



**T. C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BODIPY BAZLI YENİ LİPOZOMLARIN SENTEZİ VE PDT
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammed Emre ÖZLER

(20219252002)

Nanoteknoloji Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fazlı SÖZMEN

SİVAS

EYLÜL 2024

Muhammed Emre ÖZLER’ in hazırladığı ve “BODIPY BAZLI YENİ LİPOZOMLARIN SENTEZİ VE PDT ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından NANOTEKNOLOJİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Fazlı SÖZMEN Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Gülgün AYLAZ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Ebubekir Sıddık AYDIN Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi	

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.





Bütün hakları saklıdır.
Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme
yapılabilir.

© Muhammed Emre ÖZLER, 2024



Fedakarlığı ve sevgisi Hiçbir zaman bitmeyen canım babama...

ETİK

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

28.08.2024

Muhammed Emre ÖZLER

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Bilgi ve deneyimleri ile bana her zaman yol gösteren kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Fazlı SÖZMEN’e çok teşekkür ederim

Bu tez çalışması süresince yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY, Doç. Dr Ebru YABAŞ’a teşekkür ederim

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek olan Sözmen Research Lab ekibindeki çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim

Hayatım boyunca maddi, manevi yardımcım olan, bu süreçteki en büyük destekçim sevgili babam Maarif ÖZLER başta olmak üzere tüm aileme teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumuna destekleri için teşekkür ederim (proje no:121Z810)

ÖZET

BODIPY BAZLI YENİ LİPOZOMLARIN SENTEZİ VE PDT ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Muhammed Emre ÖZLER

Yüksek Lisans Tezi

Nanoteknoloji Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fazlı SÖZMEN

2024, 56+xviii sayfa

Fotodinamik terapi (Photodynamic therapy, PDT) invaziv olmayan bir terapötik yöntemdir ve tümörlere karşı etkisi sebebiyle genellikle onkolojik alanda kullanılmaktadır. Geleneksel kanser tedavilerinin (cerrahi, kemoterapi, radyoterapi) yüksek toksisite, ilaç direnci gibi çeşitli yan etkilerinden dolayı PDT, fototermal terapi (Photothermal therapy, PTT) gibi kanser tedavi yöntemlerine olan ilgi giderek artmaktadır. PDT tedavisinde ihtiyaç duyulan üç ana bileşen vardır bunlar; bir fotoduyarlaştırıcı (photosensitizer, PS), belirli bir dalga boyundaki ışık ve moleküler oksijendir. BODIPY türevi bileşikler de PDT’de fotoduyarlaştırıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. BODIPY türevi bileşikler sahip oldukları absorpsiyon ve emisyon özelliklerinin yanı sıra birçok farklı pozisyonundan fonksiyonlandırılabilme özellikleri nedeniyle, DNA ve proteinler için etiketleme reaktifleri, kemosensörler, lazer boyalar gibi daha birçok alanda kullanılmaktadırlar. Son zamanlarda lipozomal yapıların nanotıp uygulamalarında önemli bir artış gözlenmektedir. Özellikle lipozomlar ilaç taşıyıcı sistemler olarak yaygın bir şekilde araştırılmakta ve bu amaçla biyomedikal ve nanotıp uygulamalarında yeni lipozomal nano yapılar geliştirilmektedir. Bu nano lipozomal yapılar kolloidal kararlılıkları, biouyumlu olmaları, toksik olmamaları ve etkili hedefleme yetenekleri gibi özellikleriyle öne çıkmaktadırlar. Bu tez çalışması kapsamında PDT etkinliği gösteren BODIPY bazlı yeni lipozomal yapıların sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, ilk olarak mezo pozisyonunda alifatik karboksilik asit grubu içeren bir BODIPY türevi bileşik (**BOD A2**) fotoduyarlaştırıcı olarak sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Daha sonra karboksilik asit fonksiyonel grubu taşıyan BOD A2 bileşiği ile 1-etil-3-3-

dimetilaminopropil karbodiimid (EDC), 4-dimetilamino piridin (DMAP) varlığında lizofosfatidilkolinin (Lyso PC-16) hidroksil grubu arasında meydana gelen eşleşme (coupling) reaksiyonu üzerinden bir ester yapısı oluşturularak BOD A2-Lipit konjugatı sentezlenmiştir. Çalışmanın nihai ürünü olan BODIPY bazlı lipozomlar, ince film hidratlama yöntemiyle BODIPY-Lipit konjugatı kullanılarak nano boyutta sentezlenmiştir. Son olarak, yapısında fotoduyarlastırıcı bir bileşik bulunduran bu lipozomların PDT özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla 9,10-Anthracenediyl-bis(methylene)dimalonic acid (ABDA) tuzak molekülü varlığında sulu ortamda lipozomlar belirli bir süre aralığında, 530 nm dalga boyuna sahip LED ışığa maruz bırakılmış ve tuzak molekülünün absorbansındaki düşüş izlenmiştir. Böylece 530 nm dalga boyundaki LED ışığına maruz kalan lipozomların singlet oksijen üreterek PDT özelliğine sahip oldukları belirlenmiştir. Ayrıca bu tez çalışması kapsamında sentezlenen lipozomların singlet oksijen kuantum verimleri de (Φ) 0,30 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak fotoduyarlastırıcı olan bir BODIPY bileşiğinin lipozomal yapılara doğrudan yüklenmesi yoluyla değil, BODIPY bileşiği ile bir lipit bileşiğinin konjuge edilmesiyle elde edilen BODIPY-Lipit konjugatı kullanılarak sentezlenen özgün lipozomal yapılar bu tez çalışması ile ilk defa sentezlenmiş ve PDT etkinliği gösterilmiştir. Ayrıca bu yapıların çok yönlü kullanımlara dair oldukça umut verici özelliklere sahip oldukları düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Fotodinamik Terapi, Lipozom, BODIPY, Lipit.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF BODIPY-BASED NEW LIPOSOMES AND INVESTIGATION OF THEIR PDT PROPERTIES

Muhammed Emre ÖZLER

Master of Science Thesis

Department of Nanotechnology Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Fazlı SÖZMEN

2024, 56+xviii pages

Photodynamic therapy (PDT) is a non-invasive therapeutic method and is generally used in the oncological field due to its effect against tumors. Due to various side effects of traditional cancer treatments (surgery, chemotherapy, radiotherapy), such as high toxicity and drug resistance, interest in cancer treatment methods such as PDT and photothermal therapy (PTT) is increasing. There are three main components needed for PDT treatment: a photosensitizer (PS), light of a specific wavelength, and molecular oxygen. BODIPY derivative compounds are also widely used as photosensitizers in PDT. BODIPY derivative compounds are used in many areas such as labeling reagents for DNA and proteins, chemosensors, laser dyes, etc. due to their absorption and emission properties as well as their ability to be functionalized from many different positions. Recently, a significant increase has been observed in the nanomedicine applications of liposomal structures. Liposomes in particular are being widely investigated as drug delivery systems and new liposomal nanostructures are being developed for this purpose in biomedical and nanomedical applications. These nano liposomal structures stand out with their colloidal stability, biocompatibility, non-toxicity and effective targeting capabilities. In this thesis, it was aimed to synthesize new BODIPY-based liposomal structures that exhibit PDT activity. For this purpose, firstly, a BODIPY derivative compound (BOD A2) containing an aliphatic carboxylic acid group in the meso position was synthesized and characterized as a photosensitizer. Then, an ester structure was formed via the coupling reaction between the BOD A2 compound carrying the carboxylic acid functional group and the hydroxyl group of lysophosphatidylcholine (Lyso PC-16) in the presence of 1-ethyl-3-3-

dimethylaminopropyl carbodiimide (EDC), 4-dimethylamino pyridine (DMAP) and the BOD A2-lipid conjugate was synthesized. The final product of the study, BODIPY-based liposomes, was synthesized at nanoscale using BODIPY-Lipid conjugate by thin film hydration method. Finally, the PDT properties of these liposomes containing a photosensitizer compound in their structure were investigated. For this purpose, liposomes in aqueous medium in the presence of 9,10-Anthracenediyl-bis(methylene)dimalonic acid (ABDA) trap molecule were exposed to LED light with a wavelength of 530 nm for a certain period of time and the decrease in absorbance of the trap molecule was monitored. Thus, it was determined that liposomes exposed to LED light with a wavelength of 530 nm had PDT properties by producing singlet oxygen. In addition, the singlet oxygen quantum yield (Φ) of the liposomes synthesized within the scope of this thesis study was calculated as 0.30. As a result, original liposomal structures synthesized using BODIPY-Lipid conjugate obtained by conjugating BODIPY compound with a lipid compound, rather than by directly loading a photosensitizer BODIPY compound onto liposomal structures, were synthesized for the first time in this thesis study and PDT activity was demonstrated. In addition, it is thought that these structures have very promising properties for versatile uses.

Key Words: Photodynamic Therapy, Liposome, BODIPY, Lipid.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	viii
ABSTRACT	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvi
KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1.GİRİŞ	1
2. FOTODİNAMİK TERAPİ (PDT)	4
2.1 PDT'nin Tarihi	4
2.2 PDT'nin Çalışma Prensibi	5
2.3 Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	6
2.4 Neden Fotodinamik Terapi	7
2.5 PDT'nin Kullanım Alanları	7
2.6 PDT'nin Avantajları	8
2.7 PDT'nin Dezavantajları	8
2.8 PDT'nin Gereksinimleri	9
2.8.1 PDT'de Kullanılan Işık Duyarlaştırıcılar (PS)	10
3. BODIPY (4,4-Difloro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indasen) BİLEŞİKLERİ	11
3.1 BODIPY Bileşiklerinin Özellikleri	11
3.2 BODIPY Bileşiklerinin Kullanım Alanları	12
3.3 BODIPY Bileşiklerinin Avantajları	12
3.4 BODIPY Bileşiklerinin Dezavantajları	13
4. LİPİTLER	14
5. LİPOZOMLAR	17
5.1 Lipozomların Yapısı	17
5.2 Lipozomların Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	18
5.3 Lipozom Çeşitleri	19
5.4 Lipozomların Avantaj ve Dezavantajları	19
5.5 Lipozomların Kullanım Alanları	20
5.6 Lipozomların Hazırlanmasında Kullanılan Lipitler	21

5.7 Lipozomların Hazırlanma Yöntemleri.....	22
6. MATERİYAL VE METOT	25
6.1 Kullanılan Maddeler	25
6.2. Kullanılan Cihazlar.....	26
6.3. Yöntem	27
6.3.1. Karboksilik Asit Grubuna Sahip BODIPY Türevinin Sentezi (BOD A1) 28	
6.3.2 BOD A2 Bileşiğinin Sentezi.....	28
6.3.3 BOD A2 – Lipit Konjugatının Sentezi (BOD A2-Lipit).....	29
6.3.4 BOD A2-Lipit Konjugatından Lipozomların Sentezi.....	30
6.3.5 BOD A2-Lipit Konjugatından Elde Edilmiş Lipozomların PDT Özelliklerinin Araştırılması.....	31
6.3.6 BOD A2-Lipit Konjugatından Elde Edilmiş Lipozomların Singlet oksijen Kuantum Verimlerinin Hesaplanması	31
7. BULGULAR.....	33
7.1 BOD A1 Bileşiğinin Sentezi ve Karakterizasyonu	33
7.2 BOD A2 Bileşiğinin Sentezi ve Karakterizasyonu	35
7.3 BOD A2-Lipit Konjugatının Sentezi ve Karakterizasyonu	36
7.4 BOD A2-Lipit Konjugatından Lipozomların Sentezi ve Karakterizasyonu.....	40
7.5 BOD A2-Lipit Konjugatından Sentezlenen Lipozomların PDT Özelliklerinin Araştırılması.....	42
7.6 BOD A2-Lipit Konjugatından Elde Edilmiş Lipozomların Sulu Ortamda Singlet oksijen Kuantum Verimlerinin Hesaplanması	46
8. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	49
KAYNAKLAR.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1	PDT’de gerçekleşen fotofiziksel süreçleri gösteren Jablonski diyagramı	6
Şekil 3.1	Temel BODIPY kimyasal yapısı ve pozisyonları	11
Şekil 5.1	Lipozom yapısının şematik gösterimi.....	20
Şekil 5.2	İnce Film Hidrasyon Metodu ile Elde Edilen Lipozomun Hazırlanması	22
Şekil 6.1	BOD A2-Lipit konjugatının ve lipozomal yapıların sentezi ve çalışma prensibi	27
Şekil 6.2	BOD A1 Bileşiğinin Sentez Şeması	28
Şekil 6.3	BOD A2 Bileşiğinin Sentez Şeması	29
Şekil 6.4	BOD A2-Lipit Konjugatının Sentez Şeması	30
Şekil 6.5	BOD A2-Lipit Bileşiğinden Lipozomların Sentez Şeması	31
Şekil 7.1	BOD A1 Bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	34
Şekil 7.2	BOD A1 bileşiğinin kütle spektrumu	34
Şekil 7.3	BOD A2 Bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	35
Şekil 7.4	BOD A2 Bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	36
Şekil 7.5	BOD A2 bileşiğinin kütle spektrumu	36
Şekil 7.6	BOD A2-Lipit Konjugatının ¹ H-NMR spektrumu	37
Şekil 7.7	BOD A2-Lipit Konjugatının ¹⁶ C-NMR spektrumu.....	38
Şekil 7.8	BOD A2-Lipit konjugatının MALDI-TOF kütle spektrumu	39
Şekil 7.9	BOD A2-Lipit konjugatının FT-IR spektrumu	39
Şekil 7.10	BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların DLS analizi..	40
Şekil 7.11	BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların S-TEM görüntüsü.....	41
Şekil 7.12	BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların SEM görüntüsü.....	41
Şekil 7.13	ABDA tuzak molekülünün UV-Vis spektrumu	42
Şekil 7.14	BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların UV-Vis spektrumu.....	43

Şekil 7.15	BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomlarının 10 dk aralıklarla 530 nm dalga boyundaki LED ışığına maruz bırakıldıktan sonra tuzak molekülünün absorpsiyonundaki düşüşü	44
Şekil 7.16	Şekil 24’da ki spektrumun yalnızca 300-450 nm dalgaboyu aralığını gösteren UV-Vis spektrumu.....	45
Şekil 7.17	ABDA’nın BOD A2-Lipit konjugatından elde edilmiş lipozomlar varlığın da 379 nm dalga boyundaki absorbans değerinin zamana göre değişim eğrisi	46
Şekil 7.18	Tuzak molekülü varlığında Metilen mavisinin 5 dk aralıklarla 660 nm dalga boyundaki LED ışığına maruz bırakıldıktan sonra tuzak molekülünün absorpsiyonundaki düşüş grafiği	47
Şekil 7.19	ABDA’nın metilen mavisi varlığında 379 nm dalga boyundaki absorbans değerinin zamana göre değişim eğrisi	48

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 5.1 Lipozomların avantaj ve dezavantajları.....	20
Tablo 6.1 Kullanılan kimyasallar ve Çözücüler	25
Tablo 6.2 Bileşiklerin Karakterizasyonu için Kullanılan Cihazlar	26



KISALTMALAR DİZİNİ

PDT	: Fotodinamik terapi
PS	: Fotoduyarlaştırıcı
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
ROS	: Reaktif oksijen Reaktif Oksijen Türleri
RNA	: Ribonükleik asit
NIR	: Yakın kızılötesi
HpD	: Hematoporfirin türevi olan Photofrin
SUV	: Küçük tek katmanlı veziküller
LUV	: Büyük tek katmanlı veziküller
MLV	: Çok katmanlı veziküller
MVV	: Çok veziküler veziküller
SLN	: Katı lipid nanopartiküller
NLC	: Nanoyapılı lipid taşıyıcılar
Lyso PC	: Lizofosfatidilkolin

1.GİRİŞ

Fotodinamik terapi (Photodynamic therapy, PDT), cilt lezyonları, akne, göz de oluşan damar tümörleri ve kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan, vücut bütünlüğünde herhangi bir bozulmaya sebep olmayan bir tedavi yöntemidir (Sun vd., 2023). Klinik olarak, neoplastik ve non-malign hücrelerinin tedavisinde Fotodinamik terapi (PDT) yaygın olarak kullanılmaktadır. PDT seçici olarak hedef dokuda biriken, ışığa duyarlı fotoduyarlaştırıcı (PS) maddenin, moleküler oksijen varlığında, uygun dalga boyundaki ışığa maruz bırakılması prensibine dayanmaktadır (Ion, 2000; Kamkaew vd., 2013). PDT tedavisinde ihtiyaç duyulan üç ana bileşen vardır bunlar; bir fotoduyarlaştırıcı (photosensitizer, (PS)), belirli bir dalga boyunda ışık ve moleküler oksijendir. PDT’de gerçekleşen fotofiziksel süreç Jablonski diyagramı ile ifade edilmiştir. PS’nin uygun dalga boyundaki ışığı absorblamasının ardından fotoduyarlaştırıcı elektronik temel halden kısa ömürlü bir birinci uyarılmış tekli duruma (singlet state) (S1) uyarılır. Bu elektronik geçiş dönme değişimi ile meydana gelmesi durumunda, S1 birinci uyarılmış üçlü duruma (first excited triplet state) (T1) geçiş yapmaktadır. Uyarılmış PS kararsızdır ve fazla enerjisini luminesans (ışınım gecişleri) olarak adlandırılan ışık olarak serbest bırakarak temel hale geri dönme eğilimindedir. Luminesans iki tipe ayrılmaktadır bunlar; Floresans ve Fosforesansdır. PS’in emilen enerjiyi yayarak temel hale dönmesi Floresans olarak adlandırılır. Fosforesans, genellikle PS’nin enerjiyi birinci uyarılmış üçlü durumdan temel hale salarak geçmesi durumunda tanımlanmaktadır. PDT mekanizması iki ayrı durumda incelenmektedir bunlar; Tip I ve Tip II olarak isimlendirilmiştir. Tip I mekanizmasıyla üretilen hidroksil radikalleri ($\cdot\text{OH}$) ve Tip II mekanizmalarıyla üretilen singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) kanserli hücrelerin apoptozuna ve nekrozuna neden olmaktadır. Tip I fotoreaksiyonlar bir hedef molekülden ya da çözücünden serbest radikal oluşumuna yol açmaktadır. Tip II fotoreaksiyonlar sonucunda reaktif oksijen türleri ve sitotoksik olan singlet oksijen üretilmektedir. Kısaca tüm elektron transferleri (charge transfer) Tip I fotoreaksiyonlar, tüm enerji transferleri ise Tip II fotoreaksiyonlar olarak sınıflandırılmaktadır (Ion, 2000; Kamkaew vd., 2013). PDT de kullanılan ışık kaynakları lazerli ve lazersiz ışık kaynakları olarak iki grupta değerlendirilebilir. Lazer ışığı, yüksek yoğunluğa sahip, tek renkli ve diğer ışık kaynaklarına nazaran daha yüksek kalitede olan ışık kaynağıdır. PDT ' de derin doku penetrasyonu için özellikle "terapötik pencere" (650 nm-800 nm)

olarak isimlendirilen bölgeye uygun ışık kaynaklarının kullanımı artmaktadır (Awuah & You, 2012). Çoğunlukla PS'ler elektromanyetik spektrumun görünür bölgesindeki dalga boyları kullanılarak etkinleştirilmektedir. Bu sebepten düşük doku penetrasyonu sergiler. BODIPY türevi bileşikler de PDT'de fotoduyarlaştırıcı olarak kullanılmaktadırlar. Genel olarak BODIPY (4,4-Difloro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indasen) şeklinde kısaltılan boradiazaindasen türevi bileşikler sahip oldukları absorpsiyon ve emisyon özelliklerinin yanı sıra birçok farklı pozisyonlardan fonksiyonlandırılabilme özellikleri nedeniyle, DNA ve proteinler için etiketleme reaktifleri, kemosensörler, lazer boyalar gibi daha birçok alanda kullanılmaktadırlar (Jiao vd., 2009; Yan vd., 2022). BODIPY (4,4-Difloro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indasen) çekirdeği için 3 ve 5 konumları α , 1,2,6,7 konumları β ve 8 konumu mezo pozisyonudur (Şekil 3.1). Mezo pozisyonunda fonksiyonelleştirme yöntemleri α ve β pozisyonlarında ki fonksiyonelleştirme yöntemlerine göre nispeten kolaydır (Bumagina vd., 2022; Jiao vd., 2009). Örneğin BODIPY-bazlı problemler sentezlenirken genellikle amino, tiyol, alken, alkin, ester, aldehit ve triflorometil gibi çeşitli grupların mezo-pozisyonuna (8 konumu) bağlanması tercih edilir (Yan vd., 2022). Son zamanlarda lipozomal yapıların nanotıp uygulamalarında önemli bir artış gözlemlenmektedir. Özellikle lipozomlar ilaç taşıyıcı sistemler olarak yaygın bir şekilde araştırılmaktadır ve bu amaçla biyomedikal ve nanotıp uygulamalarında yeni lipozomal nano yapılar geliştirilmektedir. Bu nano lipozomal yapılar kolloidal kararlılıkları, biouyumlu olmaları, toksik olmamaları ve etkili hedefleme yetenekleri gibi özellikleriyle öne çıkmaktadırlar (Lombardo & Kiselev, 2022). Küçük bir hücreye benzeyen bir çift tabakadan oluşan lipozomlar, membran lipidlerinin sulu bir ortama konduklarında içinde ve dışında su olacak biçimde küresel bir yapıda kendiliğinden oluşmaktadır. Bu yapıda hidrofilik uçların su ile temas halinde olduğu ve hidrofobik bölgenin de bir lipid ortamında olduğu bilinmektedir (Watson, 2015). İlaç taşıyıcı sistemler arasında nano partiküller, nano lipozomlar, nano jeller, nano emülsiyonlar gibi daha birçok örnek bulunmaktadır. Nano lipozomlar hedefli ilaç dağıtım sistemlerinde tercih edilen ve bununla birlikte en çok araştırılan nano taşıyıcılardandır (çapı genellikle 50–500 nm'dir). Nano lipozomların ilaç dağıtım sistemleri için tercih ediliyor olmasının başlıca nedenleri arasında, boyutları, hidrofobik ve hidrofilik özellikleri, ilaç moleküllerini veziküllerin sulu iç kısmında ya da lipofilik zarda kapsülleyebilme yetenekleri sayılabilir (Kraft vd., 2014; Lombardo & Kiselev, 2022; Nsairat vd., 2022). Lipozomların boyutlarının artışıyla lipozomların kapsülleme

etkinliği de artmaktadır(Nsairat vd., 2022). Lipozomların çift katmanlı zar yapısı, yüklenmiş ilacı hidrolizden ya da oksidatif bozulma gibi etkilerden koruyabilir, böylece terapötik indeksi geliştirebilir. Ayrıca ilacın vücut içinde kalma süresini ve dolaşımını ya da ilacın biyoyararlanımını artırabilir bu şekilde ilaç moleküllerinin hastalıklı bölgelere ulaşabilmesi için yeterli süre korunabilir. Aynı anda birden fazla ilaç taşıyabilme, sıcaklık, pH veya diğer çevresel etmenlere yanıt olarak biyolojik anlamda parçalanabilen ve ayarlanabilen ilaç salımı da diğer avantajlarındandır (Kraft vd., 2014). Organik bileşiklerden oluşan lipitler hücrelerin temelini oluştururlar. Su içerisinde çözünabilirliği oldukça sınırlı olan lipitler kloroform ve eter benzeri solventlerle etkin ve kolayca çözünabilmektedir. Böylelikle biyoyumlu ortamlar için kullanıma uygundur. Lipit molekülleri polaritelerine göre polar ve non-polar olarak ikiye ayrılmaktadır. Kolesterol, yağ asitleri, glikosfingolipitler ve gliserofosfolipitler gibi polar yapıya sahip lipitler su ortamında çözünabilirler. Trigliseritler ve kolesterol esterleri gibi non-polar yapıya sahip lipitler su ortamında çözünmezler (Korkut, 2015). Lipitler, sinyalleşme, enerji depolama ve zar oluşumunda önemlidir (Flores vd., 2020). Çift tabakadan oluşan lipidler amfipatik lipidler olarak isimlendirilir. Tüm membran lipidleri amfipatiktir; yani hem hidrofilik (suyu seven) hem de hidrofobik (sudan nefret eden) uçlara sahiptir. Membran lipitlerinin amfipatik yapısından dolayı hidrofilik uçların sulu ortama, dışa doğru baktığı ve hidrofobik uçların ise içe doğru birbirine baktığı çift tabakalar halinde bulundukları söylenebilir(Watson, 2015).

2. FOTODİNAMİK TERAPİ (PDT)

Günümüzde oldukça yaygın bir şekilde görülen kanser hastalığı tedavisinde hastalar kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi gibi tedaviler almaktadır ancak bu yöntemlerin önlenemeyen çok ciddi yan etkileri nedeniyle tedavi süreci hastalar için zorlu ve korkutucudur. Yeni bir tedavi yöntemlerinden olan fotodinamik terapinin ortaya çıkmasıyla malign ve malign olmayan hastalıkların tedavisinde alternatif bir yöntem olarak PDT hastalara ümit olmuştur. PDT, akciğer (Pramual vd., 2020), meme kanseri (Q. Li vd., 2020), cilt kanseri (Spikes, 1991) ve daha bir çok kanser türlerinin (Sobhani & Samadani, 2021) tedavilerinde kullanılan, cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi tedavi yöntemlerinin haricinde (Pehlivan, 2022), minimum yan etkisi, hedeflenebilme yeteneği ve uzun vadeli etkinliğiyle (Işık, 2020), UV ya da NIR bölgede ki ışığın, ışığa duyarlılaştırıcı bir ilaçla birlikte kullanılmasıyla çeşitli kanserli hücrelerin tedavi edilmesi amacıyla geliştirilen ve cilt lezyonları, akne, göz de oluşan damar tümörleri gibi çeşitli hastalıkların da tedavisinde kullanılan, bir noninvaziv tedavi yöntemidir (Dolmans vd., 2003; Işık, 2020; Sun vd., 2023). PDT uygulama sürecinde ışık kaynağı, ışığa duyarlı bir madde ve oksijenin uygun kombinasyonu içermektedir.

2.1 PDT'nin Tarihi

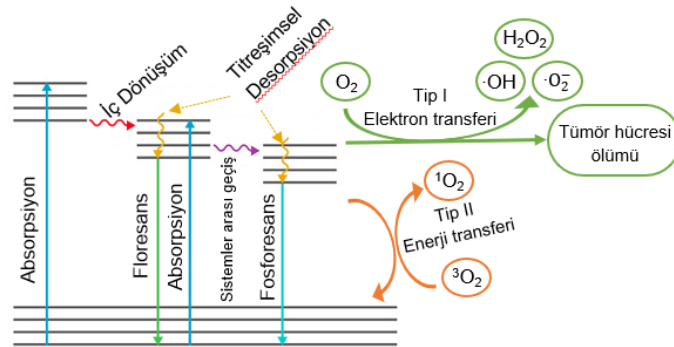
PDT yüzlerce yıllık bir geçmişe sahiptir. Antik dönemde Mısır, Hint ve Çin medeniyetleri ışığı sedef hastalığı, raşitizm ve cilt kanseri gibi çok sayıda farklı hastalığı tedavi edebilmek için sıkça kullanmışlardır(Correia vd., 2021). Fotodinamik terapi yüzlerce yıllık geçmişine rağmen, yaklaşık 100 yıl önce, tıp öğrencisi Oscar Raab tarafından gerçekleştirilen çalışmanın sonucunda kimyasal bir bileşik ve ışık kombinasyonunda hücre ölümü ilk kez raporlanmıştır (Spikes, 1991). 20. Yüzyılın başlarında, Niels Finsen yaptığı çalışmalarla çiçek hastalığı ve deri tüberkülozunun ışık uyarılmasıyla tedavi edildiğini duyurmuştur (Correia vd., 2021). Bir süre sonra von Tappeiner çeşitli deri lezyonlarının tedavisi için eozin ve beyaz ışığı birlikte kullanmıştır. 1904 yılında Jodlbauer ile birlikte von Tappeiner “fotodinamik aksiyon” olarak adlandırdıkları terimi ortaya çıkardılar. Bu çalışmaya göre bir fotoreaksiyonda oksijene ihtiyaç olduğu ilan edildi (Spikes, 1991). 1911'de W. Hausmann, Tüberküloz, kolera ve Pnömoni gibi hastalıkların hematoporfirin ile tedavisini duyurdu(Hausmann, 1911). 1972 yılında Diamond ve arkadaşları in vivo PDT çalışmalarını

yayımlamışlardır. Bu çalışmada PDT uygulaması sonucunda tümörlü hücre büyümesinin bir süre engellendiği raporlanmıştır(Diamond vd., 1972). 1993 yılında, kimyasal olarak saf bir hematoporfirin türevi olan ışığa duyarlılaştırıcı fotofrin mesane kanseri tedavisinde kullanılmış. Böylelikle, fotofrin, fotodinamik terapi için onaylanan ilk ışığa duyarlılaştırıcı olmuştur. İlerleyen zamanda fotodinamik terapi de kullanılan başka ışığa duyarlılaştırıcılar da raporlanmış ve FDA onayı almıştır (Senge & Brandt, 2011). Sonrasında pankreas kanseri, cilt kanseri, baş ve boyun tümörleri ve beyin tümörleri ve daha birçok hastalığın tedavisi için PDT çalışmalarına gösterilen ilgi artmıştır (Daniell & Hill, 1991).

2.2 PDT'nin Çalışma Prensipleri

Işık evrende ki yaşamın temel kavramlarından biridir (Taydaş, 2022). PDT bir ışık kaynağı ve ışık duyarlılaştırıcı varlığında malign dokuların tedavisi için kullanılan alternatif bir tedavi yöntemidir. Işık kaynağı, ışığa duyarlılaştırıcı (PS) ve oksijen ise fotodinamik terapinin esas üç bileşenidir (Ackroyd vd., 2007). Işığa duyarlılaştırıcılar, PDT'de güvenli tedavi sağlayan ve sağlıklı dokuda toksisiteyi sınırlayan, ışık ile uyarılmadığında aktif ve toksik olmayan, belirli bir dalga boyunda ışık absorplayici moleküllerdir(Wachowska vd., 2011). PS'lerin diğer ışık absorblayıcı moleküllerden farkı, tam doldurulmuş uyarılmış üçlü durumlar sayesinde oksijen molekülleriyle reaksiyona girme ihtimalinin yüksek olmasıdır. PS, düşük enerji seviyesinden (temel durum) daha yüksek bir enerji seviyesine (uyarılmış durum) doğru ışık enerjisi ile uyarılır(Demirci, 2020). Daha sonra bu enerji, genellikle serbest radikaller/singlet oksijen üretmek üzere hücre içi oksijene aktarılabilir ya da floresans olarak salınabilir. Temel durumdaki oksijenin fotofiziksel uyarılması Tip-I ve Tip-II reaksiyonları ile gerçekleştirilmektedir. Tip-I reaksiyonda elektronlar ya da fotonlar moleküler oksijene geçerek reaktif oksijen oluşturur, ancak tip-II reaksiyonda elektron hareketleri değil enerji transferi gerçekleşir (Plaetzer vd., 2009). Tip-I reaksiyonu, anyonik (-) ya da katyonik (+) radikaller oluşturmak için elektron veya protonun oksijene ve çevre moleküllere transferi ile gerçekleşir. Bu radikaller oksijen molekülü ile reaksiyona girerek süperoksit ve peroksit gibi daha birçok reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturabilir. Tip-II reaksiyonun'da, uyarılmış PS'nin enerjisi, üçlü durumdan temel duruma geçerek ve enerjisini oksijen molekülüne aktararak onu uyarılmış singlet

oksijene dönüştürür. Singlet oksijen, yüksüz bir molekül olarak biyolojik zarlara yayılabilir (Sobhani & Samadani, 2021). Singlet oksijen, yapısında bol elektron içeren DNA ve RNA gibi önemli moleküllerle reaksiyona girerek tümürlü hücrelerin nekroz ve apoptozuna neden olmaktadır (Demirci, 2020). Genel olarak tip-II reaksiyonlarında PS'ler yüksek kuantum verimlerine sahiptirler (Sobhani & Samadani, 2021). Biyolojik sistemlerde reaktif singlet oksijenin kısa ömürlü (<40 ns) olması ve 20 nm lik etki yarıçapına sahip olmasından dolayı çevresinde ki dokulara zarar verilmesi önlenmekte, hedefli bir uygulama bölgesi sağlanmaktadır (Pehlivan, 2022). PDT'de hücre içinde bulunan oksijen miktarı her iki reaksiyon tipi içinde yüksek önem arz etmektedir. Oksijen, Tip I'deki anyonik PS radikalleri ile reaksiyona girmektedir. Tip II'de uyarılmış PS'den direkt enerji iletiminde etkin olmaktadır (Demirci, 2020). Tip I ve II reaksiyonları, ışığa duyarlılaştırıcının tipine ve oksijen konsantrasyonuna bağlı olarak meydana gelir. Daha fazla uygulanan ışığa maruz kalan duyarlılaştırıcılar için Tip-II reaksiyonunun görece daha ön planda olduğu belirtilmiştir (Sobhani & Samadani, 2021). Neredeyse tüm PS'lerin etkinliğinin oksijene bağlı olması nedeniyle, oksijenin yetersiz olduğu doku alanında PS'lerin fotodinamik etkisi verimsizdir (Dolmans vd., 2003). Tip-I ve Tip-II reaksiyonlarına ait diagram Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 PDT'de gerçekleşen fotofiziksel süreçleri gösteren Jablonski diyagramı

2.3 Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Reaktif oksijen türleri (ROS), en dış elektron kabuğunda tek bir eşleşmemiş elektrona sahip olan radikaller, iyonlar veya moleküllerdir (Liou & Storz, 2010). Serbest oksijen

radikalleri arasında süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), peroksil radikalleri ($ROO^{\cdot}$), hidroksil radikali($^{\cdot}OH$) ve nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) gibi çeşitli radikaller bulunmaktadır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2), ozon/trioksijen (O_3) ve organik hidroperoksitler ($ROOH$) gibi bileşiklerde radikal olmayan ROS'lara örnek olarak verilebilir(Yang vd., 2019). Uyarılmış oksijen türevi olan singlet oksijen (1O_2) dış orbitallerinde eşleşmemiş elektronlar bulunduran, oldukça reaktif, PDT uygulamalarında sitotoksik etkisinden faydalanan temel öğelerden biridir (Yılmaz, 2019). Singlet oksijen hücre içinde hasarlara neden olan süperoksit radikalleri gibi çeşitli ROS'lar üretmektedir ve böylece PDT uygulamasında apoptoz, nekroz veya otofaji gibi nedenlerle hücrelölümler gerçekleşmektedir (Taydaş, 2022; Wachowska vd., 2011).

2.4 Neden Fotodinamik Terapi

PDT, cerrahi bir işlem uygulamaksızın yeniden uygulanabilen, özellikle erken teşhis edilmiş kanser hastalıklarında olumlu, hastaların yaşam kalitesi ve hayatta kalma sürelerini yükselten bir tedavi çeşididir (Belce, 2019). Aynı zamanda ameliyat edilemeyen ya da radyoterapi almış hastaların tedavi edilmesi için alternatif yöntemlerden biridir (Pehlivan, 2022). PS'lerin geniş modüle edilebilir özellikleri sayesinde, hastaya özel ilaç kombinasyonları üzerinde çalışmalar yapılabilmektedir (Belce, 2019). Cerrahi gibi invaziv müdahalelere göre PDT daha az invaziv olması nedeniyle hastaların daha hızlı iyileşmesine yardımcı olmaktadır. Bunun yanı sıra tekrarlanabilir olması, görece daha az yan etki ve özellikle cerrahi yöntemlerle karşılaştırıldığında olumlu estetik sonuçlar vermektedir.

2.5 PDT'nin Kullanım Alanları

Amerika, Almanya, Japonya, İngiltere, Fransa, Hollanda, Kanada gibi çok sayıda ülkede PDT'nin çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanımı ülkelerde ki sağlık kuruluşları tarafından resmi olarak onaylanmıştır. Yaygın olmasa da PDT tıpta onkoloji alanında kullanılmaktadır (Dolmans vd., 2003). Fotodinamik terapi sedef hastalığı, raşitizm ve çeşitli göz tümörleri gibi hastalıklarının tedavilerinin yanı sıra mesane kanseri, cilt kanseri, jinekolojik kanser, baş ve boyun kanseri, mide-bağırsak kanseri, rahim ağzı kanseri ve mide kanseri gibi çeşitli kanser türleri için gelecekte

umut verici ve minimal invazif tedavi yöntemlerinden biri olmayı başarmıştır. Ayrıca PDT kardiyoloji alanında da kullanılmaktadır (Dolmans vd., 2003; Spikes, 1991). Düşük maliyetli uygulama için özel düzenlenmiş bir tedavi ortamı gerektirmemesi, her yaş grubundaki ve sağlık durumundaki hastalara uygulanabilme imkânı nedeniyle PDT'nin gelecekte tıp uygulamalarında daha yaygın olarak kullanılacağı öngörülmektedir (Vergnon vd., 2006).

2.6 PDT'nin Avantajları

PDT çeşitli avantajlara sahiptir. Bunlardan birincisi, neredeyse tüm kanser türlerine karşı uygulanabilir olmasına ek olarak kümülatif (birikerek artması yani verilerin birikerek üst üste toplanması) toksik birikintisi yoktur ve hastaya ayakta tedavi prosedürü uygulanabilme yeteneğine sahiptir. Gereksinim duyulması halinde, noninvaziv (cerrahi işlem gerektirmeyen durumlar) bir tedavi çeşidi olmasından dolayı PDT aynı bölgeye birkaç defa uygulanabilmektedir. Ayrıca, düşük komplikasyon riskinden dolayı yaşlılarda ya da ameliyat olamayacak kadar ileri hastalığa sahip olan kişilerde dahi kullanımı mümkündür. PDT'ye uygulanan bölgede yüksek seçiciliği ve ufak bir yara izi ya da hiç yara izi olmadan tedavi sağlayabilmesi nedeniyle gösterilen ilgi artmaktadır (Wachowska vd., 2011). PDT uygulamasının maliyeti yaygın olarak uygulanan cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gibi yöntemlerden daha uygundur ve tedavi sonrası hastanın bakım süresi görece daha kısadır (Sobhani & Samadani, 2021).

2.7 PDT'nin Dezavantajları

Yukarıda açıklanan avantajlara karşın PDT'nin bazı önemli dezavantajlara da bulunmaktadır. Derin bölgedeki tümörlerin tedavisi, cilt hassaslaşması, düşük seçicilik ve kızılötesi bölgede zayıf emilim gibi PDT'nin temel dezavantajlar bulunmaktadır. PDT çok sayıda avantaja sahip olsada bu yöntem kullanılarak, derin tümörlerin kısa dalga boyundaki ışık ile uyarılması ve tedavisinde yüksek verim alınamamaktadır. Görünür bölgede ve ultraviyole enerji aralığına sahip ışığın, derin dokulara nüfuzu düşüktür ve bu yüzden etkisi doku yüzeyinin yalnızca birkaç milimetre içindeki tümörlerin tedavisi ile sınırlı kalmaktadır. Ağrı, eritem, ödem, ürtiker ve kontakt dermatit PDT uygulanmasında yaygın olarak karşılaşılan yan

etkilerden bir kaçıdır (Sobhani & Samadani, 2021). PDT’de esas problemlerden olan tümörün deri altındaki derinliği ve boyutu tedavi sürecini direkt olarak etkilemektedir. Uygulanan ışık yaklaşık 1 cm boyutundaki dokulara kadar nüfuz edebildiğinden bu boyutun üzerinde ki lezyonların PDT’de tek seansta tamamen yok edilmesi mümkün olmayabilir. Büyük lezyonların tedavisi için çok seanslı bir PDT uygulaması önerilmektedir ya da mümkünse lezyon lazer eksizyonun (organ, dok, tümör gibi şeylerin hastadan kesilmesi veya tamamen çıkarılması) ardından PDT uygulaması gerçekleştirilebilir (Allison vd., 2011). Fotodinamik terapinin ışık kaynaklı dezavantajlarıda bulunmaktadır. Işık duyarlılığı PDT’de karşılaşılan temel sorunlardan biridir. Uzun süreli ışık maruzeti cilt üzerinde duyarlılığa neden olabilmektedir ve bu nedenle PDT uygulanan hastaların en az 6 haftalık süre boyunca doğrudan güneş ışığına maruz kalmamasına ve parlak iç mekân ışığından kaçınmaya dikkat edilmelidir. Son olarak PDT lokal bir tedavi yöntemi olmasından dolayı sistemik olarak uygulanamaz, bu nedenle PDT metastaz lezyonların tedavisi için etkisiz bir yöntemdir (Capella & Capella, 2003). Tüm bu avantaj ve dezavantajlar PDT uygulaması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla tüm bunlar için PDT’nin uygulanması gereklidir ve PDT’nin de birtakım gereksinimlere ihtiyaç duyduğu unutulmamalıdır.

2.8 PDT’nin Gereksinimleri

PDT’de temel üç bileşene ihtiyaç duyulmaktadır ve bunlar; bir fotoduyarlaştırıcı (photosensitizer, (PS)), belirli bir dalga boyunda ışık ve moleküler oksijendir. PDT verimliliğini ve terapötik etkileri artırmak amacıyla PDT ajanlarının $^1\text{O}_2$ (Q. Li vd., 2020)üretimi için yüksek kuantum verimi ve kanser hücrelerine karşı gelişmiş seçiciliğin (Dougherty & Marcus, 1992) yanı sıra dokulara penetrasyonunun maksimum olduğu terapötik pencerenin de kapsandığı elektromanyetik spektrumun UV-VIS ve NIR bölgelerinde absorpsiyon gibi karşılaması gereken çeşitli gereksinimler vardır. PDT için çeşitli ajanlar önerilmiştir ancak, günümüzde klinik olarak onaylanmış olan ajanların çoğunluğu porfirinlere, ftalosiyaninlere ya da klorinlere dayanmaktadır. Birçok organik PS’in en dikkat çeken dezavantajı; kan dolaşımında sınırlayıcı olan hidrofobik yapılarıdır. Bu durum düşük emisyonlara ve

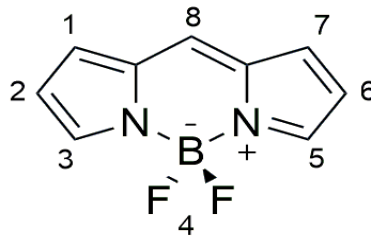
yetersiz reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasına neden olmaktadır (Aslanoğlu, 2022).

2.8.1 PDT’de Kullanılan Işık Duyarlaştırıcılar (PS)

Işığa duyarlılaştırıcı, uygun dalga boyundaki bir fotonun absorblandığı durumda aktif hale geçen moleküllerdir. PDT’de hastalara uygulanarak sık kullanım gösteren bu moleküller biyolojik hedeflerle reaksiyona girebilme yeteneği de sergilemektedir (Capella & Capella, 2003). Işığa duyarlılaştırıcıların yüksek absorpsiyon değeri, çokca singlet oksijen üretimi, izlenebilirliği için floresans özellikler, yüksek stabilite, düşük maliyetli ve pratik sentez basamakları, düşük toksisite, doku üzerinde seçici emilim ve nüfuz etme gibi özgün fotofiziksel, fotokimyasal, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip olması istenmektedir(Sobhani & Samadani, 2021). Bunlara ek olarak, ilk nesil ışığa duyarlılaştırıcıların seçiciliklerinin düşük olması (bunun sonucu olarak cildin ışığa maruziyeti fazla olmaktadır dolayısıyla ışık duyarlılığı önemli bir yan etki oluşturmaktadır) ve ışığa duyarlılaştırıcıların, kırmızı bölgedeki emilimi zayıf olması (bu nedenle derin tümörlerin tedavisi zordur) gibi önemli dezavantajları da bulunmaktadır(Atilgan, 2006). Aynı zamanda PS’ler genellikle normal hücreler yerine kötü huylu tümör hücrelerinin bulunduğu bölgelerde konumlanmaktadır. Bu özel birikim mekanizması sayesinde hastaların aynı anda tanı ve tedavisi için iyi bir fırsat oluşturmaktadır. Tüm özellikleri arasında ışığa duyarlılaştırıcıların yüksek seçiciliği, hastanın tedavi süresi boyunca sağlıklı dokuları üzerindeki yan etkilerini minimal seviyede tutarak PDT'nin lokal tümörlü dokuların tedavisi üzerinde pozitif etkiye sahiptir(Demirci, 2020). Bu bileşiklerden hematoporfirin türevi olan Photofrin (HpD), modifiye edilmiş porfirinler, klorinler, ftalosiyeninler ve BODIPY türevleri gibi birçok fotoduyarlılaştırıcı madde, PDT uygulamalarında kullanılmaktadır. Fotoduyarlılaştırıcı madde olarak BODIPY boyar maddeleri sahip oldukları fotofiziksel özellikleri, kararlılıkları ve birçok farklı pozisyonlardan kolay fonksiyonlandırılmaları gibi öne çıkan özellikleri nedeniyle PDT’de çokça tercih edilmektedirler(Özler vd., 2024).

3. BODIPY (4,4-Difloro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indasen) BİLEŞİKLERİ

BODIPY bileşiği ilk olarak 1968 yılında Treibs ve Kreuzer'in çalışmaları sonucunda açıklanmış, zamanla çok sayıda BODIPY türevleri sentezlenmiş ve çeşitli alanlarda kullanılmıştır (Loudet & Burgess, 2007; Rihn vd., 2012). Genel olarak BODIPY (4,4-Difloro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indasen) şeklinde kısaltılan boradiazaindasen türevi bileşikler sahip oldukları absorpsiyon ve emisyon özelliklerinin yanı sıra birçok farklı pozisyonundan fonksiyonlandırılabilme özellikleri nedeniyle, DNA ve proteinler için etiketleme reaktifleri, kemosensörler, lazer boyalar gibi daha birçok alanda kullanılmaktadırlar. BODIPY çekirdeği için 3 ve 5 konumları α , 1,2,6,7 konumları β ve 8 konumu mezo pozisyonu olarak adlandırılır (Şekil 3.1). Mezo pozisyonunda fonksiyonelleştirme yöntemleri α ve β pozisyonlarında ki fonksiyonelleştirme yöntemlerine göre nispeten kolaydır (Bumagina vd., 2022; Jiao vd., 2009). Örneğin BODIPY-bazlı problemler sentezlenirken genellikle amino, tiyol, alken, alkin, ester, aldehit ve triflorometil gibi çeşitli grupların mezo-pozisyonuna (8 konumu) bağlanması tercih edilir (Yan vd., 2022).



Şekil 3.1 Temel BODIPY kimyasal yapısı ve pozisyonları

3.1 BODIPY Bileşiklerinin Özellikleri

Oldukça iyi derecede floresans etki gösteren BODIPY bileşikleri bu özelliklerinden dolayı ilk olarak görüntüleme ajanı olarak kullanılmıştır, sonrasında yüksek singlet oksijen verimi, ışısız ortamda minimum toksisite vb. özelliklerinden dolayı PDT'de fotoduyarlaştırıcı bileşikler olarak da kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca BODIPY boyalarının yüksek absorpsiyon katsayısı, yüksek floresans kuantum verimi, kimyasal ve foto kararlılık ve görece kolay ve çeşitli fonksiyonellendirme imkanları gibi özellikleri onu diğer boyalardan ayırmaktadır (Turksoy vd., 2019). BODIPY çekirdeği, birçok farklı pozisyonunda modifikasyona uygundur. PDT'de verimliliği

yükseltmek gibi amaçlarla bu modifikasyonlar yapılmaktadır. Fonksiyonellendirilmiş BODIPY molekülü, uzun dalga boyu absorpsiyonu göstermesi istenilmektedir. Bu aktivite üçlü uyarılmış durumda meydana geldiğinden, daha uzun dalga boylarında absorpsiyon, terapötik pencereye ulaşılmasını (650 nm – 850 nm) sağlamaktadır (Hinkeldey vd., 2008). Br veya I gibi ağır atomların, 2- ve 6- pozisyonlarında bağlanmasıyla, soğurma ve emisyon değerlerinin maksimum noktaları için önemli ölçüde kaymalar gözlemlenmektedir(Canyurt, 2022). Fakat aril grubunun BODIPY çekirdeğinin mezo pozisyonunda konumlandırılması absorpsiyon ve emisyon değerleri üzerinde ki etkisi kısıtlıdır. Öte yandan, 1- ve 7- pozisyonları fenil halkasının mezo pozisyonundaki dönme hareketini kısıtlamaktadır bu yüzden, fonksiyonelleştirilmiş 1- ve 7- pozisyonları, fonksiyonelleştirilme yapılmamış yerlere kıyasla kuantum verimi üzerinde pozitif etkiye sahiptir(Erbaş, 2009). 1-, 3-, 5- ve 7- konumlarında yapılacak fonksiyonellendirmeler, genellikle uzun süreli konjuge BODIPY boyaları oluşturmak için tercih edilmektedir. Knoevenagel reaksiyonlarında, bahsedilen pozisyonlarda ikame edilmiş metil gruplarının asidik yapısı sebebiyle yüksek verim elde edilmektedir(Rurack vd., 2001). Fotoduyarlastırıcı moleküllerin organik solventlerde çözünürlüğü sınırlıdır. BODIPY boyalarının bu çözünme problemini aşabilmek için alifatik zincirli yapıya sahip olan gruplar kullanılmaktadır. Ayrıca, PDT’de biyoyumluğun artması amacıyla kullanılan PS’lerin sulu ortamda çözünür bir yapıda sentezlenmesi de önemlidir (X. Li vd., 2019).

3.2 BODIPY Bileşiklerinin Kullanım Alanları

BODIPY türevi bileşikler, iyi bilinen spektral özellikleri nedeniyle DNA ve proteinler gibi çeşitli maddeler için biyolojik görüntüleme ve etiketleme ajanları, supramoleküler floresan yapıları, ışık hasat edici sistemler, sensör uygulamaları, lazer boyalar ve PDT uygulamaları gibi birçok alanlarda kullanılmaktadır (Jiao vd., 2009; Yan vd., 2022).

3.3 BODIPY Bileşiklerinin Avantajları

BODIPY türevi bileşikler, görünür bölgede yüksek absorpsiyon, floresans-fosforesans, yüksek singlet oksijen verimi, foto ve termal stabilite, düşük sitotoksisite gibi çeşitli özellikleriyle ön plana çıkmaktadır (Bumagina vd., 2022). Birçok farklı

pozisyondan fonksiyonlandırılabilme özelliklerine sahip BODIPY bileşiği bu özelliği sebebiyle çok sayıda alanda kullanılmaktadır. Ayrıca, terapötik pencere aralığında duyarlı olmasının yanında BODIPY boya ları doğru fizyolojik pH değerine sahip oldukları kabul edilir ve daha birçok farklı özellikleri BODIPY boyalarını araştırma ve çalışma yürütme açısından daha ilgi çekici kılmaktadır(Canyurt, 2022).

3.4 BODIPY Bileşiklerinin Dezavantajları

İlk nesil PS'ler düşük seçicilik, uzun dalga boylarının zayıf Emilimi ve Ps'lerin aktif bileşenlerin karmaşık yapısı gibi temel dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajlardan, cilt yapısının hassaslaşması ve derin lezyonların verimli bir şekilde tedavi edilememesi gibi sonuçlar ortaya çıkmaktadır (Atılğan, 2006). PDT uygulaması için çok sayıda farklı ajan önerilmiştir fakat klinik olarak onaylanmış ajanların büyük çoğunluğu porfirinlere, ftalosiyaniinlere ya da klorinlere dayanmaktadır. Toplanma sorununun üstesinden gelmek için, şu anda spesifik ilaç dağıtım stratejileri takip edilmektedir(Aslanoğlu, 2022). Son dönemlerde biyoteknoloji çalışmalarında önem kazanmasına rağmen çok sayıda BODIPY molekülünün 600 nm'in altında dalga boylarında emisyon değerleri nedeniyle biyogörüntüleme için optimal eşiğin altında kaldığı raporlanmıştır. Ek olarak, sulu ortamlarda çözünürlük gösteren BODIPY bileşiklerinin sayısı oldukça azdır (Bayrak, 2023).

4. LİPİTLER

Lipitler, organik bileşiklerin heterojen bir grubudur. Lipitler eter, kloroform gibi solventlerle kolayca çözünebilirken, suda oldukça kısıtlı düzeyde çözünme gösterme gibi spesifik özelliklere sahiptir. Lipit partikülleri sulu ortamda çözünme yeteneklerine göre polar ve non polar olmak üzere iki sınıfa ayrılabilir. Polar lipitler kısıtlı da olsa su içerisinde çözünmektedir (Korkut, 2015). Amfipatik lipidler çift tabaka oluşturur. Tüm membran lipidleri amfipatiktir; yani hem hidrofilik (suyu seven) hem de hidrofobik (suyu sevmeyen) bir bölge içerirler. Bu nedenle, hidrofilik baş için en uygun ortam sulu ortamken, hidrofobik kuyruk lipid ortamda daha kararlıdır (Watson, 2015). Lipitlerin hidrofobik grubu asil zincir uzunluğu, simetrisi ve doymunluğu bakımından farklılık gösterir (Nsairat vd., 2022). Membran lipitlerinin amfipatik doğası, doğal olarak, hidrofilik başların sulu ortama doğru dışa doğru baktığı ve hidrofobik kuyrukların içe doğru birbirine baktığı çift tabakalar oluşturdukları anlamına gelir. Suyu yerleştirildiklerinde, membran lipitleri kendiliğinden, içinde ve dışında su bulunan ve küçük bir hücreye benzeyen bir çift tabakadan oluşan küreler olan lipozomları oluşturacaktır. Bu lipitler için en uygun konfigürasyondur, çünkü bu, tüm hidrofilik başların su ile temas halinde olduğu ve tüm hidrofobik kuyrukların bir lipit ortamında olduğu anlamına gelmektedir (Watson, 2015). Polar lipitler yapısında kolesterol, yağ asitleri, glikosfingolipitler ve gliserofosfolipitler bulundururken, nonpolar lipitler trigliseritler ve kolesterol esterleri içermektedir. Lipitler, plazmada basit veya kompleks olarak iki farklı formda bulunmaktadır. Örneğin kolesterol ve serbest yağ asitleri basit lipitlerdir. Gliserol ve kolesterolün yağ asitleri ile esterleşmesi sonucunda kompleks lipitler meydana gelmektedir (Korkut, 2015). Biyolojik zarlarda fosfolipidler (Watson, 2015), trigliserit (Korkut, 2015) ve steroller (kolesterol en bilinen sterol türüdür) olmak üzere üç çeşit lipit bulunmaktadır.

Fosfolipidler; Gliserol ve bir fosfat grubuna bağlı iki yağ asidi zincirinden oluşur (Watson, 2015). Gliserol molekülü yapısında üç adet hidroksil grubu içermektedir. Fosfolipidler bu gruplardan ikisi ile yağ asitleri ve diğer hidroksil grubuyla fosfat molekülünün esterleşmesi sonucunda meydana gelen hidrofobik özellikte bir yapıda olan lipit molekülleridir (Korkut, 2015). Gliserol içeren fosfolipidler, gliserofosfolipitler olarak da adlandırılmaktadır (Watson, 2015).

Trigliseritler (Triasilgliserol); Gliserol molekülünün yalnızca yağ asidi molekülleriyle esterleşmesi sonucunda oluşur. Trigliseritler, insanların temel enerji

deposudur. Trigliseritlerin hidrolize edilmesinin ardından, karaciğer ve özellikle kas dokusu için önemli bir enerji kaynağı olarak kullanılır (Korkut, 2015).

Kolesterol; Steroller çoğu bakteri zarında bulunmaz, ancak hayvan ve bitki zarlarının önemli bir bileşenidir (Watson, 2015). Bir membran lipid türevi olan kolesterol diğer lipid türlerine kıyasla farklı bir yapıda bulunmaktadır (Bilge, 2011). Kolesterol yapısında bir hidroksil grubu (hidrofilik 'baş' bölge), dört halkalı bir steroid yapısı ve kısa bir hidrokarbon yan zincirleri içermektedir (Watson, 2015). Kolesterol tek başına membran oluşturmamaya fazlaca katı moleküller bir yapıya sahiptir (Bilge, 2011).

Lipitler, sinyalleşme, enerji depolama ve zar oluşumunda kilit rol oynayan hücrelerin temel yapı taşlarıdır (Flores vd., 2020). Lipid nanopartiküller, katı lipid nanopartiküller (SLN'ler) ve nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLC'ler) olarak iki sınıfta incelenebilir. SLN'ler lipozomlar, emülsiyonlar ve polimer nanoyapılı malzemeler gibi geleneksel kolloidal yapılara bir alternatif olan nanotaşıyıcıdır (Mukherjee vd., 2009). SLN'ler, daha az toksiktir, biyo uyumluluğu yüksektir ve SLN'ler hidrofilik ve lipofilik ilaçları kapsülleme gibi çeşitli avantajlara sahiptir (Satapathy vd., 2021). Ancak SLN'lerde katı lipidin sertleşmesi ve ardından kristalleşmesinin, kapsüllenmiş ilaçların dışarı sızmasına neden olarak geniş zaman diliminde stabil yapının bozulmasına yol açması gibi devantajlarıda bulunmaktadır (Salel, 2022). Vücut sıcaklığında katı olan nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLC), SLN'lerin sınırlamaların üstesinden gelmek amacıyla katı lipid ve sıvı lipidlerin karışımından elde edilmektedir. NLC'ler aktif madde yüklemesinin SLN'ye göre daha fazla olması ile ön plana çıkmaktadır (Muller vd., 2007; Patel vd., 2012). Lipid türleri yapı olarak oldukça çeşitlidir ve dağılımları organizmalar arasında farklılık gösterir. Bu muazzam çeşitlilik, bu yapı taşlarının çeşitli kombinasyonlarının biyosentezinden kaynaklanır ve çok çeşitli işlevsel çıkarımlarla sonuçlanır (Flores vd., 2020). Oldukça önemli olmalarına karşın, lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi çeşitli biyomoleküllerden daha az araştırılmıştır. Lipid çalışmalarını görselleştirme için kullanılan tekniklerin göreceli yetersizliği çalışmaları zorlaştırmaktadır. Ayrıca lipid yapılarının çok sayıda yapısal çeşitliliği, ortak ekstraksiyon, saflaştırma, karakterizasyon ve analiz yöntemleriyle tüm çeşitleri tespit etmek mümkün değildir. Bu yüzden, lipidler hakkında elde edilen bilgiler genellikle, spesifik lipid bileşimlerine sahip sentetik zarların incelenmesine dayanmaktadır. Bu model zarlar çok az sayıda lipid türünden oluşur ve bu da oluşan lipidlerin spesifik özelliklerinin ve fonksiyonlarının daha iyi anlaşılmasını sağlar (Flores vd., 2020). Lipid bileşimi, boyut, yapı ve morfoloji, yüzey yükü ve yüzeylerini polimerler veya

ligandlarla işlevselleştirme olasılığı gibi kolayca kontrol edilebilen özelliklerle karakterize edilirler (Lombardo & Kiselev, 2022). Lipit tipine bağlı olarak (örneğin, tek yan zincirli lisolipidler), lipozomlar yerine kendi kendine birleşen lipid miselleri oluşturulabilir. Polimerik yüzey aktif madde misellerinin davranışlarına benzer şekilde, lipit miselleri, hidrofobik ilaçları, hidrofilik baş kısmı su ortamının dışına bakacak şekilde lipofilik bir çekirdek içinde kapsülleyebilir (Sun vd., 2023).

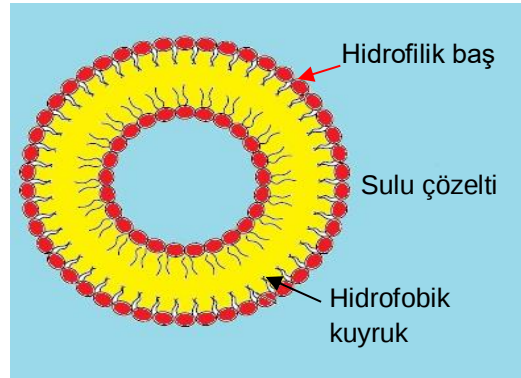


5. LİPOZOMLAR

Lipozomal yapılar ilk defa 1960'lı yıllarda Bengham tarafından keşfedilmiştir (Nsairat vd., 2022). 1971 yılında Gregoriadis ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma ile lipozomal yapıların ilaç dağıtım sistemi olarak kullanımının temeli oluşturulmuştur (Gregoriadis vd., 1971). İlerleyen yıllarda, lipozomlar üzerine en çok çalışılan ilaç taşıyıcı sistemlerden biri haline gelmiştir (Nsairat vd., 2022). Lipozomlar tıp alanında kullanılan ilk nanopartiküllerden biridir ve son dönemlerde, tıp alanında çeşitli yenilikçi özellikleri nedeniyle nanopartiküllere gösterilen ilgi artmaktadır (Sercombe vd., 2015). Lipozomların keşfinden sonra yapılan çok sayıda çalışmalarla birlikte farmasötik ürünler, biyomoleküller ve gen transferleri gibi birçok farklı alanda lipozomlar kullanılmıştır (Mehryar, 2022).

5.1 Lipozomların Yapısı

Küçük bir hücreye benzeyen bir çift tabakadan oluşan lipozomlar, membran lipidlerinin sulu bir ortama konduklarında içinde ve dışında su olacak biçimde küresel bir yapıda kendiliğinden oluşmaktadır (Şekil 5.1). Bu yapıda hidrofilik uçların su ile temas halinde olduğu ve hidrofobik bölgenin de bir lipid ortamında olduğu açıkça bilinmektedir (Watson, 2015).



Şekil 5.1 Lipozom yapısının şematik gösterimi

Kolloidal yapıda ve çok küçük boyutlara sahip olan lipozomlar tek veya iç içe birden daha fazla katmandan oluşabilir (Barut, 2020; Nsairat vd., 2022). Yapılan araştırmalar sonucunda klinik çalışmalar için onaylanan lipozomların çoğunlukla çaplarının 50-500 nm aralığında olduğu ve küresel kapalı zar kesecikleri gibi bir forma sahip oldukları

tespit edilmiştir. Lipozomal yapılar hücre membranlarına benzer olarak merkeze doğru hidrofilik, dışa doğru ise hidrofobik kısımlara sahiptir ve sulu ortamda çözünen molekülleri hidrofilik olan bölgede, lipofilik molekülleri ise hidrofobik bölgede kapsülleyerek taşıyıcı işlevi yapmaktadır (Barut, 2020; Kocabaş, 2017). Lipozomların sentezlenip elde edilmesi lipitlere dayanmaktadır (Kraft vd., 2014). Lipidler hidrofilik bir baş ve hidrofobik bir kuyruktan oluşurlar (Kocabaş, 2017). Literatürde doğal fosfolipid olarak fosfatidilkolin (PC), fosfatidilserin (PS), fosfatidiletanolamin (PE) ve fosfatidilgliserol (PG) sıkça kullanılmıştır. PC bir diğer adı ile lesitin, doğada bulunma oranı en yüksek olan fosfolipid türevidir ve ayrıca hücre yapısına benzerlik göstermektedir. Böylelikle PC vücut içerisinde ilaç taşıyıcı sistemlerde oldukça avantajlı bir fosfolipiddir (Mehryar, 2022). Fosfolipitlerden elde edilen lipozomal yapılarına eklenecek olan kolesterol ile membran geçirgenliği (Nsairat vd., 2022) tokoferol ile yağ asitlerinin stabilitesini koruma gibi özellikleri geliştirilebilir (Barut, 2020). Lipozomal yapılar doğal ya da sentetik fosfolipitlerden oluşabilir. Molekül boyutu, stabilite gibi özellikler Lipid bileşimi oranından doğrudan etkilenmektedir. Doğal doymamış PC'lerden (yumurta, soya fasülyesi gibi) elde edilen lipozomlarda yüksek geçirgenlik gözlemlenirken düşük stabilite özelliklerine sahiptirler. Fakat, doymuş PC'lerden (dipalmitoil lesitin gibi) elde edilen lipozomlar ise sert ve oldukça düşük geçirgenlik gibi özellikler sergilemektedir (Akbarzadeh vd., 2013). Lipozomların kapsülleme verimi, hidrofilik bileşiklerde lipozomal yapıların boyutları ile orantılı olarak artarken çift katmanların sayısına göre düşüş göstermektedir (Nsairat vd., 2022). Ayrıca lipozomların boyutu ve boyut dağılımı lipozomların vücuttan uzaklaştırılmasını etkileyen değişkenlerden biridir. Literatürde, büyük boyutlu lipozomların dolaşımdan uzaklaştırılma eğiliminin daha yüksek olduğu raporlanmıştır (Immordino vd., 2006).

5.2 Lipozomların Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

in vitro ve *in vivo* çalışmalarda lipozomal yapıların kimyasal ve fiziksel özellikleri yapılan bilimsel araştırmaları doğrudan etkileyebileceğinden lipozomal yapıların davranışları için karakterizasyon yüksek öneme sahiptir (Yücel, 2015). Lipozomların yapısı ve yapısal özellikleri sulu ortamda kendi kendine oluşum süreci içerisinde düzenlenmektedir (Lombardo & Kiselev, 2022). Lipitlerin türlerine ve oranlarına bağlı olarak çeşitli fizikokimyasal özelliklere sahip lipozomal yapılar hazırlanabilir

(Kocabaş, 2017). İlaçların lipozomların nano yapısına eklenmesiyle, onların kimyasal ve biyolojik bozunmasını engellenmesi hedeflenmektedir. Böylece, lipozomal nano yapılar terapötik etkinliğin artışına neden olmaktadır (Lombardo & Kiselev, 2022). Ayrıca, lipozomaların polietilen glikol (PEG) ile modifikasyonun, farmakokinetik özelliklerin değiştirilebilmesi için yararlı olduğu belirtilmiştir (Nsairat vd., 2022). Lipozomal nano taşıyıcıların kompozisyon ve yük gibi fizikokimyasal özellikleri, lipitlerin adjuvanın bağışıklık sistemi uyarıcı özelliklerini de etkilemektedir (Soema vd., 2015).

5.3 Lipozom Çeşitleri

Lipozom yapılarına göre, boyutlarına ve tabaka sayılarına göre küçük tek katmanlı veziküller (SUV) büyük tek katmanlı veziküller (LUV), çok katmanlı veziküller (MLV) ve çok veziküler veziküller (MVV) olarak dört temel sınıfa ayrılmaktadırlar (Barut, 2020; Nsairat vd., 2022). Lipozomlar tek katmanlı yapıda tekli fosfolipid çift tabakası, çok katmanlı yapıda soğan benzeri bir formda çok sayıda çift tabakaya sahiptir. Ayrıca, kompozisyonlarına ve uygulamalarına bağlı olarak, lipozomlar geleneksel lipozomlar, yüklü lipozomlar, görünmez kararlı lipozomlar, aktif olarak hedeflenen lipozomlar ve uyaranlara duyarlı lipozomlar olarak özel bir sınıflandırma yapılabilir (Nsairat vd., 2022).

5.4 Lipozomların Avantaj ve Dezavantajları

Lipozomal yapıların vücutta biyogüvenlik, biyouyumluluk ve stabilite gibi çeşitli avantajları bulunmaktadır (Kocabaş, 2017). Hem hidrofilik hem de lipofilik uçlara sahip olan lipozomlar çok sayıda farklı biyomolekülü kapsülleme yeteneği göstermektedir (Lombardo & Kiselev, 2022). Amfifilik yapıda olması nedeniyle lipozomların taşıyıcı sistem olarak kullanımı öne çıkmaktadır. Bu yapısı sayesinde hidrofilik ya da lipofilik ilaçların vücut içinde hedefli iletimi için kullanılmaktadır (Mehryar, 2022). Ayrıca proteinler ve polimerlerle lipozomal yapıların dolaşım yarı ömürlerini uzatmak, dağılım profilini geliştirmek ve kapsüllenmiş ilaç etkinliğini artırmak mümkündür (Mori vd., 1991). Lipozomal yapıların çok sayıda avantajının olmasının yanı sıra birkaç dezavantajı da

bulunmaktadır. Bunlardan ilki üretim maliyetinin yüksek olmasıdır. Lipozomal yapıların sentez sürecinde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik olarak stabilitesi sürdürülmeli aksi takdirde ilaç yüklenmiş lipozomların depolama stabilitesi etkinliğini kaybedebilir. Bazı lipozomal yapılar zamanla stabilitesini kaybeder ve içerisinde kapsüllenmiş olan ilaç partiküllerinin kaybedilmesine neden olmaktadır (Duong vd., 2021). Burada yüklenmiş olan lipozomların raf ömürlerini artırmak amacıyla liyofilizasyon ve pegilasyon gibi çeşitli metotlar kullanılmaktadır (Mehryar, 2022). Lipozomların avantaj ve dezavantajları tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 5.1 Lipozomların avantaj ve dezavantajları

LİPOZOMLARIN AVANTAJ VE DEZAVANTAJLARI	
Avantajları	Dezavantajları
İlacın etkinliği ile terapötik indeksi artar	Çözünürlüğü düşüktür
Kapsülleme ile etken madde stabilitesi artırılabilir	Lipozom içindeki fosfolipidler oksidasyon ve hidroliz reaksiyonlarına uğrayabilirler
Sistemik ve sistemik olmayan uygulamalar için toksik, ümmünojenik değildir, esnektir, biyouyumludur, biyolojik olarak parçalanabilir.	Kapsüllenmiş ilacın sızıntısı ve füzyonu söz konusu olabilir
Kapsüllenmiş maddelerin toksisitesini azaltır	Yarılanma ömrü kısadır
Hassas dokuların toksik ilaçlara maruziyetini azaltır	Üretim maliyeti yüksektir

(Akbrzadeh ve ark., 2013).

5.5 Lipozomların Kullanım Alanları

Lipozomlar, biyouyumlulukları, kararlı yapıları, kolay sentezlenebilir olmaları ve yüksek ilaç kapsülleme verimi (Nsairat vd., 2022) gibi çeşitli nedenlerle biyomedikal, kozmetik, ilaç endüstrileri ve daha birçok farklı alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Kocabaş, 2017). Son zamanlarda biyomedikal ve nanotıp uygulamalarında daha sık kullanılmaya başlanan nano lipozomal yapılara kolloidal kararlılıkları ile etkili hedeflemeleri ve dağıtımları gibi etkileyici özellikleri nedeniyle gösterilen ilgi

artmaktadır (Lombardo & Kiselev, 2022). İlaç taşıyıcı sistemlerden biri olan lipozomlar boyutları, hidrofobik ve hidrofilik özellikleriyle ilaç partiküllerinin kapsüllenmesi ve kullanımında oldukça ilgi çekici bir platform olarak değerlendirilmektedir. Çeşitli lipozomal yapıda ilaç taşıyıcı sistemler, Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır (Nsairat vd., 2022). Nanotıp uygulamalarına gösterilen ilginin artması sonucunda lipit-ilac çalışmaları hız kazanmıştır. Bu çalışmalarla ilaç etki verimlerini iyileştirmeye ve hedef dışı bölgelerin olumsuz olarak etkilenmesinin önüne geçilmeye çalışılmıştır (Kraft vd., 2014).

5.6 Lipozomların Hazırlanmasında Kullanılan Lipitler

Lipozomların hazırlanırken kullanılan lipitler doğal, sentetik, steroid ve yüzey aktif maddeler olarak dört ana başlıkta sınıflandırılabilir (Cipolla vd., 2014; Daraee vd., 2016; Monteiro vd., 2014).

1. Doğal lipitler

Gliserofosfolipidler ökaryotik hücrelerin membran çift tabakasının esas olarak bileşenini oluşturur. Fosfolipitler, bir fosfat grubu, iki yağ asidi molekülü ve onlara bağlanmış bir gliserol birimi içermektedir. Soya fasulyesi, yumurta sarısı gibi farklı birçok kaynaklardan doğal fosfolipitler hazırlanabilir.

2. Sentetik lipitler

Sentetik fosfolipitler, doğal fosfolipitlerin polar ve apolar bölgelerinin modifikasyonu sonucunda elde edilmektedir. Gerçekleştirilen modifikasyonlar sonucunda, çok sayıda fosfolipit hazırlanabilir. Başlıca doymuş sentetik fosfolipidler, stearik ve/veya palmitik yağ asidi kullanımına dayanmaktadır.

3. Steroid

Hidrofobik özellikler gösteren Steroidler dört halkalı yapıdan oluşan lipitlerdir. Bu halkalara bağlı olarak çeşitli Steroidler hazırlanmaktadır. Lipozomal yapıların elde edilmesi için çoğunlukla kullanılan temel Steroid kolesteroldür. Kolesterol, lipozomların çift katlı lipit tabakasına dahil olmaktadır.

4. yüzey aktif maddeler

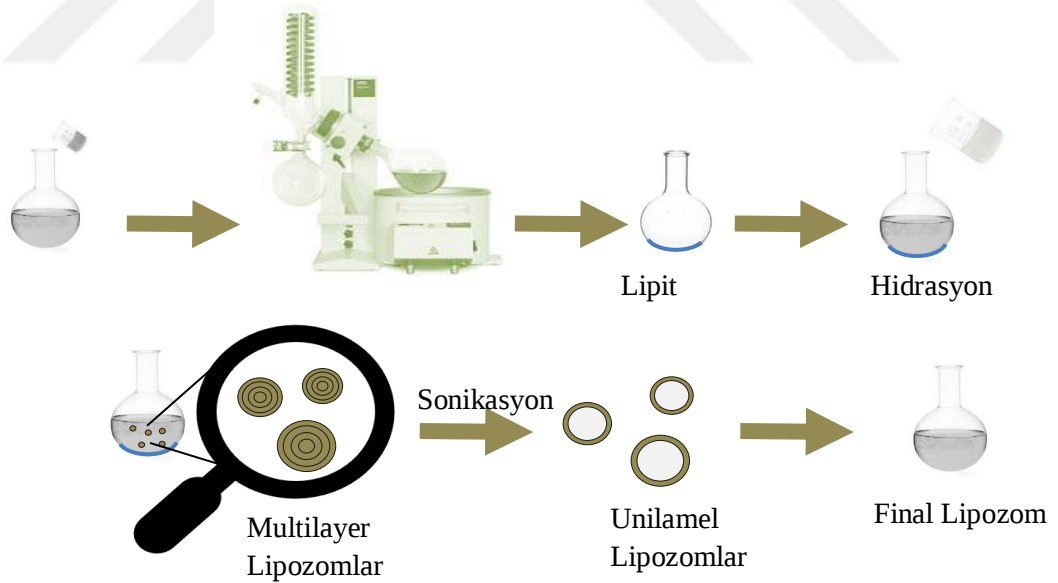
Yüzey aktif maddeler, yüzey geriliminin azaltılması yoluyla lipozomların kapsülleme ve salma özelliklerini değiştirmek için lipozom formülasyonlarında kullanılmıştır (Cipolla vd., 2014; Daraee vd., 2016; Monteiro vd., 2014; Nsairat vd., 2022).

5.7 Lipozomların Hazırlanma Yöntemleri

Lipozomal yapılar İnce film hidrasyon yöntemi, Ters fazlı buharlaştırma yöntemi, Solvent enjeksiyon yöntemleri, Deterjan çıkarma yöntemi ve Dehidrasyon-rehidrasyon yöntemleri gibi çok sayıda farklı yöntem kullanılarak elde edilebilir. Lipozom üretim süreci ve fosfolipid tipi sentezlenmiş olan lipozom'un özelliklerini etkilemektedir (Pradhan vd., 2015).

1. İnce film hidrasyon yöntemi:

İnce film hidrasyon yöntemi aynı zamanda Bangham metod olarakta adlandırılmaktadır. İnce film hidrasyon yönteminde fosfolipitler, kolesterol ve hidrofobik ilaçlar bir organik solvent içinde çözündürülür daha sonra rotary evaporator cihazı kullanılarak organik solvent uzaklaştırılır ve lipit ince filmler elde edilmiş olur (Lombardo & Kiselev, 2022; Nsairat vd., 2022). Ardından, çeperlerde oluşmuş olan kuru lipit film sulu tampon çözeltiyle hidratlanır. Bu yöntem kullanılarak çeşitli boyut ve şekile sahip çok katmanlı lipozomal yapılar sentezlenmektedir. İnce film hidrasyon yöntemi ile lipozom oluşturma Şekil 5.2'de (Nsairat vd., 2022).



Şekil 5.2 İnce Film Hidrasyon Metodu ile Elde Edilen Lipozomun Hazırlanması

2. Ters fazlı buharlaştırma yöntemi:

İnce film hidrasyon yöntemine bir alternatif olarak Ters fazlı buharlaştırma yöntemi kullanılmaktadır. Emülsiyon oluşturma temeline dayanmakta olan bu yöntemde

lipitler organik bir solvent ile çözüldükten sonra içerisinde hidrofilik ilaç bulunan sulu tampon çözelti ile karıştırılır ve ardından organik solvent rotary evaporatör yarımınıyla uzaklaştırılır. Böylece sulu çözelti içerisinde lipit tabakaları elde edilmektedir (Nsairat vd., 2022).

Çeşitli lipozom sentez yöntemleri aşağıda belirtilmiştir;

3.Solvent Enjeksiyon Yöntemi (Lombardo & Kiselev, 2022)

3.1. etanol enjeksiyonu Yöntemi (Lombardo & Kiselev, 2022)

3.2. Eter Enjeksiyon Yöntemi (Lombardo & Kiselev, 2022).

4. Deterjan Çıkarma Yöntemi (Nsairat vd., 2022)

5. Dehidrasyon-Rehidrasyon Yöntemi (Nsairat vd., 2022)

6. Isıtma Yöntemi (Nsairat vd., 2022)

7. pH Atlama Yöntemi (Nsairat vd., 2022)

8. Mikroakışkan Kanal Yöntemi (Nsairat vd., 2022)

9. Süperkritik Akışkan Yöntemi(Nsairat vd., 2022).

Nano lipozomal yapıların eldesi için kullanılan yöntemlerin ana hedefleri, monodispers partiküllerin oluşumu (dar bir boyut dağılımı ile), etkin ilaç katılımı ve ürünlerin uzun vadeli koloidal stabilitesidir (Lombardo & Kiselev, 2022). Membran geçirgenliğini arttırmak için kolesterol gibi sterollerle birleştirilmişlerdir (Mehryar, 2022).

Geleneksel yöntemlerde, başlangıçta uçucu bir organik çözücü içinde çözülmüş olan lipozomlar, daha sonra sulu bir faz ile karıştırılır. Organik bir çözücünün varlığı, dahil edilen aktif bileşiklerin kimyasal özelliklerini bozabilir veya üretilen nanoformülasyonun stabilitesini (veya toksisitesini) etkileyebilir.

Lipozomların hazırlanmasına yönelik geleneksel yöntemler aşağıdaki ana aşamaları içerir:

1. Lipidlerin organik bir çözücü içinde çözünmesi;
2. Elde edilen lipidik çözeltinin organik çözücünden kurutulması;
3. Lipitin sulu bir ortamla hidratlanması (ardından çalkalama/karıştırma);
4. Küçültme (ve/veya katmanlı yapıdaki değişiklik);
5. Post-formasyon işlemi (saflaştırma, sterilizasyon);
6. Nihai nanoformülasyon ürününün karakterizasyonu.

Lipozom sentezler için yeni teknolojiler ve yöntemler araştırılmaktadır. Geleneksel lipozom sentezlerinde yüksek kapsülleme verimlilikleri elde etmek zorlayıcı bir

durumdur. Son zamanlarda lipozom nano formülasyonlarının üretimi için yeni teknolojiler geliştirilmiştir (Lombardo & Kiselev, 2022). Bu yöntemler arasında;

1. dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) Yöntemi (Liyofilizasyon veya dondurarak kurutma,)

2. Yoğun Gaz Teknolojisi: Süperkritik Akışkan Destekli Yöntemler

2.1. Süperkritik Ters Fazlı Buharlaştırma (SC-RPE) Yöntemi

2.2. Süperkritik Anti-Solvent (SAS) Yöntemi

2.3. Süperkritik Çözüm (RESS) Yönteminin Hızlı Genişletilmesi

2.4. Süperkritik Destekli Lipozom Oluşumu (SuperLip) Yöntemi

2.5. Genişletilmiş Sıvı Organik Çözeltilinin Sulu Süspansiyon (DELOS) Yöntemine Göre Basıncının Düşürülmesi

3. Mikroakışkan (Kanal) Yöntemleri

4. Membran Kontaktör Yöntemi gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır (Lombardo & Kiselev, 2022; Nsairat vd., 2022).

Lipofilik (lipid çift tabakası içinde), hidrofilik (sulu çekirdekte) ve amfifilik (çift tabaka yüzeyinde bölünmüş) ilaçların verimli bir şekilde taşınması ve salınması için uygun nanoformülasyonlar oluşturmak lipozom oluşturma işleminin ana amaçlarından biridir (Lombardo & Kiselev, 2022). Lipozomların ilaç yüklemesi, pasif veya aktif yaklaşımlarla elde edilebilir (Nsairat vd., 2022). Pasif yükleme yönteminde ilaçlar lipozomların hazırlanması sırasında yüklenir. Bu yöntem çözücü dispersiyon, mekanik dispersiyon ve deterjan giderme yöntemleri ile gerçekleştirilebilir (Lombardo & Kiselev, 2022). Pasif yükleme, lipid çift tabaka oluşumu sırasında lipozomların sulu çekirdeğinde hidrofilik ilacı hapsederken, hidrofobik ilaçlar küçük boyutlu hidrofobik lipid çift tabakasında birikir (Nsairat vd., 2022). Lipozom hazırlığından sonra ilaçları dahil eden aktif yükleme yöntemleri, genellikle uygun tamponların eklenmesini içerecek şekilde lipozomların yüzeyi boyunca oluşturulan bir gradyanın (gradyan yükleme) difüzyon özelliklerinden yararlanır. Aktif yükleme, liyofilizasyon ile elde edilebilir, burada oluşan lipozomlar, lipidlerin organik fazdan sulu fazlara aktarılmasıyla üretilir (Lombardo & Kiselev, 2022). Lipozomal yapıda ilaç kapsüllemesi için en kolay yöntem lipid film hidrasyon methodudur. Ayrıca bu yöntem, Bengham ve arkadaşları tarafından raporlanmış ilk ilaç kapsülleme prosedürüdür (Dalgıç, 2014).

6. MATERYAL VE METOT

6.1 Kullanılan Maddeler

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasallar ve çözücüler tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 6.1 Kullanılan kimyasallar ve Çözücüler

Kimyasal ismi	Üretici
2,4-dimetilpirol	Sigma Aldrich
Süksinik anhidrit	Sigma Aldrich
Bortriflorürün dietileter kompleksi (BF ₃ .OEt ₂)	Merck
Toluen	Carlo Erba
Trietilamin (Et ₃ N)	Carlo Erba
Magnezyum sülfat (MgSO ₄)	Sigma Aldrich
Hekzan	Sigma Aldrich
Etil asetat (EtOAc)	Sigma Aldrich
Hidroklorik asit (HCl)	
Metanol (MeOH)	Merck
İyot (I ₂)	Carlo Erba
İyodik asit (HIO ₃)	Acros Organic
Lizofosfatidilkolin (1-palmitoyl-2- hidroksi-sn-glisero-3-fosfokolin)	Avanti
1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid (EDC)	Sigma Aldrich
4-dimetilamino piridin (DMAP)	Sigma Aldrich
N, N-diizopropiletilamin (DIPEA)	Alfa Easer
Diklorometan (DCM)	Sigma Aldrich
Kolesterol	Avanti
1,2 distearoil-sn-glisero-3- fosfoetanolamin-N-methoxy polietilen glikol-2000 (DSPE mPEG-2000)	Avanti
Kloroform	Sigma Aldrich

Sodyum klorür (NaCl)	Sigma Aldrich
Fosfat tamponlu salin (PBS)	Oxoid
9,10-Anthracenediyl- bis(methylene)dimalonic acid (ABDA)	Sigma Aldrich
Metilen Mavisi	Merck

6.2. Kullanılan Cihazlar

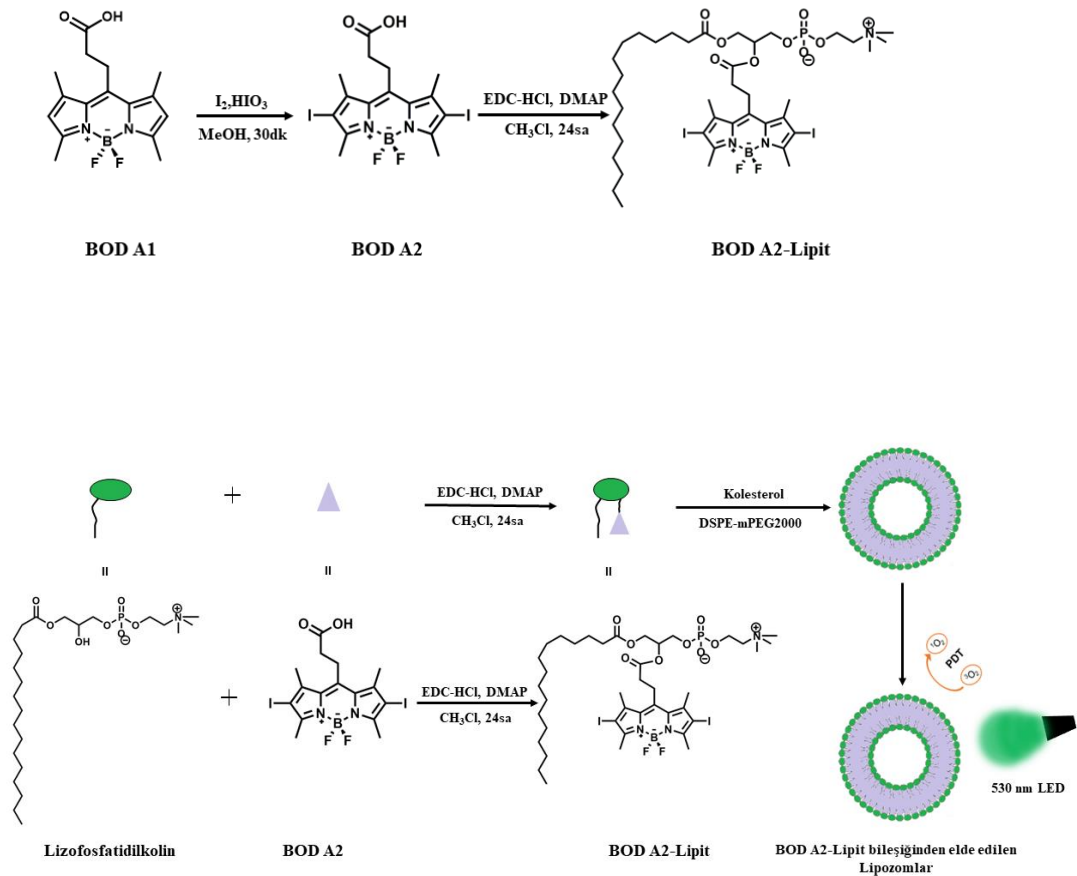
Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin karakterizasyonunda tablo 3’de verilen cihazlar kullanılmıştır.

Tablo 6.2 Bileşiklerin Karakterizasyonu için Kullanılan Cihazlar

Adı	Modeli	Bulunduğu Yer
¹ H-NMR Spektrumu	Jeol (400 MHz) JNM-ECZ400S/L1	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi
¹³ C-NMR Spektrumu	Jeol (400 MHz) JNM-ECZ400S/L1	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi
UV/Vis Spektrofotometre		Sivas Cumhuriyet Üniversitesi
Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	Tescan MIRA3 XMU	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi
Kuadrupol Sıvı Kromatografi Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometre (Q-TOF MS)	Agilent 6530	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi
Dinamik Işık Saçılım Spektrometresi (DLS)		Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

6.3. Yöntem

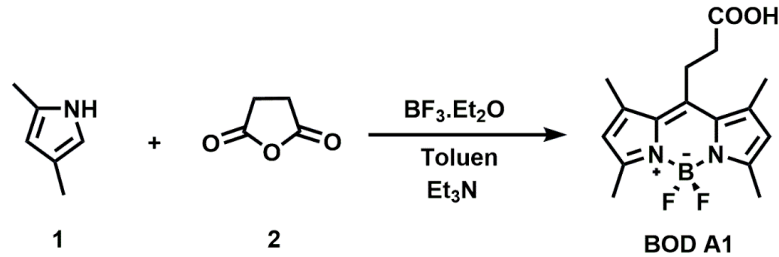
Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen BOD A2-Lipit konjugatından elde edilmiş lipozomal yapıların sentezine dair şematik görüntü Şekil 6.1’ de verilmiştir. Ayrıca yapılan tüm sentez ve ölçümlere ait deneysel çalışmalar aşağıda sırasıyla verilmiştir. Özetle, lipozomal yapıların sentezlenmesi için öncelikle mezo pozisyonunda serbest alifatik karboksilik asit grubuna sahip BODIPY türevi bir bileşik sentezlenmiştir (BOD A1). Daha sonra BOD A1 -2 ve -6 pozisyonlarından diiyotlanarak BOD A2 bileşiği bir ps olarak sentezlenmiştir. BOD A2 bileşiği ile Lyso PC 16’dan coupling reaksiyonu ile BOD A2-Lipit konjugatı sentezlenmiş ve bu konjugat kullanılarak nihai lipozomal yapıların sentezi gerçekleştirilmiştir ve PDT özellikleri araştırılmıştır.



Şekil 6.1 BOD A2-Lipit konjugatının ve lipozomal yapıların sentezi ve çalışma prensibi.

6.3.1. Karboksilik Asit Grubuna Sahip BODIPY Türevinin Sentezi (BOD A1)

Mezo pozisyonunda serbest alifatik karboksilik asit grubuna sahip bir BODIPY türevi bileşiği (BOD A1) sentezlemek amacıyla öncelikle 80°C’de manyetik karıştırma (500 rpm) koşulunda 40 mL toluen içerisinde 2,4-dimetilpirol (1.0 mL, 10 mmol) ve süksinik anhidrit (400 mg, 4.0 mmol) eklendi. Daha sonra, inert gaz atmosferinde 5 saat karışmaya bırakıldı. Ardından, temel BODIPY iskeletini oluşturmak amacıyla 25 °C’ye soğutulan reaksiyona önce BF₃.OEt₂ (5 mL, 40 mmol) ve daha sonra trietilamin (Et₃N) (10 mL, 80 mmol) damla damla eklenmiştir. Sonrasında reaksiyon çözeltisi oda sıcaklığında 16 saat karıştırılmaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda 60 mL 0.1 M HCl sulu çözeltisi ile reaksiyon durduruldu. Ardından reaksiyon bileşiği DCM (CH₂Cl₂) ile ekstrakte edilerek organik faz ayrıştırıldı ve ayrılan organik faz MgSO₄ üzerinde kurutuldu. Ekstraksiyon işleminden sonra organik çözücü rotary evaporatör kullanılarak uzaklaştırıldı. Reaksiyon sonucunda elde edilen ürün (**BODIPY A1**) flaş silika kolon kromatografisi kullanılarak uygun çözücü kombinasyonunda (EtOAc:hekzan) saflaştırıldı (%27). Son olarak saflaştırılmış olan BOD A1 bileşiği 4 °C’de saklanmıştır (Şekil 6.2) (Ambroz vd., 2019; Lim vd., 2010; Niu & Aisa, 2017).

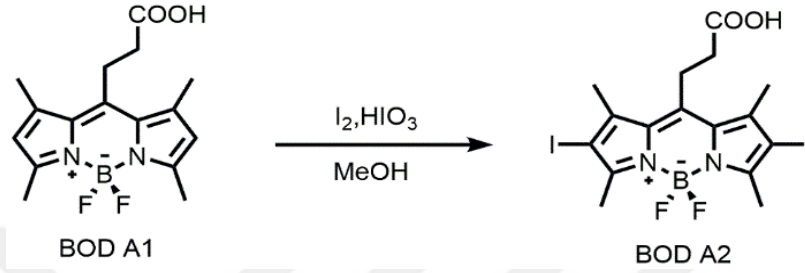


Şekil 6.2 BOD A1 Bileşiğinin Sentez Şeması.

6.3.2 BOD A2 Bileşiğinin Sentezi

Bu tez çalışmasında PS olarak kullanılacak olan BOD A2 bileşiğinin sentezlenmesi için önceki basamakta sentezlenmiş olan BOD A1 (600 mg, 1.87 mmol) bileşiği bir reaksiyon balonuna alınarak 200 mL MeOH içerisinde çözüldü. Sonrasında çözünen maddeye sırasıyla iyot (I₂) (1.24 g, 4.87 mmol) ve iyodik asit (HIO₃) (660 mg, 3.75

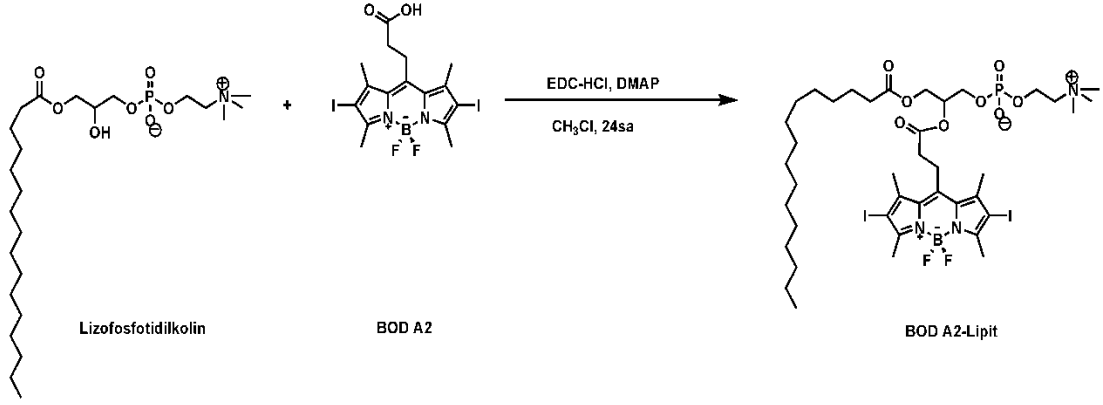
mmol) (HIO_3 3 mL deiyonize su içinde çözünerek karışıma yavaş biçimde ve sıvı formda) ilave edildi. Ardından, karışım oda sıcaklığında 30 dakika karıştırılmaya bırakıldı. Daha sonra MeOH indirgenmiş basınç altında uzaklaştırıldı ve BOD A2 bileşiği flaş silika kolon kromatografisi kullanılarak uygun çözücü kombinasyonunda (EtOAc:hekzan) saflaştırıldı (Şekil 6.3) (Lim vd., 2010).



Şekil 6.3 BOD A2 Bileşiğinin Sentez Şeması.

6.3.3 BOD A2 – Lipit Konjugatının Sentezi (BOD A2-Lipit)

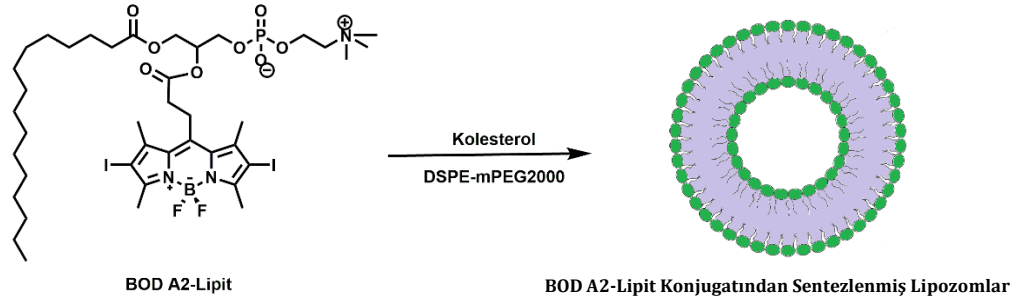
Lizofosfatidilkolin (1-palmitoly-2-hidroksi-sn-glisero-3-fosfokolin) ile serbest karboksil grubu içeren BOD A2 bileşiğinin esterleşme reaksiyonu ile konjugasyonu için 1 mL susuz diklorometan içine, 100 nmol Lizofosfatidilkolin, 100 nmol **BOD A2**, 50 nmol 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid (EDC) ve 25 nmol 4-dimetilamino piridin (DMAP) sırayla eklendi ve ardından 24 saat inert gaz atmosferinde karıştırmaya bırakıldı. Daha sonra organik solvent indirgenmiş basınç altında uzaklaştırıldı. Elde edilen **BOD A2-Lipit** bileşiği Diol-fonksiyonelleştirilmiş silika jel kolon (DCM içinde %1 %2 ve %5 %8 metanol ile gradient sistemde) sistemi kullanılarak saflaştırıldı (Şekil 6.4) (Cheng vd., 2019; Lovell vd., 2011).



Şekil 6.4 BOD A2-Lipit Konjugatının Sentez Şeması.

6.3.4 BOD A2-Lipit Konjugatından Lipozomların Sentezi

İnce film hidrasyon metodu kullanılarak BOD A2-Lipit konjugatından lipozomlar sentezlenmiştir. Bu amaçla bir önceki adımda sentezlenmiş olan saf **BOD A2-Lipit**, kolesterol ve DSPE PEG-2000 ayrı ayrı kloroform içerisinde çözüldü. Daha sonra, yüzdece birleşim oranları sırasıyla %90, %5, %5 **BOD A2-Lipit**, kolesterol, DSPE PEG-2000 bileşenleri olacak biçimde karışım vortex yardımıyla disperse edilmiştir. Daha sonra organik solvent evaporatör kullanılarak uygun geçiş sıcaklığında uzaklaştırılmış ve solventin uzaklaşmasıyla deney tüpü yüzeyinde ince lipit film tabakası oluşturulmuştur. Daha sonra elde edilen lipit film tabakası hidratlama işlemine kadar -20 °C’de saklandı. Sonrasında lipit film tabakası PBS tamponda (pH 7.4) ve ultrasonik banyo yardımıyla hidratlanmıştır. Lipozomal yapıların eldesi için hidratlanmış olan solüsyon seri olarak sıvı azot içerisinde tamamen dondurulup daha sonra 65 °C yeniden ısıtılarak dondurma-çözme (Freeze-Thaw) işlemi (minimum 5 defa) tekrarlar halinde sürekli olarak yapılmıştır. Ayrıca lipozomal yapıların düzenli bir biçimde oluşumunu sağlamak amacıyla hidratlanmış olan solüsyona her bir dondurma-çözme işlemi arasında sonikasyon uygulanmıştır. Sonrasında, Lipozom yapılarını elde etmek için 65 °C sıcaklığa sahip manyetik karıştırıcı üzerinde, bir mini ekstürüder (içerisinde 200 nm’lik bir polikarbonat membran bulunduran) kullanılarak solüsyon 10 defa ekstürüde edildi. Ardından elde edilen lipozomlar inert gaz ortamında +4 °C’de saklanmıştır (şekil 6.5) (Jin, 2015; Jin vd., 2013; Liu vd., 2010).



Şekil 6.5 BOD A2-Lipit Bileşiğinden Lipozomların Sentez Şeması.

6.3.5 BOD A2-Lipit Konjugatından Elde Edilmiş Lipozomların PDT Özelliklerinin Araştırılması

BOD A2-Lipit Bileşiğinden sentezlenmiş olan **Lipozomların** PDT özelliklerinin araştırılmasında UV-VIS spektrofotometre kullanılmıştır. Öncelikle, BOD A2-Lipit bileşiğinden sentezlenmiş olan **Lipozomların** UV-VIS spektrofotometre ile maksimum absorbands değeri ölçülmüştür. Daha sonra absorbands değeri yaklaşık 1 olacak şekilde DMSO içerisinde karanlık bir ortamda ABDA tuzak molekülü çözeltisi hazırlanmıştır. Sonrasında Sentezlenmiş nano lipozomal yapılar 4 mL Fosfat tamponlu salin (PBS) (pH=7,4) ve 4 mL deiyonize su içerisinde sonike edilmiş ve 0.5 mg/mL derişime sahip stok çözelti elde edilmiştir. Sırasıyla 490 μ L (0.5 mg/mL) stok çözelti ile 10 μ L ABDA tuzak molekülü 500 μ L hacime sahip kuvars UV küveti içersine eklenmiştir. İlk olarak herhangi bir ışık uygulaması yapılmadan UV-VIS spektrofotometre ile absorbands ölçümü alınmış. Ardından 530 nm dalga boyunda LED ışık uygulanmıştır ve 10 dk'lık aralıklarla UV-VIS spektrofotometre ile absorbands ölçümü alınmıştır. Bu ölçümlerle ABDA tuzak molekülünün absorbandsında ki düşüş takip edilmiştir.

6.3.6 BOD A2-Lipit Konjugatından Elde Edilmiş Lipozomların Singlet oksijen Kuantum Verimlerinin Hesaplanması

Singlet oksijen kuantum verimi literatüre göre hesaplanmış ve hesaplamada kullanılan eşitlik aşağıda verilmiştir (Kölemen, 2014).

$$\Phi(\text{BOD}) = \frac{m(\text{BOD})}{m(\text{ref})} \times \frac{F(\text{ref})}{F(\text{BOD})} \times \frac{PF(\text{ref})}{PF(\text{BOD})} \times \Phi(\text{ref})$$

Φ : Singlet oksijen kuantum verimi

m: Tuzak molekül ABDA'nın ışınlama süresi boyunca maksimum absorptansındaki düşüşün eğimi

F: Absorpsiyon düzeltme faktörü, $F = 1 - 10^{-OD}$ (OD ışınlama dalga boyu)

$\Phi(\text{ref})$: 550-700 nm dalga boyu aralığında absorptans değerine sahip metilen mavisinin singlet oksijen kuantum verimi sulu ortam için ~0.50 olarak alınmıştır (Xu vd., 2024; Yılmaz, 2019).

PF: Absorplanan foton akısı (absorbed photon flux) birim alana her bir saniyede gelen foton sayısı

$$H \left(\frac{W}{m^2} \right) = PF \times \frac{hc}{\lambda} (J)$$

H: Birim alandaki güç. Bu çalışma için kullanılan LED lambaların güçleri Edmund Optics Deluxe Power Meter kullanılarak ölçülmüştür. Ölçülen **H** değerleri 530 nm ve 660 nm dalga boylarındaki LED lambalar için sırasıyla 1,7 mW/cm² ve 2,8 mW/cm² dir.

h: Planck sabiti

c: Işık hızı

λ : Dalga boyu

Lipozomların singlet oksijen kuantum verimlerinin hesaplanması amacıyla bölüm 6.3.5'te yapılan deneysel çalışmanın aynısı lipozomlar yerine referans bileşik olarak metilen mavisi ile tekrarlanmıştır. Böylece yukarıda verilen eşitlik kullanılarak lipozomların sulu ortamda singlet oksijen kuantum verimleri 0.30 olarak hesaplanmıştır.

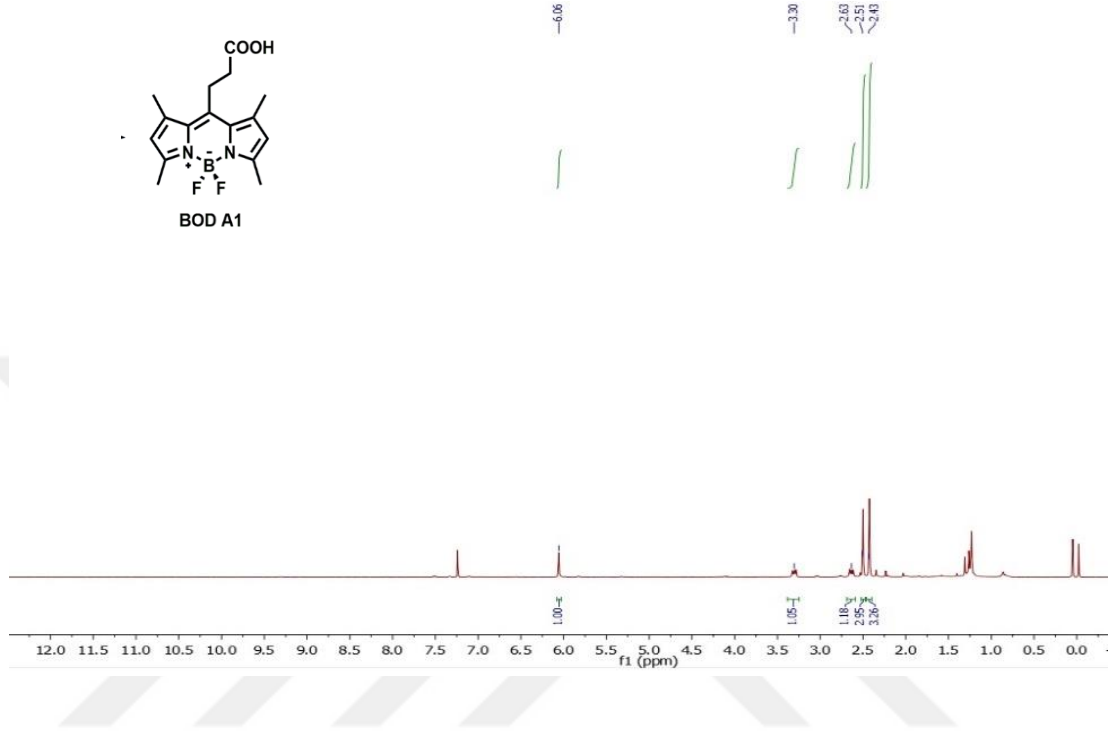
7. BULGULAR

Bu tez çalışması kapsamında bir PS olan BODIPY bileşiği ile bir lipit bileşiğinin konjuge edilmesi sonucunda elde edilen BODIPY-Lipit konjugatı kullanılarak lipozomal yapıların sentezlenmesi ve sonrasında bu yapıların PDT özelliklerinin araştırılması hedeflendi. Bu amaç doğrultusunda, öncelikle BOD A1 bileşiği inert gaz atmosferinde sentezlenmiştir. Bu tez çalışmasının temel amacı olan BOD A2-Lipit Bileşiğinden sentezlenmiş olan **Lipozomların** PDT özelliklerinin araştırılması için sentezlenmiş olan PS bileşiğinin singlet oksijen üretmesi gerekmektedir ancak bu yapıda bulunan BOD A1 bileşiği singlet oksijen üretememektedir. Bu bileşiğe, ağır atom etkisi oluşturacak iyot gibi bir elementin bağlanmasıyla bu bileşik singlet oksijen üretebilir. Bu yöntem çoğu zaman BODIPY türevi bileşikleri bir PS' e dönüştürmek için sıklıkla tercih edilir. Böylelikle BOD A1 bileşiğine iyot bağlanarak BOD A2 bileşiği sentezlendi. Sonrasında karboksilik asit fonksiyonel grubu taşıyan BOD A2 bileşiği ile EDC, DMAP varlığında lizofosfatidilkolinin hidroksil grubu arasında meydana gelen eşleşme (coupling) reaksiyonu üzerinden bir ester yapısı oluşturularak BOD A2-Lipit konjugatı sentezlenmiştir. Son olarak Çalışmanın nihai hedefi olarak BOD A2-Lipit konjugatından lipozomal yapılar ince film hidrasyon yöntemi kullanılarak sentezlenmişlerdir. Böylelikle, bu çalışma kapsamında BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomlar ilk defa sentezlenmiş ve PDT özellikleri gösterdiği tespit edilmiştir.

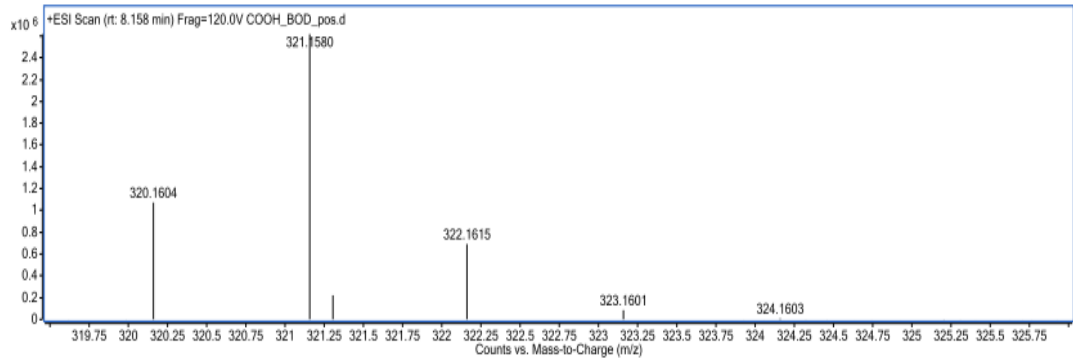
7.1 BOD A1 Bileşiğinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Çalışmanın ilk aşamasında elde edilen BOD A1 bileşiği materyal metot kısmında anlatıldığı gibi sentezlenmiştir ve daha sonra karakterize edilmiştir. Bu kapsamda BOD A1 bileşiği ¹H-NMR spektroskopisi (Şekil 12) ve yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi (HRMS) (Şekil 13) kullanılarak karakterize edilmiştir. Bu amaçla öncelikle sentezlenmiş olan organik bileşiğin moleküler yapısı hakkında bilgi sahibi olmak için NMR cihazı (Jeol (400 MHz) JNM-ECZ400S/L1) kullanılmıştır. Daha sonra Kuadrupol Sıvı Kromatografi Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometre (Q-TOF MS) cihazı kullanılarak aynı bileşiğe ait kütle belirlenmiştir. Buna göre elde edilen ¹H-NMR spektrumu ve kütle spektroskopisinin sonuçlarından BOD A1 bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiği belirlenmiştir ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δH 6.06

(2H, s), 3.30 (2H, t), 2.63 (2H, t), 2.51 (6H, s), 2.43 (6H, s) (Şekil 7.1). MS HRMS (TOF-ESI): m/z hesaplanan: 321.1586; bulunan: 321.1580 $[M+H]^+$, $\Delta = 1.8$ ppm (Şekil 7.2) (Ambroz vd., 2019; Lim vd., 2010).



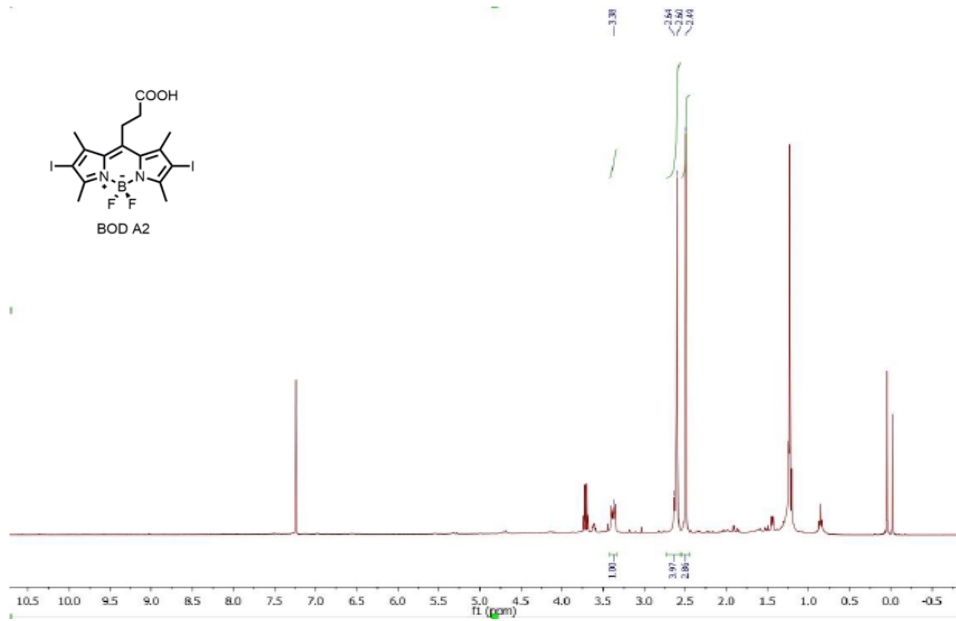
Şekil 7.1 BOD A1 Bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.



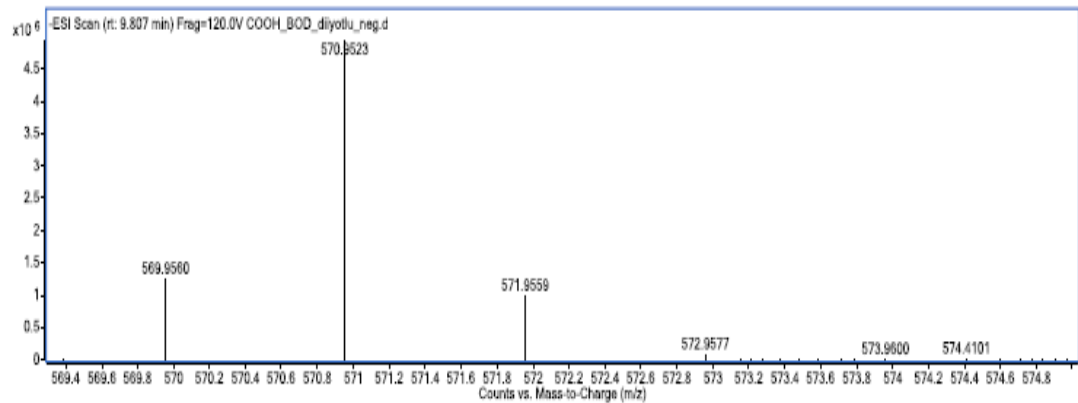
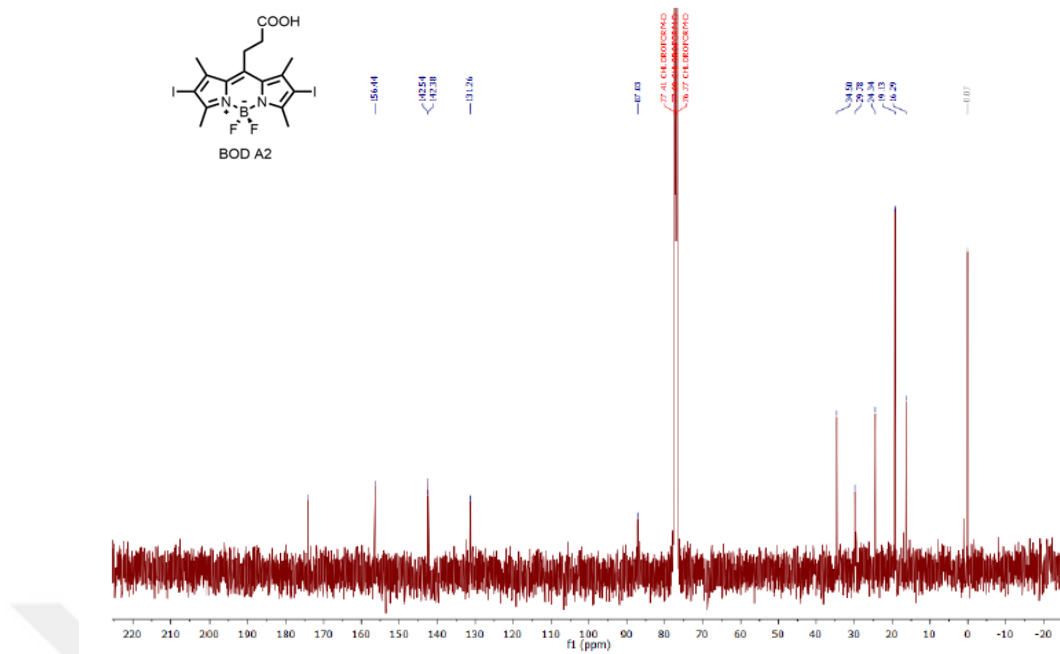
Şekil 7.2 BOD A1 bileşiğinin kütle spektrumu.

7.2 BOD A2 Bileşiğinin Sentezi ve Karakterizasyonu

BOD A1 bileşiği bu şekilde singlet oksijen üretmez ancak bileşiğe iyot gibi bir element eklenirse ağır atom etkisi nedeni ile elde edilen bileşik singlet oksijen üretebilir. Bu yöntem çoğu zaman BODIPY türevi bileşikleri bir PS' e dönüştürmek için sıklıkla tercih edilir. Bu nedenle BOD A1 bileşiğine -2, -6 pozisyonlarından iyot bağlanarak BOD A2 bileşiği sentezlenmiştir. Bu şekilde sentezlenen BOD A2 bileşiği de yine ^1H -NMR, ^{13}C -NMR (Şekil 7.3, Şekil 7.4) ve yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi (HRMS) (Şekil 14) ile karakterize edilmiştir. İlgili sonuçlar literatürle karşılaştırıldığında BOD A2 bileşiğinin de başarıyla sentezlendiği tespit edilmiştir ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ H 3.38 (2H, t), 2.64 (2H, t), 2.60 (6H, s), 2.49 (6H, s) (Şekil 7.3). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ C 174.12, 156.44, 142.54, 142.38, 131.26, 87.03, 34.50, 29.78, 24.34, 19.13, 16.29 (Şekil 7.4). MS HRMS (TOF-ESI): m/z hesaplanan: 570.9362; bulunan: 570.9523 $[\text{M}-\text{H}]^-$, $\Delta = 28.2$ ppm (Şekil 7.5).



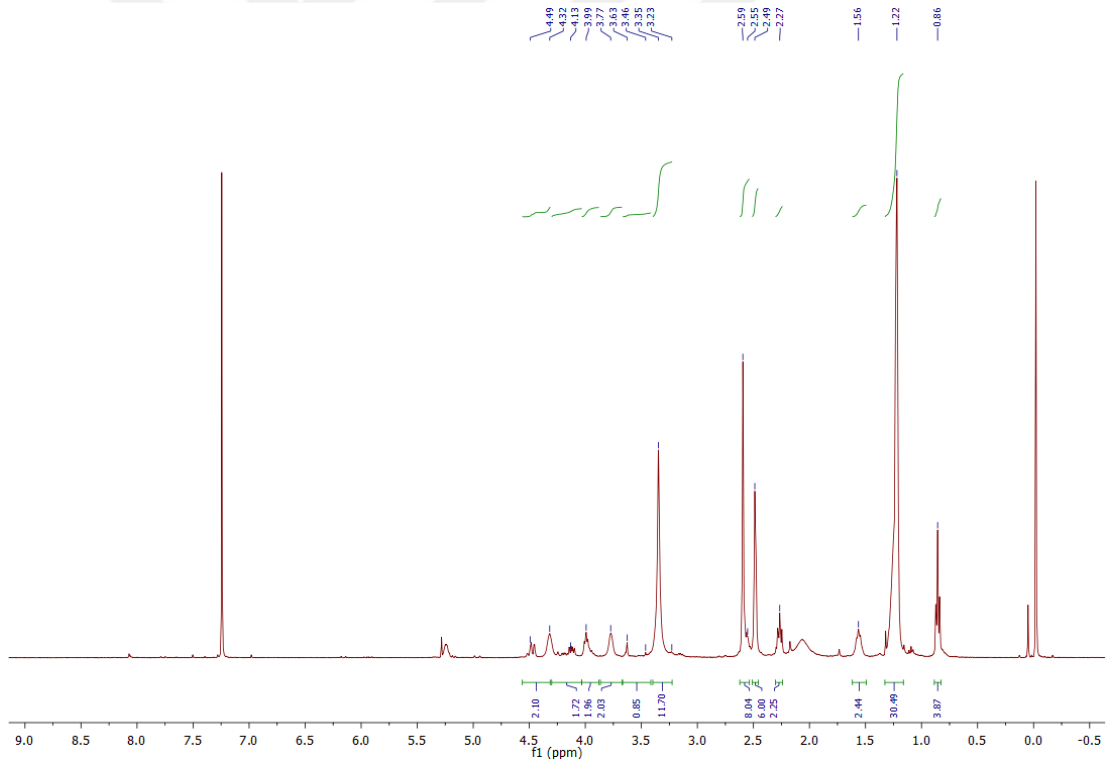
Şekil 7.3 BOD A2 Bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.



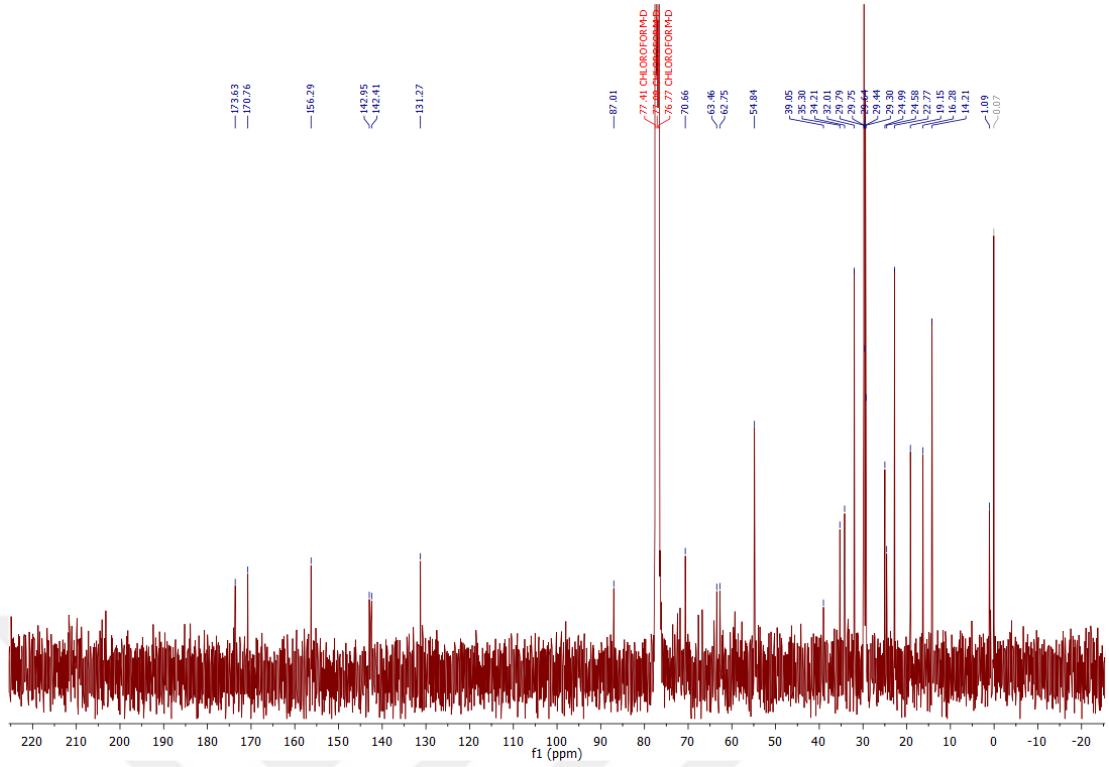
7.3 BOD A2-Lipit Konjugatının Sentezi ve Karakterizasyonu

Bu çalışma kapsamında PS'lerin lipozomları oluşturan temel yapı olan lipid bileşenlerinin bir parçası olarak sentezlenmesi ve böylelikle PS'lerin lipozomlar tarafından taşınması amaçlanmıştır. Bu amaçla karboksilik asit fonksiyonel grubu

taşıyan BOD A2 bileşiği ile EDC, DMAP varlığında lizofosfatidilkolinin hidroksil grubu arasında meydana gelen eşleşme (coupling) reaksiyonu üzerinden bir ester yapısı oluşturularak BOD A2-Lipit konjugatı sentezlenmiştir. BOD A2-Lipit konjugatıda, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MALDI-TOF kütle spektrometresi ve FT-IR spektroskopisi kullanılarak karakterize edilmiştir. BOD A2-Lipit konjugatının $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları literatür ile uyumludur (Cheng vd., 2019) $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): ΔH 4.56- 4.33 (2H, M), 4.32- 4.05 (2H, M), 4.03-3.89 (2H, M), 3.86- 3.68 (2H, M), 3.66-3.46 (1H, M), 3.38-3.22 (11H, M), 2.63-2.53 (8H, M), 2.51- 2.45 (6H, s), 2.32-2.23 (2H, M) 1.62- 1.50 (2H, M), 1.32-1.17 (24H, M), 0.90- 0.81 (3H, M) (Şekil 7.6) $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δC 173.63, 170.76, 156.29, 142.95, 87.01, 70.66, 63.46, 62.75, 54.84, 39.05, 35.30, 34.21, 32.01, 29.79, 29.64, 29.61, 29.44, 29.30, 24.99, 24.58, 22.77, 19.15, 16.28, 14.21) (Şekil 7.7). MALDI-TOF: m/z hesaplanan: 1049.266; bulunan: 1049.878 $[\text{M}]^+$, $\Delta = 583.2$ ppm) (Şekil 7.8).

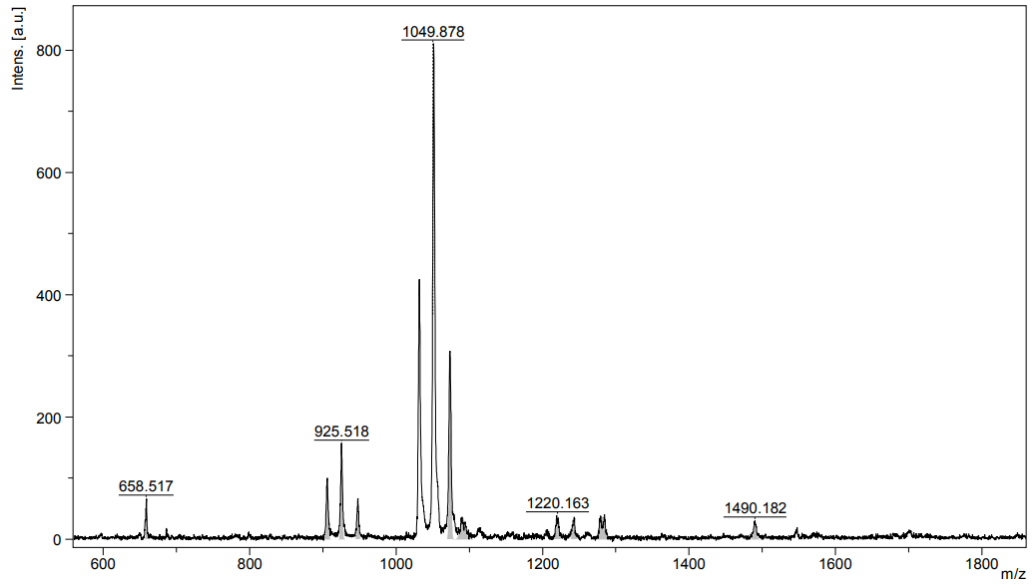


Şekil 7.6 BOD A2-Lipit Kojugatının $^1\text{H-NMR}$ spektrumu.

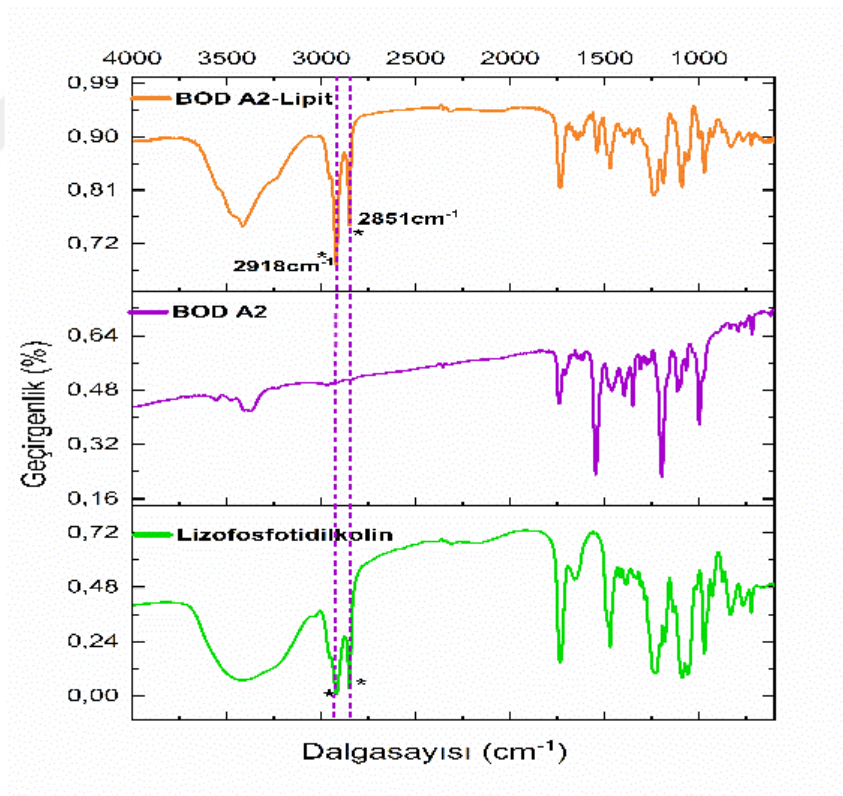


Şekil 7.7 BOD A2-Lipit Kojugatinin ^{16}C -NMR spektrumu.

NMR spekturumlarına ek olarak sentezlenmiş olan BOD A2-Lipit konjugatı MALDI-TOF kütle spektrumu (Şekil 7.8) kullanılarak karakterize edilmiştir. Ayrıca konjugata ait FT-IR spektrumu (Şekil 7.9) incelendiğinde de BOD A2-Lipit konjugatinin, konjugatı oluşturan tüm bileşiklere ait piklerin neredeyse tamamını içerdiği görülmektedir. Bu sonuçlardan BOD A2-Lipit konjugatinin başarılı bir şekilde sentezlendiği anlaşılmıştır.



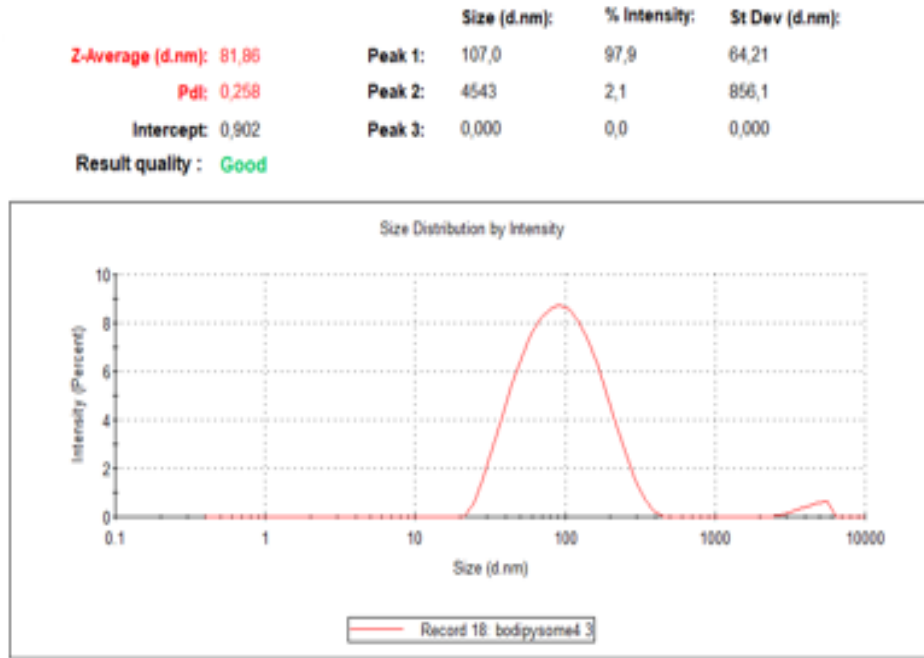
Şekil 7.8 BOD A2-Lipit konjugatının MALDI-TOF kütle spektrumu.



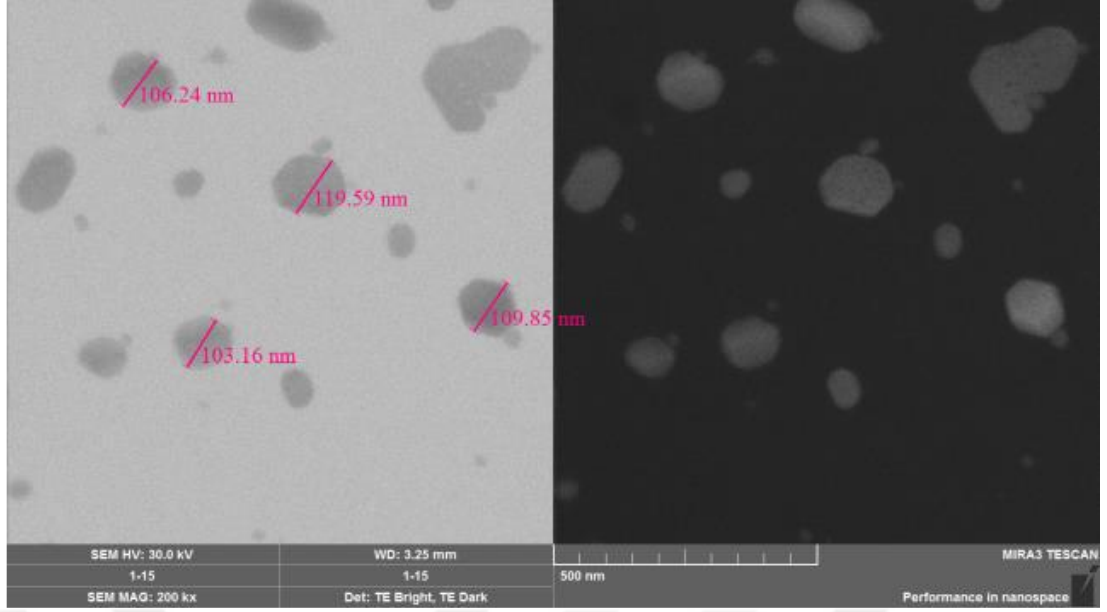
Şekil 7.9 BOD A2-Lipit konjugatının FT-IR spektrumu.

7.4 BOD A2-Lipit Konjugatından Lipozomların Sentezi ve Karakterizasyonu

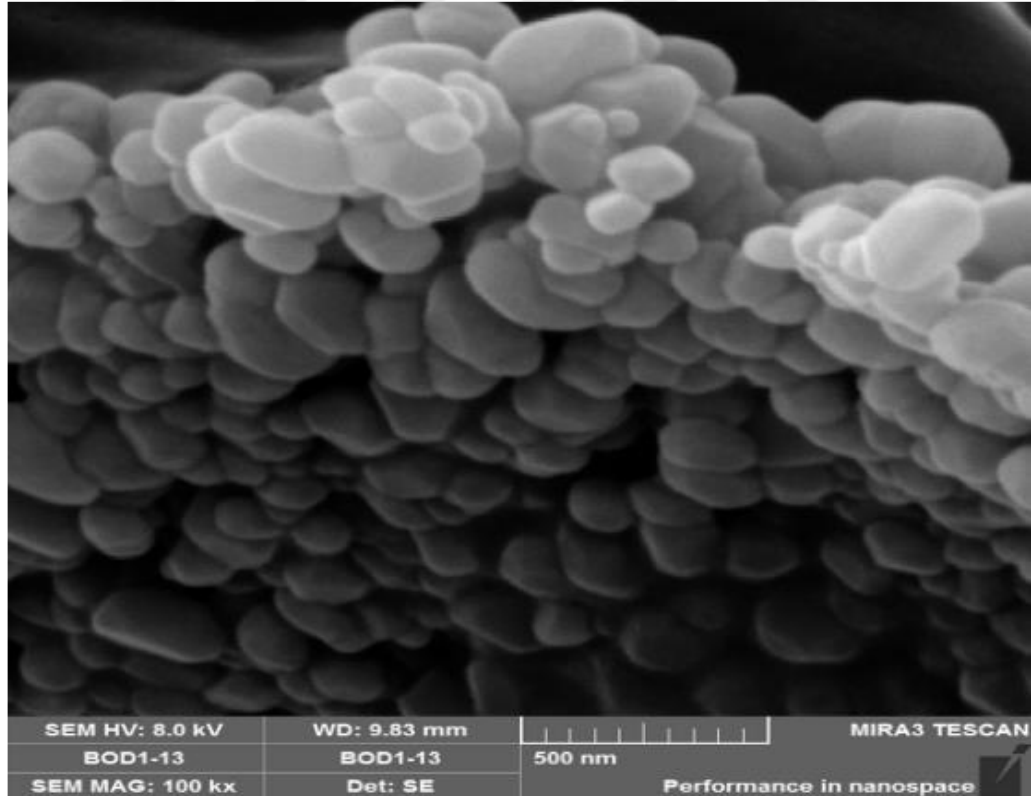
Bu tez çalışmanın nihai hedefi olarak BOD A2-Lipit konjugatından lipozomal yapılar ince film hidrasyon yöntemi kullanılarak sentezlenmişlerdir. Bu lipozomal yapılar sentezlenirken, kullanılan BOD A2-Lipit konjugatı, kolesterol ve DSPE mPEG-2000 bileşiklerinin yüzde oranları ve reaksiyon koşulları çeşitli denemeler yapılarak bölüm 6.3.5’de verildiği gibi optimize edilmiştir. BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş olan bu lipozomal yapıları hakkında boyut analizi yapılmış ek olarak S-TEM ve SEM görüntüleri alınarak karakterize edilmiştir. Yapılan DLS analizi (Şekil 7.10) sonucunda BOD A2-Lipit konjugatından elde edilen lipozomların ortalama 107 nm boyutuna sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca bu yapıların S-TEM görüntüleri sentezden hemen sonra lipozomlar %2 uranil asetat çözeltisiyle boyanarak alınmış ve lipozomal yapıların oluşumu gözlenmiştir (Şekil 7.11). Daha sonra bu lipozomlar, bozulmadan saklanması amacıyla süktroz varlığında liyofilize edilerek kurutulmuşlardır. Liyofilizasyon sonrası toz halde bulunan bu lipozomal yapıların SEM görüntüleri alınmıştır (Şekil 7.12). SEM görüntülerinden de lipozomal yapılar açık biçimde görülmektedir.



Şekil 7.10 BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların DLS analizi.



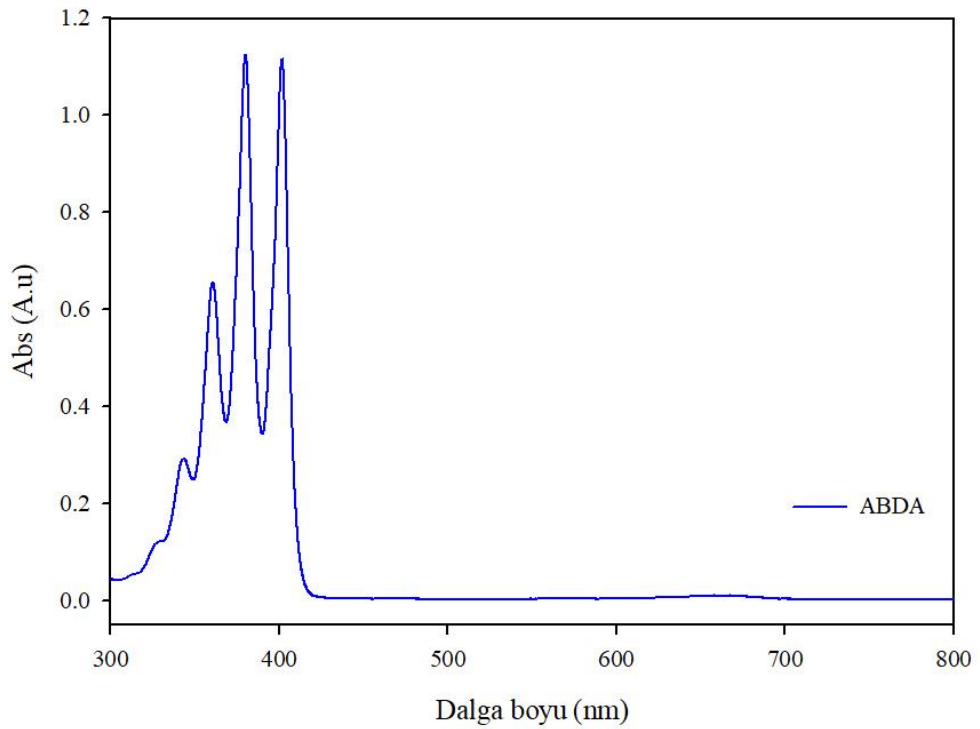
Şekil 7.11. BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların S-TEM görüntüsü



Şekil 7.12 BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların SEM görüntüsü

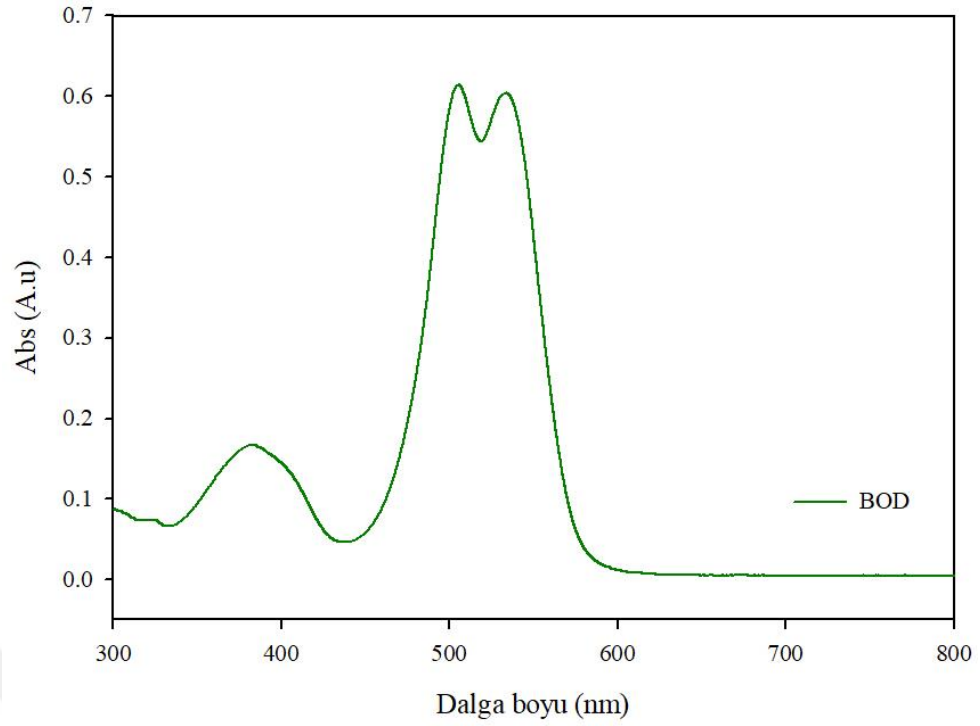
7.5 BOD A2-Lipit Konjugatından Sentezlenen Lipozomların PDT Özelliklerinin Araştırılması

Son olarak BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş olan lipozomların PDT özellikleri incelenmiştir. Bu çalışmada tuzak molekülü olarak ABDA kullanılmıştır. Lipozomlar tuzak molekülü varlığında belirli süreler boyunca 530 nm dalga boyundaki LED ışığına maruz bırakılarak tuzak molekülün spesifik absorbanz piklerindeki düşüş UV-Vis spekturumunda izlenmiştir. İlk olarak ABDA tuzak molekülü çözeltisi hazırlanmış ve absorbanz değeri yaklaşık 1 olacak şekilde çözeltinin UV-Vis spektrurumu alınmıştır (Şekil 7.13).



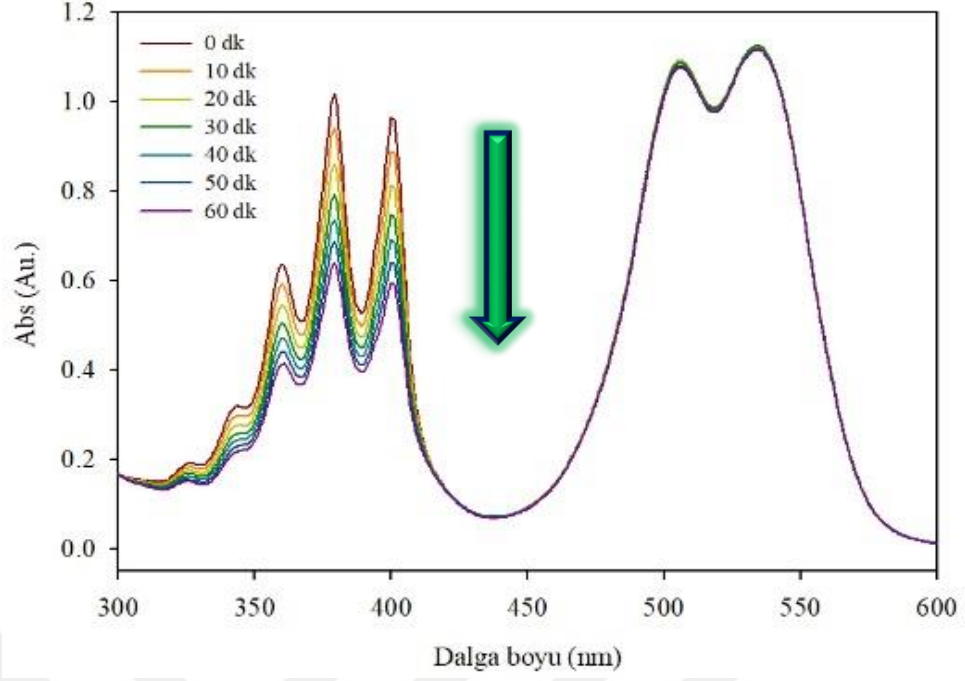
Şekil 7.13 ABDA tuzak molekülünün UV-Vis spektrumu.

Daha sonra BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş olan lipozomlar UV-Vis spektrometre kullanılarak karakterize edilmiştir (Şekil 7.14).

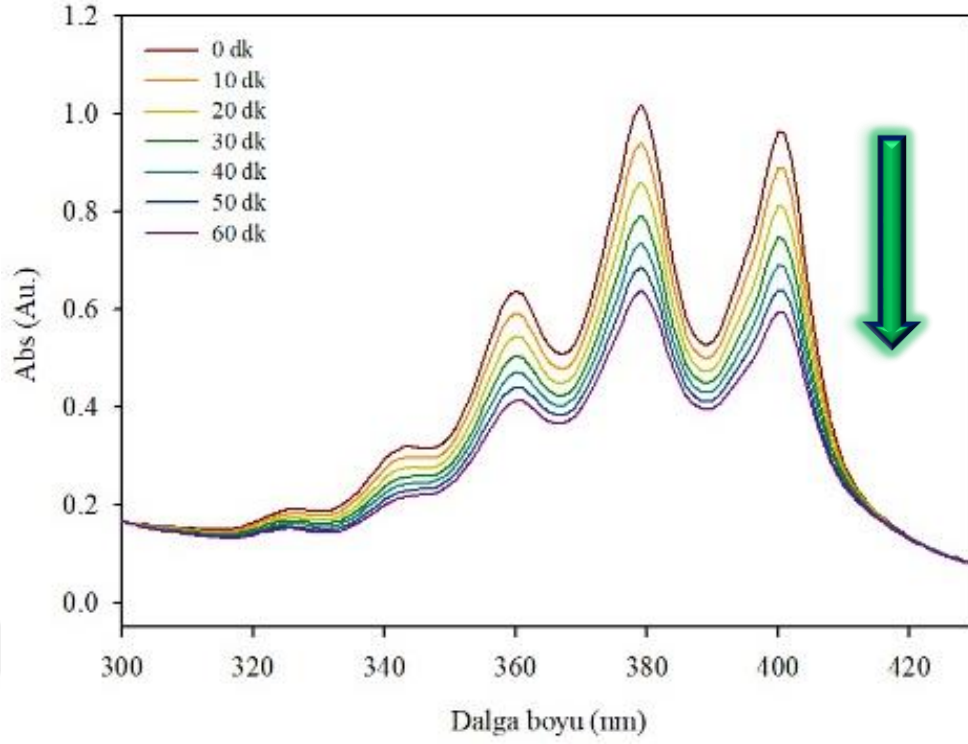


Şekil 7.14 BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların UV-Vis spektrumu.

Son olarak tuzak molekülü ve lipozomlar materyal metot kısmında belirtildiği oranlarda birleştirilerek UV-Vis spektrometrede ölçüm alınmıştır. Bu ölçüm esnasında hazırlanan çözeltiye, belirli aralıklarla 530 nm dalga boyuna sahip LED ışık uygulanmıştır. Çözelti LED ışığa maruz kaldıktan sonra ölçüm alınmıştır. Bu süreç 60 dk boyunca tekrar edilmiştir (Şekil 7.15).

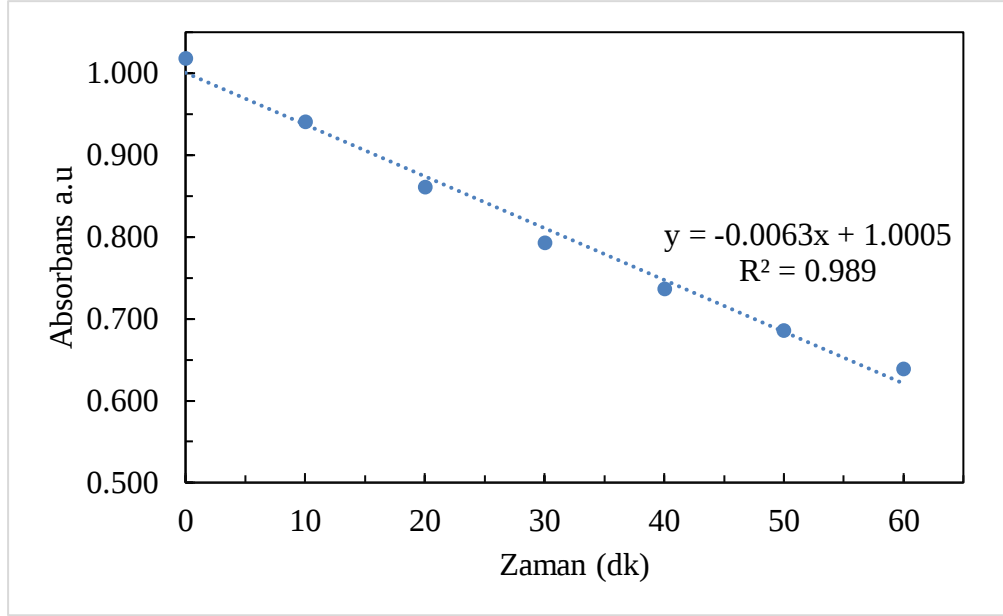


Şekil 7.15 Tuzak molekülü varlığında BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomlarının 10 dk aralıklarla 530 nm dalga boyundaki LED ışığına maruz bırakıldıktan sonra, tuzak molekülünün absorpsiyonundaki düşüş grafiği.



Şekil 7.16. Şekil 7.15’de ki spektrumun yalnızca 300-450 nm dalgaboyu aralığını gösteren UV-Vis spektrumu.

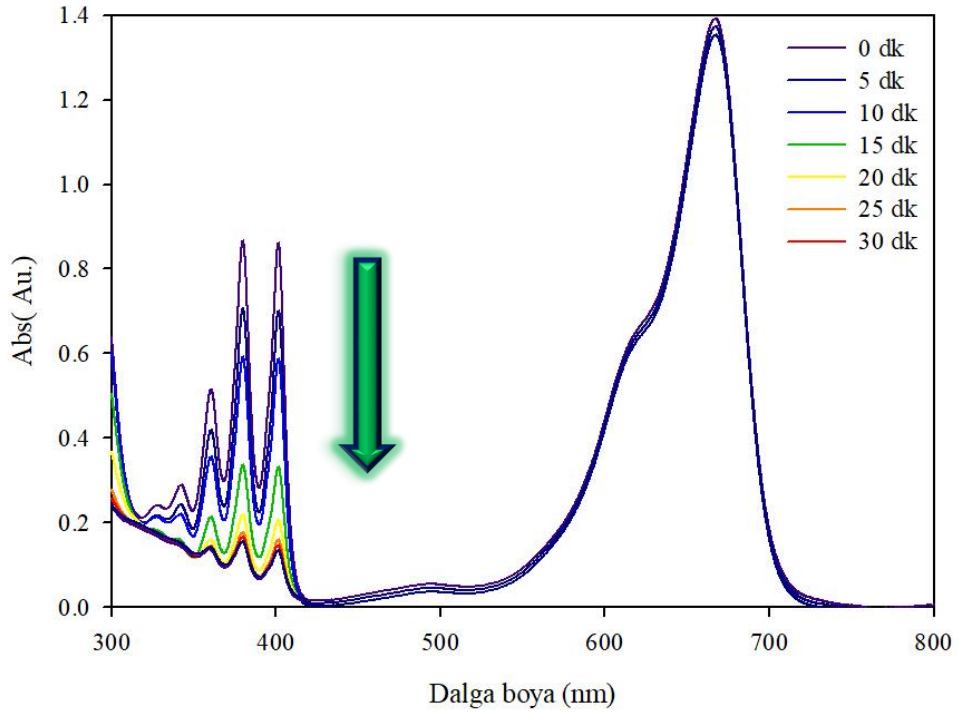
BOD A2-Lipit konjugatından elde edilmiş lipozomlar ile yapılan ölçümlerde ABDA tuzak molekülünün 379 nm dalga boyundaki absorbans değerinin singlet oluşuma bağlı olarak düşüşü şekil 7.17’de verilmiştir. Şekil 7.17’da verilen grafiğin eğimi lipozomların singlet oksijen kuantum verimlerinin hesaplanması için bölüm 6.3.6’da verilen eşitlikte $m(\text{BOD})$ değeri olarak kullanılmıştır.



Şekil 7.17 ABDA'nın BOD A2-Lipit konjugatından elde edilmiş lipozomlar varlığında 379 nm dalga boyundaki absorbans değerinin zamana göre değişim eğrisi.

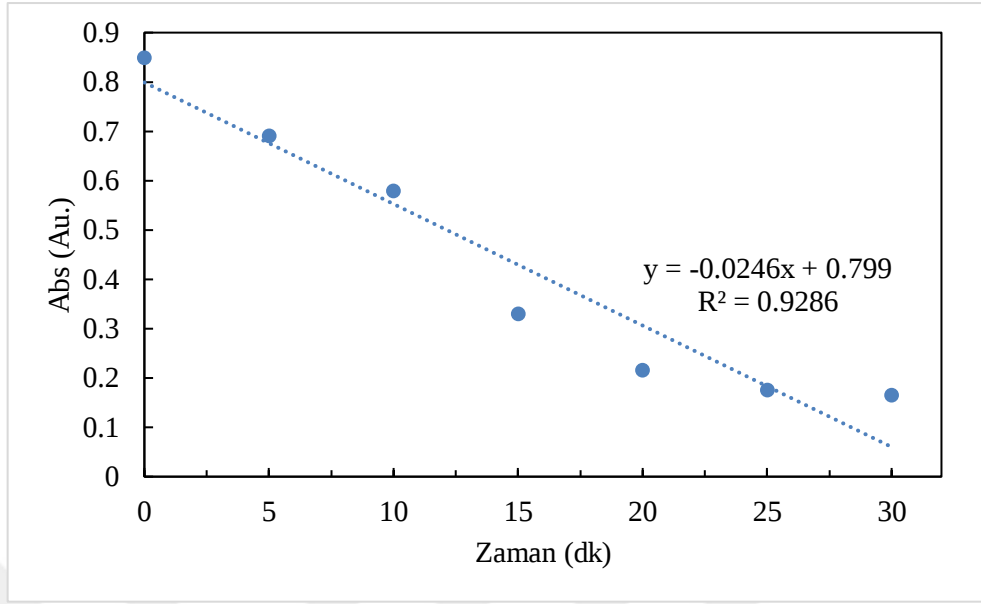
7.6 BOD A2-Lipit Konjugatından Elde Edilmiş Lipozomların Sulu Ortamda Singlet oksijen Kuantum Verimlerinin Hesaplanması

BOD A2-Lipit Konjugatından Elde Edilmiş Lipozomların singlet oksijen kuantum verimlerinin hesaplanması için referans madde olarak metilen mavisi kullanılmıştır. Metilen mavisi ABDA tuzak molekülü varlığında ve sulu ortamda belirli sürelerde 660 nm'lik LED ışığa maruz bırakılmış ve ardından UV-Vis spektrofotometre ile tuzak molekülünün absorbans değerlerindeki düşüş izlenmiştir (Şekil 7.18).



Şekil 7.18 Tuzak molekülü varlığında Metilen mavisinin 5 dk aralıklarla 660 nm dalga boyundaki LED ışığına maruz bırakıldıktan sonra, tuzak molekülünün absorpsiyonundaki düşüş grafiği.

Metilen mavisi ile yapılan ölçümlerde ABDA tuzak molekülünün 379 nm dalga boyundaki absorbans değerinin singlet oluşuma bağlı olarak düşüşü Şekil 7.19’de verilmiştir. Şekil 7.19’de verilen grafiğin eğimi lipozomların singlet oksijen kuantum verimlerinin hesaplanması için bölüm 6.3.6’da verilen eşitlikte $m(\text{ref})$ değeri olarak kullanılmıştır.



Şekil 7.19 ABDA'nın metilen mavisi varlığında 379 nm dalga boyundaki absorbans değerinin zamana göre değişim eğrisi.

Buna göre nihai ürün olan BOD A2-Lipit konjugatından elde edilmiş lipozomların singlet oksijen kuantum verimleri yukarıda verilen eşitlikten hesaplanmış ve 0,30 olarak bulunmuştur.

8. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması kapsamında ilk önce mezo pozisyonunda serbest alifatik karboksilik asit grubuna sahip bir BODIPY türevi bileşik (BOD A1) sentezlenmiştir. Daha sonra sentezlenen bu BOD A1 bileşiği -2 ve -6 pozisyonlarından di-iyotlanarak (iyotların ağır atom etkisi nedeniyle) BOD A2 bileşiği bir fotoduyarlaştırıcı olarak sentezlenmiştir. Sonrasında BOD A2 bileşiği ile Lyso PC-16, EDC ve DMAP varlığında bir coupling reaksiyonu ile ester yapısı oluşturulmuş ve BOD A2-Lipit konjugatı sentezlenmiştir. Ardından bu çalışmanın nihai ürün hedefi olan lipozomal yapılar ortalama 107 nm boyutlarında, BOD A2-Lipit konjugatı kullanılarak elde edilmiştir. Sentezlenen lipozomal yapıların PDT özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla, sentezlenmiş olan lipozomal yapılar ABDA tuzak molekülü varlığında sulu ortamda 530 nm lik LED ışığına belirli aralıklarla maruz bırakılmış ve UV-Vis spektrofotometresiyle ABDA tuzak molekülünün absorbansındaki düşüş izlenmiştir. Lipozomların Singlet oksijen kuantum verimlerinin hesaplanması amacıyla aynı şartlar altında lipozomlar yerine referans bileşik olarak metilen mavisine ve 660 nm LED ışığı kullanılarak deneyler tekrarlanmıştır. Böylece 530 nm lik LED ışığa maruz bırakılan BOD A2-Lipit konjugatından sentezlenmiş lipozomların singlet oksijen kuantum verimleri 0.30 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuca göre lipozomlar metilen mavisine göre bir mikar daha düşük PDT etkisine sahiptirler ancak lipozomların fizyolojik ortamda davranışları göz önüne alındığında bu lipozomların sahip oldukları singlet oksijen kuantum verimlerinin oldukça iyi olduğu ve görece olarak sulu ortamda iyi bir PDT etkisine sahip oldukları düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bir PS olan BOD A2 bileşiğinin lipozomal yapılara doğrudan yüklenmesi yoluyla değil, BOD A2 bileşiği ile bir lipit bileşiğinin konjugasyonu sonucu elde edilen BODIPY-Lipit konjugatı kullanılarak sentezlenen lipozomal yapılar bu tez çalışması ile ilk defa sentezlenmiş ve PDT özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu lipozomal yapıların PDT uygulamalarına ek olarak ilaç taşıyıcı sistemler olarak da yeniden tasarlanabilir olmaları ile birlikte, çok yönlü kullanımlarına dair oldukça umut verici özelliklere sahip oldukları da düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N., & Reed, M. (2007). *The History of Photodetection and Photodynamic Therapy*. *Photochemistry and Photobiology*, 74(5), 656-669.
- Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., & Nejati-Koshki, K. (2013). *Liposome: Classification, preparation, and applications*. *Nanoscale Research Letters*, 8(1), 102.
- Allison, R., Moghissi, K., Downie, G., & Dixon, K. (2011). *Photodynamic therapy (PDT) for lung cancer*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 8(3), 231-239.
- Ambroz, F., Donnelly, J. L., Wilden, J. D., Macdonald, T. J., & Parkin, I. P. (2019). *Carboxylic Acid Functionalization at the Meso-Position of the Bodipy Core and Its Influence on Photovoltaic Performance*. *Nanomaterials*, 9(10), 1346.
- Aslanoğlu, B. (2022). *Optical Properties Of Novel Photosensitizers For Photodynamic Therapy [Master's thesis]*. Boğazici University.
- Atilgan, S. (2006). *Water soluble distyryl-boradiazaindacenes as efficient photosensitizers for photodynamic therapy [Master's thesis]*. Middle East Technical University School of Natural and Applied Sciences.
- Awuah, S. G., & You, Y. (2012). *Boron dipyrromethene (BODIPY)-based photosensitizers for photodynamic therapy*. *RSC Advances*, 2(30), 11169.
- Barut, B. (2020). *Yeni BODIPY Bileşiklerinin Fotodinamik Terapi Amaçlı IN VITRO Etkinliklerinin İncelenmesi [Doktora Tezi]*. Türkiye Cumhuriyeti Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Bayrak, E. (2023). *Yeni Tip Aza-Bodipy Bileşiğinin Sentezi Ve Karakterizasyonu [Yüksek Lisans Tezi]*. İstanbul Teknik Üniversitesi.
- Belce, Y. (2019). *Functional Thin Film Coatings Of Porphyrins And Phthalocyanines By Layer-By-Layer Assembly [Degree of Doctor of Philosophy]*. Sabancı University.
- Bilge. (2011). *İlaç-Lipit Ve Protein-Lipit Etkileşimlerinin Biyofiziksel Teknikler İle Tamoxifen- Herceptin(Trastuzumab)-Model Membran Sisteminde İncelenmesi [Doktora Tezi]*. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bumagina, N. A., Antina, E. V., Ksenofontov, A. A., Antina, L. A., Kalyagin, A. A., & Berezin, M. B. (2022). *Basic structural modifications for improving the practical properties of BODIPY*. *Coordination Chemistry Reviews*, 469, 214684.

- Canyurt, M.** (2022). *Efforts Towards Synthesis Of Hydrogen Sulfide Activated Bodipy Based Pdt Agents [Master's thesis]. Middle East Technical University.*
- Capella, M. A. M., & Capella, L. S.** (2003). A light in multidrug resistance: Photodynamic treatment of multidrug-resistant tumors. *Journal of Biomedical Science*, 10(4), 361-366.
- Cheng, M. H. Y., Harmatys, K. M., Charron, D. M., Chen, J., & Zheng, G.** (2019). Stable J-Aggregation of an aza-BODIPY-Lipid in a Liposome for Optical Cancer Imaging. *Angewandte Chemie International Edition*, 58(38), 13394-13399.
- Cipolla, D., Wu, H., Gonda, I., Eastman, S., Redelmeier, T., & Chan, H. K.** (2014). Modifying the Release Properties of Liposomes Toward Personalized Medicine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(6), 1851-1862.
- Correia, J. H., Rodrigues, J. A., Pimenta, S., Dong, T., & Yang, Z.** (2021). Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. *Pharmaceutics*, 13(9), 1332.
- Dalgıç, A. D.** (2014). *Development Of A New Targeted Liposomal Delivery System Of Doxorubicin Modified With Lymphoma Cell Specific Antibody [Master's thesis]. Middle East Technical University.*
- Daniell, M. D., & Hill, J. S.** (1991). A HISTORY OF PHOTODYNAMIC THERAPY. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*, 61(5), 340-348.
- Daraee, H., Etemadi, A., Kouhi, M., Alimirzalu, S., & Akbarzadeh, A.** (2016). Application of liposomes in medicine and drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(1), 381-391.
- Demirci, G.** (2020). *ALA-mediated Photodynamic Therapy & Delivery of Genes by Novel Polymers [Master's thesis]. Koç University.*
- Diamond, I., Mcdonagh, A. F., Wilson, C. B., Granelli, S. G., Nielsen, S., & Jaenicke, R.** (1972). PHOTODYNAMIC THERAPY OF MALIGNANT TUMOURS. *The Lancet*, 300(7788), 1175-1177.
- Dolmans, D. E., Fukumura, D., & Jain, R. K.** (2003). Photodynamic therapy for cancer. *Nature*, 3(5), 380-387.
- Dougherty, T. J., & Marcus, S. L.** (1992). Photodynamic therapy. *European Journal of Cancer*, 28(10), 1734-1742.
- Duong, T. T., Isomäki, A., Paaver, U., Laidmäe, I., Tõnisoo, A., Yen, T. T. H., Kogermann, K., Raal, A., Heinämäki, J., & Pham, T. M. H.** (2021). Nanoformulation and Evaluation of Oral Berberine-Loaded Liposomes. *Molecules*, 26(9), 2591.
- Erbaş, S.** (2009). *Non-covalently functionalized SWNTs as potential delivery agents for novel BOdDIPY-based PDT sensitizers and the design and synthesis of*

dendritic light harvesters [Master's thesis]. The Institute Of Engineering And Sciences Of Bilkent University.

Flores, J., White, B. M., Brea, R. J., Baskin, J. M., & Devaraj, N. K. (2020).

Lipids: Chemical tools for their synthesis, modification, and analysis.

Chemical Society Reviews, 49(14), 4602-4614.

Gregoriadis, G., Leathwood, P. D., & Ryman, B. E. (1971). Enzyme entrapment in liposomes. *FEBS Letters*, 14(2), 95-99.

Hausmann, w. (1911). Die sensibilisierende Wirkung des Hematoporphyrins.

Biochem. Zeitung, 30, 276-316.

Hinkeldey, B., Schmitt, A., & Jung, G. (2008). Comparative Photostability Studies of BODIPY and Fluorescein Dyes by Using Fluorescence Correlation Spectroscopy. *ChemPhysChem*, 9(14), 2019-2027.

Immordino, M. L., Dosio, F., & Cattel, L. (2006). Stealth liposomes: Review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. *International Journal of Nanomedicine*, 1(3), 297-315.

Ion, R. M. (2000). Porphyrins for tumor destruction in photodynamic therapy. *Current topics in Biophysics*, 24(1), 21-34.

Işık, Ş. (2020). *Photodynamic Therapy Activities Of Phthalocyanines On Cancer [Master's thesis]. Republic Of Turkey Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar University Institute Of Health Sciences.*

Jiao, L., Yu, C., Li, J., Wang, Z., Wu, M., & Hao, E. (2009). β -Formyl-BODIPYs from the Vilsmeier-Haack Reaction. *The Journal of organic chemistry*, 74(19), 7525-7528.

Jin, C. S. (2015). *Porphyrim-based Nanostructure-Dependent Photodynamic and Photothermal Therapies [Degree of Doctor of Philosophy]. Graduate Department of Pharmaceutical Sciences University of Toronto.*

Jin, C. S., Lovell, J. F., & Zheng, G. (2013). One Minute, Sub-One-Watt Photothermal Tumor Ablation Using Porphyosomes, Intrinsic Multifunctional Nanovesicles. *Journal of Visualized Experiments*, 79, 50536.

Kamkaew, A., Lim, S. H., Lee, H. B., Kiew, L. V., Chung, L. Y., & Burgess, K. (2013). BODIPY dyes in photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.*, 42(1), 77-88.

Kocabaş, B. B. (2017). *In Vivo Applications Of Liposomal Vaccines Encapsulating Single Or Dual Pathogenassociated Molecular Patterns [Degree of Doctor of Philosophy]. Bilkent University.*

Korkut, D. B. (2015). *Medikal Tedaviye Dirençli Hiperlipidemi ve Hiperlipidemiye Bağlı Akut Komplikasyonların Varlığında Uygulanan Lipit Aferez Tedavisinin Lipit Profili Üzerine Etkileri [Uzmanlık Tezi]. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı.*

- Kölemen, S.** (2014). *Fluorescence Detection Of Biological Thiols And Axially Chiral Bodipy Derivatives & Alternative Methodologies For Singlet Oxygen Generation For Photodynamic Action [Degree of Doctor of Philosophy]*. Bilkent University.
- Kraft, J. C., Freeling, J. P., Wang, Z., & Ho, R. J. Y.** (2014). Emerging Research and Clinical Development Trends of Liposome and Lipid Nanoparticle Drug Delivery Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(1), 29-52.
- Li, Q., Li, Y., Min, T., Gong, J., Du, L., Phillips, D. L., Liu, J., Lam, J. W. Y., Sung, H. H. Y., Williams, I. D., Kwok, R. T. K., Ho, C. L., Li, K., Wang, J., & Tang, B. Z.** (2020). Time-Dependent Photodynamic Therapy for Multiple Targets: A Highly Efficient AIE-Active Photosensitizer for Selective Bacterial Elimination and Cancer Cell Ablation. *Angewandte Chemie*, 132(24), 9557-9564.
- Li, X., Zheng, B. D., Peng, X. H., Li, S. Z., Ying, J. W., Zhao, Y., Huang, J. D., & Yoon, J.** (2019). Phthalocyanines as medicinal photosensitizers: Developments in the last five years. *Coordination Chemistry Reviews*, 379, 147-160.
- Lim, S. H., Thivierge, C., Nowak-Sliwinska, P., Han, J., Van Den Bergh, H., Wagnières, G., Burgess, K., & Lee, H. B.** (2010). In Vitro and In Vivo Photocytotoxicity of Boron Dipyrromethene Derivatives for Photodynamic Therapy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(7), 2865-2874.
- Liou, G. Y., & Storz, P.** (2010). Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research*, 44(5), 479-496.
- Liu, X. Y., Ruan, L. M., Mao, W. W., Wang, J. Q., Shen, Y. Q., & Sui, M.** (2010). Preparation of RGD-modified Long Circulating Liposome Loading Matrine, and its in vitro Anti-cancer Effects. *International Journal of Medical Sciences*, 197-208.
- Lombardo, D., & Kiselev, M. A.** (2022). Methods of Liposomes Preparation: Formation and Control Factors of Versatile Nanocarriers for Biomedical and Nanomedicine Application. *Pharmaceutics*, 14(3), 543.
- Loudet, A., & Burgess, K.** (2007). BODIPY Dyes and Their Derivatives: Syntheses and Spectroscopic Properties. *Chemical Reviews*, 107(11), 4891-4932.
- Lovell, J. F., Jin, C. S., Huynh, E., Jin, H., Kim, C., Rubinstein, J. L., Chan, W. C. W., Cao, W., Wang, L. V., & Zheng, G.** (2011). Porphysome nanovesicles generated by porphyrin bilayers for use as multimodal biophotonic contrast agents. *Nature Materials*, 10(4), 324-332.
- Mehryar, S.** (2022). *Fitokimyasal Bir Madde İçeren Lipozomal Ürün Geliştirme ve Kalite Kontrol Çalışmaları [Yüksek Lisans Tezi]*. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- Monteiro, N., Martins, A., Reis, R. L., & Neves, N. M.** (2014). *Liposomes in tissue engineering and regenerative medicine. Journal of The Royal Society Interface*, 11(101), 20140459.
- Mori, A., Klibanov, A. L., Torchilin, V. P., & Huang, L.** (1991). *Influence Of The Steric Barrier Activity Of Amphipathic Poly(Ethyleneglyco1) And Ganglioside GM, On The Circulation Time Of Liposomes And On The Target Binding Of Immunoliposomes In Vivo. FEBS Letters*, 284(2), 263-266.
- Mukherjee, S., Ray, S., & Thakur, R. S.** (2009). *Solid lipid nanoparticles: A modern formulation approach in drug delivery system. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(4), 349.
- Muller, R., Petersen, R., Hommoss, A., & Pardeike, J.** (2007). *Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products ☆. Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 522-530.
- Niu, C., & Aisa, H. A.** (2017). *Upregulation of Melanogenesis and Tyrosinase Activity: Potential Agents for Vitiligo. Molecules*, 22(8), 1303.
- Nsairat, H., Khater, D., Sayed, U., Odeh, F., Al Bawab, A., & Alshaer, W.** (2022). *Liposomes: Structure, composition, types, and clinical applications. Heliyon*, 8(5).
- Özler, M. E., Bozkurt, Y., & Sözmen, F.** (2024). *BODIPY-Lipit Bileşiğinden Yeni Lipozomların Sentezi ve PDT Özelliklerinin Araştırılması. Düzce Üniversitesi Teknik Bilimler Dergisi*, 2(1).
- Patel, D., Dasgupta, S., Dey, S., Ramani, Y. R., Ray, S., & Mazumder, B.** (2012). *Nanostructured Lipid Carriers (NLC)-Based Gel for Topical Delivery of Aceclofenac: Preparation, Characterization and In Vivo Evaluation. Scientia Pharmaceutica*, 80(3), 749-764.
- Pehlivan, E. G.** (2022). *Photodynamic Therapy Effects Of Nir-Absorbing Novel Phthalocyanines [Degree of Doctor of Philosophy]. T.R. Gebze Technical University Graduate School Of Natural And Applied Sciences*.
- Plaetzer, K., Krammer, B., Berlanda, J., Berr, F., & Kiesslich, T.** (2009). *Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: Fundamental aspects. Lasers in Medical Science*, 24(2), 259-268.
- Pradhan, B., Kumar, N., Saha, S., & Roy, A.** (2015). *LIPOSOME: METHOD OF PREPARATION, ADVANTAGES, EVALUATION AND ITS APPLICATION. 3, 3(2348)*, 8.
- Pramual, S., Lirdprapamongkol, K., Jouan-Hureau, V., Barberi-Heyob, M., Frochot, C., Svasti, J., & Niamsiri, N.** (2020). *Overcoming the diverse mechanisms of multidrug resistance in lung cancer cells by photodynamic therapy using pTHPP-loaded PLGA-lipid hybrid nanoparticles. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 149, 218-228.

- Rihn, S., Retailleau, P., De Nicola, A., Ulrich, G., & Ziessel, R.** (2012). *Synthetic Routes to Fluorescent Dyes Exhibiting Large Stokes Shifts*. *The Journal of Organic Chemistry*, 77(20), 8851-8863.
- Rurack, K., Kollmannsberger, M., & Daub, J.** (2001). *A highly efficient sensor molecule emitting in the near infrared (NIR): 3,5-distyryl-8-(p-dimethylaminophenyl)difluoroboradiazas-indacene*. *New Journal of Chemistry*, 25(2), 289-292.
- Salel, S.** (2022). *Development Of Polymer-Lipid Hybrid Nanoparticles For Anticancer Drug Delivery [Master's thesis]*. Boğaziçi University.
- Satapathy, M. K., Yen, T. L., Jan, J. S., Tang, R. D., Wang, J. Y., Taliyan, R., & Yang, C. H.** (2021). *Solid Lipid Nanoparticles (SLNs): An Advanced Drug Delivery System Targeting Brain through BBB*. *Pharmaceutics*, 13(8), 1183.
- Senge, M. O., & Brandt, J. C.** (2011). *Temoporfin (FoscanÒ, 5,10,15,20-Tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin)A Second-generation Photosensitizer*. *Photochemistry and photobiology*, 87(6), 1240-1296.
- Sercombe, L., Veerati, T., Moheimani, F., Wu, S. Y., Sood, A. K., & Hua, S.** (2015). *Advances and Challenges of Liposome Assisted Drug Delivery*. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 286.
- Sobhani, N., & Samadani, A. A.** (2021). *Implications of photodynamic cancer therapy: An overview of PDT mechanisms basically and practically*. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 33(1), 34.
- Soema, P. C., Willems, G. J., Jiskoot, W., Amorij, J. P., & Kersten, G. F.** (2015). *Predicting the influence of liposomal lipid composition on liposome size, zeta potential and liposome-induced dendritic cell maturation using a design of experiments approach*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 94, 427-435.
- Spikes, J. D.** (1991). *The origin and meaning of the term "photodynamic" (as used in "photodynamic therapy", for example)*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 9(3-4), 369-371.
- Sun, B., Lovell, J. F., & Zhang, Y.** (2023). *Current development of cabazitaxel drug delivery systems*. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 15(2), e1854.
- Taydaş, D.** (2022). *Sonodinamik, Fotodinamik ve Fototermal Terapileri Birleştiren Hibrit Nanopartiküllerin Sentezi [Master's thesis]*. Cumhuriyet Üniversitesi.
- Turksoy, A., Yildiz, D., & Akkaya, E. U.** (2019). *Photosensitization and controlled photosensitization with BODIPY dyes*. *Coordination Chemistry Reviews*, 379, 47-64.
- Vergnon, J.-M., Huber, R. M., & Moghissi, K.** (2006). *Place of cryotherapy, brachytherapy and photodynamic therapy in therapeutic bronchoscopy of lung cancers*. *European Respiratory Journal*, 28(1), 200-218.

- Wachowska, M., Muchowicz, A., Firczuk, M., Gabrysiak, M., Winiarska, M., Wańczyk, M., Bojarczuk, K., & Golab, J.** (2011). *Aminolevulinic Acid (ALA) as a Prodrug in Photodynamic Therapy of Cancer*. *Molecules*, 16(5), 4140-4164.
- Watson, H.** (2015). *Biological membranes. Essays in Biochemistry*, 59, 43-69.
- Xu, J., Bonneviot, L., Guari, Y., Monnereau, C., Zhang, K., Poater, A., Rodríguez-Pizarro, M., & Albela, B.** (2024). *Matrix Effect on Singlet Oxygen Generation Using Methylene Blue as Photosensitizer*. *Inorganics*, 12(6), 155.
- Yan, M., He, D., Zhang, L., Sun, P., Sun, Y., Qu, L., & Li, Z.** (2022). *Explorations into the meso-substituted BODIPY-based fluorescent probes for biomedical sensing and imaging*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 157, 116771.
- Yang, B., Chen, Y., & Shi, J.** (2019). *Reactive Oxygen Species (ROS)-Based Nanomedicine*. *Chemical Reviews*, 119(8), 4881-4985.
- Yılmazer, Z.** (2019). *Bodipy Türevi Bir Fotoduyarlastırıcının Sentezi ve Farklı Çözgen Ortamlarında Singlet Oksijen Kuantum Verimlerinin Belirlenmesi [Master's thesis]. Cumhuriyet Üniversitesi.*
- Yücel, Ç.** (2015). *Embriyonik Kök Hücre ve İnsülin Taşıyan Lipozom, Nanopartikül Ve Kohleat Formülasyonlarının Geliştirilerek Etkinliğinin İncelenmesi [Doktora Tezi]. Gazi Üniversitesi.*