

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FOTODİNAMİK TERAPİ VE MANYETİK REZONANS
GÖRÜNTÜLEME KONTRAST AJANI OLARAK TERANOSTİK
AMAÇLI FTALOSİYANİNLERİN SENTEZİ

DUYGU AYDIN TEKDAŞ
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

GEBZE
2015

**T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FOTODİNAMİK TERAPİ VE MANYETİK
REZONANS GÖRÜNTÜLEME KONTRAST
AJANI OLARAK TERANOSTİK AMAÇLI
FTALOSİYANİNLERİN SENTEZİ**

**DUYGU AYDIN TEKDAŞ
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMANI
PROF. DR. AYŞE GÜL GÜREK**

**GEBZE
2015**

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**PHthalocyanine complexes as
Theranostic agents for magnetic
resonance imaging and
photodynamic therapy**

DUYGU AYDIN TEKDAŞ
A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
DOCTOR of PHILOSOPHY
CHEMISTRY DEPARTMENT

THESIS SUPERVISOR
PROF. DR. AYŞE GÜL GÜREK

GEBZE

2015



GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 24/06/2015 tarih ve 2015/39 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 13/07/2015 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Duygu AYDIN TEKDAŞ'ın tez çalışması Kimya Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. Ayşe Gül GÜREK

ÜYE

: Prof. Dr. Vefa AHSEN

ÜYE

: Prof. Dr. Serdar ÖZÇELİK

ÜYE

: Doç. Dr. Mustafa Özgür GÜLER

ÜYE

: Yrd. Doç. Dr. Fabienne DUMOULIN

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Kanser, ölüm nedenlerinin baş sıralarında yer alan karmaşık ve önemli bir hastalıktır. Erken teşhis, kanser tedavisinde önemli bir husustur. Geleneksel tanı yöntemleri ile kanserin erken evrelerde teşhis edilmesi güçtür. Günümüzde teknolojiye yaşanan gelişmeler, kanser teşhis ve tedavisi açısından önemli olanaklar sunmaktadır. Son araştırmalar tanı ve tedaviyi tek bir platformda birleştiren teranostik ajanların geliştirilmesine odaklanmıştır. Teranostik terimi, çeşitli hastalıklar için tanı ve tedavinin tek bir platformda birleştirilmesini ifade eder.

Fotodinamik terapi (PDT), kanserli ve kanserli olmayan bir sınıf hastalık alanı için geliştirilen bir tedavi yöntemidir. Manyetik Rezonans görüntüleme kontrast maddeler 1980'li yıllardan beri kullanılmaktadır. Kontrast maddelerin aktif biçimde kullanılmaya başlanması ile manyetik rezonans görüntülemenin birçok konuda çok başarılı bir radyolojik görüntüleme yöntemi haline geldiği görülmektedir. Manyetik rezonans incelemelerinde kontrast madde kullanımının günümüzde hızla arttığı ve özellikle klinikte kullanılan kontrast ajanların gadolinyumlu kompleksler olduğu bilinmektedir.

Ftalosiyaninler günümüzün umut verici fotosensitizerlerin arasında yer alırken, Gd-DOTA molekülleri ise en çok kullanılan görüntüleme ajanları arasındadır. Bu iki farklı platformda kullanılan bileşiğin aynı molekül içinde yer alması, literatürde çok yer almayan yeni moleküler teranostik bileşiklerin eldesi için son derece orijinal bir kombinasyondur. Bu çalışmada teranostik amaçlı Gd-DOTA-ftalosiyanin bileşiklerinin sentezleri ve karakterizasyonları yapılmış, fotofiziksel ve fotokimyasal özellikleri incelenmiştir. Bu fotosensitizerler tedavi penceresinde yüksek absorbanza ve önemli düzeyde sitotoksositeye sahiptir. Bununla birlikte, aktif konsantrasyonda hiçbir karanlık toksisite göstermemektedir. Bu dikkate değer özellikleri ile de fotodinamik terapi için ümit verici yeni ajanlar gibi uygulama bulabileceklerdir. Elde edilen kontrast görüntüleme çalışmalarının sonuçları ve *in-vitro* denemeleri bu iki molekülün kombinasyonunun, potansiyel fotodinamik teranostik ajanların elde edilmesini sağladığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Teranostik, Fotosensitizer, Ftalosiyanin, Fotodinamik Terapi (PDT), Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), Kontrast Ajanları.

SUMMARY

Cancer is a complex and important disease that leading cause of death worldwide. Conventional therapeutic methods have some side effects in cancer treatment such as non-specific drug delivery, multi drug resistance. Furthermore with conventional diagnostic techniques it is not possible early cancer detection. Recent progress in technology offers unique opportunities in cancer diagnosis and treatment. Theranostics are treatment strategies that associate diagnostic and therapeutic, in the same platform mainly against cancer.

Photodynamic therapy (PDT) is an emerging treatment model for a range of disease group, both cancerous and noncancerous. Magnetic resonance imaging contrast agents have being used since the 1980s. Since the use of magnetic resonance imaging contrast agents actively, magnetic resonance imaging has become a very successful radiological imaging modality in many aspects. Today the usage of clinically magnetic resonance imaging contrast agents is based on the paramagnetic Gd complexes.

Phthalocyanines are among the most promisiing photosensitisers when Gd-DOTA are excellent imaging agents. Their molecular combination will result in potentially powerful photodynamic theranostics. This combination is highly original as molecular theranostics are rather rare. Important advances in photodynamic and imaging fields are expected from the molecules designed for this thesis. The design and synthesis of a phthalocyanine – Gd-DOTA conjugate is presented to open the way to novel molecular theranostics, combining the properties of MRI contrast imaging with photodynamic therapy. Photophysical and photochemical properties, contrast imaging experiments and preliminary in vitro investigations proved that such a combination is relevant and lead to a new type of potential theranostic agent. These photosensitizers have strong absorptions in the therapeutic window and have spectacular photoinduced cytotoxicity. In addition, they display no dark toxicity at the active concentrations. With these remarkable properties, they are likely to find applications as promising new reagents for photodynamic therapy.

Key Words: Theranostics, Photosensitizer, Phthalocyanine, Photodynamic Therapy (PDT), Magnetic Resonance Imaging (MRI), Contrast Agents.

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin tüm aşamalarında yardımcı olan, çalışmam süresince her türlü destek ve fedakârlığı esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez danışmanım, çok değerli hocam Prof. Dr. AYŞE GÜL GÜREK'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Kimya Bölümünde gerektiği her anda deneyim ve düşüncelerini sunan değerli hocam Prof. Dr. Vefa AHSEN'e, doktora çalışmalarım süresince gerekli olan her türlü imkanı sağlayan, yardımlarını gördüğüm değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Fabienne DUMOULIN'e ve tez jürimde yer alan sayın hocam Doç. Dr. Devrim ATILLA ve Prof. Dr. Serdar ÖZÇELİK'e Kimya Bölümü öğretim üyelerine, araştırma görevlilerine ve uzmanlarına sonsuz teşekkür ederim.

Araştırma konularımızın sonuçlarının tamamlanmasında katkıda bulunan ve tez jürimde bulunan Bilkent UNAM'dan Doç. Dr. Mustafa Özgür GÜLER'e ayrıca yine Bilkent UNAM'dan Biyolojik çalışmalar da yardımlarından dolayı Ayşe B. TEKİNSOY ve grubuna, Bilkent UMRAN'dan MRG çalışmaları için Prof. Dr. Ergin ATALAR ve grubuna teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım bana desteğini esirgemeyen, birçok konuda yardımını aldığım değerli çalışma arkadaşım M. Menaf AYHAN'a ve tüm diğer arkadaşlarıma özellikle Veysel KOÇ, Aytaç ŞAHİN ve Gülenay TUNÇ'a çok teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan Anneme, Babama, Kardeşlerim Burcu AYDIN ve Türkan AYDIN'a, doktora tezimi hazırlarken benden bir an olsun bile manevi desteğini hiç esirgemeyen canımdan çok sevdiğim sevgili eşim AHMET SERKAN TEKDAŞ'a ve çok sevdiğim Ailesine, hayat kaynağım kızıma DEFNE'ME teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumunun (TÜBİTAK) 113R004 nolu COST-Aksiyonu ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
TABLolar DİZİNİ	xxii
1. GİRİŞ	1
2. TERANOSTİK AMAÇLI MOLEKÜLLERİN GELİŞTİRİLMESİ	4
2.1. Teranostik Kavramına Giriş	4
2.2. Fotodinamik Terapi (PDT) Tanımı ve Tarihsel Gelişimi	6
2.3. Fotodinamik Terapinin Etki Mekanizması	10
2.4. Fotodinamik Terapinin Temel Unsurları	11
2.4.1. Singlet Oksijen	11
2.4.2. Işık Kaynakları	12
2.4.3. Fotosensitizerler	14
2.4.3.1. Birinci Nesil Fotosensitizerler	14
2.4.3.2. İkinci Nesil Fotosensitizerler	15
2.4.3.3. Üçüncü Nesil Fotosensitizerler	17
2.4.3.4. Ftalosiyeninler	18
2.5. Fotodinamik Terapide Hedefleme	19
2.6. Fotosensitizerin Tümör Hücrelerine Alımı ve Hücre İçi Lokalizasyonu	21
2.7. Fotodinamik Terapide Hücre Ölümü	21
2.7.1. Nekroz	22
2.7.2. Apoptoz	23
2.8. Moleküler Görüntüleme	24
2.8.1. Optik Görüntüleme (Optical Imaging)	27

2.8.2. Bilgisayarlı Tomografi- BT (Computerized Tomography-CT)	28
2.8.3. Pozitron Emisyon Tomografisi (Positron Emmision Tomography-PET)	30
2.8.4. Tek Foton Işımasının Bilgisayarlı Tomografisi (Single Photon Emmision Computerized Tomography-SPECT)	32
2.8.4.1. Multi-Model Görüntüleme (SPECT/CT, PET/CT)	33
2.8.4.2. PET/BT (PET/CT) Tekniğinin Yaygın Kullanım Alanları	35
2.8.5. Ultrasonografi (US Imaging)	36
2.8.6. Manyetik Rezonans Görüntüleme MRG (Magnetic Resonance Imaging MRI)	37
2.8.6.1. Neden Manyetik Rezonans Görüntüleme?	38
2.8.6.2. MRG'nin Dezavantajları	38
2.8.6.3. MRG'de Kullanılan Kontrast Maddeler	39
2.8.6.4. Nonspesifik ajanlar	40
2.8.6.5. Hepatositlere yönelik ajanlar	40
2.8.6.6. Erken dönemde nonspesifik, geç dönemde hepatositlere Yönelik ajanlar	41
2.8.6.7. Retiküloendotelyal sisteme (RES) yönelik ajanlar	41
2.8.6.8. Kan havuzu ajanları	41
2.8.6.9. Gadolinyum şelatları ve şelat yapısı	42
3. TERANOSTİK AMAÇLI PDT VE MRI AJANI OLARAK ASİMETRİK Gd-DOTA SÜBSTİTÜE Zn(II) FTALOSİYANİNLER	45
3.1. Asimetrik Ftalosiyanınler	46
3.1.1. Asimetrik Ftalosiyanınlerin İstatistiksel Metodla Sentez Yöntemleri	46
3.1.2. Asimetrik Ftalosiyanın Sentezi İçin Selektif SubPcs Metodu	47
3.2. Teranostik Ajanların Literatürdeki Yeri ve Bu Tez Çalışması İçin Katkıda Bulunduğu Sonuçlar	48
3.2.1. Moleküler Teranostik Ajanlar	48
3.2.2. Nanoteknoloji ile Teranostik Ajanların Etkinliği	53
3.3. Çalışmada Hedeflenen Moleküllerin Tasarımı	55
3.4. Bulgular ve Tartışmalar	60

3.4.1. Sentez Stratejisi	60
3.4.1.1. Fonksiyonlandırılmış Azidli Ftalonitrillerin Hazırlanması	62
3.4.1.2. Suda Çözünür Gruplar İçeren Ftalonitril Bileşiğinin Hazırlanması	63
3.4.1.3. Mono ve Tetra Azidoftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi	63
3.4.1.4. Alkinil-DOTA Bileşiğinin Sentezi	64
3.4.1.5. Klik Kimyası ile Alkinil-Gd-DOTA Kompleksinin Azidli Ftalosiyanınler Üzerine Bağlanması	65
3.4.2. Ftalonitrillerin Sentezi ve Karakterizasyonu	67
3.4.3. Alkinil Gd-DOTA Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	71
3.4.4. Asimetrik Karboksili Asit Sübstitüe Ftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	73
3.4.5. Azid Fonksiyonlu Ftalonitril Bileşiklerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	77
3.4.6. Gd-DOTA Grubu İçeren Ftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	82
3.4.7. Gd-DOTA Grubu İçeren Ftalosiyanın Bileşiklerinin ICP-MS Çalışmaları	85
3.4.8. Gd-DOTA Grubu İçeren 26 Ftalosiyanın Bileşiğinin EPR Ölçümü	87
4. FTALOSİYANİNLERİN FOTOFİZİKSEL VE FOTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ	88
4.1. Fotofiziksel Özellikler	88
4.1.1. Floresans Kuantum Verimleri (Φ_F) ve Ömürleri (τ)	88
4.2. Fotokimyasal Özellikler	90
4.2.1. Singlet Oksijen Kuantum Verimi (Φ_Δ)	90
4.2.2. Fotobozunma Prosesi ve Kuantum Verimi (Φ_d)	91
4.3. Temel Hal Elektronik Absorbsiyon Spektrumları ve Agregasyon Davranışlarının Karşılaştırılması	93
4.4. Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon Deneyleri	96
4.5. Floresans Kuantum Verimleri	99
4.6. Singlet Oksijen Kuantum Verimleri (Φ_Δ)	99
4.7. Fotobozunma Kuantum Verimleri (Φ_d)	104

5. TERANOSTİK Gd-DOTA SÜBSTİTÜE Zn(II) FTALOSİYANİNLERİN MRG ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE PDT ÇALIŞMALARI	106
5.1. Biyolojik Analizler	106
5.1.1. <i>İn-vitro</i> Analizler	106
5.1.2. Konfokal Lazer-Taramalı Mikroskopisi	106
5.2. Kontrast Görüntüleme Ölçümleri	107
5.3. Suda Çözünür Gd-DOTA-Ftalosiyanın Bileşiklerinin Fotodinamik Aktiviteleri	109
5.3.1. Suda Çözünür Gd-DOTA-Ftalosiyanın Bileşiklerinin Sitotoksite Çalışması	110
5.3.2. Konfokal Lazer-Taramalı Mikroskobu ile Suda Çözünür Gd-DOTA-Ftalosiyanın Bileşiklerinin MCF-7 Hücreleri Üzerine Etkilerinin Gözlenmesi	111
5.4. Suda Çözünür Gd-DOTA-Ftalosiyanın Bileşiklerinin Relaksivite Ölçümleri	112
6. SONUÇLAR	115
7. DENEYSEL KISIM	117
7.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	117
7.2. Alamar Mavisi Testi	117
7.3. Hücre Kültürü	118
7.4. Relaksivite Ölçümleri	118
7.5. Başlangıç Maddelerinin ve Ftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi	119
7.5.1. 4-Nitroftalonitril (3) Sentezi	119
7.5.2. 4,5-Dikloroftalonitril (7) Sentezi	121
7.5.3. Tri(etilen glikol) monometil eter tosilat (8) Sentezi	123
7.5.4. 1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan (9) Sentezi	124
7.5.5. 4-[(3,4-disiyanofenil)sülfanil]benzoik asit (10) Sentezi	125
7.5.6. 3-[(3,4-disiyanofenil)sülfanil]propionik asit (11) Sentezi	126
7.5.7. 4,5- Bis(4,7,10-trioksaundekan-1-sulfanil) Ftalonitril (12) Sentezi	127
7.5.8. 1-Azido-3-propil amin (13) Sentezi	128
7.5.9. N-(3-azidopropyl)-4-((3,4-dicyanophenyl)thio)benzamide (14) Sentezi	129

7.5.10. N-(3-azidopropyl)-3-((3,4-dicyanophenyl)thio)propanamide (15) Sentezi	130
7.5.11. 1,4,7,10-Tetrazasiklododekan-1-(2-Propinilkarbamoil) Metil- 4,7,10- Triasetikasit Tersiyerbutil Ester (16) Sentezi	131
7.5.12. 4,10-Bis-karboksimetil-7-[(2-propinilkarbamil)-metil]- 1,4,7,10-tetraaza- siklododek-1-yl-asetik asit (17) Sentezi	132
7.5.13. 4,10-Bis-karboksimetil-7-[(2-propinilkarbomil)-metil] 1,4,7,10-tetraaza-siklododec-1-yl}-asetat Gadolinyum (III) Kompleksinin (Gd595) (18) Sentezi	133
7.5.14. 2-(4-Merkapto benzoik asit)-9,10,16,17,23,24-(1-Merkapto- 4,7,10- Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyenin (19) Sentezi	134
7.5.15. 2-(Merkapto propionik asit)-9,10,16,17,23,24-(1-Merkapto- 4,7,10- Trioksaundekan) Zn(II) Ftalosiyenin (20) Sentezi	135
7.5.16. 2-(N-(3-azidopropil)-(3-tiyobenzil)Amit)-9,10,16,17,23,24- (1-Merkapto-4,7,10- Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyenin (21) Sentezi	136
7.5.17. 2-(N-(3-azidopropil)-(3-tiyopropan)Amit)-9,10,16,17,23,24- (1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyenin (22) Sentezi	138
7.5.18. Tetra-(N-(3-azidopropil)-(3-tiyobenzil)Amit) Zn (II) Ftalosiyenin (23) Sentezi	139
7.5.19. Tetra-(N-(3-azidopropil)-(3-tiyopropan)Amit) Zn (II) Ftalosiyenin (24) Sentezi	140
7.5.20. 2-(N-(3-Gd595-propil)-(3-tiyobenzil)Amit)-9,10,16,17,23,24 (1 -Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyenin (25) Sentezi	141
7.5.21. 2-(N-(3-Gd595-propil)-(3-tiyopropil)Amit)-9,10,16,17,23,24- (1 -Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyenin (26) Sentezi	143
8. SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN SPEKTRUMLARI	144
8.1. 8 Bileşiğine Ait Spektrumlar	144
8.2. 9 Bileşiğine Ait Spektrumlar	145
8.3. 10 Bileşiğine Ait Spektrumlar	147

8.4. 11 Bileşğine Ait Spektrumlar	148
8.5. 12 Bileşğine Ait Spektrumlar	150
8.6. 13 Bileşğine Ait Spektrumlar	152
8.7. 14 Bileşğine Ait Spektrumlar	153
8.8. 15 Bileşğine Ait Spektrumlar	156
8.9. 16 Bileşğine Ait Spektrumlar	158
8.10. 17 Bileşğine Ait Spektrumlar	160
8.11. 18 Bileşğine Ait Spektrumlar	162
8.12. 19 Bileşğine Ait Spektrumlar	163
8.13. 20 Bileşğine Ait Spektrumlar	164
8.14. 21 Bileşğine Ait Spektrumlar	166
8.15. 22 Bileşğine Ait Spektrumlar	167
8.16. 23 Bileşğine Ait Spektrumlar	169
8.17. 24 Bileşğine Ait Spektrumlar	171
8.18. 25 Bileşğine Ait Spektrumlar	172
8.19. 26 Bileşğine Ait Spektrumlar	174
KAYNAKLAR	176
ÖZGEÇMİŞ	187
EKLER	188

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler ve Açıklamalar

Kısaltmalar

Φ_d	: Fotobozunma Kuantum Verimi
Φ_F	: Floresans Kuantum Verimi
Φ_Δ	: Singlet Oksijen Kuantum Verimi
τ_F	: Floresans yarı ömürleri
T_1	: T_1 Relaksasyon Zamanı
T_2	: T_2 Relaksasyon Zamanı
ADMA	: Tetrasodium anthracene-9,10-bis-methylmalonate
CT	: Bilgisayarlı Tomografi
DBU	: 1,8-Diazabisiklo[5.4.0]undec-7-ene(1,5,5)
DCM	: Diklorometan
DDC	: N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide
DMAE	: Dimetilaminoetanol
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimethylsülfoksit
DPBF	: 1,3-difenilisobenzofuran
EPR	: Elektron Paramanyetik Rezonans
ES	: Elektron Sprey
EtOH	: Etanol
FTIR	: Fourier Transform Infrared
ICP-MS	: indüktif olarak eşleştirilmiş plazma-kütle spektrometresi
MCF-7	: İnsan Meme Adenokarsinoma Hücre Hattı
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MTT	: Difeniltetrazolium bromid
NHS	: N-Hydroxysuccinimide
NMR	: Nükleer Magnetik Rezonans
Pc	: Ftalosiyenin
PD	: Proton Yoğunluğu
PDT	: Fotodinamik Terapi

PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PN	: Ftalonitril
PS	: Fotosensitizer
PSMA	: prostate-specific membrane antigen
RF	: Radyo Frekansı
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
TFA	: Trifloroasetik asit
TLC	: İnce Tabaka Kromotografisi
UV/Vis.	: Ultraviolet / Visible (Mor Ötesi / Görünür)

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Teranostik ve ilişkili alanlar.	5
2.2: Fotodinamik terapi uygulanan bir operasyon.	6
2.3: Fotodinamik tedavinin kısaca şematize edilmesi.	7
2.4: F. Meyer-Betz hematoporfirinin deneyinin etkileri.	8
2.5: PDT'nin Jablonski Diagramı üzerinde şematik gösterimi.	10
2.6: Tip I ve Tip II mekanizmalarının şematik gösterimi.	11
2.7: Triplet ve singlet oksijen elektron dağılımını gösteren moleküler orbital diyagramları.	12
2.8: Hematoporfirinin yapısı.	15
2.9: Işığa duyarlı İlaçlar.	16
2.10: Alüminyum ftalosiyanın türevleri ve Pc4 molekülü.	19
2.11: Çeşitli fotosensitizer maddelerin etkili olduğu tümör dokularının normal dokuya kıyasla belirlenen etki oranları ve seçicilikleri.	20
2.12: Tümörlü dokuların moleküler düzeyde görüntülenmesi.	25
2.13: Klinik çalışmalarda kullanılan görüntüleme yöntemleri.	26
2.14: X-ışını görüntüleme yöntemi.	29
2.15: PET ve BT (CT)'nin ayrı ayrı ve bir araya getirilmiş görüntüleri ile tümör odağının ve anatomik yerinin belirlenmesi.	34
2.16: PET ve BT (CT) ile görüntülenen bir kolon tümör odağının ve anatomik yerinin belirlenmesi.	34
2.17: Gadolinyum şelatlarının iki farklı yapısal sınıflandırılması.	42
2.18: Klinikte kullanılan Gadolinyumlu kontrast ajanların yapıları.	44
3.1: Asimetrik ftalosiyaninler.	45
3.2: İki farklı ftalonitrille elde edilebilen altı farklı ftalosiyanın sentezi.	46
3.3: Subftalosiyanın kullanarak asimetrik Pc sentezi.	48
3.4: Teranostik (mor bar) ve çok fonksiyonlu sistemlerde (mavi bar) İlgili 200-2011 yılları arasında yapılan makale çalışmalarının dağılımı.	49
3.5: Ftalosiyanın ve diğer fotosensitizerlerinin nanotaşıyıcı sistem ile konjügasyonu.	50
3.6: Gd-DOTA grupları içeren porfirin bileşiği.	51

3.7:	Gd-DOTA grupları içeren porfirazin bileşiği.	51
3.8:	Peptit grupları içeren ftalosiyenin bileşiği.	52
3.9:	Gd-DOTA miselleri içine enkapsüle edilen ZnPc molekülü.	52
3.10:	QD-Apt(Dox) theranostic nanoyapılarıyla hedef yönelimli ilaç tedavisi ve görüntüleme.	54
3.11:	NPs-ALPcS ₄ Nanoparçacıkların sentezi.	54
3.12:	Hedefe yönelik asimetric ftalosiyeninler.	55
3.13:	Sentezleri hedeflenen Mono-Gd-DOTA, tetra-Gd-DOTA süstitüe Zn ftalosiyeninlerin yapıları.	59
3.14:	Gd-DOTA-Pc bileşiklerinin sentez yöntemleri.	60
3.15:	Asimetric ftalosiyenin bileşiklerinin sentezinde uygulanan yöntem.	61
3.16:	Azid süstitüe ftalonitril türevlerinin sentezi.	62
3.17:	Suda çözünür gruplar içeren ftalonitril türevinin sentezi.	63
3.18:	Azidli ftalosiyenin türevlerinin sentezi.	64
3.19:	Gd-DOTA kompleksinin sentez yöntemi.	65
3.20:	Klik kimyasıyla asimetric Gd-DOTA-Pc bileşiklerinin genel sentez yöntemi.	66
3.21:	Klik kimyasıyla simetric Gd-DOTA-Pc bileşiklerinin genel sentez yöntemi	67
3.22:	4-nitroftalonitril (3) bileşiğinin sentezi.	68
3.23:	4,5-dikloroftalonitril (7) bileşiğinin sentezi.	68
3.24:	10, 11 ve 12 ftalonitril bileşiklerinin sentezi.	69
3.25:	12 Bileşiğine ait FTIR spektrumu.	70
3.26:	11 Bileşiğine ait dötoro aseton içerisine alınan ¹ H-NMR spektrumu.	71
3.27:	16 Bileşiğine ait d ₆ -Aseton içerisine alınan ¹ H-NMR ve ¹³ C NMR spektrumları.	73
3.28:	Karboksili asit süstitüe asimetric ftalosiyeninlerin sentezi.	74
3.29:	Azid fonksiyonlu asimetric Pc'lerin karboksili asit süstitüe Pc'ler üzerinden sentez yöntemi.	76
3.30:	14 Bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.	78
3.31:	14 Bileşiği kristalinin numaralandırılmış ORTEP gösterimi.	81
3.32:	15 Bileşiği kristalinin numaralandırılmış ORTEP gösterimi.	81

3.33:	22 ve 26 Bileşiğinin FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.	84
3.34:	⁶⁶ Zn ve ¹⁵⁷ Gd Metallerinin ICP-MS kalibrasyon eğrileri.	86
3.35:	26 Bileşiğine ait X-band EPR spektrumu.	87
4.1:	19 ve 20 Bileşiklerinin DMSO, Su ve Su+Triton-X içerisindeki UV- Vis spektrumları.	94
4.2:	25 ve 26 Numaralı bileşiklerin değişik çözücüler içerisindeki UV-Vis spektrumları.	95
4.3:	19, 20, 25 ve 26 Numaralı bileşiklerinin DMSO içerisinde farklı konsantrasyonlarda gözlenen UV-Vis spektrumları.	96
4.4:	19 ve 20 Numaralı ftalosiyanın DMSO’da alınan Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon spektrumları (Eksitasyon Dalgaboyu: 640 nm).	97
4.5:	25 ve 26 Numaralı ftalosiyanın DMSO’da alınan Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon spektrumları (25 Bileşiği için eksitasyon dalgaboyu: 640 nm, 26 bileşiği için eksitasyon dalgaboyu: 645 nm).	98
4.6:	Fotokimyasal ölçüm düzeneği.	100
4.7:	19 ve 20 Bileşiğinin singlet oksijen kuantum verimi ölçümleri sırasındaki UV-Vis spektrumu değişimi (Konsantrasyon: 1×10^{-5}).	101
4.8:	25 Bileşiğinin singlet oksijen kuantum verimi ölçümleri sırasındaki DMSO ve suda UV-Vis spektrumu değişimi (Konsantrasyon: 1×10^{-5}).	102
4.9:	26 Bileşiğinin singlet oksijen kuantum verimi ölçümleri sırasındaki DMSO ve suda UV-Vis spektrumu değişimi (Konsantrasyon: 1×10^{-5}).	103
4.10:	19 ve 20 Bileşiğinin fotobozunma kuantum verimi ölçümleri sırasındaki UV-Vis spektrumu değişimi.	104
4.11:	25 ve 26 Bileşiğinin fotobozunma kuantum verimi ölçümleri sırasındaki UV-Vis spektrumu değişimi.	105
5.1:	Proton spinlerinin a) dış manyetik alan yok iken b) manyetik alan içindeki longitudinal manyetizasyonu, c) radyofrekans pulsu verilmesi ile transvers manyetizasyon, d) spinlerin geri dönüş sürelerinde (T_1 ve T_2) sinyal kaydı.	107
5.2:	1-50 μ M aralığında artan 25 ve 26 ftalosiyanın konsantrasyonunun MCF-7 hücrelerinde canlılığa etkisi.	110

5.3:	a) MCF-7 hüçelerinin 10µM ftalosiyanın 25 ve 26 ile karanlıkta 37 ⁰ C’de inkübe edildikten 24 saat sonraki konfokal mikroskobu görüntüleri b) DIC görüntüleri c) birleştirilmiş görüntüleri.	112
5.4:	25 ve 26 Bileşiklerinin relaksasyon zamanına karşı Gd(III) konsantrasyonu grafiği.	113
5.5:	25 ve 26 Bileşiklerinin T ₁ ağırlıklı görüntüleri.	114
7.1:	3 Numaralı bileşiğin sentezi.	119
7.2:	7 Numaralı bileşiğin sentezi	121
7.3:	8 Numaralı bileşiğin sentezi.	123
7.4:	9 Numaralı bileşiğin sentezi.	124
7.5:	10 Numaralı bileşiğin sentezi.	125
7.6:	11 Numaralı bileşiğin sentezi.	126
7.7:	12 Numaralı bileşiğin sentezi.	127
7.8:	13 Numaralı bileşiğin sentezi.	128
7.9:	14 Numaralı bileşiğin sentezi.	129
7.10:	15 Numaralı bileşiğin sentezi.	130
7.11:	16 Numaralı bileşiğin sentezi.	131
7.12:	17 Numaralı bileşiğin sentezi.	132
7.13:	18 Numaralı bileşiğin sentezi.	133
7.14:	19 Numaralı bileşiğin sentezi.	134
7.15:	20 Numaralı bileşiğin sentezi.	135
7.16:	21 Numaralı bileşiğin sentezi.	136
7.17:	22 Numaralı bileşiğin sentezi.	138
7.18:	23 Numaralı bileşiğin sentezi.	139
7.19:	24 Numaralı bileşiğin sentezi.	140
7.20:	25 Numaralı bileşiğin sentezi.	141
7.21:	26 Numaralı bileşiğin sentezi.	143
8.1:	8 Bileşiğine Ait FT-IR spektrumu.	144
8.2:	9 Bileşiğine Ait FT-IR spektrumu.	145
8.3:	9 Bileşiğine ait kütle (ESI) spektrumu.	145
8.4:	9 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	146
8.5:	9 Bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	146
8.6:	10 Bileşiğine Ait FT-IR Spektrumu.	147

8.7:	10 Bileşiğine ait kütle (ESI) spektrumu.	147
8.8:	10 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	148
8.9:	11 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	148
8.10:	11 Bileşiğine ait (ESI) spektrumu.	149
8.11:	11 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	149
8.12:	12 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	150
8.13:	12 Bileşiğine ait kütle (ESI) spektrumu.	150
8.14:	12 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	151
8.15:	12 Bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	151
8.16:	13 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	152
8.17:	13 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	152
8.18:	13 Bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	153
8.19:	14 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	153
8.20:	14 Bileşiğine ait kütle (ESI) spektrumu.	154
8.21:	14 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	154
8.22:	14 Bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	155
8.23:	14 Bileşiğine ait X-ray spektrumu.	155
8.24:	15 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	156
8.25:	15 Bileşiğine ait kütle (ESI) spektrumu.	156
8.26:	15 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	157
8.27:	15 Bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	157
8.28:	15 Bileşiğine ait X-ray spektrumu.	158
8.29:	16 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	158
8.30:	16 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	159
8.31:	16 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	159
8.32:	16 Bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	160
8.33:	17 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	160
8.34:	17 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	161
8.35:	17 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	161
8.36:	18 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	162
8.37:	18 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	162
8.38:	19 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	163
8.39:	19 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	163

8.40:	19 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	164
8.41:	20 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	164
8.42:	20 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	165
8.43:	20 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	165
8.44:	21 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	166
8.45:	21 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	166
8.46:	21 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	167
8.47:	22 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	167
8.48:	22 Bileşiğine ait kütle (HRMS) spektrumu.	168
8.49:	22 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	168
8.50:	22 Bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	169
8.51:	23 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	169
8.52:	23 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	170
8.53:	23 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	170
8.54:	24 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	171
8.55:	24 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	171
8.56:	24 Bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	172
8.57:	25 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	172
8.58:	25 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	173
8.59:	25 Bileşiğine ait kütle (HRMS) spektrumu.	173
8.60:	26 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.	174
8.61:	26 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.	174
8.62:	26 Bileşiğine ait kütle (HRMS) spektrumu.	175

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Pozitron yayan Radyonüklidler ve Yarı Ömürleri.	31
2.2: PET’de kullanılan radyofarmasötikler ve kullanma alanları.	32
2.3: Ülkemizde kullanılan Gadolinyumlu kontrast ajanlar.	43
3.1: Ürün karışımlarının istatistiksel metotla hesaplanan Nisbi miktarları.	47
3.2: Ftalonitril bileşikleri (10, 11 ve 12) için molekül iyon pikleri.	70
3.3: DOTA’lı bileşikler (16, 17 ve 18) için molekül iyon pikleri.	72
3.4: 19 ve 20 Numaralı asimetrik ftalosiyanın bileşikleri için molekül iyon pikleri.	75
3.5: 14 ve 15 Numaralı asimetrik ftalonitril bileşikleri için molekül iyon pikleri.	78
3.6: 14 Numaralı ftalonitril bileşiğinin kristal dataları ve saflık parametreleri.	79
3.7: 15 Numaralı ftalonitril bileşiğinin kristal dataları ve saflık parametreleri.	80
3.8: 21-26 Numaralı ftalosiyanın bileşikleri için molekül iyon pikleri.	85
3.9: 25 ve 26 Numaralı ftalosiyanın bileşikleri için ICP-MS sonuçları.	86
4.1: 19, 20, 25 ve 26 Bileşiklerinin Absorpsiyon ve Floresans dataları.	98
4.2: 19, 20, 25 ve 26 Bileşiklerinin DMSO içinde elde edilen fotofiziksel ve fotokimyasal parametreleri.	99

1. GİRİŞ

Kanser, çağımızda tüm dünya ülkeleri için büyük sorun teşkil eden hastalıkların başında gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) bağlı Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumunun (IARC) 2030 yılı için öngörüsü, kanserin ölüm nedenleri arasında birinci sırada olacağı yönündedir. Yapılan bilimsel çalışmalar, kanserin teşhis oranının durmadan artarken kanser nedenli ölüm oranının hemen hemen sabit kaldığını göstermektedir [1]. Bu tablo, kanserin kazanılabilir bir savaş olması yönünde ümit vericidir. Kanser tanı ve tedavisinde kullanılan yöntemlerin çeşitli dezavantajları, bu yöntemlerin etkinliğini azaltmaktadır. Kanser, hücre büyüme ve bölünmesini kontrol eden genlerin hasar görmesi ile ortaya çıkan kritik ve karmaşık bir hastalıktır. Kanser en önemli tanımsal özelliği, vücudun çeşitli bölgelerinde ortaya çıkan ve diğer organlara yayılabilen anormal hücre bölünmeleridir. Anormal bölünen hücre topluluğu, çevrelediği doku veya organı baskılayarak dokunun veya organın işlevini yerine getirmesini engeller.

Kanser gibi hayatı tehdit eden ciddi hastalıkların erken teşhisi ve tedavisi çok büyük önem arz etmekte olup, bu konuda yoğun araştırmalar sürdürülmektedir. Biyoteknoloji ve nanoteknoloji, tıbbi bilimlerin geçtiğimiz on yıl içerisinde en hızlı gelişen alt dallarından bir tanesidir. Bu yönde geliştirilen çeşitli fonksiyonel moleküller ve nanoyapılar özellikle kanserin tedavisine yönelik farklı bir uygulama boyutu getirmiştir. İlaçla yapılan tedavide, ilaç tümörlü dokuya ulaşana dek vücuttan atılmakta ve bu da daha yüksek dozda ilaç kullanımını gerektirip istenmeyen yan etkilere neden olmaktadır. Ayrıca ilaçlar kanser hücrelerine etki ederken diğer sağlıklı hücrelere de zarar vermektedir. Bu problemleri çözebilmek için hem tedavi amaçlı ilaçları taşıyabilen, hem hücrelere etkili bir biçimde ulaşabilen ve hem de bu süreçlerde görüntüleme imkânı sağlayabilen sistemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda birden fazla fonksiyonu bir arada bulundurabilen “Teranostik” sistemler sayesinde tedavide başarı oranı büyük oranda artacaktır [2], [3]. Teranostik terimi, çeşitli hastalıklar için tanı ve tedavinin tek bir platformda birleştirilmesini ifade eder. Tanı ve tedavinin tek bir platformda birleştirilmesi sayesinde önce her bir tümördeki hücresel fenotipler karakterize edilip ardından hedefe yönelik tedavi uygulanabilir. Bu şekilde, genel tedaviler yerine kişiselleştirilmiş tedaviler uygulanarak tedavilerin etkinliği artırılabilir.

Günümüzde kanser tedavisinde ameliyat, kemoterapi ve radyoterapi olmak üzere üç temel tedavi yöntemi uygulanmaktadır. 1960'ların başında şekillenmeye başlayan Fotodinamik Terapi (PDT) yöntemi yan etkileri, uzun, ağırlı iyileşme süreçleri ve nüksetme riski taşıyan bu yöntemlere alternatif olarak geliştirilmiştir. PDT yöntemi, yan etkileri diğer yöntemlere göre daha az olan bir kanser tedavi yöntemidir. PDT'de prensip, belirli bir dalga boyundaki ışığa duyarlı malzemelerin (fotosensitizer-PS) tümörlü dokuda birikmesi ve fotosensitizerin uygun dalga boyundaki ışık ile uyarılarak tümörü yok etmesi ilkesine dayanmaktadır. Işıkla uyarılan fotosensitizer tepkimeler sonucunda aşırı reaktif ve toksik singlet oksijen açığa çıkarır. Singlet oksijen çevre dokulara zarar vermeden yalnızca biriktiği bölgedeki yağ, protein ve nükleik asitler gibi birçok biyolojik molekülle etkileşip apoptozis ya da nekrozis yoluyla kanser hücrelerinde ölüme neden olur. Kullanılan ışığa duyarlı maddenin toksisite oluşturmadan seçici olarak tümör dokusunda birikmesi, ışığın sadece tümör bölgesine uygulanması ile normal doku hasarının engellenmesi, istenilen sonuç elde edilene kadar tekrarlanabilir olması ve düşük maliyeti, PDT'ye geleneksel onkoterapi yöntemlerine göreceli bir avantaj sağlamaktadır [4], [5].

İkinci nesil fotosensitizerler arasında yer alan Ftalosiyanın moleküllerinin PDT'de PS olarak kullanılmaları günümüzde oldukça önem kazanmıştır. Ftalosiyanın moleküllerinin sahip oldukları yüksek dalga boyunda (near IR) absorpsiyon yapma, yüksek triplet kuantum verimi, uzun triplet halde kalma süreleri ve etkili bir şekilde singlet oksijen oluşturabilme özellikleri nedeniyle PDT ile kanser tedavisinde kullanılacak hedef moleküller arasında yer almaktadırlar [6]. Ftalosiyanın bileşiklerinin PDT'de fotosensitizer olarak kullanımları ve uygulamaları üzerine yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu moleküllerin değişik gruplarla fonksiyonlandırılması sonucu kanser tedavisi, görüntüleme ve hedefleme alanlarında kullanılacak fotosensitizerler elde edilebilmektedir. Son yıllarda giderek artan sayıda suda çözünebilen ftalosiyanın bileşikleri tasarlanmaya başlanmıştır. Bu tez kapsamında da hedef molekül olarak suda çözünebilen ftalosiyanın türevleri incelenecektir.

Kanser, gelişimi uzun süren bir hastalıktır. Erken evrelerde teşhis edilmesi tedavisinde kolaylıklar sağlar. Hücrelere, mutasyonun erken evrelerinde müdahale edilebilirse kanser gelişimi durdurulabilir. Yüksek görüntü kalitesi ve bilinen bir zararının olmaması nedeniyle günümüzde manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'ye

olan talep giderek artmaktadır. Manyetik rezonans görüntüleme 'de (MRG) kontrast maddeler, kontrastsız görüntülerde yeterli doku ayrımının yapılamadığı durumlarda kullanılırlar. Kontrast maddeler dokuların sadece morfolojisi hakkında bilgi vermekle kalmaz bazı durumlarda fonksiyonu hakkında da önemli bilgiler sağlayabilir. MRG güçlü bir manyet ve radyo dalgaları ile X-ışını veya diğer radyasyonları kullanmadan vücudun organ ve yapılarını detaylı görüntülenmesini sağlayan güvenli bir tanısal uygulamadır. İnsan vücudunun yaklaşık %63'ünde yer alan hidrojen atom çekirdekleri MR sinyalinin kaynağını oluşturur. MRG incelemelerinde kullanılan kontrast maddelerin önemli bir bölümü gadolinyum içeren ajanlardır. Serbest gadolinyum iyonu MRG için uygun bir madde değildir. Bunun nedenleri serbest gadolinyum iyonunun aşırı toksik olması, biyodağılımının ve farmokinetik profilinin iyi olmaması ve biyolojik ortamlarda MRG kontrast maddesi olarak verimliliğinin iyi olmamasıdır. Bu yüzden gadolinyumun, DTPA (dietilentriaminpentaasetik asit), DTPA-BMA (dietilentriaminpentaasetik asit bis-metilamid), DOTA (tetraazasiklododekan tetraasetik asit) ve HP-DO3A ile olan bileşikleri geliştirilmiştir. Bütün gadolinyumlu kontrast ajanlar gadolinyum iyonu (Gd^{+3}) içeren şelatlardır. Kontrast maddelerin kullanılması tüm görüntüleme yöntemlerinde olduğu gibi MRG' nin de diagnostik yeteneklerini arttırmaktadır. Bu çalışmada hedeflenen moleküller en sık kullanılan gadolinyumlu bileşiklere ek olarak daha etkin Ftalosiyanın-Gd-DOTA konjüge kontrast maddelerin geliştirilmesi yönündedir. Önümüzdeki yıllarda MRG'de kullanabileceğimiz kontrast maddelerin çeşidinin çok daha fazla olacağı ve bu sayede MRG'nin uygulama alanının genişleyeceği kesindir.

Bu tez çalışması kapsamında iki farklı tür Ftalosiyanın türevinin sentezi gerçekleştirilmiştir, tanı ve tedavi (Teranostik) amaçlı kullanılacak ve görüntülemeye imkan verecek yeni çok fonksiyonlu Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi ve karakterizasyonları yapılmıştır. Laboratuvarımızda geliştirip detaylı olarak karakterize etmiş olduğumuz teranostik moleküllerin *in vitro* PDT aktiviteleri ve MRG özelliklerinin incelenmesi ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda yaşamı tehdit eden kanser gibi çok önemli hastalıkların tedavisi ve erken teşhisi gibi önemli bir sorunun çözümüne bir nebze de olsa katkıda bulunmuş olacağımız kanaatindeyiz.

2. TERANOSTİK AMAÇLI MOLEKÜLLERİN GELİŞTİRİLMESİ

2.1. “Teranostik” Kavramına Giriş

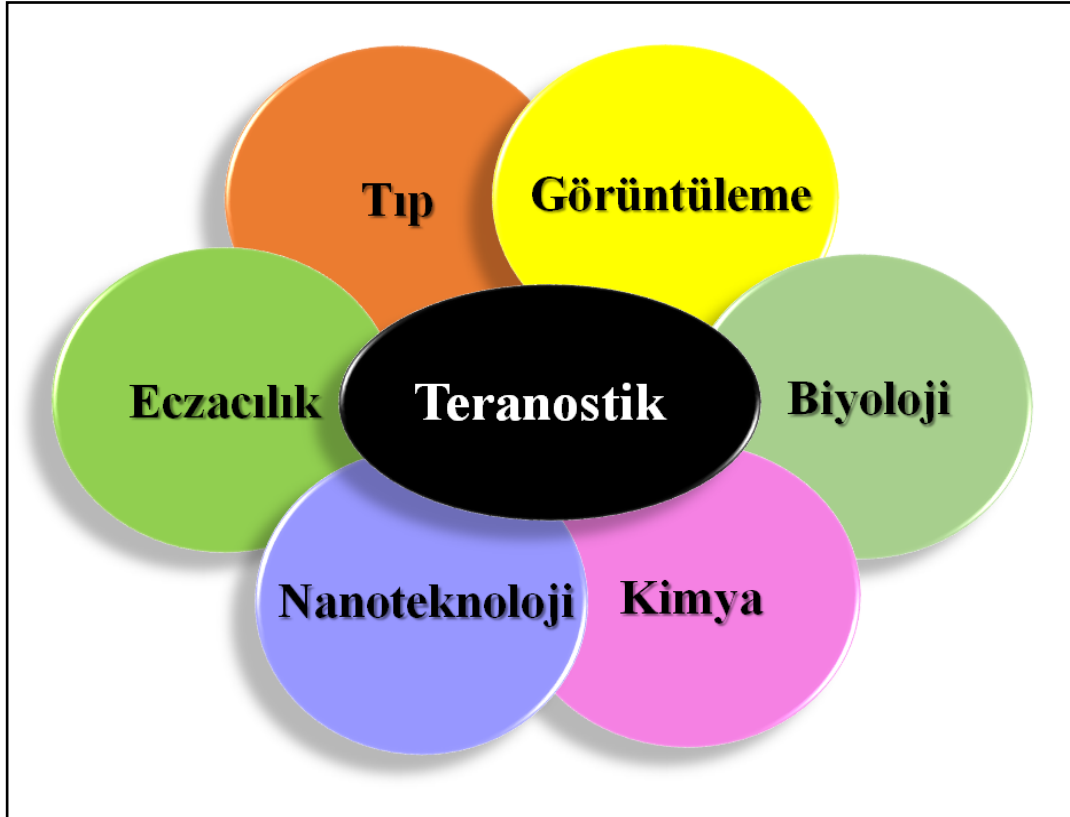
Kanser milyonları etkileyen, hastalık ve ölüm hızı artış eğilimi gösteren bir sağlık sorunudur. Her kanserde bireye özgü bir seri genetik değişim birikir. Her biri farklı bir genetik değişim setine sahiptir. Histolojik görünümleri benzer tümör davranışları ve sağaltıma yanıtları farklı olacaktır. Tıpta bu farklılık tanıdan tedaviye kadar yansır. Tıp dünyası hızla kişiselleştirilmiş teşhis ve tedaviye doğru yol alıyor. Yapılan araştırmaların elde edilen bulgularına göre çift haneli rakamlarla gerçekleşen büyümenin sürdürülebilir bir nitelik taşıdığı ve hükümetlerin artan desteğiyle yakın gelecekte daha da yaygınlık kazanarak sağlıkta yeni teşhis ve tedavi modeli haline geleceği belirtiliyor. Araştırmada insanın biyolojik çeşitliliğinin doğasının kişisel tıp uygulamalarını gerekli kıldığı, hastanın sağlık geçmişi, genetik yapısı ve bağışıklık sistemine bağlı olarak kök hücre ya da kişiye özel ilaç tedavisinin çok daha etkin, hızlı ve ekonomik bir çözüm olacağı vurgulanıyor. Genetik biliminde yaşanan büyük keşifler, kök hücre tedavisi ve nanoteknoloji gibi devrimler tanı ve tedavide bir devrimi de beraberinde getiriyor: “Kişiselleştirilmiş tıp”.

Neden bazı insanlar kanser olurda bazıları olmaz? Kanser neden bazı kişilerde daha saldırgan? Neden bu ilaç siz de etkisini gösterir de beni etkilemez? Neden bazı hastalarda standart dozun yarısı yeterlidir? İşte bireysel tıp yaklaşımı bu sorulara yanıt arar. Geçmiş tıp yaklaşımı tek ölçüt ve dozun herkese uygun olduğu temeline dayalıdır ve istatistiksel olarak anlamlılık sınırları içindeki değişimleri kapsar. Günümüz tıbbı ise gelişmekte olan teknolojiye ise gruplayarak tedavi şeklinde bir gelişim izler.

Modern tıbbın gelişmesine paralel olarak modern farmakolojinin kurulması ve yaygınlık kazanması olgusunda olduğu gibi yakın dönem zarfında genetik bilimi ve teknolojisinde gerçekleşen büyük atılımlar da kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarının gelişmesine imkân sağlamış bulunmaktadır. Kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarının klinik çalışmaları dizayn, etkililik ve teşhis gücü bakımından geliştirilerek, teşhis ve tedavide çok daha başarılı sonuçlar sağlayacağını belirtilirken, ayrıca klinik

çalışmalarda işgücü ve zamandan tasarruf sağlamaya, ilaç yanıt oranını artırmaya ve ters ilaç reaksiyonunu azaltmaya yardımcı olacağının altı çiziliyor.

Yeni bir tıp terimi olan ‘‘Teranostik’’ hastaların bireysel tanı ve terapileri için kullanılır. Teranostik terimi, çeşitli hastalıklar için tanı ve tedavinin tek bir platformda birleşitilmesini ifade eder. Tanıyı, hedefe odaklı tedaviyi ve tedavi cevabının izlenmesini bir arada sağlayan tedavi sistemleri, teranostik tıp olarak tanımlanır. Kanser, heterojen bir hastalıktır. Aynı tip kanserler arasında, tümör ve metastaz odağı arasında hatta tek bir tümörü meydana getiren hücreler arasında moleküler heterojenlikler bulunmaktadır. Dolayısıyla kullanılan tüm tedaviler, sınırlı hasta alt popölasyonlarında ve hastalığın belirli evrelerinde etkilidir [7]. Tanı ve tedavinin tek bir platformda birleşitilmesi sayesinde önce her bir tümördeki hücresel fenotipler karakterize edilip ardından hedefe yönelik tedavi uygulanabilir. Bu şekilde, genel tedaviler yerine kişiselleşitilmiş tedaviler uygulanarak tedavilerin etkinliği artırılabilir [8].



şekil 2.1: Teranostik ve ilişkili alanlar.

2.2. Fotodinamik Terapi (PDT) Tanımı ve Tarihsel Gelişimi

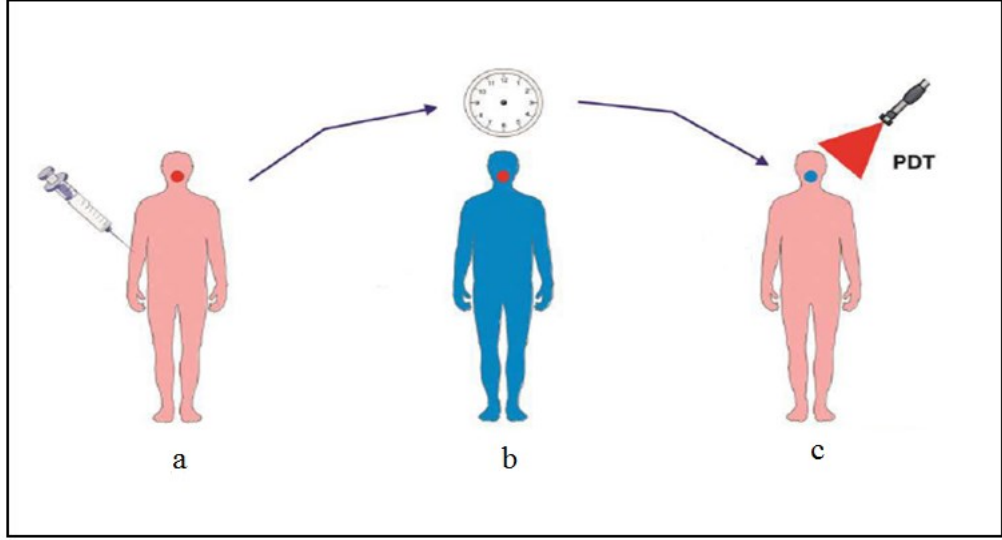
Fotodinamik Terapi (PDT), ışığa duyarlı ilacın (fotosensitizer) hastaya verilmesi ve bu ilacın tümörlü dokuda birikmesinin ardından, uygun dalga boyundaki ışık ile uyarılarak tümörün yok edilmesi prensibine dayanır. Işığa-duyarlı bu ilaçların normal dokuya kıyasla tümörlü dokuda birikme ve muhafaza edilebilme eğilimleri çok daha fazladır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Fotodinamik Terapi uygulanan bir operasyon.

Vücudun hasarlı veya kanserli hücreleri tarafından tehdit edilen bölgesinde kullanılacak olan fotosensitizer, onu etkinleştiren ışık ve fotosensitizer ajanın uygulanış şekline göre değişiklik göstermektedir. Bazı tedavi yöntemlerinde direkt deriye uygulanan ajan, diğer bir yöntemde ise kana enjekte edilebilmektedir. Aynı şekilde tedavinin etkinliği uygulanan fotosensitizer ajana, ışık kaynağına ve tedavi şekline bağlı olarak da değişiklik göstermektedir [9]. Kullanılan fotosensitizer ajan kanser hücreleri tarafından absorbe edildikten sonra uygun ışık sadece kanser hücrelerinin bulunduğu bölgeye uygulanır. PDT, kanser hücrelerini besleyen kan damarlarının tahribi ve immün sistemin kanser hücrelerine karşı atağının uyarımını sağlaması bakımından önemli bir tedavi yöntemidir. Ajanın hastaya verilmesi ve ışığın uygulanması arasındaki zaman periyodu birkaç saat olabileceği gibi birkaç

günde olabilmektedir. Bu süre kullanılan fotosensitizer ajana bağlı olarak değişmektedir (Şekil 2.3).

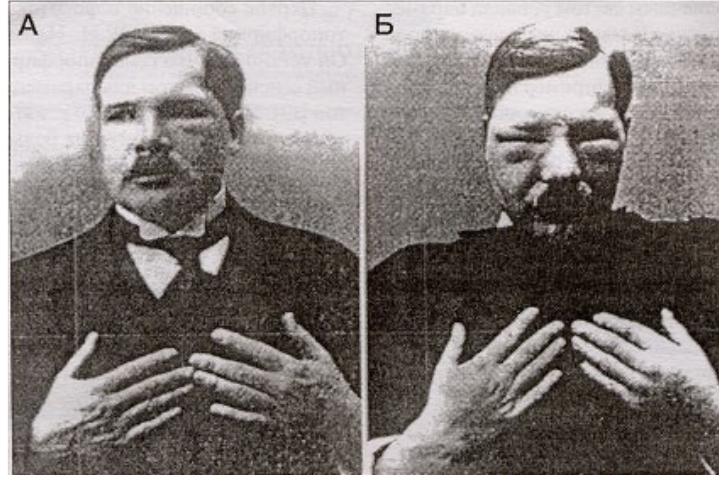


Şekil 2.3: Fotodinamik tedavinin kısaca şematize edilmesi. a) Hastada çeşitli testler ile tümör tespit edilir. Uygun fotosensitizer seçilir ve seçilen fotosensitizer ya enjeksiyon yoluyla ya da direkt deri yüzeyine uygulanır b) Fotosensitizer tümörde birikir c) Fotosensitizer, uygun dalga boyundaki ışık ile aktive edilir ve diğer sağlıklı hücelere zarar verilmeden yok edilir.

Raab'ın 1900 yılında akridin turuncusunun ışık ile reaksiyona girmesiyle toksik bir etki oluştuğunu gözlemlemesi fotodinamik tedavinin temelini oluşturur. Raab çalışmalarını H. Tappeiner'in danışmanlığında yürütmüş ve deneylerini "paramesyum" isimli bir protozoa (bir hücreli hayvan) türü üzerinde gerçekleştirmiştir. Çalışmasında akridin boyasını ve ışığı kullanmış sonuçta paramesyumun öldüğünü gözlemlemiştir. Aynı deneyi sadece akridin boyası ile yaptığında değişiklik görmediği için boyanın ışık ile etkileşim içinde olduğunu ortaya koymuştur [10]. 1905 yılında Tappeiner ve Jesionek tarafından 6 hasta üzerinde yüz bazal hücrelerindeki kötü huylu urlarla ilgili çalışmalar %1 eosin çözeltisi kullanılarak yapılmış, uzun süreli güneş ışığından ve ark lambalarından yararlanılmıştır [11]. Sonuçta 4 hastanın tümörlerinde iyileşme gözlemlenmiştir [12]. Böylece "fotodinamik etki" terimi ilk kez Tappeiner ve Jodlbauer tarafından literatüre kazandırılmıştır. W.H. Hausmann, 1908 yılında, çalışmalarını hematorporfirin fototoksitesisi üzerine gerçekleştirmiştir. Hematorporfirinin, paramesyum ve eritrositler (alyuvarlar) için aktif bir fotosensitizer olduğunu göstermiş, sonraki deneylerinde Hausmann beyaz fareleri kullanarak hematorporfirini

fare kanına enjekte etmiş daha sonra da onları güneş ışığına maruz bırakmıştır. Fareler fotosensitizer ve ışık dozuna göre farklı tepkiler göstermiştir. Ayrıca Hausmann PDT'nin etkisinin periferik damarların hasarı ile ilişkili olduğu hipotezini öne sürmüştür [12].

F. Meyer-Betz hematoporfirinin etkilerini kendi üzerinde denemiştir. 1912 yılında Betz ilk denemeyi yapmış, 0.2 g hematoporfirini intravenoz (damar içi) olarak kendine enjekte etmiş, fotosensitivite gösterene kadar güneş ışığına maruz kalmıştır. Deney sonucu güneş ışınları ödem ve lekelenmelere neden olmuştur (şekil 2.4). Daha sonra yapılan çalışmalar hematoporfirinin deri de dahil olmak üzere çeşitli dokular için aktif bir fotosensitizer olduğunu göstermiştir.



Şekil 2.4: F. Meyer-Betz hematoporfirinin deneyinin etkileri. a) Deney öncesi, b) Deney sonrası ilaç etkileri.

1924 yılında, Albert Policard, laboratuvar farelerinin sarkomlarında, kötü huylu tümörlerden kaynaklanan floresans'ı deneysel olarak gözlemlemiştir. 1948 yılında F. H. J. Figge ve arkadaşları laboratuvar hayvanlarının üzerinde yaptıkları deneylerde, porfirinin yüksek oranda ve hızla hücre bölünmesini sağladığını göstermişlerdir [13].

1954 yılında ise hematoporfirin 11 hastanın ameliyatından 12 ila 72 saat önce 300-1,000 mg dozlarda olacak şekilde kanlarına enjekte edilmiş, ameliyat sırasında tümör ultraviyole A' ya maruz bırakılarak floresans oluşumu gözlenmiştir. Bu durum hematoporfirinin, tümörü ameliyat sırasında görünür kılmak için ve büyüklüklerini belirlemek için kullanılabileceğini göstermiştir [10].

Modern fotodinamik tedavi 1960'da Lipson ve Blade'in hematorporfirin türevini (HPD) elde etmesi ile başlamıştır. Fotodinamik tedavinin asıl gelişmesi deneysel hayvan tümörlerinde intravenoz hematorporfirinin kullanımı ile başarılı sonuçlar alındığı 1970'li yıllarda olmuştur.

1978 yılında, T. J. Dougherty ve arkadaşları 113 deri ve deri altı kötü huylu tümörlerini inceleme altına almışlardır [14]. Araştırmacılar tamamen ya da kısmi olarak 111 tümörde çözünme gözlemlemiştir. Geniş yüzeye yayılmış pigmentleşmiş tümörler fazla dozda HPD gerektirmiştir. Normal deri hasarından sakınmak için ya ışık dozunu azaltmış ya da fotosensitizerin verilmesi ve ışığın uygulanması arasındaki zaman dilimini artırmışlardır [15].

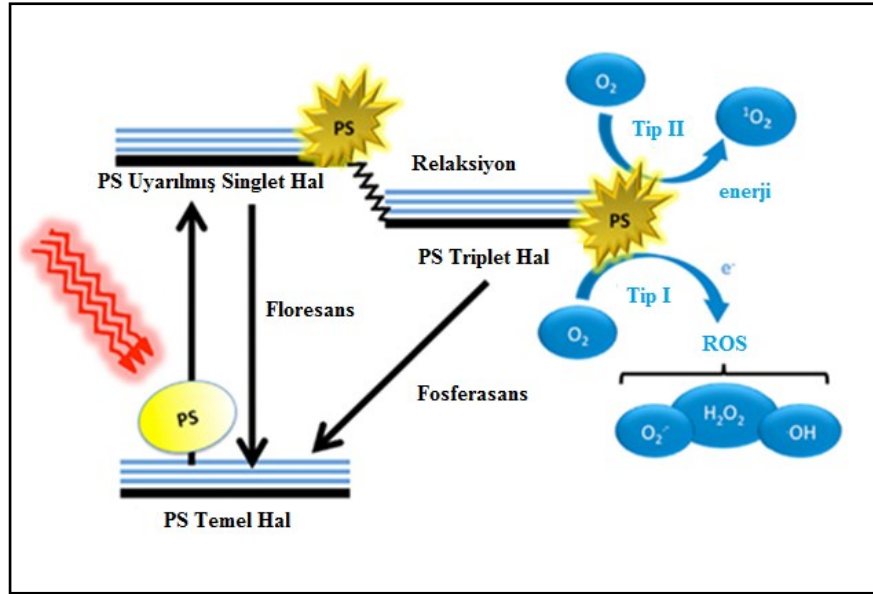
Bunu takiben mesane, akciğer, baş ve boyun, beyin, uterus ve gastro-intestinal sistem gibi çeşitli bölgelere ait tümörlerin tedavisini içeren çok sayıda klinik çalışma yapılmıştır. Birçok çalışmada fotodinamik tedavinin yüzeysel ve küçük tümörlerin tedavisinde başarılı olduğu tespit edilirken, daha geniş ve derin tümörlerin tedavisi için ilaç dozu ya da ışık dozunun artırılması gerekmiş, bu da komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olmuştur.

1984'de Packer ve arkadaşlarının hematorporfirin türevini (HPD) kullanarak deneysel iris neovaskülarizasyonlarında gerileme elde etmeleri fotodinamik tedavinin oftalmolojide kullanımı açısından önemli bir gelişmedir. 1989'da Kliman ve arkadaşları maymunlardaki deneysel koroid neovaskülarizasyonunu kloro alüminyum sülfonat ftalosiyanın ile başarıyla tedavi etmiştir. Miller ve arkadaşları 1993 yılında rose bengal kullanarak maymun deneylerinde koroid neovaskülarizasyonunda gerilemeler elde etmiştir. Bütün bu çalışmalar kullanılan ışığa duyarlı ilaçların yetersizliği nedeni ile sınırlı kalmış ve klinik uygulamaya geçirilememiştir. Fotodinamik tedavideki asıl ilerlemeler yeni ve daha etkili ilaçların kullanıma girmesiyle olmuştur [16], [17].

2.3. Fotodinamik Terapinin Etki Mekanizması

Fotodinamik tedavi toksik olmayan ışığa duyarlı bir maddenin ışık enerjisini kimyasal enerjiye dönüştürmesi ve bu kimyasal enerjinin hedef dokuya nakledilmesi sonucunda dokuda oluşan değişikliklerin tedavi edici amaçlı kullanılmasıdır. Fotodinamik tedavi ışığa duyarlı maddenin vücuda verilmesi ve hedef bölgede fotokimyasal etki elde etmek için bu maddenin aktif hale geçirilmesini içeren iki basamaktan oluşur. Fotodinamik tedavinin temelde iki seçicilik özelliği vardır: 1) Vücuda verilen ışığa duyarlı maddenin özellikle hedef bölgede toplanması 2) Bu maddenin aktif hale geçirilmesini sağlayan ışığın sadece istenilen bölgeye uygulanmasıdır.

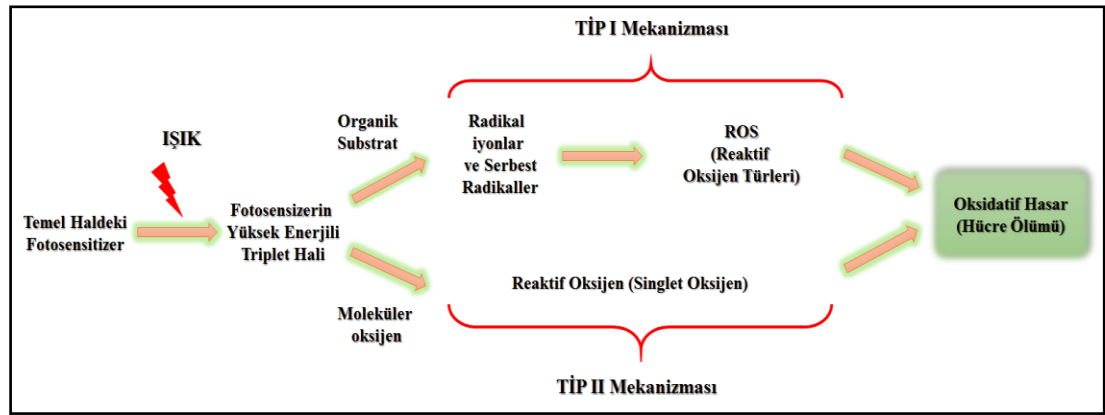
PDT'nin etki mekanizmasını kısaca açıklarsak; Temel haldeki fotosensitizer, belirli dalga boyundaki ışıkla uyarılarak yüksek enerjideki triplet haline aktive olur. Daha uzun yarılanma ömrü olan bu triplet hali, aktive olmuş fotosensitizerin çevre moleküllerle etkileşmesini sağlar. Fotosensitizerin triplet hali biyomoleküllerle etkileşmek için tip I ve tip II reaksiyonlar olmak üzere iki farklı yol izler (Şekil2.5) [18], [19].



Şekil 2.5: PDT'nin Jablonski Diagramı üzerinde şematik gösterimi.

Tip I reaksiyonları ROS (Reaktif Oksijen Türleri) oluşumuna sebep olan elektron transferi reaksiyonları, Tip II reaksiyonları ise 1O_2 oluşumuna sebep olan

enerji transfer reaksiyonlarıdır (Şekil 2.6) [20]. Tip I reaksiyonlarında, uyarılmış haldeki PS'nin sahip olduğu hidrojen atomunu, hücrel bir moleküle aktarmasıyla ortaya çıkan yüksek reaktif özelliği olan radikaller, özellikle hidroksi ve hidrojen peroksit radikalleri, moleküler oksijenle reaksiyona girerek oksijenlenmiş ürünler oluşturur. PDT'de kullanılan pek çok PS ise etkisini çoğunlukla bir ROS (Reaktif Oksijen Ürünleri) olan $^1\text{O}_2$ üzerinden, Tip II reaksiyonları ile gösterir. Tip II reaksiyonlarında uyarılmış haldeki PS enerjisini doğrudan moleküler oksijene (O_2) verir ve $^1\text{O}_2$ oluşmasına neden olur. O_2 'nin elektronik olarak uyarılmış hali olan $^1\text{O}_2$, biyomolekülleri oksitleyerek hücrel hasara neden olur [21].

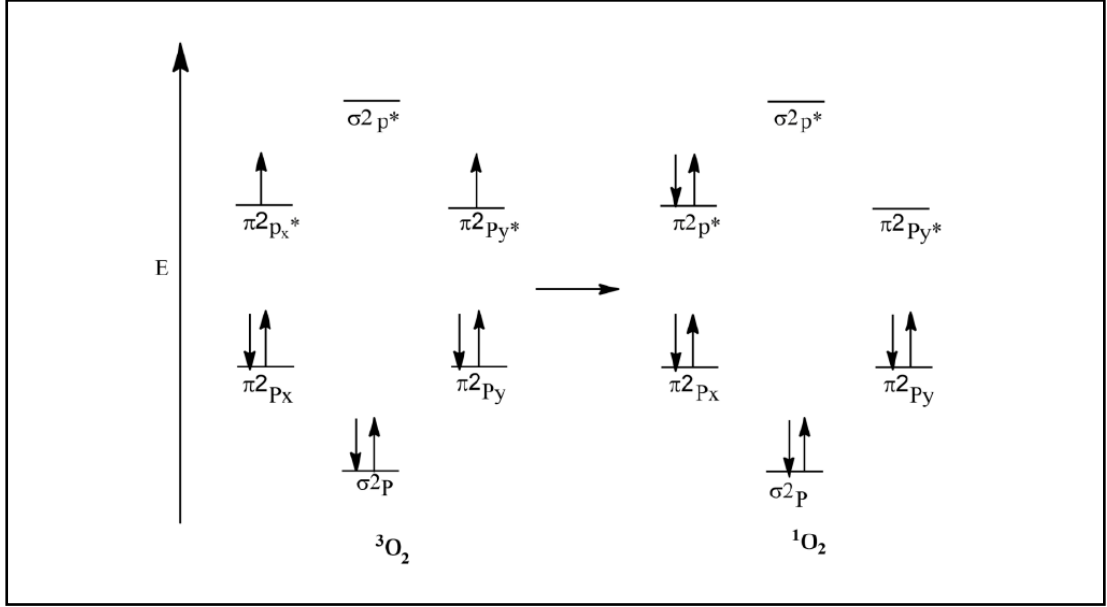


Şekil 2.6: Tip I ve Tip II mekanizmalarının şematik gösterimi.

2.4. Fotodinamik Terapinin Temel Unsurları

2.4.1. Singlet Oksijen

Oksijenin fotodinamik terapide ki önemi singlet oksijen oluşumundan kaynaklanır. Pek çok çalışmada singlet oksijenin önemi gözlenmiştir [25]. Temel halde ki oksijenin dış anti-bağ orbitallerinde ayrı ayrı bulunan paylaşılmamış iki elektron vardır. Dış elektronlardan birinin dönüş yönünün değiştirilmesi ile üretilen singlet oksijen yüksek ölçüde reaktiftir (Şekil 2.7). Singlet oksijen aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde vererek tekrar moleküler oksijene dönebilir. Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileşime girerek sahip olduğu enerjiyi ya transfer eder ya da kovalent tepkimelere girer [22]. Singlet oksijen genellikle diradikal olarak tasvir edilmesine rağmen aslında kutuplaşmış zwitter iyonlardır [23], [24].



Şekil 2.7: Triplet ve singlet oksijen elektron dağılımını gösteren moleküler orbital diyagramları.

Klinik öncesi fotodinamik terapi uygulamaları fotodinamik terapinin başarısında oksijenin önemini göstermiştir. Aynı zamanda bu çalışmalar ışık gücünün de önemini ortaya koymuştur. Deneysel uygulamalarla karşılaştırıldığında klinik uygulamalarda ki ışığın gücü yüksektir. Diğer taraftan ışık gücünün düşürülmesi, uygulama süresini arttıracığından pratikte uygun değildir [25]. Genel olarak fotodinamik terapinin etkinliği tümörde üretilen singlet oksijene bağlıdır, bu da dokuda ki moleküler oksijenin konsantrasyonuna bağlı olduğunu gösterir. Bu nedenle hipoksik hücrelerin fotodinamik terapiye karşı daha dayanıklı olduğu görülmektedir ve tümör oksijenasyonu geliştirmek için girişimler bu tedaviyi verimli hale getirmek için gerekli olabilir [26], [27].

2.4.2. Işık Kaynakları

Fotodinamik terapide kullanılan ışığın dalga boyu ile ışığın doku içinde ulaşabildiği derinlik (penetrasyon) birbiriyle doğrudan ilişkilidir. Ancak dalga boyuyla birlikte, ışığın hücreler ve diğer mikro yapılar tarafından kırılması ve bazı moleküller tarafından (özellikle hemoglobun, melanin ve su) absorbe edilmesi de penetrasyonu etkilemektedir. Hemoglobunun 425, 544, 577 nm gibi dalga boylarında belirgin bir şekilde ışığı absorblama özelliği gösterdiği belirlenmiştir, bu nedenle

doku penetrasyonu düşmektedir. 1200 nm den büyük olan dalga boylarında ise su moleküllerinin absorpsiyonu gözlemlenir. Ayrıca 800nm' nin üzerinde, ışık fotonlarının enerjisi dalga boyuyla ters orantılı olduğundan, singlet oksijen oluşumuna yetecek foton enerjisi ortaya çıkmaz. Bu nedenle klinik PDT uygulamaları için dalga boyu 600 ile 800nm arasında belirlenmiştir. Bu aralığa ise teröpatik pencere denilmektedir [28].

Fotosensitizerin aktive edilmesinde geleneksel ark lambaları kullanılabilir. Ucuz ve kullanımı kolaydır fakat bunlar geniş spektrumlu ışık kaynaklarıdır bu yüzden ısınmayı önlemek için UV ve IR filtreleri kullanılabilir. Bununla beraber ışık iletim liflerinin bağlanması sırasında güç kaybı olabilir, bu yüzden klinik ark lambalarını kullanmak verimli değildir [29]. Cıva ark lambalarının organik fotokimya da kullanıldığı gibi foto-tedavide de bazı uygulamaları vardır.

Akkor lambalar ucuzdur ve fotodinamik terapide daha önce kullanılmıştır. Örneğin, bir ön ilaç olarak aminolevülinik asit kullanılarak bazal hücreli karsinom tedavisinde, Kennedy ve Pettier ışık kaynağı olarak bir projektör lambası kullanmışlardır.

Geniş bir dalga boyu aralığında (broad-band) kullanılabilen LED'ler (Light emitting diodes) yarı iletkenlerdir. Yüksek ışık gücüne sahip olmasalar da ucuz ve küçüktürler. Ana maddeleri silikondur. Üzerinden akım geçtiğinde foton yayarak değişik açıda ışık verirler. LED'in hangi renkte ışık yayması isteniyorsa galyum, arsenit, alüminyum, fosfat, indiyum, nitrit gibi kimyasal malzemelerden uygun oranda yarı iletken malzemeye katkı yapılır. Bu sayede LED çipinin istenilen renkte ışın vermesi sağlanır. Böylece fotodinamik terapide LED'ler kullanılmıştır [30], [31].

Lazerler (Laser-Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation), ışık ışınlarını fokusu kolaylaştıran az bir sapma ile tek bir renkte ve senkronize ışık dalgaları halinde yayarlar. Sabit bir dalga boyunda ve doğrusal ışık veren lazerler, ışığın odaklanmasını sağladığından fiber temelli uygulamalar için avantajlıdır. Lazerler, fotodinamik terapide kullanılması için bazı karakteristik özelliklere sahiptir. Fotodinamik terapide optik fiberlerin çalışması, endoskopik iç tümörlerin tedavisine ve interstisyel tümör dokusuna ışık kaynağının yerleştirilmesine olanak sağlar. Lazer ışığının yüksek gücü fotodinamik terapide ufak bir önem taşımaktadır çünkü ışık doku kesimi için değil fotosensitizer aktivasyonu için kullanılır.

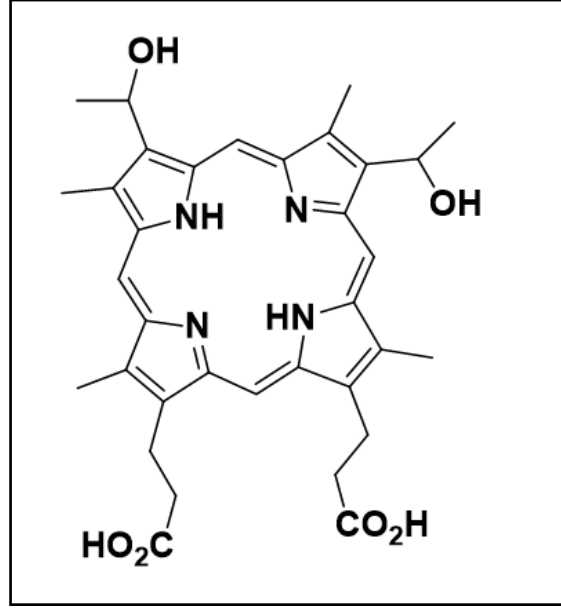
2.4.3. Fotosensitizerler

Fotosensitizerler belirli dalga boyundaki ışığın enerjisini absorbe ederek biyomoleküllere transfer eden kimyasal birleşiklerdir. FDT’de bu enerji transferi sitotoksik üretimi ve reaktif oksijen oluşumunu içerir. Herhangi bir fotosensitizerin en önemli özelliği, proliferatif aktiviteye sahip kanser hücrelerinden oluşan tümör dokularında birikmesidir [32].

İdeal bir fotosensitizer, kimyasal olarak saf olmalı, seçici olarak dokuda yoğunlaşmalı, kısa zamanda dokuda yüksek konsantrasyona ulaşmalı, normal dokulardan uzaklaşabilmeli, karanlık toksik etkisi olmamalı ve yüksek verimle singlet oksijen oluşturabilmelidir [33], [34].

2.4.3.1. Birinci Nesil Fotosensitizerler

Rabb'ın fotodinamik etkiyi farketmesinden yaklaşık 60 yıl sonra Schwartz hematorporfirini asetik asit ve sülfürik asitle tepkimeye sokarak vücuda verildiğinde özellikle tümörlü dokularda biriktiğini farkettiği hematorporfirin türevini (HPD) elde etmiştir (Şekil 2.8). Fotodinamik tedavi ile yapılan ilk çalışmalarda da birinci kuşak ışığa duyarlı ilaçların ilk örneği olan HPD kullanılmıştır. 1966'da Lipson ve arkadaşları insanda tümörlü dokunun belirlenmesi ve tedavisi için daha sonra "Fotosan" adı ile piyasaya sunulacak olan HPD'yi başarıyla kullanmışlardır. 1993'de Dougherty ve arkadaşları saflaştırılmış hematorporfirin türevi olan ve daha sonraki yıllarda "fotofrin" adıyla piyasaya sunulan porfimer sodyumu (Dihematorporfirin eterleri-DHE) Fotodinamik tedavi amaçlı kullanmışlardır. Porfimer sodium HPD'nin parsiyel sınıflandırılmış bir türevidir. HPD'ye göre daha güçlü bir etkiye sahiptir ve daha az deri reaksiyonlarına neden olmakla birlikte 3-6 hafta kadar sürebilen deri reaksiyonları görülebilir.



Şekil 2.8: Hematoporfirin yapısı.

Birinci kuşak bir ışığa duyarlı ilaç olan porfimer sodyum 630 nm dalga boyunda ancak sınırlı bir doku penetrasyonu sağlar. Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Japonya, Fransa ve Hollanda'da ösofagus ve akciğer kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca Japonya'da mide ve serviks kanseri ve servikal displazilerin tedavisinde de kullanılmaktadır. Halen kuzey Amerika'da ve Avrupa'da birçok merkezde başka kanserlerin tedavisi için porfimer sodyum ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Porfimer sodyum fotodinamik tedavinin ilerlemesini sağlayan madde olup ikinci kuşak ışığa duyarlı ilaçların geliştirilmesini de sağlamıştır [19].

2.4.3.2. İkinci Nesil Fotosensitizerler

İkinci kuşak ışığa duyarlı ilaçlar daha düşük yarılanma ömrü olan ve bu sayede vücutta ve özellikle ciltte daha az yan etkiye neden olan, 630 nm'un üzerindeki dalga boylarında da ışığı absorbe edebilen ve aktif olmasıyla birlikte oluşacak oksijene bağlı reaksiyonların daha kuvvetli olduğu ilaçları elde etmek ve bu sayede daha güvenli ve etkili bir fotodinamik tedavi sağlamak amacıyla üretilmeye başlanmıştır. Bu gruptaki ilaçların önemli bir kısmının yapısını tetrapirrol halkası oluşturur. Gerek klinik ve gerekse deneysel amaçlı kullanımda en çok rastladığımız ilaçlar olan klorinler, bakterioklorinler, benzoporfirin türevleri, purpurinler, ftalosiyeninler ve naftalosiyeninlerin yapısında tetrapirrol halkası vardır. Kimyasal yapılarındaki

farklılıklardan dolayı ikinci kuşak ışığa duyarlı ilaçları polar ya da apolar çevredeki davranışlarına göre lipofilik, hidrofilik ve ampifilik olarak sınıflandırmak mümkündür.

Birinci Nesil İlaçlar
<ul style="list-style-type: none">- <u>Hematoporfirin (HPD)</u>- <u>Porfimer Sodyum (Fotofrin)</u>
İkinci Nesil İlaçlar
<ul style="list-style-type: none">- <u>Rose Bengal</u>- <u>Bakterioklorin-A</u>- <u>Mono-L-aspartil klorin e6</u>- <u>Alüminyum Ftalosiyanın tetrasülfanat</u>- <u>Optrin</u>- <u>ALA</u>- <u>Benzoporfirin derivativ monoasit (Verteporfirin)</u>- <u>Tin etil etiopurpurin (Purlitin)</u>- <u>Lutesyum teksafirin (Lutex)</u>

Şekil 2.9: Işığa duyarlı ilaçlar.

Benzaporfirin monoasid (BPD-MA) ve Tin etil etiopurpurin (SnET₂) lipofilik özelliğe sahipken, Lutesyum teksafirin (Lu-Tex) ve Mono-L-aspartil klorin e6 (Npe6, MACE) hidrofilik özelliğe sahip moleküllerdir. ATX-S10(Na) gibi ilaçlar ise ampifilik yani hem lipofilik, hem hidrofilik özelliğe sahip moleküllerdir. Moleküler yapı ilacın vücuttaki çözünürlük özelliğini belirlemenin yanında ilacın hücre içine hangi yolla alınacağını ve hücre içinde nereye gideceğini de belirler. Işığa duyarlı ilaçlar hücre içine 3 farklı şekilde alınırlar: **1)** Pinositoz ya da agositoz yoluyla, **2)** Diffuzyonla ve **3)** Reseptor bağımlı endositozla. Hidrofobik özelliğe sahip moleküller kanda lipoproteinlere bağlı olarak taşınarak reseptor bağımlı endositoz yoluyla hücre içine alınırlar ve hücre içinde öncelikli olarak mitokondrilerde birikir, daha sonra diffüz bir şekilde sitoplazmaya yayılırlar. Bir miktarda hidrofobik molekülün difüzyon yoluyla da hücre içine girdiği bilinmektedir. Hidrofilik özelliğe sahip moleküller ise hücre içine pinositoz ve endositoz yoluyla alınırlar ve hücre içerisinde özellikle lizozomlarda birikirler. Hidrofilik özelliğe sahip ışığa duyarlı ilaçların taşınmasında glikoproteinlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Örneğin ampifilik bir molekül olan ATXS10(Na) kanda albumin, HDL ve diğer plasma proteinlerine bağlı olarak taşınır ve hücre içeresine endositoz yoluyla alınarak özellikle lizozomlarda ve kısmen hücre zarında birikirler. Rose bengal, kloro-aluminyum sülfonat ftalosiyanın, bakterioklorin-A gibi ikinci kuşak ışığa duyarlı ilaçlar deneysel oküler neovaskülarizasyonların geriletmesinde başarılı olmakla birlikte, hayvan deneylerinde neden oldukları nörolojik komplikasyonlar sebebiyle klinik amaçlı kullanılamamışlardır. Benzoporfirin monoasit, tin etil etiopurpurin, lutesyum teksafirin, mono-L-aspartil klorin e6, aluminyum ftalosiyanın tetrasulfanat ve ATX-S10 gibi düşük yan etkiye sahip ikinci kuşak ilaçlar ise daha geniş kullanım alanı bulmuşlardır [21].

2.4.3.3. Üçüncü Nesil Fotosensitizerler

Üçüncü nesil ile yapılan çalışmalar halihazırda başlangıç seviyesindedir. İkinci nesile göre PS'nin hedef dokuya transferi konusunda gelişmiş özelliklere sahip olması için tasarlanır. Son zamanlardaki hedefleme stratejilerinin, PS'nin tümör dokusuna ilgisini artırdığı gösterilmektedir [35]. Ayrıca mitokondri gibi hücre altı yapılara seçimli hedeflenmenin gerçekleştirildiği çalışmalar rapor edilmiştir [36].

Halen kullanılmakta olan kanser tedavilerinin en büyük dezavantajı kanser hücreleri yanında sağlıklı hücrelerin de zarar görmesidir. Dolayısıyla uygulanan ilacın hedefe yönlendirilmesi tedavinin daha etkin olması yanında sağlıklı hücrelerin daha az veya hiç zarar görmemesini sağlar.

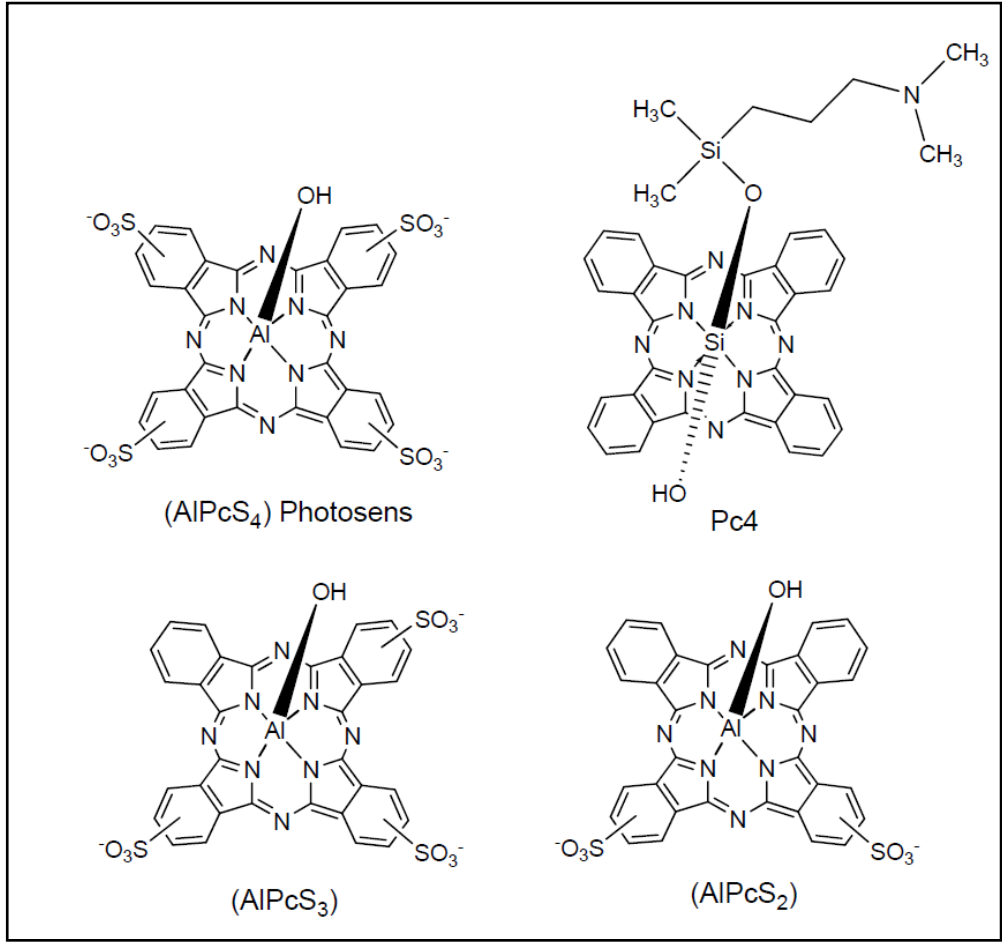
PDT'de hedefleme, ışıklandırma sonucunda oluşan singlet oksijenin ömrünün 0.04 mikrosaniye kadar kısa olmasından dolayı önemlidir. Singlet oksijen hedef dokuya ne kadar yakın bölgede oluşursa dokuya o kadar hasar verir. Bu sebeple kanserli dokuyu tanıyarak PS'nin buraya taşınmasını sağlayan fonksiyonel gruplar, hedefli tedavinin ve üçüncü nesil ışığa duyarlı maddelerin etkinliğinde oldukça önemlidir [21].

2.4.3.4. Ftalosiyeninler

Ftalosiyeninler, doğada ve canlı yapılarında bulunan porfirinlerin sentetik türevleridir. Ftalosiyeninlerin, ikinci nesil fotosensitizerler olarak PDT' de kullanılmak üzere geliştirilmesi oldukça yenidir.

Ftalosiyeninlerde benzen halkaları ile konjuge haldeki pirol grupları, aza nitrojenlerle birbirine bağlanmıştır. Bu kimyasal yapı, absorpsiyon spektrumunun daha uzun dalga boylarına kaymasına (genellikle 680 nm civarı) neden olur. Ftalosiyeninler uzun dalga boylarında (660–780 nm) yüksek molar absorpsiyon katsayısına ($>10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) sahiptirler, kararlıdırlar, karanlıkta toksik özellik göstermezler ve tümör dokusunda seçici olarak birikirler [37].

Bu nedenle ftalosiyeninleri uyarmak için dokuda derinlere nüfuz edebilen uzun dalga boyları kullanılır. Suda çözünebilen türevleri, ftalosiyeninün sülfolanması veya diğer suda çözünür grupların sübsitasyonu ile kolayca elde edilir. Zn(II), Al(III) ve Si(IV) ftalosiyeninler etkin singlet oksijen üretmesi ve uzun triplet lifetime sürelerinden dolayı PDT'de kullanılan önemli fotosensitizerler arasında yer almaktadır [38]. Pc4 silisyum ftalosiyenin ($\lambda_{\text{max}} = 670 \text{ nm}$) fotodinamik terapi ile deri ve derialtı kanser tedavilerinde kullanılmaktadır. Rusya'da geliştirilen Suda çözünür bir Alüminyum Ftalosiyenin bileşiği türevi olan Photosens ($\lambda_{\text{max}} = 675 \text{ nm}$) klinikte şu anda ikinci evresinde olup birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [39]. Photosens ile tedavi edilen başlıca kanser hastalıkları; deri kanseri (planocellular cancer, Kaposi's sarcoma, basalioma), meme kanseri, yutak (pharynx), gırtlak (larynx), trake (trachea), bronş (planocellular cancer, papillomatosis), akciğer (lung), yemek borusu (planocellular cancer, Adenocarcinoma), mide (stomach) yer almaktadır. Fotosensitizerin biyolojik dağılımı, hücreye alınımı ve etkinliği hidrofilik grupların sayısına bağlıdır. Alüminyum ftalosiyenin serilerinde, iki sülfonat gruba sahip AlPcS₂, AlPcS₃'den daha iyi alım ve fototoksite göstermektedir. Üç sülfonat gruplu AlPcS₃, dört sülfonat gruplu AlPcS₄'den daha iyi alım ve fototoksite gösterirler (Şekil 2.10) [40].



Şekil 2.10: Alüminyum ftalosiyenin türevleri ve Pc4 molekülü.

2.5. Fotodinamik Terapide Hedefleme

PDT, sadece sorunlu bölgenin ışınlanması ve fotosensitizerin tümörlü bölgede konumlanabilme özelliğinden dolayı spesifik bir tedavi yöntemidir. Fotosensitizerin hedeflenen dokuda birikimi, fotosensitizer'in biyokimyasal özelliklerine bağlıdır [41]. Hüresel hasarın meydana geldiği ilk yer olması bakımından fotosensitizer lokalizasyonu, PDT sonucu ortaya çıkan hücre ölüm modeli için de belirleyici rol oynar. Normal doku ve tümörlü doku arasındaki fizyolojik farkların, fotosensitizerin seçici olarak tümör dokusunda birikmesine neden olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.11). Bu farklılıklar:

- Tümör dokusunda düşük oksijen miktarı ve yüksek glikolitik aktiviteden dolayı

hücre dışı pH'nın, normal dokuya kıyasla daha düşük olması (düşük pH'da fotosensitizer'ın hücre içine alınması daha da kolay gerçekleşir) [42],

- Tümörlü dokuda daha fazla makrofajın bulunması,
- Tümörde lenfatik drenajın normal dokuya göre düşük olması,
- Tümör dokusundaki mikro damarlarda çatlakların bulunması,
- Tümör dokusunun normal dokudan daha büyük bir interstitial hacme sahip olması,
- Tümörlü dokunun daha asidik, daha sıcak ve daha indirgeyici olması,
- Tümörün normalden fazla miktarda kollajen içermesi (porfirinler kollejen bağlandığı daha önce yapılan çalışmalarla gözlenmiştir),
- Tümör dokusunda yer alan hücrelerin normal hücrelerden daha fazla lipoprotein reseptörüne sahip olmasıdır [43], [44].

<u>Fotosensitizer</u>	<u>Tümör Çeşidi</u>	<u>Tümörlü Doku/Normal Doku Seçicilik Oranı</u>
<u>HpD</u>	Kolon	2,0
<u>HpD</u>	Pankreas	2,2
<u>AlSPc</u>	Bağ Dokusu	2,7
<u>AlSPc</u>	Kolon	2,0
<u>AlSPc</u>	Pankreas	3,0
<u>m-THPC</u>	Meme Kanseri	6,0
<u>ZnPc-DPPC</u>	Bağ Dokusu	3,7
<u>ZnPc-DPPC-Chl</u>	Bağ Dokusu	5,0
<u>GePcHex-DPPC</u>	Bağ Dokusu	5,4
<u>GePcHex-CR</u>	Bağ Dokusu	8,5
<u>Sn-Et2-CR</u>	Mesane	4,5
<u>ZnPc-LDL</u>	Bağ Dokusu	5,7
<u>BPD-MA-LDL</u>	Çizgili Kas	5,0
<u>Butyl ZnPc-B43.13 Mab</u>	Yumurtalık Kanseri	8,1

Şekil 2.11: Çeşitli fotosensitizer maddelerin etkili olduğu tümör dokularının normal dokuya kıyasla belirlenen etki oranları ve seçicilikleri.

Normal dokuya kıyasla tümörlü dokuda daha uzun süre kalabilen, ışığa-duyarlı ilaç tarafından soğurulduğunda gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda, açığa çıkan aşırı reaktif ve son derece toksik singlet oksijen, sadece o bölgede nekroz oluşumuna neden olur. Singlet oksijenin dokudaki ömrü çok kısa ($t < 5 \times 10^{-7}$ s) ve lokaldir

(difüzyon mesafesi=0.1gm). Böylelikle tümörlü hücre seçimine ek olarak çevre dokulara olan hasar singlet oksijenin kısa ömrü sayesinde de engellenmiş olur [45].

2.6. Fotosensitizerin Tümör Hücrelerine Alımı ve Hücre İçi Lokalizasyonu

Mitokondri, lizozomlar, plazma membranı ve endoplazmik retikulum (E.R.), fotodinamik terapinin tümör hücrelerindeki hedef noktalarıdır. Fotosensitizerin tümörlü hücrede birikimini ve lokalizasyonunu belirleyen faktörler, sensitizerin lipofilik özellikleri ve birikme derecesidir [33], [46]. Yüksek ve düşük yoğunluktaki lipoproteinlerle güçlü bağ yapabilen hidrofobik fotosensitizerler, intravenöz yolla dolaşıma verildiğinde tümörlü dokuya yüksek seçicilikle eklenir. Lipofilik fotosensitizerlerin kanser hücrelerinde yoğunlaşmalarının nedeni, bu hücrelerin yüksek sayıda düşük yoğunluklu yağ (Low Density Lipoprotein-LDL) membran reseptörlerine sahip olmalarından kaynaklanır. Endositoz yoluyla hücreye giren lipofilik fotosensitizer, tümör hücrelerinin lipofilik karakterdeki plazma, mitokondri, E.R., çekirdek ve lizozom membranlarında toplanır. Hidrofilik fotosensitizerler ise intravenöz yolla enjeksiyonun ardından başta albumin olmak üzere diğer serum proteinlerince taşındıktan sonra interstitial boşluk ve tümör dokudaki vasküler stromada birikme eğilimindedirler [33]. Hidrofobik karakter taşıyan sensitizerler tümörlü doku hücrelerine direkt etki ederken, suda çözünür sensitizerlerin hidrofobiklerin aksine, indirekt etkileri söz konusudur. Yani kan damarlarına zarar vererek, hücrenin gerek duyduğu oksijen ve diğer gerekli besinlerin alınmasına engel olarak fotodinamik etki gösterebilmektedirler [33].

2.7. Fotodinamik Terapide Hücre Ölümü

Fotodinamik terapide hücre ölümü, tümörlü bölgede bulunan damar yapısının hasara uğraması ve bağışıklık sisteminin harekete geçirilmesi ile sağlanır. Tümör yıkımı, tümörlü bölgedeki dokunun özellikleri ile ilgilidir. Bu özelliklere göre kanserli dokuda meydana gelen yıkımın nasıl gerçekleşeceği belirlenir. Bölgedeki damar sayısı ve bağışıklık sistemi hücreleri sayısı bu özelliklerin başında gelir. PDT’de hücresel yanıt çeşitli değişkenlere bağlıdır. PDT’de kullanılacak olan

fotosensitizerin türü, yoğunluğu, kullanılan ışık miktarı, dalga boyu, inkubasyon koşulları, hücrenin metabolik özellikleri, dokudaki oksijen düzeyi, hücrenin genetik özellikleri bu değişkenler arasında yer almaktadır [47]. PDT’de elde edilecek olumlu sonuç fotosensitizerin hücre içi lokalizasyonuna bağlıdır [48]. Bunun nedeni PDT’de en etkin ürün olan singlet oksijenin ömrünün 0,05 μ s’den daha kısa olmasıdır. Reaktivitesinin yüksek olmasından dolayı singlet oksijen açığa çıktığı bölgeden itibaren sadece 0.02 μ m kadar difüz edebilir. Bu nedenle fotosensitizerin hücre içerisindeki lokalizasyonu, hangi organelin öncelikli olarak hasar göreceğini belirler. Fotosensitizerlerin çoğunun çekirdek dışında lokalize olması ve singlet oksijenin kısa yaşam ömründen dolayı, PDT’nin mutajenik etkisi oldukça düşüktür. PDT ardından hücre ölümü apoptoz, nekroz ya da her ikisinin birleşimi şeklinde ortaya çıkabilir.

2.7.1. Nekroz

Hücre ölümünün nasıl gerçekleştiğine yönelik ilk çalışmalar 1920 yılında ışık mikroskopunun ve yeni boya yöntemlerinin keşfiyle başlamış ve ilk olarak nekroz tanımlanmıştır. Nekroz hipoksi, fiziksel hasar, hipertermi, kompleman aktivasyonu, UV ışık gibi zararlı hücre dışı uyaranlar sonucu oluşan istenmeyen bir hücre ölümü olarak tanımlanabilir. Hücredeki plazma membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucu hücre içeriği ortama dökülür, inflamatuvar yanıt oluşur ve komşu hücreler de bu durumdan olumsuz olarak etkilenir.

Fotodinamik terapide hücrede plazma membranında lokalize olan fotosensitizerler kullanıldığında, nekrozun sık görülen ölüm modelinin olduğu anlaşılmıştır. Bu şekilde anyonik, lipofilik fotosensitizerler membrandaki kolesterol ve başka doymamış fosfolipidlerin peroksidasyonuna yol açar [49]. Böylece sitoplazmik zarın seçici geçirgenliği ve akışkanlığı bozulur, aminolipid ve polipeptidler arasında çapraz bağlar meydana gelir ve membranla ilgili enzim ve reseptörler inaktive olur. Daha sonra membran transport sisteminin bozulması ve plazma membranının depolarizasyonu, mitokondriyal, sitozolik ve lizozomal enzimlerin inaktivasyonuna neden olur ve sonuçta hücrel hemostazın bozulmasıyla nekroz meydana gelir [48].

2.7.2. Apoptoz

1972 yılında, iskemiye maruz kalan dokunun etrafında nekrozdan daha farklı hücre ölümü gözlemlenmiş ve buna, ağaç yapraklarının gövdeden ayrılması anlamına gelen “apoptoz” adı verilmiştir [50]. Apoptoz, nekrozdan birçok özelliği açısından oldukça farklı olan bir hücre ölüm şeklidir. Saniyede yaklaşık bir milyon hücremiz apoptozla vücuttan uzaklaştırılmaktadır. Bunların yerine yenileri yapılmaktadır. Yapım (mitozis) ile yıkım (apoptoz) arasında kontrollü bir denge vardır. İşte bu dengenin apoptozun lehine veya aleyhine bozulması kanser gibi birçok önemli hastalığın oluşumuna neden olmaktadır. Nekroz fizyolojik bir ölüm şekli olmamasına rağmen apoptoz hem fizyolojik hem de patolojik şartlar altında meydana gelebilir.

Apoptoz morfolojik olarak özgündür. Nekrozda hücre içine aşırı sıvı girmesi sonucu hücre şişerken, apoptotik hücre tam tersine küçülür. Nekrozda kromatin patterni hemen hemen normal hücredeki görüntüye benzerdir ama apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır. Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder ve hücre içinden dışına hücre içi materyallerinin çıkışı gerçekleşir.

Mitokondri ya da sitoplazmada oluşan reaktif oksijen türlerinin, PDT sonrası ortaya çıkan apoptozun tetikleyicisi olduğu belirlenmiştir [43]. Reaktif oksijen türleri ile pro-apoptotik proteinlerin salımına neden olan mitokondriyal porların açılması ve apoptoz arasındaki ilişki üzerine pek çok teori ortaya atılmıştır. Deneysel sonuçlar, mitokondriyal membran üzerinde yer alan, “Permeability Transition Pore Complex (PTPC)” olarak isimlendirilen, geçirgenlik özelliğine sahip büyük kanalların, mitokondriyal membran potansiyelinin bozulmasında ve sitozole cyt-c salımında etkili olduğunu kanıtlamıştır. PDT’nin PTPC açılmasında doğrudan etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte bir PTPC alt ünitesi olan “Adenin Nucleotid Translocator (ANT)”ın hedef olduğu düşünülmektedir. -SH gruplarının oksidasyonu, özellikle de sistein aminoasitinin oksidasyonu ile oluşan disülfid köprüleri, ANT’nin 1500 daltondan küçük olan solutler için geçirgenlik spesikliğini kaybetmesine neden olmaktadır. Porun geçirgenlik seçiciliğini kaybetmesi sonucu mitokondriyal matriks şişer, iç membran gerilir ve düzleşir, dış membranda kırılmalar meydana gelir ve sonunda sitozole cyt-c salımı yapılır. Mitokondriyal membran yapısındaki lipidlerin oksidasyonu, membranda hasara neden olur ve mitokondriyal membran potansiyeli

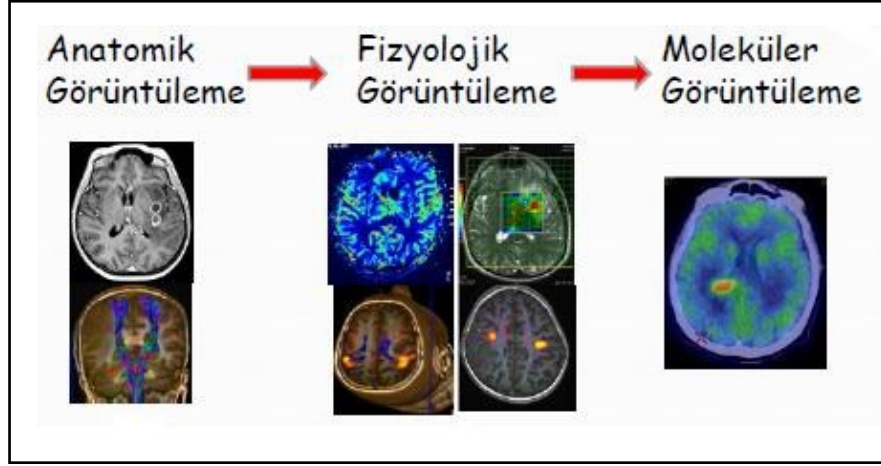
düşer. Mitokondriyal membran potansiyelindeki azalmanın, bir başka PTPC alt ünitesi olan voltaj bağımlı anyon kanalları (Voltage Dependent Anion Channel-VDAC)'nın açılmasına neden olduğu ve sonucunda da cyt-c salımının gerçekleştiği görülmüştür [48].

Mitokondriden sitozole salınan cyt-c, sitozolde Apaf-1 ve prokaspaz-9'a bağlanarak "apoptozom" denen protein kompleksini meydana getirir. Bu kompleks içerisinde prokaspaz9, kendi kendini keser ve aktif kaspaz-9 oluşur. Aktif kaspaz-9, prokaspaz-3'u keserek aktive eder. Pek çok deneysel PDT uygulamasında bir seri kaspazın (kaspaz-2,-3,-6,-7) aktive olduğu gösterilmiştir. Bu hidrolitik enzimlerin aktivasyonu pek çok hücrel proteinin kesilmesine, DNA'nın parçalanmasına ve sonunda hücre ölümüne neden olur [51].

PDT tarafından tetiklendiği öngörülen apoptoz mekanizması, PDT tarafından oluşturulan ROS, mitokondriyal membranda bulunan porların açılmasına neden olur. Osmotik etkiye bağlı olarak mitokondriye su girişi, mitokondriyal matriksin şişmesi, dış mitokondriyal membran yapısının bozulması ve cyt-c, AIF ve prokaspazlar gibi apoptotik moleküllerin sitoplazmaya salınmasına neden olur [48]. Bu da hücrenin apoptoza gitmesine neden olur.

2.8. Moleküler Görüntüleme

Moleküler görüntüleme canlı organizmada moleküler ve/veya hücrel düzeyde biyolojik fonksiyonların görüntülenmesi, karakterizasyonu ve ölçülmesidir. Bilgisayarlı Tomografi (CT) ve Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRI) gibi konvansiyonel görüntüleme teknikleri patolojik durum ile ilgili anatomik ve morfolojik değişikliklerin görüntülenmesini sağlar iken; Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) ve Tek Foton Emisyon Bilgisayarlı Tomografi (SPECT) gibi radyoizotopların kullanıldığı moleküler görüntüleme teknikleri patolojik durum ile ilgili fonksiyonel ve fenotipik değişikliklerin görüntülenmesine olanak sağlar.

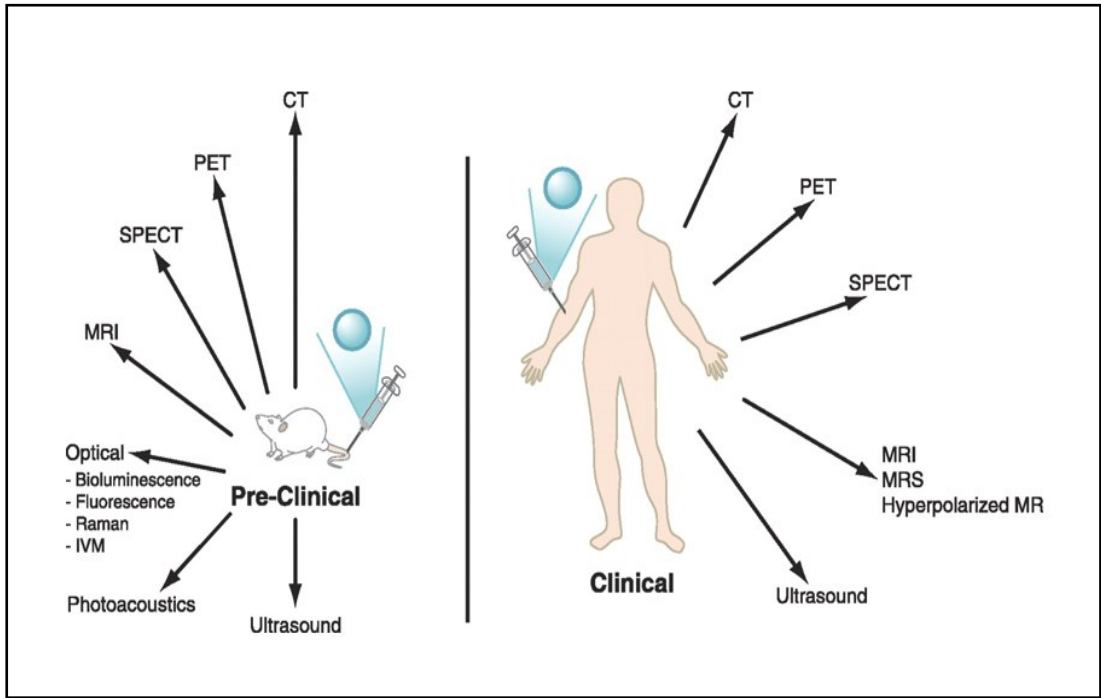


Şekil 2.12: Tümörlü dokuların moleküler düzeyde görüntülenmesi.

Kapalı bir kutu olan insanın iç organlarının anatomik, fizyolojik ve patolojik özelliklerinin belirlenmesi için birçok çalışma yapılmıştır. Bugüne kadar yapılan çalışmaların sonunda ulaşılan noktada, bir yandan morfolojik ve fonksiyonel, bir yandan da makroskopik ve mikroskopik olarak içyapıların görüntülenmesinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Bütün bu uğraşılarda temel hedef insana, özellikle hastaya mümkün olduğu kadar zarar vermeden ve onu rahatsız etmeden en kısa zamanda en fazla bilginin toplanması olmuştur. Ancak canlı organizmaya yapılan her uygulama sonucunda organizma ile dış çevre arasında enerji alış verişi olur ve çoğunlukla bundan organizma zarar görür. Amaç iç organların yapısı hakkında kaliteli ve hızlı bilgi toplarken, bu zararı en aza indirmektir. Bütün bu amaçlar için çeşitli görüntüleme yöntemleri geliştirilmiştir. Bir yöntemin bir diğer yöntemle göre daha uygun yönleri olduğu gibi olumsuz tarafları da vardır. Bazısı canlı organizmaya zararlı etki yaparken kaliteli görüntü sağlamaktadır. Bazısı ise biyokimyasal izleyicilik yapabilirken görüntü kalitesi pek de iyi olmamaktadır. Bu durumda hangi yöntem bunların arasında en iyisidir gibi bir soru anlamını yitirmektedir. Çünkü hastanın durumu, görüntülenecek organın fizyolojik ve patolojik koşulları, hatta ekonomik koşullar, seçilecek görüntüleme yöntemini belirlemektedir. O halde genel olarak belirli bir görüntüleme yönteminin tüm sorunların teşhisinde en uygun yöntemdir şeklinde bir ifade geçerli olmamaktadır. Bu nedenle özellikleri farklı olan birçok görüntüleme yöntemi tıp dünyasında, aynı anda kullanımda bulunmaktadır.

Bir görüntüleme yönteminin seçiminde temel etken, altta yatan biyolojik mekanizma ve bu mekanizmayı görüntülemeye kullanılacak yöntemin avantajları

olmalıdır. PET (pozitron emisyon tomografisi) ve SPECT (single-photon emisyon tomografisi) ile karşılaştırıldığında MRG (magnetik rezonans görüntüleme) ve BT (bilgisayarlı tomografi) daha yüksek görüntü rezolüsyonu sağlarlar. Ancak MRG ve BT’de kullanılan ajanların görüntüde yeterli kontrast oluşturabilmesi için, dokuda 10-100 mikromolar veya daha yüksek konsantrasyon düzeylerinde bulunması gerekmektedir. Farmakolojik dozlardaki bu maddeler; toksisite, çapraz-reaksiyon ve farmakodinamik etki risklerini taşır. Ayrıca bu maddeler görüntüleme izlemi hedeflenen moleküler sinyalin etkilenmesine de neden olabilir. Buna karşılık sintigrafik görüntülemelerde kullanılan ajanlar yüksek spesifik aktiviteleri sayesinde, farmakolojik etki oluşturmadan, çok daha düşük düzeylerde (pikomolar veya nanomolar) yeterli görüntü kontrastı oluştururlar [52]. Bu özellikleri sayesinde nükleer tıp görüntüleme yöntemleri, yeni moleküler hedeflerin görüntülenmesinde vazgeçilmez tanı araçları olmuşlardır. PET, pozitron emisyonu yapan ^{18}F (flor), ^{15}O (oksijen), ^{13}N (nitrojen) ve ^{11}C (karbon); SPECT ise gama emisyonu yapan Tc-99m (teknesyum), ^{131}I (iyot), ^{123}Ib ve ^{111}In gibi radyonüklidlerle işaretlenmiş moleküllerin görüntülenmesi ve bu sayede in vivo olarak biyokimyasal süreçlerin incelenmesi yöntemidir.



Şekil 2.13: Klinik çalışmalarda kullanılan görüntüleme yöntemleri.

2.8.1. Optik Görüntüleme (Optical İmaging)

Tıpta ışığın tanı ve tedavi uygulamalarında; biyolojik dokunun optik karakteristiklerden olan, toplam zayıflatma (μ_t), soğurma katsayısı (μ_a) ve saçılma katsayısının (μ_s) değerlendirilmesi çok önemlidir [53]. Biyomedikal optikte, biyolojik dokunun karakterizasyon ve analizi, genellikle difüz yansımali spektroskopi (diffuse reflectance spectroscopy) ve difüz optik görüntüleme (diffuse optical imaging) ile gerçekleştirilmektedir. Özellikle optik görüntüleme, günümüzde ışık-madde etkileşimine yönelik, elektromanyetik spektrum içerisinde çalışılacak görünür dalgaboyu aralığında ya da diğer bir ifadeyle, optik pencere (optical window) aralığında önemli tercih sebeplerine sahiptir. Bunlar [54] ;

- Görünür bölge için ışınlar, iyonize olmayan radyasyon sağlar. Bu durum, X-Ray cihazlarıyla karşılaştırıldığında, insan sağlığını tehdit etmeyen radyasyon türüdür.
- Moleküler yapı ile ilişkili soğrulma ve saçılmaya bağlı optik spektra, biyokimyasal bilgiler sağlar.
- Kanser tanısı için, optik soğrulma (optical absorption) önemli ayırt edici özellik olan oksijen saturasyonu ile ilişkili hipermetabolizma ve hemoglobin konsantrasyonuyla ilişkili anjiyogenez durumları hakkında önemli ipuçları sağlar.
- Saçılmaya bağlı elde edilen spektra, saçıcı özellikteki mikro parçacıkların boyutları (particle size) ile ilgili bilgi sağlar.
- Optik polarizasyon (optical polarization), bazı anizotropik doku bileşenleri olan kollojen ve kas fiberleri hakkında önemli bilgiler sağlar.

Klasik ışık mikroskobu ile şiddet kontrastı, faz kontrastı, modülasyon kontrastı, interferans kontrastı yöntemleri ile örneğin farklı vasıflarını ön plana çıkartan görüntülerini elde etmek mümkündür. Bilinen parlak alan mikroskopisi ile, numunenin görme alanına giren kısmının ışığı geçirme özelliklerinden yararlanılır. Bu yöntemle numunenin bir kısmına ait spesifik görüntüleme elde etmek mümkün değildir. Numuneden spesifik görüntü veya sinyal almak için floresan mikroskopi yöntemi geliştirilmiştir. Floresan prensip temel seviyedeki (ground state) bir elektronun eksternal enerji ile uyarılarak bir üst seviyeye yükseltilmesi ve bu

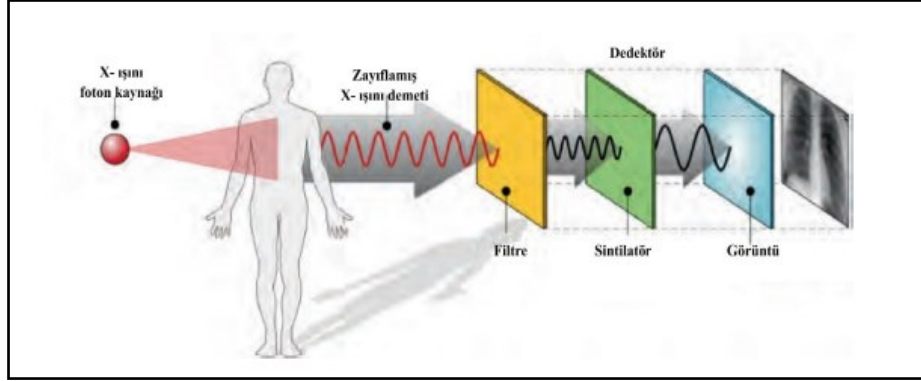
seviyede labil olan elektronun tekrar temel seviyeye dönerken spesifik bir dalga boyunda ışına yapması şeklinde özetlenebilir.

Konfokal mikroskopi hücre araştırmaları için ideal bir araştırma yöntemidir. Ancak doku parçalarında kullanımı nispeten kısıtlıdır. Uyarı ışığının derindeki hücreye penetrasyonu ve floresan emisyonun dokuda yayılımı zor olduğundan yüksek enerji kullanılması gerekir. Yüksek enerji doku ve hücreye zarar vereceğinden canlı yapılarda uygun değildir. Bu sorunları aşmak için multi-foton tekniğı geliştirilmiştir. Bu yöntemin bilinen konfokal teknikten farkı özel bir lazer kullanılmasıdır. “Power Spread Function (PSF)” dağılımına göre odak noktasının parlaklığı karanlık kısma göre 105 kez daha fazladır. Dolayısıyla iki PSF çarpılması sağlanarak mikroskop konfokal hale getirilebilir. Yeterince parlak bir ışık kaynağı bir noktaya odaklandığında bir ya da iki fotonu hemen eşzamanlı olarak aynı noktada buluşturabilir. Ancak konfokal metoduna oranla elde edilen görüntülerin çözünürlüğü daha kötüdür, her amaca uygun florofor bulmak zordur, kullanılan lazerler ve kontrol sistemleri çok daha pahalıdır. Sonuç olarak; günümüz laboratuvarlarında optik yöntemler kullanarak hücre yapı ve fonksiyonu hakkında canlı hücrelerde invaziv olmayan araştırmalar yapmak ve fizyolojik cevapları kaydetmek mümkündür. Bu tür tekniklerin kullanıldığı metotlar genel olarak opto-fizyoloji terimi adı altında toplanmaktadır.

2.8.2. Bilgisayarlı Tomografi-BT (Computerized Tomography-CT)

Bilgisayarlı tomografi cihazı; vücudun herhangi bir bölgesinin kesit görüntüsünü oluşturma kabiliyetine sahip bir cihazdır. Bu cihaz görüntülerini oluşturmada, konvansiyonel X-ışını cihazlarda rastladığımız X-ışını tüplerinin bir benzerini kullanır. Ancak diğer X-ışını cihazlarının aksine bu cihaz sürekli dönmekte olan bir gantry’ye bağlıdır. Bir X-ışını kaynağı, hastaya nüfuz eden bir ışın haline odaklandıktan sonra, zayıflatılmış bir X-ışını elde edilir. Daha sonra, bir filtre, foton-elektron etkileşimi sonucu ortaya çıkan dağılımı kaldırır ve görüntü X-ışınlarını sinyale dönüştüren (ışığa ya da elektrik akımına) ışıltılı (scintillating) bir malzeme ile tespit edilir [55]. Bu işlem Şekil 2.14’de gösterilmiştir. BT; X-ışını geçirilen doku yoğunluğunun zayıflama katsayısı hesaplamasıyla ölçülebilir olduğu temel

prensibine dayanır. BT, elde edim sistem eksenine dik olan iki boyutlu bölüm yardımıyla gövde yoğunluğunun yeniden oluşturulmasını sağlar.



Şekil 2.14: X-ışını görüntüleme yöntemi.

Radyolojik görüntüleme yöntemlerinde prensip üç boyutlu cismin iki boyutlu görüntüsünün elde edilmesi temeline dayanır. BT görüntüleme yönteminde yoğunluğu yüksek lezyonlar veya dokular, yoğunluğu düşük olanları gözlemektedir. Tomografi istenilen derinlikteki anatomik yapıların veya lezyonların selektif olarak görülmesini sağlayan tekniktir. Görüntüleme tekniğinin esası tüp ve film tutucusunun çekim esnasında zıt yönler hareket etmesiyle kesit radyografisi elde edilmesidir.

Bilgisayarlı tomografide yapıların yoğunlukları, -1000 ile $+1000$ arasında değişen rakamlarla temsil edilen bir gri skalada ele alınmıştır. Bu skala, cihazı geliştiren İngiliz fizikçi Godfrey Hounsfield'in adıyla anılmaktadır. Hounsfield skalasında saptanan rakamsal veriler Hounsfield Ünitesi (HU) olarak anılır. Burada yapının yoğunluğunu belirleyen faktör, maddenin x ışını absorbe etme özelliği ile ilgilidir. X-ışını fazla absorbe eden kemik, kalsifikasyon ve taş gibi yapılar beyaz görülür ve yüksek HU değerleri verirlerken ($80 - 100$ HU), su orta derecede (0 HU), yağ sıfırın altında (-80 HU) hava ise skalanın en altında kalan değerler (-1000 HU) oluşturmaktadır.

Konvansiyonel radyolojik yöntemler lezyonların gerçek sınırlarının, yumuşak doku ilişkilerini göstermede yarılgılara sebep olabilmektedir. Özellikle baş-boyun bölgesindeki lezyonların komşu anatomik yapılarla olan ilişkileri ve sınırları çeşitli süperpozisyonlar nedeniyle doğru olarak belirlenemeyebilir.

En önemli dezavantajları ise; pahalı oluşu, Metalik yabancı cisimlerin artefakt oluşturması, doku spesifitesini tayin etmedeki yetersizliği ve solid bir kitlenin benign veya malin olup olmadığının ayırımının yapılamamasıdır. Farklı patolojideki benign lezyonları BT ile ayırt etmek imkânsızdır. Bu nedenle bir abse, malgin tümör veya hematomla aynı görünümde izlenebilir.

2.8.3. Pozitron Emisyon Tomografisi (Positron Emmision Tomography-PET)

Pozitron Emisyon Tomografisi, isminden de anlaşılacağı üzere vücuda verilen çeşitli pozitron yayan radyonüklidler aracılığıyla insan vücudundaki fonksiyonel metabolik aktivitenin kantitatif olarak ölçüldüğü ve tomografik olarak görüntülediği bir nükleer tıp yöntemidir. Diğer radyolojik görüntüleme yöntemlerinin aksine anatomiden ziyade fonksiyonel ve metabolik değişiklikleri göstermesi nedeniyle radyolojik görüntüleme lezyonun meydana gelmesi için gereken sürede PET bu değişiklikleri göstererek anatomik yapı bozulmadan önce lezyonu saptayabilmesi nedeni ile diğer radyolojik yöntemlerin bir adım önüne geçmiştir.

PET de kullanılan radyoaktif elementler organik yapıda bulunan oksijen (^{15}O), azot (^{13}N), flor (^{18}F), karbon (^{11}C) gibi atomlardır ve yapay olarak hızlandırıcılarda üretilir. Bu radyoaktif maddelerin (Tablo 2.1) büyük kısmı insan hücrelerinin yapıtaşlarını oluşturan elementlerin radyoaktif formlarıdır. Bu nedenledir ki, PET görüntülemesi fizyolojik bir yöntemdir ve diğer non-invaziv görüntüleme yöntemlerinden farklı olarak lezyonun metabolik ve fonksiyonel aktivitesi hakkında bilgiler sağlamaktadır. Bunların yarı ömürlerinin kısa olmaları, verdikleri zarar açısından avantajlıdır ancak üretilmeleri için özel tesisler gereklidir.

Başlangıçta nükleer santrallerde elde edildiğinden çok pahalıya mal olmaktadır. Ya nükleer tıp merkezi bulunan hastaneler nükleer santral yanında, ya da santrallere yakın hastaneler bulunması gerekirdi. Ancak son zamanlarda küçük çaplı hızlandırıcılar ile daha uygun koşullar ve fiyatlarla üretilmeleri mümkün olmaktadır ve elde edilen radyoaktif maddeler hastanelerin nükleer tıp merkezlerine saatler içinde taşınabilir hale gelmiştir. Bunlardan florun 2 saate yakın yarı ömrü olması nedeniyle diğerlerine göre avantajlıdır.

Tablo 2.1: Pozitron yayan Radyonüklidler ve Yarı Ömürleri.

Radyonüklid	Fizik Yarı-Ömrü
Karbon-11	20.4 dakika
Azot-13	9.96 dakika
Oksijen-15	2.07 dakika
Flor-18	109.7 dakika
Potasyum-38	7.64 dakika
Bakır-62	9.74 dakika
Bakır-64	12.7 saat
Galyum-68	68.1 saat
Rubidyum-82	75 saniye
İyot-124	4.18 gün

Glikoz tümörlerde diğer normal dokulara göre daha yoğun şekilde harcanmaktadır. Glikoza bağlı flor ile elde edilen radyofarmasotik, metastazların görüntülenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Tablo 2.2). Damar yolundan verilen radyofarmasotik, tümör dokularda harcanırken yapısındaki radyoaktif flor pozitron ışınması yapar. Elektronla birleşen pozitronun bir çift gama ışınmasına dönüşmesiyle PET deki detektörler çıkan çift gama ışınmalarını yakalayarak ışınmanın doğrultularını elde eder. Bu sayede organizmadaki tümör odaklarının yerleri dışarıdan belirlenmiş olur. Bu gün sıklıkla ikincil tümör odaklarının belirlenmesinde kullanılan bu sistem daha birçok başka amaçla da kullanılmaktadır.

Tablo 2.2: PET’de kullanılan radyofarmasötikler ve kullanma alanları.

Radyoaktif Element	Radyofarmasötik	Kullanım Alanı
¹⁸F	Fluoro Deoxy Glucose (FDG)	Glikoz metabolizması, Tümör ve metastaz belirlenmesi. Toplam PET uygulamalarının Yaklaşık %90’ı.
¹⁵O	O ₂	SSS Oksijen Kullanımı ve Metabolizma
¹⁵O	CO	SSS Kan Hacmi, Kalp Kan Hacmi
¹⁵O	H ₂ O	SSS Kan Hacmi, Kalp Kan Akımı
¹³N	NH ₃	Kalp Kan Akımı
¹¹C	n-Butanol	SSS Kan Akımı
¹¹C	Palmitate	Kalp Metabolizması
¹¹C	Acetate	Kalp Metabolizması
¹¹C	Glucose	SSS Glikoz Metabolizması
¹¹C	N	Dopamin Reseptör Bağlanması
¹⁸F	Spiperone	Dopamin Reseptör Bağlanması

2.8.4. Tek Foton Işımasının Bilgisayarlı Tomografisi (Single Photon Emmision Computerized Tomography-SPECT)

İster doğal olsun, ister yapay olarak üretilmiş olsun, her radyoaktif element alfa, beta, gama ışınları gibi iyonizan ışın yapabilir. Bu ışınların canlı hücreler üzerine zararlı etkilerinin bilinmektedir. Buna rağmen bu radyoaktif elementler kontrollü olarak teşhis ve tedavide kullanılmaktadır. Tedavi amacıyla, istenmeyen doku ya da hücrelerin yok edilmesi için bazı radyoaktif elementler kullanılabilir. Teşhis için ise nispeten zayıf radyoaktif elementlerin yaydığı ışınların ölçülmesi amaçlanır. Vücut içinden dışa alınan her türlü sinyal, içyapılar hakkında bir bilgi verdiğinden, vücuda gönderilen radyoaktif elementin içeriden yaydığı ışınların dışarıdan ölçülmesi bu görüntülemenin esasını oluşturmaktadır.

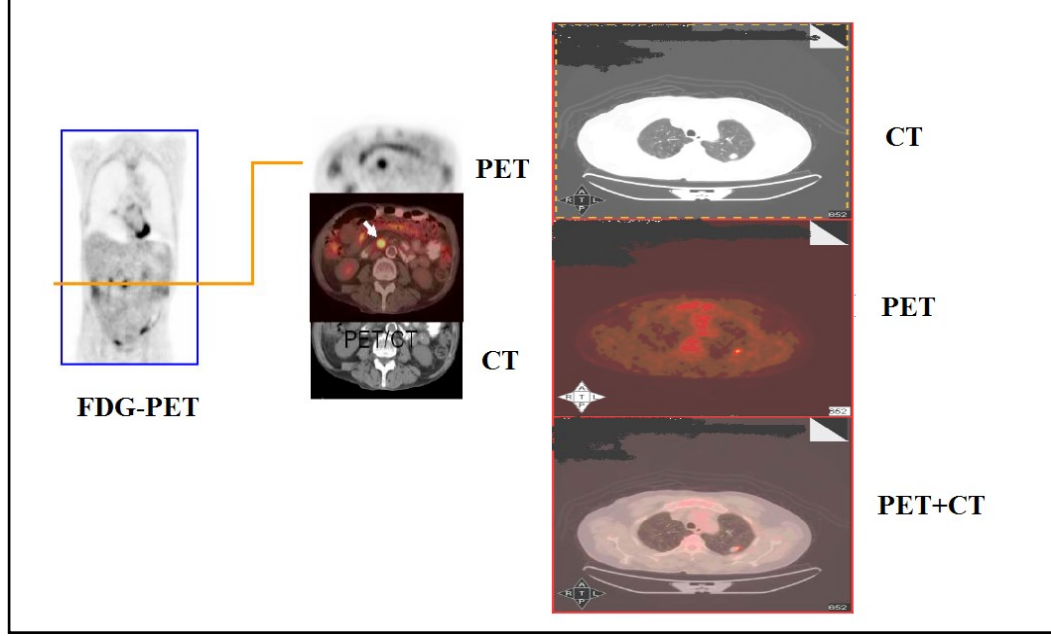
Basit sintigrafik ölçümlerde, uygun bir radyoaktif element yine uygun bir moleküle bağlanır. Böylece hazırlanmış olan radyofarmasotik damar yolundan

vücuda verilir. Yeterli bir süre beklendikten sonra, radyoaktif elementin bağlanmış olduğu molekül vücutta kendisine özgü kritik organda toplanır ve bu organdan ışınlar çıkar. Örneğin; tiroidin işlevini görüntüleyebilmek için tiroitte metabolize olan iyot kullanılır. Radyoaktif I^{131} damar yolundan verince tiroitte yoğun şekilde toplanır ve buradan ışınlar çıkar. Boyun hizasına, tiroit önüne konan bir radyoaktif sayıcı, tiroitteki ışınları sayarak haritalandırılır. Işımanın zayıf veya şiddetli olduğu bölgeler belirlenerek sağlıklı veya patolojik yapıların yerleri belirlenir. Bu sistem basit sintigrafik ölçümdür. Bu sistem bir kademe geliştirilerek, bilgisayarlı tomografide olduğu gibi, çok sayıda detektör vücut etrafında döndürülerek vücuttan gelen radyoaktif sinyaller elde edilir. Bu sinyaller bilgisayarda birleştirilerek organın değişik kesitlerinin görüntüsü ekrana çizdirilir. Böylece SPECT elde edilir. Bu kavram tek foton ışınları yapan radyoaktif elementlerin ışınlarının bilgisayarlı tomografisi sözcüklerinin İngilizce karşılığının baş harflerinden ortaya çıkmıştır. En yaygın kullanılan tek foton ışınları yapan radyonüklidler biyolojik olmayan elementlerdir. Bunlar; teknesyum-99m, perteknetat, talyum-201, iyot-123 ve iyot-131, galyum-67 ve indiyum-111'dir. Bu radyonüklidlerin enerjileri pozitron yayan radyonüklidlere oranla daha düşüktür ve 80-360 keV arasında değişen enerjilerde gama ışınları yayarlar. SPECT yöntemi sintigrafi çalışmalarında kesitsel görüntüler elde edilmesine olanak sağlar, görüntü kalitesini artırır ve lezyonların derinliğini değerlendirmeyi mümkün kılar.

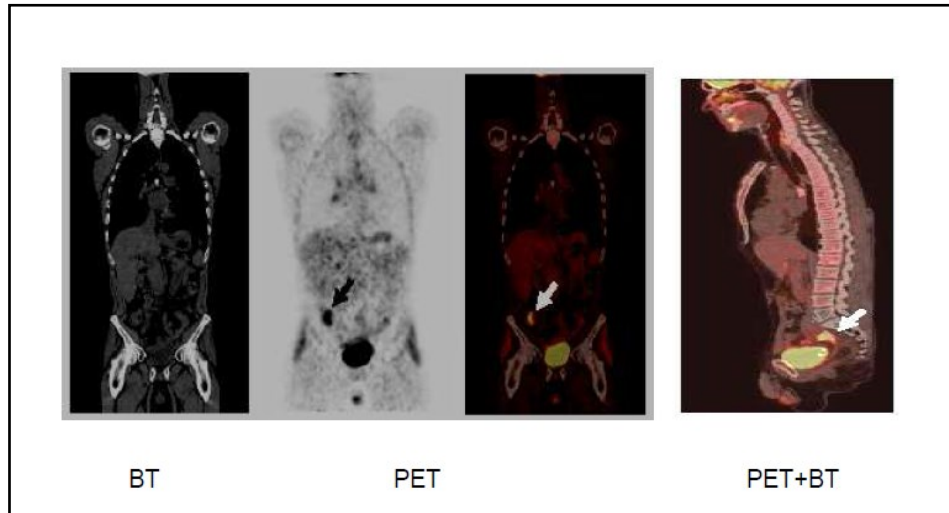
2.8.4.1. Multi-Model Görüntüleme (SPECT/CT, PET/CT)

Son yıllarda radyonüklid görüntülemeler açısından en önemli gelişmelerden biri de SPECT/CT ve PET/CT gibi hibrid görüntüleme sistemlerinin kullanıma girmesi olmuştur. İki ayrı görüntüleme modalitenin birlikte kullanımı klinik anlamda yararlı pek çok bilgi elde edilmesine olanak sağlamıştır. Mediastinal bölge patolojilerinin değerlendirilmesinde hem tek foton yayan, hem de pozitron yayan radyoaktif ajanlar ile yapılan radyonüklid görüntülemelerin kullanımı giderek artış göstermektedir. Karmaşık anatomik yapısı nedeniyle görüntüleme yöntemleri için zor bir bölge olan mediastinal bölge görüntülemelerinde SPECT/CT ve PET/CT gibi hibrit görüntüleme yöntemlerinin kullanımı nükleer tıp biliminin verdikleri sonuçlarının doğruluğunu ve güvenilirliğini arttırmakta ve nükleer tıp görüntülerine daha hâkim

olmalarına olanak vermektedir. Örneğin bir tümörün hem büyüklüğü hem de hangi organın neresinde olduğu görüntülenebilmektedir (Şekil 2.15), (Şekil 2.16). PET'in BT ile birleştirilmesinin önemli bir özelliği de PET 'deki zayıflamaların düzeltilmesidir (Attenuation Correction).



Şekil 2.15: PET ve BT (CT)'nin ayrı ayrı ve bir araya getirilmiş görüntüleri ile tümör odağının ve anatomik yerinin belirlenmesi.



Şekil 2.16: PET ve BT (CT) ile görüntülenen bir kolon tümör odağının ve anatomik yerinin belirlenmesi.

2.8.4.2. PET/BT (PET/CT) Tekniğinin Yaygın Kullanım Alanları

Akciğer kanseri (non–small cell) ozofajiel kanserler, kolorektal kanser, lenfoma, malign melanom ve baş boyun kanserlerinin tanısı (diagnosis), evrelemesi (staging), radyoterapi veya kemoterapi sonrası tedaviye cevabının araştırılmasına ve tedavi sonrası yeniden evreleme (restaging) olarak verilebilir. Miyokard enfarktüsü sonrası tıkanan koroner arterlerin besleyemediği kalp kası bölgelerinin belirlenmesi veya henüz tıkanmamış ama çok daralmış koroner damarların yetersiz beslediği kalp kası bölgelerinin görüntülenmesinde PET/BT tekniği oldukça yararlı bilgiler sağlamaktadır. Beyin hastalıklarında özellikle epilepsiye neden olan odağın bulunmasında, Alzheimer hastalığı tanısında PET/BT yararlı bir tanı yöntemidir.

- Özellikleri:
- PET'de elektronik kolimasyondan dolayı gama kameradaki gibi kolimatör gerekmez.
- Kullanılan radyoaktif maddelerin nispeten kısa yarı ömürlü ve zayıf şiddette olması diğer radyoaktif görüntüleme yöntemlerine göre avantaj sağlar.
- Çift foton yakalama özelliğinden dolayı arka plandan gelen tek ışımaldan (background) ortaya çıkan hatalar en aza inmiştir.
- SPECT'e ve diğer sintigrafik yöntemlere göre hassasiyeti ve çözünürlüğü daha yüksektir.
- Özellikle ikincil tümör odaklarını erken dönemde belirlemesi önemli bir gelişmedir.
- BT ile birleştirilmesi anatomik zayıflığını ikinci plana itmiştir.
- Vücudun doğal kimyasal yapısında bulunan elementlerin izotopları olan ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O ve ^{18}F gibi pozitron yayıcılar biyomoleküler işaretlemeye kullanılabilir.
- Bu izleyicilerin metabolizması iyi bilindiği için, örneğin FDG ile glikozun metabolizması basit aktivite dağılımından kolaylıkla hesaplanabilir.

- Bütün bu olumlu özelliklerine rağmen,
- Kısa yarı ömürlü ve düşük şiddetli radyoaktif maddeler kullanılsa da bunların iyonizan etkileri nedeniyle hem hastada hem de uygulayıcılarda dikkatli davranmak gerektirir.
- Çok kısa yarı ömürlü radyoaktif maddeler uygulama merkezine çok yakın yerlerde üretilmelidir. Bu da maliyeti yükseltmektedir.
- Anatomik görüntü eksikliğini gidermek için kullanılan BT yine maliyete etki etmektedir.

2.8.5. Ultrasonografi (US Imaging)

Ultrasonografide radyoloji pratiğindeki diğer görüntüleme yöntemlerinden farklı olarak elektromanyetik radyasyon olmayan ses enerjisi kullanılmaktadır. Ses enerjisi mekanik bir enerji olup ortamdaki moleküler titreşimin bir dalga halinde yayılmasından ibarettir. Sesin frekansı saniyedeki titreşim sayısı ile belirlenir. Saniyede bir titreşim 1 hertz (Hz) olarak bilinir [1000 Hz = 1 kHz (kilohertz), 1.000.000 Hz = 1 mHz (megahertz)]. Radyoloji pratiğinde kullanılan sesin frekansı yaklaşık olarak 2-12 mHz dir. İnsan kulağının işittiği sesin frekansı ise 20 Hz –20 kHz dir. Elektrik enerjisini sese, sesi ise elektriğe dönüştüren çevirici transduser adı verilen aygıtlar ultrasonografi cihazının prob bölümünü oluşturmaktadır. Elektrik-ses-elektrik dönüşümü ise piezoelektrik olay olarak adlandırılır. Ultrasonografi aygıtları, gönderdikleri sesin vücutta doku ara yüzeylerinden yansması sonucu gelen ekoları kaydederek görüntü oluşturmaktadırlar. Yansımaları belirleyen faktör, dokuların ses direnci (akustik impedans) arasındaki farktır. Birbirine komşu iki yapının sese direnci arasındaki fark çok ise ara yüzeyden yansıma çok olacaktır. Bu fark az ise yansıma az olacaktır. Cihazın ekranında bu yansımalar parlak beyaz noktalar olarak görülmektedirler. Bir US görüntüsü, yansımaların oluşturduğu parlak noktalardan oluşmaktadır.

Görüntü kalitesi, sesin frekansı arttıkça artar. Bununla birlikte ses frekansının artması sesin derin dokuya ulaşımını (penetrasyonunu) zorlaştırmaktadır. Bu nedenle yüzeysel dokularda yüksek frekanslı problar kullanırken derin dokularda daha düşük frekans kullanmak zorunluluğu vardır. Ses, sıvılardan çok iyi geçtiği için safra kesesi mesane gibi oluşumların sıvı dolu içyapıları hiçbir yansıma olmadığından anekoik

şekilde izlenir. Az yansıma gösteren alanlar hipoekoik, aşırı yansımanın olduğu alanlar hiperekoik olarak adlandırılır. Ultrasonografi öncelikle yüzeysel olan hava kemik gibi yapılar tarafından örtülmeyen tüm yumuşak dokularda kullanılabilen önemli bir görüntüleme yöntemidir. Pratik, nispeten ucuz ve deneyimli ellerde güvenilir, bilinen yan etkisi olmayan bir yöntemdir. Başlıca abdominal incelemelerde olmak üzere tiroid, meme gibi birçok yüzeysel organda, kas ve tendon incelemelerinde oldukça başarılı bir yöntemdir. Gelişimsel kalça displazisinde erken tanı sağlayan yöntem birçok radyolojik girişimde de kılavuz yöntem görevi görmektedir.

2.8.6. Manyetik Rezonans Görüntüleme MRG (Magnetic Resonance Imaging MRI)

Vücudumuz primer olarak yağ ve sudan oluşmakta ve bu oluşumların moleküler yapısında ağırlıklı olarak hidrojen atomları yer almaktadır. MRG; su ve yağın, dolayısı ile de vücudumuzun büyük bir bölümünün yapısında mevcut bulunan (%63) hidrojen atomlarının, güçlü bir manyetik alan içerisinde, kendilerini rezonansa uğratacak bir radyo frekans (RF) dalgası ile uyarılıp titreştirilmesinden elde olunan sinyallerin görüntüye dönüştürüldüğü doku kontrast rezolüsyonu en yüksek ileri radyolojik görüntüleme tekniğidir [56] . MRG'nin temelleri 1923 yılında Wolfgang Pauli'nin, çekirdekdeki spin rezonans olayının keşfi ile atılmış, MR olayının tanımlanması 1946 yılında Felix Bloch ve Edward Mills Purcell adlı iki araştırmacı tarafından yapılmıştır. MR olayının tanımlanması, ikinci Dünya Savaşının hemen sonrasında yapılmakla birlikte MR'ın insan vücuduna uyarlanması epey zaman almış, ilk kez 1973 yılında Paul C. Lauterbur tarafından gerçekleştirilmiştir. MRG, insan vücuduna uyarlanmasının ardından hızlı bir gelişme göstermiş, 1975 yılında Richard Ernst tarafından Fourier Transform tekniğini tanımlanmış, 1977 yılında Raymond Damadian tarafından tüm vücut MR görüntülenmesi sağlanmıştır. 1980 yılında Hawkes tarafından MRG'nin multiplanar özelliği tanımlanarak bu yöntemle ilk lezyon gösterilmiştir. 1984 yılında Schörner ve arkadaşları tarafından MRG'de ilk kontrast madde uygulaması gerçekleştirilmiştir [57]. 1986 yılında Haase ve arkadaşları, hızlı görüntüleme sekanslarını geliştirerek o zamana kadar kullanılan klasik inceleme sekansları nedeniyle önemli bir dezavantaj yaratan tetkik süresi süresinin uzunluğuna bir çözüm bulmuşlardır. 1987 yılında Charles Dumoulin

tarafından geliştirilen MR-Anjiyografi (MRA) teknikleri ve 1993 yılında kullanılmaya başlanan fonksiyonel MR uygulamaları MRG'nin kullanım alanını genişletmiş, MRG'yi sadece bir anatomik görüntüleme yöntemi olmaktan çıkararak fonksiyonel bir inceleme yöntemi şekline dönüştürmüştür [58], [59].

2.8.6.1. Neden Manyetik Rezonans Görüntüleme?

MRG'nin kullanımı için başlıca gereklilik onun yumuşak doku kontrast çözümü gücü en yüksek görüntüleme yöntemi olmasından kaynaklanmaktadır. Vücudun büyük bölümünü oluşturan yumuşak dokuların yüksek kontrast çözünürlüğü altında birbirinden ayrıştırılması, iç yapılarının daha iyi bir şekilde ortaya konması kolaylaşmaktadır. MRG ile hastanın pozisyonunu değiştirmeden çok düzlemden görüntüler elde edilebilir. İyonizan radyasyon riski olmadığından çocukluk yaş grubunda, hamilelerde kullanılabilir; aynı hastada defalarca tekrarlanabilir. Yukarıda da bahsedildiği gibi MRG ile sadece anatomik detaylar verilmekle kalmaz aynı zamanda fonksiyonel görüntülemeler (MR-Spektroskopi, Difüzyon-Perfüzyon görüntüleme, kortikal aktivasyon gibi)* yapılabilir [60], [61]. MRG ile kontrast madde kullanmadan ve girişimde bulunmadan bazı özel incelemeler (MRAnjiyografi, MR-Kolanjiyografi, MR-Ürografi, MRMyelografi, MR-Sisternografi gibi) gerçekleştirilebilir [62], [63]. MRG'de kontrast madde uygulaması yapılabilmektedir. Bu amaçla rutin uygulamalarda Gadolinyum içerikli şelatlar kullanılmaktadır [64], [65]. Kullanılan bu tür kontrast maddelerin yan etki riski çok düşük olup diğer görüntüleme yöntemlerinde (intravenöz ürografi, bilgisayarlı tomografi gibi) uygulanan iyotlu kontrastlara göre daha rahat tolere edilir. Bu tür incelemeler genellikle güçlü yüksek Tesla (T) MR cihazlarınca gerçekleştirilebilen birer software uygulamasıdır.

2.8.6.2. MRG'nin Dezavantajları

MRG'nin dezavantajları, başlıca incelemenin yapıldığı cihazın manyetik alan gücü ve tekniğin yarattığı etkenlere bağlıdır. Bunların başında da üzerinde kalp pili, nörostimülatör, infüzyon pompası gibi aygıtları taşıyan hastalar üzerinedir. Bu cihazlar manyetik alandan etkilenerek işlev göremez hale gelecek ve hastanın

hayatını tehlikeye sokabileceklerdir. Aynı şekilde ana manyetik alan ve RF dalgalarından etkilenecek ısınan, yerinden oynayabilen ve yumuşak dokularda yanıklara yol açabilecek sabit metal protezli, anevrizma klipli olgularda da MRG kontrendikedir. MRG’de temel olarak sinyaller, proton yoğunluğuna bağlı olduğundan, bazı doku ya da oluşumlardan yeterli sinyal alınamaz ve bu dokuların değerlendirilmesi zorlaşır. Kortikal kemik, kalsifikasyon, akciğer dokuları buna örnek olarak verilebilir. Dar ve kapalı bir yerde kalma korkusu (klostrofobi) taşıyan hastaların, %2-3 gibi bir sıklıkta kapalı sistem MRG cihazlarında incelemeye alınamadıkları belirtilmektedir.

2.8.6.3. MRG’de Kullanılan Kontrast Maddeler

Manyetik rezonans görüntüleme’de (MRG) kontrast maddeler, kontrastsız görüntülerde yeterli doku ayrımının yapılamadığı durumlarda kullanılırlar. Burada temel amaç hem patolojik doku ile normal dokuların, hem de değişik karakterdeki lezyonların birbirinden ayrımının yapılmasıdır. Bunun sağlanabilmesi için normal dokunun ya da patolojik dokunun sadece birinin kontrast madde tutması diğerinin ise hiç kontrast madde tutmaması gereklidir. Ancak bu ideal durum çoğu zaman sağlanamaz. Kontrast maddeler dokuların sadece morfolojisi hakkında bilgi vermekle kalmaz bazı durumlarda fonksiyonu hakkında da önemli bilgiler sağlayabilir. MRG’de kullanılan kontrast maddeler kendilerine yakın olan su moleküllerinin relaksasyon zamanlarını kısaltarak etki gösterirler. Bu nedenle paramanyetik kontrast maddeler tüm diğer radyografik kontrast maddelerden daha farklı bir mekanizma ile etki ederler. Bu tür kontrast maddeler sinyal intensitesini artırıyorsa pozitif, sinyal şiddetini azaltıyorsa negatif kontrast maddeler olarak adlandırılır. Çoğu kontrast madde hem T₁ hem de T₂ relaksasyon zamanını kısaltarak etki ederler ancak bazı kontrast maddelerin etkisi diğerinden daha fazla olabilir. Kontrast maddelerin etkisi hem kontrast maddenin biyo dağılımına hem de puls parametrelerine bağlı olarak değişiklik gösterebilir. MRG incelemelerinde kullanılan kontrast maddeler iki şekilde sınıflandırılabilir [66], [67]:

- Kontrast maddelerin kullanıldığı sekanslara göre

T₁ Ajanlar: Gadolinyum ve mangan tuzlarından oluşmaktadır. T₁ relaksasyon süresini kısaltarak dokuların beyaz (parlak) görünmesine neden olurlar.

T₂ Ajanlar: Demir oksit içeren ajanlardır. T₂ relaksasyon süresini kısaltarak dokuların siyah olarak görünmesini sağlarlar.

- Kontrast maddelerin etki ettiği dokulara göre

Nonspesifik (ekstrasellüler) Ajanlar: Rutin MRG uygulamalarında kullanılan gadolinyumlu kontrast maddelerdir.

Organ Spesifik Ajanlar: Hedeflenen organa yönelik üretilmiş MRG kontrast maddeleridir. Bunlar hepatositlere yönelik ajanlar, erken dönemde nonspesifik-geç dönemde hepatositlere yönelik ajanlar, retiküloendotelial sisteme (RES) yönelik ajanlar, erken dönemde kan havuzu-geç dönemde RES'e yönelik ajanlar olarak sınıflandırılabilir [68], [69].

2.8.6.4. Nonspesifik ajanlar

Nonspesifik (ekstrasellüler) ajanların tümü gadolinyum şelatlarından oluşmakta olup aynı farmakolojik özelliklere sahiptir. Nonspesifik kontrast maddeler arasında gadobenat dimeglumin (MultiHance, Gürel), gadobutrol (Gadovist, Bayer), gadopentat dimeglumin (Magnevist, Bayer), gadodiamid (Omniscan, Opakim), gadoterik asit (Dotarem, Guerbet) sayılabilir [70], [71].

2.8.6.5. Hepatositlere yönelik ajanlar

Mangan şelatları hepatositler tarafından aktif tutulan kontrast maddelerdendir. Mangan şelatlarının tutulumu ile hepatositlerin sinyali T₁ ağırlıklı serilerde artar. Bu grupta 1997 yılında klinik kullanıma giren mangan- dipiridoksildifosfat (Mn-DPDP) yer almakta olup Teslascan (Opakim) adıyla bilinmektedir [72].

2.8.6.6. Erken dönemde nonspesifik, geç dönemde hepatositlere yönelik ajanlar

Gadoxetikasitdisodyum (Gadolinium-etoksibenzildietilentiainpentaasetik asid, Gd-EOBDTPA, eski adıyla Eovist, yeni adıyla Primovist, Bayer) ve Gadobenatdimeglumin (Gadolinium benziloksiopropioniktetraasetat dimeglumin, Gd-BOPTADimeg, MultiHance, Gürel) bu grupta yer alan iki ajandır [73]. Bu iki ajan mangan şelatlarının aksine dinamik incelemeye de olanak verdiği için lezyonların tanınmasında olduğu kadar karakterizasyonunda da kullanılabilir.

2.8.6.7. Retikuloendotelial sisteme (RES) yönelik ajanlar

RES'e yönelik kontrast maddeler demir oksit içeren partiküllerdir [72]. Bu ajanlar ortalama partikül çapı 50nm'den büyük olan süperparamanyetik demir oksitler (SPIO) ve ortalama partikül çapı 50 nm'den küçük olan ultrasmall süperparamanyetik demir oksitler (USPIO) olmak üzere iki grupta incelenirler [72], [74]. Süperparamanyetik demir oksit partiküllerinden günümüzde kullanımda olan iki tanesi AMI-25 (Endorem, Guerbet) ve SHU 555A (Resovist, Schering)'dir. Ultrasmall süperparamanyetik demir oksitlerden olan AMI-227 (Sinerem, Guerbet; Combidex, Advanced Magnetics) ise karaciğer MR incelemesi dışında lenf nodu görüntüleme ve MR anjiyografide de kullanılabilir.

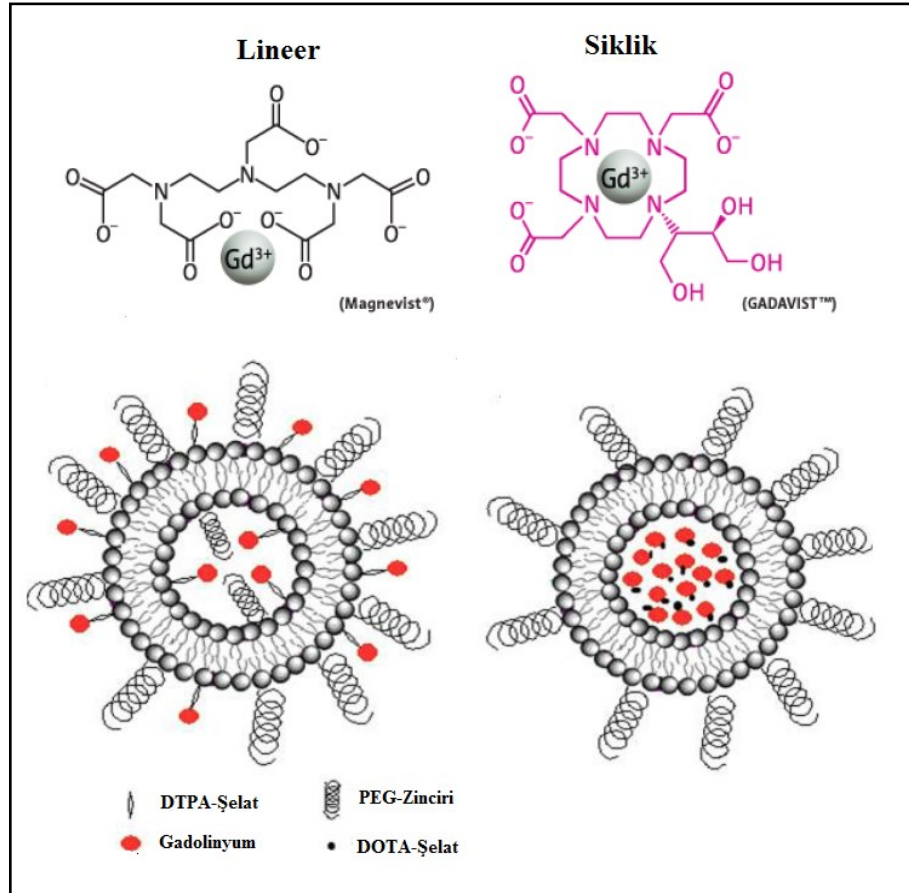
2.8.6.8. Kan havuzu ajanları

Bu grupta yer alan ve çalışmaları devam etmekte olan ilaçlar arasında MS-325 (MS-325, Epix Medical ve Mallinckrodt Medical Inc.), Gd-DTPA-polilizin, Gd-DTPA-dekstran (Nycomed), Gd-DTPA-kaskad-polimer (Gadomer-17, Bayer) ve Gd-DTPA-işaretlenmiş albümin sayılabilecek kontrast maddelerdir. Bu moleküller Gd-DTPA'dan çok daha yüksek molekül ağırlığına sahip olmaları nedeni ile ekstraselüler boşluğa kolay geçmezler [72].

2.8.6.9. Gadolinyum şelatları ve şelat yapısı

Gadolinyum tek başına in vivo kullanıldığında oldukça toksiktir, kemik dokuya ve karaciğere dağılır, hızlı biçimde karaciğer nekrozuna yol açar [75]. Gadolinyumun yüksek düzeyde toksik olması nedeniyle kontrast ajan içerisinde şelat adı verilen diğer moleküllerle birlikte komplike bir yapıda bulunur. Şelat kelimesi yunanca pençe anlamına gelen 'chele' kelimesinden gelmektedir. Bütün gadolinyumlu kontrast ajanlar gadolinyum iyonu (Gd^{3+}) içeren şelatlardır. Gadolinyum şelatları arasında gadobenat dimeglumin (MultiHance, Gürel), gadobutrol (Gadovist, Bayer), gadopentat dimeglumin (Magnevist, Bayer), gadodiamid (Omniscan, Opakim), gadoterik asit (Dotarem, Guerbet) sayılabilir [70].

Gadolinyum şelatlarının iki farklı yapısal kategorisi mevcuttur: siklik şelatlar (ör, gadoteridol ve gadoterat meglümin) ki bunlarda Gd^{3+} bir kavite içerisinde hapsolmüştür ve lineer şelatlar (ör, gadodiamid ve gadopentat dimeglümin) [76].

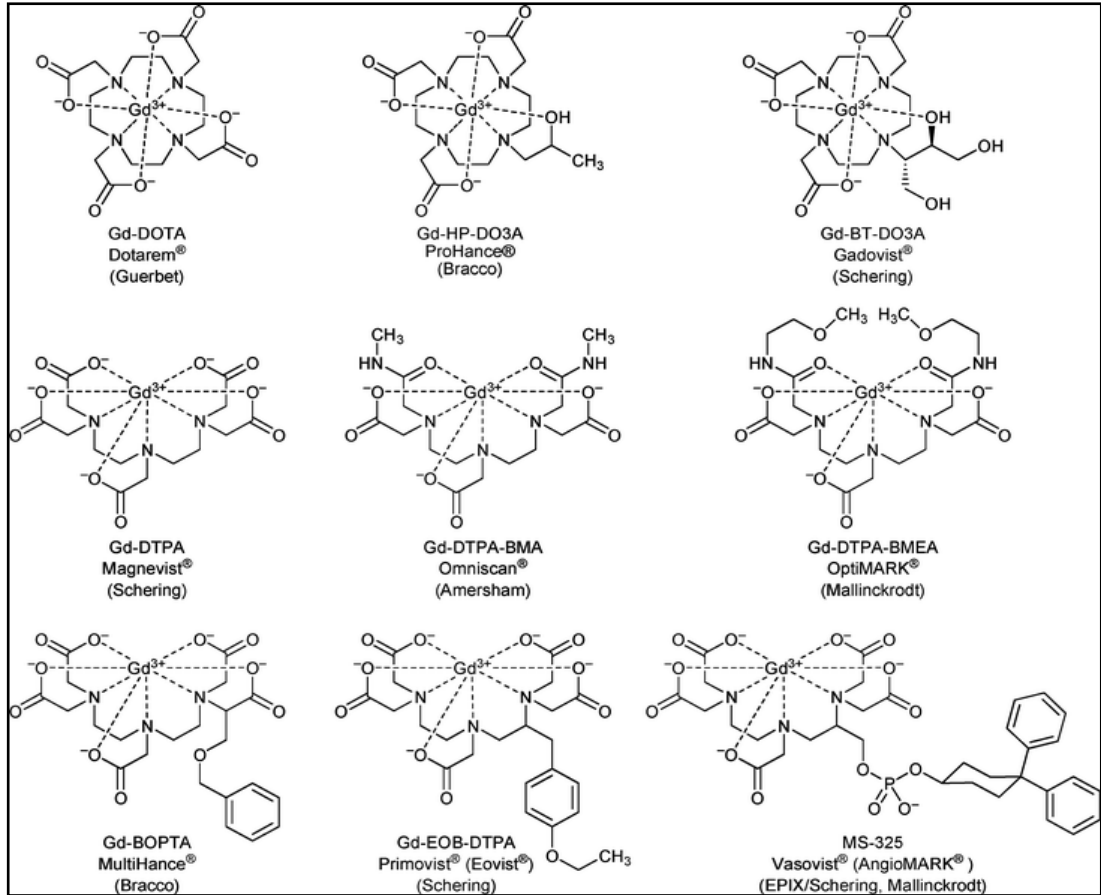


Şekil 2.17: Gadolinyum şelatlarının iki farklı yapısal sınıflandırılması.

Gadolinium şelatlarının stabilitesi lineer ya da siklik olmaları ile farklılık gösterir [77]. Siklik moleküller lineer moleküllere göre Gd^{+3} 'e daha sıkı bağlanırlar ve daha stabil bir yapıya sahiptir [78], [79]. İyonik siklik şelatlar (gadoterik asit gibi) serbest Gd^{+3} salınımına en az eğilimli ajanlardır ve en uzun ayrışma yarı ömrüne sahiptir. Non-iyonik lineer gadolinium şelatları (gadodiamid gibi) vücutta serbest Gd^{+3} salınımına en yatkın ajanlardır [80], [81].

Tablo 2.3: Ülkemizde kullanılan Gadoliniumlu kontrast ajanlar.

TİCARİ İSİM	GENERİK İSİM	ŞİRKET	İLK KULLANIM TARİHİ
Magnevist®	Gadopentetate dimeglumine	BAYER-SCHERING	1998 (EU/US)
Dotarem	Gadoteric acid	GUERBET	1989 (EU)
Omniscan	Gadodiamide	GE HEALTHCARE	1993 (EU/US)
MultiHance®	Gadobenate dimeglumine	BRACCO	1997 (EU) 2005 (US)
Optimark®	Gadoversetamid	COVIDIEN	2000 (US) EU Kabulü 2007
Gadovist®	Gadobutrol	BAYER-SCHERING	2003 (EU)
Primovist®	Gadoxetic acid disodium	BAYER-SCHERING	2006 (EU)

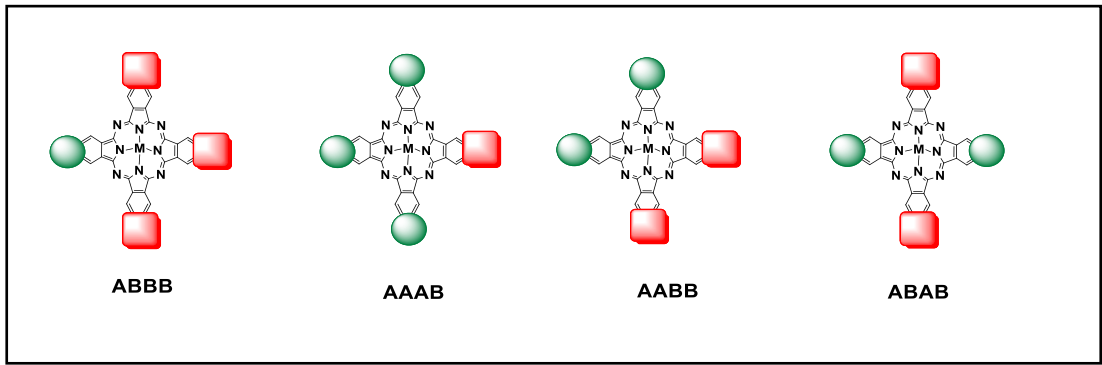


Şekil 2.18: Klinikte kullanılan Gadolinyumlu kontrast ajanların yapıları.

3. TERANOSTİK AMAÇLI PDT VE MRI AJANI OLARAK ASİMETRİK Gd-DOTA SÜBSTİTÜE Zn(II) FTALOSİYANİNLER

3.1. Asimetrik Ftalosiyaninler

Asimetrik ftalosiyaninler düzensiz olarak sübstitüe olmuş bileşiklerdir. Genel olarak üç tip kabul edilir. Bunlar AAAB, ABAB ve ABBB adlandırılır (Şekil 3.1).



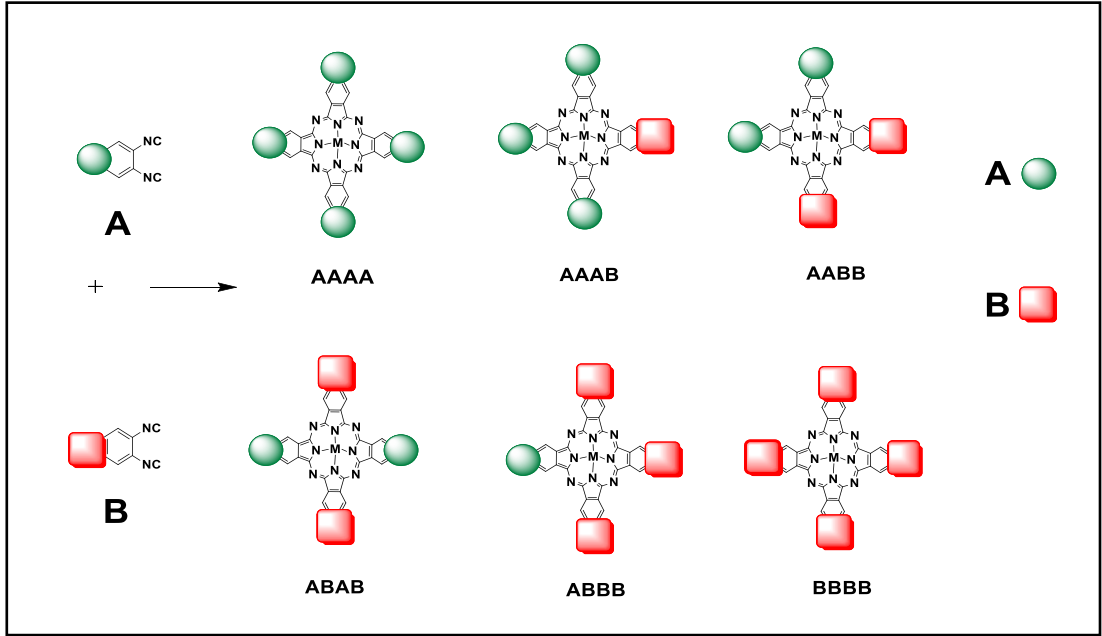
Şekil 3.1: Asimetrik ftalosiyaninler.

Fotodinamik terapide kullanılacak ideal bir fotosensitizerde hiç şüphesiz tümörler için doku seçiciliğini göstermesi gerekmektedir. Normal hücrelere bağlanmayıp, yalnız kanser hücrelerine bağlanan ve tutunan bir fotosensitizer yapılması, bu fotosensitizerde sitotoksik veya radyoaktif bir ajan giydirilmesi ve hastaya verilmesi ile bu seçici akıllı molekülün kanser hücrelerini arayarak bağlanıp onları kilitleyerek yok edeceği görüşü, çeyrek asır önce gündeme gelmiş ve uygulamalar başlamıştır.

Asimetrik ftalosiyaninlerin sentezlerinde ftalonitril veya diiminoizindolin karışımının tetramerizasyon metodu kullanılır. Asimetrik ftalosiyaninlerin son yıllarda uygulama alanları giderek gelişmektedir. Fotodinamik terapi uygulamalarında amfifilik karakter kazandırmak için moleküle istenilen hidrofilik ve hidrofobik sübstitüe gruplar takılabilmektedir. Yarı simetrik yapılar ise asimetrik yapılar olarak kabul edilmektedir.

3.1.1. Asimetrik Ftalosiyenin İstatistiksel Metodla Sentez Yöntemleri

Asimetrik ftalosiyenin sentezinde kullanılan en yaygın yol ftalonitril veya diiminoizoindolin karışımının siklotetramerizasyonudur. Teorik olarak iki farklı ftalonitril'den altı farklı ftalosiyenin oluşur. Başlangıç maddelerinin miktarları kontrol edilerek istenen asimetrik ftalosiyenin verimi arttırılabilir. Bununla birlikte pratikte ftalonitril karışımının reaksiyonu önemli miktarlarda en az iki ftalosiyenin verir. İstenen ftalosiyenin bunların arasından kromatografik yöntemle ayrılır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: İki farklı ftalonitrille elde edilebilen altı farklı ftalosiyenin sentezi.

İki farklı ftalonitrilin kombinasyonu ile yüksek fonksiyonelliğe sahip ftalosiyenin elde etmek mümkündür. Prensipde A ve B gibi iki farklı ftalonitril kullanılarak istatistiksel olarak altı farklı ftalosiyenin elde edilir. A ve B'deki istatistiksel sentezde iki nitril arasındaki oran değiştirilerek elde edilen her izomerin miktarı değiştirilebilir. Böylelikle istenilen izomer iyi bir verimle elde edilebilir. Aşağıda bu altı izomerin ürün karışımlarının tahmini nispi oranları, A ve B nin çeşitli stokiyometri ile basit bir model farz edilerek bütün adımlarda eşit kinetiğe sahip olduğu düşünülerek anlatılmıştır.

Dinitril A ve B nin arasındaki oran 1:1 (%50) ise elde edilme olasılıkları AA, AB ve BA için yaklaşık $(0.5)^2 = 0.25$. Bununla birlikte AB ile BA nin aynı katkısı sağladığı göz önünde bulundurulmalıdır. Çünkü A ve B nin iki yerde iki permütasyonu vardır. Ayrıca belirlenmiş altı Pc nin olasılığı $(0.5)^4 = 0.0625$. Bu sayı permütasyon sayısı ile çarpılmalıdır. Bu basit modelde template, sterik, elektronik etki ve reaksiyon sırasında dinitrillerin oranlarında reaksiyon boyunca meydana gelen değişiklik dikkate alınmamıştır. Tablo (3.1)'de verilen örnekte permütasyon sayılarıyla ve ürünlerin tahmini oranları farklı reaksiyonların stokiyometrisi Cook modelinde verildiği gibi kullanılmıştır. Tabloda istatistiksel metottan tahmini oranların belirlenmesi açık bir şekilde ifade edilmiştir. Buradaki bilgilere dayanarak arzu edilen ftalosiyanın miktarı belirlenerek A ve B nin konsantrasyonu değiştirilerek farklı oranlarda ürün izomerlerini elde etmek mümkündür [82]. Burada 3:1 oranında A ve B dinitrilleri kullanarak istenilen AAAB ürünü yaklaşık olarak % 42'lik verimle elde edilebilir [83].

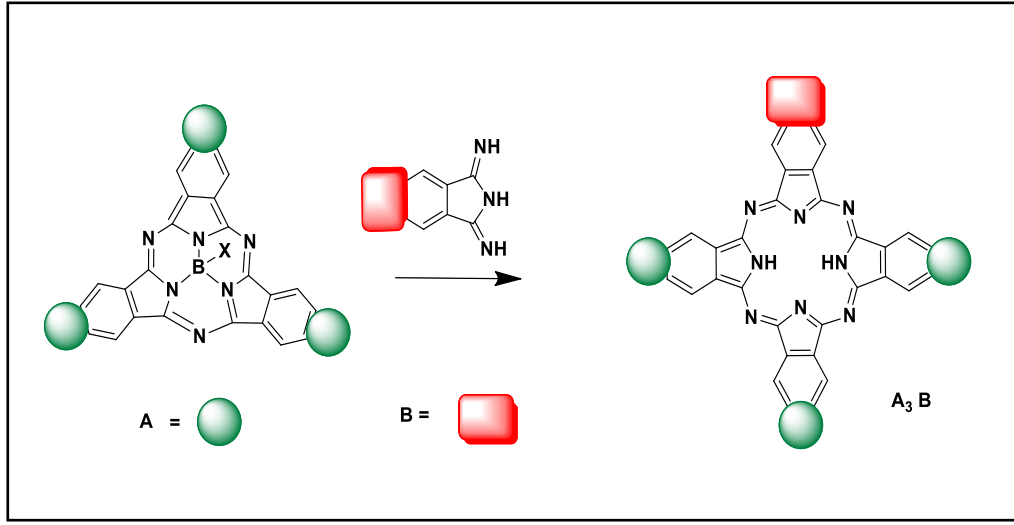
Tablo 3.1: Ürün karışımlarının istatistiksel metotla hesaplanan Nisbi miktarları.

A:B	(AAAA)	(AAAB)	(ABAB)	(AABB)	(ABBB)	(BBBB)
1:1	6.25	25	12.5	25	25	6.25
3:1	31.6	42.2	7.0	14.1	4.7	0.4
9:1	65.6	29.2	1.6	3.2	0.4	0.01
permütasyon	1	4	2	4	4	1

3.1.2. Asimetrik Ftalosiyanın Sentezi İçin Selektif SubPcs Metodu

Subftalosiyanınlar (SubPc) ftalosiyanınların en düşük homologlarıdır. Bor merkezi etrafında üç diiminoizoindolin halkası içerirler. Düzlemsel olmayan koni şekli, 14- π elektronlu aromatik merkezli yapısı, kimyasal ve fiziksel özellikleri bu bileşiği çekici kılmıştır. Bu bileşikler sadece bor türevleriyle bilinir. Simetrik ftalosiyanınlar ftalonitril ve diiminoizoindolin siklotetramerizasyon reaksiyonuyla

kolayca elde edilebildiği halde simetrik olmayan A_3B yapısında süstitüe ftalosiyanın elde etmek oldukça güçtür. Subftalosiyanınlarde halka genişletme reaksiyonu en iyi sentez yönteminden biridir. Bu Kobayashi tarafından A_3B şeklindeki simetrik olmayan süstitüe ftalosiyanın elde etmek için tasarlanmıştır [84] (Şekil 3.3). Kullanılan bu yöntemin, yüksek verim, seçicilik ve yan ürün elde etmeden kolayca saflaştırma gibi sahip olduğu özellikler diğer metotlara göre üstünlük sağlamaktadır.



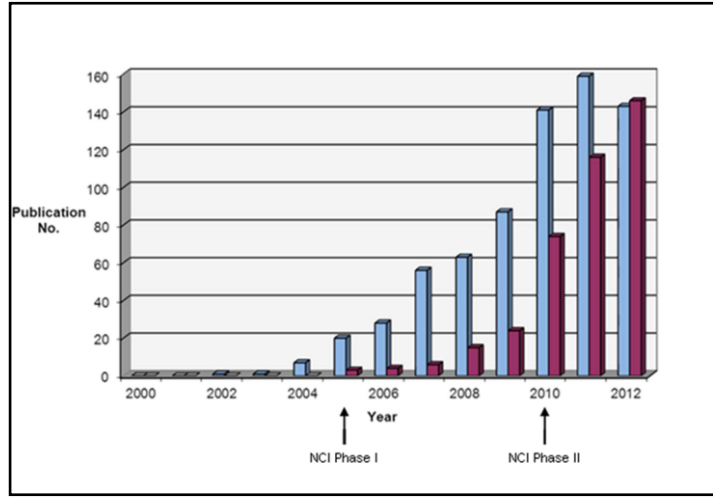
Şekil 3.3: Subftalosiyanın kullanarak asimetrik Pc sentezi.

3.2. Teranostik Ajanların Literatürdeki Yeri ve Bu Tez Çalışması İçin Katkıda Bulunduğu Sonuçlar

3.2.1. Moleküler Teranostik Ajanlar

Kanser, heterojen bir hastalıktır. Aynı tip kanserler arasında, tümör ve metastaz odağı arasında hatta tek bir tümörü meydana getiren hücreler arasında moleküler heterojenlikler bulunmaktadır. Dolayısıyla kullanılan tüm tedaviler, sınırlı hasta alt popülasyonlarında ve hastalığın belirli evrelerinde etkilidir. Tanı ve tedavinin tek bir platformda birleştirilmesi sayesinde önce her bir tümördeki hüresel fenotipler karakterize edilip ardından hedefe yönelik tedavi uygulanabilir. Bu şekilde, genel tedaviler yerine kişiselleştirilmiş tedaviler uygulanarak tedavilerin etkinliği artırılabilir. Böylece elde edilen veriler daha yenilikçi ve daha güçlü *in-vivo* tanı araçlarının gelişmesine yol açacaktır. Moleküler görüntülemeye uzun vadeli amaç

yüksek düzeyde hassas ve güvenilir tanı ajanları geliştirerek tedavinin hem uygulama hem de takibini yapabilmektir. “Bul, savaşı ve izle” şeklinde tanımlanabilecek bu konsept erken tanı, tedavi ve sonuçlarının kontrolünü kapsamakta ve teranostik (tanı+tedavi) olarak ifade edilmektedir. Tanıyı, hedefe odaklı tedaviyi ve tedavi cevabının izlenmesini bir arada sağlayan nano-tedavi sistemleri, teranostik nano-tıp olarak tanımlanır [8], [85], [86]. Bu tıbbi yaklaşım aralarında, cerrahi müdahale [87] ve hücre taraması [88] gibi birçok kanser tedavi işleminin de bulunduğu uygulamalarda yer alabilmektedir. Görüntüleme ve tedavi yöntemlerinde kullanılan ajanlara nanoparçacıklar eklenerek yeni nanoteranostik malzemelerin hazırlanması sürecinin çok hızlı gelişmesinin yanında [89], [90] moleküler teranostik yapılar literatürde oldukça sınırlıdır. Svenson 2013 yılında yayınladığı çalışmada, 2000 ve 2011 yılları arasında tıp alanında (özellikle onkoloji) kullanılan teranostik ve çok fonksiyonlu sistemler hakkında yapılan SciFinder taramalar da 120 teranostik ve 160 çok fonksiyonlu sistemleri içeren yayının bulunduğunu göstermiştir. 2012 yılında ise bu konu ile ilgili yaklaşık 150 makale yayınlanmıştır (Şekil 3.4) [91]. Bu da bize teranostik amaçlı çalışmaların tıpta ve biyolojide kullanımının gelecekte giderek artacağını işaret etmektedir.

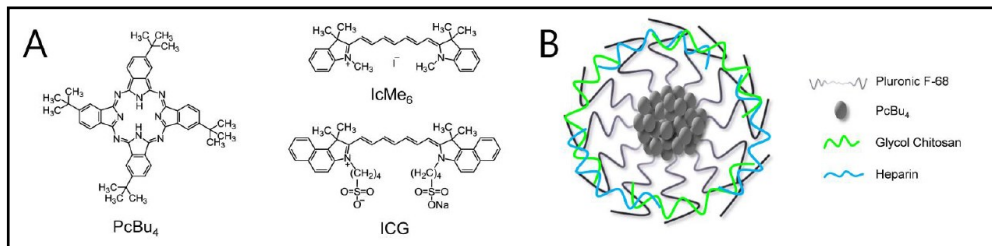


Şekil 3.4: Teranostik (mor Bar) ve Çok Fonksiyonlu Sistemlerle (mavi Bar) ilgili 2000-2011 yılları arasında yapılan makale çalışmalarının Dağılımı.

Çok geniş uygulama ve kullanım alanları bulunan bu makro halkaların sentezinde, son zamanlarda çok sık çalışılan ve literatürdeki yayın sayısı giderek artan “Klik” Kimyasının uygulanması da ilgi görmeye başlamıştır. “Klik” kimyasının başka alanlarda (özellikle polimer ve ilaç gibi) kullanımı ve uygulamaları ile ilgili literatürde birçok yayın olmasına rağmen, bu tekniğin ftalosiyaninlere uygulanışı sınırlıdır. “Klik” kimyası, bir sentezcinin bir reaksiyondan beklentilerinin neredeyse %100 ünü sunan harika bir tekniktir. Bu teknik, geniş kullanım ve uygulama alanına sahip olması, kolaylıkla gerçekleşiyor olması, oda sıcaklığında ve sulu ortamda yürümesi, çok yüksek verimle sonuçlanıyor olması, çok az miktarda yan ürünün oluşumu ve de bu yan ürünün de kromatografik yöntemlere ihtiyaç duyulmadan uzaklaştırılıyor olması nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmektedir [92].

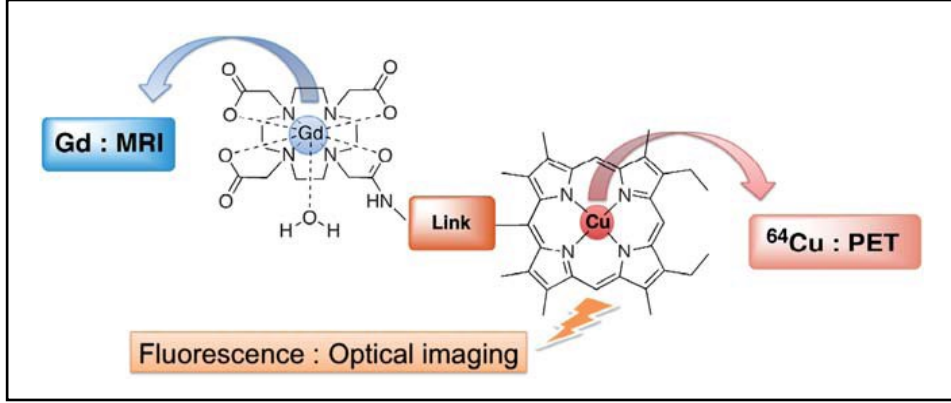
Teranostik alanı günümüzde hızla büyümektedir. Aromatik ve düzlemsel makrosiklik yapılar olan porfirin ve ftalosiyaninlerin sahip oldukları floresans ve fotodinamik özellikleri bu moleküllerin teranostik uygulamalarda kullanımına olanak sağlar. Porfirin ve ftalosiyaninlerin teranostik ajanlar olarak kullanılmasını örnek veren birçok çalışma bulunmaktadır [93], [94]. Örneğin Yeh ve çalışma arkadaşları iki fotonlu floresans lifetime görüntüleme yöntemini kullanarak porfirin® molekülünün hücre zarında ve sitoplazmadaki floresans ömrü özelliklerinde gösterdiği farklılıklarla hücre içi lokalizasyonunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile bu tür yeni teknikler uygulanarak rutin PDT çalışmalarının klinik uygulamalarda yer alabileceği umulmaktadır [95].

Başka bir çalışma da Lim ve arkadaşları, yeni tip ftalosiyanin moleküllerinin sentezi yerine, floresans görüntüleme için kullanılan ftalosiyanini tümöre taşıyacak yeni bir nanotaşıyıcı sistem geliştirmiştir (Şekil 3.5). Daha sonrasında da teröpatik etkiyi elde etmek için de fototermal tedavi kullanmıştır [96].



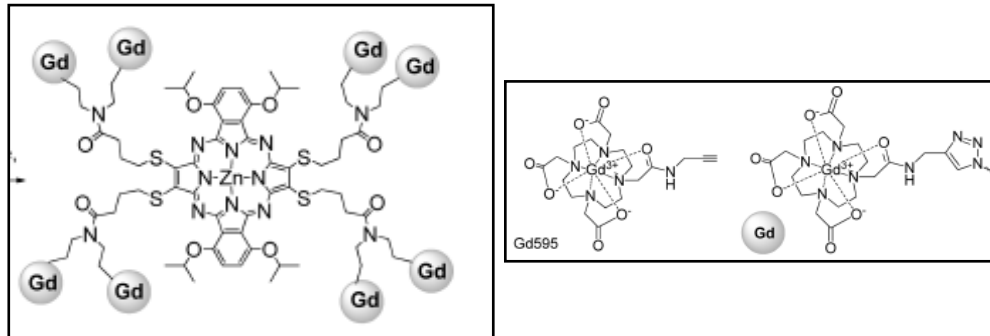
Şekil 3.5: Ftalosiyanin ve diğer fotosensitizerlerinin nanotaşıyıcı sistem ile konjugasyonu.

Başka bir çalışmada Gd-DOTA molekülü ile fonksiyonlandırılmış porfirin molekülü (şekil 3.6) kullanılarak manyetik rezonans görüntüleme amaçlı bileşikler elde edilmiştir [97]. Bu çalışmada bu molekül sadece gösterdiği görüntüleme özelliği açısından incelenmiştir.



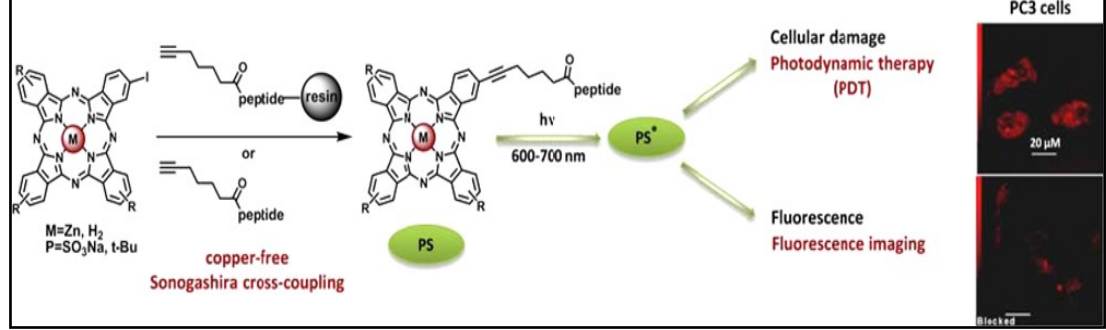
Şekil 3.6: Gd-DOTA grupları içeren porfirin bileşiği.

Halihazırda görüntüleme ajanları olarak kullanılan Gd-DOTA moleküllerine kemoterapi ilaçları eklenerek theranostik platformlar oluşturulabilir. Böylece hem görüntüleme hem de tedavi amaçlı bileşikler elde edilebilir. 2010 yılında, Song ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada porfirazin molekülü click kimyası kullanılarak Gd-DOTA molekülü ile fonksiyonlandırılmış (Şekil 3.7) ve elde edilen konjüгатların eş zamanlı olarak hem teşhis ve hem de görüntüleme amaçlı kullanımları incelenmiştir [98]. Teşhis yöntemi olarak MRG kullanılmış ve sentezlenen porfirazin bileşiklerinin PDT özellikleri incelenmiştir. Bu çalışma bizim sentezlerimiz için yol gösterici olmuştur.



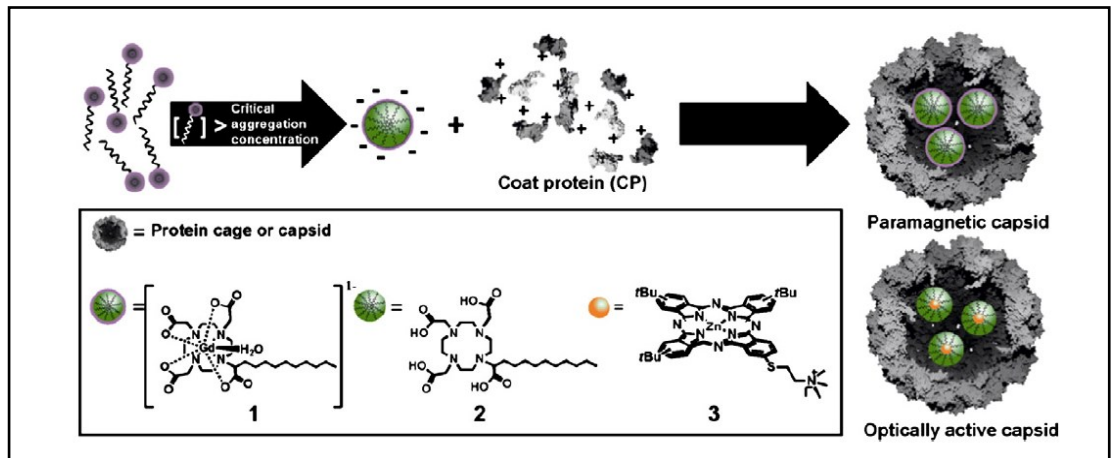
Şekil 3.7: Gd-DOTA grupları içeren porfirazin bileşiği.

Bu tür çalışmalardan bir tanesinde Van Lier ve arkadaşlarının [99] yaptığı, ftalosiyanin-peptit konjüge moleküllerin eş zamanlı olarak görüntüleme PDT amaçlı kullanımını içeren çalışmadır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8: Peptit grupları içeren ftalosiyanin bileşiği.

Ftalosiyanin molekülünün literatürde bu tür bir uygulaması bulunmamaktadır. Ftalosiyaninlerin teranostik amaçlı kullanımı ile ilgili son yıllarda yapılan en yeni çalışma 2014 yılında Cornelissen ve çalışma grubunun [100] yaptığı, amfifilik Zn ftalosiyanin-Gd-DOTA misellerinin eş zamanlı olarak manyetik rezonans görüntüleme ve PDT amaçlı kullanımını içeren çalışmadır (Şekil 3.9). Amfifilik ZnPc molekülü negatif yüklü Gd-DOTA moleküllerinin oluşturduğu misel içine enkapsüle edilmiş ve bu yapının pozitif yüklü proteinle etkileşimi sonucu elde edilen kanjüгатın Manyetik rezonans görüntüleme çalışmaları rapor edilmiştir. Ayrıca ZnPc bileşiğinin fotodinamik terapi için etkin bir singlet oksijen oluşturma kapasitesine sahip bir fotosensitizer olduğunu rapor etmişlerdir.



Şekil 3.9: Gd-DOTA miselleri içine enkapsüle edilen ZnPc molekülü.

3.2.2. Nanoteknoloji ile Teranostik Ajanların Etkinliği

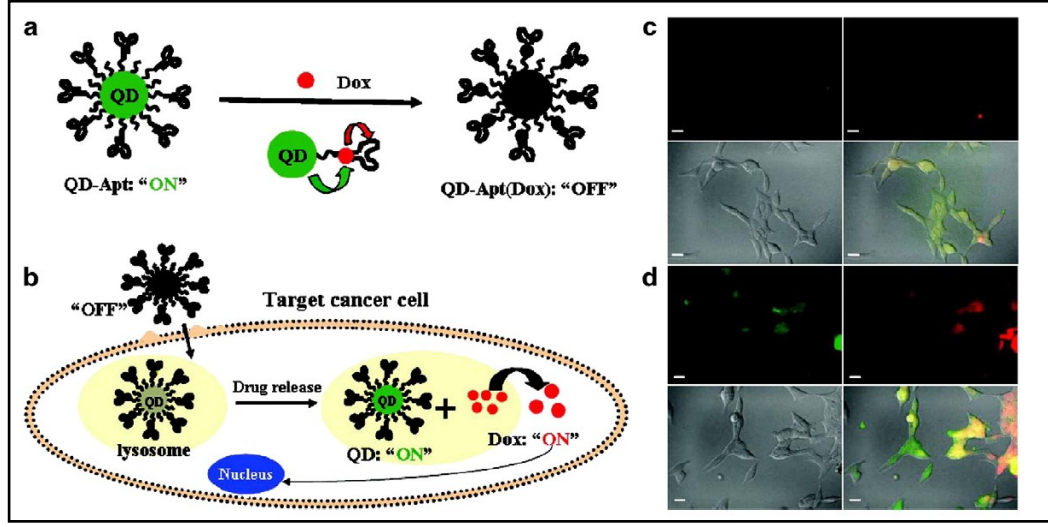
Kanser tedavisinde kullanılan geleneksel yöntemlerin yan etkileri, tedavinin başarısını ve etkinliğini azaltmaktadır. Erken teşhis, kanser tedavisinde önemli bir husustur. Geleneksel tanı yöntemleri ile kanserin erken evrelerde teşhis edilmesi güçtür. Çok disiplinli bir bilim olan nanoteknolojideki gelişmeler, kanser teşhis ve tedavisi açısından önemli olanaklar sunmaktadır. Bu bölümde temel olarak nanoteknolojinin kanser teşhis ve tedavisindeki yeri irdelenmiştir.

Nanoteknoloji yardımıyla, tümörler erken dönemde teşhis edilebilir. Nanoyapıların, tek bir tümör hücresine girebilmesi, bu konudaki görüntüleme tekniklerinin limitlerini artırmaktadır. Örneğin mamografi ile meme kanserine klinik teşhisin konması için 1.000.000 tümör hücresinin oluşmuş olması gerekir. Nanoteknoloji yardımı ile 100'den az tümör hücresinin oluştuğu durumda dahi meme kanserini teşhis etmek mümkündür [101].

Kanser tedavisinde kemoterapi ilaçlarının mümkün olduğunca tümörleri hedef alması ve sağlıklı dokular üzerinde etkisinin sınırlı olması, tedavideki başarı bakımından esastır. Bu husus ayrıca hastanın yaşam süresi ve kalitesinin artması bakımından önemlilik arz eder. Nano-onkolojideki gelişmeler, hedefe odaklı ilaç dağıtımını konusunda önemli yenilikler getirmiştir [102], [103]. Bu sayede ilaçların kanser hücrelerindeki hücre içi konsantrasyonları arttırılabilirken, sağlıklı hücelere olan toksik etkileri en aza indirilebilmektedir.

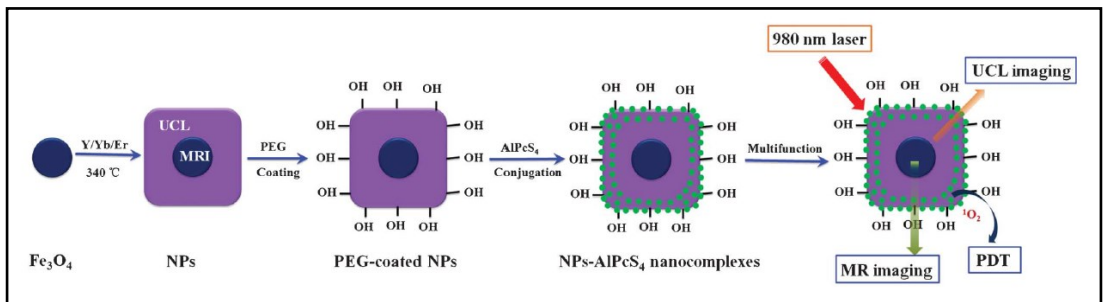
Halihazırda görüntüleme ajanları olarak kullanılan nanoparçacıklara kemoterapi ilaçları eklenerek teranostik platformlar oluşturulabilir. Bagalkot ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Quantum Dot (QD)–Aptamer (Apt)–Dox nanoyapısı, kanserin eşzamanlı olarak tedavisi ve görüntülenmesinde kullanılmıştır (Şekil 3.10). Bu çalışmada hedef yönelimini sağlamak için CdSe/ZnS QD'ların yüzeyleri A10 PSMA aptamerleri ile fonksiyonlandırılmıştır. Oluşan QD-Apt yapısına Dox eklenmiştir (QD-Apt(Dox)) [7]. Burada QD ve Dox, floresans moleküllerdir ve bi-floresans rezonans enerji transferi (FRET) mekanizmasıyla birbirlerinin floresans özelliklerini sönmüşlerdir. Dolayısıyla floresans özelliği baskılanmış QD-Apt(Dox) nanoparçacığı elde edilmiştir. Bu nanoparçacık, PSMA-dolaylı endositoz ile prostat kanseri hücelere girdiğinde taşıdığı Dox'u serbest bırakmıştır. Bunun sonucunda Dox ve QD, floresans özelliklerini geri kazanmışlardır

[104], [105]. Bu şekilde QD-Apt(Dox) theranostic nano yapılarıyla hedef yönelimli ilaç tedavisi ve görüntüleme aynı anda gerçekleştirilebilir.



Şekil 3.10: QD-Apt(Dox) theranostic nano yapılarıyla hedef yönelimli ilaç tedavisi ve görüntüleme.

2013 yılında Wu ve arkadaşları, Ftalosiyanın fotosensitizerleri, AlPcS₄, Fe₃O₄@NaYF₄:Yb/Er nanoparçacıkları ile konjuge ederek ele edilen nano yapıların (Şekil 3.11) T₂ relaksiyon sürelerini ve kontrast ajanı olarak manyetik rezonans görüntülemeye kullanımlarını incelemiştir. Daha sonrasında da bu nanoparçacıkların MCF-7 hücreleri üzerinde PDT çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir [106]. Görüldüğü gibi ftalosiyaninelerin PDT incelemeleri üstüne, Gd-DOTA komplekslerinin de MRG kullanımları üzerine birçok çalışma bulunmakla birlikte PDT ve MRG'nin tek bir molekülde birleştirildiği bir ftalosyanin bileşiği literatürde hala yer almamaktadır. Literatürdeki bu boşluğun doldurulması ve moleküler teranostik ajanların tasarlanması bu tezin özgün yanını oluşturmaktadır.

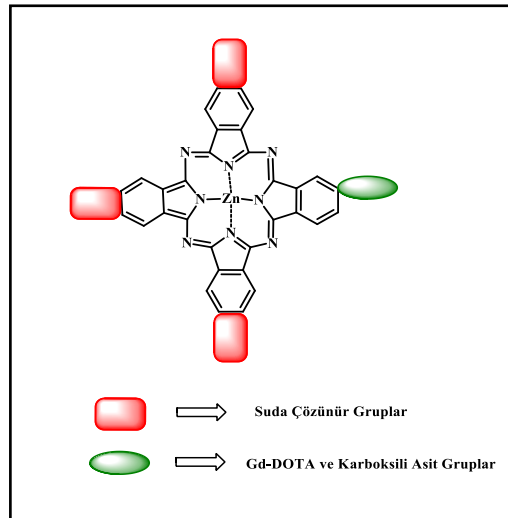


Şekil 3.11: NPs-AlPcS₄ Nanoparçacıkların sentezi.

3.3. Çalışmada Hedeflenen Moleküllerin Tasarımı

Asimetrik ftalosiyanimler sahip olduğu esnek kimyasından dolayı birçok alanda yaygın kullanım alanı bulmuştur. Teranostik amaçlı kullanılacak asimetrik ftalosiyanimlerde iki önemli parametre üzerinde durmak gerektiğini düşündük. Bunlardan ilki molekülün tasarımı, ikincisi sentez stratejisidir.

- Molekül Tasarımı: Molekülün biyolojik sistemlerle uyumluluk gösterebilmesi daha çok hidrofilik karaktere sahip olması gerekmekte ve bünyesinde suda çözünür grupların olması gerekmektedir. Bu sebeple molekülün suda çözünürlüğünü arttıracak grupların istatistiksel kondenzasyonda oranı en fazla olan gruplar olarak seçilmesi gerekmektedir. Fonksiyonlu gruplar da hedefe yönelik tedavide etkin rol oynamaktadır. Bizim çalışmamızda MRG’de kullanılmak üzere hedefe yönelik olarak Gd-DOTA grupları seçilmiştir.
- Sentez Stratejisi: Tasarlanan molekülün sentezinde uygulanacak metotlar belli aşamalardan oluşmalıdır. Bu çalışmada gerekli Zn (II) azido ftalosiyanimlerin hazırlanması ilk olarak alkinil-DOTA bileşiğinin Sentezlenmesi ve alkinil -DOTA grubunun klik reaksiyonu kullanılarak azido ftalosiyanim molekülüne bağlanması şeklinde geliştirilmiştir.



Şekil 3.12: Hedefe yönelik asimetrik ftalosiyanimler.

Teranostik terimi, çeşitli hastalıklar için tanı ve tedavinin tek bir platformda birleştirilmesini ifade eder. Tanı ve tedavinin tek bir platformda birleştirilmesi sayesinde önce her bir tümördeki hücrel fenotipler karakterize edilip ardından hedefe yönelik tedavi uygulanabilir. Bu şekilde, genel tedaviler yerine kişiselleştirilmiş tedaviler uygulanarak tedavilerin etkinliği artırılabilir.

Vücudumuz primer olarak yağ ve sudan oluşmakta ve bu oluşumların moleküler yapısında ağırlıklı olarak hidrojen atomları yer almaktadır. MRG; su ve yağın, dolayısı ile de vücudumuzun büyük bir bölümünün yapısında mevcut bulunan (%63) hidrojen atomlarının, güçlü bir manyetik alan içerisinde, kendilerini rezonansa uğratacak bir radyofrekans (RF) dalgası ile uyarılıp titreştirilmesinden elde olunan sinyallerin görüntüye dönüştürüldüğü doku kontrast rezolüsyonu en yüksek ileri radyolojik görüntüleme tekniğidir. Kontrast madde kullanım oranları rutin tetkikler içerisinde yaklaşık %25'lik bir paya sahiptir. MRG incelemelerinde kullanılan kontrast maddelerin önemli bir bölümü gadolinyum içeren ajanlardır. Bu kontrast maddeler rutin incelemelerde genellikle neoplaziler, inflamasyon, enfeksiyon gibi patolojilerde ve anjiyografi tetkiklerinde kullanılırlar. Bütün gadolinyumlu kontrast ajanlar gadolinyum iyonu (Gd^{+3}) içeren şelatlardır.

Fotodinamik terapi kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi müdahaleye alternatif olarak kullanılan bir tedavi şeklidir. Uygun bir dalga boyundaki ışık ile etkileşimde bulunan molekül fotosensitizer olarak adlandırılır. Bu etkileşim sonucunda hücre içinde bulunan moleküler oksijen toksik bir türevi olan singlet oksijene dönüşerek kanserli hücrelere hasar verir ve bunları öldürür. Yüzyıldır bilinen bu teknik, son otuz yıldır özellikle çok daha etkili olabilecek yeni fotosensitizerlerin geliştirilmesiyle hızla gelişen bir konu haline gelmiştir. Son araştırmalar tanı ve tedaviyi tek bir platformda birleştiren teranostik ajanların geliştirilmesine odaklanmıştır. Ftalosiyanimler günümüzün umut verici fotosensitizerler arasında yer alırken, Gd-DOTA molekülleri ise en çok kullanılan görüntüleme ajanları arasındadır.

Bu çalışmada tasarlanan ftalosiyanim ve Gd-DOTA moleküllerinin kombinasyonu potansiyel teranostik ajanlarının elde edilmesini sağlamıştır. Elde edilen ftalosiyanim bileşiklerinin karakterizasyonları yapılmış, fotofiziksel ve fotokimyasal özellikleri incelenmiş bunlara ek olarak MRI kontrast ajanı olarak kullanılabilirliklerini test etmek amacı ile de T_1 relaksasyon süreleri hesaplanmıştır.

Çalışma grubumuz tarafından PDT'ye yönelik ftalosiyanimler sentezlenmekte ve bu çalışmalar devam etmektedir. Özellikle vücut sıvısı içerisinde direkt olarak verilebildiği için suda çözünebilen ftalosiyanimlerin sentezlenmesi PDT uygulamaları açısından çok önemlidir. Bu çalışmamızda PDT için suda çözünebilen ftalosiyanim türevleri üzerinde çalışılması amaçlanmıştır.

Çözünürlüklerini iyileştirmek için hidrofilik karaktere sahip polioksietilen grupları ve Gd-DOTA grupları tercih edilmiştir. Daha önce polioksietilen süstitüe ftalosiyanim sentezleri yapılmış ve bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular yapı-aktivite ilişkisi bakımından olumlu sonuçlar doğurmuştur [107]. Bu tez çalışmasında bu bulgular değerlendirilerek molekül tasarımı gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenmiş olan bir fotosensitizer bileşiğinin PDT aktivitesinin belirlenmesi için bu fotosensitizerin fotofiziksel ve fotokimyasal özelliklerinin incelenmesi gerekmektedir. Ftalosiyanimlerin fotofiziksel ve fotokimyasal özellikleri merkez metal seçimine çok bağlıdır. Özellikle kabukları dolu diyamanyetik iyonlar (Zn^{+2} , Al^{+3}) ftalosiyanim bileşiklerinin yüksek singlet oksijen oluşturabilmelerini, yüksek triplet hal kuantum verimlerini sağlamanın yanında triplet halde uzun ömürlerini artırmaktadır. Bu sebep ile ftalosiyanimlerin $Zn(II)$ ve $Al(III)$ türevleri PDT'de kullanılmasında büyük ümitler vermektedir. $Zn(II)$ ftalosiyanimler fotodinamik terapi amaçlı çalışmalarda en çok kullanılan bileşikler arasında yer almaktadır [108], [109]. Bu sebeple çalışmamızın bu bölümünde karboksili asit süstitüe asimetric $Zn(II)$ ftalosiyanimler kullanılacaktır.

Asimetric ftalosiyanimler sahip olduğu esnek kimyasal yapılarından dolayı birçok alanda yaygın kullanım alanı bulmuştur. Son yıllarda araştırmacılar, asimetric süstitüe ftalosiyanimlerin sentezinde seçici metodlar bulmak için gayret etmektedirler. Asimetric yapılar genellikle iki farklı izoindol ünitesi (A ve B) içermektedirler. Hedeflenen ürünün türüne göre (AB_3 veya A_2B_2) spesifik yaklaşımlar uygulanabilmektedir. AB_3 türü bir asimetric ftalosiyanim sentezi için üç farklı yöntem vardır. Bunlar, istatistiksel kondenzasyon yöntemi, subftalosiyanim yaklaşımı ve polimer destekli sentez yöntemidir. Bu çalışmada istatistiksel kondenzasyon yöntemi ile Ftalosiyanim bileşikleri sentezlenmiş ve okta süstitüe gruplar seçilerek oluşabilecek izomerlerin ve dolayısıyla agregasyonun önüne geçilmeye çalışılmıştır. Agregasyona eğilimli olan polioksietilen grupların tetra türevleri agregasyonu arttıracığından suda çözünürlüğe ve saflaştırmaya olumsuz yönde etki edebilecektir.

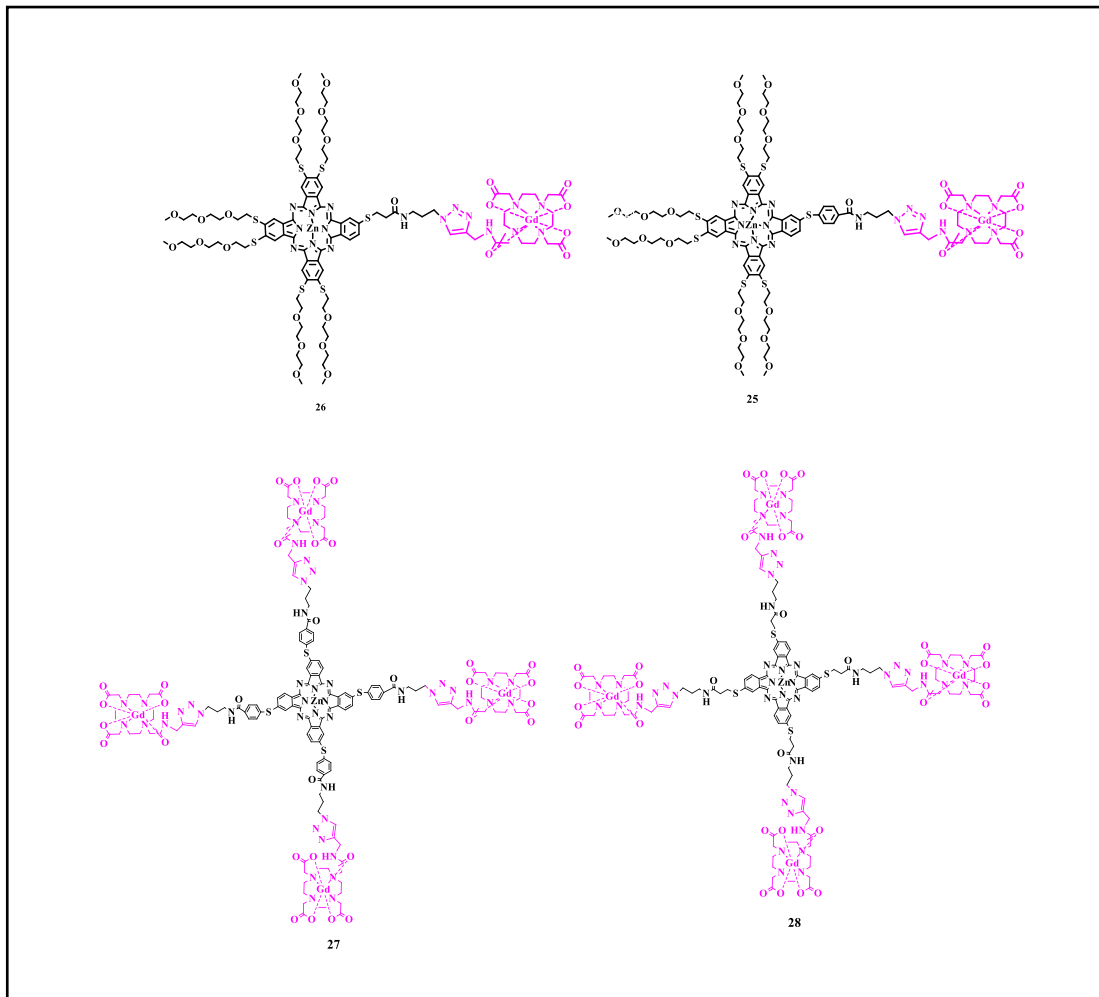
Molekülerin tasarımını gerçekleştirirken dikkate aldığımız diğer bir önemli noktada izomerlik olmuştur. Tetrasübstitüe ftalosiyanimler, dört yapı izomeri (C_{4h} , C_{2v} , C_s ve D_{2h}) karışımı olarak izole edilmeleri nedeni ile bu ftalosiyanimlerin saflaştırılma ve karakterizasyon aşamalarında izomerliğin getirdiği güçlüklerle karşılaşılacaktır. Okta sübstitüe ftalosiyanimler ise tek izomerli ve molekül içinde simetri düzlemine sahip olması nedeniyle kolay bir şekilde saflaştırılıp yorumlanabilmektedirler. Bu çalışmada okta sübstitüe ftalosiyanim bileşiklerinin sentezleri gerçekleştirilerek izomerlikten kaynaklanabilecek zorlukların önüne geçilmiştir.

Moleküllerin Gd-DOTA tarafları elde edilen konjüгатların MRG’de görüntülenebilir ve izlenebilir olmasını sağlamıştır. DOTA (tetra-azacyclododecane tetra-acetic acid) molekülünün Gd(III) iyonları ile oluşturduğu kararlı kompleksler, radyolojik görüntüleme en sık kullanılan biyoaktif moleküllerdir. Gadolinium (Gd) bazlı kontrast maddenin hızla damar içine verilmesi öncesi, sırası ve sonrasında hızlı MR görüntülerinin elde edilmesine dayalı dinamik kontrastlı MR görüntüleme bir film gibidir ve tümörün değerlendirilmesinde ön plana geçen yöntem haline gelmiştir. Bu yöntemle hem fizyolojik oynamalar, hem de morfolojik değişiklikler saptanır. Tümörler dinamik kontrastlı MR görüntüleme normal dokulara göre hızlı ve yoğun biçimde boyanır ve gene hızlı biçimde temizlenir. Bu çalışmada teranostik ajan olarak kullanılmak üzere tasarladığımız fonksiyonlandırılmış AB_3 yapısındaki asimetrik ftalosiyanim türevlerinin sentezi amaçlanmıştır. Etkin bir teranostik ajan hazırlanması amacı taşıyan bu çalışmada, alkinil Gd-DOTA grubu klik reaksiyonu ile poliokso etilen grupları içeren azido ftalosiyanim molekülüne bağlanarak suda çözünür ftalosiyanim türevleri hazırlanmıştır. “Klik” kimyası Huisgen reaksiyonu [110], [111] olarak bilinmektedir ve son yıllarda sık kullanılmaktadır. Azit-Alkin Huisgen Reaksiyonu bir azit ve bir alkin grubu arasında 1,3-dipolar halkalanması sonucu 1,2,3-triazole sentezidir. Ftalosiyanimlerin üzerine alkinil Gd-DOTA gruplarını sübstitüe edilmeleri için ($-N_3$) gibi fonksiyonlu grubun olması gerekmektedir. Hedeflenen ftalosiyanim bileşiklerinin sentezi aşağıda gösterildiği gibi üç basamakta gerçekleştirilmiştir:

- Gerekli Zn (II) azido ftalosiyanimlerin hazırlanması
- Alkinil-DOTA bileşiğinin Sentezlenmesi

- Alkinil -DOTA grubunun klik reaksiyonu kullanılarak azido ftalosiyanimolekülüne bağlanması.

Sentezleri hedeflenen Mono-Gd-DOTA, tetra-Gd-DOTA süstitüe Zn ftalosiyanimoleküllerinin yapıları Şekil 3.13’de gösterilmiştir. Mono ve tetra süstitüe Zn ftalosiyanimoleküllerinin seçilmesi ile farklı sayıda DOTA grubu bağlı ftalosiyanimoleküllerinin, MRG, Fotofiziksel ve fotokimyasal özelliklerinin nasıl etkileneceğini görmek amaçlanmıştır.

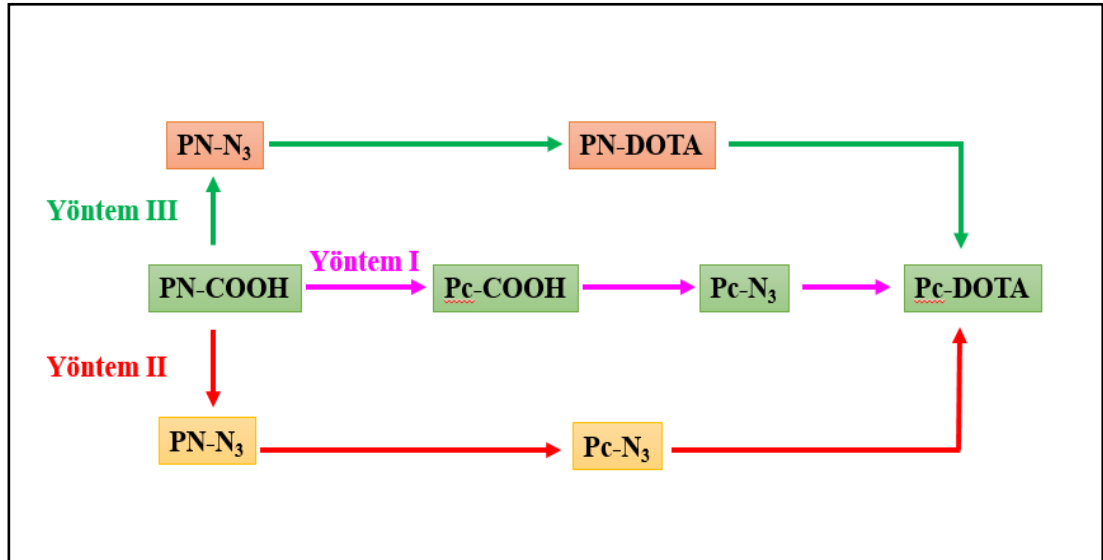


Şekil 3.13: Sentezleri hedeflenen Mono-Gd-DOTA, tetra-Gd-DOTA süstitüe Zn ftalosiyanimoleküllerinin yapıları.

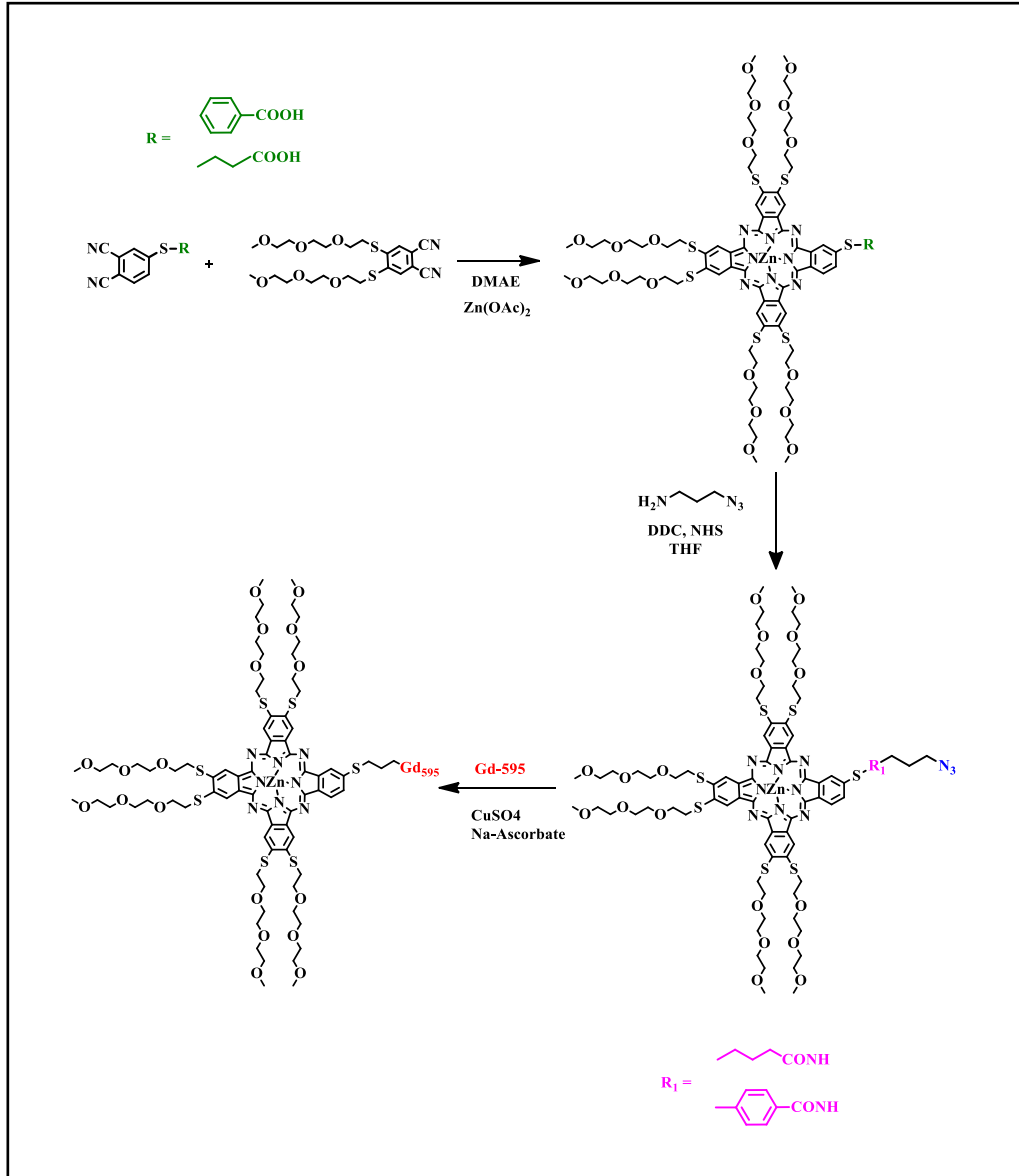
3.4. Bulgular ve Tartışma

3.4.1. Sentez Stratejisi

Gd-DOTA gruplarının ftalosiyanın bileşiklerine klik kimyası ile bağlanması literatürde mevcut değildir ve bu tez çalışmasında ilk olarak denenmiştir. Bu reaksiyonlar sırasında görülebilecek başlıca problem alkinil Gd-DOTA kompleksinin azidli ftalosiyanın türevine bağlanamamasıdır. Böyle bir durumda hedeflenen molekülleri sentezleyebilmek için iki farklı sentez yöntemi daha tasarlanmıştır. Bu yöntemlerden ilki, azid grubu içeren ftalonitril türevlerinin sentezlenip bu ftalonitril türevlerinin siklotetramerizasyon reaksiyonları sonucunda azid grubu içeren ftalosiyanınlar elde edip, bu bileşiklerin alkinil Gd-DOTA molekülleri ile bağlanarak DOTA grubu içeren hedef moleküllerin sentezlenmesidir. İkinci alternatif yöntem ise azidli ftalonitril türevlerinin alkinil Gd-DOTA molekülleri ile bağlanarak DOTA grubu içeren ftalonitril türevleri elde edilmesi ve bu ftalonitril türevlerinin siklotetramerizasyon reaksiyonları sonucunda hedef AB₃ ftalosiyanın bileşiklerinin sentezlenmesidir (Şekil 3.14).



Şekil 3.14: Gd-DOTA-Pc bileşiklerinin sentez yöntemleri.



Şekil 3.15: Asimetrik ftalosiyanim bileşiklerinin sentezinde uygulanan yöntem.

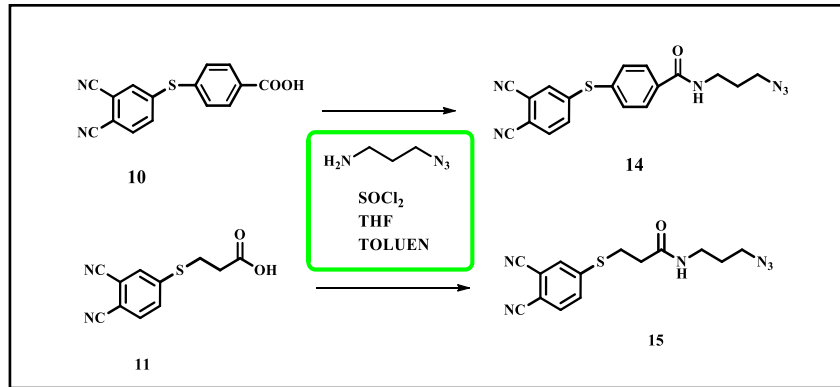
Hedeflediğimiz sentez stratejisi, ilk olarak asimetrik polioksietilen ve karboksili asit ftalosiyanim türevlerini sentezleyerek asit grupları üzerinden azid fonksiyonlu ara bağlayıcılarla ve son olarak Gd-DOTA grubları ile süstitüe ederek suda çözünür aynı zamanda manyetik rezonans görüntüleme kontrast ajanı olarak da kullanılabilen fotosensitizerler elde etmeyi (Şekil 3.15). Fakat bu stratejide sentezlenen karboksili asit grubu içeren asimetrik ftalosiyanim bileşiklerinin saflaştırma aşamasında yaşanan zorluklar bir sonraki kademe için gerekli miktarda bileşiğin elde edilmesini oldukça zorlaştırmıştır. Sentezlenen bileşikler yapılarında bulunan asit gruplarından dolayı, saflaştırma esnasında silika kolonlara ve preparatif ayırmada kullanılan silika plaklara absorplanarak verim kaybına neden olmuştur.

Bundan dolayı yeni bir sentez stratejisi geliştirilmiş hedeflenen Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşikleri bu yeni yöntem ile elde edilmiştir. Karboksili asit grubu içeren asimetrik Zn(II) Ftalosiyanın bileşiklerinin sadece PDT’de fotosensitizer olarak kullanılabilirliklerini göstermek amacıyla fotofiziksel ve fotokimyasal özellikleri incelenmiştir. MRG çalışmaları ve in vitro denemeleri sadece Gd-DOTA-ftalosiyanın kanjüatları ile gerçekleştirilmiştir. Hedeflenen bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan yeni sentez stratejisi;

- Azid grubu içeren ftalonitril türevleri sentezlenmesi
- Azid fonksiyonlu asimetrik ve simetrik ftalosiyanın türevlerinin sentezlenmesi
- Alkinil-DOTA bileşiğinin Sentezlenmesi
- Alkinil -DOTA grubunun klik reaksiyonu kullanılarak azido Ftalosiyanın molekülüne bağlanmasını içermektedir.

3.4.1.1. Fonksiyonlandırılmış Azidli Ftalonitrillerin Hazırlanması

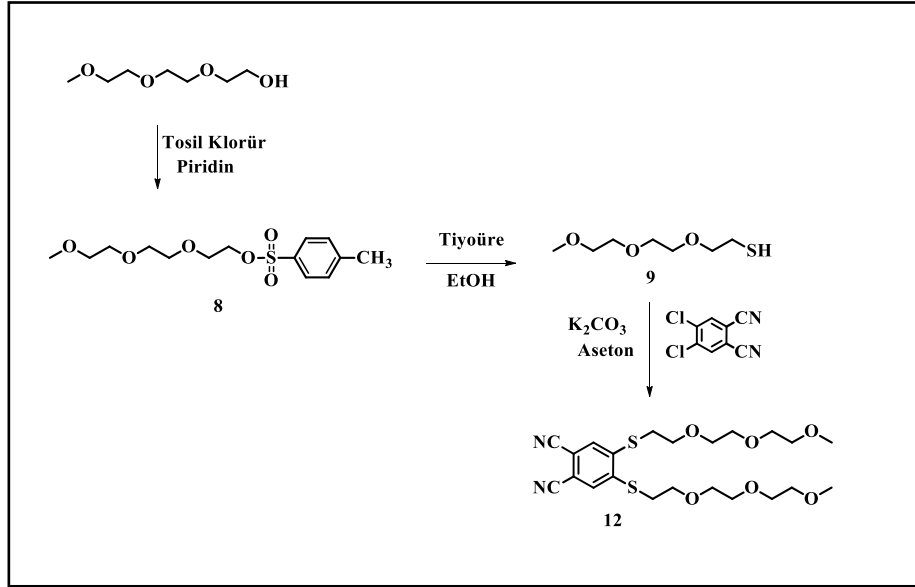
Karboksili asit grubu içeren asimetrik ftalosiyanın bileşiklerinden elde edilen azidli Ftalosiyanın bileşiklerinin düşük verimleri ve saflaştırma aşamasında yaşanan zorluklar nedeni ile sentezlenen Ftalosiyanın bileşiklerinde azid grupları içeren ftalonitril türevleri kullanılmıştır. Azid-amin grubu içeren bağlayıcıların asit grubu içeren 4-merkaptobenzoikasit ftalonitril ve 4-merkaptopropionikasit ftalonitril ile reaksiyonları sonucu mono azidli ftalonitril, bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16: Azid sübtitüe ftalonitril türevlerinin sentezi.

3.4.1.2. Suda Çözünür Gruplar İçeren Ftalonitril Bileşiğinin Hazırlanması

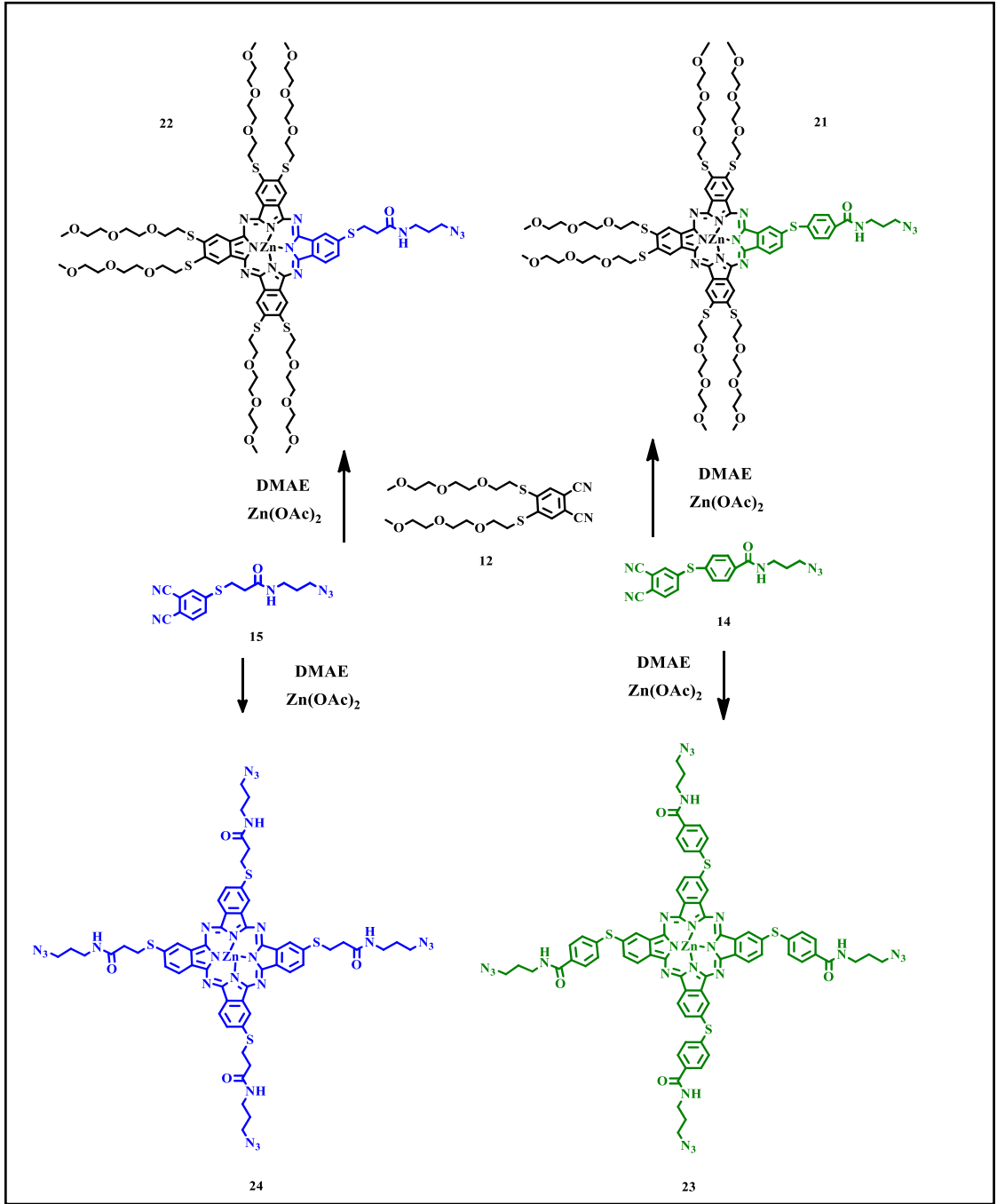
Proje kapsamında sentezlenecek ftalosiyanın bileşiklerinde, oldukça yüksek hidrofilik özelliğe sahip trietilen glikol grupları sübstitüent olarak kullanılmıştır. Bu trietilen glikol grubunun 4,5-dikloroftalonitril ile reaksiyonu sonucu di sübstitüe ftalonitril bileşiği elde edilmiş ve (Şekil 3.17), yüksek verimli mono sübstitüe ftalonitril elde etmek için trietilen glikolün fazlası kullanılmıştır.



Şekil 3.17: Suda çözünür gruplar içeren ftalonitril türevinin sentezi.

3.4.1.3. Mono ve Tetra Azidoftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi

Azidoftalosiyanın bileşikleri, azidli ftalonitril bileşiklerinden yola çıkılarak Şekil 3.18' de verildiği gibi DMAE ve Zn(OAc)₂ varlığında sentezlenmiştir.

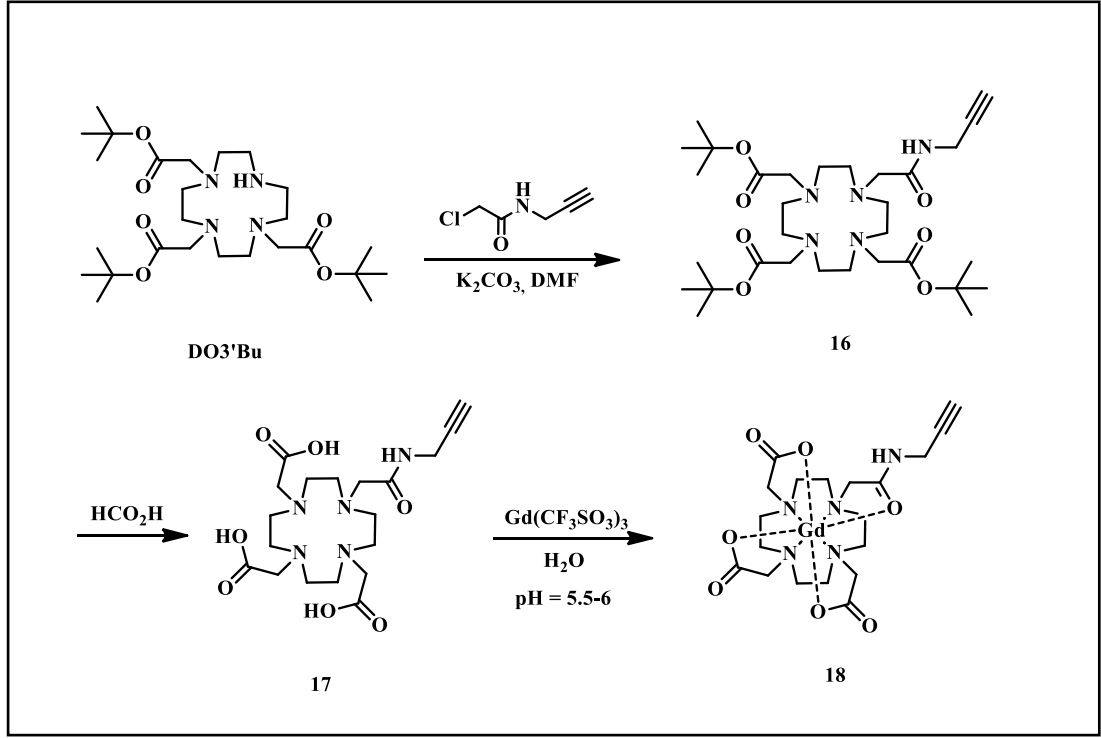


Şekil 3.18: Azidli ftalosiyanin türevlerinin sentezi.

3.4.1.4. Alkinil-DOTA Bileşiğinin Sentezi

Gd-DOTA kompleksi ticari olarak satın alınan DO3'Bu kompleksinden yola çıkılarak sentezlenmiştir (Şekil 3.19). DO3'Bu bileşiğinin N-(2-propinil)-kloroasetamid ile alkilasyon reaksiyonu sonucunda alkinil-DOTA kompleksi elde edilmiştir. DO3'Bu kompleksinde bulunan *tert*-butil grupları formik asit varlığında

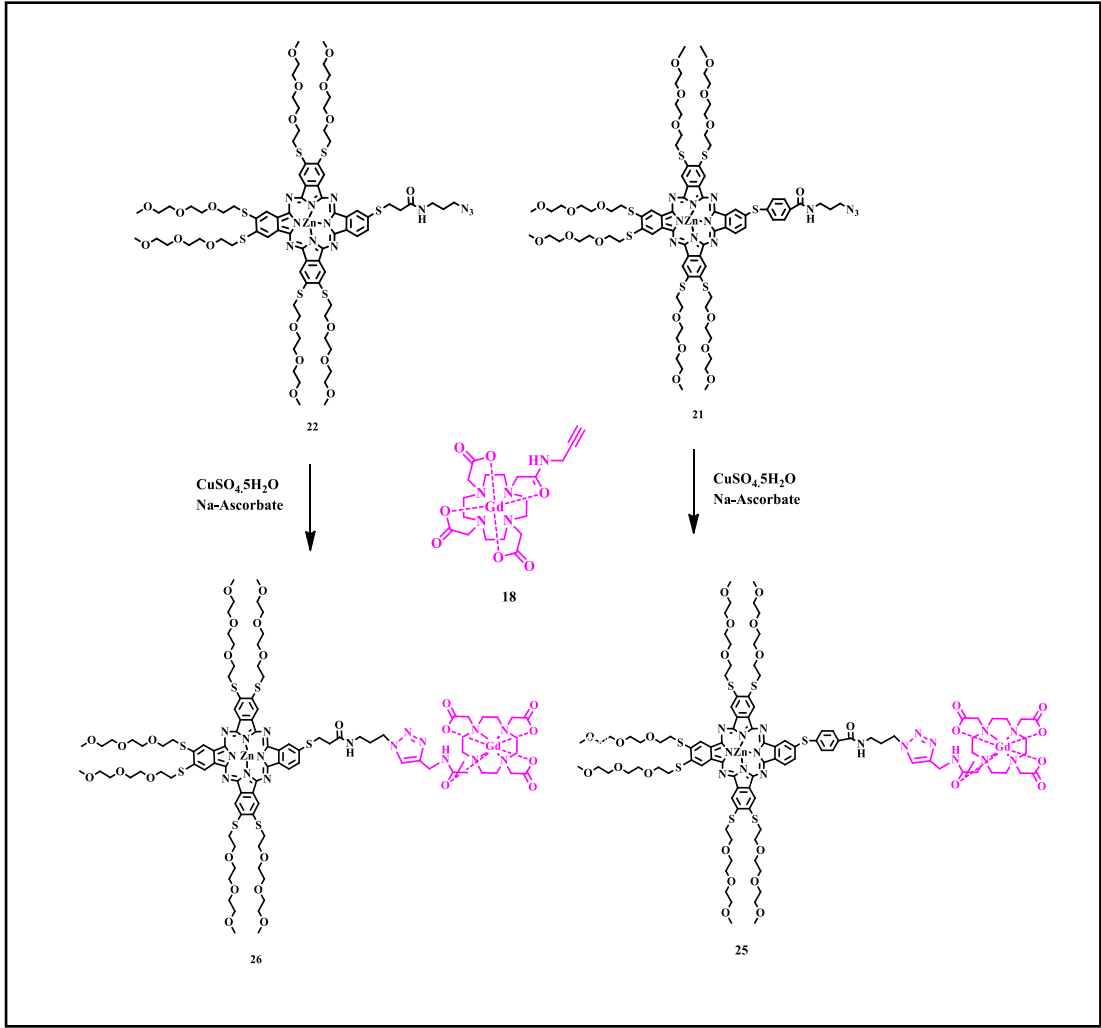
hidrolizlenerek karboksili asitlere dönüştürülmüş, daha sonra bu ligand Gadolinyum(III)triflorometan sülfonat ile reaksiyona konularak alkinil Gd-DOTA kompleksi elde edilmiştir.



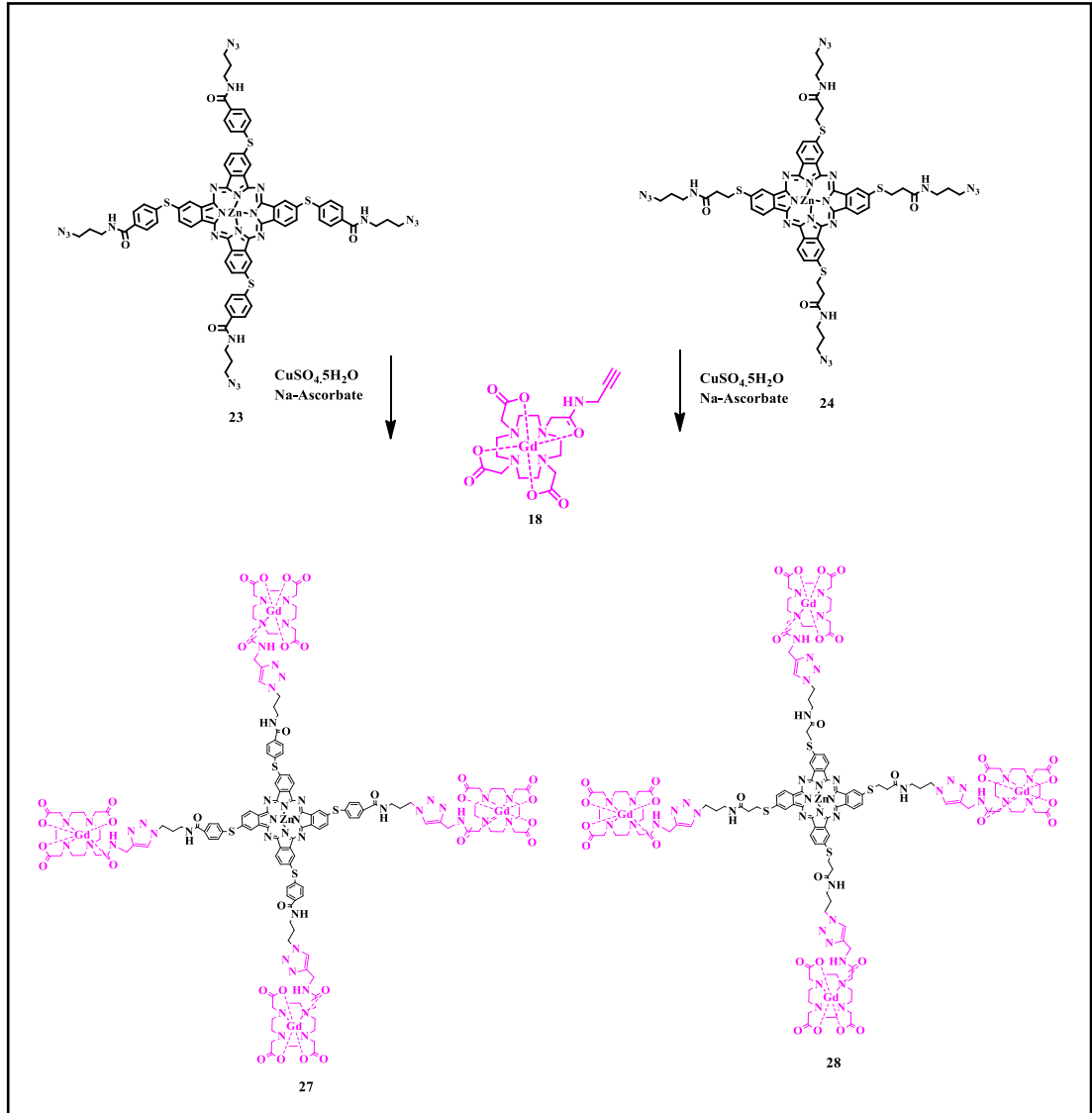
Şekil 3.19: Gd-DOTA kompleksinin sentez yöntemi.

3.4.1.5. Klık Kimyası ile Alkinil-Gd-DOTA Kompleksinin Azidli Ftalosiyaninler Üzerine Bağlanması

Azidli ftalonitrillerden elde edilen asimetrik ve simetrik azidli ftalosiyaninler Şekil 3.20 ve 3.21’de verilen klık kimyasında kullanılan genel sentez yöntemlerine göre Gd-DOTA kompleksi ile reaksiyona sokularak hedef Gd-DOTA-Pc kompleksleri elde edilmiştir. Ftalosiyaninler ve tetrapirrol türevleri üzerinde gerçekleştirilen farklı klık reaksiyon şartları literatürlerde belirtilmiştir [112]. Alkinil Gd-DOTA kompleksinin çeşitli azidli moleküllerle klık reaksiyon çalışmaları literatürlerde mevcuttur [113]. Bu yöntemler kullanılarak sentezler gerçekleştirilmiştir.



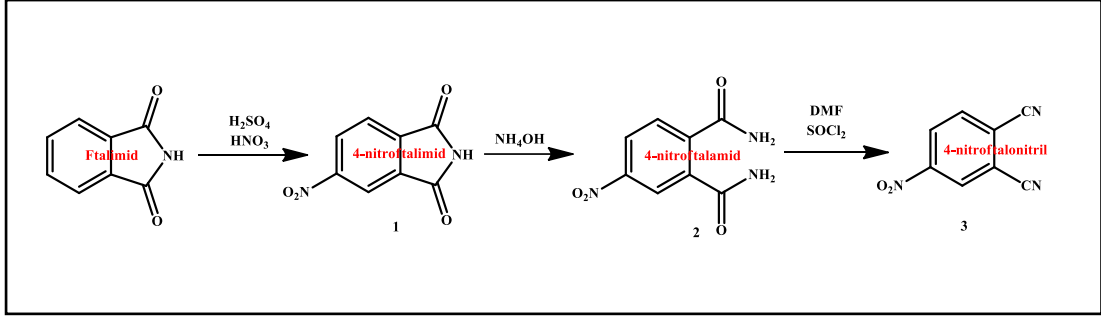
Şekil 3.20: Klık kimyasıyla asimetrik Gd-DOTA-Pc bileşiklerinin genel sentez yöntemi.



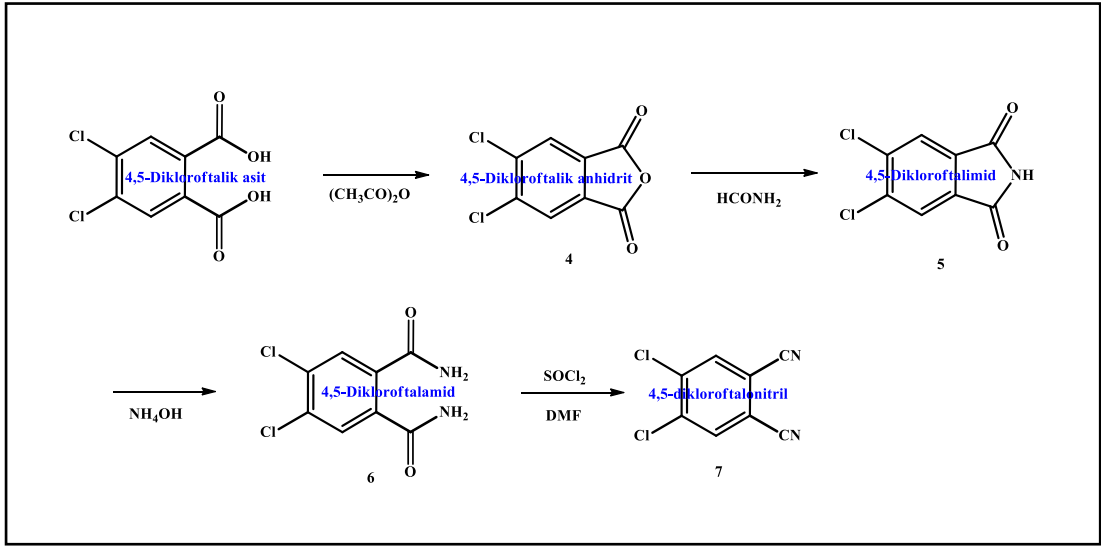
Şekil 3.21: Klık kimyasıyla simetrik Gd-DOTA-Pc bileşiklerinin genel sentez yöntemi.

3.4.2. Ftalonitrillerin Sentezi ve Karakterizasyonu

İstenilen ftalonitril türevlerinin sentezinde ilk adımı 4-nitroftalonitril (**3**) ve 4,5-dikloroftalonitrilin (**7**) bileşiklerinin sentezlenmesi oluşturmuştur. 4-nitroftalonitril (**3**) üç basamaklı, 4,5-dikloroftalonitril (**7**) ise dört basamaklı reaksiyonlar sonucunda elde edilmiştir. Bu başlangıç maddeleri ticari olarak satılmakla beraber, laboratuvar şartlarında da kolaylıkla elde edilen ve ftalosiyanın sentezinde kullanılan başlangıç maddeleri olarak literatürlerde de yer almaktadır (Şekil 3.22 ve 3.23) [114], [115].

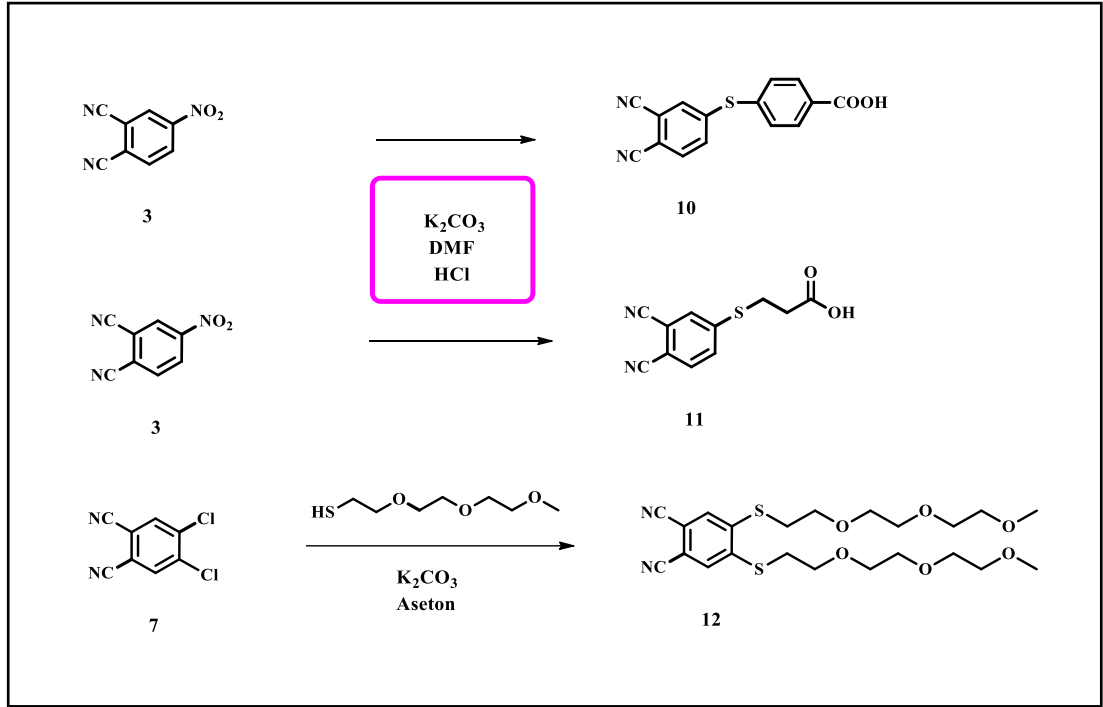


Şekil 3.22: 4-nitroftalonitril (3) bileşiğinin sentezi.



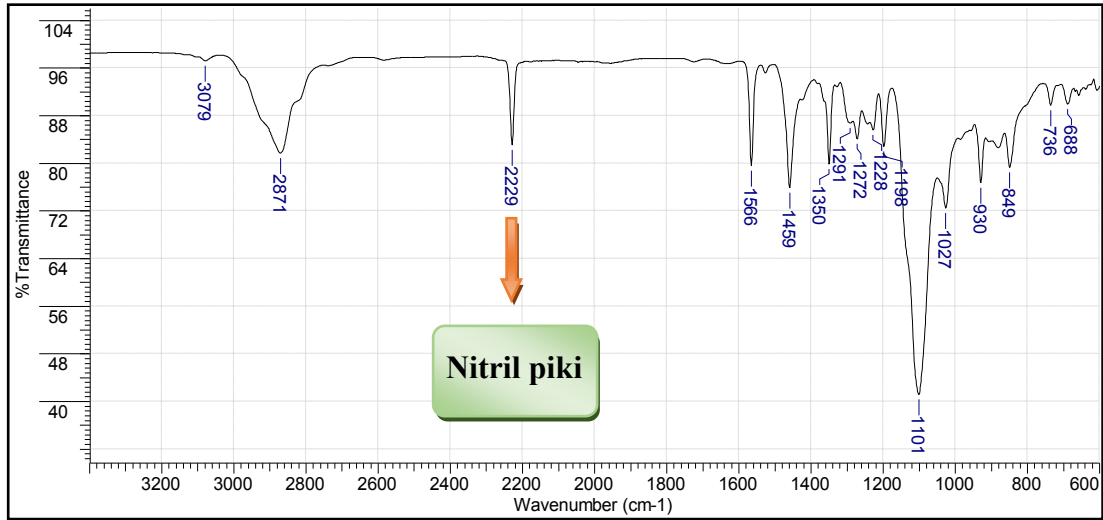
Şekil 3.23: 4,5-dikloroftalonitril (7) bileşiğinin sentezi.

Elde edilen 4-nitroftalonitril (3) bileşiğinin ticari olarak satın alınan 4-merkaptobenzoik asit ve 1-merkaptopropionik asit ile 1:1.5 oranında, potasyum karbonat (K_2CO_3) varlığında dimetilformamit (DMF) içerisinde gerçekleşen reaksiyonu ve daha sonra bitirme aşamasında HCl ile çöktürülmesi sonucunda sırasıyla 4-merkaptobenzoikasitftalonitril (10) ve 4-merkaptopropionikasitftalonitril (11) bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 3.24). Bu bileşikler literatürde de yer almakla birlikte [116] literatürde de olduğu gibi yüksek verimle %65, elde edilmişlerdir. Asimetrik ftalosiyanın sentezinde kullanılacak diğer ftalonitril türevimiz olan, 4,5-bis(4,7,10-trioksaundekan-1-sulfanil) ftalonitril (12) bileşiği, 4,5-dikloroftalonitrilin (7) 1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan ile 1:3.5 oranında (K_2CO_3) varlığında aseton içerisinde gerçekleşen reaksiyonu sonucunda elde edilmiştir. Bu bileşik grubumuz tarafından daha önce de sentezlenmiş olup literatürde yer almaktadır [107].



Şekil 3.24: 10,11 ve 12 ftalonitril bileşiklerinin sentezi.

Ftalonitril bileşiklerin **10**, **11** ve **12** yapıları kütle spektrometresi, FTIR, 1H -NMR ve ^{13}C -NMR ölçümlerinden elde edilen bilgilerle aydınlatıldı. Bileşiklerin FTIR spektrumunda 2230 cm^{-1} civarındaki keskin pikler $-C\equiv N$ gerilmesine ait olup ftalonitriller için karakteristik piklerdendir. Ftalosiyanın bileşiği oluştuğunda bu nitril piki kaybolmaktadır, bu da bize karakterizasyon ve saflaştırma aşamasında önemli bilgi vermektedir. Örnek olarak **12** bileşiğinin ayrıntılı FTIR spektrumu aşağıda (Şekil 3.25) gösterilmiş diğer spektrumlar bölüm 7'de verilmiştir. Spektrumda 2229 cm^{-1} 'deki keskin pik $-C\equiv N$ gerilmesini, 2871 cm^{-1} 'deki alifatik $-C-H$ gerilmesini, 3079 cm^{-1} 'deki aromatik $-C-H$ gerilmesini ve 1556 cm^{-1} 'deki pik ise $-C=C-$ gerilmesini göstermektedir.



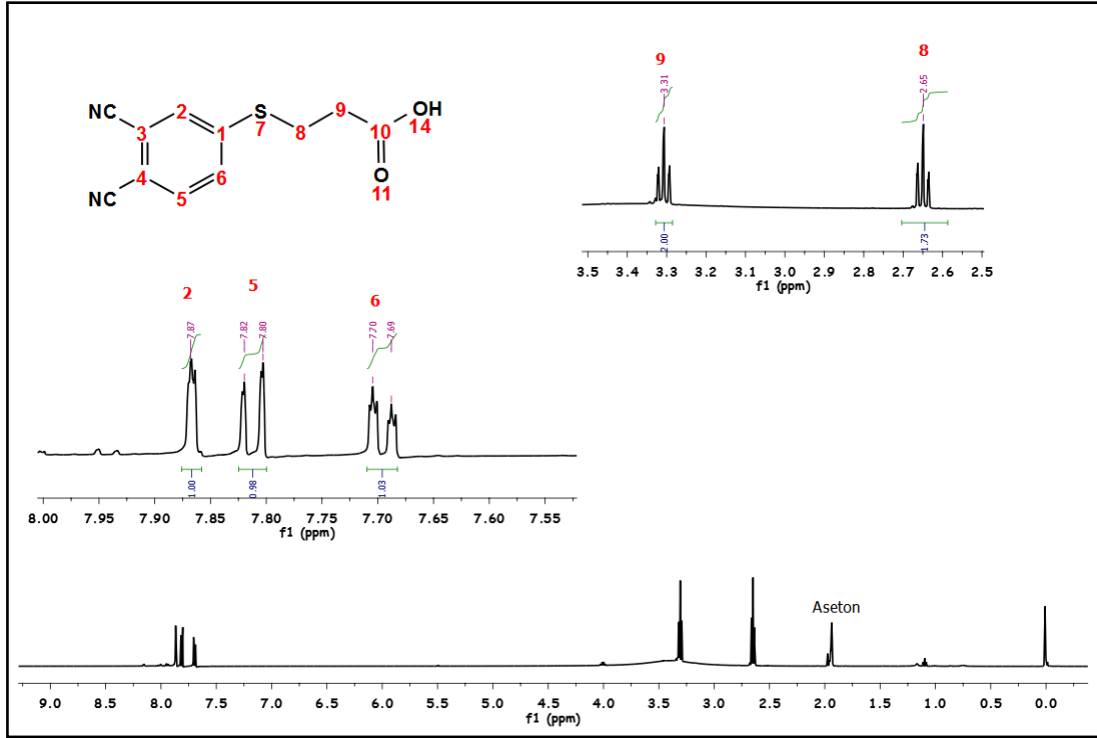
Şekil 3.25: 12 Bileşiğine ait FTIR spektrumu.

Ftalonitril bileşiklerin **10**, **11** ve **12** kütle spektrumları ESI-MS tekniği ile alınmış, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler aşağıda Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Ftalonitril bileşikleri (10, 11 ve 12) için molekül iyon pikleri.

Bileşik	Moleküler Formül	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan m/z
10	C ₁₅ H ₈ N ₂ O ₂ S	280.30	279.00 [M-H] ⁺
11	C ₁₁ H ₈ N ₂ O ₂ S	232.25	231.00 [M-H] ⁺
12	C ₂₂ H ₃₂ N ₂ O ₆ S ₂	484.64	507.30 [M+Na] ⁺

Ftalonitril bileşiklerinin **10**, **11** ve **12** ¹H NMR ölçümleri iç referans olarak TMS’nin kullanıldığı CDCl₃ ve dötoro d₆-Aseton çözücülerinde alınmıştır. Örnek olarak, **11** bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.26) 7.87 ppm’deki tek pik, 7.82-7.80 ppm’deki dublet ve 7.70-7.69 ppm’deki dublet pikler benzen halkasındaki aromatik protona ait olup, 3.31 ve 2.65 ppm’deki triplet pikler benzen halkasına süstitüe edilen -CH₂ alifatik protonlara aittir. C=O grubuna bağlı -CH₂ protonları elektronegatif oksijen atomundan dolayı düşük alana kayma göstermişlerdir. Sentezlenen diğer ftalonitril bileşiklerinin (10 ve 12) ¹H spektrumları da bu şekilde yorumlanmış ve bölüm 7’de verilmiştir.



Şekil 3.26: 11 Bileşiğine ait dötoro aseton içerisinde alınan ¹H-NMR spektrumu.

3.4.3. Alkinil Gd-DOTA Kompleklerinin Sentez Karakterizasyonu

Gd-DOTA kompleksi ticari olarak satın alınan DO3'Bu kompleksinden yola çıkılarak sentezlenmiştir (Şekil 3.19). DO3'Bu bileşiğinin N-(2-propinil)-kloroasetamid ile alkilasyon reaksiyonu sonucunda alkinil-DOTA kompleksi elde edildi. DO3'Bu kompleksinde bulunan *tert*-butil grupları formik asit varlığında hidrolizlenerek karboksili asitlere dönüştürüldü, daha sonra bu ligand Gadolinyum(III)triflorometan sülfonat ile reaksiyona konularak alkinil Gd-DOTA kompleksi elde edildi. Bu bileşik literatürde verilen yöntemle göre sentezlenmiş olup elde edilen sonuçlar literatürdeki değerler ile uyum içindedir [117], [118]. DOTA bileşiklerin **16**, **17** ve **18** yapıları kütle spektrometresi, FT-IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR ölçümlerinden elde edilen bilgilerle aydınlatıldı.

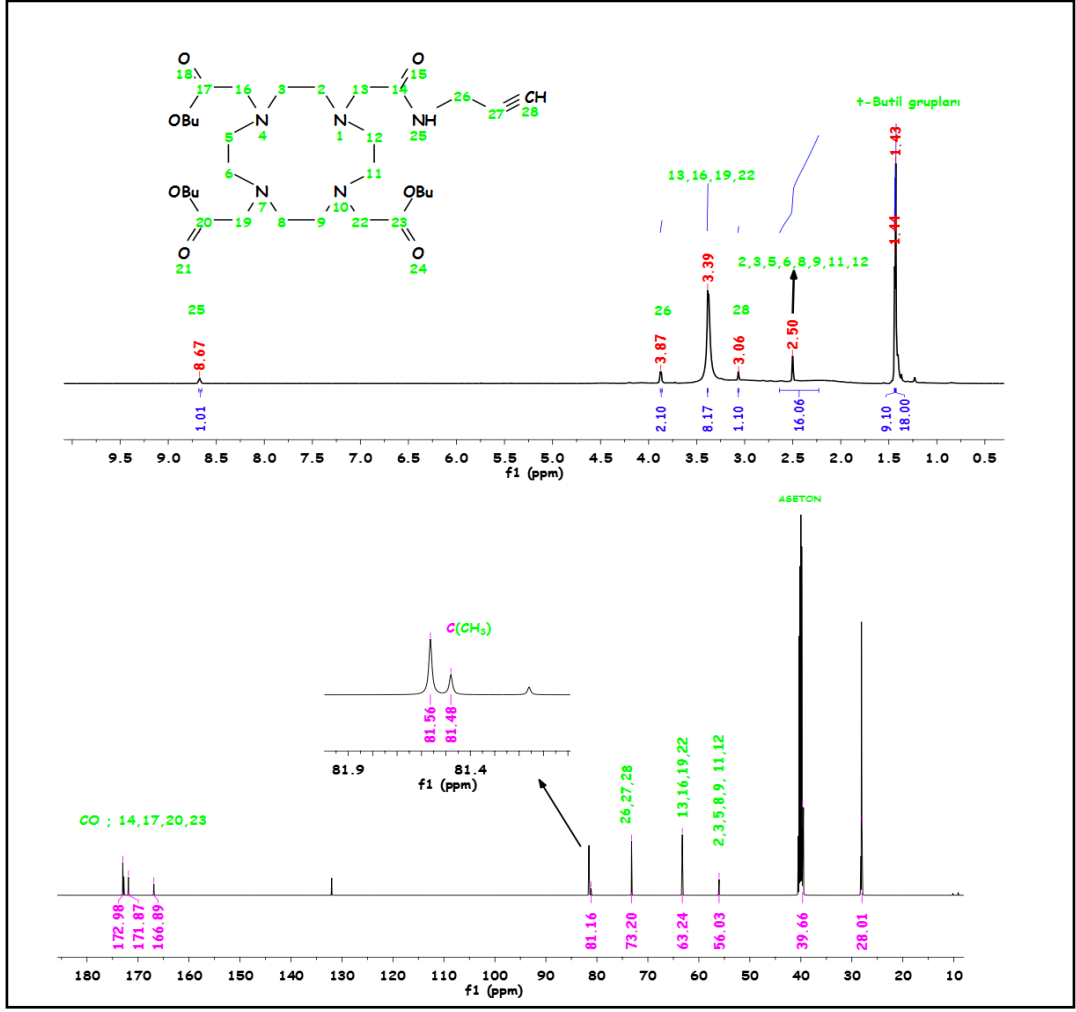
DOTA'lı bileşiklerin **16**, **17** ve **18** kütle spektrumları MALDI-TOF-MS tekniği ile alınmış, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler aşağıda Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3: DOTA'lı bileşikler (16, 17 ve 18) için molekül iyon pikleri.

Bileşik	Moleküler Formül	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan m/z
16	C ₃₁ H ₅₅ N ₅ O ₇	609.6	610,8 [M+H] ⁺ 632.7 [M+Na] ⁺
17	C ₁₉ H ₃₁ N ₅ O ₇	441.4	441.9 [M] ⁺ 464.0 [M+Na] ⁺ 479.7 [M+Na] ⁺ 501.0 [M+Na+K] ⁺
18	C ₁₉ H ₂₈ GdN ₅ O ₇	595.7	596.9 [M+H] ⁺ 617.7 [M+Na] ⁺ 635.05. [M+K] ⁺

DOTA'lı bileşiklerin **16**, **17** ve **18** ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları d6-DMSO ve d6-Aseton çözücülerinde alınmıştır.

Örnek olarak **16** numaralı bileşiğin ¹H NMR (Şekil 3.27) incelendiğinde gözlenen kimyasal kayma değerleri 8.67 ppm'deki singlet pik NH protonunu (CONHCH₂), 3.87 ppm'deki dubletin dubletin şeklinde yarılmış olan pik üçlü C≡C bağına bağlı CH₂ protonlarını CH₂C≡CH), 3.39 ppm'deki singlet 4 tane CH₂ protonlarını (CH₂), 3.06 ppm'deki singlet pik üçlü C≡C bağına bağlı protonu (C≡CH), 2.50 ppm'deki pik siklen halkasına ait 16 protonu (CH₂ siklen), 1.44 ve 1.43 ppm'deki pikler ise tersiyer butil grubuna ait CH₃ protonlarını göstermektedir. ¹³C NMR spektrumunda 172, 171, 166 ppm'deki pikler C=O'daki karbon atomuna, 81 ppm'deki pik tersiyer bütül gruplarında bulunan kuaterner C(CH₃)₃ karbon atomuna, 73.20 ppm'deki pik üçlü C≡CH bağında ki kuaterner karbon atomuna, 63.24 ppm'deki pik azota bağlı NCH₂ karbonuna, 56.03 ppm'deki pik siklen halkasında bulunan CH₂ karbon atomlarına ve 28.01 ppm'deki pik ise CH₃ karbon atomuna aittir. Molekülde yer alan tüm protonlar integrasyon değerleri ile hesaplanmış olup yapılar ile uyum göstermektedir. **16** numaralı bileşiğine ve diğer DOTA'lı bileşiklere ait spektrumlar bölüm 7'de yer almaktadır. **18** numaralı bileşiğin yalnızca Kütle ve FTIR analizleri yapılmıştır, bileşik yapısında bulunan paramanyetik Gd metalinden dolayı NMR inaktiftir.



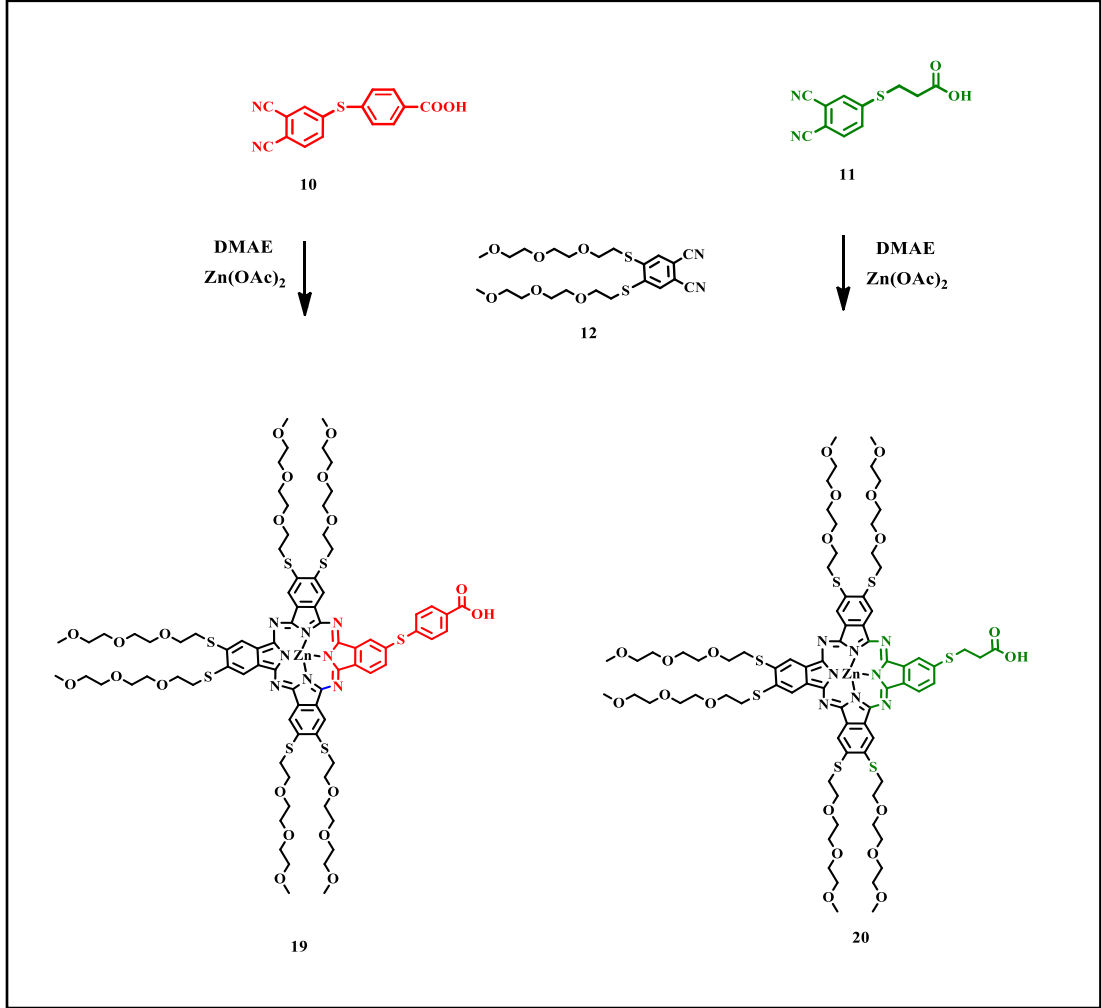
Şekil 3.27: 16 Bileşiğine ait d_6 -Aseton içerisinde alınan ^1H -NMR ve ^{13}C NMR spektrumları.

3.4.4. Asimetrik Karboksili Asit Sübstitüe Ftalosiyenin Bileşiklerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

AB_3 tipi asimetrik ftalosiyenin bileşiklerinin **19** ve **20** sentezinde iki farklı ftalonitril türevi kullanarak istatistiksel metot uygulanmıştır. AB_3 yapısındaki karboksili asit grubu içeren asimetrik ftalosiyenin verimleri bu iki ftalonitrilin oranlarına bağlı olarak değişmektedir. Bu çalışmamızda, istenmeyen yan ürün oluşumunun önüne geçebilmek, istenilen asimetrik ftalosiyenin verimini artırmak ve saflaştırma işlemlerinin kolay bir şekilde yapılabilmesini sağlamak amacıyla iki nitril 1:9 eşdeğer oranlarda kullanılmıştır.

10 ve **11** numaralı Ftalonitril bileşiklerinin **12** nolu ftalonitril bileşiği ile $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ metal tuzu varlığında DMAE içerisinde istatistiksel kondenzasyon

yöntemi kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonun sonucu asimetrik **19** ve **20** numaralı ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.28). Bu reaksiyonda AB₃ yapısındaki üründen başka oldukça yüksek miktarda B₄ ve eser miktarda (ABAB veya AABB) yapısındaki ftalosiyanın bileşikleri de elde edilmiştir. Asimetrik ftalosiyanın (AB₃) bileşiklerinin saflaştırılmasında DCM:EtOH (10:1) sistemi ile kolon kromatografisi kullanılmıştır.



Şekil 3.28: Karboksili asit süstitüe asimetrik ftalosiyanınların sentezi.

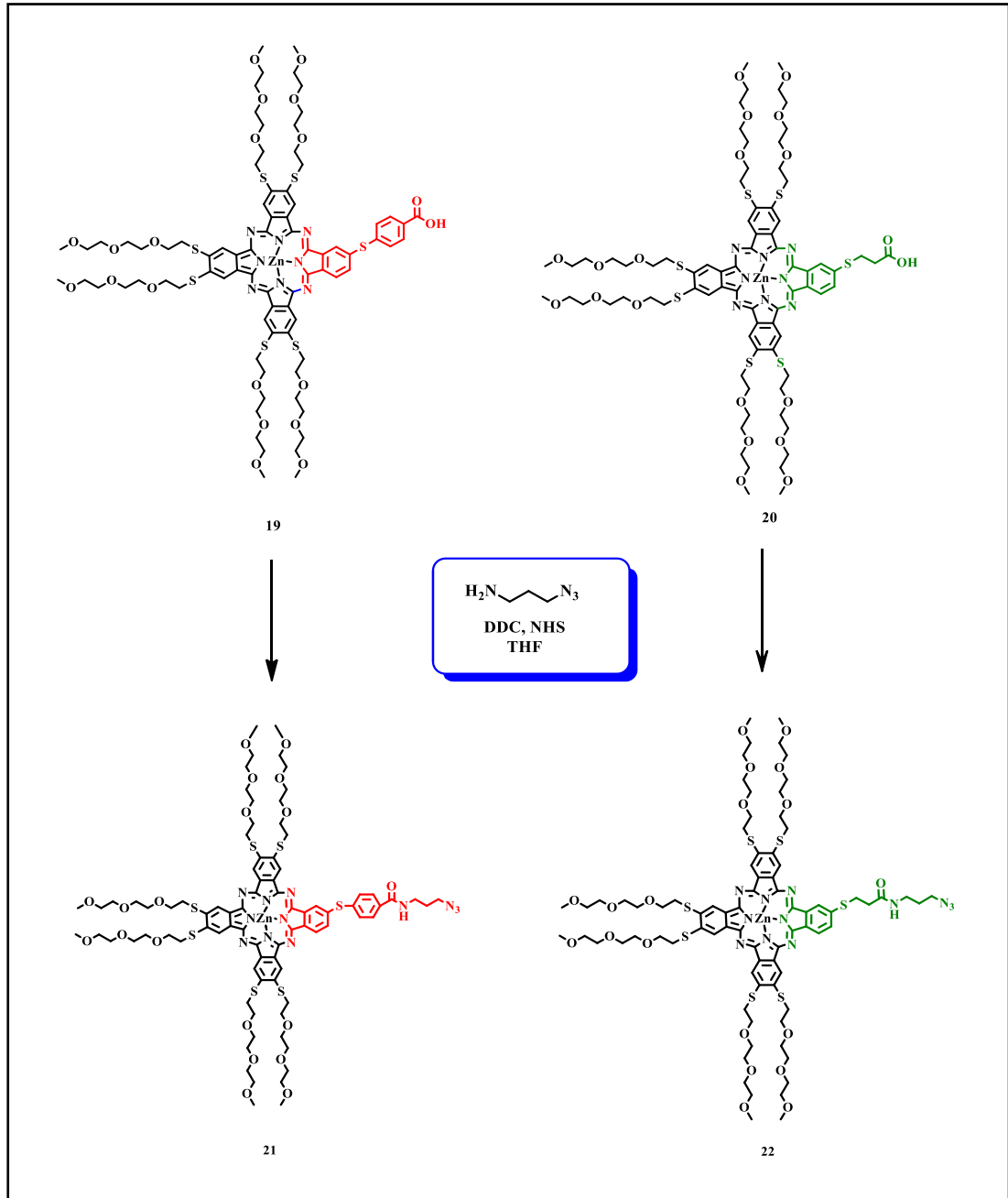
Asitli ftalosiyeninlerin sentezindeki temel problemlerden biride alkol varlığında reaksiyon sırasında asit gruplarının esterifikasyonudur. Bundan dolayı bu tip reaksiyonlar da alkol benzeri çözücüler pek tercih edilmezler. Bizim çözücü olarak kullandığımız DMAE de bir alkol türevidir. Fakat elde edilen asimetrik Ftalosiyenin bileşiklerinin karakterizasyon aşamasında, kütle ve NMR analizlerinde esterifikasyon ürününe rastlanmamıştır. Reaksiyonlar birçok kere tekrar edilmiş fakat hiçbir analiz sonucu esterifikasyon ürünü göstermemiştir. Bu sonuç reaksiyonların özgünlüğü açısından oldukça önemlidir.

19 ve **20** numaralı bileşiklerin kütle spektrumları MALDI-TOF-MS tekniği ile alınmış, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler aşağıda Tablo 3.4’de verilmiştir. **19** Numaralı bileşiğin ¹H NMR spektrumu d₇-DMF içerisinde **20** numaralı bileşiğin ¹H NMR spektrumu d₆-DMSO çözücülerinde alınmıştır. **19** ve **20** numaralı bileşiklere ait spektrumlar bölüm 7’de yer almaktadır.

Tablo 3.4: 19 ve 20 Numaralı asimetrik ftalosiyenin bileşikleri için molekül iyon Pikleri.

Bileşik	Moleküler Formül	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan m/z
19	C ₈₁ H ₁₀₄ N ₈ O ₂₀ S ₇ Zn	1799.59	1800.00 [M+H] ⁺
20	C ₇₇ H ₁₀₄ N ₈ O ₂₀ S ₇ Zn	1751.55	1751.00 [M] ⁺

Sentezlenen bileşikler, yapılarında bulunan asit gruplarından dolayı, saflaştırma esnasında silika kolonlara ve preparatif ayırmada kullanılan silika plaklara absorplanarak verim kaybına neden olmuştur. Bir sonraki aşamada elde edilen karoksili asit grubu içeren **19** ve **20** numaralı asimetrik ftalosiyenin bileşikleri COOH fonksiyonlu grubu üzerinden N₃ azid türevine dönüştürülmüştür. **19** ve **20** numaralı bileşiklerin 1:4 eşdeğer oranda 1-Azido-3-propil amin ile DDC ve NHS varlığında THF içerisinde gerçekleşen reaksiyonu sonucu % 4 ve %3 verimlerle **21** ve **22** bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 3.29). Bu reaksiyon 18 saatlik bir sürede gerçekleşmiştir.



Şekil 3.29: Azid fonksiyonlu asimetrik Pc'lerin karboksili asit süstitüe Pc'ler üzerinden sentez yöntemi.

Asimetrik Ftalosiyenin bileşiklerinin sentezi aşamasında yaşanan bu zorluklar ve çok düşük verimleri bir sonraki kademe için gerekli miktarda bileşiğin elde edilmesini oldukça zorlaştırmıştır. Bundan dolayı yeni bir sentez stratejisi geliştirilmiş hedeflenen Gd-DOTA-ftalosiyenin kanjüatları bu yeni yöntem ile elde edilmiştir. Asimetrik azidli Ftalosiyenin bileşiklerinin sentezinde azid grupları içeren ftalonitril türevleri kullanılmıştır. Azid-amin grubu içeren bağlayıcıların asit grubu içeren 4-merkaptobenzoikasit ftalonitril ve 4-merkaptopropionikasit ftalonitril ile tiyonül klorür varlığında THF ve toluen ortamında gerçekleşen reaksiyonları sonucu mono azidli ftalonitril, bileşikleri elde edilmiştir.

3.4.5. Azid Fonksiyonlu Ftalonitril Bileşiklerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Azidli Ftalonitril bileşikleri **14** ve **15**, 4-merkaptobenzoikasitftalonitril (**10**) ve 4-merkaptopropionikasitftalonitril (**11**) bileşiklerinden yola çıkılarak sentezlenmiştir. **10** ve **11** numaralı nitril türevlerinin THF içerisindeki çözeltisine toluen içerisinde çözülmüş tiyonil klorür karşımı ilave edilir ve bir süre kaynatılan bu karışıma THF ortamında çözülmüş 1-azido-3-propilamin ilave edilir. 3 saat süren kaynatma işleminden sonra elde edilen ürünler **14** ve **15** preparatif TLC yöntemi ile saflaştırılır. Sentezlenen **14** ve **15** ftalonitril bileşikleri sırasıyla %77'lik ve %86'lik yüksek verimlerle elde edilmiştir (Şekil 3.16). Tüm saflaştırma işlemlerinden sonra bu iki yeni ftalonitril türevi EtOH içerisinde kristallendirilmiştir. Literatürde yer almayan bu Ftalonitril türevleri bu tez çalışması sonucunda literatüre kazandırılmıştır.

Azid fonksiyonlu **14** ve **15** bileşiklerinin yapıları kütle, ^1H ve ^{13}C NMR ve X-ray spektrumlarından elde edilen bilgiler ile aydınlatılmıştır.

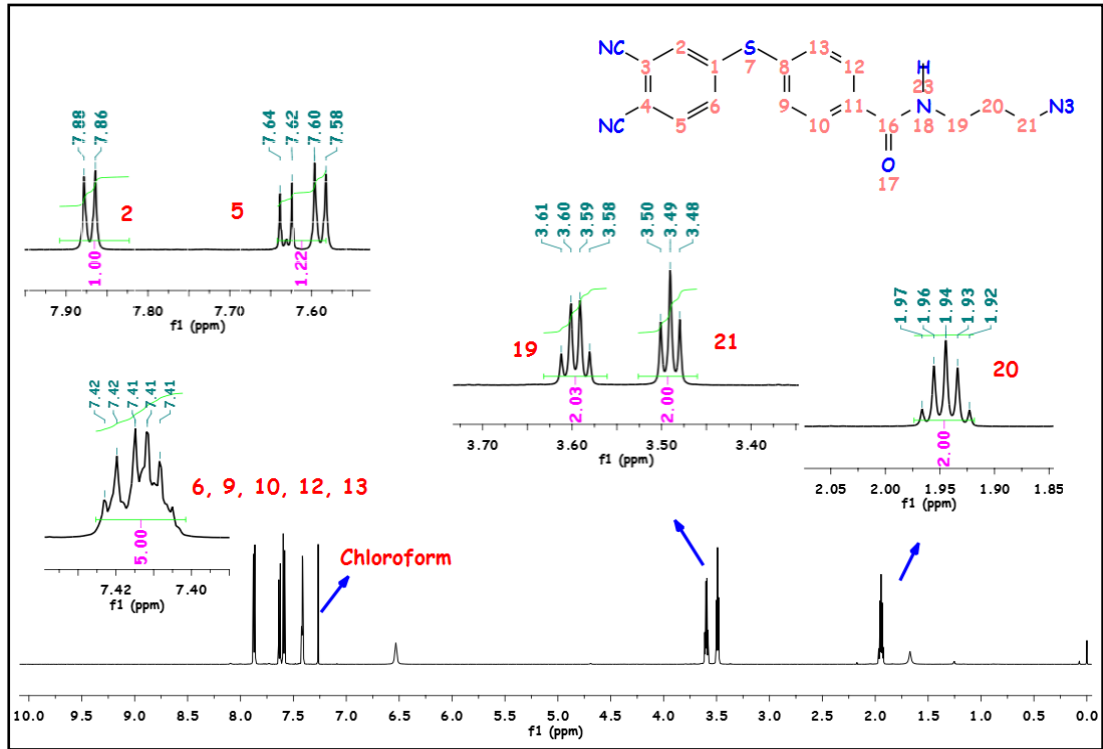
19 ve **20** numaralı bileşiklerin kütle spektrumları MALDI-TOF-MS tekniği ile alınmış, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler aşağıda Tablo 3.5'de verilmiştir.

Tablo 3.5: 14 ve 15 numaralı asimetrik ftalonitril bileşikleri için molekül iyon pikleri.

Bileşik	Moleküler Formül	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan m/z
14	C ₁₈ H ₁₄ N ₆ OS	362.41	361.00 [M-H] ⁺
15	C ₁₄ H ₁₄ N ₆ OS	314.37	337.09 [M+Na] ⁺

14 ve 15 numaralı Ftalonitril bileşiklerinin ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları CDCl₃ çözücüsü içerisinde alınmıştır.

Örnek olarak 14 numaralı bileşiğin ¹H NMR spektrumu incelendiğinde gözlenen kimyasal kayma değerleri Şekil 3.30'da açıkça belirtilmiştir. Molekülde yer alan tüm protonlar integrasyon değerleri ile hesaplanmış olup yapı ile uyum göstermektedir. Ayrıca tüm yarılamlar da net bir şekilde gözlenmektedir.



Şekil 3.30: 14 Bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.

Azidli Ftalonitril bileşiklerinin EtOH içerisinde kristallenmesi sonucu elde edilen X-ray Dataları Tablo 3.6 ve Tablo 3.7 'de verilmiştir. Kristallendirme işlemi EtOH çözücüsünün çok yavaş şekilde buharlaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

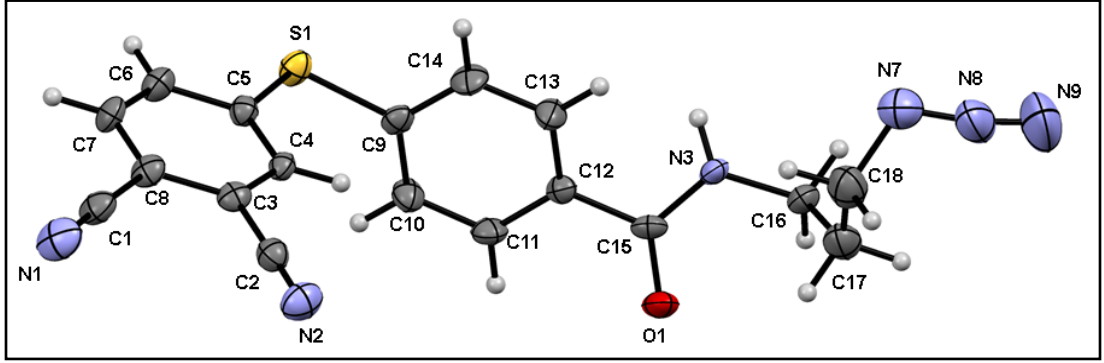
Tablo 3.6: 14 Numaralı ftalonitril bileşiminin kristal dataları ve saflık parametreleri.

Crystal parameters	14
CCDC	968411
Empirical Formula	C ₁₈ H ₁₄ N ₆ OS
Formula weight (g. mol ⁻¹)	362.41
Temperature (K)	150(2)
Wavelength (Å)	0.71073
Crystal system	Triclinic
Space group	P -1
a (Å)	4.9624(2)
b (Å)	19.3105(6)
c (Å)	20.1542(7)
α(°)	66.522(2)
β(°)	88.363(3)
γ(°)	86.436(2)
Crystal size (mm)	0.03 x 0.05 x 0.34
V (Å ³)	1767.98(11)
Z	4
ρ _{calcd} (g. cm ⁻³)	1.362
μ (mm ⁻¹)	0.203
F(000)	752
θ range for data collection (°)	1.10 - 25.00
h/k/l	-5/5, -22/22, -23/23
Reflections collected	18800
Independent reflections	6199
Absorption correction	Multi-scan
Data/restraints/parameters	6199 / 2 / 475
Goodness-of-fit on F ² (S)	1.119
R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0726, wR ₂ = 0.1588
R indices (all data)	R ₁ = 0.1329, wR ₂ = 0.1804
Largest diff. peak and hole (e.Å ⁻³)	0.459 and -0.311

Tablo 3.7: 15 Numaralı ftalonitril bileşiminin kristal dataları ve saflık parametreleri.

Crystal parameters	15
CCDC	968410
Empirical Formula	C ₁₄ H ₁₄ N ₆ OS
Formula weight (g. mol ⁻¹)	314.37
Temperature (K)	150(2)
Wavelength (Å)	0.71073
Crystal system	Triclinic
Space group	P -1
a (Å)	4.9624(2)
b (Å)	19.3105(6)
c (Å)	20.1542(7)
α(°)	66.522(2)
β(°)	88.363(3)
γ(°)	86.436(2)
Crystal size (mm)	0.09 x 0.15 x 0.27
V (Å ³)	751.01(6)
Z	2
ρ _{calcd} (g. cm ⁻³)	1.362
μ (mm ⁻¹)	0.227
F(000)	328
θ range for data collection (°)	1.59 - 25.00
h/k/l	-5/5, -14/14, -15/15
Reflections collected	6581
Independent reflections	2653
Absorption correction	Multi-scan
Data/restraints/parameters	2653 / 1 / 202
Goodness-of-fit on F ² (S)	1.072
R indices [I > 2σ(I)]	R _I = 0.0398, wR ₂ = 0.0942
R indices (all data)	R _I = 0.0464, wR ₂ = 0.0983
Largest diff. peak and hole (e.Å ⁻³)	0.562 and -0.246

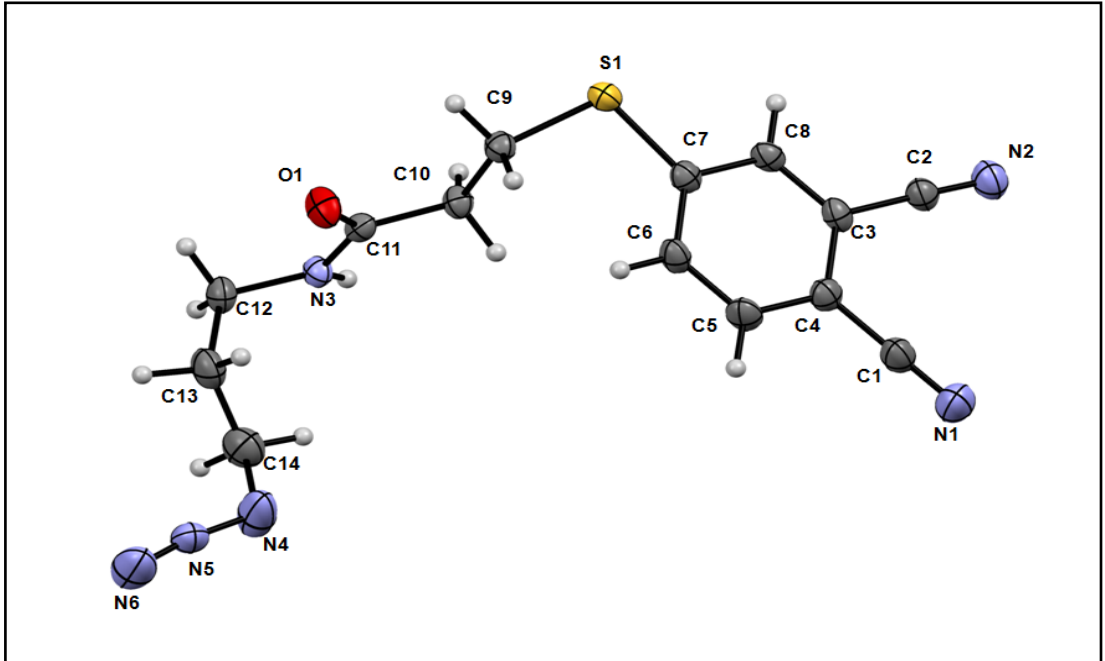
14 Ftalonitril bileşiğinin kistal yapısını numaralandırılmış ORTEP gösterimi şekil 3.31’de verilmiştir.



Şekil 3.31: **14** Bileşiği kristalinin numaralandırılmış ORTEP gösterimi.

Kristal data sonuçları **14** numaralı ftalonitril bileşiğinin triklinik uzay grubuna ait olduğunu göstermiştir. Elde edilen datalarda C15, O1 ve N1 numaralı atomların oluşturduğu C-O-N düzlemi arasındaki dihedral açı 55.95° olarak hesaplanmış, ayrıca C9-C14 benzen halkasının, C3-C8 atomlarının oluşturduğu ftalonitril halkasına $87,63^{\circ}$ ’lik bir açıyla konumlandığı gözlenmiştir.

15 Ftalonitril bileşiğinin kistal yapısını numaralandırılmış ORTEP gösterimi şekil 3.32’de verilmiştir.



Şekil 3.32: **15** Bileşiği kristalinin numaralandırılmış ORTEP gösterimi.

Kristal data sonuçları **15** numaralı ftalonitril bileşiğinin de triklinik uzay grubuna ait olduğunu göstermiştir. Yapıda amin fonksiyonlu grubu oluşturan C=O ve N-H bağlarının birbirine zıt (anti) pozisyonda ve –NCO- düzleminin de ftalonitril halkasına ortagonal konumda 76,740°'lik bir açıyla konumlandığı görülmüştür. C≡N bağının uzunluğu 1,142(3) Å⁰ olarak ölçülmüş olup literatürde bulunan 1,143(3) Å⁰ değeri ile uyum göstermiştir [119], [120]. N₃ gruplarında ise N6-N5-N4 atomlarının doğrusal değil 71,7(2)⁰'lik bir açıyla konumlandığı bulunmuştur.

3.4.6. Gd-DOTA Grubu İçeren Ftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

AB₃ tipi asimetrik ftalosiyanın bileşiklerinin **21** ve **22** sentezinde iki farklı ftalonitril türevi kullanarak karboksili asit grubu içeren Pc'lerin sentezinde olduğu gibi istatikselsel metot uygulanmıştır. AB₃ yapısındaki azidli asimetrik ftalosiyanın verimleri bu iki ftalonitrilin oranlarına bağlı olarak değişmektedir. Bu çalışmamızda, istenmeyen yan ürün oluşumunun önüne geçebilmek, istenilen asimetrik ftalosiyanın verimini artırmak ve saflaştırma işlemlerinin kolay bir şekilde yapılabilmesini sağlamak amacıyla iki nitril türevi 1:9 eşdeğer oranlarda kullanılmıştır.

14 ve **15** numaralı ftalonitril bileşiklerinin **12** nolu ftalonitril bileşiği ile Zn(CH₃COO)₂ metal tuzu varlığında DMAE içerisinde istatikselsel kondenzasyon yöntemi kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonun sonucu asimetrik AB₃ **21** ve **22** numaralı Ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Simetrik azid fonksiyonlu ftalosiyanınlar olan **23** ve **24** bileşikler ise azidli ftalonitril türevlerinin Zn(CH₃COO)₂ metal tuzu varlığında DMAE içerisinde tetramerizasyon reaksiyonu sonucu elde edilmişlerdir. Asimetrik Pc'lerin reaksiyonlarında AB₃ yapısındaki üründen başka oldukça yüksek miktarda B₄ ve eser miktarda (ABAB veya AABB) yapısındaki ftalosiyanın bileşikler de elde edilmiştir.

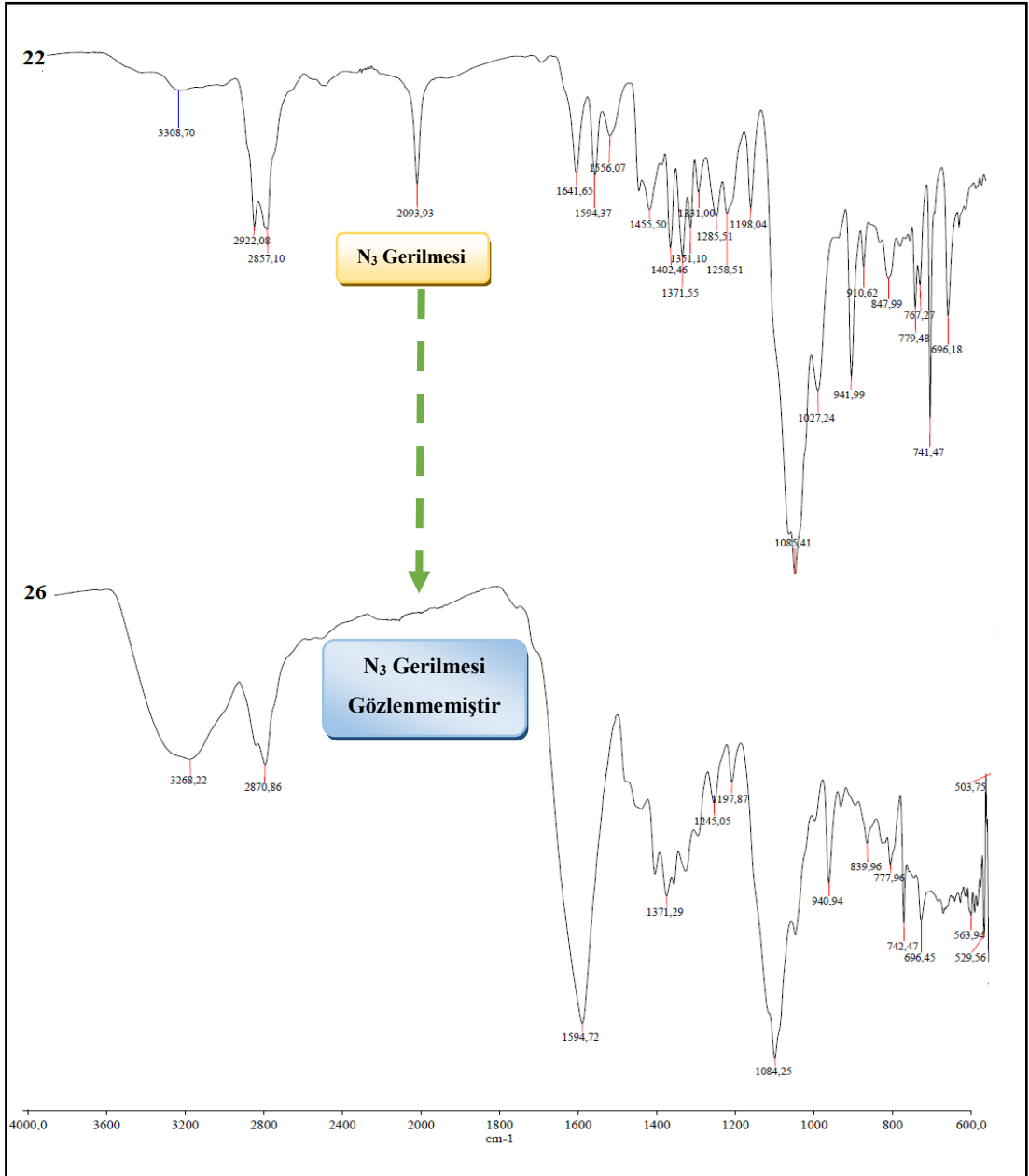
Bir sonraki aşamada sentezlenen ve hedef moleküller olan **25**, **26**, **27** ve **28** numaralı Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşikler **21**, **22**, **23** ve **24** numaralı bileşiklerin azid fonksiyonlu grubu üzerinden klik kimyası ile CuSO₄ ve sodyum ascorbate varlığında DMF:H₂O (1:1) içerisinde 70⁰C'de Gd-DOTA, **18**, bileşiği ile reaksiyonları sonucu elde edilmişlerdir. Simetrik Gd-DOTA-ftalosiyanınlar olan **27** ve **28** bileşiklerinin sentezinde Azido-Pc:Gd-DOTA oranı 1:4 alınırken, asimetrik Gd-DOTA-ftalosiyanınlar olan **25** ve **26** sentezinde bu oran 1:8 olarak kullanılmıştır.

Simetrik Gd-DOTA-Ftalosiyenin **27** ve **28** bileşiklerinin sentezi birçok kere denenmiş fakat karakterize edilememiş, hedeflenen ürünlerin sentezleri gerçekleştirilememiştir.

Sentezlenen bu Gd-DOTA-ftalosiyenin bileşikleri saflaştırma işlemlerinden önce vücuda toksik olan serbest Gd^{3+} iyonlarından ayrılması için MWCO 2000 dalton olan diyaliz torbalarına konulup, saf su içerisinde 2 gün boyunca bekletilmiş bu süre zarfında periyodik olarak suları değiştirilmiştir. Serbest Gd^{3+} iyonlarının Gd-DOTA-ftalosiyenin moleküllerinden tamamen uzaklaştığını anlamak için ise diyaliz torbalarının bulunduğu saf su Xylene Orange indikatörü ile test edilmiştir. Sarı-turuncu renkte olan bu indikatör Gd^{3+} iyonu varlığında Gd^{3+} iyonlarının miktarına (yani konsantrasyonuna) bağlı olarak pembeden mora doğru bir renk değişimi göstermektedir [121]. Bu renk değişimi Xylene Orange indikatörünün Gd^{3+} iyonları ile oluşturduğu kompleksden kaynaklanmaktadır. Gd^{3+} iyonları tamamen uzaklaştığında indikatörün eklenmesi ile renk değişimi gözlenmemiştir.

Azid fonksiyonlu **21**, **22**, **23** ve **24** bileşiklerinin ve Gd-DOTA-Ftalosiyenin Bileşiklerinin yapıları kütle, 1H ve ^{13}C NMR ve X-ray spektrumlarından elde edilen bilgiler ile aydınlatılmıştır.

Bileşiklerin FTIR spektrumları incelendiğinde başlangıç maddelerine ait 2238 cm^{-1} civarındaki $-C\equiv N$ pikinin kaybolduğu gözlenmiştir. Buda siklotetramerizasyonun gerçekleştiğinin bir kanıtıdır. $-N_3$ grublarının FTIR'da karakteristik $-N_3$ gerilmesine ait pikler azido-Ftalosiyenin molekülleri olan **21**, **22**, **23** ve **24** bileşiklerinin yapılarının aydınlatılmasında belirleyici bir unsur olup 2100 cm^{-1} civarında gözlenmektedir. Bu pikler, Gd-DOTA-ftalosiyenin **25**, **26**, **27** ve **28** bileşiklerinin FTIR spektrumu incelendiğinde gözlenmemiştir. Bu durum $-N_3$ fonksiyonlu grubun alkinil fonksiyonlu Gd-DOTA grubuna klik reaksiyonu ile bağlandığını göstermektedir. Örnek olarak **22** ve **26** Bileşiklerinin FTIR spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 3.33'de verilmiştir.



Şekil 3.33: 22 ve 26 Bileşiklerinin FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.

Tüm Ftalosiyanın Bileşiklerinin kütle spektrumları MALDI-TOF-MS tekniği ile alınmış, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler aşağıda Tablo 3.8'de verilmiştir. Ayrıca 24, 25 ve 26 numaralı bileşiklerin kütle spektrumları HRMS tekniği ile de incelenmiştir, yapıları kanıtlanmıştır. Spektrumlar bölüm 7'de verilmiştir.

Tablo 3.8: 21-26 Numaralı ftalosiyenin bileşikleri için molekül iyon pikleri.

Bileşik	Moleküler Formül	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan m/z
21	C ₈₄ H ₁₁₀ N ₁₂ O ₁₉ S ₇ Zn	1881.68	1882.22 [M+H] ⁺ 1904.43 [M+Na] ⁺
22	C ₈₀ H ₁₁₀ N ₁₂ O ₁₉ S ₇ Zn	1833.63	1834.54 [M+H] ⁺
23	C ₇₂ H ₅₆ N ₂₄ O ₄ S ₄ Zn	1515.01	1515.02 [M] ⁺ 1577.21 [M+Na+K] ⁺
24	C ₅₆ H ₅₆ N ₂₄ O ₄ S ₄ Zn	1322.84	1323.65 [M+H] ⁺
25	C ₁₀₃ H ₁₃₈ GdN ₁₇ O ₂₆ S ₇ Zn	2477.38	2477.02 [M] ⁺ 2499.14 [M+Na] ⁺ 2511.33 [M+2H ₂ O] ⁺
26	C ₉₉ H ₁₃₈ GdN ₁₇ O ₂₆ S ₇ Zn	2429.34	2430.00 [M+H] ⁺ 2447.64 [M+H ₂ O] ⁺ 2465.56 [M+2H ₂ O] ⁺

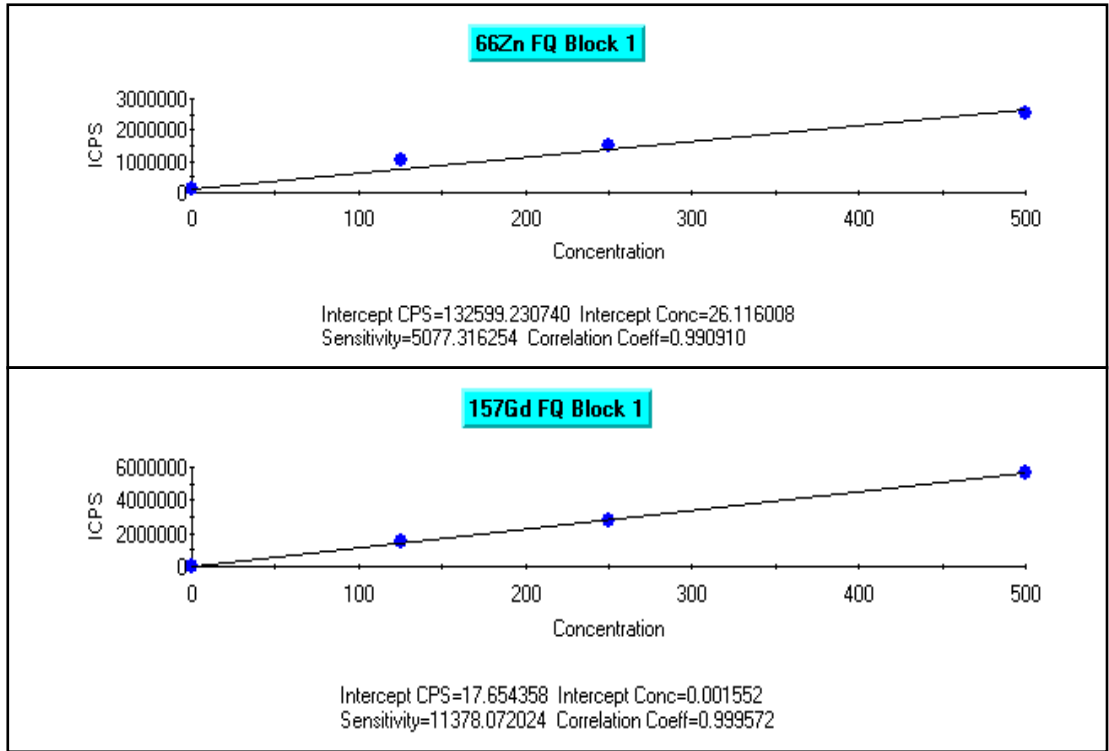
Azido Ftalosiyenin bileşiklerinin **21**, **22**, **23** ve **24** ¹H NMR spektrumları iç referans olarak TMS'in kullanıldığı d₇-DMF solventinde alınmıştır. Gd-DOTA-ftalosiyenin **25** ve **26** bileşiklerinin NMR ölçümleri yapılarında bulunan paramanyetik Gd³⁺ iyonu varlığından dolayı yapılamamıştır.

3.4.7. Gd-DOTA Grubu İçeren Ftalosiyenin Bileşiklerinin ICP-MS Çalışmaları

ICP-MS analizleri Thermo X series II ICP-MS marka cihaz ile gerçekleştirilmiştir. Analizler sırasında standard olarak ^{156,157}Gd izotopları, iç standart olarak ise ¹¹⁵In, ¹⁶⁵Ho ve ²⁰⁹Bi multi element kalibrasyon standart çözeltileri kullanılmıştır. 1'er mg **25** ve **26** numaralı Gd-DOTA-Ftalosiyenin bileşikleri ICP-MS analizleri için öncelikle derişik nitrik asit çözeltisi içine alınmış ve 15 dakika ultrasonik parçalanma işlemine tabi tutularak yapıların parçalanması gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 100 ml'lik balon jodelere alınıp destile su ile tamamlanmışlardır. Kalibrasyon eğrileri 125, 250 ve 500 ppb arasında 3 noktalı olacak şekilde hazırlanmıştır (Şekil 3.34). Ultrasonik parçalama işlemine tabi tutulan

örnekler uygun seyreltme işlemleri yapıldıktan sonra ICP-MS cihazı ile de analiz edilmiştir. Tüm örnekler, standart malzemeler veya kör örnekler en az üç tekrarlı olarak çalışılmış ve analiz edilmiştir. **25** ve **26** numaralı bileşiklere ait üç okumanın ortalaması o noktanın konsantrasyonu olarak verilmiştir.

Analizler sonucunda moleküllerdeki Zn:Gd metal iyonları oranı 25 numaralı bileşik için 1.12, 26 numaralı bileşik için 0.95 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.9). Bu ölçüm sonuçları her iki Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşiğinde de sadece bir DOTA grubunun bağlı olduğunu göstermiştir.



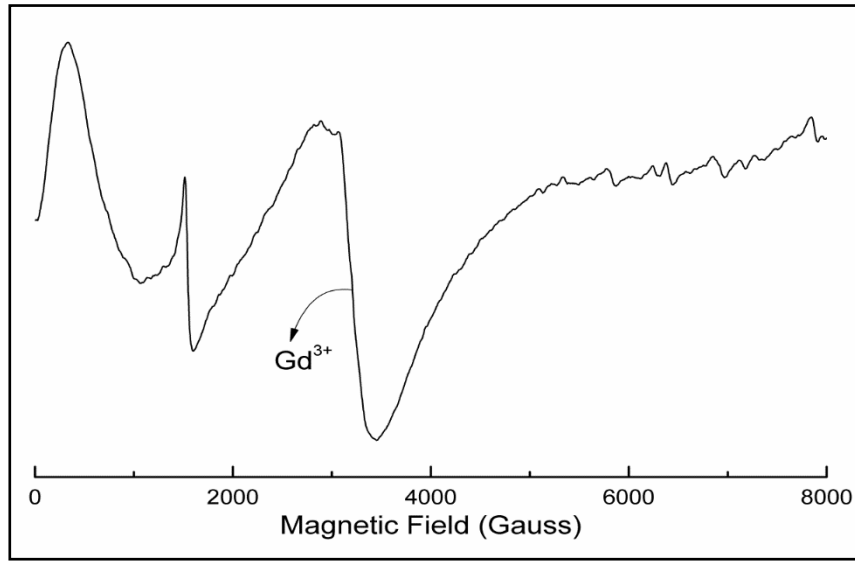
Şekil 3.34: ⁶⁶Zn ve ¹⁵⁷Gd Metallerinin ICP-MS kalibrasyon eğrileri.

Tablo 3.9: 25 ve 26 Numaralı ftalosiyanın bileşikleri için ICP-MS sonuçları.

Bileşik	Gd(III) (ppb)	Zn(II) (ppb)	Gd:Zn Oranı
25	161.4	70.5	0.95
26	254	92.3	1.1

3.4.8. Gd-DOTA Grubu İçeren Ftalosiyanın Bileşiğinin (26) EPR Ölçümü

EPR spektrometresi oldukça az miktardaki numune içinde eser miktarlardaki paramanyetik merkezlerin türünü, yapısını ve özelliklerini belirlemeye yarayan bu alanda oldukça etkili bir spektroskopik tekniktir. EPR spektroskopisi eşlenmemiş elektron bulunduran yapıların, yani kimyasal radikallerin, bazı geçiş metal iyon komplekslerinin ya da benzeri paramanyetik merkezlerin yapılarını etkin biçimde belirler. Bunun için eşlenmemiş elektronun spinini esas alır. Sentezlenen 26 numaralı bileşiğinin manyetik özellikleri EPR yardımıyla incelenmiştir. Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşiğinin, oda sıcaklığında kloroform içinde 0-8000G aralığında EPR ölçümü alınmış bileşiğin yapısının aydınlatılması için yapıda bulunan paramanyetik Gd^{3+} iyonlarının varlığı tespit edilmiştir (Şekil 3.35).



Şekil 3.35: 26 Bileşiğine ait X-band EPR spektrumu.

EPR ölçümü sonucu paramanyetik Gd^{3+} iyonlarına ait $g=2.0022$ değerindeki 560G band genişliğine sahip olan keskin bir pik gözlenmiştir. Gd^{3+} iyonları S-state paramanyetik iyonlar olup, g bileşenlerinin gözlemlendiği spektrumda yine spin değiş-tokuş ve spin-orbital etkileşimlerinden kaynaklanan çizgi genişlemesinden dolayı, aşırı ince yapı yarılması gözlemlenmemiştir.

3. FTALOSİYANİNLERİN FOTOFİZİKSEL VE FOTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Işın ya da başka bir anlatımla elektromanyetik dalga uzayda çok büyük bir hızla yayılan enerji çeşididir. Birçok farklı şekli bulunur. Bunlardan en çok bilinenleri ışık ısı, radyo dalgaları ve X ışınlarıdır. Bir ışının elektrik alan (electric field) ve manyetik alan (magnetic field) olmak üzere iki çeşidi vardır. Bu iki alan ışının yayılma yönüne ve birbirlerine diktir. Bir ışının madde ile ilişkisi, bu iki alan sayesinde olur.

Fotofiziksel ve fotokimyasal olayların temelini ışığın madde ile etkileşimi oluşturmaktadır. Fotofiziksel ve fotokimyasal olayların gerçekleşebilmesi için elektromanyetik radyasyonun elektrik alan vektörü ile ilgili molekülün dipol momentinin etkileşmesi gerekir. Bu etkileşme sonucunda elektromanyetik radyasyon molekül tarafından absorplanır. Absorpsiyonun gerçekleşebilmesi için gözlenebilecek olaylar Şekil 2.5’de Jablonksi enerji diyagramı üzerinde detaylı bir şekilde açıklanmıştır.

4.1. Fotofiziksel Özellikler

4.1.1. Floresans Kuantum Verimleri (Φ_F) ve Ömürleri (τ)

Floresans için kuantum verimi veya kuantum verimi oranı basit olarak floresans yapan moleküllerin sayısının toplam uyarılmış molekül sayısına oranıdır. Floresin gibi oldukça floresans bir molekül için bazı şartlar altındaki kuantum verimi bire yaklaşır. Önemli derecede, floresans yapmayan kimyasal türler sıfıra yakın verimlere sahiptir.

Kuantum verimi hesaplamada birçok farklı yaklaşım vardır. Tüm yaklaşımlardaki ortak nokta kuantum verimi bilinen bir referans madde ile bilinmeyen maddenin spektral performansını karşılaştırmaktır. Kuantum verimleri referans ve analit açısından tek nokta için yapılan ölçümlerle hesaplanabileceği gibi referans ve analit için belirli derişim aralıklarında oluşturulmuş kalibrasyon grafiklerinin eğimleri oranından da hesaplanabilir [122]. Örneğin Çinko ftalosiyanininin (ZnPc) DMSO içerisindeki floresans kuantum verimi 0.20’dir [25].

ZnPc referans alınıp aşağıdaki formül kullanılarak (4.1) istenilen bileşiğin floresans kuantum verimi hesaplanabilir.

$$\Phi_F = \Phi_F(\text{Std}) \frac{F \cdot A_{\text{Std}} \cdot \eta^2}{F_{\text{Std}} \cdot A \cdot \eta_{\text{Std}}^2} \quad (4.1)$$

Verilen Formülde;

- Φ_F : Numunenin floresans kuantum verimi.
- $\Phi_F(\text{std})$: Standart bileşiğin floresans kuantum verimi
- F : Numunenin floresans emisyon eğrisinin altındaki alan.
- F_{Std} : Standart bileşiğin floresans emisyon eğrisinin altındaki alan.
- A : Numunenin absorbansı.
- A_{Std} : Standart bileşiğin absorbansı.
- η : Numunenin çözüldüğü çözücünün refraktif indisi
- η_{Std} : Standart bileşiğin çözüldüğü çözücünün refraktif indisi

Floresansta 250 nm'den daha küçük dalga boylarındaki ultraviyole ışınların absorpsiyonun sonucu floresansın nadiren olduğunu bilmek önemlidir. Çünkü bu tür ışınlar, ön ayrışma ve ayrışma ile uyarılmış halin sönümüne sebep olmaya yetecek kadar enerjilidir. Örneğin, 200 nm'lik bir ışın yaklaşık 140 kcal/mol'e karşılık gelir; birçok organik molekül bu büyüklükteki enerjiler ile kopartılabilecek bazı bağlara sahiptir. Sonuç olarak, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi sebebiyle olan floresans nadiren gözlenir; bunun yerine emisyon, daha az enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri ile sınırlıdır. Uyarılmış bir molekülün ömrü (lifetime, τ) başlangıç konsantrasyonunun 1/e değerine düşmesi için gereken zamandır [123]. Floresans ömürleri (lifetimes), floresans kuantum verimi ve doğal radiatif ömürleri yardımı ile aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanabilir (4.2).

$$\Phi_F = \frac{\tau_F}{\tau_0} \quad (4.2)$$

Verilen formülde;

- Φ_F : Numunenin floresans kuantum verimi.
- τ_F : Floresans ömürleri (lifetime)
- τ_0 : Numunenin doğal radiatif ömürleri (Natural radiative lifetime).

Floresans ömürleri hesaplamak için kullanılan bir başka yöntem de Strickler-Berg tarafından önerilen floresans lifetime denklemdir (4.3). Bu yöntemle moleküllerin floresans ömürleri absorpsiyon ve emisyon spektrumundan elde edilen parametreleri kullanarak hesaplanır.

$$\frac{1}{\tau_N} = 2.88 \times 10^{-9} \cdot \eta^2 \frac{\int \frac{F(\lambda)}{\lambda^2} \cdot d(\lambda)}{\int F(\lambda) \lambda \cdot d(\lambda)} \int \frac{\varepsilon(\lambda)}{\lambda} \cdot d(\lambda) \quad (4.3)$$

Bu formülde $F(\lambda)$ molekülün floresans şiddetini , $\varepsilon(\lambda)$ ise bu floresans şiddetindeki molar absorptivite katsayısını göstermektedir.

4.2. Fotokimyasal Özellikler

4.2.1. Singlet Oksijen Kuantum Verimi (Φ_Δ)

O_2 molekülü UV, görünür bölge ve IR'de bir seri absorpsiyon bantları gösterir. Moleküler O_2 'in veya oksijenli organik molekülün direk ışıkla uyarımında singlet O_2 oluşur fakat düşük verimli olduğundan uygulamaya yönelik kullanımı zordur. Uyarmanın dolaylı bir yolu da ışığa duyarlı bir madde ile yapılan reaksiyondur. Çeşitli PS'ler kullanılarak oluşturulan singlet oksijenin fotokimyasal etkinliği, singlet oksijen kuantum verimi (Φ_Δ) ile belirlenir. Singlet oksijen kuantum verimi teorik olarak, oluşan singlet oksijen mol sayısının, absorplanan fotonun mol sayısına oranı

iken pratikte oluşan singlet oksijenin tüketilmesi ile belirlenir. Ftalosiyanın bileşiklerinde singlet oksijen kuantum verimi hesaplanmasında genellikle sönmüleyici olarak 1,3-difenilisobenzofuran (DPBF) kullanılmaktadır [107], [124], [125]. Singlet oksijen kuantum verimleri aşağıda verilen formül (4.4) yardımı ile hesaplanmıştır.

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Std}} \frac{R \cdot I_{\text{abs}}^{\text{Std}}}{R_{\text{Std}} \cdot I_{\text{abs}}} \quad (4.4)$$

Verilen formülde;

- Φ_{Δ} : Numunenin singlet oksijen kuantum verimi.
- $\Phi_{\Delta}^{\text{Std}}$: Standart maddenin singlet oksijen kuantum verimi
- R : DPBF bileşiğinin numune varlığında absorbans değişimi.
- R^{Std} : DPBF bileşiğinin standart varlığında absorbans değişimi.
- I_{abs} : Numunenin absorpladığı ışık miktarı.
- $I_{\text{abs}}^{\text{Std}}$: Standart maddenin absorpladığı ışık miktarı.

4.2.2. Fotobozunma Prosesi ve Kuantum Verimi (Φ_d)

Fotobozunma, fotokimyasal bir olaydır. Absorbe edilen ışık yani enerji, moleküller arasında yerleşerek depolimerizasyon, dehidrojenasyon ve dehidrometilasyon gibi ayrılma reaksiyonlarına neden olur. Bununla birlikte, karboniller, karboksiller, peroksitler, hidroperoksitler ve konjuge çift bağlar gibi kromoforik gruplar da oluşur. Kromofor gruplar, renk veren hidrokarbon gruplarına yeteri derecede bağlanan özel gruplardır. Fotobozunma reaksiyonlarını etkileyen en önemli iki faktör, kullanılan çözücüler ve bozunmaya uğrayan molekülün sahip olduğu süstitüentlerin elektronik yapılarıdır. Örneğin yapısında elektron verici süstitüentler içeren ftalosiyaninler singlet oksijen ile kolayca yükseltgenbildiklerinden kuvvetli fotobozunma reaksiyonu gösterirler.

Süstitüentlerin elektron çekici olması durumunda ftalosiyanin halkasının oksidasyonu oldukça zordur ve düşük fotobozunma reaksiyonu gösterirler. Fotobozunma kuantum verimi (Φ_d), bir kuantum enerji biriminin depolimerizasyona

uğrattığı molekül sayısıdır. Başka bir deyişle molekülün ışığa karşı gösterdiği dayanıklılıktır. Φ_d , maddenin ışıkla bozunması sırasında absorpsiyon spektrumunda meydana gelen değişimin incelenmesiyle hesaplanabilir. Ftalosiyaninlerde fotobozunma, Q-bandında meydana gelen azalma ile gözlenir ve belirli zaman aralıklarında oluşturulmuş kalibrasyon grafiklerinin eğimleri kullanılarak fotobozunma kuantum verimleri aşağıda verilen formül (4.5) yardımı ile hesa

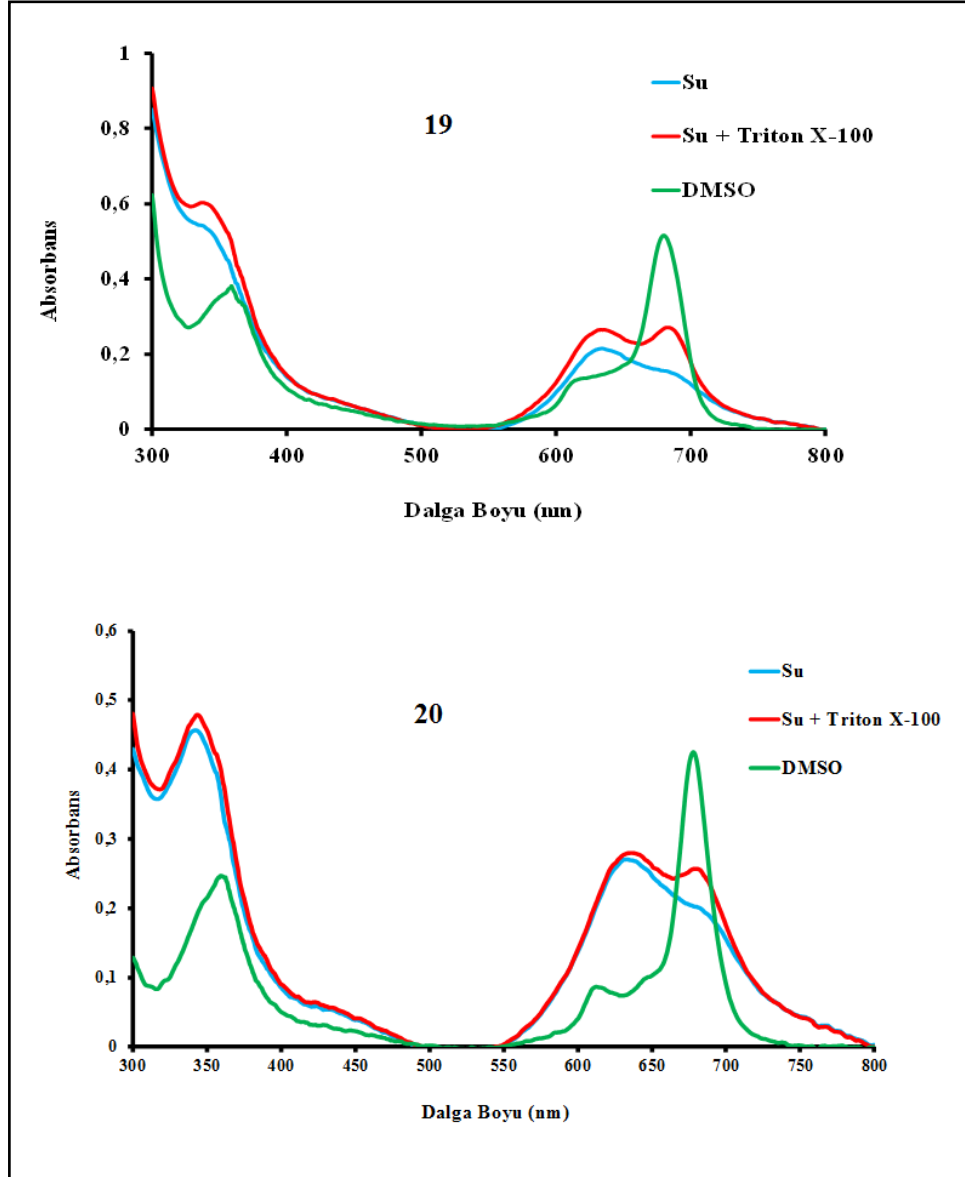
$$\Phi_d = \frac{(C_0 - C_t) \cdot V \cdot N_A}{I_{abs} \cdot S \cdot t} \quad (4.5)$$

Verilen formülde;

- Φ_d : Numunenin fotobozunma kuantum verimi.
- C_0 : Numunenin ışık uygulamadan önceki konsantrasyonu.
- C_t : Numunenin ışık uygulandıktan sonraki konsantrasyonu.
- V : Kullanılan hacim.
- N_A : Avagadro sabiti.
- t : Işınlama zamanı.
- S : Işınlama için kullanılan UV küvetinin alanı.
- I_{abs} : Kullanılan ışığın gücü.

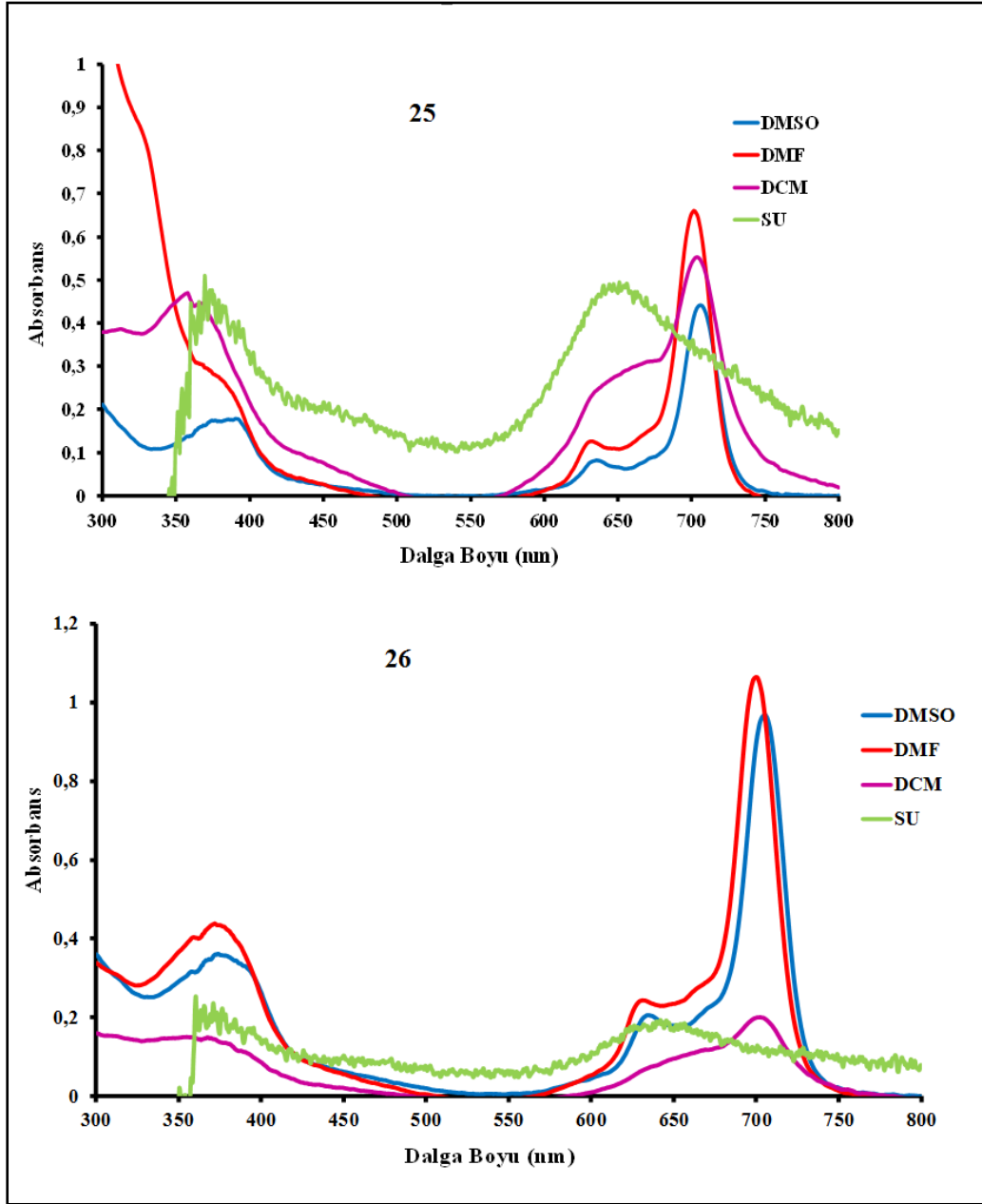
4.3. Temel Hal Elektronik Absorbsiyon Spektrumları ve Agregasyon Davranışlarının Karşılaştırılması

Sentezlenen Zn(II) ftalosiyanınların elektronik absorpsiyonlarının karşılaştırmalı çalışması çözücü olarak DMSO ve Su kullanılarak yapılmıştır. Gd-DOTA-Ftalosiyanın bileşikleri suda diğer tüm ftalosiyanın bileşikleri DMSO'da iyi çözünmektedir. Bütün Zn(II) serilerinin DMSO içerisinde 1.10^{-5} M konsantrasyonda alınmış elektronik absorpsiyon spektrumu incelendiğinde Q bantları tek ve keskin bir şekilde gözlenmiş, ftalosiyanın molekülleri agregasyona uğramadığı monomerik davranış gösterdiği bulunmuştur. Karboksili asit sübstitüe **19** ve **20** numaralı Ftalosiyanın bileşikleri ve Gd-DOTA sübstitüe **25** ve **26** numaralı ftalosiyanın bileşiklerinin su içerisinde 1.10^{-5} M konsantrasyonda alınmış elektronik absorpsiyon spektrumu incelendiğinde ise ftalosiyanın moleküllerinin agregasyona uğradığı artık monomerik davranış göstermediği ve Q bandlarında maviye kaymalar ve geniş pikler gözlenmiştir. Su içerisindeki bileşiklerin agregasyon yapıp yapmadığını anlamak için ortama Triton X-100 ilavesi yapılarak spektrumlar karşılaştırılmıştır. Su içerisindeki agregasyon Triton X-100 yüzey aktif maddesinin ilave edilmesiyle giderilmekte ve Q bandında tekrar belirginleşme gözlenmektedir. Örnek olarak **19** ve **20** numaralı bileşiklerinin su ve DMSO içerisinde ve triton X-100 ilavesinde gözlenen Uv-Vis spektrumları (Şekil 4.1) verilmiştir. Triton X-100 gibi sürfaktanların (yüzey gerilimini azaltan maddelerin) ilavesi agregasyonu düşürebilmektedir. Agregasyona uğramış moleküller sürfaktanın etkisiyle dimerik formdan monomerik forma dönüşebilmektedir.



Şekil 4.1: 19 ve 20 Bileşiklerinin DMSO, Su ve Su+Triton-X içerisindeki UV- Vis spektrumları.

Sentezlenen Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşiklerinin farklı çözücülerdeki davranışlarını görmek için 1.10^{-5} M konsantrasyonda DMSO, DMF, DCM ve Su içerisinde hazırlanan çözeltilerinin UV-Vis spektrumunda gözlenen dalga boyu değişimleri incelenmiştir (Şekil 4.2). DMSO ve DMF içerisinde Q ve Soret bandları değerlerinde çok büyük bir fark gözlenmemiştir. Fakat DCM ve su içerisinde bileşiklerin agregasyon yaptığı görülmüştür. Farklı çözücülerde yapılan bu analizler bileşiklerin hangi ortamlarda çalışılabileceği konusunda önemli bilgiler sunmaktadır.

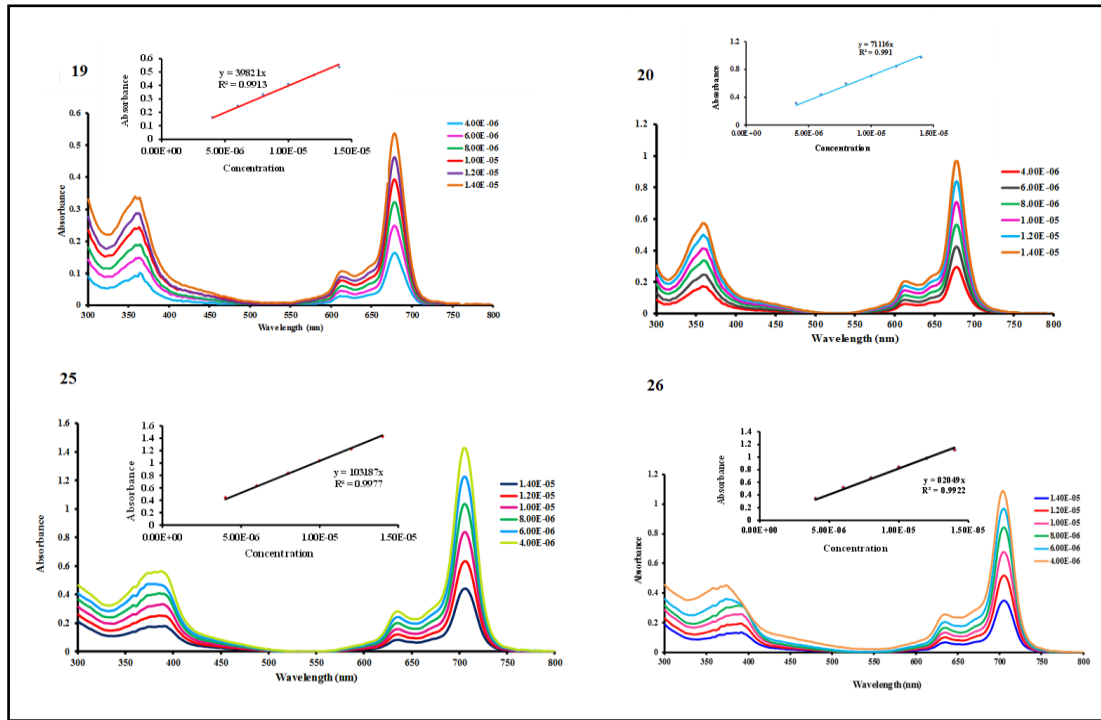


Şekil 4.2: 25 ve 26 Numaralı bileşiklerin değişik çözücüler içerisindeki UV-Vis spektrumları.

Ftalosiyanın bileşiklerinde agregasyon varlığı spektrokimyasal olarak absorpsiyon pikinin daha düşük dalga boyuna kayması (hipokromizm) ve absorpsiyon şiddetinin azalması ile gözlenir. Bileşiklerde agregasyon sıcaklığa, çözücüye, merkez metal atomuna, süstitüent sayısına ve süstitüentin pozisyonuna bağlı olarak ortaya çıkabilir.

Bu çalışmada sentezlenen ftalosiyanın bileşiklerinin DMSO içerisinde değişik konsantrasyondaki (10^{-6} - 10^{-5}) absorpsiyonları ölçülerek agregasyon özellikleri incelenmiştir. (Şekil 4.3). Elde edilen ftalosiyanın bileşiklerinin UV-Vis spektrumları

DMSO'da 10^{-5} - 10^{-6} M konsantrasyon aralığında incelendiğinde, ne dalga boylarında daha kısa dalga boyuna kayma (maviye kayma) ne de konsantrasyon arttıkça absorpsiyonda bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca maksimum dalga boyunda absorpsiyonla konsantrasyon arasında grafik çizildiğinde konsantrasyonla absorpsiyon arasındaki oranın Lambert-Beer yasasına uygun olarak değiştiği görülmüştür. Bu nedenle bu bileşiklerinin DMSO içerisinde 10^{-6} - 10^{-5} konsantrasyon aralığında agregasyon yapmadıkları sonucuna varılmıştır.

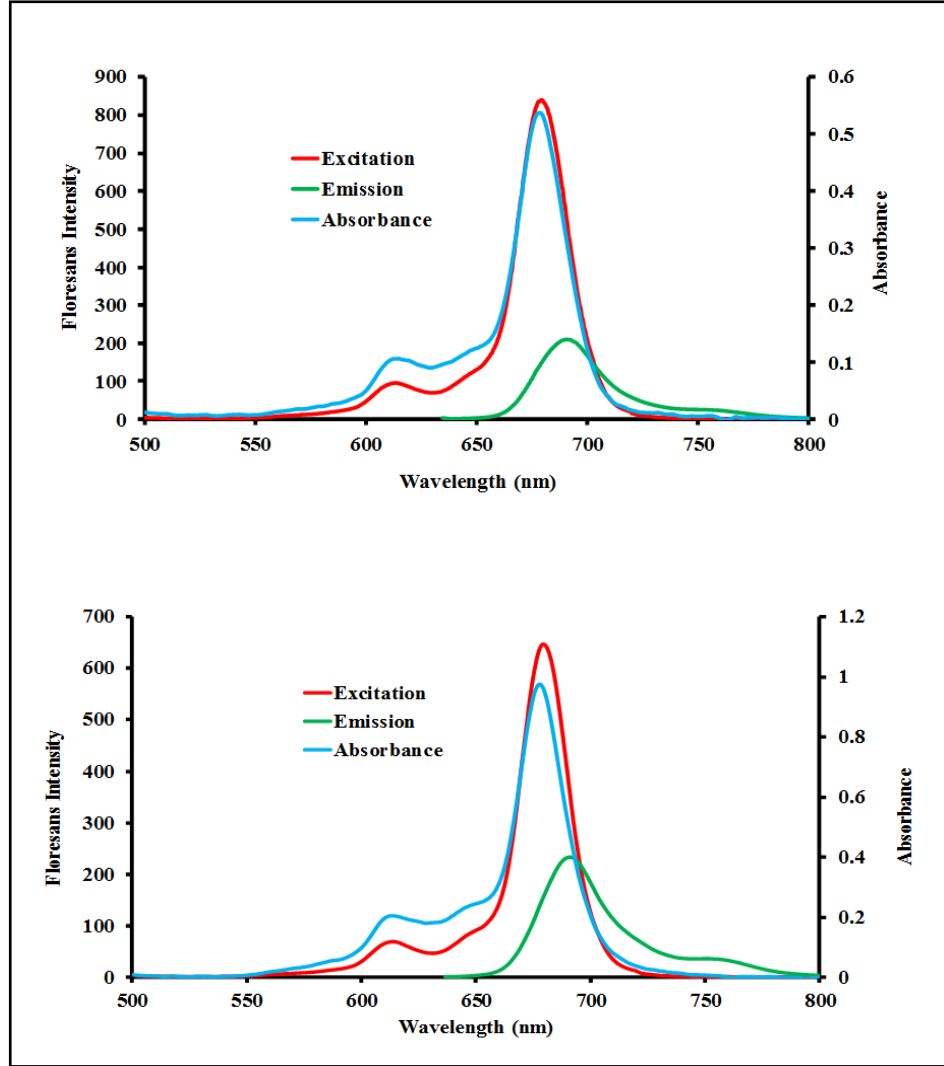


Şekil 4.3: 19, 20, 25 ve 26 Numaralı bileşiklerinin DMSO içerisinde farklı konsantrasyonlarda gözlenen UV-Vis spektrumları.

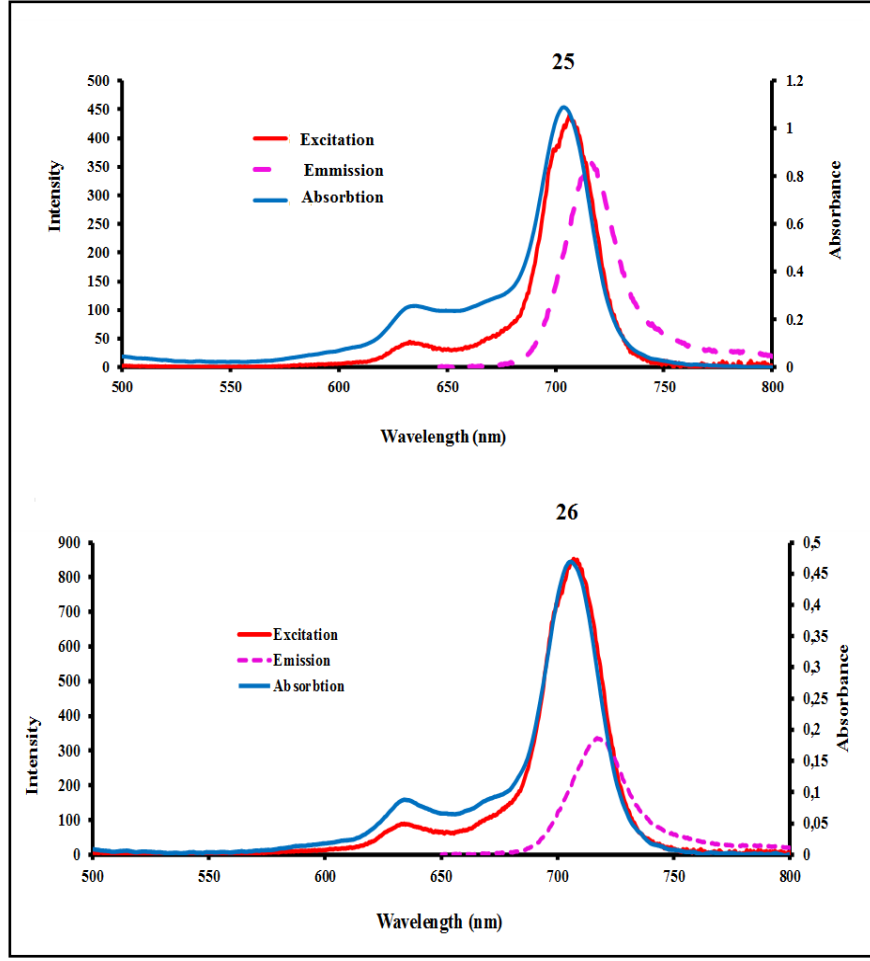
4.4. Absorpsiyon, Eksitasyon ve Emisyon Deneyleri

Sentezlenen tüm ftalosiyanınların DMSO içerisinde hemen hemen aynı şiddette floresans emisyon gösterdiği bulunmuştur. Suda çözünen ftalosiyanınlar olan **25** ve **26** numaralı bileşiklerin su içerisinde emisyonları gözlemlenmemiştir. Şekil 4.4'de **19** ve **20** ftalosiyanın bileşikleri için Şekil 4.5'de ise **25** ve **26** ftalosiyanın bileşikleri için floresans emisyon, absorpsiyon ve eksitasyon spektrumları yer almaktadır. Tablo 4.1 bileşiklerinin Absorpsiyon ve Floresans datalarını göstermektedir. Bütün Zn(II) serilerinde eksitasyon spektrumlarının şekli absorpsiyon spektrumlarının şekline

benzemektedir. Bunun nedeni uyarılan ftalosiyanın bileşiminin ve temel halin nükleer konfigürasyonlarının eksitasyon tarafından etkilenmediğini göstermektedir.



Şekil 4.4: 19 ve 20 Numaralı ftalosiyanınların DMSO’da alınan Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon spektrumları (Eksitasyon Dalgaboyu: 640 nm).



Şekil 4.5: 25 ve 26 Numaralı ftalosiyanın DMSO’da alınan Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon spektrumları (25 Bileşiği için eksitasyon dalgaboyu: 640 nm, 26 bileşiği için eksitasyon dalgaboyu: 645 nm).

Tablo 4.1: 19, 20, 25 ve 26 bileşiklerinin Absorpsiyon ve Floresans dataları.

Bileşik	Q band λ_{max} , (nm)	$\log \epsilon$	Eksitasyon λ_{Ex} (nm)	Emisyon λ_{Em} (nm)	Stokes Kayması Δ_{Stokes} , (nm)
19	680	4.70	681	694	14
20	679	4.85	681	693	14
25	707	4.91	706	712	5
26	705	5.01	706	713	8

4.5. Floresans Kuantum Verimleri

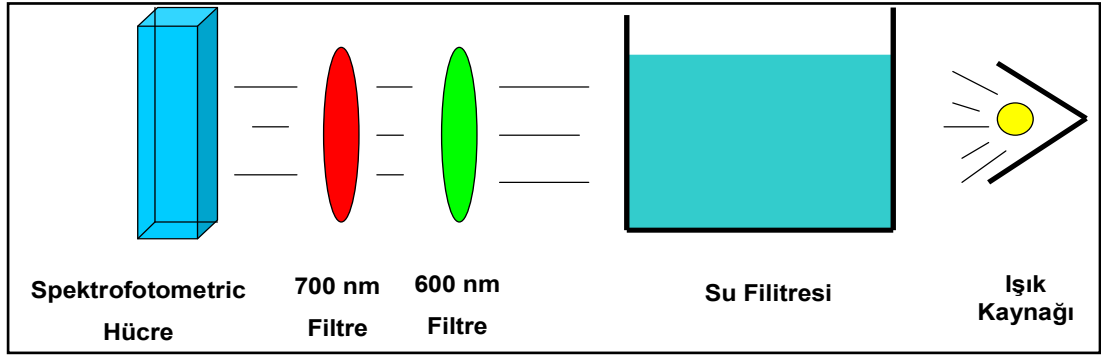
Bileşiklerin Floresans kuantum verimleri (Φ_F) Tablo 4.2’de verilmiştir. **19** bileşiğinin Φ_F değeri diğer Zn(II) komplekslerine (**20**, **25** ve **26**) oranla düşük bulunmuştur. **19** numaralı ftalosiyanın bileşiği **20**, **25** ve **26** numaralı ftalosiyanın bileşiklerine göre daha az agregasyona uğramaktadır ve böylece sistemlerarası geçiş yoluyla enerji transferi artmakta böylece Φ_F değerini sınırlamaktadır.

Tablo 4.2: 19, 20, 25 ve 26 Bileşiklerinin DMSO içinde elde edilen fotofiziksel ve fotokimyasal parametreleri.

Bileşik	Solvent	Φ_F	$\Phi_d (x10^{-5})$	Φ_Δ
19	DMSO	0.13	0.27	0.53
20	DMSO	0.27	0.87	0.49
25	DMSO	0.17	4.20	0.59
	SU	-	4.08	0.11
26	DMSO	0.15	3.97	0.67
	SU	-	10.8	0.10

4.6. Singlet Oksijen Kuantum Verimleri (Φ_Δ)

Fotokimyasal ölçümlerinde şekil 4.6’da gösterilen düzenek kullanılmıştır. Işık kaynağı olarak 300 Watt’lık General Electric Quartz lamba, Ultraviyole ve infrared radyasyonları filtre etmek için 600nm’ lik bir filtre ve su filtresi ayrıca ölçülecek olan ftalosiyanın bileşiği için istenilen dalga boyunda ışık elde etmek amacıyla bileşiklerimizin dalga boyuna uygun 700 nm’lik ışığı geçirebilen bir filtre kullanılmıştır.

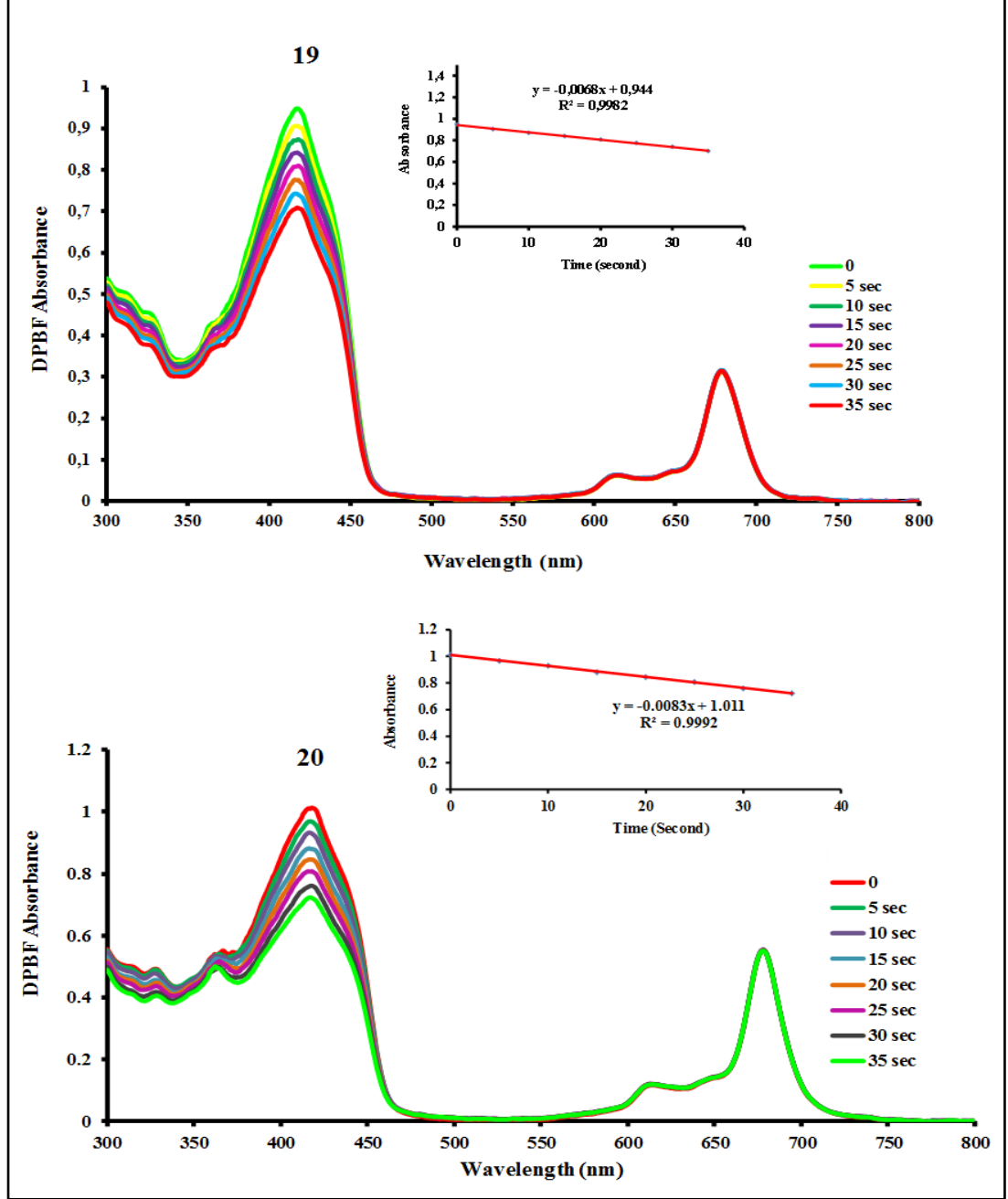


Şekil 4.6: Fotokimyasal ölçüm düzeneği.

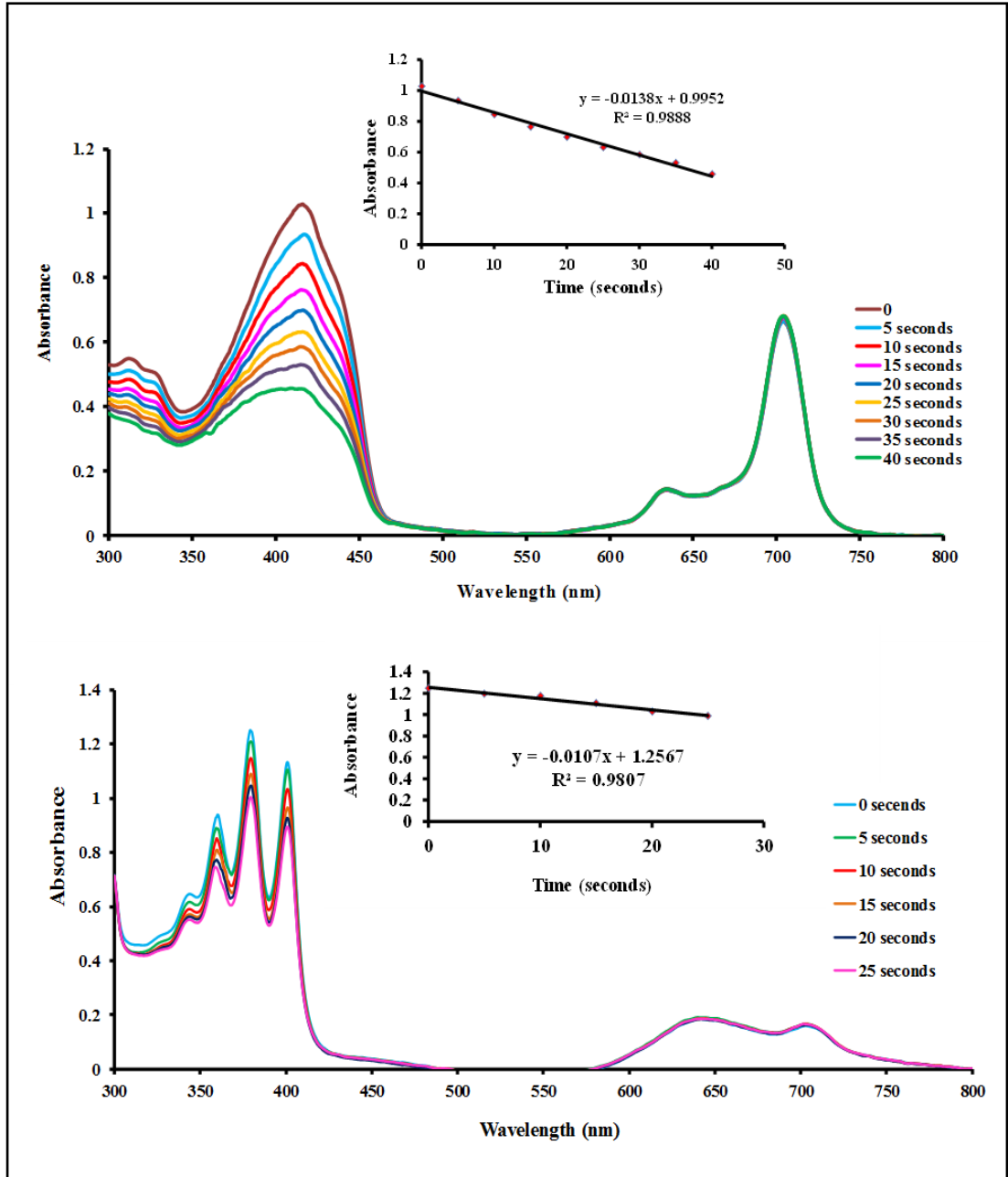
Singlet oksijen kuantum verimi ölçümleri için, sentezlenen Zn(II) ftalosiyanın bileşikleri DMSO içerisinde çözüldükten sonra içerisine singlet oksijen söndürücü (quencher) olarak 1,3-difenilisobenzofuran (DPBF) ilave edilmiştir. DPBF bileşiğinin konsantrasyonu 3×10^{-5} M olarak ayarlandı. Daha sonra bu karışım çeşitli zaman Aralıklarında $7,05 \times 10^{15}$ photons $s^{-1} cm^{-2}$ şiddetindeki ışığa maruz bırakılarak UV-Vis spektrumları alınmış, DPBF bileşiğine ait 417 nm'deki absorpsiyonunun değişimi incelenmiştir (Şekil 4.7). DPBF bileşiği ışığa çok hassas olduğu için DPBF çözeltileri karanlık ortamda hazırlanmıştır. Suda çözünen **25** ve **26** numaralı Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşiklerinin suda yapılan singlet oksijen kuantum verimi ölçümlerinde söndürücü olarak, DPBF bileşiği suda çözünmediği için, ADMA bileşiği kullanılmıştır. Sulu çözeltiler DMSO'da olduğu gibi çeşitli zaman aralıklarında $7,05 \times 10^{15}$ photons $s^{-1} cm^{-2}$ şiddetindeki ışığa maruz bırakılıp UV-Vis spektrumları alınmış, ADMA bileşiğine ait 380 nm'deki absorpsiyonunun değişimi incelenmiştir. Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da **25** ve **26** numaralı bileşiklerin suda ve DMSO'daki singlet oksijen kuantum verimi sırasındaki UV-Vis spektrumları karşılaştırılmalı olarak verilmiştir.

Süstitüe olmamış Zn(II) bileşiği DMSO çözeltilerinde, sülfonil süstitüe ZnPc bileşiği ise sulu çözeltilerde referans olarak kullanılmıştır. Bütün Zn(II) Ftalosiyanın bileşiklerinin (**19**, **20**, **25**, **26**) singlet oksijen kuantum verimlerinin (Φ_{Δ}) yaklaşık olarak birbirlerine yakın değerlere sahip oldukları bulunmuştur. DMSO'da en yüksek singlet oksijen kuantum verimi değeri 0.67 olarak **25** numaralı Gd-DOTA süstitüe ftalosiyanın bileşiğine aittir. Suda kuantum verimleri hesaplanan **25** ve **26** numaralı Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşiklerinin değerleri hemen hemen aynı olup, DMSO'daki verimlerine göre oldukça düşük değerler göstermiştir. Sudaki bu düşük singlet oksijen kuantum verimi değerlerinin nedeni moleküllerin suda göstermiş oldukları

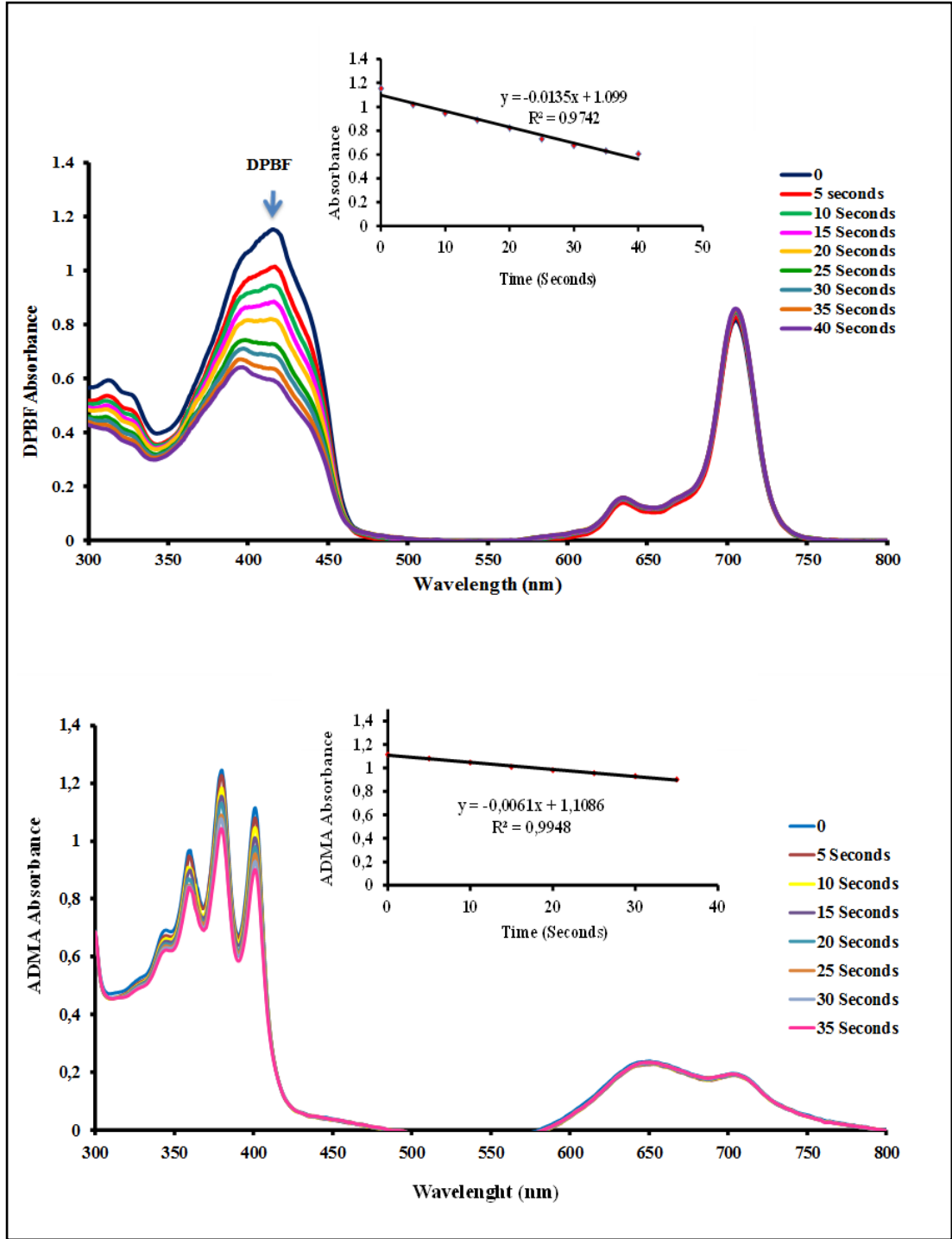
agregasyondan kaynaklanmıştır. Bu çalışmaların sonucunda elde edilen singlet oksijen kuantum verimi değerleri, sentezlenen Zn(II) ftalosiyanınların singlet oksijen oluşturabilme kabiliyetine sahip bileşikler olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.7: 19 ve 20 Bileşiğinin singlet oksijen kuantum verimi ölçümleri sırasındaki UV-Vis spektrumu değişimi (Konsantrasyon: 1×10^{-5}).



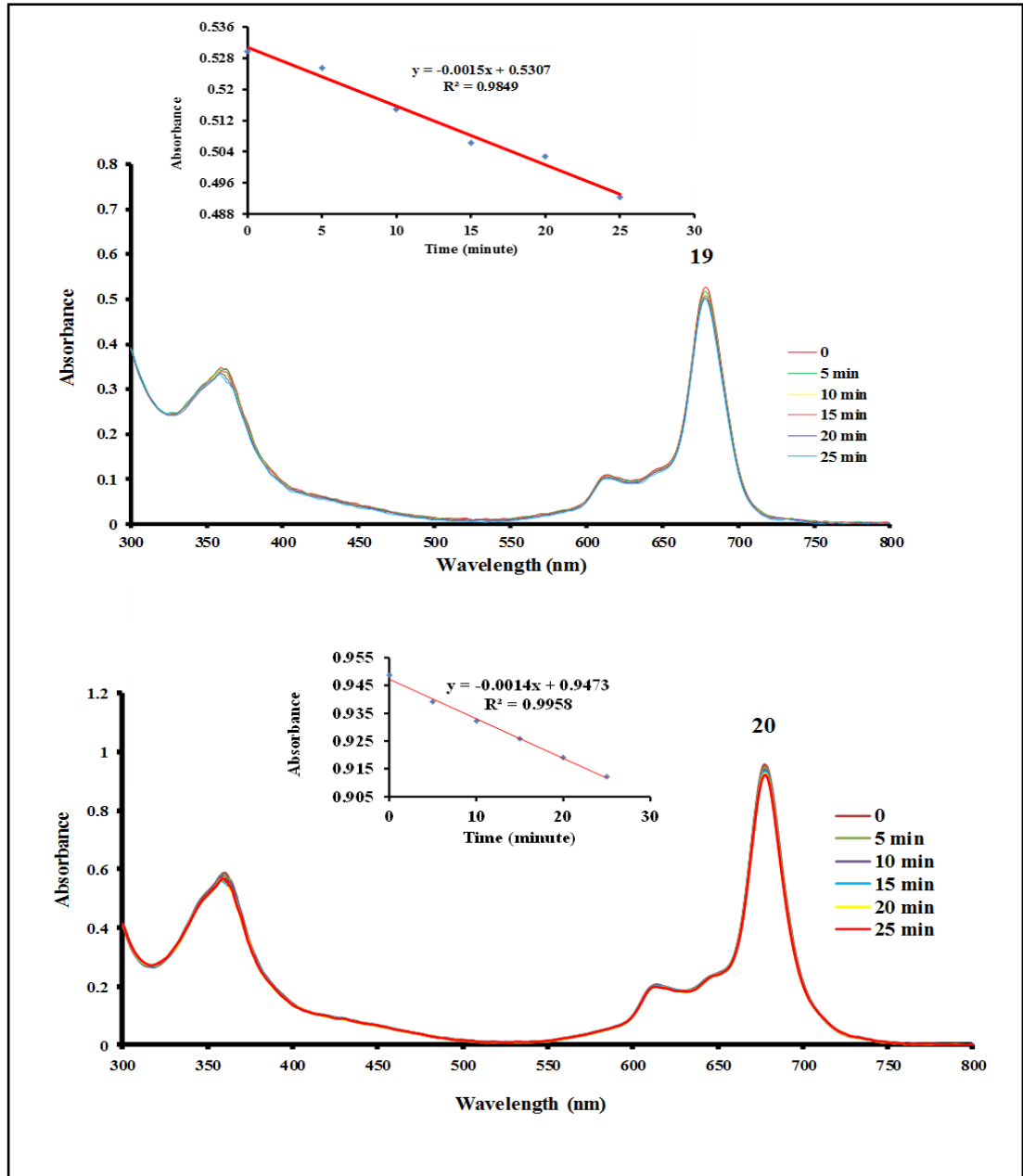
Şekil 4.8: 25 Bileşiminin singlet oksijen kuantum verimi ölçümleri sırasındaki DMSO ve suda UV-Vis spektrumu değişimi (Konsantrasyon: 1×10^{-5}).



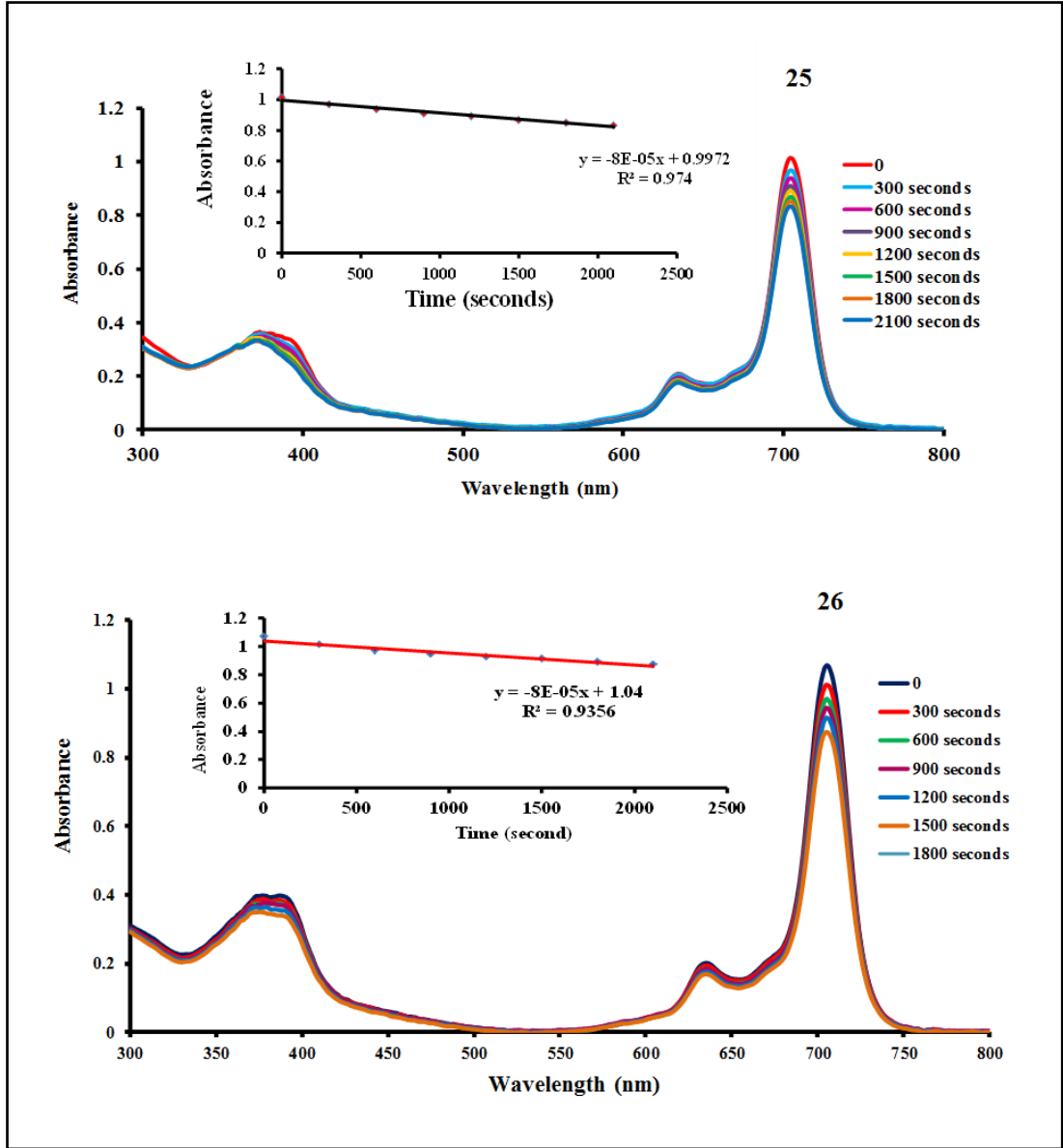
Şekil 4.9: 26 Bileşiğinin singlet oksijen kuantum verimi ölçümleri sırasındaki DMSO ve suda UV-Vis spektrumu değişimi (Konsantrasyon: 1×10^{-5}).

4.7. Fotobozunma Kuantum Verimleri (Φ_d)

Fotobozunma (Photodegradation) ölçümleri için Şekil 4.6'daki düzenek kullanılmıştır. Sentezlenen Zn(II) bileşikleri DMSO içerisinde çözüldükten sonra çeşitli zaman aralıklarında 100 voltluk ışığa maruz bırakılıp UV-Vis. spektrumları alındı ve Q bandlarındaki değişim incelendi (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11). Bu çalışma ile ftalosiyanın bileşiklerinin ışığa karşı duyarlılıkları ölçülmüştür.



Şekil 4.10: 19 ve 20 Bileşiğinin fotobozunma kuantum verimi ölçümleri sırasındaki UV-Vis spektrumu değişimi.



Şekil 4.11: 25 ve 26 Bileşiğinin fotobozunma kuantum verimi ölçümleri sırasındaki UV-Vis spektrumu değişimi.

5. TERANOSTİK Gd-DOTA SÜBSTİTÜE Zn(II) FTALOSİYANİNLERİN MRG ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE PDT ÇALIŞMALARI

5.1. Biyolojik Analizler

5.1.1. *İn-vitro* Analizler

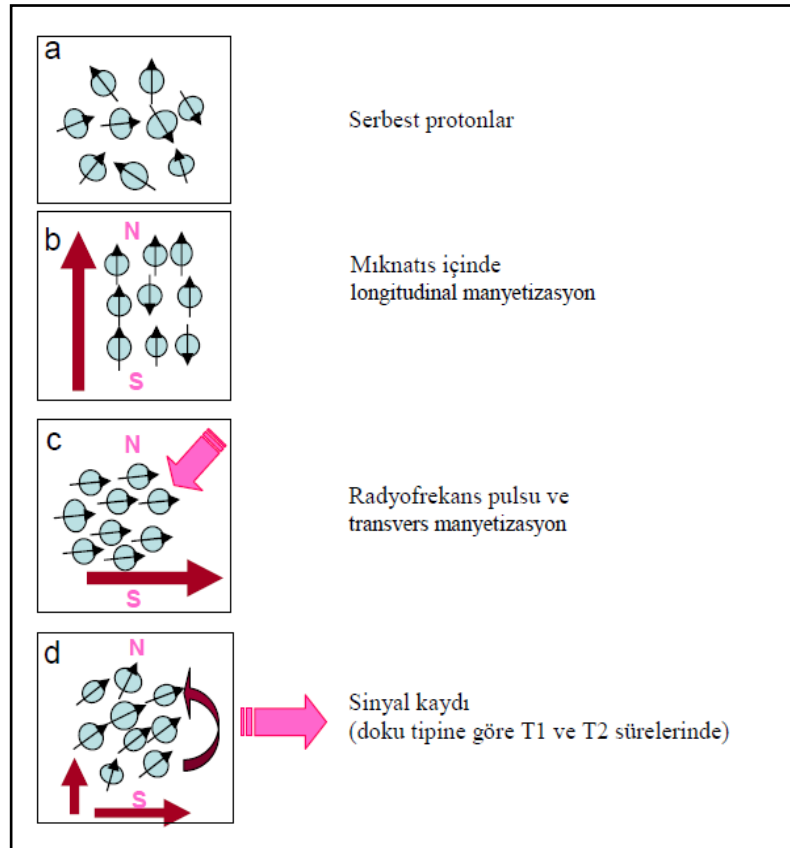
Bu analiz kültür içinde olan hücreler ile yapılır, hücreler genellikle tümör kaynaklı hücrelerden sağlanır. Konu üzerinde çalışan araştırmacılar farklı hücre serileri ve farklı prosedürler kullanabilir. En iyi sonuç için kullanılacak olan hücreler ve ışınlama prosedürü belirli ise uygun olan hücre kültürü bu iki önemli bileşene göre seçilir. Işınım öncesi iki deney gerekmektedir. İlk çalışmada karanlık toksitesi denenir. Eğer bütün hücreler karanlıkta ölürse fotosensitizerin çalışma için uygun olmadığı ve PDT ajanı olarak kullanılamayacağı anlaşılmış olur. İkinci çalışmada ise, fotosensitizerin hücre içine alındığı floresans ya da absorbans ölçümlerine göre takip edilir. Işınlamadan sonra, hücre ölümü uygun karanlık kontroller ile belirlenir. Hücre ölümü çalışmaya uygun boyalar (propidyum iyodur (PI), akridin oranj (AO) gibi) kullanılarak hücre boyama yöntemleri ile belirlenebilir.

5.1.2. Konfokal Lazer-Taramalı Mikroskopisi

Lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM), günümüzde cisimleri üç boyutlu olarak izlemesinde kullanılan en önemli cihazdır. LTKM, fluoresan mikroskop esaslarına benzer şekilde çalışan bir mikroskop olup, burada aydınlatma kaynağı olarak pankromatik görünür ışık kaynağı yerine monokromatik karakterdeki lazer ışınları kullanılmaktadır. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop araştırmacılara floresan veya yansıtıcı problemler ile işaretlenmiş kemik, beyin ve diğer benzeri dokuların oldukça kalın kesitleri, gelişmekte olan embriyolar gibi küçük organizmalar ve bütün haldeki hücre örnekleri ile çalışma imkanı sağlar. Bu teknoloji araştırmacılara ulaşılabilecek en yüksek ışık mikroskobu çözünürlüğü ile hücre altı yapılar, fonksiyonları ve hücre/organizma yapısının temiz bir şekilde görüntülenmesini sağlar.

5.2. Kontrast Görüntüleme Ölçümleri

Manyetik rezonans (MR) görüntüleme bir kesitsel görüntüleme yöntemidir. Görüntüleri, sayısallaştırılmış sinyallerden, gelişmiş bilgisayar programları ile oluşturulur. MR’da radyofrekans (RF) dalgaları kullanılır. Veri kaynağı hücre sıvısı ve lipidler içinde yoğun olarak bulunan hidrojen iyonlarıdır (protonlar). Hidrojen atomu, çekirdeğinin tek protonlu olması nedeniyle en güçlü manyetik dipol momentine sahip elementtir. Suda ve yağda yoğun olmak üzere, insan vücudunda bol miktarda bulunur. Yumuşak dokunun bir milimetre kübündeki hidrojen atomu sayısı 1019’dur. Güçlü manyetik dipol momentini ve vücutta çok sayıda bulunması nedeniyle hidrojen atomundan elde edilen sinyal, diğer herhangi bir atomdan elde edilenden yaklaşık 1000 kat fazladır. İşte bu nedenlerle MR görüntülemesinde sinyal kaynağı olarak hidrojen atomunun çekirdeği kullanılır.



Şekil 5.1: Proton spinlerinin a) dış manyetik alan yok iken b) manyetik alan içindeki longitudinal manyetizasyonu, c) radyofrekans pulsu verilmesi ile transvers manyetizasyon, d) spinlerin geri dönüş sürelerinde (T₁ ve T₂) sinyal kaydı.

Normal koşullarda dokudaki proton dipolleri rasgele dizilmişlerdir ve dokunun net mıknatıslanması sıfırdır. Doku güçlü bir manyetik alan içine konduğunda bu dipoller dış manyetik alan vektörüne paralel ve antiparalel konuma geçerler. Paralel ve antiparalel moment vektörlerinin toplamı paralel yönde net bir manyetik alan verir. Bu net mıknatıslanma vektörünün şiddeti dış manyetik alan şiddetine bağlıdır. Paralel yönde hizalanma antiparalel yönde hizalanmaya göre daha düşük bir enerji durumudur ve bu nedenle paralel yönde hizalanan çekirdeklerin sayısı antiparalel yönde hizalanan çekirdeklerin sayısından biraz daha fazladır (Genellikle bir milyon çekirdek başına bir ila üç arasında daha fazla çekirdek paralel yönde hizalanmıştır). Bu fark dokunun denge manyetizasyonunu oluşturur ve dış manyetik alan şiddeti ile orantılıdır. Protonların kendi etraflarında dönmelerine *spin* hareketi, manyetik alan vektörünün etrafında bir topacın dönüşüne benzer hareketlerine de *presesyon* hareketi denir. Manyetik alan ne kadar şiddetli ise presesyon frekansı da o kadar yüksektir.

Presesyon hareketi rezonans olayının temelidir. İncelenen bölgedeki hidrojen çekirdekleri ancak kendi frekanslarındaki bir RF pulsu ile uyarılabilir, yani rezonansa getirilebilir. Manyetik alan şiddeti ile presesyon frekansı arasındaki ilişkiye *Larmor kuralı*, ve bir dipolün presesyon frekansına da bazen *Larmor frekansı* adı verilir. Larmor frekansı şu formül ile gösterilir:

$$\bullet \omega = \gamma \cdot B_0$$

• ω = Presesyon frekansı (MHz)

• B_0 = Manyetik alan şiddeti (Tesla)

• γ = Jiromanyetik oran (MHz/Tesla) (Jiromanyetik oran da denir. Her ekirdek için farklı değerdedir. Hidrojen için 42,6, Karbon-13 için 10,7' dir.)

Manyetik alan içindeki protonlar manyetik alana paralel veya antiparalel doğrultuda olduklarında sinyal alınamaz. Protonlara kendi Larmor frekanslarında bir RF pulsu verildiğinde, yana yatarak yatay doğrultuda mıknatıslanırlar. Bu durumda iken protonlardan sinyal alınabilir. RF pulsu kesildiğinde protonlar yine önceki boyuna mıknatıslanma doğrultularına dönmeye çalışacaklardır. Uyarılan protonların önceki durumlarına (longitudinal) dönme süreleri, içinde buldukları moleküler ortama göre değişir. Protonların geriye dönüş sürelerindeki bu farklılıklarından

görüntü oluşturmakta yararlanılır. Bu süreler T_1 ve T_2 *durulma zamanları* (relaxation time) olarak adlandırılır. Görüntü oluşturmada T_1 ve T_2 süreleri ile birlikte, proton yoğunluğu (PD = proton density) ve akım fenomeni temel kriter olarak kullanılır.

- T_1 durulma zamanı:

RF pulsu ile yatay manyetizasyon gösteren ve enerji absorbe etmiş yüksek enerjili protonların enerjilerini ortama (spin-lattice) vererek, önceki düşük enerjili durumlarına dönmeleri için geçen süredir. Longitudinal manyetizasyonun başlangıç değerinin % 63'üne düşmesi için geçen süreye T_1 *durulma zamanı* denir.

- T_2 durulma zamanı:

RF pulsu kesildikten sonra protonlar hep aynı hızda presesyon yapmaz. Zaman geçtikçe dipollerin dönüş hızlarında meydana gelen farklılıklar nedeniyle aralarında faz farkı oluşur. Böylelikle yatay düzlemdeki bileşenleri her yöne dağılan manyetik momentlerinin net toplamı hızla azalır. Dokunun yapısından kaynaklanan bu sinyal kaybının görüldüğü süreye T_2 *durulma zamanı* (spin-spin) denir. Bu süre transvers manyetizasyonun sıfıra düşmesi için geçen süre değil, 90 derece pulstundan hemen sonraki değerinin yaklaşık % 37'sine düşmesi için geçen süredir. Bu olay bir *serbest sönmüleme* (FID = free induction decay) olayıdır.

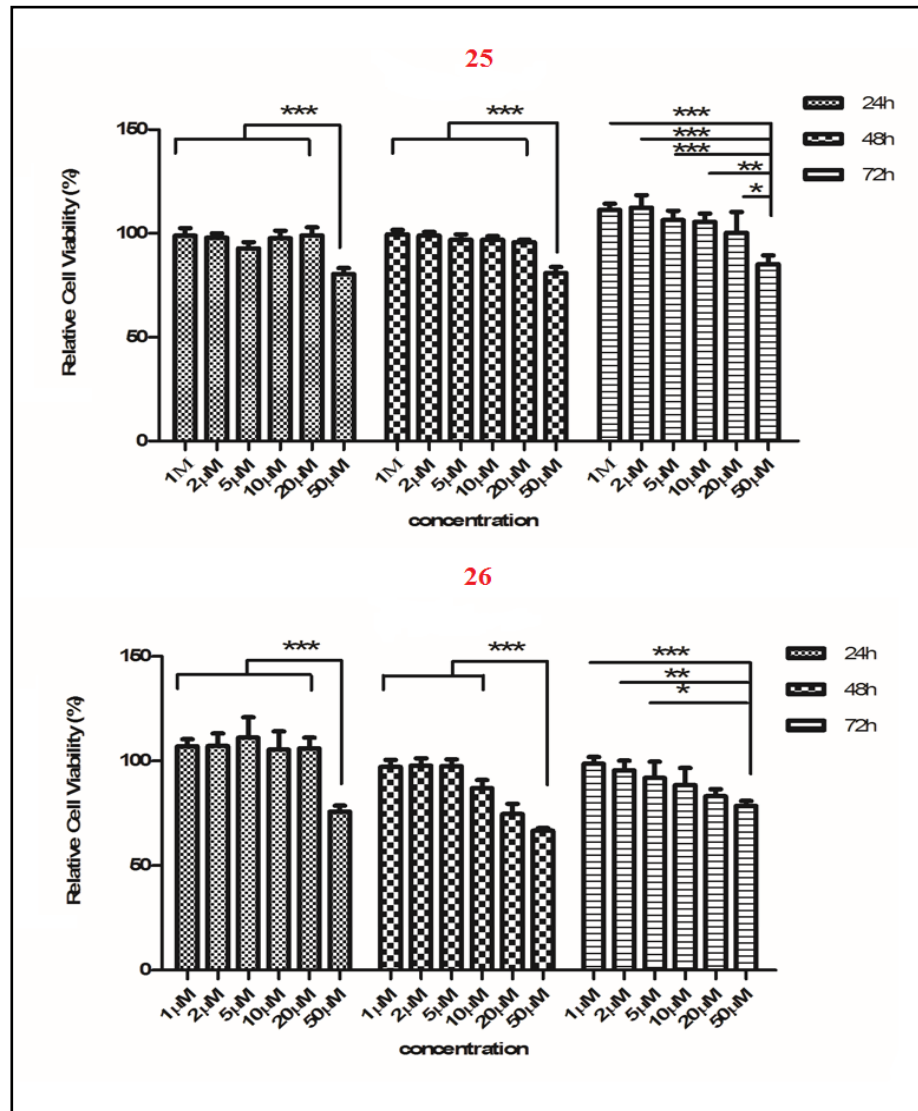
5.3. Suda Çözünür Gd-DOTA-Ftalosiyanın Bileşiklerinin Fotodinamik Aktiviteleri

Bu çalışmada sentezlenen suda çözünür **25** ve **26** numaralı Zn(II) ftalosiyanın bileşiklerinin fotodinamik aktivite çalışmaları Bilkent Üniversitesi UNAM Bölümünden Doç.Dr. Ayşe B. Tekinay ve grubu tarafından gerçekleştirilmiştir.

İki farklı suda çözünür Gd-DOTA grubu içeren Zn(II) ftalosiyanın bileşiklerinin MCF-7 (insan meme adenokarsinoma hücre hattı) hücrelerine karşı PDT aktiviteleri incelenmiştir. Bu çalışma ile ilgili detaylı bilgiler Ek-1'deki yayında yer almaktadır.

5.3.1. Suda Çözünür Gd-DOTA-Ftalosiyenin Bileşiklerinin Sitotoksite Çalışması

Sitotoksite deneyleri için MCF-7 (meme kanseri) hücre kültürleri seçilmiştir. Nicel ölçümler için standart Alamar mavisi testi uygulanmıştır. Hücreler karanlık ortamda bırakıldığında Ftalosiyenin bileşiği bulunmayanlarda ve olmayanlarda hücrelerin canlılığında herhangi bir değişim olmamıştır yani başka bir anlatımla karanlıkta sitotoksik etki oluşturmamıştır. Ftalosiyenin bulunan hücre kültürleri uygun dalga boyundaki ışık ile uyarılmış, ardından 24, 48 ve 72 saat inkübatörde inkübasyona bırakılmışlardır.

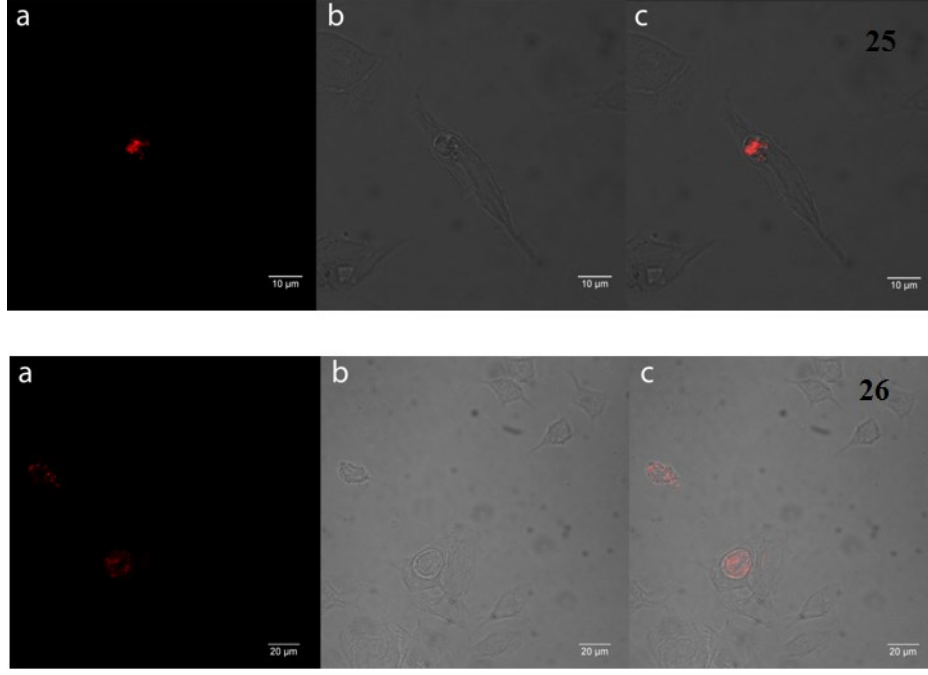


Şekil 5.2: 1-50µM aralığında artan 25 ve 26 ftalosiyenin konsantrasyonunun MCF-7 hücrelerinde canlılığa etkisi.

Işık ile uygulanan PDT sonrası elde edilen absorbans değerleri, karanlık toksisitesine ait absorbans değerleri ile karşılaştırıldığında 1, 5, 10, 20, 50 μM ftalosiyenin konsantrasyonları için sitotoksik etkinin 50 μM 'dan itibaren başladığı söylenebilir. Her iki Ftalosiyenin bileşiği de 50 μM konsantrasyonda hücre canlılığında %75'lik bir azalmaya neden olmuşlardır. Proliferasyon deneyleri sonuçlarına göre, suda çözünen Pc'lerin 96 kuyuluk plakların 200 μl 'lik kuyu hacmine bağlı olarak kullanılabilir en yüksek miktarı olan 20 μM 'lık konsantrasyonu ile uygun dalga boyunda ışığın kullanıldığı PDT'de MCF-7 hücrelerinde sitotoksik etki oluşturmamıştır. **25** ve **26** Ftalosiyenin bileşiklerinin bulunduğu ve ışınımına maruz kalan hücrelerin, hücre canlılık oranı büyük oranda azaldığı halde, yine ftalosiyenin bileşiklerinin bulunduğu ancak ışınımına maruz kalmayan hücrelerin, hücre canlılık oranında herhangi bir değişim olmamıştır.

5.3.2. Konfokal Lazer-Taramalı Mikroskobu ile Suda Çözünür Gd-DOTA-Ftalosiyenin Bileşiklerinin MCF7 Hücreleri Üzerine Etkilerinin Gözlenmesi

MCF-7 hücreleri 24 kuyulu petri kabına, her petri kabında 5×10^6 hücre/petri yoğunlukta olacak şekilde ekilmiş, **25** ve **26** numaralı ftalosiyenin bileşikleri suda çözülüp konsantrasyonu 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olacak şekilde seyreltilmiştir. Uzun inkübasyon periyoduna rağmen canlı hücre sayısında çok büyük oranda düşüş olduğu görülmüştür. Çalışmada Zeiss LSM-510 konfokal lazer tarama mikroskobu ve 488 nm'lik lazer kaynağı kullanılmıştır. Mikroskop incelemesi sonucu elde edilen görüntüler ile bileşik **25** ve **26**'nın hücreler içine lokalize olduğu ve tüm biyokütle yayıldığı görülmektedir (Şekil 5.3).

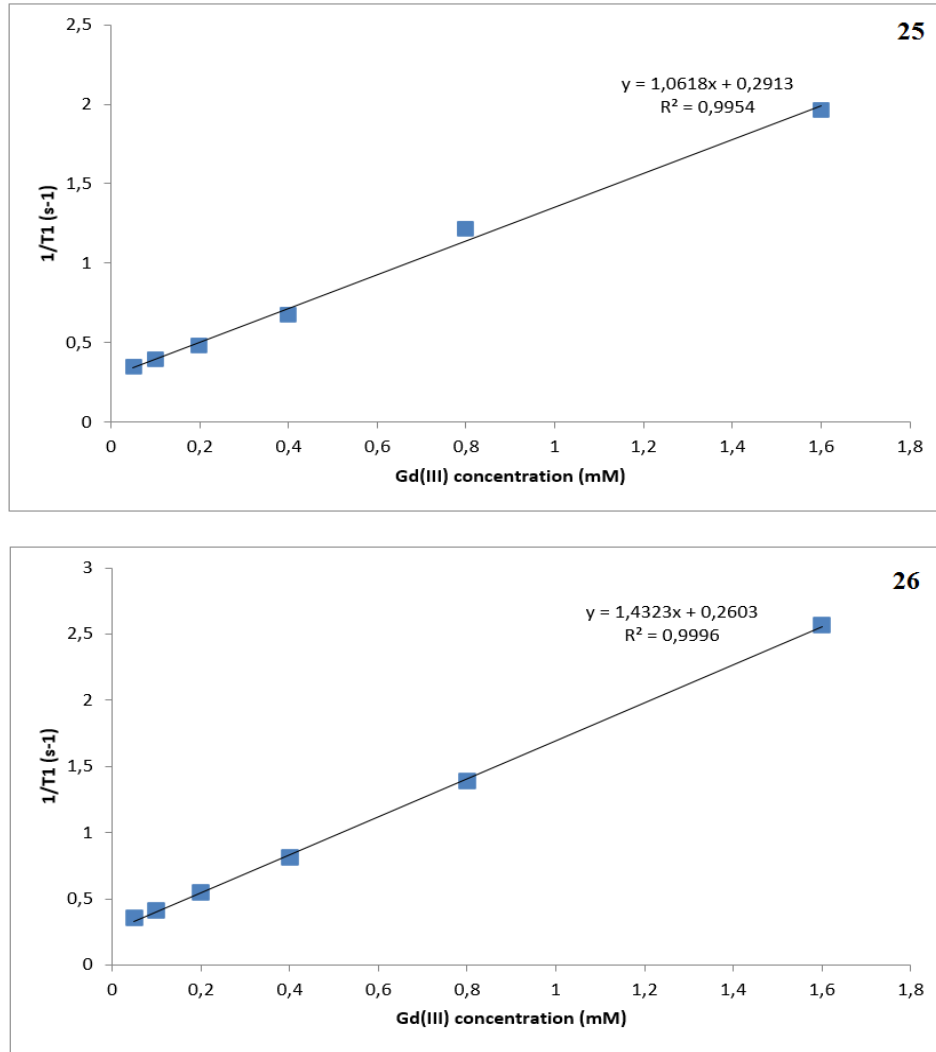


Şekil 5.3: a) MCF-7 hücrelerinin 10 μ M ftalosiyanın 25 ve 26 ile karanlıkta 37⁰C’de inkübe edildikten 24 saat sonraki konfokal mikroskobu görüntüleri b) DIC görüntüleri c) birleştirilmiş görüntüleri.

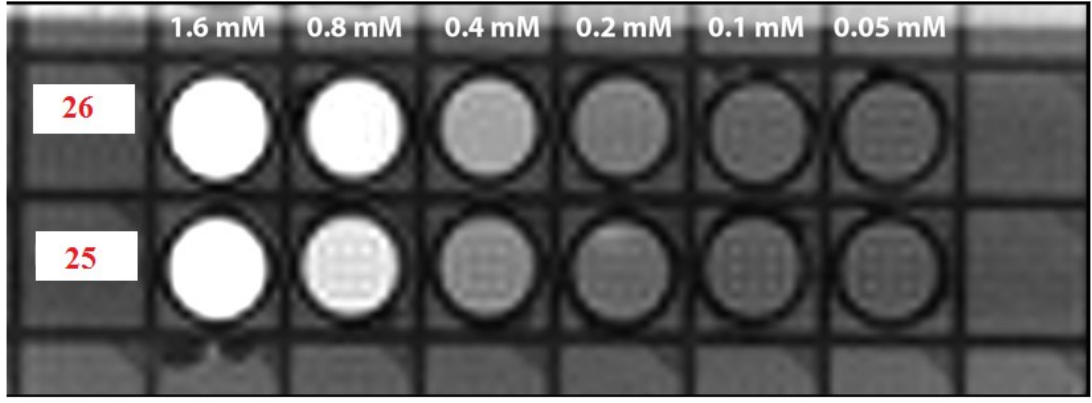
5.4. Suda Çözünür Gd-DOTA-Ftalosiyanın Bileşiklerinin Relaksivite Ölçümleri

Dokuların T₁ sürelerinin farklı olmasına bağlı olarak elde edilen görüntülere “T₁ ağırlıklı” görüntüler denmektedir. T₁ ajanlar, Gadolinyum ve mangan tuzlarından oluşmaktadır. T₁ relaksasyon süresini kısaltarak dokuların beyaz (parlak) görünmesine neden olurlar. T₂ ajanlar ise demir oksit içeren ajanlardır. T₂ relaksasyon süresini kısaltarak dokuların siyah olarak görünmesini sağlarlar. Sentezlenen ftalosiyanın bileşiklerinin yapılarında bulunan Gd metali, **25** ve **26** numaralı ftalosiyanın bileşikleri T₁ relaksasyon sürelerini kısaltarak etki etmiş ve elde edilen görüntülerin beyaz bir kontrast yaratmasına neden olmuştur. **25** ve **26** numaralı ftalosiyanın bileşiklerinin Longitudinal relaksiyon (1/T₁) oranları Gd³⁺ iyonlarının farklı konsantrasyonlarındaki (0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 ve 1.60 mM) sulu çözeltileri kullanılarak ölçülmüştür. Şekil 5.5’de açıkça görüldüğü gibi ftalosiyanın bileşiklerinin T₁ ağırlıklı görüntüleri bileşiklerinin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Her iki ftalosiyanın bileşiği için de en iyi kontrast (beyaz parlaklık) en yüksek konsantrasyonda elde edilmiştir. Ftalosiyanın bileşiklerinin T₁

relaksivite (r_1), Longitudinal relaksiyon ($1/T_1$) oranlarının Gd^{3+} iyonlarının konsantrasyonuna karşı çizilen grafiğinin eğiminden hesaplanmıştır (Şekil 5.4). Bu relaksivite değerleri (r_1) **25** numaralı bileşik için $1.06 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, **26** numaralı bileşik içinse $1.43 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Referans olarak 3.23 relaksivite (r_1) değerine sahip omniscan kullanılmıştır. Gd-DOTA-ftalosiyenin bileşiklerinden elde edilen bu düşük relaksivite değeri bileşiklerin yapısında bulunan amid fonksiyonlarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Bu amid grupları Gd^{3+} iyonuna bağlanan su molekülü oranını azaltıcı yönde etki etmiş, bundan dolayı suyun bağlanma hızını azaltmış olabileceği sonucuna varılmıştır. Yine de bulunan değerler bu moleküllerin MRG’de kullanılabilir olduklarını göstermektedir.



Şekil 5.4: 25 ve 26 Bileşiklerinin relaksiyon zamanına karşı Gd(III) konsantrasyonu grafiği.



Şekil 5.5: 25 ve 26 Bileşiklerinin T₁ ağırlıklı görüntüleri.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, gerek kanser teşhisinde gerekse tedavisinde teranostik amaçlı kullanılacak yeni çok fonksiyonlu Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Gd-DOTA grupları taşıyan bu yeni bileşikler singlet oksijen üretimi açısından oldukça verimlidir. Ayrıca bu yeni sentezlenen suda çözünür fotosensitizerler düşük konsantrasyonlarda bile yüksek sitotoksite göstermiştir.

Laboratuvarımızda geliştirip detaylı olarak karakterize etmiş olduğumuz teranostik moleküllerin *in vitro* PDT aktiviteleri ve MRG özelliklerinin incelenmesi ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda yaşamı tehdit eden kanser gibi çok önemli hastalıkların tedavisi ve erken teşhisi gibi önemli bir sorunun çözümüne bir nebze de olsa katkıda bulunmuş olacağımız kanaatindeyiz.

Asimetrik ftalosiyanın sentezi genel olarak iki farklı yol izlenerek yapılabilir. Bunlardan biri istatistiksel metod kullanılarak diğeri ise subftalosiyanın sentezi üzerinden gerçekleşen yöntemlerdir. Bu çalışmada istatistiksel metodla asimetrik ftalosiyanın sentezleri gerçekleştirmeye karar verilmiştir. Bunun nedenlerinden biri kullanılacak asitli, polioksoetilen gruplu ve azitli ftalonitril türevlerinin sentezlerinin kolay olması, diğeri ise istatistiksel metodla tek basamakta asimetrik ftalosiyanın bileşiklerinin sentezlerinin gerçekleşebilmesidir. Subftalosiyanın üzerinden hedeflenen asimetrik ürünün eldesi için gereken reaksiyonlar iki basamakla beraber bu metod hem uzun zaman alabilir hemde saflaştırma işlemleri zorlaşabilirdi. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu subftalosiyanın yönteminin, hem reaksiyon koşullarına hem de başlangıç maddelerinin özelliklerine oldukça bağlı olduğunu göstermiştir. Kobayashi ve grubu yaptıkları çalışmalarında [126] subftalosiyanın yaklaşımı ile asimetrik ftalosiyanın sentezinde, süstitüent gruba bağlı olarak elde edilen verimlerin değiştiğini, en yüksek verimler ve en iyi seçicilik, subftalosiyanın hiçbir süstitüent taşımadığı veya elektron çekici gruplar ile diiminoizindolin türevinin elektron veren süstitüentlere sahip olması durumunda elde edildiğini göstermişlerdir. Bu literatür bilgileri göz önüne alınarak tez çalışmasında asimetrik ftalosiyanın bileşiklerinin sentezleri istatistiksel metod kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışmasında, ftalonitrillerin 1:9 oranında kullanılmasıyla gerçekleşen istatistiksel kondenzasyon yönteminde iki ftalosiyanın (**AB3** ve **B4**) türevi istenildiği gibi yüksek oranda elde

edilmiş bu da bize diğer istatistiksel ürünlerin oluşumunun en aza indirgenmesinde ve saflaştırma işlemlerinde kolaylık sağlamıştır. Ayrıca Regioselektif yöntemle okta süstitüe ftalosiyanın bileşiklerinin sentezleri gerçekleştirilmiş ve izomerlikten kaynaklanabilecek zorlukların önüne geçilmiştir. Elde edilen ftalosiyanınlerde verimler % 15 ve % 66 arasında değişmektedir. Asimetrik ftalosiyanınlerin beklenildiği gibi verimleri simetrik ftalosiyanınlere göre daha düşüktür.

Bütün Ftalosiyanın bileşiklerinin yapıları kütle spektrometresi, FT-IR, ¹H NMR ve ¹³C NMR ölçümlerinden elde edilen bilgilerle aydınlatılmıştır. UV- Vis ölçümleri bakımından tüm asimetrik ve simetrik ftalosiyanın moleküllerinin DMSO içinde agregasyona uğramadığı, monomerik davranış gösterdiği gözlenmiştir.

Çalışmamız sonucunda suda çözünebilen iki adet Zn(II) ftalosiyanın bileşiği sentezlenmiştir. Bu suda çözünür Zn(II) ftalosiyanın bileşiklerinin (**25**, **26**) MCF-7 hücrelerine karşı PDT aktivitesi *in vitro* testlerle incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda süstitüentin değişmesiyle fotosensitizerin PDT aktivitesi üzerine etkisi gözlemlenmesi amaçlanmış ve her iki ftalosiyanın bileşiğinin de oldukça umut verici fotofiziksel ve fotokimyasal ölçüm değerlerine sahip oldukları gözlemlenmiştir.

Gd-DOTA-ftalosiyanın bileşiklerinin ölçülen relaksivite değerleri, bu moleküllerin T₁ kontrast ajanı olarak kullanılacaklarını göstermiştir. Yapılan çalışmalarda her iki bileşiğinde MRG'de T₁ ağırlıklı görüntüler oluşturabilecek kontrastlığı yaratabildiği gözlemlenmiştir.

Bu sonuçlardan çıkan bilgiler ışığında farklı sayıda Gd-DOTA grubu içeren ftalosiyanınler sentezlenerek görüntüleme ve kanser hücrelerine karşı daha etkin suda çözünebilen fotosensitizerler geliştirilebilmektedir. Bu amaçla ilk etapta farklı sayıda Gd-DOTA grubu içeren Zn(II) ftalosiyanın bileşiklerinin sentez çalışmalarına başlamış bulunmaktayız.

7. DENEYSEL KISIM

7.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

^1H ve ^{13}C NMR spektrumları Varian 500 MHz Spectrometer cihazları ile alınmıştır. Elektronik absorpsiyon spektrumları Shimadzu Shimadzu 2001 UVPc Spektrofotometre cihazı ile kaydedilmiştir. Absorpsiyon ölçümleri 25°C ' de, 1×0.5 cm²'lik dikdörtgen quartz kuvvetler ile alınmıştır. Floresans ölçümleri Varian Cary Eclipse Spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Kütle analizlerinde Bruker MicrOTOF ESI-TOF ve Bruker Microflex-LT MALDI-TOF MS cihazları kullanılmıştır. ICP-MS ölçümleri Thermo X series II. Cihazı ile kaydedilmiştir. FTIR analizleri Perkin Elmer 100 FTIR spektrometre ile ölçülmüştür. EPR ölçümleri Jeol JES FA 300 X-bandspektrometre (8.96 GHz) cihazı ile yapılmıştır. Spektrumlar kloroform içinde oda sıcaklığında alınmıştır. MRG relaksivite değerleri 37°C 'de Siemens 3T TIMTrio Scanner (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany) cihazı kullanılarak hesaplanmıştır.

Kimyasallar ve çözücüler Aldrich ve Sigma'dan alınmış, saflaştırmaya gerek olmadan kullanılmıştır. Bütün ürünlerin kolonları Merck Silica Gel 60 (partikül büyüklüğü: 0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM) kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyonlar ince tabaka kromatografi yöntemi ile Merck Silica Gel 60 Kiesel gel F254 TLC Aluminum Sheets 20x20 cm kullanılarak izlenmiştir.

PDT çalışmalarında MCF7 hücresi kullanılmıştır. Taşıdıkları hastalık ise kronik meme kanseridir. Bu çalışma Bilkent Üniversitesi UNAM araştırma merkezinde gerçekleştirilmiştir.

7.2. Alamar Mavisi Testi

Alamar mavisi boyası ile metabolik aktivitenin belirlendiği dolayısıyla hücre canlılığı ve proliferasyonunun değerlendirildiği florometrik (floresan ölçümü ile)/kolorimetrik bir test yöntemidir. MTT testine göre pahalı bir yöntemdir ancak renk değişiklikleri bu yöntemde hem florometrik hem de spektrofotometrik olarak

tespit edilir. Ayrıca bu boya toksik olmadığından hücre canlılığı değerlendirilmelerinde birden fazla boyama imkanı sağlar.

7.3. Hücre Kültürü

İnsan meme adenokarsinoma hücre hattı (MCF-7), içerisinde 0,2 mM L-Glutamin ve % 10 ısı ile inaktive edilmiş FBS (Fetal Calf Serum) içeren DMEM medyumu içerisinde, 37°C'de %5 CO₂ atmosferinde büyütüldü.

7.4. Relaksivite Ölçümleri

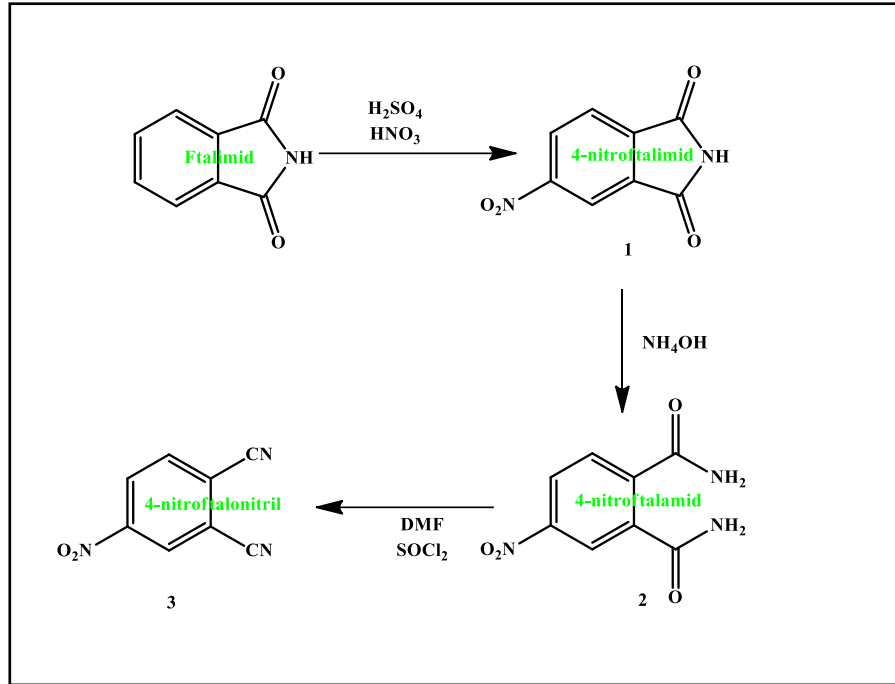
Relaksivite ölçümleri Siemens 3T TIMTrio Scanner cihazı ile 37°C'de gerçekleştirilmiştir. Moleküllerdeki paramanyetik Gd(III) kompleksinin varlığı protonların longitudinal relaksasyon zamanlarını uzatarak T₁ ağırlıklı görüntü oluşturmalarını sağlamıştır. Gd (III) komplekslerinin 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 ve 1.60 mM'lık sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Spin eko sekanslarının birden çok kez tekrarlanması her numunenin piksel-piksel T₁ haritalarını elde etmek için kullanılmıştır. Bu çalışmadaki Gd(III) komplekslerinin MRG kapasiteleri 3T cihazda ölçülürken nokta çözünürlüğü: 1mm, Echo Time (TE) : 7.8 ms, Repetition Time (TR): 50,100,200,500,1000,2000,7000 ms olarak kullanılmıştır. T₁ değerleri aşağıdaki eşitlik 7.1 kullanılarak Matlab da hesaplanmıştır.

$$f(t) = a(1 - e^{-t/T_1}) + c \quad (7.1)$$

Ftalosiyanın bileşiklerinin T₁ relaksiviteleri (r₁), Longitudinal relaksasyon (1/T₁) oranlarının Gd³⁺ iyonlarının konsantrasyonuna karşı çizilen grafiğinin eğiminden hesaplanmıştır.

7.5. Başlangıç Maddelerinin ve Ftalosiyanın Bileşiklerinin Sentezi

7.5.1. 4-Nitroftalonitril (3) Sentezi



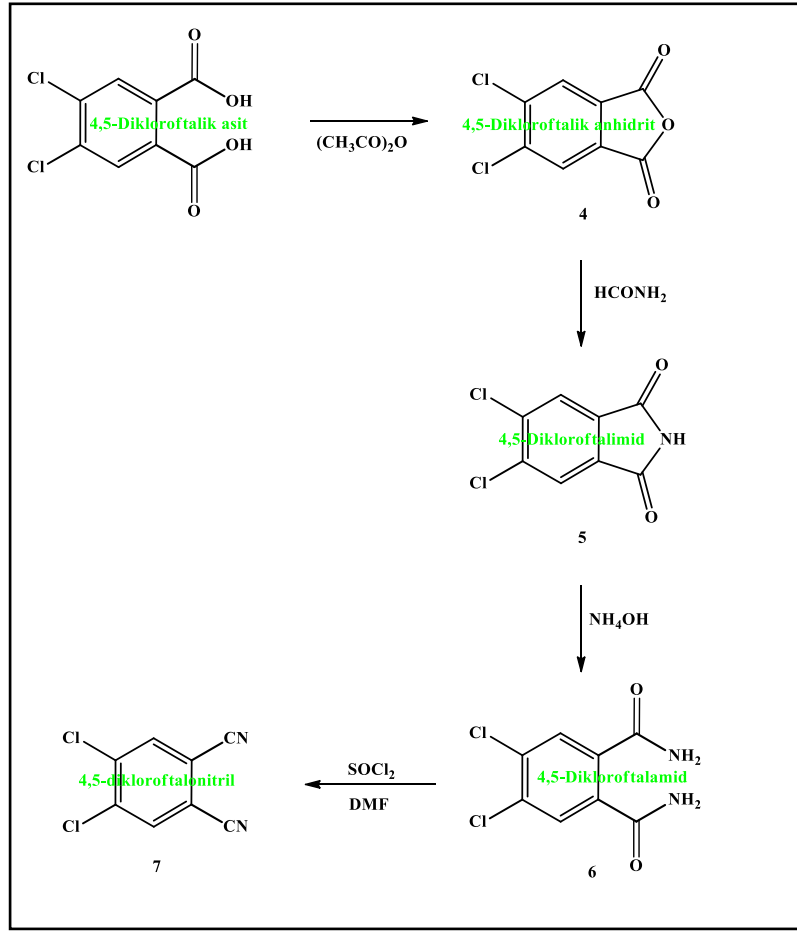
Şekil 7.1: 3 Numaralı bileşiğin sentezi.

İlk basamakta, 400 ml H_2SO_4 bir beher içerisinde konuldu ve üzerine 100 ml %65'lik HNO_3 yavaş yavaş ilave edildi. Bu karışım 15°C ' ye soğutulduktan sonra 80g (0.544 mol) ftalimid küçük porsiyonlar halinde ilave edildi. Karışım 35°C 'de 1 saat karıştırıldıktan sonra 0°C 'ye soğutuldu. Daha sonra karışım 1kg buzun üzerine sıcaklık 15°C 'nin üzerine çıkmayacak şekilde yavaş yavaş ilave edildi. Oluşan çökelti G3 filtreden süzüldü ve madde önce %5' lik NaHCO_3 çözeltisiyle, daha sonra bol soğuk su ile yıkandı. Ele geçen katı madde 1,5 lt etanolde ısıtılarak çözüldü ve kristallendirildi. Elde edilen açık sarı renkli kristal madde vakum etüvünde 60°C 'de kurutuldu. Kapalı formülü $\text{C}_8\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_4$ (MW: 192.13 g/mol) olan 4-nitroftalimid (1) bileşiği için erişilebilen verim (91g) %86'dır. E.N. : $197-199^\circ\text{C}$, literatür de bulunan değer $194-195^\circ\text{C}$ [127].

İkinci basamakta, 4-nitroftalimid (**1**) (5 g, 0.026 mol) %25'lik NH₄OH (35 mL) içinde 24 saat karıştırıldı. Oluşan çökelti süzüldü ve saf suyla nötral oluncaya kadar yıkandı. Beyaz çökelti THF (150 mL) de 50 °C de karıştırıldı ve süzüldü. Beyaz renkli katı vakum etüvünde 60 °C'de kurutuldu. Kapalı formülü C₈H₇N₃O₄ (MW: 209.16 g/mol) olan 4-nitroftalamid (**2**) bileşiği için erişilebilen verim (6.95 g) %55'dir. E.N. : 198 -199 °C, literatür de bulunan değer 197 °C [127].

Son basamakta, kuru DMF (250 mL) üç boyunlu bir balonda argon gazı altında buz banyosunda 0 °C'ye soğutuldu ve soğutulan bu çözücüye tiyonil klorür (28.4 mL) yavaş yavaş eklendi ve 10 dakika karıştırıldı. Daha sonra 4-nitroftalamit (**2**) (19.6 g) sıcaklık 5 °C yi geçmeyecek şekilde azar azar ilave edildi. 45 dakika buz banyosunda, 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Sonra 500 g buzlu suya döküldü. Çökelti süzüldü ve önce suyla, sonra sodyum bikarbonat (250 mL, %5) çözeltisiyle, son olarak yine suyla yıkandı. EtOH kullanılarak kristallendirildi. 60 °C'deki vakum etüvünde kurutuldu. Kapalı formülü C₈H₃N₃O₂ (MW: 173.13 g/mol) olan 4-nitroftalonitril (**3**) bileşiği için erişilebilen verim (28.5g) 98%' dir. E. N. : 138 -141 °C, literatür de bulunan değer 141 °C [127].

7.5.2. 4,5-Dikloroftalonitril (7) Sentezi



Şekil 7.2: 7 Numaralı bileşiğin sentezi.

İlk basamakta, 100 mL'lik reaksiyon balonuna 30 g (0.127 mol) 4,5-dikloroftalik asit ve 50 mL asetik anhidrit konulur. Reaksiyon karışımı 140°C sıcaklıkta 5 saat geri soğutucu altında karıştırılır. Karıştırma işlemi bittikten sonra oluşan asetik asit bir yatık soğutucu yardımıyla distillenir. Katı madde G3 filtreden süzülür. Önce saf suyla daha sonra dietilerle yıkanır. Elde edilen gri-beyaz ürün vakum etüvünde 65°C de kurutulur. Verim % 97. Beyaz-gri katı

Kapalı formülü $\text{C}_8\text{H}_2\text{Cl}_2\text{O}_3$ (MW: 217.01 g/mol) olan 4,5-dikloroftalik anhidrit (4) bileşiği için erişilebilen verim (26.6 g) 97%' dir. E. N. : $182-184^\circ\text{C}$, literatür de bulunan değer $184-186^\circ\text{C}$ [114].

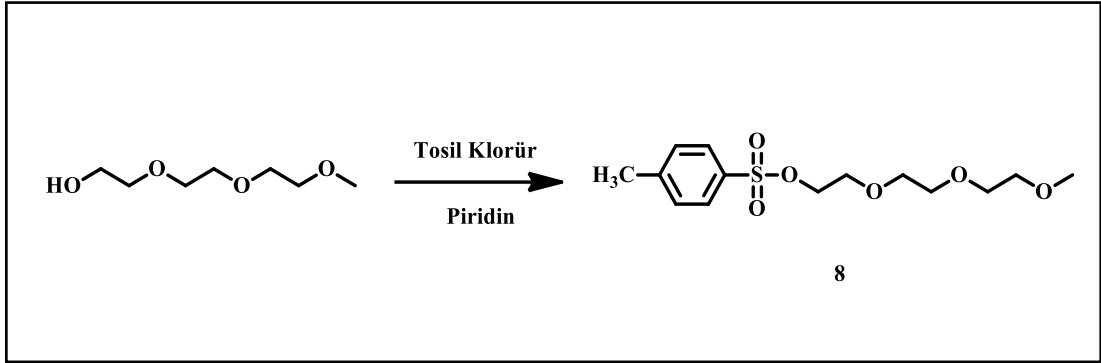
İkinci basamakta, 100 mL'lik reaksiyon balonuna koyulan 25 g (0,115 mol) 4,5-dikloroftalik anhidrit (4), 35 mL formamid içerisinde geri soğutucu altında üç saat karıştırılır. Karıştırma işlemi bittikten sonra karışım oda sıcaklığına soğutulur.

Oluşan çökelti G3 filtreden süzülür ve ele geçen katı madde saf suyla yıkanır. Elde edilen katı madde vakumda P₂O₅ üzerinde kurutulur. Kapalı formülü C₈H₃Cl₂O₂N (MW: 216.01 g/mol) olan 4,5-dikloroftalimid (**5**) bileşiği için erişilebilen verim (20.6 g) 83%' dür. E. N. : 195 °C, literatür de bulunan değer 193-195 °C [114].

Üçüncü basamakta, 500 mL'lik reaksiyon balonuna 20,6 g (0,095 mol) 4,5-dikloroftalimid (**5**) ve 170 mL %32 'lik NH₄OH çözeltisi koyulur. 2 saat karıştırıldıktan sonra 130 mL %25 'lik NH₄OH çözeltisi ilave edilir. Karıştırmaya oda sıcaklığında 24 saat devam edilir. Reaksiyon karışımı G3 filtreden süzülür ve soğuk saf suyla yıkanır. Alınan beyaz çökelti 150 mL THF ile karıştırılır ve G3 filtreden süzülür. Elde edilen beyaz renkli katı madde vakum etüvünde 60°C'de kurutulur. Kapalı formülü C₈H₆Cl₂O₂N₂ (MW: 233.06 g/mol) olan 4,5-dikloroftalamid (**6**) bileşiği için erişilebilen verim (12.4 g) 56%' dir. E. N. : 244 °C, literatür de bulunan değer 245-247 °C [114].

Son basamakta, 500 mL'lik üç boyunlu reaksiyon balonu içerisine argon atmosferinde 62 mL DMF konulur. Reaksiyon balonu buz banyosu üzerine yerleştirilerek 0°C ye soğutulur. Reaksiyon karışımı üzerine 44 mL tiyonil klorür sıcaklık 5°C yi geçmeyecek şekilde yavaş yavaş ilave edilir. İlave işlemi bittikten sonra karışım 10 dakika oda sıcaklığında karıştırılır. Bu karışım üzerine 12,4 g (0.053 mol) 4,5-dikloroftalamid (**6**) sıcaklık 5°C yi geçmeyecek şekilde yavaş yavaş ilave edilir. İlave işlemi bittikten sonra reaksiyon karışımı 4 saat buz banyosunda, bir gecede oda sıcaklığında karıştırılır. Daha sonra 600 g buz üzerine yavaş yavaş dökülür. Buzlar tamamen eridikten sonra oluşan katı madde G3 filtreden süzülür. Ele geçen katı madde önce %5' lik NaHCO₃ çözeltisiyle daha sonra bol soğuk su ile yıkanır. Elde edilen açık sarı renkli katı madde etüvde 65°C de kurutulur. Kapalı formülü C₈H₂Cl₂N₂ (MW: 197.02 g/mol) olan 4,5-dikloroftalonitril (**7**) bileşiği için erişilebilen verim (7.9 g) 75%' dir. E. N. : 185 °C, literatür de bulunan değer 182-184 °C [114].

7.5.3. Tri(etilen glikol) monometil eter tosilat (8) Sentezi

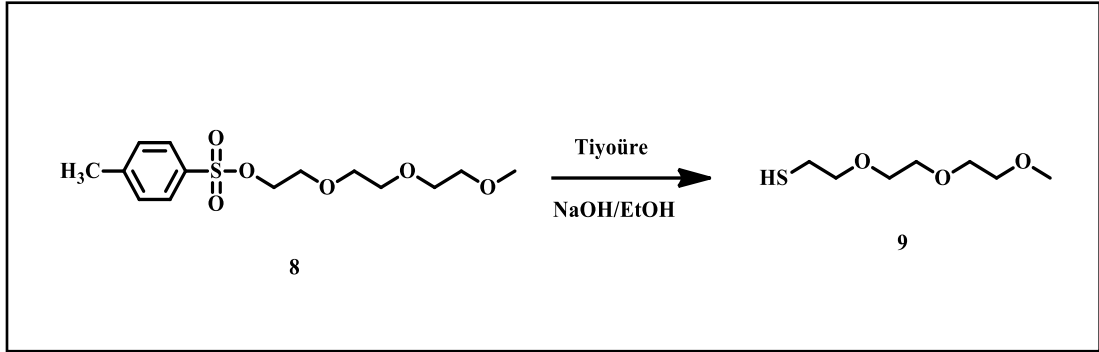


Şekil 7.3: 8 Numaralı bileşiğin sentezi.

Tri(etilen glikol) monometil eter tosilat (8) bileşiği literatüre uygun olarak sentezlenmiştir [128]. Reaksiyon balonunda 30 g (0.18 mol) Tri(etilen glikol) monometil eter 210 ml piridin içerisinde çözünür. Reaksiyon ortamı buz banyosu ile 0 °C'ye soğutulur. Soğutulan reaksiyon ortamına 120 ml piridin içerisinde çözülmüş 42 g (0.22 mol) p-toluen sülfonil klorür damlatma hunisi ile damla damla eklenir. Damlatma sona erdikten sonra reaksiyon 15 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı buza dökülür ve nötral oluncaya kadar %37'lik HCl ilave edilir. Nötralleşme işlemi sonunda karışım dietil eter ile ekstrakte edilir. Organik faz MgSO₄ ile kurutulur. Dietil eterin uzaklaştırılması ile yağimsı renksiz ürün elde edilir. Elde edilen ürünün yapısı IR spektrumunu ile desteklenmiştir. Kapalı formülü C₁₄H₂₂SO₆ (MW: 318.39 g/mol) olan bileşiğin erişilebilen verimi (32.5 g) %57'dir.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3040 (Aromatik C-H Gerilmeleri), 2876 (Alifatik C-H Gerilmeleri), 1598 (C=C Gerilmesi), 1350-1175 (O=S=O Gerilmesi).

7.5.4. 1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan (9) Sentezi

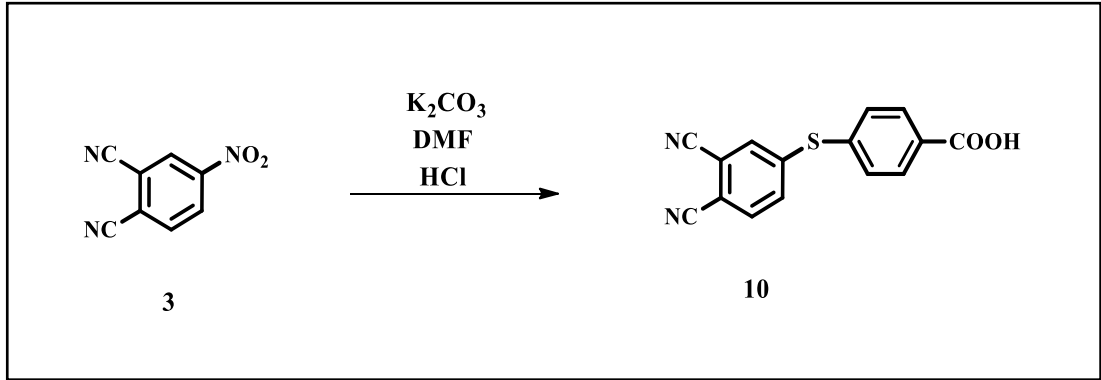


Şekil 7.4: 9 Numaralı bileşiğin sentezi.

1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan (9) bileşiği literatüre uygun olarak sentezlenmiştir [128]. Reaksiyon balonunda 13.92 g (0,18 mol) tiyöüre, 132 ml kuru Etanol içinde geri soğutucu altında karıştırılır. Reaksiyon ortamına 32.5 g (0.102 mol) Tri(etilen glikol) monometil eter tosilat (8) eklenir. Reaksiyon karışımı 48 saat geri soğutucu altında karıştırılır. Bu süre sonunda solventin yarısı distillenerek uzaklaştırılır. Degaze edilmiş 6.5 g (90 ml su içerisinde) NaOH çözeltisi reaksiyon ortamına eklenir. Reaksiyon karışımı 6 saat daha geri soğutucu altında kaynatılır. Daha sonra reaksiyon oda sıcaklığına soğutulur ve 6N HCl ile reaksiyon ortamı hafif asidik hale getirilir. Reaksiyon karışımı 3x200 ml Dietil eter ile ekstrakte edilir. Dietil eter fazı Na₂SO₄ ile kurutulur. Eter distillenerek uzaklaştırıldıktan sonra ürün vakum distilasyonu ile 70-72 °C / 5 mbar'da elde edilir. Distilleme sırasında inek memesi kullanılarak, oluşan ara ürün ayrıca toplanır ve uzaklaştırılır. Kapalı formülü C₇H₁₆O₃S (MW: 180.27 g/mol) olan 1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan (9) bileşiği için erişilebilen verim (11.3 g) 62%' dir.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 2960-2840, 2560(SH), 1460, 1350, 1250, 1200, 1140-1110.
- **ESI-MS:** Hesaplanan (C₇H₁₆O₃S) [M]⁺ 180.27 m/z, Bulunan (C₇H₁₆O₃SNa) [M+Na]⁺ 203.088 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ ppm):** 2.19 (s, 1H, SH), 3.25 (s, 3H, OCH₃), 3.43-3.54 (m, 10H, OCH₂C), 2.61 (t, 2H, S(CH₂)).
- **¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ ppm):** 23.28 (SCH₂), 57.88 (OCH₃), 68.55, 69.32, 69.49, 69.65, 71.17, 72.03 (-CH₂-).

7.5.5. 4-[(3,4-disiyanofenil)sülfanil]benzoik asit (**10**) Sentezi

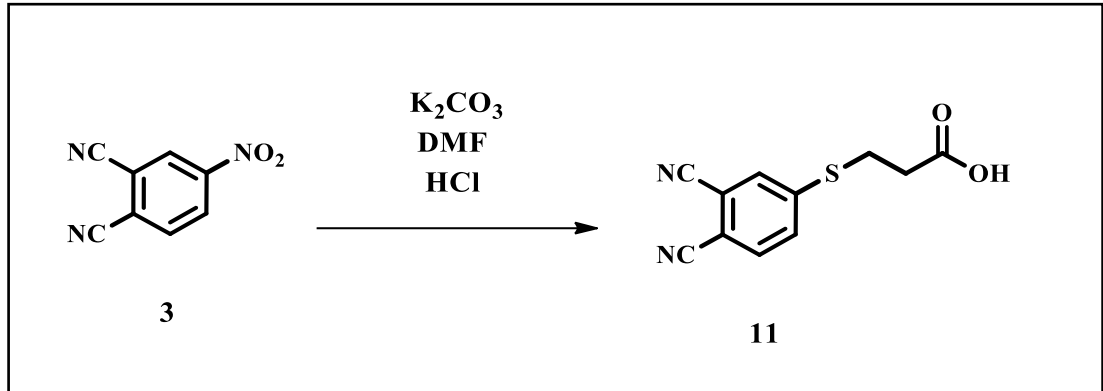


Şekil 7.5: 10 Numaralı bileşiğin sentezi.

0.5 g (2.89 mmol) 4-Nitroftalonitril (**3**) ve 0.49 g (3.18 mmol) 4-merkaptobenzoik asit azot atmosferi altında 20 ml kuru DMF içine ilave edilip bir süre karıştırılır. Daha sonra karışıma 0.88 g (6.36 mmol) kuru K₂CO₃ ilave edilir. Açık krem renkli karışım 5 dakika oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra sıcaklık 60⁰C ye çıkarılır ve 2 saat bu sıcaklıkta karıştırmaya devam edilir. Daha sonra karışım oda sıcaklığına soğutulur ve daha önceden derişik HCl ile pH=1 olarak ayarlanmış buz-su banyosuna dökülür. Bu esnada krem renkli katılar çöker. Bir miktar yükselen pH derişik HCl çözeltisi ile tekrar 1 yapılır. 1 saat kadar bekledikten sonra bu karışım süzülür, su ile pH nötr olana kadar yıkanır. Bir gece oda sıcaklığında kuruyan ürün bir gün de vakum etüvünde kurutulur. Etüvde kurutulan kirli krem renkli ürün metanol-su ile tekrar kristallendirilir ve sonra tekrar süzülüp kurutulur. Kapalı formülü C₁₅H₈N₂O₂S (MW: 280.30 g/mol) olan 4-[(3,4-disiyanofenil)sülfanil]benzoik asit (**10**) bileşiği için erişilebilen verim (0.525 g) 65%' dir. E.N.: 196⁰C, literatürde bulunan değer 198 ⁰C [116].

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3088, 2847, 2673, 2553, 2231(CN), 1686(CO), 1581, 1424, 1285, 1185, 1013, 845, 759₂
- **ESI-MS:** Hesaplanan (C₁₅H₈N₂O₂S) [M]⁺ 280.30 m/z, Bulunan [M-H]⁺ 279.00 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, d₆-Aseton, δ ppm):** 7.99 (d, 1H, CN), 7,87 (d, 1H, CN), 7.78 (s, 1H, CN), 7.61-7.57 (m, 4H, COOH).

7.5.6. 3-[(3,4-disiyanofenil)sülfanil]propionik asit (**11**) Sentezi

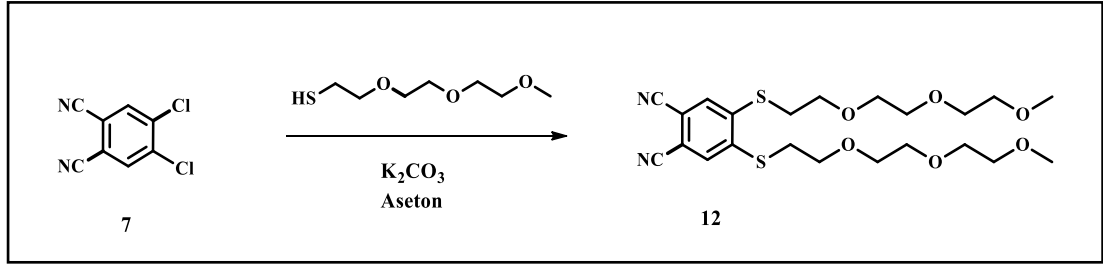


Şekil 7.6: 11 Numaralı bileşiğin sentezi.

1.5 g (8.66 mmol) 4-nitroftalonitril (**1**) ve 0.85 ml (9.53 mmol) 3-merkaptopropionik asit azot atmosferi altında 30 ml kuru DMF içine ilave edilip bir süre karıştırılır. Daha sonra karışıma 2.63 g (19.08 mmol) kuru K_2CO_3 ilave edilir. Sarı-krem renkli karışım 5 dakika oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra sıcaklık $60^\circ C$ ye çıkarılır. İlk 30 dakika süresince renk açık yeşile döner ve bu şekilde kalır. 3 saat bu sıcaklıkta karıştırılmaya devam edilir. Daha sonra karışım oda sıcaklığına soğutulur ve daha önceden derişik HCl ile pH=1 olarak ayarlanmış buz-su banyosuna dökülür. Bu esnada yeşil renk kaybolur ve krem renkli katılar çöker. Bir miktar yükselen pH derişik HCl çözeltisi ile tekrar 1 yapılır. 1 saat kadar bekledikten sonra bu karışım süzülür, su ile pH nötr olana kadar yıkanır. Bir gece oda sıcaklığında kuruyan ürün bir gün de vakum etüvünde kurutulur. Kapalı formülü $C_{11}H_8N_2O_2S$ (MW: 232.25 g/mol) olan 3-[(3,4-disiyanofenil)sülfanil]propionik asit (**11**) bileşiği için erişilebilen verim (1.30 g) 65%' dir. E.N.: $136^\circ C$, literatürde bulunan değer $134^\circ C$ [116].

- **FT-IR (cm^{-1}):** 3105, 3028, 2962, 2922, 2575, 2233(CN), 1707(CO), 1584, 1400, 1242, 1071, 922, 839 .
- **ESI-MS :** Hesaplanan ($C_{15}H_8N_2O_2S$) $[M]^+$ 232.25 m/z, Bulunan $[M-H]^+$ 231.00 m/z.
- **1H NMR (500 MHz, d_6 -Aseton, δ ppm):** 7.87 (s, 1H, Ar), 7.81 (d, 1H, Ar), 7.69 (s, 1H, Ar), 3.31 (t, 2H, CH_2), 2.65 (t, 2H, CH_2).

7.5.7. 4,5- Bis(4,7,10-trioksaundekan-1-sulfanil) Ftalonitril (12) Sentezi

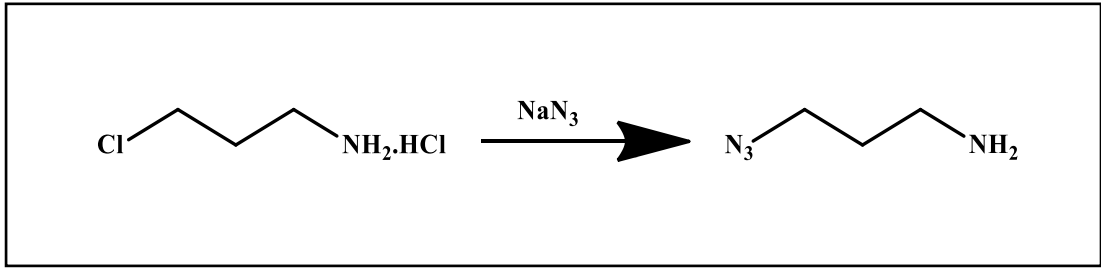


Şekil 7.7: 12 Numaralı bileşiğin sentezi.

100 ml'lik bir reaksiyon balonuna 60 ml aseton konular. Üzerine 1-merkapt-4,7,10-trioksaundekan (9) (4 g, 0,022 mol) ve 4,5-dikloroftalonitril (7) (8g, 0,044 mol) eklenir. Reaksiyon karışımına kuru K₂CO₃ (8 g, 0,058 mol) argon atmosferi altında yavaş yavaş ilave edilir. K₂CO₃ ekleme işlemi bittikten sonra karışım oda sıcaklığında 2 gün karıştırılır. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı ortamdaki tuzlardan kurtulmak için G3 filtereden süzülür ve süzülen kısımda çözücü distillenir. Elde edilen sıvı ürüne TLC bakılır (silika jel, 25/1:DCM/MeOH). Elde edilen sıvı madde silica jel ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce diklorometan daha sonra CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH (50/1) kullanılarak kirliliklerden ayrılır. Kapalı formülü C₂₂H₃₂N₂O₆S₂ (MW: 484.64g/mol) olan 4,5-bis(4,7,10-trioksaundekan-1-sülfonil) ftalonitril (12) bileşiği için erişilebilen verim (4.21 g) 41%' dir [128].

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3079, 2940-2840, 2229 (CN) , 1566, 1459, 1350, 1272, 1228, 1101, 1027, 930, 849.
- **ESI-MS:** Hesaplanan (C₂₂H₃₂N₂O₆S₂) [M]⁺ 484.64 m/z, Bulunan [M+Na]⁺ 507.30 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ ppm):** 7.62 (s, 2H, Ar-H), 3.80 (t, 4H, OCH₂), 3.72-3.54 (m, 16H, S(OCH₂C)), 3.38 (s, 6H, OCH₃), 3.22 (t, 4H, S(CH₂)).
- **¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ ppm):** 143.95 (Ar-C), 129.27 (Ar-CH), 111.22 (Ar-CH), 115.50 (CN), 71.89, 70.75, 70.25, 69.34 (-CH₂-), 59.04 (OCH₃), 32.62 (SCH₂).

7.5.8. 1-Azido-3-propil amin (13) Sentezi

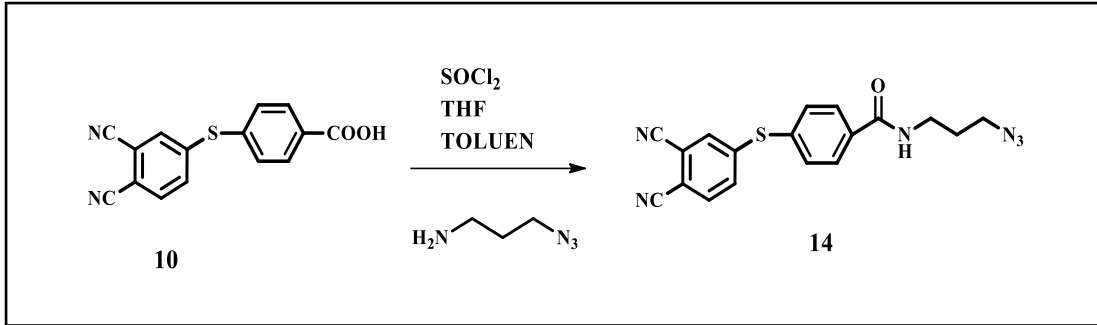


Şekil 7.8: 13 Numaralı bileşiğin sentezi.

6.5 g (0.05 mol) 1-kloro-3-aminopropanhidroklorür ve 9.75 g (0.15 mmol) sodium azid (NaN_3) 50 ml su içerisinde $80\text{ }^\circ\text{C}$ de 15 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılır. Daha sonra suyun bir kısmı vakum altında distillenir ve geri kalan kısım buz banyosunda soğutulur. Soğutulan bu karışıma sıcaklık $10\text{ }^\circ\text{C}$ yi geçmeyecek şekilde 50 ml eter ve 4 g KOH ilave edilir. İlave işleminden sonra karışım iki defa daha 40 ml lik eterle ekstrakte edilir ve organik faz K_2CO_3 ile kurutulur ve süzülür. Çözücü (eter) döner buharlaştırıcıda distillendikten sonra geriye kalan yağsı maddeye vakum distilasyonu yapılır. Kapalı formülü $\text{C}_3\text{H}_8\text{N}_4$ (MW: 100.2 g/mol) olan 1-Azido-3-propil amin (**13**) bileşiği için erişilebilen verim (4 g) 80%' dir [129]. K.N.: $45\text{-}50^\circ\text{C}$.

- **FT-IR (cm^{-1}):** 3362, 3292 (NH_2), 2937, 2870 (CH_2), 2090 (N_3).
- **^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm):** 1.23 (s, 2H, NH_2), 1.74 (p, 2H, $-\text{CH}_2$), 2.81 (t, 2H, $\text{NH}_2\text{-CH}_2$), 3.38 (t, 2H, $\text{N}_3\text{-CH}_2$).
- **^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm):** 49.21 ($\text{N}_3\text{-CH}_2$), 39.35 ($\text{NH}_2\text{-CH}_2$), 32.42 (CH_2).

7.5.9. N-(3-azidopropyl)-4-((3,4-dicyanophenyl)thio)benzamide (14) Sentezi



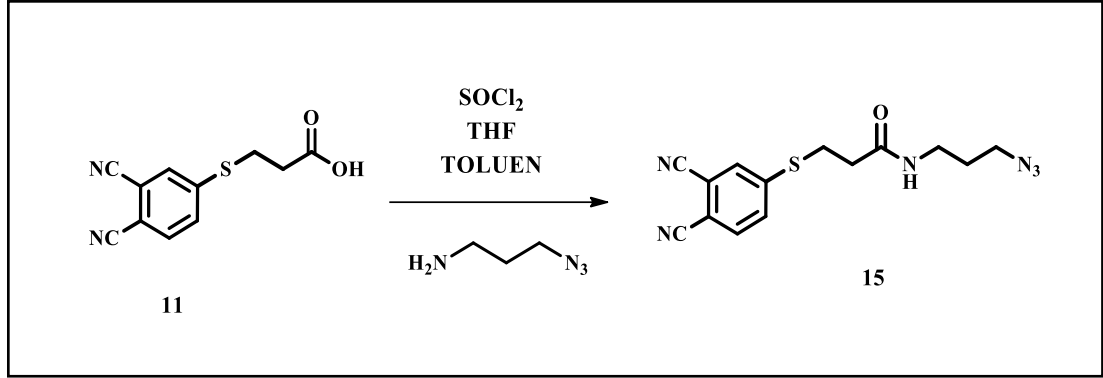
Şekil 7.9: 14 Numaralı bileşiğin sentezi.

200 mg (0.71 mmol) 4-[(3,4-disiyanofenil)sülfanil]benzoik asit (**10**) 5 ml Kuru DMF içerisinde argon atmosferi altında çözünür. Bu karışıma yine argon atmosferi altında 5ml kuru toluende çözünmüş 0.852 g (7,1 mmol) tiyonil klorür ilave edilir ve 3 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılır. Bu süre sonunda çözücüler ve Tiyonil klorürün fazlası vakum altında düşük sıcaklıkta distillenir. Geriye kalan yağimsı kahverengi madde 5 ml kuru THF içerisinde çözülür, bu karışım üzerine 5ml kuru THF içerisinde çözünmüş olan 213 mg (2,13 mmol) 1-azido-3-aminopropan (**13**) damla damla argon atmosferi altında ilave edilir. Elde edilen karışım 3 saat daha geri soğutucu altında kaynatılır ve THF distillenir. Elde edilen ürün su ilave edilerek süspansiyon haline getirilir, fazlar birleştirilir ve etil asetat ile 3 kere ekstrakte (3x20 ml) edilir. Daha sonra organik faz bir defa da tuzlu su ile ekstrakte edildikten sonra Na₂SO₄ ile kurutulur. Oluşan ürün preparatif ince tabaka kromatografi (100/1: DCM / EtOH) yöntemi ile kirliliklerden ayrılır. Kapalı formülü C₁₈H₁₄N₆OS (MW: 362.41 g/mol) olan **14** bileşiği için erişilebilen verim (0.198 g) 77%' dir.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3289 (NH), 3081 (Ar H), 2924, 2855 (CH₂), 2229 (CN), 2086 (N₃), 1632 (1. Amit bandı NH-CO), 1537 (2. Amit bandı), 1477 (3. Amit bandı).
- **ESI-MS:** Hesaplanan C₁₈H₁₄N₆OS [M+Na]⁺ 362.41m/z, Bulunan [M-H]⁺ 361 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ ppm):** 7.88 (s,d, 1H, Ar-CH), 7.60 (d,d, 1H Ar-CH), 7.41-7.42 (m, 5H, Ar-CH), 3.49 (t, 2H, N₃-CH₂), 3.59 (q, 2H, NH-CH₂), 1.94 (p, 2H, CH₂).

- ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ ppm): 166.26 (C=O), 146.65, 136.06, 134.50, 133.50, 133.08, 130.97, 130.88, 128.77, 116.58, 115.21, 114.85 (Ar-C), 112.08 (CN), 49.69, 38.12, 28.62 (-CH₂-).

7.5.10. N-(3-azidopropyl)-3-((3,4-dicyanophenyl)thio)propanamide (15) Sentezi



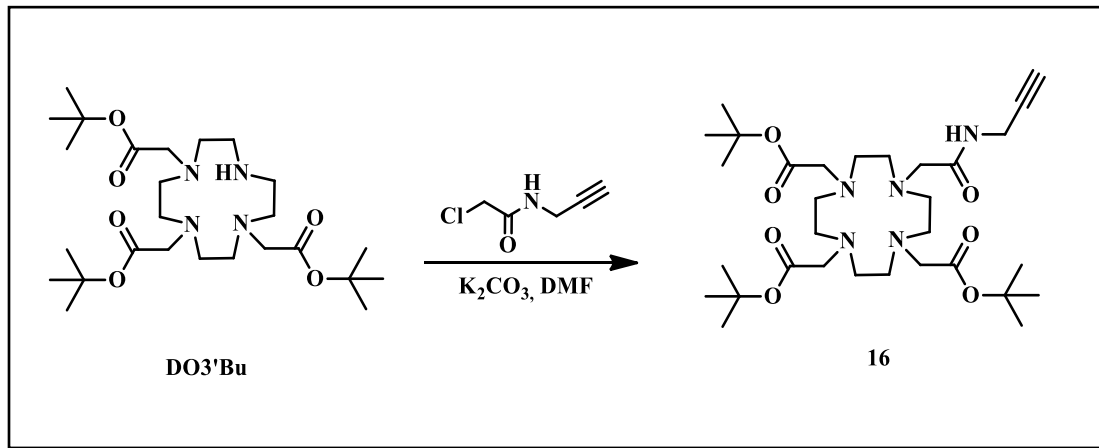
Şekil 7.10: 15 Numaralı bileşiğin sentezi.

300 mg (1.3 mmol) 3-[(3,4-disiyanofenil)sülfanil]propionik asit (**11**) 5 ml Kuru DMF içerisinde Argon atmosferi altında çözünür. Bu karışıma yine argon atmosferi altında 5ml kuru Tolüende çözünmüş 1.582 g (13.3 mmol) tiyonil Klorür ilave edilir ve 3 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılır. Bu süre sonunda çözücüler ve Tiyonil klorürün fazlası vakum altında düşük sıcaklıkta distillenir. Geriye kalan yağimsı kahverengi madde 5 ml kuru THF içerisinde çözülür, bu karışım üzerine 5ml kuru THF içerisinde çözünmüş olan 390 mg (3.90 mmol) 1-azido-3-aminopropan damla damla argon atmosferi altında ilave edilir. Elde edilen karışım 3 saat daha geri soğutucu altında kaynatılır. Bu 3 saat sonunda THF distillenir ve elde edilen ürün su ilave edilerek süspansiyon haline getirilir. Bu süspansiyon etil asetat ile 3 kere ekstrakte (3 x 20 ml) edilir. Daha sonra organik faz bir defa da tuzlu su ile ekstrakte edildikten sonra Na₂SO₄ ile kurutulur. Oluşan ürün preparatif kromatografi (100 / 1: DCM / EtOH) yöntemi ile kirliliklerden ayrılır. Kapalı formülü C₁₄H₁₄N₆OS (MW: 314.37 g/mol) olan **15** bileşiği için erişilebilen verim (0.280 g) 68%' dir.

- FT-IR (cm⁻¹): 3301 (NH), 3096 (Ar H), 2995, 2936 (CH₂), 2225 (CN), 2087 (N₃), 1635 (1. Amit bandı NH-CO), 1555 (2. Amit bandı), 1478 (3. Amit bandı).

- **ESI-MS:** Hesaplanan $C_{14}H_{14}N_6OS$ $[M]^+$ 314.37 m/z, Bulunan $[M+Na]^+$ 337.09 m/z.
- **1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, δ ppm):** 7.60 (d, 1H, ArH), 7.55 (s, d, 1H, ArH), 7.51 (d,d, 1H, ArCH), 5.9 (s, NH), 3.30 (m, 6H, SCH_2 , CH_2 , $NHCH_2$), 2.02 (t, 2H, N_3-CH_2), 1.75 (p, 2H, CH_2).
- **^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, δ ppm):** 169.79 (CO), 146.41 (Ar-S), 133.57 (Ar), 130.20 (Ar), 116.24 (CN), 115.53 (CN), 115.10 (Ar), 111.07 (CN), 49.38 (CH_2N_3), 37.45 (SCH_2CH_2), 34.97 (SCH_2), 28.64 ($NHCH_2$), 27.38 ($NH_2CH_2CH_2N_3$).

7.5.11. 1,4,7,10 – Tetraazasiklododekan -1- (2- Propinilkarbamoil) Metil-4,7,10- Triasetikasit Tersiyerbutil Ester (16) Sentezi

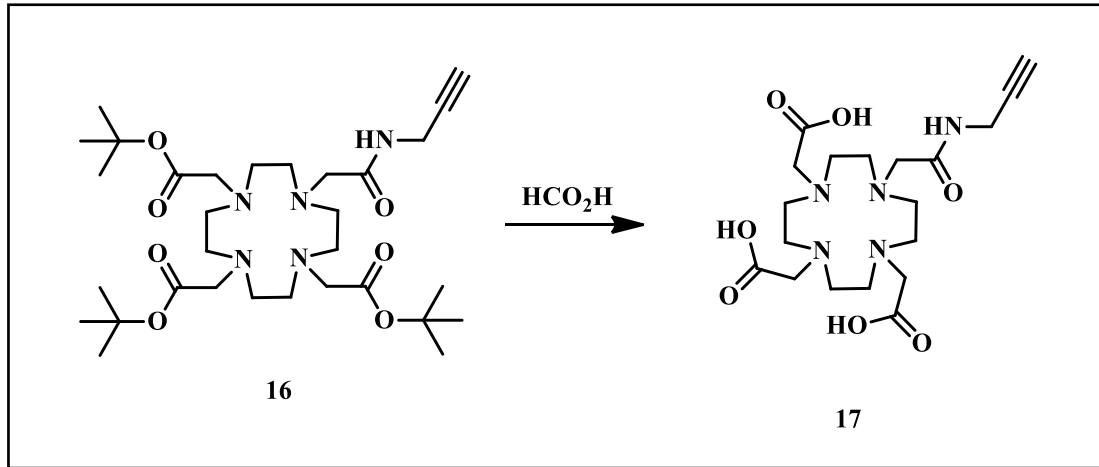


Şekil 7.11: 16 Numaralı bileşiğin sentezi.

100 mg (0.194 mmol) DO3'Bu (1,4,7,10-tetraazasiklododekan-1,4,7-tris asetik asit tersiyer bütül ester), 26 mg (0.194 mmol) N-(2-Propinil)kloroasetamid ve 28 mg (0.194 mmol) kuru K_2CO_3 argon atmosferi altında 2 ml DMF içerisine ilave edilir. Bu karışım oda sıcaklığında 2 saat karıştırılır. Bu süre sonunda DMF vakum distilasyonu ile ortamdaki uzaklaştırılır ve kalan ham ürün silika jel ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü olarak diklorometan: etanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırılır. Kapalı formülü $C_{31}H_{55}N_5O_7$ (MW: 609.79 g/mol) olan **16** bileşiği için erişilebilen verim (0.043 g) 36%' dir. Bu bileşik literatürde verilen yöntemle göre sentezlenmiştir [117].

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3271 (NH), 2982, 2846 (CH₂), 2145 (C≡CH), 1728 (tBu-CO), 1721 (NH-CO).
- **ESI-MS:** Hesaplanan (C₃₁H₅₅N₅O₇) [M]⁺ 609.6 m/z, Bulunan [M+H]⁺ ve [M+Na]⁺ 610,8 ve 632.7 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, d6-Aseton, δ ppm):** 8.67 (s, 1H, CONHCH₂), 3.87 (dd, 2H, CH₂C≡CH), 3.39 (s, 8H, CH₂), 3.06 (s, 1H, C≡CH), 2.50 (s, 16H, CH₂ siklen), 1.44 (s, 9H, 3xCH₃), 1.43 (s, 18H, 6xCH₃).
- **¹³C NMR (125 MHz, d6-Aseton, δ ppm):** 172, 171, 166 (CO), 81.16 (C(CH₃)₃), 73.20 (C≡CH), 63.24 (NCH₂CO), 56.03 (CH₂ siklen), 28.01 (CH₃).

7.5.12. 4,10- Bis -karboksimetil -7- [(2 - propinilkarbamil) - metil] - 1,4,7,10 - tetraaza- siklododek-1-yl-asetik asit (**17**) Sentezi

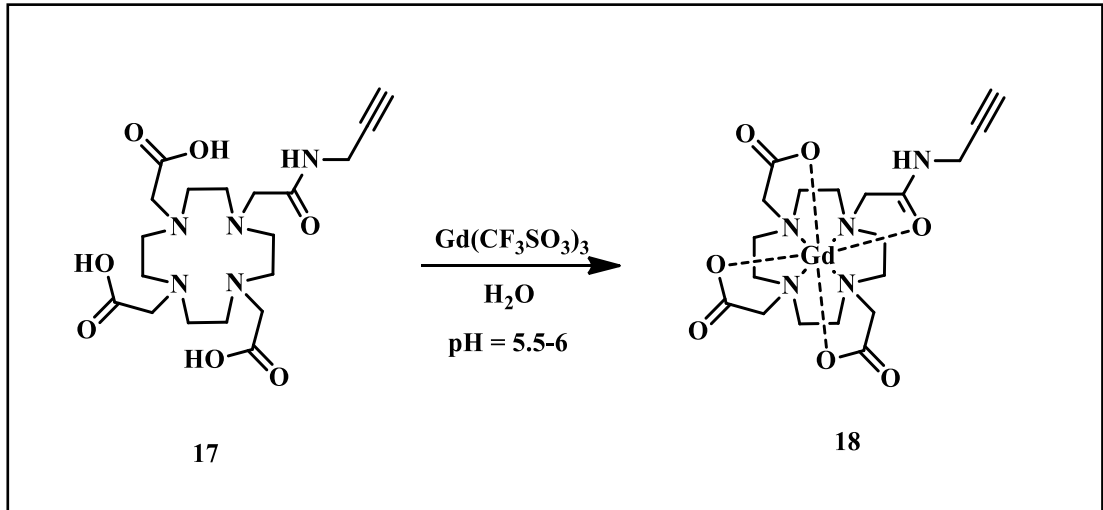


Şekil 7.12: 17 Numaralı bileşiğin sentezi.

40 mg (0.065 mmol) 1,4,7,10-Tetrazasiklododekan-1-(2-propinilkarbamoil) metil-4,7,10- triasetikasit tersiyerbutil ester (**16**) 10 ml 1:1 CH₂Cl₂ / TFA çözeltisi içerisinde çözülür ve bu karışım 1 gece oda sıcaklığında karıştırılır. Bu süre sonunda solventler vakum distilasyonu ile ortamdan uzaklaştırılır ve kalan yağimsı ürün metanol içerisinde çözünür daha sonra çözücü ortamdan uzaklaştırılır. Bu işlem 3 kez tekrar edilir. Son olarak elde edilen ürün iki kez minimum miktarda metanolde çözülür üzerine dietil eter ilave edilir ve tekrar solventler buharlaştırılarak ürün sarı renkli katı madde olarak elde edilir. Kapalı formülü C₁₉H₃₁N₅O₇ (MW: 441.48 g/mol) olan **17** bileşiği için erişilebilen verim (0.021 g) 75%' dir. Bu bileşik literatürde verilen yöntemle sentezlenmiştir [117], [130].

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3345 (NH), 2977, 2815 (CH₂), 2145 (C≡CH), 1724 (Asit CO), 1666 (NH-CO).
- **MALDI-TOF-MS:** Hesaplanan (C₁₉H₃₁N₅O₇) [M]⁺ 441.48 m/z, Bulunan, [M]⁺ 441.93 m/z, [M+Na]⁺ 464.02 m/z, [M+K]⁺ 479.76 m/z ve [M+Na+K]⁺ 501.08 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, δ ppm):** 3.95 (d, 2H, CH₂C≡CH), 3.85 (s, 2H, CH₂CO), 3.79 (s, 4H, CH₂, CH₂CO), 3.50 and 3.48 (2s, 4H, 2x CH₂ cyclen), 3.39 and 3.35 (2 broad, 6H, CH₂ cyclen), 3.08 (broad, 3H, CH₂ cyclen), 3.01 (broad, 3H, CH₂ cyclen), 2.55 (t, Hz, 1H, C≡CH).

7.5.13. 4,10 – Bis - karboksimetil -7- [(2- propinilkarbomil) - metil] 1,4,7,10-tetraaza - siklododec - 1- yl} - asetat Gadolinyum (III) kompleksinin (Gd595) (18) Sentezi



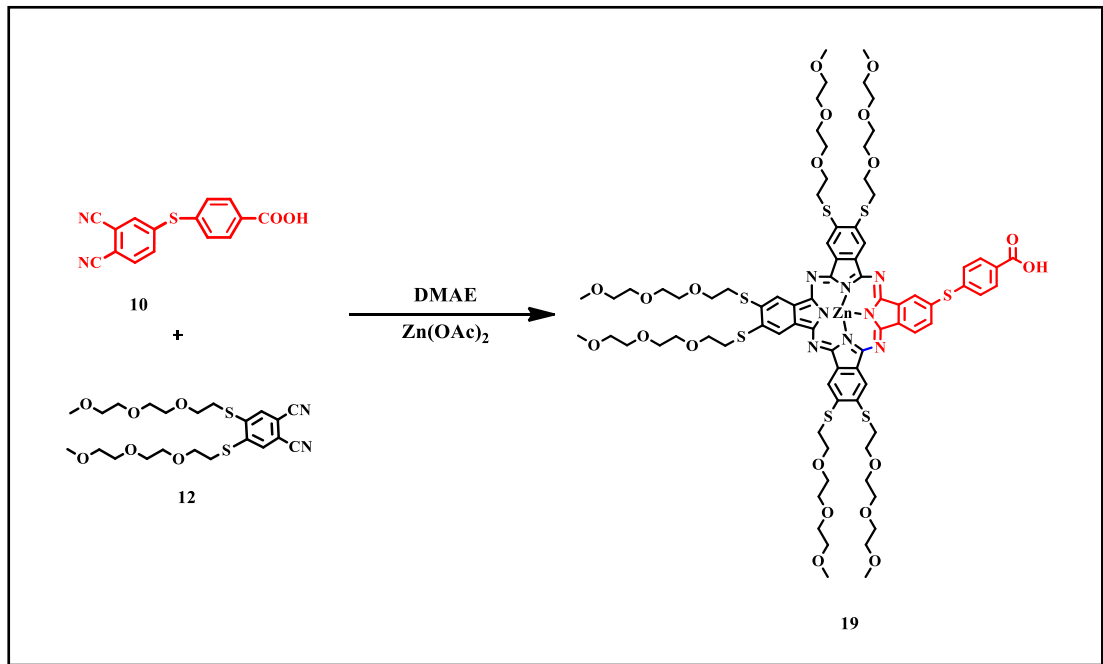
Şekil 7.13: 18 Numaralı bileşiğin sentezi.

27 mg (0.045 mmol) gadolinyum triflate 1 ml suda çözünür ve 0.2 M KOH çözeltisi ile pH değeri 6'ya ayarlanır. Daha sonra 20 mg (0.045 mmol) 17 bileşiğinin 1 ml'lik sulu çözeltisi bu karışıma ilave edilir. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 2 saat karıştırılır ve tekrar pH 6 olarak ayarlanır. Daha sonra freeze drier kullanılarak su ortamdaki uzaklaştırılır. Elde edilen katı etanol ile karıştırılır. Çözünmeyen tuzlar filtre edilerek uzaklaştırılır ve etanol distillenerek ürün sarı renkli katı olarak elde edilir. Daha sonra ürün Gd³⁺ iyonlarının ortamdaki uzaklaştırılması için diyaliz torbasında (MWCO 500) 48 saat bekletilir. Kapalı formülü C₁₉H₂₈GdN₅O₇ (MW:

595.70 g/mol) olan **18** bileşiği için erişilebilen verim (0.018 g) 67%' dir. Bu bileşik literatürde verilen yöntemle göre sentezlenmiştir [117].

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3400 (NH), 2980 (CH₂), 2140 (C≡CH), 1585 (CO).
- **MALDI-TOF-MS:** Hesaplanan (C₁₉H₂₈ GdN₅O₇) [M]⁺ 595.70 m/z, Bulunan 596.91[M+H]⁺ , 617.75 [M+Na]⁺ ve ve 635.05. [M+K]⁺.

7.5.14. 2-(4-Merkapto benzoik asit)-9,10,16,17,23,24-(1-Merkapto-4,7,10- Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyanın (**19**) Sentezi



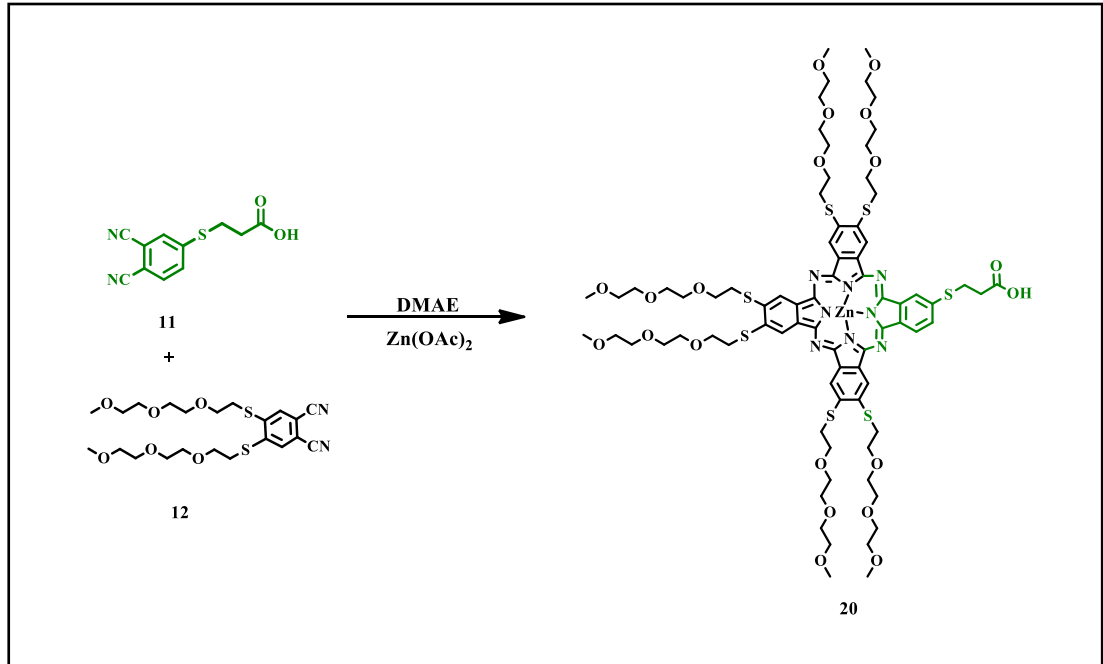
Şekil 7.14: 19 Numaralı bileşiğin sentezi.

Argon atmosferi altında kuru 60 mg (0.215 mmol) 4-(sülfanilbenzoik asit) ftalonitril (**10**) ve 930 mg (1.94 mmol) 4,5- Bis(4,7,10-trioksaundekan-1-sülfanil) ftalonitril (**12**) 2 ml Dimetilamino etanol (DMAE) içerisine ilave edilir. Daha sonra bu reaksiyon karışımına 198 mg (1.071 mmol) çinko(II) asetat (Zn(OAc)₂) ilave edilir ve karışım içerisinden argon geçirilip 10 dk karıştırıldıktan sonra geri soğutucu altında 180°C de 3 saat ısıtılır. Bu süre sonunda elde edilen yeşil reklı madde sıcak heksanda çöktürülür. Bu işlem 2 kere tekrarlanır. Elde edilen ürün silika jel ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce heksan daha sonra CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH (20/1) kullanılarak safsızlıklardan ayrılır. Ele geçen yeşil katı

ham ürün preparatif ince tabaka kromatografi tekniği (Silikajel; 20/1 CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH) ile saflaştırılır. Kapalı formülü C₈₁H₁₀₄N₈O₂₀S₇Zn (MW: 1799.59 g/mol) olan **19** bileşiği için erişilebilen verim (65 mg) 16%' dir.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3388 (COOH), 2919, 2870 (CH₂), 1722 (CO), 1087 (C-O-C).
- **MALDI-TOF-MS:** Hesaplanan (C₈₁H₁₀₄N₈O₂₀S₇Zn) [M]⁺ 1799.59 m/z, Bulunan [M+H]⁺ 1800 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, d₇-DMF, δ ppm):** 9.86-9.36 (m, 6H, Ar-H), 8.33-7.65 (m, 8H, Ar-H), 4.08-3.52 (m, 60H, OCH₂), 3.52 (m, 12H, SCH₂), 3.23 (m, 18H, OCH₃).
- **UV-Vis, λ_{max} nm (log ε):** (DMSO), 680 (4.70), 616 (4.61), 365 (4.68).

7.5.15. 2-(Merkapto propionik asit)-9,10,16,17,23,24-(1-Merkapto-4,7,10- Trioksaundekan) Zn(II) Ftalosiyanın (**20**) Sentezi



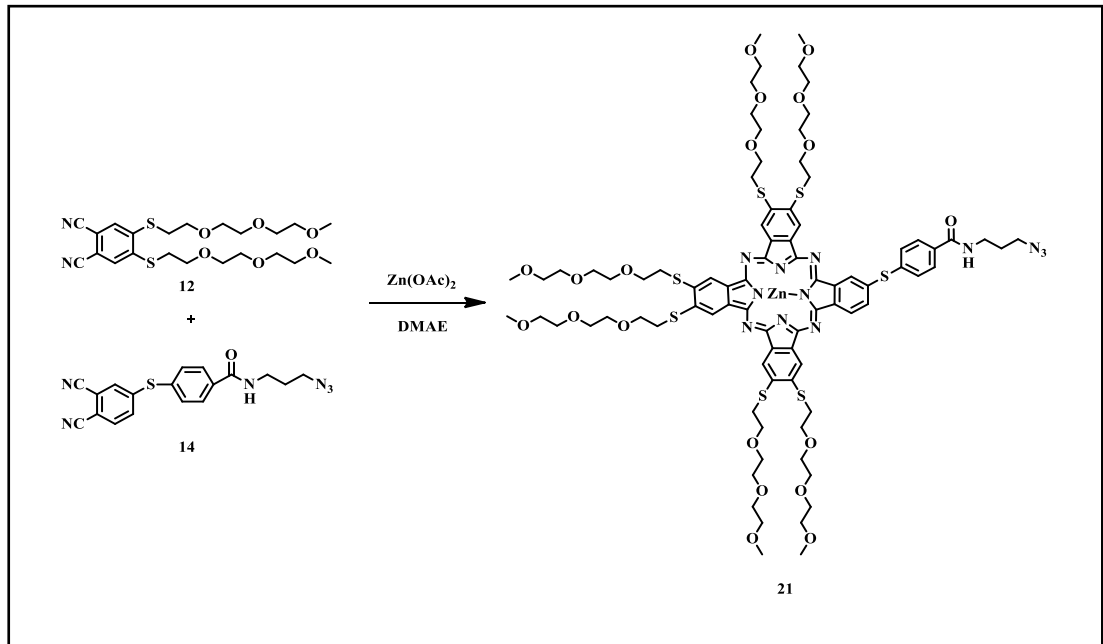
Şekil 7.15: 20 Numaralı bileşiğin sentezi.

Argon atmosferi altında kuru 50 mg (0.215 mmol) 4-(merkaptopropionik asit) ftalonitril (**11**) ve 937 mg (1.93 mmol) 4,5- Bis(4,7,10-trioksaundekan-1-sülfanil) ftalonitril (**12**) 2 ml dimetilamino etanol (DMAE) içinde karıştırılır. Daha sonra bu reaksiyon karışımına 197 mg (1.075 mmol) çinko(II) asetat (Zn(OAc)₂) ilave edilir

ve karışım içerisinde argon geçirilip 10 dk karıştırıldıktan sonra geri soğutucu altında 180°C de 3 saat ısıtılır. Bu süre sonunda elde edilen yeşil madde sıcak heksanda çöktürülür. Bu işlem 2 kere tekrarlanır. Elde edilen ürün silika jel ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce heksan daha sonra CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH (15/1) kullanılarak safsızlıklardan ayrılır. Ele geçen yeşil katı ham ürün preparatif ince tabaka kromatografi tekniği (Silikajel; 15/1 CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH) ile saflaştırılır. Kapalı formülü C₇₇H₁₀₄N₈O₂₀S₇Zn (MW: 1751.55 g/mol) olan **20** bileşiği için erişilebilen verim (58 mg) 15%' dir.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3399 (COOH), 2919, 28704 (CH₂), 1638 (CO), 1088 (C-O-C).
- **MALDI-TOF-MS:** Hesaplanan (C₇₇H₁₀₄N₈O₂₀S₇Zn) [M]⁺ 1751.55 m/z, Bulunan [M]⁺ 1751 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, δ ppm):** 8.88-7.19 (m, 9H, Ar-H), 4.55-3.52 (m, 60 H, OCH₂), 3.53-3.335 (m, 18H, SCH₂), 3.19 (m, 12H, OCH₃), 2.80-2.68 (m, 4H, SCH₂CH₂).
- **UV-Vis, λ_{max} nm (log ε):** (DMSO), 679 (4.85), 616 (4.55), 362 (5.09).

7.5.16. 2 –(N-(3-azidopropil)-(3-tiyobenzil)Amit)-9,10,16,17,23,24-(1-Merkapto-4,7,10- Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyanın (21) Sentezi

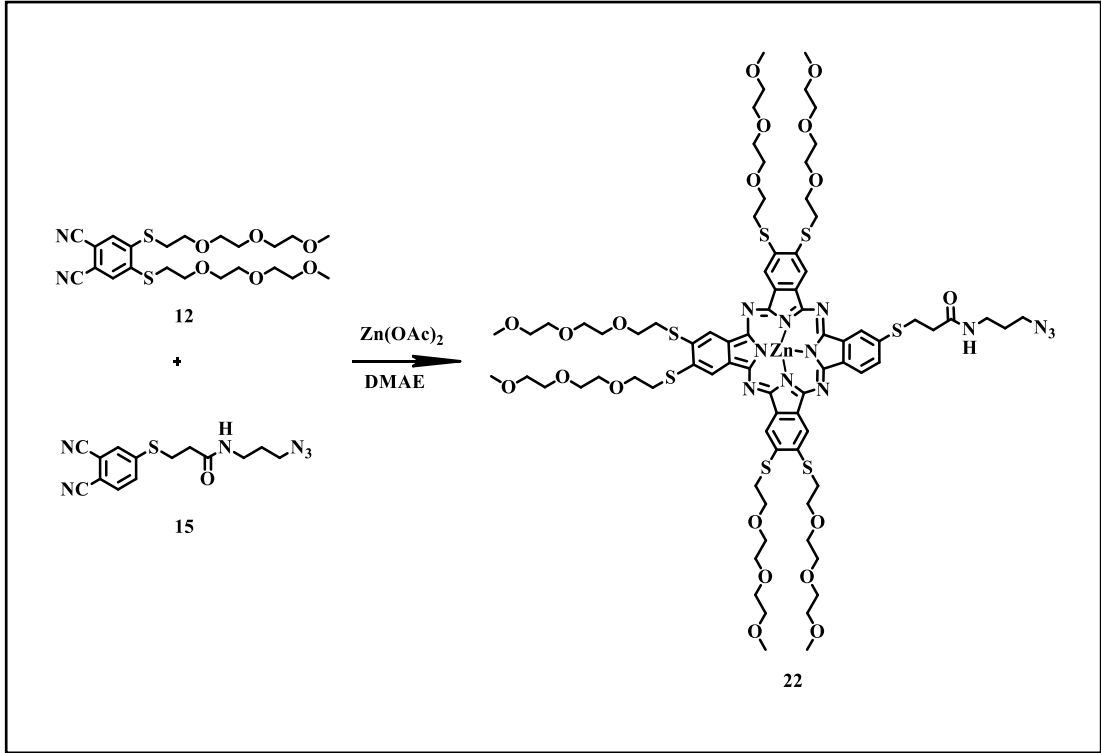


Şekil 7.16: 21 Numaralı bileşiğin sentezi.

Argon atmosferi altında 50 mg (0.138 mmol) kuru N-(3-azidopropyl)-3-((3,4-dicyanophenyl)thio)benzilamide (**14**) ve 601 mg (1.24 mmol) 4,5-Bis(4,7,10-trioksaundekan-1-sülfanil) ftalonitril (**12**) 2 ml distillenmiş kuru dimetilamino etanol (DMAE) içerisine ilave edilir. Daha sonra bu reaksiyon karışımına kurutulmuş 130 mg (0.69 mmol) çinko(II) asetat ($Zn(OAc)_2$) ilave edilir ve karışım içerisinden argon geçirilip 10 dakika karıştırıldıktan sonra geri soğutucu altında 120°C de 5 saat ısıtılır. Bu süre sonunda DMAE düşük sıcaklıkta vakum altında distillenir. Reaksiyon sonunda sırayla asimetrik (AB_3) ve simetrik (B_4) olmak üzere iki farklı ftalosiyanın türevi oluşmuştur. Elde edilen asimetrik ürün silika jel ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce etil asetat daha sonra THF/Etilasetat (2/1) sistemi kullanılarak safsızlıklardan ayrılır. Ele geçen yeşil toz halindeki katı ham ürün preparatif ince tabaka kromatografi tekniği (Silikajel; 2/1 THF/Etilasetat) ile saflaştırılır. Kapalı formülü $C_{84}H_{110}N_{12}O_{19}S_7Zn$ (MW: 1881.68 g/mol) olan **21** bileşiği için erişilebilen verim (89 mg) 34%' dır.

- **FT-IR (cm^{-1}):** 3309 (NH), 2869 (CH_2), 2094 (N_3), 1656 (Amit CO).
- **MALDI-TOF-MS:** Hesaplanan ($C_{84}H_{110}N_{12}O_{19}S_7Zn$) $[M]^+$ 1881.68 m/z, Bulunan $[M+H]^+$ 1882.22 m/z, $[M+Na]^+$ 1904.43 m/z.
- **1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, δ ppm):** 9.5-8.12 (m, 5H, Ar-H), 7.65-7.28 (m, 8H, Ar-H), 4.07 (s, H, NH), 3.85-3.60 (m, 72H, Polioks- CH_2), 3.59 (m, 2H, C=O-NH- CH_2), 3.39 (m, 18H, CH_3), 1.54 (s, 2H, CH_2), 1.27 (s, 2H, N_3-CH_2).
- **UV-Vis, λ_{max} nm (log ϵ):** 699 (DMSO), 68 (5.24), 629 (4.51), 354 (4.59).

7.5.17. 2-(N-(3-azidopropil)-(3-tiyopropan)Amit)-9,10,16,17,23,24-(1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyanın (22) Sentezi

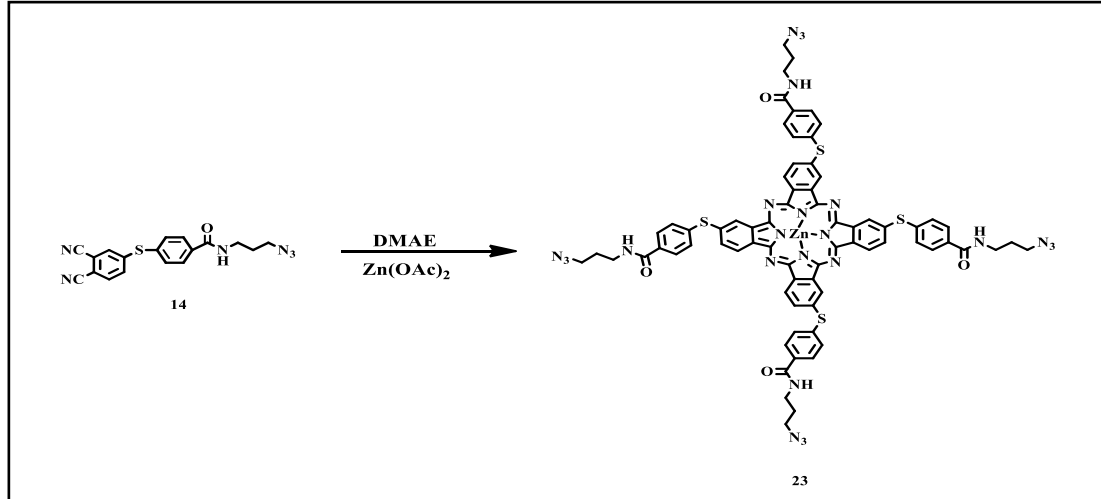


Şekil 7.17: 22 Numaralı bileşiğin sentezi.

Argon atmosferi altında 50 mg (0.16 mmol) kuru N-(3-azidopropyl)-3-((3,4-dicyanophenyl)thio)propanamide (**15**) ve 670 mg (1.44 mmol) 4,5- Bis(4,7,10-trioksaundekan-1-sülfanil) ftalonitril (**12**) 2 ml distillenmiş kuru dimetilamino etanol (DMAE) içerisine ilave edilir. Daha sonra bu reaksiyon karışımına kurutulmuş 150 mg (0.80 mmol) çinko(II) asetat Zn(OAc)₂ ilave edilir ve karışım içerisinden argon geçirilip 10 dakika karıştırıldıktan sonra geri soğutucu altında 120°C de 1 saat ısıtılır. Bu süre sonunda DMAE düşük sıcaklıkta vakum altında distillenir. Reaksiyon sonunda sırayla asimetrik (AB₃) ve simetrik (B₄) olmak üzere iki farklı ftalosiyanın türevi oluşmuştur. Elde edilen asimetrik ürün silika jel ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce DCM daha sonra CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH (13/1) kullanılarak safsızlıklardan ayrılır. Ele geçen yeşil renkli ham ürün preparatif ince tabaka kromatografi tekniği (Silikajel; 13/1 CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH) ile saflaştırılır. Kapalı formülü C₈₀H₁₁₀N₁₂O₁₉S₇Zn (MW: 1833.63 g/mol) olan **22** bileşiği için erişilebilen verim (68 mg) 23%' dür.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3308 (NH), 2922, 2857 (CH₂), 2093 (N₃), 1641 (Amit CO).
- **HRMS:** Hesaplanan (C₈₀H₁₁₀N₁₂O₁₉S₇Zn) [M]⁺ 1833.63 m/z, Bulunan [M+H]⁺ 1834.54 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, d₇-DMF, δ ppm):** 7.06, 8.20-8.25 (m, 9H, Ar-H), 4.16-4.19 (m, 12H, SCH₂CH₂O), 3.76-3.90 (m, 48H, OCH₂), 3.63-3.68 (m, 12H, Ar-SCH₂), 3.51-3.53 (m, 6H, COCH₂, SCH₂, NHCH₂), 3.40-3.41 (m, 2H, CH₂CH₂-N₃), 3.24-3.26 (m, 18H, OCH₃), 1.87 (t, 2H, CH₂-N₃), 1.38 (s, H, N-H).
- **UV-Vis, λ_{max} nm (log ε):** (DMSO), 708 (4.85), 640 (4.78), 375 (5.25).

7.5.18. Tetra - (N - (3-azidopropil) - (3-tiyobenzil) amit) Zn (II) Ftalosiyenin (23) Sentezi



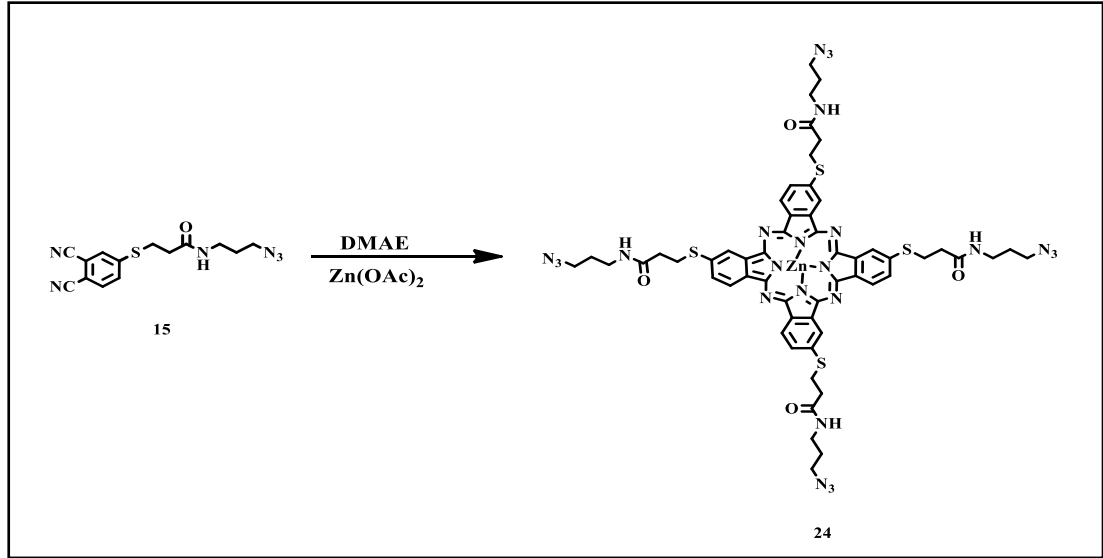
Şekil 7.18: 23 Numaralı bileşiğin sentezi.

Argon atmosferi altında 100 mg (0.276 mmol) kuru N-(3-azidopropyl)-4-((3,4-dicyanophenyl)thio)benzamid (**14**) 2 ml taze distillenmiş kuru dimetilamino etanol (DMAE) içerisine ilave edilir. Daha sonra bu reaksiyon karışımına 26 mg (0.138 mmol) kuru çinko(II) asetat (Zn(OAc)₂) ilave edilir ve karışım içerisinden argon geçirilip 10 dk karıştırıldıktan sonra geri soğutucu altında 120°C de 4 saat ısıtılır. Bu süre sonunda DMAE reaksiyon ortamından distillenir. Elde edilen ürün silika jel ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce diklorometan daha sonra CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH (10/1) kullanılarak safsızlıklardan ayrılır. Ele geçen yeşil renkli ham ürün preparatif ince tabaka kromatografisi tekniği (Silika jel; 10/1

CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH) ile saflaştırılır. Kapalı formülü C₇₂H₅₆N₂₄O₄S₄Zn (MW: 1515.01 g/mol) olan **23** bileşiği için erişilebilen verim (69 mg) %66' dır.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3279 (NH), 3092 (Ar-H), 2926-2862 (CH₂), 2094 (N₃), 1709 (Amit CO).
- **MALDI-TOF-MS:** Hesaplanan (C₇₂H₅₆N₂₄O₄S₄Zn) [M]⁺ 1515.01 m/z, Bulunan [M+H]⁺ 1515.02 m/z, [M+Na+K]⁺ 1577.21 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ ppm):** 9.35-9.24 (m, 12H, Ar-H), 8.13-8.09 (m, 16H, Ar-H), 4.19 (s, 4H, NH), 3.91-3.44 (m, 8H, OCH₂), 1.59 (s, 8H, CH₂), 1.33 (s, 8H, N₃-CH₂).
- **UV-Vis, λ_{max} nm (log ε):** 700 (DMSO), 645 (5.24), 350 (4.59).

7.5.19. Tetra - (N - (3-azidopropil) - (3-tiyopropan) amit) Zn (II) Ftalosiyanın (24) Sentezi



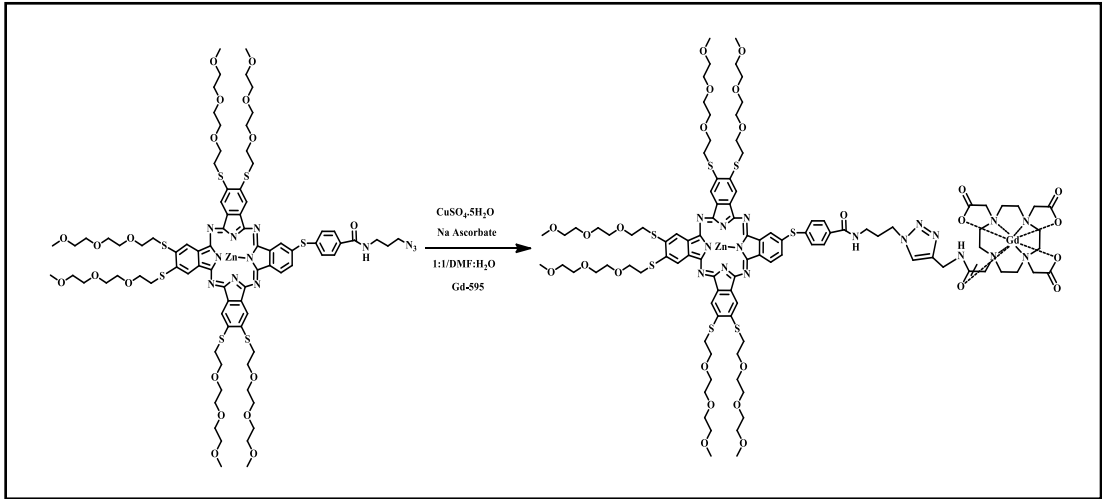
Şekil 7.19: 24 Numaralı bileşiğin sentezi.

Argon atmosferi altında 100 mg (0.318 mmol) kuru N-(3-azidopropyl)-3-((3,4-dicyanophenyl)thio)propanamide (**15**) 2 ml taze distillenmiş kuru dimetilamino etanol (DMAE) içerisine ilave edilir. Daha sonra bu reaksiyon karışımına 30 mg (0.159 mmol) kuru çinko(II) asetat (Zn(OAc)₂) ilave edilir ve karışım içerisinden argon geçirilip 10 dk karıştırıldıktan sonra geri soğutucu altında 120°C de 2 saat ısıtılır. Bu süre sonunda elde edilen yeşil-mavi renkli madde etanolde çöktürülür. Bu

işlem 2 kere tekrarlanır. Elde edilen ürün silika jel ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce diklorometan daha sonra CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH (10/1) kullanılarak safsızlıklardan ayrılır. Ele geçen yeşil-mavi renkli ham ürün preparatif ince tabaka kromatografisi tekniği (Silika jel; 10/1 CH₂Cl₂/CH₃CH₂OH) ile saflaştırılır. Kapalı formülü C₅₆H₅₆N₂₄O₄S₄Zn (MW: 1322.84 g/mol) olan **24** bileşiği için erişilebilen verim (42 mg) %39' dur.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3286 (NH), 3092 (Ar-H), 2933 (CH₂), 2095 (N₃), 1643 (Amit CO).
- **ESI-MS:** Hesaplanan (C₅₆H₅₆N₂₄O₄S₄Zn) [M]⁺ 1322.84 m/z, Bulunan [M+H]⁺ 1323.65 m/z.
- **¹H NMR (500 MHz, d₇-DMF, δ ppm):** 8.47, 8.24-8.18 (m, 12H, Ar-H), 3.80 (m, 8H, CO-NH-CH₂), 3.54 (m, 8H, COCH₂), 3.39-3.37 (m, 8H, SCH₂), 3.25 (m, 8H, N₃-CH₂), 1.86 (s, 4H, NH), 1.71 (s, 8H, CH₂CH₂-N₃).
- **UV-Vis, λ_{max} nm (log ε):** (DMSO), 702 (5.24), 630 (4.51), 350 (4.59).

7.5.20. 2-(N-(3-Gd595-propil) - (3- tiyobenzil) amit)- 9,10,16,17,23,24 (1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyenin (25) Sentezi

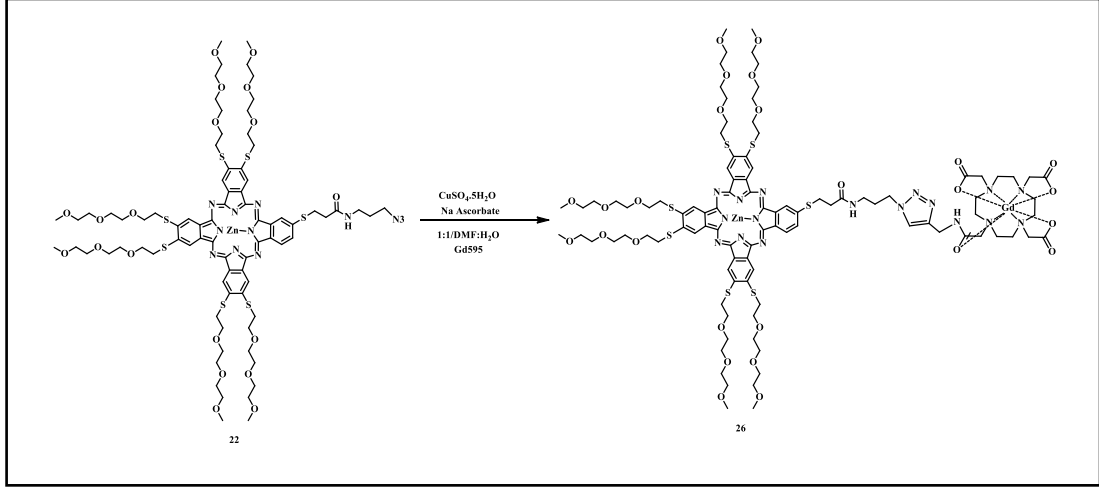


Şekil 7.20: 25 Numaralı bileşiğin sentezi.

Argon atmosferi altında 40 mg (0.021 mmol) 2-(N-(3-azidopropil)-(3-tiyobenzil)amit)-9,10,16,17,23,24-(1-Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan) Zn (II) ftalosiyenin (**21**) 0.5 ml DMF içerisinde çözülür. Bu karışıma 0.5 ml DMF de çözünmüş 44 mg (0.075 mmol) Gd595 (**18**) yine argon atmosferi altında ilave edilir. Bir süre karıştırıldıktan sonra karışıma 1 ml su ve 6.8 mg (0.0273 mmol) CuSO₄.5H₂O ve 27 mg (0.136 mmol) Na askorbat ilave edilir. Karışım oda sıcaklığında 48 saat karıştırılır. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı 2000 MWCO diyaliz tobasına konular ve saf su içerisinde 2 gün boyunca diyalize bırakılır. Daha sonra karışım düşük sıcaklıkta vakum altında distillenir ve elde edilen yeşil katı ürün selüloz ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce DCM daha sonra DCM/EtOH sistemi kullanılarak safsızlıklardan ayrılır. Kapalı formülü C₁₀₃H₁₃₈GdN₁₇O₂₆S₇Zn (MW: 2477.38 g/mol) olan **25** bileşiği için erişilebilen verim (22 mg) %42' dir.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3271 (NH), 2869 (CH₂), 1593 (Gd-595-CO), 1402 (Triazole Halkası).
- **ESI-MS:** Hesaplanan (C₁₀₃H₁₃₈GdN₁₇O₂₆S₇Zn) [M]⁺ 2477.38 m/z, Bulunan [M]⁺ 2477.02, [M+Na]⁺ 2499.14, [M+2H₂O]⁺ 2511.33 m/z,
- **UV-Vis, λ_{max} nm (log ε):** (DMSO), 707 (4.91), 638 (5.02), 376 (4.78).

7.5.21. 2-(N-(3-Gd595-propil) - (3-tiyopropil)amit)-9,10,16,17,23,24-(1 - Merkapto-4,7,10-Trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyenin (26) Sentezi



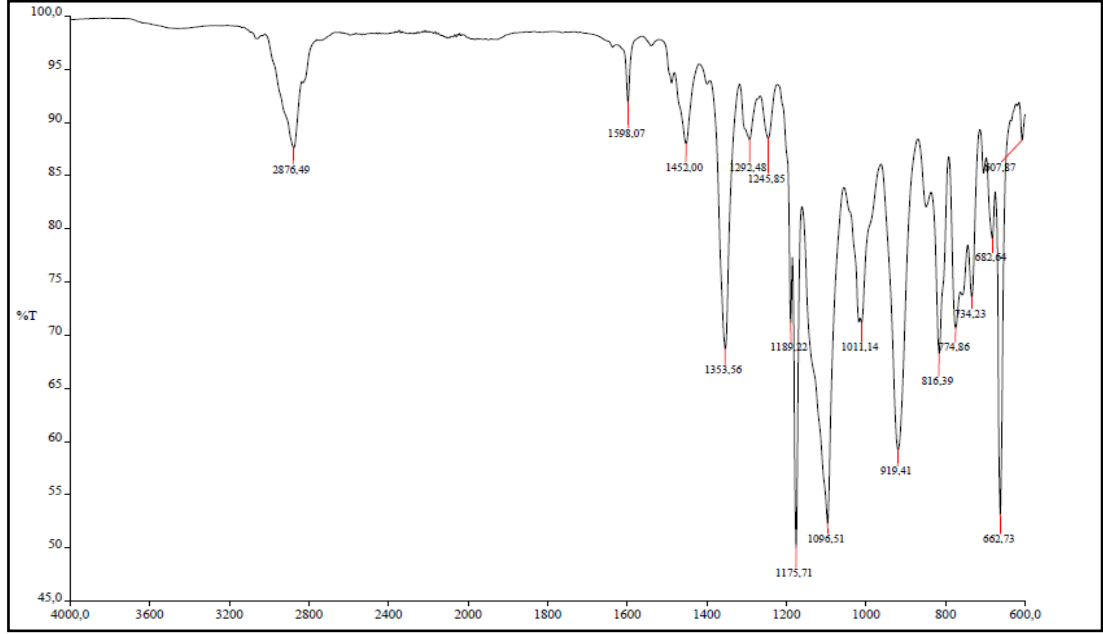
Şekil 7.21: **26** Numaralı bileşiğin sentezi.

Argon atmosferi altında 40 mg (0.022 mmol) 2-(N-(3-azidopropil)-(3-tiyopropil)amit)-9,10,16,17,23,24-(1-merkapto-4,7,10-trioksaundekan) Zn (II) Ftalosiyenin (**22**) 0.5 ml DMF içerisinde çözülür. Bu karışıma 0.5 ml DMF de çözülmüş 45 mg (0.077 mmol) Gd595 (**18**) yine argon atmosferi altında ilave edilir. Bir süre karıştırıldıktan sonra karışıma 1 ml su ve 7.5 mg (0.03 mmol) CuSO₄·5H₂O ve 29 mg (0.15 mmol) Na askorbat ilave edilir. Karışım oda sıcaklığında 48 saat karıştırılır. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı 2000 MWCO diyaliz tobasına konulur ve saf su içerisinde 2 gün boyunca diyalize bırakılır. Daha sonra karışım düşük sıcaklıkta vakum altında distillenir ve elde edilen yeşil renkli katı ürün selüloz ile doldurulmuş olan kolondan yürütücü solvent olarak önce DCM daha sonra DCM/EtOH sistemi kullanılarak safsızlıklardan ayrılır. Kapalı formülü C₉₉H₁₃₈GdN₁₇O₂₆S₇Zn (MW: 2429.34 g/mol) olan **26** bileşiği için erişilebilen verim (24 mg) %45' dir.

- **FT-IR (cm⁻¹):** 3268 (NH), 2870 (CH₂), 1594 (Gd-595-CO), 1371 (Triazole halkası).
- **ESI-MS:** Hesaplanan (C₉₉H₁₃₈GdN₁₇O₂₆S₇Zn) [M]⁺ 2429.34m/z, Bulunan [M+H]⁺ 2430 m/z, [M+H₂O]⁺ 2447.64 m/z, [M+2H₂O]⁺ 2465.56 m/z,
- **UV-Vis, λ_{max} nm (log ε):** (DMSO), 705 (4.91), 640 (4.60), 380 (4.59).

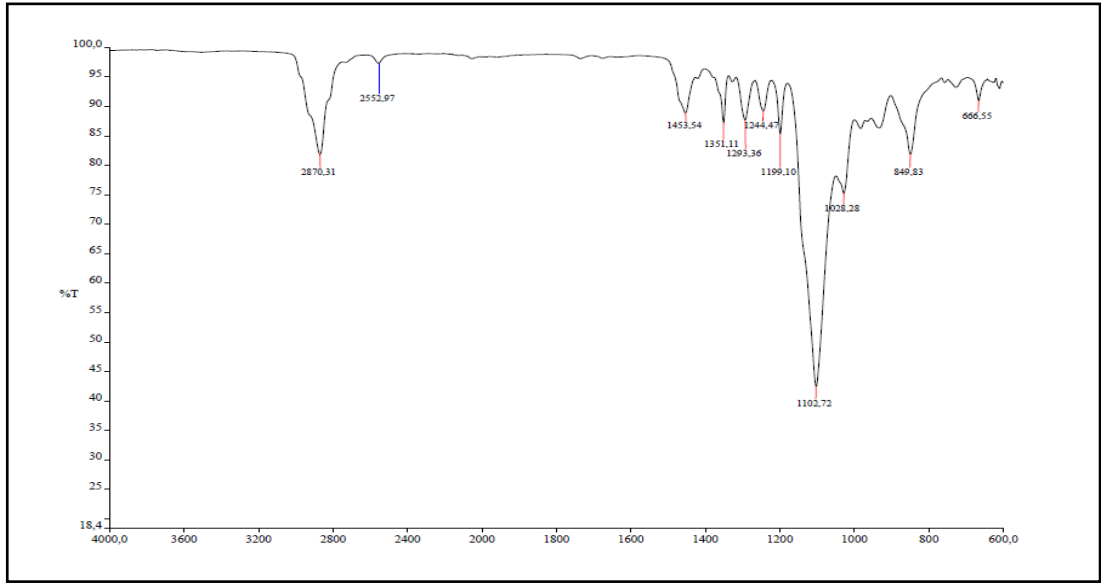
8. SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN SPEKTRUMLARI

8.1. 8 Bileşiğine Ait Spektrumlar

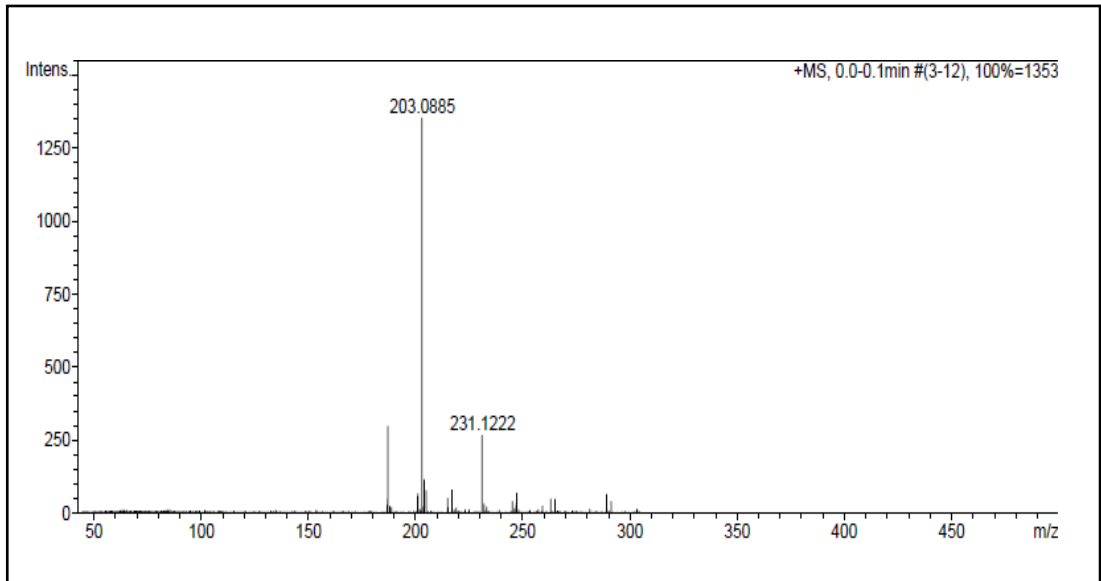


Şekil 8.1: 8 Bileşiğine Ait FT-IR spektrumu.

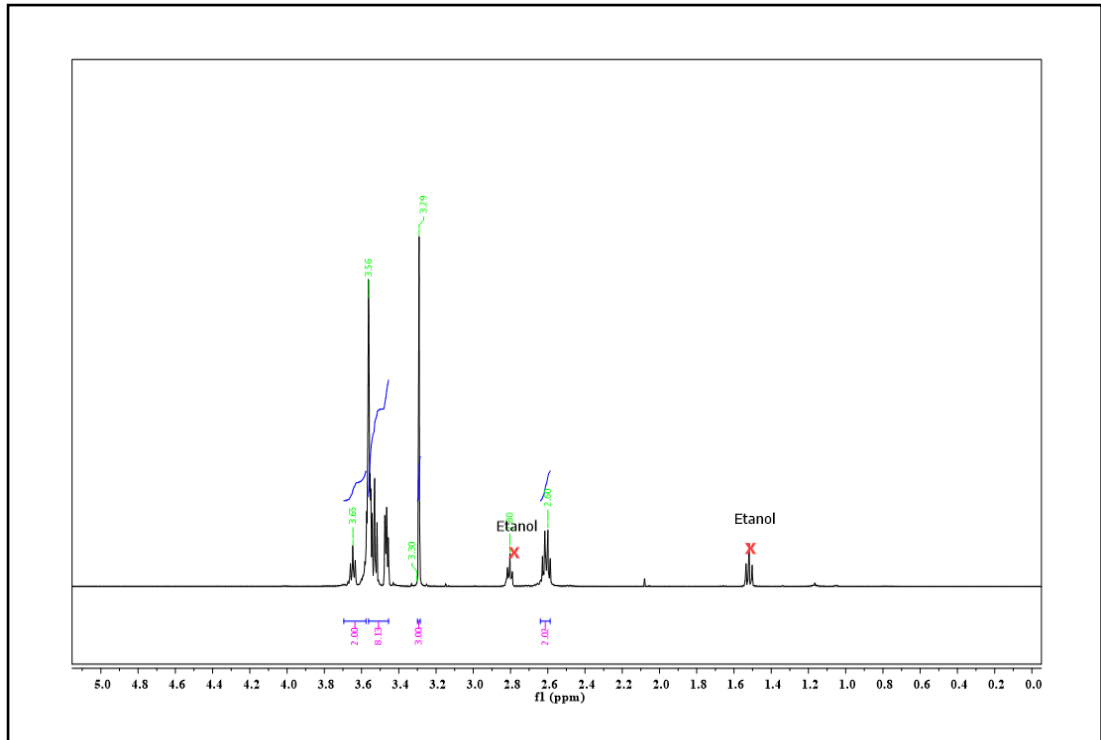
8.2. 9 Bileşğine Ait Spektrumlar



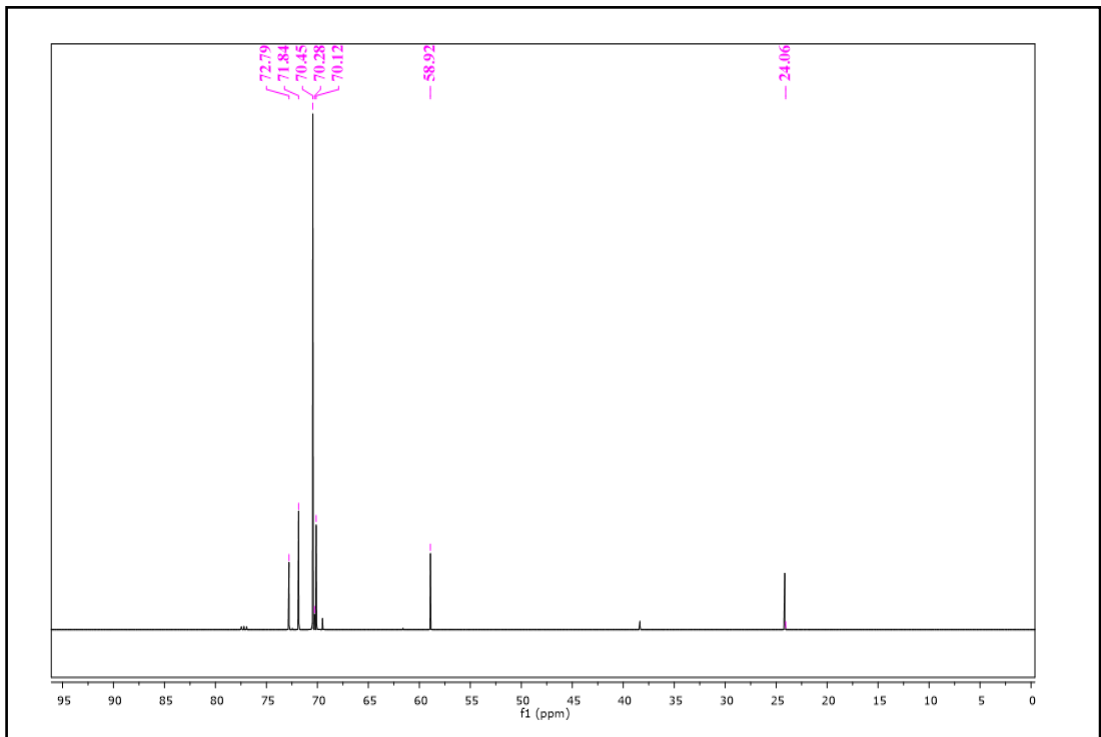
Şekil 8.2: 9 Bileşğine Ait FT-IR spektrumu.



Şekil 8.3: 9 Bileşğine ait kütle (ESI) spektrumu.

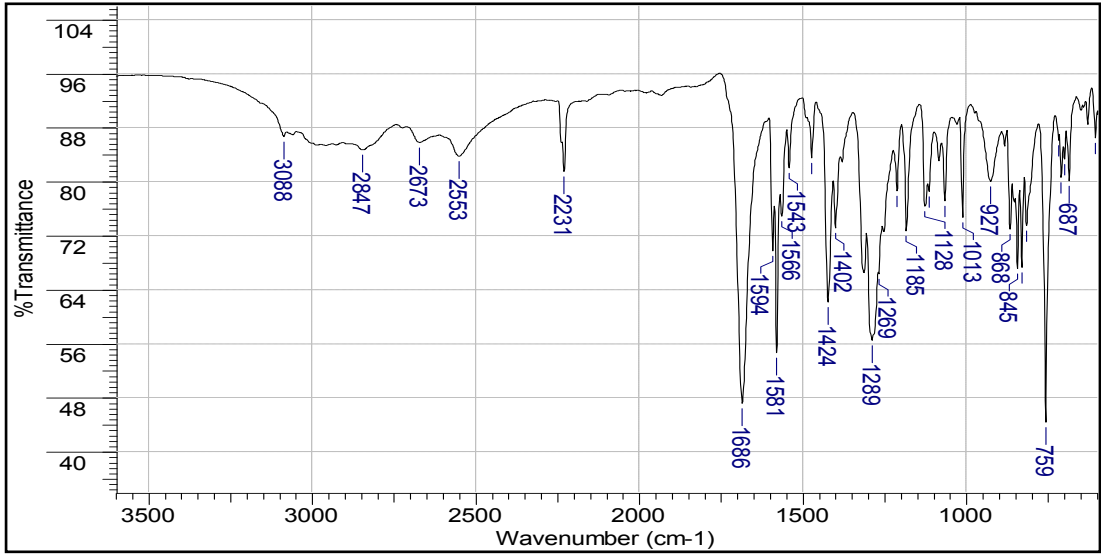


Şekil 8.4: 9 Bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu.

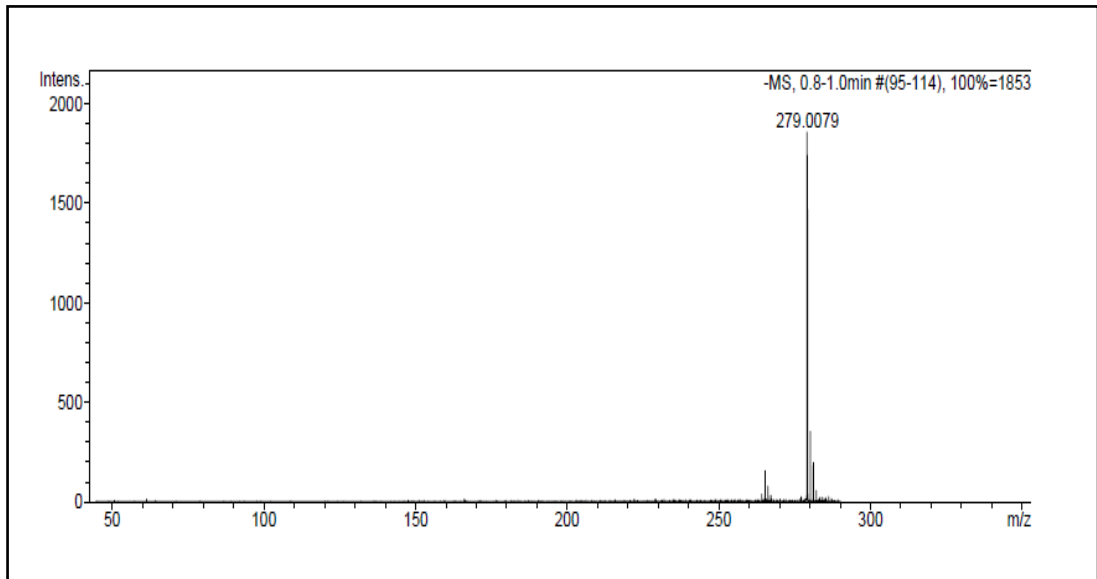


Spektrum 8.5: 9 Bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu.

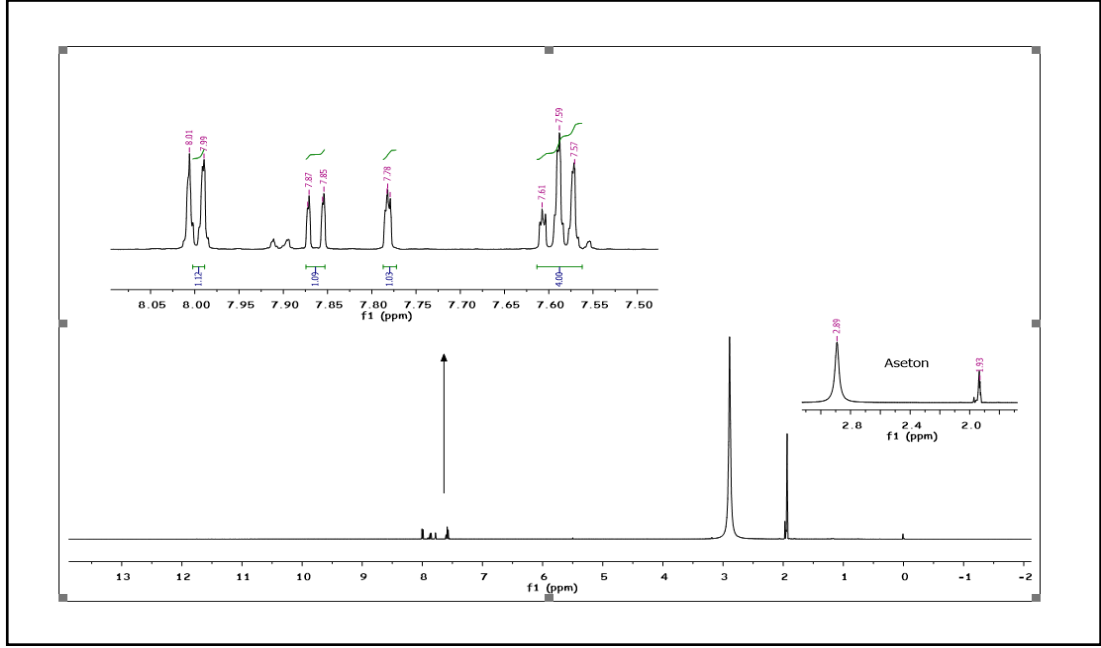
8.3. 10 Bileşğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.6: 10 Bileşğine ait FT-IR spektrumu.

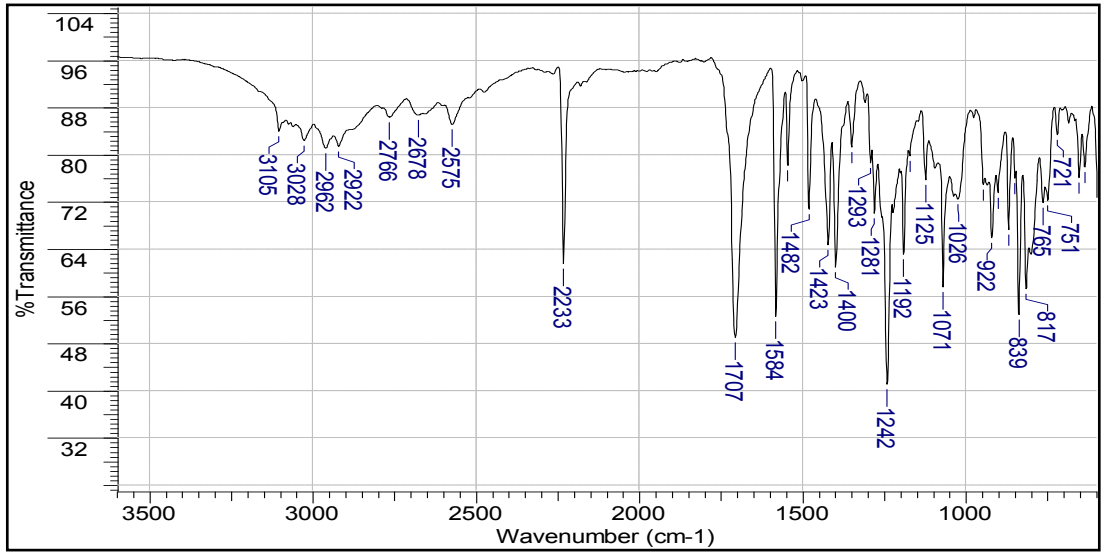


Şekil 8.7: 10 Bileşğine ait kütle (ESI) spektrumu.

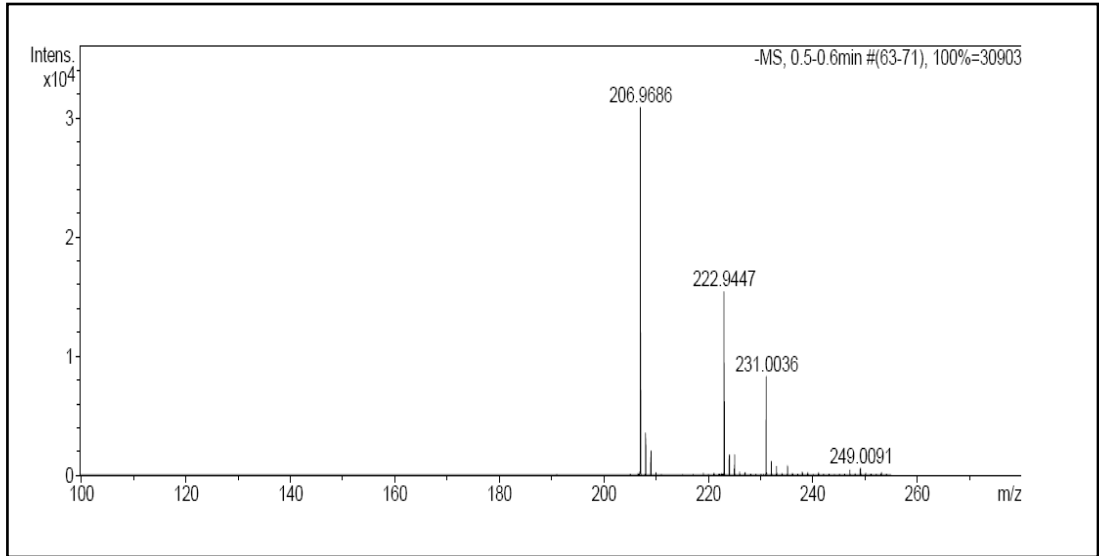


Şekil 8.8: 10 Bileşiğine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu.

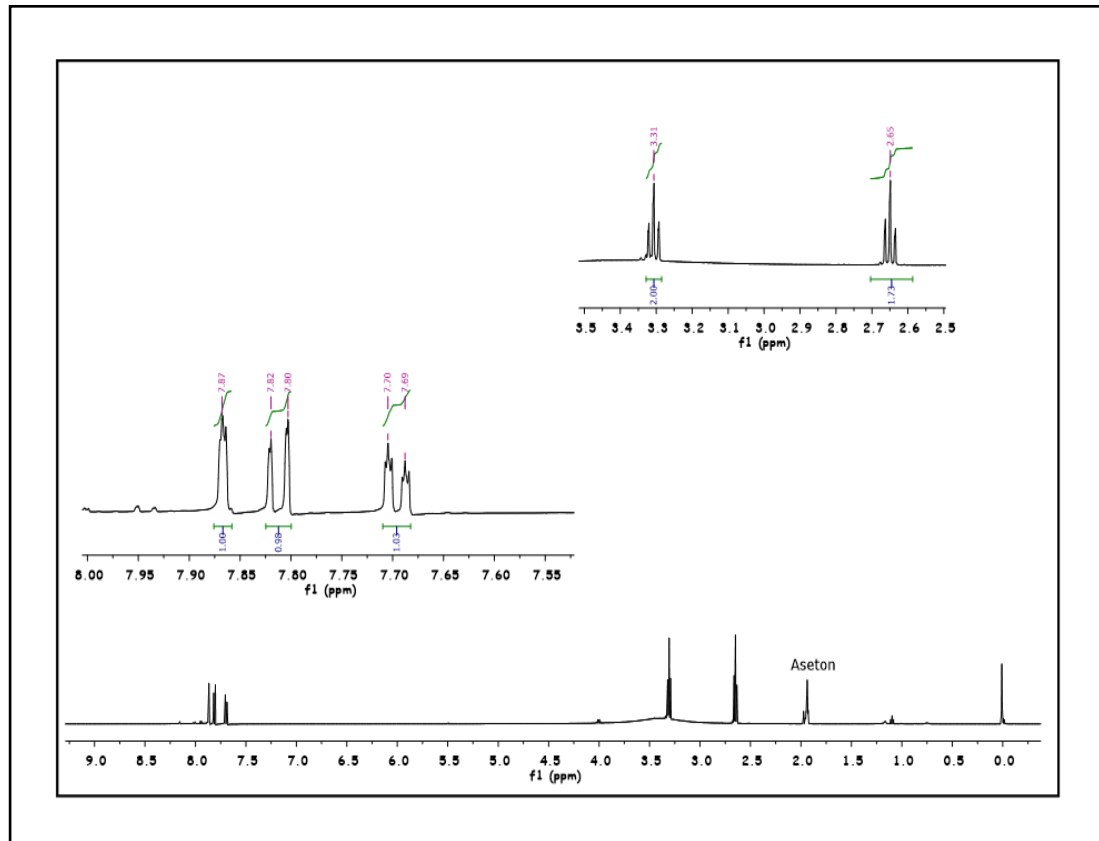
8.4. 11 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.9: 11 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.

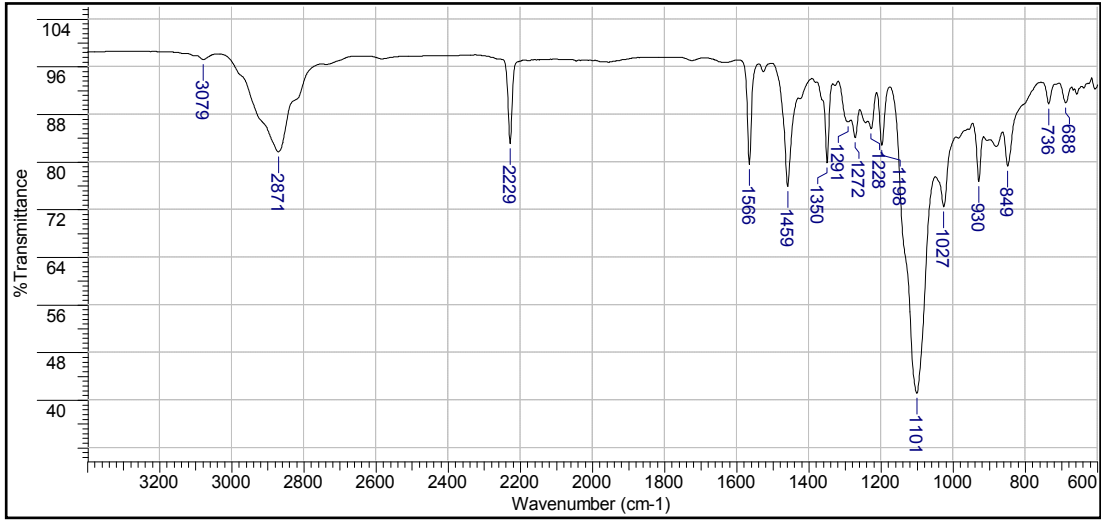


Şekil 8.10: 11 Bileşiğine ait kütle (ESI) spektrumu.

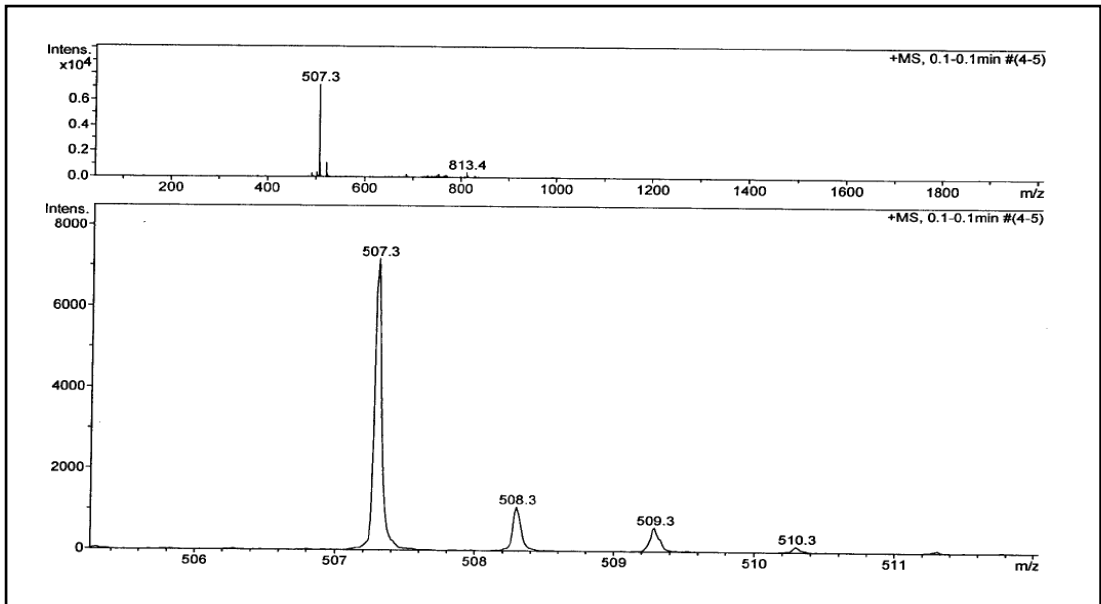


Şekil 8.11: 11 Bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.

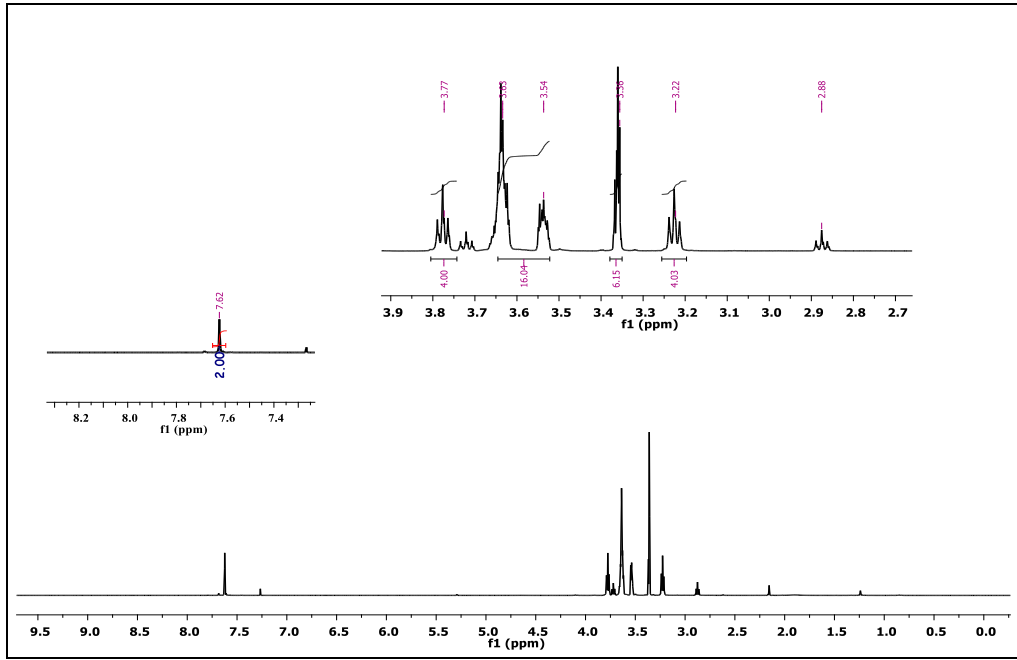
8.5. 12 Bileşğine Ait Spektrumlar



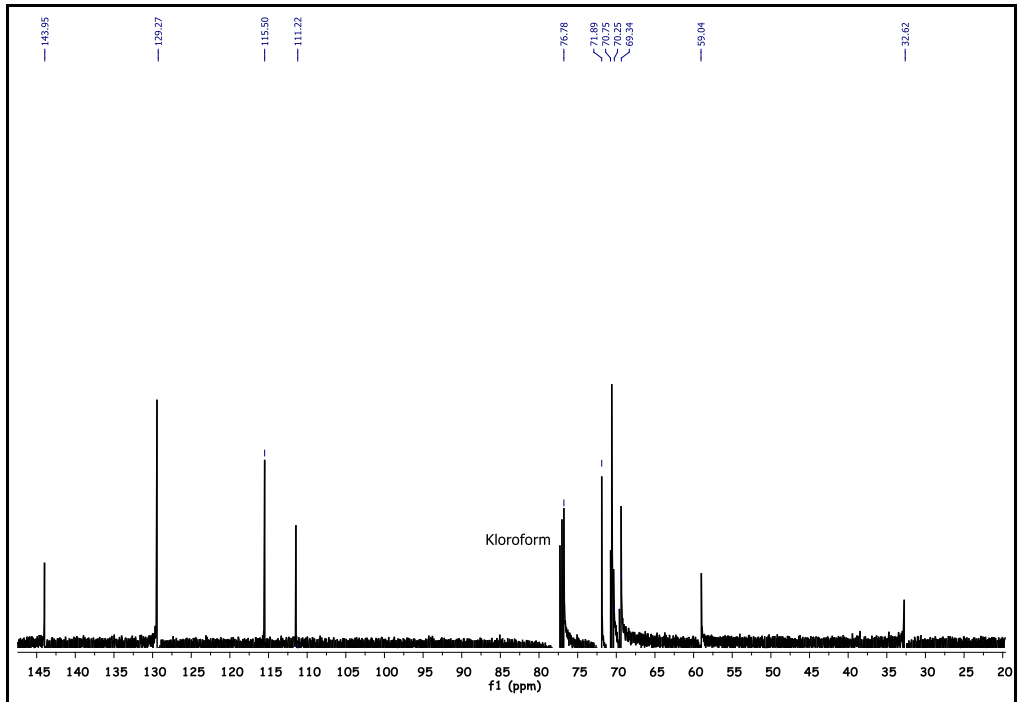
Şekil 8.12: 12 Bileşğine ait FT-IR spektrumu.



Şekil 8.13: 12 Bileşğine ait kütle (ESI) spektrumu.

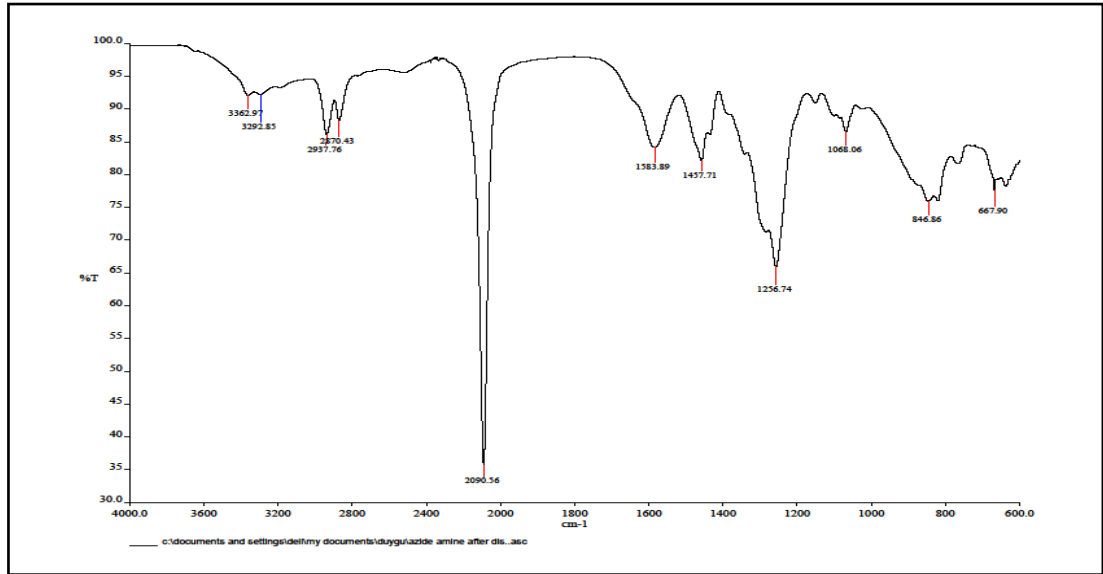


Şekil 8.14: 12 Bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu.

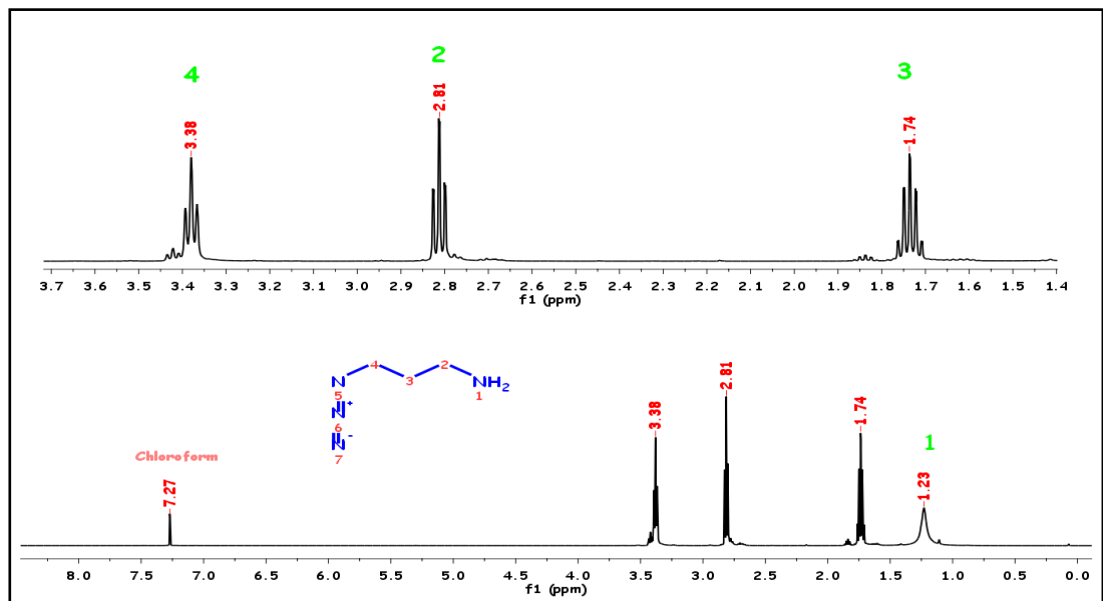


Şekil 8.15: 12 Bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu.

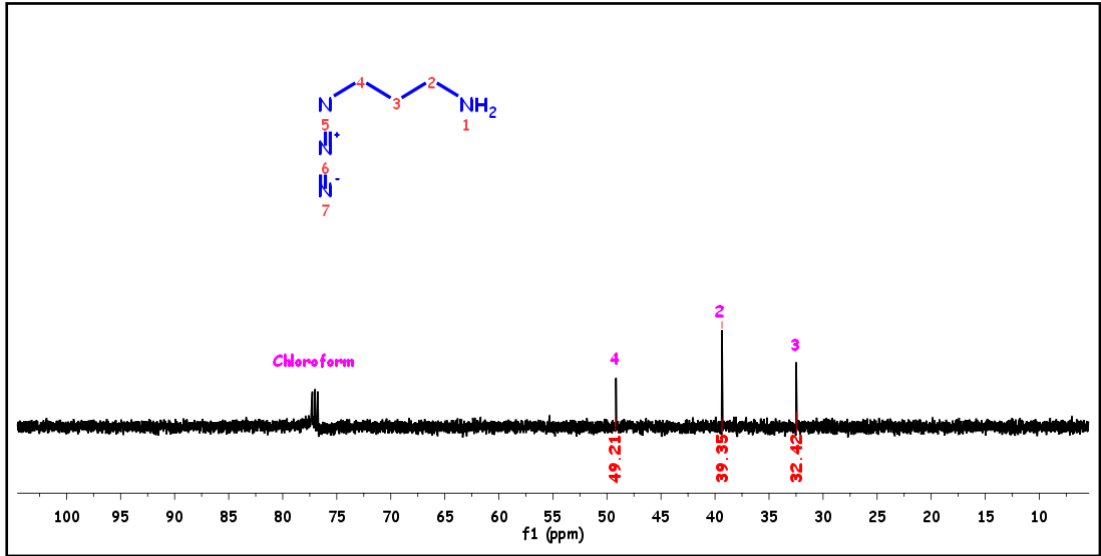
8.6. 13 Bileşigine Ait Spektrumlar



Şekil 8.16: 13 Bileşigine ait FT-IR spektrumu.

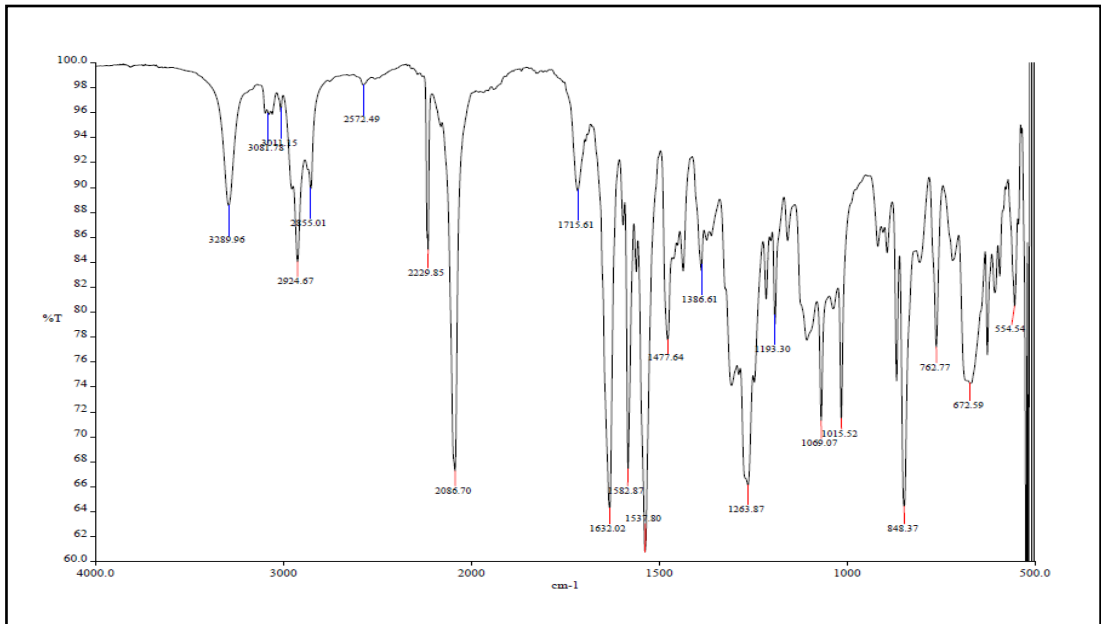


Şekil 8.17: 13 Bileşigine ait ¹H-NMR spektrumu.

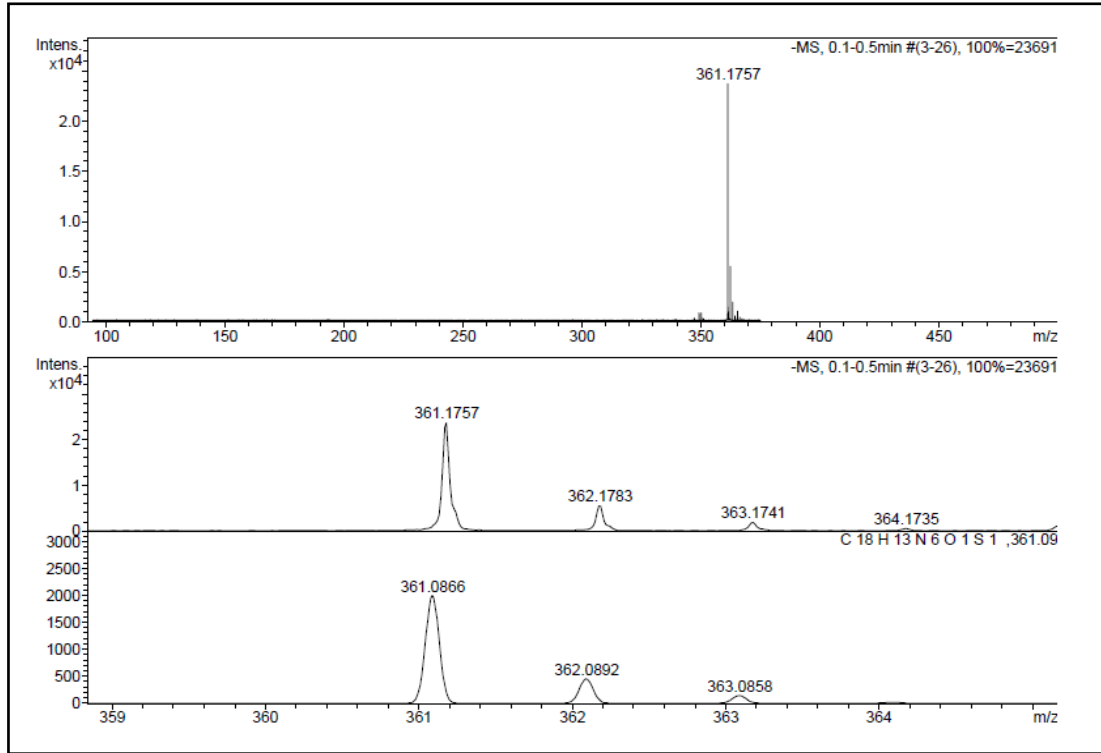


Şekil 8.18: 13 Bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu.

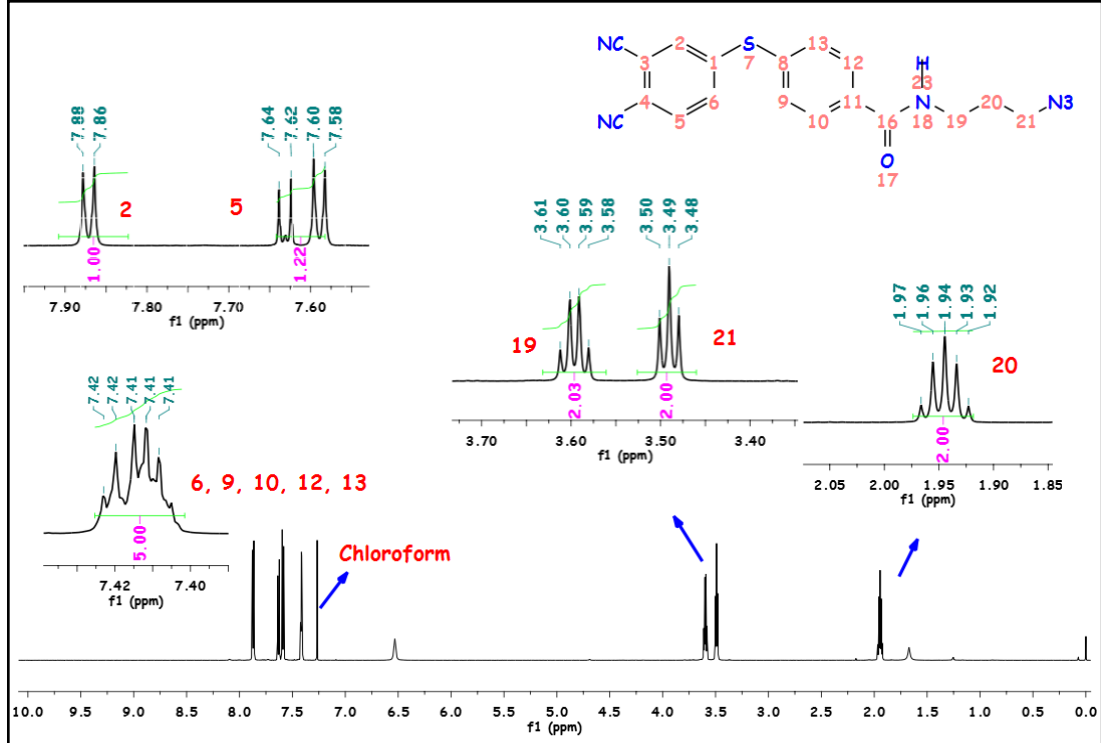
8.7. 14 Bileşiğine Ait Spektrumlar



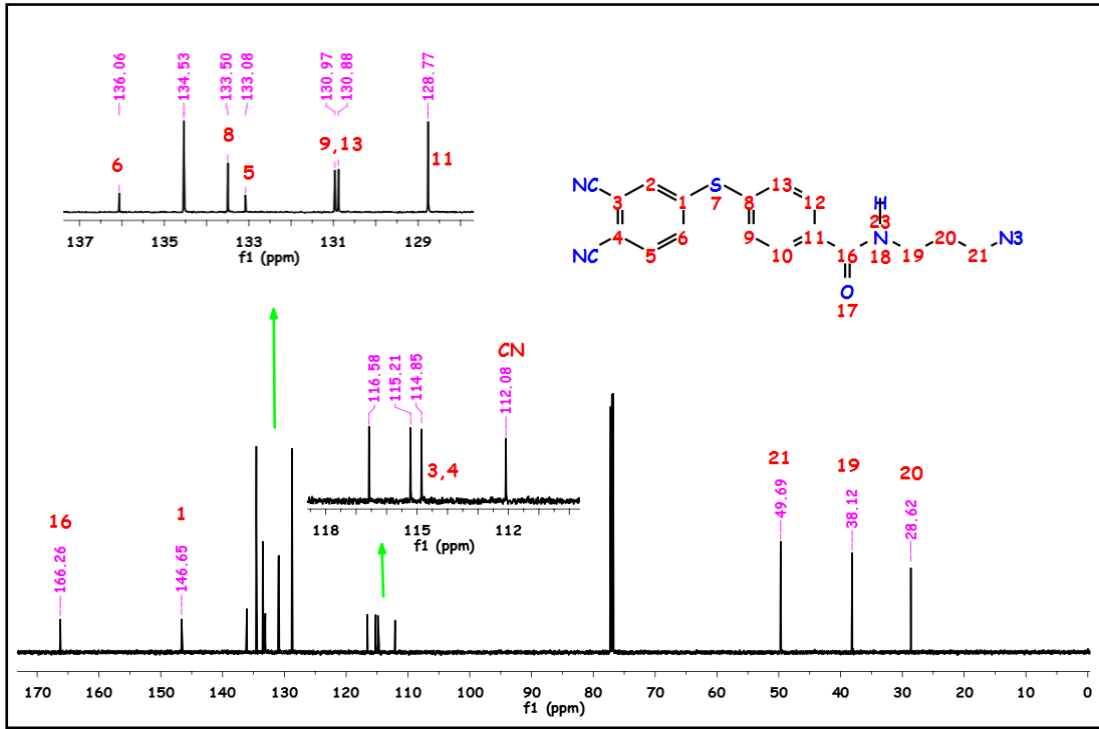
Şekil 8.19: 14 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.



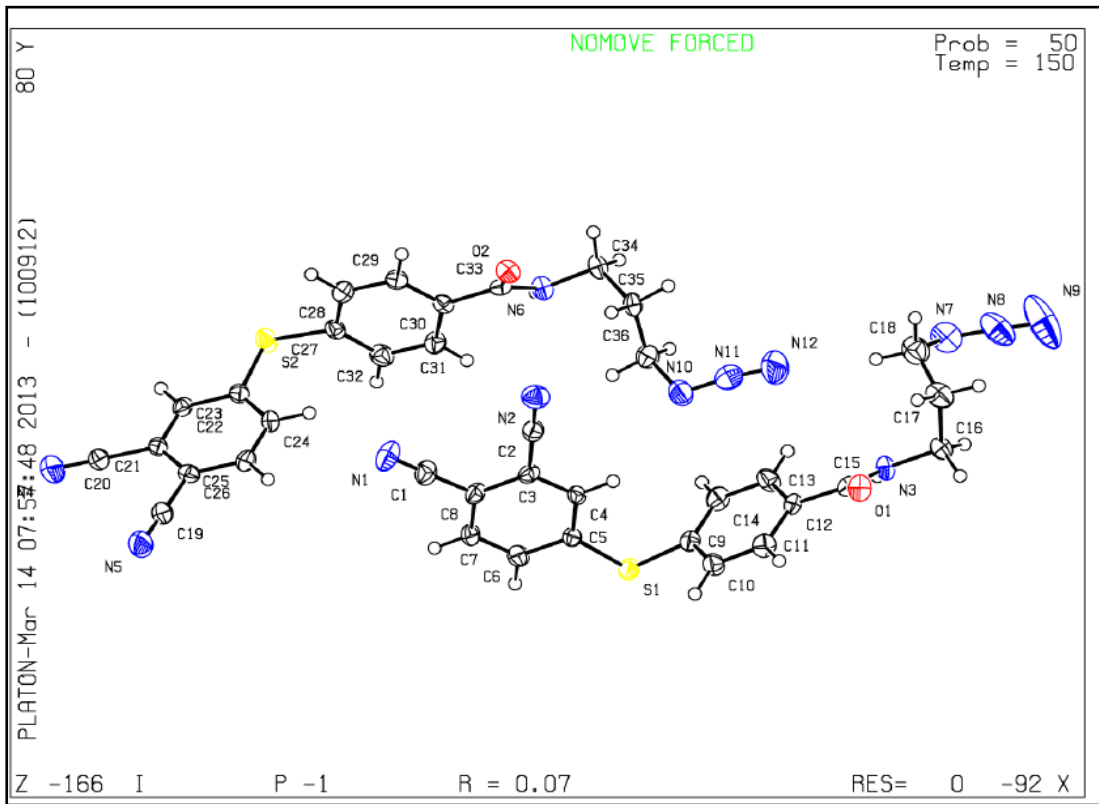
Şekil 8.20: 14 Bileşiğine ait kütle (ESI) spektrumu.



Şekil 8.21: 14 Bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.

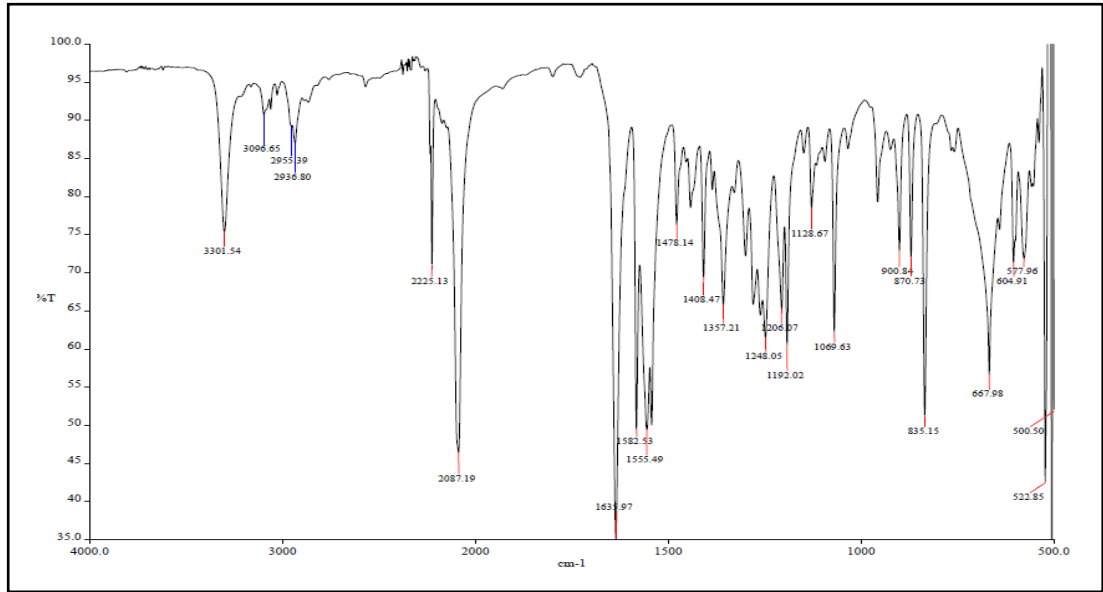


Şekil 8.22: 14 Bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu.

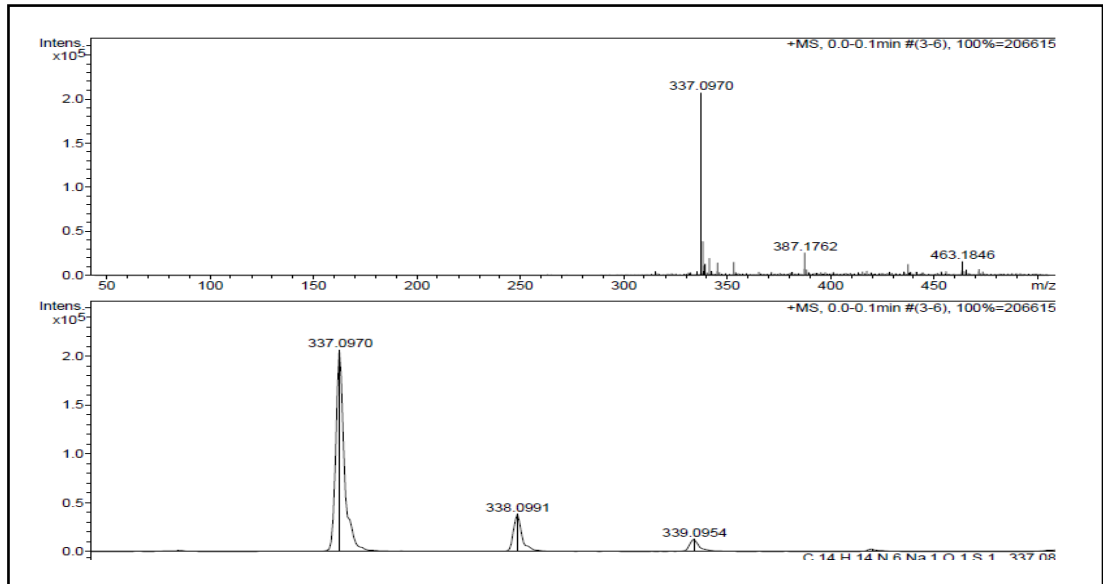


Şekil 8.23: 14 Bileşiğine ait X-ray spektrumu.

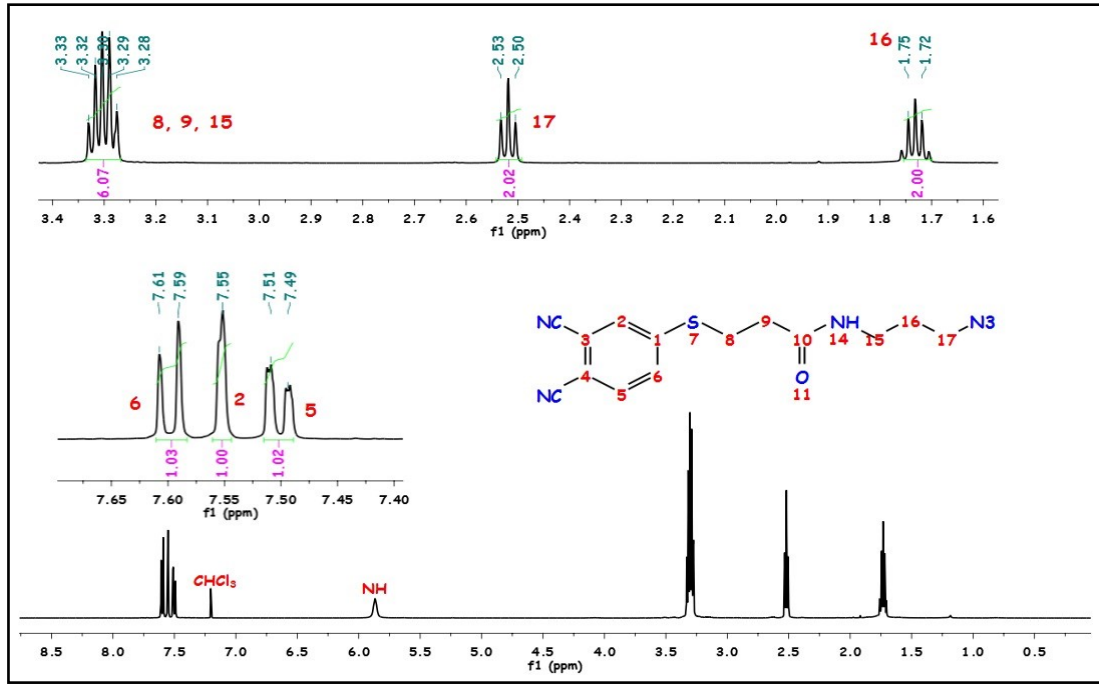
8.8. 15 Bileşğine Ait Spektrumlar



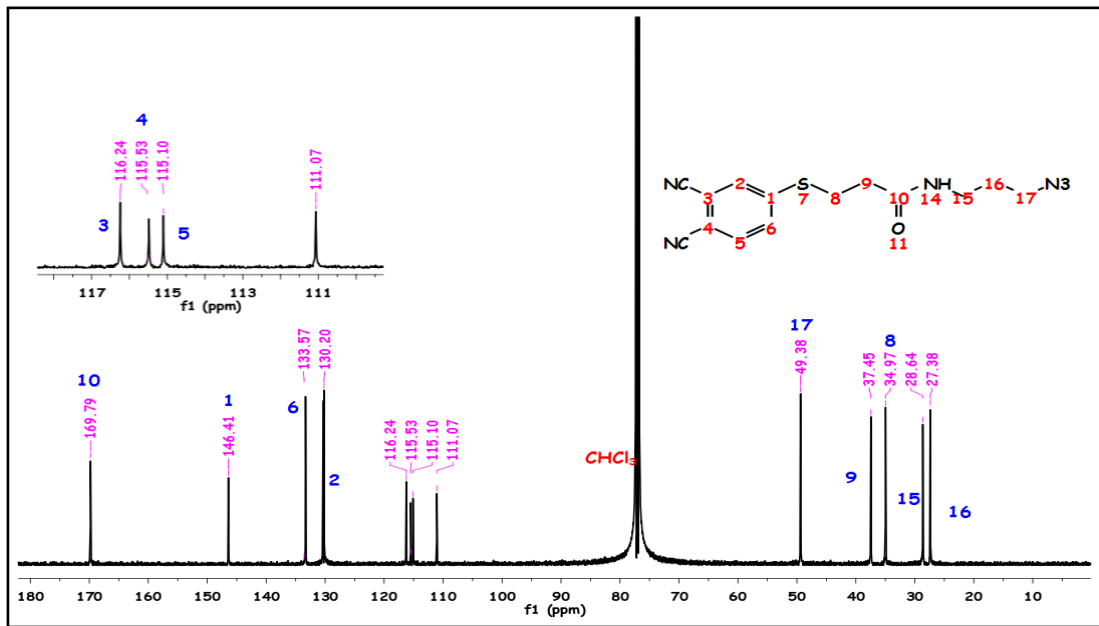
Şekil 8.24: 15 Bileşğine ait FT-IR spektrumu.



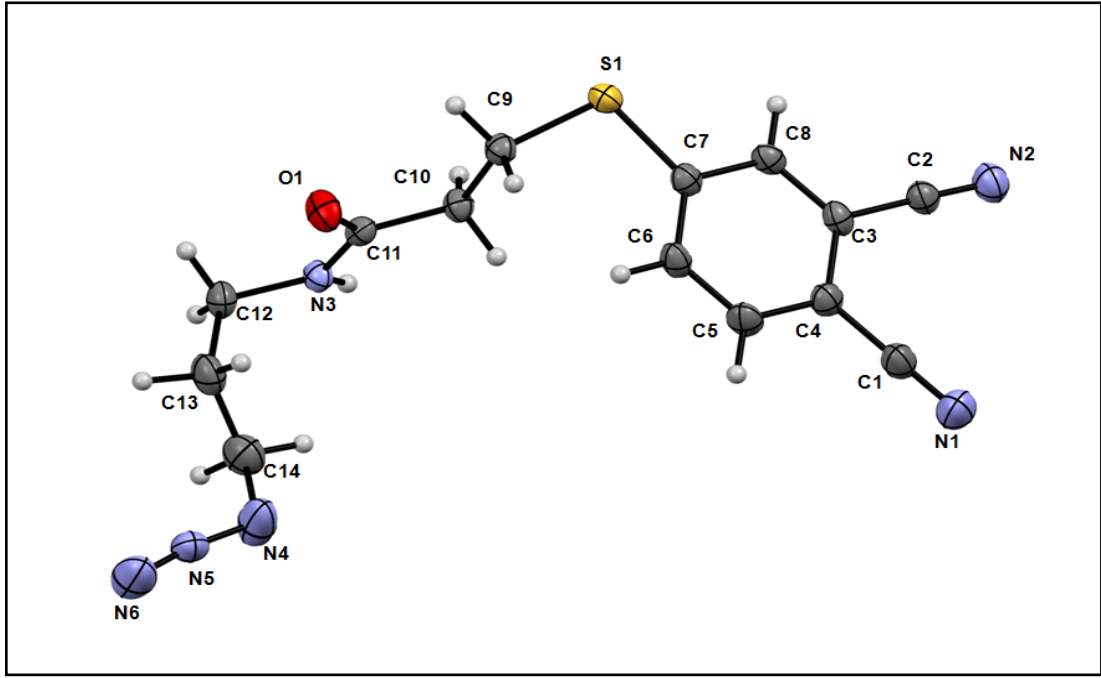
Şekil 8.25: 15 Bileşğine ait kütle (ESI) spektrumu.



Şekil 8.26: 15 Bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.

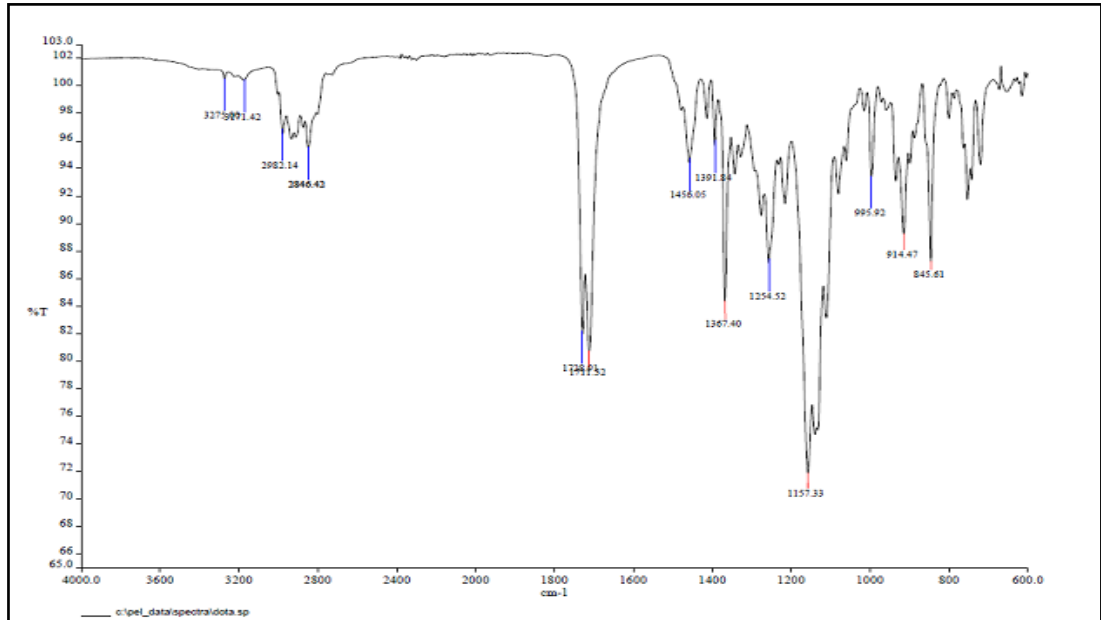


Şekil 8.27: 15 Bileşiğine ait ¹³C-NMR spektrumu.

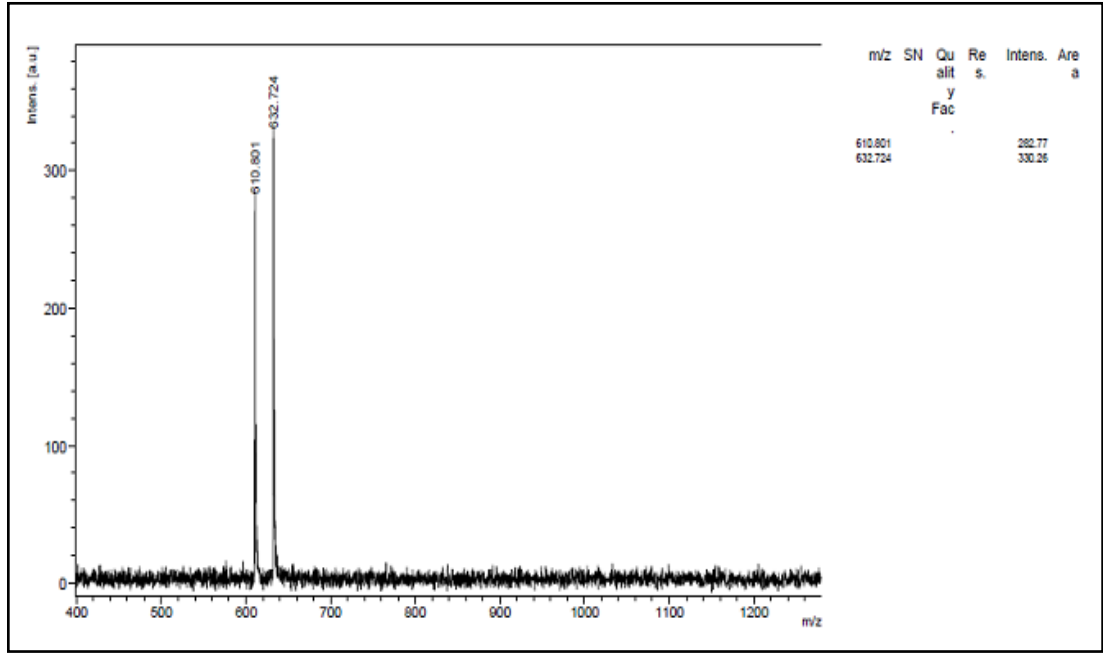


Şekil 8.28: 15 Bileşiğine ait X-ray spektrumu.

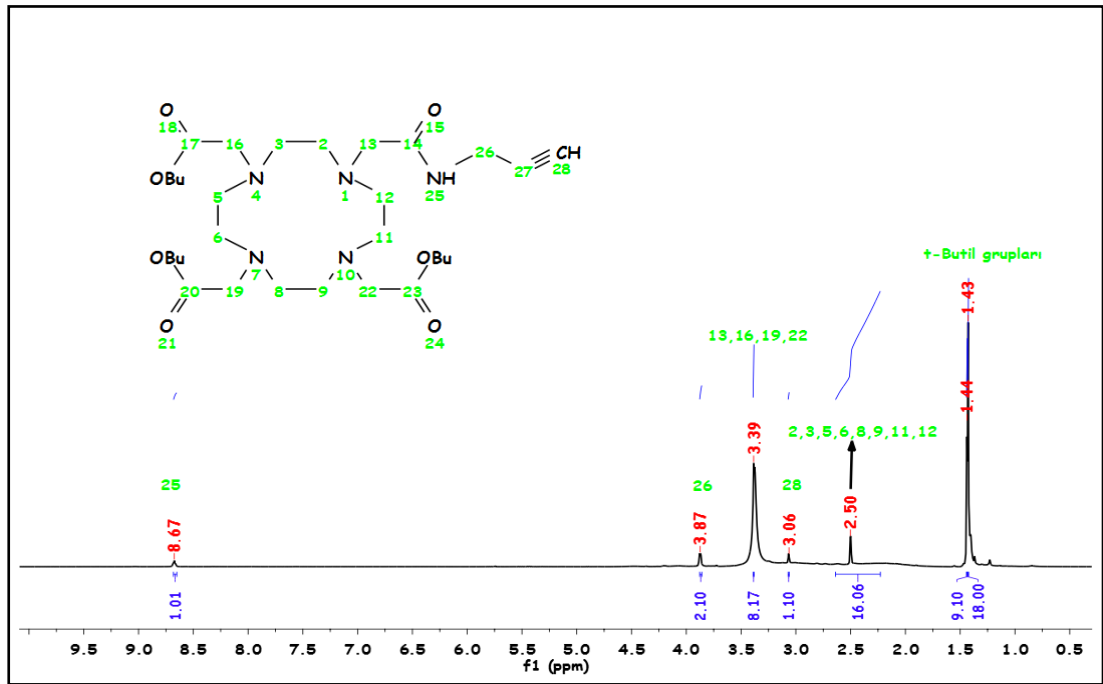
8.9. 16 Bileşiğine Ait Spektrumlar



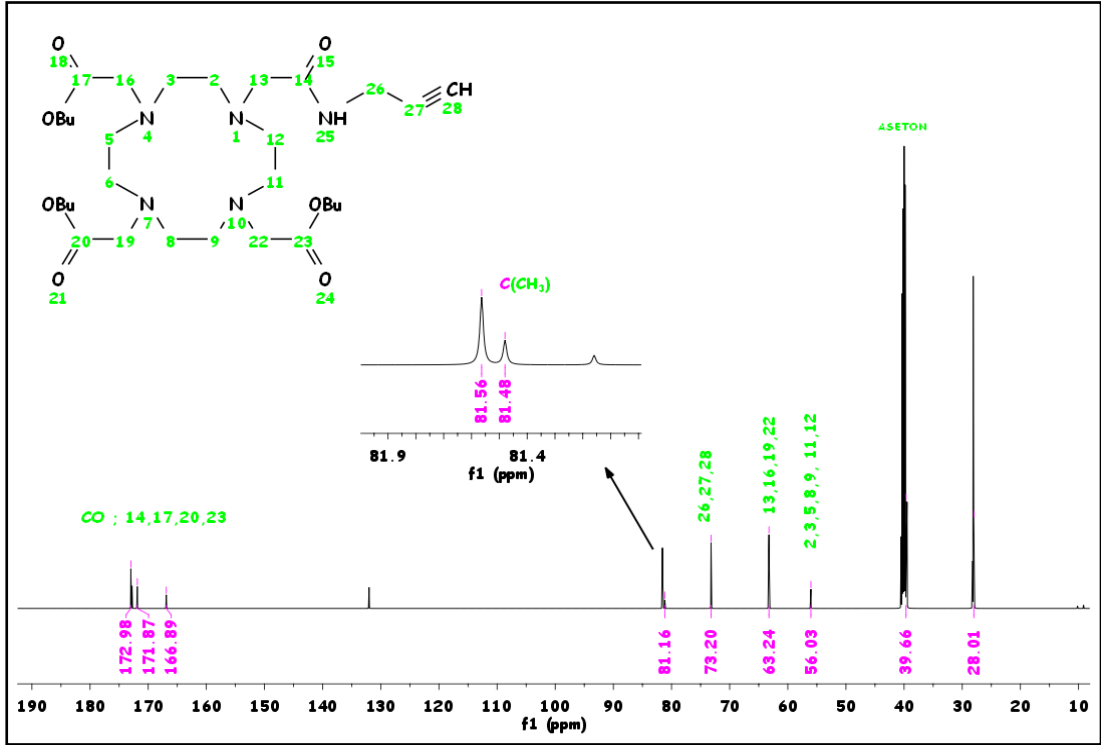
Şekil 8.29: 16 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.



Şekil 8.30: 16 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

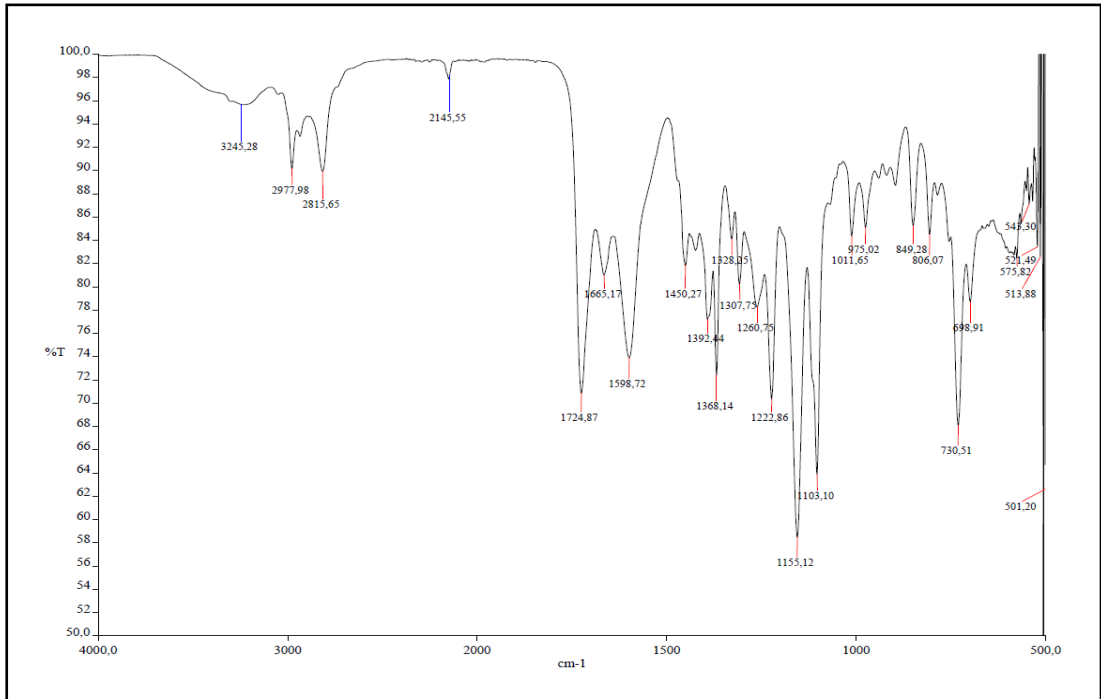


Şekil 8.31: 16 Bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.

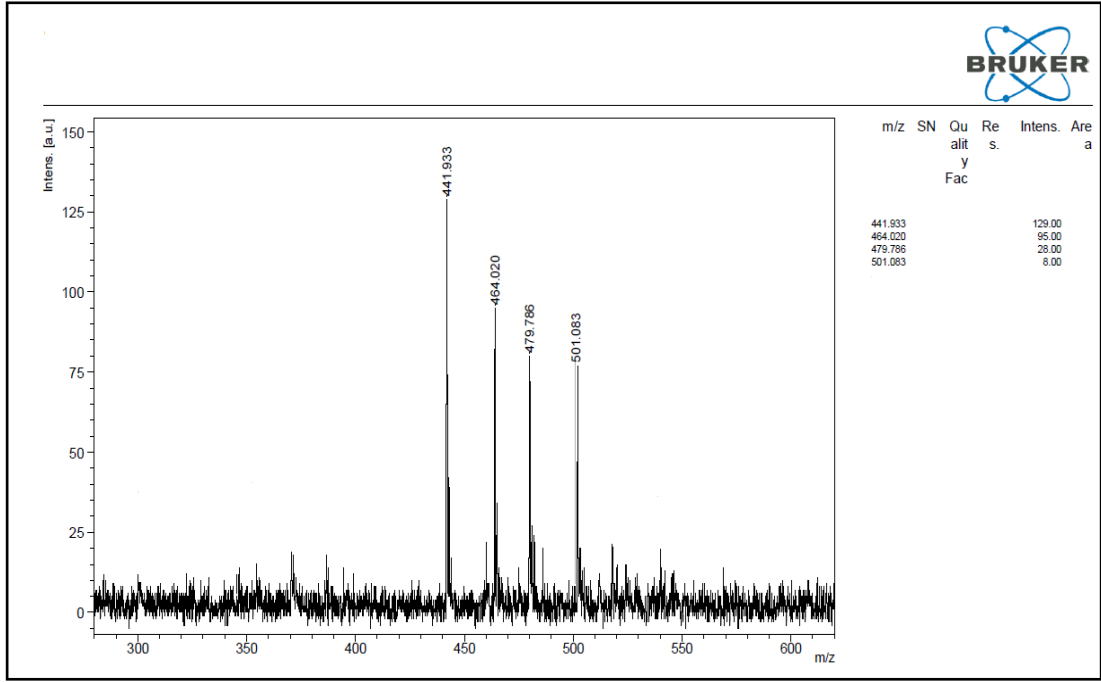


Şekil 8.32: 16 Bileşiğine ait ¹³C-NMR spektrumu.

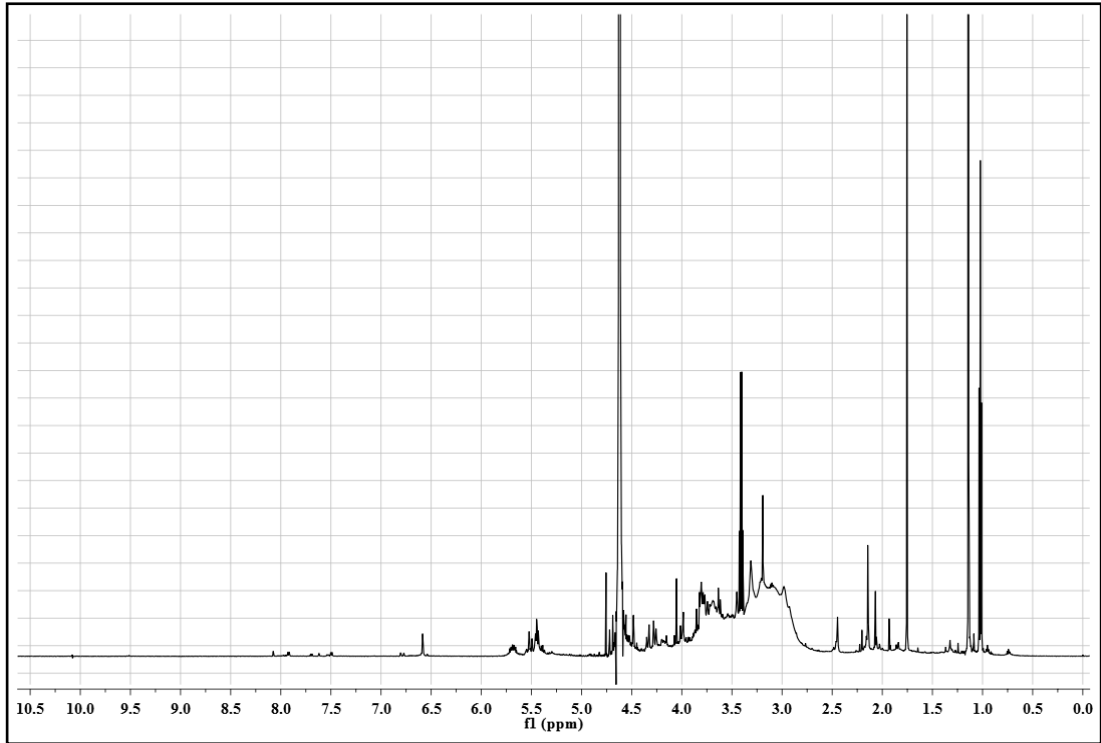
8.10. 17 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.33: 17 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.

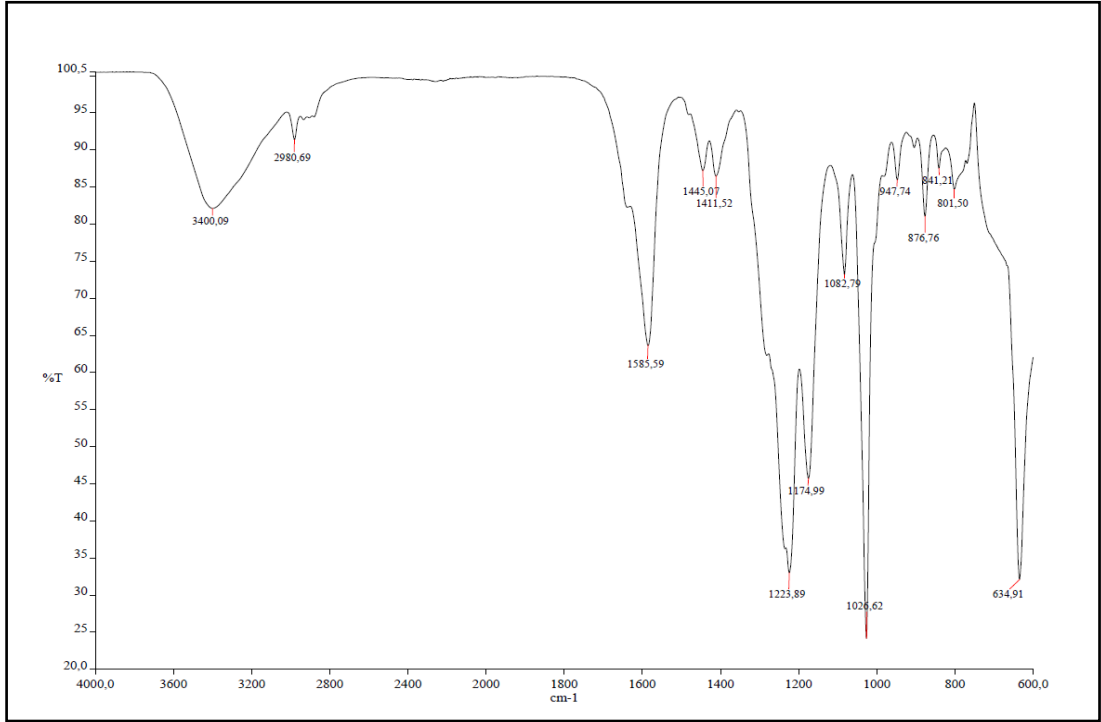


Şekil 8.34: 17 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

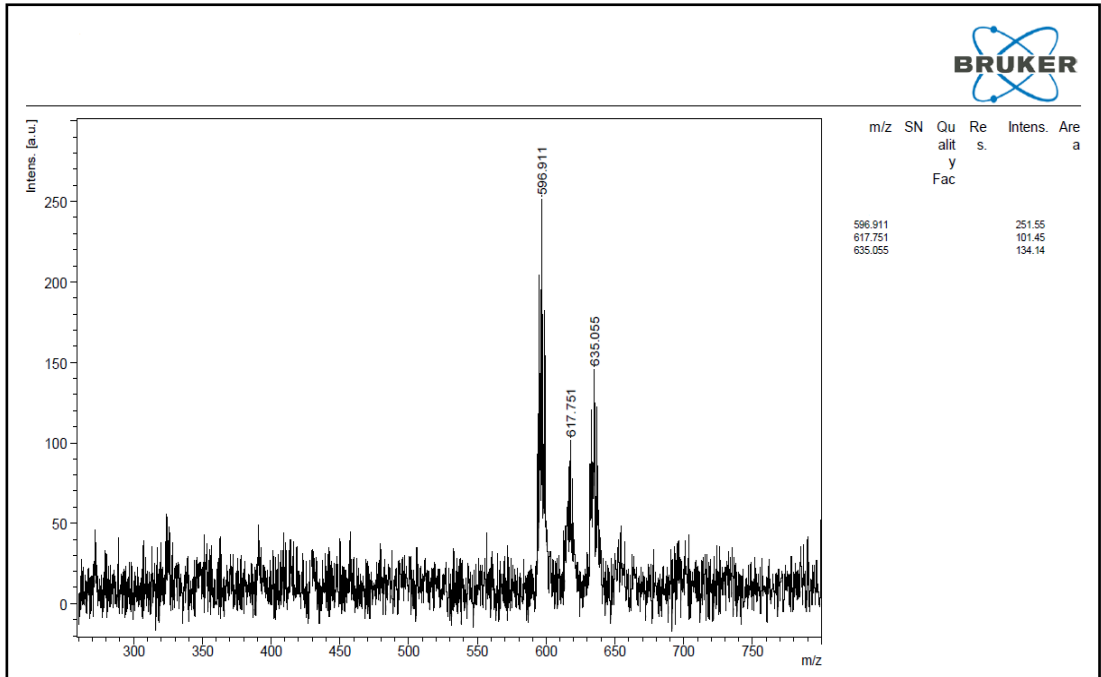


Şekil 8.35: 17 Bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.

8.11. 18 Bileşğine Ait Spektrumlar

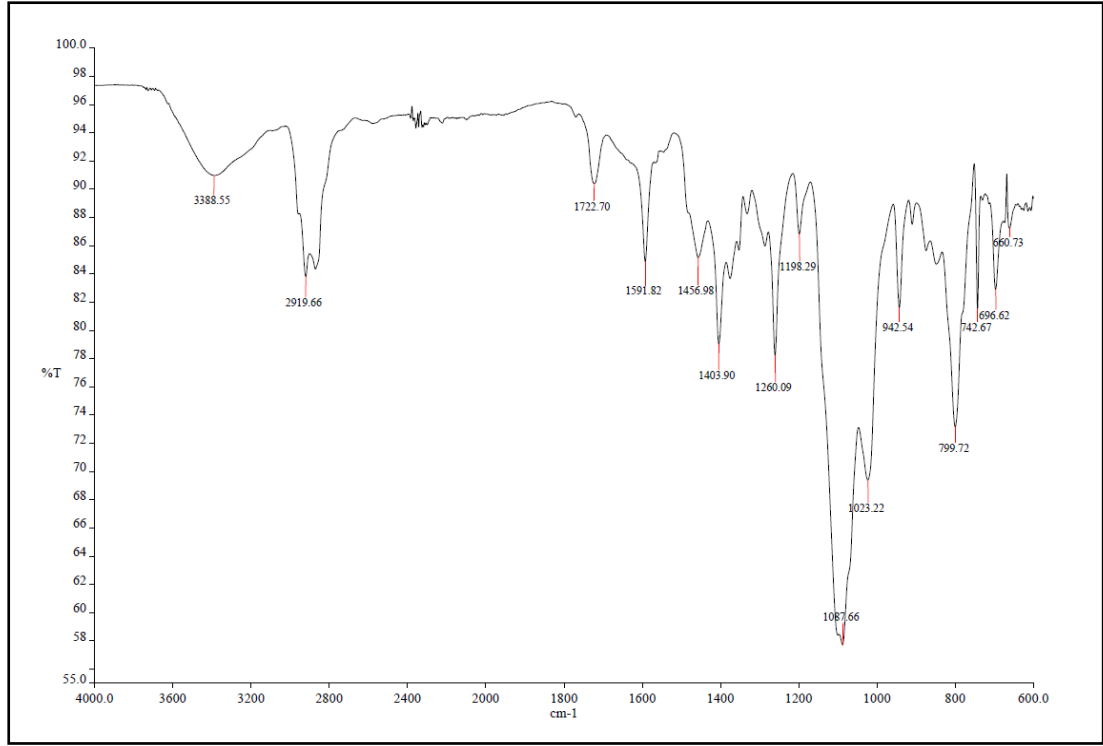


Şekil 8.36: 18 Bileşğine ait FT-IR spektrumu.

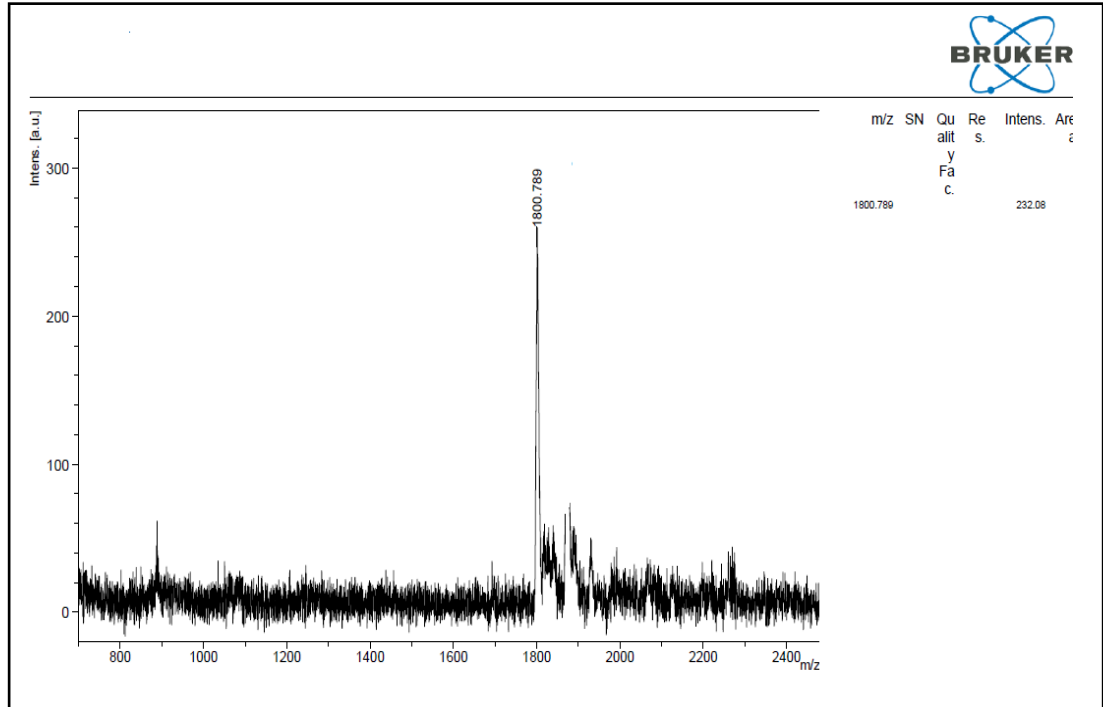


Şekil 8.37: 18 Bileşğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

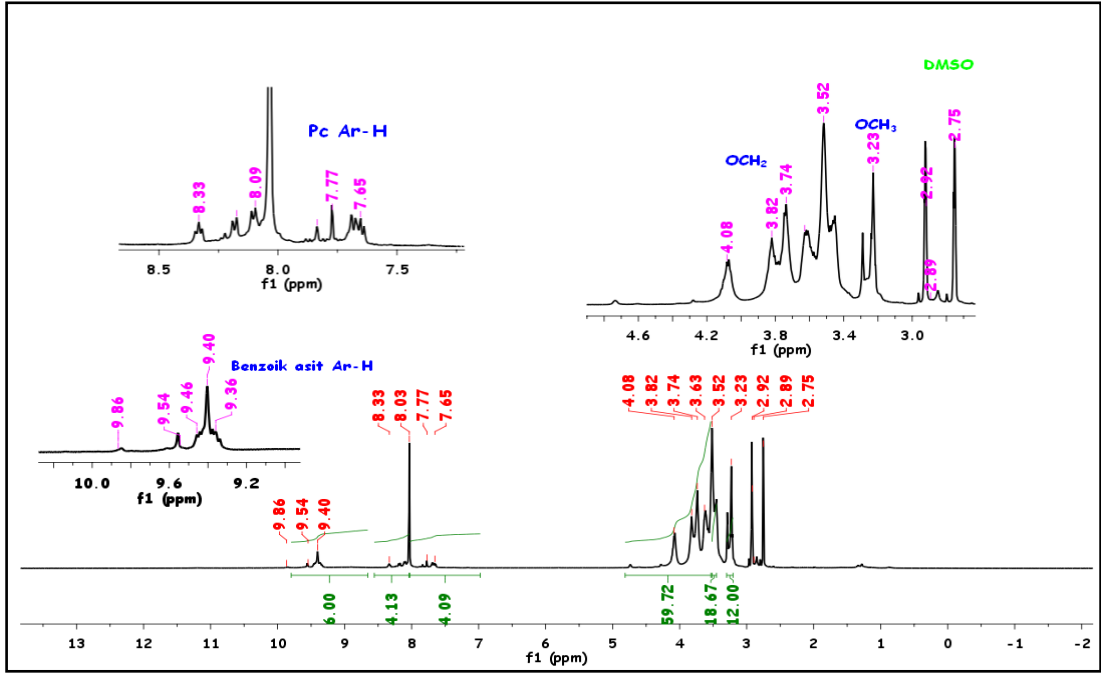
8.12. 19 Bileşğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.38: 19 Bileşğine ait FT-IR spektrumu.

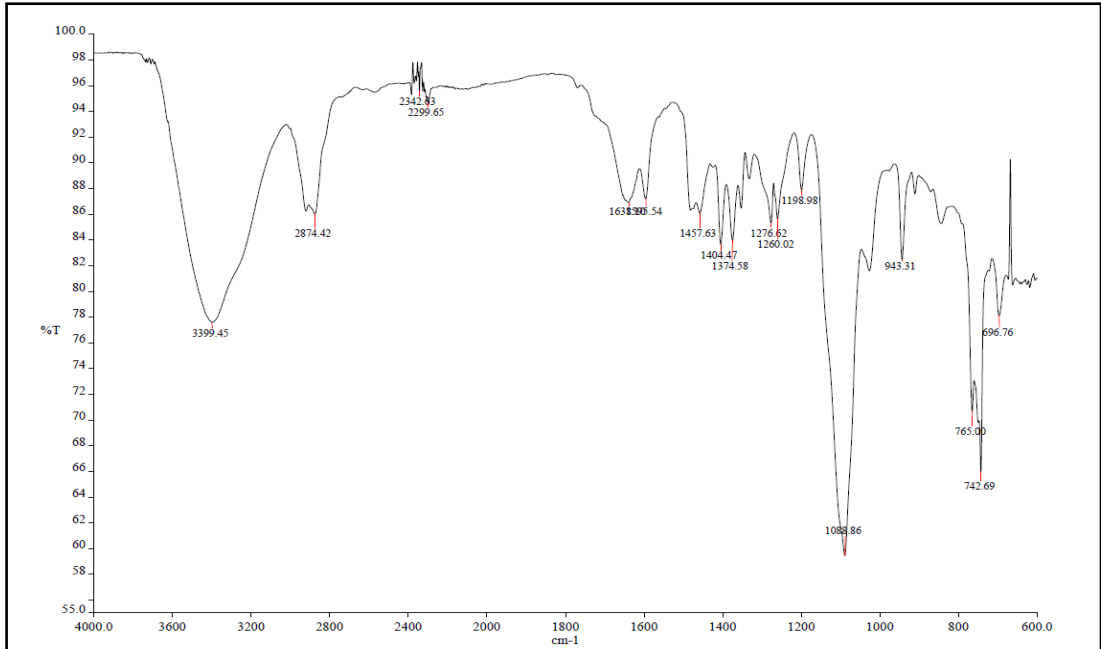


Şekil 8.39: 19 Bileşğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

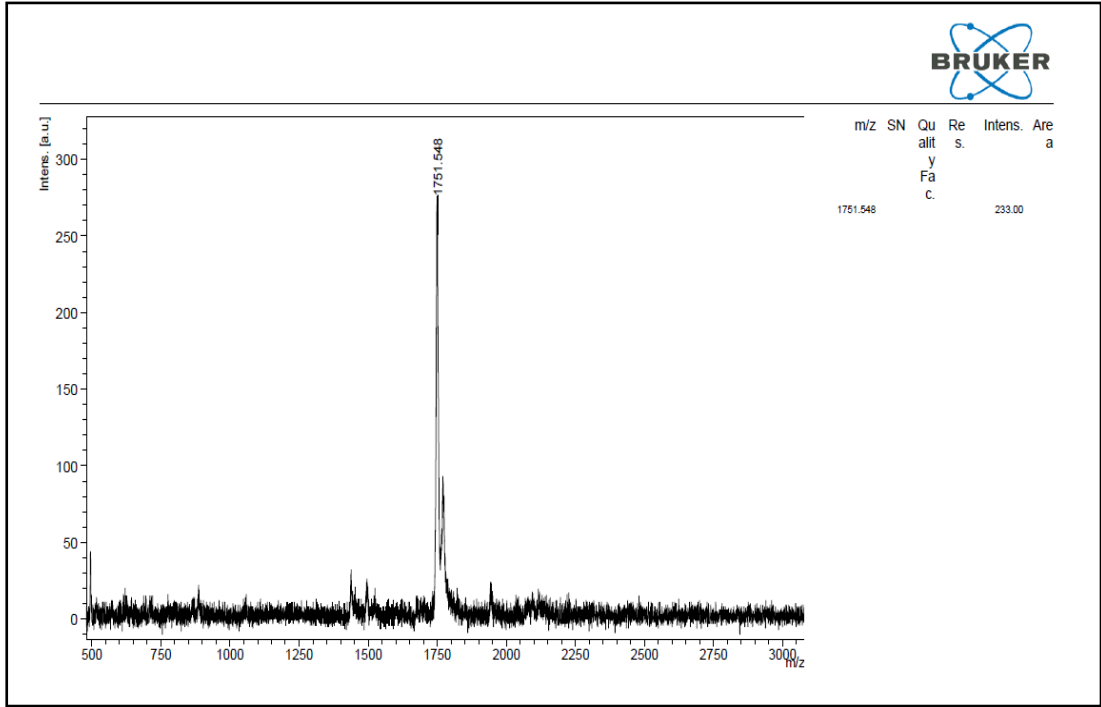


Şekil 8.40: 19 Bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.

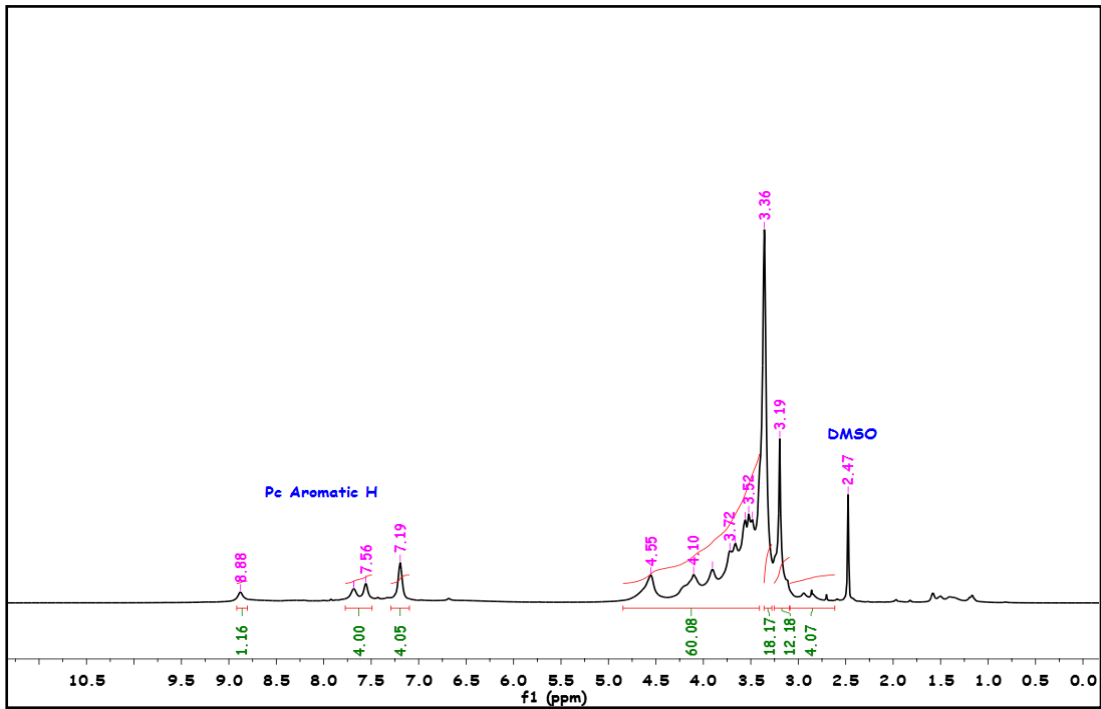
8.13. 20 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.41: 20 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.

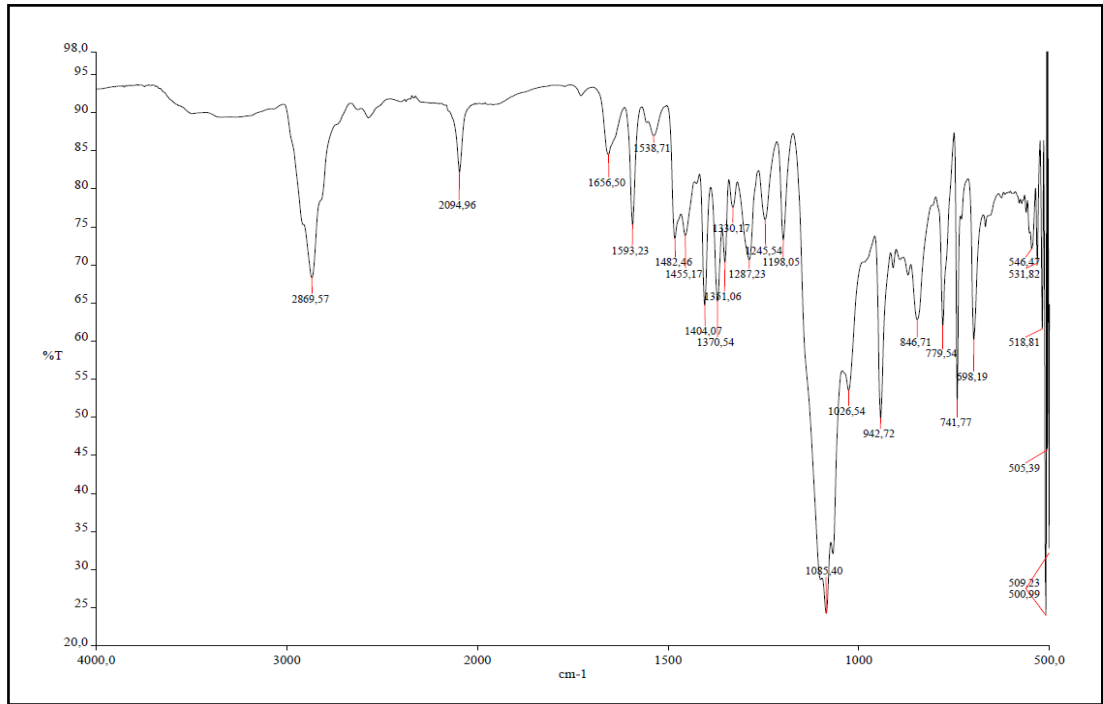


Şekil 8.42: 20 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

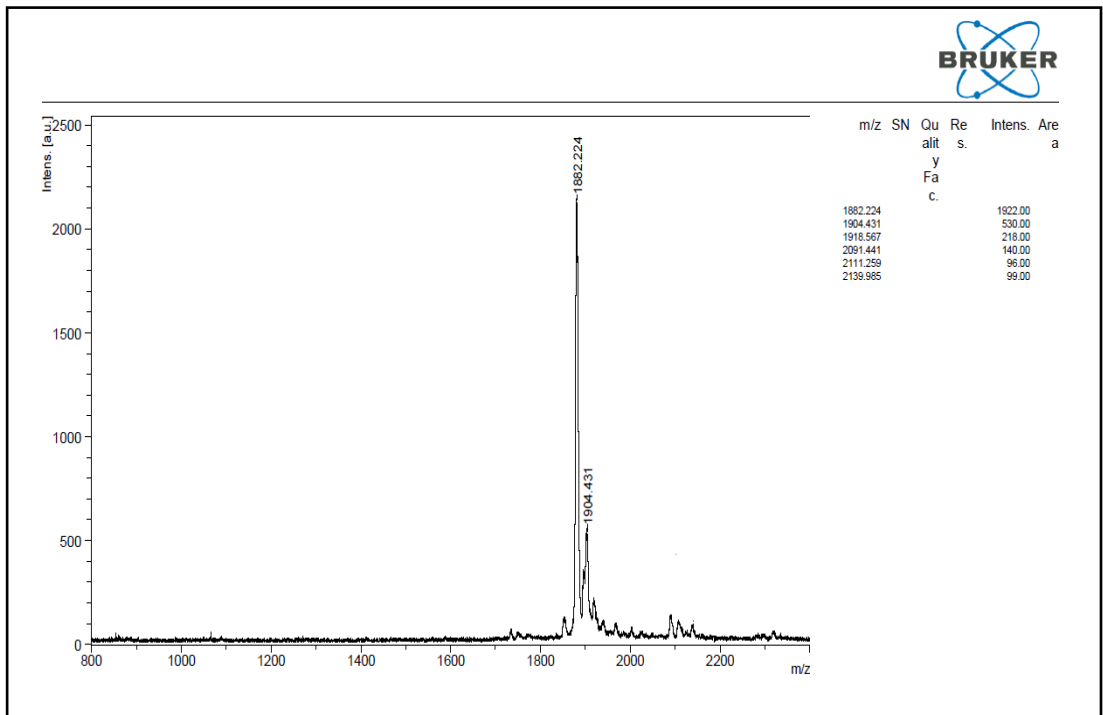


Şekil 8.43: 20 Bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu.

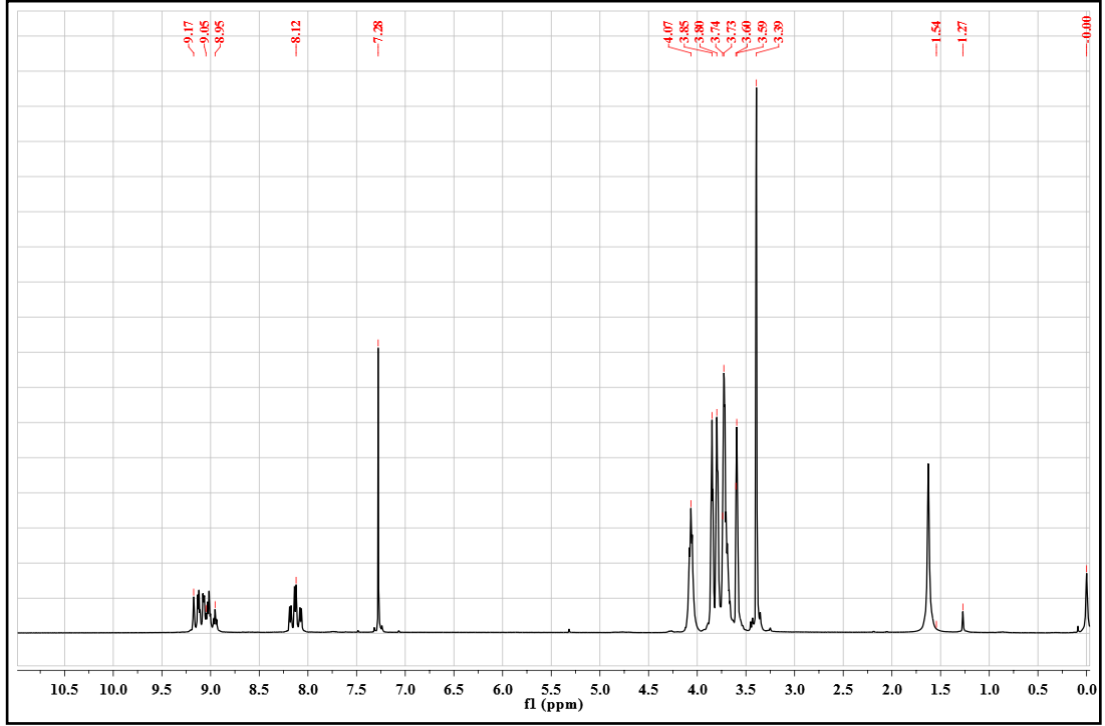
8.14. 21 Bileşğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.44: 21 Bileşğine ait FT-IR spektrumu.

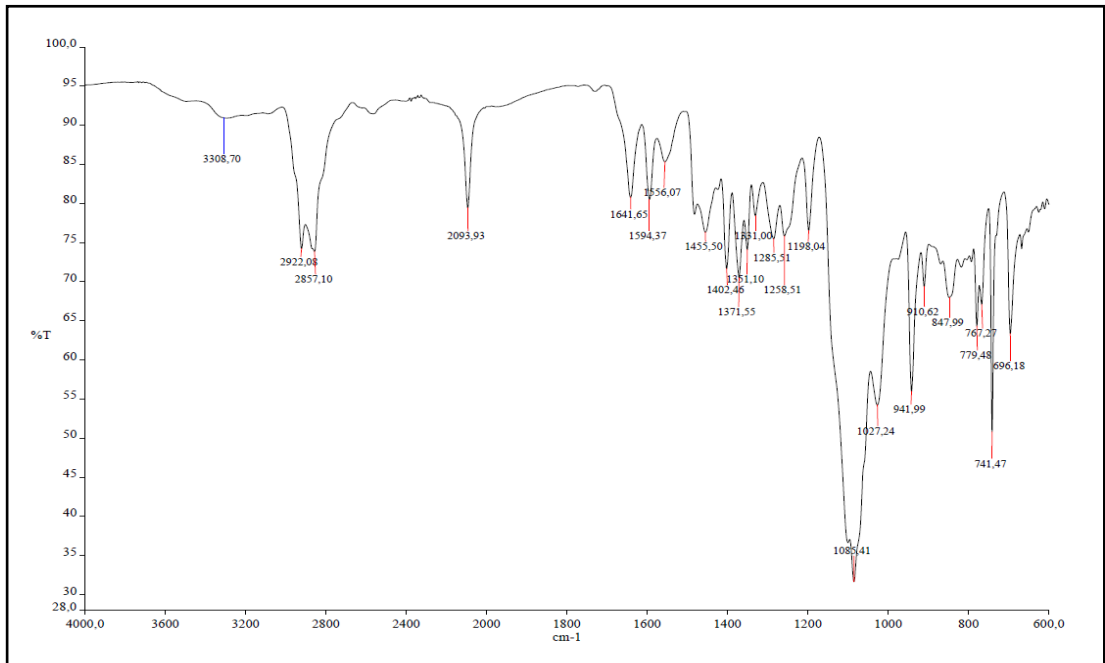


Şekil 8.45: 21 Bileşğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

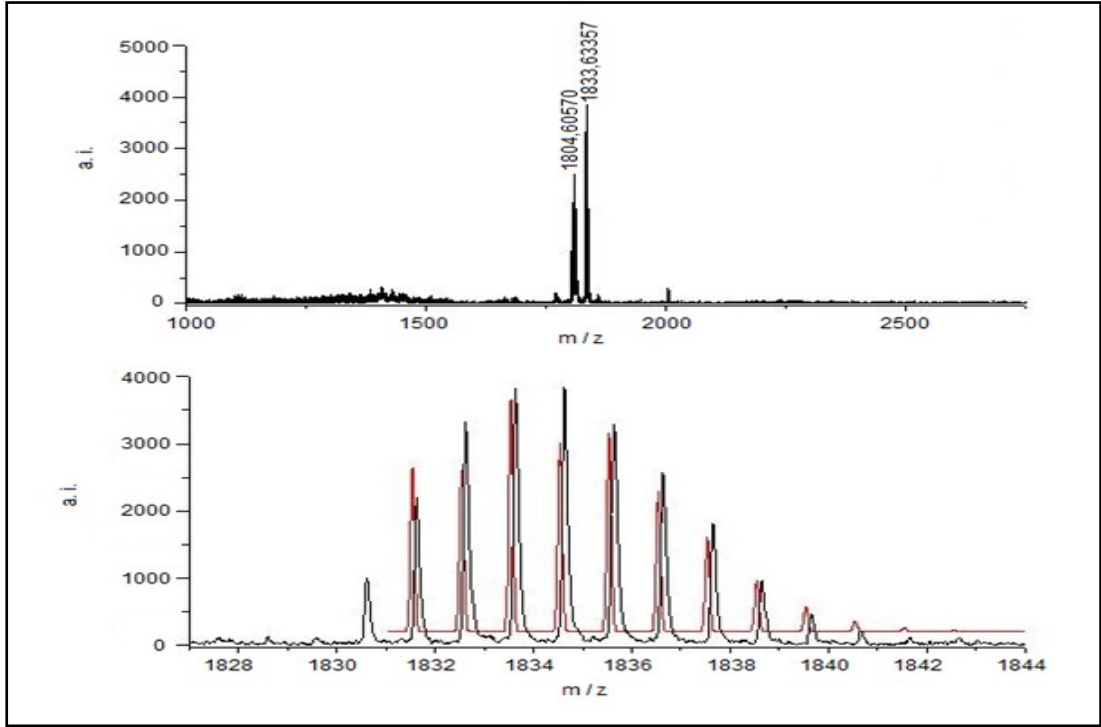


Şekil 8.46: 21 Bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu.

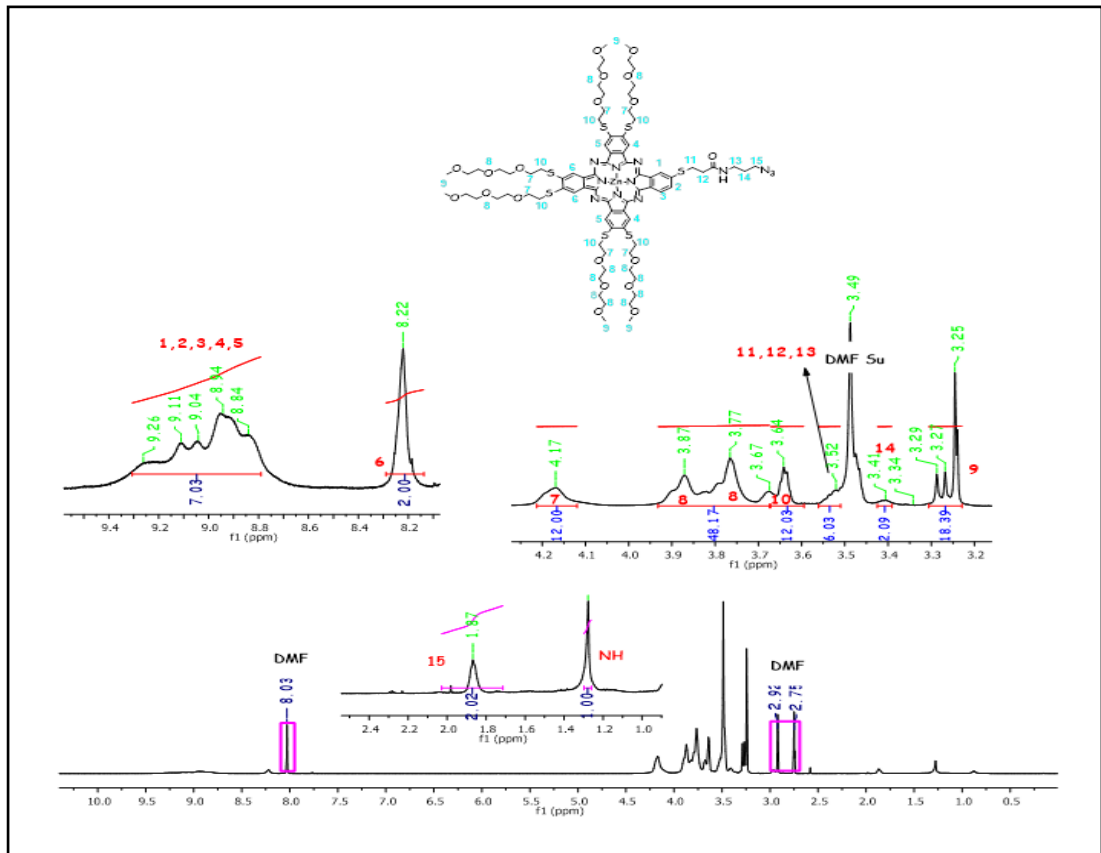
8.15. 22 Bileşiğine Ait Spektrumlar



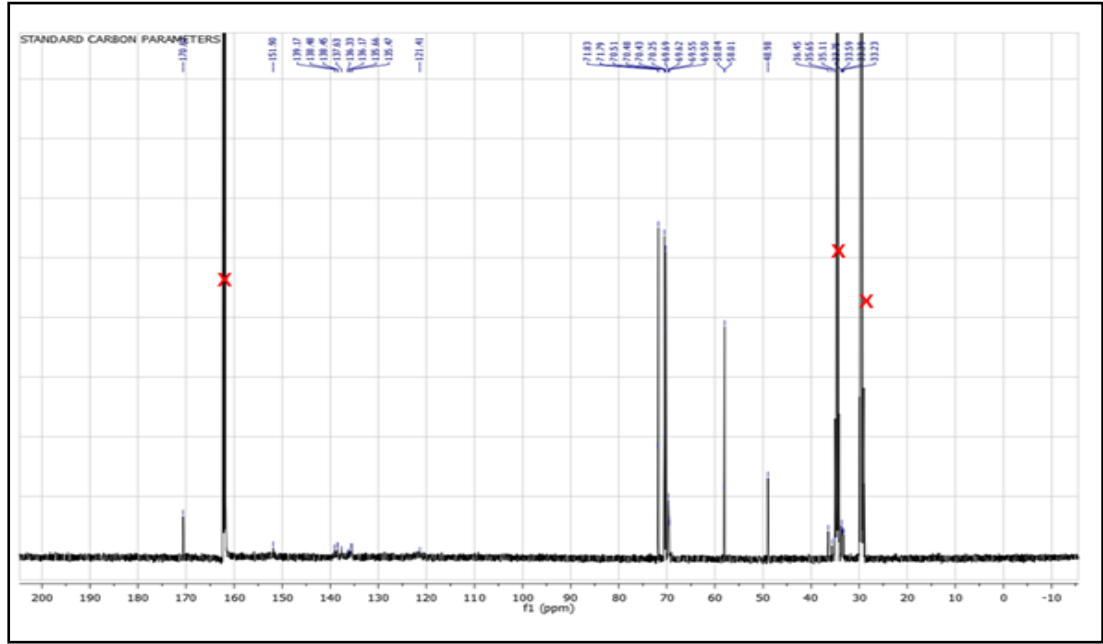
Şekil 8.47: 22 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.



Şekil 8.48: 22 Bileşiğine ait kütle (HRMS) spektrumu.

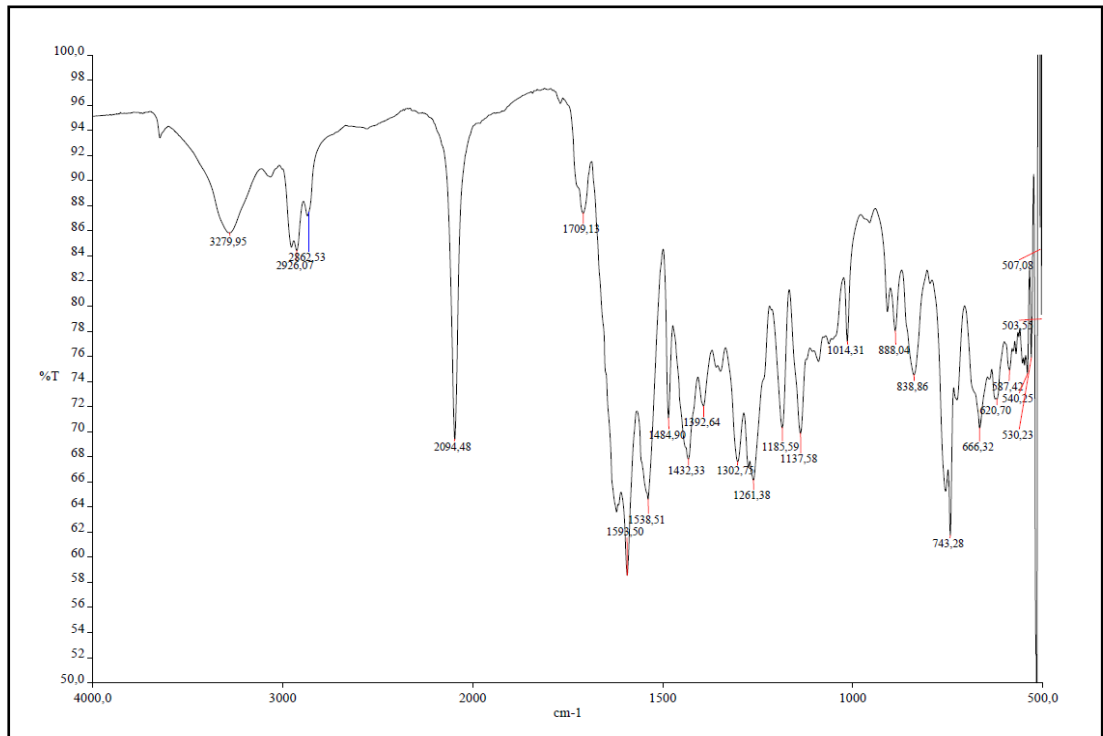


Şekil 8.49: 22 Bileşiğine ait ¹H-NMR apektrumu.

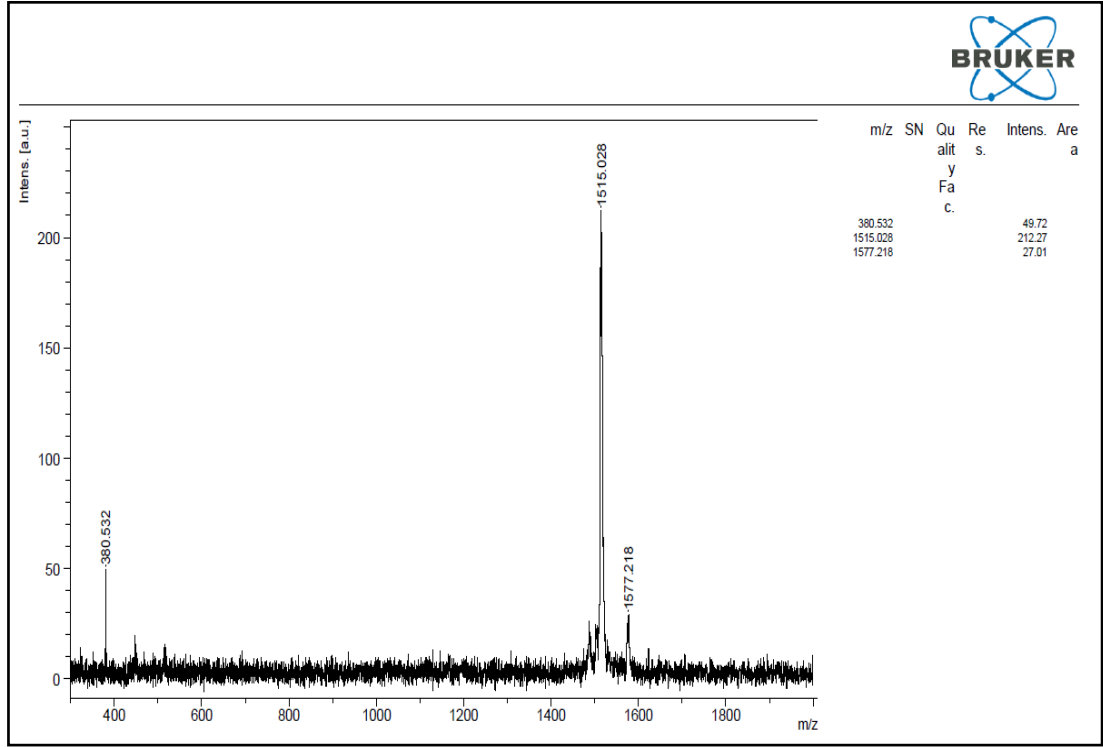


Şekil 8.50: 22 Bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu.

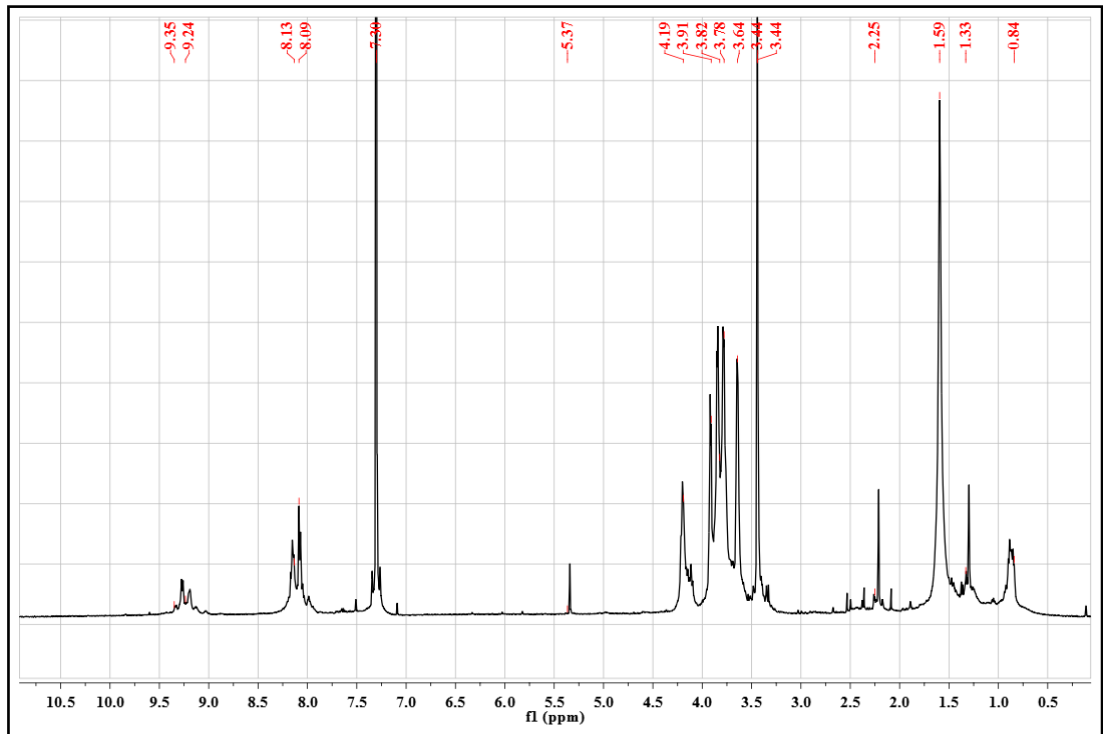
8.16. 23 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.51: 23 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.

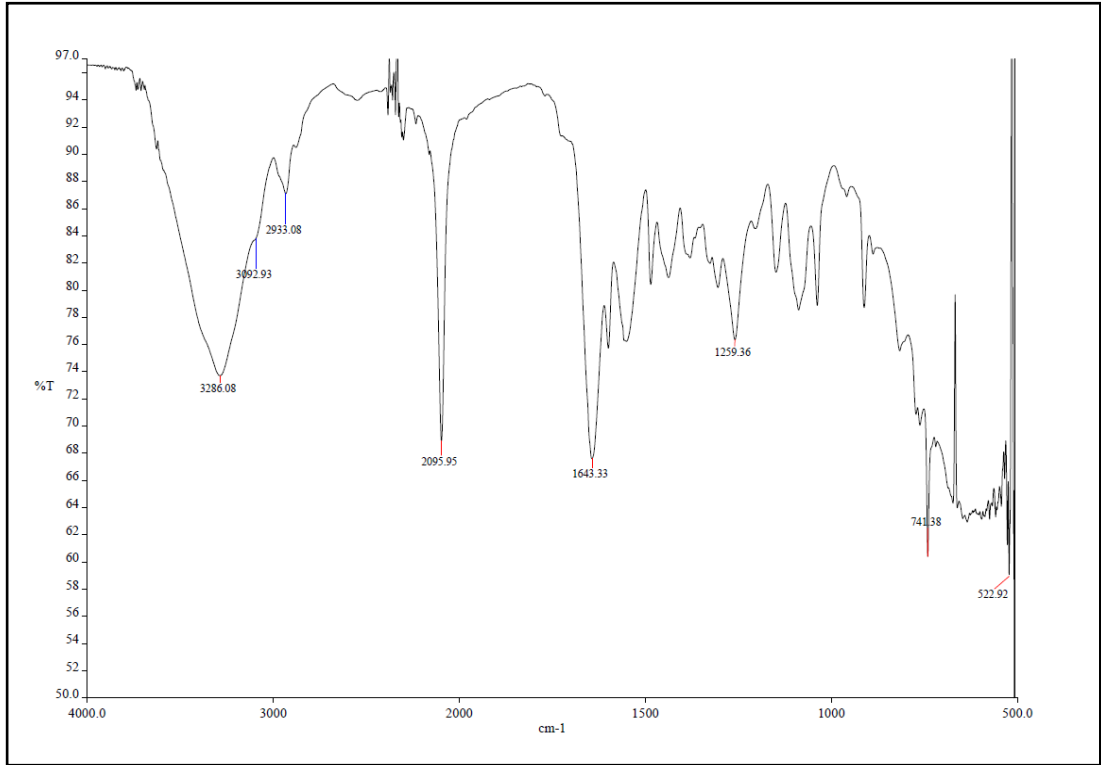


Şekil 8.52: 23 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

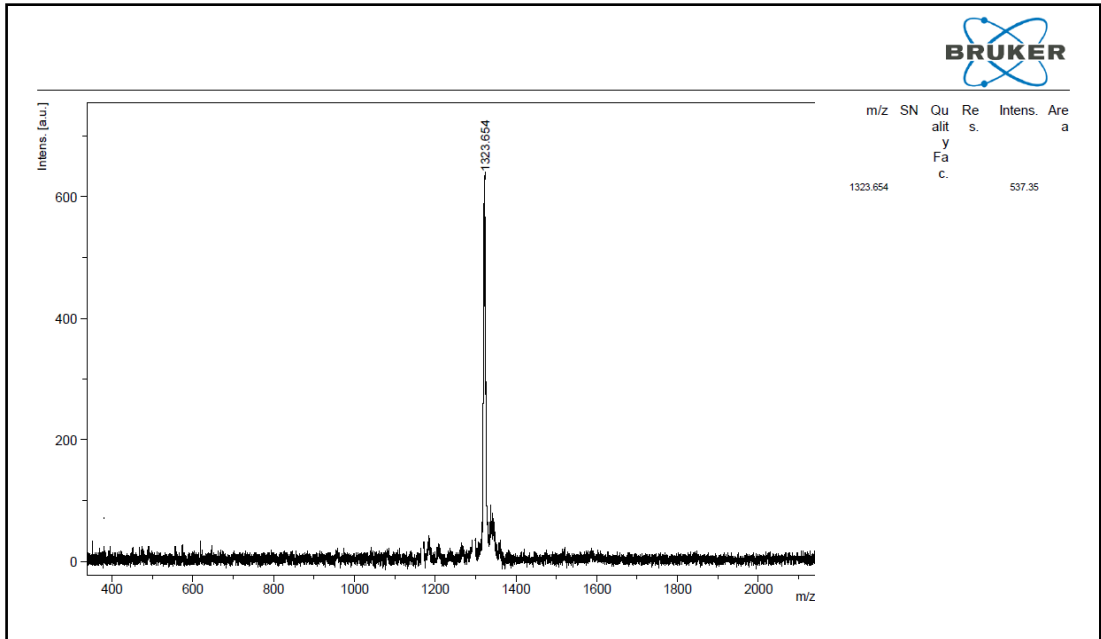


Şekil 8.53: 23 Bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu.

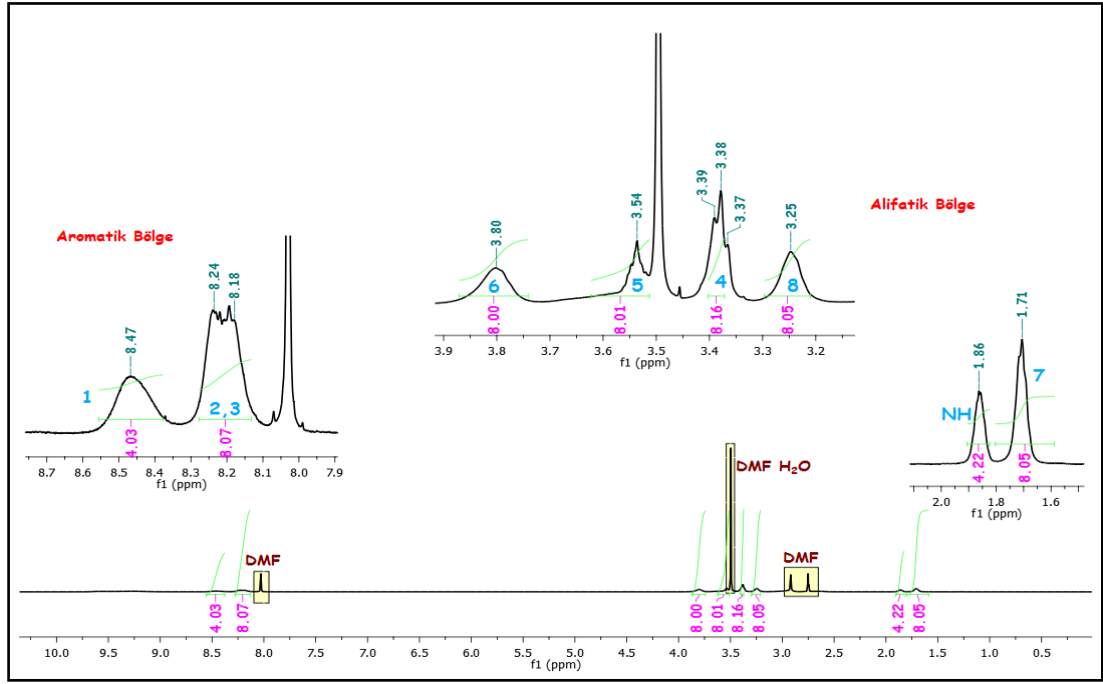
8.17. 24 Bileşğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.54: 24 Bileşğine ait FT-IR spektrumu.

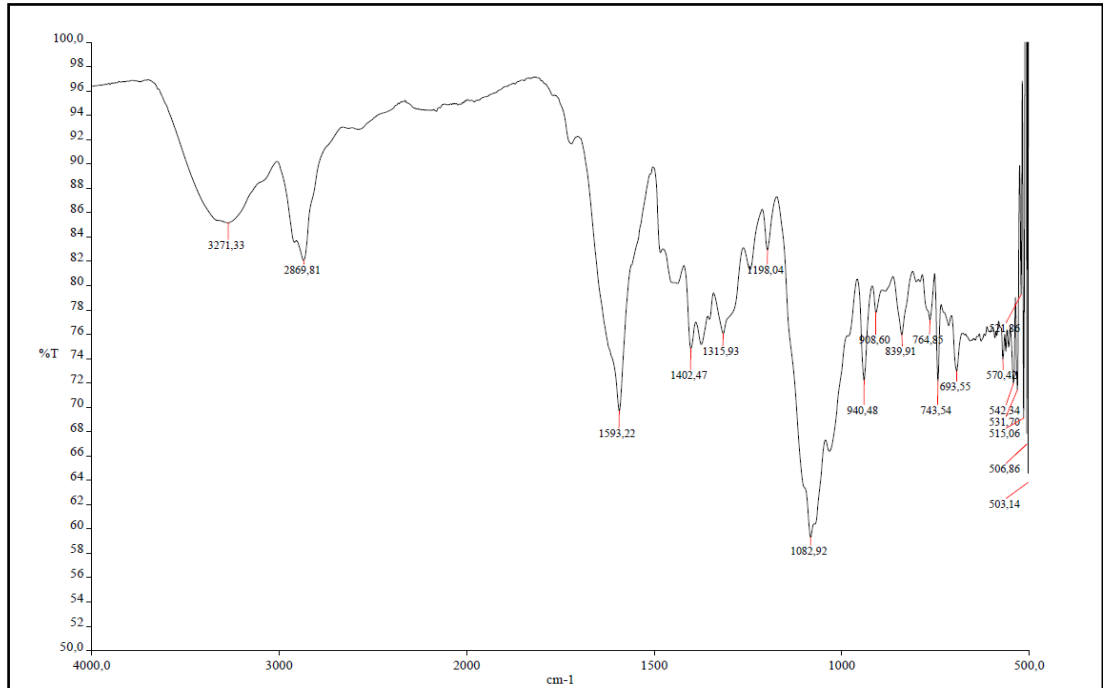


Şekil 8.55: 24 Bileşğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

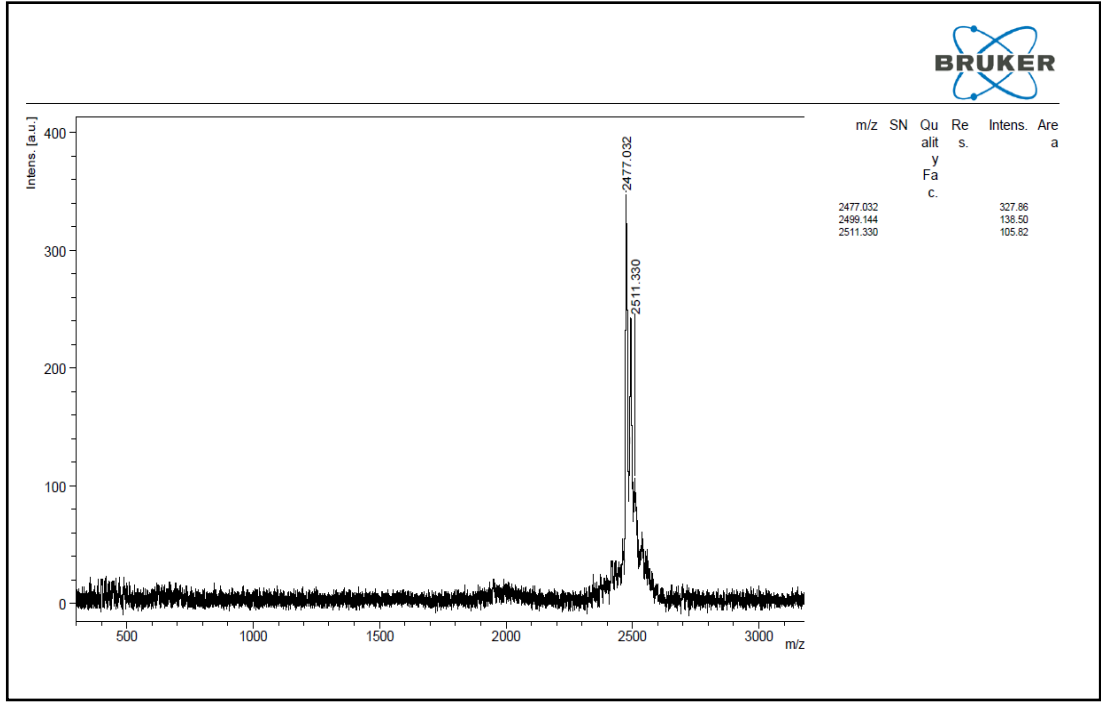


Şekil 8.56: 24 Bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.

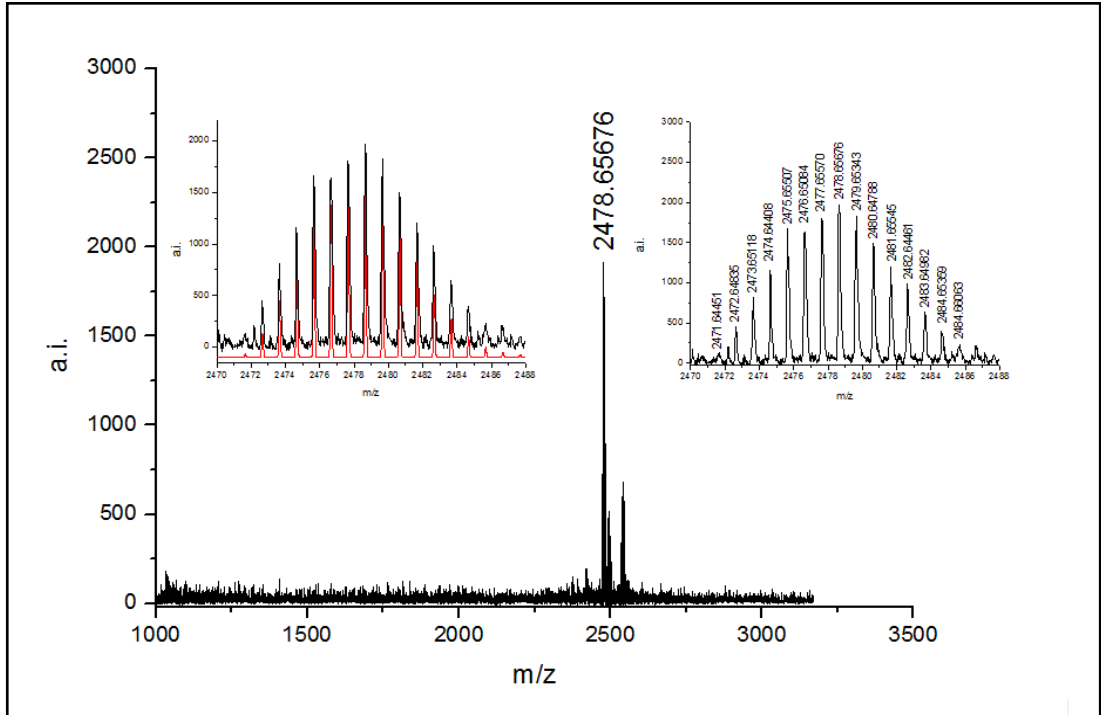
8.18. 25 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.57: 25 Bileşiğine ait FT-IR spektrumu.

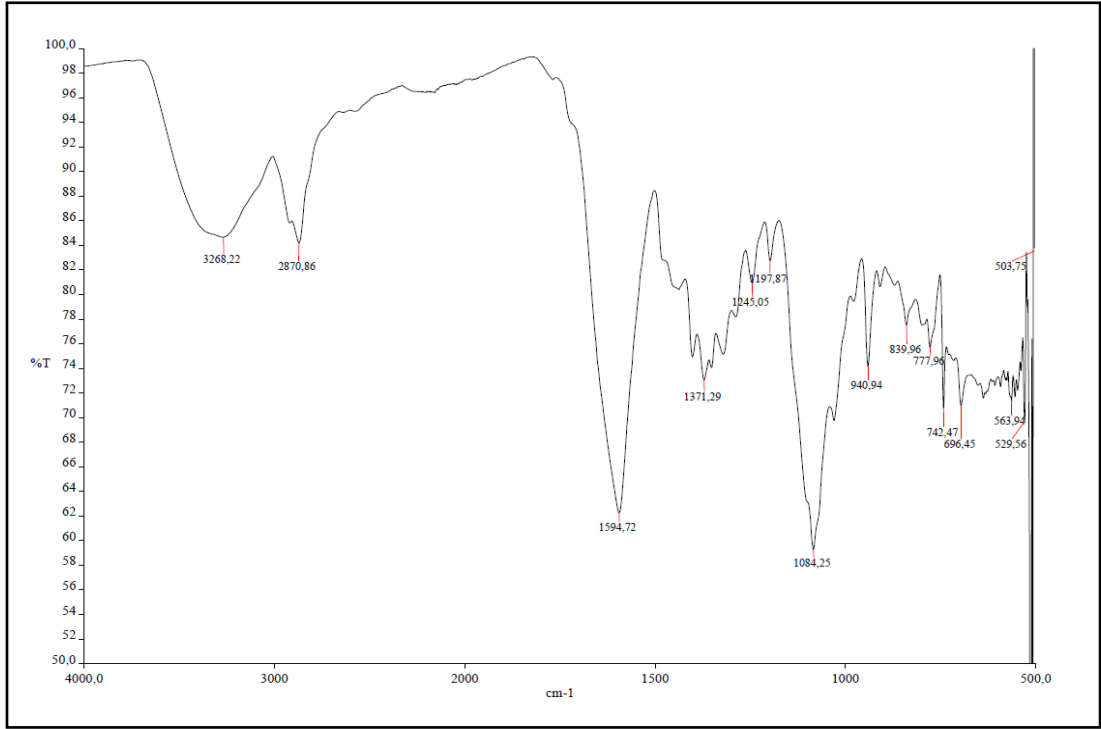


Şekil 8.58: 25 Bileşiğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.

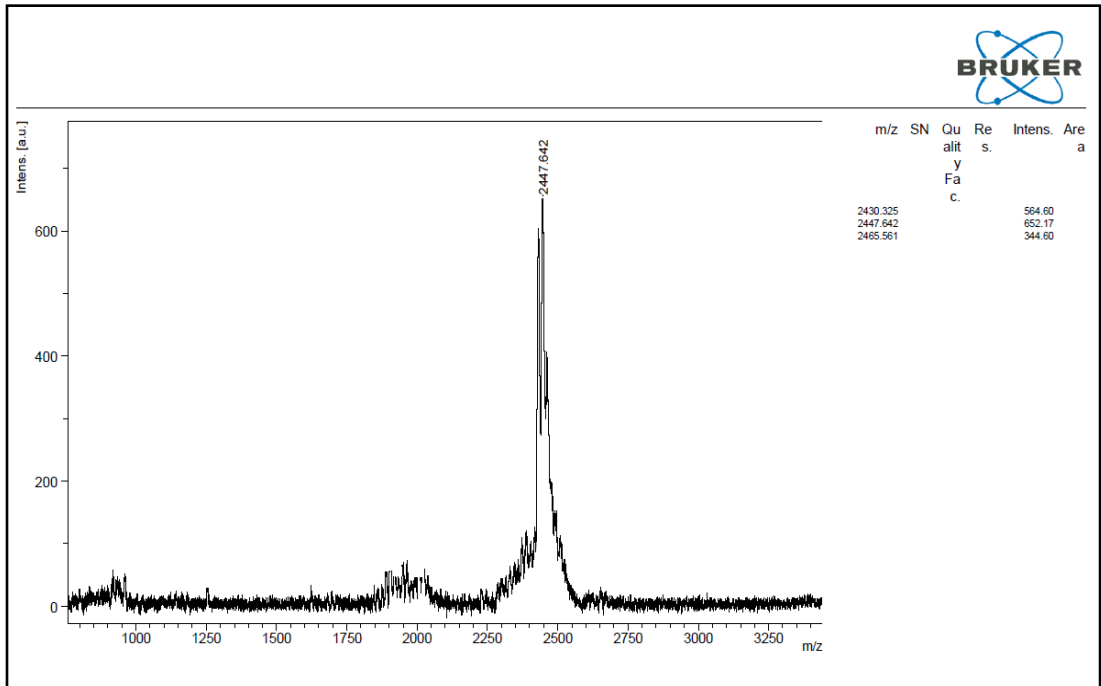


Şekil 8.59: 25 Bileşiğine ait kütle (HRMS) spektrumu.

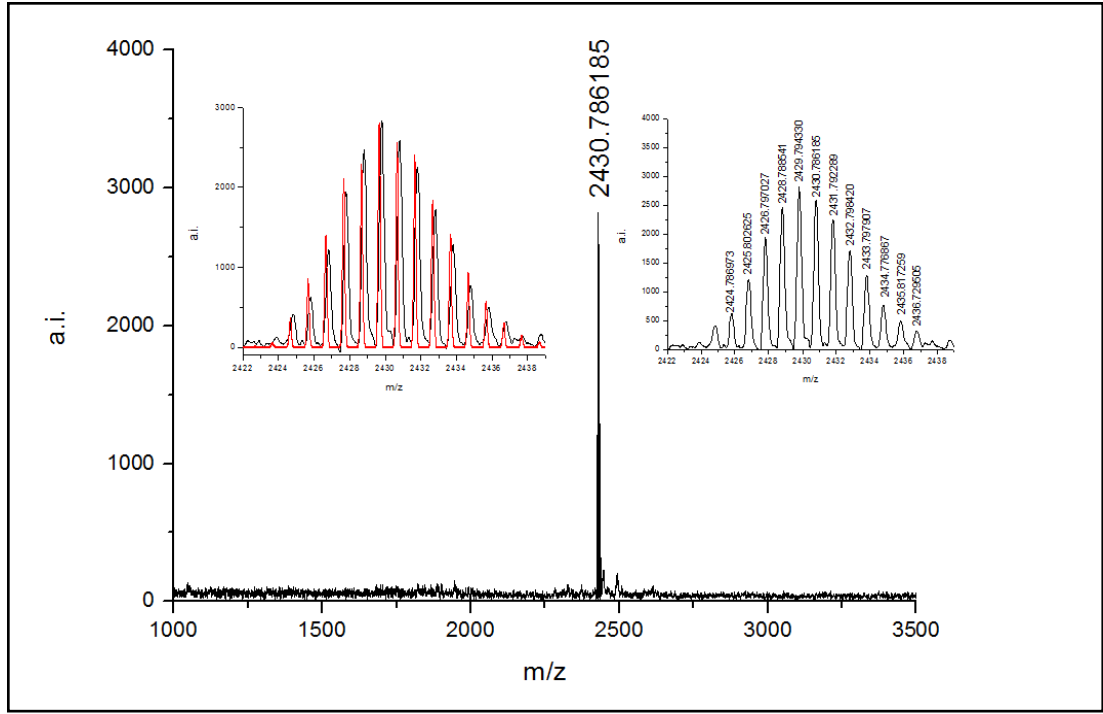
8.19. 26 Bileşğine Ait Spektrumlar



Şekil 8.60: 26 Bileşğine ait FT-IR spektrumu.



Şekil 8.61: 26 Bileşğine ait kütle (MALDI-TOF) spektrumu.



Şekil 8.62: 26 Bileşiğine ait kütle (HRMS) spektrumu.

KAYNAKLAR

- [1] Heath J. R., Davis M. E., (2008), "Nanotechnology and cancer", Annual Review Medicine, 59, 251-265.
- [2] Ding H., Wu F., (2012), "Image guided biodistribution and pharmacokinetic studies of theranostics", Theranostics, 2(11), 1040-1053.
- [3] Staderini M., Aulic S., Bartolini M., Tran H. N., Gonzalez-Ruiz V., Perez D. I., Cabezas N., Martinez A., Martin M. A., Andrisano V., Legname G., Menendez J. C., Bolognesi M. L., (2013), "A Fluorescent Styrylquinoline with Combined Therapeutic and Diagnostic Activities against Alzheimer's and Prion Diseases", ACS Medicinal Chemistry Letters, 4(2), 225-229.
- [4] Debatin K. M., (2004), "Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy", Cancer Immunol Immunother, 53(3), 153-159.
- [5] Juzeniene A., Moan J., (2007), "The history of PDT in Norway Part one: Identification of basic mechanisms of general PDT", Photodiagnosis Photodynamic Therapy, 4(1), 3-11.
- [6] Brasseur N., Ali H., Langlois R., Van Lier J. E., (1987), "biological activities of phthalocyanines—VII. photoinactivation of v-79 chinese hamster cells by selectively sulfonated gallium phthalocyanines", Photochemistry and Photobiology, 46(5), 739-744.
- [7] Xie J., Lee S., Chen X., (2010), "Nanoparticle-based theranostic agents", Advance Drug Delivery Reviews, 62(11), 1064-1079.
- [8] Sumer B., Gao J., (2008), "Theranostic nanomedicine for cancer", Nanomedicine (Lond), 3(2), 137-140.
- [9] Allison R. R., Mota H. C., Bagnato V. S., Sibata C. H., (2008), "Bio-nanotechnology and photodynamic therapy--state of the art review", Photodiagnosis Photodynamic Therapy, 5(1), 19-28.
- [10] Rasmussen-Taxdal D. S., Ward G. E., Figge F. H., (1955), "Fluorescence of human lymphatic and cancer tissues following high doses of intravenous hematoporphyrin", Surgical Forum, 5, 619-624.
- [11] Tappeiner V.H., (1909), "Die photodynamische Erscheinung (Sensibilisierung durch fluoreszierende Stoffe)", Ergebnisse der Physiologie, 8(1), 698-741.
- [12] Tappeiner V.H., Jesionek A., (1903), "Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen", Münchner Medizinische Wochenschrift, 50, 2042-2044.

- [13] Figge F. H., Weiland G. S., Manganiello L. O., (1948), "Cancer detection and therapy; affinity of neoplastic, embryonic, and traumatized tissues for porphyrins and metalloporphyrins", *Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine*, 68(3), 640.
- [14] Dougherty T. J., (1987), "Studies on the structure of porphyrins contained in Photofrin II", *Photochemistry and Photobiology*, 46(5), 569-573.
- [15] Dougherty T. J., (1989), "Photodynamic therapy—new approaches", *Seminars in Surgical Oncology*, 5(1), 6-16.
- [16] Packer A. J., Tse D. T., Gu X. Q., Hayreh S. S., (1984), "Hematoporphyrin photoradiation therapy for iris neovascularization. A preliminary report", *Archieve Ophthalmology*, 102(8), 1193-1197.
- [17] Nanda S. K., Hatchell D. L., Tiedeman J. S., Dutton J. J., Hatchell M. C., McAdoo T., (1987), "A new method for vascular occlusion. Photochemical initiation of thrombosis", *Arch Ophthalmol*, 105(8), 1121-1124.
- [18] Foote C.S., (1991), "Definition of type I and type II photosensitized oxidation", *Photochemistry and Photobiology*, 54(5), 659.
- [19] Sharman W. M., Allen C. M., van Lier J. E., (1999), "Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications", *Drug Discovery Today*, 4(11), 507-517.
- [20] Dai T., Fuchs B. B., Coleman J. J., Prates R. A., Astrakas C., St Denis T. G., Ribeiro M. S., Mylonakis E., Hamblin M. R., Tegos G. P., (2012), "Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform", *Frontiers Microbiology*, 3, 120.
- [21] Josefsen L. B., Boyle R. W., (2008), "Photodynamic therapy: novel third-generation photosensitizers one step closer?", *British Journal of Pharmacology*, 154(1), 1-3.
- [22] Saczko J., Kulbacka J., Chwilkowska A., Lugowski M., Banas T., (2004), "Levels of lipid peroxidation in A549 cells after PDT in vitro", *Rocz Akad Medicinal Bialymst*, 49 Suppl 1, 82-84.
- [23] Henderson B. W., Dougherty T. J., (1992), "How does photodynamic therapy work?", *Photochemistry and Photobiology*, 55(1), 145-157.
- [24] Tromberg B. J., Orenstein A., Kimel S., Barker S. J., Hyatt J., Nelson J. S., Berns M. W., (1990), "In vivo tumor oxygen tension measurements for the evaluation of the efficiency of photodynamic therapy", *Photochemistry and Photobiology*, 52(2), 375-385.
- [25] Patrice T., (2003), "Photodynamic Therapy", 1st Edition, The Royal Society of Chemistry.

- [26] Boyle R. W., Dolphin D., (1996), "Structure and Biodistribution Relationships of Photodynamic Sensitizers*", *Photochemistry and Photobiology*, 64(3), 469-485.
- [27] Schunck T., Poulet P., (2000), "Oxygen consumption through metabolism and photodynamic reactions in cells cultured on microbeads", *Physics in Medicine and Biology*, 45(1), 103-119.
- [28] Sibata C. H., Colussi V. C., Oleinick N. L., Kinsella T. J., (2000), "Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment", *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*, 33(8), 869-880.
- [29] van den Besselaar A. M., Moor A. C., (2000), "Photodynamic treatment of pooled coumarin plasma for external quality assessment of the prothrombin time", *Journal of Clinical Pathology*, 53(6), 470-475.
- [30] Yang C. H., Lee J. C., Chen C. H., Hui C. Y., Hong H. S., Kuo H. W., (2003), "Photodynamic therapy for bowenoid papulosis using a novel incoherent light-emitting diode device", *British Journal of Dermatology*, 149(6), 1297-1299.
- [31] Moseley H., (2005), "Light distribution and calibration of commercial PDT LED arrays", *Photochemical and Photobiological Science*, 4(11), 911-914.
- [32] Mang T. S., "Lasers and light sources for PDT: past, present and future", *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1(1), 43-48.
- [33] Luksiene Z., (2003), "Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment", *Medicina (Kaunas)*, 39(12), 1137-1150.
- [34] Tuncel S., Trivella A., Atilla D., Bennis K., Savoie H., Albrieux F., Delort L., Billard H., Dubois V., Ahsen V., Caldefie-Chézet F., Richard C., Boyle R. W., Ducki S., Dumoulin F., (2013), "Assessing the Dual Activity of a Chalcone-Phthalocyanine Conjugate: Design, Synthesis, and Antivasular and Photodynamic Properties", *Molecular Pharmaceutics*, 10(10), 3706-3716.
- [35] Hudson R., Carcenac M., Smith K., Madden L., Clarke O. J., Pèlegri A., Greenman J., Boyle R. W., (2005), "The development and characterisation of porphyrin isothiocyanate-monoclonal antibody conjugates for photoimmunotherapy", *British Journal of Cancer*, 92(8), 1442-1449.
- [36] Dummin H., Cernay T., Zimmermann H. W., (1997), "Selective photosensitization of mitochondria in HeLa cells by cationic Zn(II)phthalocyanines with lipophilic side-chains", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 37(3), 219-229.
- [37] Rousseau J., Langlois R., Ali H., Van Lier J. E., (1990), "Biological activities of phthalocyanines: XIII: Synthesis tumor uptake and biodistribution of ¹⁴C-labeled disulfonated and trisulfonated gallium phthalocyanine in C3H mice", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 6(1-2), 121-132.

- [38] Paquette B., Boyle R. W., Ali H., MacLennan A. H., Truscott T. G., Van Lier J. E., (1991), "sulfonated phthalimidomethyl aluminum phthalocyanine: the effect of hydrophobic substituents on the in vitro phototoxicity of phthalocyanines", *Photochemistry and Photobiology*, 53(3), 323-327.
- [39] Lukyanets E. A., (1999), "Phthalocyanines as photosensitizers in the photodynamic therapy of cancer", *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 3(6-7), 424-432.
- [40] Boyle R. W., Paquette B., van Lier J. E., (1992), "Biological activities of phthalocyanines. XIV. Effect of hydrophobic phthalimidomethyl groups on the in vivo phototoxicity and mechanism of photodynamic action of sulfonated aluminium phthalocyanines", *British Journal of Cancer*, 65(6), 813-817.
- [41] Reddi E., (1997), "Role of delivery vehicles for photosensitizers in the photodynamic therapy of tumours", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 37(3), 189-195.
- [42] Kessel D., Thompson P., Saatio K., Nantwi K. D., (1987), "tumor localization and photosensitization by sulfonated derivatives of tetraphenylporphine", *Photochemistry and Photobiology*, 45, 787-790.
- [43] Johnson D. G., Walker C. L., (1999), "Cyclins and cell cycle checkpoints", *Annual Review Pharmacology and Toxicology*, 39, 295-312.
- [44] Jori G., Beltramini M., Reddi E., Salvato B., Pagnan A., Ziron L., Tomio L., Tsanov T., (1984), "Evidence for a major role of plasma lipoproteins as hematoporphyrin carriers in vivo", *Cancer Letters*, 24(3), 291-297.
- [45] Patterson M. S., Madsen S. J., Wilson B. C., (1990), "Experimental tests of the feasibility of singlet oxygen luminescence monitoring in vivo during photodynamic therapy", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 5(1), 69-84.
- [46] Kalka K., Merk H., Mukhtar H., (2000), "Photodynamic therapy in dermatology", *Journal of American Academy Dermatology*, 42(3), 389-413.
- [47] Moor A. C., (2000), "Signaling pathways in cell death and survival after photodynamic therapy", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 57(1), 1-13.
- [48] Plaetzer K., Kiesslich T., Verwanger T., Krammer B., (2003), "The Modes of Cell Death Induced by PDT: An Overview", *Medical Laser Application*, 18(1), 7-19.
- [49] Geiger P. G., Korytowski W., Girotti A. W., (1995), "photodynamically generated 3- β -hydroxy-5 α -cholest-6-ene-5-hydroperoxide: toxic reactivity in membranes and susceptibility to enzymatic detoxification", *Photochemistry and Photobiology*, 62(3), 580-587.

- [50] Levy R., Nelson D. M., (2000), "To be, or not to be, that is the question. Apoptosis in human trophoblast", *Placenta*, 21(1), 1-13.
- [51] Nowis D., Makowski M., Stoklosa T., Legat M., Issat T., Golab J., (2005), "Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy", *Acta Biochimica Polonia*, 52(2), 339-352.
- [52] Sharma V., Luker G. D., Piwnica-Worms D., (2002), "Molecular imaging of gene expression and protein function in vivo with PET and SPECT", *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 16(4), 336-351.
- [53] Lualdi M., Colombo A., Farina B., Tomatis S., Marchesini R., (2001), "A phantom with tissue-like optical properties in the visible and near infrared for use in photomedicine", *Lasers in Surgery and Medicine*, 28(3), 237-243.
- [54] Wang L. V., Wu H.-I., (2009), "Biomedical Optics principles and Imaging", 1st Edition, John Wiley & Sons, Inc.
- [55] Bui A. T., Taira R., Kangarloo H. (2010), "Medicinal Imaging Informatics", 1st Edition, Springer.
- [56] Achilefu S., (2010), "Introduction to concepts and strategies for molecular imaging", *Chemical Reviews*, 110(5), 2575-2578.
- [57] Lauffer R. B., (1987), "Paramagnetic metal complexes as water proton relaxation agents for NMR imaging: theory and design", *Chemical Reviews*, 87(5), 901-927.
- [58] Fortnum H., O'Neill C., Taylor R., Lenthall R., Nikolopoulos T., Lightfoot G., O'Donoghue G., Mason S., Baguley D., Jones H., Mulvaney C., (2009), "The role of magnetic resonance imaging in the identification of suspected acoustic neuroma: a systematic review of clinical and cost effectiveness and natural history", *Health Technology Assess*, 13(18), 1-154.
- [59] Caravan P., Das B., Dumas S., Epstein F. H., Helm P. A., Jacques V., Koerner S., Kolodziej A., Shen L., Sun W. C., Zhang Z., (2007), "Collagen-targeted MRI contrast agent for molecular imaging of fibrosis", *Angewandte Chemie International Edition in English*, 46(43), 8171-8173.
- [60] Kwock L., Smith J. K., Castillo M., Ewend M. G., Cush S., Hensing T., Varia M., Morris D., Bouldin T. W., (2002), "Clinical applications of proton MR spectroscopy in oncology", *Technology in Cancer Research and Treatment*, 1(1), 17-28.
- [61] Posse S., Otazo R., Dager S. R., Alger J., (2013), "MR spectroscopic imaging: principles and recent advances", *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 37(6), 1301-1325.
- [62] Memarsadeghi M., Riccabona M., Heinz-Peer G., (2005), "[MR urography: principles, examination techniques, indications]", *Radiologe*, 45(10), 915-923.

- [63] Boraschi P., Gigoni R., Braccini G., Lamacchia M., Rossi M., Falaschi F., (2002), "Detection of common bile duct stones before laparoscopic cholecystectomy. Evaluation with MR cholangiography", *Acta Radiologica*, 43(6), 593-598.
- [64] Caravan P., Ellison J. J., McMurry T. J., Lauffer R. B., (1999), "Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications", *Chemical Reviews*, 99(9), 2293-2352.
- [65] Caravan P., (2009), "Protein-targeted gadolinium-based magnetic resonance imaging (MRI) contrast agents: design and mechanism of action", *Accounts of Chemical Research*, 42(7), 851-862.
- [66] de Haen C., (2001), "Conception of the first magnetic resonance imaging contrast agents: a brief history", *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 12(4), 221-230.
- [67] Kirchin M. A., Runge V. M., (2003), "Contrast agents for magnetic resonance imaging: safety update", *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 14(5), 426-435.
- [68] Reimer P., Schneider G., Schima W., (2004), "Hepatobiliary contrast agents for contrast-enhanced MRI of the liver: properties, clinical development and applications", *European Radiology*, 14(4), 559-578.
- [69] Sheppard D., Allan L., Martin P., McLeay T., Milne W., Houston J. G., (2004), "Contrast-enhanced magnetic resonance cholangiography using mangafodipir compared with standard T2W MRC sequences: a pictorial essay", *Journal Magnetic Resonance Imaging*, 20(2), 256-263.
- [70] Mitchell D. G., Cohen M., (2004), "MRI Principles", 1st Edition, Saunders.
- [71] Strijkers G. J., Mulder W. J., van Tilborg G. A., Nicolay K., (2007), "MRI contrast agents: current status and future perspectives", *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*, 7(3), 291-305.
- [72] Earls J. P., Bluemke D. A., (1999), "New MR imaging contrast agents", *Magnetic Resonance Imaging Clinics in North America*, 7(2), 255-273.
- [73] Mahfouz A. E., Hamm B., (1997), "MR imaging of the liver. Contrast agents", *Magnetic Resonance Imaging Clinics in North America*, 5(2), 223-240.
- [74] Wang Y. X., Hussain S. M., Krestin G. P., (2001), "Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging", *European Radiology*, 11(11), 2319-2331.
- [75] Kindberg G. M., Uran S., Friisk G., Martinsen I., Skotland T., (2010), "The fate of Gd and chelate following intravenous injection of gadodiamide in rats", *European Radiology*, 20(7), 1636-1643.

- [76] Rohrer M., Bauer H., Mintorovitch J., Requardt M., Weinmann H. J., (2005), "Comparison of magnetic properties of MRI contrast media solutions at different magnetic field strengths", *Investigate Radiology*, 40(11), 715-724.
- [77] Schmitt-Willich H., (2007), "Stability of linear and macrocyclic gadolinium based contrast agents", *British Journal of Radiology*, 80(955), 581-582.
- [78] Kuo P. H., Kanal E., Abu-Alfa A. K., Cowper S. E., (2007), "Gadolinium-based MR Contrast Agents and Nephrogenic Systemic Fibrosis", *Radiology*, 242(3), 647-649.
- [79] Grobner T., (2006), "Gadolinium--a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis?", *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21(4), 1104-1108.
- [80] Rofsky N. M., Sherry A. D., Lenkinski R. E., (2008), "Nephrogenic systemic fibrosis: a chemical perspective", *Radiology*, 247(3), 608-612.
- [81] Wertman R., Altun E., Martin D. R., Mitchell D. G., Leyendecker J. R., O'Malley R. B., Parsons D. J., Edwin R. Fuller I., Semelka R. C., (2008), "Risk of Nephrogenic Systemic Fibrosis: Evaluation of Gadolinium Chelate Contrast Agents at Four American Universities", *Radiology*, 248(3), 799-806.
- [82] McKeown N. B., Chambrier I., Cook M. J., (1990), "Synthesis and characterisation of some 1,4,8,11,15,18,22,25-octa-alkyl- and 1,4,8,11,15,18-hexa-alkyl-22,25-bis(carboxypropyl)phthalocyanines", *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*(4), 1169-1177.
- [83] Pawlowski G. H., M., (1980), "A convenient synthesis of octasubstituted phthalocyanines", *Synthesis*, 287-289.
- [84] Kobayashi N., Kondo R., Nakajima S., Osa T., (1990), "New route to unsymmetrical phthalocyanine analogs by the use of structurally distorted subphthalocyanines", *Journal of the American Chemical Society*, 112(26), 9640-9641.
- [85] Kelkar S. S., Reineke T. M., (2011), "Theranostics: Combining Imaging and Therapy", *Bioconjugate Chemistry*, 22(10), 1879-1903.
- [86] Wang S., Kim G., Lee Y.-E. K., Hah H. J., Ethirajan M., Pandey R. K., Kopelman R., (2012), "Multifunctional Biodegradable Polyacrylamide Nanocarriers for Cancer Theranostics—A "See and Treat" Strategy", *ACS Nano*, 6(8), 6843-6851.
- [87] Manthe R. L., Foy S. P., Krishnamurthy N., Sharma B., Labhasetwar V., (2010), "Tumor ablation and nanotechnology", *Molecular Pharmaceutics*, 7(6), 1880-1898.

- [88] Stasinopoulos I., Penet M. F., Chen Z., Kakkad S., Glunde K., Bhujwala Z. M., (2011), "Exploiting the tumor microenvironment for theranostic imaging", *NMR in Biomedicine*, 24(6), 636-647.
- [89] Pan D., Caruthers S. D., Chen J., Winter P. M., SenPan A., Schmieder A. H., Wickline S. A., Lanza G. M., (2010), "Nanomedicine strategies for molecular targets with MRI and optical imaging", *Future medicinal chemistry*, 2(3), 471-490.
- [90] Xia Y., Li W., Cogley C. M., Chen J., Xia X., Zhang Q., Yang M., Cho E. C., Brown P. K., (2011), "Gold Nanocages: From Synthesis to Theranostic Applications", *Accounts of Chemical Research*, 44(10), 914-924.
- [91] Svenson S., (2013), "Theranostics: Are We There Yet?", *Molecular Pharmaceutics*, 10(3), 848-856.
- [92] Kolb H. C., Finn M. G., Sharpless K. B., (2001), "Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions", *Angewandte Chemie International Edition in English*, 40(11), 2004-2021.
- [93] Zhang Y., Lovell J. F., (2012), "Porphyrins as Theranostic Agents from Prehistoric to Modern Times", *Theranostics*, 2(9), 905-915.
- [94] Karunakaran S. C., Babu P. S., Madhuri B., Marydasan B., Paul A. K., Nair A. S., Rao K. S., Srinivasan A., Chandrashekar T. K., Rao Ch M., Pillai R., Ramaiah D., (2013), "In vitro demonstration of apoptosis mediated photodynamic activity and NIR nucleus imaging through a novel porphyrin", *ACS Chemical Biology*, 8(1), 127-132.
- [95] Yeh S.-C. A., Diamond K. R., Patterson M. S., Nie Z., Hayward J. E., Fang Q., (2012), "Monitoring Photosensitizer Uptake Using Two Photon Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy", *Theranostics*, 2(9), 817-826.
- [96] Lim C. K., Shin J., Lee Y. D., Kim J., Oh K. S., Yuk S. H., Jeong S. Y., Kwon I. C., Kim S., (2012), "Phthalocyanine-aggregated polymeric nanoparticles as tumor-homing near-infrared absorbers for photothermal therapy of cancer", *Theranostics*, 2(9), 871-879.
- [97] Gros C. P., Eggenspiller A., Nonat A., Barbe J.-M., Denat F., (2011), "New potential bimodal imaging contrast agents based on DOTA-like and porphyrin macrocycles", *Medicinal Chemical Communication*, 2(2), 119-125.
- [98] Song Y., Zong H., Trivedi E. R., Vesper B. J., Waters E. A., Barrett A. G. M., Radosevich J. A., Hoffman B. M., Meade T. J., (2010), "Synthesis and Characterization of New Porphyrazine-Gd(III) Conjugates as Multimodal MR Contrast Agents", *Bioconjugate Chemistry*, 21(12), 2267-2275.
- [99] Ranyuk E., Cauchon N., Klarskov K., Guérin B., van Lier J. E., (2013), "Phthalocyanine–Peptide Conjugates: Receptor-Targeting Bifunctional Agents

for Imaging and Photodynamic Therapy”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(4), 1520-1534.

- [100] Millán J. G., Brasch M., Anaya-Plaza E., de la Escosura A., Velders A. H., Reinhoudt D. N., Torres T., Koay M. S. T., Cornelissen J. J. L. M., (2014), “Self-assembly triggered by self-assembly: Optically active, paramagnetic micelles encapsulated in protein cage nanoparticles”, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 136(0), 140-146.
- [101] Singh K., (2005), “Nanotechnology in Cancer Detection and Treatment”, *Technology in Cancer Research and Treatment*, 4, 583-584.
- [102] Wang X., Wang Y., Chen Z. G., Shin D. M., (2009), “Advances of Cancer Therapy by Nanotechnology”, *Cancer Research and Treatment : Official Journal of Korean Cancer Association*, 41(1), 1-11.
- [103] Alexis F., Pridgen E. M., Langer R., Farokhzad O. C., (2010), “Nanoparticle technologies for cancer therapy”, *Handbook of Experimental Pharmacology* (197), 55-86.
- [104] Zhang Y., Hong H., Cai W., (2011), “Tumor-targeted drug delivery with aptamers”, *Current Medicinal Chemistry*, 18(27), 4185-4194.
- [105] Ray P., White R. R., (2010), “Aptamers for Targeted Drug Delivery”, *Pharmaceuticals*, 3(6), 1761.
- [106] Zeng L., Xiang L., Ren W., Zheng J., Li T., Chen B., Zhang J., Mao C., Li A., Wu A., (2013), “Multifunctional photosensitizer-conjugated core-shell Fe₃O₄@NaYF₄:Yb/Er nanocomplexes and their applications in T2-weighted magnetic resonance/upconversion luminescence imaging and photodynamic therapy of cancer cells”, *RSC Advances*, 3(33), 13915-13925.
- [107] Atilla D., Saydan N., Durmuş M., Gürek A. G., Khan T., Rück A., Walt H., Nyokong T., Ahsen V., (2007), “Synthesis and photodynamic potential of tetra- and octa-triethyleneoxysulfonyl substituted zinc phthalocyanines”, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 186(2-3), 298-307.
- [108] Gurol I., Durmus M., Ahsen V., Nyokong T., (2007), “Synthesis, photophysical and photochemical properties of substituted zinc phthalocyanines”, *Dalton Transactions*(34), 3782-3791.
- [109] Chin Y., Lim S. H., Zorlu Y., Ahsen V., Kiew L. V., Chung L. Y., Dumoulin F., Lee H. B., (2014), “Improved photodynamic efficacy of Zn(II) phthalocyanines via glycerol substitution”, *PLoS One*, 9(5), e97894.
- [110] Huisgen R., (1963), “Kinetics and Mechanism of 1,3-Dipolar Cycloadditions”, *Angewandte Chemie International Edition in English*, 2(11), 633-645.

- [111] Dumoulin F., Ahsen V., (2011), "Click chemistry: the emerging role of the azide-alkyne Huisgen dipolar addition in the preparation of substituted tetrapyrrolic derivatives", *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 15(07n08), 481-504.
- [112] Caravan P., (2006), "Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast agents", *Chemical Society Reviews*, 35(6), 512-523.
- [113] Kotkova Z., Helm L., Kotek J., Hermann P., Lukes I., (2012), "Gadolinium complexes of monophosphinic acid DOTA derivatives conjugated to cyclodextrin scaffolds: efficient MRI contrast agents for higher magnetic fields", *Dalton Transactions*, 41(43), 13509-13519.
- [114] Wöhrle D., Eskes M., Shigehara K., Yamada A., (1993), "A Simple Synthesis of 4,5-Disubstituted 1,2-Dicyanobenzenes and 2,3,9,10,16,17,23,24-Octasubstituted Phthalocyanines", *Synthesis*, 1993(02), 194-196.
- [115] George R. D., Snow A. W., (1995), "Synthesis of 3-nitrophthalonitrile and tetra- α -substituted phthalocyanines", *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 32(2), 495-498.
- [116] Yıldırım Ö., Sevim A. M., Gül A., (2012), "Novel water-soluble metallophthalocyanines supported on cotton fabric", *Coloration Technology*, 128(3), 236-243.
- [117] Prasuhn D. E., Jr., Yeh R. M., Obenaus A., Manchester M., Finn M. G., (2007), "Viral MRI contrast agents: coordination of Gd by native virions and attachment of Gd complexes by azide-alkyne cycloaddition", *Chemical Communication* (12), 1269-1271.
- [118] Viguier R. F. H., Hulme A. N., (2006), "A Sensitized Europium Complex Generated by Micromolar Concentrations of Copper(I): Toward the Detection of Copper(I) in Biology", *Journal of the American Chemical Society*, 128(35), 11370-11371.
- [119] Kumru U., Dumoulin F., Jeanneau E., Yuksel F., Cabezas Y., Zorlu Y., Ahsen V., (2012), "4,5-, 3,6-, and 3,4,5,6-tert-Butylsulfanylphthalonitriles: synthesis and comparative structural and spectroscopic analyses", *Structural Chemistry*, 23(1), 175-183.
- [120] Aydin Tekdas D., Garifullin R., Senturk B., Zorlu Y., Gundogdu U., Atalar E., Tekinay A. B., Chernonosov A. A., Yerli Y., Dumoulin F., Guler M. O., Ahsen V., Gurek A. G., (2014), "Design of a Gd-DOTA-phthalocyanine conjugate combining MRI contrast imaging and photosensitization properties as a potential molecular theranostic", *Photochemical and Photobiology*, 90(6), 1376-1386.
- [121] Barge A., Cravotto G., Gianolio E., Fedeli F., (2006), "How to determine free Gd and free ligand in solution of Gd chelates. A technical note", *Contrast Media Molecular Imaging*, 1(5), 184-188.

- [122] Dolmans D. E. J. G. J., Fukumura D., Jain R. K., (2003), "Photodynamic therapy for cancer", *Natura Reviews Cancer*, 3(5), 380-387.
- [123] Moan J., Peng Q., (2003), "An outline of the hundred-year history of PDT", *Anticancer Research*, 23(5A), 3591-3600.
- [124] Allen C. M., Sharman W. M., Van Lier J. E., (2001), "Current status of phthalocyanines in the photodynamic therapy of cancer", *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 5(2), 161-169.
- [125] Aydın Tekdaş D., Kumru U., Gürek A. G., Durmuş M., Ahsen V., Dumoulin F., (2012), "Towards near-infrared photosensitisation: a photosensitising hydrophilic non-peripherally octasulfanyl-substituted Zn phthalocyanine", *Tetrahedron Letters*, 53(39), 5227-5230.
- [126] Kobayashi N., Ishizaki T., Ishii K., Konami H., (1999), "Synthesis, Spectroscopy, and Molecular Orbital Calculations of Subzaporphyrins, Subphthalocyanines, Subnaphthalocyanines, and Compounds Derived Therefrom by Ring Expansion¹", *Journal of the American Chemical Society*, 121(39), 9096-9110.
- [127] Young J. G., Onyebugu W., (1990), "Synthesis and characterization of di-disubstituted phthalocyanines", *The Journal of Organic Chemistry*, 55(7), 2155-2159.
- [128] Gürek A. G., Ahsen V., Heinemann F., Zugenmaier P., (2000), "Synthesis and Liquid-crystalline Behaviour of Tetrakis- and Octakis(13, 17-dioxanonacosane-15-sulfanyl)Phthalocyanines", *Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 338(1), 75-97.
- [129] Carboni B., Benalil A., Vaultier M., (1993), "Aliphatic amino azides as key building blocks for efficient polyamine syntheses", *The Journal of Organic Chemistry*, 58(14), 3736-3741.
- [130] Viguiier R. F., Hulme A. N., (2006), "A sensitized europium complex generated by micromolar concentrations of copper(I): toward the detection of copper(I) in biology", *Journal of American Chemical Society*, 128(35), 11370-11371.

ÖZGEÇMİŞ

Duygu AYDIN TEKDAŞ 06.01.1983 yılında İzmir’de doğmuştur. 2006 yılında İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Kimya Bölümünden mezun olmuş, 2009 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda Prof. Dr. Ayşe Gül GÜREK’in danışmanlığında yüksek lisansı bitirmiştir. Aynı yıl Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda yine Prof. Dr. Ayşe Gül GÜREK’in danışmanlığında doktora eğitimine devam etmiştir. Doktora eğitimi süresince GYTE ve Tübitak tarafından desteklenen bilimsel araştırma projelerinde görev yapmış, 2009-2015 tarihleri arasında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Kimya Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmıştır.

EKLER

Ek A: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Yayınlar

Aydın Tekdaş D., Garifullin R., Şentürk B., Zorlu Y., Gündoğdu Ü., Atalar E., Tekinay A.B., Chernonosov A.A., Yerli Y., Dumoulin F., Güler M.Ö., Ahsen V. and Gürek A.G., (2014), “Design of a Gd-DOTA-Phthalocyanine Conjugate Combining MRI Contrast Imaging and Photosensitization Properties as a Potential Molecular Theranostic”, *Photochem. Photobiol.*, 90, 1376-1386.

Aydın Tekdaş D., Gürek A.G. and Ahsen V., (2014), “Asymmetric zinc phthalocyanines substituted with a single carboxyl and triethyleneoxysulfonyl groups: synthesis, characterization and validation for photodynamic therapy”, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 18, 899-908.