



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

NANOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**SKUARİN İÇEREN HİDROJELLER VE ANTİKANSER
ÖZELLİKLERİNİN *IN VITRO* İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dönay ÇUNGUR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Melek PAMUK ALGI

AKSARAY, 2024

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 212358407 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Dönay ÇUNGUR tarafından hazırlanan “**SKUARİN İÇEREN HİDROJELLER VE ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN IN VITRO İNCELENMESİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Nanoteknoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Melek PAMUK ALGI

Aksaray Üniversitesi

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

.....

Üye: Prof. Dr. Hacı ÖZİŞİK

Aksaray Üniversitesi

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

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Cemalettin BEKPEN

Bahçeşehir Üniversitesi

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

.....

Tez Savunma Tarihi: 04/06/2024

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

Prof. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

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

Dönay ÇUNGUR

TEŞEKKÜR

Gerçek başarının yalnızca çalışmakla elde edileceğini, hedeflerimi disiplinle başarmamı aşılayan, hayal kırıklıklarında motivasyonumu yüksek tutmamı sağlayan, yüksek lisans eğitimimin ilk gününden bugüne dek her zaman elimi tutan, kendisini rol model edineceğim, maddi manevi desteğini esirgemeyen çok değerli sevgili danışmanım saygıdeğer Prof. Dr. Melek PAMUK ALGI hocama sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerini paylaşan, her zaman örnek alacağım, grup içerisinde aile olduğumuzu hissettiren maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, çok değerli sevgili saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fatih ALGI hocama sonsuz teşekkür ederim.

Her bireyin ilk eğitiminin ailede başladığı bana da doğruyu, her koşulda dürüst olmayı öğreten emeklerini esirgemeyen, yanımda olmasalar bile arkamda desteklerini hissettiğim canım babam İsmail ÇUNGUR'a, fedakârlıkları ve hayata karşı mücadeleci duruşunu örnek aldığım canım annem Hatice ÇUNGUR'a, bir kardeşten daha çok arkadaşım, sırdaşım olan her konuda destekçilerim olan canım ablalarım Hediye ÇUNGUR ve Merve ÇUNGUR'a, abla olarak her zaman yanında olduğum canım kardeşim Nazım Emre ÇUNGUR'a sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvarı ve çalışmalarında bana yardımcı olan bilgilerini, güler yüzünü ve deneyimlerini eksik etmeyen Ömer SONKAYA'ya, Rumeysa SARIGÖL'e, Hacer YAMANDAĞ'a ve Şafak ZENGİN'e teşekkür ederim.

Laborotuvardaki desteklerinden dolayı Memduh Bilmez BiyoNanoTeknoloji çalışma grubu arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu süreçte bana burs imkânı veren Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No: 220Z070) ayrıca teşekkür ederim.

Dönay ÇUNGUR

AKSARAY, 2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1.GİRİŞ	1
1.1 Fotodinamik Terapi	2
1.2 Skuarin	5
1.3 Hidrojel	5
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
2.1 Skuarinler	7
2.2 Hidrojeller	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	15
3.1 Malzeme	15
3.2 Bileşik 4 Sentezi: 5-(alliloksi)-2-metilbenzo[d]tiyazol.....	15
3.3 Bileşik 5 Sentezi: 5-(alliloksi)-2,3-dimetilbenzo[d]tiyazol-3-yum iyodür	16
3.4 Bileşik B Sentezi: 3,4-diizopropoksisiklobüt-3-en-1,2-dion	16
3.5 Bileşik 6 Sentezi: (Z)-3-((5-(alliloksi)-3-metilbenzo[d]tiyazol-2(3H)- iliden)metil)-4-izopropoksisiklobüt-3-en-1,2-dion	17
3.6 Bileşik 7 Sentezi.....	18
3.7 Bileşik 8 Sentezi: 2,3,3-trimetil-1-(3-(trimetillammonyum)propil)-3H-1-indol- 5-sülfonat.....	18
3.8 Skuarin 1 Sentezi.....	19
3.9 Skuarin 1@PAAm Sentezi için Genel Prosedür	19
3.10 Skuarin 1@PNIPAAm Sentezi için Genel Prosedür.....	20
3.11 Hücre hatlarının hazırlanması	20
3.12 Karanlık toksisite testleri.....	21
3.13 Canlı hücre görüntüleme	21
3.14 PNIPAAm Hidrojellerinin Sıcaklığa Bağlı Kütle Değişiminin Belirlenmesi	21
3.15 FDT Testleri	22
3.16 Molar Soğurma Katsayıları (ϵ).....	22
3.17 Floresans Kuantum Verimleri (Φ_F).....	22
3.18 Fotokararlılık Testleri.....	22
3.19 1O_2 verimlerinin (Φ_Δ) hesaplanması.....	23
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	24
4.1 Skuarin 1 Sentez Aşaması	24
4.2 Skuarin 1 Fotofiziksel Özellikleri	36
4.3 Skuarin 1 biyogörüntüleme ajanı olarak canlı hücrelerde test edilmesi	38
4.4 Skuarin 1 <i>in vitro</i> FDT testi	42
4.5 Skuarin 1 İçeren Hidrojellerin Sentezi	42
4.5.1 Skuarin 1 ve AAm ile Hidrojel Sentezi ve Karakterizasyonu: 1@PAAm	42
4.5.2 Skuarin 1 ve NIPAAm ile Hidrojel Sentezi ve Karakterizasyonu: 1@PNIPAAm	51
4. 6 Skuarin 1 İçeren Hidrojellerin Fotodinamik Özellikleri	59
4. 6. 1 1@PAAm Hidrojelleri	59
4. 6. 2 1@PNIPAAm Hidrojelleri.....	60

4. 7 Skuarin 1 İçeren Hidrojellerin <i>in vitro</i> FDT testleri.....	61
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	74



YÜKSEK LİSANS TEZİ

SKUARİN İÇEREN HİDROJELLER VE ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN IN VITRO İNCELENMESİ

Dönay ÇUNGUR

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Melek PAMUK ALGI

ÖZET

Kanser, anormal hücrelerin hızla bölünerek diğer doku ve organlara yayılıp onları istila etmesiyle ortaya çıkan geniş bir hastalık grubudur. Kanser, en ölümcül hastalıklar arasındadır. Günümüzde kanser ile mücadelede cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi en çok kullanılan yöntemlerdir. Ancak, bu tedavi yöntemleri tek başına her zaman yeterli olamamakta hatta ağır yan etkileri söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle yenilikçi terapi yöntemleri ve bu yöntemler için elverişli yeni nesil malzemelerin geliştirilmesi için yoğun bir çaba harcanmaktadır. Yenilikçi terapi yöntemleri arasında fotodinamik terapi (FDT), hastaların ışığa maruz bırakılarak tedavi edilmesi esasına dayanan bir yöntemdir. Tedavi süresinin kısa olması, maliyetinin düşük olması, yüksek oranda seçicilik göstermesi, düşük toksisitesi, noninvaziv olması ve düşük yan etki göstermesi gibi sebeplerden ötürü araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir.

Tez çalışması kapsamında fotodinamik terapi ajanı olabilecek suda çözünür skuarin boyası tasarlanıp sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve biyomedikal görüntüleme ile fotodinamik terapi (FDT) uygulamaları *in vitro* çalışmalarla test edilmiştir. Skuarinin 1'e özgü yüksek soğurma, emisyon, kuantum verimi, parlaklık gibi özellikleri çalışmanın diğer aşamalarında olumlu etki bırakmıştır. Skuarinin ile poliakrilamit (PAAm) ve poli(N-izopropilakrilamit) (PNIPAAm) tabanlı fotodinamik hidrojeller elde edilmiştir. Hidrojellerin sentez, karakterizasyon ve fotodinamik terapi (FDT) uygulamaları *in vitro* çalışmalarla incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fotodinamik Terapi, Hidrojel, Fotoduyarlaştırıcı, Skuarin.

Mayıs, 2024; 74 sayfa

M.Sc. THESIS

IN VITRO INVESTIGATION OF SQUARINE-CONTAINING HYDROGELS AND THEIR ANTI-CANCER PROPERTIES

Dönay ÇUNGUR

Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Nanotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Melek PAMUK ALGI

ABSTRACT

Cancer is a large friendship group that occurs when the abnormal flow rapidly breaks down and spreads to other tissues and organs and invades them. Cancer involves, most importantly, deaths. Today, surgical intervention, healing and radiotherapy are the most used methods in the fight against cancer. However, these treatment methods alone are not always sufficient and may even have severe side effects. For this reason, intense efforts are being made to develop drug treatment methods and new generation materials suitable for these methods. Among the innovative therapy methods, photodynamic therapy (PDT) is a therapy based on the principle of treating and releasing patients' injured exposure. It has become the focus of attention of individuals due to reasons such as its short treatment technology, low cost, high selectivity, low power, non-invasiveness and low side effects.

Within the scope of the thesis study, a water-soluble squaraine dye, which can be a photodynamic therapy agent, was designed, synthesized, characterized, and biomedical imaging and photodynamic therapy (PDT) applications were tested with *in vitro* studies. The unique properties of squarainin 1, such as high absorption, emission, quantum efficiency and brightness, had a positive impact on other stages of the study. Polyacrylamide (PAAm) and poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) based photodynamic hydrogels were obtained with squarainin. Synthesis, characterization and photodynamic therapy (PDT) applications of hydrogels were examined through *in vitro* studies.

Keywords: Photodynamic Therapy, Hydrogel, Photosensitizer, Squaraine.

May, 2024; 74 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kanserde genel olarak risk faktörleri.....	1
Şekil 1.2. Fotodinamik terapi mekanizması.....	2
Şekil 1.3. Hücrede fotodinamik terapi etkisi.	3
Şekil 1.4. NIR boyalarına genel bakış.(Yadav vd., 2020)	4
Şekil 1.5. Fotodinamik terapide (FDT) uygulanan elektromanyetik spektrum dalga boyu aralığı (Son vd., 2019).....	4
Şekil 1.6. Skuarin boyalarının ortak yapısı.....	5
Şekil 1.7. Hidrojellerin gözenekli ağ yapısı.....	6
Şekil 1.8. Hidrojellerde kullanılan polimer çeşitleri (Qi vd., 2018).	6
Şekil 2.1. Hedef altı tane skuarin.	7
Şekil 2.2. Bileşik 16.	7
Şekil 2.3. Bileşikler 17-22.	8
Şekil 2.4. Bileşik 23.....	8
Şekil 2.5. Bileşik 24.....	9
Şekil 2.6. Bileşik 25.....	9
Şekil 2.7. Bileşik 26.....	10
Şekil 2.8. Bileşik 27.....	10
Şekil 2.9. Bileşik 28.....	11
Şekil 2.10. Bileşik 29.....	11
Şekil 2.11. Bileşik 30.....	12
Şekil 2.12. Bileşik 31.....	12
Şekil 2.13. Bileşik 27.....	13
Şekil 2.14. Bileşik 32.....	13
Şekil 3.1. Bileşik 4 sentezi.....	15
Şekil 3.2. İndolin 5 sentezi.....	16
Şekil 3.3. 3,4-diizopropokzisiklobüt-3-en-1,2-dion (B) sentezi.	16
Şekil 3.4. Bileşik 6 sentezi.....	17
Şekil 3.5. Bileşik 7 sentezi.....	18
Şekil 3.6. Bileşik 8 sentezi.....	18
Şekil 3.7. Skuarin 1 Sentezi.	19
Şekil 4.1. Skuarin 1 Sentez Şeması.....	24
Şekil 4.2. Bileşik 4 sentezi.....	24
Şekil 4.3. Bileşik 4 için ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	25
Şekil 4.4. Bileşik 4 için ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 151 MHz).	26
Şekil 4.5. Bileşik 4 için LC-MS kütle spektrumu.....	26
Şekil 4.6. İndolin 5 sentezi.....	27
Şekil 4.7. İndolin 5 için ¹ H NMR spektrumu (DMSO-d ₆ , 600 MHz).	27
Şekil 4.8. İndolin 5 için ¹³ C NMR spektrumu (DMSO-d ₆ , 151 MHz).....	28
Şekil 4.9. İndolin 5 için kütle spektrumu.	28
Şekil 4.10. 3,4-diizopropokzisiklobüt-3-en-1,2-dion (B) sentezi.	29
Şekil 4.11. Bileşik B için ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).	29
Şekil 4.12. Bileşik B için LC-MS kütle spektrumu.	29
Şekil 4.13. Bileşik 6 sentezi.....	30
Şekil 4.14. Bileşik 6 için ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	30
Şekil 4.15. Bileşik 6 için ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 151 MHz).....	31
Şekil 4.16. Bileşik 6 için kütle spektrumu.	31
Şekil 4.17. Bileşik 7 sentezi.....	32
Şekil 4.18. Bileşik 8 Sentezi.	32

Şekil 4.19. Bileşik 8 için ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 600 MHz).....	33
Şekil 4.20. Bileşik 8 için kütle spektrumu.	33
Şekil 4.21. Skuarin 1 sentezi.....	34
Şekil 4.22. Skuarin 1 için ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 600 MHz).....	34
Şekil 4.23. Skuarin 1 için ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 150 MHz).	35
Şekil 4.24. Skuarin 1 için HRMS kütle spektrumu.....	35
Şekil 4.25. Skuarin 1 için TGA verileri.	36
Şekil 4.26. Skuarin 1 soğurma spektrumu ($2,33 \times 10^{-5}$ M, PBS, pH: 7.4, λ_{max} : 640 nm).	36
Şekil 4.27. Skuarin 1 floresans spektrumu ($2,33 \times 10^{-5}$ M, PBS, pH: 7.4, λ_{max} : 690 nm, λ_{ex} : 600 nm).	37
Şekil 4.28. Beyaz ışığa maruz bırakılan skuarin 1 soğurma spektrumunda zamanla meydana gelen değişimler.	38
Şekil 4.29. Skuarin 1 ile inkübe edilen L929 hücreleri için canlılık oranları.	39
Şekil 4.30. Skuarin 1 ile inkübe edilen kanser hücrelerinin (SK-MEL30) floresans görüntüleri.	40
Şekil 4.31. Skuarin 1 DPBF varlığında metanol içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince kaydedilen spektrumlar.	41
Şekil 4.32. Skuarin 1 (7.0×10^{-5} M) DCFH (3.0×10^{-5} M) varlığında PBS (pH 7.4) içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince kaydedilen floresans spektrumları.....	41
Şekil 4.33. Skuarin 1 ile <i>in vitro</i> fotoduyarlastırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.	42
Şekil 4.34. Hidrojellerin şematik görseli.	43
Şekil 4.35. Hidrojellerin şişmeden önceki, sonraki ve kuru hallerinin görüntüleri: A) 12.5@PAAm, B) 15.0@PAAm ve C) 17.5@PAAm.....	44
Şekil 4.36. Hidrojellerin 1@PAAm zamana bağlı şişme grafikleri.....	45
Şekil 4.37. Hidrojellerin FTIR spektrumları A) 12.5@PAAm, B) 15.0@PAAm ve C) 17.5@PAAm.....	46
Şekil 4.38. 12.5@PAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri	47
Şekil 4.39. 15.0@PAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.	48
Şekil 4.40. 17.5@PAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri	49
Şekil 4.41. 12.5@PAAm hidrojeli için kaydedilen termogram.	50
Şekil 4.42. 15.0@PAAm hidrojeli için kaydedilen termogram.	50
Şekil 4.43. 17.5@PAAm hidrojeli için kaydedilen termogram.	51
Şekil 4.44. Hidrojellerin şişmeden önceki, sonraki ve kuru görüntüleri A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm.....	52
Şekil 4.45. Hidrojellerin 1@PNIPAAm zamana bağlı şişme grafikleri (şişme oranı= m_{rel}).....	52
Şekil 4.46. Hidrojellerin sıcaklığa bağlı kütle değişim grafiği (büzüşme oranı= m_{rel}); A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm.....	53
Şekil 4.47. Hidrojellerin sıcaklığa bağlı büzüşme görüntüleri; A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm.	53
Şekil 4.48. Hidrojellerin FTIR spektrumları: A) 12.5@PNIPAAm, B) 15.0@PNIPAAm.	54
Şekil 4.49. 12.5@PNIPAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.....	55
Şekil 4.50. 15.0@PNIPAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.....	56
Şekil 4.51. 12.5@PNIPAAm hidrojeli için kaydedilen termogram.	57
Şekil 4.52. 15.0@PNIPAAm hidrojeli için kaydedilen termogram.	57
Şekil 4.53. 12.5@PNIPAAm hidrojeli için kaydedilen DSC.....	58

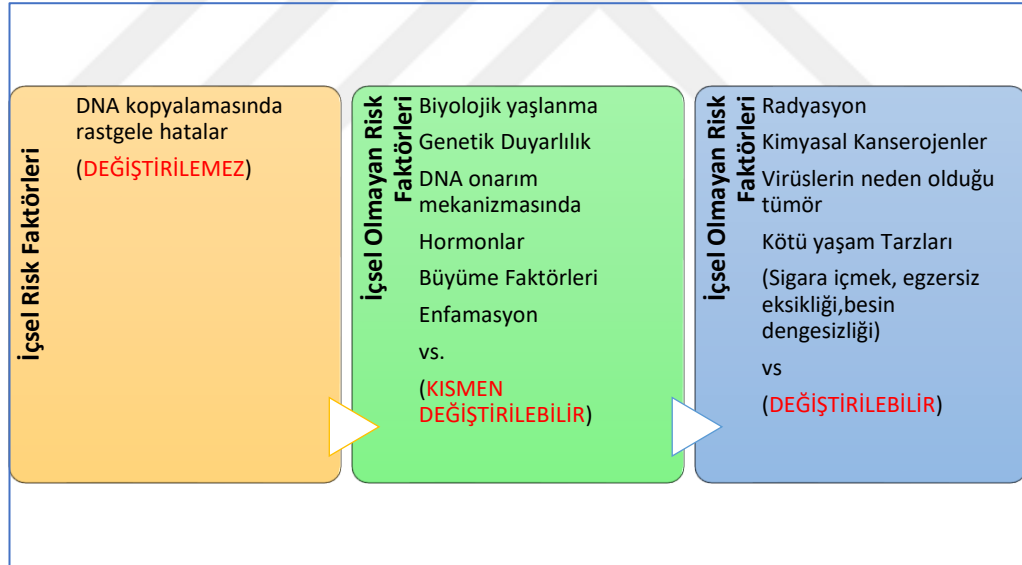
Şekil 4.54. 1 _{5.0} @PNIPAAm hidrojel için kaydedilen DSC.....	58
Şekil 4.55. Hidrojellerin ışınlaması süresince DPBF (2×10^{-5} M) tuzak molekülünün soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler: A) 1 _{2.5} @PAAm, B) 1 _{5.0} @PAAm ve C) 1 _{7.5} @PAAm.....	59
Şekil 4.56. Hidrojellerin DCFH ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında PBS (pH 7.4) ortamında kırmızı ışığa maruz bırakılması süresince kaydedilen floresans spektrumları: A) 1 _{2.5} @PAAm, B) 1 _{5.0} @PAAm ve C) 1 _{7.5} @PAAm.	60
Şekil 4.57. Hidrojellerin ışınlaması süresince DPBF tuzak molekülünün soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler: A) 1 _{2.5} @PNIPAAm ve B) 1 _{5.0} @PNIPAAm.	60
Şekil 4.58. Hidrojellerin DCFH ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında PBS (pH 7.4) ortamında kırmızı ışığa maruz bırakılması süresince kaydedilen floresans spektrumları: A) 1 _{2.5} @PNIPAAm ve B) 1 _{5.0} @PNIPAAm.	61
Şekil 4.59. Skuarin 1 içeren PAAm hidrojelleri ile inkübe edilen L929 hücreleri için canlılık oranları. A) 1 _{2.5} @PAAm, B) 1 _{5.0} @PAAm ve C) 1 _{7.5} @PAAm...	62
Şekil 4.60. Skuarin 1 içeren PNIPAAm hidrojelleri ile inkübe edilen L929 hücreleri için canlılık oranları. 1 _{2.5} @PNIPAAm ve 1 _{5.0} @PNIPAAm.	62
Şekil 4.61. Skuarin 1 içeren PAAm hidrojellerinin <i>in vitro</i> fotoduyarlaştırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri. A) 1 _{2.5} @PAAm, B) 1 _{5.0} @PAAm ve C) 1 _{7.5} @PAAm.....	64
Şekil 4.62. Skuarin 1 içeren PNIPAAm hidrojellerin <i>in vitro</i> fotoduyarlaştırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri. A) 1 _{2.5} @PNIPAAm ve B) 1 _{5.0} @PNIPAAm.	65
Şekil 5.1. Genel sentez şeması.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAm	Akrilamid
AIBN	Azobisisobütironitril
APS	Amonyum persülfat
CDCl₃	Kloroform
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DI	Deiyonize
DCFH	2,7-Dikloro Floresein Diasetat
DPBF	1,3-Difenilizobenzofuran
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EDAX	Enerji Dağıtıcı X-Işını Spektroskopisi
FDT	Fotodinamik Terapi
FD	Foto Duyarlaştırıcı
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
HRMS	Yüksek Çözünürlüklü-Kütle Spektrometresi
LC MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LCST	Düşük Kritik Çözelti Sıcaklığı
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NIPAAm	N-İzopropilakrilamid
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
P.B.	Polimerizasyon Başlatıcı
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi
UV-VIS	Morötesi ve Görünür Işık Soğurma Spektroskopisi
¹³C NMR	Karbon Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹H NMR	Hidrojen Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹O₂	Singlet oksijen
°C	Santigrat
λ	Dalga boyu
λ_{max}	Maksimum soğurma dalga boyu
λ_{exc}	Uyarma dalga boyu

1.GİRİŞ

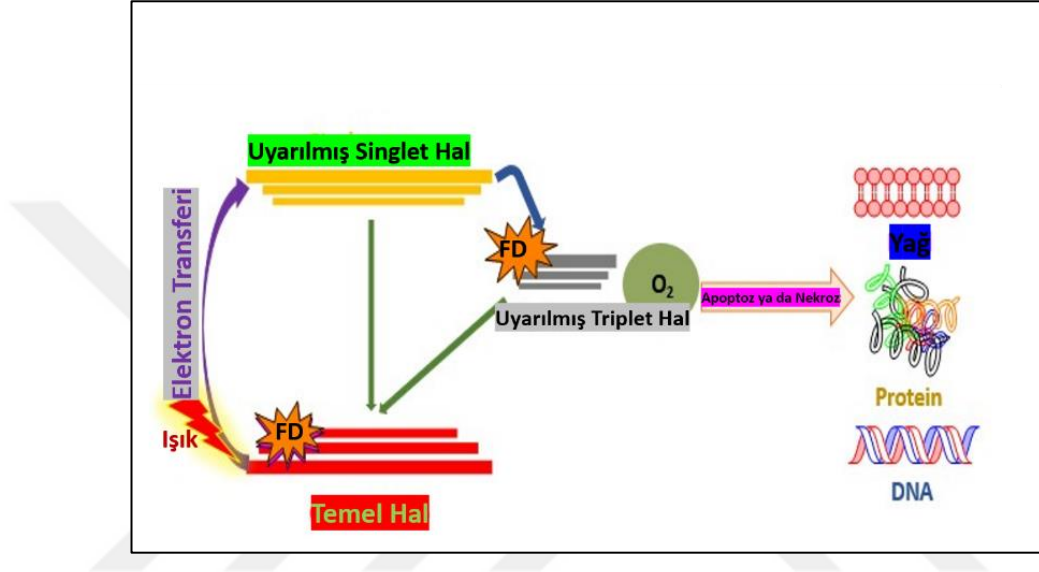
Kanser dünyada önemli halk sağlığı sorunudur ve ölüm nedenlerine bakıldığında birinci sırada yer almaktadır (URL-1). Kanser, kontrolsüz ve rastgele hücrelerin çoğaldığı istilacı özellikleri olan hastalık türüdür (Gavas vd., 2021).Kansere etki eden risk faktörleri Şekil 1.1 de belirtilmektedir (Wu vd., 2018). Kanser tedavisinde radyoterapi, cerrahi ve kemoterapi gibi geleneksel tedavilerin yanında gen terapisi, kök hücre terapisi, doğal antioksidanlar, hedefe yönelik tedavi, fotodinamik terapi, gibi bazı ileri teknolojiler de kullanılmaktadır (Kaur vd., 2023). Geleneksel tedaviler ciddi yan etkiler göstermektedirler, ayrıca ilaca bağlı kardiyotoksisite ve pulmoner toksisite görülmektedir. İleri teknoloji ile birlikte tedavi yöntemleri gelişmekte yan etkileri azaltılmaktadır. Hedefe yönelik kontrollü teşhis ve tedavi sağlayan nanotıp, nano dağıtım ve nanoölçek sınıfındaki malzemelere ilgiyi artırmıştır. Nanoteknoloji hızla gelişen bir bilim olmuştur (Patra vd., 2018).



Şekil 1.1. Kanserde genel olarak risk faktörleri.

Fotodinamik terapi (FDT) de foto duyarlaştırmacı bir ajan ışıkla uyarılması sonucu, ortamdaki oksijeni reaktif oksijen türlerine (ROT) dönüştürür. Protein, DNA gibi hayati yapılara zarar vererek kanserli hücreyi apoptoza veya nekroza sürükler, metastazı önler. ROT çevredeki (biyo)materyallerle reaksiyona girer. Hücrelerdeki proteinlerin ve lipidlerin yok edilmesi hücre ölümüyle sonuçlanır (Toksoy vd., 2023).

FDT' nin minimal invazivlik ve lokalize bir tedavi olması bu tedavi yöntemini avantajlı kılar (Cui vd., 2024; Song vd., 2023). Işığa duyarlaştırmacı skuarin boyaları, ftalosiyeninler, porfirinler, BODIPY (bordipirometan)analoglar ve NIR boyalardır. NIR boyalar 700-1500 nm deki ışığı soğurur ve bu aralıkta biyogörüntüleme ve terapötik uygulamalar için önem sağlar. NIR boyası olan skuarinler FDT uygulamaları için uygun malzemelerdir (Ilina vd., 2020).



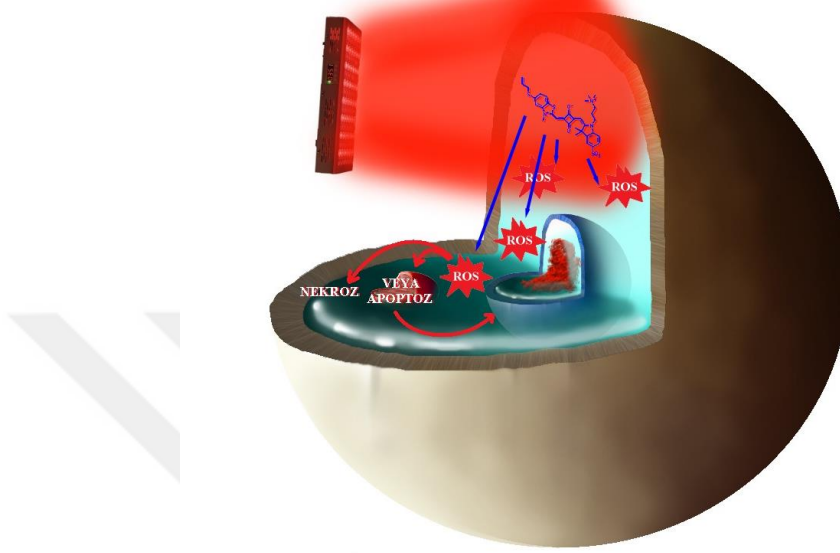
Şekil 1.2. Fotodinamik terapi mekanizması.

Skuarin boyaları NIR bölgesinde güçlü emisyon ve absorpsiyon sağlar aynı zamanda fotoiletkenliğe sahiptirler. Skuarinler NIR aralığında dar absorpsiyon veren fotostabiliteye sahip yüksek kuantum verimli boyalardır. Bu boyaların nanoteknoloji tabanlı hedefe taşınması nanoteknolojik sistemler, lipozomlar, miseller, dendrimetler, hidrojel, sıvı kristal sistemler, siklodekstrinler ile gerçekleşmektedir (Itou vd., 2022). Gelişen nanoteknolojiyle birlikte hedefe yönelik tedavi sağlayan hidrojel çapraz bağlı hidrofilik polimer ağlardır, yüksek su tutma kabiliyetine ve gözenekli yapıya sahiptirler (Cai vd., 2022). Biyouyumlu ve mekanik esneklikleri olan yumuşak biyomalzemelerdir (Khattak vd., 2024).

1.1 Fotodinamik Terapi

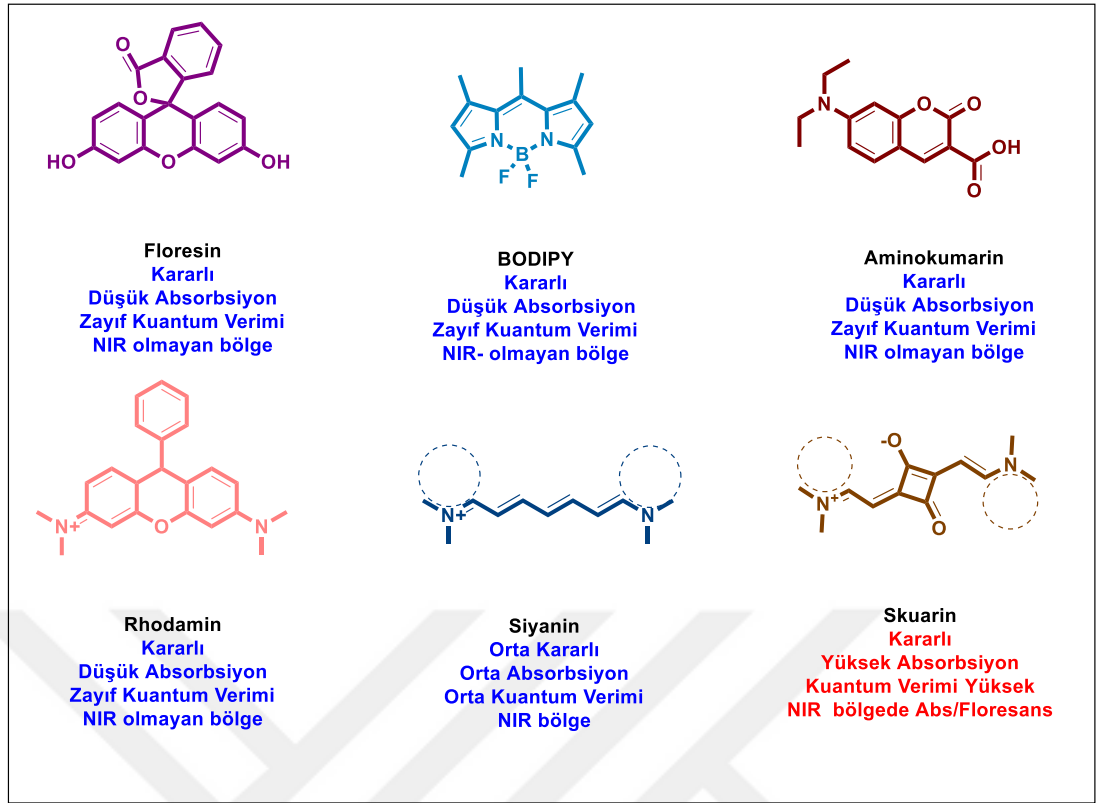
Fotodinamik Terapi son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte umut verici kanser tedavi yöntemi olmuştur. Yüksek seçicilik göstermesi, minimal yan etkileri sağlık sektöründe

ilgiyi artırmaktadır. Hedef dokularda bulunan ışığa duyarlaştırıcı ajanın 600-800 nm ışıkla aktive edilmesiyle ortamda bulunan oksijenin reaktif oksijen türlerine (ROT) dönüşmesine neden olur. Ortamda bulunan reaktif oksijen kanser hücrelerini apoptoz veya nekroz yoluyla öldürür (Ni vd., 2023; Y. Zhang vd., 2024).



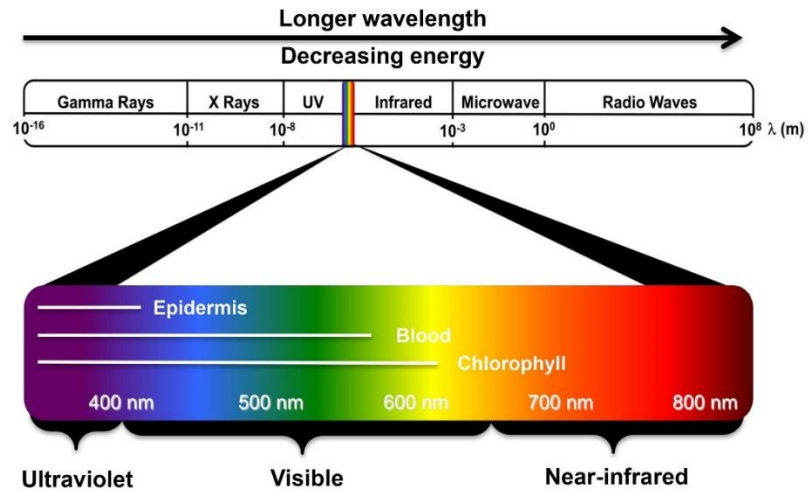
Şekil 1.3. Hücrede fotodinamik terapi etkisi.

FDT de ışığa duyarlaştırıcı seçimi çok önemlidir. Metilen mavisi (fenotiyazin türevi), porfirinler, ftalosiyanınlar, skuarinler doku penetrasyonunu yüksek seviyeye taşımak için (600-800 nm) dalga boyunda ışık kullanılmalıdır (Ito vd., 2022). Şekil 1.3’de bazı foto duyarlaştırıcılar incelendiğinde skuarinlerin yakın kızılötesi bölgede yüksek soğurma ve emisyon vermesi kuantum veriminin yüksek olması skuarini diğer organik boyalardan üstün kılmaktadır.



Şekil 1.4. Organik boyalar.(Yadav vd., 2020)

Mavi ışık dokuya en az nüfus ederek daha az etki gösterir, kırmızı ve kızılötesi ışık cildin derinine nüfuz eder. 600-1200 nm aralığı dokunun optik penceresidir. 800 nm' ye kadar olan ışık O₂ üretebilir daha yüksek dalga boyları fotodinamik reaksiyon için yeterli değildir. 600 ila 800 nm arası kırmızı ışık FDT için uygundur.

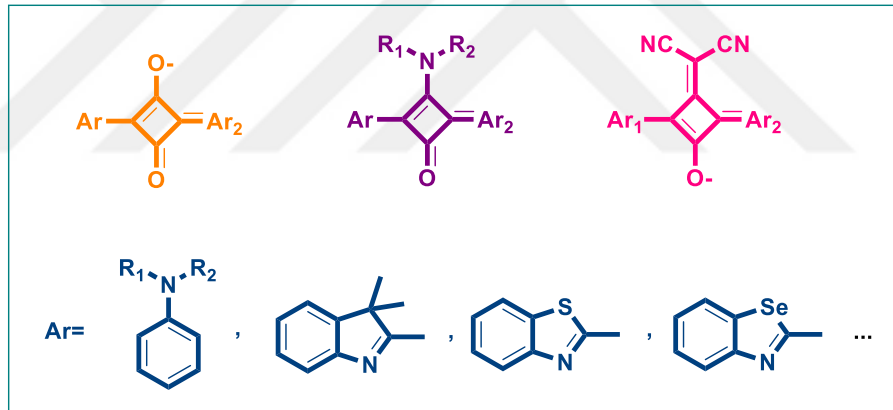


Şekil 1.5. Fotodinamik terapide (FDT) uygulanan elektromanyetik spektrum dalga boyu aralığı (Son vd., 2019).

FDT'nin yüksek seçiciliği, düşük toksisite göstermesi, tedavi bölgesinde direnç oluşturmada tekrarlanabilmesi, yan etkilerinin tolere edilebilir olması, yüksek ROT üretilmesi tedaviyi avantajlı kılar (Agostinis vd., 2011). Son yapılan çalışmalarda FDT'nin tedavilerde sinerjik etki yaratması kombine/multi FDT/fototermal terapi (FTT), FDT/ kemoterapi, FDT/immünoterapi tümörün baskılanması için uygulanan yöntemlerdir(Li vd., 2022; Turkkol vd., 2023).

1.2 Skuarin

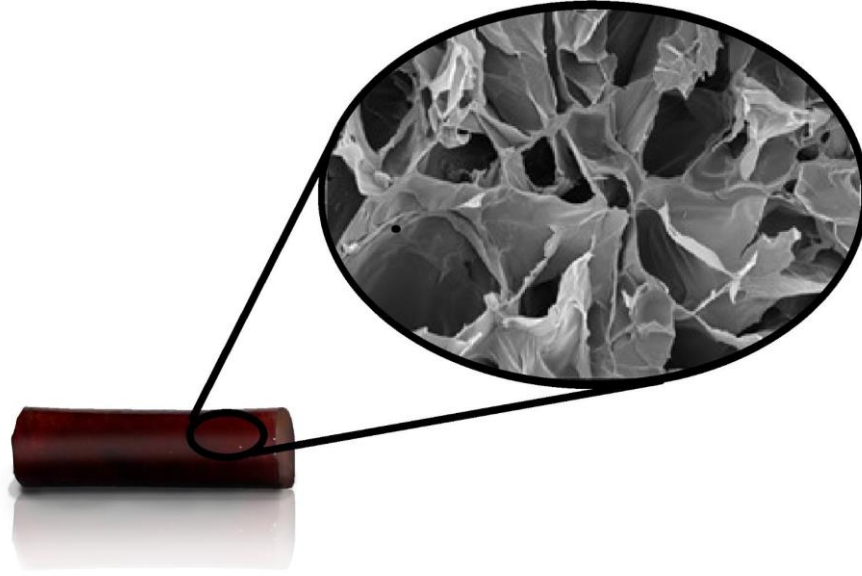
1965 yılında Jacob tarafından keşfedilen skarinler zwitteriyonik yapıya sahip organik boyalardır. Düzlemsel ve zwitteriyonik yapıları NIR bölgesinde güçlü emisyon ve absorpsiyon sağlar aynı zamanda fotoiletkenliğe sahiptirler (Şekil 1.6). Skuarinler NIR aralığında dar absorpsiyon veren fotostabiliteye sahip yüksek kuantum verimli boyalardır.



Şekil 1.6. Skuarin boyalarının ortak yapısı.

1.3 Hidrojel

Canlıların derisi sekresyon, boşaltım gibi önemli fizyolojik fonksiyonlar sağlayan, tüm vücut yüzeyini saran önemli bir organdır. Deri aynı zamanda vücuda bakteri istilasını önler. Cilt hasar gördüğünde iyileşme sürecinin hızlı gerçekleşmesini sağlayan pansumanlar esas alınır. Pansuman esas alınarak kauçuk, köpük, filmler ve hidrojel geliştirilmektedir (Cai vd., 2022; Tian vd., 2022). Hidrojeller yüksek su tutma emilimine sahip çapraz bağlı hidrofilik polimer ağlardır. Hidrojeller yüksek su içeriğine ve gözenekli yapıya sahiptirler(Cai vd., 2022).



Şekil 1.7. Hidrojellerin gözenekli ağ yapısı.

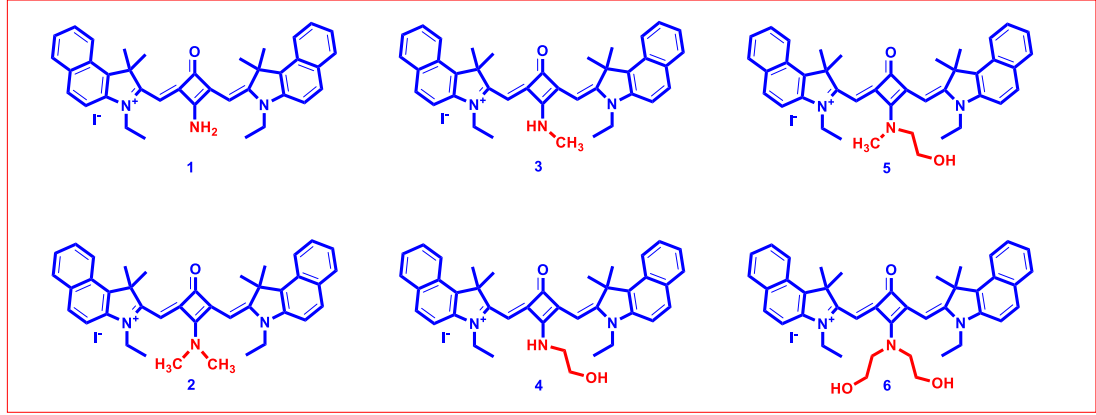
Makromoleküler birleşmeyle polimer zincirleri arasındaki kovalent, elektrostatik veya fiziksel çapraz bağlarla oluşur (Bermejo-Velasco vd., 2019). Kolay modifiye edilebilen, biyouyumlu ve biyoaktif sağlayan malzemelerdir (X. Zhang vd., 2022). Bu nedenle hidrojeller birçok biyomedikal uygulamalara sahiptir. Yapılan çalışmalarda hidrojeller içerisine kemoterapötik ilaçlar, terapötik proteinler, mikroRNA şeklindedir. Ayrıca kanser tedavilerinde metastazı önlemek ve tümörü öldürmek için kombinasyon terapilerde uygulanmaktadır. Polimerik hidrojellerde aranan özellikler, insan vücuduna uygun pH seviyesi, insan dokusuna uygun yoğunluk ve hidrofilitiklik, kalıcı stabilite, biyouyumluluktur. Hidrojellerin sentezinde kullanılan doğal ve sentetik polimerler Şekil 1.8’de verilmiştir.

Doğal Polimerler	Sentetik Polimerler
☐ Hyaluronik Asit	☐ PEG
☐ Kollojen	☐ PVA
☐ Kitosan	☐ Poliakrilamid
☐ Dekstran	☐ Metakrilamid
☐ Kondroitin Sülfat	☐ Multivinil polikarboksibetain
☐ Arjinat	

Şekil 1.8. Hidrojellerde kullanılan polimer çeşitleri (Qi vd., 2018).

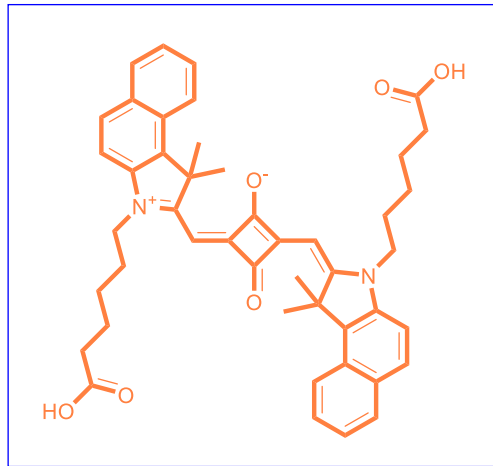
2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Skuarinler



Şekil 2.1. Hedef altı tane skuarin.

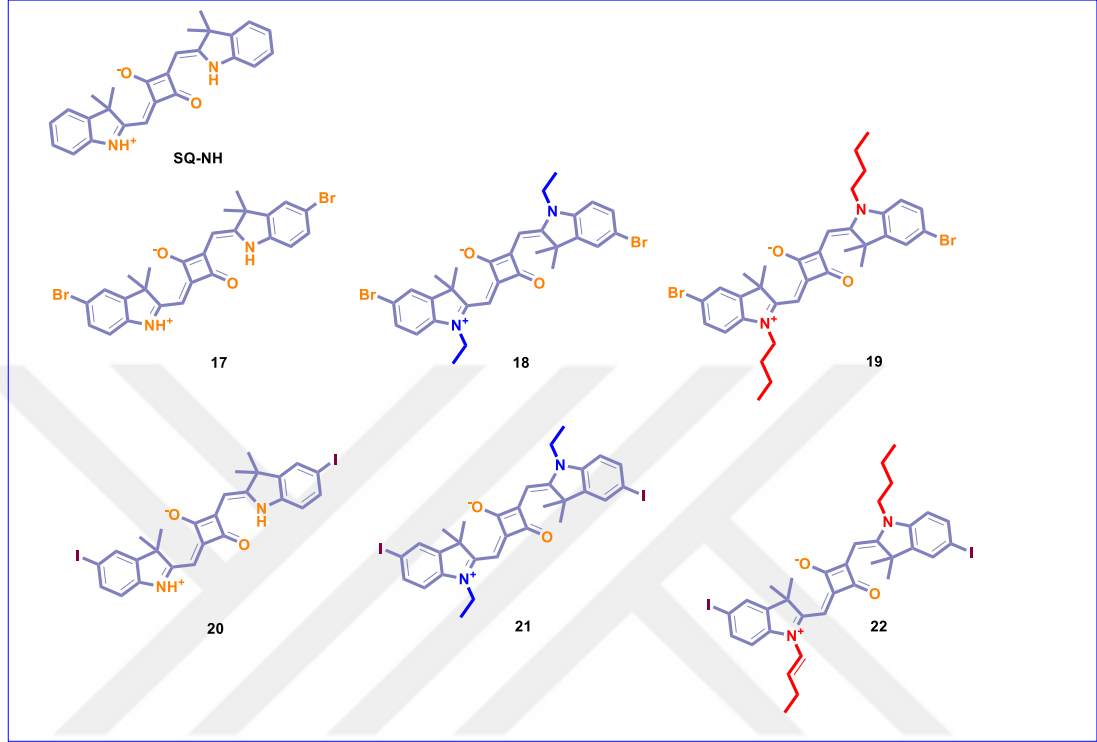
Lima ve arkadaşları 2023 yılında Şekil 2.1’deki altı tane skuarinler sentezlemişlerdir. Bu yapılar aminlerin (amino <metilamino <dimetilamino <hidroksietilamino <hidroksietilmetilamino <bis (hidroksietil) skuarinin boyaların merkezi halkasına eklenmesiyle oluşmuştur. Aminoskuarinler fotodinamik uygulamalarını kırmızı bölgede absorpsiyon ve çok yüksek molar soğurma katsayısı gibi fotofiziksel özellikler ve daha derin dokularda, radyasyon soğurma kapasiteleri göstermişlerdir. Amin gruplarına bağlı olarak hücrelerin bileşiklerine karşı duyarlı olduğu ve albümin protein ile etkileşimlerini belirlemişlerdir (Lima vd., 2023).



Şekil 2.2. Bileşik 16.

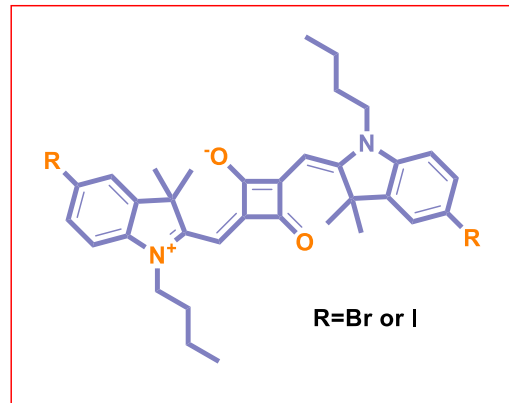
Park ve ekibi 2024 yılında Şekil 2.2’deki benzoindol türevli skuarin geliştirmişlerdir. Bileşik 16’ nın boyası yakın kızılötesi (NIR) bölgede 675 nm’de absorpsiyon ve 682

nm'de floresans emisyonu sağını belirlemişlerdir. Ayrıca, 671 nm lazer ışınlanmasıyla üstün reaktif oksijen türleri (ROT) üretme yeteneği sergilemişlerdir ve HT-29 Ksenograft Fare Modeli ile *in vivo* testlerle fotodinamik kanser tedavisinde tümör hedeflemek için kullanmışlardır (Park vd., 2024).



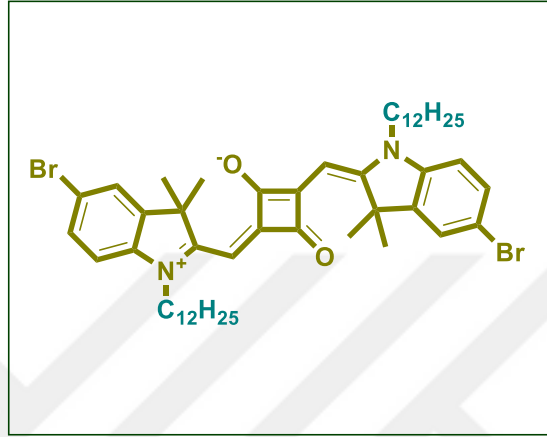
Şekil 2.3. Bileşikler 17-22.

Serpe ve arkadaşları Şekil 2.3'deki ROT üretme yeteneğine sahip skuarin sentezlemiş ve incelemişlerdir (Serpe vd., 2016).



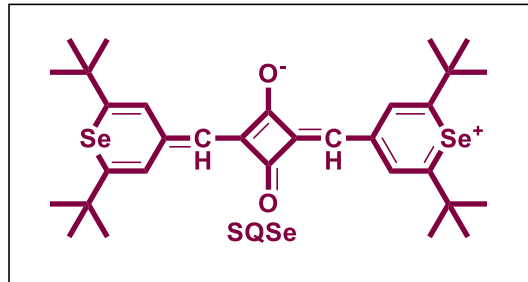
Şekil 2.4. Bileşik 23.

Aynı grup özellikle halojenlenmiş skuarin Br-C4 ve I-C4 adlı iki yapının (Şekil 2.4), PDT için potansiyel fotoduyarlaştırıcılar olduğunu göstermişler ve DNA etkileşim mekanizmalarını inceleyerek biyolojik aktivitelerin daha iyi anlaşılması için DNA ya nasıl bağlandığını belirlemek amacıyla UV-Vis spektroskopisi, floresans spektroskopisi ve FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) gibi çeşitli spektrofotometrik teknikler kullanmışlardır (Butnarusu vd., 2021).



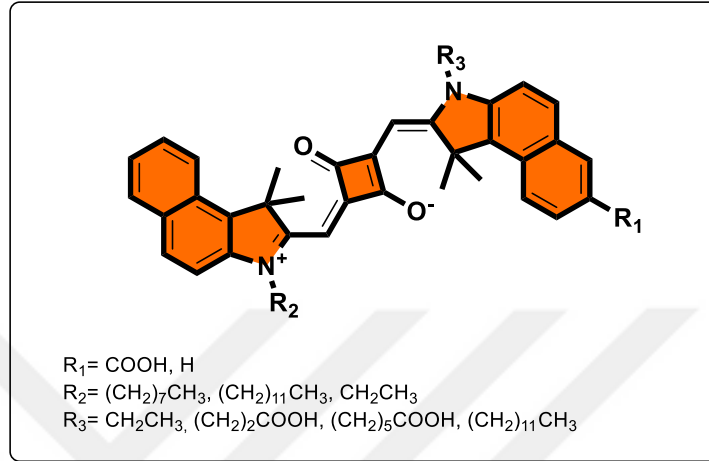
Şekil 2.5. Bileşik 24.

Bordignon vd. 2023 yılında (Şekil 2.5) bromlu skuarine suda çözünmeyen fotoduyarlaştırıcının ortamdaki yapısı bozulmadan çözünürlüğünü geliştirmek ve etkisinin artırılması, nüfuz etme ve tutma kabiliyetinin geliştirilmesi için nanokapsül elde etmişlerdir. Hidrofobik olan bromlu skuarine kuatromlar (QS) kaplama gerçekleştirmişlerdir. Biyomedikal uygulamalarda güvenli ve toksik olmamasından yararlanarak suda çözünme kabiliyeti kazandırılmıştır. Böylece *in vitro* ve *in vivo* deneylerde avantajlı olmuştur. Alkil zincirleri olan bileşik 24 (Şekil 2.5) sentezlemişler ve karakterizasyonunu yaparak yüksek verimli FDT ajanı geliştirilmiş *in vivo* deneyler için fotoduyarlaştırıcı skuarin sunulmuştur (Bordignon vd., 2023).



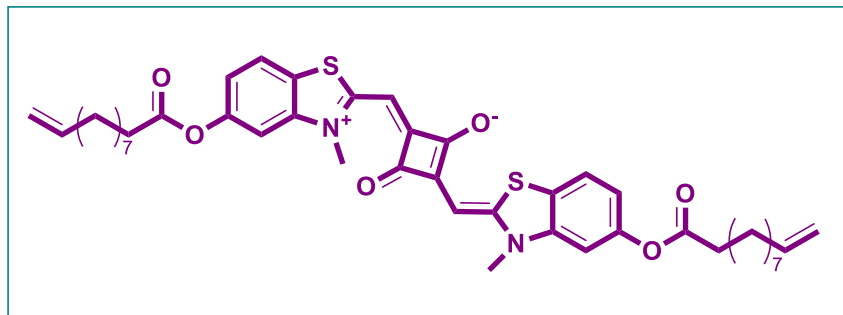
Şekil 2.6. Bileşik 25.

Chen ve arkadaşları Şekil 2.6'daki selenyum içeren skuarin tasarlamışlar, skuarinin fototermal ve fotodinamik etkisini optimize etmek için selenyum atomunu kullanmışlardır. Tasarladıkları bu yapıyı karakterize edip optik özelliklerini belirlemişler ve ardından *in vitro* ve *in vivo* deneylerle fototeranostik potansiyeli olan yeni bir skuarin temelli molekülü ortaya koymuşlardır (X. Chen vd., 2023).



Şekil 2.7. Bileşik 26.

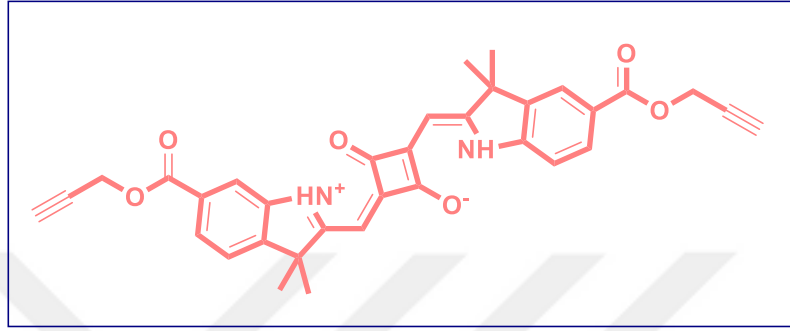
Mavileti ve ekibi Şekil 2.7'deki yakın kızılötesi bölgede soğurma ve emisyon yapabilen boyaları sentezlemişlerdir. Çalışmalarında karboksi grubu (-COOH) içermeyen skuarin ile farklı konumlarda karboksi grubu içeren simetrik olmayan boyaları araştırmışlardır. Karboksi grubu içeren boyalar BSA ile konjugatları artan floresans sinyali vermiştir. Karboksi içeren simetrik olmayan boyaların kendi içerisinde canlı organizmada hücre penetrasyonlarını incelemişlerdir. Seçici doku görüntüleme özellikleri belirlenmiştir (Mavileti vd., 2024).



Şekil 2.8. Bileşik 27.

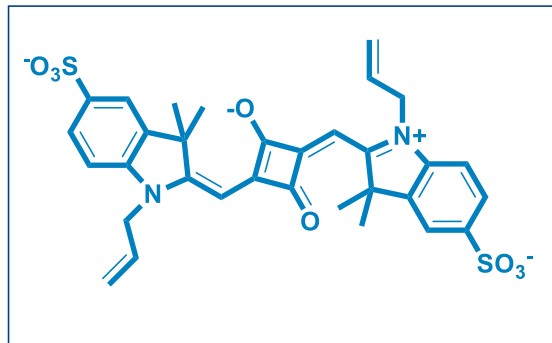
Pamuk Algi ve ekibi Şekil 2.8'deki skuarinin 27 ve Fluronic F127 temelli nanopartikül sentezlemiş ve karakterize etmişlerdir. Fototermal ve fotodinamik özelliklerini

incelenmiştir. Skuarin ve F127 temelli nanopartikülün insan melanom hücrelerinde (SK-MEL 30/An1) çalışmışlardır. Bileşik biyoyumludur, kırmızı ışıktaki fotodinamik terapi ve 808 nm 1,0 W/cm² de fototermal terapi uygulanmış ve bu iki tedavi uygulandığında %57 oranında melanoma hücrelerini inhibe etmiştir. Sonuç olarak melanoma hücrelerinde FDT ve FTT tedavilerinde kullanılabilecek bir ajan literatüre kazandırmışlardır (Pamuk Algi ve Sarıgöl, 2024).



Şekil 2.9. Bileşik 28.

Algi ve ekibi Şekil 2.9'daki norkuarini sentezlemişlerdir. Spektroskopik yöntemler ile karakterizasyonunu gerçekleştirdikten sonra fotofiziksel özellikleri üzerinde durulmuştur. Asidik, bazik ve nötr ortamlarda fotodinamik etkileri test edilmiştir. Asidik ortamda fotodinamik etkisi başarılı olmuştur. Hep-2 hücre hattında biyogörüntüsü alınmıştır. Norkuarinin *in vitro* deneylerde fotodinamik terapi etkinliği yaklaşık %89 hücre ölümü sağlamış ve antimikrobiyal aktivitesi *S. aureus* (MRSA) bakterileri üzerinde test edilmiştir. Norkuarinin etkili bir FDT ajanı olabileceğini göstermişlerdir (Toksoy vd., 2022).

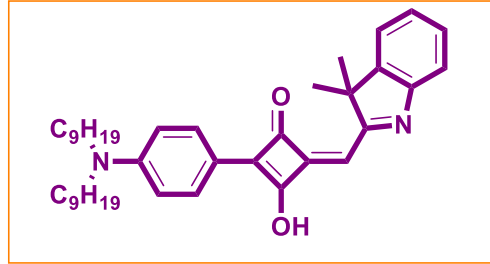


Şekil 2.10. Bileşik 29.

Yamandağ tez çalışmasında suda çözünebilen Skuarin 29 (Şekil 2.10) tasarlayıp sentezlemiş, FDT, biyogörüntüleme ve hidrojel uygulamaları üzerinde durmuştur.

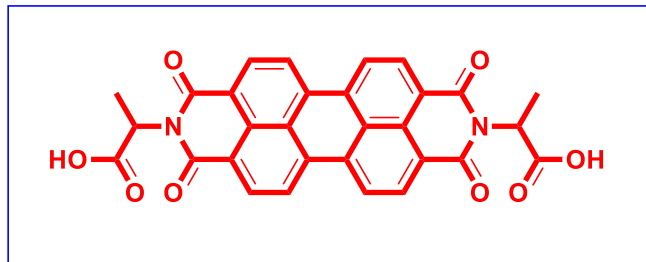
Skuarin **29** un çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı PAAm ve PNIPAAm hidrojellerin ROT üretme yetenekleri oldukça yüksektir. Böylece suda çözünebilen çapraz bağlayıcı özelliği olan Skuarin **29** cilt hastalıkları tedavisinde ve bakteriyel enfeksiyonlarda kullanılmak üzere literatüre ışık tutan bir çalışma gerçekleştirmiştir (Yamandağ, H., 2023).

2.2 Hidrojeller



Şekil 2.11. Bileşik 30.

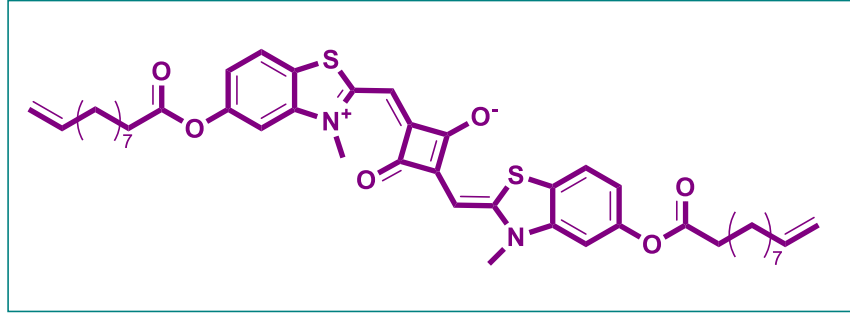
Ferdinandus ve arkadaşları Şekil 2.11 deki skuarin temelli duyarlaştırıcıyı sentezlemişlerdir ve poli(lignin/PEG/PPG üretan) içerisine kapsüllenmiştir. Patojenik bakterilerin antibiyotik direncini kırmak için ve hedefe yönelik hidrojellerin bakterilerdeki antibakteriyel fotodinamik terapi (aPDT) potansiyelini incelemişlerdir. Yüksek ROT üretme kabiliyetleri farklı morfolojileri nedeniyle gram pozitif bakterilerin aPDT etkileri gram negatiflere göre daha çok etkili olmuştur. Antibiyotiğe dirençli mikrobiyal patojenlere karşı hidrojel tabanlı terapötik bir ajan literatüre kazandırmışlardır (Ferdinandus vd., 2023).



Şekil 2.12. Bileşik 31.

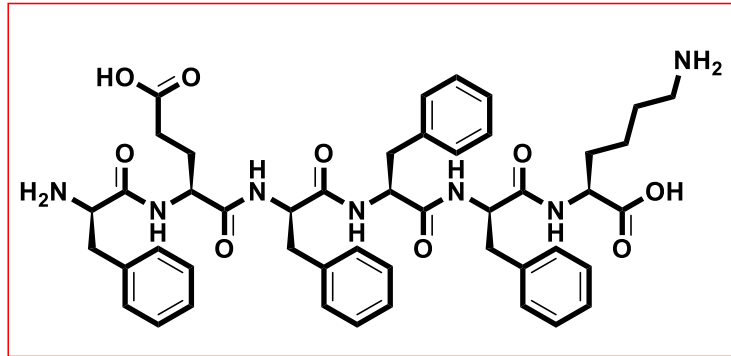
Azadikhah ve ekibi kanser tedavisinde foto duyarlaştırıcı olabilecek” [N, N’ -di-(L-alanin)-3,4,9,10-perilen tetrakarboksilik diimid] -(PDI-Ala) sentezilemişlerdir (Şekil 2.12) ve tanik asit ile kitosan bazlı hidrojel tasarlamışlardır. Yüksek ROT üretme kabiliyetli antioksidan aktiviteye sahip mikro gözenekli yapıda hidrojel elde etmişlerdir. Melanoma hücre hattında A375 *in vitro* kanser hücrelerini fotodinamik

terapide öldürme yeteneği ve seçicilik gösteren FDT de umut verici biyomalzeme geliştirmişlerdir (Azadikhah vd., 2021).



Şekil 2.13. Bileşik 27.

Pamuk Algi ve Sarıgöl, tasarladıkları skuarinin 27 yapının çapraz bağlayıcı özelliğinden yararlanarak polimerik hidrojel sentezlemişlerdir (Şekil 2.13). Sq1'in 808 nm de fototermal terapi etkinliği *in vitro* deneylerde %70'den fazla kanser hücrelerini öldürmesiyle hipotermi kabiliyetini doğrulamıştır. 27'in FTT etkinliğini akrilamid monomeri kullanarak elde ettikleri 27 hidrojel ile de test etmişlerdir ve hidrojel içerisine kemoterapi ilacı MTX yükleyerek hidrojin ilaç salınım potansiyelini göstermişlerdir. Böylece Sq1'in çapraz bağlayıcı mühendisliğinden yararlanarak polimerik hidrojelleri biyomedikal uygulamalarında umut vaat edici olmuştur (Pamuk Algi ve Sarıgöl, 2023).



Şekil 2.14. Bileşik 32.

Oi ve ekibi Şekil 2.14'deki heksapeptid 32 ve doksorubisinin bir araya gelmesiyle enjekte edilebilen hidrojel sentezlemişlerdir. Bu hidrojel ile meme kanserinin kemoterapi uygulamasından sonra tümörün tekrar etmemesi adına nanotaşıyıcı geliştirmişlerdir. Biyouyumlu ve *in vivo* biyobozunur enjekte edilebilir hidrojelin

yüksek terapötik özellik göstermesi klinik olarak umut vaat edici ajan olduğunu göstermektedir (Qi vd., 2018).



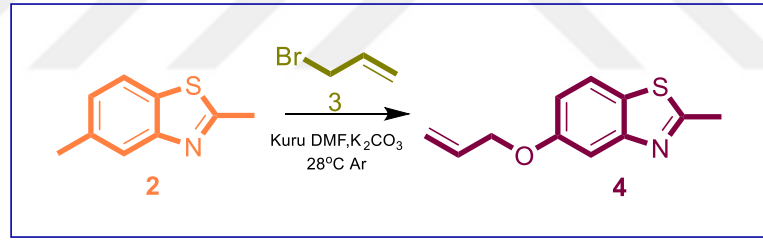
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Malzeme

Aldich ve Merck firmalarından alınan malzeme ve çözücüler ya doğrudan kullanılmış ya da literatürde bilinen yöntemle saflaştırıldıktan sonra kullanılmıştır.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK), Merck 0,2 mm silika jel 60 F254 Analitik Alüminyum Plakalar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Soğurma spektrumları Varian Cary 50 model UV-Vis ve emisyon (yayınma) ölçümleri ise Varian Cary Eclipse Fluorescence spektrofotometre cihazlarıyla kaydedilmiştir. ^1H NMR (400 veya 300 MHz) ve ^{13}C NMR (100 veya 75 MHz) spektrumları Bruker marka FT-NMR cihazları ile kaydedildi. Numunelerin SEM analizleri FEI marka Nova Nano SEM 450 model cihazla ve TGA analizleri ise Hitachi Exstar SII TG/DTA 7300 model cihazla kaydedilmiştir. Yüksek çözünürlüklü-Kütle Spektrometresi (HRMS) ThermoScientific marka TSQ Quantum Access Max model cihaz ile alınmıştır.

3.2 Bileşik 4 Sentezi: 5-(alliloksi)-2-metilbenzo[d]tiyazol

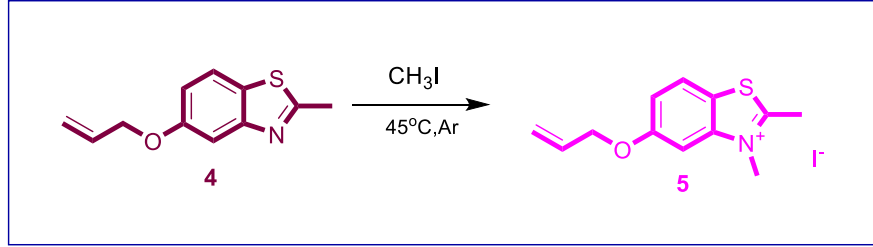


Şekil 3.1. Bileşik 4 sentezi.

25 mL balona bileşik 2 (1 g, 6.06 mmol) kuru DMF (5 mL) ve K₂CO₃ (2 g, 12.12 mmol) eklendi. Karışım 15 dk karıştırıldıktan sonra ortama 3 (1.050 µl, 12.12 mmol) eklendi (Şekil 3.1). Reaksiyon oda sıcaklığında 24 saat karıştırıldı. Sonra su ve CDCl₃ (3x500 mL) ile çekme işlemi yapıldı. Organik faz sodyum sülfat (Na₂SO₄) ile kurutulduktan sonra çözücü döner buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırıldı: sarı renkli yağimsı sıvı, 750 mg, %60 verim e.n: 138 °C. ^1H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (d, J= 6.0 Hz, 1H), 7.42 (bs, 1H), 6.97 (d, J= 12.0 Hz, 1H), 6.08-6.01 (m, 1H), 5.42 (d, J= 18.0 Hz, 1H), 5.27 (d, J= 12.0 Hz, 1H), 4.56 (bs, 2H), 2.76 (s, 3H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 168.15, 157.70, 154.51, 133.02, 127.52, 121.56, 117.89, 115.09, 106.27, 69.16, 20.13. FT-IR (cm⁻¹): 3503, 2980, 1814, 1730, 1592, 1410, 1401, 1320,

1186, 1147, 1099, 1048, 1003, 950, 902, 806, 776, 734, 674. LC/MS $C_{11}H_{11}NOS$ için hesaplanan (m/z) 205,05 $[M]^+$ ölçülen $[M]^+$: 206.06.

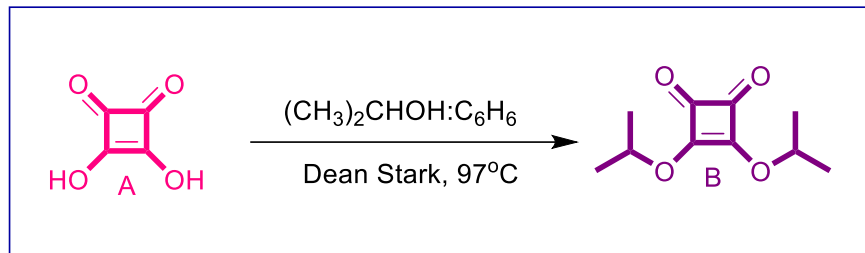
3.3 Bileşik 5 Sentezi: 5-(alliloksi)-2,3-dimetilbenzo[d]tiyazol-3-yum iyodür



Şekil 3.2. İndolin 5 sentezi.

25 mL'lik bir balona bileşik 4 (1 g, 4.854 mmol) ve metil iyodür (3 mL, 21.135 mmol) eklendi geri soğutucu altında 47 °C' de 72 saat boyunca karıştırıldı (Şekil 3.2). Oda sıcaklığında katı alındı. Beyaz katı, 750 mg, %70 verim e.n 198 °C. 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 8.29 (d, J= 12.0 Hz, 1H), 7.79 (bs, 1H), 7.42 (dd, J= 12.0-6.0 Hz, 1H), 6.12-6.06 (m, 1H), 5.47 (d, J= 18.0 Hz, 1H), 5.31 (d, J= 6.0 Hz, 1H), 4.77 (d, J= 6.0 Hz, 2H), 4.15 (s, 3H), 3.13 (s, 3H). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 177.58, 159.80, 143.50, 133.24, 125.66, 120.94, 118.83, 118.45, 101.37, 69.79, 36.78, 17.75. FT-IR (cm^{-1}): 3512, 2881, 1963, 1613, 1515, 1407, 1195, 991, 905, 716, 639. HRMS $C_{12}H_{14}INOS$ için hesaplanan (m/z) 220.07906 $[M]^+$ ölçülen 220.08590 $[M]^+$.

3.4 Bileşik B Sentezi: 3,4-diizopropokzisiklobüt-3-en-1,2-dion

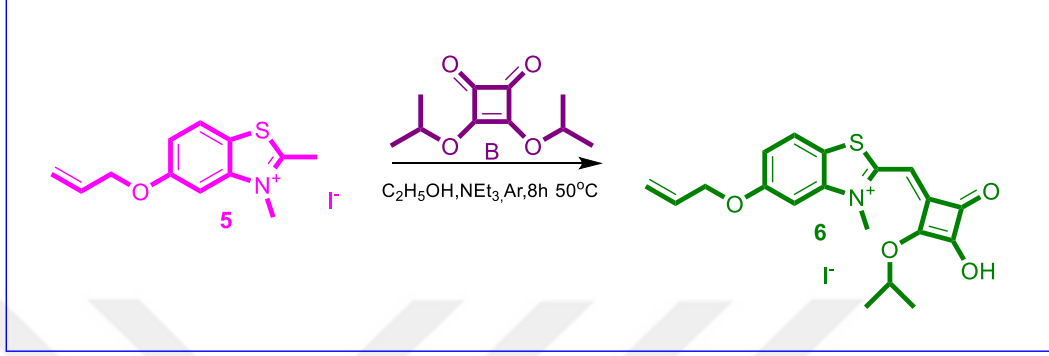


Şekil 3.3. 3,4-diizopropokzisiklobüt-3-en-1,2-dion (B) sentezi.

50 mL'lik bir balona A (800 mg, 4.384 mmol) alınır ve propanol-benzen (1:1) karışımında çözüldü (Şekil 3.3). Karışım 14 saat süreyle 98 °C'ye ısıtıldı. Çözücü döner buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırıldı. Açık sarı yağimsı madde, %60 verim.

^1H NMR (600 MHz CDCl_3) δ 5.29 (h, J = 6.0 Hz, 2H), 1.40 (d, J = 6.0 Hz, 12H). LCMS $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4$ için hesaplanan (m/z) 198,09 $[\text{M}]^+$ ile ölçülen 199,04 $[\text{M}]^+$.

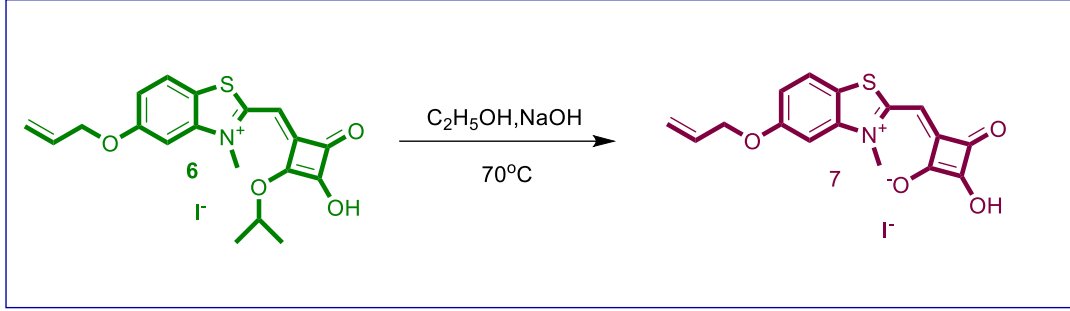
3.5 Bileşik 6 Sentezi: (Z)-3-((5-(alliloksi)-3-metilbenzo[d]tiyazol-2(3H)-iliden)metil)-4-izopropoksisiklobut-3-en-1,2-dion



Şekil 3.4. Bileşik 6 sentezi.

25 mL lik bir balona **5** (300 mg 0.907 mmol) alındı ve üzerine $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ilave edildi, ardından $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$ (226 μL , 1.632 mmol) ve **B** (164 μL , 1.088 mmol) damla damla eklendi (Şekil 3. 4). Karışım 50 $^\circ\text{C}$ 'ye ısıtıldı ve tepkime İTK ile takip edildi. Çözücü uzaklaştırılarak kalıntı yıkandı ve sarı renkli katı ürün **6** elde edildi, %80 verim. e.n: 239 $^\circ\text{C}$. ^1H NMR (600 MHz CDCl_3) δ 7.34 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.08-6.03 (m, 1H), 5.52-5.49 (m, 1H), 5.45-5.42 (m, 2H), 5.33 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 4.57 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 3.50 (s, 3H), 1.48 (d, J = 6.0 Hz, 6H) ^{13}C NMR spektrumu (151 MHz, CDCl_3) δ 185.76, 185.23, 173.06, 160.99, 158.39, 142.45, 132.90, 122.19, 118.35, 110.25, 98.68, 69.58, 32.40, 22.84, 0.83. FT-IR (cm^{-1}): 639, 3091, 2932, 2074, 1757, 1676, 1533, 1491, 1395, 1287, 1231, 1099, 1024, 1000, 911, 848, 773, 746, 663. HRMS $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{INOS}$ için hesaplanan (m/z) $[\text{M}]^+$ 357.10348; ölçülen $[\text{M}]^+$ 358.12590.

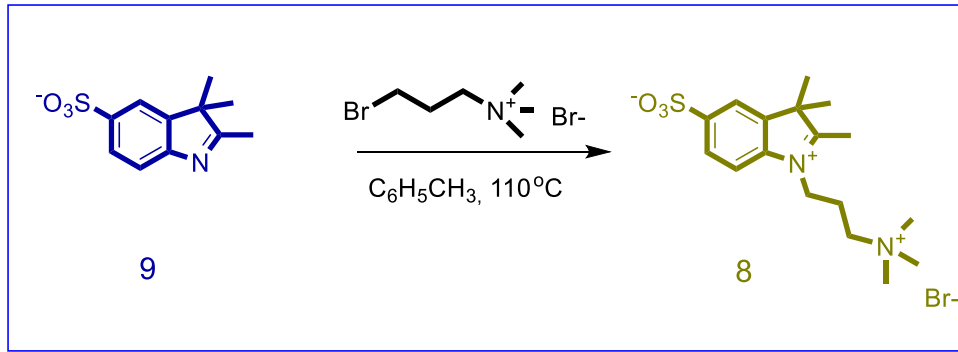
3.6 Bileşik 7 Sentezi



Şekil 3.5. Bileşik 7 sentezi.

25 mL lik bir balonda **6** (340 mg 0,78 mmol) etanol ile çözüldü. Ardından NaOH eklendi ve karışım geri soğutucu altında 70 °C'ye ısıtıldı. İTK ile takip edilen tepkimede başlangıç maddesi tükenince soğuması beklendi (Şekil 3.5). Ardından eklenerek sonraki basamakta kullanıldı.

3.7 Bileşik 8 Sentezi: 2,3,3-trimetil-1-(3-(trimetillammonyum)propil)-3H-1-indol-5-sülfonat

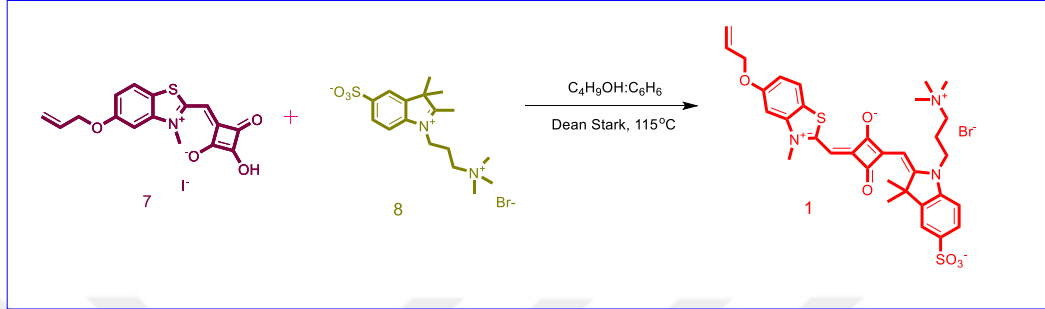


Şekil 3.6. Bileşik 8 sentezi.

2,3,3-Trimetil-3H-indol-5-sülfonat **9** (0.42g, 0.83 mmol) ve 3-bromopropil) trimetilamonyum bromür (5, 0.30 g, 0.96 mmol) azot atmosferi altında tolüende çözüldü ve kaynatıldı (Şekil 3.6). Oda sıcaklığına soğutulan karışımdan katı ürün süzülerek alındı; 0.16 g, %36, e.n: 98 °C. ¹H NMR (600 MHz, dmso) δ 8.04-8.01 (m, 2H), 7.77 (d, J= 12.0 Hz, 1H), 4.50 (t, J= 6.0 Hz, 2H), 3.63 (t, J= 6.0 Hz, 2H), 3.11 (s, 9H), 2.93 (s, 3H), 2.34 (t, J= 6.0 Hz, 2H), 1.55 (s, 6H). FT-IR (cm⁻¹): 3399, 2364, 2325,

2080, 1631, 1494, 1404, 1332, 1195, 1120, 1036, 959, 923, 836, 677, 657. HRMS $C_{17}H_{27}N_2O_3S$ için hesaplanan (m/z) $[M]^+$ 339,17424 ölçülen $[M]^+$ 338.12237; 339.10975, 340.10648, 341.16874.

3.8 Skuarin 1 Sentezi.



Şekil 3.7. Skuarin 1 Sentezi.

25 mL bir balona bileşik 7 (90 mg 0.095 mmol), 8 (60mg 0.095 mmol) ve $C_4H_9OH:C_6H_6$ (1:1, 30 mL) eklendi. Karışım Dean-Stark tuzağı kullanılarak 115 °C'ye ısıtıldı (Şekil 3. 7). İTK ile takip edilen tepkimede başlangıç bileşikleri tükendikten sonra katı elde edildi; verim %40 e.n :>360 °C. 1H NMR (400 MHz dmso- d_6) δ 7.92 (bs, 1H), 7.61 (bs, 1H), 7.55 (bs, 1H), 7.36 (bs, 1H), 7.12 (bs, 1H), 7.06 (bs, 1H), 6.05 (bs, 2H), 5.59 (bs, 1H), 5.46 (d, J= 16.0 Hz, 1H), 5.32-5.30 (m,1H), 4.70 (bs, 2H), 3.98 (bs, 2H), 3.88 (bs, 2H), 3.50 (bs, 3H), 3.09 (s, 9H) 2.11 (bs, 2H), 1.67 (s, 3H), ^{13}C NMR (100 MHz, dmso- d_6) δ 181.79, 180.63, 180.10, 170.29, 164.55, 164.21, 159.11, 143.21, 143.12, 140.42, 133.69, 125.88, 124.07, 120.38, 119.99, 118.61, 114.22, 108.11, 100.25, 88.29, 86.25, 69.58, 63.23, 52.80, 47.94, 34.46, 27.59, 20.82 FTIR (cm^{-1}): 3402, 2869, 2355, 1766, 1694, 1595, 1482, 1389, 1350, 1261, 1216, 1168, 1108, 920, 815, 770, 674. HRMS $C_{33}H_{37}N_3O_6S_2$ için hesaplanan (m/z) $[M]^+$ 635.21238 ölçülen $[M+H]^+$ 636.21451.

3.9 Skuarin 1@PAAm Sentezi için Genel Prosedür

15 mL bir viyale Akrilamid (AAm) (100 mg, 3,517 mmol), Skuarin 1 (2,5-5,0-7,5 mg) ve N, N'-Metilenbisakrilamid (MBA) (1,0 mg, 0,0065 mmol) tartıldı. Üzerine 0,8 mL deiyonize saf su eklendi ve azot atmosferi altında karıştırıldıktan sonra amonyumpersülfat (APS) (8 mg, 0,021 mmol) eklenerek hazırlanan çözelti 1mL'lik şırıngalara alınarak sıcaklığı 55 °C' ye ayarlanmış etüvde hidrojel oluşumu gözlenene

kadar (24 saat) bekletildi. Daha sonra hidrojel su içerisine alındı ve belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilerek şişmesi takip edildi. Hidrojellerin M_{rel} ile ağırlık şişme oranı belirlenmiş ve $M_{rel} = m/m_0$ olarak hesaplanmıştır. Burada m_0 hidrojin başlangıç kütlesi iken m ise şişen hidrojin kütlesidir. Daha sonra suda dengeye gelmiş hidrojel dondurularak kurutuldu.

Skuarin 1_{2.5}@PAAm FTIR (cm^{-1}): 3335, 3185, 2942, 2360, 1651, 1607, 1448, 1417, 1318, 1121.

Skuarin 1_{5.0}@PAAm FTIR (cm^{-1}): 3335, 3186, 2934, 1647, 1604, 1448, 1417, 1320, 1122.

Skuarin 1_{7.5}@PAAm FTIR (cm^{-1}): 3336, 3190, 2937, 1662, 1608, 1448, 1417, 1318, 1122.

3.10 Skuarin 1@PNIPAAm Sentezi için Genel Prosedür

15 mL bir viyale N-izopropilakrilamid (NIPAAm) (550 mg, 3,093 mmol), **Skuarin 1** (2,5-5,0 mg, 0,0039 mmol) ve N, N'-Metilenbisakrilamid (MBA) (1 mg, 0,013) tartıldı. Üzerine 0,5 mL deiyonize saf su 0,5 mL asetonitril (ACN) eklendi ve azot atmosferi altında karıştırıldıktan sonra polimerizasyon başlatıcı amonyumpersülfat (APS) (8 mg, 0,021 mmol) eklenerek hazırlanan çözelti 1 mL'lik şırıngaya alınarak sıcaklığı 65 °C'ye ayarlanmış etüvde hidrojel oluşumu gözlenene kadar (24 saat) bekletildi. Daha sonra hidrojel su içerisine alındı ve belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilerek şişmesi takip edildi. Suyu değiştirilen hidrojel kütlesi tartılarak not edildi ve şişme oranı yukarıda PAAm sentezinde kullanılan formül ile hesaplandı. Daha sonra suda dengeye gelmiş hidrojel dondurularak kurutulmuştur.

Skuarin 1_{2.5}@PNIPAAm FTIR (cm^{-1}): 3280, 3078, 2971, 2933, 1635, 1540, 1457, 1386, 1366, 1171, 1130, 927, 882.

Skuarin 1_{5.0}@PNIPAAm FTIR (cm^{-1}): 3289, 3078, 2971, 2934, 1636, 1537, 1457, 1386, 1366, 1171, 1130, 926, 882, 838.

3.11 Hücre hatlarının hazırlanması

Hücre hazırlama işlemleri laminar kabinde, steril ortamda literatürde bilinen protokoller kullanılarak gerçekleştirildi (Bonifacino vd., 2001). Çalışmada kanser hücre hattı olarak SK-MEL-30 (DSMZ no.: ACC 151) ile sağlıklı kontrol hattı olarak L929 (ATCC® CRL-6364™) (fibroblast) kullanıldı. Bu hücreler kendilerine özgü besiyerlerini içeren hücre kültür kaplarında 37°C ve %5CO₂ ortamında inkübe edilmiştir. Hücreler, konfluentlikleri %70-80'e ulaştığında tripsinizasyon işlemleri yapılarak pasajları gerçekleştirildi. Analizlere bağlı olarak belirlenen kuyucuklu plakalara hücre ekimleri yapılarak hücreler gerekli işlemler için hazır hale getirilmiştir.

3.12 Karanlık toksisite testleri

Hücreler 96 kuyucuklu plakalara ekilerek logaritmik evreye geldiklerinde belirlenen derişim ya da miktarlarda skuarin veya hidrojjellerle inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda (24 saat) besiyeri ortamdan uzaklaştırılmış ve kuyucuklara taze besiyeri konularak ve üzerine MTT solüsyonundan (20 µl) eklendi. Üç saat 37 °C' de inkübasyon sonunda besiyeri uzaklaştırıldı ve DMSO eklendi (L. Li vd., 2020). Mikroplaka okuyucuda absorbands değeri okunarak yüzde canlılık hesaplandı(Yang vd., n.d.).Hücre canlılığı $R_v = ((A_1 - A_0) / (A_2 - A_0)) \times 100\%$ formülü ile hesaplandı. R_v hücre canlılığı, A_0 blank kontrol grubunun soğurması, A_1 deneysel grubun soğurması, A_2 kontrol grubunun soğurması(Siddiqa vd., 2019; Xie vd., 2021).

3.13 Canlı hücre görüntüleme

Biyogörüntüleme işlemleri için; hücreler 4 cm petri kaplarına ekildi %50-70 konfluensiye ulaşması beklendi. Daha sonra besiyeri uzaklaştırıldı, hücreler iki kez PBS ile yıkandı ve her spesifik boyama için boyayı içeren besiyerinde 37 °C'de ve %5 CO₂ atmosferinde inkübe edildi. Boyanın fazlasının uzaklaştırılması için PBS ile yıkama yapılmış ve hücreler floresans mikroskop ile görüntülenmiştir (Beverina ve Salice, 2010).

3.14 PNIPAAm Hidrojellerinin Sıcaklığa Bağlı Kütle Değişiminin Belirlenmesi

Dengeye gelmiş hidrojjellerin sıcaklığa bağlı kütle değışimleri sıcaklığın kademeli olarak arttırılması ile belirlendi. Oda sıcaklığından 59 °C' ye kadar 2 °C' de bir sıcaklık artışı gerçekleştirildi ve her sıcaklıkta hassas terazi ile hidrojjellerin kütlesi belirlendi. Hidrojellerin M_{rel} ile ağırlık büzüşme oranı belirlendi ve $M_{rel} = m/m_0$ olarak hesaplandı.

3.15 FDT Testleri

Fotodinamik terapi etkinliğinin en önemli göstergesi ROT üretimidir. Sentezlenen hidrojenlerin ROT üretilip üretilmediğini belirleyebilmek için literatürde bilinen tuzak moleküller DPBF (1,3-Difenilizobenzofuran) ve DCFH (2,7-Dikloro Floresin Diasetat) seçildi. FDT etkinliklerini belirlemek için skuarin veya hidrojel içeren çözeltiler ışığa maruz bırakılarak çeşitli zaman aralıklarında çözeltilerin (DPBF için) soğurma veya (DCFH için) floresans spektrumları kaydedildi. Spektrumlarda gözlenen değişimler üzerinden fotoduyarlastırıcı etkinlikleri belirlenmiştir.

3.16 Molar Soğurma Katsayıları (ϵ)

Skuarin 1 beş farklı derişimde (10^{-2} M, 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M) hazırlanan çözeltilerinin soğurma spektrumları kaydedildi. Elde edilen veriler üzerinden Beer-Lambert formülüne göre yapılan hesaplamalar sonucunda ortalama ϵ değerleri belirlendi.

3.17 Floresans Kuantum Verimleri (Φ_F)

Skuarin 1 floresans kuantum verimleri Rodamin B standart alınarak şu formüle göre hesaplandı (3.1):

$$\Phi_x(\lambda) = \Phi_{st}(\lambda) \times F_x / F_{st} \times A_{st}(\lambda) / A_x(\lambda) \times \eta_x^2 / \eta_{st}^2 \quad (3.1)$$

Burada Φ_F floresan kuantum verimi, A: uyarma dalga boyuna karşılık gelen absorbans, F: düzeltilmiş emisyon dalga fonksiyonu altında kalan alan, n: çözücünün refraktif indeksi, st: standart ve x: numunedir.

3.18 Fotokararlılık Testleri

1.10^{-3} M olarak hazırlanan skuarin 1 stok çözeltileri beyaz ışığa maruz bırakıldı ve belirli aralıklarla soğurma spektrumları kaydedildi. Soğurma spektrumlarında meydana gelen değişimler üzerinden skuarin 1 foto kararlılıkları tespit edildi. Elde edilen sonuçlar bileşiğin foto kararlı olduğunu göstermektedir.

3.19 $^1\text{O}_2$ verimlerinin (Φ_Δ) hesaplanması

$^1\text{O}_2$ kuantum verimi (Φ_Δ) hesaplamalarında standart olarak metilen mavisi (MB, (Φ_Δ) : 0.52) kullanıldı ve skuarin 1 (Φ_Δ) değerleri, aşağıda verilen denklem kullanılarak literatüre göre bağıl yöntemle hesaplandı (3.2) (Arunkumar vd., 2007; Ramaiah vd., 1997).

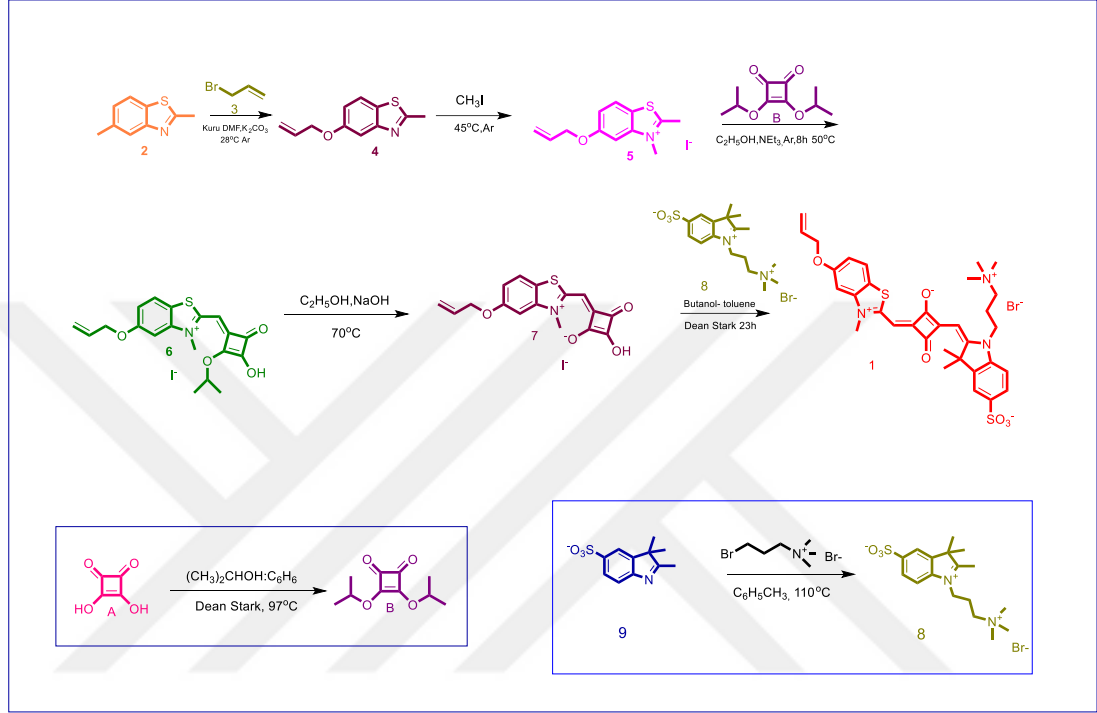
$$\Phi_{\Delta(x)} = \Phi_{\Delta(st)} \times (S_x/S_{st}) \times (F_{std}/F_x) \quad (3.2)$$

Burada standart ve numune, sırasıyla st ve x alt simgeleriyle belirtilmiştir. S, FDT testleri sonucu elde edilen doğruların eğimleri ve F ise soğurma düzeltme faktörleridir.

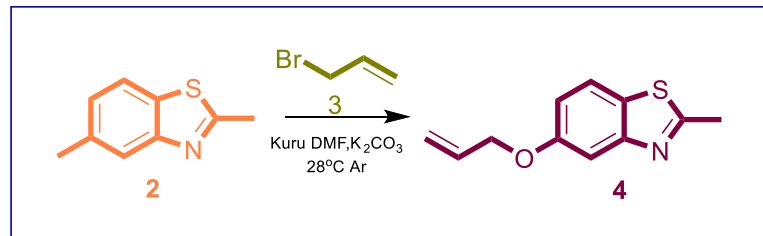
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Skuarin 1 Sentez Aşaması

Hedef **Skuarin 1** için geliştirilen sentez yolağı aşağıda verilmiştir (Şekil 4.1).

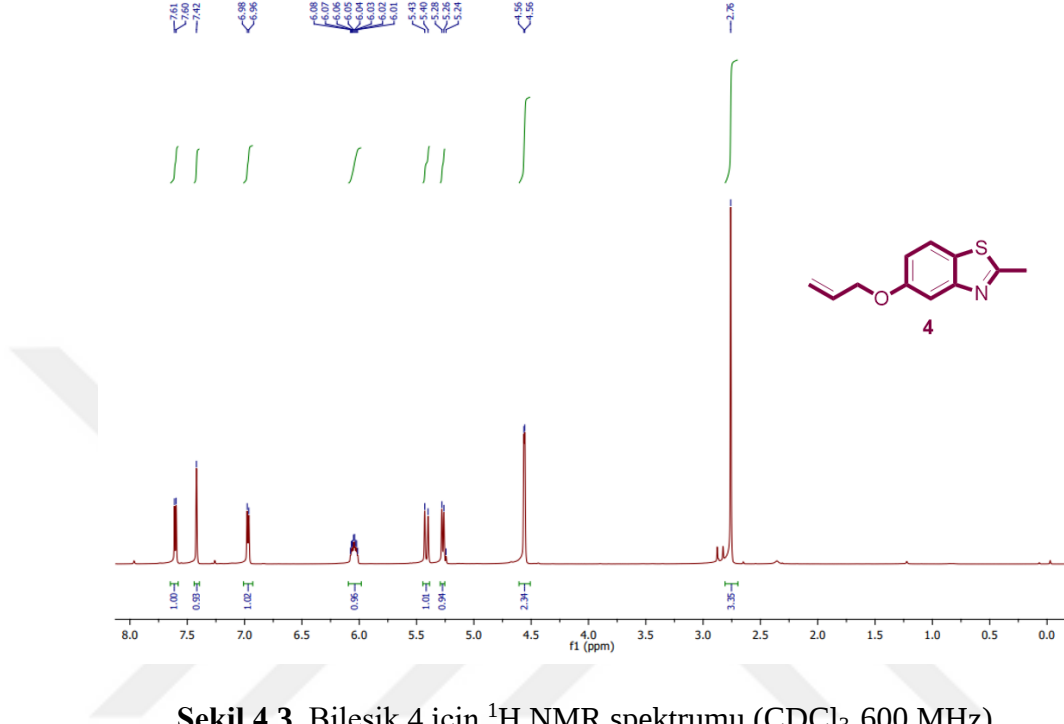


Sentezin ilk kademesinde 2-metilbenzo[d]tiyazol-5-ol (2) DMF içerisinde K_2CO_3 varlığında alil bromür (3) ile etkileştirilmiş ve O-alkilasyon reaksiyonu ile bileşik 4 elde edilmiştir (Şekil 4.2).



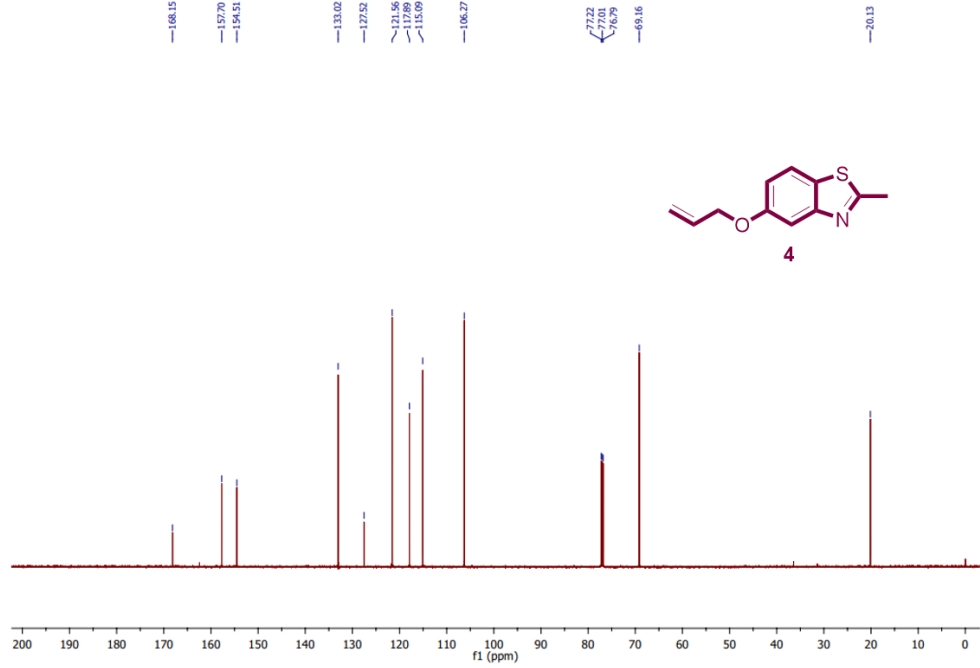
Şekil 4.2. Bileşik 4 sentezi.

Bileşik 4' ün ^1H NMR spektrumunda (Şekil 4.3) aromatik protonların 7.62, 7.42 ve 6.97 ppm de, olefinik protonların 6.04, 5.42 ve 5.26 ppm de, metilenik ve metil protonlarının ise sırasıyla 4.56 ve 2.76 ppm de sinyal verdiği not edilmiştir.



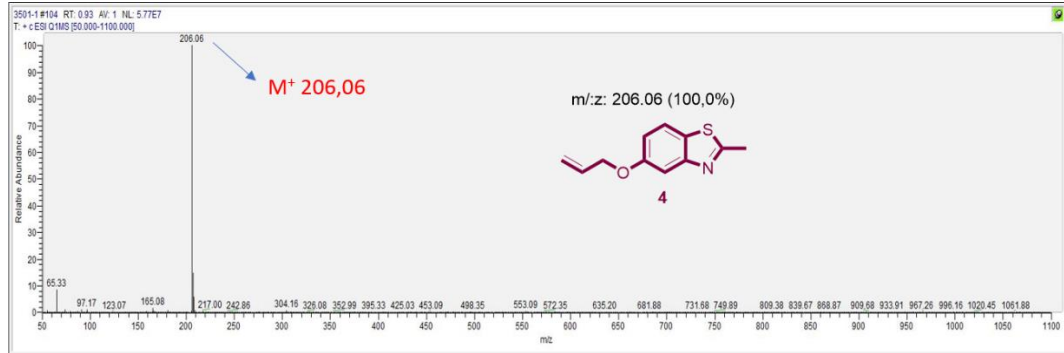
Şekil 4.3. Bileşik 4 için ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz).

Bileşik 4 için 11 sinyalden oluşan ^{13}C NMR spektrumu (Şekil 4.4) yapıyla uyumludur.



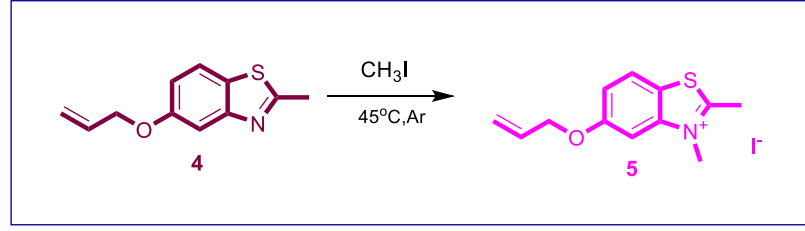
Şekil 4.4. Bileşik 4 için ¹³C NMR spektrumu (CDCl₃, 151 MHz).

Bileşiğin 4 LC MS ile ölçülen kütle spektrumu ([M+H]⁺: 206.06) beklenen kütle (m/z: 205.06) değeri ile uyumlu ve yapıyı doğrular niteliktedir (Şekil 4.5).



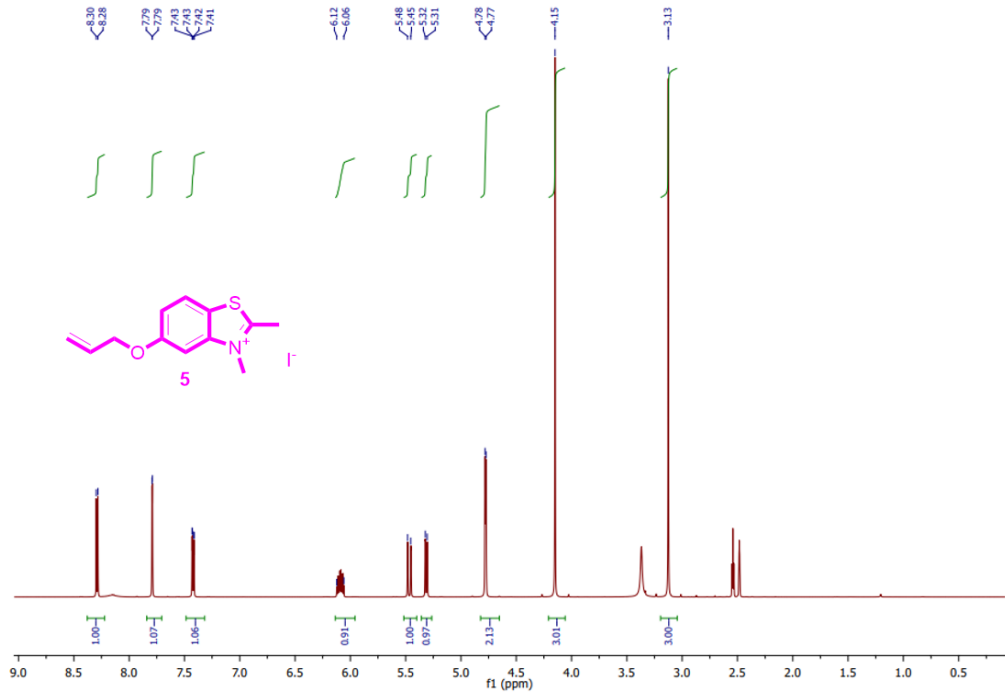
Şekil 4.5. Bileşik 4 için LC-MS kütle spektrumu.

Bileşik 4 spektroskopik olarak karakterize edildikten sonra iyodometan ile 45 °C’de muamele edilmek suretiyle indoline 5 çevrilmiştir. (Şekil 4.6)



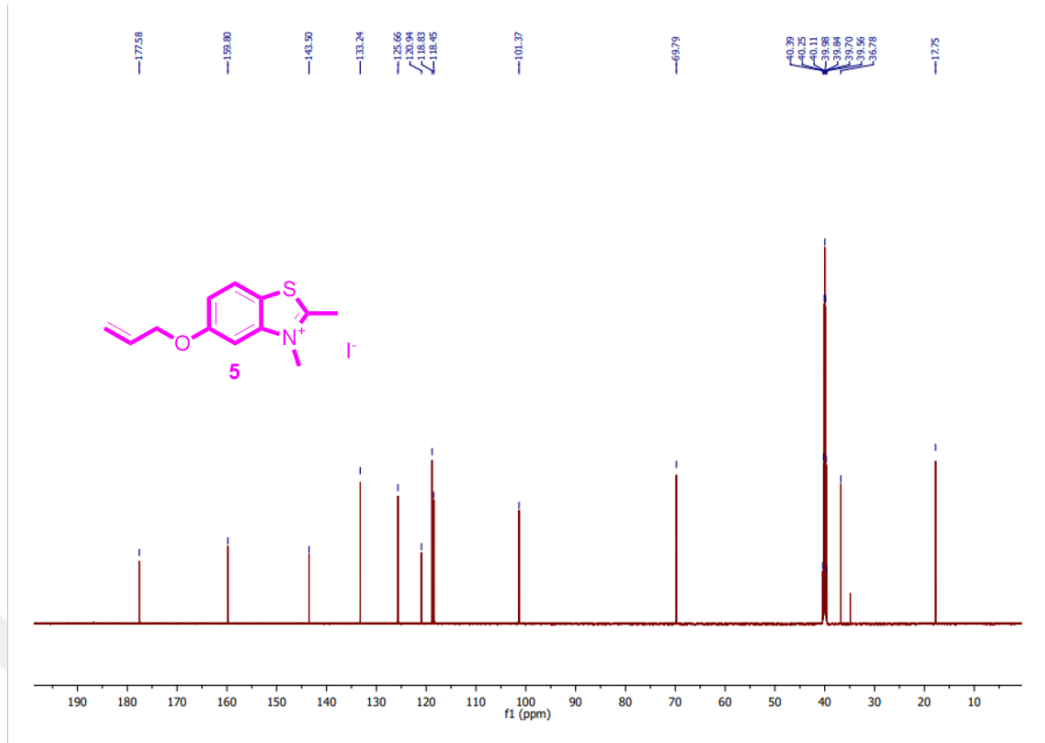
Şekil 4.6. İndolin 5 sentezi.

İndolinin 5 ^1H NMR spektrumu Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Spektrum incelendiğinde aromatik protonlar 8.29, 7.79 ve 7.42 ppm de, allil grubuna bağlı olefinik protonlar 6.12-6.06, 5.47 ve 5.31 ppm de, $-\text{CH}_2-$ protonları 4.77 ppm de ve metil protonları ise 4.15 ve 3.13 ppm de gözlenmiştir. Metil sinyali ve protonlarının sayısında gözlenen artış tepkimenin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.

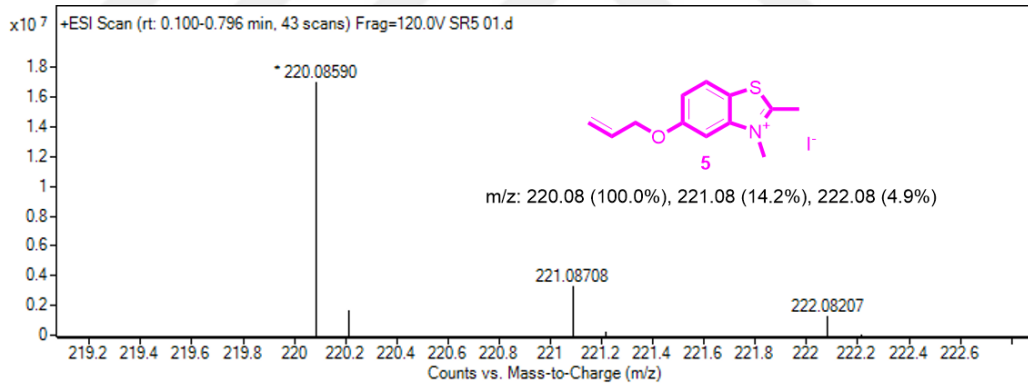


Şekil 4.7. İndolin 5 için ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 600 MHz).

İndolinin 5 ^{13}C NMR spektrumunda (Şekil 4.8); 177.58, 159.80, 143.50, 133.24, 125.66, 120.94, 118.83, 118.45, 101.37, 69.79, 36.78 ve 17.75 ppm de gözlenen 12 karbon sinyali ve HRMS spektrumu (Şekil 4.9) yapıyı desteklemektedir.

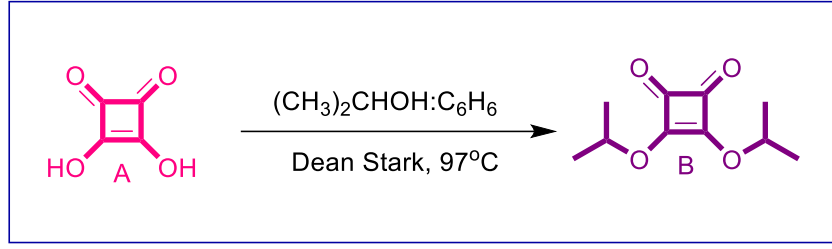


Şekil 4.8. İndolin 5 için ¹³C NMR spektrumu (DMSO-d₆, 151 MHz).



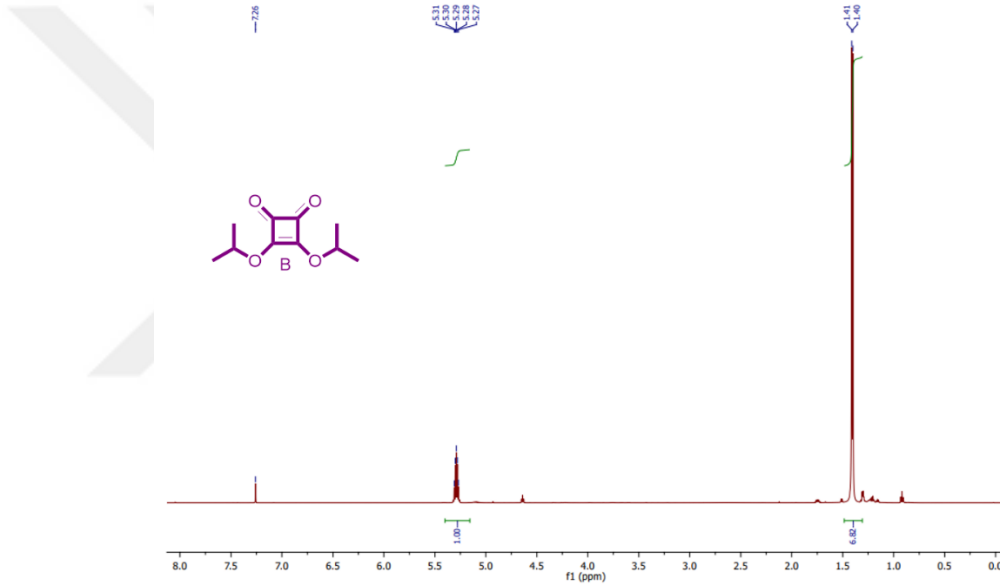
Şekil 4.9. İndolin 5 için kütle spektrumu.

Çalışmanın bu aşamasında 3,4-diizopropokzisiklobüt-3-en-1,2-dion (B) literatürde bilinen bir yöntem kullanılarak skuarik asitten (A) sentezlenmiştir (Şekil 4.9) (Liu vd., 1997).

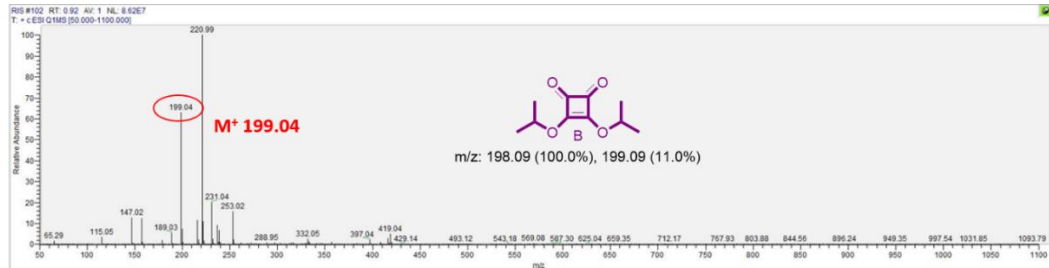


Şekil 4.10. 3,4-diizopropoksisikllobüt-3-en-1,2-dion (B) sentezi.

Bileşiğin **B** yapısı ^1H NMR (Şekil 4.11) ve LC-MS kütle (Şekil 4.12) spektrumları ile doğrulanmıştır.

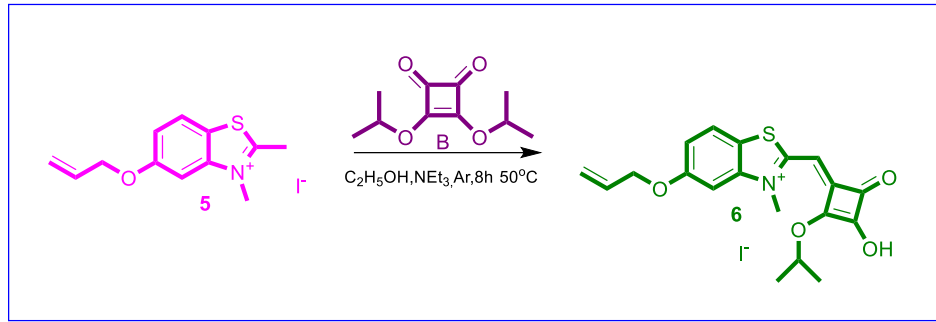


Şekil 4.11. Bileşik B için ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz).



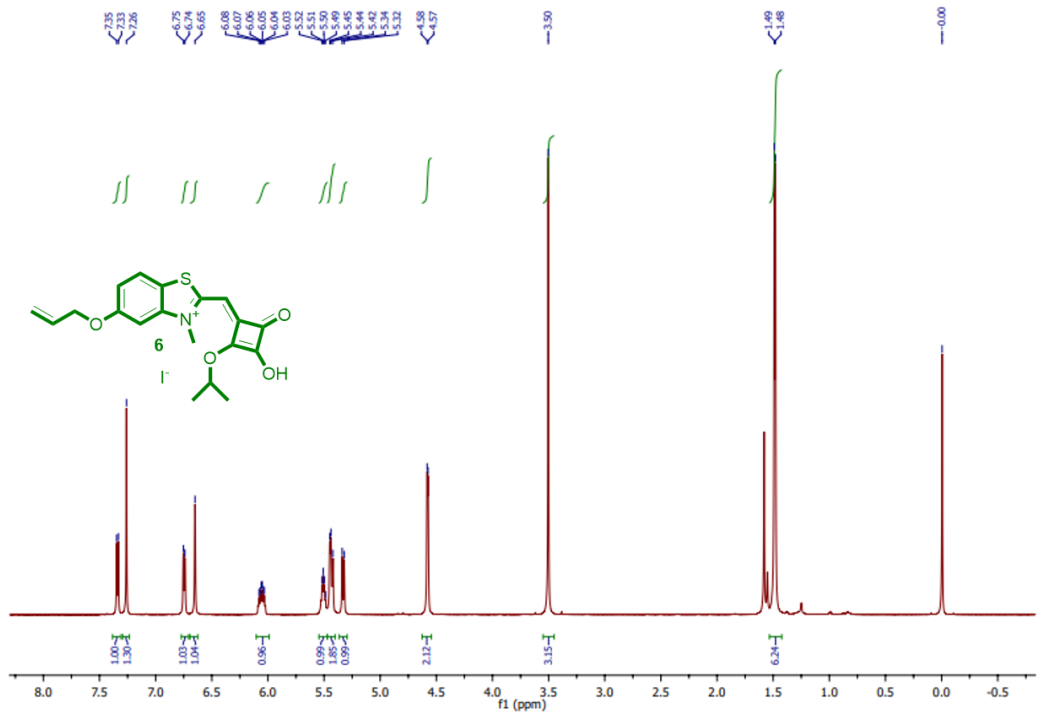
Şekil 4.12. Bileşik B için LC-MS kütle spektrumu.

Ardından ise indolin **5** ile **B** etanol içerisinde $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$ varlığında tepkimeye sokulmuş ve bileşik **6** elde edilmiştir (Şekil 4.13).

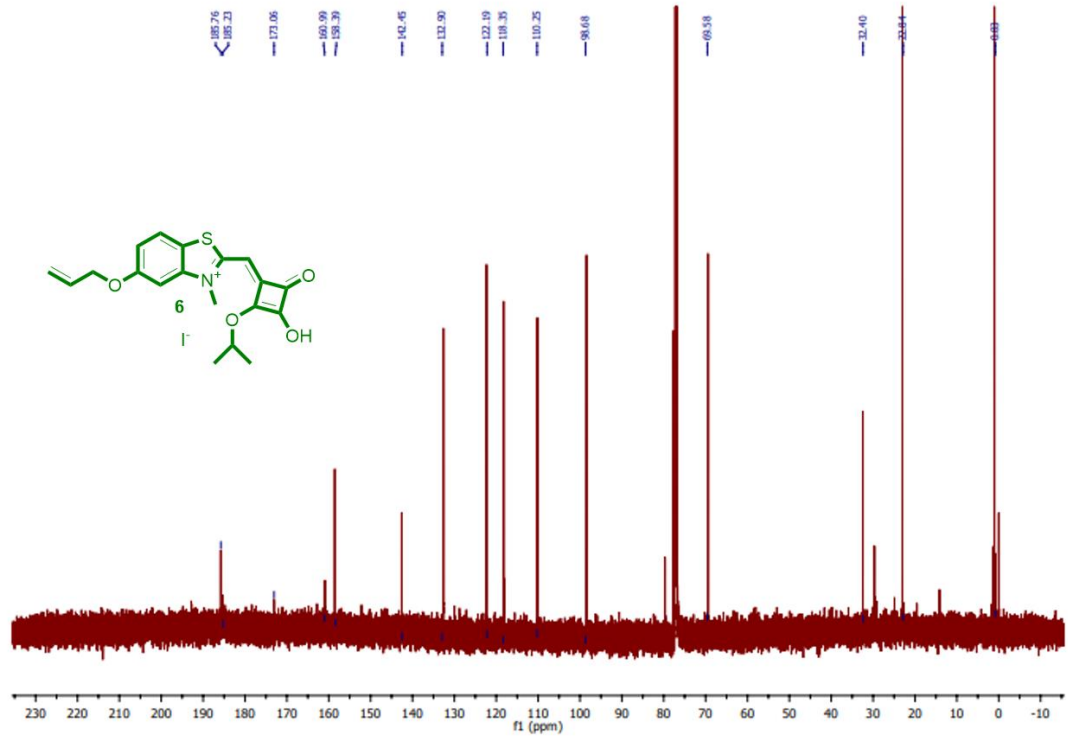


Şekil 4.13. Bileşik 6 sentezi.

Bileşiğe **6** ait ^1H NMR spektrumunda (Şekil 4.14); indolin halkasına ait protonların 7.34, 6.74 ve 6.65 ppm de, olefinik protonların 6.08-6.03, 5.52-5.49, 5.45-5.42 ve 5.33 ppm de, allil grubuna bağlı metilenik protonların 4.57 ppm de, metil gruplarının 3.50 ve 1.48 ppm de, ^-CH protonunun ise 5.45-5.42 ppm de sinyal verdiği belirlenmiştir. **6** sinyalden oluşan ^{13}C NMR spektrumu (Şekil 4.15) yapıyı desteklemektedir.

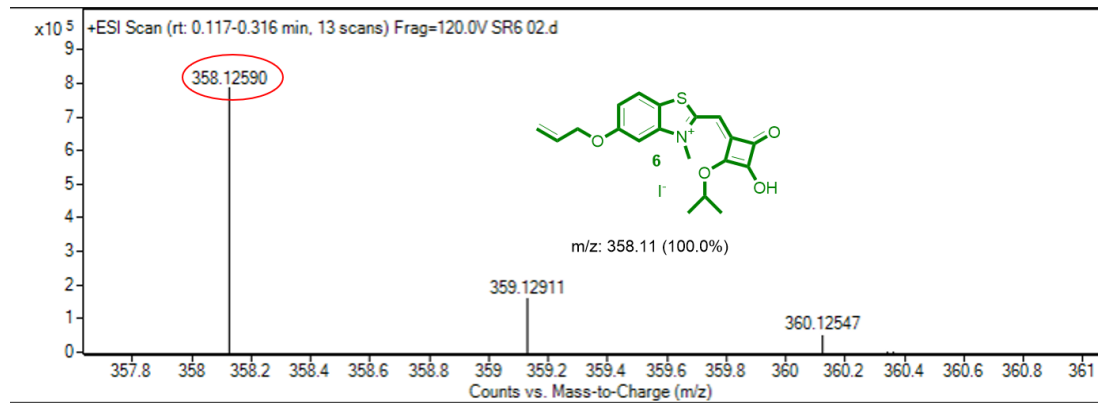


Şekil 4.14. Bileşik 6 için ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz).



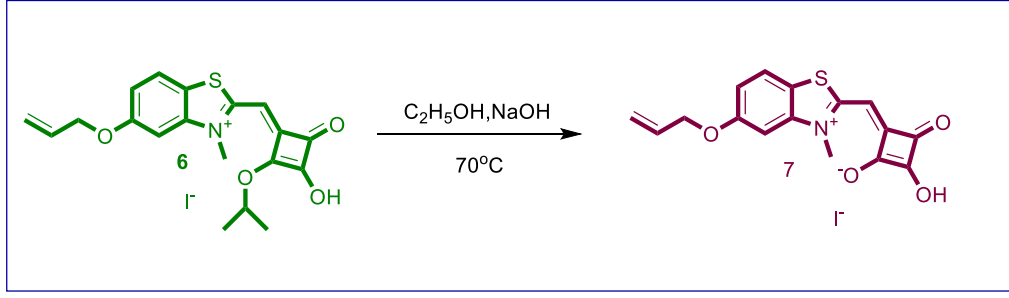
Şekil 4.15. Bileşik 6 için ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 151 MHz).

Bileşik 6 için hesaplanan kütle değeri (m/z : 357,10348) ile ölçülen HRMS kütle değerleri (m/z : 358.12590) yapı ile uyumludur (Şekil 4.16).



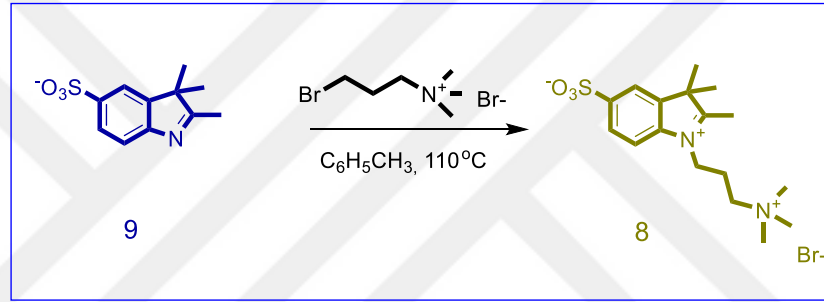
Şekil 4.16. Bileşik 6 için kütle spektrumu.

Daha sonra bileşik 6 etanol içerisinde NaOH ile 70 °C’de hidroliz edildi ve semi-skuarat 7 elde edilmiştir (Şekil 4.17). Semi-skuarat 7 kolay bozulabilir bir yapıya sahip olduğundan analizler için bekletilmeden sonraki basamakta direkt olarak kullanıldı.



Şekil 4.17. Bileşik 7 sentezi.

Skuarin **1** sentezi için önce bileşik **8** başlangıç bileşiği olarak indolin **9** alınarak literatürde bilinen bir yöntem üzerinden elde edilmiştir (Şekil 4.18) (Hyun vd., 2012).



Şekil 4.18. Bileşik 8 Sentezi.

Hedef bileşiğin **8** ^1H NMR spektrumu Şekil 4.19’da verilmiş olup spektrumun literatür verileri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.



$\times 10^7$ +ESI Scan (rt: 0.100-0.448 min, 22 scans) Frag=120.0V FAT153 02.d

m/z: 339.17 (100.0%),

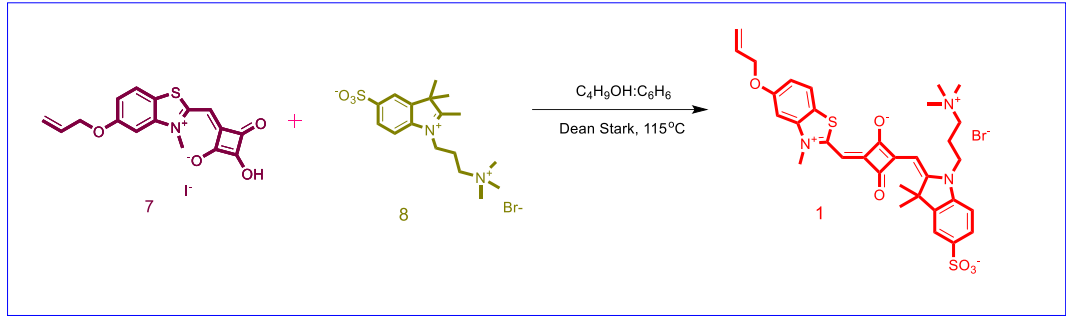
8

Br-

Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

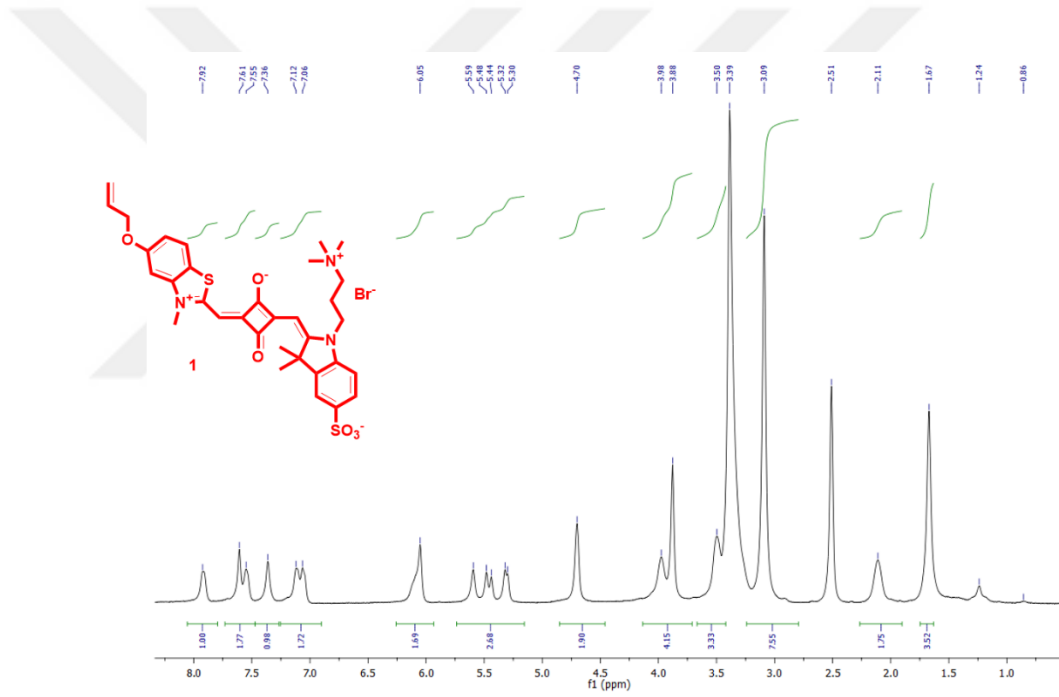
Şekil 4.20. Bileşik 8 için kütle spektrumu.

Bileşik **8** ve semi-skuarat **7** Dean-Stark tuzağı kullanılarak 115 °C’de bütanol-benzen karışımında etkileştirildi (Şekil 4.21) ve saflaştırma işlemlerinin ardından saf ürün izole edildi.

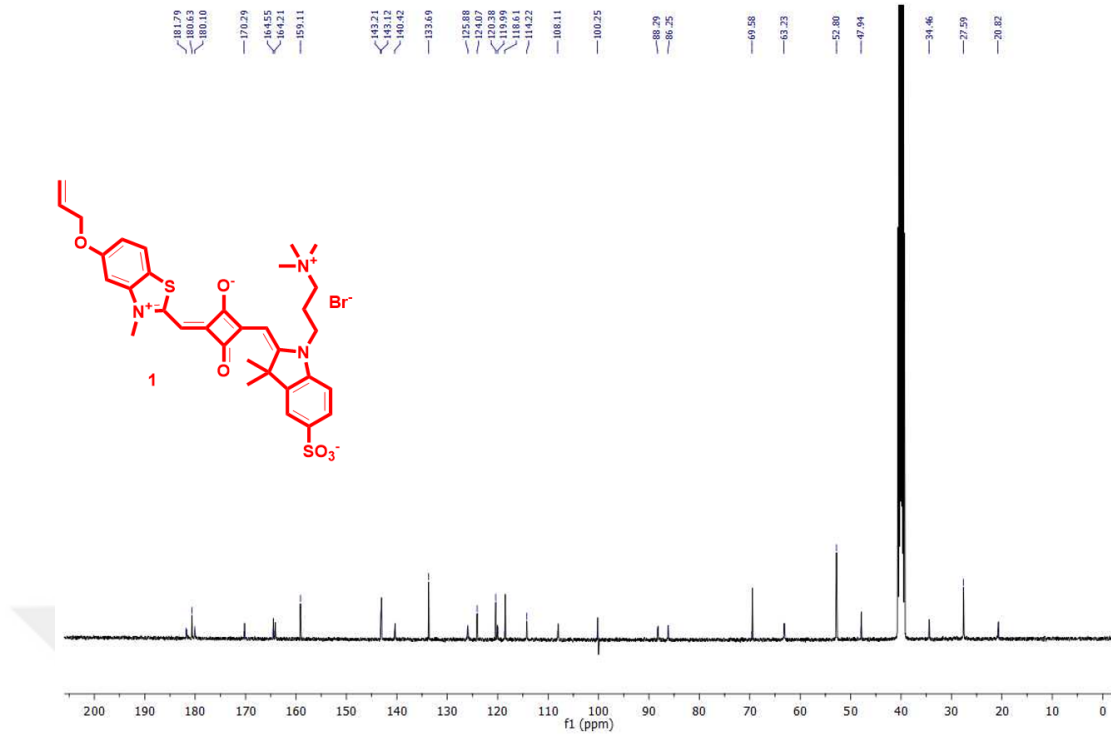


Şekil 4.21. Skuarin 1 sentezi.

Hedef bileşik **1** için kaydedilen ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.22-23).

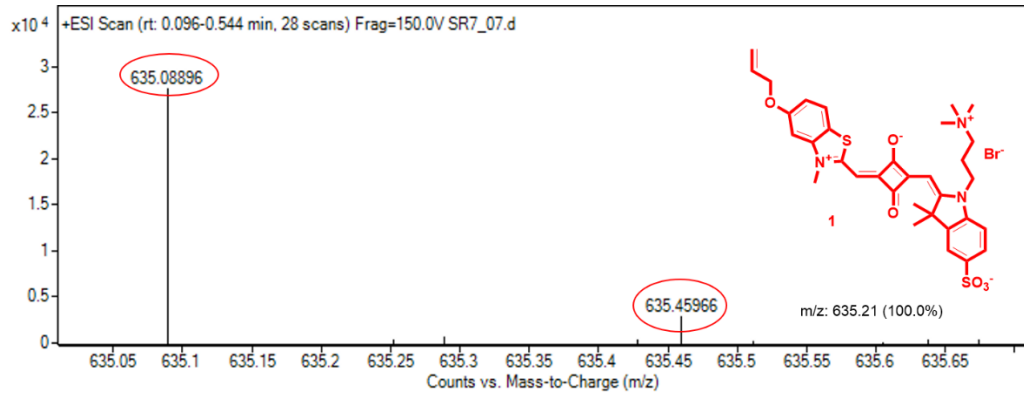


Şekil 4.22. Skuarin 1 için ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 600 MHz).



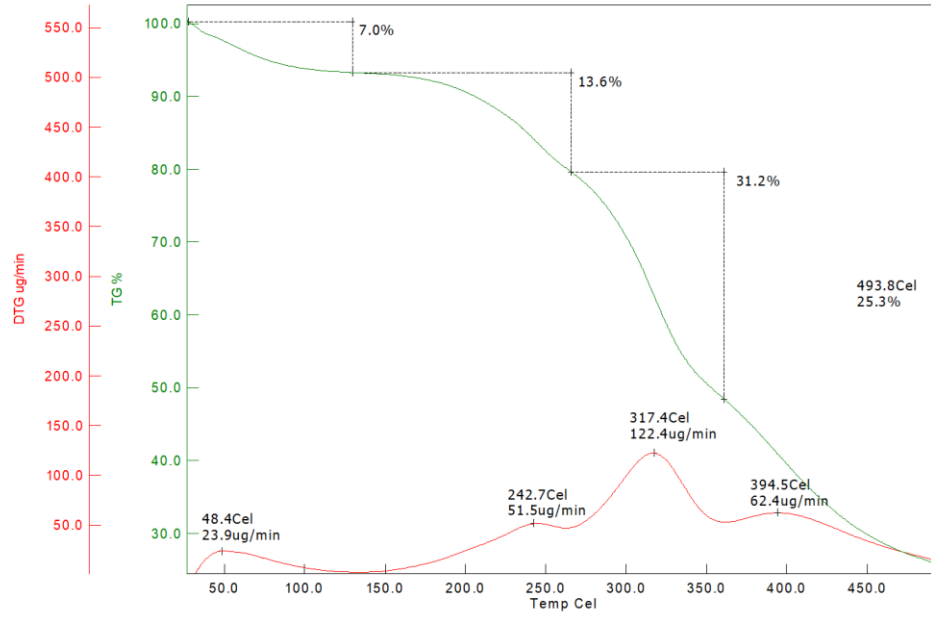
Şekil 4.23. Skuarin 1 için ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 150 MHz).

Skuarin 1 için hesaplanan kütle değeri (m/z : 635,21238) ile ölçülen HRMS kütle değerleri (m/z : 636.21451) yapı ile uyumludur (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Skuarin 1 için HRMS kütle spektrumu.

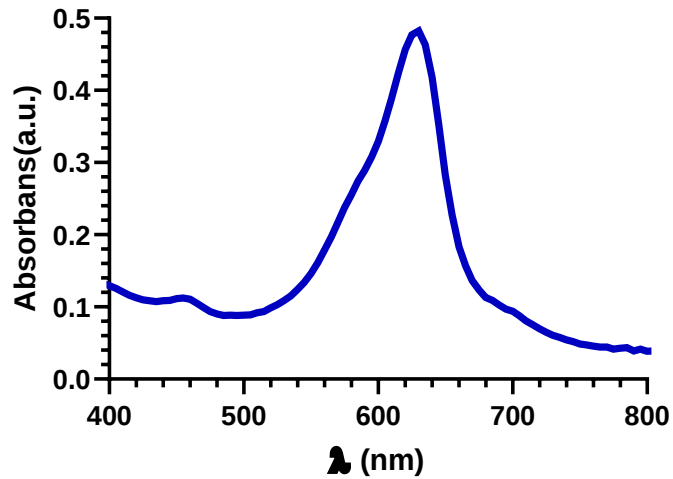
Skuarin 1 termal davranışını incelemek için termal gravimetrik analizleri (TGA) yapıldı. **Skuarin 1** 170 °C'ye kadar %7'lik kütle kaybına uğramış ve 200 °C ya da daha yüksek sıcaklıklarda ise bozunmaya başladığı görülmektedir (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. Skuarin 1 için TGA verileri.

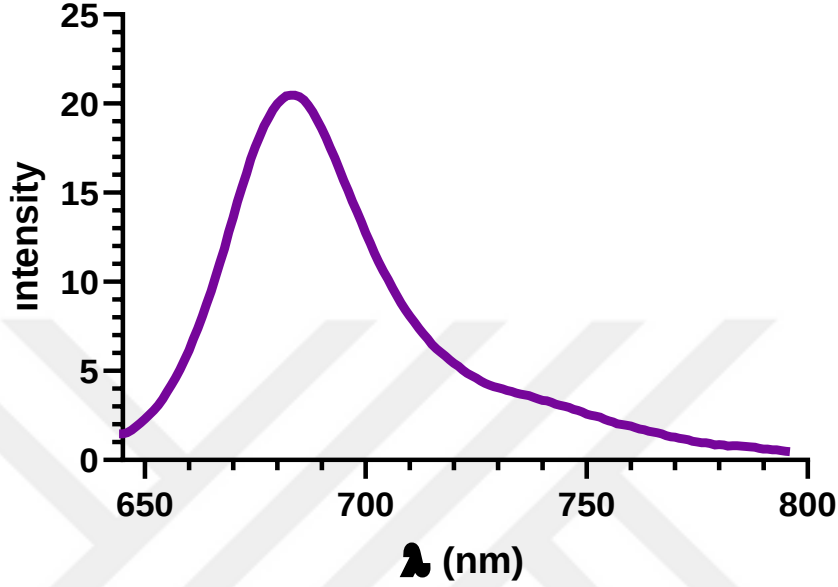
4.2 Skuarin 1 Fotofiziksel Özellikleri

Hedef bileşiğin 1 fotofiziksel özellikleri de benzer şekilde tespit edilmiştir. **Skuarin 1** soğurma spektrumu Şekil 4.26’te verilmiş olup maksimum soğurma dalga boyunun (λ_{max}) 640 nm ve molar soğurma katsayısının (λ) $154903 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olduğu tespit edilmiştir.



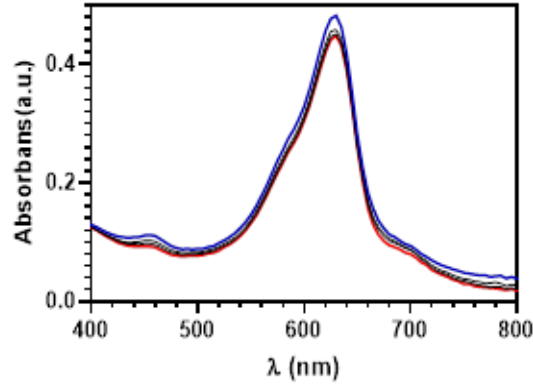
Şekil 4.26. Skuarin 1 soğurma spektrumu ($2,33 \times 10^{-5} \text{ M}$, PBS, pH: 7.4, λ_{max} : 640 nm).

Skuarin 1 floresans spektrumu (Şekil 4.27) incelendiğinde bu yapının da PBS ortamında emisyon yapabildiği ve maksimum emisyon dalga boyunun ($\lambda_{\max}$) ise 690 nm olduğu belirlenmiştir. Ayrıca skuarinin 1 floresans kuantum verimi (Φ_F) 0.94 olarak hesaplanmıştır (Lu vd., 2018).



Şekil 4.27. Skuarin 1 floresans spektrumu ($2,33 \times 10^{-5}$ M, PBS, pH: 7.4, $\lambda_{\max}$: 690 nm, λ_{ex} : 600 nm).

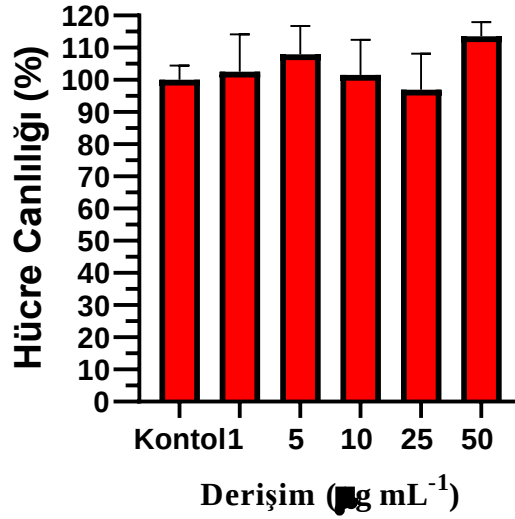
Elde edilen bu veriler hedeflendiği gibi güçlü soğurma yapan ve floresans özellik gösteren skuarin tabanlı boya 1 başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir. **Skuarin 1** foto kararlılıklarının belirlenmesi için stok çözeltileri beyaz ışığa maruz bırakılmış ve zaman içerisinde absorbansta meydana gelen değişimler kaydedilmiştir (Şekil 4. 28). Elde edilen veriler skuarinlerin 1 soğurma şiddeti %7.52 azalma olduğunu göstermiştir. Bu durum skuarinin 1 kayda değer ölçüde fotokararlı olduklarını göstermektedir. Zira birçok ticari boya ışığa maruz bırakıldığında oldukça kısa süreler içerisinde hızla ağarabilmektedir (Jin vd., 2021).



Şekil 4.28. Beyaz ışığa maruz bırakılan skuarin 1 soğurma spektrumunda zamanla meydana gelen değişimler.

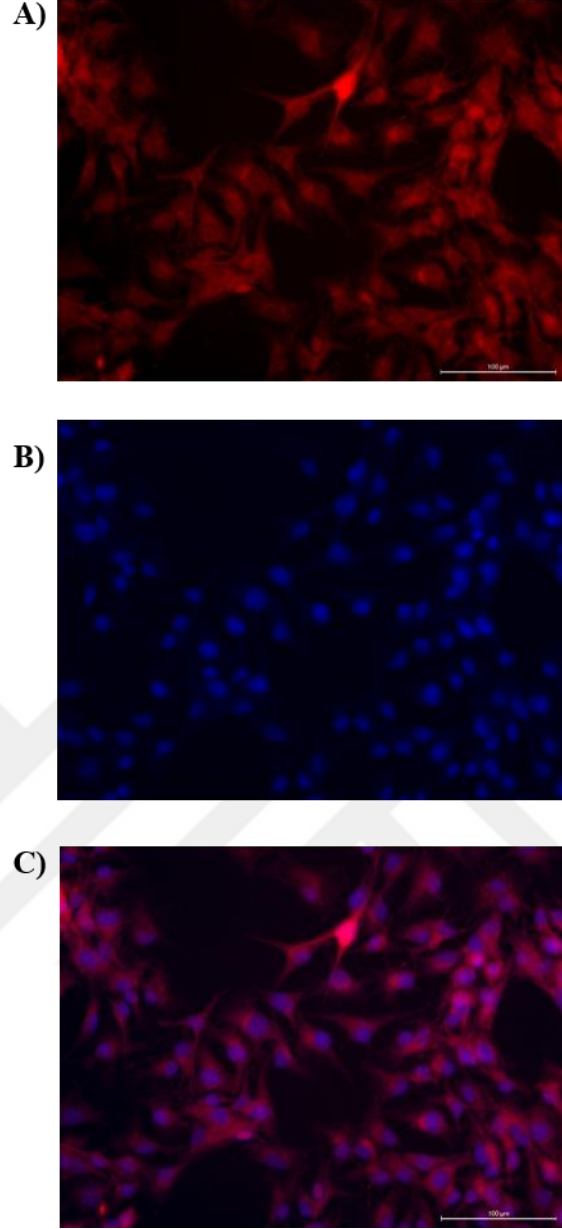
4.3 Skuarin 1 biyogörüntüleme ajanı olarak canlı hücrelerde test edilmesi

In vitro çalışmalarda kullanılacak olan hücre hatları literatürde bilinen yöntemler üzerinden hazırlanmıştır. Ardından **skuarin 1** karanlık toksisitesinin (ve biyoyumluluğunun) belirlenmesi üzerinde durulmuştur. Bunun için sağlıklı kontrol hücre hattı olarak L929 (ATCC® CRL-6364™) (fibroblast) hücreleri kullanılmıştır. L929 hücreleri değişik konsantrasyonlarda (1-50 µM) **skuarin 1** ile inkübe edilmiştir. **Skuarin 1** hücre canlılık oranına etkisi MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) protokolü izlenerek belirlenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 4.29'da verilmiştir. Özetle, skuarinin 1 yüksek derişimlerde dahi toksik etki göstermediği ve hücrelerin yaklaşık %80 oranlarında canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir (Şekil 4.29).



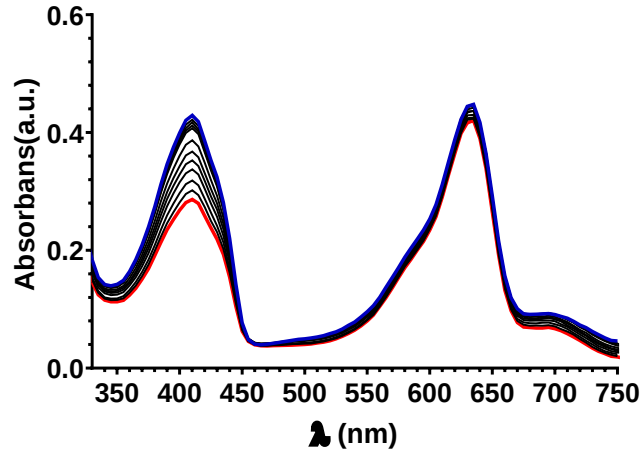
Şekil 4.29. Skuarin 1 ile inkübe edilen L929 hücreleri için canlılık oranları.

Bu veriler **skuarinin 1** biyoyoumlu olduğuna ve biyogörüntüleme ajanı olarak işlev görebileceğine işaret etmektedir. O nedenle **skuarin 1** kanser hücreleri kullanılarak *in vitro* floresans görüntüleme testlerine tabi tutulmuştur. Yapılan çalışmalar neticesinde **skuarin 1** hücrelere kolayca internalize olduğu ve canlı hücrelerde floresans görüntüleme yapabildiği ortaya konmuştur.



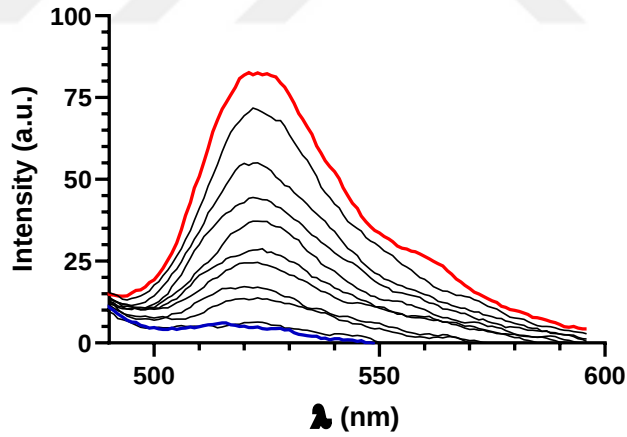
Şekil 4.30. Skuarin 1 ile inkübe edilen kanser hücrelerinin (SK-MEL30) floresans görüntüleri.

Sonraki aşamada benzer işlemler **skuarinin 1** ile yapılmış ve onun da fotoduyarlayıcı etkinliği belirlenmiştir. İlk olarak **skuarinin 1** DPBF (1,3-Difenilizobenzofuran) içeren DMSO çözeltisi kırmızı ışığa maruz bırakılmak sureti ile fotoduyarlayıcı testleri yapılmıştır. Işınlama süresince çözeltinin soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler kaydedilmiş olup Şekil 4.31’de verilmiştir. Elde edilen veriler DPBF bileşiğine ait soğurma şiddetinin beklendiği gibi zamanla azaldığını dolayısıyla **skuarin 1** reaktif oksijen türleri (ROT) üretebildiğini göstermektedir.



Şekil 4.31. Skuarin 1 DPBF varlığında metanol içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince kaydedilen spektrumlar.

Diğer bir test ise tuzak molekül olarak DCFH kullanılarak PBS (pH 7.4) ortamında yapılmıştır. DCFH bileşiği ortamda ROT bulunması halinde tepkime verir ve floresans şiddetinde artış gözlenir. **Skuarin 1** ve DCFH ile PBS (pH 7.4) ortamında yapılan testlerden de olumlu neticeler alınmıştır (Şekil 4.32).

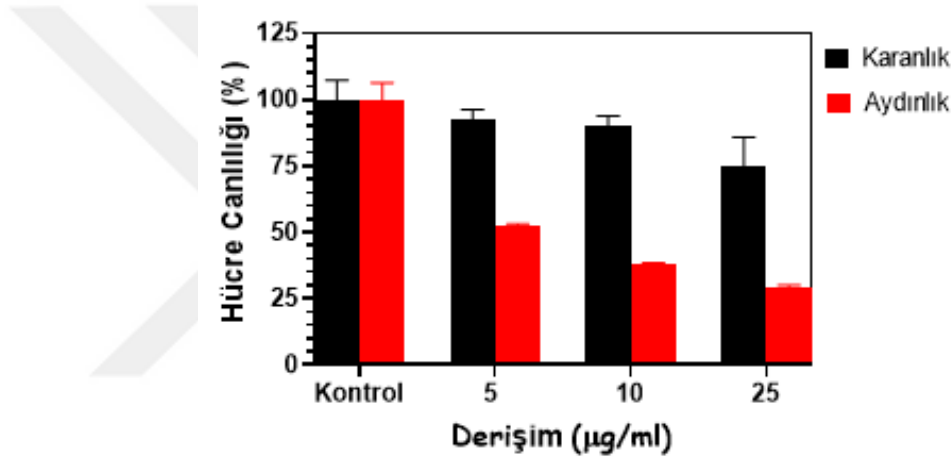


Şekil 4.32. Skuarin 1 (7.0×10^{-5} M) DCFH (3.0×10^{-5} M) varlığında PBS (pH 7.4) içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince kaydedilen floresans spektrumları.

Sonuç olarak bu veri skuarin 1 in arzu edildiği şekilde FDT yapabileceğine işaret etmektedir. Bu veriler ışığında skuarin 1 singlet oksijen kuantum verimi 0.25 olarak hesaplanmıştır.

4.4 Skuarin 1 *in vitro* FDT testi

Skuarin 1 in fotoduyarlastırıcı özelliklerini belirlemek maksadıyla gerekli olan kimyasal testlerden sonra *in vitro* FDT testleri yapılmıştır. Bu kısımda kanser hücreleri ile inkübe edilen **skuarin 1** kırmızı ışıkla aydınlatılmaları (aydınlık ile verilen barlar) neticesinde fotodinamik özellik gösterecekleri varsayılmıştır. **Skuarin 1** fotodinamik etkinlikleri uygulama ve kontrol grupları (karanlık ile verilen siyah barlar) arasındaki farkların MTT testleri ile belirlenmesi neticesinde ortaya konmuştur. Elde edilen veriler aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.33).



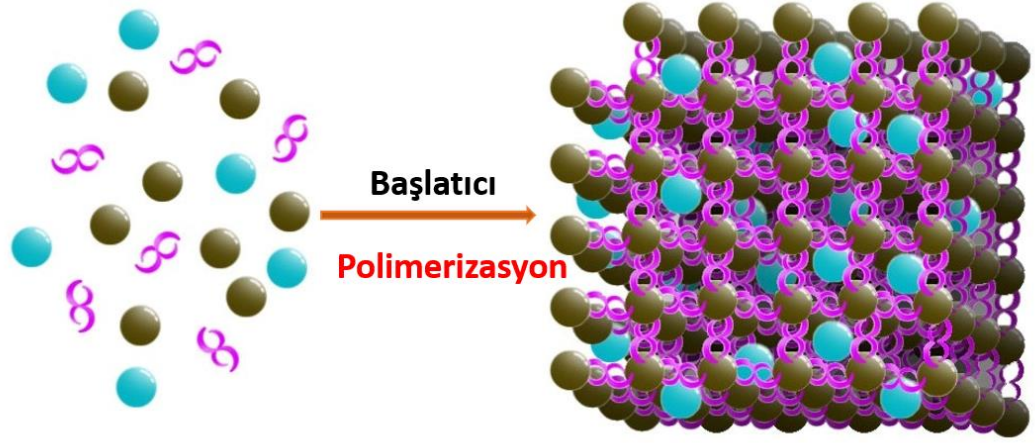
Şekil 4.33. Skuarin 1 ile *in vitro* fotoduyarlastırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.

Elde edilen veriler bileşiğin de doza bağlı bir şekilde fotoduyarlastırıcı özellik gösterdiğini kanıtlamaktadır. Ayrıca **skuarin 1**'in etkin olduğu ve 25 µg/ml derişimde kanser hücrelerini fototoksik etki göstermek sureti ile %71 oranına kadar inhibe ettiği tespit edilmiştir.

4.5 Skuarin 1 İçeren Hidrojellerin Sentezi

4.5.1 Skuarin 1 ve AAm ile Hidrojel Sentezi ve Karakterizasyonu: 1@PAAm

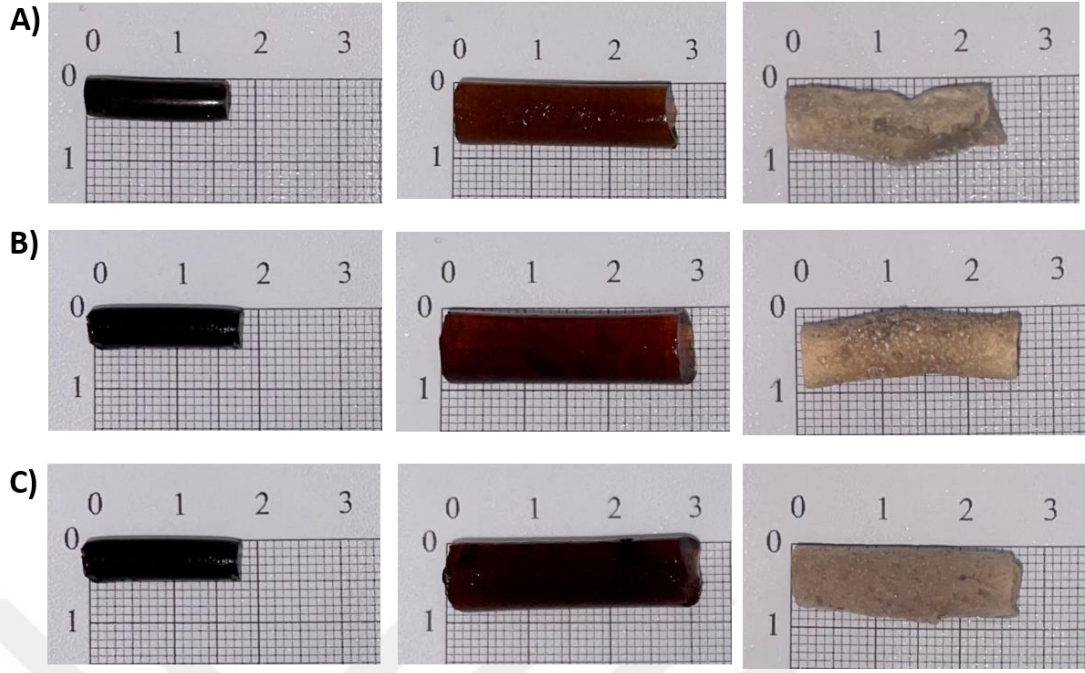
Skuarin 1, AAm ve NIPAAm ile hidrojel formülasyonlarının denenmesi ve hidrojel ağ yapısına entegre edilmesi planlanmıştır.



● Monomer
 ∞ Çapraz Bağlayıcı
 ● Fotoduyarlaştırıcı

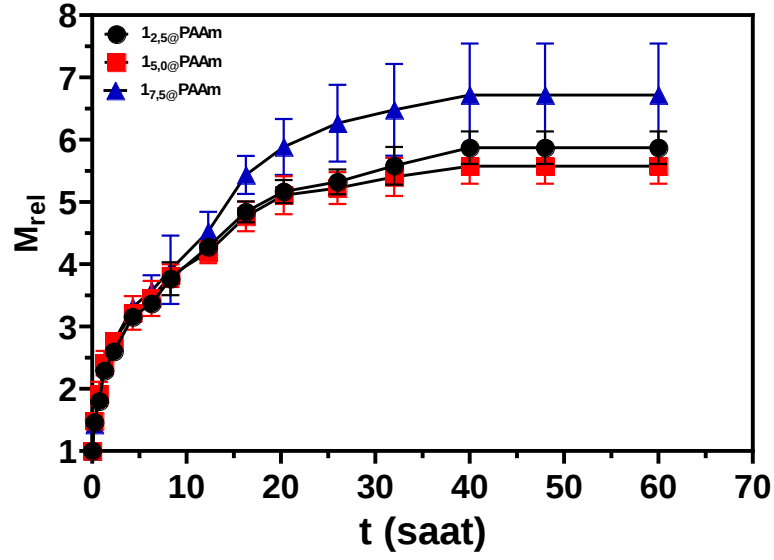
Şekil 4.34. Hidrojellerin şematik görseli.

Bu bağlamda yapılan çalışmalar neticesinde; monomer olarak AAm, polimer başlatıcı, çapraz bağlayıcı kullanılmıştır. Çözücü olarak su, tepkime sıcaklığı olarak 65 °C ve reaksiyon süresi 24 saat olarak optimize edilmiş ve ilgili hidrojellerin (**1@PAAm**) sentezi gerçekleştirilmiştir. **Skuarin 1** üç farklı konsantrasyonda (2.5 mg, 5.0 mg ve 7.5 mg) çalışılmış ve arzu edilen sentezler gerçekleştirilebilmiştir. Burada kullanılan skuarin miktarına göre hidrojeller; **12.5@PAAm**, **15.0@PAAm** ve **17.5@PAAm** olarak adlandırılmıştır. Tepkime sonucunda elde edilen hidrojellerin suda dengeye gelmesi sağlanmıştır. Bu esnada belli sürelerde su değişimi yapılmış ve tepkimeye girmeyen başlangıç bileşiklerinden arındırma işlemi de gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerin şişmeden önce ve sonraki hallerine ait görseller aşağıda verilmiştir (Şekil 4.35).



Şekil 4.35. Hidrojellerin şişmeden önceki, sonraki ve kuru hallerinin görüntüleri: A) 12.5@PAAm, B) 15.0@PAAm ve C) 17.5@PAAm.

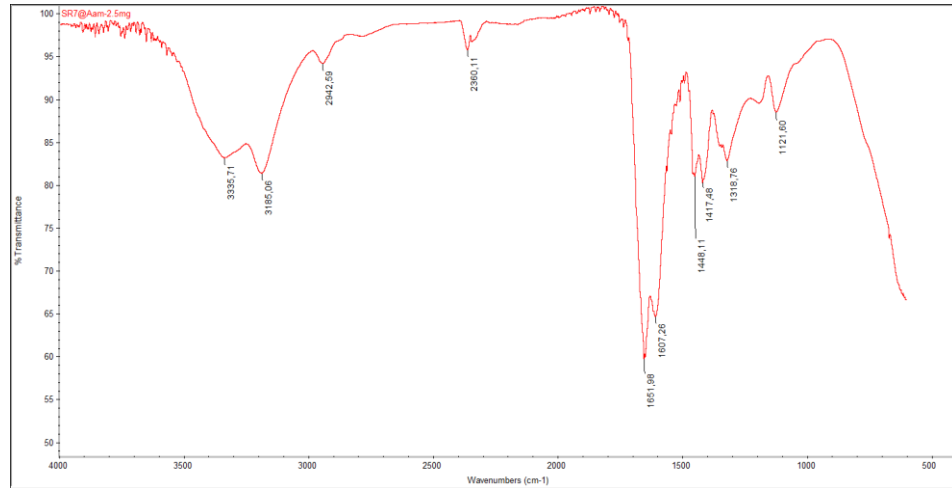
Hidrojellerin sentezinin ardından su tutma kabiliyetleri incelenmiştir. Bunun için hidrojel su içerisinde bekletilmiş ve belirli aralıklarla suyu değiştirilerek tartım işlemi yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda sırasıyla **12.5@PAAm**, **15.0@PAAm** ve **17.5@PAAm** hidrojellerinin sırasıyla 6, 5.4 ve 6.7 katına kadar şişebildiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. Hidrojellerin 1@PAAm zamana bağlı şişme grafikleri.

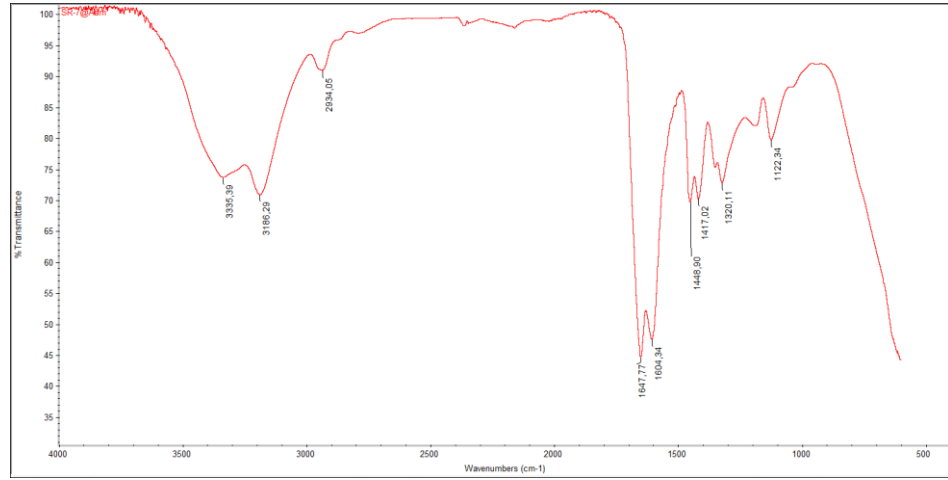
Hidrojellerin (1@PAAm) karakterizasyonu FTIR spektrumları (Şekil 4.37) ile yapılmış ve elde edilen spektrumların beklendiği gibi benzer olduğu tespit edilmiştir.

A)

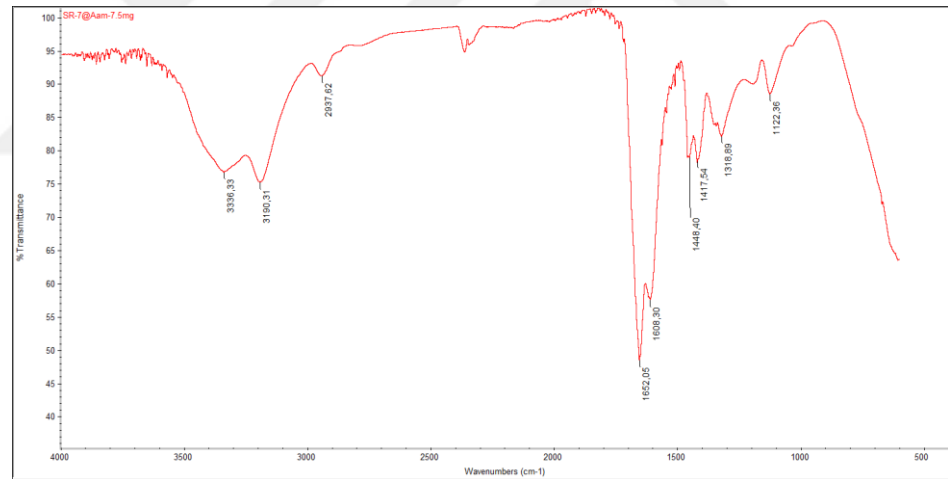


Şekil 4.37. Hidrojellerin FTIR spektrumları A) 12,5@PAAm.

B)



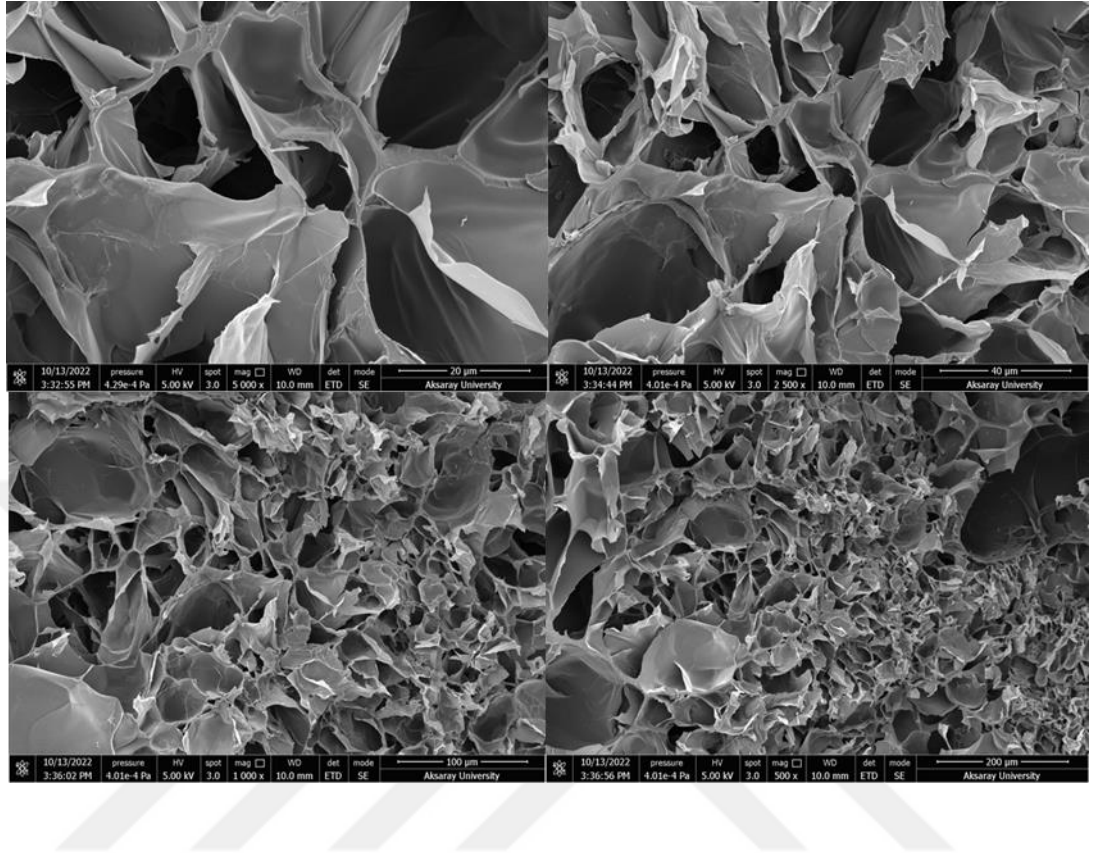
C)



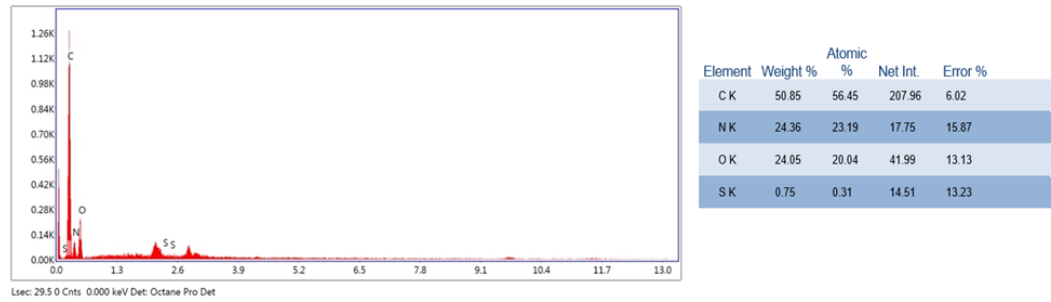
Şekil 4.37. Hidrojellerin FTIR spektrumları B) 15.0@PAAm ve C) 17.5@PAAm. (devam)

Ardından hidrojellerin **1@PAAm** morfolojik yapıları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve element analizleri ise EDAX analizleri ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler aşağıda verilmiştir (Şekil 4.38-4.40). Hidrojellerin **1@PAAm** arzu edildiği gibi gözenekli yapıda oldukları ve tümünün kükürt elementi içerdiği kanıtlanmıştır.

A)

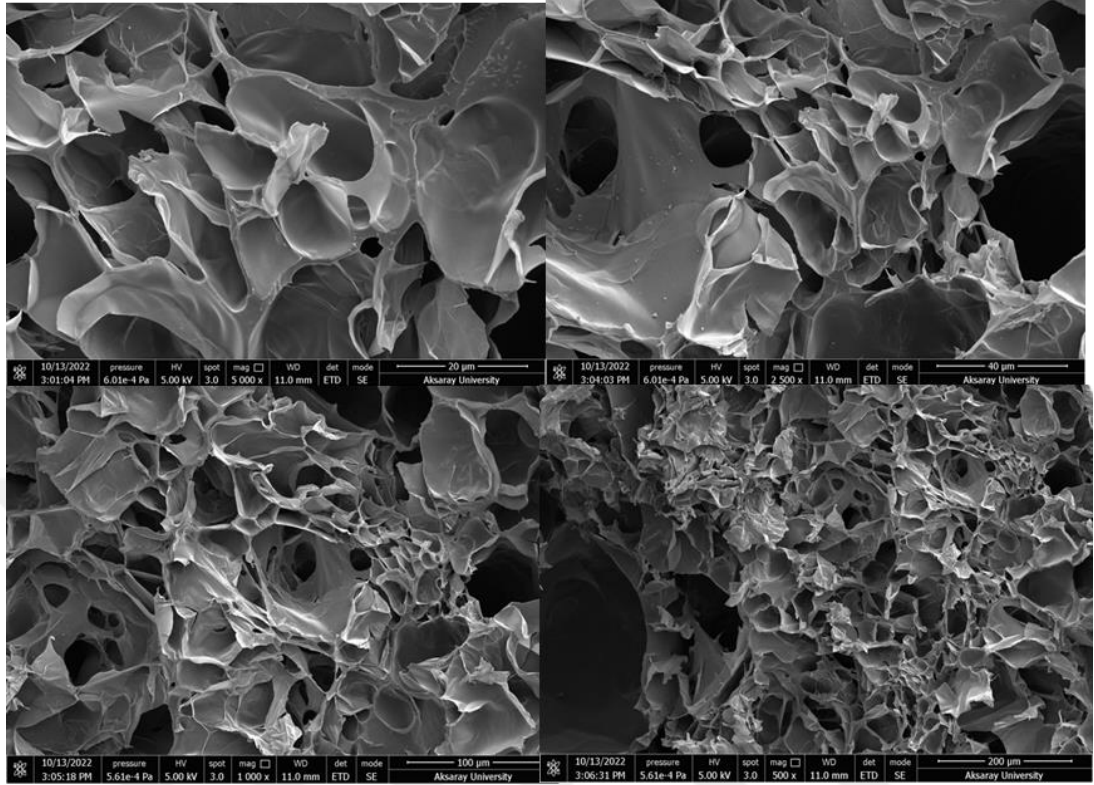


B)

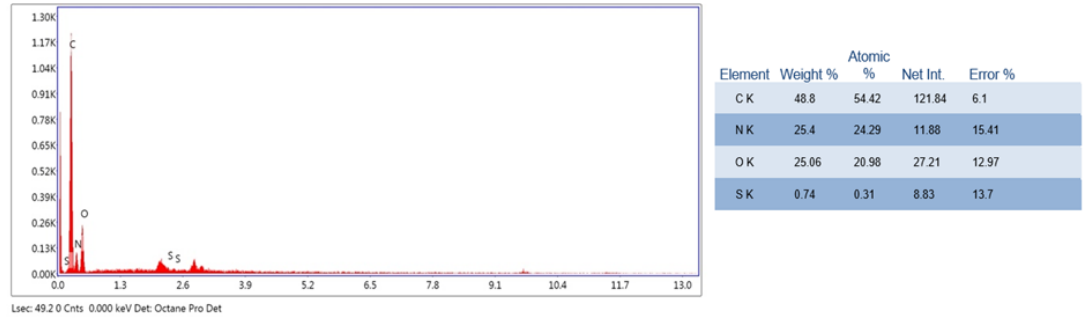


Şekil 4.38. 12.5@PAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri

A)

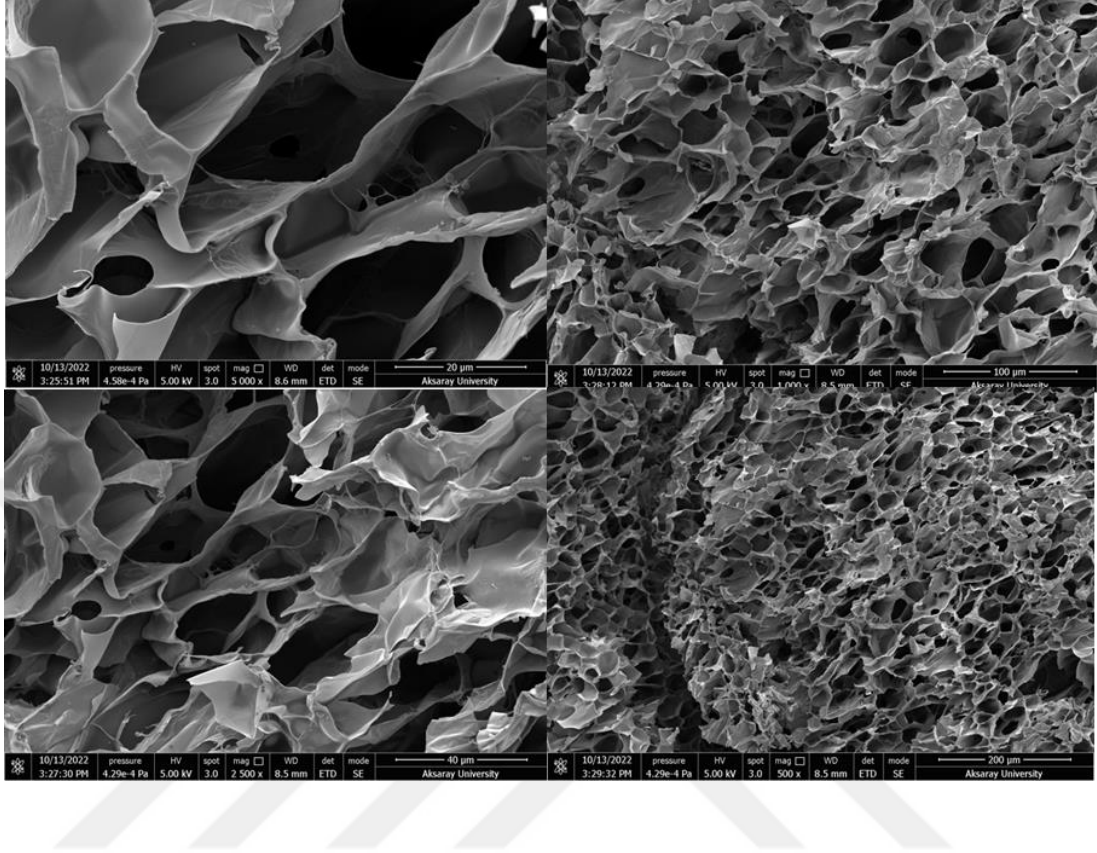


B)

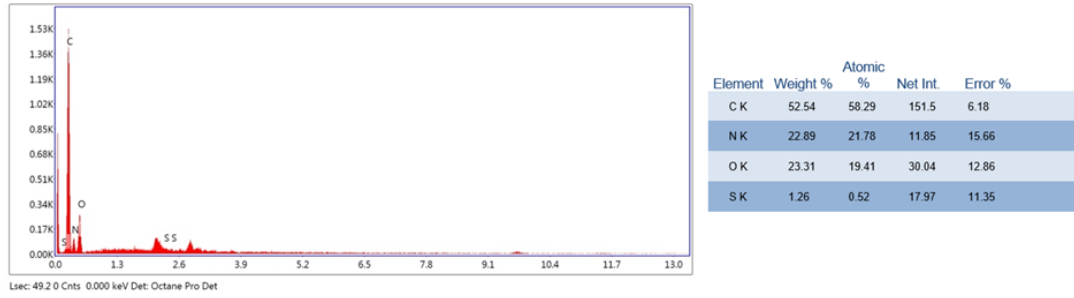


Şekil 4.39. 15.0@PAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.

A)

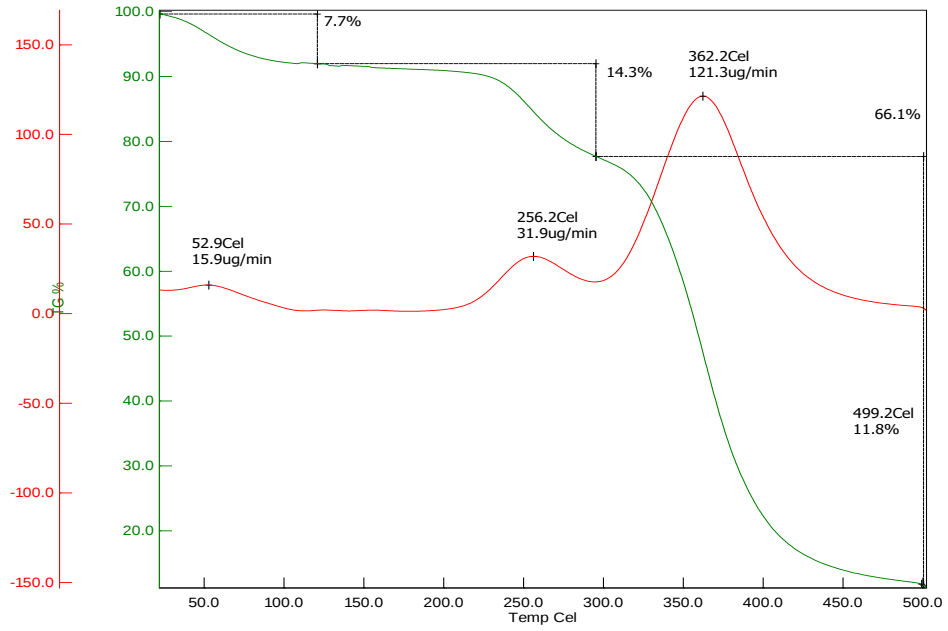


B)



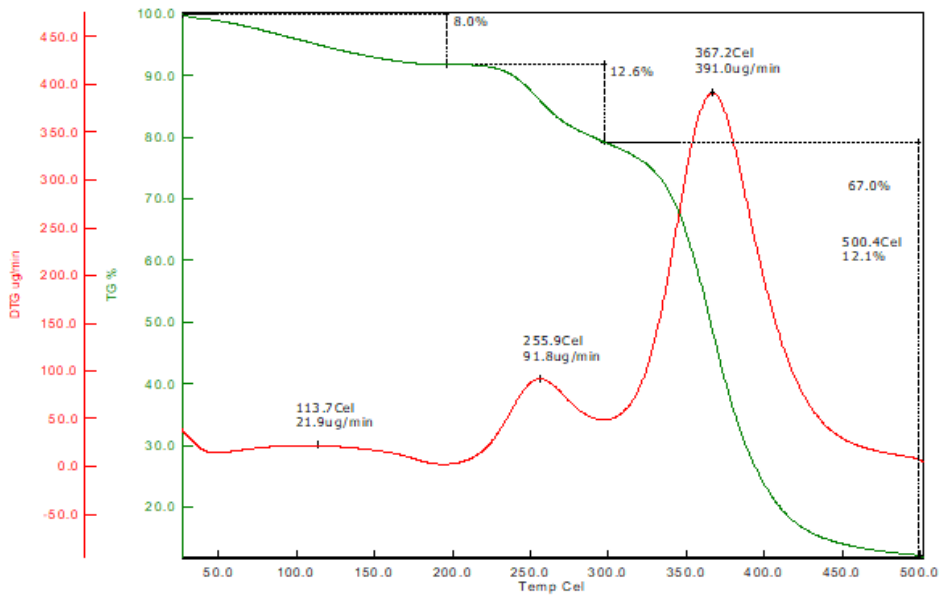
Şekil 4.40. 17.5@PAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri

Hidrojellerin termal davranışlarını incelemek için termal gravimetrik analizleri (TGA) yapılmıştır. 12.5@PAAm hidrojelinin 100 °C kadar ısıtılması neticesinde %7.7'lik muhtemelen su kaybına işaret eden bir durum gözlenmektedir (Şekil 4.41). Daha sonra artan sıcaklıkla 250-300 °C'de %14.3'lük bir kütle kaybı daha olmuştur. 300 °C üzerindeki sıcaklıklarda ise hidrojel bozunmaya başladığı görülmektedir.



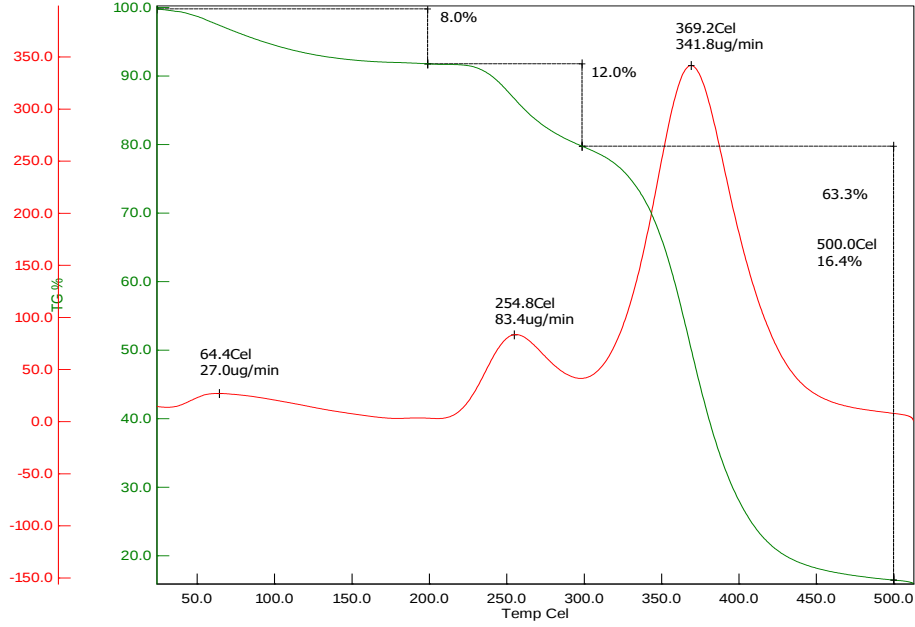
Şekil 4.41. 12.5@PAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

15.0@PAAm hidrojelinin termal kararlılığını incelemek için termal gravimetrik analizi (TGA) yapıldı. İlk olarak hidrojel 100 °C kadar ısıtılması neticesinde %8 su kaybı gözlenmiş 200 °C üzerinde sıcaklığında %12.6'lık bir kütle kaybı daha gözlenmiştir. 300 °C'nin üzerinde ise hidrojel bozunmaya başlamıştır (Şekil 4.42).



Şekil 4.42. 15.0@PAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

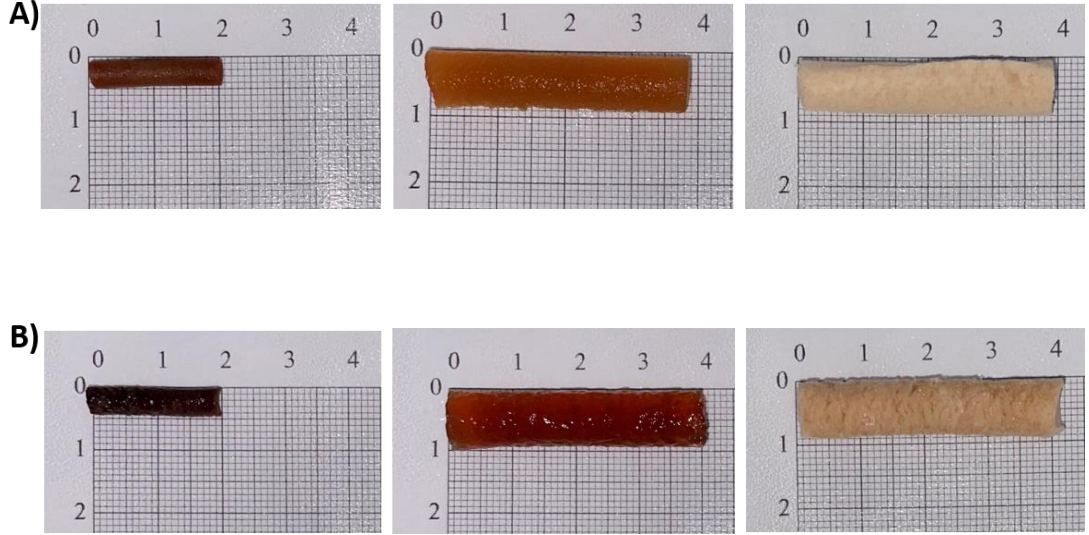
17.5@PAAm hidrojelinin termal kararlılığını incelemek için termal gravimetrik analizi (TGA) yapıldı. İlk olarak hidrojel 100 °C kadar ısıtılması neticesinde %8 ve daha sonra 200 °C üzerinde ise %12 kütle kaybı gözlenmiş olup son olarak 300 °C üzerinde ise hidrojel bozunmaya başlamıştır (Şekil 4.43).



Şekil 4.43. 17.5@PAAm hidroجلي için kaydedilen termogram.

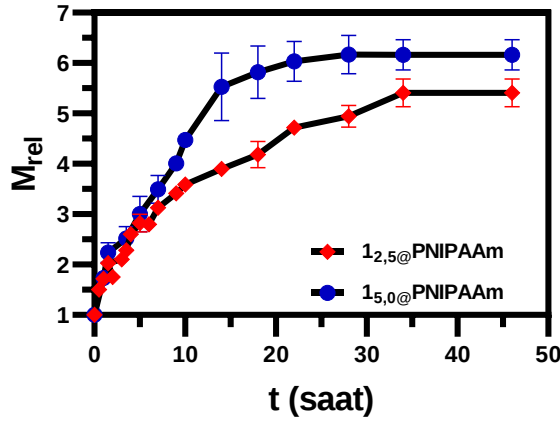
4.5.2 Skuarin 1 ve NIPAAm ile Hidrojel Sentezi ve Karakterizasyonu: 1@PNIPAAm

Bu kısımda ise monomer olarak NIPAAm ve **skuarin 1**, polimer başlatıcı ve çapraz bağlayıcı kullanılmıştır. Tepkime çözücüsü asetonitril ve su karışımı, tepkime sıcaklığı 65 °C ve süresi ise 24 saat olarak optimize edilmiş ve ilgili hidrojellerin (**1@PNIPAAm**) sentezi gerçekleştirilmiştir. Ardından skuarinin 1 farklı konsantrasyonları çalışılmıştır. Yapılan denemeler neticesinde skuarin miktarı 2.5 mg ve 5.0 mg alındığında istenilen sonuçların alınabildiği görülmüştür. Burada kullanılan skuarin miktarına göre hidrojeller; **12.5@PNIPAAm** ve **15.0@PNIPAAm** olarak adlandırılmıştır. Tepkime sonucunda elde edilen hidrojeller asetonitril ve suyla yıkanmıştır ve hidrojellerin dengeye gelmesi beklenmiştir. Bu esnada belli sürelerde çözücü değişimi yapılmış ve tepkimeye girmeyen başlangıç bileşiklerinden arındırma işlemi de gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerin şişmeden önce ve sonraki hallerine ait görseller aşağıda verilmiştir (Şekil 4.44).



Şekil 4.44. Hidrojellerin şişmeden önceki, sonraki ve kuru görüntüleri A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm.

Hidrojellerin (1@PNIPAAm) sentezinin ardından su tutma kabiliyetleri incelenmiştir. Bunun için hidrojeller su içerisinde bekletilmiş ve belirli aralıklarla suyu değiştirilerek tartım işlemleri yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda 12.5@PNIPAAm ve 15.0@PNIPAAm kodlu hidrojellerin sırasıyla 5.4 ve 6 katına kadar şişebildiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.45).

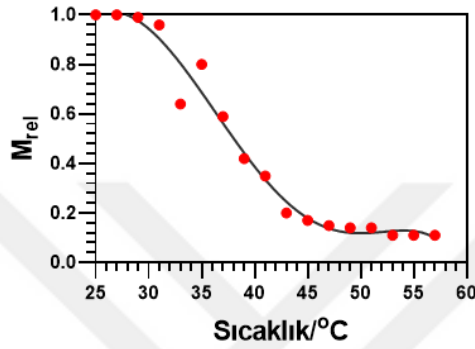


Şekil 4.45. Hidrojellerin 1@PNIPAAm zamana bağlı şişme grafikleri (şişme oranı= m_{rel}).

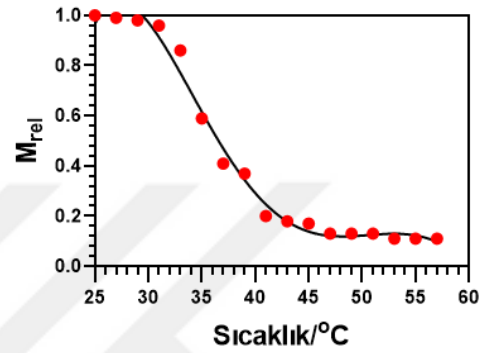
PNIPAAm'ın termo duyarlı olduğu literatürde bilinmektedir (Fu ve Soboyejo, 2010). Bu bilgi doğrultusunda elde edilen hidrojellerin sıcaklığa duyarlılıkları incelenmiştir.

Sıcaklık artırılarak hidrojellerin **1@PNIPAAm** büzüşmeleri kütle değişimleri ölçülmek sureti ile incelenmiştir. Elde edilen veriler sentezlenen hidrojellerin de beklendiği gibi termo duyarlı olduğunu ve sıcaklık arttıkça kütle kaybına uğradıklarını göstermektedir (Şekil 4.46). Ortam sıcaklığı 40 °C üzerine doğru arttıkça hidrojel büzüşme oranının da belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir.

A)

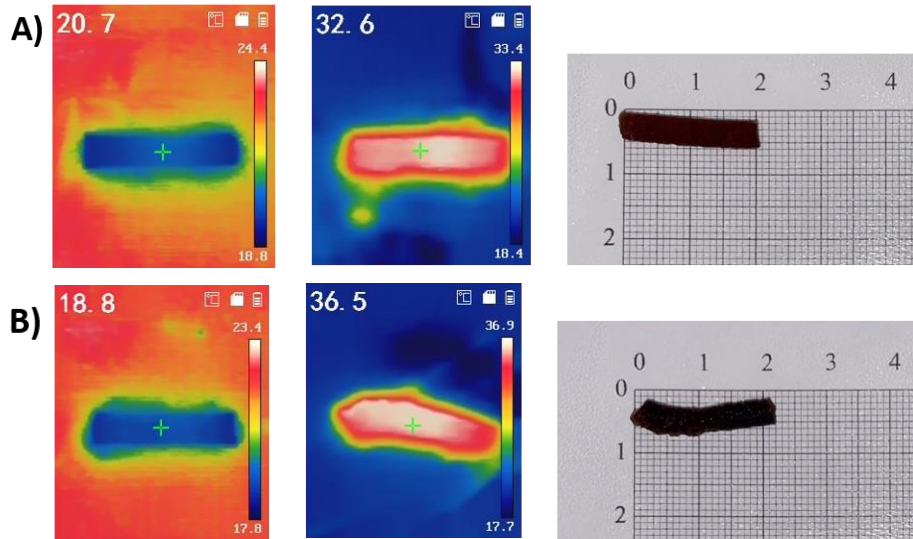


B)



Şekil 4.46. Hidrojellerin sıcaklığa bağlı kütle değişim grafiği (büzüşme oranı= m_{rel}); A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm.

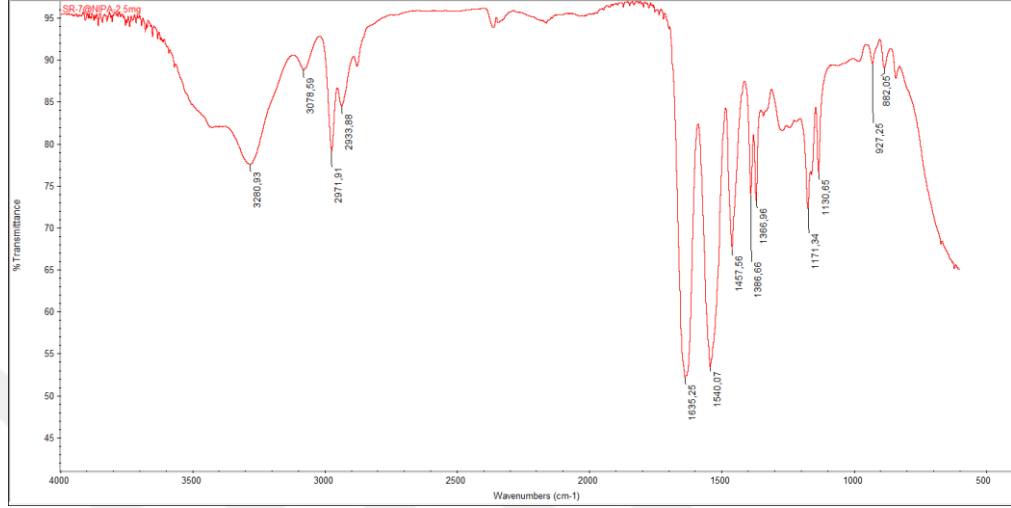
Hidrojellerin sıcaklıkları artırılarak **1@PNIPAAm** büzüşme hareketleri termal kamera ile takip edilmiş ve görüntüleri alınmıştır Şekil 4. 47 de. Ortam sıcaklığı 32 °C başlayan değişim 40 °C tamamen büzüşükleri görülmüştür (Şekil 4. 47)



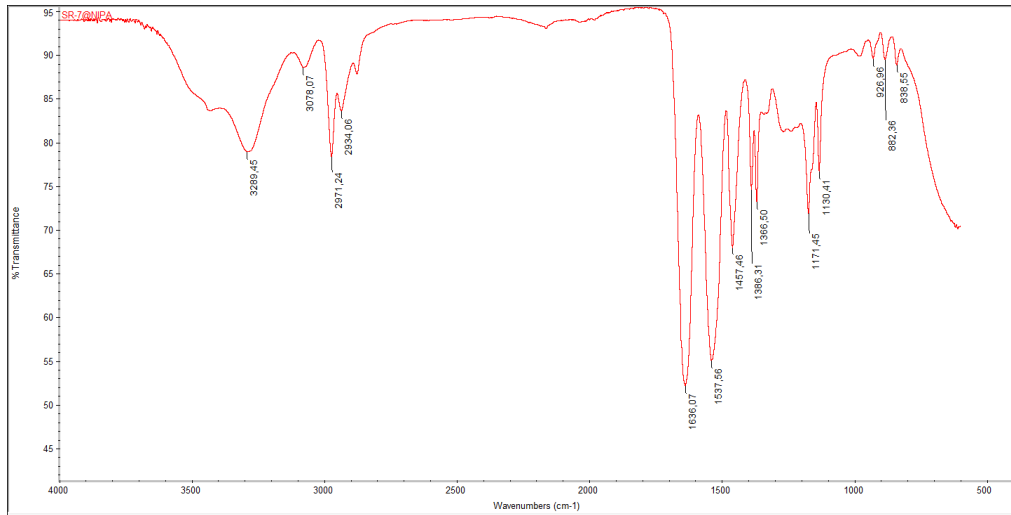
Şekil 4.47. Hidrojellerin sıcaklığa bağlı büzüşme görüntüleri; A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm.

Hidrojellerin (**1@PNIPAAm**) karakterizasyonu FTIR spektrumları (Şekil 4.48) ile yapılmış ve elde edilen spektrumlar aşağıda verilmiştir. Spektrumlar arasında belirgin farklılıklar olmadığı görülmektedir.

A)



B)

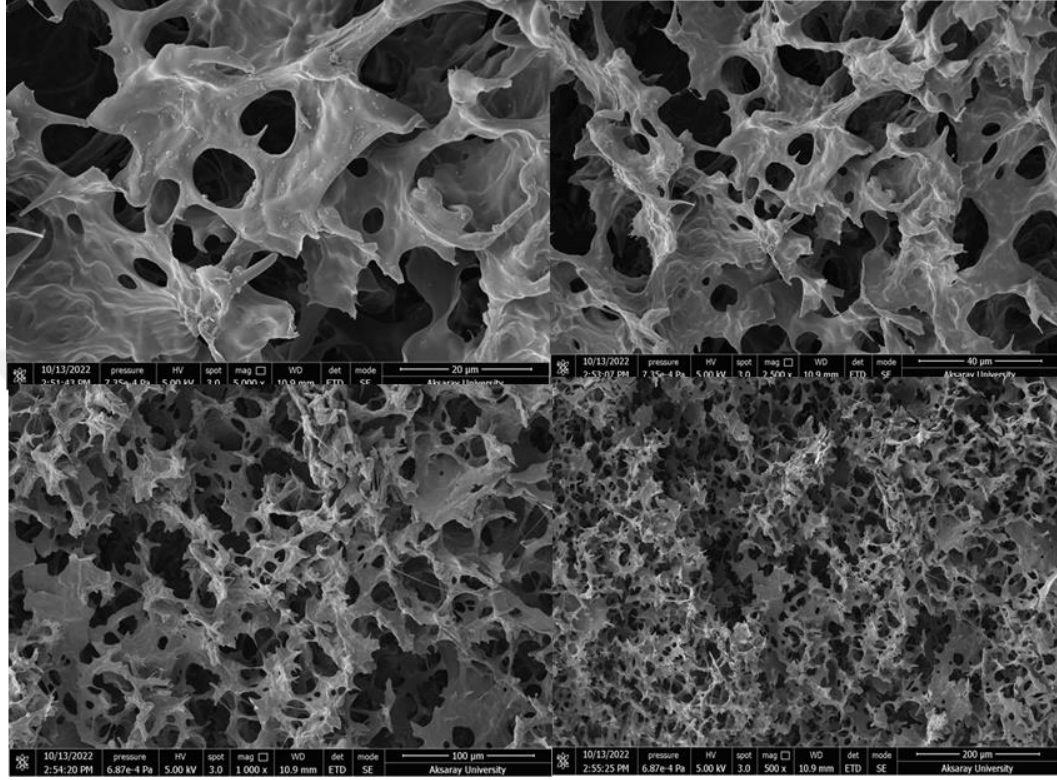


Şekil 4.48. Hidrojellerin FTIR spektrumları: A) 12.5@PNIPAAm, B) 15.0@PNIPAAm.

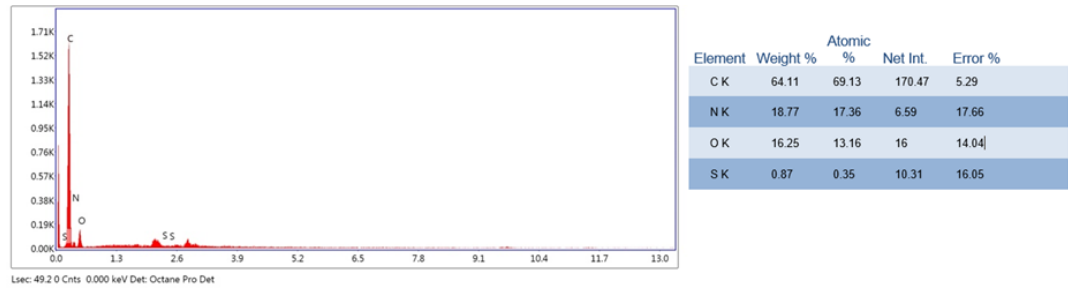
Ardından hidrojellerin **1@PNIPAAm** morfolojik yapıları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve element analizleri ise EDAX analizleri ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler aşağıda sırasıyla verilmiştir (Şekil 4.49 ve Şekil 4.50). Elde edilen

hidrojellerin gözenekli yapıda oldukları ve kükürt elementi içerdikleri analiz sonuçlarından anlaşılmaktadır.

A)

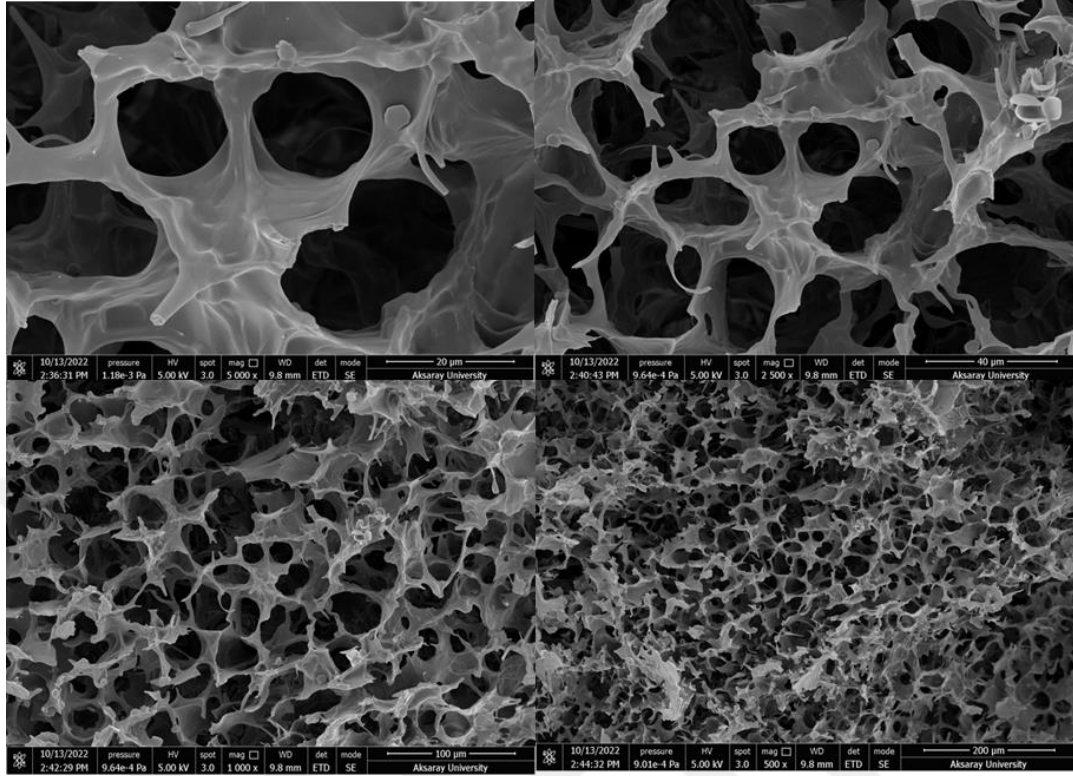


B)

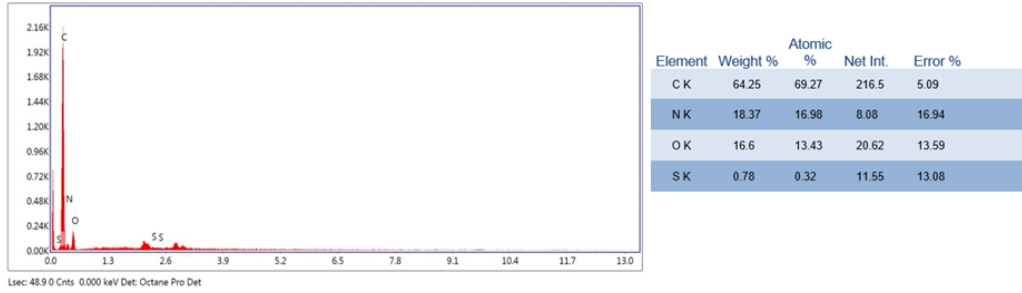


Şekil 4.49. 12.5@PNIPAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.

A)

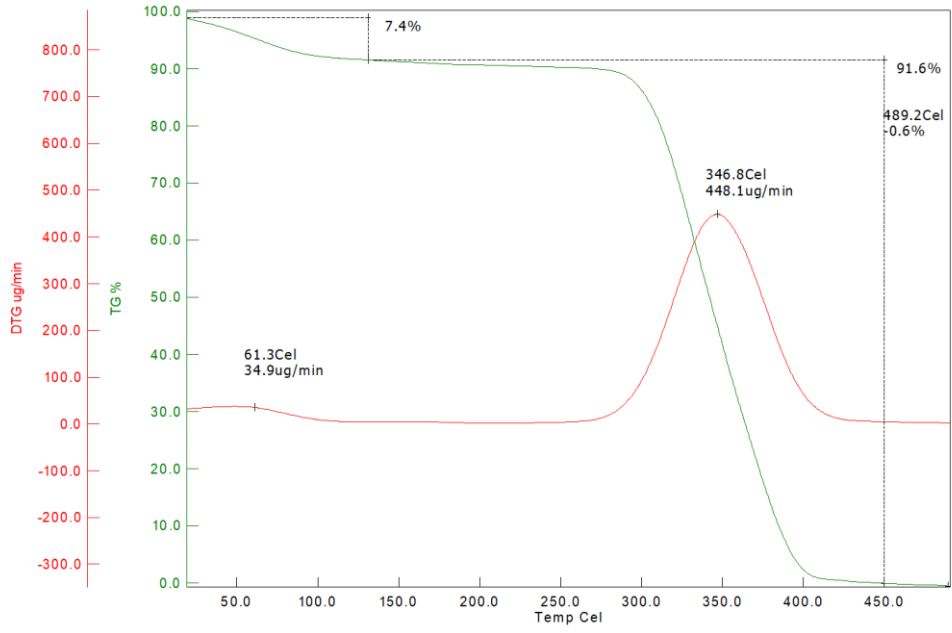


B)



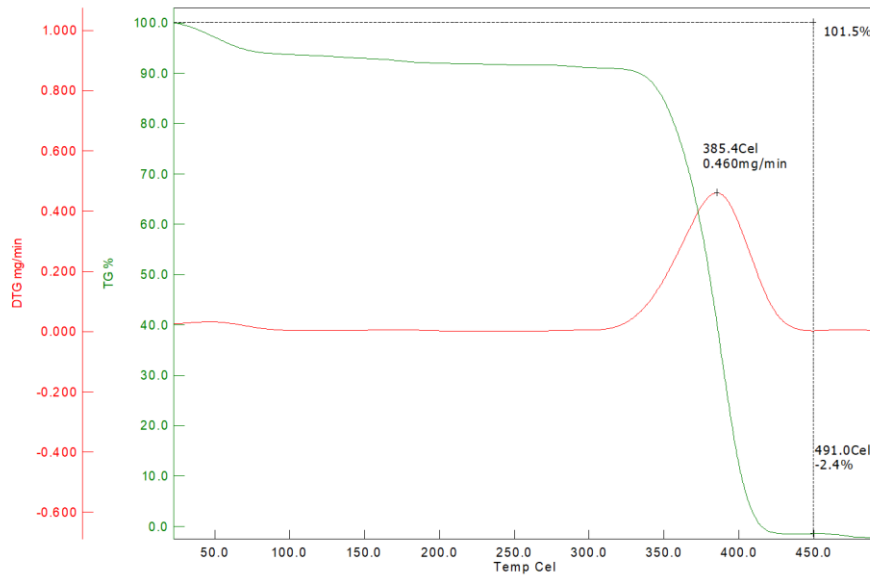
Şekil 4.50. 15.0@PNIPAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.

Hidrojellerin termal davranışlarını incelemek için termal gravimetrik analizleri (TGA) yapılmıştır. 12.5@PNIPAAm hidrojelinin 100 °C kadar ısıtılması neticesinde %7.4'lik muhtemelen su kaybına işaret eden bir durum gözlenmektedir (Şekil 4.51). Daha sonra 350 °C sıcaklığa kadar kütlede önemli bir değişim olmadığı gözlenmiştir. 350 °C üzerindeki sıcaklıklarda ise hidrojel bozunmaya başladığı görülmektedir.



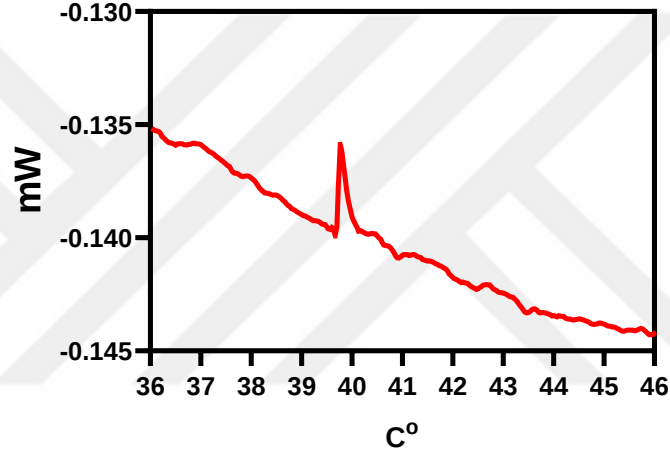
Şekil 4.51. 12.5@PNIPAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

15.0@PNIPAAm hidrojelinin 250 °C ısınmasında madde kaybı gözlemlenmemiştir. 300-350 °C sıcaklığında ise hidrojel bozunmaya başlamıştır (Şekil 4.52).

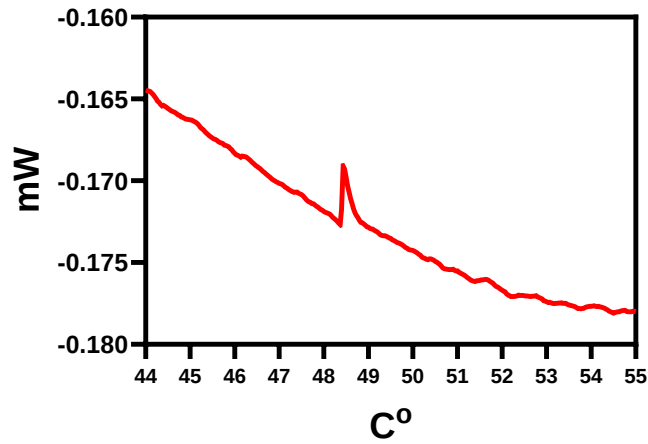


Şekil 4.38. 15.0@PNIPAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

Hidrojellerin **1@PNIPAAm** kaydedilen DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetri) analizleri Şekil 4.53 ve Şekil 4.54 de verilmiştir. LCST (Düşük Kritik Çözelti Sıcaklığı) değerleri molekül ağırlık, polimer konsatrasyonu gibi faktörlere bağlı değişebilir. Farklı miktarlardaki fotoduyarlastırıcıların dahil edilmesi LCST değerini değiştirebilir, polimerin sıcaklığa duyarlılığını etkileyebilir (Belali vd., 2018; Fu ve Soboyejo, 2010). Bu yüzden **1@PNIPAAm** hidrojellerinin DCS analizlerine bakıldığında LCST değerleri **1_{2.5}@PNIPAAm** 39,8 °C (Şekil 4.53) **1_{5.0}@PNIPAAm** 48.5 °C olduğu (Şekil 4.54) gözlemlenmiştir. LCST davranışı sulu ortamdaki sıcaklık değişiklikleriyle ilaç dağılımı, doku mühendisliği ve tepki veren malzemeler gibi çeşitli alanlarda uygulanabilir.



Şekil 4.39. 1_{2.5}@PNIPAAm hidrojel için kaydedilen DSC.



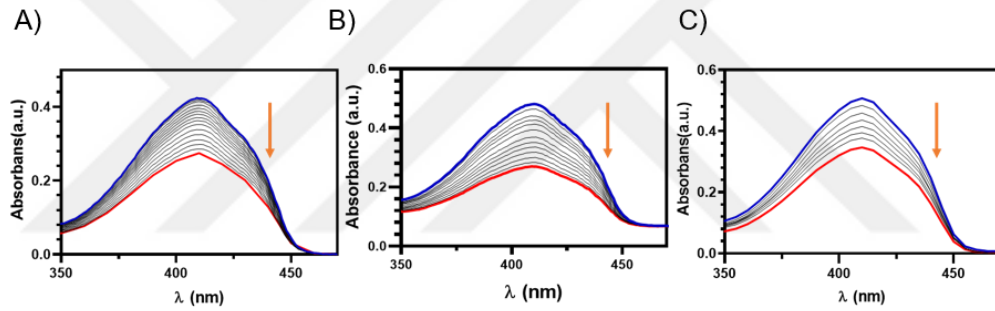
Şekil 4.40. 1_{5.0}@PNIPAAm hidrojel için kaydedilen DSC.

4.6 Skuarin 1 İçeren Hidrojellerin Fotodinamik Özellikleri

Son aşamada **skuarin 1** içeren hidrojellerin fotodinamik özelliklerinin belirlenmesi üzerinde durulmuş ve sırasıyla **1@PAAm** ve **1@PNIPAAm** hidrojelleri test edilmiştir.

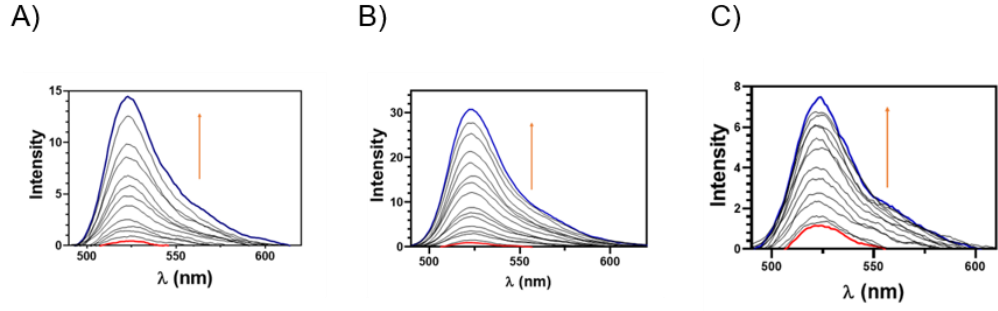
4.6.1 1@PAAm Hidrojelleri

1@PAAm hidrojelleri DPBF varlığında kırmızı ışığa maruz bırakılmak sureti ile fotoduyarlayıcı testlere tabi tutulmuştur. Elde edilen veriler DPBF bileşiğine ait soğurma şiddetinin beklendiği gibi zamanla azaldığını yani ortamda singlet oksijen oluştuğunu göstermektedir (Şekil 4.55).



Şekil 4.55. Hidrojellerin ışınlanması süresince DPBF (2×10^{-5} M) tuzak molekülünün soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler: A) 12.5@PAAm, B) 15.0@PAAm ve C) 17.5@PAAm.

İlave bir test ise tuzak molekül olarak DCFH kullanılarak PBS (pH 7.4) ortamında yapılmıştır. Hidrojellerin **1@PAAm** DCFH ile PBS (pH 7.4) ortamında yapılan testlerinden de iyi neticeler alınmış olup **skuarin 1** entegre edilen hidrojellerin fotoduyarlayıcı özellik gösterdiği net bir şekilde ortaya konmuştur (Şekil 4.56).

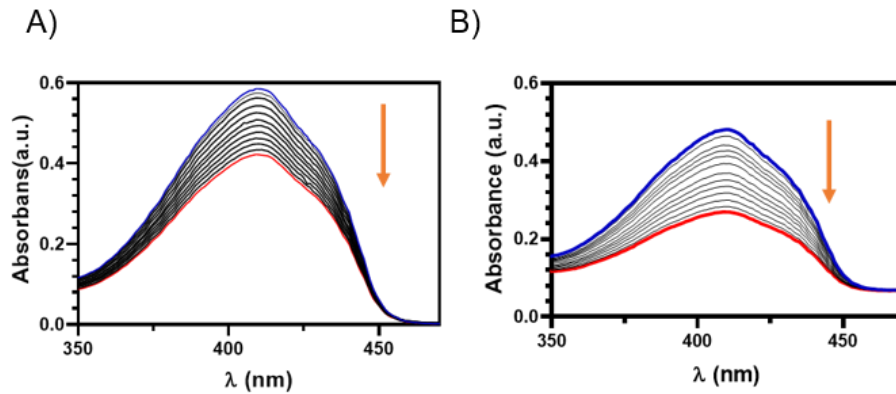


Şekil 4.41. Hidrojellerin DCFH ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında PBS (pH 7.4) ortamında kırmızı ışığa maruz bırakılması süresince kaydedilen floresans spektrumları: A) $12.5@PAAm$, B) $15.0@PAAm$ ve C) $17.5@PAAm$.

Sonuç olarak tüm bu veriler elde edilen **1@PAAm** hidrojellerinin singlet oksijen üretebildiklerine işaret etmektedir.

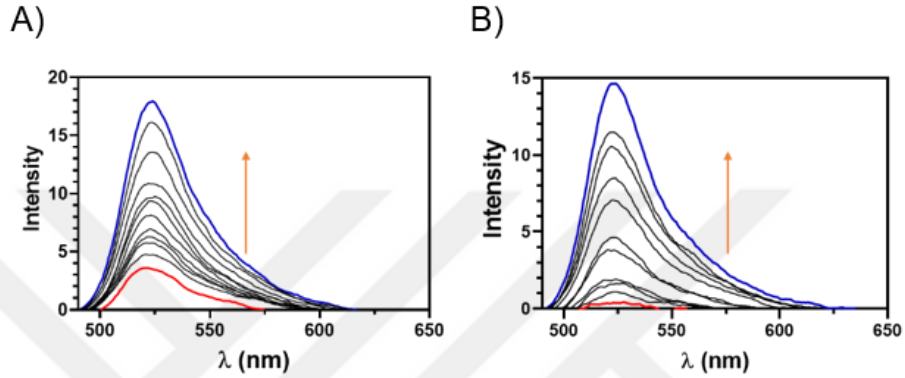
4.6.2 1@PNIPAAm Hidrojelleri

Bu aşamada **1@PNIPAAm** hidrojellerinin DPBF varlığında kırmızı ışığa maruz bırakılmak sureti ile fotoduyarlastırıcı testleri yapılmıştır. Işınlama süresince çözeltinin soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler kaydedilmiştir. DPBF bileşiği ortamda ROT oluşması halinde tepkime verir ve soğurma şiddetinde azalma gözlenir. Test sonuçları DPBF bileşiğine ait soğurma şiddetinin beklendiği gibi zamanla azaldığını göstermektedir (Şekil 4.57).



Şekil 4.57. Hidrojellerin ışınlanması süresince DPBF tuzak molekülünün soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler: A) $12.5@PNIPAAm$ ve B) $15.0@PNIPAAm$.

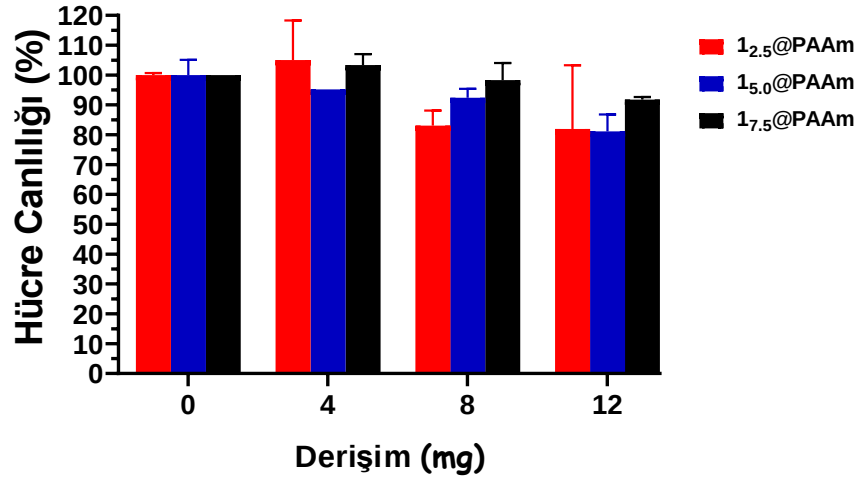
İlave bir test ise tuzak molekül olarak DCFH kullanılarak PBS (pH 7.4) ortamında yapılmıştır. DCFH bileşiği ortamda ROT bulunması halinde tepkime verir ve floresans şiddetinde artış gözlenir. **1@PNIPAAm** hidrojelleri ve DCFH ile PBS (pH 7.4) ortamında yapılan testlerden de olumlu neticeler alınmış olup (Şekil 4.58) skuarin 1 entegre edilen hidrojellerin fotoduyarlayıcı özellik gösterdiği net bir şekilde ortaya konmuştur.



Şekil 4.42. Hidrojellerin DCFH ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında PBS (pH 7.4) ortamında kırmızı ışığa maruz bırakılması süresince kaydedilen floresans spektrumları: A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm.

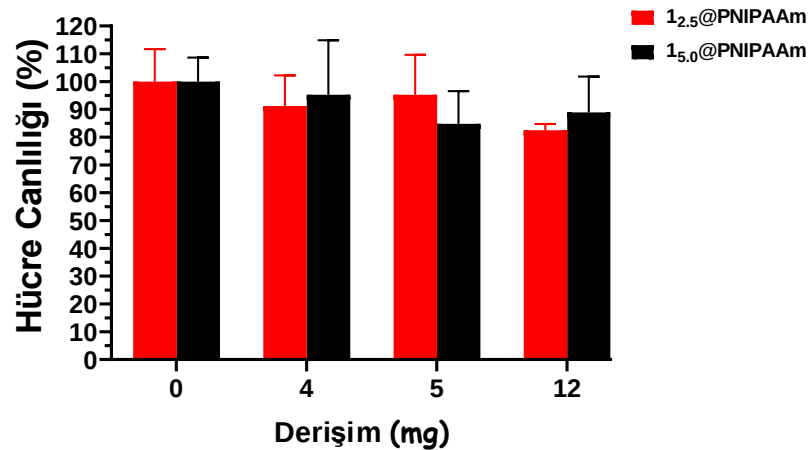
4.7 Skuarin 1 İçeren Hidrojellerin *in vitro* FDT testleri

Skuarin 1 içeren hidrojellerin (**12.5@PAAm**, **15.0@PAAm**, **17.5@PAAm**, **12.5@PNIPAAm**, **15.0@PNIPAAm**). Karanlık toksisitesinin (ve biyoyumumluluğunun) belirlenmesi üzerinde durulmuştur. Bunun için sağlıklı kontrol hattı olarak yine L929 (ATCC® CRL-6364™) (fibroblast) hücreleri kullanılmıştır. L929 hücreleri değişik konsantrasyonlarda **Skuarin 1** içeren hidrojeller ile inkübe edilmiştir. **Skuarin 1** içeren hidrojellerin **12.5@PAAm**, **15.0@PAAm** ve **17.5@PAAm** hücre canlılık oranına etkisi MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) protokolü izlenerek belirlenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 4.59’de verilmiştir. Özetle, skuarin 1 içeren hidrojellerin farklı konsantrasyonlarda toksik etki göstermediği ve hücrelerin yaklaşık %80 oranlarında canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir (Şekil 4.59).



Şekil 4.43. Skuarin 1 içeren PAAm hidrojel­leri ile inkübe edilen L929 hücreleri için canlılık oranları. A) 12.5@PAAm, B) 15.0@PAAm ve C) 17.5@PAAm.

Skuarin 1 içeren PNIPAAm hidrojellerinin (12.5@PNIPAAm ve 15.0@PNIPAAm) L929 hücrelerinin canlılık oranına etkisi yine MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) protokolü izlenerek belirlenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 4.60’da verilmiş olup bu hidrojellerin de önemli oranda bir toksik etki göstermediği ve hücrelerin yaklaşık %80 oranlarında canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir (Şekil 4.60).

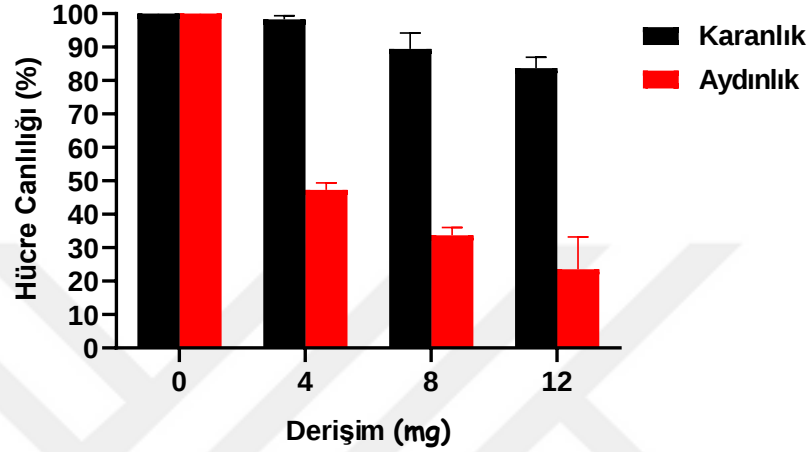


Şekil 4.60. Skuarin 1 içeren PNIPAAm hidrojel­leri ile inkübe edilen L929 hücreleri için canlılık oranları. 12.5@PNIPAAm ve 15.0@PNIPAAm.

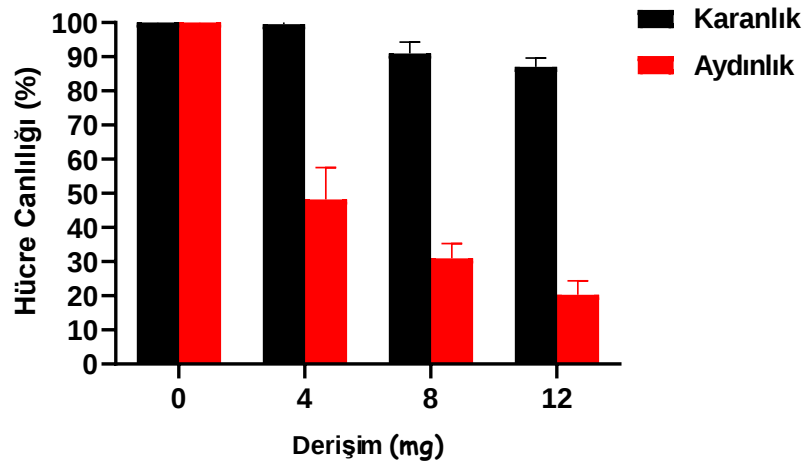
Sonraki aşamada kanser hücreleri ile fotodinamik testlere geçilmiştir. SK-MEL-30

(DSMZ no.:ACC 151) kanser hücreleri farklı miktarlarda PAAm hidrojelleriyle inkübe edilerek kontrol grupları karanlıkta bırakılırken (siyah barlar) deney grupları kırmızı ışıkla aydınlatılmıştır (kırmızı barlar). Her iki grup için hücre canlılıkları MTT protokolü izlenerek belirlenmiş olup sonuçlar aşağıda verilmiştir (Şekil 4.61).

A)12.5@PAAm

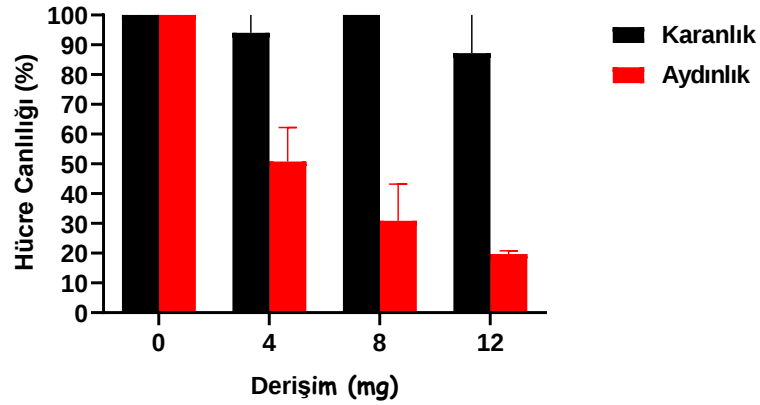


B)15.0@PAAm



Şekil 4.61. Skuarin 1 içeren PAAm hidrojellerinin *in vitro* fotoduyarlastırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri. A) 12.5@PAAm, B) 15.0@PAAm.

C) 17.5@PAAm

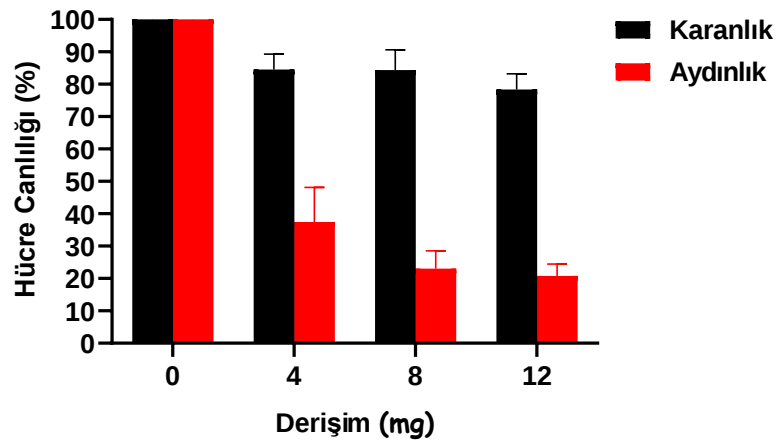


Şekil 4.61. Skuarin 1 içeren PAAm hidrojellerinin *in vitro* fotoduyarlaştırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri. C) 17.5@PAAm. (devam)

Elde edilen veriler **Skuarin 1** içeren PAAm hidrojellerinin *in vitro* fotoduyarlaştırıcı özellik gösterdiğini kanıtlamaktadır. Böylece sırasıyla A) 12.5@PAAm, B) 15.0@PAAm ve C) 17.5@PAAm hidrojellerin etkin olduğu ve 12 mg derişimlerde kanser hücrelerini fototoksik etki göstermek sureti ile %77, %80, %81 oranına kadar inhibe ettiği tespit edilmiştir.

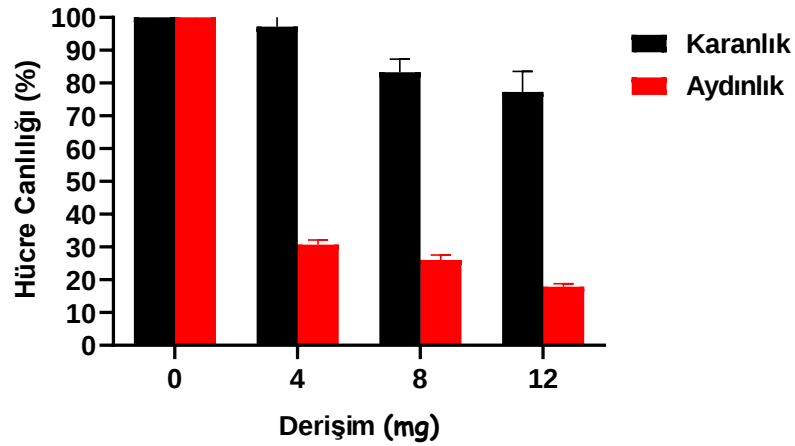
Benzer çalışmalar **Skuarin 1** içeren PNIPAAm hidrojelleri ile de yapılmıştır. Elde edilen veriler Şekil 4.62’de verilmiştir.

A) 12.5@PNIPAAm



Şekil 4.62. Skuarin 1 içeren PNIPAAm hidrojellerin *in vitro* fotoduyarlaştırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri. A) 12.5@PNIPAAm.

B) 15.0@PNIPAAm

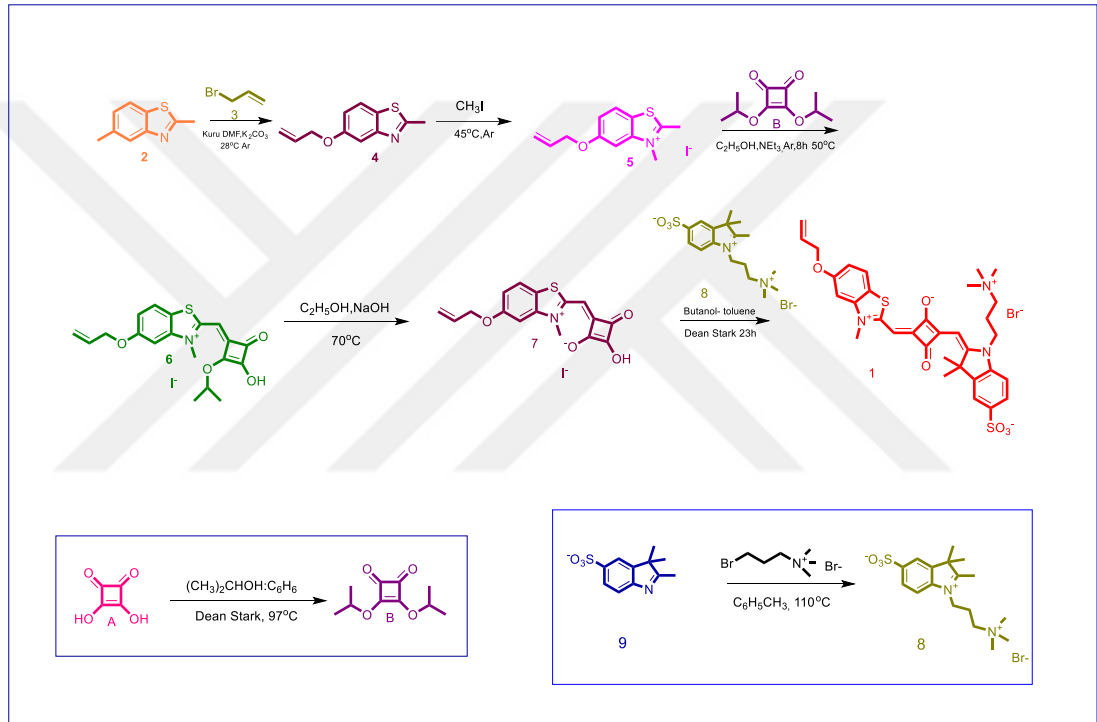


Şekil 4.62. Skuarin 1 içeren PNIPAAm hidrojjellerin *in vitro* fotoduyarlaştırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri. B) 15.0@PNIPAAm. (devam)

Elde edilen veriler **Skuarin 1** içeren PNIPAAm hidrojjellerinin *in vitro* fotoduyarlaştırıcı özellik gösterdiğini kanıtlamaktadır. Böylece sırasıyla **A) 12.5@PNIPAAm** ve **B) 15.0@PNIPAAm** hidrojjellerin etkin olduğu ve 12 mg derişimlerde kanser hücrelerini fototoksik etki göstermek sureti ile %80, %82 oranına kadar inhibe ettiği tespit edilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Skuarinlerin suda çözünmeyen düzlemsel hidrofobik yapıları uygulamalarını önemli ölçüde kısıtlamaktadır. Suda çözünmemeleri skuarinlerin FDT ve biyogörüntüleme ajanı olarak kullanılmasına engel olurken suda çözünür moleküler yapılar geliştirilmesi gerekmektedir. Tez kapsamında tasarlanan skuarin 1 yapısında bulunan iyonik gruplara ile suda çözünür hale getirilmiştir, üstelik , yüksek soğurma, emisyon ve yüksek kuantum verimine sahiptir. Böylece tez kapsamında skuarinlerin suda çözünmemesi sorunu ortadan kaldırılabilecek getirecek skuarin 1 tasarlanmıştır ve sentezlenmiştir ardından FDT, biyogörüntüleme ve hidrojel çalışmaları test edilmiştir.



Şekil 5.1. Genel sentez şeması.

Skuarin 1 Şekil 5. 1 de gösterildiği gibi yedi reaksiyon basamağı ile elde edildi. 2-metilbenzo[d]tiyazol-5-ol (**2**) DMF içerisinde K_2CO_3 varlığında alil bromür (**3**) ile etkileştirilmiş ve O-alkilasyon reaksiyonu ile bileşik **4** elde edilmiştir. Bileşik **4** iyodometan ile 45 °C’de muamele edilmek suretiyle indoline **5** çevrilmiştir. Daha sonra 3,4-diizopropokzisiklobüt-3-en-1,2-dion (**B**) literatürde bilinen bir yöntem kullanılarak skuarik asitten (**A**) sentezlenmiştir. İndolin **5** ile **B** etanol içerisinde $(C_2H_5)_3N$ varlığında tepkimeye sokulmuş ve bileşik **6** elde edilmiştir. Daha sonra bileşik **6** etanol içerisinde NaOH ile 70 °C’de hidroliz edildi ve semi-skuarat **7** elde edilmiştir. Bileşik **8** başlangıç bileşiği olarak indolin **9** alınarak literatürde bilinen bir

yöntem üzerinden elde edilmiştir. Bileşik **8** ve semi-skuarat **7** Dean-Stark tuzağı kullanılarak 115 °C’de bütanol-benzen karışımında sentezlendi. Hedef skuarinin yapısı ¹H NMR, ¹³C NMR ve LC-MS ile karakterize edildi. Ardından **Skuarin 1**’in fotofiziksel özellikleri soğurma ve emisyon spektrumları ile belirlendi.

Skuarinin 1 in yapılan analiz sonuçları ele alındığında, kırmızı bölgede soğurma ve emisyon yaptığı gözlemlendi. Elde edilen veriler **skuarin 1** hem organik çözücülerde hem de sulu ortamda (PBS, pH 7,4) tahmin edildiği gibi kırmızı bölgede fotoduyarlastırıcı olarak kullanılabileceğini gösterdi. Daha sonra *in vitro* testlere geçildi ve öncelikle L929 (ATCC® CRL-6364™) hücreleri ile inkübe edilerek biyoyumlu olduğu gösterildi. **Skuarin 1**’in kanserli hücre SK-MEL 30/An1 da kolayca internalize olduğu ve canlı hücrelerde floresans görüntüleme yapabildiği ortaya konuldu. **Skuarinin 1** DPBF ve DCFH gibi tuzak moleküllerle reaktif oksijen türleri (ROT) üretebildiğini gösterildi ve kimyasal testlerle fotodinamik özellikleri belirlendi. Bu testlerden sonra **skuarin 1**’in *in vitro* testleri yapıldı. Bu testler kanser hücresi ile inkübe edildikten sonra konsantrasyona bağlı farkların MTT testiyle canlılık oranı belirlendi. **Skuarin 1** 25 µg/ml derişimde kanser hücrelerini fototoksik etki göstermek sureti ile %71 oranına kadar inhibe ettiği tespit edildi. Yapılan testler neticesinde **skuarinin 1** fibroblast sağlıklı hücrelerde biyoyumlu olduğunu, kanserli hücre hattı SK-MEL 30/An1 biyogörüntülemeye kullanılabileceği ve fotodinamik terapi için bir uygun ajan olabileceği gösterildi.

Çalışmamın ikinci aşamasında hidrojellerin sentezi ve uygulamalarına geçildi. **Skuarin 1** N,N'-Metilenbisakrilamid (MBA) çapraz bağlayıcı ile Akrilamid (AAm) monomerinin hidrojel ağ yapısına katılmasıyla **Sq1@PAAm** hidrojelleri (**12.5@PAAm**, **15.0@PAAm** ve **17.5@PAAm** elde edildi. Hidrojellerin şişme hesaplandı. Morfolojik yapıları karakterize etmek için SEM analizi yapıldı aynı zamanda EDAX analizleriyle elementel analizleri gerçekleştirildi. Ardından FTIR ve termal gravimetrik analizleri (TGA) yapıldı. Hidrojellerin DCFH ve DPBF varlığında PBS (pH 7.4) ortamlarında tuzak moleküllerinin kırmızı ışığa maruz bırakılmasıyla konsantrasyona bağlı ROT üretme yetenekleri incelendi. Sonuçlar hidrojellerin ROT ürettiklerini kanıtlamaktadır.

Skuarin 1 monomer olarak N-izopropilakrilamid (NIPAAm) alınmıştır. **1@PNIPAAm** hidrojellerinin sıcaklığa karşı duyarlılıkları incelendi. **1@PNIPAAm** hidrojellerinin LCST değerleri DSC analizi ile değerlendirildi ve 40 °C ve 48 °C olduğu belirlendi. NIPAAm monomerinin sıcaklığa olan duyarlılığı büzüşme yeteneğiyle dikkat çekti sıcaklığa bağlı kütle değişimi kaydedildi. 35-37 °C olan vücut sıcaklığında % 50 kütle kaybına uğrarken 50 °C tümüyle büzüştüğü görüldü. Sıcaklığa bağlı termo duyarlı olması şişme/büzüşme özelliği PNIPAAm monomerinin karakteristik özelliğinden dolayı ilaç salınımını kolaylaştıran biyomedikal uygulamalarında tercih edilebileceğini belirledi. Morfolojik yapıları karakterize etmek için SEM analizi yapıldı aynı zamanda EDAX analizleriyle elementel analizleri gerçekleşti. Ardından FTIR ve termal gravimetrik analizleri (TGA) analizleri yapıldı. Hidrojellerin DCFH ve DPBF varlığında PBS (pH 7.4) ortamlarında tuzak moleküllerinin kırmızı ışığa maruz bırakılmasıyla konsatrasyona bağlı ROT üretme yetenekleri incelendi. Sonuç hidrojellerin ROT ürettikleri kanıtlandı.

Son olarak hidrojellerin *in vitro* FDT testleri yapılmıştır. Bu kısımda hidrojeller kanser hücreleri ile inkübe edilerek kırmızı ışıkla aydınlatılmış ve uygulama/kontrol grupları arasındaki farklar MTT testleri ile belirlendi. Elde edilen veriler hidrojellerin *in vitro* koşullarda da fotoduyarlastırıcı özellik gösterdiğine işaret etti.

KAYNAKLAR

- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., Hahn, S. M., Hamblin, M. R., Juzeniene, A., Kessel, D., Korbelik, M., Moan, J., Mroz, P., Nowis, D., Piette, J., Wilson, B. C., ve Golab, J., 2011. Photodynamic therapy of cancer: An update, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61, 4, 250–218.
- Algi, M. P., ve Sarıgöl, R., 2023. Cross-linker engineering of hydrogel enables photothermal therapy and controlled drug release, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 89, 104993.
- Arunkumar, E., Sudeep, P. K., Kamat, P. V., Noll, B. C., ve Smith, B. D., 2007. Singlet oxygen generation using iodinated squaraine and squaraine-rotaxane dyes, *New Journal of Chemistry*, 31, 5, 677–683.
- Azadikhah, F., Karimi, A. R., Yousefi, G. H., ve Hadizadeh, M., 2021. Dual antioxidant-photosensitizing hydrogel system: Cross-linking of chitosan with tannic acid for enhanced photodynamic efficacy, *International Journal of Biological Macromolecules*, 188, 114–125.
- Belali, S., Savoie, H., O'Brien, J. M., Cafolla, A. A., O'Connell, B., Karimi, A. R., Boyle, R. W., ve Senge, M. O., 2018. Synthesis and Characterization of Temperature-Sensitive and Chemically Cross-Linked Poly(N-isopropylacrylamide) /Photosensitizer Hydrogels for Applications in Photodynamic Therapy, *Biomacromolecules*, 19, 5, 1592–1601.
- Bermejo-Velasco, D., Kadekar, S., Tavares Da Costa, M. V., Oommen, O. P., Gamstedt, K., Hilborn, J., ve Varghese, O. P., 2019. First Aldol Cross-Linked Hyaluronic Acid Hydrogel: Fast and Hydrolytically Stable Hydrogel with Tissue Adhesive Properties, *ACS Applied Materials and Interfaces*, 11, 41, 38232–38239.
- Beverina, L., ve Salice, P., 2010. Squaraine compounds: Tailored design and synthesis towards a variety of material science applications, *European Journal of Organic Chemistry*, 7, 1207–1225.
- Bordignon, N., Köber, M., Chinigò, G., Pontremoli, C., Sansone, E., Vargas-Nadal, G., Moran Plata, M. J., Fiorio Pla, A., Barbero, N., Morla-Folch, J., ve Ventosa, N., 2023. Quatsomes Loaded with Squaraine Dye as an Effective Photosensitizer for Photodynamic Therapy, *Pharmaceutics*, 15, 3, 902.
- Butnarusu, C., Barbero, N., Viscardi, G., ve Visentin, S., 2021. Unveiling the interaction between PDT active squaraines with ctDNA: A spectroscopic study, *Spectrochimica Acta- Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 250, 119224.
- Cai, C., Zhu, H., Chen, Y., Guo, Y., Yang, Z., Li, H., ve Liu, H., 2022. Mechanoactive Nanocomposite Hydrogel to Accelerate Wound Repair in Movable Parts, *ACS Nano*, 16, 12, 20044–20056.

- Chen, X., Ma, X., Yang, G., Huang, G., Dai, H., Liu, N., ve Yu, J., 2023. Squaraine nanoparticles for optoacoustic imaging-guided synergistic cancer phototherapy, *Nanophotonics*, 12, 18, 3645–3652
- Cui, Z., Ji, R., Xie, J., Wang, C., Tian, J., ve Zhang, W., 2024. Tumor Microenvironment-Triggered Self-Adaptive Polymeric Photosensitizers for Enhanced Photodynamic Therapy, *Biomacromolecules*, 25, 4, 2302–2311.
- Ferdinandus, N., Joo, C., Kai, D., ve Lee, C. L. K., 2023. Synergistic antibacterial action of lignin-squaraine hybrid photodynamic therapy: advancing towards effective treatment of antibiotic-resistant bacteria, *Journal of Materials Chemistry B*, 11, 25, 5748–5751.
- Fu, G., ve Soboyejo, W. O., 2010. Swelling and diffusion characteristics of modified poly (N-isopropylacrylamide) hydrogels, *Materials Science and Engineering C*, 30, 1, 8–13.
- Gavas, S., Quazi, S., ve Karpiński, T. M., 2021. Nanoparticles for Cancer Therapy: Current Progress and Challenges, *Nanoscale Research Letters*, 16, 1, 173.
- Hyun, H., Bordo, M. W., Nasr, K., Feith, D., Lee, J. H., Kim, S. H., Ashitate, Y., Moffitt, L. A., Rosenberg, M., Henary, M., Choi, H. S., ve Frangioni, J. V., 2012. cGMP-Compatible preparative scale synthesis of near-infrared fluorophores, *Contrast Media and Molecular Imaging*, 7, 6, 516–524.
- Ilina, K., MacCuaig, W. M., Laramie, M., Jeouty, J. N., McNally, L. R., ve Henary, M., 2020. Squaraine Dyes: Molecular Design for Different Applications and Remaining Challenges, *Bioconjugate Chemistry*, 31, 2, 194–213.
- Ito, A. M., Paul, M., Padaga, S. G., Ghosh, B., ve Biswas, S., 2022. Nanotherapeutic Intervention in Photodynamic Therapy for Cancer, *ACS Omega* 7, 50, 45882–45909.
- Jin, E., Yang, Q., Ju, C. W., Chen, Q., Landfester, K., Bonn, M., Müllen, K., Liu, X., ve Narita, A., 2021. A Highly Luminescent Nitrogen-Doped Nanographene as an Acid- And Metal-Sensitive Fluorophore for Optical Imaging, *Journal of the American Chemical Society*, 143, 27, 10403–10412.
- Kaur, R., Bhardwaj, A., ve Gupta, S., 2023. Cancer treatment therapies: traditional to modern approaches to combat cancers, *Molecular Biology Reports* 50, 11, 9663–9676.
- Khattak, S., Ullah, I., Xie, H., Tao, X. D., Xu, H. T., ve Shen, J., 2024. Self-healing hydrogels as injectable implants: Advances in translational wound healing, *Coordination Chemistry Reviews*, 509, 215790.
- Li, L., Zhao, W., Qu, Z., Shi, L., Tan, S., Ha, E., Jia, T., ve Sun, T., 2020. Novel phthalocyanine-based micelles/PNIPAM composite hydrogels: spatially/temporally controlled drug release triggered by NIR laser irradiation, *New Journal of Chemistry*, 44, 21, 8705–8709.

- Li, X., Wang, Y., Shi, Q., Zhen, N., Xue, J., Liu, J., Zhou, D., ve Zhang, H., 2022. Zein-Based Nanomedicines for Synergistic Chemodynamic/Photodynamic Therapy, *ACS Omega*, 7, 33, 29256–29265.
- Lima, E., Barroso, A. G., Ferreira, O., Boto, R. E., Fernandes, J. R., Almeida, P., Silvestre, S. M., Santos, A. O., ve Reis, L. V., 2023. Benz[e]indole-bearing aminosquaraine dyes: Which of the amines introduced into the squaric ring will be able to induce the best *in vitro* photodynamic effect, *Dyes and Pigments*, 215, 111239.
- Liu, H., Tomooka, C. S., ve Moore, H. W., 1997. An efficient general synthesis of squarate esters, *Synthetic Communications*, 27, 12, 2177–2180.
- Lu, M., Zhang, Y., Li, B., Li, X., Xu, S., Li, Z., ve Yang, B., 2018. Enhanced visible-light photocatalytic decomposition of malachite green over squaraines sensitized SnIn₄S₈ composites and effect of dye structure on photocatalytic behaviors, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29, 15, 12856–12870.
- Mavileti, S. K., Bila, G., Utkar, V., Bila, E., Kato, T., Bilyy, R., ve Pandey, S. S., 2024. Photophysical Characterization and Biointeractions of NIR Squaraine Dyes for *in Vitro* and *in Vivo* Bioimaging, *ACS Applied Bio Materials*, 7, 1, 416–428.
- Ni, J., Yin, X., Liao, S., Cai, M., Zhu, R., Fu, T., Du, Y., Kong, J., Zhang, Y., Qu, C., ve Dong, X., 2023. Antitumor Effect of Photodynamic Therapy/Sonodynamic Therapy/ Sono-Photodynamic Therapy of Chlorin e6 and Other Applications, *Molecular Pharmaceutics*, 20, 2, 875–885.
- Pamuk Algi, M., ve Sarıgöl, R., 2024. Squaraine-containing polymeric nanoparticles enable photodynamic and photothermal therapy of cancer cells, *Dyes and Pigments*, 226, 112138.
- Park, Y., Park, M. H., ve Hyun, H., 2024. Tumor-Targeted Squaraine Dye for Near-Infrared Fluorescence-Guided Photodynamic Therapy, *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 6, 3428.
- Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. D. P., Acosta-Torres, L. S., Diaz-Torres, L. A., Grillo, R., Swamy, M. K., Sharma, S., Habtemariam, S., ve Shin, H. S., 2018. Nano based drug delivery systems: Recent developments and future prospects, *Journal of Nanobiotechnology* 16, 1, 33.
- Qi, Y., Min, H., Mujeeb, A., Zhang, Y., Han, X., Zhao, X., Anderson, G. J., Zhao, Y., ve Nie, G., 2018. Injectable Hexapeptide Hydrogel for Localized Chemotherapy Prevents Breast Cancer Recurrence, *ACS Applied Materials and Interfaces*, 10, 8, 6972–6981.
- Ramaiah, D., Joy, A., Chandrasekhar, N., Eldho, N. V., Das, S., ve George, M. V., 1997. Halogenated squaraine dyes as potential photochemotherapeutic agents. Synthesis and study of photophysical properties and quantum efficiencies of singlet oxygen generation, *Photochemistry and Photobiology*, 65, 5, 783–790.

- Serpe, L., Ellena, S., Barbero, N., Foglietta, F., Prandini, F., Gallo, M. P., Levi, R., Barolo, C., Canaparo, R., ve Visentin, S., 2016. Squaraines bearing halogenated moieties as anticancer photosensitizers: Synthesis, characterization and biological evaluation, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 113, 187–197.
- Siddiq, A. J., Shrivastava, N. K., Ali Mohsin, M. E., Abidi, M. H., Shaikh, T. A., ve El-Meligy, M. A., 2019. Preparation of letrozole dispersed pHEMA/AAm-g-LDPE drug release system: In-vitro release kinetics for the treatment of endometriosis, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 179, 445–452.
- Son, J., Yi, G., Yoo, J., Park, C., Koo, H., ve Choi, H. S., 2019. Light-responsive nanomedicine for biophotonic imaging and targeted therapy, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 138, 133–147.
- Song, M., Zhu, L., Zhang, L., Ge, X., Cao, J., Teng, Y., ve Tian, R., 2023. Combination of Molecule-Targeted Therapy and Photodynamic Therapy Using Nanoformulated Verteporfin for Effective Uveal Melanoma Treatment, *Molecular Pharmaceutics* 21, 5, 2340-2350.
- Tian, S., Wang, M., Wang, X., Wang, L., Yang, D., Nie, J., ve Ma, G., 2022. Smart Hydrogel Sensors with Antifreezing, Antifouling Properties for Wound Healing, *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 8, 5, 1867–1877.
- 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.
- Turkkol, A., Can Karanlık, C., Caliskan, S. G., Bilgin, M. D., Erdoğan, A., ve Güzel, E., 2023. Hybrid Sono-Photodynamic Combination Therapy Mediated by Water-Soluble Gallium Phthalocyanine Enhances the Cytotoxic Effect against Breast Cancer Cell Lines, *ACS Applied Bio Materials*, 7, 5, 2725-2733
- Wu, S., Zhu, W., Thompson, P., ve Hannun, Y. A., 2018. Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors, *In Nature Communications* 9, 1, 3490.
- Xie, Y. Y., Zhang, Y. W., Liu, X. Z., Ma, X. F., Qin, X. T., Jia, S. R., ve Zhong, C., 2021. Aggregation-induced emission-active amino acid/berberine hydrogels with enhanced photodynamic antibacterial and anti-biofilm activity, *Chemical Engineering Journal*, 413, 127542.
- Yadav, Y., Owens, E., Nomura, S., Fukuda, T., Baek, Y., Kashiwagi, S., Choi, H. S., ve Henary, M., 2020. Ultrabright and Serum-Stable Squaraine Dyes, *Journal of Medicinal Chemistry*, 63, 17, 9436–9445.
- Yang, M., Lu, X., Tang, L., Fu, Y., ve Yang, P., 2020. Thermosensitive nanocomposite gel loaded zinc phthalocyanine for photodynamic therapy, *Journal of Polymer Research*, 27, 1, 10.

Zhang, X., Feng, J., Feng, W., Xu, B., Zhang, K., Ma, G., Li, Y., Yang, M., ve Xu, F. J., 2022. Glycosaminoglycan-Based Hydrogel Delivery System Regulates the Wound Microenvironment to Rescue Chronic Wound Healing. ACS Applied Materials and Interfaces, 14, 28, 31737–31750.

Zhang, Y., Chen, L., Fu, T., Xu, A., Li, K., Hao, K., Lyu, J., Wang, Z., ve Kong, F., 2024. Self-Stimulated Photodynamic Nanoreactor in Combination with CXCR4 Antagonists for Antileukemia Therapy, ACS Applied Materials and Interfaces. 16, 17, 21610-21622.

Yamandağ, H., 2023. Suda Çözünür Skuarin ve Hidrojel Uygulamaları, Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.

URL-1<<https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2021>>, Erişim tarihi: 05.05.2024.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Dönay ÇUNGUR

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 2017
Necmettin Erbakan Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 2018-2021 (Yatay Geçiş)
Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Nanoteknoloji Anabilim Dalı, 2021-2024

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Projeler

1. 220Z070, Suda Çözünür Skuarinler: Biyomedikal ve Hidrojel Uygulamaları Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Kurumu (TÜBİTAK, Proje No.220Z070) 01.12.2021- 20.01.2023 Bursiyer

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. Dönay Çungur, Pamuk Algı Melek (2023). A new squaraine and its biomedical applications. 11. Drug Chemistry Congress, Turkish Chemists Society, Kemer, Antalya, 9-12 March, (Yayın No:8352961)