

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOLKETAL ve GLİSEROL SÜBSTİTÜE
FTALOSİYANİNLER

Yunus ZORLU
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

GEBZE

2010

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOLKETAL ve GLİSEROL SÜBSTİTÜE
FTALOSİYANİNLER

Yunus ZORLU
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Fabienne DUMOULİN

GEBZE
2010

ÖZET

TEZİN BAŞLIĞI: SOLKETAL VE GLİSEROL SÜBSTİTÜE FTALOSİYANİNLER

YAZAR ADI: Yunus ZORLU

Bu tez çalışması dört farklı kısımdan oluşmaktadır.

Birinci kısımda, iki adet iyonik olmayan suda çözünebilen çinko ftalosiyanın bileşikleri sentezlendi ve yapıları spektroskopik yöntemlerle karakterize edildi. Elde edilen ftalosiyanın bileşiklerinin sulu ortamda fotodinamik aktiviteleri incelendi. İnceleme sonunda, PDT aktivitenin, ftalosiyanın sulu ortamdaki agregasyon durumlarına bağlı olduğu görüldü.

İkinci kısımda, Pt(II) ftalosiyanınların tüm serisi sentezlendi ve karakterize edildi. Bu ftalosiyanınların PDT çalışmalarında Tip II fotosensitizer olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek için, fotofiziksel (elektronik absorpsiyon, floresans kuantum verimleri ve ömürleri, benzokinon ile floresans söndürme çalışmaları) ve fotokimyasal özellikleri (singlet oksijen ve fotobozunma kuantum verimleri) benzer analoglara sahip Zn(II) serileri ile karşılaştırıldı ve bu sonuçlardan Pt(II) ftalosiyanınların PDT çalışmalarında uygun fotosensitizer olduğu bulundu.

Üçüncü kısımda, PDT ve radyoaktif işaretleme ile görüntüleme yöntemleri gibi iki farklı biyomedikal uygulamalar için fonksiyonlandırılmış metalli (ZnPc) ve metallsiz (H₂Pc) asimetric ftalosiyanın bileşikleri tasarlandı. Ftalosiyanın çekirdeği, üç solketal birimi ve bir fonksiyonlandırılmış kısmı taşıyan bağlantı grubu içermektedir. Fonksiyonlandırılmış kısım klik kimyası ile karbonhidrat molekülleri bağlayabilmek için azido grubunu, peptit moleküllerini bağlayabilmek için karboksilli asit grubunu içermektedir.

Dördüncü kısımda, oktasolketal sübstitüe ftalosiyanınların serisi sentezlendi. Pozisyon ve metal etkisi ¹³C NMR spektroskopisi ile ilk olarak sistematik bir şekilde incelendi.

Bu tez kapsamında elde edilen sonuçlar gelecek vaat etmektedir ve çalışmaların tamamlanması için daha fazla solketal ve gliserol sübstitüe ftalosiyanın hazırlanarak zenginleştirilebilir.

SUMMARY

TITLE OF THESIS: SOLKETAL AND GLYCEROL SUBSTITUTED PHTHALOCYANINES

AUTHOR: Yunus ZORLU

This thesis work consists of four different parts.

In the first part, two novel water-soluble, non-ionic glycerol substituted, zinc phthalocyanines (Pcs) have been synthesized. Their spectroscopic and photodynamic properties have been investigated in aqueous media. In conclusion, photodynamic activity was shown to be linked to the aggregation state of the Pcs in water.

In the second part, a complete set of solketal substituted Pt(II) Pcs has been synthesized and characterized. To evaluate their potential as Type II photosensitizer for photodynamic therapy, comparative studies of their photophysical (electronic absorption, fluorescence quantum yields, lifetimes, and fluorescence quenching by benzoquinone) and photochemical properties (singlet oxygen and photodegradation quantum yields) an analogous Zn(II) series have been achieved, demonstrating that Pt(II) Pcs are suitable photosensitizers for photodynamic therapy.

In the third part, two asymmetrically functionalized solketal substituted Pcs were designed for two different biomedical applications: photodynamic therapy and radiolabelled imaging. The Pc core bears three solketal units and a spacer bearing the functionalized part, respectively azido for further carbohydrate click grafting and carboxylic acid for peptide labelling, and is metalated adequately by a Zn or unmetalated.

In the fourth part, a series of octasolketal substituted Pcs have been synthesized. The effect of their metal and substitution pattern have been systematically studied by ^{13}C NMR spectroscopy for the first time.

In conclusion, the results obtained within the framework of this thesis are extremely promising, and can be enriched by the preparation of more glycerol and solketal substituted Pc derivatives to complete these studies.

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin tüm aşamalarında yardımcı olan, çalışmam süresince her türlü teşvik ve fedakârlığı esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez danışmanım, çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Fabienne DUMOULİN'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Kimya Bölümünde gerektiği her anda deneyim ve düşüncelerini sunan değerli hocam Prof. Dr. Vefa AHSEN'e, doktora çalışmalarım süresince gerekli olan her türlü imkanı sağlayan, yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Adem KILIÇ'a, çalışmalarım sırasında benden hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ayşe Gül GÜREK'e, tez jürimde yer alan ve değerli görüşlerini aldığım sayın Prof. Dr. Esin HAMURYUDAN'a, Doç. Dr. Ümit SALAN'a GYTE Kimya Bölümü öğretim üyelerine, araştırma görevlilerine ve uzmanlarına sonsuz teşekkür ederim.

Araştırma konularımızın sonuçlarının tamamlanmasında katkıda bulunan Universite Claude Bernard Lyon 1 Üniversitesi (Fransa) Organik Kimya Bölümünden Dr. Dominique LAFONT'a, Hull Üniversitesi (İngiltere) Kimya Bölümünden Dr. Ross W. BOYLE ve grubuna, ICPP-5 kongresinde tanışma fırsatı bulduğum Moskova Üniversitesi (Rusya) Fizikokimya Bölümünden Prof. Dr. Yuri ANTONENKO ve grubuna, Sherbrooke Üniversitesi (Kanada) Radyobiyooloji ve Nükleer Tıp bölümünden Prof. Dr. Johan van LIER ve grubuna teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan anneme, babama, kardeşlerime ve doktora tezimi hazırlarken benden bir an olsun bile manevi desteğini hiç esirgemeyen canımdan çok sevdiğim sevgili eşim Uzm. Dr. Derya Derince ZORLU'ya teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumunun (TÜBİTAK) 106T376 ve 109T523 nolu projeleri ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
TABLolar DİZİNİ	xx
SPEKTRUMLAR DİZİNİ	xxii
1. GİRİŞ	1
2. FOTODİNAMİK TERAPİ İÇİN SUDA ÇÖZÜNÜR GLİSEROL SÜBSTİTÜE Zn(II) FTALOSİYANİNLER	4
2.1. Fotodinamik Terapi (PDT)	4
2.1.1. Fotodinamik Terapi Tanımı ve Tarihçesi	4
2.1.2. Fotodinamik Terapi İçin Gereken Özellikler	6
2.1.3. Fotodinamik Terapi İçin Kullanılan Fotosensitizerler	8
2.1.3.1. Birinci Nesil Fotosensitizerler (Hematoporfirin (Hp) ve Photofrin)	8
2.1.3.2. İkinci Nesil Fotosensitizerler	11
2.1.3.3. Diğer Fotosensitizerler	11
2.1.3.4. Ftalosiyaninler	13
2.2. Suda Çözünür Ftalosiyaninler İle İlgili Yayınlanmış Çalışmalar	15
2.2.1. Suda Çözünür İyonik Ftalosiyaninler	15
2.2.2. Suda Çözünür İyonik Olmayan Ftalosiyaninler	21
2.2.2.1. Polietilen Glikol Sübstitüe Ftalosiyaninler	21
2.2.2.2. Karbonhidrat Sübstitüe Ftalosiyaninler	22
2.2.2.2.1. Sübstitüe Karbonhidratlı Simetrik Ftalosiyaninler	23
2.2.2.2.2. Sübstitüe Karbonhidratlı Asimetrik Ftalosiyaninler	27
2.3. Bu Çalışmada Tasarlanan Moleküller	28
2.4. Tartışmalar	31
2.4.1. Ftalonitrillerin Sentezi ve Karakterizasyonu	31

2.4.2. Ftalosiyaninlerin Sentezi ve Karakterizasyonu	34
2.4.3. Uygulamalar	44
2.4.3.1. Suda Çözünür Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiklerinin Fotodinamik Aktiviteleri	44
2.4.3.2. Suda Çözünür Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiğinin Lipozom Membranları ile Etkileşimi	45
2.5. Sonuçlar	46
3. FOTODİNAMİK TERAPİDE POTANSİYEL FOTOSENSİTİZER OLARAK TETRA VE OKTA SOLKETAL SÜBSTİTÜE Zn(II) VE Pt(II) FTALOSİYANİNLER	62
3.1. Fotofiziksel ve Fotokimyasal Özellikler	62
3.1.1. Fotofiziksel Özellikler	63
3.1.1.1. Ftalosiyaninlerin Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi	63
3.1.1.2. Floresans Spektroskopisi	64
3.1.1.3. Floresans Kuantum Verimi ve Ömrü (Φ_F , τ_F)	65
3.1.2. Fotokimyasal Özellikler	68
3.1.2.1. Singlet Oksijen Oluşumu ve Singlet Oksijen Kuantum Verimi (Φ_Δ)	68
3.1.2.2. Fotobozunma (Photodegradation) ve Fotobozunma Kuantum Verimi (Φ_d)	72
3.2. Konu İle İlgili Yayınlanmış Çalışmalar	75
3.2.1. Fotosensitizerlerin Fotofiziksel ve Fotokimyasal Parametreleri	75
3.2.2. Pt(II) Ftalosiyaninlerin Sentezi	79
3.3. Bu Çalışmada Tasarlanan Moleküller	81
3.4. Tartışmalar	82
3.4.1. Başlangıç Maddelerin Sentezi ve Karakterizasyonu	82
3.4.2. Ftalosiyaninlerin Sentezi ve Karakterizasyonu	86
3.4.3. Zn(II) ve Pt(II) Serilerinin Fotofiziksel ve Fotokimyasal Parametreleri	92
3.4.3.1. Temel Hal Elektronik Absorbsiyon Spektrumları	92
3.4.3.2. Zn(II) ve Pt(II) Bileşiklerinin Agregasyon Davranışlarının Karşılaştırılması	94
3.4.3.3. Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon Deneyleri	97

3.4.3.4. Fluoresans Kuantum Verimleri ve Ömürleri	99
3.4.3.5. Benzokinon ile Fluoresans Söndürme Çalışmaları	100
3.4.3.6. Singlet Oksijen Kuantum Verimleri (Φ_{Δ})	101
3.4.3.7. Fotobozunma Kuantum Verimleri (Φ_d)	103
3.5. Sonuçlar	105
4. BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN FONKSİYONLANDIRILMIŞ ASİMETRİK AB ₃ TİPİ FTALOSİYANİNLER	117
4.1. Biyomedikal Uygulamalar İçin Sentezlenmiş Asimetrik Ftalosiyanınlar	118
4.1.1. Ftalosiyanın-Antikor Konjugasyonu ile Fotodinamik Terapi Etkinliği	118
4.1.2. Ftalosiyanın-Altın Nanopartikül Konjugasyonu ile Fotodinamik Terapi Etkinliği	121
4.1.3. Ftalosiyanın-Oligonükleotit Konjugasyonu ile Fotodinamik Terapi Etkinliği	122
4.1.4. Ftalosiyanınların PET Görüntüleme Yönteminde Kullanımı	124
4.2. Asimetrik Ftalosiyanınların Sentez Metodu	125
4.2.1. İstatiksel Metot ile Asimetrik AB ₃ Türü Ftalosiyanınların Sentezi	125
4.2.2. Subftalosiyanın Yaklaşımı ile Asimetrik AB ₃ Tipi Ftalosiyanınların Sentezi	128
4.2.3. Polimerik Destek Yöntemi ile Asimetrik AB ₃ Tipi Ftalosiyanınların Sentezi	129
4.3. Bu Çalışmada Tasarlanan Moleküller	130
4.3.1. Fotodinamik Terapi Uygulamaları İçin Azido (–N ₃) Grubu Taşıyan Asimetrik Zn(II) Ftalosiyanın	131
4.3.2. Karboksilli Asit (–COOH) Grubu Taşıyan Asimetrik Zn(II) Ftalosiyanın	134
4.4. Tartışmalar	136
4.4.1. Sentez Stratejisi	136
4.4.2. Ftalonitrillerin Sentezi ve Karakterizasyonu	137

4.4.3. Asimetrik AB ₃ Tipi Zn(II) Ftalosiyenin Bileşiminin Sentezi ve Karakterizasyonları	138
4.4.4. Asimetrik AB ₃ Tipi Metalsiz Ftalosiyenin Bileşiminin Sentezi ve Karakterizasyonları	144
4.5. Sonuçlar	151
5. OKTASOLKETAL SÜBSTİTÜE FTALOSİYANİNLERDE SÜBSTİTÜENT VE METAL ETKİSİNİN ¹³ C NMR İLE İNCELENMESİ	152
5.1. Ftalosiyeninlerin ¹³ C NMR Deneyleri İle İlgili Çalışmalar	153
5.2. Bu Çalışmada Tasarlanan Moleküller	156
5.3. Tartışmalar	157
5.3.1. Oktasübstitüe Ftalosiyeninlerin Sentezi	157
5.3.2. Oktasübstitüe Ftalosiyeninlerin NMR Analizleri	163
5.3.2.1. Solketal Grubunun NMR Analizi	166
5.3.2.2. Ftalosiyenin Makrohalkasının NMR Analizi	167
5.4. Sonuçlar	168
6. SONUÇLAR	179
7. DENEYSEL KISIM	182
7.1. Kullanılan Madde Ve Aletler	182
7.2. Deneyler	184
7.2.1. 4-Nitroftalimid	184
7.2.2. 4-Nitroftalamit	184
7.2.3. 4-Nitroftalonitril	185
7.2.4. 3-Nitroftalimid	185
7.2.5. 3-Nitroftalamit	186
7.2.6. 3-Nitroftalonitril	186
7.2.7. 4-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril	187
7.2.8. 2,9(10),16(17),23(24)-tetra[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalosiyeninato Zn(II)	188
7.2.9. 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril	189
7.2.10. 1,8(11),15(18),22(25)-tetra[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalosiyeninato Zn(II)	190
7.2.11. 2,9(10),16(17),23(24)-tetra[(2,3-dihidroksipropoksi)]ftalosiyeninato Zn(II)	191

7.2.12. 1,8(11),15(18),22(25)-tetra[(2,3-dihidroksipropoksi)] ftalosiyaninato Zn(II)	192
7.2.13. (2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)-metil-4-metilfenilsulfat	193
7.2.14. 3,6-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril	194
7.2.15. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyaninato Zn(II)	195
7.2.16. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta [(2,3-dihidroksipropoksi)] ftalosiyaninato Zn(II)	196
7.2.17. 4-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,3-dihidro-1,3- diiminoizindol	197
7.2.18. 2,9(10),16(17),23(24)-tetra[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan- 4-yl) metoksi]ftalosiyaninato Pt(II)	198
7.2.19. 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,3-dihidro-1,3- diiminoizindol	199
7.2.20. 1,8(11),15(18),22(25)-tetra[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan- 4-yl) metoksi]ftalosiyaninato Pt(II)	200
7.2.21. 4,5-dibromokatekol	201
7.2.22. 3,4-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,2-dibromo benzen	201
7.2.23. 3,4-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril	202
7.2.24. 5,6-di-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,3-dihidro - 1,3-diiminoizindol	203
7.2.25. 2,3,9,10,16,17,23,24-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyaninato Pt(II)	204
7.2.26. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyaninato Pt(II)	205
7.2.27. 4-(2-{2-[2-(2-hidroksietoksi) etoksi]etoksi}etoksi)ftalonitril	206
7.2.28. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]- 24-[(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyaninato Zn(II)	207
7.2.29. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi] - 24-[12-O-mesil-(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyaninato Zn(II)	208
7.2.30. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi] - 24-[12-azido-(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyaninato Zn(II)	209

7.2.31. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi] - 24-[(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyenin	210
7.2.32. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]- 24-[12-O-mesil-(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyenin	211
7.2.33. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]- 24-[12-O-benzoikasit-(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyenin	212
7.2.34. 2,3,9,10,16,17,23,24-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyenin	213
7.2.35. 2,3,9,10,16,17,23,24-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyeninato Zn(II)	214
7.2.36. 2,3,9,10,16,17,23,24-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyeninato Ni(II)	215
7.2.37. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyenin	216
7.2.38. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyeninato Ni(II)	217
8. SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN YAPILARI VE SPEKTRUMLARI	218
8.1. Başlangıç Maddelerinin Yapıları	218
8.2. Ftalosiyenin Bileşiklerinin Yapıları	219
8.3. Spektrumlar	222
8.3.1. 10 Bileşiğine Ait Spektrumlar	222
8.3.2. 11 Bileşiğine Ait Spektrumlar	223
8.3.3. 12 Bileşiğine Ait Spektrumlar	224
8.3.4. 13 Bileşiğine Ait Spektrumlar	225
8.3.5. 14 Bileşiğine Ait Spektrumlar	226
8.3.6. 15 Bileşiğine Ait Spektrumlar	227
8.3.7. 18 Bileşiğine Ait Spektrumlar	228
8.3.8. 19 Bileşiğine Ait Spektrumlar	228
8.3.9. 20 Bileşiğine Ait Spektrumlar	230
8.3.10. 21 Bileşiğine Ait Spektrumlar	230
8.3.11. 22 Bileşiğine Ait Spektrumlar	231
8.3.12. 23 Bileşiğine Ait Spektrumlar	232
8.3.13. 24 Bileşiğine Ait Spektrumlar	232

8.3.14. 25 Bileşigine Ait Spektrumlar	233
8.3.15. 27 Bileşigine Ait Spektrumlar	234
8.3.16. 30 Bileşigine Ait Spektrumlar	234
8.3.17. 31 Bileşigine Ait Spektrumlar	235
8.3.18. 32 Bileşigine Ait Spektrumlar	236
8.3.19. 33 Bileşigine Ait Spektrumlar	236
8.3.20. 34 Bileşigine Ait Spektrumlar	237
8.3.21. 35 Bileşigine Ait Spektrumlar	239
8.3.22. 36 Bileşigine Ait Spektrumlar	240
8.3.23. 37 Bileşigine Ait Spektrumlar	241
8.3.24. 38 Bileşigine Ait Spektrumlar	241
8.3.25. 39 Bileşigine Ait Spektrumlar	242
8.3.26. 40 Bileşigine Ait Spektrumlar	243
8.3.27. 41 Bileşigine Ait Spektrumlar	244
8.3.28. 42 Bileşigine Ait Spektrumlar	245
8.3.29. 43 Bileşigine Ait Spektrumlar	245
8.3.30. 44 Bileşigine Ait Spektrumlar	246
KAYNAKLAR	247
ÖZGEÇMİŞ	259

SİMGELER VE KISALTMALAR

Pc	Ftalosiyanin
PcH ₂	Metalsiz Ftalosiyanin
PcM	Metalli Ftalosiyanin
SubPc	Subftalosiyanin
DMAE	Dimetilaminoetanol
DBU	1,8-Diazabisiklo[5.4.0]undec-7-ene(1,5,5)
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
UV/Vis.	Ultraviyole/Visible
FT-IR	Fouirer Transform Infrared
ES	Electron Spray
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
TLC	Thin Layer Chromatography
DMF	Dimetilformamit
TEA	Trietilamin
TsCl	Tosilklorür
MsCl	Mesilklorür
NMP	1-Metil-2-pirolidon
n-Bu ₄ NBr	Tetrabütilamonyum bromür
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
p-TsOH	p-toluensülfonikasit
TFA	Trifloroasetikasit
DMSO	Dimetilsülfoksit
DCM	Diklorometan
LD ₉₀	Lethal Dose
HT-29	Human Colon Adenocarcinoma
THF	Tetrahidrofuran
ADMA	Tetrasodium anthracene-9,10-bis-methylmalonate
DPBF	1,3-difenilisobenzofuran

m-THPC	Meta-Tetra-hidrosifenil klorin
HPD	Hematoporphyrin Derivative
PS	Fotosensitizer
PF	Porfirin
Φ_F	Floresans Kuantum Verimi
Φ_Δ	Singlet Oksijen Kuantum Verimi
Φ_d	Fotobozunma Kuantum Verimi
τ_F	Floresans Ömrü (lifetime)
PDT	Fotodinamik Terapi
VR	Vibrational Relaxation (Titreşimsel Durulma)
IC	Internal Conversion (İç Dönüşüm)
EC	External Conversion (Dış Dönüşüm)
ISC	Intersystem Crossing (Sistemler Arası Geçiş)
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
HSQC	Hetero Single Quantum Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight
ESI-MS	Electrospray Ionization-Mass Spectrometry

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Işık ile Tedavi Uygulamaları [10]	4
2.2. 1900'den Günümüze PDT Tarihi	5
2.3. Fotodinamik Terapi Yöntemi ile Kansere Tedavisi	6
2.4. Eter ve Ester Bağlı Oligomerlerden Oluşan Photofrin® Yapısı [21]	9
2.5. Hematoporfirin Yapısı [22, 23]	10
2.6. Tetrafenilporfirin (TPP) ve Tetrasülfolanmış Porfirinin (TPPS ₄) [24, 25]	10
2.7. Fotodinamik Terapide Kullanılan Diğer Fotosensitizerler [27-31]	12
2.8. Azadipirometen ve Boron Dipirometen Boyaları [27-31]	12
2.9. Alüminyum Ftalosiyanın Türevleri ve Pc ₄ Molekülü [37]	14
2.10. Tetrasülfolanmış Ftalosiyanın Bileşiği [44]	15
2.11. Suda Çözünür İyonik Ga(III) Ftalosiyanın Sentezi [42]	16
2.12. Suda Çözünür İyonik Co(II) Ftalosiyanın Bileşiğinin Sentezi [41]	17
2.13. Suda Çözünür İyonik Silisyum(IV) Ftalosiyanın Bileşiğinin Sentezi [45]	18
2.14. Suda Çözünür İyonik Silisyum Ftalosiyanın Sentezi [46]	19
2.15. Suda Çözünür İyonik Olmayan Zn(II) Ftalosiyanın Sentezi [47]	20
2.16. Suda Çözünebilir Ni(II), Co(II), Cu(II), Zn(II) Ftalosiyanın Türevleri [48]	21
2.17. Dallanmış Polietilen Glikol Sübstitüe Ftalosiyanın Türevleri [26, 55]	22
2.18. Suda Çözünebilir Tetra D-Glukoz Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyanın [49]	23
2.19. Tetraglukoz Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyanın Sentezi [52]	24
2.20. O ve S Köprülü Sübstitüe Karbonhidrat-Ftalosiyanın [56]	25
2.21. Tetragalaktoz Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyanın [57]	25
2.22. Oktagalaktoz Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyanın [50, 53]	26
2.23. Oktaklukoz ve Oktagalaktoz Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyanın [58]	26
2.24. Tetragalaktoz Sübstitüe Asimetrik Zn(II) Ftalosiyanın [52]	27
2.25. Siklodekstrin Sübstitüe Asimetrik Zn(II) Ftalosiyanın Sentezi [59]	28
2.26. Solketal ve Gliserol Formları [64, 65]	29
2.27. Suda Çözünebileceği Düşünülen PDT Amaçlı İyonik Olmayan Zn(II) Ftalosiyanın Türevleri	31
2.28. 4-nitroftalonitril Bileşiğinin (4) Sentez Metodu [70-72]	31
2.29. 3-nitroftalonitril Bileşiğinin (8) Sentez Metodu [70-72]	31

2.30. Periferal ve Nonperiferal Tetrasolketal Süstitüe Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiklerinin (11 ve 13) Sentez Metodu	35
2.31. Non-periferal Oktasolketal Süstitüe Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiğinin (20) Sentez Metodu	36
2.32. Periferal ve Nonperiferal Tetragliserol Zn(II) Ftalosiyanin Bileşikleri (14,15)	37
2.33. Nonperiferal Oktasüstitüe Zn(II) Ftalosiyanin Bileşikleri (20,21)	38
2.34. ZnPc(II) Bileşikleri (14) ve (15) İçin Artan Konsantrasyonlarına Bağlı Olarak Işığa Maruz Bırakılmadan Önce (kırmızı çizgi) ve Maruz Bırakıldıktan Sonraki (mavi) HT-29 Hücrelerinde Sağ Kalım Eğrisi	45
2.35. 15 Bileşiği ile İnkübe Edilen HT-29 Kanseri Hücreleri İçin Floresans Mikroskop Görüntüsü ($\lambda_{ex} = 400 \text{ nm}$; $\lambda_{emm} > 620 \text{ nm}$)	45
3.1. Elektromagnetik Işımanın Dalga Hareketi	62
3.2. Metalsiz (i) ve Metalli (ii) Ftalosiyaninlerin UV-Vis. Spektrumları (Q ve B bandları)	63
3.3. Jablonski Enerji Diagramı	64
3.4. Singlet Oksijen Oluşumu	69
3.5. Singlet Oksijen Reaksiyonları	70
3.6. Singlet Oksijen ve DPBF'in Katılma Tepkimesi	71
3.7. Pc Bileşiğinin Fotobozunması (Photodegradation)	73
3.8. PDT Amaçlı Sentezlenmiş Zn(II), Ga(III) ve In(III) Ftalosiyanin Bileşikleri [15, 42, 69, 98]	77
3.9. Pirolidin-Bağlı Klorinin Pd(II) ve Pt(II) Kompleksleri [9].	78
3.10. Tetrasülfolanmış Pd(II) ve Pt(II) Kompleksleri [122]	78
3.11. Fenoksi ve Benziloksifenoksi Süstitüe Pt(II) Ftalosiyaninler [129]	79
3.12. $(C_{12}H_{25}O)_8PcPt$ Bileşiğinin Sentezi [130]	80
3.13. Fonksiyonlandırılmış Asimetrik Pt(II) Ftalosiyanin Bileşiği [131]	80
3.14. Tetranitro ve Tetraamino Pt(II) Ftalosiyaninler [132]	80
3.15. Periferal ve Non-periferal Tetra ve Oktasüstitüe Ftalosiyaninler (M: Zn, Pt)	82
3.16. Katekolden (26) Başlayarak Ftalonitril Bileşiğinin (29) Sentezi	83
3.17. Periferal Tetra Solketal Süstitüte Pt(II) Ftalosiyaninin (23) Sentez Metodu	88

3.18. Non-periferal Tetra Solketal Sübstitüe Pt(II) Ftalosiyaninin (25) Sentez Metodu	88
3.19. Periferal Okta Solketal Sübstitüe Pt(II) Ftalosiyaninin (31) Sentez Metodu	88
3.20. Non-periferal Okta Solketal Sübstitüe Pt(II) Ftalosiyaninin (32) Sentez Metodu	89
3.21. Bu Çalışmada Pt(II) Ftalosiyaninler İle Ölçümleri Karşılaştırılacak Olan Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyaninler	89
3.22. Fotokimyasal Ölçüm Düzenegi.	102
4.1. Hedefe Yönelik Asimetrik Ftalosiyaninler İçin Genel Sentez Stratejisi	117
4.2. İzotiyosiyanat Sübstitüe Asimetrik Ftalosiyaninler [147]	120
4.3. MoAb'ye Direk Bağlanan Al(III) Ftalosiyanin [145, 146]	120
4.4. Bombesin-AlPcS ₄ Konjugatın Yapısı [201]	121
4.5. Merkaptotiyol İle Fonksiyonlandırılmış Asimetrik Ftalosiyanin [157, 202]	121
4.6. İzotiyosiyanat Sübstitüe Çinko Ftalosiyaninin Oligonükleotit İle Konjugasyonu [158]	122
4.7. Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyaninin Oligonükleotit İle Konjugasyonu [203]	123
4.8. [⁶⁴ Cu]CuPcS _n ; R = H or SO ₃ Na [164]	125
4.9. İki Farklı Ftalonitril veya Diiminoizindolinden Elde Edilebilen Altı Farklı Ftalosiyanin Sentezi [166]	126
4.10. Asimetrik AB ₃ Tipi Ni(II) Ftalosiyanin [179]	127
4.11. Subftalosiyanin Yaklaşımı ile Asimetrik Ftalosiyanin Sentezi [172]	128
4.12. Polimerik Destek Yöntemi ile Asimetrik AB ₃ Tipi Ftalosiyaninlerin Sentezi [176]	129
4.13. Oligo(etilenglikol) Sübstitüe Asimetrik AB ₃ Tipi Ftalosiyaninlerin Katı Faz Sentezi [204]	130
4.14. 1. Tip Fonksiyonlandırılmış Asimetrik Ftalosiyaninde Rol Oynayan Önemli Parametreler	132
4.15. Bu Tez Kapsamında Sentezlenecek Olan 1. Tip Ftalosiyanin Bileşigi ve Bu Bileşikten Sentezlenecek AB ₃ Yapısındaki Karbonhidrat-Zn(II) Ftalosiyanin Konjugatları	133
4.16. 2. Tip Fonksiyonlandırılmış Asimetrik Ftalosiyaninde Rol Oynayan Önemli Parametreler	134

4.17. Bu Tez Kapsamında Sentezlenecek Olan 2. Tip Ftalosiyenin Bileşigi ve Bu Bileşikten Sentezlenecek AB ₃ Yapısındaki Peptit-Ftalosiyenin Konjugatı	135
4.18. 1.tip ve 2.tip Asimetrik Ftalosiyenin Bileşiklerinde Sentezinde Uygulanacak Metot	136
4.19. 33 Bileşiminin Sentez Reaksiyonu	137
4.20. Bu Çalışmada Sentezlenen Asimetrik Zn(II) Ftalosiyenin Bileşikleri	140
4.21. Asimetrik AB ₃ Tipi Ftalosiyenin Sentezi	145
4.22. Bu Çalışmada Sentezlenen Metalsiz Asimetrik Ftalosiyenin Bileşikleri (37, 38 ve 39)	147
5.1. 1,4,8,11,15,18,22,25-oktahekzilftalosiyenin ve 4,8,11,15,18,22,25 -oktano nilftalosiyenin [180]	154
5.2. 1,4,8,11,15,18-hekzadesil-22,25-bis(6-hidroksihekzil) Ni(II) ve Metalsiz AB ₃ Yapısındaki Asimetrik Ftalosiyenin [181]	155
5.3. Non-periferal Oktahekzil Süstitüe Mn(III) Ftalosiyenin [182]	155
5.4. Süstitüent ve Metal Etkisi İncelenecek Periferal ve Nonperiferal Oktasolketal Ftalosiyeninler (M= H ₂ , Ni, Zn, Pt)	156
5.5. Oktasüstitüe Ftalosiyeninlerin Genel Sentez Metodu	157
5.6. Bu Çalışmada Sentezlenen Non-Periferal Oktasüstitüe Ftalosiyeninler	158
5.7. Bu Çalışmada Sentezlenen Periferal Oktasüstitüe Ftalosiyeninler	159
5.8. Solketal ve Ftalosiyenin Kısmı İçin Numaralandırma Sistemi	163

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Ftalonitril Bileşikleri (10, 12 ve 19) İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri	34
2.2. Ftalosiyenin Bileşikleri (11, 13, 14, 15 ve 20) İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri	38
2.3. Zn(II) Ftalosiyenin Bileşikleri (11, 13, 14, 15 ve 20) İçin UV-Vis Ölçümlerinde Gözlenen Dalga Boyları ($\lambda_{\max}$) ve Ekstinksiyon (ϵ) Katsayıları	42
3.1. Bazı Fotosensitizerlerin Fotofiziksel ve Fotokimyasal Özellikleri	75
3.2. Bazı Zn(II), Ga(III) ve In(III) Ftalosiyenin Bileşiklerinin DMSO Çözücüsündeki Fotofiziksel ve Fotokimyasal Parametreleri	77
3.3. Diiminoizindolinler İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri	86
3.4. Bu Çalışmada Sentezlenen Ftalosiyeninlerin Verimleri (%)	87
3.5. Pt(II) Ftalosiyenin Bileşikleri [(23), (25), (31) ve (32)] İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri	91
3.6. Pt(II) Ftalosiyenin Bileşiklerinin [(23), (25), (31) ve (32)] HPLC Verileri	92
3.7. Zn(II) ve Pt(II) Serileri İçin Uv-Vis. Ölçümlerinde Gözlenen Maksimum Dalga Boyları ve Ekstinksiyon Katsayıları ($\lambda_{\max, nm}$), ($\log \epsilon$)	94
3.8. Zn(II) ve Pt(II) Serilerinin DMF Solventi İçinde Absorpsiyon, Eksitasyon ve Emisyon Spektrum Verileri	98
3.9. Zn(II) ve Pt(II) Ftalosiyeninlerin DMF Solventi İçinde Elde Edilen Fotofiziksel ve Fotokimyasal Parametreleri	99
3.10. DMF Solventinde Zn(II) Ftalosiyeninler İçin Floresans Söndürme Verileri	101
4.1. Ürün Karışımlarının İstatiksel Metotla Hesaplanan Oranları.	126
4.2. 33 Bileşiğin ^1H NMR Spektrumunda Gözlenen Kimyasal Kayma Değerleri	138
4.3. Asimetrik Ftalosiyeninler (34, 35 ve 36) İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri	141

4.4. Asimetrik Ftalosiyeninlerin (34, 35 ve 36) Uv-Vis Ölçümlerinde Gözlenen Maksimum Dalga Boyları ve Ekstinksiyon Katsayıları ($\lambda_{\max}$, nm), (log ϵ)	144
4.5. Asimetrik Ftalosiyeninler (37, 38 ve 39) İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri	148
4.6. Asimetrik Ftalosiyeninlerin (37, 38 ve 39) Uv-Vis. Ölçümlerinde Gözlenen Maksimum Dalga Boyları ve Ekstinksiyon Katsayıları ($\lambda_{\max}$, nm), (log ϵ)	150
5.1. Bu Çalışmada Sentezlenen Oktasüstitüe Ftalosiyeninlerin Verimleri	160
5.2. Bu Çalışmada Sentezlenen Oktasüstitüe Ftalosiyeninlerin Çözünürlükleri	160
5.3. Bu Çalışmada Sentezlenen Ftalosiyeninler İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri	161
5.4. Bu Çalışmada Sentezlenen Oktasüstitüe Ftalosiyeninlerin Elektronik Absorpsiyon Değerleri	161
5.5. Oktasüstitüe Ftalosiyeninlerin NMR Deneylerinin Yapıldığı NMR Solventleri	163
5.6. Oktasüstitüe Ftalosiyeninlerin ^{13}C NMR Kimyasal Kayma Değerleri	167
7.1 Sentezlerde, Ayırma ve Saflaştırma İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler	182
7.2 Yapı Aydınlatma ve Sentez Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar	183

SPEKTRUMLAR DİZİNİ

<u>Spektrum</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. 12 Bileşiğinin FT-IR Spektrumu	33
2.2. 19 Bileşiğinin Kütle Spektrumu	33
2.3. Solketal Süstitüe Ftalosiyanin Bileşiklerinin (11-mavi), (13-pembe) ve (20-sarı) UV-Vis. Spektrumlarının Karşılaştırılması	36
2.4. 14 Bileşiğinin Kütle Spektrumu	39
2.5. 11 ve 14 Bileşiklerinin ^1H NMR Spektrumlarının Karşılaştırılması	40
2.6. 11 ve 14 Bileşiklerinin ^{13}C NMR Spektrumlarının Karşılaştırılması	41
2.7. 14 ve 15 Bileşiklerin DMSO ve Su İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis Spektrumları	43
2.8. 14 ve 15 Bileşiklerinin İçin Su İçerisinde Farklı Konsantrasyonlarda Alınmış UV-Vis. Spektrumu	43
3.1. Ftalonitril (12) ve Diiminoizindolin (24) Bileşiklerinin FT-IR Spektrumlarının Karşılaştırılması	84
3.2. 30 Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu	85
3.3. 30 Bileşiğinin ^{13}C NMR Spektrumu	86
3.4. 23 Numaralı Pt(II) Ftalosiyanin Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu	90
3.5. 23 Numaralı Ftalosiyanin Bileşiğinin ^{13}C NMR Spektrumu	91
3.6. Süstitüe Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiklerinin (11, 13, 41 ve 20) DMF İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis. Spektrumları	93
3.7. Süstitüe Pt(II) Ftalosiyanin Bileşiklerinin (23, 25, 31 ve 32) DMF İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis. Spektrumları	94
3.8. Çeşitli Solventlerde Agregasyon Davranışlarının Karşılaştırılması (a) DMF'te (11) ve (23) (b) THF'de (25) ve (13) (c) Toluen'de (41) ve (31) (d) Kloroform'da (20) ve (32)	95
3.9. 11 Bileşiği Üzerine Triton X İlave Edilmeden Önceki ve Sonraki Durumu	96
3.10. (41) (a) ve (32) (b) Ftalosiyaninlerde DMF İçerisindeki Farklı Konsantrasyonda Agregasyon Davranışları: 14×10^{-6} (A), 12×10^{-6} (B), 10×10^{-6} (C), 8×10^{-6} (D), 6×10^{-6} (E), 4×10^{-6} (F) mol.dm $^{-3}$	97
3.11. (a) (11) ve (b) (23) Ftalosiyaninlerin DMF Solventi İçinde Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon Spektrumları. Eksitasyon Dalgaboyu: 650 nm	98
3.12. DMF İçinde BQ'nun Farklı Konsantrasyonlarda Eklenmesi Üzerine (41)	

(1.00×10^{-5} mol dm ⁻³) Kompleksindeki Floresans Emisyon Değişimleri [BQ]	
= 0, 0.008, 0.016, 0.024, 0.032, 0.040 mol dm ⁻³	101
3.13. DMF İçinde (11), (13), (41) ve (20) Komplekslerinin Benzokinon Söndürücüsü İçin Stern-Volmer İşaretleri. [MPc] $\sim 1.00 \times 10^{-5}$ mol dm ⁻³ . [BQ]	
= 0, 0.008, 0.016, 0.024, 0.032, 0.040 mol dm ⁻³	101
3.14. 25 Bileşiğinin Singlet Oksijen Kuantum Verimi Ölçümleri Sırasındaki UV-Vis Spektrumu Değişimi. Konsantrasyon: 1×10^{-5}	102
3.15. 20 Bileşiğinin Fotobozunma Kuantum Verimi Ölçümleri Sırasındaki UV-Vis Spektrumu Değişimi	104
3.16. 32 Bileşiğinin Fotobozunma Kuantum Verimi Ölçümleri Sırasındaki UV-Vis Spektrumu Değişimi	104
4.1. 33 Bileşiğin Kütle Spektrumu	138
4.2. 36 Bileşiğin FT-IR Spektrumu	142
4.3. 34 Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	143
4.4. Asimetrik Ftalosiyeninlerin (34, 35 ve 36) DMSO İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis Spektrumlarının Karşılaştırılması	144
4.5. 37 Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	149
4.6. Asimetrik Ftalosiyeninlerin (37, 38 ve 39) DMF İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis Spektrumlarının Karşılaştırılması	150
4.7. 39 Bileşiğin Değişik Çözücüler İçerisindeki Agregasyon Davranışlarının Karşılaştırılması	151
5.1. α NiPc, α ZnPc ve α H ₂ Pc İçin DMSO'da 10mM Konsantrasyonda Alınmış UV-Vis Spektrumu	162
5.2. α NiPc, α ZnPc ve α H ₂ Pc İçin Kloroformda 10mM Konsantrasyonda Alınmış UV-Vis Spektrumu	162
5.3. β NiPc, β ZnPc ve β H ₂ Pc İçin Kloroformda 10mM Konsantrasyonda Alınmış UV-Vis. Spektrumu	162
5.4. Non-periferal ve Periferal Ftalosiyeninlerin ¹³ C NMR Spektrumlarının Karşılaştırılması	165
8.1. 10 Bileşiğine Ait ¹ H NMR Spektrumu	222
8.2. 10 Bileşiğine Ait ¹³ C NMR Spektrumu	222
8.3 11 Bileşiğine Ait ¹ H NMR Spektrumu	223
8.4 11 Bileşiğine Ait ¹³ C NMR Spektrumu	223

8.5. 11 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	223
8.6. 12 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	224
8.7. 12 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	224
8.8. 13 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	225
8.9. 13 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	225
8.10. 13 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	225
8.11. 14 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	226
8.12. 14 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	226
8.13. 14 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	226
8.14. 15 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	227
8.15. 15 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	227
8.16. 15 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	227
8.17. 18 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	228
8.18. 18 Bileşigine Ait FT-IR Spektrumu	228
8.19. 19 Bileşigine Ait FT-IR Spektrumu	228
8.20. 19 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	229
8.21. 19 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	229
8.22. 19 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	229
8.23. 20 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	230
8.24. 20 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	230
8.25. 21 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	230
8.26. 22 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	231
8.27. 22 Bileşigine Ait FT-IR Spektrumu	231
8.28. 22 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	231
8.29. 22 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	231
8.30. 23 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	232
8.31. 24 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	232
8.32. 24 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	232
8.33. 24 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	233
8.34. 25 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	233
8.35. 25 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	233
8.36. 25 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	234
8.37. 27 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	234

8.38. 30 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	234
8.39. 30 Bileşigine Ait FT-IR Spektrumu	235
8.40. 31 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	235
8.41. 31 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	235
8.42. 32 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	236
8.43. 32 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	236
8.44. 33 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	236
8.45. 33 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	237
8.46. 33 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	237
8.47. 34 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	237
8.48. 34 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	238
8.49. 34 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	238
8.50. 35 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	239
8.51. 35 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	239
8.52. 36 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	240
8.53. 36 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	240
8.54. 36 Bileşigine Ait ^{13}C NMR Spektrumu	240
8.55. 37 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	241
8.56. 38 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	241
8.57. 38 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	241
8.58. 39 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	242
8.59. 39 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	242
8.60. 40 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	243
8.61. 40 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	243
8.62. 41 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	244
8.63. 41 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	244
8.64. 42 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	245
8.65. 42 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	245
8.66. 43 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	245
8.67. 43 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	246
8.68. 44 Bileşigine Ait Kütle Spektrumu	246
8.69. 44 Bileşigine Ait ^1H NMR Spektrumu	246

1. GİRİŞ

Günümüzde insanoğlunun karşı karşıya kaldığı en önemli sağlık problemlerinden birisi olan kanser, iç ve/veya dış etkenler sonucu farklılaşan hücrelerin kontrolsüzce çoğalması ile oluşmaktadır. Farklılaşmış hücrelerin oluşturduğu tümör kötü huylu ise tedaviden sonuç alınamaması halinde ölüm ile sonuçlanmaktadır. Her yıl yüz binlerce insan kanser nedeniyle hayatlarını kaybetmektedir. Günümüzde kanser tedavisinde ameliyat, kemoterapi ve ışıntedavisi olmak üzere üç temel tedavi yöntemi uygulanmaktadır. 1960'ların başında şekillenmeye başlayan Fotodinamik Terapi (PDT) yöntemi yan etkileri, uzun, ağırlı iyileşme süreçleri ve nüksetme riski taşıyan bu yöntemlere alternatif olarak geliştirilmiştir.

PDT yöntemi yan etkileri nispeten daha az olan kanser tedavi yöntemidir. PDT yöntemi, belirli bir dalga boyundaki ışığa duyarlı malzemelerin (fotosensitizer) tümörlü dokuda birikmesi ve fotosensitizerin uygun ışık ile uyarılarak tümörü yok etmesi ilkesine dayanmaktadır. Işıkla uyarılan fotosensitizer tepkimeler sonucunda aşırı reaktif ve toksik singlet oksijen açığa çıkarır. Singlet oksijen çevre dokulara zarar vermeden yalnızca biriktiği bölgedeki normal olmayan hücrelerin ölmesini sağlar.

PDT, A.B.D, Almanya, Japonya, İngiltere, Fransa, Hollanda, Kanada gibi birçok ülke sağlık kurumu tarafından birçok kanser tedavi uygulamaları için onaylanmıştır. PDT 1960'ların başında şekillenmeye başlamış, 1980'lerin başında Amerikan Yiyecek ve İlaç Kurulu'nun (Food and Drug Administration (*FDA*)) hematoporphyrin (HpD) türevi olan Photofrin isimli ilacın klinik uygulamalarına onay vermesiyle birçok kanserin tedavisinde uygulanmaya başlanmıştır [1, 2].

PDT'de ışığa duyarlı malzemeler (fotosensitizer) olarak kullanılan bileşiklerden bir tanesi de ftalosiyanin bileşikleridir. Yüksek dalga boyunda (near IR) absorpsiyon yapmaları, yüksek triplet kuantum verimleri, triplet halde kalma sürelerinin uzun olması ve etkili bir şekilde singlet oksijen oluşturabilme kapasiteleri nedeniyle ftalosiyanin bileşikleri PDT ile kanser tedavisinde

kullanılabilecek hedef moleküllerdir [3]. Özellikle son yıllarda bu bileşiklerin PDT özellikleri üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda elde edilmiş olan ftalosiyanin bileşikleri Photosens[®] ve Pc4, PDT ile kanser tedavisi için klinik çalışmalarda kullanılmaktadır [4-8]. Klinik çalışmalarda bu ftalosiyanin türevleri iyi performans göstermekte fakat tümörler için doku seçiciliği gösteren fotosensitizer değildirler. Seçici olmadıkları için tümör hücreleri yok ederken normal hücreleri de ortadan kaldırmaktadırlar. Bu sebeple yeni molekül stratejisi geliştirerek ftalosiyanin bileşiklerinin değişik gruplarla (örneğin ftalosiyanin-antikor, ftalosiyanin-peptit, ftalosiyanin-altın nanopartikül) fonksiyonlandırılması sonucu başta kanser tedavisinde olmak üzere diğer biyomedikal alanlarda ilaç olarak geliştirilebilecek bir molekül olma özelliği kazandırılabilir. Son on yıl içinde kanser hücrelerinin gelişimini yavaşlatacak veya durduracak “akıllı moleküller” olarak giderek artan sayılarda suda çözünebilir iyonik ftalosiyanin bileşikleri tanımlanmaya başlanmıştır. Genelde bu çalışmalarda iyonik (anyonik veya katyonik) suda çözünebilir ftalosiyanin türevleri üzerine çalışıldığı ve iyonik olmayan suda çözünebilir türevleri üzerine çalışılmadığı görülmüştür. Bu tez kapsamında ise “hedef molekül olarak” iyonik olmayan suda çözünebilir ftalosiyanin türevleri incelenecektir.

Dört farklı çalışmadan oluşan bu tez çalışmamızda solketal ve gliserol birimleri kullanarak sentezini gerçekleştirdiğimiz simetrik ve asimetrik ftalosiyanin bileşiklerinin, başta PDT’de fotosensitizer olmak üzere diğer biyomedikal alanlarda kullanılabilirliği amaçlanmıştır.

İlk çalışmamızda, suda çözünür iyonik olmayan ftalosiyaninlerin sentezi, karakterizasyonu yapılmış ve kanser hücrelerine karşı PDT aktiviteleri *in vitro* denemelerle incelenmiştir. Özellikle vücut sıvısı içerisine direkt olarak verilebildiği için suda çözünebilir ftalosiyaninlerin sentezlenmesi PDT uygulamaları açısından çok önemlidir. Ayrıca bu kısımda PDT çalışmalarında çok iyi etki gösteren non-periferik tetragliserol süstitüe Zn(II) ftalosiyanin bileşiğinin membranlar ile etkileşim çalışmalarında incelenmiştir.

Işığa duyarlı malzemelerin PDT’de kullanılması için singlet oksijen oluşturabilme yeteneğine sahip olması gerekmektedir. Pt(II) gibi ağır metal atomlarının çok etkin bir şekilde singlet oksijen oluşturma kapasitesine sahip bileşikler olduğu belirtilmektedir [9]. İkinci çalışmamızda, Pt(II) ftalosiyanınların bileşiklerinin sentez ve karakterizasyon işlemleri yapılmıştır. PDT’ye uygunluğunu araştırmak için benzer Zn(II) serileri ile fotofiziksel (fluoresans kuantum verimleri ve ömürleri) ve fotokimyasal (singlet oksijen kuantum verimleri, fotobozunma kuantum verimleri) özellikleri karşılaştırılmıştır.

Üçüncü çalışmamızda, asimetrik ftalosiyanınların sentezi ve karakterizasyon işlemleri yapılmıştır. Bu kısımdaki asimetrik ftalosiyanınlar iki amaç için tasarlanmıştır. Bunlardan birincisi, değişik karbonhidrat serilerini (glukoz, galaktoz, laktoz ve mannoz) ftalosiyanınlara klik kimyası ile bağlayarak PDT için suda çözünür ftalosiyanın bileşikleri hazırlamaktır. Bu şekilde karbonhidrat serilerinin biyoygunluğunu arttırabileceği düşünülmektedir. İkincisi ise son yıllarda geliştirilen modern görüntüleme yöntemlerinden biri olan ‘‘Pozitron Emisyon Tomografi’’ (PET) tekniği ile ışığa duyarlı malzemenin vucuda verildikten sonra, tümör hücrelerinin dışarıdan takip edilebilmesini sağlayan bir fotosensitizer geliştirmektir. Bu çalışmada sentezi gerçekleştirilen metallsiz asimetrik ftalosiyanının daha ileri reaksiyonlar gerçekleştirilerek karboksilli asit üzerinden peptit grubunun bağlanması ve Cu⁶⁴ radyoaktif metali ile merkezine yerleştirilmesi amaçlanmıştır.

Dördüncü ve son çalışmamızda, ftalosiyanın bileşikleri üzerinde süstitüent ve metal etkisine bağlı sistematik çalışmalar başta ¹³C NMR spektroskopisi olmak üzere diğer ileri NMR teknikleri (DEPT, HSQC, HMBC) kullanılarak sistematik bir şekilde incelenmiştir.

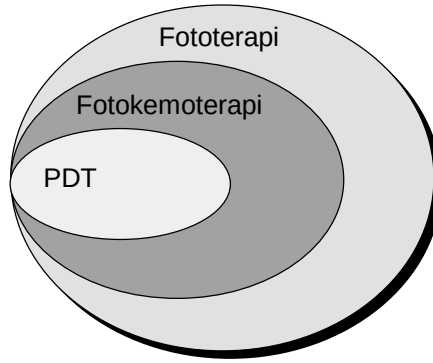
Sentezlenen ve izole edilebilen ürünler uygun yöntemlerle saflaştırıldıktan sonra kütle spektrometresi, ¹³C, ¹H NMR, FT-IR ve UV-Vis spektrofotometresi teknikleri ile incelendiler. Elde edilen sonuçlarla sentezlenen yeni bileşiklerin yapıları aydınlatıldı ve özellikleri belirlendi.

2. FOTODİNAMİK TERAPİ İÇİN SUDA ÇÖZÜNÜR GLİSEROL SÜBSTİTÜE $Zn(II)$ FTALOSİYANİNLER

2.1. Fotodinamik Terapi (PDT)

2.1.1. Fotodinamik Terapi Tanımı ve Tarihçesi

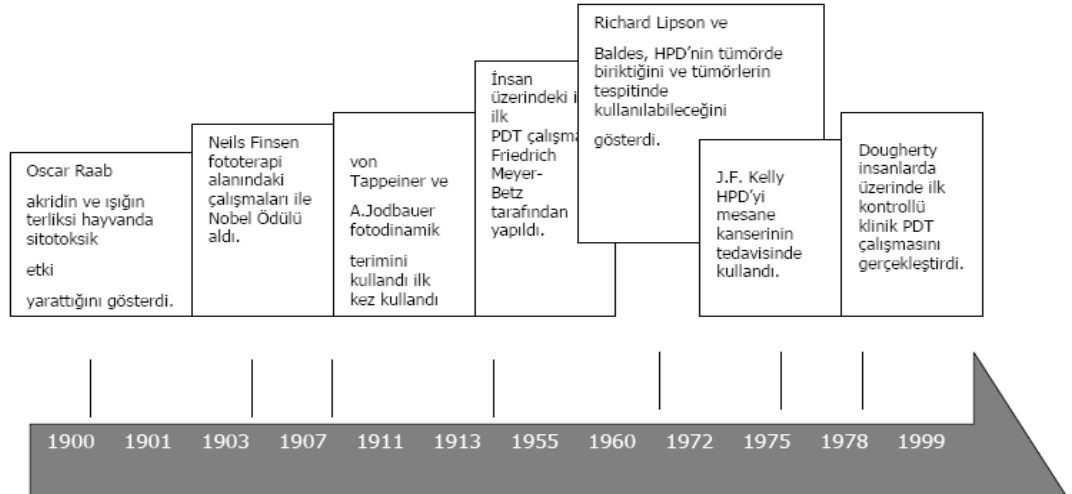
Ultraviyole (UV), görünür ya da görünüre yakın bölgedeki ışığın tedavi edici olarak kullanıldığı tüm uygulamalar fototerapi olarak adlandırılır. Işığa duyarlı bir fotokemoterapotik ajanın kullanıldığı fototerapi uygulamaları için fotokemoterapi terimi kullanılmaktadır. PDT ise fotokemoterapinin bir alt dalıdır (Şekil 2.1) [10].



Şekil 2.1. Işık ile Tedavi Uygulamaları [10]

Güneş ışığının sağlık üzerindeki etkisi uzun zamandır bilinmektedir. Heredot (M.Ö. 6. yy.) güneş ışığının kemik gelişimi üzerindeki etkisinden bahsederken, Hipokrat (M.Ö. 460-370) güneş ışığının kronik hastalıklar üzerinde iyileştirici etkisi olduğunu savunmuştur. Fototerapiyi bilimsel bir yöntem olarak ilk kez kullanan ise Niels Finsen olmuştur. 19. yüzyılın sonlarında Finsen, kırmızı ışık kullanılarak çiçek hastalığını tedavi etmeyi başarmış, ayrıca kırmızı ışığın sivilcelerin cerahat toplamasını engellediğini göstermiştir. Güneşten elde ettiği UV ışığı kullanarak deri tüberkülozunu (lupus vulgaris) tedavi etmeyi başaran Finsen, bu çalışmasıyla Nobel Ödülü almıştır.

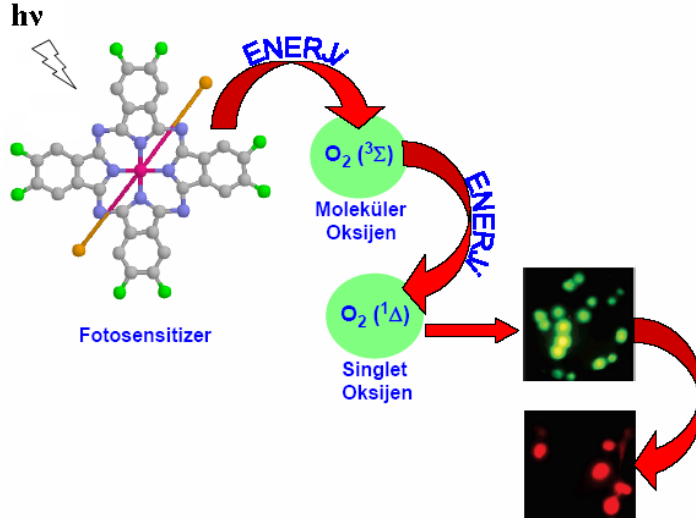
Günümüzden 100 yıl önce ışık ile bazı kimyasaların birlikte kullanımının hücre ölümünü tetiklediği görülmüştür. 1900 yılında Oscar Raab, akrinin uygun dalga boyunda ışığa maruz bırakılmış terliksi hayvanlarda lethal etkisi yarattığını görmüştür [11, 12]



Şekil 2.2. 1900'den Günümüze PDT Tarihi

1903 yılında ise Herman von Tappeiner ve A. Jesionek cilt tümörlerini topikal (yüzeysel) olarak uygulanmış eosin ve beyaz ışık kullanarak tedavi etmeyi başarmışlardır. Işık, ışığa duyarlı bir madde ve oksijen varlığında gerçekleşen kimyasal reaksiyonları ifade etmek üzere fotodinamik etki terimini ilk defa kullanan da von Tappeiner olmuştur (Şekil 2.2) [13, 14].

Günümüzde neoplastik ve neoplastik olmayan hastalıkların tedavisinde kullanılan PDT, genel bir tanımlamayla seçici olarak hedef hücrede biriken ışığa duyarlı maddenin ışığa maruz bırakılmasıyla, oksijen varlığında hedeflenen dokunun tahribatı prensibine dayanır.



Şekil 2.3. Fotodinamik Terapi Yöntemi ile Kanser Tedavisi

PDT yaşa bağlı makular dejenerasyondan, pre-malign dermatolojik bir hastalık olan aktinik keratozisin tedavisine kadar farklı hastalıklar için kabul görmüş bir tedavi şekli olmakla birlikte deneysel çalışmalar, PDT'nin kanser tedavisinde kullanımı üzerine odaklanmıştır (Şekil 2.3) [101].

2.1.2. Fotodinamik Terapi İçin Gereken Özellikler

İdeal bir fotosensitizinin PDT'de kullanılabilmesi için aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekir:

1. Maksimum absorpsiyon 600- 800 nm. bölgesinde olmalıdır.

Işığın şiddeti dokudaki kromoforların absorpsiyonu veya saçılması ile azalır. Işığın dalga boyu azaldıkça saçılma miktarı artar. Sonuç olarak optimum etki için dalga boyu aralığı 600- 800 nm'dir (kırmızı ışık). Işığın dokudaki etki derinliği (δ) de 1-3 mm arasında değişir. Fakat fotodinamik etki bu limiti aşmaktadır. ${}^1O_2$ üretmek için gerekli ışığın dalga boyu üst sınırı ${}^1O_2$ üretimi için gerekli enerji ile tanımlanır. (Tek fotonlu süreç için $\lambda < 1296$ nm, $\Delta E > 94,1$ kJmol $^{-1}$)

2. 400- 600 nm. bölgesinde absorpsiyon minimum olmalıdır.

Gün ışığının spektroskopik dağılımının en fazla olduğu bu bölgede sensitizinin soğurması cildin ışığa duyarlılığını artırır ve bu da fotodinamik

terapinin ciddi bir yan etkisidir. Cildin ışığa duyarlılığı hematoporfirin türevleri çıkışlı ilk nesil sensitizerlerin en büyük yan etkisidir.

3. $^1\text{O}_2$ 'nin yüksek kuantum verimi olmalıdır.

Çoğu fotosensitizerin $^1\text{O}_2$ kuantum verimi (Φ_Δ) 0,3- 0,8 arasında değişir. Fakat bu verim (Φ_Δ) abartılmamalıdır. Zira $^1\text{O}_2$ üretimi diğer faktörlere şiddetle bağlıdır. Bunlar sensitizerin çevresindeki biopolimerlerle etkileşimi, agregasyonu, oksijen tüketimi ve yan reaksiyonlardır. Yüksek Φ_Δ istemi yeteri kadar yüksek Φ_T , $^1\text{O}_2$ oluşumu için yeterli triplet hal enerjisi ve triplet halin nispeten uzun ömürlü olmasını gerektirir.

4. Fotokararlı olmalıdır.

Fotosensitizer fotobozunmaya, $^1\text{O}_2$ tarafından yükseltgenmeye veya diğer reaktif türlerine karşı doku içinde dayanıklı olmalıdır.

5. Toksik ve fototoksik olmamalıdır.

Fotosensitizerin karanlıkta toksik özellik göstermemesi (nefrotoksisite, nörotoksisite, vb.) istenir. Zira ışınlamadan evvel organizmada gereksiz hasardan kaçınılmalıdır. Biyolojik materyalde, *in vitro* veya *in vivo*, sensitizerin tüm yıkıcı fotodinamik etkisine fotozehirlilik-fototoksisite denir.

6. Kötü huylu dokuyu seçebilmelidir.

Fotosensitizerin kötü huylu dokuda özel olarak alıkonması sağlıklı ve kötü huylu dokularda farklı yollarla yok edilmesinin sonucudur. Sağlıklı dokuda yok edilme daha hızlıdır. Konsantrasyon farkı, sensitizer uygulanmasından birkaç saat sonra sabitlenir ve bu sensitizerin doğasına bağlıdır. Sağlıklı dokudaki sensitizerin etkili deaktivasyonu dokuyu fotodinamik hasardan korur.

7. Saf madde olmalıdır.

Fotosensitizer-biopolimer etkileşimini tutarlı şekilde açıklanabilmesi için iyi tanımlanmış saf madde kullanılmalıdır.

8. Floresans vermelidir.

Fotosensitizerin floresansı onun canlıdaki dağılımının tespitini olanaklı kılar. Sensitizerin floresans ve $^1\text{O}_2$ üretimi üzerine olan tüm fonksiyonları elde tutulabilmelidir. $\frac{\Phi_f}{\Phi_{isc}}$ oranı optimize edilmelidir.

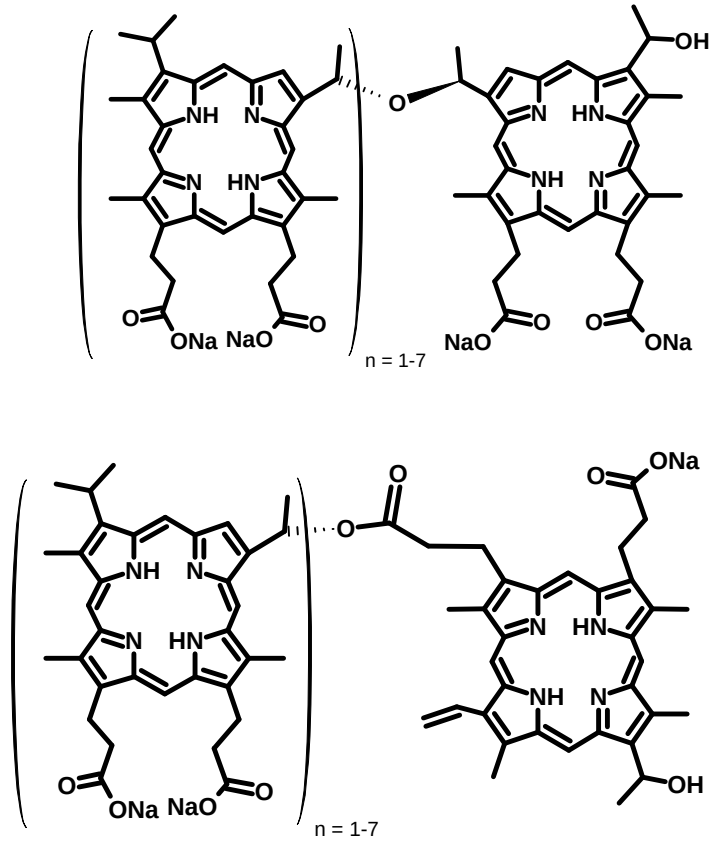
9. Çözünürlüğü yüksek olmalıdır.

Fotosensitizerin suda çözünürlüğü damardan uygulama ve hedef dokuya taşınması için önemlidir. Hidrofobik, suda çözünmeyen, sensitizerler suda çözünebilen taşıyıcılar yardımıyla taşınabilirler [17-20].

2.1.3. Fotodinamik Terapi İçin Kullanılan Fotosensitizerler

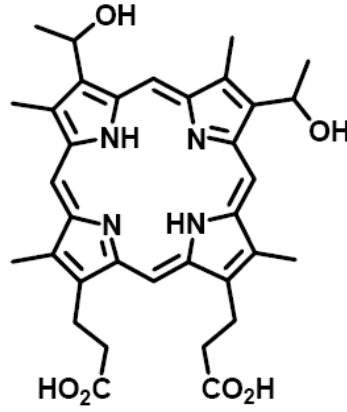
2.1.3.1. Birinci Nesil Fotosensitizerler (Hematoporfirin (Hp) ve Photofrin)

Porfirinler PDT fotosensitizerlerin ilk jenerasyonudur. PDT’de kullanılan ilk sensitizer hematomporfirin türevi ve onun saflaştırılmış fraksiyonu olan Photofrin ilacıdır (Şekil 2.4). Hematomporfirin türevleri (HpD), oligomer ve dimer karışımının bir kompleksini vermek üzere sülfirik asit ve asetik asit karışımları ile hematomporfirinin muamelesi ile oluşturulur. Oluşan karışım hematomporfirinin ester, eter içeren dimerik ve oligomerik fraksiyonun yanı sıra protoporfirin (Pp) hidroksietilvinildötöroporfirin (HVD) içermektedir. Hematomporfirin türevlerinin % 45’i monomerik/dimerik ve % 55’ i ise oligomerik bileşendir. Hp türevlerinin aktif bileşenlerinin ya dihematomporfineter ya da dihematomporfirinester (DHE) olduğuna inanılmaktadır. Bu fraksiyonun kısmen saflaştırılmasıyla porfirin sodyum veya photoprin olarak adlandırılan klinik PDT’de kullanılan ilk ticari ilaç elde edilmektedir (Axcen Pharma, Montreal, Canada) [21].



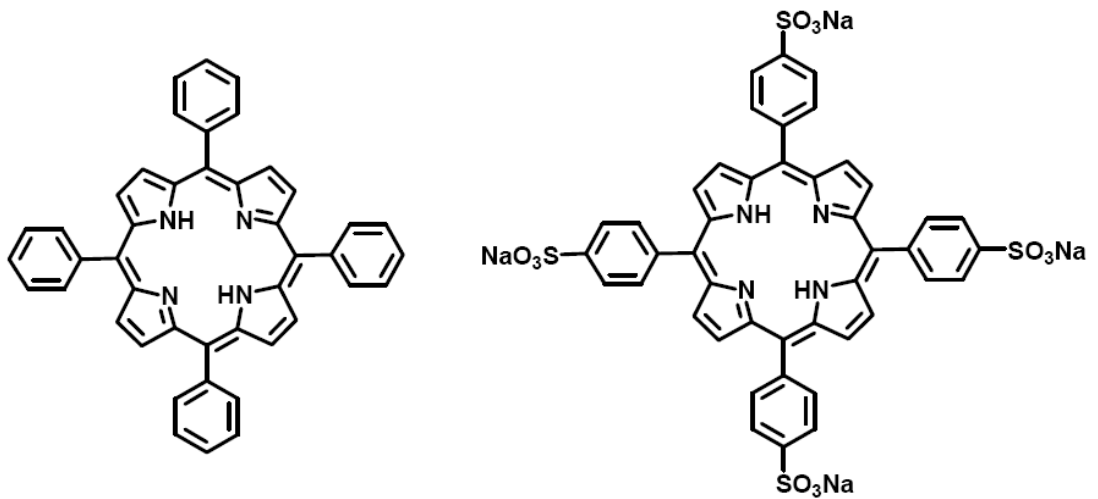
Şekil 2.4. Eter ve Ester Bağlı Oligomerlerden Oluşan Photofrin® Yapısı [21]

Porfirinler ideal özellikleri yanında bazı dezavantajlara sahiptir. Tedavide düşük toksisiteye sahip HpD (Şekil 2.5), tümör kütleğinde seçici olarak kalıcılık göstermesine rağmen porfirinlerin komplekslerinin bir karışımından ibarettir ki bu bileşim farklı preparasyonlar ve depolama süresi ile çeşitlidir. Maddelerin komplekslerinin karışımı ile klinik olarak yapılan çalışmanın dezavantajı farklı çevrelerde biyolojik etkiyi değiştiren farklı büyüklüklerde HpD'nin agregasyonu olabilir. Diğer bir dezavantajı ise HpD'nin kırmızı ışığı zayıf olarak absorblamasıdır. İlave bir zorluk da PDT için HpD alan hastaların gün ışığına karşı olan fotosensitif reaksiyonlardan acı çekmeleridir. Nedeni ise deride kabul edilebilir bir miktarda fotosensitizerin kalması ve HpD tarafından görünür ışığın çoğunu soğurmasıdır [22, 23].



Şekil 2.5. Hematoporfirinin Yapısı [22, 23]

Tetrafenilporfrin (TPP) 660 nm de absorpsiyona sahip, çözünürlük problemi dışında etkin bir singlet oksijen üretir. Bunların absorpsiyonu 20-25 nm kırmızıya kaymış, izomerler arasındaki fotosensitivite ve etkide büyük farklılıklar olmuştur. TPP'nin sülfolanmasıyla elde edilen tetrafenilsülfolanmış porfirinler de (TPPS₄) mükemmel bir şekilde singlet oksijen üretmektedir. Suda iyi çözünmesinden dolayı etkili bir şekilde tümörlere yerleşir. Sülfonasyon derecesi yerleşme yerini ve tercih edilen taşıyıcı plasma proteinini etkiler. Mono- ve di-sülfonatların düşük yoğunluktaki lipoproteinlere (LDL) ve yüksek yoğunluktaki lipoproteinlere (HLD) bağlı oldukları, tri ve tetra sülfonatlar ise albümin proteinlerini tercih ettikleri bulunmuştur (Şekil 2.6) [24, 25].



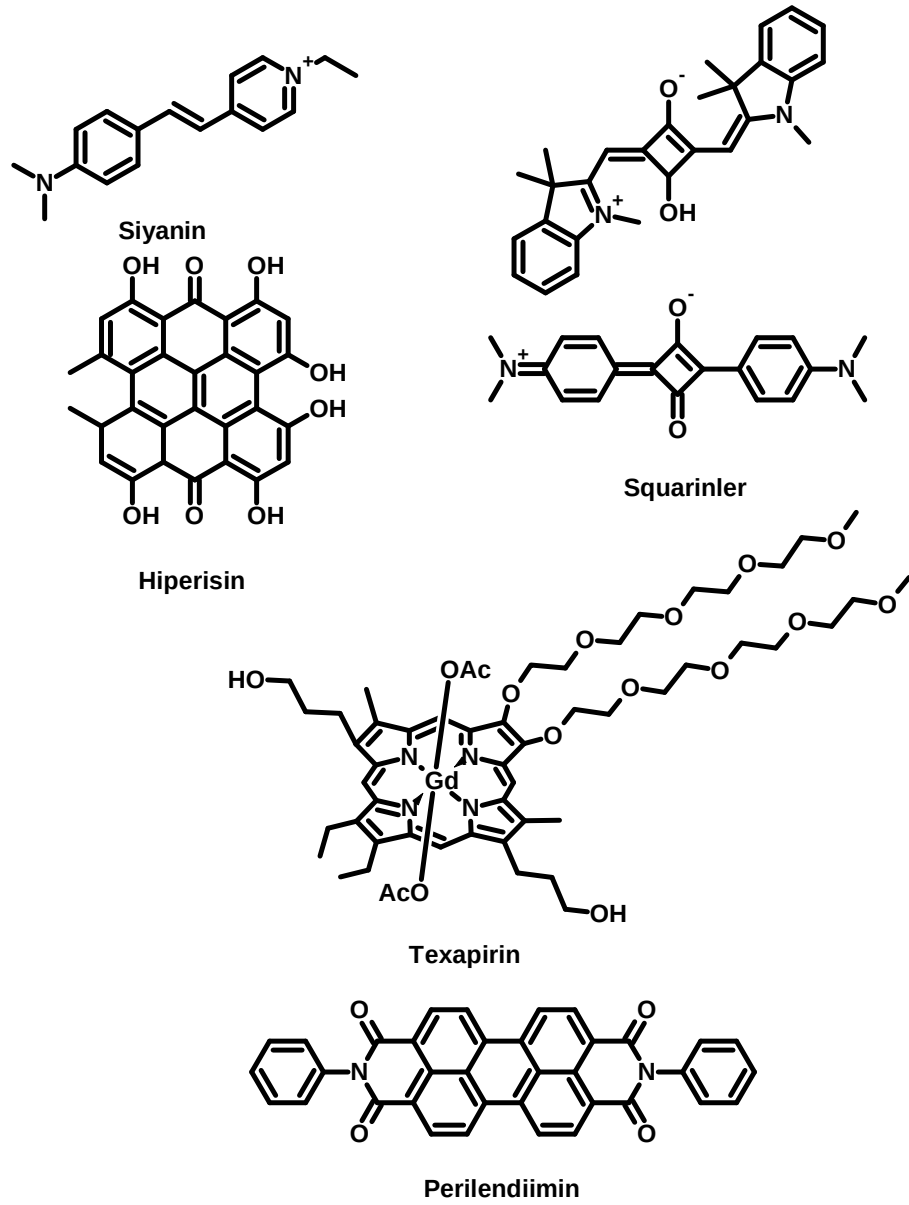
Şekil 2.6. Tetrafenilporfirin (TPP) ve Tetrasülfolanmış Porfirinin (TPPS₄) [24, 25]

2.1.3.2. İkinci Nesil Fotosensitizerler

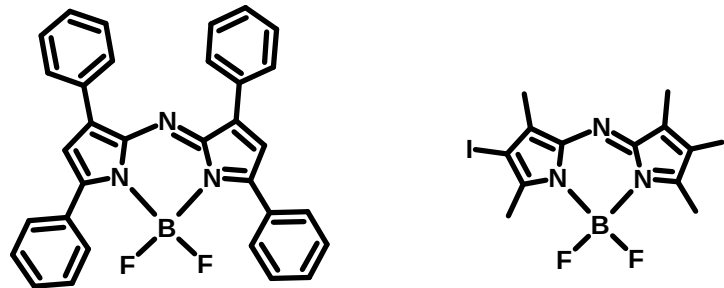
Photofrin'in bahsedilen dezavantajları, ikinci nesil fotosensitizerlerin sentezlenmesine neden olmuştur. Bunlar modifiye edilmiş porfirinler, klorinler, bakterioklorinler, ftalosiyaninler, nafttalosiyaninler ve purpirinlerdir. İkinci ve üçüncü nesil fotosensitizerlerin hedeflenen dokuya (tümör dokusu v.b.) karşı seçici olması, yüksek dalga boyunda absorpsiyona sahip olması; böylelikle daha derinlerde olması, yüksek dalga boyunda molar absorpsiyonunun yüksek olması özellikleri ile PDT uygulamaları için kullanışlıdır [26].

2.1.3.3. Diğer Fotosensitizerler

Siyanin boyaları, hiperisin, squarainler, texapirinler, ksantanlar, perilendiimin boyaları (PDIs), BF₂ şelat komplekli azodipirometen boyaları, borondipirometen (BODIPY) boyaları fotodinamik terapide kullanılan diğer fotosensitizerlerdendir (Şekil 2.7-2.8) [27-31].



Şekil 2.7. Fotodinamik Terapide Kullanılan Diğer Fotosensitizerler [27-31]



Şekil 2.8. Azadirometen ve Boron Dipirometen Boyaları [27-31]

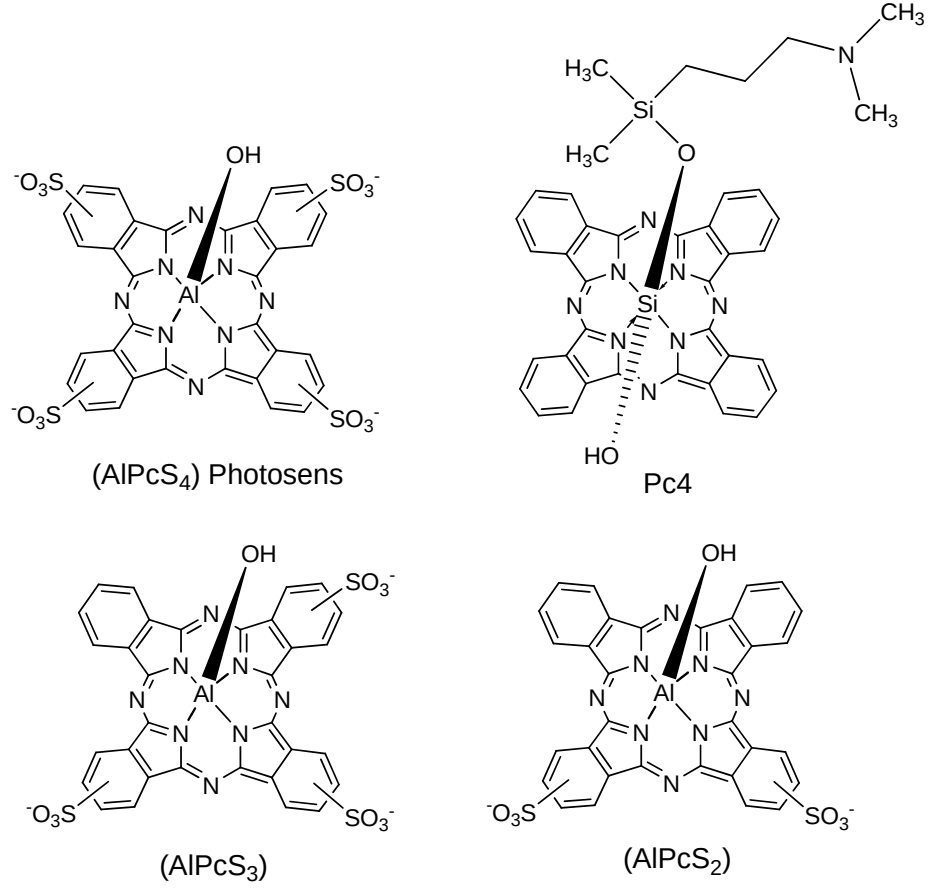
2.1.3.4. Ftalosiyaninler

Sentetik, porfirin yapıda boyalar olan, ticari anlamda pek çok alanda kullanılan ftalosiyaninlerin, ikinci nesil fotosensitizerler olarak PDT’ de kullanılmak üzere geliştirilmesi oldukça yenidir.

Ftalosiyaninlerde benzen halkaları ile konjuge haldeki pirol grupları, aza nitrojenlerle birbirine bağlanmıştır. Bu kimyasal yapı, absorpsiyon spektrumunun daha uzun dalga boylarına kaymasına (genellikle 680 nm civarı) neden olur. Ftalosiyaninler uzun dalga boylarında (660–780 nm) yüksek molar absorpsiyon katsayısına ($>10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) sahiptirler, kararlıdırlar, karanlıkta toksik özellik göstermezler ve tümör dokusunda seçici olarak birikirler [32].

Bu nedenle ftalosiyaninleri uyarmak için dokuda derinlere nüfuz edebilen uzun dalga boyları kullanılır. Ftalosiyaninleri sentezlemek oldukça kolaydır. Suda çözünabilen türevleri ftalosiyaninin sülfolanması ile kolayca elde edilir. Zn(II), Al(III) ve Si(IV) ftalosiyaninler etkin singlet oksijen üretmesi ve triplet halde kalma süreleri fazla olmasından dolayı PDT’de en yararlı fotosensitizerlerdir [33]. Suda çözünür sülfolanmış ftalosiyaninler özellikler Al(III) ve Zn(II) kompleksleri fotodinamik terapide en çok kullanılan fotosensitizerlerin başında gelmektedir. Bu kompleksler HpD ve photofrin’e göre daha çok avantajları vardır. Etkinliği ve mekanizması sülfolanma derecesine bağlıdır [34-37]. Pc4 silisyum ftalosiyanin ($\lambda_{\text{max}} = 670 \text{ nm}$) fotodinamik terapi ile deri ve derialtı kanser tedavilerinde kullanılmaktadır. Rusya’da geliştirilen Photosens ($\lambda_{\text{max}} = 675 \text{ nm}$) olarak adlandırılan suda çözünür alüminyum ftalosiyanin bileşiği klinikte şu anda ikinci evresinde olup birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [4-7, 38]. Photosens ile tedavi edilen başlıca kanser hastalıkları; deri kanseri (planocellular cancer, Kaposi’s sarcoma, basalioma), meme kanseri, yutak (pharynx), gırtlak (larynx), trake (trachea), bronş (planocellular cancer, papillomatosis), akciğer (lung), yemek borusu (planocellular cancer, Adenocarcinoma), mide (stomach) yer almaktadır. Fotosensitizerin biyolojik dağılımı, hücreye alınımı ve etkinliği hidrofilik grupların sayısına bağlıdır. Alüminyum ftalosiyanin serilerinde, iki sülfonat gruba sahip AlPcS2,

AlPcS3'den daha iyi alınımlar ve fototoksikite göstermektedir. Üç sülfonat gruplu AlPcS3, dört sülfonat gruplu AlPcS4'den daha iyi alınımlar ve fototoksikite gösterirler (Şekil 2.9) [37].



Şekil 2.9. Alüminyum Ftalosiyanın Türevleri ve Pc4 Molekülü [37]

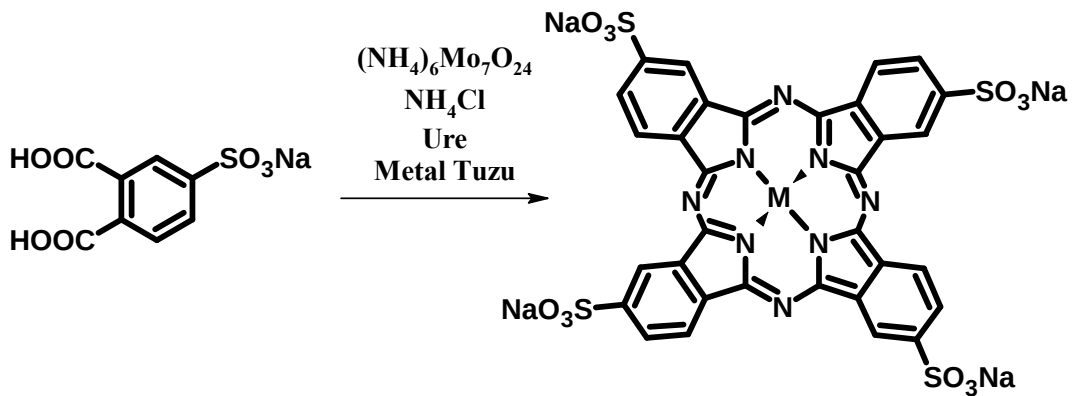
2.2. Suda Çözünür Ftalosiyaninler İle İlgili Yayınlanmış Çalışmalar

Fotodinamik terapide kullanılacak iyi bir fotosensitizerin biyouygunluğa sahip olması ve suda iyi çözünebilmesi gerekmektedir. Bu kriterlere uygun çok sayıda ftalosiyanin tanımlanmıştır. Suda çözünen ftalosiyaninleri genel olarak iyonik (anyonik ve katyonik), zwitteriyonik ve iyonik olmayan suda çözünen ftalosiyaninler olarak üçe ayırabiliriz [39].

2.2.1. Suda Çözünür İyonik Ftalosiyaninler

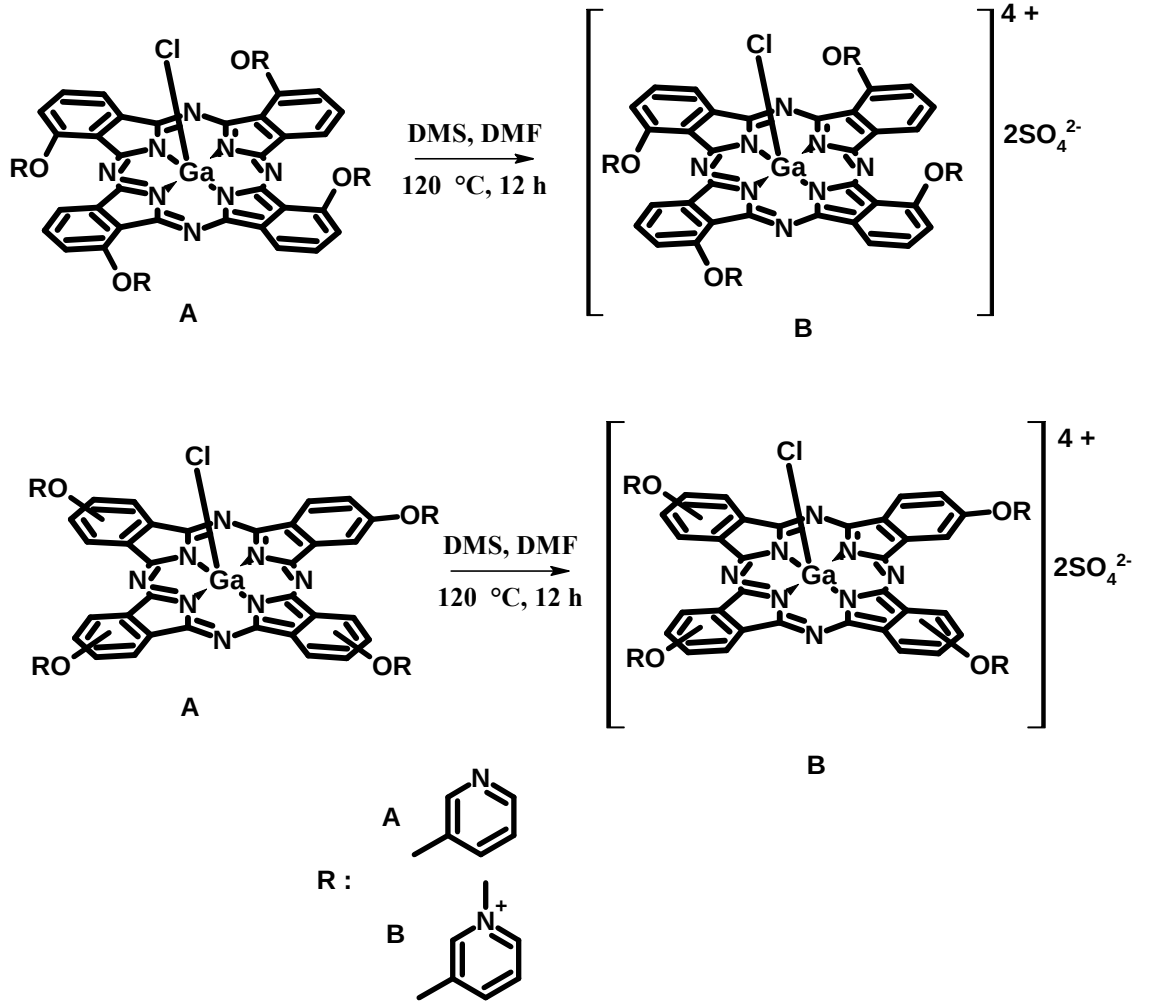
Genel olarak suda çözünür iyonik ftalosiyaninler, anyonik olanlar için SO_3^- süstitüe ftalonitril veya ftalikasit bileşiklerinin siklotetramerizasyon reaksiyonları ile [40] ve katyonlar içinse amino [41] veya piridino [42, 43] gruplarının kuaternerleşmesi sonucu elde edilirler.

1965 yılında Weber ve Busch tarafından 4-sulfo ftalikasit sodyum tuzundan üre, amonyum molibdat, amonyum klorür ve metal tuzu varlığında 180 °C 'de nitrobenzen solventi içinde tetrasülfolanmış anyonik ftalosiyanin bileşiğini sentezlemişlerdir (Şekil 2.10) [44].



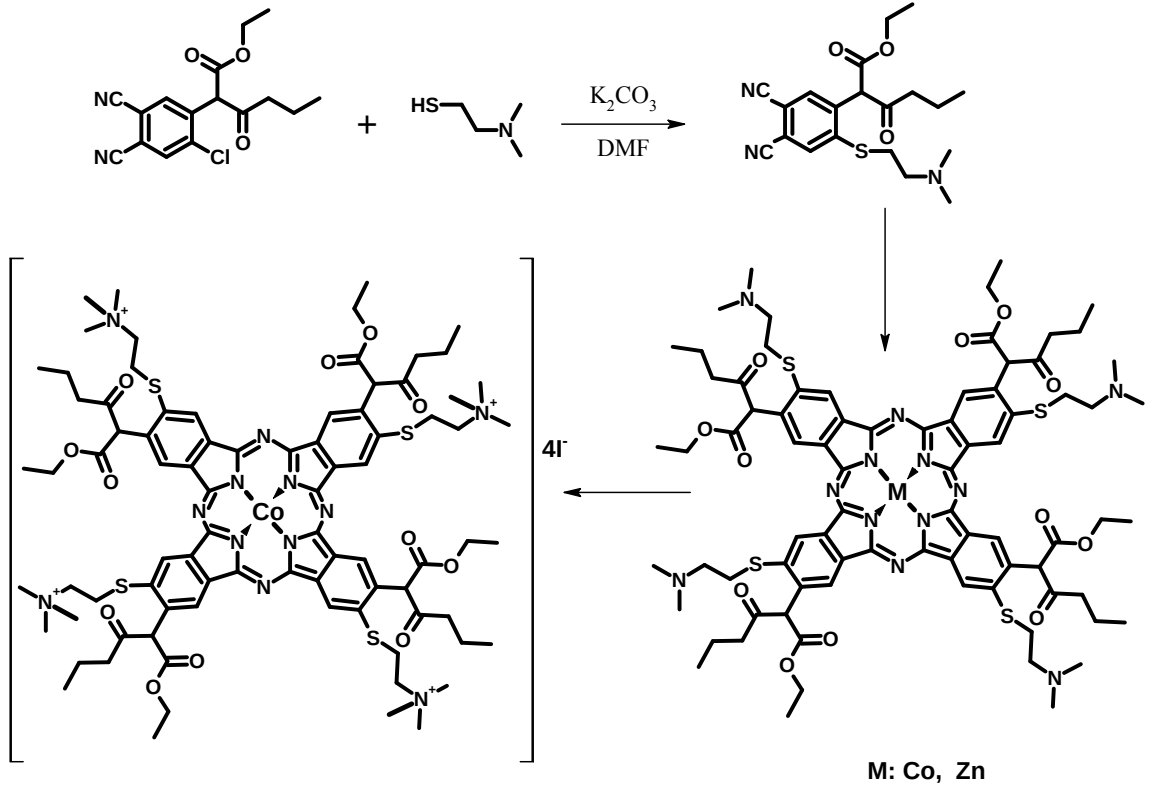
Şekil 2.10. Tetrasülfolanmış Ftalosiyanin Bileşiği [44]

Mahmut Durmuş ve Tebello Nyokong suda çözünür galyum(III) ftalosiyanın sentezlemişler ve bu bileşiğin fotodinamik terapi amaçlı kullanılabilirliğini incelemişlerdir (Şekil 2.11) [42].



Şekil 2.11. Suda Çözünür İyonik Ga(III) Ftalosiyanınların Sentezi [42]

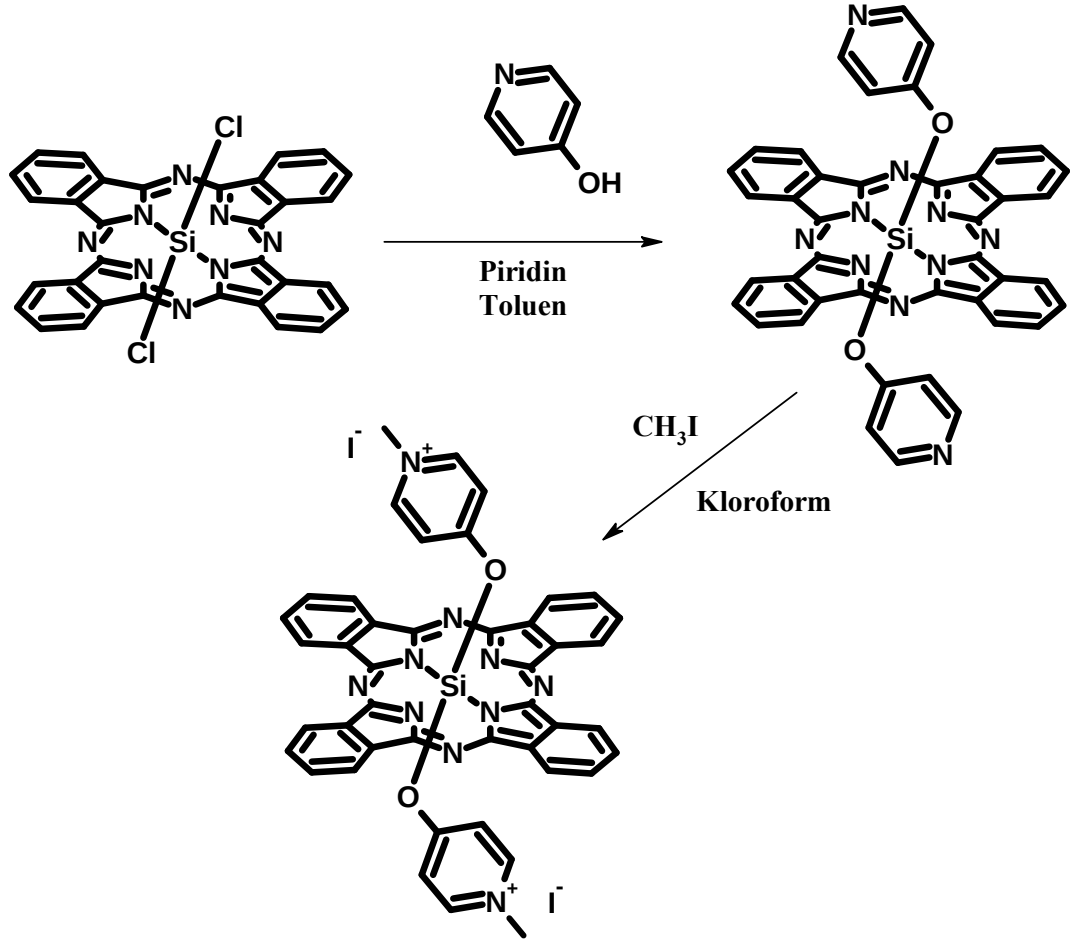
Hatice Dinçer ve arkadaşları tarafından dimetilaminosülfanil ve dietoksimalonil sübsütiye grupların peripheral bağlandığı iyonik suda çözünür ftalosiyaninler sentezlenmiştir (Şekil 2.12) [41].



Şekil 2.12. Suda Çözünür İyonik Co(II) Ftalosiyanin Bileşiğinin Sentezi

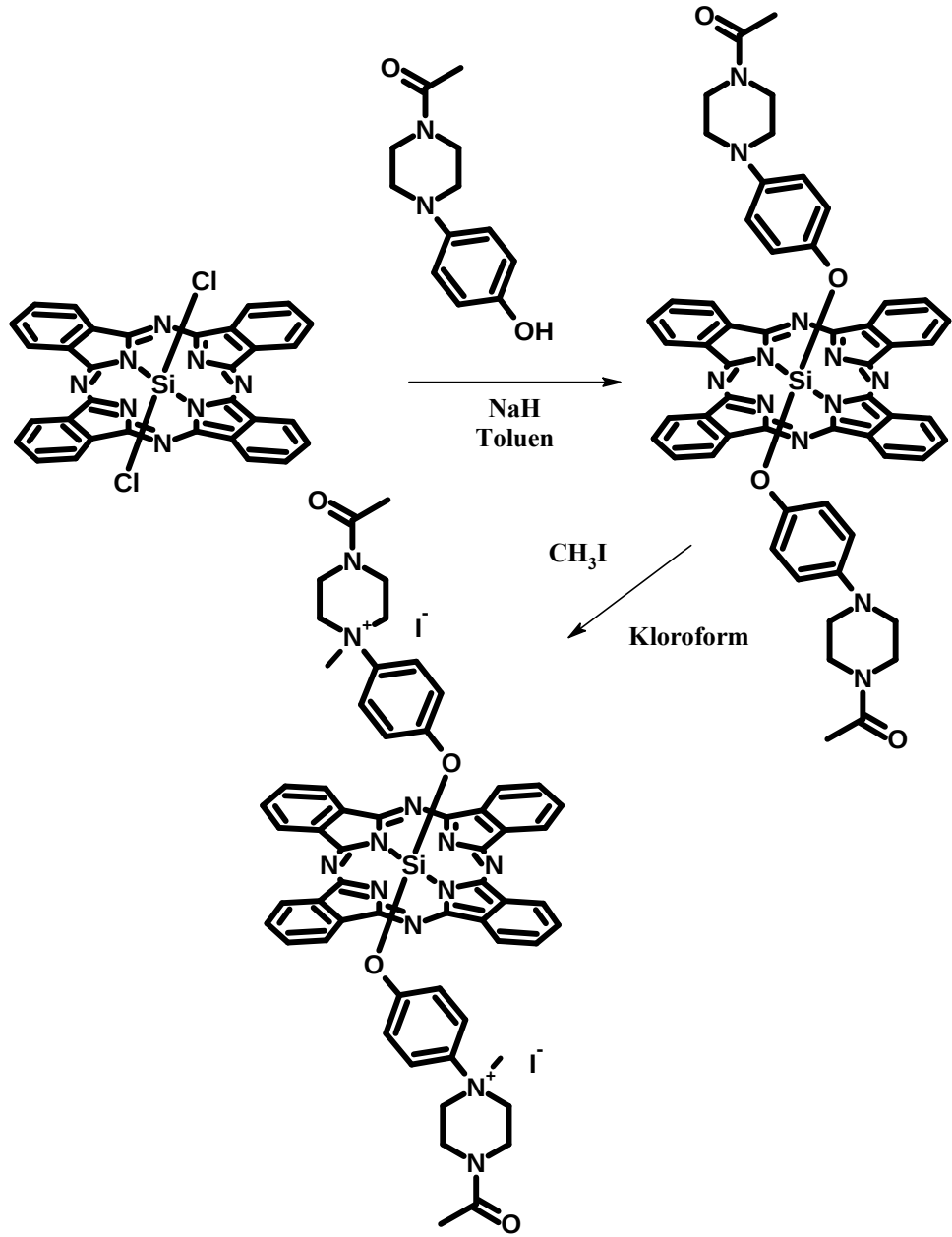
[41]

Huang ve ekibi yaptıkları çalışmada, aksiyel süstitüe silisyum(IV) ftalosiyanini, merkez atom olan silisyuma bağlı ligant üzerindeki azotu kuaternerleştirerek suda çözünür ftalosiyanın bileşiği elde etmişlerdir. Burada ftalosiyanın halkasına hiçbir süstitüsyon olmamasına rağmen direkt olarak merkez atoma bağlı suda çözünür grup yardımıyla ftalosiyanın bileşiğinin suda çözünür özellik kazanıyor olması ilgi çekicidir (Şekil 2.13) [45].



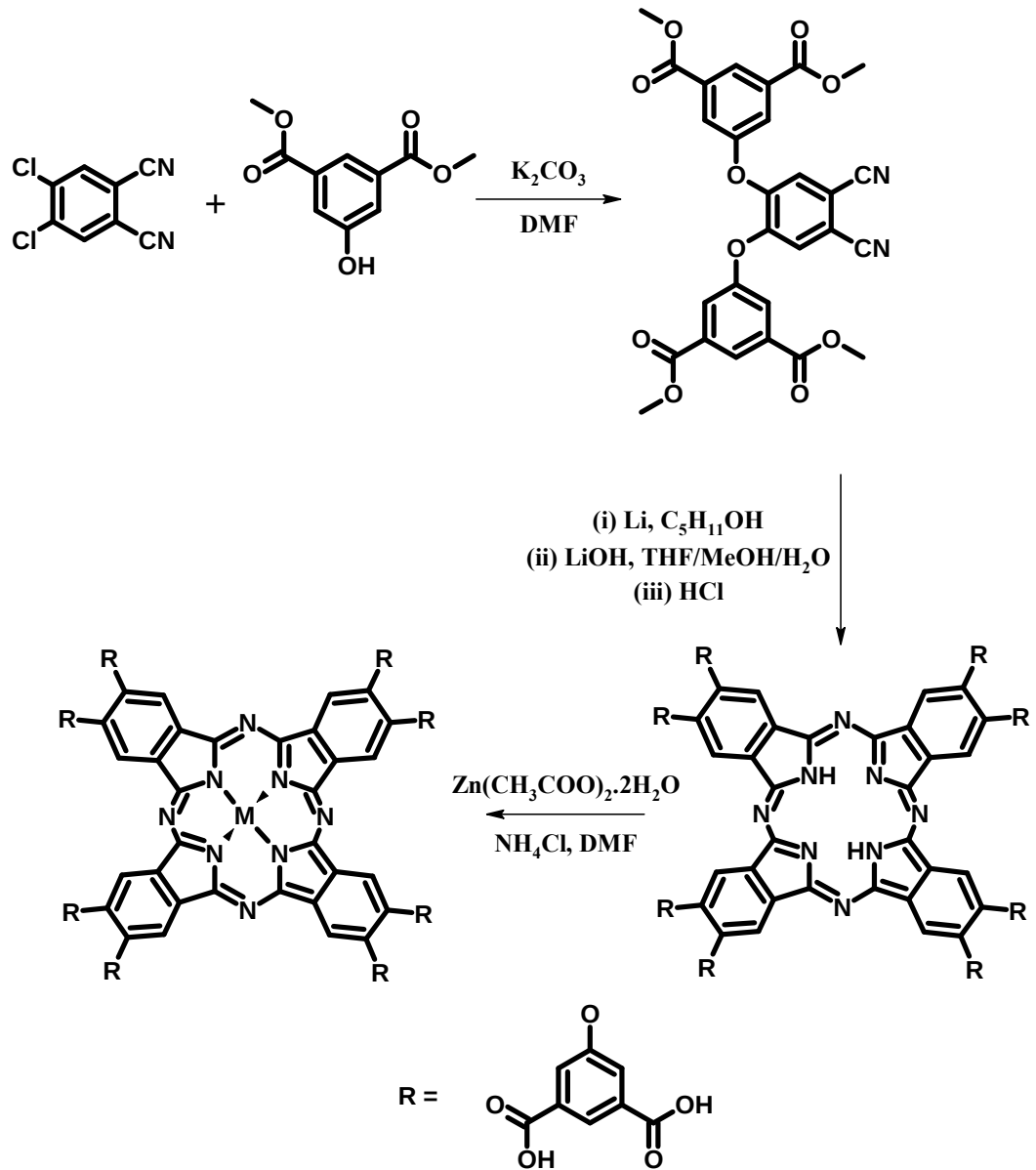
Şekil 2.13. Suda Çözünür İyonik Silisyum(IV) Ftalosiyanın Bileşiğinin Sentezi [45]

Jiang ve arkadaşları aksiyal süstitüe silisyum ftalosiyanın sentezleyip bu bileşiğin fotodinamik aktivitesini incelemişlerdir (Şekil 2.14) [46].



Şekil 2.14. Suda Çözünür İyonik Silisyum Ftalosiyanınin Sentezi [46]

Ng ve çalışma arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada iki yeni hegzadeka-karboksi ftalosiyanınların sentezi yapılmış ve fotodinamik terapideki aktiviteleri incelenmiştir (Şekil 2.15). İlk olarak 4,5-dikloro ftalonitrilin dimetil 5-hidroksiizoftalat ile reaksiyonundan yeni bir dinitril bileşiği elde edilmiştir. Dinitril bileşiğinden metallsiz ve çinko ftalosiyanine geçilmiştir. Sentezlenen her iki ftalosiyanın fotodinamik etkinlikleri incelenmiş ve singlet-oksijen üreticisi oldukları tespit edilmiştir [47].



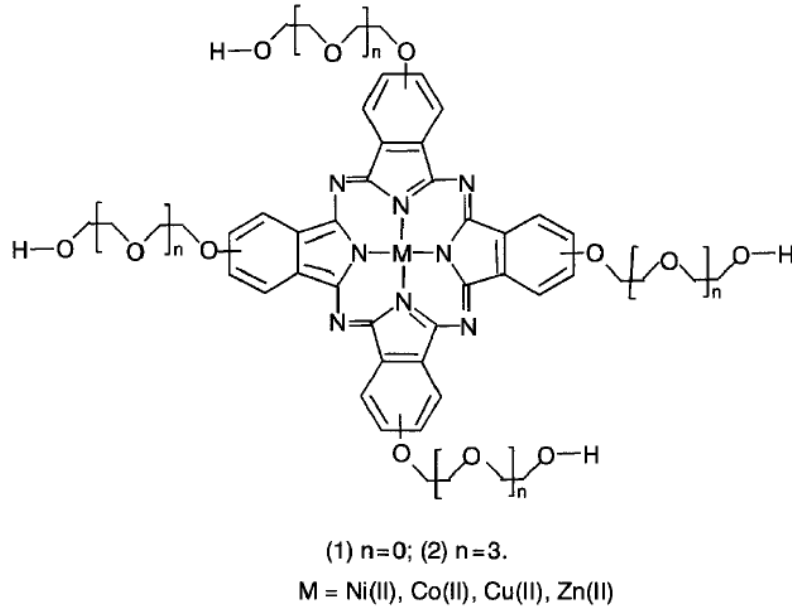
Şekil 2.15. Suda Çözünür İyonik Olmayan Zn(II) Ftalosiyanın Sentezi [47]

2.2.2. Suda Çözünür İyonik Olmayan Ftalosiyaninler

Suda çözünür iyonik olmayan ftalosiyaninlerin suda çözünürlüğü polioksietilen, polietilen grupları veya karbonhidrat gruplarının süstitüsü ile sağlanmaktadır [48-54].

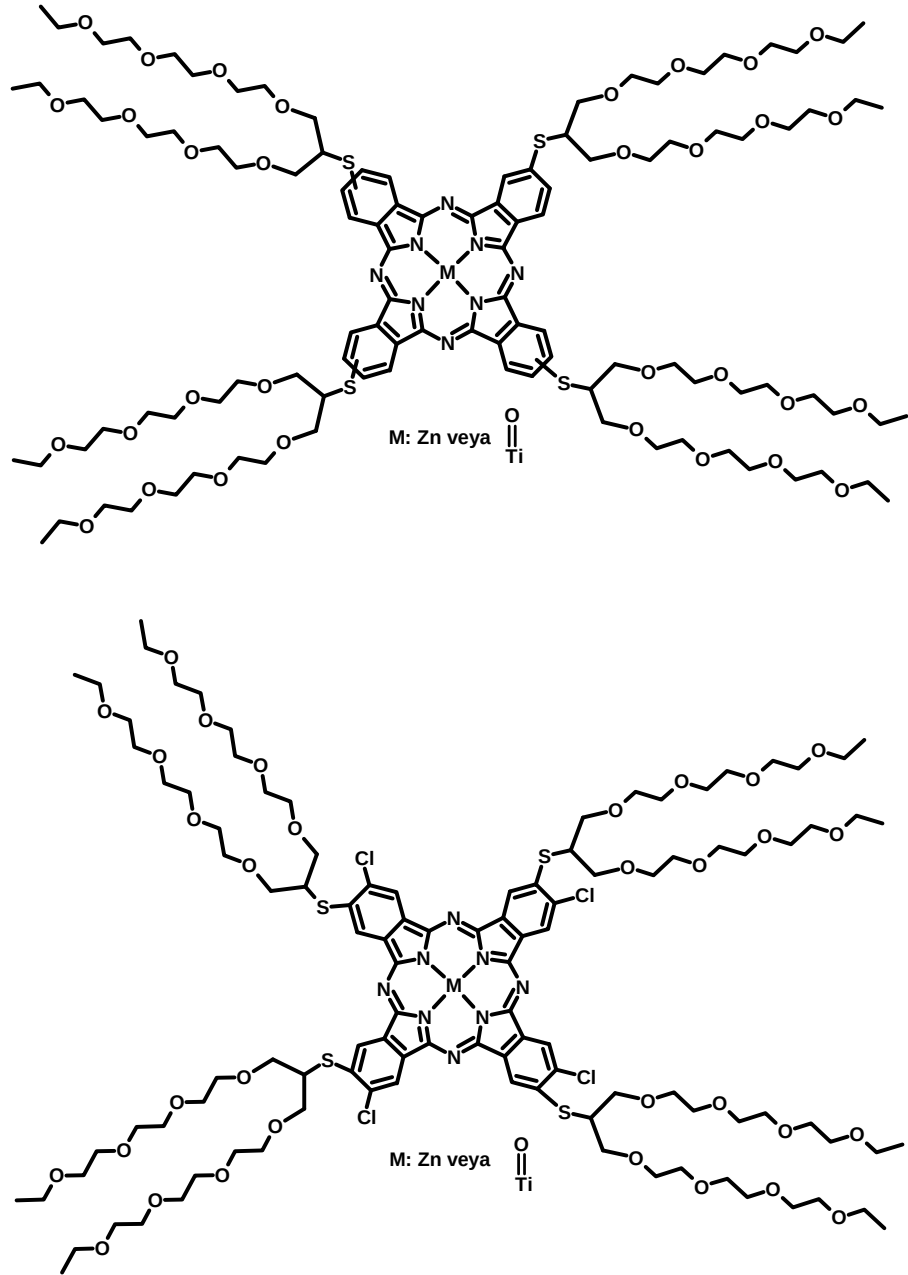
2.2.2.1. Polietilen Glikol Süstitüe Ftalosiyaninler

2002 yılında Serin ve çalışma arkadaşları etilen ve tetraetilen glikol grupları içeren iyonik olmayan suda çözünür Ni(II), Co(II), Cu(II) ve Zn(II) ftalosiyanin türevlerini sentezlemişlerdir. Elde edilen bileşikler su ve THF gibi polar solventlerde oldukça iyi çözünmektedir (Şekil 2.16) [48].



Şekil 2.16. Suda Çözünebilir Ni(II), Co(II), Cu(II), Zn(II) Ftalosiyanin Türevleri [48]

2007 yılında Ahsen ve çalışma arkadaşları dallanmış polietilen glikol zincirleri içeren iyonik olmayan suda çözünür Zn (II) ve Ti(IV) ftalosiyanin bileşiklerini sentezlenmiş ve fotodinamik terapide kullanabilirliğini incelemişlerdir (Şekil 2.17) [26, 55].



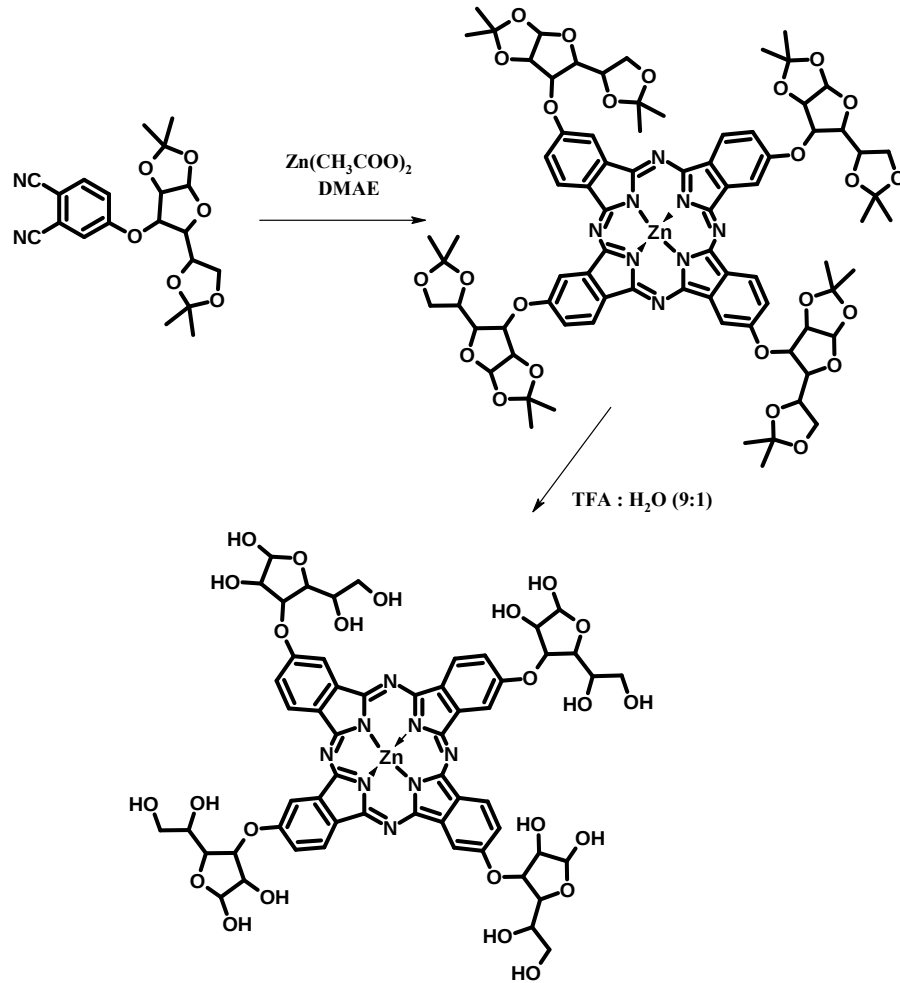
Şekil 2.17. Dallanmış Polietilen Glikol Süstitüe Ftalosiyanın Türevleri [26, 55]

2.2.2.2. Karbonhidrat Süstitüe Ftalosiyanınlar

Karbonhidrat süstitüe ftalosiyanınlar ile ilgili ilk çalışma 1989 yılında yayınlanmış ve o günden 2006 yılına kadar bu konu ile ilgili hiçbir çalışma yapılmamıştır. 2006 yılından günümüze kadar çalışmaların simetrik karbonhidrat süstitüe ftalosiyanınlar üzerine yoğunlaştığını asimetrik süstitüe olanlar üzerine daha az çalışmaların yer aldığını görmekteyiz.

2.2.2.2.1. Süstitüe Karbonhidratlı Simetrik Ftalosiyeninler

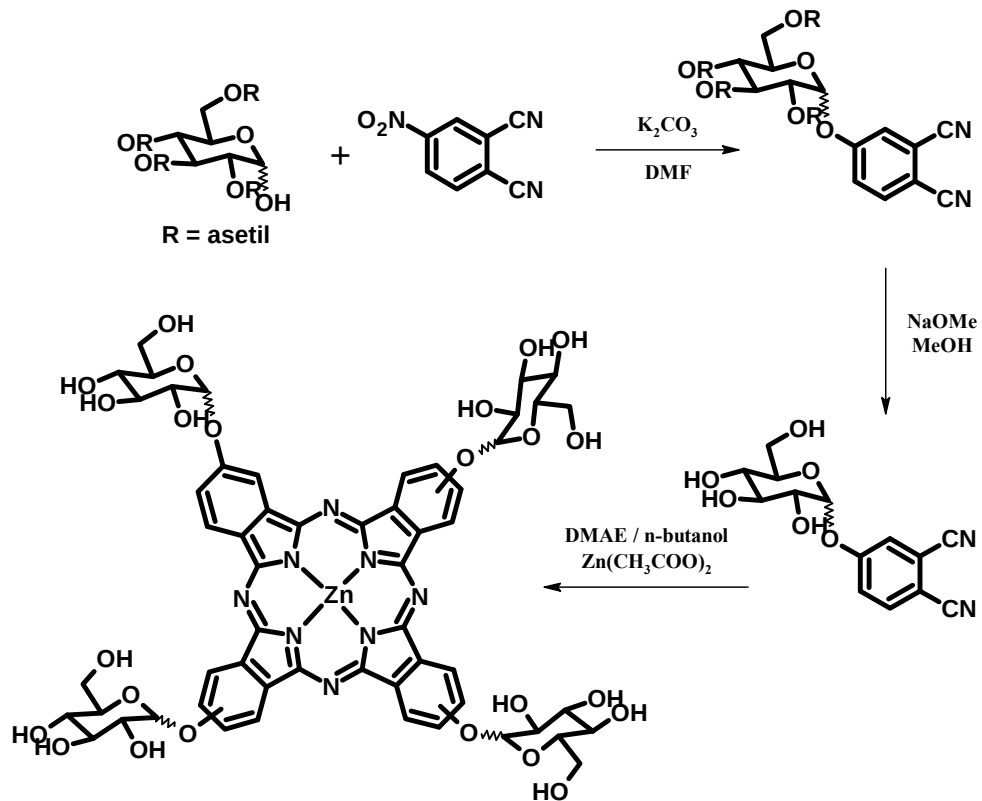
1989 yılında Momenteau ve çalışma arkadaşları tarafından suda çözünür karbonhidrat süstitüe ftalosiyenin türevi sentezlenmiştir. 4-nitroftalonitril ile 1,2:5,6-diizopropiliden-D-glukofuranoz'un kondenzasyonu sonucu oluşan ftalonitrilin çinkoasetat tuzu varlığında DMAE solventi içinde 6 saat süre sonucundaki reaksiyonu sonucu koruyucu gruplar içeren ftalosiyenin elde edilmiştir. Bu ftalosiyenin bileşiğinin trifloroasetik asit/su karışımında oda sıcaklığındaki hidroliz reaksiyonundan suda çözünür ftalosiyenin bileşiği elde edilmiştir (Şekil 2.18). Suda çözünür Zn(II) ftalosiyenin bileşiğinin su ve DMSO'da alınmış UV-Vis. spektrumunda, karakteristik Q bandının su içinde ikiye ayrıldığı, DMSO içinde ise monomerik olarak gözlemlendiği bulunmuştur [49].



Şekil 2.18. Suda Çözünebilir Tetra D-Glukoz Süstitüe Zn(II) Ftalosiyenin

[49]

2006 yılında Hanack ve çalışma arkadaşları, yeni bir glikosilasyon metodu kullanarak anomerik merkeze bağlı, periferik süstitüe tetra-glukoz süstitüe ftalosiyanın türevinin sentezini gerçekleştirmişlerdir. Korunmuş ftalonitrillerin sentezi bilinen glikozilasyon metodu yani glikosiloksi-ftalonitrille ve 4-hidroksiftalonitrille başlanmış fakat başarısız olunmuştur. Daha sonra klasik 4-nitroftalonitrilin alkolle nükleofilik reaksiyonu ile denenmiş ve yeteri miktarda korunmuş ftalonitriller elde edilmiştir. Elde edilen nükleofilik aromatik süstitüsyon ürünleri büyük oranda α -anomerleri şeklindedir. Glikozid (asetil grubu) ile koruma grubu olmayan glikozid elde edilmiştir (Şekil 2.19) [52].

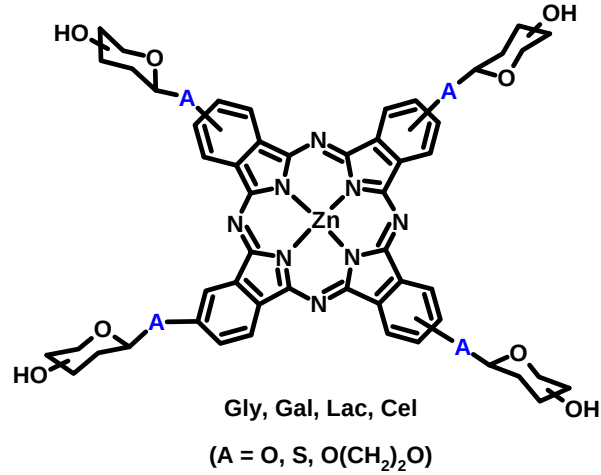


Şekil 2.19. Tetraglukoz Süstitüe Zn(II) Ftalosiyanın Sentezi [52]

Asetil gruplarının uzaklaştırılması ile elde edilen glikozid bileşiğinden, çinko asetat ve DMAE/n-bütanol 2:1 solvent karışımında Zn(II) ftalosiyanın %51 verimle elde edilmiştir (Şekil 2.19). Bu reaksiyonda solvent seçimi çok önemlidir. Eğer sadece DMAE veya sadece n-bütanol kullanılırsa verim düşük olmaktadır. DMAE iki başlangıç maddesini de çözmemektedir fakat Pc formunun reaksiyon

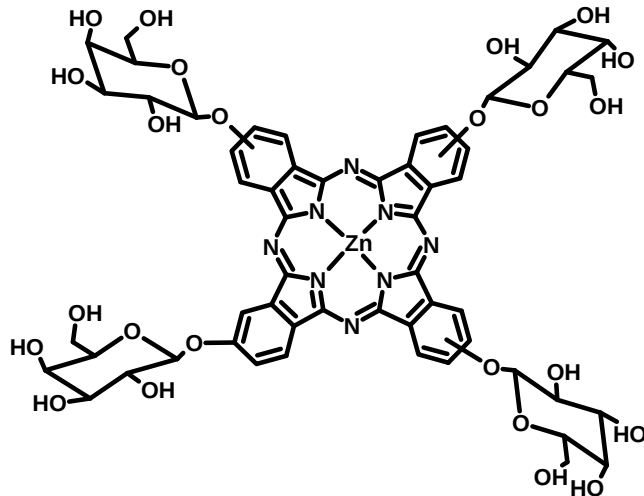
boyunca korunması DMAE solventiyle mümkün olmamaktadır bu sorunu da n-bütanol kullanarak çözmek mümkündür.

2007 yılında Hanack ve grubu tarafından glikosilasyon reaksiyonuyla –O ve –S köprülü galaktoz, glukoz, laktoz ve sellobiyoz süstitüe Zn(II) ftalosiyanın bileşiklerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.20) [56].



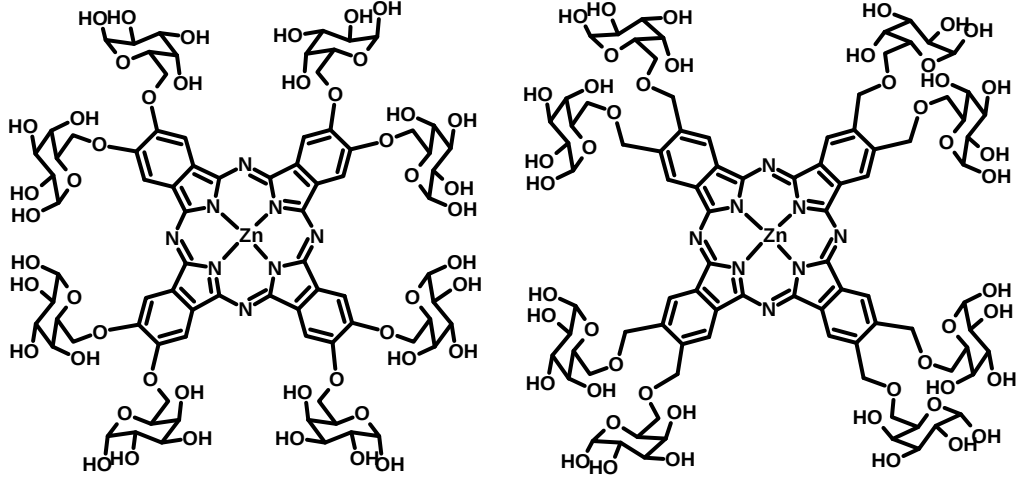
Şekil 2.20. O ve S Köprülü Süstitüe Karbonhidrat-Ftalosiyanın [56]

2009 yılında Dumoulin ve çalışma grubu tarafından yayınlanan çalışmada, glikosilasyon reaksiyonuyla –O köprülü tetragalaktoz süstitüe Zn(II) ftalosiyanın bileşiğinin sentezi gerçekleştirilmiş ve fotodinamik aktivite çalışmaları incelenmiştir (Şekil 2.21) [57].



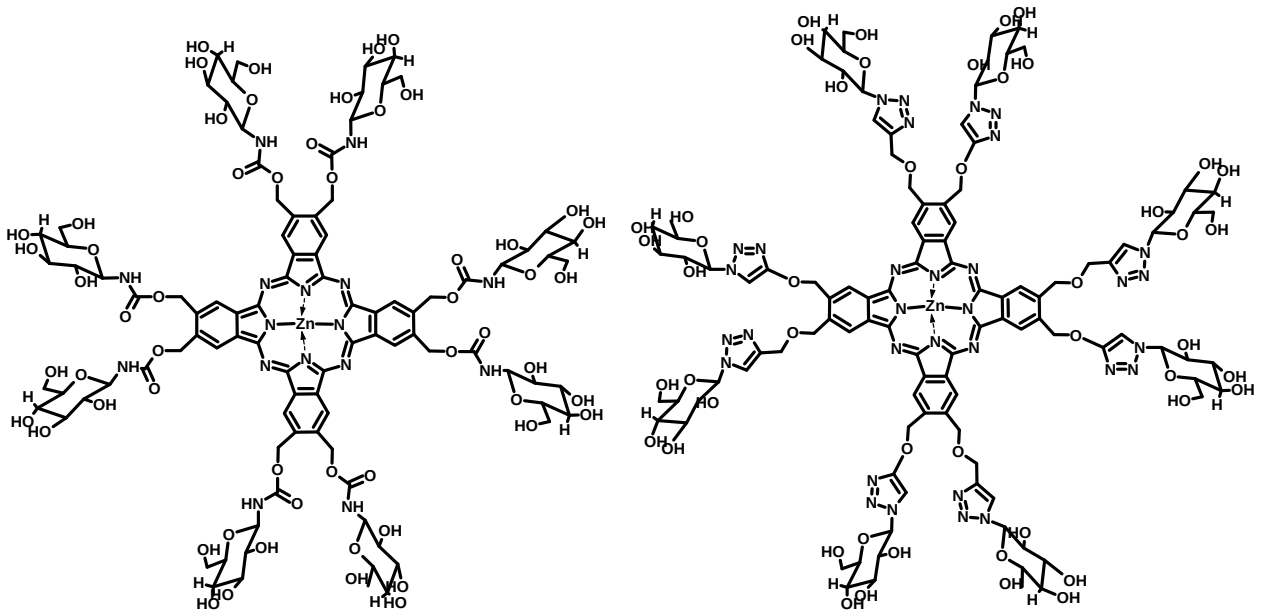
Şekil 2.21. Tetragalaktoz Süstitüe Zn(II) Ftalosiyanın [57]

2009 yılında Hanack ve Torres tarafından ayrı ayrı yayınlanan çalışmalarda, PDT amaçlı d-galaktoz birimleri içeren okta sübstitüe ftalosiyanın türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.22) [50, 53].



Şekil 2.22. Oktagalaktoz Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyaninler [50, 53]

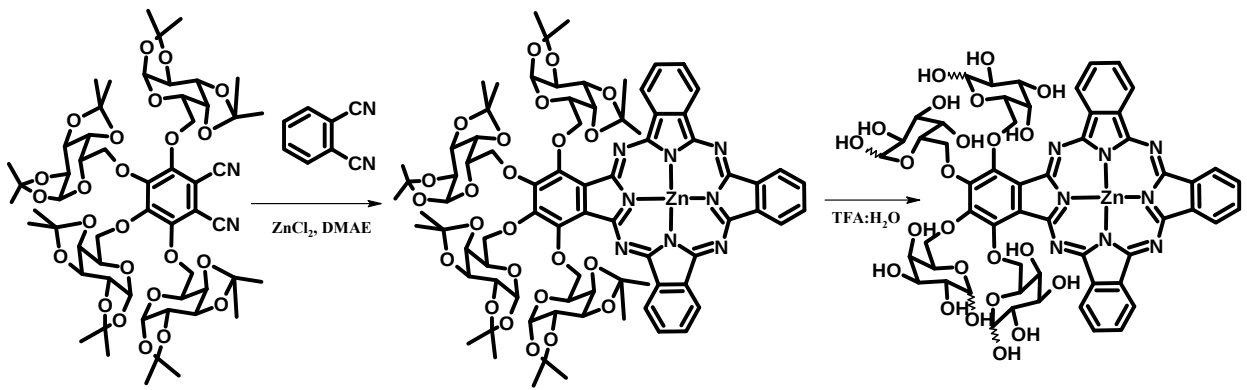
2010 yılında Schotten ve çalışma arkadaşları tarafından glikozillenmiş okta sübstitüe Zn(II) ftalosiyanın türevlerinin sentezini gerçekleştirmiştir. Galaktoz türevinin elde edilmesinde klik kimyası uygulanmıştır (Şekil 2.23) [58].



Şekil 2.23. Oktagalukoz ve Oktagalaktoz Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyanın [58]

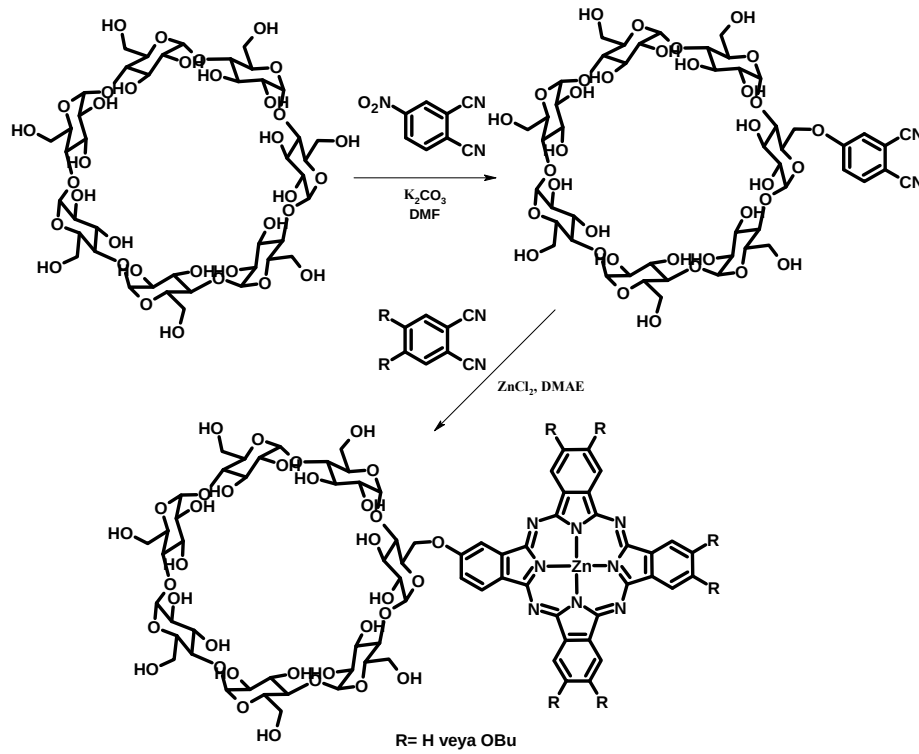
2.2.2.2.2. Süstitüe Karbonhidratlı Asimetrik Ftalosiyeninler

2006 yılında Cavaleiro-Torres ve çalışma grubu tarafından ftalonitril ile 1,2:3,4-di-O-isopropylidene- α -D-galactopyranos-6-yl)phthalonitrilin istatistiksel metot (1:3) kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonu sonucu PDT amaçlı suda çözünür amfifilik ftalosiyenin türevi sentezlenmiştir. Bu ftalosiyenin gösterdiği amfifilik karakter sayesinde PDT için seçici bir fotosensitizer özelliğe sahiptir (Şekil 2.24) [52].



Şekil 2.24. Tetragalaktoz Süstitüe Asimetrik Zn(II) Ftalosiyenin [52]

Cavaleiro ve arkadaşları tarafından PDT de kullanımı amacıyla siklodekstrin grubu içeren suda çözünür içeren AB3 yapısındaki amfifilik ftalosiyenin türevi sentezini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.25) [59].



Şekil 2.25. Siklodekstrin Sübstitüe Asimetrik Zn(II) Ftalosiyanınin Sentezi [59]

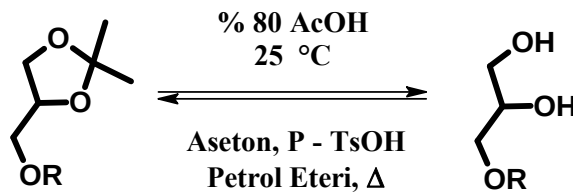
2.3. Bu Çalışmada Tasarlanan Moleküller

PDT’de ışığa duyarlı malzemeler (fotosensitizer) olarak kullanılan bileşiklerden bir tanesi de ftalosiyanın bileşikleridir. Literatürde PDT amaçlı sentezlenmiş olan ftalosiyanın kompleksleri incelendiğinde suda çözünme özelliği gösteren sınırlı sayıda ftalosiyanın türevi mevcuttur. Genellikle bu çalışmalarda iyonik (anyonik veya katyonik) suda çözünabilen ftalosiyanın türevleri üzerine yoğunlaşıldığı, iyonik olmayan ftalosiyanın türevleri üzerine çalışmaların daha az olduğu görülmüştür. Özellikle vücut sıvısı içerisine direkt olarak verilebildiği için suda çözünabilen ftalosiyanınların sentezlenmesi PDT uygulamaları açısından çok önemlidir. Bu çalışmamızda PDT için iyonik olmayan suda çözünabilen ftalosiyanın türevleri üzerinde çalışılması amaçlanmıştır.

Bir moleküle suda çözünabilir özelliği kazandırmanın pek çok yöntemi vardır. Moleküldeki hidroksi (-OH) sayısı artırmak onun suda çözünme potansiyelini artırmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalarda yapısında -OH grubu

bulunan ftalosiyaninlerin suda çözünübilirliği hakkında hiçbir gözlemleme yapılmamıştır [60-62]. –OH grubunun varlığı bazen molekülün suda çözünmesi için yeterli olmayabilir. Kobayashi ve arkadaşlarının 2002 yılında yayınladıkları çalışmada, periferel olarak süstitüe oktagliserol Zn(II) bileşigi, yapısında içerdigi pek çok sayıda hidroksi grubundan dolayı suda çözünmemesi şaşırtıcıdır [63]. Periferel oktagliserol Zn(II) bileşiginde –OH olmasında rağmen suda çözünmemesi süstitüent pozisyon etkisinden kaynaklanabilmektedir. Bu çalışmamızda ise gliserol birimlerinin non-periferel konumlarda bulunmasının suda çözünürlüğü artırabileceğini beklemekteyiz.

Çalışmamızda öncelikle koruyucu gruplar içeren ftalosiyaninlerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Koruyucu grup olarak solketal süstitüenti seçilmiştir. Solketal, gliserolün iki hidroksi grubunun izopropiliden gruplarıyla bağlanmış konumda olduğu, ucuz ve çok yönlü bir kimyasal olmasının yanında, asidik ortamlarda kolay bir şekilde gliserol formuna dönüşüm özelliği göstermesinden dolayı organik kimyada sentez çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.26) [64, 65]. Koruyucu grupların uzaklaşmasıyla elde edilecek gliserol birimleri fotosensitizere hidrofilik karakter sağlamak amacıyla kullanılacaktır.



Şekil 2.26. Solketal ve Gliserol Formları [64, 65]

Genelde tetra ve oktasüstitüe ftalosiyaninler karşılaştırıldığında tetra süstitüe ftalosiyaninlerin okta süstitüe benzerlerine göre daha yüksek çözünürlüğe ve daha düşük agregasyona sahip oldukları görülmüştür [66]. Bu davranışın başlıca nedeni tetra süstitüe ftalosiyaninlerin dört yapı izomeri (C_{4h} , C_{2v} , C_s ve D_{2h}) karışımı olarak izole edilmeleri [67] ve simetrik oktasüstitüe ftalosiyaninlerle karşılaştırıldığında katı halde daha düzensiz olmalarıdır. Süstitüent pozisyonunun yeri bakımından karşılaştırıldığında, non-periferel süstitüe ftalosiyaninler, periferel olarak süstitüe ftalosiyaninlere göre daha

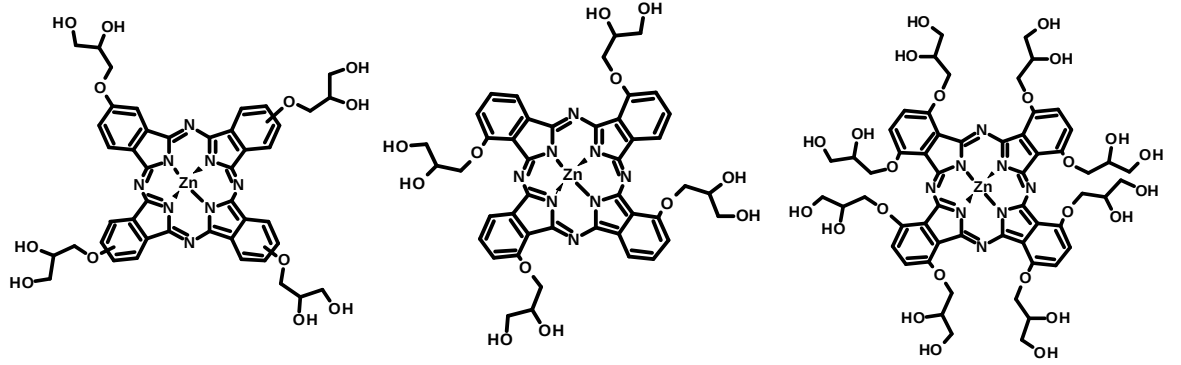
düşük agregasyona uğramaktadır. Nonperiferal oktasüstitüe ftalosiyeninler diğer ftalosiyeninlere göre literatür çalışmalarında daha az yer almaktadır.

Tüm bu etkilerden dolayı bu çalışmamızda, gliserol birimlerinin süstitüe edilmesiyle suda daha iyi çözünmesini beklediğimiz tetra (periferal ve nonperiferal) ve okta (nonperiferal) süstitüe ftalosiyeninlerin sentezlenmesi amaçlanmıştır.

Son yıllarda metalli ftalosiyenin türevleri PDT uygulamalarında fotosensitizer olarak geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Sentezlenmiş olan bir fotosensitizer bileşiğinin PDT aktivitesinin belirlenmesi için bu fotosensitizerin fotofiziksel ve fotokimyasal özelliklerinin belirlenmesi gerekmektedir. Ftalosiyeninlerin fotofiziksel ve fotokimyasal özellikleri merkez metal seçimine çok bağlıdır. Özellikle kabukları dolu diyamanyetik iyonlar (Zn^{+2} , Al^{+3}) ftalosiyenin bileşiklerinin yüksek singlet oksijen oluşturabilmelerini, yüksek triplet hal kuantum verimlerini sağlamanın yanında triplet halde uzun ömürlerini artırmaktadır. Bu sebep ile ftalosiyeninlerin $Zn(II)$ ve $Al(III)$ türevleri PDT’de kullanılmasında büyük ümitler vermektedir [68, 69].

Bu çalışmamızda etkin fotosensitizer olarak sentezlenecek tetra ve oktasüstitüe suda çözünür ftalosiyeninlerde metal olarak $Zn(II)$ kullanılacaktır.

Sonuç olarak bu çalışmanın sonunda sentezlenecek periferal ve non-periferal konumlarda gliserol birimleri içeren tetra ve oktasüstitüe $Zn(II)$ ftalosiyeninlerin sentezi (Şekil 2.27), süstitüent pozisyonunun fotosensitif özelliklere etkisi ve bileşiklerin PDT uygulamalarının önemli bir basamağını oluşturan, kanser hücrelerine karşı fotodinamik aktiviteleri *in vitro* denemelerle incelenmiştir.

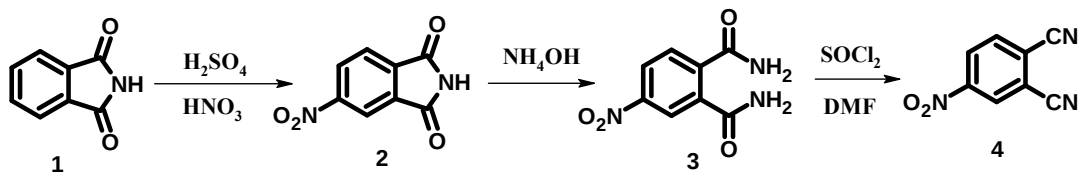


Şekil 2.27. Suda Çözünebileceği Düşünülen PDT Amaçlı İyonik Olmayan Zn(II) Ftalosiyanın Türevleri.

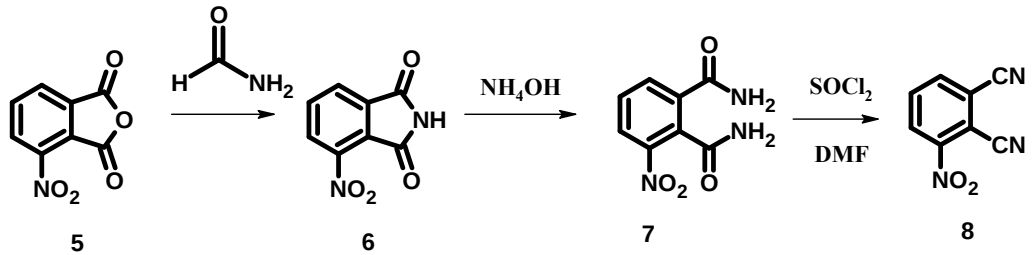
2.4. Tartışmalar

2.4.1. Ftalonitrillerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Sentezin ilk adımı 4-nitroftalonitril (**4**) ve 3-nitroftalonitrilin (**8**) sentezlenmesi ile olmuştur. İki ftalonitril üç basamaklı bir reaksiyon sonucunda elde edilmiştir. Bu başlangıç maddeleri ticari olarak satılmakla birlikte, laboratuvar şartlarında da kolay elde edilen ve ftalosiyanınların eldesinde kullanılan başlangıç maddeleri olarak literatürlerde yer almaktadır (Şekil 2.28-2.29) [70-72].



Şekil 2.28. 4-nitroftalonitril Bileşiğinin (**4**) Sentez Metodu [70-72]

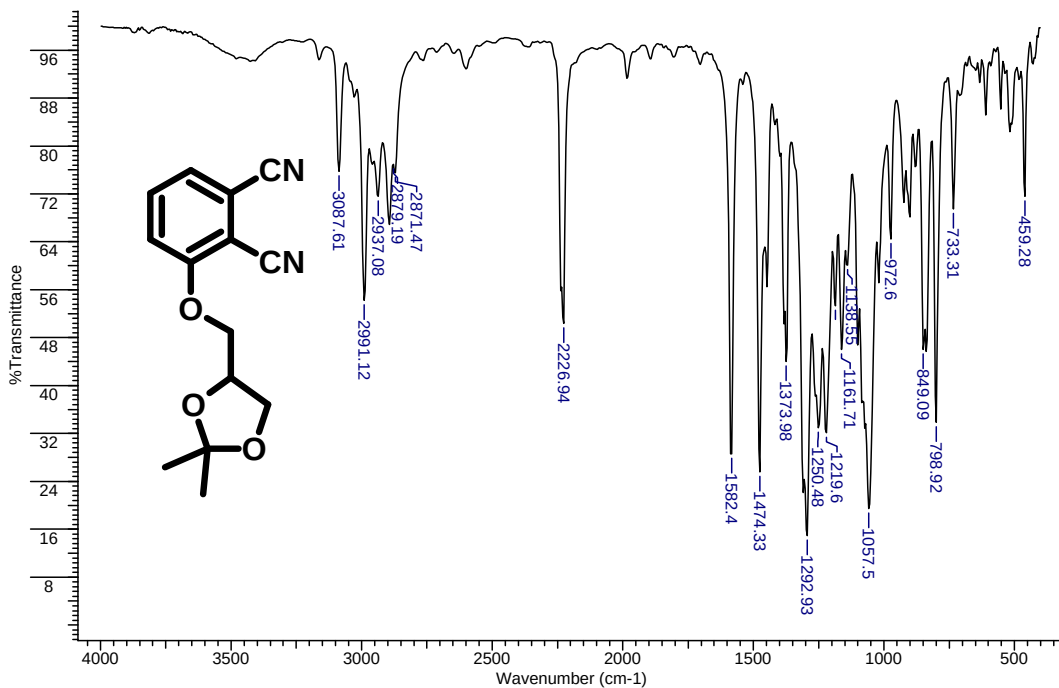


Şekil 2.29. 3-nitroftalonitril Bileşiğinin (**8**) Sentez Metodu [70-72]

Elde edilen 4-nitroftalonitril (**4**) ve 3-nitroftalonitrilin (**8**) solketal (**9**) ile 1:1.2 oranında, potasyum karbonat (K_2CO_3) bazı varlığında dimetilformamit (DMF) solventinde gerçekleşen reaksiyonu sonucunda sırasıyla 4-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril (**10**) ve 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril (**12**) bileşikleri elde edilmiştir. **12** numaralı ftalonitril bileşiği literatürde % 62 verimle elde edilmiştir [73]. Bu çalışmada aynı yöntem uygulandığında **12** bileşiği % 72 verimle elde edilmiştir (Şekil 2.30). **12** bileşiğinin verimi ise % 67 'dir. Nonperiferal konumların sterik etkiye sahip olmasından dolayı **12** bileşiği **10** bileşiğine göre daha düşük verimle elde edilmiştir.

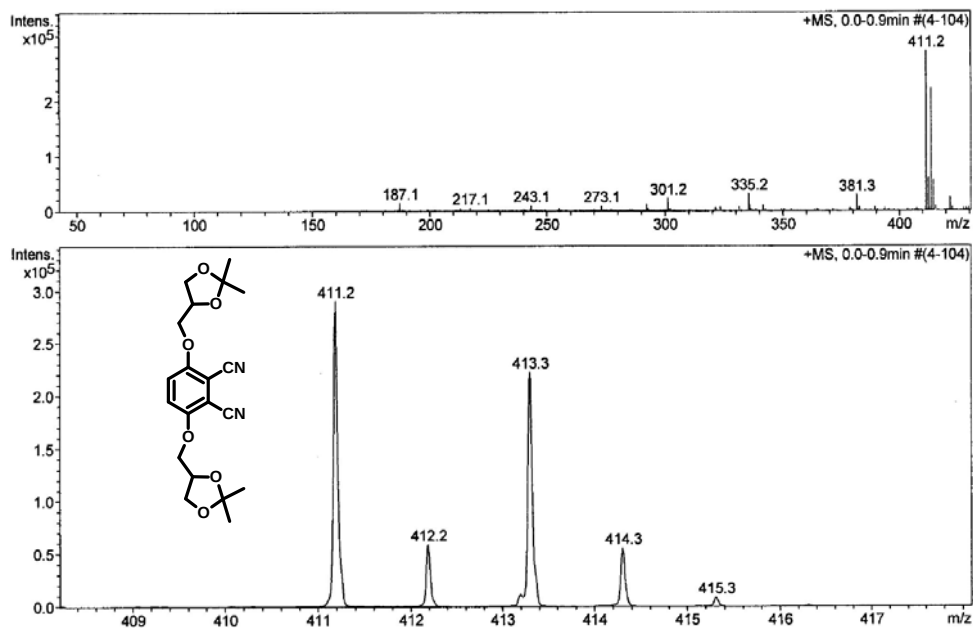
3,6-dihidroksiftalonitril (**17**) ile tosillenmiş solketalin (**18**) 1:2.2 mol oranında baz olarak K_2CO_3 ve solvent olarak DMF kullanılmasıyla gerçekleşen reaksiyonu sonucu 3,6-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril bileşiği (**19**) % 85 verimle elde edilmiştir (Şekil 2.31). **18** bileşiği solketalin (**9**) tosil klorür (TsCl) ile 1:1 mol oranında ve piridin varlığında gerçekleşen reaksiyonu sonucu % 80 verimle elde edilmiştir.

Ftalonitril bileşiklerin **10**, **12** ve **19** yapıları kütle spektrometresi, FT-IR, ^1H ve ^{13}C NMR ölçümlerinden elde edilen bilgilerle aydınlatıldı. **12** bileşiğinin FT-IR spektrumunda 2226 cm^{-1} deki keskin pik $-C\equiv N$ gerilmesi, $2871\text{--}2991\text{ cm}^{-1}$ alifatik $-C-H$ gerilmesi, 3087 cm^{-1} aromatik $-C-H$ gerilmesi, 1582 cm^{-1} $-C=C-$ gerilmesine ait pikler gözlemlendi (Spektrum 2.1). Ftalosiyanın oluştuğunda nitril piki kaybolmaktadır. Ayrıca **10** ve **19** ftalonitril bileşiklerinde benzer FT-IR spektrumları gözlemlenmiştir.



Spektrum 2.1. 12 Bileşğinin FT-IR Spektrumu

Ftalonitril bileşiklerin **10**, **12** ve **19** ESI-MS tekniğı ile alınmış kütle spektrumunda, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değler verilmiştir (Tablo 2.1). **19** bileşğın kütle spektrumu aşağıda verilmiştir (Spektrum 2.2)



Spektrum 2.2. 19 Bileşğın Kütle Spektrumu

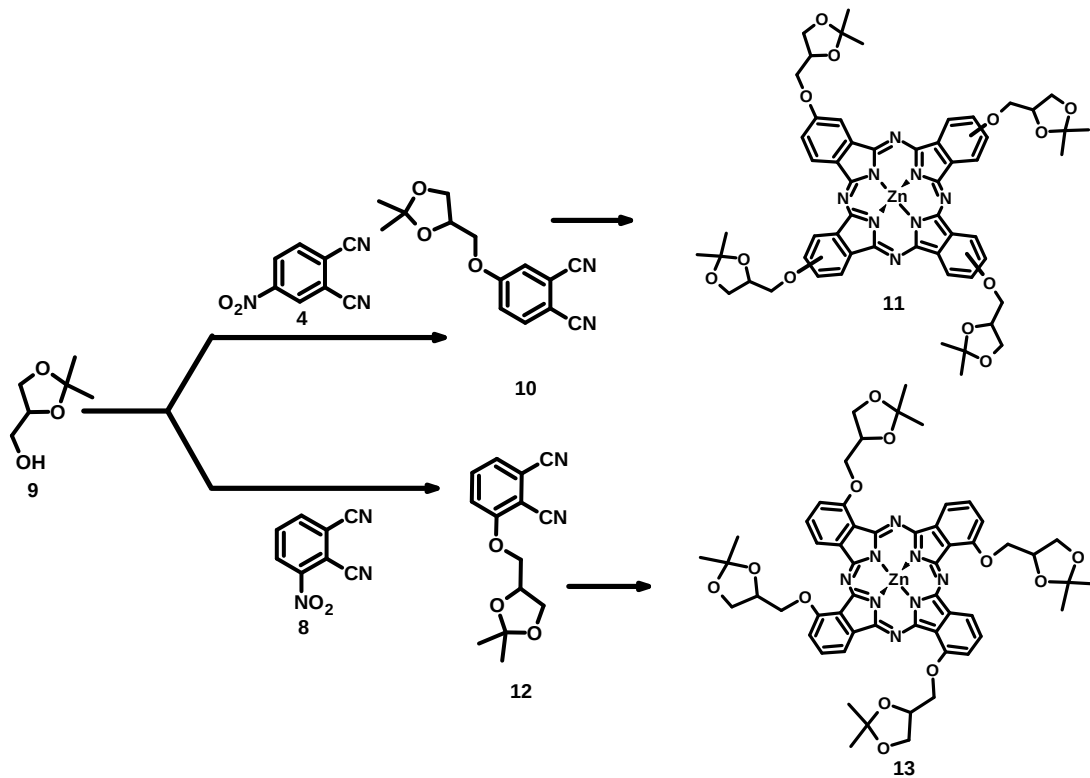
Tablo 2.1. Ftalonitril Bileşikleri (**10**, **12** ve **19**) İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri

Bileşik	Molekül Formülü	Hesaplanan $[M]^+$	Bulunan
10	$C_{14}H_{14}N_2O_3$	258.1	259.1 $[M+H]^+$
12	$C_{14}H_{14}N_2O_3$	258.1	281.1 $[M+Na]^+$
19	$C_{20}H_{24}N_2O_6$	388.16	411.2 $[M+Na]^+$

Ftalonitril bileşiklerin **10**, **12** ve **19** ^1H NMR ve ^{13}C NMR deneyleri iç referans olarak TMS'nin kullanıldığı $CDCl_3$ solventinde alınmıştır.

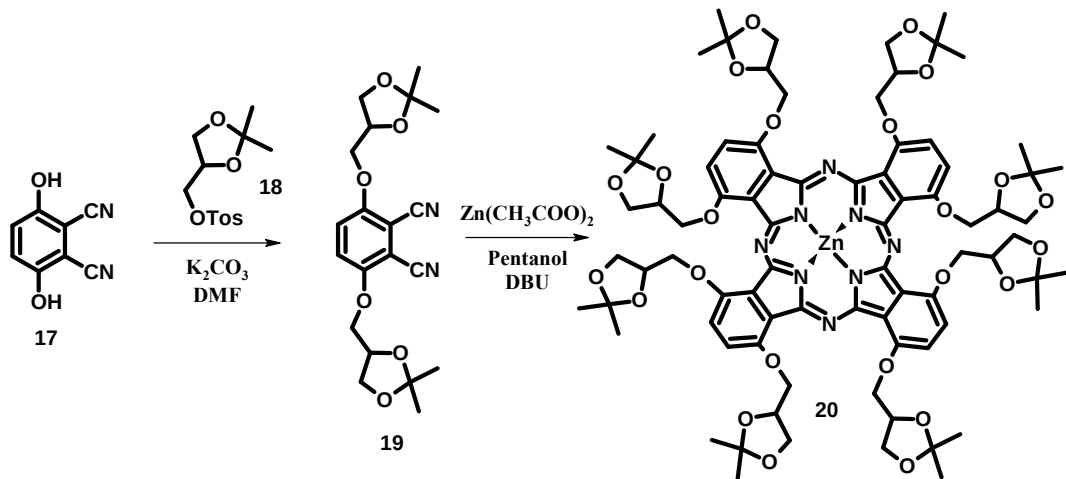
2.4.2. Ftalosiyanınların Sentezi ve Karakterizasyonu

10 ve **12** ftalonitrillerinin $Zn(CH_3COO)_2$ tuzu ve DMAE solventinin kaynama noktasında gerçekleşen reaksiyonu sonucu) tetrasüstitüe Zn(II) ftalosiyanın bileşikleri **11** ve **13** elde edilmiştir (Şekil 2.30). **11** bileşiğin literatürde $Zn(CH_3COO)_2/DMF$ varlığındaki reaksiyonu sonucu % 38 verim olarak rapor edilmiştir [74, 75]. Bu çalışma da ise DMF solventi yerine hem solvent hem baz olarak DMAE kullanıldı. **11** ve **13** bileşiklerinin verimleri ise sırasıyla % 42 ve % 30 olarak bulundu. Ftalosiyanın bileşikleri dolgu maddesi olarak silikajelin kullanılmasıyla kolon kromatografisinde saflaştırılmıştır. **13** bileşiğinin sentezi bu çalışmada ilk kez gerçekleştirildi. Sterik etkiden dolayı non-periferal olarak süstitüe Zn(II) ftalosiyanın bileşiğinin **13** verimi, periferal türevine **11** oranla daha düşük bulundu. Tetrasolketal süstitüe Zn(II) ftalosiyanınlar **11** ve **13** DCM, DMF, DMSO, $CHCl_3$, EtOAc, THF, EtOH, MeOH gibi yaygın olarak kullanılan organik çözücülerde iyi çözünmektedir.



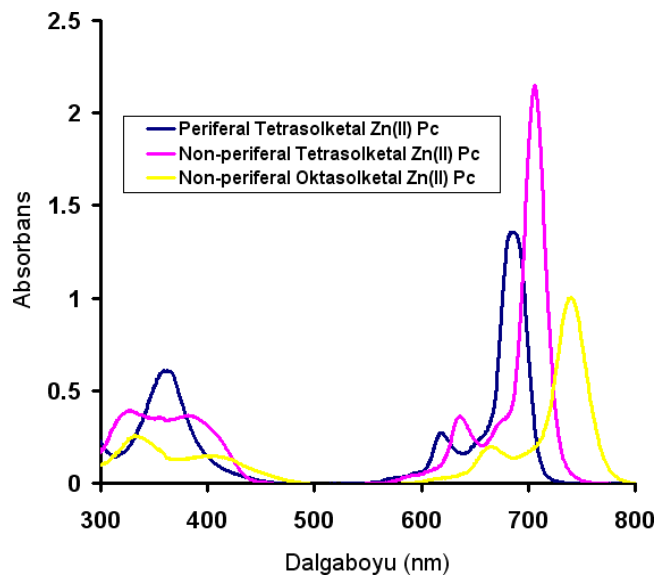
Şekil 2.30. Periferal ve Nonperiferal Tetrasolketal Süstitüe Zn(II) Ftalosiyanın Bileşiklerinin (11 ve 13) Sentez Metodu

3,6-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril (**19**) bileşiğinin metal tuzu olarak $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, katalizör olarak DBU'nun kullanılmasıyla ve pentanol solventinin kaynama noktasında gerçekleşen reaksiyonu sonucu non-periferal olarak süstitüe olmuş oktasolketal Zn(II) ftalosiyanın bileşiği **20** % 21 verimle elde edilmiştir (Şekil 2.31). İlginç olarak, kolon kromatografisi tekniği ile saflaştırılan yeşil görünümündeki bu bileşik, ince tabaka kromatografisinde (TLC) silikanın asidik karakterinden dolayı kahverenge dönmektedir. TLC kartı tekrar amonyak buharına tutulduğunda yeşil rengine dönmektedir. Bu bileşik DCM, DMF, DMSO, CHCl_3 , EtOAc, THF, EtOH, MeOH çözücülerinde iyi çözünmektedir.



Şekil 2.31. Non-periferal Oktasolketal Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiğinin (20) Sentez Metodu

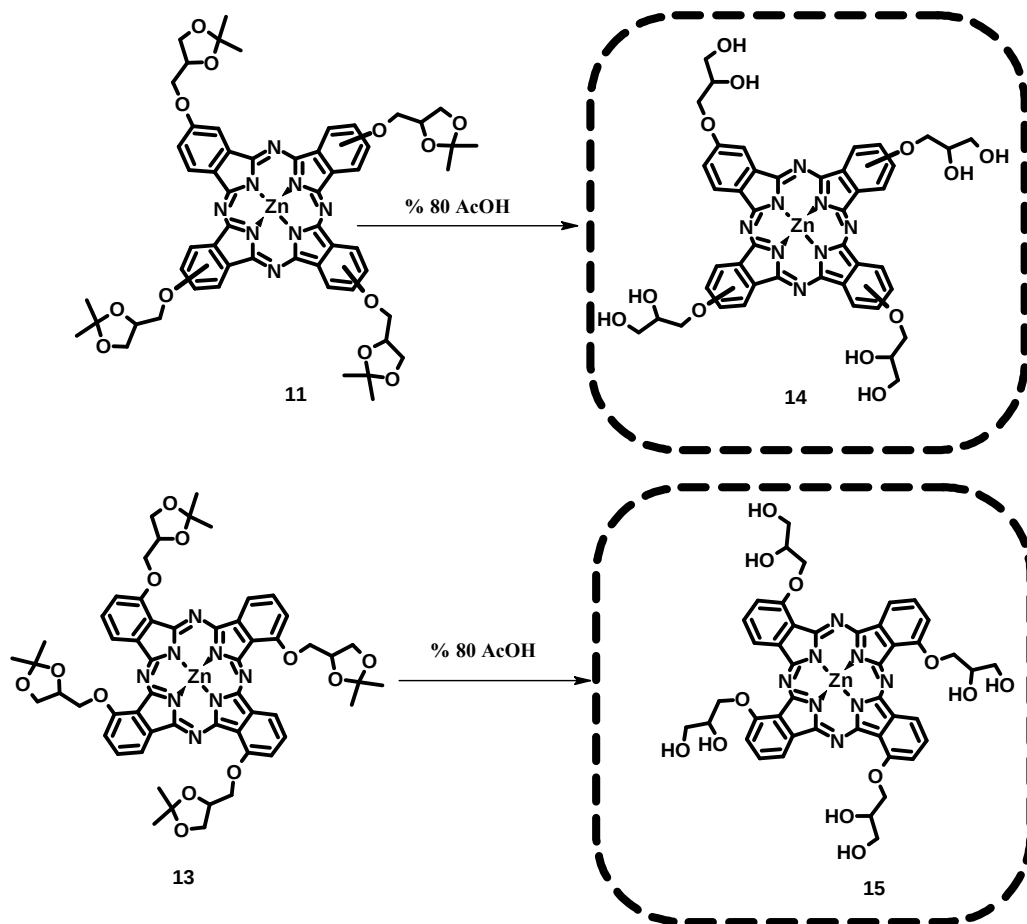
Solketal sübstitüe ftalosiyanin bileşiklerinin (11), (13) ve (20) UV-Vis ölçümleri kıyaslandığında, non-periferal oktasolketal sübstitüe Zn(II) ftalosiyanin bileşiğinin 20 non-periferal tetrasolketal sübstitüe Zn(II) ftalosiyaninden 13 yaklaşık 30 nm, periferal tetrasolketal ftalosiyaninden 11 yaklaşık 50 nm daha yüksek dalga boyunda absorbsiyon yaptığı gözlemlendi (Spektrum 2.3) [72, 76-78].



Spektrum 2.3. Solketal Sübstitüe Ftalosiyanin Bileşiklerinin (11-mavi), (13-pembe) ve (20-sarı) UV-Vis. Spektrumlarının Karşılaştırılması

Solketal bileşiğinde bulunan asetal grubu (-CMe₂) aside karşı son derece hassastır. Bu gruplar asit hidroliz varlığında kolayca ortadan kalkar ve gliserol

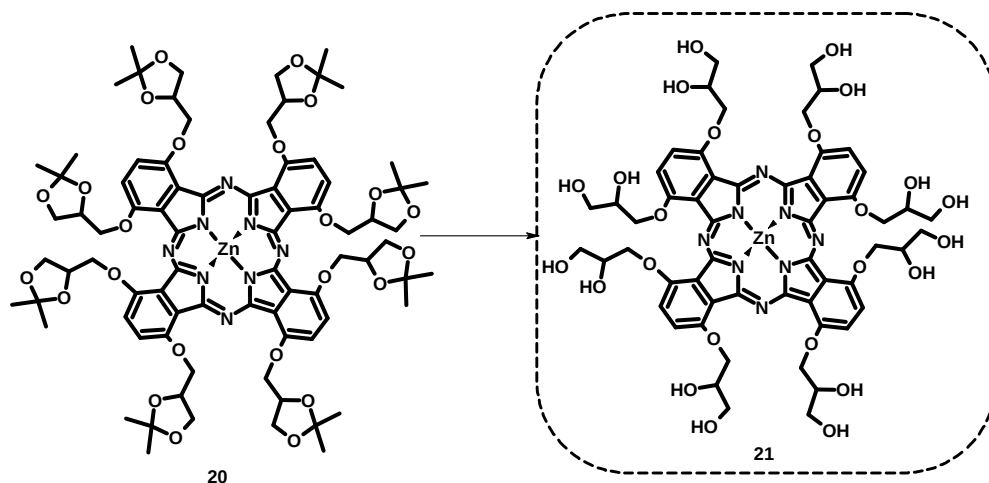
bileşiğine dönüşmektedir. Elde ettiğimiz **11** ve **13** Zn(II) ftalosiyanın bileşiklerinin % 80 lik asetik asit çözeltisi içinde oda sıcaklığında karıştırılarak gerçekleştirilen reaksiyonu sonucu gliserol süstitüe ftalosiyanın bileşikleri (**14** ve **15**) sırasıyla % 93 ve % 91 verimlerle elde edildi (Şekil 2.32). Literatürde **14** bileşiğinin eldesinde asit olarak p-TsOH/MeOH karışımı kullanılmış olup % 92 verimle elde edilmiştir [75]. Bu bileşiklerin sudaki çözünürlükleri karşılaştırıldığında **15** bileşiğinin **14** bileşiğine oranla daha iyi suda çözündüğü gözlemlendi. **14** ve **15** bileşikleri DMSO, DMF ve suda çözünmektedir.



Şekil 2.32. Periferal ve Nonperiferal Tetraglisierol Zn(II) Ftalosiyanın Bileşikleri (**14,15**)

Non-periferal oktasolketal süstitüe Zn(II) bileşiğinin **20** % 80 lik asetik asit ile oda sıcaklığında karıştırılmasıyla reaksiyonun rengi hemen mor renge döndüğü gözlemlendi. Bir gün karıştırılması ile gerçekleşen reaksiyon sonunda asetik asit döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldıktan sonra oluşan katı ürün organik

çözücülerde yıkandı. Oktagliserol süstitüe Zn(II) bileşiği **21** suda çok iyi çözünmesine rağmen oldukça kararsız olduğundan ve kolay bir şekilde bozulduğundan saf olarak elde edilememiştir (Şekil 2.32). Bu asit hidrolizasyon deneyinde literatürde korunmuş grupların uzaklaştırılmasında kullanılan diğer tekniklerde (TFA/H₂O (9/1), HCl (6M)-Dioksan, p-TsOH/MeOH) uygulandı [63, 75, 205]. Oda sıcaklığında yapılan bu reaksiyonlarda da başlangıç ftalosiyanın bileşiğinin tamamen bozulduğu gözlemlendi (Şekil 2.33).

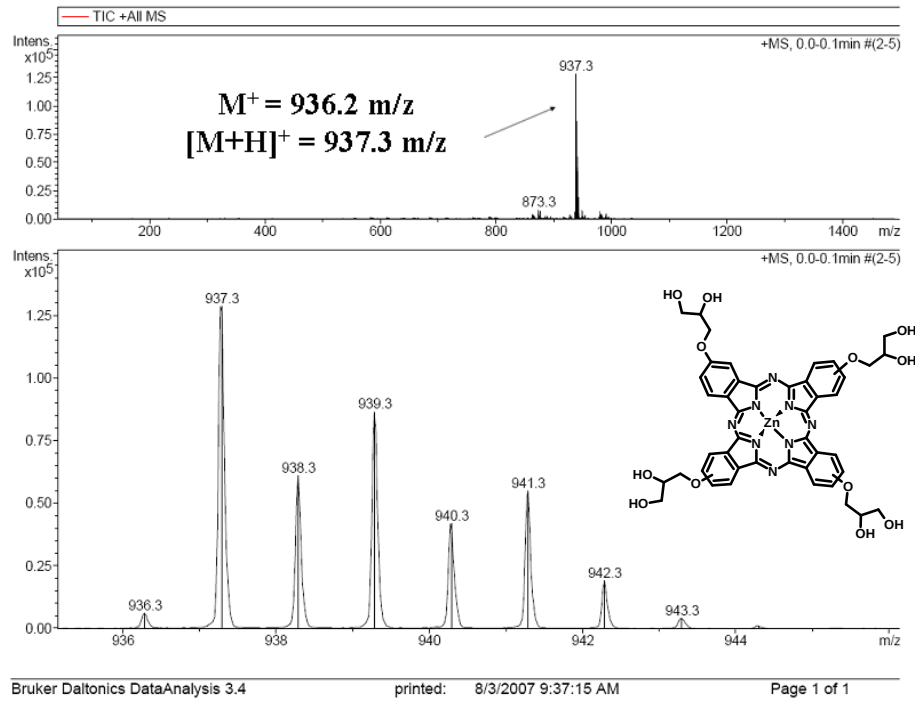


Şekil 2.33. Nonperiferel Oktasüstitüe Zn(II) Ftalosiyanın Bileşikleri (**20**, **21**)

Solketal ve gliserol süstitüe Zn(II) ftalosiyanın bileşiklerinin (**11**, **13**, **14**, **15** ve **20**) ESI-MS tekniği ile alınmış kütle spektrumunda, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler Tablo 2.2’de verilmiştir. **14** bileşiğinin kütle spektrumu verilmiştir (Spektrum 2.4).

Tablo 2.2. Ftalosiyanın Bileşikleri (**11**, **13**, **14**, **15** ve **20**) İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri

Bileşik	Molekül Formülü	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan
11	C ₅₆ H ₅₆ N ₈ O ₁₂ Zn	1096.33	1097.5 [M+H] ⁺
13	C ₅₆ H ₅₆ N ₈ O ₁₂ Zn	1096.33	1097.5 [M+H] ⁺
14	C ₄₄ H ₄₀ N ₈ O ₁₂ Zn	936.20	937.3 [M+H] ⁺
15	C ₄₄ H ₄₀ N ₈ O ₁₂ Zn	936.20	937.3 [M+H] ⁺
20	C ₈₀ H ₉₆ N ₈ O ₂₄ Zn	1616.58	1618.8 [M+2H] ⁺



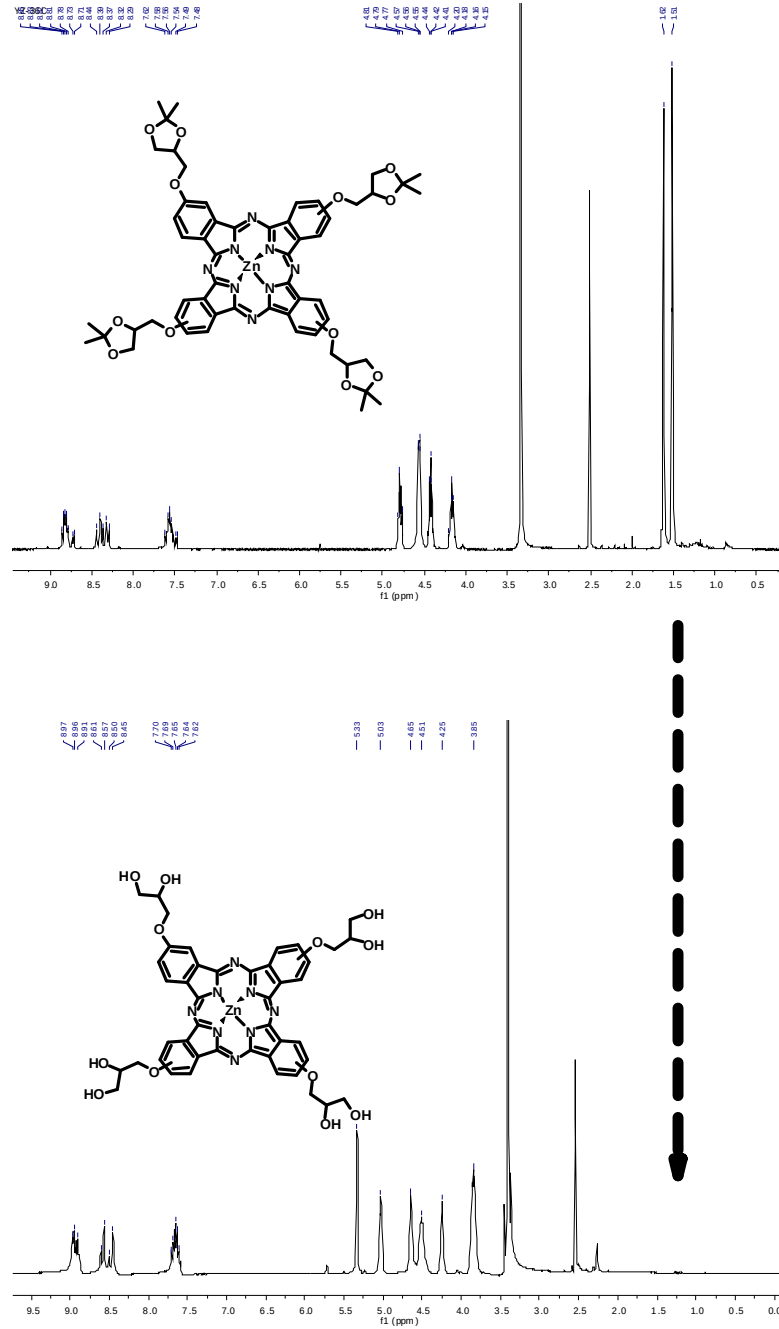
Spektrum 2.4. 14 Bileşiğinin Kütle Spektrumu

Solketal ve gliserol süstitüe Zn(II) ftalosiyenin bileşiklerinin [(11), (13), (14), (15) ve (20)] ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları iç referans olarak TMS'nin kullanıldığı d_6 -DMSO solventinde alınmıştır.

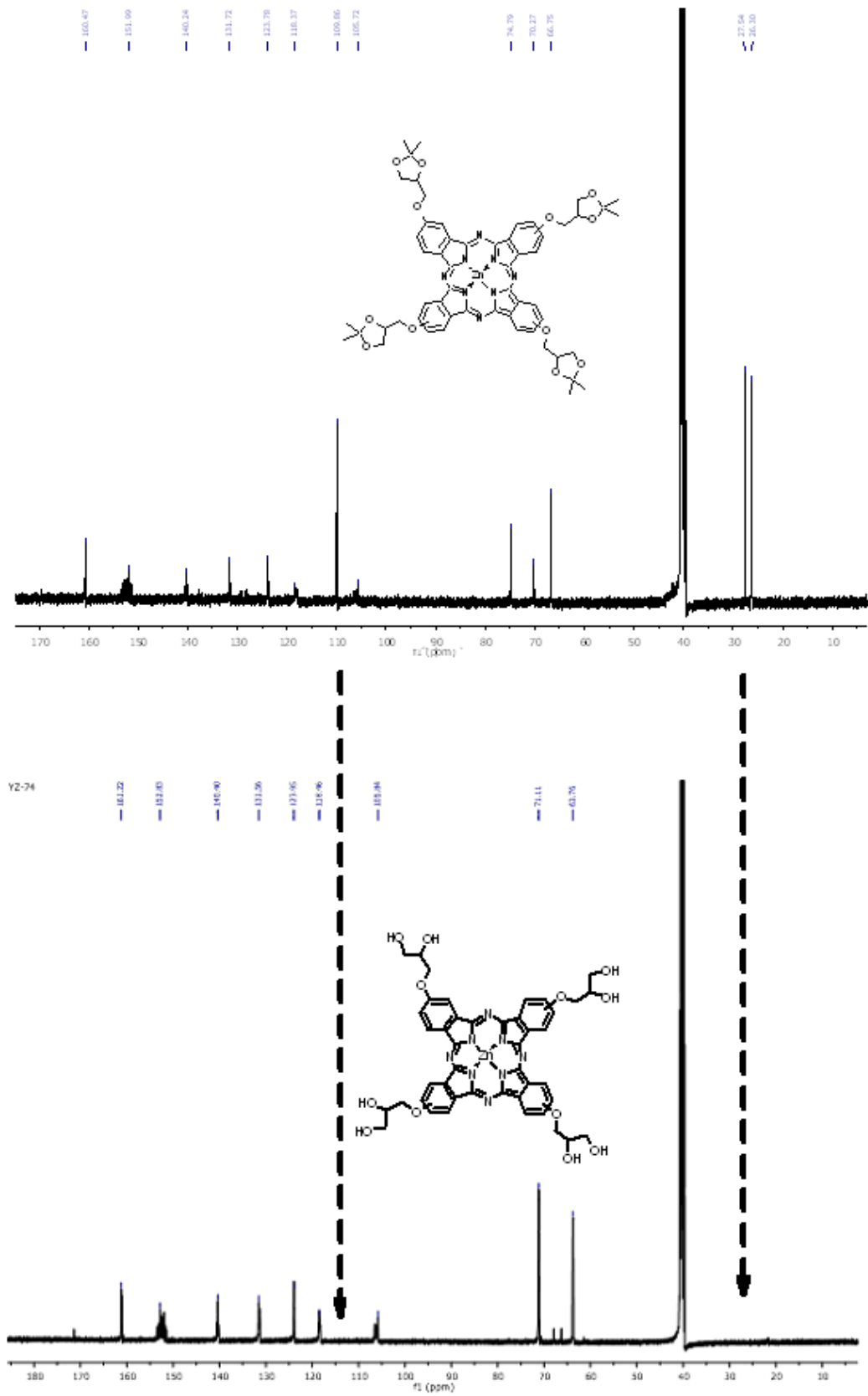
Solketal süstitüe Zn(II) ftalosiyenin bileşiğinin (11) NMR spektrumları önce d_1 - CHCl_3 solventinde alındı. Bu solvent içinde alınan NMR spektrumunda, ftalosiyenin hakasındaki benzen gruplarında bulunan üç farklı aromatik protonların yeri tam olarak belirlenemedi. Bunun sebebi ftalosiyenin bileşiğinin CHCl_3 içinde agregasyona uğramasından kaynaklanabilmektedir. Bu deneyde d_1 - CHCl_3 'a göre agregasyonu önleyen DMSO- d_6 solventi daha uygun bulundu.

11 ve 13 bileşiklerinin yapıları ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarından elde edilen verilerle de aydınlatıldı. Tetrasüstitüe ftalosiyeninler dört farklı yapı izomerinin karışımı halinde bulunduğundan ^1H NMR ve ^{13}C NMR'da pikler üst üste çakışmış olarak gözlemlendi. 11 ve 13 bileşiklerinin ^1H NMR spektrumunda 1.30-1.50 ppm aralığında solketal grubunda bulunan $-\text{CMe}_2$ piklerinin, asit hidroliz reaksiyonundan sonra elde edilen gliserol süstitüe Zn(II) bileşiklerinin (14,

15) ^1H NMR spektrumunda gözlenmedi. Benzer şekilde **11** ve **13** bileşiklerinin ^{13}C NMR spektrumlarında 110 ppm civarında gözlenen $-\text{CMe}_2$ pikinin, ve 25-30 ppm aralığında gözlenen $-\text{CH}_3$ pikinin, asit hidroliz reaksiyonundan sonra gözlenmedi. Bu açık bir şekilde solketalin tamamen gliserol grubuna dönüştüğünü kanıtlamaktadır (Spektrum 2.5-2.6). **20** bileşiğinin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları ayrıntılı bir şekilde beşinci bölümde tartışılacaktır.



Spektrum 2.5. 11 ve 14 Bileşiklerinin ^1H NMR Spektrumlarının Karşılaştırılması



Spektrum 2.6. 11 ve 14 Bileşiklerinin ^{13}C NMR Spektrumlarının Karşılaştırılması

Bu çalışmada sentezlenen solketal (**11**, **13** ve **20**) ve gliserol süstitüe (**14** ve **15**) Zn(II) ftalosiyenin bileşiklerinin 1.10^{-5} M konsantrasyonda ve çeşitli solventlerde hazırlanan UV-Vis ölçümlerinde gözlenen dalga boyları ($\lambda_{\max}$, nm) ve bu değerlere karşılık gelen molar ekstinksiyon katsayıları (ϵ) Tablo 2.3'de verilmiştir.

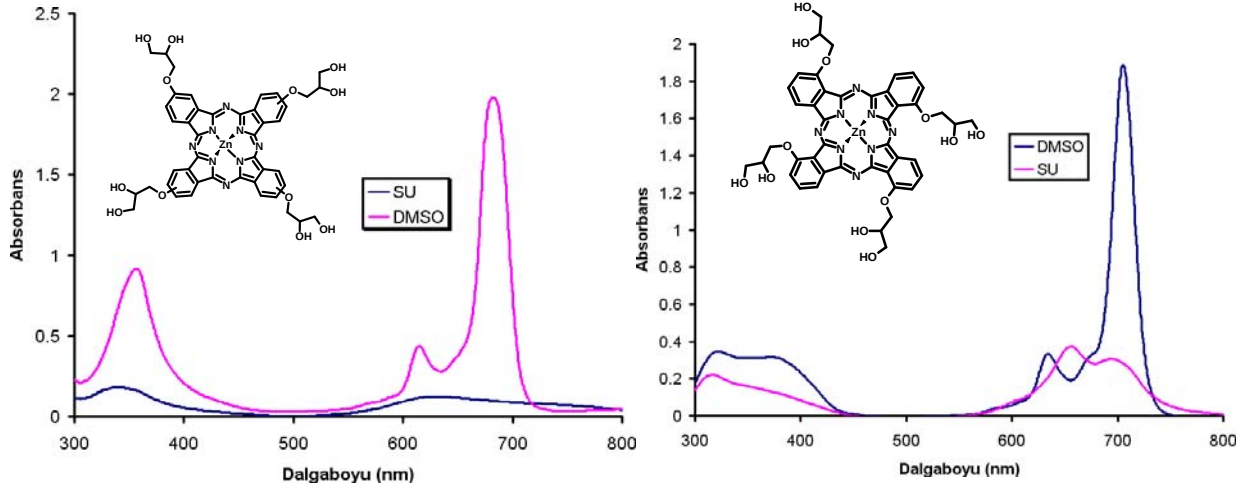
Tablo 2.3. Zn(II) Ftalosiyenin Bileşikleri (**11**, **13**, **14**, **15** ve **20**) İçin UV-Vis Ölçümlerinde Gözlenen Dalga Boyları ($\lambda_{\max}$) ve Ekstinksiyon (ϵ) katsayıları

BİLEŞİK		DMF	DMSO	SU
Periferal Tetrasüstitüe	11	677 (5.09)	-	-
	14	-	682 (5.29)	631 (4.09)
Non-periferal Tetrasüstitüe	13	696 (5.30)	-	-
	15	-	705 (5.28)	656 (4.57), 694 (4.49)
Non-periferal Oktasüstitüe	20	729 (4.99)	-	-
	Gliserol	-	-	-

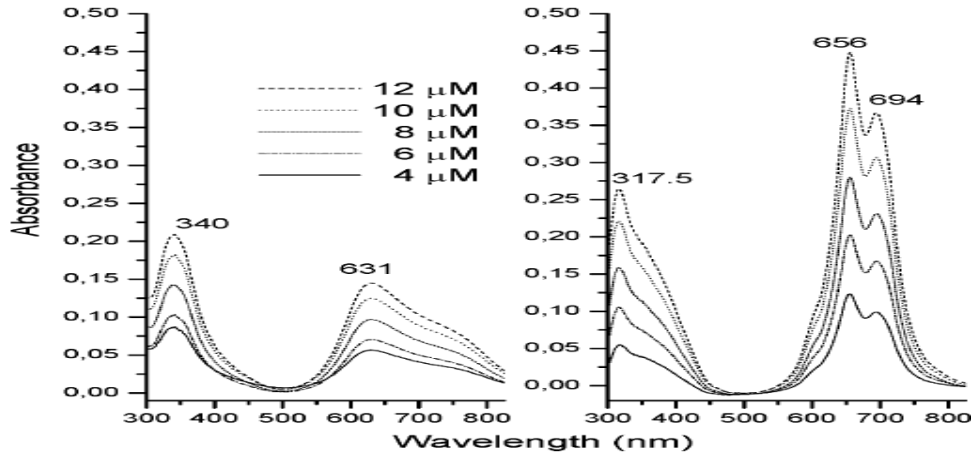
Agregasyon varlığı spektrokimyasal olarak absorbsiyon pikinin daha düşük dalga boyuna kayması (hipokromizm) ve absorbsiyon şiddetinin azalması ile gözlenir [79].

Periferal ve non-periferal gliserol süstitüe Zn(II) ftalosiyenin bileşiklerinin (**14**) ve (**15**) UV-Vis. spektrumu incelenmiştir. **14** bileşiğin DMSO'daki UV-Vis. spektrumunda 682 nm'de karakteristik Q bandı ve 356.5 nm'de ise Soret bantları gözlemlendi. **15** Bileşiğin DMSO'daki UV-Vis. spektrumunda ise 705 nm'de Q bandı ve 321 ve 378 nm'de ise iki Soret bandı gözlemlendi. **14** ve **15** ftalosiyenin bileşiklerinin DMSO içinde agregasyona uğramadığı spektroskopik olarak gözlemlenmiştir (Spektrum 2.7). Her iki ftalosiyenin bileşiğinin su içerisinde alınmış UV-Vis. spektrumundaki Q bandı, DMSO'da alınmış spektrumundaki Q bandına göre daha az absorbans değerine sahip olduğu bulundu. **14** ve **15** Zn(II) bileşiklerinin su içinde Q ve B bantlarının daha kısa dalgaboyuna (maviye kayma) kayarak agregasyona uğradığı gözlemlenmiştir. İyonik olmayan suda çözünür ftalosiyenin bileşiklerinin su içinde agregasyona uğradığı belirtilmiştir [50, 51, 59]. Gliserol birimlerinin non-periferal konumlarda bulunduğu **15** bileşiği,

periferal konumlarda olan (14) bileşiğine göre suda daha iyi çözünmektedir. UV-Vis. spektrumunda bu değişiklik (15) bileşiğin (14) bileşiğine göre Q bandının daha keskin ve daha az agregasyona uğraması nedenini de açıklamaktadır (Spektrum 2.8).



Spektrum 2.7. 14 ve 15 Bileşiklerin DMSO ve Su İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis Spektrumları



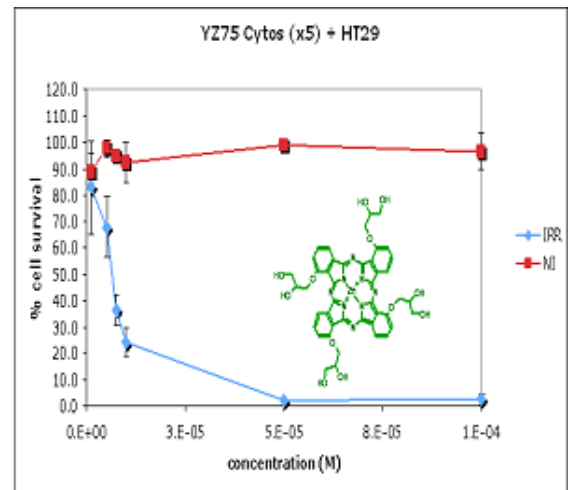
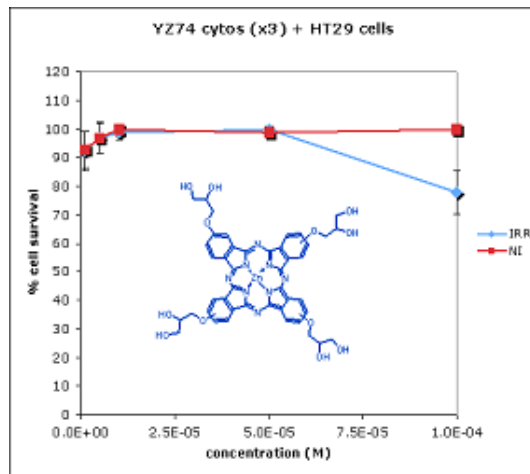
Spektrum 2.8. 14 ve 15 Bileşiklerinin İçin Su İçerisinde Farklı Konsantrasyonlarda Alınmış UV-Vis. Spektrumu

2.4.3. Uygulamalar

2.4.3.1. Suda Çözünür Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiklerinin Fotodinamik Aktiviteleri

Bu çalışmada sentezlenen suda çözünür Zn(II) ftalosiyanin bileşiklerinin fotodinamik aktivite çalışmaları İngiltere Hull Üniversitesi Kimya Bölümünden Dr. Ross W. Boyle ve Huguette Savoie tarafından yapılmıştır.

İki farklı suda çözünür gliserol süstitüe Zn(II) ftalosiyanin bileşikleri HT-29 (Human Colon Adenocarcinoma) hücrelerine karşı PDT aktiviteleri incelendi. Periferal tetragliserol bileşiği (**14**) için en yüksek konsantrasyonda (100mM) bile LD₉₀ değerine ulaşamadı. İlginç olarak gliserol birimlerinin non-periferal konumlarda olduğu (**15**) bileşiği için LD₉₀ değeri 35 mM olarak bulunmuştur (Şekil 2.34). Bu bileşiğin LD₉₀ değeri daha önce rapor edilen tetrasulfonato ve tetra(hekzil) hidroksi Zn(II) ftalosiyanin bileşikleri için bulunan LD₉₀ değerleri ile karşılaştırılabilir düzeydedir [62]. DMSO'da her iki ftalosiyanin bileşiği floresans özelliği gösterdiği halde, su içinde bu özelliği gösterememektedir. Bunun sebebi ftalosiyanin molekülünün su içinde kuvvetli bir şekilde kendi kendine floresans söndürücü olarak davranmasından kaynaklanmaktadır. Kullanılan en yüksek konsantrasyonda (100mM) **14** bileşiği ile inkübe edilen HT-29 kanser hücreleri için hiçbir floresans mikroskop görüntüsü elde edilememişken, **15** bileşiği için LD₉₀ konsantrasyonunda (35 mM) HT-29 kanser hücreleri için hücre içine alınıp görüntüsü elde edilmiştir (Şekil 2.35). Bu çalışma ile ilgili detaylı bilgiler Ek-1'deki yayında yer almaktadır.



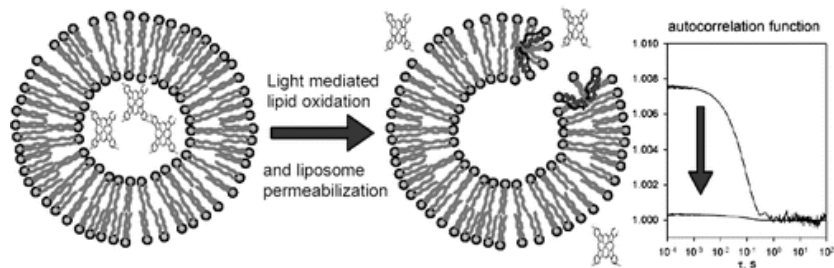
Şekil 2.34. ZnPc(II) Bileşikleri (14) ve (15) İçin Artan Konsantrasyonlarına Bağlı Olarak Işığa Maruz Bırakılmadan Önce (kırmızı çizgi) ve Maruz Bırakıldıktan Sonraki (mavi) HT-29 Hücrelerinde Sağ Kalım Eğrisi



Şekil 2.35. 15 Bileşiği ile İnkübe Edilen HT-29 Kanser Hücreleri İçin Floresans Mikroskop Görüntüsü ($\lambda_{\text{ex}} = 400 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{emm}} > 620 \text{ nm}$).

2.4.3.2. Suda Çözünür Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiğinin Lipozom Membranları ile Etkileşimi

In vitro test denemelerinde başarılı olan, iyonik olmayan suda çözünür Zn(II) ftalosiyanin bileşiğinin (15) lipozom membranları ile etkileşim çalışmaları Moskova Üniversitesi Fizikokimya Bölümünden Prof. Dr. Yuri Antonenko ve çalışma grubu tarafından yapılmıştır. Bu çalışma ile ilgili dataylı bilgi yayında yer almaktadır.



2.5. Sonuçlar

Bu çalışma sonunda iki adet farklı konumlarda süstitüe olmuş non-iyonik suda çözünür yeni tip Zn(II) ftalosiyanın bileşikleri sentezlendi ve yapıları karakterize edildi. Sentezlenen maddelerin HT-29 (human colon adenocarcinoma) kanser hücrelerine karşı *in vitro* PDT aktiviteleri incelendi. Suda en az aggregasyon eğilimi olan **15** bileşiğinin HT-29 kanser hücrelerine karşı etkili olduğu bulunmuştur. Süstitüent pozisyonunun değişmesiyle fotosensitizerin PDT aktivitesi üzerine etkisi gözlendi. Bu çalışmalar ile ilgili 2 adet yayın hazırlandı.

Yunus Zorlu, Mahmut Ali Ermeýdan, Fabienne Dumoulin, Vefa Ahsen, Huguette Savoie and Ross W. Boyle, ‘‘Glycerol and galactose substituted zinc phthalocyanines. Synthesis and photodynamic activity’’, ***Photochem. Photobiol. Sci.*, 2009, 8, 312–318**

Alina Pashkovskaya, Elena Kotova, Yunus Zorlu, Fabienne Dumoulin, Vefa Ahsen, Igor Agapov, Yuri Antonenko, ‘‘Light-Triggered Liposomal Release: Membrane Permeabilization by Photodynamic Action’’, ***Langmuir*, 2010, 26, 5726-5733**

Glycerol and galactose substituted zinc phthalocyanines. Synthesis and photodynamic activity

Yunus Zorlu,^a Mahmut Ali Ermeýdan,^a Fabienne Dumoulin,^{*a} Vefa Ahsen,^a Huguette Savoie^b and Ross W. Boyle^{*b}

Received 3rd October 2008, Accepted 12th December 2008

First published as an Advance Article on the web 14th January 2009

DOI: 10.1039/b817348f

Three novel water soluble, non-ionic, zinc phthalocyanines (Pcs) have been synthesized and their spectroscopic and photodynamic properties investigated in aqueous media. One of the three compounds was shown to be significantly less aggregated, when compared to the other two compounds, and this effect was found to be related to both the nature of the substituent, and also the position at which it is attached to the macrocycle. Photodynamic activity and cellular uptake by human adenocarcinoma cells (HT-29) was shown to be linked to the aggregation state of the Pcs in water.

Introduction

Many metallated phthalocyanines (Pcs) are efficient photosensitisers, and when the macrocycle resulting from coordination of a metal or pseudo-metal results in a diamagnetic complex, such as with Zn(II), Al(III), Ga(III), Si(IV), excitation with visible light in the presence of molecular oxygen can result in the generation of reactive oxygen species *via* energy transfer from the triplet excited state of the Pc. If this reaction takes place when the Pc is associated with biological tissue or cells, oxidative damage to structural components including unsaturated lipids, amino acid residues and nucleic acids can occur, ultimately leading to cell death. This property is often exploited in the Photodynamic Therapy (PDT)¹ of cancer and other conditions such as age related macular degeneration.

In order for Pcs to be useful photodynamic sensitizers it is necessary for them to be water soluble, or be formulated in a delivery vehicle which renders them water soluble. For this reason, and also because of their use as dyes, a large number of water soluble Pcs have been described. Commonly, water solubility is achieved by grafting ionic groups to the macrocycle, either axially or directly on the isoindoline sub-units. Most common amongst these are sulfonic acid groups,² resulting in anionic Pcs, and quaternarised amino^{3,4} or pyridino⁵⁻⁹ groups, which lead to cationic Pcs. The presence of polyoxoethylene¹⁰ or hydroxyl¹¹ groups can also result in neutral water-soluble Pcs, and thus carbohydrates, which effectively allow multiple hydroxyl groups to be introduced as a single unit, are of great interest. Despite this fact, relatively few carbohydrate substituted Pcs have been described to date. Those that have been reported bear protected glycerol,¹²⁻¹⁶ which can be considered as one of the most basic carbohydrates, or various hexoses in peripheral¹⁷⁻²¹ or axial²² positions; while very few have an asymmetric substitution pattern.²³⁻²⁵ Among the few carbohydrate substituted Pcs for which properties as photodynamic sensitizers have been reported, three

are silicon(IV) Pcs bearing solketal,¹⁴ galactose¹⁸ or glucose²² units protected with acetal groups, and the fourth is a ZnPc peripherally substituted by eight solketal groups.^{14,21} While axial substitution helps prevent aggregation, the solketal substituted Pcs are too hydrophobic to be fully soluble in water. The latter example, without axial ligands, is also highly aggregated in aqueous media. Aggregation has previously been shown to be linked to the photodynamic activity of hydroxylated and sulfonated ZnPcs.¹¹

In order to investigate the properties of Pcs substituted by unprotected carbohydrates, which are likely to be much more soluble in water due to the free hydroxyl groups and thus more bioavailable, we prepared three tetrasubstituted Pcs bearing, respectively, galactose attached to the peripheral (4,5) positions of the isoindoline subunits (Fig. 1; **1**) and glycerol either in peripheral (4,5) (Fig. 1; **2**) or non peripheral (3,6) (Fig. 1; **3**) positions. These compounds represent three new members of the rare class of non-ionic water-soluble Pcs. The coordinated metal, zinc, was chosen as hydroxyl ZnPcs have previously been shown to be efficient photodynamic sensitizers.^{11,26}

Results and discussion

Phthalocyanine synthesis

The synthesis of **1** was achieved by the cyclotetramerisation of the glycosylated phthalonitrile **7**, itself prepared following Ziegler-Hanack's glycosylation procedure²⁷ (Scheme 1). During the course of this work a report was published describing several new carbohydrate substituted Pcs,²⁰ however compound **1** was not among them. **1** therefore represents the first example of a Pc bearing galactose units linked to the macrocycle *via* the anomeric carbon. A series of well-known reactions in carbohydrate chemistry led to **5**: galactose was perbenzoylated selectively to obtain only the pyrano derivative. Pentabenzoylated galactopyranose **4** was then selectively deprotected in the anomeric position with hydrazine acetate to give **5**. Phthalonitrile **6** was obtained in 81% yield following Ziegler-Hanack's new glycosylation method, which by condensation of anomeric hydroxyl with 4-nitrophthalonitrile^{28,29} introduced a new route to formation of the glycosidic bond. We

^aGebze Institute of Technology, Department of Chemistry, P.O. Box 141, Gebze, 41400, Kocaeli, Turkey

^bDepartment of Chemistry, University of Hull, Kingston-upon-Hull, East Yorkshire, HU6 7RX, UK

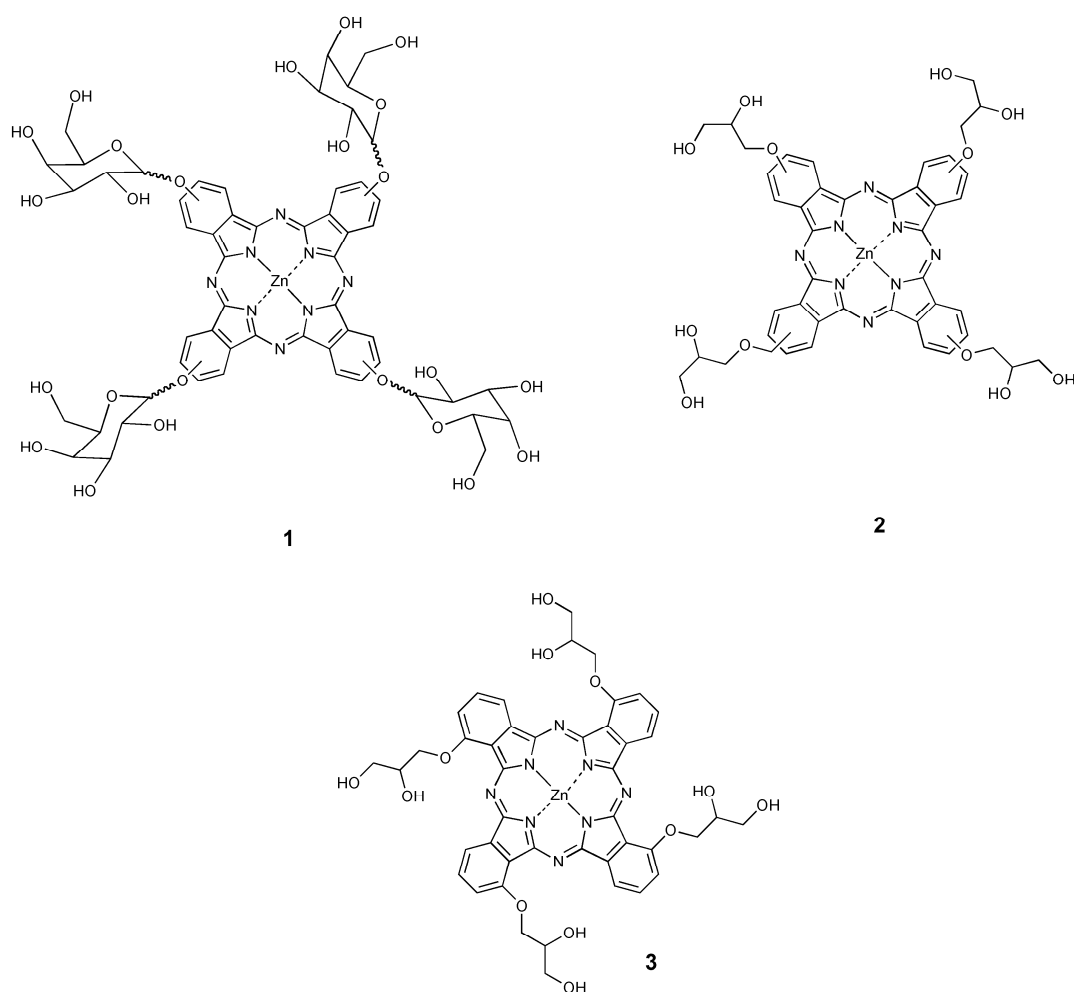
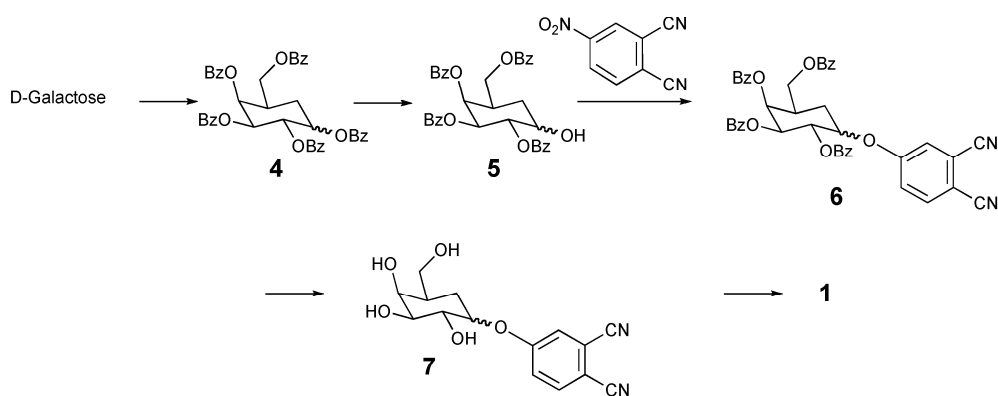


Fig. 1 Structures of galactose (**1**) and glycerol (**2**, **3**) substituted zinc phthalocyanines (only the most sterically favoured isomer shown for **3**).



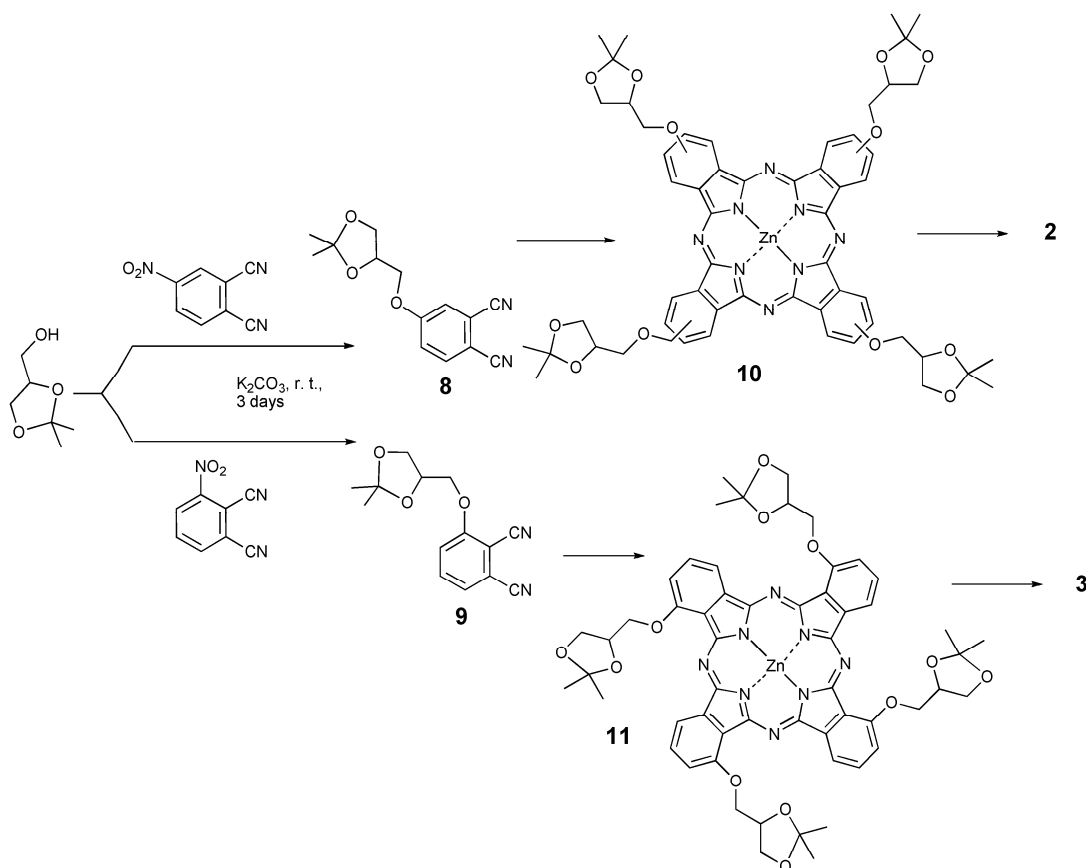
Scheme 1 Synthesis of galactose substituted ZnPc (**1**).

isolated the glycosylated nitrile **6**, in which the α derivative is predominant, as expected from previous results.¹⁷

1 was obtained by the cyclotetramerisation of **7**. For solubility reasons, the reaction was carried out in a mixture of butanol and DMAE, at 100 °C. The classical purification steps (solubilisation

in water and precipitation with acetone) proved insufficient to obtain analytically pure **1**, which was finally obtained after semi preparative reverse phase HPLC purification.

Synthesis of **2** as an intermediate has been reported previously.¹⁵ Solketal was firstly condensed with 4-nitrophthalonitrile²⁹ to give



Scheme 2 Synthesis of glycerol substituted ZnPcs **2** and **3** (only most sterically favoured isomer of **3** is shown).

the coupled product **8** in 72% yield (Scheme 2). **8** was then submitted to cyclotetramerisation, leading to the protected Pc **10** in 42% yield. Deprotection of the acetal was achieved by stirring for 16 h in acetic acid (80% solution) at room temperature,³⁰ resulting in the isolation of **2** in excellent yield (93%). Complete purity was achieved by successive washing with several solvents: ethyl acetate, hexane, dichloromethane and chloroform.

3 was prepared following the same procedure, solketal being condensed with 3-nitrophthalonitrile³¹ in comparable yields (67%). Non-peripherally (3,6) substituted Pc **11** was prepared in slightly lower yield (30%), compared with the isomeric Pc **2**. Deprotection of the acetal following the same procedure as for Pc **2** yielded **3** in an excellent yield of 91%. Complete deprotection was confirmed by the absence of diagnostic signals between 1.40 and 1.70 ppm in the ¹H NMR spectrum corresponding to the acetyl groups.

Pcs **1**, **2** and **3** have been characterized by ¹H and ¹³C NMR. Due to the fact that these tetra-substituted Pcs are isolated as a mixture of four position isomers, their ¹³C NMR spectra consist of overlapping signals. Disappearance of the acetal signals for **2** and **3** in the ¹H NMR (no signals in the 1.30–1.50 ppm area) as well as in ¹³C NMR (no signals in the 25–30 ppm area) clearly confirms the complete conversion of the solketal groups into glycerol moieties. The common shift to higher fields associated with changing from peripherally (4,5) and non-peripherally (3,6) substituted Pcs is observed for the respective ¹H and ¹³C NMR spectra of **10** and **11**,

and **2** and **3**. As expected, the protons of the macrocyclic moiety are shifted by 0.3 ppm when comparing **10** and **11**, and 0.4 ppm when comparing **2** and **3**.

The electronic absorption spectrum of each Pc has been recorded in water (Fig. 2). All three Pcs are water soluble in the micromolar concentration range, however **1** shows significant aggregation as demonstrated by the predominance of the shorter wavelength Q band at 634 nm. Pc **2** shows a similar degree of aggregation at comparable concentrations to **1**, in spite of significantly different substituents. Pc **3**, which is a positional isomer of **2**, demonstrates significantly less aggregation as represented by the increased absorption of the longest wavelength Q band absorption, at 694 nm. The singlet oxygen quantum yields for metallo Pcs are typically >0.4, and for the tetrasulfonated zinc Pc this is 0.7, however aggregation in aqueous solution has been shown to lead to loss of photochemical activity.²⁶ It was therefore of great interest to determine if the differences in aggregation state of **1**, **2** and **3** was reflected in their photoactivity in a biological system.

In vitro photodynamic activities

The three water-soluble hydroxylated ZnPcs (**1**, **2** and **3**) were investigated for their ability to photoinactivate HT-29 human adenocarcinoma cells, and these results were correlated with fluorescence microscopy studies to relate the *in vitro* cytotoxicity to cellular uptake and intracellular distribution. Compounds **1**

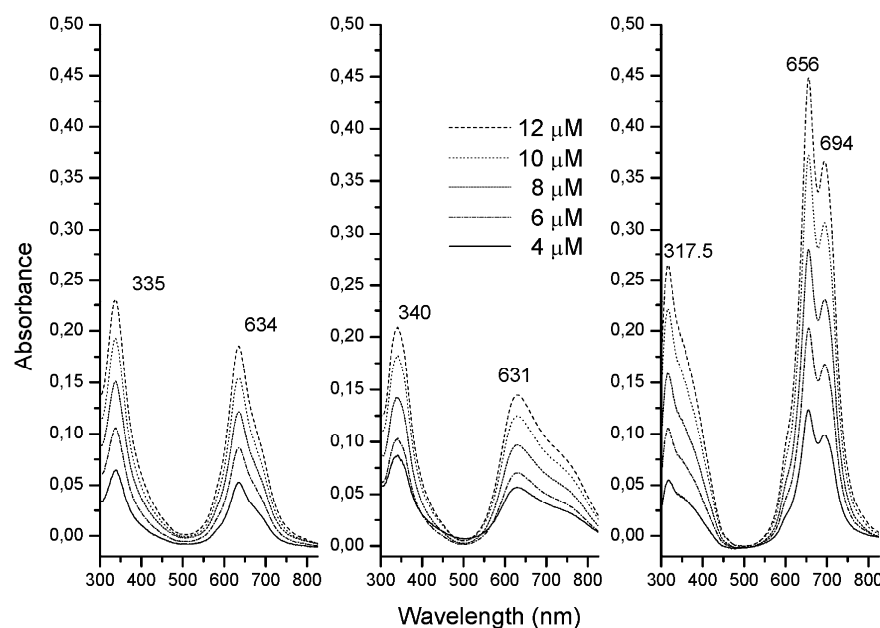


Fig. 2 UV-visible absorption spectra of Pcs **1** (left), **2** (centre) and **3** (right) in water.

and **2** both failed to attain an LD_{90} value even at the highest concentrations used ($100\ \mu\text{M}$). Interestingly **3**, which varies from **2** only in the position by which the glycerol moiety is attached to the isoindoline sub units of the Pc, gave an LD_{90} value of $35\ \mu\text{M}$. The LD_{90} value for **3** compares favourably with those we have previously reported¹¹ for tetra sulfonato and tetra (hexyl) hydroxy ZnPcs against V-79 cells, $85\ \mu\text{M}$, but is significantly greater than that found for tetra (propyl) hydroxy ZnPc, $0.65\ \mu\text{M}$. Comparison of the ground state absorption spectra for **2** and **3** in water indicated significantly more aggregation for the former compound in aqueous media at comparable concentrations. No fluorescence could be detected spectroscopically for any of the compounds in water, while all fluoresced when dissolved in DMSO, suggesting strong self quenching in aqueous media. Self quenching is intimately linked to the aggregation state of the molecule, which in turn is reflected in the difference in photodynamic activity found for these compounds. Fluorescence microscopy for the three compounds, however, mirrored the results of the photocytotoxicity assays, in that no fluorescence image could be detected for HT-29 cells incubated with **1** and **2** at the highest concentrations used ($100\ \mu\text{M}$), whereas images clearly showing uptake of **3** were acquired at the LD_{90} concentration ($35\ \mu\text{M}$). The fluorescence image for **3** in HT-29 cells (Fig. 3) shows a concentration of photosensitiser in particulate sub-cellular structures, which correlates well with images of the same cells incubated with the lysosomal stain LysoTracker®, suggesting that **3** is transported to the lysosomes after internalisation.

It has previously been shown that photosensitisers localizing to the lysosomes can result in permeabilisation of the lysosomal membrane upon irradiation and this property has been shown to have applications in gene therapy and increasing the activity of anticancer drugs that accumulated in this organelle. During the time period used to acquire the images no redistribution was detected.

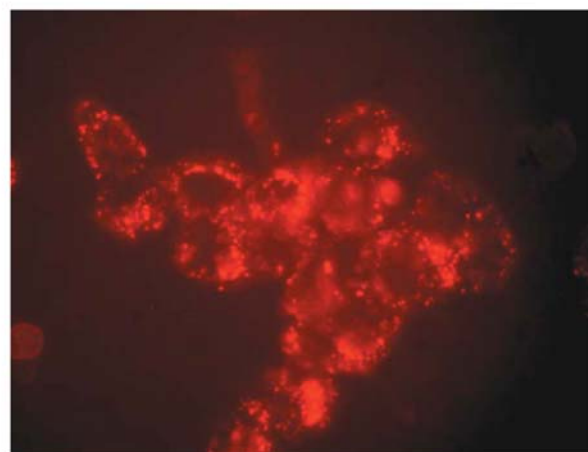


Fig. 3 Fluorescence microscopy image of HT-29 cells incubated with **3** ($\lambda_{\text{ex}} = 400\ \text{nm}$; $\lambda_{\text{em}} > 620\ \text{nm}$).

Finally, it is interesting, and fortuitous, that the most active photosensitiser in this small set also shows the most favorable optical properties for PDT, exhibiting a strong absorption in aqueous media from 655 to $695\ \text{nm}$. Further investigation of the potential of this promising new photodynamic sensitiser is currently underway.

Experimental section

Materials and methods

Dimethylformamide (DMF), *N,N*-dimethylaminoethanol (DMAE), *n*-butanol were dried as described in Perrin and Armarego before use.³²

Chromatographic purifications were performed on silica gel (Merck, 0.04–0.063 mm) with the indicated eluting systems. 4-Nitrophthalonitrile²⁸ and 3-nitrophthalonitrile³¹ were synthesised and purified according to literature procedures.

Elemental analyses were obtained from Carlo Erba 1106 Instrument. Infrared spectra were recorded with a Bio-Rad FTS 175C FTIR spectrophotometer. Absorption spectra in the UV/Vis region were recorded with a Shimadzu 2001 UV Pc spectrophotometer and a Varian 500 UV/Vis/NIR spectrophotometer.

Mass spectra were recorded with a Thermo LCQ DECA XP-Max spectrometer. ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded in CDCl₃ or DMSO-*d*₆ solutions with a Varian 500 MHz spectrometer.

McCoy's 5A Medium and L-glutamine were obtained from Invitrogen Ltd, 3 Fountain Drive, Inchinnan Business Park, Paisley. Fetal Bovine Serum (Heat Inactivated) was obtained from Biosera 1 Acorn House, The Broyle, Ringmer, East Sussex. Dimethyl sulphoxide (DMSO), Hybri-Max and MTT were obtained from Sigma-Aldrich, Sigma-Aldrich Company Ltd. The Old Brickyard New Road, Gillingham Dorset.

HT-29 cells were obtained from ECACC (ECACC 91072201).

The light source used for photocytotoxicity experiments consisted of a Quartz Tungsten-Halogen Lamp (Oriel Instruments model 66188) powered by 1KW Radiometric Power Supply (model 68835). Light being delivered through a water cooling filter, Integrating Sphere and red Schott glass filter (LP > 580 nm).

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl-D-galactopyranose (5). Galactose (15 g, 83 mmol) in pyridine (500 mL) was cooled in an ice bath. Benzoyl chloride (50 mL) was added dropwise, then the reaction mixture was allowed to come to room temperature and stirred overnight. Water (10 mL) was then added to the reaction mixture, which was stirred for one hour then poured into ice. Non-aqueous fractions were diluted in dichloromethane (500 mL), then washed successively with dilute hydrochloric acid (1 N, 3 × 150 mL), saturated aqueous sodium bicarbonate solution (3 × 150 mL) then water (150 mL) and finally dried over anhydrous sodium sulfate. Pure pentabenzoylated galactopyranose **4** was obtained after two recrystallisations in ethanol as a white solid in 65% yield. ¹H and ¹³C NMR spectra were identical to those previously published for this compound.³³ **4** (6 g, 8.6 mmol) was then selectively converted into **5** by stirring overnight with hydrazine acetate (1.5 g, 15 mmol) in DMF (50 mL) at room temperature. The resulting orange reaction mixture was poured into ethyl acetate (300 mL), extracted with brine (50 mL), then water (50 mL), and finally dried over anhydrous sodium sulfate. **5** was purified by column chromatography (silica gel: ethyl acetate–hexane, 2:3), to yield an amorphous solid (25 g; 80%). ¹H and ¹³C NMR spectra for **5** were identical to those previously published for the same compound.³⁴

3,4-Dicyanophenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl-D-galactopyranoside (6). **5** (2.98 g, 5 mmol) and 4-nitrophthalonitrile (0.87 g, 5 mmol) were stirred for 12 h in DMF (30 mL) at room temperature in the presence of potassium carbonate (4.17 g, 6 eq.). The reaction was then followed to completion by TLC (silica gel: ethyl acetate–hexane (2:3)). Upon completion the reaction mixture was diluted with ethyl acetate (300 mL), extracted with saturated aqueous sodium bicarbonate (2 × 100 mL) then distilled water (2 × 100 mL). The organic phase was dried over

anhydrous sodium sulfate and **6** was purified by chromatography on silica gel (hexane–ethyl acetate (3:2)), yielding a white solid (5.60 g; 81%). m.p. = 152–155 °C.

ESI-MS: isotopic cluster peaking at *m/z* 745.2 [M – Na]⁺. ¹H NMR (CDCl₃) 8.15–7.25 (m, 23H, aromatics), 6.25 (dd, 1H, *J*_{3,4} 3.11, *J*_{4,5} < 0.5 Hz, H-4), 6.2 (dd, 1H, *J*_{3,2} 10.70, *J*_{3,4} 3.18 Hz, H-3), 6.09 (d, 1H, *J*_{1,2} 3.24 Hz, H-1), 5.88 (dd, 1H, *J*_{2,3} 10.70, *J*_{2,1} 3.54 Hz, H-2), 4.64 (t, 1H, H-5), 4.55 (dd, 1H *J*_{6a,6b} 11.53, *J*_{6a,5} 5.64 Hz, H-6a), 4.46 (dd, 1H, *J*_{6b,6a} 11.71, *J*_{6b,5} 4.73 Hz, H-6b). ¹³C NMR (CDCl₃) 165.64, 165.69, 165.80, 166.01 (C=O), 158.94 (C-1'), 133.65, 133.82, 133.98, 134.04 (C^{IV}, aromatics), 128.56, 128.73, 128.76, 128.95, 129.00, 129.24, 129.58, 129.83, 129.97, 130.11 (CH, aromatics), 121.42, 121.73, 135.43 (C-2', C-5', C-6'), 115.46, 115.05 (CN), 109.49, 117.55, (C-3', C-4'), 95.27 (C-1), 69.32 (C-3), 69.06 (C-2), 68.34 (C-4), 68.53 (C-5), 62.87 (C-6). Anal. Calcd for C₄₂H₃₀N₂O₁₀: C, 69.80; H, 4.18; N, 3.88%. Found: C, 69.25; H, 4.34; N, 3.08%.

3,4-Dicyanophenyl D-galactopyranoside (7). **6** (1.0 g, 2.0 mmol) was suspended in anhydrous methanol (25 mL). NaOMe (20%, 100 mmol) was added and the solution was stirred for 1 h at room temperature. Dowex 50WX8–400 ion-exchange resin was added to neutralize the reaction mixture. The resin was filtered off and the solvent distilled under vacuum, yielding **7** as a white solid (0.325 g; 77%). m.p. = 220–222 °C. ESI-MS: isotopic cluster peaking at *m/z* 329.1 [M – Na]⁺. ¹H NMR (D₂O): δ d 7.79 (H-3'Ar, *J*_{3',2'} 8.83 Hz, 1H), d 7.63 (H-1'Ar, *J*_{1',2'} 2.49 Hz, 1H), dd 7.49 (H-2'Ar, 1H), 5.62 (H-1, *J*_{1,2} 3.68 Hz, 1H), 3.91 (H-2, *J*_{2,1} 3.68, *J*_{2,3} 9.61 Hz, 1H), m 3.87–3.83 (H-4, H-3, 2H), m 3.70 (H-5, 1H), dd 3.62 (H-6a, *J*_{6a,6b} 11.60, *J*_{6a,5} 7.01 Hz, 1H), dd 3.57 (H-6b, *J*_{6b,6a} 11.59, *J*_{6b,5} 4.94 Hz, 1H). ¹³C NMR (D₂O): δ 160.77 (C-1'), 135.43 (C-5'), 121.91 (C-2'), 121.90 (C-5'), 117.04 (C-3'), 115.63 (C-4'CN), 115.27 (C-3'CN), 108.23 (C-4'), 98.75 (C-1), 73.21 (C-5), 69.93 (C-3), 69.51 (C-2), 69.31 (C-4), 61.38 (C-6). Anal. Calcd for C₁₄H₁₄N₂O₆: C, 54.90; H, 4.61; N, 9.15%. Found: C, 54.54; H, 4.69; N, 8.82%.

4-(2,2-Dimethyl-[1,3]dioxolan-4-ylmethoxy)phthalonitrile (8). Solketal (4.1 g, 31 mmol) and 4-nitrophthalonitrile (5.36 g, 31 mmol) were stirred for 3 days in DMF (25 mL) at room temperature in the presence of potassium carbonate (27.6 g). After checking the completion of the reaction by TLC (silica gel: hexane–ethyl acetate (1:1)), the reaction mixture was poured into ice water. The resulting solid was filtered, dissolved in dichloromethane (100 mL) and washed with water (3 × 50 mL). The organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered and concentrated *in vacuo*. The product was purified by column chromatography (silica gel: hexane–ethyl acetate (1:1)), yielding 5.76 g of **8** (72%) as a white solid. m.p = 99–100 °C. ESI-MS: isotopic cluster peaking at *m/z* 259.1 [M – H]⁺. ¹H NMR (CDCl₃) 7.71 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz, Ar), 7.30 (d, 1H, *J* = 2.5 Hz, Ar), 7.23 (dd, 1H, Ar), 4.49 (m, 1H), 4.06–4.19 (m, 3H), 3.89 (m, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.39 (s, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃) 161.60, 135.21, 119.69, 119.46, 117.49, 115.49, 115.09, 110.23, 107.84, 73.44, 69.63, 66.22, 26.69, 25.15.

3-(2,2-Dimethyl-[1,3]dioxolan-4-ylmethoxy)phthalonitrile (9). Solketal (4.95 g, 37.5 mmol) and 3-nitrophthalonitrile (6.5 g, 37.5 mmol) were stirred for 3 days in DMF (30 mL) at room temperature in presence of potassium carbonate (34 g). After checking for completion of the reaction by TLC (silica gel:

hexane–ethyl acetate (1:1)), the reaction mixture was poured into ice-water. The resulting solid was filtered, dissolved in dichloromethane (100 mL) and washed with water (3 × 50 mL). The organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered and concentrated *in vacuo*. The product was purified by column chromatography (silica gel: hexane–ethyl acetate (1:1)), yielding 6.48 g of **9** (67%) as a white powder. m.p. = 125–126 °C. ESI-MS: isotopic cluster peaking at m/z 281.1 [M – Na]⁺. ¹H NMR (CDCl₃) 7.66 (t, 1H, J = 8.0 Hz, Ar), 7.40 (d, 1H, J = 8.0 Hz, Ar), 7.32 (d, 1H, J = 8.0 Hz, Ar), 4.52 (m, 1H), 4.15–4.25 (m, 3H), 4.02 (m, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.41 (s, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃) 161.15, 134.75, 125.87, 117.39, 117.37, 115.42, 112.95, 110.31, 105.53, 73.61, 69.97, 66.64, 26.93, 25.51. Anal. Calcd for C₁₄H₁₄N₂O₃: C, 65.11; H, 5.46; N, 10.85%. Found: C, 65.39; H, 5.09; N, 10.81%.

2,9(10),16(17),23(24)-Tetra((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy) phthalocyaninato zinc 10. **8** (2 g, 7.75 mmol) and Zn(OAc)₂ were refluxed for 10 h in *N,N*-dimethylaminoethanol (30 mL). After cooling, the reaction mixture was poured into hexane (200 mL) and filtered. The dark blue crude product was washed several times with hexane (2 × 200 mL) then water (200 mL), and obtained pure as a dark blue solid after column chromatography (silica gel: gradient elution, hexane–ethyl acetate (2:1) to pure ethyl acetate). Yield 42% (890 mg).

ESI-MS: isotopic cluster peaking at m/z 1097.5 [M – H]⁺. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 7.47–8.83 (3 m, 12H, aromatics), 4.15–4.81 (4 m, 20 H, 4CH₂CHCH₂), 1.43 (bm, 12H, 4CH₃), 1.38 (bm, 12H, 4CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) overlapping signals at 160.47, 151.98, 140.24, 131.72, 123.78, 118.37, 109.86, 105.72, 74.79, 70.27, 66.75, 27.54, 26.31. Anal. Calcd for C₅₆H₅₆N₈O₁₂Zn: C, 61.23; H, 5.14; N, 10.20%. Found: C, 60.22; H, 5.16; N, 9.52%.

1,8(11),15(18),22(25)-Tetra((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy) phthalocyaninato zinc 11. Using an identical procedure to that described above for **10**, **11** was obtained as a dark blue powder (650 mg, 30%). ESI-MS: isotopic cluster peaking at m/z 1097.5 [M – H]⁺.

¹H NMR (DMSO-*d*₆) 7.40–9.02 (3 m, 12H, aromatics), 4.23–5.28 (4 m, 20 H, 4CH₂CHCH₂), 1.43 (bm, 12H, 4CH₃), 1.38 (bm, 12H, 4CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) overlapping signals at 155.88, 153.05, 140.64, 130.91, 126.86, 124.99, 115.61, 109.61, 75.00, 70.05, 67.01, 27.42, 26.12. Anal. Calcd for C₅₆H₅₆N₈O₁₂Zn: C, 61.23; H, 5.14; N, 10.20%. Found: C, 60.57; H, 4.87; N, 9.75%.

2(3),9(10),16(17),23(24)-Tetrakis(α/β-D-galactopyranosyl-oxy) phthalocyaninato zinc 1. To **7** (0.325 g, 1.06 mmol) dissolved in a mixture of 2-(dimethylamino)ethanol (1 mL) and *n*-butanol (0.5 mL) was added Zn(OAc)₂ (183 mg, 1 mmol). The mixture was stirred under argon for 24 h at 100 °C and concentrated *in vacuo*. The residue was then dissolved in a minimal amount of H₂O and crude **1** was precipitated by addition of acetone. The solid was filtered, redissolved in a minimal amount of H₂O, precipitated a second time by addition of acetone, and collected by filtration. Purification was achieved by preparative RP(C₁₈)-HPLC chromatography (H₂O–MeCN, 10:1) to afford **1** as a green solid (140 mg, 10%). ESI-MS: isotopic cluster peaking at m/z 1289.4 [M – H]⁺. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 9.35 (s, 4H, H-5'), 9.08 (br, 4H, H-3'), 7.95 (br, 4H, H-6'), 6.05 (br, 4H, H-1). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) 163.20, 155.20, 137.64, 135.33, 124.40, 123.20, 120.53, (aromatics),

99.52 (C-1), 73.39 (C-2), 70.20 (C-4), 69.26 (C-3), 68.82 (C-5), 61.00 (C-6). Purity checked by analytical RP(C₁₈)-HPLC, performed using a Agilent 1100 series HPLC system (ChemStation software) equipped with a G 1311A pump and G1315B diode array detector monitoring the range 254–900 nm. The oven temperature was set to 30 °C. A Shimadzu C18, 5 μm, 20 × 250 mm column was used with an elution gradient from H₂O–MeCN 95:5 to H₂O–MeCN 85:15 in 35 min at 1 mL min^{−1}. Under these conditions, the retention time for **1** was found to be 23.87 min.

2,9(10),16(17),23(24)-Tetra(2,3-dihydroxy-propoxy) phthalocyaninato zinc 2. **10** (500 mg, 0.46 mmol) is stirred overnight in acetic acid 80%. The reaction mixture was then evaporated to dryness under reduced pressure and the dark blue powder washed successively with ethyl acetate, hexane, dichloromethane and chloroform to yield **2** as a dark blue powder (400 mg, 93%). ESI-MS: isotopic cluster peaking at m/z 937.3 [M – H]⁺. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 8.97–8.90, 8.57–8.43, 7.70–7.61 (3 m, 12H, aromatics), 5.33–3.84 (6 m, 28 H, glycerol moieties). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) overlapping signals at 161.22, 152.83, 140.40, 131.56, 123.95, 118.47, 71.11, 63.76. Anal. Calcd for C₄₄H₄₀N₈O₁₂Zn: C, 56.33; H, 4.30; N, 11.94%. Found: C, 56.68; H, 4.23; N, 11.60%.

1,8(11),15(18),22(25)-Tetra(2,3-dihydroxy-propoxy) phthalocyaninato zinc 3. According to an identical synthetic procedure as described above for **2**, **3** was obtained as a dark blue powder (350 mg, 91%). ESI-MS: isotopic cluster peaking at m/z 937.3 [M – H]⁺. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 9.05–9.22, 7.86–8.23 (2 m, 12H, aromatics), 3.75–5.76 (m, 28H, glycerol moieties). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) overlapping signals at 156.95, 153.61, 140.99, 131.71, 125.59, 114.62, 71.35, 63.92. Anal. Calcd for C₄₄H₄₀N₈O₁₂Zn: C, 56.33; H, 4.30; N, 11.94%. Found: C, 56.28; H, 4.31; N, 11.79%.

Photocytotoxicity assays

Phthalocyanines were formulated in DMSO and diluted in medium (McCoy's 5A + 2mM L-glutamine) to give concentrations ranging from 1 × 10^{−4} to 1 × 10^{−6} M when added to HT-29 cells (Human Caucasian colon adenocarcinoma; 1 × 10⁶ cells mL^{−1}). The cells were incubated in the dark for an hour at 37 °C with 5% CO₂ then washed with a 3 fold excess of medium to eliminate any unbound phthalocyanine. Pellets of cells were re-suspended in 1 mL medium and aliquots (4 × 100 μL) transferred to 96 wells plates in duplicate. One plate was irradiated with red light to a dose of 3.6 J cm^{−2} while the other served as dark control. After irradiation, 5 μL of Fetal Bovine Serum was added to each well and the plates were returned to the incubator overnight. After 24 h, an MTT cell viability assay was performed and the results expressed as% of cell viability *versus* phthalocyanine conjugate concentration. LD₉₀ values were determined from the resulting curves. Each experiment was performed in triplicate.

Fluorescence microscopy

Phthalocyanines were formulated in DMSO and diluted in medium (McCoy's 5A + 2mM L-glutamine) to give either the LD₉₀ concentration (3.5 × 10^{−5} M for **3**) or the maximum concentration used in for cytotoxicity assay (1 × 10^{−4} M for **1** and **2**), when added to HT-29 cells (1 × 10⁶ mL^{−1}). The cells and phthalocyanine were incubated and washed in media using the same procedure as for the cytotoxicity experiment, then plated into 35 mm glass

bottom culture dishes. The fluorescence image was produced by exciting at 400 nm (Cairn Optoscan Monochromator/75W xenon arc lamp) using a 600 nm dichroic filter and 610 nm longpass emission filter. Images were acquired using a Leica DMIRB microscope, 63x/0.70 CORR PH PL Fluotar objective and Hamamatsu Orca AG deep-cooled digital camera run by HCIImage version 1.1.0.102207.

References

- 1 L. B. Josefsen and R. W. Boyle, Photodynamic Therapy and the Development of Metal-Based Photosensitisers, *Metal Based Drugs*, 2008, 276109.
- 2 S. Arslan and I. Yilmaz, A new water-soluble metal-free phthalocyanine substituted with naphthoxy-4-sulfonic acid sodium salt. Synthesis, aggregation, electrochemistry and in situ spectroelectrochemistry, *Polyhedron*, 2007, 26, 2387–2394.
- 3 H. A. Dincer, A. Koca, A. Gul and M. B. Kocak, Novel phthalocyanines bearing both quaternizable and bulky substituents, *Dyes and Pigments*, 2008, 76, 825–831.
- 4 B. Sebnem Sesalan, A. Koca and A. Gul, Water soluble novel phthalocyanines containing dodeca-amino groups, *Dyes and Pigments*, 2008, 79, 259–264.
- 5 M. Durmus and T. Nyokong, The synthesis, fluorescence behaviour and singlet oxygen studies of new water-soluble cationic gallium(III) phthalocyanines, *Inorg. Chem. Commun.*, 2007, 10, 332–338.
- 6 M. Durmus and T. Nyokong, Synthesis, photophysical and photochemical studies of new water-soluble indium(III) phthalocyanines, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2007, 6, 659–668.
- 7 A. Ogunsipe, T. Nyokong and M. Durmus, Photophysical, photochemical and bovine serum albumin binding studies on water-soluble gallium(III) phthalocyanine derivatives, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 2007, 11, 635–644.
- 8 H. R. Pekbelgin Karaoglu, A. Gul and M. B. Kocak, Synthesis and characterization of a new tetracationic phthalocyanine, *Dyes and Pigments*, 2008, 76, 231–235.
- 9 H. Li, T. J. Jensen, F. R. Fronczek and M. G. H. Vicente, Syntheses and Properties of a Series of Cationic Water-Soluble Phthalocyanines, *J. Med. Chem.*, 2008, 51, 502–511.
- 10 M. Karabork and S. Serin, Synthesis and characterization of phthalocyanines with non-ionic solubilizing groups, *Synthesis And Reactivity In Inorganic And Metal-Organic Chemistry*, 2002, 32, 1635–1647.
- 11 R. W. Boyle, C. C. Leznoff and J. E. van Lier, Biological Activities of Phthalocyanines-XVI. Tetrahydroxy-, and tetraalkylhydroxy zinc phthalocyanines. Effect of alkyl chain length on *in vitro* and *in vivo* photodynamic activities, *Br. J. Cancer*, 1993, 67, 1177–1181.
- 12 Y. Zorlu, I. Un and F. Dumoulin, Octasolketal Substituted Phthalocyanines: Synthesis and Systematic Study of Metal Effect and Substitution Pattern on ^{13}C NMR, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, accepted.
- 13 M. Kimura, T. Muto, H. Takimoto, K. Wada, K. Ohta, K. Hanabusa, H. Shirai and N. Kobayashi, Fibrous assemblies made of amphiphilic metallophthalocyanines, *Langmuir*, 2000, 16, 2078–2082.
- 14 J.-W. Hofman, F. van Zeeland, S. Turker, H. Talsma, S. A. G. Lambrechts, D. V. Sakharov, W. E. Hennink and C. F. van Nostrum, Peripheral and axial substitution of phthalocyanines with Solketal Groups: synthesis and in vitro evaluation for photodynamic therapy, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, 1485–1494.
- 15 C. Farren, S. FitzGerald, A. Beeby and M. R. Bryce, The first genuine observation of fluorescent mononuclear phthalocyanine aggregates, *Chem. Commun.*, 2002, 572–573.
- 16 S. FitzGerald, C. Farren, C. F. Stanley, A. Beeby and M. R. Bryce, Fluorescent phthalocyanine dimers—a steady state and flash photolysis study, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2002, 1, 581–587.
- 17 P. Maillard, J.-L. Guerquin-Kern and M. Momenteau, Glycoconjugated Tetrapyrrolic Macrocycles, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 9125–9127.
- 18 P. P. S. Lee, P.-L. Lo, E. Y. M. Chan, W. P. Fong, W. H. Ko and D. K. P. Ng, Synthesis and in vitro photodynamic activity of novel galactose-containing phthalocyanines, *Tetrahedron Lett.*, 2005, 46, 1551–1554.
- 19 X. Alvarez-Mico, M. J. F. Calvete, M. Hanack and T. Ziegler, The first example of anomeric glycoconjugation to phthalocyanines, *Tetrahedron Lett.*, 2006, 47, 3283–3286.
- 20 X. Alvarez-Mico, M. J. F. Calvete, M. Hanack and T. Ziegler, Expedient synthesis of glycosylated phthalocyanines, *Synthesis*, 2007, 14, 2186–2192.
- 21 C.-F. Choi, J.-D. Huang, P.-C. Lo, W.-P. Fong and D. K. P. Ng, Glycosylated zinc(II) phthalocyanines as efficient photosensitisers for photodynamic therapy. Synthesis, photophysical properties and *in vitro* photodynamic activity, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, 6, 2173–2181.
- 22 P.-C. Lo, C. M. H. Chan, J.-Y. Liu, W. P. Fong and D. K. P. Ng, Highly photocytotoxic glucosylated silicon(IV) Phthalocyanines. Effects of peripheral chloro substitution on the photophysical and photodynamic properties, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, 2100–2107.
- 23 M. Kimura, T. Kuroda, K. Ohta, K. Hanabusa, H. Shirai and N. Kobayashi, Self-organization of hydrogen-bonded optically active phthalocyanine dimers, *Langmuir*, 2003, 19, 4825–4830.
- 24 A. O. Ribeiro, J. P. C. Tome, M. G. P. M. S. Neves, A. C. Tome, J. A. S. Cavaleiro, Y. Iamamoto and T. Torres, [1,2,3,4-Tetrakis(α/α -D-galactopyranos-6-yl)-phthalocyaninato] zinc(II): a water-soluble phthalocyanine, *Tetrahedron Lett.*, 2006, 47, 9177–9180.
- 25 U. Kumru, M. A. Ermeýdan, F. Dumoulin and V. Ahsen, Amphiphilic Galactosylated Phthalocyanines, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 2008, 12, 1090–1095.
- 26 H. Ali and J. E. van Lier, Metal Complexes as Photo- and Radiosensitisers, *Chem. Rev.*, 1999, 99, 2379–2450.
- 27 X. Alvarez-Mico, M. J. F. Calvete, M. Hanack and T. Ziegler, A new glycosidation method through nitrite displacement on substituted nitrobenzenes, *Carbohydr. Res.*, 2007, 342, 440–447.
- 28 J. G. Young and W. Onyebuagu, Synthesis and characterization of di-substituted phthalocyanines, *J. Org. Chem.*, 1990, 55, 2155–2159.
- 29 W. O. Siegl, Metal-chelating 1,3-bis(2'-Pyridylimino)isoindolines, *J. Heterocyclic Chem.*, 1981, 1613–1618.
- 30 M. L. Lewbart and J. J. Schneider, Preparation and properties of steroidal 17,20- and 20,21-acetonides epimeric at C-20. I. Derivatives, of 5 β -pregnan-3 α -ol, *J. Org. Chem.*, 1969, 34, 3505–3512.
- 31 R. D. George and A. W. Snow, Synthesis of 3-nitrophthalonitrile and tetra- α -substituted phthalocyanines, *J. Heterocyclic Chem.*, 1995, 32, 495–498.
- 32 D. D. Perrin and W. L. F. Armarego, in *Purification of laboratory chemicals*, Pergamon Press, Oxford, 2nd Edn, 1989.
- 33 M. B. D'Accorso, I. M. E. Thiel and M. Schuller, Proton and C-13 nuclear magnetic resonance spectra of some benzoylated aldohexoses, *Carbohydrate Res.*, 1983, 124, 177–184.
- 34 D. Lafont, M.-N. Bouchu, A. Girard-Egrot and P. Boullanger, Syntheses and interfacial behaviour of neoglycolipid analogues of glycosyl ceramides, *Carbohydrate Res.*, 2001, 336, 181–194.

Light-Triggered Liposomal Release: Membrane Permeabilization by Photodynamic Action

Alina Pashkovskaya,[†] Elena Kotova,[†] Yunus Zorlu,[‡] Fabienne Dumoulin,[‡] Vefa Ahsen,[‡] Igor Agapov,[§] and Yuri Antonenko^{*,†}

[†]Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, Vorobyevy Gory 1, Moscow 119991, Russia, [‡]Gebze Institute of Technology, Department of Chemistry, P.O. Box 141, Gebze, 41400, Kocaeli, Turkey, and [§]Department of Biology, Moscow State University, Vorobyevy Gory 1, Moscow 119991, Russia

Received October 12, 2009. Revised Manuscript Received November 11, 2009

Photosensitized damage to liposome membranes was studied by using different dye-leakage assays based on fluorescence dequenching of a series of dyes upon their release from liposomes. Irradiation of liposomes with red light in the presence of a photosensitizer, trisulfonated aluminum phthalocyanine (AlPcS₃), resulted in the pronounced leakage of carboxyfluorescein, but rather weak leakage of sulforhodamine B and almost negligible leakage of calcein from the corresponding dye-loaded liposomes. The same series of selectivity of liposome leakage was obtained with chlorin e6 that appeared to be more potent than AlPcS₃ in bringing about the photosensitized liposome leakage. Electrically neutral zinc phthalocyanine tetrasubstituted with a glycerol moiety (ZnPcGlyc₄) was less effective than negatively charged AlPcS₃ in provoking the light-induced liposome permeabilization. On the contrary, both ZnPcGlyc₄ and AlPcS₃ were much more effective than chlorin e6 in sensitizing gramicidin channel inactivation in planar bilayer lipid membranes, thus showing that relative photodynamic efficacy of sensitizers can differ substantially for damaging different membrane targets. The photosensitized liposome permeabilization was apparently associated with oxidation of lipid double bonds by singlet oxygen as evidenced by the mandatory presence of unsaturated lipids in the membrane composition for the photosensitized liposome leakage to occur and the sensitivity of the latter to sodium azide. The fluorescence correlation spectroscopy measurements revealed marked permeability of photodynamically induced pores in liposome membranes for such photosensitizer as AlPcS₃.

Introduction

Liposome-based drug delivery is a very popular and promising approach in modern pharmacology. To provide sufficient rate of drug release, thermal- and pH-sensitive, as well as enzymatically triggered and receptor-targeted liposomes are used.^{1–3} Drug release can also be induced by near-infrared irradiation of hollow gold nanoparticles or liposomes containing light-sensitive polymeric materials.^{4–7} However, from early studies,^{8–11} it has long been known that liposome lysis (or destruction) can be provoked by irradiation with visible light in the presence of a photosensitizer. These works were aimed at elucidating mechanisms of photodynamic damage to cells including such significant structural elements as bilayer lipid membranes.

Studying photosensitized oxidation of both lipid and protein components of biological membranes is of importance for understanding basic processes underlying photodynamic therapy. To reveal mechanisms of sensitized membrane photomodification, a series of approaches have been employed.^{12,13} Of these rather numerous studies, only few included observations of membrane permeabilization, though the latter is generally accepted to represent one of the most crucial processes in photodynamic action leading to cell death.^{14–18} In particular, earlier works on liposomes and planar bilayer lipid membranes (BLM), using a hematoporphyrin derivative, have shown photosensitized vesicle disruption^{8–11} and a dramatic increase in planar BLM conductance resulting in membrane breakdown, provided that membrane-forming lipids contain double bonds.^{19–22}

The ability of photosensitizers to cause membrane rupture is also implicated in the method of photochemical internalization

*Corresponding author. Fax: (74-95)-939-31-81. E-mail: antonenko@genebee.msu.ru.

- (1) Peer, D.; Karp, J. M.; Hong, S.; Farokhzad, O. C.; Margalit, R.; Langer, R. *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 751.
- (2) Ponce, A. M.; Vujaskovic, Z.; Yuan, F.; Needham, D.; Dewhurst, M. W. *Int. J. Hyperthermia* **2006**, *22*, 205.
- (3) Davidsen, J.; Jorgensen, K.; Andresen, T. L.; Mouritsen, O. G. *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1609*, 95.
- (4) Volodkin, D. V.; Skirtach, A. G.; Möhwald, H. *Angew. Chem.* **2009**, *48*, 1807.
- (5) Wu, G.; Mikhailovsky, A.; Khamit, H. A.; Fu, C.; Chiu, W.; Zasadzinski, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8175.
- (6) Angelatos, A. S.; Radt, B.; Caruso, F. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 3071.
- (7) Skirtach, A. G.; Dejugnat, C.; Braun, D.; Susha, A. S.; Rogach, A. L.; Parak, W. J.; Moehwald, H.; Sukhorukov, G. B. *Nano Lett.* **2005**, *5*, 1371.
- (8) Deziel, M. R.; Girotti, A. W. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 8192.
- (9) Grossweiner, L. I.; Patel, A. S.; Grossweiner, J. B. *Photochem. Photobiol.* **1982**, *36*, 159.
- (10) Grossweiner, L. I.; Goyal, G. C. *Photochem. Photobiol.* **1983**, *37*, 529.
- (11) Goyal, G. C.; Blum, A.; Grossweiner, L. I. *Cancer Res.* **1983**, *43*, 5826.

- (12) Valenzano, D. P.; Tarr, M. In *Photochemistry and Photophysics*; Rabek, J. F., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1991; pp 137–199.
- (13) Stark, G. J. *Membr. Biol.* **2005**, *205*, 1.
- (14) Oleinick, N. L.; Evans, H. H. *Radiat. Res.* **1998**, *150*, 146.
- (15) Thorpe, W. P.; Toner, M.; Ezzell, R. M.; Tompkins, R. G.; Yarmush, M. L. *Biophys. J.* **1995**, *68*, 2198.
- (16) Schäfer, M.; Schmitz, C.; Horneck, G. *Int. J. Radiat. Biol.* **1998**, *74*, 249.
- (17) Noodt, B. B.; Berg, K.; Stokke, T.; Peng, Q.; Nesland, J. M. *Br. J. Cancer* **1999**, *79*, 72.
- (18) Cauchon, N.; Nader, M.; Bkaily, G.; van Lier, J. E.; Hunting, D. *Photochem. Photobiol.* **2006**, *82*, 1712.
- (19) Mirsky, V. M.; Stozhkova, I. N.; Szito, T. V. *J. Photochem. Photobiol. B* **1991**, *8*, 315.
- (20) Stozhkova, I. N.; Mirsky, V. M.; Kayushina, R. L.; Erokhin, V. V.; Mironov, A. F. *Biol. Membr.* **1992**, *9*, 74.
- (21) Stozhkova, I. N.; Mirsky, V. M.; Sokolov, V. S. *Biol. Membr.* **1993**, *10*, 44.
- (22) Rokitskaya, T. I.; Antonenko, Y. N.; Kotova, E. A. *FEBS Lett.* **1993**, *329*, 332.

suggested by Berg and coauthors^{23,24} for controlled release of these agents. Surprisingly enough, membrane permeabilization was not observed upon visible light irradiation of unilamellar vesicles formed of egg yolk phosphatidylcholine in the presence of hematoporphyrin.²⁵ By contrast, light-induced leakage of liposomes formed of dioleoylphosphatidylcholine was found out with chlorin e6 and two other chlorin derivatives as photosensitizers.²⁶ Some data showing an increase in palmitoyl-oleoylphosphatidylcholine membrane permeability upon illumination in the presence of hematoporphyrin were also reported.²⁷

This work presents thorough investigation of the dependence of photodynamic permeabilization of liposome membranes on the kind of photosensitizer and lipid composition by using different dye-leakage assays and fluorescence correlation spectroscopy (FCS) technique. The photodynamic effect of a series of sensitizers on membrane lipids was compared with that on ionic channel activity of gramicidin A^{28,29} modeling integral membrane proteins. Along with conventional photosensitizers such as chlorin e6 and sulfonated aluminum phthalocyanines, a new electrically neutral glycerol substituted zinc phthalocyanine³⁰ was tested here.

Materials and Methods

Egg yolk phosphatidylcholine (EggPC), dioleoylphosphatidylcholine (DOPC), dilinoleoylphosphatidylcholine (DLiPC), dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC), diphytanoylphosphatidylcholine (DPhPC), and dioleoyl-glycero-3-phosphoethanolamine-*N*-lissamine rhodamine B sulfonyl (Rh-PE) were from Avanti polar lipids. Sulforhodamine B (SRB), 1-aminonaphthalene-3,6,8-trisulfonic acid (ANTS), *p*-xylene-bis-pyridinium bromide (DPX), 5,6-carboxyfluorescein (CF), and calcein were from Sigma. Aluminum trisulfophthalocyanine (AlPcS₃), aluminum tetrasulfophthalocyanine (AlPcS₄), and chlorin e6 were from Porphyrin Products (Logan, UT). The neutral zinc phthalocyanine with four glycerols attached to the peripheral (4,5) positions of the isoindole subunits (ZnPcGly₄) was synthesized as described previously.³⁰ Chemical structures of ZnPcGly₄ and other compounds are shown in the Supporting Information.

Liposomes loaded with CF were prepared from appropriate phosphatidylcholine in solution containing 100 mM CF titrated with Tris-base by extrusion through a 100-nm filter (Avanti Mini-Extruder). The unloaded CF was then removed by passage through a Sephadex G-50 coarse column using 100 mM KCl, 10 mM Tris, 10 mM MES, pH 7.0 as eluting buffer. To measure the rate of CF efflux, the liposomes were diluted to the final concentration of 5 µg/mL in the same buffer and the fluorescence at 520 nm (excitation at 490 nm) was monitored with a Panorama Fluorat 02 spectrofluorimeter (Lumex, Russia). At the end of each recording, 0.1% Triton-X100 was added to complete the efflux process. SRB loaded liposomes were prepared in a solution containing 50 mM SRB, 50 mM KCl, 10 mM Tris, and 10 mM

MES at pH 7 and passed through the column. Excitation and emission wavelengths were 560 and 590 nm, respectively. ANPS/DPX loaded liposomes were prepared in a solution containing 20 mM ANTS and 40 mM DPX, 50 mM KCl, 10 mM Tris, and 10 mM MES at pH 7 and passed through the column. Excitation and emission wavelengths were 355 and 520 nm, respectively. Illumination of samples was performed with a xenon lamp with intensity of 0.4 W/cm². To prevent photobleaching of fluorescent dyes, a filter with $\lambda > 580$ nm was used. In order to prevent premature CF leakage in the case of DLiPC liposomes, the procedure of liposome chromatography was performed at 4 °C.

Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS). FCS measurements were carried out with a homemade FCS setup including an Olympus IMT-2 inverted microscope with a 40×, NA 1.2 water immersion objective (Carl Zeiss, Jena, Germany). A 633-nm He-Ne laser was used for excitation of AlPcS₃ and Nd:YAG solid state laser with a 532-nm for excitation of rhodamine. The fluorescence that passed through an appropriate dichroic beam splitter and a long-pass filter was imaged onto a 50-µm core fiber coupled to an avalanche photodiode (PerkinElmer Optoelectronics, Fremont, CA). The signal from an output was correlated by a correlator card (Correlator.com, Bridgewater, NJ). The data acquisition time was 120 s, and three to five curves were averaged.

Experimental curves were fitted by the correlation function for three-dimensional diffusion

$$G(\tau) = 1 + \frac{1}{N} \left(\frac{1}{1 + \frac{\tau}{\tau_D}} \right) \left(\frac{1}{\sqrt{1 + \frac{r_0^2 \tau}{z_0^2 \tau_D}}} \right)$$

with τ_D being the characteristic diffusion time during which a molecule resides in the observation volume of radius r_0 and length z_0 , given by $\tau_D = r_0^2/4D$, where D is the diffusion coefficient, and N is the mean number of molecules in the confocal volume.

Sensitized Photoinactivation of Gramicidin-Mediated Current in Planar Bilayers. Bilayer lipid membranes (BLMs) were formed on a 0.55-mm diameter hole in a Teflon partition separating two compartments of a cell containing aqueous solutions of 100 mM KCl, 10 mM MES, and 10 mM Tris at pH 7.0. The membrane-forming solutions contained 20 mg of diphytanoylphosphatidylcholine (DPhPC) in 1 mL of *n*-decane. Gramicidin A (gA) was added from stock solutions in ethanol (1 µg/mL) to the bathing solutions at both sides of the BLM and routinely incubated for 15 min with constant stirring. Experiments were carried out at room temperature (24–26 °C). The dyes were added to the bathing solution at the trans side (the cis side is the front side with respect to the illumination lamp). The electric current (I) was recorded under voltage-clamp conditions. The electrical current (I) was measured with a Keithley 428 amplifier, digitized by a LabPC 1200 (National Instruments, Austin, TX) and analyzed using a personal computer with the help of WinWCP Strathclyde Electrophysiology Software designed by J. Dempster (University of Strathclyde, U.K.). Ag–AgCl electrodes were placed directly into the cell, and a voltage of 30 mV was applied to BLM. BLMs were exposed to 20-s continuous illumination with a halogen lamp (“Novaflex”, World Precision Instruments, U.S.A.) providing an incident power density of 30 mW/cm². Illumination of BLM by visible light in the presence of a photosensitizer is known to suppress the gramicidin-mediated transmembrane current (I).^{22,28,31}

(23) Berg, K.; Selbo, P. K.; Prasmickaitė, L.; Tjelle, T. E.; Sandvig, K.; Moan, J.; Gaudernack, G.; Fodstad, O.; Kjolsrud, S.; Anholt, H.; Rodal, G. H.; Rodal, S. K.; Hogset, A. *Cancer Res.* **1999**, *59*, 1180.

(24) Berg, K.; Selbo, P. K.; Prasmickaitė, L.; Hogset, A. *Curr. Opin. Mol. Ther.* **2004**, *6*, 279.

(25) Ehrenberg, B.; Gross, E.; Nitzan, Y.; Malik, Z. *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, *1151*, 257.

(26) Mojzsova, H.; Bonneau, S.; Maillard, P.; Berg, K.; Brault, D. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2009**, *8*, 778.

(27) Santos, A.; Rodrigues, A. M.; Sobral, A. J. F. N.; Monsanto, P. V.; Vaz, W. L. C.; Moreno, M. J. *Photochem. Photobiol.* **2009**, *85*, 1409.

(28) Rokitskaya, T. I.; Antonenko, Y. N.; Kotova, E. A. *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, *1275*, 221.

(29) Rokitskaya, T. I.; Block, M.; Antonenko, Y. N.; Kotova, E. A.; Pohl, P. *Biophys. J.* **2000**, *78*, 2572.

(30) Zorlu, Y.; Erneydan, M. A.; Dumoulin, F.; Ahsen, V.; Savoie, H.; Boyle, R. W. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2009**, *8*, 312.

(31) Straessle, M.; Stark, G. *Photochem. Photobiol.* **1992**, *55*, 461.

The photoinactivation of gramicidin A results from the damage to its tryptophan residues caused by reactive oxygen species that are generated upon interaction of excited photosensitizer molecules with oxygen.^{22,28,32,13} It has been shown that the light-induced decrease in the gramicidin-mediated current is due to the reduction of the number of open channels, while the single channel conductance remains unaltered.²² Therefore, the relative decrease in the current, $A = (I_0 - I)/I_0$, induced by illumination is equal to the damaged portion of gramicidin channels. This parameter enables to compare the efficacy of different photosensitizers.

Results

Photosensitized Liposome Leakage. Figure 1A shows that exposure to red light in the presence of AlPcS₃ brought about CF leakage from liposomes made of EggPC as evidenced by an increase in CF fluorescence observed after illumination (curve 1). The leakage process was incomplete as indicated by an additional rise in CF fluorescence elicited by the addition of Triton X-100 at the end of the recording. The leakage required the combination of both light and a photosensitizer because it was negligible in the presence of one of these two agents (curves 2 and 3). The singlet oxygen quencher sodium azide reduced considerably the light-induced CF leakage (curve 4) thereby showing its photodynamic nature.

As it is seen from the comparison of different curves in Figure 1A, the level of CF fluorescence reached after the addition of Triton X-100 was substantially lower (by 35%) after the photodynamic treatment (illumination in the presence of AlPcS₃, curve 1) than without it (curves 2 and 3). This decrease in the maximum level of CF fluorescence leading to underestimation of the light-induced CF release was apparently due to partial destruction of CF by singlet oxygen, because it was markedly diminished in the presence of sodium azide (curve 4).

Figure 1B shows time courses of the increase in CF fluorescence normalized to the level reached after the Triton X-100 addition. Here the inhibiting effect of sodium azide on the photosensitized liposome leakage is seen more distinctly (e.g., the CF fluorescence level achieved in 360 s after the end of illumination was 90% in the absence of azide as compared to 50% in its presence). The light-induced CF leakage of liposomes observed in the presence of AlPcS₃ was also suppressed by potassium fluoride (curve 5), which is known to inhibit the binding of AlPcS₃ to membranes.^{33,29,34} Thus it can be concluded that the membrane binding of a sensitizer is a prerequisite for photosensitized liposome permeabilization. The action of AlPcS₃ was compared to that of other photosensitizers: neutral ZnPcGlyc₄ (curve 6) and chlorin e6 (curve 7). Chlorin e6 appeared to be the most powerful in this system. Another known photosensitizer, AlPcS₄, was ineffective under these experimental conditions (data not shown).

Figure 2A compares recordings of AlPcS₃-sensitized liposome leakage made by using different dye-release assays: the fluorescence quenching of ANTS/DPX pair (curve 2), sulforhodamine B (SRB, curve 4), calcein (curve 6), and CF (curve 7). Curves 1, 3, and 5 represented the controls showing maximum level of fluorescence induced by the addition of Triton-X100 without photodynamic action (without exposure to red light). The photodynamic treatment of the ANTS/DPX system did not bring about an increase in ANTS fluorescence (Figure 2A, curve 2),

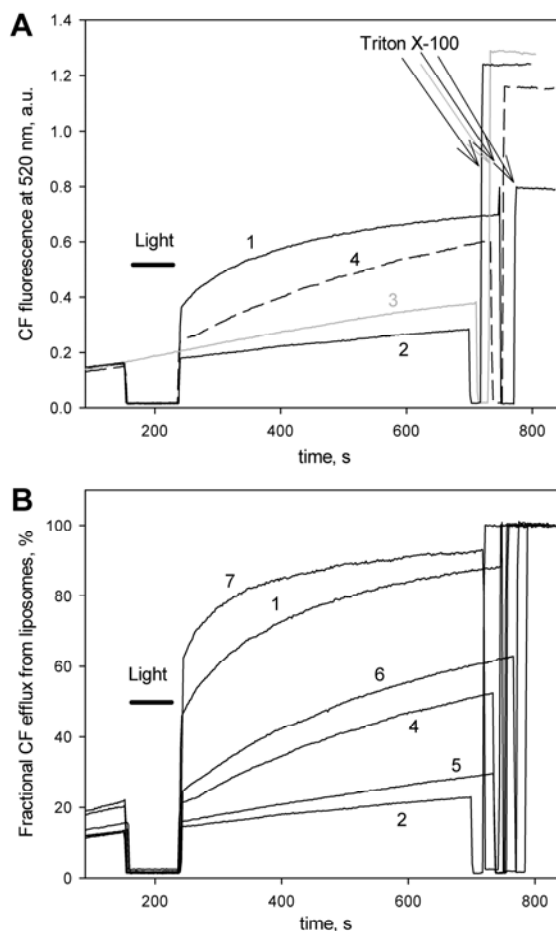


Figure 1. Photodynamic action on liposomes made from EggPC. CF leakage from liposomes induced by 1-min exposure to visible light in the presence of 1 μ M AlPcS₃ (curve 1), a control without AlPcS₃ (curve 2), a control with AlPcS₃ without illumination (curve 3), and 1-min illumination in the presence of 1 μ M AlPcS₃ and 10 mM NaN₃ (curve 4). The data in panel B were replotted from panel A taking a level after the addition of Triton X-100 as 100% efflux. Additional curves: 1 μ M AlPcS₃ and 5 mM KF (curve 5), 1 μ M ZnPcGlyc₄ (curve 6), and 1 μ M chlorin e6 (curve 7). Solution was 100 mM KCl, 10 mM Tris, and 10 mM MES at pH 7.0. Lipid concentration was 5 μ g/mL.

besides the addition of Triton-X100 after illumination did not produce an increase in ANTS fluorescence (curve 2) in contrast to that observed without illumination (curve 1). This can be tentatively ascribed to complete photosensitized oxidation of ANTS. With SRB-loaded liposomes, 1-min exposure to red light in the presence of AlPcS₃ brought about a modest increase in fluorescence (curve 4), that was significantly smaller than the fluorescence increase observed with CF (curve 7). With calcein-loaded liposomes, no fluorescence increase was obtained after the 1-min photodynamic treatment (curve 6), whereas longer light exposure actually led to weak calcein leakage (data not shown). These results suggest substantial selectivity of light-induced membrane pores toward CF. The SRB fluorescence levels reached after the Triton-X100 addition were equal with (curve 4) and without illumination (curve 3). With calcein, rather small difference in these levels was observed (curves 5 and 6).

(32) Kunz, L.; Zeidler, U.; Haegle, K.; Przybylski, M.; Stark, G. *Biochemistry* **1995**, *34*, 11895.

(33) Ben-Hur, E.; Malik, Z.; Dubbelman, T. M.; Margaron, P.; Ali, H.; van Lier, J. E. *Photochem. Photobiol.* **1993**, *58*, 351.

(34) Shapovalov, V. L.; Rokitskaya, T. I.; Kotova, E. A.; Krokhin, O. V.; Antonenko, Y. N. *Photochem. Photobiol.* **2001**, *74*, 1.

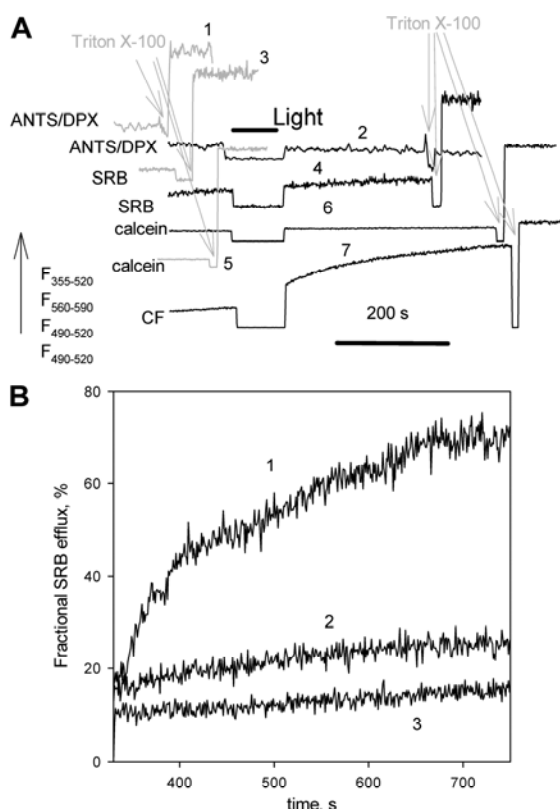


Figure 2. A. Effect of 1 μ M AlPcS₃ on the fluorescence of EggPC liposomes loaded with ANTS/DPX (curves 1 and 2), SRB (curves 3 and 4), calcein (curves 5 and 6), and CF (curve 7). Curves 1, 3, and 5 represent control recordings obtained without illumination. In curves 2, 4, 6, and 7 the liposome leakage was induced by 1-min exposure to visible light. Fluorescence signals were recorded at 520 nm (excitation 355 nm, curves 1 and 2), at 590 nm (excitation 560 nm, curves 3 and 4), and at 520 nm (excitation 490 nm, curve 5–7). B. SRB leakage from EggPC liposomes induced by 1-min exposure to visible light in the presence of 1 μ M chlorin e6 (curve 1), 1 μ M AlPcS₃ (curve 2), and 1 μ M ZnPcGlyc₄ (curve 3). The fluorescence intensity at 590 nm was normalized to the 100-% level reached after the Triton X-100 addition. Solution was 100 mM KCl, 10 mM Tris, 10 mM MES, pH 7.0. EggPC concentration was 50 μ g/mL (curves 1 and 2 of panel A) or 5 μ g/mL (other cases).

Panel B of Figure 2 shows the action of chlorin e6, AlPcS₃, and ZnPcGlyc₄ on SRB-loaded liposomes. Similarly to the case of CF-loaded liposomes (Figure 1B), chlorin e6 appeared to be the most potent of these photosensitizers in inducing the liposome leakage. From the comparison of curve 7 in Figure 1B and curve 1 in Figure 2B, it is seen that chlorin e6-induced CF leakage was more pronounced than chlorin e6-induced SRB leakage. Together with the observation of far less leakage of calcein induced by chlorin e6 (not shown), these data support the marked selectivity of pores formed as a result of photosensitized damage to liposomes. The Triton-X100 levels of SRB fluorescence obtained after and without illumination in the presence of chlorin e6 were very close to each other, as in the presence of AlPcS₃.

It is known that the predominant component of EggPC carries one palmitic acid residue which is completely saturated and one oleic acid residue having one double bond. Figure 3A shows the AlPcS₃-mediated CF leakage of liposomes formed from DOPC

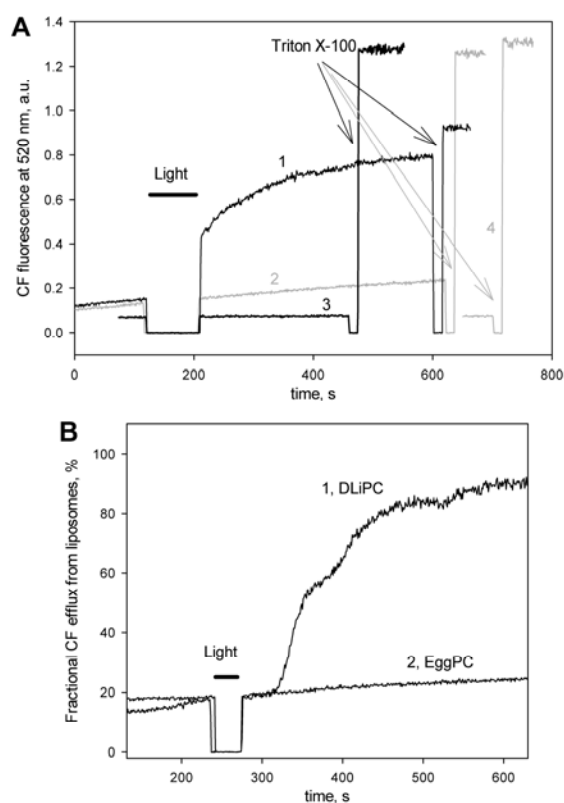


Figure 3. Photodynamic action depends on the liposome lipid. A. Comparison of CF leakage from DOPC liposomes (curves 1 and 2) and DPPC liposomes (curves 3 and 4). Light duration was 60 s. Curves 1 and 3 were with 1 μ M AlPcS₃, curves 2 and 4 were without a photosensitizer. B. Liposome leakage from DLiPC and EggPC liposomes at $T = 10^\circ\text{C}$. Light duration was 30 s. The signal was normalized to a level reached after the Triton X-100 addition. Solution was 100 mM KCl, 10 mM Tris, and 10 mM MES at pH 7.0. Lipid concentration was 5 μ g/mL.

(curve 1) and DPPC (curve 3). Palmitic acid residues in DPPC are fully saturated, and therefore, their oxidative destruction should be substantially hindered. In fact, CF-loaded DPPC liposomes did not exhibit the leakage upon photodynamic action (Figure 3A, curve 3).

DPPC is known to be in a gel phase at room temperature in contrast to all other lipids used in this study. Therefore, the absence of CF leakage in the case of DPPC liposomes could be ascribed to the gel state of lipids rather than to their oxidation status. To address this point, liposomes were prepared from fully saturated diphytanoylphosphatidylcholine (DPhPC) which is in the liquid-crystalline state at room temperature due to the branched character of phytanic acid.³⁵ No photodynamically induced CF leakage was observed with DPhPC liposomes in the presence of AlPcS₃ similarly to DPPC liposomes (data not shown), thus favoring the oxidizability of lipids to be a major prerequisite for the induction of CF leakage.

A comparison of curves 1 in Figures 1 and 3 shows that the rate of CF leakage was similar in EggPC and DOPC liposomes

(35) Lindsey, H.; Petersen, N. O.; Chan, S. I. *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, *555*, 147.

suggesting that the presence of one or two unconjugated double bonds per lipid was not significant for the induction of leakage. Lipid peroxidation is known to proceed substantially faster in the case of lipids having conjugated double bonds.³⁶ Figure 3B shows the AlPcS₃-mediated CF leakage from liposomes formed of DLiPC carrying linoleic acid with two conjugated double bonds. To resolve the AlPcS₃-mediated leakage kinetics under these conditions, the temperature was lowered to 10 °C and the illumination time was reduced 2-fold (30 s). The CF leakage from EggPC liposomes was insignificant under these conditions, while DLiPC liposomes were effectively permeabilized (Figure 3B, curves 1 and 2). It should be noted that the relative efficacies of sensitizers were the same with DLiPC and with EggPC liposomes, i.e., chlorin e6 > AlPcS₃ > ZnPcGlyc₄ (data not shown).

A photosensitizer can be loaded in liposomes and released upon illumination as suggested in ref 37. These ideas are widely discussed in the literature as an approach for controlled delivery of photosensitizers to particular regions in organisms, although the experimental data describing this process are scarce. To address this point, EggPC liposomes loaded with 0.5 mM AlPcS₃ were prepared and passed through Sephadex G-50 column to remove external AlPcS₃. Figure 4A, curve 1 shows the FCS count rate recording of these liposomes with laser excitation at 633 nm. Large fluctuations of the signal corresponded to random walk of liposomes having bright fluorescence of entrapped AlPcS₃. The illumination of liposomes led to substantial reduction of the amplitude of these fluctuations suggesting the efflux of AlPcS₃ from liposomes (Figure 4A, curve 2). This suggestion is supported by a recording of similar character obtained upon the addition of a pore-forming peptide melittin (Figure 4A, curve 3). Important temporal features of these fluorescence fluctuations can be derived from corresponding autocorrelation functions (Figure 4B and insert to Figure 4B). The curves before (curve 1) and after (curve 2) the photodynamic treatment are fitted well by the one-component diffusion function with the diffusion coefficient (D) of $4.5 \mu\text{m}^2/\text{s}$ for 100-nm size liposomes which is in good agreement with the literature data,³⁸ if one assumes the diffusion coefficient of $250 \mu\text{m}^2/\text{s}$ for free phthalocyanine molecules.³⁹ This observation shows that the dye is still bound to the membranes after the liposome permeabilization. In contrast to temporal characteristics of $G(\tau)$, the amplitude of $G(\tau)$ decreased about 30-fold upon photodynamic treatment. According to the reciprocal dependence of the amplitude of $G(\tau)$ on the number of fluorescent particles,⁴⁰ this suggests the appearance of additional fluorescent particles, which is indicative of the dye efflux. It can be proposed that AlPcS₃ efflux was incomplete due to effective binding of AlPcS₃ to membranes of liposomes either on inner or outer surface of vesicles. In fact, it was found previously that AlPcS₃ has high affinity to phosphatidylcholine membranes.^{29,34} In line with this, control experiments showed that addition of liposomes to a solution of AlPcS₃ led to the increase in τ_D from 0.9 ms up to 50 ms, i.e., binding of the dye to liposomes (data not shown).

A similarity of the autocorrelation functions before and after the photodynamic treatment (Figure 4B, insert) supported the idea that liposomes retained their integrity, which favored the model of liposome permeabilization via formation of pores rather

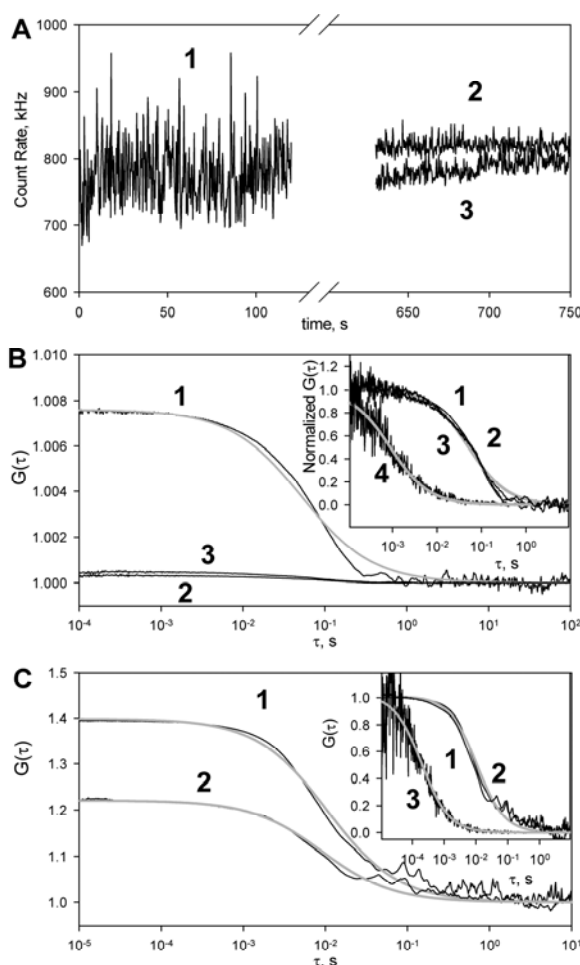


Figure 4. Traces of fluorescence (count rate, panel A) and their autocorrelation functions (panel B) of AlPcS₃-loaded EggPC liposomes before (curve 1) and after illumination (curve 2). Light duration 60 s. Curve 3 shows the effect of the addition of $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ melittin. Curve 4 is $G(\tau)$ for 10 nM AlPcS₃ in a solution without liposomes. Gray curves are best fit with $\tau_D = 50$ ms (curve 1) and with $\tau_D = 0.9$ ms (curve 4). Solution was 100 mM KCl, 10 mM Tris, 10 mM MES, pH 7.0. Lipid concentration was $5 \mu\text{g}/\text{mL}$. 633-nm laser was used. C. Autocorrelation functions of EggPC liposomes with 2% Rh-PE measured with a 532-nm laser. Rhodamine-labeled liposomes before (curve 1) and after (curve 2) photodynamic action with $1 \mu\text{M}$ AlPcS₃ and light duration 60 s. Gray curve is best fit with $\tau_D = 10$ ms. Curve 3 is $G(\tau)$ for SRB in solution (gray curve is a fit with $\tau_D = 0.2$ ms). Solution was 100 mM KCl, 10 mM Tris, pH 7.0. Lipid concentration was $5 \mu\text{g}/\text{mL}$. 532-nm laser was used in panel C.

than membrane lysis. However, these data based on the diffusion characteristics of AlPcS₃ were indirect. To further address this point, egg yolk phosphatidylcholine liposomes containing fluorescent lipid marker (2% rhodamine-labeled phosphatidylethanolamine, Rh-PE) were prepared and their autocorrelation functions were measured using a 532-nm laser. Figure 4C shows $G(\tau)$ of these liposomes before (curve 1) and after (curve 2) illumination in the presence of AlPcS₃. The insert to Figure 4C shows the similarity of normalized autocorrelation functions before and after illumination confirming the absence of liposome lysis. In fact, treatment of liposomes with Triton-X100 shifted the

- (36) Kiwi, J.; Nadiuchenko, V. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 17675.
 (37) Derycke, A. S.; de Witte, P. A. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, *56*, 17.
 (38) van den Bogaart, G.; Kusters, I.; Velasquez, J.; Mika, J. T.; Krasnikov, V.; Driessen, A. J.; Poolman, B. *Methods* **2008**, *46*, 123.
 (39) Støren, T.; Simonsen, A.; Lokberg, O. J.; Lindmo, T.; Svaasand, L. O.; Royset, A. *Opt. Lett.* **2003**, *28*, 1215.
 (40) Magde, D.; Elson, E. L.; Webb, W. W. *Biopolymers* **1974**, *13*, 29.

autocorrelation functions to shorter times (data not shown). A small decrease in the amplitude of $G(\tau)$ after illumination reflecting an increase in a number of particles can be ascribed to a process of liposomes fission based on the data showing that photoinduced lipid peroxidation may lead to formation of new bilayer structures.⁴¹ Curve 3 of Figure 4C shows $G(\tau)$ of SRB in a solution without liposomes which can be fitted with $\tau_D = 0.2$ ms. The difference between τ_D for SRB and τ_D for AlPcS₃ (0.9 ms in curve 4 of Figure 4B) can be associated with using different lasers and different adjustments of light paths because the diffusion coefficients of AlPcS₃ and SRB in solution are close to each other. Importantly, τ_D for liposomes exceeded τ_D for free dyes 50-fold for both lasers used.

Photosensitized Inactivation of Gramicidin Channels in Planar Bilayers. Both systems of CF and SRB leakage showed that a newly synthesized photosensitizer ZnPcGlyc₄ was less potent in liposome permeabilization compared to AlPcS₃ and especially to chlorin e6 (Figures 1 and 2). It was interesting to compare the efficacy of photosensitizers in a different membrane system. A very convenient method of evaluating the photodynamic activity of sensitizers in planar BLM, developed in our laboratory, consists in measuring damage to the membrane-active peptide gramicidin A^{28,29,42} that is known to form ionic channels selective to alkaline metal cations. As seen from Figure 5A, illumination of BLM containing gramicidin channels in the presence of the novel neutral photosensitizer ZnPcGlyc₄ led to a decrease in the gramicidin-mediated transmembrane current of potassium ions, in agreement with the data obtained previously with negatively charged sulfonated aluminum and zinc phthalocyanines,^{22,28,43,29,44} as well as with different cationic tetra- and octasubstituted aluminum and zinc phthalocyanines.^{45,46} Figure 5B shows the dependence of gramicidin photodamage on the concentration of ZnPcGlyc₄, AlPcS₃, and chlorin e6 (curves 1, 2, and 3, respectively) in a membrane formed from DPhPC. As discussed above, this is a saturated lipid not susceptible to photodynamic action. In contrast to the liposome leakage assay, in the gramicidin assay, chlorin e6 was the least effective among the three photosensitizers, whereas the potency of ZnPcGlyc₄ was similar to that of AlPcS₃ (Figure 5B). According to earlier data,²⁹ AlPcS₄ is substantially less effective than AlPcS₃ in the gramicidin system. The same relation was observed in the CF leakage assay (data not shown). Therefore, in several cases the efficacy sequences for the two assays are consistent with each other.

Discussion

The present study showed that photodynamic treatment of liposomes containing unsaturated lipids brings about membrane permeabilization which consists of formation of pores that are rather selective: highly permeable to CF, but poorly permeable to SRB and calcein (Figure 2A). These data enable one to explain the absence of photosensitized liposome permeabilization in a work by Ehrenberg et al.,²⁵ where calcein-leakage assay was employed. The difference in permeability of the fluorescent dyes may be

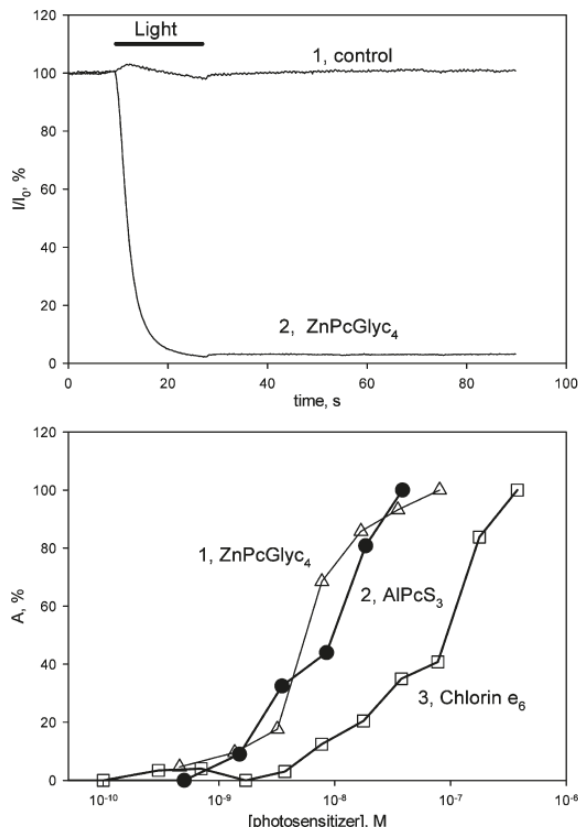


Figure 5. Photoinactivation of gramicidin channels sensitized by ZnPcGlyc₄, AlPcS₃ and chlorin e6. Panel A. The time course of the decrease in the gramicidin-mediated current (I) across a planar lipid membrane as a result of illumination with visible light during 20 s (shown as a bar). Curve 1 was a control without a photosensitizer, curve 2 was obtained with 10 nM ZnPcGlyc₄. Panel B. Concentration dependence of the decrease in the gramicidin-mediated current across a planar lipid membrane formed from DPhPC as a result of illumination with visible light during 20 s. Curve 1 was with ZnPcGlyc₄, curve 2 with AlPcS₃, curve 3 was with chlorin e6. The solution was 100 mM KCl, 10 mM Tris, and 10 mM MES at pH 7.

attributed to a difference in their sizes that is not known exactly due to their complex molecular shape.⁴⁷ It can be pointed out, however, that the selectivity of liposome permeabilization (calcein < SRB < CF) correlated with the series of a decrease in molecular weight of these three dyes.

Based on the present (Figure 3) and earlier^{8–11,19–21} studies, it is evident that photosensitized membrane permeabilization results from oxidation of lipid double bonds, the main route of photodynamic lipid peroxidation, thoroughly and extensively studied earlier.⁴⁸ At least with AlPcS₃ as a photosensitizer, this process is mediated by singlet oxygen, for it is attenuated by sodium azide (Figure 1). The issue that remains obscure is how lipid oxidation leads to formation of membrane pores of distinct size. These pores are probably related to ionic channels in oxidized lipid membranes described in earlier works.^{49,50} Recently, pore

(41) Yuan, J.; Hira, S. M.; Strouse, G. F.; Hirst, L. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2067.

(42) Kotova, E. A.; Antonenko, Y. N.; In *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*; Tien, H. T., Ottova-Leitmannova, A., Eds.; Academic Press: Amsterdam, 2005; pp 159–180.

(43) Rokitskaya, T. I.; Antonenko, Y. N.; Kotova, E. A. *Biophys. J.* **1997**, *73*, 850.

(44) Pashkovskaya, A. A.; Sokolenko, E. A.; Sokolov, V. S.; Kotova, E. A.; Antonenko, Y. N. *Biochim. Biophys. Acta* **2007**, *1768*, 2459.

(45) Pashkovskaya, A. A.; Maizlish, V. E.; Shaposhnikov, G. P.; Kotova, E. A.; Antonenko, Y. N. *Biochim. Biophys. Acta* **2008**, *1778*, 541.

(46) Strakhovskaya, M. G.; Antonenko, Y. N.; Pashkovskaya, A. A.; Kotova, E. A.; Kireev, V.; Zhukhovitsky, V. G.; Kuznetsova, N. A.; Yuzhakova, O. A.; Negrimovsky, V. M.; Rubin, A. B. *Biochemistry (Moscow)* **2009**, *74*, 1603.

(47) Ferdani, R.; Li, R.; Pajewski, R.; Pajewska, J.; Winter, R. K.; Gokel, G. W. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2423.

(48) Girotti, A. W. *Photochem. Photobiol.* **1990**, *51*, 497.

(49) Lebedev, A. V. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **1981**, *260*, 757.

(50) Lebedev, A. V.; Levitsky, D. O.; Loginov, V. A. *Adv. Myocardiol.* **1982**, *3*, 425.

formation was shown to occur in supported 1-palmitoyl-2-oleoyl phosphatidylcholine (POPC) bilayers upon lipid oxidation induced by UV irradiation.⁵¹ The mechanism of pore formation resulting from lipid oxidation may be similar to that of ionic channels observed upon liquid-gel phase transition of lipids,^{52–55} when the coexistence of two phases in a membrane leads to formation of structural defects manifesting themselves as regular fluctuations of membrane conductance characteristic of ionic channels. Importantly, these pores were shown to have a specific size providing the permeation of polyethyleneglycols with MW < 1500.⁵⁶ Actually, oxidative modification of membrane lipids has been shown to induce phase separation of lipids in vesicles.⁵⁷ A similar mechanism based on the coexistence of two lipid phases may be also involved in the process of channel formation induced by the addition of some lipidic components to a membrane, as was recently observed upon the addition of palmitic acid to a membrane in the presence of calcium ions.^{58,59}

Alternatively, the photodynamically induced dye leakage from liposomes could be associated with an increase in membrane permeability for dyes which is determined by their lipophilicity (solubility-diffusion mechanism).⁶⁰ Actually, membrane permeability essentially depends on lipid composition; that is, it is lowered dramatically upon increasing cholesterol or sphingomyelin content.^{60–62} It can be assumed that lipid oxidation increases the polarity of the lipid phase leading to an increase in membrane partitioning and permeability of CF and SRB. Based on this assumption, the substantial difference in permeability of CF, SRB, and calcein through membranes subjected to oxidative stress could be attributed to different octanol–water partition coefficients (LogP) of these compounds owing to variation in the number of charged moieties. In particular, the value of LogP for calcein carrying five carboxyl groups should be much more negative than those for CF and SRB. Membrane permeability also depends on other physicochemical properties of compounds.^{63,64} However, to validate a factor determining the oxidation-induced increase in membrane permeability, obviously, a larger series of compounds should be examined.

It is noteworthy that, without water pore formation, any membrane permeabilization mechanism could hardly explain the data on the release of large molecules such as hydrolytic enzymes resulting from photooxidative damage to lysosomal and endosomal membranes observed on cells in culture.^{65,66} On the

other hand, the very pattern of membrane permeabilization in our model system apparently differs from that involved in photo-damage to lysosomes/endosomes in cells in culture because in our study even such a small compound as calcein did not leak out of liposomes upon the photodynamic treatment.

It is of interest that the relative efficacy of a series of sensitizers in producing the photodynamic effect on membrane lipids differed much from that on ionic channel activity of gramicidin A, namely: chlorin e6 being the most potent in provoking liposome permeabilization (Figures 1B and 2B) exhibited the smallest photodynamic effect on gramicidin channels (Figure 5B). According to refs 67 and 68, the efficacy of a sensitizer in photodynamic modification of some target in a membrane is determined both by the sensitizer location in a membrane with respect to the water–membrane interface and by the mutual location of the sensitizer and the target. It can be proposed that the high potency of chlorin e6 in sensitizing lipid photodamage is provided by insertion of this photosensitizer rather deeply into the membrane so that it is located sufficiently close to lipid double bonds to elicit their oxidation. On the contrary, in the case of sensitized photoinactivation of gramicidin channels caused by singlet oxygen attack at tryptophan residues of gramicidin A that reside near the water–membrane interface,⁴² the location of chlorin e6 appears to be less beneficial than that of ZnPcGlyc₄.

Mojzisoava and coauthors²⁶ suggested that the lower efficiency of an uncharged chlorin derivative in bringing about the photosensitized liposome leakage than that of negatively charged chlorin e6 is associated with the electrically neutral character of the former. In the present study, neutral ZnPcGlyc₄ was also less effective in provoking photodamage to membrane lipids than negatively charged AlPcS₃, thus indicating that the suggestion of Mojzisoava and coauthors²⁶ is also valid with phthalocyanines. During recent years much progress has been achieved in application of these highly potent sensitizers to photodynamic therapy,^{69–71} for which their water solubility is of great importance. Until very recently, the main way to render phthalocyanines water-soluble was to introduce ionic substituents to their macrocycle.⁷² Polyoxyethylene⁷³ or multihydroxyls⁷⁴ substitution pattern provided neutral water-soluble phthalocyanines, as well. In the last years strong interest rose in carbohydrate moieties, as they are biocompatible and of easy access.^{75–85} Here glycerol, a cheap and versatile starting product, and its protected

(51) Smith, H. L.; Howland, M. C.; Szmodis, A. W.; Li, Q.; Daemen, L. L.; Parikh, A. N.; Majewski, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3631.

(52) Antonov, V. F.; Petrov, V. V.; Molnar, A. A.; Predvoditelev, D. A.; Ivanov, A. S. *Nature* **1980**, *283*, 585.

(53) Antonov, V. F.; Anosov, A. A.; Norik, V. P.; Smirnova, E. I. *Eur. Biophys. J.* **2005**, *34*, 155.

(54) Blicher, A.; Wodzinska, K.; Fidorra, M.; Winterhalter, M.; Heimburg, T. *Biophys. J.* **2009**, *96*, 4581.

(55) Wunderlich, B.; Leirer, C.; Idzko, A. L.; Keyser, U. F.; Wixforth, A.; Myles, V. M.; Heimburg, T.; Schneider, M. F. *Biophys. J.* **2009**, *96*, 4592.

(56) Antonov, V. F.; Smirnova, E. I.; Anosov, A. A.; Norik, V. P.; Nemchenko, O. I. *Biofizika* **2008**, *53*, 802.

(57) Megli, F. M.; Russo, L.; Sabatini, K. *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 4577.

(58) Agafonov, A.; Gritsenko, E.; Belosludtsev, K.; Kovalev, A.; Gateau-Roesch, O.; Saris, N. E.; Mironova, G. D. *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1609*, 153.

(59) Agafonov, A. V.; Gritsenko, E. N.; Shlyapnikova, E. A.; Kharakoz, D. P.; Belosludtseva, N. V.; Lezhnev, E. I.; Saris, N. E.; Mironova, G. D. *J. Membr. Biol.* **2007**, *215*, 57.

(60) Finkelstein, A. *J. Gen. Physiol.* **1976**, *68*, 127.

(61) Hill, W. G.; Zeidel, M. L. *J. Biol. Chem.* **2001**, *275*, 30176.

(62) Missner, A.; Pohl, P. *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 1405.

(63) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *23*, 3.

(64) Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. N.; Wendoloski, J. J. *J. Comb. Chem.* **1999**, *1*, 55.

(65) Brunk, U. T.; Dalen, H.; Roberg, K.; Hellquist, H. B. *Free Radic. Biol. Med.* **1997**, *23*, 616.

(66) Caruso, J. A.; Mathieu, P. A.; Reimers, J. J., Jr. *Biochem. J.* **2005**, *392*, 325.

(67) Lavi, A.; Weitman, H.; Holmes, R. T.; Smith, K. M.; Ehrenborg, B. *Biophys. J.* **2002**, *82*, 2101.

(68) Bronshtein, I.; Afri, M.; Weitman, H.; Frimer, A. A.; Smith, K. M.; Ehrenborg, B. *Biophys. J.* **2004**, *87*, 1155.

(69) van Lier, J. E.; Spikes, J. D. *Ciba Found. Symp.* **1989**, *146*, 17.

(70) Lukyanets, E. A. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **1999**, *3*, 424.

(71) Ogura, S.; Tabata, K.; Fukushima, K.; Kamachi, T.; Okura, I. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2006**, *10*, 1116.

(72) Ali, H.; van Lier, J. E. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2379.

(73) Atilla, D.; Durnus, M.; Gurek, A. G.; Ahsen, V.; Nyokong, T. *Dalton Trans.* **2007**, *12*, 1235.

(74) Boyle, R. W.; Leznoff, C. C.; van Lier, J. E. *Br. J. Cancer* **1993**, *67*, 1177.

(75) Maillard, P.; Guerin-Kern, J.-L.; Moimentau, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 9125.

(76) Lee, P. P. S.; Lo, P. C.; Chan, E. Y. M.; Fong, W. P.; Ko, W. H.; Ng, D. K. P. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 1551.

(77) Alvarez-Mico, X.; Calvete, M. J.; Hanack, M.; Ziegler, T. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3283.

(78) Alvarez-Mico, X.; Calvete, M. J. F.; Hanack, M.; Ziegler, T. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 440.

(79) Alvarez-Mico, X.; Calvete, M. J. F.; Hanack, M.; Ziegler, T. *Synthesis* **2007**, *14*, 2186.

(80) Lo, P. C.; Chan, C. M.; Liu, J. Y.; Fong, W. P.; Ng, D. K. P. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2100.

(81) Taquet, J. P.; Frochoi, C.; Manneville, V.; Barberi-Heyob, M. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 1673.

(82) Choi, C. F.; Huang, J. D.; Lo, P. C.; Fong, W. P.; Ng, D. K. P. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2173.

commercial form, solketal, were chosen as substituents.^{86–92} ZnPcGlyc₄ appeared to be very effective (Figure 5) in sensitizing photoinactivation of gramicidin A, a model of an integral membrane protein.

In conclusion, the present work demonstrated participation of oxidative damage to membrane lipids in the photosensitized membrane destruction which could play a role in many of the toxic as well as therapeutic effects of photodynamic action. In particular, photosensitized damage to lipids in liposome membranes was shown to manifest itself in the formation of pores with

rather high selectivity. These pores proved to be permeable not only for fluorescent markers (CF and SRB) but also for photosensitizers, e.g., AlPcS₃. Thus, the basis of targeted delivery of photosensitizers via encapsulation and subsequent light-induced release from liposomes as an approach for PDT was experimentally confirmed in a very simple model system. Moreover, the present data provide the rationale for selective liposome-based drug delivery.

Acknowledgment. The authors are indebted to Dr. N. S. Melik-Nubarov (Department of Polymer Science, Chemical Faculty, Moscow State University) for helpful discussion. The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research grant 09-04-00890. The Turkish National Council of Research and Science TUBITAK (project 106T376) is also gratefully acknowledged.

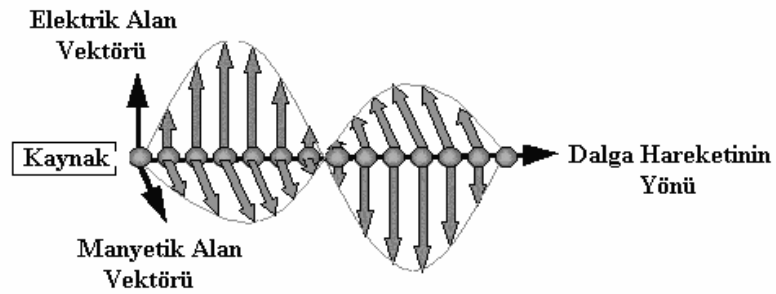
Supporting Information Available: Chemical structures of ZnPcGlyc₄, AlPcS₄, chlorin *e*6, 5(6)-carboxyfluorescein, sulforhodamine B, calcein, 1-aminonaphthalene-3,6,8-trisulfonic acid (ANTS), *p*-xylene-bis-pyridinium bromide (DPX), Rhodamine labeled dioleoylphosphatidylethanolamine (Rh-PE), dioleoylphosphatidylcholine (DOPC), dimoleoylphosphatidylcholine (DLiPC), and gramicidin A are presented. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

- (83) Kunru, U.; Ermeidan, M. A.; Dumoulin, F.; Ahsen, V. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2008**, *12*, 1090.
- (84) Liu, J. Y.; Lo, P. C.; Fong, W. P.; Ng, D. K. P. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1583.
- (85) Soares, A. R.; Tome, J. P.; Neves, M. G.; Tome, A. C.; Cavaleiro, J. A.; Torres, T. *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 507.
- (86) FitzGerald, S.; Farren, C.; Stanley, C. F.; Beeby, A.; Bryce, M. R. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 581.
- (87) Farren, C.; FitzGerald, S.; Beeby, A.; Bryce, M. R. *Chem. Commun. (Camb.)* **2002**, 572.
- (88) Hofman, J. W.; van Zeeland, F.; Turker, S.; Talsma, H.; Lambrechts, S. A.; Sakharov, D. V.; Hennink, W. E.; van Nostrum, C. F. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 1485.
- (89) Pagliaro, M.; Ciriminna, R.; Kimura, H.; Rossi, M.; Della, P. C. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2007**, *46*, 4434.
- (90) Zheng, Y.; Chen, X.; Shen, Y. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 5253.
- (91) Zorlu, Y.; Un, I.; Dumoulin, F. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2009**, *13*, 760.
- (92) Liu, J. Y.; Lo, P. C.; Jiang, X. J.; Fong, W. P.; Ng, D. K. P. *Dalton Trans.* **2009**, *21*, 4129.

3. FOTODİNAMİK TERAPİDE POTANSİYEL FOTOSENSİTİZER OLARAK TETRA VE OKTA SOLKETAL SÜBSTİTÜE Zn(II) VE Pt(II) FTALOSİYANİNLER

3.1. Fotofiziksel ve Fotokimyasal Özellikler

Fotofiziksel ve fotokimyasal olayların temelini ışığın madde ile etkileşimi oluşturmaktadır. Bu nedenle ışığın yapısının bilinmesinde fayda vardır. Işık, hem dalga hem de tanecik özelliğine sahip elektromanyetik radyasyon şeklindedir. Elektromanyetik radyasyon, birbirine dik elektrik alan ve manyetik alan vektörlerinden oluşmuştur (Şekil 3.1).



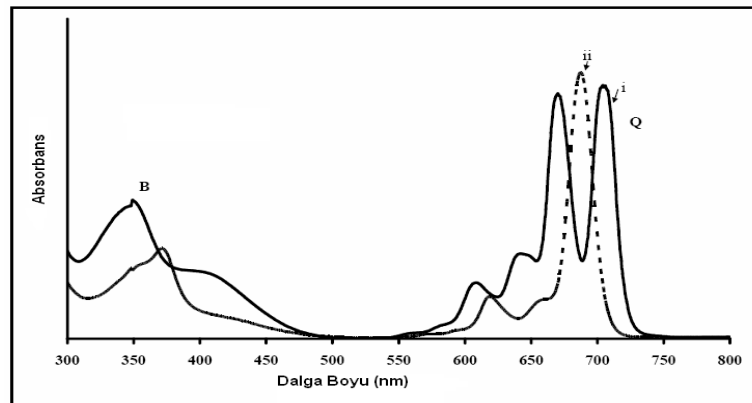
Şekil 3.1. Elektromagnetik Işımanın Dalga Hareketi

Fotofiziksel ve fotokimyasal olayların gerçekleşebilmesi için elektromanyetik radyasyonun elektrik alan vektörü ile ilgili molekülün dipol momentinin etkileşmesi gerekir. Bu etkileşme sonucunda elektromanyetik radyasyon molekül tarafından absorplanır. Absorpsiyonun gerçekleşebilmesi için gözlenebilecek olaylar Şekil 3.3’de Jablonksi enerji diyagramı üzerinde detaylı bir şekilde açıklanacaktır.

3.1.1. Fotofiziksel Özellikler

3.1.1.1. Ftalosiyaninlerin Elektronik Absorpsiyon Spektroskopisi

Ftalosiyaninlerin π -elektronca zengin olmaları nedeniyle ultraviyole ve görünür bölgede $\pi \rightarrow \pi^*$ veya $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerine karşılık gelen karakteristik absorpsiyon pikleri verirler. Çözelti halinde Pc'lerin absorpsiyon spektrumları Soret bandı (B bandı) ve Q bandı olmak üzere iki ana bant içerir. $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine karşılık gelen ve 650-750 nm'de görülen Q bantları ftalosiyaninlerin metalli veya metalsiz oldukları hakkında bilgi verirler (Şekil 3.2). Metallsiz ftalosiyaninler eşit çift bant veririrken, metalli ftalosiyaninler tek ve daha şiddetli bir bant verirler. Çünkü metalli ftalosiyanin bileşiklerinde ftalosiyanin halkası üzerinde bulunan ve metal ile bağ yapabilen dört azot atomu da birbirlerine eşdeğer oldukları için metalli ftalosiyanin bileşikleri D_{4h} simetrisine sahiptirler ve $HOMO \rightarrow LUMO$ geçişine tekabül eden tek bir Q bandı verir. Metallsiz ftalosiyaninlerde ise ftalosiyanin halkası içerisinde bulunan azot atomlarının iki tanesi NH azot atomu oldukları için molekülün simetrisinde bir değişme meydana gelerek molekülün simetrisi D_{2h} olur. Meydana gelen bu simetri değişiminden dolayı molekülün LUMO orbitalinde bir bozunma olur ve birisinin şiddetinin diğerinkinden biraz az olan iki adet Q bandı absorpsiyon piki gözlenir [197-200].



Şekil 3.2. Metallsiz (i) ve Metalli (ii) Ftalosiyaninlerin UV-Vis. Spektrumları (Q ve B bandları)

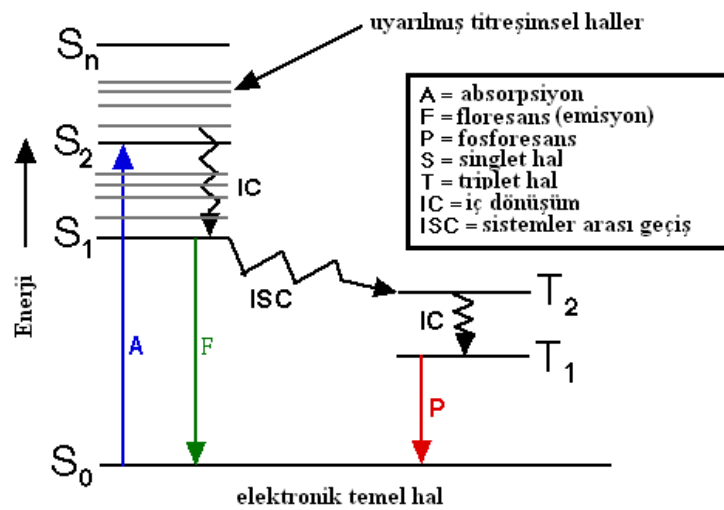
Ftalosiyaninlerin UV-Vis. spektrumlarında önemli karakteristik bantlardan birisi de Soret (B bandı) bandıdır. 300 nm civarında görülen bu band $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerine karşılık gelmektedir.

3.1.1.2. Floresans Spektroskopisi

Bir molekülün ışık soğurma yeteneği onun yapısındaki atomik çekirdek etrafında elektronların yerleşimine bağlıdır. Böylece molekül tarafından bir foton soğurulduğunda bir elektron daha yüksek enerji seviyeli bir orbitale geçer. Bir foton soğurmuş molekül uyarılmış durumdadır ve genellikle artık kararlı değildir.

Uyarılmış molekülde daha yüksek enerjili orbitallere taşınan elektronlar genellikle kendi düşük enerjili orbitallerine geri dönerler. Moleküllerin ışıkla etkileşimleri sonucunda uyarılmaları ve bu uyarılmanın hangi yolla sonlandığı en açık şekilde Şekil 3.3’de Jablonski diyagramı kullanılarak açıklanabilir.

Jablonski diyagramı molekülünün kısmi bir enerji seviyesi diyagramıdır. En alttaki yatay çizgi, normal olarak singlet haldeki molekülün temel hal enerjisini göstermekte olup, S_0 ile gösterilmiştir. Oda sıcaklığında, bu hal, bir çözeltideki moleküllerin hemen hemen tamamının enerjisini gösterir. En üstteki çizgiler, üç uyarılmış elektronik halin temel titreşim halleri için enerji seviyelerini göstermektedir.



Şekil 3.3. Jablonski Enerji Diagramı.

Diyagramdaki yatay kalın çizgiler her bir elektronik enerji düzeyinin en altındaki titreşim enerji düzeylerini, ince çizgiler ise her bir elektronik enerji düzeyinde bulunan titreşim enerji düzeylerini gösterir. Elektronik enerji düzeyleri başlıca temel (S_0) ve uyarılmış ($S_1, S_2, \dots$) singlet ve uyarılmış triplet (T_1) enerji düzeyleridir. Diyagramdan görüldüğü gibi, bir molekülün uyarılması, S_0 dan S_1 'e λ_1 ; S_0 dan S_2 ye λ_2 (daha kısa) dalga boylu ışınların soğurulmasıyla sağlanabilir. Moleküllerde elektronik uyarılmalar yanında titreşim uyarılmaları da olur. Doğrudan triplet hale (S_0 dan T_1 'e) uyarılma gözlenmez (yasaklanmış geçiş). Foton soğurularak uyarılma süreci çok hızlı ($10^{-14} - 10^{-15}$ s) bir olay olup, çok kısa bir sürede gerçekleşir. Uyarılmış molekül birkaç adım üzerinden geçişler yaparak temel hale döner. Bu geçişler başlıca floresans, fosforesans gibi foton yayımı (düz ve kesikli oklarla gösterilen geçişler), ve titreşim geçişleri, iç dönüşüm, dış dönüşüm, sistemler arası geçiş, ön ayrışma gibi ısımasız (dalgalı oklarla gösterilen geçişler) ısı, kinetik geçişlerdir.

3.1.1.3. Floresans Kuantum Verimi ve Ömrü (Φ_F, τ_F)

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

Kuantum verimi hesaplamada birçok farklı yaklaşım vardır. Tüm yaklaşımlardaki ortak nokta kuantum verimi bilinen bir referans madde ile bilinmeyen maddenin spektral performansını karşılaştırmaktır. Kuantum verimleri referans ve analit açısından tek nokta için yapılan ölçümlerle hesaplanabileceği gibi referans ve analit için belirli derişim aralıklarında oluşturulmuş kalibrasyon grafiklerinin eğimleri oranından da hesaplanabilir [80, 81]. Örneğin Çinko ftalosiyaninin ($ZnPc$) DMSO içerisindeki floresans kuantum verimi 0.20'dir [82].

ZnPc referans alınıp aşağıdaki formül kullanılarak (3.1) istenilen bileşiğin floresans kuantum verimi hesaplanabilir.

$$\Phi_F = \Phi_F(\text{Std}) \frac{F \cdot A_{\text{Std}} \cdot \eta^2}{F_{\text{Std}} \cdot A \cdot \eta_{\text{Std}}^2} \quad (3.1)$$

Bu formülde;

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

Floresansta 250 nm'den daha küçük dalga boylarındaki ultraviyole ışınların absorpsiyonun sonucu floresansın nadiren olduğunu bilmek önemlidir. Çünkü bu tür ışınlar, ön ayrışma ve ayrışma ile uyarılmış halin sönümüne sebep olmaya yetecek kadar enerjilidir. Örneğin, 200 nm'lik bir ışın yaklaşık 140 kcal/mol'e karşılık gelir; birçok organik molekül bu büyüklükteki enerjiler ile kopartılabilecek bazı bağlara sahiptir. Sonuç olarak, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi sebebiyle olan floresans nadiren gözlenir; bunun yerine emisyon, daha az enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri ile sınırlıdır.

En şiddetli ve en faydalı floresans, düşük enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine sahip aromatik fonksiyonel gruplar içeren bileşiklerde görülür. Alifatik ve alisiklik karbonil grupların veya fazla sayıda konjüge çift bağlı yapılar içeren bileşikler de floresans gösterebilir, ancak bunların sayısı aromatik sistemlerin sayısı ile karşılaştırıldığında daha azdır.

Floresans kuantum verimi yüksek derişimlerde kendi kendine sönüm ve kendi kendine absorpsiyon nedeniyle negatif sapma gösterir. Bu nedenle floresans kuantum verim ölçümleri düşük derişimlerde gerçekleştirilir.

Uyarılmış bir molekülün ömrü (lifetime, τ) başlangıç konsantrasyonunun 1/e değerine düşmesi için gereken zamandır [83]. Floresans ömürleri (lifetimes), floresans kuantum verimi ve doğal radiatif ömürleri yardımı ile aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanabilir (3.2).

$$\Phi_F = \frac{\tau_F}{\tau_0} \quad (3.2)$$

Bu formülde;

Φ_F : Numunenin floresans kuantum verimi.

τ_F : Floresans ömürleri (lifetime)

τ_0 : Numunenin doğal radiatif ömürleri(Natural radiative lifetime).

Floresans ömürleri ayrıca PhotoChemCAD programı kullanılarak da hesaplanabilir [84].

Floresans ömürleri hesaplamak için kullanılan bir başka yöntem de Strickler- Berg tarafından önerilen floresans lifetime denklemdir (3.3) [85]. Bu yöntemle moleküllerin floresans ömürleri absorpsiyon ve emisyon spektrumundan elde edilen parametreleri kullanarak hesaplanır.

$$\frac{1}{\tau_N} = 2.88 \times 10^{-9} \cdot \eta^2 \frac{\int \frac{F(\lambda)}{\lambda^2} \cdot d(\lambda)}{\int F(\lambda) \lambda \cdot d(\lambda)} \int \frac{\epsilon(\lambda)}{\lambda} \cdot d(\lambda) \quad (3.3)$$

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

3.1.2. Fotokimyasal Özellikler

3.1.2.1. Singlet Oksijen Oluşumu ve Singlet Oksijen Kuantum

Verimi (Φ_{Δ})

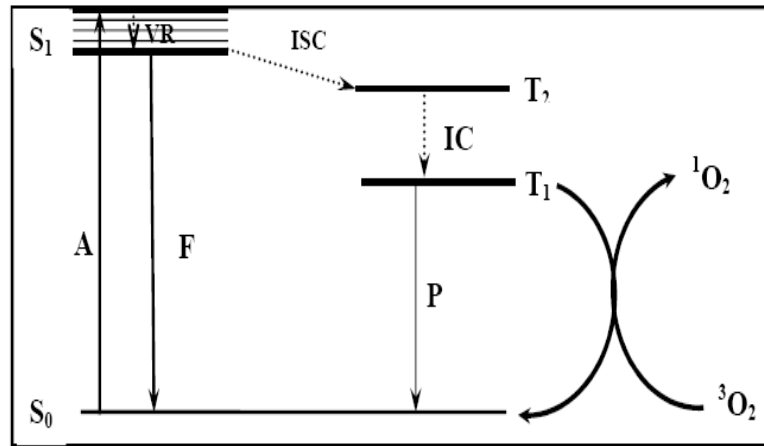
Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar, spinleri aynı yönde ve farklı orbitallerde iken minimum enerji seviyesindedirler. Radikal tanımına göre oksijen “diradikal” yapıya sahip bir moleküldür. Oysa oksijenin reaktivitesi beklenenin aksine çok düşüktür. Diradikal bir yapıya sahip olan oksijenin herhangi bir molekül ile tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye gireceği molekülün de benzer yapıya (farklı orbitallerde spinlerin aynı yönde elektron içermesi) sahip olması gerekir. Oysa başta organik moleküller olmak üzere atom ve moleküller orbitallerinde elektronları antiparalel ve eşleşmiş olarak içerirler veya paylaşılmamış elektronlar kovalent bağlara katılmışlardır. Bunun sonucu olarak oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi son derece kısıtlanmıştır. Bu kısıtlama “**spin kısıtlaması**” olarak adlandırılır. Canlıların oksijeni kullanabilmesi için, oksijene elektron transferi yaparak spin kısıtlamasını aşmaları gerekir. Bu işlem için canlılar bazı metal iyonlarından (Fe, Cu, Mn, Zn) yararlanırlar.

Oksijenin enerjetik olarak uyarılan singlet oksijen formunda spin kısıtlamasının kaldırılmış olması nedeniyle reaktivite çok yüksektir. Aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde verip yeniden oksijene dönebilir.

Molekülün ısı veya floresans oluşumu ile temel hale dönmesi, nanosaniyeler ile ifade edilebilecek kısa zamanlı bir olaydır. Molekül potansiyel bir fotosensitizer ise absorbe ettiği enerjiyi daha uzun bir süre (mikro ya da milisaniye düzeyinde) korumalıdır. Böyle bir molekülde uyarılmış elektron, dönüş yönünü (spin) değiştirir. Elektronun dönüş yönünü değiştirmesi sistemler arası geçiş (intersystem crossing) olarak adlandırılır. Uyarılmış haldeki fotosensitizer için ise üçlü durum (triplet state) halindedir denir. Üçlü durumdaki fotosensitizer, enerjisini bir substrat moleküle transfer edebilir ve böylelikle temel hale dönebilir.

Kuantum mekaniğine göre, doğrudan ışık enerjisiyle uyarılamayacak olan substrat molekülü (genellikle oksijen), fotosensitizer tarafından aktarılan enerji ile elektronik olarak uyarılmış hale gelir (Şekil 3.4). Başka bir deyişle fotosensitizer, ışık enerjisini oksijene transfer eder ve sonunda yağ ve protein gibi hücre içi yapılara hasar veren singlet oksijen oluşumuna neden olan bir katalizör gibi çalışır.

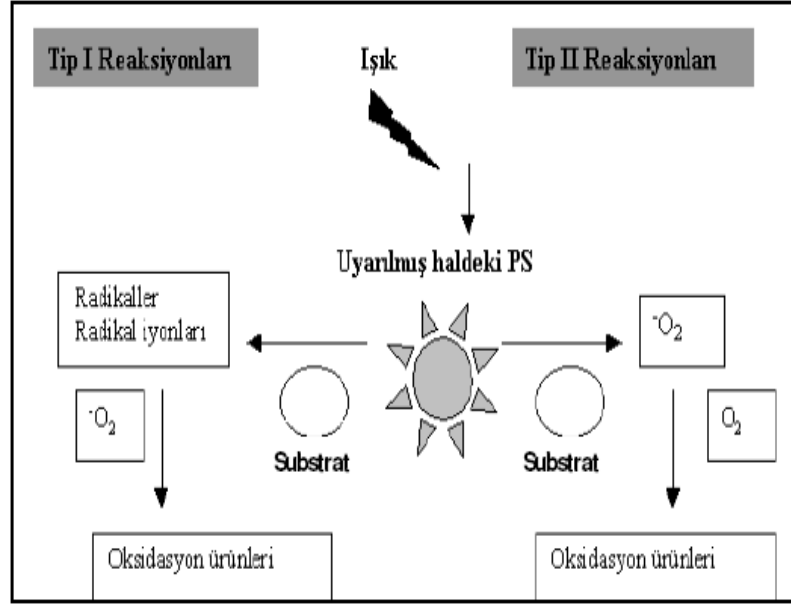
Bu olaylar sonunda temel hale dönen fotosensitizer, yeni bir fotonu absorbe etmeye hazırdır ancak çoğunlukla singlet oksijen tarafından değişime ya da yıkıma uğrar. Fotosensitizer ve singlet oksijen etkileşimi sonucu bazı fotokimyasal ürünler oluşabileceği gibi fotosensitizerin ışığa karşı hassaslığını kaybetmesi ya da floresansta azalma (photobleaching) mümkündür [86].



Şekil 3.4. Singlet Oksijen Oluşumu.

Singlet oksijen oluşumu elektron transferi reaksiyonları (Şekil 3.5) (Tip I reaksiyonları) ya da enerji transfer reaksiyonları (Tip II reaksiyonları) ile gerçekleşebilir. Tip I reaksiyonlarında, uyarılmış haldeki fotosensitizerin sahip olduğu hidrojen atomunu, hücresel bir moleküle aktarmasıyla ortaya çıkan yüksek reaktif özelliği olan radikaller, özellikle hidroksil ve hidrojen peroksit radikalleri, moleküler oksijenle reaksiyona girerek oksijenlenmiş ürünler oluşturur.

PDT’ de kullanılan pek çok fotosensitizer ise etkisini çoğunlukla $^1\text{O}_2$ üzerinden, Tip II reaksiyonları ile gösterir. Tip II reaksiyonlarında uyarılmış haldeki fotosensitizer enerjisini doğrudan moleküler oksijene (O_2) verir ve $^1\text{O}_2$ oluşmasına neden olur. O_2 ’nin elektronik olarak uyarılmış hali olan $^1\text{O}_2$, biyomolekülleri oksitleyerek hücresel hasara neden olur [86].



Şekil 3.5. Singlet Oksijen Reaksiyonları

Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır [87, 88]. Doymamış yağ asitleri ile de doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini oluşturur ve $\cdot\text{OH}$ kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir. Bu özelliklerinden dolayı son zamanlarda singlet oksijen, hava ve su kirlenmesine neden olan kimyasal maddelerin fotobozunmasında [89, 90] ve PDT uygulamalarında [91-94] geniş kullanım alanı bulmuştur.

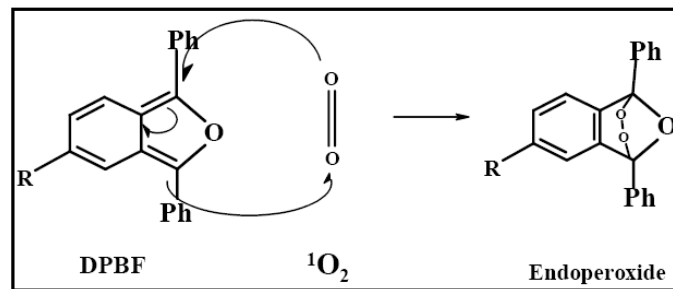
Singlet oksijen kuantum verimi, teorik olarak oluşan singlet oksijen mol sayısının absorplanan fotonun mol sayısına oranıdır. Pratik olarak ise uygun bir söndürücü tarafından söndürülen singlet oksijen miktarının tüketilmesi sırasındaki değişimi incelenerek hesaplanabilir. Singlet oksijen iki yolla tüketilir:

1. Oksijenin fiziksel bir söndürücü tarafından söndürülmesi. Bu söndürücünün elektronik olarak uyarılması (biomoleküler) veya çözücü moleküllerinin titreşimsel deaktivasyonu ile oluşur (monomoleküler).

2. Oksijenin kimyasal bir söndürücü ile söndürülmesi. Burada singlet oksijen söndürücüyü yükseltgeyerek yeni bir ürün oluşturur.

Bu çalışmada en sık kullanılan kimyasal söndürücülerden biri olan 1,3-difenilisobenzofuran (DPBF) kullanılmıştır. DPBF dışında kullanılan singlet oksijen söndürücüler arasında tetrasodyum antrasen-9,10-bismetilmalonat (ADMA), tiyol, keroten, askorbat ve histidin bileşikleri yer almaktadır [95, 96]. Kullanılan söndürücüler molekülün yapısına, kullanılan çözücüye göre değişiklik gösterir. Örneğin DPBF suda çözünmediği için, suda çözünen fotosensitizerlerin singlet oksijen ölçümlerinde suda çözünür bir söndürücü olan ADMA kullanılır. Metalli ftalosiyanınlar için singlet oksijen kuantum verimleri genelde 0.4 değerinden büyüktür. Çoğu suda çözünen ftalosiyanınlar, su veya organik çözücü ortamında çok kuvvetli bir şekilde agregasyona uğradığı bilinmektedir. [190-194]. referansları]. Agregasyonun biyoyararlanım ve singlet oksijen oluşturması üzerine önemli bir etkisi vardır. Su singlet oksijen söndürücüsü olarak davranarak fotokimyasal aktivitesinin düşmesine neden olabilmektedir [93, 195,196].

Şekil 3.6'da DPBF molekülünün singlet oksijen ile etkileşimi görülmektedir. Ortamda bulunan singlet oksijen DPBF molekülü ile etkileşerek endoperoksit molekülünü oluşturur. Oluşan endoperoksit molekülünün ışık ile söndürülmesi sırasında meydana gelen değişim spektroskopik yöntemlerle kolayca izlenebilir.



Şekil 3.6. Singlet Oksijen ve DPBF 'in Katılma Tepkimesi

Singlet Oksijen kuantum verimi bilinen bir referans madde ile söndürücünün spektral performansını karşılaştırılarak hesaplanabilir. Bunu için referans ve söndürücü için belirli derişim aralıklarında oluşturulmuş kalibrasyon grafiklerinin eğimleri oranı kullanılır. Örneğin süstitüe olmamış Zn(II) ftalosiyanınin DMSO içerisindeki singlet oksijen kuantum verimi DMSO (Φ_{Δ}) = 0.67'dir [97-100]. ZnPc referans alınıp aşğıdaki formül kullanılarak (3.4) istenilen bileşğın singlet oksijen kuantum verimi hesaplanabilir.

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{Std} \frac{R \cdot I_{abs}^{Std}}{R^{Std} \cdot I_{abs}} \quad (3.4)$$

Bu formülde;

Φ_{Δ} : Numunenin singlet oksijen kuantum verimi.

Φ_{Δ}^{Std} : Standart maddenin singlet oksijen kuantum verimi (Standart olarak süstitüe olmamış çınko ftalosiyanın bileşğı kullanılır).

R: DPBF bileşğının numune varlığında absorbans değışimi.

R_{Std} : DPBF bileşğının standart varlığında absorbans değışimi.

I_{abs} : Numunenin absorpladğđ ışık miktarı.

I_{abs}^{Std} : Standart maddenin absorpladğđ ışık miktarı.

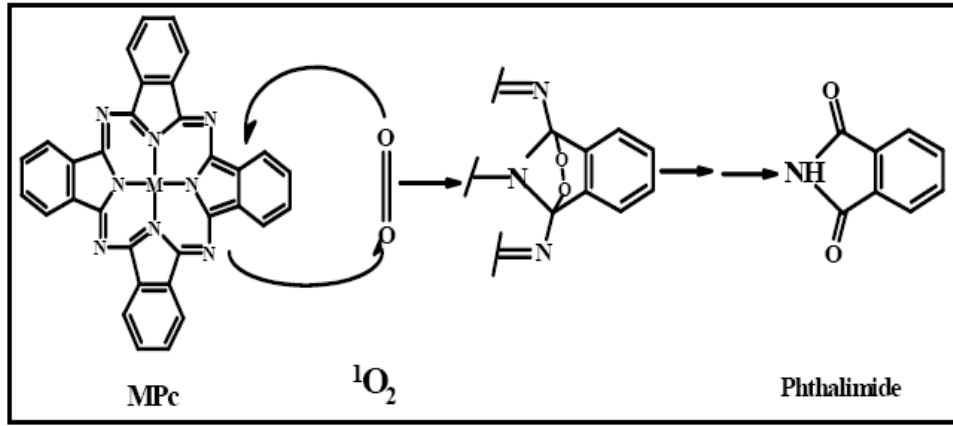
3.1.2.2. Fotobozunma (Photodegradation) ve Fotobozunma Kuantum Verimi (Φ_d)

Işığın bazı kimyasal türler tarafından absorpsiyonuyla meydana gelen tepkimeler fotokimyasal tepkimeler olarak adlandırılır. Fotokimyasal işlemin ilk adımı ışığın bir fotokimyasal enerji biriminin (kuantum) bir molekülü aktiflemesidir. Bir kuantumun enerjisi $h \cdot \nu$ çarpımına eşittir. h : $6,62 \cdot 10^{-27}$ erg. s (Plank sabiti) , ν ; absorplanan ışığın frekansı olup 1/s birimindedir.

Fotobozunma da fotokimyasal bir olaydır. Absorbe edilen ışık yani enerji, moleküller arasına yerleşerek depolimerizasyon, dehidrojenasyon ve

dehidrometilasyon gibi ayrılma reaksiyonlarına neden olur. Bununla birlikte, karboniller, karboksiller, peroksitler, hidroperoksitler ve konjuge çift bağlar gibi kromoforik gruplar da oluşur. Kromofor gruplar, renk veren hidrokarbon gruplarına yeteri derecede bağlanan özel gruplardır.

Ftalosiyanın fotobozunmaları sırasında singlet oksijen ftalosiyanın halkasına katılarak depolimerizasyona uğrar ve ayrılma reaksiyonları gerçekleşir. Ftalosiyanın meydana gelen bu ayrılma reaksiyonu bir Diels-Alder tepkimesidir. Reaksiyonun mekanizmasına bakılacak olursa (Şekil 3.7) Pc halkası bir dien, singlet oksijen ise dienofil olarak davranır.



Şekil 3.7. Pc Bileşiğinin Fotobozunması (Photodegradation).

Fotobozunma reaksiyonlarını etkileyen en önemli iki faktör kullanılan çözücüler ve bozunmaya uğrayan molekülün sahip olduğu süstitüentlerin elektronik yapılarıdır. Örneğin yapısında elektron verici süstitüentler içeren ftalosiyanın kolayca yükseltgenebildiklerinden (singlet oksijen ile) kuvvetli fotobozunma reaksiyonu gösterirler. Süstitüentlerin elektron çekici olması durumunda ftalosiyanın halkasının oksidasyonu oldukça zordur ve düşük fotobozunma reaksiyonu gösterirler.

Çözücünün etkisini inceleyecek olursak, kloroform ve DCM benzeri çözücülerde fotobozunma reaksiyonunun hızı oldukça yüksektir. Bunun nedeni fotobozunma sırasında oluşan C-Cl radikallerinin bozunma hızını arttırmasıdır.

Fotobozunma (photodegradation) kuantum verimi (Φ_d), bir kuantum enerji biriminin (bir kuantumun enerjisi $h\nu$ çarpımına eşittir) depolimerizasyona uğrattığı molekül sayısıdır. Başka bir deyişle molekülün ışığa karşı gösterdiği dayanıklılıktır.

Fotobozunma kuantum verimi, maddenin ışıkla bozunması sırasında absorpsiyon spektrumunda meydana gelen değişimin incelenmesiyle hesaplanabilir. Ftalosiyanın fotobozunma, Q bandlarında meydana gelen azalma ile gözlenir ve belirli zaman aralıklarında oluşturulmuş kalibrasyon grafiklerinin eğimleri kullanılarak kuantum verimleri hesaplanır.

Fotobozunma kuantum verimleri aşağıda verilen formül (3.5) yardımı ile hesaplanabilir [96-100].

$$\Phi_{pd} = \frac{\Delta A}{\Delta t} \cdot \frac{V}{\varepsilon} \cdot \frac{1}{I_{abs}} \quad (3.5)$$

Bu formülde ΔA fotobozunma süresince absorbansta meydana gelen değişimi, Δt zamanda meydana gelen değişimi, V kullanılan çözelti hacmini, ε ise fotobozunmaya uğrayan bileşiğin molar absorptivite katsayısını göstermektedir.

Formülde yer alan I_{abs} değeri ise aşağıda verilen formül (3.6) kullanılarak hesaplanabilir

$$I_{abs} = \frac{\alpha SI}{N_A} \quad (3.6)$$

Bu formülde α zamana karşı çizilen kalibrasyon grafiğinin eğimi, S kullanılan hücre hacmi (cm^3), N_A avogadro sayısı (mol^{-1}), I ise kullanılan ışık şiddetidir.

3.2. Konu İle İlgili Yayınlanmış Çalışmalar

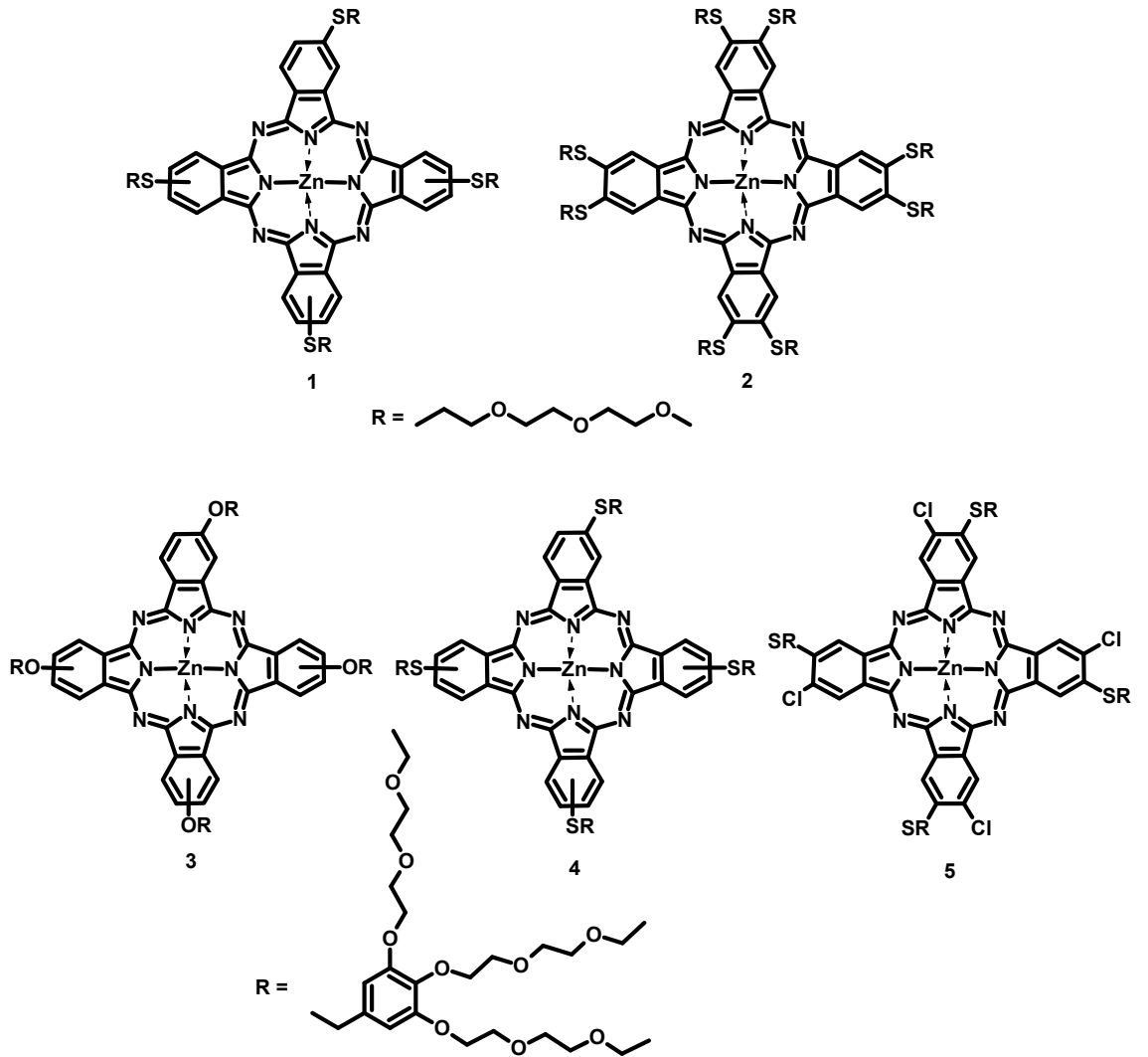
3.2.1. Fotosensitizerlerin Fotofiziksel ve Fotokimyasal Parametreleri

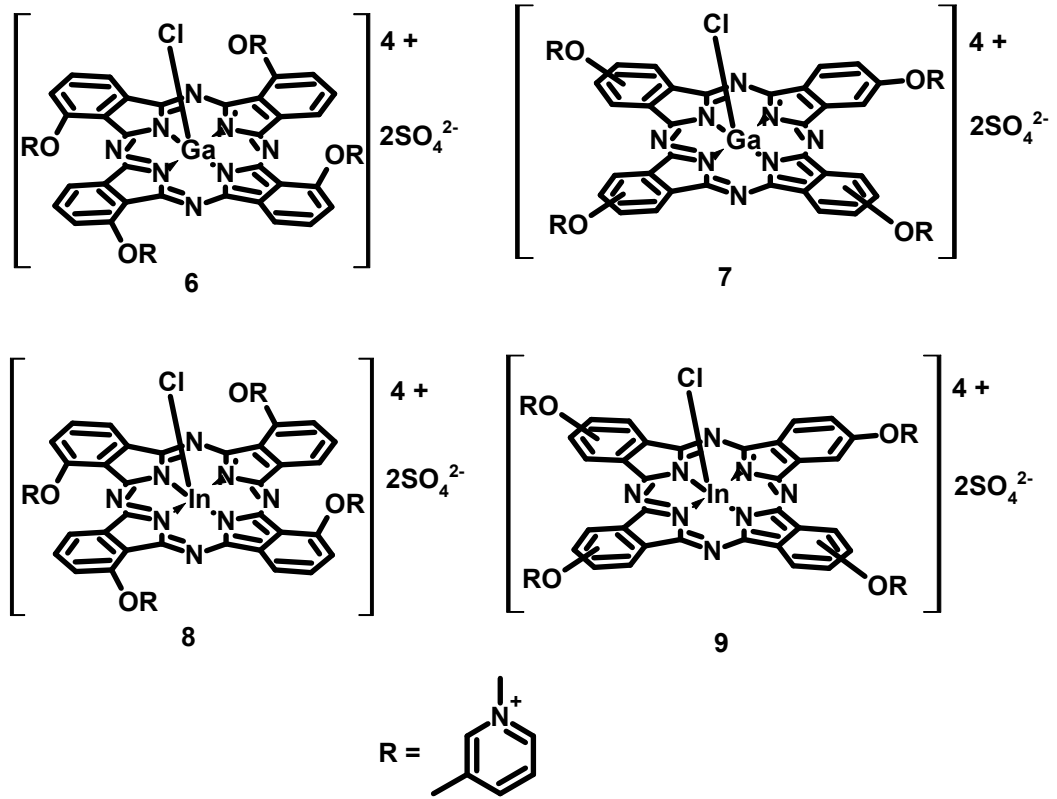
Ftalosiyanimler son yıllarda PDT’de kullanılan etkin fotosensitizerlerin başında gelmektedir. Bu molekülleri PDT’de bu kadar etkin kılan özellik merkez metal atomunun doğası ile ilgilidir. Bir bileşiğin PDT’de kullanılması için gereken özelliklerden birisi de onun singlet oksijen oluşturabilme yeteneğine sahip olmasıdır. PDT’de fotosensitizerin türüne bağlı olarak singlet oksijen oluşumu ya elektron transferi reaksiyonları ile (Tip 1) yada enerji transferi reaksiyonları (Tip 2) ile gerçekleşmektedir. Ftalosiyanimler fotokararlılığı, biyolojik uyumluluğu, dokuya optimal miktarda ışık girmesine izin vermesi ve toksik olmaması nedeniyle ikinci nesil fotosensitizer olarak kabul edilmektedirler [101].

Tablo 3.1. Bazı Fotosensitizerlerin Fotofiziksel ve Fotokimyasal Özellikleri

Fotosensitizer	($\lambda_{\max}$,nm)	Ekstinksiyon Katsayısı ($s M^{-1} cm^{-1}$)	(λ_F ,nm)	Φ_F	Φ_A	Kaynak
Tetrasülfolanmış Al(III) Ftalosiyanim	676	169000	684	0,51	0,38	102-104
Klorin	402/663	150000/59000	667	0,19	0,65	102,105-107
Porfirisen	358/630	139000/52000	640	0,44	0,34	102, 108-110
Protoporfirin IX	402/626	40000/3000	633	0,16	0,56	102, 111-112
Tetrafenilporfirin	419/647	470000/3400	653	0,11	0,63	113-115
Silisyum Naftalosiyanim	347/781	134000/327000	780	0,17	0,33	102, 116, 117
Lutesyum Teksapirin	470/733	68000/23000	747	0,01	0,23	118
Zn(II) Ftalosiyanim	672	150000	676	0,06	0,62	119, 120
Zn(II) Tetrafenilporfirin	423/586	540000/3700	610	0,73	0,73	102, 113, 121

Ftalosiyanimlerde singlet oksijen oluşturma kabiliyeti merkez metal atomuna bağlıdır. 2. kısımda anlatıldığı ftalosiyanın bileşiklerinin merkezine metal atomu olarak, kabukları dolu Zn (II), Al (III), Ga(III) gibi diamagnetik iyonlar veya Si(IV) gibi pseudo metal ile koordine yapabilen gibi metaller bulunduğu, etkin bir şekilde singlet oksijen oluşturma yeteneğine sahip bileşikler olduğu belirtilmektedir [101]. Tablo 3.1 ve 3.2’de Zn(II), Ga(III) ve In(III) ftalosiyanimlerin fotofiziksel ve fotokimyasal parametreleri yer almaktadır.





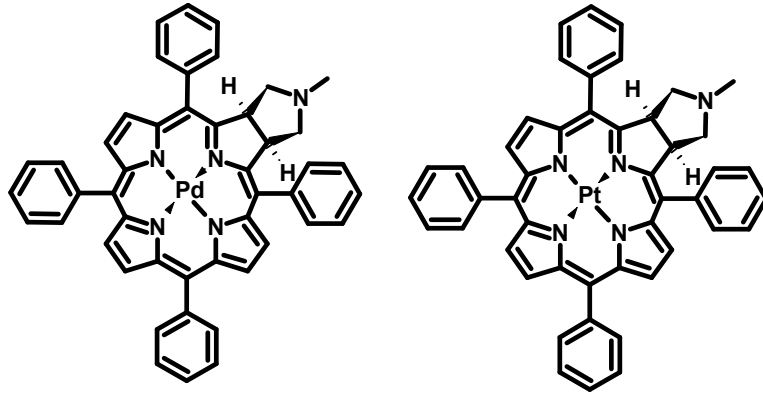
Şekil 3.8. PDT Amaçlı Sentezlenmiş Zn(II), Ga(III) ve In(III) Ftalosiyanın Bileşikleri [15, 42, 69, 98]

Tablo 3.2. Bazı Zn(II), Ga(III) ve In(III) Ftalosiyanın Bileşiklerinin DMSO Çözücüsündeki Fotofiziksel ve Fotokimyasal Parametreleri

Bileşik	($\lambda_{\max}$,nm)	(λ_F ,nm)	Φ_F	τ_T (μs)	$\Phi_d (10^4)$	Φ_Δ	Kaynak
ZnPc	672 (5.14)	682	0.18	350	26.1	0.67	69
1	694 (5.31)	703	0.20	230	1.62	0.64	98
2	710 (5.32)	720	0.13	280	2.20	0.72	98
3	696 (5.08)	709	0.10	280	2.20	0.73	69
4	686 (5.05)	697	0.08	370	16.30	0.65	69
5	699 (5.06)	709	0.10	240	2.6	0.80	69
6	697 (5.27)	712	0.19	-	-	0.53	42
7	683 (5.25)	699	0.24	-	-	0.51	42
8	698 (4.88)	718	0.02	50	0.49	0.68	15
9	663, 693 (4.86)	708	0.082	70	0.50	0.44	15

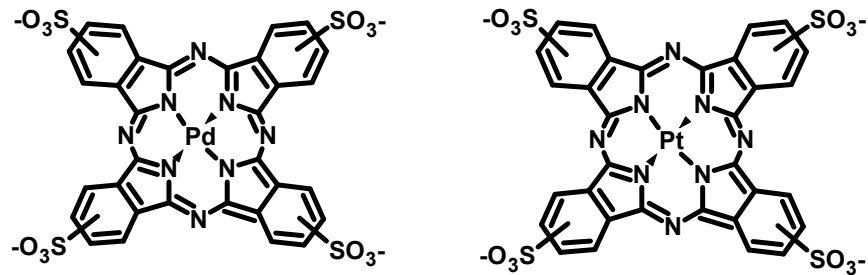
Geçiş metalleri ve özellikle singlet oksijen oluşturma yeteneğine sahip paladyum ve platinyum kompleksleri son yıllarda fotodinamik terapide kullanılan etkin fotosensitizerler olarak karşımıza çıkmaktadır.

2009 yılında Journal of Medicinal Chemistry dergisinde Obata-Hirohara ve çalışma grubunun yapmış olduğu çalışmada, pirolidin bağlı klorinin palladyum ve platinyum komplekslerin ağır atom etkisinden dolayı etkin bir şekilde singlet oksijen üretebilme yeteneğine sahip bileşikler olabileceği belirtilmiştir (Şekil 3.9). Pd(II) ve Pt(II) atomlarının benzen solventi içinde singlet oksijen kuantum değerleri (Φ_{Δ}) 0.89 ve 0.92) bulunmuştur [9].



Şekil 3.9. Pirolidin-Bağlı Klorinin Pd(II) ve Pt(II) Kompleksleri [9].

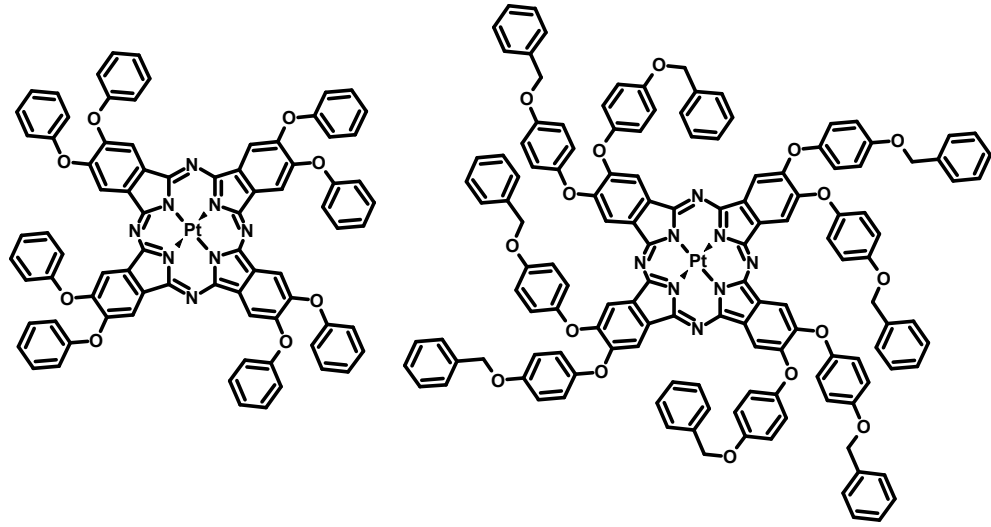
2008 yılında D'alessandro ve çalışma arkadaşları suda çözünür tetrasülfolanmış Pd(II) ve Pt(II) ftalosiyanınların sentezini gerçekleştirmiştir (Şekil 3.10). Bu ftalosiyanınların oldukça fotokararlı bileşikler olduğu ve oksidasyon katalizörü olarak kullanıldığı zaman etkin bir şekilde singlet oksijen oluşturma yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir [122].



Şekil 3.10. Tetrasülfolanmış Pd(II) ve Pt(II) Kompleksleri [122]

Ayrıca platinyum komplekslerinin antikanser ajanı olarak kullanıldığı bilinmektedir [123-128].

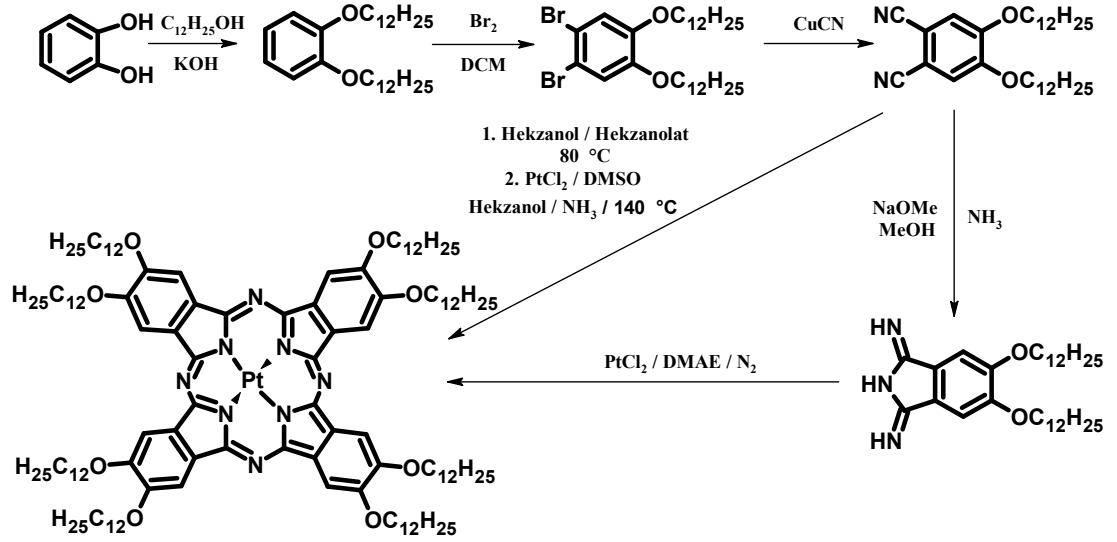
2010 yılında Nyokong ve grubu tarafından yapılan çalışmada fenoksi ve benziloksifenoksi süstitüe Pt(II) ftalosiyanınların fotofiziksel ve fotokimyasal özellikleri incelemiştir. Fenoksi ve benziloksifenoksi süstitüe ftalosiyanınların singlet oksijen kuantum verimleri 0.68 ve 0.53 olarak bulunmuştur (Şekil 3.11) [129].



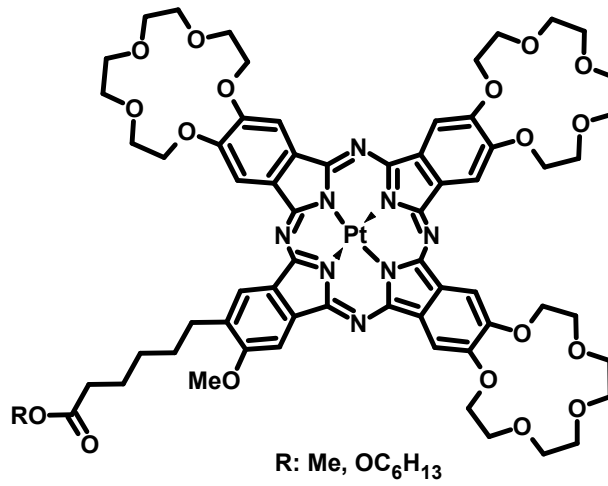
Şekil 3.11. Fenoksi ve Benziloksifenoksi Süstitüe Pt(II) Ftalosiyanınların [129]

3.2.2. Pt(II) Ftalosiyanınların Sentezi

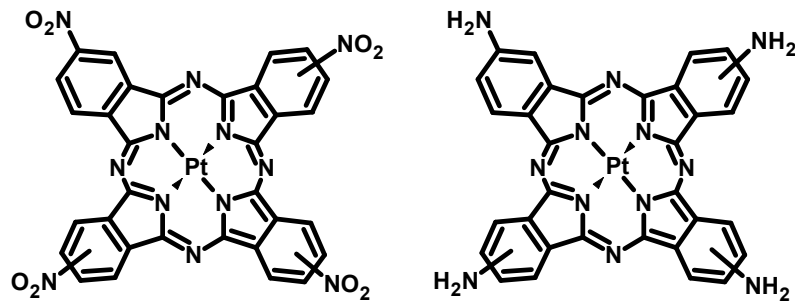
Pt(II) ftalosiyanın türevlerinin sentezi literatürdeki yeri Zn(II) türevlerine oranla daha azdır. 1992 yılında Jacques Simon ve çalışma arkadaşlarının sıvı kristal özelliklerini incelemek amacıyla sentezledikleri dodesiloksi süstitüe Pt(II) ftalosiyanın bileşiği [130] (Şekil 3.12), 1994 yılında fonksiyonlandırılmış asimetric Pt(II) ftalosiyanın bileşiği [131] (Şekil 3.13) ve 2009 yılında Lokesh ve grubu tarafından mikrodalga yöntemi ile sentezlenen tetraamino ve tetranitro Pt(II) ftalosiyanın bileşikleri [132] literatür de yer alan Pt(II) ftalosiyanın türevleridir (Şekil 3.14).



Şekil 3.12. (C₁₂H₂₅O)₈PcPt Bileşiğinin Sentezi [130]



Şekil 3.13. Fonksiyonlandırılmış Asimetrik Pt(II) Ftalosiyanin Bileşiği [131]

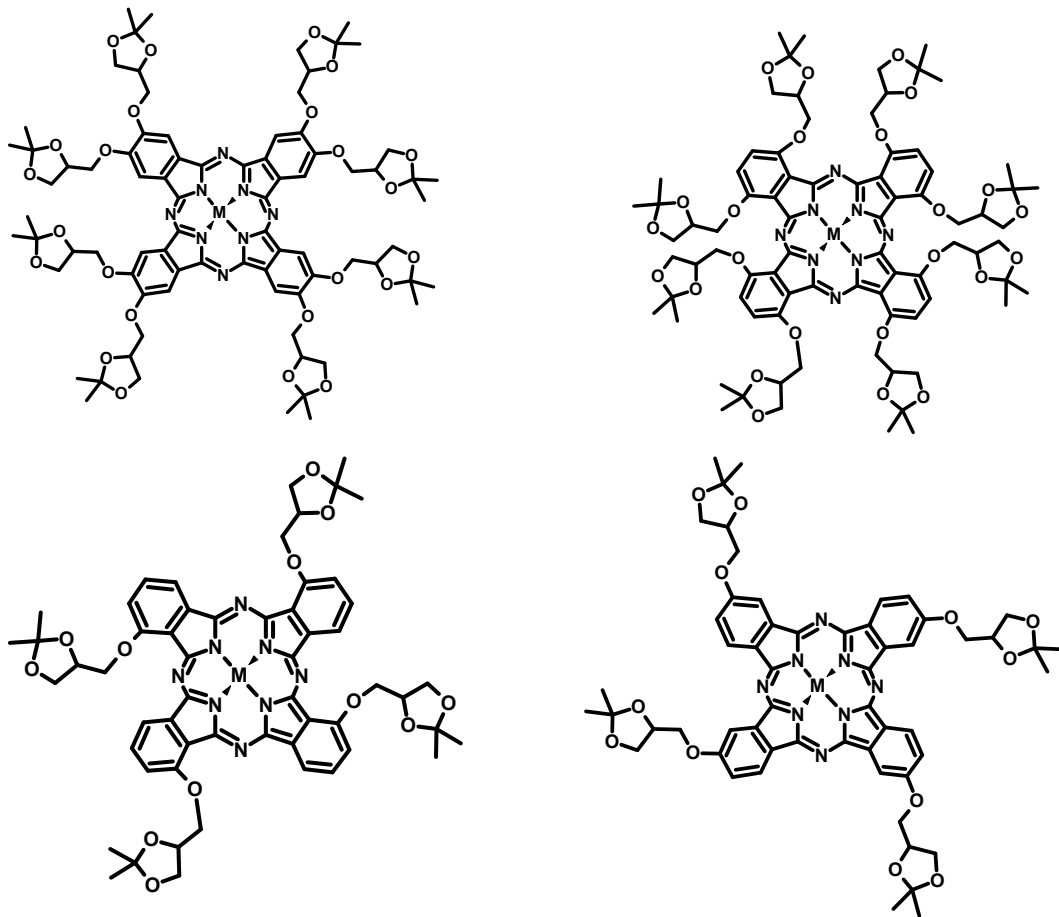


Şekil 3.14. Tetranitro ve Tetraamino Pt(II) Ftalosiyaninler [132]

3.3. Bu Çalışmada Tasarlanan Moleküller

Ağır atom etkisinin fotosensitizerde singlet oksijen kuantum verimini etkin bir şekilde arttırdığı bilinmektedir. Bu sebeple çalışmamızda ise Pt(II) metali kullanılmıştır. Bu ftalosiyenin önce sentezini gerçekleştirdikten sonra fotodinamik terapide kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla, **fotofiziksel** (fluoresans kuantum verimleri ve ömürleri) ve **fotokimyasal** (singlet oksijen kuantum verimleri, fotobozunma kuantum verimleri) özelliklerinin incelenmesi amaçlandı. Sübstitüent olarak solketal seçilmiştir. Bu çalışmanın 2. kısımda belirtildiği gibi solketal ucuz, çok yönlü olmasının yanında asidik ortamda kolay bir şekilde gliserol formuna dönüşmekte ve moleküle hidrofilik karakter sağlamaktadır. Bu çalışmalarımızın sonuçları arzu edilen değerde olması halinde suda çözünen Pt(II) serilerinin sentezi bizim bir sonraki araştırma konumuz olarak planlanmıştır. Bu çalışmamızda kullanılan moleküller nonperiferal ve periferal olarak tetra ve oktasolketal Pt(II) ftalosiyenlerdir (Şekil 3.15).

Pt(II) ftalosiyenlerin fotofiziksel ve fotokimyasal özelliklerinin daha iyi anlaşılması için referans olarak Zn(II) serileri ile karşılaştırılması gerekmektedir. Daha öncede anlatıldığı gibi Zn(II) ftalosiyenler fotodinamik terapi amaçlı çalışmalarda en çok kullanılan bileşikler arasında yer almaktadır [55, 57, 69, 98]. Bu sebeple çalışmamızın bu bölümünde nonperiferal ve periferal olarak tetra ve oktasolketal Zn(II) ftalosiyenler kullanılacaktır. Periferal olarak oktasolketal bileşiği hariç diğer bileşiklerin sentezi 2.kısımda verilmiştir. Bu bölümde Pt(II) ftalosiyenlerin dışında periferal olarak oktasolketal Zn(II) ftalosiyen bileşiğinin sentezine yer verilmiştir.



Şekil 3.15. Periferel ve Non-periferel Tetra ve Oktasüstitüe Ftalosiyeninler
(M: Zn, Pt)

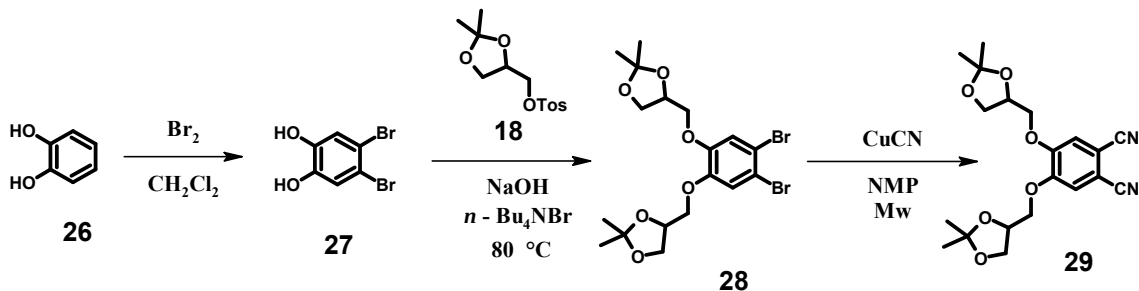
3.4. Tartışmalar

3.4.1. Başlangıç Maddelerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Pt(II) ftalosiyeninlerin sentezinde en çok kullanılan başlangıç maddesi diiminoizoidolinlerdir. Diiminoizoidolinler, ftalonitril bileşiklerinin amonyak gazı varlığında NaOMe katalizörü eşliğinde MeOH solventi içinde gerçekleşen reaksiyon sonucu oluşan ürünlerdir. Sentezin ilk adımı ftalonitril türevlerinin sentezlenmesiyle başlamaktadır.

10, **12** ve **29** ftalonitril bileşikleri birinci bölümdeki çalışmamızda belirtilen yöntemle göre sentezi gerçekleştirildi. Bu çalışmada **29** numaralı ftalonitril bileşiğinin sentezi literatürde belirtilen yöntemlerden farklıdır. Öncelikle katekolün (**26**) moleküler brom (Br_2) ile 1:2 oranında DCM solventi içinde

bromlanması sonucu %90 verimle dibromokatekol bileşiği (**27**) elde edildi (Şekil 3.16) [133].



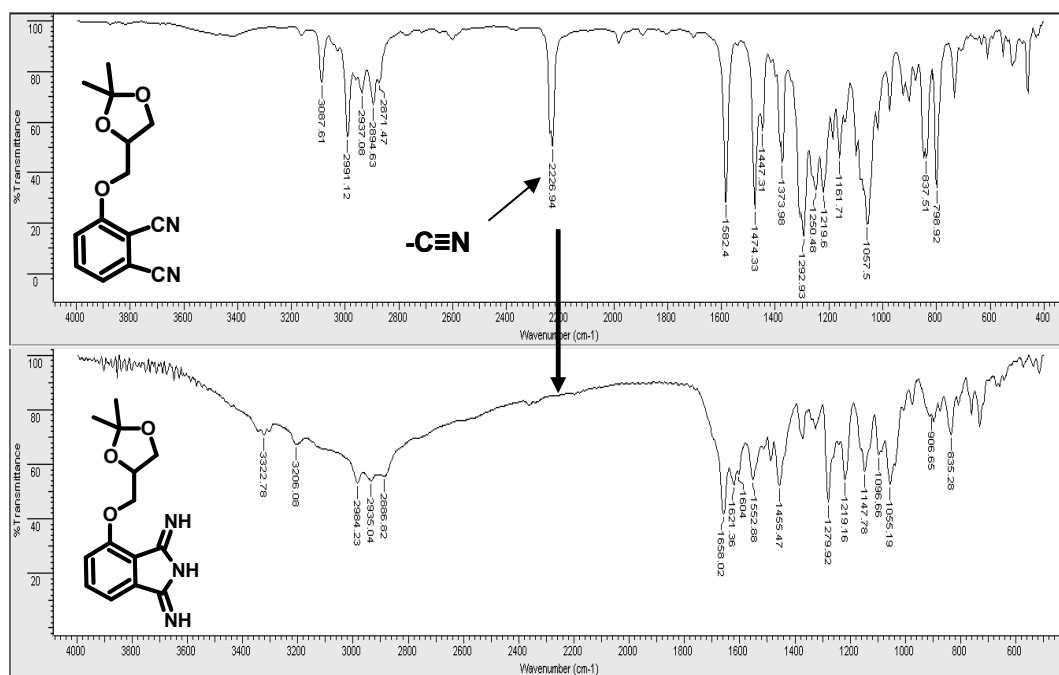
Şekil 3.16. Katekolden (**26**) Başlayarak Ftalonitril Bileşiğinin (**29**) Sentezi

Literatürdeki [63] yöntemden farklı olarak, dibromokatekol'ün (**27**) tosilli solketal (**18**) ile 1:2.2 mol oranında NaOH (%50) varlığında tetrabutyl amonyum bromürün ($n\text{-Bu}_4\text{NBr}$) katalizör olarak kullanılmasıyla 80 °C'de gerçekleşen reaksiyon sonucu 3,4-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,2-dibromo benzen bileşiği (**28**) % 85 verimle elde edilmiştir. Elde edilen bromlu bileşiğin (**28**) CuCN ile 1:4 oranında ve N-metilpirolidon solventi varlığında mikrodalga yöntemiyle (400 W) gerçekleşen reaksiyon sonucu % 35 verimle 3,4-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril (**29**) bileşiği elde edilmiştir (Şekil 3.16). Sentezlenen bileşiklerin (**27**, **28**, ve **29**) saflaştırılmasında kristallendirme ve kolon kromatografi teknikleri kullanılmıştır.

Elde edilen ftalonitril türevlerinin (**10**, **12** ve **29**) NaOMe, MeOH ve NH_3 gazı varlığındaki reaksiyon sonucu sırasıyla oldukça yüksek verimlerle **22** (%94), **24** (%85) ve **30** (%96) diiminoizindolin türevleri elde edilmiştir. **22** bileşiği literatür çalışmalarında rapor edilmiştir [134]. Sentezlenen bileşikler hekzan hariç DCM, CHCl_3 , Aseton, EtOAc, DMF, DMSO, EtOH ve MeOH gibi hemen hemen bütün organik solventlerde çözünmemektedir. Diiminoizindolinler oldukça polar bileşikler olması sebebiyle, saflaştırma işlemlerinde silikajel dolgulu kolon kromatografisi kullanılamamaktadır. Bu bileşiklerin saflaştırılması için genel metodu şöyle açıklayabiliriz; reaksiyon karışımındaki MeOH önce uzaklaştırıldı sonra kalan yeşil görünümündeki ürün CHCl_3 ilave edip karıştırıldı ve ortamda çözünmeden kalan NaOMe tuzları filtre edilerek uzaklaştırıldı. CHCl_3

evaporatörde uzaklaştırdıktan sonra hekzan ile çöktürüldükten sonra sentez işlemlerinde kullanıldı.

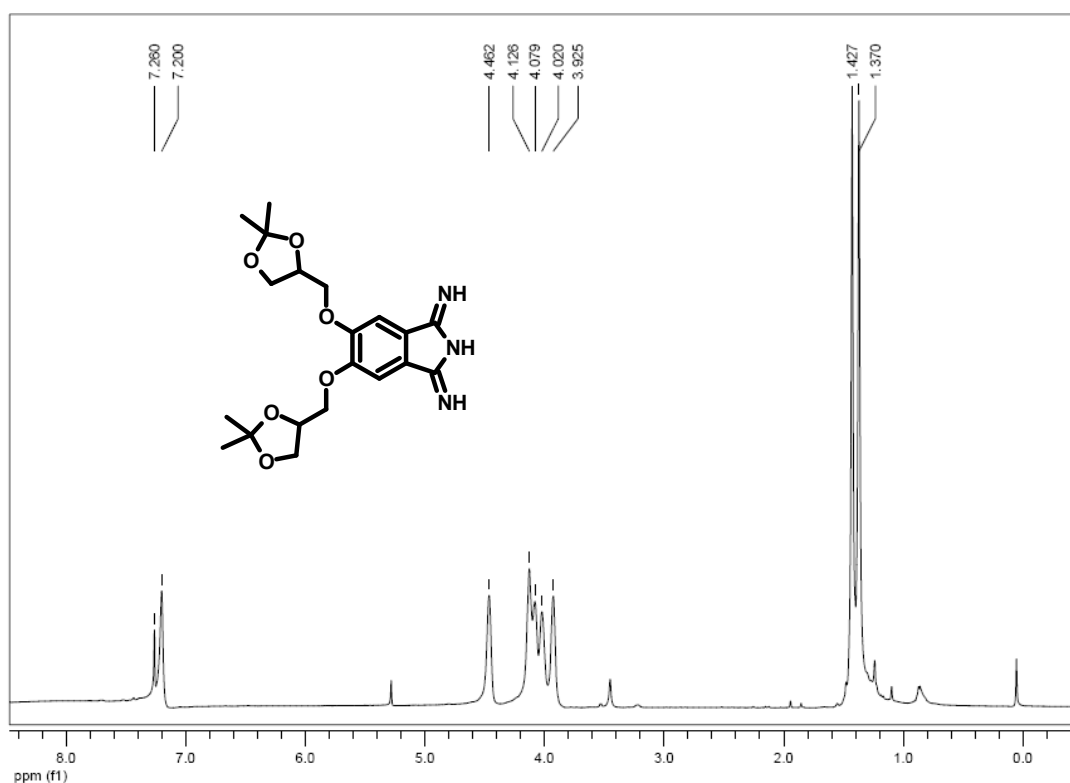
10, **12** ve **29** ftalonitrillerden sentezlenen **22**, **24** ve **30** diiminoizindolin bileşiklerinin FT-IR spektrumunda, ftalonitrilde $2220 - 2230 \text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen $\text{-C}\equiv\text{N}$ pikine ait gerilme titreşimlerinin, diiminizindolin bileşiğinde kaybolduğu gözlenmiştir. Aşağıdaki spektrumda **12** ve **24** bileşiklerinin karşılaştırmalı spektrumu verilmiştir (Spektrum 3.1).



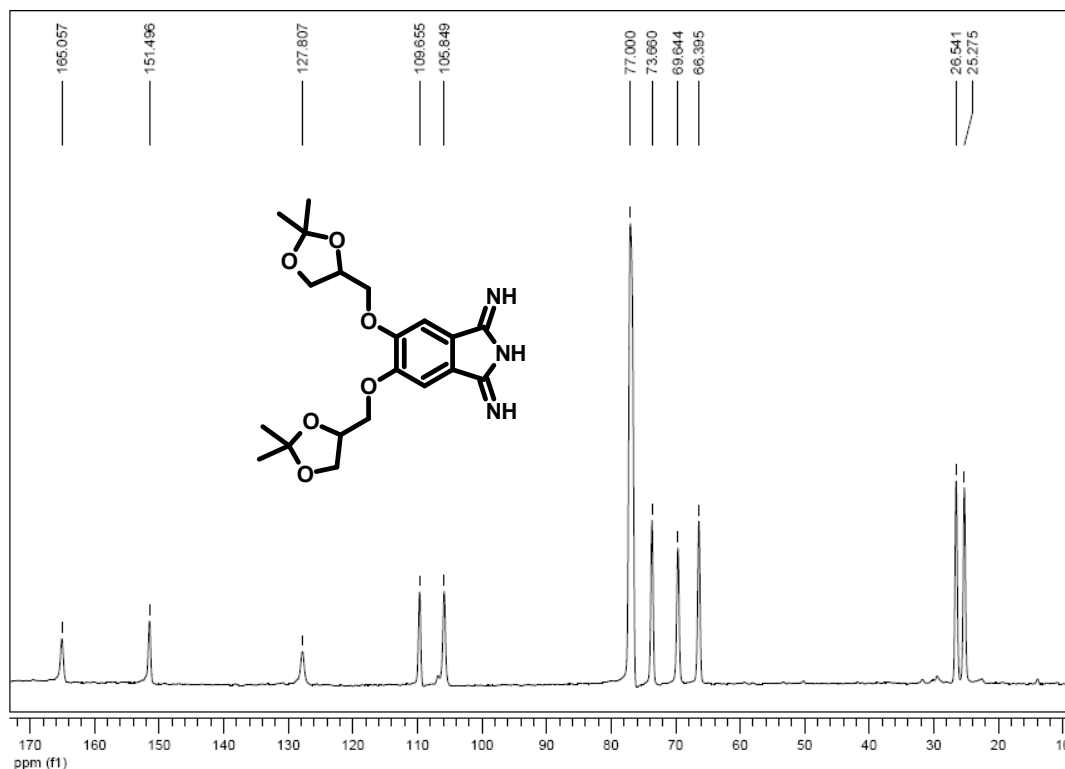
Spektrum 3.1. Ftalonitril (**12**) ve Diiminoizindolin (**24**) Bileşiklerinin FT-IR Spektrumlarının Karşılaştırılması

22 ve **30** bileşiklerinin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları iç referans olarak TMS'nin kullanıldığı 298 °K'de CDCl_3 solventinde alınmıştır. **24** bileşiğinin NMR spektrumları CDCl_3 solventinde alındı fakat piklerin rezolüsyonunun iyi olmadığından bu bileşik için spektrumlar DMSO-d_6 solventinde alınmıştır.

30 bileşiğin ^1H NMR spektrumunda 7.2 ppm'deki tek pik benzen halkasındaki aromatik protonlara olup, 3.92-4.16 ppm'deki çoklu pikler solketalde bulunan $-\text{OCH}_2$ ve $-\text{OCH}$ alifatik protonlara aittir. 1.36 ve 1.42 ppm'de bulunan pikler ise solketalde bulunan asetal grubundaki $-\text{CH}_3$ piklerine aittir. ^{13}C NMR spektrumunda 165 ppm'de $-\text{C}=\text{N}$ pikine ait karbon atomuna, 151 ppm'de benzen halkasında bulunan $(-\text{O}-\text{C}=\text{C}-)$ karbon atomuna, 128 ppm'de pik $-\text{C}-\text{C}=\text{N}$ grubundaki karbon atomuna, 109 ppm'deki pik solketalde $-\text{CMe}_2$ karbon atomuna, 73 ppm'deki pik solketalde bulunan $-\text{CH}-$ karbon atomuna, 69.64 ve 66.39 ppm'deki pikler ise solketaldeki $-\text{CH}_2$ karbon atomuna, 26 ve 25 ppm'deki pikler ise $-\text{CH}_3$ karbon atomuna aittir (Spektrum 3.2 ve 3.3). Sentezlenen diğer diiminoizondolin bileşiklerinin (**22** ve **24**) ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları ek bölümündedir.



Spektrum 3.2. **30** Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)



Spektrum 3.3. 30 Bileşiğın ¹³C NMR Spektrumu (CDCl₃)

22, **24** ve **30** bileşiklerinin ESI-MS tekniği ile alınmış kütle spektrumunda, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler Tablo 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.3. Diiminoizoindolinler İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri

Bileşik	Molekül Formülü	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan
22	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₃	275.13	276.1 [M+H] ⁺
24	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₃	275.13	276.2 [M+Na] ⁺
30	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₆	405.2	406.2 [M+H] ⁺

3.4.2. Ftalosiyanınların Sentezi ve Karakterizasyonu

Pt(II) ftalosiyanın serilerini sentezlemek için öncelikle **23** bileşiği üzerinde en uygun koşulları belirleme çalışmaları yapılmıştır. İlk denemelerimiz literatürde Pt(II) ftalosiyanınların sentezinde uygulanan metotlarla başlamıştır. Literatürde

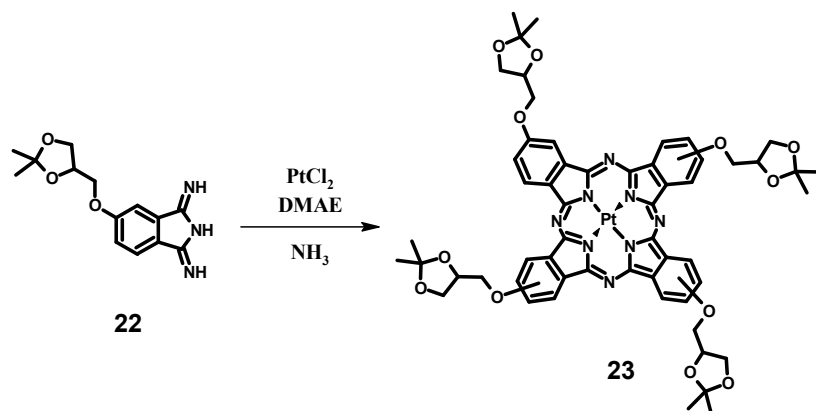
belirtilen yöntemle göre, **10** numaralı ftalonitril bileşiğinin PtCl_2 metal tuzu ile 1:2 oranında ve DMAE solventi kullanılmasıyla gerçekleştirdiğimiz reaksiyon verimi % 2 gibi çok düşük verimle elde edilmiştir. Bu reaksiyonda aynı zamanda UV-Vis ölçümlerinden ve kütle spektrumundan elde edilen bilgiler sonucunda metalsiz ftalosiyaninde elde edildiği ve sonuç olarak saflaştırma problemlerini beraberinde getirdiği gözlenmiştir [130].

10 numaralı bileşiğinin NaOMe, MeOH ve NH_3 gazı varlığındaki reaksiyon sonucu % 94 gibi yüksek verimle **22** diiminoizindolin bileşiği elde edilmiştir. **23** bileşiğini elde etmek üzere **22** numaralı bileşiğin PtCl_2 metal tuzu ile 1:0.5 oranında DMAE solventinde ve amonyak atmosferi altında gerçekleşen reaksiyon % 35 gibi yüksek verimle gerçekleşmiştir. Bu reaksiyonda hiçbir yan ürün oluşmaması saflaştırma işlemlerini kolaylaştırmıştır. Okta nonperiferal Pt(II) ftalosiyaninler hariç diğer Pt(II) ftalosiyaninleri elde etmek için PtCl_2 : diiminoizindolin 1:2 oranında kullanılmıştır. Çalışmamızda PtCl_2 metal tuzu $\text{Pt}(\text{acac})_2$ metal tuzuna göre daha reaktif olarak bulunmuştur. DMAE solventi Pt(II) Pc lerin eldesinde en iyi solvent seçimidir [130, 131].

Tablo 3.4. Bu Çalışmada Sentezlenen Ftalosiyaninlerin Verimleri (%)

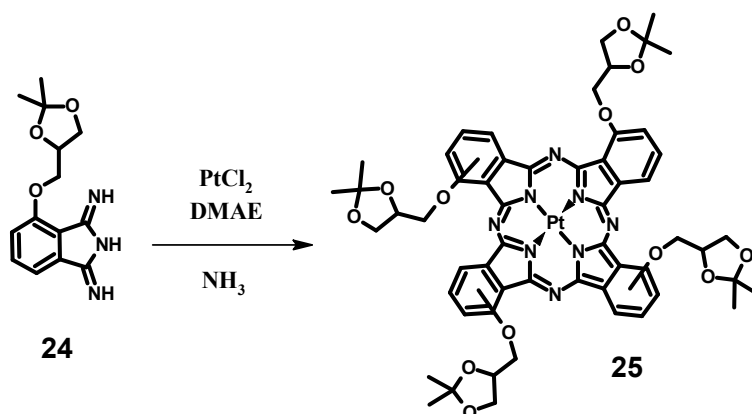
Bileşik		Pt(II)
Tetrasüstitüe Ftalosiyaninler	23	35
	25	10
Oktasüstitüe Ftalosiyaninler	31	35
	32	8

23, **25** ve **31** numaralı bileşiklerinin sentezi için genel olarak diiminoizindolin: PtCl_2 2:1 eşdeğer oranda, DMAE solventi ve amonyak atmosferi kullanılmıştır. **23** (%35), **25** (%10) ve **31** (%35) verimlerle elde edilmiştir. Aynı şartlarda sterik etkiden dolayı **19** numaralı ftalonitril bileşiğinden diiminoizindolin bileşiği elde edilememiştir. Bu yüzden **32** bileşiği direk olarak **19** bileşiğinden sentezi gerçekleştirildi. Bu sebeple **32** bileşiğinin verimi diğer Pt(II) ftalosiyaninlere (**23**, **25** ve **31**) oranla daha düşük olmuştur (Şekil 3.17-3.20). Genel olarak periferal olarak süstitüe ftalosiyanin bileşiklerinin, non-periferal olarak süstitüe ftalosiyanin bileşiklerine oranla verimleri daha yüksek bulunmuştur (Tablo 3.4).



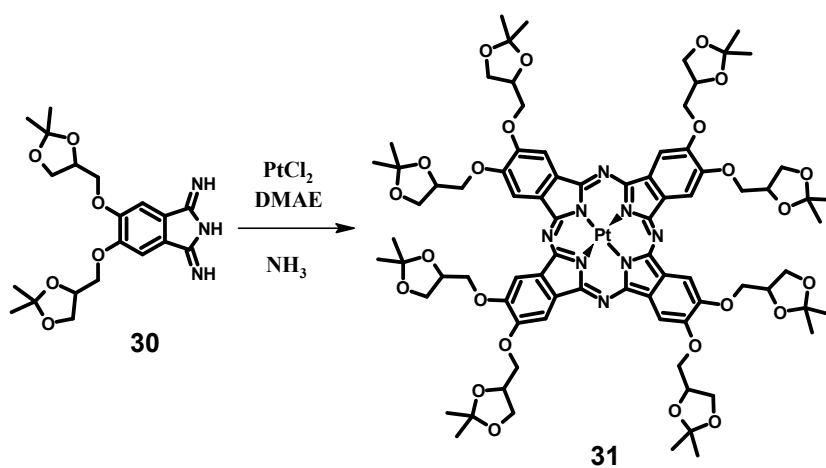
Şekil 3.17. Periferel Tetra Solketal Sübstütüe Pt(II) Ftalosiyenin (23)

Sentez Metodu



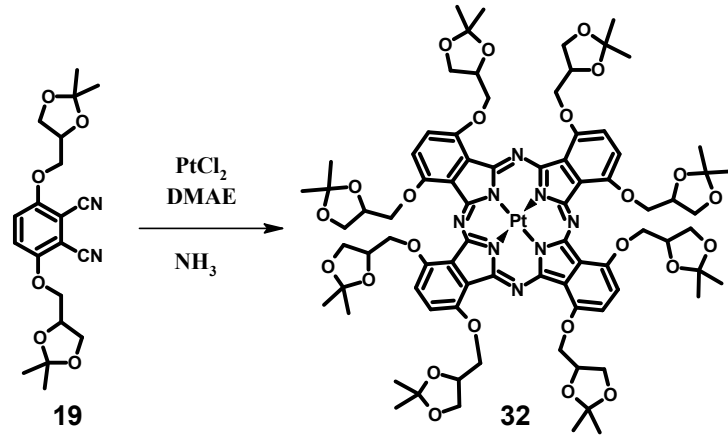
Şekil 3.18. Non-periferel Tetra Solketal Sübstütüe Pt(II) Ftalosiyenin (25)

Sentez Metodu



Şekil 3.19. Periferel Okta Solketal Sübstütüe Pt(II) Ftalosiyenin (31)

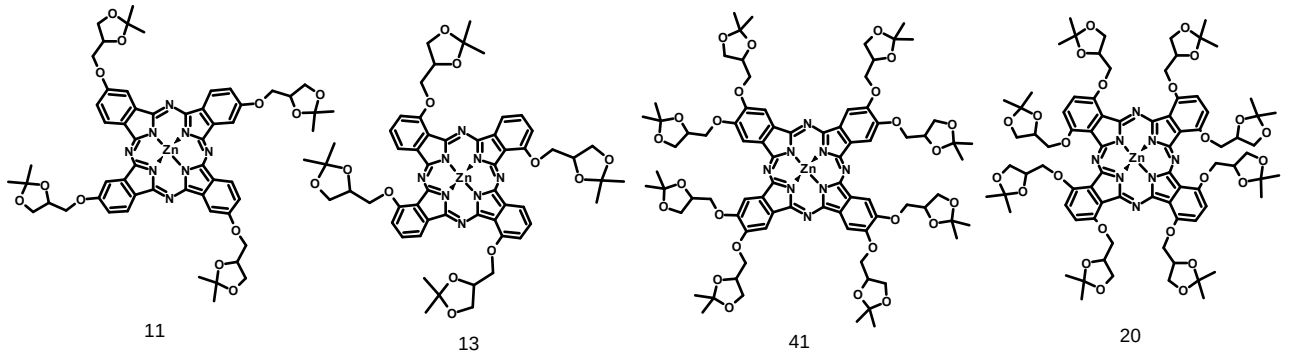
Sentez Metodu



Şekil 3.20. Non-periferal Okta Solketal Süstitüe Pt(II) Ftalosiyaninin (**32**)

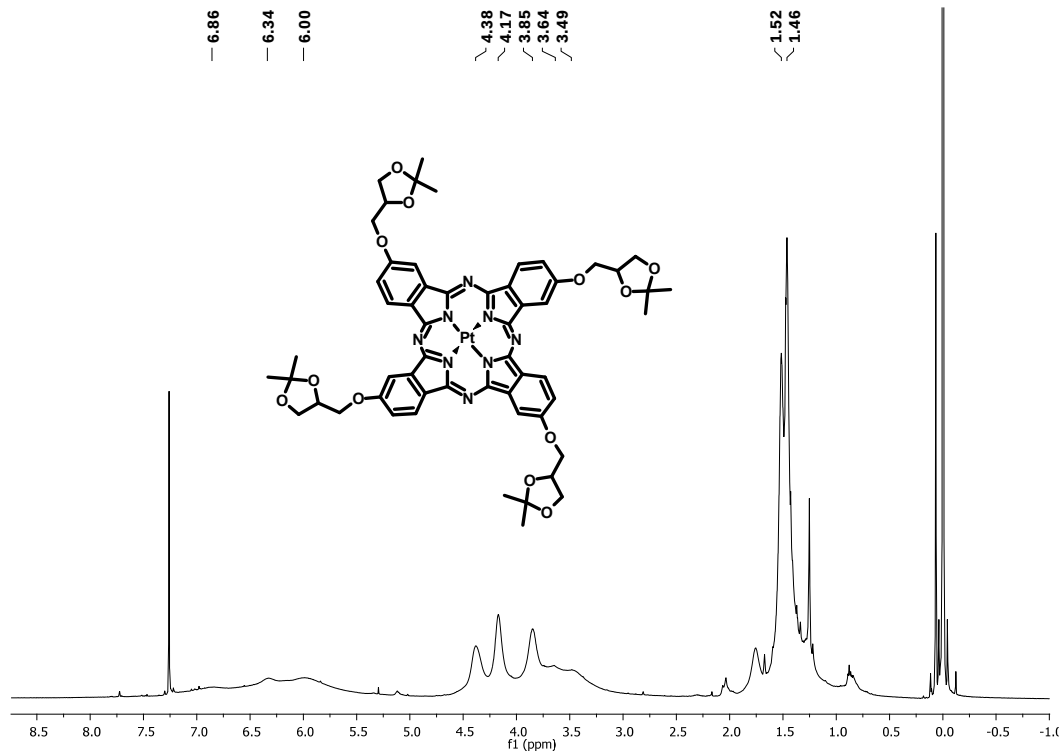
Sentez Metodu

Pt(II) ftalosiyaninlerin fotofiziksel ve fotokimyasal özelliklerini tartışabilmek ve elde edilen bu değerleri belli bir referans madde ile karşılaştırabilmek gerekliydi. Bu sebeple referans olarak Pt(II) serilerine benzer Zn(II) ftalosiyanin serilerinin (Şekil 3.21) sentezi yapıldı. Zn(II) ftalosiyanin kompleksleri fotodinamik terapide potansiyel fotosensitizer olarak en çok kullanılanların başında gelmektedir. Birinci bölümümüzdeki çalışmamızda **11**, **13** ve **20** numaralı Zn(II) ftalosiyaninlerin sentezi ve karakterizasyonu yapılmıştı. **41** numaralı Zn(II) ftalosiyaninin sentezi, **29** ftalonitril bileşiğinin $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ metal tuzu varlığında ve DMAE solventi içindeki reaksiyonu sonucu % 56 verimle sentezlendi. **41** numaralı bileşiğin karakterizasyonu 5. bölümde ayrıntılı olarak anlatılacaktır.



Şekil 3.21. Bu Çalışmada Pt(II) Ftalosiyaninler İle Ölçüm Sonuçları Karşılaştırılacak Olan Süstitüe Zn(II) Ftalosiyaninler

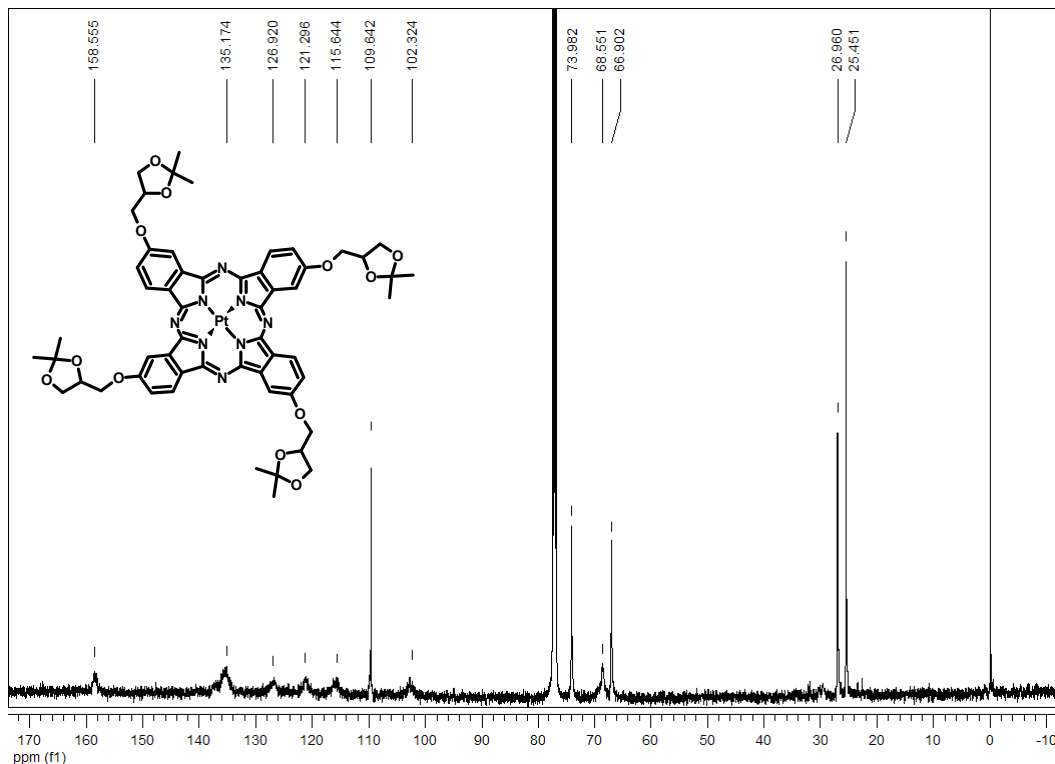
Bütün Pt(II) ftalosiyeninlerin (**23**, **25**, **31** ve **32**) ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları iç referans olarak TMS'nin kullanıldığı CDCl_3 solventinde alınmıştır. Aşağıdaki spektrumda **23** numaralı Pt(II) ftalosiyenin ^1H NMR spektrumunda 6.00 ppm ile 6.85 ppm arasında ftalosiyenin makrohalkasındaki aromatik protonlara ait olup, kompleksin solvent içinde agregasyona uğramasından dolayı piklerin yayvanlaştığı gözlenmektedir. 3.49 ile 4.38 ppm arasında solketalde bulunan $-\text{OCH}_2$ ve $-\text{OCH}$ alifatik protonlara aittir. 1.48 ile 1.52 ppm arasında ise asetal grubundaki $-\text{CH}_3$ protonlarına ait pikler yer almaktadır (Spektrum 3.4).



Spektrum 3.4. **23** Numaralı Pt(II) Ftalosiyenin Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu

23 numaralı Pt(II) ftalosiyenin ^{13}C NMR spektrumunda, kimyasal çevrelerin birbirinden farklı 12 adet karbon atomunun varlığı gözlenmiştir. Bu spektrumda 102.38 ppm ile 158.55 ppm arasında kalan bölgede 109.64 ppm hariç diğer kimyasal kaymalar ftalosiyenin makrohalkasındaki karbon atomlarına ait pikler olarak gözlemlenmiştir. NMR tüpündeki ftalosiyenin konsantrasyonu yüksek olmasına rağmen 158.55, 135.17, 126.92, 121.96, 115.64 ve 102.32 ppm'deki kimyasal kaymaların pik yoğunluğu oldukça düşüktür. 66.92 ve 73.98 ppm

arasında gözlene 3 pik süstitüente ait olan piklerdir. 25.51 ile 26.96 ppm'lerde gözlenen iki pik asetal grubundaki karbon atomuna ait olan sinyallerdir (Spektrum 3.5).



Spektrum 3.5. 23 Numaralı Ftalosiyenin Bileşiğinin ¹³C NMR Spektrumu

23, 25, 31 ve 32 bileşiklerinin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumunda, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler Tablo 3.5'de verilmiştir.

Tablo 3.5. Pt(II) Ftalosiyenin Bileşikleri [(23), (25), (31) ve (32)] İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri

Bileşik	Molekül Formülü	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan
23	C ₅₆ H ₅₆ N ₈ O ₁₂ Pt	1227.36	1228.33 [M+H] ⁺
25	C ₅₆ H ₅₆ N ₈ O ₁₂ Pt	1227.36	1228.46 [M+Na] ⁺
31	C ₈₀ H ₉₆ N ₈ O ₂₄ Pt	1747.61	1749.16 [M+2H] ⁺
32	C ₈₀ H ₉₆ N ₈ O ₂₄ Pt	1747.61	1748.93 [M+H] ⁺

Sentezlenen (**23**, **25**, **31** ve **32**) Pt(II) ftalosiyenin bileşiklerinin saflığı normal faz HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) tekniği kullanılarak belirlendi (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Pt(II) Ftalosiyenin Bileşiklerinin [(**23**), (**25**), (**31**) ve (**32**)] HPLC Verileri

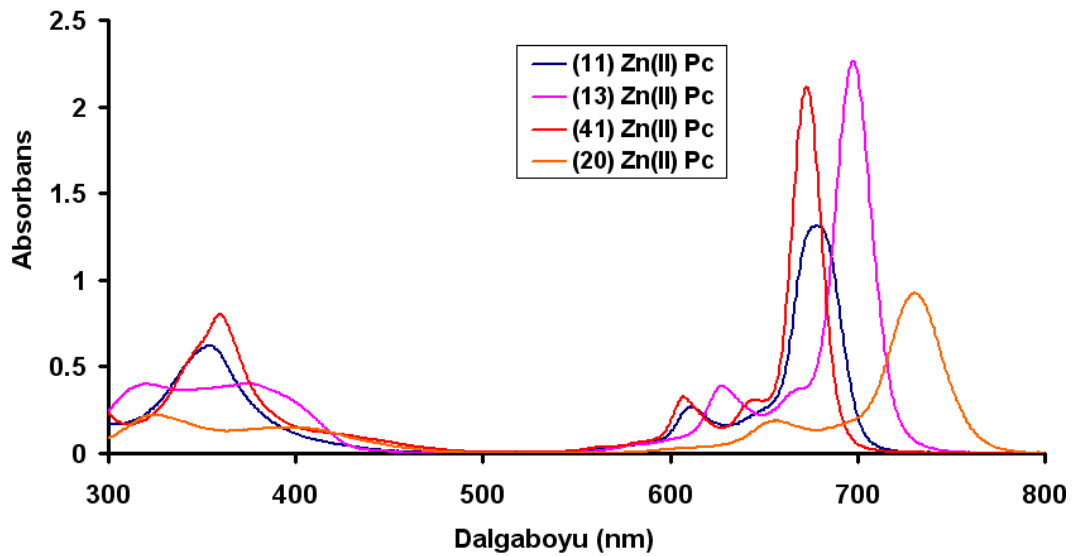
Bileşik	Alıkonma Zamanı (dak.)	Solvent DCM:IPA	Akış Hızı (ml/dak)	Dedektör (UV-Vis)
23	16.78	95:5	1	190-950 nm
25	17.44	90:10	1	190-950 nm
31	14.59	90:10	1	190-950 nm
32	31.35	95:5	1	190-950 nm

3.4.3. Zn(II) ve Pt(II) Serilerinin Fotofiziksel ve Fotokimyasal Parametreleri

3.4.3.1. Temel Hal Elektronik Absorbsiyon Spektrumları

Zn(II) ve Pt(II) ftalosiyenlerin elektronik absorpsiyonlarının karşılaştırmalı çalışması solvent olarak DMF kullanılarak yapılmıştır. Süstitüe olmamış Pt(II) ftalosiyenin bileşiği hariç bütün ftalosiyenler DMF içinde iyi çözünmektedir. Süstitüe olmamış Pt(II) ftalosiyenin bileşiğinin elektronik absorpsiyon spektrumu sülfirik asit gibi kuvvetli organik asitler içinde ölçülmüştür [132]. Asidik ortamda solketalin hidrolizle sonuçlanması bilinmektedir. Bu çalışmaları solketalin hidrolize etmeyecek bir ortamda çalışılması gerekmektedir. Bu sebeple bu çalışmada ölçümü yapılmak istenen bütün ftalosiyenleri iyi çözebilen ve bazik olması sebebiyle de solketal grupları için uygun bulunan DMF solventi seçilmiştir.

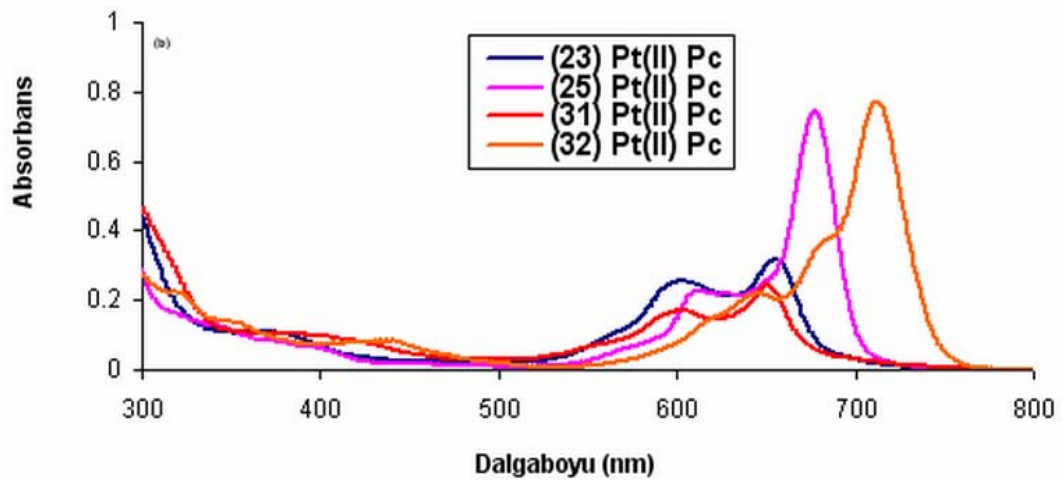
Bütün Zn(II) serilerinin DMF içerisinde 1.10^{-5} M konsantrasyonda alınmış elektronik absorpsiyon spektrumu incelendiğinde Q bantları tek ve keskin bir şekilde gözlenmiş, ftalosiyenin molekülleri agregasyona uğramadığı monomerik davranış gösterdiği bulunmuştur (Spektrum 3.6).



Spektrum 3.6. Süstitüe Zn(II) Ftalosiyanin Bileşiklerinin (**11**, **13**, **41** ve **20**) DMF İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis. Spektrumları

Pt(II) metalinin ftalosiyaninlerde kuvvetli bir şekilde agregasyonu arttırdığı bilinmektedir. Sterik etkiden dolayı non-periferal konumlardaki süstitüentler iki makrosiklik halkanın birbirine yaklaşmasını engellemektedir. Periferal konumlarda ise iki makrosiklik halka birbirine daha fazla yaklaşmakta ve sonuç olarak agregasyon artmaktadır. Bu sebep ile non-periferal olarak süstitüe ftalosiyaninler periferal olarak süstitüe ftalosiyaninlere göre daha az agregasyona uğramaktadır. **23** ve **31** bileşiklerinde, iki veya daha fazla ftalosiyanin halkasının üst üste istiflenerek agregasyona uğradığı gözlenmiştir. Non-periferal olarak süstitüe **25** ve **32** bileşiklerinde ise süstitüent pozisyon etkisinden dolayı agregasyona uğramadığı gözlemlenmiştir. **23** bileşiği için 654 nm’de düşük enerji bandı (kırmızıya kayma) ve 602 nm’de yüksek enerji bandı (maviye kayma) gözlenmiştir. **31** bileşiği için 650 nm de düşük enerji bandı (kırmızıya kayma) ve 601 nm’de yüksek enerji bandı (maviye kayma) gözlenmiştir (Spektrum 3.7).

Pt(II) ftalosiyanin bileşiklerinin maksimum absorbsiyon bandının (Q) Zn(II) serileri ile karşılaştırıldığında 20 nm daha maviye kaydığı gözlemlenmiştir. Bu platin atomunun daha büyük ve ağır yapısından kaynaklanmaktadır (Tablo 3.7).



Spektrum 3.7. Süstitüe Pt(II) Ftalosiyenin Bileşiklerinin (23, 25, 31 ve 32) DMF İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis. Spektrumları

Tablo 3.7. Zn(II) ve Pt(II) Serileri İçin UV-Vis. Ölçümlerinde Gözlenen Maksimum Dalga Boyları ve Ekstinksiyon Katsayıları ($\lambda_{\max, \text{nm}}$), ($\log \epsilon$)

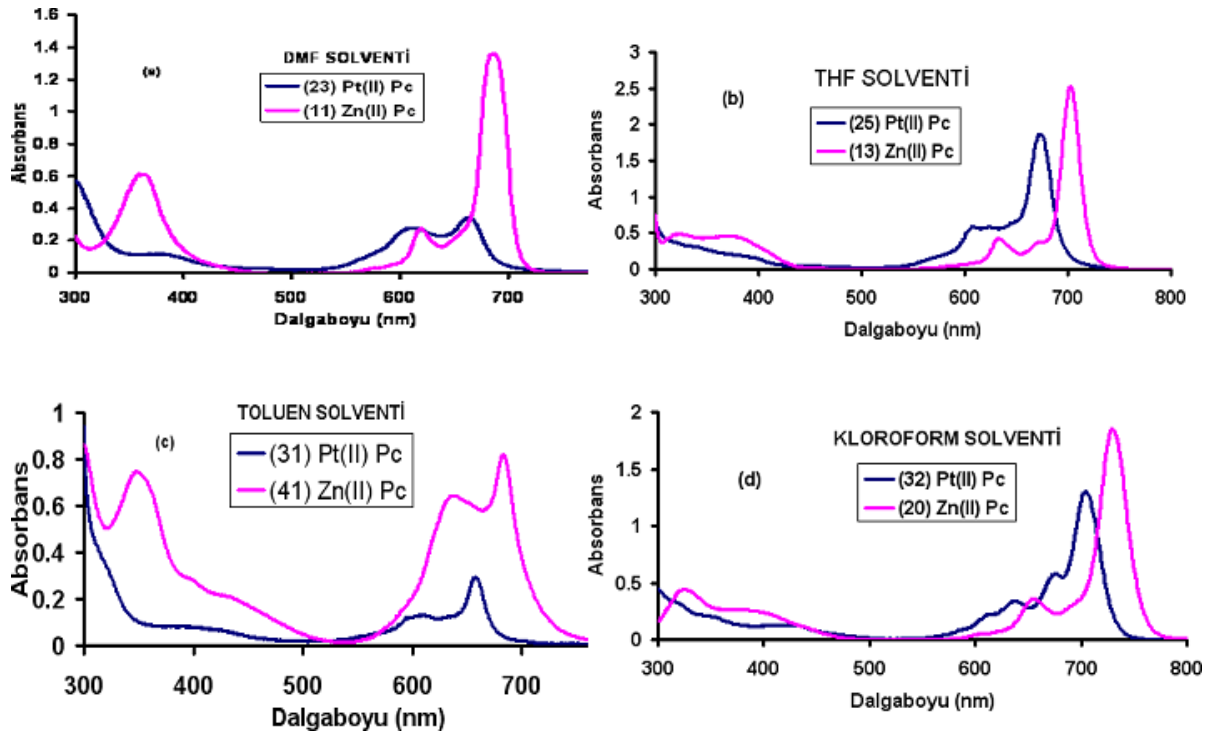
Bileşik	($\lambda_{\max, \text{nm}}$)
*ZnPc	670 (5.37)
(11)	677 (5.09)
(13)	696 (5.30)
(41)	672 (5.28)
(20)	729 (4.99)
(23)	654 (4.34), 602 (4.40)
(25)	676 (4.80)
(31)	650 (4.30), 601 (4.24)
(32)	711 (4.89)

*ZnPc: Süstitüe Olmamış Zn(II) Ftalosiyenin

3.4.3.2. Zn(II) ve Pt(II) Bileşiklerinin Agregasyon Davranışlarının Karşılaştırılması

Agregasyon varlığı spektrokimyasal olarak absorbsiyon pikinin daha düşük dalga boyuna kayması (hipokromizm) ve absorbsiyon şiddetinin azalması ile gözlenir [79]. Agregasyon durumları sıcaklığa, çözücüye, merkez metal atomuna, süstitüent sayısına ve süstitüentin pozisyonuna bağlıdır [135]. Pt(II)

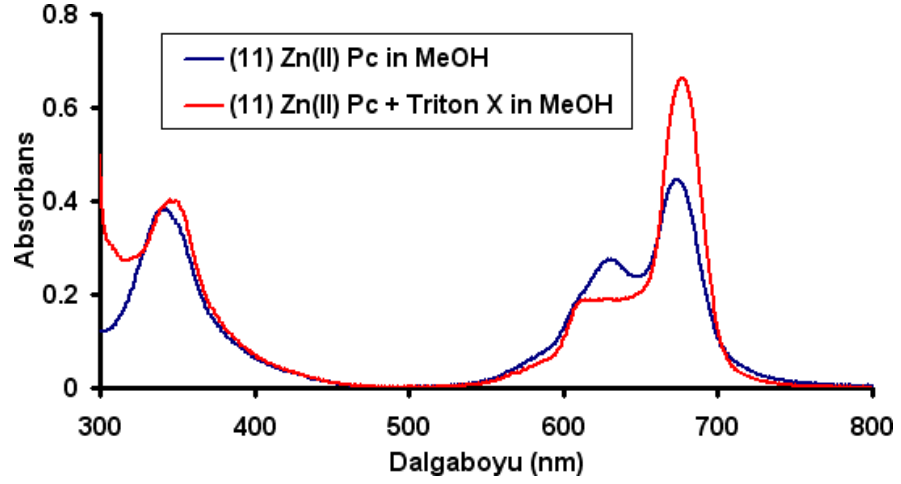
komplekslerinin spektrumlarının Zn(II) komplekslerinkine göre karşılaştırıldığında, agregasyonun kullanılan metalin cinsine bağlı olduğu açık bir şekilde belirtilmektedir [130, 136]. **13**, **20**, **25** ve **32** numaralı bileşiklerde nonperiferik konumlardaki süstitüsyonun agregasyonu düşürdüğü gözlenmiştir. Kloroform, DMF, THF içinde non-periferik olarak süstitüe (**13**) ve (**20**) numaralı Zn(II) ftalosiyanın kompleksleri monomerik formda gözlendi. Kloroform ve THF içinde non-periferik olarak süstitüe (**25**) ve (**32**) numaralı Pt(II) kompleksleri tek Q bandına sahip olup monomerik formda gözlendi. DMF ve toluende periferik olarak süstitüe **23** ve **31** bileşikleri agregasyona uğradığı gözlenmiştir. (Spektrum 3.8).



Spektrum 3.8. Çeşitli Solventlerde Agregasyon Davranışlarının Karşılaştırılması (a) DMF’te (**11**) ve (**23**) (b) THF’de (**25**) ve (**13**) (c) Toluene’de (**41**) ve (**31**) (d) Kloroform’da (**20**) ve (**32**)

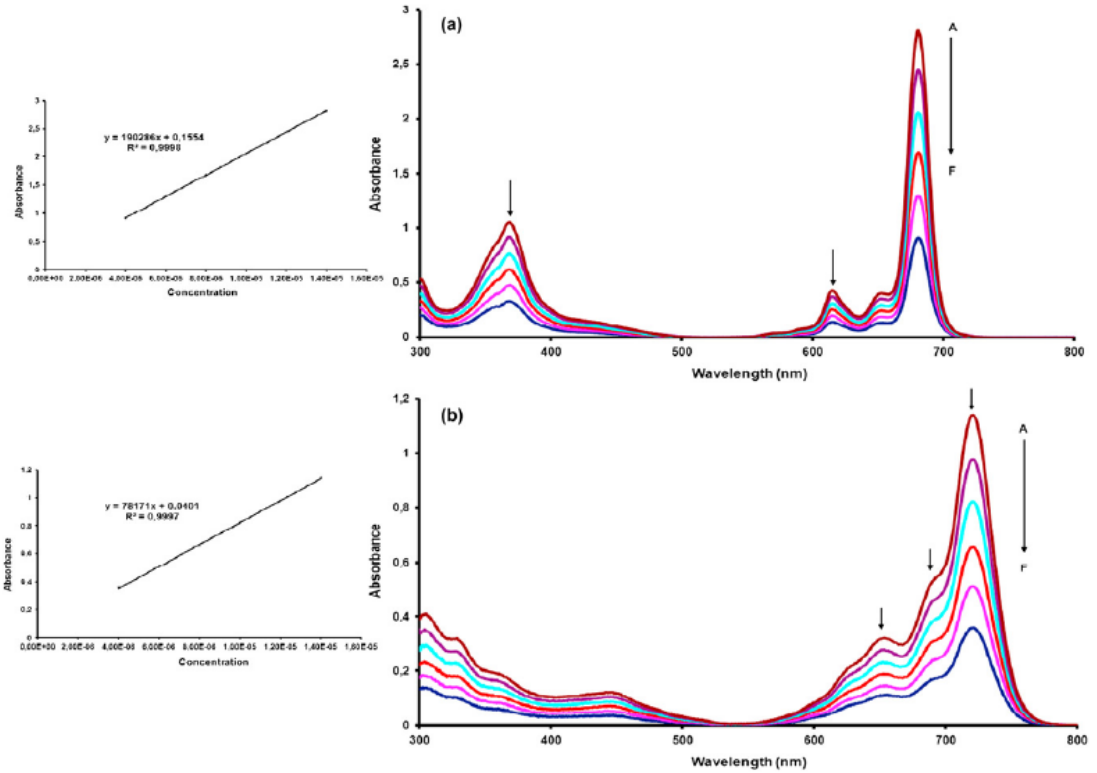
Triton X-100 gibi sürfaktanların (yüzey gerilimini azaltan maddelerin) ilavesi agregasyonu düşürebilmektedir. Agregasyona uğramış moleküller sürfaktanın etkisiyle dimerik formdan monomerik forma dönüşebilmektedir.

Metanol içinde **11** numaralı ftalosiyanin bileşiğine triton X-100 ilavesi ile agregasyonda belirgin bir azalma meydana geldiği gözlemlendi. (Spektrum 3.9)



Spektrum 3.9. **11** Bileşiği Üzerine Triton X İlave Edilmeden Önceki ve Sonraki Durumu

41 ve **32** ftalosiyanin bileşiklerinde absorbans ile konsantrasyon arasında grafik çizildiğinde konsantrasyon artışı ile absorpsiyon artışının doğrusal olduğu ve Lambert-Beer yasasına uygun olduğu gözlenmiştir (Spektrum 3.10).

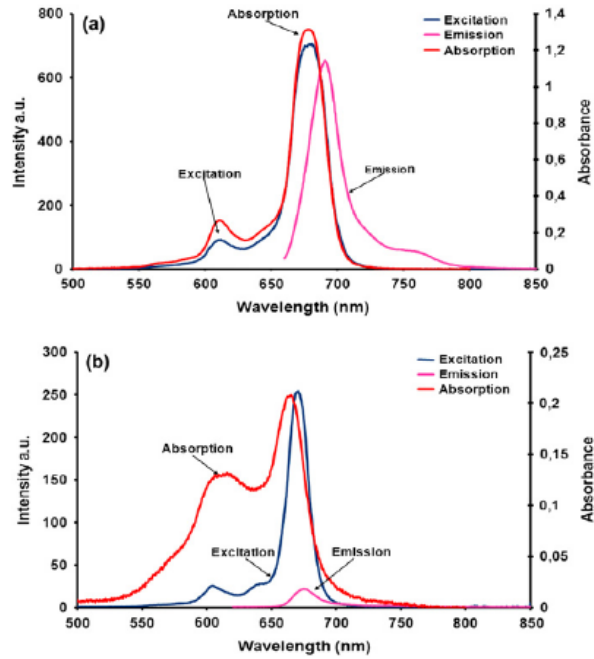


Spektrum 3.10. **41** (a) ve **32**'nin (b) Ftalosiyeninlerde DMF İçerisindeki Farklı Konsantrasyonda Agregasyon Davranışları: 14×10^{-6} (A), 12×10^{-6} (B), 10×10^{-6} (C), 8×10^{-6} (D), 6×10^{-6} (E), 4×10^{-6} (F) mol.dm⁻³

3.4.3.3. Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon Deneyleri

20 ve **32** numaralı non-periferal oktasüstitüe ftalosiyeninlerin diğer ftalosiyeninlerden daha az floresans emisyon gösterdiği bulunmuştur. **32** bileşiğinde emisyon gözlemlenmemiştir. Spektrum 3.11'de **11** ve **23** ftalosiyenin bileşikleri için floresans emisyon, absorpsiyon ve eksitasyon spektrumları yer almaktadır. Tablo 3.8'de floresans emisyon pik dataları yer almaktadır. Bütün Zn(II) serilerinde eksitasyon spektrumlarının şekli absorpsiyon spektrumlarının şekline benzemektedir. Bunun nedeni uyarılan ftalosiyenin bileşiğinin ve temel halin nükleer konfigürasyonlarının eksitasyon tarafından etkilenmediğini göstermektedir. Pt(II) ftalosiyeninlerin durumunda eksitasyon spektrumlarının şekli absorpsiyon spektrumlarındakinden farklıdır (Spektrum 3.11) Bu durum eksitasyon sırasında uyarılan ftalosiyenin molekülünde simetri kaybı olmasından kaynaklanabilir. Zn(II) serileri ile Pt(II) serileri arasındaki eksitasyon davranışları

arasındaki fark platinyum atomunun ftalosiyanın halka düzleminin dışında olmasındadır. Buda ftalosiyanın simetri kaybına yol açmaktadır [137].



Spektrum 3.11. (a) (11) ve (b) (23) Ftalosiyanınların DMF İçinde Absorbsiyon, Eksitasyon ve Emisyon Spektrumları. Eksitasyon Dalgaboyu: 650 nm

Tablo 3.8. Zn(II) ve Pt(II) Serilerinin DMF İçinde Absorpsiyon, Eksitasyon ve Emisyon Spektrum Verileri

Bileşik	Q band $\lambda_{\max}$, (nm)	Eksitasyon λ_{Ex} , (nm)	Emisyon λ_{Em} , (nm)	Stokes Kayması Δ_{Stokes} , (nm)
*ZnPc	670	670	676	6
11	677	680	690	13
13	696	700	710	14
41	672	673	682	10
20	729	736	746	17
23	654, 602	671	676	22
25	676	676	700	24
31	650, 601	673	678	28
32	711	-	-	-

*ZnPc: Süstitüe Olmamış Zn(II) Ftalosiyanın

3.4.3.4. Floresans Kuantum Verimleri ve Ömürleri

Floresans kuantum verimleri (Φ_F) Tablo 3.9’de verilmiştir. **20** bileşiğinin Φ_F değeri diğer Zn(II) komplekslerine (**11**, **13**, **41**) oranla düşük bulunmuştur. **20** numaralı ftalosiyanin bileşiği (**11**), (**13**) ve (**41**) bileşiklerine göre daha az agregasyona uğramaktadır ve böylece sistemlerarası geçiş yoluyla enerji transferi artmakta böylece Φ_F değerini sınırlamaktadır. Pt(II) komplekslerinin (**23**, **25**, **31**, **32**) Φ_F değeri Zn(II) komplekslerine (**11**, **13**, **41** ve **20**) oranla çok daha düşük bulunmuştur. Bu durum Pt(II) gibi ağır atomun varlığından dolayı sistemlerarası geçişin artmasından kaynaklanmaktadır.

Floresans ömrü (τ_F), bir molekülün temel hale dönmeye önce uyarılmış haldeki kalma süresini tanımlamaktadır. Bu değer Φ_F değeri ile ilgilidir. Bir molekülün floresans ömrü ne kadar uzun ise, floresans kuantum verimi o kadar yüksek değerde olur. Floresans ömrünü kısaltan herhangi bir faktör, floresans kuantum verimini de düşürmektedir. Bu faktörler floroforun doğası ve çevresi ile etkilenen iç dönüşüm ve sistemler arası geçişleridir. τ_F değeri 3.2 ‘deki Strickler-Berg denklemi kullanılarak hesaplanmaktadır. Zn(II) komplekslerinin (**11**, **13**, **41**, **20**) τ_F değeri Pt(II) komplekslerinin (**23**, **25**, **31**, **32**) τ_F değerinden daha yüksek bulunmuştur.

Table 3.9. Zn(II) ve Pt(II) Ftalosiyaninlerin DMF Solventi İçinde Elde Edilen Fotofiziksel ve Fotokimyasal Parametreleri

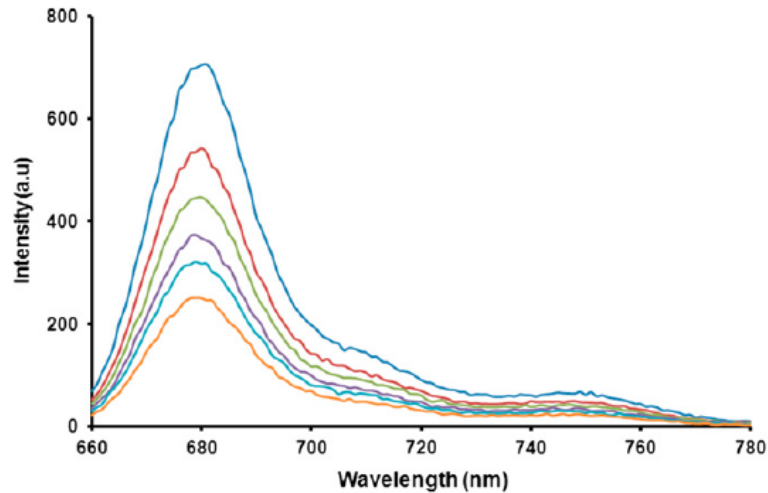
Bileşik	Φ_F	τ_F (ns)	τ_0 (ns)	$^a k_F (s^{-1})$ ($\times 10^7$)	$\Phi_d (\times 10^{-4})$	Φ_A
*ZnPc	0.17	1.03	6.05	16.53	0.23	0.56
11	0.20	2.10	10.31	9.69	1.38	0.50
13	0.13	1.09	8.68	11.50	1.58	0.57
41	0.17	1.69	9.50	10.53	0.87	0.54
20	0.085	1.33	15.66	6.38	1.19	0.48
23	0.0051	0.18	36.09	2.77	1.32	0.35
25	0.0086	0.17	19.79	5.07	0.62	0.63
31	0.013	0.55	42.22	2.37	8.58	0.65
32	-	-	-	-	0.87	0.35

***ZnPc:** Süstitüe Olmamış Zn(II) Ftalosiyanin

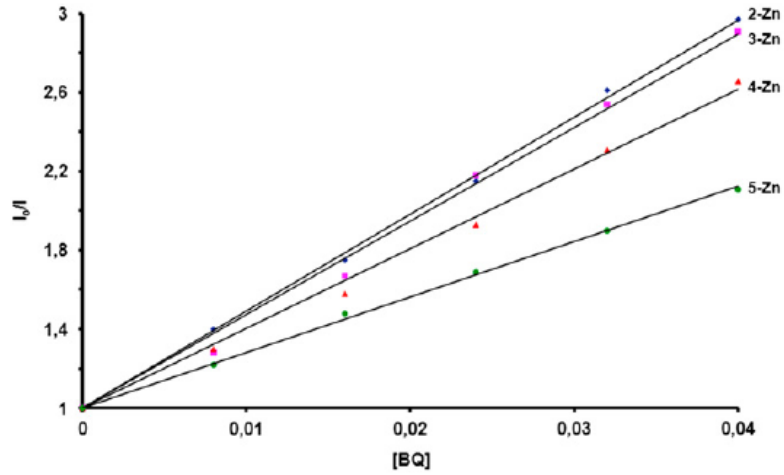
3.4.3.5. Benzokinon ile Floresans Söndürme Çalışmaları

Zn(II) serilerinin (**11**, **13**, **41**, **20**) benzokinon (BQ) ile floresans söndürme çalışmaları incelendi. Pt(II) serileri (**23**, **25**, **31**, **32**) çok düşük floresans emisyon verdiğinden bu komplekslerde benzokinon ile floresans söndürme çalışmaları yapılamadı. Bir söndürücü varlığında (BQ), enerji transferi florofor (uyarılmış Zn(II) ftalosiyanın) ile söndürücü arasında olmaktadır. BQ ile Zn(II) ftalosiyanın floresans söndürmesi Stern-Volmer kinetiğine uymaktadır. Bu difüzyon kontrollü biomoleküler reaksiyonlarla uyumludur. Spektrum 3.12 söndürücü (BQ) varlığında **41** kompleksinin floresans söndürme çalışmasını göstermektedir. Spektrum 3.13’de gösterilen işaretlerin eğimleri Stern-Volmer sabiti (K_{SV}) değerlerini vermektedir. Zn(II) komplekslerinin BQ söndürücüsü için biomeleküler söndürme sabiti (k_q) ve K_{SV} değerleri Tablo 3.10’da verilmiştir. Sübstitüe Zn(II) komplekslerinin Stern-Volvmer sabiti (K_{sv}) değerleri sübstitüe olmamış **Zn(II)** kompleksinin K_{sv} değerinden daha düşük bulunmuştur. K_{sv} değerleri (**13**) > (**11**) > (**41**) > (**20**) şeklinde azalma göstermektedir.

Sübstitüe Zn(II) komplekslerinin (**11**, **13**, **41**, **20**) biomoleküler söndürme sabiti (k_q) değerleri sübstitüe olmamış **Zn(II)** kompleksinin (k_q) değerinden daha düşük bulunmuştur. (k_q) değerleri DMF solventinde (**13**) > (**11**) > (**41**) > (**20**) şeklinde azalma göstermektedir. Biomoleküler söndürme hız sabitleri (k_q) difüzyon kontrollü limitlere yakın olarak $\sim 10^{10} \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ bulunmuştur. Sübstitüe Zn(II) kompleksler için k_q değerleri DMF solventinde **13** > **41** > **11** > **20** şeklinde azalma göstermektedir.



Spektrum 3.12. DMF İçinde BQ'nun Farklı Konsantrasyonlarda Eklenmesi Üzerine **41** ($1.00 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) Kompleksindeki Floresans Emisyon Değişimleri $[BQ] = 0, 0.008, 0.016, 0.024, 0.032, 0.040 \text{ mol dm}^{-3}$



Spektrum 3.13. DMF İçinde **11, 13, 41** ve **20** Komplekslerinin Benzokininon Söndürücüsü İçin Stern-Volmer İşaretleri. $[MPc] \sim 1.00 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $[BQ] = 0, 0.008, 0.016, 0.024, 0.032, 0.040 \text{ mol dm}^{-3}$

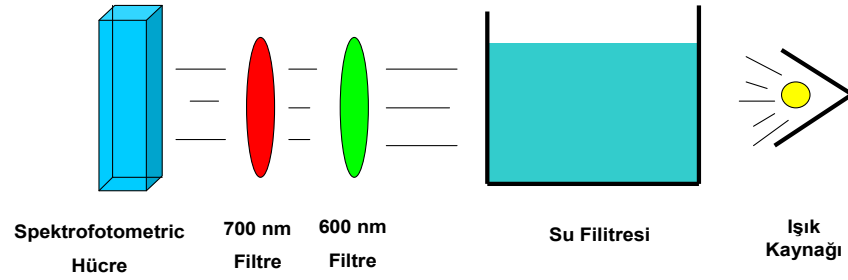
Tablo 3.10. DMF İçinde Zn(II) Ftalosiyaninler İçin Floresans Söndürme Verileri

Bileşik	$K_{SV} (M^{-1})$	$k_q/10^{10} (dm^3 mol^{-1} s^{-1})$
1-Zn	57.60	5.59
2-Zn	48.68	2.31
3-Zn	52.46	4.79
4-Zn	42.83	2.53
5-Zn	26.65	2.00

3.4.3.6. Singlet Oksijen Kuantum Verimleri (Φ_Δ)

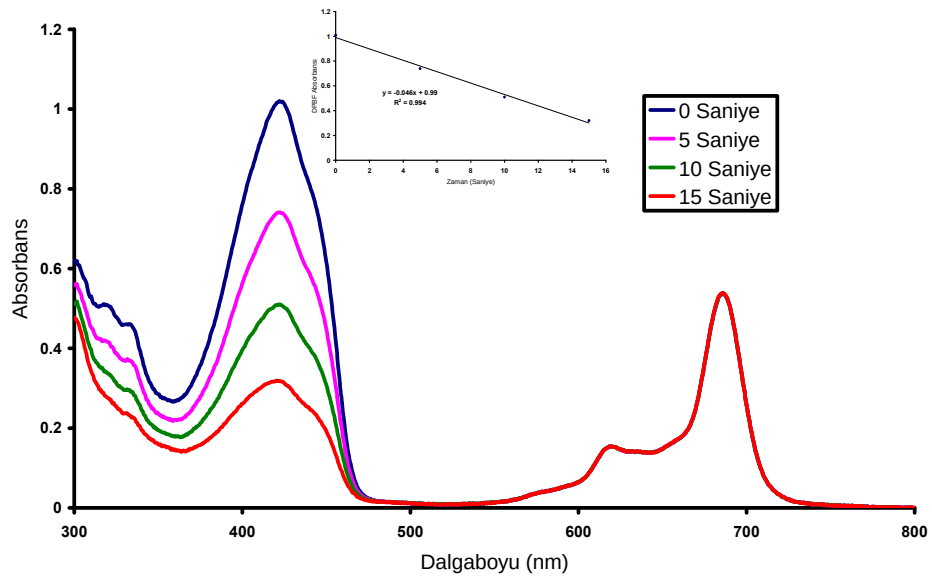
Singlet oksijen kuantum ve fotobozunma kuantum verimlerini belirlemek amacı ile Şekil 3.22'de gösterilen düzenek kullanılmıştır. Işık kaynağı olarak 300 Watt'lık General Electric Quartz lamba, Ultraviyole ve infrared radyasyonları filtre etmek için 600nm'lik bir filtre ve su filtresi ayrıca ölçülecek olan

ftalosiyanin bileşiği için istenilen dalga boyunda ışık elde etmek amacıyla 700 nm'lik ışığı geçirebilen bir filtre kullanılmıştır.



Şekil 3.22. Fotokimyasal Ölçüm Düzenegi

Singlet oksijen kuantum verimi ölçümleri için; sentezlenen Pt(II) ve Zn(II) serilerine ait ftalosiyanin bileşikleri DMF içerisinde çözüldükten sonra içerisine singlet oksijen söndürücü (quencher) olarak 1,3-difenilisobenzofuran (DPBF) ilave edildi. DPBF bileşiğinin konsantrasyonu 3×10^{-5} M olarak ayarlandı. Daha sonra bu karışım çeşitli zaman aralıklarında $7,05 \times 10^{15}$ photons $s^{-1} cm^{-2}$ şiddetindeki ışığa maruz bırakılarak UV-Vis spektrumları alındı. DPBF bileşiğine ait 417 nm'deki absorpsiyonunun değişimi incelendi (Spektrum 3.14). DPBF bileşiği ışığa çok hassas olduğu için DPBF çözeltileri karanlık ortamda hazırlandı.



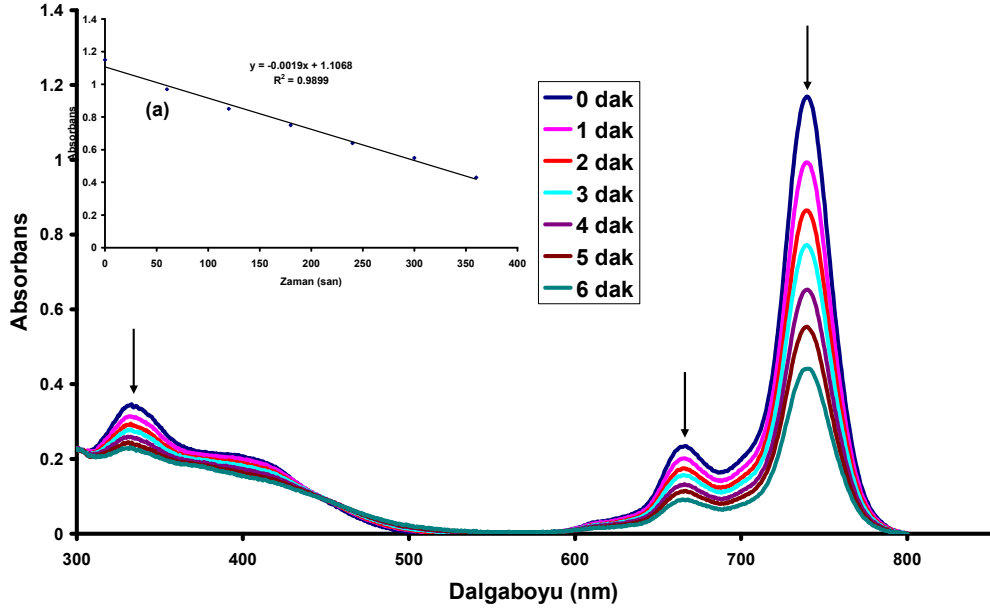
Spektrum 3.14. 25 Bileşiğinin Singlet Oksijen Kuantum Verimi Ölçümleri Sırasındaki UV-Vis Spektrumu Değişimi. Konsantrasyon: 1×10^{-5}

Süstitüe olmamış **Zn(II)** bileşiği referans olarak kullanıldı. Bütün ölçümler DMF içinde yapılmıştır. Bütün süstitüe Zn(II) komplekslerinin (**11**, **13**, **41**, **20**) singlet oksijen kuantum verimleri (Φ_{Δ}) süstitüe olmamış **Zn(II)** bileşiğin Φ_{Δ} değeri ile yaklaşık olarak aynı değere sahip olduğu bulunmuştur. **25** ve **31** komplekslerin DMF solventindeki Φ_{Δ} değeri, süstitüe olmamış **Zn(II)** bileşiği ve **23** kompleksin Φ_{Δ} değerinden daha yüksek bulunurken, **32** kompleksi süstitüe olmamış **Zn(II)** bileşiğin kompleksinden daha düşük Φ_{Δ} değere sahip olduğu bulunmuştur. Non-periferal süstitüe (**13**) ve (**25**), periferal olarak süstitüe (**11**) ve (**23**) kompleksinden daha yüksek Φ_{Δ} değerine sahipken, non-periferal süstitüe (**20**) ve (**32**), periferal olarak süstitüe (**41**) ve (**31**) komplekslerinden daha düşük Φ_{Δ} değerine sahip olduğu bulunmuştur.

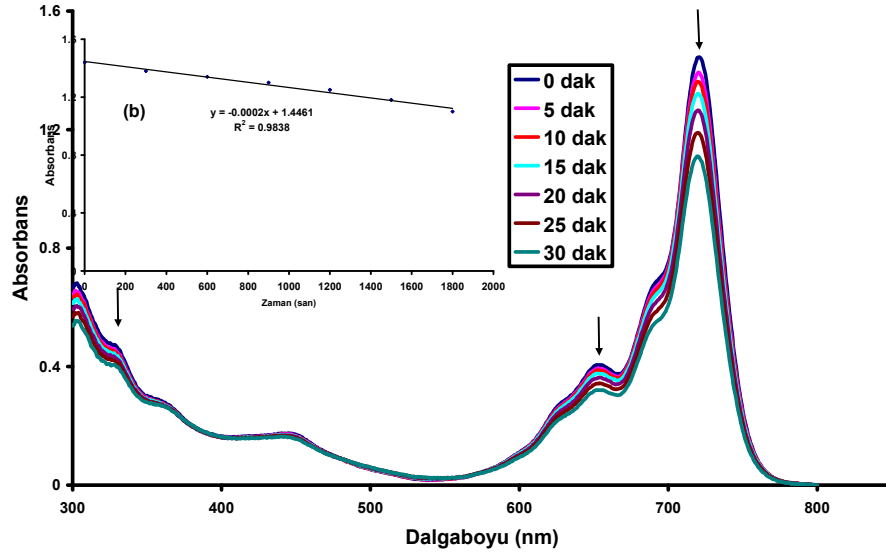
Bu çalışmanın sonucunda Pt(II) ftalosiyanınların singlet oksijen oluşturabilme kabiliyetine sahip bileşikler olduğu ortaya çıkmaktadır.

3.4.3.7. Fotobozunma Kuantum Verimleri (Φ_d)

Fotobozunma (Photodegradation) ölçümleri için Şekil 3.22'deki düzenek kullanıldı. Sentezlenen Zn(II) ve Pt(II) kompleksleri DMF içerisinde çözündükten sonra çeşitli zaman aralıklarında 100 voltluk ışığa maruz bırakılıp UV-Vis. spektrumları alındı ve Q bandlarındaki değişim incelendi (Spektrum 3.15 ve spektrum 3.16). Bu çalışma ile ftalosiyanın bileşiklerinin ışığa karşı duyarlılıkları ölçülmüş oldu.



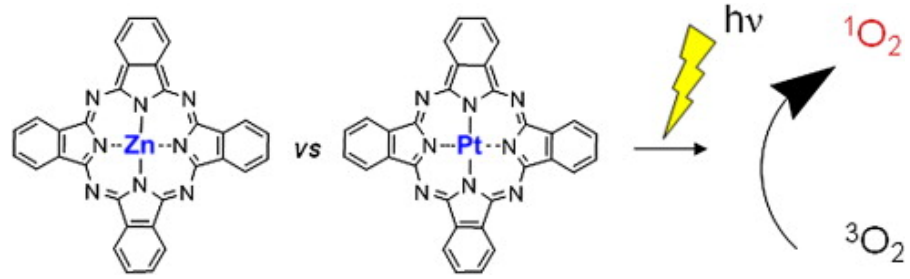
Spektrum 3.15. 20 Bileşığının Fotobozunma Kuantum Verimi Ölçümleri Sırasındaki UV-Vis Spektrumu Değişimi



Spektrum 3.16. 32 Bileşığının Fotobozunma Kuantum Verimi Ölçümleri Sırasındaki UV-Vis Spektrumu Değişimi

3.5. Sonuçlar

Bu çalışma sonunda literatürde yer almayan yeni tip Pt(II) ftalosiyanın bileşikleri sentezlendi ve yapıları karakterize edildi. Sentezlenen Pt(II) ftalosiyanınların arasından, non-periferal konumlarda süstitüe Pt(II) ftalosiyanınların (**25** ve **32**) sentezi ilk kez gerçekleştirildi. Pt(II) ftalosiyanınların etkin singlet oksijen oluşturma yeteneğine sahip bileşikler olduğu ve Tip II fotosensitizer olarak kullanılabilirliği kanıtlandı. Bu çalışma ile ilgili 1 adet yayın yapıldı.



Comparative studies of photophysical and photochemical properties of solketal substituted platinum (II) and zinc (II) phthalocyanine sets, Yunus Zorlu, Fabienne Dumoulin, Mahmut Durmuş, Vefa Ahsen, *Tetrahedron* (2010) 66, 3248-3258



Comparative studies of photophysical and photochemical properties of solketal substituted platinum(II) and zinc(II) phthalocyanine sets

Yunus Zorlu^a, Fabienne Dumoulin^{a,*}, Mahmut Durmuş^a, Vefa Ahsen^{a,b,*}

^a Gebze Institute of Technology, Department of Chemistry, PO Box 141, Gebze 41400, Kocaeli, Turkey

^b TUBITAK—Marmara Research Centre, Materials Institute, PO Box 21, Gebze 41470, Kocaeli, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 August 2009

Received in revised form

26 January 2010

Accepted 22 February 2010

Available online 1 March 2010

Keywords:

Phthalocyanine

Platinum

Zinc

Photosensitizer

Quantum yields

Singlet oxygen generation

Photodegradation

ABSTRACT

A complete set of platinum(II) solketal substituted phthalocyanines has been synthesized and characterized. To evaluate their potential as Type II photosensitizers for photodynamic therapy, comparative studies of their photophysical and photochemical properties with analogous zinc(II) series have been achieved: electronic absorption, fluorescence quantum yields, lifetimes, and fluorescence quenching by benzoquinone, as well as singlet oxygen generation and photodegradation. It appears that platinum(II) phthalocyanines are worth being used as Type II photosensitizers, as they exhibit good singlet oxygen generation and appropriate photodegradation.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Phthalocyanines are among the best photosensitizers currently used in photodynamic therapy.^{1–10} Their photosensitizing properties are related to the nature of the coordinating central metal or pseudo-metal,⁴ giving a diamagnetic complex. Zn(II), Al(III), Ga(III), Si(IV) phthalocyanines are among the most commonly used.

Different molecular mechanisms exist in photodynamic therapy, depending on the type of photosensitizer. Phthalocyanines are Type II photosensitizers: upon irradiation, they induce the conversion of oxygen from its basic state to its excited state, i.e., singlet oxygen. Phthalocyanines are said to be second-generation photosensitizers, offering multiple advantages, mainly absorption at long wavelengths compatible with the biological window, biocompatibility and photostability.^{1–10} Their efficiency in generating singlet oxygen is strongly related to their central metal. Transition metals, such as palladium or platinum, despite being rarely introduced in photodynamic therapy agents, are worthy of more study, as available results are promising: palladium(II) and platinum(II) have recently been introduced at the centre of chlorin derivatives with a very positive effect on singlet oxygen generation, hence on tumour cell elimination.¹¹ The effect of heavy metals, and more generally heavy atoms, is indeed known to

enhance fluorescence and intersystem crossing (ISC), enhancing singlet oxygen generation, a key property of efficient photosensitizers.^{12–16} Platinum phthalocyanines have been described to generate singlet oxygen effectively when used as oxidation catalysts.¹⁷

This prompted us to prepare a series of platinum(II) phthalocyanines, substituted by solketal moieties, in order to evaluate the contribution of platinum to the photosensitizing properties of the phthalocyanine macrocycle. Solketal is the protected form of glycerol, a cheap and versatile chemical.¹⁸ Solketal substituted phthalocyanines are easily convertible into the corresponding glycerol substituted phthalocyanines, offering the advantage of being possibly water soluble.¹⁹ This will be the next step of our research, as the results of the present studies confirm the interest of using platinum(II) phthalocyanines as photodynamic therapy agents.

We therefore prepared a complete set of platinum(II) phthalocyanines, designated hereafter as **Pt-set**: unsubstituted **1-Pt**, peripherally and non-peripherally tetra- and octa-substituted, respectively, **2-Pt**, **3-Pt**, **4-Pt** and **5-Pt**, presented in Figure 1.

Our final future aim, after obtaining water-soluble platinum phthalocyanines, is to benefit from the combined advantages of the heavy nature of platinum, of platinum's innocuousness and even its anti-tumour effect,^{20–24} associated with the invaluable efficiency of phthalocyanine macrocycles for the required photophysical and photochemical effects implied in photodynamic therapy treatments. The present investigations may be considered

* Corresponding authors. Tel.: +90 262 6053123; fax: +90 262 6053101; e-mail addresses: fdumoulin@gyte.edu.tr (F. Dumoulin), ahsen@gyte.edu.tr (V. Ahsen).

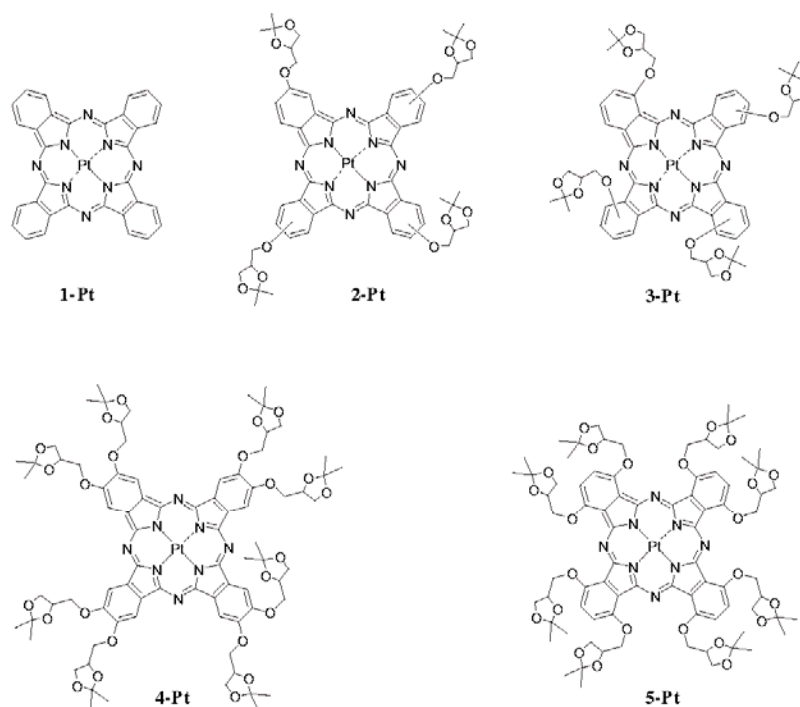


Figure 1. Representation of the platinum phthalocyanines (Pt-set).

as preliminary studies in the quest for more efficient photodynamic therapy agents, based on platinum(II) phthalocyanines. The photosensitizing properties of the Pt-set have been compared with those of an analogous series of Zn(II) phthalocyanines, designated hereafter as Zn-set. These were chosen as reference because Zn is one of the most common and efficient metals in photosensitizing phthalocyanines used in photodynamic therapy.

2. Results and discussions

2.1. Syntheses and characterizations

Compound 1-Zn was purchased from Aldrich and used as received. The synthesis of 2-Zn,^{19,25,26} 3-Zn,¹⁹ 4-Zn^{27–29} and 5-Zn²⁹ have been performed following the reported procedures.

The very few descriptions of substituted platinum phthalocyanine syntheses report the difficulty in synthesis and purification.³⁰ Most of the reported data about platinum phthalocyanines concerned so far their crystallography.³¹ Their electrochemical properties also aroused strong interest.³² Syntheses of unsubstituted platinum phthalocyanines are described in harsh conditions,^{32–34} conditions not applicable for substituted derivatives. Use of microwaves recently optimized the yields, starting from platinum tetrachloride to yield platinum(II) phthalocyanines.³⁵ It appeared in addition that the insertion of platinum in the centre of a free-based phthalocyanine remains unsuccessful, the metal-assisted tetramerization being more efficient.³⁶ We therefore chose this strategy to optimize the synthesis of 2-Pt.

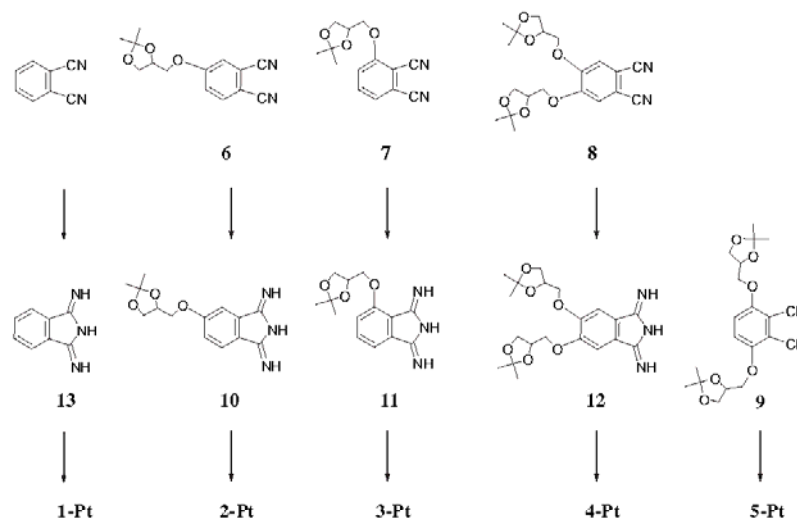
Among the available platinum salts, PtCl₂ was the most suitable, being more reactive than Pt(acac)₂ or Pt(OAc)₂. It has been reported that dimethylaminoethanol is the best solvent for platinum(II) phthalocyanine synthesis.³⁶ The use of phthalonitrile 6 following described methods³⁷ lead anyway to 2-Pt in poor yields (<2%), even under an ammoniacal atmosphere. Use of in situ prepared

diiminoisoindoline has been described to give satisfactory yields under ammoniac atmosphere: yields were similar to those obtained with previously purified diiminoisoindoline 10³⁸ under an inert atmosphere.³⁷ We chose to work from isolated diiminoisoindoline, as compounds 11 and 12 are new and had to be fully characterized.

Several experiments on 2-Pt synthesis proved that, at least with our substituents, yields of isolated phthalocyanines are better when using diiminoisoindoline 10 in *N,N'*-dimethylaminoethanol under an ammoniacal atmosphere than under argon atmosphere. It probably enhances the reactivity of the diiminoisoindoline and prevents its eventual decomposition.³⁷ Except for the octa non-peripheral derivative 5-Pt, all the platinum phthalocyanines have been prepared using diiminoisoindoline as a precursor, under an ammoniacal atmosphere, with a ratio of 2:1 phthalonitrile/PtCl₂, in 10–20% yields, satisfactory regarding the simplicity of the procedure and purification. Under these conditions, no free base phthalocyanine was detected by mass spectroscopy and UV–vis spectrophotometry, saving us from the tedious separations of a metallated phthalocyanine from the analogous free one. The phthalonitrile 9 couldn't be converted to the corresponding diiminoisoindoline, probably due to steric hindrance, and 5-Pt was therefore prepared directly from 9.

Compounds 10,³⁸ 11 and 12 have been, respectively, prepared from phthalonitriles 6,²⁸ 7²⁹ and 8²⁸ (Scheme 1), following a procedure previously described by us,³⁸ in nearly quantitative yields.

All the substituted phthalocyanines of the Pt-set have been characterized by NMR, mass spectrometry (MALDI) and high performance liquid chromatography (HPLC). Mass spectroscopy analyses of phthalocyanines have previously been challenging, especially for unsubstituted ones.^{39,40} In our case, MALDI experiments, using dihydroxybenzoic acid as the matrix, allowed us to observe the molecular ion (see Supplementary data). The purity of the four substituted Pt-set's phthalocyanines: 2-Pt, 3-Pt, 4-Pt and 5-Pt, has been established by HPLC experiments, on a silica column



Scheme 1. Preparation of platinum phthalocyanines.

eluted by a mixture of dichloromethane/isopropanol (detection from 190 to 950 nm). Respective retention times were 16.78, 17.44, 14.59 and 31.35 min. The unique peak on the profile certifies to the purity of the phthalocyanines (see profiles in [Supplementary data](#)). ^{13}C NMR spectra have been recorded (see [Supplementary data](#)). They are similar to those of similar solketal substituted phthalocyanines.²⁹ In the case of **4-Pt** and **5-Pt**, the effect of the platinum on chemical shifts can be compared to the similar Ni, Zn and metal free phthalocyanines;²⁹ the peak corresponding to the internal carbon of the phthalocyanine macrocycle is observed at 138.70 for **4-Pt** and at 140.48 for **5-Pt**. Compared to analogous zinc(II) and free-based phthalocyanines, this peak is shifted to higher fields, as are those of analogous nickel derivatives. This is coherent with the fact that nickel and platinum belong to the same group on the periodic table. Due to its heavy atom character, the effect of platinum is even more pronounced than for nickel (5 ppm more shielded for **4-Pt** and **5-Pt** compared with the analogous nickel phthalocyanines).

2.2. Photophysical and photochemical parameters

2.2.1. Ground state electronic absorption. Comparative studies of the electronic absorption behaviour of **Zn-set** and **Pt-set** have been performed in *N,N'*-dimethylformamide (DMF), a solvent that offers convenient solubility for all of the studied phthalocyanines, except

for **1-Pt**, which is insoluble in common organic solvents. Reported electronic absorption spectra of **1-Pt** were recorded in strong inorganic acids such as concentrated sulfuric acid,³⁵ not suitable for the other molecules of this study. The insolubility of **1-Pt** unfortunately prevented us from achieving further photophysical and photochemical investigations, despite the interest it would have presented.

Electronic absorption spectra of the **Zn-set** phthalocyanines showed non-aggregated monomeric behaviour, as evidenced by a single and narrow Q band, typical of metallated phthalocyanines⁴¹ (Fig. 2a).

The maximum absorptions in the Q band region and extinction coefficients for **Zn-set** and **Pt-set** are summarized in [Table 1](#). The B band region was observed between 300 and 350 nm for all the phthalocyanines. The maximum absorption in the Q band area for the substituted zinc(II) phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn**) are red-shifted relative to that of the unsubstituted **1-Zn**, implying that the Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO)–Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO) energy gap of the phthalocyanine ring is reduced when introducing electron-donating substituents. As said above, we couldn't check if similar effects appear in the **Pt-set**, due to the insolubility of **1-Pt** in DMF, while the solketal substituents can't survive in acidic media, prohibiting measurements in the inorganic acids in which **1-Pt** is soluble.

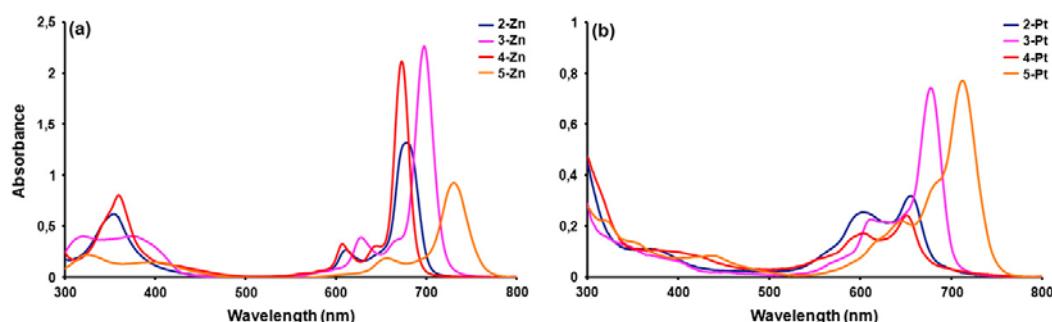


Figure 2. Absorption spectra of tetra- and octa-substituted (a) zinc (**2-Zn**, **3-Zn**, **4-Zn** and **5-Zn**) and (b) platinum (**2-Pt**, **3-Pt**, **4-Pt** and **5-Pt**) phthalocyanines in DMF. Concentration = 1×10^{-5} mol dm⁻³.

Table 1
Maximum electronic absorption and extinction coefficient for the **Zn-set** and the **Pt-set** in the Q band area, in DMF: Q band (λ_{max} , nm, log ϵ)

Compound	1	2	3	4	5
Zn	670 (5.37)	677 (5.09)	696 (5.30)	672 (5.28)	729 (4.99)
Pt	—	654 (4.34), 602 (4.40)	676 (4.80)	650 (4.30), 601 (4.24)	711 (4.89)

Platinum(II), when introduced in the centre of a phthalocyanine macrocycle, is known to strongly enhance aggregation.⁴² On the other hand, non-peripheral substitution is known to inhibit aggregation.⁴² Substituents in non-peripheral positions prevent macrocycles from getting too close to each other, thanks to an intercalative steric hindrance. The fact that peripherally substituted **2-Pt** and **4-Pt** derivatives present cofacial aggregation, as evidenced by the presence of two non-vibrational peaks in the Q band region, when the non-peripheral derivatives **3-Pt** and **5-Pt** show minimal aggregation as judged by the little broadening of their Q band, is in accordance with this hypothesis. The lower energy (red-shifted) bands at 654 nm for **2-Pt** and 650 nm for **4-Pt** are due to the monomeric species, while the higher energy (blue-shifted) bands at 602 nm for **2-Pt**, and at 601 nm for **4-Pt** are due to the aggregated species (Fig. 2b). Compared to analogous substituted phthalocyanines of the **Zn-set**, those of the **Pt-set** are all more aggregated, offering one more illustration of the aggregation tendencies induced by platinum.

The same comparison between the two sets about the maximum absorption in the Q band area results in the general observation of a blue-shift of approximately 20 nm for the **Pt-set** compared to the **Zn-set** (Table 1). This could be due to the larger size and heavy nature of the platinum atom. A π – π^* transition upon photon irradiation occurs at the Q band energy levels and implies the d orbitals of the molecule. The electronic structures of zinc(II) and platinum(II) are of different energy, explaining the

hypsochromic shift of the **Pt-set**'s Q-band compared to the **Zn-set**'s ones. It must be noted in addition that extinction coefficients of the **Pt-set** are lower than those of the **Zn-set**.

The effect of peripheral substitution compared with non-peripheral is the same for the two sets, with a red-shift of the Q band for non-peripheral substituted phthalocyanines compared to the peripheral ones. These red spectral shifts are typical of phthalocyanines with substituents at the non-peripheral positions: they are due to the linear combinations of the atomic orbitals (LCAO) coefficients at the non-peripheral positions of the HOMO. These coefficients are greater than those for peripherally substituted phthalocyanines.^{43,44} The energy gap (ΔE) between the HOMO and LUMO becomes smaller, resulting in bathochromic shifts. The value of these red-shifts depends on the peripheral or non-peripheral position of the substituents and is the same for the two sets with no influence of the metal. Red-shifts are observed of ~20 nm for tetra-substituted phthalocyanines (**2-Zn** and **2-Pt** vs **3-Zn** and **3-Pt**) and of ~60 nm for octa-substituted phthalocyanines (**4-Zn** and **4-Pt** vs **5-Zn** and **5-Pt**).

2.2.2. Aggregation behaviour of the **Pt-set compared to the **Zn-set****
Aggregation results from the coplanar association of the phthalocyanine rings, progressing from monomer to dimer then to complexes of higher order. It depends on several parameters: temperature, concentration, nature of the solvent, nature, central complexed metal ions, number and position of the substituents.⁴⁵ In the aggregated state, the electronic structure of the phthalocyanine rings is perturbed, resulting in an alternation of the ground and excited state electronic structures.⁴⁶ These perturbations modify the electronic absorption events and are therefore visible in the UV–vis spectra: the peak due to aggregation is blue-shifted with respect to the monomer's one.

Keeping in mind that compared to zinc, platinum is a metal strongly enhancing aggregation,^{37,42} we chose to investigate the

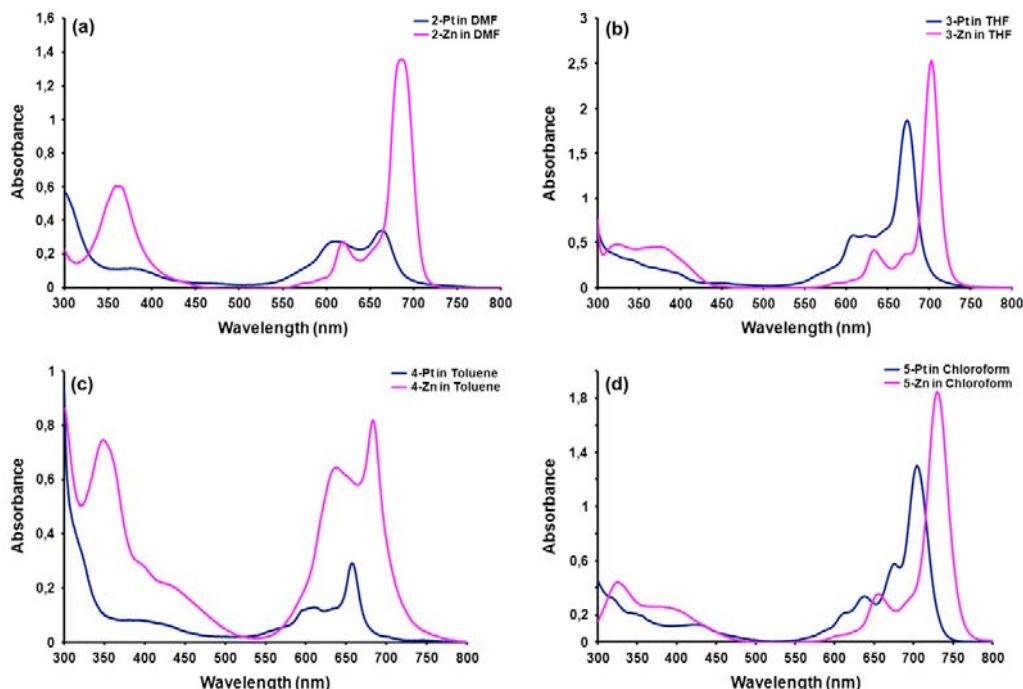


Figure 3. Comparative aggregation behaviour of (a) **2-Zn** and **2-Pt** in DMF, (b) **3-Zn** and **3-Pt** in tetrahydrofuran, (c) **4-Zn** and **4-Pt** in toluene, (d) **5-Zn** and **5-Pt** in chloroform. Zn derivatives are in pink, Pt derivatives in blue.

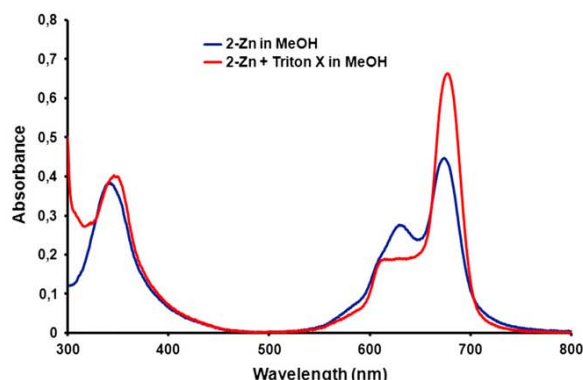


Figure 4. Absorption spectral changes for **2-Zn** in methanol upon the addition of Triton X-100.

aggregation behaviour of the substituted phthalocyanines of the **Pt-set** and of the **Zn-set** in the most common organic solvents: chloroform, DMF, methanol, tetrahydrofuran, toluene and DMSO. Non-peripheral substituted phthalocyanines are known to show less aggregation than peripheral substituted ones;⁴⁷ these trends were followed by all the molecules in the two sets.

While all the substituted **Zn-set**'s phthalocyanines are soluble in the selected solvents, the substituted **Pt-set**'s phthalocyanine aren't soluble in methanol and DMSO, and much more aggregated in other solvents than the corresponding zinc derivatives (Fig. 3).

The inhibiting effect of non-peripheral substituents on aggregation is strong enough to limit the aggregation of **3-Zn**, **5-Zn**, **3-Pt** and **5-Pt** in all the solvents: **3-Zn** and **5-Zn** are in their monomeric form in all the solvents, as are **3-Pt** and **5-Pt** in chloroform, DMF, THF and toluene. Peripheral **2-Pt** and **4-Pt** exhibit aggregation in chloroform, DMF, THF and toluene.

The addition of surfactants such as Triton X-100 can reduce aggregation. The aggregated molecules are dissociated thanks to the intercalation of the surfactant. Addition of Triton X-100 to solutions of **2-Zn** and **4-Zn** in methanol, a solvent in which they are aggregated, resulted in their dissociation, as evidenced by the increased intensity and red-shift of the monomer peak, while the peak for the aggregated species decreases in intensity (Fig. 4 for **2-Zn**).

The aggregation behaviour of the substituted Pt(II) phthalocyanines (**3-Pt** and **5-Pt**) and Zn(II) phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn**) were also investigated at different concentrations in DMF (Fig. 5, case of **4-Zn** and **5-Pt**). The intensity of the Q band increased with the concentrations, obeying the Beer–Lambert law at concentrations ranging from 1.4×10^{-6} to 4×10^{-6} mol dm⁻³.

2.2.3. Fluorescence studies. Fluorescence measurements have been recorded in DMF, the solvent offering the best average solubility for all the molecules.

2.2.3.1. Absorption, excitation and emission experiments. The non-peripheral octa-substituted phthalocyanines **5-Zn** and **5-Pt** showed less fluorescence emission than the other complexes. In the case of **5-Pt**, the emission of the complex was even not detectable.

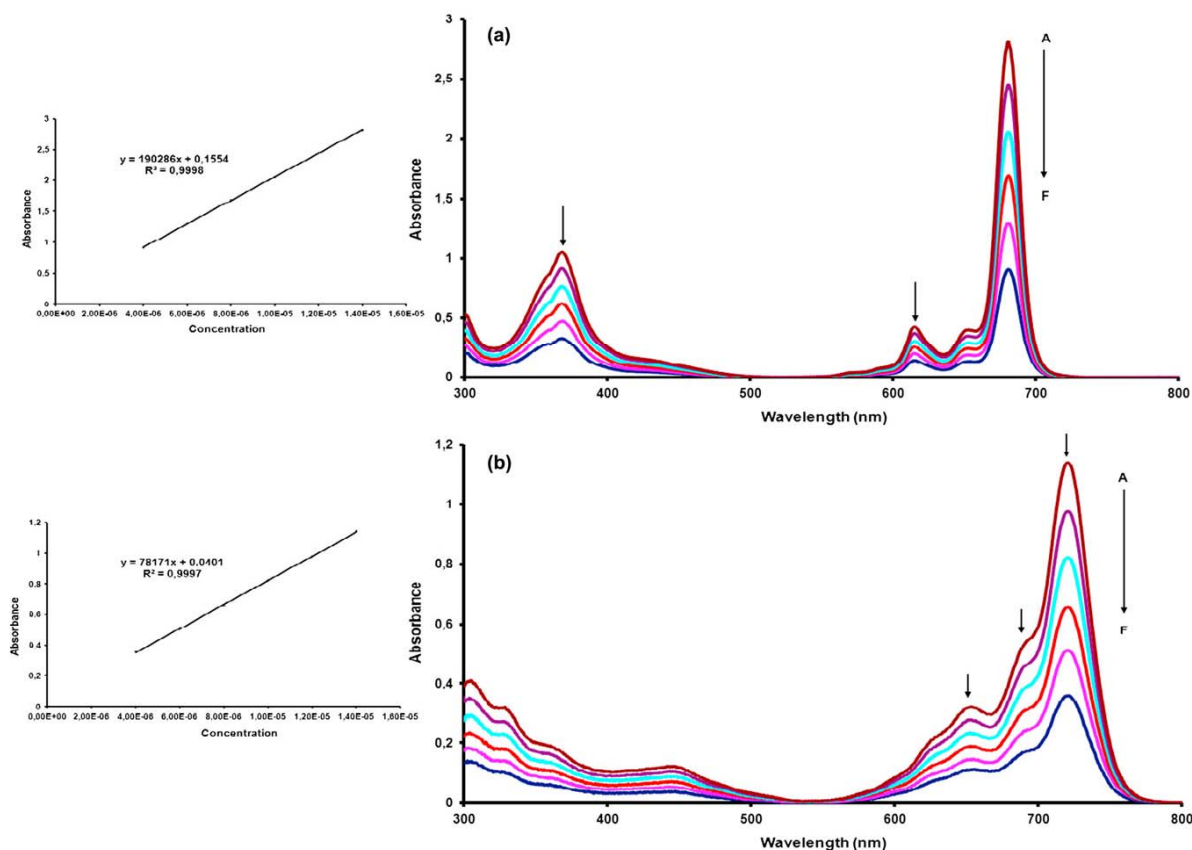


Figure 5. Aggregation behaviour of (a) **4-Zn** and (b) **5-Pt** in DMF at different concentrations: 14×10^{-6} (A), 12×10^{-6} (B), 10×10^{-6} (C), 8×10^{-6} (D), 6×10^{-6} (E), 4×10^{-6} mol dm⁻³ (F). (Inset: plot of absorbance vs concentration).

Figure 6 shows the fluorescence emission, absorption and excitation spectra for **2-Zn** and **2-Pt**. Fluorescence emission peak data are summarized in Table 2. The Stokes shifts are of 13, 14, 10 and 17 nm, respectively, for **2-Zn**, **3-Zn**, **4-Zn** and **5-Zn**, and of 22, 24 and 28 nm, respectively, for **2-Pt**, **3-Pt** and **4-Pt** (Table 2).

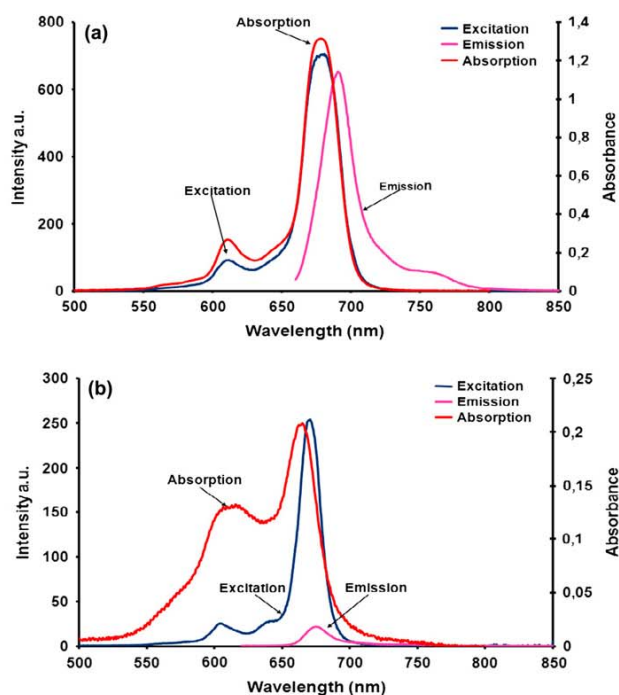


Figure 6. Absorption, excitation and emission spectra of (a) **2-Zn** and (b) **2-Pt** in DMF. Excitation wavelength: 650 nm.

Table 2
Absorption, excitation and emission spectral data for **Zn-set** and **Pt-set** in DMF

Compound	Q band λ_{max} (nm)	Excitation λ_{ex} (nm)	Emission λ_{em} (nm)	Stokes shift $\Delta\lambda_{\text{Stokes}}$ (nm)
1-Zn	670	670	676	6
2-Zn	677	680	690	13
3-Zn	696	700	710	14
4-Zn	672	673	682	10
5-Zn	729	736	746	17
2-Pt	654, 602	671	676	22
3-Pt	676	676	700	24
4-Pt	650, 601	673	678	28
5-Pt	711	—	—	—

The shape of the excitation spectra is similar to the absorption spectra's shape for all the **Zn-set** phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn**). This suggests that the nuclear configurations of the ground and excited states are not affected by excitation. In the case of **Pt-set**, the shape of the excitation spectra appear to be different from the absorption spectra (Fig. 6b, example of **2-Pt**). This is probably due to modifications such as loss of the symmetry of the molecule upon excitation. The difference in the excitation behaviour of **Pt-set** phthalocyanines from **Zn-set** phthalocyanines could be due to the fact that the larger platinum atom is out of the plane of the phthalocyanine ring, inducing a loss of symmetry.³¹

2.2.3.2. Fluorescence quantum yields and lifetimes. The fluorescence quantum yields (Φ_F) are given in Table 3. The fluorescence quantum yields (Φ_F) of **2-Zn**, **3-Zn** and **4-Zn** are typical of metalated phthalocyanines, except for non-peripheral octa-substituted

5-Zn (Table 3). The Φ_F value for **5-Zn** is lower compared to other substituted **Zn(II)** complexes (**2-Zn**, **3-Zn** and **4-Zn**). As **5-Zn** is less aggregated than **2-Zn**, **3-Zn** and **4-Zn**, it enhances the energy transfer via the intersystem crossing (ISC), thus limiting Φ_F . The Φ_F values of substituted **Pt-set**'s phthalocyanines were lower than those of the analogous **Zn-set**'s phthalocyanines (Table 3). This is due to intersystem crossing enhanced by the presence of the heavy atom: platinum.⁴⁸

Table 3
Photophysical and photochemical parameters of **Zn-set** and **Pt-set** phthalocyanines in DMF

Compound	Φ_F	τ_F (ns)	τ_0 (ns)	^1k_F (s^{-1}) ($\times 10^7$)	Φ_d ($\times 10^{-4}$)	Φ_A
1-Zn	0.17	1.03	6.05	16.53	0.23	0.56
2-Zn	0.20	2.10	10.31	9.69	1.38	0.50
3-Zn	0.13	1.09	8.68	11.50	1.58	0.57
4-Zn	0.17	1.69	9.50	10.53	0.87	0.54
5-Zn	0.085	1.33	15.66	6.38	1.19	0.48
2-Pt	0.0051	0.18	36.09	2.77	1.32	0.35
3-Pt	0.0086	0.17	19.79	5.07	0.62	0.63
4-Pt	0.013	0.55	42.22	2.37	8.58	0.65
5-Pt	—	—	—	—	0.87	0.35

Fluorescence lifetime (τ_F) refers to the average time a molecule remains in its excited state before returning to its ground state. This value is related to that of Φ_F : the longer the fluorescence lifetime is, the higher the quantum yield of fluorescence. Any factor shortening the fluorescence lifetime reduces the value of Φ_F . Among such factors are internal conversion and intersystem crossing events, influenced by the nature and the environment of the fluorophore. The τ_F values (Table 3) were calculated using the Strickler–Berg equation. The τ_F values of the **Zn-set**'s phthalocyanines are higher compared to those of **Pt-set**, as the natural radiative lifetime (τ_0) and the rate constants for fluorescence (k_F) values also given in Table 3. Once again, this is due to the heavy atom effect.⁴⁸

2.2.3.3. Fluorescence quenching studies by benzoquinone [BQ]. Fluorescence quenching by benzoquinone of the **Zn-set** was investigated. The **Pt-set**'s behaviour was not studied because of the very low fluorescence emission. In the presence of a quencher (BQ), energy transfer occurs between the fluorophore (the excited **Zn(II)** phthalocyanine) and the quencher. The fluorescence quenching of **Zn(II)** phthalocyanine by BQ obeyed Stern–Volmer kinetics. This is consistent with diffusion-controlled bimolecular reactions. Figure 7 shows the quenching

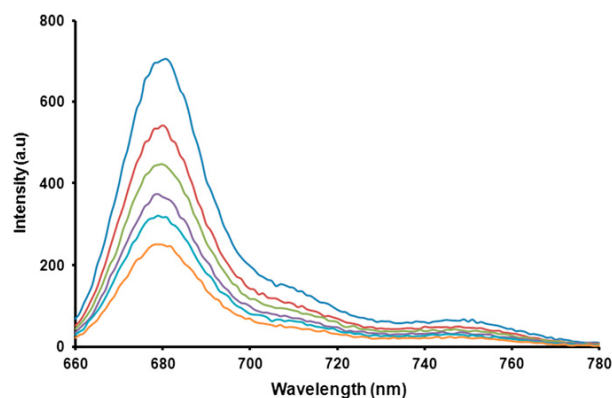


Figure 7. Fluorescence emission spectral changes of **4-Zn** (1.00×10^{-5} mol dm^{−3}) on addition of different concentrations of BQ in DMF: [BQ] = 0, 0.008, 0.016, 0.024, 0.032, 0.040 mol dm^{−3}.

of **4-Zn** by BQ. The slope of the plots shown at Figure 8 gave the Stern–Volmer constant (K_{SV}) values. The K_{SV} and bimolecular quenching constant (k_q) values for the BQ quenching of the **Zn-set** are listed in Table 4. The K_{SV} values of the substituted **2-Zn** to **5-Zn** are lower than those of unsubstituted **1-Zn**. The K_{SV} values decreased as follows: **3-Zn** > **2-Zn** > **4-Zn** > **5-Zn**. The bimolecular quenching constant (k_q) values of the substituted phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn**) are also lower than those of unsubstituted **1-Zn**. The bimolecular quenching rate constants were found to be close to the diffusion-controlled limits, $\sim 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. The k_q values for the substituted complexes decreased as follows: **3-Zn** > **4-Zn** > **2-Zn** > **5-Zn** (Table 4).

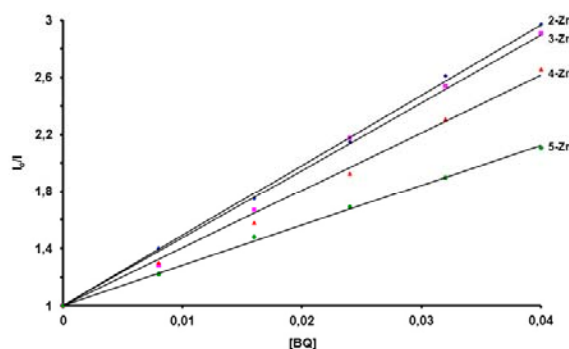


Figure 8. Stern–Volmer plots for benzoquinone (BQ) quenching of **2-Zn**, **3-Zn**, **4-Zn** and **5-Zn** in DMF. $[\text{ZnPc}] \sim 1.00 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $[\text{BQ}] = 0, 0.008, 0.016, 0.024, 0.032, 0.040 \text{ mol dm}^{-3}$.

Table 4
Fluorescence quenching data of the **Zn-set** in DMF

Compound	$K_{SV} (\text{M}^{-1})$	$k_q / 10^{10} (\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1})$
1-Zn	57.60	5.59
2-Zn	48.68	2.31
3-Zn	52.46	4.79
4-Zn	42.83	2.53
5-Zn	26.65	2.00

2.2.4. Singlet oxygen quantum yields. A good photosensitizer must be very efficient in generating singlet oxygen, the active species of a photodynamic therapy treatment. Energy transfer between the

triplet state of a photosensitizer (here the metallated phthalocyanine) and the ground state of molecular oxygen leads to its conversion into singlet oxygen. This transfer must be as much efficient as possible to generate large amounts of singlet oxygen. This is quantified by the singlet oxygen quantum yield (Φ_Δ), a parameter giving an indication of the potential of molecules to be used as photosensitizers in applications where singlet oxygen is required (e.g., for Type II mechanism). The Φ_Δ values were determined in DMF using a chemical method and 1,3-diphenylisobenzofuran (DPBF) as a quencher. The disappearance of DPBF was monitored using UV–vis spectrophotometer (Fig. 9; example of **3-Pt**).

Many factors are responsible for the magnitude of the determined quantum yield of singlet oxygen, including: the triplet excited state energy, the ability of substituents and solvents to quench singlet oxygen, the triplet excited state lifetime and the efficiency of the energy transfer between the triplet excited state and the ground state of oxygen. There was no decrease in the Q band and no appearance of new bands during Φ_Δ determinations (Fig. 9): this indicates that the phthalocyanines were not damaged by the generated singlet oxygen. It is believed that during photosensitization, the phthalocyanine is firstly excited to the singlet state, then reaches the triplet state through intersystem crossing, then transfers its energy to ground state oxygen, $\text{O}_2 (^3\Sigma_g^-)$, itself converted into its excited state (singlet oxygen), $\text{O}_2 (^1\Delta_g)$. This singlet oxygen is the chief cytotoxic species, which subsequently oxidizes the surrounding substrates: this oxidation is the key of the Type II mechanism.

Compound **1-Zn** was used as the reference and the measurements were performed in DMF. Table 3 shows that the all substituted **Zn(II)** phthalocyanines have roughly the same Φ_Δ values than the unsubstituted **1-Zn**, the number and position of substituents having a very moderate influence.

While the Φ_Δ values of **3-Pt** and **4-Pt** are higher than those of **1-Zn**, **2-Pt** and **5-Pt** exhibit lower Φ_Δ values than **1-Zn** in DMF. Although the non-peripheral **3-Zn** and **3-Pt** showed higher Φ_Δ values than peripheral **2-Zn** and **2-Pt**, the **5-Zn** and **5-Pt** showed lower Φ_Δ values than peripheral **4-Zn** and **4-Pt** (Table 3).

The differences in the observed values are due to the different nature of zinc and platinum, which belong to different groups on the periodic classification table and have different outermost electronic configuration.

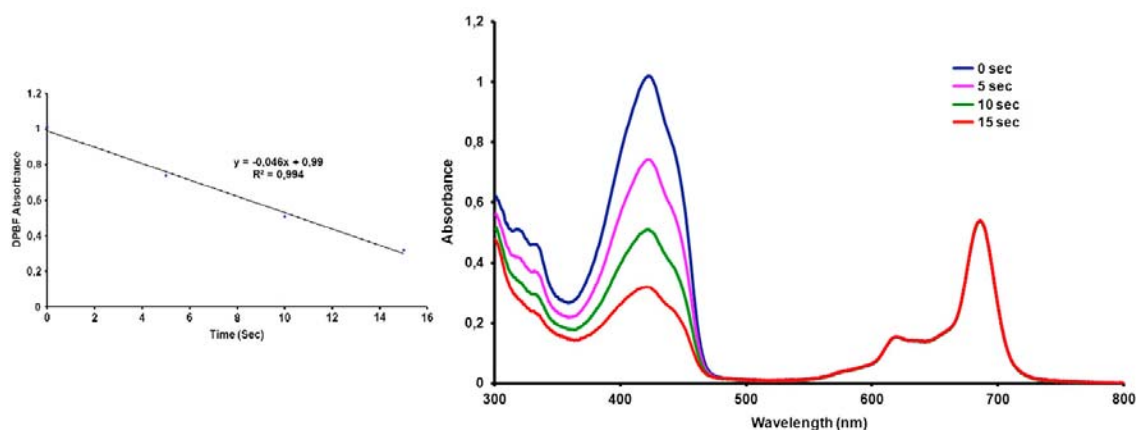


Figure 9. A typical spectrum for the determination of singlet oxygen quantum yield of **3-Pt** in DMF using DPBF as the singlet oxygen quencher. Concentration = $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ (Inset: plots of DPBF absorbance vs time).

We at least established the efficiency of platinum(II) phthalocyanines to generate singlet oxygen. This confirms that further investigations are worth to be achieved.

2.2.5. Photodegradation studies. Degradation of the molecules upon irradiation lowers their availability, thus their photosensitizing efficiency, and is expressed by their photodegradation quantum yield values. The loss of the absorption peaks without distortion of their shape corresponds to clean photodegradation events, not associated with phototransformation. Photodegradation measurements have been recorded in DMF. Examples of spectral changes observed during irradiation for all the substituted phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn** and **2-Pt** to **5-Pt**) are given in Figure 10 (example of **5-Zn** and **5-Pt**) and hence confirms that photodegradation occurred without phototransformation.

3. Conclusions

We prepared a full set of solketal substituted platinum(II) phthalocyanines, precursors of potentially water-soluble platinum(II) phthalocyanines utilizable as photodynamic therapy agents. Preliminary studies of their interest as Type II photosensitizers, and comparison with analogous zinc(II) phthalocyanines' photophysical and photochemical properties, demonstrated that these complexes are efficient singlet oxygen generators. In addition, their photodegradation parameters are suitable for potential photodynamic therapy agents.

These promising results confirm the interest of platinum(II) phthalocyanines as photodynamic therapy agents. The next steps of this work: obtaining water-soluble platinum(II) phthalocyanines is currently being achieved by our team.

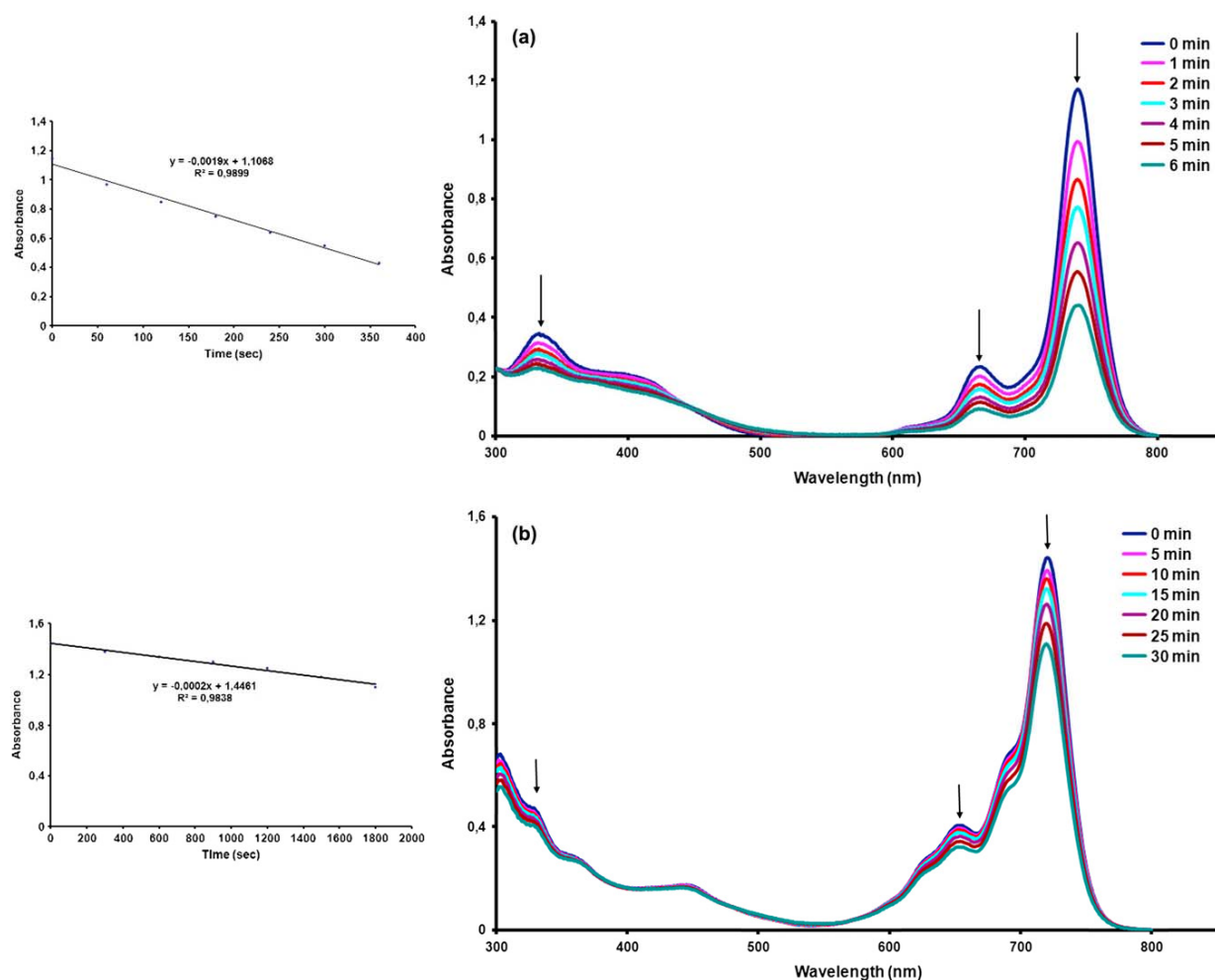


Figure 10. The photodegradation of (a) **5-Zn** and (b) **5-Pt** in DMF showing the disappearance of the Q band and the appearance of the reduction band at 1 min intervals for **5-Zn** and 5 min intervals for **5-Pt** (Inset: plot of Q band absorbance versus time).

All the substituted complexes, **2-Zn** to **5-Zn** and **2-Pt** to **5-Pt**, have roughly similar stability with photodegradation quantum yield (Φ_d) of the order of 10^{-4} (Table 3). Stable complexes show Φ_d values as low as 10^{-6} . Molecules are considered unstable with values around $10^{-3.49}$. Our two sets of molecules have an intermediate photostability. This is particularly required for photodynamic therapy applications: very unstable molecules degrade before having time to act, but on the other hand, highly stable molecules aren't easily eliminated by the host organism.

4. Experimental

4.1. Materials

Unsubstituted zinc phthalocyanine (**1-Zn**) was purchased from Aldrich and used as received. Zinc(II) phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn**), phthalonitriles **6**, **7**, **8** and **9**, diiminoisoindolines **10** and **13** have been prepared following described procedures.^{19,25,26,28,29,38}

4.2. Equipments

HPLC profiles have been recorded using an HPLC system Agilent 1100 series (ChemStation software) equipped with a G 1311A pump, a G1315B diode array detector monitoring the 190–950 nm range and a normal phase column Lichrosorb-SI-60 (250×4.6 mm) from Alltech. Associates, Inc. LC–ESI mass spectra were recorded with a Bruker microTOF spectrometer equipped with electrospray ionization (ESI) source. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) measurements were performed on a Bruker Daltonics microTOF. ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded in DMSO-*d*₆ and CDCl₃ solutions on a Varian 500 MHz spectrometer. Absorption spectra in the UV–visible region were recorded with a Shimadzu 2001 UV spectrophotometer using a 1 cm pathlength cuvette at room temperature. Fluorescence excitation and emission spectra were recorded on a Varian Eclipse spectrofluorometer using 1 cm pathlength cuvettes at room temperature.

Photo-irradiations were done using a General Electric quartz line lamp (300 W). A 600 nm glass cut off filter (Schott) and a water filter were used to filter off ultraviolet and infrared radiations, respectively. An interference filter (Intor, 670 nm with a band width of 40 nm) was additionally placed in the light path before the sample. Light intensities were measured with a POWER MAX5100 (Molelectron detector incorporated) power meter.

4.3. Syntheses

4.3.1. 3-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-methoxy-1,3-dihydro-1,3-diiminoisoindole (11). Prepared following described procedure for **10**,³⁸ from **7** (1 g, 3.88 mmol). Yield 85% (900 mg). Greenish solid. ¹H NMR (DMSO-*d*₆): 7.64, 7.62, 7.35, 7.34 (m, 3H, aromatics), 4.02–4.60 (m, 5H, CH₂CHCH₂), 3.55 (br s, NH), 1.36, 1.42 (2br s, 6H, 2CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): 154.30, 137.60, 133.87, 120.16, 116.02, 114.79, 108.90, 73.28, 69.49, 65.34, 26.35, 24.86. ESI–LC–MS *m/z*: calcd 275.1; found 276.2 [M+H]. Anal. Calcd for C₁₄H₁₇N₃O₃: C, 61.08; H, 6.22; N, 15.26. Found: C, 61.11; H, 6.24; N, 15.18.

4.3.2. 5,6-Di-[(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-methoxy]-1,3-dihydro-1,3-diiminoisoindole (12). Prepared following described procedure for **10**,³⁸ from **8** (400 mg, 1.03 mmol). Yield 96% (400 mg). Greenish solid. ¹H NMR (CDCl₃): 7.20 (s, 2H, aromatics), 4.62 (br s, 1H, CH), 3.92–4.16 (4H, m, (OCH₂)₂), 1.37, 1.42 (2br s, 6H, 2CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃): 165.05, 151.49, 127.80, 109.65, 105.84, 73.66, 66.64, 66.39, 26.54, 25.27. ESI–LC–MS *m/z*: calcd 405.2; found 406.2 [M+H]. Anal. Calcd for C₂₀H₂₇N₃O₆: C, 59.25; H, 6.71; N, 10.36. Found C, 59.22; H, 6.72; N, 10.33.

4.3.3. Procedure for the synthesis of Pt-set phthalocyanines. Precursor and PtCl₂ (0.5 equiv) were refluxed in *N,N*-dimethylaminoethanol under ammonia atmosphere for 24 h. The cooled reaction mixture was then poured into hexane. The solid product was filtered, dissolved in a minimum amount of dichloromethane and precipitated in hexane (several times). On silica gel column chromatography, initial elution by hexane/ethyl acetate (2:1) eliminated the remaining organic impurities. The platinum phthalocyanine was then eluted by tetrahydrofuran.

4.3.3.1. Phthalocyaninato platinum (1-Pt). Obtained following the above procedure, from **13** (1.73 mmol/250 mg). Yield 32% (98 mg).

4.3.3.2. 2,9(10),16(17),23(24)-Tetra((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyaninato platinum (2-Pt). Obtained following the above procedure, from **10** (3.64 mmol, 1 g). Yield 35% (392 mg). ¹H NMR (CDCl₃): δ, ppm 5.99–6.85 (m, 12H, Ar), 3.48–4.38 (m, 20H, 4CH₂CHCH₂), 1.51, 1.46 (br m, 24H, 8CH₃). ¹³C NMR

(CDCl₃): δ, ppm 158.55, 135.17, 126.92, 121.29, 115.64, 109.64, 102.32, 73.98, 68.55, 66.90, 26.96, 25.45. MALDI-TOF-MS *m/z*: calcd 1227.32; found 1228.33 [M+H]. Retention time: 16.78 min. UV–vis, λ_{max} nm (log ε): CHCl₃, 654 (4.84), 605 (4.49); THF 654 (4.77), 602 (4.57); DMF 654 (4.34), 602 (4.40). HRMS (ESI) *m/z*: calcd for C₅₆H₅₇N₈O₁₂Pt: 1228.3738; found: 1228.3700.

4.3.3.3. 1,8(11),15(18),22(25)-Tetra((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyaninato platinum (3-Pt). Obtained following the above procedure, from **11** (1.82 mmol, 0.5 g). Yield 10% (55.8 mg). ¹H NMR (CDCl₃): δ, ppm 6.36–8.45 (m, 12H, Ar), 3.65–5.20 (m, 20H, 4CH₂CHCH₂), 1.57, 1.68 (br m, 24H, 8CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃): δ, ppm 156.05, 139.33, 129.98, 125.00, 121.61, 117.06, 114.04, 111.34, 110.02, 74.95, 74.21, 67.45, 27.51, 25.98. MALDI-TOF-MS *m/z*: calcd 1227.32; found 1228.46 [M+H]. Retention time: 17.44 min. UV–vis, λ_{max} nm (log ε): CHCl₃, 675 (5.23), 607 (4.58); THF, 674 (5.27), 608 (4.76); DMF, 676 (4.80). HRMS (ESI) *m/z*: calcd for C₅₆H₅₇N₈O₁₂Pt: 1228.3744; found: 1228.3746.

4.3.3.4. 2,3,9,10,16,17,23,24-Octa((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyaninato platinum (4-Pt). Obtained following the above procedure, from **12** (1.98 mmol, 0.8 g). Yield 35% (302 mg). ¹H NMR (CDCl₃): δ, ppm 7.98 (s, 8H, Ar), 4.29–4.90 (m, 40H, 8CH₂CHCH₂), 1.62, 1.71 (br m, 48H, 16CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃): δ, ppm 150.61, 138.70, 129.92, 109.83, 106.03, 74.38, 70.44, 67.29, 27.03, 25.68. MALDI-TOF-MS *m/z*: calcd 1747.62; found 1749.16 [M+2H]. Retention time: 14.59 min. UV–vis, λ_{max} nm (log ε): CHCl₃, 651 (5.09), 589 (4.46); THF, 650 (4.81), 602 (4.55); DMF, 650 (4.30), 601 (4.24). HRMS (ESI) *m/z*: calcd for C₈₀H₉₇N₈NaO₂₄Pt: 1771.6156; found: 1771.6100.

4.3.3.5. 1,4,8,11,15,18,22,25-Octa((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyaninato platinum (5-Pt). Obtained following the above procedure, from **9** (0.52 mmol, 0.2 g). Yield 8% (18 mg). ¹H NMR (CDCl₃): δ, ppm 7.71 (s, 8H, Ar), 4.20–5.08 (m, 40H, 8CH₂CHCH₂), 1.41, 1.47 (br m, 48H, 16CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃): δ, ppm 152.09, 140.58, 127.24, 120.62, 109.59, 74.52, 73.68, 67.21, 27.00, 25.42. MALDI-TOF-MS *m/z*: calcd 1747.62; found 1748.93 [M+H]. Retention time: 31.35 min. UV–vis, λ_{max} nm (log ε): CHCl₃, 705 (5.11); THF 706 (5.11); DMF, 711 (4.89). HRMS (ESI) *m/z*: calcd for C₈₀H₉₇N₈O₂₄Pt: 1748.6258; found: 1748.6321.

4.4. Photophysical and photochemical parameters

4.4.1. Fluorescence quantum yields and lifetimes. Fluorescence quantum yields (Φ_F) were determined by the comparative method (Eq. 1).^{50,51}

$$\Phi_F = \Phi_F(\text{Std}) \frac{F \cdot A_{\text{Std}} \cdot \eta^2}{F \cdot A_{\text{Std}} \cdot \eta_{\text{Std}}^2} \quad (1)$$

where *F* and *F*_{Std} are, respectively, the areas under the fluorescence curves of the samples (**2-Zn** to **5-Zn** and **2-Pt** to **5-Pt**) and the standard. *A* and *A*_{Std} are the respective absorbances of the sample and of the standard at the excitation wavelengths. η and η_{Std} are the refractive indices of solvents used, respectively, for the sample and the standard. Compound **1-Zn** in DMSO (Φ_F=0.18)⁵² was employed as the standard.

Natural radiative lifetimes were (τ₀) were determined using PhotochemCAD Program,⁵³ which uses the Strickler–Berg equation, and fluorescence lifetimes (τ_F) are given by Eq. 2.

$$\Phi_F = \frac{\tau_F}{\tau_0} \quad (2)$$

Using the τ_F values, rate constants for fluorescence (*k*_F), intersystem crossing (*k*_{ISC}), internal conversion (*k*_{IC}) and photodegradation (*k*_d) were estimated.

4.4.2. Singlet oxygen quantum yields. Singlet oxygen (Φ_{Δ}) quantum yield determinations were carried out using the experimental set-up described in literature.^{54,55} Typically, a 2 mL portion of the phthalocyanine solutions (absorbance ~ 1 at the irradiation wavelength) containing the singlet oxygen quencher was irradiated in the Q band region. Φ_{Δ} values were determined in air using the relative method with 1,3-diphenylisobenzofuran (DPBF) as a singlet oxygen chemical quencher in DMF (Eq. 3):

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Std}} \frac{R \cdot I_{\text{abs}}^{\text{Std}}}{R^{\text{Std}} \cdot I_{\text{abs}}} \quad (3)$$

where $\Phi_{\Delta}^{\text{Std}}$ is the singlet oxygen quantum yield for the standard **1-Zn** ($\Phi_{\Delta}^{\text{Std}} = 0.56$ in DMF).⁵⁶ R and R^{Std} are the DPBF photobleaching rates in presence of the studied phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn** and **2-Pt** to **5-Pt**) and of the standard, respectively; I_{abs} and $I_{\text{abs}}^{\text{Std}}$ are the rates of light absorption by the samples (**2-Zn** to **5-Zn** and **2-Pt** to **5-Pt**) and the standard, respectively. The concentrations of DPBF in the solutions were calculated using the determined value of $\log \epsilon = 4.36$ at 417 nm (DPBF in DMF). The light intensity used for Φ_{Δ} determinations was found to be 9.27×10^{15} photons $\text{s}^{-1} \text{cm}^{-2}$. The error in the determination of Φ_{Δ} was $\sim 10\%$ (determined from several Φ_{Δ} values).

4.4.3. Photodegradation quantum yields. Photodegradation quantum yields were determined using Eq. 4,

$$\Phi_d = \frac{(C_0 - C_t) \cdot V \cdot N_A}{I_{\text{abs}} \cdot S \cdot t} \quad (4)$$

where C_0 and C_t are the samples (**2-Zn** to **5-Zn** and **2-Pt** to **5-Pt**) concentrations before and after irradiation, respectively, V is the reaction volume, N_A the Avogadro's constant, S the irradiated cell area and t the irradiation time. I_{abs} is the overlap integral of the radiation source light intensity and the absorption of the samples (**2-Zn** to **5-Zn** and **2-Pt** to **5-Pt**). A light intensity of 3.09×10^{16} photons $\text{s}^{-1} \text{cm}^{-2}$ was employed for Φ_d determinations.

4.4.4. Fluorescence quenching by benzoquinone (BQ). Fluorescence quenching experiments on the substituted Zn(II) phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn**) were carried out by the addition of different concentrations of BQ to a fixed concentration of the complexes, and the concentrations of BQ in the resulting mixtures were 0, 0.008, 0.016, 0.024, 0.032 and 0.040 mol dm^{-3} . The fluorescence spectra of substituted Zn(II) phthalocyanines (**2-Zn** to **5-Zn**) at each BQ concentration were recorded, and the changes in fluorescence intensity related to BQ concentration by the Stern–Volmer (S–V) equation⁵⁷ (Eq. 5):

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[BQ] \quad (5)$$

where I_0 and I are the fluorescence intensities of fluorophore in the absence and presence of quencher, respectively; $[Q]$ is the concentration of the quencher, and K_{SV} is the Stern–Volmer constant; and is the product of the bimolecular quenching constant (k_q) and the fluorescence lifetime τ_F , i.e.,

$$K_{SV} = k_q \cdot \tau_F \quad (6)$$

The ratios I_0/I were calculated and plotted against $[BQ]$ according to Eq. 5, and K_{SV} determined from the slope.

Acknowledgements

The authors wish to thank Ilker Un and Gökhan Bilsel for NMR and high resolution mass spectroscopy measurements.

Supplementary data

HLPC profiles, ^{13}C NMR and mass spectra of **2-Pt**, **3-Pt**, **4-Pt** and **5-Pt** are available. Supplementary data associated with this article can be found in the online version, at doi:10.1016/j.tet.2010.02.079.

References and notes

- Hudson, R.; Boyle, R. W. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **2004**, 8, 954–975.
- Pandey, R. K. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **2000**, 4, 368–373.
- Macdonald, I. J.; Dougherty, T. J. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, 5, 105–129.
- Josefsen, L. B.; Boyle, R. W. *Met. Based Drugs* **2008**, 1–24.
- Okura, I. *Photosensitization of Porphyrins and Phthalocyanines*; Gordon and Breach Science: Amsterdam, 2000.
- Ali, H.; Van Lier, J. E. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2379–2450.
- Phillips, D. *Pure Appl. Chem.* **1995**, 67, 117–126.
- Bonnett, R. *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 24, 19–33.
- Tedesco, A. C.; Rotta, J. C. G.; Lunardi, C. N. *Curr. Org. Chem.* **2003**, 7, 187–196.
- Taquet, J.-P.; Frochot, C.; Manneville, V.; Barberi-Heyob, M. *Curr. Med. Chem.* **2007**, 14, 1673–1687.
- Obata, M.; Hirohara, S.; Tanaka, R.; Kinoshita, I.; Ohkubo, K.; Fukuzumi, S.; Tanihara, M.; Yano, S. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 2747–2753.
- Aye, K.-T.; Puddephatt, R. J. *Inorg. Chim. Acta* **1995**, 235, 307–310.
- Kozhevnikov, D. N.; Kozhevnikov, V. N.; Ustinova, M. M.; Santoro, A.; Bruce, D. W.; Koenig, B.; Czerwieniec, R.; Fischer, T.; Zabel, M.; Versin, H. *Inorg. Chem.* **2009**, 48, 4179–4189.
- Serra, A. C.; Pineiro, M.; Rocha Gonsalves, A. M. d'A.; Abrantes, M.; Laranjo, M.; Santos, A. C.; Botelho, M. F. J. *Photochem. Photobiol., B: Biol.* **2008**, 92, 59–65.
- Gorman, A.; Killoran, J.; O'Shea, C.; Kenna, T.; Gallagher, W. M.; O'Shea, D. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10619–10631.
- Azenha, E. G.; Serra, A. C.; Pineiro, M.; Pereira, M. M.; Seixas de Melo, J.; Arnaut, L. G.; Formosinho, S. J.; Rocha Gonsalves, A. M. d'A. *Chem. Phys.* **2002**, 280, 177–190.
- d'Alessandro, N.; Tonucci, L.; Carchesio, M.; d'Ambrosio, P.; Bressan, M. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **2008**, 12, 487.
- Zheng, Y.; Chen, X.; Shen, Y. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 5253–5277.
- Zorlu, Y.; Ermeýdan, M. A.; Dumoulin, F.; Ahsen, V.; Savoie, H.; Boyle, R. W. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2009**, 8, 312–318.
- Moucheron, C. *New J. Chem.* **2009**, 33, 235–245.
- Pucci, D.; Bellusci, A.; Bernardini, S.; Bloise, R.; Crispini, A.; Federici, G.; Liguori, P.; Lucas, M. F.; Russo, N.; Valentini, A. *Dalton Trans* **2008**, 5897–5904.
- Zhu, J.; Zhao, Y.; Zhu, Y.; Wu, Z.; Lin, M.; He, W.; Wang, Y.; Chen, G.; Dong, L.; Zhang, J.; Lu, Y.; Guo, Z. *Chem.—Eur. J.* **2009**, 15, 5245–5253.
- Cubo, L.; Quiriga, A. G.; Zhang, J.; Thomas, D. S.; Carnero, A.; Navarro-Raninger, C.; Berners-Price, S. J. *Dalton Trans.* **2009**, 3457–3466.
- Mao, J.; Zhang, Y.; Zhu, J.; Zhang, C.; Guo, Y. *Chem. Commun.* **2009**, 908–910.
- Farren, C.; FitzGerald, S.; Beeby, A.; Bryce, M. R. *Chem. Commun.* **2002**, 572–573.
- FitzGerald, S.; Farren, C.; Stanley, C. F.; Beeby, A.; Bryce, M. R. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, 1, 581–587.
- Hofman, J.-W.; van Zeeland, F.; Turker, S.; Talsma, H.; Lambrechts, S. A. G.; Sakharov, D. V.; Hennink, W. E.; van Nostrum, C. F. J. *Med. Chem.* **2007**, 50, 1485–1494.
- Kimura, M.; Muto, T.; Takimoto, H.; Wada, K.; Ohta, K.; Hanabusa, K.; Shirai, H.; Kobayashi, N. *Langmuir* **2000**, 16, 2078–2082.
- Zorlu, Y.; Un, I.; Dumoulin, F. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **2009**, 13, 760–768.
- Vacus, J.; Memetizidis, G.; Doppelt, P.; Simon, J. J. *Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 697–698.
- Engel, M. K. In *The Porphyrin Handbook*; Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Elsevier: New York, NY, 2003; Vol. 20 and references therein.
- Jiang, J.; Kucernak, A. *Electrochim. Acta* **2000**, 45, 2227–2239.
- Keen, I. M. *Platinum Met. Rev.* **1964**, 8, 143–144.
- Lever, A. B. P.; Milaeva, E. R.; Speier, G. P. In *Phthalocyanines: Properties and Applications*; Leznoff, C. C., Lever, A. B. P., Eds.; VCH: New York, NY, 1993; Vol. 3.
- Lokesh, K. S.; Uma, N.; Achar, B. N. *Polyhedron* **2009**, 28, 1022–1028.
- Vacus, J. Thèse de Doctorat, Université Paris 6, 1994.
- Vacus, J.; Doppelt, P.; Simon, J.; Memetizidis, G. *J. Mater. Chem.* **1992**, 2, 1065–1068.
- Dumoulin, F.; Zorlu, Y.; Ayhan, M. M.; Hirel, C.; Isci, U.; Ahsen, V. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2009**, 13, 161–165.
- Freas, R. B.; Campana, J. E. *Inorg. Chem.* **1984**, 23, 4654–4658.
- Hill, H. C.; Reed, R. I. *Appl. Spectrosc.* **1967**, 21, 122–123.
- Stillman, M. J.; Nyokong, T. In *Phthalocyanines: Properties and Applications*; Leznoff, C. C., Lever, A. B. P., Eds.; VCH: New York, NY, 1989; Vol. 1, Chapter 3.
- Snow, A. W. In *The Porphyrin Handbook*; Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Elsevier: 2003; Vol. 17, pp 129–176.
- Anderson, A. B.; Gordon, T. L.; Kenney, M. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 192–195.
- Konami, M.; Hatano, M.; Tajiri, A. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, 166, 605–608.
- Enkelkamp, H.; Nolte, R. J. M. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2000**, 4, 454–459.
- Dominquez, D. D.; Snow, A. W.; Shirik, J. S.; Pong, R. G. S. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, 5, 582–592.
- Nyokong, T.; Isago, H. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2004**, 8, 1083–1090.
- Durmuş, M.; Nyokong, T. *Tetrahedron* **2007**, 63, 1385–1394.
- Nyokong, T. *Coord. Chem. Rev.* **2007**, 251, 1707–1722.

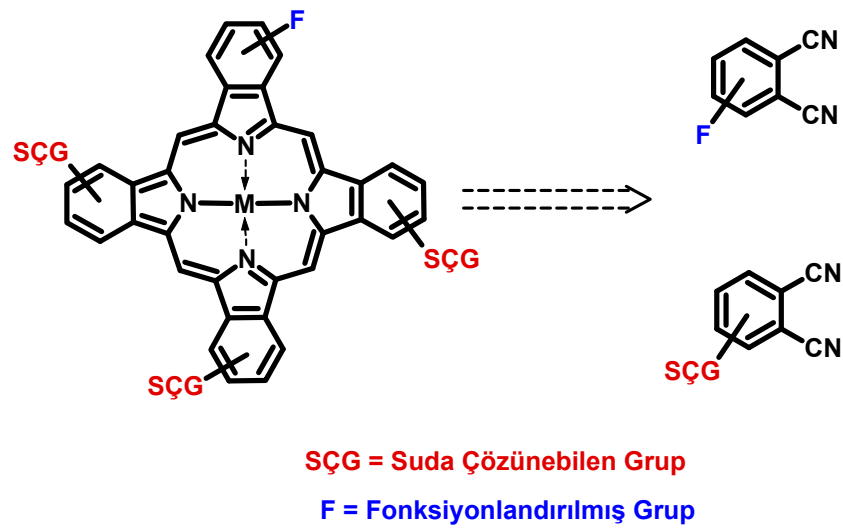
50. Fery-Forgues, S.; Lavabre, D. *J. Chem. Educ.* **1999**, *76*, 1260–1264.
51. Maree, D.; Nyokong, T.; Suhling, K.; Phillips, D. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2002**, *6*, 373–376.
52. Jacques, P.; Braun, A. M. *Helv. Chim. Acta* **1981**, *64*, 1800–1806.
53. Du, H.; Fuh, R. A.; Li, J.; Corkan, A.; Lindsey, J. S. *Photochem. Photobiol.* **1998**, *68*, 141–142.
54. Seotsanyana-Mokhosi, I.; Kuznetsova, N.; Nyokong, T. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.* **2001**, *140*, 215–222.
55. Ogunsipe, A.; Nyokong, T. *J. Mol. Struct.* **2004**, *689*, 89–97.
56. Ogunsipe, A.; Chen, J.; Nyokong, T. *New J. Chem.* **2004**, *28*, 822–827.
57. Rose, J. *Advanced Physico-chemical Experiments*, 1st ed.; Sir Isaac Pitman & Sons: London, 1964; p 257.

4. BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN FONKSİYONLANDIRILMIŞ ASİMETRİK AB₃ TİPİ FTALOSİYANİNLER

Asimetrik ftalosiyaninler sahip olduğu esnek kimyasından dolayı birçok alanda yaygın kullanım alanı bulmuştur. Son yıllarda tedavi yöntemlerinde ‘‘akıllı moleküller’’ olarak kullanılan asimetrik ftalosiyaninlerin pek çok bilimsel çalışma ile etkinliği test edilmektedir. Biyomedikal alanda kullanılacak asimetrik ftalosiyaninlerde iki önemli parametre üzerinde durmak gerekir. Bu parametrelerden birincisi molekülün tasarımı, ikincisi sentez stratejisidir.

Molekül Tasarımı: Molekülün biyolojik uyumluluk gösterebilmesi daha çok hidrofilik karaktere sahip olması gerekmekte ve bünyesinde suda çözünür grupların (SÇG) olması kaçınılmazdır. Bu sebeple molekülde SÇG’ların istatistiksel kondenzasyonda oranı en fazla olan gruplar olarak seçilmesi gerekmektedir. Fonksiyonlu gruplar da (F) hedefe yönelik tedavide etkin rol oynamaktadır.

Sentetik Strateji: Tasarlanan molekülün sentezinde uygulanacak metotlar belli aşamalardan oluşmalıdır. Örneğin AB₃ tipi asimetrik ftalosiyaninlerde bu durum aşağıda özetle gösterilmiştir. Sentez metotları ile ilgili ayrıntılı bilgiler 4.2. kısımda yer almaktadır.



Şekil 4.1. Hedefe Yönelik Asimetrik Ftalosiyaninler İçin Genel Sentez Stratejisi

4.1. Biyomedikal Uygulamalar İçin Sentezlenmiş Asimetrik Ftalosiyaninler

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

Ftalosiyanin fotosensitizerlerinin tümör seçiciliğini artırmanın farklı bir yolu ise oligonükleotitler [138-141, 159-161], antikorlar [142-147], proteinler [148-152], siklodekstrinler [153] gibi biyomoleküllerin ftalosiyaninlere konjugasyonu ile mümkün olabilmektedir. Bu şekilde sentezlenen konjugatlar kanser hücresine karşı seçiciliği daha da artırabilmektedir. Geçen on yıl üzerindeki sürede bazı kanser hücrelerine karşı *in-vitro* denemelerde kullanılan fonksiyonlandırılmış asimetrik ftalosiyaninlerin önde gelenleri aşağıda daha kapsamlı bir şekilde anlatılmıştır.

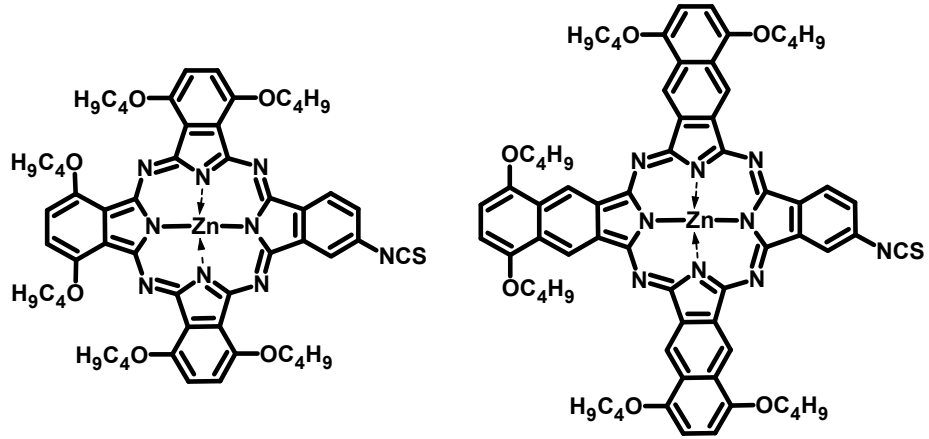
4.1.1. Ftalosiyanin-Antikor Konjugasyonu ile Fotodinamik Terapi Etkinliği

Antikor yapımı yalnız hastalık etkenlerine karşı korunma veya tedavi amacına yönelik değildir. Normal hücrelerin yüzeylerinde bulunan ve kendilerine özgü kimyasal bileşikler bağlayan alıcıları (reseptörleri), vücuttaki bazı proteinleri, kanser hücreleri yüzeyinde bulunan farklı ve değişik molekülleri hedefleyen antikorlar da yapılabilmektedir. Antikorların dikkate değer bu özellikleri onları, hastalıkların tedavisi için umut verici ve geleceği parlak ajanlar durumuna getirmiş ve özel klon antikorları araştırmaları başlatılmıştır. Monoklonal antikorlar bir özel antijene karşı laboratuvar ortamında yapay olarak üretilen,

ileri derecede özel ve yalnız kendisinin hedeflediği antijenlere bağlanan antikorlardır. Bir hücre klonundan üretildikleri için “monoklonal” olarak adlandırılırlar. Üretilen her bir monoklonal antikor kesin olarak birbiriyle benzerdir. Bu nedenle, tedavi ve tanıda ortak uygulanabilme özellikleri vardır. Bazı yazılımlarda “MoAbs” veya “MAbs” gibi kısaltmalar kullanılmaktadır [154].

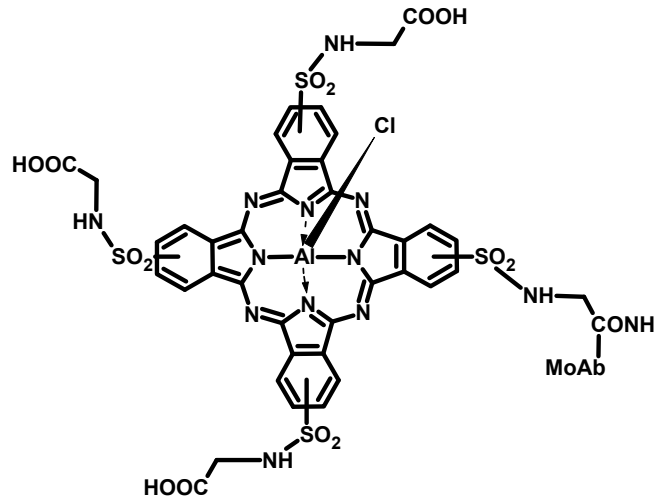
Fotosensitizerin spesifik tümör antijenlerine, spesifik monoklonal antikor MoAbs ile konjuge edilmesi, fotosensitizerin tümör seçiciliğini arttırmaya yönelik başka bir uygulamadır. Bu antijenler sadece tümör hücrelerinde eksprese edilen antijenler olabileceği gibi tümör hücrelerinde normal hücrelerden daha fazla eksprese olan antijenler de olabilir. MoAb ile fotosensitizerin tümöre spesifik olarak konjuge halde kullanılmasına “fotoimmuno-targeting” denir. MoAb-fotosensitizer konjugantları iki şekilde sentezlenebilir: (a) Fotosensitizer MoAb’ye doğrudan bağlanabilir, (b) Konjugant oranını arttırmak için fotosensitizer, Moab’ye bir polimer aracılığı ile bağlanabilir [155]. Burada kullanılan polimerler dextranlar, poliglutamik asit (PGA), polivinil alkoller (PVAs), poli [N-(2-hidroksipropil) metakrilamit] ve poli-L-lizinler olabilir [83].

Porfirin ve ftalosiyanin türü ışığa duyarlı maddelerin absorpladıkları ışınların görünür dalga boyu aralığında olmaları bazı dezavantajları da beraberinde getirmektedir. Örneğin; tedavi uygulanan hastanın, kendisini uzun süre güneş ışınlarından koruması gerekmektedir. Vücuda verilen fotosensitizerin bütün bedene veya belirli bölgeye yayılmasını önlemek için, izotiyosiyanat (NCS) grupları içeren yeni tip fotosensitizerler sentezlenmiştir. İzotiyosiyanat grubu içeren fotosensitizerler, kanser hücresine uygun olarak seçilen antikorun amin gruplarına bağlanmakta ve böylece fotosensitizer antikorla adreslenmiş olmaktadır. Fotosensitizer bağlı antikor bedene verildiğinde, bütün vücuda ya da bölgeye dağılmadan tümör hücrelerinde toplanması sağlanmakta ve bu bölgeye, uygun dalga boyunda lazer ışını uygulandığında, oluşan singlet oksijen kanserli hücreleri yok etmektedir. Böylece, hasta güneş ışığına maruz kalmış olsa bile, diğer hücreler herhangi bir tahribata maruz kalmamaktadırlar [147, 155]. Boyle ve çalışma grubu tarafından 2005’te yapılan çalışmada, biyolojik görüntüleme için en uygun spektral bölgede absorpsiyon ve emisyon yapabilen AB₃ yapısındaki ftalosiyanin ve naftobenzoporfirazin türevi rapor edilmiştir (Şekil 4.2) [147].



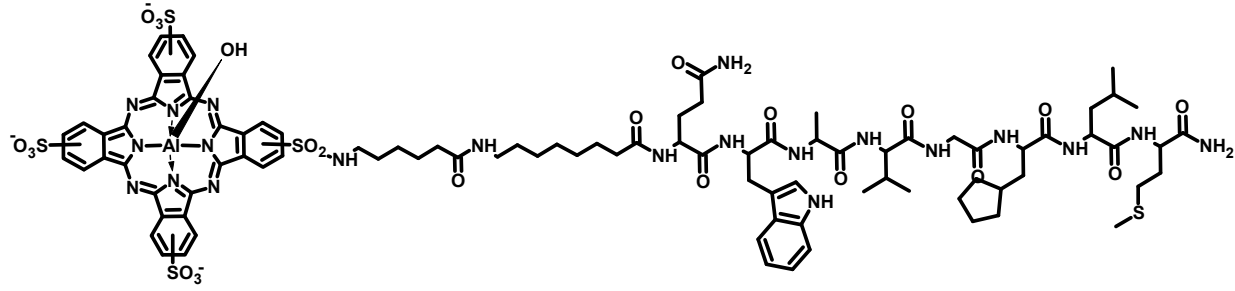
Şekil 4.2. İzotiyosiyanat Süstitüe Asimetrik Ftalosiyanınlar [147]

2001 ve 2002 yılında ayrı ayrı yayınlanan çalışmalarda, van Dongen ve çalışma grubu tarafından MoAb'ye direk bağlanabilen alümiyum ftalosiyanınin sentezini gerçekleştirmiş ve kanser hücrelerine karşı denemelerini *in vitro* denemelerle incelemişlerdir (Şekil 4.3) [145, 146].



Şekil 4.3. MoAb'ye Direk Bağlanan Al(III) Ftalosiyanın [145, 146]

2008 yılında van Lier ve çalışma grubu tarafından PC-3 prostat kanser hücrelerine karşı bombesin-AlPcS₄ konjugatının sentezini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 4.4).

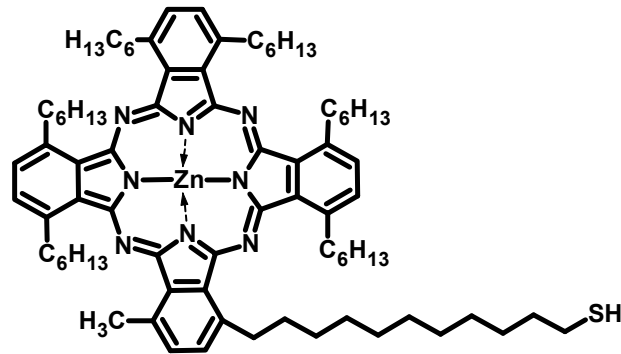


Şekil 4.4. Bombesin-AlPcS₄ Konjugatın Yapısı [201]

Kurbağa derisinden izole edilen 14-aminoasitlik bombesin peptidi [Pyr-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂], insandaki gastrin-releasing peptit reseptörleri ile homolog yapıdadır. Hazırlanan ftalosiyanın-bombesin konjugatlarının, seçici kanser hedefleme yetenekleri, *in vitro* kararlılığından dolayı kanser tedavisinde eşsiz fırsatlar sağlamaktadır [201].

4.1.2. Ftalosiyanın-Altın Nanopartikül Konjugasyonu ile Fotodinamik Terapi Etkinliği

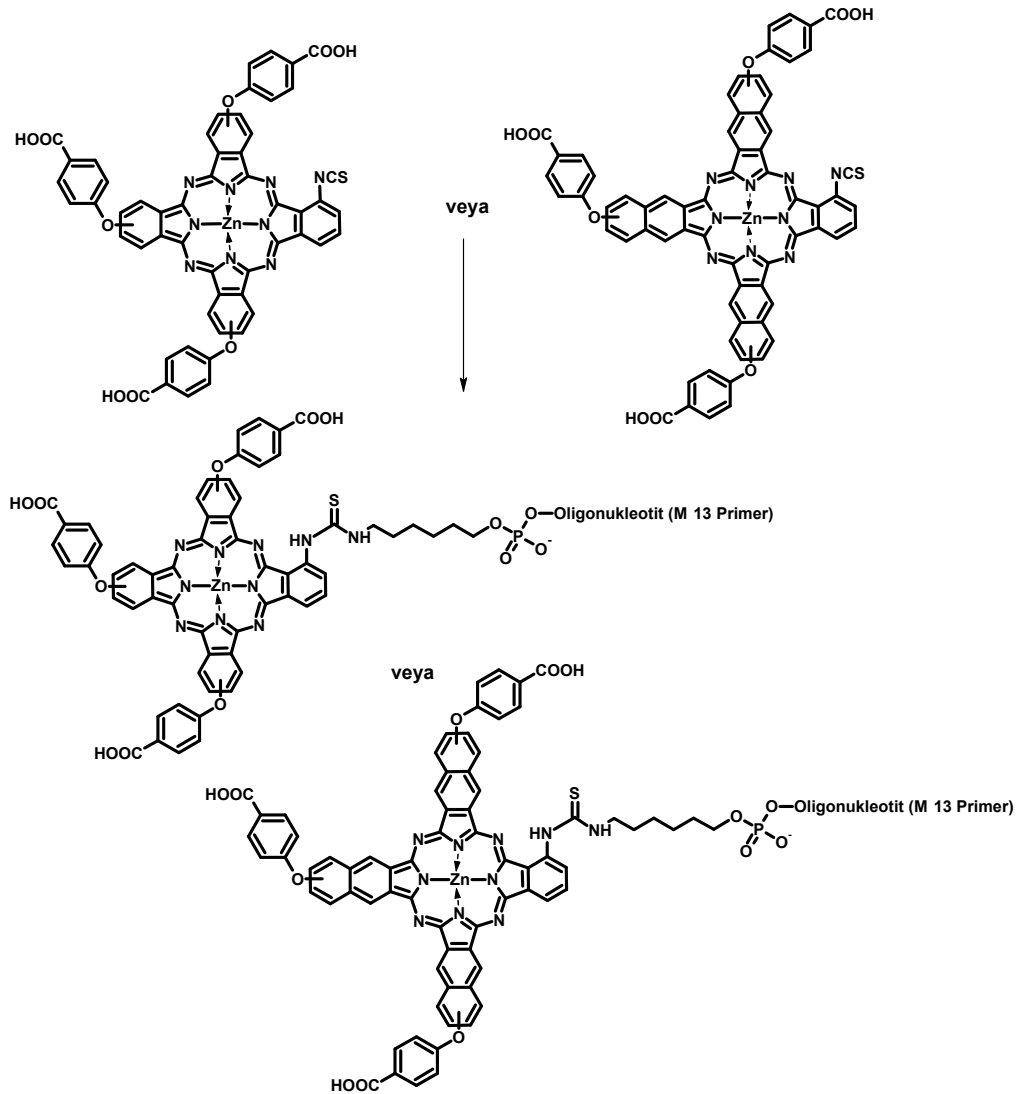
Fotosensitizer taşımını ve etkinliğini arttırmak için uygulanacak diğer bir strateji de, altın nanopartiküllerine fotosensitizer moleküllerini bağlamaktır. 2002 yılında Russell ve çalışma grubu tarafından yapılan bir çalışmada, tiyol grubu ile fonksiyonlandırılmış AB₃ yapısındaki Zn(II) ftalosiyanın bileşiği altın nanopartiküllere bağlanmıştır. Bu ftalosiyanın bileşiğinin fotodinamik terapi için etkin bir singlet oksijen oluşturma kapasitesine sahip bir fotosensitizer olduğu rapor etmişlerdir (Şekil 4.5) [157, 202].



Şekil 4.5. Merkaptotiyol İle Fonksiyonlandırılmış Asimetrik Ftalosiyanın [157, 202]

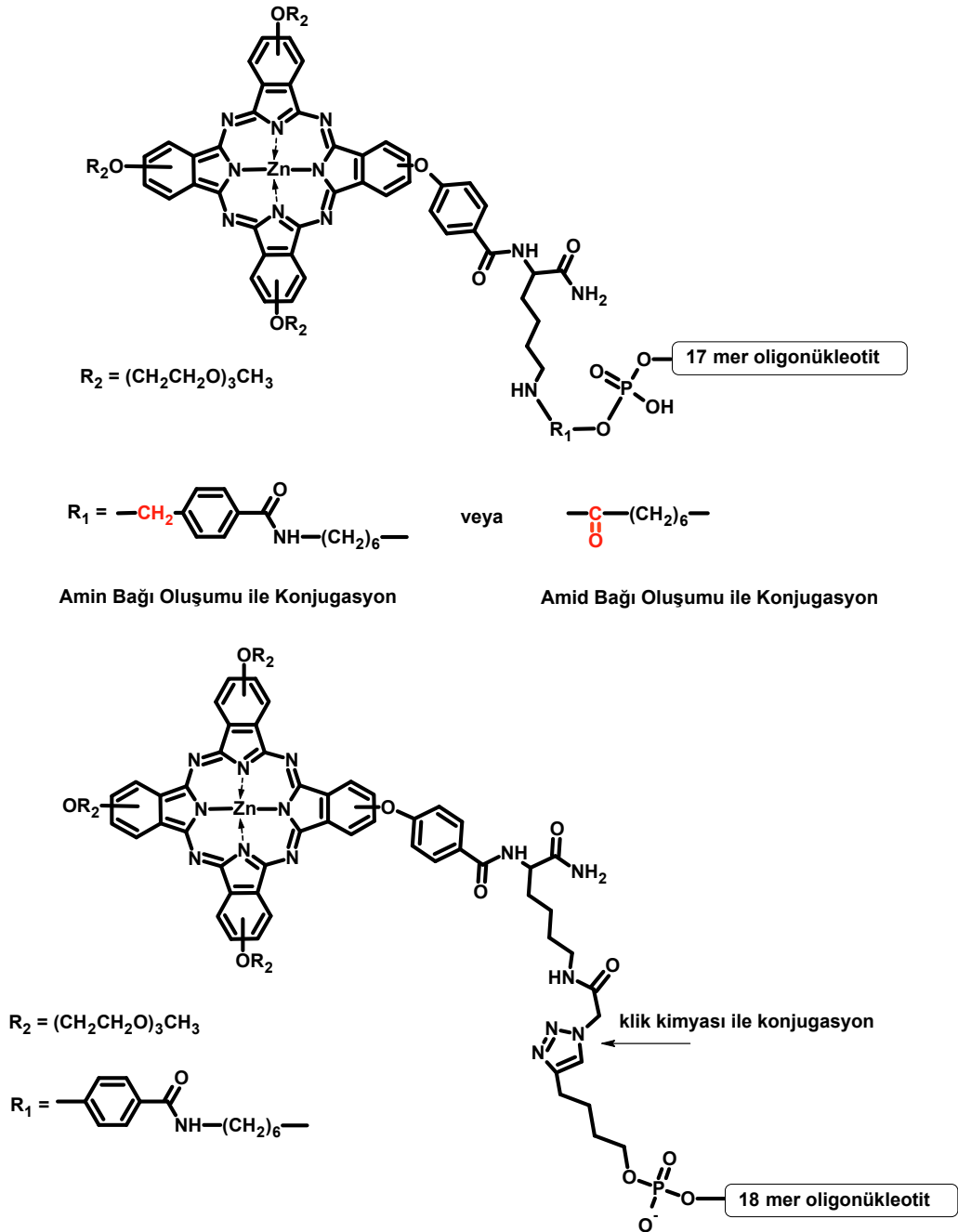
4.1.3. Ftalosiyanin-Oligonükleotit Konjugasyonu ile Fotodinamik Terapi Etkinliği

2002 yılında Soper ve çalışma grubu tarafından yayınlanan çalışmada iki farklı aromatik dinitril türevinden istatistiksel metotla (-NCS) gibi fonksiyonlu gruba sahip AB₃ tipi çinko ftalosiyanin ve naftalosiyanin bileşiklerinin sentezini rapor etmişlerdir. Elde edilen bileşiklerin sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir [3.24]. Sentezi gerçekleştirilen 1 ve 2 numaralı (-NCS) fonksiyonlu gruba sahip ftalosiyanin bileşikleri oligonükleotit (M13 primer) gruplarına başarılı bir şekilde bağlanmışlardır (Şekil 4.6). [158].



Şekil 4.6. İsoftalosiyanat Süstitüe Çinko Ftalosiyaninin Oligonükleotit İle Konjugasyonu [158]

2009 yılında Soper ve çalışma grubu tarafından yayınlanan bir diğer çalışmada, amin, amid oluşumu veya klik kimyası yolu ile (Huisgen 1,3-dipolar halka ekleme reaksiyonu) asimetrik AB₃ yapısındaki Zn(II) ftalosiyanınlar oligonükleotitlere (18-Mer veya 17-Mer oligonükleotit) kovalent bağlarla konjuge edilmiştir (Şekil 4.7) [203].



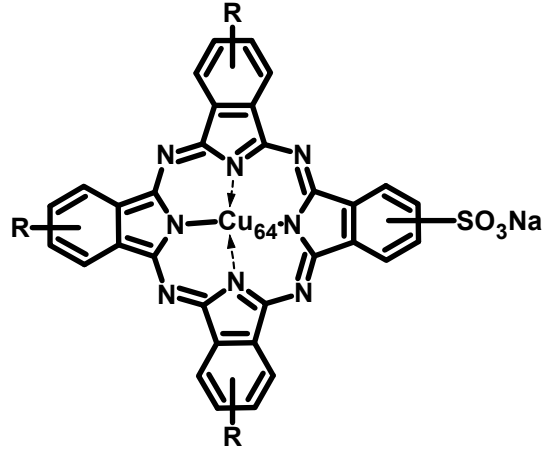
Şekil 4.7. Sübstitüe Zn(II) Ftalosiyanının Oligonükleotit İle Konjugasyonu [203]

4.1.4. Ftalosiyeninlerin PET Görüntüleme Yönteminde Kullanımı

Modern görüntüleme tekniklerinin temel amacı, vücuda hiç bir hasar vermeden ya da mümkün olan en az zararı vererek en detaylı görüntüleri elde etmektir. Son yıllarda geliştirilen ve "Pozitron Emisyon Tomografisi" (PET) olarak adlandırılan bir görüntüleme yöntemi organların sadece şekillerini ortaya koymakla kalmıyor, işlevsel değişiklikleri de gösteriyor. Bu teknik ilk olarak 1970'lerin başlarında geliştirilmiş, ancak tıp alanındaki kullanımı 90'lı yıllarda başlamıştır [162].

Bu teknikle, herhangi bir organın çalışmasındaki bozukluk hücre düzeyinde tespit edilebilmektedir. PET tetkiki sırasında insan vücuduna damar yoluyla verildiğinde hedef organa giderek hücrelere bağlanan ya da hücrelerin içerisine giren bazı kimyasal bileşikler kullanılmaktadır. Bu bileşikler hücrelerin yüzeyinde ya da içerisinde bulunan moleküllere benzer yapıya sahip olmak zorundadır. Ancak vücuda verildikten sonra dışarıdan takip edilebilmesi için çok az miktarda radyoaktivite taşıyan bazı atomlarla işaretleniyor. Bu radyoaktif atomlar bozunmaya uğradıkça meydana gelen enerji vücut dışarısında bulunan bir tarayıcı ile ölçülüyor. Algılanan bu enerji sinyalleri organın üç boyutlu şeklini çıkartıyor. [163, 164].

PET görüntüleme yönteminde ftalosiyeninlerin kullanımı ile ilgili literatürde oldukça az çalışma yer almaktadır. 2008 yılında van Lier ve çalışma grubu tarafından, suda çözünür asimetric ftalosiyenin bileşiğinin sentezini gerçekleştirmişlerdir. Bu ftalosiyenin türevinin kanser hücresi taşıyan farelerde PET görüntüleme yönteminde başarılı bir şekilde kullanıldığı rapor edilmektedir (Şekil 4.8) [164].



Şekil 4.8. $[^{64}\text{Cu}]\text{CuPcS}_n$; R = H or SO_3Na [164]

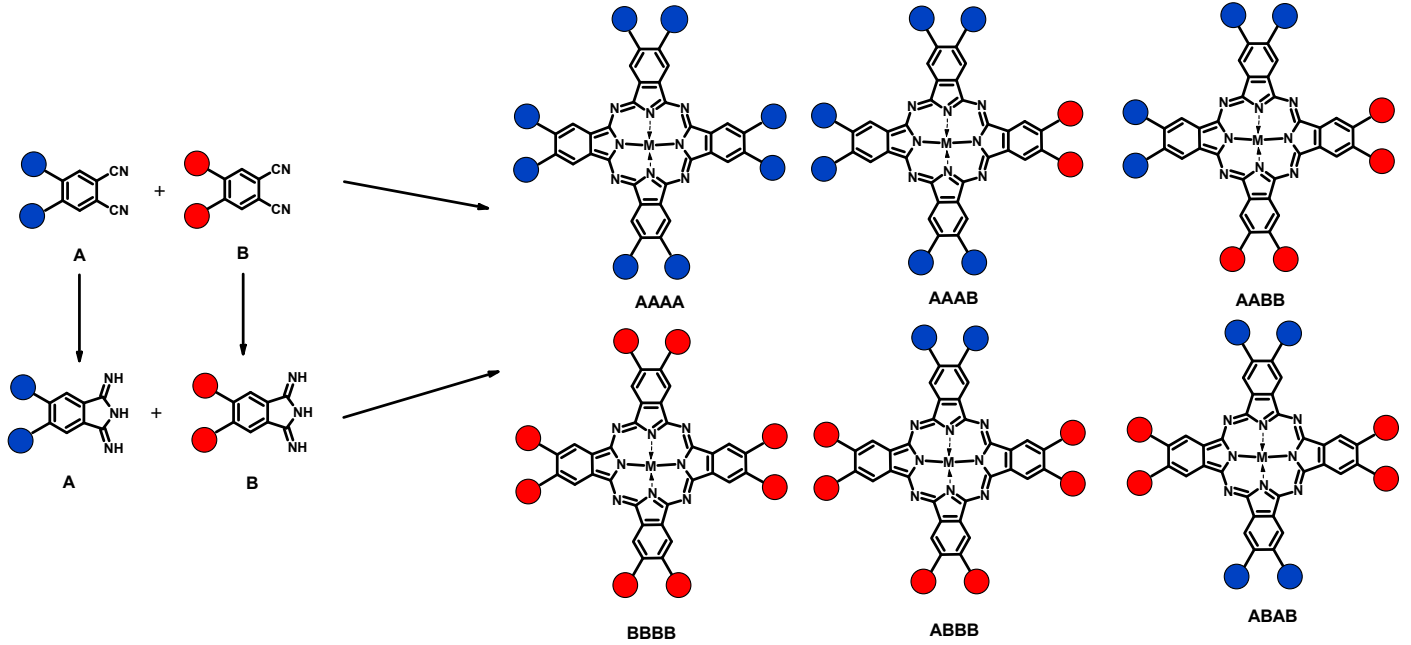
4.2. Asimetrik Ftalosiyenin Sentez Metodu

Son yıllarda araştırmacılar, asimetrik süstitüe ftalosiyenin sentezinde seçici metodlar bulmak için gayret etmektedirler. Asimetrik yapılar genellikle iki farklı izoindol ünitesi (A ve B) içermektedirler. Hedeflenen ürünün türüne göre (AB_3 veya A_2B_2) spesifik yaklaşımlar uygulanabilmektedir. AB_3 türü bir asimetrik ftalosiyenin sentezi için üç farklı yöntem vardır. Bunlar, istatistiksel kondenzasyon yöntemi, subftalosiyenin yaklaşımı ve polimer destekli sentez yöntemidir.

4.2.1. İstatiksel Metot ile Asimetrik AB_3 Türü Ftalosiyenin Sentezi

Asimetrik ftalosiyenin sentezinde kullanılan en yaygın yol ftalonitril veya diiminoizindolin karışımının siklotramerizasyonudur [165]. Teorik olarak iki farklı ftalonitril'den altı farklı ftalosiyenin oluşur (Şekil 4.9) [166]. Başlangıç maddelerinin miktarları kontrol edilerek istenen asimetrik ftalosiyenin verimi arttırılabilir. Bununla birlikte pratikte ftalonitril karışımının reaksiyonu önemli miktarlarda en az iki ftalosiyenin verir. İstenen ftalosiyenin bunların arasından kromatografik yöntemle ayrılır. Böylece, iki farklı tip süstitüent içeren ftalosiyeninler arasından farklı kromatografik özellik gösteren çözünür

ftalosiyeninlerin seçilmesi gerekmektedir. Şekil 4.9'daki istatistiksel sentezde iki nitril (**A** ve **B**) arasındaki oran değiştirilerek elde edilen her izomerin miktarı değiştirilebilir. Böylelikle istenilen izomer iyi bir verimle elde edilebilir.



Şekil 4.9. İki Farklı Ftalonitril veya Diiminoizindolinden Elde Edilebilen Altı Farklı Ftalosiyenin Sentezi [166]

Aşağıda bu altı izomerin ürün karışımlarının tahmini nispi oranları, **A** ve **B** nin çeşitli stokiyometri ile basit bir model farz edilerek bütün adımlarda eşit kinetiğe sahip olduğu düşünülerek anlatılmıştır.

Tablo 4.1. Ürün Karışımlarının İstatistiksel Metotla Hesaplanan Oranları

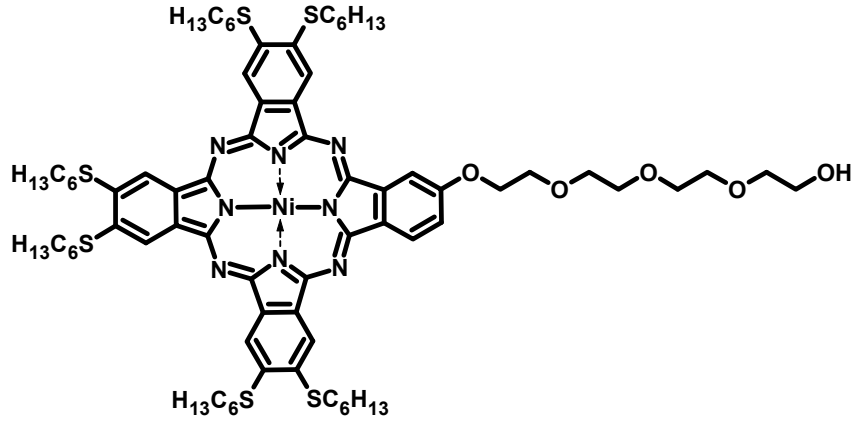
A:B	AAAA	AAAB	ABAB	AABB	ABBB	BBBB
1:1	6.25	25	12.5	25	25	6.25
3:1	31.6	42.2	7.0	14.1	4.7	0.4
9:1	65.6	29.2	1.6	3.2	0.4	0.01
Permutasyonlar	1	4	2	4	4	1

A ve **B** nin arasındaki oran 1:1 (%50) ise elde edilme olasılıkları AA, AB ve BA için yaklaşık $(0.5)^2 = 0.25$. Bununla birlikte AB ile BA'nın aynı katkısı sağladığı göz önünde bulundurulmalıdır. Çünkü **A** ve **B** nin iki yerde iki permütasyonu vardır. Ayrıca belirlenmiş altı ftalosiyenin olasılığı $(0.5)^4 = 0.0625$

tir. Bu sayı permütasyon sayısı ile çarpılmalıdır. Bu basit modelde template, sterik, elektronik etki ve reaksiyon sırasında dinitrillerin oranında reaksiyon boyunca meydana gelen değişiklik dikkate alınmamıştır.

Tabloda 4.1’de verilen örnekte permütasyon sayılarıyla ve ürünlerin tahmini oranları farklı reaksiyonların stokiyometrisi Cook modelinde verildiği gibi kullanılmıştır. Tabloda istatistiksel metottan tahmini oranların belirlenmesi açık bir şekilde ifade edilmiştir. Buradaki bilgilere dayanarak arzu edilen ftalosiyaninin miktarı belirlenerek **A** ve **B** nin konsantrasyonu değiştirilerek farklı oranlarda ürün izomerlerini elde etmek mümkündür [167]. Burada 3:1 oranında A ve B dinitrilleri kullanarak istenilen **AAAB** ürünü yaklaşık olarak % 42 lik verimle elde dileyebilir [168, 169].

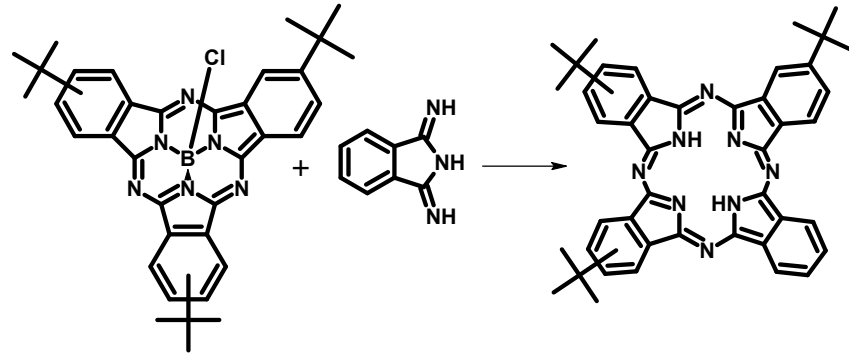
Bazı çalışmalarda **A** ve **B** ftalonitrillerini 1:10 oranında kullanılmasıyla gerçekleşen istatistiksel kondenzasyon yönteminde sadece iki ftalosiyanin (**ABBB** ve **BBBB**) elde edilmiştir. Bu yöntem arzu edilen ftalosiyaninin (**ABBB**) yüksek verimle elde edilmesi sağlamış ve saflaştırma işlemlerinde de kolaylık getirmiştir (Şekil 4.10) [179].



Şekil 4.10. Asimetrik AB₃ Tipi Ni(II) Ftalosiyanin [179]

4.2.2. Subftalosiyanin Yaklaşımı ile Asimetrik AB₃ Tipi Ftalosiyaninlerin Sentezi

Subftalosiyaninler, asimetrik süstitüe ftalosiyaninlerin hazırlanmasında önemli başlangıç maddeleridir [170]. AB₃ yapısındaki asimetrik ftalosiyaninlerin seçimli sentezi ile ilgili bu yöntem ilk defa Kobayashi ve grubu tarafından 1980 yılında bulunmuştur (Şekil 4.11) [171]. Geometrik olarak gergin olan subftalosiyanin çekirdeği diiminoizoindolin (veya süksinimid) türevinin varlığında hızlı bir şekilde açılmakta ve AB₃ asimetrik yapısını oluşturmak için diiminoizoindolin ile halka genişlemesi reaksiyonu vermektedir. Bu reaksiyon pek çok durumda oldukça seçici ve etkilidir. Ayrıca daha önce sentezlenemeyen ftalosiyaninlerin sentezlenmesine de olanak sağlamıştır [172].



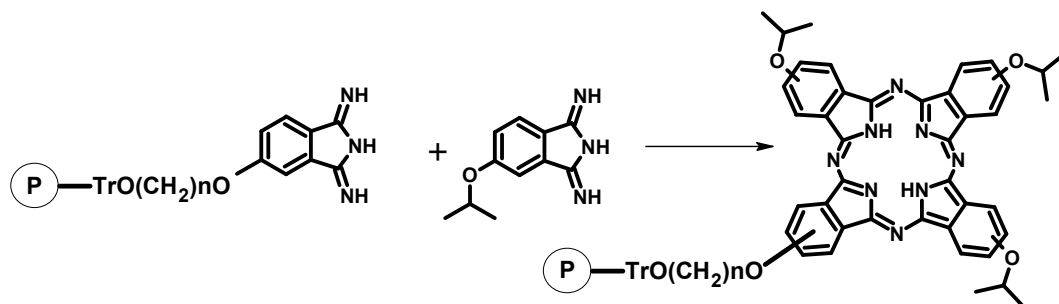
Şekil 4.11. Subftalosiyanin Yaklaşımı ile Asimetrik Ftalosiyanin Sentezi [172]

Son yıllarda yapılan çalışmalar bu sentetik yöntemin, hem reaksiyon koşullarına hem de başlangıç maddelerinin özelliklerine oldukça bağlı olduğunu göstermiştir [173, 174]. Örneğin, tipik bir halka genişlemesi diiminoizoindolin türevinin 6-9 eşdeğer oran kullanılarak subftalosiyaninin DMSO/1-kloronaftalen veya diklorobenzen ya da (dimetilamino)etanol çözücülerinde 80-100 °C'de 5-12 saat aralığında bekletilmesiyle gerçekleşmektedir. Bu tür reaksiyonlarda istenilen asimetrik yapı 3-90 % verimle elde edilebilmektedir. Torres ve grubu 1995 yılında yaptıkları çalışmalarla, kısmen veya tamamen subftalosiyanin halka açılması reaksiyonunun başlangıç maddesi diiminoizoindolini de içeren altı farklı ürün karışımının oluşacağı bir reaksiyon

olabileceğini ileri sürmüştür [172]. Wöhrle ve grubu ise yaptıkları çalışmalarında metalin template etkisinin, hem AB₃ maddesi hem de reaksiyon karışımındaki diğer ürünlerin verimlerini arttırdığını tespit etmişlerdir. Yine bu çalışmada, subftalosiyaninin kendisinden daha az reaktif bir ftalonitril türevi ile DBU gibi kuvvetli bir baz varlığında iyi bir verimle AB₃ maddesini oluşturduğu görülmüştür [175]. Subftalosiyanin yaklaşımı ile asimetrik ftalosiyanin sentezinde, en yüksek verimler ve en iyi seçicilik, subftalosiyaninin hiçbir süstitüent taşımadığı veya elektron çekici gruplar ile diiminoizoindolin türevinin elektron veren süstitüentlere sahip olması durumunda elde edilmiştir.

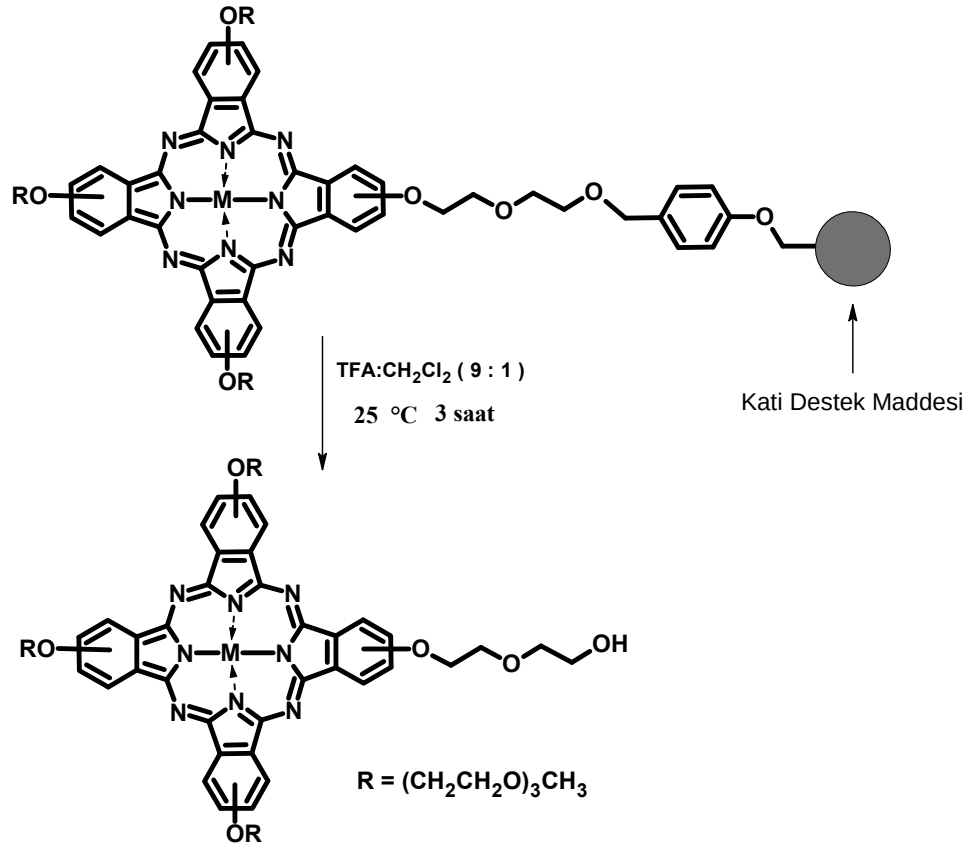
4.2.3. Polimerik Destek Yöntemi ile Asimetrik AB₃ Tipi Ftalosiyaninlerin Sentezi

AB₃ yapısındaki asimetrik ftalosiyaninlerin seçimli sentezi ile ilgili bu yöntem Leznoff ve Hall tarafından geliştirilmiştir (Şekil 4.12) [176]. Bu metotta, bir diiminoizoindolin veya ftalonitrilin (B) çözünmeyen bir polimere bağlanması sağlanıp farklı bir diiminoizoindolin (A) ile reaksiyonu gerçekleştirilir. Ardından ilk olarak simetrik ftalosiyanin (A₄) daha sonra hedeflenen asimetrik yapı polimer desteğinden kopartılır. Bu yöntemde verimler yaklaşık 20-25 % civarındadır. Modifiye edilmiş silika jeller, bu tür katı faz reaksiyonlarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadırlar. Bu yöntemdeki en önemli kısıtlama ise kullanılacak olan ftalonitrillerdeki fonksiyonel grupların polimere bağlanıp daha sonra yine polimerden ayrılabilen gruplar olması gerektiğidir. Ancak son yıllarda gerek katıfaz teknolojisindeki ilerlemeler ve gerekse pek çok katı fazın ticari olarak yaygın bir şekilde bulunabilmesi bu yöntem ile asimetrik ftalosiyaninlerin sentezinde oldukça ümit verici bir gelişme olmuştur.



Şekil 4.12. Polimerik Destek Yöntemi ile Asimetrik AB₃ Tipi Ftalosiyaninlerin Sentezi [176]

Bu konudaki diğer bir çalışma, Hammer ve çalışma grubu tarafından 2009 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada asimetrik AB₃ tipindeki ftalosiyanınların PEG (polietilen glikol) destekli katı destek maddesi kullanarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.13) [204].



Şekil 4.13. Oligo(etilenglikol) Süstitüe Asimetrik AB₃ Tipi Ftalosiyanınların Katı Faz Sentezi [204]

4.3. Bu Çalışmada Tasarlanan Moleküller

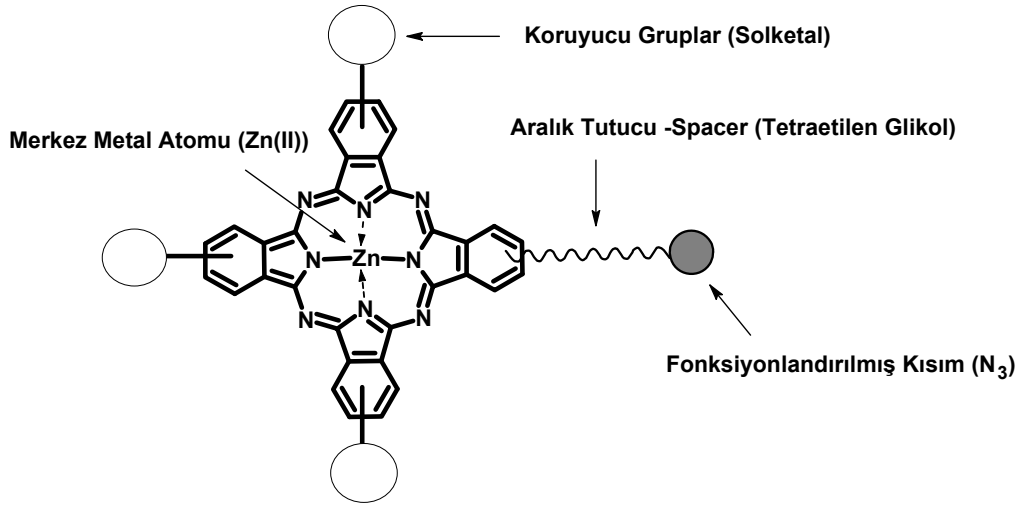
Bu bölümde biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere tasarladığımız fonksiyonlandırılmış AB₃ yapısındaki asimetrik metalli ve metalsiz ftalosiyanın türevlerinin sentezi amaçlanmıştır. “Etkin fotosensitizer hazırlanması” amacı taşıyan bu çalışmada 2 tip hedef ftalosiyanın sentezlenmiştir. Bu ftalosiyanınlar;

- Fotodinamik Terapide Kullanılmak Üzere, Karbonhidrat Gruplarına Bağlanacak Azido ($-N_3$) Grubu Taşıyan Asimetrik AB_3 Tipi Zn(II) Ftalosiyanın
- PET Görüntüleme Tekniğinde Kullanılmak Üzere, Peptit Gruplarına Bağlanacak Karboksilli Asit ($-COOH$) Grubu Taşıyan Metalsiz Asimetrik AB_3 Tipi Ftalosiyanın

Hedef ftalosiyanın bileşiklerinin hücrelerin membran reseptörleri, hücre matriks veya hücre protein reseptörleri ve hücre komponentleri ile etkileşmesinin maksimum seviyede tutulması gerekmektedir. Ftalosiyanın halkası ile fonksiyonlu grubun arasını açacak spacer gibi bir grubun varlığı ile olmaktadır. Spacer grubu her iki tip ftalosiyanın bileşiğinde yer alması planlandı.

4.3.1. Fotodinamik Terapi Uygulamaları İçin Azido ($-N_3$) Grubu Taşıyan Asimetrik Zn(II) Ftalosiyanın

1.tip asimetrik AB_3 türü Zn(II) başlangıç ftalosiyanın bileşiğinin sentezlenmesindeki amaç, daha ileri reaksiyonlarda klik kimyasını kullanarak karbonhidratların (glukoz, galaktoz, mannoz ve laktoz) çok yüksek bir verimle, azido ($-N_3$) grublu ftalosiyanın moleküllerine süstitüe edilmesidir. Karbonhidratların bir çok biyoloji rolleri vardır. Karbonhidratlar proteinlere (glikoproteinler) ve yağlara (glikolipitlere) bağlanabilirler ve bu glikolizlenmiş moleküller (i) proteinlerin hücre içindeki yerlerini belirlemede sinyal verici işlevi görürler (ii) hücrelerin birbirini tanımalarını sağlayarak, doku ve organ oluşumunda fonksiyon sahibidirler. Elde edilecek olan karbonhidratlı ftalosiyanın PDT açısından biyolojik uyumluluğun artırabileceği düşünülmüştür. Ftalosiyanın-karbonhidrat konjugatları hazırlamak için bu çalışmada tasarlanan ftalosiyanın bulunması gereken özellikler aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.14. 1. Tip Fonksiyonlandırılmış Asimetrik Ftalosiyaninde Rol Oynayan Önemli Parametreler

Azido (-N₃) Fonksiyonlu Grup: “Klik” kimyası Huisgen reaksiyonu [206] olarak bilinmektedir ve son yıllarda sık kullanılmaktadır. Azit-Alkin Huisgen Reaksiyonu bir azit ve bir alkin grubu arasında 1,3-dipolar halkalanması sonucu 1,2,3-triazole sentezidir. Ftalosiyaninlerin üzerine karbonhidratların süstitüe edilmeleri için (-N₃) gibi fonksiyonlu grubun olması gerekmektedir. Klik kimyası ile ftalosiyaninlerin karbonhidratlar ile konjugasyonu Lyon 1 Üniversitesi’den Dr. Dominique Lafont tarafından gerçekleştirilmiştir.

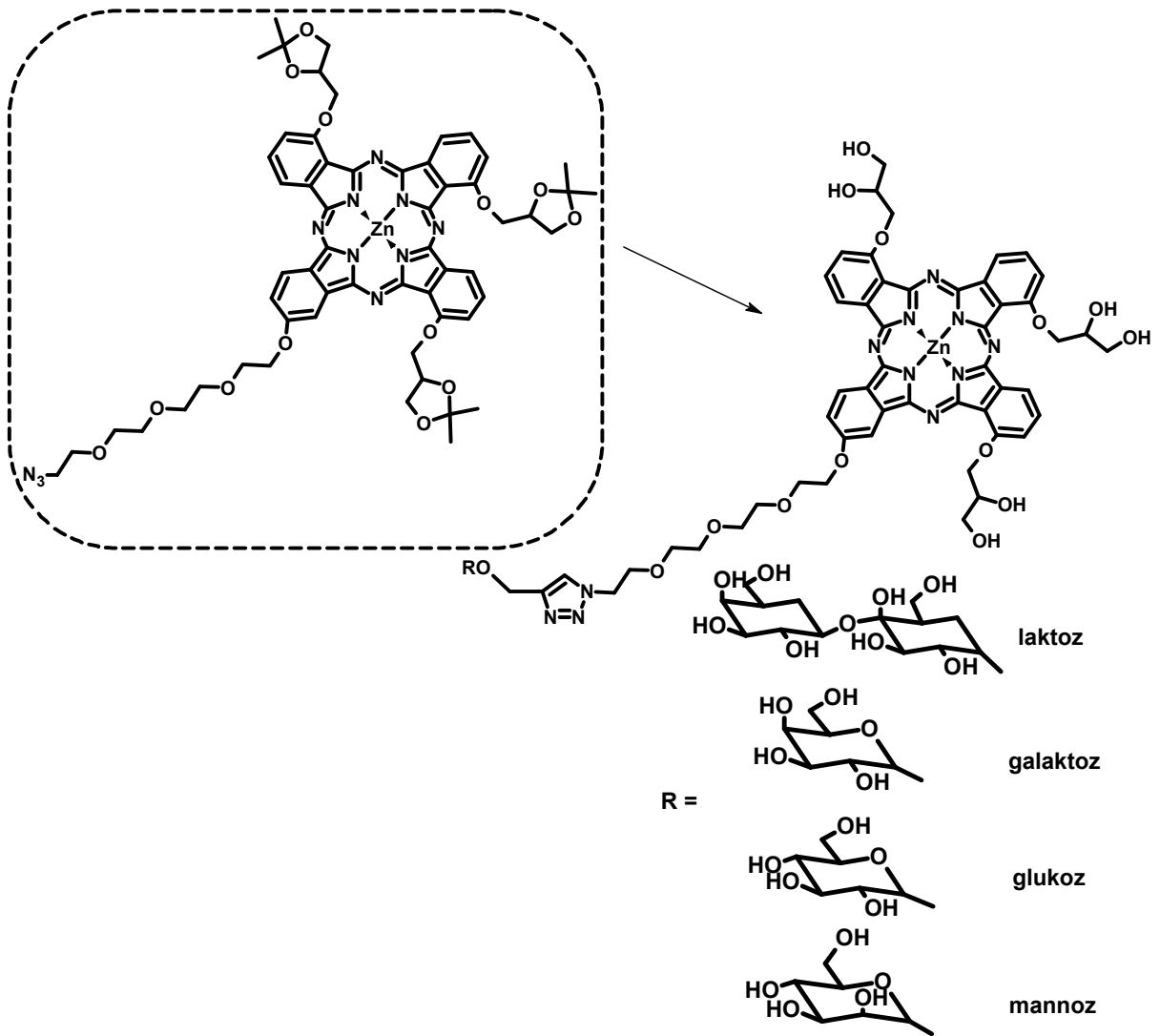
Merkez Metal Atomu Olarak Zn(II): Zn(II) metal atomunun fotodinamik terapi çalışmalarında en çok tercih metaller arasındadır. Zn(II) ftalosiyaninin fotodinamik terapide etkin bir şekilde singlet oksijen oluşturabilme yeteneğine sahip bileşikler olduğu bilinmektedir.

Süstitüent Olarak Solketal: AB₃ tipi ftalosiyaninin non-periferal konumlarında 3 adet solketal grubunun olması düşünülmüştür. Solketal gruplarının hidroliz edilmesi ile molekül daha çok hidrofilik karaktere sahip olacaktır.

Aralık Tutucu-Spacer: Ftalosiyanin makrohalkası ile fonksiyonlandırılmış kısım arasındaki mesafeyi olabildiğince artırmak için kullanılmaktadır. Bu şekilde fotosensitizer ile hücre ortamı daha kuvvetli etkileşme gösterecektir. Bu

çalışmamızda spacer olarak tetraetilenglikol zincirlerinin kullanılması daha uygun olacağı düşünülmüştür.

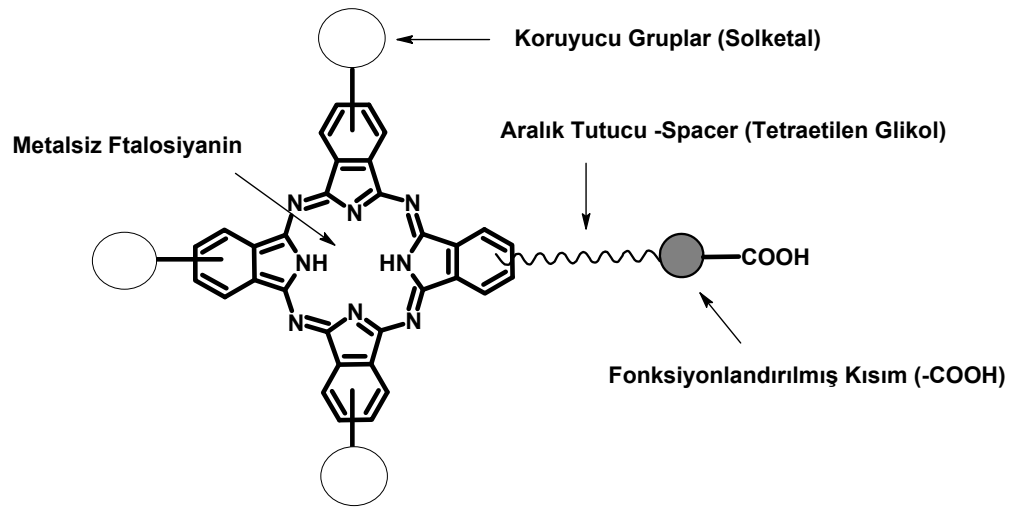
Ftalosiyanin ve karbonhidratların tedavi edici potansiyeli bulunmaktadır. Karbonhidrat türevlerinin medikal alanda birçok kullanım alanı bulunmaktadır. Ftalosiyaninler ise fotodinamik terapide kullanılan yeni nesil aktif bileşiklerdir. Bu iki molekülün kombinasyonu, suda çözünürlük, yüksek singlet oksijen verimi ve toksik etkileri olmaması gibi fotodinamik terapi için gerekli niteliklere sahip ürünlerin elde edilmesini sağlayacaktır. (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Bu Tez Kapsamında Sentezlenecek Olan 1. Tip Ftalosiyanin Bileşiği ve Bu Bileşikten Sentezlenecek AB₃ Yapısındaki Karbonhidrat-Zn(II) Ftalosiyanin Konjugatları

4.3.2. Karboksilli Asit (-COOH) Grubu Taşıyan Asimetrik Zn(II) Ftalosiyenin

Bu çalışmada sentezini amaçladığımız 2.tip asimetrik AB₃ tipi metalsiz ftalosiyenin, PET görüntüleme yönteminde tümör hücrelerinin takip edilebilmesi için kullanılacak molekül için başlangıç maddesi özelliği taşımaktadır. Bu ftalosiyenin bileşiğinde bulunması gereken özellikler aşağıda sıralanmıştır.



Şekil 4.16. 2. Tip Fonksiyonlandırılmış Asimetrik Ftalosiyeninde Rol Oynayan Önemli Parametreler

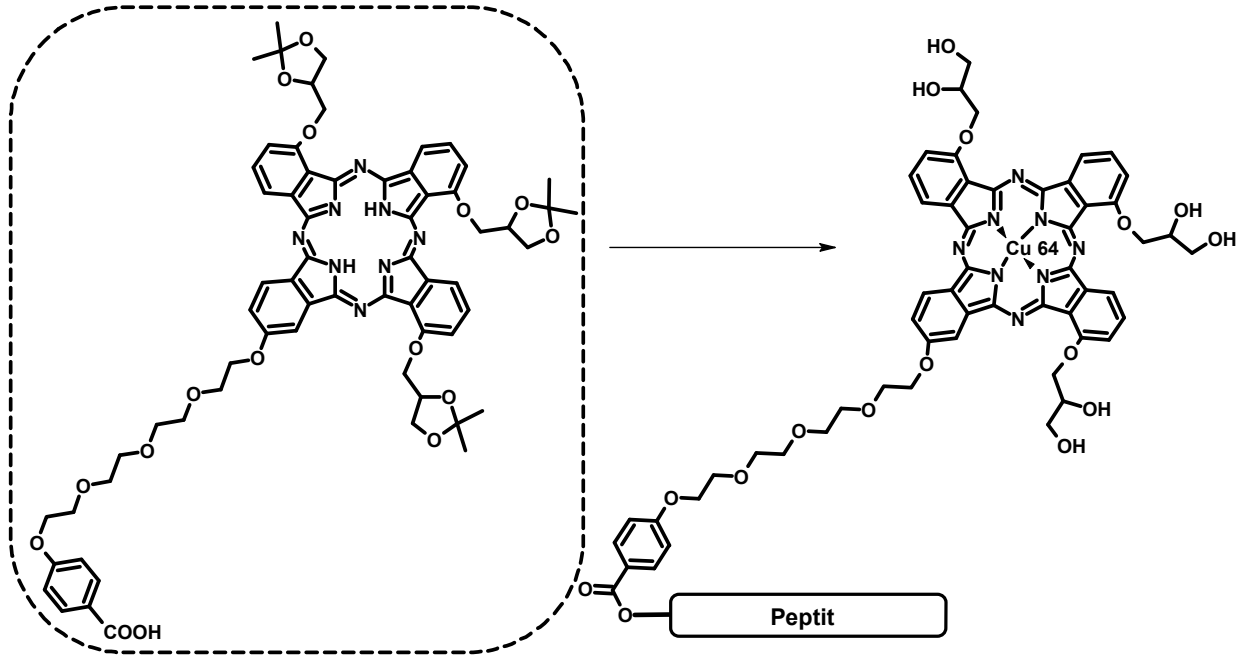
Süstitüent Olarak Solketal: Solketal koruyucu grup olarak kullanılacaktır. Peptit grubunun süstitüe edilmesinden sonraki aşamada, solketal gruplarının asit varlığında hidroliz edilmesiyle molekül hidrofilik karakter kazandırılıp ve biyolojik ortamdaki çözünürlüğünün artırılması amaçlanmıştır.

Metalsiz AB₃ Tipi Ftalosiyenin: Fotodinamik tedavi sonrası tümör hücrelerinin PET tekniği ile dışarıdan takip edilebilmesi için, metalsiz ftalosiyenin kavitesine radyoaktif ⁶⁴Cu metalinin yerleştirilmesi düşünülmüştür.

Karboksilli Asit (-COOH) Fonksiyonlu Grup: Fotosensitizerin tümör hücrelerinin yerini tespit ederek orada toplanmasını sağlamak için karboksilli asit (COOH) grubu üzerinden peptit zincirlerinin bağlanması hedeflenmiştir. Bu işlem

Kanada Sherbrooke Üniversitesi Radyoloji ve Nükleer Tıp Bölümünden Prof. Johan van Lier ve çalışma grubu tarafından gerçekleştirilecektir (Şekil 4.11).

Aralık Tutucu-Spacer: 1. tip asimetrik ftalosiyanindeki amaca benzer şekilde, fotosensitizer ile proteinlerin kuvvetli etkileşme gösterebilmesi sağlanmaktadır. Tetraetilenglikol zincirleri spacer olarak kullanılmıştır.

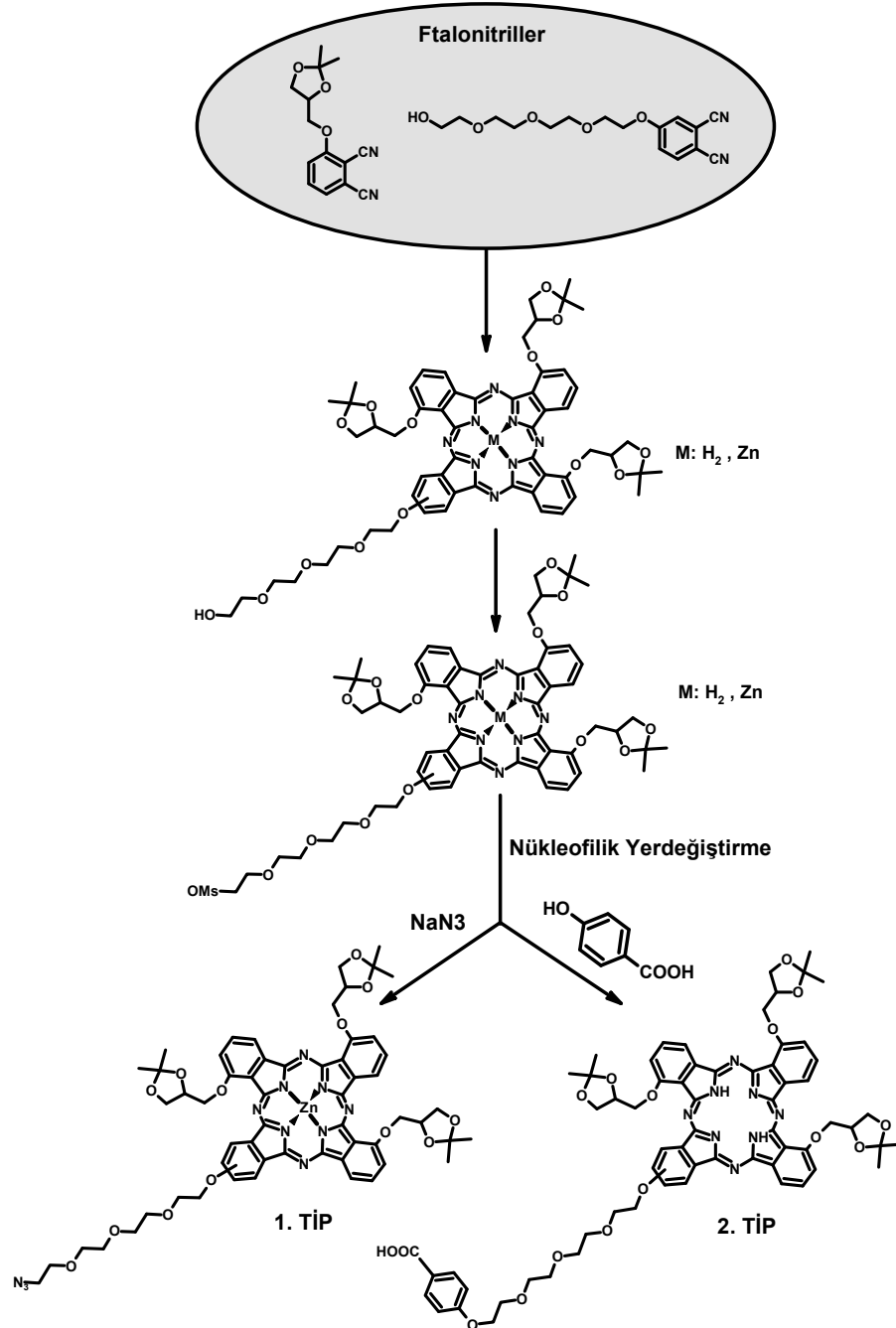


Şekil 4.17. Bu Tez Kapsamında Sentezlenecek Olan 2. Tip Ftalosiyanın Bileşiği ve Bu Bileşikten Sentezlenecek AB_3 Yapısındaki Peptit-Ftalosiyanın Konjugatı

4.4. Tartışmalar

4.4.1. Sentez Stratejisi

1.tip ve 2.tip asimetrik ftalosiyanın bileşiklerinin sentezinde aşağıdaki strateji uygulandı.



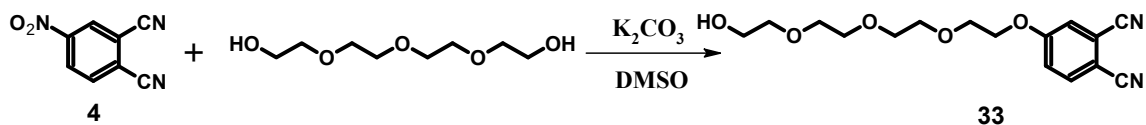
Şekil 4.18. 1.tip ve 2.tip Asimetrik Ftalosiyanın Bileşiklerinde Sentezinde Uygulanan Metot

4.4.2. Ftalonitrillerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Bu çalışmamızda asimetrik ftalosiyanınların sentezinde en yaygın kullanılan metot olan istatikselsel yöntemle AB₃ yapısındaki ftalosiyanın bileşiği elde etmek için iki farklı ftalonitril bileşiği kullanıldı. Bu ftalonitril bileşikler 4-(2-{2-[2-(2-hidroksietoksi) etoksi]etoksi} etoksi) ftalonitril (**33**) ve 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril (**12**) bileşikleridir.

12 numaralı ftalonitril bileşiğinin sentezi ikinci bölümdeki çalışmamızda gerçekleştirilmiştir.

33 bileşiği, asimetrik ftalosiyanın elde edildikten sonra, daha ileri reaksiyonlarda –OH grubunun fonksiyonlandırılması amacıyla seçilmiştir. Bu bileşik literatürde 4-nitroftalonitrilin (**10**) tetraetilenglikol ile 1:3 oranında K₂CO₃ bazı ve DMF solventi kullanılmasıyla gerçekleşen reaksiyonu sonucu % 48 verimle elde edilmiştir [48].

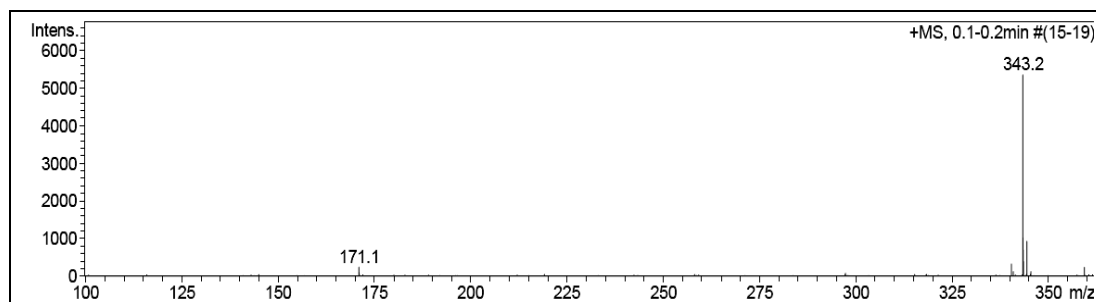


Şekil 4.19. 33 Bileşiğinin Sentez Reaksiyonu

Bu çalışmada **33** numaralı bileşiğin reaksiyonunda diğer ürünlerin oluşumunun önüne geçebilmek ve reaksiyon verimini artırmak için literatürdeki yöntemden farklı olarak ftalonitril-tetraetilen glikol-K₂CO₃ oranı 1:7:10 olarak alınmıştır. Bu reaksiyonun K₂CO₃ bazının aşırısında gerçekleşmesi ve porsiyonlar halinde bu reaksiyon ilave edilmesi reaksiyon verimine etki eden diğer faktörler arasındadır. Solvent olarak literatürde belirtilenden farklı olarak DMSO kullanılmasıyla gerçekleşen reaksiyonun verimi % 60 olarak bulunmuştur.

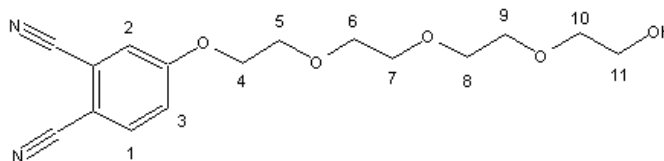
12 numaralı ftalonitril bileşiğinin karakterizasyonu ikinci bölümdeki çalışmamızda yapılmıştı. **33** numaralı bileşiğin yapısı kütle, ¹H ve ¹³C NMR spektrumlarından elde edilen bilgiler ile aydınlatıldı. **33** numaralı bileşiğin ESI

teknîği ile alınmış kütle spektrumunda $[M+Na]^+$ pikine karşılık gelen değer 343.2 m/z olarak bulunmuştur (Spektrum 4.1).



Spektrum 4.1. 33 Bileşiğın Kütle Spektrumu

33 numaralı bileşiğın ^1H NMR spektrumu incelendiğinde gözlenen kimyasal kayma değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir. 33 numaralı bileşiğe ait spektrumlar ek kısmında yer almaktadır.



Tablo 4.2. 33 Bileşiğın ^1H NMR Spektrumunda Gözlenen Kimyasal Kayma Değerleri

Ar-H ₁	Ar-H ₂	Ar-H ₃	Ar-OCH ₂ -	Ar-OCH ₂ CH ₂ -	-OH
7.70-7.72	7.341-7.346	7.236-7.259	4.24-4.26	3.61-3.9	2.27

4.4.3. Asimetrik AB₃ Tipi Zn(II) Ftalosiyanın Bileşiğının Sentezi ve Karakterizasyonları

AB₃ tipi asimetrik ftalosiyanın bileşiğının 34 sentezinde iki farklı ftalonitril türevi kullanarak istatıksel metot uygulanmıştır. A ve B olarak gösterilen ftalonitriller;

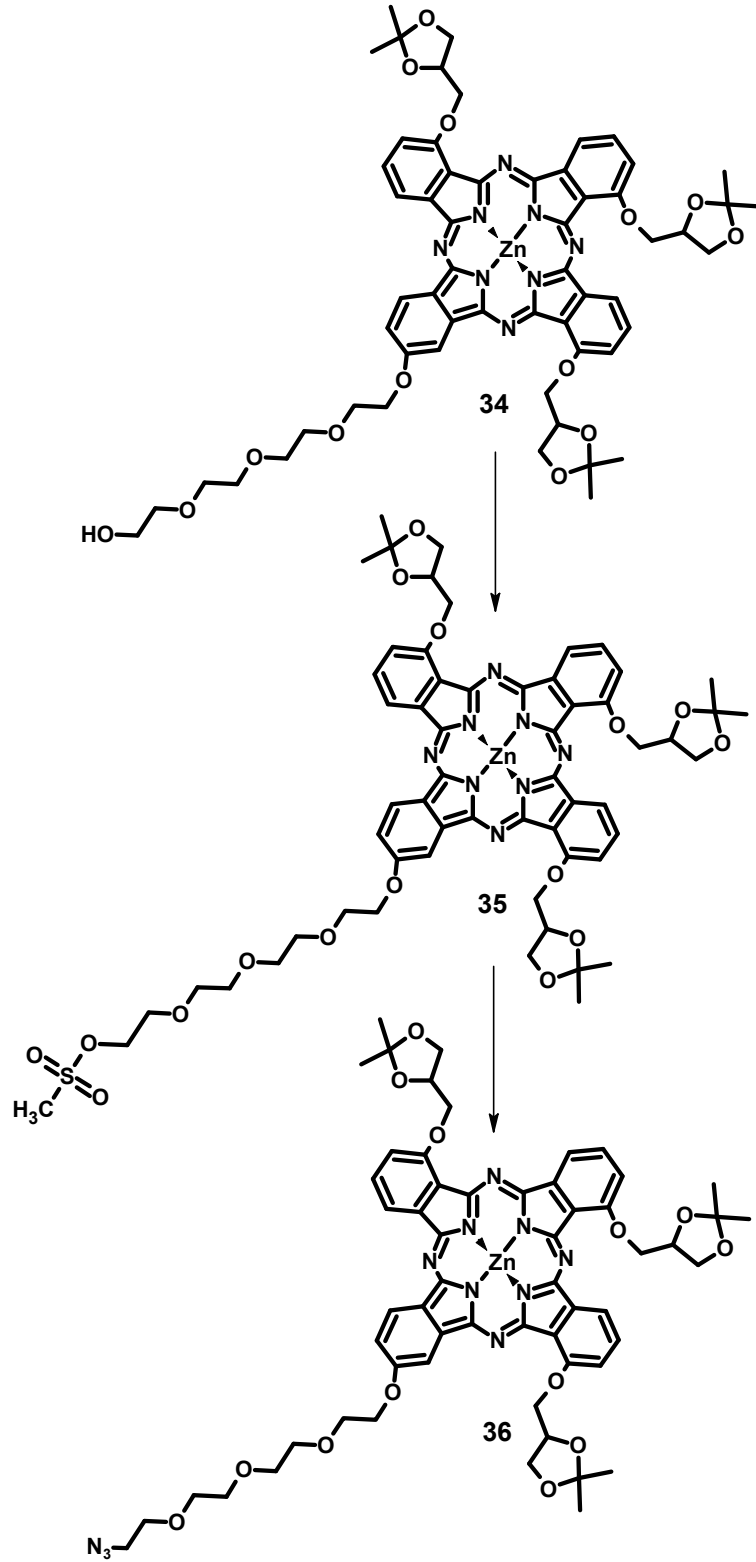
(A) 4-(2-{2-[2-(2-hidroksietoksi) etoksi]etoksi} etoksi) ftalonitril (**33**)

(B) 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril (**12**)

AB₃ yapısındaki asimetrik ftalosiyanın **34** verimi bu iki ftalonitrilin (**33** ve **12**) oranlarına bağlı olarak değişmektedir. Bu çalışmamızda, istenmeyen yan ürün oluşumunun önüne geçebilmek, istenilen asimetrik ftalosiyanın verimini artırmak ve saflaştırma işlemlerinin kolay bir şekilde yapılabilmesi için sağlamak amacıyla A:B oranının 1:10 eşdeğer oranlarda kullanılmıştır.

33 ve **12** nolu ftalonitril bileşiklerinin Zn(CH₃COO)₂ metal tuzu ile DMAE varlığında istatistiksel kondenzasyon yöntemi kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonun sonucu AB₃ asimetrik ftalosiyanın **34** verimi % 25 bulunmuştur. Bu verim literatürde sentezlenen asimetrik ftalosiyanınlar ile karşılaştırıldığında oldukça yüksektir [177]. Bu reaksiyonda AB₃ yapısındaki üründen başka oldukça yüksek miktarda B₄ ve çok az miktarda (ABAB veya AABB) yapısındaki ftalosiyanın bileşikleride elde edilmiştir. Asimetrik ftalosiyanın (AB₃) bileşiğinin saflaştırılmasında 3 farklı solvent sistemi (Etilasetat, DCM ve DCM:THF (2:1)) kullanarak kolon kromatografi kullanılmıştır.

Elde edilen asimetrik ftalosiyanın bileşiğinin **34**, -OH fonksiyonlu grubu üzerinden daha kolay bir şekilde reaksiyona girmesi için, **34** bileşiğindeki -OH grubu -OMs (mesilat) türevine dönüştürülmüştür. Mesilat (-CH₃SO₃⁻ veya -OMs) nükleofilik yerdeğiştirme reaksiyonlarında kullanılan en iyi ayrılan gruplar olarak bilinmektedir. Bu çalışmamızda ise -OMs, -OTs grubuna göre daha iyi ayrılan fonksiyonlu grup olduğundan, tosilleme yerine mesilleme reaksiyonu tercih edilmiştir. **34** nolu bileşiğin 1:4 eşdeğer oranda MsCl ile DCM solventinde, trietilamin bazı varlığında ve 10 °C'de gerçekleşen reaksiyonu sonucu % 90 verimle **35** bileşiği elde edildi. Bu reaksiyon 15 dakika gibi çok kısa sürede gerçekleşmiştir. Bu reaksiyonda trietilamin bazı yerine piridin kullanılmasıyla, 18 saatte gerçekleşen reaksiyonun verimi % 65 olarak belirlenmiştir. Hem reaksiyon süresi bakımından hemde saflaştırma işlemlerinin kolaylığı bakımından TEA/DCM karışımı daha uygun bulunmuştur.



Şekil 4.20. Bu Çalışmada Sentezlenen Asimetrik Zn(II) Ftalosiyanın Bileşikleri

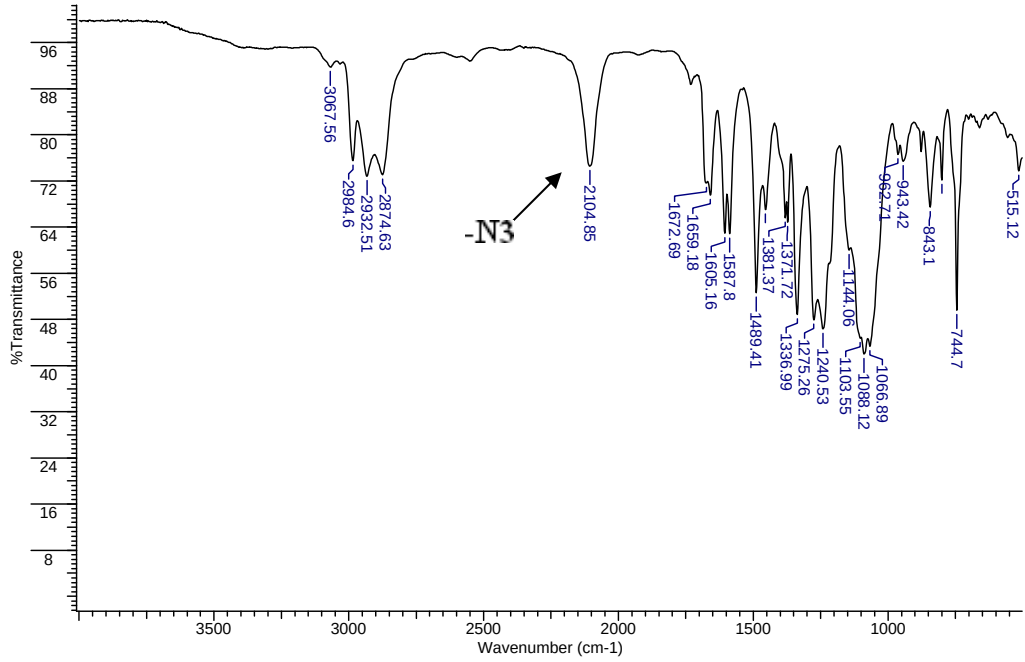
Karbonhidratların (glikoz, galaktoz, mannoz, laktoz) ‘’klik’’ kimyası ile ftalosiyanine bağlanması için ftalosiyanın kısmında $-N_3$ (azido) gibi bir grubun olması gerekmektedir. Bu nedenle **35** numaralı bileşiğin mesilat grubu $-N_3$ grubuna dönüştürüldü. Bu reaksiyon **35** numaralı ftalosiyanın bileşiğinin NaN_3 gibi bir tuz varlığında, DMF solventinde ve $100\ ^\circ C$ de gerçekleşen reaksiyonu sonucu **36** numaralı bileşik % 95 verimle elde edilmiştir.

Asimetrik ftalosiyanın bileşiklerinin [(**34**), (**35**) ve (**36**)], ESI tekniği ile alınmış kütle spektrumunda, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.3. Asimetrik Ftalosiyanınler (**34**, **35** ve **36**) İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri

Bileşik	Molekül Formülü	Hesaplanan $[M]^+$	Bulunan
34	$C_{58}H_{62}N_8O_{14}Zn$	1158.37	1159.6 $[M+H]^+$
35	$C_{59}H_{64}N_8O_{16}SZn$	1236.35	1237.5 $[M+H]^+$
36	$C_{58}H_{61}N_{11}O_{13}Zn$	1183.37	1184.6 $[M+H]^+$

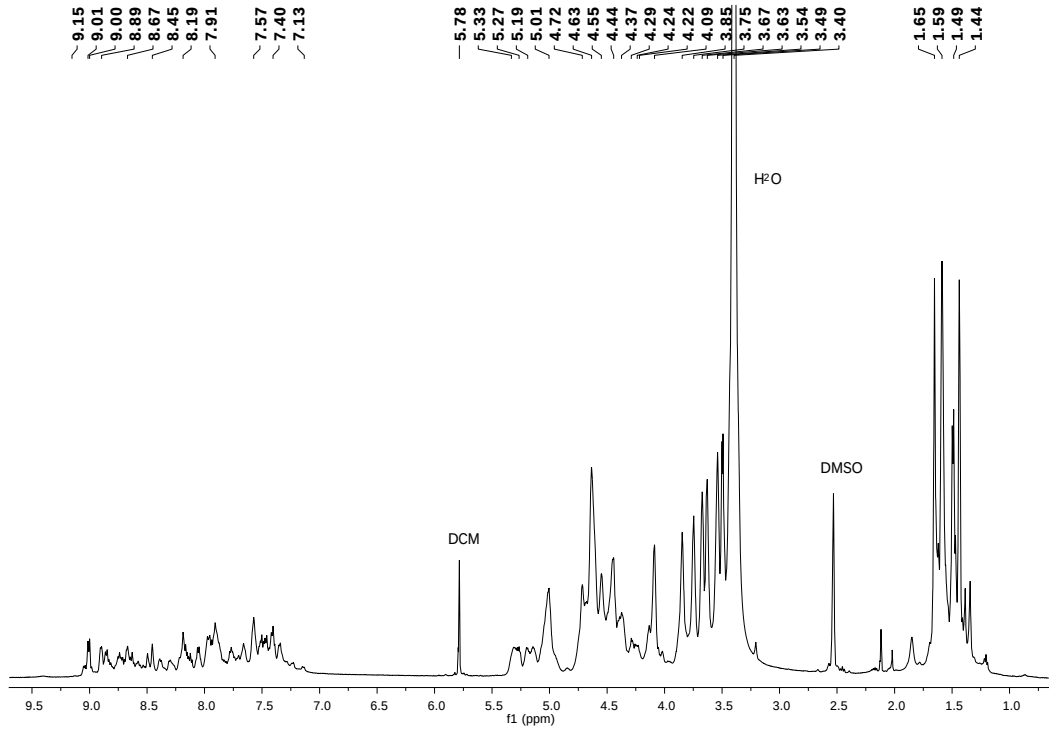
34 numaralı asimetrik ftalosiyanın bileşiğinin FT-IR spektrumu incelendiğinde, başlangıç maddelerine ait $2238\ cm^{-1}$ ’deki $-C\equiv N$ pikinin kaybolduğu gözlenmiştir. Buda siklotetramerizasyonun gerçekleştiğinin bir kanıtıdır. **34** nolu bileşikte $3436\ cm^{-1}$ de gözlenen $-OH$ gerilmesine ait bandın **35** nolu bileşikte gözlenmemiştir. Bu durum $-OH$ fonksiyonlu grubun $-OMs$ fonksiyonlu gruba dönüştüğünü göstermektedir. **36** nolu bileşikte $-OMs$ grubunun $-N_3$ grubuna dönüştürülemesiyle $2104.85\ cm^{-1}$ de karakteristik $-N_3$ gerilmesine ait pik gözlenmiştir (Spektrum 4.2).



Spektrum 4.2. 36 Bileşiğın FT-IR Spektrumu

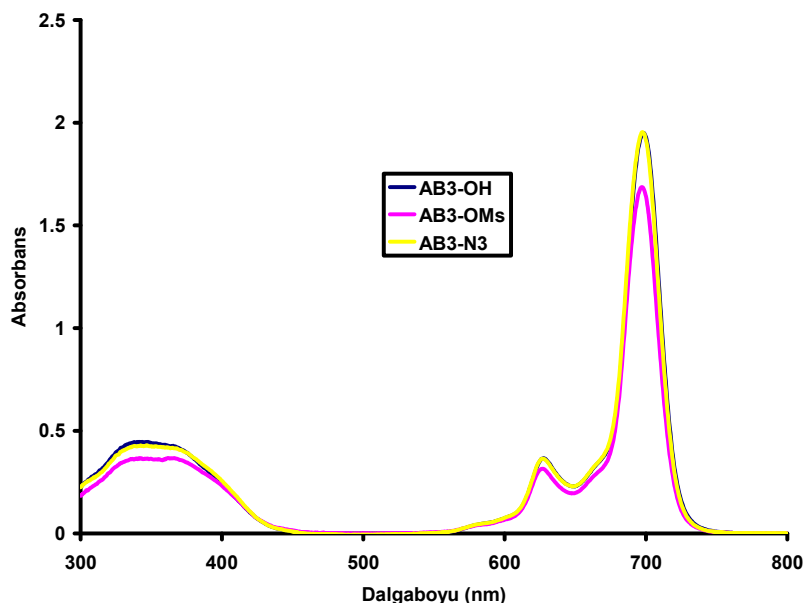
Asimetrik ftalosiyanin bileşiklerinin [(34), (35) ve (36)], ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları iç referans olarak TMS'nin kullanıldığı 298 °K'de d_6 -DMSO solventinde alınmıştır. Bilindiği gibi tetrasüstitüe ftalosiyaninler dört farklı yapı izomerinden oluşmuştur. Bu sebeple hem ^1H NMR hem de ^{13}C NMR spektrumunda bazı pikler üst üste çakışmış olarak gözlemlenmiştir. Özellikle ^{13}C NMR spektrumunda piklerin yorumlanmasın güçlük yaşandığı için bu spektruma ait kimyasal kaymalar en düşük alandan başlayarak en yüksek alana doğru pik sırası liste halinde verilmiştir.

34 numaralı bileşiğın ^1H NMR spektrumunda, 7.14 ile 9.15 ppm arasında ftalosiyanin makrohalkasındaki aromatik protonlara ait pik çokluğu gözlenmiştir. 4.23 ile 5.31 ppm arasında gözlenen pik çoklukları solketal grubunda bulunan alifatik $-\text{CH}$ protonlarına ($-\text{CH}_2\text{CHCH}_2$) ait pik çokluğu bulunmaktadır. 3.49 ile 4.09 ppm arasında gözlenen pik çoklukları tetraetilenglikol kısmında bulunan alifatik $-\text{OCH}_2$ protonlarına aittir. 1.44 ile 1.63 ppm de gözlenen pikler ise asetal kısmındaki alifatik $-\text{CH}_3$ protonlarına ait pikler gözlenmiştir (Spektrum 4.3)



Spektrum 4.3. 34 Bileşiğın ¹H NMR Spektrumu

Asimetrik ftalosiyanin bileşiklerinin [(**34**), (**35**) ve (**36**)], DMSO içerisinde 1.10^{-5} M konsantrasyonda alınmış elektronik absorpsiyon spektrumu incelendiğinde, bu ftalosiyaninlere ait Q bantları sırasıyla 698, 697 ve 698 nm tek ve keskin bir şekilde gözlemlendi. B bantları ise sırasıyla 343, 365 ve 343 nm’de UV bölgede tespit edildi. Asimetrik ftalosiyanin molekülleri DMSO içinde agregasyona uğramadığı, monomerik davranış gösterdiği bulundu (Spektrum 4.4). Ayrıca her üç ftalosiyanin bileşiğinin süstitüsyon yapısının (-OH, -OMs ve -N₃) UV-Vis. spektrumlarında herhangi bir değişikliğe yol açmadığı gözlemlendi. Asimetrik ftalosiyaninler için maksimum dalga boyları ve ekstinksiyon katsayıları Tablo 4.4’de verilmiştir.



Spektrum 4.4. Asimetrik Ftalosiyeninlerin (**34**, **35** ve **36**) DMSO İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis Spektrumlarının Karşılaştırılması

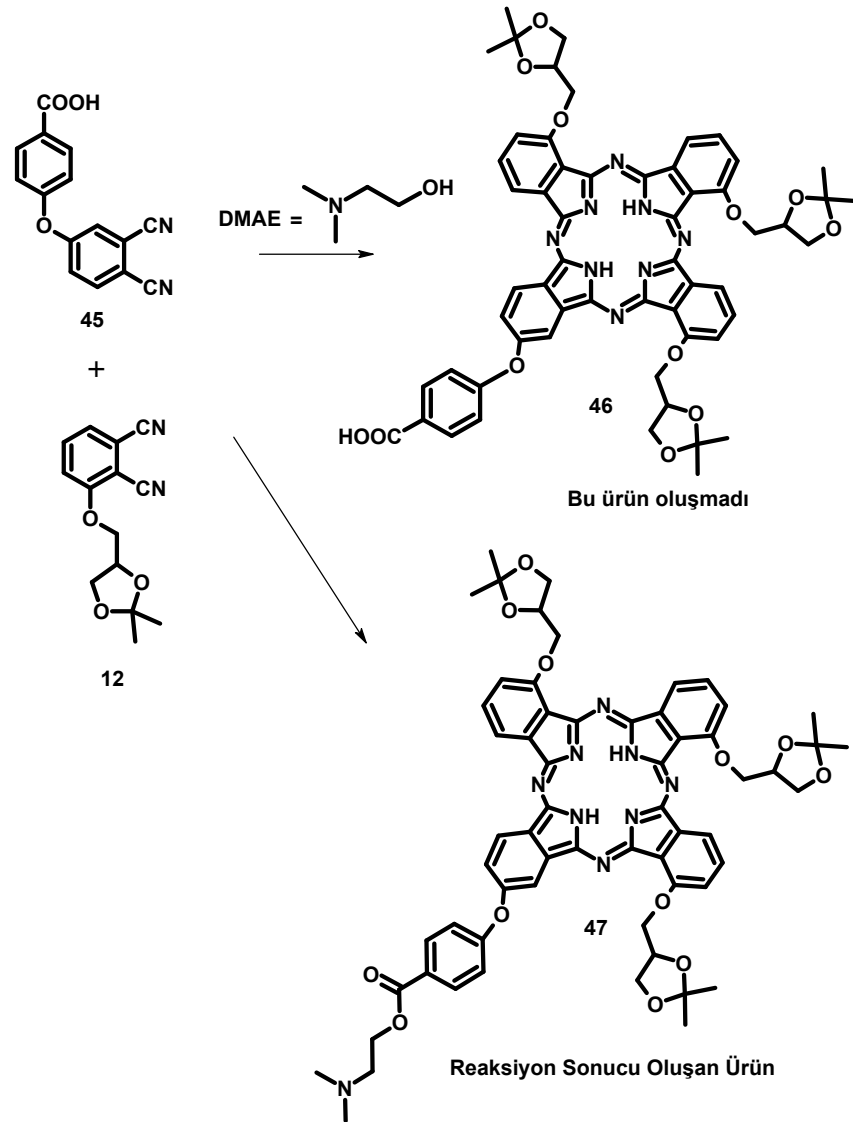
Tablo 4.4. Asimetrik Ftalosiyeninlerin (**34**, **35** ve **36**) Uv-Vis Ölçümlerinde Gözlenen Maksimum Dalga Boyları ve Ekstinksiyon Katsayıları ($\lambda_{\max}$, nm), ($\log \varepsilon$)

Bileşik	34	35	36
DMSO	698 (5.29)	697 (5.23)	698 (5.29)
	628 (4.56)	627 (4.50)	627 (4.56)
	343 (4.65)	365 (4.56)	343 (4.63)

4.4.4. Asimetrik AB₃ Tipi Metalsiz Ftalosiyenin Bileşiğinin Sentezi ve Karakterizasyonları

Çalışmamız öncelikle **46** numaralı karboksilli asit (-COOH) grubu taşıyan metalsiz asimetrik ftalosiyenin bileşiğinin sentez denemeleri ile başlamıştır. 4-(3,4-disiyanofenoksi)benzoik asit (**45**) ve 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril bileşiklerinin (**12**) 1:10 eşdeğer oranda ve DMAE varlığındaki reaksiyonu sonucu iki ürün oluşmuştur. Reaksiyon sonunda arzu edilen -COOH fonksiyonlu asimetrik ftalosiyenin **46** ile DMAE solventinin -OH

fonksiyonlu grubunun esterleşme tepkimesine girdiği MALDI-TOF tekniği ile alınan kütle spektrumundan anlaşılmıştır. Ester bağları asit hidrolizi ile ortadan kalkmaktadır. Fakat solketalde bulunan asetal grupları aside karşı son derece hassastır ve kolay bir şekilde hidroliz olduğu için böyle bir denemeyi sınırlamıştır. Bu reaksiyonda diğer alkollerin kullanımı da esterleşme reaksiyonu ile sonuçlanabileceği için **46** numaralı ftalosiyanin bileşiği bu reaksiyonda elde edilemedi (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Asimetrik AB₃ Tipi Ftalosiyanin Sentezi

Bu sonuçlar neticesinde –COOH fonksiyonlu grubu en son süstitüe edebilmek bütün bu dezavantajları ortadan kaldırmaktadır. Bu sebeple **39**

numaralı ftalosiyanin bileşiği elde edebilmek için Şekil 4.18'deki strateji uygulandı.

AB₃ tipi asimetrik metalsiz ftalosiyanin bileşiğinin **37** sentezinde daha önce **34** numaralı bileşiğin sentezinde kullanılan iki farklı ftalonitril türevini kullanarak istatistiksel metot uygulandı. A ve B olarak gösterilen ftalonitriller;

(A) 4-(2-{2-[2-(2-hidroksietoksi) etoksi]etoksi} etoksi) ftalonitril (**33**)

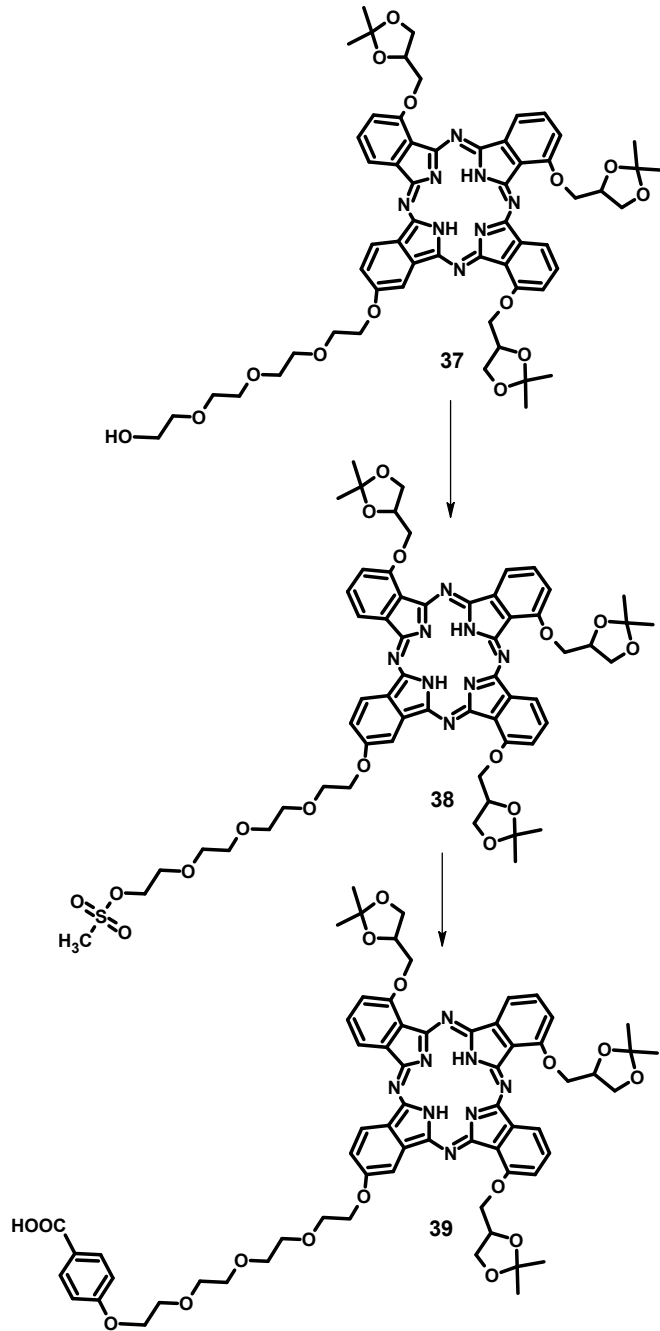
(B) 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril (**12**)

Metalsiz ftalosiyaninlerin eldesinde genelde Li, Mg gibi template etki yaparak, makrohalka oluşumunu kolay bir şekilde sağlayan metaller kullanılır. Literatür çalışmalarında da metalsiz ftalosiyaninlerin eldesinde bu metaller yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [178]. Bu çalışmamızda solketal grubundaki asetal kısmının aside karşı son derece hassas oluşu ve kolay bir şekilde gliserol formuna dönüşmesi bu metallerin kullanımını ortadan kaldırmaktadır. Bu nedenden dolayı asimetrik metalsiz ftalosiyaninleri direk olarak **33** ve **12** numaralı ftalonitril bileşiklerini kullanarak hazırlandı.

Diğer istatistiksel ürünlerin oluşumunu önlemek ve ayırma ve saflaştırma işlemlerinin kolaylığı sağlamak için bu çalışmamızda A:B oranı 1:10 eşdeğer oranda kullanılmıştır. **33** ve **12** nolu ftalonitril bileşiklerinin DMAE varlığında istatistiksel kondenzasyon yöntemi kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonun sonucu AB₃ asimetrik ftalosiyaninin **37** verimi % 18 bulunmuştur. 18 saatte gerçekleşen reaksiyon sonucu başta **B₄** olmak üzere **AB₃** ve diğer **A₂B₂** ftalosiyaninlerin oluşumu gözlemlendi. Reaksiyon verimi literatürde sentezlenen metalsiz asimetrik ftalosiyaninler ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu bulunmuştur [178]. **AB₃** asimetrik metalsiz ftalosiyanin bileşiğinin izole edilmesinde 3 farklı solvent sistemi (Etilasetat-DCM-10DCM:1EtOH) kullanarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır.

37 numaralı bileşiğin –OH fonksiyonlu grubun mesillenmesi **35** bileşiğin sentezinde kullanılan metot uygulandı. Asimetrik ftalosiyanin **37** ve mesil klorür

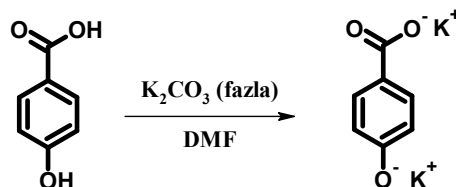
oranı 1:4 eşdeğer oranda kullanılmıştır. DCM:TEA karışımında 20 dk. gibi kısa sürede gerçekleşen reaksiyonun verimi % 92 olarak bulundu.



Şekil 4.22. Bu Çalışmada Sentezlenen Metalsız Asimetrik Ftalosiyanın Bileşikleri (**37**, **38** ve **39**)

Elde edilen asimetrik ftalosiyanın bileşiğinin **38** para-hidroksi benzoik asit ile K_2CO_3 bazı ve DMF solventi içinde 60 °C de ısıtılmasıyla gerçekleşen reaksiyonu sonucu **39** numaralı asimetrik ftalosiyanın bileşiği % 50 verim elde

edilmiştir. Bu reaksiyonda asimetrik ftalosiyanın/ K_2CO_3 /p-hidroksi benzoik oranı 1/10/4 eşdeğer oranlarda kullanılmıştır. Öncelikle bu reaksiyonun başlangıcında olası esterleşme reaksiyonundan kaçınmak için p-hidroksibenzoik asit ve K_2CO_3 'ün aşırısı kullanıldı.



Bu karışım belli bir süre karıştıktan sonra bu karışım üzerine DMF içinde çözünmüş mesilli asimetrik ftalosiyanın bileşiği **38** damla damla ilave edildi. Reaksiyonun gerçekleşmesinde sıcaklık etkisinin **39** bileşiğin oluşmasında etkili olduğu gözlemlendi. Önce bir gün oda sıcaklığında karıştırılan reaksiyonda ürün oluşmadığı gözlemlendi. Reaksiyon sıcaklığı 80 °C ye getirildikten sonra ürünün oluştuğu TLC incelemelerinden anlaşılmıştır.

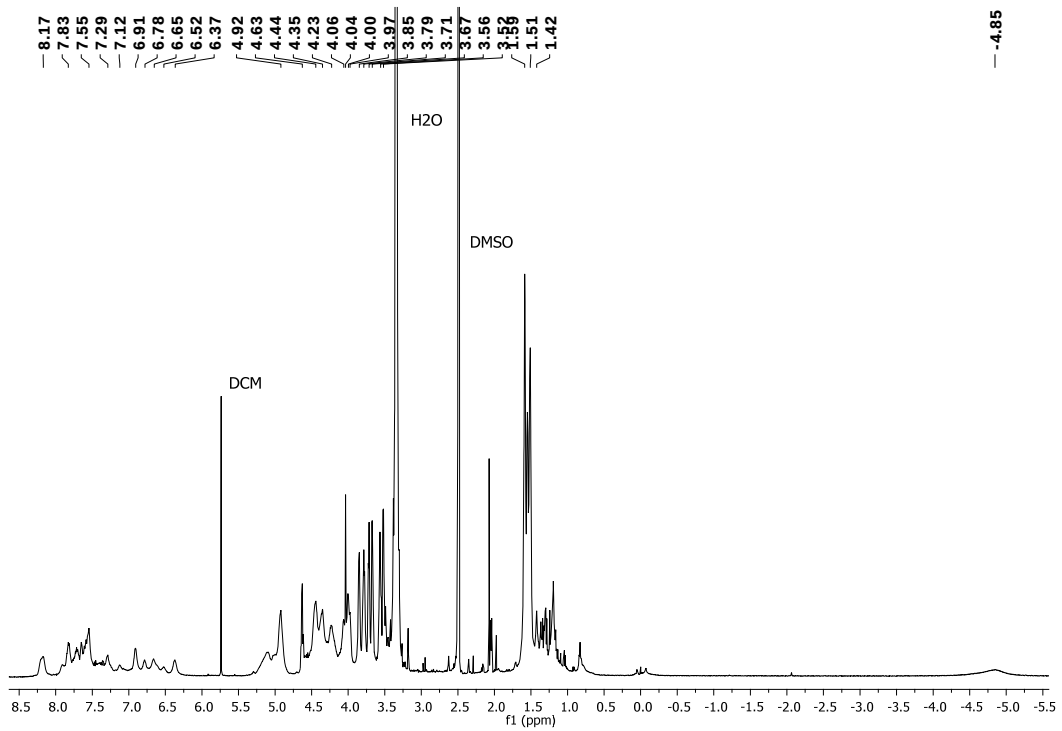
37, **38** ve **39** numaralı asimetrik ftalosiyanın bileşiklerinin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumunda, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler Tablo 4.5’de verilmiştir.

Tablo 4.5. Asimetrik Ftalosiyaninler (**37**, **38** ve **39**) İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri

Bileşik	Molekül Formülü	Hesaplanan [M] ⁺	Bulunan
37	C ₅₈ H ₆₄ N ₈ O ₁₄	1096.45	1097.63 [M+H] ⁺
38	C ₅₉ H ₆₆ N ₈ O ₁₆ S	1174.43	1175.83 [M+H] ⁺
39	C ₆₅ H ₆₈ N ₈ O ₁₆	1216.47	1216.31 [M+H] ⁺

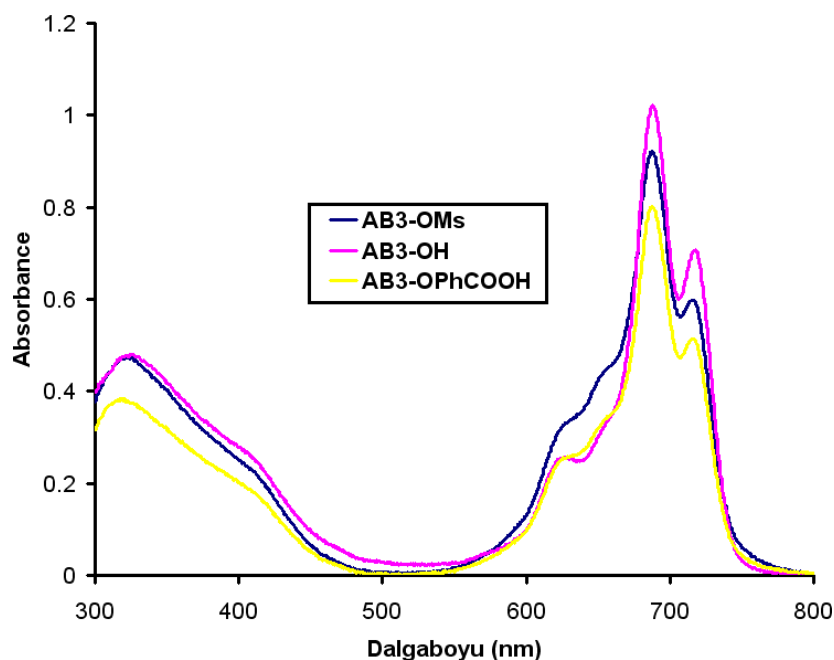
37, **38** ve **39** numaralı asimetrik ftalosiyaninlerin ¹H NMR spektrumları iç referans olarak TMS’nin kullanıldığı 298 °K’de d₆-DMSO solventinde alınmıştır. (Spektrumlar ek kısmında verilmiştir).

37 numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumunda, 6.37 ile 8.25 ppm arasında ftalosiyanın makrohalkasındaki aromatik protonlara ait pik çokluğu gözlenmiştir. 4.23 ile 5.30 ppm arasında gözlenen pik çoklukları solketal grubunda bulunan alifatik $-\text{CH}$ protonlarına ($-\text{CH}_2\text{CHCH}_2$) ait pik çokluğu bulunmaktadır. 3.52 ile 4.06 ppm arasında gözlenen pik çoklukları tetraetilenglikol kısmında bulunan alifatik $-\text{OCH}_2$ protonlarına aittir. 1.42 ile 1.59 ppm de gözlenen pikler ise asetal kısmındaki alifatik $-\text{CH}_3$ protonlarına ait pikler gözlenmiştir. -4.85 ppm’de gözlenen geniş pik ftalosiyanın makrohalkasının içindeki $-\text{NH}$ protonlarına aittir (Spektrum 4.5).



Spektrum 4.5. **37** Bileşiğin ^1H NMR Spektrumu

37, **38** ve **39** numaralı asimetrik ftalosiyanınleri DMF İçerisinde 1.10^{-5} M konsantrasyonda alınmış elektronik absorpsiyon spektrumu verilmiştir. (Spektrum 4.6). Asimetrik ftalosiyanınler için maksimum dalga boyları ve ekstinksiyon katsayıları Tablo 4.6’da verilmiştir. Sübstitüsyon yapısının ($-\text{OH}$, $-\text{OMs}$ ve $-\text{OAr}-\text{COOH}$) UV-Vis. spektrumunda herhangi bir değişikliğe yol açmadığı gözlenmiştir. Asimetrik ftalosiyanınlerin (**37**, **38** ve **39**) DMF içinde agregasyona uğradığı gözlenmiştir.

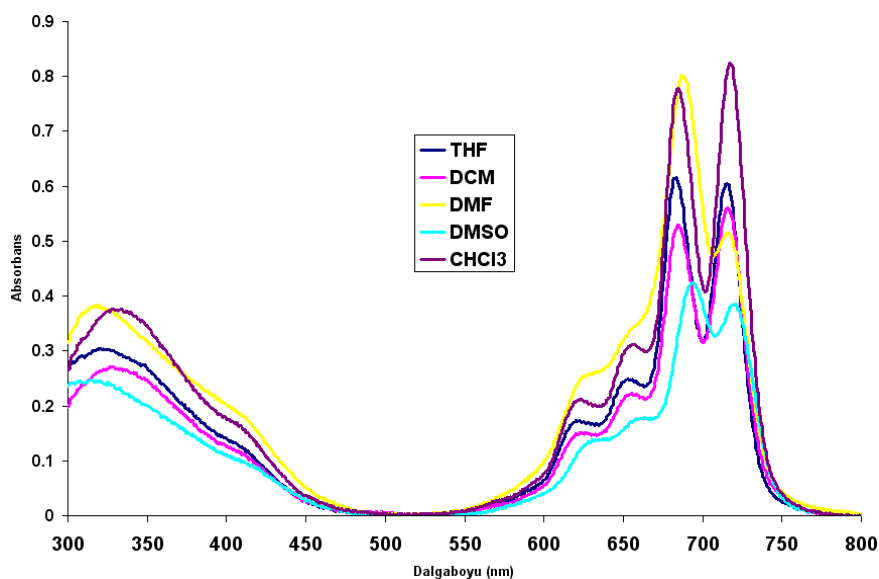


Spektrum 4.6. Asimetrik Ftalosiyanınların (37, 38 ve 39) DMF İçerisinde 1.10^{-5} M Konsantrasyonda Gözlenen UV-Vis Spektrumlarının Karşılaştırılması

Tablo 4.6. Asimetrik Ftalosiyanınların (37, 38 ve 39) Uv-Vis. Ölçümlerinde Gözlenen Maksimum Dalga Boyları ve Ekstinksiyon Katsayıları ($\lambda_{\max}$, nm), ($\log \epsilon$)

Bileşik	37	38	39
DMF	717 (4.85) 688 (5.00) 325 (4.68)	716 (4.78) 688 (4.96) 322 (4.68)	716 (4.70) 688 (4.90) 320 (4.58)

39 bileşiği için THF, DCM, DMSO ve CHCl_3 solventlerinde agregasyon durumları karşılaştırılmıştır. Bu bileşiği **39** DMSO solventinde de agregasyona uğradığı, THF, DCM ve CHCl_3 solventlerinde keskin iki pik vererek bu solventler içinde agregasyona uğramadığı gözlemlendi.



Spektrum 4.7. **39** Bileşiğın Değişik Çözücüler İçerisindeki Agregasyon Davranışlarının Karşılaştırılması

4.5. Sonuçlar

Bu çalışma sonunda literatürde yer almayan, $-N_3$ ve $-COOH$ grupları ile fonksiyonlandırılmış, AB_3 yapısında yeni tip metalli **36** ve metalsiz ftalosiyanınlar **39** sentezlendi, yapıları karakterize edildi. Lyon-1 Üniversitesi Organik Kimya Bölümü'nden Dr. Dominique Lafont ile yapmış olduğumuz ortak çalışmalar neticesinde **36** bileşiği üzerinden klik kimyası ile iyonik olmayan suda çözünen ftalosiyanın-karbonhidrat serileri hazırlandı. Sentez çalışmaları ile ilgili makale yayına gönderildi (Monoglycoconjugated water-soluble phthalocyanines. Design and synthesis of potentially selectively targeting PDT photosensitizers. Zorlu, Y., Dumoulin, F., Bouchu, F., Ahsen, V., ve Lafont, D. ms S-10-02268). Ftalosiyanın-peptit konjugatların sentez işlemleri devam etmektedir. Bu çalışma tamamlandığında Sherbrooke Üniversitesi'nden Prof. Dr. Johan van LIER ve grubu tarafında biyomedikal uygulamalarda kullanılabilirliği test edilecektir.

5. OKTASOLKETAL SÜBSTİTÜE FTALOSİYANİNLERDE SÜBSTİTÜENT VE METAL ETKİSİNİN ^{13}C NMR İLE İNCELENMESİ

^1H ve ^{13}C NMR spektroskopisi, organik ve inorganik yapıdaki bileşiklerin yapısının belirlenmesinde kullanılan en güçlü tekniklerdir. Ftalosiyanın yapı karakterizasyonlarında ise ^{13}C NMR tekniği diğer karakterizasyon tekniklerine oranla (^1H NMR, UV-Vis., Kütle Spektrometri) oldukça nadir kullanılır. Bunun sebebi; ^{13}C 'ün manyetik spine sahip olmasına rağmen numunedeki karbonların ancak % 1'inin ^{13}C olması ve ^{13}C sinyallerinin geri plandaki gürültü sinyali arasında kolaylıkla kaybolması sebebiyle spektrum yorumlanmasında zorluk çıkartması başlıca nedenler arasında yer almaktadır. Bunun yanında ftalosiyanın ^{13}C NMR ile karakterizasyonunda ayırım gücü ve hassasiyeti düşük cihazlarla çalışıldığında da spektrum yorumunda güçlük çekilmektedir. 1980'li yıllardan günümüze kadar NMR spektroskopisinde baş döndürücü gelişmelerin devam etmesiyle ayırım gücü yüksek cihazlarla çalışmalar devam etmektedir.

Ftalosiyanın bileşiklerinin ^{13}C NMR çalışmaları için uygun olması için belli özelliklere sahip olması gerekmektedir.

İzomer Karışımının Olmaması Gerekmemektedir: Ftalosiyaninleri genel olarak iki bölüme ayırmak mümkündür. Özellikle tetrasübstitüe ftalosiyaninler, dört yapı izomeri (C_{4h} , C_{2v} , C_s ve D_{2h}) karışımı olarak izole edilmeleri nedeniyle üstüste gelen bir çok pik çokluğu nedeniyle ^{13}C NMR spektrumunun yorumlanabilmesini güçleştirmektedir. Okta sübstitüe ftalosiyaninler ise tek izomerli ve molekül içinde simetri düzlemine sahip olması nedeniyle ^{13}C NMR spektrumları kolay bir şekilde yorumlanabilmektedir.

Agregasyona Uğramaması Gerekmemektedir: Ayrıca metalli ve metalsiz ftalosiyaninler organik çözücüler içinde agregasyona uğrayarak NMR

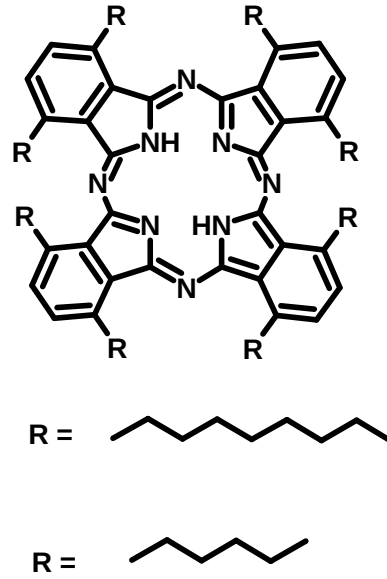
spektrumlarının piklerin yayvanlaşmasını ve piklerin rezolüsyonunun düşmesine neden olmakta ve ^{13}C NMR spektroskopisinden etkin bir şekilde faydalanılmamaktadır.

Paramagnetik Olmaması Gerekir: Fe, Mn, Co, lantanit ve aktinit serilerinin hemen hemen bütün kompleksleri paramagnetik özellik göstermektedir. Paramagnetik komplekslerin NMR spektrumları kaydedildiğinde, piklerin çok yayvan bir şekilde ortaya çıktığı gözlenmektedir [207]. Pt(II), Ni(II), Zn(II) diamagnetik metallerin NMR spektrumları yorumlanabilmektedir.

Literatür incelemelerinde, 1991 ve 2000 yılında Cook ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalar dışında ftalosiyanın ^{13}C NMR deneyleri ile ilgili detaylı çalışmaların olmadığını ve bunun sebebinin yukarıda açıkladığımız nedenlerden kaynaklanmakta olduğunu söyleyebiliriz.

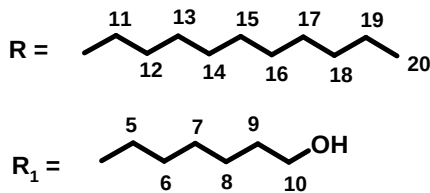
5.1. Ftalosiyanın ^{13}C NMR Deneyleri İle İlgili Çalışmalar

1991 yılında Cook ve çalışma grubu tarafından 1,4,8,11,15,18,22,25-oktahekzilftalosiyanın ve 4,8,11,15,18,22,25-oktanonilftalosiyanın bileşiklerinin 2D NMR tekniklerini kullanarak karakterizasyonları yapılmıştır. Bu iki metalsiz ftalosiyanın bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumunda 100 MHz’de aromatik bölgede sadece üç sinyal gözlemlendiği bulunmuştur. Yapılan incelemelerde 100 MHz bölgesinde gözlenemeyen dördüncü pikin olası N-H...N $\leftrightarrow$ N...H-N tautomerizmden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Şekil 5.1) [180].



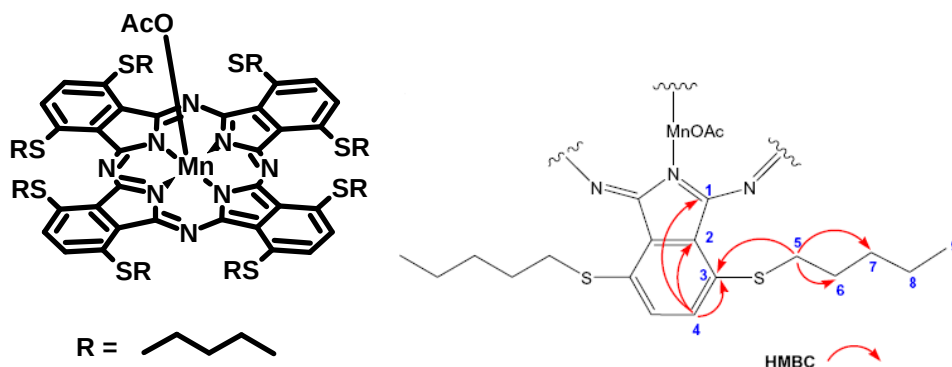
Şekil 5.1. 1,4,8,11,15,18,22,25-oktahekzilftalosiyenin ve 4,8,11,15,18,22,25-oktanonilftalosiyenin [180]

2000 yılında Cook ve çalışma grubu tarafından 1,4,8,11,15,18-hekzadesil-22,25-bis(6-hidroksihekzil) Ni(II) ve metalsiz AB_3 yapısındaki asimetrik ftalosiyenin bileşiklerinin farklı prob sıcaklıklarında $CDCl_3$ solventi kullanarak ^1H ve ^{13}C NMR çalışmalarını rapor etmişlerdir. Süstitüe edilmiş ftalosiyeninlerin proton ve karbon atomlarının yerinin belirlenmesinde iki boyutlu ^1H - ^1H eşleşmelerini gösteren COSY, ^{13}C - ^1H eşleşmelerini gösteren iki boyutlu HETCOR gibi ileri NMR tekniklerini kullanmışlardır (Şekil 5.2) [181]. Bu çalışmadan çıkan sonuçlara göre metalli ftalosiyanine ait C-1, C-2, C-3 ve C-4 karbon atomlarının hepsinin kimyasal kayması belirlenirken, metalsiz ftalosiyaninde C-1 atomuna ait pikin NMR spektrumunda gözlenememiştir. Bunun sebebinin daha önceki literatürde belirtildiği gibi [180] olası $N-H \cdots N \leftarrow \cdots >N \cdots H-N$ tautomerizmden kaynaklanabileceği belirtilmiştir



Şekil 5.2. 1,4,8,11,15,18-hekzadesil-22,25-bis(6-hidroksihekzil) Ni(II) ve Metallsız AB₃ Yapısındaki Asimetrik Ftalosiyanın [181]

2007 yılında Nyokong ve çalışma grubu tarafından pembe renkli oktapentiltiyo Mn(III) ftalosiyenin bileşiğinin sentezi gerçekleştirilmiş ve bu bileşiğin karakterizasyonunda belirlenmesi zor olan piklerin değerlendirilmesinde iki boyutlu $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ yakın eşleşme HSQC ve iki boyutlu $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ uzak eşleşme HMBC gibi ileri NMR teknikleri kullanılmıştır (Şekil 5.3) [182]. Bu iki tekniğin kombinasyonu ile C-1 ile C-9 arasındaki bütün karbon atomlarının yerleri belirlenmiştir.

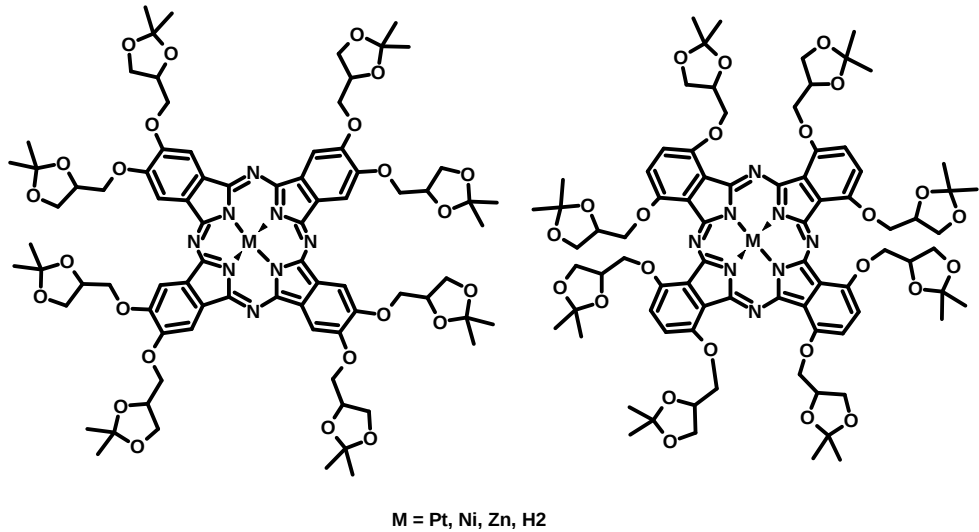


Şekil 5.3. Non-periferal Oktahekzil Sübstitüe Mn(III) Ftalosiyanın [182]

5.2. Bu Çalışmada Tasarlanan Moleküller

Şu ana kadar rapor edilenler dahilinde bildiğimiz kadarı ile ftalosiyanin molekülü üzerinde süstitüent pozisyonu ve metal etkisine bağlı sistematik incelemesine dair hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada sekiz adet oktasolketal süstitüe ftalosiyanin kullanarak (Şekil 5.4) iki etki üzerinde detaylı bir çalışma yapılacaktır. Bu etkiler;

- Pt(II), Zn(II), Ni(II) ve metalsiz ftalosiyaninlerde **Metale Bağlı Etki**
- Süstitüentin pozisyon yerine (non-periferal ve periferal) göre ftalosiyaninde **Süstitüente Bağlı Etki**



Şekil 5.4. Süstitüent ve Metal Etkisi İncelenecek Periferal ve Nonperiferal Oktasolketal Ftalosiyaninler (M= H₂, Ni, Zn, Pt)

Bu çalışmada sentezi gerçekleştirilecek ftalosiyanin bileşiklerinin yapılarının ayrıntılı bir şekilde karakterize edilmesinde aşağıda belirtilen bir ve iki boyutlu NMR tekniklerinden faydalanılacaktır.

DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) ölçümünde bir ¹³C NMR spektrumunda bulunan sinyallerin hangi karbon atomuna [–CH₃ (metil), –CH₂ (metilen) ve –CH (metin)] ait olduğu belirlenir.

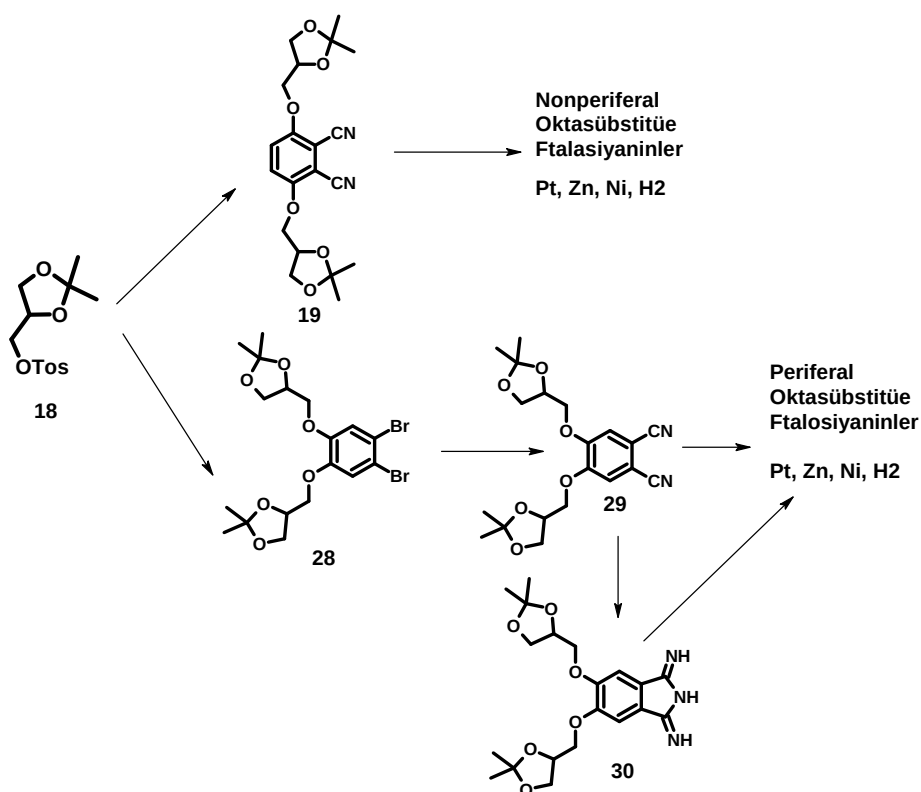
HSQC (Hetero Single Quantum Correlation) veya **HETCOR** spektrumları, yalnız karbon atomu ile doğrudan bağlantılı olan protonlar arasındaki etkileşimleri ortaya koymaktadır. İki ve üç bağ üzerinden olan etkileşimlerde herhangi bir korelasyon söz konusu değildir. Çünkü bu korelasyonlar elimine edilmektedir.

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation), bir bağ üzerinden olan korelasyonların elimine edildiği ve yalnız iki ve üç bağ üzerinden olan korelasyonların gösterildiği ölçüm tekniğidir. Bu çalışmada iki ve üç bağ üzerinden olan etkileşimlerin korele edildiği bir spektrum bize yapı hakkında önemli bilgiler verecektir [183].

5.3. Tartışmalar

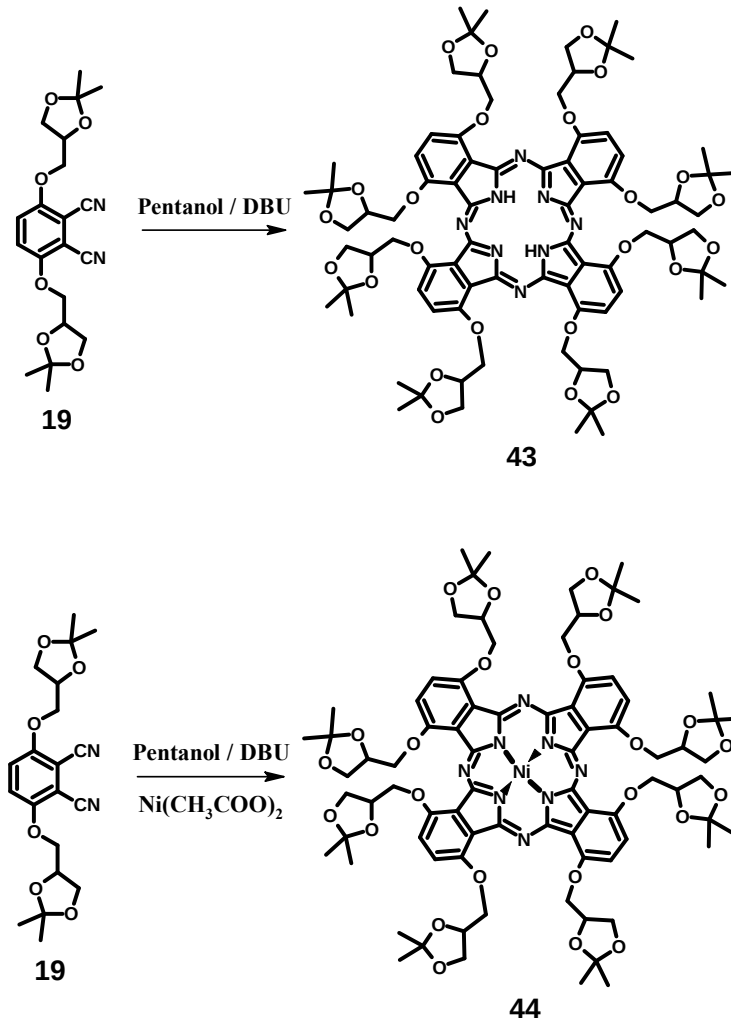
5.3.1. Oktasüstitüe Ftalosiyanın Sentezi

19, 29 ve 30 nolu başlangıç bileşikler ikinci ve üçüncü bölümdeki sentez metodu uygulanarak elde edildi (Şekil 5.5).



Şekil 5.5. Oktasüstitüe Ftalosiyanınların Genel Sentez Metodu

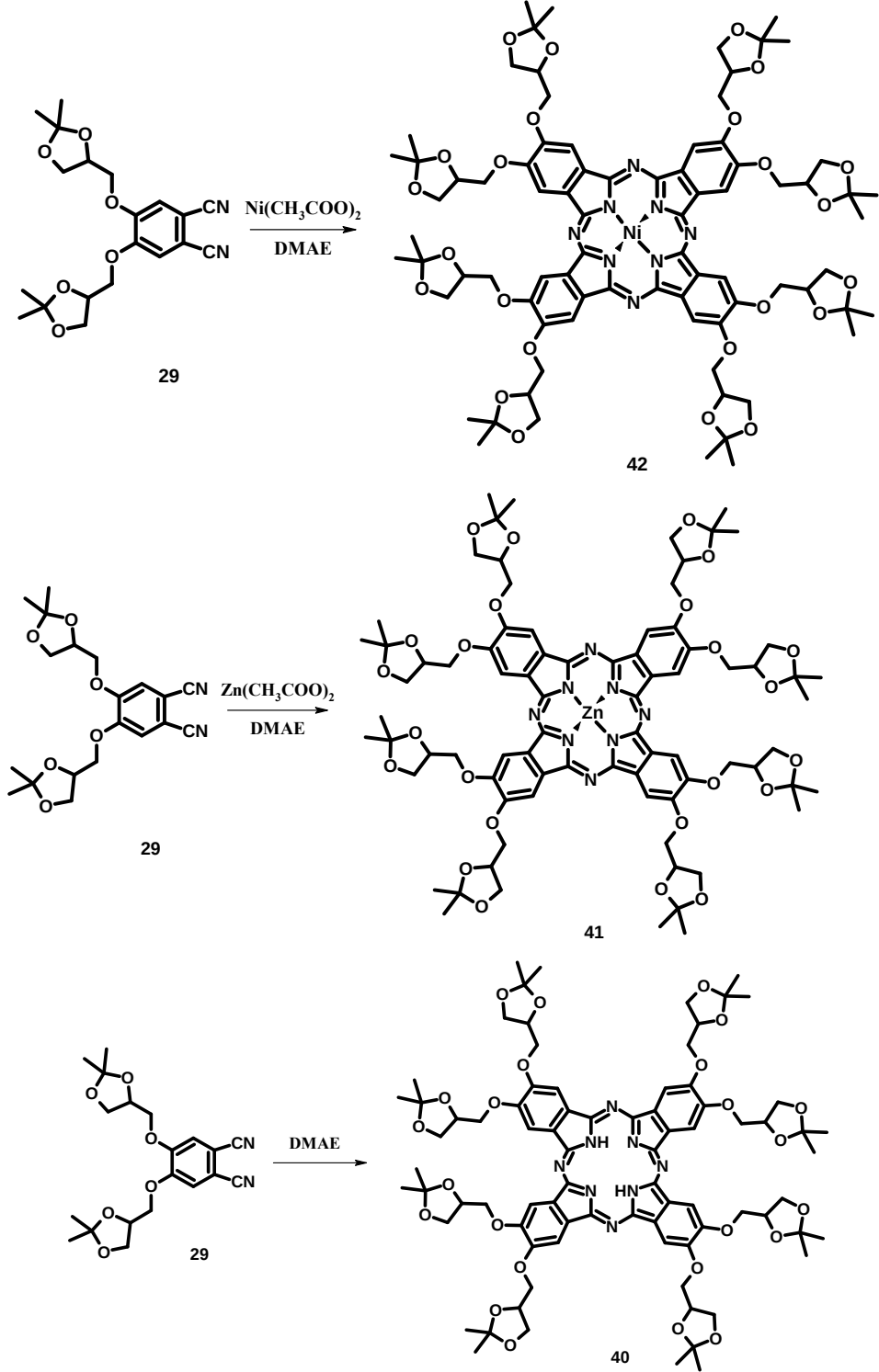
32 ve **20** numaralı ftalosiyanin bileşiklerinin sentezi ikinci ve üçüncü çalışmamızda sentezi yapılmıştır. Bu ftalosiyanin hariç diğer non-periferal olarak süstitüe metalli ftalosiyaninler (**43**, **44**), **19** numaralı ftalonitril bileşiğinden sentezlendi. **43** numaralı metallsiz ftalosiyanin bileşiği, **19** bileşiğinin DBU/pentanol içinde reflux edilmesiyle gerçekleştirilen reaksiyon sonucu elde edilmiştir. **19** bileşiğini kullanarak $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ metal tuzu ve DBU/pentanol karışındaki reaksiyon sonucu **44** bileşiği elde edilmiştir (Şekil 5.6).



Şekil 5.6. Bu Çalışmada Sentezlenen Non-Periferal Oktasüstitüe Ftalosiyaninler

31 bileşiği üçüncü bölümdeki çalışmamızda sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu ftalosiyanin hariç diğer periferal olarak süstitüe metalli ftalosiyaninler (**41**, **42**), (**29**) numaralı ftalonitril bileşiğinden, metal tuzu ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ veya

$\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ varlığında ve DMAE solventi kullanılmasıyla gerçekleştirilen reaksiyon sonunda elde edilmiştir. **40** numaralı metallsiz ftalosiyanın bileşiği, **29** numaralı ftalonitril bileşiğinin DMAE içinde reflux edilmesi sonucu elde edilmiştir (Şekil 5.7).



Şekil 5.7. Bu Çalışmada Sentezlenen Periferik Oktasüstitüe Ftalosiyanınlar

Metalsiz ftalosiyenin sentezinde farklı metotların kullanıldığı bilinmektedir. Örneğin metalsiz ftalosiyenin sentezinde siklotetramerizasyon oluşumunu kolay bir şekilde sağlayan magnezyum ve lityum gibi asidik ortamda kolayca uzaklaşabilen metaller yaygın olarak kullanılmaktadır. Solketal grubundaki asetaller aside karşı oldukça hassas olduğu için bizim gerçekleştirdiğimiz reaksiyonlarda bu metot uygun olmamaktadır. Bu yüzden literatürde belirtilen prosedürleri uygulayarak, template etki olmaksızın metalsiz ftalosiyenleri direk olarak ftalonitrillerden sentezledik [184-186]. Non-periferale konumların sterik etkiye sahip olmasından bu çalışmada non-periferale süstitüe ftalosiyenler periferale süstitüe ftalosiyenlere oranla daha düşük verimlerde elde edildi (Tablo 5.1). Literatür çalışmalarında benzer sonuçlar rapor edilmiştir [187].

Tablo 5.1. Bu Çalışmada Sentezlenen Oktasüstitüe Ftalosiyenlerin Verimleri

Bileşik	Ni	Pt	Zn	H ₂
Non-periferale (α Pcs)	48	8	21	5.3
Periferale (β Pcs)	64	35	56	32

Genel olarak non-periferale olarak süstitüe ftalosiyenler periferale olarak süstitüe ftalosiyenlere göre organik çözücülerde daha iyi çözünmektedir. Bu çalışmada metale bağlı olarak organik çözücülerdeki çözünürlüğü farklı olan ftalosiyenlerin (periferale veya non-periferale) olduğu gözlemlendi. Bu beklenmedik durum NMR numunelerinin hazırlama esnasında gözlemlendi. (Tablo 5.2)

Tablo 5.2. Bu Çalışmada Sentezlenen Oktasüstitüe Ftalosiyenlerin Çözünürlükleri

	(44)	(20)	(43)	(32)	(42)	(41)	(40)	(31)
Kloroform	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
DMSO	+++	+++	+++	+++	-	+	-	-

+++ çok iyi çözünüyor ++ çözünüyor + az çözünüyor - çözünmüyor

40, 41, 42, 43 ve 44 bileşiklerinin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumunda, bileşiklere ait hesaplanan ve bulunan değerler Tablo 5.3’de verilmiştir.

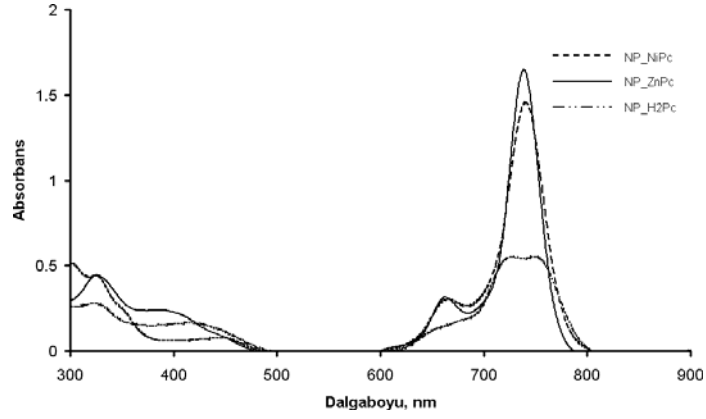
Tablo 5.3. Bu Çalışmada Sentezlenen Ftalosiyanınlar İçin Hesaplanan ve Bulunan Molekül İyon Pikleri

Bileşik	Molekül Formülü	Hesaplanan $[M]^+$	Bulunan
40	$C_{80}H_{98}N_8O_{24}$	1154.67	1556.6 $[M+H]^+$
41	$C_{80}H_{96}N_8O_{24}Zn$	1616.58	1618.7 $[M+2H]^+$
42	$C_{80}H_{96}N_8O_{24}Ni$	1610.58	1611.4 $[M+H]^+$
43	$C_{80}H_{98}N_8O_{24}$	1154.67	1577.9 $[M+Na]^+$
44	$C_{80}H_{96}N_8O_{24}Ni$	1610.58	1633.8 $[M+Na]^+$

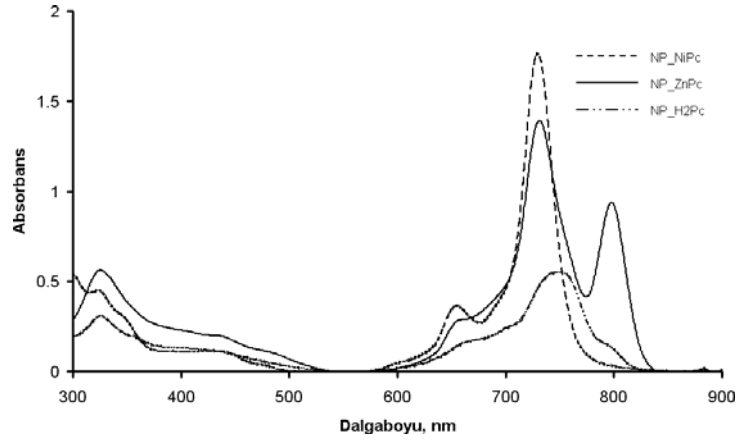
Oktasüstitüe ftalosiyanınların çözünürlük farkından dolayı non-periferale süstitüe ftalosiyanınların UV-Vis. ölçümleri $CHCl_3$ ve DMSO solventinde, periferale süstitüe ftalosiyanınların sadece $CHCl_3$ solventinde yapılmıştır. Oktasüstitüe ftalosiyanınlar için elektronik absorpsiyon değerleri Tablo 5.4’de verilmiştir.

Tablo 5.4. Bu Çalışmada Sentezlenen Oktasüstitüe Ftalosiyanınların Elektronik Absorpsiyon Değerleri

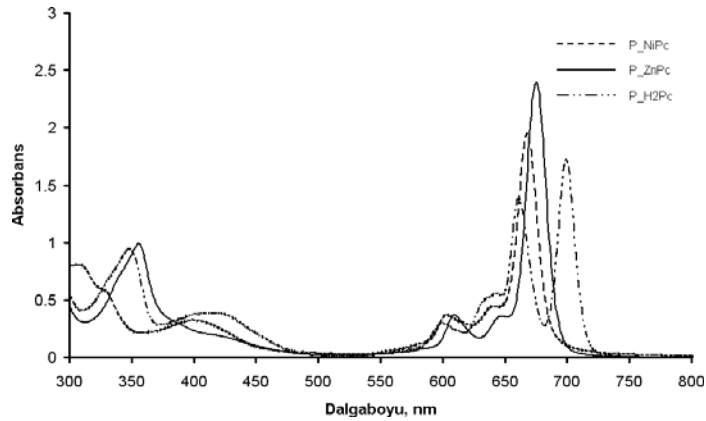
Bileşik		$CHCl_3$	DMSO
Periferale Oktasüstitüe Ftalosiyanınlar	Ni	667.5 (5.3), 308.5 (4.9)	-
	Zn	675 (5.4), 356 (5.0)	-
	H ₂	699 (5.2), 662(5.1), 348 (5.0)	-
Non-periferale Oktasüstitüe Ftalosiyanınlar	Ni	729.5 (5.2), 323.5 (4.6)	714 (5.2), 324.5 (4.6)
	Zn	731 (5.1), 325 (4.7)	738.5 (5.2), 324 (4.6)
	H ₂	749.5 (4.7), 325 (4.5)	725.5 (4.7), 749.5 (4.7) 323.5 (4.4)



Spektrum 5.1. α NiPc, α ZnPc ve α H₂Pc İçin DMSO'da 10mM Konsantrasyonda Alınmış UV-Vis Spektrumu



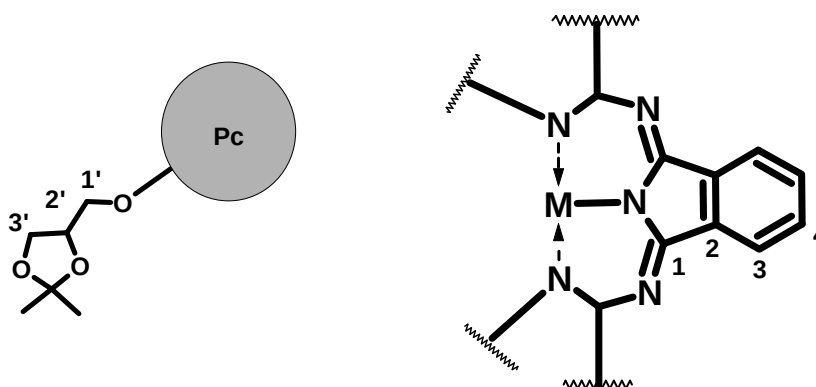
Spektrum 5.2. α NiPc, α ZnPc ve α H₂Pc İçin Kloroformda 10mM Konsantrasyonda Alınmış UV-Vis Spektrumu



Spektrum 5.3. β NiPc, β ZnPc ve β H₂Pc İçin Kloroformda 10mM Konsantrasyonda Alınmış UV-Vis. Spektrumu

5.3.2. Oktasübstitüe Ftalosiyeninlerin NMR Analizleri

NMR analizlerinin daha kolay yorumlanabilmesi için aşağıdaki şekilde verilen numaralandırma sistemi kullanılmıştır. Solketal kısmındaki karbon atomlarının ftalosiyenin halkasında bulunan karbon atomlarından ayırmak için $C_1'C_2'C_3'$ şeklinde numaralandırma sistemi verildi (Şekil 5.8).

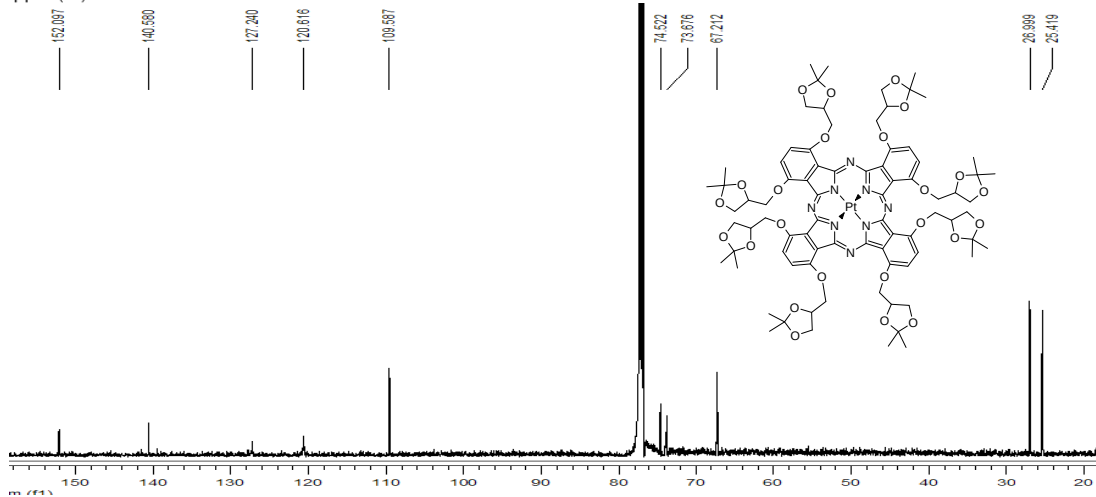
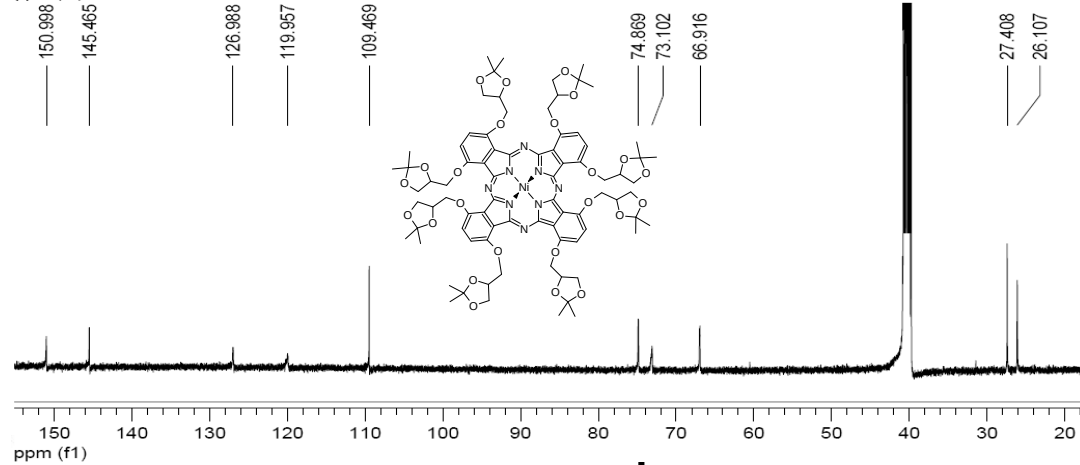
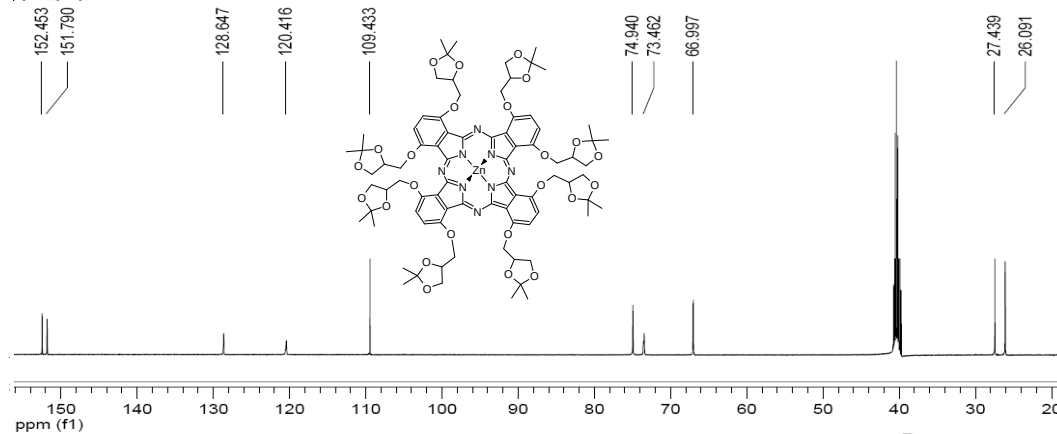
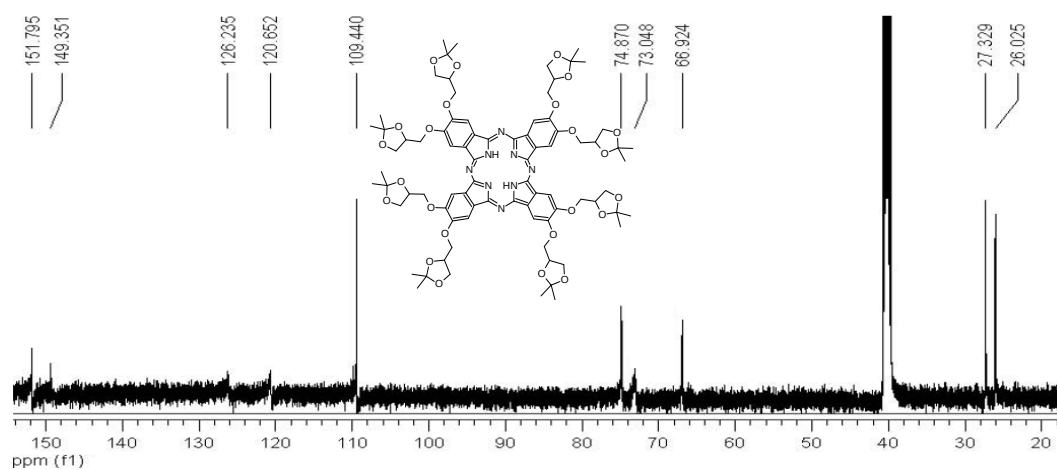


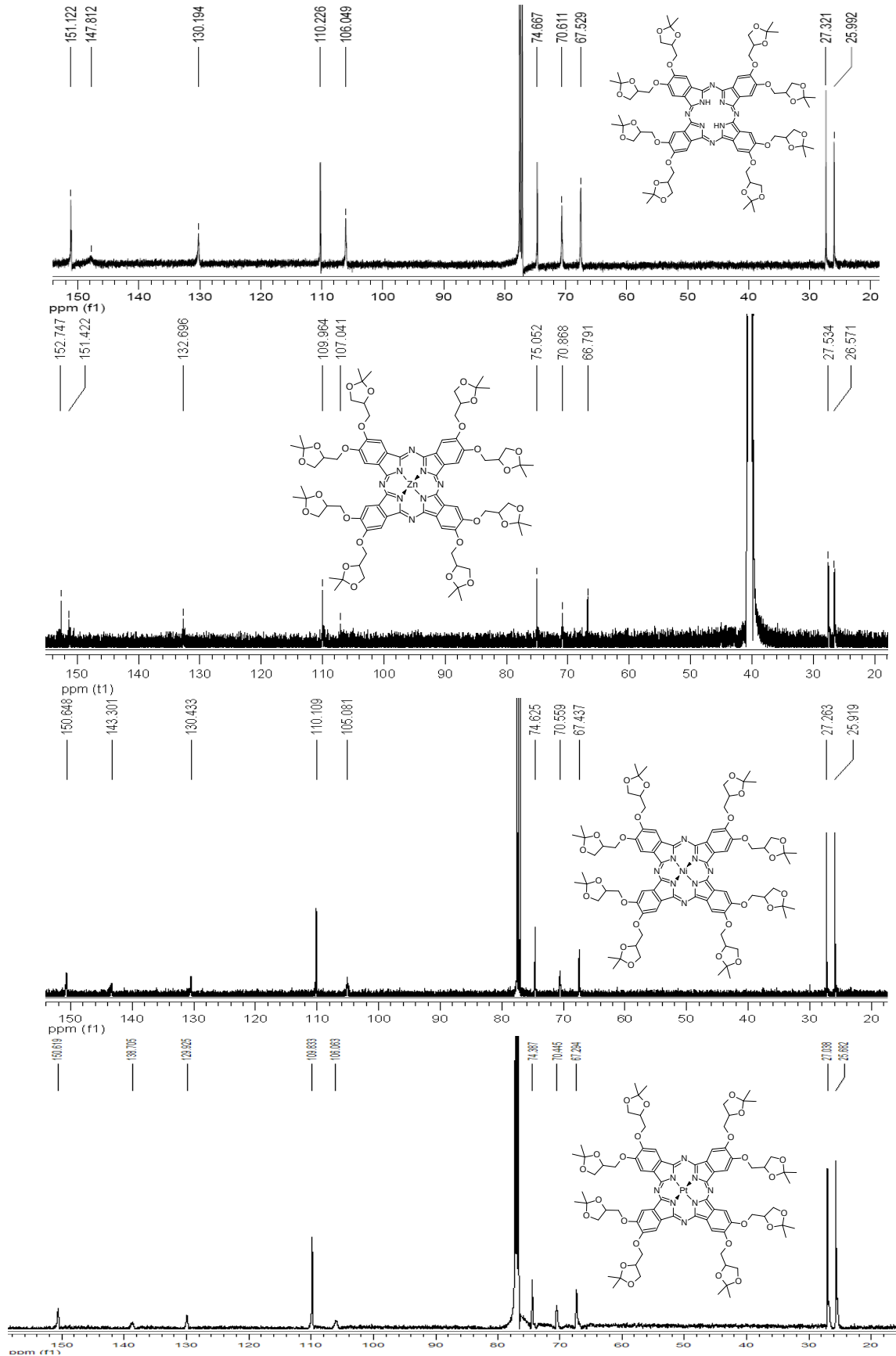
Şekil 5.8. Solketal ve Ftalosiyenin Kısmı İçin Numaralandırma Sistemi

Bütün ftalosiyeninlerin ^{13}C NMR analizleri NMR solventi içinde doymuş çözeltileri hazırlanarak elde edildi. **41** bileşiği için her iki solvent kullanarak ile NMR spektrumları elde edildi (Tablo 5.5).

Tablo 5.5. Oktasübstitüe Ftalosiyeninlerin NMR Deneylerinin Yapıldığı NMR Solventleri

(44)	(20)	(43)	(32)	(42)	(41)	(40)	(31)
DMSO- d_6	DMSO- d_6	DMSO- d_6	CDCl_3	CDCl_3	CDCl_3 DMSO- d_6	CDCl_3	CDCl_3





Spektrum 5.4. Non-periferal ve Periferal Ftalosiyeninlerin ^{13}C NMR Spektrumlarının Karşılaştırılması

5.3.2.1. Solketal Grubunun NMR Analizi

Bu çalışmada sentezlenen ftalosiyeninlerin solketal halkasında bulunan protonlar ($-\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$) 4-5 ppm arasında kimyasal kayma değeri göstermektedir. Solketal bileşiği rasemik karışım olduğundan bütün ftalosiyeninler diastereoizomerik karışım halindedirler. Bu neden ile ^1H NMR spektrumunda sinyallerinin yayvanlaştığı gözlenmektedir. Asetal grubunda yer alan iki pik $-\text{CH}_3$ protonlarına aittir. Solketal halkasındaki beş protonun kimyasal kayması, solketalin non-periferal veya periferal konumlarda olmasına bağlı olarak çok az değişiklik gösterebilmektedir. Sübstitüe edilmiş solketalin iki metilen grubunun pro-kiral olmasından dolayı H-3' protonları 4-5 ppm aralıklarla en çok perdelenmiş bölgede rezonansa gelmektedir. C-1'e bağlı olan protonlardan biri (H-1), H-2 protonları ile aynı bölgede rezonansa gelmektedir. H-1 protonları ise 4-5 ppm aralıklarla perdelenmemiş bölgede yer almaktadır.

Solketal grubundaki karbonların ^{13}C NMR kimyasal kaymaları metale veya sübstitüsyon pozisyon yerine bağlı olmadığı belirlendi. Solketal grubundaki tüm karbon atomlarının kimyasal kaymasını belirleyebilmek için **20** bileşiği üzerinde DEPT, HSQC ve HMBC NMR teknikleri uygulandı.

Bütün ftalosiyeninlerde solketalde C-3' metilen karbonu 66.99 (66.9 ± 0.6) ppm'de rezonansa gelmektedir. C-2' karbonu 73.1 ppm'de rezonansa gelmektedir. Bu karbonun kimyasal kayması en çok sübstitüsyon yapısıyla etkilenmektedir. Bunu sebebi periferal pozisyondaki elektron yoğunluğu non-periferal pozisyonunkinden daha zayıf olmasından kaynaklanmaktadır. Bu da 3 ppm'lik bir kimyasal kayma farka neden olmaktadır. Non-periferal pozisyonda solketalin C-1' karbon atomuna ait kimyasal kayması 73.2 ppm'de rezonansa gelirken, periferal pozisyonda C-1' karbon atomu 70.5 ppm'de rezonansa gelmektedir.

5.3.2.2. Ftalosiyenin Makrohalkasının NMR Analizi

Non-periferal ve periferal konumlarda süstitüe ftalosiyeninlerin farklı çözünürlüklerden dolayı farklı solventlerde (d_1 -CDCl₃ ve d_6 -DMSO) NMR spektrumları alınmıştır. Bu solvent değişikliği NMR spektrumlarında ¹³C NMR kimyasal kaymalarına hiçbir şekilde etki etmediği gözlemlendi. Metalsiz (40) bileşiğinin iç N-H protonları -5 ppm'de gözlenmiştir. Bu protonlar dötoro solventlerde ftalosiyenin konsantrasyonuna bağlı olarak skala üzerinde oynama gösterebilir. 43 bileşiğinde N-H protonları gözlenememiştir. Spektrumun alındığı DMSO'nun bazikliği N-H protonlarını uzaklaştırdığı söylenebilir. C-1 karbon atomunun spektrumun düşük alan (perdelenmemiş) bölgesinde bulunduğu gözlenmiştir. Bu karbon atomu kimyasal kayması süstitüsyonun pozisyon yerine bağlı olmayıp, sadece metalin yapısı ve doğasına bağlı olduğu gözlenmiştir.

Tablo 5.6. Oktasüstitüe Ftalosiyeninlerin ¹³C NMR Kimyasal Kayma Değerleri

	Bileşik	Nitril	H ₂	Zn	Ni	Pt
C-1	Non-periferal α	119.2*	149.4	151.8	145.5	140.58*
(CN)	Periferal β	115.5*	147.8*	151.4	143.3*	138.7
C-2	Non-periferal α	106.1*	126.2	128.6	127	127.24*
(C-1, C-2)	Periferal β	109.1*	130.2*	132.7	130.4*	129.92*
C-3	Non-periferal α	155.3*	151.8	152.4	151.0	152.09*
(C-3, C-6)	Periferal β	151.9*	106.1*	107.0	105.1*	106.06*
C-4	Non-periferal α	112.8*	120.6	120.4	120.0	120.61*
(C-4, C-5)	Periferal β	116.8*	151.2*	152.8	150.7*	150.61*

* işaretli olanlar CDCl₃ solventinde ölçülmüştür. Diğerleri DMSO- d_6 da ölçülmüştür.

Non-periferal Ftalosiyenlerde Durum: (20) bileşiğinin DEPT spektrumundan makrosiklik halkanın C-4 karbon atomunun 120.42 ppm'de rezonansa geldiği belirlenmiştir. HSQC iki boyutlu NMR spektrumunda 120.42 ppm'in karşılık geldiği 7.86 ppm de aromatik protona ait olduğu belirlenmiştir. HMBC deneylerinde, solketalde C-1' karbona ait protonların üç bağ ötede ftalosiyenin halkasında 152.4 ppm'de bulunan C-3 karbon atomu ile eşleştiği bulunmuştur. Spektrumda 8 ppm'de tekli pik olarak rezonans olan aromatik protonlar C-3 karbonu ile eşleşmektedir, bu yüzden 128.65 ppm'deki pik C-2

karbon atomu olarak belirlendi. 151.8 ppm'de bulunan C-1 karbon atomu herhangi bir proton ile eşleşmesi mümkün olmamaktadır. Merkez metal atomu ne olursa olsun karbon atomlarının sıralaması C-3>C-1>C-2>C-4 şeklindedir.

Periferal Ftalosiyaninlerde Durum: Periferal ftalosiyaninlerin durumunda süstitüsyon pozisyon yerinin (periferal veya non-periferal) kimyasal kaymaya herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Non-periferaldeki benzer etki periferal durumda da gözlenmiştir ($Zn > H_2 > Ni$). C-3 metin karbonu 106 ± 1 ppm'de rezonansa gelirken, C-4 karbon atomu en az perdelenme bölgesinde rezonansa geldiği gözlemlendi. C-2 süstitüsyon yapısına bağlı olarak 4 ppm daha yüksek frekansta gözlenirken, C-1 karbon atomu 1-2 ppm farklılık göstermektedir. Periferal durumda karbon atomlarının sıralaması C-4>C-1>C-2>C-3 şeklindedir. Bu yorumlar literatürde Zn türevleri için rapor edilenler ile uyumluluk göstermektedir [188]. Ayrıca **40** bileşiğinde C-1 karbon atomunun kimyasal kaymasında dolayı küçük bir pik genişlemesi gözlenmiştir. Bu durum solvent içindeki agregasyondan kaynaklanmaktadır.

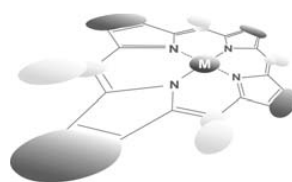
5.4. Sonuçlar

Ftalosiyanin makrohalkasında bulunan C-1 karbon atomunun kimyasal kayması süstitüsyon pozisyon yerinden (periferal veya non-periferal) etkilenmeyip sadece metalin türünden etkilendiği belirlemiştir. C-1'in kimyasal kayması $Zn > H_2 > Ni > Pt$ şeklindedir. Zn(II) ve metallsiz ftalosiyaninler ile karşılaştırıldığında, Pt(II) ftalosiyanindeki C-1 atomunun kimyasal kayması en yüksek alanda gözlenmiştir. Bu durum Pt(II)'nin ağır atom özelliğinden kaynaklanmaktadır.

- C-2 karbon atomu metalin türünden ve çok az bir şekilde süstitüsyon yapısından etkilendiği bulunmuştur.
- Makrohalkada bulunan –CH karbonun kimyasal kayması karşılaştırıldığında C-4 atomu (120 ppm) C-3 atomuna göre (106 ppm) daha düşük alanda rezonansa gelmiştir. Bu durum hem makrohalka hem de –OR sübtitüentinin elektronik etkisinden kaynaklanmaktadır.

- Kimyasal kayma üzerine metalin ve ftalosiyanin makrohalka oluşumunun etkisi açık bir şekilde Tablo 5.5’de verilmiştir. C-1 ve C-2 karbon atomları düşük alanda gözlenirken, C-3 ve C-4 daha yüksek alanda gözlemlendi.
- Bu çalışma ile ilgili 1 adet yayın hazırlandı.

Octasolketal-substituted phthalocyanines: synthesis and systematic study of metal effect and substitution pattern on ^{13}C NMR, Yunus Zorlu, Ilker Un and Fabienne Dumoulin, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* 2009; 13: 760–768



Octasolketal-substituted phthalocyanines: synthesis and systematic study of metal effect and substitution pattern on ^{13}C NMR

Yunus Zorlu, Ilker Un and Fabienne Dumoulin^{*◇}

Gebze Institute of Technology, Department of Chemistry, P.O. Box 141, Gebze, 41400 Kocaeli, Turkey

Received 19 August 2008

Accepted 11 September 2008

ABSTRACT: A complete series of solketal octasubstituted phthalocyanines have been synthesized, with peripheral (β) or non-peripheral (α) substitution pattern. Their ^{13}C NMR and UV-vis properties are compared relatively to this substitution pattern or the nature of the central metal (Ni, Zn or H_2).

KEYWORDS: solketal, ^{13}C NMR, octasubstitution, peripheral, non-peripheral, metal effect.

INTRODUCTION

Solketal, or its unprotected form, glycerol, are cheap precursors of numerous organic syntheses [1]. It has nevertheless been scarcely used as a symmetric [2–6] or asymmetric Pc substituent [7]. Looking for multihydroxylated Pcs [8], we selected the glycerol substitution, whose precursor is the (2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methanol or 1-2-diisopropylidene glycerol, referred to hereafter by its common name, solketal. During the syntheses of the solketal-substituted Pcs, the value of an extensive study of the metal and peripheral effect became apparent, especially from the ^{13}C NMR and UV-vis points of view. ^{13}C NMR investigations are quite rare in Pcs analyses even though they have become easier with the increased sensitivity of the measurements. As far as we know, the effect of the metal and/or substitution pattern has not been systematically studied yet. By synthesizing six octasubstituted Pcs (Chart 1), we had the opportunity to make such comparisons, especially for the ^{13}C NMR of Ni, Zn and free-base Pcs, which are divided into two groups according to their substitution pattern: peripheral (β Pcs) and non-peripheral (α Pcs). Even if NMR studies involving two-dimensional investigations are becoming more numerous [9–11], this is the first systematic study of the influence of the nature of the metal and of the substitution pattern on ^{13}C NMR of phthalocyanines. DEPT

(Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), HSQC (Hetero Single Quantum Correlation) and HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) have been used for a complete attribution of all the carbons of the phthalocyanine macrocycle and the substituents, allowing subsequent analyses of the metal and substitution pattern on ^{13}C chemical shifts. Electronic absorption of Pcs has been widely studied as it is one of the key parameters for characterizing and analyzing Pcs [12].

EXPERIMENTAL

General

Dimethylformamide (DMF), *N,N*-dimethylaminoethanol (DMAE), and *n*-pentanol were dried before use, as described by Perrin and Armarego [13]. Chromatographic purification was performed on silica gel (Merck, 0.04–0.063 mm) with the indicated eluting systems. Infrared spectra were recorded with a Bio-Rad FTS 175C FTIR spectrophotometer. Absorption spectra in the UV-vis region were recorded with a Shimadzu 2001 UV PC spectrophotometer using a 1 cm pathlength cuvette at room temperature. LC-ESI mass spectra were recorded with a Bruker microTOF spectrometer. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) measurements were performed on a Bruker Daltonics microTOF (Bremen, Germany). Positive-ion and linear-mode MALDI-TOF-MS spectrum were obtained in 2,5-dihydroxy benzoic acid

[◇]SPP full member in good standing

^{*}Correspondence to: Fabienne Dumoulin, email: fdumoulin@gyte.edu.tr, tel: +90 262-305-31-23, fax: +90 262-305-31-01

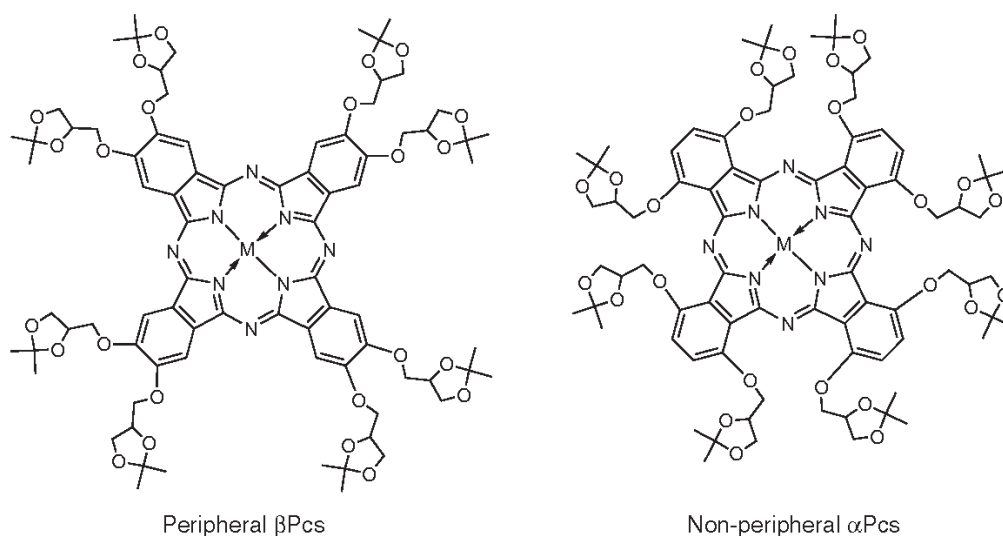


Chart 1. Presentation of the two groups of studied Pcs: non-peripheral α and peripheral β . M: Zn, Ni and H₂

MALDI matrix using nitrogen laser accumulating 50 laser shots. ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded in CDCl₃ or DMSO-*d*₆ solutions with a Varian 500 MHz spectrometer.

Synthesis

Preparation of 3,6-bis((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalonitrile (2). To a solution of 3,6-dihydroxyphthalonitrile (5 g, 31 mmol) and potassium carbonate (13 g, 94 mmol) in dry DMF (20 mL) was added (2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl *p*-toluenesulfonate (**1**) (18 g, 63 mmol) dissolved in DMF (20 mL). The reaction mixture was heated at 60 °C for 18 hours and then poured in ice water. The resulting precipitate was filtered, washed with water, and crystallized in hot ethanol. White crystals. Yield 85% (10.3 g), mp 176–180 °C. IR (KBr): ν , cm⁻¹ 3029 (ArCH), 2982–2884 (CH₂, CH₃), 2231 (C≡N), 1389, 1370 (CH₃-C-CH₃). ¹H NMR (CDCl₃): δ , ppm 7.17 (s, 2H, Ar), 3.90–4.42 (m, 10H, 2 CH₂CHCH₂), 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.32 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃): δ , ppm 155.28 (C-6, C-3), 119.19 (2 CN), 112.8 (C-4, C-5), 110.22 (CMe₂), 106.07 (C-1, C-2), 73.73 (CH), 66.65, 70.51 (2 OCH₂), 25.48, 26.93 (2 CH₃). MS (LC-ESI): *m/z* 411.2 [M + Na]⁺.

Preparation of 3,4-bis((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)-1,2-dibromobenzene (3). Dibromocatechol (11.5 g, 43 mmol) was stirred in a 50% sodium hydroxide solution at 80 °C for one hour. Then, *n*-Bu₄NBr (5 g, 15 mmol) and (2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl *p*-toluenesulfonate (**1**) (26.9 g, 94 mmol) were added. Stirring continued at the same temperature overnight. After cooling, the reaction mixture was diluted with water and extracted by dichloromethane (3 × 500 mL). The combined organic phases were then washed with water until neutrality was achieved, dried on Na₂SO₄, and

concentrated. The desired product is purified on a silica gel column chromatography, with ethyl acetate/hexane (1:1) as eluent. Yield 86% (18.3 g). Analyses fitted the description in literature [2].

Preparation of 3,4-bis((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalonitrile (4). A solution of **3** (9.2 g, 18.6 mmol) and CuCN (6.7 g, 74.3 mmol) in *N,N'*-dimethylpyrrolidone was irradiated by microwaves (400 W, 30 min). After cooling, a 25% ammonium solution was added and the heterogeneous mixture was stirred overnight at room temperature, then filtered. The solid was extracted by dichloromethane and then by ethyl acetate overnight in a Soxhlet. The ammonium phase was extracted by dichloromethane, itself back extracted by water to remove the remaining *N,N'*-dimethylpyrrolidone. The combined organic phases were dried on Na₂SO₄ and purified on a silica gel column chromatography, ethyl acetate/hexane (1:2). Yield 35% (2.53 g). Analyses fitted the description in literature [2].

Preparation of 1,4,8,11,15,18,22,25-octa((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyaninato nickel(II) (α NiPe). A mixture of **2** (0.5 g, 1.29 mmol) and Ni(OAc)₂ (114 mg, 0.645 mmol) in *n*-pentanol (5 mL) was placed in an argon-purged vessel. DBU (0.2 mL) was added and the mixture was stirred at reflux temperature for 8 h, allowed to cool down, and poured into hexane (150 mL). The resulting precipitate was isolated by centrifugation and washed several times with hexane. The crude mixture was purified on a silica gel column chromatography, with ethyl acetate/hexane (1:1) as eluent, to pure ethyl acetate, yielding 249 mg (48%) of blue powder, mp > 220 °C. IR (KBr): ν_{max} , cm⁻¹ 3040 (ArCH), 2985–2879 (CH₂, CH₃), 1602 (ArC=C), 1500, 1370, 1312, 1223, 1159, 1061, 839. ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ , ppm 7.83 (s, 8H, Ar), 4.10–4.91 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.34 (bs, 24H, 8 CH₃), 1.32 (bs, 24H, 8 CH₃). ¹³C NMR

(DMSO- d_6): δ , ppm 150.99 (C-3), 145.46 (C-1), 126.98 (C-2), 119.95 (C-4), 109.46 (CMe₂), 74.86 (C-2'), 73.10 (C-1'), 66.91 (C-3'), 27.40, 26.10 (2 CH₃). MS (LC-ESI): m/z 1633.8 [M + Na]⁺.

Preparation of 1,4,8,11,15,18,22,25-octa((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyaninato zinc(II) (α ZnPc). A mixture of **2** (0.5 g, 1.29 mmol) and Zn(OAc)₂ (118 mg, 0.645 mmol) was suspended in *n*-pentanol (5 mL) in an argon-purged vessel and DBU (0.2 mL) was added. The mixture was stirred at refluxing temperature for 8 h, allowed to cool down, and poured into hexane (150 mL). The resulting precipitate was isolated by centrifugation and washed several times with hexane. The crude mixture was purified on a silica gel column chromatography, with ethyl acetate/hexane (1:1) as eluent, to pure ethyl acetate, yielding 109 mg (21%) of green powder, mp > 220 °C. IR (KBr): $\nu_{\max}$, cm⁻¹ 3040 (ArCH), 2984–2880 (CH₂, CH₃), 1595 (ArC=C), 1499, 1377, 1323, 1263, 1234, 1198, 1157, 1057, 843. ¹H NMR (DMSO- d_6): δ , ppm 7.86 (s, 8H, Ar), 4.15–5.06 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.35 (bs, 24H, 8 CH₃), 1.32 (bs, 24H, 8 CH₃). ¹³C NMR (DMSO- d_6): δ , ppm 152.45 (C-3), 151.79 (C-1), 128.64 (C-2), 120.41 (C-4), 109.43 (CMe₂), 74.90 (C-2'), 73.46 (C-1'), 66.99 (C-3'), 27.43, 26.09 (2 CH₃). MS (LC-ESI): m/z 1618.8 [M + 2H]⁺.

Preparation of 1,4,8,11,15,18,22,25-octa((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyanine (α H₂Pc). **2** (0.5 g, 1.29 mmol) was suspended in *n*-pentanol (2 mL) in an argon-purged vessel and DBU (0.5 mL) was added. The mixture was stirred at refluxing temperature for 8 h, allowed to cool down, and poured into hexane (150 mL). The resulting precipitate was isolated by centrifugation and washed several times with hexane. The crude mixture was purified on a silica gel column chromatography with ethyl acetate/hexane (1:2) as eluent, yielding 26 mg (5.3%) of a green powder, mp > 220 °C. IR (KBr): $\nu_{\max}$, cm⁻¹ 3300 (NH), 3045 (ArCH), 2985–2882 (CH₂, CH₃), 1609 (ArC=C), 1488, 1450, 1372, 1279, 1208, 1155, 1092, 1052, 855. ¹H NMR (DMSO- d_6): δ , ppm 7.72 (s, 8H, Ar), 3.95–4.75 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.14 (bs, 48H, 16 CH₃). ¹³C NMR (DMSO- d_6): δ , ppm 151.79 (C-3), 149.35 (C-1), 126.23 (C-2), 120.65 (C-4), 109.44 (CMe₂), 74.87 (C-2'), 73.04 (C-1'), 66.92 (C-3'), 27.32, 26.02 (2 CH₃). MS (LC-ESI): m/z 1577.9 [M + Na]⁺.

Preparation of 2,3,9,10,16,17,23,24-octa((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyaninato nickel(II) (β NiPc). β NiPc was prepared from **4** (0.5 g, 1.29 mmol) and Ni(OAc)₂ (114 mg, 0.645 mmol), using the same procedure as for α NiPc, yielding 332 mg (64%) of blue powder, mp > 220 °C. IR (KBr): $\nu_{\max}$, cm⁻¹ 3040 (ArCH), 2985–2885 (CH₂, CH₃), 1609 (ArC=C), 1531, 1476, 1428, 1370, 1281, 1207, 1159, 1099, 1063, 848. ¹H NMR (CDCl₃): δ , ppm 7.94 (s, 8H, Ar), 4.22–4.81 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.63 (bs, 24H, 8 CH₃), 1.53 (bs, 24H, 8 CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃): δ , ppm 150.64 (C-4), 143.30 (C-1), 130.43 (C-2), 110.10 (CMe₂), 105.08 (C-3), 74.62

(C-2'), 70.55 (C-1'), 67.43 (C-3'), 27.26, 25.91 (2 CH₃). MS (MALDI-TOF): m/z 1611.4 [M + H]⁺.

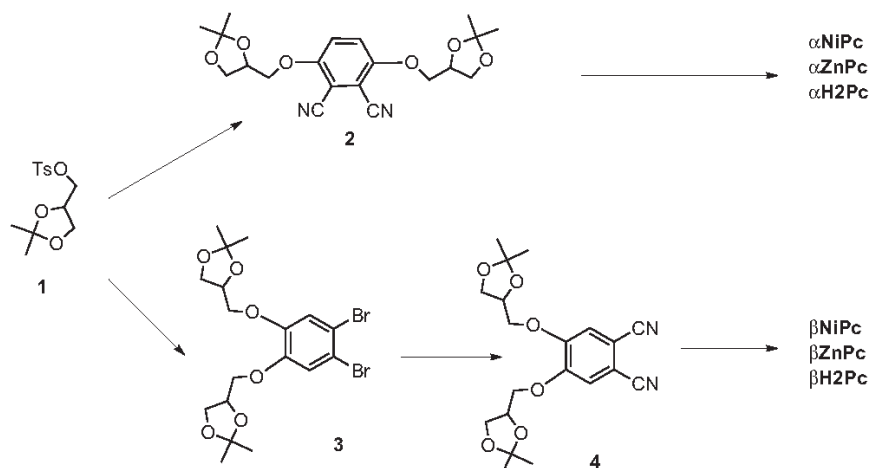
Preparation of 2,3,9,10,16,17,23,24-octa((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyaninato zinc(II) (β ZnPc). β ZnPc was prepared from **4** (0.5 g, 1.29 mmol) and Zn(OAc)₂ (118 mg, 0.645 mmol) using the same procedure as for **InnerZn**, DMAE (10 mL) being used as the solvent, and purified on a silica gel column chromatography, with ethyl acetate/hexane (1:2) as eluent, to pure ethyl acetate, yielding 292 mg (56%) of green powder, mp > 220 °C. IR (KBr): $\nu_{\max}$, cm⁻¹ 3045 (ArCH), 2986–2882 (CH₂, CH₃), 1605 (ArC=C), 1495, 1455, 1371, 1280, 1204, 1158, 1089, 1054, 839. ¹H NMR (DMSO- d_6): δ , ppm 8.58 (s, 8H, Ar), 4.09–4.69 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.53 (bs, 24H, 8 CH₃), 1.40 (bs, 24H, 8 CH₃). ¹³C NMR (DMSO- d_6): δ , ppm 152.74 (C-4), 151.42 (C-1), 132.69 (C-2), 109.96 (CMe₂), 107.04 (C-3), 75.05 (C-2'), 70.86 (C-1'), 66.79 (C-3'), 27.53, 26.57 (2 CH₃). MS (MALDI-TOF): m/z 1618.7 [M + 2H]⁺.

Preparation of 2,3,9,10,16,17,23,24-octa((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phthalocyanine (β H₂Pc). β H₂Pc was prepared from **4** (0.5 g, 1.29 mmol), using DMAE (5 mL) as the solvent, yielding 156 mg (32%) of green powder, mp > 220 °C. IR (KBr): $\nu_{\max}$, cm⁻¹ 3300 (NH), 3045 (ArCH), 29805–2882 (CH₂, CH₃), 1609 (ArC=C), 1487, 1448, 1370, 1278, 1207, 1159, 1094, 1053, 851. ¹H NMR (CDCl₃): δ , ppm 8.19 (s, 8H, Ar), 4.37–4.96 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.79 (bs, 24H, 8 CH₃), 1.69 (bs, 24H, 8 CH₃), -4.12 (bs, 2H, 2 NH). ¹³C NMR (CDCl₃): δ , ppm 151.22 (C-4), 147.81 (C-1), 130.19 (C-2), 110.22 (CMe₂), 106.04 (C-3), 74.66 (C-2'), 70.61 (C-1'), 67.52 (C-3'), 27.32, 25.99 (2 CH₃). MS (MALDI-TOF): m/z 1556.6 [M + H]⁺.

RESULTS AND DISCUSSION

Synthesis of the phthalocyanines

Tosylated solketal (**1**) is a common starting product used to introduce the solketal group to 3,6-dihydroxyphthalonitrile (leading to **2**) and dibromocatechol (leading to **3**) (Scheme 1), respectively. The later condensation was achieved in high yield (86%) in a 50% sodium hydroxide aqueous solution following a described procedure [14–16], using tetrabutylammonium bromide as the phase transfer catalysis agent. The dinitrilation of **3** was performed under microwave activation in 35% yield. The reaction was performed using *N,N'*-dimethylpyrrolidone as a solvent, its high dielectric constant being particularly suitable for microwave-activated reactions [17–18]. The MPcs were then obtained by cyclotetramerization of the phthalonitriles in the presence of the convenient metal salt (Ni(OAc)₂ or Zn(OAc)₂), in pentanol using 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) as the base. We used DMAE for the peripheral β ZnPc as described previously and obtained similarly satisfactory yields.



Scheme 1.

Different methods are known to prepare free-base phthalocyanines, especially the use of an easily removable metal salt (commonly lithium or magnesium) during the cyclotetramerization to promote the formation of the macrocycle, thanks to the template effect. This led to the metalated Pc, for which unmetalation is usually achieved by an acidic treatment [19]. In our case, these acidic conditions were not suitable with the solketal substituents as the risk of hydrolyzing the acetal groups is far too high, due to high sensitivity of acetals towards acidic hydrolysis [20]. We therefore prepared the free-base Pcs directly from the phthalonitriles **2** or **4** following the procedure described by Tomoda and co-workers [21–23], without using templating metal and in quite moderate yields. As expected and described in reference 24, yields are always lower in the case of the non-peripheral α Pcs compared to analogous peripheral β ones, due to the steric hindrance between the phthalonitriles disubstituted in their 3,6 positions (Table 1).

The solubilizing effect of the non-peripheral substitution regarding the peripheral pattern are known, and explained by the fact that aggregation is inhibited as non-peripheral substituent by intercalating between two macrocycles, preventing them from getting too close to each other [25–27].

Inside the same group of Pcs bearing either non-peripheral or peripheral groups, we noted important differences in the solubilities, depending on the metal. This was unexpectedly observed during the preparation of NMR samples, as the quantity of Pcs required to saturate the deuterated solvents was a lot more for the ZnPc than for the Ni and free ones. The observation was the same for

chloroform and DMSO. Non-peripheral α Pcs are soluble in chloroform and DMSO; peripheral β Pcs are mainly soluble in chloroform and very poorly soluble in DMSO for ZnPc, while NiPc and free-base Pc are not soluble at all in DMSO. This may be due to Zn coordinating a molecule of solvent, thus enhancing its solubility.

Electronic absorption UV-vis analyses

Due to our observations of the solubilities, UV-vis spectra have been recorded in both chloroform and DMSO for the non-peripheral group, but only in chloroform for the peripheral group (Fig. 1). The characteristic electronic absorption values are summarized in Table 2. A first look at Fig. 1 clearly shows that (i) the absorbance of the non-peripheral α Pcs is lower than the peripheral ones, that (ii) as expected there is a bathochromic shift for the non-peripheral Pcs, compared to the peripheral ones (about 50–60 nm) and that (iii) inside the same group, the absorbance of the free-based compound is in all cases weaker than the metalated one. This is coherent with the fact that the presence of the metal enhances the circulation of the electrons within the macrocycle.

Non-peripheral α Pcs. α H₂Pc is aggregated in both DMSO and chloroform, with very low molar extinction coefficient compared to the metalated ones. The splitting of the Q band in chloroform cannot be observed. This is due to the aggregation and a red-shifting due to the octa-non-peripheral substitution pattern, inducing the Q band broadening [28]. Moreover, it is likely in DMSO, thanks to the basicity of this solvent, the two central protons have been removed, leading to a symmetrical structure. The presence of the NH groups is attested by the IR spectrum at 3300 cm⁻¹. α NiPc exhibits superimposable spectra in DMSO or chloroform at 10 μ M, with no solvent effect on the aggregation or the molar extinction coefficient. In the case of α ZnPc, no aggregation is observed in DMSO, and the molar extinction coefficient is higher than the analogous α NiPc.

Table 1. Yields of the solketal octasubstituted Pcs

Compounds	Ni	Zn	H ₂
Non-peripheral α Pcs	48	21	5.3
Peripheral β Pcs	64	56	32

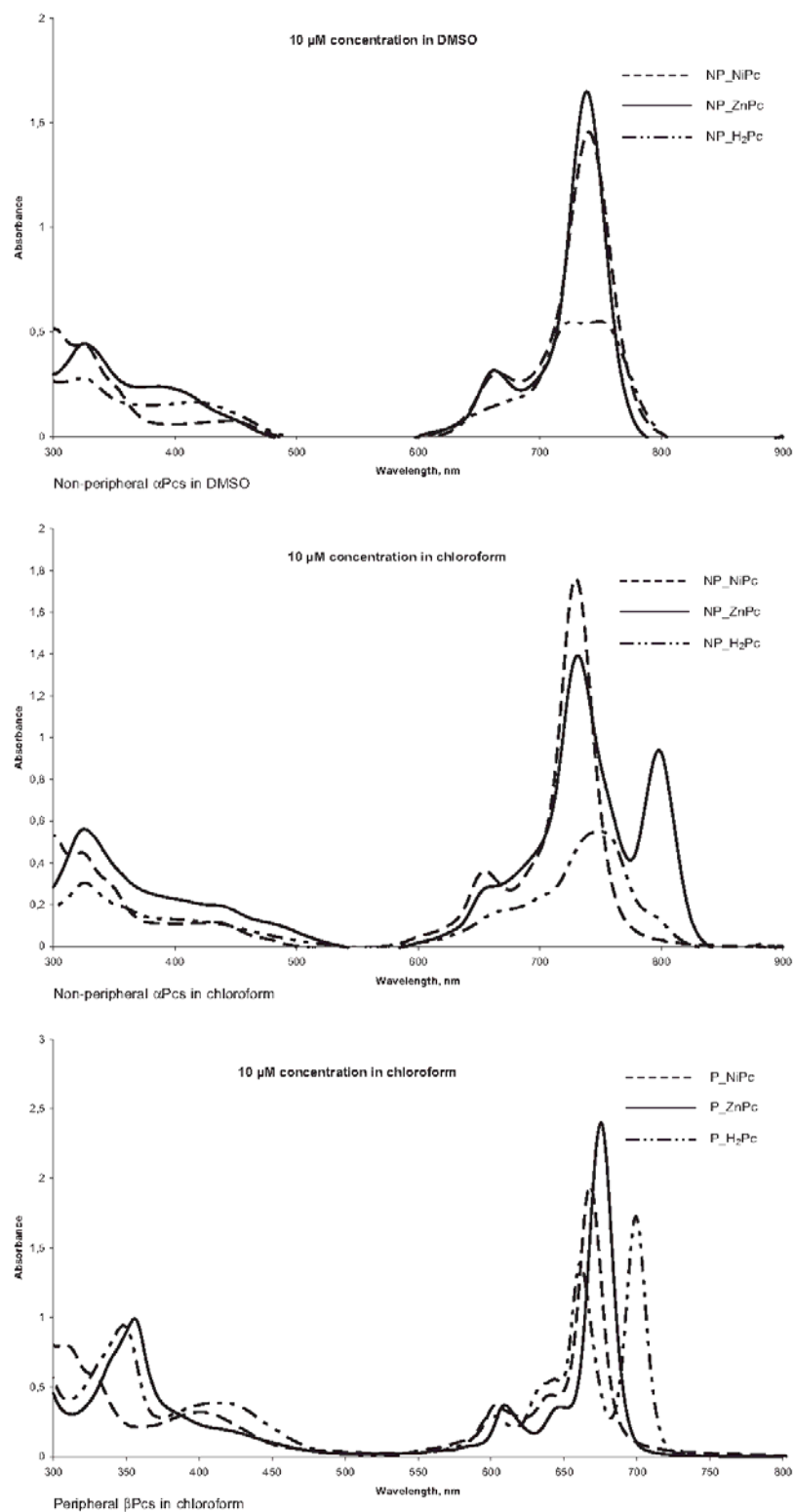


Fig. 1. Electronic absorption spectra. All measurements were done at 10 μM concentrations. Straight line: ZnPcs, dashed line: NiPcs, dotted dashed line: H₂Pcs

Table 2. Electronic absorption characteristics

		Ni		Zn		Free	
		Non-peripheral α	Peripheral β	Non-peripheral α	Peripheral β	Non-peripheral α	Peripheral β
Chloroform	Q band (log ϵ)	729.5 (5.2)	667.5 (5.3)	731 (5.1)	675 (5.4)	749.5 (4.7)	699 (5.2) 662 (5.1)
	B band (log ϵ)	323.5 (4.6)	308.5 (4.9)	325 (4.7)	356 (5.0)	325 (4.5)	348 (5.0)
DMSO	Q band (log ϵ)	714 (5.2)	—	738.5 (5.2)	—	725.5 (4.7) 749.5 (4.7)	—
	B band (log ϵ)	324.5 (4.6)	—	324 (4.6)	—	323.5 (4.4)	—

It has to be noted that despite the absence of aggregation for both Ni and Zn α Pcs in DMSO within the Beer-Lambert linearity concentration range, the saturation in this solvent is reached at lower concentrations of NiPc than for the ZnPc. This was observed during the preparation of ^{13}C NMR samples while attempting at obtaining the most possibly concentrated solution.

Peripheral β Pcs are not aggregated in chloroform. The free-based Pcs exhibit the expected divided Q band resulting in the geometrical asymmetry of the macrocycle. Compared to βZnPc , the Q band of βNiPc is slightly blue-shifted for 8 nm (667 to 675 nm respectively). The absorbance of the Zn derivative is higher than the Ni derivative, at the opposite of what is constated for the corresponding non-peripheral Pcs.

It appears that Zn octasolketalPc are more soluble in DMSO than in chloroform, while the tendency is reversed for analogous free or Ni Pcs.

NMR analyses

The atoms of the Pc ring will be designated by the common numbering system, while the atoms of the solketal moieties will be designated using the common nomenclature followed by a “'” to differentiate them from the Pc atoms. The numbering system of the solketal moiety is based on the glycerol, the C-1' is the carbon of the methylenoxy linking the solketal to the Pc ring, the C-3' being the methylene part of the dioxolane ring. C-2' correspond to the solketal's methyne carbon (Fig. 2a). The NMR analyses were performed in deuterated chloroform for all peripheral β derivatives and in DMSO- d_6 for the non-peripheral α derivatives. The spectrum of βZnPc was recorded in both solvents. All the ^{13}C NMR spectra were recorded at a saturated concentration of the Pcs. Aggregation is known to have an effect on ^1H NMR chemical shift [28–31] but we could not see such noticeable effect on ^{13}C NMR spectra.

Solketal moieties. Protons of the solketal skeleton are resonating between 4 and 5 ppm under the form of several multiplets for each of the 8 studied Pcs. With the starting solketal being racemic, Pcs are mixture of

diastereoisomers. Proton signals of the solketal skeleton are subsequently broadened, as the signal of the two methyl belongs to the acetal. The overall distribution of the peaks of the 5 skeleton protons is slightly modified depending on the solketal's non-peripheral or peripheral position. Because of the pro-chiral nature of the two solketal's methylenes, H-3' protons appear as a doublet in the most shielded part of the 4–5 ppm interval. One of the protons attached to C-1 is generally resonating at the same frequencies as H-2, when the second H-1 proton appears at the most deshielded part of the 4–5 ppm interval.

^{13}C chemical shifts of the solketal carbons are not significantly affected by the metal or substitution pattern. Further studies have been completed on the non-peripheral αZnPc (DEPT, HSQC and HMBC). Methylene C-3' of the solketal resonates at 66.99 (at 66.9 ± 0.6 for all of the Pcs); the corresponding protons peaks, being a broad doublet at C-2' of the methyne of the solketal skeleton, appears to resonate at 4.22 ppm (the coupling constant with H-2' does not appear due to the broadening of the signal). H-2' appears at 4.85 as a multiplet overlapping a part of the bold dd corresponding to the two differentiated H-1' protons at 5.05 and 4.91 ppm. C-2' resonate at 74.87 ppm (74.8 ± 0.2 ppm). C-1' resonates at 73.10 ppm. This carbon's chemical shift is most affected by the substitution pattern, as the electronic density at the peripheral β position is weaker than at the internal position, inducing a shift of 3 ppm; non-peripheral C-1' chemical shift is centered at 73.2 ppm, while peripheral C-1' chemical shift is centered at 70.5 ppm. The attribution of the solketal peaks are in accordance with those previously described, with a slight deshielding for the C-1' when the substituent is a Pc instead of an alkyl chain [14]. This is due to the aromatic nature of the macrocycle.

Pcs macrocycles. The attribution of the Pc carbons can be made intuitively from the first observations of the eight spectra presented in Fig. 2b. It must be firstly noted that the solvent, despite the different solubilities, has not much influence on the ^{13}C NMR shifts. Moreover, despite the theoretical loss of symmetry on the free-based Pcs, the conditions in which the spectra are recorded do not

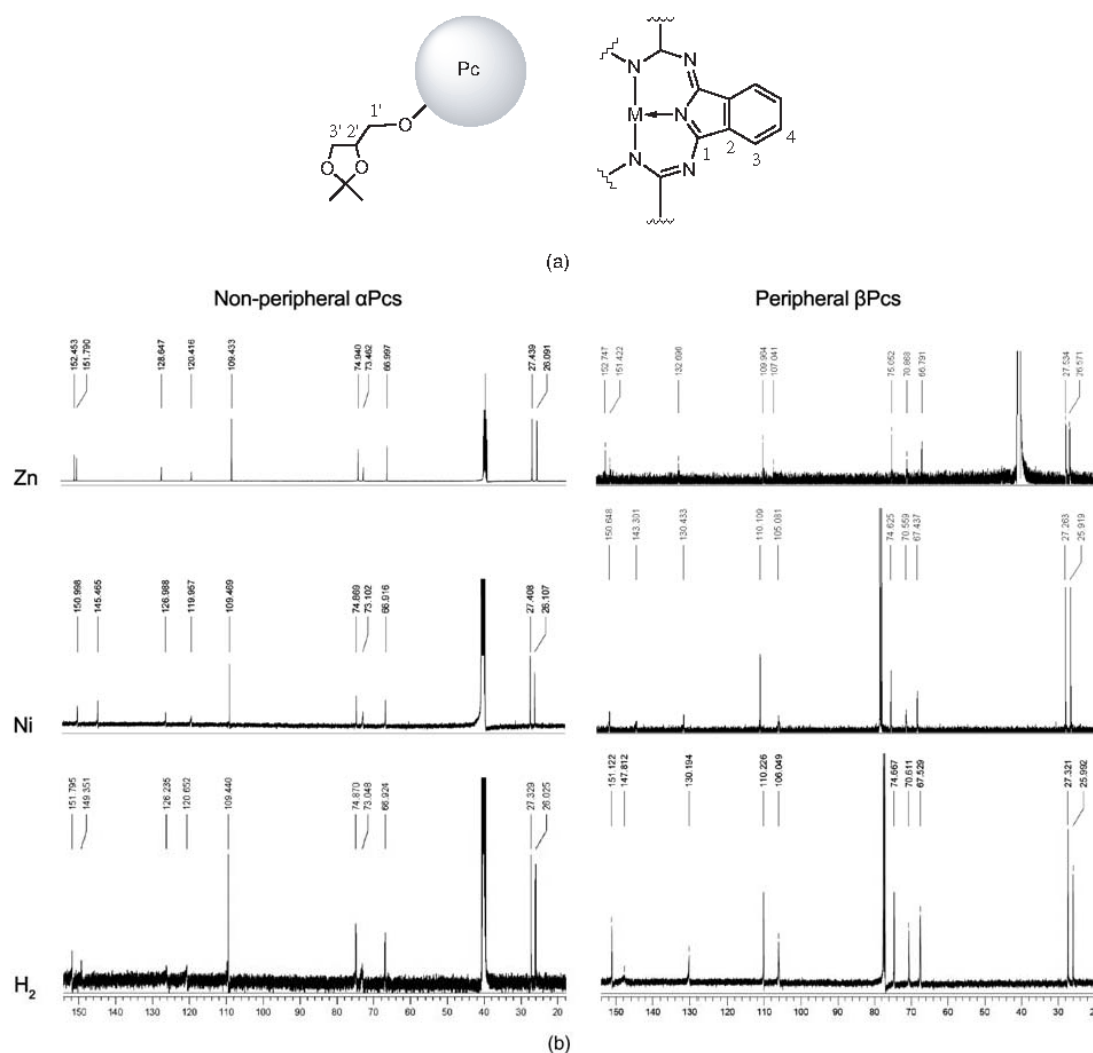


Fig. 2. (a) Carbon and Pc numbering system of the solketal moiety. (b) ^{13}C NMR spectra of solketal octasubstituted Pcs. Recorded in $\text{DMSO}-d_6$ except for βNi and βH_2 Pcs for which CDCl_3 was used

induce splitting of the carbons peaks but only a slight broadening, as the structure is tautomerically equivalent. The central protons of $\beta\text{H}_2\text{Pc}$ (spectrum recorded in deuterated chloroform) are observed at δ -5; they are quite mobile depending on the concentration of the Pc in the deuterated solvent [28]. The central protons of $\alpha\text{H}_2\text{Pc}$ are not observable. The basicity of the DMSO in which the spectrum was recorded is indeed sufficient to remove these two protons. C-1 is the second most deshielded carbon on the spectra, appearing to be the most affected by the nature or the absence of the metal, and not by the non-peripheral or peripheral substitution pattern: the most deshielded carbon is by Zn while the least is by the Ni ($\text{Zn} > \text{H}_2 > \text{Ni}$). This is coherent with previous NMR observations describing metallation-shifts [9, 32].

Case of the non-peripheral αPcs . The DEPT spectrum of αZnPc attributes unambiguously the carbon

resonating at 120.42 ppm to the C-4 of the Pc macrocycle (the peripheral carbon of the macrocycle). This is confirmed by HSQC two-dimensional experiments, as this carbon is strongly correlated with the aromatic proton at 7.86 ppm. On HMBC experiments, protons bore by the solketal C-1' are correlated with the aromatic carbon resonating at the most deshielded field: 152.4 ppm, corresponding to the C-3, an aromatic carbon involved in an ether function. Aromatic protons resonating at 8 ppm as a singlet are coupled with this C-3 and the carbon resonating at 128.65 ppm, attributed to C-2. The C-1 at 151.8 ppm is not coupled with any protons, from which it is too far (4 or 5 bonds). The succession of the carbons is the same no matter what is the central metal: $\text{C-3} > \text{C-1} > \text{C-2} > \text{C-4}$.

Case of the peripheral βPcs . In the case of the peripheral Pcs, the nature of centered metal has similar effect

Table 3. Comparison of ^{13}C NMR shifts. Values measured in $\text{DMSO}-d_6$ except for the * (measured in CDCl_3). In brackets is the number of the corresponding carbons on the nitrile derivatives

	Compound	Nitrile	H_2	Zn	Ni
C-1	Non-peripheral α	119.2*	149.4	151.8	145.5
(CN)	Peripheral β	115.5*	147.8*	151.4	143.3*
C-2	Non-peripheral α	106.1*	126.2	128.6	127.0
(C-1, C-2)	Peripheral β	109.1*	130.2*	132.7	130.4*
C-3	Non-peripheral α	155.3*	151.8	152.4	151.0
(C-3, C-6)	Peripheral β	151.9*	106.1*	107.0	105.1*
C-4	Non-peripheral α	112.8*	120.6	120.4	120.0
(C-4, C-5)	Peripheral β	116.8*	151.2*	152.8	150.7*

following the previously established order $\text{Zn} > \text{H}_2 > \text{Ni}$, no matter what is the substitution pattern. The methyne C-3 resonates at 106 ± 1 ppm, when the C-4 involved in the ether bond resonates at the most unshielded frequency. C-2 have been slightly unshielded of 4 ppm by the modification of the substitution pattern, whereas C-1 is affected by one or two ppm only. The succession of the carbons is now $\text{C-4} > \text{C-1} > \text{C-2} > \text{C-3}$. These attributions are fitting the reported one for the Zn derivative [6]. A slight broadening of the C-1 of $\beta\text{H}_2\text{Pc}$ can be observed, probably due to slight aggregation.

Conclusions. C-1 is, as expected, affected by the metal nature but not by the substitution pattern (case of octasubstitution, non-peripheral or peripheral). C-2 is affected by the nature of the centered metal, the substitution pattern has a slight effect as well, depending on the proximity of the electron-donating -OR group (here $\text{R} = \text{solketal}$). A macrocyclic CH is far more unshielded in internal position (C-3 at ~ 106 ppm) than in external position (C-4 at ~ 120 ppm), probably due to the electronic attraction of both the macrocycle and the OR substituent. A quaternary carbon bearing a OR group resonates at similar frequencies without being affected by its position on the macrocycle, the electron density being under the influence of the aromatic ether link. Nature of the centered metal has no effect either. Table 3 clearly shows the effects of the Pc macrocycle formation, and the influence of the metal on the chemical shifts of analogous carbons. The electron density is attracted by the center of the Pc: carbons C-1 and C-2 are shifted to lower yields, when the C-3 and C-4, more remote from the electronegative macrocycle, shift to higher field. The Pc macrocycle exhibits a strong centered electronegativity concentrating the electronic density, far more attracting than simple nitrile even if considered as electroattracting substituents. The effect of the metal has to be discussed as well.

CONCLUSION

A complete set of octasubstituted phthalocyanines has been prepared, with variations on the substitution pattern, either peripheral or non-peripheral, and on the centered

metal: Zn, Ni or free-base. Complete and systematic studies of these variation effects on UV-vis spectroscopy and ^{13}C NMR spectra have been achieved.

Acknowledgements

The authors wish to thank Bünyamin Cosut for MALDI and LC-ESI-MS. The financial support of the Turkish National Council of Research and Science TUBITAK (project 106T376) is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- Pagliaro M, Ciriminna R, Kimura H, Rossi M and Della Pina C. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007; **46**: 4434–4440.
- Kimura M, Muto T, Takimoto H, Wada K, Ohta K, Hanabusa K, Shirai H and Kobayashi N. *Langmuir* 2000; **16**: 2078–2082.
- Farren C, FitzGerald S, Beeby A and Bryce MR. *Chem. Commun.* 2002; 572–573.
- FitzGerald S, Farren C, Stanley CF, Beeby A and Bryce MR. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002; **1**: 581–587.
- Kandaz M, Cetin HS, Koca A and Ozkaya AR. *Dyes Pigm.* 2007; **74**: 298–305.
- Hofman JW, van Zeeland F, Turker S, Talsma H, Lambrechts SAG, Sakharov DV, Hennink WE and van Nostrum CF. *J. Med. Chem.* 2007; **50**: 1484–1494.
- Kimura M, Kuroda T, Ohta K, Hanabusa K, Shirai H and Kobayashi N. *Langmuir* 2003; **19**: 4825–4830.
- Zorlu Y, Dumoulin F, Boyle R and Ahsen V. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 2008; **12**: 799.
- Bergesen K, Haugland L, Cook MJ and Bryant GC. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 2000; **4**: 665–668.
- Cook MJ, Cracknell SJ, Moore GR, Osborne MJ and Williamson DJ. *Magn. Reson. Chem.* 1991; **29**: 1053.
- Mbambisa G, Tau P, Antunes E and Nyokong T. *Polyhedron* 2007; **26**: 5355–5364.

12. Stillman MJ and Nyokong T. In *Phthalocyanines, Properties and Applications*, Vol. 1, Leznoff CC and Lever ABP. (Eds.) VCH: New York, 1989; pp 133–290.
13. Perrin DD and Armarego WLF. *Purification of Laboratory Chemicals* (2nd edn.), Pergamon Press: Oxford, 1989.
14. Dumoulin F, Lafont D, Boullanger P, McKenzie G, Mehl GH and Goodby JW. *J. Am. Chem. Soc.* 2002; **124**: 13737–13748.
15. Dumoulin F, Lafont D, Huynh T-L, Boullanger P, Mackenzie G, West JJ and Goodby JW. *Chem. Eur. J.* 2007; **13**: 5585–6500.
16. Nougier R, Mchich M, Maldonado P and Grangette H. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1985; **4**: 602–607.
17. Cai LZ, Liu X, Tao XC and Shen D. *Synt. Comm.* 2004; **34**: 1215–1221.
18. Kappe CO. *Chem. Soc. Rev.* 2008; **37**: 1127–1139.
19. McKeown N. In *The Porphyrin Handbook*, Vol. 17, Kadish KM, Smith KM and Guillard R. (Eds.) Academic Press: New York, 2003; pp 61–124.
20. Peter GM, Wuts PGM, Theodora W and Greene TW. In *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis* (4th edn.), John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2007.
21. Tomoda A, Saito S, Ogawa S and Shiraishi S. *Chem. Lett.* 1980; 1277–1280.
22. Tomoda A, Saito S and Shiraishi S. *Chem. Lett.* 1983; 313–316.
23. Gurek AG and Bekaroglu O. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1994; 1419–1423.
24. Durmus M, Lebrun C and Ahsen V. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 2004; **8**: 1175–1186.
25. Cook MJ, Chambrier I, Cracknell SJ, Mayes DA and Russell DA. *Photochem. Photobiol.* 1995; **62**: 542–545.
26. Kimura M, Nakada K, Yamaguchi Y, Hanabusa K, Shirai H and Kobayashi N. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1997; 1215–1216.
27. Snow AW. In *The Porphyrin Handbook*, Vol. 17, Kadish KM, Smith KM and Guillard R. (Eds.) Academic Press: New York, 2003; pp 129–176.
28. Isago H, Terekhov DS and Leznoff CC. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 1997; **1**: 135–140.
29. Kobayashi N, Ogata H, Nonaka N and Luk'yanets EA. *Chem. Eur. J.* 2003; **9**: 5123–5134.
30. Chambrier I, Cook MJ, Mayes DA and MacDonald C. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 2003; **7**: 426–438.
31. Terekhov DS, Nolan KJM, McArthur CR and Leznoff CC. *J. Org. Chem.* 1996; **61**: 3034–3040.
32. Clayden NJ, Moore GR, Williams RJP, Baldwin JE and Crossley MJ. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* 1982; 1693–1698.

6. SONUÇLAR

Bu doktora tezinin amacı PDT ve biyomedikal uygulamalarda kullanmak üzere simetrik veya fonksiyonlandırılmış asimetrik ftalosiyaninleri sentezlemek, karakterize etmek ve kanser hücrelerine karşı denemelerini incelemek idi. Ayrıca sonuçları daha geniş ve karşılaştırılabilir kılmak adına ekstra çalışmalar yapılarak doktora tezinin genel başarısı artırılmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızın ikinci kısmında iyonik olmayan suda çözünebilen iki adet Zn(II) ftalosiyanin bileşiği sentezlenmiştir. Literatür çalışmalarında iyonik olmayan suda çözünür ftalosiyaninlerin kanser hücrelerine karşı PDT uygulamaları çok az yer almakta idi. Bu kısımda hazırlanan iyonik olmayan suda çözünür Zn(II) ftalosiyanin bileşikleri (**14**, **15**) HT-29 (human colon adenocarcinoma) hücrelerine karşı PDT aktivitesi *in vitro* testlerle incelendi. Bu inceleme sonucunda süstitüent pozisyonunun değişmesiyle fotosensitizerin PDT aktivitesi üzerine etkisi gözlenmiş ve **15** bileşiği PDT uygulamalarında oldukça umut verici değere sahip olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar PDT çalışmalarında çeşitli kanser tedavilerinde kullanılan photofrin adlı ilaç ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu bulunmuştur. PDT testlerinde başarılı olan **15** bileşiği lipozom membranları ile etkileşme çalışmaları yapılmıştır. Bu sonuçlar İngiltere-Hull Üniversitesi Kimya Bölümü'nde Dr. Ross W. Boyle ile Moskova Üniversitesi Fizikokimya Bölümü'nde Prof. Dr. Yuri Antonenko ile yaptığımız ortak çalışmalar sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar uluslar arası hakemli saygın bir dergi olan ***Photochemical & Photobiological Sciences*** ve ***Langmuir***'de yayınlanmıştır. Bu sonuçlardan çıkan bilgiler ışığında farklı metaller kullanarak kanser hücrelerine karşı daha etkin non-iyonik suda çözünebilen fotosensitizerler geliştirilebilmektedir. Bu amaçla ilk etapta Al(III) ftalosiyanin bileşiğinin sentez çalışmalarına başlamış bulunmaktayız.

Çalışmamızın üçüncü kısmında PDT uygulamaları için potansiyel olarak suda çözünebilen Pt(II) ftalosiyaninlerin başlangıç maddeleri olan 4 adet solketal süstitüe Pt(II) ftalosiyanin sentezlenmiştir. Sentezlenen Pt(II) ftalosiyaninlerin fotofiziksel ve fotokimyasal ölçüm değerleri benzer analoglara sahip Zn(II)

ftalosiyaninleri ile karşılaştırıldı. Bu çalışmayla Pt(II) ftalosiyaninlerin etkin singlet oksijen oluşturan bileşikler olduğu ve Tip II fotosensitizer olarak kullanılabilirliği kanıtlanmıştır. Buradan hareketle, sentezlenen solketal süstitüe Pt(II) ftalosiyanin bileşiklerinin PDT uygulamalarında kullanılabilecek fotosensitizerler arasında yer alabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar uluslararası hakemli saygın bir dergi olan **Tetrahedron**'da yayınlanmıştır. Biyoyumlu suda çözünebilen non-iyonik Pt(II) ftalosiyaninler bu çalışmamızın devamı niteliğindedir. Bu ftalosiyaninlerin sentezinden sonra PDT'de kullanılabilirliği test edilecektir.

Çalışmamızın dördüncü kısmında PDT'de fotosensitizer ve diğer biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere iki tip asimetric ftalosiyanin bileşiği tasarlandı ve sentezi gerçekleştirildi. 1.tip asimetric ftalosiyanin bileşiğinin klik kimyası ile karbonhidratlarla (galaktoz, glukoz, mannoz, laktoz) olan konjugasyon prosesleri Lyon-1 Üniversitesi Organik Kimya Bölümü'nden Dr. Dominique Lafont ile yapmış olduğumuz ortak çalışmalar neticesinde yürütüldü. Yapılan ortak çalışmalar neticesinde karbonhidrat-ftalosiyanin konjugatlarının suda çok iyi çözüldüğü ve PDT'de fotosensitizer olarak uygulanabilecek moleküller olduğu belirlendi. Ftalosiyanin-karbonhidrat konjugatlarının sentezi ile ilgili makale yayına gönderildi (Monoglycoconjugated water-soluble phthalocyanines. Design and synthesis of potentially selectively targeting PDT photosensitizers. Zorlu, Y., Dumoulin, F., Bouchu, D., Ahsen, V. ve Lafont, D., ms S-10-02268). PDT amacıyla sentezlediğimiz bu iyonik olmayan suda çözünebilen karbonhidrat-ftalosiyanin bileşikleri *in vitro* düzeyde kanser hücrelerinde test edilecektir. 2. tip asimetric ftalosiyanin bileşiğinin PET görüntüleme yönteminde kullanmak üzere tasarlandı ve sentezi gerçekleştirildi. Bu bileşiğe peptid grubu ile konjugasyonu ve radyoaktif metal atomunun yerleştirme işlemleri Sherbrooke Üniversitesi Radyobioloji ve Nükleer Tıp Bölümü'nden Prof. Dr. Johan van Lier ve ekibi tarafından yapılacaktır.

Çalışmamızın son kısmında oktasolketal süstitüe ftalosiyaninlerin süstitüsyon pozisyonuna (periferik ve non periferik) ve metale (Pt(II), Ni(II), Zn(II) ve H₂Pc) bağlı etkisi UV-Vis spektroskopisi ve ¹³C NMR çalışmalarının kominasyonu ile sistematik analizi yapıldı. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar

uluslar arası hakemli saygın bir dergi olan ***Journal of Porphyrins and Phthalocyanines***'da yayınlanmıştır.

4 Adet SCI kapsamında makale, 5 adet uluslar arası konferansta sunulan bildiri ve 3 adet ulusal konferanslarda sunulan bildiri bu doktora tez kapsamında yayınlanmıştır.

Non-iyonik suda çözünür ftalosiyaninlere yeni bir bakış açısı getirmeye yönelik yapılan bu çalışmaların sonucunda, bu ftalosiyaninlerin PDT ve diğer biyomedikal alanlarda kullanılabilirliği kanıtlanmış oldu.

7. DENEYSEL KISIM

7.1. Kullanılan Madde Ve Aletler

Tablo 7.1 Sentezlerde, Ayırma ve Saflaştırma İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Adı	Üretici Firma	Katalog No	Özelliği
3-Nitroftalik anhidrit	Fluka	73780	Sentez için
Formamid	Merck	1.04008	Ekstra saf
DMF	Merck	1.03053	Saf
Tiyonil klorür	Fluka	88952	Saf
%98'lik H ₂ SO ₄	Merck	1.00748	Sentez için
%65'lik HNO ₃	Merck	1.00443	Ekstra saf
Ftalimid	Fluka	79780	Saf
NaHCO ₃	Fluka	71630	Saf
NaOMe	Merck	806538	Sentez için
N-metilpirolidon (NMP)	Merck	806072	Sentez için
Tetraetilenglikol	Fluka	86660	Ekstra saf
Katekol	Merck	822261	Sentez için
Solketal	Merck	820506	Sentez için
Asetik Asit	Merck	818755	Sentez için
<i>n</i> -Bu ₄ NBr	Merck	818839	Sentez için
Trietilamin	Merck	9.08352	Sentez için
p-hidroksi benzoik asit	Lanchester	4498	Ekstra saf
CuCN	Merck	841811	Sentez için
Piridin	Riedel-de Haen	16037	Sentez için
NaN ₃	Merck	822335	Sentez için
CH ₃ SO ₂ Cl	Merck	806021	Sentez için
TosCl	Merck	808326	Sentez için
DCM	Merck	106044	HPLC Solvent
İzopropilalkol (İPA)	Merck	101040	HPLC Solvent
NaOH	Merck	1.06462	Saf pallet
Brom (Br ₂)	Merck	820171	Sentez için
Na ₂ SO ₄	Merck	1.06645	Susuz, Ekstra saf
K ₂ CO ₃	Riedel-de Haen	12611	Susuz
Ni(CH ₃ COO) ₂	Fluka	72225	Susuz, Ekstra saf
Zn(CH ₃ COO) ₂	Merck	1.08800	Susuz, Ekstra saf
<i>n</i> -pentanol	Merck	8.04393	Sentez için
DMAE	Merck	8.03237	Sentez için
DBU	Fluka	33481	Saf
Aseton	Teknik		

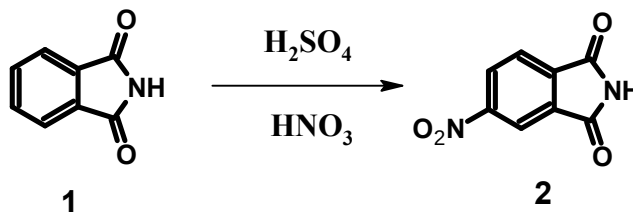
Etanol	Teknik		
n-hekzan	Teknik		
Metanol	Teknik		
Diklorometan	Teknik		
Etil asetat	Teknik		
Kloroform	Teknik		
%30'lik NH ₄ OH	Teknik		
HCl	Ak Kimya A.Ş.		Teknik
Toluen	Carlo Erba	488555	Saf
Silikajel 60	Merck	1.07734	0.063-0.200 mm
DPBF	Fluka	43092	Saf
Benzokinon	Merck	802410	Sentez için
THF	Merck	1.08114	Ekstra saf
DMSO	Merck	8.02912	Sentez için

Tablo 7.2 Yapı Aydınlatma ve Sentez Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar

Adı	Modeli	Bulunduğu Yer
Erime Noktası Tayin Cihazı	Büchi 535	GYTE
FT-IR Spektrofotometresi	Bio-Rad FTS 175C	GYTE
NMR Spektrometresi	Varian 500 MHz	GYTE
Kütle Spektrometresi	Bruker MicrOTOF ESI-TOF	GYTE
	Bruker Microflex LT MALDI-TOF MS	GYTE
UV-Visible Spektrofotometresi	Schimadzu 2001 UVPc	GYTE
Floresans Spektrofotometresi	Varian Cary Eclipse	GYTE
HPLC	Agilent 1100	GYTE

7.2. Deneyler

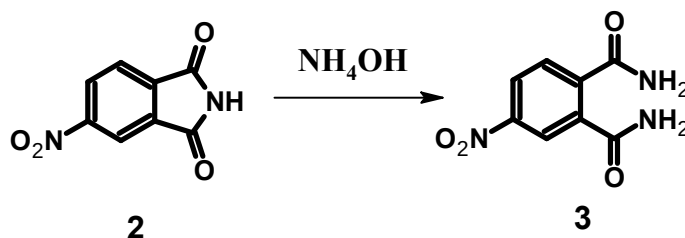
7.2.1. 4-Nitroftalimid



200 mL H_2SO_4 ve 50 mL HNO_3 karışımı buz banyosunda soğutularak 40g (0.272 mol) ftalimid küçük miktarlar halinde sıcaklık 10-15 °C'yi geçmeyecek şekilde 1-1.5 saat içinde katıldı. Karışım 35 °C'ye ısıtıldıktan sonra 1 saat karıştırıldı. Daha sonra 0 °C'ye soğutuldu ve yaklaşık 1 kg buzlu suya dökülerek çöktürüldü. Çökelti süzildükten sonra, soğuk suyla yıkandı ve etanolde kristallendirildi. Parlak sarı renkli kristaller vakum altında süzüldü, soğuk etil alkolle yıkandı. Vakum etüvünde 60 °C'de kurutuldu. Verim % 45.[1]

Erime Noktası: 200-202 °C.

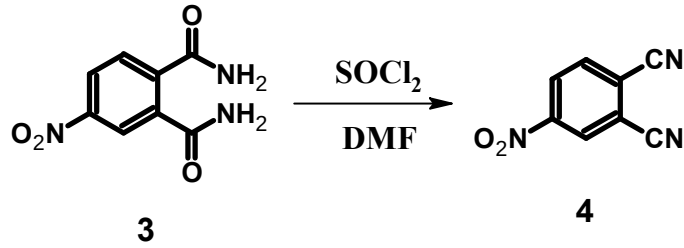
7.2.2. 4-Nitroftalamit



5 g (0.026 mol) 4-nitroftalimid 35 ml %25'lik NH_4OH içinde 24 saat karıştırıldı. Oluşan çökelti süzüldü ve saf suyla nötral oluncaya kadar yıkandı. Beyaz çökelti 150 mL THF de 50 °C de karıştırıldı ve süzüldü. Beyaz renkli 4-nitroftalamit vakum etüvünde 60 °C'de kurutuldu. Verim % 55 [1].

Erime Noktası: 198 °C

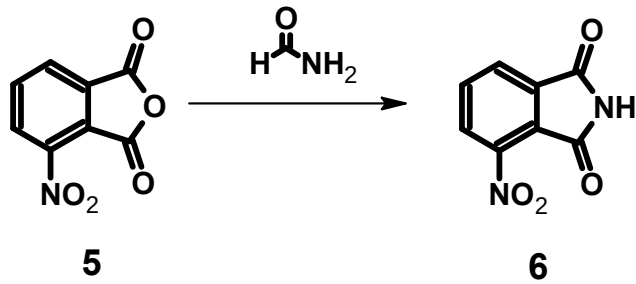
7.2.3. 4-Nitroftalonitril



140 mL kuru DMF üç boyunlu bir balonda argon gazı altında buz banyosunda 0 °C'ye soğutuldu ve 14.2 ml tiyonil klorür (SOCl₂) yavaş yavaş eklendi ve 10 dakika karıştırıldı. Daha sonra 19.6 g 4-nitroftalamit sıcaklık 5 °C yi geçmeyecek şekilde azar azar ilave edildi. 45 dakika buz banyosunda, 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Sonra 500 g buzlu suya döküldü. Çökelti süzüldü ve önce suyla, sonra 250 ml %5'lik sodyum bikarbonat çözeltisiyle, son olarak yine suyla yıkandı. EtOH ile kristallendirildi. 60 °C'deki vakum etüvünde kurutuldu. Verim % 80 [1].

Erime Noktası: 138 °C

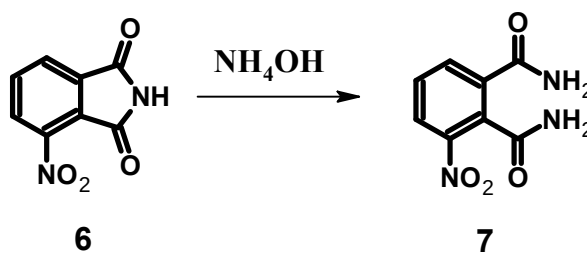
7.2.4. 3-Nitroftalimid



22.2g (0.115 mol) 3-nitroftalik anhidrit 35 mL formamid içerisinde geri soğutucu altında üç saat karıştırıldı. Karıştırma işlemi bittikten sonra karışım oda sıcaklığına soğutuldu. Oluşan çökelti G3 filtreden süzülür ve ele geçen katı madde saf suyla yıkandı. Elde edilen sarı renkli katı madde vakumda P₂O₅ üzerinde kurutulur. Verim %92 [3].

Erime Noktası: 203 °C

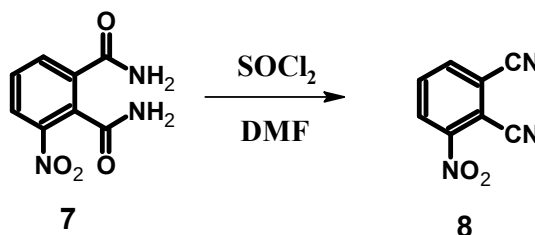
7.2.5. 3-Nitroftalamid



23.6g (0.123 mol) 3-nitroftalamid 60 mL %25'lik NH_4OH çözeltisinde karıştırılarak ilave edildi. Sarı-kahverengi reaksiyon karışımı karıştırılarak yavaşça 45°C ye ısıtıldı ve 5 saat bu sıcaklıkta karıştırıldı. Daha sonra oda sıcaklığına soğutulan karışım G3 filtreden süzüldü ve katı madde soğuk su ile yıkandı. Elde edilen beyaz renkli katı madde 110°C 'de kurutuldu. Verim %76. [3].

Erime Noktası: 223°C .

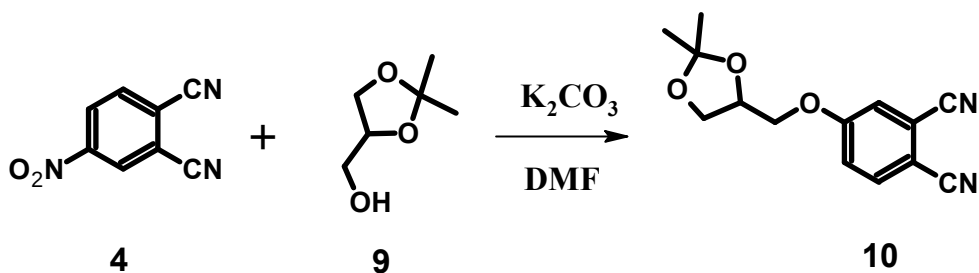
7.2.6. 3-Nitroftalonitril



250 mL'lik üç boyunlu reaksiyon balonu içerisine argon atmosferinde 40 mL DMF konuldu. Reaksiyon balonu buz banyosu üzerine yerleştirilerek 0°C ye soğutuldu. Reaksiyon karışımı üzerine 25 mL tiyonil klorür (SOCl_2) reaksiyon karışımı sıcaklığı 5°C yi geçmeyecek şekilde yavaş yavaş ilave edildi. İlave işlemi bittikten sonra karışım 3 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Bu karışım üzerine 7.01g (0.033 mol) 3-nitroftalamid sıcaklık 5°C yi geçmeyecek şekilde yavaş yavaş ilave edildi. İlave işlemi bittikten sonra reaksiyon karışımı 3 saat daha oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 160g buz üzerine yavaş yavaş döküldü. Buzlar tamamen eridikten sonra oluşan katı madde G3 filtreden süzüldü. Ele geçen katı madde önce %5' lik NaHCO_3 çözeltisiyle, daha sonra bol soğuk su ile yıkandı. Elde edilen açık sarı renkli katı madde etüvde 65°C de kurutuldu. Verim %72 [3].

Erime Noktası: 163°C

7.2.7. 4-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril



100 ml'lik reaksiyon balonu içersine solketal (**9**) (4.1 g, 31 mmol), 4-nitroftalonitril (5.36 g, 31 mmol), K₂CO₃ (27.6 g) ve kuru DMF (25 ml) konuldu. Reaksiyon TLC ile kontrol edilerek 3 gün oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı soğuk suda çöktürüldü ve oluşan katı filtre ile ayrıldı. Katılar 100 ml DCM ile çözüldü ve 3 kere 50 ml su ile yıkandı. Organik faz susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, filtre kağıdı ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (DCM) döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından n-hekzan:etilasetat (1:1) çözücüsü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla silikajel dolgulu kolonda (**10**) bileşiği elde edildi. Beyaz katı görünümünde olan ürün % 72 (5.76 g) verimle elde edildi.

C₁₄H₁₄N₂O₃, Mw: 258.27 g/mol.

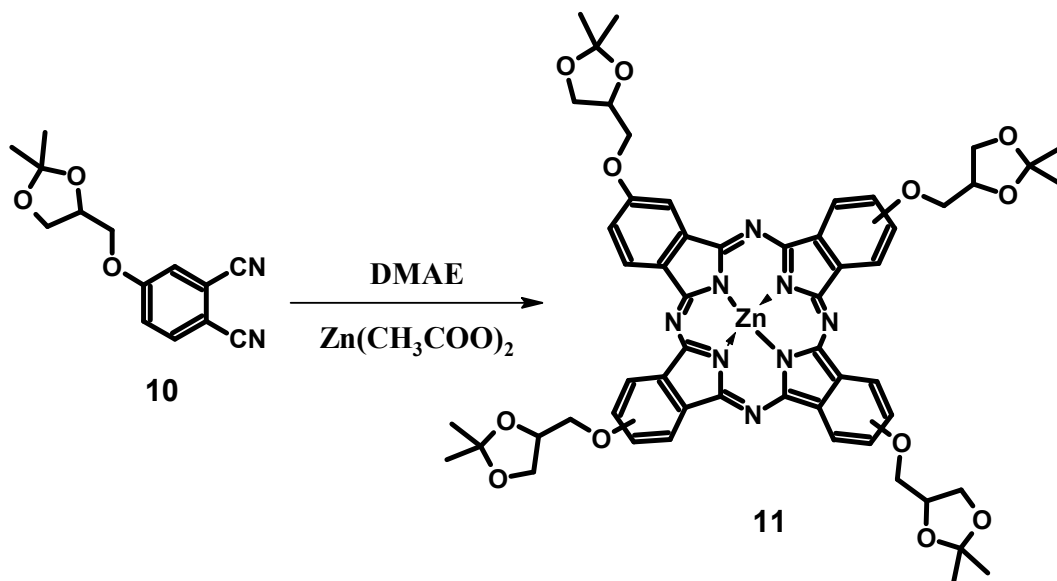
Erime Noktası: 99–100 °C

ESI-MS: Hesaplanan (C₁₄H₁₄N₂O₃) [M+H]⁺ 259.1 m/z, Bulunan 259.1 [M+H]⁺ m/z

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ ppm): 7.71 (t, 1H, J= 8.5 Hz, Ar), 7.30 (d, 1H, J= 2,5 Hz, Ar), 7.23 (dd, 1H, Ar), 4.49 (m, 1H), 4.06–4.19 (m, 3H), 3.89 (m, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.39 (s, 3H)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ ppm): 161.56, 135.17, 119.65, 119.42, 117.45, 115.45, 115.05, 110.19, 107.80, 73.40, 69.59, 66.18, 26.65, 25.11.

7.2.8. 2,9(10),16(17),23(24)-tetra[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyanimato Zn(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**10**) bileşiği (2 g, 7.75 mmol), $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ (0.71 g, 3.87 mmol) ve kuru DMAE (30 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek argon atmosferi altında geri soğutucu altında 10 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 200 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve süzüldü. Kalan koyu mavi ürün sırasıyla 2 kere 200 ml hekzan ve 200 ml su ile yıkandı. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgulu kolonda n-hekzan:etilasetat (2:1) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra etil asetat çözücüsü kullanarak (**11**) bileşiği elde edildi. Koyu mavi renkli görünümündeki ürün % 42 verimle (890 mg) elde edildi.

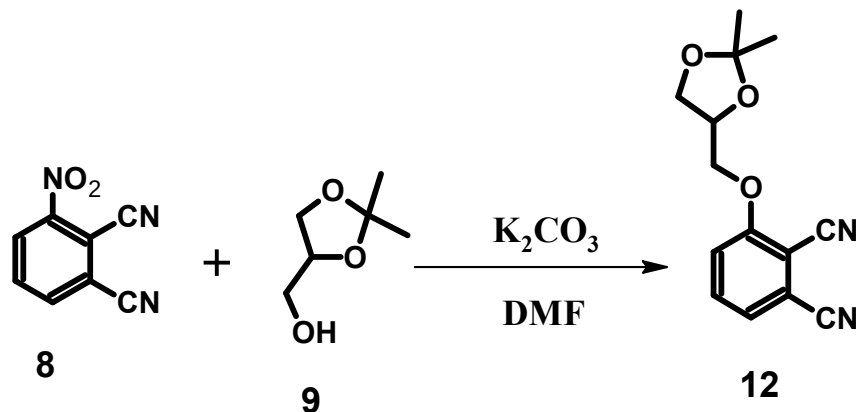
$\text{C}_{56}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Zn}$, M_w : 1098.48 g/mol.

ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{56}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Zn}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1097.33 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1097.5 m/z.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 7.47–8.83 (3m, 12H, Ar), 4.15–4.81 (4m, 20 H, $4\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 1.43 (bm, 12H, 4CH_3), 1.38 (bm, 12H, 4CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 160.47, 151.98, 140.24, 131.72, 123.78, 118.37, 109.86, 105.72, 74.79, 70.27, 66.75, 27.54, 26.31.

7.2.9. 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril



100 ml'lik reaksiyon balonu içerisine solketal (**9**) (4.95 g, 37.5 mmol), 3-nitroftalonitril (6.5 g, 37.5 mmol), K_2CO_3 (34 g) ve kuru DMF (30 ml) konuldu. Reaksiyon TLC ile kontrol edilerek 3 gün oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı soğuk suda çöktürüldü ve oluşan katı filtre ile ayrıldı. Katılar 100 ml DCM ile çözüldü ve 3 kere 50 ml su ile yıkandı. Organik faz susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, filtre kağıdı ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (DCM) döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından n-hekzan:etilasetat (1:1) çözücüsü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla silikajel dolgulu kolonda (**12**) bileşiği elde edildi. Beyaz katı görünümünde olan ürün % 67 (6.48 g) verimle elde edildi.

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$, Mw: 258.27 g/mol.

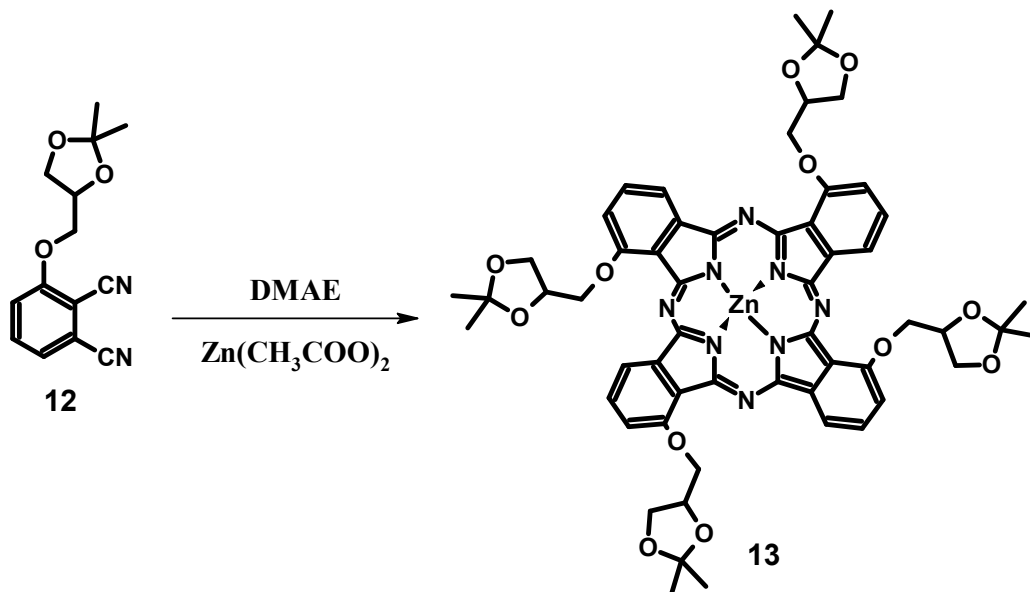
Erime Noktası: 125–126 °C.

ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 281.1 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 281.1 m/z.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 7.66 (t, 1H, J= 8.0 Hz, Ar), 7.40 (d, 1H, J= 8.0 Hz, Ar), 7.32 (d, 1H, J= 8.0 Hz, Ar), 4.52 (m, 1H), 4.15-4.25 (m, 3H), 4.02 (m, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.41 (s, 3H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 160.88, 134.48, 125.61, 117.13, 117.11, 115.15, 112.69, 110.05, 105.27, 73.35, 69.71, 66.37, 26.67, 25.24.

7.2.10. 1,8(11),15(18),22(25)-tetra[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]ftalosiyanimato Zn(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**12**) bileşiği (2 g, 7.75 mmol), $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ (0.71 g, 3.87 mmol) ve kuru DMAE (30 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek argon atmosferi altında geri soğutucu altında 10 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 200 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve süzüldü. Kalan koyu mavi ürün sırasıyla 2 kere 200 ml hekzan ve 200 ml su ile yıkandı. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgulı kolonda n-hekzan:etilasetat (2:1) çözücüsü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra etil asetat çözücüsü kullanarak (**13**) bileşiği elde edildi. Koyu mavi renkli görünümündeki ürün % 30 verimle (650 mg) elde edildi.

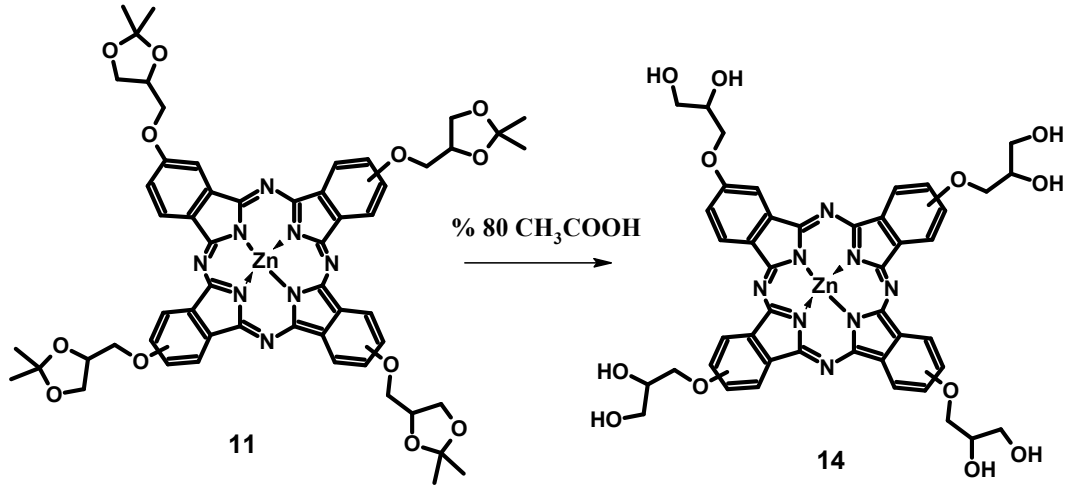
$\text{C}_{56}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Zn}$, M_w : 1098.48 g/mol.

ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{56}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Zn}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1097.33 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1097.5 m/z.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 7.40–9.02 (3m, 12H, Ar), 4.23–5.28 (4m, 20 H, 4(CH_2CHCH_2), 1.43 (bm, 12H, 4 CH_3), 1.38 (bm, 12H, 4 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 155.88, 153.05, 140.64, 130.91, 126.86, 124.99, 115.61, 109.61, 75.00, 70.05, 67.01, 27.42, 26.12.

**7.2.11. 2,9(10),16(17),23(24)-tetra[(2,3-dihidroksipropoksi)]
ftalosiyaninato Zn(II)**



Tek boyunlu reaksiyon balonunda (**11**) bileşiği (500 mg, 0.46 mmol) % 80 lik asetik asit içerisinde bir gece boyunca karıştırıldı. Bu süre sonunda asetik asit döner buharlaştırıcıda kısmen vakum uygulayarak uzaklaştırıldı. Kalan katı ürün sırasıyla etil asetat, hekzan, diklormetan ve kloroformda yıkananarak saflaştırıldı. Koyu mavi renkli görünümündeki ürün (**14**) % 93 verimle (400 mg) elde edildi.

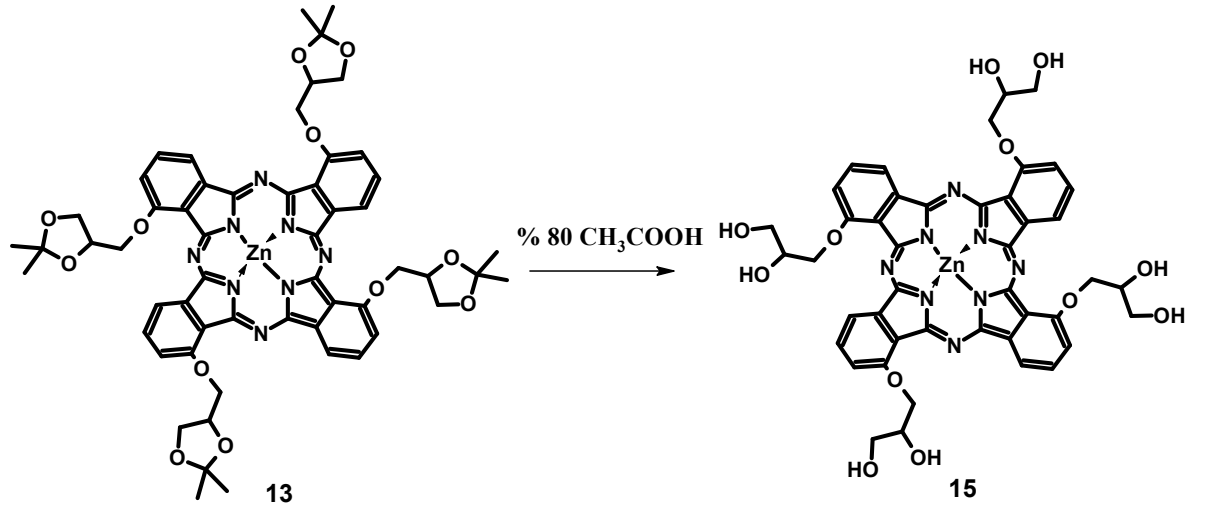
C₄₄H₄₀N₈O₁₂Zn, **M_w**: 938.22 g/mol.

ESI-MS: Hesaplanan (C₄₄H₄₀N₈O₁₂Zn) [M+H]⁺ 937.2 m/z, Bulunan [M+H]⁺ 937.3 m/z.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 8.97-8.90, 8.57-8.43, 7.70-7.61 (3m, 12H, Ar), 5.33-3.84 (6m, 28 H, gliserol kısmı).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): (üst üste gelen pikler) 161.22, 152.83, 140.40, 131.56, 123.95, 118.47, 71.11, 63.76.

**7.2.12. 1,8(11),15(18),22(25)-tetra[(2,3-dihidroksipropoksi)]
ftalosiyaninato Zn(II)**



Tek boyunlu reaksiyon balonunda **(13)** bileşiği (500 mg, 0.46 mmol) % 80 lik asetik asit içinde bir gece boyunca karıştırıldı. Bu süre sonunda asetik asit döner buharlaştırıcıda kısmen vakum uygulayarak uzaklaştırıldı. Kalan katı ürün sırasıyla etil asetat, hekzan, diklormetan ve kloroformda yıkananarak saflaştırıldı. Koyu mavi renkli görünümündeki ürün **(15)** % 91 verimle (350 mg) elde edildi.

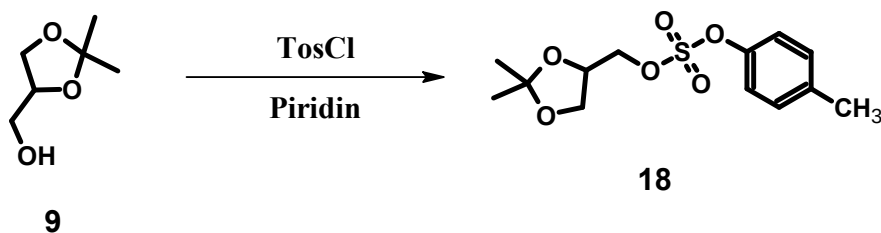
C₄₄H₄₀N₈O₁₂Zn, **M_w**: 938.22 g/mol.

ESI-MS: Hesaplanan (C₄₄H₄₀N₈O₁₂Zn) [M+H]⁺ 937.2 m/z, Bulunan [M+H]⁺ 937.3 m/z.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 9.05–9.22, 7.86–8.23 (2m, 12H, Ar), 3.75–5.76 (m, 28H, gliserol kısmı).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): (üst üste gelen pikler) 156.95, 153.61, 140.99, 131.71, 125.59, 114.62, 71.35, 63.92.

7.2.13. (2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metil-4-metilfenilsülfat



Üç boyunlu reaksiyon balonuna (**9**) bileşiği (5.34 gr, 5mL, 40 mmol) ve 100 mL piridin ilave edildi ve karışım bu banyosunda soğutuldu. piridin (50 mL) içinde çözünen TsCl (7,62 gr, 40 mmol), bir damlatma hunisi yardımıyla (**9**) bileşiğin çözeltisine yavaş yavaş ilave edildi. Damlatma işlemi bittikten sonra 1,5 saat tuz-buz banyosunda manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek 20 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. 500 mL'lik balona alındı. Reaksiyon ortamında bulunan çözücü vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımına sodyum bikarbonat çözeltisi ilave edildi ve 100 ml DCM ile 3 kez ekstrakte edildi. Organik faz bir erlene alındı, susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (DCM) rotada uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından 1:1 hekzan: etilasetat çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla silikajel (230–400 mesh, 100g) dolgu kolonda (**18**) bileşiği elde edildi. Beyaz toz görünümünde olan ürün (9.15 g, 31.95 mmol), % 80 verimle elde edildi.

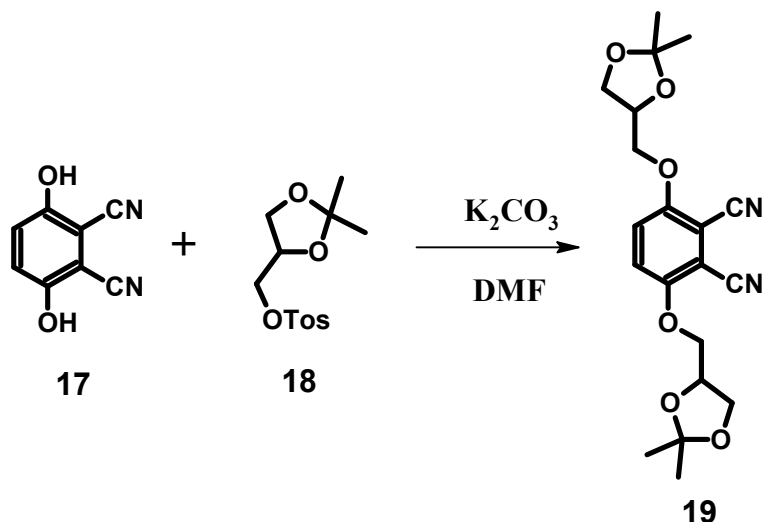
C₁₃H₁₈O₆S, **M_w**: 302.34 g/mol.

Erime Noktası: 47-48 °C.

FT-IR (KBr) ($\nu_{\max/\text{cm}^{-1}}$): 3029 (ArCH), 2993–2986 (CH₂, CH₃), 1346 cm⁻¹ ve 1169 cm⁻¹ (asimetrik ve simetrik SO₂ gerilmeleri)

¹H NMR (500 Mz, CDCl₃, δ ppm): δ , ppm 7.78 (d, 2H, Ar), 7.34 (d, 2H, Ar), 3.73-4.25 (m, 5H, CH₂CHCH₂), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃) 1.30 (s, 3H, CH₃), 1.29 (s, 3H, CH₃).

7.2.14. 3,6-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril



100 ml'lik tek boyunlu reaksiyon balonu içerisine (17) bileşiği (5 g, 31 mmol) K_2CO_3 (13 g, 94 mmol) ve kuru DMF (20 mL) konuldu. Bu karışım içerisine DMF (20 mL) içerisinde çözünen (18) bileşiği (18 g, 63 mmol) damlatma hunisi yardımıyla yavaş yavaş ilave edildi. Reaksiyon TLC ile kontrol edilerek 18 saat 60 °C'de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı soğuk suda çöktürüldü ve oluşan katı filtre ile ayrıldı. Katılar su ile yıkandı ve EtOH ile kristallendirildi. Beyaz kristal görünümünde olan ürün (19) 85% (10.3 g) verimle elde edildi.

$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$, M_w : 388.41 g/mol.

Erime Noktası: 176-180 °C.

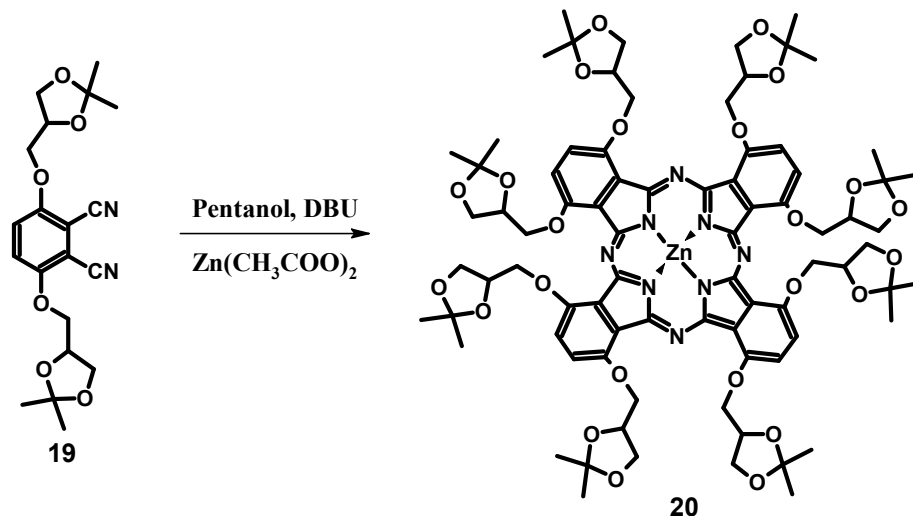
ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 411.16 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 411 m/z.

FT-IR (KBr) ($\nu_{\text{max/cm}^{-1}}$): 3029 (ArCH), 2982–2884 (CH_2 , CH_3), 2231 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1389, 1370 ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 7.17 (s, 2H, Ar), 3.90-4.42 (m, 10H, 2 CH_2CHCH_2), 1.36 (s, 3H, CH_3), 1.32 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 155.28 (C-6, C-3), 119.19 (2 CN), 112.8 (C-4, C-5), 110.22 (CMe_2), 106.07 (C-1, C-2), 73.73 (CH), 66.65, 70.51 (2 OCH_2), 25.48, 26.93 (2 CH_3).

7.2.15. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksilftalosiyeninato Zn(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**19**) bileşiği (0.5 g, 1.29 mmol), Zn(OAc)₂ (118 mg, 0.645 mmol) konuldu. Üzerine kuru *n*-pentanol (5 ml) ilave edilerek hafifçe ısıtıldı. Reaksiyon karışımı içerisinde argon geçirilerek 10 dakika karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığına soğutuldu. Daha sonra bu karışım içerisine 0.2 ml DBU ilave edilerek argon atmosferi altında geri soğutucu altında kaynama sıcaklığında 8 saat karıştırıldı. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 150 ml hekzana dökülerek çöktürüldü, katılar filtre ile ayrıldı ve birkaç kez hekzan ile yıkandı. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgululu kolonda *n*-hekzan:etilasetat (1:1) çözücüsü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra etil asetat çözücüsü kullanarak (**20**) bileşiği elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 21 verimle (109 mg) elde edildi.

C₈₀H₉₆N₈O₂₄Zn, **M_w**: 1619.04 g/mol.

Erime Noktası > 220 °C.

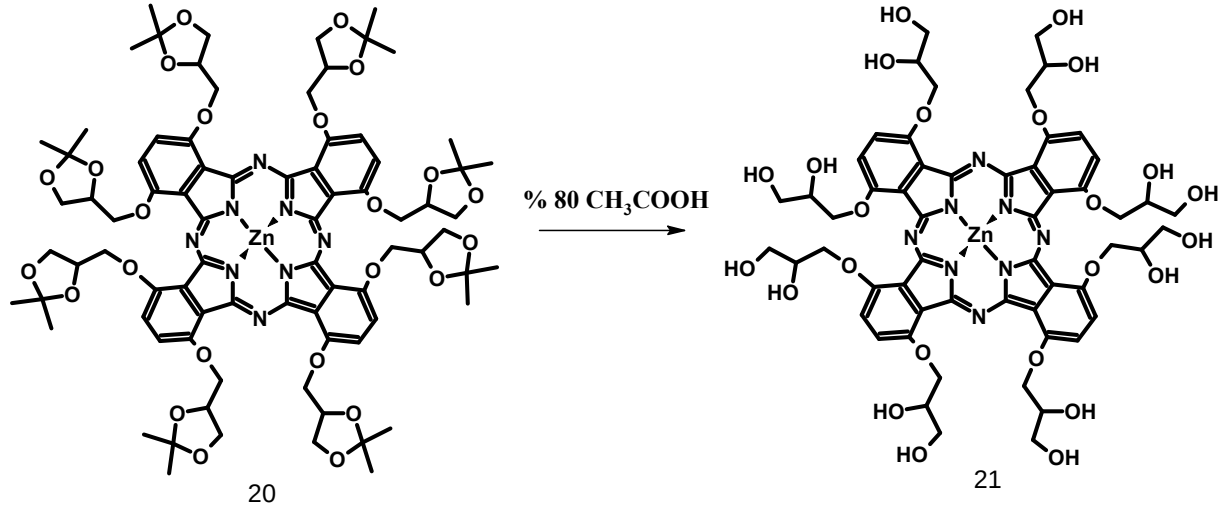
IR (KBr): $\nu_{\max}$ (cm⁻¹), 3040 (ArCH), 2984-2880 (CH₂, CH₃), 1595 (ArC=C), 1499, 1377, 1323, 1263, 1234, 1198, 1157, 1057, 843.

ESI-MS: Hesaplanan (C₈₀H₉₆N₈O₂₄Zn) [M+2H]⁺ 1618.59 m/z, Bulunan [M+2H]⁺ 1618.8 m/z.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 7.86 (s, 8H, Ar), 4.15-5.06 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.35 (bs, 24H, 8 CH₃), 1.32 (bs, 24H, 8 CH₃).

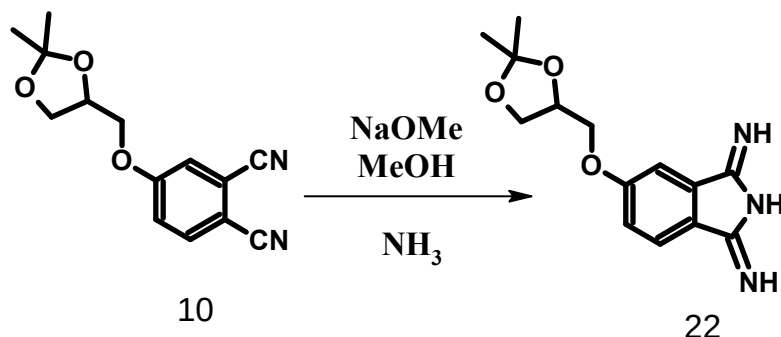
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 152.45 (C-3), 151.79 (C-1), 128.64 (C-2), 120.41 (C-4), 109.43 (CMe₂), 74.90 (C-2'), 73.46 (C-1'), 66.99 (C-3'), 27.43, 26.09 (2 CH₃).

**7.2.16. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta [(2,3-dihidroksipropoksi)]
ftalosiyanimato Zn(II)**



Tek boyunlu reaksiyon balonunda **(20)** bileşiği (100 mg, 0.062 mmol) % 80 lik asetik asit içerisinde bir gece boyunca karıştırıldı. Bu süre sonunda asetik asit döner buharlaştırıcıda kısmen vakum uygulayarak uzaklaştırıldı. Kalan katı ürün sırasıyla etil asetat, hekzan, DCM ve CHCl_3 'da yıkandı. RP-TLC kartında TLC bakıldı ve maddenin içerisinde safsızlıkların olduğu belirlendi. RP-HPLC (ters faz) kullanarak saflaştırma işlemleri yapıldı. Yıkama ve saflaştırma işlemleri sonucunda karışımın ESI tekniği ile kütle spektrumu alındı. $1297.6 [\text{M}+\text{H}]^+$ ve $1319.6 [\text{M}+\text{Na}]^+$ molekül iyon pikleri gözlemlendi (Spektrum 8.25). Ürün kolay bir şekilde bozulduğundan dolayı saf bir şekilde elde edilemedi.

7.2.17. 4-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,3-dihidro-1,3-diiminoizindol



Üç boyunlu reaksiyon balonuna (**10**) bileşiği (5 g, 19 mmole), NaOMe (400 mg) ve kuru MeOH (250 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek önce argon atmosferi altında ve amonyak gazı varlığında oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı sonra geri soğutucu yardımıyla amonyak gazı varlığında 10 saat karıştırıldı. Bu süre sonunda başlangıç maddesinin (ftalonitril) bittiği gözlemlendi ve karışım oda sıcaklığına getirildi. Reaksiyon ortamında bulunan MeOH kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı ve kalan katı görünümdeki ürün hekzan ile birkaç kez yıkandı. Katı ürün CHCl_3 ile çözüldü, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (CHCl_3) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Yeşil toz görünümdeki ürün (**22**) % 94 (4.9 g) verimle elde edildi.

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$, M_w : 275.30 g/mol.

Erime Noktası: 161-163 °C

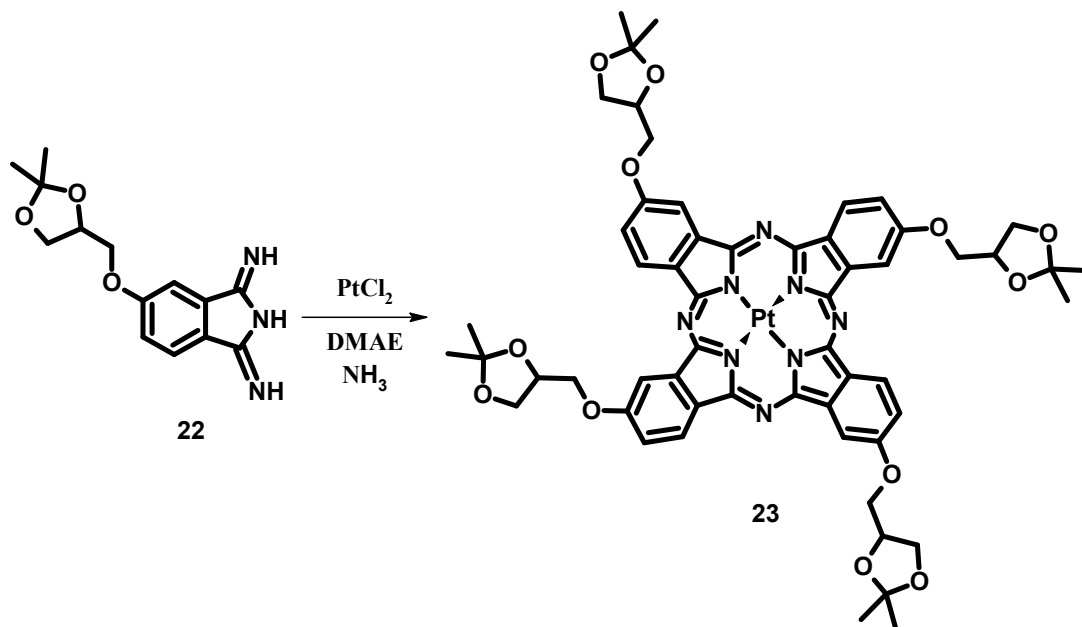
ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 276.13 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 276.1 m/z.

FT-IR (KBr) ($\nu_{\text{max/cm}^{-1}}$): 3241 (-NH), 3064 (ArCH), 2987–2937 (Alifatik CH), 1620, 1536, 1485, 1447, 1373, 1312, 1227, 1138, 1061, 841

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 7.91 (bs, NH), 7.48, 6.85 (2 d, 2H, H-6, H-7), 7.14 (H-4), 4.41-3.78 (m, 5H, CH_2CHCH_2), 1.34, 1.40 (2t, 6H, 2 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 167.64, 161.71, 137.41, 127.42, 122.62, 118.11, 110.11, 106.91, 73.99, 69.48, 66.70, 26.97, 25.55

7.2.18. 2,9(10),16(17),23(24)-tetra[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksil]ftalosiyeninato Pt(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**22**) bileşiği (1 g, 3.64 mmol), PtCl_2 (0.48 g, 1.82 mmol) ve kuru DMAE (10 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek amonyak atmosferi altında geri soğutucu altında 24 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 200 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve süzüldü. Kalan koyu mavi ürün DCM ile çözüldü ve hekzanda çöktürüldü. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgulu kolonda n-hekzan:etilasetat (2:1) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra THF çözücüsü kullanarak ftalosiyenin bileşiği elde edildi. Koyu mavi renkli görünümündeki ürün (**23**) % 35 verimle (392 mg) elde edildi.

$\text{C}_{56}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Pt}$, M_w : 1228.17 g/mol.

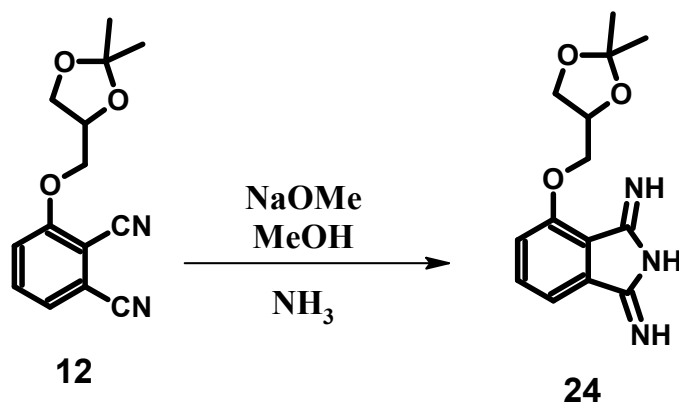
MALDI-TOF-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{56}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Pt}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1228.37 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1228.33.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 5.99-6.85 (m, 12H, Ar), 3.48-4.38 (m, 20H, 4 CH_2CHCH_2), 1.51, 1.46 (bm, 24H, 8 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 158.55, 135.17, 126.92, 121.29, 115.64, 109.64, 102.32, 73.98, 68.55, 66.90, 26.96, 25.45.

UV-Vis, λ_{max} nm (log ϵ): CHCl_3 , 654 (4.84), 605 (4.49); THF 654 (4.77), 602 (4.57); DMF 654 (4.34), 602 (4.40).

7.2.19. 3-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,3-dihidro-1,3-diiminoizindol



Üç boyunlu reaksiyon balonuna (**12**) (1 g, 3.88 mmole), NaOMe (100 mg) ve kuru MeOH (100 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek önce argon atmosferi altında ve amonyak gazı varlığında oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı sonra geri soğutucu yardımıyla amonyak gazı varlığında 10 saat karıştırıldı. Bu süre sonunda başlangıç maddesinin (ftalonitril) bittiği gözlemlendi ve karışım oda sıcaklığına getirildi. Reaksiyon ortamında bulunan MeOH kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı ve kalan katı görünümdeki ürün hekzan ile birkaç kez yıkandı. Katı ürün CHCl_3 ile çözüldü, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (CHCl_3) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Yeşil toz görünümdeki ürün (**24**) 85 % (0.9 g) verimle elde edildi.

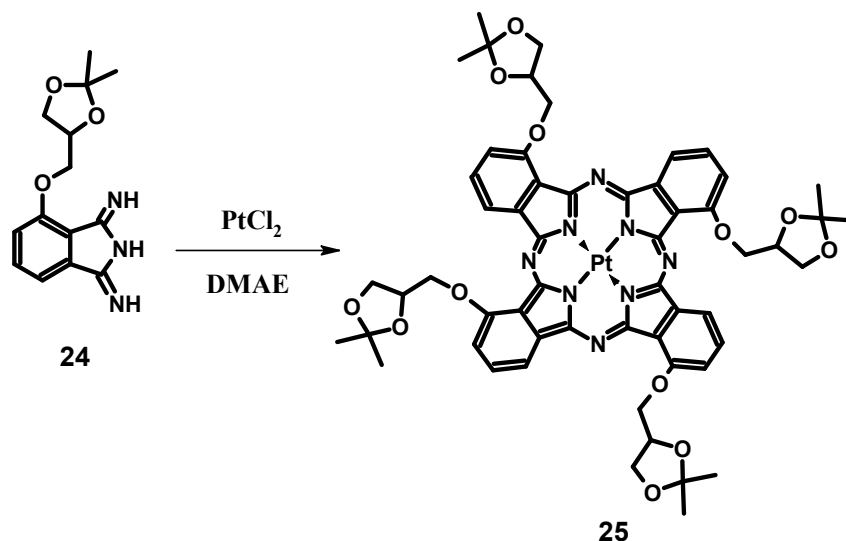
$\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_6$, M_w : 275.30 g/mol.

ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 276.13 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 276.2 m/z.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 7.64, 7.62, 7.35, 7.34 (m, 3H, Ar), 4.02-4.60 (m, 5H, CH_2CHCH_2), 3.55 (bs, NH), 1.36, 1.42 (2 bs, 6H, 2 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 154.30, 137.60, 133.87, 120.16, 116.02, 114.79, 108.90, 73.28, 69.49, 65.34, 26.35, 24.86.

7.2.20. 1,8(11),15(18),22(25)-tetra[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksil]ftalosiyeninato Pt(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**24**) bileşiği (0.5 g, 1.82 mmol), PtCl_2 (0.24 g, 0.91 mmol) ve kuru DMAE (10 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek amonyak atmosferi altında geri soğutucu altında 24 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 200 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve süzüldü. Kalan koyu mavi ürün DCM ile çözüldü ve hekzanda çöktürüldü. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgulu kolonda n-hekzan:etilasetat (2:1) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra THF çözücüsü kullanarak ftalosiyenin bileşiği elde edildi. Koyu mavi renkli görünümündeki ürün (**25**) % 10 verimle (55.8 mg) elde edildi.

$\text{C}_{56}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Pt}$, M_w : 1228.17 g/mol.

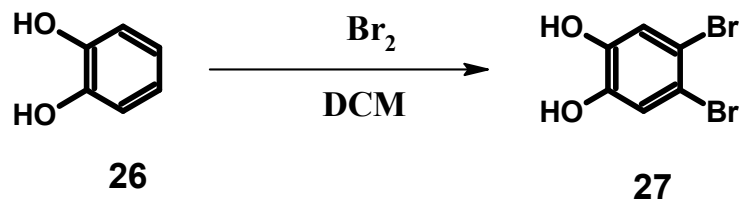
MALDI-TOF-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{56}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Pt}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1228.37 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1228.46.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6.36-8.45 (m, 12H, Ar), 3.65-5.20 (m, 20H, 4 CH_2CHCH_2), 1.57, 1.68 (bm, 24H, 8 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 156.05, 139.33, 129.98, 125.00, 121.61, 117.06, 114.04, 111.34, 110.02, 74.95, 74.21, 67.45, 27.51, 25.98.

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): CHCl_3 , 675 (5.23), 607 (4.58); THF, 674 (5.27), 608 (4.76); DMF, 676 (4.80).

7.2.21. 4,5-dibromokatekol



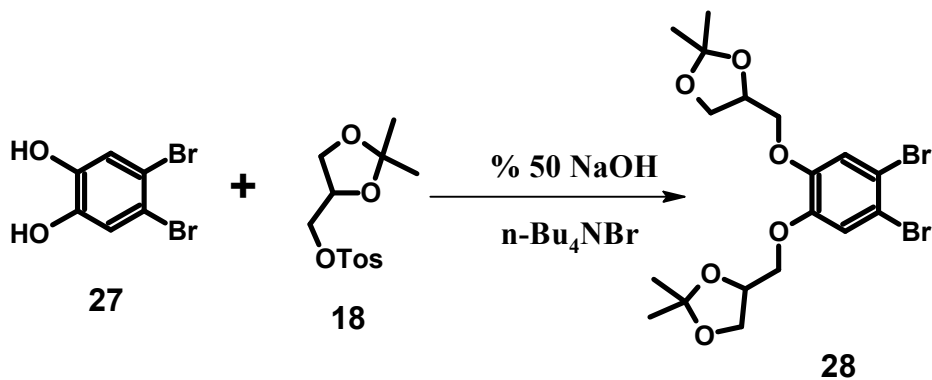
1000 ml'lik üç boyunlu reaksiyon balonu içerisine katekol (**26**) (38.8 g, 0.35 mol) DCM (400 mL) ilave edildi ve buz banyosunda soğutuldu. DCM (50 mL) içinde çözünen (56 gr, 0.70 mol) brom (Br_2) reaksiyon balonuna yavaş yavaş ilave edildi. Ortamdan çıkan HBr gazı daha önce hazırlanan NaOH çözeltisinde tutuldu. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek 20 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra oluşan katılar filtre kağıdı kullanılarak alındı. Doygun sodyum metabisülfite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) çözeltisi ile yıkandı ve kurutuldu. Beyaz katı görünümündeki ürün (**27**) %70 (66 g) verimle elde edildi [133].

Erime Noktası: 119 °C

$\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}_2\text{O}_2$, M_w : 267.90 g/mol.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 5.71 (s, 2H, OH), 7.13 (s, 2H, ArH).

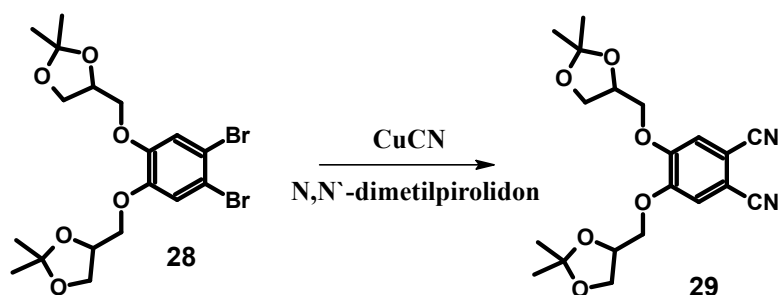
7.2.22. 3,4-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,2-dibromobenzen



100 ml'lik tek boyunlu reaksiyon balonu içerisine dibromokatekol (**27**) (11.5 g, 43 mmol) ve 50% lik NaOH çözeltisi konuldu ve 80°C'de 1 saat

karıştırıldı. Daha sonra bu karışım içerisine **(18)** bileşiği (26.9 g, 94 mmol) ve *n*-Bu₄NBr (5 g, 15 mmol) ilave edildi. Reaksiyon TLC ile kontrol edilerek 18 saat 80 °C'de manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi, suyla seyreltildi ve DCM ile ekstrakte edildi. Organik faz bir ayırma hunisine alındı ve su ile yıkanarak nötralleştirildi. Susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (DCM) rotada uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından 1:1 hekzan:etilasetat çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla silikajel dolgulu kolonda **(28)** bileşiği elde edildi. Beyaz toz görünümünde olan ürün 86% (18.3 g) verimle elde edildi. Analiz verileri literatürde verilen değerler ile uyumluluk göstermektedir [63, 188].

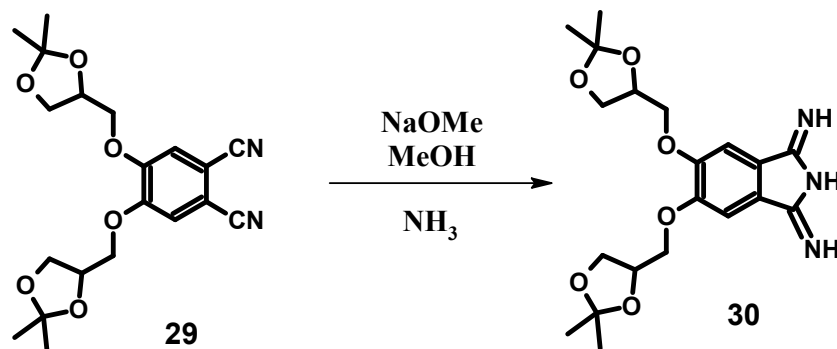
7.2.23. 3,4-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalonitril



100 ml'lik tek boyunlu reaksiyon balonu içerisine **(28)** bileşiği (9.2 g, 18.6 mmol), CuCN (6.7 g, 74.3 mmol) ve NMP (30 ml) konuldu. Bu karışım mikrodalga (400 W) ile 30 dakika karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi, üzerine % 25 lik NH₄OH çözeltisi ilave edildi ve 1 gece boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Oluşan katılar filtre ile süzüldü, sırasıyla etilasetat ve DCM ile ekstrakte edildi. Amonyum fazı ise diklormetan ile ekstrakte edildi ve NMP'yi uzaklaştırmak için su ile yıkandı. Ekstraksiyon işlemleri sonucu oluşan organik fazlar birleştirildi. Susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (DCM) rotada uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından 2:1 hekzan:etilasetat çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla silikajel dolgulu kolonda **(29)** bileşiği elde edildi. Beyaz toz görünümünde olan

ürün 35% (2.53 g) verimle elde edildi. Analiz verileri literatürde verilen değerler ile uyumluluk göstermektedir [63, 188].

7.2.24. 5,6-di-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-1,3-dihidro-1,3-diiminoizoindol



Üç boyunlu reaksiyon balonuna (**29**) bileşiği (400 mg, 1.03 mmole), NaOMe (100 mg) ve kuru MeOH (100 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek önce argon atmosferi altında ve amonyak gazı varlığında oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı sonra geri soğutucu yardımıyla amonyak gazı varlığında 10 saat karıştırıldı. Bu süre sonunda başlangıç maddesinin (ftalonitril) bittiği gözlemlendi ve karışım oda sıcaklığına getirildi. Reaksiyon ortamında bulunan metanol kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı ve kalan katı görünümdeki ürün hekzan ile birkaç kez yıkandı. Katı ürün kloroform ile çözüldü, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (CHCl_3) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Yeşil toz görünümdeki ürün (**30**) 96% (400 mg). verimle elde edildi.

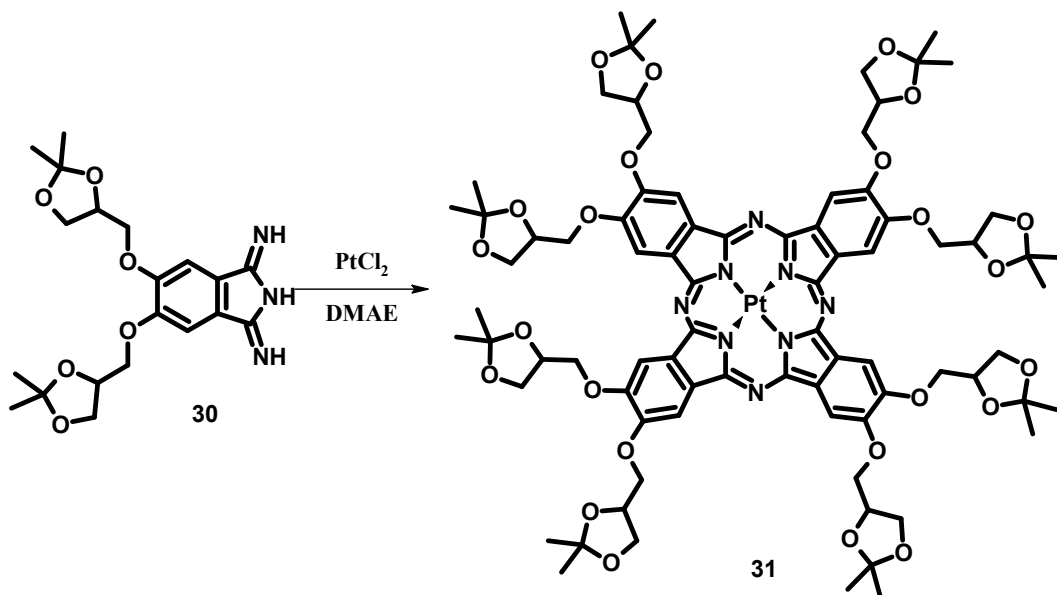
$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6$, M_w : 405.45 g/mol.

ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 406.2 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 406.2 m/z.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 7.20 (s, 2H, Ar), 4.62 (bs, 1H, CH), 3.92-4.16 (4H, m, $(\text{OCH}_2)_2$), 1.37, 1.42 (2 bs, 6 H, 2 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 165.05, 151.49, 127.80, 109.65, 105.84, 73.66, 66.64, 66.39, 26.54, 25.27.

7.2.25. 2,3,9,10,16,17,23,24-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksil]ftalosiyeninato Pt(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**30**) bileşiği (0.8 g, 1.98 mmol), PtCl_2 (0.26 g, 0.99 mmol) ve kuru DMAE (10 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek amonyak atmosferi altında geri soğutucu altında 24 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 200 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve süzüldü. Kalan koyu mavi ürün DCM ile çözüldü ve hekzanda çöktürüldü. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgululu kolonda n-hekzan:etilasetat (2:1) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra THF çözücüsü kullanarak ftalosiyenin bileşiği (**31**) elde edildi. Koyu mavi renkli görünümündeki ürün % 35 verimle (302 mg) elde edildi.

$\text{C}_{80}\text{H}_{96}\text{N}_8\text{O}_{24}\text{Pt}$, M_w : 1748.74 g/mol.

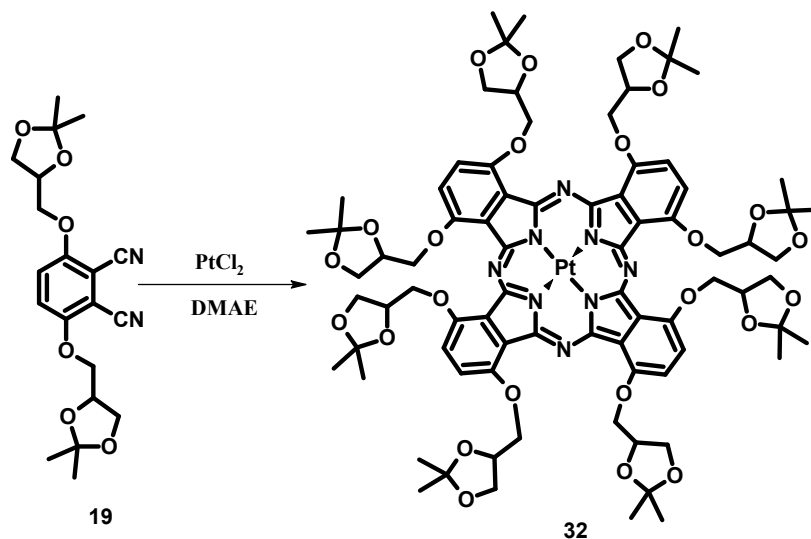
MALDI-TOF-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{80}\text{H}_{96}\text{N}_8\text{O}_{24}\text{Pt}$) $[\text{M}+2\text{H}]^+$ 1749.62 m/z, Bulunan $[\text{M}+2\text{H}]^+$ 1749.16 m/z.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 7.98 (s, 8H, Ar), 4.29-4.90 (m, 40H, 8 CH_2CHCH_2), 1.62, 1.71 (bm, 48H, 16 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 150.61, 138.70, 129.92, 109.83, 106.03, 74.38, 70.44, 67.29, 27.03, 25.68.

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): CHCl_3 , 651 (5.09), 589 (4.46); THF, 650 (4.81), 602 (4.55); DMF, 650 (4.30), 601 (4.24).

7.2.26. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksil]ftalosiyeninato Pt(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**19**) bileşiği (0.2 g, 0.52 mmol), PtCl_2 (0.07 g, 0.26 mmol) ve kuru DMAE (5 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek amonyak atmosferi altında geri soğutucu altında 24 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 200 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve süzüldü. Kalan koyu mavi ürün DCM ile çözüldü ve hekzanda çöktürüldü. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgulu kolonda n-hekzan:etilasetat (2:1) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra THF çözücüsü kullanarak ftalosiyenin bileşiği elde edildi. Açık yeşil renkli ürün (**32**) % 8 verimle (18 mg) elde edildi.

$\text{C}_{80}\text{H}_{96}\text{N}_8\text{O}_{24}\text{Pt}$, M_w : 1748.74 g/mol.

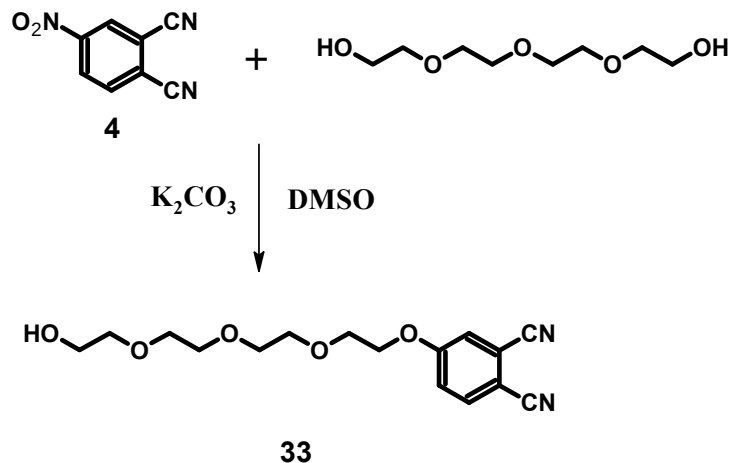
MALDI-TOF-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{80}\text{H}_{96}\text{N}_8\text{O}_{24}\text{Pt}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1748.62 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1748.93 m/z.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 7.71 (s, 8H, Ar), 4.20-5.08 (m, 40H, 8 CH_2CHCH_2), 1.41, 1.47 (bm, 48H, 16 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 152.09, 140.58, 127.24, 120.62, 109.59, 74.52, 73.68, 67.21, 27.00, 25.42.

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): CHCl_3 , 705 (5.11); THF 706 (5.11); DMF, 711 (4.89).

7.2.27. 4-(2-{2-[2-(2-hidroksietoksi) etoksi]etoksi}etoksi) etoksi) ftalonitril



250 ml'lık reaksiyon balonu içerisine tetraetilenglikol (64.75 g, 202.3 mmol, 7 Eq), 4-nitroftalonitril (**4**) (5 g, 28.9 mmol, 1 Eq) ve kuru DMSO (60 ml) konuldu. Bir süre karıştırıldıktan sonra kuru K₂CO₃ (289 mmol, 10 Eq) reaksiyon karışımının içine porsiyonlar halinde ilave edildi. Reaksiyon TLC ile kontrol edilerek 2 gün oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımından K₂CO₃ tuzlarının aşırısını uzaklaştırmak için filtre ile süzüldü. Reaksiyon karışımına etil asetat (350 mL) ilave edildi ve 3 kere 150 mL su ile yıkandı. Organik faz susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (etil asetat) döner buharlaştırıcıda kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından etilasetat çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla silikajel dolgulu kolonda **33** bileşiği elde edildi. Beyaz sıvı görünümünde olan ürün % 60 (5.56 g) verimle elde edildi.

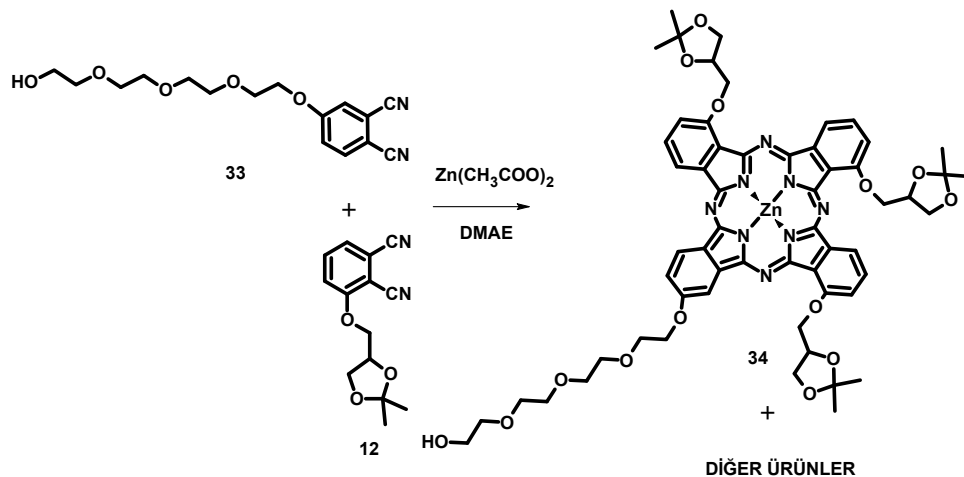
C₁₆H₂₀N₂O₅, M_w: 320.34 g/mol.

ESI-MS: Hesaplanan (C₁₆H₂₀N₂O₅) [M+Na]⁺ 343.13 m/z, Bulunan [M+Na]⁺ 343.2

¹H NMR: (500 MHz, CDCl₃, δ ppm): d 7.72 (H-1 Ar, 1H), d 7.34 (H-2 Ar, 1H), dd 7.25 (H-3 Ar, 1H), m 4.25 (H-4, H-5, 2H), m 3.89 (H-6, H-7, 2H), m 3.73-3.61 (12H), s 2.27 (O-H)

¹³C NMR: (125 MHz, CDCl₃, δ ppm): δ 162.21, 135.39, 120.06, 119.88, 117.60, 115.89, 115.49, 107.67, 72.71-61.91.

7.2.28. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-24-[(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyanimato Zn(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna **(12)** bileşiği (4.02 g, 15.6 mmol), **(33)** bileşiği (0.5 g, 1.56 mmol) $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (1.57 g, 8.58 mmol) ve kuru DMAE (35 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı argon atmosferi altında geri soğutucu altında 10 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 500 ml heksana dökülerek çöktürüldü ve G4 filtre ile süzüldü. Kalan koyu yeşil görünümündeki ürün diklormetan ile çözüldü ve sıcak heksanda tekrar çöktürüldü. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgululu kolonda önce EtOAc kullanarak simetrik yapıdaki ftalosiyanın elde edildi. Simetrik ftalosiyanın eldesinden sonra kolondan bir süre DCM geçirildi. Daha sonra DCM:THF (2:1) çözücü sistemi kullanarak AB_3 tipi asimetrik ftalosiyanın bileşiği **34** elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 25 verimle (0.45 g) elde edildi.

$\text{C}_{58}\text{H}_{62}\text{N}_8\text{O}_{14}\text{Zn}$, M_w : 1160.57 g/mol.

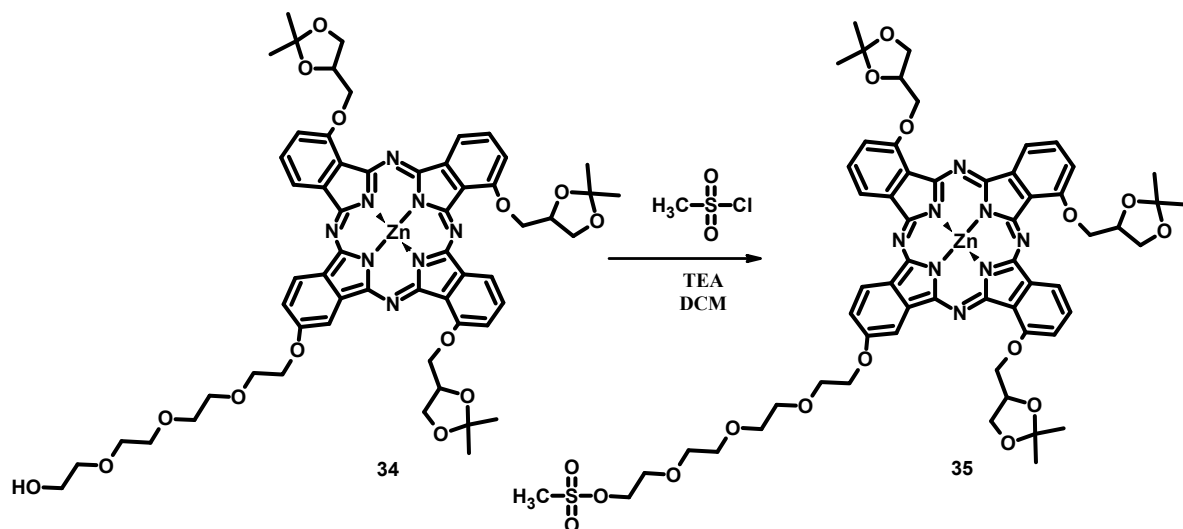
ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{58}\text{H}_{62}\text{N}_8\text{O}_{14}\text{Zn}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1159.37 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1159.6 m/z.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 7.14-9.15 (m, 12H, Ar), 4.23-5.31 (m, 15H, 3 CH_2CHCH_2), 3.49-4.09 (m, 16H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.44, 1.63 (bm, 18H, 6 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 160.78, 158.63, 155.92, 152.63, 140.86, 130.92, 126.93, 125.38, 123.72, 116.95, 115.51, 113.59, 109.67 (CMe_2), 106.03, 75.07, 74.39, 73.12, 72.59, 70.71, 69.94, 68.55, 67.15, 27.52, 26.20 (2 CH_3)

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): DMSO, 698 (5.29), 628 (4.56), 343 (4.65)

7.2.29. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl) metoksi]-24-[12-O-mesil-(1,4,7,10-tetraokzadodesil)] ftalosiyanimato Zn(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna **(34)** bileşiği (0.4 g, 0.35 mmol), TEA (10mL) ve DCM (25 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 10 °C ye getirildi, bir süre bu sıcaklıkta karıştırıldı ve MsCl (4eq, 1.4 mmol) damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek oda sıcaklığında 20 dakika karıştırıldı. Reaksiyon karışımı su ile seyreltildi ve sodyum bikarbonat çözeltisine ilave edildi. 100 ml DCM ile 3 kez ekstrakte edildi. Organik faz bir erlene alındı, susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (DCM) rotada uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından DCM:THF (2:1) çözücü sistemi kullanarak **35** bileşiği elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 90 verimle (0.38 g) elde edildi.

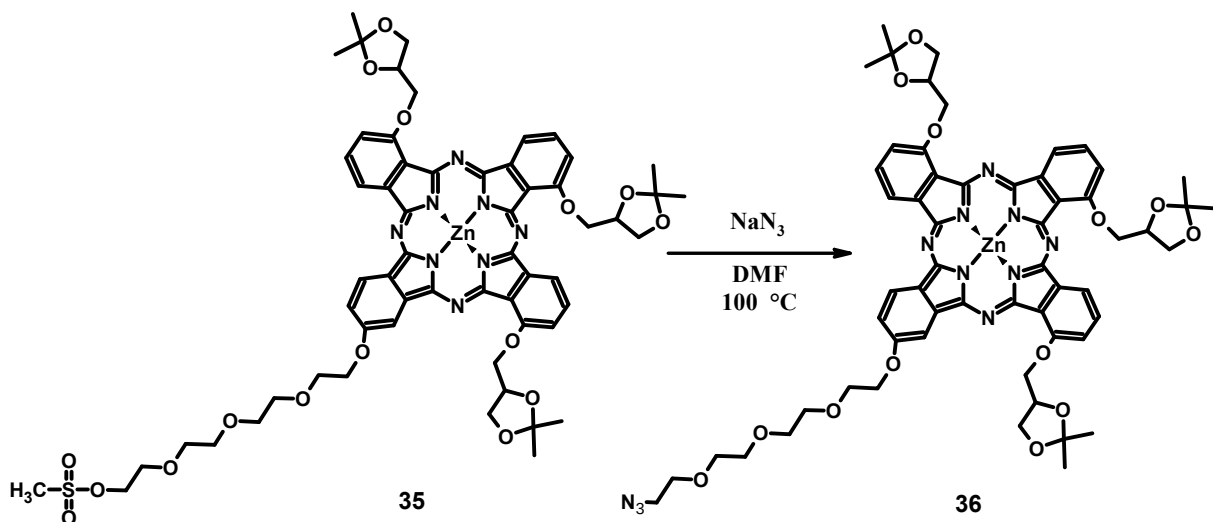
C₅₉H₆₄N₈O₁₆SZn, M_w: 1238.66 g/mol.

ESI-MS: Hesaplanan (C₅₉H₆₄N₈O₁₆SZn) [M+H]⁺ 1237.5 m/z, Bulunan [M+H]⁺1237.5 m/z

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 7.33-8.96 (m, 12H, Ar), 4.42-5.29 (m, 15H, 3 CH₂CHCH₂), 3.66-4.34 (m, 16H, 4 OCH₂CH₂O), 3.22 (s, 3H, SO₂CH₃) 1.42, 1.62 (bm, 18H, 6 CH₃).

UV-vis, λ_{max} nm (log ε): DMSO, 697 (5.23), 627 (4.50), 365 (4.56)

7.2.30. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-24-[12-azido-(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyanimato Zn(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**35**) bileşiği (0.3 g, 0.24 mmol), NaN_3 (4eq, 0.96 mmol) ve DMF (10 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek 100°C de 18 saat karıştırıldı. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı suya dökülerek çöktürüldü ve oluşan çökeltiler G4 filtre kullanarak alındı. Katı ürün DCM ile çözüldü ve susuz Na_2SO_4 ile kurutuldu, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (DCM) rotada uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından DCM:THF (3:1) çözücü sistemi kullanarak **36** bileşiği elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 95 verimle (0.27 g) elde edildi.

$\text{C}_{58}\text{H}_{61}\text{N}_{11}\text{O}_{13}\text{Zn}$, M_w : 1185.58 g/mol.

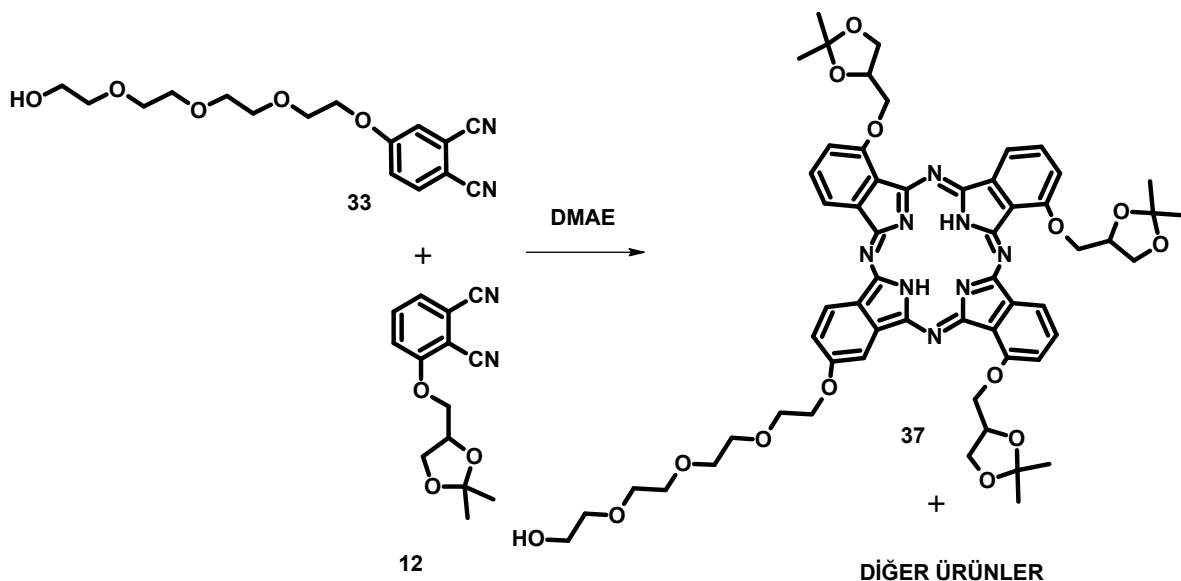
ESI-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{58}\text{H}_{61}\text{N}_{11}\text{O}_{13}\text{Zn}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1184.38 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1184.6 m/z.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 7.14-9.15 (m, 12H, Ar), 4.44-5.23 (m, 15H, 3 CH_2CHCH_2), 3.6-4.38 (m, 16H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.39, 1.65 (bm, 18H, 6 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 159.93, 158.46, 156.12, 153.02, 141.34, 131.16, 126.81, 125.79, 124.22, 116.91, 115.81, 113.87, 109.84 (CMe_2), 106.46, 75.37, 74.38, 73.12, 72.44, 70.50, 70.02, 68.24, 67.02, 50.7 ($\text{C}-\text{N}_3$), 27.45, 26, 46 (2CH_3)

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): DMSO, 698 (5.29), 627 (4.56), 343 (4.63)

7.2.31. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-24-[(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyenin



Tek boyunlu reaksiyon balonuna **(12)** bileşiği (4.02 g, 15.6 mmol), **(33)** bileşiği (0.5 g, 1.56 mmol) ve kuru DMAE (20 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek argon atmosferi altında geri soğutucu altında 18 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve su-etanol karışımına dökülerek çöktürüldü ve G4 filtre ile süzüldü. Kalan koyu yeşil görünümündeki ürün DCM ile çözüldü ve sıcak hekzanda tekrar çöktürüldü. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgululu kolonda önce etilasetat kullanarak simetrik yapıdaki ftalosiyenin elde edildi. Simetrik ftalosiyenin eldesinden sonra kolondan bir süre DCM geçirildi. Daha sonra DCM:Etanol (10:1) çözücü sistemi kullanarak **37** bileşiği elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 18 verimle (0.38 g) elde edildi.

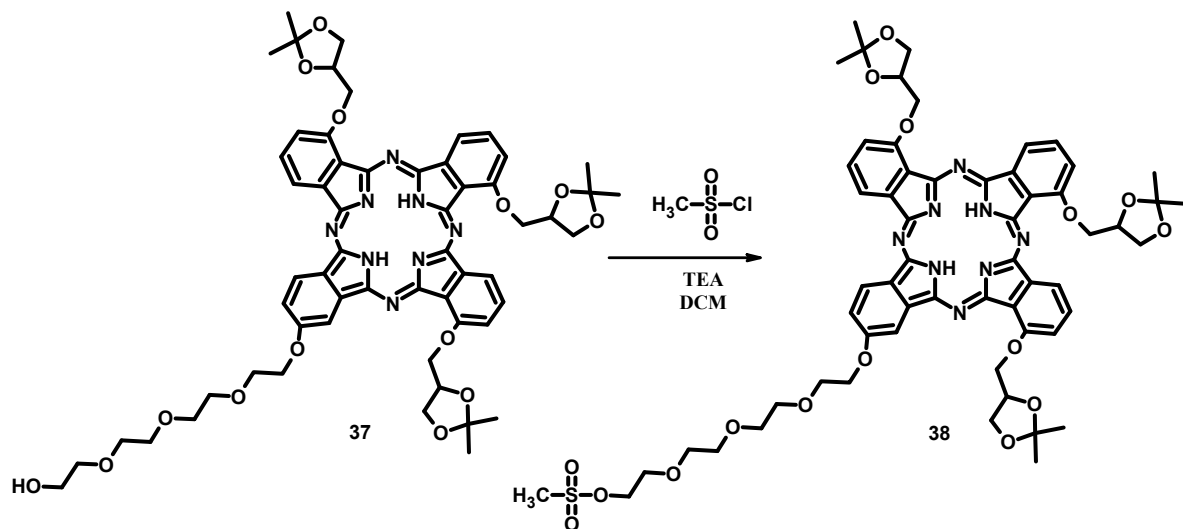
C₅₈H₆₄N₈O₁₄, M_w: 1097.17 g/mol.

MALDI-TOF-MS: Hesaplanan (C₅₈H₆₄N₈O₁₄) [M+H]⁺ 1097.46, Bulunan [M+H]⁺ 1097.63, [M+Na]⁺ 1119.27 m/z.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 7.14-9.15 (m, 12H, Ar), 4.23-4.92 (m, 15H, 3 CH₂CHCH₂), 3.52-4.06 (m, 16H, 4 OCH₂CH₂O), 1.42, 1.59 (bm, 18H, 6 CH₃), -4.85 (bs, 2H, 2 NH).

UV-vis, λ_{max} nm (log ε): DMF, 717 (4.85), 688 (5.00), 325 (4.68)

7.2.32. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-24-[12-O-mesil-(1,4,7,10-tetraokzadodesil)]ftalosiyenin



Tek boyunlu reaksiyon balonuna **(37)** bileşiği (100 mg, 91 μmol), TEA (5mL) ve DCM (10 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 10 °C ye getirildi, bir süre bu sıcaklıkta karıştırıldı ve MsCl (4eq, 364 μmol) damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek oda sıcaklığında 20 dakika karıştırıldı. Reaksiyon karışımına NaHCO_3 çözeltisi ilave edildi ve 100 ml DCM ile 3 kez ekstrakte edildi. Organik faz bir erlene alındı, susuz Na_2SO_4 ile kurutuldu, filtre ile süzüldü ve süzüntünün çözücüsü (DCM) rotada uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından DCM:Etanol (10:1) çözücü sistemi kullanarak **38** bileşiği elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 84 verimle (90 mg) elde edildi.

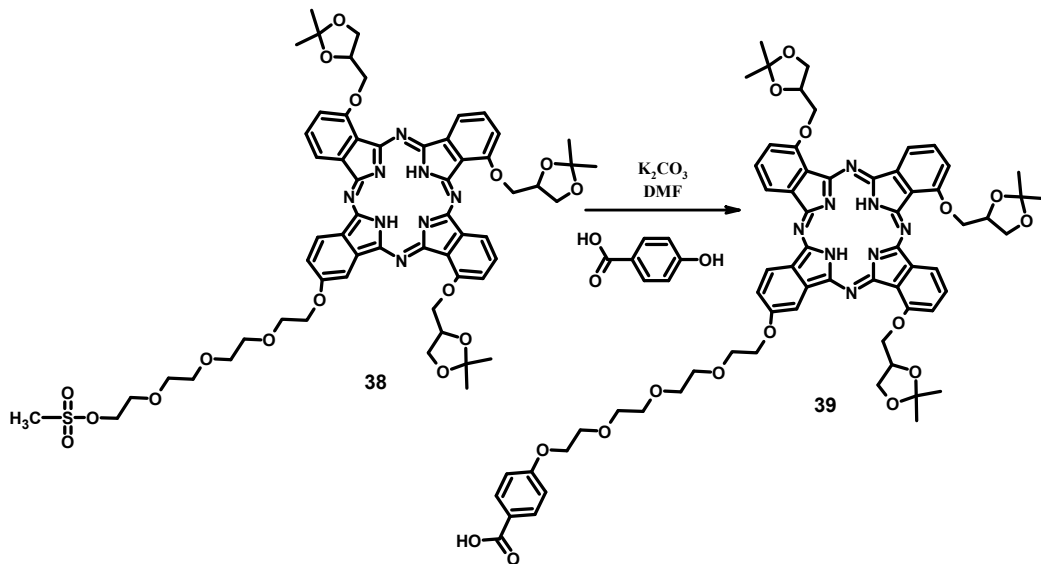
$\text{C}_{59}\text{H}_{66}\text{N}_8\text{O}_{16}\text{S}$, M_w : 1175.26 g/mol.

MALDI-TOF-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{59}\text{H}_{66}\text{N}_8\text{O}_{16}\text{S}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1175.44, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1175.83 m/z.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 6.59-8.03 (m, 12H, Ar), 4.17-5.00 (m, 15H, 3 CH_2CHCH_2), 3.66-4.02 (m, 16H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.18 (s, 3H, SO_2CH_3) 1.43, 1.56 (bm, 18H, 6 CH_3), -4.85 (bs, 2H, 2 NH).

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): DMF, 716 (4.78), 688 (4.96), 322 (4.68).

7.2.33. 1,8(11),15(18)-tri-[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]-24-[12-O-benzoikasit-(1,4,7,10-tetraokzadodesil)] ftalosiyenin



Tek boyunlu reaksiyon balonuna p-hidroksibenzoik asit (37 mg, 272 μ mol, 4eq.) ve K_2CO_3 (90 mg, 680 μ mol, 10 eq.) ve ve DMF (3 ml) ilave edildi. Karışım 20 dk. boyunca karıştırıldıktan sonra, DMF (2 ml) içinde çözülmüş **38** bileşiği (80 mg, 68 μ mol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek oda sıcaklığında 1 gün karıştırıldı. Bu süre sonunda ürün oluşmadığı gözlemlendi ve reaksiyon karışımının sıcaklığı 60°C'ye çıkarılarak 4 gün boyunca karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı çok doygun tuzlu suya (brine) döküldü ve ftalosiyenin DCM ile ekstrakte edilerek organik faza alındı, susuz Na_2SO_4 ile kurutuldu, filtre ile süzüldü ve süzütünün çözücüsü (DCM) rotada uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımından DCM:Etanol (10:1) çözücü sistemi kullanarak önce reaksiyona girmeden kalan **38** bileşiği sonra **39** bileşiğini elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 50 verimle (41 mg) elde edildi.

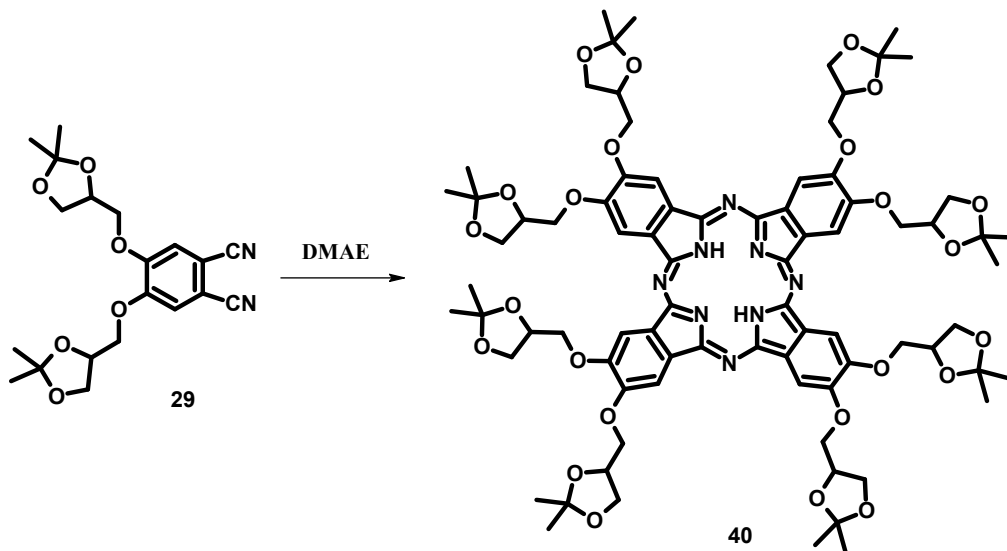
$C_{65}H_{68}N_8O_{16}$, M_w : 1217.27 g/mol.

MALDI-TOF-MS: Hesaplanan ($C_{65}H_{68}N_8O_{16}$) $[M+H]^+$ 1217.47 m/z, Bulunan $[M+H]^+$ 1216.47 m/z.

^1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$, δ ppm): 10.33 (1H, COOH). 6.51-7.98 (bm, 12H, Ar ve bm, 4H, -O-Ar-COO), 4.12-5.16 (bm, 15H, 3 CH_2CHCH_2), 3.50-4.00 (bm, 16H, 4 OCH_2CH_2O), 1.47, 1.56 (bm, 18H, 6 CH_3), -4.75 (bs, 2H, 2 NH).

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): DMF, 716 (4.70), 688 (4.90), 320 (4.58)

7.2.34. 2,3,9,10,16,17,23,24-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksil]ftalosiyenin



Tek boyunlu reaksiyon balonuna **29** bileşiği (0.5 g, 1.29 mmol) ve kuru DMAE (5 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı argon atmosferi altında geri soğutucu altında 24 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 200 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve oluşan çökeltiler santrifüj kullanarak alındı. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgulu kolonda n-hekzan:etilasetat (1:1) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra etil asetat çözücüsü kullanarak ftalosiyenin bileşiği **40** elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 32 verimle (0.156 g) elde edildi.

Erime Noktası > 220 °C.

C₈₀H₉₈N₈O₂₄, M_W: 1555.67 g/mol.

MALDI-TOF-MS: Hesaplanan (C₈₀H₉₈N₈O₂₄) [M+H]⁺ 1556.6 m/z. Bulunan [M+H]⁺ 1556.6 m/z.

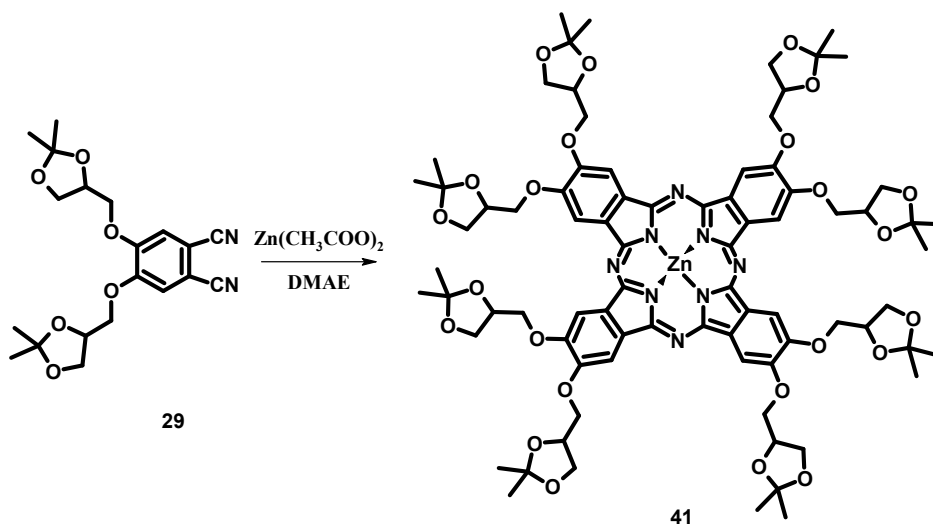
FT-IR (KBr) (ν_{max/cm⁻¹}): 3300 (NH), 3045 (ArCH), 29805–2882 (CH₂, CH₃), 1609 (ArC=C), 1487, 1448, 1370, 1278, 1207, 1159, 1094, 1053, 851.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ ppm): 8.19 (s, 8H, Ar), 4.37–4.96 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.79 (bs, 24H, 8 CH₃), 1.69 (bs, 24H, 8 CH₃), -4.12 (bs, 2H, 2 NH).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, δ ppm): 151.22 (C-4), 147.81 (C-1), 130.19 (C-2), 110.22 (CMe₂), 106.04 (C-3), 74.66 (C-2'), 70.61 (C-1'), 67.52 (C-3'), 27.32, 25.99 (2 CH₃).

UV-vis, λ_{max} nm (log ε): CHCl₃, 699 (5.2), 662 (5.1), 348 (5.0)

7.2.35. 2,3,9,10,16,17,23,24-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksi]ftalosiyanimato Zn(II)



Tek boyunlu reaksiyon balonuna **29** bileşiği (0.5 g, 1.29 mmol), $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ (118 mg, 0.645 mmol) ve kuru DMAE (10 ml) ilave edildi. Reaksiyon karışımı argon atmosferi altında geri soğutucu altında 24 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 200 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve oluşan çökeltiler santrifüj kullanarak alındı. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgulu kolonda n-hekzan:etilasetat (1:2) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra etil asetat çözücüsü kullanarak ftalosiyanimato bileşiği **41** elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 56 verimle (0.292 g) elde edildi.

Erime Noktası > 220 °C.

$\text{C}_{80}\text{H}_{96}\text{N}_8\text{O}_{24}\text{Zn}$, M_w : 1612.35 g/mol.

Kütle Spektrum (MALDI-TOF-MS) m/z : 1618.7 $[\text{M}+2\text{H}]^+$.

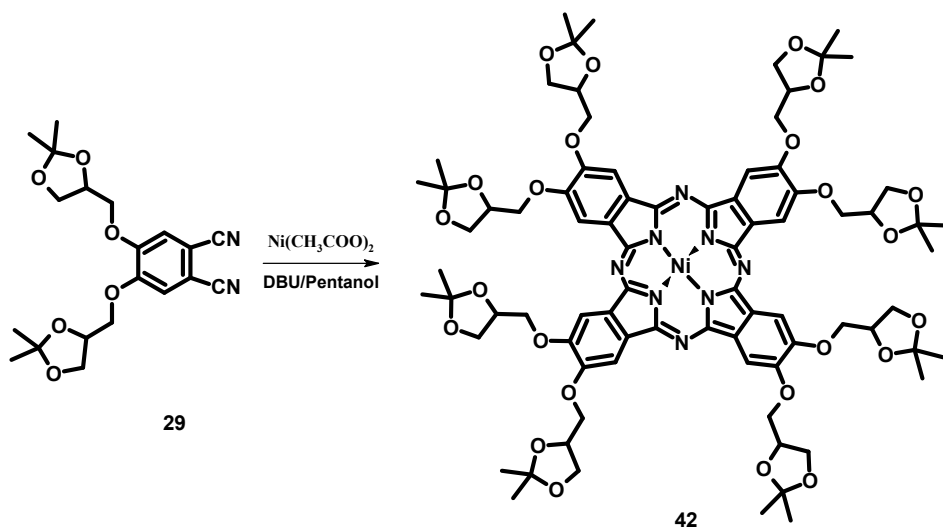
FT-IR (KBr) ($\nu_{\text{max/cm}^{-1}}$): 3045 (ArCH), 2986–2882 (CH_2 , CH_3), 1605 (ArC=C), 1495, 1455, 1371, 1280, 1204, 1158, 1089, 1054, 839.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): 8.58 (s, 8H, Ar), 4.09–4.69 (m, 40H, 8 CH_2CHCH_2), 1.53 (bs, 24H, 8 CH_3), 1.40 (bs, 24H, 8 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ ppm): δ , ppm 152.74 (C-4), 151.42 (C-1), 132.69 (C-2), 109.96 (CMe_2), 107.04 (C-3), 75.05 (C-2'), 70.86 (C-1'), 66.79 (C-3'), 27.53, 26.57 (2 CH_3).

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): CHCl_3 , 675 (5.4), 356 (5.0)

7.2.36. 2,3,9,10,16,17,23,24-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksilftalosiyeninato Ni(II)]



Tek boyunlu reaksiyon balonuna (**29**) bileşiği (0.5 g, 1.29 mmol), $\text{Ni}(\text{OAc})_2$ (114 mg, 0.645 mmol) ve kuru pentanol (5 ml) ilave edildi. DBU (0.2 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı argon atmosferi altında geri soğutucu altında 8 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 150 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve oluşan çöktürler santrifüj kullanarak alındı. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgululu kolonda n-hekzan:etilasetat (1:1) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra etil asetat çözücüsü kullanarak ftalosiyenin bileşiği **42** elde edildi. Koyu mavi renkli görünümündeki ürün % 64 verimle (0.332 g) elde edildi.

Erime Noktası > 220 °C.

$\text{C}_{80}\text{H}_{96}\text{N}_8\text{O}_{24}\text{Ni}$, M_w : 1616.58 g/mol.

MALDI-TOF-MS: Hesaplanan ($\text{C}_{80}\text{H}_{96}\text{N}_8\text{O}_{24}\text{Ni}$) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1611.6 m/z, Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1611.4 m/z.

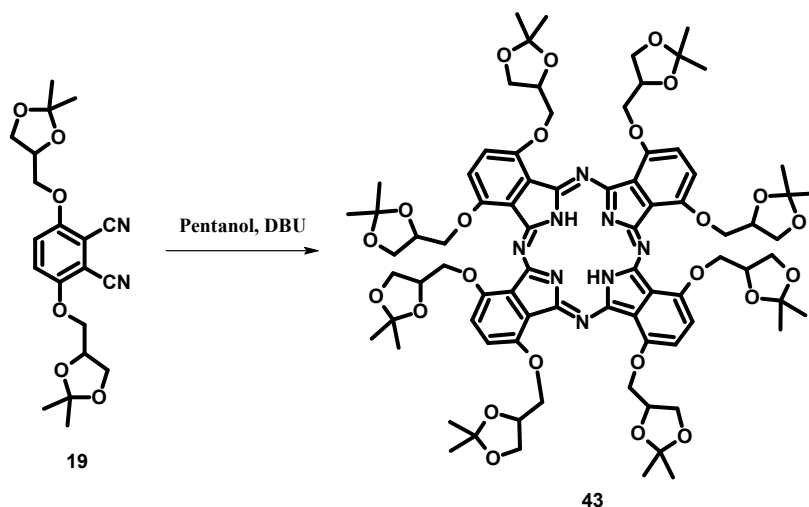
FT-IR (KBr) ($\nu_{\text{max}/\text{cm}^{-1}}$): 3040 (ArCH), 2985–2885 (CH_2 , CH_3), 1609 (ArC=C), 1531, 1476, 1428, 1370, 1281, 1207, 1159, 1099, 1063, 848.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 7.94 (s, 8H, Ar), 4.22–4.81 (m, 40H, 8 CH_2CHCH_2), 1.63 (bs, 24H, 8 CH_3), 1.53 (bs, 24H, 8 CH_3).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 150.64 (C-4), 143.30 (C-1), 130.43 (C-2), 110.10 (CMe_2), 105.08 (C-3), 74.62 (C-2'), 70.55 (C-1'), 67.43 (C-3'), 27.26, 25.91 (2 CH_3).

UV-vis, λ_{max} nm (log ϵ): CHCl_3 , 667.5 (5.3), 308.5 (4.9)

7.2.37. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksil]ftalosiyenin



Tek boyunlu reaksiyon balonuna **19** bileşiği (0.5 g, 1.29 mmol) ve kuru pentanol (2 ml) ilave edildi. DBU (0.5 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı argon atmosferi altında geri soğutucu altında 8 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 150 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve oluşan çökeltiler santrifüj kullanılarak alındı. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgulu kolonda n-hekzan:etilasetat (1:2) çözücü sistemi kullanarak ftalosiyenin bileşiği **43** elde edildi. Koyu yeşil renkli görünümündeki ürün % 5.3 verimle (0.026 g) elde edildi.

Erime Noktası > 220 °C.

C₈₀H₉₈N₈O₂₄, M_w: 1555.67 g/mol.

MALDI-TOF-MS: Hesaplanan (C₈₀H₉₈N₈O₂₄) [M+Na]⁺ 1577.6 m/z, Bulunan [M+Na]⁺ 1577.9 m/z.

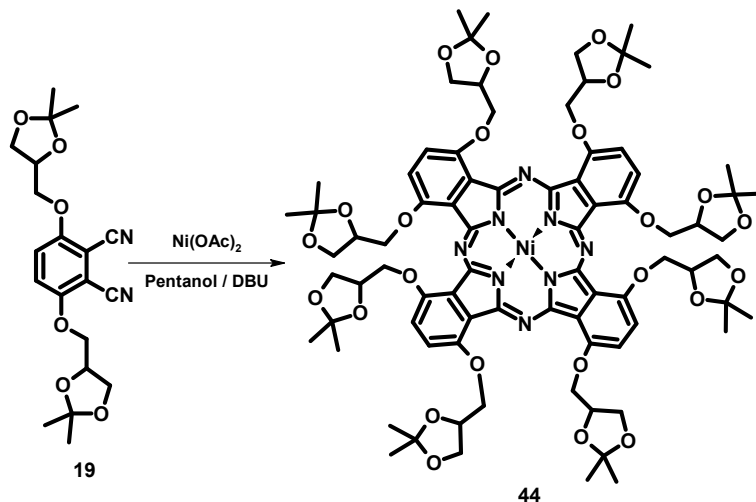
FT-IR (KBr) (ν_{max/cm⁻¹): 3300 (NH), 3045 (ArCH), 2985–2882 (CH₂, CH₃), 1609 (ArC=C), 1488, 1450, 1372, 1279, 1208, 1155, 1092, 1052, 855.}

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 7.72 (s, 8H, Ar), 3.95–4.75 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.14 (bs, 48H, 16 CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 151.79 (C-3), 149.35 (C-1), 126.23 (C-2), 120.65 (C-4), 109.44 (CMe₂), 74.87 (C-2'), 73.04 (C-1'), 66.92 (C-3'), 27.32, 26.02 (2 CH₃).

UV-vis, λ_{max} nm (log ε): CHCl₃, 749.5 (5.4), 356 (5.0), DMSO, 738.5 (5.2), 324 (4.6).

7.2.38. 1,4,8,11,15,18,22,25-okta[(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-yl)metoksilftalosiyeninato Ni(II)]



Tek boyunlu reaksiyon balonuna **19** bileşiği (0.5 g, 1.29 mmol), Ni(OAc)₂ (114 mg, 0.645 mmol) ve kuru pentanol (5 ml) ilave edildi. DBU (0.2 ml) ilavesinden sonra reaksiyon karışımı argon atmosferinde ve geri soğutucu altında 8 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve 150 ml hekzana dökülerek çöktürüldü ve oluşan çökeltiler santrifüj kullanarak ayrıldı. Kalan reaksiyon karışımından silikajel dolgululu kolonda n-hekzan:etilasetat (1:1) çözücü sistemi kullanarak önce safsızlıklar alındı ve sonra etil asetat çözücüsü kullanarak ftalosiyenin bileşiği **44** elde edildi. Yeşil renkli ürün % 48 verimle (0.249 g) elde edildi.

Erime Noktası > 220 °C.

C₈₀H₉₆N₈O₂₄Ni, M_w: 1616.58 g/mol.

MALDI-TOF-MS: Hesaplanan (C₈₀H₉₆N₈O₂₄Ni) [M+Na]⁺ 1633.6 m/z, Bulunan [M+Na]⁺ 1633.8 m/z.

FT-IR (KBr) (ν_{max/cm⁻¹}): 3040 (ArCH), 2985–2879 (CH₂, CH₃), 1602 (ArC=C), 1500, 1370, 1312, 1223, 1159, 1061, 839.

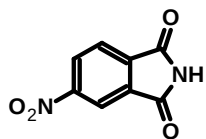
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 7.83 (s, 8H, Ar), 4.10–4.91 (m, 40H, 8 CH₂CHCH₂), 1.34 (bs, 24H, 8 CH₃), 1.32 (bs, 24H, 8 CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 150.99 (C-3), 145.46 (C-1), 126.98 (C-2), 119.95 (C-4), 109.46 (CMe₂), 74.86 (C-2'), 73.10 (C-1'), 66.91 (C-3'), 27.40, 26.10 (2 CH₃).

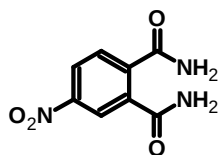
UV-vis, λ_{max} nm (log ε): CHCl₃, 729.5 (5.2), 323.5 (4.6), DMSO, 714 (5.2), 324.5 (4.6).

8. SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN YAPILARI VE SPEKTRUMLARI

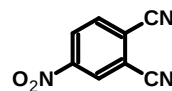
8.1. Başlangıç Maddelerinin Yapıları



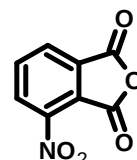
2



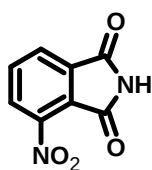
3



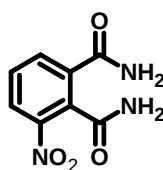
4



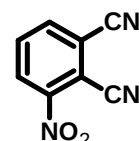
5



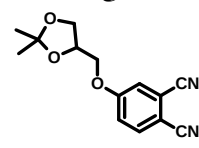
6



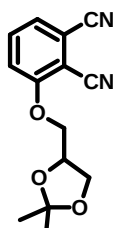
7



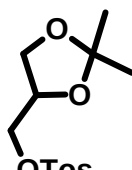
8



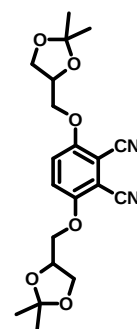
10



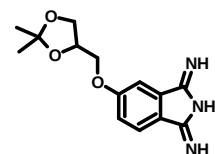
12



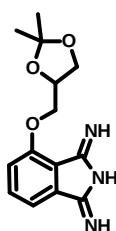
18



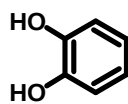
19



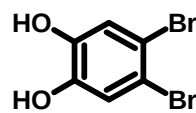
22



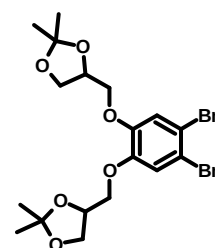
24



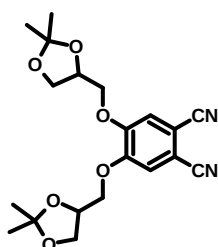
26



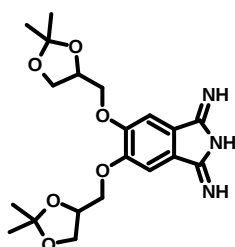
27



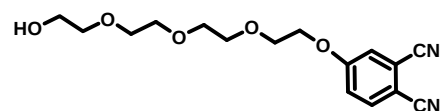
28



29

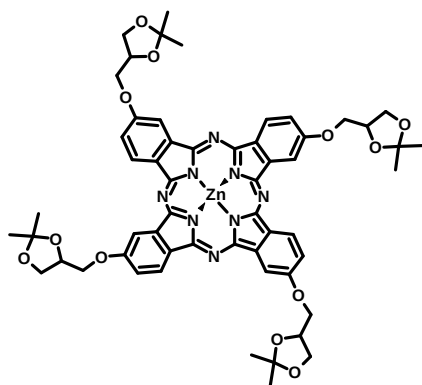
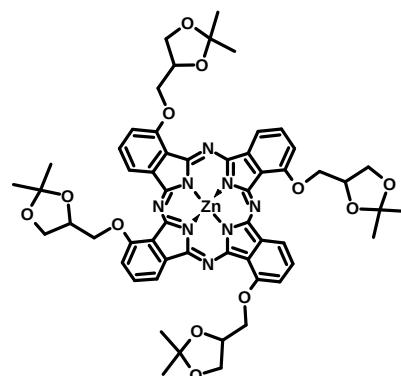
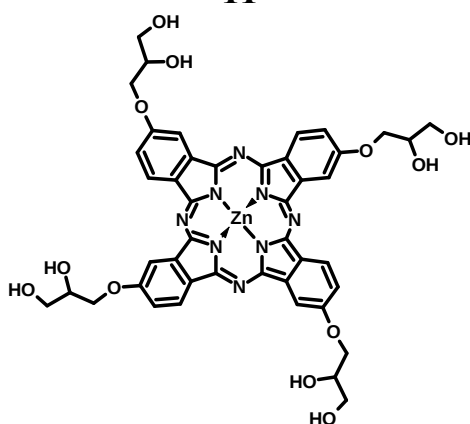
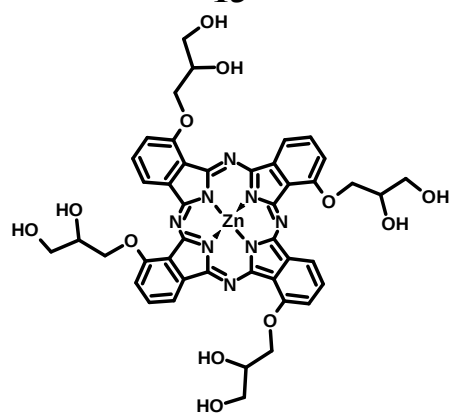
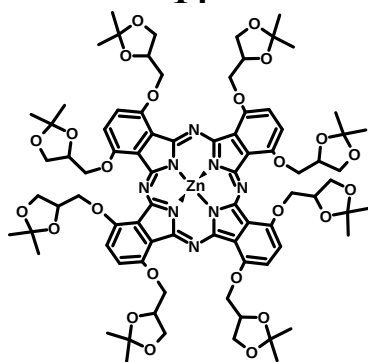
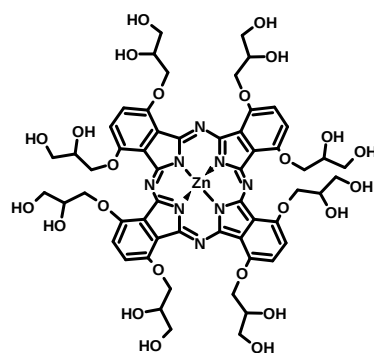
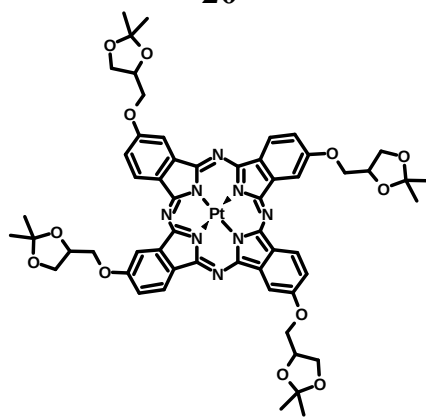
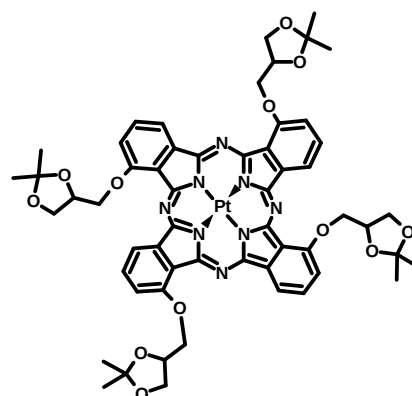


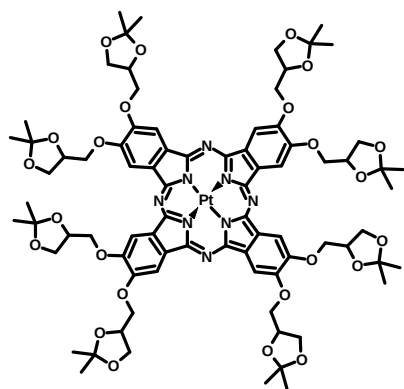
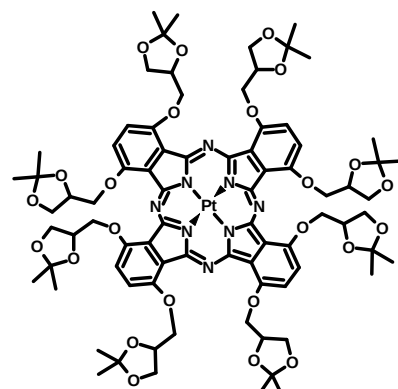
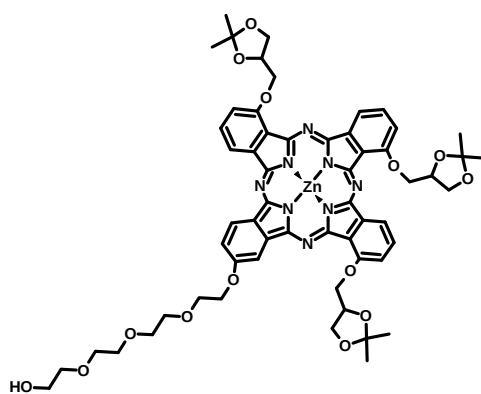
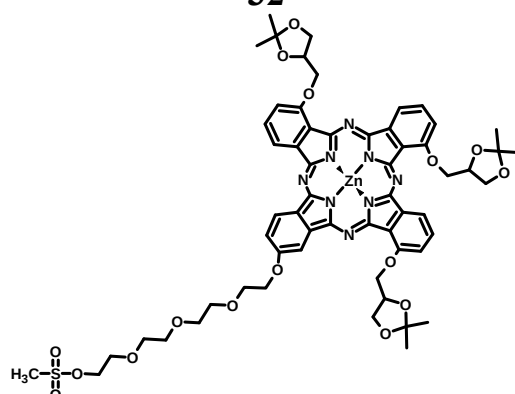
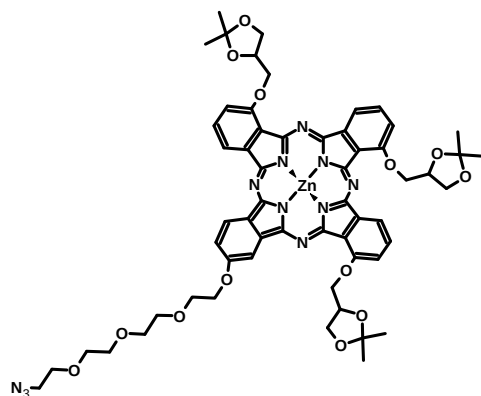
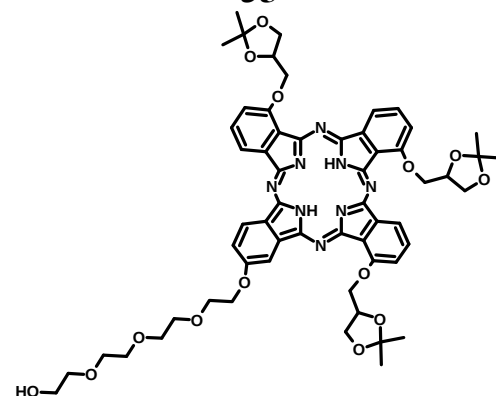
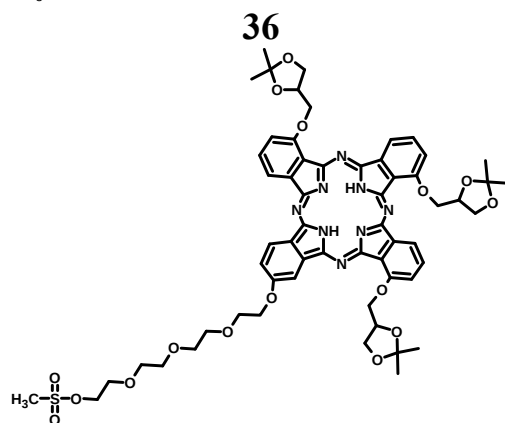
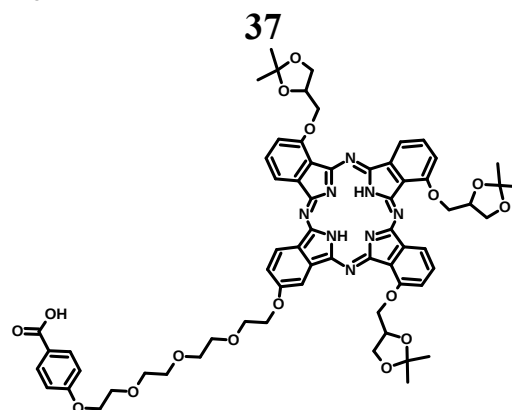
30

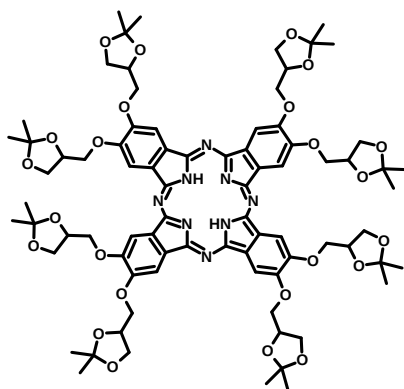
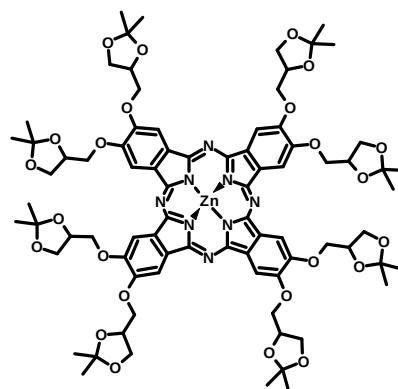
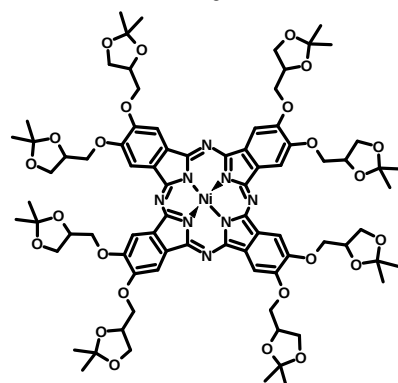
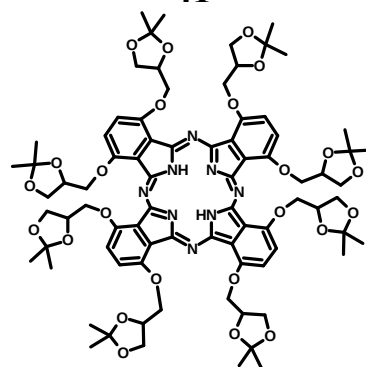
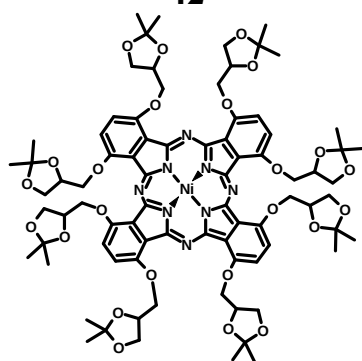


33

8.2. Ftalosiyenin Bileşiklerinin Yapıları

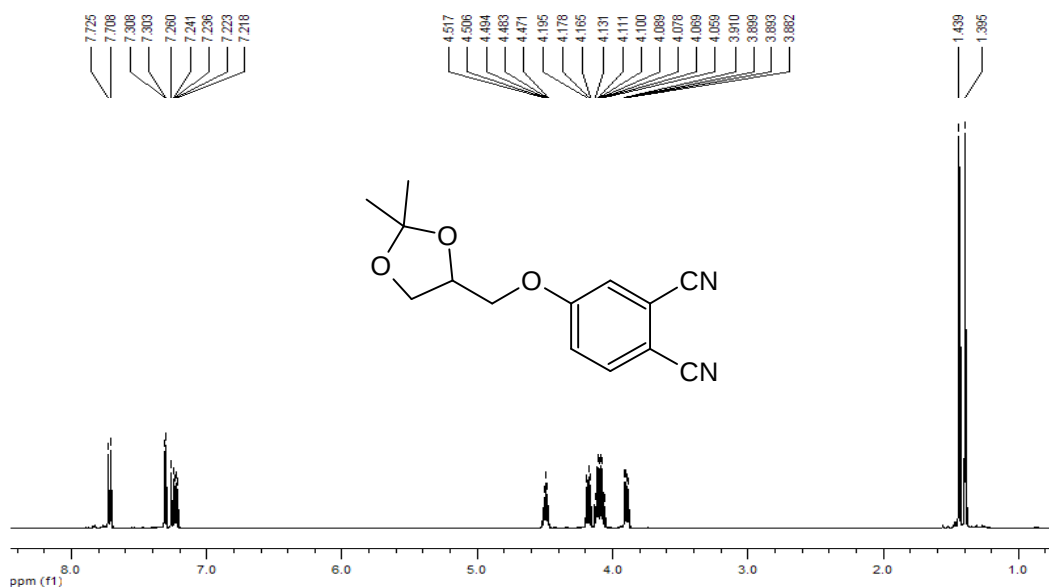
**11****13****14****15****20****21****23****25**

**31****32****34****35****36****37****38****39**

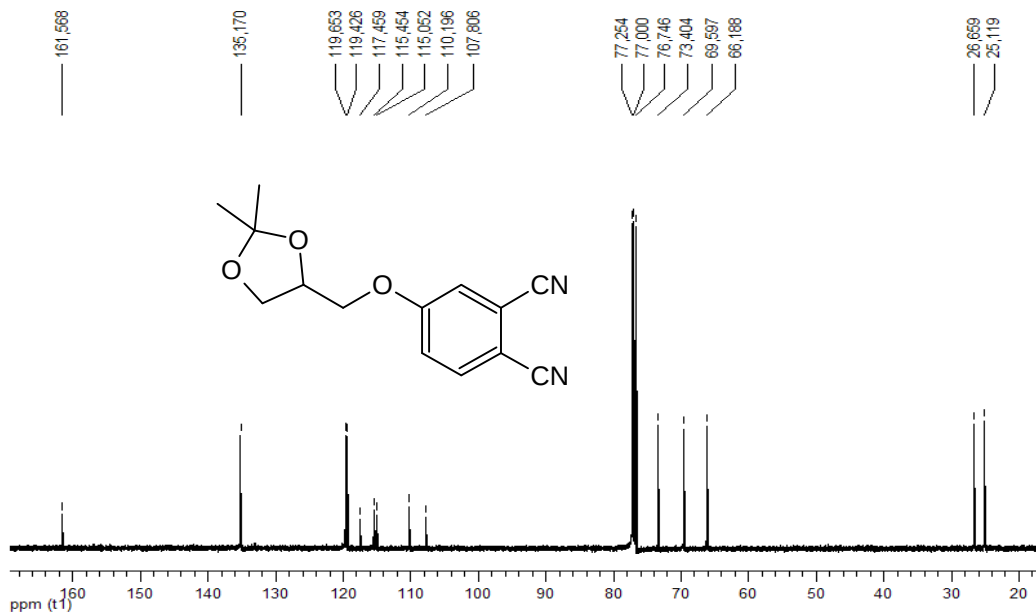
**40****41****42****43****44**

8.3. Spektrumlar

8.3.1. 10 Bileşiğine Ait Spektrumlar

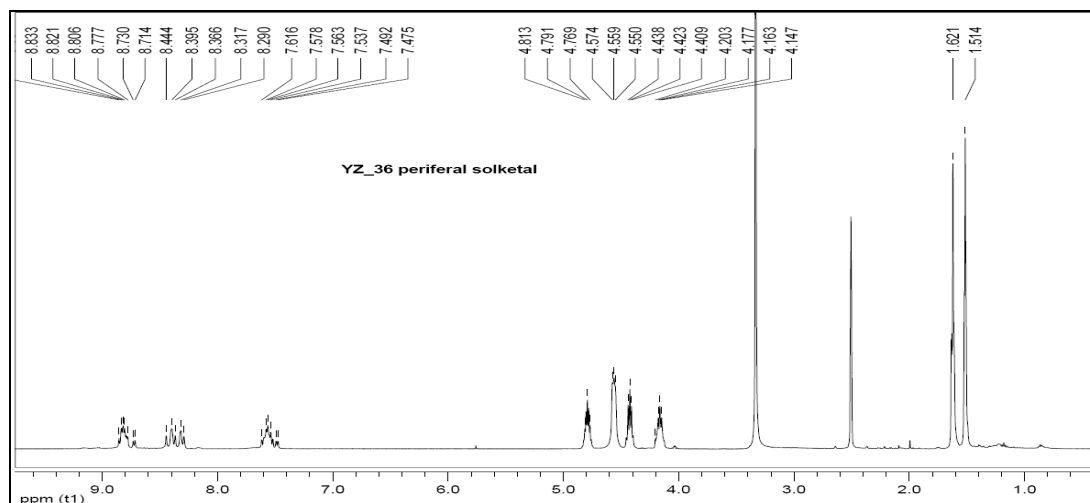


Spektrum 8.1. 10 Bileşiğine Ait ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃)

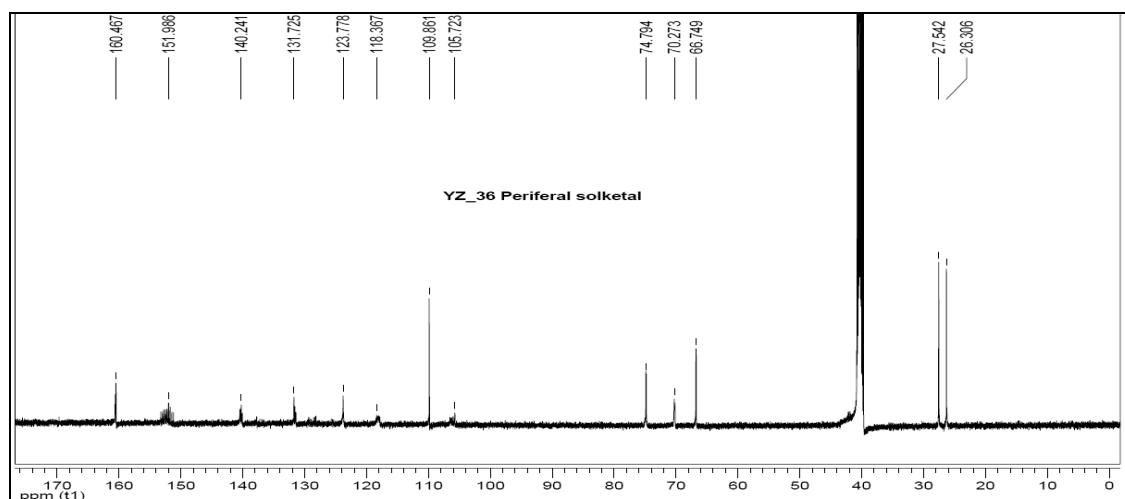


Spektrum 8.2. 10 Bileşiğine Ait ¹³C NMR Spektrumu (CDCl₃)

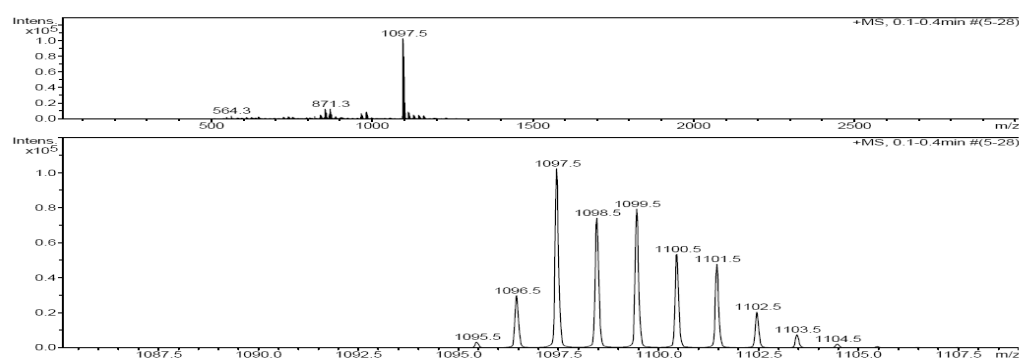
8.3.2. 11 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.3 (11) Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

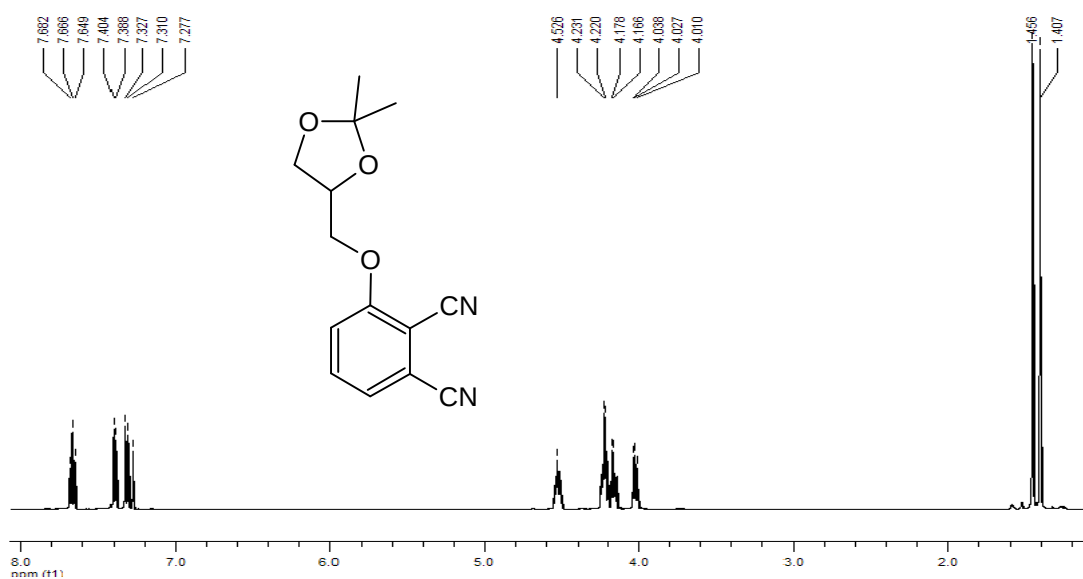


Spektrum 8.4 11 Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

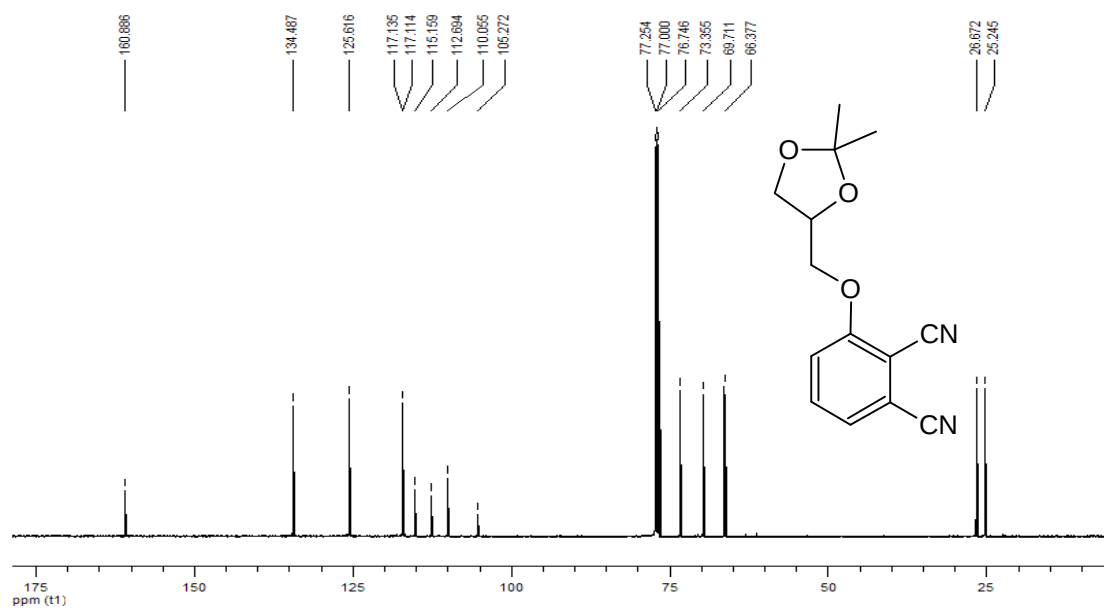


Spektrum 8.5 11 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)

8.3.3. 12 Bileşiğine Ait Spektrumlar

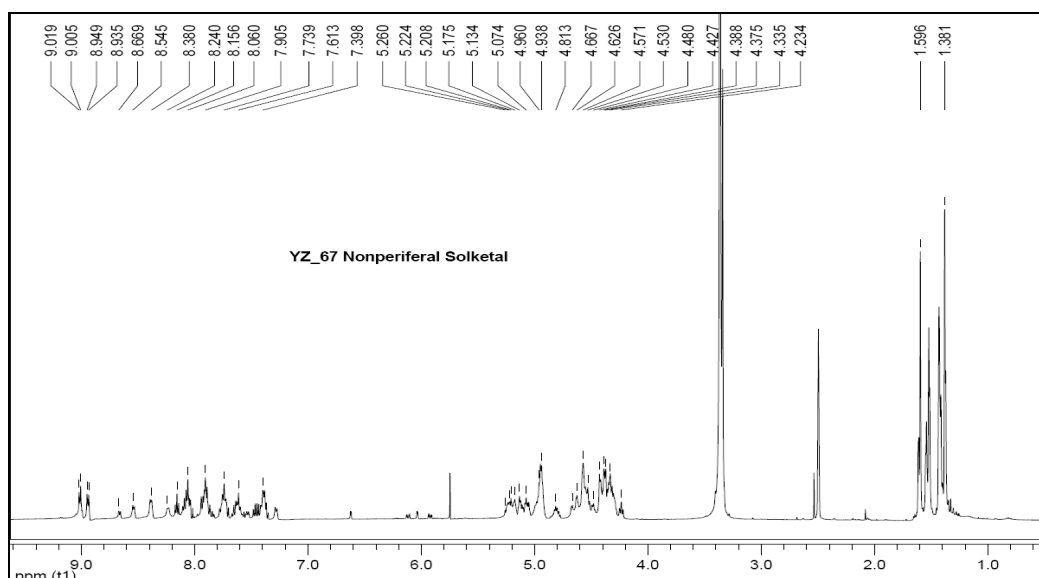


Spektrum 8.6. 12 Bileşiğine Ait ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃)

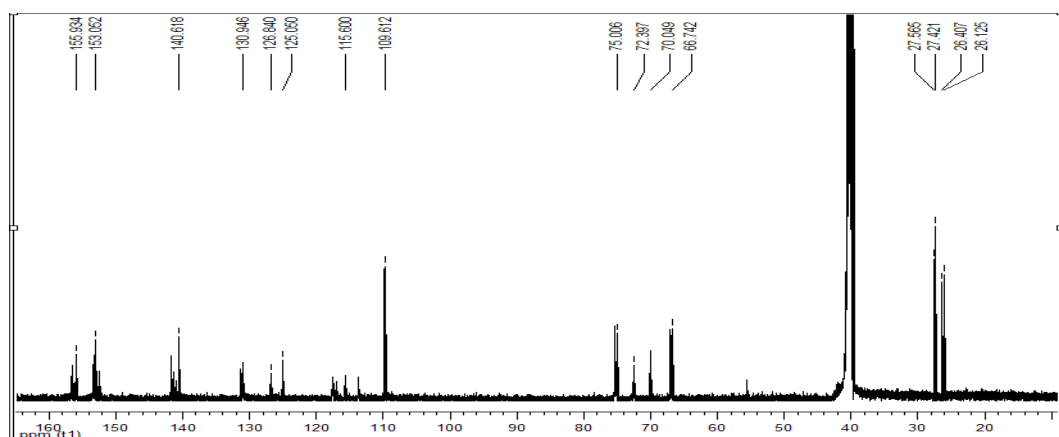


Spektrum 8.7. 12 Bileşiğine Ait ¹³C NMR Spektrumu (CDCl₃)

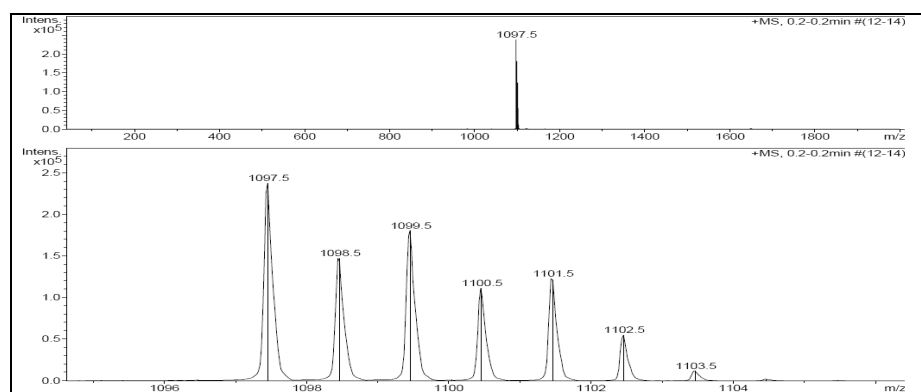
8.3.4. 13 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.8. 13 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

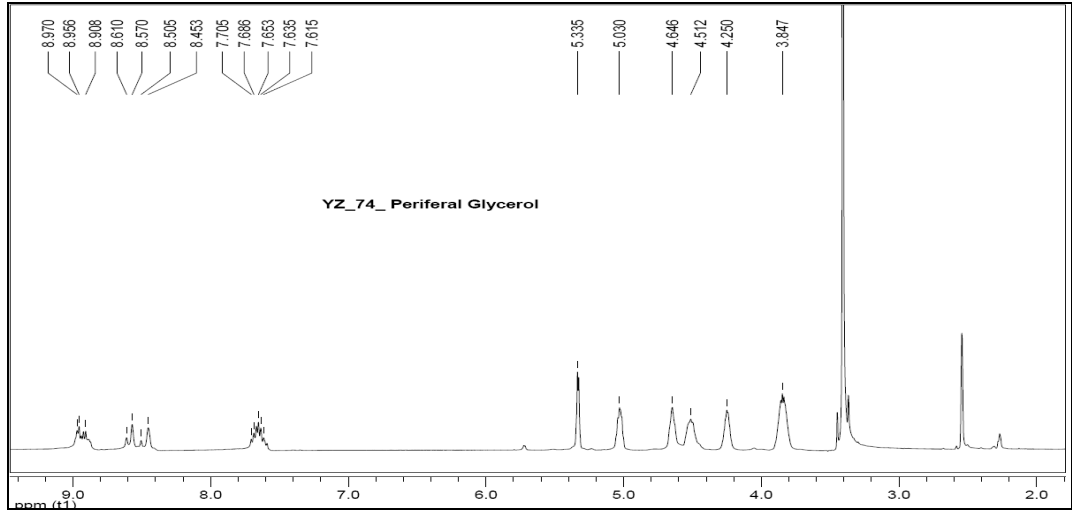


Spektrum 8.9. 13 Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

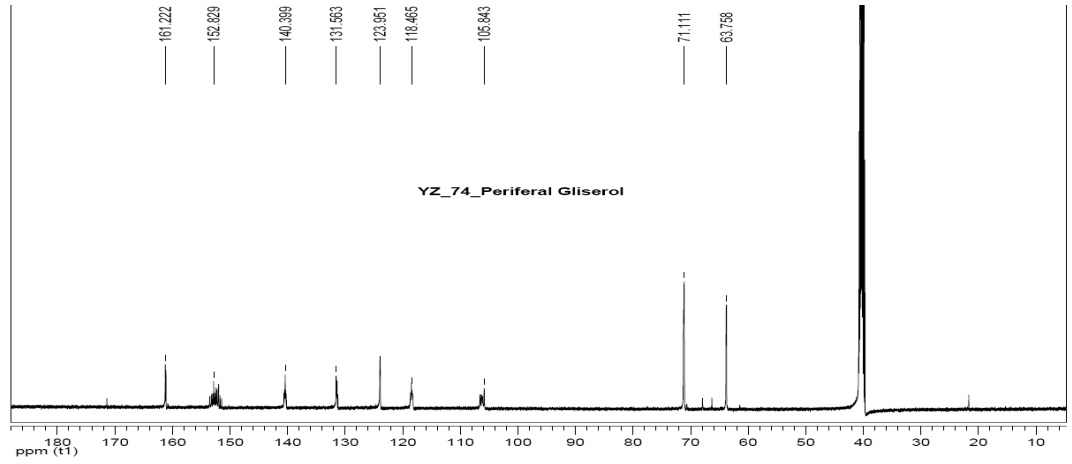


Spektrum 8.10. 13 Bileşiğine Ait Kütlev Spektrumu (ESI)

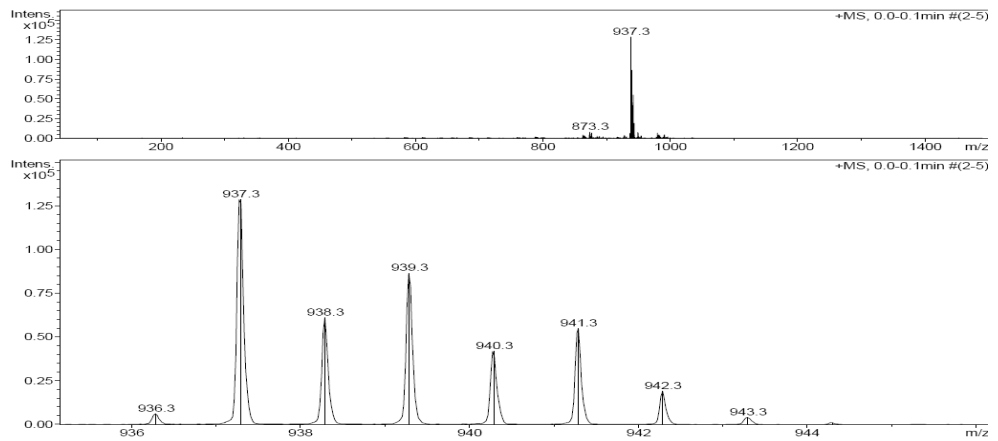
8.3.5. 14 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.11. 14 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

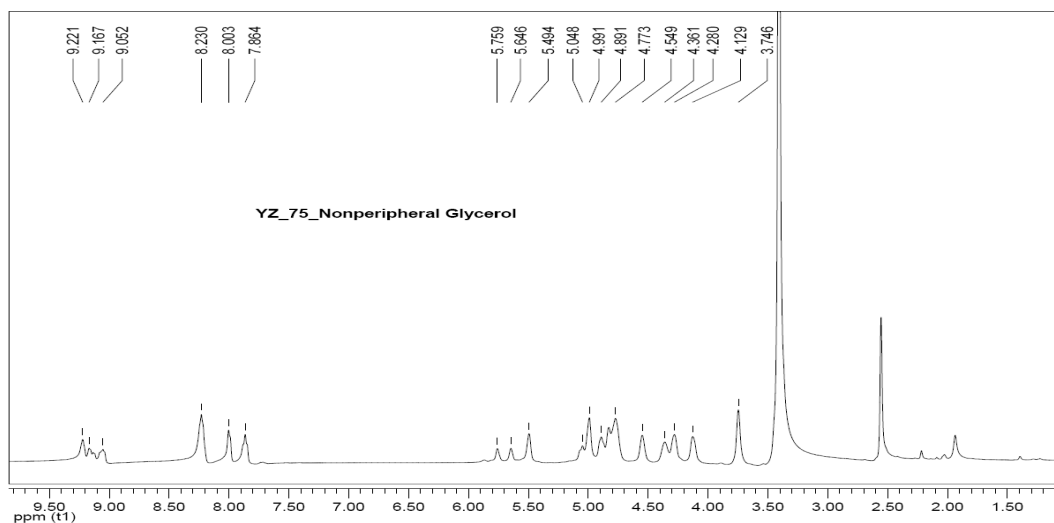


Spektrum 8.12. 14 Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

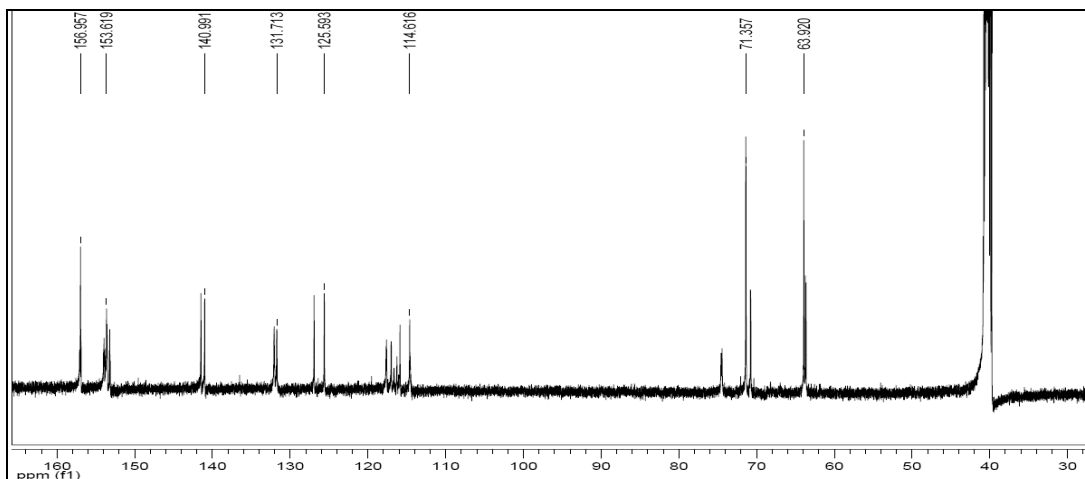


Spektrum 8.13. 14 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)

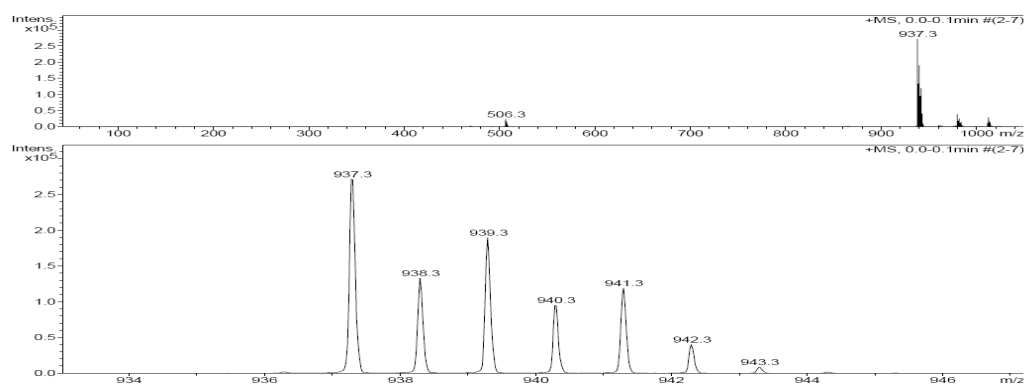
8.3.6. 15 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.14. 15 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

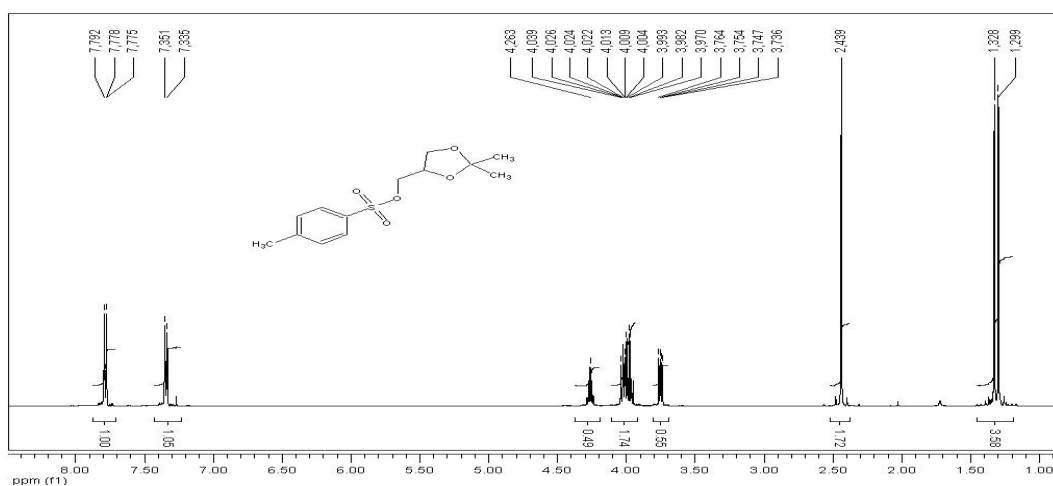


Spektrum 8.15. 15 Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

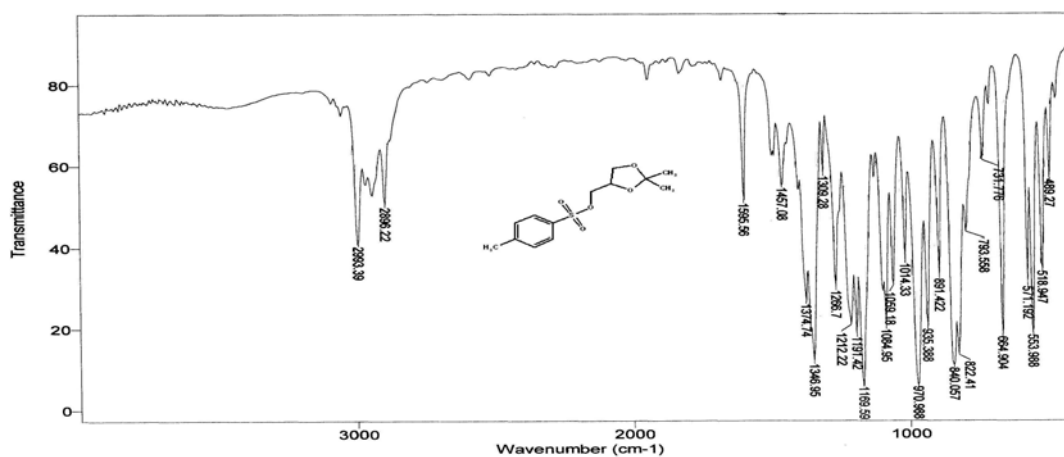


Spektrum 8.16. 15 Bileşiğine Ait Kütlev Spektrumu (ESI)

8.3.7. 18 Bileşiğine Ait Spektrumlar

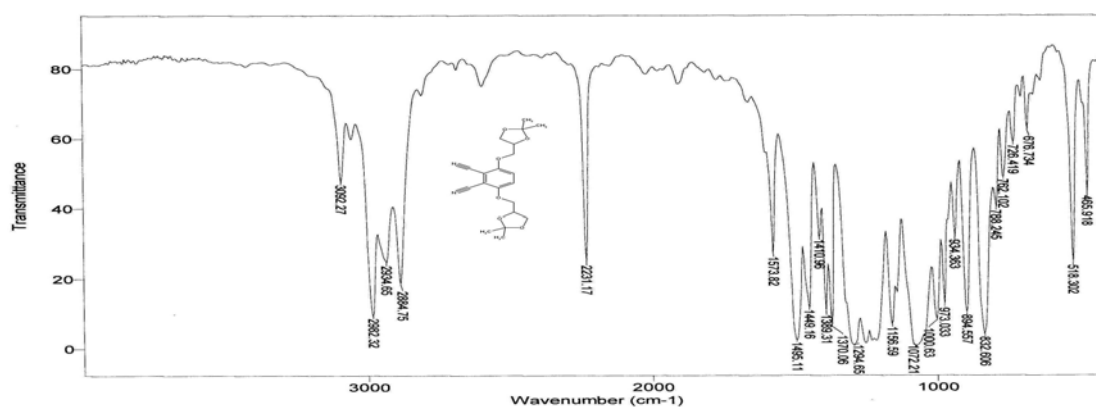


Spektrum 8.17. 18 Bileşiğine Ait ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃)

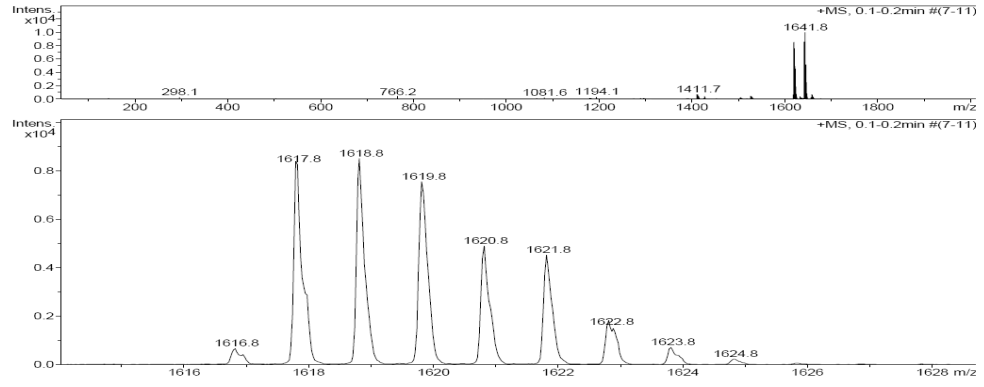


Spektrum 8.18. 18 Bileşiğine Ait FT-IR Spektrumu

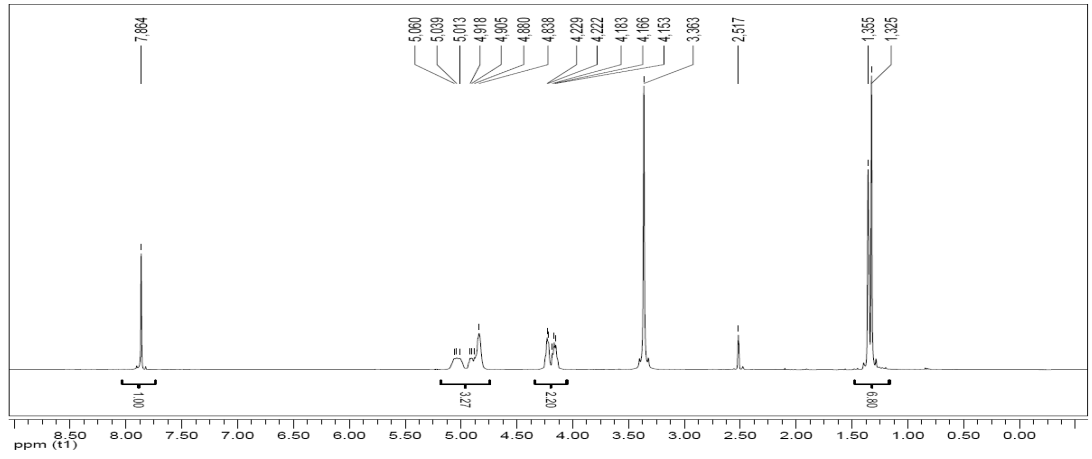
8.3.8. 19 Bileşiğine Ait Spektrumlar



8.3.9. 20 Bileşğine Ait Spektrumlar

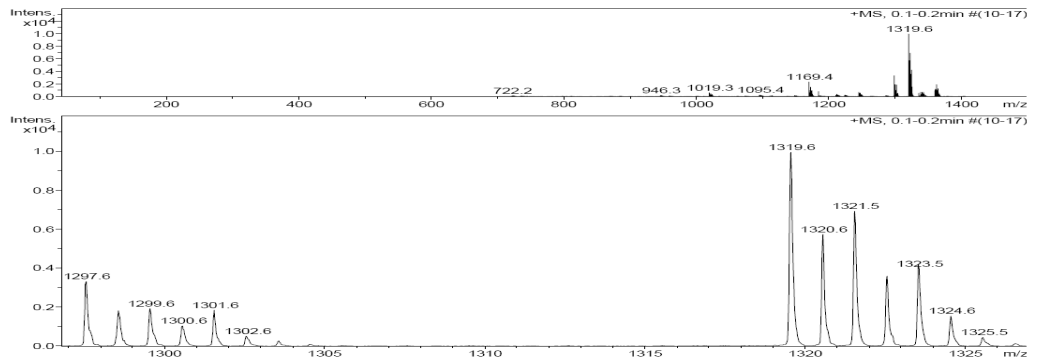


Spektrum 8.23. 20 Bileşğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)



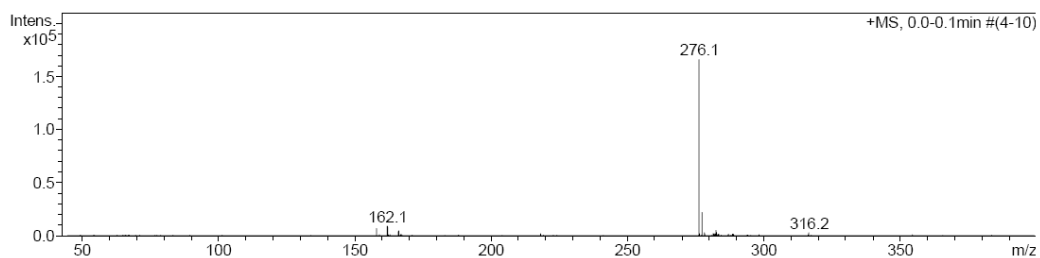
Spektrum 8.24. 20 Bileşğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

8.3.10. 21 Bileşğine Ait Spektrumlar

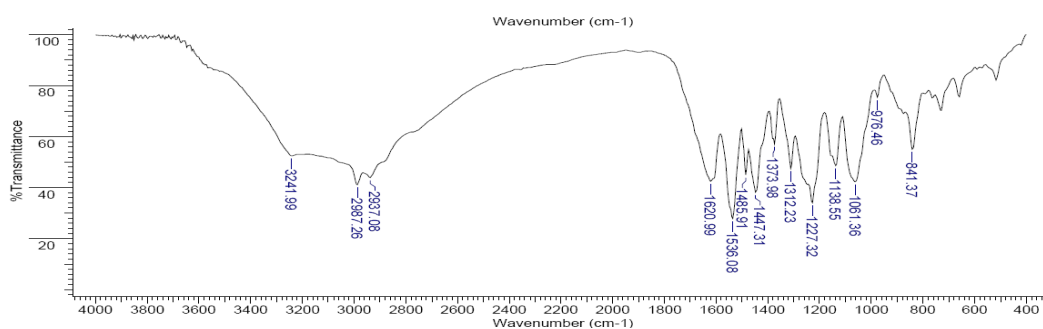


Spektrum 8.25. (21) Bileşğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)

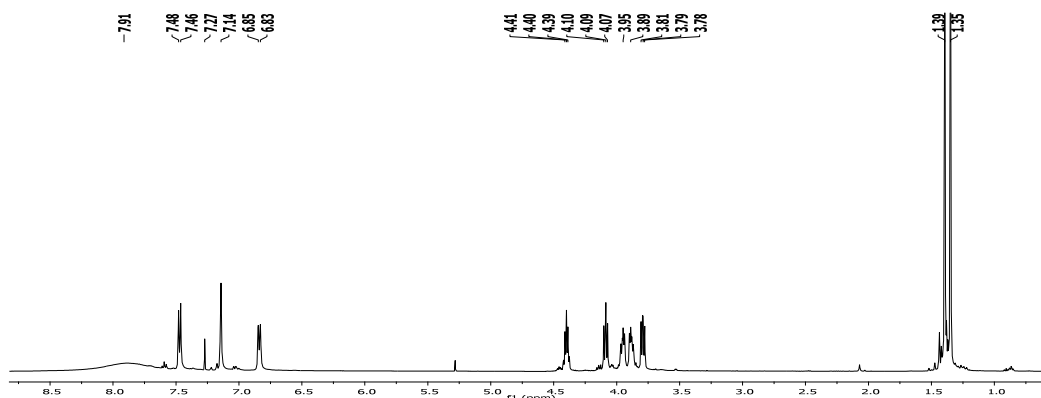
8.3.11. 22 Bileşiğine Ait Spektrumlar



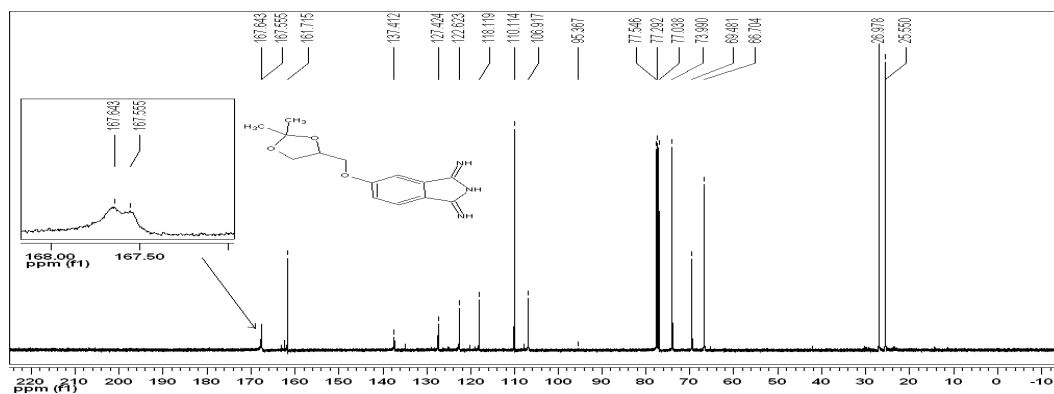
Spektrum 8.26. 22 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)



Spektrum 8.27. 22 Bileşiğine Ait FT-IR Spektrumu

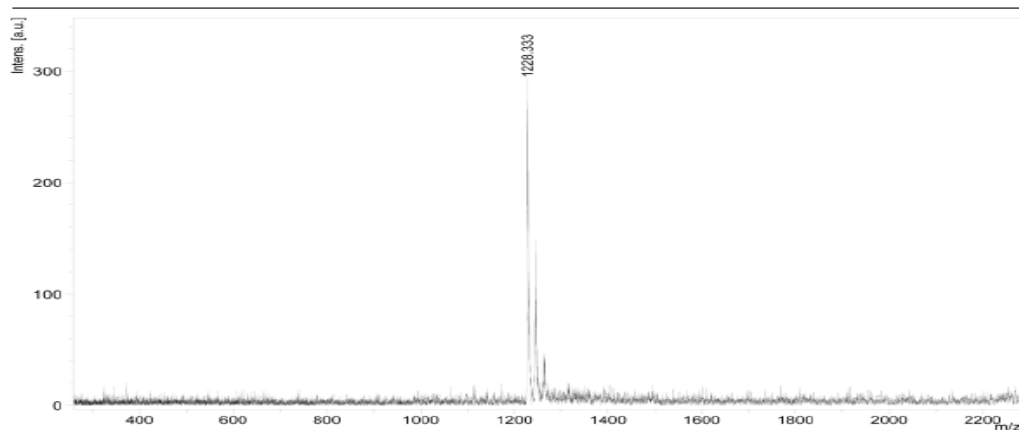


Spektrum 8.28. 22 Bileşiğine Ait ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃)



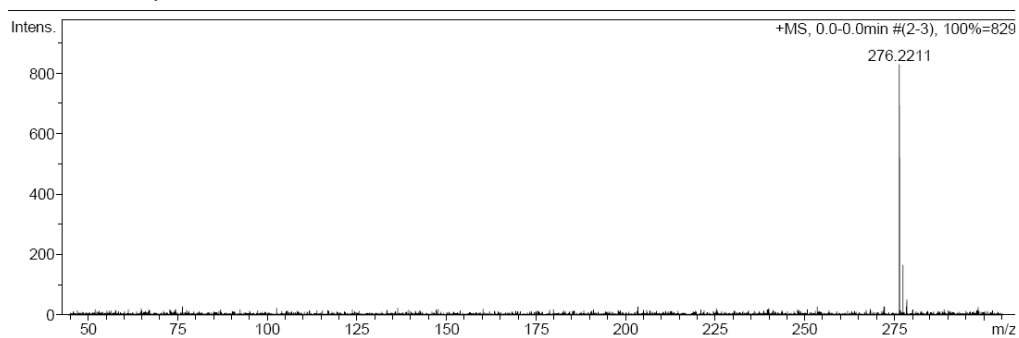
Spektrum 8.29. 22 Bileşiğine Ait ¹³C NMR Spektrumu (CDCl₃)

8.3.12. 23 Bileşğine Ait Spektrumlar

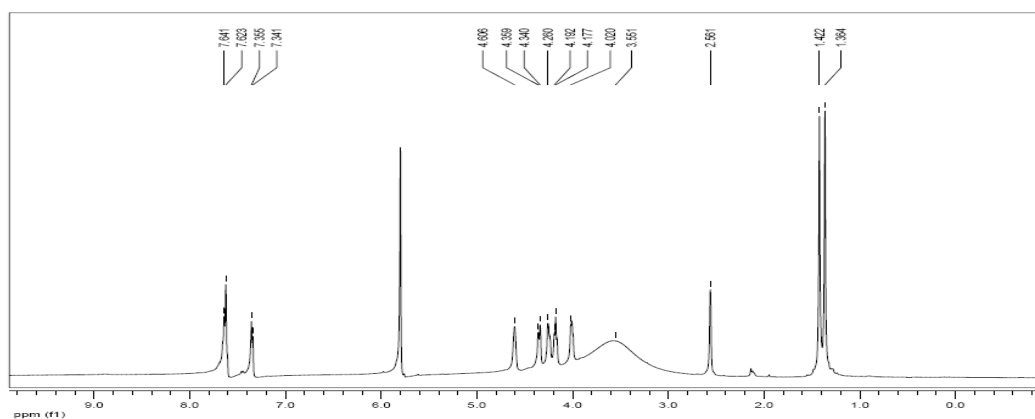


Spektrum 8.30. 23 Bileşğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

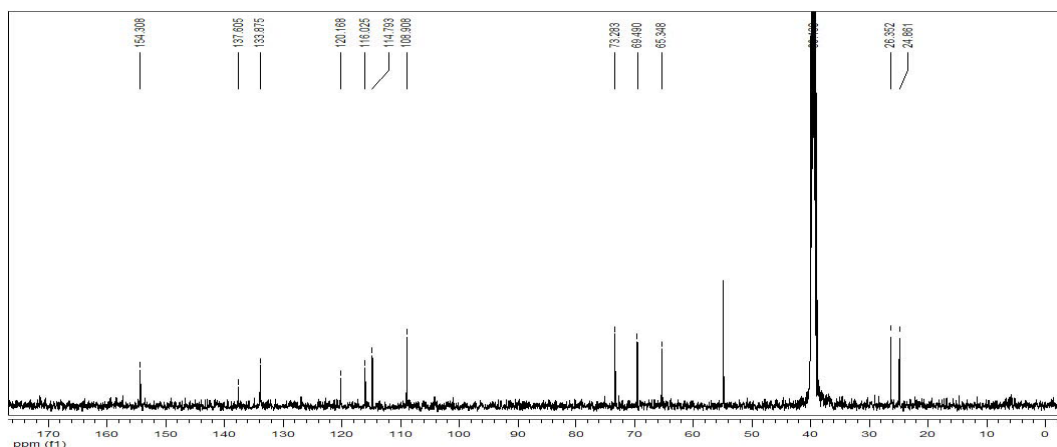
8.3.13. 24 Bileşğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.31. 24 Bileşğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)

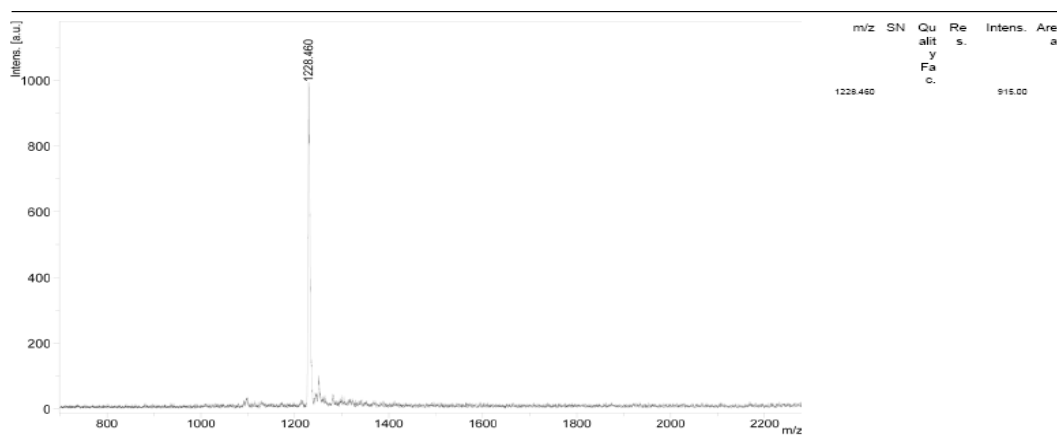


Spektrum 8.32. (24) Bileşğine Ait ¹H NMR Spektrumu (DMSO-d₆)

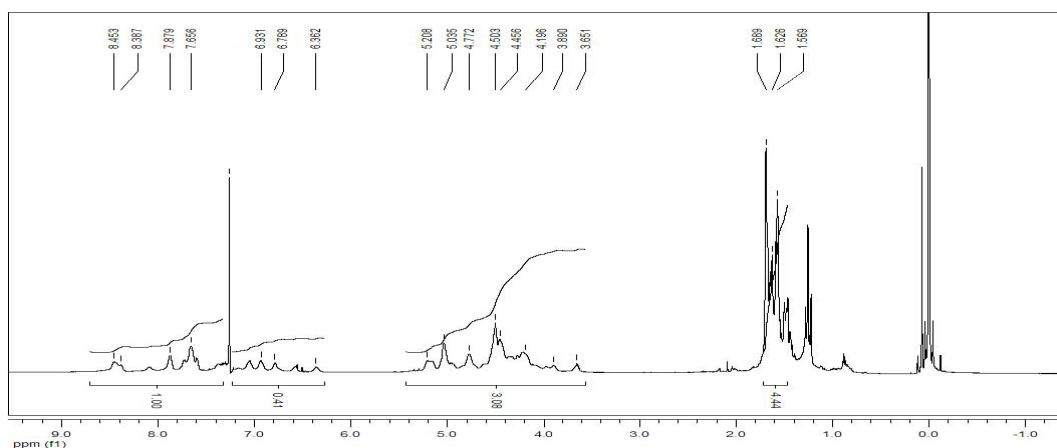


Spektrum 8.33. 24 Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Spektrumu ($\text{DMSO-}d_6$)

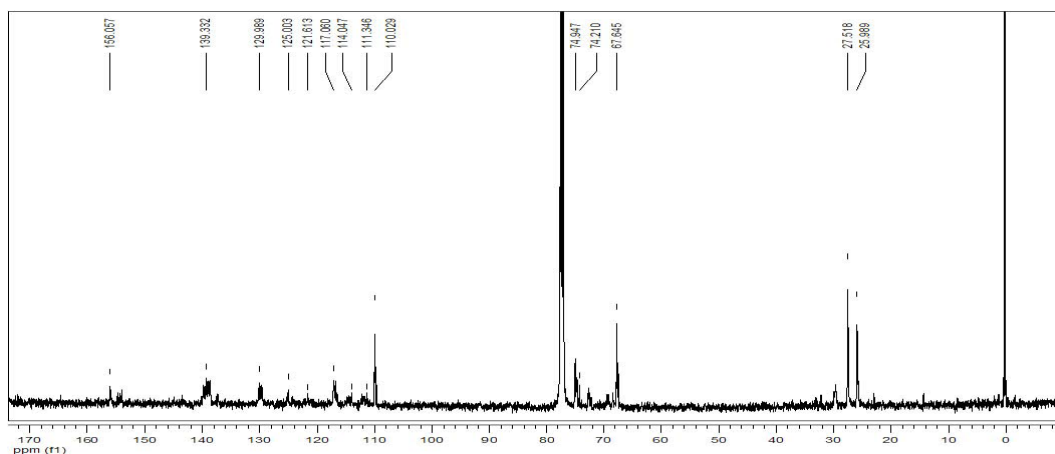
8.3.14. 25 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.34. 25 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

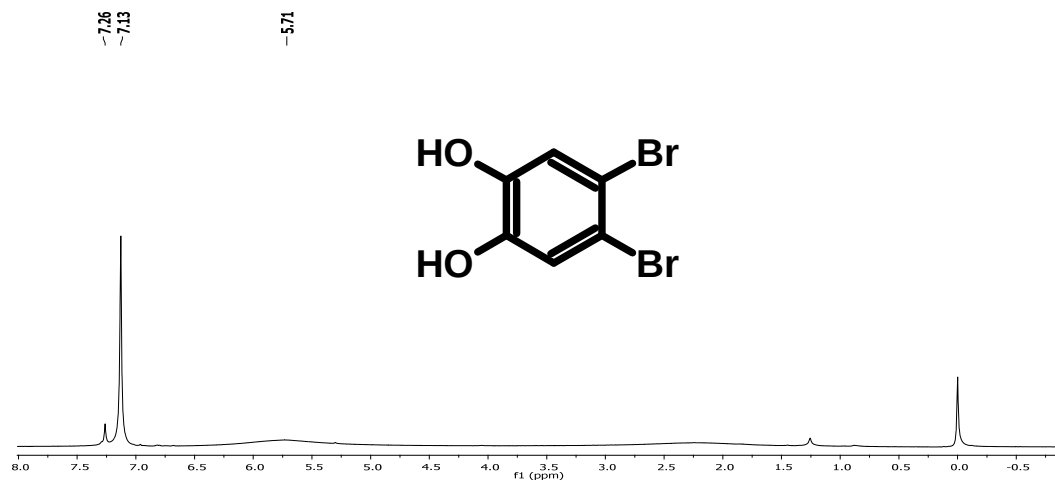


Spektrum 8.35. 25 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)



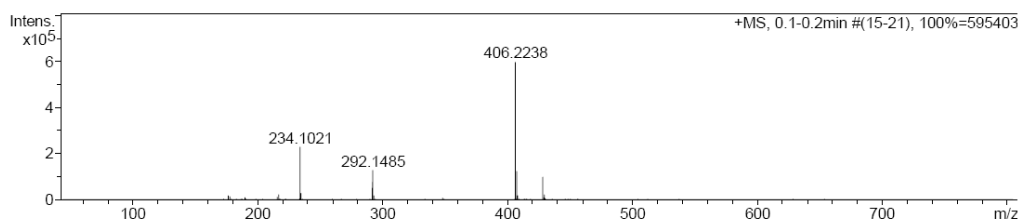
Spektrum 8.36. 25 Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Spektrumu (CDCl_3)

8.3.15. 27 Bileşiğine Ait Spektrumlar

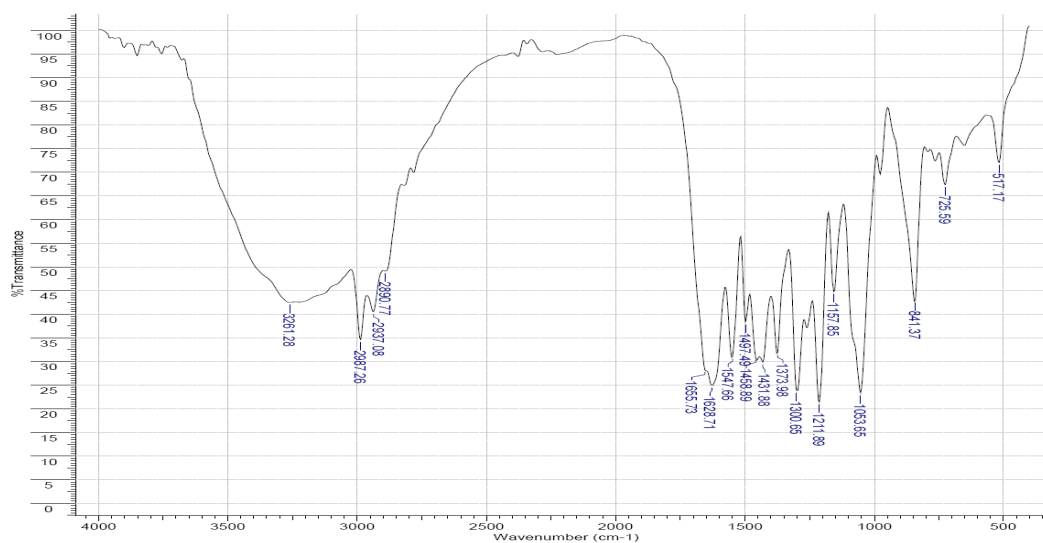


Spektrum 8.37. 27 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)

8.3.16. 30 Bileşiğine Ait Spektrumlar

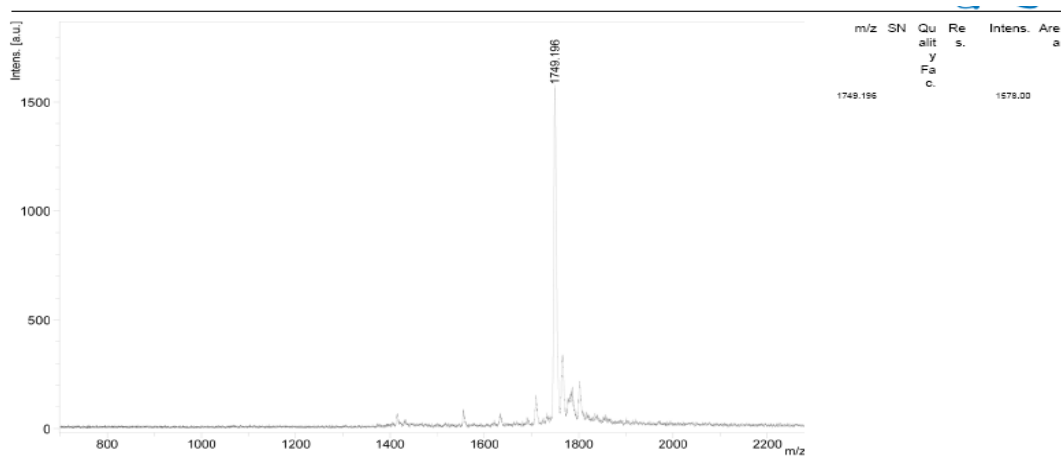


Spektrum 8.38. 30 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)

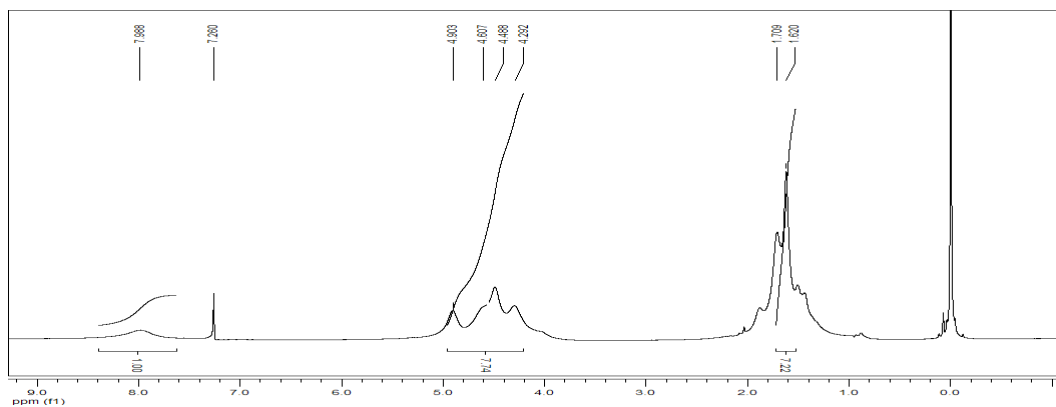


Spektrum 8.39. 30 Bileşiğine Ait FT-IR Spektrumu

8.3.17. 31 Bileşiğine Ait Spektrumlar

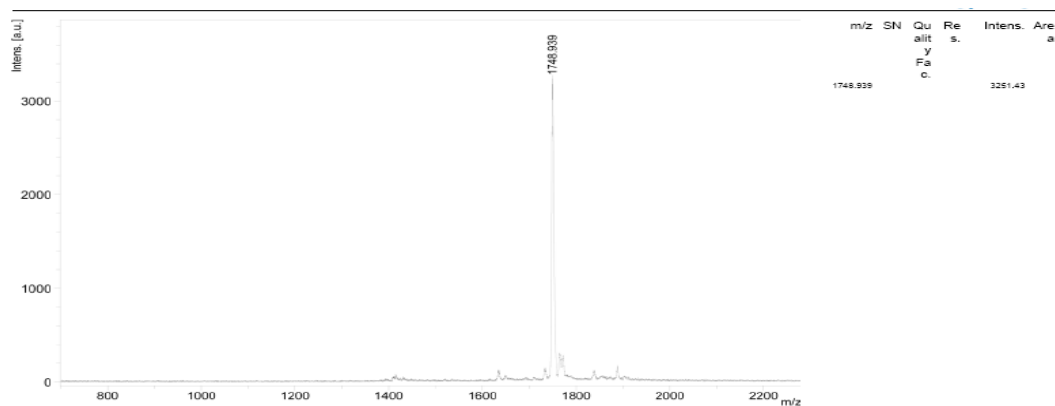


Spektrum 8.40. 31 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

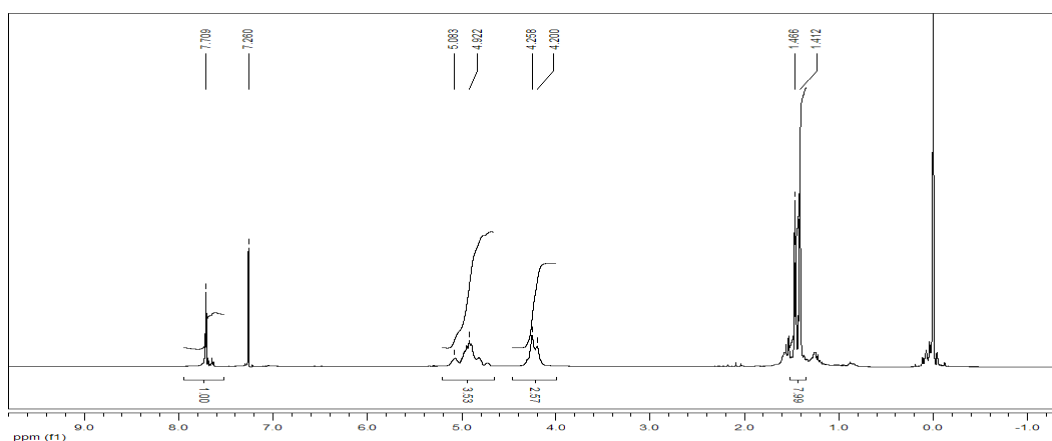


Spektrum 8.41. 31 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)

8.3.18. 32 Bileşiğine Ait Spektrumlar

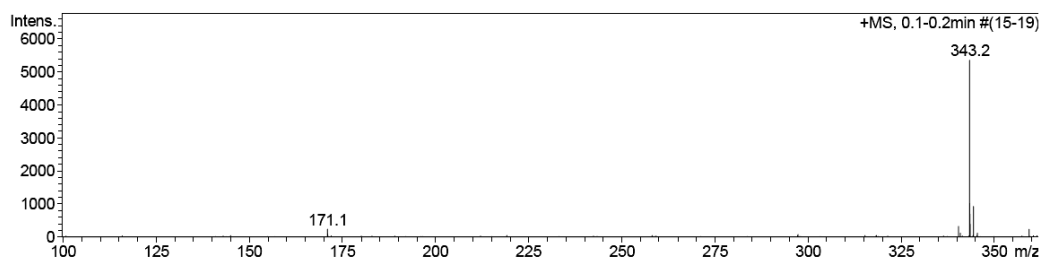


Spektrum 8.42. 32 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

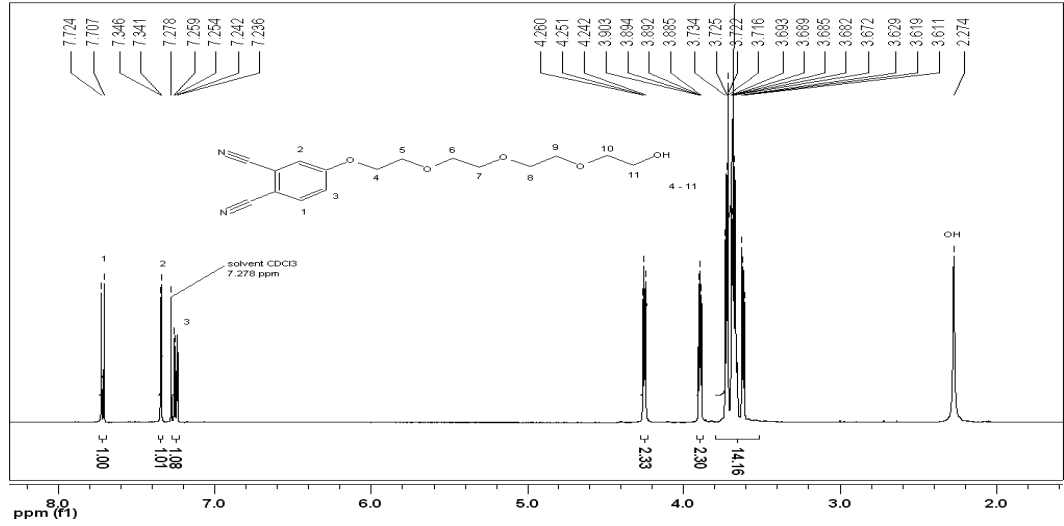


Spektrum 8.43. 32 Bileşiğine Ait ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃)

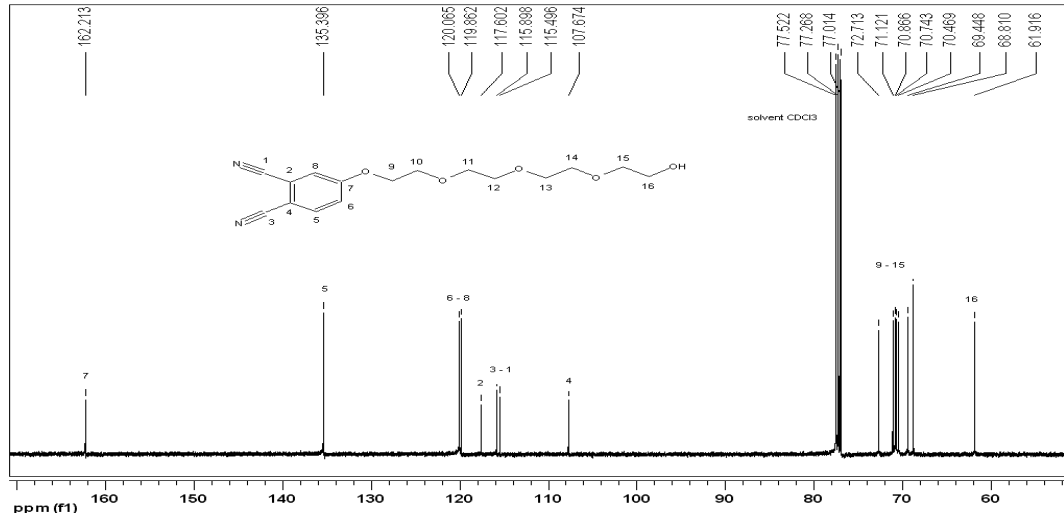
8.3.19. 33 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.44. 33 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)

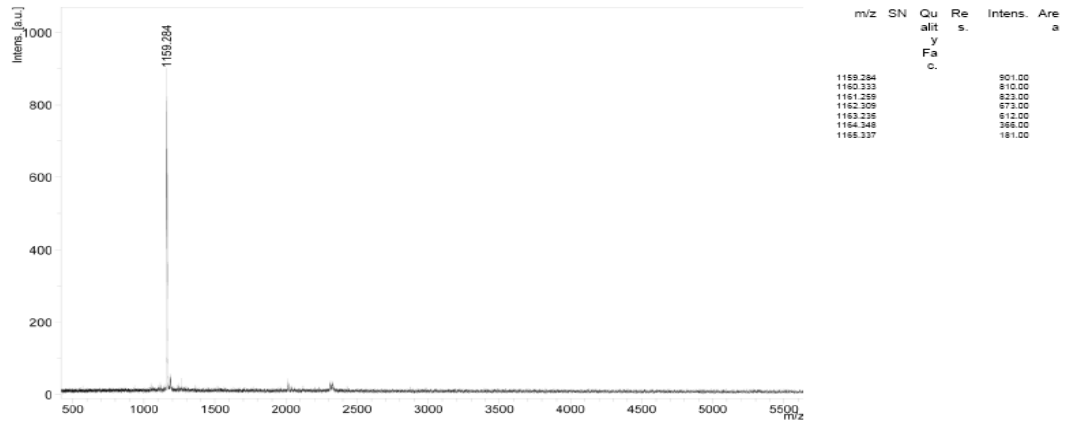


Spektrum 8.45. 33 Bileşiğine Ait ¹H NMR Spektrumu (CDCl₃)

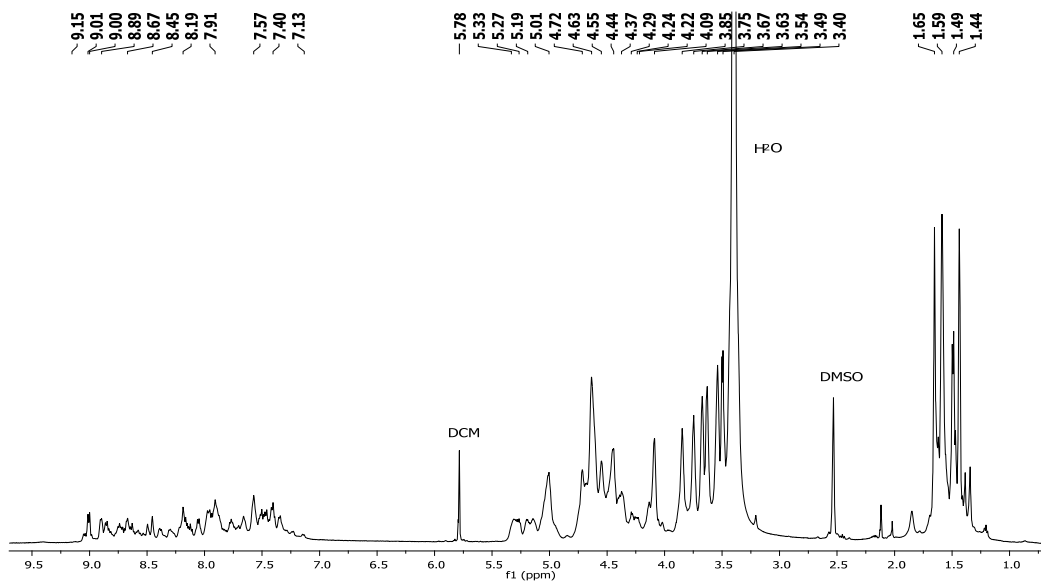


Spektrum 8.46. 33 Bileşiğine Ait ¹³C NMR Spektrumu (CDCl₃)

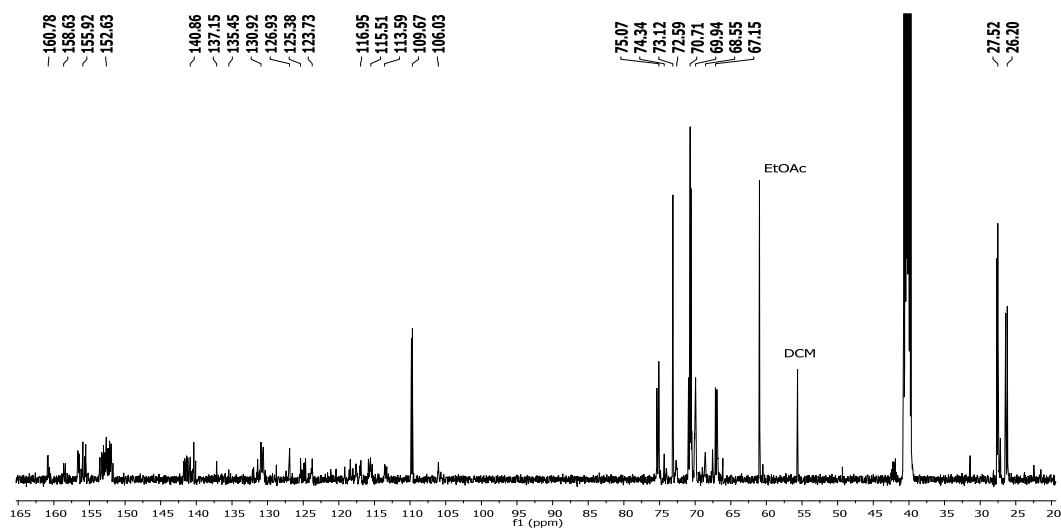
8.3.20. 34 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.47. 34 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

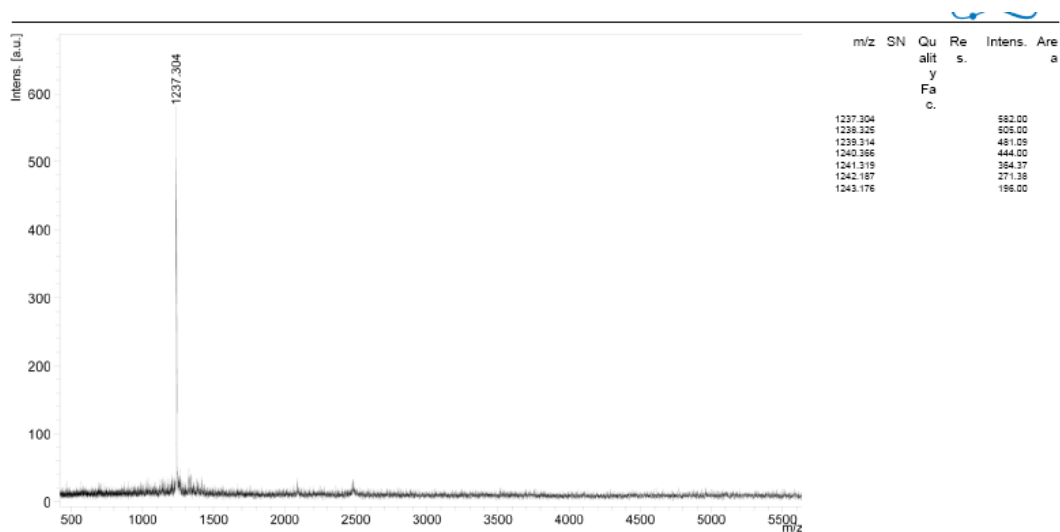


Spektrum 8.48. 34 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

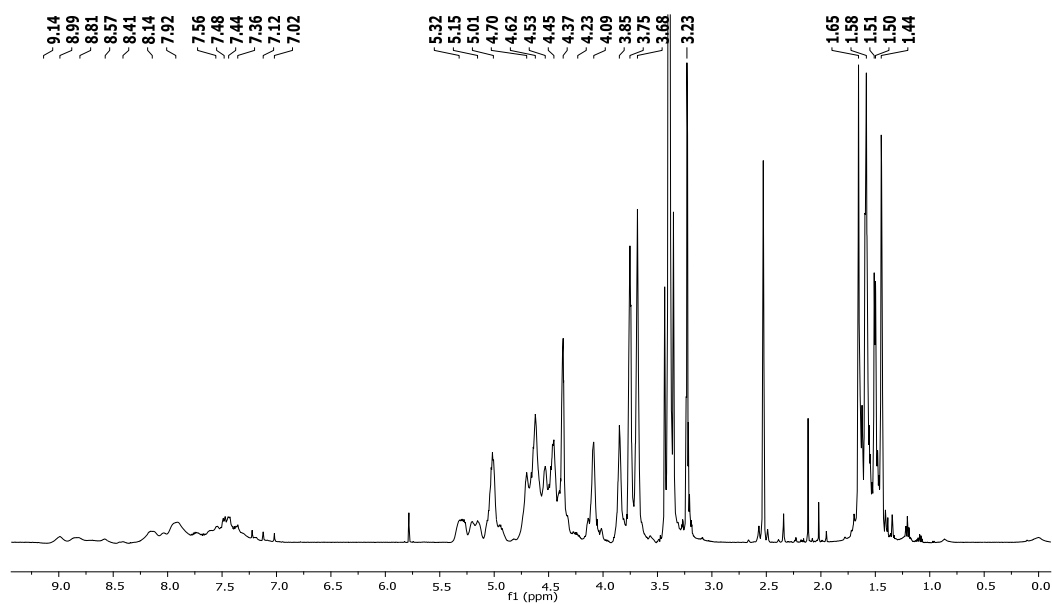


Spektrum 8.49. 34 Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

8.3.21. 35 Bileşğine Ait Spektrumlar

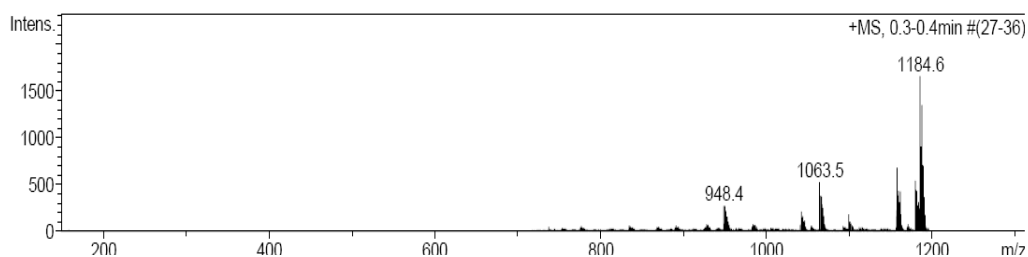


Spektrum 8.50. 35 Bileşğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

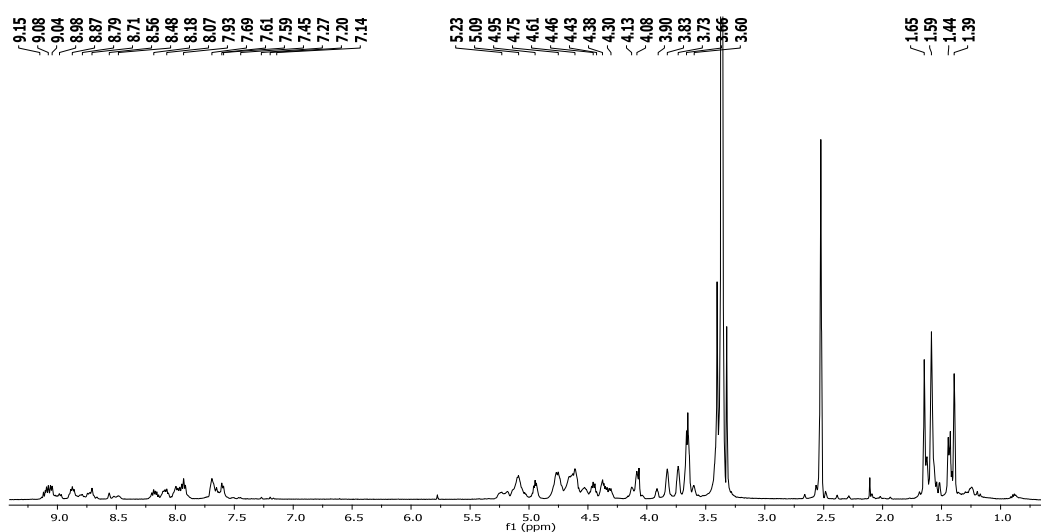


Spektrum 8.51. 35 Bileşğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

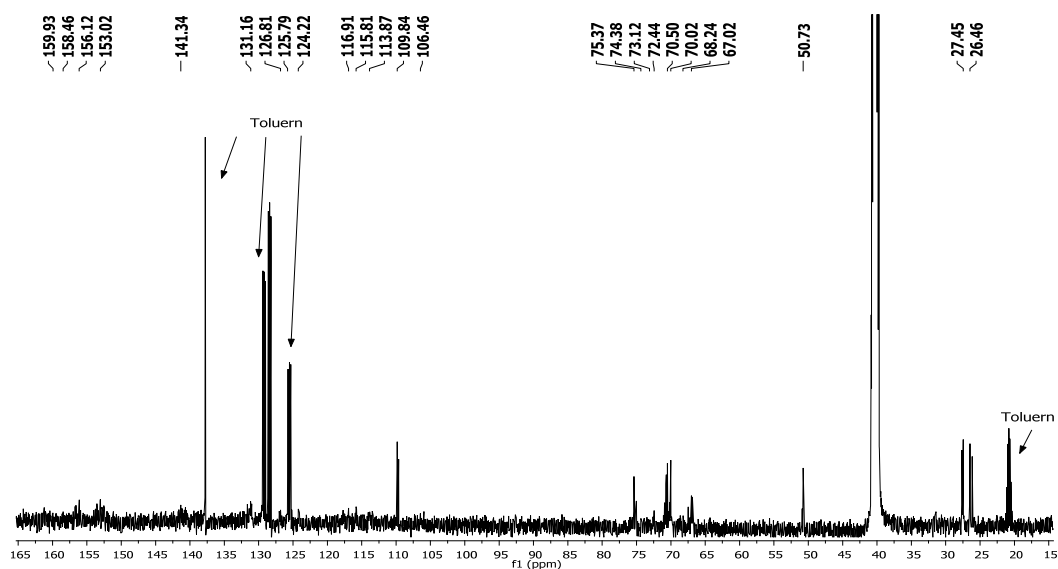
8.3.22. 36 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.52. 36 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)

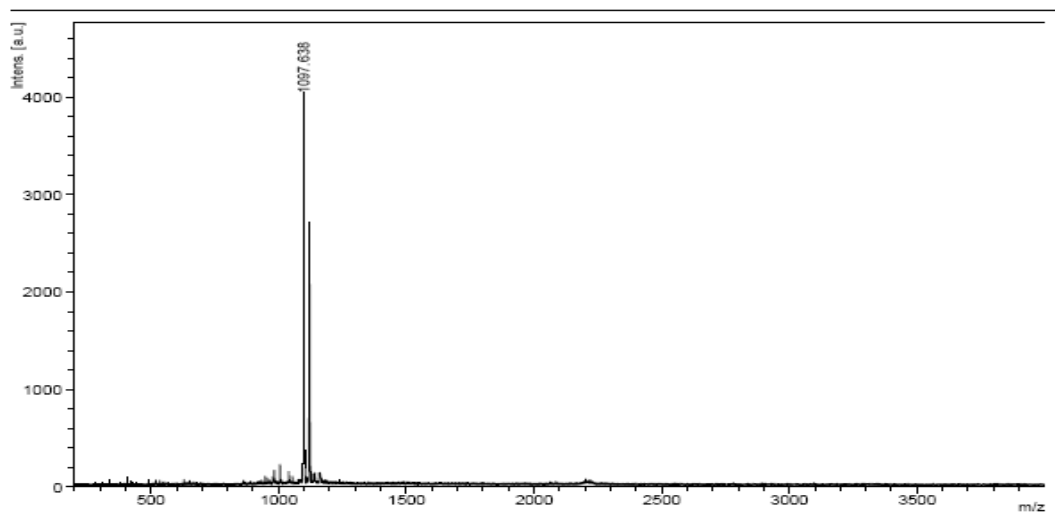


Spektrum 8.53. 36 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu ($\text{DMSO}-d_6$)



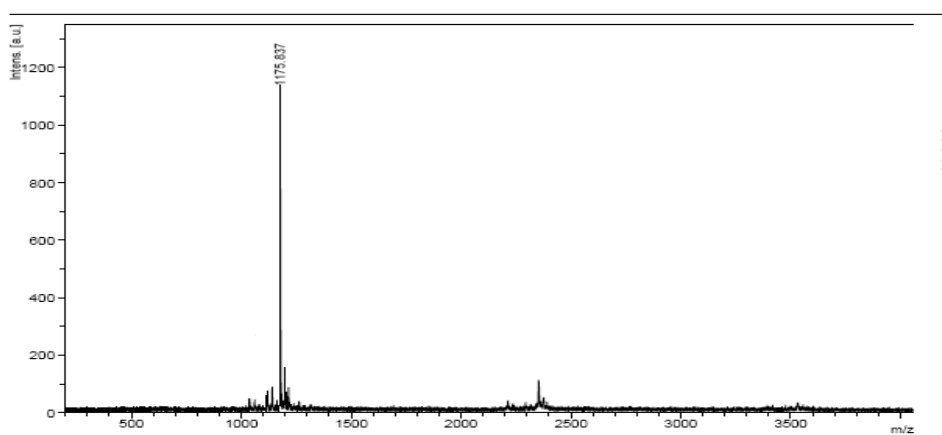
Spektrum 8.54. 36 Bileşiğine Ait ^{13}C NMR Spektrumu ($\text{DMSO}-d_6$)

8.3.23. 37 Bileşiğine Ait Spektrumlar

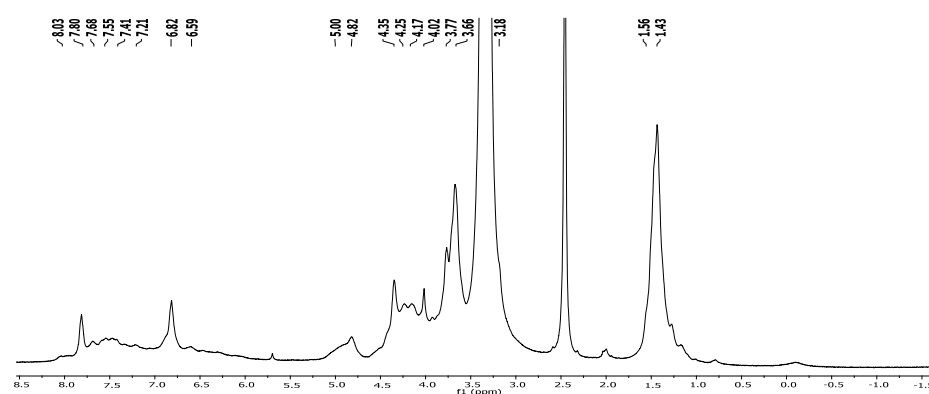


Spektrum 8.55. 37 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

8.3.24. 38 Bileşiğine Ait Spektrumlar

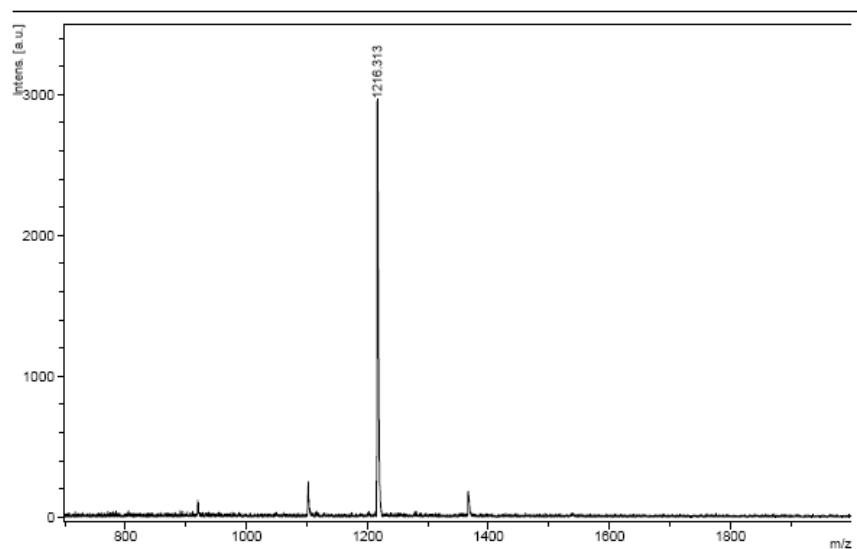


Spektrum 8.56. 38 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

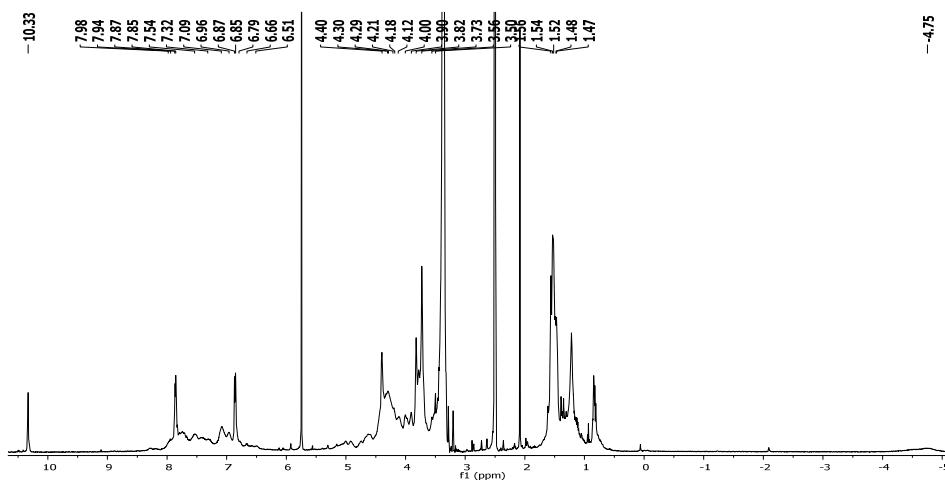


Spektrum 8.57. 38 Bileşiğine Ait ¹H NMR Spektrumu (DMSO-d₆)

8.3.25. 39 Bileşiğine Ait Spektrumlar

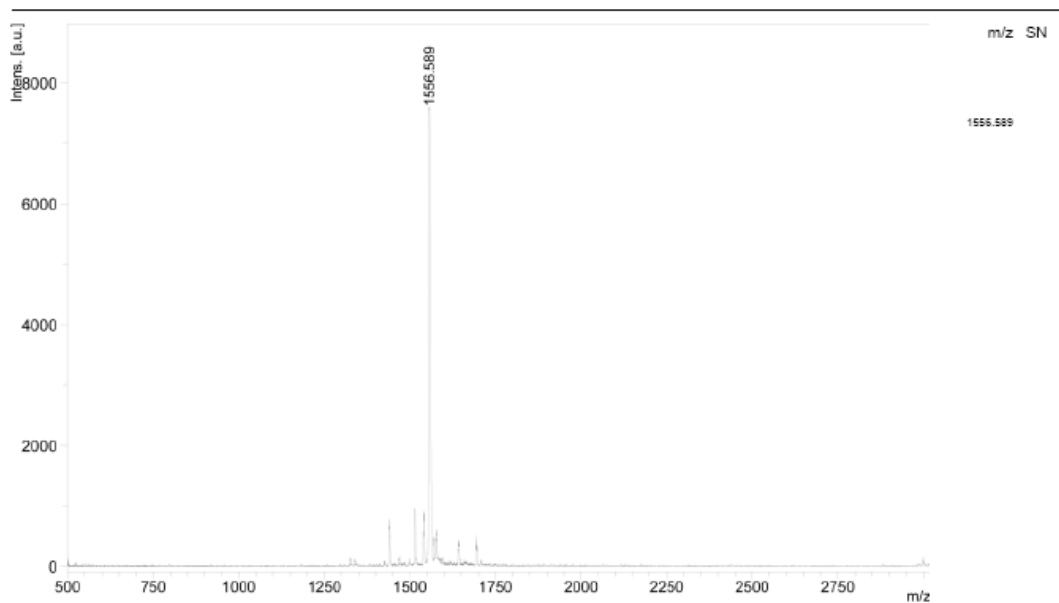


Spektrum 8.58. 39 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

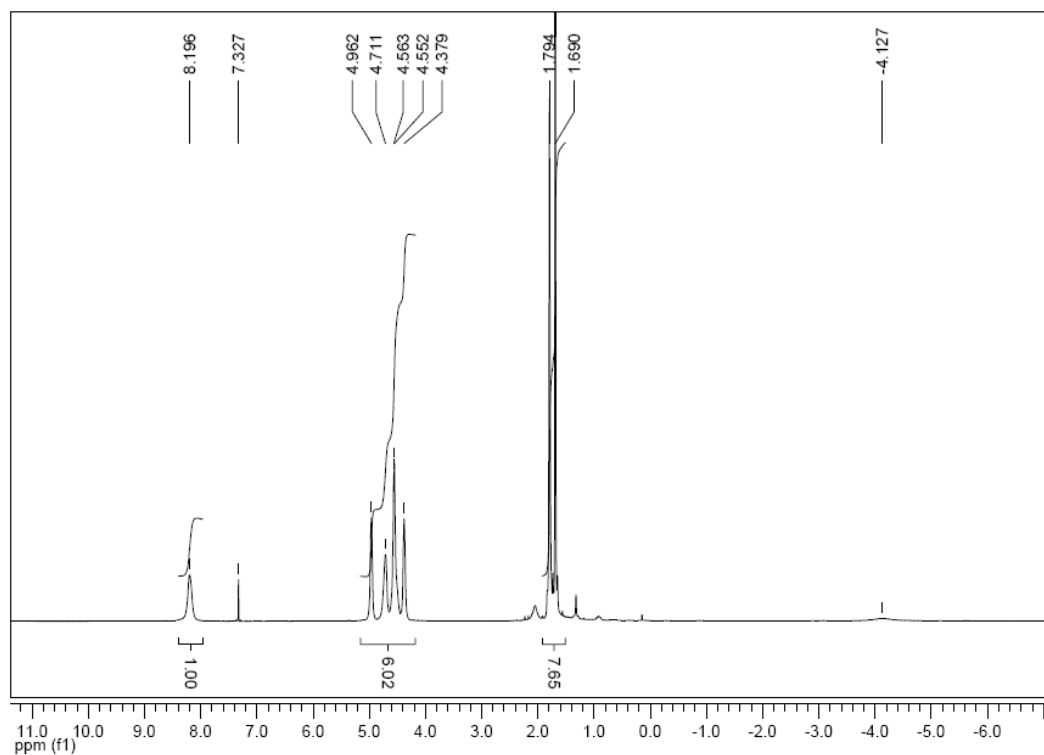


Spektrum 8.59. 39 Bileşiğine Ait ¹H NMR Spektrumu (DMSO-d₆)

8.3.26. 40 Bileşiğine Ait Spektrumlar

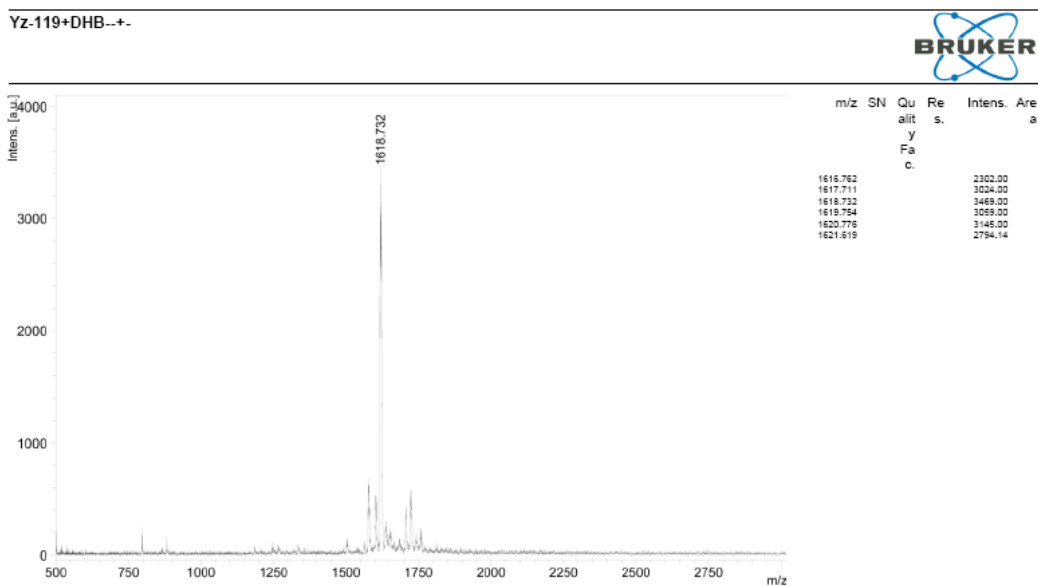


Spektrum 8.60. 40 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

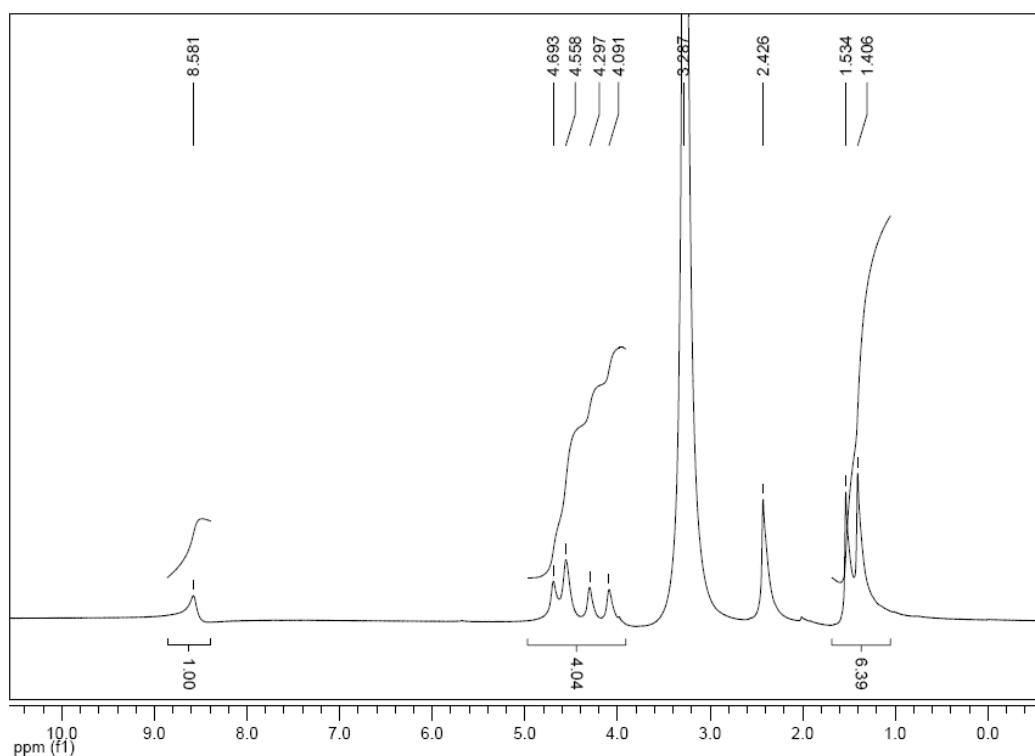


Spektrum 8.61. 40 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)

8.3.27. 41 Bileşiğine Ait Spektrumlar

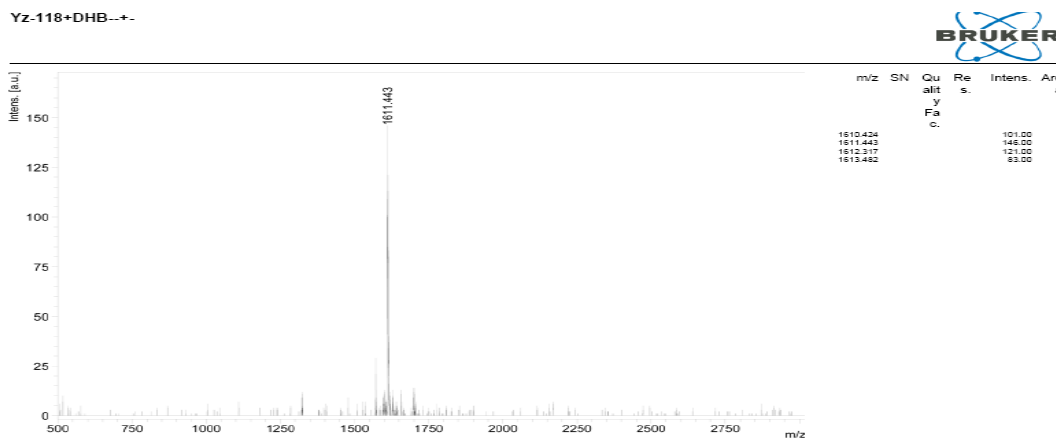


Spektrum 8.62. 41 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

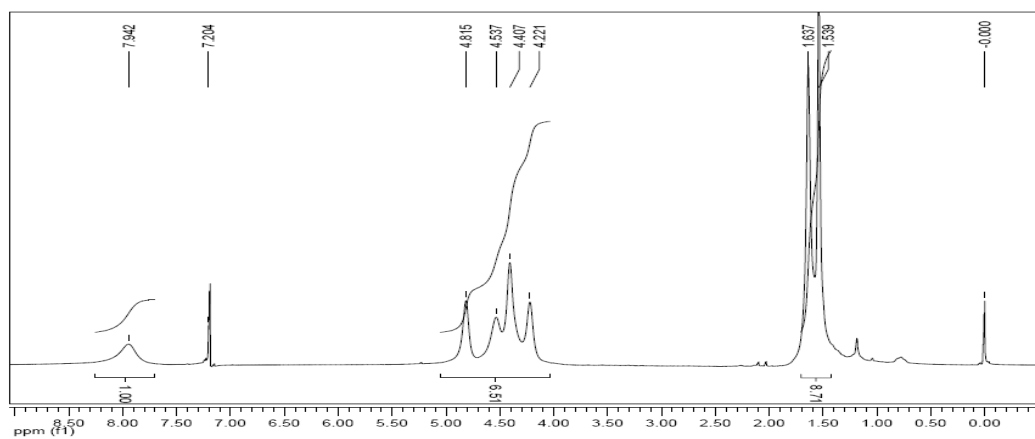


Spektrum 8.63. 41 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu ($\text{DMSO-}d_6$)

8.3.28. 42 Bileşiğine Ait Spektrumlar

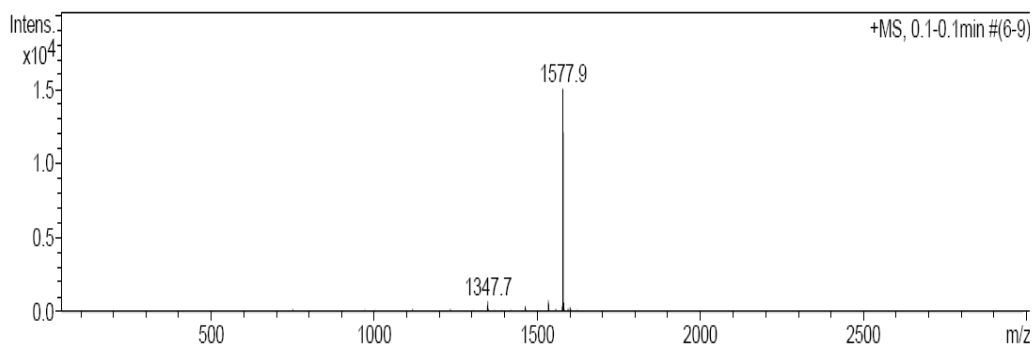


Spektrum 8.64. 42 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (MALDI, DHB)

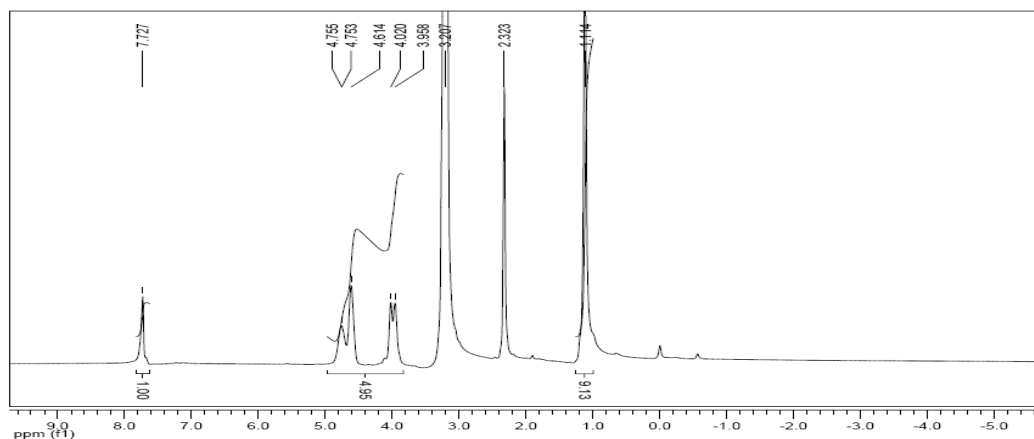


Spektrum 8.65. 42 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3)

8.3.29. 43 Bileşiğine Ait Spektrumlar

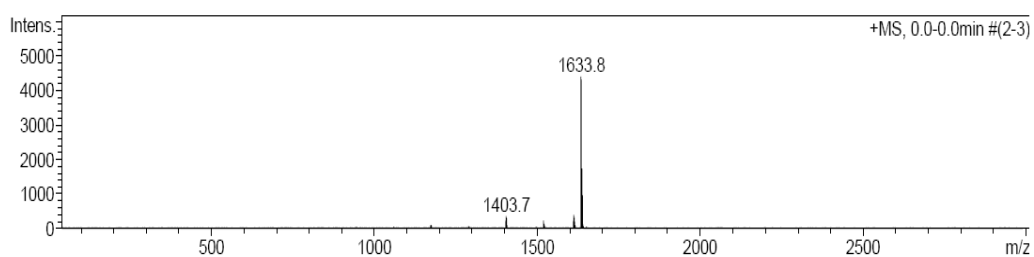


Spektrum 8.66. 43 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)

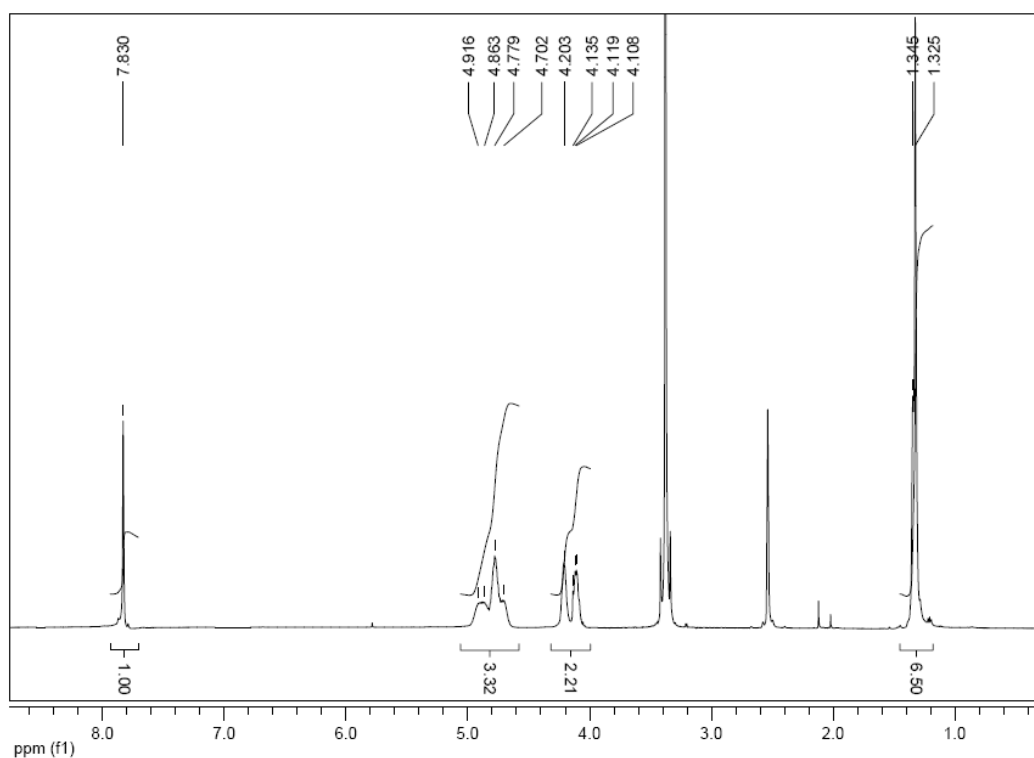


Spektrum 8.67. 43 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

8.3.30. 44 Bileşiğine Ait Spektrumlar



Spektrum 8.68. 44 Bileşiğine Ait Kütle Spektrumu (ESI)



Spektrum 8.69. 44 Bileşiğine Ait ^1H NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

KAYNAKLAR

1. Zheng H., *Technol. Cancer Res. Treat.*, **2005**, 4, 283-293.
2. Partice T., *Comprehensive Series in Photochemistry and Photobiology*, Vol.2, The Royal Society Chemistry, Cambridge, UK, **2003**.
3. Rousseau, J.; Langlois, R.; Ali, H.; Van Lier, J. E., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **1990**, 6, 121.
4. <http://www.photobiology.com/v1/nadezhda/default.htm> "Clinical results of updating method of a photodynamic therapy with "Photosens" :use as transport protein human albumines and fractional injection."
5. <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=19084033> "Adjuvant photodynamic therapy (PDT) with photosensitizer photosens for superficial bladder cancer. Experimental investigations to treat prostate cancer by PDT with photosens" **2007**.
6. http://spie.org/x648.html?product_id=230943 "Photodynamic therapy (PDT) of malignant tumors by photosensitizer photosens: results of 45 clinical cases " **1996**.
7. <http://www.medlit.ru/medeng/vof/vof07e0603.htm> "Photodynamic therapy for subretinal neovascular membranes. Communication 1. Results of treatment for age-related macular degeneration " **2007**
8. Miller, J. D.; Baron, E. D.; Scull, H.; Hsia, A.; Berlin, J. C.; McCormick, T.; Colussi, V.; Kenney, M. E.; Cooper, K. D.; Oleinick, N. L., *Toxicol Appl Pharmacol.* **2007**, 224, 290–299.
9. Obata, M.; Hirohara, S.; Tanaka, R.; Kinoshita, I.; Ohkubo, K.; Fukuzumi, S.; Tanihara, M.; Yano, S. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 2747–2753.
10. Sharman, W. M.; Kudrevich, S.V.; van Lier, J.E., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 5831,.
11. von Tappeiner, H., Ueber die Wirkung fluorescierenden Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von O. Raab. *Munch Med. Wochenschr.*, **1900**, 47,5,.
12. O Raab, Ueber die Wirkung Fluorescierenden Stoffe auf Infusorien. *Z. Biol.*, **1900**, 39, 524-546.
13. von Tappeiner, H.; A. Jesionek, "Therapeutische Versuche mit fluorescierenden Stoffen." *Munch. Med. Wochenschr.*, **1903**, 47, 2042-2044.

14. A. Jesionek,; von Tappeiner, H., "Zur behandlung der Hautcarcinome mit fluorescierenden Stoffen." *Arch. Klin. Med.*, **1905**, 82, 223.
15. Durmuş, M.; Nyokong, T., *Photochem. Photobiol. Sci*, **2007**, 6, 659.
16. Durmuş, M.; Ahsen, V.; Nyokong, T., *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2007**, 186, 323.
17. Niedre, M.; Petterson, M. S.; Wilson, B. C., *Photochemistry and Photobiology*, **2002**, 75, 382-391.
18. Kořinek, M.; Dědic, R.; Svoboda, A.; Hála, J., *Journal of Fluorescence* **2004**, 14, 71-74.
19. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A., *Principles of Instrumental Analysis*.
20. Lang, K.; Mosinger, J.; Wagnerová, D. M., *Coordination Chemistry Reviews*, **2004**, 3-4, 321-350.
21. Sharman, W. M.; Allen, C. M.; van Lier, J. E. *Drug Discovery Today* **1999**, 4, 507-517.
22. Bellnier, D. A.; Dougherty, T. J. *J. Clin. Laser Med. Surg.* **1996**, 14, 311-314.
23. Sternberg, E. D.; Dolphin, D.; Bruckner, C., *Tetrahedron* **1998**, 54, 4151-4202.
24. Kessel, D.; Thompson, P.; Saatio, K.; Nantwi, K. D., *Photochem. Photobiol.* **1987**, 45, 787-790.
25. Sema, A. A. F.; Kennedy, J. C.; Blakeslee, D.; Robertson, D. M., *Can. J. Neurol. Sci.* **1981**, 8, 105-114.
26. Atilla, D.; Durmuş, M.; Yılmaz, Ö.; Gürek, A. G.; Ahsen, V.; Nyokong, T., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2007**, 3573.
27. Funda Yükrük, PhD thesis, METU, **2005**.
28. Killoran J.; Allen L.; Gallapher J. F.; Gallapher W. M.; O'Shea D. F., *Chem.Comm.*, **2002**, 1862-1863.
29. Karolin, J.; Johansson, L. B. A.; Strandberg, L.; Ny, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 7801- 7806.
30. Wittmershaus, B. P.; Skibicki, J. J.; McLafferty, J. B.; Zhang, Y. Z.; Swan, S. *J. Fluoresc.* **2001**, 11, 119- 128.
31. Yogo, T.; Urano Y.; Ishitsuka, Y.; Maniwa, F.; Nagano, T., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12162-12163.

32. Rousseau, J.; Langlois, R.; Ali, H.; Van Lier, J. E., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **1990**, 6, 121.
33. Paquette, B.; Boyle, R. W.; Ali, H.; MacLennan, A. H.; Truscott, T. G.; van Lier, J. E. *Photochem. Photobiol.*, **1991**, 53, 323-327.
34. Margarone, P.; Gregoire, M.-J.; Scasnart, V.; Ali, H.; van Lier, J. E. *Photochem. Photobiol.*, **1996**, 63, 217- 223.
35. Berg, K.; Bommer, J. C.; Moan, J. *Photochem. Photobiol.*, **1989**, 49, 587-594.
36. Colussi, V. C.; Feyes, D. K.; Mulvihill, J. W.; Li, Y.-S.; Kenney, M. E.; Elmets, C. A.; Oleinick, N. L.; Mukhtar, H., *Photochem. Photobiol.* **1999**, 69, 236- 241.
37. Boyle, R. W.; Paquette, B.; van Lier, J. E. *Br. J. Cancer* **1992**, 65, 813- 817.
38. Lukyanets, E.A., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **1999**, 3, 424–432.
39. Dumoulin, F.; Durmuş, M.; Ahsen, V.; Nyokong, T., *Coordination Chemistry Reviews* (in press).
40. Arslan, S.; Yilmaz, I., *Polyhedron* **2007**, 26, 2387-2394.
41. Dinçer, H. A.; Koca A.; Gül, A., Burkut Koçak, M. *Dyes and Pigments*, **2008**, 76(3), 825-831.
42. Durmuş, M.; Nyokong T. *Inorganic Chemistry Communications*, **2007**, 10, 332–338.
43. Durmuş, M.; Nyokong, T. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2007**, 6, 659–668.
44. Weber, J. H.; Busch, D. H.; *Inorg. Chem*, **1965**, 4, 469.
45. Huang, J. D.; Fong, W. P.; Elaine, Y.M, *Tetrahedron Letters*, **2003**, 44, 8029-8032.
46. Jiang, X. J.; Huang, J. D.; Zhu, Y. J.; Tang, F. X.; Ng D. K. P.; Sun, J.C., *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, 16, 2450-2453.
47. Choi, C.F.; Tsang, P.T.; Huang, J. D.; Chan, E.Y.M.; Ko, W.H.; Fong, W.P.; Ng, D K.P., *Chem. Commun.*, **2004**, 19, 2236- 2237.
48. Karabörk, M.; Serin, S.; *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, **2002**, 32, 1635–1640.
49. Maillard, P.; Guerquin-Kern, J.-L.; Momenteau, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 9125–9127.
50. Soares, A. R. M.; Tome, J. P. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Tome, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Torres, T. *Carbohydr. Res.* **2009**, 344, 507-510.

51. Soares, A. R. M.; Tome, J. P. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Tome, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Torres, T., *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 9177-9180.
52. Alvarez-Mico, X.; Calvete, M. J. F.; Hanack, M.; Ziegler, T., *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 3283-3286.
53. Iqbal, Z.; Hanack, M.; Ziegler, T., *Tetrahedron Lett.*, **2009**, 50, 873-875.
54. Iqbal, Z.; Lyubimtsev, A.; Hanack, M.; Ziegler, T., *Tetrahedron Lett.*, **2009**, 50, 5681-5685.
55. Atilla, D.; Durmuş, M.; Gürek, A. G.; Ahsen, V.; Nyokong, T., *Dalton Trans.*, **2007**, 1235-1243.
56. Alvarez-Mico, X.; Calvete, M. J. F.; Hanack, M.; Ziegler, T., *Synthesis*, **2007**, 14, 2186-2192.
57. Zorlu, Y.; Ermeýdan, M. A.; Dumoulin, F.; Ahsen, V.; Savoie, H.; Boyle, R. W.; *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2009**, 8, 312-318.
58. Berthold, H. J.; Franke, S.; Thiem, J.; Schotten, T., *J. Org. Chem.*, **2010**, 75, 3859-3862.
59. Ribeiro, A. O.; Tome, J. P. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Tome, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Serra, O. A.; Torres, T., *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 6129-6132.
60. Hu, M.; Brasseur, N.; Yıldız, S. Z.; van Lier, J. E.; Leznoff, C.C., *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 1789-1802.
61. Rosenthal, I.; Ben-Hur, E.; Greenberg, S.; Conception-Lam, A.; Drew, D.M.; Leznoff, C.C., *Photochem. Photobiol.*, **1987**, 46, 959-963.
62. Boyle, R.W.; Leznoff, C.C.; van Lier, J.E.; *Br. J. Cancer*, **1993**, 67, 1177-1181.
63. Kimura, M.; Muto, T.; Takimoto, H.; Wada, K.; Ohta, K.; Hanabusa, K.; Shirai, H.; Kobayashi, N., *Langmuir*, **2000**, 16, 2078-2082.
64. Renoll, M.; Newman, M. S., *Organic Syntheses, Coll.* **1955**, 3, 502.
65. Renoll, M.; Newman, M. S., *Organic Syntheses, Coll.* **1948**, 28, 73.
66. Eberhardt, W.; Hanack, M., *Synthesis*, **1997**, 95-100.
67. Hanack, M.; Lang, M., *Adv. Mater.*, **1994**, 6, 819.
68. Durmuş, M.; Nyokong, T., *Tetrahedron*, **2007**, 63, 1385-1394.
69. Gürol, I.; Durmuş, M.; Ahsen, V.; Nyokong, T., *Dalton Trans.*, **2007**, 3782-3791.
70. Young, J. G.; Onyebuagu, W., *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 2155-2159.
71. Woehrle, D.; Eskes, M.; Shigehara, K.; Yamada, A., *Synthesis* **1993**, 2,

194-196.

72. George, R. D.; Snow, A. W., *Journal Of Heterocyclic Chemistry*, **1995**, 32, 495-498.

73. Kimura, M.; Kuroda, T.; Ohta, K.; Hanabusa, K.; Shirai H.; Kobayashi N., *Langmuir*, **2003**, 19, 4825–4830.

74. Farren, C.; FitzGerald, S.; Beeby A.; Bryce, M. R.; *Chem. Commun.*, **2002**, 572–573.

75. FitzGerald, S.; Farren, C.; Stanley, C. F.; Beeby A.; Bryce, M. R., *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2002**, 1, 581–587.

76. Cook M. J.; Dunn A. J.; Howe, S. D.; Thomson, A. J.; Harrison, K. J.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1988**, 2453.

77. Rihter, B. D.; Kenney, M. E.; Ford, W. E., Rodgers, M. A. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112: 8064.

78. Kobayashi, N.; Ogata, H.; Nonaka, N.; Luk'yanets, E., *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 5123.

79. *Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Vol.A 20 *Phthalocyanines*, **1992**, 213.

80. Bonnett, R. **(2000)**. Chemical Aspects of Photodynamic Therapy. *Gordon and Breach Science Publishing*.

81. Dolmans DEJGJ.; Fukumura, D.; Jain, R. K.i Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer*, **2003**, 3(5), 380–387.

82. Moan, J.; Peng, Q., **(2003)** An outline history of PDT. Photodynamic Therapy Patrice T., Ed.), Sun Fung Offset Binding Co. Ltd., Hong Kong.

83. Moor, A.C.E.; Ortel, B.; Hasan, T., **(2003)** Mechanism of Photodynamic Therapy. Photodynamic Therapy Patrice T., Ed.), Sun Fung Offset Binding Co. Ltd., Hong Kong.

84. Luksiene Z. *Medicina*, **2003**, 39, 1137–1150.

85. Nowis, D.; Makowski, M.; Stoklosa, T., Legat, M.; Issat, T.; Jakub, G., *Acta Biochim Polon.*, **2005**, 52, 339–352.

86. Wilson, B., **(2003)** Photodynamic Therapy. Technologies and Biophysical Techniques for PDT. Photodynamic Therapy Patrice T., Ed.), Sun Fung Offset Binding Co. Ltd., Hong Kong.

87. Bader, O.; Lui, H., Laser Safety and the Eye: Hidden Hazards and Practical Pearls: <http://www.dermatology.org/laser/eyesafety.html>.

88. Boyle, R. W.; Dolphin, D., *Photochem. Photobiol.*, **1996**, 64, 469-485.
89. Moan, J.; Peng, Q., **(2003)** Sensitizers in photodynamic Therapy. Photodynamic Therapy (Patrice T., ed.), Sun Fung Offset Binding Co. Ltd., Hong Kong.
90. Chan, W.; Zuk, M.; Ben-Hur, E., **(1998)** Phthalocyanines, in Photodynamic tumor therapy, 2nd and 3rd generation photosensitizers (Moser, J.G., ed.), Harward Academic Publishers.
91. Moan, J. and Peng, Q. **(2003)** Sensitizers for PDT: Phthalocyanines. Photodynamic Therapy (Patrice T., ed.), Sun Fung Offset Binding Co. Ltd., Hong Kong.
92. Leznoff C.C.; Lever, A.B.P. , *Phthalocyanines: Properties and Applications*, Vol.1-4, New York, **1989-1996**.
93. Ali, H.; van Lier, J. E., *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2379-2450.
94. Katrin, K.; Nihal, A.; Tracy, C.; David, B.; Hasan, M., *Cancer Res.*, **2000**, 60, 5984-5987.
95. Phillips, D., *Pure Appl. Chem.*, **1995**, 67, 117-126.
96. Bonnett, R., *Chem. Soc. Rev.*, **1995**, 24, 19-33.
97. Allen, C. M.; Sharman, W. M.; van Lier, J. E., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2001**, 5, 161-169.
98. Atilla, D.; Saydan, N.; Durmuş, M.; Gürek, A. G.; Khan, T.; Rück, A.; Walt, H.; Nyokong, T.; Ahsen, V., *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2007**, 186, 298-307.
99. Ogunsipe, A.; Nyokong, T., *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2005**, 173, 211-220.
100. Kahl, S. B.; Li, J., *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 3878-3880.
101. Josefsen, L. B.; Boyle, R. W., *Met. Based Drugs*, **2008**, 1-24.
102. Redmond, R. W.; Gamlin, J. N. *Photochem. Photobiol.* **1999**, 70, 391-475.
103. Ambroz, M.; Beeby, A.; MacRobert, A. J.; Simpson, M. S.; Svensen, R. K.; Phillips, D., *J. Photochem. Photobiol., B* **1991**, 9, 87-95.
104. Filyasova, A. I.; Kudelina, I. A.; Feofanov, A. V., *J. Mol. Struct.* **2001**, 173, 565-566.
105. Oseroff, A. R.; Ohuoha, D.; Hasan, T.; Bommer, J. C.; Yarmush, M. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1986**, 83, 8744-8748.

- 106.** Hamblin, M. R.; Miller, J. L.; Rizvi, I.; Ortel, B.; Maytin, E. V.; Hasan, T. *Cancer Res.*, **2001**, 61, 7155.
- 107.** Parkhots, M. V.; Knyukshto, V. N.; Isakov, G. A.; Petrov, P. T.; Lepeshkevich, S. V.; Khairullina, A. Y.; Dzhagarov, B. A., *J. Appl. Spectrosc.* **2003**, 70, 921.
- 108.** Vogel, E.; Kocher, M.; Schmickler, H.; Lex, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1986**, 25, 257.
- 109.** Dobkowski, J.; Galievsky, V.; Gil, M.; Waluk, J. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, 394, 410.
- 110.** Nonell, S.; Aramendia, P. F.; Heihoff, K.; Negri, R. M.; Braslavsky, S. E. *J. Phys. Chem.* **1990**, 94, 5879-5883.
- 111.** Lozovaya, G. I.; Masinovsky, Z.; Sivash, A. A. *Origins Life EVol. Biospheres* **1990**, 20, 321-330.
- 112.** Hasan, T.; Moor, A.; Ortel, B. In *Cancer Medicine*, 5th ed.; BC Decker: Hamilton, Ontario, Canada, 2000; 489-502.
- 113.** Nishino, N.; Wagner, R. W.; Lindsey, J. S. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 7534-7544.
- 114.** Bonnett, R.; McGarvey, D. J.; Harriman, A.; Land, E. J.; Truscott, T. G.; Winfield, U. *Photochem. Photobiol.* **1988**, 48, 271-276.
- 115.** Owens, J. W.; Smith, R.; Robinson, R.; Robins, M. *Inorg. Chim. Acta* **1998**, 279, 226.
- 116.** Jori, G. *Lasers Med. Sci.* **1990**, 5, 115-120.
- 117.** Macor, L.; Fungo, F.; Tempesti, T.; Durantini, E. N.; Otero, L.; Barea, E. M.; Fabregat-Santiago, F.; Bisquert, J. *Energy EnViron. Sci.* **2009**, 2, 529-534.
- 118.** Sessler, J. L.; Dow, W. C.; O'Connor, D.; Harriman, A.; Hemmi, G.; Mody, T. D.; Miller, R. A.; Qing, F.; Springs, S.; Woodburn, K.; Young, S. W. *J. Alloys Compd.* **1997**, 249, 146-152.
- 119.** DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coord. Chem. ReV.* **2002**, 351, 233-234.
- 120.** Ogunsipe, A.; Maree, D.; Nyokong, T. *J. Mol. Struct.* **2003**, 650, 131-140.
- 121.** Zhao, F.; Zhang, J.; Kaneko, M. *J. Photochem. Photobiol., A* **1998**, 119, 53.
- 122.** d'Alessandro, N.; Tonucci, L.; Carchesio, M.; d'Ambrosio, P.; Bressan, M. *J., Porphyrins Phthalocyanines*, **2008**, 12, 487.
- 123.** Wong, E.; Giandomenico, C. M., *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2451.
- 124.** Moucheron, C. *New J. Chem.* **2009**, 33, 235-245.

125. Pucci, D.; Bellusci, A.; Bernardini, S.; Bloise, R.; Crispini, A.; Federici, G.; Liguori, P.; Lucas, M. F.; Russo, N.; Valentini, A., *Dalton Trans.*, **2008**, 5897–5904.
126. Zhu, J.; Zhao, Y.; Zhu, Y.; Wu, Z.; Lin, M.; He, W.; Wang, Y.; Chen, G.; Dong, L.; Zhang, J.; Lu, Y.; Guo, Z., *Chem.Eur. J.*, **2009**, 15, 5245–5253.
127. Cubo, L.; Quiroga, A. G.; Zhang, J.; Thomas, D. S.; Carnero, A.; Navarro-Ranninger, C.; Berners-Price, S. J., *Dalton Trans.*, **2009**, 3457–3466.
128. Mao, J.; Zhang, Y.; Zhu, J.; Zhang, C.; Guo, Y., *Chem. Commun.*, **2009**, 908–910.
129. Ogunbayo, T.B.; Nyokong, T., *Journal of Molecular Structure*, **2010**, doi: 10.1016/j.molstruc.2010.03.047.
130. Vacus, J.; Doppelt, P.; Simon, J.; Memetzidis, G., *J. Mater. Chem.* **1992**, 2, 1065–1068.
131. Vacus, J.; Memetzidis, G.; Doppelt, P.; Simon, J., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 697–698.
132. Lokesh, K. S.; Uma, N.; Achar, B. N., *Polyhedron*, **2009**, 28, 1022–1028.
133. van Nostrum, C. F.; Picken, S. J.; Schouten, A. J.; Nolte, R. J. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 9957–9965.
134. Dumoulin, F.; Zorlu, Y.; Ayhan, M. M.; Hirel, C.; Isci, U.; Ahsen, V., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2009**, 13, 161–165.
135. Dominguez, D. D.; Snow, A. W.; Shirk, J. S.; Pong, R. G. S., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2001**, 5, 582–592.
136. Snow, A. W. In *The Porphyrin Handbook*; Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Elsevier, **2003**, 17, 129–176.
137. Engel, M. K. In *The Porphyrin Handbook*; Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Elsevier: New York, NY, **2003**; Vol. 20 and references therein.
138. Li, X. Y.; Ng, D. K. P., *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 305–309.
139. Koval, V.; Chernonosov, A.; Kuznetsova, A.; Kuznetsov, N.; Pyshnyi, D.; Derkacheva, V.; Lukyanets, E.; Fedorova, O., *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2005**, 22, 822–823.
140. Chernonosov, A. A.; Kuznetsov, N. A.; Koval, V. V.; Pyshnyi, D. V.; Derkacheva, N. M.; Lukyanets, E. A.; Fedorova, O. S., *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **2004**, 23, 983–987.

141. Chernonosov, A. A., *FEBS J.* **2005**, 272, 542-543.
142. Matveeva, E. G.; Meerovich, I. G.; Savitsky, A. P., *Bioorg. Khim.*, **1998**, 24, 64-71.
143. Carcenac, M.; Larroque, C.; Langlois, R.; van Lier, J. E.; Artus, J. C.; Pelegrin, A., *Photochem. Photobiol.* **1999**, 70, 930-936.
144. Carcenac, M.; Dorvillius, M.; Garambois, V.; Glaussel, F.; Larroque, C.; Langlois, R.; Hynes, N. E.; van Lier, J. E.; Pelegrin, A., *Br. J. Cancer* **2001**, 85, 1787-1793.
145. Vrouenraets, M. B.; Visser, G. W. M.; Stigter, M.; Oppelaar, H.; Snow, G. B.; van Dongen, G. A. M. S., *Cancer Research*, **2001**, 61, 1970-1975.
146. Vrouenraets, M. B.; Visser, G. W. M.; Stigter, M.; Oppelaar, H.; Snow, G. B.; van Dongen, G. A. M. S., *Int. J. Cancer*, **2002**, 98, 793-798.
147. Duan, W. B.; Smith, K.; Savoie, H.; Savoie, H.; Greenman, J.; Boyle, R. W.; *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 2384-2386.
148. Severin, S. E.; Posypanova, G. A.; Katukov, V. Y.; Shmyrev, I. I.; Luzhkov, Y. M.; Gerasimova, G. K.; Zhukova, O. S.; Vorozhtsov, G. N.; Kaliya, O. L.; Lukyanets, E. A.; Severin, E. S., *Biochem. Mol. Biol. Int.* **1997**, 43, 873- 881.
149. Brasseur, N.; Langlois, R.; La Madeleine, C.; Ouellet, R.; van Lier, J. E., *Photochem. Photobiol.* **1999**, 69, 345-352.
150. Ogunsipe, A.; Nyokong, T., *Photochem. Photobiol. Sci.* **2005**, 4, 510- 516.
151. Huang, J. D.; Lo, P. C.; Chen, Y. M.; Lai, J. C.; Fong, W. P.; Ng, D. K. P., *J. Inorg. Biochem.* **2006**, 100, 946-951.
152. Jiang, X. J.; Huang, J. D.; Zhu, Y. J.; Tang, F. X.; Ng, D. K. P.; Sun, J. C., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 2450-2453.
153. Kralova, J.; Synytsya, A.; Pouckova, P.; Koc, M.; Dvorak, M.; Kral, V., *Photochem. Photobiol.* **2006**, 82, 432-438.
154. Kanser Tedavisinde Akıllı Moleküller, Gülşen Kaş, http://www.indigo.dergisi.com/gulsen_02_20.htm.
155. Moor, A.C.E.; Ortel, B.; Hasan, T., **(2000)** Photodynamic Therapy of Cancer. Cancer Medicine, B.C. Decker Inc., Hamilton, London.
156. Clarke, O. J.; Boyle, R. W., *Chem. Commun.*, **1999**, 2231-2232.
157. Hone, D. C., Walker, P. I., Evans-Gowing, R., FitzGerald, S., Beeby, A., Chambrier, I., Cook, M. J., Russell D. A., *Langmuir* **2002**, 18, 2985-2987.

158. R. P. Hammer, C. V. Owens, S-H Hwang, C. M. Sayes, S. A. Soper, *Bioconjugate Chem.* **2002**, 13, 1244-1252.
159. Koval, V. V.; Chernonosov, A. A.; Abramova, T. V.; Ivanova, T. M.; Fedorova, O. S.; Derkacheva, V. M.; Lukyanets, E. A.; *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **2001**, 20, 1259-1262.
160. Macaskill, A.; Chernonosov, A. A.; Koval, V. V.; Lukyanets, E. A.; Fedorova, O. S.; Smith, W. E.; Faulds, K.; Graham, D.; *Nucleic Acids Research* , **2007**, 35, e42.
161. Chernonosov, A. A.; Koval, V. V.; Knorre, D. G.; Chernenko, A. A.; Derkacheva, V. M.; Lukyanets, E. A.; Fedorova, O. S.; *Bioinorganic Chemistry and Applications*, **2004**, 2006, 1-8.
162. Positron Emission Tomography–Computed Tomography (PET/CT), <http://www.radiologyinfo.org/en/info.cfm?pg=pet>.
163. Coleman, R.E., *The Journal of Nuclear Medicine*, **1999**, 40, 814-820.
164. Soucy-Faulkner, A.; Rousseau, J. A.; Langlois, R.; Berard, V.; Lecomte, R.; Bénard F.; van Lier, J. E., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2008**, 12, 49-53.
165. Mikhalenko, S. A.; Barknova, S. V.; Lebedev, O. L.; Luk'yanets, E. A., *Zhurnal Obshchei Khimii*, **1971**, 41, 2735-2739.
166. Hanack, M.; Renz, G.; Strahle, J.; Schmid, S., *Chem. Ber.*, **1988**, 121, 1479.
167. McKeown, N. B.; Chambrier, I.; Cook, M. J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1990**, 1169-1177.
168. Pawlowski, G.; Hanack, M., *Synthesis*, **1980**, 287-289.
169. Jung, R., PhD Thesis, Univ. Tübingen, Germany, **2000**.
170. Nolan, K. J. M.; Hu, M.; Leznoff, C. C., *Synlett*, **1997**, 5, 593-594.
171. Kobayashi, N.; Kondo, R.; Nakajima, S. I.; Osa, T., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 9640-9641.
172. Sastre, A.; Torres, T.; Hanack, M., *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 8501-8504.
173. Musluoğlu, E.; Gürek, A.; Ahsen, V.; Gül, A.; Bekaroğlu, Ö., *Chem. Ber.*, **1992**, 125, 2337-2339.
174. Dabak, S.; Gül, A.; Bekaroğlu, Ö., *Chem. Ber.*, **1994**, 127, 2009-2012.
175. Weitemeyer, A.; Kliesch, H.; Wöhrle, D., *J.Org. Chem.*, **1995**, 60, 4900-4904.
176. Leznoff, C.C.; Hall, T.W., *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 3023-3026.
177. Yüksel, F.; Atilla, D.; Ahsen, V.; *Polyhedron*, **2007**, 26, 4551-4556.

178. Chamrier, I.; Cook, M. J.; Cracknell, S. J.; McMurdo, J., *Journal of Material Chemistry*, **1993**, 3, 841-849.
179. Ermeýdan, M. A.; Dumoulin, F.; Basova, T. V.; Bouchu, D.; Gürek, A. G.; Ahsen, V.; Lafont, D., *New J. Chem.* **2010**, 34, 1153-1162.
180. Cook M. J.; Cracknell, S. J.; Moore, G.R.; Osborne, M. J.; Williamson, D. J., *Magn. Reson. Chem.* **1991**, 29, 1053.
181. Bergesen, K.; Haugland, L.; Cook, M. J.; Bryant, G. C., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2000**, 4, 665– 668.
182. Mbambisa, G.; Tau, P.; Antunes, E.; Nyokong, T., *Polyhedron*, **2007**, 26, 5355–5364.
183. Prof. Dr. Metin Balcı, Nüklüer Magnetik Rezonans Spektroskopisi, **2004**, ODTÜ yayıncılık, 2. baskı.
184. Tomado, A.; Saito, S.; Ogawa, S.; Shiraishi, S., *Chem. Lett.*, **1980**, 1277-1280.
185. Tomado, A.; Saito, S.; Shiraishi, S., *Chem. Lett.*, **1983**, 313-316.
186. Gürek, A. G.; Bekaroğlu, Ö., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1994**, 1419-1423.
187. Durmuş, M.; Ahsen, V., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2004**, 8, 1175-1186.
188. Hofman, J. W.; van Zeeland, F.; Turker, S.; Talsma H.; Lambrechts, S. A. G.; Sakharov, D. V.; Hennink, W. E.; van Nostrum, C. F., *J. Med Chem.* **2007**, 50, 1485-1494.
189. Isago, H.; Terekhov D. S.; Leznoff C. C., *J. Porphyrins Phthalocyanines* **1997**, 1, 135–140.
190. Suchan, A.; Nackiewicz, J.; Hnatejko, Z.; Waclawek, W.; Lis, S. *Dyes Pigm.* **2009**, 80, 239–244.
191. Li, Z.; Huang, X.; Xu, S.; Chen, Z.; Zhang, Z.; Zhang, F.; Kasatani, K. *J. Photochem. Photobiol. A* **2007**, 188, 311–316.
192. The Porphyrin Handbook-Phthalocyanines: Synthesis; Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Press: New York, **2003**; Vol. 15.
193. The Porphyrin Handbook-Phthalocyanines: Proprieties and Materials; Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Press: New York, **2003**; Vol. 17.
194. The Porphyrin Handbook-Applications of Phthalocyanines; Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Press: New York, **2003**; Vol. 19.

- 195.** Komagoe, K.; Tamagake, K.; Katsu, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, 54, 1004–1009.
- 196.** Henderson, B. W.; Dougherty, T. *J. Photochem. Photobiol.* **1992**, 55, 145–157.
- 197.** McKeown, N. B., *Phthalocyanines Materials: Synthesis, Structure and Function*, Cambridge Un. Pres., Cambridge, **1998**.
- 198.** Hanack, M.; Lang M., *Adv. Mater.*, **1994**, 6, 819.
- 199.** Sommerauer, M.; Rager, C., Hanack, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10085.
- 200.** Cook M. J., *Spectroscopy of New Materials*, vol. 22, Ed: Clark R. J. M., Hester R. E., John Wiley&Sons., England, **1993**.
- 201.** Dubuc, C.; Langlois, R.; Benard, F.; Cauchon, N.; Klarskov, K.; Tone, P.; van Lier, J. E., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 2424–2427.
- 202.** Chambrier, I.; Cook, M. J.; Russell, D. A. *Synthesis* **1995**, 1283–1286.
- 203.** Erdem, S. S.; Nesterova, I. V.; Soper, S. A.; R. P. Hammer, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 9280–9286
- 204.** Erdem, S. S.; Nesterova, I. V.; Soper, S. A.; Hammer, R. P., *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 5003–5007.
- 205.** Liu, J.Y.; Lo, P. C.; Jiang, X. J.; Fong W. P.; Ng, D. K. P., *Dalton Trans.*, **2009**, 4129–4135
- 206.** Huisgen, R. "Cenetary Lecture - 1,3-Dipolar Cycloadditions". *Proceedings of the Chemical Society of London*: **1961**, 357.
- 207.** Aspinall, H. N., *Chemistry of the F-block Elements*, **2001**

ÖZGEÇMİŞ

Yunus Zorlu 03.08.1982 yılında Üsküdar'da doğdu. Babasının adı Enver, annesinin adı Mualla'dır. İlkokulu Zeynep Kamil İlkokulu'nda, ortaokulu Üsküdar Selimiye İlköğretim okulu'nda ve liseyi Kadıköy Prof. Faik Somer Lisesi'nde tamamladı. 2003 yılında Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldu. 2006 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Yrd. Doç. Dr. Gönül Yenilmez Çiftçi'nin danışmanlığı altında yüksek lisansı bitirmiştir. Aynı yıl Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Yrd. Doç. Dr. Fabienne Dumoulin'in danışmanlığında doktora eğitimine başlamıştır. Doktora eğitimi süresince GYTE ve Tübitak tarafından desteklenen bilimsel araştırma projelerinde görev yaptı. Society of Porphyrins & Phthalocyanines ve Türkiye Kristalografi Derneği üyesidir. 2008 Kasım ayından itibaren Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Kimya Bölümünde X-ışınları Kristalografi laboratuvarında Uzman olarak görevini sürdürmektedir. İyi düzeyde İngilizce bilen Zorlu, evlidir.