



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

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

SUDA ÇÖZÜNÜR SKUARİN VE HİDROJEL UYGULAMALARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hacer YAMANDAĞ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatih ALGI

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 202330002 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Hacer YAMANDAĞ tarafından hazırlanan “**SUDA ÇÖZÜNÜR SKUARİN ve HİDROJEL UYGULAMALARI**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

Aksaray Üniversitesi

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

.....

Üye: Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

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

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Neslihan TEKİN KARACAER

Aksaray Üniversitesi

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

.....

Tez Savunma Tarihi: 20/01/2023

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

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

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

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

Hacer YAMANDAĞ

TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca her türlü bilgi ve deneyimini bizimle paylaşan, vizyon ve çalışma azmi ve ile nasıl iyi ve ahlaklı bir bilim insanı olunabileceğini öğreten, bana ışık tutan maddi ve manevi emeğini esirgemeyen, çok değerli sevgili saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Fatih ALGI 'ya en içten saygılarımla teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince gerek teorik gerek pratik bilgi birikimi ile bana her zaman ışık tutan, yaşadığım bütün zorluklarda önemli pratik ve uygulama bilgisi ile bana yardım elini uzatan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen çok değerli sevgili saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI 'ya en içten saygılarımla teşekkürü bir borç bilirim.

Beni bugünlere getiren maddi manevi her türlü fedakarlığı yapmaktan hiçbir zaman kaçınmayan, mücadeleyi ve insanın yaşam yolunda ilerlediğinde karşılaştığı fırtınalarda dimdik ayakta durmayı öğreten canım annem Remziye YAMANDAĞ'a ve sevgisini, ilgisini eksik etmeyen canım babacığım Mehmet Ali YAMANDAĞ'a, kardeş değil çoğu zaman abla olan kardeşim Kübra YAMANDAĞ'a ve varlıklarıyla bile her daim güç veren çok sevdiğim kardeşlerim Fatma, Elif, Muhammet Gazi, Ayşe Miray YAMANDAĞ'a en içten şekilde teşekkür ederim.

Laboratuvarda ve çalışmalarımnda bana yardımcı olan bilgilerini, güler yüzünü ve deneyimlerini eksik etmeyen her koşulda bana yetişen Rümeyza SARIGÖL'e teşekkür ederim.

Çalışmalarımı gerçekleştirmemde bilgi ve tecrübeleriyle yardımcı olan Sayın Ömer SONKAYA hocama, hücre deneylerinde bana yardımcı olan grup arkadaşlarım, Dönay ÇUNGUR ve Gülnur ŞAHİN'e teşekkür ederim.

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

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

Hacer YAMANDAĞ
AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	i
1.GİRİŞ	
1.1 Fotodinamik Terapi	3
1.2 Skuarin.....	9
1.3 Hidrojel.....	10
2. KAYNAK ÖZETLERİ	14
2.1 Skuarinler	14
2.2. Hidrojeller	18
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	23
3.1 Malzeme	23
3.2 Bileşik 4 Sentezi: 2,3,3-trimetil-3H-indol-5-sülfonat	23
3.3 Bileşik 6 Sentezi: 1-allil-2,3,3-trimetil-3H-indol-1-yum-5-sülfonat.....	24
3.4 Hedef Bileşik Skuarin 1 Sentezi.....	24
3.5 Hidrojel Sentezi: Skuarin 1@PAAm.....	25
3.6 Hidrojel Sentezi: Skuarin 1@PNIPAAM	26
3.7 Hidrojellerin Sıcaklıkla Değişen Kütle Değişim Grafiği	27
3.8 Skuarin 1 Bileşiğinin Kimyasal Tuzak ile Fotoduyarlastırıcı Testleri.	28
3.9 Molar Soğurma Katsayıları	28
3.10 Floresans Kuantum Verimleri (Φ_F)	28
3.11 Skuarin 1@PAAm Kimyasal Test ile FDT Aktivitesinin Belirlenmesi.....	28
3.12 Skuarin 1@PNIPAAM Kimyasal Test ile FDT Aktivitesinin Belirlenmesi .	29
3.13 Hücre Kültürü	29
3.14 Skuarin 1 Molekülleri ile Sk-mel Hücre Hattında Biyogörüntüleme.....	29
3.15 Skuarinin 1 bileşiği ile Skmel Hücre Hattında İn Vitro FDT Testleri	30
3.16 Skuarinin 1 L929 Hücre Hattında Sitotoksiste Testi.....	30
3.17 1@PAAM ve 1@PNIPAAM L929 Hücre Hattında Sitotoksiste Testi.....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	32
4.1 Hedef Bileşiğinin Skuarin 1 Yapısının Sentezi	32
4.1.1 Skuarin 1 ve AAm ile hidrojel sentezi ve karakterizasyonu: 1@PAAm	44
4.1.2 Skuarin 1 ve NIPAAM ile hidrojel sentezi ve karakterizasyonu: 1@PNIPAAM.....	54
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	68
ÖZGEÇMİŞ.....	75

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SUDA ÇÖZÜNÜR SKUARİN VE HİDROJEL UYGULAMALARI

Hacer YAMANDAĞ

Aksaray Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

İkinci Danışman: Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI

ÖZET

Skuarinler organik boyalar arasında önemli bir sınıfı oluşturur. Skuarinler yüksek soğurma katsayıları, fotoiletkenlikleri, fotokararlılıkları ve kuantum verimleri nedeniyle fotodinamik terapi (FDT) ajanları, biyogörüntüleme ve etiketleme ajanları, kemosensörler, doğrusal olmayan optik malzemeler, fotovoltaik malzemeler gibi uygulamalarda kullanılabilmektedir. Ancak skuarinler hidrofobik doğaları nedeniyle genelde suda ve/ya biyolojik ortamda çözünmez. O nedenle suda çözünebilen skuarinlerin tasarımı ve sentezi önemli bir ihtiyaç olarak görülmektedir.

Bu tez çalışmasında özellikle FDT ve biyogörüntüleme gibi biyomedikal uygulamalarda karşılaşılan bazı kısıtlamaları ortadan kaldırabilmek için suda ve biyolojik ortamda tamamen çözünebilen bir skuarin boyası **1** tasarlanmıştır. Sentezlenen skuarinin **1** yapı ve özellikleri ^1H NMR ve ^{13}C NMR, HRMS, soğurma ve floresans gibi spektroskopik yöntemler ile aydınlatılmıştır. Skuarin **1** biyogörüntüleme ve fotoduyarlastırıcı ajan olarak test edilmiştir. Son aşamada ise skuarinin **1** hidrojel yapısına entegre edilmesi üzerinde durulmuştur. Bunun için tasarlanan hidrojellerin önce sentezi ve ardından ise FTIR, SEM ve TGA gibi yöntemlerle karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen hidrojellerin biyoyumlu olduğu ve fotodinamik özellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fotodinamik Terapi, Skuarin, Suda çözünürlük, Hidrojel, Singlet Oksijen.

Ocak, 2023; 75 sayfa

M.Sc. THESIS

WATER SOLUBLE SQUARINE AND HYDROGEL APPLICATIONS

Hacer YAMANDAĞ

Aksaray University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology and Molecular Biology

Supervisor: Prof. Dr. Fatih ALGI

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

ABSTRACT

Squaraines represent an important class of organic dyes. Squaraines can be used as photodynamic therapy (PDT) agents, bioimaging and labeling agents, chemosensors, nonlinear optical materials, and photovoltaics due to their high absorption coefficients, photoconductivity, photostability, and quantum yields. However, squaraines are generally insoluble in water and biological fluids due to their hydrophobic nature. Therefore, there is an urgent need to the design and synthesis of water-soluble squaraines.

In this thesis, a squaraine dye **1**, which is completely soluble in water and in biological media, is designed to overcome some of the limitations squaraines encountered in biomedical applications such as PDT and bioimaging. The structure and properties of squaraine **1** were elucidated by spectroscopic methods including ^1H NMR and ^{13}C NMR, HRMS, absorption, and fluorescence. Furthermore, squaraine **1** was tested as a bioimaging and photosensitizing agent. Finally, the integration of squaraine **1** into the hydrogel network was investigated. To this purpose, the designed hydrogels were first synthesized and then characterized by FTIR, SEM, and TGA. It is noteworthy that these hydrogels were biocompatible and can be used as photosensitizers.

Keywords: Photodynamic Therapy, Squaraine, Water Soluble, Hydrogel, Singlet Oxygen.

January, 2023; 75 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Normal hücre ve kanser hücre çoğalması.....	1
Şekil 1.2. Skuarin boyaları ve kullanım alanları	3
Şekil 1.3. Fotodinamik terapi mekanizması (Tip1 ve Tip 2)	4
Şekil 1.4. Fotodinamik terapi ve görüntüleme	5
Şekil 1.5. Kanser fotodinamik terapisi (FDT) tedavisi için ideal fototerapötik pencereyi gösteren elektromanyetik spektrum.....	6
Şekil 1.6. FDT tedavisi için klinik olarak onaylanmış fotoduyarlaştırıcılar	8
Şekil 1.7. Skuarinlerin moleküler yapısı ve özellikleri.....	9
Şekil 1.8. Hidrojel sentezinde kullanılan bazı monomerler	11
Şekil 1.9. Hidrojel sentez mekanizması.....	12
Şekil 2.1. Hedef bileşik 20.....	14
Şekil 2.2. Hedef Bileşik 21	15
Şekil 2.3. Hedef bileşik 22 (a-b-c).....	15
Şekil 2.4. Hedef Bileşik 23.....	16
Şekil 2.5. Hedef Bileşik 24(a,b).....	16
Şekil 2.6. Hedef Bileşik 25.....	17
Şekil 2.7. Hedef Bileşik 26(a,b,c,d).....	17
Şekil 2.8. Hedef bileşik 27.....	18
Şekil 2.9. Hedef Bileşiklerin yapısı	19
Şekil 2.10. Hedef Bileşik 29.....	19
Şekil 2.11. Kullanılan Ajanlar 30.....	20
Şekil 2.12. Hedef Bileşik 31.....	21
Şekil 2.13. Hedef Bileşik 32.....	21
Şekil 2.14. Bileşik 33 moleküler yapısı.....	21
Şekil 3.1. İndol 4.....	23
Şekil 3.2. İndol 6.....	24
Şekil 3.3. Hedef Bileşik Skuarin 1.....	24
Şekil 3.4. Hedef Bileşik Skuarin 1@PAAM hidrojel sentez şeması.....	25
Şekil 3.5. Hedef Bileşik Skuarin 1@PNIPAAM hidrojel sentez şeması.....	26
Şekil 4.1. Hedef yapı Skuarin 1 genel sentez şeması.....	33
Şekil 4.2. Bileşik 4 sentezi.....	33
Şekil 4.3. Bileşik 4 için ¹ H NMR spektrumu (DMSO-d ₆ , 600 MHz).....	34
Şekil 4.4. Bileşik 4 için HRMS spektrumu.....	34
Şekil 4.5. Bileşik 6 moleküler yapısı.....	35
Şekil 4.6. Bileşik 6 ¹ H NMR spektrumu (D ₂ O, 600 MHz).....	35
Şekil 4.7. Bileşik 6 için ¹³ C NMR spektrumu (D ₂ O, 151 MHz).....	36
Şekil 4.8. Bileşik 6 HRMS kütle spektrumu.....	36
Şekil 4.9. Bileşik Skuarin 1 moleküler yapısı.....	37
Şekil 4.10. Hedef bileşik 1 için ¹ H NMR spektrumu (DMSO-d ₆ , 600 MHz).....	37
Şekil 4.11. Skuarin 1 ¹³ C NMR spektrumu (DMSO-d ₆ , 151 MHz).....	38
Şekil 4.12. Hedef bileşik 1 için HRMS kütle spektrumu.....	38
Şekil 4.13. Skuarin 1 için TGA verileri	39
Şekil 4.14. Skuarinin 1 soğurma spektrumu (5x10 ⁻⁶ M, PBS, pH: 7.4, λ _{max} : 630nm)	39
Şekil 4.15. Skuarinin 1 floresans spektrumu (5 x 10 ⁻⁶ M, PBS, pH: 7.4, λ _{max} : 640 nm, λ _{ex} : 630 nm).....	40
Şekil 4.16. Skuarinin 1 (1,66 x10 ⁻⁶ M) DPBF (6,66x10 ⁻⁶ M) varlığında metanol içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince kaydedilen spektrumlar ...	41

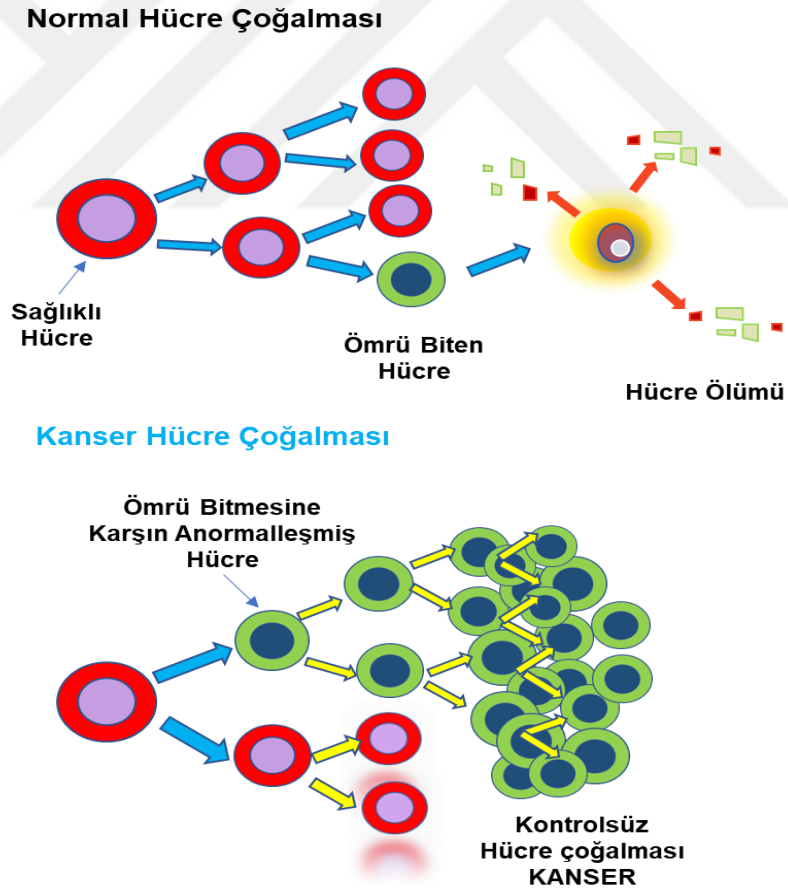
Şekil 4.17. Skuarinin 1 (2.0×10^{-5} M) DCHF ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında PBS (pH 7.4) içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince kaydedilen floresans spektrumu.....	41
Şekil 4.18. Çeşitli konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 25 ve 50 mM) skuarin 1 ile inkübe edilen L929 hücreleri için canlılık oranları.	42
Şekil 4.19. Skuarin 1 ile 24 saat inkübe edilen kanser hücrelerinin floresans görüntüleri.	43
Şekil 4.20. Skuarin 1 ile in vitro fotoduyarlastırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.	44
Şekil 4.21. Skuarin 1@PAAM hidrojel sentez şeması.....	44
Şekil 4.22. Hidrojellerin şişmeden önce ve sonraki görüntüleri: A) 12.5@PAAM , B) 13.0@PAAM ve C) 15.0@PAAM	45
Şekil 4.23. Hidrojellerin 1@PAAM zamana bağlı şişme grafikleri (şişme oranı= m_{rel}).....	46
Şekil 4.24 12.5@PAAM hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.....	47
Şekil 4.25. 13.0@PAAM hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.....	48
Şekil 4.26. 15.0@PAAM hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.....	49
Şekil 4.27. 12.5@PAAM hidrojeli için kaydedilen termogram.	50
Şekil 4.28. 13.0@PAAM hidrojeli için kaydedilen termogram.	50
Şekil 4.29. 15.0@PAAM hidrojeli için kaydedilen termogram.	51
Şekil 4.30. Hidrojellerin ışınlanması süresince DPBF tuzak molekülününsoğurma spektrumunda meydana gelen değişimler: A) 12.5@PAAM , B) 13.0@PAAM ve C) 15.0@PAAM B), D), F) DPBF soğurmasının azalma grafiği.	52
Şekil 4.31. 1@PAAM hidrojellerin DCHF ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında PBS (pH 7.4) ortamında kırmızı ışığa maruz bırakılması süresince kaydedilen floresans spektrumları: A) 12.5@PAAM , B) 13.0@PAAM ve C) 13.0@PAAM	53
Şekil 4.32. 1@PAAM L929 hücre hattında biyoyumluluk testi.....	53
Şekil 4.33. Skuarin 1@PNIPAAm 'ın	54
Şekil 4.34. Hidrojellerin şişmeden önce ve sonraki görüntüleri A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm	55
Şekil 4.35. Hidrojellerin 1@PNIPAAm zamana bağlı şişme grafikleri (şişme oranı= m_{rel}).....	56
Şekil 4.36. Hidrojellerin sıcaklığa bağlı kütle değişim grafiği (büzüşme oranı= m_{rel}); A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm	56
Şekil 4.37. 12.5@PNIPAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.....	57
Şekil 4.38. 15.0@PNIPAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.	58
Şekil 4.39. 12.5@PNIPAAm hidrojeli için kaydedilen termogram.	59
Şekil 4.40. 15.0@PNIPAAm hidrojeli için kaydedilen termogram.	59
Şekil 4.41. Hidrojellerin ışınlanması süresince DPBF (2×10^{-5} M) tuzak molekülünün soğurma spektrumunda (λ_{max} 415 nm) meydana gelen değişimler: A) 12.5@PNIPAAm ve B) 15.0@PNIPAAm	60
Şekil 4.42. 1@PNIPAAm L929 hücre hattında biyoyumluluk testi.....	61
Şekil 5.1. Hedef yapı Skuarin 1 genel sentez şeması.....	63
Şekil 5.2. Skuarin 1@PAAM sentez şeması.....	64
Şekil 5.3. 1@PNIPAAm sentez şeması.	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAm	Akrilamid
AIBN	Azobisisobütironitril
APS	Amonyum persülfat
CDCl₃	Kloroform
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DI	De iyonize
DCHF	2,7-Dikloro Floresein Diasetat
DPBF	1,3-Difenilizobenzofuran
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EDAX	Enerji Dağıtıcı X-Işını Spektroskopisi
FDT	Fotodinamik Terapi
FTT	Fototermal Terapi
FD	Foto Duyarlaştırıcı
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
HRMS	Yüksek Çözünürlüklü-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
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
UV-VIS	Morötesi ve Görünür Işık Soğurma Spektroskopisi
¹³C NMR	Karbon Çekirdek Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹H NMR	Hidrojen Çekirdek Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹O₂	Singlet oksijen
°C	Santigrat
λ	Dalga boyu
λ_{max}	Maksimum soğurma dalga boyu
λ_{exc}	Uyarma dalga boyu

1. GİRİŞ

Kanser en tehlikeli hastalıklardan biridir. Günümüzde bu ölümcül hastalık ile mücadelede cerrahi müdahale ve kemoterapi en çok kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir. Ancak kemoterapide kullanılan ilaçlar ve yan etkileri henüz istenilen düzeyde azaltılabilmiş değildir ve yan etkileri ağır etkilerle nüksedebilmektedir. Bu nedenle kanser ilaçlarında hedefe yönelik ve daha az yan etkiye sahip tasarımlar ön plana çıkmaktadır. Kanser tipine göre tedavi yöntemi seçilmelidir bunun için yeni kanser tedavi yöntemlerinin ortaya çıkması gerekmektedir. Bu bağlamda fotodinamik ve fototermal terapiler ilgi odağı haline gelmiştir. Hem fotodinamik terapi (FDT) hem de fototermal terapide radyasyon uygulanacak bölge hedeflenir ve yalnızca kanserli hücrelerin yok edilmesi için uygulanır ve sağlıklı hücreler hedef alınmaz. Tüm bu sebeplerden dolayı fototerapiler giderek önem kazanan bir tedavi yöntemi haline gelmiştir (Sozmen vd., 2021).



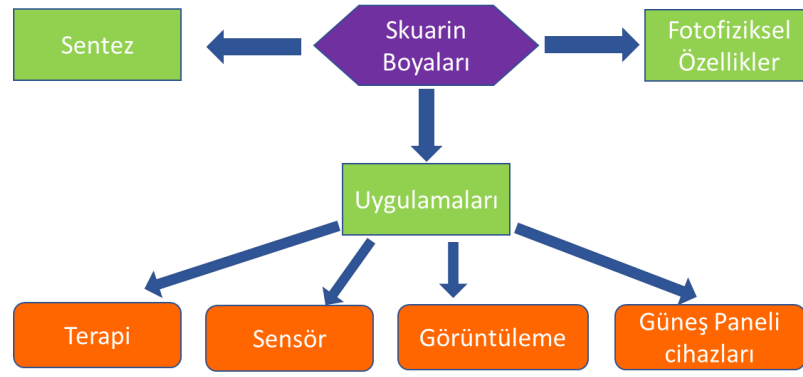
Şekil 1.1. Normal hücre ve kanser hücre çoğalması.

FDT’de üç temel bileşen rol alır: ışık, fotoduyarlaştırıcı ve oksijen (Dai vd., 2012; Kamkaew vd., 2013). Fotoduyarlaştırıcı ışığa maruz bırakıldığı zaman ortamda bulunan moleküler oksijeni reaktif oksijen türleri (ROT)’ne çevirir. Oluşan ROT ise biyomoleküllerle anında tepkimeye girer ve hücre yapısını bozar. Diğer yöntemlerle mukayese edilecek olursa; yüksek seçicilik ve düşük toksisite göstermesi, maliyetinin düşük olması, tedavi süresinin kısa olması ve invazif ya da yan etkilerinin az olması FDT’yi üstün kılmaktadır (Barbero vd., 2015; Dai vd., 2012; Kamkaew vd., 2013).

650-850 nm arası fototerapötik pencere olarak bilinir (Protti vd., 2017). İdeal bir fotoduyarlaştırıcının bu aralıkta soğurma yapması gerekir. Bu bölgede soğurma yapabilecek biyolojik materyal bulunmadığından ışık geçirgenliği yüksektir. Böylece ışığın yalnızca FDT ajanıyla etkileşmesi sağlanır. Ek olarak bu dalga boylarında ışığın toksik etkisi düşüktür. Ajanın, reaktif oksijen üretebilmesinin yanında bir diğer istenilen özellik foto kararlı olmasıdır. Ama ideal özellikleri aynı anda sergileyen klinik onaylı bir FDT ajanı bilinmemektedir. Bu sebeplerden ötürü yeni ajanların tasarımı ve sentezi literatürde önemli bir yer tutmaktadır. Yeni ajanların geliştirilmesine yönelik olarak yapılan çalışmalarda skuarinler, ftalosiyeninler, siyaninler ve BODIPY türevleri gibi organik boyalar tercih edilmektedir. Çünkü bu tür boyalar terapötik pencere ile uyumlu bir bölgede soğurma yapmaktadır.

Bu boyalar arasında ilgi çeken sınıflardan biri skuarinlerdir. Sistemler arası geçişlerin etkin olduğu skuarinler yüksek fototoksisite gösterebildikleri için FDT uygulamaları için elverişli malzemelerdir (Fernandes vd., 2020).

Skuarinler, elektronca zengin substratlar ile keskin ve yoğun absorpsiyona ve floresansa sahip boyalardır. Skuarik asitin aromatik halkalarla kondenzasyon arasında yoğunlaşma ürünleri olarak elde edilen polimetin boyalardır. Skuarinlerin molar soğurma katsayıları (ϵ), fotoiletkenlikleri, fotokararlılıkları ve kuantum verimleri yüksektir. Skuarinler optik özellikleri korunmak suretiyle çeşitli fonksiyonel gruplarla donatılabilir (Khopkar ve Shankarling, 2019; Barbero vd., 2015).



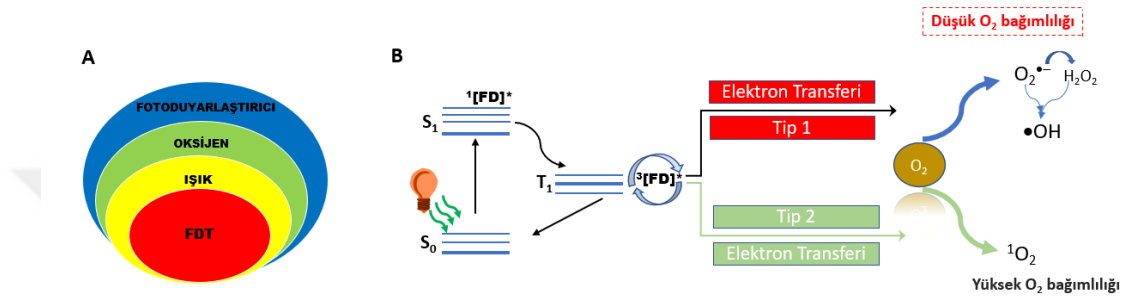
Şekil 1.2. Skuarin boyaları ve kullanım alanları (Iline vd., 2019).

Hidrojeller, 3 boyutlu ağlarında büyük miktarlarda su ve biyolojik sıvıların depolanmasını sağlayan, karakteristik hidrofilik yapıya sahip polimerik malzemelerdir. Hidrojeller, olağanüstü esneklik, yumuşaklık, üstün emme kapasitesi, toksik olmama, biyouyumluluk, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve ayarlanabilir mekanik özellikler gibi farklı biyomimetik özelliklere sahiptir (Caló ve Khutoryanskiy, 2015; Volpi vd., 2022). Bu özellikleri nedeniyle hidrojeller, diğer nanomalzemelere (örneğin, nanoparçacıklar, nanolifler, ince filmler, vb.) kıyasla bazı özel biyomedikal uygulamalar için öne çıkmaktadır. Hidrojellerin bazı avantajları, genellikle biyolojik olarak uyumlu olmaları ve vücut sıcaklığında jelleşen bir sıvı olarak in vivo enjekte edilebilmeleridir. Ek olarak, iyi bir şekilde taşınmayı sağlarlar. Aynı zamanda sulu ortamları, hücreleri ve kırılğan ilaçları koruma yeteneğine sahiptir (Reddy vd., 2015). Bu sistemlerin yüksek su emme kapasitesinin nedeni, hammadde olarak kullanılan polimerin içerdiği fonksiyonel hidrofilik grupların yüksek içeriğidir. Ayrıca, çözünmeye karşı dirençleri, polimer zincirleri arasında üretilen çapraz bağlı yapıdan kaynaklanmaktadır (Ahmed, 2015; Sánchez-Cid vd., 2022).

1.1 Fotodinamik Terapi

Işığın terapötik potansiyeli binlerce yıldır kullanılmaktadır. 3000 yılı aşkın bir süre önce, eski Mısır, Çin ve Hint uygarlıkları vitiligo, sedef hastalığı ve cilt kanseri gibi kusurları tedavi etmek için ışığı reaktif kimyasallarla birlikte kullanıyordu (Ackroyd vd., 2001). 1900 yılında, iki araştırmacının gözlemleri, kimyasallar ve ışığın birleşiminden dolayı kaynaklanan hücre ölümünün keşfedilmesine yol açtı. Profesör Hermann von Tappeiner için çalışan Alman öğrenci Oscar Raab, akridin boyasının bir Paramecium türü olan Infusoria üzerindeki etkilerini inceledi. Akridin toksisitesinin ışığa maruz kalmasına bağlı olarak değiştiğini gözlemledi. Aynı yıl, Fransız nörolog

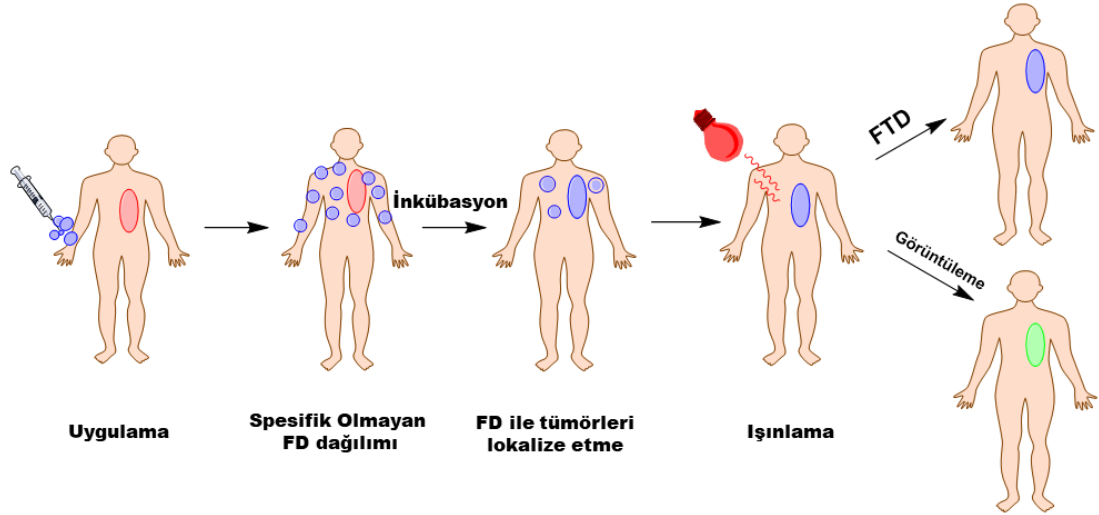
Jean Prime, epilepsi hastalarını tedavi etmek için ağızdan verilen eozinin güneş ışığına maruz kaldığında dermatite neden olduğunu buldu. Raab'ın keşiflerinin von Tappeiner tarafından daha fazla araştırılması, yeni bir terim olan “Fotodinamik Terapi” ile sonuçlandı. Bu yaklaşımın insanlarda ilk uygulaması hemoglobinde bulunan ve hematoporfirin adı verilen bir porfirin kullanılarak Friedrich Meyer-Betz tarafından gerçekleştirilmiştir. Fotodinamik terapi FDA tarafından onaylanmış bir tedavi yöntemidir (Van Straten vd., 2017).



Şekil 1.3. Fotodinamik terapi mekanizması (Tip 1 ve Tip 2)

FDT’de üç temel bileşen rol alır: ışık, fotoduyarlastırıcı ve oksijen (Kamkaew vd., 2013). Fotoduyarlastırıcı ışığa maruz bırakılmak koşuluyla ortamda bulunan moleküler oksijeni reaktif oksijen türlerine çevirir (Degirmenci vd., 2021).

Fotofiziksel etki mekanizması olarak, fotoduyarlastırıcı temel durumdan uyarılmış singlet hale uyarılır. Fotoduyarlastırıcı daha sonra uyarılmış triplet duruma geçmek için bir sistemler arası geçiş sürecinden geçebilir. Bu uyarılmış durum, lüminesans emisyonu üzerine temel duruma dönüşebilir veya tip I veya tip II mekanizması ile biyolojik çevre ile etkileşime girebilir (Henderson ve Dougherty, 1992). Tip I mekanizmada, süperoksit veya hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturmak için çeşitli biyomoleküller veya su oksitlenir. Alternatif olarak, tip II mekanizmada enerji moleküler oksijene (³O₂) aktarılarak singlet oksijen (¹O₂) oluşturulur. Fotoduyarlastırıcıların büyük çoğunluğu, biyolojik çevreleriyle bir tip II mekanizma ile etkileşime girer (Karges, 2022). Yüksek reaktivite ve kısa ömür temelinde, ROT ve ¹O₂’nin yaklaşık 100 nm’lik bir yarıçap içindeki biyolojik ortamı etkilediği kabul edilir (Hatz vd., 2007).



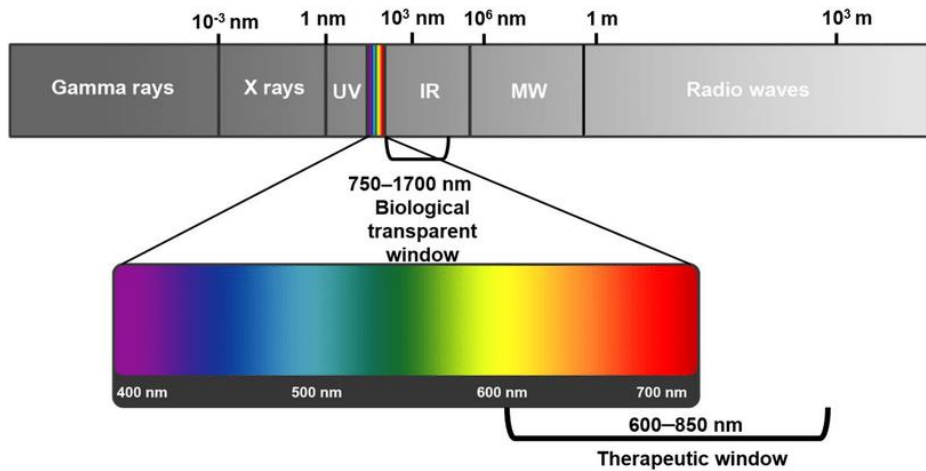
Şekil 1.4. Fotodinamik terapi ve görüntüleme (Karges, 2022).

Özelliklerine bağlı olarak bir fotoduyarlaştırıcı genellikle plazma zarı, lizozomlar, mitokondri, golgi aygıtı veya endoplazmik retikulum (ER) gibi organellere doğru lokalize olabilir (Castano vd., 2004). Hücre iskeleti ve hücre adezyon bileşenleri de fotoduyarlaştırıcı hedefleri olarak tarif edilmiştir (Juarranz vd., 2008). Fotodinamik etki birçok hedefi etkilese de, foto hasar kaynaklı hücre ölümünün üç ana mekanizması tanımlanmıştır: apoptoz, nekroz ve otofaji. FDT'nin çoklu hücre ölüm yollarını aktive etme yeteneği, diğer kanser terapötikleri için büyük bir engel olabilen, tümörlerdeki apoptoza dirençli hücre problemini ortadan kaldırır (Van Straten vd., 2017).

Çalışılan tedavi yöntemleri arasında, fotodinamik terapi ümit verici ve tamamlayıcı bir teknik olarak ortaya çıkmıştır. FDT sırasında, lokal veya sistemik olarak toksik olmayan bir dozla bir foto duyarlaştırıcı (FD) enjekte edilir. Fotoduyarlaştırıcı başlangıçta spesifik olmayan bir şekilde tüm vücuda dağılırken, ideal bir durumda hedef dokuda birikecektir. Kuluçka süresi, FD'ye ve prosedüre bağlı olarak değişebilir ancak tipik olarak 5 dakika ile 24 saat arasında bulunur. Özellikle, kanser seçici alımı sağlamak için FD, hedefleyici kısımlara konjuge edilebilir veya bir ilaç verme sistemi içine kapsüllenebilir. Bu süreden sonra hedef doku, terapötik bir FDT etkisinin yanı sıra floresan kılavuzlu cerrahi prosedürlerde kullanılabilecek kanserli dokunun saptanması için kullanılabilecek bir ışık demetine maruz bırakılır. Daha da önemlisi bu etki, ışınlanırken yalnızca FD içeren dokuda meydana gelir ve oldukça seçici ve hassas bir tedavi olanağı sunar (Karges, 2022). İdeal bir fotoduyarlaştırıcı için genel bazı özellikler vardır. Bunlar (Rangasamy vd., 2015; Yoon vd., 2013)

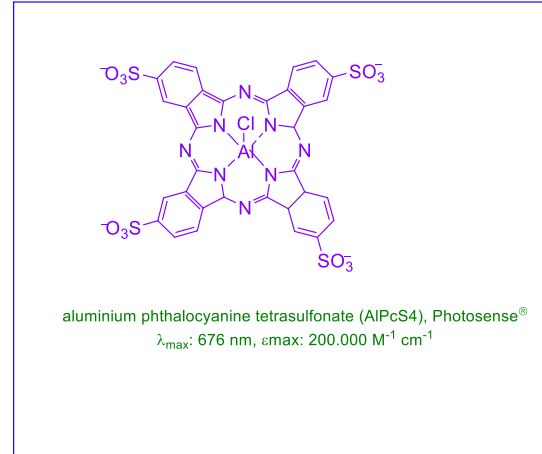
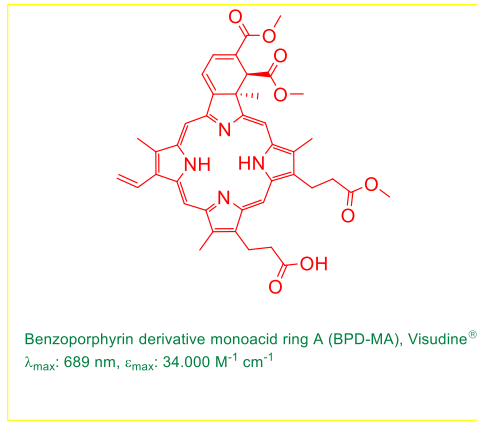
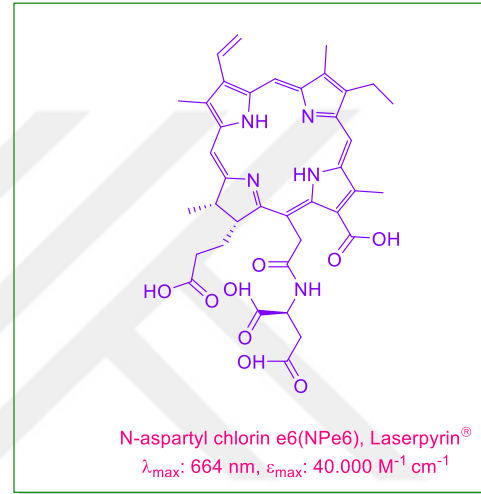
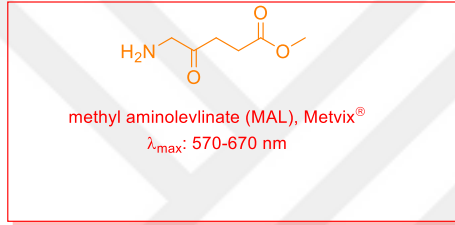
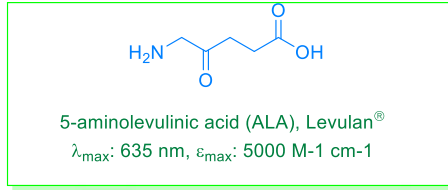
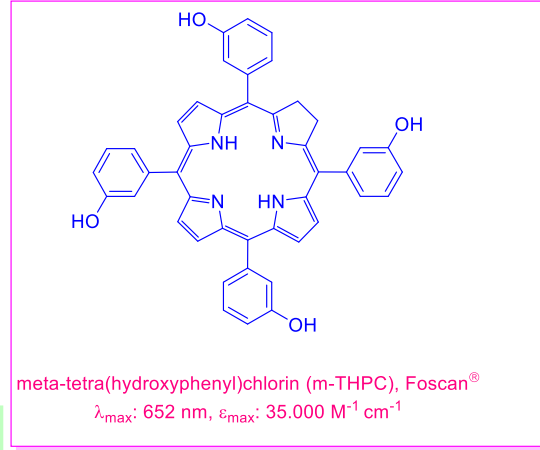
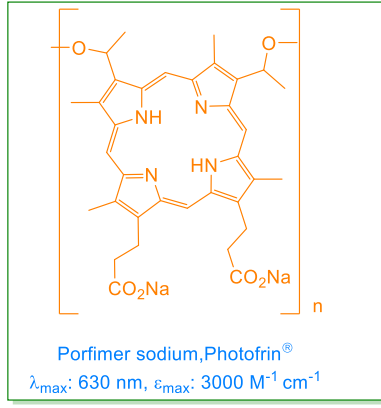
- ✓ Fotoduyarlaştırıcının düşük karanlık toksisitesi olmalı ve tercihen uygulama sırasında toksisitesi olmamalıdır (alerjik reaksiyonlar veya aşırı duyarlılık olmamalıdır).
- ✓ Uygulama kolay ve farklı yollardan acısız uygulanabilir olmalıdır.
- ✓ Optimum doku penetrasyonu için tercihen yakın kızılötesi (NIR) olmak üzere yüksek bir absorpsiyon bandına sahip olmalı,
- ✓ Singlet oksijen üretmek için yeterli enerjiye sahip olmalıdır.
- ✓ Yüksek bir ROT verimine sahip olmalıdır.
- ✓ Yüksek tümör seçiciliği
- ✓ Vücuttan hızlı atılma (böylelikle cildin ışığa duyarlılığını en aza indirecektir),
- ✓ Fotoduyarlaştırıcı saf olmalı ve kolay üretilmeli,
- ✓ Uzun süreli depolama için yeterince kararlı olmalıdır.
- ✓ Ayrıca kanda daha iyi dolaşım için suda çözünürlük yüksek olmalı.

Işığın doku penetrasyon derinliği bazen sınırlayıcı olabilir, bu da aktive olan fotoduyarlaştırıcı miktarını etkileyebilir, bu durum tümör hücrelerini öldürmek için üretilen ROS ve singlet oksijen miktarını etkiler (Mazzone vd., 2013). Kısa dalga boyları (<650 nm) genellikle dokularda daha düşük bir penetrasyon derinliğine sahipken, daha uzun dalga boyu (850 nm'nin üzerinde) aralıkları kapsar. Fakat bu fotoduyarlaştırıcıları uyarmak veya aktive etmek için yeterli değildir. Bu sebeple, fotodinamik terapi için uygun görülen dalga boyu, "fototerapötik pencere" olarak bilinen 600 ila 850 nm aralığıdır (Montaseri vd., 2021).



Şekil 1.5. Kanser fotodinamik terapisi (FDT) tedavisi için ideal fototerapötik pencereyi gösteren elektromanyetik spektrum (Montaseri vd., 2021).

Fotodinamik terapide hali hazırda kullanılan ilaçlar mevcuttur. Bunlar FDA tarafından onaylanmıştır. Bu ilaçların kimyasal yapıları aşağıda Şekil 1.6.'da gösterilmiştir. Bunlardan bazıları; photofrin ($\lambda_{\max}$ 630nm), 5-aminolevulinik asit (ALA) ($\lambda_{\max}$ 635 nm), methyl aminolevinate (MAL) Metvixâ ($\lambda_{\max}$ 570-670 nm), klorin e6 ($\lambda_{\max}$ 654 nm), hexaminolevinate ($\lambda_{\max}$ 570-670), N-aspartyl chlorin e6 ($\lambda_{\max}$ 664 nm), aluminium phthalocyanine tetrasulfonate ($\lambda_{\max}$ 676 nm). Bu ajanlardan bazıları fototerapötik pencerede yer alsa da bunların bazı dezavantajları mevcuttur. Kullanılan ışık dalga boyu hassasiyet oluşturur. Aynı zamanda bu ajanların vücutta çözünürlükleri zayıftır. Vücuttan atılımı uzun olduğu için tedaviden sonra ışık hassasiyetine sebep olur. Işığa maruz kalındığında ortamda ilaç üretmeye devam eder. Bu özelliklerinden dolayı vücuttan hemen atılmadıklarından yan etkileri tedaviden sonrada devam eder (Allison vd., 2004; Allison ve Sibata, 2010). Bu olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için yeni nesil fotoduyarlaştırıcı ajanların geliştirilmesi önemli bir hedeftir.

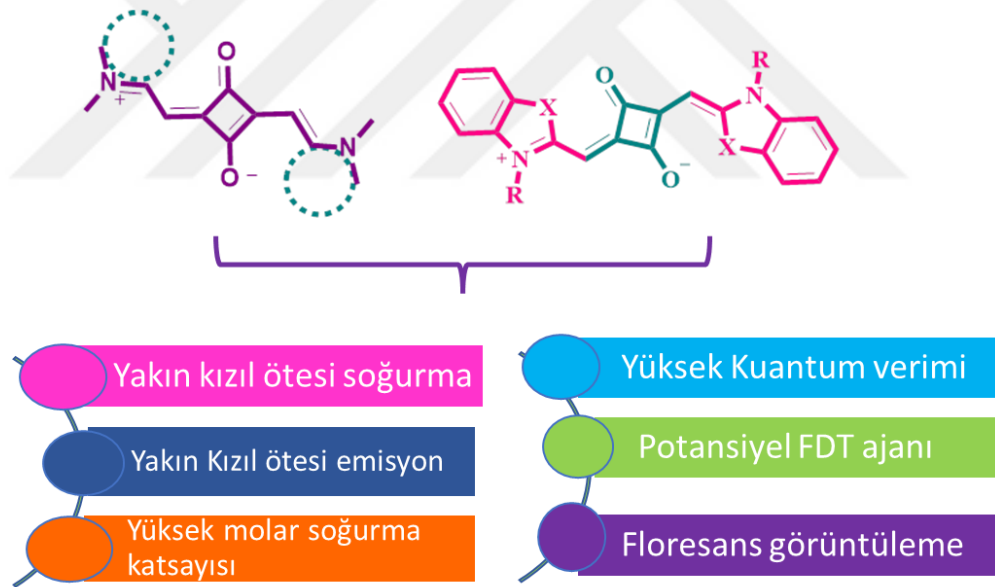


Şekil 1.6. FDT tedavisi için klinik olarak onaylanmış fotoduyarlastırıcılar (Usama vd., 2018)

Literatürde yeni potansiyel ilaçlara alternatif ajanlar üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar klinikte kullanılabilecek yeni nesil ajanlar olabileceğini göstermektedir. Bu ilaçlar; Skuarin, AZA-BODIPY, BODIPY, Siyanin olarak gösterilebilir. Fototerapötik pencerede olduklarından bu boyalar talep görmektedir.

1.2 Skuarin

Skuarinler, zwitteriyonik yapılı aynı zamanda rezonansla donatılmış organik boyalardır. Görünür bölgeden yakın kızılötesi bölgeye kadar uzanan fotostabilite ve optik özelliklerin benzersiz kombinasyonu, skuarin boyaları biyoloji, kimya ve malzeme bilimi alanlarındaki çeşitli uygulamalar için çekici kılmaktadır. Skuarinlerin agregasyon özellikleri, karışık çözücülerde, organize ortamlarda ve metal iyonlarının varlığında kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Skuarik asite bağlanacak yapının aromatiklik veya heterosiklik yapısına göre görünür bölgeden NIR bölgeye kadar güçlü absorbans ve floresans gösterir (İlina vd., 2019)



Şekil 1.7. Skuarinlerin moleküler yapısı ve özellikleri.

Skuarin boyaları son derece yoğun absorpsiyon bantlarına, iyi foto iletkenliğe sahiptir. Skuarinler kolay bir sentez yöntemiyle sentezlenirler. Skuarinler fotofiziksel özelliklerini koruyarak hedefleme özgüllüğünü geliştirmek ve konjugasyon için potansiyel alanlar sağlayan fonksiyonel gruplarla sentezlenebilirler. Bu sebepten dolayı birçok alanda kullanılmaktadır. Çeşitli skuarinler kullanarak yapılan sitotoksosite çalışmalarında moleküler yapıdaki fonksiyonel gruplar değişebilir.

Skuarin bileşiklerin terapötik/görüntüleme dozajlarının üzerindeki konsantrasyonlarda bile toksik olmadığı ve bu nedenle, skuarin boyaları yapılarına bağlı olarak mükemmel fotofiziksel ve kimyasal özelliklerden floresans görüntüleme ajanı olarak literatürde birçok çalışmada kullanılmış potansiyel FDT ve FTT ajanı olarak kullanılabilirler.

1.3. Hidrojel

Hidrojel, fiziksel, kimyasal ve polimerizasyon yoluyla çapraz bağlanmış hidrofilik polimer zincirlerinden oluşan bir 3D ağ yapısıdır. Hidrojeller, yüzey gerilimi ve mekanik kuvvetlerden dolayı ağlarında şişmiş halde büyük miktarda su tutabilirler. Hidrojel tarafından su adsorpsiyonu fonksiyonel bir gruba, suyun durumuna ve hidrojeldeki çapraz bağlanma ağının yoğunluğuna bağlıdır (Sze Lim vd., 2017). Hidrojeller, çevre dostu ve biyouyumlu özelliklerinden dolayı birçok alanda kullanılır (Wu vd., 2018).

Çapraz bağlayıcı, molekülleri birbirine bağlayabilen ve hidrojellerin özelliklerini iyileştirebilen malzemeler olarak tanımlanabilir. 3D yapıyı oluşturmak için hidrojellerde çapraz bağlayıcı kullanımı moleküler ağırlığı artırır, daha yüksek mekanik özellikler sağlar, stabiliteyi geliştirir ve polimer esnekliği, viskozitesi ve polimer çözünmezliği gibi fiziksel özellikleri etkiler (Reddy vd., 2015).

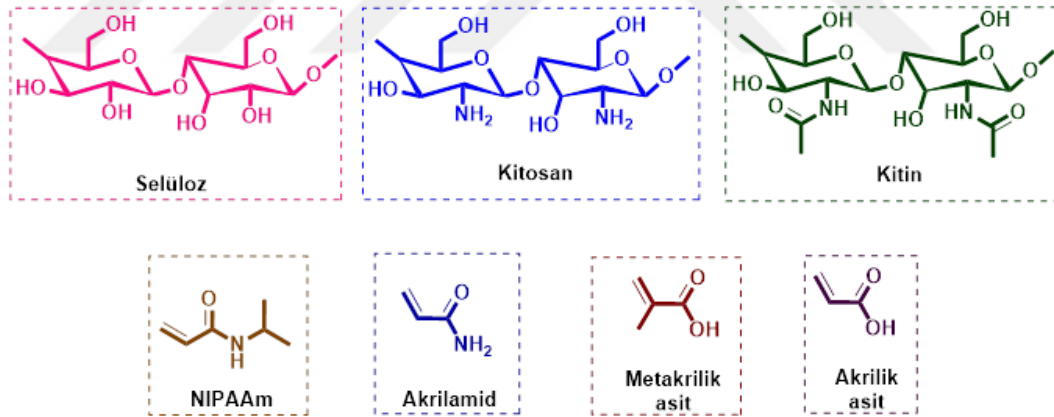
1954'te Wichterle ve Lim tarafından ilk sentetik hidrojellerin üretmesiyle hidrojeller çeşitli alanlarda kullanılabilmektedir (Zainal vd., 2021; Ahmed, 2015);

- ✓ Hijyenik ürünler (Ahmed, 2015)
- ✓ Tarım (Saxena, 2010)
- ✓ İlaç dağıtım sistemleri (Hamidi vd., 2008)
- ✓ Kömürü susuzlaştırma (Hyun Park ve Kim, 2001)
- ✓ Teşhis (Plunkett ve Moore, 2004)
- ✓ Gıda katkı maddeleri (Chen vd., 1995)
- ✓ Farmasötikler (Kashyap vd., 2005)
- ✓ Biyomedikal uygulamalar (Kaihara vd., 2008; Stamatialis vd., 2008)
- ✓ Doku mühendisliği (Zhang vd., 2011)
- ✓ Rejenaratif ilaçlar (Saul ve Williams, 2011)
- ✓ Yara örtüsü (Sikareepaisan vd., 2011)
- ✓ Biyolojik adezyonları düzenlemek için bariyer malzemeleri (Roy vd., 2010)

✓ Biyosensör (Krsko vd., 2009)

Tipik olarak hidrojel, çerçeveyi oluşturan polimerik moleküller arasındaki bağın doğasına bağlı olarak iki farklı kategori kullanılarak sınıflandırılabilir: Fiziksel ve kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojellerdir (Sikdar vd., 2021). Üretim yöntemi, her tip hidrojel sisteminin geliştirilmesi için başka bir anahtar faktördür (Pita-López vd., 2021). Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojellerin yapının temeli olarak, iyonik bağlar, hidrofobik kuvvetler ve hidrojen bağları gibi tersinir olan ve çevresel (fiziksel) değişikliklerle (örn. sıcaklık ve pH) değiştirilebilen zayıf ve geçici etkileşimlere bağlıdır ve kimyasal yapıda herhangi bir değişiklik göstermez (Han vd., 2020; Rodríguez-Rodríguez vd., 2020). Kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojel, kovalent bağlarla bağlı olduklarından, polimerik zincirleri arasındaki kalıcı ve güçlü etkileşimlerle karakterize edilirler (Catoira vd., 2019; Oryan vd., 2018).

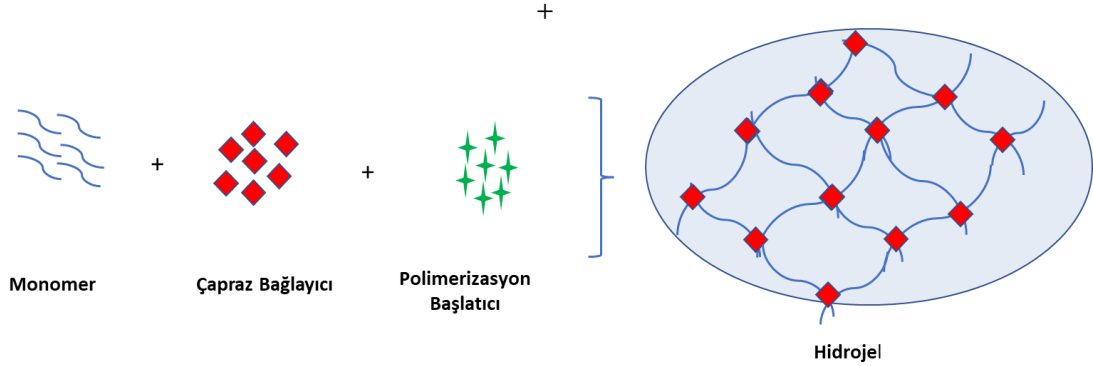
Hidrojel sentezinde kullanılan; Poli 2-hidroksietil metakrilat (pHEMA), Polivinil alkol (PVA), Poli (etilen glikol) (PEG), Poli (N-izopropilakrilamid) (pNIPAAm), Poli (N-vinilkaprolaktam) (PNVCL), akrilik asit, aljinat, kitosan, akrilamid, hyalüronik asit, kitin gibi birçok malzeme bunlardan bazıları aşağıda Şekil 1.8’de verilmiştir.



Şekil 1.8. Hidrojel sentezinde kullanılan bazı monomerler.

Doğal hidrojel, kollajen, jelatin, aljinat, agaroz ve kitosan gibi genellikle doğada bulunan polimerlerden oluşur. Hidrojeller, biyouyumluluk, biyobozunurluk ve toksik olmama özelliklerinden dolayı tıbbi alanda çoğunlukla kontrollü ilaç salınımı için kullanılmaktadır. Öte yandan, sentetik hidrojel, doğada hidrofobik olan polimer gruplarından oluşur. Polimerik bileşenler hidrojel, daha iyi dayanıklılık ve kimyasal güç sağlamıştır. Bazı sentetik polimer örnekleri polivinil alkol (PVA), poliakrilamid, polivinil klorür (PVC) vb. (Chong vd., 2013).

Geliştirilmiş biyouyumluluk, uzatılmış ömür ve daha yüksek su emme kabiliyetine mekanik mukavemetteki üstünlük, sentetik hidrojellerin daha fazla talep edilmesine yol açmıştır.



Şekil 1.9. Hidrojel sentez mekanizması.

Hidrojeller, ara yapılarında büyük miktarda su tutma yeteneği sağlayan hidrofilik zincirler içeren benzersiz polimerik malzemelerdir. Biyopolimerler, benzersiz özelliklerden dolayı özel uygulamalarda ve hidrojellerin yapımında kullanılabilir. Hidrojellerin yapısını tahmin etmek ve jelleri analiz etmek için birçok teori kullanılmaktadır (Chai vd., 2017). Bazı türetilmiş teorileri hesaplamalı yöntemlerle birleştirerek, hidrojellerin yapısını ve işlevselliğini sentezden önce bile tahmin edebilir, bu da hidrojellerin biyomedikal amaçlar için daha hızlı gelişmesine yol açacaktır. Mevcut olan farklı jel türleri ile (pH'a duyarlı, ısıya duyarlı, elektro duyarlı, ışığa duyarlı ve şekil değiştiren), yeni hidrojellerin geliştirilmesi için sınırsız uygulamaları ve yaratıcı kullanımları vardır (Chai vd., 2017; Yuk vd., 2022).

Hidrojeller, temel kimyasal reaksiyonları kullanan standart imalat yöntemlerinden yenilikçi 3D baskı tasarımlarına kadar birçok farklı şekilde oluşturulabilir. Bu üretim harikaları, hidrojel üretiminin yalnızca başlangıcıdır ve büyük üretim ilerlemelerinin yolunu açmaktadır (Fatimi vd., 2022). Hidrojeller, arzu edilen doku konumlarını hedefleyen hidrojellerdeki kapsüllenmiş hücreler yoluyla doku rejenerasyonu için uygun seçeneklerdir. İnsülin salan hidrojeller ve kanser ilacı salan hidrojeller gibi ilaç ve molekül salan hidrojeller, sonuçları en üst düzeye çıkarmak ve zararlı ilaç etkilerini en aza indirmek için sırasıyla insülin ve kanser ilaçlarını istenilen hedefleyici bölgelere verebilir (Heinemann vd., 2015). Hidrojellerin esas olarak 2015'ten beri tıbbi alanda yapılan bu başarılı uygulamaları, diğer ilaçları, hücreleri ve molekülleri içine alan hidrojelleri sentezlemek için daha fazla yol sunmuştur.

Hidrojeller, cerrahi prosedürlerden tamamen kaçınarak daha az inflamasyona ve doku rejenerasyonu için daha iyi sonuçlar için etkili ve etkin ilaç dağıtımına izin verir (Li ve Mooney, 2016; Munoz Taboada vd., 2020). Örneğin, sırt ağrısı sorunları ile yeni hidrojeller, invaziv ameliyatlara gerek kalmadan insanların yaşamlarında yaşadıkları ağrıları hafifletmek için kullanılabilir.

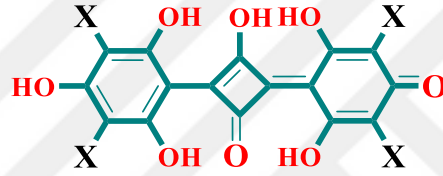
Poli (N-izopropilakrilamid) (pNIPAAm). Bu polimer en çok araştırılan ısıya duyarlı polimerdir (Yu vd., 2021). Literatüre göre, pNIPAAm suda yaklaşık 32 °C daha düşük kritik çözelti sıcaklığına (LCST) sahiptir. Bu, katı haldeki bu polimerin, sıcaklık LCST'nin altına düştüğünde, termo-tersinir bir faz geçişi sergileyerek çözelti içinde çözülebileceği anlamına gelir. Bu nedenle, pNIPAAm'den türetilen kopolimerler, ilaç ve gen iletimi, enzim ve hücre immobilizasyonu veya biyosensörler gibi çeşitli biyomedikal uygulamalar için "akıllı" malzemeler veya "akıllı" hidrojeller olarak adlandırılan çalışmalarda büyük ilgi görmüştür.

Akrilamid: Nötral yüzeyi, yüksek oranda su tutma kapasitesi ve hidrofilik yapısı nedeniyle PAAm, terapi ajanlarının geliştirilmesi için son derece uygun bir platformdur. Zira PAAm Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış olduğundan toksisitesi düşük güvenli bir ilaç taşıyıcı sistem sayılmaktadır. Ayrıca kullanılan sentez yöntemine göre PAAm boyutu ayarlanabilmektedir. Dahası akrilamid başka monomerlerle kolayca kopolimerizasyona katılabilmektedir (Sennakesavan vd., 2020).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Skuarinler

Ramaiah ve grubu halojen içeren bazı skuarin türevlerinin **20** fotofiziksel özellikleri, FDT etkinlikleri daha iyi anlamak için sitotoksitelerin ve DNA'yı hasara uğratma mekanizmaları üzerinde çalışmıştır. FDT'deki etkinliklerini incelemek amacıyla hem memeli hücrelerinde hem de bakteri suşlarında sitotoksite ve FDT etkinlikleri bağlı X: (Br,I,H) göre karşılaştırmaları yapılmıştır. Bu boyalar uygun fotofiziksel özelliklere sahipler ve sitotoksiteleri düşüktür. FDT'de potansiyel uygulamalara sahip olabileceğini göstermişlerdir (Ramaiah vd., 2002; Ramaiaht vd., 1997).

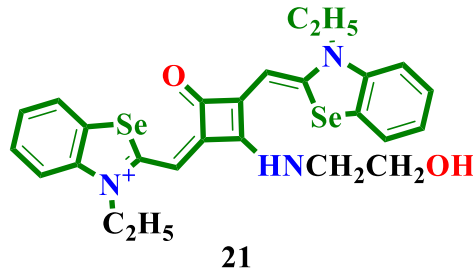


X:Br,I,H

20

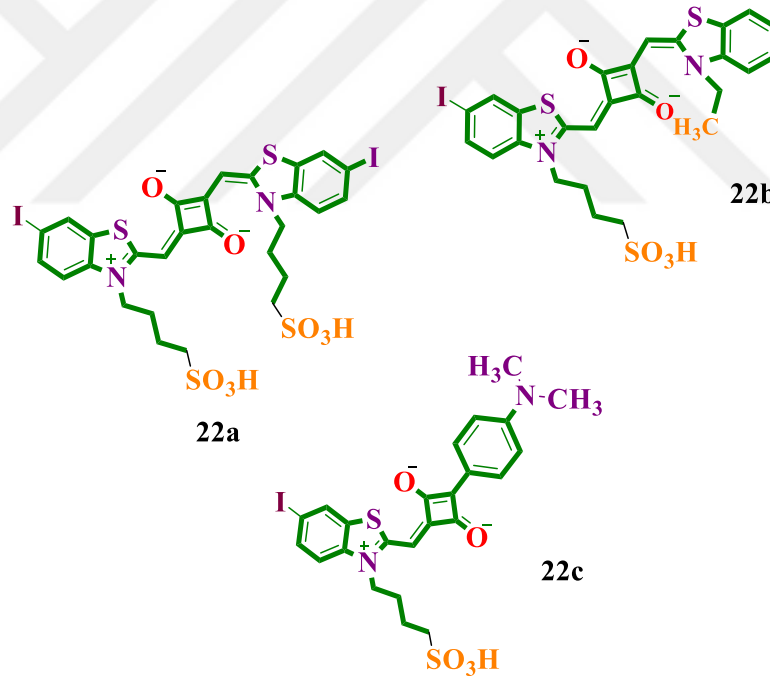
Şekil 2.1. Hedef bileşik **20**.

Ferreira vd. (2016); skuarin boyası **21** tasarlayıp sentezlemişlerdir. Işığa duyarlılaştırıcıların birçok avantaja sahip olmasına rağmen, skuarinlerin FDT'deki uygulamalarına ilişkin bazı sorunlar ortaya koymaktadır. FDT'nin dezavantajları Lokalize tümör hedeflenene kadar bileşik kaybı, biyoyumluluğun olmaması, ilacın seçiciliğinin ve çözünürlüğünün düşük olması ve ayrıca dokularda belirli derinliklere ulaşmanın zorluğudur. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak amacıyla skuarin boyasını kitosan kullanarak çözünür forma getirmişlerdir. İn vitro çalışmalar HeLa hücre hattında yapılmıştır. Floresans görüntüleme ve fototoksiste gösterdiğinden FDT de ve kanser görüntülemeye kullanılabileceği öngörülmüştür (Ferreira vd., 2016).



Şekil 2.2. Hedef Bileşik 21

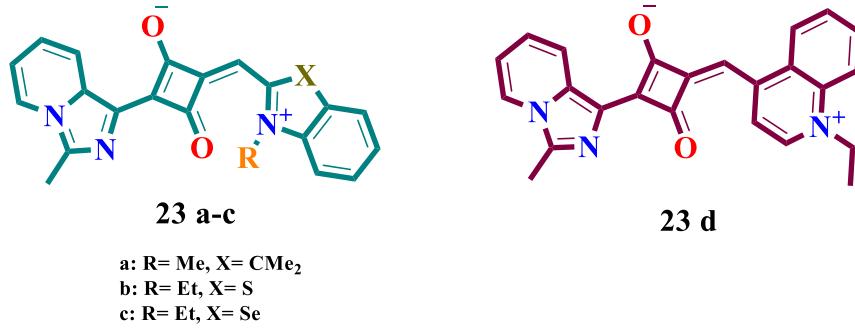
Shafeekh vd. (2014); suda çözünür **22a**, **22b** ve **22c** skuarinlerinin sentezleri, fotofiziksel özellikleri ve fotodinamik etkileri çalışmıştır. Boyalara suda çözünür hale getirmek için sülfonil eklenmiş ve iyot ağır elementi eklenerek verimleri ve ömürleri uzun hale getirilmiş fotofiziksel karşılaştırmaları yapılmıştır. FDT etkinlikleri incelenmiş singlet oksijen ile reaksiyona girdikleri ve ROS ürettikleri belirtilmiştir. Fotodinamik terapide kullanılabilecek ajanlar olduğu öngörülmüştür.



Şekil 2.3. Hedef bileşik 22 (a-b-c).

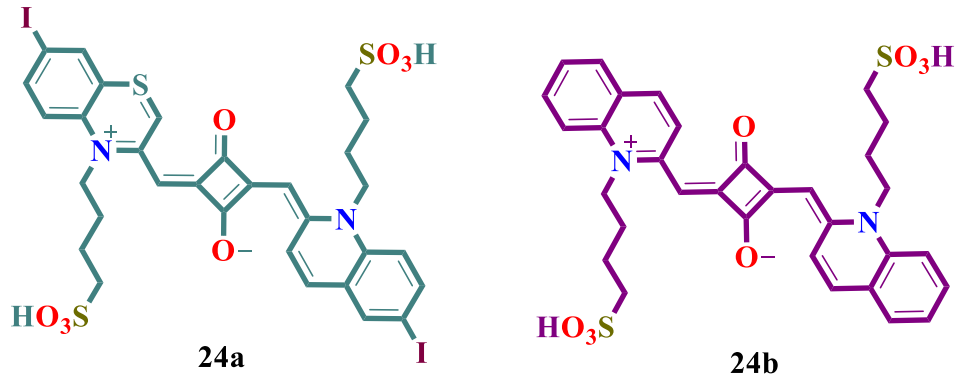
Prostota vd. (2013) yaptıkları çalışmada birden fazla skuarin boyası 23(a-d) tasarlayıp sentezlemiştir. Elde edilen boyaların spektral özellikleri incelendi ve elektronik yapının ve elektron geçişlerinin boyaların moleküler yapısına bağımlılığını incelemek için kuantum-kimyasal hesaplamalar yapmışlardır. Boyaların oksijen üretme kabiliyetine, fotodinamik terapi (FDT) aktiviteleri test edilmiştir. Sonuç olarak

sentezlenen bileşiklerden en başarılı FDT aktivitesi olan yapısında ağır atom bulunduran olduklarını belirtmişlerdir (Prostota vd., 2013).



Şekil 2.4. Hedef Bileşik 23.

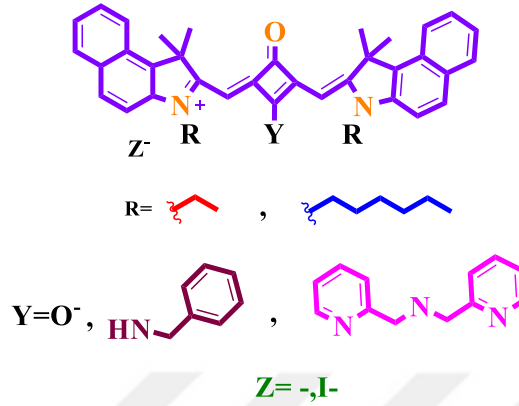
Sujai vd. (2018); **24a-24b** skuarinlerini tasarlayıp sentezlemişlerdir (Şekil 2.6). Sentezledikleri skuarinleri altınla nanoçubuklarla birleştirmişlerdir. Sentezlenen bu ajanlar melanom kanserine özgü kemoterapötik ilaç dekarbazin ile birleştirilmiş ilaç taşıyıcı bir sistem haline getirmişlerdir. Sentezlenen bu foto duyarlaştırıcı, fotodinamik terapi, fototermal terapi ve entegre edilen ilaç dekarbazin ile üçlü bir tedavi yapan ajan sentezlemişlerdir. A375 hücre hattında (melanom kanseri) %70 hücre ölümü gerçekleşmiştir (Sujai vd., 2018).



Şekil 2.5. Hedef Bileşik 24(a,b).

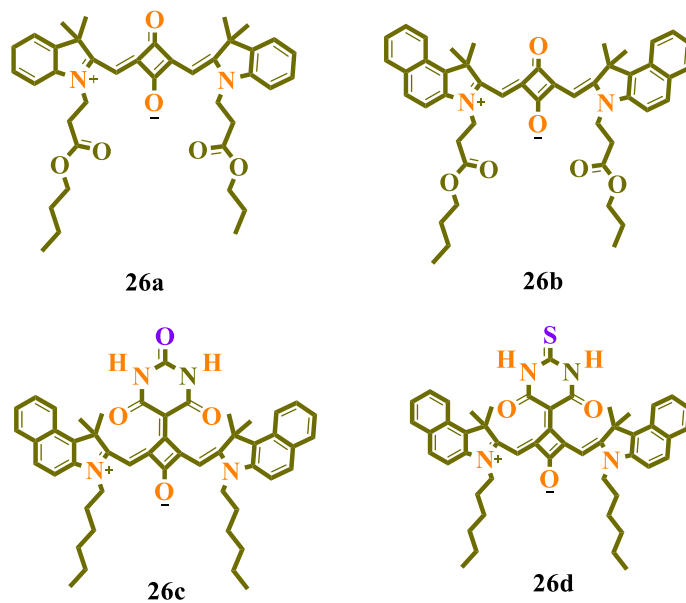
Lima vd. (2022) Şekil 2.6 da verilen skuarinleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen skuarinlerin fotofiksel özellikleri belirlenmiş yapıya bağlanan ağır iyot atomuyla singlet oksijen kuantum verimlerinin değiştiklerini belirtmişlerdir. Fototerapötik performansları insan serum albümini ile karşılaştırıldı. Özellikle zwitteriyonik skuarinler için floresans kuantum verimlerinin başarılı olduklarını belirtmişlerdir. Farklı hücre hatlarında tümör olmayan NHDF (normal insan dermal fibroblastları) Caco-2 (kolorektal adenokarsinom), HeLa (servikal karsinom), MCF-7 (meme

adenokarsinomu) ve PC-3 (prostat adenokarsinomu) in vitro çalışmalar yapılmıştır. Hücre çalışmalarıyla skuarinlerin antitümör etkileri incelenmiştir. Zwitteriyonik yapıya sahip skuarin boyanın, FDT potansiyeli açısından en umut verici olanı olduklarını belirtmişlerdir (Lima vd., 2022).



Şekil 2.6. Hedef Bileşik 25.

Gomes vd. (2022) yaptıkları bu çalışmada **26(a,b,c,d)** sentezi gerçekleştirmişlerdir. Fotofiziksel özelliklerini belirlemişlerdir. Sentezlenen boyaların insan serum albümini ile etkileşimi de değerlendirildi ve floresan yoğunluğu ile protein konsantrasyonu arasında doğrusal bir oran olduğunu göstermişlerdir. Boyaların mayaya karşı antifungal potansiyeli *Saccharomyces cerevisiae*, bakterisi kullanılarak değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, boyaların insan serum albümini ile etkileşiminin ve antifungal aktivitenin, boyaların farklı yapısal modifikasyonlarına bağlı olduğunu gösterilmiştir. Boyaların reaktif oksijen ürettiği gösterilmiştir (Gomes vd., 2022).



Şekil 2.7. Hedef Bileşik 26(a,b,c,d).

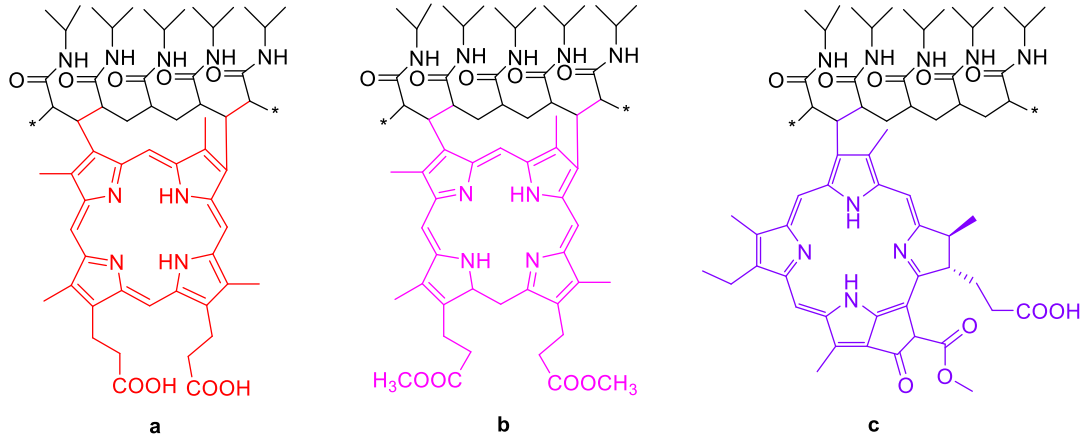


27

Chemical structure 27 is a complex molecule featuring a central indole-like core with a fused furan ring. It has two propargyl ester groups and a propargyl ether group. The structure is labeled 27.

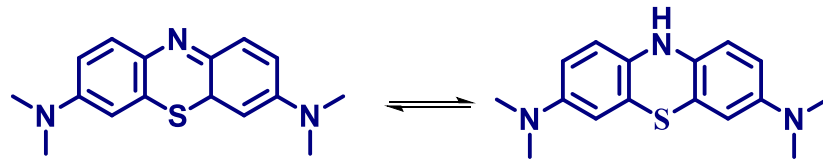
2.2. Hidrojeller

18



Şekil 2.9. Hedef Bileşiklerin yapısı

Tang vd. (2008) yaptıkları bu çalışmada bir ışığa duyarlılaştırıcı olan metilen mavisini nanopartüküllerle kapsülleyerek FDT için elverişli bir hale getirmişlerdir. Metilen mavisini poliakrilamidle kapsülleyerek bir nanopartikül elde etmişlerdir. Elde edilen nanopartikül tümör hücrelerinde etkili bir şekilde fotodinamik hasara neden olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar neticesinde nanopartikül diaforaz enzimleri tarafından indirgenmesi önlenmiştir. Sentezlenen poliakrilamidli metilen mavisinin Fotodinamik terapi için aktivitesini koruduğunu göstermişlerdir. Ayrıca ışığa maruz kalmanın ardından metilen mavisini içeren nanopartikülün C₆ glioma hücreleri üzerinde tümör hücrelerine zarar vermeye yetecek miktarlarda ¹O₂ üretmesiyle sonuçlandığını göstermişlerdir (Tang vd., 2008).

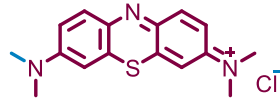


29

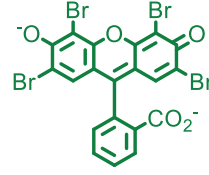
Şekil 2.10. Hedef Bileşik 29.

Glass vd. (2018) yaptıkları çalışmada ışığa duyarlılaştırıcılar için taşıyıcı ve salım sistemi olarak kullanılabilecek hidrojel sentezlemişlerdir. Fotoduyarlılaştırıcıların çeşitliliği sebebiyle Metilen Mavis, Eozin Y, porfirin türevleri TPPS₄, TMPyP (**30**) farklı fotoduyarlılaştırıcı ile çalışılmıştır (Şekil 2.11). Bu foto duyarlılaştırıcıların alımı ve salımı incelenmiştir. Tüm fotoduyarlılaştırıcılar, yapı farklarından bağımsız bir şekilde hidrojele başarılı bir şekilde yüklemişlerdir. Sentezlenen hidrojellerin singlet

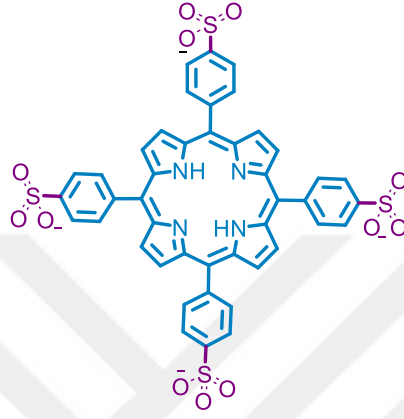
oksijen kuantum verimlerinin başarılı olduğunu ve hidrojele yüklenen fotoduyarlastırıcıların bozulmadıklarını göstermişlerdir (Glass vd., 2018).



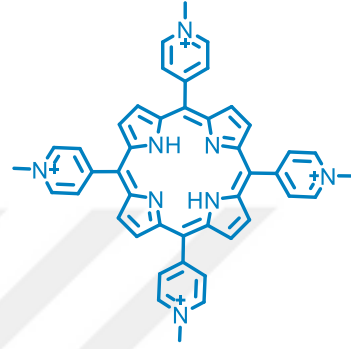
Metilen Mavisi



Eozin Y



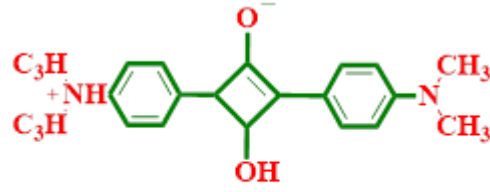
TPPS₄



TMPPyP

Şekil 2.11. Kullanılan Ajanlar 30.

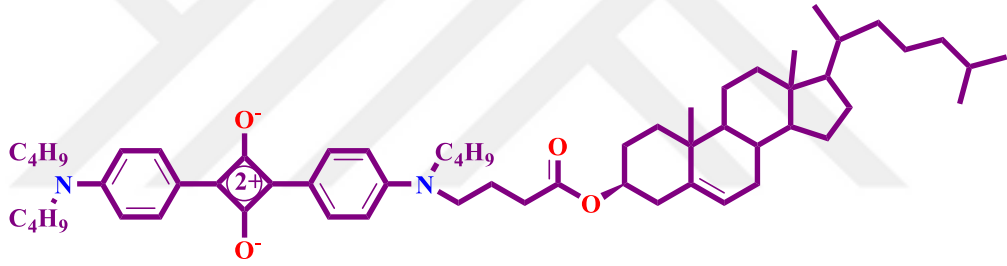
Kaczmarek vd. (2021) yaptıkları bu çalışmada **31** skuarini sentezlemişlerdir. Ve kitosanı, ışığa duyarlı için koruyucu bir matris olarak kullanmışlardır. Elde edilen sistemlerin hem çözelti hem de katı haldeki fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Bir biyopolimer olarak kitosan kullanılmış ve kitosan kullanmanın önemli avantajı, yüksek enerjili ultraviyole (UV) radyasyonun etkisi altında boya bozunmasının önlenmesi, boya varlığında ise kitosan ısı direncini iyileştirmesidir. Kitosanın koruyucu etkisi nedeniyle sıvı ortamda boya salınımı sınırlıdır. UV radyasyonunun etkisi altında reaktif oksijen türlerinin singlet oksijen dahil oluşumuna katkıda bulunarak, kanser hücreleri üzerinde yıkıcı bir etkiye sahip olduklarını göstermişlerdir. Hedef bileşik **31** fotodinamik etkileri incelenmiş ve skuarinin kitosan ile stabilizasyonu, biyomedikal ürünler ile kullanabileceklerini göstermişlerdir (Kaczmarek vd., 2021).



31

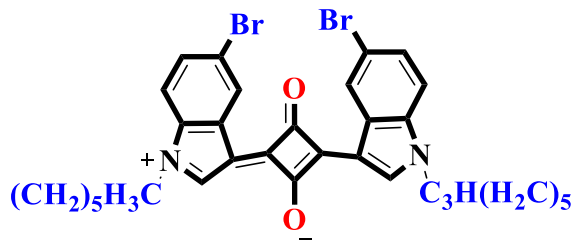
Şekil 2.12. Hedef Bileşik 31.

Geiger vd. (1999) Skuarin boyalarına yapılarına bağlı olarak kolesterol bağlamış ve bu yapıları farklı açılardan incelemiştir. Jeller, hem stilben-kolesterol jelleri durumunda jelator flüoresansını hem de çözücü içinde çözünmüş çözünenlerin flüoresansını izleyerek, atomik kuvvet mikroskopisi ve geleneksel ve flüoresans mikroskopisi ile görüntülendi. Dikkat çekici bir şekilde, bulguların jellerin birçoğunun nano, mikro ve makro ölçekte görülebilen benzer şekilde görünen lifli yapılardan oluştuğunu göstermektedir (Geiger vd., 1999).



Şekil 2.13. Hedef Bileşik 32.

Xie vd. (2021) poliakrilamidle çapraz bağlanan bir nanopartikül sentezlemiştir. Bu sentez sonucunda damar ve beyinde floresans görüntüleme yapan bir boya/nanopartikül (Şekil 2.14) sentezlemiştir. Sentezlenen nanopartikülün hücre ve farede görüntüleme işlemlerini başarılı bir şekilde göstermiştir (Xie vd., 2021).



33

Şekil 2.14. Bileşik 33 moleküler yapısı.

Fotoduyarlastırıcı olarak kovalent bağı skuarinleri **1** içeren hidrojenlerin, literatürde rapor edilmiş fotodinamik hidrojenlerden daha üstün özellikler sergilemesi beklenmektedir. Zira skuarin **1** literatür kısmında verilen diğer boyalara (porfirin, klorin, MB ve ftalosiyenin türevlerine) göre (yüksek soğurma, emisyon, kuantum verimi, parlaklık vb) daha üstün özelliklere sahiptir. Porfirin, klorin, MB ve ftalosiyenin türevlerinin; sentez ve saflaştırma işlemlerinin zahmetli ve düşük verimli olması, suda çözünürlüklerinin düşük olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. skuarin **1** bu olumsuzluklardan daha avantajlıdır.

Bu yüzden bu tez kapsamında bu eksikliğin büyük ölçüde giderildiği düşünülmektedir.



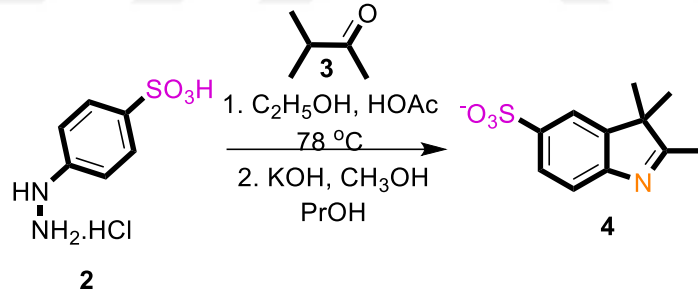
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Malzeme

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

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

3.2 Bileşik 4 Sentezi: 2,3,3-trimetil-3H-indol-5-sülfonat

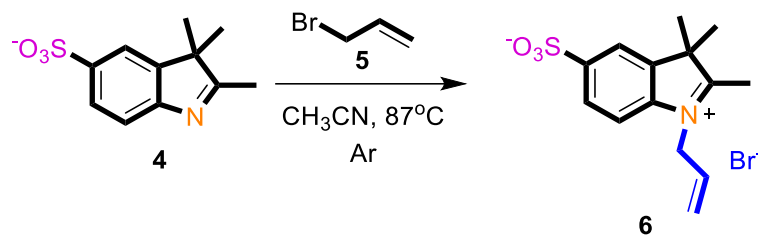


Şekil 3.1. İndol 4.

30 ml asetik asit içerisinde 2 (10.0 g, 53.0 mmol) alınır ve üzerine 3- metil-2-bütanon 3 (17 mL, 160.0 mmol) eklenir ve 25 °C oda sıcaklığında karıştırılır. Reaksiyon karışımı 4 saat geri soğutucu altında kaynatıldıktan sonra soğutuldu ve filtre kağıdıyla süzüldü. Kalıntı etil asetatla yıkanarak pembe bir toz şeklinde elde edildi (11.3 g, 89% verim). Sonra metanol (35 mL) içinde ham (5.1 g, 21.2 mmol) karıştırılan bir potasyum çözeltisine damla damla ilave edilir ve potasyum hidroksit (1.4 g, 25.4 mmol) propanol (35 mL) içinde çözündürülür. Elde edilen karışım 25 °C' de 24 saat karıştırıldı ve ürün süzülerek alınır.(Park vd., 2012) Pembe katı ürün: verim %60, e.n: 305 °C, lit. 292 °C ;

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 7.61 (s, 1H), 7.54, (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.33 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 2.19 (s, 3H), 1.22 (s, 6H). FT-IR (cm^{-1}): 3485, 2878, 1942, 1572, 1419, 1386, 1270, 1219, 1177, 1117, 1030, 988, 713, 648. HRMS $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_3\text{S}$ için hesaplanan (m/z): 238,05434 $[\text{M}]^-$ ölçülen: 238,06915 $[\text{M}]^-$.

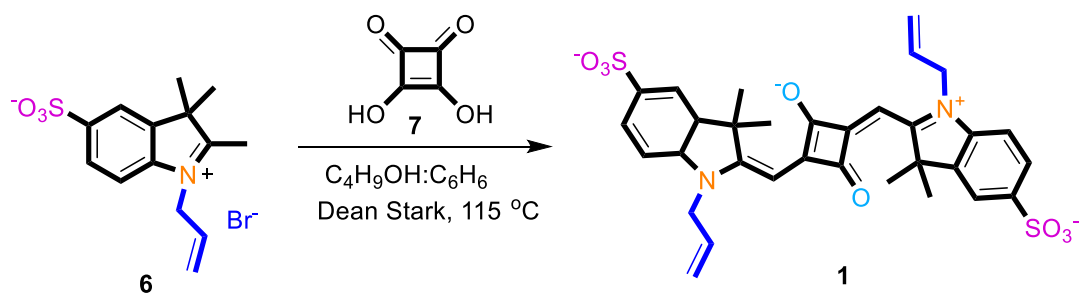
3.3 Bileşik 6 Sentezi: 1-allil-2,3,3-trimetil-3H-indol-1-yum-5-sülfonat



Şekil 3.2. İndol 6.

100 ml lik bir balona bileşik 4 (500 mg 3,16 mmol) alınır ve üzerine kuru asetonitril eklenir ve on beş dakika boyunca inert ortamda karıştırılır (50 ml). Ardından allil bromür (820 μl , 9,48 mmol) yavaş yavaş eklenir ve karışım 24 saat boyunca oda sıcaklığında argon atmosferi altında karıştırılır. Buzdolabında bekletilen karışımdan çöken ürün süzülerek alınır: 350 mg, %52 verim, e.n: 247 °C. ^1H NMR (600 MHz, D_2O) H NMR δ 7.96 (bs, 1H), 7.81 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 5.92-5.88 (m, 1H), 5.29 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 4.65 (s, 3H), 1.46 (s, 6H). ^{13}C NMR (151 MHz, D_2O) δ 200.06, 144.08, 142.69, 142.36, 127.02, 126.80, 120.81, 120.60, 116.05, 54.95, 50.14, 21.45. FT-IR (cm^{-1}): 3500, 2995, 2247, 1772, 1697, 1625, 1587, 1494, 1383, 1276, 1192, 1102, 938, 833, 761, 698, 648. HRMS $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{BrNO}_3\text{S}$ için hesaplanan (m/z): 279,09291 $[\text{M}]^-$ ölçülen: 279,09903 $[\text{M}]^-$.

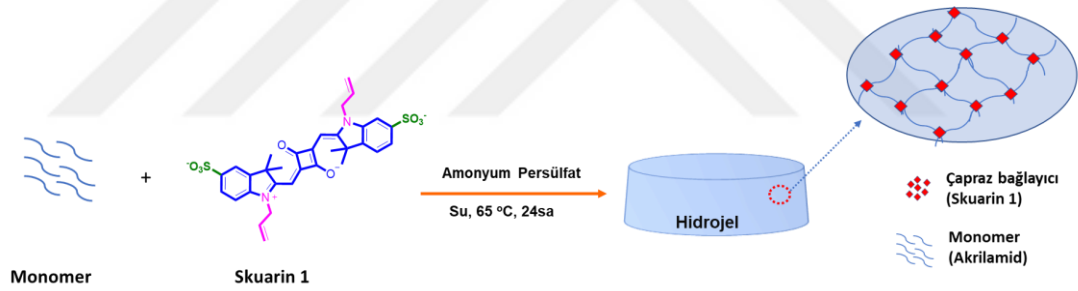
3.4 Hedef Bileşik Skuarin 1 Sentezi



Şekil 3.3. Hedef Bileşik Skuarin 1

50 ml'lik bir balona Bileşik **6**'dan (150 mg, 0,417 mmol) alınır ve **7**'den (23,77 mg 0,208 mmol) alınır. Ardından üzerine C₄H₉OH:C₆H₆ (1:1) 10 mililitrede çözündürülür. Karışım Dean-Stark tuzağı kullanılarak 115 °C'ye ısıtıldı. Tepkime soğurma spektrumu ölçülerek takip edildi. Başlangıç bileşiği bitince çözücü döner buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırıldı. Minimum metanol ile çözündürülüp etil asetatla çöktürüldü. Mavi Katı %36 verim, e.n 360 >. ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7.67 (s, 1H), 7.56 (d, J= 6 Hz, 1H), 7.16 (d, J= 12 Hz, 1H), 5.96-5.91 (m, 1H), 5.73 (s, 1H), 5.19 (d, J=12 Hz, 1H), 4.98 (d, J= 18 Hz, 1H), 4.72 (bs, 2H), 1.68 (s, 6H). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-d₆) δ 179.86, 170.05, 144.64, 142.53, 140.99, 130.69, 126.14, 120.12, 117.03, 109.72, 87.44, 49.31, 27.28. FT-IR (cm⁻¹): 3180.80 1610.93 1491.32 1455.44 1356.76 1273.04 1186.32 1096.61 1066.71 914.21 806.56 689.94 615.19. HRMS C₃₂H₃₀N₂O₈S₂ için hesaplanan (m/z): 317.07273; ölçülen 317.07632; 657.13776 [M+Na].

3.5 Hidrojel Sentezi: Skuarin 1@PAAm



Şekil 3.4. Hedef Bileşik Skuarin 1@PAAM hidrojel sentez şeması

Skuarin 12.5@PAAm Sentezi

15 ml bir viyale Akrilamid (AAm) (250 mg, 3,517 mmol) ve Skuarin **1** (2,5 mg ,0,0039 mmol) tartılır. Üzerine 0,5 ml deiyonize saf su eklenir ve azot atmosferi altında karıştırıldıktan sonra polimerizasyon başlatıcı amonyum persülfat (APS) (20 mg, 0,087 mmol) eklenerek hazırlanan çözelti 1ml'lik şırıngaya alınarak sıcaklığı 65 °C' ye ayarlanmış etüvde hidrojel oluşumu gözlenene kadar 24 saat bekletildi. Daha sonra hidrojeller suya atıldı ve belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilerek şişmesi takip edildi. Hidrojellerin suyu belli zamanlarda değiştirilmiş, tartılmış ve not alınmıştır.

FTIR (cm^{-1}): 3337, 2390, 2205, 1660, 1615, 1455, 1423, 1353, 1353, 1327, 1125, 1031, 956, 881, 595.

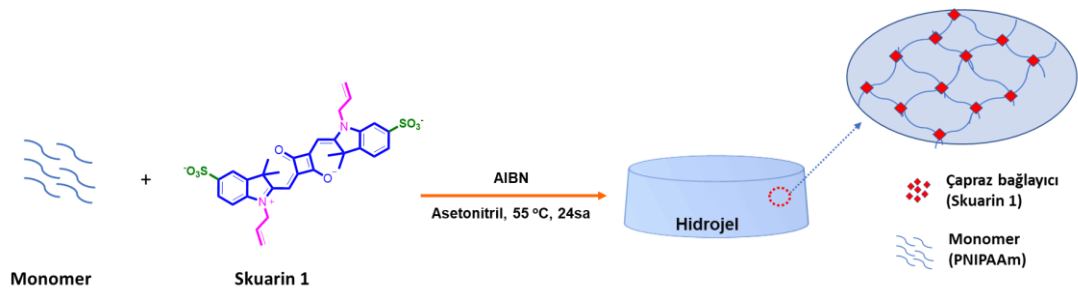
Skuarin 1_{3.0}@PAAm Sentezi

15 ml bir viyale Akrilamid (AAm) (250 mg, 3,517 mmol) ve Skuarin 1 (3 mg, 0,0047 mmol) tartılır. Üzerine 0,5 ml deiyonize saf su eklenir ve azot atmosferi altında karıştırıldıktan sonra polimerizasyon başlatıcı amonyum persülfat (APS) (20 mg, 0,087 mmol) eklenerek hazırlanan çözelti 1ml'lik şırıngaya alınarak sıcaklığı 65 °C'ye ayarlanmış etüvde hidrojel oluşumu gözlenene kadar 24 saat bekletildi. Daha sonra hidrojeller suya atıldı ve belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilerek şişmesi takip edildi. Hidrojellerin suyu belli zamanlarda değiştirilmiş, tartılmış ve not alınmıştır. FTIR (cm^{-1}): 3336, 3187, 2929, 2285, 1648, 1605, 1448, 1410, 1346, 1316, 1195, 1120, 1033, 761, 673, 493.

Skuarin 1_{5.0}@PAAm Sentezi

15 ml bir viyale Akrilamid (AAm) (250 mg, 3,517 mmol) ve Skuarin 1 (5 mg, 0,0078 mmol) tartılır. Üzerine 0,5 ml deiyonize saf su eklenir ve azot atmosferi altında karıştırıldıktan sonra polimerizasyon başlatıcı amonyum persülfat (APS) (20 mg, 0,087 mmol) eklenerek hazırlanan çözelti 1ml'lik şırıngaya alınarak sıcaklığı 65 °C'ye ayarlanmış etüvde hidrojel oluşumu gözlenene kadar 24 saat bekletildi. Daha sonra hidrojeller suya atıldı ve belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilerek şişmesi takip edildi. Hidrojellerin suyu belli zamanlarda değiştirilmiş, tartılmış ve not alınmıştır. FTIR (cm^{-1}): 3336, 3187, 2932, 2286, 1651, 1608, 1449, 1413, 1348, 1319, 1196, 1122, 531.

3.6 Hidrojel Sentezi: Skuarin 1@PNIPAAm



Şekil 3.5. Hedef Bileşik Skuarin 1@PNIPAAm hidrojel sentez şeması

Skuarin 1_{2.5}@PNIPAAm sentezi

15 ml bir viyale N-izopropilakrilamid (NIPAAm) (375 mg, 3,314 mmol) ve Skuarin 1 (2,5 mg, 0,0039 mmol) tartılır. Üzerine 0,3 ml asetonitril (ACN) eklenir ve azot atmosferi altında karıştırıldıktan sonra polimerizasyon başlatıcı 2,2'-Azobis(2-metilpropionitril) (AIBN) (10 mg, 0,06 mmol) eklenerek hazırlanan çözelti 1ml'lik şırıngaya alınarak sıcaklığı 55 °C' ye ayarlanmış etüvde hidrojel oluşumu gözlenene kadar 24 saat bekletildi. Daha sonra hidrojeller suya atıldı ve belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilerek şişmesi takip edildi. Hidrojellerin suyu belli zamanlarda değiştirilmiş, tartılmış ve not alınmıştır. FTIR (cm⁻¹): 3275, 2970, 2359, 1714, 1734, 1683, 1646, 1635, 1558, 1540, 1520, 1507, 1489, 1457, 1386, 1386, 1366, 1339, 1216, 1170, 1130, 668.

Skuarin 1_{5.0}@PNIPAAm sentezi

15 ml bir viyale N-izopropilakrilamid (NIPAAm) (375 mg, 3,314 mmol) ve Skuarin 1 (5mg, 0,0078 mmol) tartılır. Üzerine 0,3 ml asetonitril (ACN) eklenir ve azot atmosferi altında karıştırıldıktan sonra polimerizasyon başlatıcı 2,2'-Azobis(2-metilpropionitril) (AIBN) (10 mg, 0,06 mmol) eklenerek hazırlanan çözelti 1ml'lik şırıngaya alınarak sıcaklığı 55 °C' ye ayarlanmış etüvde hidrojel oluşumu gözlenene kadar 24 saat bekletildi. Daha sonra hidrojeller suya atıldı ve belirli zaman aralıklarında suyu değiştirilerek şişmesi takip edildi. Hidrojellerin suyu belli zamanlarda değiştirilmiş, tartılmış ve not alınmıştır. FTIR (cm⁻¹): 3275, 3079, 2971, 2934, 1635, 1540, 1457, 1386, 1367, 1171, 1130.

3.7 Hidrojellerin Sıcaklıkla Değişen Kütle Değişim Grafiği

Sentezi ve şişmesi tamamlanan hidrojeller suyu belirli aralıklarla değiştirilmiştir. Heildolph EKT 3001 karıştırıcıda sıcaklık belirli aralıklarla arttırılmış ve kütle değişimleri not alınmıştır. Hidrojeller 25 °C oda sıcaklığından 55 °C'ye kadar her 2 °C'de bir sıcaklık arttırılmış ve her sıcaklık artışında hassas terazi ile tartım yapıp not edilmiştir. Hidrojellerin M_{rel} ile ağırlık büzüşme oranı belirlenmiştir ve $M_{rel} = m/m_0$ olarak hesaplanmıştır.

3.8 Skuarin 1 Bileşiğinin Kimyasal Tuzak ile Fotoduyarlaştırıcı Testleri.

Skuarinin 1 DPBF içeren metanol çözeltisi kırmızı ışığa maruz bırakılmak sureti ile fotoduyarlaştırıcı testleri yapılmıştır (İlina vd., 2019). Işınlama süresince çözeltinin soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler kaydedildi. DPBF bileşiği ortamda ROT bulunması halinde tepkime verir ve soğurma şiddetinde azalma gözlenir. Veriler DPBF bileşiğine ait soğurma şiddetinin ($\lambda_{\max}$: 410 nm) soğurma spektrumları farklı zaman aralıklarında kaydedildi.

3.9 Molar Soğurma Katsayıları

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 ϵ değerleri belirlendi.

3.10 Floresans Kuantum Verimleri (Φ_F)

Tüm yapıların kuantum verimleri floresan emisyon bandına bağlı olarak bilinen standartlar (Rodamin B) (Lu vd., 2018) kullanılarak şu formüle göre hesaplanacaktır: $\Phi_x(\lambda) = \Phi_{st}(\lambda) \times F_x / F_{st} \times A_{st}(\lambda) / A_x(\lambda) \times h_{st}^2 / h_x^2$ Burada Φ_F floresan kuantum verimi, A: uyarma dalga boyuna karşılık gelen absorbands, F: düzeltilmiş emisyon dalga fonksiyonu altında kalan alan, n: çözücünün refraktif indeksi, s: standart ve λ : numunedir.

3.11 Skuarin 1@PAAm Kimyasal Test ile FDT Aktivitesinin Belirlenmesi

Sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilen tüm hidrojenlerin fotodinamik etkinlikleri belirlendi. Suda şişerek dengeye gelen hidrojel (skuarin 1_{2.5}, skuarin 1_{3.0}, skuarin 1_{5.0}) tuzak molekül DPBF ile birlikte kuvars tüpe alındı (Belali vd., 2017, 2018a; Kraljić ve Mohsni, 1978) tuzak molekülün optik yoğunluğu soğurma spektrumu ile ölçüldü. Hidrojenlerin FDT etkinlikleri öncelikle kimyasal tuzak moleküller DPBF (1,3-difenilizobenzofuran) kullanılarak belirlenmiştir. Hidrojenin ROT üretme aktivitesi, tuzak molekülün soğurma şiddetinin (DPBF: $\lambda_{\max}$: 415 nm), azalmasıyla belirlendi.

3.12 Skuarin 1@PNIPAAm Kimyasal Test ile FDT Aktivitesinin Belirlenmesi

Sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilen tüm hidrojel­lerin fotodinamik etkinlikleri belirlendi. Suda şişerek dengeye gelen hidrojel (skuarin 1_{2.5}, skuarin 1_{5.0}) tuzak molekül DPBF ile birlikte kuvars tüpe alındı (Belali vd., 2017, 2018a; Kraljić ve Mohsni, 1978) tuzak molekülün optik yoğunluğu soğurma spektrumu ile ölçüldü. Hidrojel­lerin FDT etkinlikleri öncelikle kimyasal tuzak molekül­ler (1,3-difenilizobenzofuran-DPBF) kullanılarak belirlenmiştir. Hidrojin ROT üretme aktivitesi, tuzak molekülün soğurma şiddetinin (DPBF: λ_{max} : 415 nm), azalmasıyla belirlendi.

3.13 Hücre Kültürü

Hücre kültürü çalışmaları laminar kabin içerisinde, steril ortam sağlanarak literatürde bilinen yöntemler kullanarak çalışıldı (Bonifacino vd., 2001). Kanser hücresi ile prosedür gerçekleştirildi. Hücre hattı SK-MEL 30/An1 (insan melanoma) seçildi. Hücre hattına uygun besiyeri seçilerek hücre kültürü kaplarında %5 CO₂ ve 37 °C ortamında inkübe edildi. Hücre canlılığı kontrol edilerek yoğunlukları %70-80'e ulaştığında tripsin-EDTA ile tripsinizasyon tekniği kullanılarak pasajları yapıldı. Yöntemlere bağlı olarak seçilen well platelere, hedeflenen konsantrasyonda hücre ekimleri yapabilmek için 100 mikrolitre stok hücre içerişimden 100 mikrolitre tripsin mavisi ile homojen ependorf tüpünde karıştırıldı ardından thoma lamı üzerinde 10 mikrolitre alınarak alan sayımı gerçekleştirildi. Hücre sayımında $A \times SF \times 16 \times 10.000$ hesaplanması kullanıldı. A: kesişen kare alanında sayılan hücre sayısı. SF: Seyreltme faktörü. Thoma lamı üzerinde 16: 16 adet kare olduğundan tüm kare sayısını bilmek için kullanılan çarpan. 10.000: 0,1 mm³' deki alanda 1 ml' deki hücre sayısını bilmek için ve standart sonuca varmak için kullanılan hesaplama yapıldı.

3.14 Skuarin 1 ile Sk-mel Hücre Hattında Biyogörüntüleme

Belirlenen prosedür yöntemine bağlı olarak konsantrasyonları 25×10^{-3} olan hücreler 12 kuyulu well plate içerisine hücre ekimleri gerçekleştirildi. Hücreler %5 CO₂ ve 37 °C ortamında inkübe edildi. Ardından belirlenen yoğunlukta Skuarin 1 besiyeri içerisinde hazırlandı ve hücreye eklendi daha sonra 24 saat süre inkübeye bırakıldı. Hücre içine girmesini markası Leica DM IL LED mikroskop ile teyit edildi. Skuarin

1'in hücre içerisine girdiği belirlenince PBS ile üç kez yıkandı. Kuyucuklara 500 µl PBS (%3,7 lik formaldehit) çözeltisi ile 10 dk inkübe edilerek hücrelerin well plate üzerine sabitlenmesi sağlandı. Tekrar uygun besiyeri kuyucuklara eklendi. Daha sonra kuyucuklara DAPI (çekirdek boyası) 48 µl eklenerek 40 dk inkübe edildi. SK-MEL 30/An1 hücre hattında Skuarin 1 in görüntü oluşturabilmesi için, 620/60 nm dalga boyunda hücreler uyarıldı ardından 650 nm'den 750 nm'ye kadar emisyon görüntüleri kaydedildi (Beverina ve Salice, 2010).

3.15 Skuarinin 1 ile Sk-mel Hücre Hattında İn Vitro FDT Testleri

Hücreler 96'lık kuyulu well plate ekildi. 24 saat sonra logaritmik evreye geldiklerinde belirlenen doz aralıklarında (1, 5, 10 µg/µl) Skuarin 1 ilave edilerek inkübe edildi. PBS ile kuyucuklar 3 kere yıkama işlemi yapıldı. Daha sonra belirlenen sürede kırmızı ışığa tabi tutuldu ardından 24 saat inkübeye bırakıldı. 24 saat sonra besiyeri ortamdan uzaklaştırıldı. PBS ile kuyucuklar 3 kere yıkama işlemi yapıldı ve kuyucuklara 100 µl besiyeri eklendi ardından üzerine 11 µl MTT (1 mg/ml) çözeltisi eklendi. 37 °C' de üç saat inkübasyondan sonra besiyeri uzaklaştırıldı, 150 µl dimetil sülfoksit DMSO: izoprapanol (1:1) eklenerek formazan kristallerinin çözünmesi sağlandı. Plaka okuyucuda 490 nm'de absorbans ölçülmesi sağlanarak yüzde canlılık hesaplandı. Hücre canlılığı $R_v = ((A_1 - A_0) / (A_2 - A_0)) \times 100 \%$ formülü kullanılarak hesaplandı. R_v hücre canlılığı, A_0 boş kontrol grubunun soğurması, A_1 deneysel grubun soğurması, A_2 kontrol grubunun soğurması (Ramaiah vd., 1997; Ajayaghosh, 2005; Babu vd., 2017).

3.16 Skuarinin 1 L929 Hücre Hattında Sitotoksisite Testi

Hücre hazırlama işlemleri laminar kabinde, steril ortamda literatürde bilinen reçeteler kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmada sağlıklı kontrol hattı olarak L929 (ATCC® CRL-6364™) (fibroblast) kullanıldı. Bu hücreler ticari firmalar [Amerika Hücre Bankası'ndan (ATCC®)] aracılığıyla temin edilerek, hatlara uygun besiyeri ile hücre kültür kaplarında %5 CO₂ ve 37°C de inkübe şartları sağlandı. Hücreler, canlılıkları %70-80'e ulaştığında tripsinizasyon tekniği kullanılarak pasajlama işlemleri yapıldı. Çalışmalara uygun 96'lık kuyulu plakalara hücre ekimleri gerçekleştirildi. 24 saat sonra logaritmik evreye geldiklerinde belirlenen doz aralıklarında (1, 5, 10 µg/µl) Skuarin 1 ilave edilerek inkübe edildi. PBS ile kuyucuklar

3 kere yıkama işlemi yapıldı ve kuyucuklara 100 µl besiyeri eklendi ardından üzerine 11 µl MTT (1 mg/ml) çözeltisi eklendi. 37 °C’ de üç saat inkübasyondan sonra besiyeri uzaklaştırıldı, 150 µl dimetil sülfoksit (DMSO) izoprapanol (1:1) eklenerek formazan kristallerinin çözünmesi sağlandı. Plaka okuyucuda 490 nm’de absorbans ölçülmesi sağlanarak yüzde canlılık hesaplandı. Hücre canlılığı $R_v = ((A_1 - A_0) / (A_2 - A_0)) \times 100 \%$ formülü kullanılarak hesaplandı. R_v hücre canlılığı, A_0 boş kontrol grubunun soğurması, A_1 deneysel grubun soğurması, A_2 kontrol grubunun soğurması (Ramaiah vd., 1997; Ajayaghosh, 2005; Babu vd., 2017).

3.17 1@PAAM ve 1@PNIPAAM L929 Hücre Hattında Sitotoksitesite Testi

Hidrojellerin steril olması için %75 etanol çözeltisine daldırıldı. Bir gece hidrojelde kalan etanol uzaklaşması uygun besiyeri olan Dulbecco Modifiye Eagle (DMEM) bekletilerek sağlandı (Agostinis vd., 2011; Belali vd., 2017a; Li vd., 2020). Hacmi 250 µl olan 48 kuyucuklu plakalarda DMEM (%10 FBS ve %1 penisilin / streptomisin içeren) besiyeri kullanıldı ardından konfluentleri her kuyu başına 25×10^3 hücre sağlandı. 37°C ve %5 CO₂ ortamında 24 saat inkübe edildi. 24 saat sonra hücreler PBS ile yıkandı. Daha sonra uygun besiyeri içerisinde steril edilmiş hidrojeller kuyulara (20,40 ve 60 mg) 24 saat inkübe olması için bırakıldı. Hücre canlılığı anlaşılması için MTT deneyi uygulandı. Hidrojelller uzaklaştırıldıktan sonra kuyulara 27 µl (15 mg/ml) MTT eklendi 3 saat inkübe edildi daha sonra DMEM uzaklaştırılarak formazan kristallerinin çözünmesi 250 µl DMSO:İzoprapanol (1:1) eklenerek sağlandı. Daha sonra mikropilaka okuyucusuna yerleştirebilmek için 96 lık well plate dikkatli bir şekilde aktarıldı mikropilaka okuyucusunda soğurması 490 veya 570 nm’de ölçüldü. Hücre canlılığının yüzdelik değerinin hesaplanması $R_v = ((A_1 - A_0) / (A_2 - A_0)) \times 100 \%$ kullanıldı. R_v hücre canlılığı, A_0 blank kontrol grubunun soğurması, A_1 deneysel grubun soğurması, A_2 kontrol grubunun soğurması.

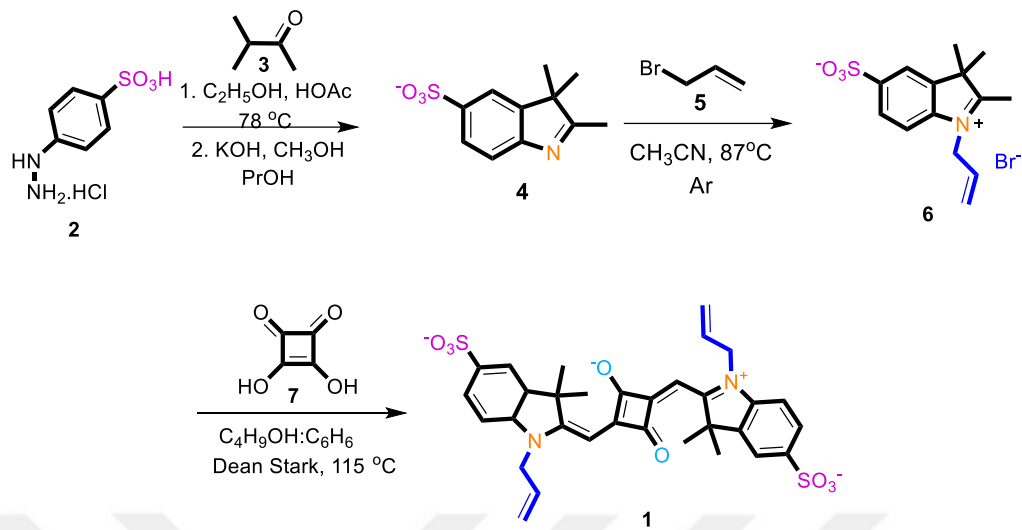
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu tez kapsamında, terapötik pencere (650-850 nm) ile uyumlu bir bölgede yüksek molar soğurma katsayıları nedeniyle güçlü soğurma yapan ve floresans özellik gösteren yeni nesil bir fotoduyarlastırıcı ajanın tasarımı ve sentezi hedeflenmiştir.

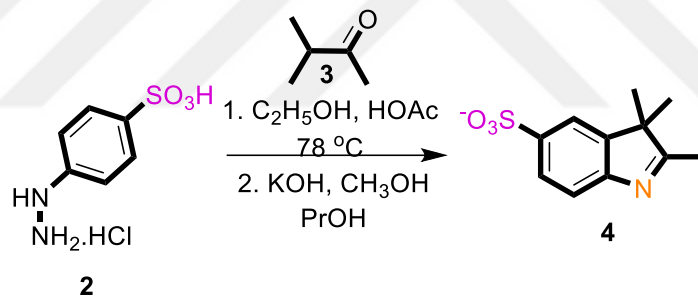
Sentezlenen hidrojellerin önce karakterizasyonu yapılmış ve ardından ROT üretme kabiliyeti incelenmiştir. FDT’de kullanılabilecek özelliklere sahip fonksiyonel hidrojellerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar henüz kısıtlı düzeydedir. Ancak FDT ajanlarının çoğu suda iyi çözünmediğinden fiziksel etkileşimlerle hidrojellere yüklenmelerinde zorluklar yaşanmaktadır. Hidrojellere düşük miktarda FDT ajanları fiziksel olarak başarılı bir şekilde yüklense dahi ajanlar çevresel dış etmenlerden kolayca etkilenebilmektedir. Özellikle hidrojelle fiziksel olarak etkileşen FDT ajanlarının kararlılıkları değişebilmektedir. Ayrıca FDT ajanlarının hidrojel ağ yapısından zamanla sızabildiği ve bu nedenle hidrojelin fotoduyarlastırıcı içeriğinde ve dolayısıyla malzemenin FDT etkinliğinde bir azalmanın söz konusu olduğu belirtilmelidir. Bu tezde o nedenle fotoduyarlastırıcı olarak alınan skuarin 1’in hidrojellerle kovalent entegrasyonu planlanmıştır.

4.1 Hedef Bileşik Skuarin 1 Sentezi

Hedeflenen Skuarin 1 dört basamakta sentezlenmiştir. Hedef bileşik Skuarin 1 sentezi için önce 2 ve 3 tepkimesinden 4 (Park vd., 2012) literatürde bilinen yöntemlerle elde edildi ve spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir. Daha sonra allil bromür 5 ile N-alkilleme neticesinde 6 yapısına geçildi. İndolinin 7 skuarik asit 8 ile kondenzasyon tepkimesinden skuarin 1 sentezlenmiştir.

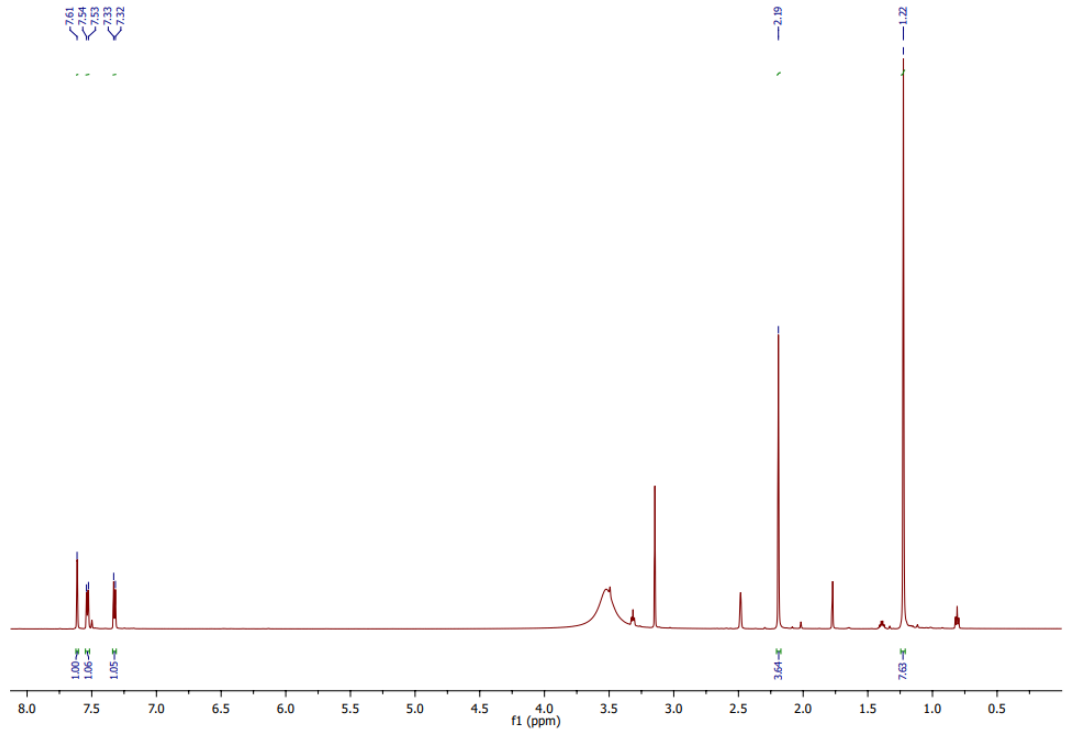


Şekil 4.1. Hedef yapı Skuarin **1** genel sentez şeması.



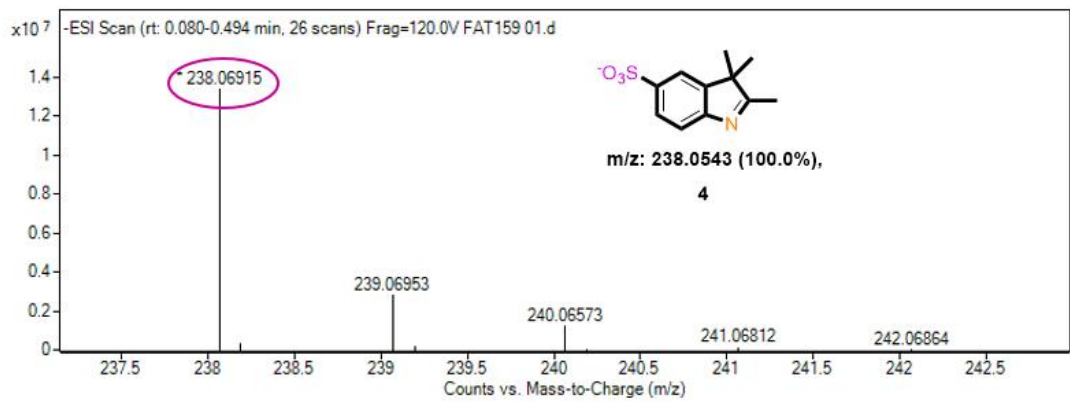
Şekil 4.2. Bileşik **4** sentezi.

Bileşik **4** ^1H NMR Şekil 4.3 de verilmiştir protonların sırasıyla 7.61 (s, 1H), 7.54, (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.33 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 2.19 (s, 3H), 1.22 (s, 6H) ppm’de sinyal verdiği not edilmiştir.



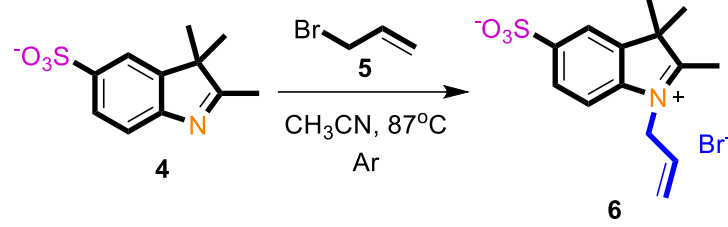
Şekil 4.3. Bileşik 4 için ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 600 MHz).

Bileşik 4 için kaydedilen yüksek çözünürlüklü kütle spektrumu (HRMS, Şekil 4.4) hesaplanan kütle değeri (m/z : 238,05434) ile ölçülen kütle değerlerinin (m/z : 238,06915) yapı ile uyumlu olduğunu göstermiştir.



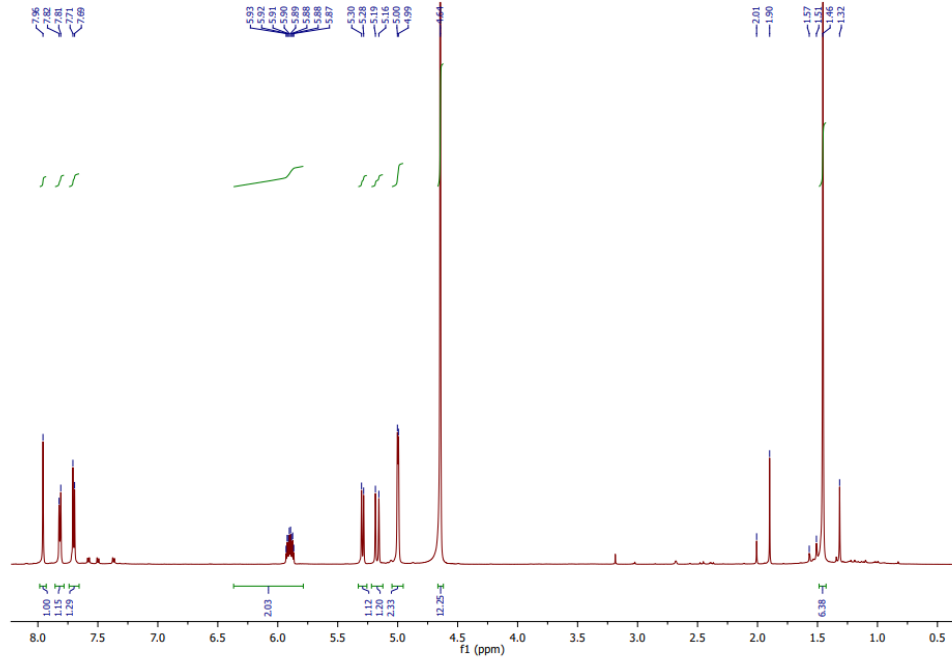
Şekil 4.4. Bileşik 4 için HRMS spektrumu.

İkinci basamakta bileşik **4** allil bromür **5** ile kuru asetonitril içerisinde etkileştirilerek N-alkilasyonu gerçekleştirildi (Şekil 4.5).



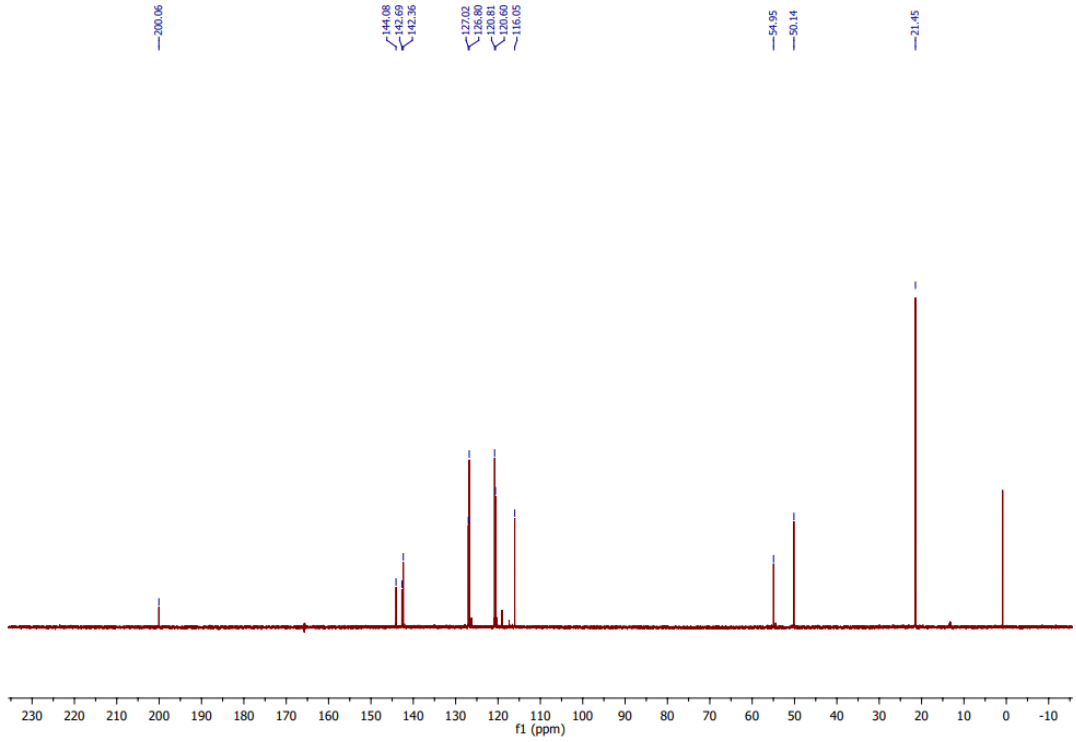
Şekil 4.5. Bileşik **6** sentezi.

Bileşiğin **6** ^1H NMR spektrumu (Şekil 4.6) incelendiğinde, allil grubuna bağlı metilenik protonların 5.00 ppm ve olefinik protonların ise 5.18, 5.29 ve 5.90 ppm’de sinyal verdiği görülmektedir. Bu durum tepkimede beklenen ürünün oluştuğunu kanıtlamaktadır (Şekil 4.6).



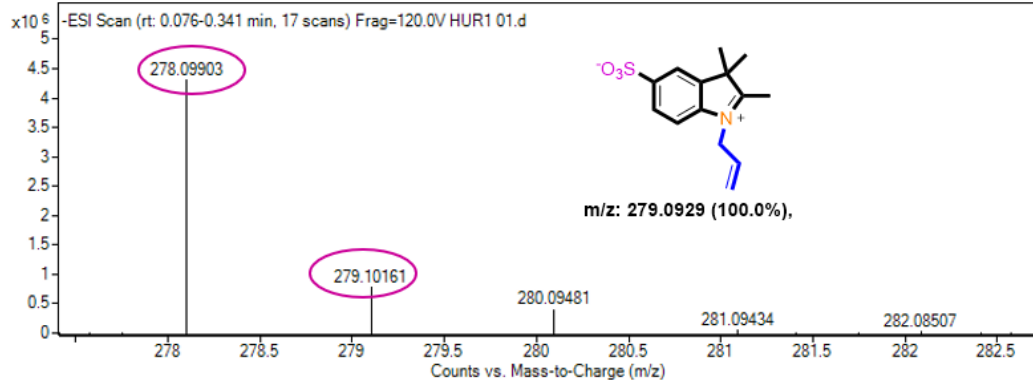
Şekil 4.6. Bileşik **6** ^1H NMR spektrumu (D_2O , 600 MHz).

Ayrıca bileşiğin **6** ^{13}C NMR (Şekil 4.7) ve HRMS kütle (Şekil 4.8) spektrumları yapıyı doğrulamaktadır.



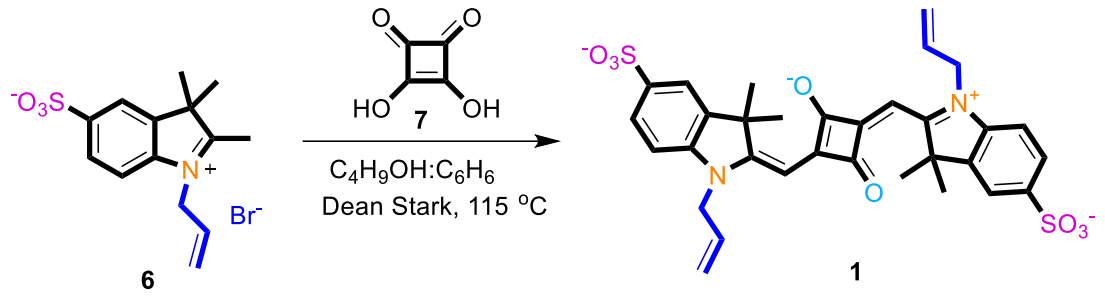
Şekil 4.7. Bileşik **6** için ^{13}C NMR spektrumu (D_2O , 151 MHz).

Bileşik **6** hesaplanan kütle değeri (m/z : 279,09291) ile ölçülen kütle değerleri (m/z : 278,09903; ve 279.10161) yapı ile uyumludur (Şekil 4.8).



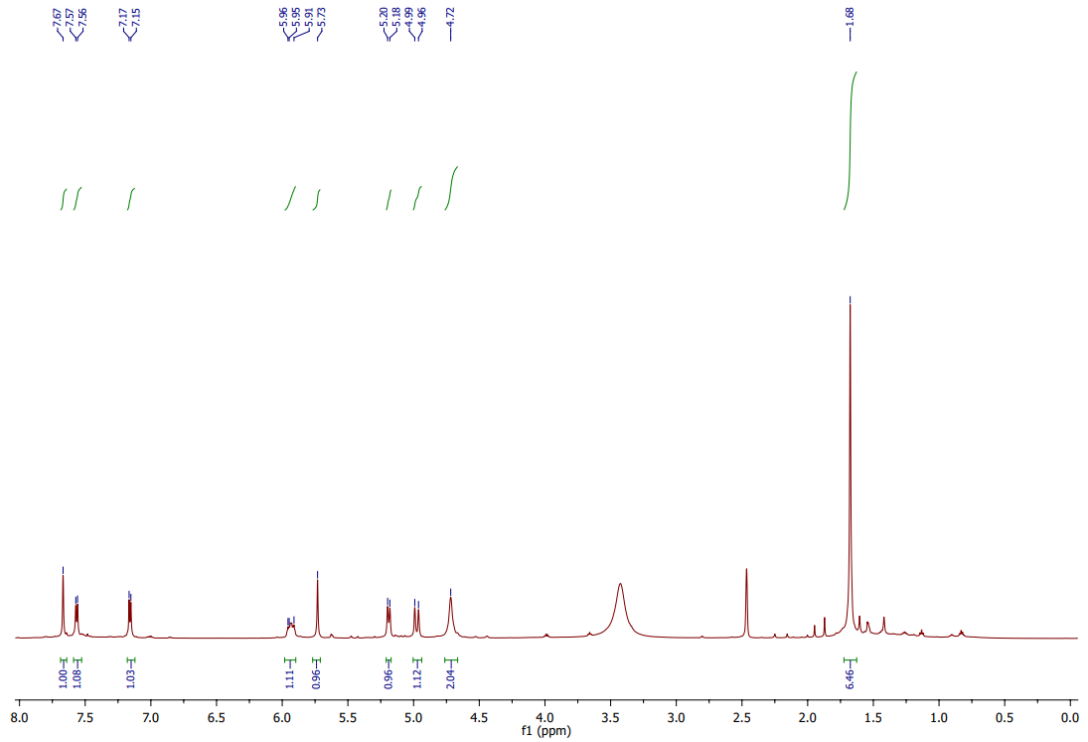
Şekil 4.8. Bileşik **6** HRMS kütle spektrumu.

Hedef bileşiğin **1** sentezi için son basamakta ise bileşik **6** ve skuarik asit **7** bütanol ve benzen karışımında (1:1, v/v) Dean-Stark tuzağı altında $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmış ve tepkime (Şekil 4.9) soğurma spektrumu ölçülerek takip edildi. Başlangıç bileşikler tükendikten (yaklaşık 24 saat) sonra soğumuş karışımdan çözücü uzaklaştırıldı ve ürün çöktürülerek alındı.



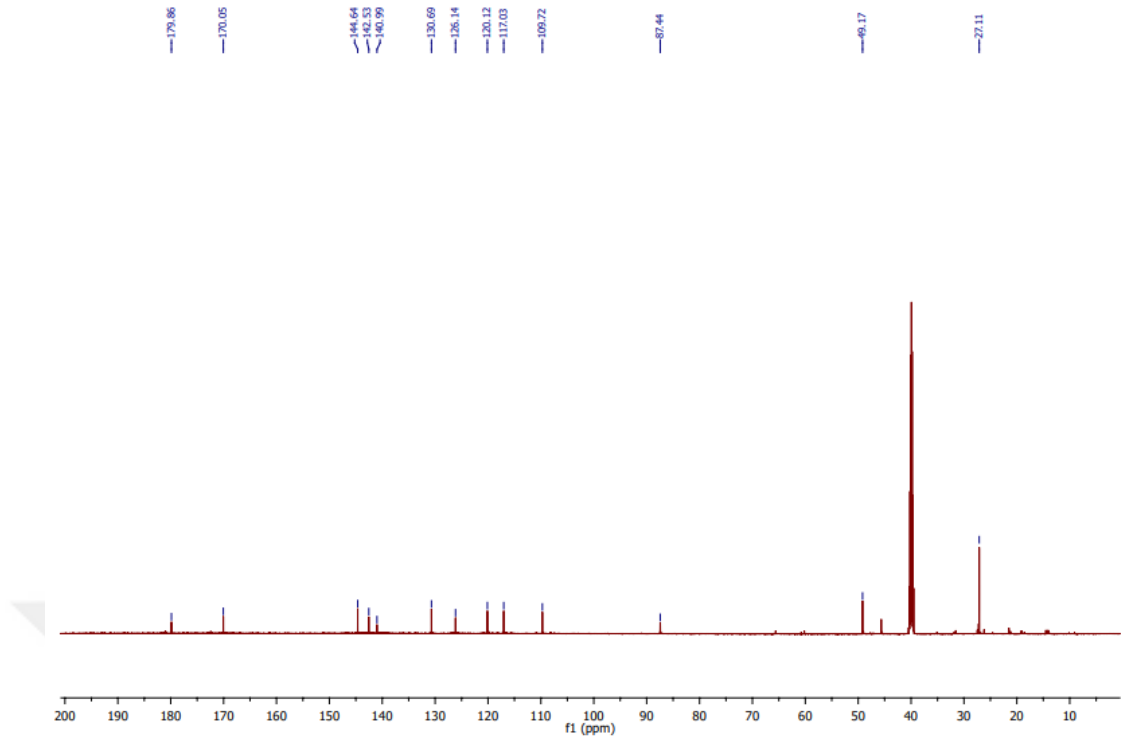
Şekil 4.9. Bileşik Skuarin **1** sentezi.

Hedef bileşiğin **1** ^1H NMR spektrumu Şekil 4.10 da verilmiştir. Yapıdaki aromatik protonların 7.67 (s, 1H), 7.56 (d, $J=6\text{ Hz}$, 1H) ve 7.16 (d, $J=12\text{ Hz}$, 1H) ppm, olefinik protonların 5.96-5.91 (m, 1H), 5.73 (s, 1H), 5.19 (d, $J=12\text{ Hz}$, 1H) ve 4.98 (d, $J=18\text{ Hz}$, 1H) ppm, metilenik protonların 4.72 (bs, 2H) ppm ve metil protonlarının ise 1.68 (s, 6H) ppm de rezonans oldukları görülmektedir.



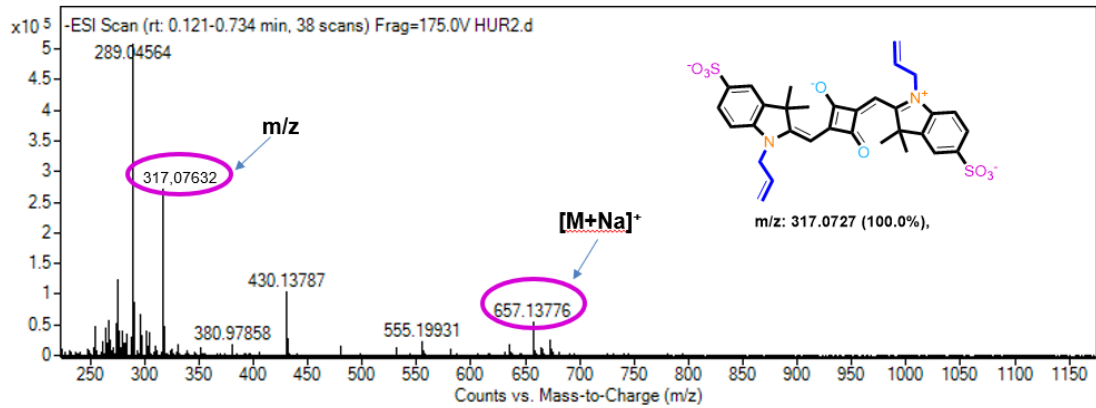
Şekil 4.10. Hedef bileşik **1** için ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 600 MHz).

Hedef bileşiğin **1** ^{13}C NMR spektrumu Şekil 4.11’de verilmiştir. Yapıya ait sp^2 karbonlar 179.86, 170.05, 144.64, 142.53, 140.99, 130.69, 126.14, 120.12, 117.03, 109.72 ve 87.44 ppm de sinyal vermiş olup sp^3 karbonlar 49.31 ve 27.28 ppm de gözlenmiştir.



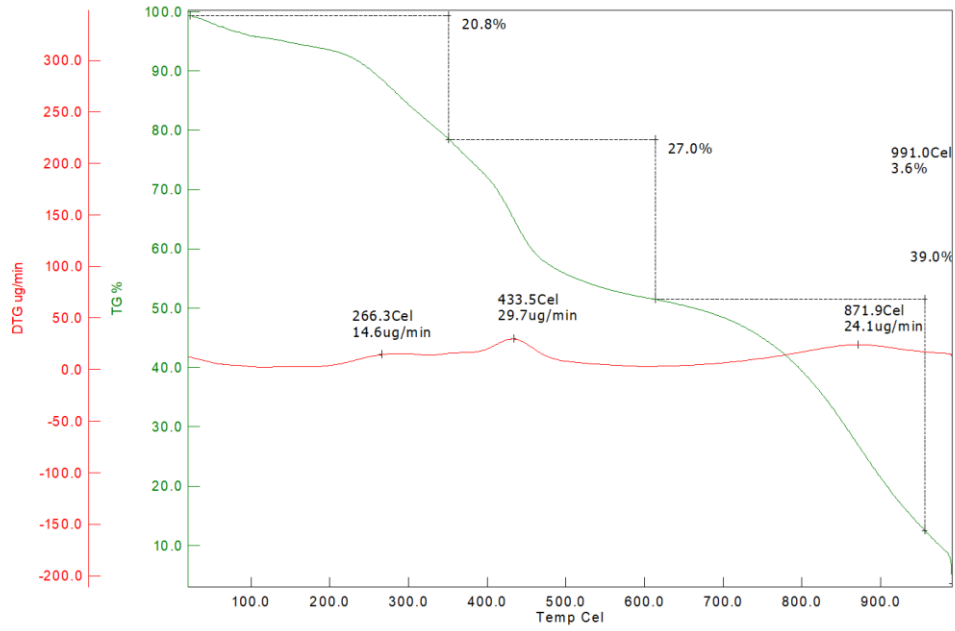
Şekil 4.11. Skuarin **1** ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6 , 151 MHz).

Skuarin **1** yapısı HRMS ile aydınlatılmış olup Şekil 4.12’de verilen M/2: 317.07632 ve M+Na: 657.13776 sinyalleri net bir şekilde yapıyı doğrulamaktadır.



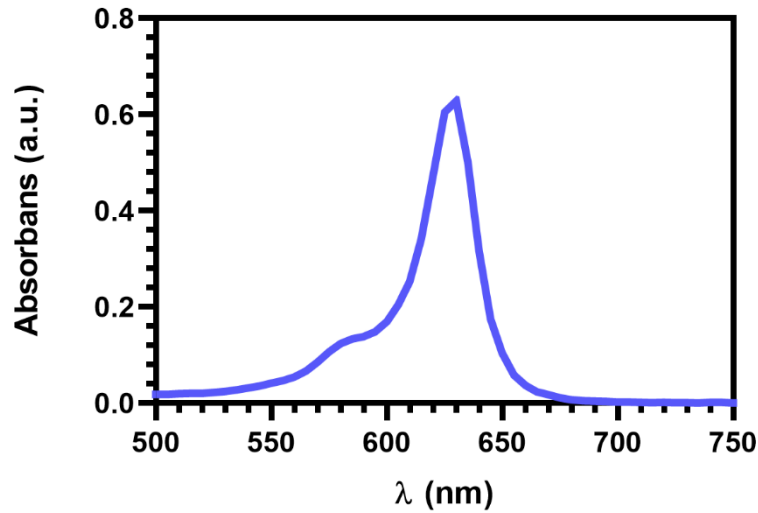
Şekil 4.12. Hedef bileşik **1** için HRMS kütle spektrumu.

Skuarin **1** termal davranışlarını incelemek için termal gravimetrik analizleri (TGA) yapıldı. **1** in 300 °C kadar ısıtılması neticesinde %20.8’lik muhtemelen nem kaybına işaret eden bir durum gözlenmektedir (Şekil 4.13). Daha sonra artan sıcaklıkla 300-600 °C’de %27’lik bir kütle kaybı daha olmuştur. 700 °C üzerindeki sıcaklıklarda ise **1** in bozunmaya başladığı görülmektedir.



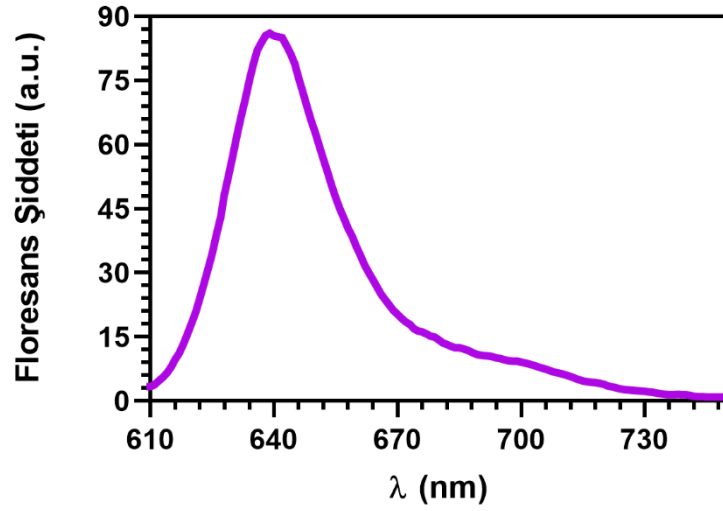
Şekil 4.13. Skuarin 1 için TGA verileri

Hedef bileşik skuarinin 1'in yapısı karakterize edilmiştir. Hedef bileşiğin 1 fotofiziksel özelliklerini belirlemek için soğurma, floresans ve potansiyel FDT etkinliği incelenmiştir. PBS (pH 7.4) içerisinde ölçülen soğurma spektrumunda skuarinin 1 maksimum soğurma dalga boyunun λ_{max} 630 nm olduğu görülmüştür (Şekil 4.14). Skuarinin 1 molar soğurma katsayısı (ϵ) $123412 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.



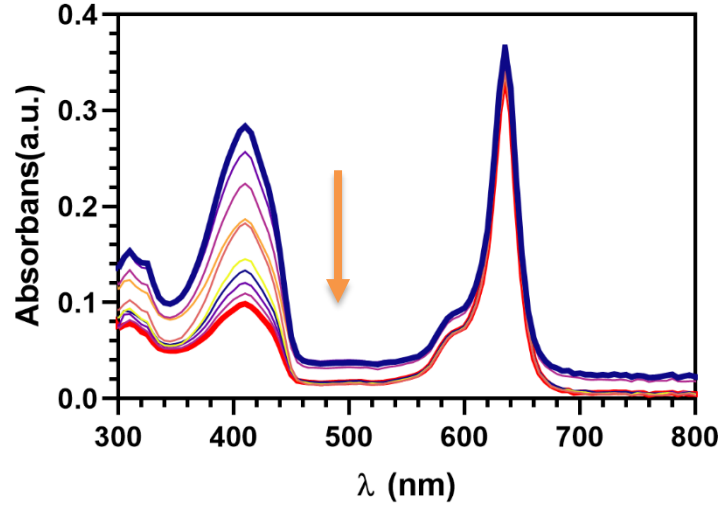
Şekil 4.14. Skuarinin 1 soğurma spektrumu ($5 \times 10^{-6} \text{ M}$, PBS, pH: 7.4, λ_{max} : 630nm).

Skuarinin **1** floresans spektrumu Şekil 4.15'te verilmiştir. Yapının **1** PBS ortamında floresans özellik gösterdiği ve maksimum emisyon dalga boyunun ($\lambda_{\max}$) 640 nm olduğu belirlenmiştir. Rodamin B standart olarak alındığında (Φ_F : 0.89) skuarinin floresans kuantum verimi (Φ_F) 0,15 olarak hesaplanmıştır.



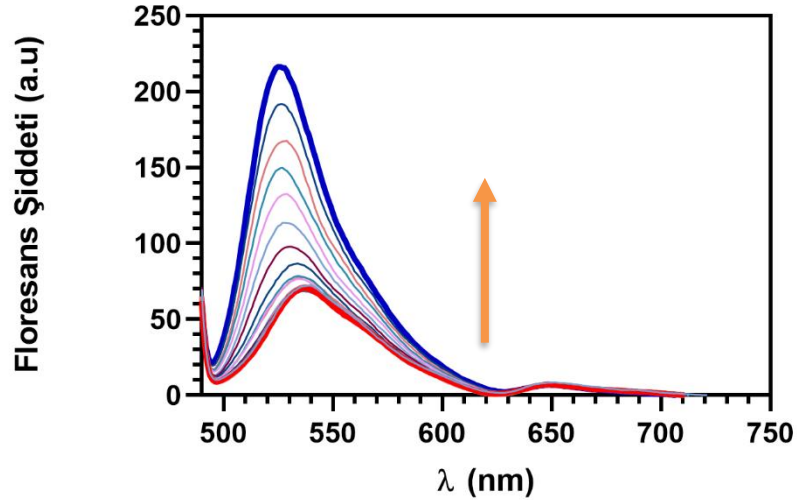
Şekil 4.15. Skuarinin **1** floresans spektrumu (5×10^{-6} M, PBS, pH: 7.4, $\lambda_{\max}$: 640 nm, λ_{ex} : 630 nm).

Daha sonra skuarinin **1** DPBF içeren metanol çözeltisi kırmızı ışığa maruz bırakılmak sureti ile fotoduyarlastırıcı testleri yapılmıştır. Işınlama süresince çözeltinin soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler kaydedilmiş olup Şekil 4.16'da verilmiştir. DPBF bileşiği ortamda ROT bulunması halinde tepkime verir ve soğurma şiddetinde azalma gözlenir. Elde edilen sonuçlar DPBF tuzak molekülünün soğurma grafiğinin ($\lambda_{\max}$: 410 nm) beklendiği gibi zamanla azaldığını göstermektedir.



Şekil 4.16. Skuarinin **1** ($1,66 \times 10^{-6}$ M) DPBF ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında metanol içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince kaydedilen spektrumlar

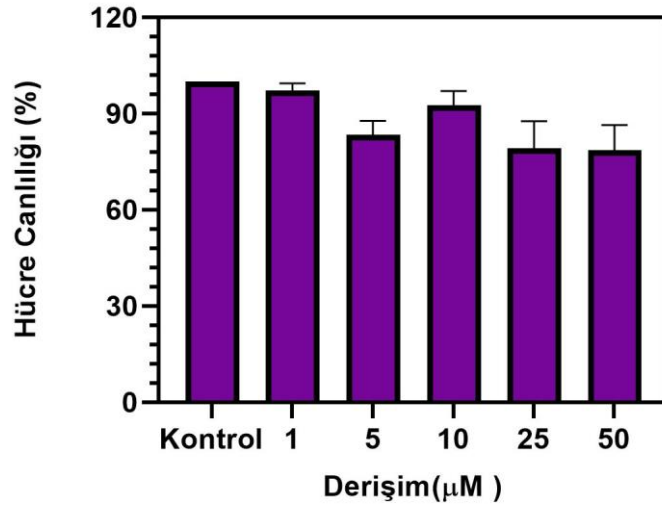
İlave bir test ise tuzak molekül olarak 2',7'-Diklorodihidrofloresin diasetat (DCHF) kullanılarak PBS (pH 7.4) ortamında yapılmıştır. DCHF bileşiği ortamda ROT bulunması halinde tepkime verir ve floresans şiddetinde artış gözlenir. Skuarin **1** ve DCHF ile PBS (pH 7.4) ortamında yapılan testlerden de olumlu neticeler alınmış olup (Şekil 4.17) skuarinin **1** fotoduyarlayıcı özellik gösterdiği net bir şekilde ortaya konmuştur.



Şekil 4.17. Skuarinin **1** ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DCHF ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında PBS (pH 7.4) içerisinde kırmızı ışık ile uyarılma süresince kaydedilen floresans spektrumu

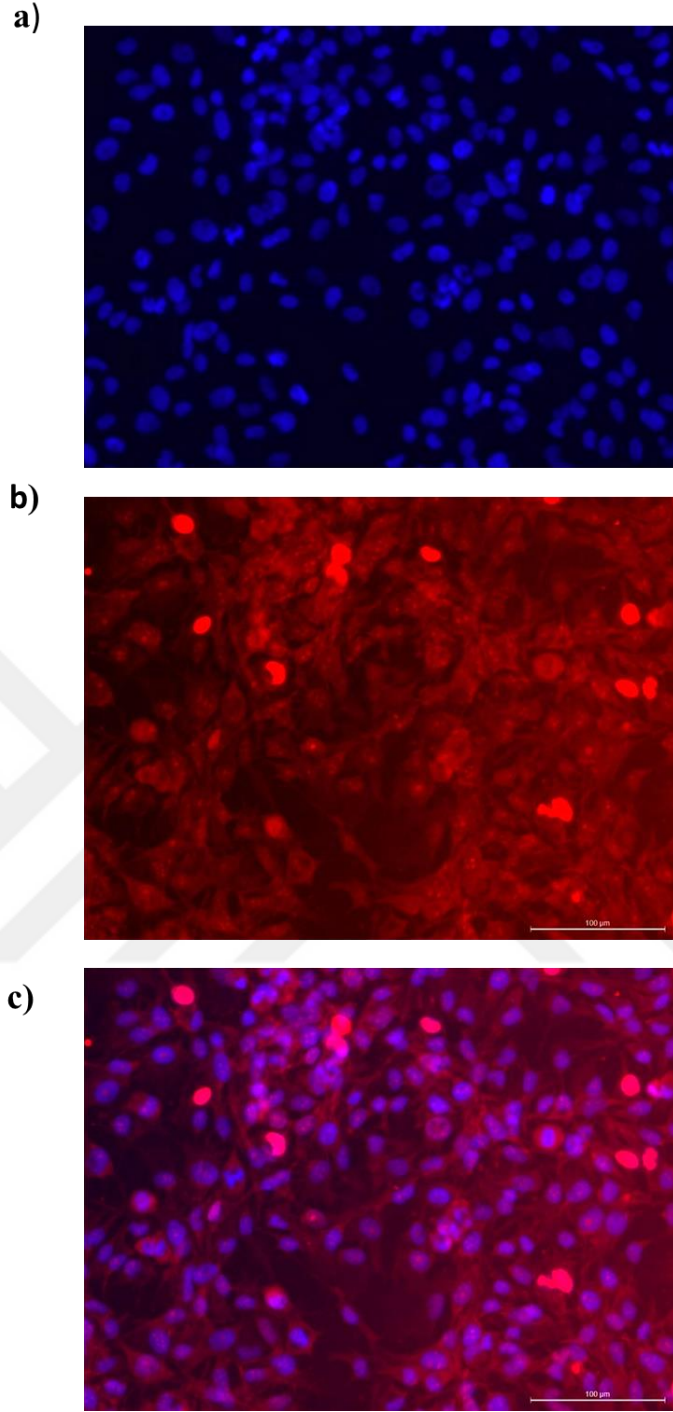
Skuarinin **1** suda (ve/ya biyolojik ortamda) tamamen çözünebilen moleküler yapısından dolayı karanlık toksisitesinin ve biyoyumluluğunu belirlenmesi üzerinde

durulmuştur. Bunun için sağlıklı kontrol hattı olarak L929 (ATCC® CRL-6364™) (fibroblast) hücreleri kullanılmıştır. L929 hücreleri değişik konsantrasyonlarda (1-50 μ M) skuarin **1** ile inkübe edilmiştir. Skuarinin **1** hücre canlılık oranına etkisi MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) protokolü izlenerek belirlenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 4.18’de verilmiştir. Skuarinin **1** yüksek derişimlerde dahi toksik etki göstermediği ve hücrelerin en az %80 oranlarında canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir.



Şekil 4.18. Çeşitli konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 25 ve 50 mM) skuarin **1** ile inkübe edilen L929 hücreleri için canlılık oranları.

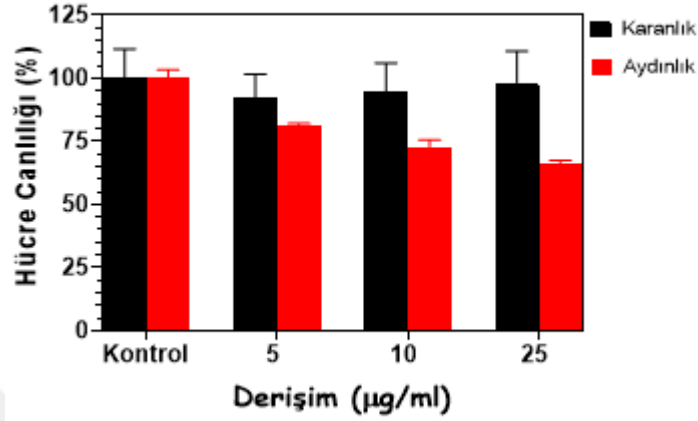
Bu veriler skuarinin **1** biyoyumlu olduğuna ve biyogörüntüleme ajanı olarak işlev görebileceğine işaret etmektedir. Aynı zamanda Skuarin **1** PBS ortamında emisyonu incelendiğinde etkin floresans ışıma yaptığı gözlemlenmiştir. O nedenle skuarin **1** in vitro ortamda SK-MEL 30/An1 hücre hattında floresans görüntüleme yeteneği, testlerine tabi tutulmuştur. Yapılan çalışmalar neticesinde skuarinin **1** hücrelere internalize olduğu ve canlı hücrelerde floresans görüntüleme yapabildiği ortaya konmuştur.



Şekil 4.19. Skuarin **1** ile 24 saat inkübe edilen kanser hücrelerinin floresans görüntüleri.

Skuarin **1** fotoduyarlastırıcı özelliklerini belirlemek amacıyla gerekli olan kimyasal testler Şekil 4.16 ve 4.17’de belirtilmişti, hedef bileşiğin singlet oksijen kuantum verimi hesaplanmıştır ve ROT ürettiği belirtilmişti. Ardından skuarinin **1** in vitro FDT testleri yapıldı. Kanser hücreleri üzerinde ROT üretilme etkinliği in vitro ortamlarda analiz edildi (Şekil 4.20). Skuarin **1** 5, 10 ve 25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyonlarında inkübe

edilen SK-MEL 30 hücreleri 120 dakika kırmızı ışık ile uyarıldı. Daha sonra FDT aktivitesi MTT yöntemi kullanılarak incelendi. Sonuç olarak 25 µg/µl konsantrasyonunda % 70 hücre ölümü gerçekleştiği belirlendi.

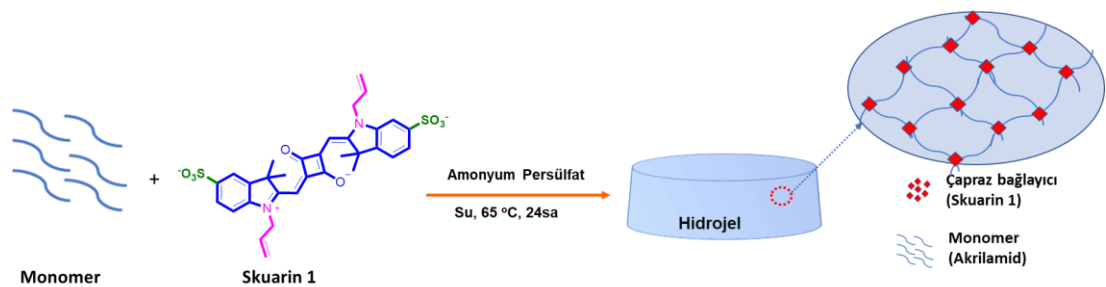


Şekil 4.20. Skuarin 1 ile in vitro fotoduyarlastırıcı testlerinden elde edilen hücre canlılık verileri.

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

Sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilen, Skuarin 1 biyoyumlu olan PAAm molekülüne çapraz bağlayıcı olarak yerleştirilmiştir.

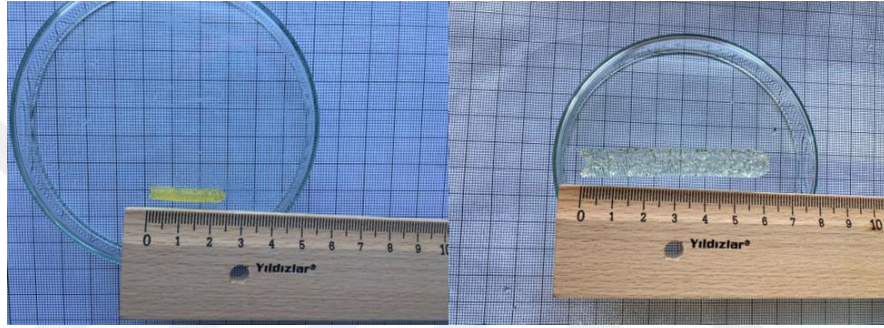
Monomer olarak PAAm monomeri kullanılmıştır. Diğer monomerlere ile konjuge edilen poli(akrilamit) (PAAm) hidrojellerinin fiziksel yöntemlere göre daha fazla ve kontrol edilebilir düzeyde fotoduyarlastırıcı yüklemeye imkân verdiğini belirtmişlerdir. Skuarin 1 ve PAAm'i polimerizasyon başlatıcı amonyum persülfat kullanılmış ve hidrojel sentezlenmiştir (Şekil 4.21). Ardından çapraz bağlayıcı olarak kullanılan skuarin 1 farklı konsantrasyonlarda (2.5, 3.0, ve 5.0 mg) çalışılmıştır.



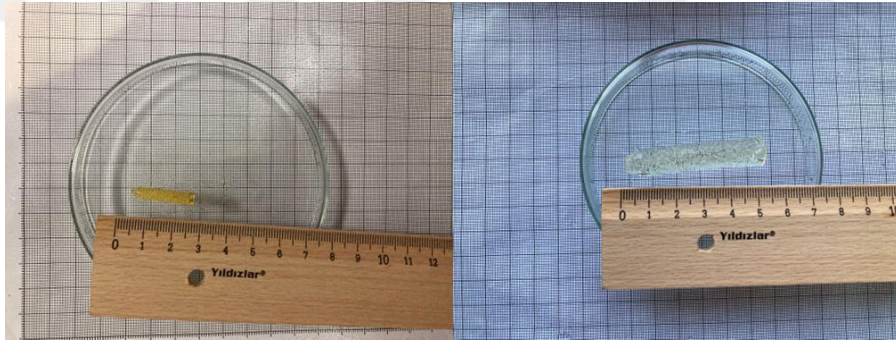
Şekil 4.21. Skuarin 1@PAAm hidrojel sentez şeması

Hidrojellerin bilinen en büyük avantajları yapılarında su tutma kabiliyetleridir. Çapraz bağlayıcı olarak kullanılan skuarin 1 farklı konsantrasyonlarda (2.5, 3.0, ve 5.0 mg) çalışılmıştır. Burada kullanılan skuarin miktarına göre hidrojeller; **12.5@PAAm**, **13.0@PAAm** ve **15.0@PAAm** olarak adlandırılmıştır. Tepkime sonucunda elde edilen hidrojeller suya atılmış ve hidrojellerin dengeye gelmesi beklenmiştir. Bu esnada belli sürelerde su değişimi yapılmış ve tepkimeye girmeyen başlangıç bileşiklerinden arındırma işlemi de gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerin yüksek oranda su tutabildikleri gözlenmiş olup şişmeden önce ve sonraki hallerine ait görseller aşağıda verilmiştir (Şekil 4.22).

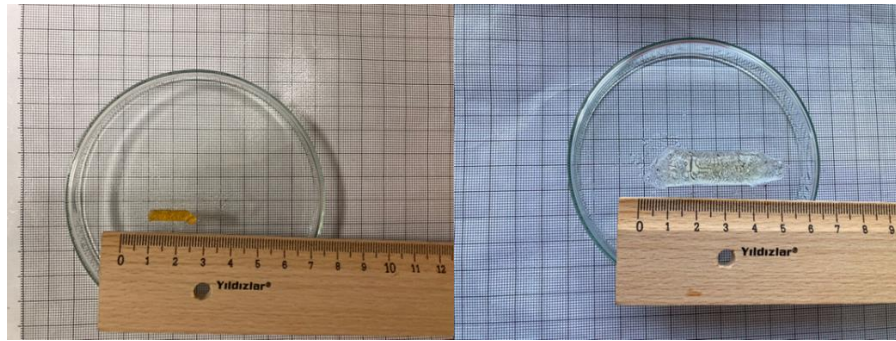
A)



B)

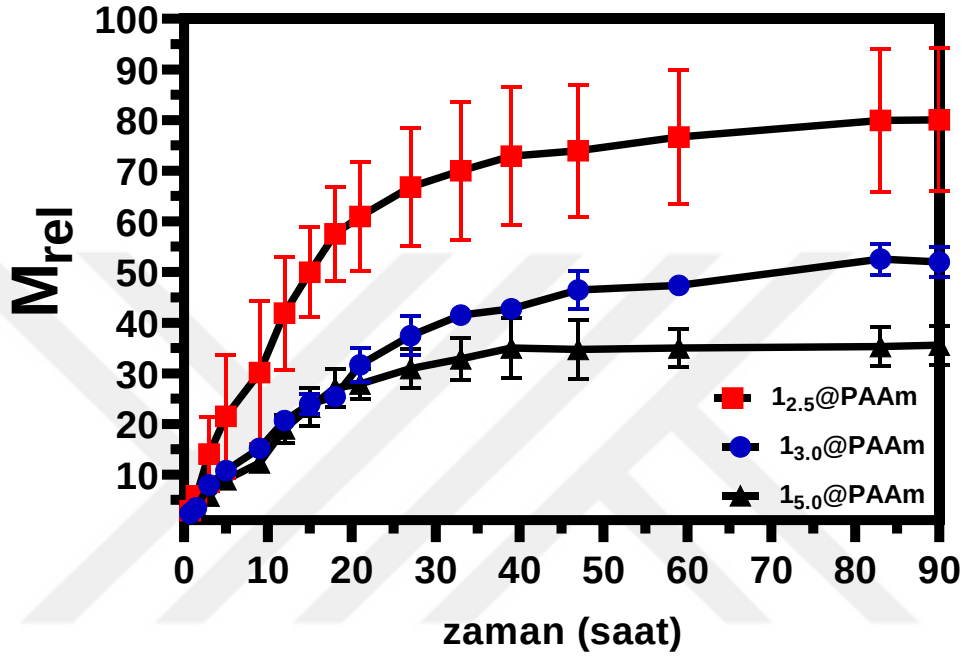


C)



Şekil 4.22. Hidrojellerin şişmeden önce ve sonraki görüntüleri: A) **12.5@PAAm**, B) **13.0@PAAm** ve C) **15.0@PAAm**.

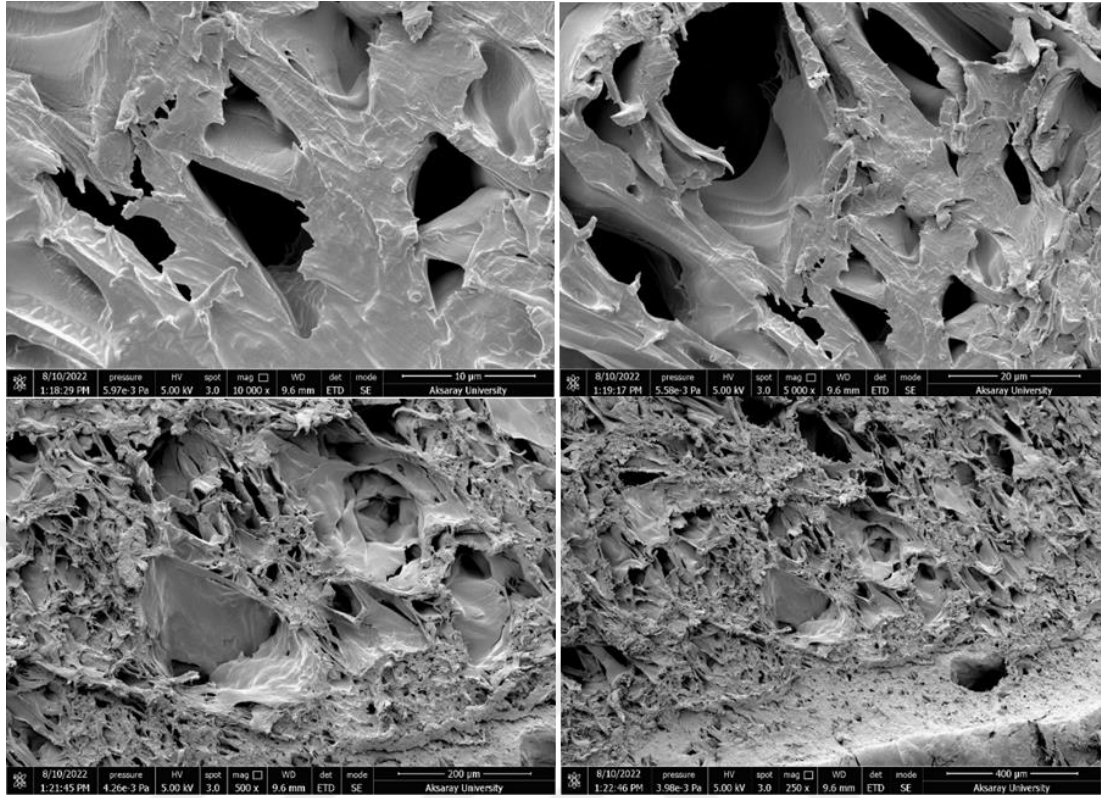
Hidrojellerin (**1@PAAm**) sentezini müteakiben su tutma kabiliyetleri incelenmiştir. Bunun için hidrojeller su içerisinde bekletilmiş ve belirli aralıklarla suyu değiştirilerek tartım işlemleri yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda **1_{2.5}@PAAm**, **1_{3.0}@PAAm** ve **1_{5.0}@PAAm** kodlu hidrojellerin, sırasıyla yaklaşık olarak 86 kat, 52 kat ve 37 katına kadar şişebildiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.23).



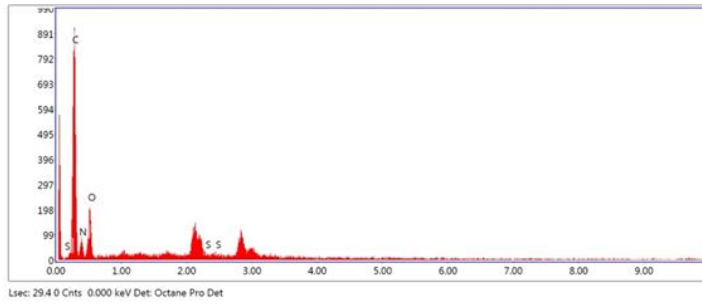
Şekil 4.23. Hidrojellerin **1@PAAm** zamana bağlı şişme grafikleri (şişme oranı= m_{rel}).

Ardından hidrojellerin **1@PAAm** morfolojik yapıları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve element analizleri ise EDAX analizleri ile belirlendi. Elde edilen veriler aşağıda sırasıyla verilmiştir (Şekil 4.24-4.26). Hidrojellerin gözenekli yapıda oldukları ve beklendiği gibi kükürt içerdikleri tespit edildi. Skuarin **1** hidrojel içerisine bağlandığını göstermektedir.

A)

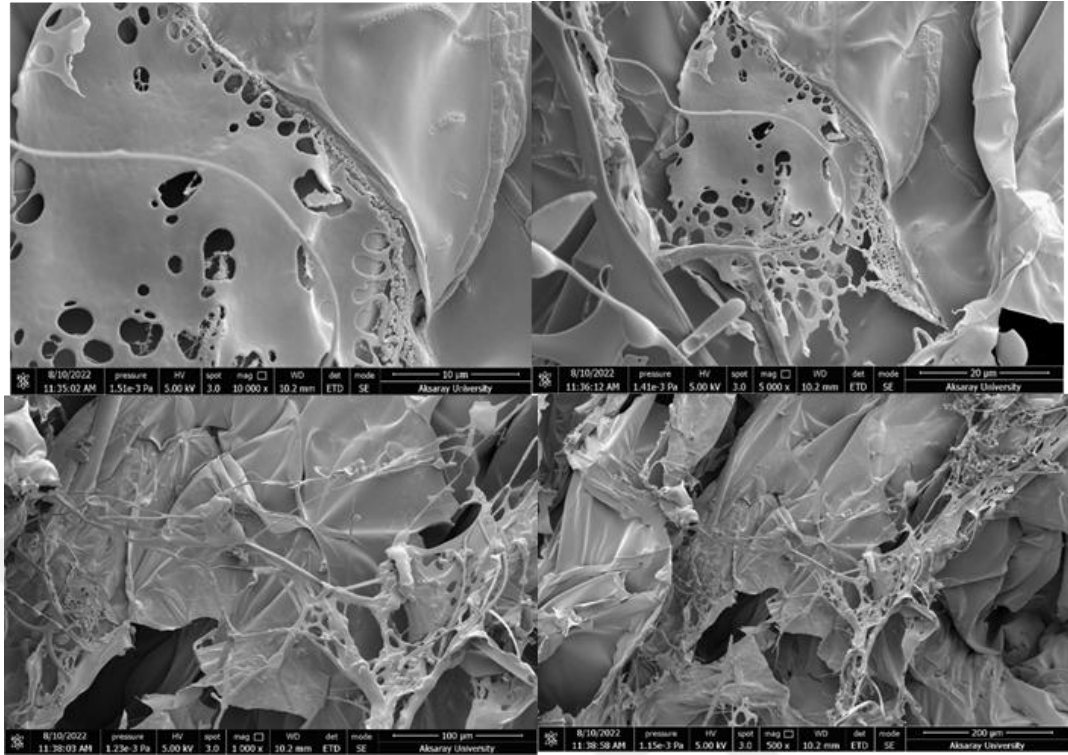


B)

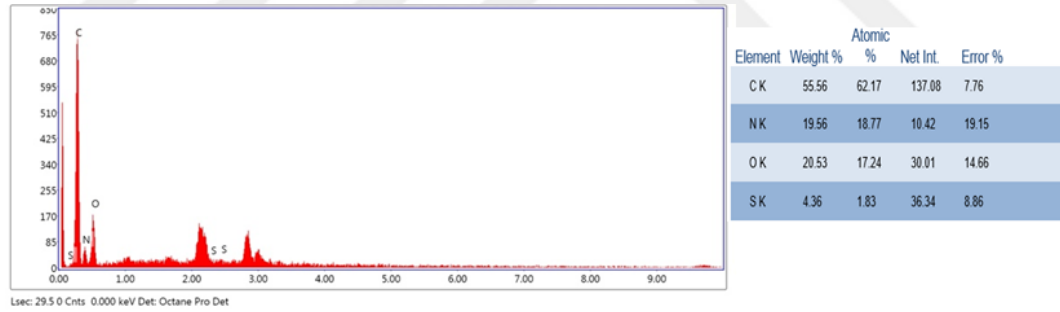


Şekil 4.24 12.5@PAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.

A)

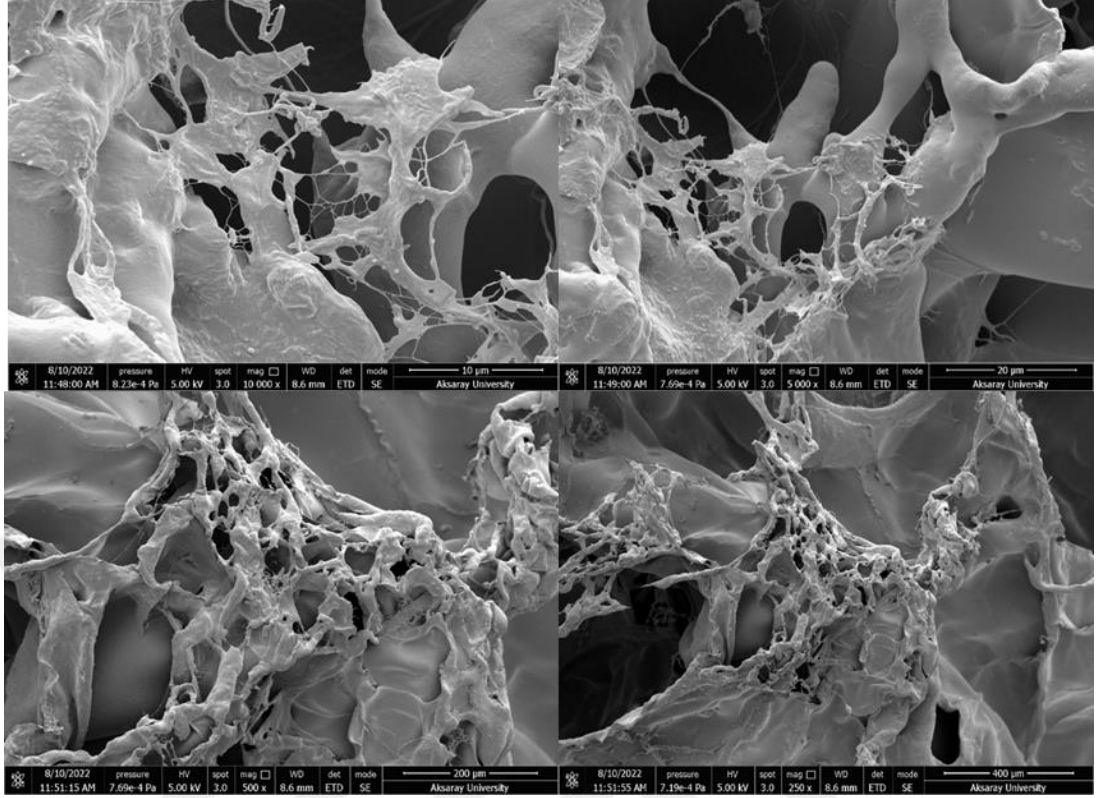


B)

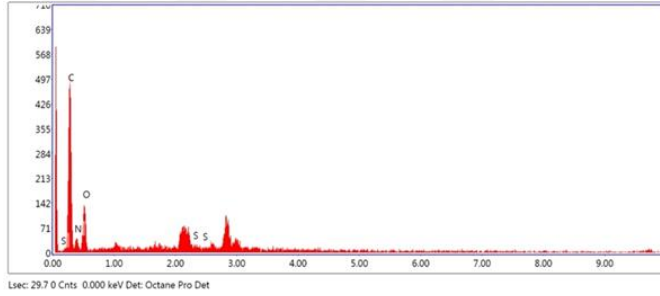


Şekil 4.25. 13.0@PAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.

A)



B)

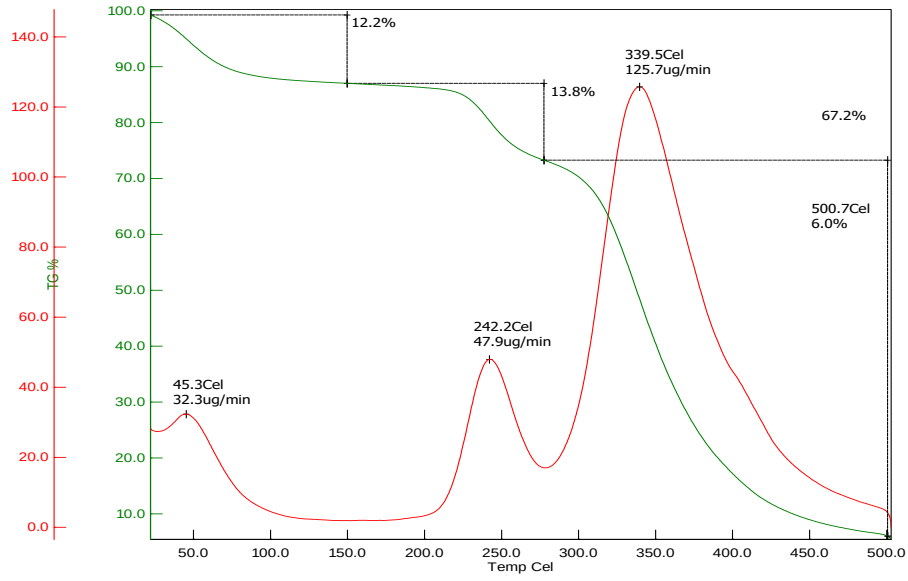


Element	Weight %	Atomic %	Net Int.	Error %
C K	50.28	58.82	87.74	8.07
N K	19.87	19.17	7.42	20.22
O K	24.24	20.48	24.23	14.98
S K	5.61	1.52	19.69	13.34

Şekil 4.26. 15.0@PAAm hidrojelinin **A)** SEM görüntüleri, **B)** EDAX analizleri.

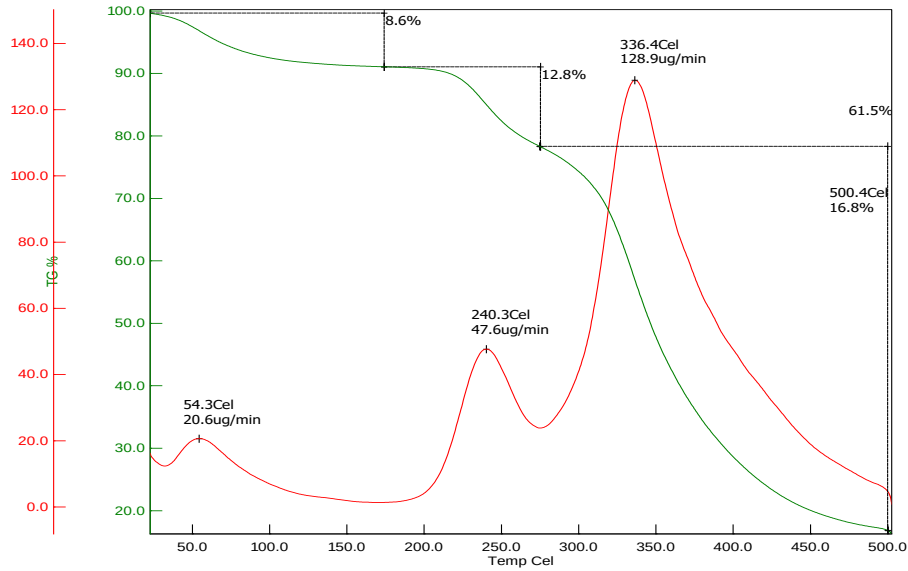
Hidrojellerin termal davranışlarını incelemek için termal gravimetrik analizleri (TGA) yapıldı. 12.5@PAAm hidrojelinin 100 °C kadar ısıtılması neticesinde %12.2'lik su dehidrasyonu olduğu öngörülmektedir (Şekil 4.27). Daha sonra artan sıcaklıkla 200-250 °C'de %13.8'lik bir kütle kaybı daha olmuştur. 300 °C üzerindeki sıcaklıklarda ise

hidrojelin bozunmaya başladığı görülmektedir.



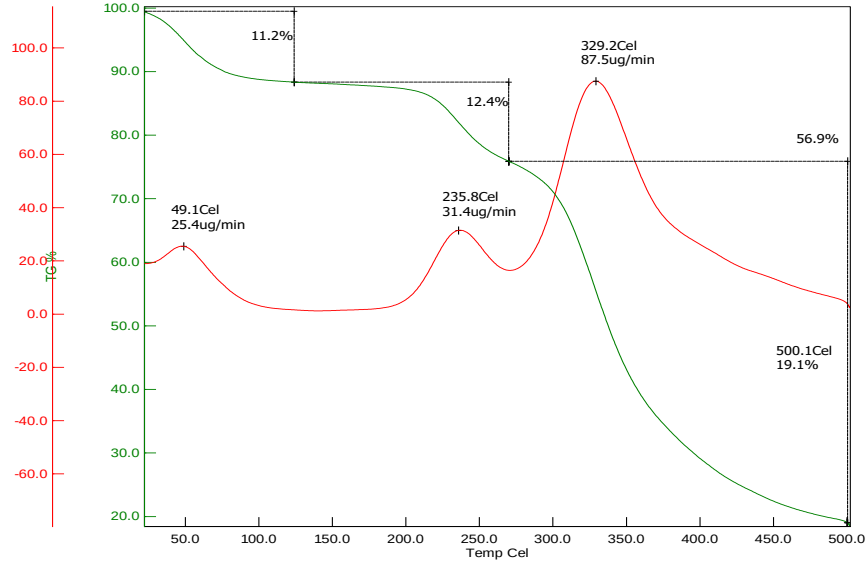
Şekil 4.27. 12.5@PAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

13.0@PAAm hidrojelinin TGA verilerine bakıldığında; hidrojel 100 °C kadar ısıtılması neticesinde %8.6'lık, su dehidrasyonu görülmektedir. 200-250 °C aralığında %12.8'lik kütle kayıpları gözlenmiş ve 300 °C üzerinde ise hidrojel bozunmaya başlamıştır (Şekil 4.28).



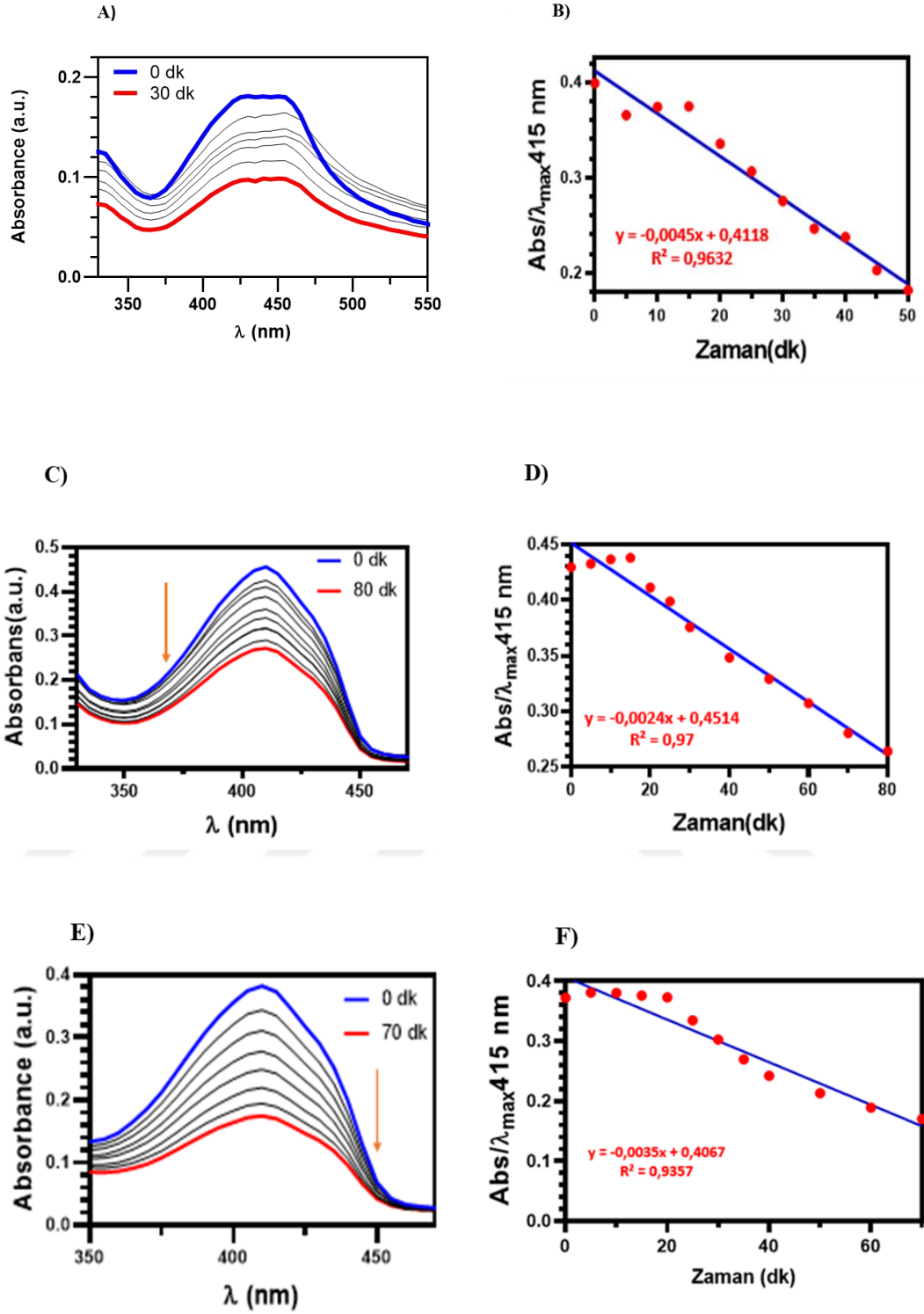
Şekil 4.28. 13.0@PAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

15.0@PAAm hidrojelinin ise 100 °C kadar ısıtıldığında %11.2, 200-250 °C kadar ısıtıldığında ise %12.4'lük kütle kaybına uğradığı gözlenmiştir (Şekil 4.29). 300 °C üzerinde ise hidrojel bozunmaya başlamıştır.



Şekil 4.29. 15.0@PAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

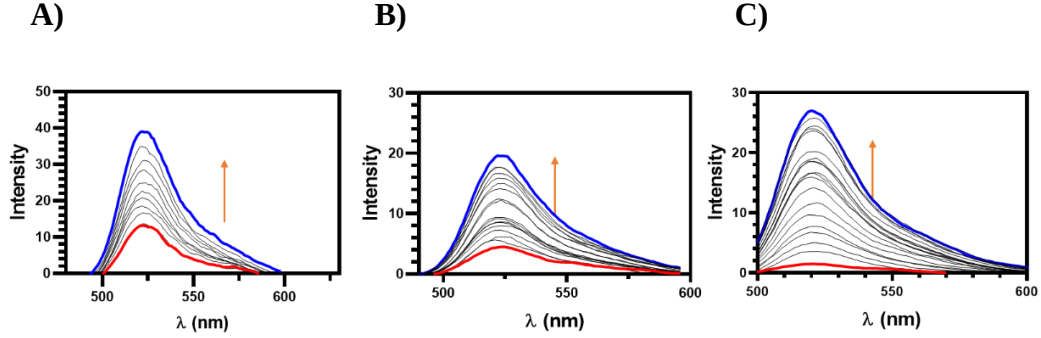
Skuarin **1** içeren poliakrilamit hidrojellerinin **1@PAAm** öncelikle DPBF tuzağı varlığında kırmızı ışığa maruz bırakılmak sureti ile fotoduyarlastırıcı testleri yapılmıştır. Işınlama süresince çözeltinin soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler kaydedilmiş olup Şekil 4.30.'da verilmiştir. DPBF bileşiği ışınlama neticesinde ortamda ROT üretilmesi halinde tepkime verir ve soğurma şiddetinde azalmalar gözlenir. Elde edilen veriler DPBF bileşiğine ait soğurma şiddetinin (λ_{max} :415 nm) beklendiği gibi azalmalar görülür.



Şekil 4.30. Hidrojellerin ışınlanması süresince DPBF tuzak molekülünün soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler: **A) 12.5@PAAm**, **B) 13.0@PAAm** ve **C) 15.0@PAAm** B), D), F) DPBF soğurmasının azalma grafiği.

1@PAAm hidrojelleri ile kabiliyeti çapraz kontrol sağlamak için tuzak molekül olarak DCHF kullanılarak PBS (pH 7.4) ortamında yapılmıştır. DCHF bileşiği ortamda ROT

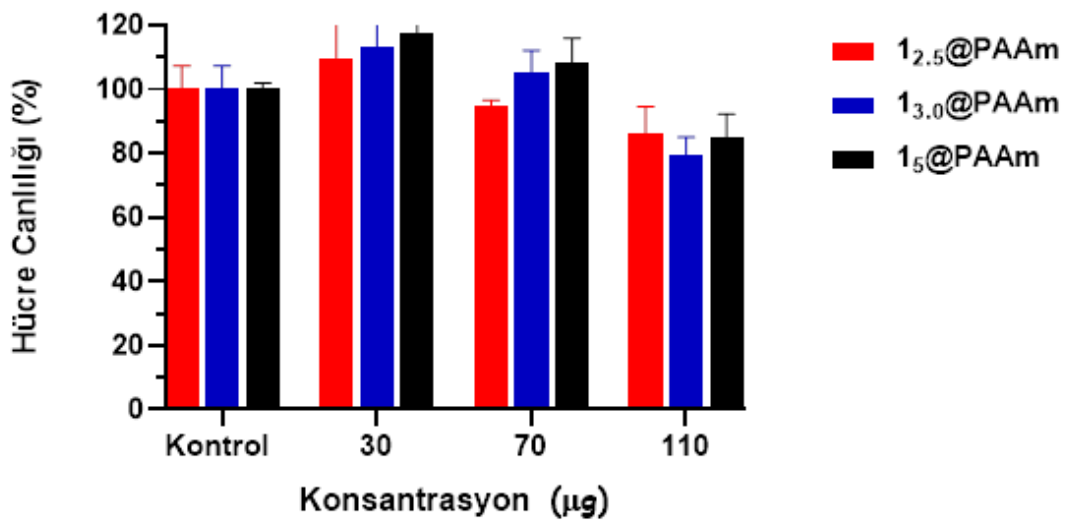
bulunması halinde tepkime verir ve floresans şiddetinde artış gözlenir. DCHF ile PBS (pH 7.4) ortamında yapılan testlerden de olumlu neticeler alınmış olup (Şekil 4.31) skuarin **1** entegre edilen poliakrilamit hidrojellerinin **1@PAAm** fotoduyarlayıcı özellik gösterdiği net bir şekilde ortaya konmuştur.



Şekil 4.31. **1@PAAm** hidrojellerin DCHF ($6,66 \times 10^{-6}$ M) varlığında PBS (pH 7.4) ortamında kırmızı ışığa maruz bırakılması süresince kaydedilen floresans spektrumları: A) **12.5@PAAm**, B) **13.0@PAAm** ve C) **13.0@PAAm**

Sonuç olarak tüm bu veriler elde edilen **1@PAAm** hidrojellerinin fotodinamik özellik gösterdiğini kanıtlamaktadır.

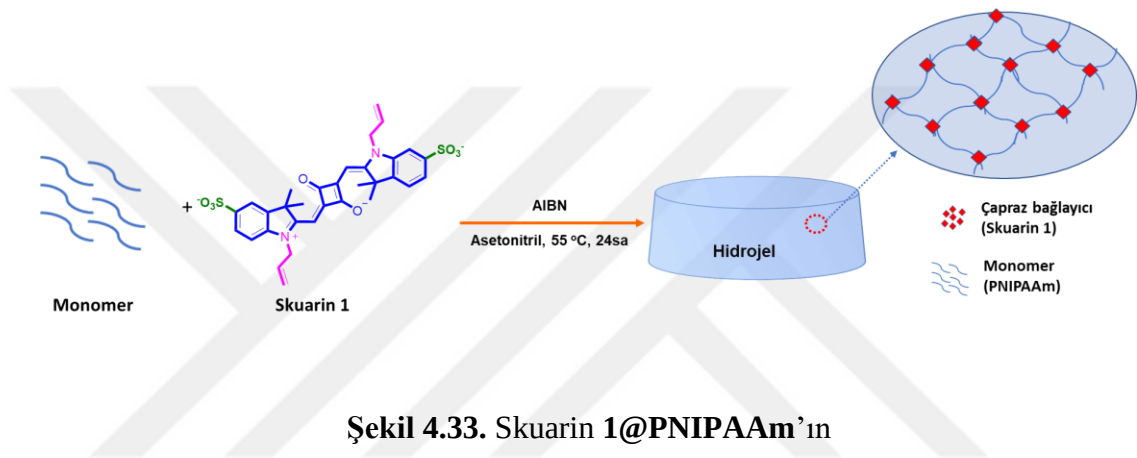
AAm monomerinin literatürde bilinen FDA tarafından onaylanan biyoyumlu bir monomerdur. **1@PAAm** hidrojelinin L929 hücre hattında biyoyumluluğu incelenmiştir. **1@PAAm** hidrojellerinin biyoyumlu olduğu gösterilmiştir (Şekil. 4.32).



Şekil 4.32. **1@PAAm** L929 hücre hattında biyoyumluluk testi

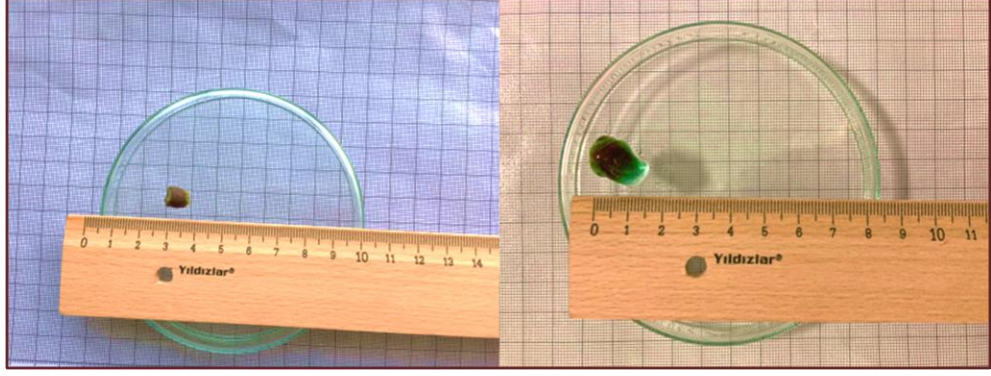
4.1.2 Skuarin 1 ve NIPAAm ile Hidrojel Sentezi ve Karakterizasyonu: 1@PNIPAAm

Skuarin 1 boyası biyolojik ortamda çözünür bir boyadır. Literatürde skuarinin çapraz bağlayıcı olarak hidrojel ağ yapısına enjekte edilen çalışmalar kısıtlıdır. Bu yüzden Skuarin boyası çapraz bağlayıcı olarak kullanılmıştı (Şekil 4.33). Monomer olarak NIPAAm seçilmiştir. PNIPAAm termo duyarlı olması ve sıcaklığa bağlı olarak şişme/büzüşme özelliği göstermesi nedeniyle hidrojellerin biyomedikal ve ilaç uygulamalarında tercih edilmektedir.

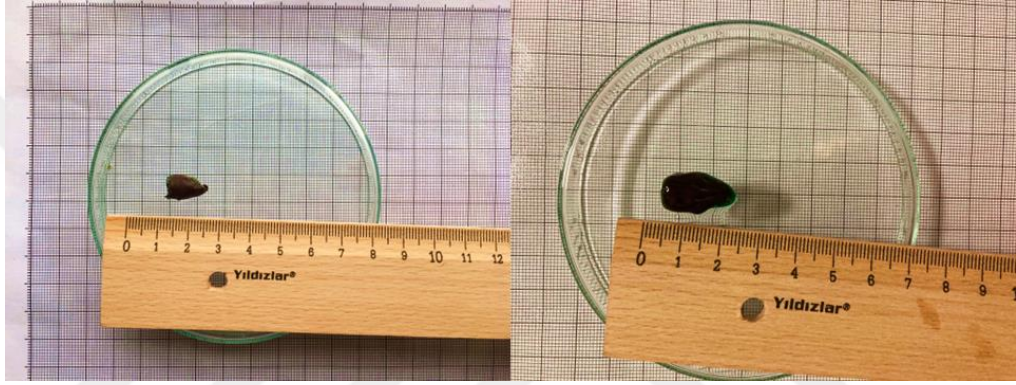


Hidrojellerin bilinen en büyük avantajları yapılarında su tutma kabiliyetleridir. Çapraz bağlayıcı olarak kullanılan skuarin 1 farklı konsantrasyonlarda (2.5 ve 5.0 mg) çalışılmıştır. Burada kullanılan skuarin miktarına göre hidrojeller; **12.5@PNIPAAm**, **15.0@PNIPAAm** olarak adlandırılmıştır. Tepkime sonucunda elde edilen hidrojeller suya atılmış ve hidrojellerin dengeye gelmesi beklenmiştir. Bu esnada belli sürelerde su değişimi yapılmış ve tepkimeye girmeyen başlangıç bileşiklerinden arındırma işlemi de gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerin skuarinleri PAAm göre daha az su tutabildikleri gözlenmiş olup şişmeden önce ve sonraki hallerine ait görseller aşağıda verilmiştir (Şekil 4.34).

A)

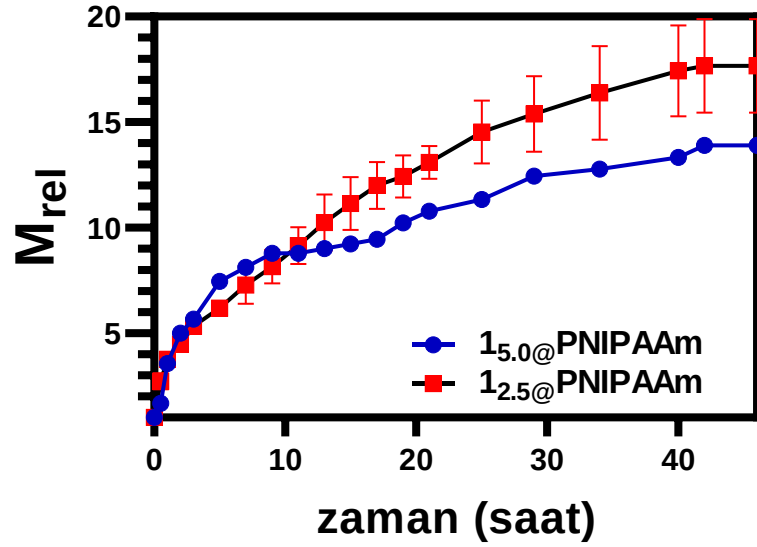


B)



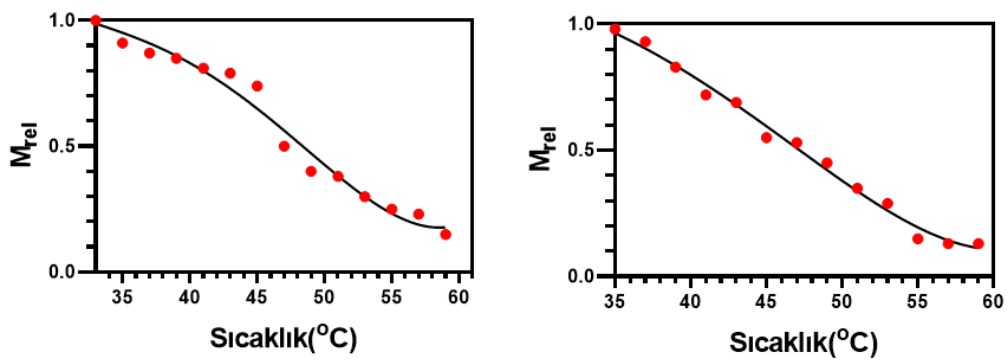
Şekil 4.34. Hidrojellerin şişmeden önce ve sonraki görüntüleri A) **12.5@PNIPAAm** ve B) **15.0@PNIPAAm**.

Hidrojellerin (**1@PNIPAAm**) sentezini müteakiben 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 yaklaşık olarak 18 ve 14 katına kadar şişebildiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.35).



Şekil 4.35. Hidrojellerin 1@PNIPAAm zamana bağlı şişme grafikleri (şişme oranı= m_{rel}).

PNIPAAm'ın termo duyarlı olduğu ve PNIPAAm'ın hidrojelinin LCST değeri literatürde 37 °C olarak bildirilmiştir. Fakat suda çözünür hidrojellerde bu davranışın daha yüksek sıcaklıklarda da olabileceği bildirilmiştir. Bunun ışığında elde edilen hidrojellerin sıcaklığa duyarlılıkları kademeli olarak arttırılarak incelenmiştir. Sıcaklık arttırılarak 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 4.36). A) B)

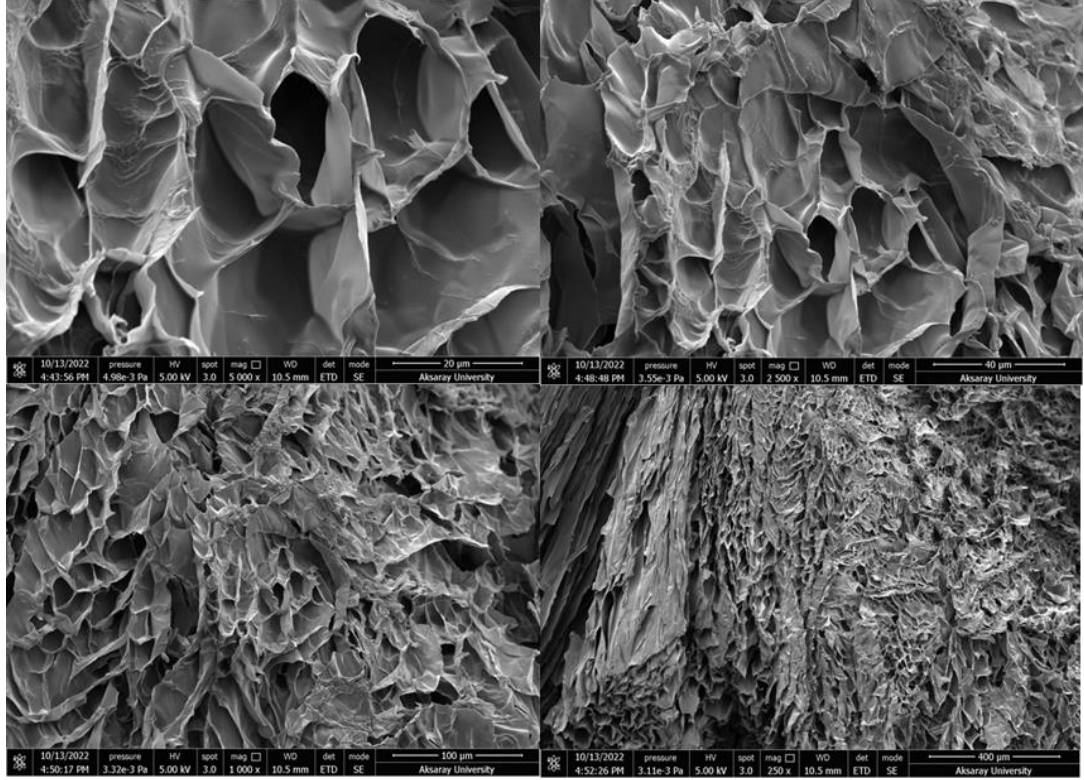


Şekil 4.36. Hidrojellerin sıcaklığa bağlı kütle değişim grafiği (büzüşme oranı= m_{rel}); A) 1.2.5@PNIPAAm ve B) 1.5.0@PNIPAAm.

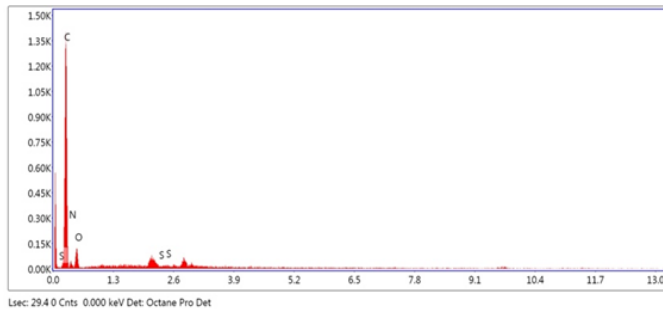
1@PNIPAAm şişmesini tamammış hidrojel liyofilizatörde kurutulmuştur. Kurutulmuş jel sonra sıvı azottan geçirilmiştir. Morfolojik yapıları taramalı elektron

mikroskobu (SEM) ve element analizleri ise EDAX analizleri ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler aşağıda sırasıyla verilmiştir (Şekil 4.37-4.38). SEM görüntüleri **12.5@PNIPAAm** hidrojelinin daha düzenli ve gözenekli bir yapıda olduğunu göstermektedir. EDAX analizleri her iki hidrojelin yapısında da kükürt elementinin olduğunu kanıtlamaktadır.

A)



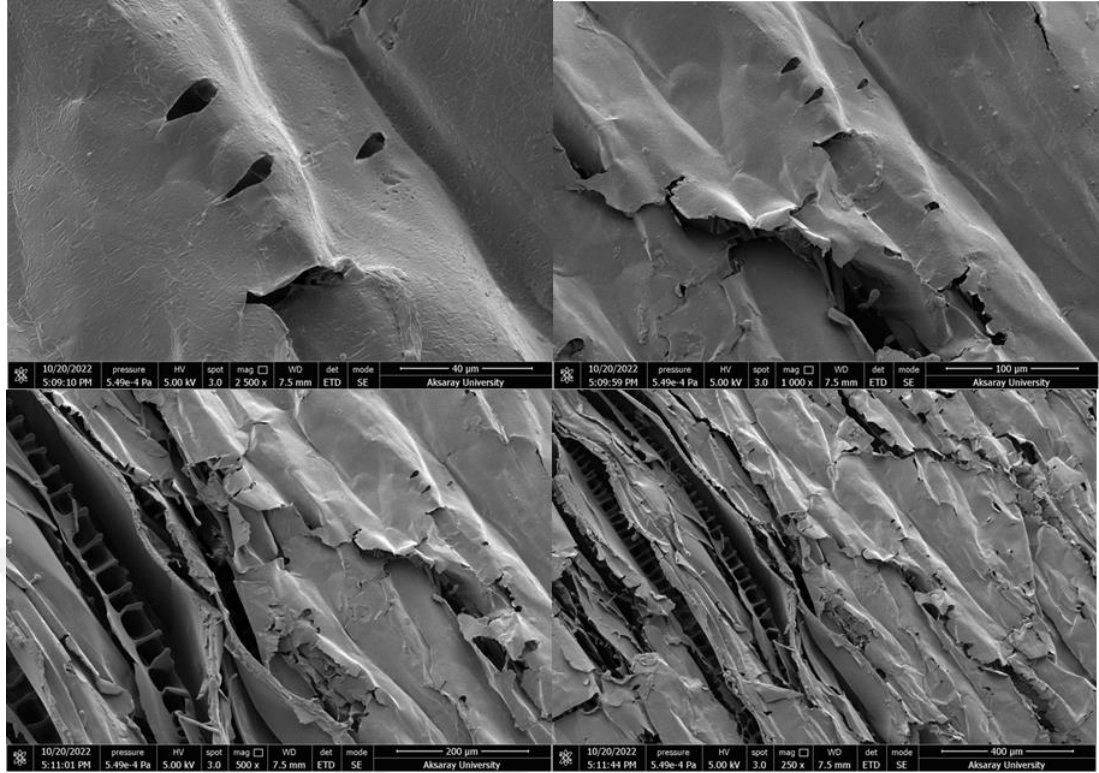
B)



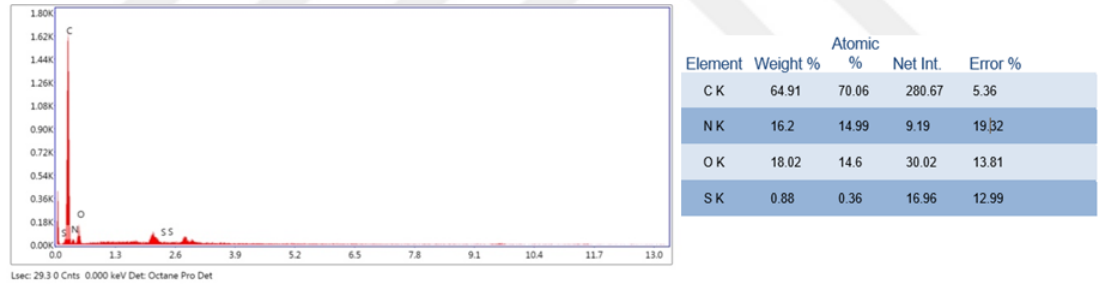
Element	Weight %	Atomic %	Net Int.	Error %
C K	65.03	70.1	236.92	5.48
N K	17.35	16.03	8.3	19.56
O K	16.64	13.46	22.96	14.36
S K	0.98	0.4	16.04	15.85

Şekil 4.37. **12.5@PNIPAAm** hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.

A)



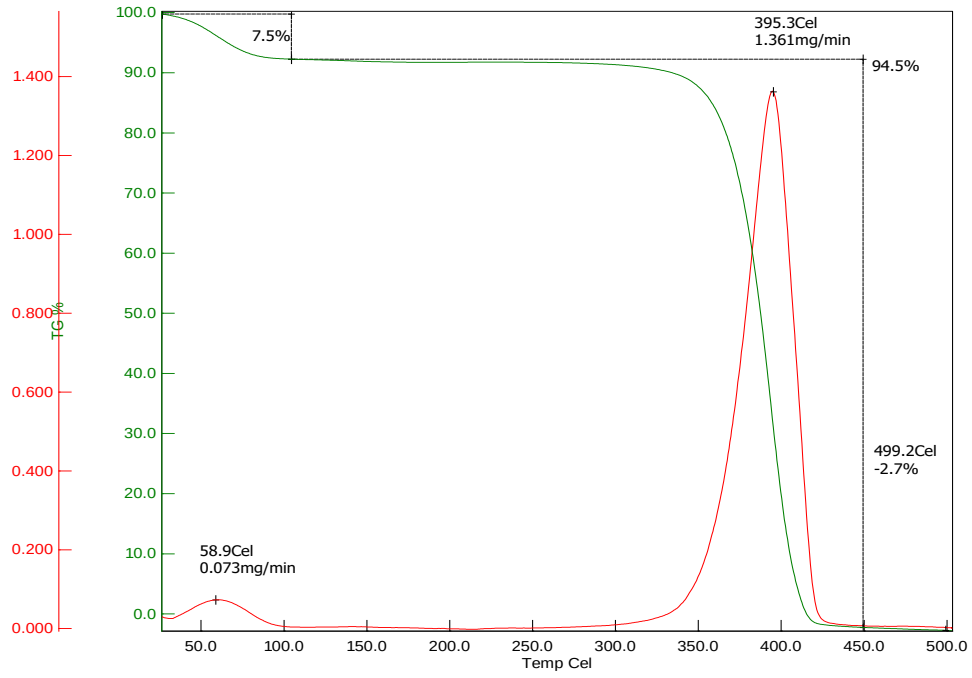
B)



Şekil 4.38. 15.0@PNIPAAm hidrojelinin A) SEM görüntüleri, B) EDAX analizleri.

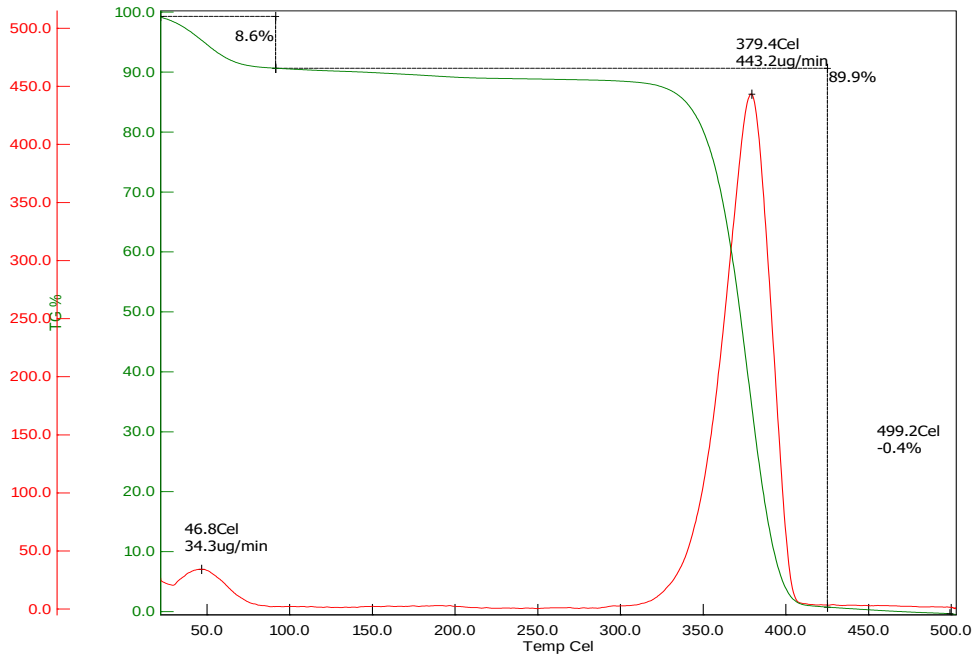
Çapraz bağlayıcı olarak bağlanan Skuarin 1'in uzun karbon zincirlerinin morfolojik yapısını değiştirdiği öngörülmektedir.

Hidrojellerin termal davranışlarını incelemek için termal gravimetrik analizleri (TGA) yapılmıştır. 12.5@PNIPAAm hidrojelinin 100 °C kadar ısıtılması neticesinde %7.5'lik muhtemelen su kaybına işaret eden bir durum gözlenmektedir (Şekil 4.39). Daha sonra 350 °C sıcaklığa kadar kütlede önemli bir değişim olmadığı gözlenmiştir. 350 °C üzerindeki sıcaklıklarda ise hidrojel bozunmaya başladığı görülmektedir.



Şekil 4.39. 12.5@PNIPAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

15.0@PNIPAAm hidrojelinin TGA verilerine bakıldığında; hidrojin 100 °C kadar ısıtılması neticesinde %8.6’lık bir kütle kaybı görülmektedirken daha sonra 350 °C’ye kadar herhangi bir kütle kaybı gözlenmemiştir. 350 °C üzerinde ise hidrojel hızla bozunmaya başlamıştır (Şekil 4.40.).

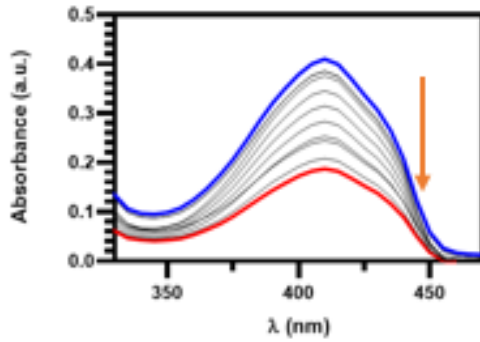


Şekil 4.40. 15.0@PNIPAAm hidrojel için kaydedilen termogram.

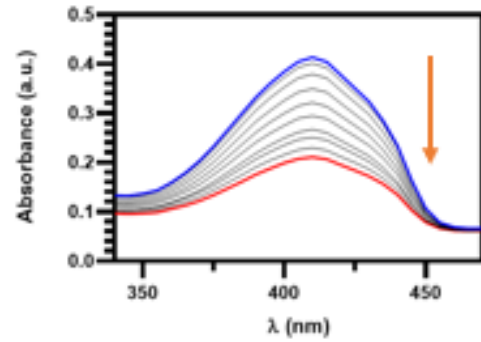
Farklı skuarin **1** oranlarında sentezlenen hidrojenlerin ve farklı monomer (AAm ve NIPAAm) kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda hedeflenen hidrojenlerin yapısal ve morfolojik farklılıkları sentezlenip karakterize edilmiştir.

Skuarin **1** içeren poli(N-izopropilakrilamit) hidrojenlerin **1@PNIPAAm** fotodinamik özellikleri incelenmiştir. Skuarin **1** ajanının FDT yeteneğinin olduğu Şekil 4.16' ve 4.17 de gösterilmiştir. **1@PNIPAAm** ile yapılan kimyasal testlerde tuzak molekül olarak DPBF kullanılmış ve kırmızı ışığa maruz bırakılmak sureti ile fotoduyarlastırıcı testleri yapılmıştır. Işınlama süresince çözeltinin soğurma spektrumunda meydana gelen değişimler kaydedilmiştir. DPBF bileşiği ortamda ROT üretilmesi halinde tepkime verir ve bozunur o nedenle soğurma şiddetinde zamanla azalma gözlenir. Yapılan testler neticesinde DPBF tuzak molekülünün soğurma şiddeti azalmış **1@PNIPAAm** hidrojenlerinin singlet oksijen üretebildiğini göstermektedir (Şekil 4.41).

A)

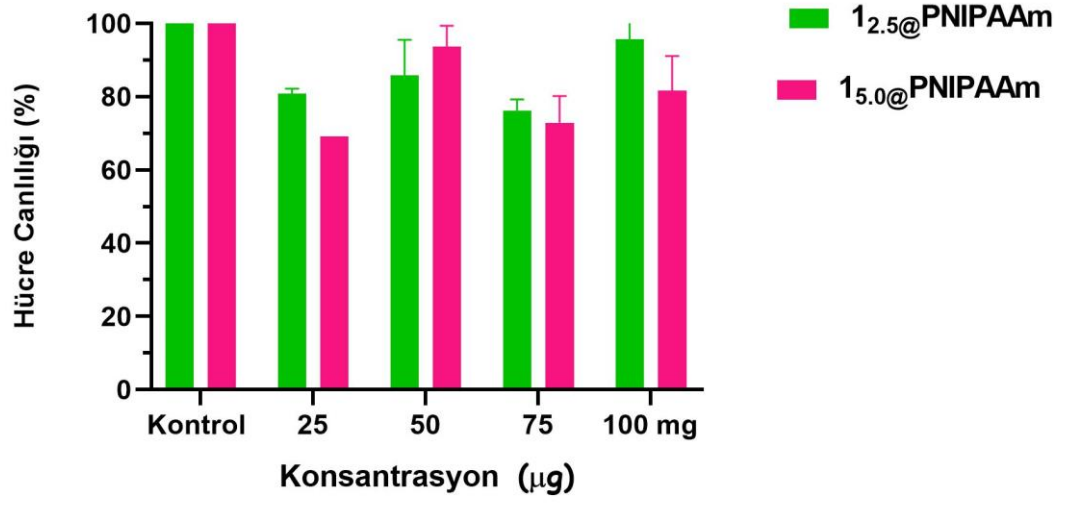


B)



Şekil 4.41 Hidrojenlerin ışınlanması süresince DPBF (2×10^{-5} M) tuzak molekülünün soğurma spektrumunda ($\lambda_{\max}$ 415 nm) meydana gelen değişimler: **A)** **12.5@PNIPAAm** ve **B)** **15.0@PNIPAAm**.

NIPAAm monomerinin literatürde bilinen biyoyumlu bir monomerdur. Skuarin **1@PNIPAAm** hidrojeninin L929 hücre hattında biyoyumluluğu incelenmiştir. **1@PNIPAAm** hidrojenlerinin minimum %70 oranında biyoyumlu olduğu gösterilmiştir (Şekil 4.42).

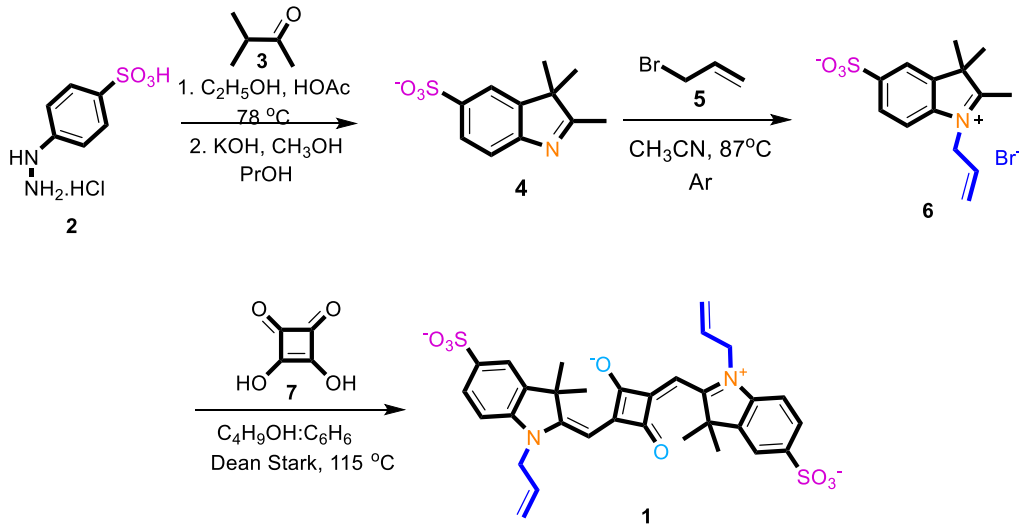


Şekil 4.42. 1@PNIPAAm L929 hücre hattında biyouyumluluk testi

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Fototerapötik tedavide halihazırda kullanılan ajanlar mevcuttur. Fakat bu ajanların bazı dezavantajları da vardır. Literatürde dezavantajların üstesinden gelmek için çalışmalar yapılmış ve bazı boyalar sentezlenmiştir. Bu boyalardan biri skuarindir. Skuarinlerin düzlemsel ve hidrofobik yapısı nedeniyle suda (ve/ya biyolojik ortamda) çözünmüyor olması ve topaklanması moleküler düzeyde yapılan biyomedikal uygulamaları önemli oranda kısıtlamaktadır. Skuarinlerin (özellikle FDT ve biyogörüntüleme gibi) biyomedikal uygulamalarında karşılaşılan kısıtlamaları ortadan kaldırabilmek için suda (ve/ya biyolojik ortamda) tamamen çözünebilen moleküler yapıların geliştirilmesi gerekmektedir. Tasarlanan 1 skuarinlere özgü yüksek soğurma, emisyon, kuantum verimi, parlaklık vb özellikler sergileyeceği öngörülmektedir. Skuarin 1 yapısında bulunan yüklü sülfonat ve amonyum gruplarının suda (ve/ya biyolojik ortamda) çözünürlüğü arttıracığı, topaklanmayı önleyeceği ve kararlılığı arttıracığı öngörülmektedir. Bu tez kapsamında ihtiyaca cevap verebilecek suda çözünebilen skuarin 1 tasarlanıp sentezlenmiş ve biyogörüntüleme, FDT ve hidrojel uygulamaları test edilmiştir.

Hedef yapı kırmızı bölgede etkin bir şekilde soğurma yapabilecek şekilde tasarlandı. Hedef yapı 1 Şekil 5.1’de gösterildiği gibi üç farklı reaksiyon basamağı ile elde edildi. Bunun için 4-hidrazinobenzensülfonik asit 2 literatürde bilinen bir yöntem kullanılarak 3-metil-2-bütanon 3 ile asetik asit varlığında tepkimeye sokuldu (Şekil 5.1). Elde edilen indolin KOH ile muamele edilerek sülfonat tuzuna 4 çevrildi. İkinci basamakta indolin 4 allil bromür 5 ile kuru asetonitril içerisinde etkileştirilerek N-alkilasyonu gerçekleştirildi. Hedef bileşiğin 1 sentezi için son basamakta ise bileşik 6 ve skuarik asit Dean-Stark tuzağı altında 115 °C ’ye ısıtıldı (yaklaşık 24 saat) sonra soğumuş karışımdan çözücü uzaklaştırıldı ve ürün çöktürülerek alındı. Skuarin 1 ajanın ¹H NMR, ¹³C NMR ve HRMS ile karakterize edildi. Skuarin 1’in fotofiziksel özellikleri soğurma ve emisyon spektrumu kullanılarak aydınlatıldı.

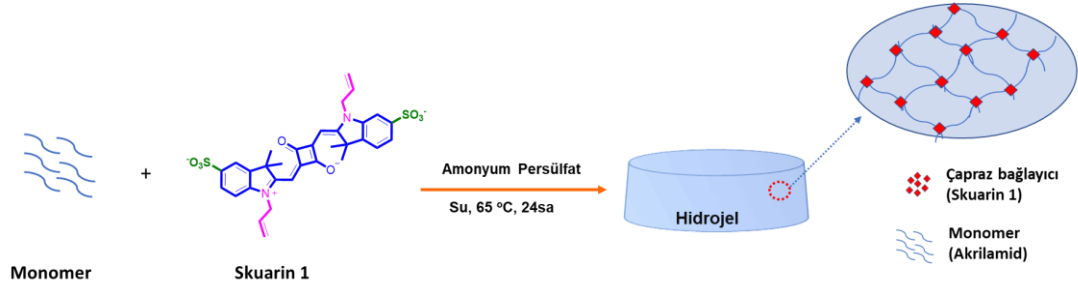


Şekil 5.1. Hedef yapı Skuarin 1 genel sentez şeması.

Skuarinin 1 özellikleri incelendiğinde, kırmızı bölgede PBS ortamında soğurma ve emisyon yaptığı belirlendi. Kimyasal testlerden elde edilen veriler skuarinin 1 hem organik metanol hem de sulu ortamlarda (PBS, pH 7.4) öngörüldüğü gibi fotoduyarlayıcı olarak işlev görebildiğini ortaya koymaktadır. Kimyasal testler yapıldı ve umut vaat eden sonuçlar alındığından skuarin 1 in vitro ortamda sağlıklı hücre hatlarında L929 (ATCC® CRL-6364™) biyoyumluluğuna bakıldı. SK-MEL 30/An1 hücre hattında floresans görüntüleme ve FDT kabiliyeti incelendi. Yakın kızıl ötesi bölgede etkin bir şekilde soğurma bölgede güçlü emisyon yapan Skuarin 1 molekülü ile SK-MEL 30/An1 inkübe edilen hücrelerinde kırmızı bölgede floresans görüntü elde edildi. Skuarinin 1 ile inkübe edilen SK-MEL 30/An1 hücreleri kırmızı ışık ile uyarıldığında %70 hücre ölümü gözlemlendi. Yapılan incelemeler neticesinde skuarinin 1 biyoyumlu olduğuna ve biyogörüntüleme ajanı olarak işlev görebileceğine fotodinamik terapilerde kullanabilecek yeni bir ajan olabileceği öngörülmektedir.

Karakterize edilen ve fotofiziksel özellikleri belirlenen Skuarin 1'in hidrojel ağ yapısına entegre edildi. Skuarin 1 içerdiği bisallil üniteleri sayesinde polimerleşebilecek ve bu sayede hidrojel sentezinde ağ yapı için çapraz bağlayıcı olarak işlev görebilecektir. 1@PAAm hidrojelleri, PAAm monomeri ve APS polimerizasyon başlatıcısı ile 24 saat 65°C 'de ısıtılarak sentezlendi (Şekil 5.2). PAAm monomeri nötral yüzeyi, yüksek oranda su tutma kapasitesi ve hidrofilik yapısı

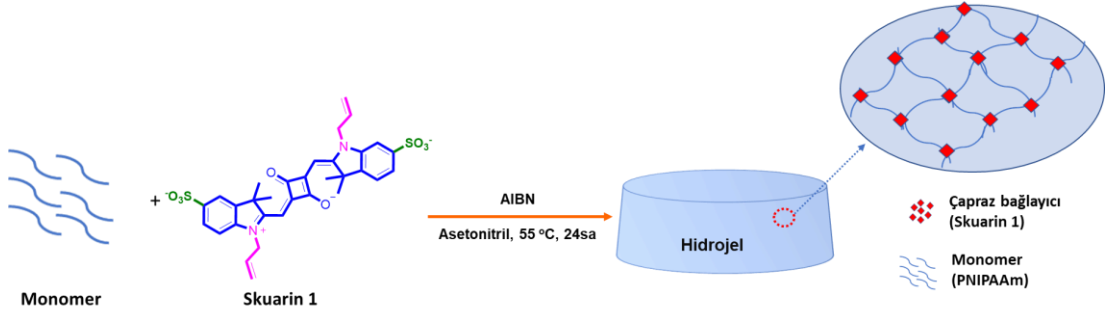
nedeniyle PAAm, terapi ajanlarının geliştirilmesi için son derece uygun olması sebebiyle seçildi.



Şekil 5.2. Skuarin 1@PAAm sentez şeması.

Çapraz bağlayıcı olarak kullanılan Skuarin 1 farklı konsantrasyonlarda (2.5, 3.0, ve 5.0 mg) çalışılmıştır. Burada kullanılan skuarin miktarına göre hidrojeller; **12.5@PAAm**, **13.0@PAAm** ve **15.0@PAAm** yapıldı. Hidrojellerin şişme öncesi ve sonrası resimleri çekildi. Karakterizasyonu için öncelikle şişme kapasitesi belirlendi. **12.5@PAAm**, **13.0@PAAm** ve **15.0@PAAm** kodlu hidrojellerin, sırasıyla yaklaşık olarak 86 kat, 52 kat ve 37 katına kadar şişebildiği gözlemlenmiştir. Çapraz bağlayıcı miktarı oranı arttıkça hidrojin su tutma kabiliyeti azalmıştır. Hidrojellerin morfolojik yapısı karakterize etmek için SEM analizleri ve EDAX element analizleri yapılmıştır. **12.5@PAAm**, **13.0@PAAm** ve **15.0@PAAm** Hidrojellerin gözenekli yapıda oldukları ve beklendiği gibi çapraz bağlayıcı olarak kullanılan Skuarin 1 oranlarına (2, 3.0, ve 5.0 mg) göre artan kükürt miktarı tespit edilmiştir. **12.5@PAAm**, **13.0@PAAm** ve **15.0@PAAm** hidrojellerin termal davranışlarını incelemek için termal gravimetrik analizleri (TGA) yapıldı. Hidrojellerin 300 °C üzerindeki sıcaklıklarda ise hidrojin bozunmaya başladığı görülmektedir. Aynı zamanda skuarin 1'in ortamda ROT üretme ve **1@PAAm** hidrojellerindeki etkisi incelendi. **1@PAAm** hidrojelleri organik ortamda metanol DPBF bileşiği ışınlama neticesinde ortamda ROT üretilmesi halinde tepkime verir ve soğurma şiddetinde azalmalar gözlemlendi. İlave bir test ise tuzak molekül olarak DCHF kullanılarak PBS (pH 7.4) ortamında yapılmıştır. DCHF bileşiği ortamda ROT bulunması halinde tepkime verir ve floresans şiddetinde artış gözlenir ve **1@PAAm** DCHF ile PBS (pH 7.4) ortamında yapılan testlerden de olumlu neticeler alınmış olup **1@PAAm** hidrojellerinin ortamda ROT ürettiği belirlendi. Aynı zamanda **1@PAAm** hidrojinin L929 sağlıklı hücre hattında toksik bir etkisinin

olmadığı biyouyumlu bir hidrojel olduğu tespit edilmiştir. **1@PAAm** hidrojellerinin toksisitesi düşük güvenli bir ilaç taşıyıcı sistem ve yara örtüleri olarak kullanılabileceği öngörülmektedir.



Şekil 5.3. **1@PNIPAAm** sentez şeması.

Karakterize edilen ve fotofiziksel özellikleri belirlenen Skuarin 1'in hidrojel ağ yapısına entegre edildi. Skuarin 1 içerdiği bisallil üniteleri sayesinde polimerleşebilecek ve bu sayede hidrojel sentezinde ağ yapısı için çapraz bağlayıcı olarak işlev görebilecektir. Skuarin **1@PNIPAAm** hidrojelleri için, Skuarin 1, NIPAAm ve polimer başlatıcı AIBN karışımı 24 saat 55 °C'de ısıtılır (Şekil 5.3). PNIPAAm termo duyarlı olması ve sıcaklığa bağlı olarak şişme/büzüşme özelliği göstermesi nedeniyle hidrojellerin biyomedikal ve ilaç uygulamalarında tercih edildiğinden seçildi. Hidrojellerin şişme öncesi ve sonrası resimleri çekildi. Karakterizasyonu için öncelikle şişme kapasitesi belirlendi. **12.5@PNIPAAm** ve **15.0@PNIPAAm** kodlu hidrojellerin, sırasıyla yaklaşık olarak 86 kat, 18 kat ve 14 katına kadar şişebildiği gözlemlenmiştir. Çapraz bağlayıcı miktarı oranı arttıkça hidrojin su tutma kabiliyeti azalmıştır. **1@PNIPAAm** hidrojellerinin NIPAAm monomerinin sayesinde büzüşme özelliği göstermesi öngörüldüğü için farklı sıcaklıklarda kütle değişimi incelendi. Veriler sentezlenen hidrojellerin de beklendiği gibi termo duyarlı olduğunu ve sıcaklık arttıkça kütle kaybına uğradıklarını göstermektedir. Böylelikle potansiyel bir ilaç taşıyıcı ajan olacağı öngörülmektedir. Hidrojellerin morfolojik yapısı karakterize etmek için SEM analizleri ve EDAX element analizleri yapılmıştır. **12.5@PNIPAAm**, **15.0@PNIPAAm** SEM görüntüleri **12.5@PNIPAAm** hidrojinin daha düzenli ve gözenekli bir yapıda olduğunu göstermektedir. EDAX analizleri her iki hidrojin yapısında da kükürt elementinin olduğunu kanıtlamaktadır. **12.5@PAAm**, **15.0@PAAm** hidrojellerin termal davranışlarını incelemek için termal gravimetrik analizleri (TGA) yapıldı. Hidrojellerin 350 °C üzerindeki sıcaklıklarda ise hidrojin bozunmaya başladığı

görülmektedir. Aynı zamanda **1@PNIPAAm** hidrojellerinin L929 sağlıklı hücre hattında toksik bir etkisinin olmadığı biyouyumlu bir hidrojel olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan literatür çalışmaları sonucu skuarinlerin sensör, görüntüleme, güneş pili, ışık yayan diyot gibi çalışmalar mevcuttur. Aynı zamanda suda çözünür skuarinlerin sayısı oldukça azdır ve fotodinamik terapi yapılan suda çözünür skuarinlerin sayısı oldukça kısıtlı düzeydedir. Suda çözünebilen skuarinlerin biyomedikal görüntüleme ve fotodinamik hidrojel uygulamalarına ilişkin bu tür çalışmaların kısıtlı düzeyde olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, skuarinlerin fotoduyarlayıcı olarak hidrojel ağ yapısına entegre edildiği fotodinamik hidrojellere ilişkin bugüne kadar çalışma yapılmadığı ve bu konuda literatürde büyük bir boşluk olduğu göz önüne alınırsa, bu tez kapsamında tasarlanan yeni malzemelerin literatürdeki bu boşluğu dolduracağı düşünülmektedir. Tez kapsamında yapılan Skuarinin **1** çapraz bağlayıcı olarak kullanılmasıyla kovalent bağlı skuarin içeren PAAm ve PNIPAAm hidrojelleri ilk kez elde edilecektir. Literatür taramalarında skuarinlerin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı hidrojellere ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Neticede Skuarin **1** ve bunlardan elde edilecek hidrojellerin FDT potansiyeli oldukça yüksektir. Literatürde FDT yapabilen hidrojellere ilişkin oldukça az sayıda çalışma olduğu ve bu çalışmalarda fotoduyarlayıcı olarak MB, porfirin, klorin ya da ftalosiyanın boyalarının kullanıldığı ancak bu boyaların önemli dezavantajlarının olduğu belirtilmişti. Bu dezavantajların bu projede tasarlanan Skuarin **1** giderilmesi sağlanabilecektir. Ayrıca, skuarinlerin fotoduyarlayıcı olarak hidrojel ağ yapısına entegre edildiği fotodinamik hidrojellere ilişkin bugüne kadar çalışma yapılmadığı ve bu konuda literatürde büyük bir boşluk olduğu göz önüne alınırsa, bu tez kapsamında bu eksikliğin giderilebileceği öngörülmektedir.

Son olarak, gerek hidrojel sentezi için seçilecek monomerlerin gerekse kullanılabilecek skuarinlerin sayı ve çeşitliliğinin bolluğu göz önüne alındığında bu tez kapsamında geliştirilen yaklaşım ve metotların genişletilerek birçok uygulama sahasına yayılabileceği ve yeni malzemelerin tasarlanabileceği düşünülmektedir. Dahası, elde edilecek skuarinlerin ve hidrojellerin; bazı cilt hastalıklarının (cilt kanseri, egzama sedef vb.) tedavisinde, antimikrobiyal ve antifungal FDT’de, bakteriyel enfeksiyonların ya da biyofilmlerin giderilmesinde ve (iyileştirici) yara örtülerinde

uygulanma potansiyeli vardır. İlaç salım özelliğine sahip yara örtüsü, yara iyileşmesini desteklemek ve bakteriyel enfeksiyonları önlemek için ilaçları/terapötik maddeleri kontrollü ve sürekli bir şekilde sağlayabilir. Sentezlenen hidrojellerle kontrollü veya sürekli ilaç salınımı sağlayacaklarından yara örtüleri olarak kullanılabilir. Yara örtülerinin en başta gelen gereksinimi, yara iyileşmesini kolaylaştıran nemli ortamın sağlanması ve kontrol edilmesidir. Hidrojeller Skuarin **1@PAAm** ve skuarin **1@PNIPAAm** hidrojellerinin sahip olduğu şişme potansiyeli ve hidrofilik özelliği sayesinde bölgeyi nemli tutarak hidrojel bazlı pansuman olarak kullanılabilirliği öngörülmektedir.

Yara bölgesini nemli tutabileceğinden ve ilerde denenebilecek antimikrobiyal aktivite çalışmalarıyla da yarayı nemli tutarken iyileştirme özelliğine de sahip bir hidrojel/yara pansumanı olabileceği öngörülmektedir.

Bu tez kapsamında akademik ve bilimsel aynı zamanda medikal ve teknolojik alanda da kullanılabilir faydalı sonuçlar doğurabilecektir.

Laboratuvarımızda başarılı bir şekilde geliştirip karakterizasyonu yaptığımız Skuarin **1** ve Skuarin **1@PAAM** Skuarin **1@PNIPAAm** ile yapılan çalışmalar TUBİTAK (Proje No:220Z070) tarafından desteklenmiştir. Bu tezden elde edilen sonuçlar derlenerek etki faktörü yüksek uluslararası dergilerde yayınlanacaktır.

KAYNAKLAR

- Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N. ve Reed, M. 2001. The history of photodetection and photodynamic therapy, *Photochemistry and photobiology*, 74, 5, 656-669.
- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K.A., Foster, T.H., Girotti, A.W., Gollnick, S.O., Hahn, S.M., Hamblin, M.R., Juzeniene, A. ve Kessel, D., 2011. Photodynamic therapy of cancer: an update, *CA: A Cancer Journal For Clinicians*, 61, 4, 250-281.
- Ahmed, E. M. 2015. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review, *Journal of advanced research*, 6,2, 105-121.
- Ajayaghosh, A., 2005. Chemistry of squaraine-derived materials: near-IR dyes, low band gap systems, and cation sensors, *Accounts of Chemical Research*, 38, 6, 449-459.
- Allison, R.R. ve Sibata, C.H., 2010. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7, 2, 61-75.
- Allison, R.R., Downie, G.H., Cuenca, R., Hu, X.-H., Childs, C.J. ve Sibata, C.H., 2004. Photosensitizers in clinical PDT, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1, 1, 27-42.
- Babu, P.S., Manu, P.M., Dhanya, T.J., Tapas, P., Meera, R.N., Surendran, A., Aneesh, K.A., Vadakkancheril, S.J., Ramaiah, D. ve Nair, S.A., 2017. Bis (3, 5-diodo2, 4, 6-trihydroxyphenyl) squaraine photodynamic therapy disrupts redox homeostasis and induce mitochondria-mediated apoptosis in human breast cancer cells, *Scientific Reports*, 7, 1, 1-14
- Barbero, N., Magistris, C., Park, J., Saccone, D., Quagliotto, P., Buscaino, R. ve Viscardi, G. 2015. Microwave-assisted synthesis of near-infrared fluorescent indole-based squaraines, *Organic letters*, 17, 13, 3306-3309.
- Belali, S., Karimi, A.R. ve Hadizadeh, M., 2017. Novel nanostructured smart, photodynamic hydrogels based on poly (N-isopropylacrylamide) bearing porphyrin units in their crosslink chains: A potential sensitizer system in cancer therapy, *Polymer*, 109, 93-105.
- Belali, S., Karimi, A.R. ve Hadizadeh, M., 2018a. Cell-specific and pH-sensitive nanostructure hydrogel based on chitosan as a photosensitizer carrier for selective photodynamic therapy, *International Journal of Biological Macromolecules*, 110, 437-448. 88.
- Belali, S., Savoie, H., O'Brien, J.M., Cafolla, A.A., O'Connell, B., Karimi, A.R., Boyle, R.W. ve Senge, M.O., 2018b. Synthesis and characterization of temperature-sensitive and chemically cross-linked poly (Nisopropylacrylamide)/photosensitizer hydrogels for applications in photodynamic therapy, *Biomacromolecules*, 19, 5, 1592-1601.
- Beverina, L. ve Salice, P., 2010. Squaraine compounds: Tailored design and synthesis towards a variety of material science applications, *European Journal of Organic Chemistry*, 2010, 7, 1207-1225.

- Bonifacino, J., Dasso, M., Harford, J., Lippincott-Schwartz, J. ve Yamada, K., 2001. Current protocols in cell biology, John Wiley ve Sons, Inc
- Caló, E. ve Khutoryanskiy, V.V, 2015. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European polymer journal*, 65, 252-267.
- Castano, A. P., Demidova, T. N. ve Hamblin, M. R. 2004. Mechanisms in photodynamic therapy: part one—photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 1, 4, 279-293.
- Catoira, M. C., Fusaro, L., Di Francesco, D., Ramella, M. ve Boccafroschi, F. 2019. Overview of natural hydrogels for regenerative medicine applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 30, 1-10.
- Chai, Q., Jiao, Y. ve Yu, X. 2017. Hydrogels for biomedical applications: their characteristics and the mechanisms behind them. *Gels*, 3, 1, 6.
- Chen, X., Martin, B. D., Neubauer, T. K., Linhardt, R. J., Dordick, J. S. ve Rethwisch, D. G. 1995. Enzymatic and chemoenzymatic approaches to synthesis of sugar-based polymer and hydrogels, *Carbohydrate polymers*, 28, 1, 15-21.
- Chong, S. F., Smith, A. A. ve Zelikin, A. N. 2013. Microstructured, functional PVA hydrogels through bioconjugation with oligopeptides under physiological conditions, *Small*, 9(6), 942-950.
- Dai, T., Fuchs, B. B., Coleman, J. J., Prates, R. A., Astrakas, C., St. Denis, T. G. ve Tegos, G. P. 2012. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform, *Frontiers in microbiology*, 3, 120.
- Degirmenci, A., Sonkaya, O., Soylukan, C., Karaduman, T. ve Algi, F. 2021. BODIPY and 2, 3-dihydrophthalazine-1, 4-dione conjugates as heavy atom-free chemiluminogenic photosensitizers. *ACS Applied Bio Materials*, 4, 6, 5090-5098.
- Fatimi, A., Okoro, O. V., Podstawczyk, D., Siminska-Stanny, J. ve Shavandi, A. 2022. Natural hydrogel-based bio-inks for 3D bioprinting in tissue engineering: A review. *Gels*, 8, 3, 179.
- Fernandes, T. C., Lima, E., Boto, R. E., Ferreira, D., Fernandes, J. R., Almeida, P. ve Reis, L. V. 2020. In vitro phototherapeutic effects of indolenine-based mono- and dithiosquaraine cyanine dyes against Caco-2 and HepG2 human cancer cell lines, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 31, 101844.
- Ferreira, D. P., Conceicao, D. S., Fernandes, F., Sousa, T., Calhelha, R. C., Ferreira, I. C. ve Vieira Ferreira, L. F. 2016. Characterization of a squaraine/chitosan system for photodynamic therapy of cancer, *The Journal of Physical Chemistry B*, 120, 7, 1212-1220.
- Furniss, B.S., 2004. Practical organic chemistry, Pearson Education India.
- Geiger, C., Stanescu, M., Chen, L. ve Whitten, D.G., 1999. Organogels resulting from competing self-assembly units in the gelator: structure, dynamics, and photophysical behavior of gels formed from cholesterol-stilbene and cholesterol-squaraine gelators, *Langmuir*, 15, 7, 2241-2245.

- Glass, S., Rüdiger, T., Griebel, J., Abel, B. ve Schulze, A., 2018. Uptake and release of photosensitizers in a hydrogel for applications in photodynamic therapy: 89 The impact of structural parameters on intrapolymer transport dynamics, *RSC Advances*, 8, 72, 41624-41632.
- Gomes, V. S., Ferreira, J. C., Boto, R. E., Almeida, P., Fernandes, J. R., Sousa, M. J. ve Reis, L. V. 2022. Squaraine Dyes Derived from Indolenine and Benzo [e] indole as Potential Fluorescent Probes for HSA Detection and Antifungal Agents, *Photochemistry and Photobiology*.
- Hamidi, M., Azadi, A. ve Rafiei, P. 2008. Hydrogel nanoparticles in drug delivery, *Advanced drug delivery reviews*, 60,15, 1638-1649.
- Hatz, S., Lambert, J. D. ve Ogilby, P. R. 2007. Measuring the lifetime of singlet oxygen in a single cell: addressing the issue of cell viability. *Photochemical ve Photobiological Sciences*, 6,10, 1106-1116.
- Heinemann, L., Fleming, G. A., Petrie, J. R., Holl, R. W., Bergenstal, R. M. ve Peters, A. L. 2015. Insulin pump risks and benefits: a clinical appraisal of pump safety standards, adverse event reporting, and research needs: a joint statement of the European Association for the Study of Diabetes and the American Diabetes Association Diabetes Technology Working Group *Diabetes care*, 38, 4, 716-722.
- Henderson, B. W. ve Dougherty, T. J. 1992. How does photodynamic therapy work? *Photochemistry and photobiology*, 55, 1, 145-157.
- Ilina, K., MacCuaig, W. M., Laramie, M., Jeouty, J. N., McNally, L. R. ve Henary, M. 2019. Squaraine dyes: molecular design for different applications and remaining challenges, *Bioconjugate chemistry*, 31, 2, 194-213.
- Juarranz, Á., Jaén, P., Sanz-Rodríguez, F., Cuevas, J. ve González, S. 2008. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications, *Clinical and Translational Oncology*, 10, 148-154.
- Kaczmarek, H., Rybczyński, P., Maćczak, P., Smolarkiewicz-Wyczachowski, A. ve Ziegler-Borowska, M. 2021. Chitosan as a protective matrix for the squaraine dye. *Materials*, 14, 5, 1171.
- Kaihara, S., Matsumura, S. ve Fisher, J. P. 2008. Synthesis and characterization of cyclic acetal based degradable hydrogels. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 68, 1, 67-73.
- Kamkaew, A., Lim, S. H., Lee, H. B., Kiew, L. V., Chung, L. Y. ve Burgess, K. 2013. BODIPY dyes in photodynamic therapy, *Chemical Society Reviews*, 42, 1, 77-88.
- Karges, J., 2022. Clinical development of metal complexes as photosensitizers for photodynamic therapy of cancer, *Angewandte Chemie International Edition*, 61, 5, e202112236.
- Kashyap, N. K. M. R. K. N., Kumar, N. ve Kumar, M. R., 2005. Hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications, *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 22, 2.

- Khopkar, S. ve Shankarling, G., 2019. Synthesis, photophysical properties and applications of NIR absorbing unsymmetrical squaraines: A review. *Dyes and Pigments*, 170, 107645.
- Kraljić, I. ve Mohsni, S.E., 1978. A new method for the detection of singlet oxygen in aqueous solutions, *Photochemistry and Photobiology*, 28, 4-5, 577-581.
- Krsko, P., McCann, T. E., Thach, T. T., Laabs, T. L., Geller, H. M. ve Libera, M. R. 2009. Length-scale mediated adhesion and directed growth of neural cells by surface-patterned poly (ethylene glycol) hydrogels. *Biomaterials*, 30, 5, 721-729.
- Li, J. ve Mooney, D. J. 2016. Designing hydrogels for controlled drug delivery, *Nature Reviews Materials*, 1,12, 1-17.
- 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.
- Lim, L. S., Rosli, N. A., Ahmad, I., Mat Lazim, A. ve Mohd Amin, M. C. I., 2017. Synthesis and swelling behavior of pH-sensitive semi-IPN superabsorbent hydrogels based on poly (acrylic acid) reinforced with cellulose nanocrystals. *Nanomaterials*, 7, 11, 399.
- Lima, E., Barroso, A. G., Sousa, M. A., Ferreira, O., Boto, R. E., Fernandes, J. R. ve Reis, L. V. 2022. Picolylamine-functionalized benz [e] indole squaraine dyes: Synthetic approach, characterization and in vitro efficacy as potential anticancer phototherapeutic agents, *European journal of medicinal chemistry*, 229, 114071.
- 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, 12856-12870.
- Mazzone, G., Russo, N. ve Sicilia, E. 2013. Theoretical investigation of the absorption spectra and singlet-triplet energy gap of positively charged tetraphenylporphyrins as potential photodynamic therapy photosensitizers. *Canadian Journal of Chemistry*, 91, 9, 902-906.
- Montaseri, H., Kruger, C. A. ve Abrahamse, H., 2021. Inorganic nanoparticles applied for active targeted photodynamic therapy of breast cancer, *Pharmaceutics*, 13, 3, 296.
- Oryan, A., Kamali, A., Moshiri, A., Baharvand, H. ve Daemi, H., 2018. Chemical crosslinking of biopolymeric scaffolds: Current knowledge and future directions of crosslinked engineered bone scaffolds, *International journal of biological macromolecules*, 107, 678-688.
- Park, J. H. ve Kim, D. 2001. Preparation and characterization of water-swellaable natural rubbers, *Journal of applied polymer science*, 80, 1, 115-121.

- Park, J. W., Kim, Y., Lee, K. J. ve Kim, D. J. 2012. Novel cyanine dyes with vinylsulfone group for labeling biomolecules. *Bioconjugate Chemistry*, 23, 3, 350-362.
- Pita-López, M. L., Fletes-Vargas, G., Espinosa-Andrews, H. ve Rodriguez-Rodriguez, R., 2021. Physically cross-linked chitosan-based hydrogels for tissue engineering applications: A state-of-the-art review, *European Polymer Journal*, 145, 110176.
- Plunkett, K. N. ve Moore, J.S., 2004. Patterned dual pH-responsive core shell hydrogels with controllable swelling kinetics and volumes, *Langmuir*, 20,16, 6535-6537.
- Prostota, Y., Kachkovsky, O. D., Reis, L. V. ve Santos, P. F. 2013. New unsymmetrical squaraine dyes derived from imidazo [1,5-a] pyridine, *Dyes and Pigments*, 96, 2, 554-562.
- Protti, S., Albini, A., Viswanathan, R. ve Greer, A., 2017. Targeting photochemical scalpels or lancets in the photodynamic therapy field—the photochemist's role. *Photochemistry and Photobiology*, 93, 5, 1139-1153.
- Ramaiah, D., Eckert, I., Arun, K. T., Weidenfeller, L. ve Epe, B., 2002. Squaraine dyes for photodynamic therapy: study of their cytotoxicity and genotoxicity in bacteria and mammalian cells, *Photochemistry and photobiology*, 76, 6, 672-677.
- 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.
- Rangasamy, S., Ju, H., Um, S., Oh, D. C. ve Song, J. M. 2015. Mitochondria and DNA targeting of 5, 10, 15, 20-tetrakis (7-sulfonatobenzo [b] thiophene) porphyrin-induced photodynamic therapy via intrinsic and extrinsic apoptotic cell death. *Journal of medicinal chemistry*, 58, 17, 6864-6874.
- Reddy, N., Reddy, R. ve Jiang, Q. 2015. Crosslinking biopolymers for biomedical applications. *Trends in biotechnology*, 33, 6, 362-369.
- Rodríguez-Rodríguez, R., Espinosa-Andrews, H., Velasquillo-Martínez, C. ve García-Carvajal, Z. Y., 2020. Composite hydrogels based on gelatin, chitosan and polyvinyl alcohol to biomedical applications: A review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 69, 1, 1-20.
- Roy, D., Cambre, J. N. ve Sumerlin, B. S., 2010. Future perspectives and recent advances in stimuli-responsive materials. *Progress in Polymer Science*, 35,1-2, 278-301.
- Sánchez-Cid, P., Jiménez-Rosado, M., Romero, A. ve Pérez-Puyana, V., 2022. Novel trends in hydrogel development for biomedical applications: A review, *Polymers*, 14, 15, 3023.
- Saul, J. M. ve Williams, D. F., 2011. Hydrogels in regenerative medicine, In *Handbook of polymer applications in medicine and medical devices* (pp. 279-302), William Andrew Publishing.

- Saxena, A. K., 2010. Synthetic biodegradable hydrogel (PleuraSeal) sealant for sealing of lung tissue after thoracoscopic resection, *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 139, 2, 496-497.
- Sennakesavan, G., Mostakhdemin, M., Dkhar, L. K., Seyfoddin, A. ve Fatihhi, S. J., 2020. Acrylic acid/acrylamide based hydrogels and its properties-A review, *Polymer Degradation and Stability*, 180, 109308.
- Shafeekh, K. M., Soumya, M. S., Rahim, M. A., Abraham, A. ve Das, S., 2014. Synthesis and Characterization of Near-Infrared Absorbing Water Soluble Squaraines and Study of their Photodynamic Effects in DLA Live Cells, *Photochemistry and Photobiology*, 90, 3, 585-595.
- Sikareepaisan, P., Ruktanonchai, U. ve Supaphol, P., 2011. Preparation and characterization of asiaticoside-loaded alginate films and their potential for use as effectual wound dressings. *Carbohydrate Polymers*, 83, 4, 1457-1469.
- Sikdar, P., Uddin, M. M., Dip, T. M., Islam, S., Hoque, M. S., Dhar, A. K. ve Wu, S., 2021. Recent advances in the synthesis of smart hydrogels, *Materials Advances*, 2, 14, 4532-4573.
- Sozmen, F., Kucukoflaz, M., Ergul, M. ve Inan, Z. D. S., 2021. Nanoparticles with PDT and PTT synergistic properties working with dual NIR-light source simultaneously, *RSC Advances*, 11, 4, 2383-2389.
- Stamatialis, D. F., Papenburg, B. J., Gironés, M., Saiful, S., Bettahalli, S. N., Schmitmeier, S. ve Wessling, M., 2008. Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering. *Journal of Membrane Science*, 308, 1-2, 1-34.
- Sujai, P.T., Joseph, M.M., Karunakaran, V., Saranya, G., Adukkadan, R.N., Shamjith, S., Thomas, R., Nair, J.B., Swathi, R.S. ve Maiti, K.K., 2018. Biogenic clusterencased gold nanorods as a targeted three-in-one theranostic nanoenvelope for SERS-guided photochemotherapy against metastatic melanoma, *ACS Applied Bio Materials*, 2, 1, 588-600
- Sun, X., Zhang, G., Shi, Q., Tang, B. ve Wu, Z. J., 2002. Preparation and characterization of water-swallowable natural rubbers, *Apply Polym Sci*, 86, 3212-717.
- Taboada, G. M., Yang, K., Pereira, M. J., Liu, S. S., Hu, Y., Karp, J. M. ve Lee, Y., 2020. Overcoming the translational barriers of tissue adhesives, *Nature Reviews Materials*, 5,4, 310-329.
- Tang, G., Tan, Z., Zeng, W., Wang, X., Shi, C., Liu, Y. ve Ye, X., 2020. Recent advances of chitosan-based injectable hydrogels for bone and dental tissue regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 587658.
- Tang, W., Xu, H., Park, E.J., Philbert, M.A. ve Kopelman, R. 2008. Encapsulation of methylene blue in polyacrylamide nanoparticle platforms protects its photodynamic effectiveness, *Biochemical and biophysical research communications* 369, 579-583.

- 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.
- Usama, S. M., Thavornpradit, S. ve Burgess, K. 2018. Optimized heptamethine cyanines for photodynamic therapy, *ACS Applied Bio Materials*, 1, 4, 1195-1205.
- Van Straten, D., Mashayekhi, V., De Bruijn, H. S., Oliveira, S. ve Robinson, D. J., 2017. Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions, *Cancers*, 9, 2, 19.
- Volpi, M., Paradiso, A., Costantini, M. ve Świąszkowski, W., 2022. Hydrogel-based fiber biofabrication techniques for skeletal muscle tissue engineering. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 8, 2, 379-405.
- Wu, D., Xu, J., Chen, Y., Yi, M. ve Wang, Q., 2018. Gum Arabic: A promising candidate for the construction of physical hydrogels exhibiting highly stretchable, self-healing and tensility reinforcing performances. *Carbohydrate polymers*, 181, 167-174.
- Xie, W., Gong, X. T., Cheng, X., Cao, J., Zhao, J., Zhang, H. L. ve Zhang, S., 2021. LIMPID: a versatile method for visualization of brain vascular networks, *Biomaterials Science*, 9, 7, 2658-2669.
- Yoon, I., Li, J. Z. ve Shim, Y. K., 2013. Advance in photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy, *Clinical endoscopy*, 46,1, 7-23.
- Yu, Y., Cheng, Y., Tong, J., Zhang, L., Wei, Y. ve Tian, M., 2021. Recent advances in thermo-sensitive hydrogels for drug delivery, *Journal of Materials Chemistry B*, 9, 13, 2979-2992.
- Yuk, H., Wu, J. ve Zhao, X., 2022. Hydrogel interfaces for merging humans and machines, *Nature Reviews Materials*, 7 ,12, 935-952.
- Zainal, S. H., Mohd, N. H., Suhaili, N., Anuar, F. H., Lazim, A. M. ve Othaman, R., 2021. Preparation of cellulose-based hydrogel: A review. *Journal of Materials Research and Technology*, 10, 935-952.
- Zhang, L., Li, K., Xiao, W., Zheng, L., Xiao, Y., Fan, H. ve Zhang, X., 2011. Preparation of collagen–chondroitin sulfate–hyaluronic acid hybrid hydrogel scaffolds and cell compatibility in vitro, *Carbohydrate polymers*, 84, 1, 118-125.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Hacer YAMANDAĞ

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, 2015-2019

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 2020-2023

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Kaunas Vytautas Magnus University / Litvanya/ Erasmus Yaz Stajı Uygulaması
2. Adıyaman Eğitim ve Araştırma Hastanesi/ Yaz Stajı

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. **Hacer YAMANDAĞ**, Fatih ALGI, Melek PAMUK ALGI 2022. Synthesis of a New Near Infrared Photodynamic Therapy 10. Drug Chemistry Congress, Turkish Chemists Society, Kemer, Antalya, 10-13 March, page 106.