



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

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**HEPTAMETİN SİYANİN İLE ÇAPRAZ BAĞLI, FOTODİNAMİK
TERAPİ YAPAN HİDROJELLER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rumeysa SARIGÖL

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatih ALGI

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI

AKSARAY, 2021

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 182330410 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Rumeysa SARIGÖL tarafından hazırlanan “**HEPTAMETİN SİYANİN İLE ÇAPRAZ BAĞLI, FOTODİNAMİK TERAPİ YAPAN HİDROJELLER**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

Aksaray Üniversitesi

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

.....

Üye: Prof. Dr. Ali ÇIRPAN

Orta Doğu Teknik Üniversitesi

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

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Neslihan TEKİN KARACAER

Aksaray Üniversitesi

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

.....

Tez Savunma Tarihi: 16/09/2021

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

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

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

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

Rumeysa SARIGÖL

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans öğrenimimde engin bilgileri ve olumlu katkıları ile bana ışık tutan maddi ve manevi emeğini esirgemeyen, tez çalışmamda bana rol model olan ve disiplinli çalışmayı öğreten çok değerli sevgili saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Fatih ALGI 'ya en içten saygılarımla teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans öğrenimimde ve çalışmalarımda yaşadığım her zorlukta tecrübeleriyle ve engin bilgileriyle bana yardımcı olan motive eden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen çok değerli sevgili saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI 'ya en içten saygılarımla teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her döneminde ve yüksek lisans hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen günlere gelmemde çok büyük emek veren ve fedakârlık yapan çok değerli sevgili anneciğim Rabia Sarıgöl'e, sevgili babacığim İsmail Sarıgöl'e, canım kardeşlerim Sümeyye Kübra AKKÖZ ve Havvanur Sarıgöl'e, saygıdeğer abim Önder AKKÖZ'e ve canımdan çok sevdiğim yeğenim Yusuf Ali AKKÖZ'e teşekkür eder, sonsuz saygı ve hürmetlerimi sunarım.

Laboratuvarda bana nasıl çalışılacağını öğreten ve çalışmalarımı gerçekleştirmemde bilgi ve tecrübeleriyle yardımcı olan Sayın Ömer SONKAYA hocama, hücre deneylerinde bana yardımcı olan grup arkadaşlarım Caner SOYLUKAN ve Alihan TOKSOY'a teşekkür ederim.

Bu süreçte bana sağlanan burs için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No: 120Z300) ayrıca teşekkür ederim.

Rumeysa SARIGÖL

AKSARAY, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Fotodinamik Terapi	3
1.2 Fototermal Terapi	7
1.3 Siyanin	9
1.4 Skuarin	11
1.5 Hidrojel	12
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
2.1 Siyaninler	16
2.2 Skuarinler	22
2.3 Hidrojeller	27
3. MATERYAL ve YÖNTEM	37
3.1 Malzeme	37
3.2 Bileşik 38 Sentezi: 2-metilbenzo[d]tiazol-5-il undec-10-enoat	37
3.3 Bileşik 39 Sentezi: 2,3-dimetil -5- (undec-10-enoiloksi) benzo[d] tiazol-3-ium iyodür	38
3.4 Skuarin Sentezi (Sq1)	38
3.5 Siyanin Sentezi (Cy1)	39
3.6 Hidrojel Sentezi: Sq1@PNIPAAm	40
3.7 Hidrojel Sentezi: Cy1@PNIPAAm	41
3.8 MBA@PNIPAAm Hidrojel Sentezi ve Sq1 ve Cy1 Bileşiklerinin Fiziksel Adsorpsiyonu	41
3.9 Hidrojellerin Şişme Kapasitesinin Belirlenmesi	42
3.10 Hidrojellerin Sıcaklığa Bağlı Kütle Değişikliğinin Belirlenmesi	42
3.11 Hidrojellere Flöresin Sodyum Tuzunun Emdirilmesi	42
3.12 Sq1@F127 ve Cy1@F127 Bileşiklerinin Kapsülasyonu	43
3.13 Sq1 ve Cy1 Bileşiklerinin Kimyasal Tuzak ile Fotoduyarlastırıcı Testleri	43
3.14 Sq1 FTT Aktivitesinin Belirlenmesi	43
3.15 Cy1 FTT Aktivitesinin Belirlenmesi	43
3.16 Sq@PNIPAAm Kimyasal Test ile FDT Aktivitesinin Belirlenmesi	44
3.17 Cy1@PNIPAAm Kimyasal Test ile FDT Aktivitesinin Belirlenmesi	44
3.18 Hidrojellerin FTT Aktivitesinin Belirlenmesi	44
3.19 Hücre Kültürü	44
3.20 Cy1@F127 ve Sq1@F127 Molekülleri ile Hep2 Hücre Hattında Biyogörüntüleme	45
3.21 Cy1@F127 veya Sq1@F127 bileşikleri ile Hep2 Hücre Hattında In Vitro FDT Testleri	45
3.22 Sq1@PNIPAAm ve Cy1@PNIPAAm Hidrojellerinin L929 Hücre Hattında Sitotoksikite Testi	47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	47
4.1 Hedef Bileşiğinin Sq1 Yapısının Sentezi	47
4.1.1 Sq1 ile PNIPAAm hidrojel sentezi: Sq1@PNIPAAm	60

4.2 Hedef Yapı Cy1'in Sentezi.....	66
4.2.1 Cy1 ile PNIPAAm hidrojel sentezi: Cy1@PNIPAAm	74
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	80
KAYNAKLAR	87
EKLER.....	94
EK A. Şekiller için alınan izinler	94
ÖZGEÇMİŞ.....	99



YÜKSEK LİSANS TEZİ

HEPTAMETİN SİYANİN İLE ÇAPRAZ BAĞLI, FOTODİNAMİK TERAPİ YAPAN HİDROJELLER

Rumeysa SARIGÖL

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI
İkinci Danışman: Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI

ÖZET

Bu tez kapsamında potansiyel fototerapi ajanı olabilecek fotoduyarlayıcı yakın kızıl ötesinde boyalar tasarlanıp sentezlenmiştir. Fotoduyarlayıcı ajanların öncelikle LC-MS, ^1H NMR ve ^{13}C NMR yapıları ve UV-VIS ve floresans spektroskopisi ile fotofiziksel özellikleri aydınlatılmıştır. Özgün olan bu ajanların reaktif oksijen üretme kabiliyeti ve hipertermi oluşturma kabiliyeti incelenmiştir. Sentezlenen ajanların etkin fotoduyarlayıcı ajanlar olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Fotoduyarlayıcı ajanların fizyolojik koşullarda topaklanmasının önüne geçmek için hidrojel yapısına entegre edilmiştir. Literatürde biyouyumlu kanıtlanmış monomer ve yüksek su tutma kabiliyeti olan malzemeler kullanılarak hidrojel tasarımı ve sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen hidrojin şişme kapasitesi, reaktif oksijen üretme potansiyeli ve hipertermi oluşturma kabiliyeti incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda potansiyel olarak ikili fototerapi ajanı olabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Hidrojel, Fototermal Terapi, Fotodinamik Terapi, Yakın Kızıl Ötesi Bölge, Singlet Oksijen, Hipertermi.

Eylül, 2021; 99 sayfa

M.Sc. THESIS

HEPTAMETIN CROSS-LINKED WITH CYANINE, PHOTODYNAMIC THERAPY HYDROGELS

Rumeysa SARIGÖL

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

**Supervisor: Prof. Dr. Fatih ALGI
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Melek PAMUK ALGI**

ABSTRACT

In this thesis, photosensitizing near-infrared dyes that could be potential phototherapy agents were designed and synthesized. Firstly, the photophysical properties of the photosensitizing agents were elucidated by LC-MS, ^1H NMR and ^{13}C NMR structures and UV-VIS and fluorescence spectroscopy. The ability of these unique agents to produce reactive oxygen and the ability to create hyperthermia were investigated. It has been determined that the synthesized agents can be used as effective photosensitizing agents.

It is integrated into the hydrogel structure to prevent aggregation of photosensitizing agents under physiological conditions. Hydrogel design and synthesis have been carried out by using proven biocompatible monomer and materials with high water holding ability in the literature. The swelling capacity, reactive oxygen generation potential and hyperthermia inducing ability of the synthesized hydrogel were investigated. As a result of the investigations, it has been revealed that it can potentially be a dual phototherapy agent.

Keywords: Hydrogel, Cross Linked, Photothermal Therapy, Photodynamic Therapy, Near Infrared Region, Hyperthermia, Singlet Oxygen.

September, 2021; 99 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Nils Ryberg Finsen (Hönigsmann, 2013).....	1
Şekil 1.2. Herman von Tappeiner (Hönigsmann, 2013).	3
Şekil 1.3. Jablonski diyagramı ile FDT çalışma prensibi ve Tip1-Tip2 mekanizması.....	4
Şekil 1.4. Işık dokuda çeşitli dalga boylarına göre izlediği yol (Shramova vd., 2020).....	5
Şekil 1.5. Fototerapötik pencere (Dąbrowski ve Arnaut, 2015).	6
Şekil 1.6. Klinikte kullanılan bazı FDT ajanları.	7
Şekil 1.7. Jablonski diyagramı ile FTT çalışma prensibi.....	8
Şekil 1.8. Fototermal terapi şematik gösterimi.	8
Şekil 1.9. Siyanin şematik gösterimi ve C=C bağ sayısına bağlı dalga boyu spektrumu (Feng vd., 2020).	10
Şekil 1.10. Siyanin boyasının genel moleküler formülü.....	10
Şekil 1.11. Prof. Dr. Alfred E. Treibs (URL-1).	11
Şekil 1.12. Skuarin boyasının moleküler yapısı.	12
Şekil 1.13. Otto Wichterle (URL-2) ve Drahoslav Lím. (URL-3)	13
Şekil 1.14. Hidrojel sentezinde kullanılan bazı monomerler.	13
Şekil 1.15. Hidrojel sentez mekanizması.	14
Şekil 2.1. Bileşik 3'ün moleküler yapısı.....	16
Şekil 2.2. Bileşik 4'ün moleküler yapısı.....	17
Şekil 2.3. Bileşik 5'in moleküler yapısı.....	17
Şekil 2.4. Bileşik 6a ve 6b moleküler yapısı.....	18
Şekil 2.5. Bileşik 7 moleküler yapısı. Bileşik 7 soğurma ve emisyon spektrumu (Thomas vd., 2017).	18
Şekil 2.6. Bileşik 8 moleküler yapısı. Bileşik 8 farklı çözücü ortamında soğurma spektrumu (Atchison vd., 2017).....	19
Şekil 2.7. Bileşik 9 moleküler yapısı. a) 9 ile kanser hücre hatlarında floresans görüntüleme (Li vd., 2017).	20
Şekil 2.8. Bileşik 10 moleküler yapısı ve farklı pH aralıklarında soğurma spektrumu (Meng vd., 2017).....	21
Şekil 2.9. Bileşik 11 moleküler yapısı ve ROT üretme etkinliği (Yang vd., 2020).	21
Şekil 2.10. Bileşik 12 moleküler yapısı ve farklı güçte ışık kaynağı ile FTT etkinliği (Mu vd., 2020).	22
Şekil 2.11. Bileşik 13 moleküler yapısı.	23
Şekil 2.12. Bileşik 14 moleküler yapısı. a) 5-florourasilin ilacının L929 biyouyumluluğu ve A549 hücre hattında tedavi etkinliği (Wu vd., 2017).	23
Şekil 2.13. Bileşik 15(a,b) moleküler yapısı.....	24
Şekil 2.14. Bileşik 16 moleküler yapısı ve FTT kabiliyeti (Sun vd., 2018).	25
Şekil 2.15. Bileşik 17 moleküler yapısı.	25
Şekil 2.16. Bileşik 18(a-d) moleküler yapısı.	26
Şekil 2.17. Bileşik 19 moleküler yapısı ve FTT etkinliği (Yao vd., 2020).....	26
Şekil 2.18. Bileşik 35 moleküler yapısı.	27
Şekil 2.19. Bileşik 21 moleküler yapısı.	27
Şekil 2.20. Bileşik 22 moleküler yapısı.	28
Şekil 2.21. Bileşik 23 ve 24 moleküler yapısı.	28
Şekil 2.22. Bileşik 25 moleküler yapısı.	29
Şekil 2.23. Bileşik 26 moleküler yapısı.	30

Şekil 2.24. Bileşik 27 moleküler yapısı.	30
Şekil 2.25. Bileşik 28 moleküler yapısı.	31
Şekil 2.26. Bileşik 29 moleküler yapısı.	31
Şekil 2.27. Bileşik 30 moleküler yapısı.	32
Şekil 2.28. Hidrojelin 31 moleküler yapısı.	33
Şekil 2.29. Bileşik 32 moleküler yapısı.	34
Şekil 2.30. Bileşik 33 moleküler yapısı.	35
Şekil 2.31. Polimerik hidrojellerin 34(a-c) r yapısı.	35
Şekil 2.32. Bileşik 35 ve polimerin moleküler yapısı.	36
Şekil 3.1. Bileşik 38 sentezi.	37
Şekil 3.2. Bileşik 39 sentezi.	38
Şekil 3.3. Bileşik Sq1 sentezi.	38
Şekil 3.4. Bileşik Cy1 sentezi.	39
Şekil 3.5. Bileşik Sq1@PNIPAAm sentezi.	40
Şekil 3.6. Bileşik Cy1@PNIPAAm sentezi.	41
Şekil 4.1. Bileşik 38 moleküler yapısı.	47
Şekil 4.2. İndolün 38 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).	48
Şekil 4.3. İndolün 38 ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 151 MHz).	49
Şekil 4.4. İndolün 38 LC-MS kütle spektrumu.	49
Şekil 4.5. Bileşik 39 moleküler yapısı.	49
Şekil 4.6. İndolün 39 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).	50
Şekil 4.7. İndolün 39 ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 151 MHz).	51
Şekil 4.8. İndolün 39 LC-MS kütle spektrumu.	51
Şekil 4.9. Bileşik Sq1 moleküler yapısı.	51
Şekil 4.10. Bileşik Sq1 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).	52
Şekil 4.11. Bileşik Sq1 ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 151 MHz).	53
Şekil 4.12. Bileşik Sq1 MALDI/TOF-MS kütle spektrumu.	53
Şekil 4.13. a) Sq1'in (1,6x10 ⁻⁵ M, λ _{max} 660nm, CH ₃ OH) soğurma spektrumu b) Sq1'in (3,3x10 ⁻⁸ M, λ _{max} 675nm, CH ₃ OH) emisyon spektrumu.	54
Şekil 4.14. Sq1'in tetrahidrofuran içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince DPBF soğurmasında meydana gelen değişimler. (Sq1 1,33x10 ⁻⁵ M, λ _{max} 675 nm, DPBF 6,6x10 ⁻⁶ M λ _{max} 410 nm); b) DPBF soğurmasının azalma grafiği.	54
Şekil 4.15. a) 808 nm lazer ile 15 dakika ışınlama sonrası sıcaklık değişimi • Sq1 1,3 µM, 1: 1 (CH ₃) ₂ OS:H ₂ O, ■ (CH ₃) ₂ OS:H ₂ O. b) Eş zamanlı termal görüntüsü.	55
Şekil 4.16. Hedef yapı Sq1'in F127 ile kapsülasyonu: Sq1@F127.	55
Şekil 4.17. Sq1@F127 TEM görüntüsü.	56
Şekil 4.18. Sq1@F127 soğurma (sol) ve emisyon (sağda) spektrumları. (Sq1 2,2 x10 ⁻⁵ M, F127 %66 w/v, HEPES 0,01 M ve % 10 TritonX çözeltisi).	56
Şekil 4.19. a) Sq1 808 nm lazer ile 15 dakika ışınlama ile sıcaklığının değişimi ▲ Sq1 1,3 µM, 1: 1 DMSO: H ₂ O, ▼ DMSO: H ₂ O, ■ Sq1@F127 (Sq1 3.5x 10 ⁻⁴ M, F127 suda % 66 w / v), ●F127 % 66 w / v suda. b) 808 nm lazer ışınlamasının termal döngüsü üzerinde Sq1@F127'nin sıcaklık yükselmesi. (Sq1 3,5x 10 ⁻⁴ M, F127 % 66 w / v suda).	57
Şekil 4.20. 24 saat süreyle inkübasyonundan sonra Hep-2 hücrelerinin floresan görüntüleri. a) mavi renkli DAPI ile boyanmış hücre hücre çekirdekleri; b) Sq1@F127 boyalı hücre görüntüleri. c) DAPI ve Sq1@F127 boyalı hücre görüntüleri.	58

Şekil 4.21. a) Hep-2 hücrelerinin Sq1@F127 ile in vitro FDT aktivitesi b) Sq1@F127 ile in vitro FDT aktivitesinin IC50 grafiği.....	59
Şekil 4.22. Sq1@PNIPAAm'ın moleküler yapısı.....	60
Şekil 4.23. a) Sq1@PNIPAAm hidrojelinin suda şişme süresine karşı çizilen nispi ağırlık grafiği (şişme oranı= m_{rel}). b) MBA@pNIPAAm hidrojelinin suda şişme süresine karşı çizilen nispi ağırlık grafiği (şişme oranı= m_{rel}).....	61
Şekil 4.24. a) Sq1@PNIPAAm hidrojelinin SEM görüntüsü. b) MBA@pNIPAAm hidrojelinin SEM görüntüsü. (Sağdan sola: 10000x, 500x, 100x).....	61
Şekil 4.25. a) Hidrojellerin 808 nm lazer ile sıcaklığındaki değişim • MBA@pNIPAAm, ▲ Sq1@PNIPAAm ■ Sq1 ile fiziksel adsorbe MBA@pNIPAAm; b) Sq1@PNIPAAm 808 nm lazer ile uyarılarak termal döngüsü üzerinden sıcaklık yükselmesi.....	62
Şekil 4.26. a) Sq1@PNIPAAm kırmızı ışık altında ROT üretmesi ile DBPF soğurmasının azalma spektrumu (DPBF $6,6 \cdot 10^{-6}$ M, λ_{max} 440nm). b) DPBF soğurmasının azalmasının çizgi grafiği.	63
Şekil 4.27. a) Sq1@PNIPAAm kırmızı ışık altında ROT üretmesi ile RNO soğurmasının azalma spektrumu (RNO $4,5 \cdot 10^{-7}$ M, λ_{max} 410nm, imidazol $6,4 \cdot 10^{-3}$ M). b) RNO soğurmasının azalmasının çizgi grafiği.	63
Şekil 4.28. a) Sq@pNIPAAm hidrojelinin DSC analizi. b) Sq@pNIPAAm hidrojelinin su çözeltisinde sıcaklığa kütle değişim grafiği. c) Sq@pNIPAAm hidrojelinin 808 nm lazer ile sıcaklık artışına bağlı kütle değişimi. d) Sq@pNIPAAm hidrojelinin yüksek sıcaklıkta kütle değişiminin görseli.....	64
Şekil 4.29. Sq1@PNIPAAm hidrojelinin floresin tuzu salınım grafiği.....	65
Şekil 4.30. Sq1@PNIPAAm hidrojelinin L929 sağlıklı hücre hattında sitotoksikite testi.	65
Şekil 4.31. Hedef yapı Cy1'in moleküler yapısı.....	66
Şekil 4.32. Cy1'in ^{13}C NMR spektrumu ($CDCl_3$, 151 MHz).....	66
Şekil 4.33. Cy1'in ^{13}C NMR spektrumu ($CDCl_3$, 151 MHz).....	67
Şekil 4.34. Cy1'in LC-MS kütle spektrumu.	67
Şekil 4.35. a) Cy1 ($5 \cdot 10^{-6}$ M, MeOH, λ_{max} = 814 nm) soğurma spektrumu, b) Cy1 ($8,33 \cdot 10^{-6}$ M, MeOH, λ_{max} = 825 nm) emisyon spektrumu.....	68
Şekil 4.36. a) Cy1'in tetrahidrofuran içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince DPBF soğurmasında meydana gelen değişimler (Cy1'in $6,66 \cdot 10^{-9}$ M, λ_{max} 810 nm, DPBF $3,33 \cdot 10^{-6}$ M λ_{max} 410 nm). b) DPBF soğurmasının azalma grafiği.....	68
Şekil 4.37. a) Cy1'in 808 nm lazer ile termal etkinliğinin parabol grafiği. b) Eş zamanlı termal görüntüsü.....	69
Şekil 4.38. Cy1'in F127 ile kapsülasyonu; Cy1@F127	69
Şekil 4.39. Cy@NIPAAm TEM görüntüsü.	70
Şekil 4.40. a) Cy1@F127 ($4,04 \cdot 10^{-6}$ M, λ_{max} 824 nm) bileşiklerinin UV-Vis soğurma b) Cy1 ($4,04 \cdot 10^{-6}$ M, λ_{max} 826 nm) emisyon spektrumları incelenmiştir. (HEPES 0,01 M ve % 10 TritonX çözeltisi).	70
Şekil 4.41. a) 808 nm lazer ile sıcaklığındaki değişim. • Cy1@F127, ▼ Cy1 ACN: Su ■ F127, ▲ ACN: Su, b) Cy1@F127 808 nm lazer ile termal döngüsü.	71
Şekil 4.42. 24 saat süreyle inkübasyondan sonra Hep-2 hücrelerinin floresan	

görüntüleri. a) Cyl@F127 inkübasyonundan sonra Hep-2 hücrelerinin floresan görüntüleri. b) mavi renkli DAPI ile boyanmış hücre çekirdekleri. c) DAPI ve Cy1@F127 floresans görüntülerinin birleştirilmesi.....	72
Şekil 4.43. a) Hep-2 hücrelerinin Cy1@F127 ile in vitro FDT aktivitesi. b) Cy1@F127 ile in vitro FDT aktivitesinin IC50 grafiği.	73
Şekil 4.44. Cy1@PNIPAAm'ın moleküler yapısı.	74
Şekil 4.45. Cy1@PNIPAAm hidrojelinin suda şişme süresine karşı çizilen nispi ağırlık grafiği (şişme oranı= m_{rel}). b) MBA@pNIPAAm hidrojelinin suda şişme süresine karşı çizilen nispi ağırlık grafiği (şişme oranı= m_{rel}).	75
Şekil 4.46. a) Cy1@PNIPAAm hidrojelinin SEM görüntüsü. b) MBA@pNIPAAm hidrojelinin SEM görüntüsü. (Sağdan sola: 1000x, 500x, 100x).....	75
Şekil 4.47. Hidrojellerin 808 nm lazer ile sıcaklığındaki değişim. • MBA@pNIPAAm, ▲ Cy1@PNIPAAm ■ Cy1 ile fiziksel adsorbe MBA@pNIPAAm; b) Cy1@PNIPAAm 808 nm lazer ile uyarılarak termal döngüsü üzerinden sıcaklık yükselmesi.....	76
Şekil 4.48. Cy1@PNIPAAm kırmızı ışık altında ROT üretmesi ile DCHF soğurmasının azalma spektrumu (DCHF 6,6 10^{-6} M, λ_{max} 414nm). b) DCHF soğurmasının azalmasının çizgi grafiği.....	77
Şekil 4.49. Cy1@pNIPAAm hidrojelinin su çözeltisinde sıcaklığa kütle değişim grafiği.	77
Şekil 4.50. Cy1@PNIPAAm floresin sodyum tuzu salınımı.....	78
Şekil 4.51. Cy1@PNIPAAm hidrojelinin L929 sağlıklı hücre hattında sitotoksikite testi.	79
Şekil 5.1. Hedef yapı Cy1 genel sentez şeması.	80
Şekil 5.2. Hedef yapı Sq1'in genel sentez şeması.	81
Şekil 5.3. Cy1@PNIPAAm sentez şeması.	82
Şekil 5.4. Sq1@PNIPAAm sentez şeması.	84

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAm	Akrilamid
AIBN	Azobisisobütironitril
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DI	De iyonize
DCHF	2,7-Dikloro Floresein Diasetat
DPBF	1,3-Difenilizobenzofuran
DMSO	Dimetil Sülfoksit
FDT	Fotodinamik Terapi
FTT	Fototermal Terapi
FD	Foto Duyarlaştırıcı
HEPES	4-(2-Hidroksietil)-1-Piperazineetansulfonik Asit
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle-Kütle Spektrometresi
LCST	Düşük Kritik Çözelti Sıcaklığı
MALDİ-TOF MS	Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi
MBA	N, N'-Metilenbis Akrilamid
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NIPAAm	N-İzopropilakrilamid
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
P.B.	Polimerizasyon Başlatıcı
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RNO	N, N-dimetil-4-nitrosoanilin
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
UV-VIS	Morötesi ve Görünür Işık Soğurma Spektroskopisi
¹³C NMR	Karbon Çekirdek Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹H NMR	Hidrojen Çekirdek Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹O₂	Singlet oksijen
°C	Santigrat
λ	Dalga boyu
λ_{max}	Maksimum soğurma dalga boyu
λ_{exc}	Uyarma dalga boyu

1. GİRİŞ

Fototerapi geçmişten günümüze birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bir tedavi yöntemidir. Fototerapi antik çağlarda çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. En eski kayıtlar M.Ö. 15 yy. dayanmaktadır. Çin, eski Mısır ve Hindu gibi medeniyetler bir takım bitki ekstraktları ve güneş ışığı ile birçok tedavi yöntemi geliştirmişlerdir (Grzybowski vd., 2016). Günümüzde ise modern fototerapinin öncü çalışmaları Niels Ryberg Finsen (Şekil 1.1) ile 19. yy başlamıştır. Antibiyotik ve antiinflamatuvar ilaçların henüz kullanılmadığı bir tarihte, geliştirdiği kimyasal ışın ile *lupus vulgaris* hastalığında kullanılan bir tedavi yöntemi geliştirmiştir. Finsen 1903 yılında geliştirdiği bu tedavi yöntemi sayesinde Nobel Tıp Ödülü'nü almaya hak kazanmıştır (Hönigsmann, 2013). Fototerapinin gelişmesinde daha birçok bilim adamı öncü olmuştur ve birçok dermatolojik hastalığın tedavisinde fototerapi kullanımı artırmıştır (Roelandts, 2002).



Şekil 1.1. Nils Ryberg Finsen (Hönigsmann, 2013).

Fotodinamik terapi; ışık, moleküler oksijen ve foto duyarlaştırıcı (FD) olmak üzere üç temel bileşen ile gerçekleşen bir tedavi yöntemidir. Foto duyarlaştırıcı ışık ile uyarıldığı zaman ortamdaki moleküler oksijeni, reaktif oksijen türlerine dönüştürür. Reaktif oksijen türleri (ROT) hücredeki; DNA, protein ve lipit gibi moleküller ile etkileşime girerek, hücreyi apoptoz veya nekroza sürükler ve hücre ölümü gerçekleşmiş olur (Agostinis vd., 2011).

Fototermal terapi (FTT); foto duyarlaştırıcı ve ışık ile gerçekleşen bir tedavi yöntemidir. Foto duyarlaştırıcı ışık ile uyarıldığında ışığı absorbe eder ve ışık enerjisini

ısı enerjisine dönüştürerek lokal ısınmayla hücre veya doku yıkımı sağlar (Huang vd., 2008).

Fotodinamik terapi için klinikte kullanılan, FDA tarafından onaylanmış birçok ilaç mevcuttur. Kullanılan bu ajanların avantajları olduğu gibi dezavantajı da mevcuttur. Dezavantajları göz önüne alınarak literatürde yeni FDT ajanları geliştirilmektedir. Geliştirilen bu ajanlar; skuarin, siyanin, BODIPY ve AZA-BODIPY gibi organik bileşiklerden oluşmaktadır.

Skuarin, 1965 yılında keşfedilmiş zwitteriyonik özelliğe sahip organik bir boya sınıfıdır. Zwitteriyonik özelliği sayesinde kırmızı bölgede soğurma ve emisyon yapabilmektedirler. Bu sayede FDT ve FTT' de kullanılabilecek, potansiyel terapötik bir ajan özelliğine sahiptir (Irina vd., 2019).

Siyanin; nitrojen içeren, heretosiklik bir yapı ve polimetil grubu ile ortak bir rezonans yapısına sahip organik bir boya sınıfıdır (Shi vd., 2016). Siyanin boyaları yüksek molar soğurma katsayısına ve yüksek floresan kuantum verimlerine sahiptirler. Siyaninler yakın kızıl ötesi bölgede soğurma yapabilirler ve bu dalga boyu doku-ışık penetrasyonun yüksek olduğu bir bölgedir (Sissa vd., 2020). Bu sayede potansiyel FDT ve FTT ajanı olarak çeşitli çalışmalara konu olmuştur.

Siyanin ve skuarin boyaları yapıları sayesinde Fototerapötik pencerede soğurma ve emisyon yapabilmektedirler. Bu sayede tedavi esnasında kullanılan ışık fototoksisite oluşturmaz. Bu iki boyanın singlet oksijen kuantum verimleri ve molar soğurma katsayıları yüksektir bu sayede tedavi etkinlikleri artmaktadır. Aynı zamanda hem FDT hem FTT yapabilen boyalar geliştirmek mümkündür. Tüm bu avantajların yanı sıra dezavantajları da vardır. Fizyolojik koşullarda çözünürlük sıkıntısı olduğu için topaklanma eğilimindedirler. Topaklanan boya, aktivite kaybına uğramaktadır ve ışık olmadan toksisite göstermektedir. Bu dezavantajların önüne geçmek için boyaları, biyouyumlu monomerler ile sentezlenen polimer ya da hidrojel yapılarına entegre edilmesi önemli bir yaklaşımdır.

Hidrojeller hidrofilik monomerlerden oluşan üç boyutlu polimerik ağlardır. İnsan vücudunda kullanılmış ilk biyomateryallerdir (Kopeček, 2007). Tek bir polimer zinciri ve çapraz bağlayıcı ile kovalent bağlarla oluşan su tutma kabiliyeti olan yapılardır (Bahram vd., 2016). Hidrojellerin su tutma kabiliyeti polimerik omurgaya tutturulmuş hidrofilik gruptan kaynaklanırken, suda çözünmeye karşı direnci ağ zincirleri

arasında ki çapraz bağlar sağlamaktadır. Hidrojeller; ilaç salınım sistemleri, biyomedikal uygulamalar, doku mühendisliği, yara sargısı gibi birçok kullanım alanına sahiptir (Ma vd., 2016; Gupta vd., 2019).

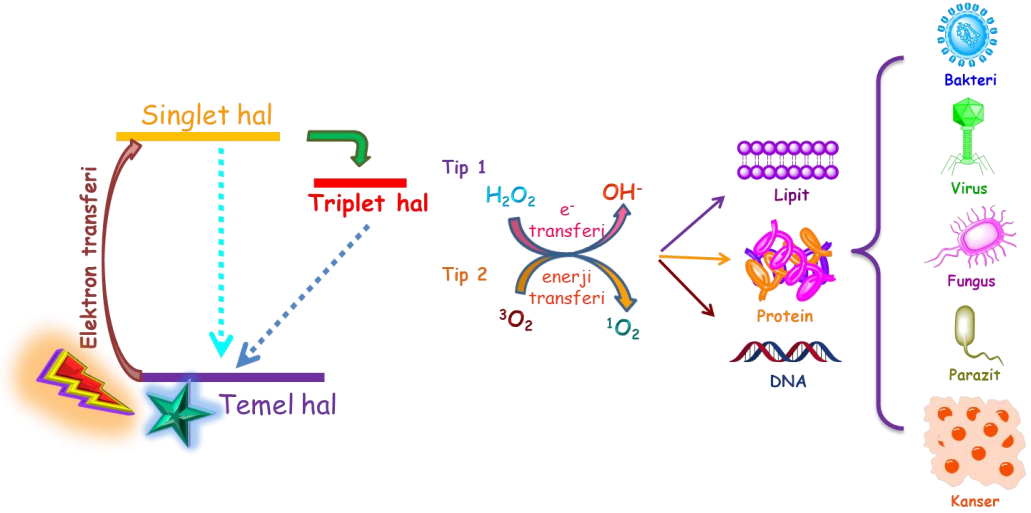
1.1 Fotodinamik Terapi

Fotodinamik terapinin (FDT) ilk literatür raporları Oscar Raab ve Herman von Tappeiner (Şekil 1.2) tarafından yapılmıştır (Hönigsmann, 2013; Kessel, 2019). Akridin turuncusunun protozoa üzerinde ki etkilerini incelerken güneş ışığı ile tedavinin gerekleştiiini keşfettiler (Choudhary vd., 2009). İlerleyen zamanlarda birçok bilim insanının katkılarıyla FDT mekanizması aydınlatılmış ve tedavi etkinliği incelenmiştir. Yapılan alışmalar sayesinde kullanım alanı artmış ve birçok tedavide etkinliği gözlemlenmiştir.



Şekil 1.2. Herman von Tappeiner (Hönigsmann, 2013).

Fotodinamik terapi; ılık, FD ve moleküler oksijen olmak üzere üç temel bileşen ile gerçekleşen bir tedavi yöntemidir. Foto duyarlaştırıcı, ılık ile etkileştiiinde ortamdaki moleküler oksijeni reaktif oksijen türlerine dönüştürür. Bu reaktif oksijen türleri, hücrede; DNA, protein veya lipit gibi hayati moleküllere zarar vererek hücre ölümünü gerçekleştirir. Foto duyarlaştırıcı ve ılık arasında ki bu etkileşim ile ROT retilmesi Şekil 1.3'te Jablonski diyagramı ile açıklanmaktadır (Awuah ve You, 2012).



Şekil 1.3. Jablonski diyagramı ile FDT çalışma prensibi ve Tip1-Tip2 mekanizması.

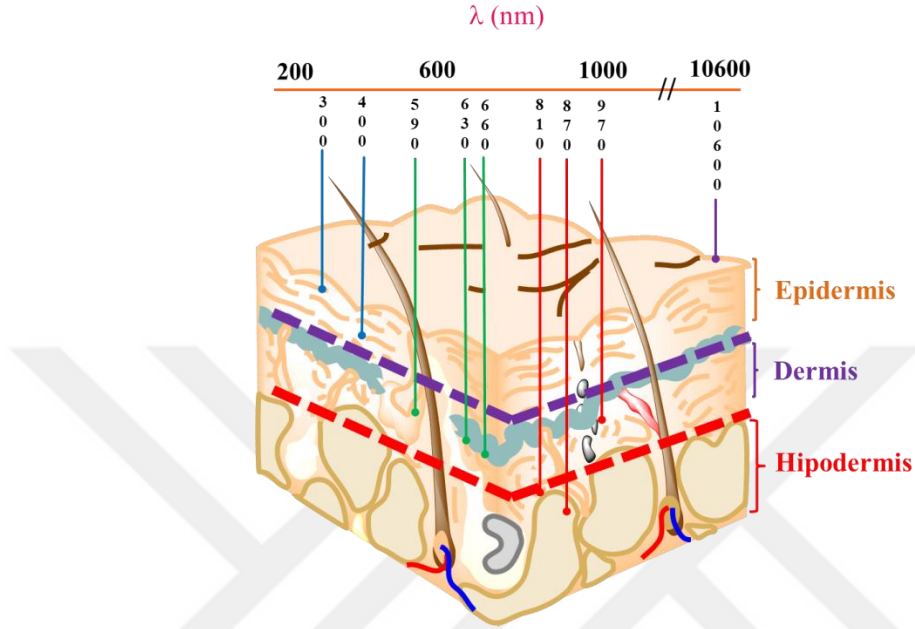
Temel haldeki FD, moleküler yörüngede zıt dönüşlere sahip iki elektrona sahiptir. Işık ile FD uyarıldığı zaman, FD ışığı soğurur ve ardından elektronlardan biri, singlet hal olan yüksek enerjili orbitale geçer. Foto duyarlaştırıcı temel hale geri dönerken floresans ışık yayarak veya ısıya dönüşerek fazla enerjisini kaybeder. Foto duyarlaştırıcı temel hale dönmeden sistemler arası geçiş yaparak triplet hale geçiş yapabilir. Triplet halde iki tür reaksiyona uğrar; Tip 1 ve Tip 2. Tip 1 mekanizmasında, fazla enerjisini proton veya elektron transferi ile bir substrata aktarır ve ROT oluşur. Tip 2 mekanizmasında ise FD fazla enerjisini ortamdaki moleküler oksijene aktarır ve singlet oksijen oluşur. Bu Tip 1 ve Tip 2 mekanizmaları aynı anda gerçekleşebilir (Robertson vd., 2009). Oluşan ROT sitotoksiktir ve ortamda oksidatif stres oluşturur. ROT'lar hücrede, nükleik asitlere, lipitlere ve proteinlere zarar verir. Hücrede oluşan bu hasar ile apoptoz veya nekroz gerçekleşir (Paszko vd., 2011). FDT; sedef, egzama, vitiligo ve akne gibi dermatolojik hastalıklarda (Babilas vd., 2006); bakteri, virüs, mantar ve protozoa gibi mikrobiyal tedavilerde (Fang vd., 2015); ve kanser (Agostinis vd., 2011) tedavisinde yaygın olarak kullanılabilir.

İdeal foto duyarlaştırıcının birtakım özelliklere sahip olması gerekmektedir (Kamkaew vd., 2013).

- ✓ Işık olmadığında düşük toksisite,
- ✓ Tümör dokusunda birikmeli ve sağlıklı dokudan hızla atılmalıdır,
- ✓ Işığın deri doku penetrasyonun yüksek olduğu dalga boyunda soğurma yapabilmeli,
- ✓ Kimyasal ve fiziksel stabilitesi yüksek olmalı,

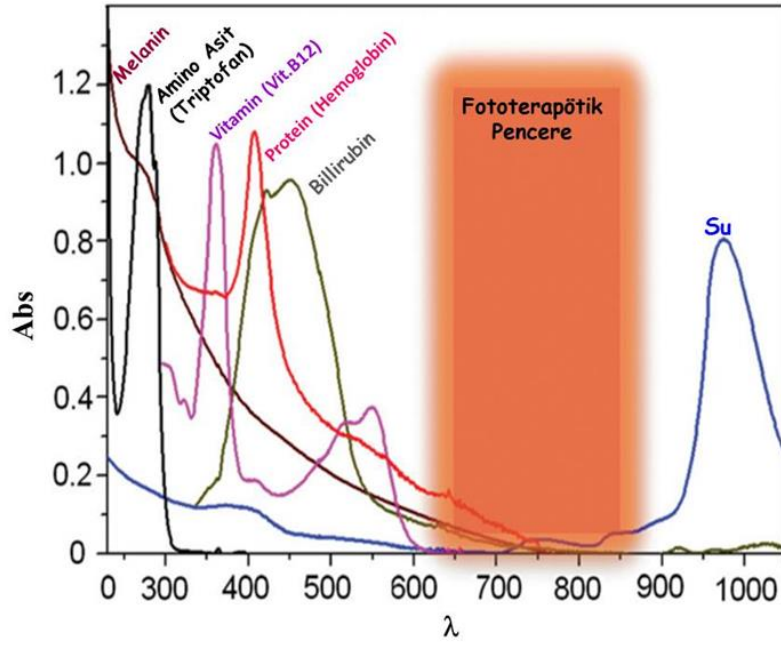
✓ Yüksek singlet oksijen kuantum verimine sahip olmalıdır.

Işığın dokuda izlediği yol Şekil 1.4’de gösterildiği gibi dalga boyuna göre değişkendir. En iyi doku-ışık penetrasyonu 600-870 nm arasında olduğu gösterilmiştir. Bu sebeple kullanılan ajanın bu dalga boylarında ışığı soğurması gerekmektedir (Protti vd., 2017).



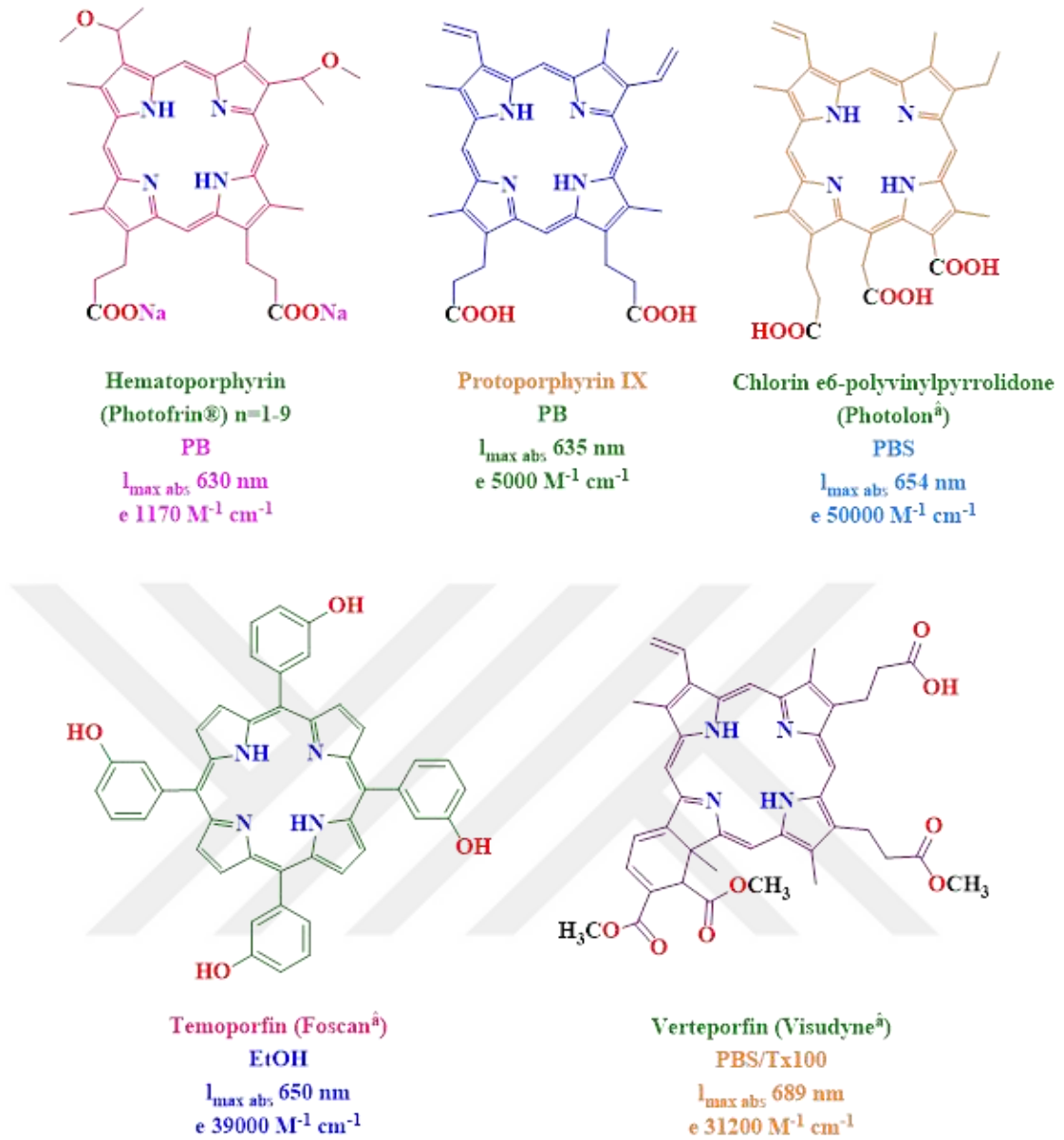
Şekil 1.4. Işığın dokuda çeşitli dalga boylarına göre izlediği yol (Shramova vd., 2020).

Fototerapötik pencerede Şekil 1.5’de gösterildiği gibi su ve biyolojik moleküllerin soğurması yoktur. Bu dalga boylarında kullanılan ışık toksisite oluşturmaz ve sadece foto duyarlaştırıcı ile etkileşir (Dąbrowski ve Arnaut, 2015; Kim ve Darafsheh, 2020).



Şekil 1.5. Fototerapötik pencere (Dąbrowski ve Arnaut, 2015).

Fotodinamik terapide günümüzde kullanılan FDA onaylı ilaçlar mevcuttur kimyasal yapıları Şekil 1.6'da gösterilmiştir. Bunlardan bazıları; hemataporfirin (λ_{abs} 630nm), proroporfirin IX (λ_{abs} 635nm), klorin e6 (λ_{abs} 654 nm), temoporfirin (λ_{abs} 650nm) ve verteporfirin (λ_{abs} 689nm). Bu ajanların bazıları fototerapötik pencerede soğurma yapabiliyor olsa da bazıları mavi (408 nm) ve yeşil (510 nm) ışıktaki uyarıldıklarında verimli singlet oksijen oluşturur. Kullanılan ışığın dalga boyu fototoksisite oluşturur ve bu sebeple tedavi sancılı geçer. Aynı zamanda bu klinik ajanların bir kısmı vücuttan hızlı atılmadıkları için tedaviden sonra yan etkileri devam eder ve hastalar tedaviden sonra ışığa karşı hassasiyet gösterir. Her bir ajan incelendiğinde avantajları olduğu kadar dezavantajlarının da olduğu tespit edilmiştir (Allison vd., 2004; Allison ve Sibata, 2010). Bu dezavantajların ortadan kaldırmak için daha etkili potansiyel FDT ajanlarının geliştirilmesi hedeflenmiştir.



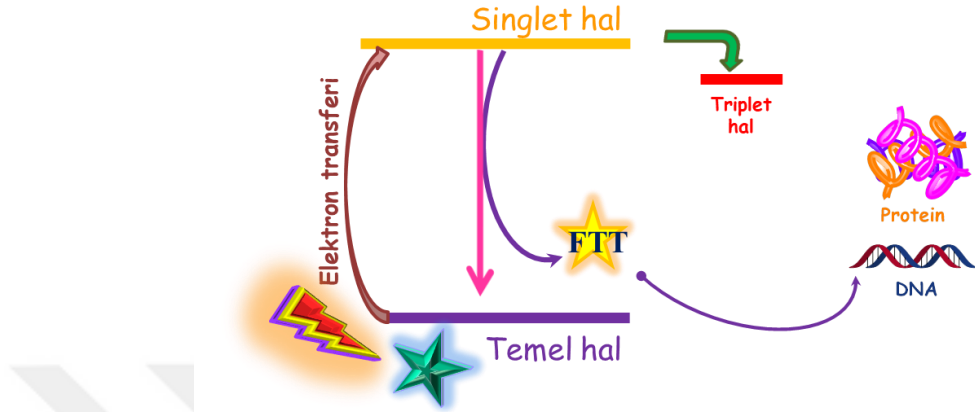
Şekil 1.6. Klinikte kullanılan bazı FDT ajanları.

Literatürde yapılan çalışmalar, klinikte kullanılan ilaçlara alternatif olarak kullanılabilecek, yeni potansiyel ajanlar üzerinedir. Bunlar; BODIPY, skuarin, siyanin ve AZA-BODIPY gibi organik boyalardır. Bu boyalar fototerapötik pencerede soğurma yapabildiği için yoğun ilgi görmektedir.

1.2 Fototermal Terapi

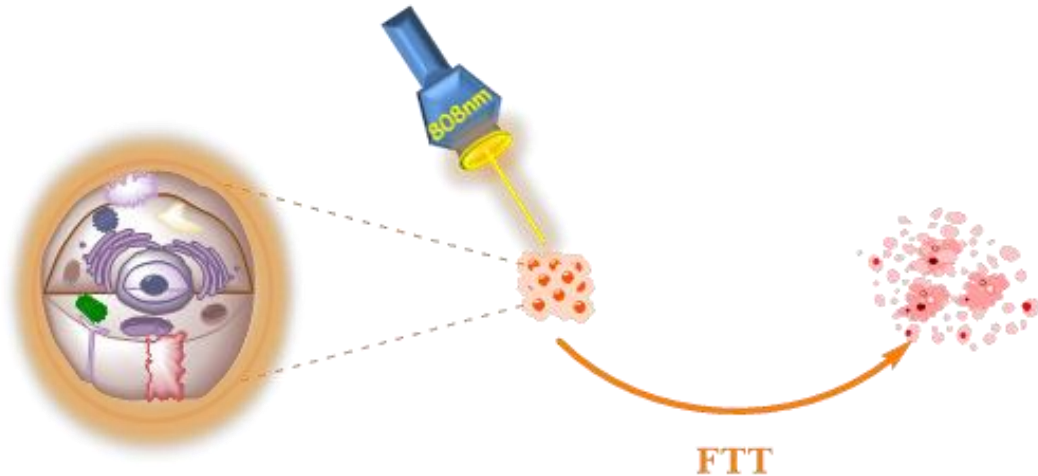
Termal terapi, M.Ö. 1700 yıllarına kadar uzanan tedavi yöntemlerinden biridir. İlerleyen zamanlarla radyo dalgaları, mikrodalga ve ultrason kullanılarak lokal bölgede hipertermi oluşumu ile tedavi sağlanmıştır (Huang vd., 2008). Işık ile uyarılan

FD etkileşimi Şekil 1.7’de gösterilmiştir. Fotoduyarlayıcı fotonik enerjiyi soğurur ve FD temel halden uyarılmış hale geçer. Uyarılmış elektronlar yüksek enerjilerini ısı enerjisi olarak çevreye verir ve ortam ısını artırır sıcaklık belirli bir seviyenin üzerine çıkarsa doku/ hücre hasarı gerçekleşir.



Şekil 1.7. Jablonski diyagramı ile FTT çalışma prensibi.

Hipertermi sonucu üç farklı hücre ölümü gerçekleşebilir: apoptoz, nekroz veya nekroptoz (programlanmış nekroz). Hücre içi sıcaklık 40 °C-47 °C arasında olduğunda protein denetürasyonu gerçekleşir ve DNA işlevsizleşerek hücre apoptoza uğrar. Hücre içi sıcaklık 50 °C’ye ulaştığında ise hızlı hücre ölümü ve nekroz gerçekleşir (Şekil 1.8). Oluşan bu yüksek sıcaklık, tümör hücrelerini sağlıklı hücrelere göre daha çok etkiler çünkü tümör hücrelerinin ısı toleransı düşüktür (Wei vd., 2019).



Şekil 1.8. Fototermal terapi şematik gösterimi.

Fototermal terapide ilk çalışmalar indosiyanin yeşili ile 1995 yılında in vitro çalışmalarda DMBA-4 metastazik meme kanserinde, in vivo çalışmalarda ise SK-BR-

3 meme tümör dokusu üzerinde yapılmıştır (Chen vd., 1995a; Chen vd., 1995b). Daha sonra birçok yeni FTT ajanı sentezlenmiş ve FTT'nin etkin bir tedavi yöntemi olabileceği kanıtlanmıştır. FTT için geliştirilmiş; altın nanopartiküller, nanotetrahedron, kuantum noktaları, gümüş nanopartiküller ve paladyum nanopartiküller gibi farklı geometrik şekillere sahip plazmonik nanoyapılar; grafen, tek duvarlı ve çok duvarlı karbon bazlı plazmonik nanotüpler kullanılmaktadır. Ayrıca indosiyanin yeşili (ICG), siyanin, skuarin, krokonin ve porfirin gibi organik boyalar kullanılabilir (Sheng vd., 2017; Jung vd., 2018; Shramova vd., 2020).

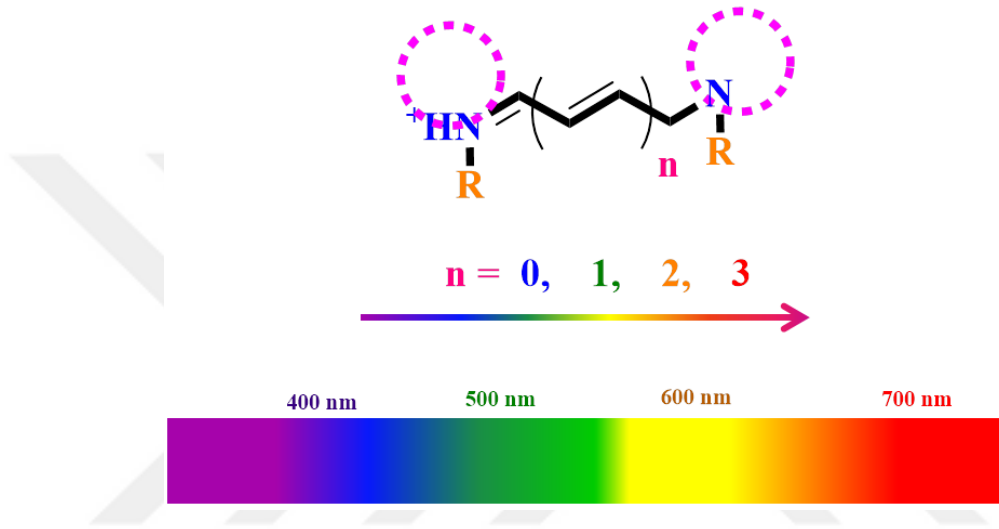
Fototermal terapide kullanılan organik boyaların, yakın kızıl ötesi dalga boyunda soğurma yapması gerekmektedir. Aynı zamanda Şekil 1.4'de gösterildiği gibi yakın kızıl ötesi dalga boyunun derin dokuya nüfus etme potansiyeli yüksektir (Shramova vd., 2020). FTT ve FDT birbirine benzer tedavilerdir. FTT'nin FDT'den farklı olarak birtakım avantajları mevcuttur. FTT'de oksijene ihtiyaç yoktur bu sayede kanser hücresi hipoksi ile direnç mekanizması oluşturmaz. FTT sırasında oluşan düşük ısı tedavide olumsuz bir etki oluşturmaz. Vücut hipertermi sonucu doku ısısı artan bölgeye kan akışını hızlandırır, bilindiği üzere tümör dokusunun çevresi aşırı damarlıdır bu da bu bölgede pasif hedefleme olmasını sağlar, tümör dokusunun termal hassasiyeti olması sayesinde tedavi etkinliği düşük hipertermiden etkilenmez (Sheng vd., 2017).

Fototermal terapide kullanılan ajanların çoğu ağır metal içeren nanopartiküllerdir. Ağır metal bilindiği üzere doz aşımında veya uzun süre kullanıldığında toksisite ve yan etki oluşturmaktadır (Chen vd., 2015). Organik boyalar ile yapılan çalışmalarda böyle bir dezavantaj söz konusu değildir. Organik boyalarda var olan dezavantaj ise boyanın hipertermi ve fizyolojik koşullardan etkilenip kısa ömürlü olmalarıdır. Bu dezavantajları gidermek için poloksamer ile kaplama yapılmaktadır. Hidrojel ağ yapılarına boya fiziksel veya kovalent olarak entegre edilerek bu tür sorunlar ortadan kaldırılabilir.

1.3 Siyanin

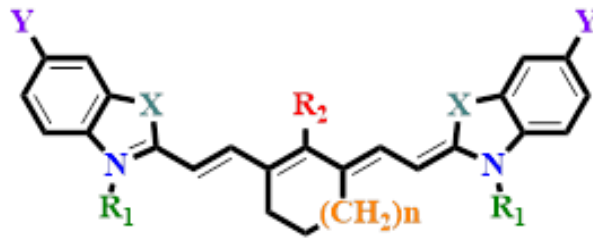
Siyanin; azot içeren iki heterosiklik halkayı polimetin zinciri ile birbirine bağlayan organik bir boya sınıfıdır (Shindy, 2017). Siyanin boyası polimetin zincirinin uzunluğuna göre isimlendirilir; monosiyaninler, trimetil siyaninler, pentametin siyaninler ve heptametin siyaninler. Polimetin zincirinin uzunluğu aynı zamanda

siyaninlerin soğurma yaptığı dalga boyu aralığını da etkiler, Şekil 1.9’da belirtildiği gibi metin zincirinde ki her C=C bağı soğurma-emisyon spektrumunda 100 nm kırmızı bölgeye kaymasını sağlar. Trimetin siyaninler 500-600 nm arasında soğurma yaparken; pentametin siyaninler 650 nm ve üzerinde soğurma yaparlar. Heptametin siyaninler ise yakın kızıl ötesi bölgede soğurma ve emisyon yapabilmektedirler. Yakın kızıl ötesi bölgede ve Fototerapötik pencerede soğurma yapabilen heptametin siyanin boyalarının, FDT ve FTT için alternatif yapılar olarak kullanılma potansiyeli yüksektir (Feng vd., 2020).



Şekil 1.9. Siyanin şematik gösterimi ve C=C bağı sayısına bağlı dalga boyu spektrumu (Feng vd., 2020).

Heptametin siyanin boyasının genel yapısı Şekil 1.10’da gösterilmektedir. Heptametin siyaninler polimetin zinciri ile birbirine bağlanmış her iki uçta konjuge indol halkaları bulunduran yapılardır (Feng vd., 2020).



Şekil 1.10. Siyanin boyasının genel moleküler formülü.

Heptametin siyanin boyalarının dört değişkeni vardır (Şekil 1.10). Bu dört farklı pozisyondaki bağlı gruplar (R₁, X, Y, R₂) sayesinde literatürde farklı özelliklere sahip siyanin boyaları tasarlanıp sentezlenmektedir. Siyanin boyasında R₁ soğurma ve emisyon dalga boyunu etkilemez. R₁ modifikasyonu ile suda çözünürlük, ¹O₂ üretme

verimi veya fotostabilite iyileştirilebilir. X modifikasyonu ile soğurma ve emisyonunda kırmızı bölgeye kayma sağlanabilir, aynı zamanda floresans kuantum verimi arttırılabilir (Feng vd., 2020). X modifikasyonunda ağır atom kullanılabilir. Ağır atomlar spinlerin sistemler arası geçişini arttırarak yüksek $^1\text{O}_2$ verimi sağlar. (Köhn vd., 2002).

Heptametin siyanin boyasının emisyon ve soğurma dalga boylarının artması için polimetin zincir uzatılmıştır. Karbon zincirinin uzamasıyla siyaninler fizyolojik koşullarda degrede olur; floresans kuantum verimi, terapi etkinliği ve floresans görüntüleme yeteneği azalır. (Shi vd., 2016). Bu zorlukların üstesinden gelmek için heptametin siyanin boyası modifiye edilebilir, polimer ile kapsüllenebilir veya hidrojele entegre edilebilir.

1.4 Skuarin

Skuarin, 1965 yılında Treibs (Şekil 1.11) ve Jacob tarafından keşfedilen, rezonansla stabilize edilmiş zwitteriyonik bir yapıya sahip organik boya sınıfıdır.

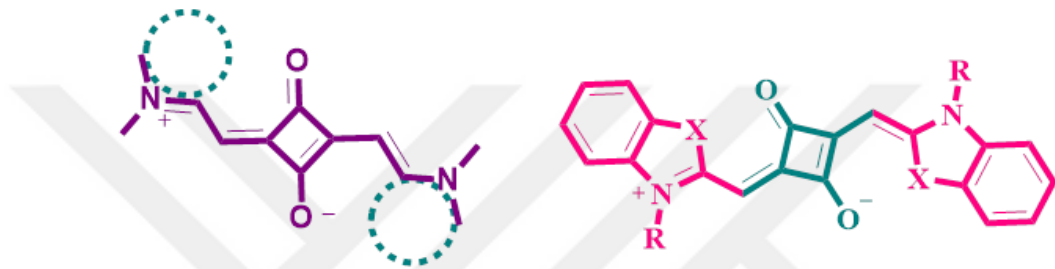


Şekil 1.11. Prof. Dr. Alfred E. Treibs (URL-1).

Skuarin; elektronca fakir skuarik asit yapısı ve elektronca zengin aromatik grupları ile çift kondenzasyon ürünleri olup rezonans ile kararlı kılınan dipolar iyonik yapıda bir boyadır. Bu sayede skuarinler yapılarına bağlı olarak, görünür bölgeden yakın kızıl ötesi (NIR) bölgeye kadar değişen soğurma ve emisyon yapabilme özelliğine sahiptir.

Skuarin boyasının moleküler yapısı Şekil 1.12’de gösterilmektedir. Skuarinlerin genel özellikleri (Ilina vd., 2019);

- ✓ NIR soğurma,
- ✓ NIR emisyon,
- ✓ Yüksek molar soğurma katsayısı,
- ✓ Yüksek kuantum verimi,
- ✓ Potansiyel FDT ajanı,
- ✓ Potansiyel FTT ajanı,
- ✓ Floresans görüntüleme ajanı



Şekil 1.12. Skuarin boyasının moleküler yapısı.

Skuarin boyaları, optik özellikleri sayesinde birçok alanda kullanılmaktadır. Yüksek molar soğurma katsayısı sayesinde floresans görüntüleme ajanı olarak literatürde birçok çalışmada kullanılmıştır. Skuarin spinleri, sistemler arası geçişi etkili bir şekilde yapabilmeleri sayesinde, potansiyel FDT ve FTT ajanı olarak kullanılabilirler.

Skuarin boyaları, elektronca fakir olan skuarik çekirdek sebebiyle fizyolojik koşullarda kısa zamanda parçalanabilmektedir ve fizyolojik koşullarda topaklanmaktadır. Fizyolojik koşullarda topaklanması tedavi etkisini azaltır ve ışıksız toksisite oluşmasına sebep olur. Bu gibi dezavantajların önüne geçmek için skuarin boyaları hidrojel gibi materyallere entegre edilebilir.

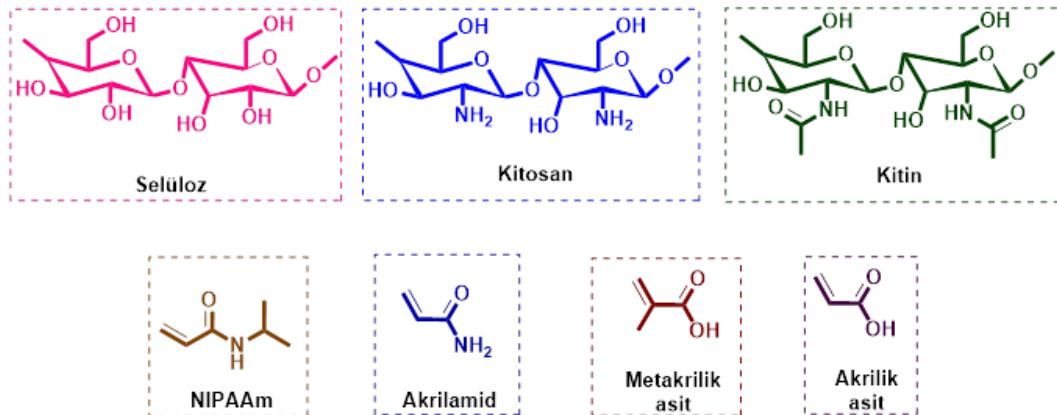
1.5 Hidrojel

Hidrojel terimi, ilk kez Van Bemmelen tarafından 1940 yılında jel oluşturan inorganik tuzların koloidal karışımları için kullanıldı. Daha sonra 1960’da yılında Wichterle ve Lim (Şekil 1.13) tarafından poli 2-hidroksietil metakrilat (pHEMA) esaslı hidrojel çalışması yayınlandı. Bu malzeme kullanılarak günümüzde yumuşak kontakt lensler üretilmektedir (Khurana vd., 2019).



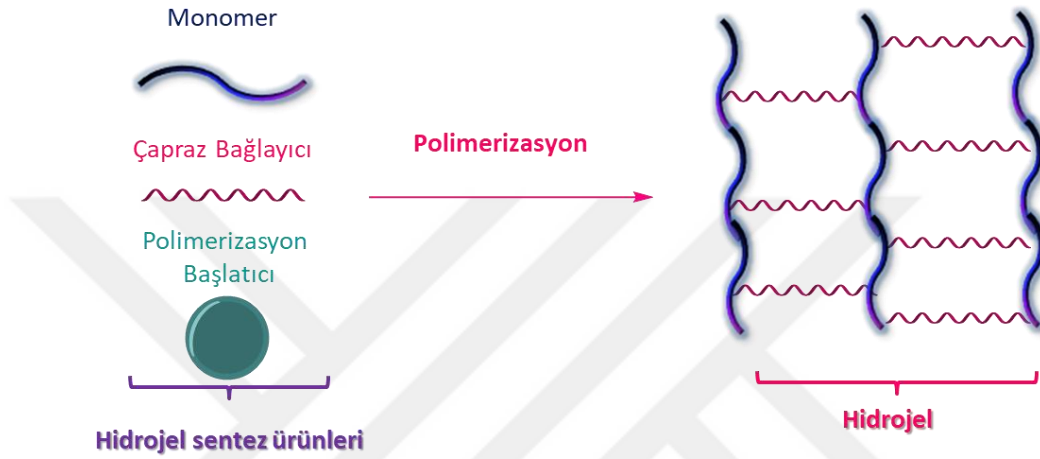
Şekil 1.13. Otto Wichterle (URL-2) ve Drahoslav Lím. (URL-3).

Hidrojeller, yüksek hidrofilik monomerlerden sentezlenen üç boyutlu polimerik ağlardır. Hidrojeller su tutma kabiliyetleri olduğu için hidrofilik jeller olarak da adlandırılabilir. Hidrojellerin su tutma kabiliyeti polimerik omurgaya tutturulmuş hidrofilik fonksiyonel gruplardan kaynaklanırken, çözünmeye karşı dirençleri ağ zincirleri arasındaki çapraz bağlardan kaynaklanır (Ahmed, 2015). Polimerik ağ hidrofobik veya hidrofilik monomerlerden oluşabilir. Hidrofilik bileşenler hidrojinin, su tutma kabiliyetini artmasını sağlarken hidrofobik bileşenler hidrojinin su tutma oranını veya mekanik kabiliyetlerini kontrol eder. Hidrojel sentezinde kullanılan birçok monomer vardır. Hidrojinin yapısı kullanılan monomere göre değişiklik gösterir ve bu sayede hidrojeller geniş bir kullanım alanına sahip olurlar (Glass vd., 2018). Hidrojel sentezinde kullanılan; hidroksietil metakrilat, n-izopropil akrilamid, metakrilik asit, kitosan, aljinat, hiyalüronik asit, kitin, selüloz, akrilik asit, etilen glikol dimetakrilat gibi birçok monomer ve polimer Şekil 1.14’de gösterilmiştir.



Şekil 1.14. Hidrojel sentezinde kullanılan bazı monomerler.

Hidrojeller; fiziksel yapılarına, yan grup yapısına, kaynaklarına, duyarlı oldukları özelliklere, çapraz bağlanma şekillerine ve hazırlanma yöntemlerine göre sınıflandırılır. Hidrojeller çapraz bağlanma şekillerine göre fiziksel ve kimyasal olarak ikiye ayrılır. Hidrojel sentezinde gerekli üç temel bileşen vardır; monomer, çapraz bağlayıcı ve polimerizasyon başlatıcı (Şekil 1.15). Polimerizasyon başlatıcı, monomer ve çapraz bağlayıcıda bulunan C=C bağlarını kırarak birbirlerine bağlanmasını sağlar ve hidrojel sentezi gerçekleşir (Khurana vd., 2019).



Şekil 1.15. Hidrojel sentez mekanizması.

Hidrojellerin birtakım özelliklere sahip olması gerekmektedir;

- ✓ Şişme dengesi yüksek olmalı,
- ✓ Gözenekli yapıya sahip olmalı,
- ✓ Sentez sonrası atık monomer miktarı az olmalı,
- ✓ Maliyeti düşük olmalı,
- ✓ Deforme olmadan şişme kabiliyeti göstermeli
- ✓ Biyouyumlu ve biyobozunur olmalı
- ✓ Toksik olmamalı
- ✓ Kararlılığı yüksek olmalı

Hidrojeller; ilaç salınım sistemlerinde, biyomedikal uygulamalarda, kontakt lens yapımında, doku mühendisliğinde, yara bakımında ve biyosensör gibi alanlarda kullanılmaktadır (Ahmed, 2015). Hidrojeller dış uyaranlara karşı tepki verebilecek özelliğe sahip olabilirler. Kullanılan monomerin yapısına göre; pH, ısı, manyetik alan veya iyonik mukavemet gibi uyaranlara karşı tepki verebilir. Isı ile uyarıldığı zaman sıcaklığa bağlı şişme ve büzüşme yeteneği gösteren monomerlerden biri NIPAAm'dır.

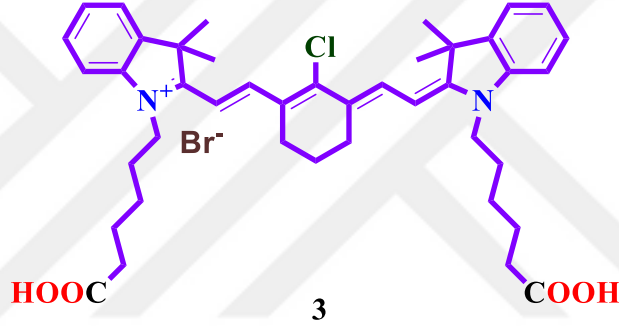
Bu sayede ilaç salınım sistemlerinde kullanılabilme potansiyeli taşımaktadır. Sulu çözelti içerisinde 32-35 °C sıcaklığı arasında büzüşme yeteneği gösterir. Düşük kritik sıcaklık (LCST) olarak adlandırılan bu özelliği hidrofobik/hidrofilik dengeye göre değeri düşebilir veya artabilir. Termal duyarlı monomerler arasında NIPAAm monomeri, fizyolojik sıcaklığa yakın sıcaklıkta büzüşme yeteneği göstermektedir. Bu nedenle LCST değerine sahip olan monomerler arasında en çok kullanılan monomerdir. İlk olarak 1967 yılında keşfedilmiş ve literatürde yapılan çalışmalar doğrultusunda son derece biyouyumlu ve biyobozunur olduğu tespit edilmiştir (Lanzalaco ve Armelin, 2017).



2. KAYNAK ÖZETLERİ

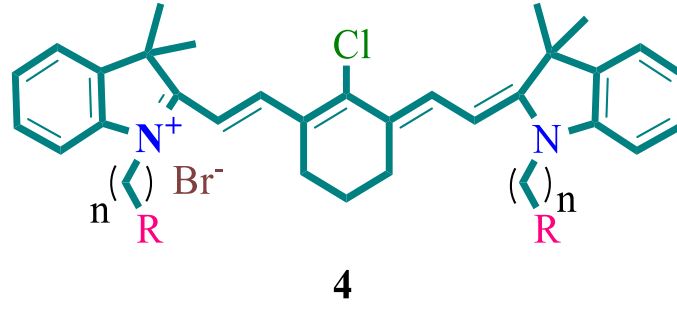
2.1 Siyaninler

Tan vd. (2012) yapmış oldukları çalışmada; NIR dalga boyunda soğurma yapabilen yeni bir heptametin siyanin boyası **3** tasarlamışlardır (Şekil 2.1). Bileşik **3**'ün kanser hücrelerinde floresans görüntüleme ve FDT yapabildiği gösterilmiştir. İn vitro ve ex vivo yapılan çalışmalarda 48 saat sonra sadece tümörlü dokuda floresans yoğunluğu tespit edilmiştir. Bileşik **3**'ün in vitro FDT deneylerinde üç farklı hücre hattı (HeLa, RTDMC, LLC) kullanılmıştır ve CCK-8 testi ile aktivitesi incelenmiştir. İn vivo FDT testi için LLC kanser dokusuna sahip hayvanlar kullanılmıştır. Sonuç olarak boyanın in vitro ve in vivo çalışmalarda floresans görüntüleme ve FDT yapabildiği tespit edilmiştir (Tan vd., 2012).



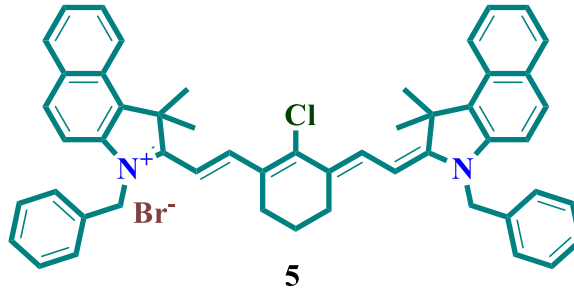
Şekil 2.1. Bileşik **3**'ün moleküler yapısı.

Luo vd. (2016) yapmış olduğu çalışmada; katyonik lipofilik özelliğe sahip heptametin siyanin boyasını **4** sentezlemişlerdir (Şekil 2.2). Katyonik özelliği sayesinde mitokondride birikerek daha etkin tedavi gerçekleşmesine olanak sağlar. İn vitro deneylerde FDT, FTT ve ikili terapi yapılmıştır ve 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) yöntemiyle sonuçlar incelenmiştir. İn vitro deneylerde A549, H460, 4T1 ve MCF-7 hücre hatları kullanılmıştır ve her hücre hattında % 90 hücre ölümü gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak in vivo deneyler sonucunda **4**'ün etkin bir FDT ve FTT ajanı olabileceğini aynı zamanda kanser hücrelerinde floresans görüntü sağlayabileceği gösterilmiştir (Luo vd., 2016).



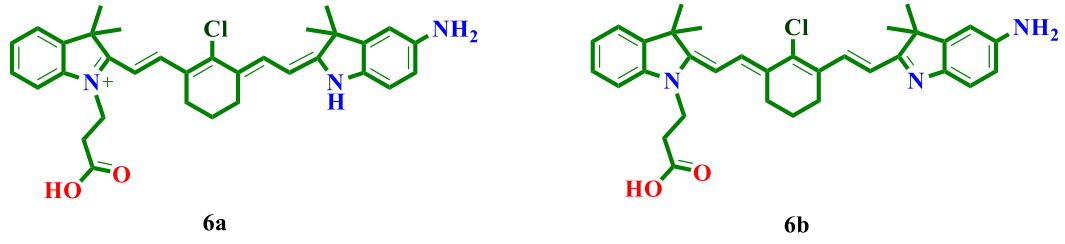
Şekil 2.2. Bileşik 4'ün moleküler yapısı.

Pan vd. (2017) yapmış oldukları çalışmada; NIR dalga boyunda soğurma ve emisyon yapabilen bir siyanin 5 tasarlamış ve sentezlemişlerdir (Şekil 2.3). Mitokondri hedefli olarak sentezledikleri 5 boyasını iki farklı dalga boyunda uyararak kanserli hücrede görüntüleme ve FTT yaptığını göstermişlerdir. Floresans görüntüleme yapabilme yeteneğini dört farklı kanser hücre hattında incelemişlerdir (HeLa, A549, HepG2, MCF-7). Her bir kanser hücre hattında 552 nm dalga boyunda uyarılmıştır, 500-550 ve 580-660 nm dalga boyunda emisyon verdiği gözlemlenmiştir. FTT' de kullanılabilir olduğunu göstermek için in vitro çalışmalarda HeLa hücre hattı kullanılmış MTT yöntemi ile aktivitesi aydınlatılmıştır. Yapılan analiz sonucunda % 90 hücre ölümü gerçekleştirdiğini ispat etmişlerdir (Pan vd., 2017).



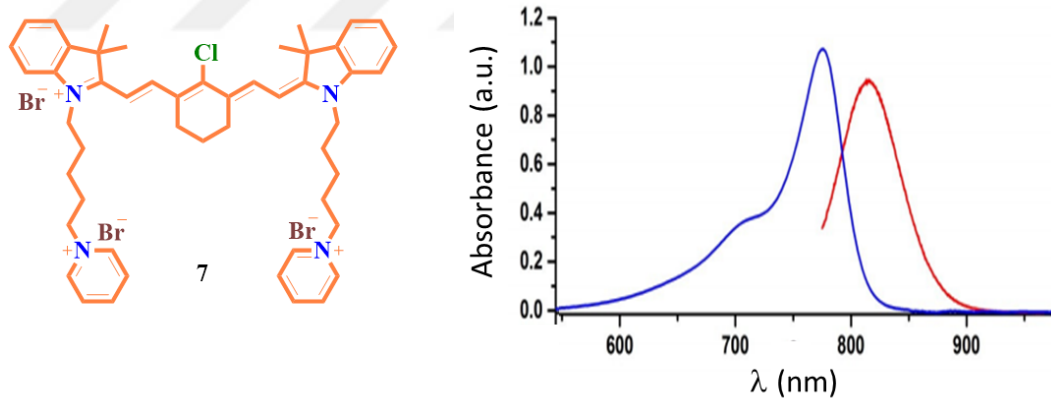
Şekil 2.3. Bileşik 5'in moleküler yapısı.

Zhao vd. (2017) yapmış olduğu bu çalışmada; kanser teşhisinde ve tedavisinde kullanılabilecek siyanin molekülü **6a** ve **6b** (Şekil 2.4) ile altın nanoçubuk (AuNR) tasarlayıp sentezlemişlerdir. İn vivo ve in vitro floresans görüntüleme deneylerinde SCC-7 hücre hattı ile tümör dokusu tercih edilmiştir. FTT çalışmaları in vitro SCC-7 hücre hattı ve in vivo SCC-7 kanser dokusuna sahip hayvanlar ile yapılmıştır. FTT çalışmalarında kullanılabilecek alternatif bir ajan olabileceğini öngörülmüştür (Zhao vd., 2017).



Şekil 2.4. Bileşik **6a** ve **6b** moleküler yapısı.

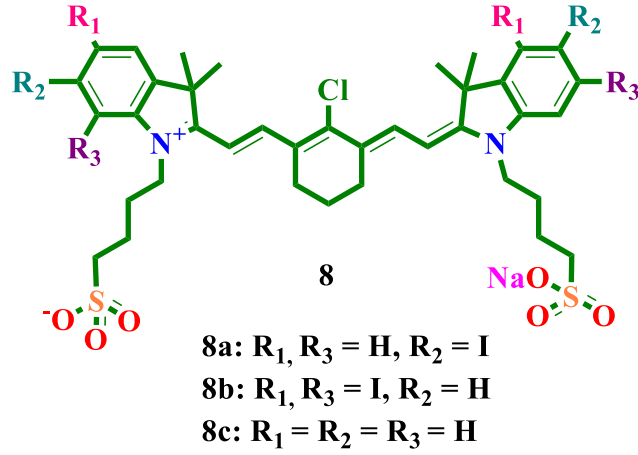
Thomas vd. (2017) heptametin siyanin boyası **7** sentezlemişlerdir (Şekil 2.5). Yakın kızıl ötesi dalga boyunda soğurma ve emisyon yapabilen **7**'nin pozitif yüklü olması mitokondride birikerek kanserli hücrelerde daha etkin olmasını sağlar. İn vitro deneylerde üç farklı hücre hattında (HeLa, MDA-MB-231, HeK293T) sitotoksosite etkisi incelenmiştir. Sentezlenen heptametin siyanin boyası aynı zamanda kanser hücrelerinde floresans görüntüleme yapabilmektedir. HeLa hücre hattında mitotracker kullanılarak yapılan incelemede mitokondride yığılma yaptığı kesinleştirilmiştir. Yapılan analiz ve incelemeler sonucunda **7**'nin floresans görüntü ile kanser teşhisi, ROT üretme yeteneği ile FDT'de kullanılabilecek potansiyel teranostik bir ajan olabileceği öngörülmektedir (Thomas vd., 2017).



Şekil 2.5. Bileşik **7** moleküler yapısı. Bileşik **7** soğurma ve emisyon spektrumu (Thomas vd., 2017).

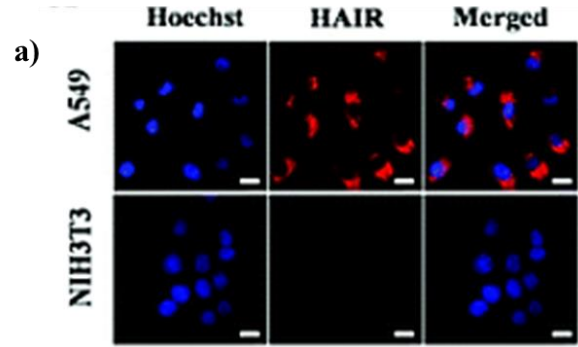
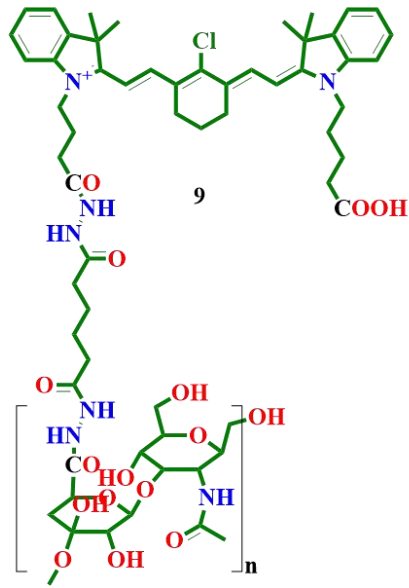
Atchison vd. (2017) yapmış olduğu bu çalışmada; ROT üretme kabiliyeti olan yeni bir ajan **8** tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.6). Sentezlenen ajanların in vitro ve in vivo deneylerde FDT etkinliği incelenmiştir. İn vitro deneyler iki hücre hattında (BxPC-3 ve MIA PaCa-2) kullanılmıştır ve % 75 hücre ölümünün gerçekleştiği gözlemlenmiştir. İn vivo deneylerde SCID farelerinde BxPC-3 pankreas tümörü üzerinde çalışmalar yapılmıştır. İn vivo çalışmalar sonucu % 10 tümör küçülmesi

olduğu gözlemlenmiştir. Callan vd. FDT tedavisinde kullanılabilecek alternatif bir ajan tasarlayıp sentezlemişlerdir (Atchison vd., 2017).



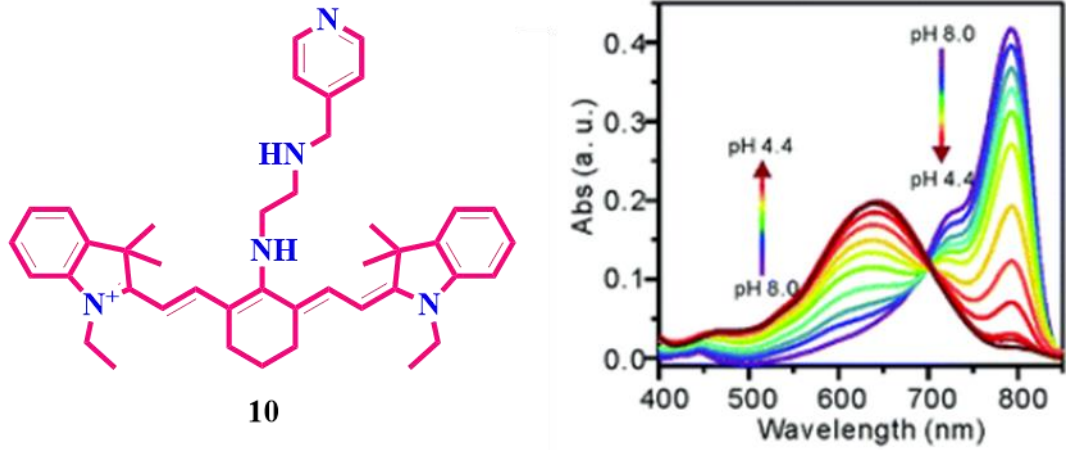
Şekil 2.6. Bileşik **8** moleküler yapısı. Bileşik **8** farklı çözücü ortamında soğurma spektrumu (Atchison vd., 2017).

Li vd. (2017) yapmış olduğu bu çalışmada; heptametin siyanin ve hyalüronik asit (HA) ile nanopartikül **9** tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.7). Tümör hücrelerinde HA reseptörü vardır bu sayede aktif hedeflemede HA kullanımı oldukça yaygındır. Aynı zamanda nanopartiküller EPR (arttırılmış geçiş ve alıkonma) etkisiyle de pasif hedefleme yeteneğine sahiptir. Li vd. sentezledikleri **9** ile A549 kanser hücre hattında ve NIH3T3 sağlıklı hücre hattında floresans görüntüleme yapmışlardır. Floresans görüntülemelerde **9**'in hedefleyici özelliğinin var olduğunu sadece kanserli hücrede floresans görüntü aldıklarını Şekil 2.9 'da göstermişlerdir. Liv vd. FTT kabiliyeti olan **9** ile teşhis ve tedavinin aynı anda gerçekleşebileceğini in vivo ve in vitro çalışmalarla göstermişlerdir (Li vd., 2017).



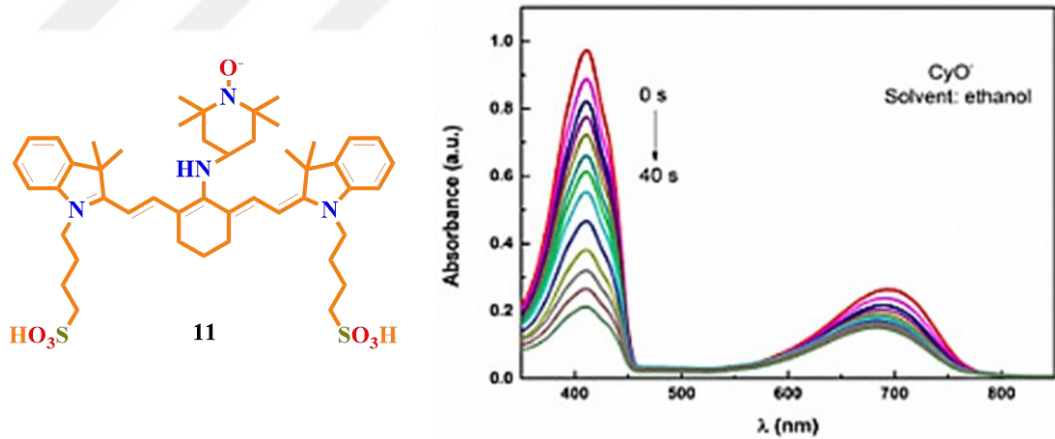
Şekil 2.7. Bileşik 9 moleküler yapısı. a) 9 ile kanser hücre hatlarında floresans görüntüleme (Li vd., 2017).

Meng vd. (2017) yapmış olduğu bu çalışmada; NIR dalga boyunda soğurma/emisyon yapabilen ajanı **10** tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.8). Pridin türevi ile heptametin siyanin boyasını bir araya getirerek pH anahtarlama özelliği kazandırmışlardır. Farklı pH aralıklarında değişen soğurma spektrumu Şekil 2.10'da gösterilmiştir. Tümör hücrelerinin çevresinin düşük pH olduğu literatürde bilinmektedir bu bilgi doğrultusunda asidik pH ile anahtarlanan **10** sentezlenmiştir. Bu sayede pasif hedefleme ile tümör hücrelerinde floresans görüntü elde edilmiştir. Aynı zamanda FTT kabiliyeti olan **10** ile MCF-7 tümörü taşıyan farelerde etkin tedavi gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Sonuç olarak floresans görüntüleme, fotoakustik görüntüleme ve aynı zamanda FTT ile tümör tedavisinde kullanılabilecek yeni bir ajan olabileceği gösterilmiştir (Meng vd., 2017).



Şekil 2.8. Bileşik 10 moleküler yapısı ve farklı pH aralıklarında soğurma spektrumu (Meng vd., 2017).

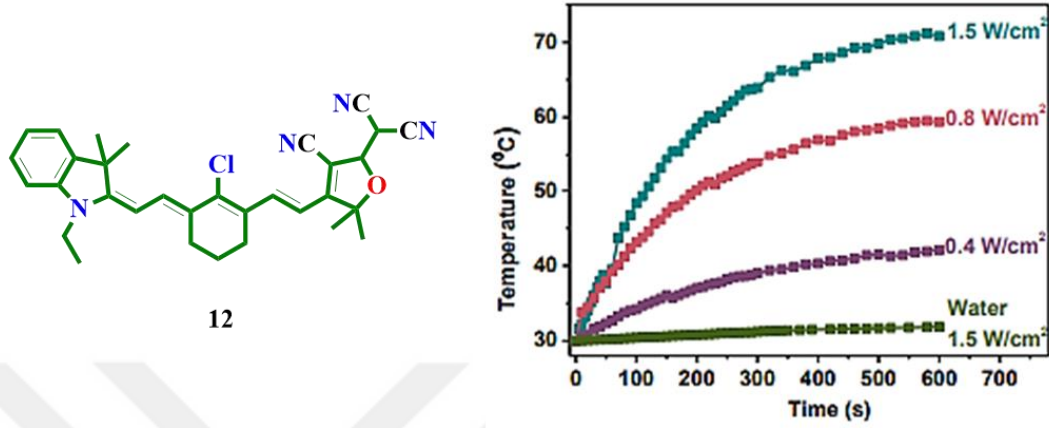
Yang vd. (2020) yapmış olduğu çalışmada; fizyolojik koşullarda çözünebilen heptametin siyanin boyası 11 tasarlayıp sentezlemişlerdir. ROT üretme kabiliyeti DPBF tuzağı ile incelenmiştir (Şekil 2.9). İn vitro çalışmalarda HepG2 hücre hattı kullanılmıştır ve ışısız toksisitesinin düşük olduğu gözlemlenmiştir. NIR ışık ile uyarıldığında önemli ölçüde hücre ölümü gerçekleşmiştir. Sonuçlar doğrultusunda bileşik 11'in potansiyel FDT ajanı olabileceği öngörülmektedir (Yang vd., 2020).



Şekil 2.9. Bileşik 11 moleküler yapısı ve ROT üretme etkinliği (Yang vd., 2020).

Mu vd. (2020) yapmış olduğu çalışmada; FTT kabiliyeti olan heptametin siyanin boyası 12 tasarlanıp sentezlenmiştir (Şekil 2.10). İn vitro çalışmalar HeLa hücre hattında gerçekleştirilmiştir. HeLa hücrelerinde LysoTracker Green ve MitoTracker Green boyama problemleri kullanılarak bileşiğin lizozomda biriktiği tespit edilmiştir. HeLa hücrelerinde yapılan fototoksosite çalışmaları sonucu % 90 hücre ölümü gözlemlenmiştir. İn vivo çalışmalarda 4T1 tümörü taşıyan farelerde fotoakustik

görüntüleme ve FTT çalışmaları yapılmıştır. Sonuç olarak in vivo çalışmalarda floresans görüntüleme, in vitro çalışmalarda fotoakustik görüntüleme ve FTT yapabildiği gösterilmiştir ve potansiyel teranostik ajan olabileceği öngörülmektedir. (Mu vd., 2020).



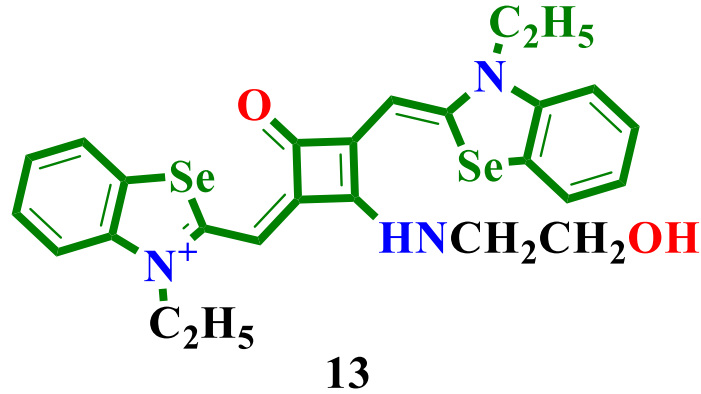
Şekil 2.10. Bileşik 12 moleküler yapısı ve farklı güçte ışık kaynağı ile FTT etkinliği (Mu vd., 2020).

Heptametin siyanin boyasıyla yapılan çalışmalar da karşılaşılan sorunlardan biri fizyolojik koşullarda çözünürlük problemidir. Bu sorunun üstesinden gelmek için birçok çalışmada heptametin siyanin boyasının moleküler yapısı modifiye edilerek fizyolojik koşullarda çözünür hale getirilmiştir. Yapılan çalışmalar ile çözünürlük sorunu giderilmiş olsa da tedavi esnasında oluşan ROT'den etkilenen ajanlar kısa zamanda parçalanarak ajanın etkinliğinin azalmasına sebep olmaktadır (Shi vd., 2016; Li vd., 2017). Bu gibi sorunların üstesinden gelmek için hidrojele entegre edilen ajanlar geliştirilmektedir (Liu vd., 2019).

2.2 Skuarinler

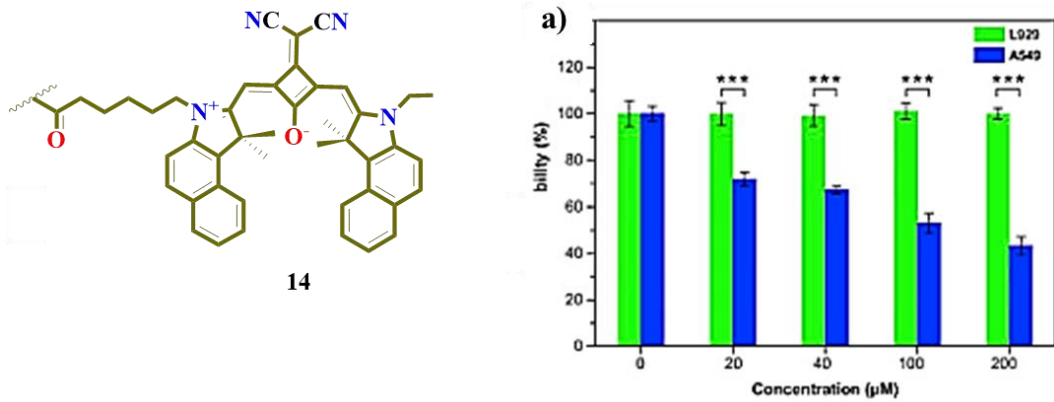
Ferreira vd. (2016) yapmış olduğu bu çalışmada; FDT de kullanılabilecek skuarin boyası 13 tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.11). Skuarin boyaları, FDT' de kullanılabilecek çok avantaja sahip boyalar olsa da fizyolojik koşullarda degrade olarak etkinlik kaybına uğrarlar ve ışıksız ortamda toksisite gösterirler. Ferreira vd. bu dezavantajın önüne geçmek için biyoyumlu biyopolimer olan kitosanı kullanarak skuarin boyasını fizyolojik koşullarda daha çözünür hale getirmiştir. HeLa hücre hattında yapılan in vitro çalışmalar sonucunda kanser hücresinde floresans görüntüleme ve iyi bir fototoksisite sergilediği belirtilmiştir. Sonuç olarak kanser

hücresi görüntülemeye ve FDT’de kullanılabilecek yeni bir ajan elde edilmiştir (Ferreira vd., 2016).



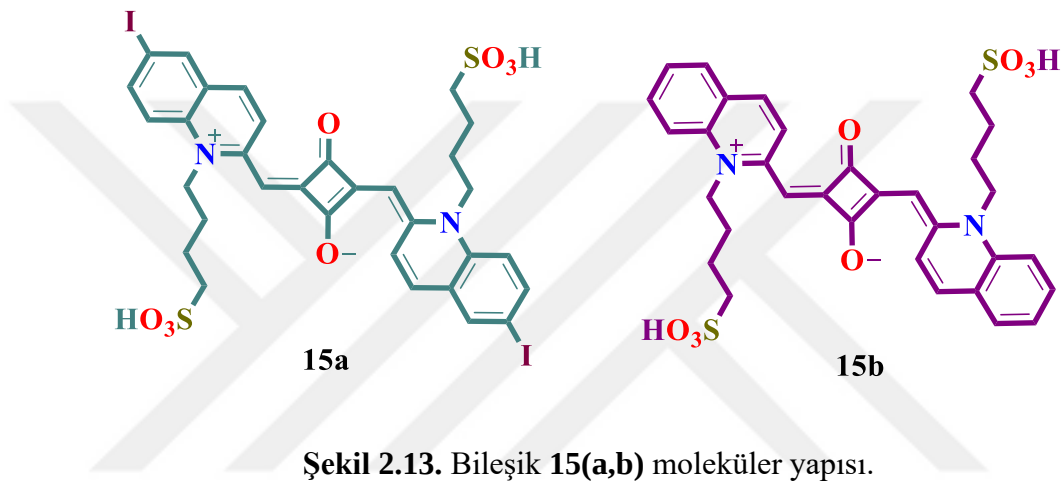
Şekil 2.11. Bileşik 13 moleküler yapısı.

Wu vd. (2017) yapmış olduğu bu çalışmada; tümör hedefli bir yapı tasarlayıp sentezlemişlerdir. Substance P (SP), Nörokinin-1 reseptörü (NK1R) bağlantısı sayesinde hedefleyici özellik gösteren nöropeptittir. Bu sayede ilaç taşıyıcı olarak kullanımı oldukça yaygındır. Bu çalışmada SP ile 5-florourasili bir araya getirerek kanser tedavisi gerçekleştirmeyi hedeflemişlerdir. Aynı zamanda skuarin boyası **14** (Şekil 2.12) ile kanser hücrelerinde eş zamanlı floresans görüntüleme yapabilen bir ajan tasarlayıp sentezlemişlerdir. Şekil 2.17b ‘de in vitro deneylerde L929 ve A549 hücre hatlarında yapılan incelemelerde etkin bir sitotoksikite sergilediği gösterilmiştir. Sonuç olarak teşhis ve tedaviyi aynı anda yapabilen dendritik bir yapının kanser tedavisinde kullanılabilecek alternatif bir ajan olabileceği öngörülmüştür (Wu vd., 2017).

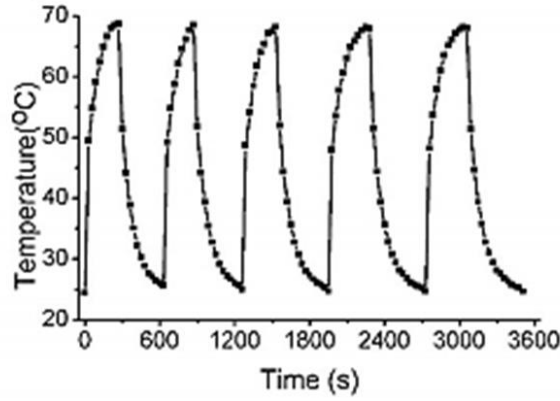
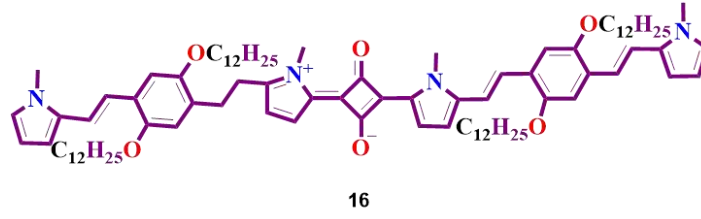


Şekil 2.12. Bileşik 14 moleküler yapısı. a) 5-florourasilin ilacının L929 biyoyumluluğu ve A549 hücre hattında tedavi etkinliği (Wu vd., 2017).

Sujai vd. (2018) yapmış olduğu bu çalışmada; yakın kızıl ötesi bölgede soğurma ve emisyon yapabilen ajanlar **15a-15b** tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.13). Sentezledikleri bu ajanları altın nanoçubuklarla bir araya getirmişlerdir. FDA onaylı dekarbazin ilacı da yapıya entegre edilerek aynı zamanda ilaç taşıyıcı bir yapı oluşturmuşlardır. Tasarlanan bu yapıda skuarin ile FDT, altın nanorod ile FTT ve dekarbazin ile kemoterapi yaparak aynı anda üçlü terapi yapabilen bir ajan geliştirmişlerdir. Bu yapı ile A375 hücre hattında yapılan çalışmalar sonucu melanom kanser hücresinde % 70 hücre ölümünü gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir (Sujai vd., 2018).

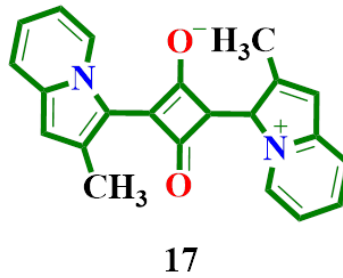


Sun vd. (2018) yapmış olduğu bu çalışmada; tasarımını ve sentezini gerçekleştirdikleri skuarin boyasının **16** FTT aktivitesini incelemişlerdir (Şekil 2.14). Suda çözünürlüğü düşük olduğu için amfifilik bir kopolimer olan F127 ile enkapsülasyon yapmışlardır. Daha sonra MCF-7 hücre hattında in vitro deneyler yapılmıştır. MCF-7 hücre hattında floresans görüntüleme yapabilen aynı anda FTT ile tedavi edebilen bir ajan olduğu gözlemlenmiştir. MCF-7 tümörü taşıyan farelerde in vivo deneyler yapılmıştır. Sonuç olarak farelerde iyileşme gözlemlendiği belirtilmiştir. FTT de alternatif olarak kullanılabilecek bir ajan olduğu öngörülmektedir (Sun vd., 2018).



Şekil 2.14. Bileşik 16 moleküler yapısı ve FTT kabiliyeti (Sun vd., 2018).

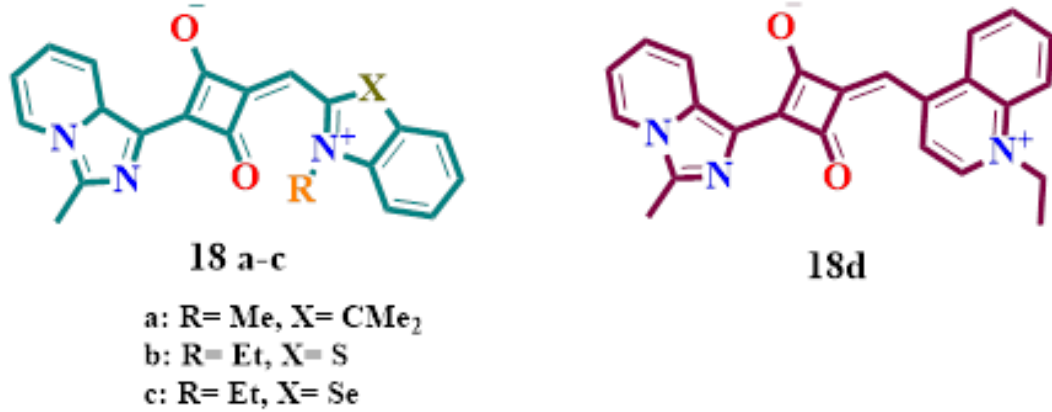
Beverina vd. (2005) yapmış olduğu bu çalışmada; fototerapötik pencerede soğurma yapabilen bir skuarin boyası 17 tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.15). Sentezlenen bu ajanın; organik çözücü ortamında ve DPBF (singlet oksijen tuzak molekülü) ile ortamda ROT üretebildiği gösterilmiştir. Sonuç olarak FDT’de alternatif olarak kullanılabilecek bir ajan olabileceği öngörülmüştür (Beverina vd., 2005).



Şekil 2.15. Bileşik 17 moleküler yapısı.

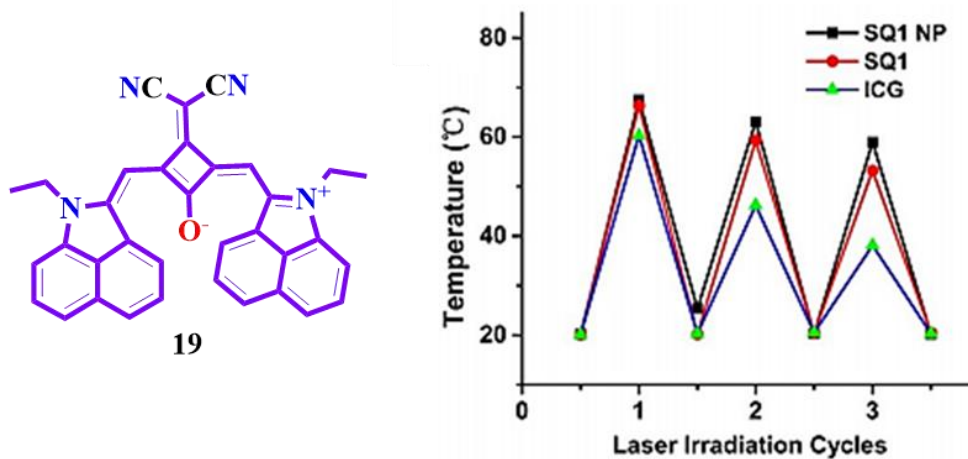
Prostota vd. (2013) atomistik yaklaşımlar kullanarak birçok skuarin boyası 18(a-d) tasarlayıp sentezlemiştir (Şekil 2.16). Her bir ajanın FDT etkinliği incelendiğinde en verimli ROT üreten ajanın 18c olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak 18c metilen mavisine kıyasla iyi bir ROT üretimine sahip olsada ortamda ROT üretirken kendi moleküler yapısında bozulma olduğu soğurma spektrumu ile gözlemlenmiştir. Sonuç

olarak sentezlenen ajanların yapılarında ağır atom bulunduranların daha iyi FDT kabiliyeti olduğu gözlemlenmiştir (Prostota vd., 2013).



Şekil 2.16. Bileşik 18(a-d) moleküler yapısı.

Yao vd. (2020) kızıl ötesi bölgede soğurma ve emisyon yapabilen skuarin boyası **19** tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.17). Bileşik **19** ile nanopor **Sq NP** sentezlenmiştir. **Sq NP** ile yapılan in vitro FTT çalışmalarda MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatları kullanılmış ve % 80 hücre ölümü gözlemlenmiştir. İn vivo çalışmalarda fototermal görüntüleme yapılmıştır. Sonuç olarak in vitro ve in vivo çalışmalarda etkin FTT ve fototermal görüntüleme yapabilen **Sq NP** ajanı geliştirilmiş. Potansiyel terapötik ajan olabileceği öngörülmüştür (Yao vd., 2020).



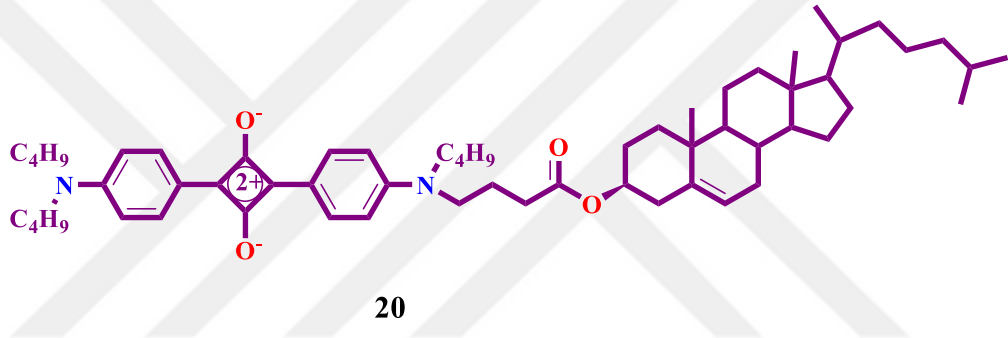
Şekil 2.17. Bileşik **19** moleküler yapısı ve FTT etkinliği (Yao vd., 2020).

Skuarinler birçok avantaja sahip olmasına rağmen siyaninler kadar geniş çalışma alanına sahip değildir ve literatürde çalışma alanları kısıtlıdır. Skuarin ile yapılan çalışmalarda aynı anda hem FDT hem de FTT yapabilen ajan mevcut değildir. Bu ikili

terapi çalışmaları için skuarinler karbon temelli nanoyapılar ile bir araya getirilmiştir. Karbon temelli yapılar ve skuarin boyaları fizyolojik koşullarda topaklanma ve parçalanma eğilimindedirler. Bu sorunun üstesinden gelmek için modifiye edilmiş moleküller yada polimere entegre edilmiş nanoyapılar üzerine çalışmalar yapılmıştır. Polimer çalışmaları genellikle fotodegradasyona sebep olabilir. Bu gibi sorunların üstesinden gelmek için skuarinler hidrojele entegre edilebilir.

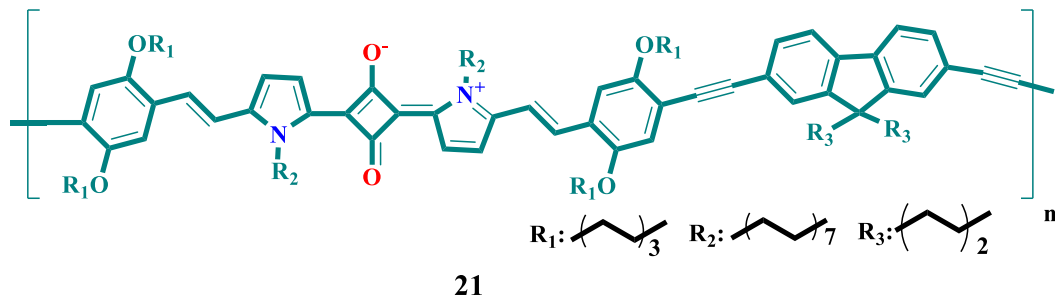
2.3 Hidrojeller

Geiger vd. (1999) yapmış olduğu bu çalışmada; Skuarini **20** (Şekil 2.18) jelatör olarak kullanmışlardır. Kolesterol ve stilbenden oluşan jelleri incelemiş dinamik ve fotofiziksel davranışlarını karakterize etmişlerdir (Geiger vd., 1999).



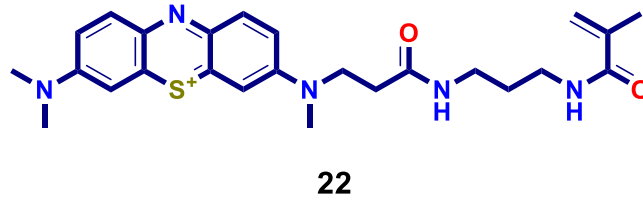
Şekil 2.18. Bileşik 35 moleküler yapısı.

Wang vd. (2011) yapmış olduğu bu çalışmada; Skuarin **21** (Şekil 2.19) ve floren içeren bir kopolimer tasarlayıp sentezlemişlerdir. Yakın kızıl ötesi bölgede soğurma ve emisyon yapabilen skuarin boyaları, termal, optik ve elektrokimyasal özelliklere sahiptir. Sentezlenen kopolimerin fotovoltaiik özellikleri sayesinde güneş pili olarak kullanılabileceği öngörülmüştür (Wang vd., 2011).



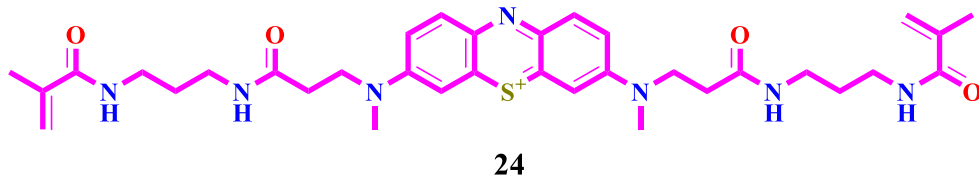
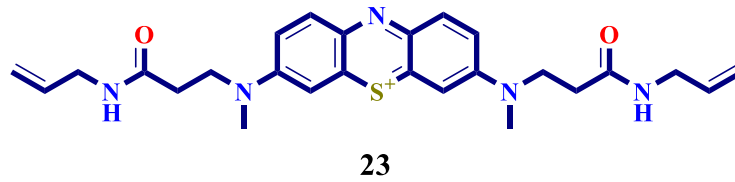
Şekil 2.19. Bileşik 21 moleküler yapısı.

Hah vd. (2011) yapmış olduğu bu çalışmada; metilen mavisi 22 (Şekil 2.20) ve akrilamid monomerinden, kanser hedefleyici F3 peptidi ile işlevselleştirilmiş hidrojel sentezlemişlerdir. İn vitro çalışmalarda 9L, F98 ve MDA-MB-435 hücre hatları kullanılmıştır. İn vitro FDT incelemelerinde F3 peptidi sayesinde kanser hücrelerinde etkin sonuçlar gözlemlenmiştir. Bu sayede FDT’de alternatif olarak kullanılabileceği öngörülmüştür (Hah vd., 2011).



Şekil 2.20. Bileşik 22 moleküler yapısı.

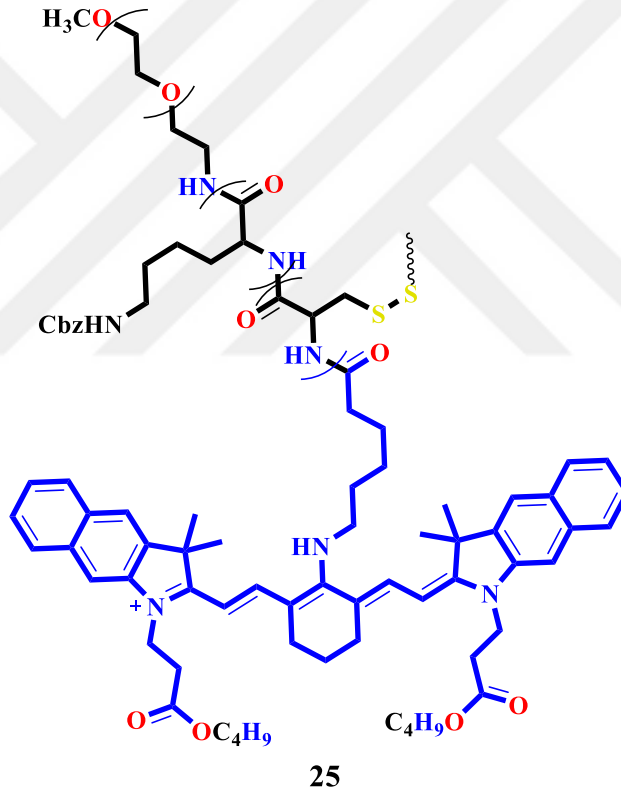
Qin vd. (2011) yapmış olduğu bu çalışmada; akrilamid, F3 peptidi ve metilen mavisi 23 ve 24 (Şekil 2.21) ile poliakrilamid nanopartiküller sentezlenmiştir. Metilen mavisi etkin FDT ajanıdır ve çözünür olmaması sebebiyle akrilamid ile nanopartikül tasarlanmıştır, aynı zamanda F3 peptidi kanser hücresi hedefleyici özelliği göstermektedir. Sentezlenen poliakrilamid nanopartiküller ile in vitro FDT incelemesinde MDA-MB-435 hücre hattı kullanılmıştır. İn vitro çalışmalar sonucu karanlık toksisitesinin % 10 olduğu gözlemlenmiştir. Işık ile aktive edildiği zaman % 60 hücre ölümünü indüklediği belirtilmiştir (Qin vd., 2011).



Şekil 2.21. Bileşik 23 ve 24 moleküler yapısı.

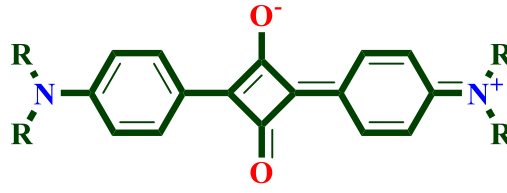
Xing vd. (2012) siyanin ile polipeptit nanojeli 25 tasarlayıp sentezlenmişlerdir moleküler yapısı Şekil 2.22’de gösterilmiştir. Kanser hücrelerinde floresans görüntüleme ile önce tanı ve sonra tedavi yaparak sadece tümörlü bölgenin tedaviden

etkilenmesi için NIR probu olan siyanin ile hidrojel sentezlenmiştir. Hidrojeller ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilir. Bu sayede hidrojele DOX ilacı yüklemesi yapılmıştır. İn vitro çalışmalarda DOX'un zamanla salınımını ve tedavi etkisini görmek için HeLa hücre hattı kullanılmıştır ve hücre ölümünü önemli derecede indüklediği tespit edilmiştir. Nanojelin hücre içine alım çalışmaları A549 hücre hattında yapılmıştır ve floresans görüntüleme yapılabildiği hücrenin nanojeli endositoz yoluyla aldığı gözlemlenmiştir. Floresans görüntüsü ve MTT grafiğinde gözlemlendiği gibi in vitro çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir. İn vivo çalışmalar farelerde A549 tümörü üzerinde yapılmıştır ve zamanla tümörde küçülme gözlemlenirken in vivo floresans görüntüleme de yapılabildiği gözlemlenmiştir (Xing vd., 2012).



Şekil 2.22. Bileşik 25 moleküler yapısı.

Zeng vd. (2013) yapmış olduğu bu çalışmada; asit-baz ve ısıyla indüklenen sol jel tasarlayıp sentezlemişlerdir. Sol-jel ile skuarin boyasının **26** (Şekil 2.23) kontrollü salınımı üzerine çalışmalar yapılmıştır. Organik çözücü altında zamanla skuarin salınımı incelenmiştir ve ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılabilir olduğu gösterilmiştir (Zeng vd., 2013).

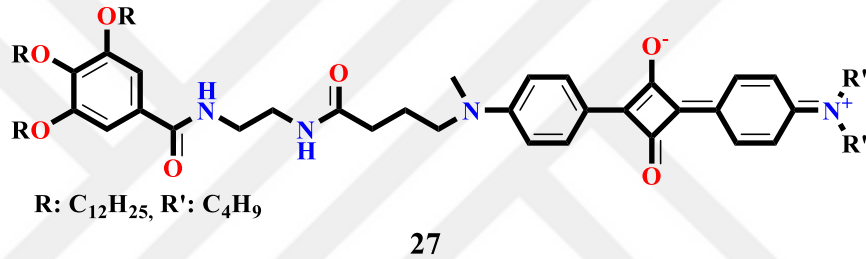


26a R: n-Bu

26b R: Me

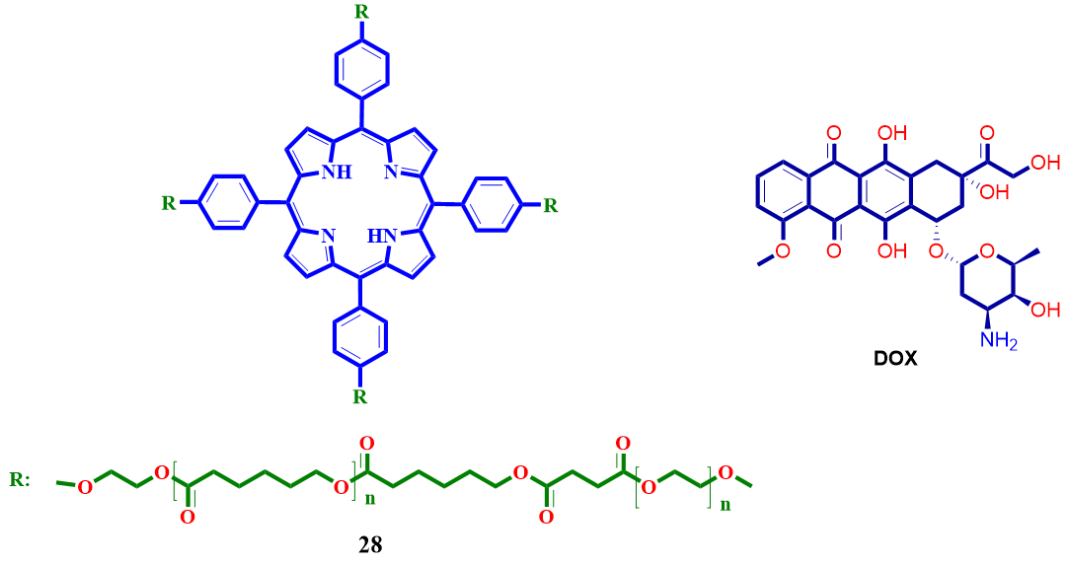
Şekil 2.23. Bileşik 26 moleküler yapısı.

Malicka vd. (2013) skuarin boyası 27 (Şekil 2.24) ile ısıya duyarlı polimerik nanoyapı sentezlemişlerdir. Foto-voltaik özellik taşıyan polimerin, yapısında aynı zamanda tek duvarlı karbon nanotüpler kullanılarak aktivitesinin artırılması hedeflenmiştir (Malicka vd., 2013).



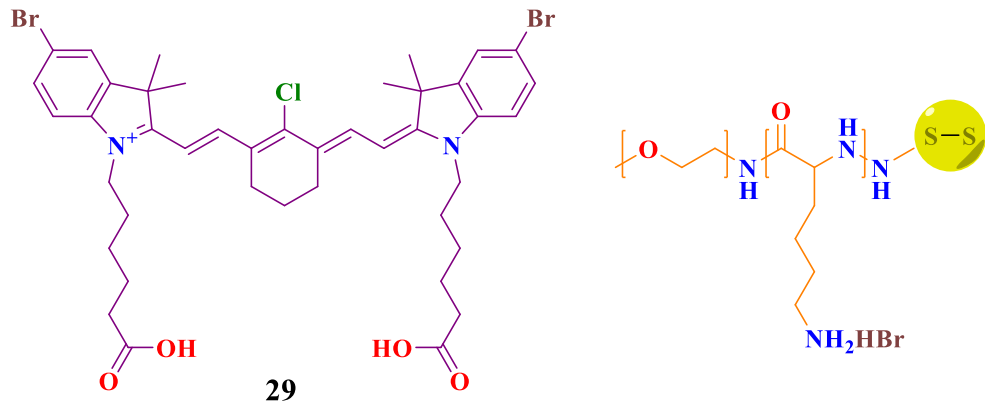
Şekil 2.24. Bileşik 27 moleküler yapısı.

Jin vd. (2015) yapmış olduğu çalışmada; supramoleküler bir hidrojel tasarlamışlardır ve ilaç taşıma kabiliyetini incelemişlerdir. Sentezi gerçekleştirilen tasarımın moleküler yapısı Şekil 2.25'de gösterilmiştir. Supramoleküler hidrojele DOX ve porfirin 28 ekleyerek aynı anda kemoterapi ve FDT yönteminin kullanılabileceği bir ajan tasarlayıp sentezlemişlerdir. Hidrojin fizyolojik koşullarda DOX salınımının olumlu olduğu, hidrojelde DOX varlığının bir aya kadar sürdüğünü ve zamanla salınımın olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda porfirin sayesinde FDT etkinliği incelenmiştir. Hidrojin DPBF bulunan çözeltide ışınlama neticesinde ROT ürettiği ve bu sayede FDT'de alternatif olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Jin vd., 2015).



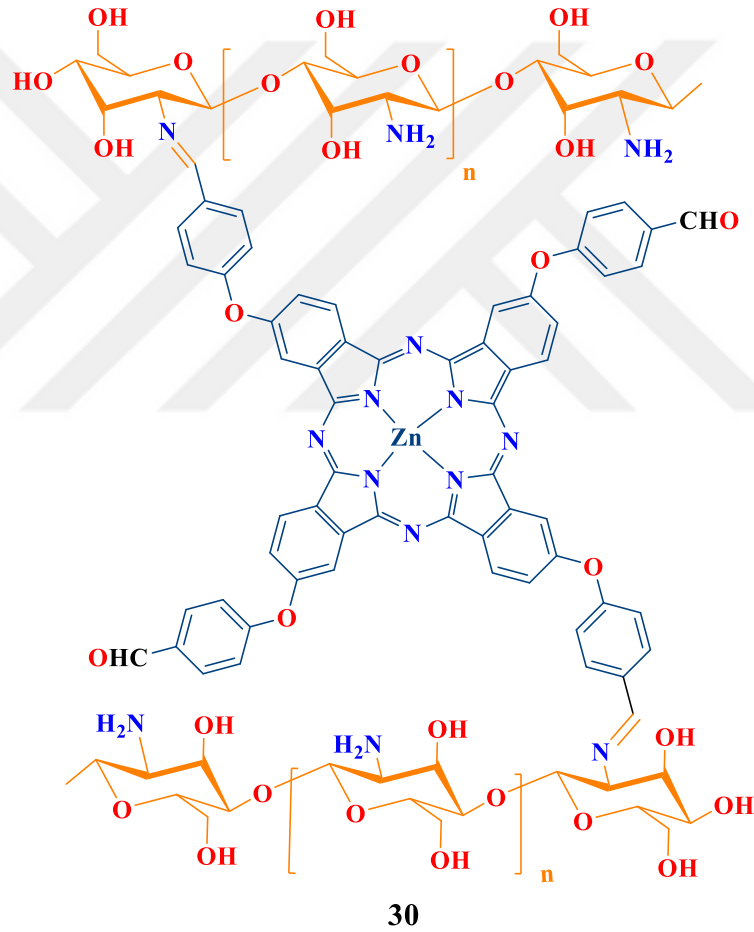
Şekil 2.25. Bileşik 28 moleküler yapısı.

Jing vd. (2016) ağır atom etkisi olan bromlu siyanin **29** boyasıyla FDT ve floresans görüntüleme yapabilen malzeme tasarlayıp sentezlemişlerdir. Siyaninin ve kapsüllemeye kullanılan polimerin moleküler yapısı Şekil 2.26’da gösterilmiştir. Nanojelin ilaç taşıyıcı özelliği sayesinde kapsüle DOX kemoterapi ajanı yüklenmiştir. Siyanin sayesinde FDT ve floresans görüntüleme, DOX sayesinde ise kemoterapi özelliği gösteren peptit tabanlı nanojel elde edilmiştir. İn vitro çalışmalarda MCF-7 ve HepG2 hücre hattı kullanılmıştır. İn vitro FDT testleri MTT ile saptanmış ve etkin FDT yaptığı gösterilmiştir. İn vitro floresans görüntüleme için HepG2 hücre hattı kullanılmıştır ve kanserli hücrelerin görüntülenebilir olduğu gösterilmiştir. Tüm bu sonuçlar doğrultusunda nanojelin potansiyel bir FDT ajanı olabileceği öngörülmüştür (Jing vd., 2016).



Şekil 2.26. Bileşik 29 moleküler yapısı.

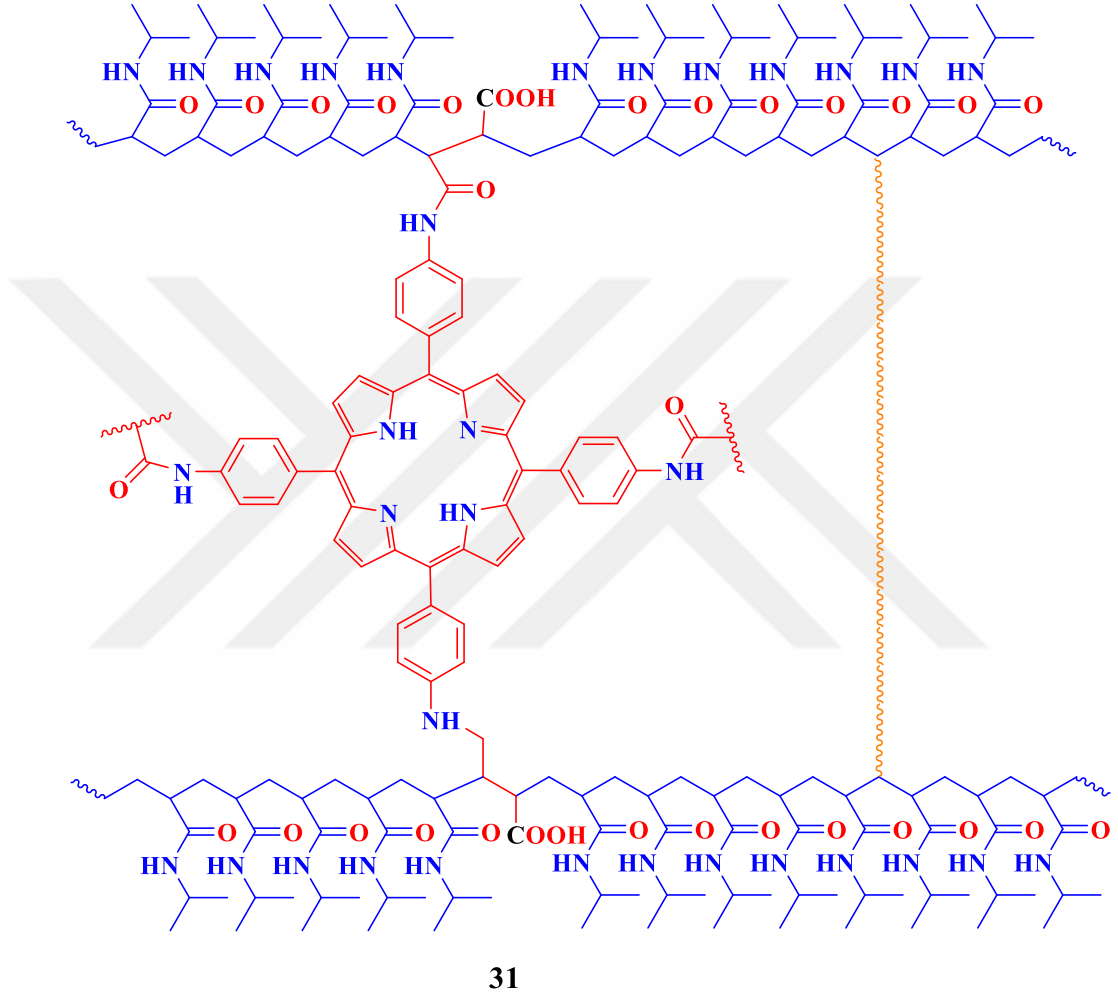
Karimi vd. (2016) yapmış olduğu bu çalışmada; çinko ftalosiyenin (ZnPcs) ile çapraz bağlı kitosan bazlı hidrojel **30** tasarlamış ve sentezlemişlerdir (Şekil 2.27). ZnPcs etkin bir FDT ajanıdır fakat çözünürlük sorunu vardır. Bu dezavantajın önüne geçmek için kitosan monomeri ve ZnPcs ile çapraz bağlı bir hidrojel sentezlenmiş ve aktivitesi incelenmiştir. Sentezlenen hidrojel pH duyarlıdır ve asidik pH ortamında hidrojel formu bozularak ZnPcs ortama salınır bu sayede kontrollü salınım avantajına sahip olur. İn vitro çalışmalarda MDA-MB-231 ve A435 hücre hatları kullanılmıştır. İn vitro çalışmalar pH 5 ve pH 7.4 de yapılmıştır. Her iki hücre hattında da etkin FDT sonuçları gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda FDT’de alternatif olarak kullanılabilecek bir ajan olabileceği öngörülmüştür (Karimi vd., 2016).



Şekil 2.27. Bileşik **30** moleküler yapısı.

Belali vd. (2017) yapmış olduğu çalışmada; Nano yapıli hidrojel **31** tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.28). Monomer olarak NIPAAm kullanılmıştır ve MBA çapraz bağlayıcısı ile hidrojel elde edilmiştir. Hidrojel NIPAAm sayesinde LCST özelliğine sahipken yapıda ki COOH sayesinde pH duyarlıdır bu sayede asidik pH ve

yüksek sıcaklıkta şişme kapasitesi değişmektedir. İn vitro deneylerde A549 hücre hattı kullanılmıştır. İn vitro FDT testi MTT deneyi ile incelendiğinde % 40 hücre ölümü gerçekleştiği görülmüştür. Sonuçlar umut vadediyor olsa da tedavi esnasında salınan porfirinler ışık olmadığında toksisiteye sebep olduğu için PEG-b-PLL kopolimer miselleri ile bu dezavantajın önüne geçilmiştir. Sonuç olarak FDT’de kullanılabilecek alternatif bir malzeme olabileceği öngörülmektedir (Belali vd., 2017).



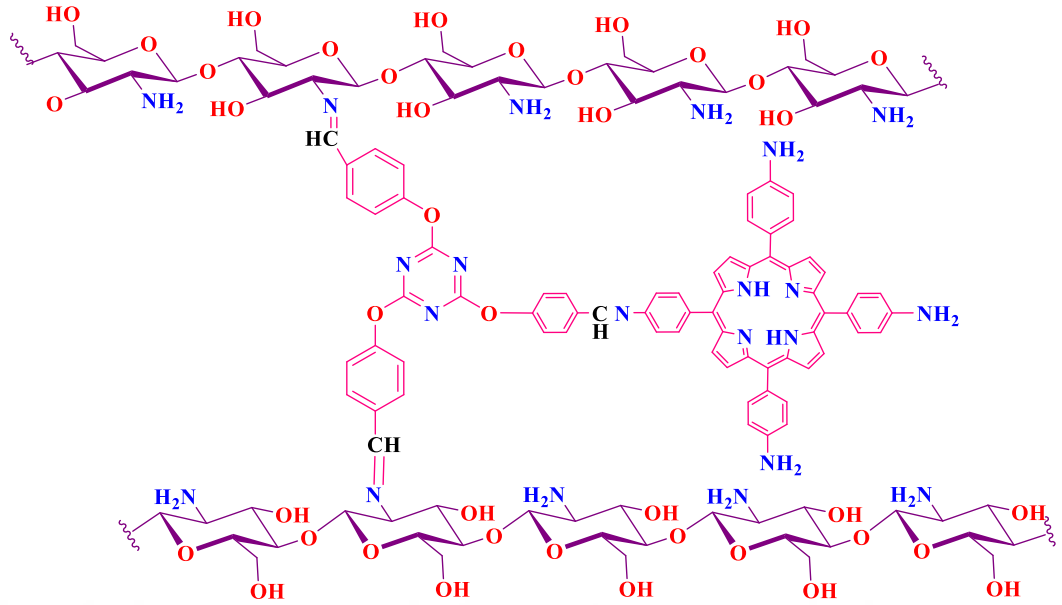
Şekil 2.28. Hidrojelin 31 moleküler yapısı.

Spagnul vd. (2017) yapmış olduğu çalışmada; fotodinamik terapinin antimikrobiyal tedavide etkinliğini porfirin 32 ile sentezledikleri hidrojeller üzerinden araştırıp yorumlamışlardır. Sentezi gerçekleştirilen hidrojelin moleküler yapısı Şekil 2.29’da gösterilmiştir. Sentezlenen hidrojellerin *E. coli* üzerinde FDT etkinliği incelendiğinde % 90’ a kadar bakteri ölümü sağladığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak sentezlenen hidrojellerin FDT’de alternatif olarak kullanılabilecek bir malzeme olabileceği öngörülmektedir (Spagnul vd., 2017).



Şekil 2.29. Bileşik 32 moleküler yapısı.

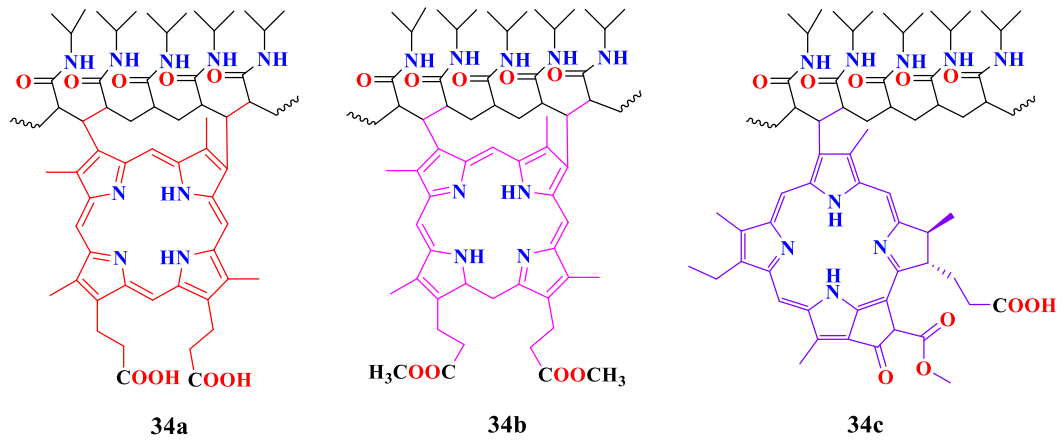
Belali vd. (2018a) porfirinin ile enjekte edilebilir bir hidrojel **33** tasarlamışlardır. Klinikte kullanılan porfirin fizyolojik koşullarda topaklanmaktadır ve bu sebeple aktivite kaybı yaşanmaktadır aynı zamanda karanlık toksisite gözlenmektedir. Bu dezavantajın önüne geçmek için enjekte edilebilir bir hidrojel tasarlanıp sentezlenmiştir. Hidrojel folat ile işlevselleştirilmiştir ve pH'a duyarlıdır. Bu sayede asidik pH ortamında porfirin salınımı gerçekleşmektedir. Yapılan in vitro deneylerde HepG2 ve MCF-7 hücre hattı kullanılmıştır. Sonuç olarak HepG2 hücre hattında % 55 hücre ölümünü indüklerken, folat sayesinde MCF7 hücre hattında % 80'e kadar hücre ölümünü indüklediği gösterilmektedir. Bu sayede FDT'de kullanılabilir alternatif bir ajan olabileceği öngörülmüştür (Belali vd., 2018a).



33

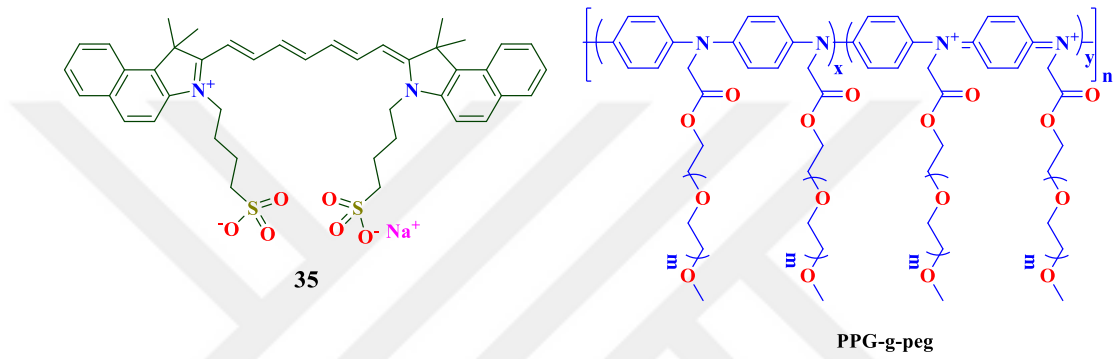
Şekil 2.30. Bileşik 33 moleküler yapısı.

Belali vd. (2018b) yapmış olduğu çalışmada; klinikte kullanılan fakat çözünürlük sorunu olan üç ajanla çapraz bağlı hidrojeller **34 (a-c)** tasarlayıp tedavi etkinliklerini incelemişlerdir. NIPAAm monomeri kullanılarak hidrojeller sentezlenmiştir. Her bir hidrojelin ROT üretme kabiliyeti DPBF ile incelenmiştir. Aynı zamanda in vitro çalışmalarda HT-29 hücre hattı kullanılmıştır. İn vitro çalışmalarda ışısız ortamda toksisitenin az olduğu hücre canlılığının % 90 olduğu gözlemlenmiştir. Işık ile tedavi gerçekleştiği zaman % 90 hücre ölümü gözlemlenmiştir. Sonuç olarak FDT de alternatif olarak kullanılabilecek malzemeler olabilecekleri belirtilmiştir (Belali vd., 2018b).



Şekil 2.31. Polimerik hidrojellerin **34(a-c)** r yapısı.

Liu vd. (2019) yapmış olduğu bu çalışmada; indosiyanin yeşili **35** ile yeni bir hidrojel tasarlayıp sentezlemişlerdir. İndosiyanin yeşili FDA tarafından onaylı NIR görüntüleme ajanıdır ve kanser tedavisinde etkin olarak kullanılmaktadır. Klinikte kullanılan bu ajanın birçok dezavantajı mevcuttur fizyolojik koşullarda kısa zamanda parçalanmaktadır. FDT ve FTT kabiliyeti olan **35** ile in vitro çalışmalarda 4T1 hücre hattı kullanılmıştır ve in vitro FDT, FTT ve her iki tedavi birlikte gerçekleştiği zaman etkin hücre ölümü gerçekleştiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda sentezlenen hidrojinin etkin bir ikili terapi ajanı olabileceği öngörülmüştür (Liu vd., 2019).



Şekil 2.32. Bileşik **35** ve polimerin moleküler yapısı.

Hidrojel çalışmalarında fotoduyarlastırıcı ajan kovalent bağ ve fiziksel etkileşim ile yapıya entegre edilmiştir. Kovalent bağ ile FD'nın entegre edilmesi, fiziksel etkileşim yöntemine göre avantajlıdır. FD hidrojel ağ yapısına kovalent bağlandığında yapıdan sızamaz bu sayede fizyolojik koşullarda tekrar topaklanmaz. Hidrojel ile yapılan çalışmalarda porfirin, siyanin veya skuarin gibi ajanlar kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda terapötik hidrojeller siyanin ve porfirin ajanları ile elde edilmiştir. Skuarinler etkin FDT ve FTT yapabilen ajanlardır. Buna rağmen literatürde terapötik hidrojel araştırmalarında skuarin ile hidrojel çalışmaları yer almamaktadır. Yapılan çalışmalarda tek bir ajan sayesinde hem FDT hem FTT yapabilen hidrojeller mevcut değildir. İkili terapi çalışmaları için birden fazla ajan kullanılmaktadır. Hidrojele birden fazla terapötik ajanı kovalent bağlamak komplike bir süreç olduğu için fiziksel etkileşim mekanizması kullanılmaktadır. Bu sebeple terapötik ajan zamanla hidrojelden sızarak etkinlik kaybına ve toksisiteye sebep olabilir. Bu tez kapsamında tek bir ajan sayesinde hem FDT hem FTT yapabilen hidrojel çalışmalarının üzerinde durulmuştur.

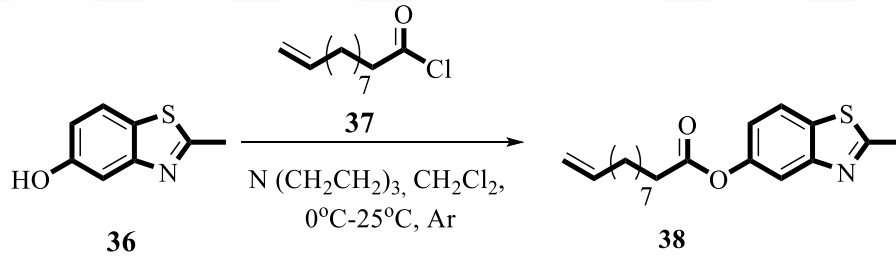
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Malzeme

Bütün kimyasal malzeme ve çözücüler Aldrich ve Merck firmalarından temin edilmiştir ve genellikle çözücüler literatürde bilinen yöntemlerle saflaştırılmıştır (Furniss, 2004).

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK), Merck 0,2 mm silika jel 60 F254 Analitik Alüminyum Plakalar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Soğurma spektrumları Varian Cary 50 model UV-Vis ve emisyon (yayınma) ölçümleri ise Varian Cary Eclipse Fluorescence spektrofotometre cihazlarıyla kaydedilmiştir. ¹H NMR (400 veya 300 MHz) ve ¹³C NMR (100 veya 75 MHz) spektrumları Bruker marka FT-NMR cihazları ile kaydedildi. Numuneler SEM analizleri FEI marka Nova Nano SEM 450 model cihaz ile kaydedilmiştir. Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi (LC-MS), ThermoScientific marka TSQ Quantum Access Max model cihaz ile kütle analizleri kaydedilmiştir. Termal kamera marka FLIR modeli FLIR İ60.

3.2 Bileşik 38 Sentezi: 2-metilbenzo[d]tiazol-5-il undec-10-enoat

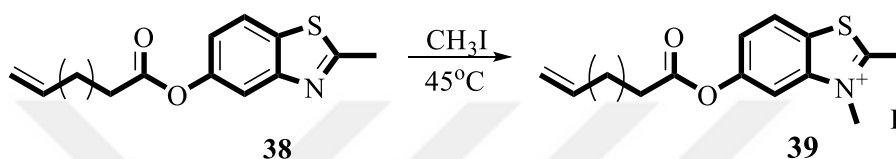


Şekil 3.1. Bileşik 38 sentezi.

50 ml'lik bir balona 2-metilbenzo[d]tiazol-5-il undec-10-enoat **36** (250 mg, 1,51 mmol) alındı ve üzerine kuru diklorometan (CH₂Cl₂) (20ml) eklendi. Tuz-buz banyosunda 0 °C'ye soğutuldu. Daha sonra üzerine trietilamin (460 µl, 3,32 mmol) damla damla eklendi ve 5 dakika sonra undekenoil klorür **37** (708 µl, 3,32 mmol) eklendi. Karışım 24 saat boyunca oda sıcaklığında argon atmosferi altında karıştırıldıktan sonra doymuş sodyum bikarbonat (NaHCO₃) ile nötralize edilmiştir ve CH₂Cl₂ (3x30ml) ile çekme yapıldı. Doygun tuzlu su ve su ile yıkandı ve sodyum sülfat (Na₂SO₄) ile kurutulduktan sonra çözücü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırıldı. Ürün sarı renkli yağ, 450 mg, % 89 verim. LC-MS (m/z) hesaplanan M⁺:331.16,

ölçülen M^+ :331.84 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.76-7.73 (m, 1H), 7.64 (bs, 1H), 7.09-7.06 (m, 1H), 5.82-5.75 (m, 1H), 4.97 (d, J = 18 Hz, 1H), 4.91 (d, J = 12 Hz, 1H), 2.80 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.64-2.52 (m, 2H), 2.42-2.40 (m, 2H), 2.05-1.95 (m, 4H), 1.78-1.73 (m, 2H), 1.64-1.60 (m, 2H), 1.35-1.27 (m, 5H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 172.28, 168.89, 153.86, 149.26, 139.00, 132.66, 121.53, 119.14, 115.18, 114.16, 53.67, 35.19, 34.50, 33.76, 29.19, 29.09, 24.88, 24.16, 20.09.

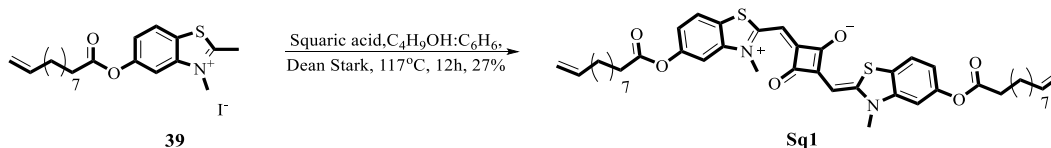
3.3 Bileşik 39 Sentezi: 2,3-dimetil-5-(undec-10-eniloksi)benzo[d]tiazol-3-ium iyodür



Şekil 3.2. Bileşik 39 sentezi.

10 ml'lik bir balona **38** (331,47 mg, 1 mmol) ve metil iyodür (622 μl , 10 mmol) eklenerek geri soğutucu altında 72 saat boyunca 47 °C' de karıştırıldı. Ardından reaksiyon karışımı Et_2O ile ekstrakte ederek saflaştırıldı. Beyaz katı, 150 mg, % 50 verim. LC-MS (m/z) hesaplanan M^+ :346,18 ölçülen M^+ :345,90 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.29 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.45 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 5.85-5.78 (m, 1H), 4.99 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 4.93 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 4.34 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 2.65 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.05 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.77 (p, J = 7 Hz, 2H), 1.56 (s, 4H), 1.44-1.28 (m, 6H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 177.36, 171.74, 152.10, 142.45, 139.12, 125.41, 125.22, 123.51, 114.24, 109.91, 38.44, 34.31, 33.77, 29.27, 29.19, 29.05, 28.87, 24.68, 20.15.

3.4 Skuarin Sentezi (Sq1)

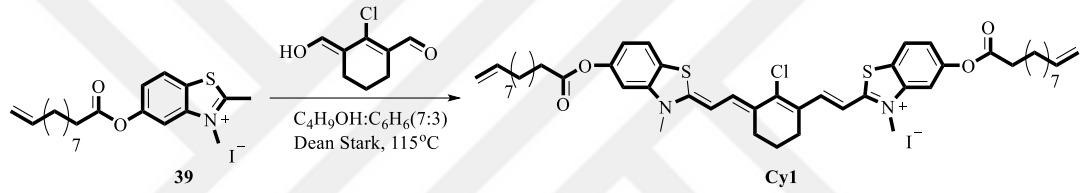


Şekil 3.3. Bileşik Sq1 sentezi.

25 ml'lik bir balona **39** (90mg, 0,18mmol), 3,4-dihidroksisiklobüt-3-en-1,2-dion (10mg, 0,09mmol) alınır ve üzerine bütanol: benzen ($\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}:\text{C}_6\text{H}_6$, 1: 1) 10 ml

eklenerek Dean-Stark tuzağı altında 5 saat 120 °C ısıtıldı. Soğurma spektrofotometresi ile reaksiyon eş zamanlı takip edilmiştir. Daha sonra çözücü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılır ve Et₂O ile ekstrakte ederek saflaştırıldı. Yeşil katı, % 27 verim. LC-MS (m/z) hesaplanan M⁺:768,33 ölçülen [M+H₂O]⁺:787.12, [M+CH₃OH]⁺:801.3 ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.92-6.89 (m, 2H), 5.88 (s, 1H), 5.85-5.78 (m, 1H), 4.99 (d, J = 18 Hz, 1H), 4.94 (d, J = 18 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 2.59 (t, J = 12 Hz, 2H), 2.05 (q, J = 6.9 Hz, 2H), 1.76 (p, J = 6.9 Hz, 2H), 1.42-1.25 (m, 10H). ¹³C NMR (151 MHz CDCl₃) δ 177.43, 172.12, 151.91, 150.28, 142.22, 139.14, 125.46, 123.32, 122.30, 117.76, 114.20, 109.78, 105.52, 86.39, 34.27, 33.78, 29.30, 29.20, 29.06, 28.85, 24.78, 24.68, 20.09.

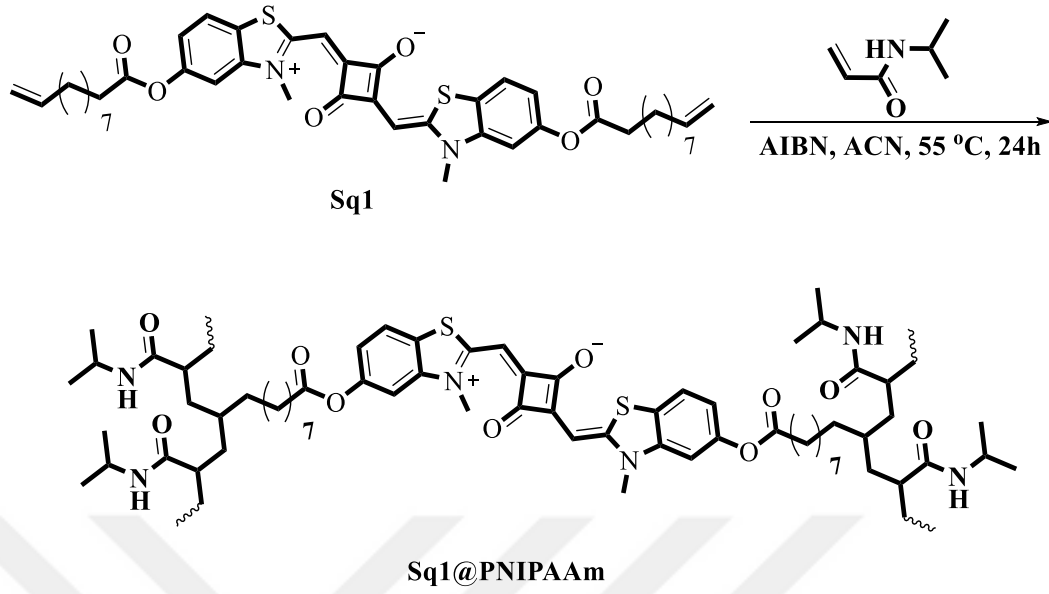
3.5 Siyanin Sentezi (Cy1)



Şekil 3.4. Bileşik Cy1 sentezi.

50 ml'lik bir balon dean stark ile donatıldı **39** (300 mg, 0,60 mmol), (E)-2-kloro-3-(hidroksimetilen)sikloheks-1-en-1-karbaldehit (53 mg, 0,30 mmol) alındı ve ardından üzerine C₄H₉OH:C₆H₆ (7: 3) 50 ml eklendi. 12 saat geri soğutucu altında Dean Stark tuzağı kullanılarak 115 °C kaynatıldı. Soğurma spektrofotometresi ile eş zamanlı kontrol edildi. Sentez bitince çözücü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırıldı ve daha sonra Et₂O ile ekstrakte ederek saflaştırıldı. Yeşil katı, % 21 verim. LC-MS (m/z) hesaplanan M⁺: 827.37, ölçülen M⁺: 826.97. ¹H NMR (600 MHz, CdCl₃) δ 8.32 (dd, J = 26.1, 6.7 Hz, 1H), 7.85 – 7.75 (m, 1H), 7.45 – 7.34 (m, 1H), 7.45 – 7.35 (m, 1H), 7.24 (dd, J = 26.4, 5.1 Hz, 1H), 5.80 (s, 1H), 5.03 – 4.85 (m, 2H), 4.28 (d, J = 26.2 Hz, 3H), 3.44 (dd, J = 23.4, 4.2 Hz, 1H), 3.36 – 3.25 (m, 3H), 2.67 – 2.57 (m, 2H), 2.08 – 1.97 (m, 2H), 1.74 (dd, J = 18.9, 4.2 Hz, 2H), 1.66 – 1.54 (m, 2H), 1.46 – 1.18 (m, 12H).). ¹³C NMR (151 MHz CDCl₃) δ 172.04, 164.20, 151.21, 142.90, 142.86, 142.19, 142.12, 139.12, 127.00, 126.47, 123.73, 122.55, 122.50, 119.11, 118.44, 114.22, 106.65, 34.29, 33.79, 29.70, 29.31, 29.25, 29.11, 29.07, 28.89, 24.78.

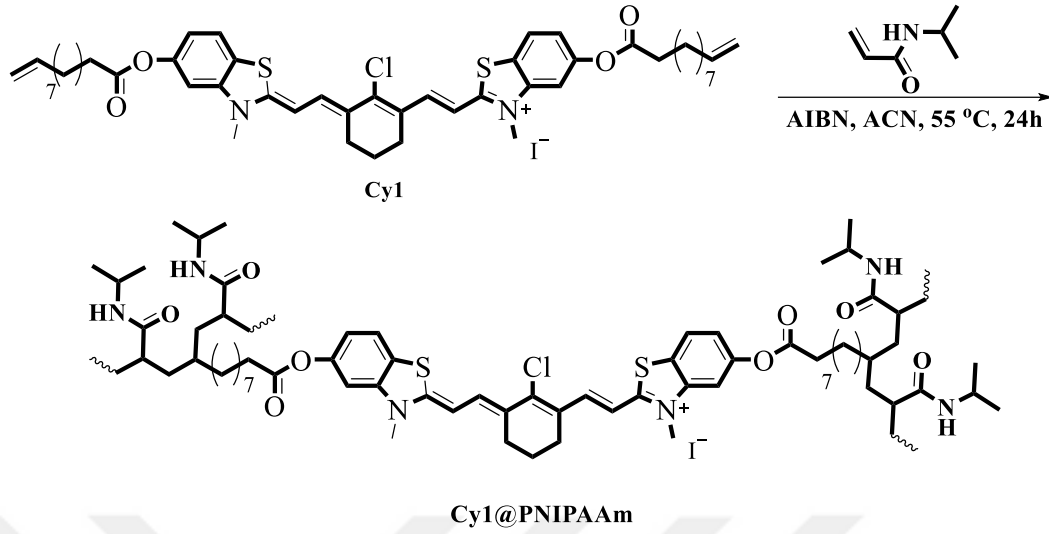
3.6 Hidrojel Sentezi: Sq1@PNIPAAm



Şekil 3.5. Bileşik **Sq1@PNIPAAm** sentezi.

10 ml'lik bir viyal N-izopropilakrilamid (375 mg, 3,31 mmol, 13 M), Azobisisobutyronitrile (AIBN) (7 mg, 0,04 mmol, 0,16 M), **Sq1** (10 mg 0,01 Mmol, 0,04 M) ve 0,25 ml Asetonitril (CH₃CN) eklendi ve homojen bir çözelti elde edilene kadar argon altında karıştırıldı. Daha sonra karışım 1ml'lik enjektöre alınarak 24 saat 55 °C'ye ısıtıldı. Polimerleşme tamamlandıktan sonra hidrojel su ve CH₃CN ile yıkandı. Hidrojel, dört gün şişmesi sabitlenene kadar suda bekletildi ve belli zaman aralıklarda suyu değiştirildi.

3.7 Hidrojel Sentezi: Cy1@PNIPAAm



Şekil 3.6. Bileşik Cy1@PNIPAAm sentezi.

10 ml'lik bir viyale N-izopropilakrilamid (375 mg), Azobisisobutyronitrile (AIBN, 10 mg), Cy1 (5 mg) ve 0,25 ml Asetonitril (CH₃CN) eklendi ve homojen bir çözelti elde edilene kadar argon altında karıştırıldı. Daha sonra karışım 1ml'lik enjektöre alınarak 24 saat 55 °C'ye ısıtıldı. Polimerleşme tamamlandıktan sonra hidrojel su ve CH₃CN ile yıkandı. Hidrojel, dört gün şişmesi sabitlenene kadar suda bekletildi ve belli zaman aralıklarda suyu değiştirildi.

3.8 MBA@PNIPAAm Hidrojel Sentezi ve Sq1 ve Cy1 Bileşiklerinin Fiziksel Adsorpsiyonu

10 ml'lik bir viyal N-izopropilakrilamid (375 mg, 3,31 mmol) AIBN (7 mg, 0,04 mmol), MBA (1 mg, 0,006 mmol) ve 0,25 ml CH₃CN eklendi ve homojen bir çözelti elde edilene kadar argon altında karıştırıldı. Daha sonra karışım 1ml'lik enjektöre alınarak 24 saat 55 °C'ye ısıtıldı. Polimerleşme tamamlandıktan sonra hidrojel su ile yıkandı. Ardından CH₃CN: H₂O (1:1) 5 ml, Sq1 ve Cy1 2 mg çözeltiye eklendi ve 24 saat çözeltide bekletildikten sonra şişmeye devam etmesi için tekrar suya atılarak bekletildi. Belli zaman aralıklarında su değiştirilir şişmesi sabitlendiğinde CH₃CN ile yıkanarak yüzeyde kalan Sq1 uzaklaştırıldı.

3.9 Hidrojellerin Şişme Kapasitesinin Belirlenmesi

Belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilen hidrojeller tartılarak not edilmiştir. Hidrojellerin M_{rel} ile ağırlık şişme oranı belirlenmiştir ve $M_{rel} = m/m_0$ olarak hesaplanmıştır. (Algi ve Okay, 2014) Burada m_0 hidrojinin başlangıç kütlesi iken m ise şişen hidrojinin kütlesidir. Daha sonra suda dengeye gelmiş hidrojeller sudan alınıp dondurularak kurutulmuştur. Hidrojel oranı W_g (Suda çözünmeyen polimer / monomerin ilk kütlesi) denklemi ile hesaplanmıştır.

3.10 Hidrojellerin Sıcaklığa Bağlı Kütle Değişikliğinin Belirlenmesi

Belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilen ve en yüksek kütleye sahip hidrojeller heildolph EKT 3001 ile donatılmış karıştırıcıda kademeli sıcaklık artırılarak hidrojellerin sıcaklığa bağlı kütle değişimi belirlendi. Oda sıcaklığından 50 °C'ye kadar 2 °C'de bir sıcaklık artışı gerçekleştirildi ve her sıcaklıkta hassas terazi ile hidrojinin kütlesi belirlendi. Hidrojellerin M_{rel} ile ağırlık şişme oranı belirlenmiştir ve $M_{rel} = m/m_0$ olarak hesaplanmıştır.

3.11 Hidrojellere Flöresin Sodyum Tuzunun Emdirilmesi

Hidrojeller sentezlendikten sonra polimerleşmemiş monomerleri ortamdan uzaklaştırmak için kısa zaman aralıklarında suyu değiştirildi. 24 saat sonra flöresin sodyum tuzuna daldırıldı. Floresin sodyum tuzu 10^{-3} M hazırlandı ve jeller solüsyona eklenmeden önce Uv-VİS ile soğurması ölçüldü. Hidrojellerin şişmesi tamamlanana kadar bu çözücünde bekletildi. Hidrojellerin şişmesi tamamlandıktan sonra çözücünün Uv-Vis ile soğurması ölçüldü. Soğurma ile $A=E.b.c$ formülü kullanılarak hidrojellerden önce ve sonraki konsantrasyon belirlendi ve emme yüzdesi hesaplandı. Hidrojellerin 28 °C, 37 °C ve 28 °C'den 50 °C'ye kademeli sıcaklık artışı ile salınımı incelenmiştir. Salınım testi tek hücre peltier aksesuar ile donatılmış Uv-Vis ile gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerin emdiği miktar % 100 kabul edilerek salınım yüzdesi formül üzerinden hesaplandı. Salınım % = $(C1*100)/(M1-M2)$. Hidrojellerin sıcaklığa bağlı salınımı ile flöresin soğurması artar flöresin soğurmasına göre $A=E.b.c$ formülü ile salınan flöresinin konsantrasyonu belirlenir. $C1$ salınan flöresinin konsantrasyonu, $M1$ 10^{-3} M floresinin molaritesi, $M2$ floresin çözeltisinde hidrojinin şişmesi tamamlandıktan sonraki konsantrasyonu.

3.12 Sq1@F127 ve Cy1@F127 Bileşiklerinin Kapsülasyonu

F127 (200 mg) içeren CH_2Cl_2 (5 ml) çözeltisi manyetik karıştırıcı ile 30 dakika karıştırıldı. Elde edilen karışım daha sonra ultrasonik banyo (Sonics and Materials Inc.) kullanılarak 30 dakika süreyle sonikasyona tabi tutuldu. Sq1/Cy1 (1 mg) içeren CH_2Cl_2 çözeltisi (5 ml) 30 dakika karıştırıldı ve F127 içeren çözeltiye eklendi. Daha sonra karışım 2 saat karıştırıldı. Döner buharlaştırıcı kullanılarak basınç altında çözücü uzaklaştırıldı. Son olarak 2 ml DI suyla homojen çözelti elde edilene kadar sonikasyona tabi tutuldu.

3.13 Sq1 ve Cy1 Bileşiklerinin Kimyasal Tuzak ile Fotoduyarlaştırıcı Testleri

Cy1/Sq1 ile 1,3-difenilizobenzofuran (DPBF) çözeltisi organik çözücü ortamında hazırlandı (Ilina vd., 2019). Başlangıçta kuvars küvet içerisinde DPBF ve Sq1/Cy1 aynı optik yoğunlukta (~ 0.1) soğurma ölçümü alındı. Daha sonra kırmızı ışıkla 440 nm'de DPBF'in soğurma spektrumları farklı zaman aralıklarında kaydedildi.

3.14 Sq1 FTT Aktivitesinin Belirlenmesi

1.5 ml'lik eppendorf tüpünde Sq1 (1 mg / ml), $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$: Su (1: 1) çözeltisi, 15 dakika boyunca 808 nm (NIR lazer, 1W/cm², Taş lazer, Shenzhen) ile ışınladı. Gerçek zamanlı termal görüntüleme kamerası kullanılarak zamana bağlı sıcaklık artışı ölçüldü.

Sq1@F127 0.5 ml'lik eppendorf tüpünde DI su içerisinde 808 nm NIR lazer ile 15 dakika ışınladı. Daha sonra FTT etkinliğinin sürekliliğini incelemek için 15 dakika ışınlamanın ardından oda sıcaklığına soğuma süresi takip edildi ve bu ölçümler beş kez tekrar edildi. Gerçek zamanlı görüntüleme termal kamera kullanarak sıcaklık yapıldı.

3.15 Cy1 FTT Aktivitesinin Belirlenmesi

1.5 ml eppendorf tüpünde Cy1 (1 mg / ml), CH_3CN : H_2O (1: 1) çözeltisi, 15 dakika boyunca 808 nm NIR lazer ile ışınladı. Gerçek zamanlı termal görüntüleme kamerası kullanılarak zamana bağlı sıcaklık artışı ölçüldü.

Cy1@F127 0.5 ml eppendorf tüpünde DI su içerisinde 808 nm NIR lazer ile 15 dakika ışınladı. Daha sonra FTT etkinliğinin sürekliliğini incelemek için 15 dakika ışınlamanın ardından oda sıcaklığına soğuma süresi takip edildi ve bu ölçümler beş kez tekrar edildi. Gerçek zamanlı görüntüleme termal kamera kullanılarak sıcaklık yapıldı.

3.16 Sq@PNIPAAm Kimyasal Test ile FDT Aktivitesinin Belirlenmesi

Suda şişerek dengeye gelen hidrojel (50, 100, 150 mg) tuzak molekül DPBF veya RNO ile birlikte kuvars tüpe alındı (Belali vd., 2017, 2018a; Kraljić ve Mohsni, 1978) DPBF ve RNO tuzak molekülün optik yoğunluğu soğurma spektrumu ile ölçüldü. Çözelti kırmızı ışık ile ışınladı. Hidrojelin ROT üretme aktivitesi, tuzak molekülün soğurma spektrumundaki (DPBF: 440 nm, RNO: 410 nm) değişikliklerle belirlendi.

3.17 Cy1@PNIPAAm Kimyasal Test ile FDT Aktivitesinin Belirlenmesi

Suda şişerek dengeye gelen hidrojel (50, 100, 150 mg) tuzak molekül DCHF çözeltisi ile birlikte kuvars tüpe alındı. DCHF tuzak molekülü için floresans şiddeti floresans spektrumu ile ölçüldü. Çözelti kırmızı ışık ile ışınladı. Hidrojelin ROT üretme aktivitesi, tuzak molekülün soğurma spektrumundaki (DPBF: 440 nm, RNO: 410 nm) değişikliklerle belirlendi.

3.18 Hidrojellerin FTT Aktivitesinin Belirlenmesi

Hidrojeller eppendorf tüplerine yerleştirildi ve 15 dakika boyunca 808 nm NIR lazer ile ışınladı. Hidrojellerin FTT etkinliğinin sürekliliğini incelemek için 15 dakika ışınlamanın ardından oda sıcaklığına soğuma süreleri incelendi ve bu ölçümler beş kez tekrar edildi. Gerçek zamanlı görüntüleme termal kamera kullanılarak sıcaklık kaydedildi.

3.19 Hücre Kültürü

Hücre hazırlama işlemleri laminar kabinde, steril ortamda literatürde bilinen prosedür kullanarak gerçekleştirildi (Bonifacino vd., 2001). Çalışmada kanser hücre hattı olarak Hep2 (larinks karsinomu) kullanıldı. Bu hücre hattına özgü besiyeri içeren hücre kültür kaplarında 37 °C ve % 5 CO₂ ortamında inkübe edildi. Hücreler, konfluentlikleri %

70-80'e ulaştığında tripsin-EDTA ile tripsinizasyon işlemleri yapılarak pasajları gerçekleştirildi. Analizlere bağlı olarak belirlenen well platelere, uygun konsantrasyonda hücre ekimleri yapmak için hücreler tripsin mavisi ile boyandı ve thoma lamı üzerinde alan sayımı yapıldı. Hücre sayımında $A \times SF \times 16 \times 10.000$ formülü kullanıldı. A: Bir orta boy karede sayılan hücre adedi. SF: Seyreltme faktörü. 16: 16 adet orta boy kare olduğundan tüm kare sonucuna erişmek için kullanılan çarpan. 10.000: 0,1 mm³' deki sayım sonucunu 1 ml' deki sayıya dönüştürmek ve standart sonuç elde etmek için kullanılan bir değişmez.

3.20 Cy1@F127 ve Sq1@F127 Molekülleri ile Hep2 Hücre Hattında Biyogörüntüleme

Analizlere bağlı olarak belirlenen 96 kuyulu well plate 25×10^{-3} konsantrasyonda hücre ekimleri yapıldı ve hücreler inkübe edilerek işlemlere hazır hale getirildi. Daha sonra 24 saat süreyle Cy1@F127 veya Sq1@F127 ile inkübe edildi. Floresans görüntüleri Leica DM IL LED marka mikroskoptan elde edildi. PBS ile üç kez yıkanmıştır daha sonra DAPI'nin (çekirdek boyası) ile Sq1@F127 görüntülenmesi için, 620/60 nm dalga boyunda uyarıldı ve 650 nm'den 750 nm'ye kadar emisyon görüntüleri alındı (Beverina ve Salice, 2010).

3.21 Cy1@F127 veya Sq1@F127 bileşikleri ile Hep2 Hücre Hattında İn Vitro FDT Testleri

Hücreler 96'lık kuyucuklu plakalara ekildi (1, 5, 10 µg/µl) logaritmik evreye geldiklerinde belirlenen doz aralıklarında ve sürelerde Sq@F127/Cy@F127 ile inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda besiyeri ortamdan alındı ve kuyucuklara 200 µl taze besiyeri eklendi üzerine 20 µl MTT (5 mg/ml) çözeltisi eklenmiştir. Üç saat 37 °C' de inkübasyon sonunda besiyeri uzaklaştırıldı ve formazan kristallerinin çözünmesi için 200 µl dimetil sülfoksit (DMSO) eklendi. Plaka okuyucuda 490 nm'de absorbans okunur ve yüzde canlılık hesaplandı. Hücre canlılığı $R_v = ((A_1 - A_0) / (A_2 - A_0)) \times 100 \%$ formülü ile hesaplandı. R_v hücre canlılığı, A_0 boş kontrol grubunun soğurması, A_1 deneysel grubun soğurması, A_2 kontrol grubunun soğurması (Ramaiah vd., 1997; Ajayaghosh, 2005; Babu vd., 2017).

3.22 Sq1@PNIPAAm ve Cy1@PNIPAAm Hidrojellerinin L929 Hücre Hattında Sitotoksikite Testi

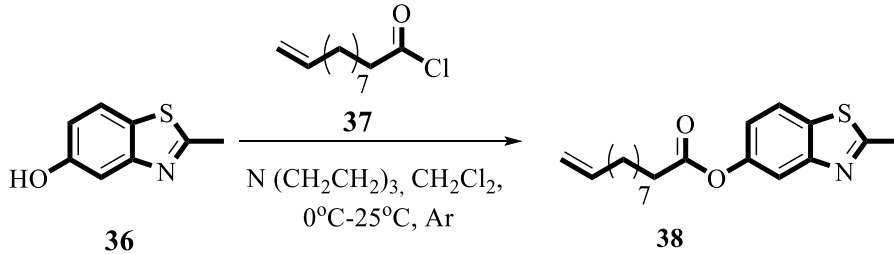
Hidrojeller sterilize edilmek için % 75 etanol çözeltisinde daldırıldı. Hidrojelde kalan etanol uzaklaştırmak için Dulbecco Modifiye Eagle (DMEM) ortamına eklendi ve bir gece bekletildi. (Agostinis vd., 2011; Belali vd., 2017; Li vd., 2020) 96 kuyulu plakalara DMEM (% 10 FBS ve % 1 penisilin / streptomisin içeren) 100 µl eklenecektir ve her kuyu başına 25×10^3 hücresi kültüre edilecek 37°C ve % 5 CO₂ ortamında inkübe edildi. Ertesi gün hücreler PBS ile yıkandıktan sonra DMEM içerisinde sterilize edilmiş hidrojeller kuyu başına (20,40 ve 60 mg) eklendi ve 24 saat inkübe edildi. Hücre canlılığını incelemek için MTT deneyi kullanıldı. Kuyulara 11 µl (15 mg/ml) MTT eklendi 3 saat inkübe edildi daha sonra DMEM uzaklaştırıldı. Formazan kristalleri çözmek için 100 µl DMSO eklenir ve mikropilaka okuyucusunda soğurması 490 veya 570 nm'de ölçüldü. Hücre canlılığının yüzdelik değerinin hesaplanması için $R_v = ((A_1 - A_0) / (A_2 - A_0)) \times 100$ % kullanıldı. R_v hücre canlılığı, A_0 blank kontrol grubunun soğurması, A_1 deneysel grubun soğurması, A_2 kontrol grubunun soğurması.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu tez kapsamında yakın kızıl ötesi bölgelerde soğurma ve emisyon yapabilen fotoduyarlastırıcı ajanların tasarımı ve sentezi hedeflenmiştir. Sentezlenen hidrojelın ROT üretme ve hipertermi oluşturma kabiliyeti incelenmiştir. Klinikte ve literatürde FDT ve FTT de kullanılan birçok ajan mevcuttur. FDT de kullanılan ajanların; fototoksosite, fizyolojik koşullarda topaklanma ve topaklanma sebebiyle aktivite kaybı ve toksisite, tedaviden sonra ışığa hassasiyet gibi birçok dezavantajı vardır. FTT de klinikte kullanılan ajanlar henüz mevcut değildir fakat literatürde en çok ağır metallerle nanopartikül esaslı ajanlar üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Ağır metaller uzun süreli kullanımda birikir ve vücuttan atılmaları zor olduğu için toksisite oluşturur.

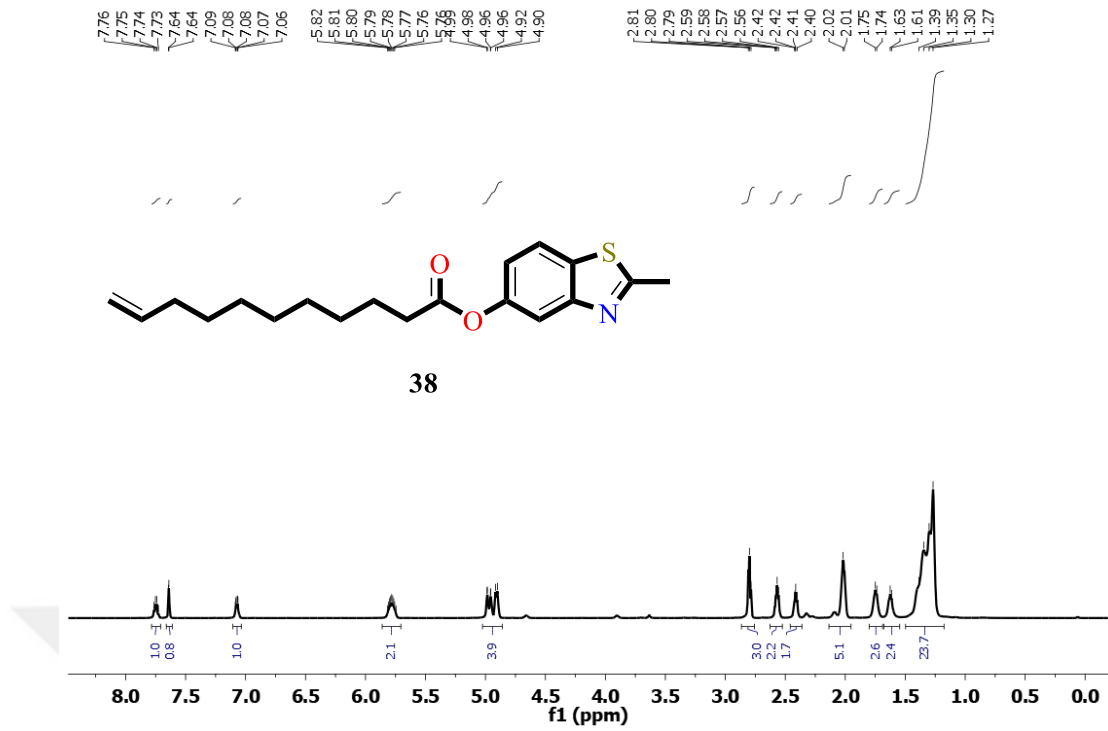
4.1 Hedef Bileşiğinin Sq1 Yapısının Sentezi

Hedeflenen Sq1 üç aşamada sentezlenmiştir. Bu amaçla önce polimerizasyonda çapraz bağ görevi göreceğ alken ünitesi bağlanmıştır ve **38** spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir. Daha sonra iyodometan ile azot ünitesi metillenmiştir ve **39** elde edilmiştir. Son aşamada ise skuarik asit ile azeotropik çözücü altında dean stark kullanılarak skuarin boyası **Sq1** elde edilmiştir.



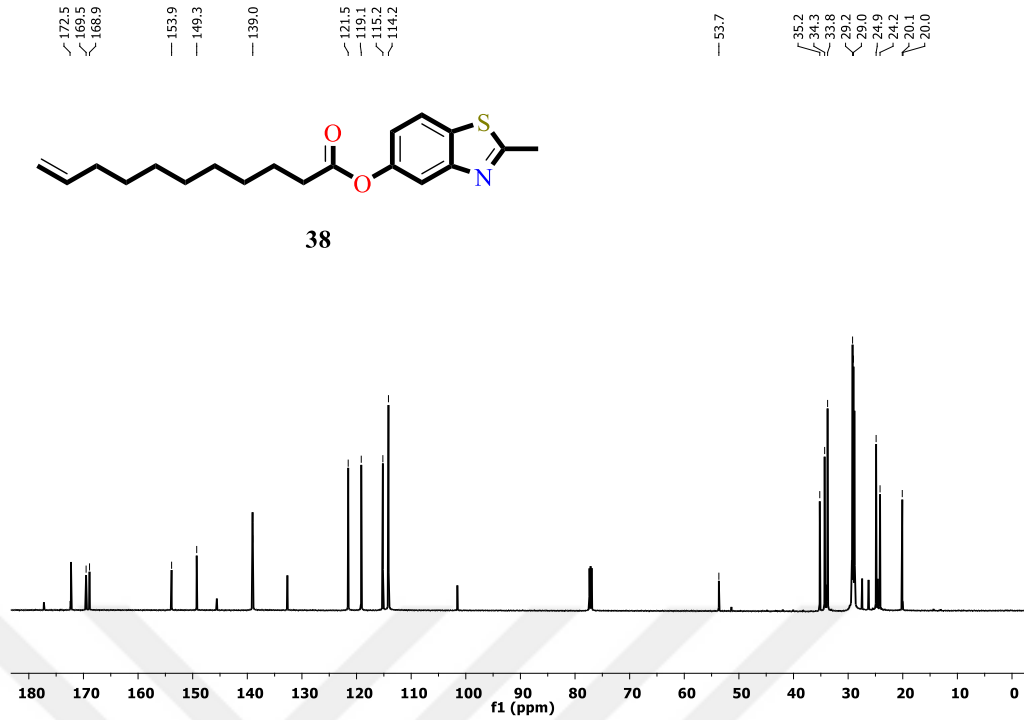
Şekil 4.1. Bileşik **38** moleküler yapısı.

Alken uçlu indol **38** 1H NMR spektrumu Şekil 4.2 incelendiğinde, aromatik halkada bulunan protonlar, alken ucunda ki protonlar ve karbon zincirinde bulunan protonlar sırasıyla 7.76, 7.64, 7.09-7.06, 5.82, 4.97, 4.91, 1.27 ppm’de sinyal verdiği not edilmiştir.

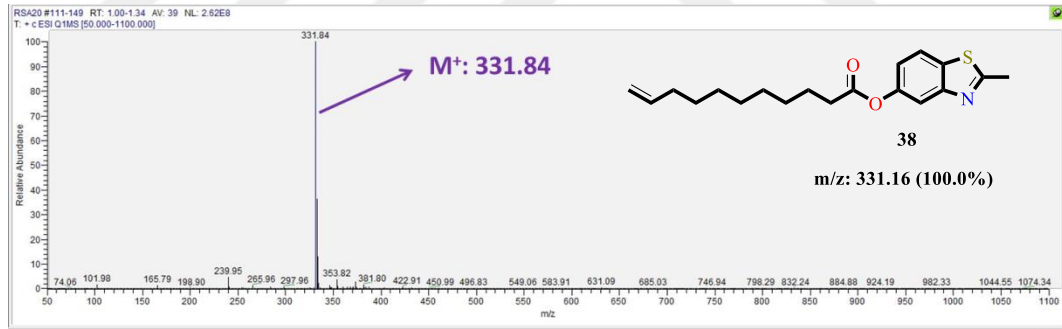


Şekil 4.2. İndolün **38** ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz).

Aynı zamanda bileşik **38** ¹³C NMR spektrumu (Şekil 4.3) ile yapıya ait karbon sinyalleri (172.28, 168.89, 153.86, 149.26, 139.00, 132.66, 121.53, 119.14, 115.18, 114.16, 53.67, 35.19, 34.50, 33.76, 29.19, 29.09, 24.88, 24.16, 20.09) yapıyı desteklemektedir. İndolün **38** hesaplanan M⁺: 331,16 değeri ile LC-MS (m/z) ölçülen M⁺: 331,84 (Şekil 4.4) değeri yapıyı doğrular niteliktedir.

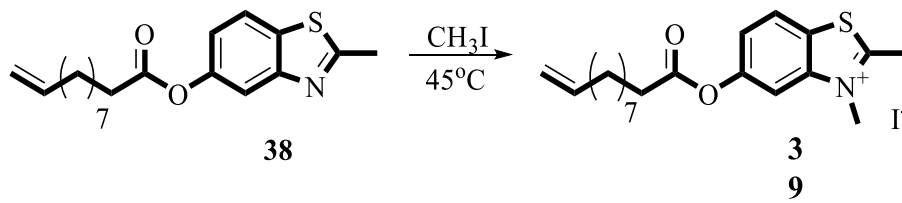


Şekil 4.3. İndolün **38** ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 151 MHz).



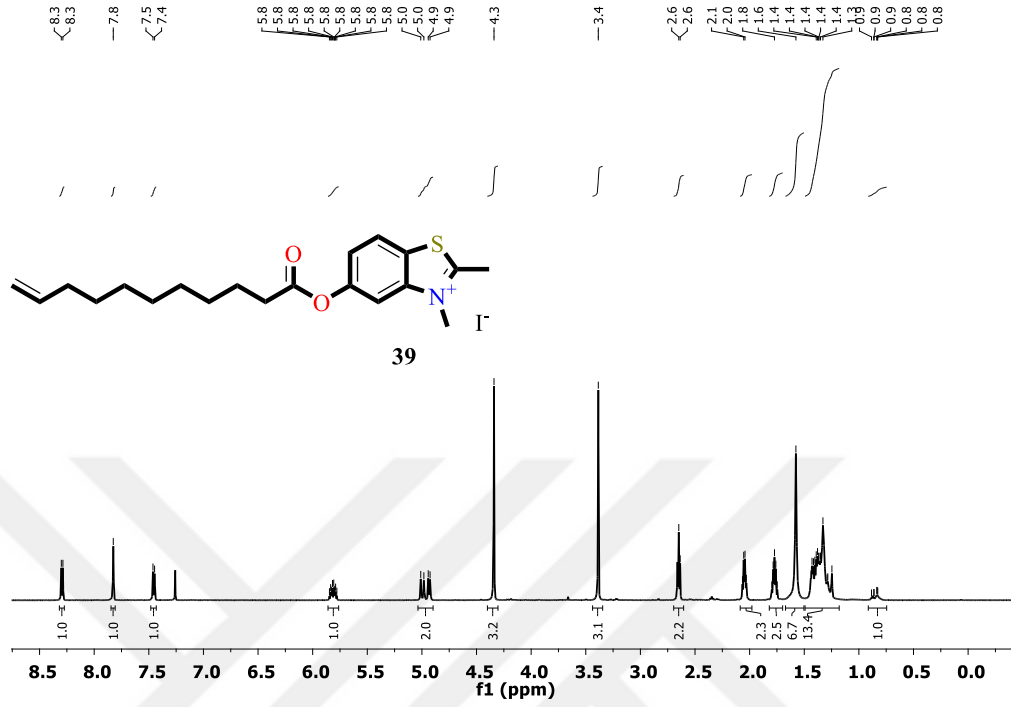
Şekil 4.4. İndolün **38** LC-MS kütle spektrumu.

İkinci basamakta (Şekil 4.5) iyodometan kullanılarak literatürde bilinen bir yöntemle geri soğutucu altında azot metillenmiştir.



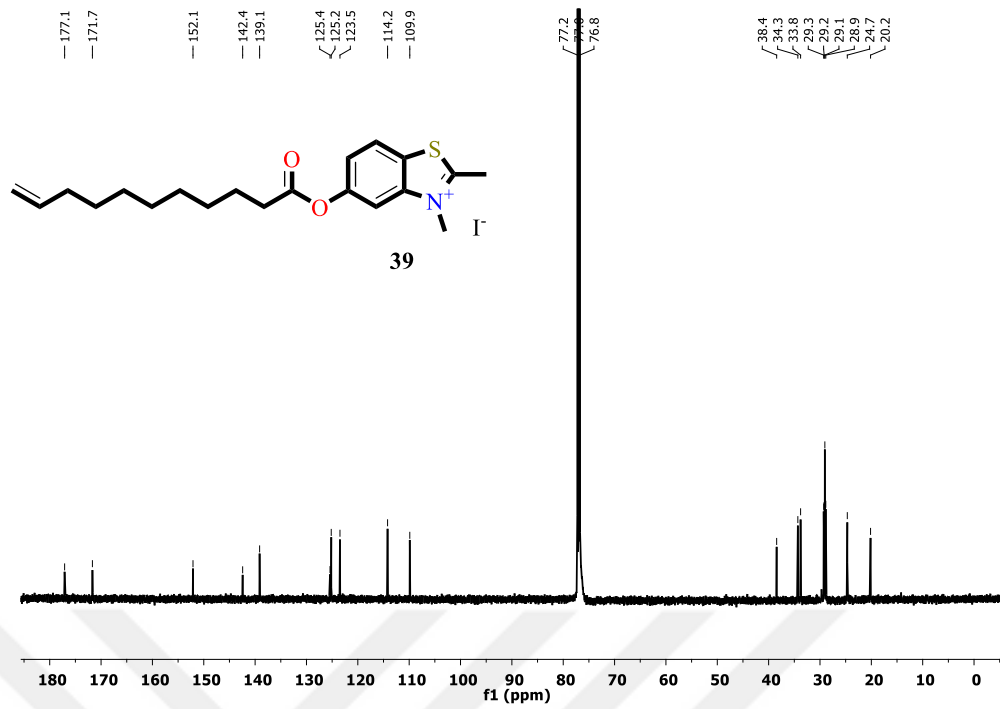
Şekil 4.5. Bileşik **39** moleküler yapısı.

Metilli indolün ^1H NMR spektrumu Şekil 4.6’da 3.39 ppm’de metil protonunun (CH_3) sinyali gözlenmiştir.

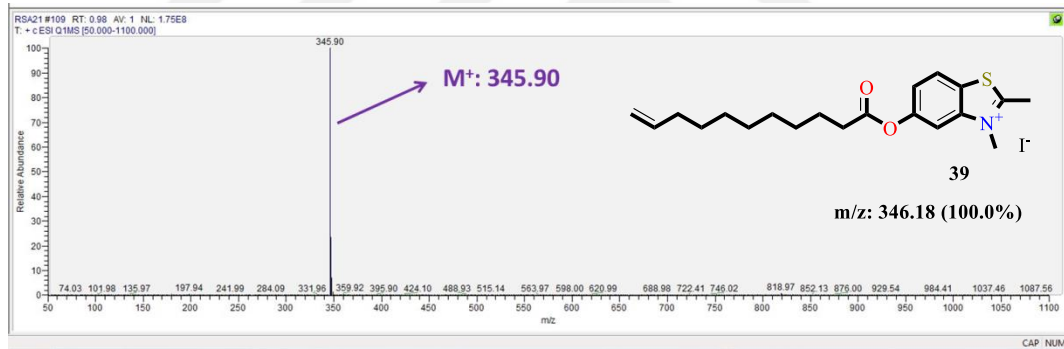


Şekil 4.6. İndolün 39 ^1H NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz).

^{13}C NMR spektrumu Şekil 4.7’de doymuş karbon olan metil karbonu 38.44 ppm’de gözlenmiştir. Aynı zamanda indolün hesaplanan M^+ : 346,18 değeri ile LC-MS (m/z) ölçülen M^+ : 345,90 değeri (Şekil 4.8) yapıyı doğrular niteliktedir.

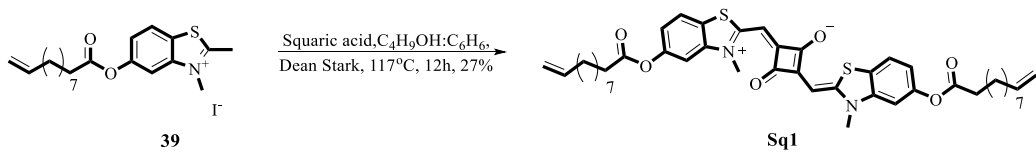


Şekil 4.7. İndolün 39 ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 151 MHz).



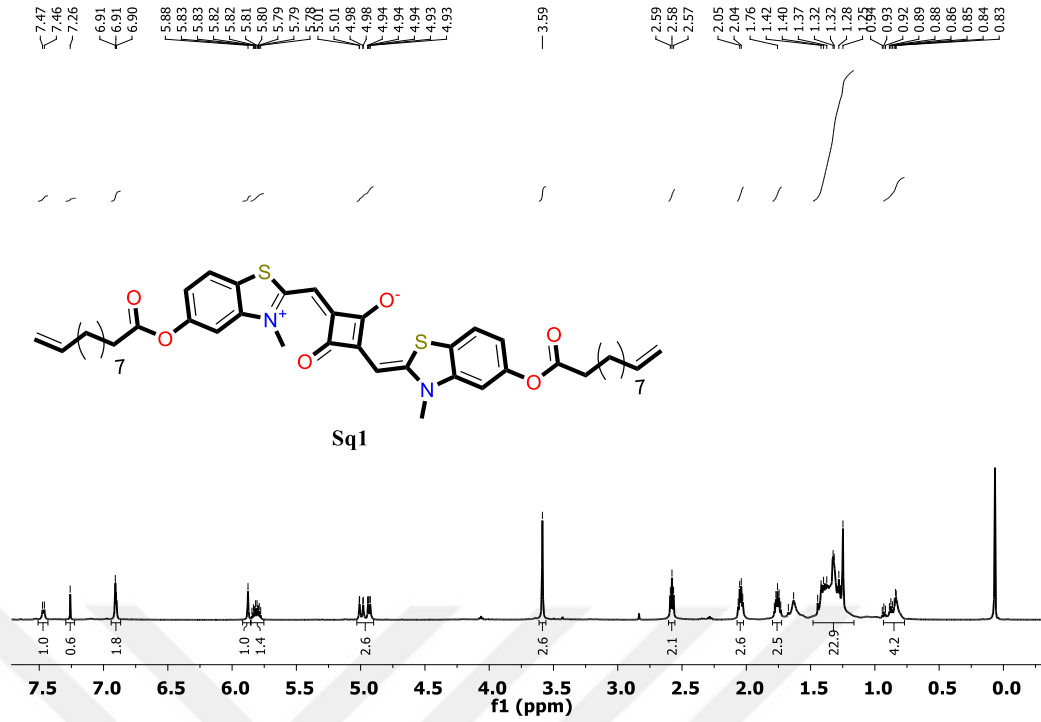
Şekil 4.8. İndolün 39 LC-MS kütle spektrumu.

Son basamakta Dean Stark tuzağında azeotropik çözücü karışımı ve skuarik asit 117 $^{\circ}\text{C}$ 'de kaynatılarak skuarin boyası sentezlenmiştir (Şekil 4.9).



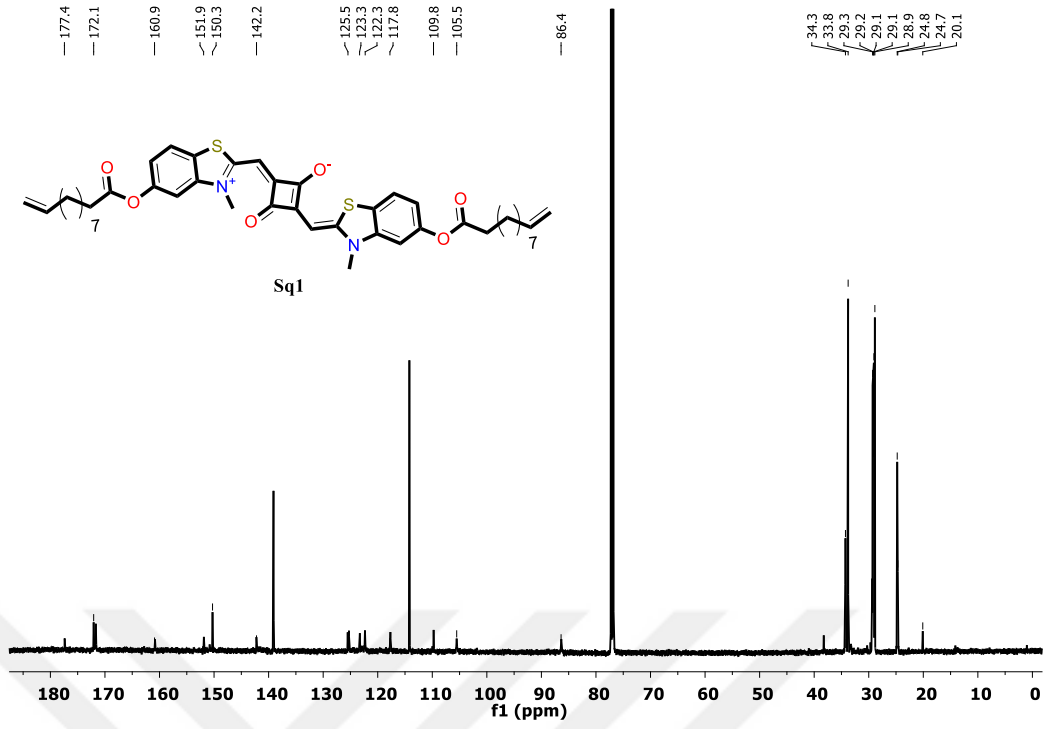
Şekil 4.9. Bileşik Sq1 moleküler yapısı.

Skuarin boyasındadi gelen dörtlü halkaya bağlı proton ^1H NMR spektrumu Şekil 4.10'da 5.91 ppm'de gözlemlenmiştir ve yapıyı doğrular niteliktedir.

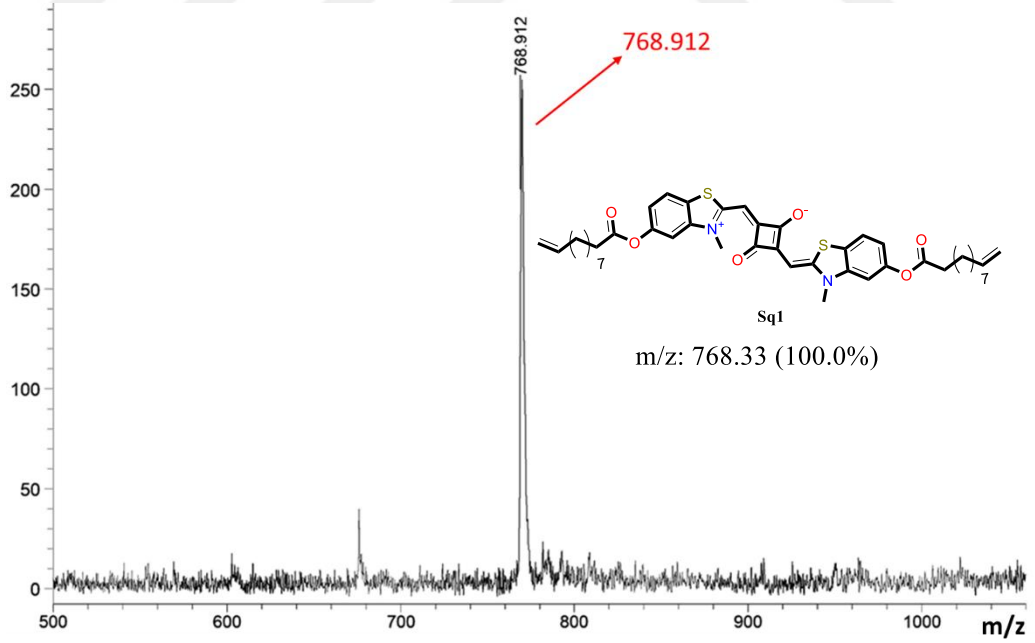


Şekil 4.10. Bileşik **Sq1** ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz).

^{13}C NMR spektrumu Şekil 4.11’de doymamış karbon olan dörtlü halkaya ait karbon 86.39 ppm’de gözlenmiştir. Aynı zamanda skuarin boyasının hesaplanan değeri M^+ :768.33 ile LC-MS (m/z) ölçülen değeri $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]^+$:787.12, $[\text{M}+\text{CH}_3\text{OH}]^+$:801.3 (Şekil 4.12) yapıyı doğrular niteliktedir.



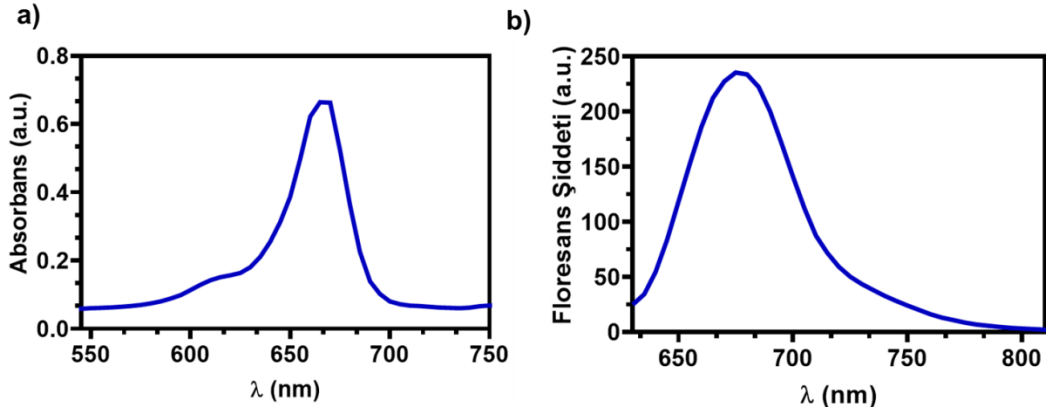
Şekil 4.11. Bileşik **Sq1** ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 151 MHz).



Şekil 4.12. Bileşik **Sq1** MALDI/TOF-MS kütle spektrumu.

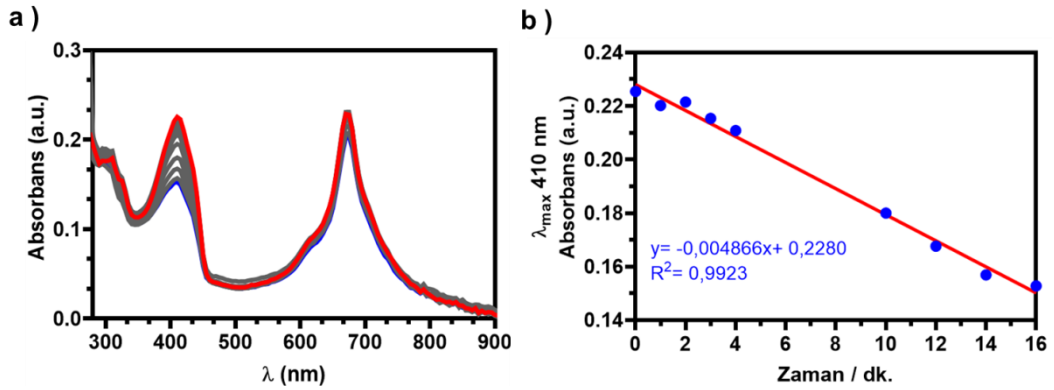
Hedef yapı **Sq1**'in fotofiziksel karakterizasyonu yapılmıştır. **Sq1**'in soğurma, emisyonu, potansiyel FDT ve FTT etkinliği incelenmiştir. **Sq1** organik çözücü

içerisinde soğurması $\lambda_{\max}$ 670 nm iken emisyonunun $\lambda_{\max}$ 680 nm olduğu ve soğurma-emisyon yapabildiği Şekil 4.13’de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Sq1’in soğurma ve emisyon spektrumu. **a)** Sq1’in ($1,6 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{\max}$ 660nm, CH₃OH) soğurma spektrumu **b)** Sq1’in ($3,3 \times 10^{-8}$ M, $\lambda_{\max}$ 675nm, CH₃OH) emisyon spektrumu.

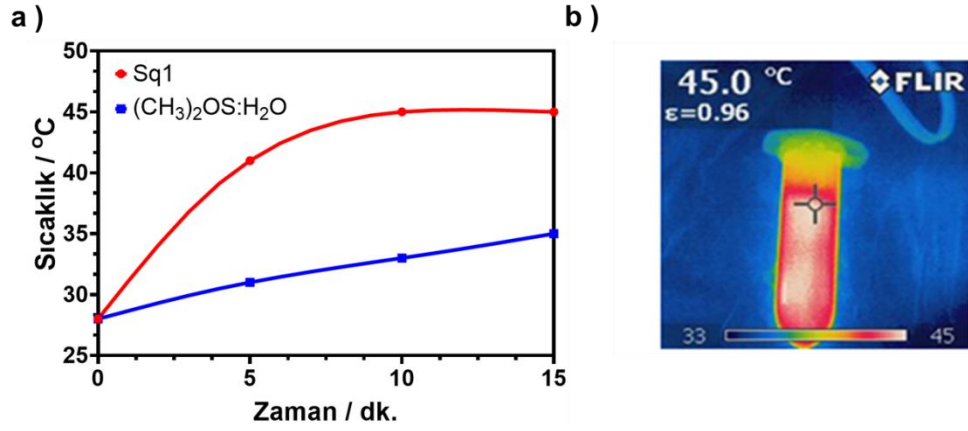
Sq1’in ROT üretme etkinliği organik çözücü içerisinde DPBF tuzak molekülü kullanılarak incelenmiştir (Şekil 4.14). Sq1’in kırmızı ışık ile 16 dakika ışınlaması sonucunda DPBF’in soğurmasının azaldığı görülmüştür. Bu sonuç ortamda ROT üretildiğini kanıtlar niteliktedir.



Şekil 4.14. Sq1’in tetrahidrofuran içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince DPBF soğurmasında meydana gelen değişimler. **a)** (Sq1 $1,33 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{\max}$ 675 nm, DPBF $6,6 \times 10^{-6}$ M $\lambda_{\max}$ 410 nm); **b)** DPBF soğurmasının azalma grafiği.

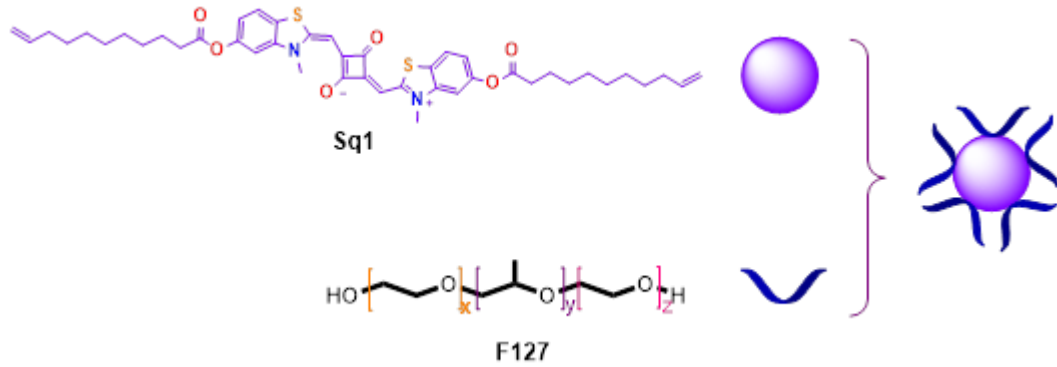
Sq1’in PTT etkinliğini incelemek için (CH₃)₂OS: H₂O karışımında hazırlanan stok çözelti, 808 nm lazer ile aktive edildiğinde ortam sıcaklığının 45 °C’ ye kadar yükseldiği tespit edilmiştir. Buna karşılık Sq1 olmadan sadece (CH₃)₂OS: H₂O karışımında 808 nm lazerle 28 °C sıcaklığa çıktığı gözlenmiştir (Şekil 4.15). Ortam

sıcaklığının 45 °C ye çıkması **Sq1**'in PTT'de kullanılabilecek potansiyel bir ajan olduğunu göstermektedir.



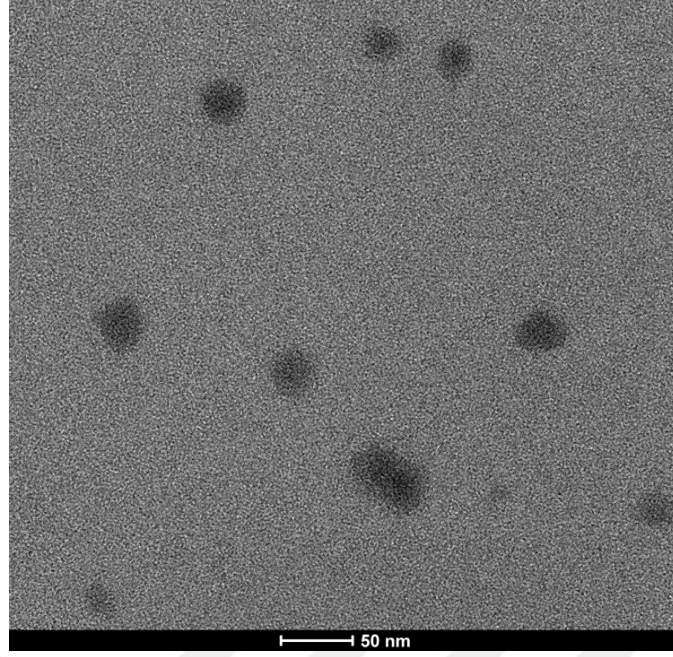
Şekil 4.15. Sq1 hipertermi etkinliği. a) 808 nm lazer ile 15 dakika ışınlama sonrası sıcaklık değişimi. ● **Sq1** 1,3 µM, 1: 1 (CH₃)₂OS:H₂O, ■ (CH₃)₂OS:H₂O. **b)** Eş zamanlı termal görüntüsü.

Hedef yapı **Sq1** uzun karbon zincirlerinden dolayı fizyolojik koşullarda çözünür değildir. Bu sebeple topaklanma ve aktivite kaybına uğramaktadır. Fizyolojik koşullarda **Sq1**'in incelenmesi için F127 ile kapsülleme yöntemi kullanılarak fizyolojik koşullarda çözünür hale getirilmiştir (Şekil 4.16).



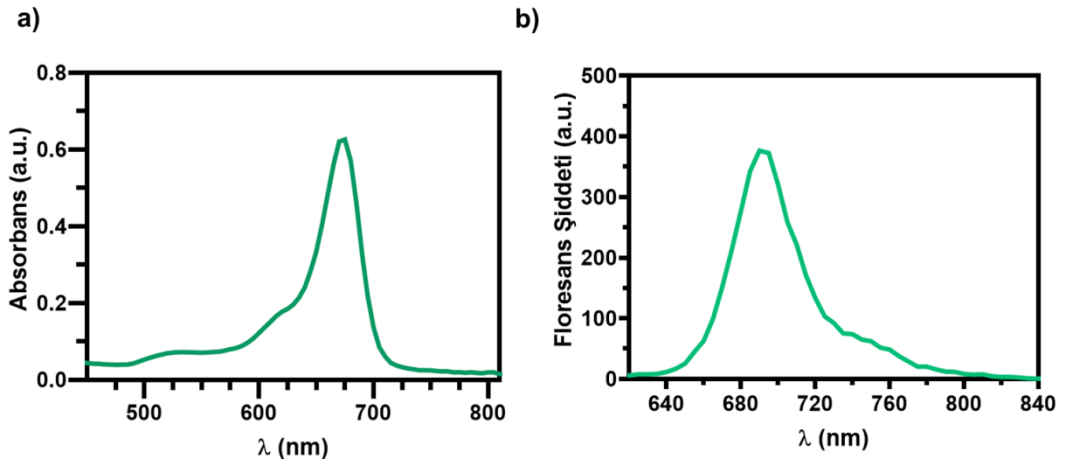
Şekil 4.16. Hedef yapı Sq1'in F127 ile kapsülasyonu: Sq1@F127.

Sq1@F127 yapısını karakterize etmek için TEM analizi yapılmıştır. **Sq1@F127** nanopartikülünün yaklaşık 50 nm boyutunda olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Sq1@F127 TEM görüntüsü.

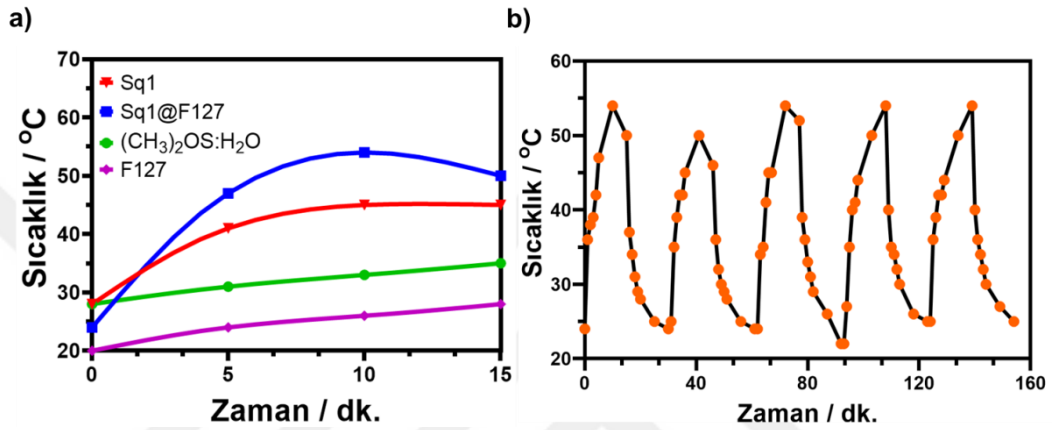
Sq1@F127'nin soğurma ve emisyon ($\lambda_{\max}$) spektrumlarının fizyolojik koşullarda değişip değişmediği incelenmiştir. Soğurma $\lambda_{\max}$ 690 nm, emisyon $\lambda_{\max}$ 700 nm olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Sq1@F127 soğurma (sol $\lambda_{\max}$ 675 nm) ve emisyon (sağda $\lambda_{\max}$ 690nm) spektrumları. (Sq1 $2,2 \times 10^{-5}$ M, F127 % 66 w/v, HEPES 0,01 M ve % 10 TritonX çözeltisi).

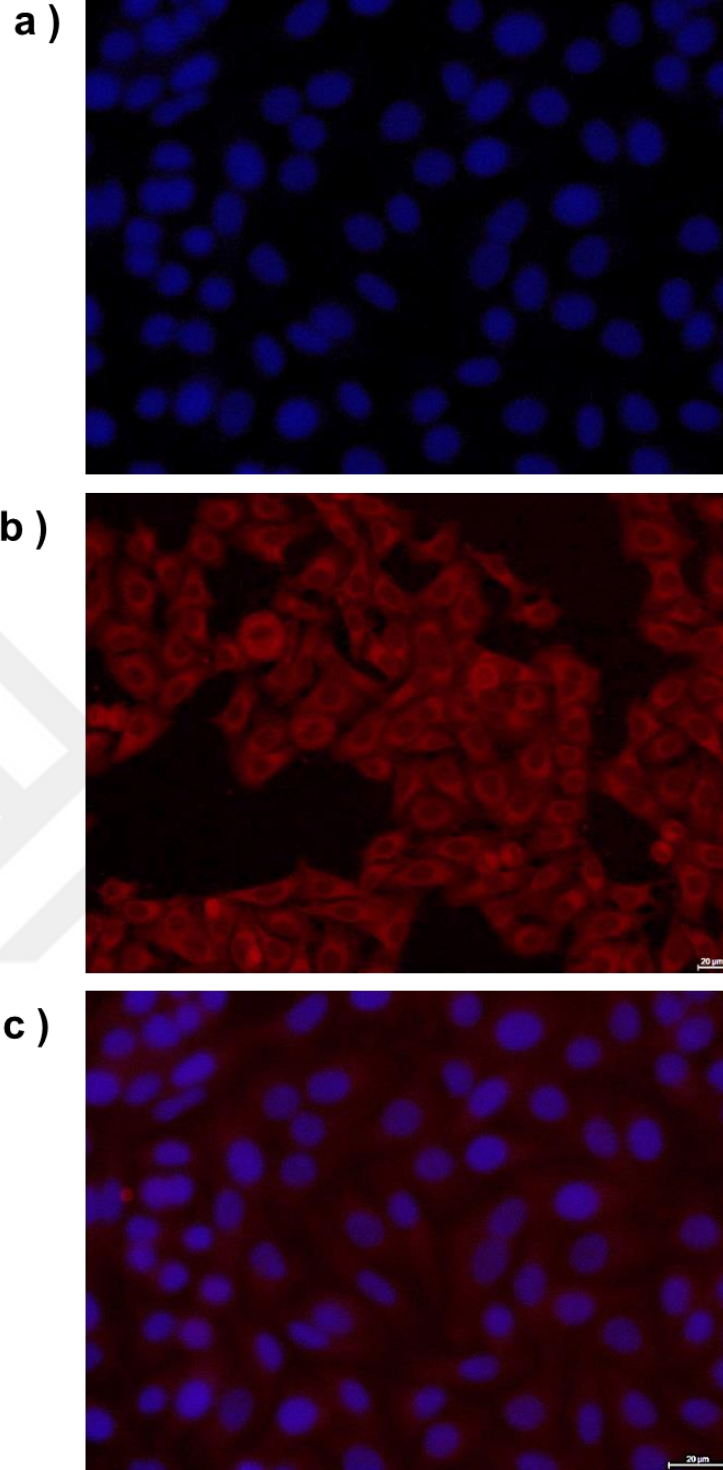
Sq1@F127'nin su içerisinde FTT etkinliği incelendiğinde ((CH₃)₂OS: H₂O ortamına göre) daha iyi FTT yaptığını 57 °C' ye kadar ortam sıcaklığını arttırdığı gözlemlenmiştir. Şekil 4.18a'da gösterildiği gibi Sq1'in F127 ile suda çözünür olabilmesi sayesinde hipertermi aktivitesi artmıştır. FTT'de ajanın ışık ile en yüksek

sıcaklığa ulaşma hızı ve ısınlama sona erdiğinde ortam sıcaklığına dönme süresi tedavide önemli bir etkidir. Tedavi sonrasında yan etkinin az olması için ışık kapatıldığında hızla soğuması gerekmektedir ve tedavi sürekliliği olması için tedavi tekrar edilebilir olması gerekir. Bu sebeple **Sq1@F127**'in 808 nm lazer ile hipertermi aktivitesi ve ısınlama sona erdiğinde ortam sıcaklığına dönme hızı incelenmiş ve bu işlem beş kez tekrar edilmiştir. Beş tekrarda FTT etkinliğinin azalmadığı kısa zamanda oda sıcaklığına düştüğü Şekil 4.18b'de gösterilmiştir.



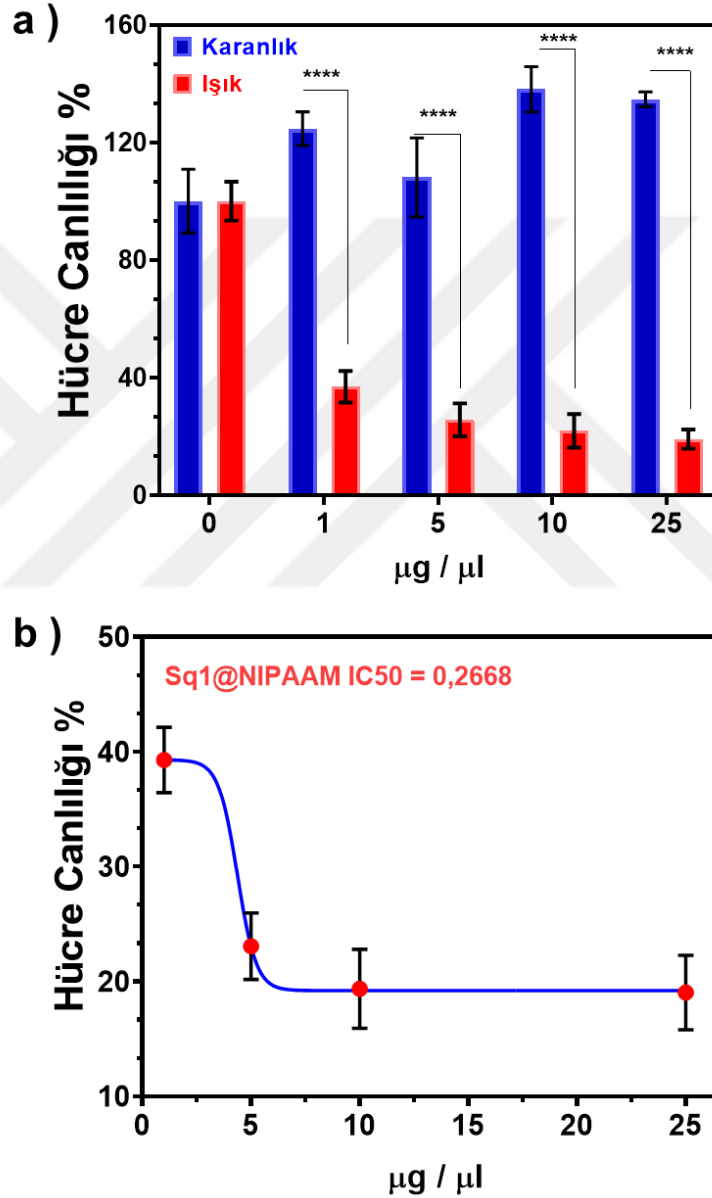
Şekil 4.19. Sq1 farklı ortamda hipertermi etkinliği. a) Sq1 808 nm lazer ile 15 dakika ısınlama ile sıcaklığının değişimi. ▼ Sq1 1,3 µM, 1: 1 DMSO: H₂O, ● DMSO: H₂O, ■ Sq1@F127 (Sq1 3,5x 10⁻⁴ M, F127 suda % 66 w / v), ♦ F127 % 66 w / v suda. b) 808 nm lazer ışımasının termal döngüsü üzerinde Sq1@F127'nin sıcaklık yükselmesi. (Sq1 3,5x 10⁻⁴ M, F127 % 66 w / v suda).

Sq1@F127'nin HEPES ortamında emisyonu incelendiğinde etkin floresans ışıma yaptığı gözlemlenmiştir. Bu analiz doğrultusunda **Sq1@F127**'in in vitro ortamda Hep-2 hücre hattında floresans görüntüleme yeteneği incelenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. 24 saat süreyle inkübasyonundan sonra Hep-2 hücrelerinin floresan görüntüleri. **a)** mavi renkli DAPI ile boyanmış hücre hücre çekirdekleri; **b)** Sq1@F127 boyalı hücre görüntüleri. **c)** DAPI ve Sq1@F127 boyalı hücre görüntüleri.

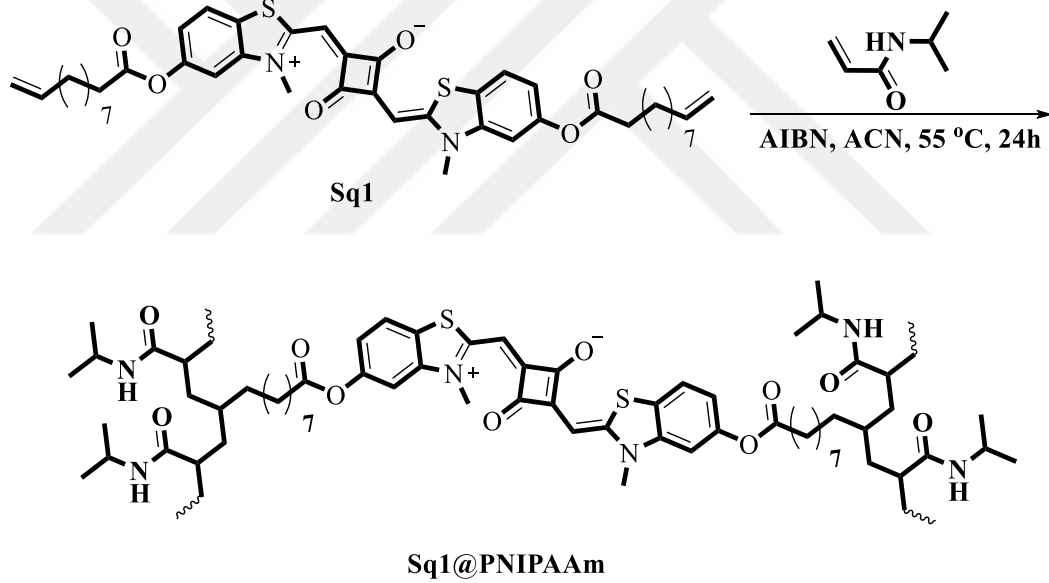
Sq1'in organik ortamda ROT ürettiği Şekil 4.14 'de belirtilmişti. Daha sonra in vitro ortamda ROT üreterek kanser hücreleri üzerinde etkileri incelendi (Şekil 4.21). **Sq1@F127** 1, 5 ve 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyonlarında inkübe edilen Hep-2 hücreleri 30 dakika kırmızı ışık ile uyarıldı. Daha sonra FDT aktivitesi MTT yöntemi kullanılarak incelendi. Sonuç olarak 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyonunda % 80 hücre ölümü gerçekleştiği belirlendi.



Şekil 4.21. **Sq1@F127**'in in vitro FDT aktivitesi. **a)** Hep-2 hücre hattında hücre canlılığının bar grafiği. **b)** **Sq1@F127** ile in vitro FDT aktivitesinin IC50 grafiği.

4.1.1 Sq1 ile PNIPAAm hidrojelı sentezi: Sq1@PNIPAAm

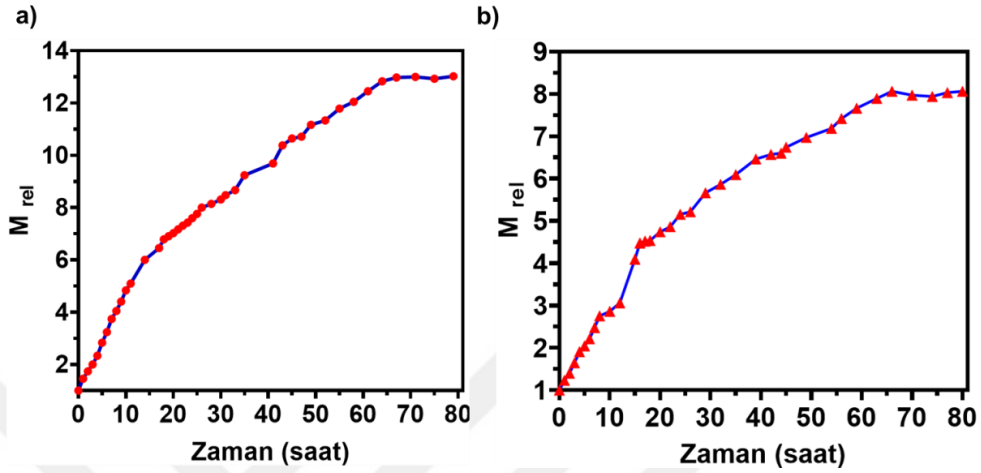
Skuarin boyasının birçok avantajı olduğu gibi dezavantajları da mevcuttur. Skuarin boyaları fizyolojik koşullarda topaklanma eğilimindedir ve bu sebeple aktivite kaybı aynı zamanda ışısız toksisite göstermektedir. Bu dezavantajların önüne geçmek için skuarin hidrojel ağ yapısına entegre edilir. Bu sayede skuarin boyası kovalent bağlarla monomer ile birleşerek tedavide topaklanma gerçekleşmeyeceği için aktivite kaybına ve ışısız ortamda toksisiteye sebep olmayacağı öngörülmektedir. Monomer olarak NIPAAm monomeri kullanılmıştır. PNIPAAm LCST özelliğine sahip olduğundan dolayı vücut sıcaklığında büzüşme özelliği gösteren bir maddedir ve bu sayede ilaç taşıyıcı olarak kullanımı oldukça yaygındır (Lanzalaco ve Armelin, 2017). Sq1 ve NIPAAm'i termal polimer başlatıcı olan AIBN ile bir araya getirerek hidrojel sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Sq1@PNIPAAm'ın moleküler yapısı.

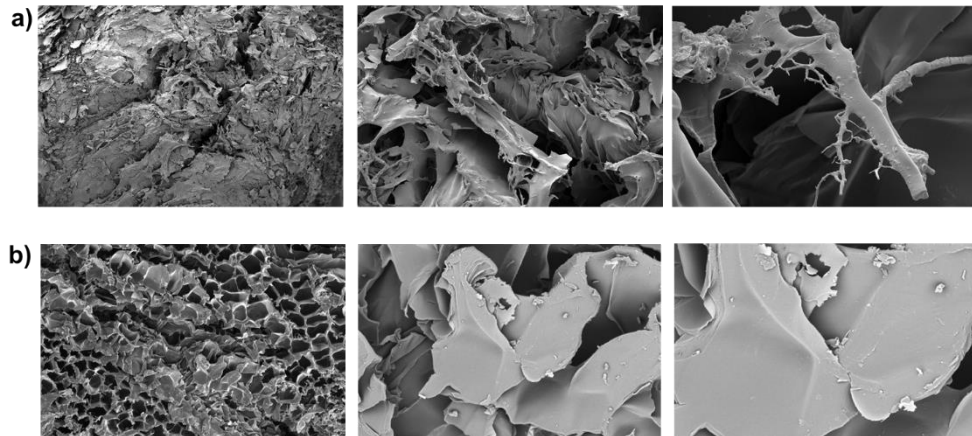
Bilindiği üzere hidrojellerin en büyük avantajları ve bilinen en belirgin özellikleri yapılarında su tutma kabiliyetleridir. Sentezlenen Sq1@PNIPAAm hidrojelini dört gün belirli aralıklarda suyunu değiştirerek kütle değişimi incelenmiştir. Hidrojinin ilk ağırlığının yaklaşık on üç katı kadar şiştiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.23). Kontrol grubu olarak literatürde var olan MBA çapraz bağlayıcısı kullanılarak bilinen bir hidrojel sentezlendi ve kütle değişimi incelenmiştir. Sonuçlar doğrultusunda Sq1@PNIPAAm hidrojelinin yapısında bulundurduğu uzun zincirli Sq1 boyası

sayesinde on üç kata kadar şişme yeteneği gösterirken **MBA@PNIPAAm** hidrojelini yaklaşık sekiz kat şişme yeteneği göstermiştir. **Sq1**'e oranla 1/10 mg MBA kullanılmış olmasına rağmen MBA yapısının **Sq1**'e kıyasla daha kısa ve küçük olması sebebiyle **MBA@PNIPAAm** hidrojelinin şişme yeteneği daha azdır.



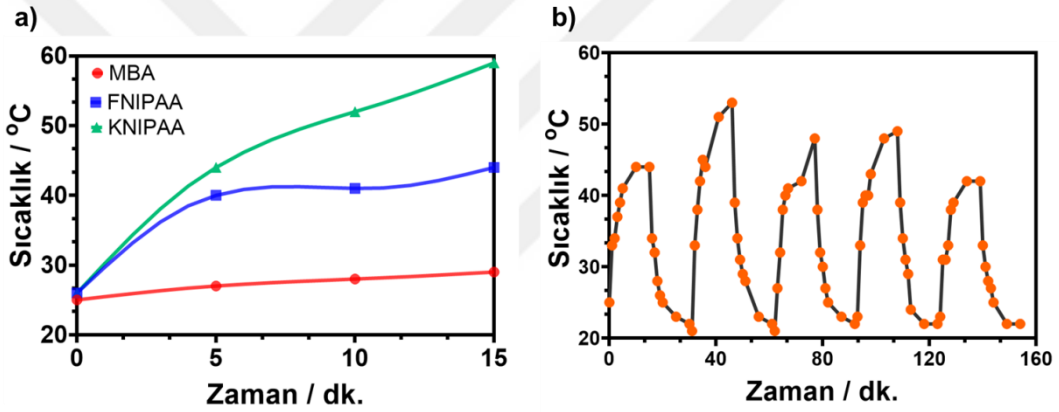
Şekil 4.23. Hidrojellerin su tutma kabiliyeti. **a)** **Sq1@PNIPAAm** hidrojelinin suda şişme süresine karşı çizilen nispi ağırlık grafiği (şişme oranı= m_{rel}). **b)** **MBA@pNIPAAm** hidrojelinin suda şişme süresine karşı çizilen nispi ağırlık grafiği (şişme oranı= m_{rel}).

Sq1@PNIPAAm hidrojelinin yapısını karakterize etmek için SEM analizi yapıldı. Literatürde bilinen **MBA@PNIPAAm** hidrojelinin SEM görüntüsü ile karşılaştırıldığında **Sq1@PNIPAAm** yapısının tamamen değiştiğini bal peteği görünümünün kaybolduğu gözlemlendi (Şekil 4.24). Yapılan analiz **Sq1** gibi uzun zincirli bir çapraz bağlayıcı ile hidrojel yapısının değiştiğini göstermektedir.



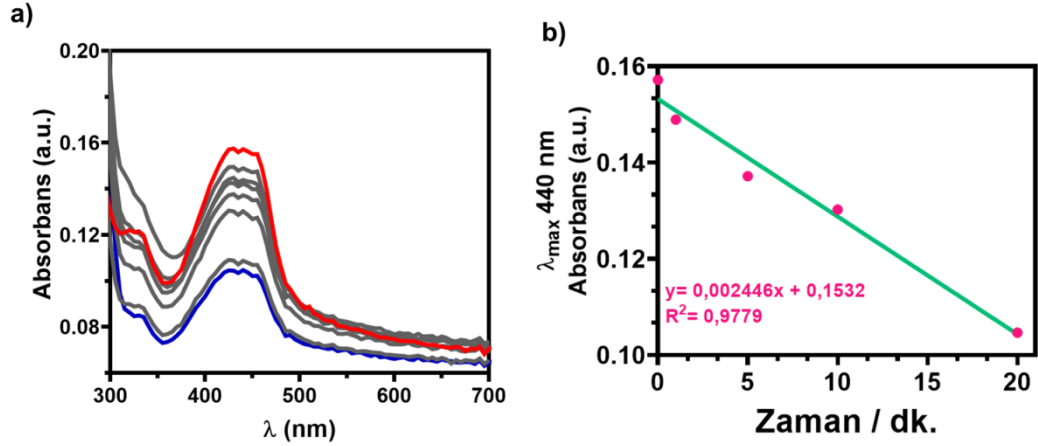
Şekil 4.24. Hidrojellerin SEM görüntüsü. **a)** **Sq1@PNIPAAm** hidrojelinin SEM görüntüsü. **b)** **MBA@pNIPAAm** hidrojelinin SEM görüntüsü (Sağdan sola: 10000x, 500x, 100x).

Sq1 (CH_3)₂OS: H_2O çözeltisinde ortam sıcaklığını 45 °C' ye arttırdığı Şekil 4.19'da belirtilmişti. **Sq1** sulu çözelti içerisinde zamanla çökmesi aktivite kaybına sebep olmaktadır. **Sq1**, F127 ile kapsülasyonu ile fizyolojik koşullarda çözünür hale gelerek ortam sıcaklığını 50-54 °C' ye kadar arttırdığı Şekil 4.18'de belirtilmiştir. **Sq1**'in çapraz bağlayıcı olarak kovalent bağlandığında potansiyel FTT yeteneğini kaybedip kaybetmediği incelendiğinde **Sq1@PNIPAAm**'in ortam sıcaklığını 55 °C' ye yükselttiği ve hipertermi oluşturma yeteneğini kaybetmediği gözlemlenmiştir (Şekil 4.25). Skuarin boyası hidrojele fiziksel adsorbe edildiğinde sıcaklığı 45 °C'ye çıktığı gözlemlendi fakat NIPAAm sıcaklık arttığında büzüştüğü için içinde ki boya ortama salındı ve suda çözünmediği için topaklandı ve aktivite kaybı yaşayarak düşük etki gösterdi. Bu sonuçlar çapraz bağlı hidrojel tasarımı ile geliştirilen yöntemin son derece etkili olduğunu göstermektedir.



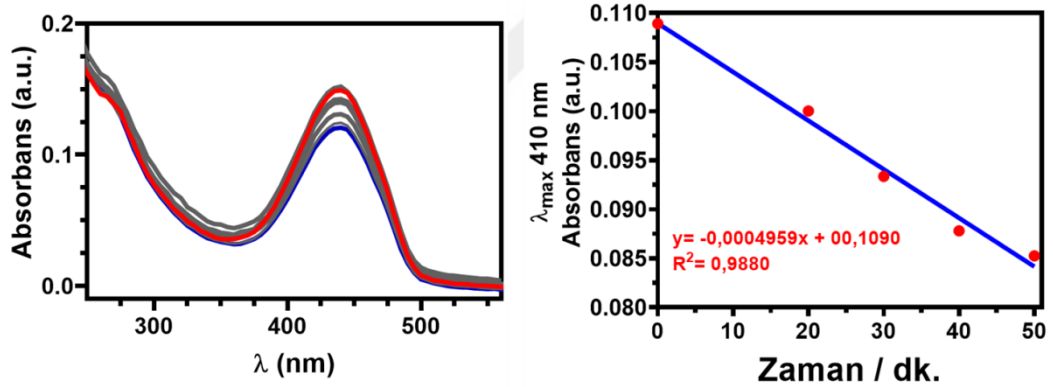
Şekil 4.25. Hidrojellerin hipertermi etkinliği. **a)** Hidrojellerin 808 nm lazer ile sıcaklığındaki değişim. ● **MBA@pNIPAAm**, ▲ **Sq1@PNIPAAm** ■ **Sq1** ile fiziksel adsorbe **MBA@pNIPAAm**; **b)** **Sq1@PNIPAAm** 808 nm lazer ile uyarılarak termal döngüsü üzerinden sıcaklık yükselmesi.

Sq1@PNIPAAm hidrojelini aynı zamanda **Sq1** sayesinde ROT üretme yeteneğine sahiptir. FDT etkinliği ROT tuzak molekülü kullanılarak test edilmiştir. **Sq1@PNIPAAm** su çözeltisinde kırmızı ışık ile ROT üretme kabiliyeti DPBF tuzak molekülü ile incelendiğinde zamanla DPBF soğurmasının azalması ortamda ROT üretildiğini kanıtlar niteliktedir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Sq1@PNIPAAm ROT üretme etkinliği. a) Sq1@PNIPAAm kırmızı ışık altında ROT üretmesi ile DPBF soğurmasının azalma spektrumu (DPBF $6,6 \cdot 10^{-6}$ M, $\lambda_{\max}$ 440nm). b) DPBF soğurmasının azalmasının çizgi grafiği.

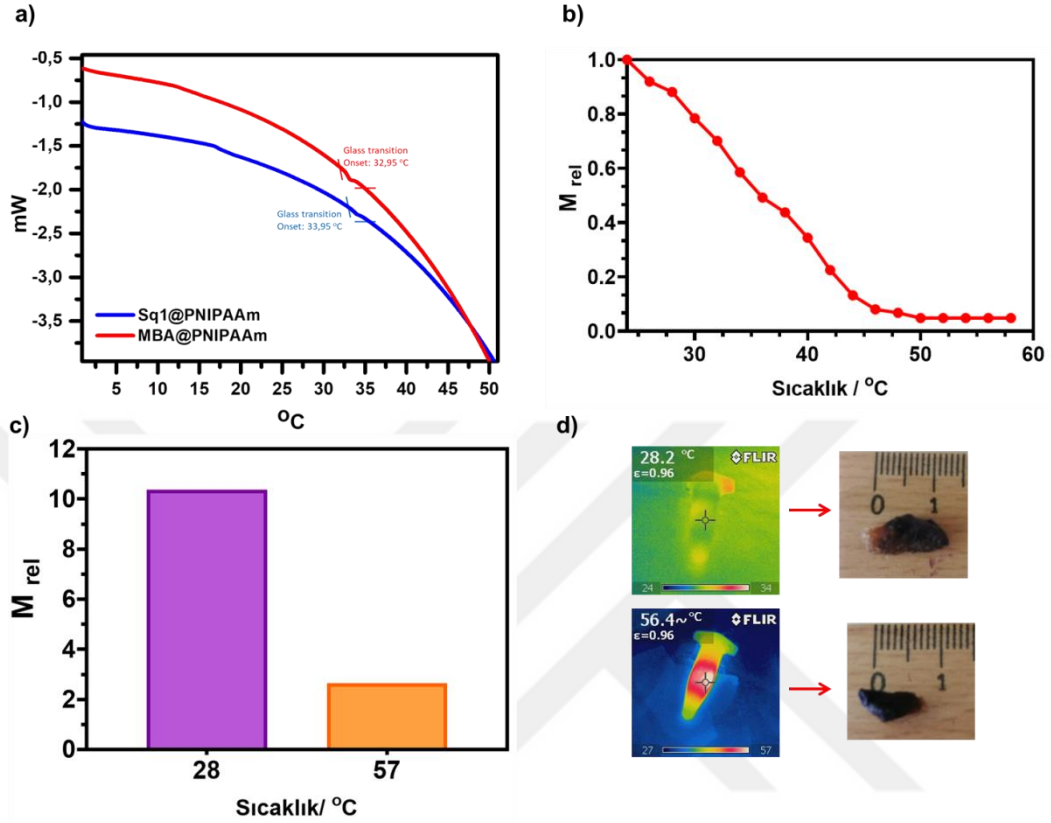
Sq1@PNIPAAm'nın ROT üretme kabiliyeti çapraz kontrol sağlamak için RNO tuzak molekülü ile incelendi. Kırmızı ışık ile uyarılan Sq1@PNIPAAm zamanla ROT üreterek RNO soğurmasında azalma oluşturduğu gözlemlendi (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Sq1@PNIPAAm ROT üretme etkinliği. a) Sq1@PNIPAAm kırmızı ışık altında ROT üretmesi ile RNO soğurmasının azalma spektrumu (RNO $4,5 \cdot 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}$ 410 nm, imidazol $6,4 \cdot 10^{-3}$ M). b) RNO soğurmasının azalmasının çizgi grafiği.

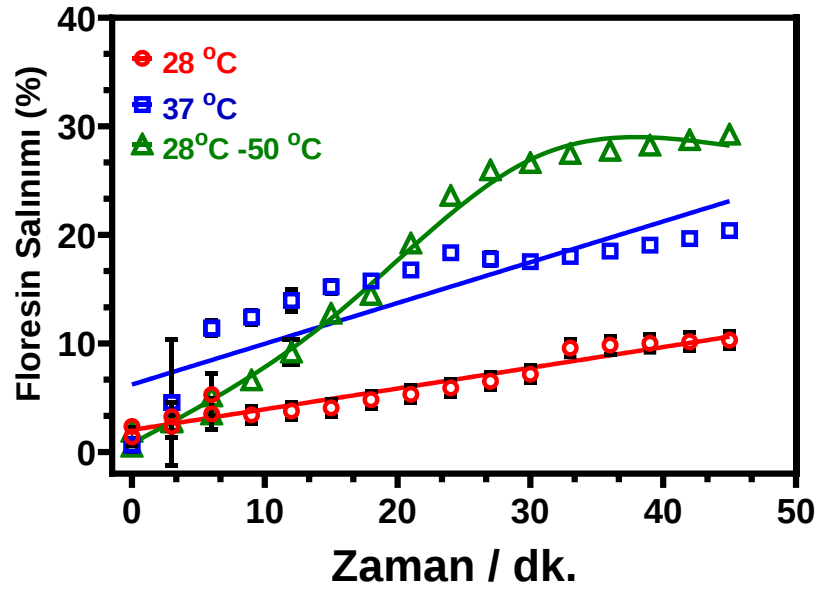
Sq1@PNIPAAm hidrojel NIPAAm monomeri sayesinde belli bir sıcaklıkta büzüşme yeteneğine sahiptir. Sq1@PNIPAAm LCST değeri DSC analizi ile 33 °C olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.28a). Sıcaklığa bağlı büzüşme yeteneğini incelemek için su çözeltisi içerisinde, oda sıcaklığından iki derece artışlara 58 °C'ye kadar hidrojin kütle değişikliği incelendiğinde vücut sıcaklığı olan 35-37 °C'de % 50 büzüşürken 48-50 °C'de tamamen büzüştüğü gözlemlendi (Şekil 4.28b). Sq1@PNIPAAm'in FTT yeteneği ile büzüşme yeteneği incelendi. Suda dengeye gelmiş hidrojel 808 nm lazer

ile ısıtıldığında ortam sıcaklığı 56 °C'ye yükselirken hidrojelün büzüştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 4.28d). Bu sayede vücut sıcaklığı ve FTT ile kontrol edilebilir ilaç taşıyıcı sistemler geliştirmek mümkündür.



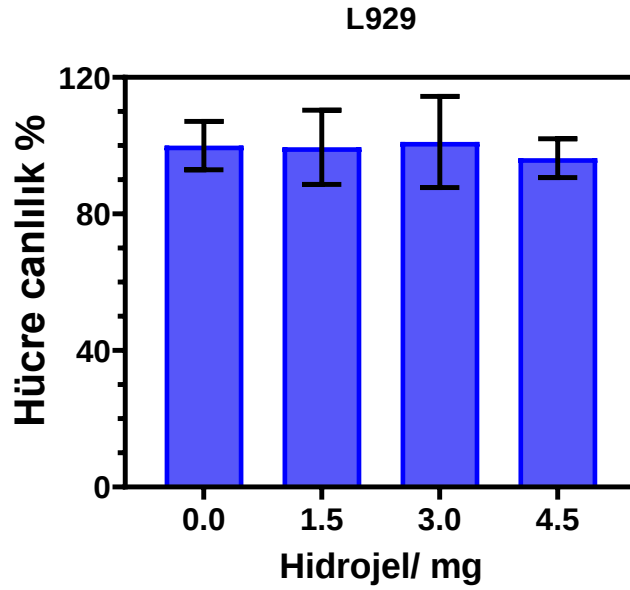
Şekil 4.28. Sq@pNIPAAm hidrojelinin sıcaklığa bağlı kütle değişimi. **a)** Sq@pNIPAAm hidrojelinin DSC analizi. **b)** Sq@pNIPAAm hidrojelinin su çözeltisinde sıcaklığa kütle değişim grafiği. **c)** Sq@pNIPAAm hidrojelinin 808 nm lazer ile sıcaklık artışına bağlı kütle değişimi. **d)** Sq@pNIPAAm hidrojelinin yüksek sıcaklıkta kütle değişiminin görseli.

Sq1@PNIPAAm hidrojelinin NIPAAm monomerinin LCST özelliği sayesinde büzüştüğü Şekil 4.27’de gösterilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda Sq1@PNIPAAm hidrojeline floresin sodyum tuzu emdirilmiştir. Floresin emdirilen hidrojel 28 °C, 37 °C ve oda sıcaklığından 50 °C’ye kademeli sıcaklık arttırılarak floresin salınımı incelenmiştir (Şekil 4.29). Sıcaklık arttıkça floresin salınım oranının arttığı gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda hidrojelün potansiyel ilaç taşıyıcı bir ajan olabileceği öngörülmektedir.



Şekil 4.29. Sq1@PNIPAAm hidrojelinin flöresin tuzu salınım grafiği.

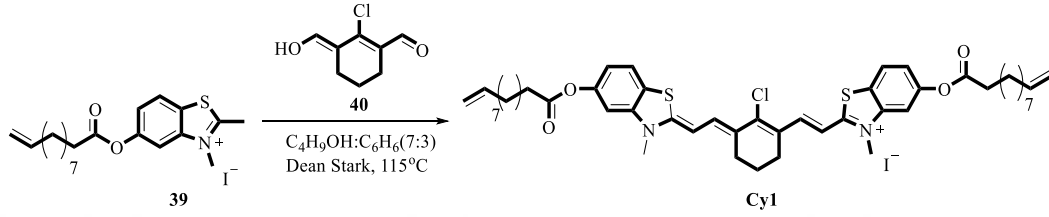
Sq1@PNIPAAm hidrojelinin NIPAAm monomeri biyoyumlu bir monomer olduğu bilinmektedir. Bu bilgi doğrultusunda L929 sağlıklı hücre hattında Sq1@PNIPAAm hidrojelinin sitotoksitesi incelenmiştir. Farklı miktardaki hidrojellerin MTT yöntemi ile hücre canlılığı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sq1@PNIPAAm hidrojelinin L929 sağlıklı hücre hattında toksik bir etki göstermediği saptanmıştır. Yapılan incelemeler doğrultusunda Şekil 4.30'de gösterildiği gibi hidrojel toksik bir etkisinin olmadığı ve biyoyumlu olduğu öngörülmektedir.



Şekil 4.30. Sq1@PNIPAAm hidrojelinin L929 sağlıklı hücre hattında sitotoksite testi.

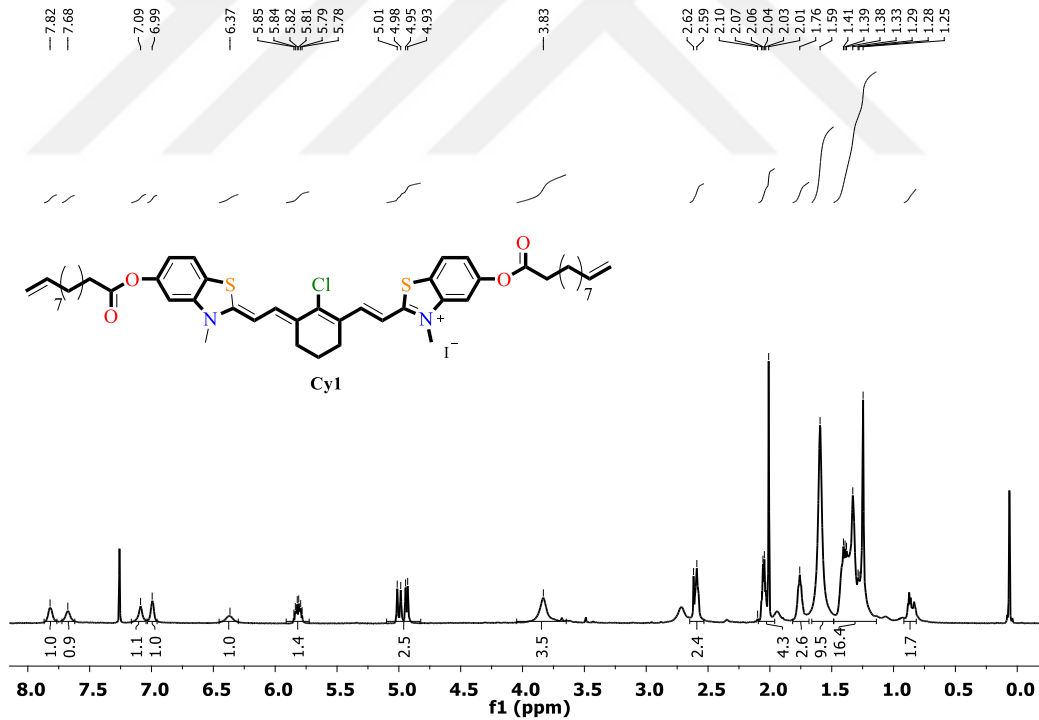
4.2 Hedef Yapı Cy1'in Sentezi

Hedef yapı **Cy1** NIR bölgede soğurma ve emisyon yapabilen heptametin siyanin boyası tasarlanıp sentezlenmiştir. **Cy1** üç aşamada sentezlenmiştir. Poli metil köprüsünde bulunan aldehit **40** literatürde bilinen yöntemler ile sentezlenmiştir (Reynolds ve Drexhage, 1977). Dean Stark tuzagında azeotropik çözücü karışımı, **40** ve **39** 115 °C'de kaynatılarak hedef molekül **Cy1** elde edilmiştir (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. Hedef yapı **Cy1**'in moleküler yapısı.

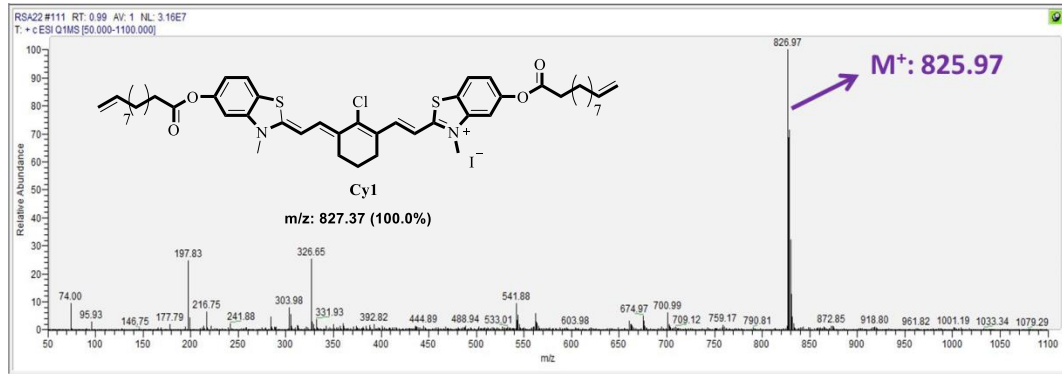
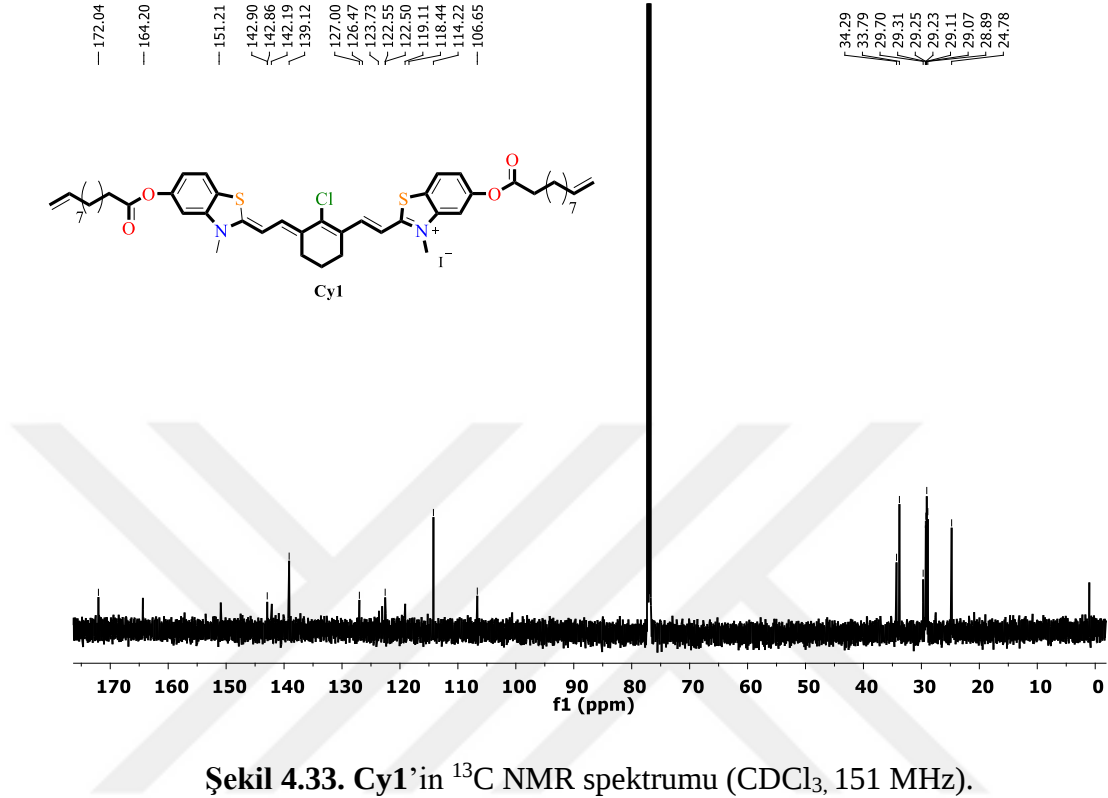
Hedef molekül **Cy1**'in aldehit yapısına bağlı protonun ^1H NMR spektrumu Şekil 4.32'de 6.39 ve 7.09 ppm'de gözlemlenmiştir.



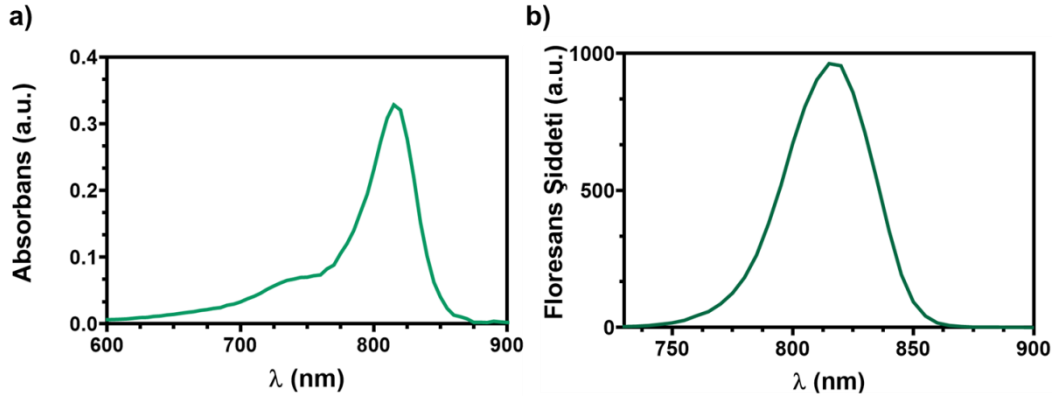
Şekil 4.32. **Cy1**'in ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 151 MHz).

Aynı zamanda **Cy1** ^{13}C NMR spektrumu (Şekil 4.33) ile yapıya ait karbon sinyalleri (172.04, 164.20, 151.21, 142.90, 142.86, 142.19, 142.12, 139.12, 127.00, 126.47, 123.73, 122.55, 122.50, 119.11, 118.44, 114.22, 106.65, 34.29, 33.79, 29.70, 29.31,

29.25, 29.11, 29.07, 28.89, 24.78) yapıyı desteklemektedir. **Cy1**'in hesaplanan kütle değeri M^+ :827,37 ile LC-MS spektrumundaki ölçülen (m/z) M^+ : 825,97 değeri yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.34).

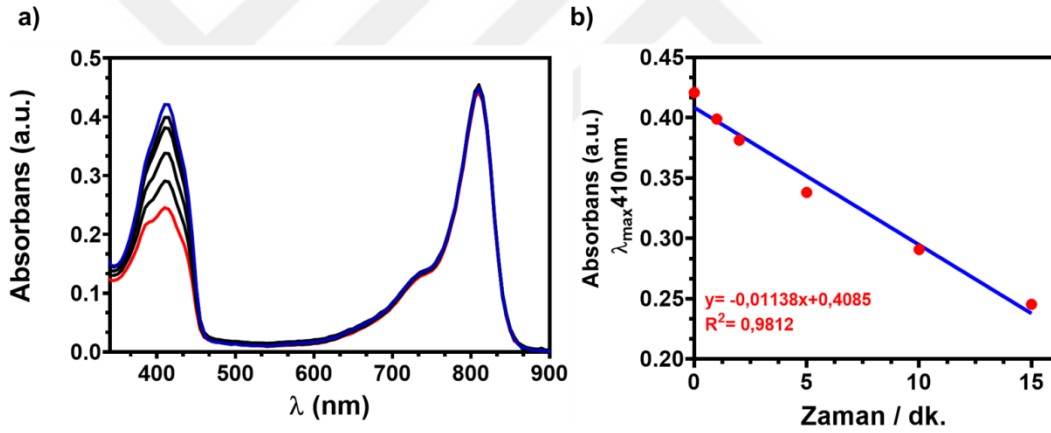


Hedef yapı **Cy1** molekülünün fotofiziksel özellikleri karakterize etmek için organik çözücü içerisinde soğurma ve emisyon kabiliyeti incelenmiştir. **Cy1** soğurmasının $\lambda_{\text{max}} = 814 \text{ nm}$, emisyonunun ise $\lambda_{\text{max}} = 825 \text{ nm}$ olduğu Şekil 4.35'de gösterilmektedir. **Cy1**'in fototerapötik pencerede ve NIR bölgede soğurma yaptığını kanıtlar niteliktedir.



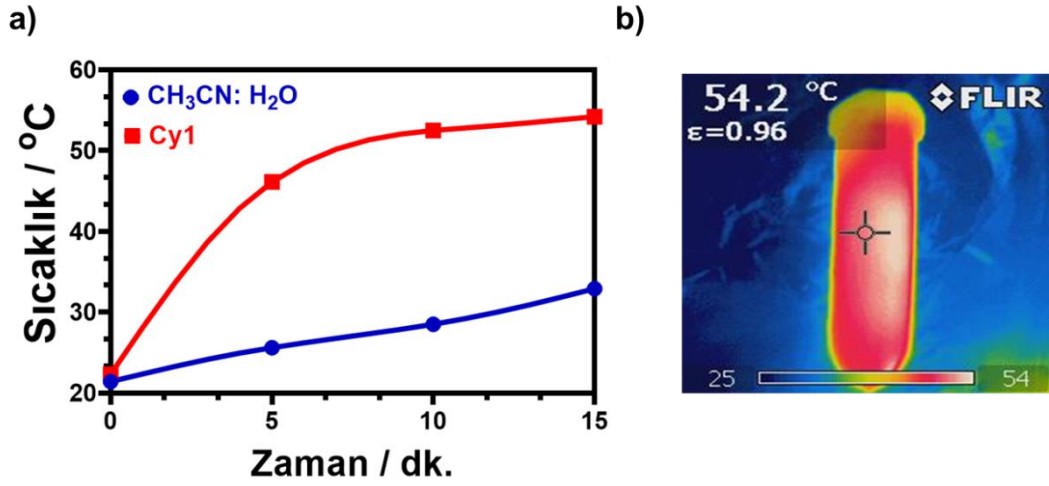
Şekil 4.35. Cy1 soğurma ve emisyon spektrumu. a) Cy1 (5×10^{-6} M, MeOH, $\lambda_{\max} = 814$ nm) soğurma spektrumu, b) Cy1 (8.33×10^{-6} M, MeOH, $\lambda_{\max} = 825$ nm) emisyon spektrumu.

Cy1 hedef yapısının kırmızı ışık ile ROT üretme kabiliyeti DPBF tuzak molekülü kullanılarak incelenmiştir (Şekil 4.36). Ortamda oluşan ROT DPBF'in moleküler yapısını bozar ve soğurması zamanla azalır.



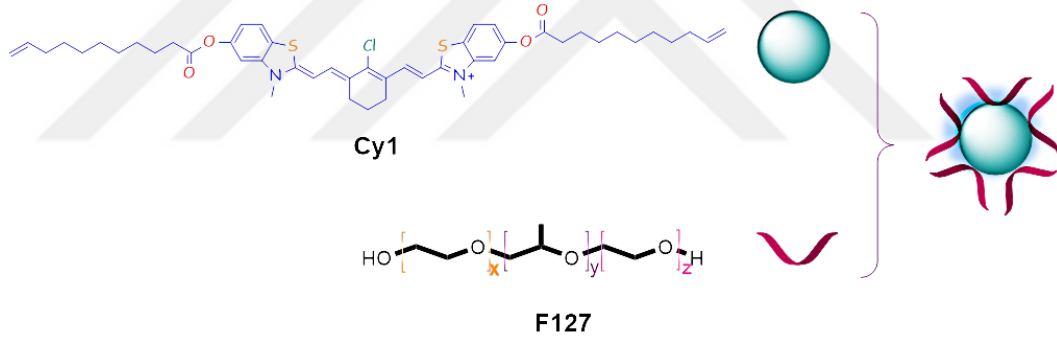
Şekil 4.36. Cy1'in ROT üretme etkinliği. a) Cy1'in tetrahidrofuran içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince DPBF soğurmasında meydana gelen değişimler (Cy1'in 6.66×10^{-9} M, $\lambda_{\max} 810$ nm, DPBF 3.33×10^{-6} M $\lambda_{\max} 410$ nm). b) DPBF soğurmasının azalma grafiği

Cy1 molekülü aynı anda hem FTT hem FDT yapabilen ikili terapi ajanı olabileceği öngörülmektedir. Bu sebeple hipertermi etkinliği $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ ortamında 808 nm lazer ile incelenmiştir (Şekil 4.37). Sonuç olarak ortam sıcaklığının 54°C ' ye yükseldiği gözlemlenmiştir.



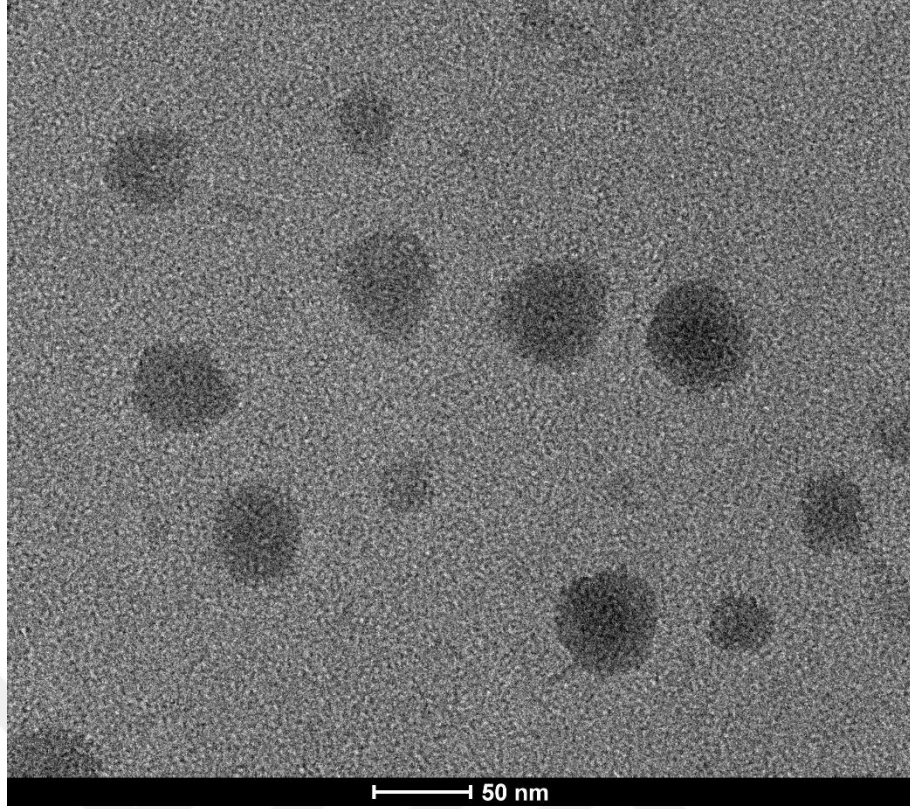
Şekil 4.37. Cy1'in hipertermi etkinliği. a) Cy1'in 808 nm lazer ile termal etkinliğinin parabol grafiği. b) Eş zamanlı termal görüntüsü.

Cy1 fizyolojik koşullarda topaklanma eğiliminde olduğu için F127 ile kapsüllenmiştir (Şekil 4.38). F127 poloksameri amfifilik olduğu için hidrofobik bölge Cy1'in etrafını sararken hidrofilik uçları ise suda çözünür olmasını sağlar.



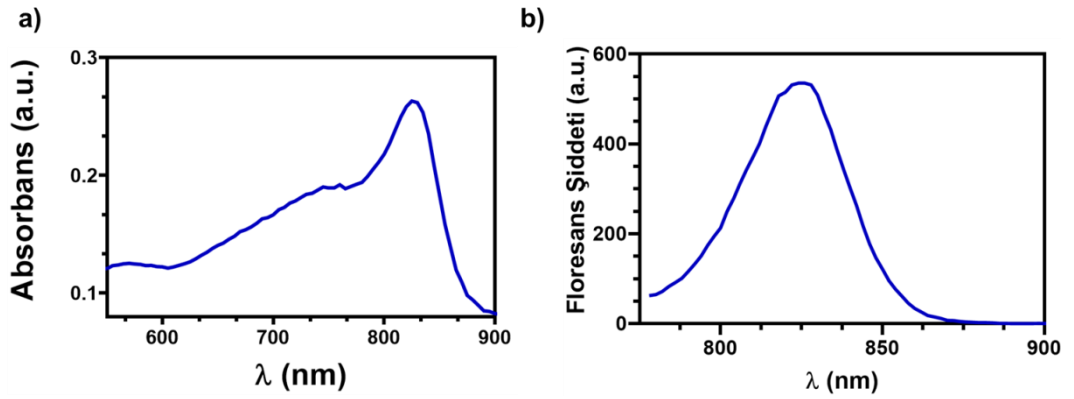
Şekil 4.38. Cy1'in F127 ile kapsülasyonu; Cy1@F127.

Cy1@F127'nin boyutunu karakterize etmek için TEM analizi yapılmıştır. Boyutunun yaklaşık 50 nm olması nanopartikül halinde olduğunu göstermektedir (Şekil 4.39).



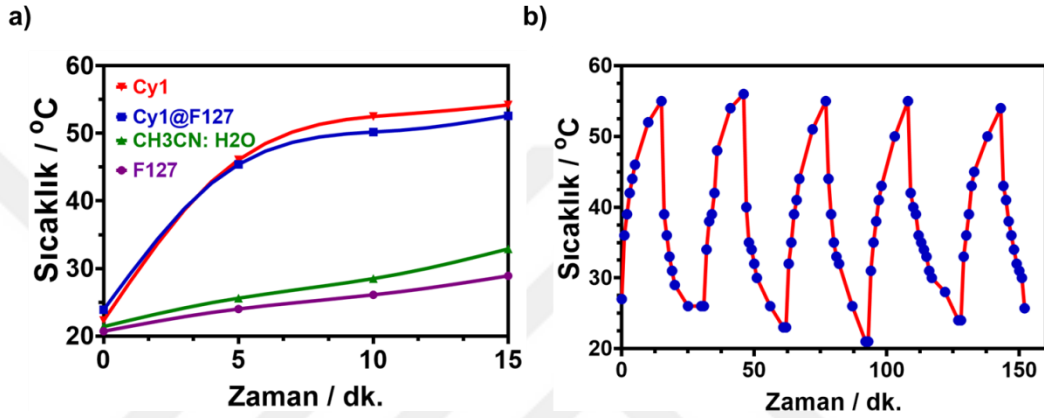
Şekil 4.39. Cy@NIPAAm TEM görüntüsü.

Cy1@F127'nin HEPES ortamında soğurma ve emisyon kabiliyeti incelenmiştir. Cy1@F127'in λ_{max} 824 nm soğurma ve λ_{max} 826 nm emisyon yapabildiği ve NIR bölge içerisinde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.40).



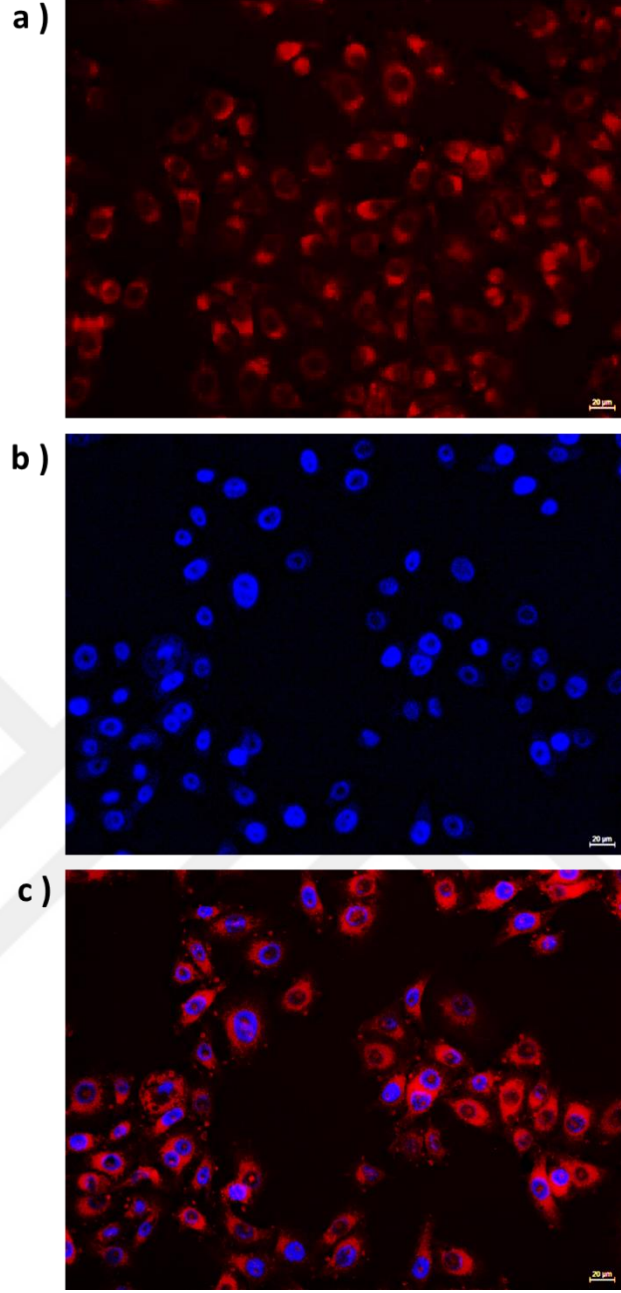
Şekil 4.40. Cy1@F127 soğurma ve emisyon spektrumu. a) Cy1@F127 ($4,04 \times 10^{-6}$ M, λ_{max} 824 nm) bileşiklerinin UV-Vis soğurma b) Cy1 ($4,04 \times 10^{-6}$ M, λ_{max} 826 nm) emisyon spektrumları incelenmiştir. (HEPES 0,01 M ve % 10 TritonX çözeltisi).

Cy1@F127'nin hipertermi etkinliği incelenmiştir. Su çözeltisinde 808 nm lazer ışınlanmasıyla ortam sıcaklığını 55 °C'ye yükselttiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.41a). **Cy1@F127**'in 808 nm lazerle ışık varlığında kısa zamanda ortam sıcaklığını yükselttiği ve ışık kesildiğinde oda sıcaklığına düşme hızı ve bu beş kez tekrar edildiğinde etkinlik kaybına uğramadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.41b). Kontrol grubu **Cy1** olmadan CH₃CN: H₂O ve F127: H₂O çözeltisinin 808 nm lazer ile hipertermi oluşturmadığı gözlemlenmiştir bu **Cy1**'in hipertermi oluşturduğunu kanıtlar niteliktedir.



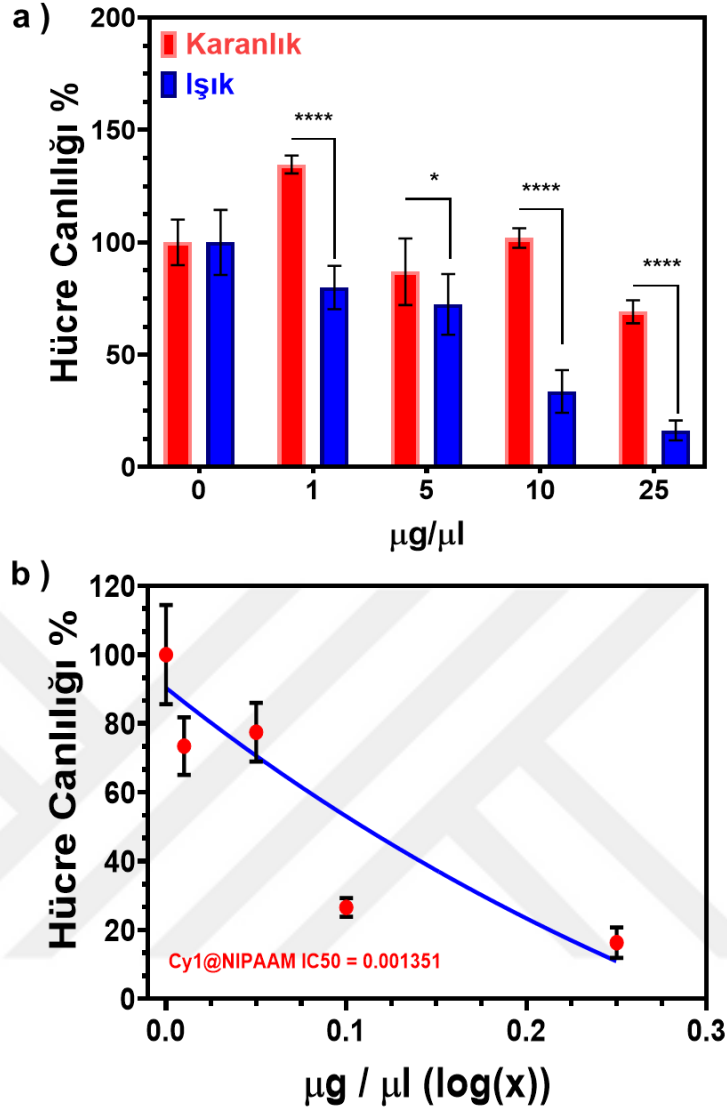
Şekil 4.41. **Cy1**'in farklı ortamda hipertermi etkinliği. a) 808 nm lazer ile sıcaklığındaki değişim. ■ **Cy1@F127**, ▼ **Cy1** ACN: Su ♦ F127, ▲ ACN: Su. b) **Cy1@F127** 808 nm lazer ile termal döngüsü.

Cy1@F127 organik çözücü ortamında ve HEPES ortamında güçlü emisyon sergilediği belirtilmişti. Bu sebeple in vitro ortamda floresans hücre görüntüleri incelendi. Hep-2 hücre hattı DAPI ile **Cy1@F127** ile boyandı ve hücre görüntüleri birleştirildi. **Cy1@F127**'in kanser hücresinde NIR bölgede etkin görüntüleme yapabildiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.42).



Şekil 4.42. 24 saat süreyle inkübasyondan sonra Hep-2 hücrelerinin floresan görüntüleri. **a)** Cyl@F127 inkübasyonundan sonra Hep-2 hücrelerinin floresan görüntüleri. **b)** mavi renkli DAPI ile boyanmış hücre çekirdekleri. **c)** DAPI ve Cy1@F127 floresans görüntülerinin birleştirilmesi.

Cy1@F127'in in vitro ROT üretme kabiliyeti Hep-2 kanser hücre hattında MTT yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 4.43). Cy1@F127 kırmızı ışık ile uyarıldığında 10 µg/µl konsantrasyonunda % 70 hücre ölümünü sağladığı tespit edilmiştir.

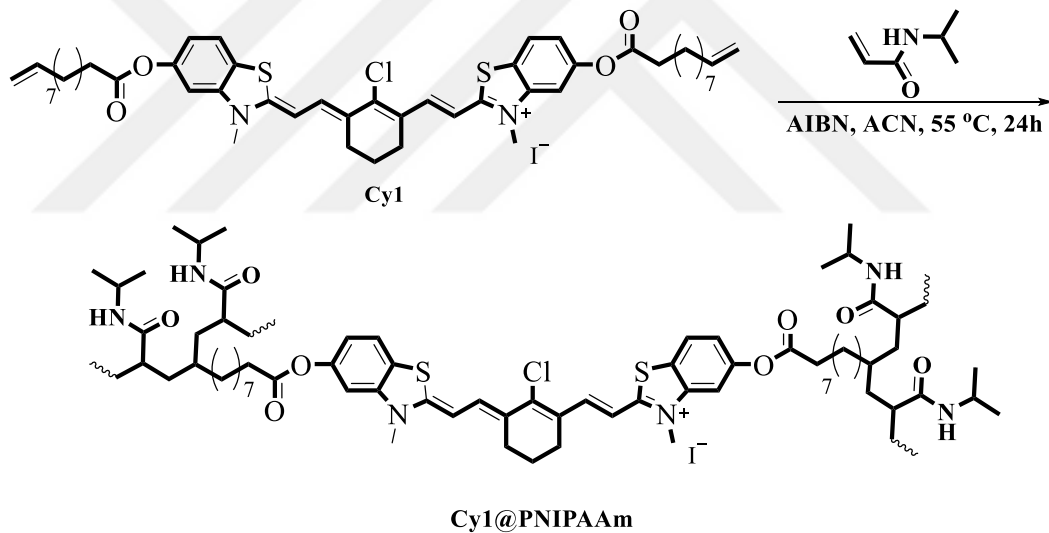


Şekil 4.43. Cy1@F127'in in vitro FDT aktivitesi. **a)** Hep-2 hücrelerinin Cy1@F127 ile in vitro FDT aktivitesi. **b)** Cy1@F127 ile in vitro FDT aktivitesinin IC50 grafiği.

Yapılan incelemeler sonucu Cy1 boyasının NIR bölgede soğurma ve emisyon yapabildiği. Farklı ışık ile uyarıldığında FDT ve FTT yapabildiği belirlenmiştir. Bu sayede kontrol edilebilir alternatif ikili terapi ajanı olabileceği öngörülmektedir. İlerleyen çalışmalarda Cy1, kovalent bağ ile hidrojele entegre edilerek terapötik hidrojel sentezi gerçekleştirilmesi ve gerekli karakterizasyonların yapılması hedeflenmektedir.

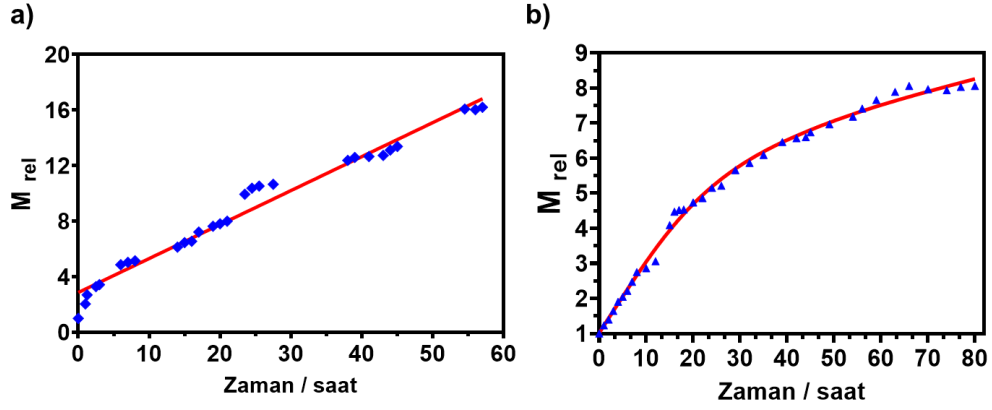
4.2.1 Cy1 ile PNIPAAm hidrojeni sentezi: Cy1@PNIPAAm

Siyanin boyası terapi çalışmalarında birçok avantaja sahiptir. Siyanin boyasının birtakım dezavantajları sebebiyle terapi çalışmalarında dezavantaj olmaktadır. Siyanin boyaları fizyolojik koşullarda topaklanma eğilimindedir ve bu sebeple aktivite kaybı aynı zamanda ışısız toksisite göstermektedir. Bu dezavantajların önüne geçmek için NIPAAm gibi biyoyumlu bir monomer ile bir araya getirilerek topaklanma ve toksisitesinin önüne geçmek hedeflenmektedir. Siyanin boyasını hidrojel ağ yapısına çapraz bağlayıcı olarak entegre edilir (Şekil 4.44). Bu sayede siyanin boyası kovalent bağlarla hidrojele entegre edildiği için hidrojelden sızma yapmaz ve tek başına gösterdiği dezavantajların önüne geçilmiş olur. Monomer olarak NIPAAm seçilmiştir. NIPAAm monomeri literatürde biyoyumluluğu kanıtlanmıştır ve aynı zamanda vücut sıcaklığında büzüşme özelliği gösteren bir monomerdur ve bu sayede ilaç taşıyıcı olarak kullanımı oldukça yaygındır.



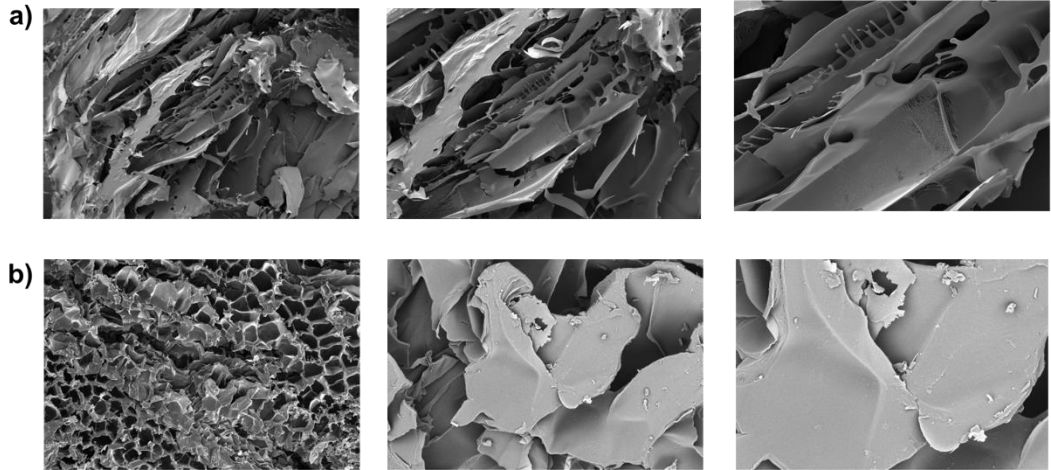
Şekil 4.44. Cy1@PNIPAAm’in moleküler yapısı.

Cy1@PNIPAAm hidrojelinin su tutma kabiliyeti incelenmiştir. Belirli aralıklarla suyu değiştirilir ve tartım yapılır. Yapılan ölçümler sonucunda **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin 17 kat şiştiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.45). Literatürde bilinen ve kontrol grubu olan **MBA@PNIPAAm** hidrojel ile karşılaştırıldığında yaklaşık 10 kat daha fazla şiştiği gözlemlenmiştir. **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin ağ yapısında ki çapraz bağlayıcının uzun zincirleri sayesinde şişme katsayısının arttığı öngörülmektedir.



Şekil 4.45. **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin suda şişme süresine karşı çizilen nispi ağırlık grafiği (şişme oranı= m_{rel}). **b) MBA@pNIPAAm** hidrojelinin suda şişme süresine karşı çizilen nispi ağırlık grafiği (şişme oranı= m_{rel}).

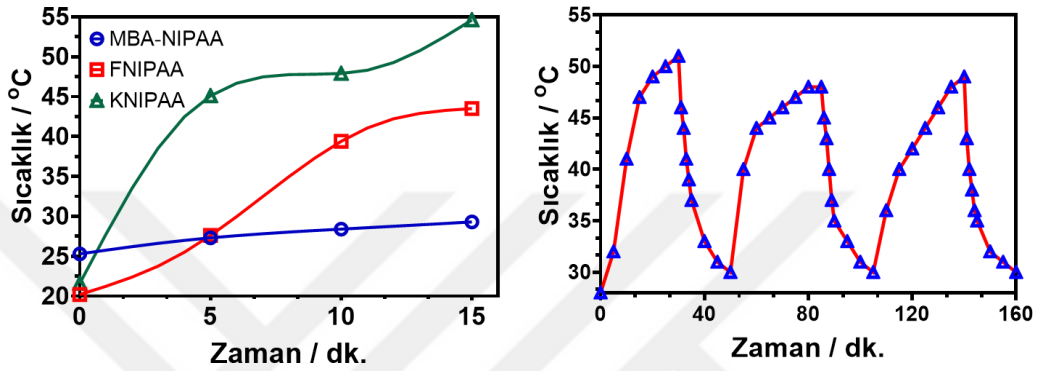
Cy1@PNIPAAm hidrojelinin morfolojik yapısını karakterize etmek için SEM analizi yapılmıştır. Şişmesini tamamlayan hidrojel liyofilizatör ile kurutulmuştur ve daha sonra sıvı azottan geçirilerek SEM görüntüsü elde edilmiştir (Şekil 4.46). Yapılan analiz sonucunda kontrol grubu olan **MBA@PNIPAAm** hidrojeline göre bal peteği görünümünün kaybolduğu daha düzlemsel yapıların oluştuğu gözlemlenmektedir. Çapraz bağlayıcı olan **Cy1**'in uzun karbon zincirlerinin morfolojik yapısını değiştirdiği öngörülmektedir.



Şekil 4.46. Hidrojellerin SEM görüntüsü. **a) Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin SEM görüntüsü. **b) MBA@pNIPAAm** hidrojelinin SEM görüntüsü (Sağdan sola: 1000x, 500x, 100x).

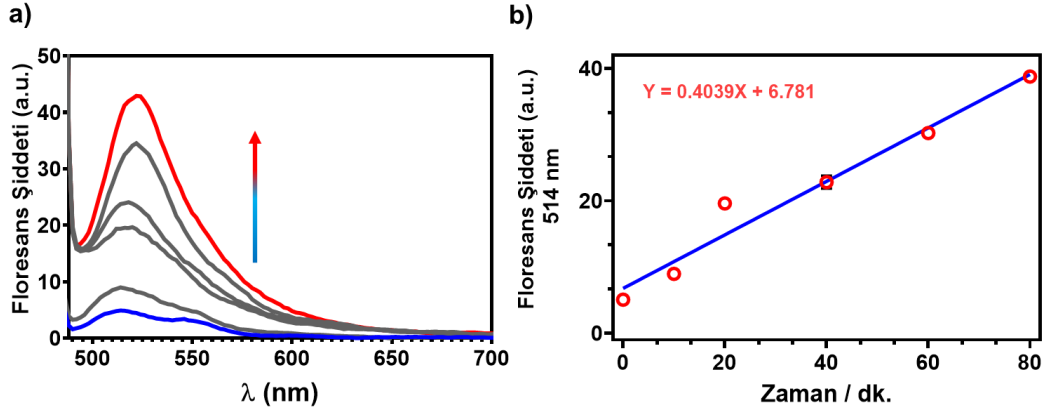
Cy1@PNIPAAm hidrojelinin ortam sıcaklığını arttırma yeteneği incelenmiştir. Kontrol grubu olan **MBA@PNIPAAm** hidrojeli ortam sıcaklığını arttırmadığı **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin ortam sıcaklığını 50-55 °C'ye çıkarttığı incelenmiştir

(Şekil 4.47a). Fiziksel emdirme yöntemi ile **Cy1**'in adsorbe edilmesiyle elde edilen hidrojinin ortam sıcaklığını 40-45 °C'ye yükselttiği gözlemlenmiştir. **Cy1** hidrojelden sızdığı için su ortamında degrade olur ve ortam sıcaklığını artırma yeteneğinin azaldığı öngörülmektedir. **Cy1@PNIPAAm** hidrojinin ortam sıcaklığını artırma yeteneğinin sürekliliğini incelemek için üç defa arka arkaya tekrar edilmiştir (Şekil 4.47b). 808 nm lazer ile kısa zamanda sıcaklık artarken lazer kapatıldığında kısa zamanda ortam sıcaklığına döndüğü gözlemlenmiştir.



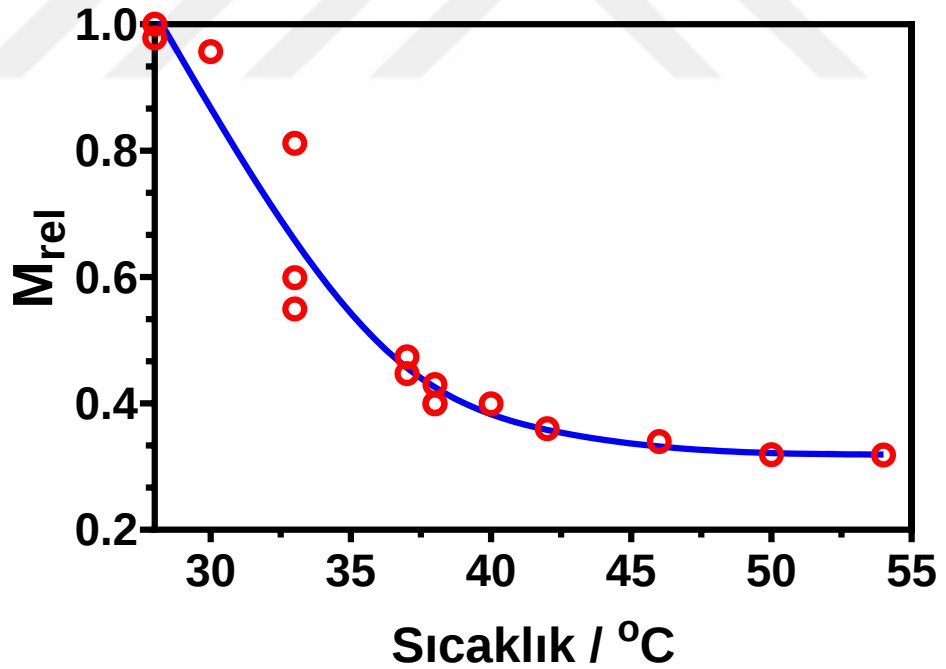
Şekil 4.47. Hidrojellerin 808 nm lazer ile sıcaklığındaki değişim. ○ **MBA@pNIPAAm**, Δ **Cy1@PNIPAAm** □ **Cy1** ile fiziksel adsorbe **MBA@pNIPAAm**; b) **Cy1@PNIPAAm** 808 nm lazer ile uyarılarak termal döngüsü üzerinden sıcaklık yükselmesi.

Cy1 ajanının FDT yeteneğinin olduğu Şekil 4.36'da gösterilmiştir. Hidrojel ağ yapısına entegre edildikten sonra yeteneğini koruduğunu incelemek için 2,7-dichlorofluorescein diasetat (DCHF) ROT tuzağı kullanılmıştır. DCHF ortamda floresans değildir ortamda oluşan ROT asetat uçları ile etkileşime girer ve bağ yapısını bozar bu sayede DCHF floresans özelliğe sahip olur. Şekil 4.48'de incelendiği gibi kırmızı ışık ile uyarılan hidrojel ile zamanla DCHF floresans şiddeti artar. Yapılan incelemeler sonucunda **Cy1@PNIPAAm** hidrojinin ortamda ROT üretme kabiliyeti vardır ve potansiyel FDT ajanı olabileceği öngörülmektedir.



Şekil 4.48. Cy1@PNIPAAm kırmızı ışık altında ROT üretmesi ile DCHF soğurmasının azalma spektrumu (DCHF $6,6 \cdot 10^{-6}$ M, $\lambda_{\max}$ 414nm). b) DCHF soğurmasının azalmasının çizgi grafiği.

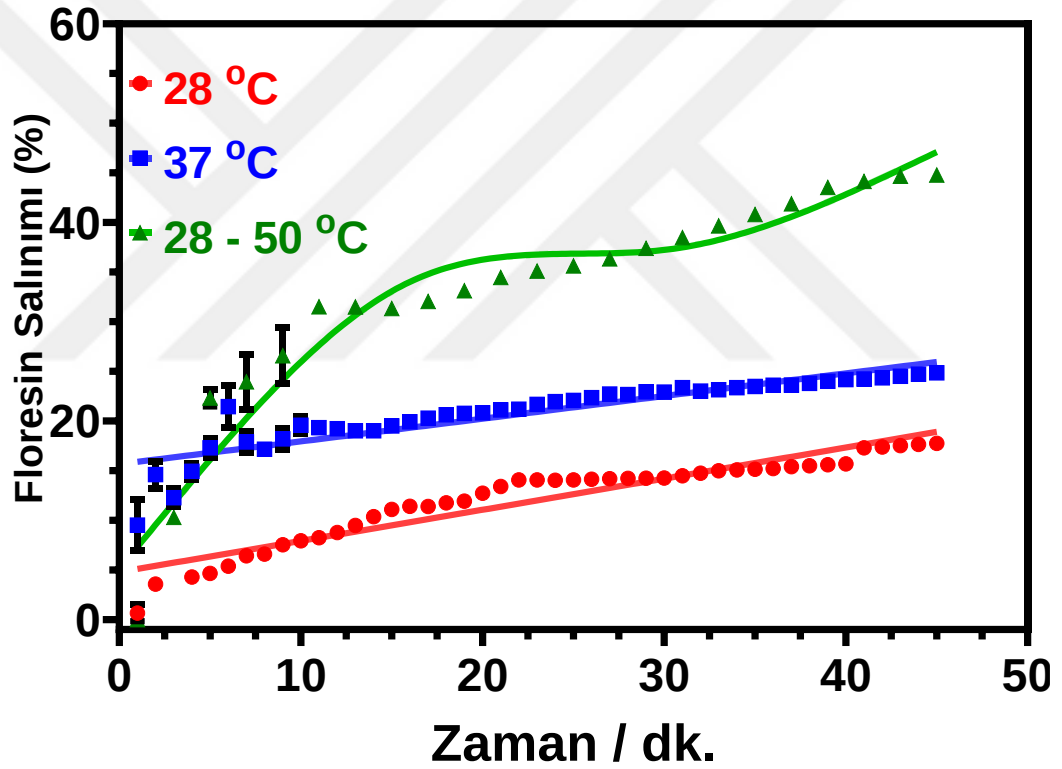
Hidrojel ağ yapısında kullanılan PNIPAAm'ın monomerinin LCST değerinin 37°C olduğu literatürde bilinmektedir. Bu bilgi doğrultusunda kademeli olarak sıcaklık artırılarak hidrojinin kütle değişimi incelenmiştir. Sıcaklık 37°C olduğunda yaklaşık % 50 kütle kaybı gözlemlenirken ortam sıcaklığı 50°C 'ye yaklaşırken büzüşme oranının arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.49).



Şekil 4.49. Cy1@pNIPAAm hidrojinin su çözeltisinde sıcaklığa kütle değişim grafiği.

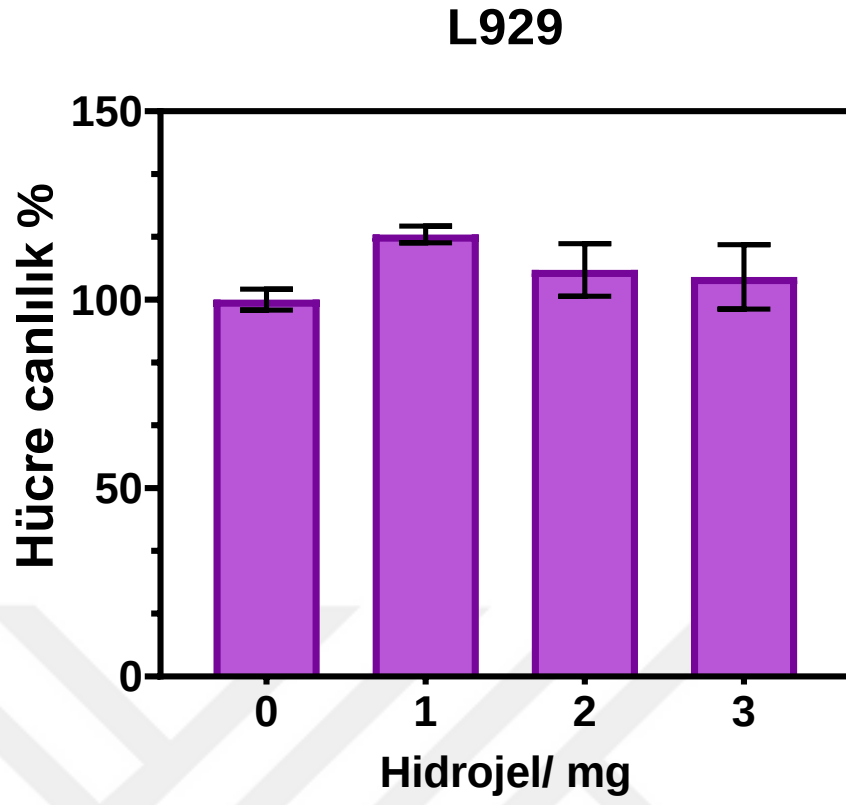
Cy1@PNIPAAm hidrojinin NIPAAm monomerinin LCST özelliği sayesinde büzüştüğü Şekil 4.49'da gösterilmiştir. PNIPAAm polimerinin LCST değerinin 35-37

°C olduğu literatürde bilinmektedir. Aynı zamanda **Cy1** boyasının ortam sıcaklığı artırma yeteneği sayesinde potansiyel bir FTT ajanı olabileceği bilinmektedir. Bu sebeple **Cy1@PNIPAAm** hidrojeline flöresin sodyum tuzu fiziksel emdirme yöntemi kullanılarak entegre edildi. Daha sonra farklı sıcaklıklarda flöresin salınımı incelendi. **Cy1@PNIPAAm**; sabit oda sıcaklığında, sabit 37 °C’de ve 28-50 °C aralığında sıcaklık kademeli arttırılarak flöresin salınımı incelendi. **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin PNIPAAm polimerinin LCST özelliği sayesinde 37 °C ‘de % 30 floresin salınımı gerçekleşirken, **Cy1**’in FTT etkinliği sayesinde sıcaklık 50 °C’ye çıktığında % 50’ ye yakın flöresin salınımı gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu sayede Şekil 4.50’de gösterildiği gibi **Cy1**’den gelen FTT yeteneği sayesinde ve PNIPAAm LCST değeri sayesinde ilaç taşıyıcı ajan olarak kullanılabileceği öngörülmektedir.



Şekil 4.50. **Cy1@PNIPAAm** floresin sodyum tuzu salınımı.

NIPAAm monomerinin literatürde yapılan çalışmalar doğrultusunda biyoyumlu olduğu bilinmektedir. **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin L929 hücre hattında toksisitesi incelenmiştir. MTT yöntemi kullanılarak hücre canlılığı incelendiğinde Şekil 4.51’de gösterildiği gibi biyoyumlu olduğu tespit edilmiştir.

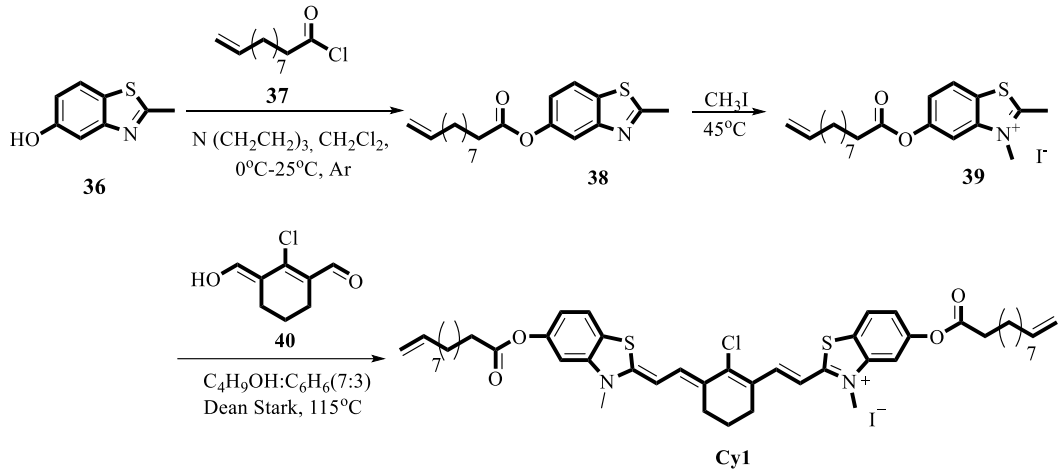


Şekil 4.51. Cy1@PNIPAAm hidrojelinin L929 sağlıklı hücre hattında sitotoksisite testi.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Fototerapötik tedavinin klinikte kullanılan birçok ajanı mevcuttur. Bu ajanların avantajları olduğu kadar dezavantajları da bulunmaktadır. FDT’de kullanılan ilaçlar kullanılan ışık kaynağı sebebiyle fototoksosite oluşturur, fizyolojik koşullarda topaklanmasıyla aktivite kaybına uğrar ve ışıksız toksisite göstererek hastalarda yan etki oluşturur. Literatürde bu gibi dezavantajların üstesinden gelmek için siyanin ve skuarin gibi terapötik boyalar tasarlanıp sentezlenmiştir. Bu tez çalışması kapsamında öncelikle kullanılan ışığın fototoksitesini minimize etmek için kırmızı bölgede fototerapötik pencere ile uyumlu soğurma ve emisyon yapabilen fotoduyarlastırıcılar **Cy1** ve **Sq1** tasarlanıp sentezlenmiştir.

NIR bölgede ve fototerapötik pencerede soğurma yapabilecek siyanin yapısı **Cy1** tasarlanıp sentezlendi. Hedef yapı **Cy1** Şekil 5.1’de gösterildiği gibi üç farklı reaksiyon basamağı ile elde edildi. Polimerleşme ünitesi ile ticari indol **36** bir araya getirildi. Daha sonra indol **38** iyodometan ile kaynatıldı ve azot metillendi. Hedef yapı **Cy1** sentezi için **39** ve **40** Dean Stark tuzağı kullanılarak 115 °C’de 8 saat kaynatılarak elde edildi. **Cy1** yapısı ¹H NMR, ¹³C NMR ve LC-MS ile karakterize edildi. **Cy1**’in fotofiziksel özellikleri soğurma ve emisyon spektrumu kullanılarak aydınlatıldı.

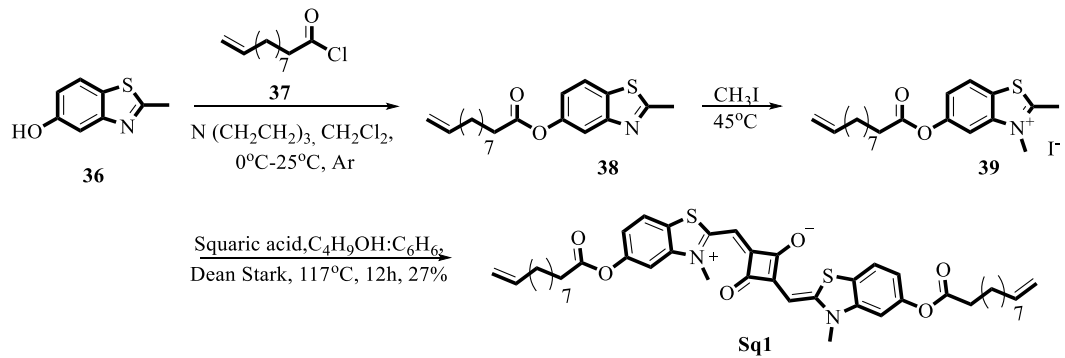


Şekil 5.1. Hedef yapı **Cy1** genel sentez şeması.

Cy1 organik çözücü ve HEPES ortamında soğurma ve emisyon özelliği incelendi. NIR bölgede soğurma ve emisyon yaptığı belirlenen **Cy1** kimyasal testler kullanılarak FDT ve FTT etkinliği incelendi. ROT üretme kabiliyeti DPBF tuzak molekülü kullanılarak tespit edildi. Organik çözücüde ortamında 808 nm lazer kullanılarak FTT etkinliği

incelendiğinde ortam sıcaklığını 57 °C'ye yükselttiği belirlendi. Fizyolojik koşullarda topaklanmakta olan **Cy1**, F127 poloksameri ile kapsüllendi. **Cy1@F127** ile su çözücüsünde 808 nm lazer ile sıcaklık yükselme hızı ve ışık kapatıldığında oda sıcaklığına düşme hızı incelendi. Kısa zamanda sıcaklığın arttığı ve kısa zamanda oda sıcaklığına döndüğü belirlendi ve bu beş kez tekrar edildiğinde etkinlik kaybına uğramadığı belirlendi. Kimyasal testlerde yapılan incelemeler olumlu sonuçlar verdiği için in vitro ortamda Hep-2 hücre hattında floresans görüntüleme ve FDT kabiliyeti incelendi. NIR bölgede güçlü emisyon yapan **Cy1@F127** molekülü ile inkübe edilen Hep-2 hücrelerinde kırmızı bölgede floresans görüntü elde edildi. **Cy1@F127** ile inkübe edilen Hep-2 hücreleri kırmızı ışık ile uyarıldığında % 80 hücre ölümü gözlemlendi. Yapılan incelemeler sonucunda ikili terapilerde kullanabilecek yeni bir ajan olabileceği öngörülmektedir.

Hedef yapı **Sq1** sentezi Şekil 5.2'de gösterildiği gibi üç basamakta gerçekleştirildi. **38** için polimerleşme ünitesi undekanoil **37** ve **36** kuru CH_2Cl karışımında 24 saat oda sıcaklığında karıştırılarak elde edildi. **38** iyodometan ile kaynatılarak **39** elde edildi. Hedef yapı **Sq1** için **39** ve skuarik asit dean stark tuzağında azeotropik çözücü karışımı ile 5 saat 117 °C'de kaynatılarak elde edildi. Her üç reaksiyon ile elde edilen yapılar ^1H NMR, ^{13}C NMR ve LC-MS ile karakterize edildi. Hedef yapı **Sq1**'in fotofiziksel özellikleri soğurma ve floresans spektrumu ile incelendi.

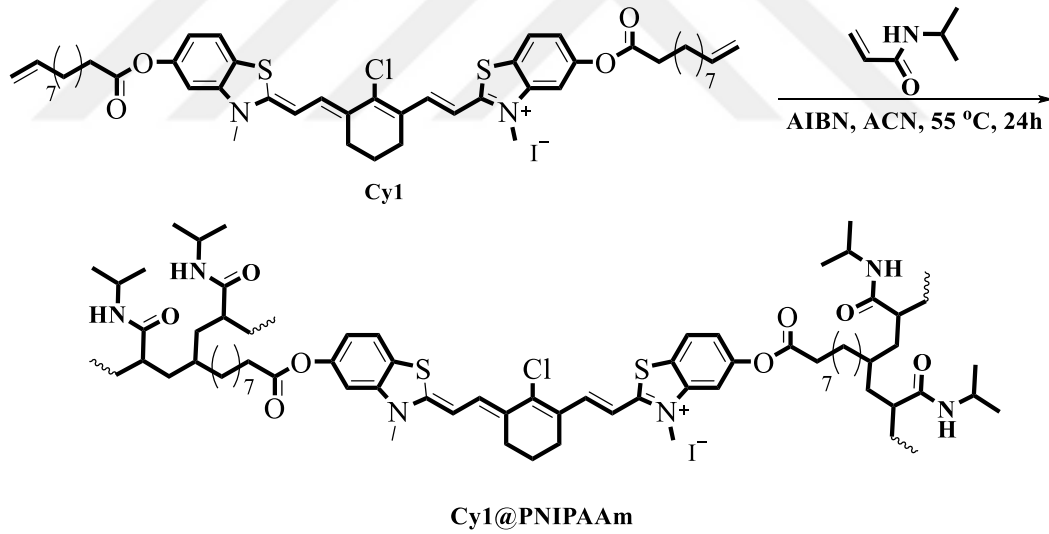


Şekil 5.2. Hedef yapı **Sq1**'in genel sentez şeması.

Yapılan incelemeler sonucunda **Sq1**'in kimyasal test ile FDT ve FTT yeteneği incelendi. FDT etkinliğini incelemek için ROT tuzağı DPBF molekülü kullanıldı ve etkin ROT üretme kabiliyeti olduğu belirlendi. Organik çözücü ve su ortamında 808 nm lazer kullanılarak FTT yeteneği incelendi ve ortam sıcaklığını 45 °C'ye yükselttiği belirlendi. **Sq1**'in fizyolojik koşullarda aktivitesini belirlemek için F127 poloksameri

kullanılarak **Sq1** kapsüllendi. **Sq1@F127** su çözücüsünde FTT yeteneği incelendi ve ortam sıcaklığını 56 °C'ye yükselttiği belirlendi. Kimyasal testler ile olumlu sonuçlar elde edilen **Sq1@F127** ajanı Hep-2 hücre hattı kullanılarak in vitro çalışmalarda kullanıldı. Organik ortamda ve HEPES ortamında güçlü emisyon sergilediği belirlenen **Sq1@F127**'nin Hep-2 hücre hattında floresans görüntüleme kabiliyeti incelendi ve kırmızı bölgede güçlü floresans görüntüleme yaptığı belirlendi. Daha sonra DPBF tuzağında ROT ürettiği belirlenen **Sq1** ajanının Hep-2 hücre hattında terapi etkinliği incelendi. **Sq1@F127** kırmızı ışık ile uyarılması sonucunda Hep-2 hücrelerinin % 80 hücre ölümünü indüklediği tespit edildi.

Karakterize edilen ve fotofiziksel özellikleri belirlenen **Cy1**'in fizyolojik koşullarda topaklanma sorununun önüne geçebilmek için **Cy1** hidrojel ağ yapısına entegre edildi. **Cy1**'de ki divinil ünitesi çapraz bağlayıcı olarak monomer ile etkileşime girerek hidrojel ağ yapısına entegre olur. **Cy1@PNIPAAm** hidrojeli, NIPAAm monomeri ve AIBN polimerizasyon başlatıcısı ile 24 saat 55 °C'de ısıtılarak sentezlendi (Şekil 5.3). NIPAAm monomeri LCST özelliği olması sebebiyle seçildi.



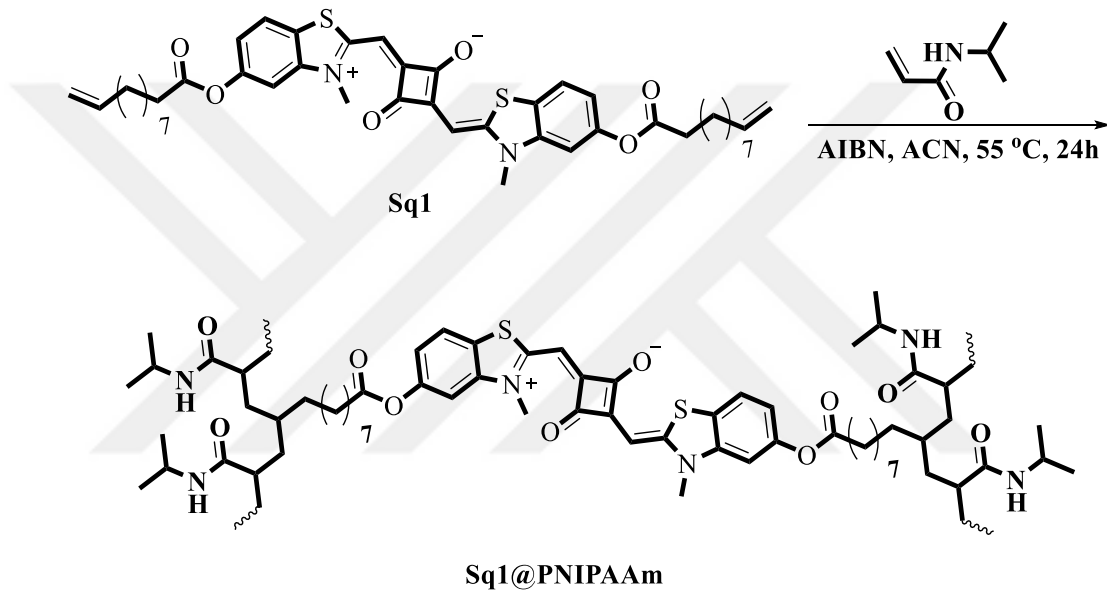
Şekil 5.3. Cy1@PNIPAAm sentez şeması.

Cy1@PNIPAAm hidrojelinin karakterizasyonu için öncelikle şişme kapasitesi incelendi. Aynı zamanda kontrol grubu olarak literatürde bilinen **MBA@PNIPAAm** hidrojeli kullanıldı. **Cy1@PNIPAAm**'ın yaklaşık 16 kat şiştiği ve **MBA@PNIPAAm**'ın ise 8 kat şiştiği belirlendi. **Cy1**'in yapısında bulunan uzun zincirli undekanoil ünitesi sayesinde hidrojel su tutma kabiliyetinin arttığı öngörülmektedir. **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin morfolojik yapısı karakterize etmek

için SEM analizi yapılmıştır ve **MBA@PNIPAAm** morfolojik yapısı ile karşılaştırıldı. Yapılan karşılaştırma sonucunda **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin **MBA@PNIPAAm** hidrojeline kıyasla morfolojik yapısının değiştiği gözlemlendi. Bu değişime **Cy1** yapısında ki uzun zincirli undekanoil ünitesinin olduğu öngörülmektedir. Yapılan incelemeler ile **Cy1@PNIPAAm** hidrojeline **Cy1**'in entegre olduğu belirlendi. Aynı zamanda **Cy1**'in ortamda ROT üretme ve hipertermi oluşturma yeteneğinin **Cy1@PNIPAAm** hidrojelindeki etkisi incelendi. **Cy1@PNIPAAm** hidrojeli pH 7.4 PBS ortamında DCHF tuzak molekülü ile kırmızı ışık altında ışınladı. DCHF tuzak molekülünün floresans şiddetinin zamanla arttığı gözlemlendi. Bu deney sonucunda **Cy1@PNIPAAm**'in ortamda ROT ürettiği belirlendi. **Cy1@PNIPAAm** hidrojeli 808 nm 1 W cm^{-1} lazer ile ışınladı ve termal kamera ile zamanla sıcaklık artışı incelendi. Yapılan incelemeler sonucunda ortam sıcaklığının 50 °C ve üzerinde olduğu belirlendi. **Cy1** bileşiğinin hidrojele kovalent entegre edilmesinin önemini incelemek için **Cy1**'in **MBA@PNIPAAm** hidrojeline fiziksel adsorbsiyonu gerçekleştirildi. Ortam sıcaklığını arttırma yeteneği incelendi. Ortam sıcaklığının 45 °C'ye kadar yükseldiği gözlemlendi. Bu incelemeler sonucunda **Cy1**'in zamanla ortama salınması ile hipertermi etkisinin azaldığı, bu sebeple **Cy1**'in ortama sızması sonucunda topaklandığı gözlemlendi. Topaklanan **Cy1** hipertermi etkinliğinin azaldığı öngörülmektedir. **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin NIPAAm monomeri sayesinde büzüşme yeteneğinin olabileceği öngörüldüğü için farklı sıcaklıklarda kütle değişimi incelendi. Fizyolojik sıcaklık olan 37 °C'de % 50'ye yakın kütle kaybı gözlemlenirken, 50 °C'de tamamen büzüştüğü gözlemlendi. Yapılan bu incelemeler sonucunda **Cy1@PNIPAAm** hidrojeline floresin sodyum tuzu emdirildi ve salınımı incelendi. Oda sıcaklığında, 37 °C'de ve 28-50 °C aralığında floresin salınımı incelendi. Yapılan incelemeler sonucunda 37 °C'de % 30 floresin salınımı gerçekleşirken, 28-50 °C aralığında % 40 floresin salınımı gerçekleştiği belirlendi. Yapılan bu analizler ve deneyler sonucunda **Cy1@PNIPAAm** hidrojelin yüksek su tutma kabiliyeti sayesinde yara bakımında kullanılabileceği öngörülmektedir. **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin ortamda ROT üretmesi ve hipertermi oluşturma yeteneği sayesinde potansiyel FDT ve FTT ajanı olabileceği öngörülmektedir. **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin LCST özelliği sayesinde 37 °C'de ve hipertermi yeteneği ile 50 °C'de ilaç salınımı yapabileceği ve ilaç taşıyıcı ajan olarak kullanılabileceği öngörülmektedir. Aynı zamanda **Cy1@PNIPAAm** hidrojelinin

L929 sağlıklı hücre hattında toksik bir etkisinin olmadığı biyouyumlu bir hidrojel olduğu tespit edilmiştir.

Karakterize edilen ve fotofiziksel özellikleri belirlenmiş **Sq1**'in fizyolojik koşullarda topaklanma sorunun önüne geçmek için divinil ünitesi **Sq1** çapraz bağlayıcı olarak kovalent bağ ile hidrojel ağ yapısına entegre edilmiştir. **Sq1@PNIPAAm** için **Sq1**, NIPAAm ve polimer başlatıcı AIBN karışımı 24 saat 55 °C'de ısıtılır (Şekil 5.4). **Sq1@PNIPAAm** hidrojelinin şişme kapasitesi incelendi ve ilk ağırlığına oranla 13 kat şiştiği gözlemlendi. NIPAAm monomeri sayesinde LCST özelliği kazanan hidrojel DSC analizi ile LCST değerini 33 °C olduğu belirlendi.



Şekil 5.4. **Sq1@PNIPAAm** sentez şeması.

Sq1@PNIPAAm hidrojelinin FDT ve FTT etkinliği incelendi. **Sq1@PNIPAAm** hidrojelinin ROT ürettiğini belirlemek için iki tuzak molekül kullanıldı. RNO ve DPBF ile yapılan incelemelerde ortamda **Sq1@PNIPAAm** hidrojelinin ROT ürettiği belirlendi. **Sq1@PNIPAAm** 808 nm lazer ile ortam sıcaklığını 55 °C'ye arttırdığı belirlendi. **Sq1** ile fiziksel adsorbe edilmiş hidrojel hipertermi etkinliği incelendiğinde ortam sıcaklığını 45 °C'ye çıkardığı ve hidrojel büzüştüğü için ortama salındığı tespit edildi. Hidrojel oda sıcaklığına döndüğünde **Sq1** suda çözünür olmadığı hidrojele tekrar adsorbe olamadı ve zamanla ortamdan sızdığı için **Sq1@PNIPAAm** kıyaslandığında hipertermi etkinliği daha düşük olduğu tespit edildi. Bu çalışmalar **Sq1**'in kovalent bağ ile hidrojele entegre edilmesinin önemini vurgular niteliktedir. Daha sonra NIPAAm monomeri sayesinde büzüşme yeteneği olan hidrojel farklı

sıcaklıklarda kütle değişimi incelendi. Vücut sıcaklığı olan 35-37 °C’de ilk ağırlığına oranla % 50 kütle kaybına uğrarken 50 °C’de tamamen büzüştüğü gözlemlendi. **Sq1@PNIPAAm**’in FTT yeteneği ile büzüşme kabiliyeti incelendiğinde 808 nm lazer ile sıcaklığı 56 °C olan hidrojin büzüştüğü gözlemlendi. **Sq1@PNIPAAm** hidrojinin büzüşme yeteneği sayesinde potansiyel bir ilaç taşıyıcı ajan olduğunu göstermek için floresin sodyum tuzu hidrojele emdirildi ve salınımı incelendi. Yapılan incelemeler sonucu 37 °C’de yaklaşık % 20 floresin salınımı gerçekleşirken, sıcaklık 50 °C’ye yaklaştığında % 30 floresin salınımı gerçekleştiği gözlemlendi. Yapılan bu incelemeler sonucunda FDT ve FTT kabiliyeti bu hidrojin ikili terapi ajanı olarak kullanılabileceği öngörülmektedir. **Sq1@PNIPAAm** hidrojeli NIPAAm sayesinde vücut sıcaklığında büzüşür ve **Sq1** sayesinde hipertermi oluşmasıyla tamamen büzüşür bu sayede ilaç taşıyıcı sistem olarak da kullanılabilir. Aynı zamanda **Sq1@PNIPAAm** hidrojinin L929 hücre hattında toksisitesi incelenmiştir ve biyouyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan literatür taramaları sonucu siyanin ve skuarin temelli bazı hidrojellere rastlanmış olsa da terapötik hidrojel ile yapılan çalışmalar oldukça azdır. Skuarin ile terapötik hidrojel üzerine literatürde herhangi bir çalışma mevcut değildir. Siyanin ile kovalent bağlı hidrojel çalışmaları enjekte edilebilir formdadır fakat katı formdaki hidrojellerde siyanin fiziksel etkileşim yöntemi kullanılarak entegre edilmektedir. Fiziksel etkileşim yöntemi ile entegre edilen boyalar, hidrojelden zamanla sızarak fizyolojik koşullarda topaklanarak etkinlik kaybına uğrar ve toksisite oluşumuna sebep olarak hidrojin terapötik etkisi zamanla azalır. Bu tez çalışmasının literatüre yeni bir potansiyel terapötik hidrojel kazandıracağı öngörülmektedir. Bu tez çalışmasında ilk kez skuarin ile çapraz bağlı terapötik hidrojel tasarlanıp sentezlenmiştir. Dahası literatürde tek bir ajan sayesinde sinerjetik etki ile aynı anda FDT ve FTT yapabilen terapötik hidrojel çalışmasına rastlanmamaktadır. İkili terapi çalışmaları için iki farklı yeteneğe sahip ajanlar kullanılmaktadır. Hidrojele iki farklı ajan kovalent bağ ile entegre edilmesi zorlu bir süreç olduğu için fiziksel adsorbe edilmektedir. Fiziksel adsorbe edilen ajan zamanla hidrojelden sızar ve fizyolojik koşullarda topaklanıp etkinlik kaybına uğrar ve topaklanan ajan bazı durumlarda toksisiteye sebep olabilir. Bu tez kapsamında ikili terapi yapabilen tek bir ajan kovalent bağ ile hidrojele entegre edilmiştir.

Hidrojeller bilindiği üzere yüksek su tutma kabiliyetine sahip yapılardır. Bu sayede yara bakımında kullanımı oldukça yaygındır. Hidrojeller bu özelliği sayesinde yara alan bölgede yüksek ısı oluşumunu stabilize eder aynı zamanda yarayı nemli tutarak hızlı iyileşmesine yardımcı olur. Hidrojeller yara bölgesinin üzerinde örtü görevi görerek bakteriyel enfeksiyonu engeller ancak yaralanma esnasında oluşan enfeksiyonu tedavi edemez. Yara bakımında enfeksiyon tedavisi için ağır metal içeren hidrojeller kullanılmaktadır fakat bu ağır metaller zamanla toksisiteye sebep olmaktadır. O nedenle probiyotik içeren hidrojeller üretilmiştir, bu hidrojel ile toksisitenin önüne geçilmiş olsada krem formunda olduğu için yüksek su içeren hidrojellere göre yara bakım etkinliği düşmektedir. Bu dezavantajlar söz konusu olduğunda bu tez kapsamında tasarladığımız hidrojeller yüksek su tutma kabiliyetleri ve terapötik etkileri sayesinde yara bakımında kullanılan mevcut hidrojellerin dezavantajlarını gidererek tedavi etkinliğini arttırabileceği öngörülmektedir.

Bu tez kapsamında terapötik kullanım alanına sahip skuarin, siyanin ile biyoyumluluğu bilinen NIPAAm monomeri bir araya getirilerek kullanım alanı geniş ürünler elde etmek amaçlanmıştır. Sentezlenen bu hidrojeller ile ilerleyen çalışmalarda in vitro FDT, in vitro FTT, in vitro dual terapi ve in vitro biyoyumluluk deneyleri ile aktivitesi belirlenebilir. Siyanin ve skuarin boyalarının divinil ünitesi sayesinde farklı özelliklere sahip monomerler kullanılarak çeşitli hidrojeller tasarlanıp sentezlenebilir. Bu sayede geniş kullanım alanına etki eden farklı terapötik hidrojeller üretilebilir.

Laboratuvarımızda geliştirip detaylı olarak karakterize etmiş olduğumuz **Sq1@PNIPAAm** hidrojeli ile patent başvurusu yapılmıştır ve halen inceleme aşamasındadır. Aynı zamanda **Cy1** ve **Cy1@NIPAAm** ile yapılan çalışmalar TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. Bu tez çalışmasından elde edilen veriler derlenerek etki faktörü yüksek uluslararası dergilerde yayınlanacaktır.

KAYNAKLAR

- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K.A., Foster, T.H., Girotti, A.W., Gollnick, S.O., Hahn, S.M., Hamblin, M.R., Juzeniene, A. ve Kessel, D., 2011. Photodynamic therapy of cancer: an update, *CA: A Cancer Journal For Clinicians*, 61, 4, 250-281.
- Ahmed, E.M., 2015. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review, *Journal of Advanced Research*, 6, 2, 105-121.
- Ajayaghosh, A., 2005. Chemistry of squaraine-derived materials: near-IR dyes, low band gap systems, and cation sensors, *Accounts of Chemical Research*, 38, 6, 449-459.
- Algi, M.P. ve Okay, O., 2014. Highly stretchable self-healing poly (N, N-dimethylacrylamide) hydrogels, *European Polymer Journal*, 59, 113-121.
- Allison, R.R., Downie, G.H., Cuenca, R., Hu, X.-H., Childs, C.J. ve Sibata, C.H., 2004. Photosensitizers in clinical PDT, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1, 1, 27-42.
- Allison, R.R. ve Sibata, C.H., 2010. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7, 2, 61-75.
- Atchison, J., Kamila, S., Nesbitt, H., Logan, K.A., Nicholas, D.M., Fowley, C., Davis, J., Callan, B., McHale, A.P. ve Callan, J.F., 2017. Iodinated cyanine dyes: a new class of sensitizers for use in NIR activated photodynamic therapy (PDT), *Chemical Communications*, 53, 12, 2009-2012.
- Auwah, S.G. ve You, Y., 2012. Boron dipyrromethene (BODIPY)-based photosensitizers for photodynamic therapy, *RSC Advances*, 2, 30, 11169-11183.
- Babilas, P., Landthaler, M. ve Szeimies, R.M., 2006. Photodynamic therapy in dermatology, *European Journal of Dermatology*, 16, 4, 340-348.
- Babu, P.S., Manu, P.M., Dhanya, T.J., Tapas, P., Meera, R.N., Surendran, A., Aneesh, K.A., Vadakkancheril, S.J., Ramaiah, D. ve Nair, S.A., 2017. Bis (3, 5-diiodo-2, 4, 6-trihydroxyphenyl) squaraine photodynamic therapy disrupts redox homeostasis and induce mitochondria-mediated apoptosis in human breast cancer cells, *Scientific Reports*, 7, 1, 1-14.
- Bahram, M., Mohseni, N. ve Moghtader, M., 2016. An introduction to hydrogels and some recent applications. In: *Emerging concepts in analysis and applications of hydrogels*. Eds: IntechOpen, p.
- Belali, S., Karimi, A.R. ve Hadizadeh, M., 2017. Novel nanostructured smart, photodynamic hydrogels based on poly (N-isopropylacrylamide) bearing porphyrin units in their crosslink chains: A potential sensitizer system in cancer therapy, *Polymer*, 109, 93-105.
- Belali, S., Karimi, A.R. ve Hadizadeh, M., 2018a. Cell-specific and pH-sensitive nanostructure hydrogel based on chitosan as a photosensitizer carrier for selective photodynamic therapy, *International Journal of Biological Macromolecules*, 110, 437-448.

- Belali, S., Savoie, H., O'Brien, J.M., Cafolla, A.A., O'Connell, B., Karimi, A.R., Boyle, R.W. ve Senge, M.O., 2018b. Synthesis and characterization of temperature-sensitive and chemically cross-linked poly (N-isopropylacrylamide)/photosensitizer hydrogels for applications in photodynamic therapy, *Biomacromolecules*, 19, 5, 1592-1601.
- Beverina, L., Abbotto, A., Landenna, M., Cerminara, M., Tubino, R., Meinardi, F., Bradamante, S. ve Pagani, G.A., 2005. New π -extended water-soluble squaraines as singlet oxygen generators, *Organic Letters*, 7, 19, 4257-4260.
- Beverina, L. ve Salice, P., 2010. Squaraine compounds: Tailored design and synthesis towards a variety of material science applications, *European Journal of Organic Chemistry*, 2010, 7, 1207-1225.
- Bonifacino, J., Dasso, M., Harford, J., Lippincott-Schwartz, J. ve Yamada, K., 2001. *Current protocols in cell biology*, John Wiley & Sons, Inc.
- Chen, F. ve Cai, W., 2015. Nanomedicine for targeted photothermal cancer therapy: where are we now?, *Nanomedicine*, 10, 1, 1-3.
- Chen, W.R., Adams, R.L., Bartels, K.E. ve Nordquist, R.E., 1995a. Chromophore-enhanced in vivo tumor cell destruction using an 808-nm diode laser, *Cancer Letters*, 94, 2, 125-131.
- Chen, W.R., Adams, R.L., Heaton, S., Dickey, D.T., Bartels, K.E. ve Nordquist, R.E., 1995b. Chromophore-enhanced laser-tumor tissue photothermal interaction using an 808-nm diode laser, *Cancer Letters*, 88, 1, 15-19.
- Choudhary, S., Nouri, K. ve Elsaie, M.L., 2009. Photodynamic therapy in dermatology: a review, *Lasers in Medical Science*, 24, 6, 971-980.
- Dąbrowski, J.M. ve Arnaut, L.G., 2015. Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from local to systemic treatment, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 14, 10, 1765-1780.
- Fang, Y., Liu, T., Zou, Q., Zhao, Y. ve Wu, F., 2015. Cationic benzylidene cyclopentanone photosensitizers for selective photodynamic inactivation of bacteria over mammalian cells, *RSC Advances*, 5, 69, 56067-56074.
- Feng, L., Chen, W., Ma, X., Liu, S.H. ve Yin, J., 2020. Near-infrared heptamethine cyanines (Cy7): from structure, property to application, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 18, 46, 9385-9397.
- Ferreira, D.P., Conceição, D.S., Fernandes, F., Sousa, T., Calhelha, R.C., Ferreira, I.C., Santos, P.F. ve Vieira Ferreira, L., 2016. Characterization of a squaraine/chitosan system for photodynamic therapy of cancer, *The Journal of Physical Chemistry B*, 120, 7, 1212-1220.
- Furniss, B.S., 2004. *Practical organic chemistry*, Pearson Education India.
- Geiger, C., Stanescu, M., Chen, L. ve Whitten, D.G., 1999. Organogels resulting from competing self-assembly units in the gelator: structure, dynamics, and photophysical behavior of gels formed from cholesterol-stilbene and cholesterol-squaraine gelators, *Langmuir*, 15, 7, 2241-2245.
- Glass, S., Rüdiger, T., Griebel, J., Abel, B. ve Schulze, A., 2018. Uptake and release of photosensitizers in a hydrogel for applications in photodynamic therapy:

- The impact of structural parameters on intrapolymer transport dynamics, *RSC Advances*, 8, 72, 41624-41632.
- Grzybowski, A., Sak, J. ve Pawlikowski, J., 2016. A brief report on the history of phototherapy, *Clinics in Dermatology*, 34, 5, 532-537.
- Gupta, A., Kowalczyk, M., Heaselgrave, W., Britland, S.T., Martin, C. ve Radecka, I., 2019. The production and application of hydrogels for wound management: A review, *European Polymer Journal*, 111, 134-151.
- Hah, H.J., Kim, G., Lee, Y.E.K., Orringer, D.A., Sagher, O., Philbert, M.A. ve Kopelman, R., 2011. Methylene blue-conjugated hydrogel nanoparticles and tumor-cell targeted photodynamic therapy, *Macromolecular Bioscience*, 11, 1, 90-99.
- Hönigsmann, H., 2013. History of phototherapy in dermatology, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 12, 1, 16-21.
- Huang, X., Jain, P.K., El-Sayed, I.H. ve El-Sayed, M.A., 2008. Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles, *Lasers in Medical Science*, 23, 3, 217-228.
- Ilina, K., MacCuaig, W.M., Laramie, M., Jeouty, J.N., McNally, L.R. ve Henary, M., 2019. Squaraine dyes: molecular design for different applications and remaining challenges, *Bioconjugate Chemistry*, 31, 2, 194-213.
- Jin, H., Dai, X.H., Wu, C., Pan, J.M., Wang, X.H., Yan, Y.S., Liu, D.M. ve Sun, L., 2015. Rational design of shear-thinning supramolecular hydrogels with porphyrin for controlled chemotherapeutics release and photodynamic therapy, *European Polymer Journal*, 66, 149-159.
- Jing, T., Fu, L., Liu, L. ve Yan, L., 2016. A reduction-responsive polypeptide nanogel encapsulating NIR photosensitizer for imaging guided photodynamic therapy, *Polymer Chemistry*, 7, 4, 951-957.
- Jung, H.S., Verwilt, P., Sharma, A., Shin, J., Sessler, J.L. ve Kim, J.S., 2018. Organic molecule-based photothermal agents: an expanding photothermal therapy universe, *Chemical Society Reviews*, 47, 7, 2280-2297.
- Kamkaew, A., Lim, S.H., Lee, H.B., Kiew, L.V., Chung, L.Y. ve Burgess, K., 2013. BODIPY dyes in photodynamic therapy, *Chemical Society Reviews*, 42, 1, 77-88.
- Karimi, A.R., Khodadadi, A. ve Hadizadeh, M., 2016. A nanoporous photosensitizing hydrogel based on chitosan cross-linked by zinc phthalocyanine: an injectable and pH-stimuli responsive system for effective cancer therapy, *RSC Advances*, 6, 94, 91445-91452.
- Kessel, D., 2019. Photodynamic therapy: A brief history, *Journal of Clinical Medicine*, 8, 10, 1581.
- Khurana, B., Gierlich, P., Meindl, A., Gomes da Silva, L.C. ve Senge, M.O., 2019. Hydrogels: soft matters in photomedicine, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 18, 11, 2613-2656.
- Kim, M.M. ve Darafsheh, A., 2020. Light sources and dosimetry techniques for photodynamic therapy, *Photochemistry and Photobiology*, 96, 2, 280-294.

- Kopeček, J., 2007. Hydrogel biomaterials: a smart future?, *Biomaterials*, 28, 34, 5185-5192.
- Köhn, F., Hofkens, J., Gronheid, R., Van der Auweraer, M. ve De Schryver, F.C., 2002. Parameters influencing the on-and off-times in the fluorescence intensity traces of single cyanine dye molecules, *The Journal of Physical Chemistry A*, 106, 19, 4808-4814.
- Kraljić, I. ve Mohsni, S.E., 1978. A new method for the detection of singlet oxygen in aqueous solutions, *Photochemistry and Photobiology*, 28, 4-5, 577-581.
- Lanzalaco, S. ve Armelin, E., 2017. Poly (N-isopropylacrylamide) and copolymers: a review on recent progresses in biomedical applications, *Gels*, 3, 4, 36.
- Li, L., Zhao, W., Qu, Z., Shi, L., Tan, S., Ha, E., Jia, T. ve Sun, T., 2020. Novel phthalocyanine-based micelles/PNIPAM composite hydrogels: spatially/temporally controlled drug release triggered by NIR laser irradiation, *New Journal of Chemistry*, 44, 21, 8705-8709.
- Li, S., Sun, Z., Deng, G., Meng, X., Li, W., Ni, D., Zhang, J., Gong, P. ve Cai, L., 2017. Dual-modal imaging-guided highly efficient photothermal therapy using heptamethine cyanine-conjugated hyaluronic acid micelles, *Biomaterials Science*, 5, 6, 1122-1129.
- Liu, C., Ruan, C., Shi, R., Jiang, B.-P., Ji, S. ve Shen, X.C., 2019. A near infrared-modulated thermosensitive hydrogel for stabilization of indocyanine green and combinatorial anticancer phototherapy, *Biomaterials Science*, 7, 4, 1705-1715.
- Luo, S., Tan, X., Fang, S., Wang, Y., Liu, T., Wang, X., Yuan, Y., Sun, H., Qi, Q. ve Shi, C., 2016. Mitochondria-targeted small-molecule fluorophores for dual modal cancer phototherapy, *Advanced Functional Materials*, 26, 17, 2826-2835.
- Ma, S., Yu, B., Pei, X. ve Zhou, F., 2016. Structural hydrogels, *Polymer*, 98, 516-535.
- Malicka, J.M., Sandeep, A., Monti, F., Bandini, E., Gazzano, M., Ranjith, C., Praveen, V.K., Ajayaghosh, A. ve Armaroli, N., 2013. Ultrasound stimulated nucleation and growth of a dye assembly into extended gel nanostructures, *Chemistry-A European Journal*, 19, 39, 12991-13001.
- Meng, X., Li, W., Sun, Z., Zhang, J., Zhou, L., Deng, G., Gong, P. ve Cai, L., 2017. Tumor-targeted small molecule for dual-modal imaging-guided phototherapy upon near-infrared excitation, *Journal of Materials Chemistry B*, 5, 47, 9405-9411.
- Mu, X., Lu, Y., Wu, F., Wei, Y., Ma, H., Zhao, Y., Sun, J., Liu, S., Zhou, X. ve Li, Z., 2020. Supramolecular Nanodiscs Self-Assembled from Non-Ionic Heptamethine Cyanine for Imaging-Guided Cancer Photothermal Therapy, *Advanced Materials*, 32, 2, 1906711.
- Pan, G.Y., Jia, H.R., Zhu, Y.X., Wang, R.H., Wu, F.G. ve Chen, Z., 2017. Dual channel activatable cyanine dye for mitochondrial imaging and mitochondria-targeted cancer theranostics, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 3, 12, 3596-3606.
- Paszko, E., Ehrhardt, C., Senge, M.O., Kelleher, D.P. ve Reynolds, J.V., 2011. Nanodrug applications in photodynamic therapy, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 8, 1, 14-29.

- Prostota, Y., Kachkovsky, O.D., Reis, L.V. ve Santos, P.F., 2013. New unsymmetrical squaraine dyes derived from imidazo [1, 5-a] pyridine, *Dyes and Pigments*, 96, 2, 554-562.
- Protti, S., Albini, A., Viswanathan, R. ve Greer, A., 2017. Targeting Photochemical Scalpels or Lancets in the Photodynamic Therapy Field—The Photochemist's Role, *Photochemistry and Photobiology*, 93, 5, 1139-1153.
- Qin, M., Hah, H.J., Kim, G., Nie, G., Lee, Y.-E.K. ve Kopelman, R., 2011. Methylene blue covalently loaded polyacrylamide nanoparticles for enhanced tumor-targeted photodynamic therapy, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 10, 5, 832-841.
- Ramaiah, D., Joy, A., Chandrasekhar, N., Eldho, N.V., Das, S. ve George, M.V., 1997. Halogenated squaraine dyes as potential photochemotherapeutic agents. Synthesis and study of photophysical properties and quantum efficiencies of singlet oxygen generation, *Photochemistry and Photobiology*, 65, 5, 783-790.
- Reynolds, G. ve Drexhage, K., 1977. Stable heptamethine pyrylium dyes that absorb in the infrared, *The Journal of Organic Chemistry*, 42, 5, 885-888.
- Robertson, C.A., Evans, D.H. ve Abrahamse, H., 2009. Photodynamic therapy (PDT): a short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 96, 1, 1-8.
- Roelandts, R., 2002. The history of phototherapy: something new under the sun?, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 46, 6, 926-930.
- Sheng, W., He, S., Seare, W.J. ve Almutairi, A., 2017. Review of the progress toward achieving heat confinement-the holy grail of photothermal therapy, *Journal of Biomedical Optics*, 22, 8, 080901.
- Shi, C., Wu, J.B. ve Pan, D., 2016. Review on near-infrared heptamethine cyanine dyes as theranostic agents for tumor imaging, targeting, and photodynamic therapy, *Journal of Biomedical Optics*, 21, 5, 050901.
- Shindy, H., 2017. Fundamentals in the chemistry of cyanine dyes: A review, *Dyes and Pigments*, 145, 505-513.
- Shramova, E.I., Kotlyar, A.B., Lebedenko, E.N., Deyev, S.M. ve Proshkina, G.M., 2020. Near-infrared activated cyanine dyes as agents for photothermal therapy and diagnosis of tumors, *Acta Naturae*, 12, 3, 102.
- Sissa, C., Painelli, A., Terenziani, F., Trotta, M. ve Ragni, R., 2020. About the origin of the large Stokes shift in aminoalkyl substituted heptamethine cyanine dyes, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 22, 1, 129-135.
- Spagnul, C., Turner, L.C., Giuntini, F., Greenman, J. ve Boyle, R.W., 2017. Synthesis and bactericidal properties of porphyrins immobilized in a polyacrylamide support: influence of metal complexation on photoactivity, *Journal of Materials Chemistry B*, 5, 9, 1834-1845.
- Sujai, P.T., Joseph, M.M., Karunakaran, V., Saranya, G., Adukkadan, R.N., Shamjith, S., Thomas, R., Nair, J.B., Swathi, R.S. ve Maiti, K.K., 2018. Biogenic cluster-encased gold nanorods as a targeted three-in-one theranostic nanoenvelope for SERS-guided photochemotherapy against metastatic melanoma, *ACS Applied Bio Materials*, 2, 1, 588-600.

- Sun, P., Wu, Q., Sun, X., Miao, H., Deng, W., Zhang, W., Fan, Q. ve Huang, W., 2018. J-Aggregate squaraine nanoparticles with bright NIR-II fluorescence for imaging guided photothermal therapy, *Chemical Communications*, 54, 95, 13395-13398.
- Tan, X., Luo, S., Wang, D., Su, Y., Cheng, T. ve Shi, C., 2012. A NIR heptamethine dye with intrinsic cancer targeting, imaging and photosensitizing properties, *Biomaterials*, 33, 7, 2230-2239.
- Thomas, A.P., Palanikumar, L., Jeena, M., Kim, K. ve Ryu, J.H., 2017. Cancer-mitochondria-targeted photodynamic therapy with supramolecular assembly of HA and a water soluble NIR cyanine dye, *Chemical Science*, 8, 12, 8351-8356.
- Wang, Z., Zhang, W., Tao, F., Meng, K.G., Xi, L.Y., Li, Y. ve Jiang, Q., 2011. Synthesis and properties of two novel copolymers based on squaraine and fluorene units for solar cell materials, *Chinese Chemical Letters*, 22, 8, 1001-1004.
- Wei, W., Zhang, X., Zhang, S., Wei, G. ve Su, Z., 2019. Biomedical and bioactive engineered nanomaterials for targeted tumor photothermal therapy: a review, *Materials Science and Engineering: C*, 104, 109891.
- Wu, J., Zhou, Y., Li, S., Qu, D., Zhu, W.H. ve Tian, H., 2017. Real-time near-infrared bioimaging of a receptor-targeted cytotoxic dendritic theranostic agent, *Biomaterials*, 120, 1-10.
- Xing, T., Mao, C., Lai, B. ve Yan, L., 2012. Synthesis of disulfide-cross-linked polypeptide nanogel conjugated with a near-infrared fluorescence probe for direct imaging of reduction-induced drug release, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4, 10, 5662-5672.
- Yang, M., Lu, X., Tang, L., Fu, Y. ve Yang, P., 2020. Thermosensitive nanocomposite gel loaded zinc phthalocyanine for photodynamic therapy, *Journal of Polymer Research*, 27, 9, 1-10.
- Yang, X., Bai, J. ve Qian, Y., 2020. The investigation of unique water-soluble heptamethine cyanine dye for use as NIR photosensitizer in photodynamic therapy of cancer cells, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 228, 117702.
- Yao, D., Wang, Y., Zou, R., Bian, K., Liu, P., Shen, S., Yang, W., Zhang, B. ve Wang, D., 2020. Molecular engineered squaraine nanoprobe for NIR-II/photoacoustic imaging and photothermal therapy of metastatic breast cancer, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12, 4, 4276-4284.
- Zeng, F., Shen, Y. ve Chen, C.F., 2013. Cross-linked supramolecular polymer networks with responsive and elastic gel properties via host-guest complexation: controlled release of squaraine dyes, *Soft Matter*, 9, 19, 4875-4882.
- Zhao, X., Yang, C.X., Chen, L.G. ve Yan, X.P., 2017. Dual-stimuli responsive and reversibly activatable theranostic nanoprobe for precision tumor-targeting and fluorescence-guided photothermal therapy, *Nature Communications*, 8, 1, 1-9.
- URL-1 < <https://www.geochemsoc.org/honors/ogd-awards/alfredtreibsaward> >, Erişim Tarihi: 10.06.2021.
- URL-2 < https://en.wikipedia.org/wiki/Otto_Wichterle >, Erişim Tarihi: 10.06.2021.

URL-3 < https://en.wikipedia.org/wiki/Drahoslav_L%C3%ADm >, Erişim Tarihi:
10.06.2021.



EKLER

EK A. Şekiller için alınan izinler

EK A.1 Şekil 1.1 ve Şekil 1.2 için alınan izin.

11.06.2021

Manage Account



Order Number: 1124066

Order Date: 09 Jun 2021

Payment Information

RUMEYSA SARIGÖL
rumeysa.sarigol@asu.edu.tr
Payment method: Invoice

Billing Address:
Mrs. RUMEYSA SARIGÖL
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ Bİ
LİMSEL ARAŞTIRMA MERK
EZİ KAT1 NO205
KAT1 NO205
Merkez
Aksaray, BIOTECHNOLOGY
68101
Turkey

+90 (553)6297930
rumeysa.sarigol@asu.edu.
tr

Customer Location:
Mrs. RUMEYSA SARIGÖL
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ Bİ
LİMSEL ARAŞTIRMA MERK
EZİ KAT1 NO205
KAT1 NO205
Merkez
Aksaray, BIOTECHNOLOGY
68101
Turkey

Order Details

1. Photochemical & photobiological sciences

Billing Status:
Open

Order License ID	1124066-1
Order detail status	Completed
ISSN	1474-9092
Type of use	Republish in a thesis/dissertation
Publisher	ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY
Portion	Image/photo/illustration

0.00 USD
Republication Permission

LICENSED CONTENT

Publication Title	Photochemical & photobiological sciences	Country	United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Author/Editor	Korean Society of Photoscience.,Asia and Oceania Society for Photobiology.,European Society for Photobiology.,European Photochemistry Association.	Rightsholder	Springer
		Publication Type	e-Journal
		URL	http://xlink.rsc.org/jum ptojournal.cfm? journal%5Fcode=PP

https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/manage_account/orders/view-search/1124066

Date 01/01/2002
Language English

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of images / photos / illustrations	2	Translation	Original language plus one translation
Format (select all that apply)	Print,Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Author of requested content	Minor editing privileges?	Yes
Duration of Use	Life of current and all future editions	Incidental promotional use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	USD
Rights Requested	Main product and any product related to main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Heptametin-Cyanine Cross-linked Hydrogels for Photodynamic Therapy	Institution name	Aksaray Üniversitesi
Instructor name	Prof. Dr. Fatih ALGI	Expected presentation date	2021-06-25

ADDITIONAL DETAILS

The requesting person / organization to appear on the license Rumeysa SARIGÖL/ Aksaray University

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	introduction page 1, Photodynamic therapy	Title of the article/chapter the portion is from	N
Editor of portion(s)	N	Author of portion(s)	Korean Society of Photoscience.; Asia and Oceania Society for Photobiology.; European Society for Photobiology.; European Photochemistry Association.
Volume of serial or monograph	N	Publication date of portion	2012-05-28
Page or page range of portion	2-19		

Springer Terms and Conditions

A maximum of 10% of the content may be licensed for republication. The user is responsible for identifying and seeking separate licenses for any third party materials that are identified anywhere in the work. Without a separate license, such third party materials may not be reused.

If you are placing a request on behalf of/for a corporate organization, please use RightsLink. For further information visit

<http://www.nature.com/reprints/permission-requests.html> and

<https://www.springer.com/gp/rights-permissions/obtaining-permissions/882>. If the content you are requesting to reuse is under a CC-BY 4.0 licence (or previous version), you do not need to seek permission from Springer Nature for this reuse as long as you provide appropriate credit to the original publication.

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Total Items: 1

Subtotal: 0.00 USD
Order Total: 0.00 USD

EK A.2 Şekil 1.5 için alınan izin.

21.05.2021

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/checkout/confirmation-details/9a8489ee-af5a-4aa3-947b-823a21dafa26>



Marketplace™

Order Confirmation

Thank you, your order has been placed. An email confirmation has been sent to you.

This is not an invoice. Please go to manage account to access your order history and invoices.

CUSTOMER INFORMATION

Payment by invoice: You can cancel your order until the invoice is generated by contacting customer service.

Billing Address

Mrs. RUMEYSA SARIGÖL
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIIRMA MERKEZİ
KAT1 NO205
KAT1 NO205
Merkez
Aksaray, BIOTECHNOLOGY 68101
Turkey
+90 (553)6297930
rumeysa.sarigol@asu.edu.tr

PO Number (optional)

N/A

Customer Location

Mrs. RUMEYSA SARIGÖL
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIIRMA MERKEZİ
KAT1 NO205
KAT1 NO205
Merkez
Aksaray, BIOTECHNOLOGY 68101
Turkey

Payment options

Invoice

ORDER CONFIRMATION

Confirmation Number: 1120692

Order Date: 21-May-2021

1. Photochemical & photobiological sciences

0.00 USD

Order license ID	1120692-1	Publisher	ROYAL SOCIETY
ISSN	1474-9092		OF CHEMISTRY
Type of Use	Republish in a	Portion	Image/photo/illu
	thesis/dissertatio		stration
	n		

LICENSED CONTENT

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/checkout/confirmation-details/9a8489ee-af5a-4aa3-947b-823a21dafa26>

1/3

21.05.2021

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/checkout/confirmation-details/9a8489ee-af5a-4aa3-947b-823a21dafa26>

Publication Title	Photochemical & photobiological sciences	Country	United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Author/Editor	Korean Society of Photoscience., Asia and Oceania Society for Photobiology., European Society for Photobiology., European Photochemistry Association.	Rights holder	Springer
		Publication Type	e-Journal
		URL	http://xlink.rsc.org/jumprojournal.cfm?journal%5Fcode=PP
Date	01/01/2002		
Language	English		

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of images / photos / illustrations	1	Translation	Original language plus one translation
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Author of requested content	Minor editing privileges?	Yes
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	Yes
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	USD
Rights Requested	Main product and any product related to main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Heptametin-Cyanine Cross-linked Hydrogels for Photodynamic Therapy	Institution name	Aksaray Üniversitesi
		Expected presentation date	2021-06-20
Instructor name	Prof. Dr. Fatih ALGI		

ADDITIONAL DETAILS

Order reference number	N/A	The requesting person / organization to appear on the license	Rumeysa SARIGÖL/ Aksaray University
------------------------	-----	---	--

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Photodynamic therapy pages 8	Title of the article/chapter the portion is from	N
Editor of portion(s)	N		
Volume of serial or monograph	N		

<https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/checkout/confirmation-details/9a8489ee-af5a-4aa3-947b-823a21dafa26>

21.05.2021	https://marketplace.copyright.com/rs-ui-web/mp/checkout/confirmation-details/9a8489ee-af5a-4aa3-947b-823a21dafa26		
Page or page range of portion	chapter 1	Author of portion(s)	Korean Society of Photoscience.; Asia and Oceania Society for Photobiology.; European Society for Photobiology.; European Photochemistry Association.
		Issue, if republishing an article from a serial	N/A
		Publication date of portion	2021-06-20

PUBLISHER TERMS AND CONDITIONS

A maximum of 10% of the content may be licensed for republication. The user is responsible for identifying and seeking separate licenses for any third party materials that are identified anywhere in the work. Without a separate license, such third party materials may not be reused.

If you are placing a request on behalf of/for a corporate organization, please use RightsLink. For further information visit

<http://www.nature.com/reprints/permission-requests.html> and

<https://www.springer.com/gp/rights-permissions/obtaining-permissions/882>. If the content you are requesting to reuse is under a CC-BY 4.0 licence (or previous version), you do not need to seek permission from Springer Nature for this reuse as long as you provide appropriate credit to the original publication.

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Total Items: 1

Total Due: 0.00 USD

Accepted: All Publisher and CCC Terms and Conditions



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı :Rumeysa SARIGÖL

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

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

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

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Aksaray Üniversitesi Bilimsel Araştırma Merkezi / Yaz Stajı

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Projeler

1. Norskuarin ile Fotodinamik Terapi ve Algılayıcı Uygulamalar Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No. 120Z152), 30.06.2020-30.07.2020 (Bursiyer).
2. Yakın Kızıl Ötesi Heptametinsiyanin Boyası İçeren Fotodinamik Hidrojel Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No. 120Z300), 01.01.2021-01.06.2021 (Bursiyer).

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. **Rumeysa SARIGÖL**, Melek PAMUK ALGI, Fatih ALGI, 2021. Design Of A New Hydrogel For Biomedical Applications. 9. Drug Chemistry Congress, Turkish Chemists Society, Kemer, Antalya, 08– 11 April, page53.

Patent

1. Fotodinamik Ve Fototermal Terapi için Geliştirilen Hidrojeller (incelemede) (2021) Patent Başvuru Sahipleri: Aksaray Üniversitesi Rektörlüğü, Patent Buluş Sahipleri: Melek PAMUK ALGI,Rumeysa SARIGÖL,Dilek Sadife ERKAN