



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

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**KEMİLÜMİNOJENİK BİR FOTOTERAPİ AJANININ TASARIM
VE SENTEZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammet AVAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatih ALGI

AKSARAY, 2025

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 222330408 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Muhammet AVAN tarafından hazırlanan “**KEMİLÜMİNOJENİK BİR FOTOTERAPİ AJANININ TASARIM VE SENTEZİ**” 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/onaylamıyorum.....

Üye: Prof. Dr. Meltem AŞAN ÖZÜSAĞLAM

Aksaray Üniversitesi

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

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Cemalettin BEKPEN

Bahçeşehir Üniversitesi

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

Tez Savunma Tarihi: 16/05/2025

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

Prof. Dr. Fazliye KARABÖRK

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin 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.

Muhammet AVAN

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında ve tamamlanmasında değerli katkılarıyla beni yönlendiren, daima desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Fatih ALGI 'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Bilgi, deneyim ve rehberliği sayesinde bu çalışmanın her aşamasında bana ilham verdi ve karşılaştığım zorluklarda doğru yolu bulmamı sağladı. Ayrıca, bilimsel bakış açımı geliştirmemdeki katkıları için kendisine minnettarım.

Çalışmamda bana değerli katkılarını sunan, her zaman destekleyen ve yönlendiren Prof. Dr. Melek PAMUK ALGI hocama içten teşekkürlerimi sunarım. Bilgisi ve rehberliğiyle bu süreci daha anlamlı hale getirdi.

Bu süreç boyunca yanımda olan, her zaman sevgisi ve desteğiyle bana güç veren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın en önemli dönemlerinden birinde, bana olan inancınız ve güveninizle hep yanımda oldunuz. Zorluklar karşısında bana moral verdiniz, ne zaman düşsem, elinizden geleni yaptınız. Yalnızca akademik anlamda değil, duygusal olarak da hep yanımda oldunuz. Bu tez çalışmasını tamamlayabilmemde sizlerin sabrı, fedakarlığı ve sonsuz desteği çok büyük rol oynadı.

Her birinizin bana sağladığı güven, sevgi ve cesaret sayesinde bu zorlu süreci aşmamı sağladınız. Benim için her şeyden daha kıymetli olan bir şey varsa, o da sizinle bu yolda yürümektir. Göstermiş olduğunuz anlayış, sabır ve özveri için minnettarım. Bu başarı, sadece benim değil, sizlerin de başarınız. Her şey için teşekkür ederim.

Hücre çalışmalarındaki emeklerine ve katkılarından dolayı Dönay ÇUNGUR'a ve Münevver DAYAN'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Biyonanoteknoloji Araştırma Laboratuvarı arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde, 220Z070 ve 123R074 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) teşekkür ederim.

Muhammet AVAN

AKSARAY, 2025

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Geleneksel Tedavi Yöntemleri	3
1.1.1 Kemoterapi	3
1.1.2 Radyoterapi.....	3
1.1.3 İmmünoterapi.....	3
1.1.4 Cerrahi işlemler	4
1.2 Yeni Nesil Tedavi Yöntemleri	5
1.2.1 Fotodinamik terapi (FDT)	5
1.2.2 Sonodinamik terapi (SDT).....	6
1.2.3 Sonofotodinamik terapi (SFDT).....	8
1.3 Resorufin	9
1.3.1 Resorufin kullanım alanları	11
1.4 Kemilüminojenikler.....	12
2. KAYNAK ÖZETLERİ	15
2.1 Resorufin İle İlgili Kaynak Özetleri	15
2.2 Fotodinamik Terapi	17
2.3 Sonodinamik Terapi	20
2.4 Sonofotodinamik Terapi.....	22
2.5 Kemilüminojenik Maddeler	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
3.1 Materyal.....	31
3.2 [7-(prop-2-in-1-ilokzi)-3H-fenoksazin-3-on] (4) Sentezi	31
3.3 [2-bromo-N-(1,4-okzo-1,2,3,4-hidroftalanin-5-il)asetamid] (7) sentezi.....	32
3.4 [2-azido-N-(1,4-okzo-1,2,3,4-tetrahidroftalmin-5-il)asetamid] (7) Sentezi....	32
3.5 [N-(1,4-okzo-1,2,3,4-tetrahidroftalmin-5-il)-2-(4-(((3-oxo-3H-fenoksazin-7-il)oksi)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-il)asetamid] (1) Sentezi.....	33
3.6 1@BSA-FOLIC'in Hazırlanması	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
4.1 Ana Bileşiğin Sentezi	35
4.2 Bileşik 1'in Fotofiziksel Özellikleri	42
4.3 Bileşik 1'in Kemilüminesans Özellikleri	43
4.4 Fotodinamik Testler	45
4.4.1 Bileşik 1'in Fotodinamik özellikleri.....	45
4.5 Sonodinamik Testler.....	46
4.5.1 Bileşik 1'in sonodinamik özellikleri.....	47
4.5.2 Bileşik 1'in sonofotodinamik özellikler	48
4.6 Bileşik 1'in Nanoformülasyonu: (1@FA-BSA).....	48
4.6.1 1@FA-BSA karakterizasyonu	49
4.7 1@FA-BSA Fotofiziksel Özellikleri	50
4.8 1@FA-BSA Toksisite Testi	50
4.9 1@FA-BSA <i>in vitro</i> Fotodinamik Testleri.....	51
4.10 1@FA-BSA <i>in vitro</i> Sonodinamik Testleri.....	52

4.11 1@FA-BSA <i>in vitro</i> Sonofotodinamik Terapi Testleri	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	66



YÜKSEK LİSANS TEZİ
KEMİLÜMİNOJENİK BİR FOTOTERAPİ AJANININ TASARIM VE
SENTEZİ

Muhammet AVAN

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

ÖZET

Bu tez çalışmasında, resorufin iskeletine sahip kemilüminesans özellik gösterebilen ve terapötik potansiyele sahip yeni nesil bir ajan geliştirilmiştir. Tasarlanan ajan reaktif oksijen türlerine (ROT) duyarlılık gösteren kemilüminojenik yapısıyla, ışık ve/ya ultrases gibi dış uyaranlarla aktive edilebilen çok modlu bir tedavi yaklaşımı sunmaktadır. Malzemenin fotodinamik, sonodinamik ve sonofotodinamik özellikleri detaylı olarak araştırılmıştır. Ajanın kanserli dokuları hedeflemesini sağlamak ve biyoyararlanımını artırmak amacıyla folik asit (FA) ile modifiye edilmiş sığır serum albümini (BSA) ile formülizasyonu gerçekleştirilmiştir.

In vitro biyolojik testler kapsamında, sitotoksosite ve biyoyumluluk analizleri gerçekleştirilmiştir. Ajanın biyoyumlu olduğu belirlenmiştir. Öte yandan, lüminal meme kanseri (MCF-7) hücre hattı ile inkübe edilen ajanın ışık (FDT) ve/veya ultrases (SDT) uygulandığında hücre canlılığında belirgin bir azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, farklı tedavi gruplarının karşılaştırıldığı analizlerde, sonofotodinamik terapinin (SFDT) tekil uygulamalara (FDT veya SDT) göre daha güçlü bir antikanser etki yarattığı ortaya konmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışmada geliştirilen yaklaşım ile kemilüminojenik özellik taşıyan, hedeflenebilir ve çok modlu bir terapötik ajan geliştirilmiştir. Bu ajan, özellikle sonofotodinamik terapi alanında yenilikçi bir yaklaşım sunarak, kanser tedavisinde etkili ve güvenli bir alternatif olma potansiyeline sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Fotodinamik Terapi (FDT), Hedeflenebilir Tedavi, Kanser Tedavisi, Kemilüminesans, Resorufin, Sonodinamik Terapi (SDT), Sonofotodinamik Terapi (SFDT)

Mayıs, 2025; 66 sayfa

M.Sc. THESIS

**THE DESIGN AND SYNTHESIS OF A CHEMILUMINESCENT
PHOTOTHERAPY AGENT**

Muhammet AVAN

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

Supervisor: Prof. Dr. Fatih ALGI

ABSTRACT

In this thesis, a novel therapeutic agent based on resorufin scaffold with chemiluminogenic properties was developed. Owing to its chemiluminogenic structure that is responsive to reactive oxygen species (ROS), it enables a multimodal therapeutic approach that can be activated by external stimuli such as light and/or ultrasound. The photodynamic, sonodynamic, and sonophotodynamic properties of the material were systematically investigated. To enhance its bioavailability and targetability, the agent was formulated with bovine serum albumin (BSA) modified with folic acid (FA).

In vitro biological tests including cytotoxicity and biocompatibility assays, which confirmed the biocompatibility of the agent, were performed. Furthermore, when incubated with luminal breast cancer (MCF-7) cells, the agent induced a marked reduction in cell viability upon exposure to light (PDT) and/or ultrasound (SDT). Comparative analyses of treatment groups demonstrated that sonophotodynamic therapy (SPDT) elicited a stronger anticancer effect than single-mode approaches (PDT or SDT).

In conclusion, this study reports the development of a chemiluminogenic, targetable, and multimodal therapeutic agent. By introducing an innovative strategy particularly in the field of sonophotodynamic therapy, this agent holds significant potential as a safe and effective alternative for cancer treatment.

Keywords: Photodynamic Therapy (PDT), Targetable Therapy, Cancer Treatment, Chemiluminescence, Resorufin, Sonodynamic Therapy (SDT), Sonophotodynamic Therapy (SPDT)

May, 2025; 66 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022'de yaptığı çalışmada yaşa göre dünyada 100.000 de görülme sıklığı, dünya haritası	1
Şekil 1.2.	Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022'de yaptığı çalışmada kanser tipine göre görülme sıklığı	2
Şekil 1.3.	Sonodinamik terapinin çalışma mekanizması.....	8
Şekil 1.4.	Sonofotodinamik terapi.....	9
Şekil 1.5.	Resorufin iskeletinin modifikasyonu	11
Şekil 1.6.	Reasazurin'in resorufine indirgenme mekanizması.....	11
Şekil 1.7.	Amplex red'in indirgenmesi	12
Şekil 1.8.	Kemilüminojenik maddeler, 1,2-Dioxetans, Luminol, Luciferin ve Cypridina luciferin	14
Şekil 2.1.	Bileşik 9'un kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.2.	Bileşik 10'un kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.3.	Bileşik 11'in kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.4.	Bileşik 12'in kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.5.	Bileşik 13'ün kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2.6.	Bileşik 14'ün kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2.7.	Bileşik 15'in kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.8.	Bileşik 16'nın kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.9.	Bileşik 17'in kimyasal yapısı.....	19
Şekil 2.10.	Bileşik 18'in kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.11.	Bileşik 19'un kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.12.	Bileşik 20'in kimyasal yapısı.....	21
Şekil 2.13.	Bileşik 21'in kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.14.	Bileşik 22'nin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.15.	Bileşik 23'ün kimyasal yapısı.....	23
Şekil 2.16.	Bileşik 24'ün kimyasal yapısı.....	24
Şekil 2.17.	Bileşik 25'in kimyasal yapısı.....	24
Şekil 2.18.	Bileşik 26'nın kimyasal yapısı.....	25
Şekil 2.19.	Bileşik 27'in kimyasal yapısı.....	26
Şekil 2.20.	Bileşik 28'in kimyasal yapısı.....	26
Şekil 2.21.	Bileşik 29'un kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.22.	Bileşik 30'un kimyasal yapısı.....	28
Şekil 2.23.	Bileşik 31 ve 32'in kimyasal yapısı.....	29
Şekil 2.24.	Bileşik 33'ün kimyasal yapısı.....	29
Şekil 2.25.	Bileşik 34'ün kimyasal yapısı.....	30
Şekil 3.1.	Bileşik 4'ün sentezi.....	31
Şekil 3.2.	Bileşik 7'in sentezi.....	32
Şekil 3.3.	Bileşik 8'in sentezi.....	32
Şekil 3.4.	Bileşik 1'in sentezi.....	33
Şekil 3.5.	1@FA-BSA formülasyonu.....	34
Şekil 4.1.	Nihayi bileşiğin 1 sentez basamakları.	35
Şekil 4.2.	Bileşik 4'ün sentezi.....	35
Şekil 4.3.	Bileşik 4'ün ¹ H-NMR spektrumu (600 MHz, DMSO-d ₆)	36
Şekil 4.4.	Bileşik 4'ün ¹³ C-NMR spektrumu (151 MHz, DMSO-d ₆).	36
Şekil 4.5.	Bileşik 4'ün kütle spektrumu.....	37
Şekil 4.6.	Bileşik 7'in sentezi.....	37
Şekil 4.7.	Bileşik 7'nin ¹ H-NMR spektrumu (600 MHz, DMSO-d ₆)	38

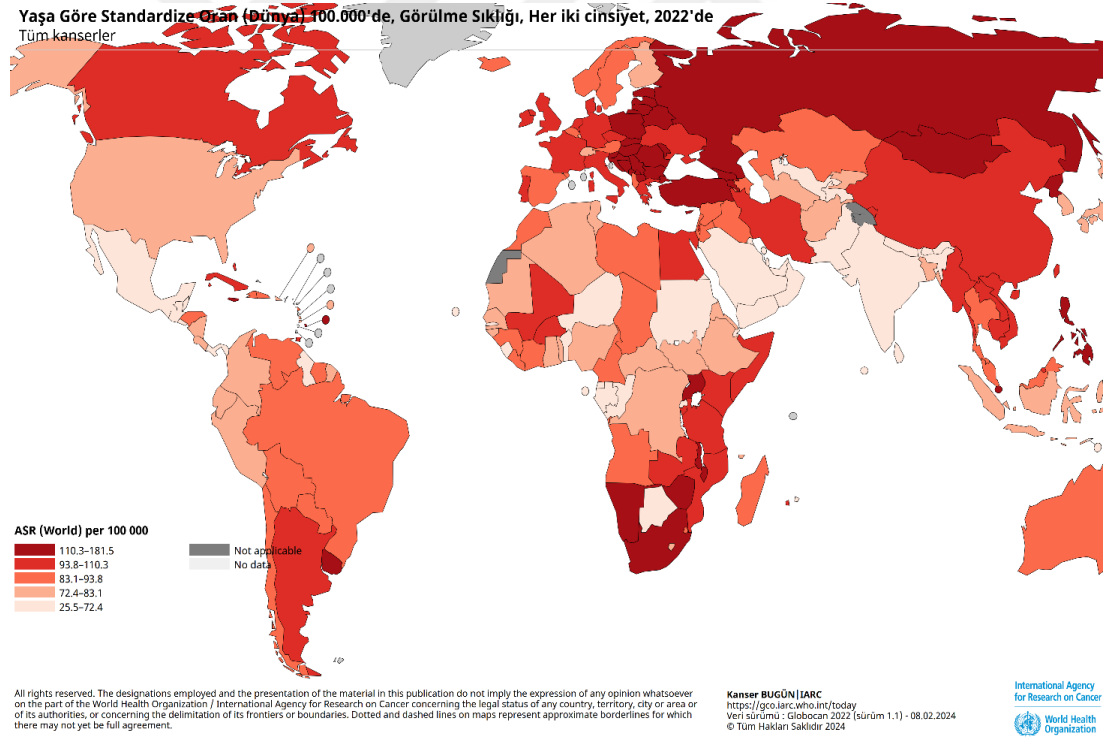
Şekil 4.8.	Bileşik 7'nin ^{13}C -NMR spektrumu (151 MHz, DMSO- d_6).....	38
Şekil 4.9.	Bileşik 7'nin kütle spektrumu.....	39
Şekil 4.10.	Bileşik 8'in sentezi.....	39
Şekil 4.11.	Bileşik 8'in ^1H -NMR spektrumu (600 MHz, DMSO- d_6)	40
Şekil 4.12.	Bileşik 8'in ^{13}C -NMR spektrumu (151 MHz, DMSO- d_6).....	40
Şekil 4.13.	Bileşik 8'in kütle spektrumu.....	41
Şekil 4.14.	Bileşik 1'in sentezi.....	41
Şekil 4.15.	Bileşik 1'in ^1H -NMR spektrumu (600 MHz, DMSO- d_6)	41
Şekil 4.16.	Bileşik 1'in ^{13}C -NMR spektrumu (151 MHz, DMSO- d_6).....	42
Şekil 4.17.	Bileşik 1'ün kütle spektrumu.....	42
Şekil 4.18.	1 ($6,6 \times 10^{-6}$ M) için soğurma spektrumu.....	43
Şekil 4.19.	1 ($6,6 \times 10^{-6}$ M) için floresans spektrumu.	43
Şekil 4.20.	1 ($7,2 \times 10^{-4}$ M) alkali H_2O_2 ve CuSO_4 , (pH: 10,4) ile muamele edilmesi sonucu elde edilen kemilüminesans spektrumu.	44
Şekil 4.21.	1 ($7,2 \times 10^{-4}$ M), çeşitli reaktif oksijen türleri (ROS) ve analizlerle ($\bullet\text{OH}$, O^+Bu , F^- , Br^- , I^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , BF_4^- , S^{2-} , SO_4^{2-} , HSO_4^- , ClO^- , PO_4^{3-} , IO_3^- , N_3^- , OAc^- , SH^- , sitrat, CN^- , OH^- , NO_3^- , NO_2^- , H_2PO_4^- , ClO_4^- , PF_6^- ; her biri $4,5 \times 10^{-4}$ M) oda sıcaklığında (pH: 10,4) ile muamelesi ile verdiği bağlı kemilüminesans şiddeti.	45
Şekil 4.22.	Bileşik 1'in ($6,6 \times 10^{-6}$ M) derişiminde çözünmüş DPBF ($19,60 \mu\text{g mL}^{-1}$) varlığında ışınlanma süresi boyunca elde edilen absorbsiyon spektrumu.....	46
Şekil 4.23.	Bileşik 1'in ($6,6 \times 10^{-6}$ M) derişiminde çözünmüş DPBF ($19,60 \mu\text{g mL}^{-1}$) varlığında ultrases ile maruz kalma süresince elde edilen absorbsiyon spektrumu.	47
Şekil 4.24.	Bileşik 1'in ($6,6 \times 10^{-6}$ M) derişiminde çözünmüş DPBF ($19,60 \mu\text{g mL}^{-1}$) varlığında aynı anda ultrases ve ışınlama maruz kalma süresince elde edilen absorbsiyon spektrumu.	48
Şekil 4.25.	Hedef bileşiğin 1 FA-BSA ile formülasyonu.	49
Şekil 4.26.	1@FA-BSA'nın a) Nanoparçacıkların TEM görüntüleri, b) Parçacık boyutlarının dağılım profil, c) Zeta potansiyel analizi ($-26,3$ mV).	50
Şekil 4.27.	1@FA-BSA için soğurma spektrumu.	50
Şekil 4.28.	L929 hücrelerinin, farklı derişimlerde (0.0 - $50.0 \mu\text{g/mL}$) 1@FA-BSA ile inkübe edilmesi sonucunda canlılık oranları.	51
Şekil 4.29.	1@FA-BSA ile MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan <i>in vitro</i> FDT testlerinden meydana gelen hücre canlılık sonuçları.	52
Şekil 4.30.	1@FA-BSA ile MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan <i>in vitro</i> SDT testlerinden meydana gelen hücre canlılık sonuçları.	53
Şekil 4.31.	1@FA-BSA ile MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan <i>in vitro</i> SFDT testlerinden meydana gelen hücre canlılık sonuçları.	54
Şekil 4.32.	1@FA-BSA (0.0 - $50.0 \mu\text{g/mL}$) ile MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan <i>in vitro</i> sonofotodinamik (FDT, SDT ve SDT+FDT) terapi testlerinden meydana gelen hücre canlılık sonuçları.	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

BSA	Sığır Serum Albumin
CRET	Enerji Transfer
DCM	Dikloramethan
DMF	Dimetilformamide
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DPBF	1,3-Difenilizobenzofuran
FD	Foto Duyarlaştırıcı
FDT	Fotodinamik Terapi
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SDT	Sonodinamik Terapi
SFDT	Sonofotodinamik Terapi
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
UV-VIS	Morötesi ve Görünür Işık Soğurma Spektroskopisi
¹H NMR	Hidrojen Çekirdek Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹O₂	Singlet Oksijen
¹³C NMR	Karbon Çekirdek Manyetik Rezonans Spektroskopisi
λ_{exc}	Uyarma Dalga Boyu
λ_{max}	Maksimum Soğurma Dalga Boyu
λ	Dalga Boyu

1. GİRİŞ

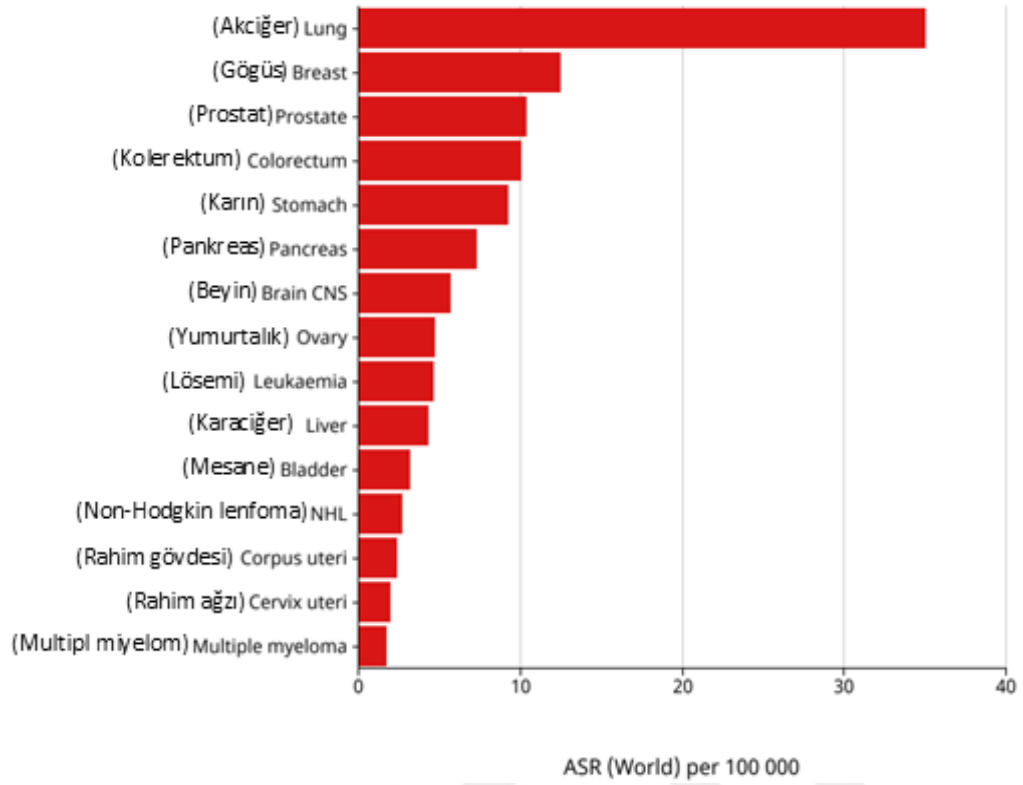
Modern insan yaşam sürecinde, son derece agresif olan kanser, insan sağlığını gün geçtikçe tehdit eden başlıca hastalıklardan biri olmuştur. Yıllan yıla artan insidansı ve yüksek ölüm oranı, insan refahını ciddi şekilde tehlikeye atmakta ve sosyal gelişim için son derece zararlı olmaktadır (Medina vd., 2023). Bir hücre topluluğunda fenotip ve genotip farklılaşması ile genetiği değişmiş hücrelerin çoğalmasıyla sağlıklı hücre ölümüne sebep olan veya sağlıklı hücrelere çevresel olarak zarar vererek yok etmesine kanserleşme denir (Vessoni vd., 2020). Ayrıca, kısa zaman dilimlerinde büyük sayıda genomik anomali meydana gelen ve kanser ilerlemesinin çok erken aşamalarında yüksek intratümör heterojenliği üreten kesintili bir evrim biçimini destekleyen bulgular da bulunmaktadır (Baca vd., 2013). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022'de yaptığı çalışmada dünyada kanser ile ölen insanların 100.000 de görülme sıklığının dünya haritasında Şekil 1.1'de görmekteyiz.



Şekil 1.1. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022'de yaptığı çalışmada yaşa göre dünyada 100.000 de görülme sıklığı, dünya haritası (URL-1).

Teknoloji ve sağlık sistemi ilerlese de ne yazık ki kanser tedavi edilme zorluğu ve yüksek ölüm oranları ile modern insan toplumunun başına büyük bir sorun olmuştur. Türkiye de dünyadaki gibi yüksek ölüm oranları görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü

'nün yaptığı çalışmada 2022 yılında her iki cinsiyette yaşa göre 100.000 de kanser türlerine göre ölüm oranı Şekil 1.2'de görülmektedir.



Şekil 1.2. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022'de yaptığı çalışmada kanser tipine göre görülme sıklığı (URL-1).

Şu anda, kanser tedavisinde, kanserin karmaşık türleriyle karşı karşıya kalındığında, çeşitli klinik tedavi yöntemleri bulunmasına rağmen, tedavi etkinliği hâlâ pek tatmin edici değildir ve belirli sınırlamaları vardır (Zhang vd., 2023). Manyetik rezonans görüntüleme (MRI), pozitron emisyon tomografisi (PET) ve bilgisayarlı tomografi (CAT) gibi klinik uygulamalar, genellikle kanserin erken evrelerde kesin teşhisinden daha çok, tümörün yayılma miktarının ve metastaz merkezlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca, bu yüksek maliyetli ve karmaşık görüntüleme yöntemlerinde kullanılan ajanların, kanser hücrelerine karşı sınırlı bir seçiciliği bulunmaktadır. Ayrıca, bu ajanların radyoaktif özellikleri veya biyoyumlulukla ilgili sorunlar nedeniyle tekrarlanan taramalardan kaçınılmaktadır. Klinik kanser tedavileri genellikle ameliyat, kemoterapi ve radyoterapiyi içerir. Ancak, geleneksel tedaviler sıklıkla saç dökülmesi, sindirim sistemi rahatsızlıkları, yorgunluk, böbrek problemleri gibi birçok yan etkiye yol açar ve bu da hastaların tedavi sürecinde sıkça acı çekmelerine neden olur (Xiong vd., 2024).

1.1 Geleneksel Tedavi Yöntemleri

1.1.1 Kemoterapi

Kemoterapi, II. Dünya Savaşı sırasında kullanılan zehirli gazlar kullanılarak oluşturulmuştur. Bu tedavi, çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemi, Hodgkin lenfoması, testis kanseri gibi normalde ölümcül olan birçok kanseri başarıyla tedavi edebilme yeteneğine sahiptir. Ayrıca, yüksek dereceli non-Hodgkin lenfomalar ve multipl miyelom gibi birçok diğer hastalıkta yaşam beklentisinde önemli bir artış gözlemlenmesi de umut vericiydi. Ancak kemoterapinin sorunu, kanser hücrelerini yok etmenin yanı sıra, özellikle kemik iliği olmak üzere diğer dokulara da yaygın zararlar vermesidir; bu da morbiditeye ve hatta mortaliteye yol açabilir (Alekseenko vd., 2024). Kemoterapi, hastanın fiziksel ve psikolojik sağlığı üzerindeki bilinen yan etkilerine rağmen, büyük ölçüde tercih edilen terapötik seçenek olmaya devam etmektedir. Kemoterapötik ajanlar-ilaçlar, son birkaç yılda büyük bir rol oynamış ve cerrahi veya radyoterapinin belirli nedenlerle uygulanamadığı ileri evre malignitelerde öncelikli seçenek olarak kalmıştır (Hanahan, 2014). Kemoterapötiknin en önemli dezavantajı ilaç direncine yol açabilmesidir.

1.1.2 Radyoterapi

Radyoterapi, iyonize radyasyonun hedeflenmiş bölgede kullanılarak ortamdaki hücreleri öldürmesine denir. Radyoterapi kavramı ve uygulaması, RDT (radyodinamik tedavi) kavramından daha iyi bilinmektedir. Radyoterapi, kanser hücrelerinin büyüme ve çoğalma sürecinde önemli olan biyolojik makromolekülleri doğrudan yok etmek için radyasyon enerjisinin kullanılmasıdır, böylece kanser hücrelerine ölümcül zarar verir. DNA'nın dayanabileceği radyasyon enerjisi seviyesi çok düşük olsada, radyasyon insan dokularından geçerek tümör bölgesine ulaşması gerektiğinde, radyasyon enerji seviyesi birkaç milyon elektronvolt seviyelerine çıkar ve bu da sağlıklı dokulara zarar verme oranını iki katına çıkarır (Di vd., 2023).

1.1.3 İmmünoterapi

Kanser immünoterapisi, kanser tedavisinde paradigmayı değiştirmiştir; bu tedaviler, kemoterapiler ve doğrudan kanser hücrelerini öldüren diğer ajanlara kıyasla daha az hedef dışı etkiye sahip olarak, antitümör bağışıklık yanıtlarını iyileştirmeyi

amaçlanmaktadır (Parker vd., 2018). Kanseri immünoterapisinde, ajanlar, bağışıklık sistemini aktive etmek veya bağışıklık sisteminin kanser hücrelerine saldırmasını sağlamak için kullanılır; bu doğal mekanizmaların birçoğu hastalık ilerledikçe kaçınılır. Kanseri için ilk piyasaya sürülen immünoterapiler, sitokin interferon- α (IFN α) adlı rekombinant versiyonlardı ve 1986 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından tüylü lösemi hücresi için onaylanmıştır. Bu erken klinik denemelerde tedavi edilen bazı hastalar kısmi remisyona yaşasa da, IFN α , tedavi süresinin kısa olması nedeniyle kıllı hücre lösemisi için birinci basamak tedavi olarak hızla purin analoglarıyla yer değıştirdi. Ardından, rekombinant interlökin-2 (IL-2) kanseri için bir immünoterapi olarak araştırılmaya başlandı ve 1992'de metastatik böbrek kanseri için, 1998'de ise metastatik melanom için FDA tarafından onaylandı. IL-2 tedavisi, bazı hastalarda kalıcı tam yanıtlar sağladığı için başlangıçta büyük bir heyecanla karşılandı (Riley vd., 2019).

1.1.4 Cerrahi işlemler

Çoğu katı tümör için birincil tedavi yöntemi cerrahi işlemlerdir. Eğer tüm kanser hücreleri cerrahiyle çıkarılırsa, hasta iyileşmiş olur. Cerrahiden sonra, tümör hücrelerinin rezeksiyon bölgesinin çevresinde kalıp kalmadığı, yani cerrahi margin (kenar), genellikle tümör nüksü ve sağkalımın en güçlü tahmin edicilerinden biri olarak kabul edilir. Pozitif marginler, cerrahi örneğin kesilme sonrası kenarında tümör hücrelerinin bulunması olarak tanımlanır ve yerel nüks ile ilişkilidir, baş ve boyun kanseri, meme kanseri, küçük hücre dışı akciğer kanseri, kolorektal kanser ve ürogenital sistem kanserinde kötü tahmini iyileşme şansı gösterir (Nguyen vd., 2013). Çoğu durumda, pozitif cerrahi marginler nedeniyle kötüleşen sonuçlar, kurtarıcı cerrahi (yani, pozitif marginin yeniden kesilmesi) veya ek kemoterapi ve/veya radyoterapi ile düzeltilmez. Bu gözlemin nedeni muhtemelen çok faktörlüdür ve kısmen, tekrar cerrahi sırasında kalıntı kanserin tespit edilmesindeki zorlukla ilişkilidir (Haque vd., 2004).

1.2 Yeni Nesil Tedavi Yöntemleri

1.2.1 Fotodinamik terapi (FDT)

FDT, ışık soğrulması sonucunda yüksek derecede sitotoksik türler üretebilen bir Fotoduyarlaştırıcıya (FD) dayanır. Tipik olarak, sitotoksik türler, uyarılmış durumdaki FD'nin moleküler oksijen ile reaksiyona girerek reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşmasına yol açmasıyla üretilir. İki tür ROT üretilir: singlet oksijen (1O_2), yani uyarılmış FD'den enerji transferi yoluyla oluşan oksijenin uyarılmış durumu (Tip II mekanizması), veya foto-uyarılmış FD'den elektron transferiyle oluşan tür (Tip I mekanizması) (Baptista vd., 2017; Dąbrowski vd., 2017).

Süperoksit radikali, su veya hidrojen iyon katyonu ile reaksiyona girerek diğer ROT üretebilir, bunlar arasında hidroksil radikali ($OH^\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve diğerleri bulunmaktadır. FDT için ana bileşen, uyarılmış durumda ROT üretebilme yeteneğine sahip bir FD'dir. Çünkü ROT fotoduyarlaştırıcıları aktif hale getirenler ile, uyarılmış durumdaki FD ile O_2 arasında yakın bir mesafe gerektirir, bu nedenle uzun ömürlü triplet uyarılmış durumunun yüksek kuantum verimine sahip FD'ler (mikrosaniyeler mertebesinde yaşam süresine sahip) genellikle FDT için kullanılır. Dahası, antikanser terapötik uygulama için FD, tümöre lokalize olduktan sonra uyarılmalıdır, bu nedenle derin doku penetrasyonu sağlayacak şekilde ışık soğrulması gerekir. Doku, görünür ışığı güçlü bir şekilde emdiğinden, FD için optimal dalga boyu 650–900 nm aralığındadır (terapötik pencere). 900 nm sınırı, 900–1000 nm arasındaki su emilimi nedeniyle belirlenmiştir (He vd., 2018).

Moleküler açıdan bakıldığında, FDT etkinliği, üç ana faktörün etkileşimine bağlıdır:

- Fotoduyarlaştırıcılar – Uygun dalga boyunda ışığa maruz kaldığında aktifleşen ve ROT üreterek hücreleri öldüren kimyasal bir madde. Fotoduyarlaştırıcı, organik veya inorganik malzemeler olabilir. Organik fotoduyarlaştırıcı, klorofilinler ve porfirinler gibi, en sık kullanılanlardır çünkü görünür ve yakın kızılötesi bölgede soğurma yetenekleri vardır.
- Uygun dalga boyunda ışık – Fotoduyarlaştırıcı aktive etmek için, fotoduyarlaştırıcının emilim aralığına uygun belirli bir dalga boyunda ışık kullanmak gereklidir. En yaygın kullanılan ışık kaynağı, lazer veya belirli bir dalga

boyunda ışık yayan LED'dir; bu ışığın fotoduyarlaştırıcı tarafından soğrulması, ROT üretimine yol açar.

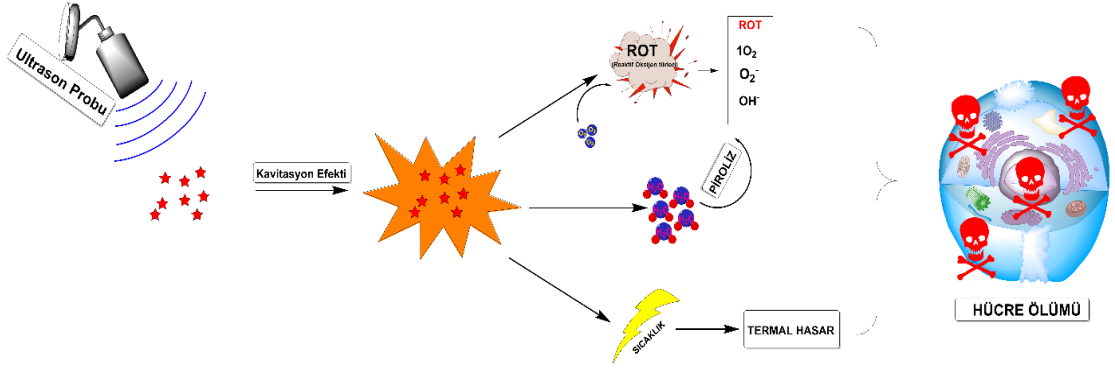
- $^1\text{O}_2$ – Hücrelerde oksijenin varlığı, FDT sırasında reaktif oksijen türlerinin oluşumu için çok önemlidir. FDT süreci, ışık tarafından aktive edilen FD, hücredeki oksijeni singlet oksijene dönüştürmesine yol açar; bu da kanser hücrelerini veya patojenleri yok eder. Hücrelerde oksijen eksikliği (hipoksi), FDT'nin etkinliğini sınırlayabilir; bu nedenle, oksijenin mevcudiyeti, tedavinin etkinliğini etkileyen önemli bir faktördür.

Bu üç faktörün etkileşimi, fotodinamik tedavinin istenen etkisini, yani başta kanser hücreleri veya patojen mikroorganizmaların etkili bir şekilde yok edilmesini sağlamak için çok önemlidir (Allison vd., 2018). Fotodinamik terapide, ROT oluşmasına yol açar ve bu ROT'ler, ardışık reaksiyonları başlatarak bir ROT zincirini oluşturur. Bu reaksiyonlar, kanser hücrelerinin veya patojen mikroorganizmaların yok edilmesine neden olan etkiler yaratır (Castano vd., 2005; Robertson vd., 2009). Bu reaksiyonlar zinciri, oksidatif stres olarak adlandırılan bir fenomene yol açar. Bu durum, vücutta aşırı ROT'nin hücrelerin bunları nötralize etme yeteneğini aştığı bir durumdur. Sonuç olarak, kanser hücreleri yapısal ve fonksiyonel düzeyde zarar görür, bu da onların ölümüne yol açabilir. Oksidatif stres, aynı zamanda proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi diğer hücresel unsurları da etkileyerek çeşitli fizyolojik süreçleri etkileyebilir. Sonuç olarak, fotodinamik terapi, kanser hücrelerinde apoptoz veya nekroz sürecini uyarır, bu da tümör büyümesinin inhibe edilmesine veya azaltılmasına yol açar. Bu yöntemin terapötik etkisi, FD'nin oksijen ile reaksiyona girerek ROT üretme yeteneği kullanılarak kanser hücrelerinin yok edilmesinde kritik bir rol oynamaktadır (Luksiene vd., 2005; Stępniewska vd., 2013).

1.2.2 Sonodinamik terapi (SDT)

Ultrason (US), duyulabilir sesin frekansından daha yüksek frekanslara sahip mekanik dalgalar olarak tanımlanır (konvansiyonel olarak 20.000 Hz). Farklı madde türlerine, özellikle yumuşak dokulara, sıvılara ve gazlara zarar vermeden nüfuz etme özellikleri, onları tanısal tıpta özellikle faydalı kılar; geri alınan yankı-sinyalleri kaydedilir ve gri tonlamalı görüntüler olarak görüntülenir, bu da incelenen yapıların doğru anatomik bilgilerini sağlar (Datta vd., 2024). Ultrasonun terapötik kullanımları, düşük frekanslı US ışınlarının birleşmesiyle geniş bir biyolojik etki yelpazesi uyandırmaya dayanır;

her bir ışın, aradaki dokulardan zararsız bir şekilde geçerken, ışınların sınırlı bir küçük odakta birleşmesi, derin yerel etkiler oluşturur. Bu etkiler, termal veya termal olmayan olabilir. Termal olmayan etkiler, düşük frekanslı, düşük güçlü akustik enerjinin çok kısa darbelerle (örneğin, %5 veya %10 çalışma döngüsü) verildiğinde baskın hale gelir ve bu etkiler, sonodinamik terapi (SDT)'de kullanılır (O'Brien, 2007). SDT, ultrason ile hedef dokuya seçici olarak biriken toksik olmayan bir duyarlaştırıcı ajanının etkileşimini kullanır. Bu, katı tümörlerin non-invaziv ve son derece seçici bir şekilde yok edilmesi imkanı sunar; aslında, hem duyarlaştırıcı ajan hem de insonasyon tek başına önemli etkiler üretmez; bu etkiler yalnızca bu iki unsur birleştirildiğinde meydana gelir (McHale vd., 2016). SDT'nin beyin tümörleri üzerinde sitotoksik etkilerini nasıl gösterdiği hala büyük ölçüde belirsizdir. En yaygın kabul gören teoriler, kavitasyon etkileri, ROT üretimi, kanser hücrelerinde apoptoz indüksiyonu, anti-tümör bağışıklığının iyileştirilmesi, anjiyogenezisin engellenmesi ve hipertermi indüksiyonunu içermektedir (Rengeng vd., 2017). SDT bilimsel temelde, düşük yoğunluklu ultrason, moleküler oksijen ve bir duyarlaştırıcı ilaç kombinasyonunun aynı anda kullanılmasıyla ROT üretimine dayanır. Bu kavram, daha yaygın olarak kabul edilen FDT ile benzerdir; FDT'de ultrason yerine ışık, sensitize edici maddeleri aktive etmek için kullanılır. SDT'deki ROT üretimi, kavitasyon etkisiyle yakından ilişkilidir: Gazlı baloncukların maksimum genişlemesi ve ardından hızla çökmesi, enerjiyi serbest bırakır ve bu da mikro çevrede sıcaklık ve basıncı artırır. Bu aşırı sıcaklık ve basıncın, "sono-kimyasal" reaktör olarak hareket ettiği ve su ve oksijen varlığında ROT üretebildiği öne sürülmüştür. Bu kararsız moleküller, hücre içinde üretilirse yüksek sitotoksik etkiler gösterebilir, örneğin oksidatif stres, DNA hasarı ve apoptoz gibi, ayrıca hücre zarına yakın üretildiklerinde lipid peroksidasyonuna yol açabilirler. Bu süreçte ROT üretimi, çoğunlukla sonolüminesans ve piroliz mekanizmalarıyla açıklanmaktadır. Sonolüminesans, sıvı ortamda asılı duran baloncukların ultrason basıncıyla uyarılması sonucu baloncukların çökmesi sırasında ışık yayılımının gerçekleştiği bir fiziksel olaydır (D'Ammando vd., 2021). Şekil 1.3'te verilen şema Sonodinamik Terapinin çalışma mekanizmasını anlatmaktadır.

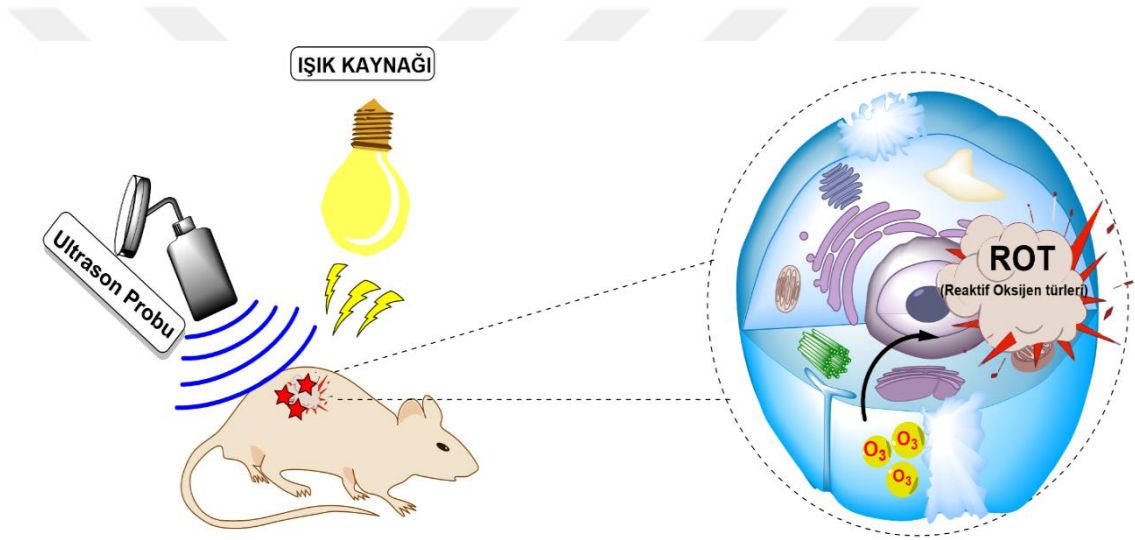


Şekil 1.3. Sonodinamik terapinin çalışma mekanizması.

1.2.3 Sonofotodinamik terapi (SFDT)

Sonofotodinamik terapi (SFDT), kanser hücrelerini yok etmenin yanı sıra bağışıklık koruyucu fonksiyonu artırmanın, toksik ve invaziv olmayan güvenli bir yoldur. Bu tedavi, belirli bir dalga boyuna sahip ışık ve belirli bir frekansta ses kullanarak, ışığa ve ultrasona duyarlı bir malzemeyi aktive eder. Hem FDT hem de SDT, kanser tedavisinde kullanılmıştır, ancak başarıları değişkenlik göstermektedir. FDT, tek başına daha yüzeysel kanser türlerinde, örneğin prostat, meme ve cilt kanserlerinde kullanılmaktadır. Ancak, SDT ile kombinasyon halinde, özellikle kemik, akciğer ve karaciğer dokularına yayılmış metastatik kanserler ve derin yerleşimli tümörler, örneğin bağırsak ve yumurtalık kanseri gibi hastalıklar için etkin olduğu gösterilmiştir, seçici olarak tümör hücrelerine bağlanarak, hücrelerin parçalanmasına neden olur. İleri evre kanser tedavisi gören hastaların büyük bir kısmı, SFDT ile beklenenden daha uzun yaşamaktadır ve vakaların %75'inde önemli derecede tümör hücresi yıkımı gerçekleşmektedir. SFDT, İngiltere, Meksika, İsrail, Çin ve Cape Town gibi yerlerde kanser için etkili bir tedavi yöntemi olarak mevcuttur. Tedavinin başında, hastalar klorofil bazlı, ışığa duyarlı bir bileşiği ağız yoluyla veya intravenöz olarak alırlar. Bu bileşik, tümör hücrelerine seçici olarak bağlanır (McCaughan vd., 2011). Aktif ajan, tedaviden 48-72 saat önce vücuda verilir ve tedavi öncesinde intravenöz ozon uygulanarak etkileri artırılır; ozon, süper oksijen bileşiği olup, kanser hücrelerinin büyümesini inhibe eder çünkü kanser hücreleri düşük oksijen seviyelerinde daha aktif hale gelirler. Ardından, hasta özel bir ışık yatağına yerleştirilir ve kırmızı ve kızılötesi ışık dalgaları yayan LED ile ışığa maruz bırakılır, ardından vücutta tümörün yerleşim bölgelerinde belirli bir frekansta ultrason tedavisi uygulanır. Uyarılmış ajan, hücrelerde bulunan moleküler oksijenden ROT oluşumunu tetikler. ROT, oksidatif

stres seviyelerini şiddetli bir şekilde artırarak, genetik ve hücre zarında hasara neden olur ve bu da kanser hücresinin ölümüne yol açar. Kanser hücrelerinin ölümü, bağışıklık sistemini aktive eder ve bu sistem, ölü tümör dokusunu temizlemek için harekete geçer ve sonunda saldırıya uğramış olan kalan kanser hücrelerine karşı yanıt verir. SFDT ayrıca, kanser hücrelerinin beslenmesi için kritik olan anjiyogenez sürecini engeller. Vücudun tamamı ışığa maruz kaldığı için, bu ışıkla etkileşimde bulunan tüm kanser veya kanser öncesi hücreler etkilenir, böylece vücuttaki her türlü kanserin yok edilmesini ve inhibe edilmesini sağlar. Bu tedavi tamamen güvenlidir ve tek yan etkiler, ölü tümör dokusunun temizlenmesi amacıyla oluşan iltihaplanma yanıtı ile ilgilidir (Schumacker vd., 2006; Sadanala vd., 2014). Şekil 1.4'te SFDT uygulaması verilmiştir.



Şekil 1.4. Sonofotodinamik terapi.

1.3 Resorufin

Resorufin, önemli bir organik florofor/ kromofor olarak, floresans / soğurma analizleri için duyarlı belirteç geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Şu ana kadar resorufin iskeleti temel alınarak 100'den fazla belirteç geliştirilmiş ve bunlardan bazıları ticari olarak satışa sunulmuştur. Resorufin tabanlı belirteç kullanımının yaygınlaşmasının başlıca nedenleri şunlardır:

Benzersiz Fotofiziksel Özellikler:

Uzun uyarma (572 nm) ve emisyon (585 nm) dalga boyları, biyolojik sistemlerdeki otofloresans olasılığını en aza indirir.

Yüksek floresans kuantum verimliliği ($\Phi = 0,74$ su içinde), güçlü floresan sinyalleri sağlar.

Yüksek molar absorptivite ($56.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), ışığı etkili bir şekilde soğurmayı sağlar.

Kararlılık:

Işık ışıınımı ve pH değışikliklerine karşı yüksek kararlılık, 6,0-10,0 pH aralığında çalışabilme yeteneği, biyolojik ve kimyasal ortamlar için uygun hale getirir.

Çözünürlük ve Biyouyumluluk:

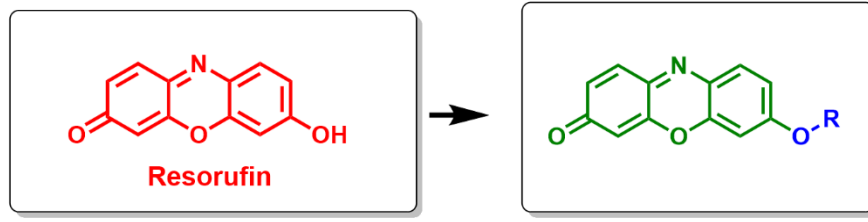
Yüksek su çözünürlüğü (1 mg/mL'ye kadar), su bazlı çözeltilerde kullanımını mümkün kılar.

Biyouyumluluk, biyolojik uygulamalar, hücresel ve hayvan modeli çalışmaları için idealdir.

Floresans ve Renkli Biyolojik Tahliller:

Resorufin, hem floresan hem de soğurma analizlerde belirgin bir kapasiteye sahip olup, biyolojik ve kimyasal sistemlerde çeşitli analizleri tespit etme ve ölçme konusunda çok yönlü bir araç sağlar.

Bu özellikler, resorufini biyolojik araştırmalar, tanı ve terapötik uygulamalar için duyarlı, güvenilir ve çok yönlü belirteç tasarımı için mükemmel bir seçim yapmaktadır (Tian vd., 2021). Resorufin boyasının floresans yoğunluğu, kimyasal yapısının modifikasyonu ile kolayca düzenlenebilir. Bu özellik, bu floroforu, biyolojik analizler için duyarlı floresans belirteç geliştirilmesinde kullanımı kolaylaştırır (Im vd., 2013). Genel olarak, resorufin ile duyarlı floresan belirteç geliştirmek için iki ana yaklaşım söz konusudur (Şekil 1.5). İlk yaklaşımda, resorufinin 7-hidroksi grubunun korunması ile sağlanır. Bu modifikasyon, resorufinin intramoleküler yük transferi (ICT) sürecini zayıflatır, bu da resorufin floresansının sönmesine yol açar.

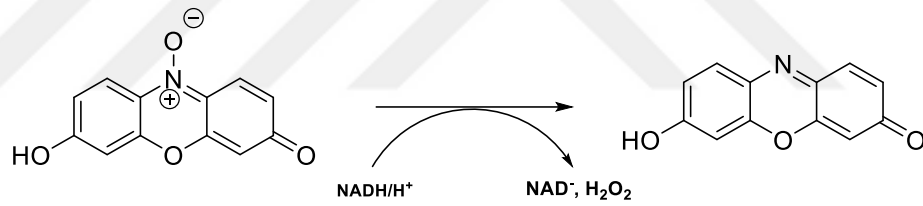


Şekil 1.5. Resorufin iskeletinin modifikasyonu.

Bu yaklaşımda, floresans özelliklerinin zayıflaması, yalnızca analit ile etkileşim sonrasında floresansın tekrar aktive edilmesi amacıyla yapılır. Yani, bu tür prob tasarımları, analitin varlığına göre renk değiştirerek yeni bir yanıt mekanizması oluşturur. Bu, özellikle ilgili reaksiyonların doğruluğunu belirlemek ve gözle görülebilir değişiklikler yapmak için önemlidir (Shiraishi vd., 2013).

1.3.1 Resorufin kullanım alanları

Enzim Aktivitesi Testleri: Resazurinin Resorufine indirgenmesine dayanır (Şekil 1.6) (Larsen vd., 2022).



Şekil 1.6. Resazurin'in resorufine indirgenme mekanizması.

Hücre Canlılık Testleri: Resorufin, hücrelerin metabolik aktivitelerini belirlemek için kimyasal bir belirteç gibi kullanılır. Sitokrom P450 (CYP) ve siklooksijenaz (COX) Faz I enzim aktivitelerinin ölçtümünde kullanılmıştır (Götz vd., 2012).

Fluoresan Mikroskopi: Resorufin, hücresel düzeyde floresan mikroskopi ile takibi yapılabilir. Resorufin yüksek bir floresan kuantum verimi, uzun uyarılama/emisyon dalga boyları ile floresans ve kolorimetrik analizlerde belirgin bir yetenek sergiler. Bu florofor, çeşitli biyolojik aktif türler için duyarlı belirteç tasarımında yaygın olarak kullanılmıştır (Tian vd., 2021).

Hücre İçi pH İzleme: Resorufin platformına dayalı hidrazin kullanılarak renksiz madde kırmızı renge doğru kayar, fizyolojik pH’da mükemmel bir doğrusal ilişki sergiler (Qian vd., 2014).

Oksijen Türevlerinin İzlenmesi: Peroksinitrit (ONOO), kısa ömürlü ve yüksek reaktif bir azotlu (RNS) tür olarak, canlı sistemlerdeki çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli roller oynar. Peroksinitrit izlemek için yeni bir resorufin bazlı kırmızı ışık yayan floresan probu geliştirilmiştir (Su vd., 2021).

Oksidatif Stres ve Redoks İndikatörü: Horseradish peroksidaz (HRP) varlığında, Amplex red reaktifi (10-asetil-3, 7-dihidroksifenoksazin), H₂O₂ ile 1:1 stokiometriyle reaksiyona girerek yüksek floresanlı resorufin ürünü üretir (Şekil 1.7). Bu sistemde resorufin tepkime sonucu ortaya çıkan belirteçtir (Armstrong vd., 2007).



Şekil 1.7. Amplex red’in indirgenmesi.

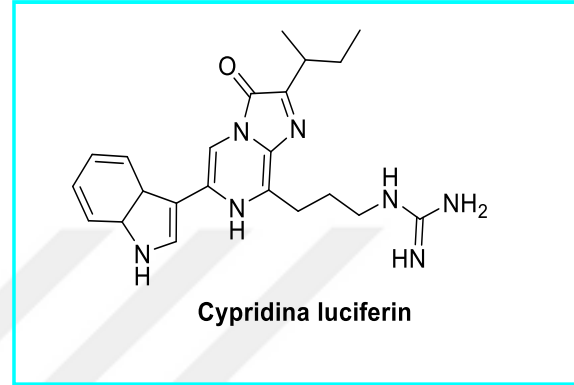
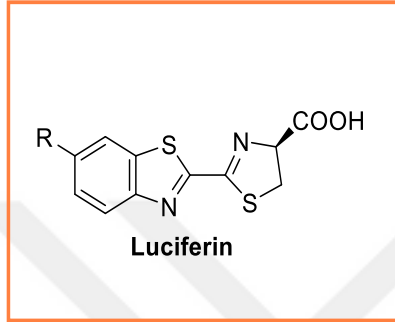
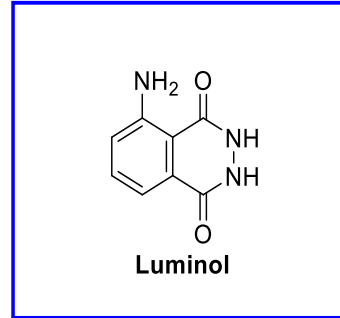
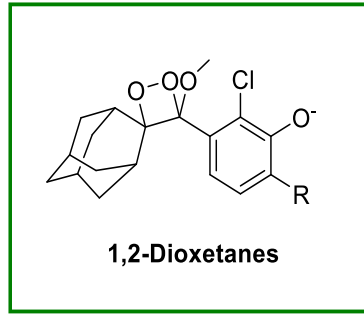
1.4 Kemilüminojenikler

Kemilüminesans, kimyasal reaksiyon sonucu meydana gelen ışık yayılımı (lüminesans) oluşumudur. Kimyasal reaksiyonlar sırasında, girdi maddesi veya ara ürünler gibi kemilüminesan moleküller, oksidasyonla aktive olarak oksitlenmiş yüksek enerjiye sahip ara ürünler oluşturur. Bu ara ürünler, parçalanarak enerjiyi ışık yayılımı yoluyla dağıtır ya da çevresindeki floresan moleküllere enerji transfer eder (García-Campaña vd., 2000). Sonunda, bu moleküller temel durumlarına geri döner ve kemilüminesans oluşturur. Bu nedenle, kemilüminesans genellikle enerji dağılımı yoluna göre iki türde sınıflandırılabilir: doğrudan ve dolaylı kemilüminesans. Doğrudan kemilüminesans sırasında, kemilüminesan molekül, kararsız bir yüksek enerji ara ürünü, yani lüminesan türün uyarılmış halini oluşturacak şekilde oksitlenir. Ardından, bu molekül foton yayarak enerji kaybeder ve temel durumuna geri döner.

Luminol, akridin esterleri ve türevleri gibi birçok yaygın kemilüminesan molekül, doğrudan kemilüminesansı tetiklemek için hidrojen peroksit ile oksitlenebilir. Buna karşılık, dolaylı kemilüminesans sırasında uyarılmış ara ürün, temel durumuna geri dönerken foton yayılımı üretmez. Bunun yerine, yakınındaki bir florofora enerji transferi yaparak kemilüminesans meydana getirir. Lüminol molekülü, karbon, hidrojen, azot ve oksijen atomlarından oluşan, aromatik halkalar içeren bir yapıya sahiptir. Bu atomlar arasında kovalent bağlar bulunur ve bu bağlarda elektronlar paylaşılr. Aromatik halkalarda yer alan π bağları sayesinde, bazı elektronlar belirli atomlar arasında sıkışmak yerine molekül boyunca rezonansa olur; yani elektronlar halkada serbestçe hareket ederler. Bu rezonansa, molekülün elektronik yapısını uyarılmaya uygun hale getirir.

Kimyasal reaksiyon esnasında, özellikle hidrojen peroksit ve baz ortamında gerçekleşen oksidasyon sırasında, molekül içindeki elektronların enerji seviyelerinde değişiklikler olur. Lüminolün oksidasyonu sonucu oluşan ara ürünün elektronları yüksek enerjili, uyarılmış bir hale geçer. Bu durumda atomlar arasındaki elektron bulutları geçici olarak daha yüksek enerji seviyelerine çıkar ve molekül kararsız bir hale gelir.

Ancak bu uyarılmış elektronlar kararsızdır ve kısa sürede temel enerji seviyesine geri dönerler. Elektronların bu enerji seviyeleri arasındaki geçiş sırasında, atomlar arasındaki bağlarda açığa çıkan enerji, çoğu molekülde ısı olarak kaybolurken, lüminol molekülünde bu enerji ışık olarak dışarı salınır. Bu durum, molekülün kuantum mekanik seçim kurallarına uygun elektronik geçişlere sahip olmasından kaynaklanır ve lüminolün kendine özgü ışımaya neden olur (Ettinger vd., 1984). Kemilüminesan substratlar, kimyasal reaksiyonlar yoluyla önce yüksek enerji ara ürünleri üretir, ardından bu ara ürünler, kemilüminesans rezonans enerji transferi (CRET) yoluyla yakınlardaki floroforları veya floresan molekülleri uyarır. Bu floroforlar, enerjiyi lüminesans şeklinde salar ve temel durumlarına geri dönerler. 1,2-dioksetan türevleri ve oksalat esterleri gibi çeşitli dolaylı lüminesan substratlar, biyomarker görüntüleme veya kanser tedavisi için floresan sistemlerle birleştirilmiş kemilüminesan sistemler inşa etmekte kullanılmaktadır (Şekil 1.8) (Gao vd., 2022).

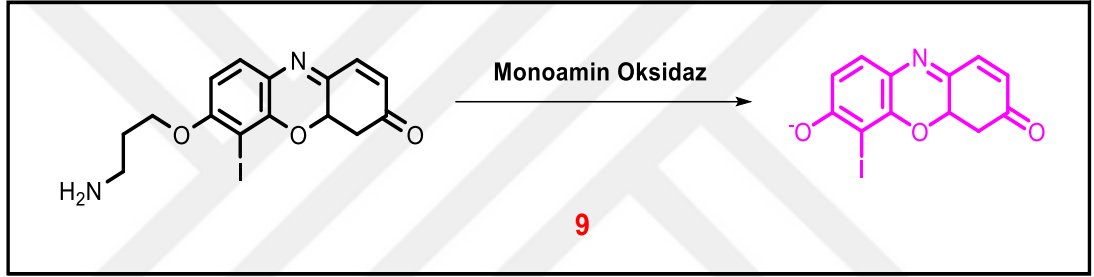


Şekil 1.8. Kemilüminojenik maddeler, 1,2-Dioxetans, Luminol, Luciferin ve Cypridina luciferin (Deepa vd., 2023; Kagalwala vd., 2022; Li vd., 2021).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

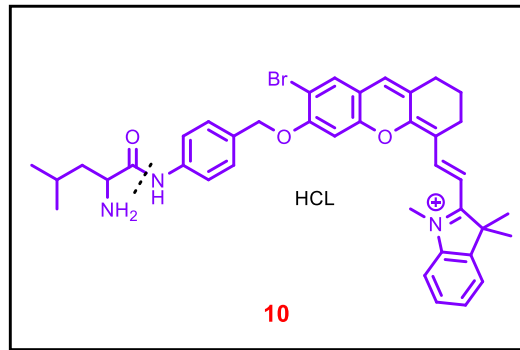
2.1 Resorufin İle İlgili Kaynak Özetleri

Kolemen vd. (2021) kırmızı ışığı soğurma, suda çözünebilen ve iyodlanmış bir resorufin türevini, monoamin oksidaz (MAO) enzimi ile seçici olarak aktive edilebilecek şekilde tasarlanmıştır (Şekil 2.1). MAO izoformlarının eklenmesinin ardından sulu çözeltilerde yüksek $^1\text{O}_2$ verimleri gösterdi ve hücre kültürü çalışmalarında da test edildi. Yüksek MAO-A ekspresyonuna sahip SH-SY5Y nöroblastom hücrelerinde çok daha yüksek bir verimle sitotoksite göstermiştir. Bu etkileri ile MAO ile tetiklenen yeni bir PDT ajanı sunulmuştur (Almammadov vd., 2020).



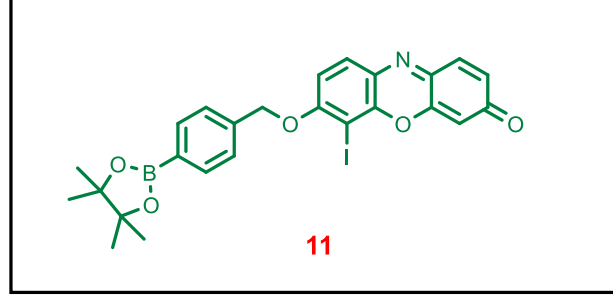
Şekil 2.1. Bileşik 9'un kimyasal yapısı.

Kolemen vd. (2021) Resorufin temeli suda çözünebilen ve fotostabil bromlu hemisiyanin türevi olan leusine aminopeptidaz (LAP) aktivasyonu ile çalışan Bileşik 10'u FDT ajanı olarak tasarlanmıştır (Şekil 2.2). Bu ajan yüksek LAP seviyelerine sahip A549 (akciğer) ve HCT116 (kolon) kanser hücrelerinde endojen LAP enzimi tarafından seçici olarak aktive edilmiştir. Bileşik 10 etkili ve tümörle ilişkili LAP duyarlı fototerapotik bir ajan olarak kullanılmıştır (Arslan vd., 2021).



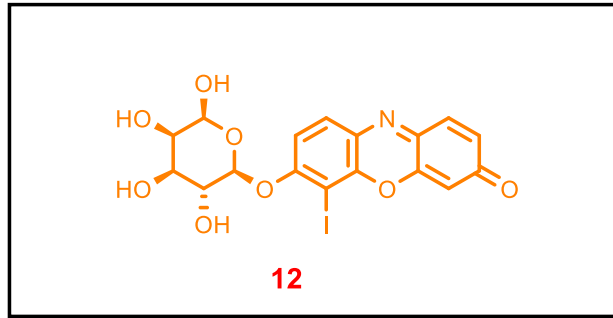
Şekil 2.2. Bileşik 10'un kimyasal yapısı.

Kolemen vd. (2021) bileşik 11 ile İyot atomu ilave edilmiş Resorufin'in H_2O_2 İle aktifleşen FDT sentezlemişlerdir (Şekil 2.3). Meme kanseri üzerinde de FDT etkinliği test edilmiştir (Kolemen vd., 2021).



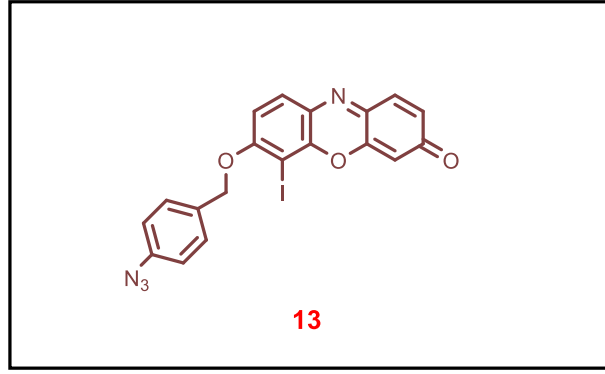
Şekil 2.3. Bileşik 11'in kimyasal yapısı.

Kolemen vd. (2022) β -galaktosidaz (β -gal) aktivasyonu ile çalışan FDT ajanı sentezlemiştir (Şekil 2.4). Bileşik 12'nin enzimatik aktivasyon sonucu dikkat çekici bir floresans açılma yanıtı ile birlikte yüksek singlet oksijen (1O_2) kuantum verimi (%54) sergilemiştir. Bileşik 12 farklı hücre hatlarında test edilmiş ve U-87MG (insan glioblastoma) hücrelerinde seçici fotositotoksisite göstermiştir. Beyin kanserinde kullanılabilecek bir FDT ajanı olarak dikkat çekmektedir (Gunbas vd., 2022).



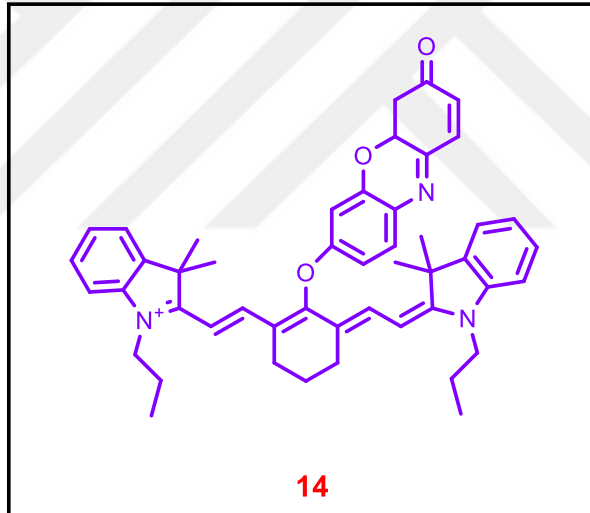
Şekil 2.4. Bileşik 12'in kimyasal yapısı.

İyodlanmış resorufin çekirdeğine H_2S 'e yanıt verecek uç eklenerek yeni bir FD geliştirilmiştir (Şekil 2.5). H_2S ile reaksiyona girerek floresans sinyalini ve 1O_2 üretme yeteneğini aktive eden bu ajan H_2S açısından zengin SH-SY5Y insan nöroblastom hücrelerinde yüksek sitotoksisite göstermiştir (Kolemen vd., 2023).



Şekil 2.5. Bileşik 13'ün kimyasal yapısı.

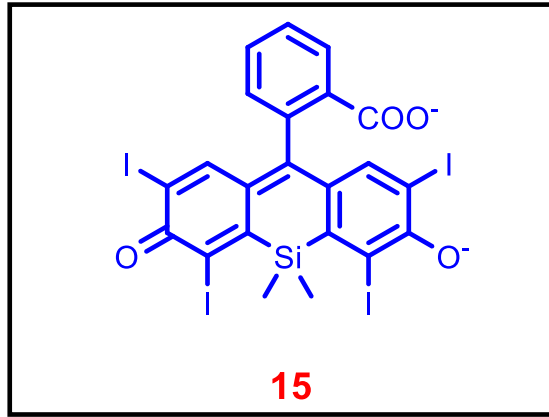
Li vd. (2025) GSH ile aktif hale gelen siyanin (Cy) ve yüksek floresans etkinliği bulunan resorufini bir araya getirmiştir (Şekil 2.6). Suda çözünürlüğü ve biyoyumluluğu artırmak için, amfifilik polimer DSPE-PEG₂₀₀₀-OMe ile kapsüle ederek nanopartiküller oluşturulmuştur (Li vd., 2025).



Şekil 2.6. Bileşik 14'ün kimyasal yapısı.

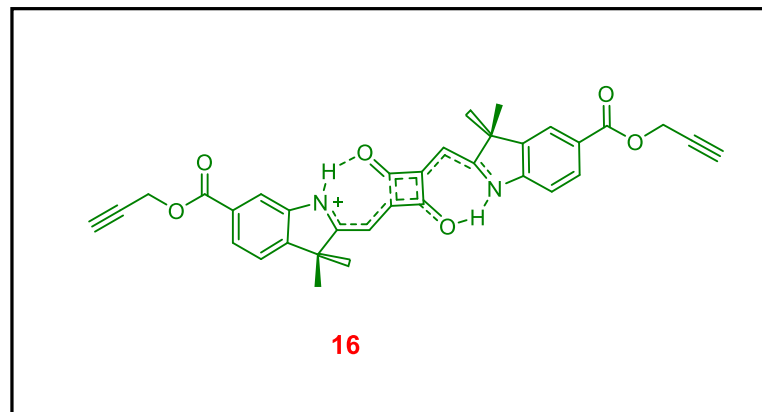
2.2 Fotodinamik Terapi

Kolemen vd. (2021) Bileşik 15 Silikon-fluorescein çekirdeğine Ağır iyot atomu eklenerek, emisyonlu ve terapötik ajan olarak hizmet edebilecek yeni bir sınıf yüksek sitotoksik, kırmızıya kaymış ve suda çözünabilen FD ortaya çıkardı (Şekil 2.7). Tekli oksijen üretme kapasitesi kimyasal olarak değerlendirildi ve sulu çözeltilerde %45'e kadar tekli oksijen kuantum verimi rapor edildi. Triple-negatif meme (MDA MB-231) ve kolon (HCT-116) kanser hücre hatlarında test edilmiştir. Küçük molekül tabanlı bir terapötik-ajan olarak ortaya konmuştur (Kolemen vd., 2021).



Şekil 2.7. Bileşik 15'in kimyasal yapısı.

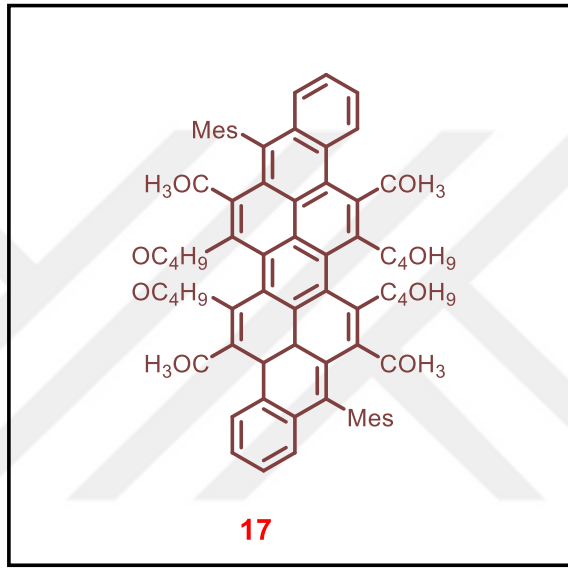
Bu çalışmada, yeni bir norskuarin türevi olan bileşik 16'nın sentezi, karakterizasyonu, biyogörüntüleme uygulamaları ve FDT potansiyeli değerlendirilmiştir (Şekil 2.8). Bileşik 16, hem kanser tedavisi hem de antibakteriyel uygulamalar için umut vadeden bir fotosensitizer olarak öne çıkmaktadır. Geniş bir pH aralığında (pH 2.2–8.0) ROT üretimini başarıyla gerçekleştiren bu bileşik, kırmızı ışık altında Hep-2 larenks karsinom hücrelerinin %77–89'unu yok etmiştir. Ayrıca, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) bakterisinin büyümesini de etkili şekilde durdurmuştur. Bileşik 15'in Pluronic F127 ile nanoformülasyonu sonucu elde edilen 1@F127 nanoparçacıkları, hücre içine etkili şekilde girmiş ve ROT üretimini artırmıştır. Bu özellikleriyle bileşik 16, hem antikanser hem de antibakteriyel amaçlı FDT uygulamaları için güçlü ve çok yönlü bir aday olarak değerlendirilmektedir (Toksoy vd.,2022).



Şekil 2.8. Bileşik 16'nın kimyasal yapısı.

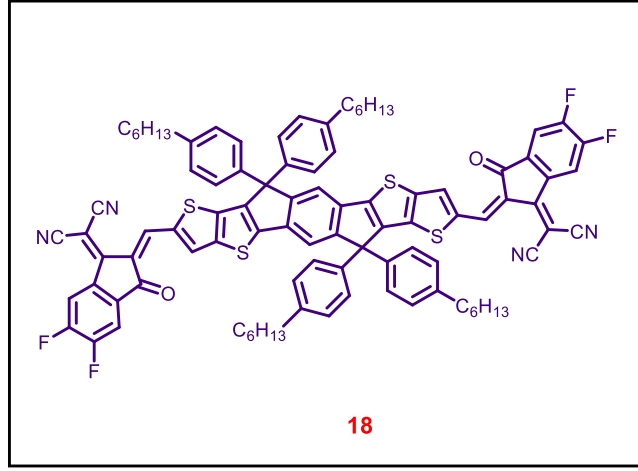
Wang vd., bu çalışmada ışık maruziyeti sırasında oksijenin geri kazanılmasını sağlayan fraksiyonel FDT protokolü önerilmiştir. Ancak mevcut FD'ler, karanlık aralıklar

sırasında ROT üretimini sürdürememektedir. Bu çalışmada, ışık maruziyeti sonrası bile uzun süreli ROT üretimi sağlayan triple-antrasen türevine dayalı yeni bir fotosensitizer geliştirilmiştir (Şekil 2.9). Bu yeni FD, hem biyomolekülleri etkili şekilde bozarak fraksiyonel FDT'nin etkinliğini artırmış, hem de ışık sonrası sürekli ışıldama sağlayarak tedavi parametrelerinin hassas bir şekilde optimize edilmesine yardımcı olmuştur. Yeni protokol, ortotopik pankreas tümörlerini başarıyla tedavi etmiştir ve bu yaklaşım, katı tümör tedavisinde FDT'nin mevcut sınırlamalarını aşma potansiyeli sunmaktadır (Wang vd., 2024).



Şekil 2.9. Bileşik 17'in kimyasal yapısı.

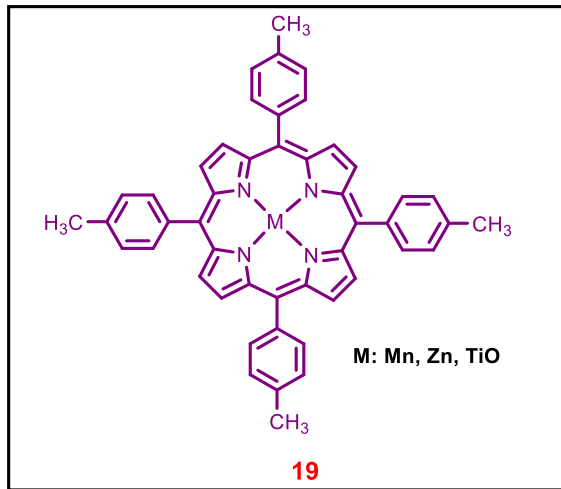
Liang ve grubu bu çalışmada, glioma hücrelerini hedef alabilen ve ışıkla aktive olarak reaktif oksijen türleri üreten bileşik 18 yeni bir FD geliştirilmiştir (Şekil 2.10). Nanoteknoloji ile suda çözünürlüğü artırılan bileşik 18 nanoparçacıkları, hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamlarda glioma hücrelerini etkili şekilde tanıyıp yok edebilmekte ve fotodinamik terapi için umut vadetmektedir (Liang vd., 2024).



Şekil 2.10. Bileşik 18'in kimyasal yapısı.

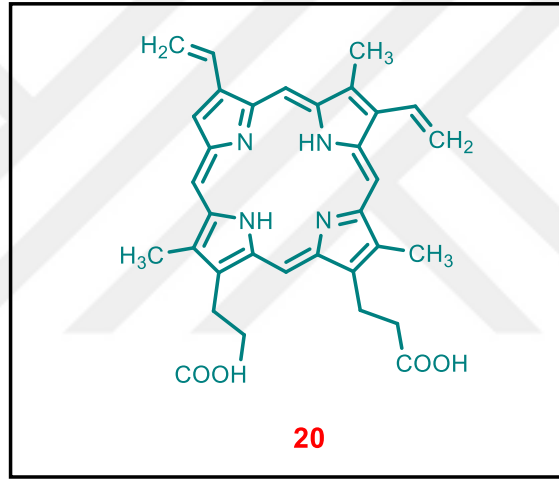
2.3 Sonodinamik Terapi

Cai vd., kanser tedavisinde etkili bir yaklaşım olan SDT için yeni bir strateji geliştirilmiştir. Üç farklı metal 4-metilfenilporfirin (TTP) kompleksi (MnTTP, ZnTTP, TiOTTP), insan serum albümini (HSA) ile birleştirilerek nanosonoduyarlastırıcı oluşturulmuştur (Şekil 2.11). Bu nanosonoduyarlastırıcı, ultrason altında yüksek miktarda $^1\text{O}_2$ üretir ve derin dokularda etkinlik gösterir. MnTTP-HSA, en güçlü ROT üretimini sağlamakta ve derin doku fotoakustik/manyetik rezonans görüntülemesi ile tümörlerdeki nanoparçacık birikimini izleyebilme imkanı sunmaktadır. Ayrıca, MnTTP-HSA, farelerdeki tümörlerin büyümesini başarılı bir şekilde baskılar. Bu çalışma, malign tümörlerin yüksek verimli, invazif olmayan tedavisi için umut verici bir yol açmaktadır (Cai vd., 2018).



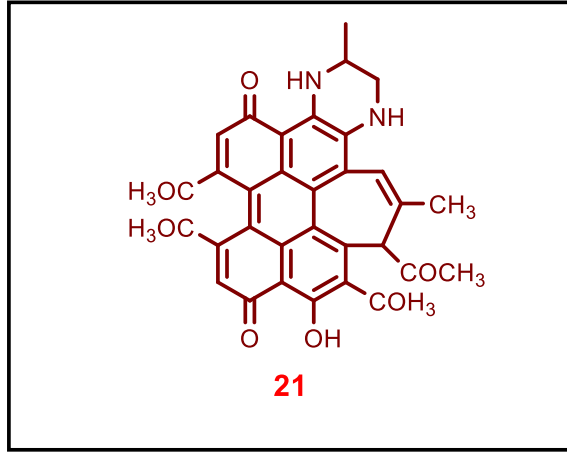
Şekil 2.11. Bileşik 19'un kimyasal yapısı.

Chen vd., tümöre derinlemesine nüfuz etmeyi başarmak için yeni bir strateji geliştirilmiştir; bu strateji, hücrel geri dönüşüm yapan transferrin (Tf) kullanılarak uygulanmıştır. Özel olarak, Tf ve organik sonoduyarlastırıcı protoporfirin IX'ün kendiliğinden bir araya gelerek oluşturduğu yeni tür bir nanosonoduyarlastırıcı tasarlanmıştır (Şekil 2.12). Bu nanosonoduyarlastırıcı, beklenen biyogüvenlik, stabilite ve ultrasonla aktive olabilen sitotoksik ROT üretme kapasitesine sahiptir. En önemlisi, bu nanosonoduyarlastırıcı, kendine has transferrin reseptörü (TfR) aracılı endositoz ve eksositoz davranışlarını devralarak, TfR'nin aşırı ekspresyon gösterdiği tümör hücrelerine özel bağlanmayı sağlar. Sonuç olarak, TfR-aşırı ifade eden HeLa tümörlerine sonoduyarlastırıcı nüfuz eder, bu da ROT aracılı sonodinamik tedavi protokolü ile istenilen tümör baskılama etkisi için oldukça faydalıdır (Chen vd., 2019).



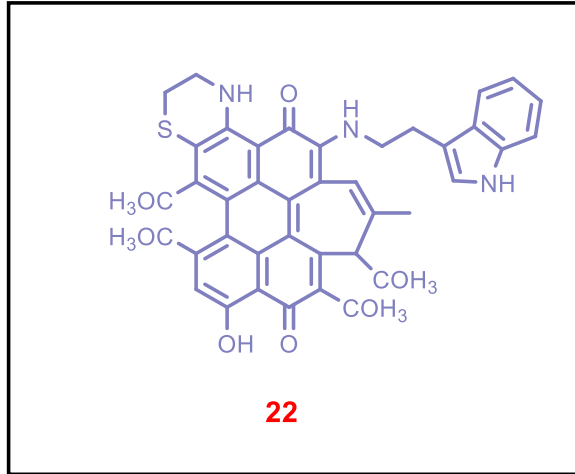
Şekil 2.12. Bileşik 20'in kimyasal yapısı.

Wang, derin yerleşimli tümörler için senkronize yakın-kızılötesi floresans (NIR FL) görüntüleme ve SDT amacıyla hipokrellin türevi nanopartiküller (APHB NP'leri) inşa etmiştir (Şekil 2.13). Hazırlanan APHB NP'leri mükemmel su çözünürlüğü, NIR bölgesinde floresans (FL) özellikleri ve ultrases uyarımı altında etkili ROT üretimi sergilemektedir. Ayrıca, APHB NP'leri mükemmel biyoyumluluk, uygun biyolojik bozunma oranı ve artan tümör birikimi göstermektedir. Bu nedenle, APHB NP'leri, derin yerleşimli tümör tedavisi için yeni, güvenli ve hassas NIR FL görüntüleme ve SDT ajanı olarak umut verici klinik potansiyel sergilemektedir (Wang vd., 2019).



Şekil 2.13. Bileşik 21'in kimyasal yapısı.

Biyouyumluluğa yüksek bir hipokrellin türevi (CTHB), ultrason uyarımı altında ROT üretebilmektedir. CTHB doğal floresan ve fotoakustik görüntüleme özellikleri ile tümörlerin hassas bir şekilde konumlandırılmasını sağlar. Hem deri altı hem de kafatası içi tümör modellerinde, CTHB NPs'nin ultrason ışınlanması altında tümör büyümesini engelleyebilecek etkili bir sonoduyarlaştırıcı olarak kullanılabileceği kanıtlanmıştır. Bu hipokrellin tabanlı bileşiğin, GBM (Glioblastoma Multiforme)'nin invazif olmayan tedavisinde iyi bir klinik perspektife sahip olduğu ortaya konmuştur (Şekil 2.14) (Wang vd., 2022).

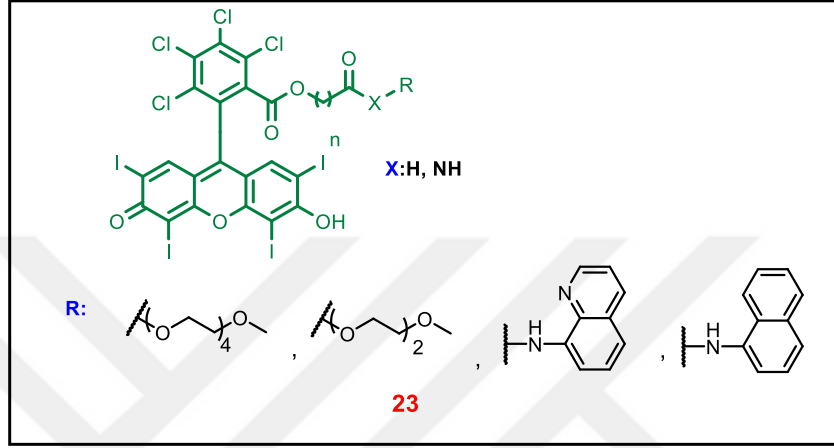


Şekil 2.14. Bileşik 22'nin kimyasal yapısı.

2.4 Sonofotodinamik Terapi

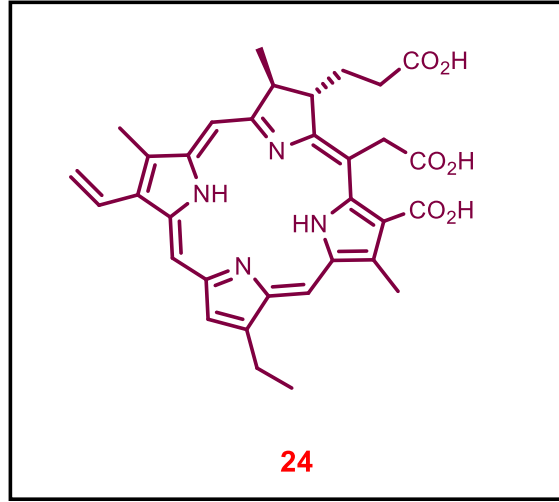
Huang vd. bileşik 23 fotodinamik ve sonodinamik etkinliğe sahip yeni RB türevlerini (RBD'ler) tanımlamayı amaçlayan bir dizi amfifilik RBD tasarlamış, sentezlemiş ve

karakterize etmiştir (Şekil 2.15). Bunlar arasında, RBD4, ışık ve ultrason altında hücresel alımı önemli ölçüde iyileştirmiş ve hücre içi ROT üretim verimliliğini artırmış, bu da antikanser etkinliğin dramatik şekilde iyileşmesini sağlamıştır. Özellikle, RBD4'ün potansiyeli, sinoporfirin sodyum (DVDMS) ile benzer bir bağlı potansiyele sahip olup, SPDT için gelecekteki uygulama potansiyelini göstermektedir (Huang vd., 2018).



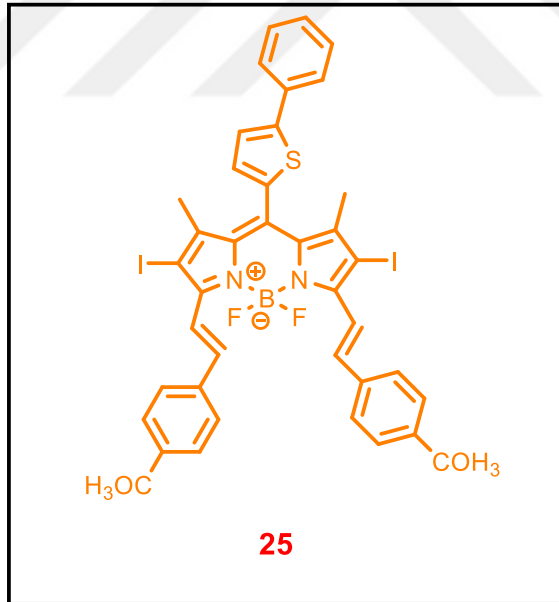
Şekil 2.15. Bileşik 23'ün kimyasal yapısı.

Yan ve grubunun çalışmalarında, probiyotik bir taşıyıcı kullanarak tümör hedefli fotodinamik ve sonodinamik sinerjik tedavi için geliştirilmiş bir ilaç taşıma sistemi tanıtılmaktadır (Şekil 2.16). Bu sistemde, klorin e6 (Ce6) nanopartikülleri hazırlanıp *B. bifidum* bakterisine entegre edilmiştir ve ardından anti-ölüm reseptörü 5 antikoronun (anti-DR5 Ab) konjugasyonu gerçekleştirilmiştir. *B. bifidum*, 671 nm lazer veya ultrason altında reaktif oksijen türleri üretebilir ve Ce6–*B. bifidum*–anti-DR5 Ab kombinasyonu, intravenöz enjeksiyon sonrası tümördeki hipoksik bölgelere yüksek verimlilikle hedeflenebilir. Ce6–*B. bifidum*–anti-DR5 Ab'nin hem lazer hem de US ışıınımlı altındaki ROT seviyesi, aynı probiyotikler için lazer ve US ayrı ayrı kullanılarak üretilen birleşik ROT'dan daha yüksektir. Ce6–*B. bifidum*–anti-DR5 Ab'nin hem lazer hem de US ışıınımlı altındaki sitotoksisite ve larinks tümör büyümesini engelleme etkinliği, yalnızca lazer veya US ışıınımlı kullanılarak elde edilen değerlere kıyasla daha yüksekti, bu da tümör büyümesi üzerindeki sinerjik etkisini göstermektedir (Yan vd., 2018).



Şekil 2.16. Bileşik 24'ün kimyasal yapısı.

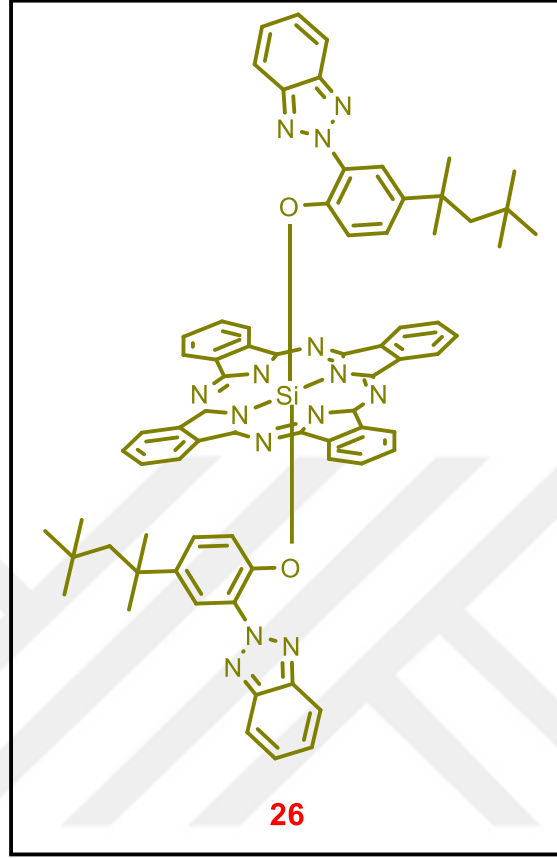
Sonofotokimyasal yöntemle singlet oksijen üretme kapasitesini değerlendirmek için metoksi-stiril gruplarına sahip yeni bir BODIPY bileşiği 25 sentezlenmiştir (Şekil 2.17). 25'in $\Phi\Delta$ değeri fotokimyasal yöntemle 0,33 olarak hesaplanırken, sonofotokimyasal yöntem uygulandığında 0,68'e ulaşmıştır (Karanlık vd., 2023).



Şekil 2.17. Bileşik 25'in kimyasal yapısı.

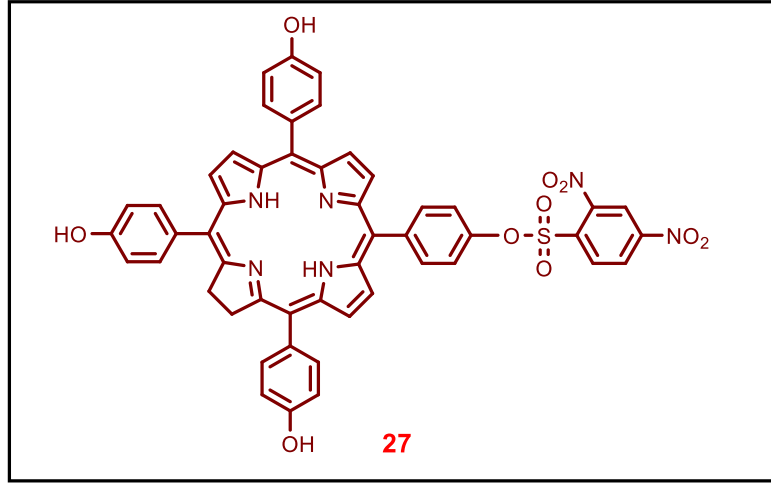
Erdoğan vd. yeni bir diaksiyal silikon ftalosiyanın bileşik 26 sentezlenmiştir (Şekil 2.18). Silikon ftalosiyanın kompleksinin singlet oksijen üretme kapasitesi fotokimyasal (PDT; $\Phi\Delta = 0,59$ DMSO'da, 0,44 THF'de, 0,47 toluende) ve sonofotokimyasal (SPDT; $\Phi\Delta = 0,88$ dimetilsülfoksit (DMSO) içinde, 0,60 tetrahydrofuran (THF) içinde, 0,65 toluende) yöntemlerle belirlenip

karşılaştırıldığında, bu kompleksin, *in vitro* veya *in vivo* çalışmalarda iyi bir SPDT ajanı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Erdoğan vd., 2023).



2.18. Bileşik 26'nın kimyasal yapısı.

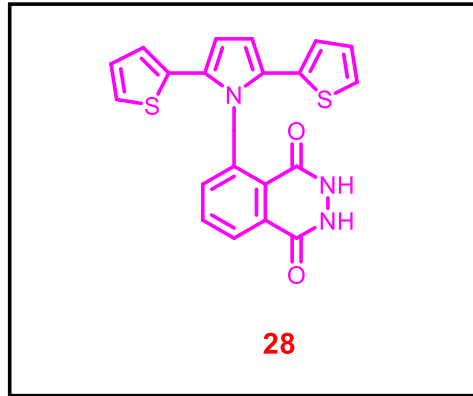
Başka bir çalışmada, pro-THPC bileşik 27 adı verilen çift duyarlaştırıcı, hem fotoduyarlaştırıcı hem de sonoduyarlaştırıcı olarak işlev görerek, cilt fototoksitesini en aza indirerek tedavisi sunmaktadır (Şekil 2.19). Pro-THPC, glutatyon (GSH) tarafından aktive edilerek, hem floresans emisyonunu açığa çıkaran hem de FDT ve SDT kombinasyon yeteneklerini aynı anda aktive eden çift duyarlaştırıcı bileşik olan THPC'yi serbest bırakabilir. Pro-THPC, *in vivo* uygulamaları mümkün kılmak amacıyla nanoparçacıklara (NPs) formüle edilmiştir. *In vivo* çalışmalar, tasarlanan pro-THPC NPs'nin, PDT ve SDT kombinasyonu yoluyla tümörleri yok etme konusunda olağanüstü bir etkinlik gösterdiğini ve cilt fototoksitesini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymaktadır (Wang vd., 2024).



Şekil 2.19. Bileşik 27'in kimyasal yapısı.

2.5 Kemilüminojenik Maddeler

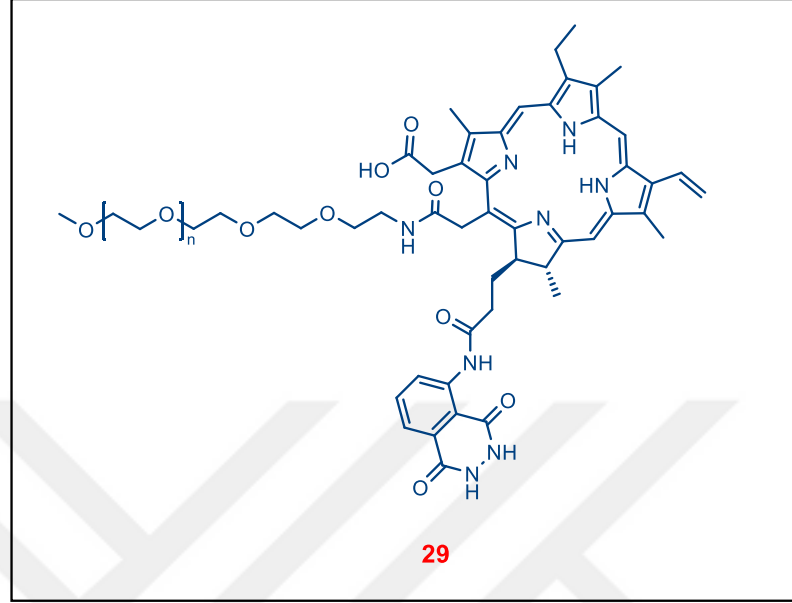
Asil vd., bu çalışmada, çeşitli uyaranlara duyarlı kemilüminesans özellik gösteren bir sistem olan SNS-Lum tanıtılmakta ve bunun elektropolimerizasyon yoluyla PSNS-Lum adlı yeni bir yapıya dönüştürülmesi açıklanmaktadır (Şekil 2.20). PSNS-Lum, nötr ortamda süperoksit radikal anyonu varlığında kemilüminesans oluşturabilen, yan zincirlerinde luminol grupları taşıyan konjuge polimerlerin literatürdeki ilk örneği olarak öne çıkmaktadır (Asil vd., 2010).



Şekil 2.20. Bileşik 28'in kimyasal yapısı.

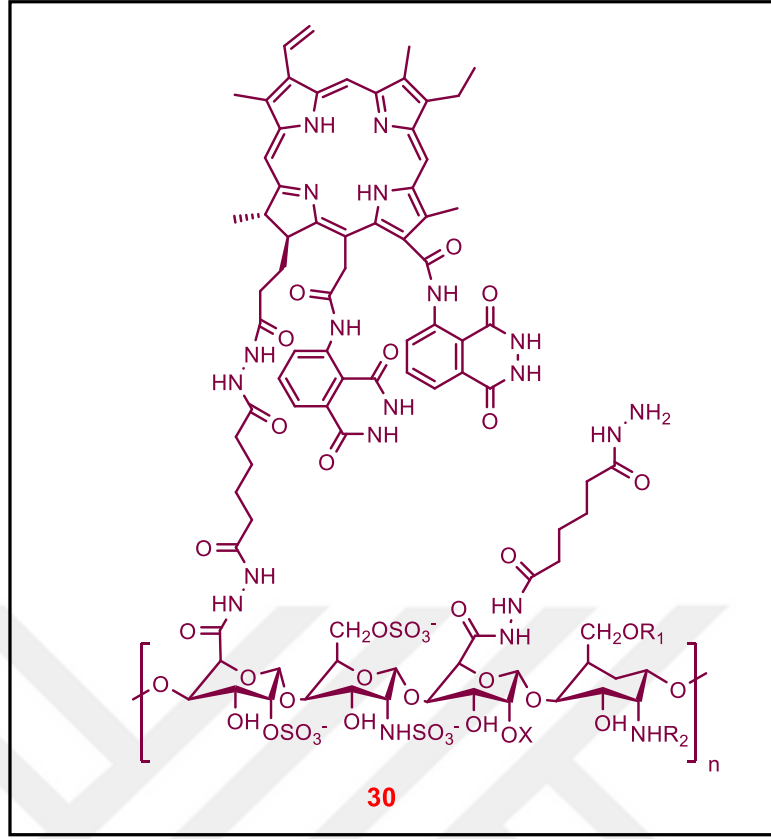
Xu vd., biyolüminesan bir verici (luminol) ve floresan bir alıcı Ce6 içeren amfifilik polimerik bir konjugat 28 ile *in vivo* biyolüminesan görüntüleme ve derin dokularda fotodinamik tedavi için kullanıma uygun hale getirmiştir (Şekil 2.21). Mekanik olarak, iltihaplı bölgelerde veya tümör mikro ortamında üretilen ROT ve mieloperoksidaz, enerji transferini tetikler ve nanopartikülden $^1\text{O}_2$ üretimi sağlar, sırasıyla *in vivo*

görüntüleme ve kanser tedavisini mümkün kılar. Bu kendiliğinden ısıldayan nanoparçacık, çeşitli hayvan modellerinde uygun doku penetrasyonu ve çözünürlükle mükemmel *in vivo* görüntüleme kapasitesine sahiptir (Xu vd., 2019).



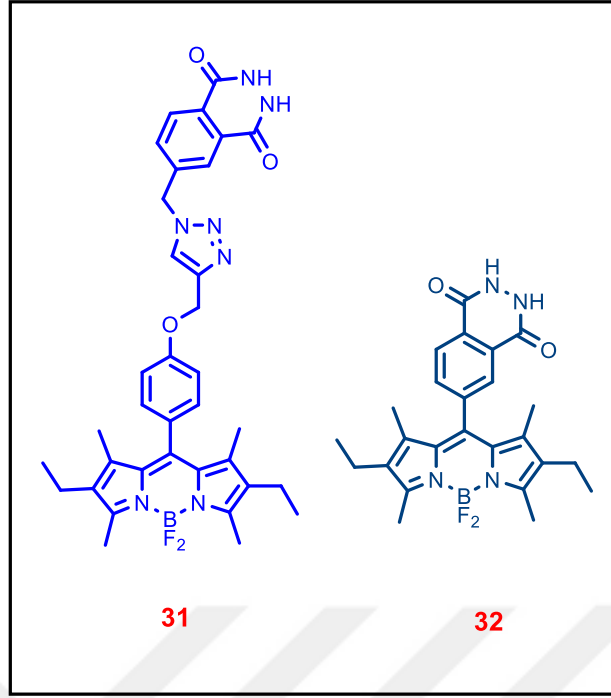
Şekil 2.21. Bileşik 29'un kimyasal yapısı.

Başka bir çalışmada, H₂O₂ ile tetiklenen akıllı LCL/ZnO PDT nano paket sistemi ayrıntılı bir şekilde tasarlanmıştır. LCL/ZnO, tümör kaynaklı endotelial hücreleri seçici bir şekilde düzenleyebilir ve farklı H₂O₂ gradyanlarına tepki vererek tümör hücrelerini öldürebilir (Şekil 2.22). LCL/ZnO, tümör damarlarını normalleştirme yeteneğine sahip olup, bunun sonucunda metastazları azaltır ve immün baskılayıcı tümör mikroçevresini iyileştirir (Zhang vd., 2022).



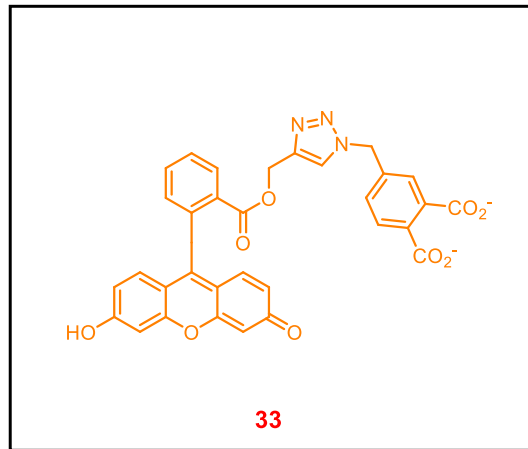
Şekil 2.22. Bileşik 30'un kimyasal yapısı.

Algi ve grubu tasarladıkları 2 bileşiği 31-32, fotofiziksel özellikleri, kemilüminojenik tepkileri ve tekli oksijen üretimi açısından karşılaştırılmıştır (Şekil 2.23). Dikkat çekici olarak, sonuçlar, BODIPY'nin 2,3-dihidroftalazin-1,4-dion iskeletiyle konjuge edilmesinin ¹O₂ verimini artırdığını göstermektedir. Ayrıca, epidermoid laringeal karsinom Hep-2 (Hep-2) hücrelerinin 30-31 konjugatları ile tedavi edilmesi, hücre içi alımının verimli bir şekilde gerçekleşmesini sağlar ve bu da Hep-2 hücrelerinin canlı hücre görüntülenmesini mümkün kılar. Son olarak, *in vitro* sitotoksitesite testleri, bileşiklerin 31-32 kırmızı ışıkla aydınlatıldığında sitotoksitesiteye yol açtığını ortaya koymaktadır. Böylece, bileşikler 31-32, ağır atom içermeyen kemilüminojenik fotoduyarlastırıcı olarak temsil edilmektedir (Algi vd., 2021).



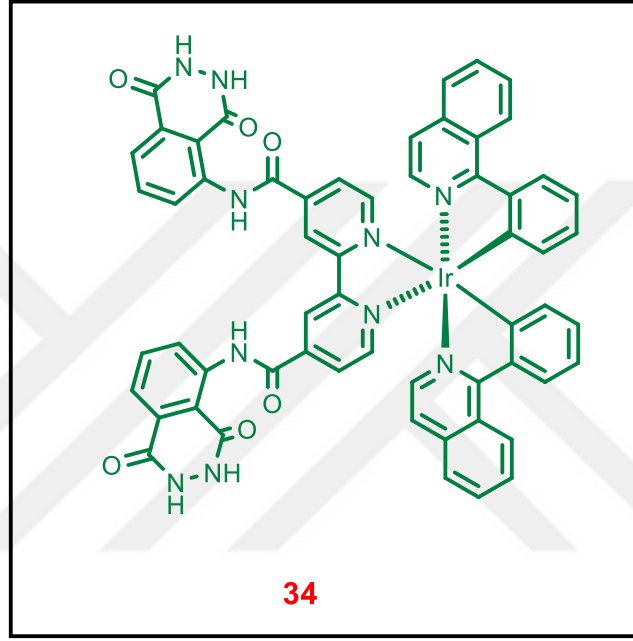
Şekil 2.23. Bileşik 31 ve 32'in kimyasal yapısı.

Toksoy vd., hem kanser hem de bakteriyel enfeksiyon tedavisinde kullanılabilecek, kendi kendine kemilüminesan yapabilen yeni bir molekül bileşik 33 geliştirmiştir (Şekil 2.24). Bu molekül, fizyolojik pH'ta parlayabiliyor, asidik ortamlarda ise fotodinamik tedavi (PDT) yapabiliyor. Kanser hücrelerinin %79'unu yok edebiliyor ve bakterilerin büyümesini durdurabiliyor. Ayrıca, asidik içeceklerin raf ömrünü 2 günden 6–7 güne kadar uzatabiliyor. Bu çalışma, luminol tabanlı kendi kendine ışıkarak FDT yapabilen, antikanser ve antibakteriyel özellikteki moleküler sistemlere ilişkin ilk örnek olarak literatürdeki yerini almıştır (Toksoy vd., 2023).



Şekil 2.24. Bileşik 33'ün kimyasal yapısı.

Chang vd. lüminol üniteleri içeren Iridyum kompleksi (34) sentezlemişlerdir (Şekil 2.25). H_2O_2 ve hemoglobin (Hb) katalizörlüğünde, 34'deki kovalent bağlanmış lüminol birimlerinden Ir kompleksine verimli bir kemilüminesans rezonans enerji transferi (CRET) sağlanarak ROT üretimi gerçekleşir. Lipozomal bileşik 34 NP'ler, bileşik 34 ve Hb yüklenerek inşa edilmiştir. Bu çalışma, FDT'de dış ışık kaynaklarının ve hipoksik hipoksik tümör mikroçevresinin (TME) sınırlamalarını aşan geçiş metal kompleksleri için yeni tasarımlar sunmaktadır (Chang vd., 2024).



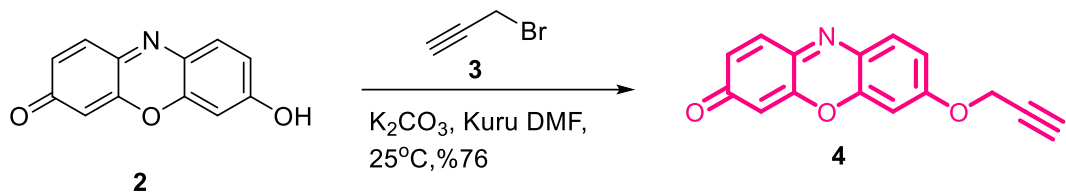
Şekil 2.25. Bileşik 34'ün kimyasal yapısı.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bütün kimyasal maddeler ve çözücüler, ticari firmalardan temin edilmiştir. Ayrıca, çözücüler genel olarak literatürde yer alan bilinen tekniklerle saflaştırılmıştır. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) Merck 0,2 mm silika jel 60 F254 Analitik Alüminyum Plakalar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin erime noktaları, kapiler tüp kullanılarak Schorpp marka MPM-H2 model erime noktası makinesi ile tayin edildi. Soğurma spektrumları, Varian markasına ait Cary 50 UV-Vis model spektrofotometre kullanılarak elde edilmiştir. Emisyon ve floresans spektrumları Varian Cary Eclipse Fluorescence model spektrofotometre kullanılarak elde edilmiştir. FT-IR spektrumları, Thermo Fisher Scientific markasına ait Nicolet IS5 model spektrofotometre kullanılarak elde edilmiştir. LC-MS/MS spektrumları, Agilent 6460 Triple Quadrupole model spektrofotometre kullanılarak elde edilmiştir. ¹H NMR (600 MHz) ve ¹³C NMR (151 MHz) spektrumları, Agilent Premium Compact model spektrofotometre kullanılarak elde edilmiştir. TEM görüntüleri, FEI Talos F200C Specifications 200kV model mikroskobu kullanılarak elde edilmiştir. FA-BSA konjugatı literatüre göre sentezlendi (Ma vd., 2017). Partikül Boyutu ve Zeta Potansiyeli analizleri için Malvern Zetasizer Nano ZSP kullanılarak elde edilmiştir.

3.2 [7-(prop-2-in-1-ilokzi)-3H-fenoksazin-3-on] (4) Sentezi

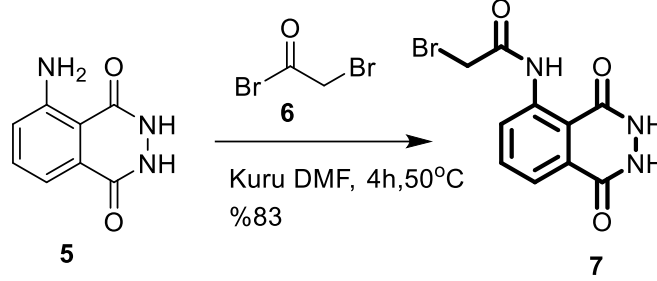


Şekil 3.1. Bileşik 4'ün sentezi.

Resorufin (2) (100 mg, 0,469 mmol), K₂CO₃ (213 mg, 1,03 mmol) ve kuru DMF (1 mL) yuvarlak dipli balona eklendi. Karışım, azot gazı altında manyetik karıştırıcıda 30 dakika süreyle karıştırıldı. Propargil Bromür (3) (183,60 µL, 0,938 mmol) reaksiyon karışımına damla damla eklendi. Reaksiyon, oda sıcaklığında, karanlıkta, azot gazı altında karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi İTK ile izlendi. Tepkime sonunda ortam 1,0M HCl damla damla eklendi ve katı kısım vakum altında süzüldü. Distile suyla üç

kez yıkandı ve vakum altında kurutuldu. İşlem sonrasında katı kırmızı 4 elde edildi (Şekil 3.1). 0,082g, %76 verim.

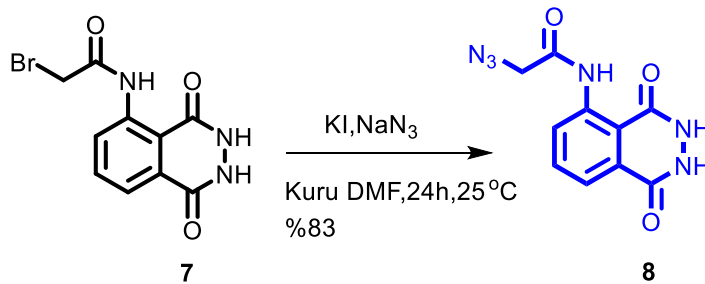
3.3 [2-bromo-N-(1,4-okzo-1,2,3,4-hidroftalanin-5-il)asetamit] (7) sentezi



Şekil 3.2. Bileşik 7'in sentezi

Luminol (5) (1gr, 0,00563 mmol) ve kuru DMF (15 mL 100 ml'lik balona alındı. Karışım, azot gazı altında manyetik karıştırıcıda 30 dakika süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımına 6 (Bromoasetil bromür) (1,44gr, 7,164 mmol) damla damla eklendi. Reaksiyon karışımı 4 saat 50 °C' de azot gazı altında karıştırılır. Reaksiyonun ilerlemesi İTK ile izlendi. Reaksiyon 4 saatin ardından sonlandırılır ve içerisine buz ilave edilir. Bir süre bekledikten sonra, filtre kağıdı ile süzülür. Filtre kağıdındaki ürün distile su ile yıkandı. Yıkanan madde kurması için vakum altında oda sıcaklığında etüve atılıp, kurutuldu. Kurutulan madde önce CH₂Cl₂ sonra distile su ile yıkandı. Madde kuruması için tekrar vakum etüvüne alındı. Kurutulan madde katı açık sarı bir hal aldı (Şekil 3.2). 1.400 gr, %83 verim. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 12,94, (s, 1H), 12,90 (s, 1H), 8,89 (d, J= 0,7 Hz, 1H), 7,98 (t, J= 8,1 Hz, 1H), 7,63 (d, J= 8,0 Hz, 1H), 4,68 (s, 2H). FTIR (cm⁻¹): 3036, 1570, 1531, 1483, 1328, 1261.

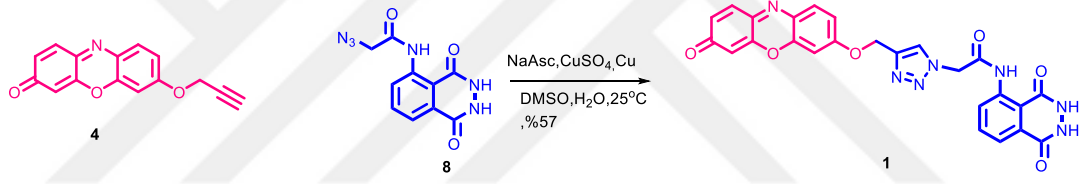
3.4 [2-azido-N-(1,4-okzo-1,2,3,4-tetrahidroftalmin-5-il)asetamid] (7) Sentezi



Şekil 3.3. Bileşik 8'in sentezi.

Bileşik 7 (832 mg, 2.801 mmol), NaN₃ (400 mg, 6.163 mmol) ve KI (232,5 mg, 1.400 mmol). 5,5 ml kuru DMF ile çözüldü, karışım azot gazı altında, oda sıcaklığında, karanlıkta ve manyetik karıştırıcıda 1 gün süreyle karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi İTK ile izlendi. Reaksiyon karışımı, DCM ve doymuş NaCl çözeltisi ile üç kez ayırma işlemine tabi tutuldu. Organik faz, düşük basınç altında rotary evaporatör ile uzaklaştırıldı. Sulu faz, dondurularak kurutuldu. 555 mg açık sarı renkli bir katı elde edildi (Şekil 3.3). %83 verim. ¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ 13.24, (s, 1H), 12.02 (s, 1H), 11.68 (s, 1H), 8.86 (d, J= 8,3 Hz, 1H), 7.87 (t, J= 8,1 Hz, 1H), 7.64 (d, J= 7,9 Hz, 1H), 4.27 (s, 2H). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 151 MHz): δ 167,07, 163,27, 161,34, 140,24, 135,17, 125,41, 121,01, 118,79, 115,26, 52,90. FTIR (cm⁻¹): 3033, 2123, 1562, 1530, 1490, 1325, 1290, 1177, 1119, 816, 776, 703.

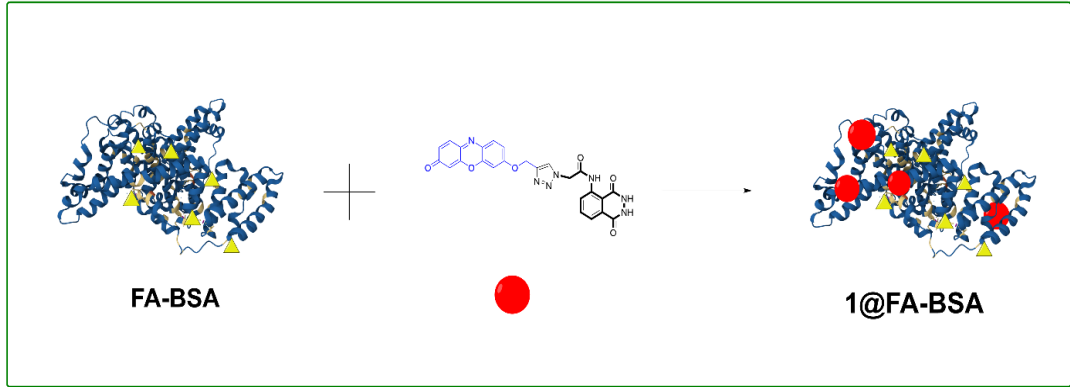
3.5 [N-(1,4-okzo-1,2,3,4-tetrahidroftalmin-5-il)-2-(4-(((3-oxo-3H-fenoksazin-7-il)oksi)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-il)asetamid] (1) Sentezi



Şekil 3.4. Bileşik 1'in sentezi.

Bileşik 4 (52,73 mg, 0,21 mmol), bileşik 8 (41,63 mg, 0,16 mmol), Cu tozu (1,1 mg) ve DMSO (4 mL) yuvarlak dipli bir balona eklendi. Karışım, 30 dakika boyunca azot gazı altında manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. CuSO₄ (2,2 mg, 0,0088 mmol) ve NaAsc (10,5 mg, 0,053 mmol), 1 mL distile suya çözülerek eklendi. Reaksiyon, azot gazı altında, karanlıkta, oda sıcaklığında, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi İTK ile izlendi. Tepkime sonunda 500 MW diyaliz membranı ile diyaliz edildi. -80°C'de donduruldu ve dondurarak kurutma işlemi yapıldı. 26 mg katı turuncu madde elde edildi (Şekil 3.4). %57 verim.

3.6 1@FA-BSA Hazırlanması

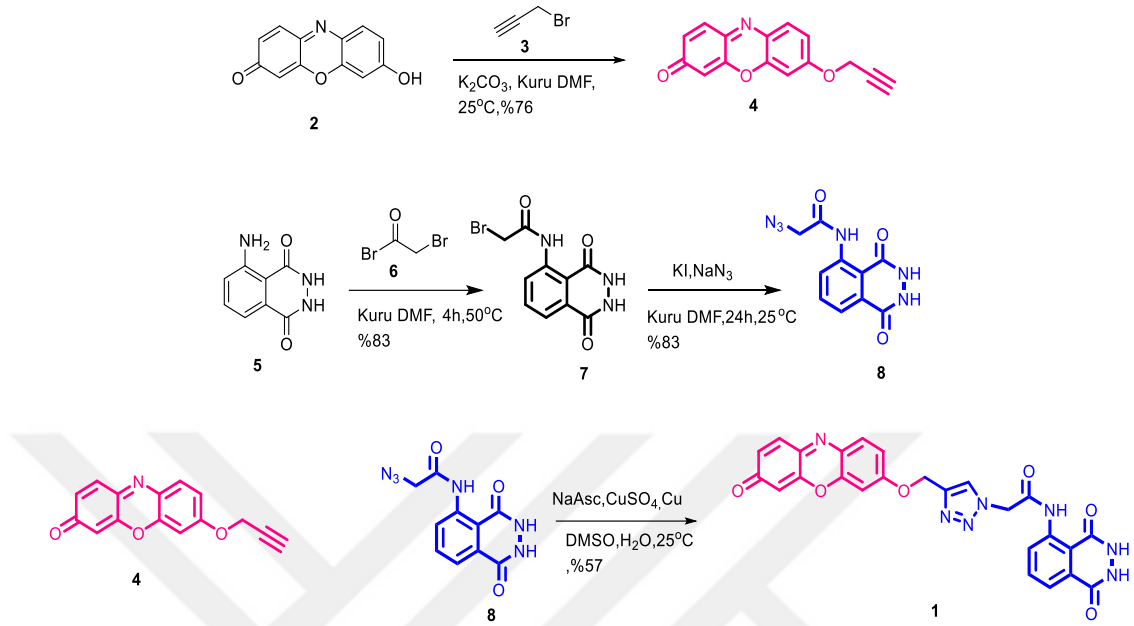


Şekil 3.5. 1@FA-BSA formülasyonu.

Bileşik 1 (10 mg) alındı ve 5 ml DMSO içinde 3 saat boyunca sonikasyona tabi tutuldu. 20 mg FA-BSA konjugatı (20mg) ve 10 ml distile suda çözöldü. FA-BSA konjugatı, bileşik 1'e yavaşça eklendi. Tüm çözelti 1 saat boyunca sonikasyona bırakıldı. Ardından 48 saat boyunca karanlıkda manyetik olarak karıştırıldı. 3500 MW diyaliz torbasına alındı ve 1 gün boyunca distile su ile diyaliz edildi. Diyalizden edilen kısım -80°C'de dondurulup, liyofilize edildi. İşlem sonrası kuru katı kırmızı 20mg bir madde elde edildi (Şekil 3.5).

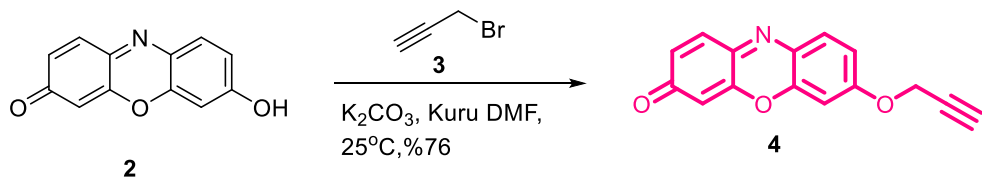
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Ana Bileşiğin Sentezi

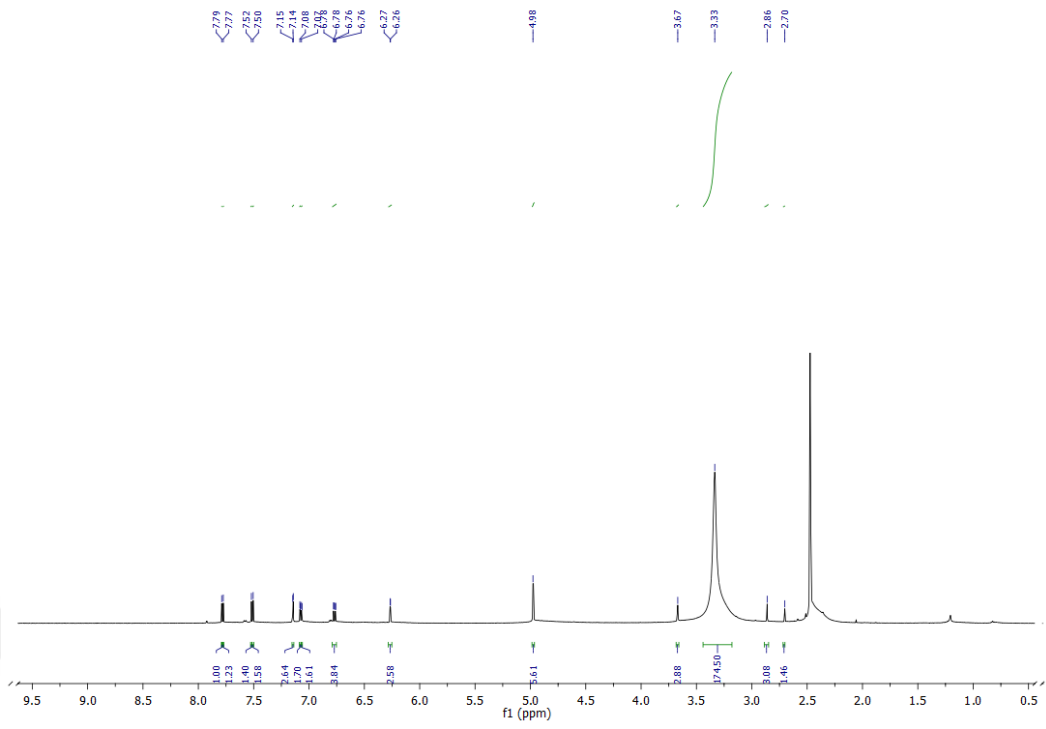


Şekil 4.1. Hedef bileşiğin 1 sentez basamakları.

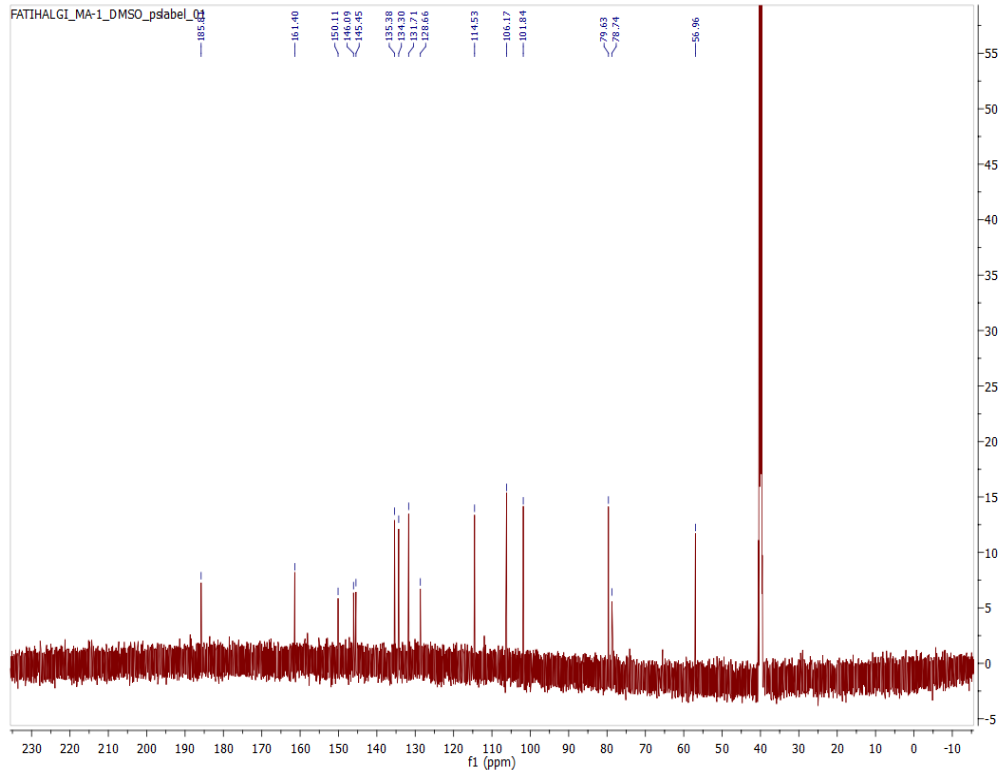
Sentez başında Resorufin propargil bromür ile K_2CO_3 varlığında reaksiyona sokulmuştur, reaksiyon sonucu kırmızı katı 4 elde edilmiştir [(Şekil 4.1), (Şekil 4.2)]. Bileşik 4 1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumları ile karakterizasyonu sağlanmıştır (Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5).



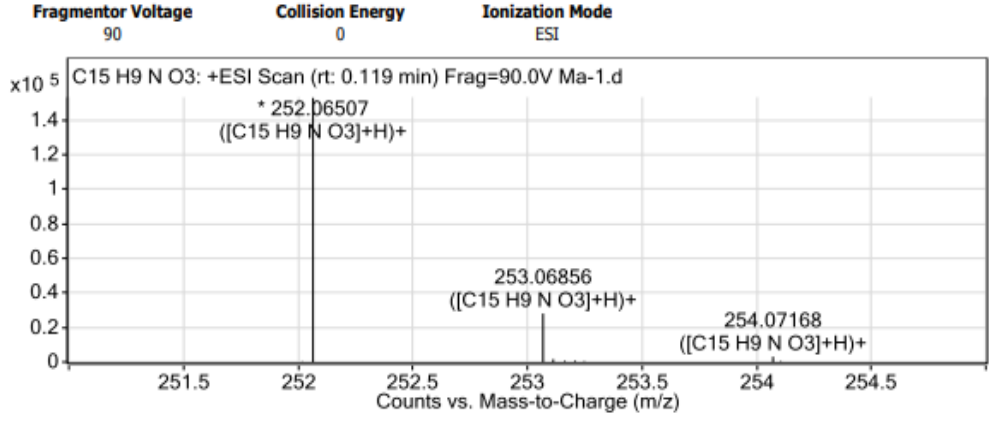
Şekil 4.2. Bileşik 4'ün sentezi.



Şekil 4.3. Bileşik 4'ün ¹H-NMR spektrumu (600 MHz, DMSO-d₆).

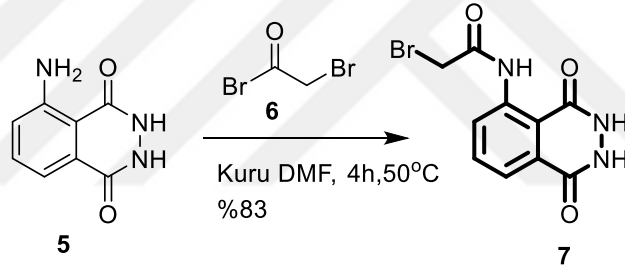


Şekil 4.4. Bileşik 4'ün ¹³C-NMR spektrumu (151 MHz, DMSO-d₆).

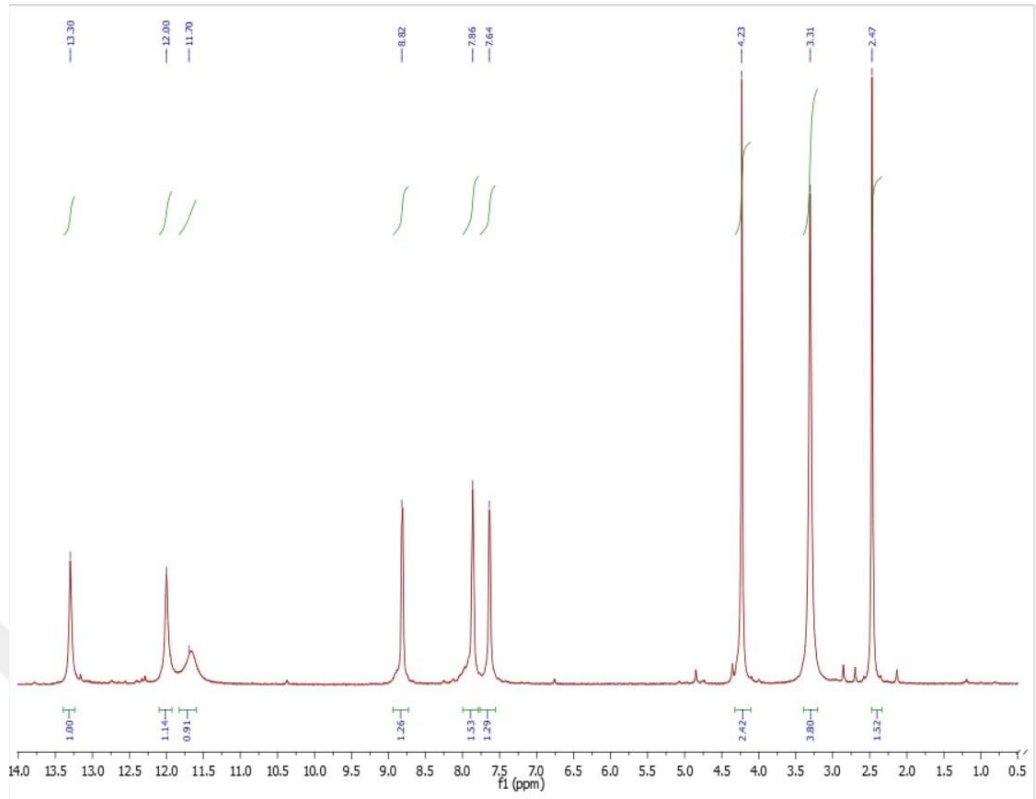


Şekil 4.5. Bileşik 4'ün kütle spektrumu.

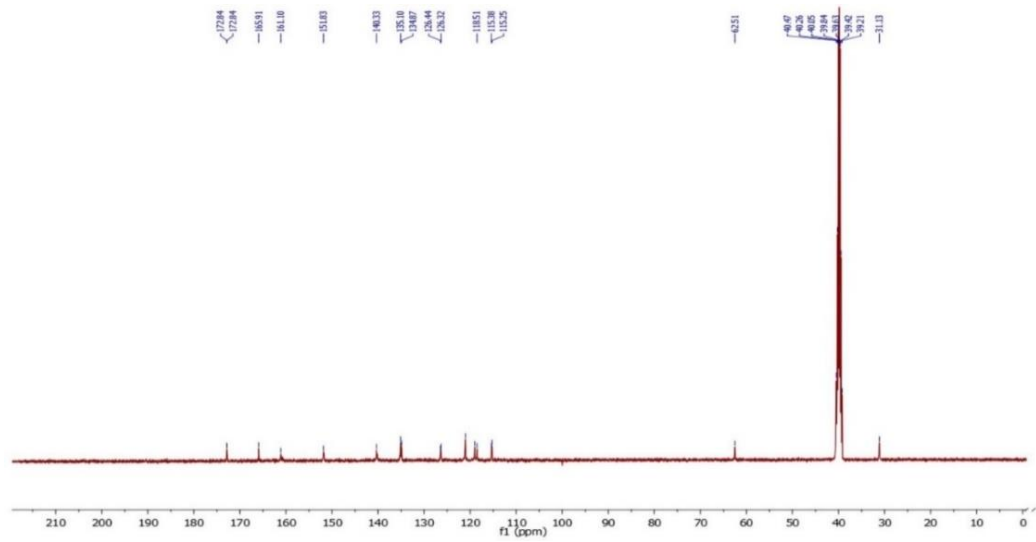
İkinci basamakta Lüminol ve Bromoasetil bromür etkileştirilmiştir. 4 saat sonunda tepkime sonlandırılarak, açık sarı 7 nolu bileşik sentezlendi (Şekil 4.6). Bileşik 7 ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumları ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9).



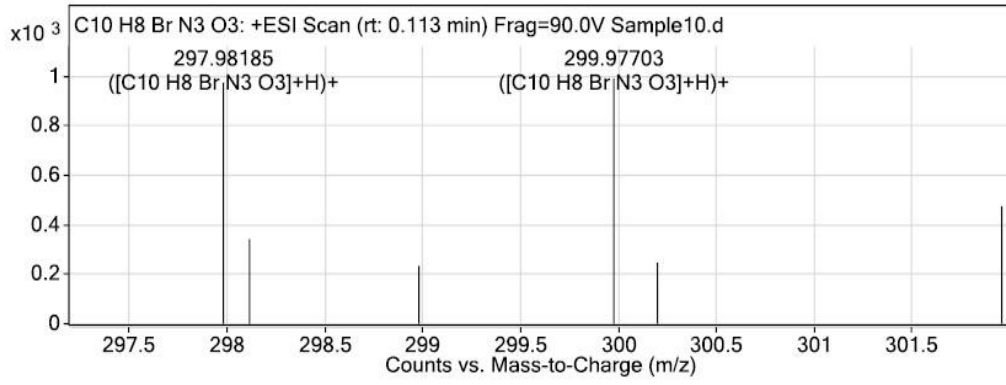
Şekil 4.6. Bileşik 7'in sentezi.



Şekil 4.7. Bileşik 7'nin ¹H-NMR spektrumu (600 MHz, DMSO-d₆).

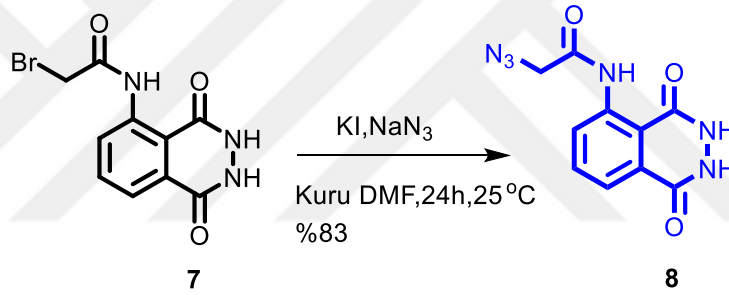


Şekil 4.8. Bileşik 7'nin ¹³C-NMR spektrumu (151 MHz, DMSO-d₆).

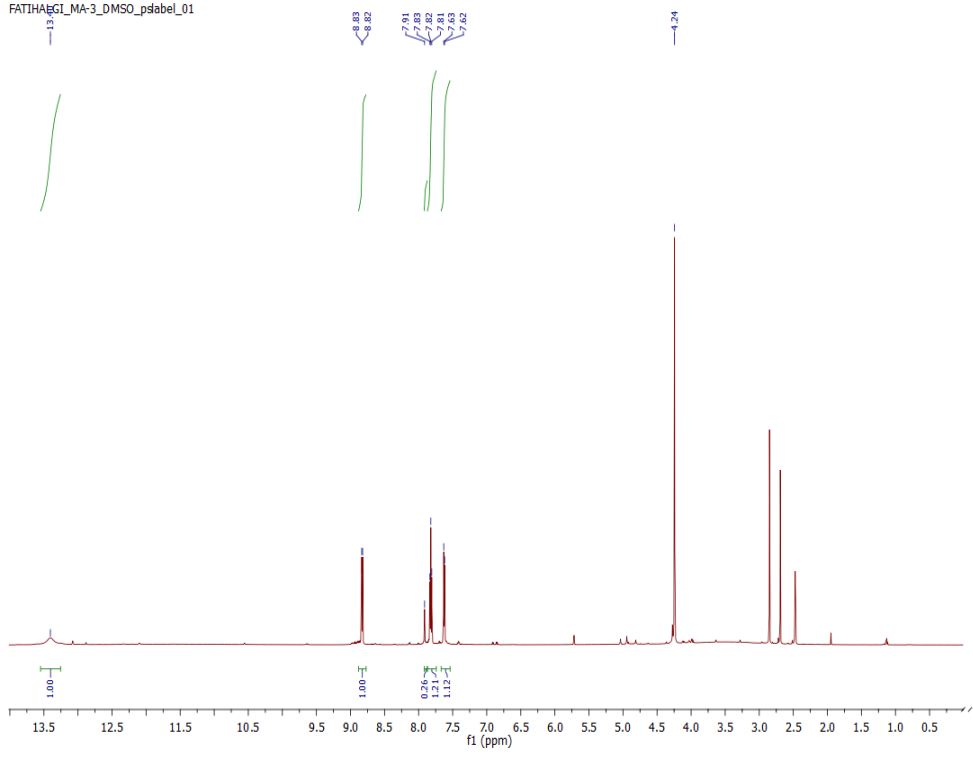


Şekil 4.9. Bileşik 7'nin kütle spektrumu.

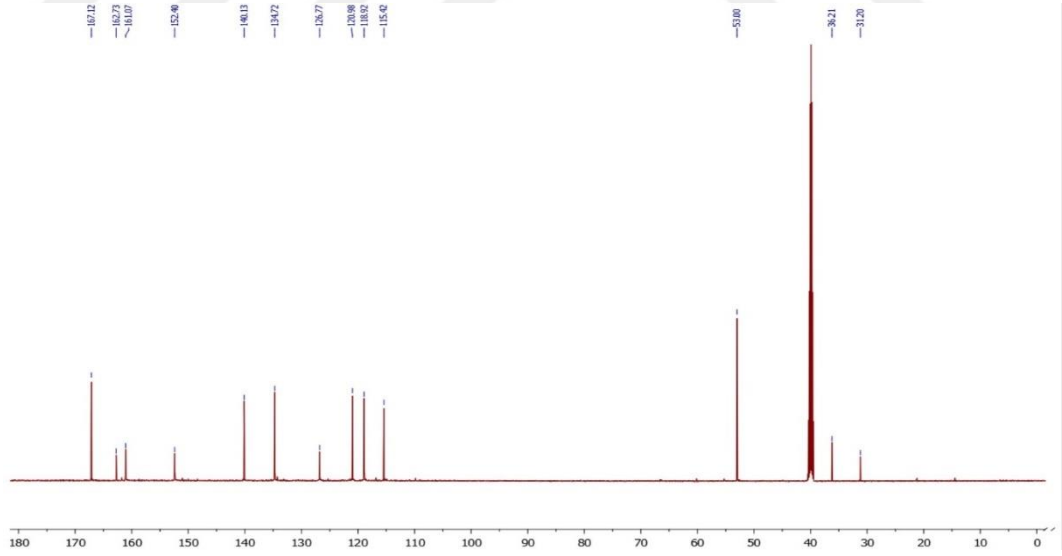
7 nolu bileşik ile NaN_3 , KI varlığında oda sıcaklığında 24 saat tepkimye sokulmasıyla elde edilmiştir. Sarı renkli 8 nolu bileşik elde edilir (Şekil 4.10). Bileşik 8 1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumları ile karakterizasyonu sağlanmıştır (Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13).



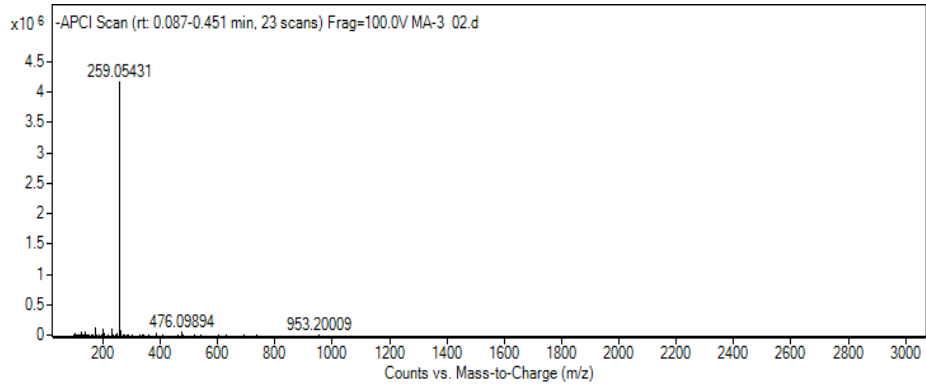
Şekil 4.10. Bileşik 8'in sentezi.



Şekil 4.11. Bileşik 8'in ^1H -NMR spektrumu (600 MHz, DMSO- d_6).

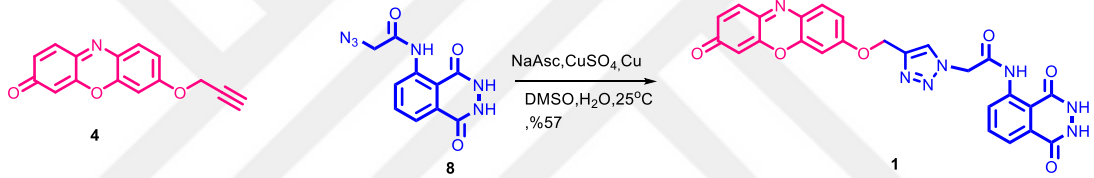


Şekil 4.12. Bileşik 8'in ^{13}C -NMR spektrumu (151 MHz, DMSO- d_6).

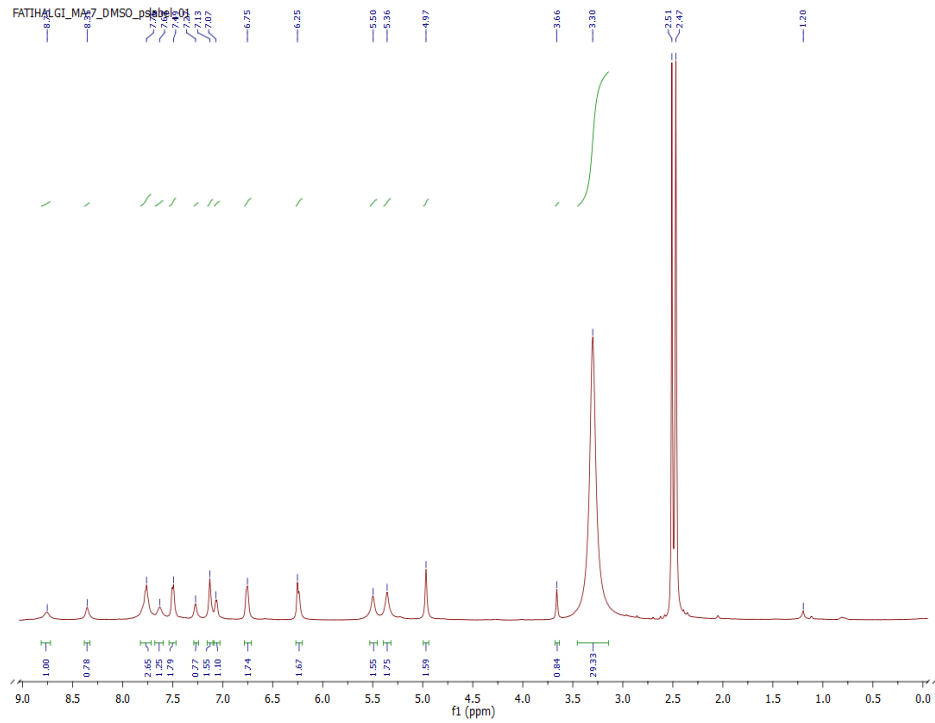


Şekil 4.13. Bileşik 8'in kütle spektrumu.

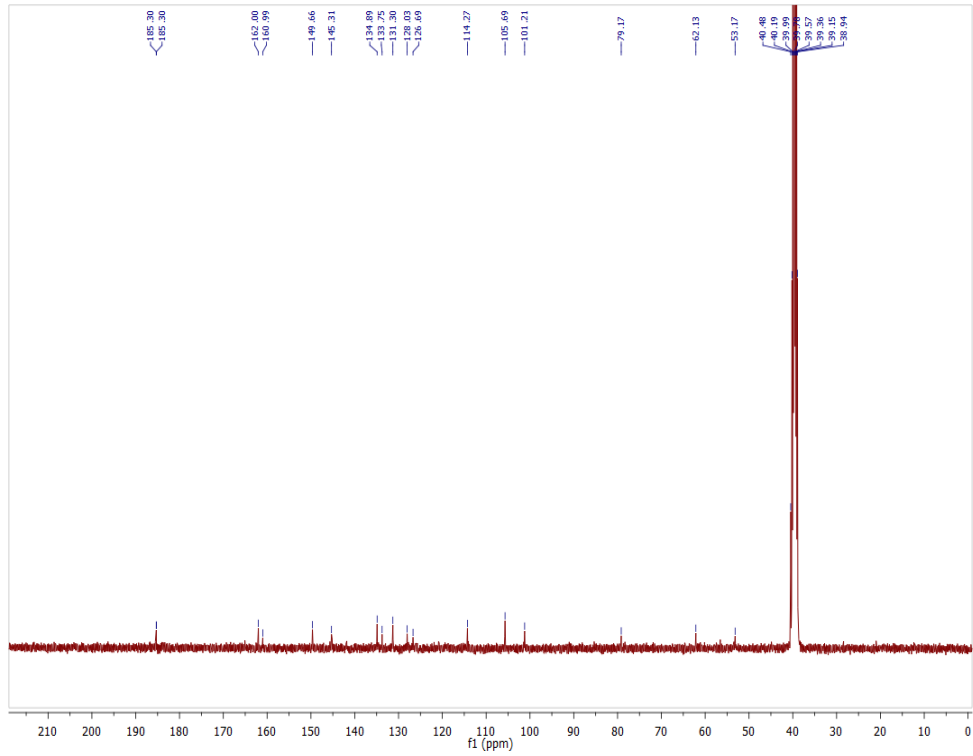
Sentezin son basamağında 4 ve 8 NaAsc, CuSO₄ ve Cu tozu varlığında reaksiyona sokularak, nihayi bileşik 1 elde edilmiştir (Şekil 4.14). Bileşik 1 ¹H NMR, ¹³C NMR ve kütle spektrumları ile karakterizasyonu sağlanmıştır (Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17).



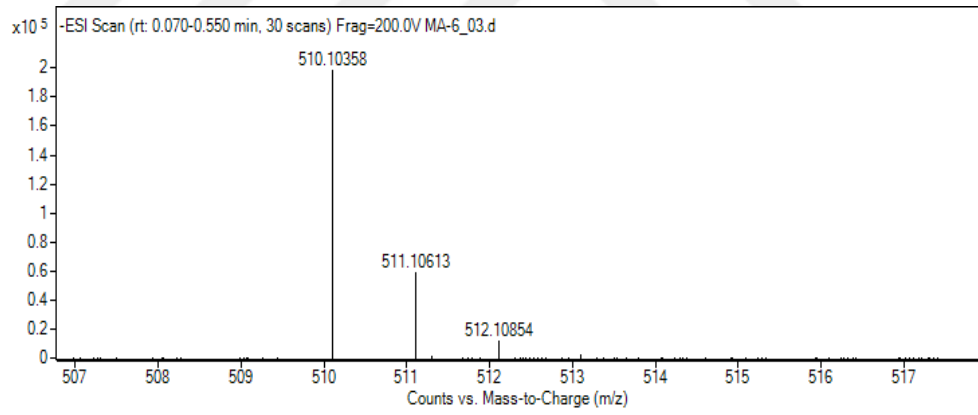
Şekil 4.14. Bileşik 1'in sentezi.



Şekil 4.15. Bileşik 1'in ¹H-NMR spektrumu (600 MHz, DMSO-d₆).



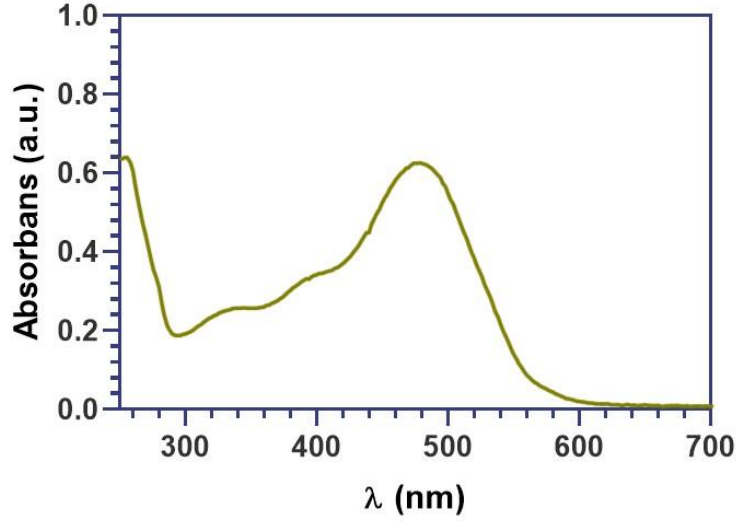
Şekil 4.16. Bileşik 1'in ^{13}C -NMR spektrumu (151 MHz, DMSO-d_6).



Şekil 4.17. Bileşik 1'ün kütle spektrumu.

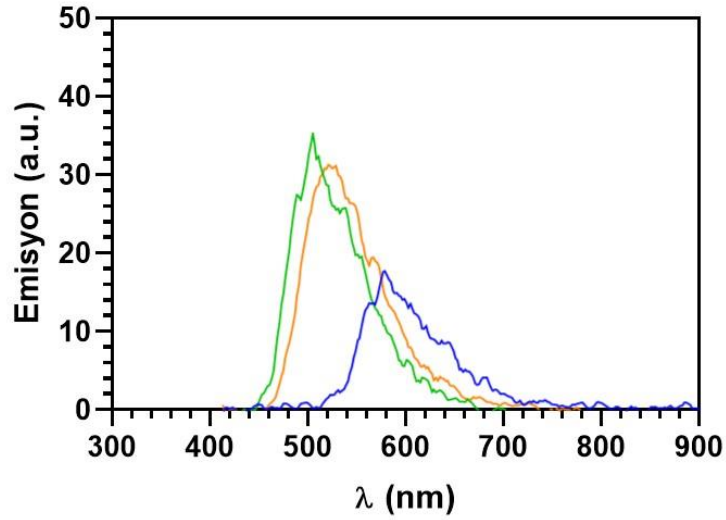
4.2 Bileşik 1'in Fotofiziksel Özellikleri

Bileşik 1'in fotofiziksel özellikleri incelenmiştir. Bileşik 1'in absorpsiyon spektrumu Şekil 4.18'de verilmiştir. Absorpsiyon dalga boyu maksimum değerinin (λ_{max}) 475 nm olarak görülmektedir.



Şekil 4.18. 1 ($6,6 \times 10^{-6}$ M) için soğurma spektrumu.

Bileşik 1 zayıf floresans özellik göstermektedir: En 475 nm’de uyarıldığında emisyon dalga boyu (λ_{max}) 505 nm; 465 nm uyarıldığında (λ_{max}) 525 nm; 405 nm de uyarıldığında (λ_{max}) 580 nm emisyon yapmaktadır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. 1 ($6,6 \times 10^{-6}$ M) için floresans spektrumu.

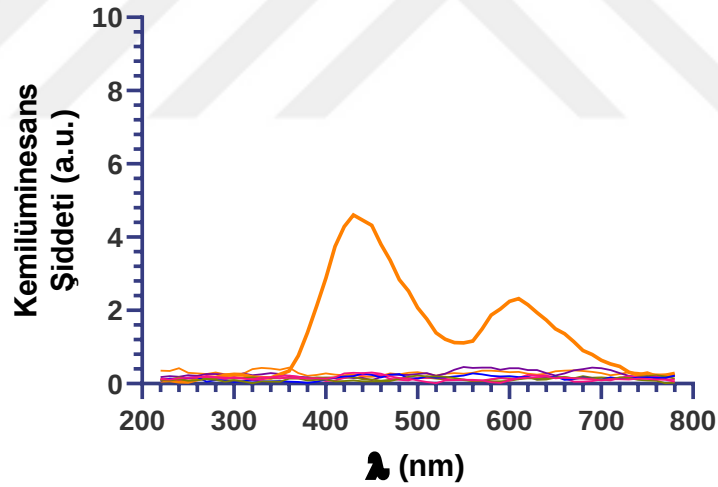
4.3 Bileşik 1’in Kemilüminesans Özellikleri

Kemilüminesans, kimyasal bir reaksiyon sonucunda ışık yayılmasıdır ve bu özellik, bileşiğin bazı maddelerle etkileşime girerek ışık üretmesini sağlar. Bileşiğin bu özelliği nedeniyle, ROT ile kimyasal ışımanın tetiklenebileceği düşünülmüştür. Reaktif oksijen türleri, canlı organizmalarda biyolojik süreçleri etkileyen, yüksek reaktiviteye

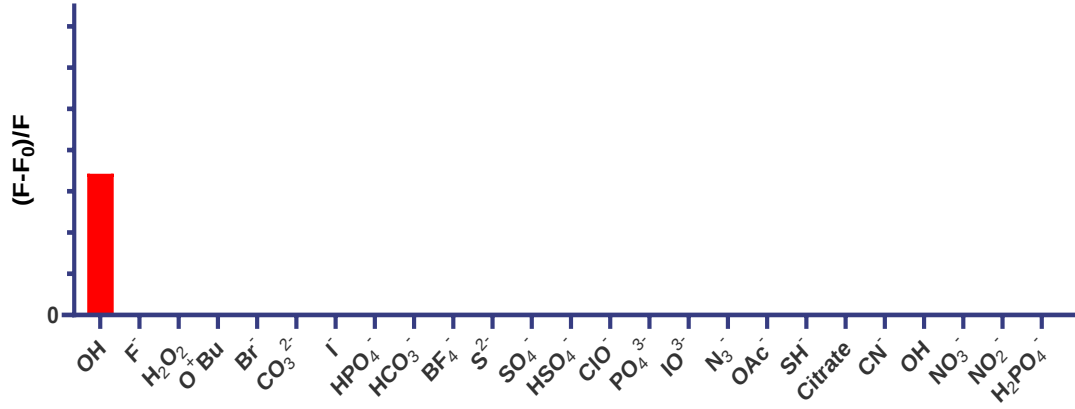
sahip moleküllerdir. ROT'nin, bazı bileşiklerle etkileşim sonucu kimyasal reaksiyonları tetiklemesi mümkündür.

Bu varsayıma dayanarak, hedef bileşiğin 1 ROT ve diğer önemli analit türlerine karşı ne davranışı araştırılmıştır. Yani, hedef bileşiğin ROT'ye özgü bir şekilde tepki verip vermediği test edilmiştir. Ayrıca, bileşiğin ROT'yi tespit etmek için bir belirteç olarak işlev görüp göremeyeceği de değerlendirilmiştir.

Hedef bileşiğin 1, çeşitli ROT ve analitler varlığında kemilüminesans oluşumu incelenmiştir. Bazik ortamda (pH:10.0) çeşitli analitler kullanılarak yapılan testlerde, bileşiğin 1 $\bullet\text{OH}$, O^+Bu , H_2O_2 , F^- , Br^- , I^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , BF_4^- , S^{2-} , SO_4^{2-} , HSO_4^- , ClO^- , PO_4^{3-} , IO_3^- , N_3^- , OAc^- , SH^- , Citrate, CN^- , OH^- , NO_3^- , NO_2^- , H_2PO_4^- , ClO_4^- , PF_6^- gibi biyolojik olarak önemli ROT ve/veya iyonlar ile etkileşime girmediği gözlemlenmiştir (Şekil 4.21). Ancak, bileşiğin 1 H_2O_2 karşı oldukça seçici bir şekilde kimyasal ışımaya tepkimesi verdiği belirlenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. 1 ($7,2 \times 10^{-4}$ M) alkali H_2O_2 ve CuSO_4 , (pH: 10,4) ile muamele edilmesi sonucu elde edilen kemilüminesans spektrumu.



Şekil 4.21. 1 ($7,2 \times 10^{-4}$ M), çeşitli reaktif oksijen türleri (ROT) ve analizlerle ($\bullet$ OH, O^+Bu , F^- , Br^- , I^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , BF_4^- , S^{2-} , SO_4^{2-} , HSO_4^- , ClO^- , PO_4^{3-} , IO_3^- , N_3^- , OAc^- , SH^- , sitrat, CN^- , OH^- , NO_3^- , NO_2^- , $H_2PO_4^-$, ClO_4^- , PF_6^- ; her biri $4,5 \times 10^{-4}$ M) oda sıcaklığında (pH: 10,4) ile muamelesi ile verdiği bağıl kemilüminesans şiddeti.

4.4 Fotodinamik Testler

Fotodinamik etkinliği gösteren ana parametrelerden biri, singlet oksijen üretimidir. Fotoduyarlastırıcı bileşiklerin 1O_2 üretebilme kapasitesini değerlendirebilmek için, literatürde sıkça kullanılan tuzak molekülü olan 1,3-Difenilizobenzofuran (DPBF) tercih edilmiştir. DPBF, ortamda 1O_2 varlığında hızlı bir şekilde reaksiyona girer ve endoperoksit bileşiğine dönüşür. Bu bileşik, oda sıcaklığında bozulup diketona dönüşerek, reaksiyonun ilerleyişini gösterir. DPBF'nin soğurma spektrumu izlenerek, ortamda 1O_2 oluşup oluşmadığı anlaşılabilir. Çünkü 1O_2 oluştukça, DPBF'nin soğurma şiddeti ($\lambda_{max} = 410-420$ nm) orantılı olarak azalır.

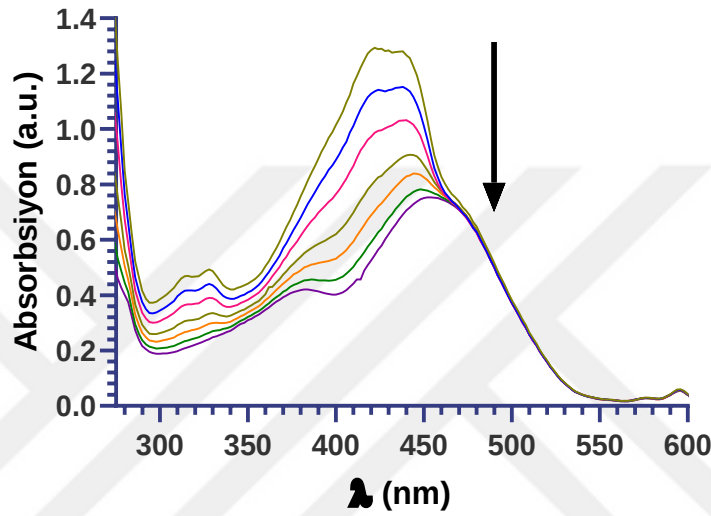
4.4.1 Bileşik 1'in fotodinamik özellikleri

Fotodinamik etkinlik, bir bileşiğin foto kimyasal reaksiyonlar başlatarak bazı biyolojik veya kimyasal etkiler yaratma kapasitesine işaret eder.

Deney karanlık ortamda gerçekleştirilmiştir, çünkü fotodinamik etkinlik ışık altında tetiklenen bir süreçtir ve ışık yokken bileşiğin bir reaksiyon göstermediği belirlenmiştir.

Bileşik 1'in fotodinamik etkinliğini değerlendirmek için %0,1'lik Koliphor EL sulu çözeltisine DPBF eklenerek yapılan deneyde, bileşiğin ışık altında ROT üretme potansiyeli incelenmiştir.

Bu karışım, belirli zaman aralıkların da 510 nm dalga boyunda yeşil ışığa maruz bırakılarak absorpsiyon spektrumları kaydedilmiştir. Sonuçlar, DPBF'nin absorpsiyon yoğunluğunun ($\lambda_{\max} = 419$ nm) zamanla azaldığını göstermektedir (Şekil 4.22).



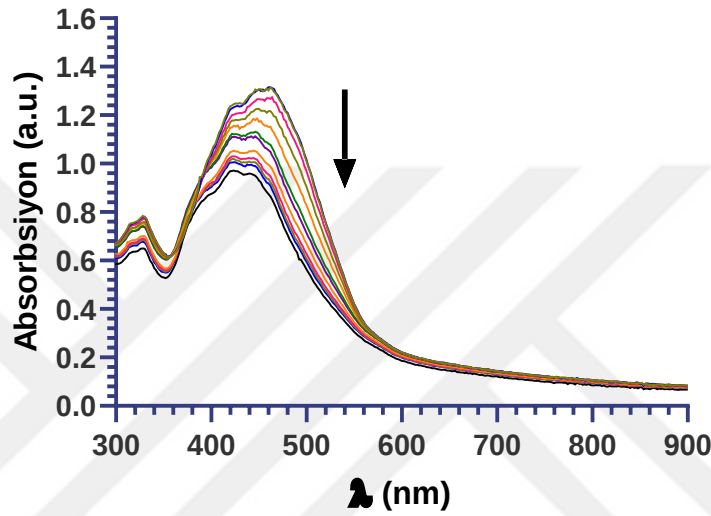
Şekil 4.22. Bileşik 1'in ($6,6 \times 10^{-6}$ M) derişiminde çözünmüş DPBF ($19,60 \mu\text{g mL}^{-1}$) varlığında ışınlanma süresi boyunca elde edilen absorpsiyon spektrumu.

4.5 Sonodinamik Testler

SDT, ultrason enerjisi kullanarak, duyarlaştırıcılar (SD) aktive eden bir tedavi yöntemidir. SDT, temel olarak ses dalgalarının mekanik titreşimleriyle, hedef dokulardaki SD moleküllerini uyararak bu moleküllerin çevresindeki oksijenle etkileşime girmesini sağlar. Ultrason dalgaları, genellikle Megahertz (MHz) frekans aralığında veya daha düşük frekanslı Kiloherzt (KHz) aralıklarında derin dokulara nüfuzu artmakta olup, SD'lerin daha yüksek enerji seviyelerine geçmelerine neden olur. Bu aktive olmuş SD, çevresindeki oksijen molekülleriyle etkileşerek singlet oksijen ve diğer reaktif oksijen türlerinin üretimini başlatır. Bu terapi, ışıkla aktive edilen fotodinamik tedaviye benzer prensiplere dayanmakla birlikte, ışık yerine ultrason dalgalarını kullanarak derin dokularda da etkinlik gösterebilir. SDT, özellikle derin dokularda etki yaratabilmesi ve sağlıklı dokulara zarar verme riskini azaltması nedeniyle büyük bir klinik potansiyel taşır.

4.5.1 Bileşik 1'in sonodinamik özellikleri

Bileşik 1'in sonodinamik etkinliğini belirlemek için, DPBF varlığında ultrases dalgalarına maruz bırakılarak zamana bağlı soğurma spektrumları kaydedilmiştir. Elde edilen veriler, DPBF bileşiğine ait soğurma şiddetinin ($\lambda_{\text{max}} = 419 \text{ nm}$) zamanla azaldığını göstermektedir (Şekil 4.23). Bu sonuçlar, Bileşik 1'in reaktif oksijen türleri üreterek hedeflenen sonodinamik özellikleri sergilediğini göstermektedir.

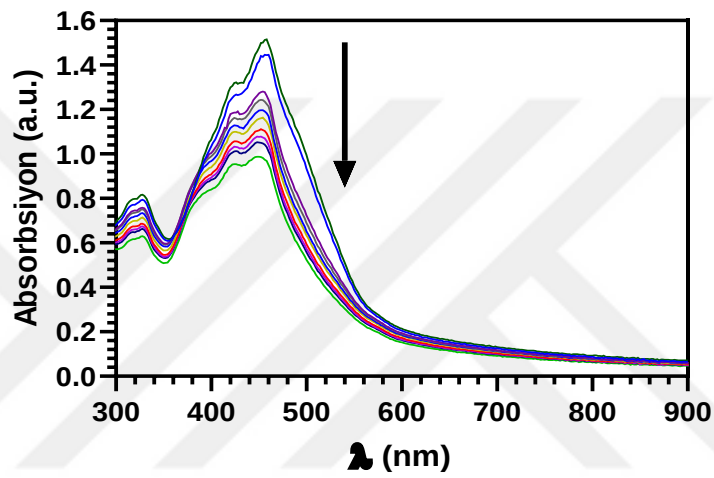


Şekil 4.23. Bileşik 1'in ($6,6 \times 10^{-6} \text{ M}$) derişiminde çözünmüş DPBF ($19,60 \mu\text{g mL}^{-1}$) varlığında ultrases ile maruz kalma süresince elde edilen absorbsiyon spektrumu.

SDT ve FDT, her biri farklı fiziksel etmenler kullanarak (ultrason ve ışık), reaktif oksijen türleri üretir. Sonofotodinamik terapi, bu iki tedavi yönteminin kombinasyonunu kullanarak tedavi sürecini daha etkili hale getirmeyi amaçlar. SDT ve FDT'nin birlikte kullanılması, tedaviye daha geniş bir etki alanı sağlarken, her iki terapi yönteminin sağladığı farklı mekanizmalarla kanser hücrelerini daha etkili bir şekilde hedeflemeyi sağlar. SDT derin dokulara etki ederken, FDT daha yüzeysel ve spesifik bölgelere yoğunlaşabilir. Her iki tedavi de hedefleme ve hassasiyeti artırarak sağlıklı dokuların korunmasına yardımcı olur. Bu, özellikle derin yerleşimli kanserler ve yüzeysel kanserler için daha etkin bir çözüm sunar. İki tedavi yönteminin kombinasyonu, tedavi sırasında yan etkileri minimumda tutabilir.

4.5.2 Bileşik 1'in sonofotodinamik özellikler

SDT ve FDT, her biri farklı fiziksel etmenler kullanarak (ultrason ve ışık), ultrasonda 38,5 KHz frekans ve ışıktaki ise 510 nm yeşil ışık kullanılarak etkinlik testi yapılmıştır. Etkinliğin varlığının gösterimi olarak singlet oksijen ile tepkime veren DPBF farlığında %0,1'lik Koliphor EL'li sulu çözeltide her iki terapi yöntemini aynı anda kullanılıp, DPBF düşüşünün FDT ve SDT'den daha iyi olması beklenmektedir. Sonuç olarak Dual Terapinin etkinliği daha güçlü ve kullanım alanının daha geniş olması ortaya konmuştur (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Bileşik 1'in ($6,6 \times 10^{-6}$ M) derişiminde çözünmüş DPBF ($19,60 \mu\text{g mL}^{-1}$) varlığında aynı anda ultrases ve ışınlama maruz kalma süresince elde edilen absorbsiyon spektrumu.

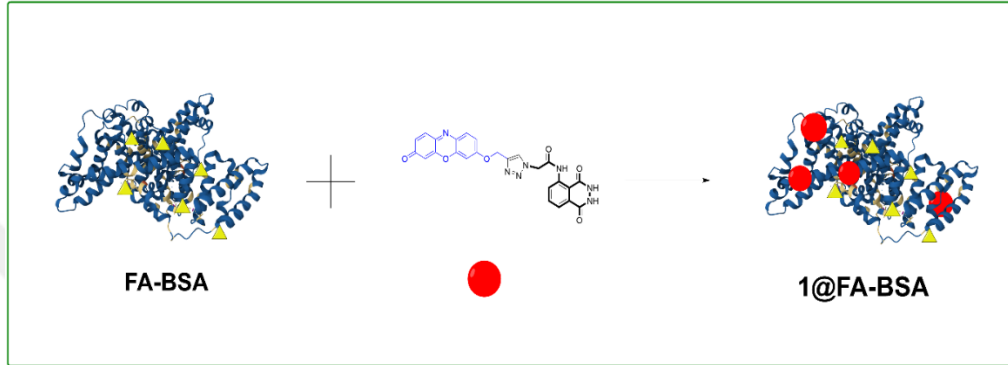
4.6 Bileşik 1'in Nanoformülasyonu: (1@FA-BSA)

Bileşik 1'in çözücü ortamı olarak tercih edilen DMSO, bileşiğin suda çözünürlüğünü sınırlayan bir özelliğe sahiptir. Bu durum, biyolojik sistemlerdeki etkili dağılım ve etkileşimi engelleyebileceğinden, çözünürlük sorununun aşılması kritik bir önem taşımaktadır. Bu dezavantajlı durumu ortadan kaldırmak ve bileşiğin su ortamında çözünmesini sağlamak amacıyla, Folik Asit (FA) ve Sığır Serum Albümini (BSA) gibi biyoyumlu bileşenlerle zenginleştirilmiş bir sistem geliştirilmiştir. Bu bileşenler, bileşiğin biyolojik ortamda güvenle kullanılabilmesini sağlayacak şekilde optimize edilmiştir.

Ayrıca, Folik Asit ucu ile hedefleme özelliği kazandırılarak, spesifik hücresel hedeflere yönlendirilmesi sağlanmıştır. Bu özellik, bileşiğin daha verimli bir şekilde hücrelere

girmesini ve istenilen etkiyi göstermesini mümkün kılar. Yalnızca biyouyumluluk değil, aynı zamanda hedefe yönelik taşıma özelliği de bu sistemin etkinliğini artıran önemli faktörlerden biridir.

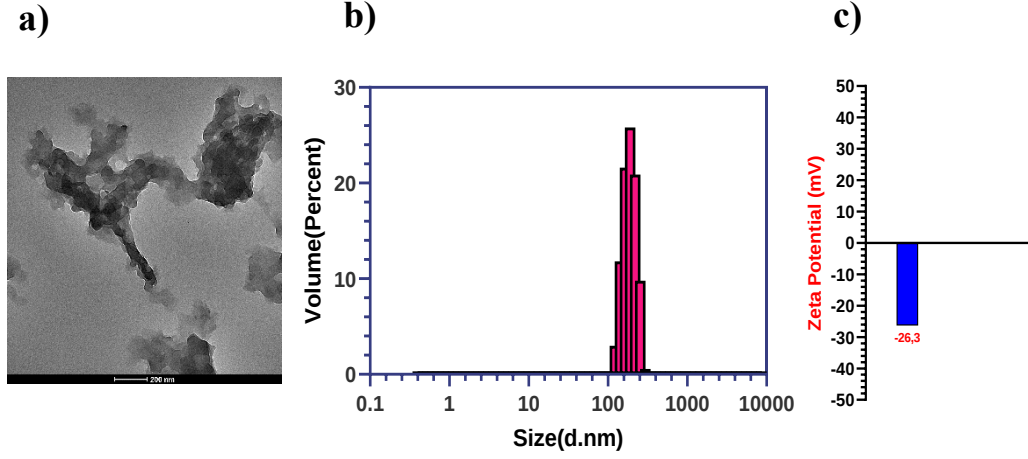
Hedef bileşiğin 1 nanoformülasyonu için FA-BSA seçilmiş ve FA-BSA literatüre göre sentezlenmiştir. Sonraki aşamada ise hedef bileşik 1 FA-BSA ile kapsüle edilmiştir (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. Hedef bileşiğin 1 FA-BSA ile formülasyonu.

4.6.1 1@FA-BSA karakterizasyonu

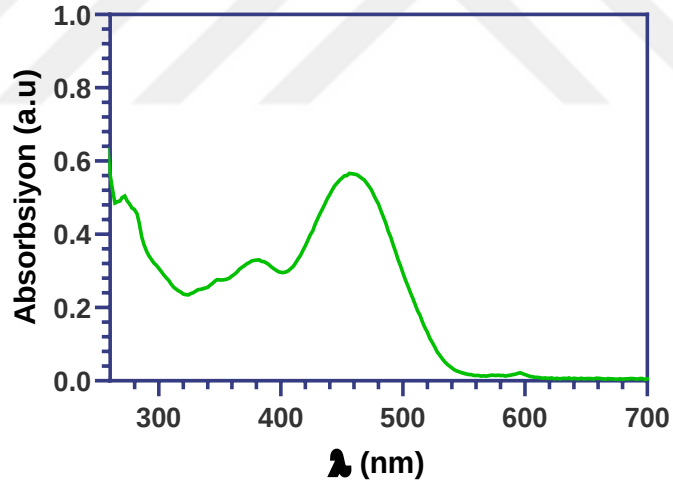
Yapılan karakterizasyon çalışmaları, nano parçacıkların morfolojik, elektriksel ve stabilite özelliklerini kapsamlı bir şekilde değerlendirmemize olanak tanımıştır. Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) görüntüleri, nano parçacıkların homojen bir şekilde dağılmış ve belirli bir boyut aralığında olduğunu göstermektedir. TEM analizlerinden elde edilen verilere göre, parçacıkların ortalama çapı [100-200] nm olarak belirlenmiştir ve yüzey yapıları düzgün görünmektedir (Şekil 4.26). DLS analizleri parçacık boyutunun 100-200 nm aralıkta olduğunu ve homojen bir dağılım sergilediklerini göstermektedir (Şekil 4.26). Ayrıca, zeta potansiyeli analizi, parçacıkların yüzey yüklerinin elektrostatik stabilitesini ortaya koymuştur. Elde edilen [-26,3], parçacıkların iyi bir elektrostatik stabiliteye sahip olduğunu ve agregasyon riskinin düşük olduğunu göstermektedir (Şekil 4.26). Bu, nano parçacıkların biyolojik ortamda uzun süre stabil kalabilmesini ve hedeflenmiş etkiyi etkili bir şekilde gerçekleştirebilmesini sağlar. Sonuç olarak, gerçekleştirilen bu karakterizasyon işlemleri, nano parçacıkların stabilitesini ve etkinliğini doğrulayan önemli bilgiler sunmuş ve bu materyalin potansiyel kullanım alanlarına dair güvenilir bir temel oluşturmuştur.



Şekil 4.26. 1@FA-BSA'nın a) Nanoparçacıkların TEM görüntüleri, b) Parçacık boyutlarının dağılım profil, c) Zeta potansiyel analizi (-26,3 mV).

4.7 1@FA-BSA Fotofiziksel Özellikleri

1@FA-BSA absorpsiyon spektrumu Şekil 4.27.'de verilmiştir. Absorpsiyon dalga boyu maksimum değerinin (λ_{max}) 475 nm olarak belirlenmiştir.



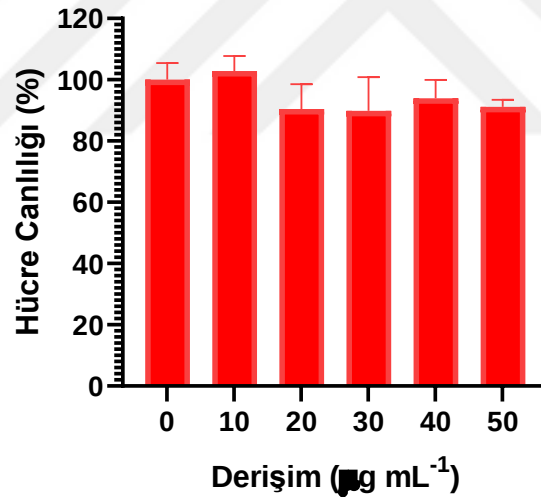
Şekil 4.27. 1@FA-BSA için soğurma spektrumu.

4.8 1@FA-BSA Toksisite Testi

1@FA-BSA'nın L929 Fare Fibroblast hücre hattında, karanlık koşullar altında toksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. L929 hücreleri, farklı konsantrasyonlardaki 1@FA-BSA ile inkübe edilmiştir. Hücrelerin canlılık oranları, yaygın olarak hücre canlılığını ve mitokondriyal aktivitelerini ölçen bir yöntem olan MTT testi (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) kullanılarak belirlenmiştir.

MTT testi, hücrelerin metabolik aktivitelerine bağlı olarak formazan kristalleri üretmelerine dayanır ve bu kristaller, hücrelerin canlılık seviyesinin bir göstergesidir. Testin sonunda, 1@FA-BSA'nın L929 hücreleri üzerindeki etkisi, her bir konsantrasyon için hesaplanan canlılık yüzdesi ile değerlendirilmiştir. Veriler, Şekil 4.28'de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlar, 1@FA-BSA'nın L929 hücrelerinde toksik bir etki göstermediğini ve 1@FA-BSA uygulanan hücrelerin canlılık oranlarının en az %90 seviyelerinde korunduğunu ortaya koymuştur.

Bu bulgu, 1@FA-BSA'nın hücreler üzerinde toksik bir etki yaratmadığını ve yüksek biyoyumluluğa sahip olduğunu göstermektedir. 1@FA-BSA'nın, L929 hücre hattında herhangi bir belirgin sitotoksik etki göstermemesi, özellikle biyomedikal uygulamalarda kullanılabilirliğini desteklemektedir. Bu bileşiğin biyoyumluluğu, kanser tedavisi ve biyolojik sistemlerle etkileşimi açısından önemli bir gösterge olup, bu malzemenin potansiyel olarak toksik etkilerinden arındırılmış olduğunu işaret etmektedir.



Şekil 4.28. L929 hücrelerinin, farklı derişimlerde (0,0-50,0 µg/mL) 1@FA-BSA ile inkübe edilmesi sonucunda canlılık oranları.

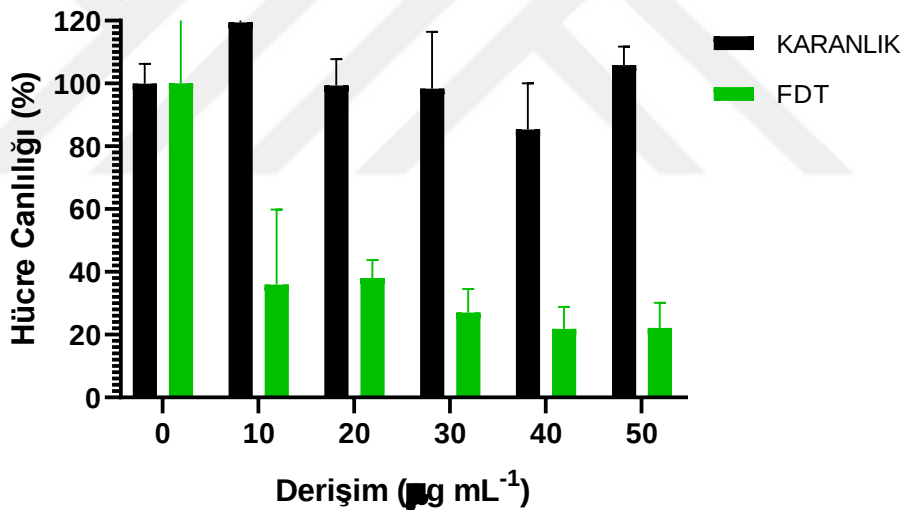
4.9 1@FA-BSA *in vitro* Fotodinamik Testleri

1@FA-BSA *in vitro* ortamda fotodinamik terapi (FDT) etkinliği, MCF-7 meme kanseri hücre hattı kullanılarak incelenmiştir. Hücreler, değişik konsantrasyonlardaki (0-50 µg mL⁻¹) 1@FA-BSA ile inkübe edildikten sonra, yeşil ışık ile aydınlatılmıştır. Kontrol gruplarında ise hücreler, karanlık ortamda tutulmuştur. Fotodinamik etkinlik, hücrelerin canlılık oranlarıyla karşılaştırmalı şekilde MTT testi ile ölçülmüştür. Bu

yöntem, hücrelerin metabolik faaliyetlerini yansıtan ve canlılıklarını belirleyen yaygın bir testtir.

Deneysel sonuçlar, 1@FA-BSA'nin uygulanan konsantrasyonla doğru orantılı olarak fotodinamik aktivitesinin arttığını ve özellikle 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ seviyesinde, hücre canlılığının %70 oranında azaldığını ortaya koymuştur (Şekil 4.29). Bu bulgular, 1@FA-BSA'nin fotodinamik terapi için potansiyel bir ajan olduğunu ve etkinliğini kanıtlamaktadır. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda, 1@FA-BSA'nin fotodinamik etkisiyle hücrelerin hayatta kalma oranlarının belirgin şekilde azaldığı gözlemlenmiştir, bu da ajanının kanser tedavisinde etkili olabileceği gösterilmektedir.

Sonuç olarak, bu bulgular, 1@FA-BSA'nin fotodinamik terapi uygulamalarında etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini ve meme kanseri tedavisinde potansiyel bir tedavi aracı olarak rol oynayabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.29. 1@FA-BSA ile MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan *in vitro* FDT testlerinden meydana gelen hücre canlılık sonuçları.

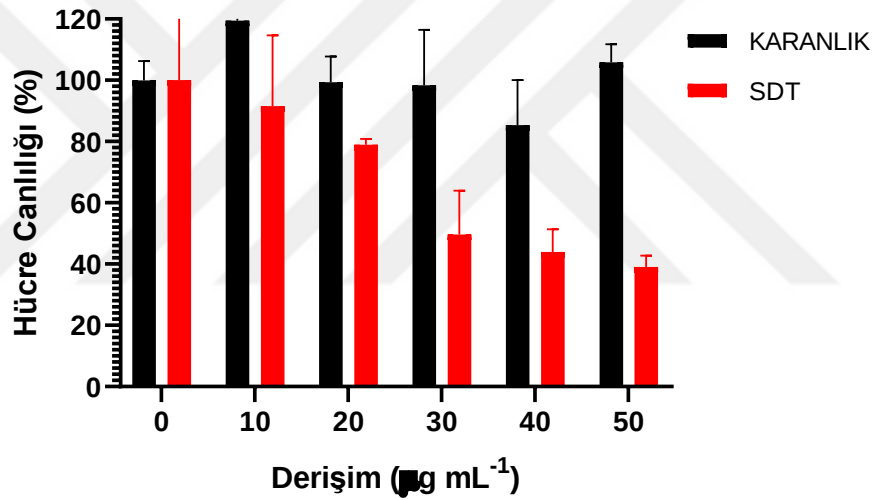
4.10 1@FA-BSA *in vitro* Sonodinamik Testleri

1@FA-BSA bileşiğinin *in vitro* ortamda SDT etkinliği, MCF-7 meme kanseri hücre hattı kullanılarak incelenmiştir. Hücreler, çeşitli konsantrasyonlardaki (0-50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) 1@FA-BSA inkübe edildikten sonra, SDT test uygulanmıştır. Ultrason uygulaması, hücrelerde mekanik stres yaratmak ve ROT üretimini tetiklemek amacıyla

kullanılmıştır. Kontrol gruplarında ise hücreler, aynı koşullarda ancak ultrason uygulanmadan, karanlık ortamda bırakılmıştır.

Sonodinamik etkinlik, hücre canlılık oranlarının karşılaştırılmasıyla MTT testi ile değerlendirilmiştir. Deneysel sonuçlar, 1@FA-BSA'nin konsantrasyona bağlı olarak sonodinamik aktivitesinin arttığını ve özellikle 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda, hücre canlılığının %50 oranında azaldığını ortaya koymuştur (Şekil 4.30). Bu bulgular, 1@FA-BSA'nin SDT için uygun bir tedavi ajanı olduğunu doğrulamaktadır.

Özellikle yüksek konsantrasyonlarda, 1@FA-BSA'nin sonodinamik etkisiyle hücrelerin hayatta kalma oranlarının belirgin şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Bu da ajanının kanser tedavisindeki potansiye etkinliğini göstermektedir.



Şekil 4.30. 1@FA-BSA ile MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan *in vitro* SDT testlerinden meydana gelen hücre canlılık sonuçları.

4.11 1@FA-BSA *in vitro* Sonofotodinamik Terapi Testleri

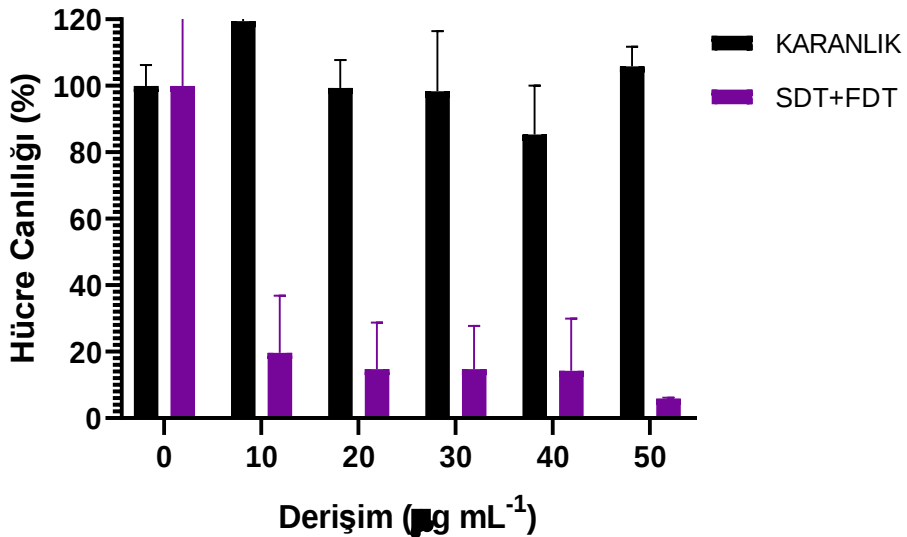
1@FA-BSA'nın *in vitro* ortamda FDT ve SDT kombinasyonunun etkinliği, MCF-7 meme kanseri hücre hattı kullanılarak araştırılmıştır. Hücreler, değişik konsantrasyonlarda (0-50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) 1@FA-BSA inkübe edildikten sonra, hem yeşil ışık ile aydınlatılmış hem de ultrases uygulanmıştır. FDT ve SDT'nin sinerjik etkilerinden yararlanmak amacıyla her iki tedavi modalitesi birlikte kullanılmıştır.

İlk olarak, FDT'nin etkinliği, yeşil ışık altında ışığa duyarlı moleküllerin uyarılması ve ROT üretimi ile değerlendirilmiştir. SDT içinse, aynı hücrelere ultrases uygulanarak

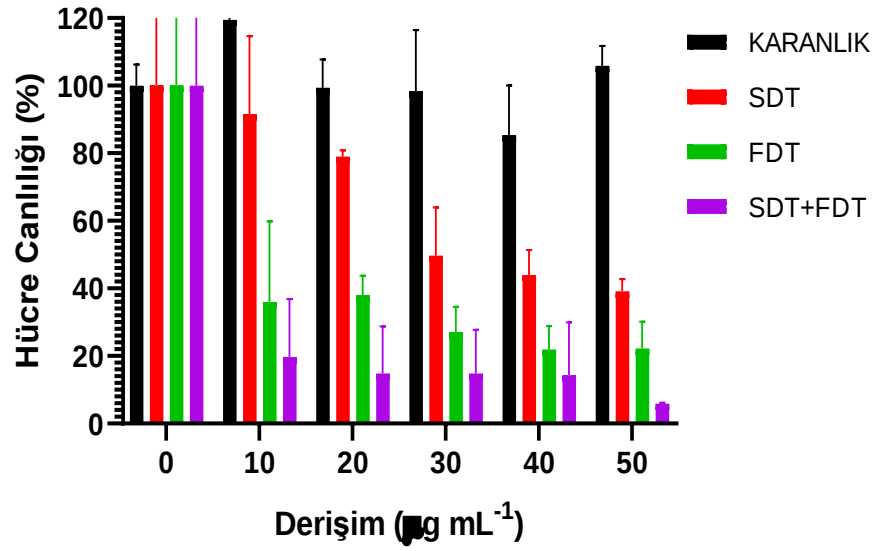
mekanik stres yaratılmış ve bu stresin, hücrelerin ROT üretimini daha da artırarak tedaviye katkı sağlaması hedeflenmiştir. Kontrol gruplarında ise, hücreler karanlıkta bırakılmış ve yalnızca ultrason ya da ışık uygulanarak her iki terapi tek başına değerlendirilmiştir.

Dual terapi etkinliği, hücre canlılık oranlarının karşılaştırılmasıyla MTT testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Deneysel sonuçlar, 1@FA-BSA'nin PDT ve SDT kombinasyonunda, tek başına uygulanan tedavilere kıyasla daha fazla hücre ölümü ve %10 oranında bir canlılık sağladığını göstermektedir. Özellikle 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda, her iki tedavi modalitesinin sinerjik etkisi, hücrelerde belirgin bir canlılık kaybına yol açmış, bu da kombine terapinin etkinliğini doğrulamıştır (Şekil 4.31).

Bu bulgular, 1@FA-BSA'nin hem FDT hem SDT ile birlikte kullanıldığında, kanser hücrelerinde daha etkili bir tedavi sağladığını ve her iki tedavi stratejisinin bir arada kullanılmasının kanser tedavisinde daha yüksek etkinlik sağladığını ortaya koymaktadır. Dual terapi yaklaşımının, tek başına uygulanan FDT ve SDT'ye göre daha yüksek bir tedavi başarısı gösterdiği ve bu kombinasyonun meme kanseri tedavisinde potansiyel bir strateji olarak kullanılabileceği öne çıkmaktadır (Şekil 4.32).



Şekil 4.31. 1@FA-BSA ile MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan *in vitro* SFDT testlerinden meydana gelen hücre canlılık sonuçları.



Şekil 4.32. 1@FA-BSA (0.0-50.0 $\mu\text{g/mL}$) ile MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan *in vitro* sonofotodinamik (FDT, SDT ve SDT+FDT) terapi testlerinden meydana gelen hücre canlılık sonuçları.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Lüminol, kemilüminesans özellik gösteren bir bileşiktir ve potansiyel olarak kanser tedavisinde kullanılabilir. Ancak, lüminolün suda çözünürlüğü sınırlıdır, tek başına FDT, SDT ve dual terapi etkinliği bulunmamaktadır, bu da biyolojik sistemlerde etkin bir şekilde kullanılmasını engellemektedir. Bu bağlamda, suda çözünür olan bir formülasyon geliştirmek, tedavi etkinliğini artırmak, toksisitesi yok denecek kadar düşük resorufin ile konjuge etmektir. Bu çalışmanın temel amacı, lüminol ve resorufin bazlı bir terapötik sistem geliştirmek, bu sistemin hücre bazlı testlerle terapötik etkinliğini değerlendirmektir. Resorufin kendi başına PDT ve SDT gerçekleştiremezken, lüminol ile konjuge edildiğinde bu yetenekleri kazanır. Lüminol, kimyasal oksidasyon reaksiyonu sırasında molekülündeki atomlar arasındaki elektronların uyarılmasıyla kemilüminesans yoluyla ışık enerjisi üretir. Bu süreçte, lüminolün moleküler orbitallerinde yer alan elektronlar yüksek enerji seviyelerine çıkar ve ardından temel seviyeye dönerken enerji foton olarak açığa çıkar. Konjugat yapısında lüminolden yayılan bu ışık enerjisi, molekülün yapısal olarak yakınında bulunan resorufin kısmındaki atomların moleküler orbitallerine aktarılır. Bu enerji transferi, elektron dalga fonksiyonlarının örtüşmesiyle gerçekleşen non-radyatif enerji transferi mekanizmasıyla sağlanır. Sonuç olarak, resorufin molekülündeki elektronlar uyarılmış duruma geçer. Resorufin kendi başına etkin bir ROT üreticisi olmasa da, uyarılmış haldeki elektronları çevresindeki oksijen moleküllerine enerji transferi yapar. Bu enerji aktarımı sonucunda oksijen moleküllerinde ROT, özellikle 1O_2 ve süperoksit radikalleri oluşur.

Çalışmanın en büyük zorluklarından biri, bu bileşiklerin uyumlu ve tüm sinerjik etkilerin göstermesi sorununu aşmak ve aynı zamanda hücre düzeyinde etkinlik gösterirken toksisiteyi minimuma indirmektir. Ayrıca, elde edilen terapötik sistemlerin, fotodinamik, sonodinamik, sonofotodinamik terapi ve kemilüminesans için uygun hale getirilmesi önemli bir sorundur. Bu bağlamda, çalışmanın amacı, FDT, SDT, sonofotodinamik terapi (her iki yöntemin kombinasyonu) ve kemilüminesans için etkin bir strateji sunmaktır. Lüminol ve resorufinin su çözünürlüğünü artırmak amacıyla folik asit ve BSA ile formülasyon yapılarak, biyolojik sistemlerde daha etkili bir şekilde kullanılabilecek formülasyon elde edilmiştir. Bu çalışmada, resorufin ile kemilüminesans ışıma yapabilen lüminol bağlanarak çok yönlü bir terapötik sistem

geliştirilmiştir. Bu sistem, FDT ve SDT özelliklerine sahip olup, aynı zamanda bu iki tedavi yönteminin sinerjik etkilerini bir arada sunan bir dual terapi (FDT + SDT = SFDT) stratejisini de içermektedir. Ek olarak, bu sistemin kemilüminojenik etkisi, kanserli hücrelerin yerini belirlemek amacıyla bir belirteç olarak kullanılabilir. Lüminol, hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek kemilüminesans yapar. Ancak bu ışımlar, doğrudan tedaviye yönelik bir etki değil, tedavi bölgesinin doğru bir şekilde tespit edilmesine yardımcı olan bir belirteç işlevi görmektedir. BSA, taşıyıcı olarak kullanılarak, terapötik bileşiğin biyolojik sistemlerde daha stabil bir şekilde taşınmasını sağlamaktadır. Ayrıca, folik asit, kanser hücrelerinde bulunan yüksek miktarda folat reseptörlerine bağlanma özelliği gösterdiği için, tedavi ajanının hedeflenen kanser hücrelerine daha spesifik bir şekilde yönlendirilmesine olanak tanımaktadır. Bu hedefleme özelliği, tedaviye odaklanmayı artırır ve sağlıklı hücrelerin korunmasına yardımcı olur, böylece tedavi etkinliğini artırır. Çalışmada, geliştirilen formülasyonun hücre toksisitesi de detaylı bir şekilde değerlendirilmiştir. Yapılan hücre toksisite testlerinde 1@FA-BSA formülasyonunun toksisitesinin oldukça düşük olduğu ve biyolojik sistemle uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Bu da tedavi sisteminin güvenli bir şekilde kullanılabileceğini ve kanser tedavisinde potansiyel bir ajan olabileceğini göstermektedir. MCF-7 hücre hattında yapılan deneylerde, FDT, SDT ve dual terapi uygulamaları sonucunda, dual terapinin kanser hücreleri üzerindeki etkisi dikkat çekici bir şekilde yüksek bulunmuştur. Dual terapi ile kanserli hücrelerin %90'ına varan bir öldürme oranına ulaşılmıştır. Bu sonuç, fotodinamik ve sonodinamik terapilerin kombinasyonunun sinerjik etkiler yaratarak kanser tedavisinde güçlü bir strateji sunduğunu ve bu tedavi yöntemlerinin etkinliğini önemli ölçüde artırdığını göstermektedir. Sonuç olarak, bu çalışma, 1@FA-BSA gibi kemilüminesans özellik gösteren malzemeler bileşiklerin, kanser tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir. Geliştirilen malzemenin etkinliği hem fotodinamik hem de sonodinamik terapilerle kanser hücrelerinin öldürülmesini sağlarken, kemilüminesans ışımları ile tedavi alanının doğru bir şekilde belirlenmesini de mümkün kılacaktır. Ayrıca, folik asit ve sığır serum albumini ile yapılan formülasyon, tedavi ajanlarının kanser hücrelerine özgül bir şekilde hedeflenmesini sağlayarak, tedaviye odaklanmayı artırmış ve sağlıklı dokuların korunmasına katkıda bulunacaktır. Bu çok yönlü yaklaşım, kanser tedavisinde önemli bir potansiyele sahiptir ve gelecekte daha geniş klinik çalışmalara zemin hazırlayabilir.

Bu çalışma, resorufin ve lüminol içeren terapötik sistemlerin kanser tedavisindeki potansiyelini ortaya koymaktadır. Elde edilen sonuçlar, hem FDT hem de SDT yöntemlerinin sinerjik bir şekilde kullanılabileceğini ve bu tedavi kombinasyonunun kanser hücrelerini etkili bir şekilde öldürebileceğini göstermektedir. Ancak, bu alandaki araştırmaların ilerlemesi için bazı önemli noktalar üzerinde durulması gerekmektedir. Öncelikle, bu çalışmanın *in vitro* (hücre kültürü) düzeyindeki sonuçları, terapötik sistemin etkinliğini göstermektedir. Ancak, tedavi ajanlarının gerçek biyolojik ortamda ne kadar etkili olacağı ve vücutta nasıl davranacağı konusunda daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır. Bu nedenle, gelecekte yapılacak klinik öncesi (*in vivo*) çalışmalar, tedavi ajanlarının canlı organizmalar üzerindeki etkilerini değerlendirecek şekilde tasarlanmalıdır. Bu çalışmalar, tedavi sisteminin güvenliğini ve etkinliğini kanıtlayarak, klinik uygulamalar için uygunluğunu test edecektir. Kemilüminesansın sadece tedavi değil, aynı zamanda tanı ve izleme alanlarında da kullanılması da konuşulabilir. Kemilüminesans, tedavi alanını belirlemek için faydalı bir belirteç olarak kullanılabilirken, aynı zamanda kanserli hücrelerin yerinin tespit edilmesinde de önemli bir araç olabilir. Gelecekte, kemilüminesans ışımalarının klinik görüntüleme teknikleriyle birleştirilerek, kanserli bölgelerin daha hızlı ve doğru bir şekilde tespit edilmesi sağlanabilir. Bu, tedavi sürecinin izlenmesinde önemli bir avantaj sağlayacaktır. Çalışmada kullanılan folik asit ve BSA formülasyon stratejisi, kanser hücrelerine özgül hedefleme sağlamak açısından etkili bir yöntem sunmuştur. Ancak, bu hedefleme stratejisinin daha da geliştirilmesi faydalı olacaktır. Özellikle, farklı kanser türlerinde bulunan spesifik hedeflere yönelik taşıyıcı sistemlerin araştırılması, tedavi ajanlarının daha hassas bir şekilde kanser hücrelerine yönlendirilmesini sağlayacaktır. Bunun yanı sıra, bu sistemin çeşitli kanser türlerine olan etkinliğini değerlendirmek, tedaviye özgül hedeflemeyi daha da güçlendirebilir. Tedavi protokollerinin optimize edilmesi büyük önem taşımaktadır. Fotodinamik ve sonodinamik terapilerinin kombinasyonu, kanser tedavisinde güçlü bir sinerji yaratmaktadır. Ancak, bu tedavi yöntemlerinin en uygun dozajları, tedavi süresi ve uygulama sıklığı konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Tedavi protokollerinin daha verimli hale getirilmesi, tedavi başarısını artırabilir ve klinik uygulamalarda daha geniş bir kullanım alanı bulmasını sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Alekseenko, I., Zhukova, L., Kondratyeva, L., Buzdin, A., Chernov, I. ve Sverdlov, E., 2024. Tumor cell communications as promising supramolecular targets for cancer chemotherapy: a possible strategy, *International Journal Of Molecular Sciences*, 25, 19, 10454.
- Allison, R. R., Moghissi, K., 2013. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms, *Clinical Endoscopy*, 46, 1, 24-29.
- Almammadov, T. ve Kolemen, S., 2021. A hydrogen peroxide responsive resorufin-based phototheranostic agent for selective treatment of cancer cells, *Dyes and Pigments*, 193, 109499.
- Almammadov, T., Atakan, G., Leylek, O., Ozcan, G., Gunbas, G. ve Kolemen, S., 2020. Resorufin enters the photodynamic therapy arena: a monoamine oxidase activatable agent for selective cytotoxicity, *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 11 12, 2491-2496.
- Almammadov, T., Elmazoglu, Z., Atakan, G., Kepil, D., Aykent, G., Kolemen, S. ve Gunbas, G., 2022. Locked and loaded: β -galactosidase activated photodynamic therapy agent enables selective imaging and targeted treatment of glioblastoma multiforme cancer cells, *ACS Applied Bio Materials*, 5 9, 4284-4293.
- Armstrong, J. S. ve Whiteman, M., 2007. Measurement of reactive oxygen species in cells and mitochondria, *Methods in Cell Biology*, 80, 355-377.
- Arslan, B., Bilici, K., Demirci, G., Almammadov, T., Khan, M., Sennaroglu, A. ve Kolemen, S., 2021. A leucine aminopeptidase activatable photosensitizer for cancer cell selective photodynamic therapy action, *Dyes and Pigments*, 195, 109735.
- Asil, D., Cihaner, A., Algi, F. ve Önal, A. M., 2010. A diverse-stimuli responsive chemiluminescent probe with luminol scaffold and its electropolymerization, *Electroanalysis*, 22 19, 2254-2260.
- Baca, S. C., Prandi, D., Lawrence, M. S., Mosquera, J. M., Romanel, A., Drier, Y. ve Garraway, L. A., 2013. Punctuated evolution of prostate cancer genomes, *Cell*, 15 3, 666-677.
- Baptista, M. S., Cadet, J., Di Mascio, P., Ghogare, A. A., Greer, A., Hamblin, M. R., Yoshimura, T. M., 2017. Type I and type II photosensitized oxidation reactions: guidelines and mechanistic pathways, *Photochemistry and Photobiology*, 93, 4, 912-919.
- Castano, A. P., Demidova, T. N. ve Hamblin, M. R., 2005. Mechanisms in photodynamic therapy: part two cellular signaling, cell metabolism and modes of cell death, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2 1, 1-23.

- Cetin, S., Elmazoglu, Z., Karaman, O., Gunduz, H., Gunbas, G. ve Kolemen, S., 2021. Balanced intersystem crossing in iodinated silicon-fluoresceins allows new class of red shifted theranostic agents, *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 125, 752-757.
- Chen, H. J., Zhou, X. B., Wang, A. L., Zheng, B. Y., Yeh, C. K. ve Huang, J. D., 2018. Synthesis and biological characterization of novel rose bengal derivatives with improved amphiphilicity for sono-photodynamic therapy, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 145, 86-95.
- Chen, L., Yang, J., Su, F., Liu, Z., Huang, S., Zhang, J. ve Mao, W., 2025. A novel cyanine photosensitizer for sequential dual-site GSH depletion and ROS-potentiated cancer photodynamic therapy, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 283, 117165.
- D'Ammando, A., Raspagliesi, L., Gionso, M., Franzini, A., Porto, E., Di Meco, F. ve Prada, F., 2021. Sonodynamic therapy for the treatment of intracranial gliomas, *Journal of Clinical Medicine*, 10 5, 1101.
- Dąbrowski, J. M., 2017. Reactive oxygen species in photodynamic therapy: mechanisms of their generation and potentiation. In *Advances in Inorganic Chemistry*, 70, 343-394, Academic Press.
- Datta, P., Moolayadukkam, S., Sahu, R. P., Ganguly, R., Sen, S. ve Puri, I. K., 2024. Deciphering the hydrodynamics of lipid-coated microbubble sonoluminescence for sonodynamic therapy, *Ultrasonics Sonochemistry*, 111, 107090.
- Deepa, S., Venkatesan, R., Jayalakshmi, S., Priya, M. ve Kim, S. C., 2023. Recent advances in catalyst-enhanced luminol chemiluminescence system and its environmental and chemical applications, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11 3, 109853.
- Degirmenci, A., Sonkaya, O., Soylukan, C., Karaduman, T. ve Algi, F., 2021. BODIPY and 2, 3-dihydrophthalazine-1, 4-dione conjugates as heavy atom-free chemiluminogenic photosensitizers, *ACS Applied Bio Materials*, 4, 6, 5090-5098.
- Deng, C., Zhang, J., Hu, F., Han, S., Zheng, M., An, F. ve Wang, F., 2024. A GSH-Responsive Prodrug with Simultaneous Triple-Activation Capacity for Photodynamic/Sonodynamic Combination Therapy with Inhibited Skin Phototoxicity, *Small*, 20, 40, 2400667.
- Di, Y., Deng, R., Liu, Z., Mao, Y., Gao, Y., Zhao, Q. ve Wang, S., 2023. Optimized strategies of ROS-based nanodynamic therapies for tumor theranostics, *Biomaterials*, 122391.

- Dirak, M., Kepil, D., Almammadov, T., Elmazoglu, Z., Cetin, S., Ozogul, N. ve Kolenen, S., 2023. Selective monitoring and treatment of neuroblastoma cells with hydrogen sulfide activatable phototheranostic agent, *Dyes and Pigments*, 210, 111011.
- Ettinger, K. V. ve Puite, K. J. 1982. Lyoluminescence dosimetry part I. Principles, *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, 33, 11, 1115-1138.
- Gao, J., Chen, Z., Li, X., Yang, M., Lv, J., Li, H. ve Yuan, Z., 2022. Chemiluminescence in combination with organic photosensitizers: beyond the light penetration depth limit of photodynamic therapy, *International Journal of Molecular Sciences*, 2320, 12556.
- García-Campaña, A. M. ve Baeyens, W. R. G., 2000. Principles and recent analytical applications of chemiluminescence, *Analisis*, 288, 686-698.
- Götz, C., Pfeiffer, R., Tigges, J., Ruwiedel, K., Hübenthal, U., Merk, H. F. ve Fritsche, E., 2012. Xenobiotic metabolism capacities of human skin in comparison with a 3D-epidermis model and keratinocyte-based cell culture as in vitro alternatives for chemical testing: phase II enzymes, *Experimental dermatology*, 2, 5, 364-369.
- Hanahan, D., 2014. Rethinking the war on cancer, *The Lancet*, 383 9916, 558-563.
- Haque, R., Contreras, R., McNicoll, M. P., Eckberg, E. C. ve Petitti, D. B., 2006. Surgical margins and survival after head and neck cancer surgery, *BMC Ear, Nose and Throat Disorders*, 6, 1-6.
- He, S., Song, J., Qu, J. ve Cheng, Z., 2018. Crucial breakthrough of second near-infrared biological window fluorophores: design and synthesis toward multimodal imaging and theranostics, *Chemical Society Reviews*, 47, 12, 4258-4278.
- Im, H. G., Kim, H. Y., Choi, M. G. ve Chang, S. K., 2013. Reaction-based dual signaling of fluoride ions by resorufin sulfonates, *Organic and Biomolecular Chemistry*, 11 18, 2966-2971.
- Kagalwala, H. N., Reeves, R. T. ve Lippert, A. R., 2022. Chemiluminescent spiroadamantane-1, 2-dioxetanes: Recent advances in molecular imaging and biomarker detection, *Current opinion in Chemical Biology*, 68, 102134.
- Karanlık, C. C., Karanlık, G. ve Erdoğan, A., 2023. A new approach for BODIPY derivatives: Increasing the singlet oxygen formation by sonophotochemical technique, *Journal of Molecular Structure*, 1294, 136450.
- Köse, G. G. ve Erdoğan, A., 2024. Dual effect of light and ultrasound for efficient singlet oxygen generation with novel diaxial silicon phthalocyanine sensitizer, *Photochemistry and Photobiology*, 100, 1, 52-66.

- Larsen, T., Rupp, R., Friggens, N. C. ve Pires, J. A. A., 2022. Fluorometric determination of isocitrate dehydrogenase (EC 1.1. 1.42; 1; NADP+ dependent) in ruminant milk, *Animal*, 16, 8, 100593.
- Li, S., Ruan, Z., Zhang, H. ve Xu, H., 2021. Recent achievements of bioluminescence imaging based on firefly luciferin-luciferase system, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 211, 113111.
- Liang, G., Yang, Y., Cheng, D., Ma, Y. ve Yan, L., 2024. Synthesis of a new photosensitizer for laser-mediated photodynamic therapy to kill cancer cells in gliomas, *Materials Advances*, 5, 18, 7467-7472.
- Liu, H., Zhou, M., Sheng, Z., Chen, Y., Yeh, C. K., Chen, W. ve Zheng, H., 2018. Theranostic nanosensitizers for highly efficient MR/fluorescence imaging-guided sonodynamic therapy of gliomas, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22 11, 5394-5405.
- Liu, W., He, S., Ma, X., Lv, C., Gu, H., Cao, J. ve Peng, X., 2024. Near-Infrared Heptamethine Cyanine Photosensitizers with Efficient Singlet Oxygen Generation for Anticancer Photodynamic Therapy, *Angewandte Chemie*, 136 47, e202411802.
- Luksiene, Z., 2003. Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 39, 12, 1137-1150.
- Ma, A., Chen, H., Cui, Y., Luo, Z., Liang, R., Wu, Z. ve Cai, L., 2019. Metalloporphyrin complex-based nanosonosensitizers for deep-tissue tumor theranostics by noninvasive sonodynamic therapy, *Small*, 15, 1804028.
- Ma, N., Liu, J., He, W., Li, Z., Luan, Y., Song, Y. ve Garg, S., 2017. Folic acid-grafted bovine serum albumin decorated graphene oxide: An efficient drug carrier for targeted cancer therapy, *Journal of Colloid and Interface Science*, 490, 598–607.
- McCaughan, B., Rouanet, C., Fowley, C., Nomikou, N., McHale, A. P., McCarron, P. A. ve Callan, J. F., 2011. Enhanced ROS production and cell death through combined photo-and sono-activation of conventional photosensitising drugs, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21 19, 5750-5752.
- McHale, A. P., Callan, J. F., Nomikou, N., Fowley, C. ve Callan, B., 2016. Sonodynamic therapy: concept, mechanism and application to cancer treatment, *Therapeutic Ultrasound*, 429-450.
- Medina, J. E., Dracopoli, N. C., Bach, P. B., Lau, A., Scharpf, R. B., Meijer, G. A. ve Velculescu, V. E., 2023. Cell-free DNA approaches for cancer early detection and interception, *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 11, 9.
- Nguyen, Q. T. ve Tsien, R. Y., 2013. Fluorescence-guided surgery with live molecular navigation a new cutting edge, *Nature Reviews Cancer*, 13, 9, 653-662.

- Nowak-Śtepińska, A., Pergoń, P. ve Padzik-Graczyk, A., 2013. Metoda fotodynamiczna diagnostyki i leczenia nowotworów mechanizmy i zastosowania, *Postępy Biochemii*, 59, 53, 63.
- O'Brien, W. D., 2007. Ultrasound-biophysics mechanisms, *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 93, 280-294.
- Parker, R. T., Ovens, C. A., Fraser, C. L. ve Samarawickrama, C., 2018. Optic nerve sheath meningiomas: prevalence, impact, and management strategies, *Eye and Brain*, 85-99.
- Qian, Y., Lin, J., Han, L., Lin, L. ve Zhu, H. 2014. A resorufin-based colorimetric and fluorescent probe for live-cell monitoring of hydrazine, *Biosensors and Bioelectronics*, 58, 282-286.
- Rengeng, L., Qianyu, Z., Yuehong, L., Zhongzhong, P. ve Libo, L., 2017. Sonodynamic therapy, a treatment developing from photodynamic therapy, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 19, 159-166.
- Riley, R. S., June, C. H., Langer, R. ve Mitchell, M. J., 2019. Delivery technologies for cancer immunotherapy, *Nature Reviews Drug Discovery*, 18, 3, 175-196.
- 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.
- Rosenberg, S. A., 2014. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer, *The Journal of Immunology*, 192, 12, 5451-5458.
- Sadanala, K. C., Chaturvedi, P. K., Seo, Y. M., Kim, J. M., Jo, Y. S., Lee, Y. K. ve Ahn, W. S., 2014. Sono-photodynamic combination therapy: a review on sensitizers, *Anticancer Research*, 349, 4657-4664.
- Schumacker, P. T., 2006. Reactive oxygen species in cancer cells: live by the sword, die by the sword, *Cancer Cell*, 10, 3, 175-176.
- Shiraishi, Y., Yamamoto, K., Sumiya, S. ve Hirai, T., 2013. Selective fluorometric detection of aromatic thiols by a chemosensor containing two electrophilic sites with different local softness, *Chemical Communications*, 49, 99, 11680-11682.
- Su, H., Wang, N., Wang, J., Wang, H., Zhang, J. ve Zhao, W., 2021. A resorufin-based red-emitting fluorescent probe with high selectivity for tracking endogenous peroxynitrite in living cells and inflammatory mice. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 252, 119502.
- Tian, L., Feng, H., Dai, Z. ve Zhang, R., 2021. Resorufin-based responsive probes for fluorescence and colorimetric analysis, *Journal of Materials Chemistry B*, 9, 1, 53-79.

- Toksoy, A., Pekcan, S., Susam, A., Erkan, D. S., Algi, M. P. ve Algi, F., 2023. A generic platform for self-illuminating unimolecular systems enabling photodynamic therapy, *Dyes and Pigments*, 219, 111577.
- Toksoy, A., Sonkaya, Ö., Erkan, D. S., Gulen, R. B., Algi, M. P. ve Algi, F., 2022. Norsquaraine endowed with anticancer and antibacterial activities, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 40, 103110.
- Vessoni, A. T., Filippi-Chiela, E. C., Lenz, G. ve Batista, L. F. Z., 2020. Tumor propagating cells: drivers of tumor plasticity, heterogeneity, and recurrence, *Oncogene*, 39, 10, 2055-2068.
- Wang, Y., Shen, H., Li, Z., Liao, S., Yin, B., Yue, R. ve Song, G., 2024. Enhancing fractionated cancer therapy: a triple-anthracene photosensitizer unleashes long-persistent photodynamic and luminous efficacy, *Journal of the American Chemical Society*, 146, 9, 6252-6265.
- Xiong, X., Liu, J., Wu, L., Xiong, S., Jiang, W. ve Wang, P., 2024. Self-assembly strategies of organic small-molecule photosensitizers for photodynamic therapy, *Coordination Chemistry Reviews*, 510, 215863.
- Xu, X., An, H., Zhang, D., Tao, H., Dou, Y., Li, X. ve Zhang, J., 2019. A self-illuminating nanoparticle for inflammation imaging and cancer therapy, *Science Advances*, 5, 1, eaat2953.
- Zhang, C., Wu, J., Liu, W., Zheng, X., Zhang, W., Lee, C. S. ve Wang, P., 2022. A novel hypocrellin-based assembly for sonodynamic therapy against glioblastoma, *Journal of Materials Chemistry B*, 10, 1, 57-63.
- Zhang, Q., Wang, N., Ma, M., Luo, Y. ve Chen, H., 2019. Transferrin receptor-mediated sequential intercellular nanoparticles relay for tumor deep penetration and sonodynamic therapy, *Advanced Therapeutics*, 2, 6, 1800152.
- Zhang, S., Li, Y., Li, Z., Wang, G., Liao, A., Wang, J. ve Zhang, X., 2022. Intelligent Nanodelivery System-Generated 1O₂ Mediates Tumor Vessel Normalization by Activating Endothelial TRPV4-eNOS Signaling, *Small*, 18, 17, 2200038.
- Zhang, Z., Yuan, M., Shi, K., Xu, C., Lin, J., Shi, Z. ve Fang, Y., 2023. Association between multimorbidity trajectories, healthcare utilization, and health expenditures among middle-aged and older adults: China health and retirement longitudinal study, *Journal of Affective Disorders*, 330, 24-32.
- Zheng, X., Liu, W., Ge, J., Jia, Q., Nan, F., Ding, Y. ve Wang, P., 2019. Biodegradable natural product-based nanoparticles for near-infrared fluorescence imaging-guided sonodynamic therapy, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11, 20, 18178-18185.

Ziental, D., Czarczynska-Goslinska, B., Wysocki, M., Ptaszek, M. ve Sobotta, Ł., 2024. Advances and perspectives in use of semisolid formulations for photodynamic methods, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 114485.

URL-1 <https://gco.iarc.who.int/today/en?mode=population&prev_time=5&types=1>, Eriřim Tarihi: 20.03.2025.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Muhammet AVAN

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, 2018-2022

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 2022-2025

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Projeler

1. 220Z070, Suda Çözünür Skuarinler: Biyomedikal Ve Hidrojel Uygulamaları, Burslu (Yüksek Lisans), Sonuçlandı, KBAG - Kimya Biyoloji Araştırma Destek Grubu, 3501 - Kariyer, ARDEB, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 01.04.2023 - (01.05.2023), Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 01.05.2021 - 01.05.2023 Bursiyer.
2. 123R074, Krokoninlerle Çapraz Bağlayıcı Mühendisliği: Fototermal Antibakteriyal Hidrojeller, Burslu (Yüksek Lisans), Yürürlükte, MAG - Mühendislik Araştırma Destek Grubu, 1001 - Araştırma, ARDEB, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 01.06.2024 - 31.03.2025, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 01.02.2024 - 01.02.2026 Bursiyer.

Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1. Avan, M. ve Algi, F., 2024. Synthesis of a chemiluminogenic photosensitizer, 10th International european conference on interdisciplinary scientific research, Zurich, Switzerland, August 27-29.