



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

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**YAKIN KIZILÖTESİ BÖLGEDE FOTODİNAMİK TERAPİ
YAPABİLEN HEPTAMETİN SİYANİN TABANLI HİDROJEL
TASARIMI VE SENTEZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilek Sadife ERKAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatih ALGI

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI

AKSARAY, 2021

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 182330402 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Dilek Sadife ERKAN tarafından hazırlanan “**YAKIN KIZILÖTESİ BÖLGEDE FOTODİNAMİK TERAPİ YAPABİLEN HEPTAMETİN SİYANİN TABANLI HİDROJEL TASARIMI VE SENTEZİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

Aksaray Üniversitesi

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

Üye: Prof. Dr. Amitav SANYAL

Boğaziçi Üniversitesi

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

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KARADUMAN

Aksaray Üniversitesi

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

Tez Savunma Tarihi: 14/09/2021

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

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

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

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

Dilek Sadife ERKAN

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, akademik kariyeri seçmemde bana ışık olan, maddi manevi desteğini hep hissettiğim danışman hocam Prof. Dr. Fatih ALGI' ya teşekkür ve minnetimi bir borç bilirim.

Yüksek lisansım ve tez çalışmam boyunca bilgi, birikim ve değerli zamanımı benden esirgemeyen, her fırsatta destek olan danışman hocam Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI' ya içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelmemde büyük çaba sarf eden, fedakârlıklar yapan, maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, aldığım her kararda attığım her adımda elimden sınırsız tutan canım aileme, babam Osman ERKAN' a, rahmetli annem Gülşen ERKAN' a ve abim Mahmut Doğan ERKAN' a içten teşekkür ederim.

Laboratuvarında nasıl çalışılacağını gösteren, tecrübelerinden, tavsiyelerinden yararlandığım, arkadaşım, abim, çok kıymetli hocam Öğr. Gör. Ömer SONKAYA' ya, çalışmalarımda bana yardımlarını esirgemeyen Memduh BİLMEZ Biyonanoteknoloji araştırma grubu arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hücre çalışmalarındaki katkılarından dolayı Caner SOYLUKAN ve Alihan TOKSOY'a teşekkür ederim.

Bana sağladığı burs desteğinden dolayı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK, Proje No: 120Z152) teşekkür ederim.

Dilek Sadife ERKAN

AKSARAY, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
1.1 Fotodinamik Terapi	1
1.1.1 Fotodinamik terapide kullanılan klinik ajanlar	3
1.2 Fototermal Terapi (FTT)	6
1.3 Siyanin.....	7
1.4 Hidrojel.....	8
2. KAYNAK ÖZETLERİ	10
2.1 Heptametin Siyaninler	10
2.2 Hidrojeller	14
3. MALZEME VE YÖNTEM	17
3.1 Materyal.....	17
3.2 5-metoksi-2,3,3-trimetil-3H-indol (16) Sentezi	17
3.3 2,3,3-trimetil-3H-indol-5-ol (17) Sentezi	18
3.4 2,3,3-trimetil-3H-indol-5-il undek-10-enoat (19) Sentezi.....	18
3.5 1,2,3,3-tetrametil-5-(undek-10-enoiloksi)-3H-indol-1-ium iodid (20) Sentezi.....	19
3.6 2-((E)-2-((E)-2-kloro-3-(2-((E)-1,3,3-trimetil-5-(undek-10-enoiloksi) indolin-2 ylidene)etiliden)sikloheks-1-en-1-il)vinil)-1,3,3-trimetil-5-(undek-10- enoiloksi)-3H-indol-1-ium iodid (1) Sentezi	20
3.7 2-((E)-2-((E)-2-kloro-3-(2-((E)-5-((12-etil-10-(2-etil-4-(2-hidroksietoksi) -3- metil-4-oksobutil)-14-(2-hidroksietoksi)-13-metil-14 oksotetradekanoil)oksi)- 1,3,3-trimetilindolin-2-ilidene)etiliden)sikloheks -1-en-1-il)vinil)-5-((12-etil-10- (2-etil-4-(2-hidroksietoksi)-3-metil-4-oksobutil)-14-(2-hidroksietoksi)-13- metil-14-okso-tetradekanoil)oksi)- 1,3,3-trimetil-3H-indol-1-ium (1@HEMA) Sentezi.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	22
4.1 Hedeflenen Cy7 1 Sentezi	22
4.2 Hedef Bileşiğin Fotofiziksel Özellikleri.....	30
4.3 Hedeflenen Hidrojin Sentezi	32
4.4 Hedef Bileşiğin Cy7 1 ve Hidrojin 1@HEMA FDT Testleri	34
4.5 Hedef Bileşiğin Cy7 1 ve Hidrojin 1@HEMA FTT Testleri.....	39
4.6 Hedef Bileşiğin <i>İn Vitro</i> Çalışmaları.....	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ.....	51

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YAKIN KIZILÖTESİ BÖLGEDE FOTODİNAMİK TERAPİ YAPABİLEN HEPTAMETİN SİYANİN TABANLI HİDROJEL SENTEZİ

Dilek Sadife ERKAN

**Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı**

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

ÖZET

Fotodinamik terapi (FDT) son zamanlarda kanser tedavisinde kullanımı yaygınlaşmış yöntemlerden birisidir. Klinik onaylı bazı FDT ajanları mevcut olsa da sağlıklı dokularda birikme, fizyolojik ortamda topaklanma ve vücuttan kolay uzaklaştırılamama gibi dezavantajları nedeniyle yeni ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Siyanin boyaları fototerapötik pencerede (650-850 nm) soğurma ve emisyon yapabilen organik boyalardır. Fototerapötik pencerede doku ışık geçirgenliği yüksek olduğu için bu bölgede FDT yapabilen malzemeler oldukça popüler hale gelmiştir. Hidrojeller suda çözünmeyen ve içerisine su alarak şişebilen üç boyutlu polimerik malzemelerdir. Suda bir denge hacmine kadar şişerler. Absorbladıkları su miktarı oldukça fazladır ve oldukça geçirgen yapılara sahiptir.

Bu bilgiler göz önüne alınarak tez kapsamında FDT ajanı olarak kullanılabilecek bir boyanın tasarımı ve sentezi planlanmıştır. Ayrıca sentezlenen boya kullanılarak hidrojel elde edilmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda yakın kızılötesi bölgede FDT yapabilen siyanin tabanlı hidrojel sentezi gerçekleştirilmiştir. Son aşamada ise hidrojinin spektroskopik yöntemlerle (SEM, TGA) karakterizasyonu yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hidrojel, Siyanin, Yakın Kızılötesi Bölge, Fotodinamik Terapi, Fototermal Terapi.

Eylül, 2021; 51 sayfa

M.Sc. THESIS

HEPTAMETINE CYANINE-BASED HYDROGEL SYNTHESIS OF WHICH CAN DO PHOTODYNAMIC THERAPY IN THE NEAR-INFRARED REGION

Dilek Sadife ERKAN

**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

Recently, photodynamic therapy (PDT) has emerged as one of the most widely used cancer treatment modalities. Although there are some clinically approved PDT agents, they have some certain drawbacks such as accumulation in healthy tissues, insolubility and aggregation in the physiological environment, difficulty in clearance from the body in a short time. Therefore, there is an urgent need for the development of new PDT agents. Cyanine dyes are organic dyes that can absorb and emit light in the phototherapeutic window (650-850 nm). Since the tissue light penetration depth is relatively high in the phototherapeutic window, materials pertinent to PDT have become very popular in this region of the electromagnetic spectrum. Hydrogels are three-dimensional polymeric materials that do not dissolve in water. They swell by absorbing water. They swell to an equilibrium volume in water. The amount of water they absorb is quite high. Also, hydrogels have highly permeable structures.

Considering the above facts, the design and synthesis of a new organic dye that can be used as a PDT agent is investigated within the scope of the thesis. In addition, this dye was utilized in the synthesis of a new type of hydrogel. The experimental results validated that a near infrared cyanine-based hydrogel pertinent to PDT was successfully synthesized. At the final stage, the hydrogel was characterized by spectroscopic methods including SEM and TGA.

Keywords: Hydrogel, Cyanine, Near Infrared Region, Photodynamic Therapy, Photothermal Therapy.

September, 2021; 51 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Jablonski diyagramı [3]	2
Şekil 1.2. Porfimer Sodyumun genel yapısı.....	3
Şekil 1.3. Temoporfinin genel yapısı.....	3
Şekil 1.4. 5-Aminolevulinik asit ve Protoporfirin IX'un genel yapısı.....	4
Şekil 1.5. Verteporfinin genel yapısı	4
Şekil 1.6. Klorin e6'nın genel yapısı	5
Şekil 1.7. Fototerapötik pencere	6
Şekil 1.8. Siyanin boyalarının genel yapısı.....	7
Şekil 2.1. 2'nin kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.2. 3@P kimyasal yapısı	10
Şekil 2.3. 4 genel yapısı	11
Şekil 2.4. 5'in kimyasal yapısı	11
Şekil 2.5. TPGS ve 6'nın genel yapısı	12
Şekil 2.6. HPC ve 7'nin kimyasal yapısı	12
Şekil 2.7. 8'in kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.8. FDT ajanı 9'un kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.9. IR 775 10'un genel yapısı.....	14
Şekil 2.10. ICG 11'in genel yapısı.....	14
Şekil 2.11. 12a ve 12b genel yapısı	15
Şekil 2.12. 13a ve 13b genel yapısı	15
Şekil 2.13. 14a, 14b ve 14c bileşiklerinin genel yapısı	16
Şekil 3.1. Bileşik 16 Sentezi [34]	17
Şekil 3.2. Bileşik 17 Sentezi [34]	18
Şekil 3.3. Bileşik 19 Sentezi	18
Şekil 3.4. Bileşik 20 Sentezi	19
Şekil 3.5. Bileşik 1 Sentezi	20
Şekil 3.6. Hidrojel 1@HEMA Sentezi	21
Şekil 4.1. Bileşik 16 sentez şeması	22
Şekil 4.2. Bileşiğin 16 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃)	23
Şekil 4.3. Bileşiğin 16 ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃)	23
Şekil 4.4. Bileşik 17 sentez şeması	24
Şekil 4.5. Bileşiğin 17 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃)	24
Şekil 4.6. Bileşiğin 17 ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃)	25
Şekil 4.7. Bileşiğin 17 LC MSMS spektrumu	25
Şekil 4.8. Bileşik 19 sentez şeması	25
Şekil 4.9. Bileşiğin 19 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃)	26
Şekil 4.10. Bileşiğin 19 ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃)	26
Şekil 4.11. Bileşiğin 19 LC MS spektrumu (CDCl ₃).....	27
Şekil 4.12. Bileşik 20 sentez şeması	27
Şekil 4.13. Bileşiğin 20 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃)	27
Şekil 4.14. Bileşiğin 20 LC MS spektrumu	28
Şekil 4.15. Bileşik 1 sentez şeması	28
Şekil 4.16. Bileşiğin 1 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃)	29
Şekil 4.17. Bileşiğin 1 LC MSMS spektrumu	29
Şekil 4.18. Heptametın siyanin boyasının 1 (3x10 ⁻⁶ M) soğurma spektrumu (CH ₃ OH, λ _{max} = 785 nm)	31
Şekil 4.19. Heptametın siyanin boyasının 1 (3x10 ⁻⁶ M) floresans spektrumu (CH ₃ OH, λ _{max} = 805 nm)	31

Şekil 4.20. 1@HEMA hidrojellerinin sentez şeması.	32
Şekil 4.21. 1@HEMA hidrojellerinin zamana bağlı şişme grafiği.	32
Şekil 4.22. 1@HEMA hidrojellerinin SEM görüntüleri; a)1@HEMA_0,5 (5000X), b)1@HEMA_0,5 (500X), c)1@HEMA_1 (5000X), d)1@HEMA_1 (500X).....	33
Şekil 4.23. 1@HEMA_1 hidrojelinin termogravimetrik analizi (TGA)	34
Şekil 4.24. DPBF'in bozulma reaksiyonu.....	35
Şekil 4.25. DPBF'in ($6,6 \times 10^{-6}$ M, $\lambda_{\max} = 417$ nm) Cy7 1 ($4,3 \times 10^{-6}$ M, DMSO) varlığında soğurma şiddetinin azalma spektrumu (@540-800nm).....	35
Şekil 4.26. DPBF'in ($6,6 \times 10^{-6}$ M, $\lambda_{\max} = 417$ nm) Cy7 1 ($4,3 \times 10^{-6}$ M, DMSO) varlığında soğurma şiddetinin azalma grafiği (@540-800nm).....	36
Şekil 4.27. RNO'nun ($4,5 \times 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}=440$ nm, $6,4 \times 10^{-3}$ M imidazol), 1@HEMA_0.5 (pH=7.4 HEPES) varlığında soğurma şiddetinin azalma spektrumu (@540-800nm).....	37
Şekil 4.28. RNO'nun ($4,5 \times 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}=440$ nm, $6,4 \times 10^{-3}$ M imidazol), 1@HEMA_0.5 (pH=7.4 HEPES) varlığında soğurma şiddetinin azalma grafiği (@540-800nm).....	37
Şekil 4.29. RNO'nun ($4,5 \times 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}=440$ nm, $6,4 \times 10^{-3}$ M imidazol), 1@HEMA_1 (pH=7.4 HEPES) varlığında soğurma şiddetinin azalma spektrumu (@540- 800nm).....	38
Şekil 4.30. RNO'nun ($4,5 \times 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}=440$ nm, $6,4 \times 10^{-3}$ M imidazol), 1@HEMA_1 (pH=7.4 HEPES) varlığında soğurma şiddetinin azalma grafiği (@540- 800nm).....	38
Şekil 4.31. Cy7 1'in (pH=7,4, H ₂ O, %10 F127) lazerle (808 nm, $0,5 \text{ Wcm}^{-2}$) 10 dakika ışınlamasının fototermal etkisi. ■ F127 ($7,9 \times 10^{-3}$ M), ■ Cy7 1 ($1,2 \times 10^{-4}$ M), ▲ Cy7 1 ($2,5 \times 10^{-4}$ M) ♦ Cy7 1 (5×10^{-4} M).	39
Şekil 4.32. Hidrojel 1@HEMA'nın lazerle (808 nm, $0,5 \text{ Wcm}^{-2}$) 10 dakika ışınlamasının fototermal etkisi	40
Şekil 4.33. 1@HEMA_0.5'in @808 nm lazer ışınlaması ile termal döngü grafiği ...	40
Şekil 4.34. 1@HEMA_1'in @808 nm lazer ışınlaması ile termal döngü grafiği	41
Şekil 4.35. Hep-2 hücrelerinin 24 saat inkübasyondan sonra floresans görüntüleri; a) DAPI ile boyanmış hücre, b) Cy7 1 ile boyanmış hücre çekirdekleri, c) DAPI ve Cy7 1 boyanmış hücre birleşmesi	42
Şekil 4.36. Hep-2 hücrelerinin F127@1 ile muamelesi sonucu <i>in vitro</i> fotodinamik tedavisi; kırmızı ışınlama olmadan, yeşil @600-800 nm ile ışınlama sonucu hücre canlılığı yüzde grafiği.....	43
Şekil 4.37. L929 hücrelerinin farklı miktarlarda 1@HEMA_1 ile muamelesi ile <i>in vitro</i> biyouyumluluk çalışması sonucu hücre canlılığı yüzde grafiği	44
Şekil 4.38. 1@HEMA hidrojellerinin genel sentez şeması	45

SİMGELER VE KISALTMALAR

^1H NMR	Hidrojen Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi
^{13}C NMR	Karbon Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi
$^1\text{O}_2$	Singlet Oksijen
aFDT	Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi
AIBN	Azobisisobütironitril
CDCl_3	Dötero Kloroform
CH_2Cl_2	Diklorometan
CH_3I	Metil İyodür
CH_3OH	Metanol
CO_2	Karbondioksit
Cy5	Pentametin Siyanin
Cy7	Heptametin Siyanin
DMEM	Yüksek Aşınma Fırın Siyahı
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPBF	1,3-Difenil İsobenzofuran
FD	Fotoduyarlaştırıcı
FDT	Fotodinamik Terapi
FTT	Fototermal Terapi
GSH	Glutatyon
HBr	Hidrobromik Asit
HEMA	2-Hidroksietil Metakrilat
H_2O	Su
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LC MS/MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi
MBA	Metilenbis Akrilamit
MgSO_4	Magnezyum Sülfat
MTT	3-4,5-Dimetil-Tiyazolil-2,5-Difeniltetrazolyum Bromür
NaOAc	Sodyum Asetat
NEt_3	Trietilamin
NIR	Yakın Kızılötesi Bölge
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RNO	N,N-Dimetil-4-Nitrosoanilin
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TMPyP	5,10,15,20-Tetrakis(1-metil-4-piridinio)porfirin tetra(p-toluensülfonat)
UV-VIS	Morötesi ve Görünür Işık Soğurma Spektroskopisi
m	Kütle
m_0	Başlangıç Kütlesi
$^\circ\text{C}$	Santigrat
μ	Mikro
λ_{max}	Maksimum Soğurma Dalgaboyu
λ_{exc}	Uyarma Dalgaboyu

1. GİRİŞ

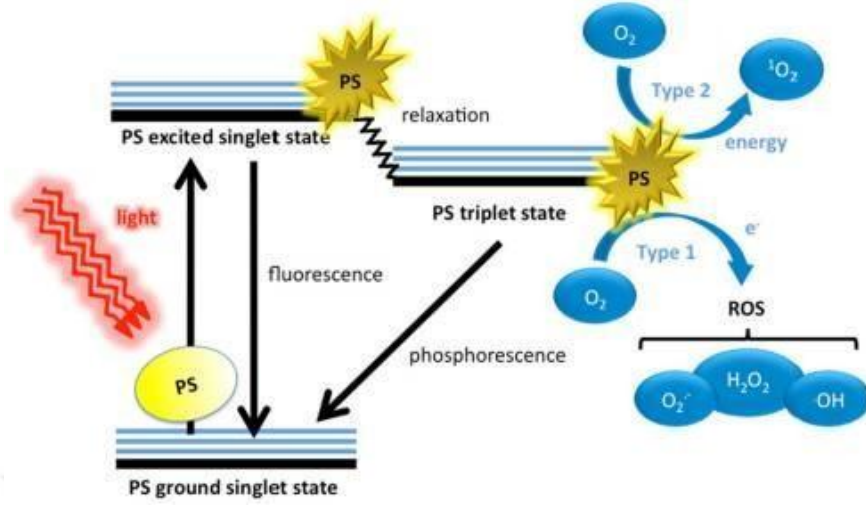
Kanser ve mikrobiyal enfeksiyonlar insan sağlığını tehdit eden temel hastalıklardandır. Kanser vücudun herhangi bir dokusunda meydana gelen, hücrelerin kontrolsüz bölünmesi ve çoğalması sonucu oluşan bir tür hastalıktır. İnsan hücrelerinin ihtiyaç duyulduğunda bölünmesi ve hücreler hasar gördüğünde veya yaşlandığı zaman ölmesi beklenirken kanser hücrelerinde bu durum tam tersine kontrolsüz bir şekilde gerçekleşir. Enfeksiyon, hastalık potansiyeli taşıyan mikropların vücuda bulaşmasıyla gerçekleşir. Bağışıklık sistemi çoğu zaman bununla baş edebilse de bazen hızla çoğalan enfeksiyonları önlemede yetersiz kalabilir ve hastalık gelişir.

Kanser tedavisi için ameliyat, radyoterapi, kemoterapi gibi yöntemler kullanılırken, enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik tabanlı kemoterapi kullanılmaktadır. Fakat bu tedavi yöntemlerinde ilaca karşı direnç oluşmaktadır. Ayrıca maliyeti yüksek, uzun sürede tedavi, yüksek nüks etme oranı gibi dezavantajlara da sahiptir. Bu yüzden bu tedavi yöntemlerine ek olarak son zamanlarda umut verici yöntemler yaygın olarak araştırılan fotodinamik terapi (FDT) ve fototermal terapi (FTT) modaliteleri önem arz etmektedir.

1.1 Fotodinamik Terapi

FDT, Raab ve Tappeiner tarafından 1900 yılında akridin oranj boyasının ışık ile etkileşimi sonucu protozoaları öldürmesiyle keşfedilmiştir. 1970'li yıllarda ise porfirinlerin tümör hücrelerini öldürmesiyle klinik olarak onaylanıp kullanılmaya başlanmıştır. Keşfi mikrobiyolojiye dayanmasına rağmen ilerleyen yıllardaki antibiyotiklerin piyasaya sürülmesiyle kullanımı azalmıştır. Fakat antibiyotikler, insanların mikrobiyal enfeksiyonlara direnme yeteneğini büyük ölçüde arttırmıştır. Beraberinde, patojenik bakteriler arasında dünya çapında hızla artan antibiyotik direnci ciddi bir sorun haline gelmiş, alternatif olarak antimikrobiyal tedavilerinde tekrar kullanılmaya başlanmıştır. Antimikrobiyal fotodinamik terapi (aFDT); ilaca karşı direnç oluşturmaması, tüm bakterilere uygulanabilirliği, daha iyi lokalize olabilirliği ve sağlıklı dokulara daha az yan etkisi bulunmasından dolayı daha avantajlı bir tedavidir. Bu özellikleri dolayısıyla bakteri [1], virüs [1], egzama, mantar [1], dermatolojik [2] hastalıklarda kullanım potansiyeline sahiptir.

FDT'nin çalışma mekanizmasına bakıldığında temel olarak 3 bileşen yer almaktadır; oksijen, ışık ve ışık ile aktive olabilen bir fotoduyarlayıcı (FD).



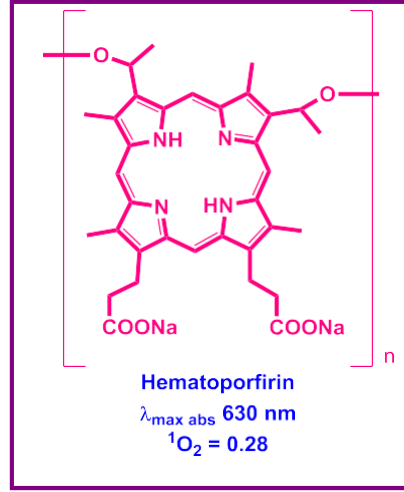
Şekil 1.1. Jablonski diyagramı [3].

Burada ışıkla aktive olabilen FD'ya uygun dalga boyunda ışık verilir. Foton absorpsiyonundan sonra fotoduyarlayıcı temel halden uyarılmış hale, buradan da sistemler arası geçişle uyarılmış triplet duruma geçer. Bu triplet durum uyarılmış tekli halden daha az enerjik fakat daha uzun ömürlüdür. Triplet haldeki FD, enerjisini fosforesans olarak daha yavaş bir şekilde yayabilir veya reaktif oksijen türleri oluştururlar [3].

Tip 1 mekanizmasında uyarılmış triplet halde, fotoduyarlayıcı ile kanserli doku arasında hidrojen veya elektron transferi olur. Elektronlar moleküler oksijen ile reaksiyona girer ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT) oluşumuna yol açar. Başlatılan bu reaksiyonlar oksidatif strese yol açarak kanser hücrelerinin tahribatına sebebiyet verir[4].

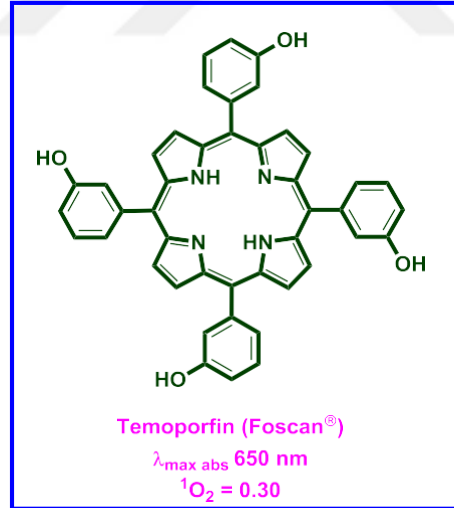
Tip 2' de ise FD' nın uyarılmış triplet duruma geçişinin bir sonucu olarak, enerji doğrudan oksijen molekülüne aktarılır. Moleküller arasında doğrudan enerji transferi (FD $\rightarrow$ O₂) mümkündür çünkü aynı dönüşlere sahiptirler. Bu şekilde, singlet oksijen olarak adlandırılan uyarılmış oksijen türleri üretilir.

1.1.1 Fotodinamik terapide kullanılan klinik ajanlar



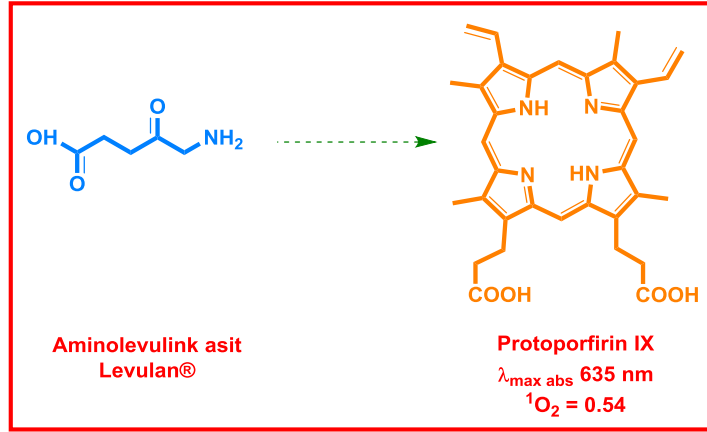
Şekil 1.2. Porfimer sodyumun genel yapısı.

Porfimer sodyum klinik olarak kullanılan ilk FD'dır. Özafagus ve akciğer kanser tedavilerinde kullanılmaktadır. Molar soğurma katsayısı düşük olduğundan uzun süreli ışınlama gerektirir. Bir başka dezavantajı porfimer sodyum ışık hassasiyetine sebep olur ve vücuttan kolay uzaklaştırılmaz [5].



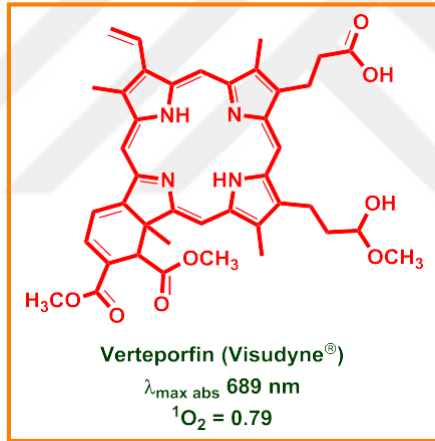
Şekil 1.3. Temoporfinin genel yapısı.

Temoporfin (Foscan®), 650 nm dalga boyunda soğurma yapar ve molar soğurma katsayısı yüksek güçlü bir FD' dır. Baş ve boyun kanserlerinde kullanılmaktadır. Çok az ışık hassasiyeti bulunmaktadır. Fakat temoporfin hidrofobiktir ve işlemten sonra çökme meydana gelebilir [5,6].



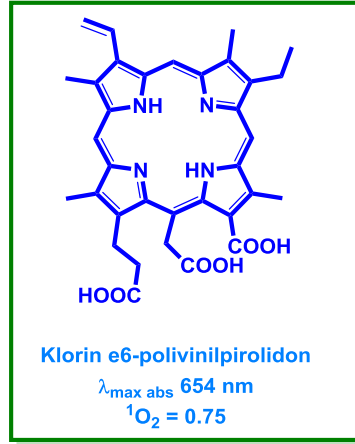
Şekil 1.4. 5-Aminolevulinik asit ve Protoporfirin IX'un genel yapısı.

5-amino levulinik asit bir ön ilaçtır. Cilt kanserinde yaygın kullanımı bulunmaktadır. Enzimatik olarak protoporfirin IX' a dönüştürülür. Molar soğurma katsayısı ve 635 nm dalgaboyunda singlet oksijen verimi düşük olduğundan uzun süreli tedaviye ihtiyaç vardır. Topikal olarak uygulandığında çok derinlere nüfuz etmez [6,7].



Şekil 1.5. Verteporfinin genel yapısı.

Verteporfin 690 nm dalga boyunda aktiveleştirilebilen bir fotoduyarlastırıcıdır. Kısa süreli cilt hassasiyeti oluşturur. Ve vücuttan kolay atılır. Fakat suda çözünürlüğü olmadığından topaklanma meydana gelir [5].



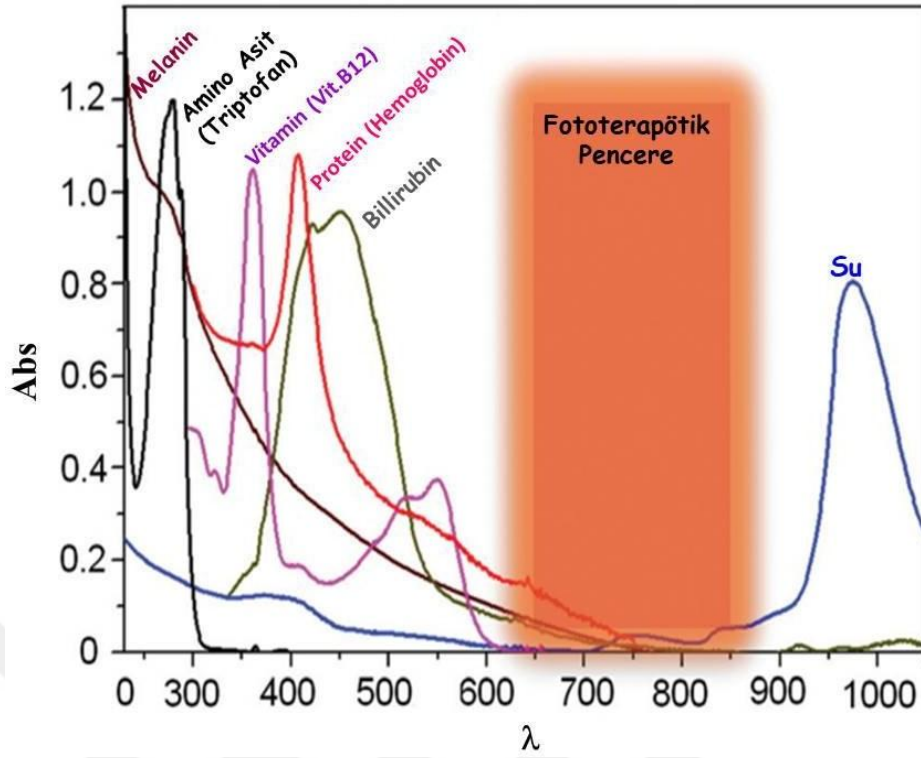
Şekil 1.6. Klorin e6'nın genel yapısı.

Klorin e6 yüksek verimli singlet oksijen üretmektedir fakat FDT etkinlikleri kısa sürede foto ağarma nedeniyle dezavantajlıdır [5].

Bu ajanlar sağlıklı dokularda da birikme yaparlar. Sentez ve saflaştırılmaları da zordur. Bu bilgiler ve dezavantajlar ışığında yeni fotoduyarlastırıcılara ihtiyaç duyulmaktadır.

İdeal bir FD' nın; [5,7]

- I. Fototerapötik pencerede soğurma ve emisyon yapması (Şekil 1.7),
- II. Yüksek doku ışık penetrasyonuna sahip olması,
- III. Düşük ışık toksisitesi,
- IV. Tümör hücrelerinde birikmesi,
- V. Vücuttan kolay atılması,
- VI. Yan etkilerinin düşük olması,
- VII. Düşük maliyetli olması gerekir.



Şekil 1.7. Fototerapötik pencere [8].

Klinikte kullanılan FDT ajanları bu özelliklerin hepsini bünyesinde barındırmamaktadır. Bu yüzden yeni fotoduyarlastırıcılara ihtiyaç duyulmaktadır.

1.2 Fototermal Terapi

FTT ışığa duyarlı maddelere dayanan, ışık enerjisinin ısıya dönüştürüldüğü cerrahi işlem gerektirmeyen bir tedavi yöntemidir. Isı artışı apoptoz veya nekroz ile hücre ölümüne sebebiyet verir. 40 ile 47 °C arasında proteinlerde hasar olur ve DNA işlevi bozularak hücre apoptotik yola girer. 50 °C ve üzerinde ise nekroz ile hızlı ölüm meydana gelir [9].

FTT’de, FDT’de olduğu gibi oksijene ihtiyaç duyulmaz. Yüksek dalgaboyunda ve düşük enerjide uyarıldığı için dokulara hasar vermez, derin dokulara nüfuz edebilir. Yüksek seçicilik ve düşük toksisite gösterir.

FTT’de genel olarak metal (altın, demir gibi) grafen veya karbon temelli nano boyutlu malzemeler kullanılmaktadır. Fakat bu malzemelerin maliyetleri yüksek olduğundan ve genellikle biyobozunur olmadıklarından dolayı dezavantajları bulunmaktadır.

Son zamanlarda bazı organik malzemelerin (yakın kızıl ötesi boyalar) FTT’de kullanılabileceğine ve bu dezavantajları ortadan kaldırabileceğine ilişkin önemli çalışmalar yapılmıştır. Bu yakın kızıl ötesi boya sınıfından biri de siyanin boyalarıdır [10].

1.3 Siyanin Boyaları

Siyanin boyaları polimetin köprüsü ile bağlanmış iki aromatik nitrojen içeren, zincirdeki tek ve çift bağların dönüşümlü olarak gösterilmesiyle temsil edilen heterosiklik organik moleküllerdir. Siyaninlerin genel yapısı Şekil 1.8’de gösterildiği gibidir.



Şekil 1.8. Siyanin boyalarının genel yapısı.

Monometin ve trimetin siyaninler görünür bölgede soğurma yaparlar. Vinilen grubunun uzatılmasıyla yaklaşık 100 nm’lik batokromik kayma meydana gelir. Bu yüzden pentametin siyaninler (Cy5) 700 nm’ye kadar ve heptametinler ise 700 nm üzerinde soğurma yapabilmektedirler. Bununla birlikte bazı Cy boyaları zayıf fotostabilite, sulu ortamda çökme, düşük kuantum verimi ve zayıf floresans göstermektedir. Bu sınırlandırmaları en aza indirmek için yapılan çalışmalarda iki heterosiklik yapının ortasına siklohekzenil ünitesinin yerleştirilmesiyle kuantum verimi ve fotostabilitesinin büyük oranda artırıldığı gösterilmiştir [11,12]. Siyanin gruplarından heptametin siyaninler (Cy7) fotofiziksel özelliklerinden dolayı daha avantajlıdır. Çünkü bu boyalar ideal fototerapötik pencerede (700-850) soğurma ve emisyon yapmaktadırlar. Ayrıca heptametin siyanin boyaları;

- Yüksek kuantum verimi,
- Canlı hücre görüntülemesi,
- Tümör hücrelerinde birikmesi,
- Biyouyumluluğu,

- Yüksek kararlılık ve verimliliği,
- Sentez ve saflaştırmasının kolay olması
- Molar soğurma katsayılarının yüksek olması bakımından avantajlıdır.

Siyaninler yaygın olarak sensörler, görüntüleme ve fototerapide kullanılmaktadır. Sensörlerde bazı metal iyonlarının tespitinde, nitroredüktaz, glutatyon gibi türlerin tespitinde kullanılabilecek siyaninler geliştirilmiştir [13-15].

Bir diğer yaygın kullanımı yakın kızıl ötesi floresans görüntülemedir. Floresans görüntüleme; çözünürlükleri, özgün olmaları, cerrahi işlem gerektirmemeleri ve gerçek zamanlı izleme yapabilmeleri nedeniyle avantajlıdır ve siyaninler burada önemli bir yer tutarlar [10].

Siyaninlerin ilgi gördüğü bir diğer kullanım alanı FDT ve FTT'dir. FDT ve FTT, kanser tedavisinde, antimikrobiyal tedavide ve bazı cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Cy7'lerin de etkili FDT ve FTT ajanı olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir [10-16]. Heptametinin siyanin boyası ışık ile aktifleştirildiği zaman sitotoksik etki gösteren reaktif oksijen türlerini üreterek ve doku sıcaklığını artırarak FDT ve FTT ile hücre ölümüne neden olur.

Siyaninler genel olarak fizyolojik ortamda çözünmediğinden ve topaklanma eğilimi gösterdiğinden dolayı fototerapi etkinlikleri sınırlandırılmaktadır. Bu sınırlandırmayı ortadan kaldırmak adına tez kapsamında fotoduyarlastırıcı moleküllerin hidrojellere yüklenmesi planlanmaktadır.

1.4 Hidrojeller

Hidrojeller polimerik ağ yapısı ile ağ yapısı içindeki çözücünden oluşan iki fazlı üç boyutlu sistemlerdir. Çözücü polimerik ağın çökmesini engellerken, ağ yapısı da çözücünün jel dışına çıkmasına engel olur. Hidrojeller yapılarına su alarak şişebilirler fakat suda çözünmezler. Hidrojellerin sentezi kolay ve zahmetsizdir. Hidrojel sentezi için gerekli üç temel bileşen vardır: monomer, çapraz bağlayıcı, polimerizasyon başlatıcı. Monomer hidrojinin su alarak şişmesini sağlarken çapraz bağlayıcı da suda çözünmesine engel olur.

Hidrojeller yapısı gereği avantajlı malzemelerdir. Suda çözünen malzemelere, ilaçlara ve vücut sıvılarına karşı geçirgendirler. Dokuyu dış etkenlerden korurlar. İyi bir taşıyıcı sistemlerdir ve biyouyumludurlar.

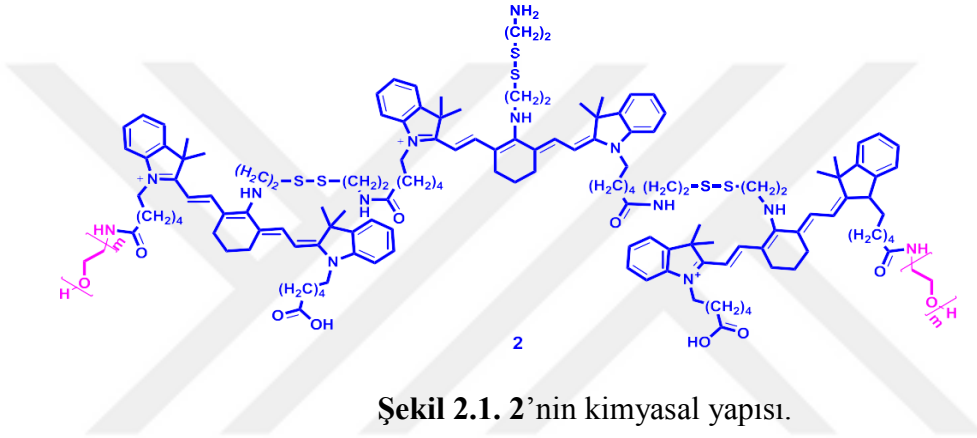
Şişme büzüşme özelliklerinden dolayı ilaç salınım sistemlerinde kullanılabilirler. Ziraatte su tutucu olarak, doku mühendisliğinde, kontak lenslerde kullanımı mevcuttur. Su tutma kabiliyetlerinden dolayı yara bakımında bandaj olarak kullanılmaktadır. Ve sürekli nemli ortam sağlayarak iyileşmeyi hızlandırır [17]. Piyasada antimikrobiyal tedavi için kullanılan hidrojeller mevcuttur fakat bu malzemelerde antibiyotikler ve ağır metaller bulunmaktadır. Bu malzemelerle yapılan tedavilerde antibiyotiklere karşı direnç oluşabilir veya ağır metallerden dolayı toksik etki gözlenebilir. Bu yüzden FDT ve/veya FTT ile etkinlik gösteren antimikrobiyal fototerapötik hidrojellerin geliştirilmesi önem arz etmektedir.

İlk hidrojel 1960'lı yılların başında Wichterle ve Lim tarafından göz biliminde hidroksietil metakrilat monomerinin kontak lenslerde kullanılmasıyla keşfedilmiştir [18]. 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA) bazlı hidrojeller farmasötik alan için ilk sentezlenen hidrojellerdir. Oldukça biyouyumludur. Tek başına kırılkan olan HEMA, şiştikten sonra esnek hal alır. Ayrıca gözenekli yapısından dolayı oksijenin ve sıvıların geçişine izin verir [19]. Bu malzemenin büyük avantajı dış uyaranlara; yüksek sıcaklık, asit ve bazik hidroliz, aminler ile reaktiviteye karşı oldukça dirençlidir [20]. Aynı zamanda toksik değildir, antijenik değildir, optik olarak şeffaftır ve su içerisinde mekanik özelliklerini korur [18]. Kolay polimerleşebilen HEMA çeşitli monomerler ile bir arada kullanılabilir. Aynı zamanda kolay jelleşebilme özelliği sayesinde çapraz bağlayıcı miktarında kolaylıkla değişiklik yapılabilir; su emme kapasitesi ve su içerisindeki mukavemet direnci bu şekilde kolaylıkla değiştirilebilir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

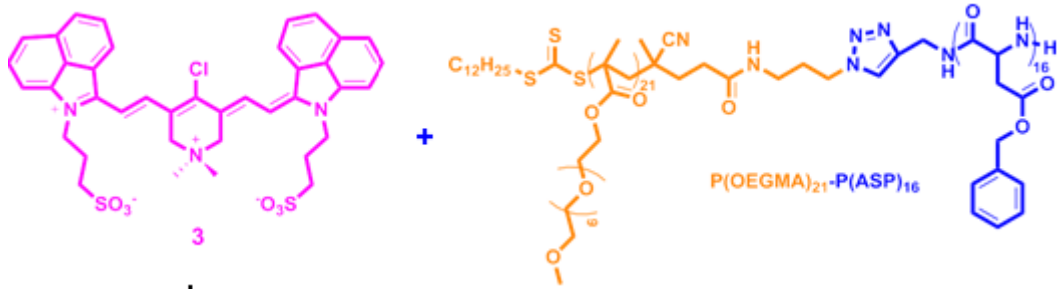
2.1 Siyaninler

Jeong vd. (2020) yaptığı bir çalışmada dallı formu olan heptametin siyanin boyası sentezlemişlerdir. Kemoterapi ilacı olan doksorubisin (DOX) ile kapsülleyerek nanoparçacık **2** (Şekil 2.1) oluşturmuşlardır. Bu nanoparçacığın glutatyon (GSH) ile reaksiyona girerek kanser mikro ortamında parçalandığını ve DOX salınımı yaptığını tespit etmişlerdir. **2** kanser ortamında etkili kemofototerapötik etki göstermiştir. Sentezlenen bu nanoparçacığın 662 nm lazer ile ışınlanmasıyla FDT yaptığını, A549 ve 4T1 hücre hatlarında in vitro deneylerle de doğrulamışlardır [21].



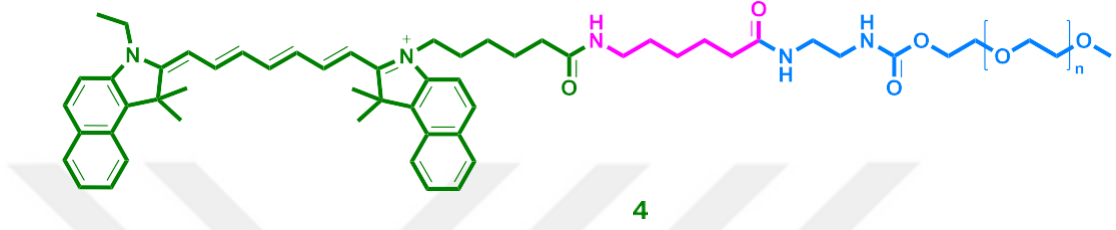
Şekil 2.1. **2**'nin kimyasal yapısı.

Qian vd. (2021) küçük moleküllü organik NIR-II floresan probu **3** (Şekil 2.2) sentezlemişler, sulu çözeltide kullanabilmek için amfifilik polipeptit ile kapsüllemişlerdir (3@P). Sentezlenen 3@P'nin, 915 nm lazer ışınlanması ile tümör hücrelerinde görüntüleme rehberliğinde etkili FTT yaptığını tespit etmişlerdir [22].



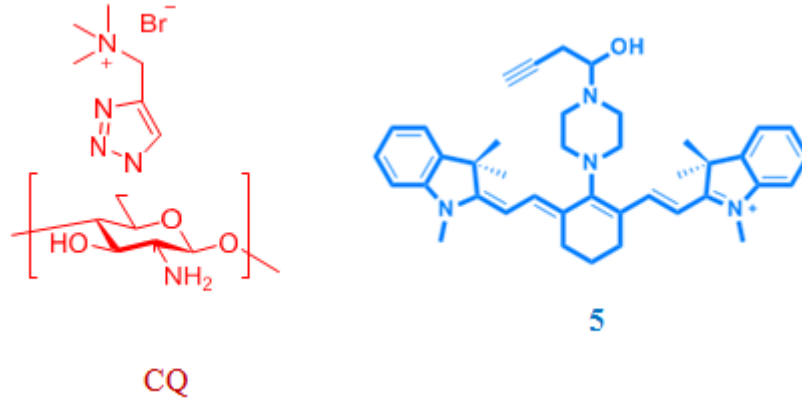
Şekil 2.2. **3@P** kimyasal yapısı.

İndosiyanin yeşili (ICG), zayıf biyo-çevresel stabilite, agrega eğilimi ve vücuttan hızlı eliminasyon vb. gibi çeşitli dezavantajlarla sınırlı fotoduyarlayıcı ajandır. Hu vd. ICG'yi iyileştirmek için PEG ile modifiye etmişlerdir. ICG ünitesi ile PEG arasına orta derecede hidrofobikliği ve konformasyonel esnekliği nedeniyle bir bağlayıcı olarak hidrofobik 6-aminokaproik asit yerleştirmişlerdir. Elde edilen nanomisel 4'ün (Şekil 2.3) *in vivo* FTT etkinliği incelenmiş ve antitümör tedavisi sergilediği gözlenmiştir [23].



Şekil 2.3. 4 genel yapısı.

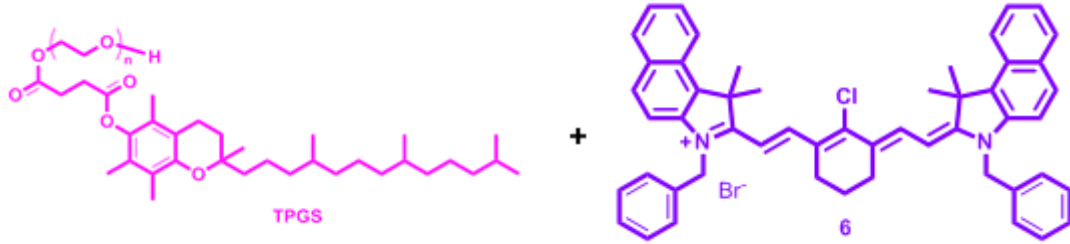
Li vd. (2020) moleküler hedefli Erlotinib, Survivin eksprese eden plazmid ve FTT ajanı heptametin siyanin boyası 5 ile kitosan bazlı (Şekil 2.4) nano kompleks bildirmişlerdir. Elde edilen bu yapının gen tedavisi, kemoterapi ve FTT yaptığını aynı zamanda yakın kızılötesi/pH çift duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir [24].



Şekil 2.4. Cy7 5'in kimyasal yapısı.

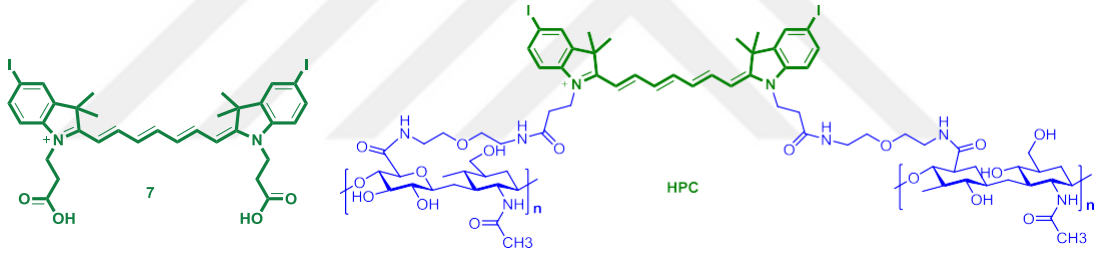
Zhu vd. (2020) kanser hücrelerinde mitofaji sürecini manipüle edebilen antikanser stratejisi geliştirmiştir, yapı taşı olarak D-a-tokoferol polietilen glikol 1000 süksinat (TPGS) ve yük olarak mitokondriyi hedefleyen siyanin molekülü 6 (Şekil 2.5) kullanmıştır.

TPGS/dc-IR825'in bir tümör inhibe edici özellikte olduğunu ortaya koymuştur. Aynı zamanda 808 nm lazer ışınlaması ile fototermal özellik gösterdiğinden mitokondri hasarının arttığını göstermişlerdir [25].



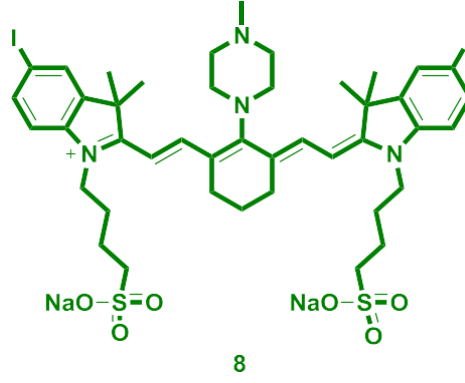
Şekil 2.5. TPGS ve 6'nın genel yapısı.

Chi vd. (2020) yaptıkları bir çalışmada, 7'yi (Şekil 2.6) hyalüronik asit yüzeyine bağlayarak yeni bir teranostik nanotaşıyıcı (HA-PEG-CyI, HPC) inşa etmişlerdir. 7, fototermal ve yakın kızılötesi floresan görüntüleme özelliklerinin yanı sıra gelişmiş singlet oksijen üretme kabiliyetine sahip bir iyotlu siyanin boyasıdır. Hazırlanan HPC'nin de 808 nm ışınlama ile etkili ROT ürettiğini ve hücreyi ölüme sürükleyecek sıcaklığa erişebildiğini bildirmişlerdir [26].



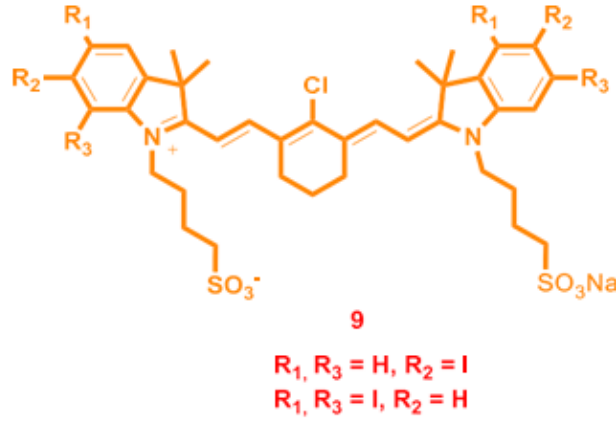
Şekil 2.6. HPC ve 7'nin kimyasal yapısı.

Siriwibool vd. (2020) yakın kızılötesi ışıkla etkinleştirilebilen pH'a duyarlı bir amino heptametin siyanin bazlı teranostik prob **8** (Şekil 2.7) geliştirmişlerdir. I₂-IR783-Mpip, asidik durumda, NIR ışığına (~850nm) maruz kaldığında yüksek singlet oksijen üretimi ile yoğun, geniş bir NIR absorpsiyon bandı (820-950nm) sergilemiştir [27].



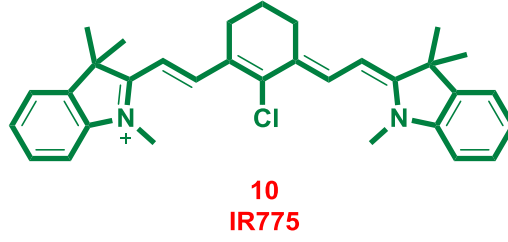
Şekil 2.7. 8 kimyasal yapısı.

Callan vd. (2017) IR-783 yapısına iyot atomlarını yerleştirerek elde ettikleri Cy7'ler **9** (Şekil 2.8) ile FDT etkinliğinin artırılabilirdiğini en agresif kanser türlerinden biri olan pankreas kanseri hücre hattında göstermişlerdir [28].



Şekil 2.8. FDT ajanı **9**'un kimyasal yapısı.

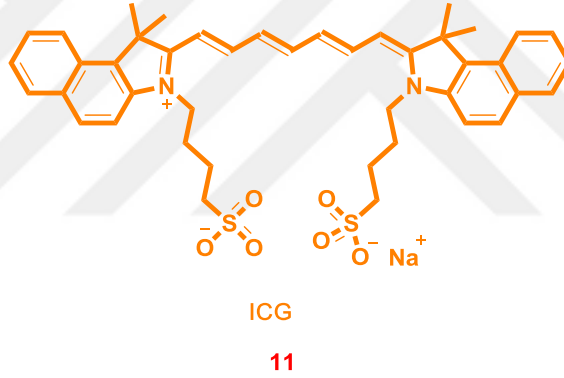
Duong vd. (2017) IR775 **10** (Şekil 2.9) boyasına dayalı, kombinatoriyal fototerapi ile eşzamanlı floresans görüntüleme ve tümörlü hücreleri öldürme yeteneğine sahip fototeranostik nanoplatform geliştirmişlerdir. IR775-NP' nin uygulamadan sonra tümörlerde biriktiğini bunları NIR floresan sinyali ile verimli bir şekilde tanımladığını ve kombine fototerapiden sonra kemo dirençli kanser dokusunu tamamen ortadan kaldırdığını ortaya koymuşlardır [29].



Şekil 2.9. IR775 **10**'un genel yapısı.

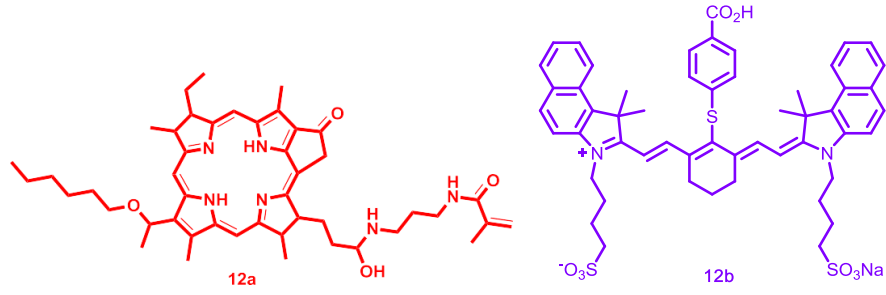
2.1. Hidrojeller

Niu vd.(2021) indosiyanin yeşili (ICG) **11** (Şekil 2.10) ile birleştirilmiş bir ipek fibroin (SF)/sodyum aljinat (SA) kompozit hidrojeline dayalı bir ilaç salınım platformu geliştirmiştir. Hidrojel içerisine ICG'yi **11** fototermal özellik göstermesi için yüklemişlerdir ve NIR ışığa maruz bırakılarak ilaç salınımı sağlayacak kadar fototermal özellik göstermiştir [30].



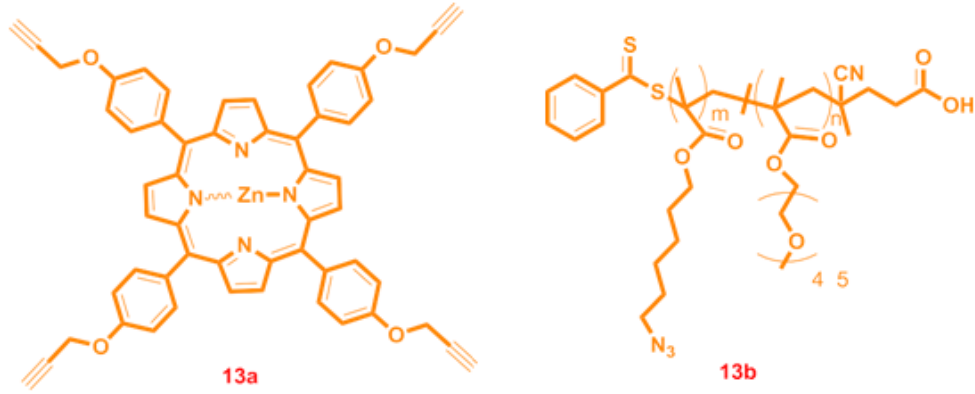
Şekil 2.10. ICG **11** genel yapısı.

Wang vd. (2012) yaptığı çalışmada çok fonksiyonelli poliakrilamid tabanlı bir nanotaşıyıcı bildirmiştir. Bu nanotaşıyıcının insan göğüs kanseri hücrelerinde yapılan in vitro deneylerle tümör hedefleme, floresans görüntüleme ve FDT yaptığı tespit edilmiştir. FDT bileşik **12a**, floresans görüntüleme ise bileşik **12b** (Şekil 2.11) ile sağlanmıştır [31].



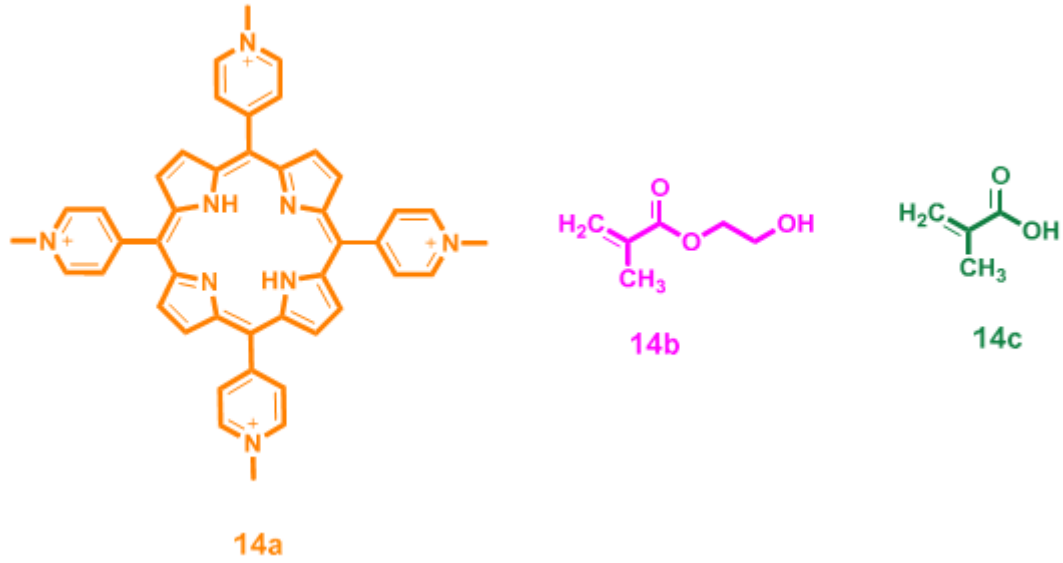
Şekil 2.11. 12a ve 12b genel yapısı.

Sanyal vd. (2018) yapmış olduğu çalışmada yüzey aktif maddeler kullanmadan FDT yapabilen fotoduyarlastırıcı **13a** ile termo duyarlı kopolimerin **13b** (Şekil 2.12) çapraz bağlanmasıyla suda çözünen enjekte edilebilir nanojel sentezi gerçekleştirmiştir [32].



Şekil 2.12. 13a ve 13b genel yapısı.

Brady vd. (2007) katarakt ameliyatı sırasında implante edilen hidrojel bazlı göz içi lenslerin yüzey modifikasyonuna yönelik çalışma yapmışlardır. Fotodinamik aktivite için porfirinlerle **14a** modifiye edilmiş yeni tip metakrilik asit **14c** ve 2-hidroksietil metakrilat **14b** (Şekil 2.13) hidrojelinin fotofiziksel karakterizasyonu ile ilgili çalışma bildirmişlerdir [33].



Şekil 2.13. 14a, 14b ve 14c bileşiklerinin genel yapısı.

Literatürdeki fototerapi ajanlarının dezavantajları göz önünde bulundurulduğunda yeni fototerapi ajanlarının geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir. Bundan dolayı bu tez kapsamına siyanin boyaları tercih edilmiştir. Fakat siyanin boyaları da fizyolojik ortamda agrega olabilir. Bu durum fototerapi etkinliklerini sınırlandırmaktadır. Bu sınırlandırmayı kaldırmak adına siyanin boyalarını çapraz bağlayıcı olarak kullanıp hidrojele kovalent olarak bağlamayı hedefledik. Bu bilgiler ışığında FDT ve FTT yapabilen yeni bir heptametin siyanin boyası sentezledik ve çapraz bağlayıcı olarak hidrojele yükledik. Böylelikle hem FDT hem FTT etkinlikleri sınırlandırılmayacak hem de Literatürde FDT ve FTT yapabilen Cy7 tabanlı hidrojeller olmadığından literatüre de yeni bir malzemeyi bildirmiş olacağız.

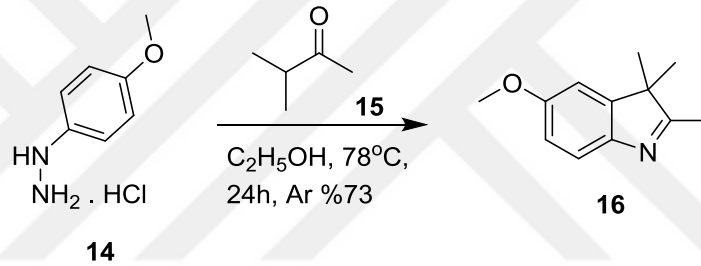
3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Tüm kimyasal malzeme ve çözücüler Aldrich ve Merck firmalarından temin edilmiştir.

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 (600,400,300 MHz) ve ^{13}C NMR (150 veya 75 MHz) spektrumları FT-NMR cihazları ile kaydedildi. FTT ölçümleri FLIR i60 marka termal kamera ile kaydedilmiştir.

3.2 5-metoksi-2,3,3-trimetil-3H-indol (16) Sentezi

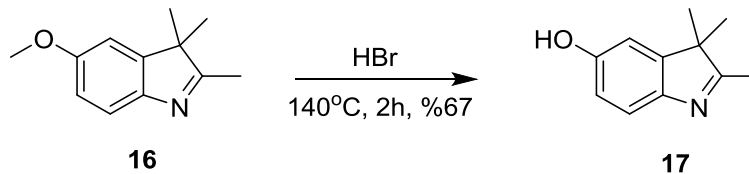


Şekil 3.1. Bileşik **16** Sentezi [34].

4-metoksifenil hidrazin hidroklorid (**14**) (0,5 g, 2,86 mmol) ve 3-metil-2-bütanon (**15**) (246,3 mg, 14,98 mmol) bir balona alındı ve 25 mL susuz etanol ile çözüldü. Azot atmosferinde geri soğutucu altında 4 saat kaynatıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve çözücü uzaklaştırıldı. Katı madde silika jel üzerinde kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (elüent; Hekzan:Etil Asetat 3:1). Kırmızımsı viskoz ürün **16** elde edildi (0,9 g, %73 verim). LC MS/MS (m/z) hesaplanan $[\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}]^+$ 189.11; ölçülen 189.97. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.41 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.83-6.80 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 1.27 (s, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ 185.60, 157.85, 147.24, 147.17, 119.92, 111.95, 107.99, 55.49, 53.62, 23.22, 15.28.

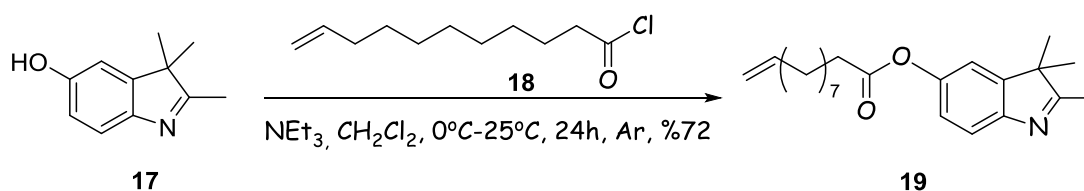
3.3 2,3,3-trimetil-3H-indol-5-ol (17) Sentezi



Şekil 3.2. Bileşik 17 Sentezi [34].

4-metoksi-2,3,3-trimetil-3H-indol (**16**) (0,1 g, 0,528 mmol) bir balona alındı ve hidrobromik asit (%48, 2 mL, 15,84 mmol) ile çözüldü. Geri soğutucu altında 20 saat boyunca 140 °C’ de ısıtıldı. Daha sonra saf su ile seyreltildi ve doymuş bikarbonat çözeltisi ile nötrale edildi. Sulu çözeltiye CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı. Organik tabaka doymuş tuzlu su ile yıkandı. MgSO_4 ile kurutuldu, süzüldü ve çözücü uzaklaştırıldı. Kahverengi katı madde **17** elde edildi (0,085 g, %67 verim). LC MS/MS (m/z) hesaplanan $[\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}]^+$ 175.10; ölçülen 175.83. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 9.86 (s, 1H), 7.30 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.78 (dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz, 1H), 2.25 (s, 3H), 1.27 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ 185.73, 155.74, 147.09, 144.71, 119.78, 114.16, 109.77, 53.51, 23.08, 14.81.

3.4 2,3,3-trimetil-3H-indol-5-yl undek-10-enoat (19) Sentezi

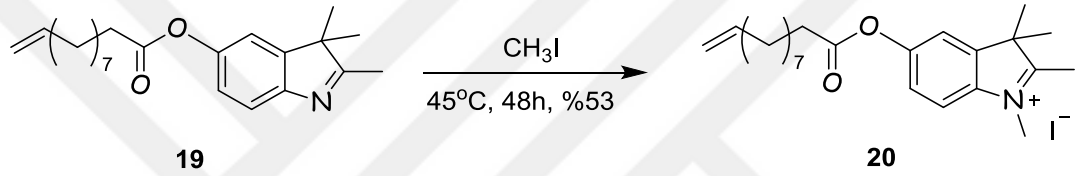


Şekil 3.3. Bileşik 19 Sentezi

2,3,3-trimetil-3H-indol-5-ol (**17**) (50 mg, 0,285 mmol) bir balona alınarak kuru CH_2Cl_2 ile çözüldü ve buz banyosunda argon atmosferi altına alındı. Reaksiyon karışımı 0 °C olduktan sonra damla damla trietilamin (0,73mL, 0,627 mmol) ve undek-10-enoil klorid (**18**) (0,95 mL, 0,627 mmol) eklendi. Oda sıcaklığında 24 saat

boyunca karışmaya bırakıldı. Daha sonra doygun bikarbonat ile çekme yapıldı. Doygun tuzlu su ile yıkandı, kurutuldu ve çözücü uzaklaştırıldı. Viskoz kahverengi ürün **19** elde edildi (70mg, %72 verim). LC MS/MS (m/z) hesaplanan $[C_{22}H_{31}NO_2]^+$ 341,24; ölçülen 342.02. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.22 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 5.79-5.72 (m, 1H), 4.95 (d, J = 18 Hz, 1H), 4.88 (d, J = 12 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.53 (bs, 2H), 1.99 (bs, 2H), 1.68 (bs, 2H), 1.57 (s, 4H), 1.36 - 1.24 (m, J = 70.4, 28.9 Hz, 9H). ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ 195.94, 171.86, 151.90, 142.72, 139.12, 139.09, 122.83, 116.96, 116.38, 114.18, 54.62, 37.60, 34.24, 33.75, 29.24, 29.16, 29.01, 28.82, 24.69, 22.97, 17.41.

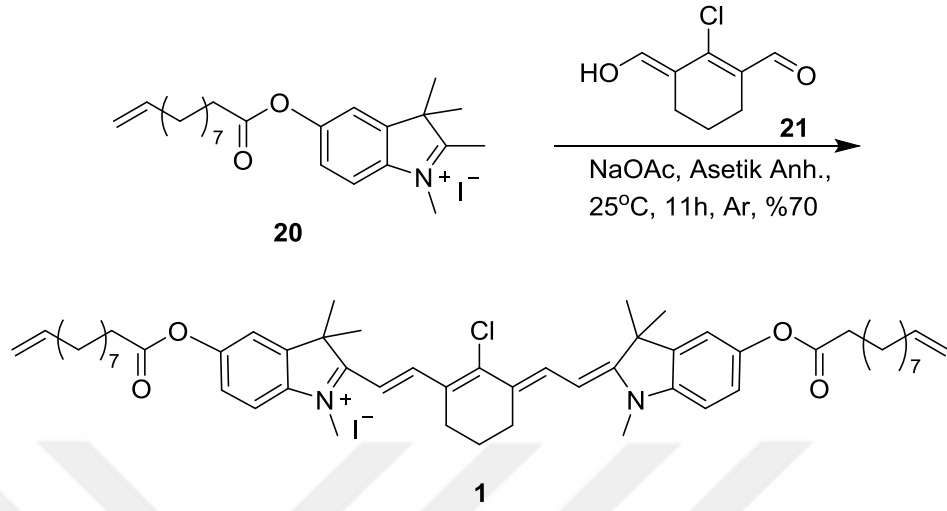
3.5 1,2,3,3-tetrametil-5-(undek-10-enoiloksi)-3H-indol-1-ium iodid (**20**) Sentezi



Şekil 3.4. Bileşik 20 Sentezi.

2,3,3-trimetil-3H-indol-5-yl undek-10-enoat (**19**) (0,1 g, 0,292 mmol) metil iyodür (2,5 mL, 11,72 mmol, aşırı) ile çözüldü. 48 saat boyunca 45 °C ye ısıtıldı. Hekzan ve dietil eter ile çöktürülerek saflaştırıldı. Bordo viskoz ürün **20** elde edildi (265mg, %53 verim). LC MS/MS (m/z) hesaplanan $[C_{23}H_{34}NO_2]^+$ 356.26; ölçülen 355.95, $[M+I]^+$ 481.85. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.72 (s, 1H), 7.32 - 7.30 (m, 2H), 5.84 - 5.76 (m, 1H), 4.98 (d, J = 18 Hz, 1H), 4.92 (d, J = 12 Hz, 1H), 4.18 (s, 3H), 3.01 (s, 3H), 2.58 (bs, 2H), 2.03 (bs, 2H), 1.75 - 1.65 (m, 6H), 1.40 - 1.28 (m, 12H).

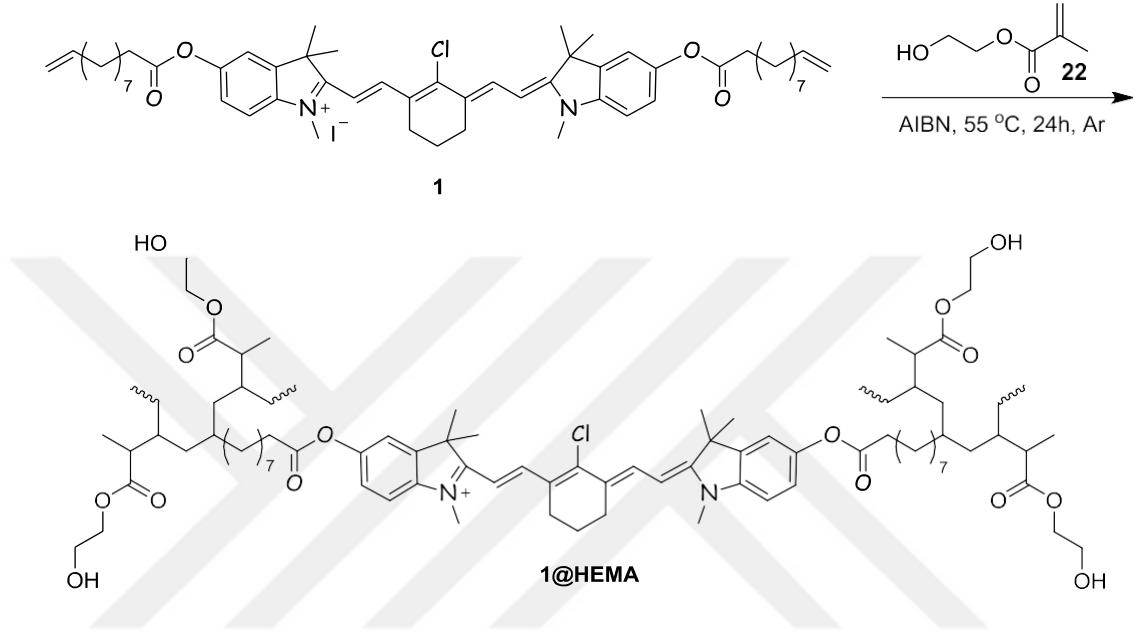
3.6. 2-((E)-2-((E)-2-kloro-3-(2-((E)-1,3,3-trimetil-5-(undek-10-enoiloksi)indolin-2-ylidene)ethyliden)sikloheks-1-en-1-il)vinil)-1,3,3-trimetil-5-(undek-10-enoiloksi)-3H-indol-1-ium iodid (1) Sentezi



Şekil 3.5. Bileşik 1 Sentezi.

1,2,3,3-tetrametil-5-(undek-10-enoiloksi)-3H-indol-1-ium iodid (**20**) (0,1 g, 0,206 mmol), susuz sodyum asetat (7,7 mg, 0,094 mmol) ve (E)-2-kloro-3-(hidroksimetilen)sikloheks-1-en-1-karbaldehid (**21**) (16,22 mg, 0,094 mmol) bir balona alındı ve 1 mL asetik anhidrit ile çözüldü. Argon atmosferinde oda sıcaklığında 9 saat karıştı. Çözücü uzaklaştırıldı, katı madde kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (%3 CH₂Cl₂:CH₃OH). Koyu yeşil katı ürün **1** elde edildi (%70 verim). LC MS/MS (m/z) hesaplanan [C₅₄H₇₂ClN₂O₄]⁺ 847.50; ölçülen 847.34. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.30 (d, J = 13.8 Hz, 2H), 7.16 (d, 2H), 7.10 (d, 2H), 6.22 (d, J = 13.8 Hz, 2H), 5.84 – 5.78 (m, 1H), 5.0 (d, J = 17.1 Hz, 2H), 4.93 (d, J = 10.1 Hz, 2H), 2.57 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.05 – 2.03 (m, 2H), 1.75 – 1.71 Hz, 2H), 1.41 – 1.32 (m, 5H).

3.7. 2-((E)-2-((E)-2-kloro-3-(2-((E)-5-((12-etil-10-(2-etil-4-(2-hidroksietoksi)-3-metil-4-oksobutil)-14-(2-hidroksietoksi)-13-metil-14-oksetetradekanoil)oksi)-1,3,3-trimetilindolin-2-ilidene)etiliden)sikloheks-1-en-1-il)vinil)-5-((12-etil-10-(2-etil-4-(2-hidroksietoksi)-3-metil-4-oksobutil)-14-(2-hidroksietoksi)-13-metil-14-oksetetradekanoil)oksi)-1,3,3-trimetil-3H-indol-1-ium (1@HEMA) Sentezi



Şekil 3.6. Hidrojel 1@HEMA Sentezi.

Hidroksietil metakrilat **22** (1 mL,) Azobisisobütironitril (**AIBN**) (2,5 mg, 0,05 mmol) ve Cy7 **1** (0,5 mg, 0,51 µmol) içeren karışım argon atmosferi altında homojen olana kadar karıştırıldı. Sonra şırıngaya alındı ve karışım 55 °C etüvde 24 saat ısıtıldı ve jelleşme gözlemlendi. Daha sonra hidrojel, asetonitril ve saf suyla yıkanarak reaksiyona girmemiş maddeler uzaklaştırıldı. Hidrojel 2 gün boyunca suyu sık sık değiştirmek suretiyle saf suda bekletildi ve şişme ölçümleri alındı. Hidrojin ilk ağırlığı tartıldı ve saf suya alındı. 15 dakikada bir ile başlayıp bekleme süreleri artırılarak iki gün ölçüldü. Aynı prosedür 1 mg Cy7 **1** ile tekrar edilerek boya içeriği yüksek hidrojel elde edilmiştir.

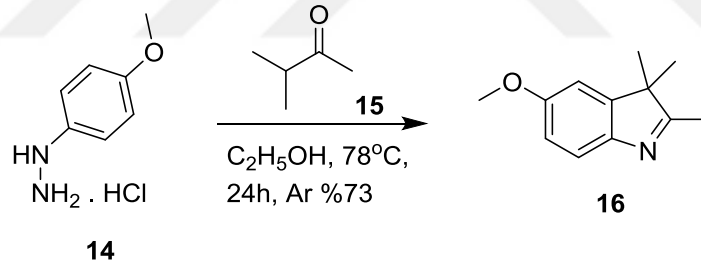
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada heptametın siyanin tabanlı yeni bir fotoduyarlastırıcının **1** tasarımı ve sentezi üzerinde durulacak, ajanın **1** fotodinamik ve fototermal etkinlikleri test edilecektir. Ayrıca bu yeni malzemenin hücre görüntülemesi ve 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) analizi gerçekleştirilecektir. Elde edilen fotoduyarlastırıcı ajan ile 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) kovalent olarak bağlanarak hidrojel **1@HEMA** sentezlenecektir. Sentezlenecek olan bu hidrojelın de yapısındaki çapraz bağlayıcı olarak kullanılan heptametın siyanin **1** ünitesinin varlığından dolayı FDT/FTT yapması beklenmektedir ve fototerapi etkinlikleri test edilecektir.

4.1 Hedeflenen Cy7'nin (1) Sentezi

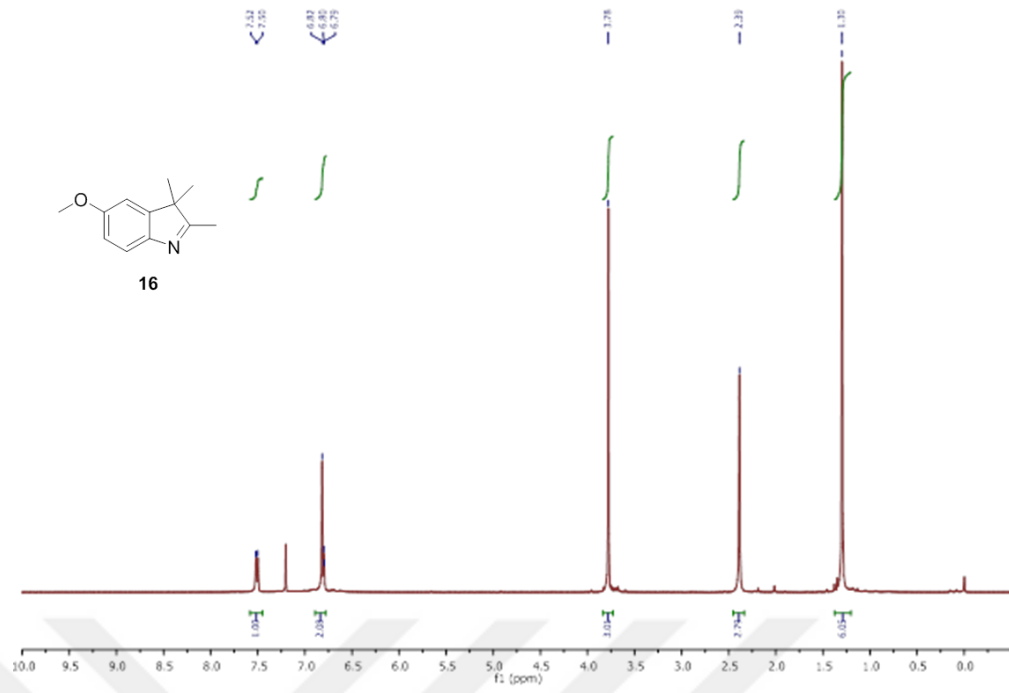
Hedeflenen heptametın siyanin boyası **1**, uygun reaksiyon koşulları ile beş basamakta sentezlenip karakterize edildi.

İlk olarak 4-hidroksifenil hidrazin hidroklorid **14** 3-metil-2-bütanon **15** ile literatürde bilinen bir yöntem kullanıldı [34].

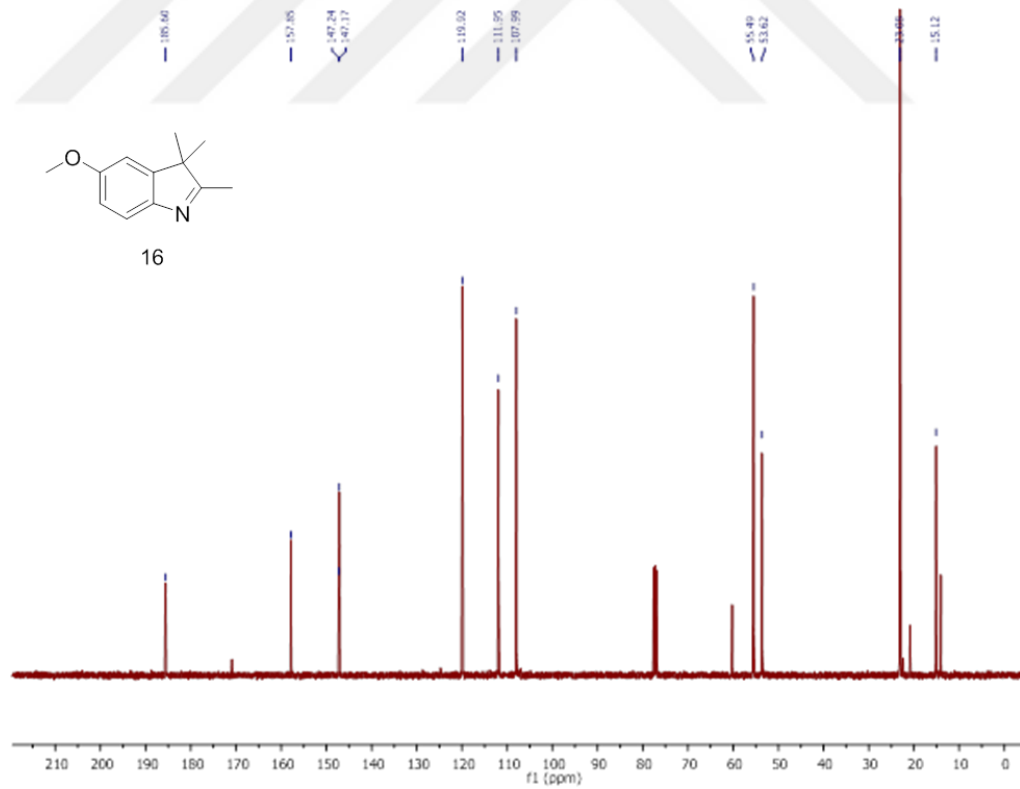


Şekil 4.1. Bileşik **16**'nın sentez şeması.

¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumlarının (Şekil 4.2, 4.3) literatür ile uyumlu ve yapıyı doğrular niteliktedir.

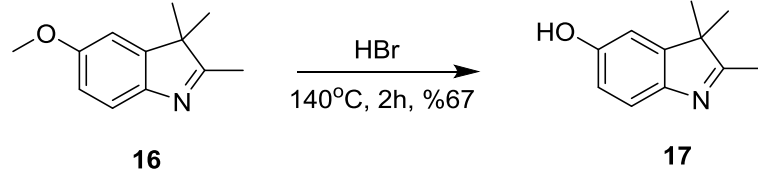


Şekil 4.2. Bileşiğin 16 ¹H NMR spektrumu (CDCl₃).



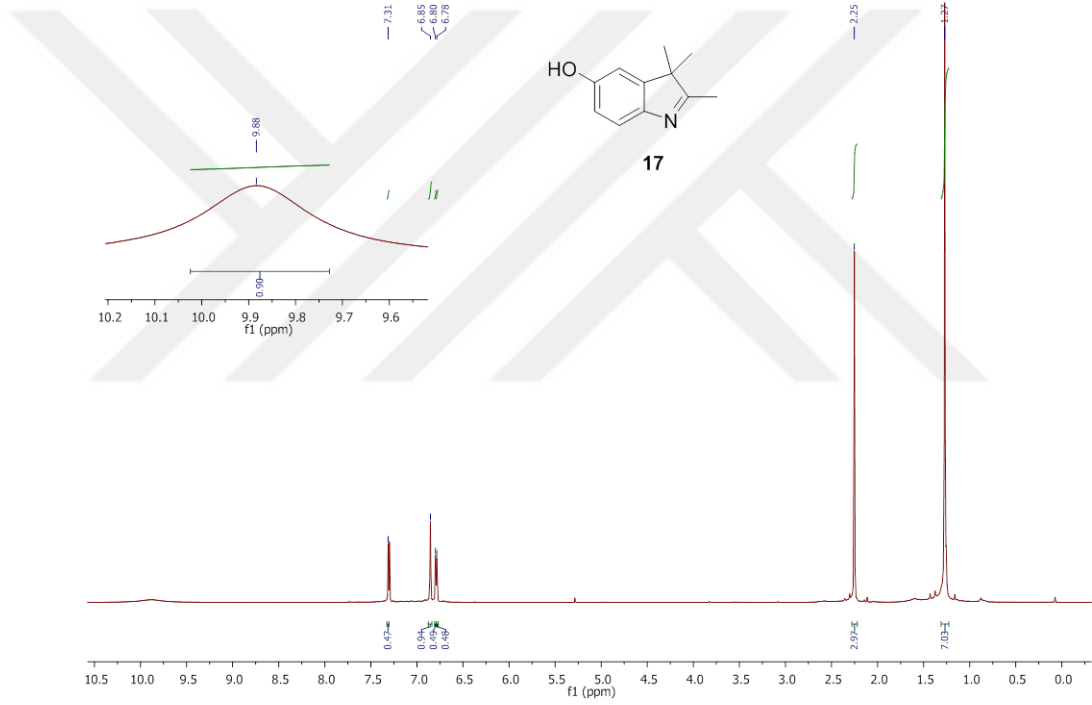
Şekil 4.3. Bileşiğin 16 ¹³C NMR spektrumu (CDCl₃)

Diğer basamakta **16** literatüre göre hidrobromik asit ile kaynatılarak [34] bileşik **17** elde edildi.

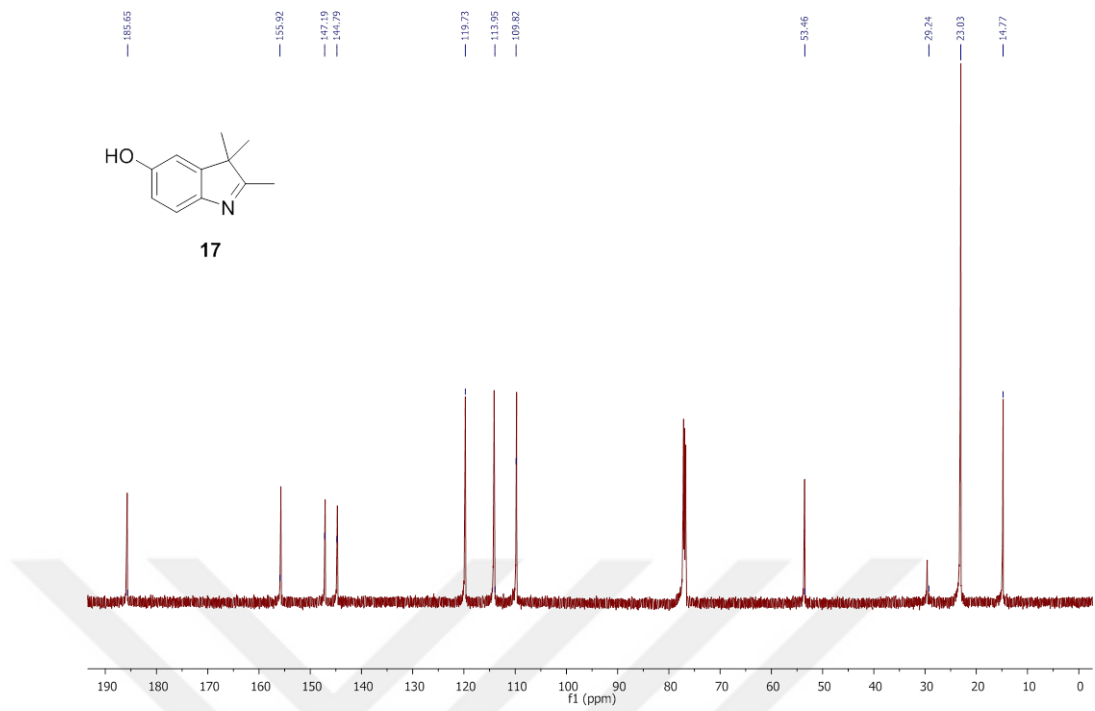


Şekil 4.4. Bileşik **17**'nin sentez şeması.

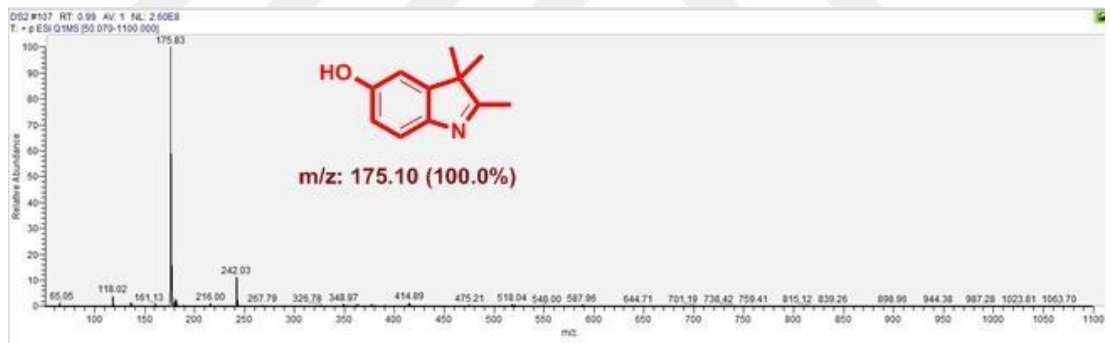
Yapı ^1H NMR, ^{13}C NMR ve LC MSMS spektrumları (Şekil 4.4, 4.5, 4.6) ile karakterize edildi. 3.76 ppm'deki metil pikinin olmadığı ve 9.98 ppm'de $-\text{OH}$ grubundaki protonun varlığı doğrulandı.



Şekil 4.5. Bileşiğin **17** ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

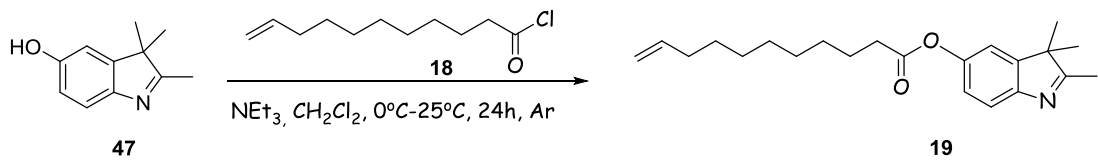


Şekil 4.6. Bileşiğin 17 ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3).



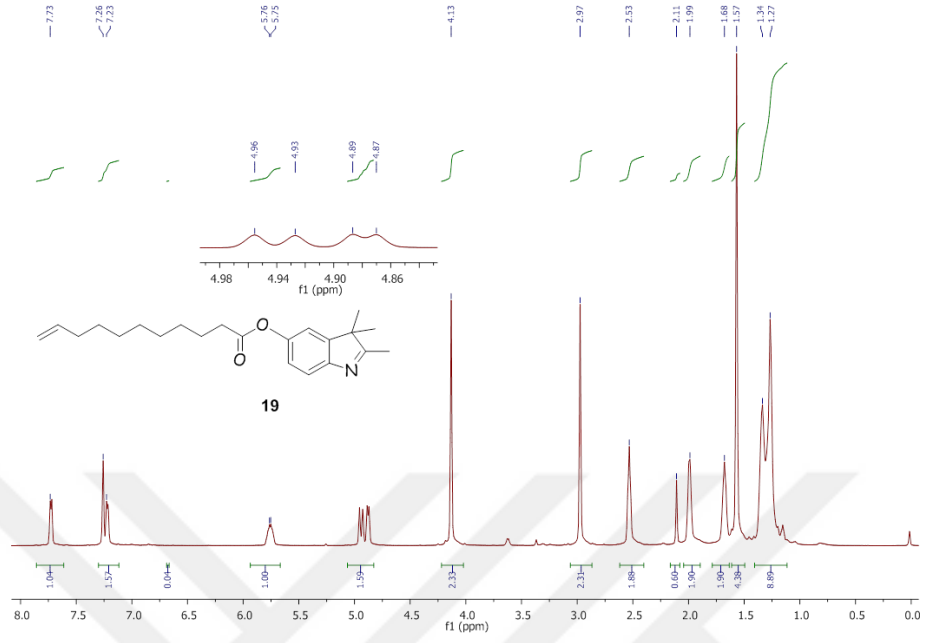
Şekil 4.7. Bileşiğin 17 LC MSMS spektrumu.

Üçüncü adımda bileşik 17 ile 10-undekenoil klorid 18, tretilamin varlığında etkileştirilerek 19 elde edildi.

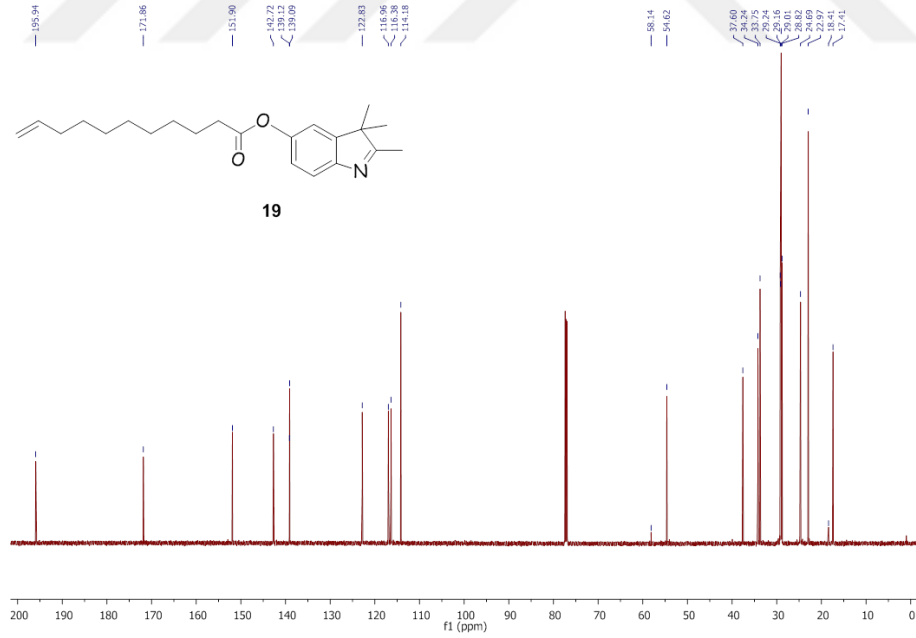


Şekil 4.8. Bileşik 19'un sentez şeması.

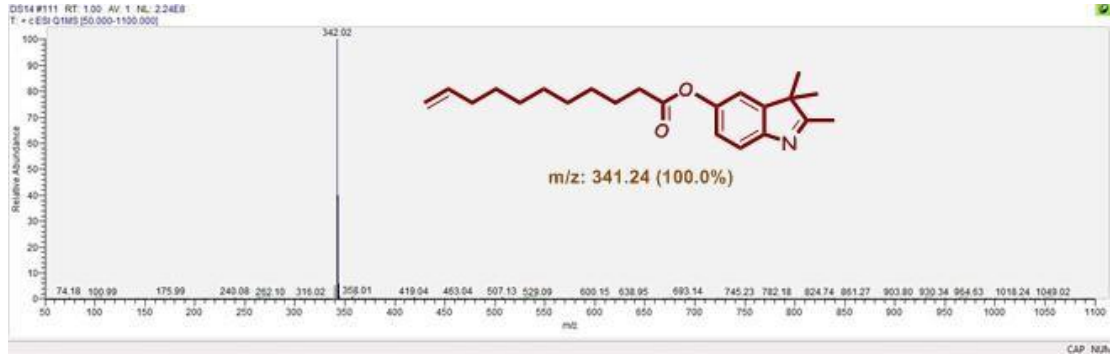
Yapı ^1H NMR, ^{13}C NMR ve LC MS spektrumları (Şekil 4.9, 4.10, 4.11) ile doğrulandı.



Şekil 4.9. Bileşiğin 19 ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

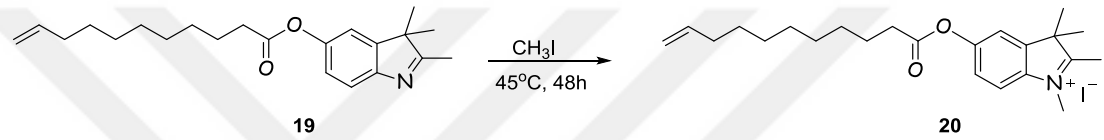


Şekil 4.10. Bileşiğin 19 ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3).



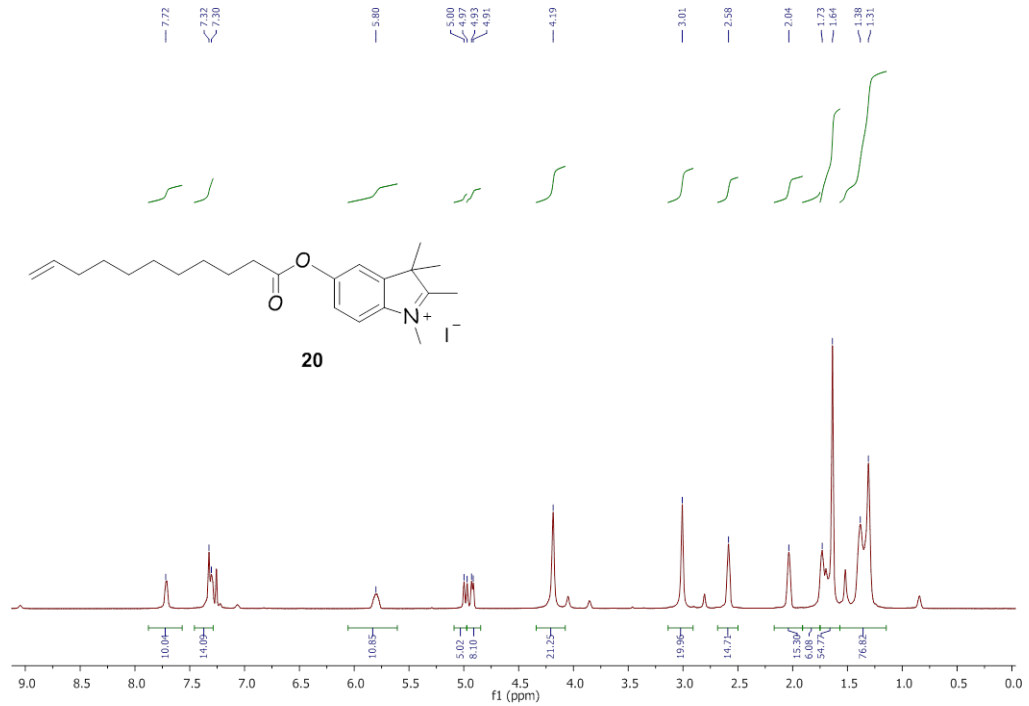
Şekil 4.11. Bileşiğin 19 LC MS spektrumu.

Daha sonra bileşik 19 iyodometan ile geri soğutucu altında kaynatıldı ve metilleme tepkimesi gerçekleştirilerek bileşik 20 elde edildi.

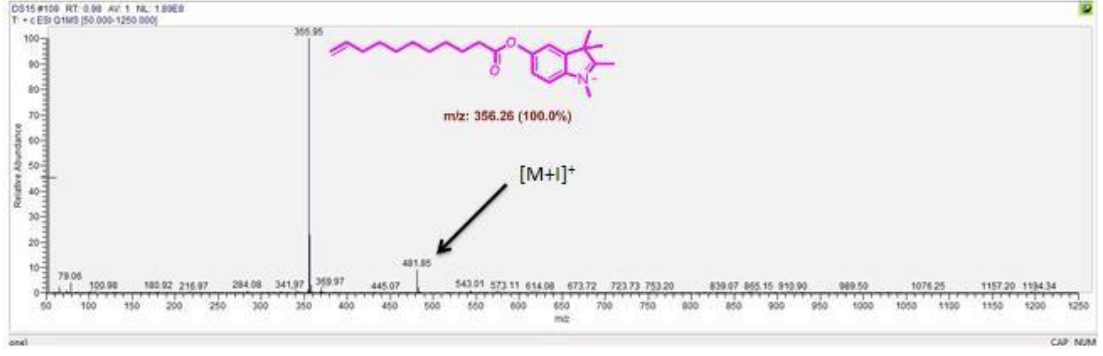


Şekil 4.12. Bileşik 20'nin sentez şeması.

Yapı ^1H NMR ve LC MSMS (Şekil 4.10, 4.11) ile karakterize edildi. Kütle spektrumunda 356.26'da yapının hesaplanan m/z değeri ve iyot fazlası gözlemlendi.

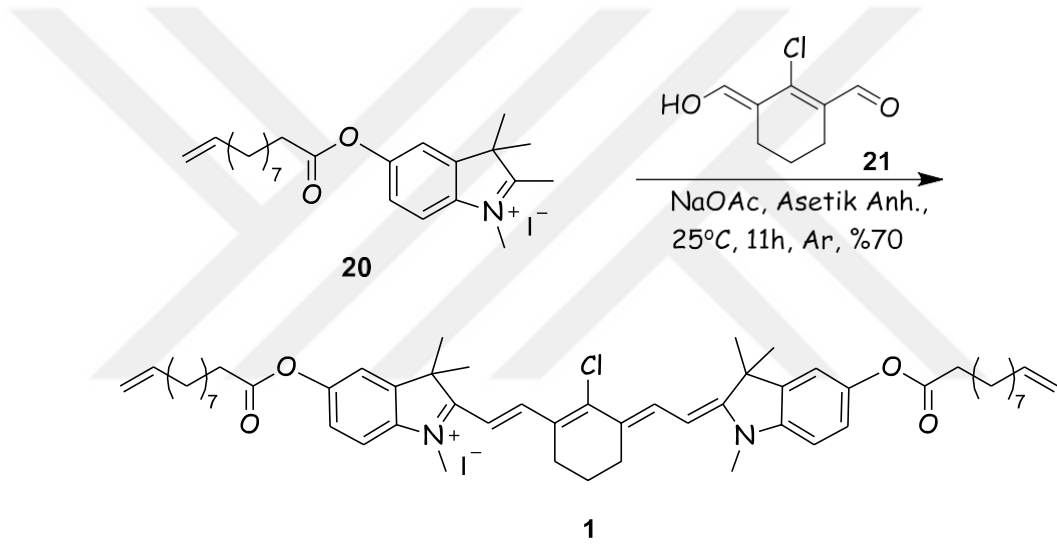


Şekil 4.13. Bileşiğin 20 ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).



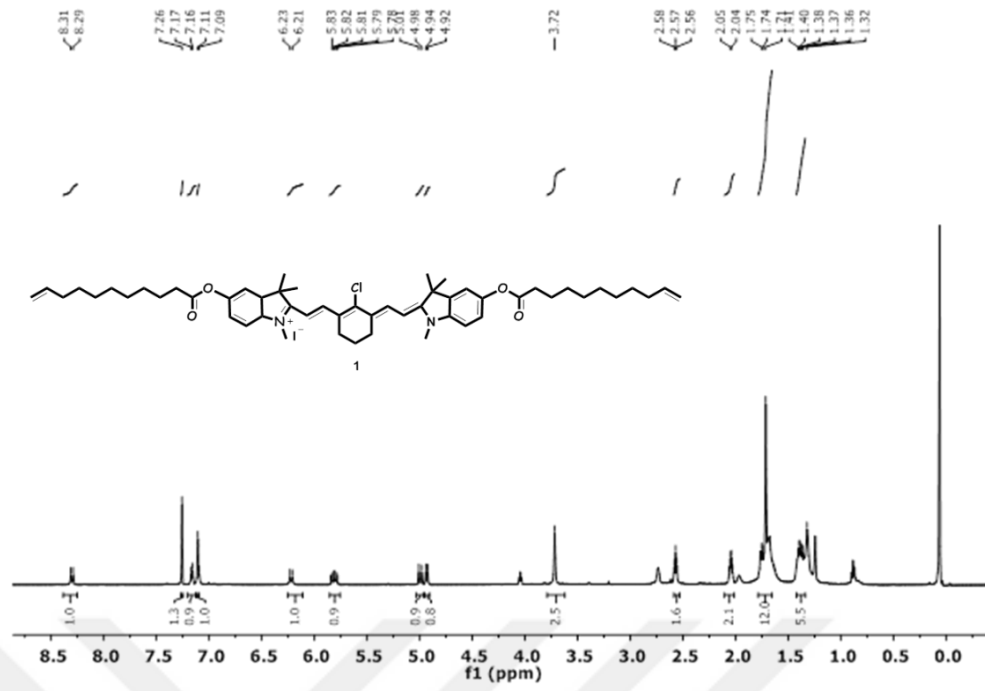
Şekil 4.14. Bileşiğin **20** LC MSMS spektrumu.

Daha sonra **20** ile bisaldehit **21**[35] bazık ortamda asetik anhidrit çözücüsünde etkileştirilerek heptametin siyanin boyası **1** sentezlendi.

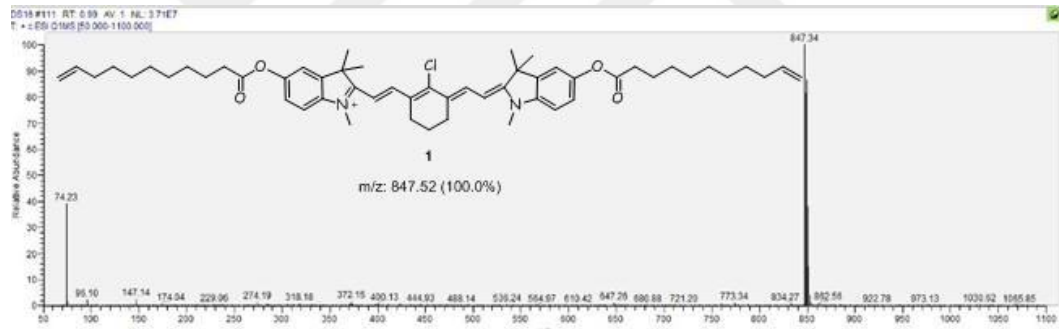


Şekil 4.15. Bileşik **1**'in sentez şeması.

Yapısı ¹H NMR ve LC MS (Şekil 4.16, 4.17) ile aydınlatıldı.



Şekil 4.16. Bileşiğin 1 ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

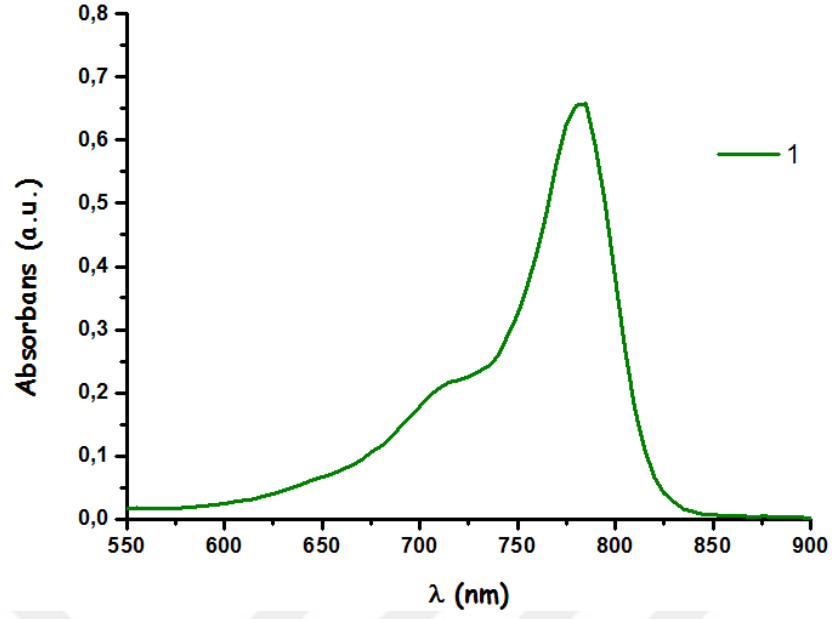


Şekil 4.17. Bileşiğin 1 LC MS spektrumu.

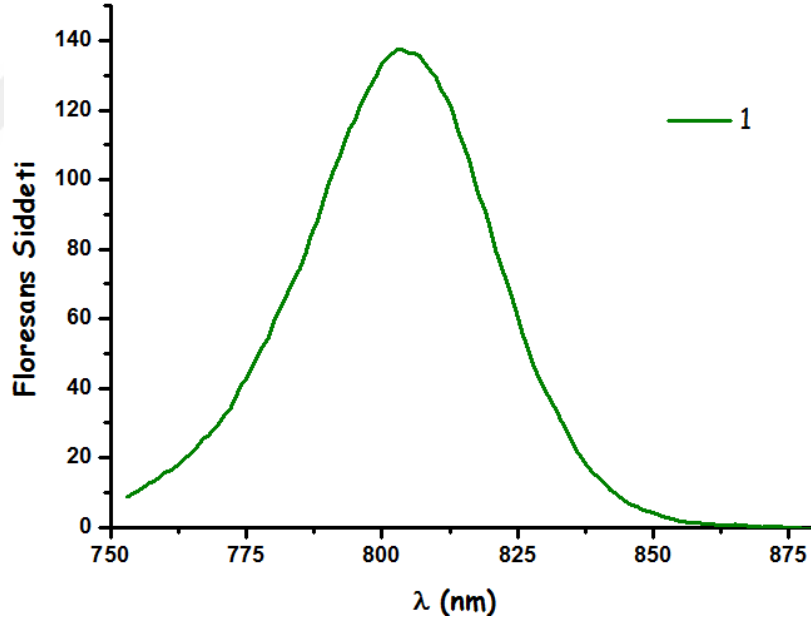
4.2 Hedef Bileşimin 1 Fotofiziksel Özellikleri

Elde edilen heptametin siyanin boyasının **1** fotofiziksel özellikleri incelenmiştir. Siyanin boyasının **1** ideal terapötik pencerede 785 nm’de soğurma yaptığı ve 750 nm’de uyarıldığında 805 nm’de floresans emisyon yaptığı gözlemlendi. Doku ışık penetrasyonunun yüksek ve ışık toksisitesinin minimum olduğu bu pencerede soğurma ve emisyon yapması önem arz etmektedir.





Şekil 4.18. Heptametin siyanin boyasının **1** (3×10^{-6} M) soğurma spektrumu (CH_3OH , $\lambda_{\text{max}} = 785 \text{ nm}$).

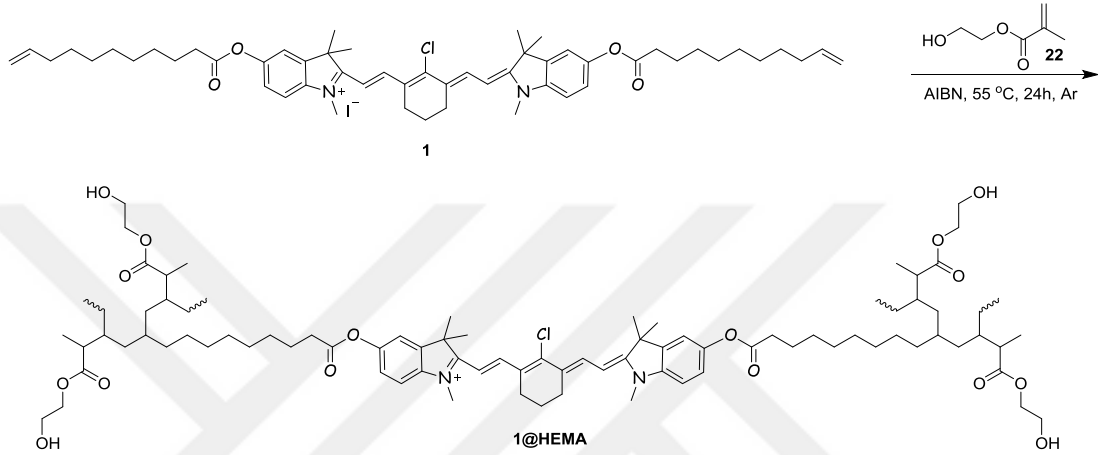


Şekil 4.19. Heptametin siyanin boyasının **1** (3×10^{-6} M) floresans spektrumu (CH_3OH , $\lambda_{\text{max}} = 805 \text{ nm}$).

Hedef bileşik **Cy7 1**'in floresans kuantum verimi indosiyanin yeşili standart alınarak 0,0088934 olarak hesaplandı.

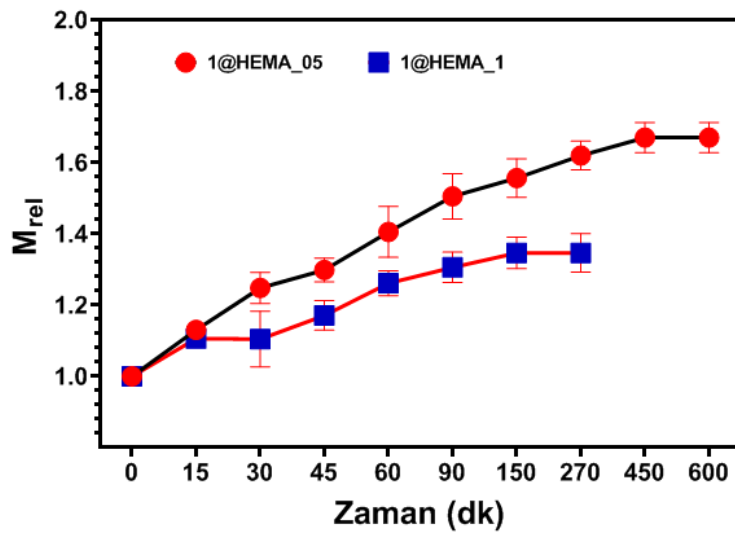
4.3 Hedeflenen Hidrojelin Sentezi

Çalışmanın ikinci aşamasında ise fotoduyarlastırıcı boya **1** ile 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) **22** polimerizasyon reaksiyonu üzerinden etkileştirildi ve neticesinde hidrojel **1@HEMA** sentezi gerçekleştirildi. Bu çalışmada iki farklı konsantrasyonda (0.5 mg ve 1 mg Cy7 (**1**)) çapraz bağlayıcı kullanıldı. Çapraz bağlayıcı miktarına bağlı olarak sentezlenen hidrojel fototerapi etkinliklerinin değişiklik göstermesi beklenmektedir.



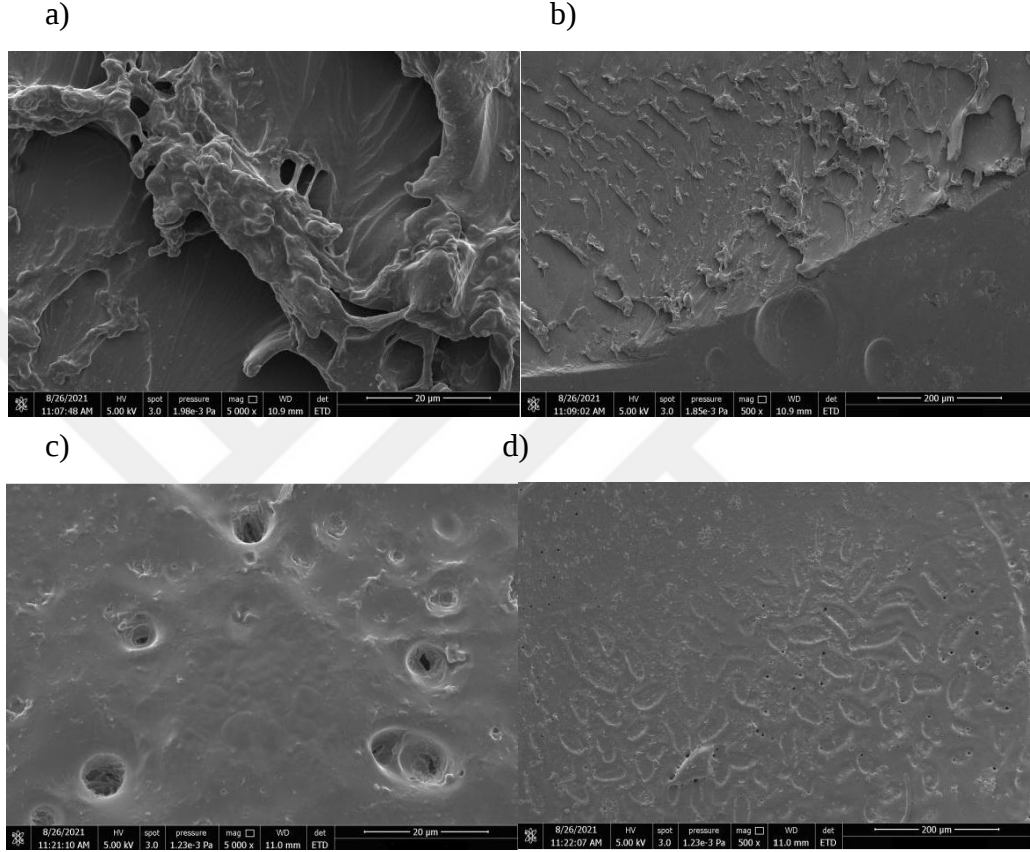
Şekil 4.20. Bileşiğin 1@HEMA sentez şeması.

Elde edilen hidrojel su tutma kabiliyetinden dolayı, hidrojel kütlesinin (m), hidrojel başlangıç kütlesine (m_0) oranlanarak zamana karşı şişme grafiği elde edildi ($M_{rel} = m/m_0$).

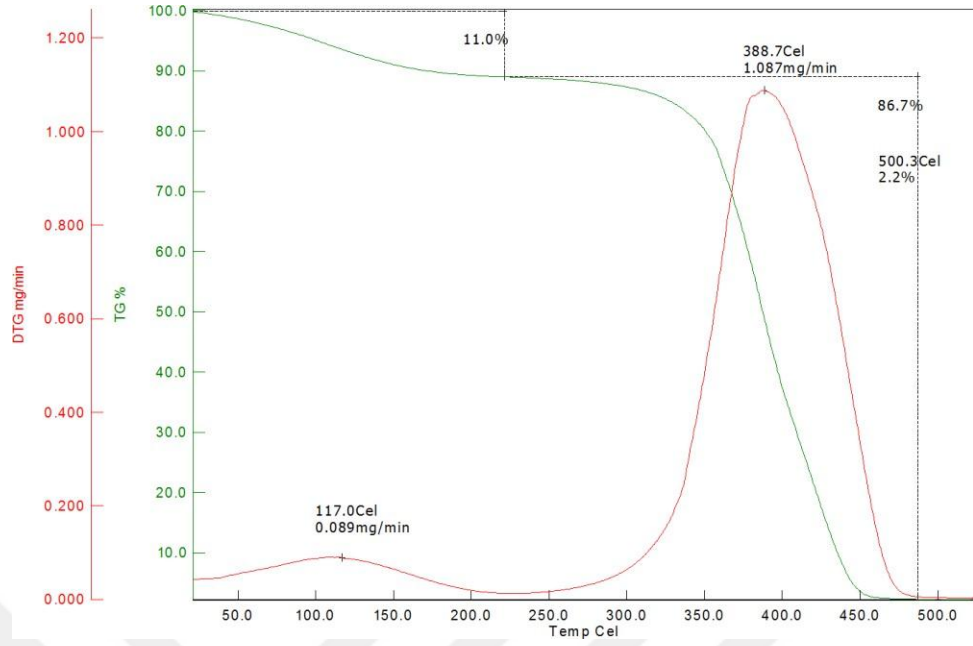


Şekil 4.21. 1@HEMA hidrojellerinin zamana bağlı şişme grafiği.

Hidrojellerin su tutma özelliği monomer sayesinde olsa da yapısındaki çapraz bağlayıcı miktarına göre de değişiklik göstermektedir. Çünkü çapraz bağlayıcı miktarı az olduğu zaman ortamdaki monomer oranı daha fazla olur ve daha çok su alarak şişme sergiler. Elde ettiğimiz hidrojellerin de şişme grafiği incelendiğinde **1@HEMA_0,5'in** daha fazla su tutarak şiştiği gözlemlendi.



Şekil 4.22. 1@HEMA hidrojellerinin SEM görüntüleri; a)1@HEMA_0.5 (5000X),b) 1@HEMA_0.5 (500X), c) 1@HEMA_1 (5000X), d)1@HEMA_1 (500X).

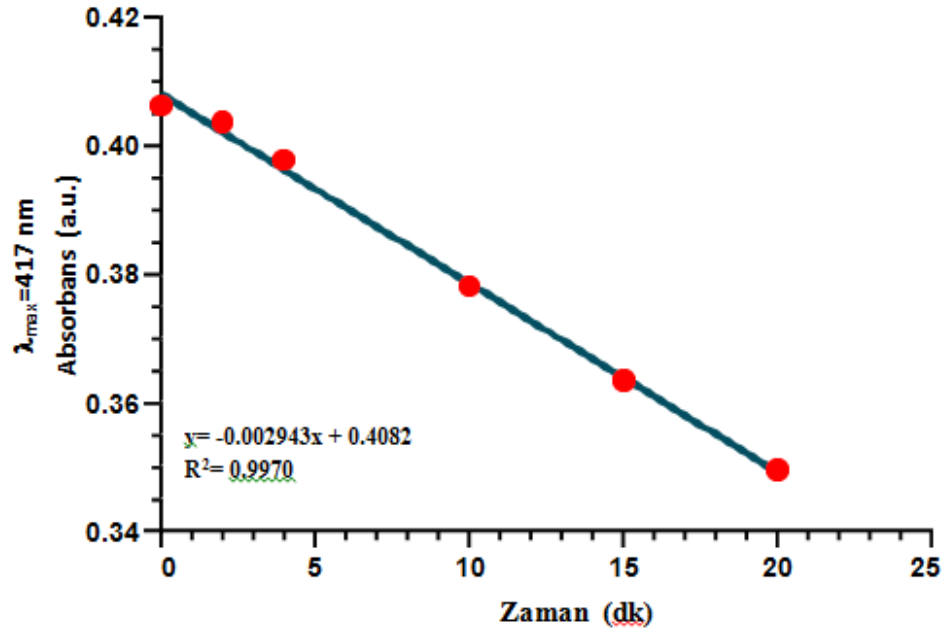


Şekil 4.23. 1@HEMA_1 hidrojelinin termogravimetrik analizi (TGA).

1@HEMA_1 hidrojelinin TGA spektrumu incelendiğinde; 117.0 Cel’ de %11 oranında nemin uzaklaştığı ve 388.7 Cel’ de ise %86.7 sinin bozulduğu gözlenmiştir. 500 Cel’de de %2.2 kül miktarı tespit edilmiştir.

4.4 Hedef Bileşiğin Cy7 ve Hidrojin 1@HEMA FDT Testleri

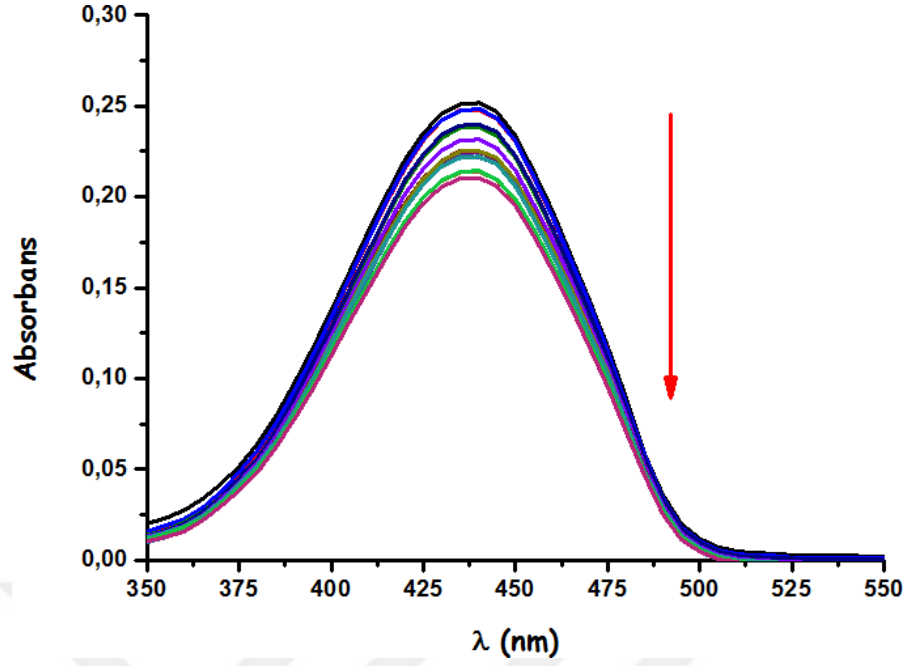
FDT’nin etkinliği singlet oksijen üretimi ile gösterilebilir. Literatürde singlet oksijen üretimini test etmek için bazı tuzak moleküller kullanılmaktadır. Bunlardan biri 1,3-difenil isobenzofuran (DPBF)’dir. Eğer ortamda singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) üretiliyor ise, oluşan $^1\text{O}_2$ DPBF ile etkileşerek yapısını bozar ve endoperoksit oluşumuna neden olur. Oluşan endoperoksit oda sıcaklığında diketona dönüşür. $^1\text{O}_2$ oluşumu da DPBF’in soğurma spektrumu ile takip edilir. $^1\text{O}_2$ varlığında DPBF’in yapısı bozulduğu için soğurma spektrumunda azalma meydana gelir.



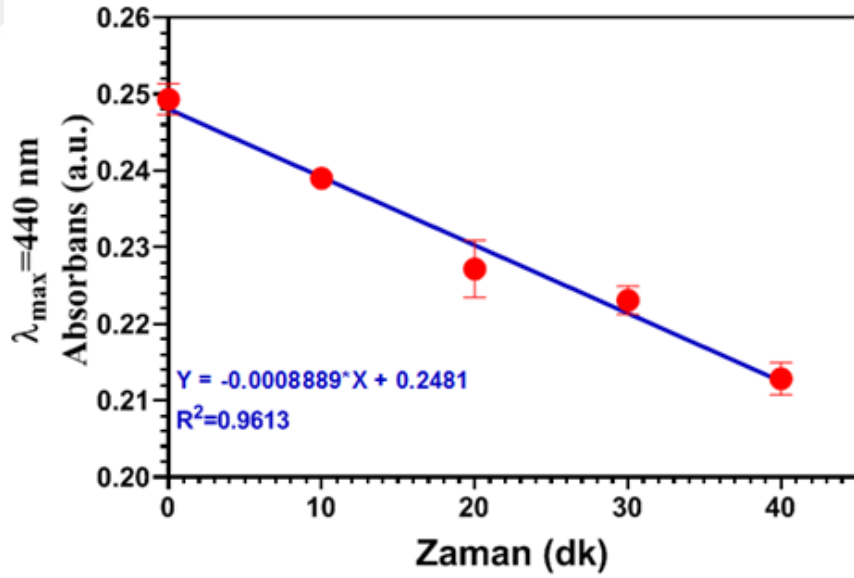
Şekil 4.26. DPBF'in ($6,6 \times 10^{-6}$ M, $\lambda_{\max} = 417$ nm) Cy7 **1** ($4,3 \times 10^{-6}$ M, DMSO) varlığında soğurma şiddetinin azalma grafiği (@540-800nm).

Hedef bileşik Cy7 **1** 'in $^1\text{O}_2$ kuantum verimi metilen mavisi standart alınarak 0,03532 hesaplandı.

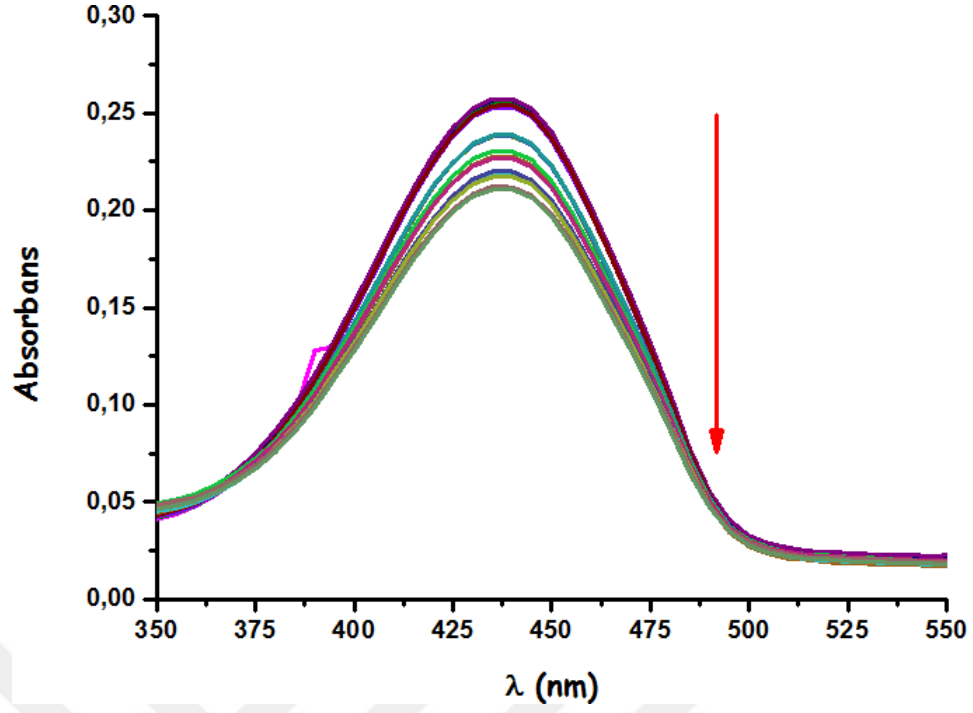
Hedef bileşik **1@HEMA** hidrojelinin FDT etkinliği tuzak molekül N,N-dimetil-4-nitrosoanilin (RNO) kullanılarak PBS ortamında test edilmiştir. Kırmızı ışık ile **1@HEMA** hidrojelleri belirli zaman aralıklarıyla ışınlanmış ve RNO'nun soğurma şiddetinde ($\lambda_{\max}=440$ nm) azalma olduğu, elde edilen hidrojellerin de $^1\text{O}_2$ üretebildiği iddia edildi (Şekil 4.27, 4.29).



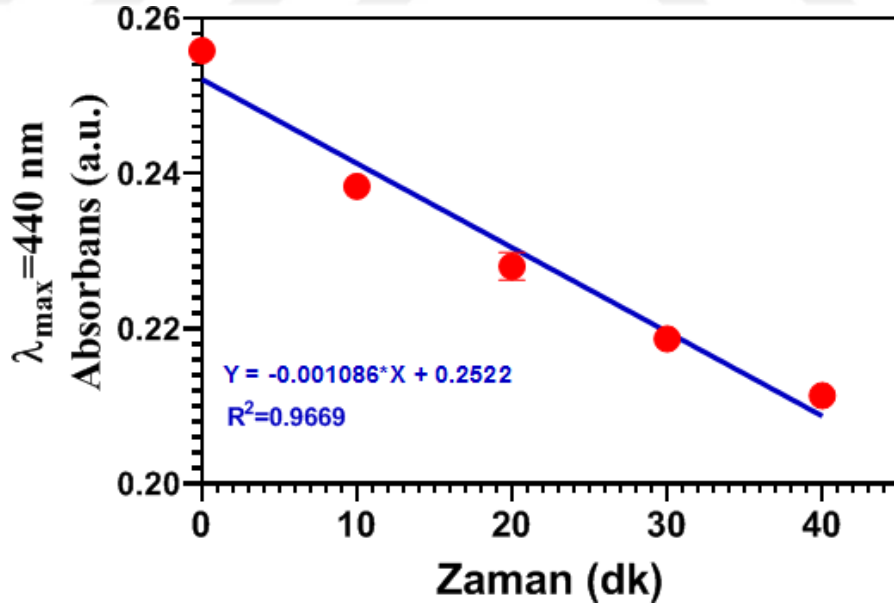
Şekil 4.27. RNO'nun ($4,5 \times 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}=440\text{nm}$, $6,4 \times 10^{-3}$ M imidazol), 1@HEMA_0.5 (PBS, pH=7.4) varlığında soğurma şiddetinin azalma spektrumu (@540-800nm).



Şekil 4.28. RNO'nun ($4,5 \times 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}=440\text{nm}$, $6,4 \times 10^{-3}$ M imidazol), 1@HEMA_0.5 (PBS, pH=7.4) varlığında soğurma şiddetinin azalma grafiği (@540-800nm).



Şekil 4.29. RNO'nun ($4,5 \times 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}=440\text{nm}$, $6,4 \times 10^{-3}$ M imidazol), **1@HEMA_1** (PBS, pH=7.4) varlığında soğurma şiddetinin azalma spektrumu (@540-800nm).

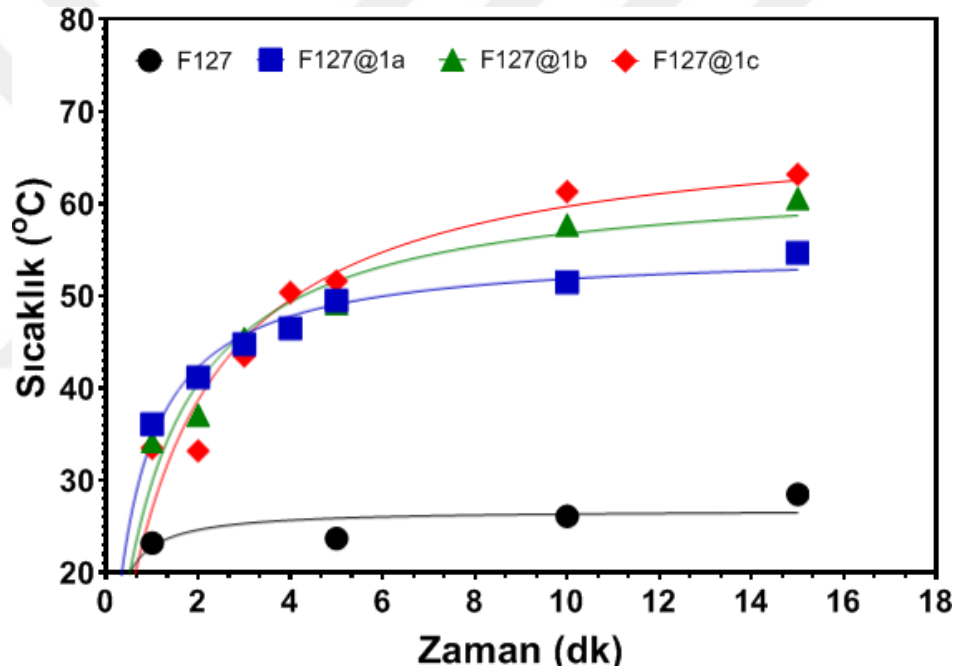


Şekil 4.30. RNO'nun ($4,5 \times 10^{-7}$ M, $\lambda_{\max}=440\text{nm}$, $6,4 \times 10^{-3}$ M imidazol), **1@HEMA_1** (PBS, pH=7.4) varlığında soğurma şiddetinin azalma grafiği (@540-800nm).

1@HEMA hidrojellerinin FDT testleri incelendiğinde yapısındaki Cy7 1'in miktarına bağlı olarak etkinliğinin değiştiği tespit edildi. **1@HEMA_1** hidrojelinin daha iyi $^1\text{O}_2$ ürettiği gözlemlendi.

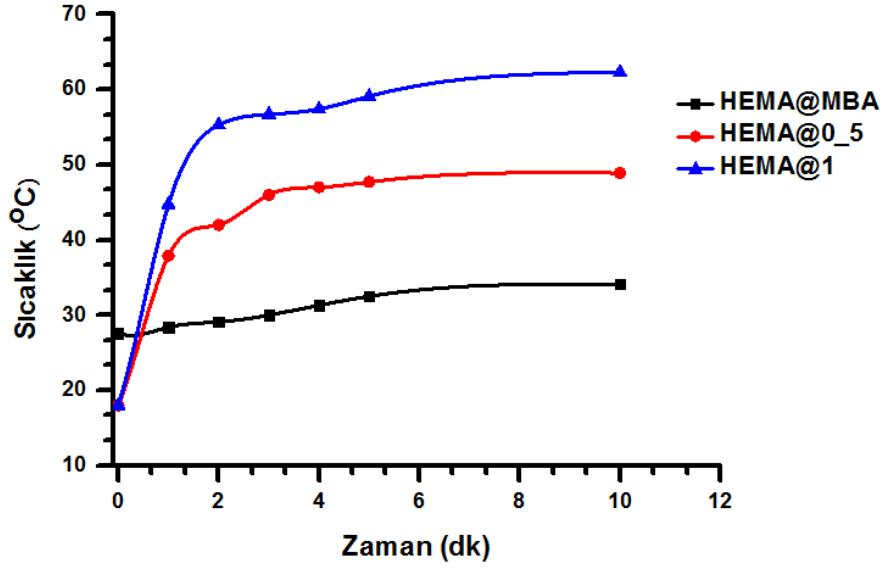
4.5 Hedef Bileşiğin FTT Testleri

Hedef bileşiklerin fototermal testleri için lazer kullanılarak ışınlanmış ve sıcaklıkta meydana gelen değişiklikler termal kamera ile ölçülmüştür. Sentezlenen Cy7 1 için sulu çözeltideki sıcaklık artışı incelenmiştir. Cy7 1'in sulu ortamda çözünmesi için Pluronic F127 poloksameri ile kaplama yapılmıştır. Kontrol olarak F127'nin sulu çözeltisi ışınlanarak sıcaklıkları ölçülmüştür.



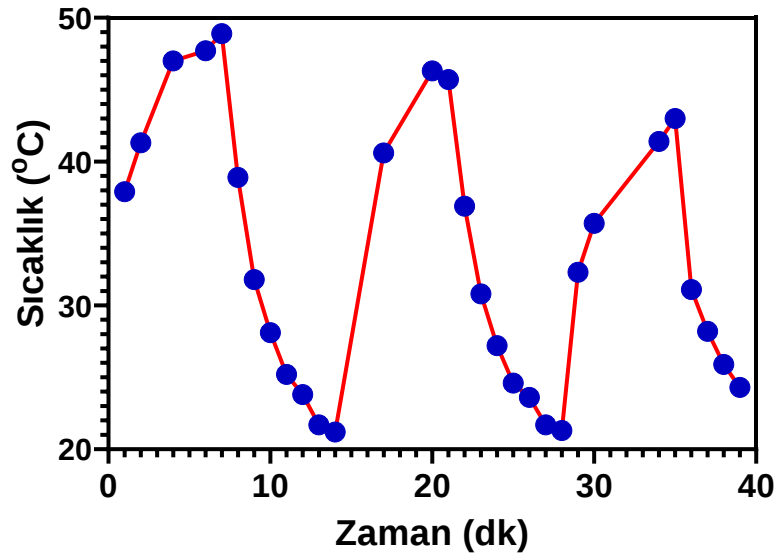
Şekil 4.31. Cy7 1'in (H_2O , %10 F127) lazerle (808 nm , 0.5 Wcm^{-2}) 10 dakika ışınlamasının fototermal etkisi. ■ F127 ($7.9 \times 10^{-3} \text{ M}$), ■ Cy7 1 ($1.2 \times 10^{-4} \text{ M}$), ▲ Cy7 1 ($2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) ♦ Cy7 1 ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$).

Yapmış olduğumuz FTT testi sonucu kontrol grubu F127'nin tek başına sıcaklığının $28.5 \text{ }^\circ\text{C}$ ' ye kadar arttığı gözlemlendi. Aynı şekilde farklı konsantrasyonlarda (0.15, 0.25, 0.5 mg) Cy7 1'in de FTT testleri yapıldı ve madde miktarı ile sıcaklığın doğru orantılı bir şekilde arttığı gözlemlendi. Bu ölçümler ışığında 0.5 mg Cy7 1 içeren solüsyonun daha etkili FTT özelliği gösterdiği iddia edilebilmektedir.

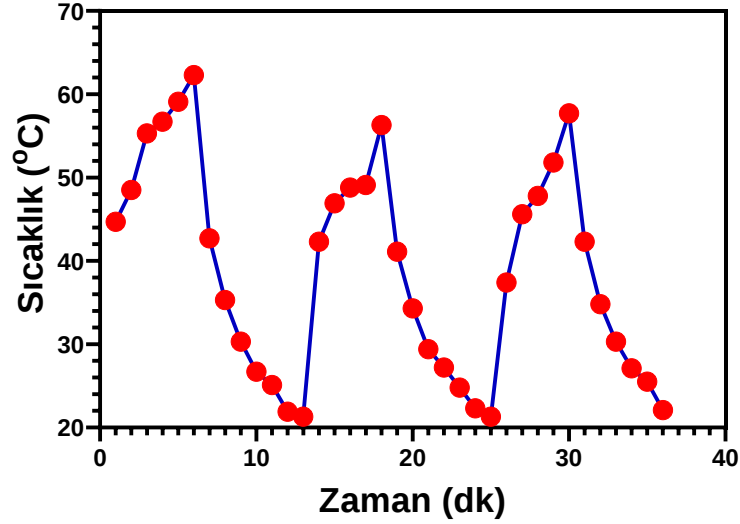


Şekil 4.32. Hidrojel 1@HEMA'nın lazerle (808 nm, 0.5 Wcm⁻²) 10 dakika ışınlamasının fototermal etkisi.

1@HEMA_1'in, 1@HEMA_0.5'e kıyasla daha yüksek termal artış göstermiştir. Bu da Şekil 4.32'de doğrulandığı gibi hidrojin yapısındaki çapraz bağlayıcı miktarına bağlı olarak artmıştır.



Şekil 4.33. 1@HEMA_0,5'in @808 nm lazer ışınlaması ile termal döngü grafiği.



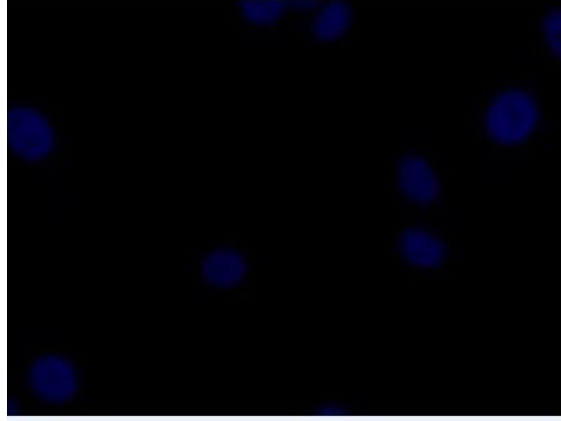
Şekil 4.34. 1@HEMA_1'in @808 nm lazer ışınlaması ile termal döngü grafiği.

1@HEMA hidrojenlerinin FTT kabiliyetleri, soğutulup ısıtılmak kaydıyla tekrarlandı. 1@HEMA_0.5 hidrojeninin dördüncü tekrarda termal artış göstermediği gözlemlendi. 1@HEMA_1 hidrojeninin ise beşinci tekrara kadar termal artışının olduğu görüldü. Ayrıca hidrojenlerin ışınlama kesildiğinde de kısa sürede soğuyabilmeleri önem arzetmektedir. Elde ettiğimiz bulgular neticesinde de sentezlemiş olduğumuz hidrojel 1@HEMA FTT için ideal ajan olabilir.

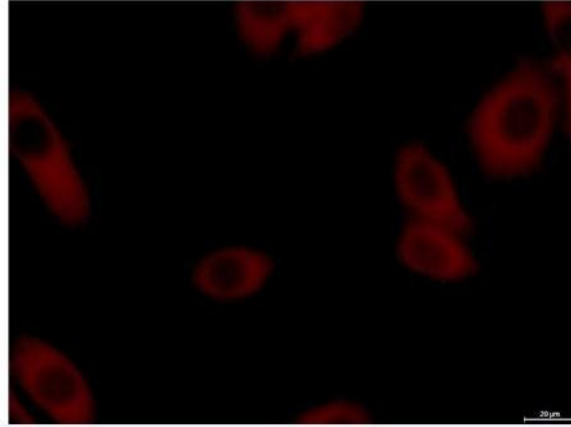
4.6 Hedef Bileşiğin *In Vitro* Çalışmaları

Hedef bileşik Cy7 1, güçlü soğurma ve emisyon yapabildiği için floresans görüntüleme yapması beklenmektedir. Bu nedenle insan larinks kanseri (Hep-2) hücre hattında biyo(medikal) görüntüleme ajanı olarak test edildi. Yapılan deneyler sonucu Cy7 1 boyasının Hep-2 hücre hattında güçlü floresans yaptığı doğrulandı (Şekil 4.35).

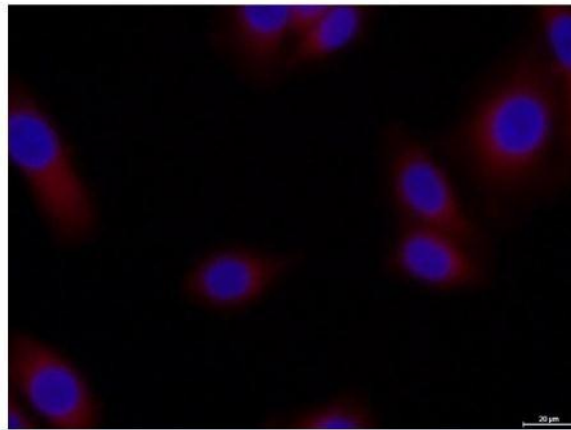
Mavi



Kırmızı



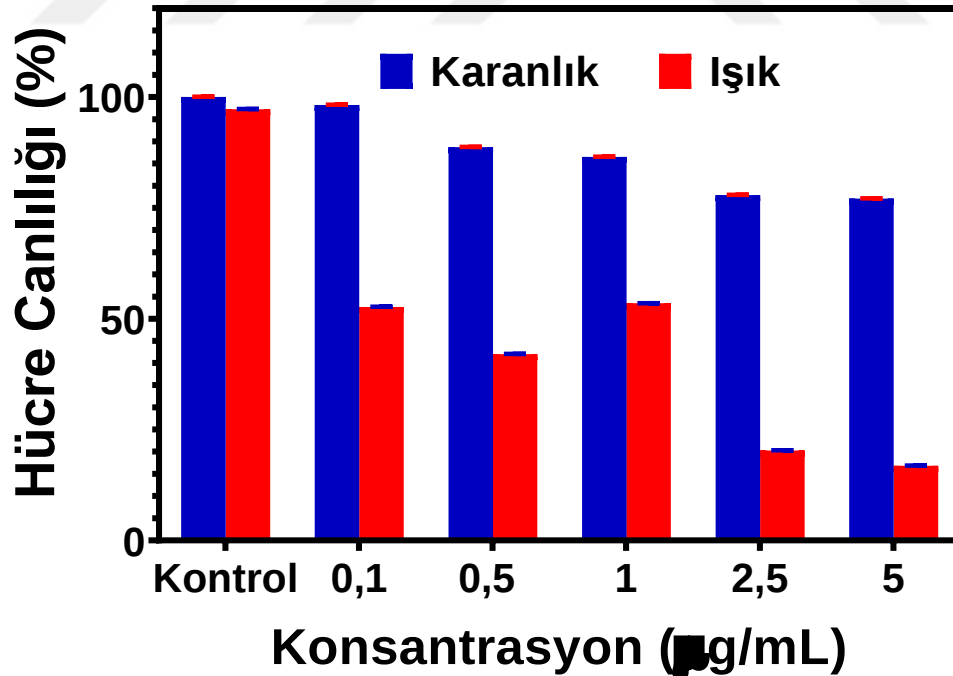
Çakıştırılmış



Şekil 4.35. Hep-2 hücrelerinin 24 saat inkübasyondan sonra floresans görüntüleri (50 μ M); **a)** DAPI ile boyanmış hücre, **b)** Cy7 1 ile boyanmış hücre çekirdekleri, **c)** DAPI ve Cy7 1 boyanmış hücrelerin çakıştırılmış görüntüsü.

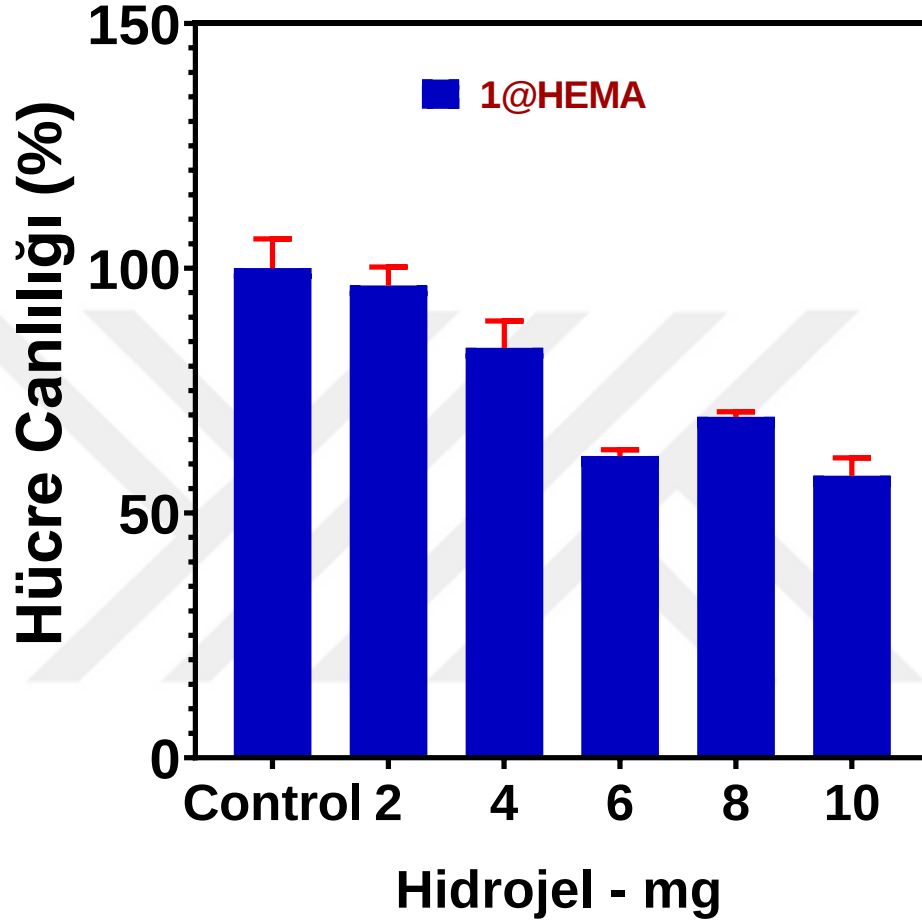
Elde edilen hedef bileşiğin canlı hücre ortamında FDT yaptığını test etmek için Hep-2 larinks kanseri hücre hattı 37 °C'de %5 CO₂ ortamında Dulbecco'nun modifiye edilmiş Eagle ortamından (DMEM) oluşan büyüme ortamında kültürlendi. Cy7 1 hücre canlılığı deneyi için F127 poloksameri ile kaplanarak suda çözüldü ve DMEM ile çeşitli konsantrasyonlarda seyreltilerek 96 kuyucuklu plakaya eklendi. Sonrasında bu plaka kırmızı ışık ile ışınladı. Kolorimetrik MTT ile hücre canlılığı testi gerçekleştirildi (Şekil 4.36).

MTT, tahlili, hücrenin metabolik aktivitesini değerlendirmek için kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. NAD(P)H'ye bağlı hücresel oksidoredüktaz enzimleri, mevcut canlı hücrelerin sayısını gösterebilir. Bu enzimler, tetrazolyum boyası MTT 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromürü, mor renkli çözünmeyen formazanına indirgeyebilir. Tetrazolyum halkası sadece aktif mitokondri tarafından kırılabilir ve bu da canlı hücre ile mümkün olmaktadır. Mitokondri tarafından kırılan tetrazolyum halkası renk değişim reaksiyonu gösterdikten sonra spektroskopik yöntemle ölçülür ve canlı/ölü hücre sayısı belirlenir.



Şekil 4.36. Hep-2 hücrelerinin F127@1 ile muamelesi sonucu in vitro fotodinamik tedavisi; mavi ışınlama olmadan, kırmızı @600-800 nm ile ışınlama sonucu hücre canlılığı yüzde grafiği.

Yapılan MTT analizi sonrasında Cy7 1'in karanlık toksisitesi olmadığı görüldü. 1'in kırmızı ışık ile ışınlanmasından sonra ise hücre canlılığını belirgin bir şekilde azalttığı, etkili FDT yapabildiği tespit edildi.

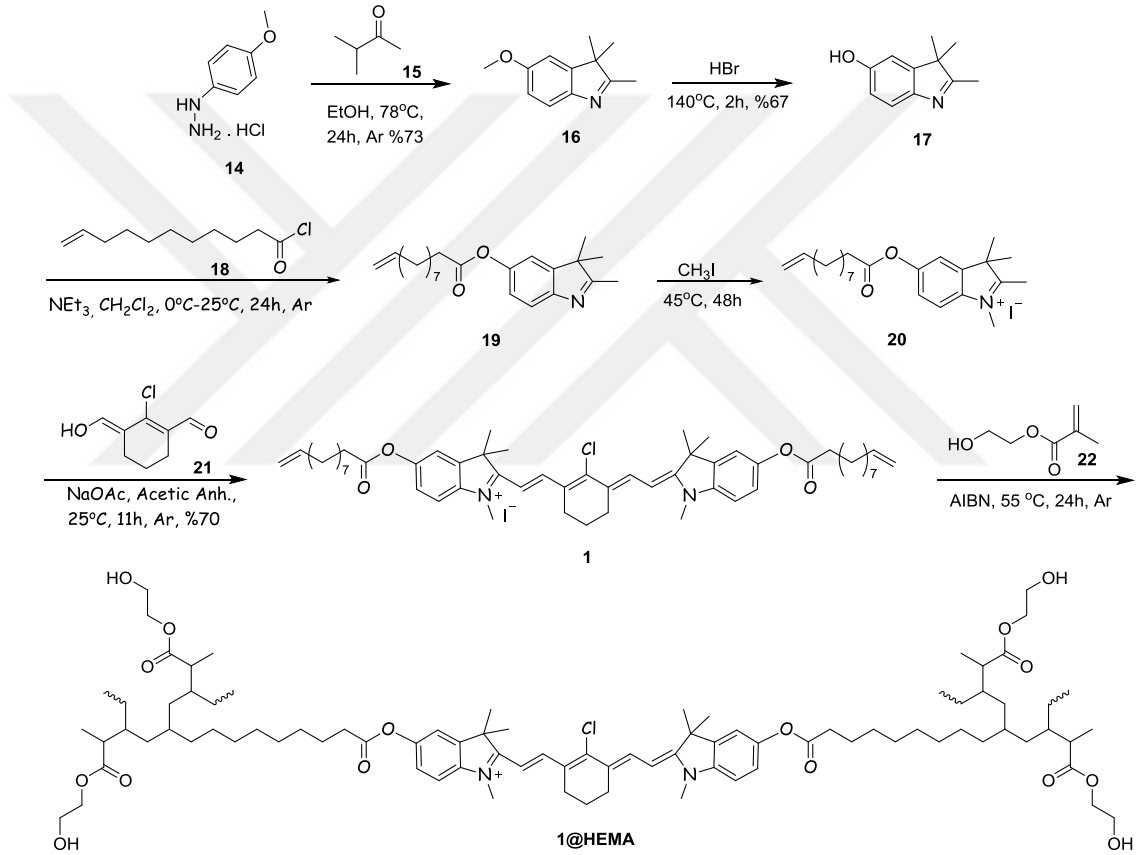


Şekil 4.37. L929 hücrelerinin farklı miktarlarda 1@HEMA_1 ile muamelesi ile in vitro biyoyumluluk çalışması sonucu hücre canlılığı yüzde grafiği.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Klinikte kullanılan FDT ajanlarının bulundurduğu dezavantajlarından dolayı yeni ajanların geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu yüzden bu tez kapsamında siyanin boyaları seçilmiştir. Siyanin boyaları, yüksek molar soğurma katsayısına, yüksek singlet oksijen kuantum verimine sahip organik boya sınıfıdır. Fototerapötik pencerede soğurma ve emisyon yapmaktadırlar.

Siyanin boyalarının bu özellikleri göz önünde bulundurularak, aşağıda sentez şeması verilen yeni bir siyanin boyasının tasarımı ve sentezi hedeflenmiştir.



Şekil 4.38. 1@HEMA hidrojenlerinin genel sentez şeması.

Bu çalışmada hedef bileşik Cy7 **1**, ticari 4-metoksifenil hidrazin hidroklorid (**14**) başlangıç maddesi kullanılarak beş basamakta sentezlendi. Hedef bileşik **1**, ¹H NMR, LC MSMS ile karakterize edildi ve fotofiziksel özellikleri incelendi.

Daha sonra Cy7 **1** boyası ve 2-hidroksietil metakrilat monomerinin polimerizasyon tepkimesi ile 1@HEMA hidrojenleri sentezlendi. Şişme ölçümleri, SEM ve TGA

analizleri ile karakterizasyonu sađlandı.

Hedef yapıların **1** ve **1@HEMA**, FDT ve FTT etkinlikleri incelendi, **1**'in ideal fototerapötik pencerede soğurma ve emisyon yapmasından dolayı etkili fototerapi yaptıkları gözlemlendi. Yine Cy7 **1**'in üstün özelliklerinden kaynaklı olarak canlı hücre görüntülemesi yapıldı ve Hep-2 kanser hücrelerinde floresans görüntüleme yaptığı gözlemlendi. Ayrıca Hep-2 hücrelerinde MTT analizi ile FDT etkinliği incelendi ve kırmızı ışık ile ışınlaması sonucu hücre canlılığında belirgin bir azalma olduğu görüldü.

Elde edilen hedef bileşik Cy7 **1** ile hidrojel sentezi amaçlandı. Burada Cy7 **1** boyası çapraz bağlayıcı olarak seçildi ve hidrojele kovalent olarak bağlandı. Monomer olarak 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) seçildi. Sentezlenen hidrojellerin **1@HEMA** fototerapi etkinlikleri incelendi. **1@HEMA**'nın FTT ve FDT testleri yapıldı.

Literatürde siyaninin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı, hem FDT hem de FTT etkinliği gösteren hidrojeller bulunmamaktadır. Bu tez çalışması bu bakımdan öncü bir nitelik taşımaktadır.

Sonuç olarak heptametinin siyanin tabanlı Cy7 **1** yeni bir NIR boyası sentezlendi, beklendiği gibi $^1\text{O}_2$ üretebildiği ve yüksek sıcaklığa ulaşarak fototermal etkinlik gösterdiği doğrulandı. Sentezlenmiş olan Cy7 **1**'in, canlı hücre görüntülemelerde, kanser tedavilerinde, **1@HEMA**'nın da cilt kanseri ve bazı cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceği öngörülmektedir. Ayrıca hidrojellerin nemli olmasından dolayı yara bakımında yara örtüsü olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Bu tez kapsamında elde edilen bulgulara dayanarak fototerapi ajanı potansiyeline sahip bu malzemelerin biyouyumlu olduğu ve etkili terapi yapabileceği gözlenmiştir. Ayrıca sentezlenmiş olan Cy7 **1**, yine çapraz bağlayıcı olarak kullanılarak, farklı kullanım alanına sahip, farklı uyarıcılara duyarlı monomerler ile yeni hidrojeller elde edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Fang, Y., Liu, T., Zou, Q., Zhao, Y. ve Wu, F., 2015. Cationic benzylidene cyclopentanone photosensitizers for selective photodynamic inactivation of bacteria over mammalian cells, *RSC Advances*, 5, 69, 56067-56074.
2. Khurana, B., Gierlich, P., Meindl, A., Gomes-da-Silva, L.C. ve Senge, M.O., 2019. Hydrogels: soft matters in photomedicine, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 18, 11, 2613-2656.
3. Dai, T., Fuchs, B.B., Coleman, J.J., Prates, R.A., Astrakas, C., Denis, T.G.S., Ribeiro, M.S., Mylonakis, E., Hamblin, M.R. ve Tegos, G.P., 2012. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform, *Front. Microbiol.* 3, 120.
4. Kwiatkowski, S., Keogonek dziersk E., Knap-Czop K., Kotlińska J., Michel O., Kotowski K. ve Kulbacka J, 2018. Photodynamic therapy—mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomed. Pharmacother*, 106, 1098-1107.
5. 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.
6. Allison, R.R. ve Sibata, C.H., 2010. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review, *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 7, 2, 61-75.
7. 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.
8. 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.
9. Khot, M.I., Andrew, H., Svavarsdottir, H.S., Armstrong, G., Quyn, A.J. ve Jayne, D.G., 2019. A review on the scope of photothermal therapy-based nanomedicines in preclinical models of colorectal cancer, *Clinical colorectal cancer*, 18, 2, e200- e209.
10. Chen, Y., Li, L., Chen, W., Chen, H. ve Yin, J., 2019. Near-infrared small molecular fluorescent dyes for photothermal therapy, *Chinese Chemical Letters*, 30, 7, 1353- 1360.
11. Patonay, G., Antoine, M.D., Devanathan, S. ve Strekowski, L., 1991. Near-infrared probe for determination of solvent hydrophobicity, *Applied spectroscopy*, 45, 3, 457-461.
12. Strekowski, L., 2008. Heterocyclic polymethine dyes: synthesis, properties and applications, Springer.

13. Liu, Y., Zhou, J., Wang, L., Hu, X., Liu, X., Liu, M., Cao, Z., Shangguan, D. ve Tan, W., 2016. A cyanine dye to probe mitophagy: simultaneous detection of mitochondria and autolysosomes in live cells, *Journal of the American Chemical Society*, 138, 38, 12368-12374.
14. Li, Y., Deng, Y., Liu, J., Fu, J., Sun, Y., Ouyang, R. ve Miao, Y., 2019. A near-infrared frequency upconversion probe for nitroreductase detection and hypoxia tumor in vivo imaging, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 286, 337-345.
15. Liu, C.-h., Qi, F.-p., Wen, F.B., Long, L.P., Liu, A.J. ve Yang, R.H., 2018. Fluorescence detection of glutathione and oxidized glutathione in blood with a NIR-excitable cyanine probe, *Methods and applications in fluorescence*, 6, 2, 024001.
16. Luo, S., Tan, X., Qi, Q., Guo, Q., Ran, X., Zhang, L., Zhang, E., Liang, Y., Weng, L. ve Zheng, H., 2013. A multifunctional heptamethine near-infrared dye for cancer theranosis, *Biomaterials*, 34, 9, 2244-2251.
17. Skórkowska-Telichowska, K., Czemplik, M., Kulma, A. ve Szopa, J., 2013. The local treatment and available dressings designed for chronic wounds, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 68, 4, e117-e126.
18. Cocarta, A.I., Hobzova, R., Trchova, M., Svojgr, K., Kodetova, M., Pochop, P., Uhlik, J. ve Sirc, J., 2021. 2-Hydroxyethyl Methacrylate Hydrogels for Local Drug Delivery: Study of Topotecan and Vincristine Sorption/Desorption Kinetics and Polymer-Drug Interaction by ATR-FTIR Spectroscopy, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2100086.
19. Barui, A., 2018. Synthetic polymeric gel. In: *Polymeric Gels*. Eds: Elsevier, p. 55- 90.
20. Ferreira, L., Vidal, M. ve Gil, M., 2000. Evaluation of poly (2-hydroxyethyl methacrylate) gels as drug delivery systems at different pH values, *International journal of pharmaceutics*, 194, 2, 169-180.
21. Jeong, C., Kim, J. ve Kim, Y.C., 2020. Fluorescence color-changeable branched-form heptamethine cyanine dye as a redox-responsive multi-functional drug delivery system for enhanced cancer diagnosis and chemophototherapy, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 87, 187-197.
22. Qian, H., Cheng, Q., Tian, Y., Dang, H., Teng, C. ve Yan, L., 2021. An anti-aggregation NIR-II heptamethine-cyanine dye with a stereo-specific cyanine for imaging-guided photothermal therapy, *Journal of Materials Chemistry B*, 9, 11, 2688-2696.
23. Hu, Q., Wang, K. ve Qiu, L., 2021. 6-Aminocaproic acid as a linker to improve near-infrared fluorescence imaging and photothermal cancer therapy of PEGylated indocyanine green, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 197, 111372.

24. Li, Z., Zhu, L., Liu, W., Zheng, Y., Li, X., Ye, J., Li, B., Chen, H. ve Gao, Y., 2020. Near-infrared/pH dual-responsive nanocomplexes for targeted imaging and chemo/gene/photothermal tri-therapies of non-small cell lung cancer, *Acta biomaterialia*, 107, 242-259.
25. Zhu, Y.-X., Jia, H.-R., Gao, G., Pan, G.-Y., Jiang, Y.-W., Li, P., Zhou, N., Li, C., She, C. ve Ulrich, N.W., 2020. Mitochondria-acting nanomicelles for destruction of cancer cells via excessive mitophagy/autophagy-driven lethal energy depletion and phototherapy, *Biomaterials*, 232, 119668.
26. Chi, J., Ma, Q., Shen, Z., Ma, C., Zhu, W., Han, S., Liang, Y., Cao, J. ve Sun, Y., 2020. Targeted nanocarriers based on iodinated-cyanine dyes as immunomodulators for synergistic phototherapy, *Nanoscale*, 12, 20, 11008-11025.
27. Siriwaree, S., Nantawat, K., Kantapat, C., Kittipan, S., Pannipa, P., Kritsana, S., Parinya, N., Rung-Yi, L. ve Anyanee, K., 2020. Near-Infrared Fluorescent pH Responsive Probe for Targeted Photodynamic Cancer Therapy, *Scientific Reports (Nature Publisher Group)*, 10, 1.
28. Atchison, J., Kamila, S., Nesbitt, H., Logan, K.A., Nicholas, D.M., Fowley, C., Davis, J., Callan, B., McHale, A.P. ve Callan, J.F., 2017. Iodinated cyanine dyes: a new class of sensitizers for use in NIR activated photodynamic therapy (PDT), *Chemical Communications*, 53, 12, 2009-2012.
29. Duong, T., Li, X., Yang, B., Schumann, C., Albarqi, H.A., Taratula, O. ve Taratula, O., 2017. Phototheranostic nanoplatfrom based on a single cyanine dye for image- guided combinatorial phototherapy, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13, 3, 955-963.
30. Niu, C., Liu, X., Wang, Y., Li, X. ve Shi, J., 2021. Photothermal-modulated drug release from a composite hydrogel based on silk fibroin and sodium alginate, *European Polymer Journal*, 146, 110267.
31. Wang, S., Kim, G., Lee, Y.-E.K., Hah, H.J., Ethirajan, M., Pandey, R.K. ve Kopelman, R., 2012. Multifunctional biodegradable polyacrylamide nanocarriers for cancer theranostics -A “see and treat” strategy, *ACS nano*, 6, 8, 6843-6851.
32. Chambre, L., Saw, W.S., Ekineker, G.L., Kiew, L.V., Chong, W.Y., Lee, H.B., Chung, L.Y., Bretonnière, Y., Dumoulin, F. ve Sanyal, A., 2018. Surfactant-free direct access to porphyrin-cross-linked nanogels for photodynamic and photothermal therapy, *Bioconjugate chemistry*, 29, 12, 4149-4159.
33. Brady, C., Bell, S.E., Parsons, C., Gorman, S.P., Jones, D.S. ve McCoy, C.P., 2007. Novel porphyrin-incorporated hydrogels for photoactive intraocular lens biomaterials, *The Journal of Physical Chemistry B*, 111, 3, 527-534.
34. Schulz-Senft, M., Gates, P.J., Sönnichsen, F.D. ve Staubitz, A., 2017. Diversely halogenated spiopyrans-Useful synthetic building blocks for a versatile class of molecular switches, *Dyes and Pigments*, 136, 292-301.

35. Reynolds, G.A., Drexhage ve K.H., 1977. Stable heptamethine pyrylium dyes that absorb in the infrared, *Journal Organic Chemistry*, 42, 5, 885-888.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Dilek Sadife ERKAN

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

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

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

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Jagiellonian Üniversitesi / Erasmus Stajı

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1. **Dilek Sadife ERKAN**, Fatih ALGI, Melek PAMUK ALGI. A New NIR Dye For Photosensitized $^1\text{O}_2$ Generation. 9. Drug Chemistry Conference, Turkish Chemists Society, 08– 11 April, 2021, Kemer, ANTALYA.

Patentler

1. **Foto dinamik Ve Fototermal Terapi için Geliştirilen Hidrojeller (İncelemede)** (2021)

Patent Başvuru Sahipleri: AKSARAY ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ, Patent Buluş Sahipleri: Melek PAMUK ALGI, Dilek Sadife ERKAN, Rumeysa SARIGÖL.

Projeler

1. Norskuarin ile Fotodinamik Terapi ve Algılayıcı Uygulamaları, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, 120Z152), (15.08.2020-15.06.2021).