

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ SİLİSYUM FTALOSİYANİNLERİN SENTEZİ ile FOTOKİMYASAL
ve BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Canan USLAN**

**Kimya Anabilim Dalı
Kimya Programı**

OCAK 2012

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ SİLİSYUM FTALOSİYANİNLERİN SENTEZİ ile FOTOKİMYASAL
ve BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Canan USLAN
(509091067)**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Y. Doç. Dr. B. Şebnem SESALAN

OCAK 2012

Aileme,

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince, anabilim dalının tüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan, bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet GÜL'e,

Tez çalışmam sırasında bana yol gösteren, derin kimya bilgisi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren ve her türlü imkanı sağlayan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Y. Doç. Dr. B. Şebnem SESALAN'a,

Çalışmalarım süresince yardımlarıyla beni sürekli destekleyen, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan değerli hocam Sayın Uzman Kimyager Barbaros AKKURT'a,

Çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan Anorganik Kimya Anabilim Dalı'ndaki tüm öğretim üyeleri ve araştırma görevlisi hocalarıma,

Sabırları ve destekleriyle tüm öğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda olan çok sevdiğim aileme,

Sonsuz teşekkürler...

Aralık 2011

Canan Uslan

(Kimyager)

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
SUMMARY	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Fotodinamik Terapi	3
2.2 PDT 'nin Mekanizması	4
2.3 PDT'nin Basit Fotokimyası.....	5
2.4 TİP II: Singlet Oksijen Oluşumu	6
2.5 TİP I: Radikallerin Oluşumu	7
2.6 Perhidroksi Radikali Oluşumu.....	8
2.7 Hidroksil Radikali.....	8
2.7.1 Membran lipitlerinin peroksidasyonu	9
2.7.2 DNA hasarı.....	10
2.7.3 Disülfid bağı oluşumu	11
2.8 Fotoalgılayıcılar	12
2.9 Ftalosiyaniminler	13
2.10 Ftalosiyaniminlerin DNA ile Etkileşimi	17
2.11 Tümörlü DNA'nın Fotolizinde (PDT) Pc Kullanımı	18
3. KULLANILAN ALET VE MADDELER	21
3.1 Kullanılan Maddeler	21
3.2 Kullanılan Aletler	21
4. DENEYSEL KISIM	23
4.1 Dikloro[ftalosiyaniminato]silisyum (1) Sentezi [98].....	23
4.2 Bis(N-Metil-2-Pirolidinmetoksi) [ftalosiyaniminato]silisyum (2) Sentezi.....	23
4.3 Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyaniminato]silisyum (3) Sentezi	24
4.4 Bis (2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi) [ftalosiyaniminato]silisyum (4) Sentezi.....	25
4.5 Kuaternize Pclerin Genel Sentez Yöntemi	26
4.6 DNA-Pc Etkileşiminin UV/Vis Titrasyonu ile İncelenmesi [99]	28
4.7 DNA-Pc Etkileşiminin Floresans Spektrumu ile İncelenmesi [100].....	28
4.8 DNA-Pc Etkileşiminin Stern Volmer Grafikleri ile İncelenmesi [100]	29
4.9 DNA-Pc Etkileşiminin Jel Elektroferezle İncelenmesi [1]	30
4.10 DNA-Pc Etkileşiminin Termal Denatürasyon Eğrileri ile incelenmesi [99]..	31
4.11 Elde Edilen Pc'lerin Singlet Oksijen Üretimlerinin Belirlenmesi [100].....	31
4.12 DNA-Pc Kompleksinin Işıklı Uyarılarak DNA Fotolizinin Jel Elektroferez ile İncelenmesi [1]	31
5. SONUÇLAR VE YORUMLAR	33
5.1 Sentez.....	33
5.2 Sentezlenen Maddelerin Fotokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi	35

5.3 Sentezlenen Maddelerin Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi	38
KAYNAKLAR.....	45
EKLER.....	55
ÖZGEÇMİŞ	78

KISALTMALAR

Pc	: Ftalosiyanin
H₂Pc	: Metalsiz Ftalosiyanin
MPc	: Metalli Ftalosiyanin
SiPc	: Silisyum Ftalosiyanin
EtBr	: Etidyum Bromür
DPBF	: 1,3-Difenilizobenzofuran
ADMA	: Antrosen-9,10-diil-bis-metilmalonat
CT-DNA	: Calf Thymus - Deoksiribonükleik asit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMF	: N,N-Dimetilformamid
THF	: Tetrahidrofuran
NaH	: Sodyumhidrür
EtOH	: Etanol
PDT	: Fotodinamik Terapi
PS	: Fotoalgılayıcı
MDA	: Malondialdehit
UV	: Morötesi (Ultraviyole)
Vis	: Görünür bölge (Visible)
IR	: Kızılötesi (Infrared)
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
¹O₂	: Singlet Oksijen
Laser	: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
HpD	: Hematoporfirin Türevleri
FDA	: Food and Drug Administration

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Fotodinamik Terapide ilaç uygulaması.	5
Şekil 2.2 : Bir fotoalgılayıcının uyarılmasıyla oluşan reaktif oksijen türleri.	5
Şekil 2.3 : PDT uygulanan hücrelerde fotoalgılayıcıların ışığı absorplaması sonrasında oluşan oksidatif hasar.	6
Şekil 2.4 : Delta ve sigma oksijen molekül orbital diyagramı.	7
Şekil 2.5 : Demir (II) nin yükseltgenerek süperoksit oluşturmaları.	7
Şekil 2.6 : Perhidroksi radikali oluşumu.	8
Şekil 2.7 : A) Fenton reaksiyonu B) Haber –Weiss reaksiyonu.	8
Şekil 2.8 : Reaktif oksijen türlerinin hücre hasarı oluşturmaları.	9
Şekil 2.9 : Membran Lipitlerinin Peroksidasyonu.	10
Şekil 2.10 : Malondialdehit (MDA).	10
Şekil 2.11 : M1G katılma ürünü.	11
Şekil 2.12 : Vücudun savunma mekanizmasındaki enzimler ve koruyucular.	11
Şekil 2.13 : Oksidatif Denge.	12
Şekil 2.14 : Metalsiz Ftalosiyanın (H_2Pc).	14
Şekil 2.15 : Metalli Ftalosiyanın (MPc).	14
Şekil 2.16 : Pc 4 bileşiğinin yapısı $HOSiPcOSi(CH_3)_2(CH_2)_3N(CH_3)_2$	16
Şekil 2.17 : Monosülfolanmış Bazı Silisyum Pc 'lerin Yapıları.	16
Şekil 2.18 : Pc -aminotrimer Konjugatının Yapısı.	17
Şekil 2.19 : SH Grubu ile Altın Nanokümelere Bağlanabilen ve Sonra da PDT İçin Uyarılabilen Bir $SiPc$	17
Şekil 2.20 : DNA Parçasının Porfirine hemi-araya girmesi.	18
Şekil 2.21 : Tip I ve II Yolları ile Fotoyarılma.	19
Şekil 4.1 : Diiminoisindolinden $SiPc$ Sentezi.	23
Şekil 4.2 : Bis(N-Metil-2-Pirolidinmetoksi) [ftalosiyaninato]silisyum (2) Sentezi. .	24
Şekil 4.3 : 3 Bileşiğinin Sentezi.	25
Şekil 4.4 : Bis(2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi)[ftalosiyaninato]silisyum (4) Sentezi.	26
Şekil 4.5 : Kuaternize 2Q, 3Q ve 4Q bileşikler.	27
Şekil 5.1 : 2 bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte DPBF'in bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.	36
Şekil 5.2 : 3 bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte DPBF'in bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.	36
Şekil 5.3 : 4 bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte DPBF'in bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.	37
Şekil 5.4 : 2Q bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte ADMA'nın bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.	37
Şekil 5.5 : 3Q bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte ADMA'nın bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.	38
Şekil 5.6 : 4Q bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte ADMA'nın bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.	38
Şekil 5.7 : 2Q bileşiğinin Q bandının artan DNA ilaveleri sonucu floresans şiddetindeki azalması.	39

Şekil 5.8 : 3Q bileşiğinin Q bandının artan DNA ilaveleri sonucu floresans şiddetindeki azalması.	39
Şekil 5.9 : 4Q bileşiğinin Q bandının artan DNA ilaveleri sonucu floresans şiddetindeki azalması.	39
Şekil 5.10 : 2Q bileşiğinin Stern Volmer Grafiği.	40
Şekil 5.11 : 3Q bileşiğinin Stern Volmer Grafiği.	40
Şekil 5.12 : 4Q bileşiğinin bileşiğinin Stern Volmer Grafiği.	41
Şekil 5.13 : 2Q, 3Q ve 4Q bileşiklerinin DNA ile etkileşimini agaroz jel elektroforez görüntüsü.	41
Şekil 5.14 : 2Q, 3Q ve 4Q varlığında DNA termal denatürasyon grafiği.	42
Şekil 5.15 : 2Q, 3Q ve 4Q varlığında süpersarmal DNA'nın fotolizinin agaroz (% 0.8) jel elektroforez görüntüsü.	42
Şekil A. 1 : 2 bileşiğine ait IR Spektrumu	56
Şekil A. 2 : 2 bileşiğinin kloroform içerisindeki UV- Vis Spektrumu	57
Şekil A. 3 : Bis(N-Metil-2-Pirolidinmetoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (2) bileşiğinin dötero kloroform içerisindeki ¹H NMR Spektrumu	58
Şekil A. 4 : Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (3) bileşiğine ait IR Spektrumu	59
Şekil A. 5 : 3 bileşiğinin kloroform içerisindeki UV- Vis Spektrumu	60
Şekil A. 6 : Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (3) bileşiğinin C₃OD₆ içerisindeki ¹H NMR Spektrumu	61
Şekil A. 7 : Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (3) bileşiğine ait Kütle Spektrumu	62
Şekil A. 8 : Bis (2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (4) bileşiğine ait IR Spektrumu	63
Şekil A. 9 : Bis (2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (4) bileşiğinin DMSO-d₆ içerisindeki ¹H NMR Spektrumu	64
Şekil A. 10 : Bis (2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (4) bileşiğine ait Kütle Spektrumu	65
Şekil A. 11 : 2Q bileşiğine ait IR Spektrumu	66
Şekil A. 12 : 2Q bileşiğinin saf sudaki UV-Vis Spektrumu	67
Şekil A. 13 : 2Q bileşiğinin DMSO-d₆ içerisindeki ¹H NMR Spektrumu	68
Şekil A. 14 : 2Q bileşiğinin Kütle Spektrumu	69
Şekil A. 15 : 3Q bileşiğinin IR Spektrumu	70
Şekil A. 16 : 3Q bileşiğinin saf sudaki UV- Vis Spektrumu	71
Şekil A. 17 : 3Q bileşiğinin DMSO-d₆ içerisindeki ¹H NMR Spektrumu	72
Şekil A. 18 : 3Q bileşiğinin Kütle Spektrumu	73
Şekil A. 19 : 4Q bileşiğinin IR Spektrumu	74
Şekil A. 20 : 4Q bileşiğinin saf sudaki UV- Vis Spektrumu	75
Şekil A. 21 : 4Q bileşiğinin D₂O içerisindeki ¹H NMR Spektrumu	76
Şekil A. 22 : 4Q bileşiğinin Kütle Spektrumu	77

YENİ SİLİSYUM FTALOSİYANİNLERİN SENTEZİ ile FOTOKİMYASAL ve BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Doğal porfirin halkası ile yapısal olarak benzer olan ftalosiyaninler, 18- π elektron sistemlerine sahip olmalarından dolayı organik fonksiyonel materyallerin en yoğun çalışılan sınıflarından biri olmuştur.

Ftalosiyaninlerin kimyası üzerine yapılan önemli araştırmalardan biri de onların çeşitli solventlerde çözünürlüğünü artırmaktır. Bu yüzden agregasyona uğramayan ve suda çözünebilir ftalosiyaninler önemlidir ve birçok uygulama için kullanılabilir potansiyeline sahip maddelerdir.

Ftalosiyaninler geleneksel olarak boya ve pigment olarak kullanılmıştır. Son zamanlarda yoğun olarak araştırılan ftalosiyaninler, fotokopi cihazlarında fotoiletken, kimyasal sensör, elektrokataliz, elektrokromizm ajanı olarak birçok bilimsel alanda kullanım alanı bulmuştur.

Endüstrideki yaygın uygulama alanlarının yanında ftalosiyaninler; fotodinamik terapi (PDT), patolojik bakterilerin ve mantarların fotoinaktivasyonu amacıyla da kullanılırlar. Ftalosiyaninler porfirinlere göre çok daha şiddetli, yaklaşık 680 nm civarında gösterdikleri absorpsiyon ile ve singlet oksijen üretimi ile PDT için umut verici fotoalgılayıcılardır. Ancak ftalosiyaninler sulu çözeltide ağırlaşabilirler. Bu durum 680 nm civarındaki absorpsiyonlarını söndürdüğü için ftalosiyaninlerin fotoalgılayıcı yeteneklerini de önemli ölçüde azaltır.

Son zamanlarda hücre kültürü kullanılarak yapılan kanser araştırmalarının çoğunda, DNA'ya bağlandığı tespit edilen katyonik ftalosiyaninler kullanılmaktadır. Bağlanan ftalosiyaninlerin uyarılmasıyla singlet oksijen oluşumu sağlandığı ve tümör hücresinin parçalandığı görülmektedir. Tıbbi uygulamalar için suda çözünürlük önemli bir faktördür. Ftalosiyaninlere karboksilat, sülfonat ve kuaternize edilmiş amino gibi hidrofilik grupların eklenmesiyle onların su ve DMSO gibi polar çözücülerde çözünmelerini sağladığı bilinmektedir. Genellikle, PDT çalışmalarında singlet oksijen oluşturma kapasitesi yüksek olan silisyum ftalosiyaninler kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, N-metil pirolidin-2-ol, N-(2-Hidroksietil) heksametilenimin ve N,N,N-trimetilamoniyum metil fenoksi yapılarının, silisyum ftalosiyaninato diklorür ile kuru toluen içerisinde NaH varlığında 24 saat reaksiyona sokulmasıyla ekstenel konumları farklı fonksiyonel gruplara sahip silisyum ftalosiyanin bileşikler elde edilmiştir. Bu yeni silisyum ftalosiyaninler dimetil sülfatın aşırısı kullanılarak kuaternize edilmiştir.

Elde edilen bileşiklerin yapıları UV-Vis, FT-IR, ^1H NMR, floresans ve kütle (MALDI-TOF yöntemi – dihidroksibenzoik asit matriksi kullanılarak) spektrumları ile elementel analiz sonuçları yardımıyla karakterize edilmiştir. Bunlara ilave olarak agaroz jel elektroforez, UV/Vis ve floresans DNA-Pc titrasyon spektrumları, bir DNA boyası olan SYBR Green I ile DNA kompleksinin floresansını söndürme spektrumları, K_{DNA} bağlanma sabitleri ve DNA termal denaturasyon eğrileri

kullanılarak DNA'ya bağlandıkları tespit edilirken diğer yandan literatürde yaygın olarak kullanılan ve ticari olarak satılan singlet oksijen tuzakları kullanılarak hem nötr hem de suda çözünür kuaternize ftalosiyanınların singlet oksijen ürettikleri ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: PDT, ftalosiyanın, DNA, singlet oksijen

SYNTHESIS OF NEW SILICON PHTHALOCYANINES WITH THE INVESTIGATION OF THEIR PHOTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES

SUMMARY

The compound that was later called phthalocyanine was first observed as a highly coloured by-product in the chemical conversion of some ortho-(1,2)-di substituted benzene derivatives. Braun and Tcherniac (1907), working at the South Metropolitan Gas Company (London), observed a dark insoluble material during the preparation of ortho-cyanobenzamide from phthalimide and acetic acid. Similarly, de Diesbach and von der Weid (1927), of Fribourg University, obtained a 23% yield of an exceptionally stable, blue material during the reaction of ortho-dibromobenzene with copper cyanide in refluxing pyridine. Hindsight allows us to interpret these by products as being metal-free and copper(II) Pc, respectively. Phthalocyanine is derived from Greek term for naphta (rock oil) and cyanine (dark blue). The word “phthalocyanine” was first used by Reginald P. Linstead of Imperial College of Science and Technology in 1933 to describe this new class of organic compounds.

Phthalocyanines (Pcs) have been one of the most extensively studied classes of organic functional materials because of their aromatic 18- π electron system which is closely related to that of the naturally occurring porphyrin ring.

Phthalocyanine is derived from Greek term for naphta (rock oil) and cyanine (dark blue). The word “phthalocyanine” was first used by Reginald P. Linstead of Imperial College of Science and Technology in 1933 to describe this new class of organic compounds.

Phthalocyanines have a long-wavelength band with a large extinction coefficient ($\sim 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) and generally a low dark toxicity. Some are efficient $^1\text{O}_2$ generators, and are easily obtainable in pure form. Some phthalocyanines are promising second-generation photosensitizers. Based on the extensive biological research done on photosensitizers, some of the desired properties of second generation photosensitizers have been established. They should be, for example, chemically pure and maintain a constant composition during the treatment; they should exhibit minimal photobleaching and have minimal dark toxicity; they should be preferentially retained by the target tissue (to minimize damage to healthy cells); they should be quickly cleared after PDT treatment; they should have a high quantum yield of long-lived triplet states (to produce a high yield of $^1\text{O}_2$); and they should have a large extinction coefficient in the region of 600-800 nm (for good light penetration into tissue). These desired properties have provided major guidelines for designing new photosensitizers, although no photosensitizer can be expected to meet all these criteria.

However, Phthalocyanines are notorious for their strong tendency to aggregate in aqueous solutions, which can significantly decrease their photosensitizing ability through self-quenching. In photodynamic therapy, DMSO solutions of phthalocyanines have been also used, because DMSO, with the substance dissolved in it, is able to penetrate directly the tissues and cells, and that is the reason for

extraordinary attention given to the absorption and emission properties of phthalocyanines in DMSO solutions.

One of the important aims of research on the chemistry of phthalocyanines is to enhance their solubility in various solvents. In this case non-aggregated and water-soluble phthalocyanines are important and potentially useful materials for many applications.

Phthalocyanines have been used as dyes and pigments traditionally. During the last few years, phthalocyanines (Pcs) have been intensively studied due to their applications in many scientific areas such as photoconducting agents in photocopying devices, chemical sensors, electrocatalyst, electrochromism agents.

In addition to their conventional use in industry, phthalocyanines are also used in photoinactivation of bacteria and photodynamic therapy (PDT). Photodynamic therapy (PDT) is a promising cancer treatment utilizing a photosensitizer, visible light and oxygen. Usually PDT is carried out in three stages. First, the PDT drug is administered by an appropriate method, intravenous injection is a common one. Then, a drug-biodistribution interval is allowed. Finally, the tumor is irradiated with visible light. In a key step of PDT, a photochemical reaction generates singlet oxygen, $^1\text{O}_2$. This is strongly cytotoxic because of its great oxidizing ability. Phthalocyanines are particularly promising photosensitizer for PDT because of their intense absorptions at about 680 nm (about 2 orders of magnitude larger in intensity than porphyrin long wavelength absorptions) and their ability for generating singlet oxygen. The ground state of the PDT drug is excited to its singlet state with light of suitable wavelength. This state can relax to its ground state by non-radiative decay or by emitting a fluorescence photon, or it can be converted to a triplet state by intersystem crossing. The triplet state can relax to the ground state by emitting a phosphorescence photon, by electron transfer to a surrounding substrate with the generation of hydroxyl or superoxide radicals (a Type-I photoreaction), or by energy transfer to triplet ground-state oxygen with an accompanying production of singlet oxygen (a Type-II photoreaction). Type-II photoreactions dominate during normal PDT. Generally the outcome of PDT is the combined result of three processes, direct cell killing, tumor vascular effects and immune system effects. The direct cell effects involve damage to organelles such as lysosomes and mitochondria, and to cell membranes. These lead to tumor hypoxia and cell death. The immune effects can include inflammatory cell effects and the generation of long-term anti-tumor responses. These too can cause cell death. However, Phthalocyanines are well known for their high tendency to aggregate in aqueous solutions, which can significantly decrease their photosensitizing ability through self-quenching.

The central metal ion and peripheral substituents play an important role in the photophysical properties of phthalocyanines. The ligands or the metal in these macromolecules can be varied in an easily controlled manner to facilitate an individual application. When a diamagnetic ion is in the center of the ring (e.g., Zn, Al, Ga), the phthalocyanine generally possesses a high triplet state yield ($\phi_T > 0.4$) with a long lifetime ($\tau_T > 200 \mu\text{s}$) and enough energy ($110\text{--}126 \text{ kJ/mol}^{-1}$) to generate $^1\text{O}_2$ (94.5 kJ/mol^{-1} is required). The triplet-state lifetimes of an axially substituted silicon phthalocyanine typically vary from 100 to 200 μs and the yields from 0.2 to 0.5. Some phthalocyanines (e.g., AlPcX, SiPcX₂) have one or two axial ligands. The peripheral substituents and axial ligands govern to an important extent the physical and chemical and biological properties of these compounds (e.g., stability, solubility)

and make it possible to prepare satisfactorily optimized phthalocyanines for use as photosensitizers.

The solubility of Pcs is very important for the investigation of their chemical and physical characteristics. To increase the solubility of Pcs some different kinds of solubility-enhancing substituents like alkyl, alkoxy, phenoxy groups can be added to the peripheral and axial positions of the Pc ring. Amphiphilic phthalocyanines which incorporate polar and non-polar groups at the same time are significant especially in photodynamic therapy. The sulfonated silicon phthalocyanines were expected to have higher solubility in polar solvents than their unsubstituted phthalocyanine analogues. This property has the potential to make it easier to disperse these phthalocyanines in surfactants where phthalocyanines can serve as photobleaches. They were also expected to provide good candidates for photodynamic therapy studies.

It is known that cationic Pcs form complexes with nucleic acids. Recently, cationic phthalocyanines which bind to DNA have been used on cell culture experiments for the purpose of PDT. It was seen that these phthalocyanines produce singlet oxygen and cause the lysis of cell. Water solubility is an important factor for medical applications. It has been known that, phthalocyanines which are substituted with hydrophilic groups such as sulfonates, carboxylates or quaternized amino groups can be soluble in polar solvents such as water or DMSO. Generally silicon phthalocyanines are used in PDT due to their high singlet oxygen quantum yields.

In this work, silicon phthalocyanine compounds with different functional groups in axial positions were obtained by reacting N-methyl pyrrolidine-2-ol, N-(2-Hydroxyethyl) heksamethyleneimine and N,N,N-trimethylammonium methyl phenoxy groups with unsubstituted silicon phthalocyanine in the presence of NaH in dry toluene for 24 h. Thus, they have less capacity to aggregate with their macrocycles close to each other, and more capacity to hydrogen bond. Because of this, they have more potential to be taken up by cells and less to have short triplet lifetimes. Thus, they have the promise of being good PDT agents. The new compounds are quaternized with the use of excess amount of dimethyl sulfate.

The structures of these compounds were characterized by using UV-vis, FT-IR, ^1H NMR, fluorescence and mass spectroscopic (MALDI-TOF method- using of dihydroxybenzoic acid matrix) techniques. In addition, while the interaction of these compounds with DNA was evaluated by agarose gel electrophoresis, UV/ Vis DNA titration spectras, fluorescence DNA-Pc titration spectras, quenching spectrums of DNA with SYBR Green I which is a dye of DNA, K_{DNA} binding constants and DNA thermal denaturation curves on one side, on the other side the generation of singlet oxygen of all species was determined by the using of singlet oxygen quenchers which are using generally in the literature and commercially available. For the evaluation of the results of both UV/vis titrations and gel electrophoresis, it was shown that high water solubility of the complexes makes them suitable for biological investigations under different solution conditions. Not intercalative but electrostatic interactions between pcs and DNA were the main factors for binding. The extended π system of Pcs will lead to a deeper penetration and make stronger stacking with DNA.

Key words: PDT, phthalocyanine, DNA, singlet oxygen

1. GİRİŞ

Ftalosiyeninler (Pcs) yetmiş yılı aşkın süredir bilinmektedirler. Bu bileşikler fotobiyoloji ve medikal çalışmalar da dahil olmak üzere çok çeşitli uygulamalarda ileri teknoloji malzemeleri olarak kullanılmaktadırlar. Ftalosiyeninlerin karakteristik absorpsiyon spektrumları 350 nm’lerde görülen Soret bandı ve 675 nm’lerde görülen kuvvetli Q bandıdır. Porfirinlere göre kırmızıya kayan ftalosiyeninlerin Q bandı absorpsiyonları, porfirinlerinkine kıyasla yaklaşık iki kat büyüklüktedir. Bu spektral karakteristikleri ftalosiyeninlerin ikinci nesil fotoalgılayıcı olarak düşünölmelerini sağlamıştır ve günümüzde Fotodinamik Terapi (PDT) uygulamalarındaki kullanımları da geniş şekilde araştırılmaktadır. Ftalosiyeninlerin fotofiziksel özellikleri merkez metalinin varlığına ve türüne çok bağılıdır. Kabukları dolu diyamanyetik iyonlar (Zn^{2+} , Al^{3+} ve Ga^{3+}) içeren ftalosiyenin komplekslerinin singlet oksijen verimleri yüksektir. Siyahtoksisitelerinin düşük olması fotosensitizer olarak kullanılmalarının diğeri bir nedenidir.

PDT kanser tedavisinde kemoterapiye alternatif bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Bu yöntemde başlangıçta Hematoporfirin türevleri (HpD) ve Photofrin kullanımasına rağmen, daha etkili fotosensitizerlerin kullanımına ihtiyaç duyulmuştur. Işık, daha uzun dalga boylu bir absorpsiyon bandıyla kullanıldığı zaman, dokuya daha derin bir şekilde nüfuz eder. Ftalosiyeninler, uzun dalga boylarında absorpsiyon yaptıklarından dolayı fotodinamik terapi için uygun moleküllerdir. Ftalosiyeninlerin, ikinci nesil fotoalgılayıcılar olarak PDT’de kullanılmak üzere geliştirilmesi oldukça yenidir. Pc’lerde absorpsiyon spektrumu daha uzun dalga boyuna kaymaktadır (genellikle 680 nm civarı). Bunun nedeni, benzen halkaları ile konjuge haldeki pirol gruplarının aza nitrojenlerle birbirine bağlanmış olmasıdır. Bu sebeple Pc’leri uyarmak için dokuda derinlere nüfuz edebilen uzun dalga boyları kullanılır. Ayrıca Pc’ler uzun dalga boylarında yüksek molar absorpsiyon katsayısına ($>10^5 M^{-1} cm^{-1}$) sahiptirler. Özellikle agregasyon azaldığı ve singlet oksijen üretimi de arttığı için 3A, 4A grubu metali bulunan Pc’ler PDT için daha çok tercih edilmektedirler.

DNA'nın biyoorganik kimyada, biyoteknolojide ve malzeme bilimindeki önemi giderek artmaktadır. DNA'nın çift sarmalları negatif yüklüdür ve pozitif yüklü parçalarla kuvvetli bir etkileşime girmektedir. Makromoleküllere ligand bağlanması biyolojide ve tıpta biyolojik proseslerin yönetim sisteminde önemli bir rol oynamaktadır.

DNA'nın çoğalmadaki ve replikasyondaki merkezi rolünden dolayı, antikanser, antibiyotik ve antivirüsel ilaçlar DNA'nın asıl hedefi olmuştur. DNA ilaçlarının büyük çoğunluğu genellikle pozitif yük taşıyan düşük molekül ağırlıklı aromatik yapılardır. Bu noktada ftalosiyanınlar ve porfirinler birbirine kombine olmuş aromatik halkalardan oluştuğu için DNA ile etkileşimleri dikkat çekmektedir. DNA'nın bağlanma mekanizması sadece DNA sarmalının parçasına değil, ayrıca ftalosiyanın veya porfirin moleküllerinin yapı karışıklığına da bağlı olmaktadır.

Onkolojide kanser araştırmaları tümörlü prokaryot veya ökaryot hücrelerin *in vitro* ortamda biyolojik olarak izole edilen mutasyona uğramış plasmid DNA'nın incelenmesiyle veya *in vivo* ortamda fareler kullanılarak yapılmaktadır. Bu aşamada moleküler biyoloji alanını ilgilendiren DNA ile Pc'lerin etkileşimi, çalışmaların tümör hücresinin DNA'sının ışıkla fotolizine kadar ilerlemesine sebep olmuştur.

Bu biyolojik arka plan ışığında DNA ile etkileşime giren Pc'lerin tümör araştırmalarında kullanılacağı açıktır.

Bu çalışmada kuaternize edilebilecek 3 farklı grup, sübstitüentsiz silisyum Pc'nin eksenel konumlarına bağlanmıştır. Bu bileşiklerin suda çözünür olanlarının DNA ile etkileşimleri ile tüm bileşiklerin singlet oksijen oluşturup oluşturmadıkları araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Son yıllarda tetrapirel türevleri, özellikle ftalosiyanınlar (Pc), kanserin fotodinamik tedavisi (PDT) yanında tıpta imünohistopatolojide dokuların, enfarktüs riski olan damarların ve gözdeki damarların görüntülenmesinde, yaşa bağlı olarak gelişen macula hastalığının tedavisinde kullanılmaktadırlar. Bunların yanında patolojik bakterilerin fotodinamik inaktivasyonu, ökaryotik hücre kültür çalışmaları, tümörlü hücrenin DNA'sına tutunup daha sonra DNA'nın ışıkla fotolizi de biyoloji ve biyokimyaadaki diğer uygulama alanlarıdır [1].

Belirli bir dalgaboyunda ışık absorplayarak uyarılan, enerjisini diğer bir moleküle aktararak elektronik konfigrasyonunu temel hale dönüştürüp adeta bir katalizör gibi davranarak fotokimyasal veya fotofiziksel reaksiyonları başlatan moleküle fotoalgılayıcı denir [2]. Fotoalgılayıcılar, tıpta oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Porfirinlere kıyasla ftalosiyanın türevleri dokunun ışık geçirgenliğinin yüksek olduğu uzak kırmızı bölgede maksimum absorpsiyon gösterirler, uzun triplet ömre ve yüksek singlet oksijen kuantum verimlerine sahiptirler. Zn^{2+} , Al^{3+} , Ga^{3+} , In^{3+} ve Si^{4+} gibi diyamagnetik iyonlarla birleştirilmiş yapılar, PDT için etkin ftalosiyanın komplekslerini verir [3,4].

2.1 Fotodinamik Terapi

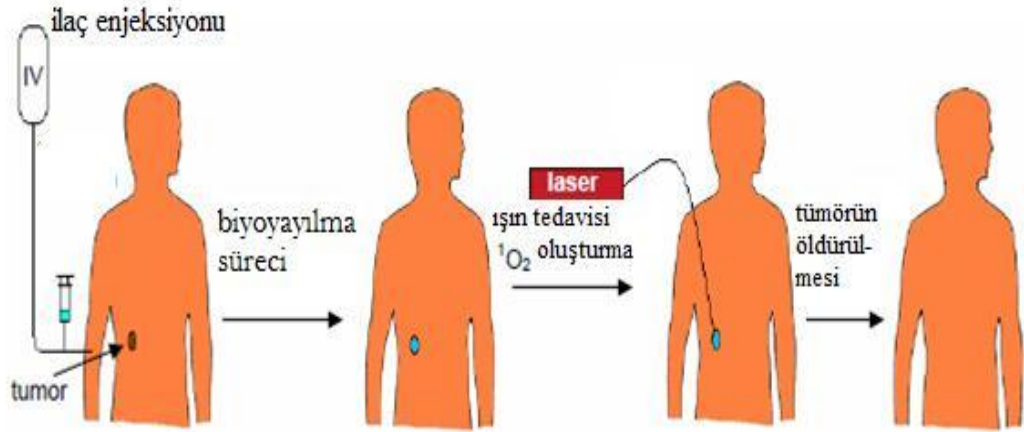
Günümüzde kanser tedavisinde bütün dünyada yaygın olarak kullanılan üç ana yöntem; ameliyat, kemoterapi, ve radyoterapidir. Kanserli dokunun tümü ya da bir kısmı ameliyatla alınabilir. Büyük bir ameliyat geçiren kişilerin iyileşmeleri haftalar ya da aylar sürebildiği gibi ameliyat sonrası ağrı olabilir. Cerrahi müdahale sonrası hastaya gerekli görülürse kemoterapi veya radyoterapi uygulanabilir. Kemoterapi, normal hücrelere olası en az zararı vererek, kanserli hücreleri öldürebilen bir ilaç [5] tedavi yöntemidir. Mide bulantısı, kusma, saç dökülmesi, halsizlik gibi birçok yan etkisi vardır. Radyoterapi ışınla (x-ışını) tedavi yöntemidir. Vücudun içinden ve dışından ışınlama olarak ikiye ayrılır. Dıştan tedavide, x ışınları bir makineden doğrudan kanserli organa ve çevresindeki dokuya yönlendirilir. İçten tedavide ise,

içine radyoaktif madde konulan kapsüller kişinin vücut boşluğuna, tümörün üzerine ya da çevresine yerleştirilir. Bazı hastalarda radyoterapiden sonra yorgunluk, deride kızarıklık ya da yanma hissi, mide bulantısı, kusma ve ishal gibi yan etkiler görülebilir. Bu üç ana kanser tedavi yöntemine alternatif olabilecek olan fotodinamik terapi (photodynamic therapy (PDT)) A.B.D, Almanya, Japonya, İngiltere, Fransa, Hollanda, Kanada gibi birçok ülkede sağlık kurumları tarafından çeşitli kanser tedavi uygulamaları için onaylanmıştır [6]. PDT 1960'ların başında şekillenmeye başlamış, 1980'lerin başında Amerikan Yiyecek ve İlaç Kurulu'nun (Food and Drug Administration, (FDA)) hematoporfirin (HpD) türevi olan Photofrin isimli ilacın klinik uygulamalarına onay vermesiyle birçok kanserin tedavisinde uygulanmaya başlanmıştır [7-9].

PDT, ışığaduyarlı ilacın (photosensitizer) hastaya damar yoluyla verilmesini takiben bu ilacın tümörlü dokuda birikmesinin ardından, belli dalgaboyundaki ışık ile uyarılarak tümörü yok etmesi prensibine dayanır [10-13]. PDT başlı başına üç önemli bileşenden oluşur: fotoalgılayıcı, ışık, oksijen. Işık, normal dokuya kıyasla tümörlü dokuda daha uzun süre kalabilir. Işığa-duyarlı ilaç tarafından soğurulduğunda gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda, açığa çıkan aşırı reaktif ve son derece toksik singlet oksijen (1O_2), sadece o bölgede nekroz oluşumuna neden olur [14-19]. Genel olarak hematoporfirinlerde veya kullanılan porfirin türevi fotoalgılayıcılarda işlem sonrası yan etki olarak ışığa hassasiyetin görülmesi, yeni fotoalgılayıcıların sentezini tetikleyen bir faktör olmuştur.

2.2 PDT 'nin Mekanizması

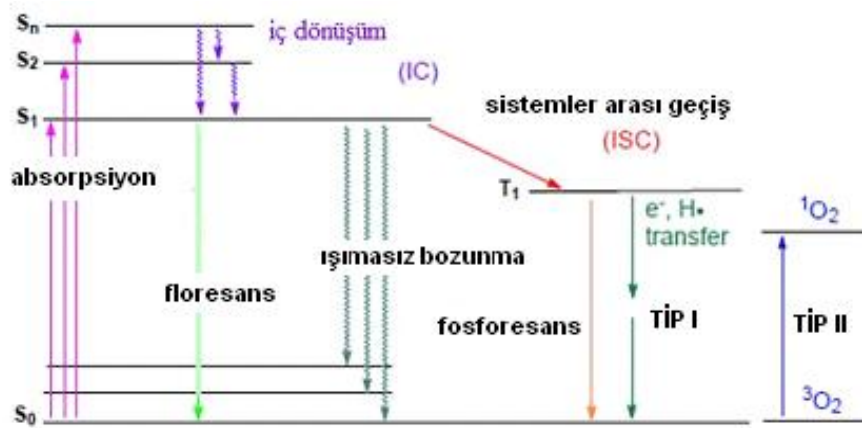
Fotoalgılayıcı damardan hastaya enjekte edilir ve bu fotoalgılayıcılar seçici olarak tümör hücrelerinde lokalize olurlar. Doku altı lokalizasyon, fotoalgılayıcıların fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Fotoalgılayıcılar normal hücreler için genellikle toksik değildir; sadece ışın tedavisi yapılmış anormal hücreleri (tümör hücreleri) etkilerler. İstenen fotobiyolojik reaksiyonun oluşması için ışının dalgaboyu fotoalgılayıcı tarafından absorbe edilmeli ve bu dalga boyu fotoalgılayıcının absorpsiyon spektrumu ile eşleşmelidir [19]. Işın direkt fotoalgılayıcı içeren dokuya verildiğinde, fotoalgılayıcı aktive olur ve başlatılan fotokimyasal reaksiyonlar sonucunda üretilen son derece toksik singlet oksijenin etkisiyle doku hızlıca yok edilir. (Şekil 2.1)



Şekil 2.1 : Fotodinamik Terapide ilaç uygulaması.

2.3 PDT'nin Basit Fotokimyası

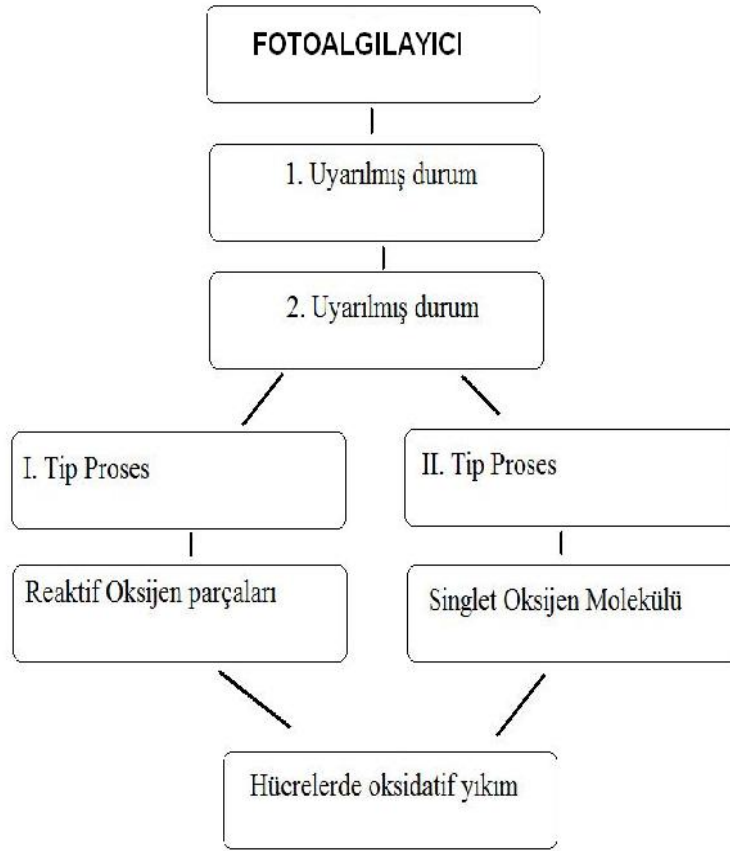
Doku tahribatları, singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit radikali (O_2^-) gibi reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından oluşturulur. ROS, PDT uygulaması sonucu protein, lipit gibi biyomoleküllerin parçalanması ile oluşturulan fotoürünlerdir [20]. ROS, hücresel toksisiteyle fotoalgılayıcı çevresinde bulunan doku arasına girerler ve bunlar hızlı büyüyen tümör hücrelerinin yok edilmesi için etkilidir [21]. Şekil 2.2'de verilen Jablonski Diyagramı'nda singlet oksijen oluşumu görülmektedir.



Şekil 2.2 : Bir fotoalgılayıcının uyarılmasıyla oluşan reaktif oksijen türleri.

$^1\text{O}_2$ içeren etkin enerji transfer reaksiyonu elde etmek için fotoalgılayıcının lokalizasyonu tümör dokusuna en azından 20 nm yakınlıkta olmalıdır [22]. Fotoalgılayıcının uyarılması dokunun karakteristik özelliklerine ve kalınlığına bağlıdır [23]. Fotoalgılayıcı kırmızı ışık enerjisini absorplayarak uyarılmış singlet

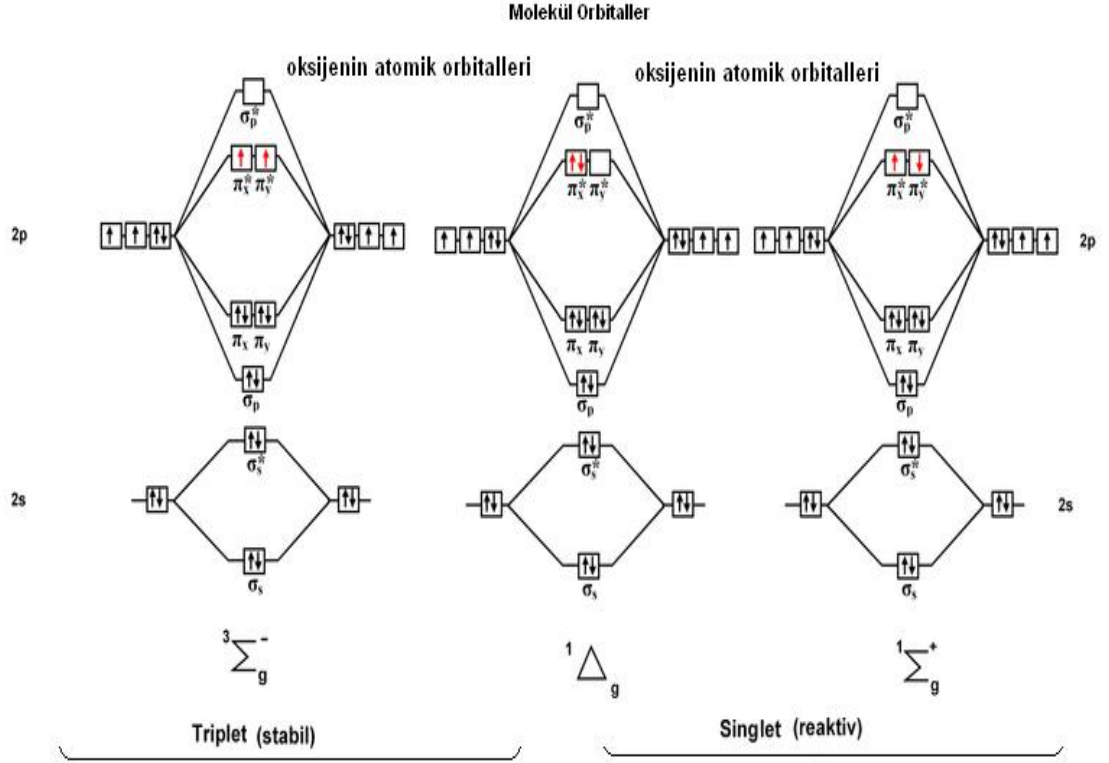
hale geçer ve hızlıca triplet hale dönüşür [24]. Fotoalgılayıcı triplet halde singlet halden daha uzun süre kalır ve singlet oksijenin oluşumu gerçekleşir. Singlet -triplet dönüşümü “intersystem crossing” sistemler arası geçiş olarak bilinir. Triplet hal, temel hale döner ve fotoalgılayıcı başka bir fotonu absorplayarak döngüyü devam ettirir [24]. Fotoalgılayıcı temel haline geri döndüğünde enerjiyi ısı veya floresans şeklinde geri yayar. Bu mekanizma tümörlerin bulunması için kullanılır. ROS üretimi içeren 2 mekanizma vardır; Tip I ve Tip II. Tip I’de radikal oluşumu; Tip II’de singlet oluşumu esas alınır ve tümör hasarı incelenir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 : PDT uygulanan hücrelerde fotoalgılayıcıların ışığı absorplaması sonrasında oluşan oksidatif hasar.

2.4 TİP II: Singlet Oksijen Oluşumu

Biradikal oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen, eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür, Şekil 2.4’te moleküler orbitallerin gösteriminde verildiği gibi singlet oksijenin delta ve sigma (atomik orbitallerle gösterim) olmak üzere iki şekli vardır.

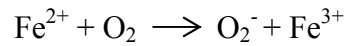


Şekil 2.4 : Delta ve sigma oksijen molekül orbital diyagramı.

Moleküler oksijen, paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahiptir. Ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Serbest radikal tanımına göre moleküler oksijen, bir biradikal (diradikal) olarak değerlendirilir. Biradikal oksijen, radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girdiği halde diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer [25].

2.5 TİP I: Radikallerin Oluşumu

Süperoksit radikali hemen hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir [25]. Şekil 2.5'te süperoksit oluşumuna örnek verilmiştir.

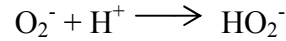


Şekil 2.5 : Demir (II) nin yükseltgenerek süperoksit oluşturması.

2.6 Perhidroksi Radikali Oluşumu

Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.

Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali oluşturmak üzere protonlanır (Şekil 2.6).

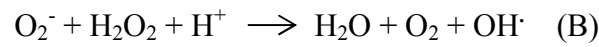
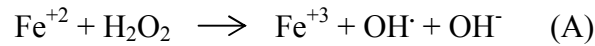


Şekil 2.6 : Perhidroksi radikali oluşumu.

Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit ve nitrat oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit, hidroksil radikali, nitronyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur [25].

2.7 Hidroksil Radikali

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü demir veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturur [25] (Şekil 2.7).

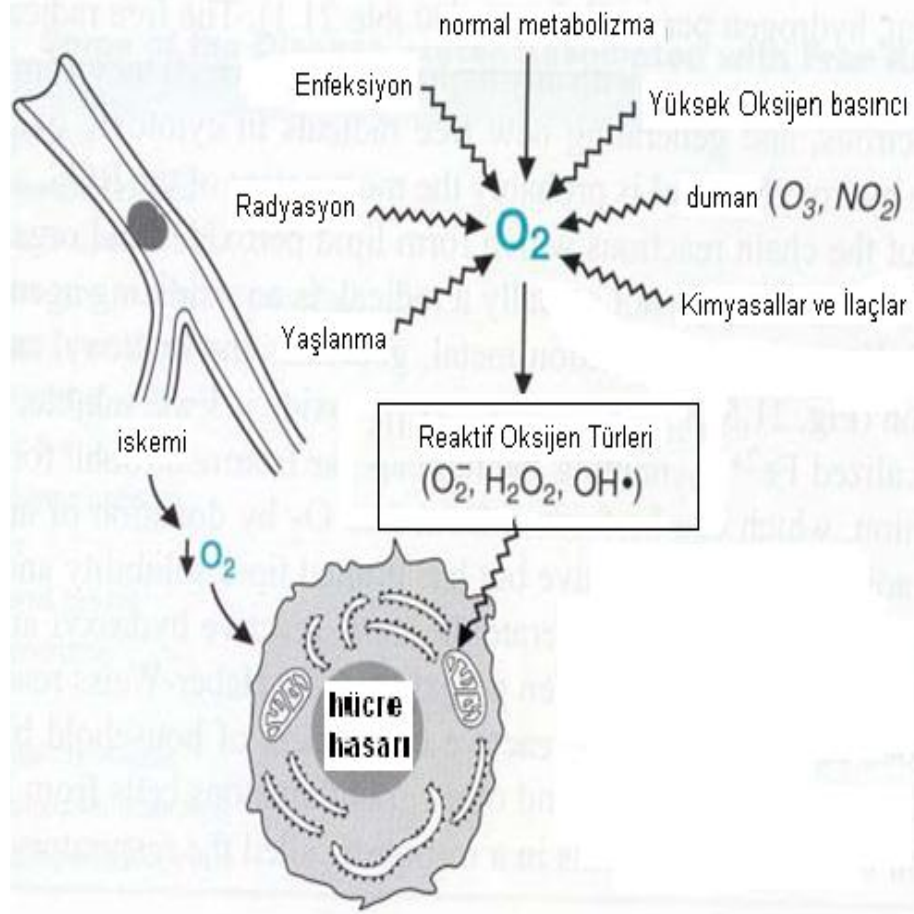


Şekil 2.7 : A) Fenton reaksiyonu B) Haber –Weiss reaksiyonu.

Hidroksil radikali, reaktif oksijen türlerinin en güçlüsüdür. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiil radikalleri, karbon merkezli organik radikaller, organik peroksitler gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur. 'OH' nin bir hedefi de, özellikle elektronca zengin bileşiklerdir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidlerde başlatılan radikalik tepkimelerde binlerce farklı ara ürünler oluşabilir. DNA ile tepkimesi sonucu baz

modifikasyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilir; ileri derecedeki DNA hasarları tamir edilemediğinden hücre ölümüne neden olur [25].

Radikaller (Şekil 2.8) hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve tümörü hücreye oksidatif hasar verme yoluyla yok ederler [26].

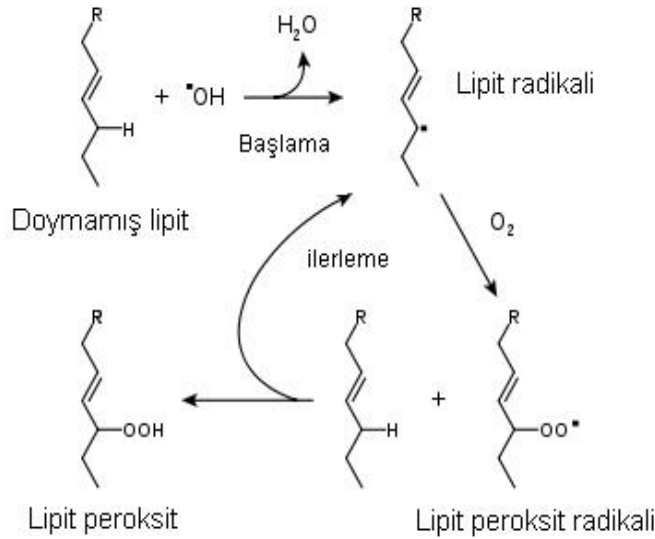


Şekil 2.8 : Reaktif oksijen türlerinin hücre hasarı oluşturmaları.

2.7.1 Membran lipidlerinin peroksidasyonu

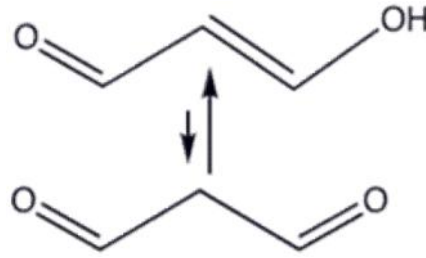
Serbest radikaller hücrenin membranına saldırdıklarında gerçekleşir. Serbest radikaller, hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırarak, hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olurlar (Şekil 2.9).

Polidoymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ve lipid peroksit radikallerinin oluşması, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir [26].



Şekil 2.9 : Membran Lipitlerinin Peroksidasyonu.

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir (Şekil 2.10).



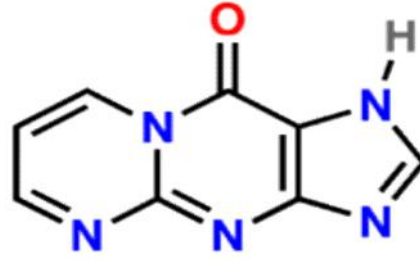
Şekil 2.10 : Malondialdehit (MDA).

Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehytlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur [26].

2.7.2 DNA hasarı

DNA molekülü yeniden sentezlenemeyen ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır.

Malondialdehit, DNA'daki deoksiadenosin ve deoksiguanosin ile reaksiyona girerek M1G adlı katılma ürününü oluşturur ki bu bileşik mutajeniktir [26] (Şekil 2.11).

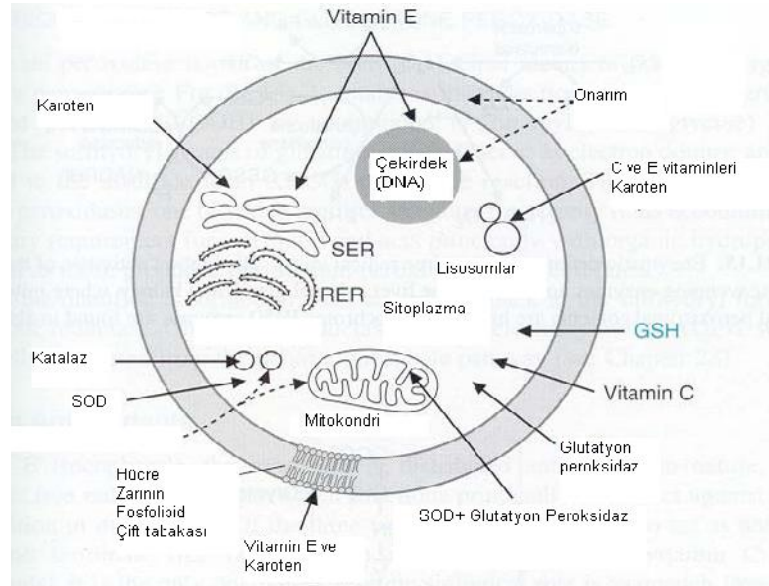


Şekil 2.11 : M1G katılma ürünü.

2.7.3 Disülfür bağı oluşumu

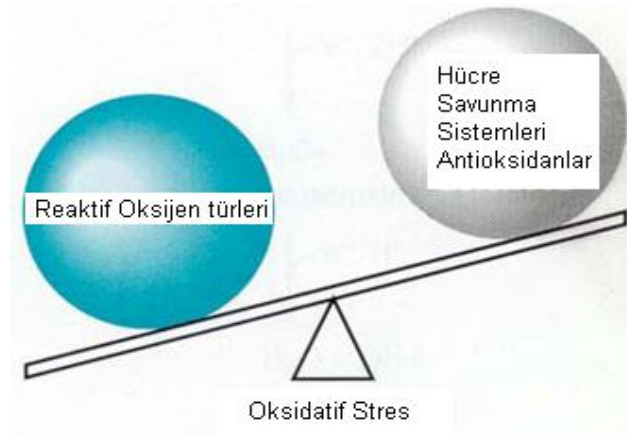
Glutasyon, tüm memeli hücrelerinde milimolar konsantrasyonlarda bulunur. Glutasyon (GSH) gibi tiyollerin (R-SH) oksidasyonu tiyol ve oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Bunlar sülfür merkezli radikallerdir (RSH) ve proteinlerdeki homolitik fisyon (sülfürlerin karşılıklı bağlanması) reaksiyonları disülfür bağı oluşturur. Bu da proteinlerin konfigürasyonlarını bozarak vücuttaki metabolik aktivitelerini engeller [26].

Tümörlü hücrenin yayılmadan yok edilmesi kanser tedavilerinin temel amaçlarından biridir. Fakat günümüzde uygulanan yöntemlerde sağlıklı hücrelere de zarar gelmektedir. Radikal üreten maddeler enzimleri de etkiler. Enzimler ise vücudun savunma mekanizmalarıdır (Şekil 2.12).



Şekil 2.12 : Vücudun savunma mekanizmasındaki enzimler ve koruyucular.

Radikaller oluştuğu oranda hücre savunma sistemleri devreye girer. Enzimler, oluştukları sürece radikalleri yok etmek için aktivitelerini arttırarak oksidatif dengeyi kurmaya çalışırlar [26] (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 : Oksidatif Denge.

Sistein, metiyonin, histidin ve triptofan gibi amino asitler oksidasyona çok hassas olduklarından fotoalgılayıcının uyarılması sonucu oluşan aktif oksijen türlerinin (süperoksit, azot radikalleri veya singlet oksijen) hedefi haline gelirler.

2.8 Fotoalgılayıcılar

Porfirinler ve hematoporfirin (monomerik ve oligometrik porfirinlerin karışımı olan kompleks) klinik ve deneysel çalışmalarda en çok çalışılan fotoalgılayıcılardır. Bu iki fotoalgılayıcı birinci nesil fotoalgılayıcıları temsil ederler. Porfirin, FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmış kanser tedavisinde kullanılan tek fotoalgılayıcıdır [7]. Bu ilacın kırmızı ışığı zayıf absorplaması; dolayısıyla düşük doku geçirgenliği ve işlem sonrası ışığa hassasiyet gibi yan etkileri ve eksik yönleri görülmüştür [8,9]. Birinci nesil fotoalgılayıcıların kısıtlı karakterinin üstesinden gelmek için ikinci nesil fotoalgılayıcılar geliştirilmiştir [27].

Klinik denemeleri yapılan birçok ikinci nesil fotoalgılayıcılar; ftalosiyeninler, klorinler ve porfirin türevleridir. Fotoalgılayıcıların 600 nm üstündeki bandları etkin bir PDT için önemli faktördür. Günümüzde otuzdan fazla farklı fotoalgılayıcı ön klinik çalışmalarda kullanılmaktadır ve bunların çoğu tetrapireol türevleridir [14,28,29].

İyi bir fotoalgılayıcı ;

*Karanlıkta toksik olmamalı,

*Triplet kuantum verimi yüksek olmalı, triplet enerjisi 94 Kj/mol değerinden yüksek ve singlet oksijenin kuantum verimi yüksek olmalı,

*Görünür bölge spektrumunda kırmızı ve ileri kırmızı ışığı absorplayabilmeli,

*Tümör hücrelerine seçici olarak yerleşebilmelidir.

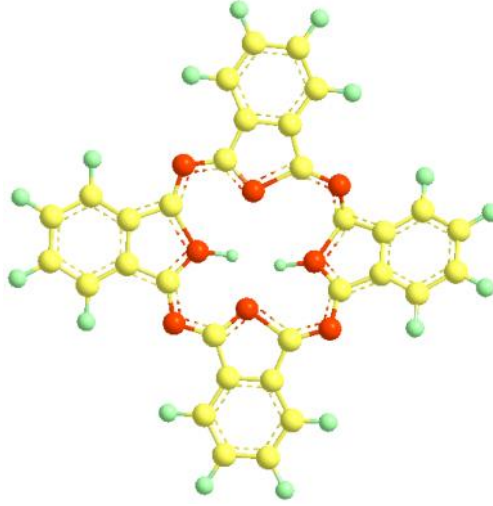
Bilim adamları ftalosiyeninlerle yüksek absorpsiyon katsayısına sahip olmalarından dolayı çok ilgilenmişlerdir (650-680nm) ve bu moleküllerin doku içine işlemede ideal olduğunu göstermişlerdir [30-32]. Ftalosiyeninler yüksek kuantum alanında, kısa ömürlü singlet ve uzun ömürlü triplet duruma sahiptirler [18,33,34]. Ftalosiyeninler biyolojik olarak uyumlu solventlerde çözünmezler. Oysa kimyasalların *in vivo* (direk canlı üzerinde) olarak çalışmaları için çözülmüş veya hücre zarından geçebilecek hale (antikorlara bağlanabilir hale veya yağda çözünebilir hale) gelmeleri gerekmektedir [35-37].

Ftalosiyeninleri çözünür yapmak için, periferik konumlara ya uzun zincirli alkil grupları ya da kuaternize amin veya karboksi, sülfoksi gibi suda çözünür gruplar bağlanmalıdır [18,33-34,38]. Molekülün çözünürlüğü sağlandıktan sonra triplet halde kalma süresini, triplet hal enerjisini, singlet oksijen kuantum verimini arttırmak gerekir. Fotoalgılayıcıya bağlanan metal intersystem crossing (ISC)'i artırır bu sayede triplet hal oluşum olasılığı artar. Metalli ftalosiyeninlerin metalsizlere göre daha etkili PDT bileşeni olduğu bulunmuştur [4,39].

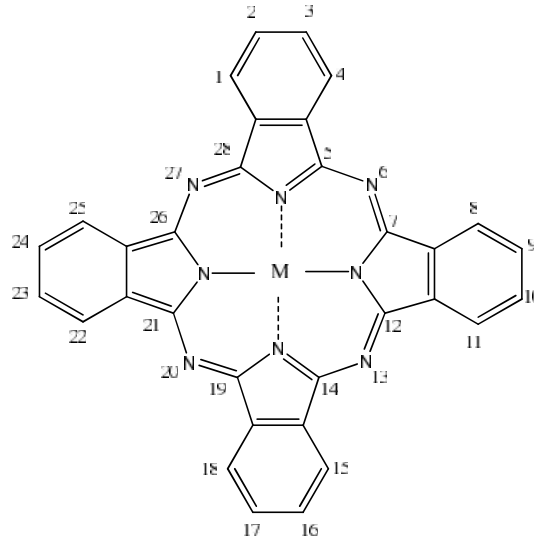
2.9 Ftalosiyeninler

Ftalosiyeninler (Pcs) ilk defa 1907 yılında tesadüfen çözünmeyen mavi madde olarak gözlemlenmiş ancak yapısal olarak aydınlatılamamıştır [40]. Ftalosiyenin molekülünün yapısı 1933 yılında Linstead ve ekibinin çalışmaları sonucunda belirlenmiştir (Şekil 2.14 ve Şekil 2.15). Ftalosiyeninlerin yapıları tam olarak Robertson'ın X-ışını Kırınım Analizleri sonucunda 1933–1940 yılları arasında belirlenebilmiştir. Tetrabenzotetraazaporfirin olarak da bilinen ftalosiyenin molekülü ile iki imino hidrojen atomu içeren dört iminoizoindolin ünitesinin koordinasyonundan oluşmuş 18 π elektron sistemli düzlemsel bir makro halkadır. . Bu yapı X-ışını kırınım tekniği ile de doğrulanmıştır. Birçok metal iyonu alabilecek büyüklükte merkezi bir boşluğu olan, pirol halkalarındaki dört azot atomu ftalosiyeninler oldukça kararlı ve çok yönlü aromatik makrosiklik bileşiklerdir. 70'den fazla metalik ve ametalik iyonu halka boşluğuna kabul edebilecek özelliğe sahiptirler [41-46]. Son yıllarda endüstrideki kullanım alanlarının yanında tıpta da yaygın şekilde kullanılmaya başlanmışlardır [47-56]. Antibakteriyel, antitumör

özelliklerinin yanında DNA, nükleik asit ve lipitlerle etkileşime girmeleri biyokimyacıların dikkatini çekmiştir [10,14,28-29,57-59,60-72]. Radikal veya singlet oksijen üretebilecek yapıda olmaları, bu moleküllerin özellikle kanser tedavisinde kullanılmalarını sağlamıştır [30-31,33-35,37,73-74].



Şekil 2.14 : Metalsiz Ftalosiyanın (H_2Pc).



Şekil 2.15 : Metalli Ftalosiyanın (MPc).

Süstitüe olmamış ftalosiyanınlar çok kararlıdırlar; organik solventlerde çözünmezler. Dolayısıyla halkaya ilave edilen fonksiyonel gruplar bu bileşiklerin özelliklerini değıştirmektedir. Benzen halkalarında hacimli, polar, bazık grupların bulunması moleküle çözünürlük getirir. Buna ilave olarak pek çok metale bağlanabilmesi de bu tür yapıların çeşitliliğini arttırmaktadır. Süstitüe edilen fonksiyonel gruplar, ftalosiyanınların kimyasal ve fiziksel özelliklerini de etkilemektedir. Yükseltgen maddelere karşı stabilitesi arttırılarak, bazı pratik

kullanımlarda büyük önem kazandırılmaktadır. Suda ve organik solventlerdeki çözünürlükleri, fotodinamik özelliklerinin incelenmesine imkan sağlamaktadır. Yapılarındaki benzen gruplarına eklenebilecek süstitüent sayısının oldukça fazla olması, Ftalosiyanın temel ve uygulamalı bilim dallarında kullanılma alanlarını önemli derecede arttırılabilmektedir. Kullanım alanının genişliğine, merkez atom olarak kullanılabilecek 70'ten fazla element de neden olmaktadır. Suda çözünür Pc'ler biyolojide gittikçe önem kazanmaktadır [75].

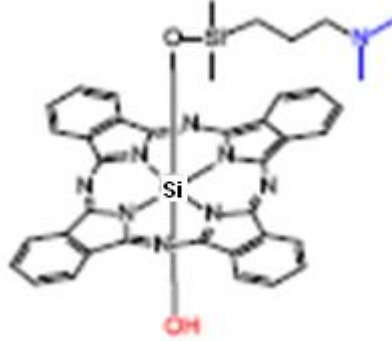
Pc'lerde merkezdeki metal iyonu da en az fonksiyonel gruplar kadar Pc'lerin fizikokimyasal özelliklerini etkileyen diğer bir faktördür. Zn, Al, Ga gibi diamenyetik bir metal, halkaya yerleştğinde Pc'nin triplet hal kuantum verimi 0,4'den, triplet ömrü de 200 μ s'den büyük olur ki bu da singlet oksijenin oluşması için gerekli olan minimum 94 kJ'den fazla olan 110-126 kJ'lük bir enerjiye karşılık gelir [14,18].

Eksenel konumları süstitüe olmuş Pc'lerin triplet ömürleri 100-200 μ s'dir ve kuantum verimleri de 0.2 - 0.5 arasındadır [94]. Ftalosiyanın periferel veya nonperiferel pozisyonlarına karboksilat, sulfonat, glikoz, fosfonat, polioksietilen, karboranil ve kuaternize edilmiş amino gibi hidrofilik gruplarının ilave edilmesi onların su ve DMSO gibi polar çözücülerde çözünmesini sağlarken, uzun alkil veya hacimli lipofilik grupların ilave edilmesi onların apolar çözücülerde ve yağda çözünmesini sağladığı bilinmektedir. Periferel gruplar ve eksenel ligandlar Pc'lerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin hepsini etkiler ve istenilen amaca özel fotoalgılayıcı sentezinde optimize edilirler.

Şekil 2.16 'daki Pc 4, 1993 yılında PDT de kullanılmış ve dikkat çekmiştir [76-85]. Biyolojik çalışmalar bu bileşiğin V79 kültür hücresinde in vitro düzeyde ve tümörlü farelerde in vivo düzeyde fototoksiste gösterdiğini ortaya koymuştur. Pc 4 bileşiğinde (Şekil 2.16) eksenel olarak bir hidroksi ve aminosiloksi grubu vardır ve eksenel konumdaki silisyum tetrakoordinat; merkezdeki silisyum atomu oktahedral yapıdadır. Silisyum çapı gereği halkaya tam oturmaktadır ve şelat etkisinden dolayı yapı kararlılık kazanmıştır. 670 nm civarında absorpsiyon yapmaktadır, PDT'den sonra ışığa duyarlılığı azdır ve fototoksitesi yüksektir [77].

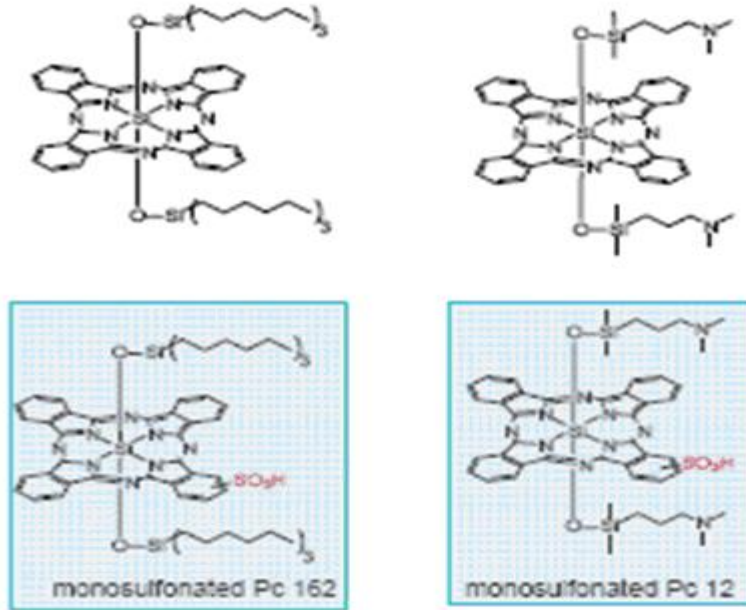
Bu bileşik, Amerikan Ulusal Kanseri Enstitüsüne 1995 yılında girmiş, 2000 yılında FDA tarafından denenmekte olan ilaç numarası almış, Cleveland Üniversitesi Hastanesinde Faz I düzeyinde klinik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. 2001 yılında

ilacın uygulanmasına yönelik bir protokol oluşturulmuştur fakat halen protokolün genelleşmesi için çalışmalar yapılmaktadır. 2004 yılında cilt kanseri için protokol belirlenmiştir. Bugüne kadar 45 hastaya PDT amaçlı uygulanmıştır [86,87].



Şekil 2.16 : Pc 4 bileşiğinin yapısı $\text{HOSiPcOSi}(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$.

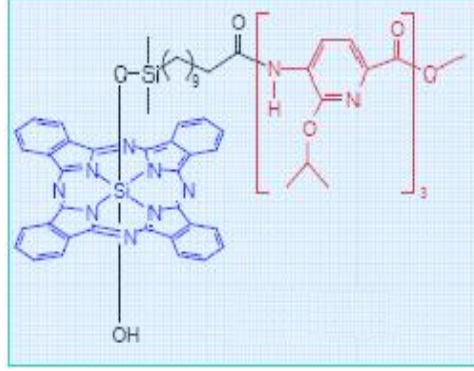
Sülfolanmış Silisyum Pc'lerin sülfolanmamış analoglarına göre polar çözücülerde daha çok çözündüğü görülmüştür (Şekil 2.17). Bu özellik onları PDT için uygun aday haline getirmektedir.



Şekil 2.17 : Monosülfolanmış Bazı Silisyum Pc'lerin Yapıları.

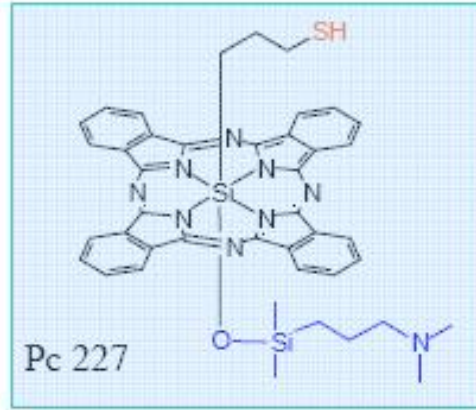
Bcl-2 Bcl-xl proteinlerinin tümör hücrelerinde apoptosisi durdurduğu ortaya çıkmıştır. Dolayısıyla aminotrimer süstitüe Silisyum Pc'lerin sentezi gerçekleştirilip

Bcl-2 Bcl-xl proteinlerine tutunması sağlanmıştır (Şekil 2.18). Fotouyarılmayla bu proteinlerin yok edildiği literatürde yer alan en son çalışmalardan biridir [88].



Şekil 2.18 : Pc-aminotrimer Konjugatının Yapısı.

Altın nanokümelerin kanser hücrelerinin hedefi oldukları bilinmektedir. Altın nanokümelerin bağlanabileceği bir eksenel SH grubu olan Silisyum Pc (Şekil 2.19), gerek seçici olarak tümöre tutunması açısından gerekse PDT için uygun bir bileşik olması yönünden sentezi gerçekleştirilen çok fonksiyonlu bir diğer Pc'dir.



Şekil 2.19 : SH Grubu ile Altın Nanokümelere Bağlanabilen ve Sonra da PDT için Uyarılabilen Bir SiPc.

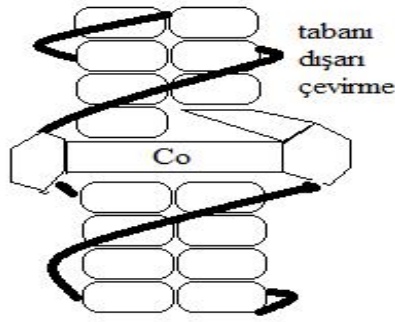
2.10 Ftalosiyanın DNA ile Etkileşimi

DNA'nın biyoorganik kimyada, biyoteknolojide ve malzeme bilimindeki önemi giderek artmaktadır.

DNA'nın çift sarmalları negatif yüklüdür ve pozitif yüklü parçalarla kuvvetli bir etkileşime girmektedir [89]. Makromoleküllere ligand bağlanması biyolojide ve tıpta biyolojik proseslerin yönetim sisteminde önemli bir rol oynamaktadır.

DNA'nın çoğalmadaki ve replikasyondaki merkezi rolünden dolayı, antikanser, antibiyotik ve antivirüs ilaçlar DNA'nın asıl hedefi olmuştur [90]. DNA ilaçlarının büyük çoğunluğu genellikle pozitif yük taşıyan düşük molekül ağırlıklı aromatik yapılardır [91]. Bu noktada ftalosiyaninler ve porfirinler birbirine kombine olmuş aromatik halkalardan oluştuğu için DNA ile etkileşimleri dikkat çekmektedir. DNA'nın bağlanma mekanizması sadece DNA sarmalının parçasına değil, ayrıca ftalosiyanin veya porfirin moleküllerinin yapı karışıklığına da bağlı olmaktadır [92].

Metalsiz ve dört koordinasyonlu katyonik porfirinler DNA ile tercihen G-C bölgelerinde doğrudan veya hemi-araya girme ile etkileşmektedirler (Şekil 2.20).



Şekil 2.20 : DNA Parçasının Porfirine hemi-araya girmesi.

Adenin-Timin bölgelerinde, ftalosiyanin bağlanması yüzeysel ve kulombik; muhtemelen küçük bir DNA çizgisiyle gözükmektedir [93].

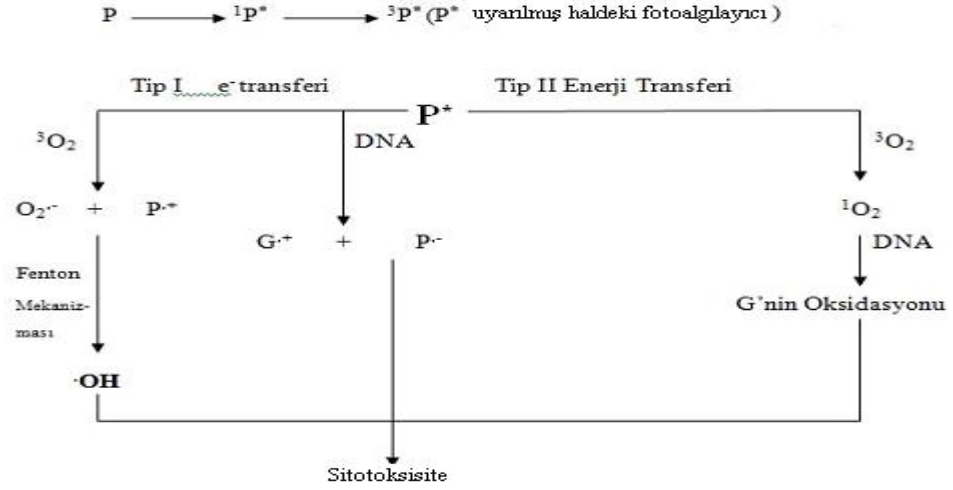
2.11 Tümörlü DNA'nın Fotolizinde (PDT) Pc Kullanımı

Oksijenin oldukça reaktif bir formu olan singlet oksijen PDT sürecinde üretilen en belli başlı sito-toksik ajandır. Fotouyarılmayla koparılan DNA parçası üç primer mekanizma sonucu oluşabilmektedir (Şekil 2.21);

- Hidroksi radikallerinin üretimi (-OH), reaktif oksijen parçalarının hidrojen atomlarını RNA temelinden çıkartarak DNA sarmalını ikiye bölmesi (Tip I yolu),
- Fotoalgılayıcının fotokimyasal olarak uyarılmış haline nükleobazdan, özellikle guaninden, elektron transferi (Tip I yolu),

c) Uyarılmış fotoalgılayıcıdan transfer edilen enerji ile oluşturulmuş singlet moleküler oksijenin ($^1\text{O}_2$) tercihi olarak guanini okside etmesi (Tip II yolu) [94-96] .

Temel haldeki oksijen iki çiftlenmemiş elektrona sahiptir ve herhangi bir manyetik alana maruz kalmadığında elektronik konfigürasyonunda bir değişiklik yoktur.



Şekil 2.21 : Tip I ve II Yolları ile Fotoyarılma.

Bir kere uyarılmış hale gelince, fotoalgılayıcı enerjisini temel triplet durumdaki oksijene vermekte ve bu oksijen tip II yolu ile singlet durumdaki oksijene uyarılmaktadır. Alternatif olarak, fotoalgılayıcılar, yakınındaki oksijen molekülü gibi elektron kabul edebilen türlere eksik elektronlarla okside olabilmektedirler. Bu elektron transferi deoksiriboz hidrojen atomunu indüklemekte; ayrılma sitotoksik hidroksil radikalini ($\cdot\text{OH}$) oluşturmaktadır. Uyarılmış fotoalgılayıcı ayrıca DNA'dan elektron kabul ederek indirgenebilmektedir. Tip II'ye kıyasla Tip I'in PDT'de daha küçük rol oynamasına rağmen; ikisi de tümörlü DNA'nın yıkımına hizmet etmektedir [94,95].

Triplet ömür, molekülün triplet uyarılmış haldeki harcadığı zamanın ortalaması olarak tanımlanır. Yeni fotoalgılayıcıların geliştirilmesinde, triplet ömür anahtar roldedir. Fotoalgılayıcının triplet haldeki enerjisi kolaylıkla yakında lokalize olmuş moleküle aktarılır. Oksijen ($^3\text{O}_2$), temel hali triplet olan nadir moleküllerden biridir. Oksijenin singlet uyarılmış hal enerjisi 7900 cm^{-1} 'dir. Bu yüzden; düşük enerjili triplet durumdaki moleküller, moleküler oksijeni temel triplet halden daha yüksek enerjili singlet duruma uyarmada başarılı olamazlar. Triplet hal enerjileri 7900 ile 18.000 cm^{-1} olanların, PDT'de kullanılabilmesi için tip II fotouyarılma reaksiyonu

başlatması gereklidir [94-96]. Ömrü boyunca 100 nm uzaklığa yayılmış olan singlet oksijen kuvvetli bir elektrofildir ve çevredeki dokuya önemli yıkımları indükleyebilir [96].

İçlerinde temel haldeki oksijeni uyarabilecek enerjiyi barındıramayan bu moleküller, tip I yoluna alternatif olarak yine de PDT uygulamalarında kullanılabilecek adaylar olabilirler. Bu yolda, fotosensibilite olmuş triplete DNA'nın nükleobazlarından direkt elektron transferi gerçekleşebilir. Fotosensibilite olmuş triplet ayrıca temel haldeki oksijene, $^3\text{O}_2$, süperoksit anyon radikalinden (O_2^-) elektron transfer edebilir. Süperoksit anyon radikalinin üretimi Fenton Mekanizması ile hidroksil radikallerinin formasyonuna sebep olabilirler. Daha önceden de bahsedildiği üzere; deoksiribozdan hidrojen atomlarının ayrılması mekanizması ile hidroksil radikalleri DNA fosfodiester parçasını yarar [97]. Hem singlet oksijen hem de hidroksil radikalleri hücresel parçalara; DNA, proteinler, diğer makromoleküller; zarar verebilir. Bu da hücrelerin yıkımına sebep olur.

Bilim sürekli gelişmektedir. Teknolojinin gelişmesiyle beraber yeni maddeler tıpta ilk olarak *in vitro*, daha sonra fareler veya sıçanlar üzerinde *in vivo* olarak denenmektedir. Tetrapirel makrohalka sınıfından olan ftalosiyeninler her türlü amaca yönelik modifiye edilmeye çok elverişli moleküllerdir. Bu maddelerin boya, pigment ve endüstrideki uygulamalarının yanında tıbbi incelemeleri daha az sayıda olmuştur. Artık pek çok tıbbi çalışma kimya, biyokimya, moleküler biyoloji, nükleer enerji, radyoloji, farmakoloji bölümlerini bir araya getirmektedir. Bu tez kapsamında ftalosiyeninlerin tıbbi uygulamaya yönelik özellikleri incelenecektir.

3. KULLANILAN ALET VE MADDELER

3.1 Kullanılan Maddeler

DMF, diiminoisoindolin, kinolin, fosfor penta oksit, kloroform, sodyum hidrür, dietileter, metanol, toluen, 1-metil-2-pirolidin metanol, N-(2-Hidroksietil) heksametilenimin, N,N,N-trimetilamonyum metil fenoksi, THF, aseton, DMSO, etilasetat, hekzan, diklorometan, 3 Å'luk moleküler elek, EtBr, DPBF, dimetil sülfat, CT-DNA, yükleme çözeltisi, SYBR GREEN I, ADMA.

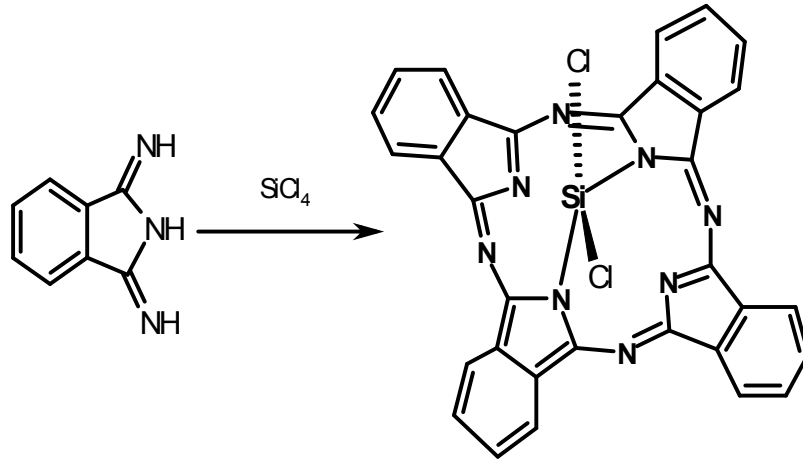
3.2 Kullanılan Aletler

UV	: Scinso SD 1000
Floresans	: Perkin Elmer LS55
¹ H-NMR	: Bruker B-ACS60 ultrashield TMPLUS 400 Mhz
IR	: Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR Spectrometer
Mass	: Perkin Elmer Clarus 500

4. DENEYSEL KISIM

4.1 Dikloro[ftalosiyeninato]silisyum (1) Sentezi [98]

2 gr diiminoisoindolin 22 ml kinolin içerisinde çözülür. Çözünme için ortama biraz ısı verilir. Çözünme tamamlandıktan sonra balon buz banyosunun içerisine alınır ve SiCl_4 (2.3ml) ilave edilir. SiCl_4 ün fazla ilave edilmesinde fayda vardır. SiCl_4 hızlı ilave edilmelidir. Aksi taktirde SiCl_4 hızlı bir şekilde nem kapacaktır. Nem kaptığı ilave edilirken oluşan beyaz çökelekten anlaşılabilir. İlave bittikten sonra reflüks edilir. Reaksiyon önce yeşil, reflüksün başlaması ile maviye daha sonrada koyu mavi (lacivert) renge döner. 1 saat reflüks (219°C) edildikten sonra reaksiyon 184°C ye soğutulur ve bu sıcaklıkta 2 saat daha bekletilir. Bu işlem tamamlandıktan sonra reaksiyon hızla süzülür. Çok çabuk katılaşma olduğu için süzmeden önce biraz metanol ilave edilmesinde fayda vardır. Katı kısım metanol ve aseton ile yıkanır. Her yıkamada süzöntü açık yeşildir. Madde 110°C de kurutulur. M.p. 430°C . MA : 575,5 . Renk: lacivert (indigo) kristal.

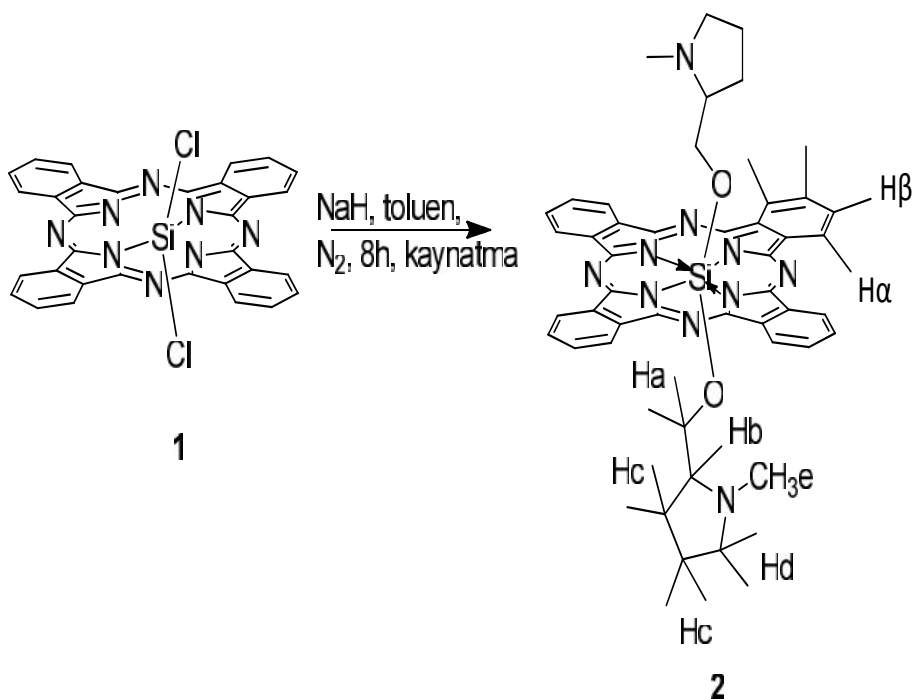


Şekil 4.1 : Diiminoisoindolinden SiPc Sentezi.

4.2 Bis(N-Metil-2-Pirolidinmetoksi) [ftalosiyeninato]silisyum (2) Sentezi

Silikon (IV) ftalosiyenin diklorür (50 mg, 0,0817 mmol) ve 1-metil-2-pirolidin metanol (28,21 mg, 0,245 mmol) 25 ml kuru toluen içerisinde karıştırılırken, karışıma sodyum hidrür (0,735 mmol, 17,6 mg) ilavesi yapılır. Azot gazı geçirilerek

geri soğutucu altında 6 saat kaynatılan karışım, oda sıcaklığına soğutulur. Daha sonra santrifüj edilerek çözelti kısmı alınır ve çözeltinin solventi evaporatörde uzaklaştırılır. Elde edilen katı ürün soğuk hekzan ile yıkanır ve kurutulur. Daha sonra ürün alümina kolonda saflaştırılır (10/1: Diklorometan / Metanol). Verim : 38 mg (% 61,2). IR $\nu_{\max}/(\text{cm}^{-1})$: 2773; 1611; 1519; 1471; 1426; 1333; 1287; 1163; 1119; 1076; 985; 908; 757. UV-Vis(Kloroform), max/nm (log ϵ) : 355 (4,41), 608 (4,07), 674 (4,93). ^1H NMR (CDCl_3) : δ -2,29 - (-1,85) (d, 4H, Ha); (-0,54) - (-0,77) (m, 2H, Hb); 1,26 - 1,27 (m, 8H, Hc); 1,62 - 2,07 (t, 4H, Hd); 2,08 - 3,20 (s, 4H, He); 8,05 - 8,07 (m, 8H, H β); 9,33 - 9,35 (m, 8H, H α). $\text{C}_{44}\text{H}_{40}\text{N}_{10}\text{O}_2\text{Si}$ için bulunan (%): C, 69,01; H, 4,98; N, 17,90. Hesaplanan (%): C, 68,73; H, 5,24; N, 17,01.

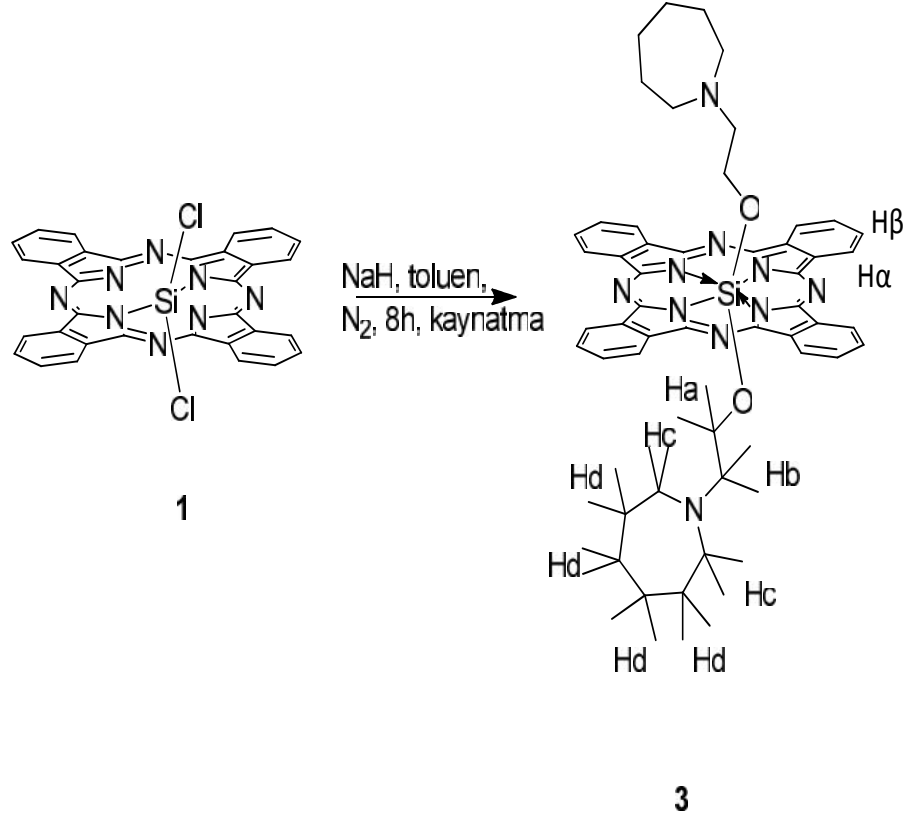


Şekil 4.2 : Bis(N-Metil-2-Pirolidinmetoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (2) Sentezi.

4.3 Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (3) Sentezi

50 mg, 0,0817 mmol silikon (IV) ftalosiyanın ve 35,08 mg, 0,245 mmol N-(2-Hidroksietil) heksametilenimin 25 ml kuru toluen içerisinde karıştırılırken, karışıma 0,735 mmol, 17,6 mg sodyum hidrür ilave edilir. Geri soğutucu altında, azot gazı geçirilerek 6 saat kaynatılan karışım oda sıcaklığına soğutulur. Daha sonra reaksiyon karışımının çözelti kısmı santrifüjle alınarak çözeltinin solventi evaporatörde uzaklaştırılır. Elde edilen katı ürün soğuk hekzan ile yıkanır ve kurutulur, silika kolonda saflaştırma yapılır (10/1 : THF / Kloroform). Verim : 35 mg (% 52,2). IR

$\nu_{\max}/(\text{cm}^{-1})$: 2907; 1613; 1520; 1426; 1332; 1288; 1164; 1121; 1077; 1050; 1004; 952; 909; 758. UV-Vis(Kloroform), $\max/\text{nm}$ ($\log \epsilon$) : 355 (4,34), 606 (4,07), 673 (4,89). ^1H NMR (C_3OD_6) : δ -1,92 - (-1,89) (t, 4H, Ha), 0,30 - 0,34 (t, 4H, Hb); 1,71 - 1,83 (m, 16H, Hd); 3,45 - 3,51 (m, 8H, Hc); 8,35 - 8,42 (m, 8H, H β); 9,58 - 9,62 (m, 8H, H α). Kütle (MALDI-TOF) ($\text{C}_{48}\text{H}_{48}\text{N}_{10}\text{O}_2\text{Si}$) m/z : 825,48 $[\text{M}]^+$. $\text{C}_{48}\text{H}_{48}\text{N}_{10}\text{O}_2\text{Si}$ için hesaplanan (%):C, 69,88; H, 5,86; N, 16,98. Bulunan (%): C, 69,11; H, 6,07; N, 16,54.

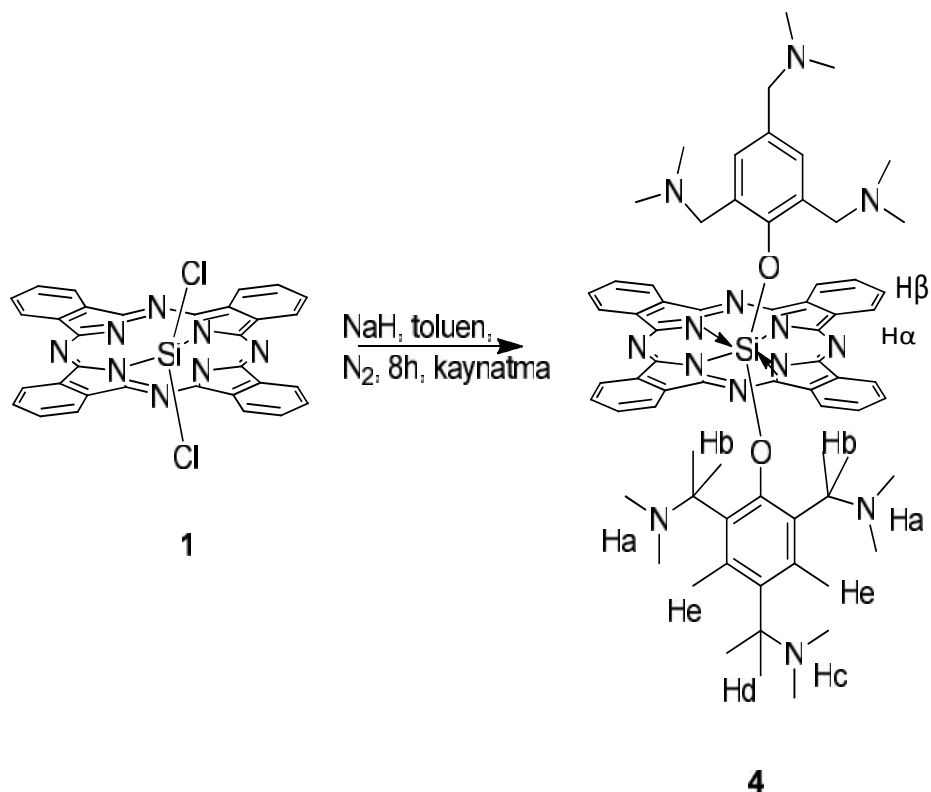


Şekil 4.3 : Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (**3**) Sentezi.

4.4 Bis (2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (**4**) Sentezi

50 mg, 0,0817 mmol silikon (IV) ftalosiyanim ve 65 mg, 0,245 mmol N,N,N-trimetilamonyum metil fenoksi 25 ml kuru toluen içerisinde karıştırılırken, karışıma 0,735 mmol, 17,6 mg sodyum hidrür ilave edilir. Geri soğutucu altında, azot gazı geçirilerek 6 saat kaynatılan karışım bu süre sonunda oda sıcaklığına soğutulur. Daha sonra reaksiyon karışımının çözelti kısmı santrifüjle alınarak, çözeltinin solventi evaporatörde uzaklaştırılır. Elde edilen katı ürün soğuk hekzan ile yıkanır ve kurutulur. Verim : 31 mg (% 35,6). IR $\nu_{\max}/(\text{cm}^{-1})$: 3011; 2815; 1606; 1357; 1313;

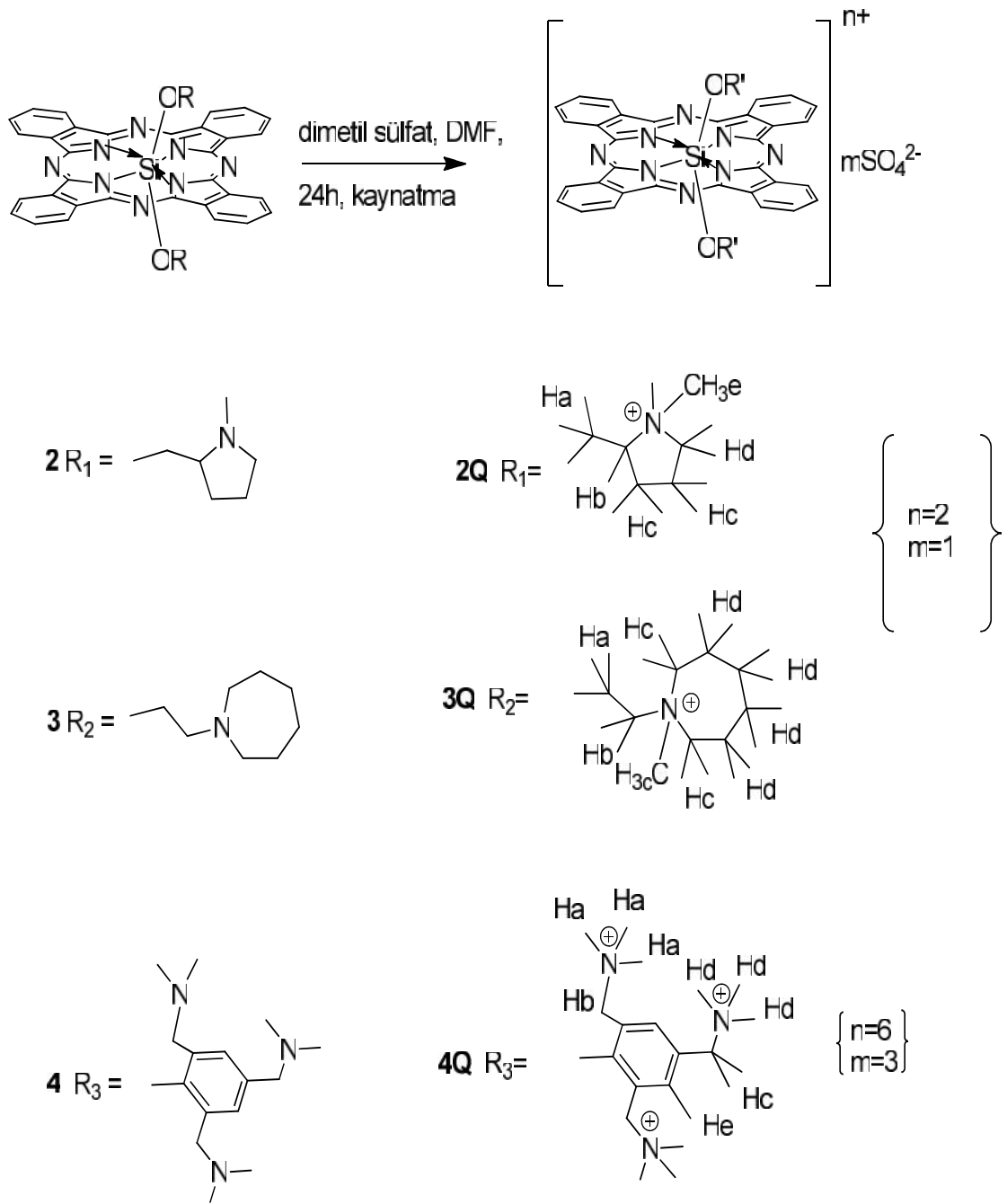
1247; 1173; 1144; 1097; 1025; 986; 880; 836. ^1H NMR (DMSO- d_6) : δ 1,17 - 1,33 (m, 8H, H_b); 2,22 - 2,03 (m, 24H, H_a); 2,23 - 2,32 (br s, 12H, H_c); 2,33 - 2,40 (br s, 4H, H_d); 6,91 - 6,98 (m, 4H, H_e); 8,44 - 8,67 (m, 8H, H_{\beta}); 9,54 - 9,77 (m, 8H, H_{\alpha}). Kütle (MALDI-TOF) ($\text{C}_{62}\text{H}_{68}\text{N}_{14}\text{O}_2\text{Si}$) m/z : 1067 $[\text{M}-2\text{H}]^+$, hesaplanan 1069,38. $\text{C}_{62}\text{H}_{68}\text{N}_{14}\text{O}_2\text{Si}$ için hesaplanan (%): C, 69,63; H, 6,41; N, 18,34. Bulunan (%): C, 69,32; H, 6,08; N, 17,94.



Şekil 4.4 : Bis(2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi)[ftalosiyanimato]silisyum (**4**) Sentezi.

4.5 Kuaternize Pclerin Genel Sentez Yöntemi

30 mg **2**, **3** veya **4** bileşiği 5 ml kuru DMF içerisinde çözülür. Geri soğutucu altında azot gazı geçirilerek sıcaklığın 120°C ' ye gelmesi beklenir. Sıcaklık 120°C olduğunda 0,1 ml dimetilsülfat ilavesi yapılır. Reaksiyon karışımı 24 saat süreyle geri soğutucu altında 120°C 'de kaynatılır. Bu süre sonunda reaksiyon kapatılır ve reaksiyon karışımı aseton ilavesiyle çöktürülür. Elde edilen çökelti süzme ile alınarak azot gazı altında sırasıyla aseton, etilasetat, hekzan, diklorometan ve dietileter solventleri kullanılarak yıkanır. Elde edilen ürün 24 saat süreyle P_2O_5 üzerinden kurutulur.



Şekil 4.5 : Kuaternize 2Q, 3Q ve 4Q bileşikler.

2Q: IR $\nu_{\max}/(\text{cm}^{-1})$: 2883; 1976; 1610; 1521; 1472; 1429; 1335; 1292; 1166; 1114; 1080; 957; 910; 791; 757. UV-Vis(H_2O), max/nm ($\log \epsilon$) : 350 (4,50), 612 (4,17), 682 (4,96). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) : δ -2,30 - (-2,22) (t, 4H, Ha); -1,81 - (-1,77) (m, 2H, Hb); 1,65 - 1,87 (m, 8H, Hc); 2,25 - 2,33 (m, 4H, Hd); 3,06 (s, 12H, He); 8,28 - 8,34 (m, 8H, H β); 9,45 - 9,51 (m, 8H, H α). Kütle (MALDI-TOF) ($\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{N}_{10}\text{O}_2\text{Si}^{2+}$) m/z: 800,08 $[\text{M}-\text{SO}_4+\text{H}]^+$, hesaplanan 799,01. $\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{N}_{10}\text{O}_6\text{SSi}$ için hesaplanan (%): C, 61,73; H, 5,18; N, 15,65. Bulunan (%): C, 61,80; H, 5,01; N, 16,01.

3Q: IR $\nu_{\max}/(\text{cm}^{-1})$: 2851; 2579; 1974; 1610; 1519; 1472; 1428; 1335; 1291; 1162; 1121; 1078; 998; 947; 909; 852; 790; 758; 717. UV–Vis(H_2O), max/nm ($\log \epsilon$) : 353 (4,36), 613 (4,07), 681 (4,90). ^1H NMR (DMSO-d_6) : δ -2,16 - (-2,05) (t, 4H, H_α); 0,50 - 0,54 (t, 4H, H_β); 2,23 - 2,09 (m, 16H, H_δ); 2,81 - 2,90 (m, 14H, H_ϵ); 8,16 - 8,22 (m, 8H, H_β); 9,32 - 9,34 (m, 8H, H_α). K t le (MALDI-TOF) ($\text{C}_{50}\text{H}_{54}\text{N}_{10}\text{O}_2\text{Si}^{2+}$) m/z : 856,07 $[\text{M-SO}_4+\text{H}]^+$, hesaplanan : 855,11. $\text{C}_{50}\text{H}_{54}\text{N}_{10}\text{O}_6\text{SSi}$ için hesaplanan (%): C, 63,14; H, 5,72; N, 14,73. Bulunan: C, 62,98; H, 6,02; N, 15,77.

4Q: IR $\nu_{\max}/(\text{cm}^{-1})$: 1608; 1478; 1377; 1337; 1163; 1124; 1082; 1011; 973; 911; 870; 777. UV–Vis(H_2O), max/nm ($\log \epsilon$) : 619 (4,34), 687 (4,51). ^1H NMR (D_2O) : δ 1,67 - 1,93 (br s, 8H, H_β); 2,59 - 2,92 (br s, 36H, H_α); 2,94 - 2,97 (br s, 8H, H_ϵ); 2,98 - 3,22 (s, 18H, H_δ); 7,73 - 8,00 (m, 4H, H_ϵ); 8,02 - 8,69 (s, 8H, H_β); 9,23 - 10,00 (m, 8H, H_α). K t le (MALDI-TOF) ($\text{C}_{65}\text{H}_{77}\text{N}_{14}\text{O}_2\text{Si}^{3+}$) m/z : $[\text{M-3SO}_4-3\text{CH}_3]^+$, 1114,21, hesaplanan : 1114,48; $[\text{M-3SO}_4-3\text{CH}_3]^{2+}$, 557,35, hesaplanan 557,5. $\text{C}_{68}\text{H}_{86}\text{N}_{14}\text{O}_{14}\text{S}_3\text{Si}$ için hesaplanan (%): C, 56,41; H, 5,99; N, 13,54. Bulunan (%): C, 57,05; H, 6,36; N, 14,04.

4.6 DNA-Pc Etkileşiminin UV/Vis Titrasyonu ile İncelenmesi [99]

Kuaternize **2Q**, **3Q** ve **4Q** maddelerinin CT-DNA ile titrasyonları oda sıcaklığında gerçekleştirilir. $6,2 \times 10^{-4}\text{M}$ CT-DNA ve kuaternize bileşiklerin $4 \times 10^{-5}\text{M}$ 'lık stok çözeltileri saf suyla hazırlanır. 3 ml lik kuvarz küvete 2500 μL saf su ve 250 μL **2Q**, **3Q** veya **4Q** ($4 \times 10^{-5}\text{M}$) konulur; 10'ar μL 'lik hacimlerde $6,2 \times 10^{-4}\text{M}$ CT-DNA ilaveleri yapılarak her ilavede 300 nm ve 800 nm aralığında absorpsiyon ölçümleri alınır. **2Q**, **3Q** veya **4Q** bileşiklerinin Q-bandındaki değişimin sabitlendiği absorbans değerine ulaşılıncaya kadar titrasyona devam edilir.

4.7 DNA-Pc Etkileşiminin Floresans Spektrumu ile İncelenmesi [100]

Kuaternize **2Q**, **3Q** ve **4Q** maddelerinin CT-DNA ile titrasyonları oda sıcaklığında gerçekleştirilir. 3 ml lik kuvarz küvete $1 \times 10^{-6}\text{M}$, 2500 μL **2Q**, **3Q** veya **4Q** konulur. Floresans spektrumu alınır.  zerine 5 μL $5 \times 10^{-6}\text{M}$, CT-DNA ilave edilir. Her DNA

ilavesinden sonra floresans spektrumu alınır. Toplam 30 µL DNA ilave edilir. 510-700 nm arasında floresans şiddetindeki azalma takip edilir.

Cihaz ayarları:

Voltaj: 900V

Eksitasyon: 497 nm slit aralığı: 7 nm

Emisyon: 700 nm slit aralığı: 10 nm

Her ölçüme 50 kez smooth yapılmıştır.

$\text{Log}[(F_0-F)/F] = n\text{Log}[\text{DNA}] + \text{Log}K_b$ eşitliğine göre

F_0 = DNA ilave edilmeden önce alınan serbest Pc bileşiğinin max floresans intensitesi

F = DNA ilave edildikten sonra Pc-DNA kompleksinin intensitesi

n =DNA bağlanma bölge sayısı

K_b = Pc-DNA bağlanma sabiti

$[\text{DNA}]$ = artan DNA derişimi

$\text{Log}[\text{DNA}]$ 'ya karşı $\text{Log}[(F_0-F)/F]$ grafiğinde kayım değeri K_b değerini verir.

4.8 DNA-Pc Etkileşiminin Stern Volmer Grafikleri ile İncelenmesi [100]

Bir maddenin DNA'yı tercih edip etmediğini anlamak için uygulanan yöntemlerden biri de ticari olarak kullanılan bir DNA boyası varlığında sentezlenen maddenin ilave edilip DNA-boya kompleksinin floresansındaki artış veya azalışı takip etmektir. Burada DNA boyası olarak SYBR GREEN I (SYBR) boyası kullanılmıştır. DNA ile emisyonu 520 nm'de oldukça fazladır. 5×10^{-6} M, 100µL DNA ile 200µL, 1X SYBR boyasının olduğu kuartz küvete 1×10^{-7} , 2.5×10^{-7} , 5×10^{-7} , 7.5×10^{-7} ve 1×10^{-6} M 2ml **2Q**, **3Q** veya **4Q** ilave edilmiştir. SYBR ticari olarak 10000X derişimde kullanılmaktadır. Bu değer seyreltilerek 1X değerinde çalışılmıştır.

$F_0/F = 1 + K_{sv}[\text{PC}]$ eşitliğinde

F_0 = Pc ilave edilmeden önce alınan SYBR-DNA kompleksinin max floresans intensitesi

F= Pc ilave edildikten sonra SYBR-DNA kompleksinin intensitesi

[Pc]'ye karşı F_0/F grafiği çizilmiştir. Grafiğin eğimi Ksv (Stern Volmer) sabitini verir.

4.9 DNA-Pc Etkileşiminin Jel Elektroforezle İncelenmesi [1]

% 0,8'lik agaroz jel hazırlanır. Bunun için 50 mL TBE, distile suyla 500 mL'ye tamamlanır, bu çözeltiden 50 mL alınarak 400 mg agaroz ilave edilip, çözünmesi sağlanır. Daha sonra bu çözelti, ekim yapılacak tepsiye dökülür ve jelleşme oluncaya kadar bekletilir. Jel hazır hale geldiğinde kuaternize **2Q**, **3Q** ve **4Q** maddelerin 1 μ M'lık sudaki çözeltilerinin, 2,7 μ M'lık CT-DNA çözeltisinin ve içinde jeldeki ilerlemeyi görebileceğimiz bir boya ve yüklediğimiz CT-DNA'nın kuyucuk içine pipetlendiğinde dipte kalmasını, etrafa dağılmamasını sağlayan gliserolün bulunduğu yükleme çözeltisinin farklı R değerleri (Çizelge 4.1) ($R=[MPc]/[DNA]$) elde edilecek şekilde 20 μ l'lik hacimlerde olan kuyucuklara ekimler yapılır. Her kuyucuğa sabit miktarda (5 μ L) yükleme çözeltisi ilave edilir. Jel, 20 dakika boyunca 120 Volt akımda yürütmeye bırakılır. Daha sonra jel 10 dakika boyunca SYBR Gold çözeltisinde bekletilir, buradan alınarak UV ışığı altında fotoğrafı çekilir ve bantlar gözlemlenir. Jeldeki M, kontrol grubu olup herhangi bir SiPc içermemektedir.

Çizelge 4.1 : Agaroz jel elektroforezde kullanılan R değerleri

R	[2Q]/[DNA]	[3Q]/[DNA]	[4Q]/[DNA]
0.25 (1,25 μ l/5 μ l)	1	6	11
0.5 (2,5 μ l/5 μ l)	2	7	12
1 (5 μ l/5 μ l)	3	8	13
1.5 (7,5 μ l/5 μ l)	4	9	14
2.0 (10 μ l/5 μ l)	5	10	15

4.10 DNA-Pc Etkileşiminin Termal Denatürasyon Eğrileri ile incelenmesi [99]

2603 ng/ μ l'lik CT-DNA'nın bozunma sıcaklığının **2Q**, **3Q** veya **4Q** varlığında değişiminin belirlenmesi için 25°C'den 90°C'ye kadar olan aralıkta 5'er derecelik artışlarla 200-300 nm aralığındaki UV absorbansları ölçülerek, 260 nm'deki UV absorbans değerleri belirlenir. Bunun için 3 ml'lik ilk küvete 2500 μ l saf su ve 10 μ l CT-DNA konulur ve sıcaklık artışına geçilir. 25°- 90°C sıcaklık aralığında 200 - 300 nm aralığındaki UV absorbans değişim profili belirlenir. 1. Küvetteki CT-DNA derişimine eşit derişimde yeni CT-DNA içeren 2., 3. ve 4. küvetlere sırasıyla 10 μ l, 0.159 μ M **2Q**, **3Q** ve **4Q** ilave edilerek aynı işlemler tekrarlanır.

4.11 Elde Edilen Pc'lerin Singlet Oksijen Üretimlerinin Belirlenmesi [100]

Nötr bileşiklerin (**2**, **3**, **4**) singlet oksijen üretimini tespit etmek için referans olarak 1,3-difenil isobenzofuran (DPBF), kuaternize **2Q**, **3Q** ve **4Q** maddeleri için referans olarak antrosen-9,10-diil-bis-metilmalonat (ADMA) kullanılmıştır. DMSO içerisinde tespit edilir. DPBF'in 415 nm'deki absorbansındaki değişiklikler gözlemlenir. Bu amaçla 3 ml'lik kuvars küvete, 1ml ve 10⁻⁴ mertebesinde nötr SiPc, 1ml DMSO, 1ml ve 10⁻⁵ mertebesinde DPBF konularak 5'er saniye aralıklarla ışığa maruz bırakılır. Işık kaynağı olarak 300W halojen lamba kullanılır ve 650 nm'den küçük dalgaboylarını geçirmeyen bir Shimadzu dikroik filtre kullanılarak ölçümler alınır. DPBF bozunması her 5 saniyede bir UV/Vis spektrumu alınarak tepit edilir.

4.12 DNA-Pc Kompleksinin Işıklı Uyarılarak DNA Fotolizinin Jel Elektroforez ile İncelenmesi [1]

% 0,8'lik agoroz jel hazırlanır. Bunun için 50 mL TBE, distile suyla 500 mL'ye tamamlanır, bu çözeltiden 50 mL alınarak 400 mg agoroz ilave edilip, çözünmesi sağlanır. Daha sonra bu çözelti, ekim yapılacak tepsiye dökülür ve jelleşme oluncaya kadar bekletilir. Jel hazır hale geldiğinde kuaternize bileşiklerin ve CT-DNA'nın distile suda hazırlanan 0,87 μ M'lık derişimlerinden ve yükleme çözeltisinden alınarak, 20 μ l'lik hacimlerde olan kuyucuklara ekimleri yapılır. 1., 7. ve 13. kuyucuklara sadece süpersarmal DNA; 6., 12. ve 18. kuyucuklara sadece CT-DNA+5 dakika radyasyon ($\lambda > 650$); 5., 11. ve 17. kuyucuklara herbiri 5 μ L olacak şekilde CT-DNA, yükleme çözeltisi ve sırasıyla **2Q**, **3Q** ve **4Q** karışımı; 2., 3., ve 4.

kuyucuklara sırasıyla 1 saniye, 3 saniye ve en son 5 saniye radyasyona maruz bırakılan CT-DNA, yükleme çözeltisi ve **2Q** karışımı; 8., 9. ve 10. kuyucuklara sırasıyla 1 saniye, 3 saniye ve en son 5 saniye radyasyona maruz bırakılan CT-DNA, yükleme çözeltisi ve **3Q** karışımı; 14., 15. ve 16. kuyucuklara sırasıyla 1 saniye 3 saniye en son 5 saniye radyasyona maruz bırakılan CT-DNA, yükleme çözeltisi ve **4Q** karışımı ekilir. Ekim işlemi tamamlandıktan sonra jel, 20 dakika boyunca 120 Volt akımda yürütmeye bırakılır. Daha sonra jel 10 dakika boyunca SYBR Gold çözeltisinde bekletilir, buradan alınarak UV ışığı altında fotoğrafı çekilir ve bantlar gözlemlenir.

5. SONUÇLAR VE YORUMLAR

Tüm bilim dallarında olduğu gibi kimya da, insanlığın güncel sorunlarını çözmekte önemli bir görev üstlenmiştir. Bu görevi, teknolojik, tıbbi veya endüstriyel alanlarda kimyasal maddeler rol alarak yerine getirir. Fiziksel ve kimyasal özellikleri ile fonksiyon kazanabilirlikleri sayesinde akıllı ilaçların ve ileri teknoloji malzemelerinin üretiminde çok önemli yerleri olan ftalosiyanınların (Pc) kullanımları belirli alanlarda yoğunlaşmıştır. Tıpta ve moleküler biyolojideki en son çalışmalar DNA'ya tutunduğu tespit edilen Pc'lerin bir kanser tedavi yöntemi olan Fotodinamik Terapi'de (PDT) kullanılabildiklerini ortaya koymuştur. Dolayısıyla elektronik yapısındaki esneklikten faydalanılarak çok farklı amaçlar için farklı grupların moleküle katılmasıyla elde edilen binlerce Pc bileşiklerinden DNA'ya bağlananlar onkoloji ve moleküler biyoloji gibi iki ana disiplini bir araya getirerek kanser tedavisinde yeni gelişmelere olanak sağlamıştır.

Bu tez kapsamında agregasyonu engellemelerinden dolayı PDT için oldukça elverişli olan hem nötr hem de suda çözünür bir seri silisyum ftalosiyanınların DNA ile etkileşimleri incelenmiş ve DNA'ya bağlandıkları tespit edildikten sonra PDT'ye yönelik singlet oksijen üretilip üretilmedikleri araştırılmıştır. Sonuçlar; sentez, biyolojik özellikler ve fotokimyasal aktivite incelemeleri olacak şekilde üç kısım halinde değerlendirilmiştir.

5.1 Sentez

2 bileşiğinin IR spektrumunda 1287 ve 1076 cm^{-1} 'lerde gözlenen Si-O piki ekstenel konumlara istenilen grubun bağlandığı göstermektedir. Kloroform içerisinde alınan UV-Vis spektrumunda Q bandı 674 nm'de; B bandı ise 355 nm'de gözlenmiştir. ^1H NMR spektrumunda eterik O-CH₂ protonları ile b protonları manyetik anizotropiden dolayı sırasıyla -2,29 ile -1,65 ppm arasında ve -0,54 ile -0,77 ppm arasında; c protonları 1,26 ile 1,27 ppm arasında; d protonları 1,62 ile 2,07 ppm arasında; e protonları 2,08 ile 3,20 ppm arasında; 8,05 ile 8,07 ppm arasında H β ; 9,33 ile 9,35 ppm arasında H α protonları gözlenmiştir. Maddenin kuaternize edilmiş hali olan **2Q**

bileşiğinin kütle spektrumunda + yüklü **2Q** bileşiği 800,08'de net olarak görülmüştür. Maddenin IR spektrumunda 1292 ve 1080 cm^{-1} 'de gözlenen gerilme titreşimleri fonksiyonel grupların bağlandığını göstermektedir. Suda alınan UV-Vis spektrumunda Q bandı 682 nm'de, B bandı ise 350 nm'de gözlenmiştir. ^1H NMR spektrumunda a protonları -2,30 ile -2,22 ppm arasında; b protonları -1,81 ile -1,77 ppm arasında; c protonları 1,65 ile 1,87 ppm arasında; 2,25 ile 2,33 ppm arasında d protonları; 3,06 ppm'de singlet olarak N-CH₃ protonları; 8,34 ile 8,28 ppm arasında H β , 9,51 ile 9,45 ppm arasında H α protonlarına ait kaymalar gözlenmiştir.

3 bileşiğinin IR spektrumunda 1288 ve 1077 cm^{-1} 'lerde görülen pik eksenel konumlara heksametilenamino etoksi grubunun bağlandığını göstermektedir. Kloroform içerisinde alınan UV-Vis spektrumunda Q bandı 673 nm'de, B bandı ise 355 nm'de gözlenmiştir. Maddenin kütle spektrumunda 825,48'de çok düşük şiddette de olsa mol piki gözlenmiştir. ^1H NMR spektrumunda a protonları yine manyetik anizotropiden dolayı -1,92 ile -1,89 ppm arasında; b protonları 0,30 ile 0,34 ppm arasında; 3,45 ile 3,51 ppm arasında c protonları; 1,71 ile 1,83 ppm arasında d protonları; SiPc halkasına ait H α ve H β protonları sırasıyla 9,58 ile 9,62 ppm arasında ve 8,35 ile 8,42 ppm arasında gözlenmiştir. Maddenin kuaternize türevi olan **3Q** bileşiğinin kütle spektrumunda 856,07'de katyonik kısım gözlenmiştir. IR spektrumunda 1078 ve 1291 cm^{-1} 'deki pikler eksenel konumlara istenilen grubun bağlandığını göstermektedir. Suda alınan UV-Vis spektrumunda Q bandı 681 nm'de, B bandı ise 353 nm'de gözlenmiştir. ^1H NMR spektrumunda a protonlarının ve b protonlarının sırasıyla -2,16 ile -2,05 ppm arasında ve 0,50 ile 0,54 ppm arasında gözlenmesinin sebebi yine manyetik anizotropidir. 2,23 ile 2,09 ppm arasında d protonları multipler olarak; 2,81 ile 2,90 ppm arasında c protonları; H β ve H α protonları sırasıyla 8,16 ile 8,22 ppm arasında ve 9,32 ile 9,34 ppm arasında gözlenmiştir.

4 bileşiğinin IR spektrumunda 1247 ve 1097 cm^{-1} 'lerde gözlenen gerilme titreşimleri istenilen fenoksi grubunun SiPc molekülüne eksenel olarak bağlandığını göstermektedir. Bileşiğin ^1H NMR spektrumunda halka düzlemine en yakın olan o-konumundaki CH₂-N protonlarına ait kaymalar 1,17 ile 1,33 ppm arasında; yine o-konumdaki N-CH₃ protonları 2,22 ile 2,03 ppm arasında multipler olarak; d protonları 2,33 ile 2,40 ppm arasında; konumdaki aromatik halkalara ait protonlar 2,23 ile 2,32 ppm arasında; e protonları 6,91 ile 6,98 ppm arasında; Pc halkasındaki

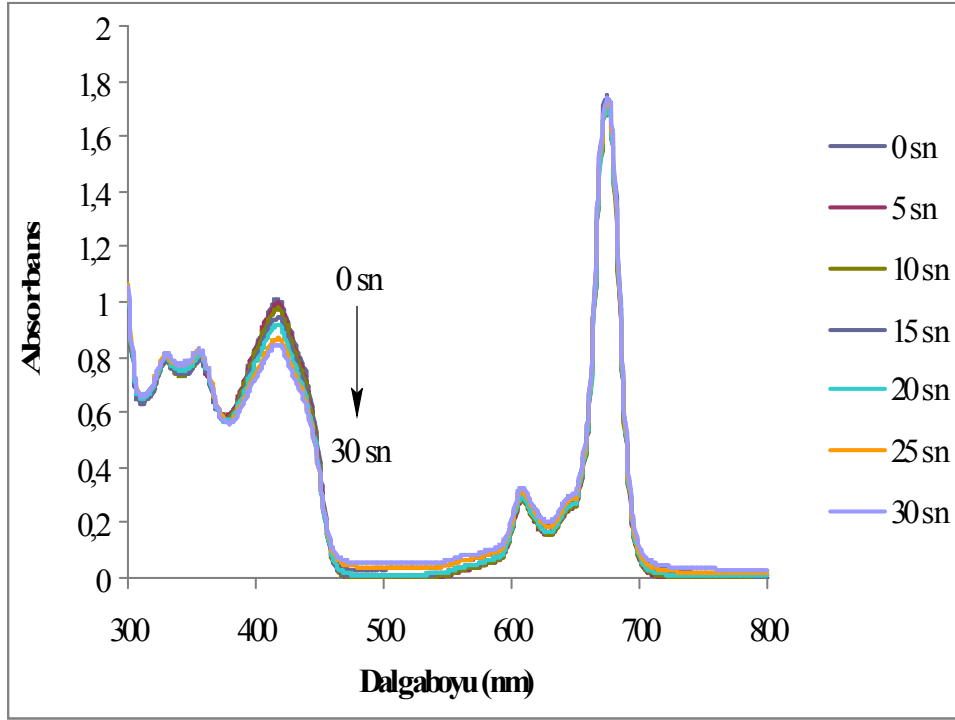
H α ve H β protonları sırasıyla 9,54 ile 9,77 ppm arasında ve 8,44 ile 8,67 ppm arasında gözlenmiştir. Kütle Spektrumunda M-2H iyon piki 1067’de gözlenmiştir. Maddenin kuaternize türevi olan **4Q** bileşiğinin kütle spektrumunda katyonik yüklü kısım 1114.20’da net şekilde gözlenmiştir. Buna ilave olarak NMR spektrumunda *o*-konumundaki N-CH₂ protonları 2,94 ile 2,97 ppm arasında; SiPc halkasının üstündeki ve altındaki toplam 36 adet *o*-konumundaki N-CH₃ protonları 2,59 ile 2,92 ppm arasında; yine *o*-konumundaki N-CH₃ protonlarından 8 proton 1,67 ile 1,93 ppm arasında; *p*-CH₂-N protonları 2,98 ile 3,22 ppm arasında; 7,73 ile 8,00 ppm arasında 4 adet *p*-N-CH₃ protonu multiplet olarak; Pc halkasındaki H β ve H α protonları sırasıyla 8,02 ile 8,69 ppm arasında ve 9,23 ile 10,00 ppm arasında gözlenmiştir.

Tüm kütle spektrumları dihidroksi benzoik asit matriksinde MALDI-TOFF yöntemiyle alınmıştır. Kuaternize ürünlerin hepsi ayrıca metil iyodür ile kuaternize edilmiş ve tekrar kütle spektrumu alınmıştır fakat molekül pikine rastlanmamıştır. Kuaternize ürünlerde anyon ve metil kopmaları görülmüş ve moleküler iyon pikleri yapılan daha önceki çalışmalar göz önüne alınarak [101] değerlendirilmiştir.

5.2 Sentezlenen Maddelerin Fotokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

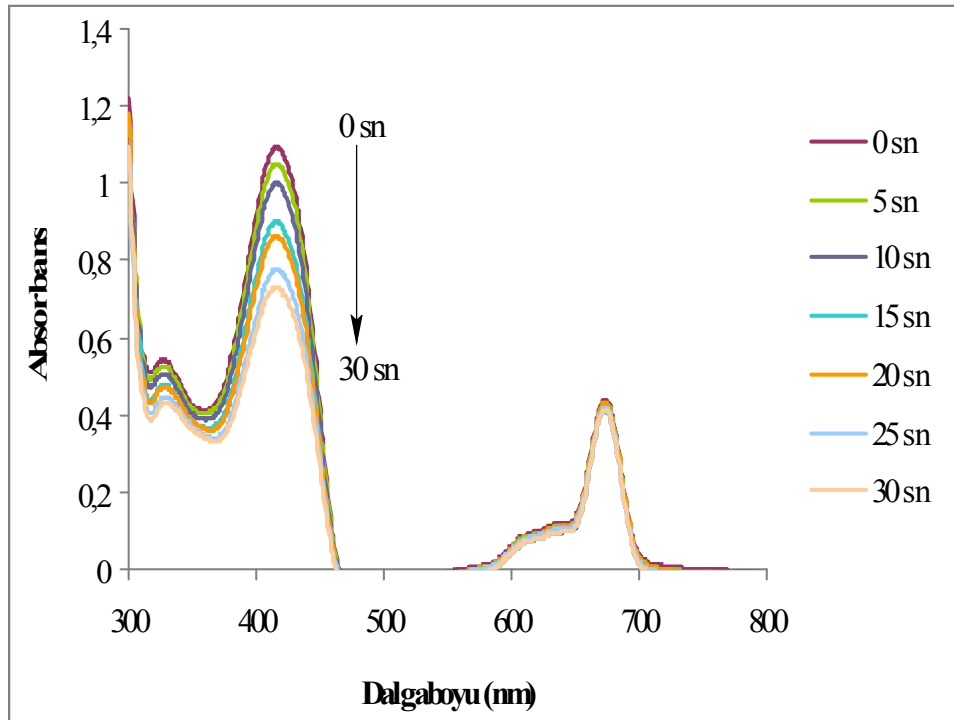
Sentez aşamasından sonra maddelerin tamamının singlet oksijen üretilip üretilmedikleri tespit edilmiştir. Bu amaçla nötr maddeler için referans olarak DPBF; katyonik olanlar için ADMA ile hazırlanan 3 ml’lik kuartz küvetteki numuneler 600-700 nm arası diyot laser veya 300 W’lık halojen lambanın çıkışındaki fiber optik kablonun ucuna monte edilen 15 mm çapında bir dikroik filtre ile farklı sürelerde uyarılmışlardır. Böylelikle çalışmada hem singlet oksijen üretimi, hem de maddelerin fotodegradasyonu takip edilmiştir.

Singlet oksijenin oluştuğunu gösteren en iyi kanıt nötr maddelerde referans olarak kullanılan DPBF’in ışıma süresi arttıkça bozunması ve dolayısıyla 415 nm’deki karakteristik absorpsiyon şiddetinin azalmasıdır. Bu durum, **2** bileşiğinde net bir şekilde gözlenmiştir (Şekil 5.1).

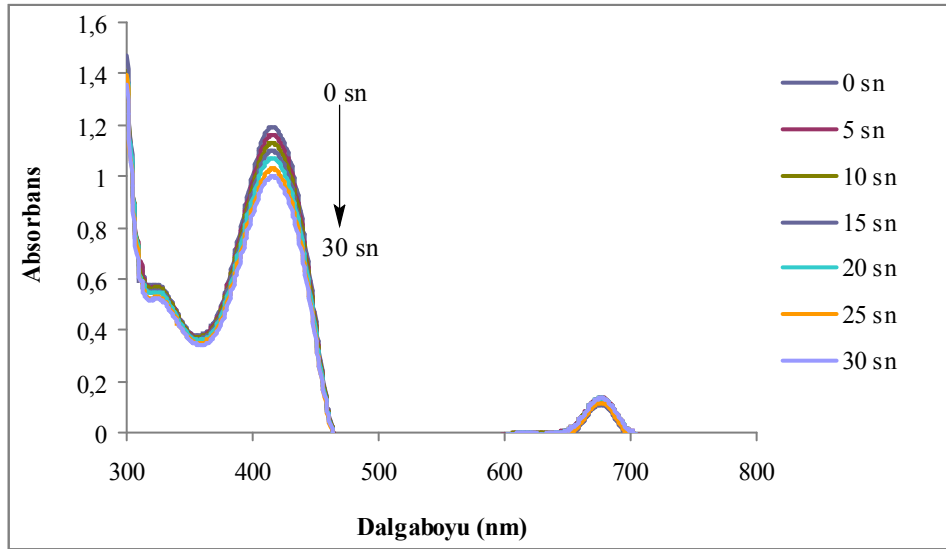


Şekil 5.1 : 2 bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte DPBF'in bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.

3 ve 4 bileşiklerinde de 2 bileşiğine benzer sonuçlar alınmıştır (Şekil 5.2 ve Şekil 5.3).



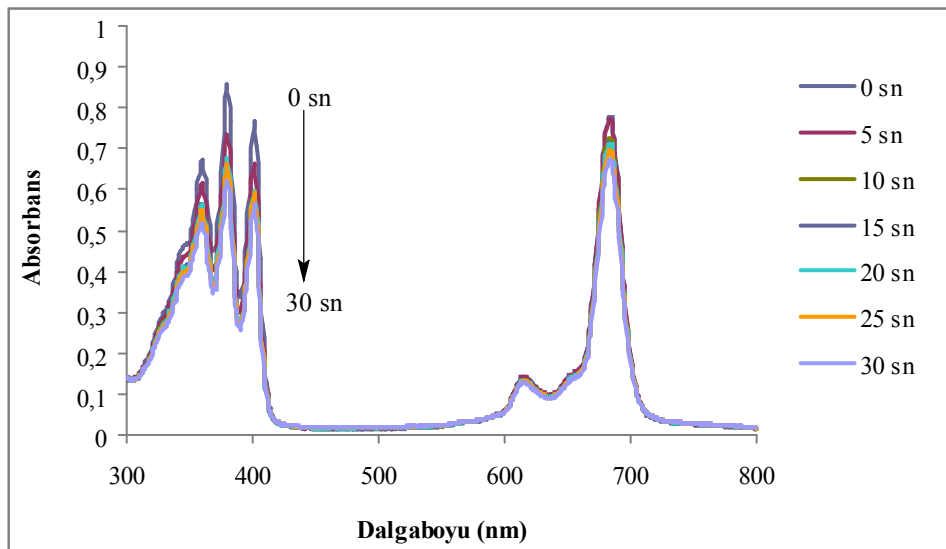
Şekil 5.2 : 3 bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte DPBF'in bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.



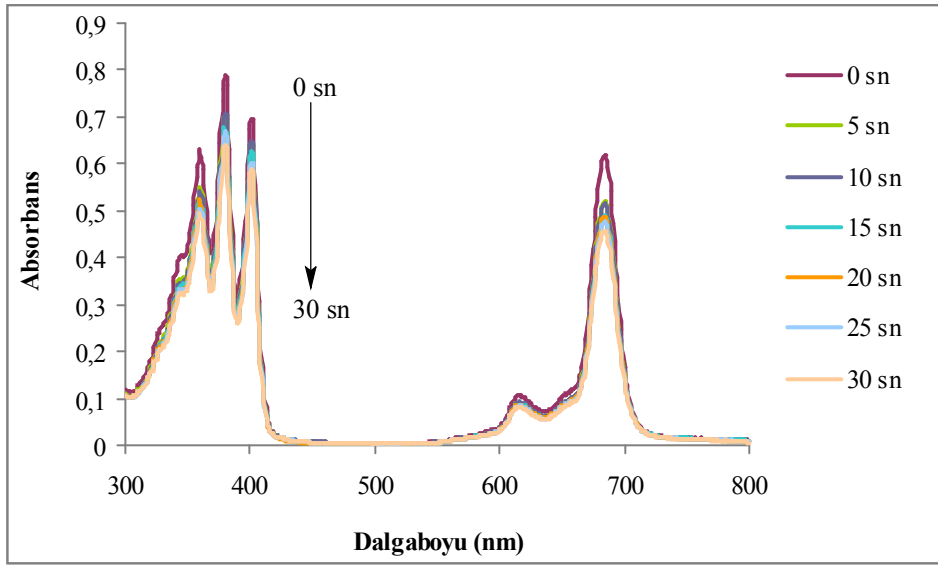
Şekil 5.3 : 4 bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte DPBF'in bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.

Tüm bileşiklerde singlet oksijen üretiminin görülmesinin yanında bileşiklerin de bozunduğu görülmüştür. Daha önceden bu grupların periferik konumlara bağlanmasıyla elde edilen Pc'lerde [102] sentez aşamasında sıcaklık 130°C'de sabit tutulmaya çalışılmış ve çok az bir sıcaklık artışında maddelerin bozunup kahverengi olduğu görülmüştür. Dolayısıyla ışığa maruz kalan sentezlenmiş SiPc türevlerinde de bozunma söz konusu olmaktadır.

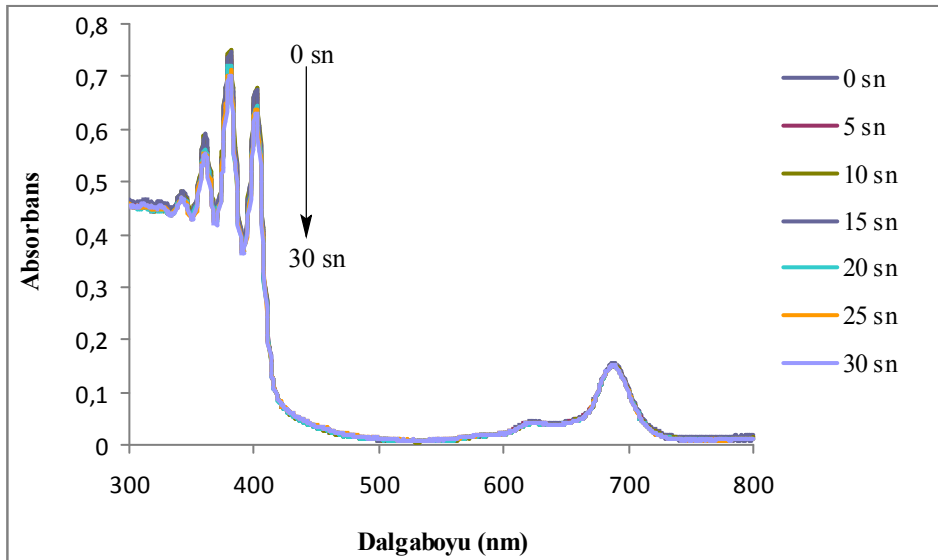
Kuaterner bileşiklerde referans olarak ADMA kullanılmıştır. Karakteristik 360, 380 ve 400 nm'lerdeki absorbanstaki azalması singlet oksijen oluştuğunu göstermektedir [100] (Şekil 5.4, Şekil 5.5 ve Şekil 5.6).



Şekil 5.4 : 2Q bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte ADMA'nın bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.



Şekil 5.5 : 3Q bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte ADMA'nın bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.

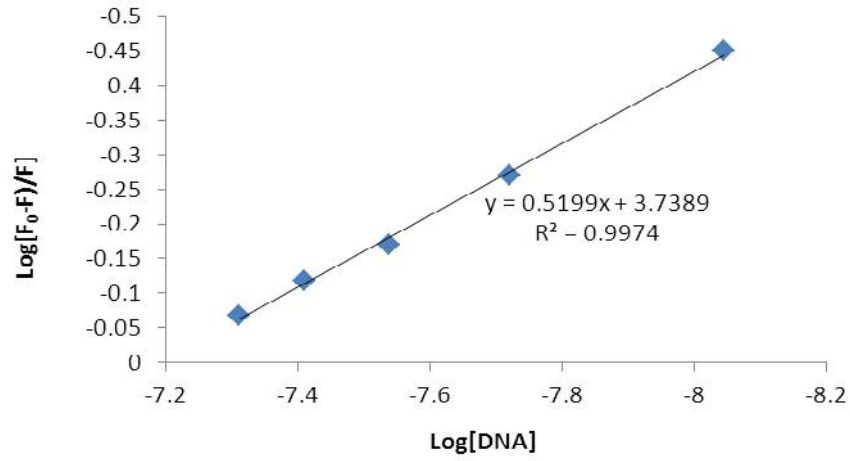


Şekil 5.6 : 4Q bileşiğinin singlet oksijen üretmesiyle birlikte ADMA'nın bozunması sonucu absorbanstaki azalmayı gösteren UV/Vis spektrumu.

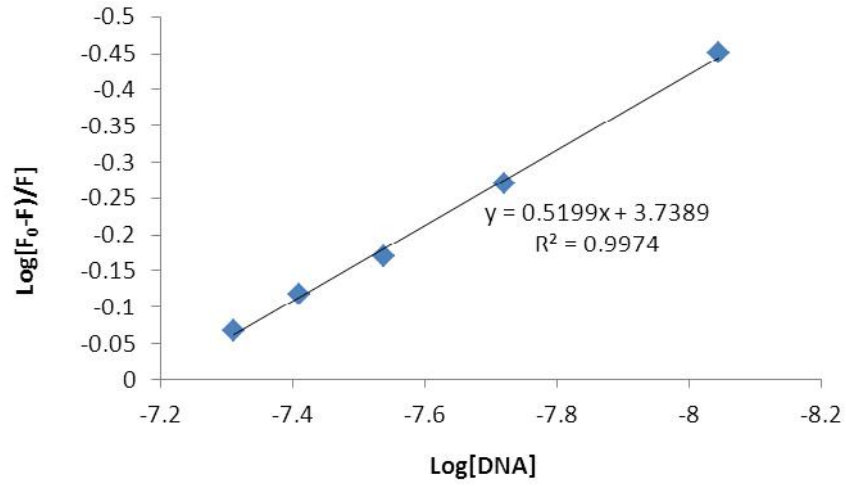
Tüm grafiklerde singlet oksijen olduğu gözlenmektedir. **2Q** ve **3Q** maddelerinde çok az bozunma da söz konusu olmuştur. **4Q** maddesinde bozunma gözlenmemiştir.

5.3 Sentezlenen Maddelerin Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi

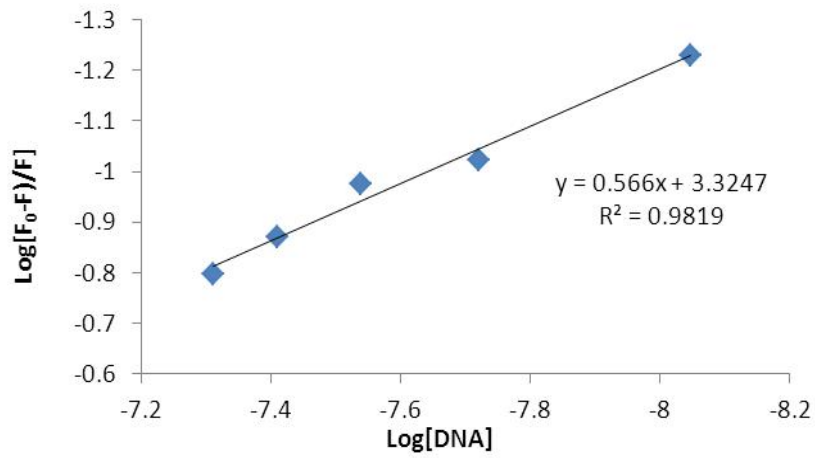
Kuaterner olan bileşiklerin DNA ile etkileşimi incelendiğinde hepsinin DNA'ya tutunduğu görülmüştür. Floresans spektrumlarının kullanılmasıyla elde edilen K_b değerleri **2Q**, **3Q**, **4Q** bileşikleri için sırasıyla $7,048 \times 10^3$, $5,370 \times 10^3$ ve $2,089 \times 10^3$ şeklindedir (Şekil 5.7, Şekil 5.8 ve Şekil 5.9).



Şekil 5.7 : 2Q bileşiğinin Q bandının artan DNA ilaveleri sonucu floresans şiddetindeki azalması.



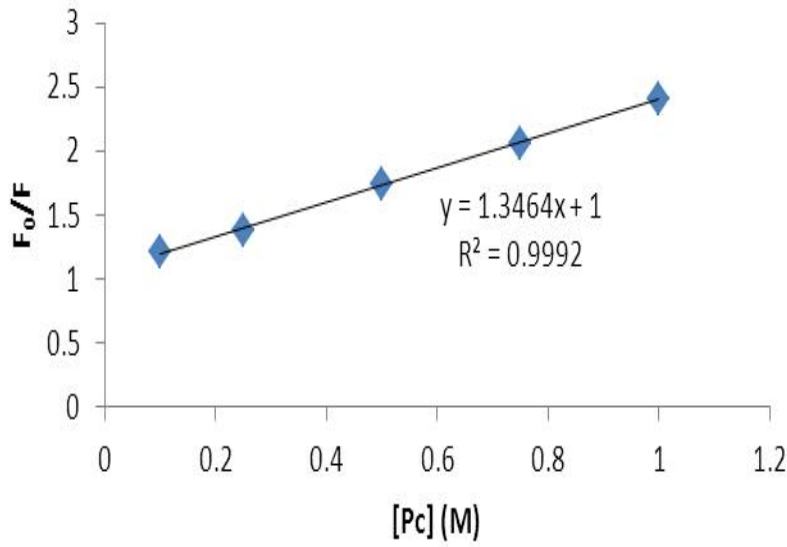
Şekil 5.8 : 3Q bileşiğinin Q bandının artan DNA ilaveleri sonucu floresans şiddetindeki azalması.



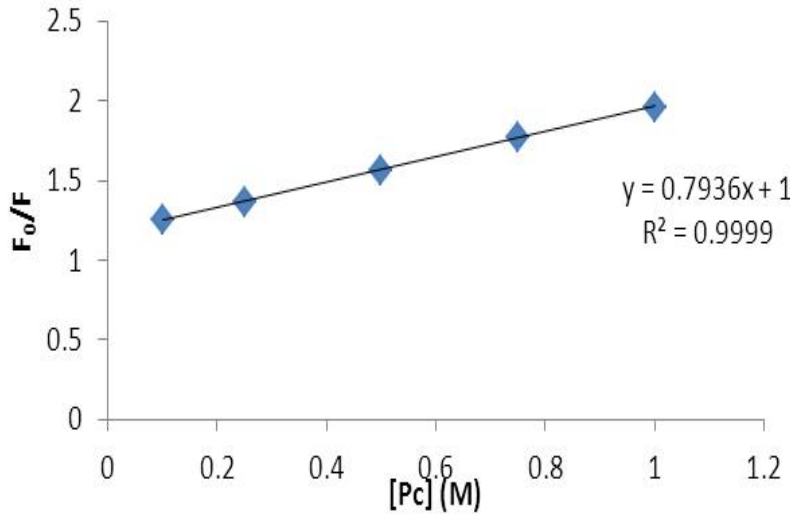
Şekil 5.9 : 4Q bileşiğinin Q bandının artan DNA ilaveleri sonucu floresans şiddetindeki azalması.

DNA - Pc etkileşimi arttıkça Kb değeri de artmaktadır.

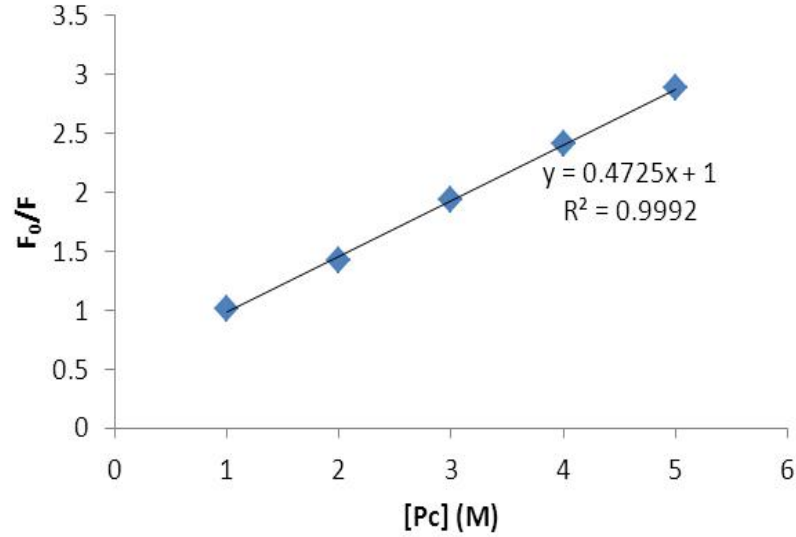
Kb değerlerini doğrulamak için DNA sarmalının içine girebilen ve UV ışığı altında DNA'nın görünmesini sağlamak amacıyla kullanılan ve ticari olarak satılan SYBR GREEN I (SYBR) boyasının DNA'ya tutunma eğilimi ile elde edilen bileşiklerin DNA'ya bağlanma eğilimleri karşılaştırılmıştır. Daha açık bir ifadeyle SYBR boyası DNA'ya bağlandığı zaman floresans şiddetinde artış gözlenmektedir ve 497 nm'de uyarılıp 520 nm'de emisyon yapmaktadır [103]. Bu amaçla, sabit miktarda SYBR ve DNA içeren sulu çözeltilere artan miktarlarda Pc ilave edilip SYBR boyasının floresans şiddetindeki azalma incelenmiştir. Stern Volmer grafiklerindeki eğim maddelerin K_{sv} değerini vermektedir (Şekil 5.10, Şekil 5.11 ve Şekil 5.12).



Şekil 5.10 : 2Q bileşiğinin Stern Volmer Grafiği.

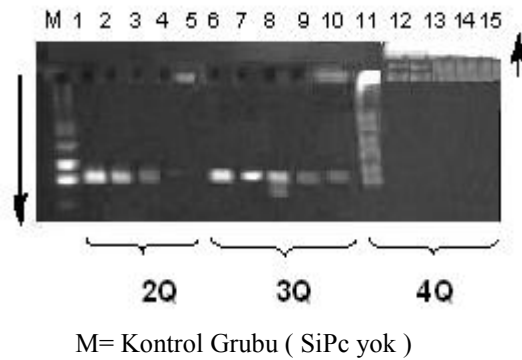


Şekil 5.11 : 3Q bileşiğinin Stern Volmer Grafiği.



Şekil 5.12 : 4Q bileşiğinin bileşiğinin Stern Volmer Grafiği.

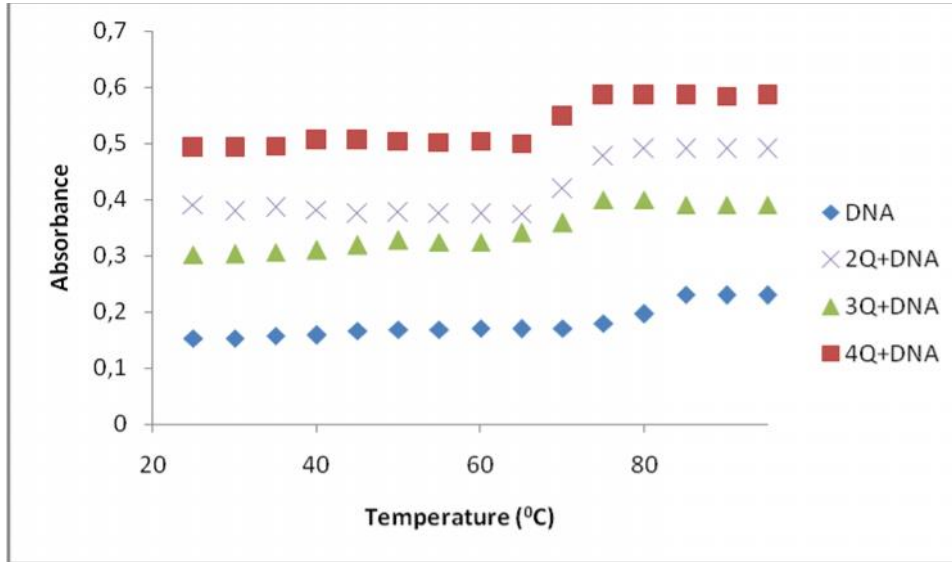
Bu grafiklere göre **2Q**, **3Q** ve **4Q** bileşiklerinin K_{sv} değerleri sırasıyla 1,34, 0,79 ve 0,472 olarak bulunmuştur. SYBR boyası ile **2Q** veya **3Q** birlikte bulunduğunda DNA **2Q** veya **3Q** bileşiğini tercih etmiştir ve SYBR ile daha az etkileşime girdiği için de SYBR-DNA kompleksinin floresans şiddeti azalmıştır. Fakat **4Q** bileşiği oldukça hacimli bir gruptur. Bu grubun absorbansta ve floresansta azalmaya sebep olması onun DNA ile etkileşime girdiğini veya DNA'yı daha çabuk destabilize ettiğini göstermektedir. **4Q** bileşiğinin derişimi arttıkça SYBR-DNA kompleksinin floresans şiddetinin azaldığı görülmüştür (Şekil 5.13). K_b değerinin diğer maddelere kıyasla daha küçük olması da DNA çift sarmalla etkileşimin az olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.13 : 2Q, 3Q ve 4Q bileşiklerinin DNA ile etkileşimini agaroz jel elektroforez görüntüsü.

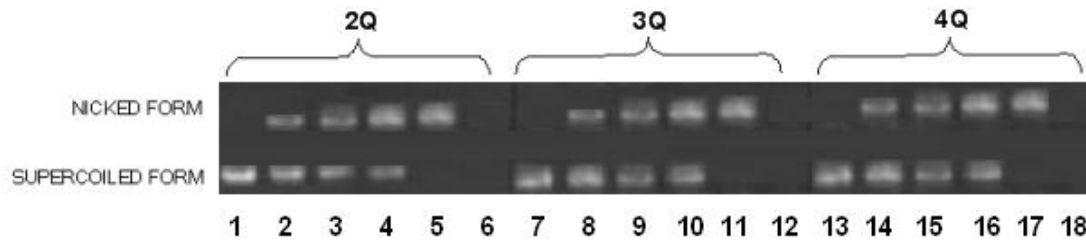
DNA'nın termal bozunma sıcaklığı $80 \pm 1^\circ\text{C}$ 'dir. Bu sıcaklık çift sarmal DNA'ya aittir. Çift sarmal DNA'nın 260 nm'deki karakteristik absorbansı tek sarmal DNA'nın absorbansından düşüktür [99]. Bu bilgi ışığı altında, elde edilen **2Q**, **3Q** ve

4Q bileşikler DNA ile etkileştiğinde 260 nm'deki absorbanstaki değişim sıcaklık artışı ile takip edilmiştir (Şekil 5.14). Sıcaklık arttıkça DNA ile etkileşimin daha düşük derecelere kaydığı görülmüştür. Katyonik grupların DNA çift sarmalını kararsızlaştırarak denatüre etmesi sonucu tek sarmalla etkileşime girmesi T_m değerini düşürmektedir. Bunun yanında yüksek pH değeri de yine T_m değerini düşürmektedir [99].



Şekil 5.14 : 2Q, 3Q ve 4Q varlığında DNA termal denatürasyon grafiği.

En son olarak tezin amacına uygun olarak sabit miktarlarda hazırlanan kuaternize Pc-DNA karışımları 15 mm dikroik filtre kullanılarak 1 sn, 3 sn ve 5 sn gibi farklı sürelerde lasere maruz bırakılmışlardır. Bu süre sonunda DNA süper sarmalının bozulduğu ve nicked form olduğu gözlenmiştir. Jel elektroforezde farklı boyuttaki (farklı sayıda baz parçaları) DNA parçalarının gözlenmesi, sentezlenen pc bileşiklerinin singlet oksijen oluşturmaları sonucu DNA süpersarmalının bozulduğunu ispatlamaktadır (Şekil 5.15).



Şekil 5.15 : 2Q, 3Q ve 4Q varlığında süpersarmal DNA'nın fotolizinin agaroz (% 0.8) jel elektroforez görüntüsü.

Eldeki tüm veriler değerlendirildiğinde yeni Pc bileşiklerinin DNA süpersarmalını fotoliz ettikleri görülmüş ve PDT amacıyla kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Genel olarak bileşiklerde fotobozunma gözlenmektedir. Kullanılan ışık şiddetinin fazla olduğu düşünülerek laserin önüne geçirgenliği %15 olan 15 mm çapında bir filtre konulup reaksiyonlar tekrar edilmiş ancak bozunma bu durumda da gözlenmiştir. Maddelerin singlet oksijen oluşturmalarının yanında bozunmaları tıbbi uygulamalar açısından avantaj sağlayabilir. PDT'nin en önemli yan etkisi uygulamadan sonra ışığa karşı duyulan hassasiyettir. Ciltte kızarıklık ve yanma oluşmaktadır. Dolayısıyla işlemde sonra vücut sıvısında kalan Pc'lerin uyarılarak tekrar radikal veya singlet oksijen üretmemeleri için hastalar bir süre karanlıkta bekletilmektedirler [104]. Bir fotoalgılayıcının tümörlü hücrenin yok edilmesini sağlayacak singlet oksijen ürettikten sonra ışığın devam ettirilerek maddenin tamamen bozunmasını sağlamakla maddenin ortamdan uzaklaştırılması kolaylaştırılmış ve yan etki giderilmiş olacaktır. Bir başka açıdan düşünülürse bozunma zamanı tespit edilip ilk adımda verilecek fotoalgılayıcı miktarı ayarlanabilir [105]. Fotoalgılayıcının bozunmasından dolayı singlet oksijen verimi düşerken, diğer yandan ilacın vücuttan atılması kolaylaşacaktır. Maksimum singlet oksijen verimiyle tümörün yok edilip ardından ilacın vücuttan hızlı bir şekilde atılması PDT'de olması istenen en önemli iki faktördür. Bu tez kapsamında elde edilen yeni Pc bileşikleri bu amaç için kullanılabilirler.

KAYNAKLAR

- [1] Cao, P. X., Huang, J., Li, J. X., Ren, L. G., Song, Z. B., Weng, X. C., Xiong, X. Q., Zhou, X., Zhou, Y., Zhang, A. M., 2007, A Water-Soluble Octacationic Zinc Phthalocyanine as Molecular Probe for Nucleic Acid Secondary Structure, *Chemistry & Biodiversity*, **4**, 215-223.
- [2] Ciulla, T. A., Flotte, T. J., Gragoudas, E. S., Haimovici, R., Hasan, T., Kenney, A. G., Miller, J. W., Schomacker, K. T., 2002, Localization of bengal, aluminum phthalocyanine tetrasulfonate and chlorin e6 in the rabbit eye, *Retina*, **22**, 65-74.
- [3] Ford, W. E., Kenney, M. E., Rihter, B. D., Rodgers, M. A. J., 1990, Synthesis and Photoproperties of Diamagnetic Octabutoxyphthalocyanines with Deep-Red Optical Absorbance *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 8064-8070.
- [4] Kudrevich S. V., van Lier, J. E., 1996, Substituted tetra-2,3-pyrazinoporphyrazines. Part II. Bis(tri-n-hexylsiloxy)silicon derivatives. *Can. J. Chem.*, **74**, 1718-1723.
- [5] Chemotherapy Drugs-Drug Names, <http://www.chemocare.com/bio/>.
- [6] Anne, C. E. M., Bernhard, O., Brian, W. P., Tayyaba, H., Photodynamic Therapy of Cancer, *Radiation Oncology*, 9:40, 605-622.
- [7] Prasad, P. N., 2003, [Introduction to Biophotonics], John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 99-270.
- [8] Zheng H., 2005, A Review of Progress in Clinical Photodynamic Therapy, *Technol Cancer Res Treat.* 4(3): 283–293.
- [9] Patrice T., 2003, Comprehensive Series in Photochemistry and Photobiology, *The Royal Society of Chemistry*, Vol.2, Cambridge, UK.
- [10] Dougherty T. J., Gomer C. J., Henderson B. W., Jori G., Kessel D., Korbek M., Moan J., Peng Q., 1998, Photodynamic Therapy Review, *Journal of the National Cancer Institute*, 90 (12).
- [11] Brancalion L., Moseley H., 2002, Laser and Non-Laser Light Sources for Photodynamic Therapy, *Lasers in Medical Science*, **17**, 173–186.
- [12] Kessel D., 2004, Photodynamic therapy: from the beginning, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **1**, 3-7.
- [13] Bonnett R., 2000, Chemical Aspects of Photodynamic Therapy, *Gordon and Breach Science Publishers*, Singapore.
- [14] Ali, H. , van Lier, J. E., 1999, *Chem. Rev.*, **99**, 2379-2450.
- [15] David, B., Hasan, M., Katrin, K., Nihal, A., Tracy, C., 2000, *Cancer Res.*, **60**, 21, 5984.

- [16] **Phillips, D.**, 1995, The photochemistry of sensitizers for photodynamic therapy, *Pure Appl. Chem.*, **67**, 117-126.
- [17] **Bonnett, R.**, 1995, Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy, *Chem. Soc. Rev.*, **24**, 19-33.
- [18] **Allen, C. M., Sharman, W. M., van Lier, J. E.**, 2001, Current status of phthalocyanines in the photodynamic therapy of cancer, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **5**, 161-169.
- [19] **Ahsen, V., Atilla, D., Devrim, A., Durmuş, M., Gürek, A. G., Khan, T., Nyokong, T., Rück, A., Saydan, N., Walt, H.**, 2007, Synthesis and photodynamic potential of tetra- and octa-triethylenesulfonated substituted zinc phthalocyanines, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, J Photochem Photobiol A: Chemistry*, **186**, 298-307.
- [20] **Akgun, N., Bachor, R., Beck, G., Gschwene, M. H., Ruch, A., Staine, R.**, 1996, Dynamic Fluorescence changes during Photodynamic Therapy in vitro of Hydrophilic Al(III) Phthalocyanine Tetrasulphonated and Lipophilic Zn(II) Phthalocyanine administered in Liposomes, *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, **36**, 127-134.
- [21] **Chi, L.**, 2005, Technological Developments in Laser Guided Cancer Screening and Therapy, *University of Toronto Medical Journal*, 119-120.
- [22] **Moan, J., Nesland, J. M., Peng, Q.**, 1996, Correlation Subcellular and Intratumoral Photosensitizer Localization with Ultrastructural Features after Photodynamic Therapy, *Ultrastructural Pathology*, **20**, 109-129.
- [23] **Golab, J., Issat, T., Legat, M., Makowski, M., Npwis, D., Stoklosa, T.**, 2005, Direct Tumour Damage Mechanisms of Photodynamic Therapy, *Acta Biochimica Polonica*, 339-352.
- [24] **Bajgar, R., Kolarova, H., Macecek, J., Nevrelve, P., Strand, M., Tomankova, K., Tomecka, M.**, 2005, Measurement of Reactive Oxygen Species After Photodynamic Therapy IN Vitro, *Scripta Medica*, 281-290.
- [25] **Kılınç, A., Kılınç, K.**, 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2): 110 – 118.
- [26] **Ashwood, E. R., Burtis, C. A.**, 1999, Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
- [27] **Akkaya, E. U., Atılga, S., Doğan, A. L., Dost, Z., Güc, D.**, 2006, Water soluble distyryl-boradiazaindacenes as efficient photosensitizers for photodynamic therapy, *Chemical Commun.*, 4398-4400.
- [28] **Bonnet, R., Martinez, G.**, 2001, Photobleaching of sensitizers used in photodynamic therapy, *Tetrahedron*, **57**, 9513-9547.
- [29] **Dougherty, T. J., Macdonald, I. J.**, 2001, Basic principles of photodynamic therapy, *J Porphyrins Phthalocyanines*, **5**(2):105.
- [30] **Ben-Hur E., Rosenthal I.**, 1989, In *Phthalocyanines: Properties and Applications*, Vol. 1, Leznoff CC, Lever ABP. (Eds.) Wiley-VCH: New York, Chapter 6.

- [31] **Matlaba, P., Nyokong, T.**, 2002, Synthesis, electrochemical and photochemical properties of unsymmetrically substituted zinc phthalocyanine complexes, *Polyhedron*, **21**, 2463-2472.
- [32] **Rosenthal, I.**, 1991, Phthalocyanines as photodynamic sensitizers, *Photochem. Photobiol.*, **53**, 859.
- [33] **Fiedler, Z., Kostka, M., Miletin, M., Ponec, J., Zimcik, P.**, 2003, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, 55:127.
- [34] **Hasrat, A., Kudrevich, S. V., Lier, J. E.**, 1994, Syntheses of monosulfonated phthalocyanines, benzonaphthoporphyrazines and porphyrins via the Meerwein reaction, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1**, 2767-2774.
- [35] **Lukyanets, E. A.**, 1999, Phthalocyanines as photosensitizers in the photodynamic therapy of cancer, *J. Porphr. Phthalocya.*, **3**, 424-432.
- [36] **Rosenthal, I.**, 1995, Phthalocyanines as photodynamic sensitizers, *Photochem Photobiol*, **62**, 184.
- [37] **Brassuer, N., Hu, M., Leznoff, C. C., Yildiz, S. Z., van Lier, J. E.**, 1998, Hydroxyphthalocyanines as Potential Photodynamic Agents for Cancer Therapy, *J Med Chem*, **41**, 1789-1802.
- [38] **Ogawa, S., Saito, S., Shiraishi, S., Tomoda, H.**, 1980, Synthesis Of Phthalocyanines From Phthalonitrile With Organic Strong Bases, *Chemical Letters*, **10**, 1277-1280.
- [39] **Ford, W. E., Kenney, M. E., Rihter, B. D., Rodgers M. A. J.**, 1990, Synthesis and Photoproperties of Diamagnetic Octabutoxyphthalocyanines with Deep-Red Optical Absorbance, *J.Am. Chem.Soc.*, **112**, 8064-8070.
- [40] **Moser, H., Thomas, A. L.**, 1983, The Phthalocyanines vol 1: Properties, CRC Press, Inc., Boca Raton, **1**, p. 1.
- [41] **De Diesbach, H., Von der Wied, E.**, 1927, Quelques Sels Complexes Des o-dinitriles Avec Le Cuivre et la Pyridine, *Helv. Chim. Acta*, **10**, 886-888.
- [42] **Linstead, R. P.**, 1934, Phthalocyanines. Part I. A New Type of Synthetic Colouring Matters, *J. Chem. Soc.*, 1016-1017.
- [43] **Kenney, M. E., Linsky, J. P., Nohr, R. S., Paul, T. R.**, 1980, Studies Of A Series Of Haloaluminum, Halogallium, And Haloindium Phthalocyanines, *Inorg. Chem.*, **19**, 3131-3135.
- [44] **Fan, F. R., Faulkner, L. R.**, 1978, Photovoltaic effects of metalfree and zinc phthalocyanines. I. Dark electrical properties of rectifying cells, *J. Chem. Phys.*, **69**, 3334-3340.
- [45] **Dey, J., Jena, A., Saini, S. K., Sharma, A. K., Singh, R.**, 1995, MnPcS₄: A new MRI contrast enhancing agent for tumor localisation In mice, *Magn. Reson. Imaging.*, **13**, 985-990.
- [46] **Akbari, H., Benet, L. Z., Christians, U., Jacobsen, W., Niemann, C. U., Saeed, M., Serkova, N.**, 2002, Close Association Between The Reduction In Myocardial Energy Metabolism And Infarct Size: Dose-Response Assessment Of Cyclosporine, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **302**, 1123–1128.

- [47] **Battler, A., Ben-Hur, E., Eldar, M., Goldbourt, U., Kessler, E., Rosenthal, I., Scheinowitz, M., Yerushalmi, Y.**, 1990, Preferential Uptake of a Water-Soluble Phthalocyanine by Atherosclerotic Plaques in Rabbits, *Atherosclerosis*, **84**, 135-139.
- [48] **Auyeung, Y., Barbosa, V., Sievers, R., Weng, D., Wolfe, C.**, 1995, Catalase Inhibition With 3-Amino-1,2,4-Triazole Does Not Abolish Infarct Size Reduction in Heat-Shocked Rats, *Circulation*, **92**, 3318-3322.
- [49] **De Smet, M. J., Van Ginneken, C. J., Van Meir, F. J., Weyns, A. A.**, 1999, Microwave Staining of Enteric Neurons Using Cuprolinic Blue (Quinolinic Phthalocyanin) Combined with Enzyme Histochemistry and Peroxidase Immunohistochemistry, *J. Histochem. Cytochem.*, **47**, 13-21.
- [50] **Barbosa, V., Brink, M., Buser, P. T., Butz, N., Fasler-Kan, E., John, D., Meili-Butz, S., Niermann, T., Zaugg, C. E.**, 2008, Dimethyl Fumarate, a Small Molecule Drug for Psoriasis, Inhibits Nuclear Factor- κ B and Reduces Myocardial Infarct Size in Rats, *Eur. J. Pharmacol.*, **586**, 251-258.
- [51] **Alvarenga, D. L., Buckey, J., Grinberg, O., Grinberg, S., Hou, H., Swartz, H. M., Wallach, H., Williams, B., Yu, H.**, 2007, The Effect of Oxygen Therapy on Brain Damage and Cerebral pO₂ in Transient Focal Cerebral Ischemia in the Rat, *Physiol. Meas.*, **28**, 963-976.
- [52] **Chen, S. Q., Huang, Y., Peng, Y. R., Wu, Y. X., Xu, G. X.**, 2009, Photodynamic Effects of ZnPcS₄-BSA in Human Retinal Pigment Epithelium Cells, *J. Ocul. Pharmacol. Th.*, **25**, 231-238.
- [53] **Kwant, G., Landsman, M. L. J., Mook, G. A., Zijlstra, W. G.**, 1976, Light-Absorbing Properties, Stability, and Spectral Stabilization of Indocyanine Gren, *J. Appl. Physiol.*, **40**, 575-583.
- [54] **Brown, S. T. J., Griffiths, J., Minnock, A., Parish, J. H., Schofield, J., Vernon, D. I.**, 1996, Photoinactivation of Bacteria. Use of a Cationic Water-Soluble Zinc Phthalocyanine to Photoinactivate Both Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria, *Photochem. Photobiol. B*, **32**, 159-164.
- [55] **Borsarelli, C. D., Braslavsky, S. E., Chiti, G., Dei, D., Jori, G., Reddi, E., Roncucci, G., Segalla, A., Spikes, J. D.**, 2002, Photophysical, Photochemical and Antibacterial Photosensitizing Properties of a Novel Octacationic Zn(II)-Phthalocyanine, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **1**, 641-648.
- [56] **Brown, S. B., Jori, G.**, 2004, Photosensitized Inactivation of Microorganisms, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **3**, 403-405.
- [57] **Durantini, E. N., Scalise, I.**, 2005, Synthesis, Properties, and Photodynamic Inactivation of Escherichia coli Using a Cationic and a Noncharged Zn(II) Pyridyloxypthalocyanine Derivatives, *Bioorg. Med.Chem.*, **13**, 3037-3045.
- [58] **Kaliya, O. L., Kuznetsova, N. A., Makarov, D. A., Vorozhtsov, G. N. J.**, 2007, Photosensitized Oxidation by Dioxygen As the Base for Drinking Water Disinfection, *Hazard. Mater.*, **146**, 487-491.
- [59] **Kaliya, O. L., Kuznetsova, N. A., Lukyanets, E. A., Makarov, D. A., Negrimovsky, V. M., Slivka, L. K., Yuzhakova, O. A.**, 2007, Cationic Zn and Al Phthalocyanines: Synthesis, Spectroscopy and Photosensitizing Properties, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **11**, 586-595.

- [60] **Jonski, G., Rölla, G., Young, A.**, 2003, Combined Effect of Zinc Ions and Cationic Antibacterial Agents on Intraoral Volatile Sulphur Compounds (VSC), *Int. Dent. J.*, **53**, 237-242.
- [61] **Antonenko, Y. N., Kotova, E. A., Maizlish, V. E., Pashkovskaya, A. A., Shaposhnikov, G. P.**, 2008, Role of Electrostatics in the Binding of Charged Metallophthalocyanines to Neutral and Charged Phospholipid Membranes *BBA-Biomembranes*, **1778**, 541-548.
- [62] **Hammer, R. P., Hwang, S. H., Owens, C. V., Sayes, C. M., Soper, S. A.**, 2002, Asymmetrical, Water-Soluble Phthalocyanine Dyes for Covalent Labeling of Oligonucleotides, *Bioconjugate Chem*, **13**, 1244-1252.
- [63] **Aghaie, H., Monajjemi, M., Naderi, F.**, 2007, Thermodynamic Study of Interaction of TSPP, CoTsPc, and FeTsPc with Calf Thymus DNA, *Biochemistry (Moscow)*, **72**, 652-657.
- [64] **Chen, J., Li, Y., Wang, L., Wu, Y., Zhao, D., Zhu, C., Zhuo, S.**, 2003, Simple and Sensitive Assay for Nucleic Acids by Use of the Resonance Light-Scattering Technique with Copper Phthalocyanine Tetrasulfonic Acid in the Presence of Cetyltrimethylammonium Bromide, *Anal. Bioanal. Chem.*, **377**, 675-680.
- [65] **Verdree, V. T.**, 2007, Louisiana State University at Louisiana, The Spectral and Photophysical Characterization of Water Solubilizing Metal Phthalocyanines for Highly Sensitive Detection in Biological Studies, Ph.D. Thesis.
- [66] **Guo, Z., Mao, J., Zhang, C., Zhang, Y., Zhu, J.**, 2009, Molecular Combo of Photodynamic Therapeutic Agent Silicon(iv) Phthalocyanine and Anticancer Drug Cisplatin, *Chem. Commun.*, 908-910.
- [67] **Chen, X., Hu, M. H., Li, D. H., Xu, J. G., Zheng, H.**, 2002, Near-Infrared Fluorimetric Determination of Nucleic Acids by Shifting the Ion-Association Equilibrium Between Heptamethylene Cyanine and Alcian Blue 8GX, *Anal. Chim. Acta*, **461**, 235-242.
- [68] **Caminos, D. A., Durantini, E. N., Pons, P., Spesia, M. B.**, 2009, Mechanistic Insight of the Photodynamic Inactivation of Escherichia Coli by a Tetracationic Zinc(II) Phthalocyanine Derivative, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, **6**, 52-61.
- [69] **Anders, H., Berg, K. J., Olsen, V. M., Prasmickaite, L., Torun, E. T.**, 2000, Role of Endosomes in Gene Transfection Mediated by Photochemical Internalisation (PCI), *Gene Med.*, **2**, 477-488.
- [70] **Fedorova, O. S., Knorre, D. G., Kuznetsova, A. A., Lukyanets, E. A., Solovyeva, L. I.**, 2008, DNA-Binding and Oxidative Properties of Cationic Phthalocyanines and Their Dimeric Complexes with Anionic Phthalocyanines Covalently Linked to Oligonucleotides, *Biomol. Struct. Dyn.*, **26**, 307-320.
- [71] **Charvatova, J., Deyl, Z. J., Kasicka, V., Kralb, V.**, 2002, Capillary Electrochromatographic Study of the Interactions of Porphyrin Derivatives with Amino Acids and Oligopeptides, *Chrom. B*, **770**, 165-175.
- [72] **Lawrence, E., Patonay, G.**, 1999, Effects of Organic and Oqueous Solvents on the Electronic Absorption and Fluorescence of Chloroaluminum (III) Tetrasulphonated Naphthalocyanine, *Talanta*, **48**, 933-942.

- [73] **Song, C. J., Zhang, J. J., Zhang, L.**, 2006, Reversible One-Electron Electro-Reduction Of O₂ To Produce A Stable Superoxide (O₂⁻) Catalyzed By Adsorbed Co(II) Hexadecafluoro-Phthalocyanine In Aqueous Alkaline Solution, *J. Electroanal. Chem.*, **587**, 293-298.
- [74] **Allen, C. M., Vanlier, J. E., Weber, J. M.**, 1995, Sulfophthalocyanines for Photodynamic Inactivation of Viruses in Blood Products: Effect of Structural Modifications, *Photochem. Photobiol.*, **62**, 184-189.
- [75] **Cauchon, N., Hasrat, A., Hassessian, H. M.**, 2010, Structure-activity Relationships of Mono-substituted Trisulfonated Porphyrazines for the Photodynamic Therapy (PDT) of Cancer, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **9**, 331-9.
- [76] **Berlin, J., Burda, C., Kashif, A., Kenney, M. E., Lam, M., Morris, R. L., Nieminen, A. L., Oleinick, N. L., Samia, A. C. S.**, 2003, *Cancer Res.*, **63**, 5194-5197.
- [77] **Antunez, A. R., Clay, M. E., Kenney, M. E., Oleinick, N. L., Rihter, B. D.**, 1993, New phthalocyanine photosensitizers for photodynamic therapy, *Photochem. Photobiol.*, **57**, 242-247.
- [78] **Agarwal, R., Eichler, G., Kenney, M. E., Mukhtar, H., Rihter, B. D., Zaidi, S. I. A.**, 1993, Photodynamic Effects of New Silicon Phthalocyanines: *In Vitro* Studies Utilizing Rat Hepatic Microsomes and Human Erythrocyte Ghosts as Model Membrane Sources, *Photochem. Photobiol.*, **58**, 204-210.
- [79] **Azizuddin, K., Kenney, M. E., Li, Y. S., McEnery, M. W., Morris, R. L., Oleinick, N. L., Varnes, M. E.**, 2002, The peripheral benzodiazepine receptor in photodynamic therapy with the phthalocyanine photosensitizer Pc 4, *Photochem. Photobiol.*, **75**, 652-661.
- [80] **Chiu, S. M., Kashif, A., Oleinick, N. L., Usuda, J.**, 2003, Association between the photodynamic loss of Bcl-2 and the sensitivity to apoptosis caused by phthalocyanine photodynamic therapy, *Photochem. Photobiol.*, **78**, 1-8.
- [81] **Andrews, D. W., Chiu, S. M., Fiebig, A., Oleinick, N. L., Xue, L. Y.**, 2003, Photodamage to multiple Bcl-xL isoforms by photodynamic therapy with the phthalocyanine photosensitizer Pc 4, *Oncogene*, **22**, 9197-9204.
- [82] **Oleinick, N. L., Xue, L. Y., Chui, S. M.**, 2005, Differential responses of Mcl-1 in photosensitized epithelial vs lymphoid-derived human cancer cells, *Oncogene*, **24**, 6987-6992.
- [83] **Azizuddin, K., Chiu, S. M., Oleinick, N. L., Xue, L. Y.**, 2005, Photodynamic therapy-induced death of HCT 116 cells: Apoptosis with or without Bax expression *Apoptosis*, **10**, 1357-1368.
- [84] **Azizuddin, K., Chiu, S. M., Joseph, S., Oleinick, N. L., Xue, L. Y.**, 2007, The death of human cancer cells following photodynamic therapy: Apoptosis competence is necessary for Bcl-2 protection but not for induction of autophagy, *Photochem. Photobiol.*, **83**, 1016-1023.
- [85] **Baron, E. D., Berlin, J. C., Colussi, V., Cooper, K. D., Hsia, A., Kenney, M. E., McCormick, T., Miller, J. D., Oleinick, N. L., Scull, H.**, 2007, Photodynamic therapy with the phthalocyanine photosensitizer Pc 4: the case

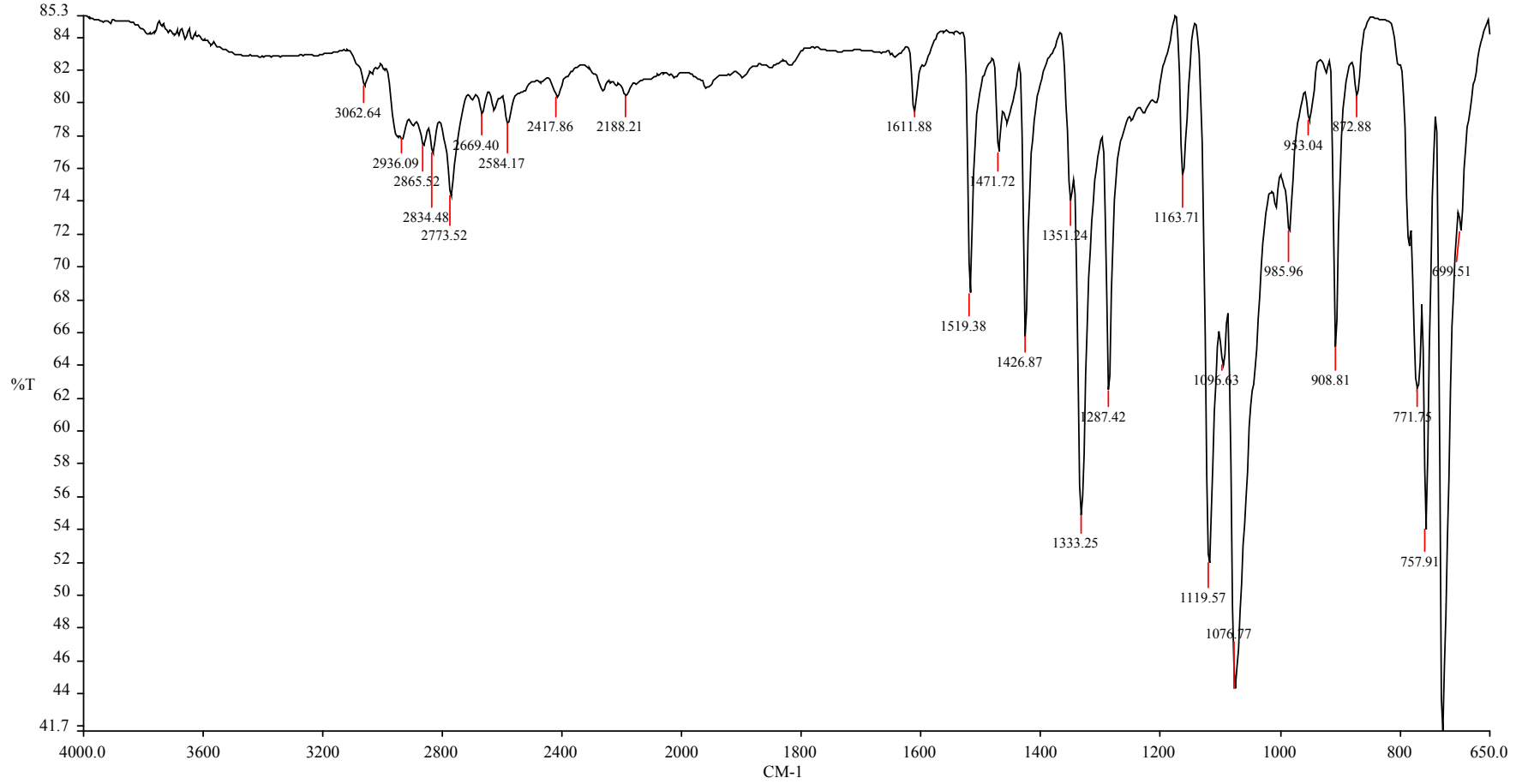
- experience with preclinical mechanistic and early clinical-translational studies, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **224**, 290-299.
- [86] **Kenney, M. E., Oleinick, N. L., Rihter, B. D.**, 1992, *U. S. Patent*, WO9201753.
- [87] **Peng, X.**, August, 2001, *Ph. D. Thesis*, Case Western Reserve University, Cleveland OH.
- [88] **Becerril, J., Ernst, J. T., Hamilton, A. D., Park, H. S., Yin, H. S.**, 2003, Design and application of an α -helix-mimetic scaffold based on an oligoamide-foldamer strategy: antagonism of the Bak BH3/ Bcl-xL complex *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **42**, 535-539.
- [89] **Barton, J. K., Hall, D. B.**, 1997, Sensitivity of DNA-mediated electron transfer to the intervening π -stack: A probe for the integrity of the DNA base stack, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 5045-6.
- [90] **Bischoff, G., Hoffmann, S.**, 2002, DNA-binding of drugs used in medicinal therapies, *Curr. Med. Chem.*, **9**, 312-348.
- [91] **Gaiduk, M. I., Ghissov, V. I., Grigryants, V. V., Mirnov, A. F., Rumyantsera, V. D., Sukhin, G. M.**, 1990, Fiber-Laser Ir Luminescence Diagnostics Of Malignant-Tumors Using Rare-Earth Porphyrins, *J. Photochem. Photobiol. B.*, **7**, 15-20.
- [92] **Butje, K., Nakamoto, K.**, 1990, Interaction of Water-Soluble Cu(II), Ni(II), And Co(III) Porphyrins with Polynucleotides, *J. Inorg. Biochem.*, **39**, 75-92.
- [93] **Bichenkova, E. V., Douglas, K. T., Fedorova, O. S., Frau, S., Lokhov, S.**, 2001, Binding of a Porphyrin Conjugate of Hoechst 33258 to DNA. I. UV-Visible and Melting Studies Detect Multiple Binding Modes to a 12-Mer Nonself-Complementary Duplex, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, **20**, 131-143.
- [94] **Barton, J. K., Raphael, A. L.**, 1998, *Photocleavage of nucleic acids*. Chemical Reviews, **98**, 1171-1200.
- [95] **Cadet, J., Vigny, P.**, 1990, The photochemistry of nucleic acids. In *Bioorganic Photochemistry* (Edited by Morrison H.), **1**, 1-272. Wiley, New York.
- [96] **Dunn, D. A., Kochevar, I. E.**, 1990, *Photosensitized Reactions of DNA: Cleavage and Addition*, in *Bioorganic Photochemistry*, H. Morrison, Editor. Wiley: New York., 273-315.
- [97] **Fingar, V. H., Haydon, P. S., Wieman, T. J.**, 1997, The effects of thrombocytopenia on vessel stasis and macromolecular leakage after photodynamic therapy using Photofrin, *Photochemistry and Photobiology*, **66**, 513-517.
- [98] **Esposito, John N., Kenney, Malcolm E., Krueger, Paul C. Lowery, Michael K., Starshak, Albert J.**, 1994, Dichloro (phthalocyanino) silicon, *Inorganic Chemistry*.
- [99] **Cook, M. J., Duan, W., Wang, Z.**, 2009, Synthesis of tetra(trimethylammonio)phthalocyaninato zinc tetra iodide, and aspectrophotometric investigation of its interaction with calf thymus DNA, *Journal of Porphyrin phthalocyanine*, **13**, 1255-61.

- [100] **Bıyıklıoğlu, Z., Durmuş, M., Kantekin, H.,** 2010, Synthesis, photophysical and photochemical properties of quinoline substituted zinc (II) phthalocyanines and their quaternized derivatives, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **211**, 32–41.
- [101] **Fronczek, R. F., Hu, X., Li, H., Ongarora, B. G., Vicente, M. G. H.,** 2011, Syntheses and properties of trimethylaminophenoxy-substituted Zn(II)-phthalocyanines, *Med. Chem. Commun.*, 1-16.
- [102] **Gül, A., Koca, A., Sesalan, B. Ş.,** 2008, Water Soluble Novel Phthalocyanines Containing Dodeca-amino Groups, *Dyes and Pigments*, **79**, 259–264.
- [103] **Corda, E., Girotti, S., Gonzalez-Ruiz, V., Martin, A., Mussardo, P., Olives, A. I., Rajesh, J.,** 2011, Study of non-covalent interactions of luotonin A derivatives and the DNA minor groove as a first step in the study of their analytical potential as DNA probes, *Anal Bioanal Chem*, **400**, 321–327.
- [104] **Brasseur, N.; Ouellet, R.; Lewis, K.; Potter, W. R.; vanLier, J. E.,** 1995, Photodynamic activities and skin photosensitivity of the bis(dimethylhexylsiloxy)silicon 2,3-naphthalocyanine in mice, *Photochemistry and Photobiology*, **62**, 1058-1065.
- [105] **Bagnato, H., Imasato, H., Melo, C. A. S., Menezes, P. F. C., Perussi, J. R.,** 2005, Dark Cytotoxicity of the Photoproducts of the Photosensitizer Photogem after Photobleaching Induced by a Laser, *Laser Physics, Vol. 15*, **3**, 435–442.

EKLER

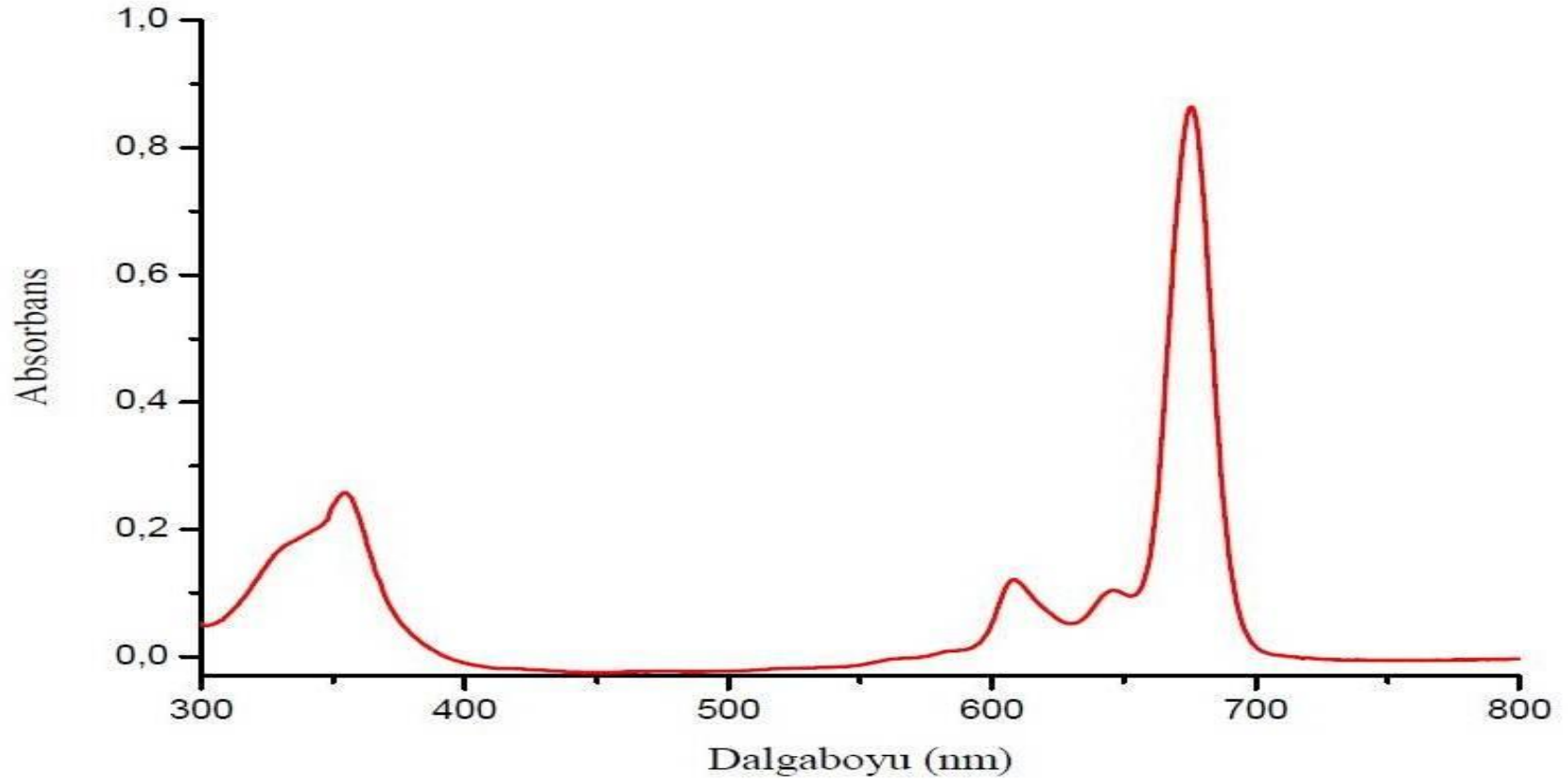
- EK A.1** : 2'nin IR Spektrumu
- EK A.2** : 2'nin kloroformdaki UV-Vis Spektrumu
- EK A.3** : 2'nin ^1H NMR Spektrumu(CDCl_3)
- EK A.4** : 3'ün IR Spektrumu
- EK A.5** : 3'ün kloroformdaki UV-Vis Spektrumu
- EK A.6** : 3'ün ^1H NMR Spektrumu(C_3OD_6)
- EK A.7** : 3'ün Kütile Spektrumu
- EK A.8** : 4'ün IR Spektrumu
- EK A.9** : 4'ün ^1H NMR Spektrumu(DMSO-d_6)
- EK A.10** : 4'ün Kütile Spektrumu
- EK A.11** : 2Q'nun IR Spektrumu
- EK A.12** : 2Q'nun saf sudaki UV-Vis Spektrumu
- EK A.13** : 2Q'nun ^1H NMR Spektrumu(DMSO-d_6)
- EK A.14** : 2Q'nun Kütile Spektrumu
- EK A.15** : 3Q'nun IR Spektrumu
- EK A.16** : 3Q'nun saf sudaki UV-Vis Spektrumu
- EK A.17** : 3Q'nun ^1H NMR Spektrumu(DMSO-d_6)
- EK A.18** : 3Q'nun Kütile Spektrumu
- EK A.19** : 4Q'nun IR Spektrumu
- EK A.20** : 4Q'nun saf sudaki UV-Vis Spektrumu
- EK A.21** : 4Q'nun ^1H NMR Spektrumu(D_2O)
- EK A.22** : 4Q'nun Kütile Spektrumu

EK A.1



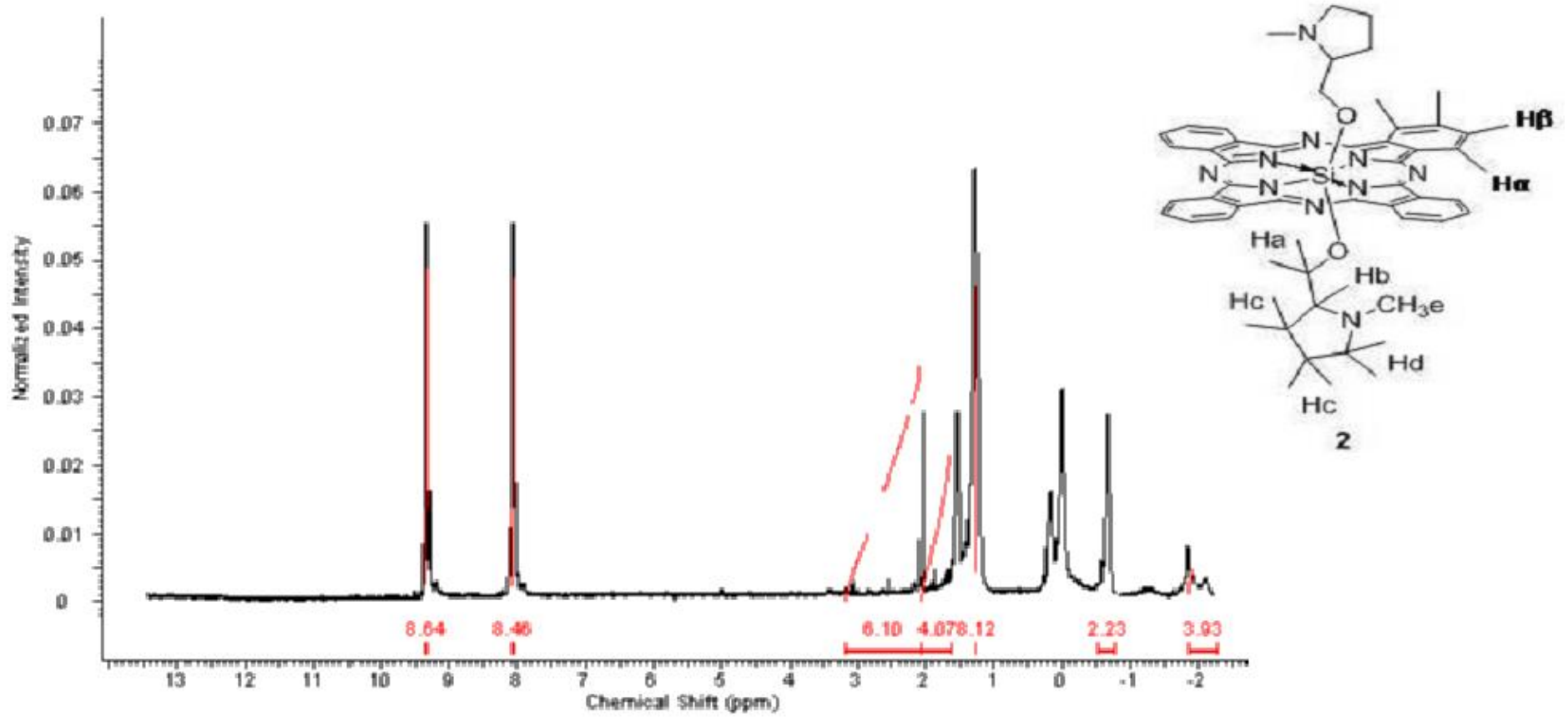
Şekil A. 1 : Bis(N-Metil-2-Pirolidinmetoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (2) bileşiğine ait IR Spektrumu

EK A.2



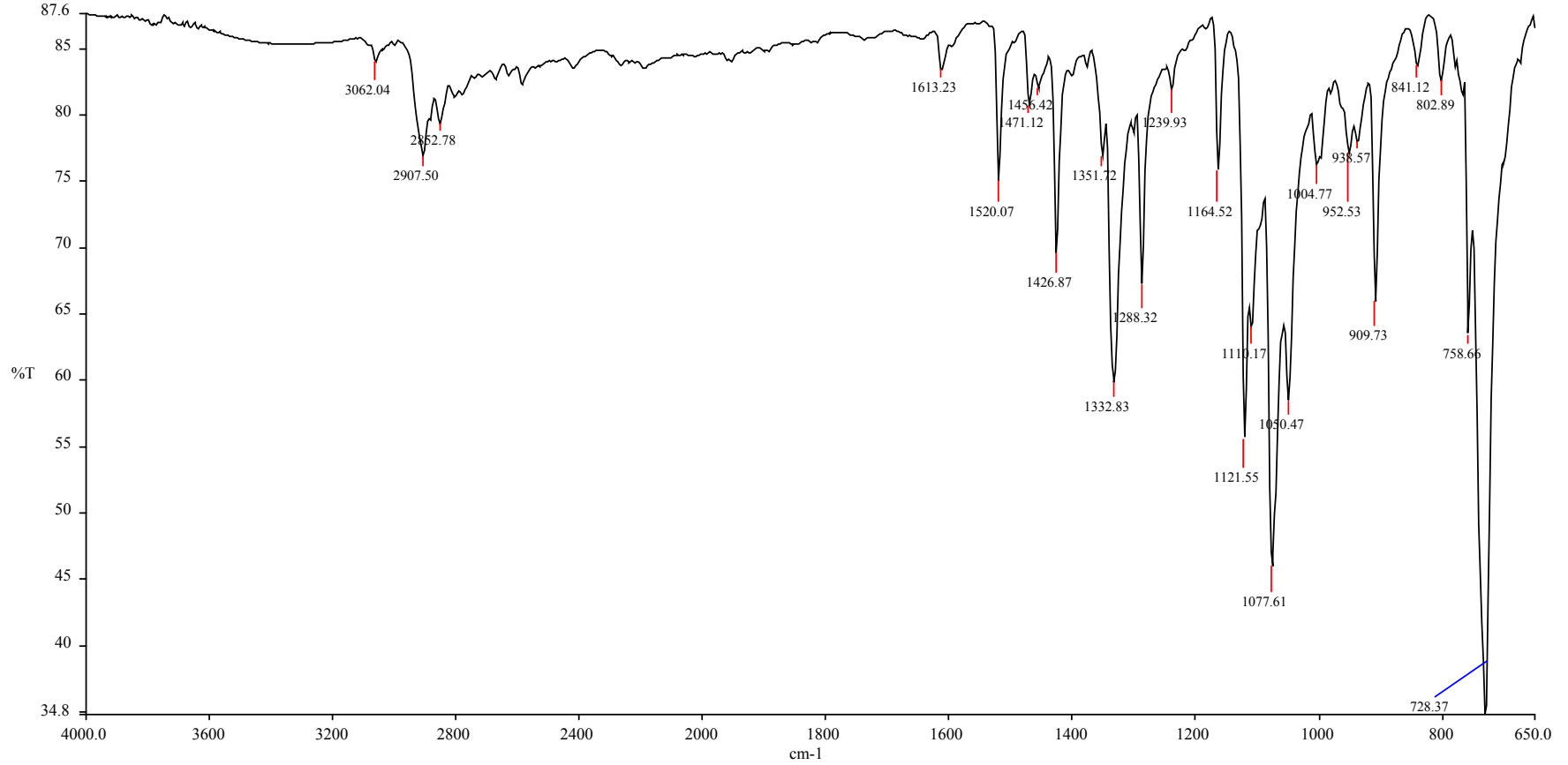
Şekil A. 2 : 2 bileşiğinin kloroform içerisindeki UV- Vis Spekrumu

EK A.3



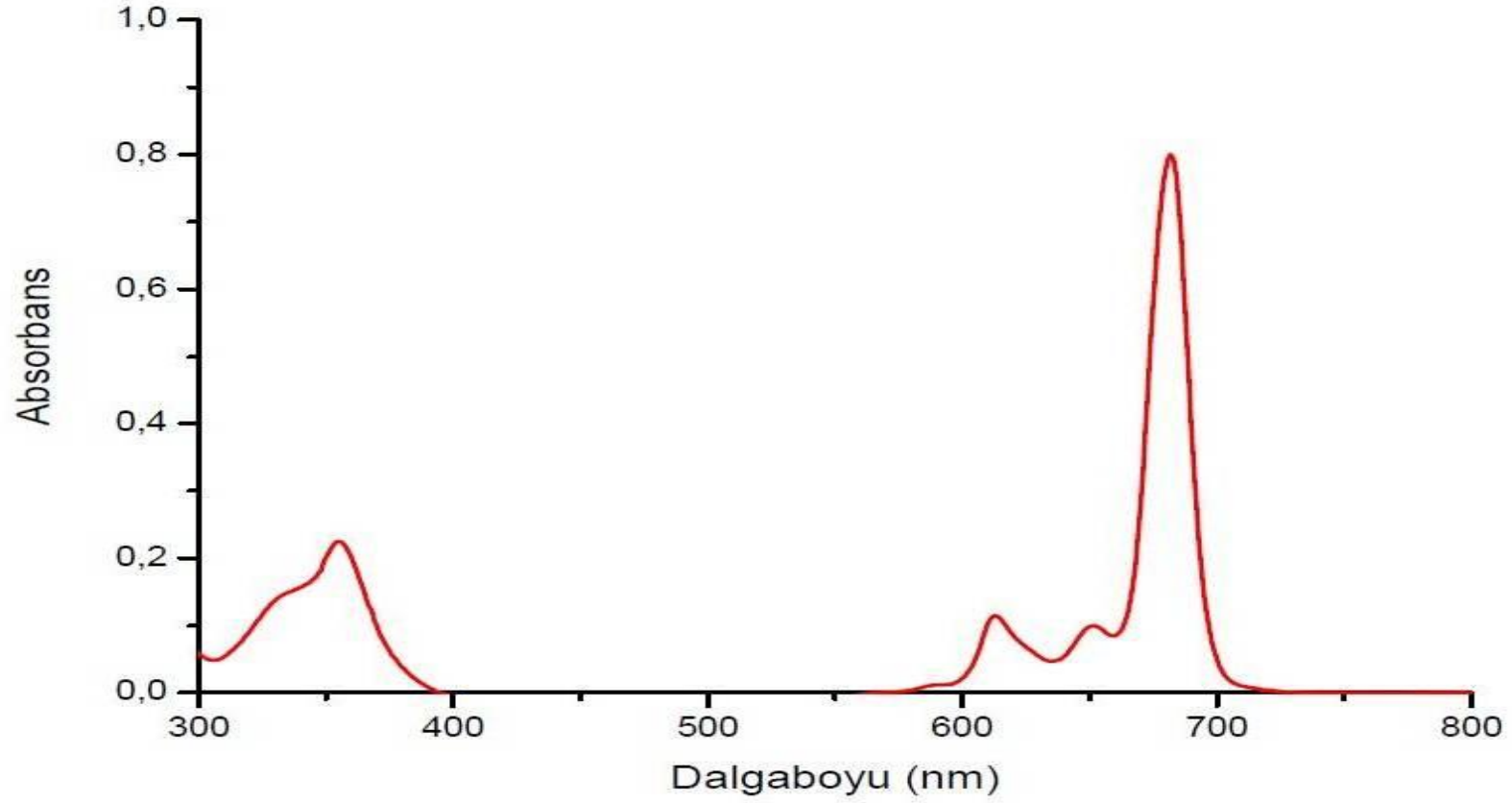
Şekil A. 3 : Bis(N-Metil-2-Pirolidinmetoksi) [ftalosiyaninato]silisyum (**2**) bileşiğinin dötero kloroform içerisindeki ^1H NMR Spektrumu

EK A.4



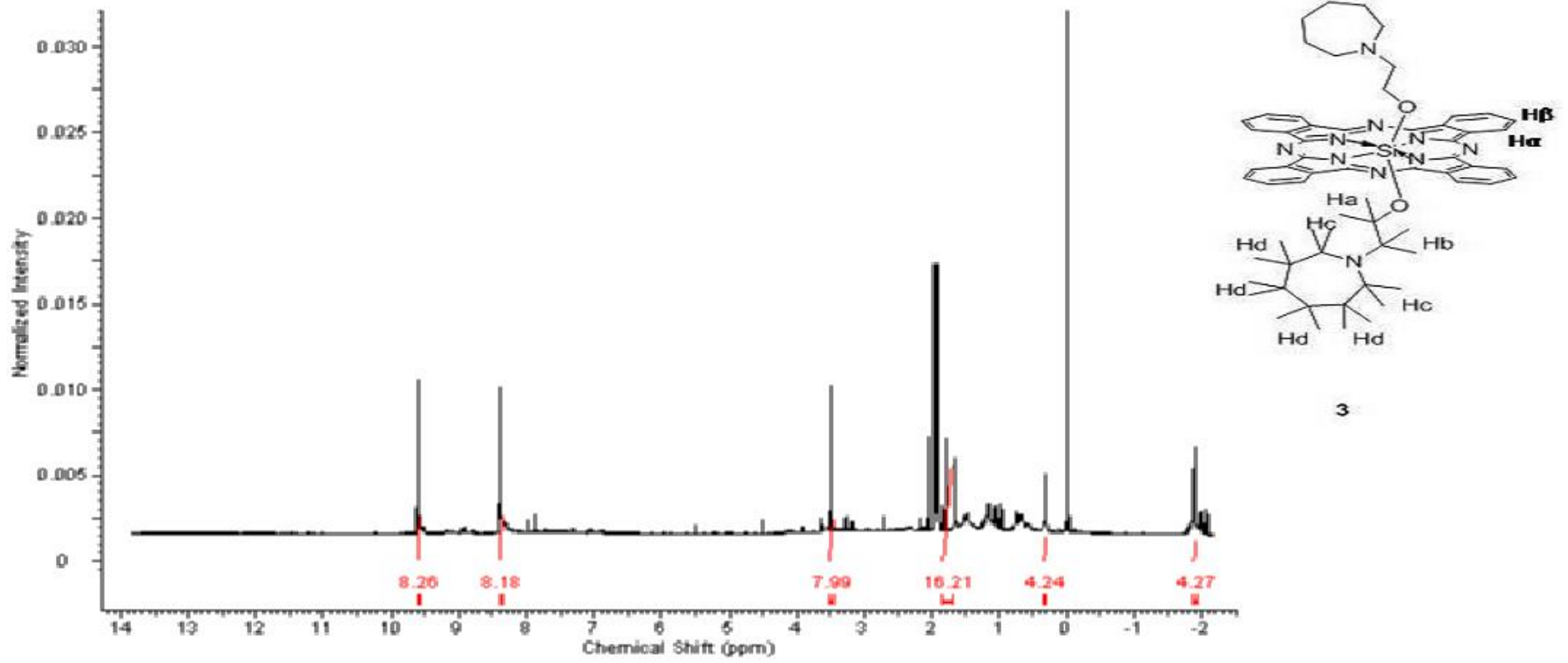
Şekil A. 4 : Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (3) bileşiğine ait IR Spektrumu

EK A.5



Şekil A. 5 : 3 bileşiğinin kloroform içerisindeki UV- Vis Spektrumu

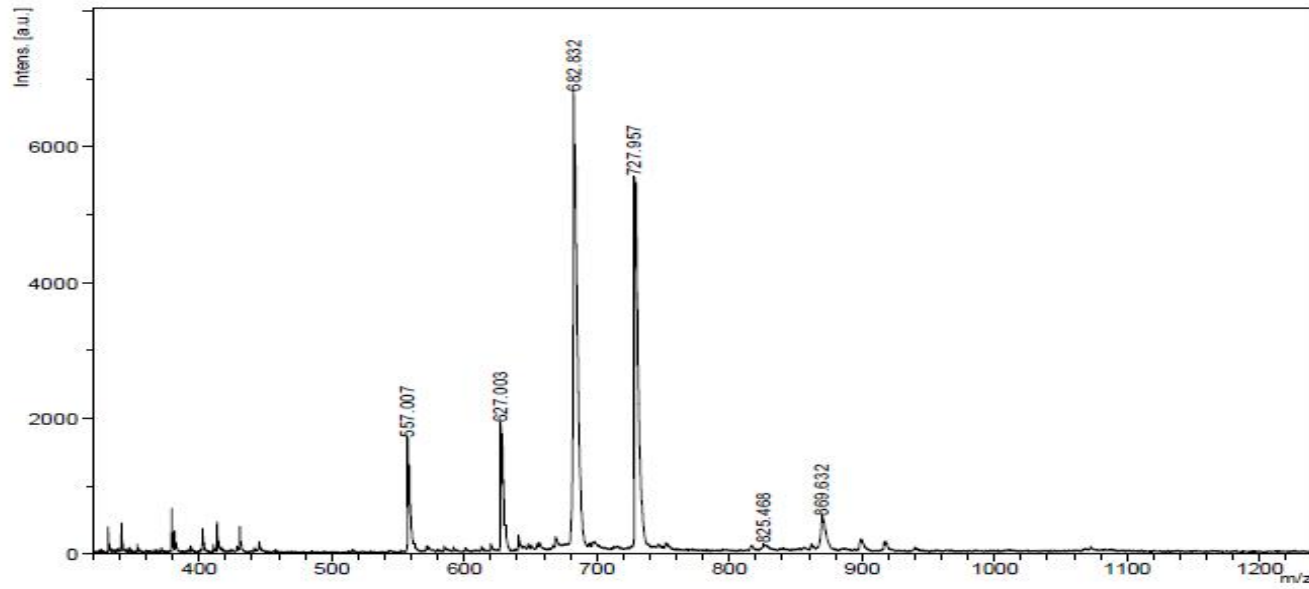
EK A.6



Şekil A. 6 : Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (**3**) bileşiğinin C_3OD_6 içerisindeki ^1H NMR Spektrumu

EK A.7

BSS-3-CYANO



m/z	SN	Quality Factor	Res.	Intensity	Area
557.007				115.00	
627.003				116.00	
682.632				6148.00	
727.957				188.00	
825.468				108.00	
869.632				462.00	

Date of Acquisition 2011-04-20T15:28:22.000

File Name D:\Data\boosut\BSS-3-CYANO\0_E9\1

Performed by

Date / Sign

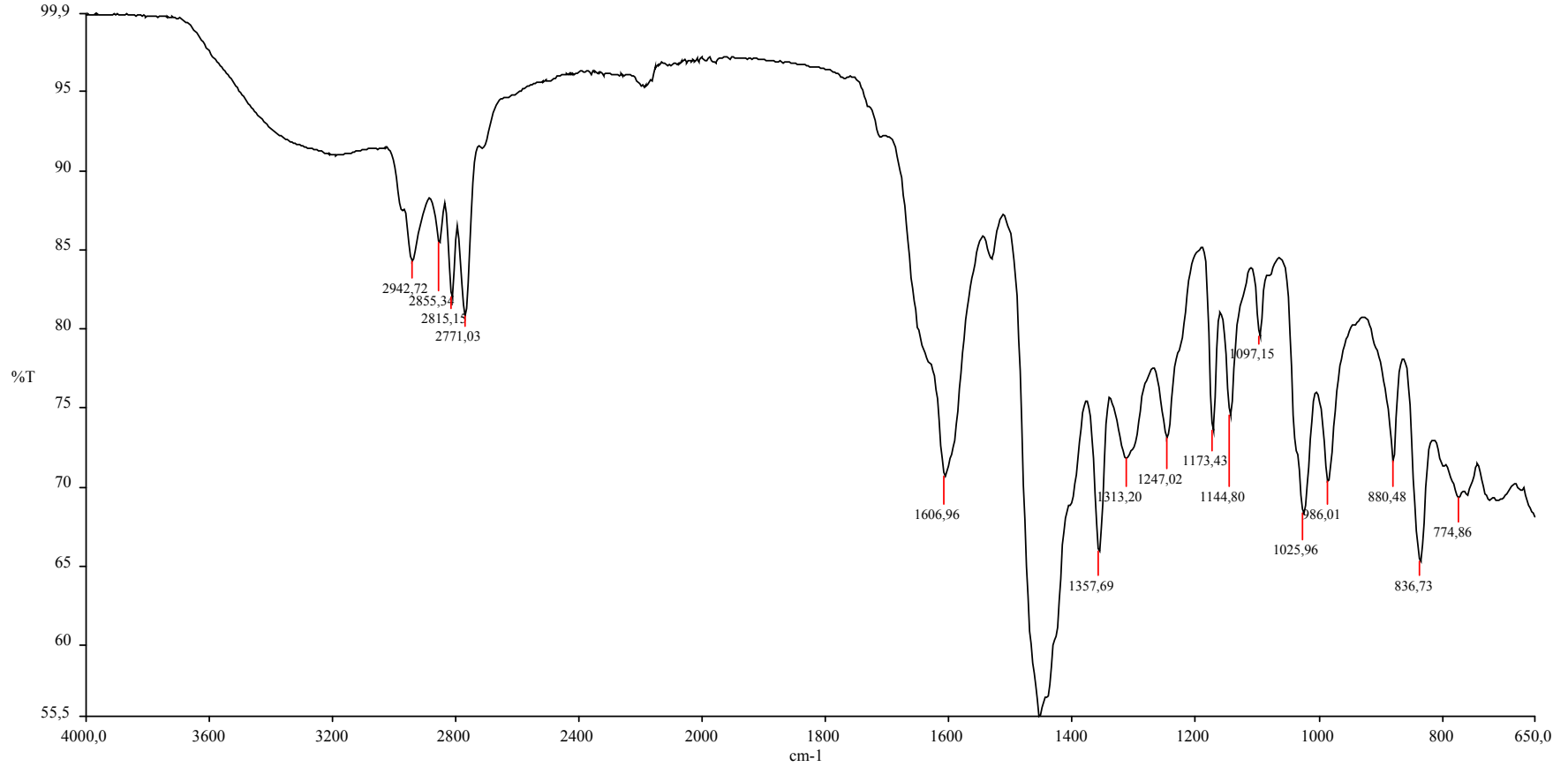
Viewed by

Date / Sign

**BRUKER
DALTONICS**
printed: 4/20/2011 3:29:19 PM

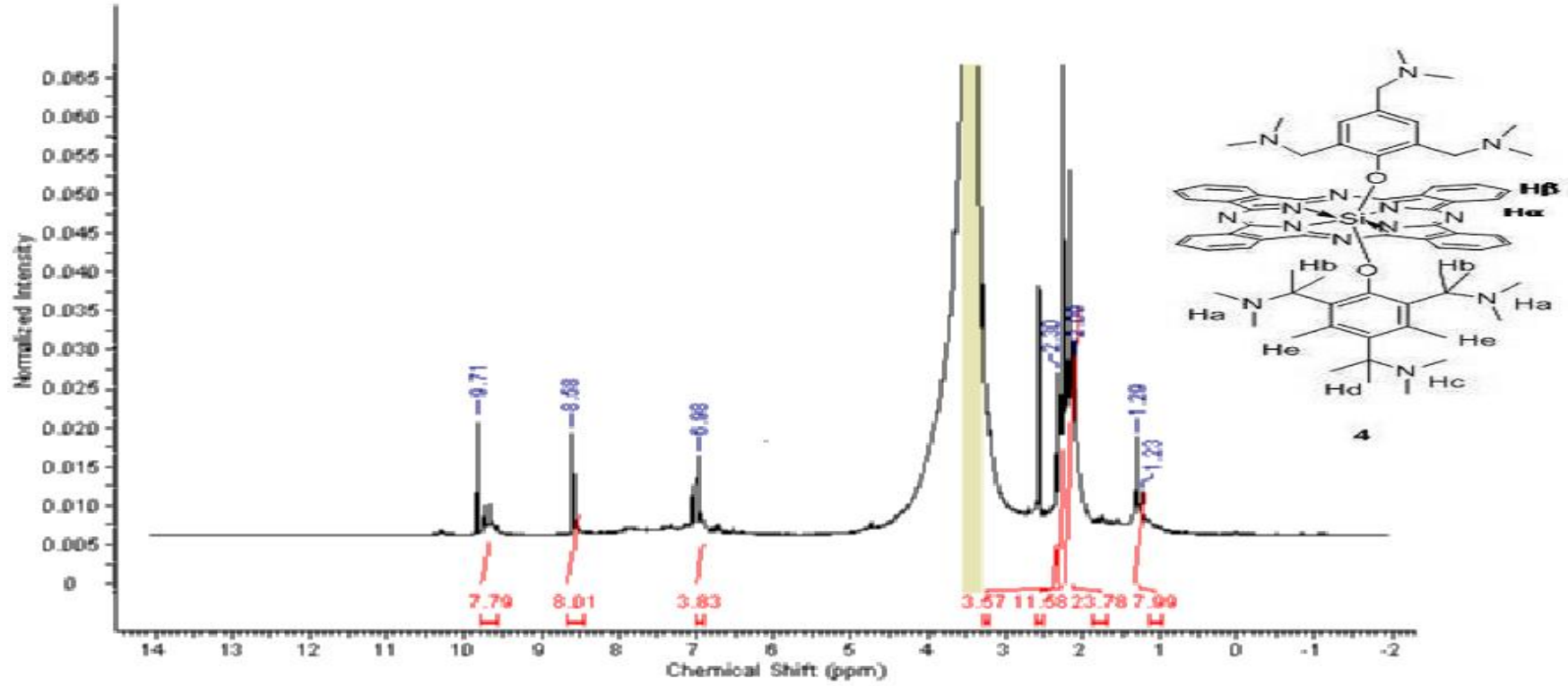
Şekil A. 7 : Bis(N-Heksametilenamino-2-etoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (3) bileşiğine ait Kütle Spektrumu

EK A.8



Şekil A. 8 : Bis (2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (4) bileşiğine ait IR Spektrumu

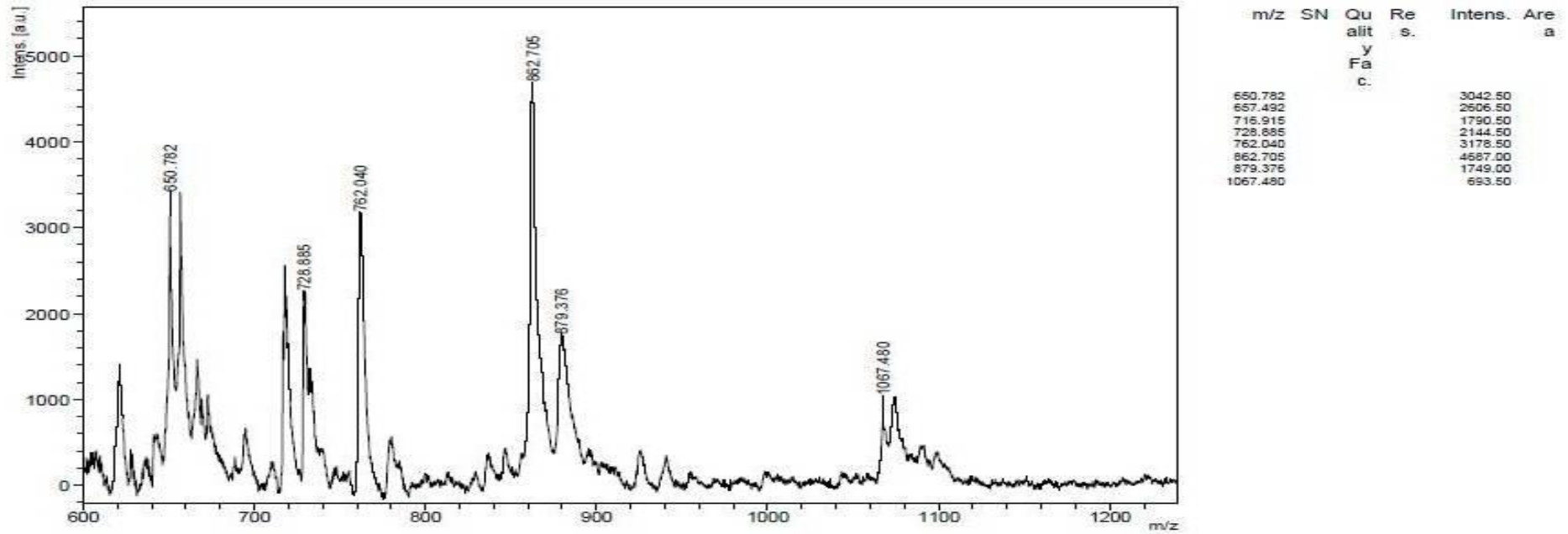
EK A.9



Şekil A. 9 : Bis (2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi) [ftalosiyanimato]silisyum (4) bileşiğinin DMSO-d_6 içerisindeki ^1H NMR Spektrumu

EK A.10

BSS-2-CYANO



Date of Acquisition 2011-04-20T15:26:00.000

File Name D:\Data\boosut\BSS-2-CYANO\0_A7\2

Performed by

Viewed by

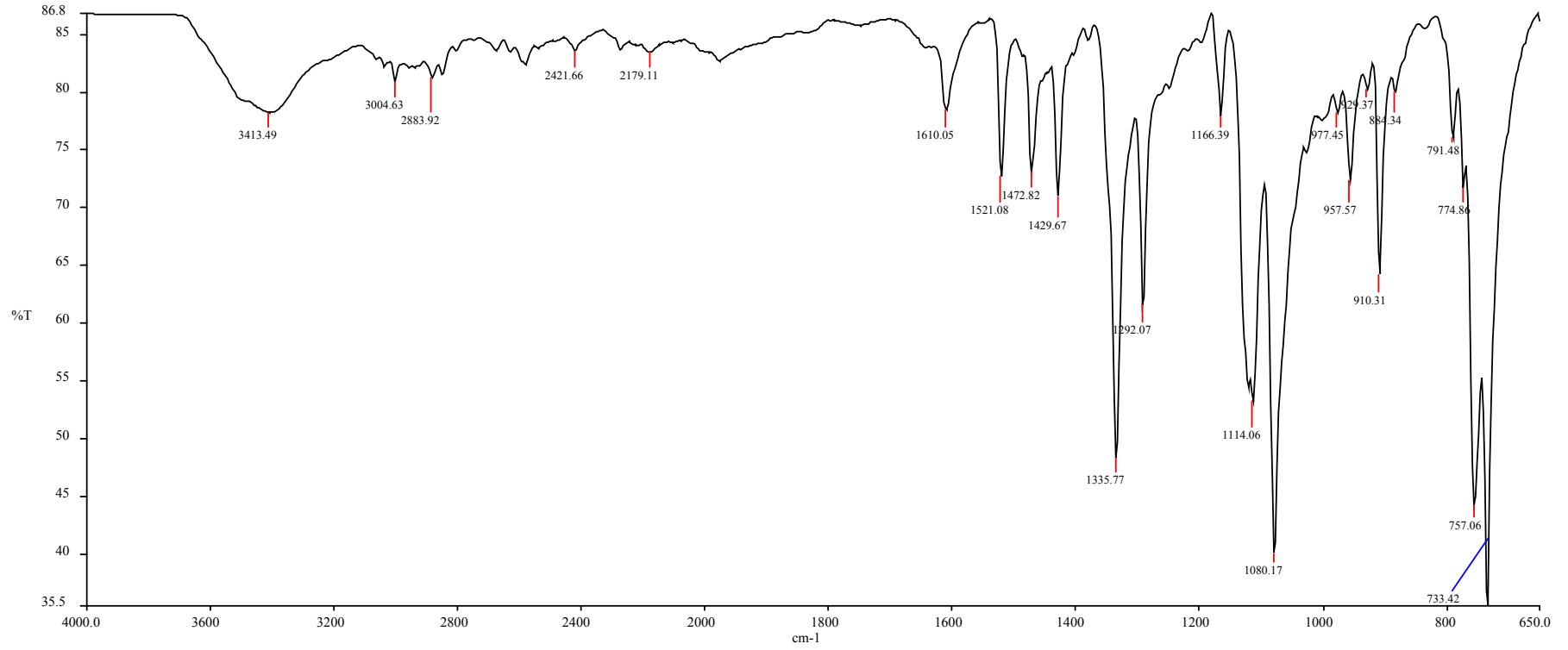
Date / Sign

Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
printed:4/20/2011 3:27:23 PM

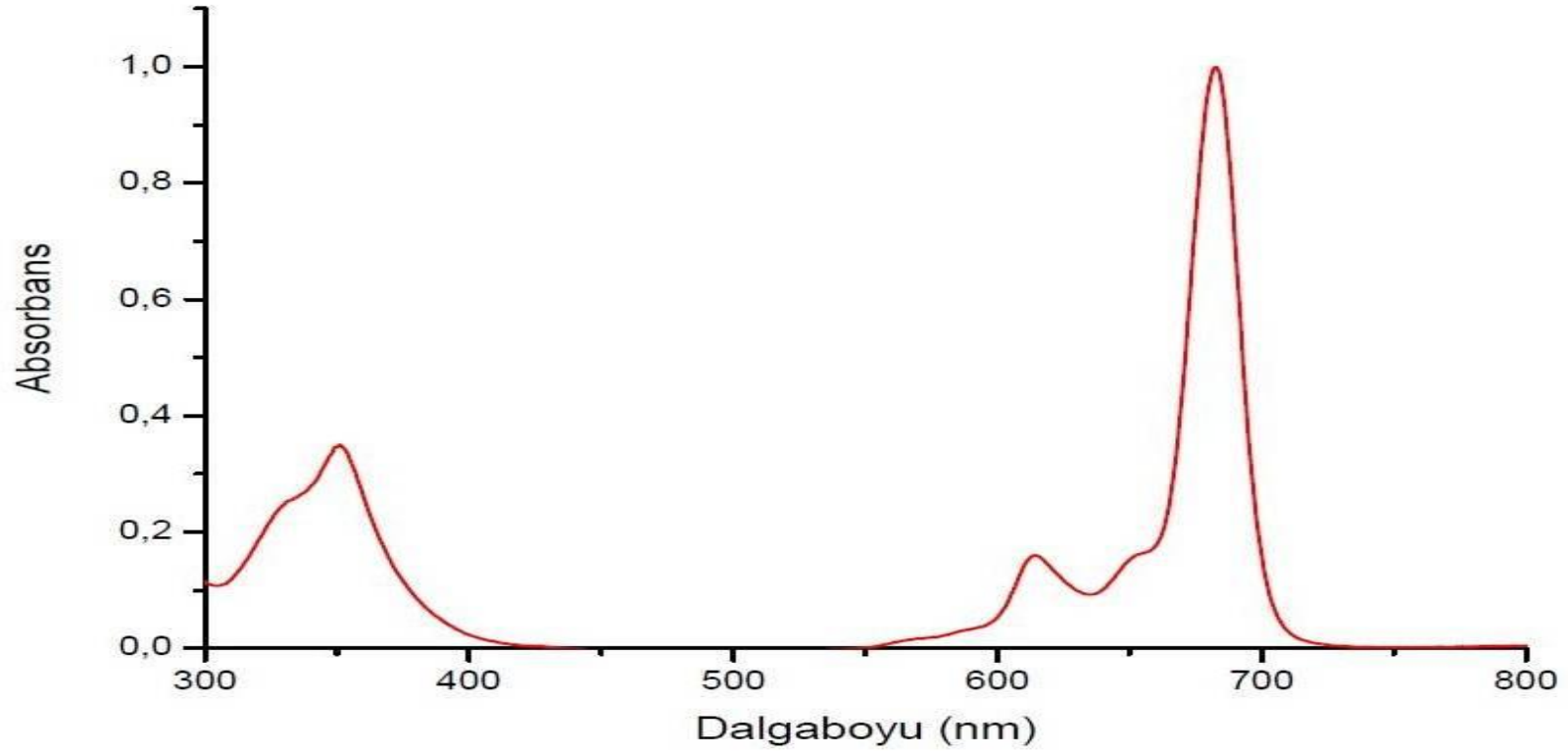
Şekil A. 10 : Bis (2,4,6-tris(N,N-dimetilaminometil)fenoksi) [ftalosiyaninato]silisyum (4) bileşiğine ait Kütle Spektrumu

EK A.11



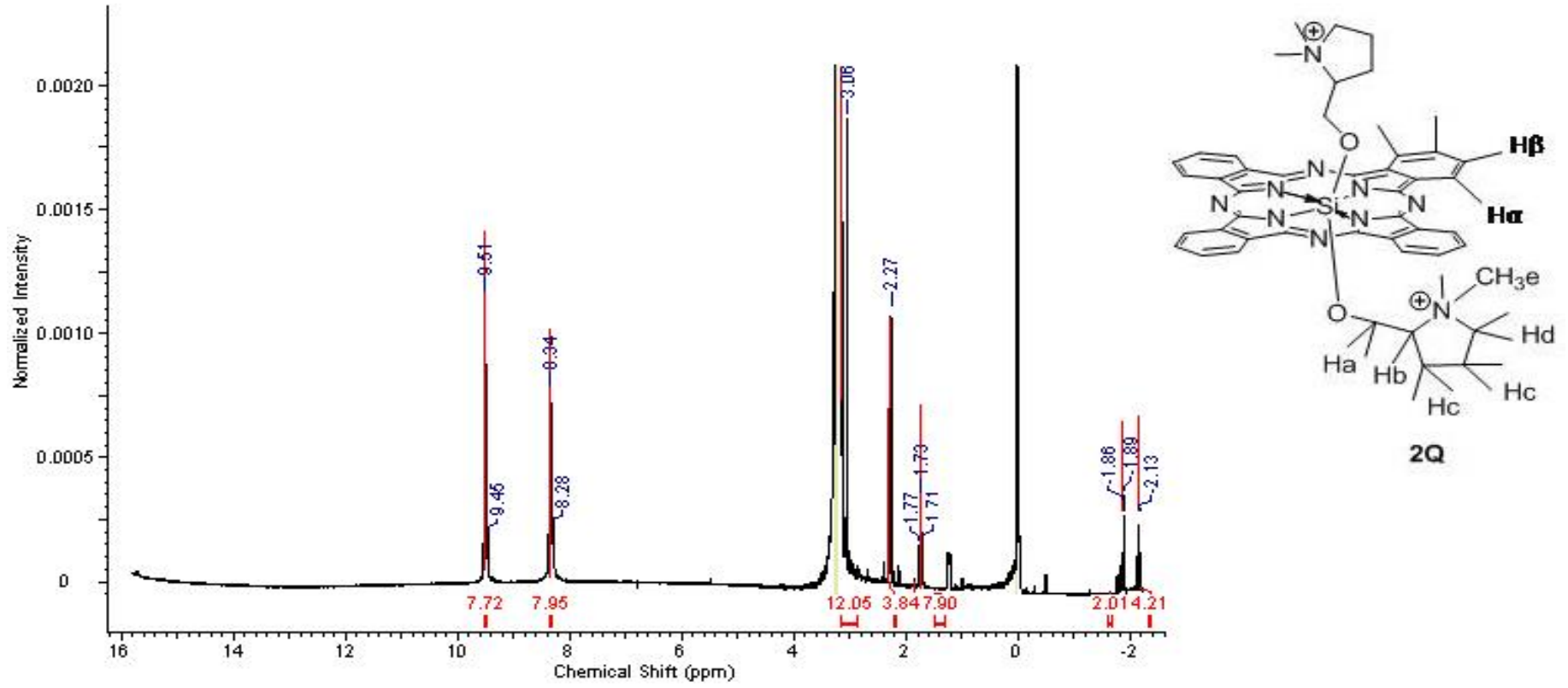
Şekil A. 11 : 2Q bileşiğine ait IR Spektrumu

EK A.12



Şekil A. 12 : 2Q bileşiğinin saf sudaki UV-Vis Spektrumu

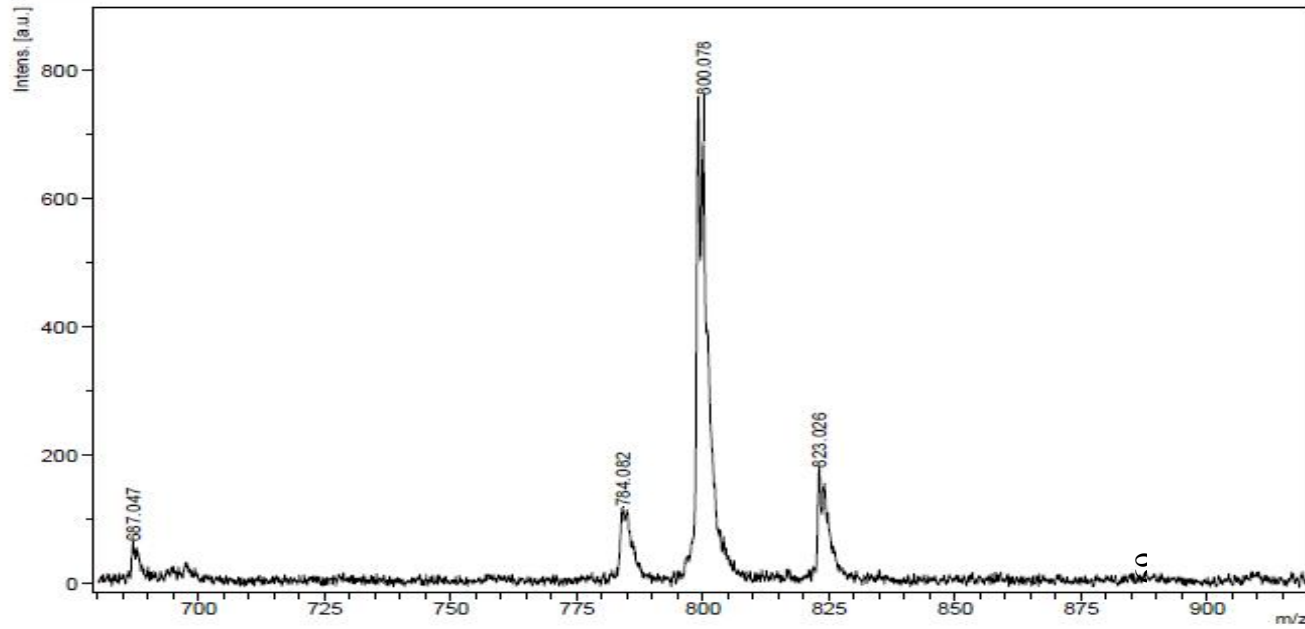
EK A.13



Şekil A. 13 : 2Q bileşiğinin DMSO-d₆ içerisindeki ¹H NMR Spektrumu

EK A.14

BSS-13_DHB



m/z	SN	Quality Fac	Re s.	Intens.	Area
687.047				56.00	
784.062				117.00	
800.078				688.00	
823.026				176.00	

Date of Acquisition 2011-05-24T14:29:52.000

File Name D:\Data\boosut\BSS-13_DHB\0_C9\1

Performed by

Date / Sign

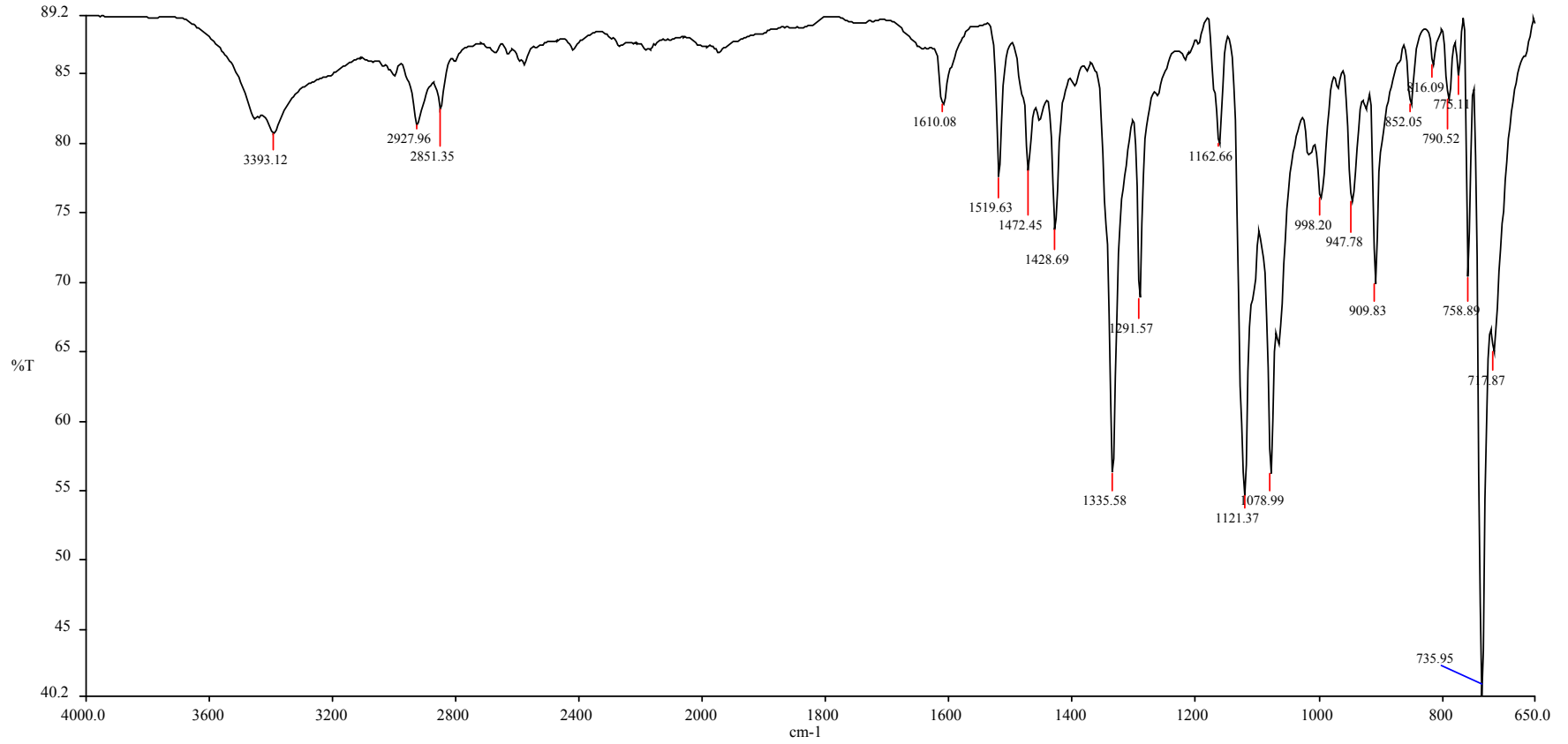
Viewed by

Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
printed: 5/24/2011 4:08:21 PM

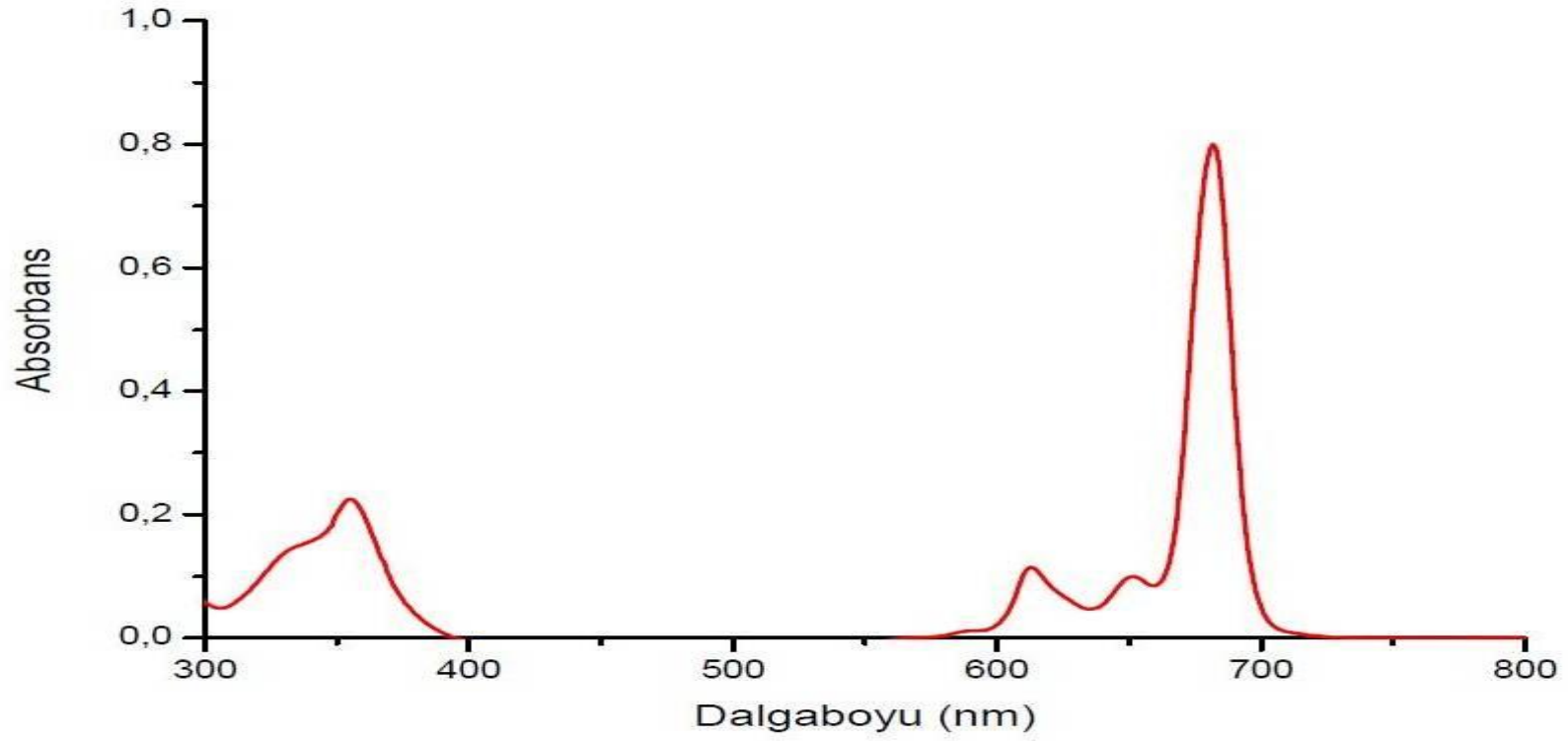
Şekil A. 14 : 2Q bileşiğinin Kütle Spektrumu

EK A.15



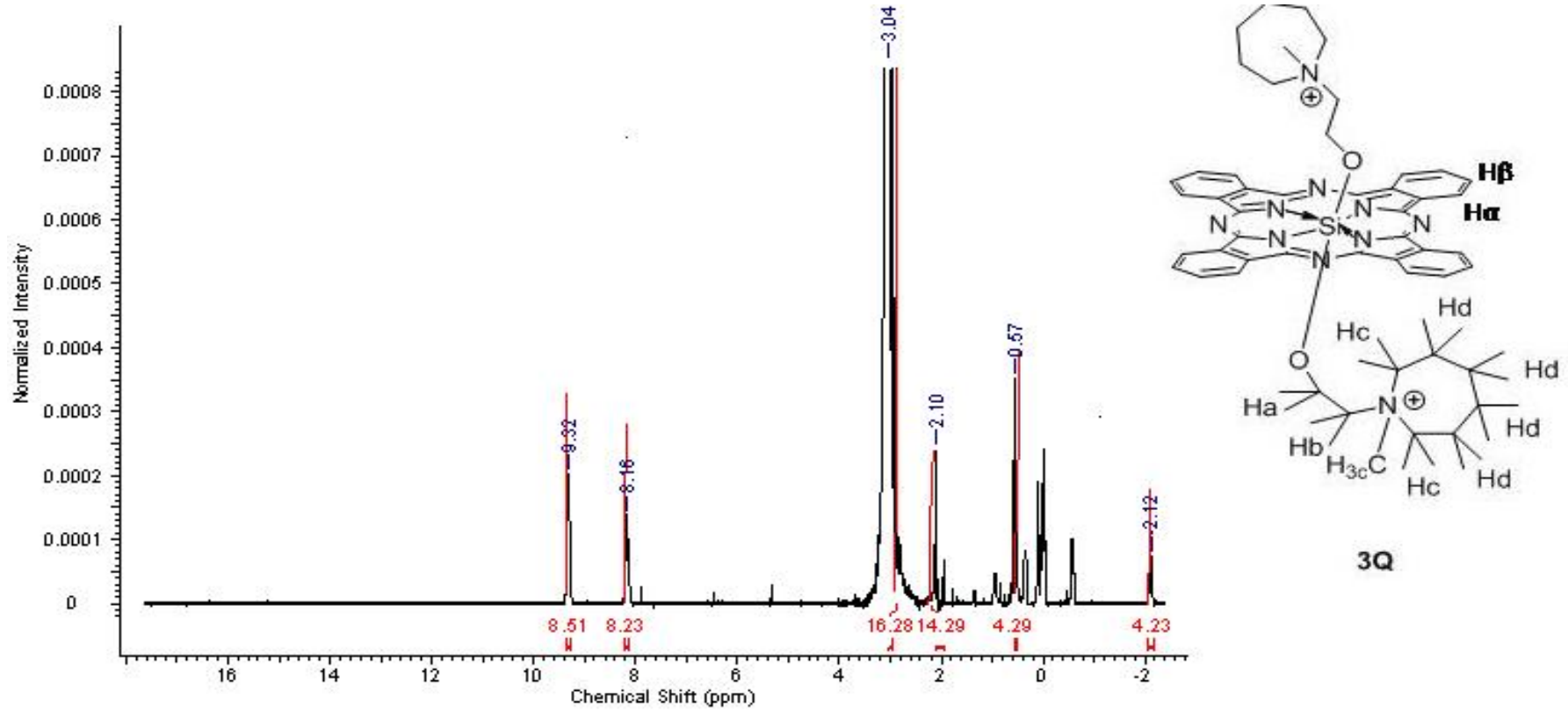
Şekil A. 15 : 3Q bileşiğinin IR Spektrumu

EK A.16



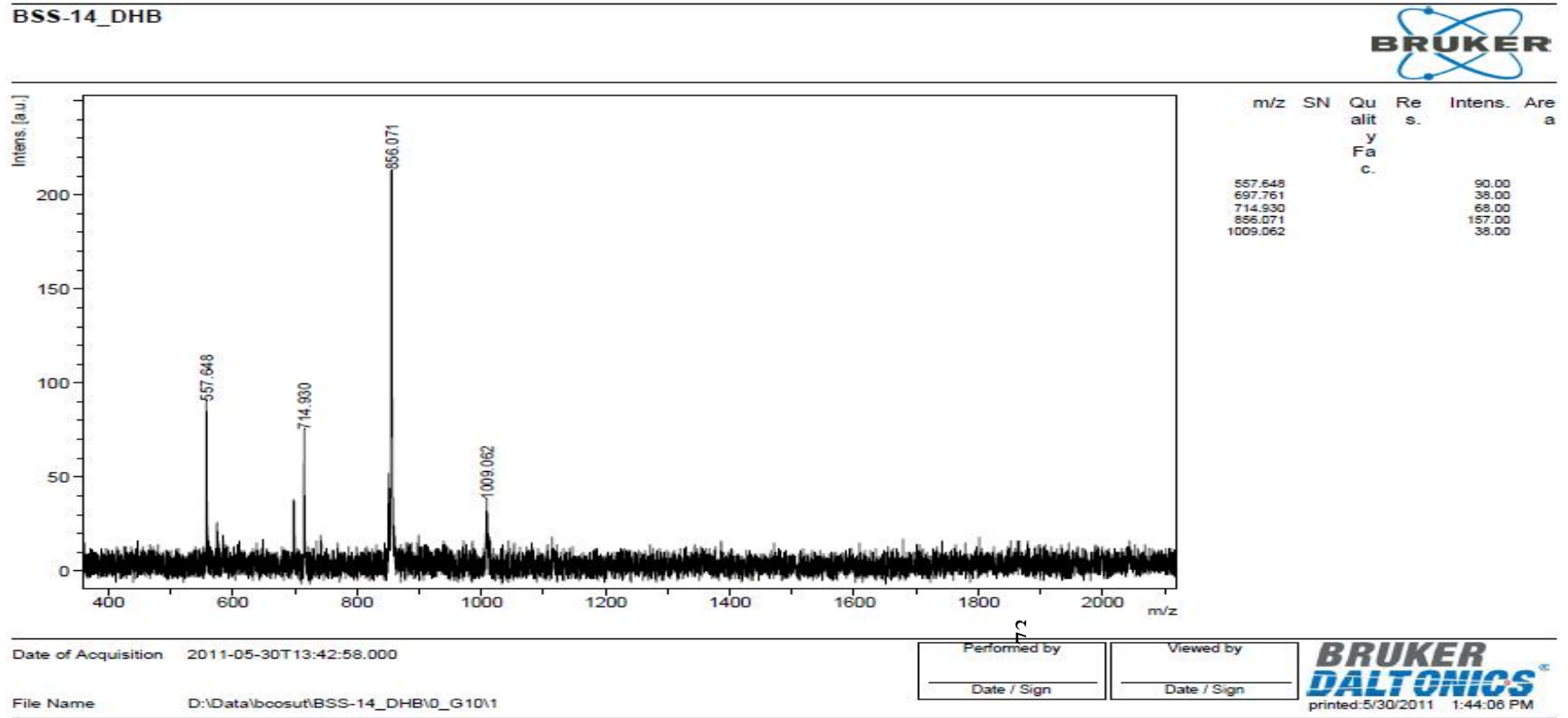
Şekil A. 16 : 3Q bileşiğinin saf sudaki UV- Vis Spektrumu

EK A.17



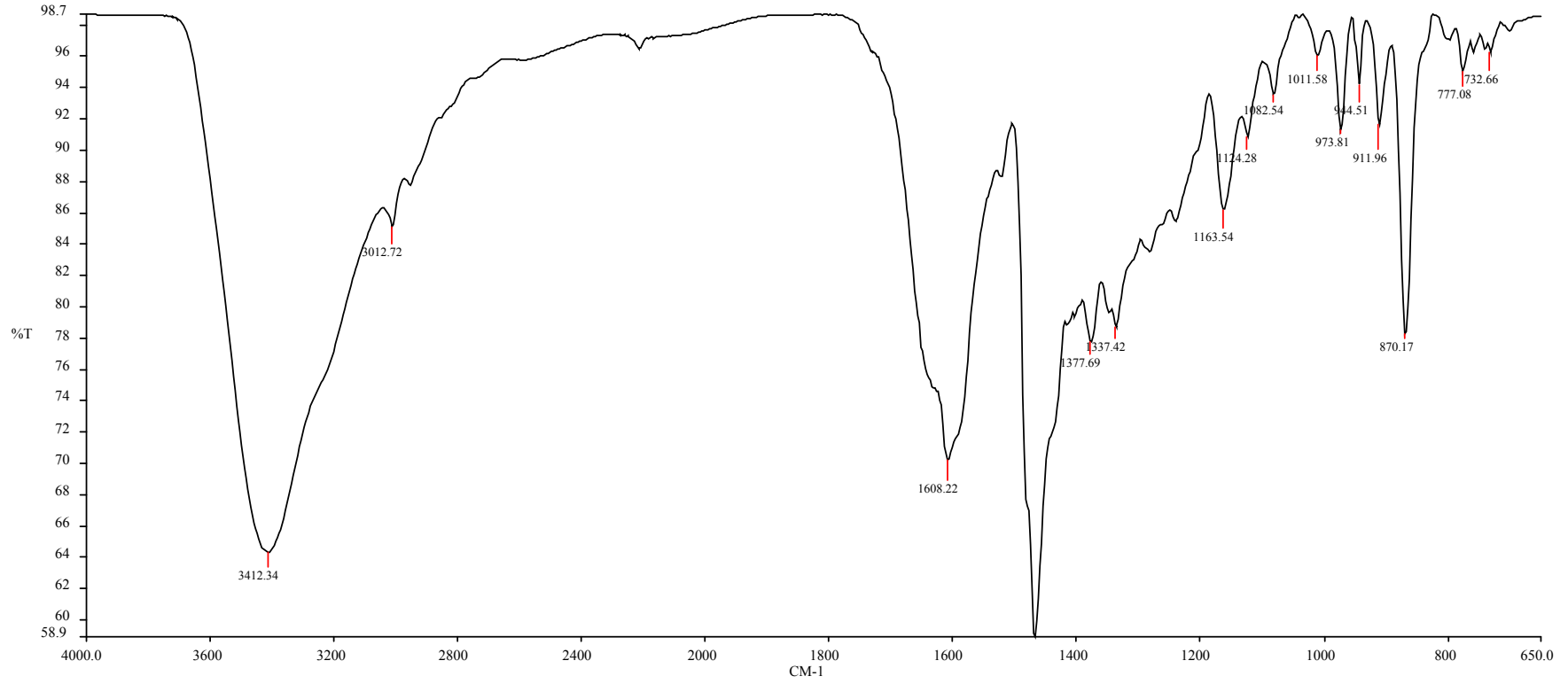
Şekil A. 17 : **3Q** bileşiğinin DMSO-d_6 içerisindeki ^1H NMR Spektrumu

EK A.18



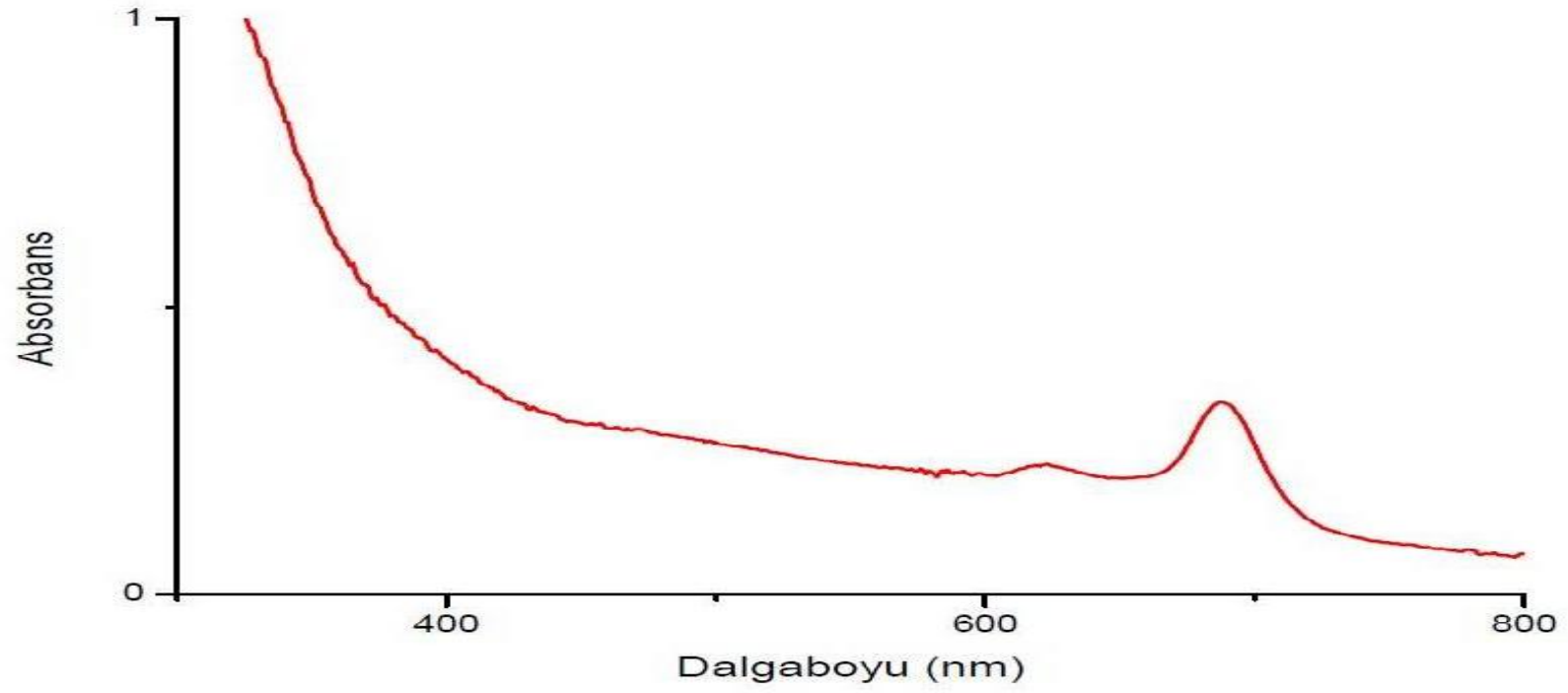
Şekil A. 18 : 3Q bileşiğinin Kütle Spektrumu

EK A.19



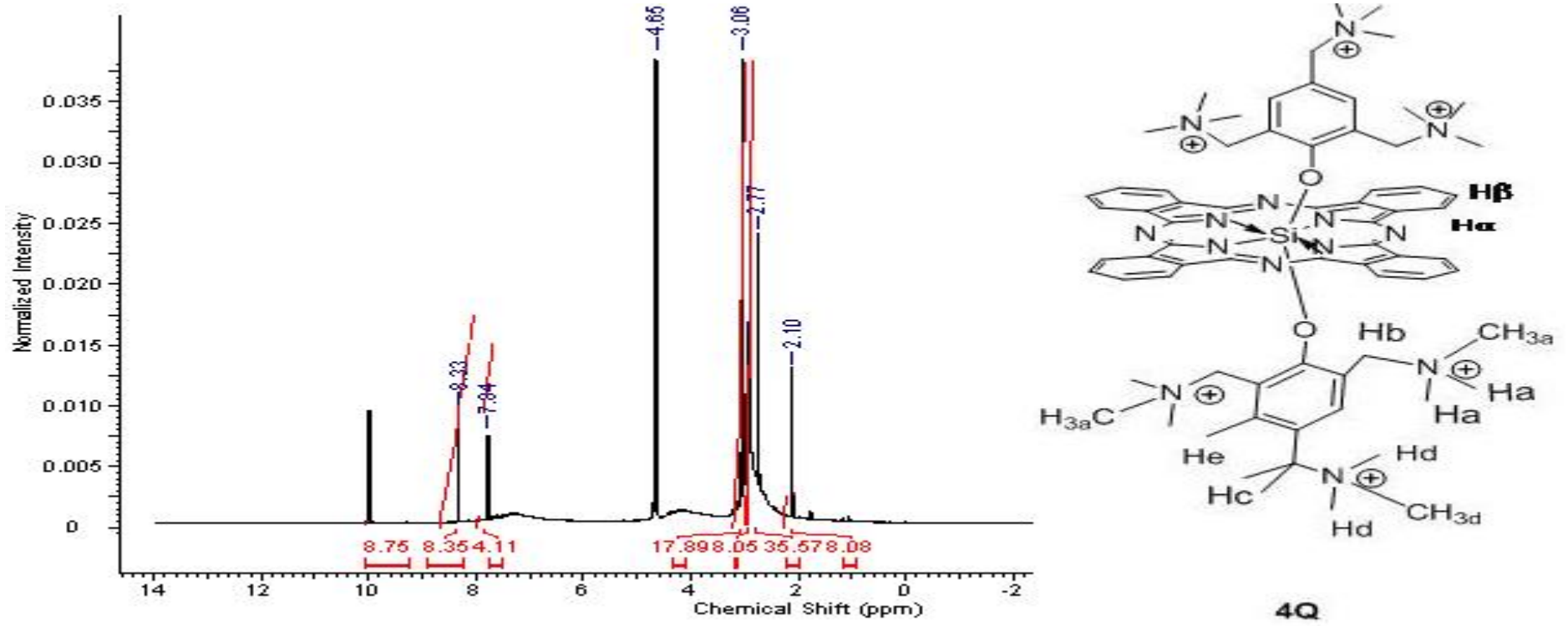
Şekil A. 19 : 4Q bileşiğinin IR Spektrumu

EK A.20



Şekil A. 20 : 4Q bileşiğinin saf sudaki UV- Vis Spektrumu

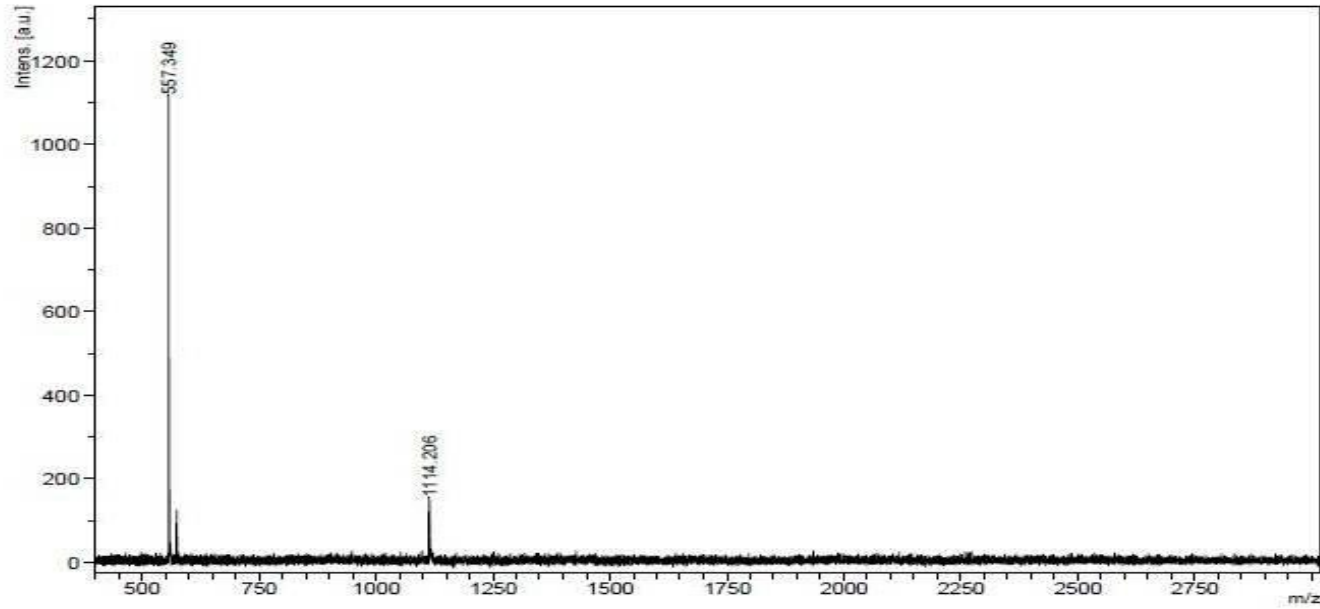
EK A.21



Şekil A. 21 : 4Q bileşiğinin D₂O içerisindeki ¹H NMR Spektrumu

EK A.22

BSS-16_DHB



m/z	SN	Quality Factor	Res.	Intensity	Area
557.349				1102.00	
574.431				125.00	
1114.206				74.00	

Date of Acquisition 2011-06-07T15:44:34.000

File Name D:\Data\boosut\BSS-16_DHB\0_A10\1

Performed by

Date / Sign

Viewed by

Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
printed: 6/7/2011 3:45:50 PM

Şekil A. 22 : 4Q bileşiğinin Kütle Spektrumu



ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Canan Uslan

Doğum Yeri ve Tarihi : Dornbirn/Avusturya – 17.09.1986

**Adres : Adnan Kahveci Mah. Cebeci Cad. No: 8 Daire: 12 Beylikdüzü/
İSTANBUL**

E- Posta : canan_uslan@hotmail.com

Lisans : Gazi Üniversitesi - 2009