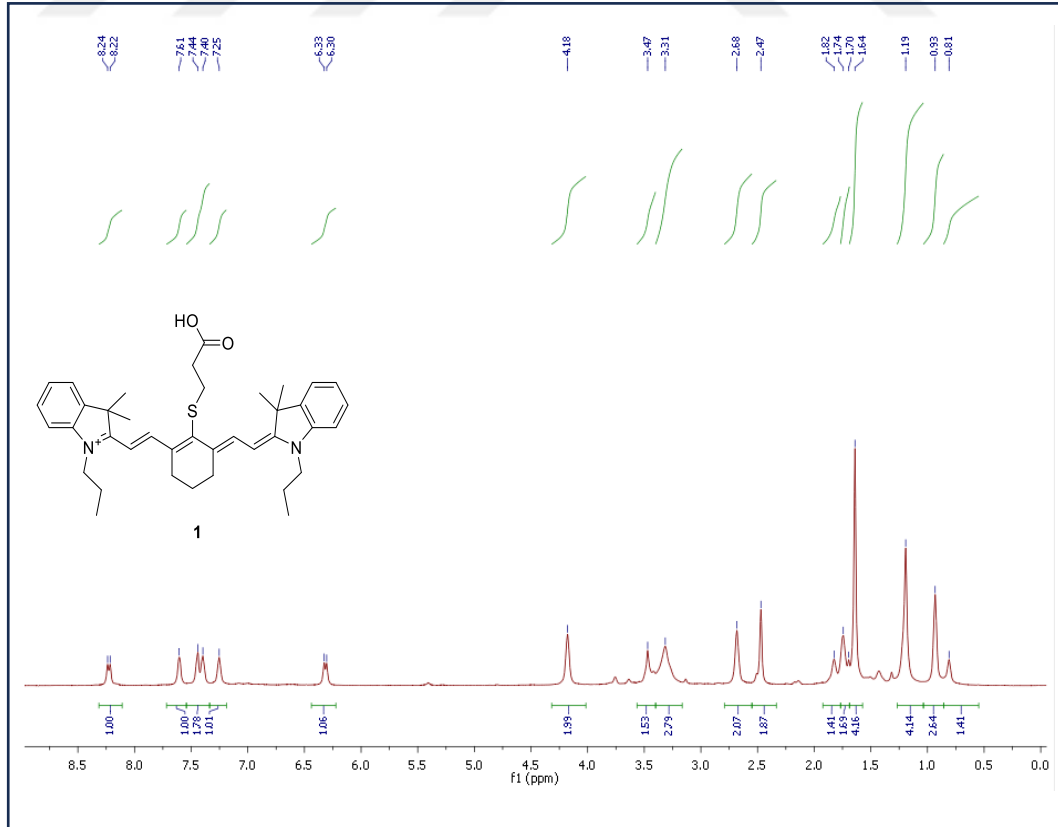


Şekil 4.9. Bileşik 9'un ¹³C NMR spektrumu (DMSO-D₆, 101 MHz).

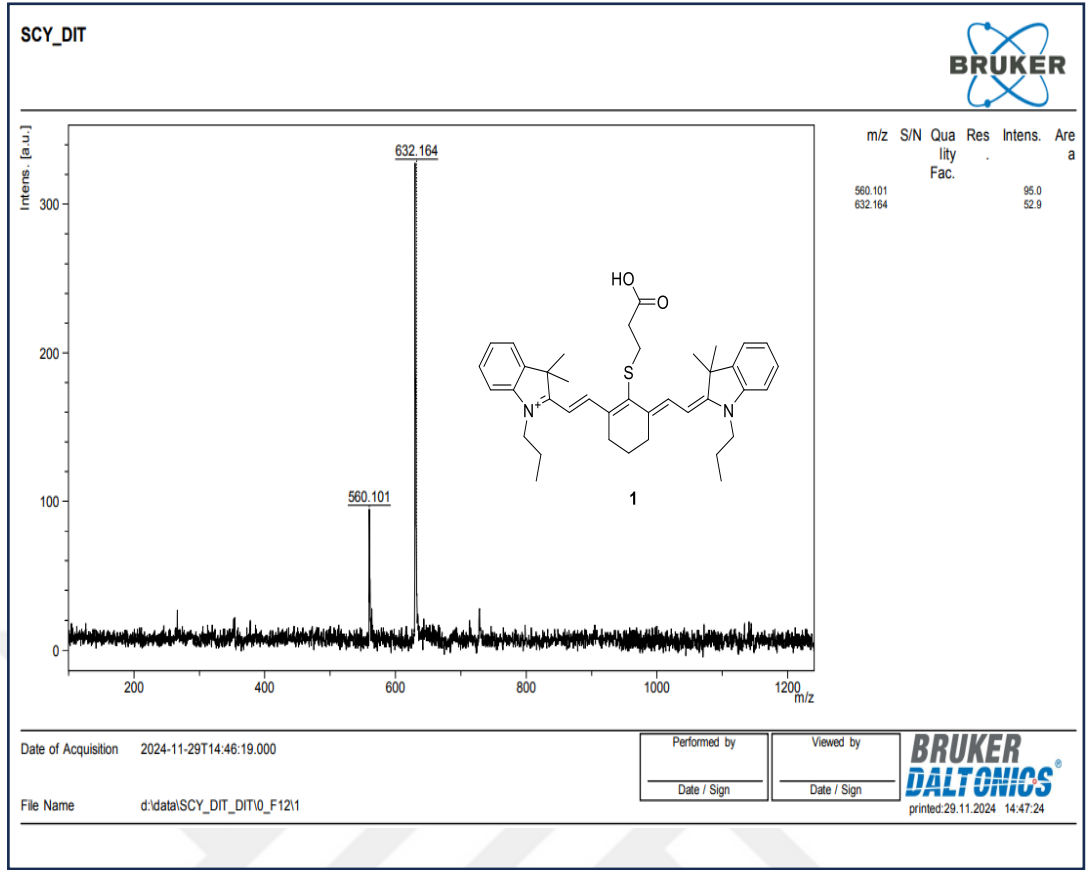


Şekil 4.10. Bileşik 9'un kütle spektrumu.

Bileşik 9, 3-merkaptopropanoik asit ile oda sıcaklığında 24 saat reaksiyona tabi tutulmuştur. DMSO içerisinde gerçekleşen reaksiyonun sonunda su ve diklorometan vasıtasıyla ekstraksiyon yapılmıştır. Yeşik toz olarak bileşik 1 elde edilmiştir. Bileşik 1'in ^1H NMR, ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.11, Şekil 4.12) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.

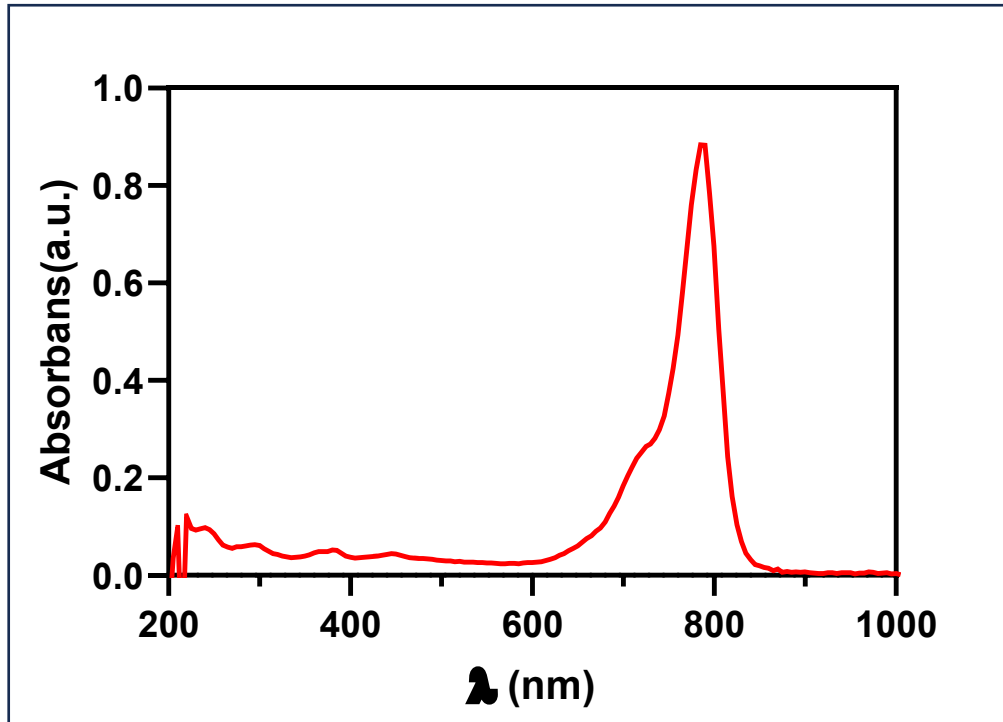


Şekil 4.11. Bileşik 1'in ^1H NMR spektrumu (DMSO- D_6 , 600 MHz).



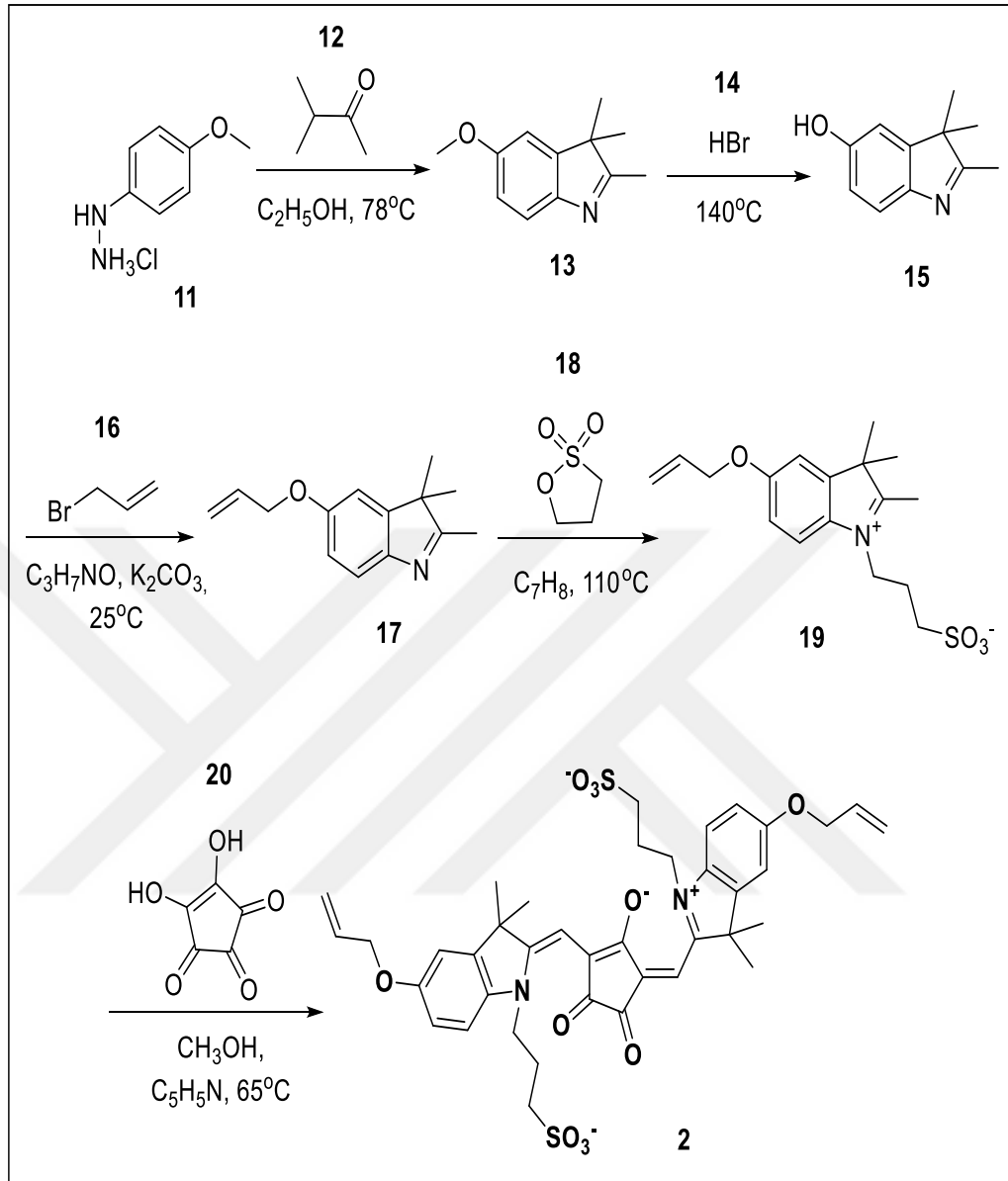
Şekil 4.12. Bileşik 1'in kütle spektrumu.

Bileşik 1'in soğurma spektrumu Şekil 4.13'te verilmiştir ve soğurma dalgaboyunun ($\lambda_{\max}$) 785 nm olduğu belirlenmiştir.



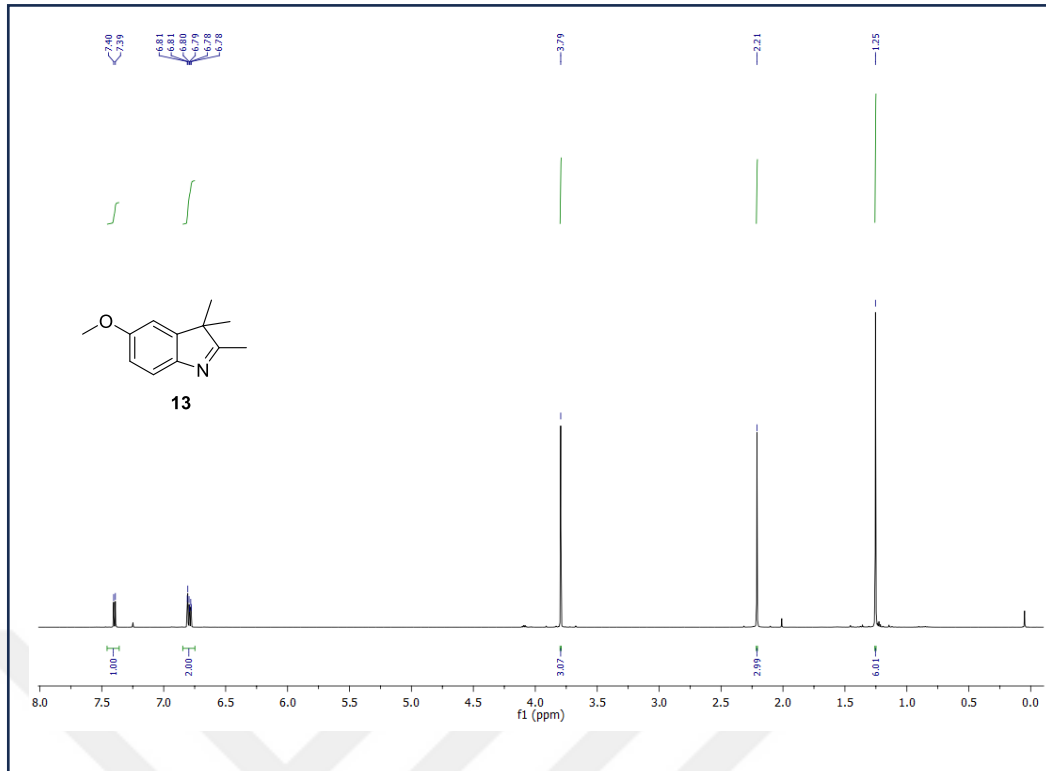
Şekil 4.13. Bileşik 1'in soğurma spektrumu ($1,093 \times 10^{-6}$ M, CH₃OH, $\lambda_{\max}$: 785 nm).

4.2 Bileşik 2 Sentezi

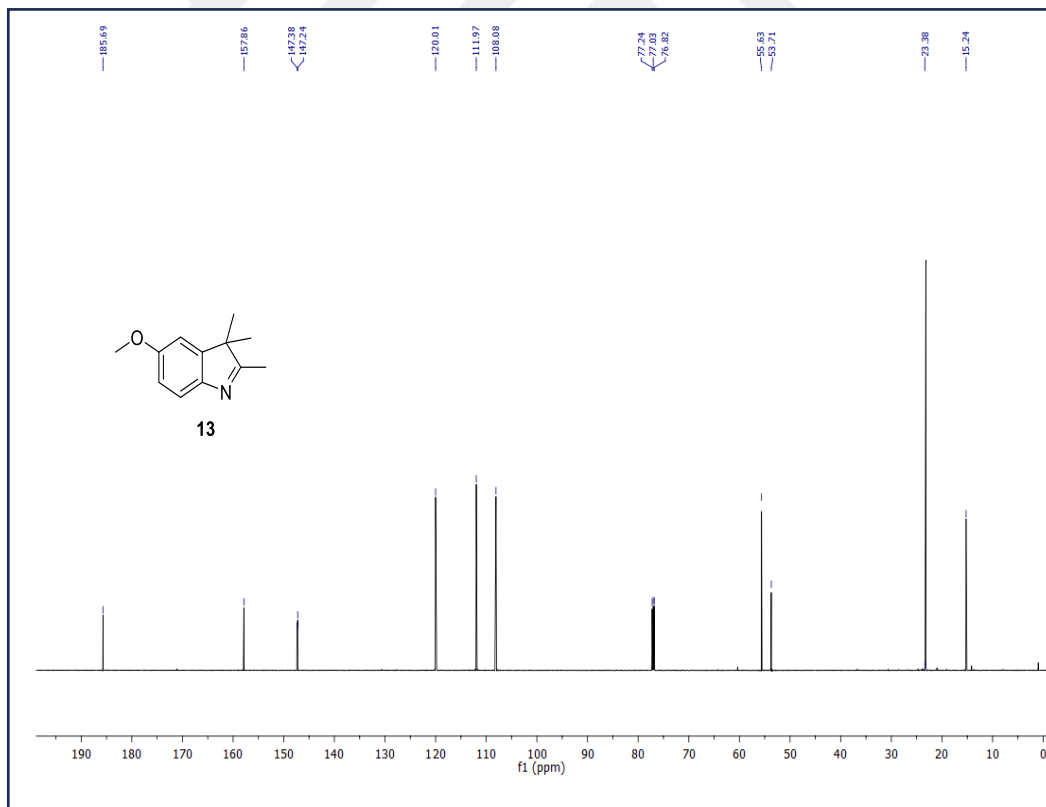


Şekil 4.14. Bileşik 2'nin genel sentez şeması.

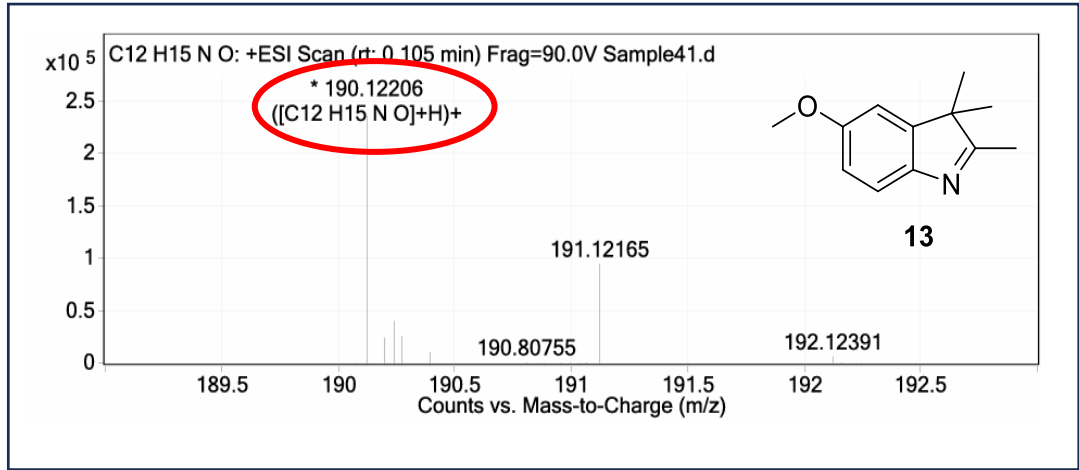
Bileşik 2'nin genel sentez şeması Şekil 4.14'te verilmiştir. Her bir sentez basamağı için 1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumları ile yapı doğruluğu kontrol edilmiştir. Bileşik 11 ile izopropil metil keton'un etanol içerisinde 24 saat kaynatılmasıyla indol (bileşik 13) sentezlenmiştir. Su ve diklorometan ile ekstraksiyon yapılmıştır ve diklorometan evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Bileşik 13 sarı sıvı olarak elde edilmiştir. Bileşik 13'ün 1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.15. Bileşik 13'ün ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz).

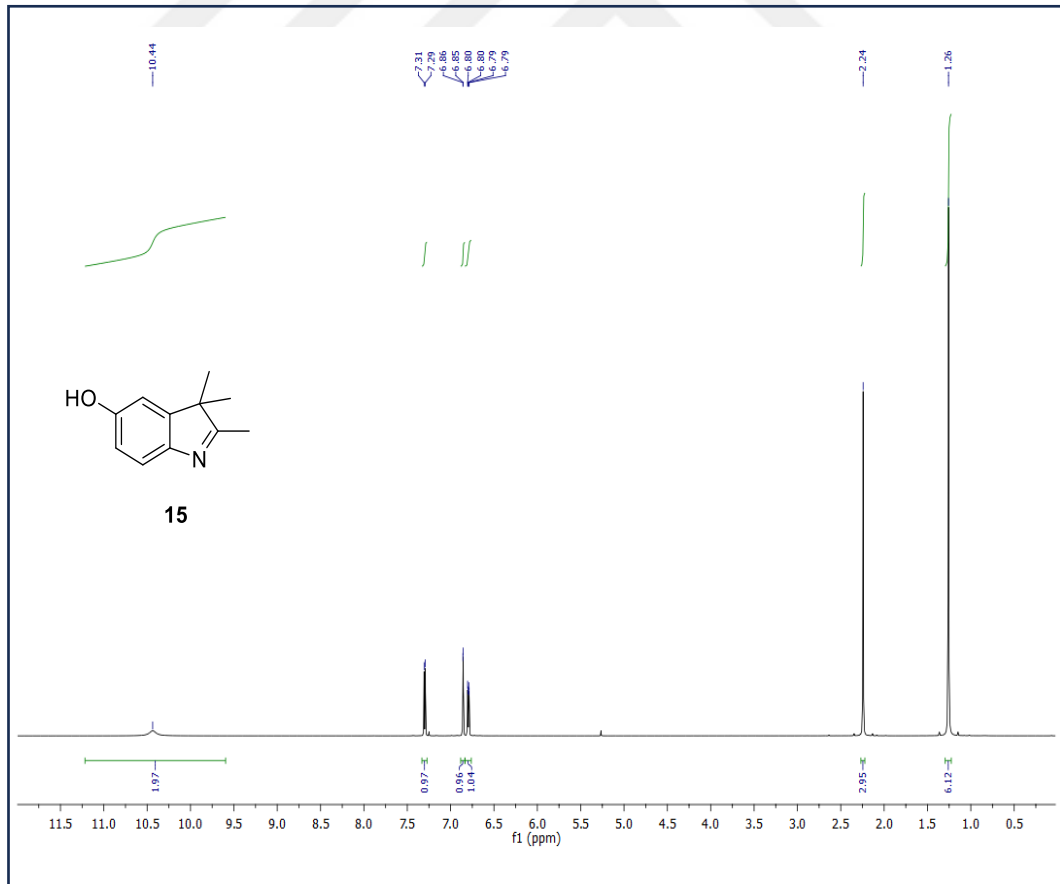


Şekil 4.16. Bileşik 13'ün ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 151 MHz).

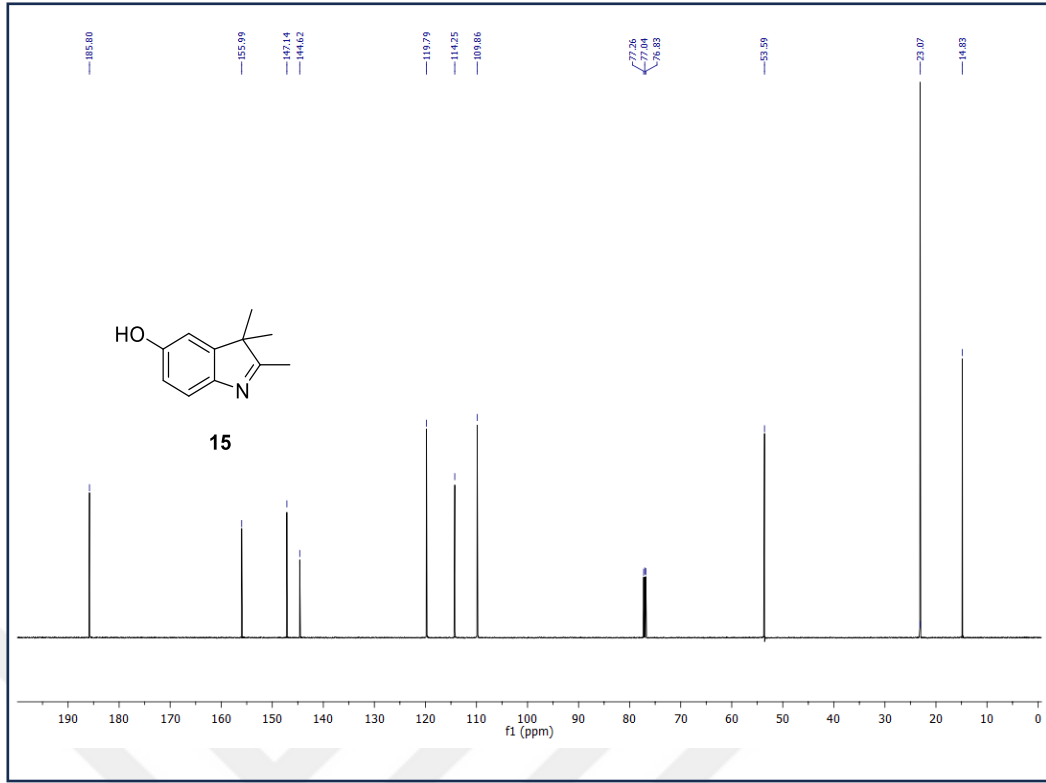


Şekil 4.17. Bileşik 13'ün kütle spektrumu.

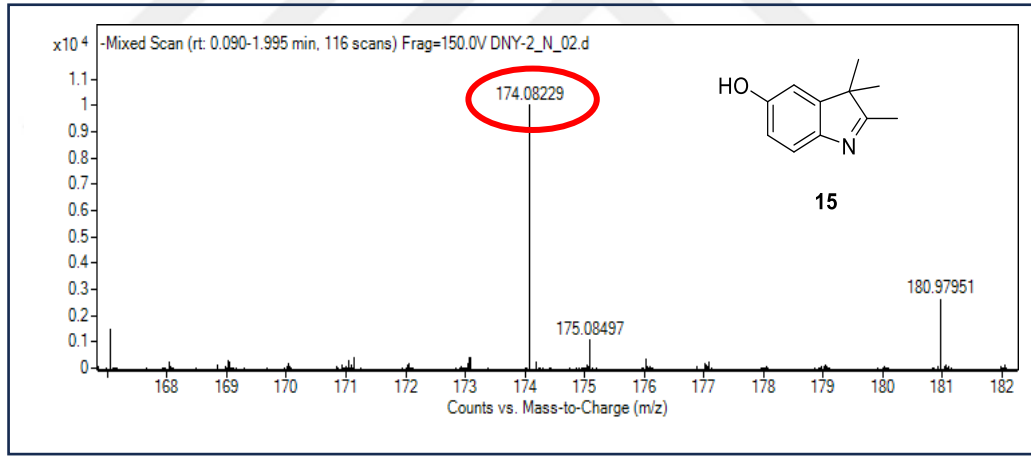
Bileşik 13'ün hidrobromik asit içerisinde 24 saat kaynatılması ile bileşik 15 sentezlenmiştir. Ürün toplanmadan önce reaksiyon ortamı sodyum bikarbonat ile nötralize edilmiştir. Su ve diklorometanla ekstraksiyon yapılarak beyaz katı ürün (bileşik 15) elde edilmiştir. Bileşik 15'in ¹H NMR, ¹³C NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.18, Şekil 4.19, Şekil 4.20) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.18. Bileşik 15'in ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz).

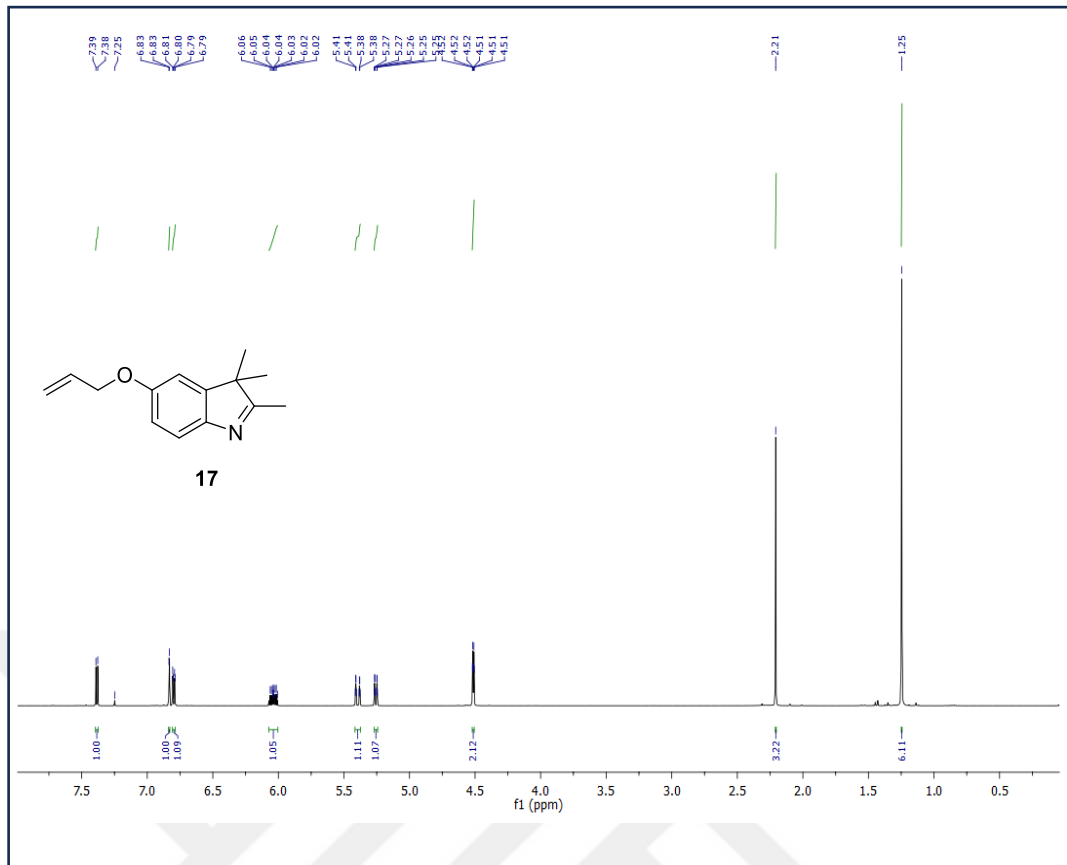


Şekil 4.19. Bileşik 15'in ¹³C NMR spektrumu (CDCl₃, 151 MHz).

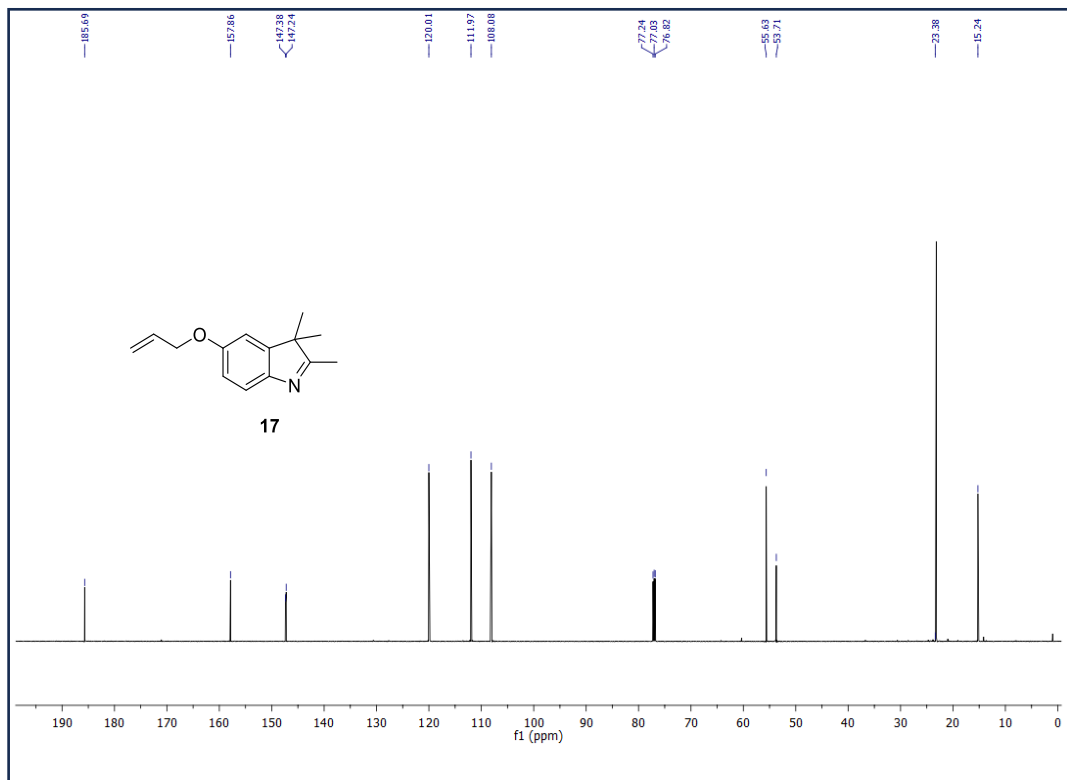


Şekil 4.20. Bileşik 15'in kütle spektrumu.

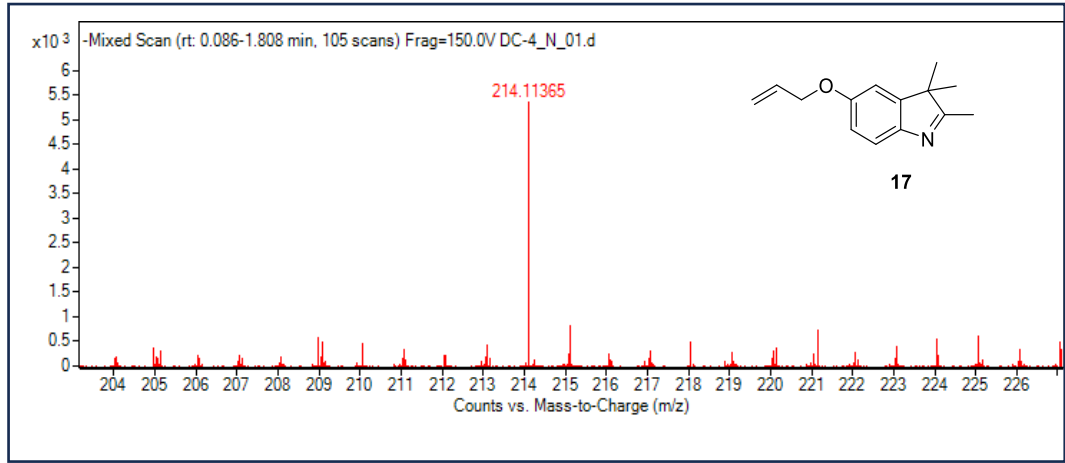
Bileşik 15, allil bromür ile dimethylformamid içerisinde 24 saat reaksiyona tabi tutulmuştur. Bileşik 15'in hidroksil grubu kullanılarak eter grubu sentezlenmiştir. Su ve diklorometan vasıtasıyla ekstraksiyon yapılmıştır. Diklorometan evaporatör ile uzaklaştırılarak bileşik 17 elde edilmiştir. Bileşik 17'nin ¹H NMR, ¹³C NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.21. Bileşik 17'nin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz).

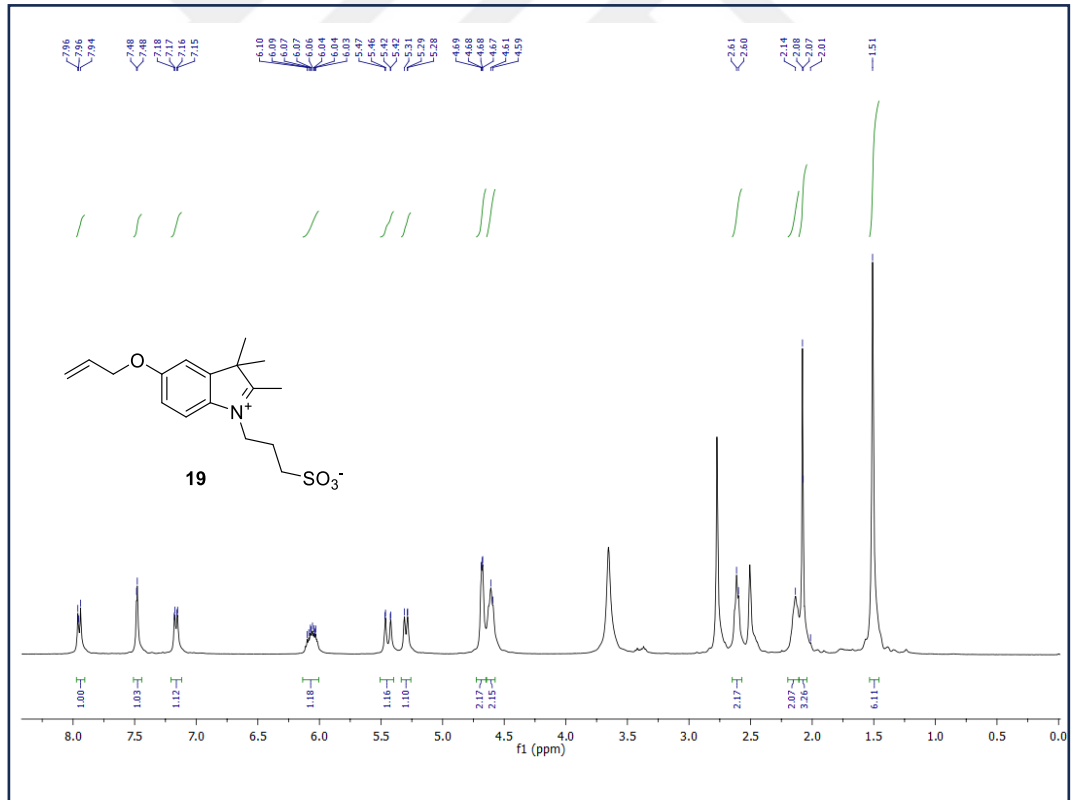


Şekil 4.22. Bileşik 17'nin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 151 MHz).

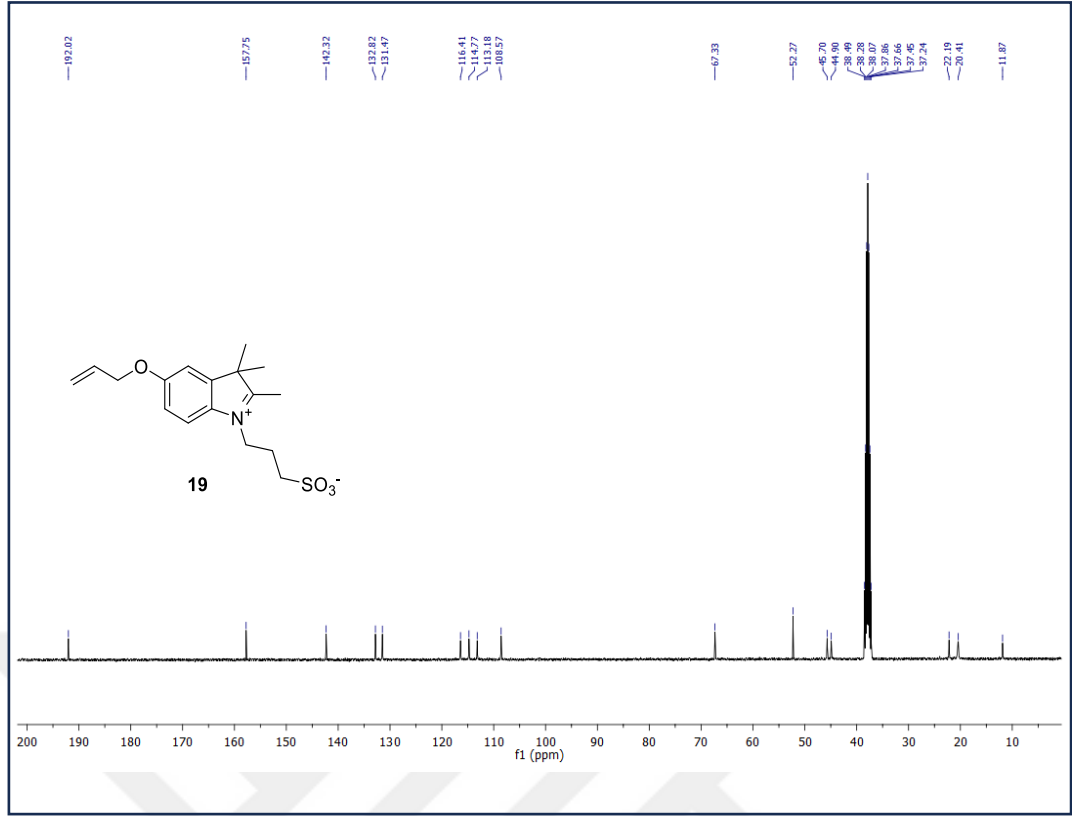


Şekil 4.23. Bileşik 17'nin kütle spektrumu.

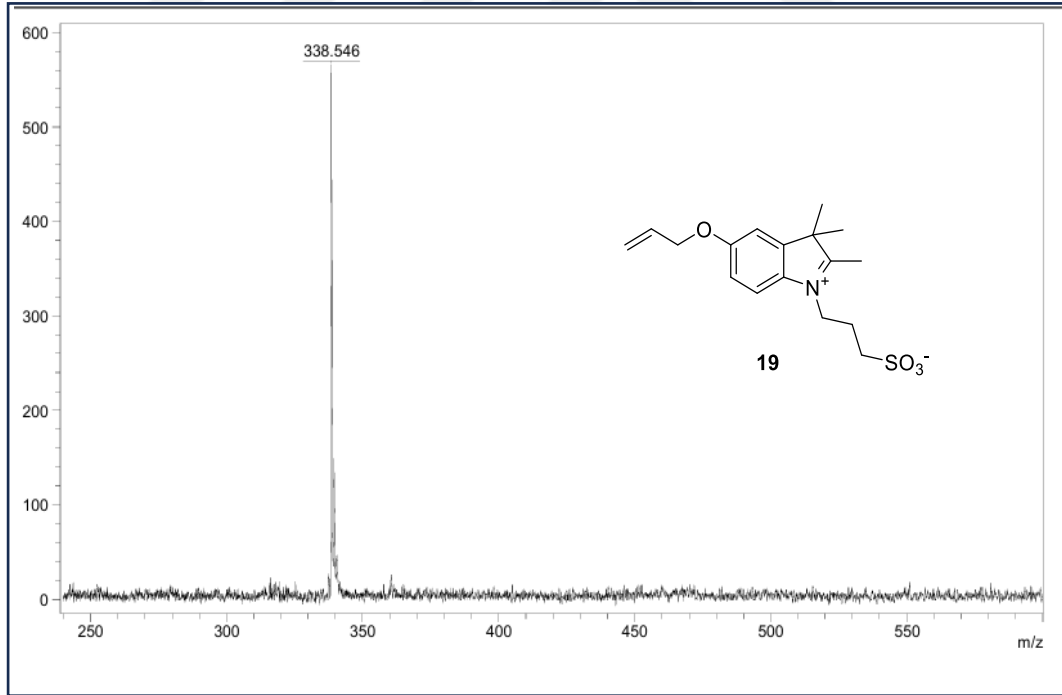
Bileşik 17 ve propan sulton, toluen ile çözülmüştür ve 72 saat kaynatılarak reaksiyona tabi tutulmuştur. Su ve diklorometan ile ekstraksiyon yapılmıştır. Diklorometan evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Bileşik 19 beyaz katı olarak elde edilmiştir. Bileşik 19'un ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.24. Bileşik 19'un ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz).



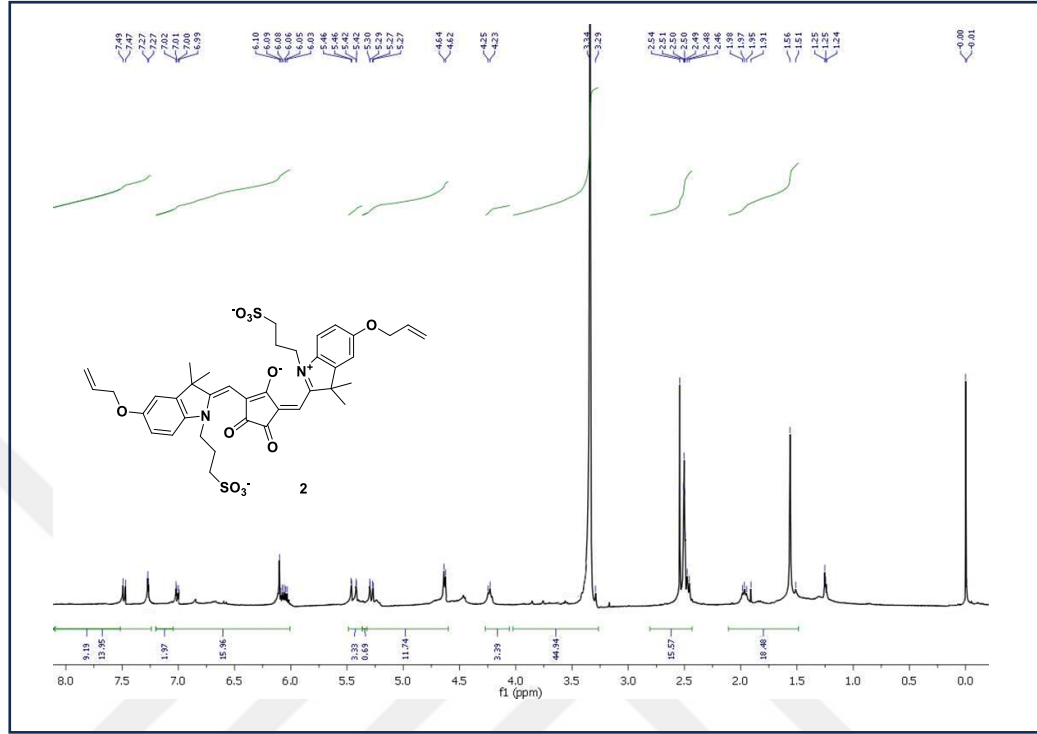
Şekil 4.25. Bileşik 19'un ¹³C NMR spektrumu (CDCl₃, 101 MHz).



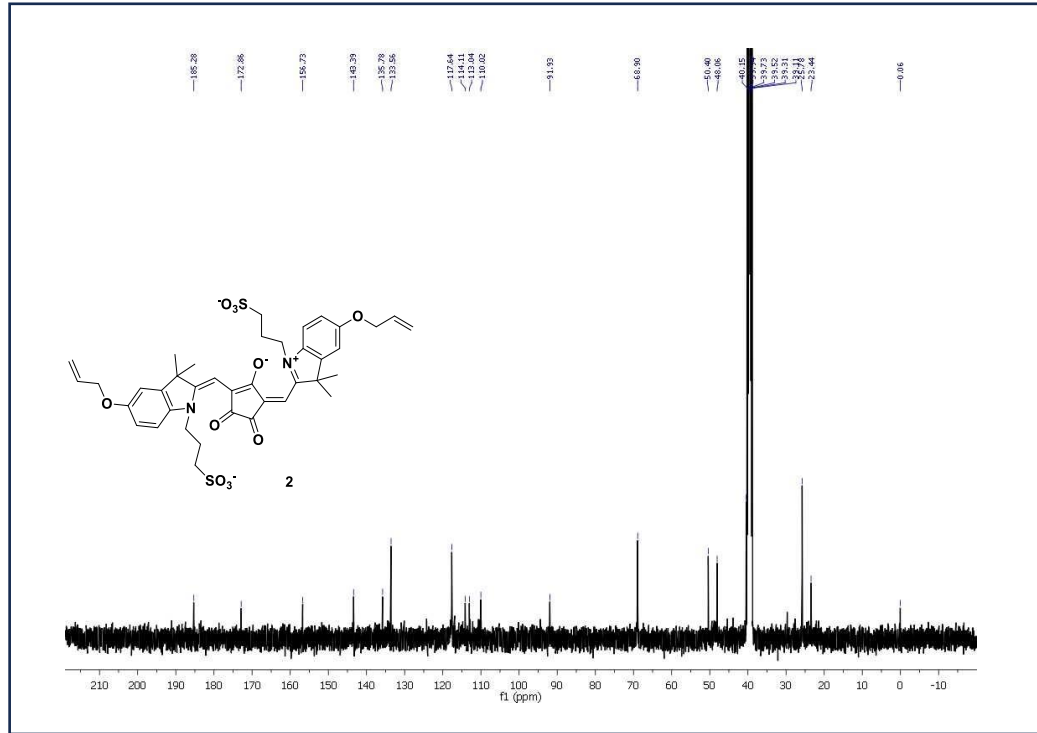
Şekil 4.26. Bileşik 19'un kütle spektrumu.

Sentezin son basamağında bileşik 19, krokonik asit ile metanol içerisinde geri soğutucu altında kaynatılarak reaksiyona tabi tutulmuştur. Metanol evaporatör ile uzaklaştırılarak yeşil katı ürün (bileşik 2) elde edilmiştir. Bileşik 2'nin ¹H NMR, ¹³C

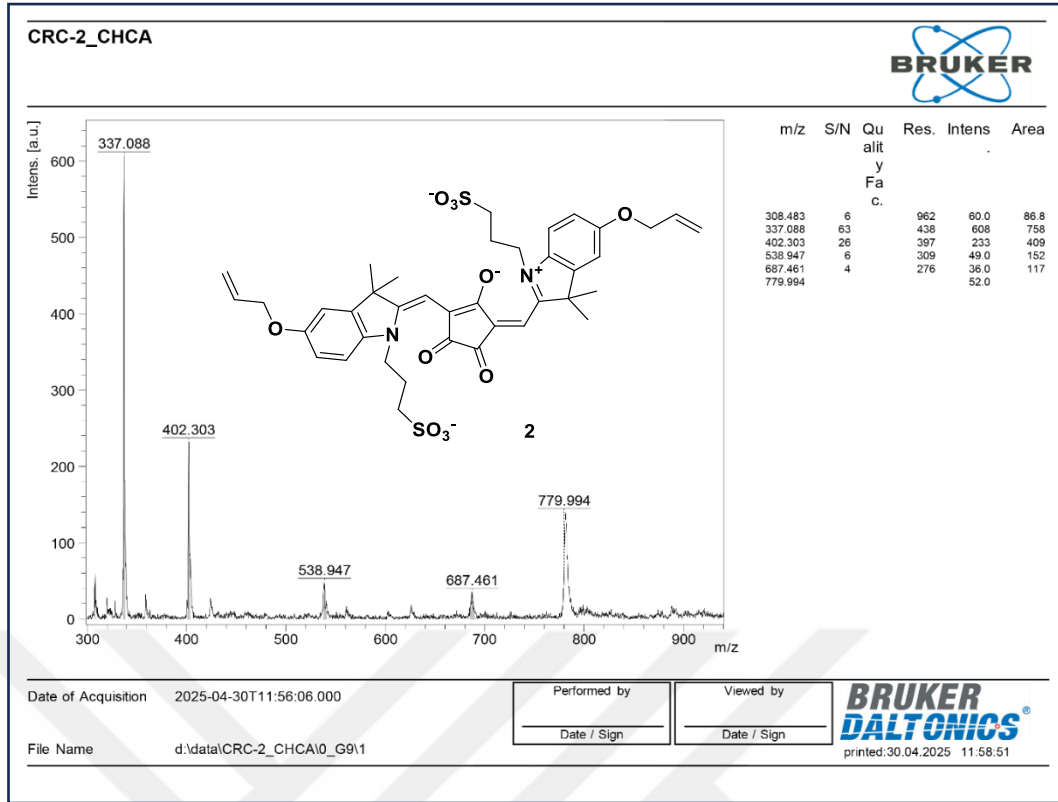
NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29) yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bileşik 2'nin soğurma spektrumu Şekil 4.30'da verilmiştir ve soğurma dalgaboyunun ($\lambda_{\max}$) 820 nm olduğu belirlenmiştir.



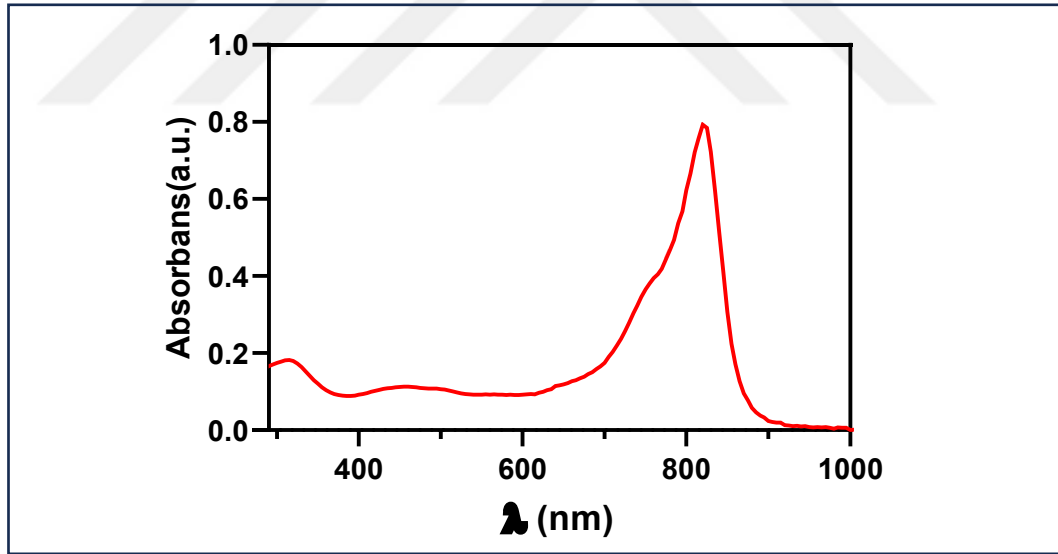
Şekil 4.27. Bileşik 2'nin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz).



Şekil 4.28. Bileşik 2'nin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 101 MHz).



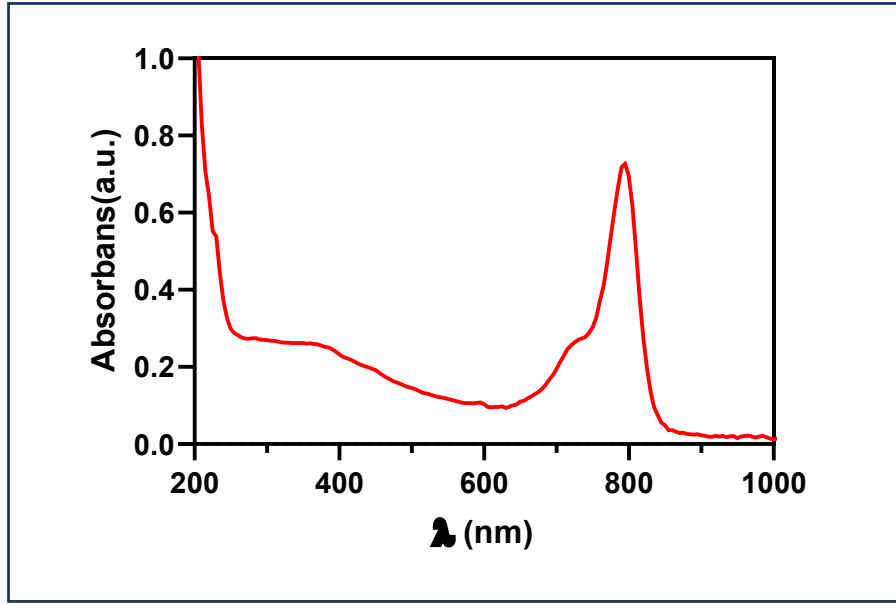
Şekil 4.29. Bileşik 2'nin kütle spektrumu.



Şekil 4.30. Bileşik 2'in soğurma spektrumu ($29,95 \times 10^{-6}$ M, DMSO, λ_{max} : 820 nm).

4.3 Nanokompozit 1

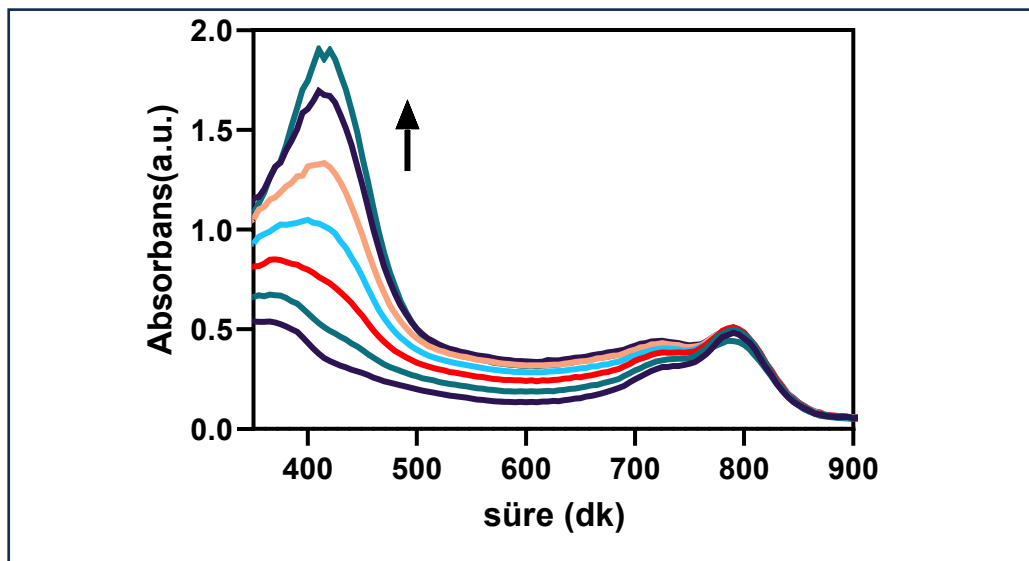
Nanokompozit 1'in soğurma spektrumu Şekil 4.31'de verilmiştir. Soğurma dalgaboyunun (λ_{max}) 795 nm olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.31. Nanokompozit 1'in soğurma spektrumu ($6,66 \times 10^{-3}$ mg/mL, PBS pH=7.4, λ_{max} : 795 nm).

4.4 Nanokompozit 1'in Oksijen Testi

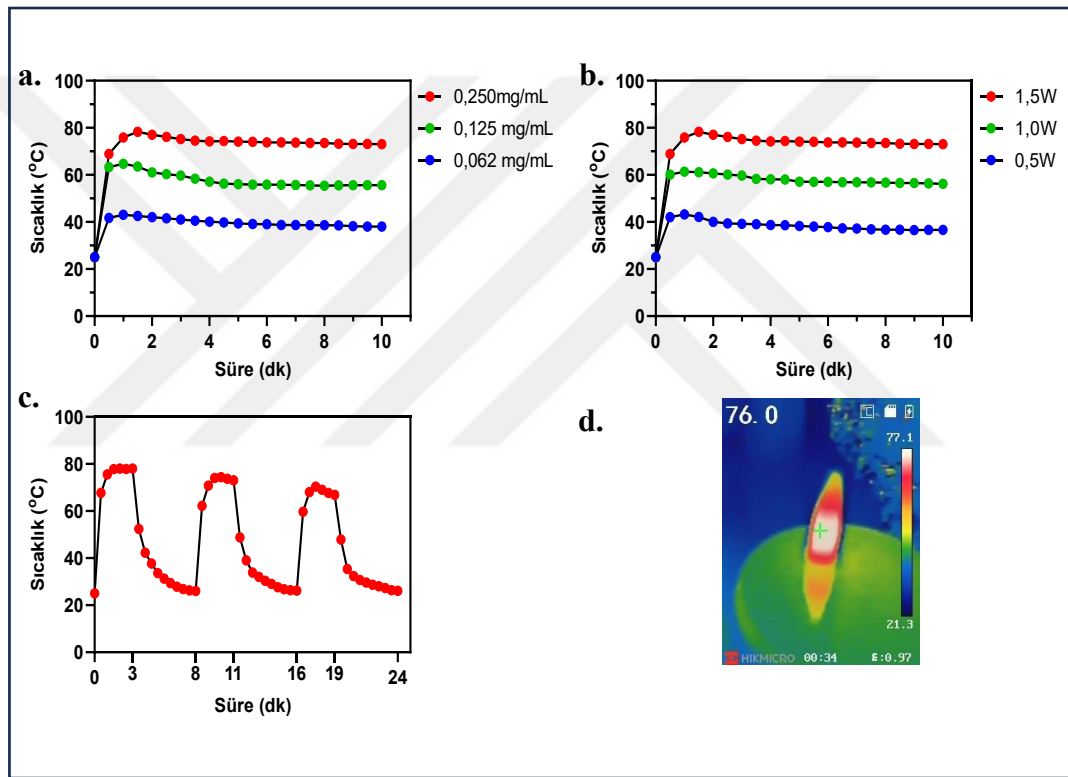
Nanokompozit 1, H_2O_2 çözeltisi içerisinde ultrasese tabi tutulmuştur. Ortamda meydana gelen değişimi takip edebilmek için fenilendiamin belirteç olarak kullanılmıştır. 410 nm'de zamana bağlı olarak artan soğurma şiddeti fenilendiaminin oksidasyonunu göstermektedir (Şekil 4.32). Bu durum H_2O_2 'nin parçalanarak oksijen molekülü oluşturduğuna işaret etmektedir. Nanokompozit 1'in $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}_3\text{N}_4$ birimi vasıtasıyla gerçekleştirilen bu moleküler oksijen üretme süreci, terapi uygulamalarında ortamdaki hipoksiyi hafifletecek olan mekanizmadır.



Şekil 4.32. Nanokompozit 1'in H_2O_2 çözeltisinde ultrasese maruz bırakılması ile meydana gelen değişim.

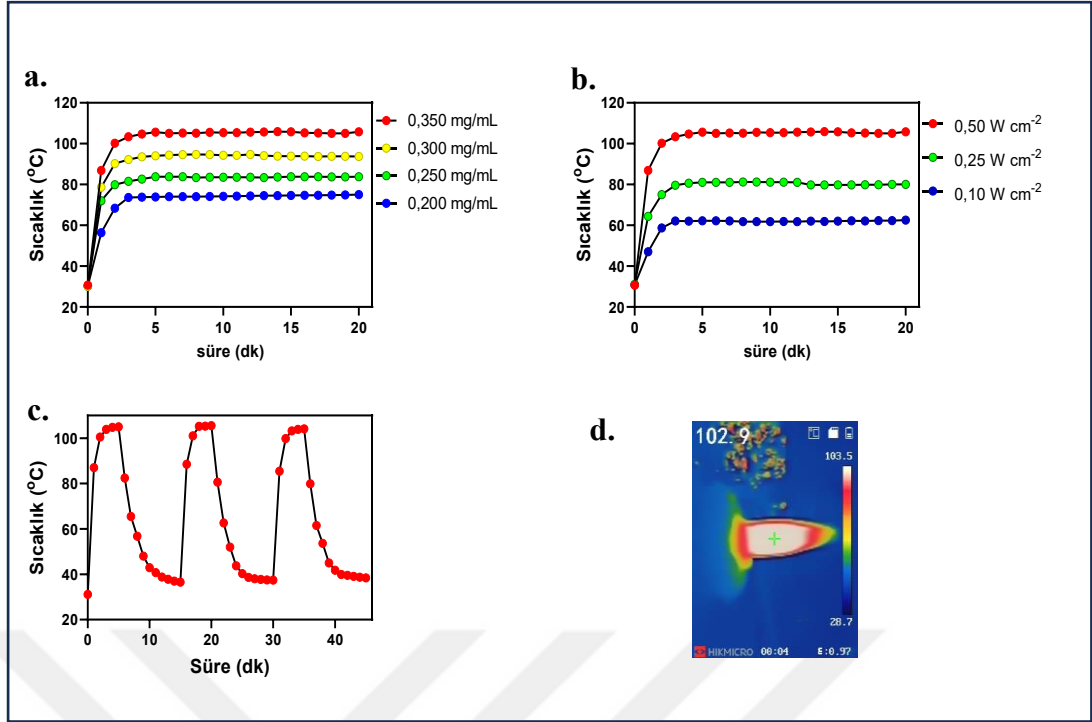
4.5 Fototermal Testler

Nanokompozit 1 farklı derişimlerde PBS pH=7,4 içerisinde 808 nm lazer ile FTT testleri yapılmıştır. Madde miktarı ve ışık şiddetiyle orantılı bir sıcaklık artışı olduğu (Şekil 4.33) saptanmıştır. Şekil 4.33 a, nanokompozit 1 0,062- 250 mg/mL 808 nm lazer, 1.50 W cm ışınlaması vetiresinde sıcaklıkta gözlenen değişimleri; b, nanokompozit 1 @BSA (250 mg/mL) 808 nm lazer (0.50-1.50 W) ışınlaması vetiresinde sıcaklıktaki değişimlerini; c, nanokompozit 1 (250 mg/mL) 808 nm lazer (1.50 W) ile fototermal testlerden çizilen ısınma-soğuma eğrileri; d ise c'de verilen testin termal kamera görüntüleridir.



Şekil 4.33. a) Derişime bağlı sıcaklık değişimi. b) Lazer gücüne bağlı sıcaklık değişimi. c) Isınma soğuma eğrileri. d) Termal kamera görüntüsü.

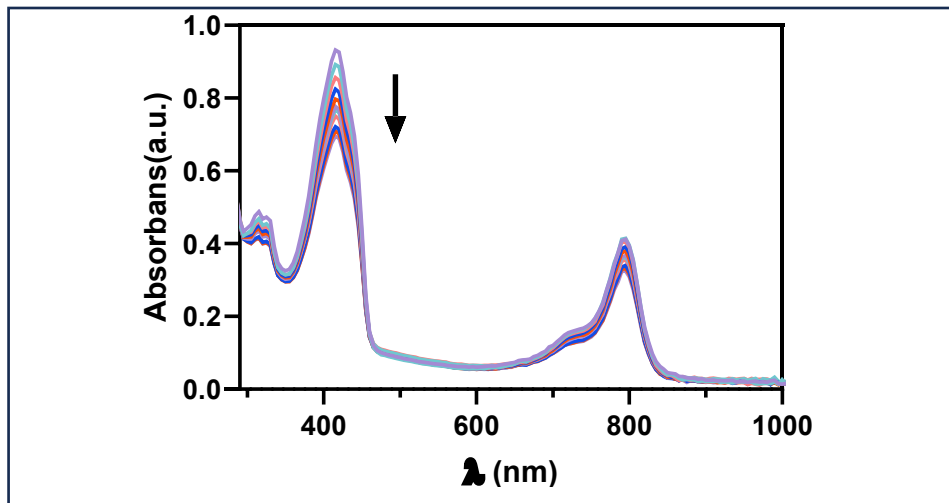
Bileşik 2 farklı derişimlerde PBS pH=7,4 içerisinde 808 nm lazer ile FTT testleri yapılmıştır. Madde miktarı ve ışık şiddetiyle orantılı bir sıcaklık artışı olduğu (Şekil 4.34) saptanmıştır. Şekil 4.34 a, Bileşik 2 200- 350 mg/mL 808 nm lazer, 0.50 W cm ışınlaması vetiresinde sıcaklıkta meydana gelen değişimleri; b, Bileşik 2 (350 mg/mL) 808 nm lazer (0.10- 0.50 W) ışınlaması vetiresinde sıcaklıkta meydana gelen değişimleri; c, Bileşik 2 808 nm lazer (0.50 W) ile fototermal testlerden çizilen ısınma-soğuma eğrilerinin; d ise c'de verilen testin termal kamera görüntüleridir.



Şekil 4.34. a) Derişime bağılı sıcaklık değışimi. b) Lazer gücüne bağılı sıcaklık değışimi. c) Isınma soğuma eğırileri. d) Termal kamera görüntüsü.

4.6 Nanokompozit 1'in Fotodinamik Testi

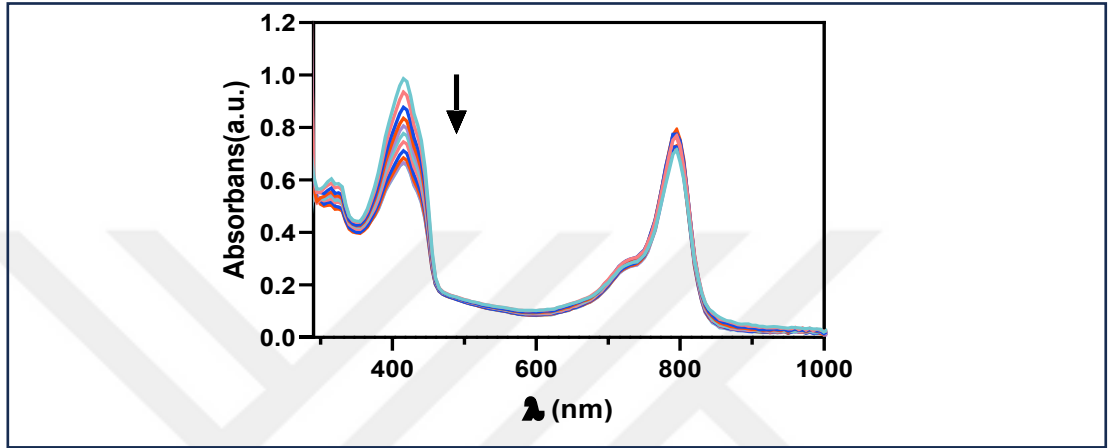
Nanokompozit 1'in fotodinamik testi sonuçları Şekil 4.35'te verilmiştir. Işık uygulamasıyla nanokompozit 1'in ROT üretmesi beklenmiştir. Nitekim DPBF soğrumunda meydana gelen değışim, ışık varlığında zamana bağılı olarak ROT miktarının arttığını göstermektedir. Nanokompozit 1'in FDT için etkin bir fotoduyarlastırıcı olduğı belirlenmiştir.



Şekil 4.35. Işık uygulamasıyla DPBF soğrumunda meydana gelen değışim.

4.7 Nanokompozit 1'in Sono-fotodinamik Testi

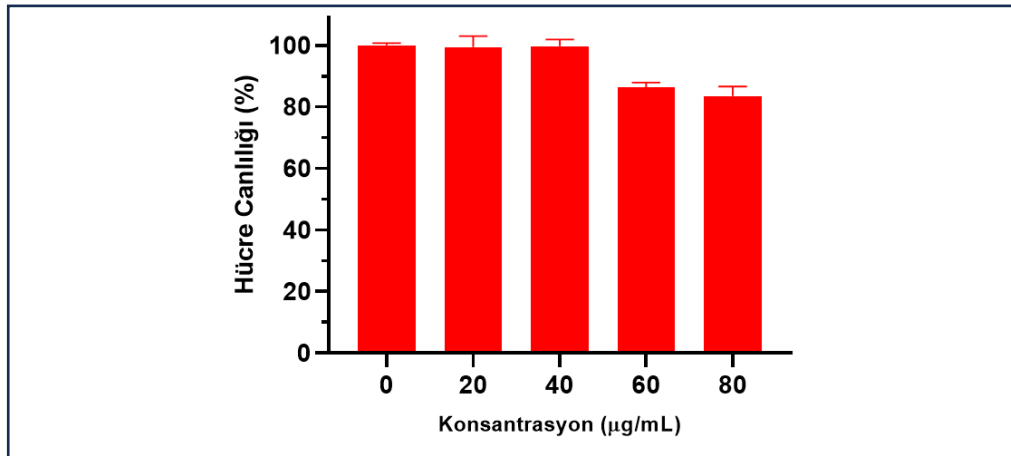
Nanokompozit 1'in sono-fotodinamik testi sonuçları Şekil 4.36'da verilmiştir. Işık ve ultrases uygulamasıyla nanokompozit 1'in ROT üretmesi beklenmiştir. Nitekim DPBF soğrumunda meydana gelen değişim, ışık ve ultrases varlığında zamana bağlı olarak ROT miktarının arttığını göstermektedir. Nanokompozit 1'in SFDT için etkin bir sono-fotoduyarlayıcı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.36. Işık ve ultrases uygulamasıyla DPBF soğrumunda meydana gelen değişim.

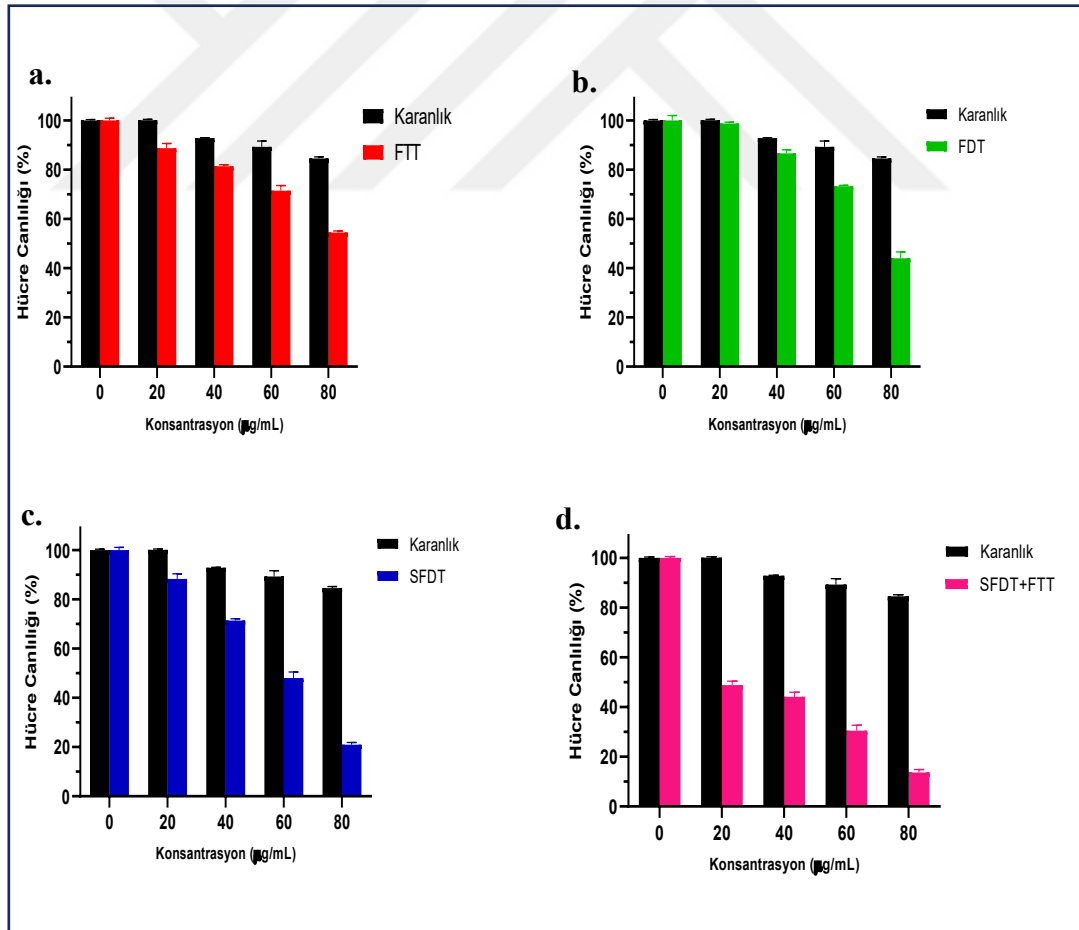
4.8 Nanokompozit 1'in *In Vitro* Testleri

Nanokompozit 1'in biyoyumluluğu, fare fibroblast hücresi olan L929 sağlıklı hücre hattı üzerinde denenmiştir (Şekil 4.37). 20 ve 40 $\mu\text{g/mL}$ derişimlerde hücre canlılığında herhangi bir azalma olmadığı; 60 ve 80 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda ise hücre canlılığının %80'in altına inmediği gözlenmiştir. Bu da nanokompozit 1'in biyoyumlu olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.37. Nanokompozit 1'in L929 hücre hattı üzerinde biyoyumluluk testi.

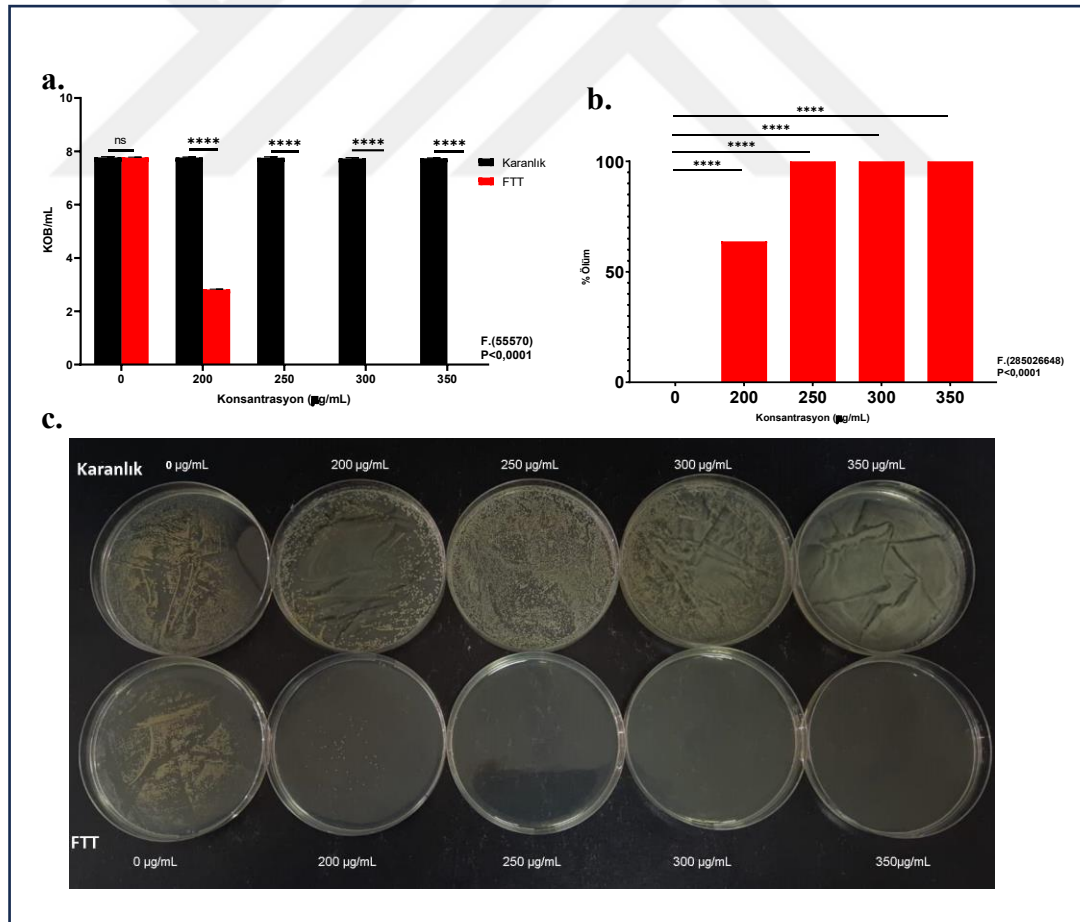
MCF-7 kanser hattı üzerinde yapılan testlerde FDT, FTT, SFDT ve bu terapi yöntemlerinin üçlü kombinasyonu denenerek sonuçlar kaydedilmiştir (Şekil 4.38). Nanokompozit 1'in MCF-7 hücre hattı üzerinde hiç bir kontrol grubunda (uyarım yapılmayan) hücre canlılığının %80'in altında olmadığı gözlenmiştir. Karanlıkta en az sitotoksiste gösteren nanokompozit 1'in MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde FTT, FDT, SFDT ve çoklu terapi etkinliği olduğu gözlenmiştir. FTT deney grubunda en yüksek konsantrasyonda hücre canlılığının %54'e kadar düştüğü gözlenmiştir. FDT deney grubunda benzer bir şekilde en yüksek konsantrasyonda nanokompozit 1'in ışık ile uyarıldığı deney grubunda %43 hücre canlılığı gözlenmiştir. Nanokompozit 1'nin SFDT etkinliği ise FDT etkinliğine göre yüksek çıkmıştır. Sonofotodinamik terapinin sinerjistik etkisi ile en yüksek konsantrasyona hücre canlılığının %20'ye kadar düştüğü gözlenmiştir. Çoklu terapi uygulamasında ise en yüksek konsantrasyonda hücre canlılığının %13 seviyesinde olduğu ve terapötik anlamda etkin bir malzeme olduğu gösterilmiştir.



Şekil 4.38. Dört farklı derişim ile denenen *in vitro* testlerin a) FTT, b) FDT, c) SFDT d) üçlü terapi ölüm oranları.

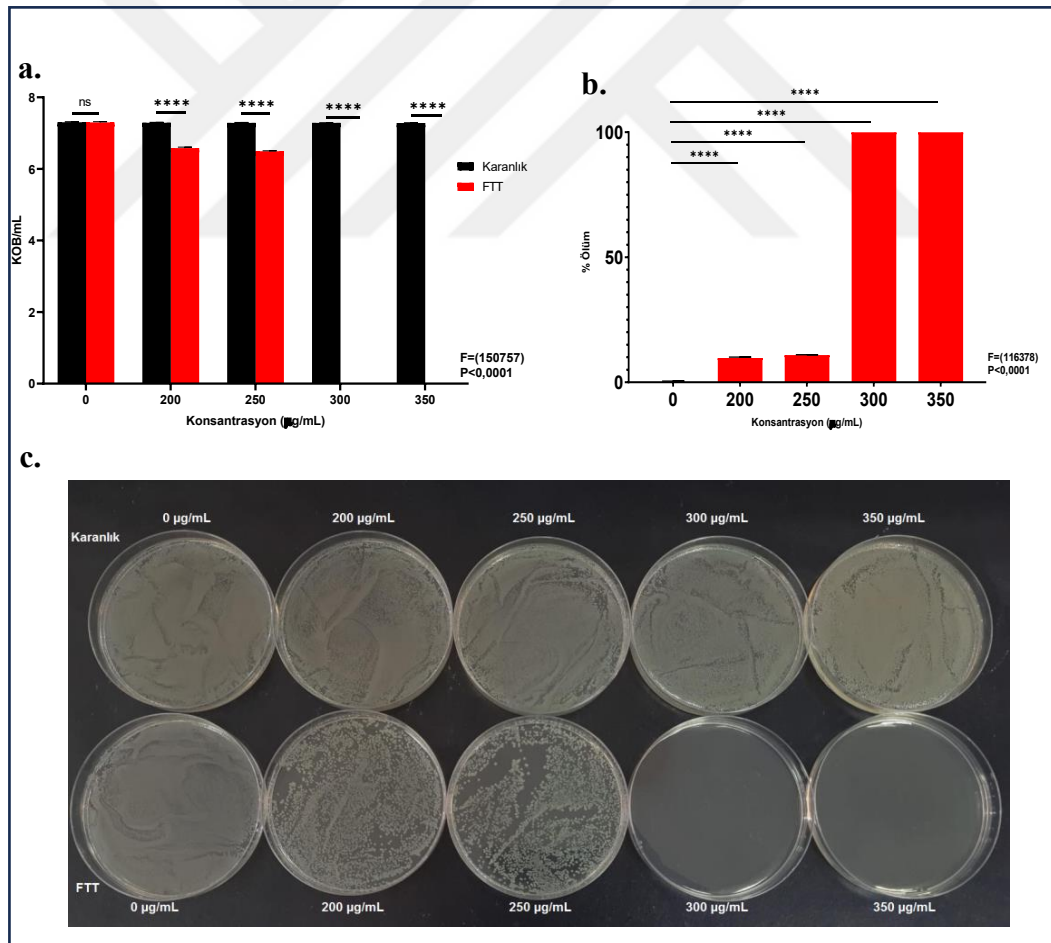
4.9 Bileşik 2'nin Antimikrobiyal FTT Testleri

Staphylococcus aureus'un metisilin dirençli suşu olan MRSA (ATCC 43300) Gram-pozitifdir ve tek bir kalın peptidoglikan tabakasına sahiptir, dış membranı bulunmaz. Hücre duvarının bu yapısı hem antibiyotik duyarlılığını hem de yüzey etkileşimlerini belirler. MRSA'nın çoklu ilaç direnci, özellikle klinik enfeksiyonlarda önemli bir faktör olduğundan antimikrobiyal materyallerin test edilmesinde kritik bir referans organizma olarak kabul edilir. Bileşik 2, dört farklı konsantrasyonda 0,5 MCF MRSA içeren deney ortamına eklenmiş ve 808 nm 0,50 W ışığa maruz bırakılmıştır. Işık uyarımı olmayan kontrol gruplarında toksisite görülmezken ışık uygulaması yapılan gruplarında artan bileşik 2 derişimiyle orantılı bir şekilde toksisite gözlenmiştir (Şekil 4.39) 200 µg/mL derişiminde bileşik 2 içeren deney grubunun ışık uygulamasında önemli ölçüde bakteri inhibisyonu görülürken; 250, 300 ve 350 µg/mL deney gruplarında ise %100 inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4.39). Bu da bileşik 2'nin MRSA üzerinde etkin bir FTT ajanı olduğuna işaret etmektedir.



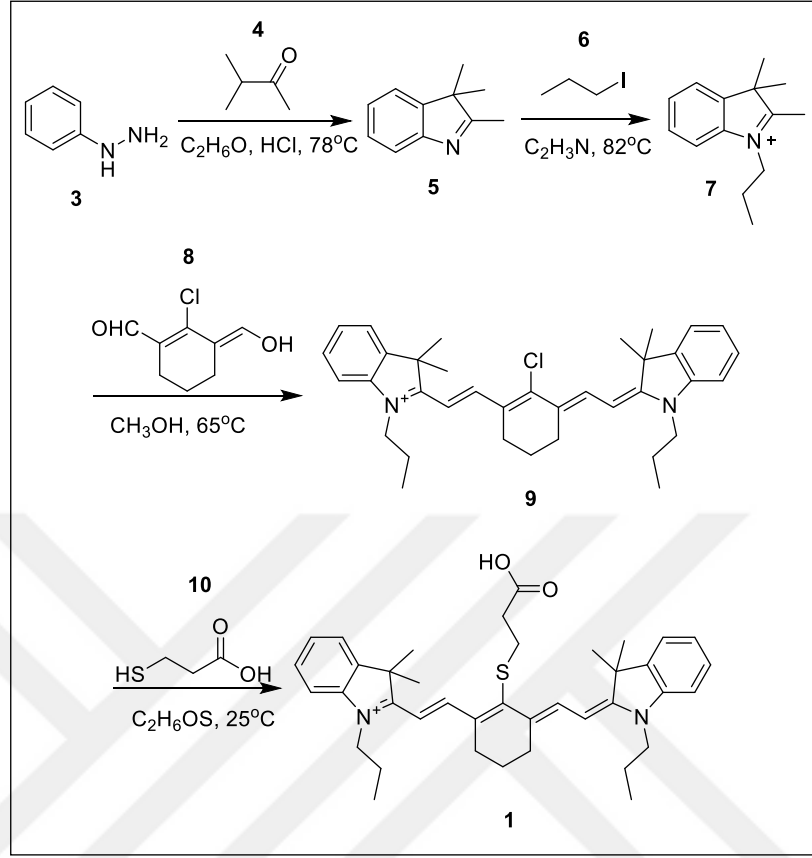
Şekil 4.39. a) Canlı sayım sonuçları (KOB/mL), b) Ölüm oranları (%), c) Canlı sayım sonuçlarına ait Petri görüntüleri.

Escherichia coli (ATCC 25922) Gram-negatif bir bakteridir ve hücre duvarı tek bir ince peptidoglikan tabakası ile bunun dışında bulunan dış membrandan oluşur. Bu yapı, bakterinin çeşitli antibiyotiklere ve kimyasal ajanlara karşı davranışını etkiler. Bu nedenle *E. coli*, Gram-negatif bakterilere karşı geliştirilen antimikrobiyal çalışmaların değerlendirilmesinde standart bir model mikroorganizmadır. Bileşik 2, dört farklı konsantrasyonda 0,5 MCF *E. coli* içeren deney ortamına eklenmiş ve 808 nm 0,5 W ışığa maruz bırakılmıştır. Işık uyarımı olmayan kontrol gruplarında toksisite görülmezken ışık uygulaması yapılan gruplarında artan bileşik 2 derişimiyle orantılı bir şekilde toksisite gözlenmiştir (Şekil 4.40) 200 ve 250 µg/mL derişimlerinde belirgin bir biçimde bakteri inhibisyonu görülürken; 300 ve 350 µg/mL deney gruplarında ise %100 inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4.40). Bu da bileşik 2'nin gram-negatif bir bakteri olan *E. coli* üzerinde de etkin bir FTT ajanı olduğunu göstermektedir.



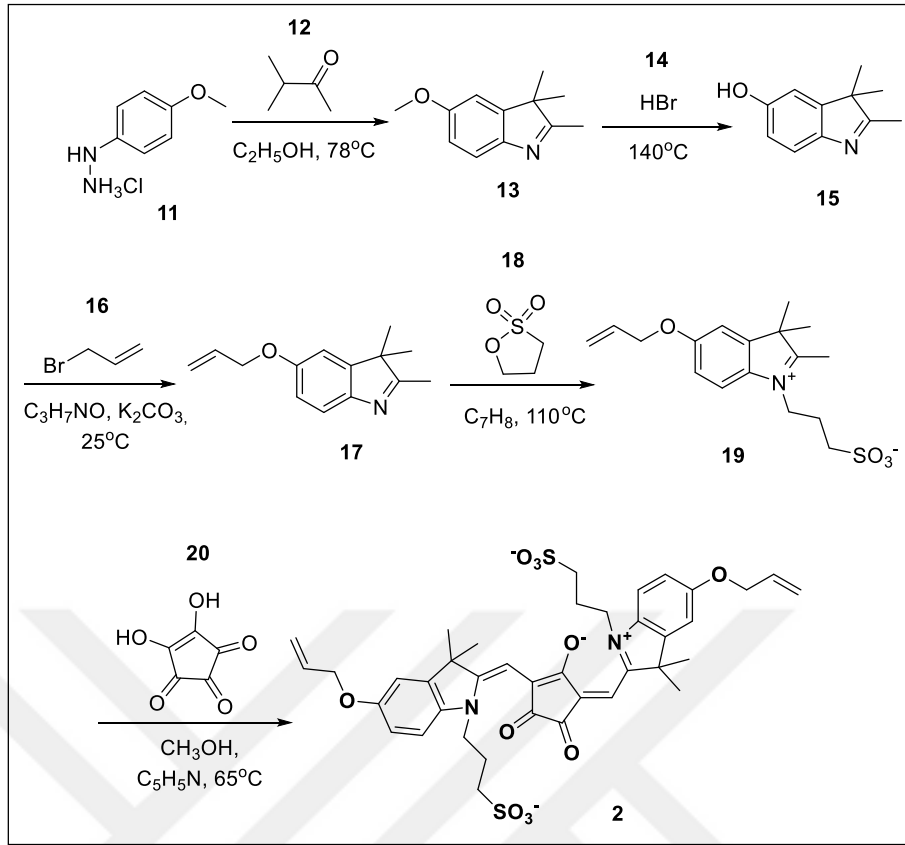
Şekil 4.40. a) Canlı sayım sonuçları (KOB/mL), b) Ölüm oranları (%), Canlı sayım sonuçlarına ait Petri görüntüleri.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER



Şekil 5.1. Bileşik 1'in genel sentez şeması.

Bileşik 1, dört sentez basamağı ile (Şekil 5.1) elde edilmiştir. Birinci basamakta fenil hidrazin türevinden indol sentezlenmiştir. Heterosiklik bir bileşik olan indol, NIR boyaların yapısında donör göreviyle yaygın olarak kullanılmaktadır. İkinci basamakta indol bileşiğinin N-alkilasyonu; iyodopropan ile gerçekleştirilmiştir. Kolay alkilasyona uygun olan alternatif pozisyonlar bulunmadığından reaksiyon yüksek verimle gerçekleşmiştir. Dialdehit ve indolün kondenzasyonunda piridin, trietil amin gibi bazlar kullanıldığında reaksiyonun daha hızlı fakat daha düşük verimle gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu sebeple katalizörsüz sentez yoluna gidilmiştir. Benzer şekilde bileşik 1 sentezinde de organik bazlar kullanıldığında 2- 3 saat içerisinde reaksiyonun tamamlandığı fakat veriminin düşük olduğu gözlenmiştir. Her bir sentez basamağı, ürün verimini olabildiğince artıracak şekilde optimize edilmiştir.

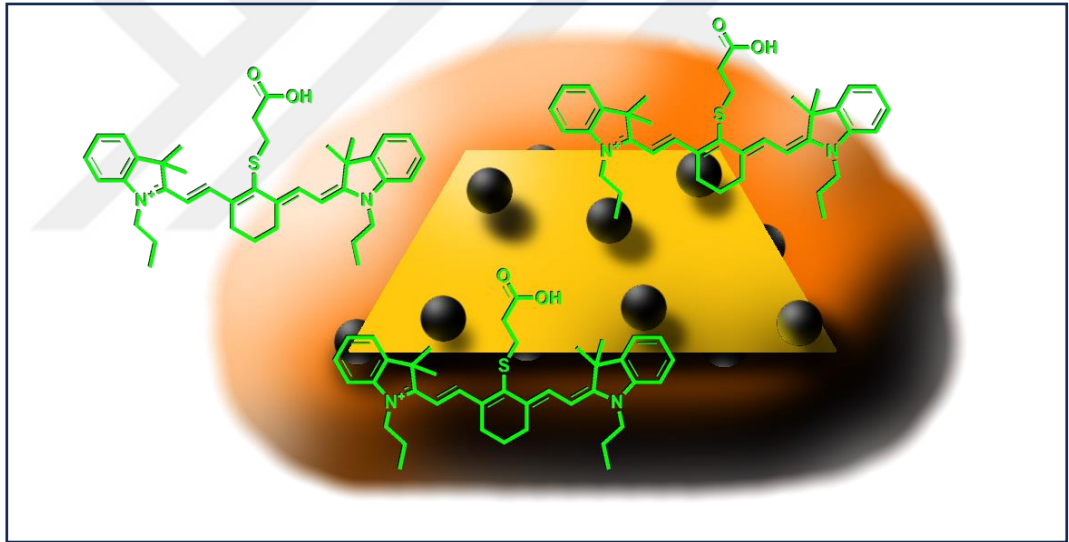


Şekil 5.2. Bileşik 2'nin genel sentez şeması.

Bileşik 2, beş sentez basamağı (Şekil 5.2) ile elde edilmiştir. İlk basamak fenil hidrazin türevinden indol sentezidir. İndolün istenilen eter grubunu (alken uçlu) barındırması için öncelikle bileşik 13'teki eter grubunun parçalanması amaçlanmıştır. HBr ile muamele edilen bileşik 13, hidroksi uçlu bileşik 15'e çevrilir. Eter sentezine uygun olan hidroksi ucu ve allyl bromür kullanılarak yeniden eter sentezi gerçekleştirilmiştir. İndoldeki azot atomu allyl bromür ile etkileşebileceğinden allyl bromür miktarı belirli bir miktarın üzerine çıkmayacak şekilde reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Yan ürün olarak allyl bromürün azot atomuna bağlanması durumunda; indol tuzları suda çözündüğünden su ile yıkama yapılmıştır. 4. basamak indol modifikasyonunun son basamağıdır ve propan sulton halkasının açılarak indolün azot atomuna bağlanması amaçlanmıştır. Reaksiyon yan ürünleri polar aprotik çözücülerde çözüneceğinden saflaştırma yöntemi buna göre optimize edilmiştir. Krokonik asit ve bileşik 19 kondenzasyonu ile bileşik 2 sentezlenmiş ve flaş kromatografisi ile saflaştırılmıştır.

Bileşik 1 için tasarlanan nanoparçacık modeli için öncelikle melaminden gC_3N_4 , daha sonra da demir tuzları ile ultrases vasıtasıyla $Fe_3O_4@gC_3N_4$ sentezlenmiştir. Nanokompozit bileşenleri, nanokompozit içerisine entegre edilmeden önce her bir

bileşenin etkinliği ayrıca test edilmiştir. Daha sonra nanokompozit 1 sentezlenmiştir. Şekil 5.3'te gösterilen nanokompozit 1'i temsil eden resimde gC_3N_4 tabakası, sarı plakayla temsil edilmiştir. Fe_3O_4 parçacıkları, gC_3N_4 üzerinde bulunan siyah toplarla temsil edilmiştir. Bu ünite FDT ve SFDT gibi ROT bağımlı terapi metodlarında hipoksi engelini hafifletmeyi amaçlayan oksijen üreten birimdir. Nitekim nanokompozitle yapılan testler sonucunda Fenton tipi bir reaksiyon üzerinden oksijen üretebildiği gösterilmiştir. FDT ve SFDT ise resimde yeşil renkli gösterilen bileşik 1 ile gerçekleştirilmiştir. Bileşik 1 gibi moleküllerin bu tür terapi metodlarında etkili olabilmesi için hücre ortamı yani su ortamında çözünmesi gerekmektedir. Fakat genellikle bileşik 1 gibi organik yapılar suda çözünmez ve agregasyona uğrarlar. Bu engeli aşmak için Şekil 5.3'te turuncu ile gösterilen BSA birimi kullanılmıştır. Diğer birimlerle entegre olabilen, suda çözünen ve biyouyumlu olan BSA; nanoparçacığın ana gövdesidir.



Şekil 5.3. Nanokompozit 1'in şematik gösterimi.

FDT, FTT, SFDT testleri ve L929 hücre hattı ile yapılan biyouyumluluk testleri neticesinde; nanokompozit 1 hedeflendiği gibi suda çözünen, FTT, FDT, SFDT yapabilen, biyouyumlu bir nanokompozit olduğu kanıtlanmıştır.

Organik fotoduyarlayıcıların suda agregasyonu sorunu bileşik 2'de farklı bir metodla çözülmüştür. Yapının kimyasal modifikasyonla suda çözünür hale getirilmesi amaçlanmıştır ve neticede nanoparçacık formunda kullanılmayan, üzerinde ihtiva ettiği sülfoksi grupları sayesinde suda çözünebilen FTT ajanı olarak kullanılabilen

bileşik 2'nin hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olabileceği gösterilmiştir.

Yapılan testlerin ışığında FDT ve SDT mekanizmalarına engel olabilecek hipoksi engelini hafifletecek nanoparçacık literatüre kazandırılmıştır. Organik duyarlaştırıcıların suda agregasyonu sorunu iki farklı metodla aşılmıştır. Bu duyarlaştırıcıların terapi etkinliklerinin olduğu, *in vitro* deneylerle gösterilmiş ve literatüre kazandırılmıştır. Elde edilen veriler en kısa sürede SCI indeksli bir dergide makale haline getirilecektir.



KAYNAKLAR

- Alagha, H. ve Gulsoy, M., 2025. An *in vitro* study on the antibacterial effect of a combined photodynamic and sonodynamic therapy using ir780 iodide-loaded mesoporous silica nanoparticles against p. Aeruginosa and multi-drug resistant p. Aeruginosa, Recent advances in anti-infective drug discovery, 20,1, 64–76.
- Bahrami, R., Pourhajibagher, M., Parker, S., Esmaceli, D. ve Bahador, A., 2023. Anti-biofilm and bystander effects of antimicrobial photo-sonodynamic therapy against polymicrobial periopathogenic biofilms formed on coated orthodontic mini-screws with zinc oxide nanoparticles. Photodiagnosis Photodyn Ther, 41, 103288.
- Chen, Y., Zhou, F., Wang, C., Hu, L. ve Guo, P., 2022. Nanostructures as photothermal agents in tumor treatment, Molecules, 28,1.
- Cheng, H. L., Guo, H.-L., Xie, A.-J., Shen, Y.-H. ve Zhu, M.-Z., 2021. 4-in-1 fe₃o₄/g-c₃n₄@ ppy-dox nanocomposites: Magnetic targeting guided trimode combinatorial chemotherapy/pdt/ptt for cancer, Journal of inorganic biochemistry, 215, 111329.
- Dolan, H. L., Bastarrachea, L. J. ve Tikekar, R. V., 2018. Inactivation of listeria innocua by a combined treatment of low-frequency ultrasound and zinc oxide, Lwt, 88, 146-151.
- Eslami, M., Memarsadeghi, O., Davarpanah, A., Arti, A., Nayernia, K. ve Behnam, B., 2024. Overcoming chemotherapy resistance in metastatic cancer: A comprehensive review, Biomedicines, 12, 1.
- Hart, D. J., Hadad, C. M., Craine, L. E. ve Hart, H., 2012. Organic chemistry 13th Edition, Cengage Learning, California, USA.
- He, X., Tian, Y., Dong, J., Yuan, Y., Zhang, S. ve Jing, H., 2024. Rna-seq reveals the mechanism of pyroptosis induced by oxygen-enriched ir780 nanobubbles-mediated sono-photodynamic therapy, International Journal of Nanomedicine, 19, 13029-13045.
- Hong, L., Li, J., Luo, Y., Guo, T., Zhang, C., Ou, S., Long, Y. ve Hu, Z., 2022. Recent advances in strategies for addressing hypoxia in tumor photodynamic therapy, Biomolecules, 12, 1.
- Hu, B., Qiao, W., Cao, Y., Fu, X. ve Song, J., 2024. A sono-responsive antibacterial nanosystem co-loaded with metformin and bone morphogenetic protein-2 for mitigation of inflammation and bone loss in experimental peri-implantitis, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 12, 1410230.
- Huang, J., Hong, X., Chen, S., He, Y., Xie, L., Gao, F., Zhu, C., Jin, X., Yan, H., Ye, Y., Shao, M., Du, X. ve Feng, G., 2024. Biomimetic metal-organic framework gated nanoplatform for sonodynamic therapy against extensively drug resistant bacterial lung infection, Advanced Science Weinheim, e2402473.
- Kessel, D., 2019. Photodynamic therapy: A brief history, Journal of Clinical Medicine, 8, 10.
- Kobzev, D., Semenova, O., Aviel-Ronen, S., Kulyk, O., Carmieli, R., Mirzabekov, T., Gellerman, G. ve Patsenker, L. 2024. Sonodynamic therapy for her2+ breast

- cancer with iodinated heptamethine cyanine–trastuzumab conjugate, *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 18.
- Kratz, F., 2014. A clinical update of using albumin as a drug vehicle - a commentary, *Journal of Controlled Release*, 190, 331-336.
- Lagos, K. J., Buzza, H. H., Bagnato, V. S. ve Romero, M. P., 2021. Carbon-based materials in photodynamic and photothermal therapies applied to tumor destruction, *International Journal of Molecular Sciences*, 23,1, 22.
- Li, S., Zhang, Y., Liu, X., Tian, Y., Cheng, Y., Tang, L. ve Lin, H., 2022. Smart nir-ii croconaine dye-peptide for enhanced photo-sonotheranostics of hepatocellular carcinoma, *Theranostics*, 12,1, 76-86.
- Li, X., Lovell, J. F., Yoon, J. ve Chen, X., 2020. Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17,11, 657-674.
- Li, Y., Zhou, Q., Deng, Z., Pan, M., Liu, X., Wu, J., Yan, F. ve Zheng, H., 2016. Ir-780 dye as a sonosensitizer for sonodynamic therapy of breast tumor, *Scientific Reports*, 6,1, 25968.
- Lin, C., Hao, H., Mei, L. ve Wu, M., 2020. Metal-free two-dimensional nanomaterial-mediated photothermal tumor therapy, *Smart Materials in Medicine*, 1, 150-167.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Martin, K. C., Yaffe, M. B. ve Amon, A., 2021. *Molecular cell biology* 9th Edition. W. H. Freeman, New York, NY, USA.
- Lopes, I. S., Yee, M., Tatumi, S. H., Vital, V. G., Furlaneto de Lima, L., Pantaroto de Vasconcellos, S. ve Courrol, L. C., 2024. Gaba functionalized gold, silver, and copper nanoparticles: Synthesis, characterization and potential applications, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 92.
- Ma, Y., Han, M., Zhu, H., Cui, F., Qiao, Y., Yin, Y., Zhao, X., Xi, R. ve Meng, M., 2025. Dual-modulation design to develop er-targeting nir pyroptosis inducers with type i pdt efficacy and amplified antitumor immunity, *Analytical Chemistry*, 97,23, 12338-12346.
- Nelson, D. L. ve Cox, M. M., 2017. *Lehninger principles of biochemistry* 7th Edition. W. H. Freeman, New York, NY, USA.
- Pamuk Algi M. ve Sarıgöl R., 2024. Squaraine-containing polymeric nanoparticles enable photodynamic and photothermal therapy of cancer cells, *Dyes and Pigments*, 226, 112138.
- Pham, T. C., Nguyen, V. N., Choi, Y., Lee, S. ve Yoon, J., 2021. Recent strategies to develop innovative photosensitizers for enhanced photodynamic therapy, *Chem Rev*, 121,21, 13454-13619.
- Pourhajibagher, M. ve Bahador, A., 2021. Synergistic biocidal effects of metal oxide nanoparticles-assisted ultrasound irradiation: Antimicrobial sonodynamic therapy against streptococcus mutans biofilms, *Photodiagnosis Photodynamic Therapy*, 35, 102432.

- Sharma, A., Jasrotia, S. ve Kumar, A., 2024. Effects of chemotherapy on the immune system: Implications for cancer treatment and patient outcomes, *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, 397,5, 2551-2566.
- Simoes, J. C. S., Sarpaki, S., Papadimitroulas, P., Therrien, B. ve Loudos, G., 2020. Conjugated photosensitizers for imaging and pdt in cancer research, *Journal of Medicinal Chemistry*, 63,23, 14119-14150.
- Sun, D., Pang, X., Cheng, Y., Ming, J., Xiang, S., Zhang, C., Lv, P., Chu, C., Chen, X., Liu, G. ve Zheng, N., 2020. Ultrasound-switchable nanozyme augments sonodynamic therapy against multidrug-resistant bacterial infection, *American Chemical Society Nano Journal*, 14,2, 2063-2076.
- Sun, S., Meng, X., Xu, J., Yang, Z., Zhang, X. ve Dong, H., 2024. Ag-decorated multivariate metal-organic frameworks for enhanced sonodynamic therapy of bacterial infections in wound healing, *Nano Today*, 55.
- Tufano, I., Vecchione, R. ve Netti, P. A., 2020. Methods to scale down graphene oxide size and size implication in anti-cancer applications, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 613280.
- Tufano., I., Vecchione, R. ve Netti, P. A., 2020. Methods to scale down graphene oxide size and size implication in anti-cancer applications, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 613280.
- Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V. ve Orr, R. B., 2020. *Campbell biology* 12th Edition, Pearson, Hoboken, NJ, USA.
- Veld, H., Heuts, J., Ma, S., Cruz, L. J., Ossendorp, F. A. ve Jager, M. J., 2023. Current challenges and opportunities of photodynamic therapy against cancer, *Pharmaceutics*, 15, 2.
- Walling, C., Partch, R. E. ve Weil, T., 1975. Kinetics of the decomposition of hydrogen peroxide catalyzed by ferric ethylenediaminetetraacetate complex, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72,1, 140-142.
- Wang, M., Wang, X., Liu, B., Lang, C., Wang, W., Liu, Y. ve Wang, X., 2023. Synthesis of ciprofloxacin-capped gold nanoparticles conjugates with enhanced sonodynamic antimicrobial activity *in vitro*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 112,1, 336-343.
- Wang, Y., Sun, Y., Liu, S., Zhi, L. ve Wang, X., 2020. Preparation of sonoactivated tio(2)-dvdms nanocomposite for enhanced antibacterial activity, *Ultrasonics Sonochemistry*, 63, 104968.
- Wysocki, M., Czarczynska-Goslinska, B., Ziental, D., Michalak, M., Guzel, E. ve Sobotta, L., 2022. Excited state and reactive oxygen species against cancer and pathogens: A review on sonodynamic and sono-photodynamic therapy, *Chemistry and Medicine Chemistry*, 17,13, e202200185.
- Xu, X., Zhao, H., Ren, S., He, W., Zhang, L. ve Cheng, Z., 2024. Facile surface modification with croconaine-functionalized polymer on polypropylene for antifouling and nir-light-mediated photothermal sterilization, *American Chemical Society Applied Materials & Interfaces*, 16.

- Yadav, Y., Owens, E., Nomura, S., Fukuda, T., Baek, Y., Kashiwagi, S., Choi, H. S. ve Henary, M., 2020. Ultrabright and serum-stable squaraine dyes, *Journal of Medicinal Chemistry*, 63,17, 9436-9445.
- Yu, Y., Tan, L., Li, Z., Liu, X., Zheng, Y., Feng, X., Liang, Y., Cui, Z., Zhu, S. ve Wu, S., 2021. Single-atom catalysis for efficient sonodynamic therapy of methicillin-resistant *staphylococcus aureus*-infected osteomyelitis, *American Chemical Society Nano*, 15,6, 10628-10639.
- Yumita, N., Nishigaki, R., Umemura, K. ve Umemura, S., 1989. Hematoporphyrin as a sensitizer of cell-damaging effect of ultrasound, *Japanese Journal of Cancer and Oncology Research*, 80,3, 219-222.
- Zhang, J., Zhang, L., Zhang, Y., Ju, R. ve Wei, G., 2023. An ultrasound-controllable ros-responsive nanoplatfrom for o2 and no generation to enhance sonodynamic therapy against multidrug-resistant bacterial infections, *Nanoscale*, 15,48, 19638-19649.
- Zhang, L., Jia, H., Liu, X., Zou, Y., Sun, J., Liu, M., Jia, S., Liu, N., Li, Y. ve Wang, Q., 2022. Heptamethine cyanine-based application for cancer theranostics, *Frontiers in Pharmacology*, Volume 12 - 2021.
- Zong, L., Yu, Y., Wang, J., Liu, P., Feng, W., Dai, X., Chen, L., Gunawan, C., Jimmy Yun, S. L., Amal, R., Cheong, S., Gu, Z. ve Chen, Y., 2023. Oxygen-vacancy-rich molybdenum carbide mxene nanonetworks for ultrasound-triggered and capturing-enhanced sonocatalytic bacteria eradication, *Biomaterials*, 296, 122074.
- URL-1 <https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1> Erişim Tarihi: 14.11.2025.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Şafak ZENGİN

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Cumhuriyet Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 2014-2019

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 2023-2025

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Projeler

1. 123R074, Krokoninlerle Çapraz Bağlayıcı Mühendisliği: Fototermal Antibakteriyal Hidrojeller (TÜBİTAK, Proje No.123R074) 01.11.2024-28.02.2025 Bursiyer. Projedeki görevi devam etmekte.
2. 1649B022406105 TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Lisansüstü Burs Programı kapsamında Biyoteknolojik İlaç Teknolojileri öncelikli alanında burs desteği (Başvuru No: 1649B022406105)

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. Şafak ZENGİN, Dönay ÇUNGUR, Melek Pamuk ALGI, Fatih ALGI. (2025). Synthesis of a New Photothermal Agent. 13th International Drug Chemistry Conference, Turkish Chemists Society, Belek, Antalya, 06-09 February, page 182.
2. Şafak ZENGİN, Dönay ÇUNGUR, Melek Pamuk ALGI, Fatih ALGI. (2025). Synthesis And Characterization of A Novel Phototherapy Agent. 6th Organic Chemistry Congress, Turkish Chemical Society, Eskişehir, 10-13 September, page 86.