

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**YENİ TİP BODİPY BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOGÖRÜNTÜLEME
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

ERCAN COŞAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. BÜNYEMİN ÇOŞUT

EKİM 2024

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**YENİ TİP BODİPY BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOGÖRÜNTÜLEME
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

ERCAN COŞAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. BÜNYEMİN ÇOŞUT

EKİM 2024

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, AND
INVESTIGATION OF BIOIMAGING PROPERTIES OF
NEW TYPE BODIPY COMPOUNDS

ERCAN COŞAR

A THESIS OF MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

ADVISOR: PROF. DR. BÜNYEMİN ÇOŞUT

OCTOBER 2024



YÜKSEKLİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun 01/07/2024 tarih ve 2024/33 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 10/10/2024 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Ercan COŞAR' ın tez çalışması Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. Bünyemin ÇOŞUT

ÜYE

: Prof. Dr. İbrahim Fazıl ŞENGÜL

ÜYE

: Dr. Hasan Hüseyin KAZAN

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun
...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

BODIPY bileşikler son yıllarda biyomedikal görüntüleme alanında büyük ilgi gören bir organik floresan bileşik sınıfıdır.

Bu tez kapsamında yeni tip BODIPY bileşiklerinin sentezlenmiştir. Sentezlenen yeni tip BODIPY türevlerinin yapısal, fotofiziksel ve biyolojik özellikleri çeşitli çalışmalarla detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Öncelikle, aldehit fonksiyonel grubuna sahip pirazol bileşikler 3,5-dimetil pirol ile reaksiyona sokularak yeni tip BODIPY bileşikler sentezlenmiş ve sentezlenen BODIPY bileşiklerinin kimyasal yapıları, ^{13}C NMR, ^1H NMR, FT-IR spektroskopisi ve MALDI-TOF kütle spektrometresi ile karakterize edilmiştir. Bu teknikler, bileşiklerin moleküler yapısını doğrulamak ve olası yan ürünleri belirlemek için kullanılmıştır. Daha sonra, sentezlenen bileşiklerin fotofiziksel özellikleri UV-Vis. ve floresans spektroskopisi ile incelenmiştir. Bu analizler, bileşiklerin absorpsiyon ve emisyon özelliklerini belirleyerek biyogörüntüleme uygulamalarında kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi için yardımcı olmuştur.

Biyogörüntüleme çalışmaları, sentezlenen BODIPY bileşiklerinin hücre içi etkileşimlerini ve biyolojik etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Hücre içi görüntüleme deneyleri, bileşiklerin hücrelerle etkileşimini, hücre içi dağılımını ve hücre viyabilitesini belirlemek için kullanılmıştır.

Ayrıca, bu çalışmada pirazol konjuge BODIPY bileşiklerinin yapısal çeşitliliği ve biyolojik aktiviteleri üzerindeki etkileri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bu türevlerin sentezi ve karakterizasyonu, ilaç tasarımı, biyomedikal araştırmalar ve malzeme bilimi gibi birçok alanda potansiyel uygulamaları olan önemli bir araştırma alanını oluşturur. Sonuç olarak bu çalışma, sentezlenen BODIPY bileşiklerinin fiziksel ve biyolojik özelliklerini detaylı bir şekilde inceleyerek, biyogörüntüleme alanında yeni uygulamalara ışık tutmayı amaçlamaktadır. Tüm bu analizlerin sonuçları, sentezlenen yeni tip BODIPY bileşiklerinin biyomedikal görüntüleme uygulamalarında potansiyel olarak değerli olduğunu ortaya koymaktadır. Sentezlenen 5 numaralı bileşik ve 9 numaralı bileşiğin kanserli hücrelerde belirli konsantrasyonlarda etkili bir floresans özelliği gösterdiği ve bunun sonucunda literatüre yeni tip BODIPY bileşikler kazandırılarak biyogörüntüleme alanında ve ilgili uygulama alanlarında kullanımı için anlamlı bir çalışma olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: BODIPY, Sentez, Karakterizasyon, Biyogörüntüleme.

ABSTRACT

BODIPY are an important class of organic fluorescent that has gained significant interest in the field of biomedical imaging in recent years. This thesis focuses on the synthesis of new types of BODIPYs. The structural, photophysical, and biological properties of the synthesized new BODIPY derivatives have been investigated by various techniques.

Initially, new BODIPY compounds were synthesized by reacting pyrazole containing aldehyde with 3,5-dimethyl pyrrole. The chemical structures of the synthesized BODIPY compounds were characterized using ^{13}C NMR and ^1H NMR, Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy and MALDI-TOF mass spectrometry. These techniques were employed to confirm the molecular structures of the compounds and to identify any potential by-products. Following this, the photophysical properties of the synthesized compounds were examined using UV-Vis spectroscopy and fluorescence spectroscopy. These analyses helped in evaluating the usability of the compounds in bioimaging applications by determining their absorption and emission properties.

Bioimaging studies were conducted to assess the intracellular interactions and biological effects of the synthesized BODIPY compounds. Intracellular imaging experiments were used to determine the interaction of the compounds with cells, their intracellular distribution, and cell viability.

Furthermore, this study extensively examined the impact of the structural diversity and biological activities of the pyrazole based BODIPYs. The synthesis and characterization of these derivatives constitute a significant research area with potential applications in various fields, including drug design, biomedical research, and materials science.

In conclusion, this study aims to shed light on new applications in the field of bioimaging by thoroughly investigating the physical and biological properties of the synthesized BODIPY compounds. The results of all these analyses demonstrate that the newly synthesized BODIPY compounds have potential value in biomedical imaging applications. Specifically, compounds 5 and 9 have shown effective fluorescence properties at certain concentrations in cancer cells, highlighting the significance of this study in contributing new types of BODIPY compounds to the literature for use in bioimaging and related application areas.

Keywords: BODIPY, Synthesis, Characterization, Bioimaging.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca kıymetli bilgisini ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bünyemin ÇOŞUT' a en içten minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. İbrahim Fazıl ŞENGÜL hocama ve Sayın Dr. Hasan Hüseyin KAZAN hocama teşekkürlerimi sunarım.

Bütün çalışmam boyunca yanımda olan, bilgi, tecrübe ve desteklerini benimle paylaşan Dr. Emrah ÖZCAN, Dr. Burcu TOPALOĞLU AKSOY, Dr. Azam Seifi NADERGOLİ, Zehra COŞKUN ve Süleyman Eren KABİL' e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde kuşkusuz en büyük paya sahip olan çok değerli annem Emine COŞAR' a babam Sinan COŞAR' a ve yükseköğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda olan, beraber geçirebileceğimiz zamanımızın çoğunu yüksek lisans eğitimime ayırmama rağmen anlayışını, sevgisini ve desteğini benden hiç esirgemeyen çok kıymetli eşim Ayten COŞAR ve zamanının çoğunu aldığım oğlum Alperen COŞAR' a tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı ve Literatür Özeti	1
2. GENEL BİLGİ	5
2.1. BODIPY Bileşikleri	5
2.1.1. BODIPY Molekülünün Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	5
2.1.2. BODIPY Bileşiklerinin Sentezi	6
2.1.2.1. Aromatik Aldehit ve Pirollerin Reaksiyonundan BODIPY Bileşiği Sentezi	7
2.1.2.2. Pirol ve Asit Klorür Reaksiyonundan BODIPY Bileşiği Sentezi	7
2.1.2.3. Pirol-2-Karbaldehitten BODIPY Bileşiği Sentezi	8
2.1.2.4. Pirazol Bileşiğinden BODIPY Bileşiği Sentezi	8
2.1.3. BODIPY Bileşiklerinin Kullanım Alanları	9
2.2. UV-Vis (Ultraviyole-Görünür Bölge) Absorpsiyon Spektroskopisi	10
2.2.1. UV-Vis Absorpsiyon Spektroskopisinin İlkeleri	10
2.2.2. UV-Vis Absorpsiyon Spektroskopisinde Işın Absorpsiyonu ve Lambert-Beer Yasası	11
2.3. Moleküler Floresans Spektroskopisi	13
2.3.1. Moleküler Floresans Spektroskopisinin Temel İlkeleri	13
2.3.2. Moleküler Floresans Spektroskopisi Teknikleri	14
2.3.3. Moleküler Floresansın Biyokimyasal ve Biyomedikal Uygulamaları	15
2.3.3.1. Biyomedikal Uygulamalar	15
2.4. Biyogörüntüleme	16
2.4.1. Biyogörüntülemenin Temel Prensipleri	17
2.4.2. Canlı Hücre Biyogörüntüleme Teknikleri	18
2.4.3. Biyogörüntüleme Yöntemlerinin Yapısı	19
2.4.4. BODIPY Bileşiklerinin Biyogörüntüleme Alanındaki Kullanımı	20
2.4.5. BODIPY Etiketleme Teknikleri	21
2.4.6. Hücre İçi Görüntüleme için BODIPY Uygulamaları	22
3. DENEYSEL KISIM	23
3.1. Deney Süresince Kullanılan Cihazlar	23
3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler	23
3.3. BODIPY Bileşiklerinin Sentez ve Karakterizasyon Çalışmaları	24
3.3.1. 4 Numaralı Bileşiğin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu	24
3.3.2. 8 Numaralı Bileşiğin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu	25
3.3.3. 4 Numaralı Bileşikten 5 Numaralı Bileşiğin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu	27

3.3.4. 8 Numaralı Bileşikten 9 Numaralı Bileşiğin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu	32
3.4. BODIPY Bileşiklerinin Fotofiziksel Çalışmaları	37
3.4.1. Çalışılan Bileşiklerin UV-Vis. Absorbans Tekniği ile Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	37
3.4.2. Fenil BODIPY Bileşiğinin UV-Vis Spektrometresi ile Solvent Çalışması	38
3.4.3. Fenil BODIPY Bileşiğinin Floresans Spektroskopisi ile Solvent Çalışması	39
3.4.4. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin UV Spektrometresi ile Solvent Çalışması	40
3.4.5. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin UV Spektrometresi ile Solvent Çalışması	41
3.4.6. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin Floresans Spektrometresi ile Solvent Çalışması	42
3.4.7. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin Floresans Spektrometresi ile Solvent Çalışması	43
3.4.8. Fenil Bodipy Bileşiğinin Epsilon Çalışması	44
3.4.9. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin Epsilon Çalışması	45
3.4.10. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin Epsilon Çalışması	46
3.4.11. Fenil Bodipy Bileşiğinin 3D Çalışması	47
3.4.12. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin 3D Çalışması	48
3.4.13. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin 3D Çalışması	49
3.4.14. Fenil Bodipy Bileşiğinin Lifetime Çalışması	50
3.4.15. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin Lifetime Çalışması	51
3.4.16. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin Lifetime Çalışması	52
3.5. Biyogörüntüleme Çalışmaları	52
3.5.1. Sentezlenen 5 ve 9 Numaralı Bileşiklerin Biyogörüntüleme Çalışmaları	52
3.5.1.1. Hücre Kültürü	52
3.5.1.2. Hücre Viyabilitesi	53
3.5.1.3. Hücre Görüntülemeleri	54
4. DENEYSEL SONUÇLAR ve TARTIŞMA	55
4.1. Fotofiziksel Çalışmaların Sonuçları	55
4.2. Biyogörüntüleme Çalışmalarının Sonuçları	57
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	69

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Hedeflenen alanın cm ² cinsinden kesit alanı
C	: Çözelti konsantrasyonu
ε	: Molar absorpsivite
P	: Geçiş ihtimali
nm	: Nanometre
BBr ₃	: Boron tribromür
BF ₃ .OEt ₂	: Bor triflorür dietil eterat
CCD	: Yük bağlaşımlı cihaz
DCM	: Diklorometan
DMF	: Dimetilformamid
DMSO	: Dimetilsülfoksit
EA	: Etil asetat
EtOH	: Etanol
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
HCT-116	: İnsan kolon kanseri hücre hattı
HOAc	: Asetik asit
MALDI	: Matris destekli lazer desorpsiyonu/ionizasyonu
MeOH	: Metanol
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
PBS	: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
POCl ₃	: Fosforil triklorür
TFA	: Trifloroasetik asit
THF	: Tetrahidrofuran
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
UV-Vis.	: Morötesi-Görünür bölge

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1: BODIPY çekirdeği.	6
Şekil 2.2: 2,4-dimetilpirolden BODIPY-A ve BODIPY-B'nin sentezi.	6
Şekil 2.3: Lindsey metodu ile BODIPY-C bileşiğinin sentezi.	7
Şekil 2.4: Asit klorür ve pirol ile BODIPY-D bileşiğinin sentezi.	7
Şekil 2.5: Pirol-2-Karbaldehitten BODIPY-E bileşiğinin sentezi.	8
Şekil 2.6: Pirol ve aldehit reaksiyonundan BODIPY-F bileşiğinin Sentezi.	9
Şekil 2.7: Maddenin ışığı absorplaması.	12
Şekil 2.8: Moleküllerin elektronik durumu.	14
Şekil 3.1: 4 Numaralı bileşiğin sentezlenmesi.	24
Şekil 3.2: 4 Numaralı bileşiğin ¹ H NMR spektrum grafiği.	25
Şekil 3.3: 8 Numaralı bileşiğin sentezlenmesi.	25
Şekil 3.4: 8 Numaralı bileşiğin ¹ H NMR spektrum grafiği.	26
Şekil 3.5: 5 numaralı bileşiğin sentez şeması.	27
Şekil 3.6: 5 numaralı bileşiğin kütle spektrumu.	28
Şekil 3.7: 5 numaralı bileşiğin ¹ H NMR spektrumu.	29
Şekil 3.8: 5 numaralı bileşiğin ¹³ C NMR spektrumu.	30
Şekil 3.9: 5 numaralı bileşiğin FT-IR spektrumu.	31
Şekil 3.10: 9 numaralı bileşiğin sentez şeması.	32
Şekil 3.11: 9 numaralı bileşiğin kütle spektrumu.	33
Şekil 3.12: 9 numaralı bileşiğin ¹ H NMR spektrumu.	34
Şekil 3.13: 9 numaralı bileşiğin ¹³ C NMR spektrumu.	35
Şekil 3.14: 9 numaralı bileşiğin FT-IR Spektrumu.	36
Şekil 3.15: Fenil Bodipy bileşiğinin 1x10 ⁻⁶ M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki absorpsiyon spektrum grafiği.	38
Şekil 3.16: Fenil Bodipy bileşiğinin 5x10 ⁻⁷ M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki emisyon spektrum grafiği (490nm).	39
Şekil 3.17: 5 numaralı bileşiğin 5x10 ⁻⁵ M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki absorpsiyon spektrum grafiği.	40
Şekil 3.18: 9 numaralı bileşiğin 1x10 ⁻⁵ M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki absorpsiyon spektrum grafiği.	41
Şekil 3.19: 5 numaralı bileşiğin 5x10 ⁻⁶ M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki emisyon spektrum grafiği (490 nm).	42
Şekil 3.20: 9 numaralı bileşiğin 2x10 ⁻⁶ M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki emisyon spektrum grafiği (490 nm).	43
Şekil 3.21: Fenil Bodipy bileşiğinin epsilon çalışma grafiği.	44
Şekil 3.22: 5 numaralı bileşiğin epsilon çalışma grafiği.	45
Şekil 3.23: 9 numaralı bileşiğin epsilon çalışma grafiği.	46
Şekil 3.24: Fenil Bodipy bileşiğinin 3D çalışma görseli.	47
Şekil 3.25: 5 numaralı bileşiğin 3D çalışma görseli.	48
Şekil 3.26: 9 numaralı bileşiğin 3D çalışma görseli.	49
Şekil 3.27: Fenil Bodipy bileşiğinin lifetime çalışma grafiği.	50
Şekil 3.28: 5 numaralı bileşiğin lifetime çalışma grafiği.	51
Şekil 3.29: 9 numaralı bileşiğin lifetime çalışma grafiği.	52
Şekil 4.1: Bileşik 5 ve Bileşik 9'un konsantrasyona bağlı hücre viyabilitesi grafiği.	57

Şekil 4.2: 5 ve 9 numaralı bileşiklerin canlı hücre görüntüleme ve içselleştirme modelleri.	58
Şekil 4.3: Bileşik 5 ve Bileşik 9 ‘un PBS ile yıkama ve tripan mavisi uygulaması.	59

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1: Deney süresince kullanılan cihazlar.	23
Tablo 3.2: Bileşiklerin çalışılan konsantrasyon seviyeleri.	37

1. GİRİŞ

BODIPY türevlerinin geliştirilmesine, olağanüstü fotofiziksel ve fotokimyasal özelliklerinin yanı sıra çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle son on yılda artan bir ilgi vardır [1]. Günümüzde, biyomedikal araştırmalarda görüntüleme teknikleri, hücre ve doku düzeyinde moleküler etkileşimleri anlamak için kritik öneme sahiptir. Bu bağlamda, floresans görüntüleme yöntemleri, hücresel ve moleküler düzeyde etkileşimleri izlemek için güçlü bir araç olarak kabul edilir. Floresans görüntüleme için kullanılan bileşiklerin ise belirli özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu noktada, BODIPY (bor-dipirrometen) türevleri, benzersiz bir şekilde küçük stokes kayması, yüksek floresans kuantum verimi, büyük molar absorpsiyon katsayısı, çeşitli organik çözücülerde iyi çözünürlük, kimyasal, fotostabilite ve biyolojik uyumluluk gibi avantajlar nedeniyle çeşitli uygulama alanlarında popüler bir seçenek haline gelmiştir [2]-[5]. Örneğin; biyokimyasal etiketleme, ışık yayan cihazlar, supramoleküler floresan jeller, ışık toplama sistemleri, optik kemo-sensörler, organik ince film transistörleri ve güneş hücrelerinde duyarlılaştırıcılar olarak kullanımı sağlanmıştır [9], [10].

BODIPY ve türevlerinin biyolojik çalışmalar için son derece yararlı malzemeler olduğu bulunmuştur [11], [12]. BODIPY halkası içeren moleküllerin bir diğer önemli uygulama alanı ise floresansa dayalı biyogörüntüleme ajanları olarak kullanımlarıdır [13].

Bu tez, yeni tip BODIPY bileşiklerinin sentezi, karakterizasyonu ve biyogörüntüleme özelliklerinin incelenmesine odaklanmaktadır. Biyomedikal görüntüleme çalışmalarında yeni ajanların geliştirilmesi amacıyla BODIPY iskeletini meso pozisyonunda pirazol birimleriyle sentezleyerek kullanmayı hedeflemektedir.

1.1. Tezin Amacı ve Literatür Özeti

Bu tezin amacı, pirazol Bodipy türevlerinin sentezini gerçekleştirmek ve bu bileşiklerin optik özelliklerini belirlemektir. Ayrıca tez çalışmasının diğer bir amacı ise bu bileşiklerin biyolojik sistemlerde davranışlarını anlamak ve biyogörüntüleme uygulamalarında potansiyel olarak kullanılabilirliklerini değerlendirmektir.

Sentezlenen Bodipy türevlerinin yapıları FT-IR, Kütle Spektrometresi, ^1H -NMR, ^{13}C NMR teknikleri kullanılarak karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bodipy bileşiklerinin fotofiziksel özelliklerini incelemeyi ve biyogörüntüleme alanındaki çalışmalarımız sonrasında ise sentezlenen bileşiklerin farklı alanlarda kullanılabilirliğini hedeflemekteyiz.

BODIPY bileşikleri, yüksek floresan verimliliği, fotokimyasal kararlılık ve geniş dalga boyu aralığında emisyon göstermeleri nedeniyle dikkat çeken floresan boyalardır. Bu özellikleri, özellikle biyogörüntüleme ve organik elektronikler gibi alanlarda yaygın bir kullanım potansiyeline sahiptir. Literatürde, BODIPY türevlerinin çeşitli modifikasyonlarla hem optik hem de biyolojik özelliklerinin nasıl geliştirildiğine dair birçok örnek bulunmaktadır. BODIPY iskeletinin tüm reaktif bölgelerine kolayca işlevsellik kazandırılabilirdiği için bu tür modifikasyonların elektronik ve fotofiziksel özelliklerine ince ayar yapma olanağı sağlar [14]. Özellikle, floresan iskelete yakın olduğundan, meso pozisyonundaki BODIPY çekirdeklerinin modifikasyonu büyük önem taşır [15]. BODIPY'nin floresan özellikleri, meso pozisyonuna farklı grupların eklenmesiyle ayarlanabilir [16]. Bugüne kadar, biyogörüntüleme çalışmaları için meso pozisyonunda çeşitli gruplarla modifiye edilmiş çok sayıda BODIPY türevi geliştirilmiştir.

Örneğin, Wu ve araştırma ekibi, batokromik kaymalar, iyileştirilmiş su çözünürlüğü, daha büyük Stokes kaymaları ve geniş bir yelpazede emisyon gösteren bir dizi meso-N-asetil-BODIPY sentezlemişlerdir [15]. Sentezlenen bu bileşikler, canlı hücre görüntülemesinde başarıyla kullanılmıştır [15].

Bir başka çalışmada, Singh ve araştırma ekibi tarafından meso-substitüe thienyl BODIPY bileşikleri hazırlanmış ve bu bileşiklerin endotelial hücrelere karşı biyoyumlu ve kanser hücrelerine karşı önemli sitotoksikite gösterdiği saptanmıştır [16].

Literatürde, meso pozisyonlarına yaygın olarak azot içeren heterosiklik birimlerin eklendiği ortaya çıkmıştır [17], [18]. Bu birimler arasında, pirazol grubunun bir heterosiklik bileşiği olup, bitişik konumlarda üç karbon atomu ve iki bitişik azot atomu içeren beş üyeli bir halka ile karakterizedir.

Pirazol ve BODIPY birimlerinin kombinasyonu, çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Örneğin; Kamkaew ve araştırma ekibi tarafından yapılan bir çalışmada,

kanser hücreleri içinde mükemmel floresan sinyaller sergileyen yeni bir fototermal ajan olarak pirol bazlı aza-BODIPY'nin sentezi rapor edilmiştir [19]. Bir başka çalışmada ise, Pandey ve araştırma ekibi tarafından, insan servikal kanser hücre hattına (HeLa) karşı in vitro antiproliferatif aktivite gösteren bir dizi pirol ekli kinolin-BODIPY sentezlenmiştir [20]. Ayrıca, Xie ve araştırma ekibi, ultrahızlı ve uzun süreli biyogörüntüleme çalışması için elektron donörü pirolin birimi içeren BODIPY nanopartiküllerini rapor etmişlerdir [21]. Çalışmalarında, pirolin ile süstitüe edilmiş BODIPY'nin in vivo uzun süreli floresans görüntüleme alanında mükemmel bir performans sergilediği ve U14 tümörü taşıyan farelerde 10 günün üzerinde tümör floresans takibi sağlayabildiği bulunmuştur [21].

Bu geniş yelpazedeki ilginç çalışmalar ve özellikler, yeni pirazol bağlı BODIPY iskeletlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmaları teşvik etmiştir. Bu sebeple, biyomedikal görüntüleme çalışmalarında yeni ajanların geliştirilmesi amacıyla BODIPY iskeletini meso pozisyonunda pirazol birimleriyle işleyerek kullanımını hedefledik.

Fenil grubu, Bodipy'nin merkezi çekirdeğine eklendiğinde, molekülün konjugasyon sistemini genişletebilir. Bu, Bodipy'nin absorpsiyon ve emisyon spektrumlarında değişikliklere yol açabilir [22]. Fenil grubu genellikle kırmızıya kayma (bathokromik kayma) ile sonuçlanır, bu da emisyon dalga boylarının daha uzun dalga boylarına kayması anlamına gelir [22].

Kumarinli bileşiklerin Bodipy sentezi üzerindeki etkilerini değerlendiren literatür taraması, Bodipy türevlerinin optik özelliklerinin geliştirilmesi ve çeşitlendirilmesi için önemli bir araştırma alanını ortaya çıkartır. Kumarin, geniş bir absorpsiyon ve emisyon spektrumuyla karakterize edilmiş olan bir floresan bileşiktir.

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen ilk sentez çalışmamızda 1,3-diphenyl-1H-pyrazole-4-carbaldehyde ile 2,4-dimethyl-1H-pyrole reaksiyona sokularak yeni bir Bodipy bileşiği 10-(1,3-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-4l4,5l4-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinine sentezlendi ve 5 numaralı bileşik olarak adlandırıldı. İkinci sentez çalışmamızda 3-(4-formyl-1-phenyl-1H-pyrazol-3-yl)-2-oxo-2H-chromen-7-ylum ile 2,4-dimethyl-1H-pyrole reaksiyona sokularak yeni tip bir Bodipy bileşiği 3-(4-(5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-

4l4,5l4-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-10-yl)-1-phenyl-1H-pyrazol-3-yl)-2H-chromen-2-one sentezlendi ve 9 numaralı bileşik olarak adlandırıldı.

Sentezlerden elde edilen bileşikler biyolojik görüntüleme, hücresel etkileşimlerin izlenmesi ve organik elektronik cihazların geliştirilmesi gibi çeşitli uygulama alanlarında potansiyel olarak kullanılabilir. Bu nedenle, tezimizde, yeni tip BODIPY bileşiklerinin özelliklerini inceleyerek literatüre katkı sağlamayı amaçlamaktayız.

2. GENEL BİLGİ

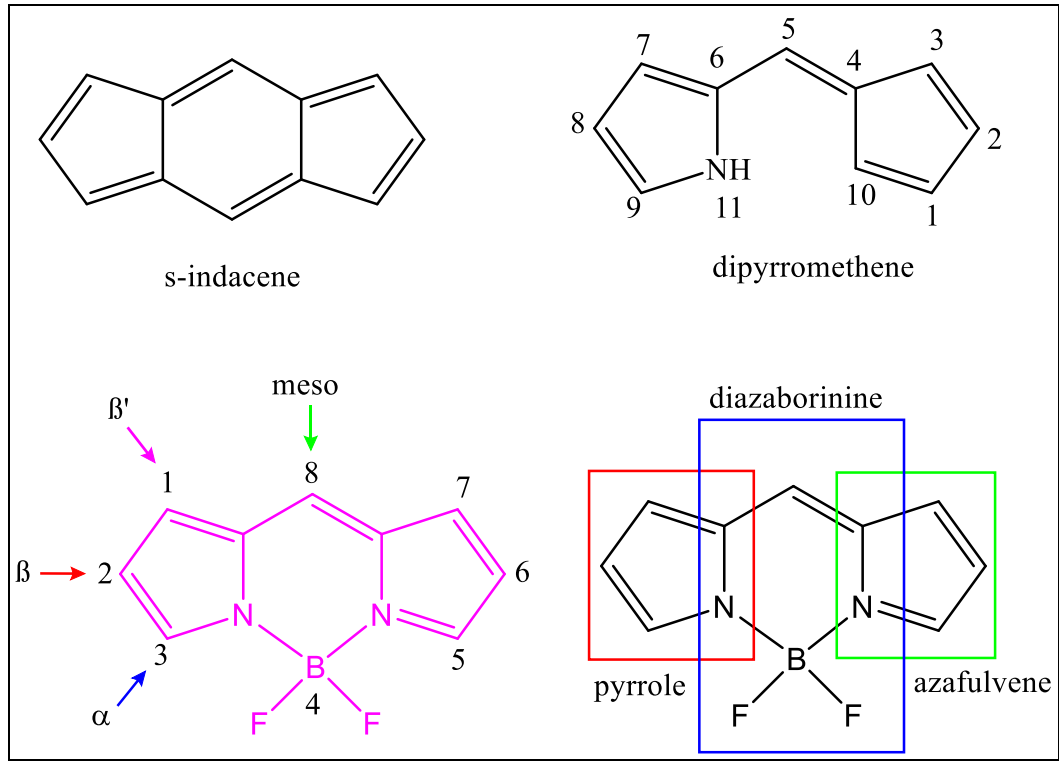
2.1. BODIPY Bileşikleri

1968 yılında Treibs ve Kreuzer tarafından 4,4-difloro-4-bora-3a,4a-diaza-sindaksen türevlerinin (aynı zamanda bor-dipirrometen veya BODIPY'ler olarak da adlandırılır) keşfedilmesinden bu yana, dünya genelindeki bilim insanları bu bileşiklerin benzersiz ve heyecan verici özelliklerini fark etmişlerdir [23]. 1989'da ise BODIPY, biyoaktif ligandlar için bir floresan prob olarak kullanıldı. Son yıllarda, BODIPY'lerin uygulanabilirliği, biyokimya, malzeme bilimi, mühendislik, fizik, elektronik ve çeşitli terapötik uygulamalar gibi birçok alanda artmıştır. BODIPY, çok yönlü bir florofor sınıfı olarak kabul edilir. BODIPY bazlı kromoforlar, UV-vis bölgesinde geniş bir spektral özellik gösterir ve bu da onları çeşitli uygulamalar için uygun hale getirir. Optik özelliklerini ayarlamak için BODIPY'nin yapısında kolay değişiklikler yapılabilir. BODIPY bazlı malzemelerin optoelektronik uygulamadaki gelişmeleri ve yapı-malzeme ilişkisi, bu alandaki ilerlemeleri anlamamızı sağlar [24].

2.1.1. BODIPY Molekülünün Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

BODIPY (4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene), bor-dipirrometen ailesine ait bir floresan bileşiktir. Temel yapısı, bir bor atomunun iki pirrol halkasına bağlı olduğu ve bu yapı üzerinde flor substitüentleri bulunduğu bir iskelet üzerine kuruludur. Kimyasal yapısı genellikle aşağıdaki gibidir:

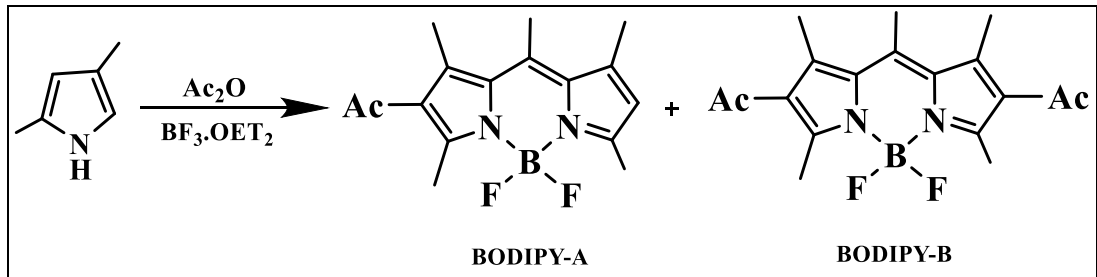
1. Bor Atomlu Çekirdek: BODIPY'nin merkezinde bir bor atomu bulunur. Bu bor atomu, iki pirrol halkası ile koordine olur.
2. Flor Substitüentleri: BODIPY'nin kimyasal yapısında, bor atomuna bağlı iki flor atomu bulunur. Bu substitüentler, molekülün optik özelliklerini belirler.



Şekil 2.1: BODIPY çekirdeği.

2.1.2. BODIPY Bileşiklerinin Sentezi

1968 yılında Treibs ve Kreuzer, 2,4-dimetilpirolü $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (bir Lewis asidi) ve asetik anhidrit ile reaksiyona sokarak, parlak renkli mono- ve di-süstitüe BODIPY bileşiklerini düşük verimlerle izole etmeyi başarmışlardır. Sentezlenen bu bileşiklerde, dipirrin halkasının BF_2 ile kompleksleşmesi, bor merkezli dörtgen yapının stabilizasyonunu sağlar. BODIPY bileşiklerinin sentezi için farklı yöntemler bulunmaktadır ve bu yöntemler, elde edilmek istenen bileşiğin özelliklerine göre çeşitlilik gösterebilir [25].

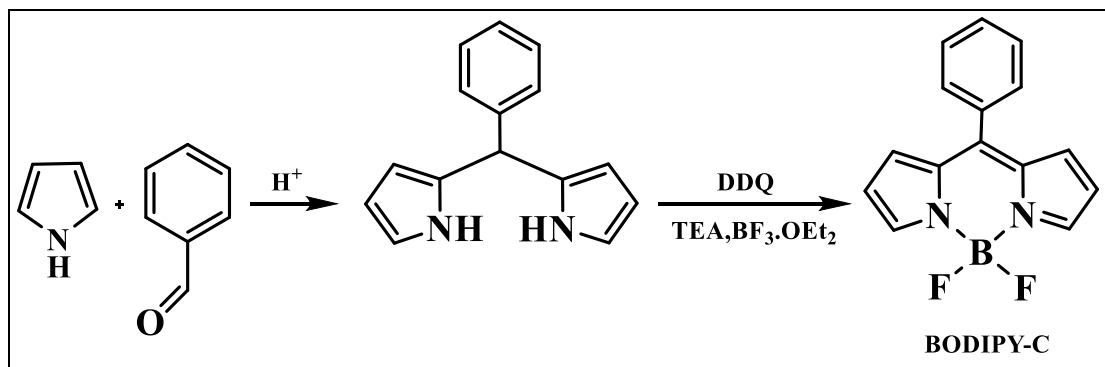


Şekil 2.2: 2,4-dimetilpiroliden BODIPY-A ve BODIPY-B'nin sentezi [25].

Literatürde geçen farklı sentez yöntemlerinden kısaca bahsedecek olursak;

2.1.2.1. Aromatik Aldehit ve Pirolerin Reaksiyonundan BODIPY Bileşiği Sentezi

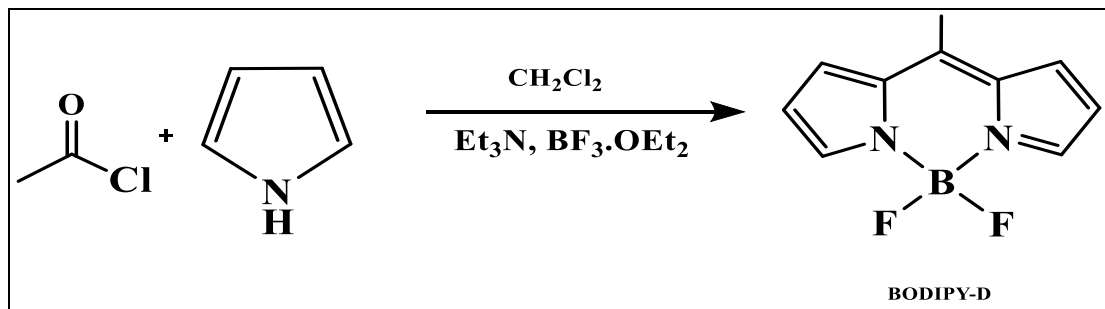
BODIPY bileşiklerinin sentezinde yaygın bir yöntem, iki mol pirol ile bir mol aromatik aldehitin asit katalizörlüğünde kondenzasyon reaksiyonuna sokulması ve ardından oluşan dipirinin bor triflorür ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) gibi bir bor kaynağı ile komplekslenmesidir. Bu reaksiyon, BODIPY halkasının oluşumunu sağlar ve elde edilen ürün, karakteristik parlak renklere sahip bir florofor olarak bilinir [25].



Şekil 2.3: Lindsey metodu ile BODIPY-C Bileşiğinin sentezi [25].

2.1.2.2. Pirol ve Asit klorür reaksiyonundan BODIPY Bileşiği Sentezi

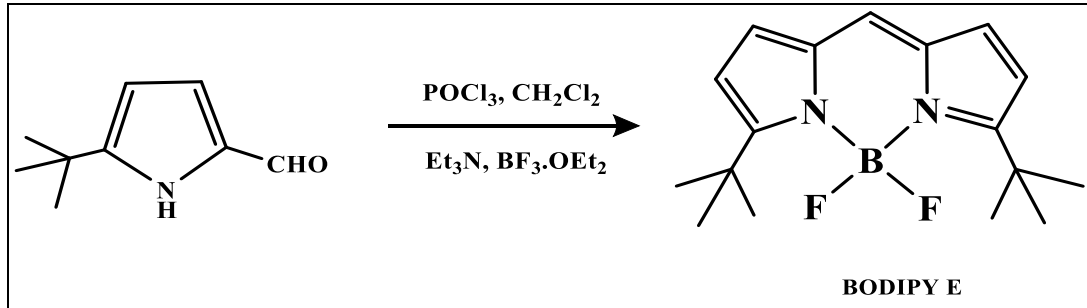
2012'de Zhang ve araştırma grubu tarafından Pirol ve asit klorürün reaksiyonuyla BODIPY sentezi, rapor edilmiştir. Bu yöntemde, pirol ve asit klorür reaksiyona sokulur. Oluşan ürün daha sonra $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ile kompleksleştirilir. Ayrıca, bu BODIPY türü, yüksek bir floresan kuantum verimine ve diklorometan çözücüsünde uzun bir floresans ömrüne sahiptir [25].



Şekil 2.4: Asit klorür ve pirol ile BODIPY-D Bileşiğinin sentezi [25].

2.1.2.3. Pirol-2-Karbaldehitten BODIPY Bileşiğı Sentezi

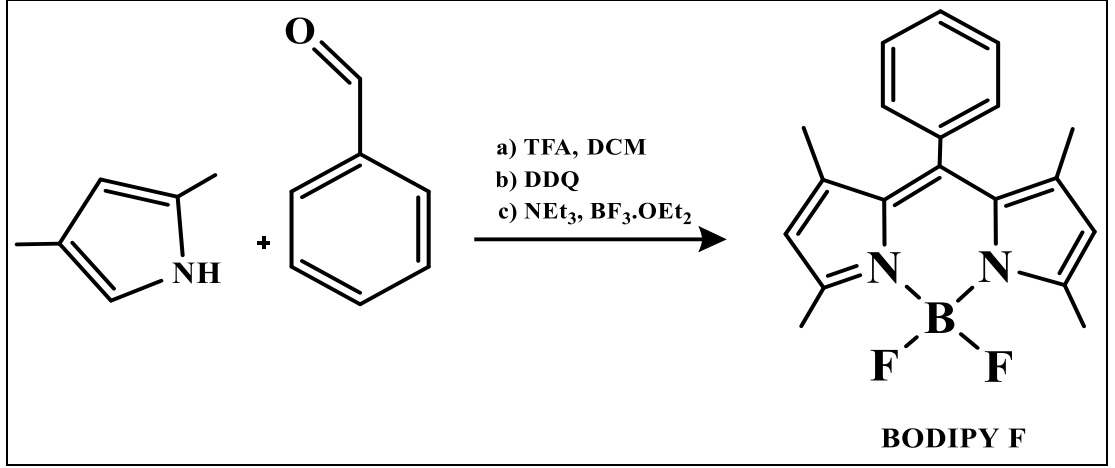
Pirol-2-karbaldehit kullanılarak BODIPY sentezi, genellikle birkaç adımda gerçekleştirilir. İlk adımda, Pirol-2-karbaldehitin aldehit grubu, bir asit katalizörü (genellikle trifloroasetik asit gibi) eşliğinde pirol halkasıyla bir aldol kondenzasyonu reaksiyonu ile birleştirilir. Bu reaksiyon sonucunda, bir beta-diketon bileşiğı oluşur. Ardından, bu beta-diketon bileşiğı, bor reaktifleri (örneğin BF_3 veya BBr_3) ile reaksiyona sokulur. Bor reaktifleri, beta-diketon bileşiğinin bir BODIPY halkasına dönüşmesini katalize eder. Bu şekilde, pirol-2-karbaldehitin BODIPY olarak bilinen bir türe dönüştürülmesi sağlanır [25].



Şekil 2.5: Pirol-2-Karbaldehitten BODIPY-E Bileşiğinin sentezi [25].

2.1.2.4. Pirol Bileşiğinden BODIPY Bileşiğı Sentezi

Piroliden BODIPY sentezi, genellikle birkaç adımda gerçekleştirilen bir süreçtir. İlk adımda, bir pirol türevi, genellikle bir aldehit veya keton ile reaksiyona sokulur. Bu reaksiyon sonucunda bir ara ürün elde edilir. Daha sonra, bu ara ürün, uygun bir bor reaktif (örneğin, BF_3 veya BBr_3) ile işlenir. Bor reaktifi, ara ürünün BODIPY halkasına dönüşmesini katalize eder. Son olarak, elde edilen BODIPY türevi, uygun bir temizleme ve saflaştırma işleminden geçirilir. Bu şekilde, pirol türevlerinden BODIPY sentezi gerçekleştirilmiş olur [25].



Şekil 2.6: Piyol ve aldehit reaksiyonundan BODIPY-F Bileşiğinin sentezi [25].

2.1.3. BODIPY Bileşiklerinin Kullanım Alanları

BODIPY bileşikleri, çeşitli bilimsel ve endüstriyel alanlarda geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir. Bu bileşikler, optoelektronik özellikleri, yüksek fotokimyasal kararlılık ve çeşitli kimyasal modifikasyon olanakları nedeniyle araştırmacılar ve endüstriyel uzmanlar tarafından büyük ilgi görmektedir. BODIPY bileşiklerinin yaygın kullanım alanlarından bazıları:

1. *pH Sensörleri:* BODIPY bileşikleri ile oluşturulan pH sensörlerinde ortamın asitliğinin artmasıyla sensörün floresans özelliği artmakta ve bu özelliği sebebiyle araştırmacıların ilgisini çekmektedir [26], [27].
2. *Optik Sensörler:* BODIPY, kimyasal maddelerin tespiti için optik sensörlerin geliştirilmesinde kullanılır. Bu sensörler, çeşitli çevresel değişkenleri algılamak için tasarlanabilir, bu da onları gaz dedektörleri, biyolojik sensörler ve biyomedikal cihazlar gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmak üzere değerli yapar [28], [29].
3. *Organik Elektronik Cihazlar:* BODIPY bileşikleri, organik yarı iletkenler, organik fotovoltaiik hücreler ve organik ışık yayan diyotlar gibi organik elektronik cihazlarda kullanılabilir. Bu cihazlar, güneş enerjisi dönüşümü, görüntüleme ve ışıklandırma gibi çeşitli uygulamalarda kullanılır [30], [31].
4. *Fotodinamik Terapi (PDT):* BODIPY, kanser hücrelerini hedefleyen ve yok eden fotodinamik terapi (PDT) ajanları olarak kullanılabilir. Bu, kanser

tedavisindeki yeni ve etkili bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir [32], [33].

5. *Görüntüleme Teknolojileri:* BODIPY, görüntüleme teknolojilerinin geliştirilmesinde önemli bir rol oynar. Bu yapılar, tıbbi görüntüleme, biyomedikal görüntüleme ve malzeme karakterizasyonu gibi alanlarda kullanılır [34], [35].

2.2. UV-Vis.(Ultraviyole-Görünür Bölge) Absorpsiyon Spektroskopisi

2.2.1. UV-Vis. Absorpsiyon Spektroskopisinin İlkeleri

UV-Vis spektroskopisi, bir moleküldeki elektronik enerji seviyeleri arasındaki elektron geçişlerinde açığa çıkan ışınların absorbe edilmesiyle ortaya çıkan bir spektroskopi tekniğidir. UV-Vis. Spektrometreler, genellikle 200 ila 1000 nanometre(nm) arasındaki ultraviyole ve görünür bölgede meydana gelen ışınların absorpsiyonunu ölçen ve kaydedebilen cihazlardır. Bu ışınların enerjisi ve frekansı, kızılötesi ışınlardan daha yüksektir, bu yüzden daha kısa dalga boylu ışınlardır. Görünür bölgede (400-800 nm arası), ışınlar absorbe edildiğinde insan gözü tarafından renkli olarak algılanır. Bu renk, absorbe edilen ışınların tamamlayıcı rengini gösterir. Birçok organik bileşik, ultraviyole bölgesinde güçlü absorpsiyon bantlarına sahiptir. 400 nm ile 800 nm arasında dalga boyu değişikliği, bileşiklerin absorpsiyonunun sarı, turuncu, kırmızı renklere yeşil, mavi, mor ve siyah renklere doğru değişmesine neden olur [36], [37].

Molar absorpsiyon katsayıları (ϵ), UV-Vis aralığında moleküllerin absorpsiyonunun kantitatif bir ölçüsüdür ve 0 ile 10^5 arasında değer alabilir. Bu katsayının büyüklüğü, absorpsiyon pikinin büyüklüğüne, geçişin gerçekleşme olasılığına ve kesit alanına bağlıdır. Kesit alanları genellikle 10^{-15} cm² civarındadır ve geçiş olasılığı 0 ile 1 arasında değişir. Güçlü absorpsiyon bölgelerinde, molar absorpsiyon katsayıları 10^4 - 10^5 L.mol⁻¹.cm⁻¹'e kadar ulaşabilir. Düşük yoğunluklu pikler için ise molar absorpsiyon katsayılarının 10^3 'ten küçük olduğu düşünülür, bu tür piklerin olma olasılığı ise 0.01'den daha düşüktür. Formülde P geçiş ihtimalini ve A hedeflenen alanın cm² cinsinden kesit alanını ifade etmektedir [38].

$$\varepsilon = 8.7 \times 10^{19} \text{ P.A}$$

Organik maddelerin kesit alanları genellikle x-ışını ve elektrot kırınım teknikleriyle belirlenir ve yaklaşık olarak 10^{-15} cm^2 civarındadır. Geçişin olasılığı 0 ile 1 arasında değişmektedir, bu da Kuantum mekanik potansiyel geçişlerinin 0.1 ile 1 arasında değişen bir P değerine sahip olduğunu gösterir. Bu potansiyel geçişler, molar absorpsiyon katsayısının 10^4 ile $10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ 'e kadar ulaştığı güçlü absorpsiyon bölgelerine neden olur. Molar absorpsiyon katsayısı (ε), 10^3 'ten küçük olduğunda, düşük yoğunluklu piklerin olasılığı genellikle 0.01'den daha azdır.^{[36], [39]}

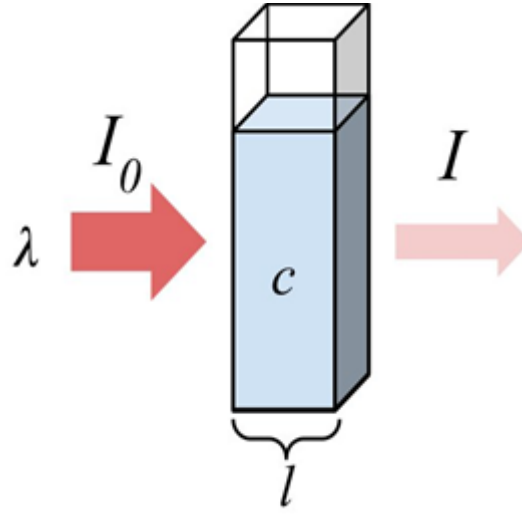
UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi, bir maddenin belirli dalga boylarındaki elektromanyetik radyasyonu (örneğin, ultraviyole ve görünür ışık) absorbe etme yeteneğini inceleyen bir tekniktir. Bu spektroskopik teknik, bir maddenin kimyasal yapısı, konsantrasyonu, çözünürlüğü ve çevresel etkileri hakkında bilgi verir.

Maddenin ışığı absorbe etme yeteneği, madde içindeki elektronların enerji seviyeleri arasındaki geçişlerle ilişkilidir. Bu geçişler, elektronun bir daha yüksek enerji seviyesine çıkması veya daha düşük bir enerji seviyesine inmesi şeklinde olabilir. Bir elektronun enerji seviyesi değiştiğinde, enerji farkıyla uyumlu bir foton (ışık parçacığı) absorbe edilir veya yayılır. Bu absorpsiyon veya yayılma olayı, UV-Vis spektroskopisi tarafından ölçülür.

UV-Vis spektroskopisi, madde tarafından absorbe edilen veya geçirilen ışığın spektrumunu elde etmek için kullanılır. Spektrum, dalga boyu (veya frekans) ve absorpsiyonun yoğunluğu arasındaki ilişkiyi gösterir. Bir maddenin UV-Vis spektrumu, belirli dalga boylarında görülen absorpsiyon piklerinin varlığı veya yokluğu ile karakterizedir. Bu pikler, madde içindeki belirli elektronik geçişlere karşılık gelir.

2.2.2. UV-Vis. Absorpsiyon Spektroskopisinde Işın Absorpsiyonu ve Lambert - Beer Yasası

Lambert-Beer yasası, bir maddenin absorpsiyonunu, madde konsantrasyonu, absorpsiyon yolunun uzunluğu ve maddenin spesifik absorpsiyon katsayısı (ε) arasındaki ilişkiyi ifade eder. Bu yasa, bir madde içeren bir çözeltinin ışığı ne kadar absorbe edeceğini tahmin etmek için kullanılır ve UV-Vis absorpsiyon spektroskopisinde sıkça kullanılan temel bir prensiptir ^[39].



Şekil 2.7: Maddenin ışığı absorplaması.

Lambert - Beer yasası şu şekildedir:

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \times l \times C = A$$

Burada:

A, absorbansı temsil eder. Absorbans, bir maddenin belirli bir dalga boyunda ışığı absorbe etme derecesidir.

I_0 : Işın kaynağından gelen ışın şiddetini ifade eder.

I : Malzemeden çıkan ışının şiddetini ifade eder.

ε : Molar absorpsiyon katsayısını ifade eder.

l : Işının maddenin koyulduğu kabın içinde aldığı yolu ifade eder.

C : Kabın içindeki çözeltinin konsantrasyonunu ifade eder.

Lambert - Beer yasası, absorbans ile konsantrasyon arasındaki doğrusal ilişkiyi ifade eder. Bu ilişki, bir maddenin absorpsiyonunu belirlemek için kullanılır. Ölçülen absorbans değeri, madde konsantrasyonu, absorpsiyon yolunun uzunluğu ve spesifik absorpsiyon katsayısı ile ilişkilendirilir. Bu yasa, UV-Vis spektroskopisi kullanılarak madde konsantrasyonlarının belirlenmesi ve madde içindeki değişikliklerin izlenmesi gibi birçok analitik uygulamada yaygın olarak kullanılır [39].

2.3. Moleküler Floresans Spektroskopisi

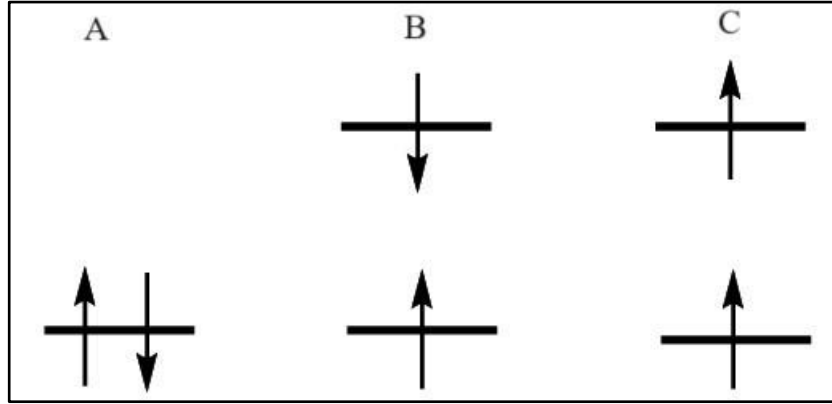
2.3.1. Moleküler Floresans Spektroskopisinin Temel İlkeleri

Moleküler floresans spektroskopisi, moleküllerin ışık absorpsiyonu ve yayılmasını inceleyen bir analiz yöntemidir. Bu teknik, moleküllerin belirli dalga boylarında ışığı absorbe edebilme ve daha uzun dalga boylarında ışık yayabilme özelliğine dayanır. Floresans, moleküllerin enerji düzeyleri arasındaki geçişler sonucunda ortaya çıkar. Moleküler floresans, moleküler fosforesans ve kemilüminesans terimleri, ışık yayma fenomenlerini tanımlar. Moleküler floresans, bir molekülün dışarıdan alınan enerjiyle kısa bir süre için daha yüksek bir enerji seviyesine geçmesi ve daha sonra bu enerjiyi yayarak geri dönmesi sürecidir. Moleküler fosforesans ise, uyarıldıktan sonra enerjiyi daha uzun bir süre boyunca depolayarak yayma özelliğine sahiptir. Floresanstan farklı olarak, fosforesan moleküller uyarıldıktan sonra enerjiyi daha yavaş bir şekilde serbest bırakır ve bu nedenle fosforesanın yaydığı ışık, uyarıcı enerji kaynağı kesildikten sonra bile bir süre devam edebilir. Kemilüminesans ise kimyasal reaksiyonlarda oluşan ışık yaymayı ifade eder.

Moleküler floresans spektroskopisi, bir molekülün ışık absorbe ettiğinde nasıl tepki verdiğini anlamak için kullanılır. Molekül ışığı absorbe ettiğinde, enerjisi artar ve daha yüksek bir enerji seviyesine geçer. Bu durumda, molekülün enerjiyi serbest bırakmak için iki olası yolu vardır. Birinci yol, enerjinin ısı olarak çevreye verilmesidir ve bu durumda molekül ışık yaymaz. İkinci yol ise enerjinin ışık olarak yayılmasıdır. Bu yayılma, floresans (kısa süreli ışık yayma) veya fosforesans (daha uzun süreli ışık yayma) şeklinde olabilir. Bu iki farklı ışık yayma süreci, molekülün enerjiyi nasıl serbest bıraktığını belirler [40].

Moleküler elektronik durumlar, elektronların bir molekülde nasıl dağıldığını ve spin yönelimlerini belirler. Elektronların spin özellikleri, ya "yukarı" ya da "aşağı" yönelimlerine sahip olabilir. Moleküller uyarıldığında, elektronlar iki ana enerji durumundan birinde bulunabilir: singlet veya triplet durumları. Singlet durumda, iki elektronun spin yönelimleri zıt yöndedir; biri "yukarı", diğeri "aşağı" olur. Bu durum, elektronların karşıt spinlere sahip olduğu anlamına gelir. Triplet durumda ise, elektronların spin yönelimleri paraleldir; yani her iki elektron da ya "yukarı" ya da "aşağı" olabilir. Bu paralel spin yönelimleri, elektronların aynı yönü paylaştığı anlamına gelir. Singlet ve triplet durumları, moleküllerin enerjik özelliklerini ve ışık

yayma davranışlarını etkileyerek, moleküllerin kimyasal ve fiziksel özelliklerini belirler [41].



Şekil 2.8: Moleküllerin elektronik durumu A) Başlangıç elektronik durumu (Temel Durum) B) Uyarılmış tekil durum C) Uyarılmış üçlü durum [42].

2.3.2. Moleküler Floresans Spektroskopisi Teknikleri

Moleküler floresans spektroskopisi, moleküllerin floresans özelliklerini inceleyen bir dizi teknik ve yöntemi kapsar. Bu teknikler, moleküler yapıların belirlenmesi, kimyasal reaksiyonların izlenmesi ve biyolojik örneklerin analizinde yaygın olarak kullanılır. Bazı temel moleküler floresans spektroskopisi teknikleri şunlardır:

Fluorimetre: Floresan spektrumunun ölçüldüğü temel cihazdır. Bir örneğe belirli dalga boylarında ışık gönderilir ve örneğin yaydığı floresan ışık algılanır. Bu, molekülün floresans özelliklerini incelemek için kullanılır [43], [44].

Fluorimetrik İzleme: Floresan sinyalinin zaman içinde nasıl değiştiğini izlemek için kullanılır. Bu yöntem, kimyasal reaksiyonların kinetiğini ve dinamiklerini incelemek için yaygın olarak kullanılır [45].

Floresan Ömrü Görüntüleme Mikroskopisi (FLIM): FLIM, floresanın ömrünü ölçmek için kullanılan bir görüntüleme tekniğidir. Bu, hücresel düzeyde floresan sinyallerini incelemek ve hücresel süreçlerin anlaşılmasına yardımcı olmak için kullanılır [46], [47].

Floresan Korelasyon Spektroskopisi (FCS): Bu teknik, bir molekülün çevresel ortamındaki hareketini ve etkileşimlerini incelemek için kullanılır. Tek bir floresan

molekölünün konumunu ve hareketini izleyerek, moleküler etkileşimlerin ve difüzyon süreçlerinin analizine olanak tanır [48], [49].

Zaman Çözünürlüklü Floresans Spektroskopisi (TRFS): Bu yöntem, kısa ömürlü floresan sinyallerini incelemek için kullanılır. Bu teknik, moleküler yapıların dinamiklerini ve etkileşimlerini incelemek için çok güçlü bir araçtır [50], [51].

2.3.3. Moleküler Floresans Biyokimyasal ve Biyomedikal Uygulamaları

Floresans, bir molekülün belirli dalga boylarındaki ışığı emip, daha uzun dalga boylarında yeniden yayma özelliğidir. Bu, molekülün uyarılmış bir enerji seviyesinden temel enerji seviyesine dönerken yaydığı ışıktan kaynaklanır.

2.3.3.1. Biyomedikal Uygulamalar

Floresan Mikroskopisi:

Floresan mikroskopisi, biyolojik örneklerin incelenmesinde yaygın olarak kullanılır. Bu yöntem, hücrelerin ve dokuların yapısal ve fonksiyonel analizinde önemlidir. Floresan boyalar ve proteinler, hücre bileşenlerinin ve nükleik asitlerin yerlerini ve hareketlerini izlemek için kullanılır [52], [53].

Floresan İmmünohistokimya ve Sitokimya:

Floresan İmmünohistokimya (IHK), biyolojik dokularda belirli proteinlerin veya antijenlerin yerini belirlemek amacıyla kullanılan bir tekniktir. Bu yöntemde, floresan boyalarla işaretlenmiş antikorlar kullanılır. Antikorlar, hedef proteinlere veya antijenlere spesifik olarak bağlanır ve bu bağlanma, floresan mikroskop altında görüntülenebilir. Böylece, dokulardaki belirli proteinlerin veya antijenlerin dağılımı ve yoğunluğu tespit edilebilir. Floresan immünohistokimya, kanser araştırmalarında, nörolojik hastalıkların incelenmesinde, inflamasyon çalışmalarında ve birçok hastalığın teşhisi ve araştırılmasında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir.

Sitokimya, hücre içindeki belirli kimyasal bileşenlerin veya enzimlerin yerini ve aktivitesini incelemek için kullanılan bir tekniktir. Bu teknikte, hücrelerdeki belirli yapılarla veya moleküllerle etkileşime giren kimyasal boyalar veya floresan problemler kullanılır. Bu etkileşimler sonucu hücre içindeki belirli bölgeler renklendirilir ve bu bölgeler mikroskop altında incelenir. Sitokimya, hücre biyolojisi araştırmalarında,

enzim aktivitelerinin belirlenmesinde, hücre farklılaşmasının incelenmesinde ve metabolik süreçlerin analizinde önemli bir rol oynar [54].

Hücre İzleme ve Görüntüleme:

Bu teknikte, floresan boyalar veya etiketli probalar kullanılarak canlı hücrelerin dinamik süreçleri incelenir. Floresan mikroskopisi sayesinde, hücre döngüsü, hücre farklılaşması, hücre içi sinyal iletimi ve diğer hücresel aktiviteler detaylı bir şekilde izlenebilir ve görüntülenebilir. Bu yöntem, hücresel süreçlerin zaman içinde nasıl değiştiğini gözlemlemeye olanak tanır ve biyolojik araştırmalar ile hastalıkların anlaşılmasında kritik bilgi sağlar [55].

Moleküler Tanı:

Floresan işaretli probalar ve reaktifler, genetik analizler, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ve dizi analizi gibi moleküler tanı tekniklerinde kullanılır. Bu teknikler, genetik hastalıkların teşhisinde ve genetik varyasyonların belirlenmesinde yaygın olarak kullanılır.

Moleküler floresans, biyokimyasal ve biyomedikal araştırmalarda çeşitli uygulamalara sahip güçlü bir araçtır. Floresans mikroskopisi, hücresel ve moleküler düzeyde yapılan araştırmaları kolaylaştırırken, floresan etiketli reaktifler ve probalar, moleküler tanı ve biyolojik süreçlerin analizi için değerli birer araçtır. Bu teknikler, bilim insanlarına hücresel ve moleküler düzeydeki kompleks süreçleri anlama ve hastalıkların teşhis ve tedavisi üzerine yeni bilgiler elde etme imkânı sunmaktadır [56].

2.4. Biyogörüntüleme

Biyogörüntüleme, canlı organizmalardaki biyolojik süreçleri ve yapıları görsel olarak incelemek için kullanılan bir tekniktir. Bu yöntem, genellikle floresan, radyografik, veya optik teknikler kullanarak, hücrelerin, dokuların ve organların detaylı görüntülerini elde etmeye olanak tanır. Biyogörüntüleme, genetik, biyokimyasal ve fizyolojik olayların izlenmesi, hastalıkların teşhisi, tedavi süreçlerinin değerlendirilmesi ve temel biyolojik araştırmalar için kritik bir araçtır. Bu teknikler sayesinde, biyolojik sistemlerin iç yapısı ve dinamikleri hakkında derinlemesine bilgi edinilebilir.

Bodipy türevleri ise, biyogörüntüleme uygulamalarında kullanılan floresan probalar olarak dikkat çekmektedir. Bodipy bileşikler genel özellikleri sayesinde eklendikleri

hücresel yapıları gözlemlemek ve süreçleri yorumlayabilmek için mükemmel bir kaynaktır. Özellikle, belirli biyomolekülleri tanımlamak ve bu moleküllerin hücre içindeki dinamiklerini ve lokalizasyonunu izlemek için uygundur. BODIPY türevleri, ayrıca iyonlar, pH, reaktif oksijen türleri ve enzimatik aktiviteler gibi farklı analitler için sensör olarak da kullanılabilirler, böylece yaşayan sistemlerde biyokimyasal süreçlerin gerçek zamanlı izlenmesini sağlarlar [57].

2.4.1. Biyogörüntülemenin Temel Prensipleri

Biyogörüntülemenin temel prensipleri, canlı organizmalardaki biyolojik süreçleri ve yapıları görselleştirmek için kullanılan teknolojilere dayanır. İlk prensip, görüntüleme için uygun kontrast ve çözünürlük sağlamaktır. Bu, genellikle floresan veya renkli boyalar, radyoaktif izleyiciler veya ışık mikroskopisi gibi tekniklerle gerçekleştirilir. Bu yöntemler, belirli molekülleri veya hücresel yapıların görünür hale gelmesini sağlayarak, biyolojik sistemlerin detaylı görüntülerinin elde edilmesine yardımcı olur. Bu görüntüleme tekniklerinin seçimi, hedeflenen biyolojik yapıların özelliklerine ve araştırma amacına bağlı olarak değişir [58].

İkinci prensip, biyogörüntüleme tekniklerinin yüksek hassasiyet ve zaman içinde dinamik izleme yeteneğidir. Biyogörüntüleme, canlı hücrelerin ve organizmaların gerçek zamanlı olarak izlenmesini sağlar, böylece biyolojik süreçlerin dinamik değişimleri gözlemlenebilir. Bu teknikler, hücresel aktiviteleri, moleküler etkileşimleri ve biyolojik yanıtları detaylı bir şekilde incelemeye olanak tanır. Bu sayede, biyolojik olaylar hakkında derinlemesine bilgi edinilir ve hastalıkların teşhisinden tedaviye kadar geniş bir uygulama yelpazesi sunar [58].

BODIPY bileşiklerinde biyogörüntüleme temel olarak floresan özelliklerine dayanır. BODIPY bileşikleri, güçlü floresans özellikleri ve fotostabilitesi sayesinde biyogörüntüleme uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Temel olarak, biyogörüntüleme, canlı hücrelerin veya organizmaların içindeki yapıları, süreçleri veya molekülleri görüntülemeyi amaçlar.

BODIPY bileşikleri, floresan ışık absorpsiyonu ve yeniden yayılma yetenekleri ile öne çıkar. Bu bileşikler, uygun dalga boylarında ışık absorbe ederler ve daha uzun dalga boylarında floresan ışık yayarak bu absorpsiyonu algılayıcı cihazlarla (örneğin,

floresan mikroskoplar) tespit edilirler. Bu özellikleri, hücresel yapıları veya hedef molekülleri etiketlemek ve izlemek için idealdir.

BODIPY bileşiklerinin biyogörüntüleme alanındaki kullanımı, belirli hedeflere veya moleküllere özgü bağlanma yetenekleri sayesinde çeşitli uygulamaları kapsar. Örneğin, belirli proteinlerin, nükleik asitlerin veya hücresel yapıların izlenmesi için belirli BODIPY türevleri kullanılabilir. Bu türevler, hedef moleküllere bağlanarak onları hücre içinde veya organizmaların içinde izlenebilir ve görüntülenebilir hale getirir.

Ayrıca, BODIPY bileşikleri farklı floresan özelliklerle tasarlanabilir, böylece farklı uygulamalara uygun olarak dalga boylarında veya floresan verimliliğinde değişiklik yapılabilir. Bu, belirli hedeflere veya uygulamalara daha uygun floresan sinyaller elde etmek için kullanılabilir.

Sonuç olarak, BODIPY bileşikleri, biyogörüntüleme alanında güçlü bir araç olarak kullanılır. Floresan özellikleri ve hedeflenen yapıya bağlanma yetenekleri sayesinde, canlı hücrelerin veya organizmaların içindeki yapıları, süreçleri veya molekülleri görüntülemek için ideal bir seçenektir [58].

2.4.2. Canlı Hücre Biyogörüntüleme Teknikleri

Canlı hücre biyogörüntüleme teknikleri, canlı hücrelerin içindeki yapıları, süreçleri ve etkileşimleri görselleştirmek için kullanılan yöntemlerdir. Bu teknikler, hücrelerin canlılık durumunda ve gerçek zamanlı olarak incelenmesine olanak tanır ve hücrelerin dinamiklerini, işlevlerini ve etkileşimlerini anlamak için önemli bilgiler sağlar [59]. Canlı hücre biyogörüntüleme tekniklerinden bazıları şunlardır:

Floresan Mikroskopi: Floresan mikroskopi, floresan boyalar veya floresan proteinlerle etiketlenmiş hücreleri incelemek için kullanılan temel bir tekniktir. Bu teknik, hücre içinde belirli molekülleri veya yapıları izlemek için genellikle yaygın olarak kullanılır. Canlı hücrelerin içindeki belirli hedefleri hedefleyen floresan etiketler, mikroskop altında görselleştirilir [60].

Konfokal Mikroskopi: Konfokal mikroskopi, örnek üzerindeki ışığı odaklayarak yalnızca belirli bir odak düzlemine düşürerek optik kesitte yüksek çözünürlüklü görüntüler elde etmeyi sağlar. Bu, özellikle kalın örneklerin içindeki belirli yapıları görselleştirmek için çok yönlü bir tekniktir [61].

İki Foton Mikroskopisi: İki foton mikroskopisi, düşük enerjili kızılötesi ışık kullanarak örneklerin içine derinlemesine nüfuz edebilir. Bu teknik, derin dokuların veya kalın örneklerin içindeki yapıları incelemek için uygundur ve hücrel etkileşimleri gerçek zamanlı olarak izlemeyi sağlar [62].

Floresans Rezonans Enerji Transferi (FRET): FRET, bir floresan molekülünün başka bir floresan molekülüne enerji transfer etmesi prensibine dayanır. Bu, protein etkileşimleri, hücrel sinyal iletimi ve protein konformasyon değişiklikleri gibi hücrel süreçleri incelemek için güçlü bir tekniktir [63].

İşlevsel Görüntüleme, hücre içindeki biyokimyasal ve fizyolojik süreçlerin işlevsel özelliklerini belirlemek için kullanılan bir dizi tekniktir. Bu yöntemler, hücrelerin canlılık ve işlevlerini değerlendirmek amacıyla çeşitli biyomoleküler değişkenleri ölçer. Örneğin, kalsiyum görüntüleme tekniği, hücrelerdeki kalsiyum iyonlarının konsantrasyonunu izleyerek, kalsiyumun hücrel sinyal iletimi ve diğer işlevlerdeki rolünü değerlendirir. Diğer işlevsel görüntüleme teknikleri arasında pH ölçümleri, hücre içindeki pH seviyelerini izleyerek asit-baz dengesi ve metabolik süreçleri analiz eder; redoks reaksiyonları ise hücredeki indirgeme-oksidasyon reaksiyonlarını takip ederek enerji üretimi ve biyokimyasal süreçler hakkında bilgi sağlar. Hücrel oksijen tüketimi tekniği ise hücrelerin oksijen kullanımını ölçerek metabolizma ve enerji üretim süreçlerini değerlendirir. Bu teknikler, hücrel işlevlerin ve sinyal yollarının anlaşılmasını sağlayarak biyomedikal araştırmalarda önemli bilgiler sunar [64].

2.4.3.Biyogörüntüleme Yöntemlerinin Yapısı

Biyogörüntüleme yöntemlerinin yapıları, genellikle kullanılan teknolojiye ve görüntüleme hedefine bağlı olarak değişir [65]. Ancak, birçok biyogörüntüleme yöntemi benzer temel yapıya sahiptir:

Işık Kaynağı: Biyogörüntüleme yöntemleri genellikle bir ışık kaynağı kullanır. Bu ışık kaynağı, genellikle floresan mikroskopi gibi floresan etiketli örneklerde kullanılan lazer veya LED'ler olabilir. Konvansiyonel mikroskopi tekniklerinde ise genellikle beyaz ışık kaynakları kullanılır [65].

Örnek Hazırlama: Örnek hazırlama adımı, örneğin uygun bir şekilde temizlenmesi, sabitlenmesi ve floresan etiketlerle işlenmesi gibi işlemleri içerir. Bu adım,

görüntüleme kalitesini artırmak ve istenen hücresel yapıları vurgulamak için önemlidir [65].

Optik Sistem: Optik sistem, ışığı örneğe ulaştıran ve örneğin yaydığı ışığı toplayan bileşenlerden oluşur. Bu sistem, lensten, aynadan ve filtrelerden oluşabilir. Konfokal mikroskopide olduğu gibi bazı tekniklerde, örneğin belirli bir düzlemde yüksek çözünürlüklü görüntüler elde etmek için bir tarama sistemi de içerebilir [65].

Algılama Sistemi: Algılama sistemi, örneğin yaydığı floresan ışığı veya yansıyan ışığı toplar ve görüntüleme cihazına ileterek işlenmesini sağlar. Bu sistem, fotodiyotlar, fotomultiplikator tüpleri (PMT'ler) veya CCD kameralar gibi algılama bileşenlerini içerebilir [65].

Görüntü İşleme Yazılımı: Elde edilen görüntüler, görüntü işleme yazılımı kullanılarak işlenir ve analiz edilir. Bu yazılımlar, görüntüleri iyileştirmek, renk düzeltmesi yapmak, hücresel özellikleri ölçmek ve hücre morfolojisini analiz etmek için kullanılır [65], [66].

2.4.4. BODIPY'nin Biyogörüntüleme Alanındaki Kullanımı

BODIPY (bor-dipirrometen) bir organik boya molekülüdür ve biyogörüntüleme alanında çeşitli uygulamalara sahiptir. BODIPY'nin biyogörüntüleme alanındaki bazı kullanımları:

Hücre Etiketleme: BODIPY, hücrelerdeki belirli bileşenleri veya yapıları etiketlemek için kullanılabilir. BODIPY'nin hücre zarını veya hücre içi organel membranlarını hedeflemek için kullanıldığı çalışmalar mevcuttur [67].

Canlı Hücre İzleme: BODIPY'nin floresan özelliği, canlı hücrelerde dinamik süreçleri izlemek için kullanılmasını sağlar. Örneğin, hücre içindeki lipid damlacıklarının oluşumu ve hareketi gibi süreçler BODIPY ile etiketlenerek izlenir [68].

Hücre İçi İzleme: BODIPY, hücre içindeki belirli moleküllerin ve yapıların izlenmesinde de kullanılabilir. Örneğin, hücre içindeki kalsiyum, pH veya reaktif oksijen türleri gibi işlevsel parametrelerin izlenmesinde BODIPY bazlı floresan sensörler kullanılır [69].

Hücresel Görüntüleme: BODIPY bileşikleri, mikroskop altında hücrelerin görüntülenmesinde kullanılır. Floresan mikroskopi ve konfokal mikroskopi gibi

teknikler, BODIPY etiketli hücrelerin morfolojisini ve floresan özelliklerini görüntülemeye kullanılır [60], [61].

Hücresel Etiketleme ve İzleme: BODIPY, hücre içi proteinlerin etiketlenmesi ve izlenmesi için de kullanılabilir. Örneğin, hücre içi protein taşıyıcılarını veya hücre sinyallemede rol oynayan proteinleri etiketlemek için BODIPY konjuge edilmiş antikorlar kullanılabilir [70].

2.4.5. BODIPY Etiketleme Teknikleri

BODIPY, biyogörüntüleme ve biyomedikal araştırmalarda sıkça kullanılan bir floresan boya molekülüdür. Hücrelerde belirli bileşenleri veya yapıları etiketlemek için kullanılan çeşitli teknikler vardır ve BODIPY bileşikleriyle etiketleme de bu tekniklerden biri olarak kullanılabilir.^[71] BODIPY ile etiketleme tekniklerinden bazıları:

Direkt Kimyasal Bağlanma: BODIPY, hedeflenen moleküllerle doğrudan kimyasal olarak bağlanabilir. Örneğin, hedef molekül üzerindeki amino veya tiyol gruplarına reaktif bir BODIPY türevi eklenerek etiketleme gerçekleştirilebilir [71].

Antikor Etiketlemesi: BODIPY, hedeflenen protein veya moleküllerin üzerine bağlanabilen antikorlarla konjuge edilebilir. Bu yöntem, spesifik proteinleri veya hücre yüzeyindeki belirli yapıları etiketlemek için yaygın olarak kullanılır [72].

Streptavidin-Biotin Bağlanması: Streptavidin, biyotin ile son derece güçlü bir bağ oluşturan bir protein olduğundan, BODIPY'ye biyotin eklenerek hedeflenen molekülleri etiketlemek için streptavidin-BODIPY kompleksleri oluşturulabilir [73].

Genetik Yöntemler: BODIPY, genetik mühendislik teknikleri kullanılarak belirli proteinlere genetik olarak bağlanabilir. Örneğin, hedef proteinin genetik kodu BODIPY kodlayıcı bir dizilimle birleştirilebilir ve hücrelerde hedef proteini doğrudan etiketlemek için kullanılabilir [74].

Bu teknikler, hedeflenen molekül veya yapıya bağlı olarak çeşitli seçenekler sunar ve araştırmacılara hücre içi süreçleri veya hücre yüzeyindeki belirli yapıları etiketleme ve izleme konusunda esneklik sağlar. BODIPY'nin çeşitli etiketleme teknikleri, biyomedikal araştırmalarda hücresel düzeyde detaylı çalışmalar yapmak için önemli bir araçtır.

2.4.6. Hücre İçi Görüntüleme İçin BODIPY Uygulamaları

BODIPY, intrasellüler görüntüleme için yaygın olarak kullanılan bir floresan boya molekülüdür. İşte BODIPY'nin intrasellüler görüntüleme alanındaki bazı uygulamaları:

Hücre İçi İzleme: BODIPY, hücre içindeki belirli bileşenlerin veya yapıların izlenmesinde yaygın olarak kullanılır. Örneğin, hücre içindeki lipid damlalarının dinamiklerini, dağılımını ve metabolizmasını incelemek için BODIPY ile etiketlenmiş yağ asitleri veya yağ damlacıkları kullanılabilir [75].

Endozom ve Lizozom İzleme: Hücre içi sindirim ve atık işlemleri, endozomlar ve lizozomlar gibi hücre içi organel ve yapılar üzerinde gerçekleşir. BODIPY, bu organel ve yapıların izlenmesi için kullanılabilir ve hücre içi sindirim süreçlerinin anlaşılmasına katkıda bulunabilir [76].

İyon ve Sinyal Molekülleri İzleme: Hücre içi kalsiyum veya diğer iyonların dinamiklerini izlemek, hücre içi sinyal iletiminin anlaşılması için önemlidir. BODIPY, bu tür iyonlarla etkileşime girebilen floresan sensörler veya indikatörler olarak kullanılabilir ve hücre içi sinyal dinamiklerini incelemek için kullanılabilir [77].

Hücre İçi Protein Etkileşimlerinin İzlenmesi: BODIPY, belirli proteinlerin hücre içindeki etkileşimlerini izlemek için de kullanılabilir. Örneğin, belirli proteinlerin lokalizasyonunu veya bir araya gelme dinamiklerini incelemek için BODIPY ile etiketlenmiş proteinler kullanılabilir [78].

Hücre İçi Kompartmanların İzlenmesi: Hücre içindeki çeşitli kompartmanların (örneğin, çekirdek, mitokondri, endoplazmik retikulum) izlenmesi, hücre içi yapıların organizasyonunu ve işlevini anlamak için önemlidir. BODIPY, bu tür kompartmanları etiketlemek ve izlemek için kullanılabilir [78].

Bu uygulamaların hepsi, BODIPY'nin hücre içi yapıların ve süreçlerin dinamiklerini incelemek için güçlü bir araç olarak değerlendirilmesini sağlar [79].

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Deney Süresince Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.1: Deney süresince kullanılan cihazlar.

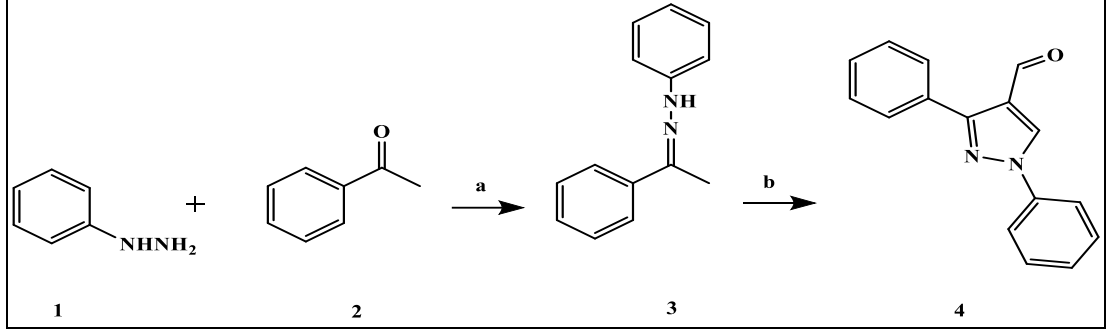
Cihaz Adı	Marka	Model	Bulunduğu Alan
Kütle Spektrometresi	Bruker	Microflex LT MALDI-TOF MS	GTU
UV-Visible (UV-Vis) Spektrometresi	Schimadzu	2001 UV Pc	GTU
Floresans Spektrometresi	Varian	Cary Eclipse	GTU
Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektrometresi	Varian	500 MHz	GTU
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi	Perkin Elmer	Spektrum 100	GTU
Multiscan GO	Thermo Scientific	-	SBÜ-ABD
FLoid Hücre Görüntüleme İstasyonu	Thermo Scientific	-	SBÜ-ABD

3.2. Deney Süresince Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tüm deneylerin çalışılmasından önce yeni tip BODIPY bileşiklerinin sentezinde kullanılacak ve Absorpsiyon ve floresans ölçümlerimizde de kullanacağımız tüm çözücüler analitik saflık standartlarına uygun olarak satın alındı. Bu kimyasallar etil asetat(EA), dimetilsülfoksit(DMSO), 1,4-dioksan, diklorometan(DCM), aseton, tetrahidrofuran(THF), asetonitril, benzen, etanol, kloroform, sikloheksan, toluen'dir.

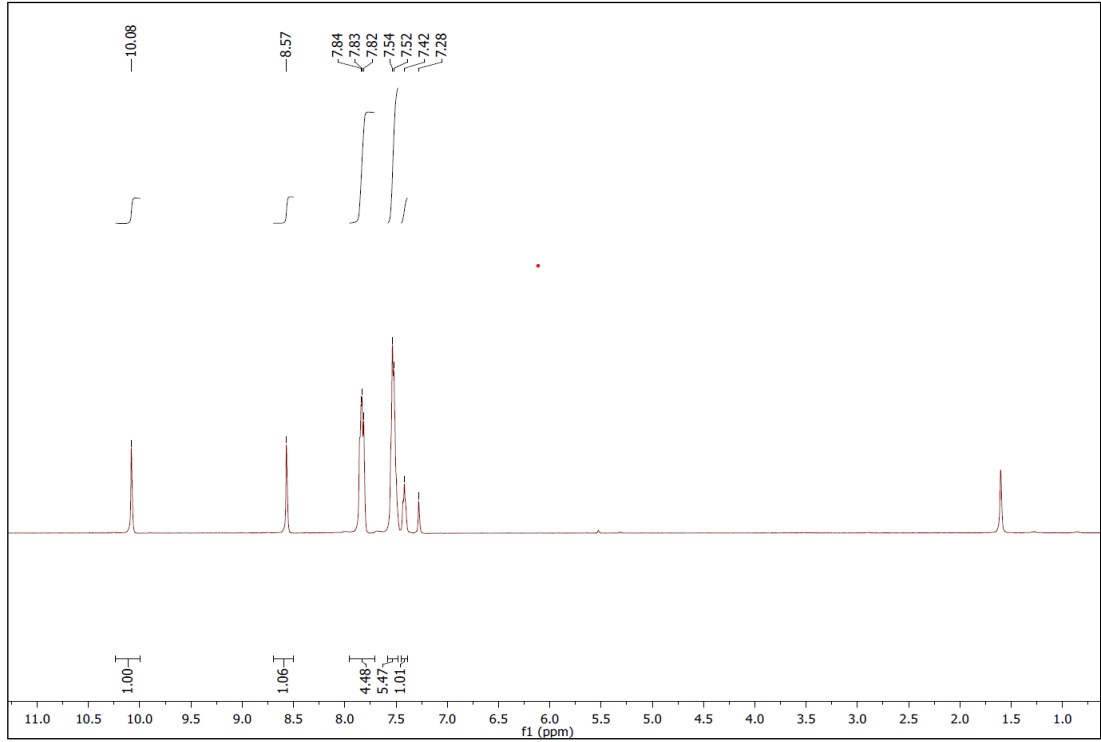
3.3. BODIPY Bileşiklerinin Sentez ve Karakterizasyon Çalışmaları

3.3.1. 4 Numaralı Bileşiğin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu



Şekil 3.1: 4 Numaralı bileşiğin sentezlenmesi reaktifler ve koşullar: a) EtOH, HOAc, geri soğutucuda 3 saat, b) POCl₃, DMF, 80 °C, 6 saat.

Uygun asetofenon (2) 'nin (1 eşdeğer) etanol (20 ml) içindeki çözeltisine glasiyel asetik asit varlığında fenilhidrazin (1) (1 eşdeğer) eklenmiş ve karışım 3 saat boyunca geri soğutucu düzenek altında ısıtılmıştır. Oluşan çökelti süzüldü ve ardından 10 ml seyreltilmiş HCl ile yıkanmış, sonrasında 20 ml soğuk %95 etanol ile yıkanmıştır. 5 ml Dimetilformamid ile buzlu su banyosunda soğutulmuş fosforil klorür (2 eşdeğer veya fazla) ile işlenmiş ve 20 dakika boyunca karıştırılmıştır. Bu çözelti daha sonra uygun 3-(Fenilhidrazino) propenon'un (1 eşdeğer) 5 ml dimetilformamid içindeki çözeltisine damla damla eklenip 80 °C sıcaklıkta 6 saat boyunca karıştırılmıştır. Soğutma işleminden sonra çökelti filtrelenmiş, su ile yıkanmış ve kurutularak istenen 1,3_Difenilpirazol (4) elde edilmiştir.



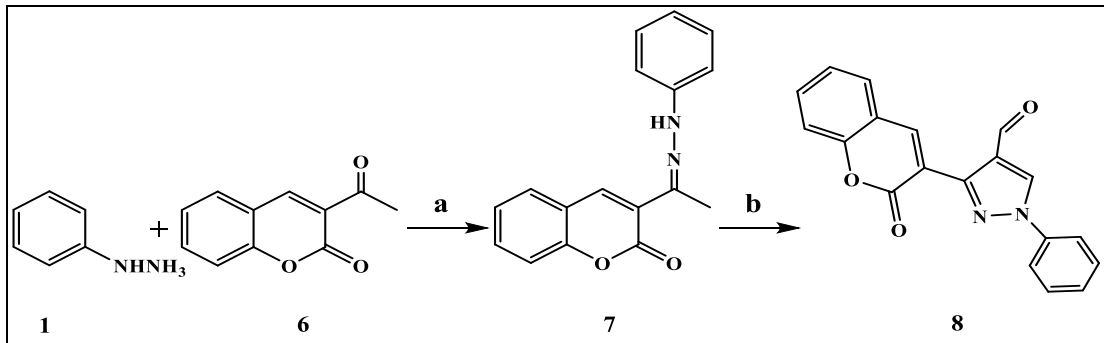
Şekil 3.2: 4 Numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrum grafiği.

4 numaralı bileşik literatüre göre sentezlenmiştir.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.09 (s, 1H, CHO), 8.58 (s, 1H, ArH), 7.84 (dd, $J = 12.6, 8.0$ Hz, 4H, ArH), 7.53 (dt, $J = 7.2, 5.8$ Hz, 5H, ArH), 7.42 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH).

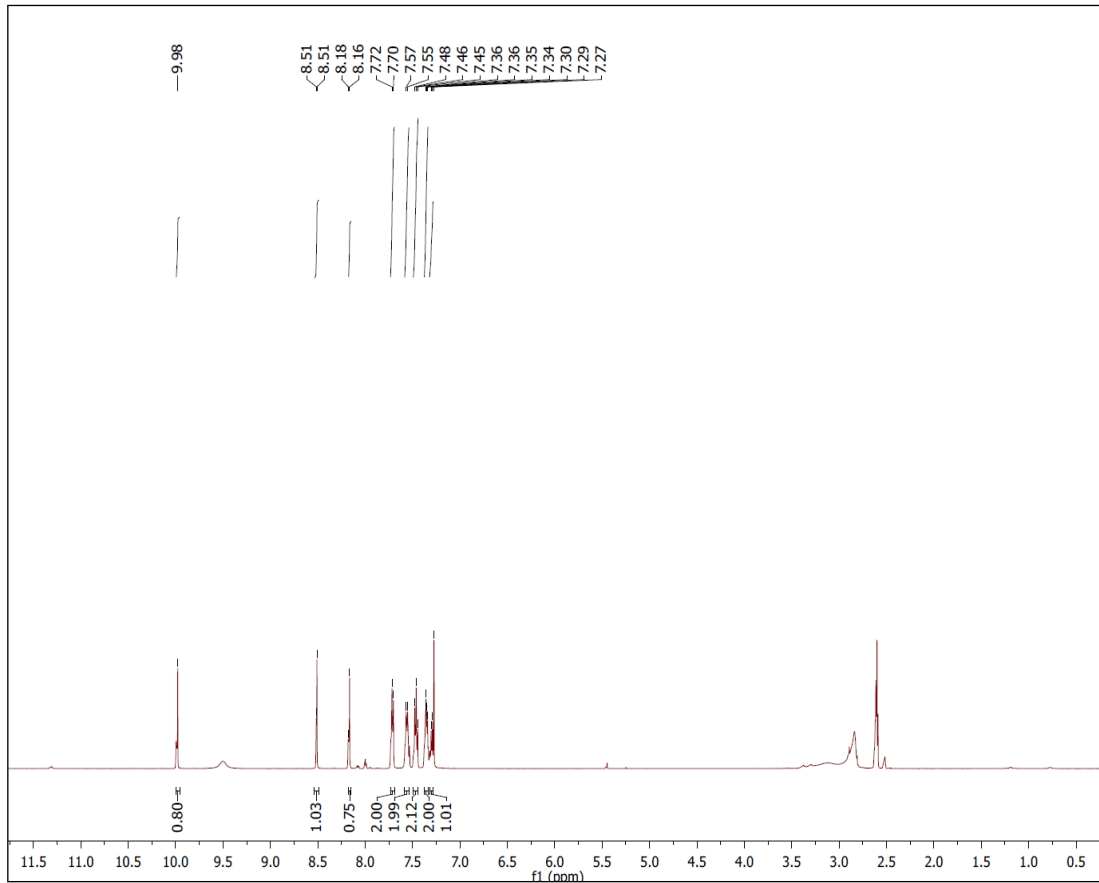
^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 185.25 (CHO), 154.85, 139.05, 131.35, 130.93, 129.71, 129.32, 128.99, 128.79, 128.00, 122.54, 119.79.

3.3.2. 8 Numaralı Bileşiğin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu



Şekil 3.3: 8 Numaralı bileşiğin sentezlenmesi reaktifler ve koşullar: a) EtOH, HOAc, geri soğutucuda 3 saat, b) POCl_3 , DMF, 80°C , 6 saat.

Uygun asetil kumarin (6)'nın (1 eşdeğer) 20 ml etanol çözeltisine glasiyel asetik asit varlığında fenilhidrazin 1 (1 eşdeğer) eklenmiş ve karışım 3 saat boyunca kaynama noktasında ısıtılmıştır. Oluşan çökelti filtrelenmiş ve 10 ml seyreltik HCl ile yıkanmış, ardından 20 ml soğuk %95 etanol ile yıkanmıştır. Ürün, etanol içinde yeniden kristalleştirilerek istenen hidrazin (7)'yi sarı kristal olarak vermiştir. 5 ml Dimetilformamid buzlu su banyosunda soğutulmuş, fosforil klorür (2 eşdeğer veya fazla) ile işlenmiş ve 20 dakika boyunca karıştırılmıştır. Bu çözelti daha sonra uygun indol (1 eşdeğer) çözeltisine 5 ml dimetilformamid içinde karıştırılarak 80 °C sıcaklıkta 6 saat boyunca karıştırılmıştır. Soğutma işleminden sonra çökelti filtrelenmiş, su ile yıkanmış ve kurutularak istenen formil indol (8) elde edilmiştir.

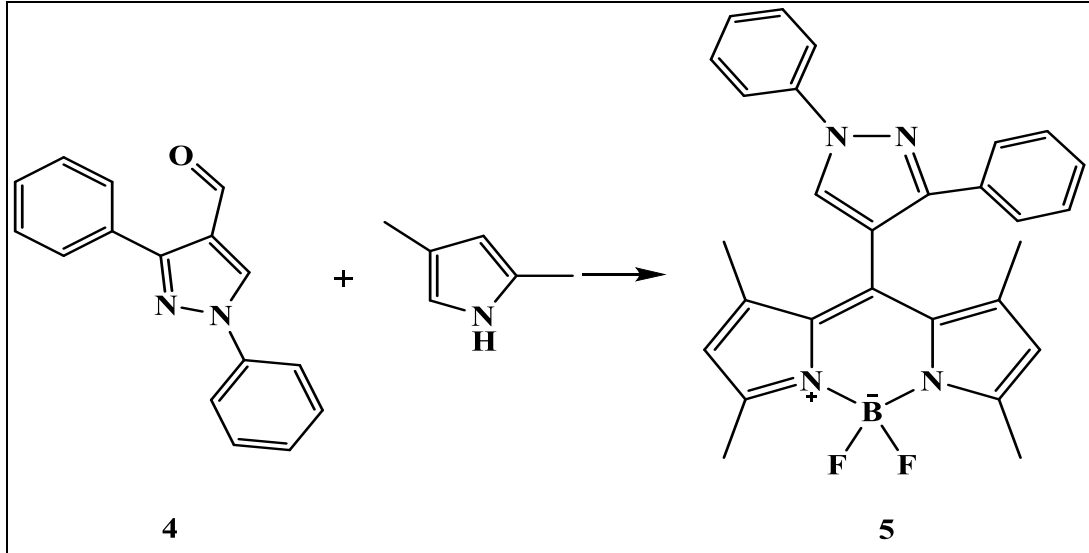


Şekil 3.4: 8 Numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrum grafiği.

8 Numaralı bileşik literatüre göre sentezlenmiştir.

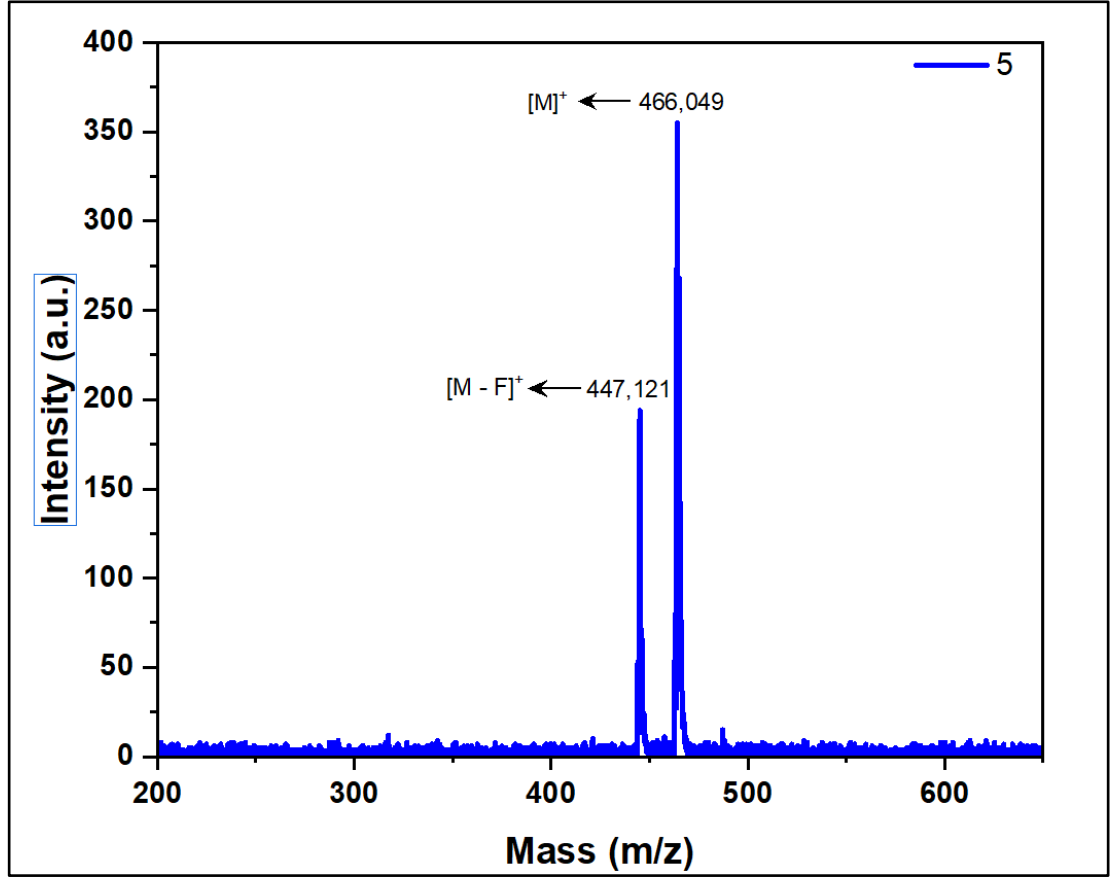
^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9.98 (s, 1H, CHO), 8.51 (s, 1H, ArH), 8.17 (s, 1H, ArH), 7.71 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, ArH), 7.56 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H, ArH), 7.46 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H, ArH), 7.41-7.34 (m, 2H, arH), 7.30 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH).

3.3.3. 4 Numaralı Bileşikten 5 Numaralı Bileşiğin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu



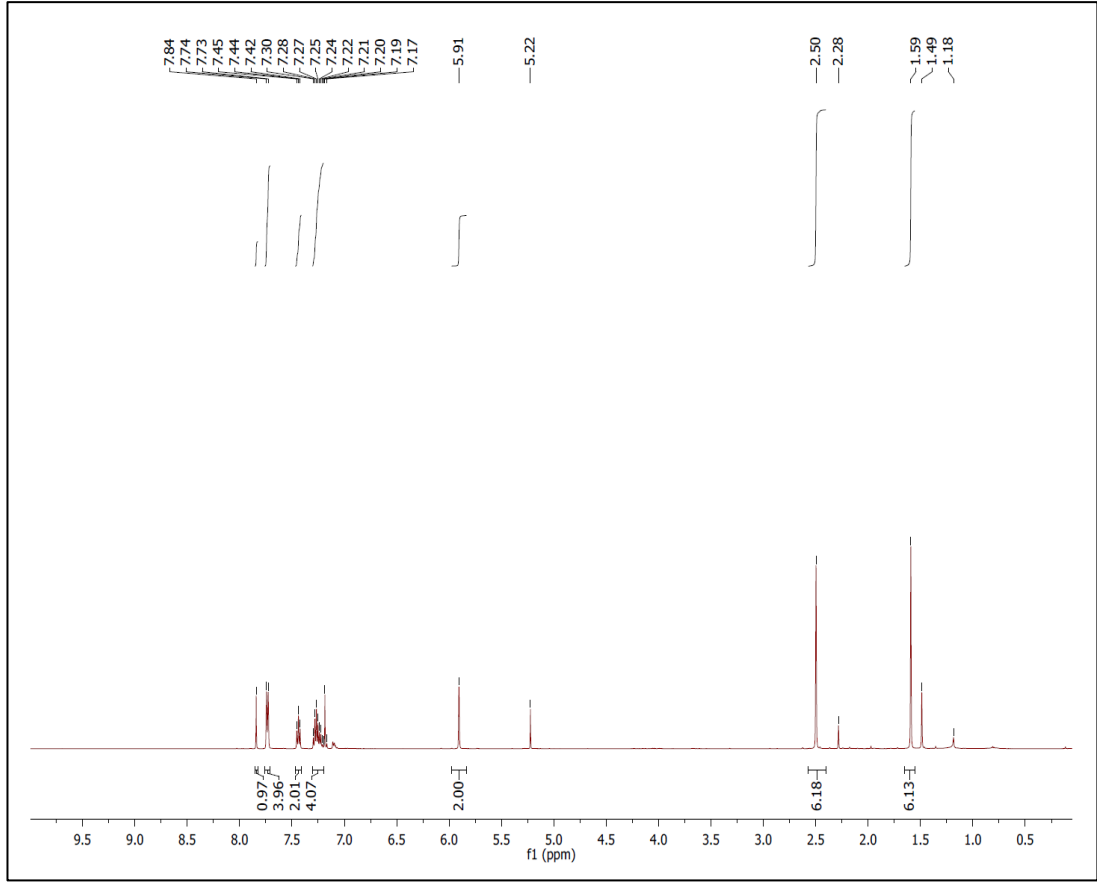
Şekil 3.5: 5 Numaralı bileşiğin sentez şeması.

3 boyunlu 500 ml’lik balona 300 ml Diklorometan (DCM) koyularak manyetik karıştırıcı ısıtıcı üzerine alındı. 15 dakika argon gazına maruz bırakıldı. Argon gazı verilmeye devam ederken 200 mg 4 numaralı bileşik (0,806 mmol) ve 184 µl (1,77mmol) 2,4-dimetil-pirol eklendi. Solüsyon sarımtırak bir renk aldı. Daha sonra 2-3 damla Trifloroasetik asit (TFA) eklendi. Solüsyonun rengi koyulaştı. Manyetik karıştırıcıda karışım 17 saat karıştırıldı. Sonrasında p-kloroanil 192,2 mg (0,806 mmol) eklendi. 30 dakika sonrasında rengi iyice koyulaşan solüsyona trietilamin (Et₃N) 5,5 – 6 ml eklendi. 30 dakika boyunca karıştırılarak bortriflorür dietil eterden (BF₃.Et₂O) 5,5 ml eklendi. 2,5 saat sonra TLC (Thin Layer Chromatography) bakılarak sonucun uygunluğuna karar verdikten sonrasında reaksiyon sonlandırıldı. Evaporatör cihazı ile solvent uçuruldu. Saflaştırma için kolon sistemi kuruldu. Kurulan kolon sisteminde ilk kolon sistemi tamamıyla DCM ile yürütülürken, saflaştırmanın ikinci adımında kolon sisteminde 2:1 oranında DCM:Hekzan kullanılarak ürünümüz saflaştırılmıştır.



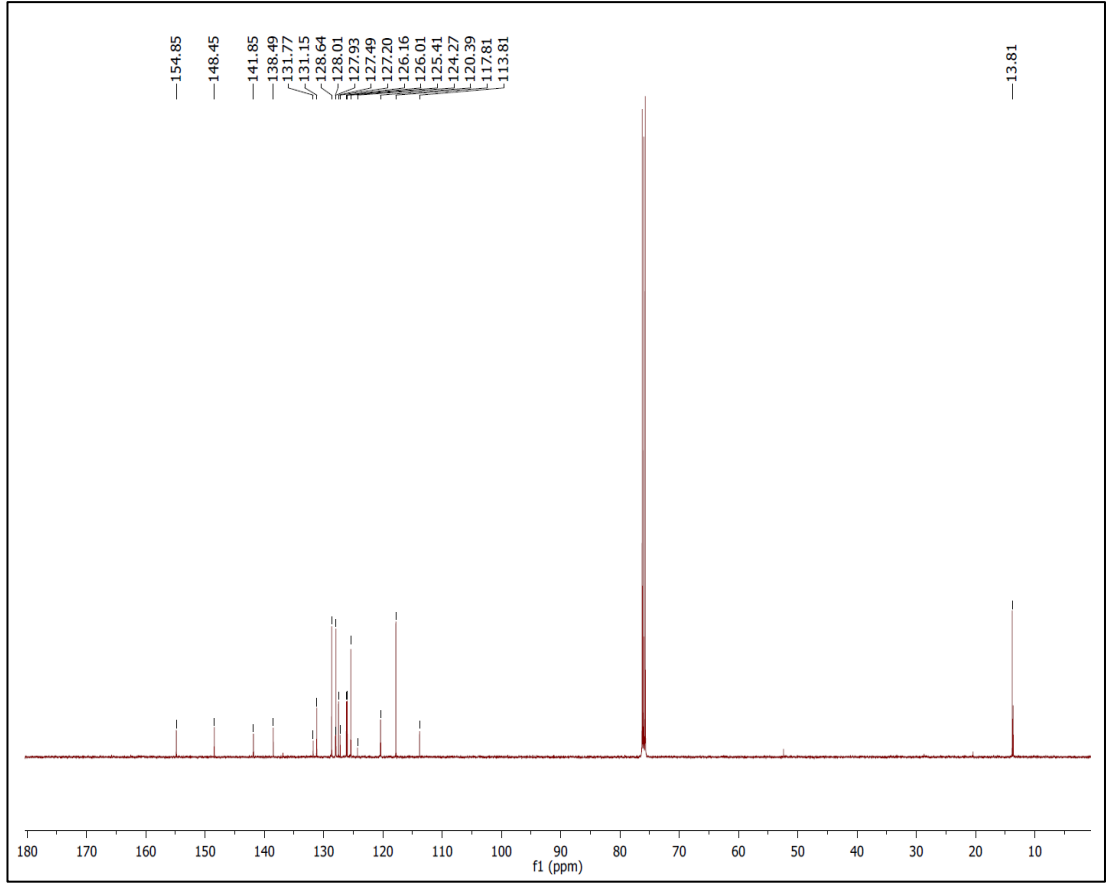
Şekil 3.6: 5 Numaralı bileşiğin kütle spektrumu.

Spektrumdaki ana iyon, 466,049 m/z kütle/yük oranına sahiptir. Bu, moleküler iyonun $[M]^+$ kütle/yük oranıdır. Moleküler iyon, orijinal molekülün bir elektron kaybetmesiyle oluşur. Moleküler iyonun kütle/yük oranı bilinirse, molekülün kütlesini hesaplamak mümkündür. Bu durumda, molekülün kütlesi 466,049 Da'dur (dalton). Sentez esnasında hesaplanan molekül kütlesi ile cihazda okunan değer birbirine denktir. Dolayısı ile sentezin başarı ile gerçekleştiği görülmektedir. Grafikte $[M-F]^+$ iyonu ise molekülün bir Flor (F) atomu kaybetmesiyle oluşmuştur. Molekül kütlesi 447,121 Dalton (Da) olarak ölçülmüştür. Bu numunede Flor atomu içerdiğini göstermektedir.



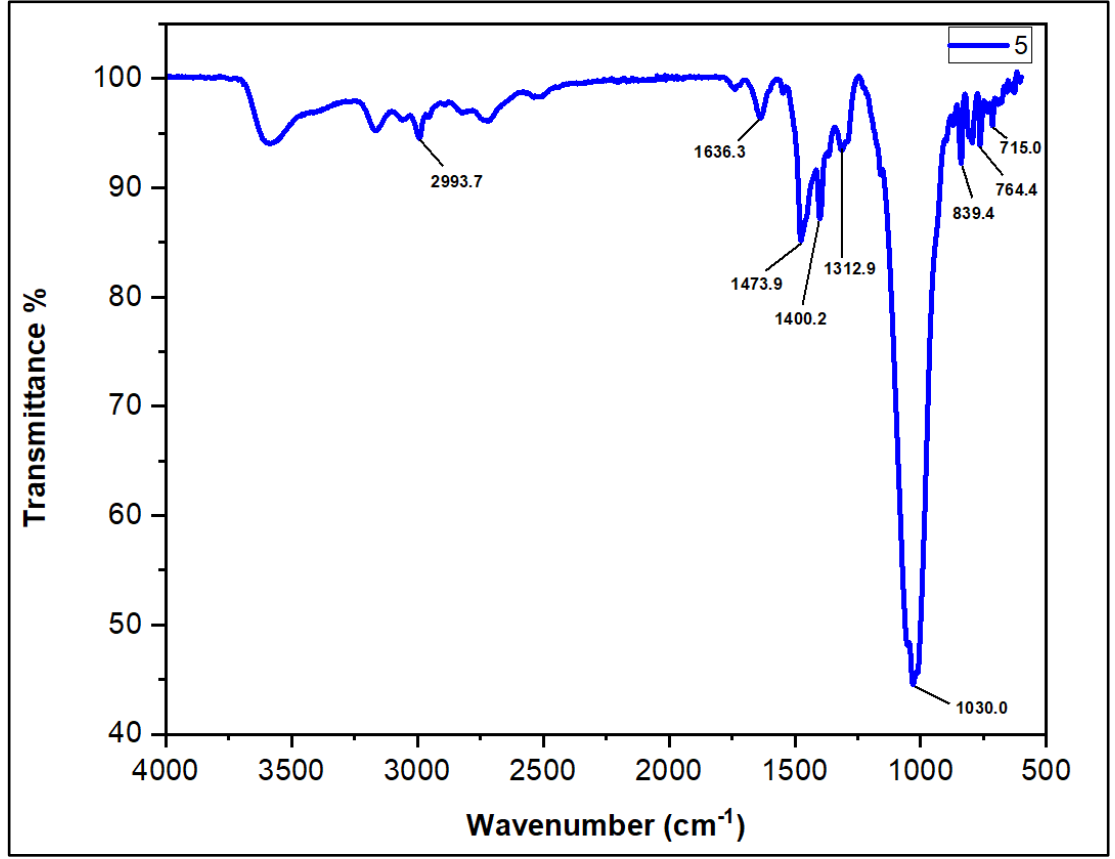
Şekil 3.7: 5 Numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumu.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.84 (s, 1H, ArH), 7.74 (d, $J = 8.2$ Hz, 4H, ArH), 7.44 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.30-7.20 (m, 4H, ArH), 5.91 (s, 2H, ArH), 2.50 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3$), 1.59 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3$).



Şekil 3.8: 5 Numaralı bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu.

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 154.85, 148.45, 141.85, 138.49, 131.77, 131.15, 128.64, 127.97, 127.49, 127.20, 126.08, 125.41, 124.27, 120.39, 117.81, 113.81 (ArC), 13.81 (CH_3),



Şekil 3.9: 5 Numaralı bileşiğin FT-IR spektrumu.

2993.7 cm^{-1} : Bu pik, C-H streçleme titreşimlerine işaret eder. Aromatik ve alifatik C-H bağları bu bölgede titreşir. Bileşik yapısında aromatik halkalar bulunduğundan, bu pik aromatik C-H streçlemesini gösterir.

1636.8 cm^{-1} : Bu bölge, C=N veya C=C streçleme titreşimlerine işaret eder. Bileşikte hem imidazol halkaları hem de aromatik halkalar bulunduğundan, bu pik C=N streçlemesine işaret eder.

1473.9 cm^{-1} ve 1400.2 cm^{-1} : Bu bölgeler, genellikle aromatik C=C streçlemeleri ve CH bükülme titreşimleriyle ilişkilidir. Bileşik yapısında aromatik halkalar bulunduğundan, bu pikler aromatik C=C streçlemeleriyle ilişkilendirilebilir.

1312.9 cm^{-1} : Bu bölge, genellikle CN streçlemesi veya CH bükülme titreşimleriyle ilişkilidir. İmidazol halkaları CN bağları içerdiğinden, bu pik CN streçlemesine işaret edebilir.

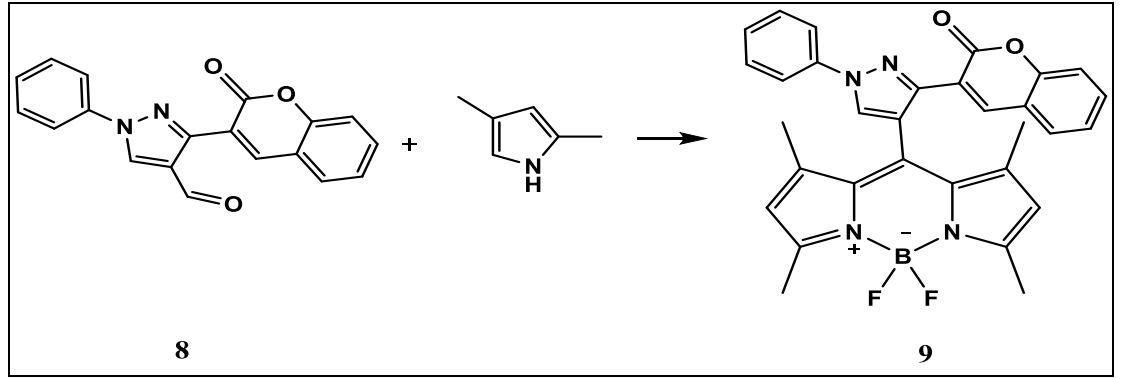
1030.0 cm^{-1} : Bu pik, B-F streçleme titreşimlerine işaret eder. Bileşikte bor atomuna bağlı flor atomları bulunduğundan, bu pik B-F streçlemesini gösterir.

839.4 cm^{-1} ve 764.4 cm^{-1} : Bu bölgeler, genellikle aromatik CH bükülme titreşimleriyle ilişkilidir. Aromatik halkaların varlığı bu piklerle örtüşür.

715.0 cm^{-1} : Bu pik, genellikle aromatik CH bükülme titreşimlerine işaret eder. Aromatik halkaların varlığı bu pikle de örtüşür.

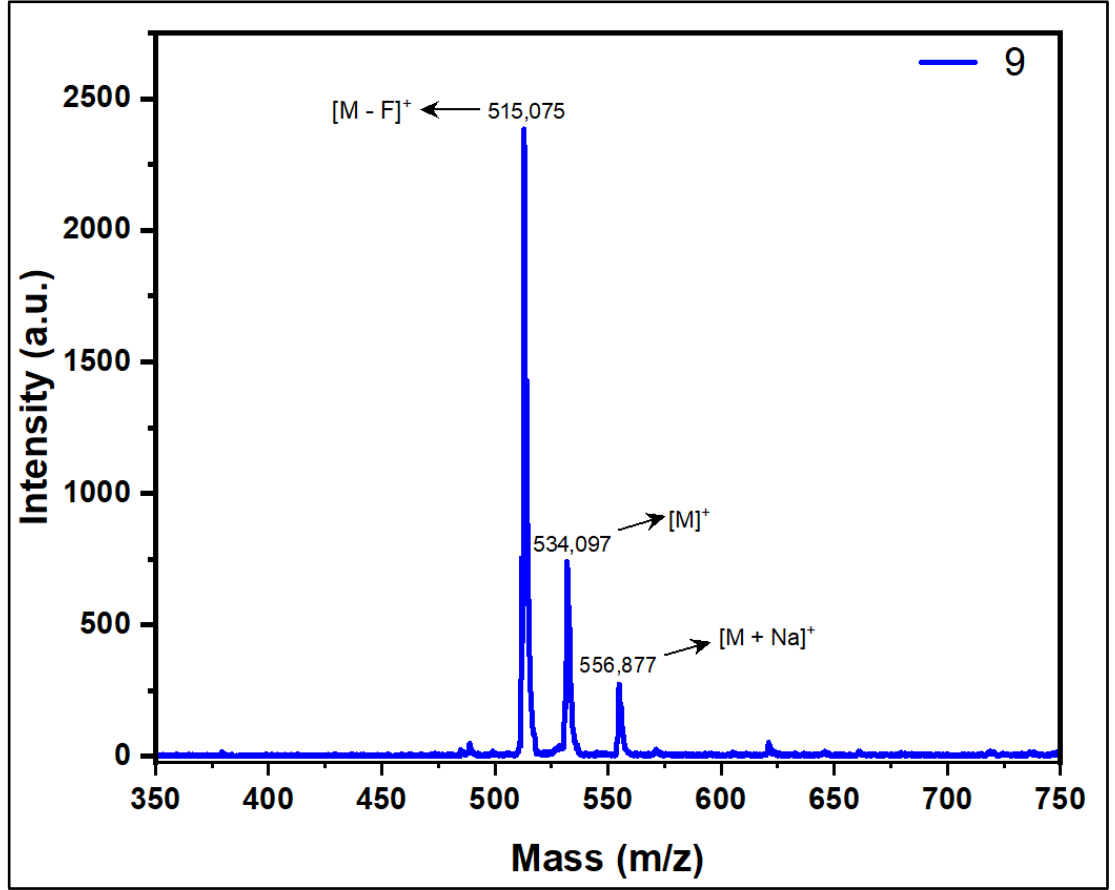
Yukarıdaki pikler, bileşiğin kimyasal yapısıyla uyumludur. Özellikle B-F, C=N, aromatik C-H ve NH streçlemeleri bileşiğin FTIR spektrumunda gözlemlenebilir. Bu nedenle, verilen FTIR spektrumu bileşiğin yapısal özelliklerini doğrulamaktadır.

3.3.4. 8 Numaralı Bileşikten 9 Numaralı Bileşiğin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu



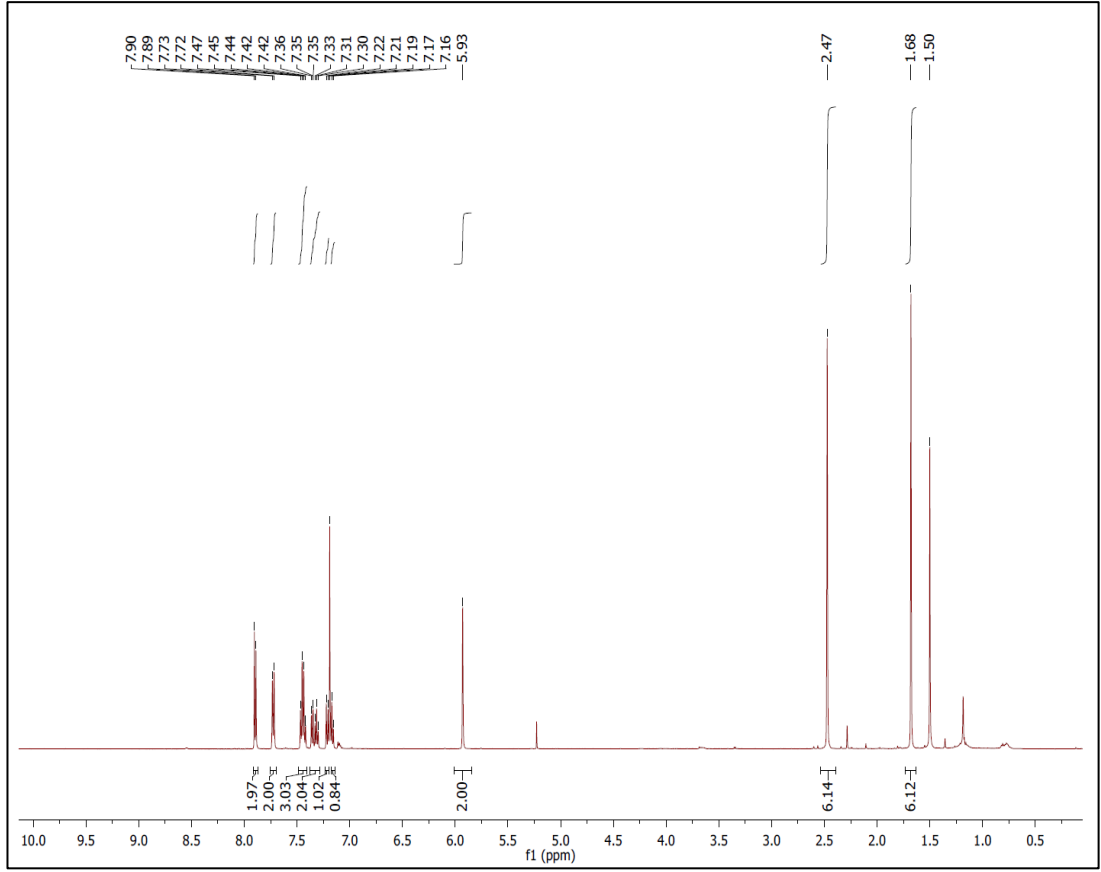
Şekil 3.10: 9 Numaralı bileşiğin sentez şeması.

3 boyunlu 500 ml'lik balona 250 ml Diklorometan (DCM) koyularak manyetik karıştırıcılı ısıtıcı üzerine alındı. 15 dakika argon gazına maruz bırakıldı. Argon gazı verilmeye devam ederken 200 mg 8 numaralı maddemizden (0,635) mmol ve 145 μl 2,4-dimetil-pirol eklendi. Ardından 2 damla TFA eklendi. Çözeltinin rengi sarımtırak oldu. Çözelti 17 saat karıştırıldıktan sonra p-kloroanil (0,635 mmol) eklendi. Çözeltinin rengi daha da koyulaştı ve 30 dakika sonra trietilamin (Et_3N) 'den 5 ml eklendi. 30 dakika sonra bortriflorür dietil eter ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) 5 ml eklendi. Çözeltide dumanlanma gözlemlendi. TLC ile kontrol edilerek yaklaşık 3 saat sonrasında reaksiyon sonlandırıldı. Saflaştırma basamağında DCM : Hekzan karışımının kolon sisteminde Bodipy bileşiklerini yürütmediği TLC bakılarak tespit edildi. İkinci kurulan kolon sisteminde 1 : 99 oranında MeOH : DCM yürütücü fazımızla kolonda bodipy bileşikler yürütülmüş ve ürünümüz saflaştırılmıştır.



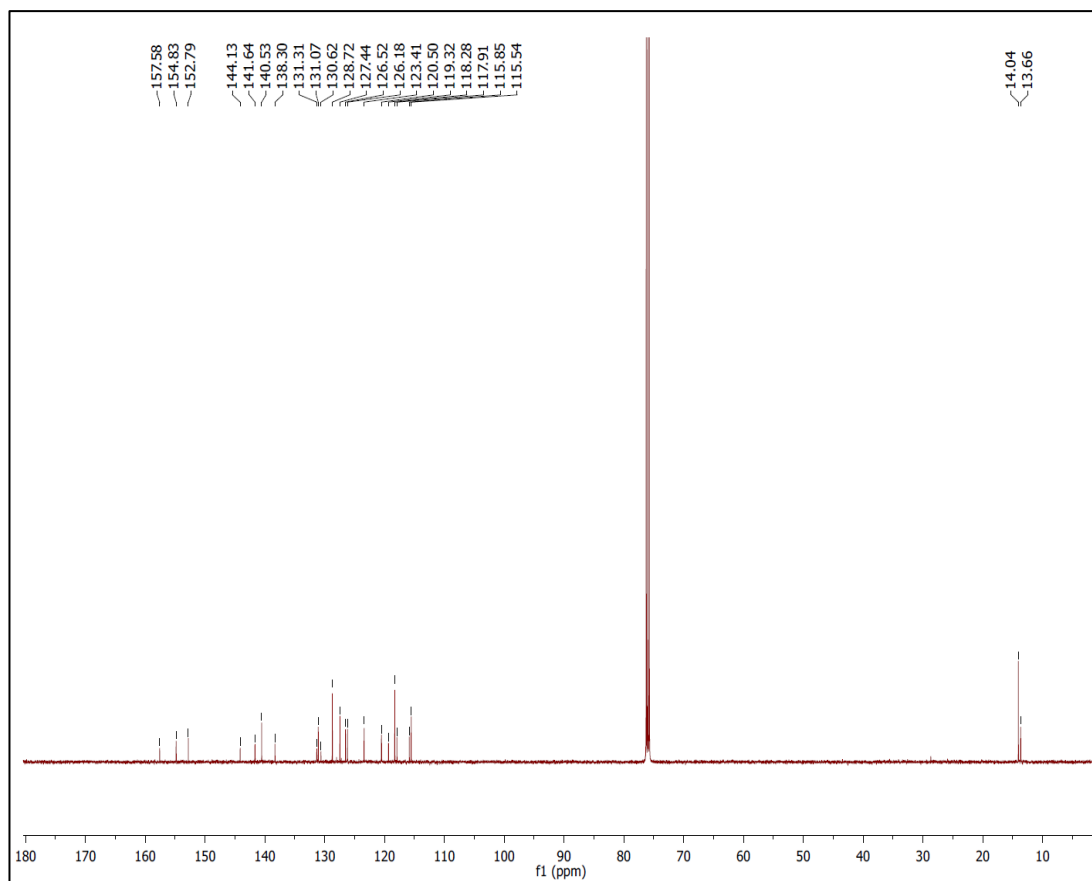
Şekil 3.11: 9 Numaralı bileşiğin kütle spektrumu.

Spektrumdaki ana iyon 534,097 kütle/yük (m/z) oranına sahiptir. Sentez esnasında hesaplanan molekül kütlesi ile cihazda okunan değer birbirine denktir. Dolayısı ile sentezin başarı ile gerçekleştiği görülmektedir. Grafikte $[M - F]^+ = 515,075$ kütle/yük oranı bileşiğin Flor atomunu kaybetmesinden kaynaklanarak beklenen değeri vermektedir. Grafikte $[M + Na]^+ = 556,877$ kütle/yük oranı bileşiğe Na^+ iyonunun bağlanması ile meydana gelir.



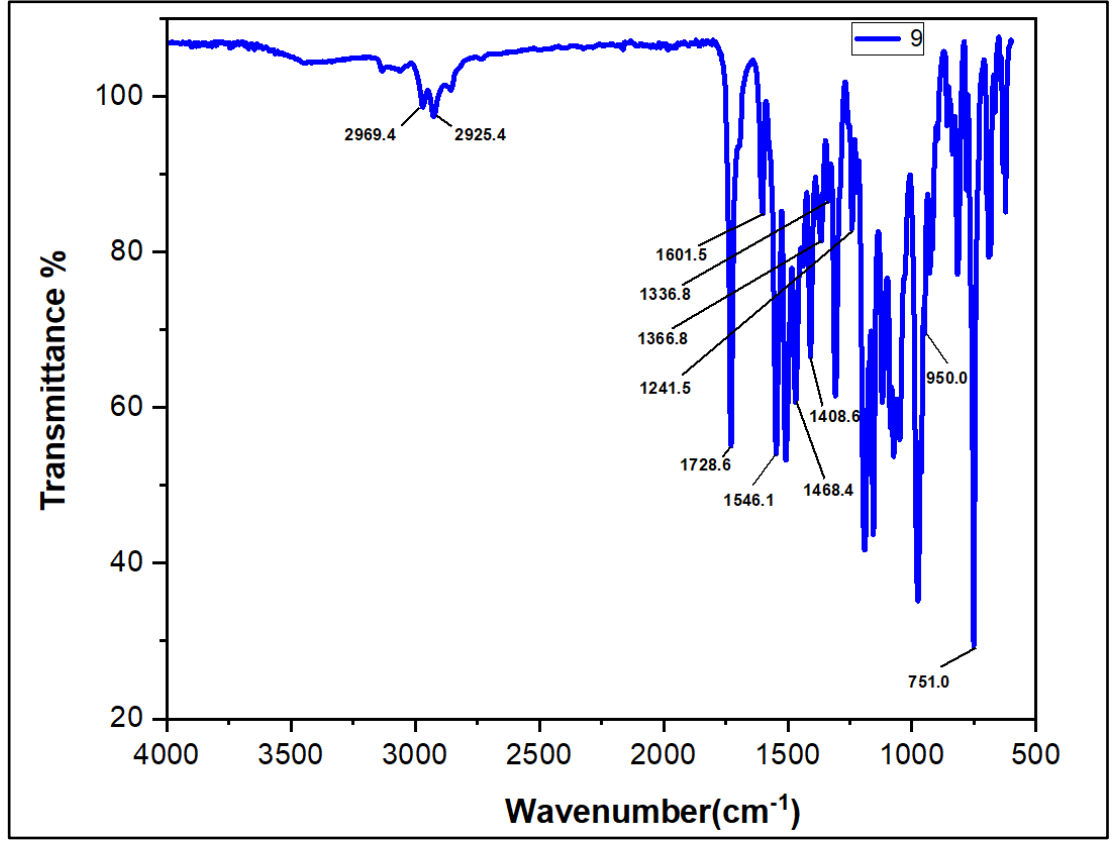
Şekil 3.12: 9 Numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumu.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.90 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.73 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, ArH), 7.44 (dt, $J = 8.9, 4.6$ Hz, 3H, ArH), 7.33 (dt, $J = 14.9, 7.1$ Hz, 2H, ArH), 7.21 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.16 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 5.93 (s, 2H, ArH), 2.47 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3$), 1.68 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3$).



Şekil 3.13: 9 Numaralı bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu.

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 157.58, 154.83, 152.79, 144.13, 141.64, 140.53, 138.30, 131.31, 131.07, 130.62, 128.72, 127.44, 126.52, 126.18, 123.41, 120.50, 119.32, 118.28, 117.91, 115.85, 115.54, 14.04 (CH_3), 13.66 (CH_3).



Şekil 3.14: 9 numaralı bileşiğin FT-IR spektrumu.

2969.4 cm^{-1} ve 2925.4 cm^{-1} : Bu pikler, C-H streçleme titreşimlerine işaret eder. Aromatik ve alifatik C-H bağları bu bölgede titreşir. Bileşik yapısında aromatik halkalar ve alifatik C-H bağları bulunduğundan, bu pikler C-H streçlemesini gösterir.

1728.6 cm^{-1} : Bu pik, karbonil (C=O) streçleme titreşimine işaret eder. Bileşik yapısında ester fonksiyonel grubu bulunduğundan, bu pik ester karbonil (C=O) streçlemesine işaret eder.

1601.5 cm^{-1} : Bu bölge, genellikle C=C streçleme titreşimlerine işaret eder. Aromatik halkaların C=C bağları bu bölgede titreşir.

1546.1 cm^{-1} : Bu bölge, genellikle C=N streçlemesi veya aromatik C=C streçlemesi ile ilişkilidir. Bileşikte imidazol halkaları bulunduğundan, bu pik C=N streçlemesini gösterir.

1468.4 cm^{-1} ve 1408.6 cm^{-1} : Bu bölgeler, genellikle aromatik C=C streçlemeleri ve CH bükülme titreşimleriyle ilişkilidir. Aromatik halkaların varlığı bu piklerle örtüşür.

1366.8 cm^{-1} ve 1336.8 cm^{-1} : Bu bölgeler, genellikle CN streçlemeleri veya CH bükülme titreşimleriyle ilişkilidir. Bileşikte CN bağları bulunduğundan, bu pikler CN streçlemesine işaret eder.

1241.5 cm^{-1} : Bu bölge, genellikle C-O streçleme titreşimlerine işaret eder. Ester fonksiyonel grubunun varlığı bu pikle uyumludur.

950.0 cm^{-1} : Bu pik, B-F streçleme titreşimlerine işaret eder. Bileşikte bor atomuna bağlı flor atomları bulunduğundan, bu pik B-F streçlemesini gösterir.

751.0 cm^{-1} : Bu bölgeler, genellikle aromatik CH bükülme titreşimleriyle ilişkilidir. Aromatik halkaların varlığı bu piklerle örtüşür.

Yukarıdaki pikler, bileşiğin kimyasal yapısıyla uyumludur. Özellikle ester C=O, B-F, C=N, aromatik C-H ve C-O streçlemeleri bileşiğin FTIR spektrumunda gözlemlenebilir. Bu nedenle, verilen FTIR spektrumu bileşiğin yapısal özelliklerini doğrulamaktadır.

3.4. BODIPY Bileşiklerinin Fotofiziksel Çalışmaları

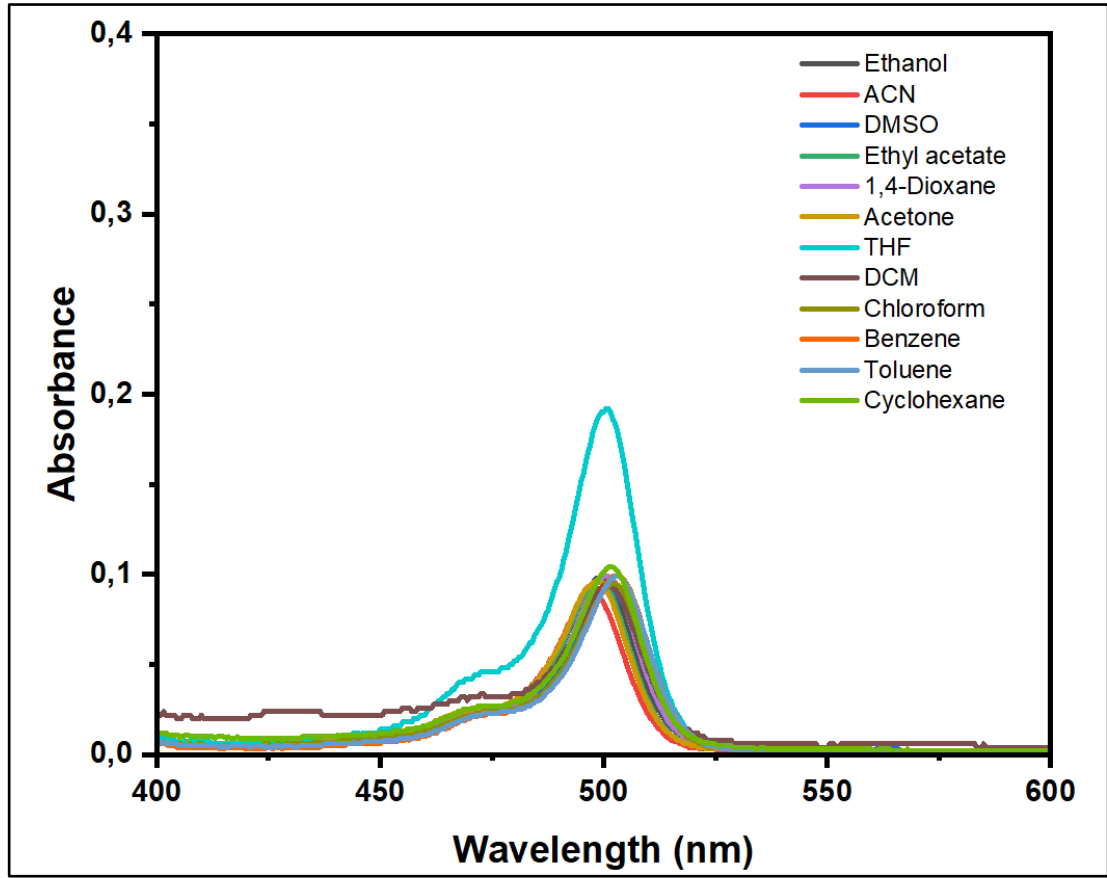
3.4.1. Çalışılan Bileşiklerin Uv-Vis. Absorbans Tekniği ile Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

5 ve 9 numaralı bileşiklerin çözünürlüğü etanolden sikloheksana kadar farklı polaritedeki solventler ile denendi ve en iyi çözücünün DCM solventi olduğu tespit edildi. Bu sebeple her iki bileşikten de belirli konsantrasyonlarda 250 – 800 nm aralığında tarama yapılmış ve Uv-Vis. Spektroskopisinde iki bileşiğimiz içinde en yüksek dalga boyunu verdiği dalga boyu 480 nm olarak belirlenmiştir. Sentezlenen iki bileşikde Floresans Spektroskopisinde 490 nm’de uyarım yapılarak çalışılmıştır. Üç bileşikde Uv-Vis. Cihazında çalışılan konsantrasyon Floresans Spektroskopi cihazında denendiğinde saturasyona uğramış ve konsantrasyonlarda değişiklik yapılmıştır.

Tablo 3.2: Bileşiklerin çalışılan konsantrasyon seviyeleri.

Bileşik	Uv-Vis. Konsantrasyon	Floresan Konsantrasyon
Fenil Bodipy	$1 \times 10^{-6}\text{ M}$	$5 \times 10^{-7}\text{ M}$
5 Numaralı Bileşik	$5 \times 10^{-5}\text{ M}$	$5 \times 10^{-6}\text{ M}$
9 Numaralı Bileşik	$1 \times 10^{-5}\text{ M}$	$2 \times 10^{-6}\text{ M}$

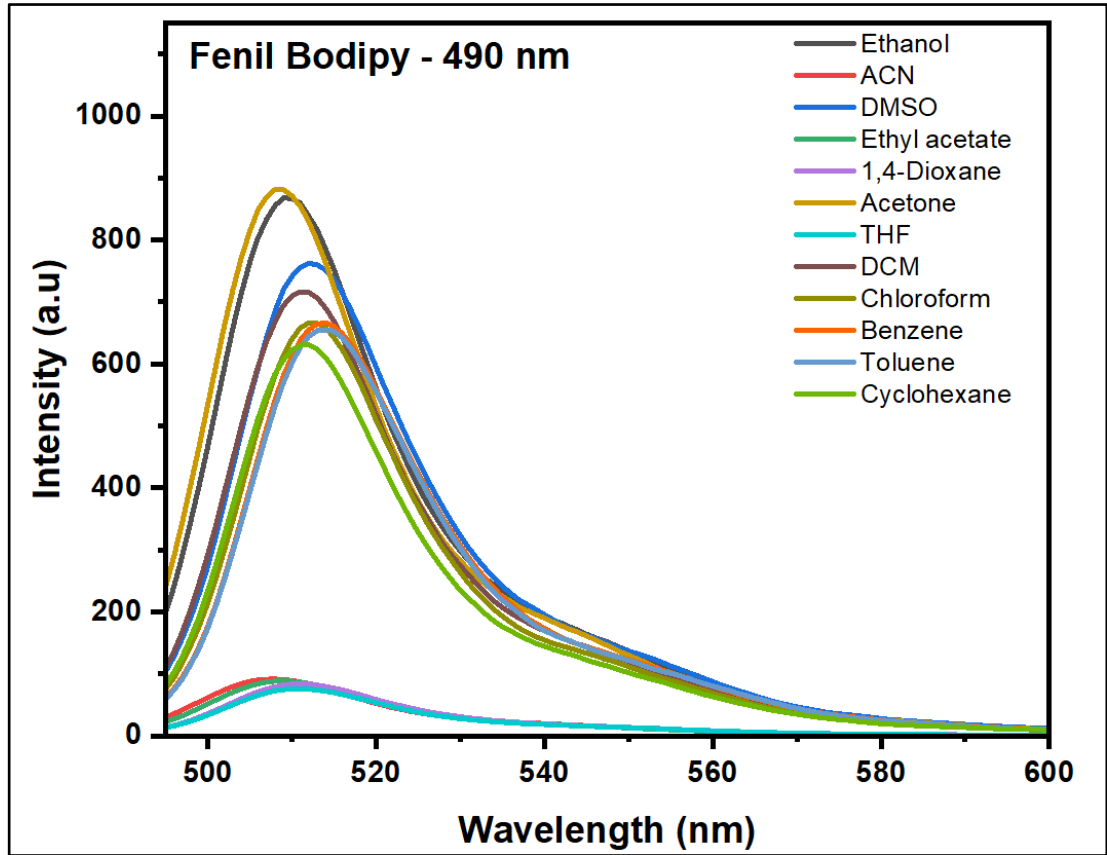
3.4.2. Fenil BODIPY Bileşiğinin Uv-Vis. Spektrometresi ile Solvent Çalışması



Şekil 3.15: Fenil Bodipy bileşiğinin 1×10^{-6} M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki absorpsiyon spektrum grafiği.

Grafikte Etanol, ACN, DMSO, EA, Dioksan, Aseton, THF, DCM, Kloroform, Benzen, Toluen, Siklohekzan gibi çözücüler ile Fenil Bodipy bileşiği 1×10^{-6} M konsantrasyonunda 400-600 nm aralığında UV-Vis Absorpsiyon spektrum ölçümleri alınmıştır. Ölçüm sonuçları incelendiğinde polar ve apolar tüm solventlerde birbirine benzer absorbans değerleri verildiği görülmektedir.

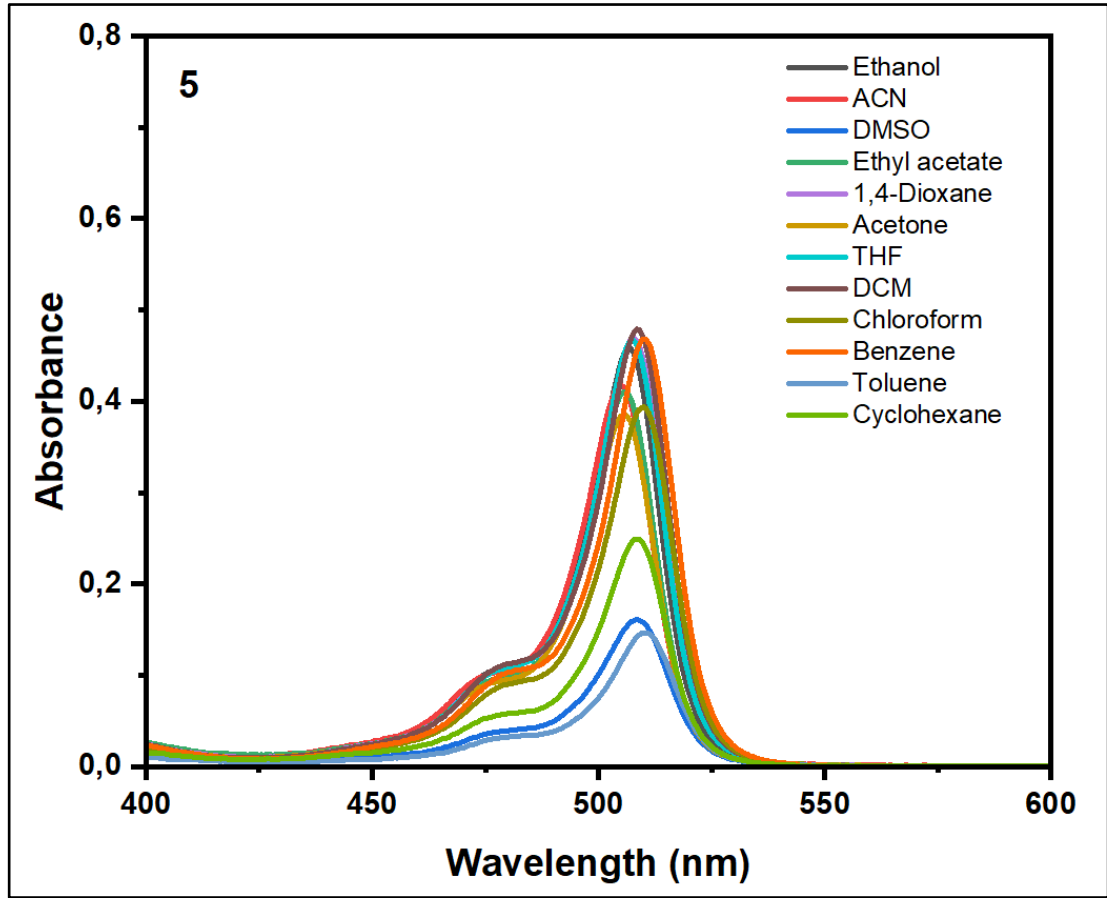
3.4.3. Fenil BODIPY Bileşiğinin Floresans Spektroskopisi ile Solvent Çalışması



Şekil 3.16: Fenil Bodipy bileşiğinin 5×10^{-7} M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki emisyon spektrum grafiği (490nm).

Grafikte Etanol, ACN, DMSO, EA, Dioksan, Aseton, THF, DCM, Kloroform, Benzen, Toluen, Siklohekzan gibi çözücüler ile Fenil Bodipy bileşiği çözündürülerek 490 nm’de uyarılarak floresans spektrum ölçümleri gösterilmektedir. Emisyon grafiği incelendiğinde Asetonitril, Etil asetat, Dioksan ve THF solventlerinde düşük intensity değerleri alındığı görülmektedir.

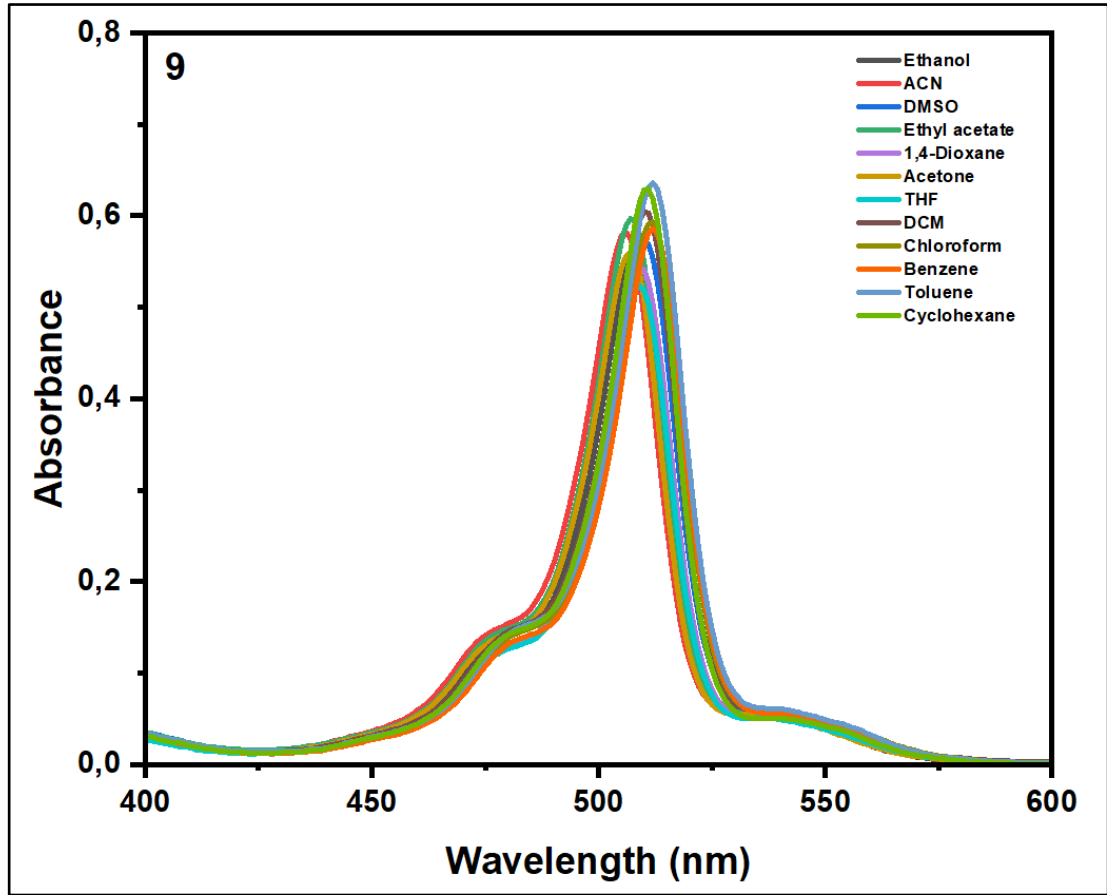
3.4.4. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin UV Spektrometresi ile Solvent Çalışması



Şekil 3.17: 5 Numaralı bileşiğin 5×10^{-5} M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki absorpsiyon spektrum grafiği.

Grafikte Etanol, ACN, DMSO, EA, Dioksan, Aseton, THF, DCM, Kloroform, Benzen, Toluen, Siklohekzan gibi çözücüler ile 5 numaralı bileşik 5×10^{-5} M konsantrasyonunda çözdürülerek 400-600 nm aralığında UV-Vis Absorpsiyon spektrum ölçümleri gösterilmektedir. Bileşiğin absorbans grafiği incelendiğinde polar ve apolar tüm solventlerde birbirine yakın absorbans değerleri verdiği görülmektedir.

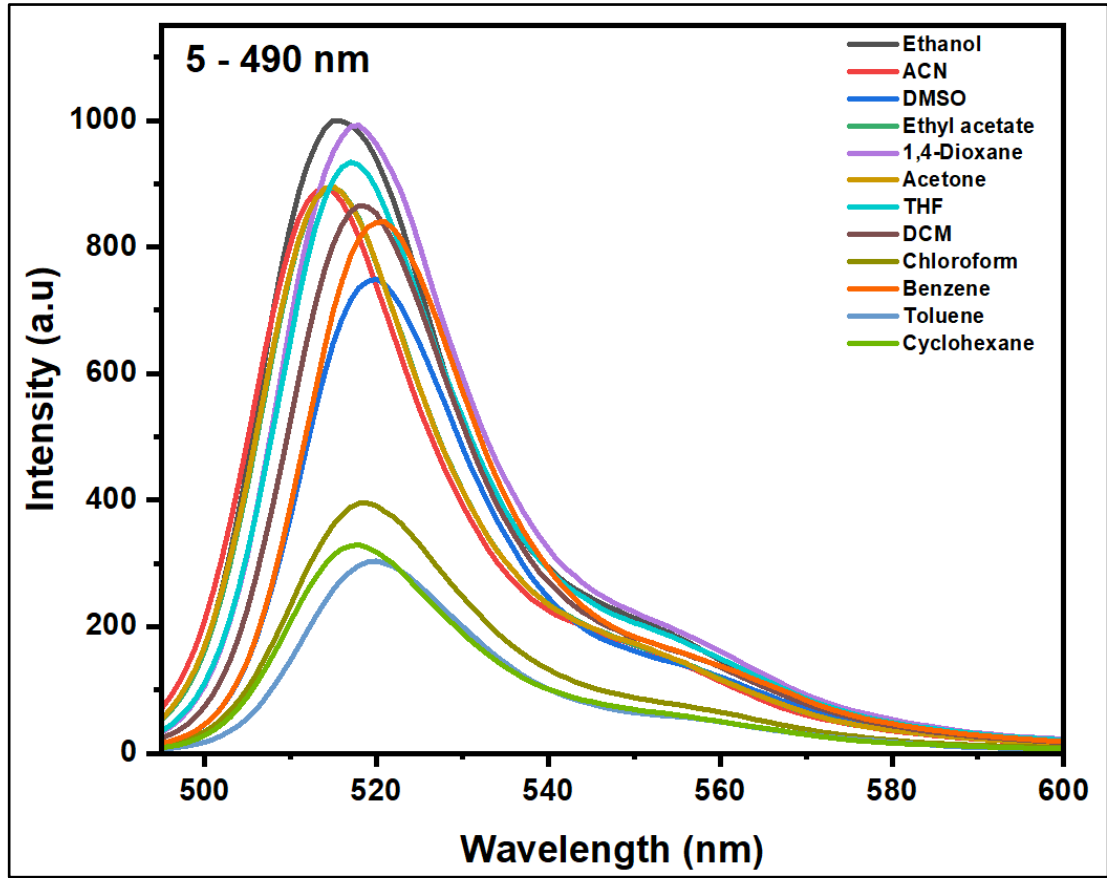
3.4.5. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşğin UV Spektrometresi ile Solvent Çalışması



Şekil 3.18: 9 numaralı bileşğin 1×10^{-5} M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki absorpsiyon spektrum grafiği.

Grafikte Etanol, ACN, DMSO, EA, Dioksan, Aseton, THF, DCM, Kloroform, Benzen, Toluen, Siklohekzan gibi çözücüler ile 9 numaralı bileşik 1×10^{-5} M konsantrasyonunda çözdürülerek 400-600 nm aralığında UV-Vis Absorpsiyon spektrum ölçümleri gösterilmektedir. Bileşğin absorbans grafiği incelendiğinde polar ve apolar tüm solventlerde birbirine benzer absorbans değerleri verdiği görülmektedir.

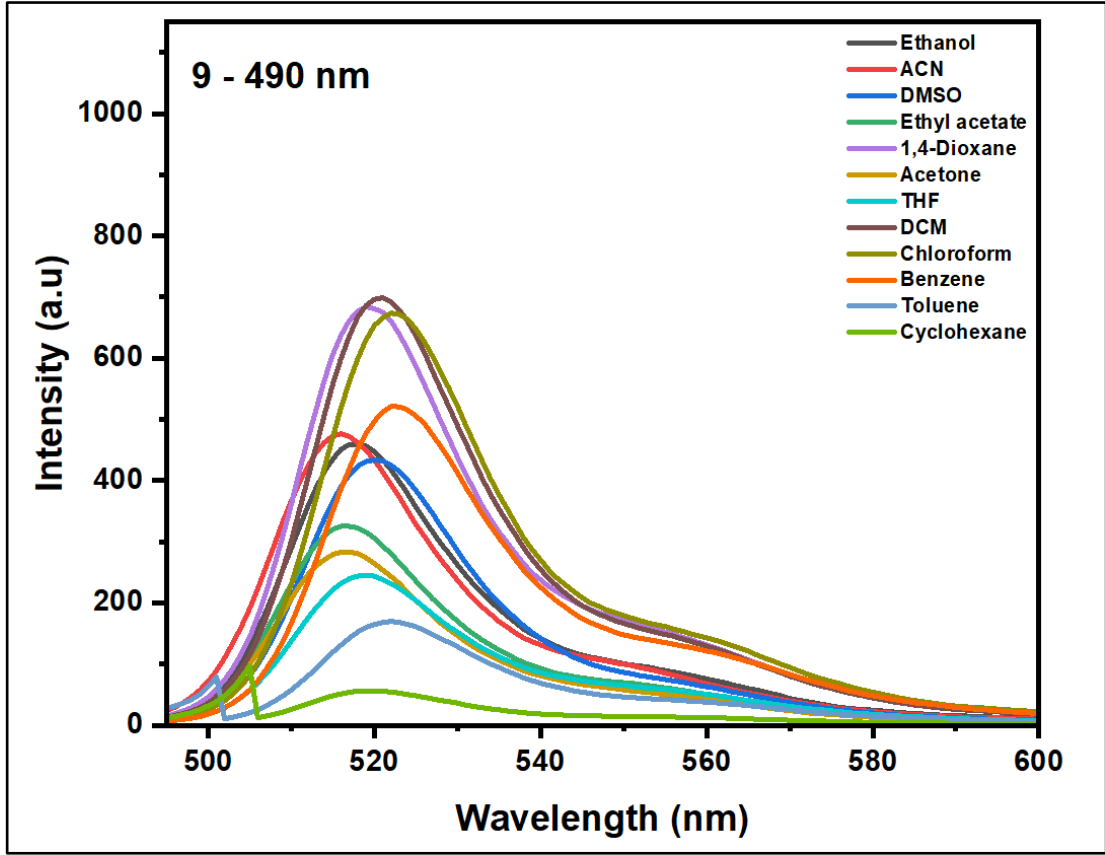
3.4.6. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin Floresans Spektrometresi ile Solvent Çalışması



Şekil 3.19: 5 Numaralı bileşiğin 5×10^{-6} M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki emisyon spektrum grafiği (490nm).

Grafikte Etanol, ACN, DMSO, EA, Dioksan, Aseton, THF, DCM, Kloroform, Benzen, Toluen, Sikloheksan gibi çözücüler ile 5 numaralı bileşik çözdürülerek 5×10^{-6} M konsantrasyonunda 490 nm'de uyarılarak floresans spektrum ölçümleri gösterilmektedir. Grafik incelendiğinde bileşiğin Kloroform, Toluen ve Sikloheksan gibi apolar solventlerde düşük intensity değerleri aldığı görülmektedir.

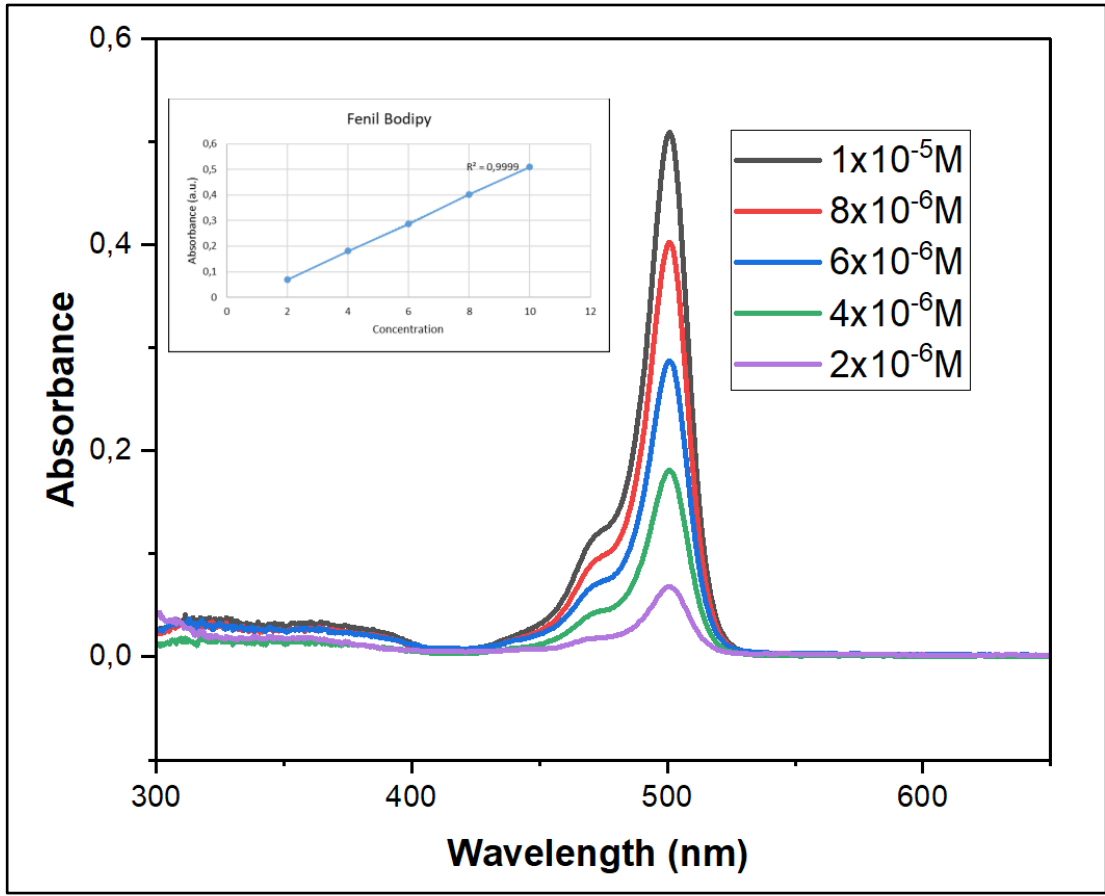
3.4.7. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin Floresans Spektrometresi ile Solvent Çalışması



Şekil 3.20: 9 numaralı bileşiğin 2×10^{-6} M konsantrasyonunun farklı solventlerdeki emisyon spektrum grafiği (490 nm).

Grafikte Etanol, ACN, DMSO, EA, Dioksan, Aseton, THF, DCM, Kloroform, Benzen, Toluen, Siklohekzan gibi çözücüler ile 9 numaralı bileşik 2×10^{-6} M konsantrasyonunda çözdürüldükten sonra 490 nm’de uyarılarak floresans spektrum ölçümleri gösterilmektedir. Grafik incelendiğinde en düşük intensity değerleri Toluen ve Siklohekzan solventleri ile alınırken; en yüksek intensity değerlerine ise DCM, Kloroform ve 1,4_Dioksan solventlerinde ulaşılmıştır. 9 numaralı bileşiğimizin apolar solventlerde daha az intensity değerleri verdiği tespit edilmiştir.

3.4.8. Fenil Bodipy Bileşiğinin Epsilon Çalışması

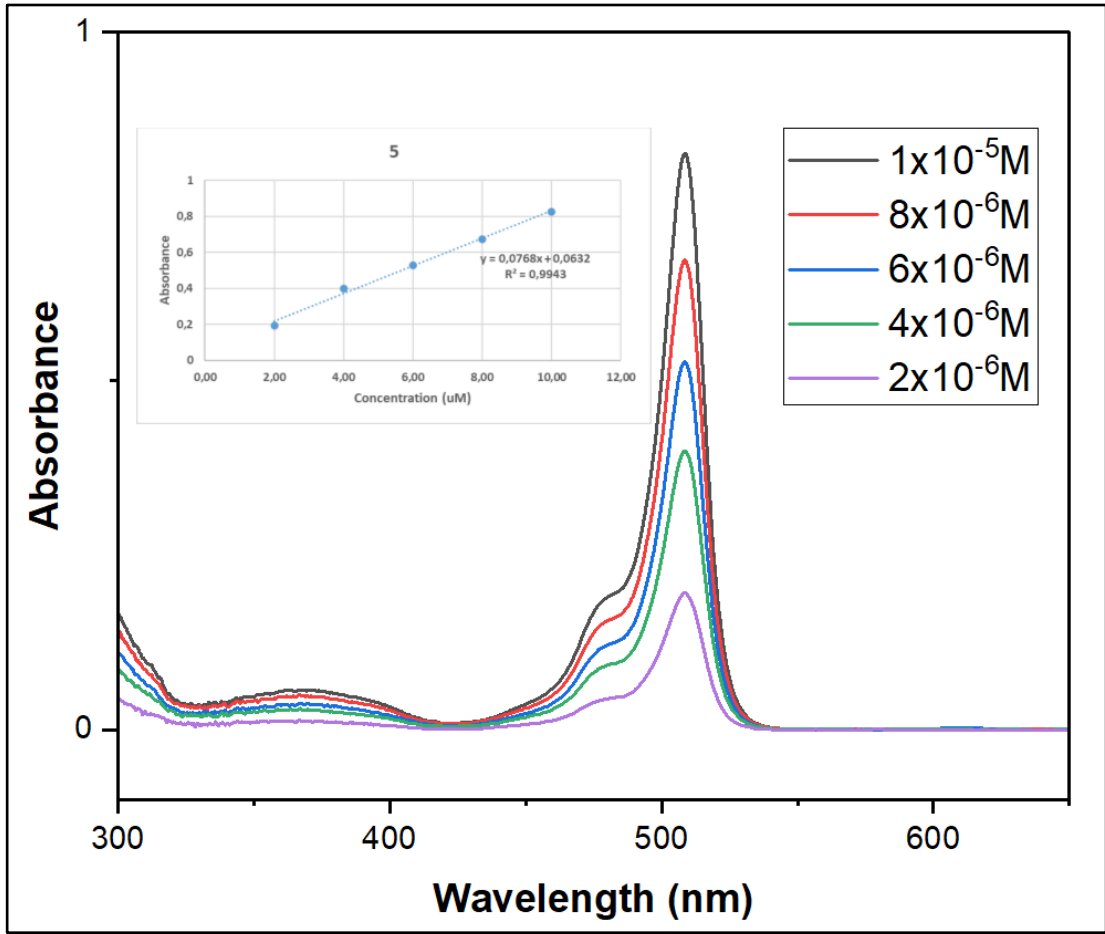


Şekil 3.21 : Fenil Bodipy bileşiğinin epsilon çalışma grafiği.

Grafik Fenil Bodipy bileşiğinin farklı konsantrasyonlarda ölçümleri alınmış Epsilon grafiğini gösterilmektedir. $2 \times 10^{-6} \text{ M}$ 'dan $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ konsantrasyonuna kadar düzenli aralıklar ile ölçümleri alınmış ve çizdirilen eğim grafiğinde R^2 Değeri = 0,999 olarak ölçülmüştür.

Fenil Bodipy bileşiğinin epsilon değeri $3,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu değer, Fenil Bodipy'nin sentezlenen diğer bileşiklere kıyasla daha düşük bir ışık absorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu gösterir. Bu, bileşiğin biyogörüntüleme uygulamalarında daha zayıf bir floresans sinyali üreteceğini ve daha fazla konsantrasyona ihtiyaç duyulabileceğini ifade eder.

3.4.9. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin Epsilon Çalışması

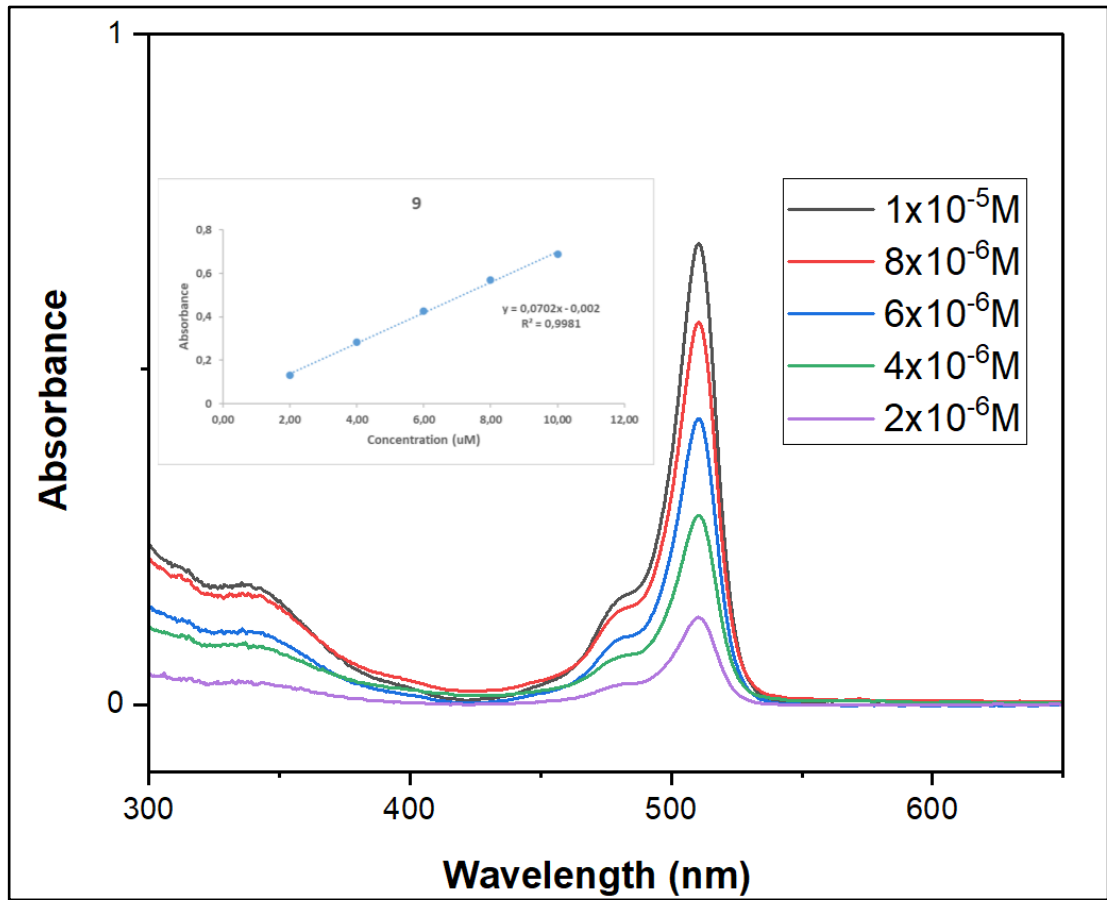


Şekil 3.22: 5 numaralı bileşiğin epsilon çalışma grafiği.

Grafikte 5 numaralı bileşiğin farklı konsantrasyonlarda ölçümleri alınmış Epsilon grafiğini görmekteyiz. $2 \times 10^{-6} \text{ M}$ 'dan $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ konsantrasyonuna kadar düzenli aralıklar ile ölçümleri alınmış ve çizdirilen eğim grafiğinde R^2 Değeri = 0,994 olarak ölçülmüştür.

5 numaralı bileşiğin epsilon değeri: $8,26 \times 10^4 \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu değer, 5 numaralı bileşiğin Fenil Bodipy ve 9 numaralı bileşiğe göre en yüksek ışık absorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu gösterir. Fenil grupları sayesinde geniş bir konjugasyon sistemi, ışık absorpsiyonunu önemli ölçüde artırır. Bu da biyogörüntülemelerde daha güçlü ve parlak bir floresans sinyali üretir.

3.4.10. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin Epsilon Çalışması

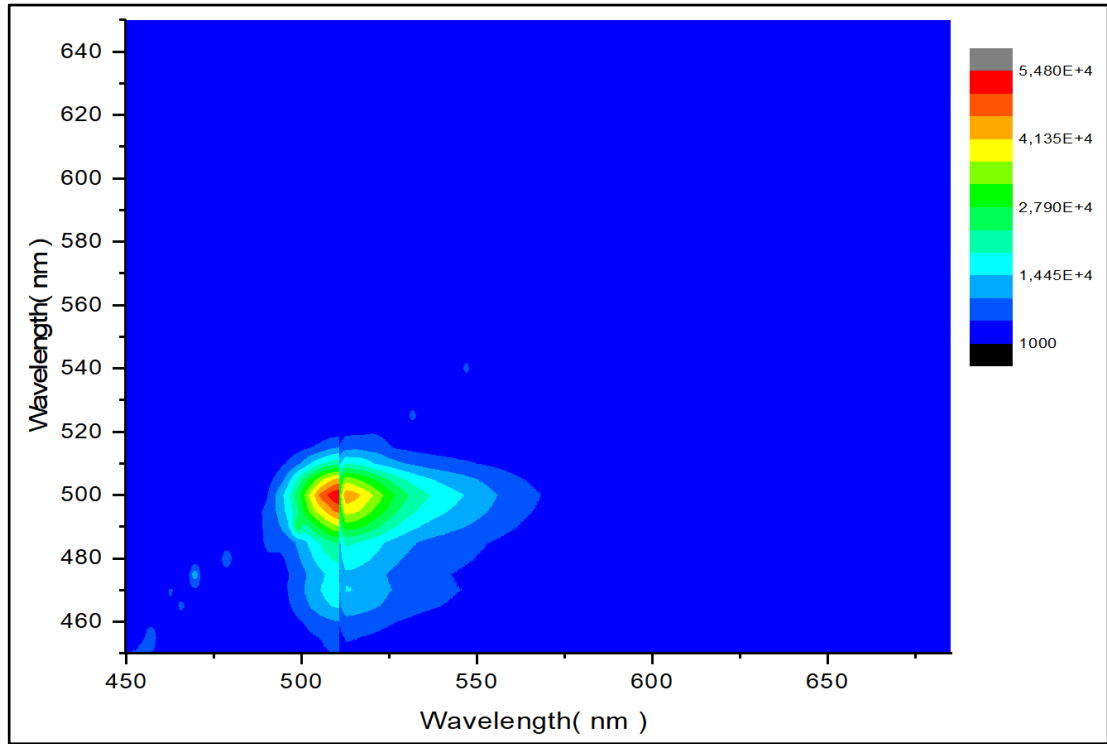


Şekil 3.23 : 9 numaralı bileşiğin epsilon çalışma grafiği.

Grafikte 9 numaralı Bileşiğin farklı konsantrasyonlarda ölçümleri alınmış Epsilon grafiğini görmekteyiz. $2 \times 10^{-6} \text{ M}$ 'dan $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ konsantrasyonuna kadar düzenli aralıklar ile ölçümleri alınmış ve çizdirilen eğim grafiğinde R^2 Değeri = 0,998 olarak ölçülmüştür.

9 numaralı bileşiğimizin Epsilon değeri = $6,88 \times 10^4 \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu, bileşiğin Fenil bodipy ve 5 numaralı bileşiğe kıyasla orta düzeyde güçlü bir ışık absorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu gösterir. Kumarin yapısı, geniş bir dalga boyu aralığında ışığı absorbe etme yeteneği sunar, bu da biyogörüntüleme uygulamalarında etkili bir sinyal sağlar.

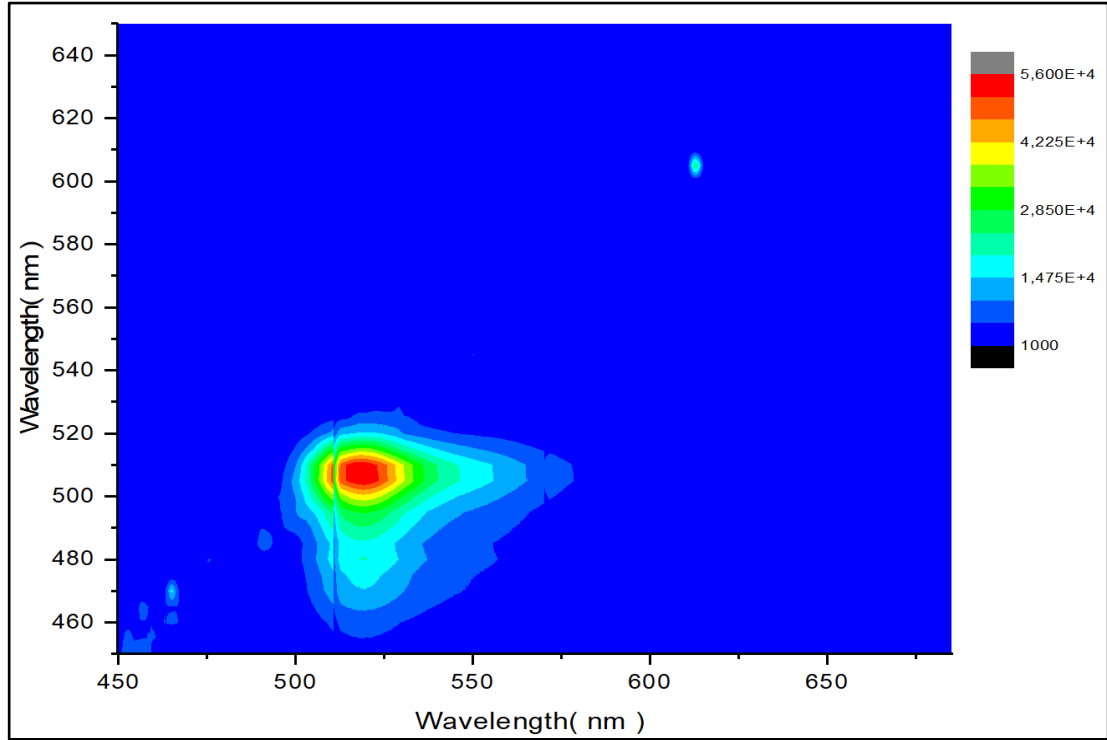
3.4.11. Fenil Bodipy Bileşiğinin 3D Çalışması



Şekil 3.24 : Fenil Bodipy bileşiğinin 3D çalışma görseli.

Fenil Bodipy bileşiğinin 3D spektrumlarını incelediğimizde 3D spektrumları, bileşiğin emisyon spektrumunda bathokromik kayma (kırmızıya kayma) olduğunu gösterir. Fenil grubu, molekülün konjugasyon sistemini genişlettiği için bu kaymayı sağlar. Bu durum, bileşiğin uzun dalga boylarında emisyon yaparak derin doku görüntüleme gibi belirli biyomedikal uygulamalarda kullanılmasına olanak tanır.

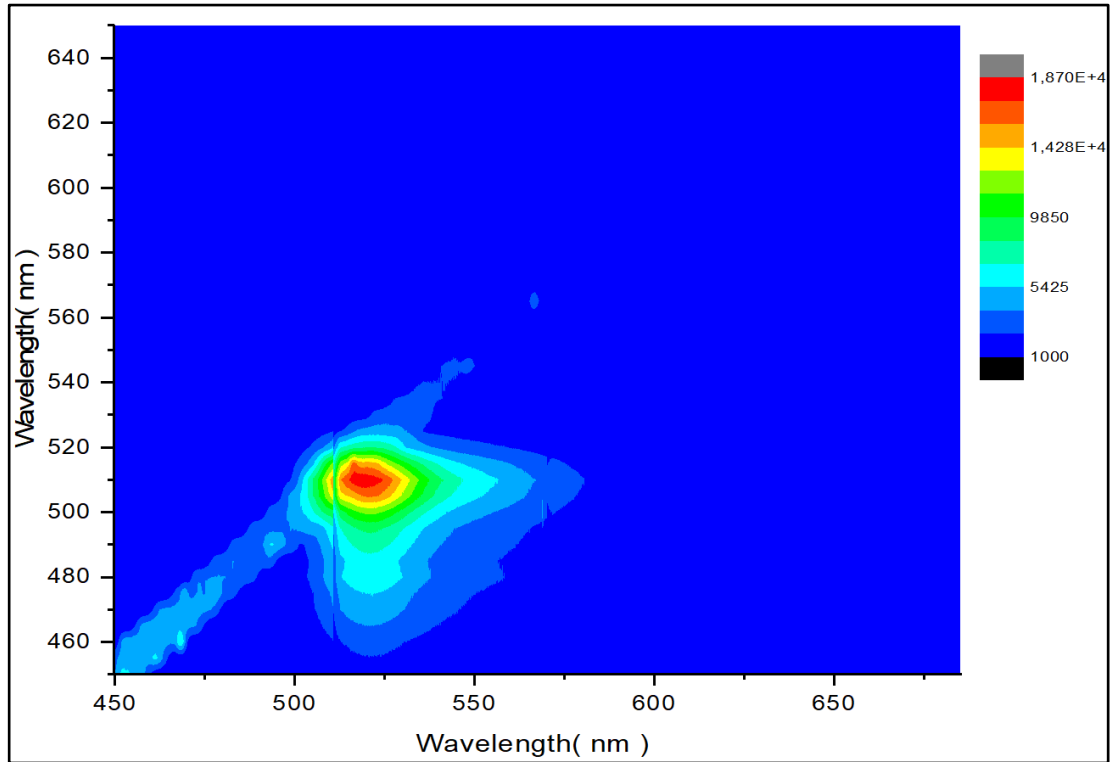
3.4.12. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin 3D Çalışması



Şekil 3.25 : Sentezlenen 5 numaralı bileşiğin 3D çalışma görseli.

5 numaralı bileşiğin 3D spektrumu, geniş bir absorpsiyon bandı ve yüksek yoğunluklu emisyon sinyalleri gösterir. Fenil gruplarının eklenmesi, bileşiğin fotofiziksel özelliklerini geliştirerek daha kararlı ve parlak floresans sinyalleri sağlar. Bu bileşik hem derin doku hem de yüzeysel uygulamalar için güçlü bir floresans ajanı olarak kullanılabilir.

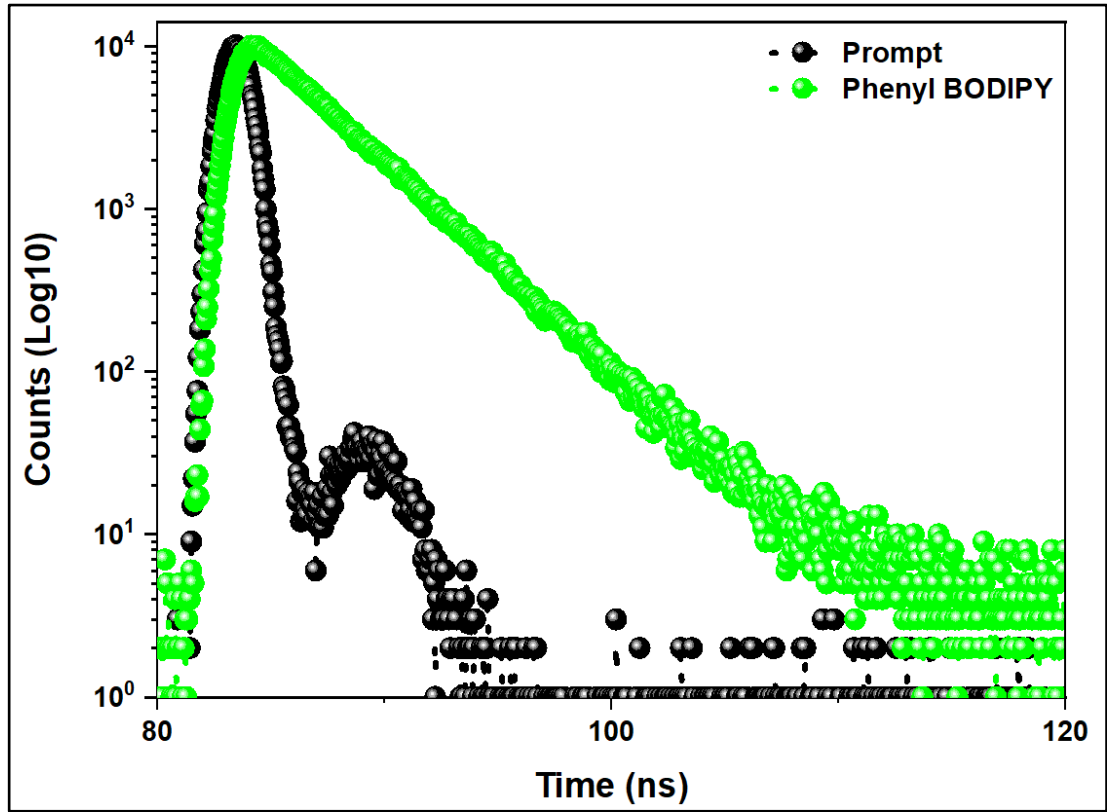
3.4.13. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin 3D Çalışması



Şekil 3.26 : Sentezlenen 9 numaralı bileşiğin 3D çalışma görseli.

9 numaralı bileşiğin 3D spektrumu, kumarin yapısının sağladığı geniş spektral emilim ve mavi-yeşil aralığında parlak floresans sinyalleri gösterir. Kumarin yapısı, bileşiğin daha hızlı emisyon yapmasını sağlar, bu da hızlı hücre içi görüntüleme için önemli bir avantajdır.

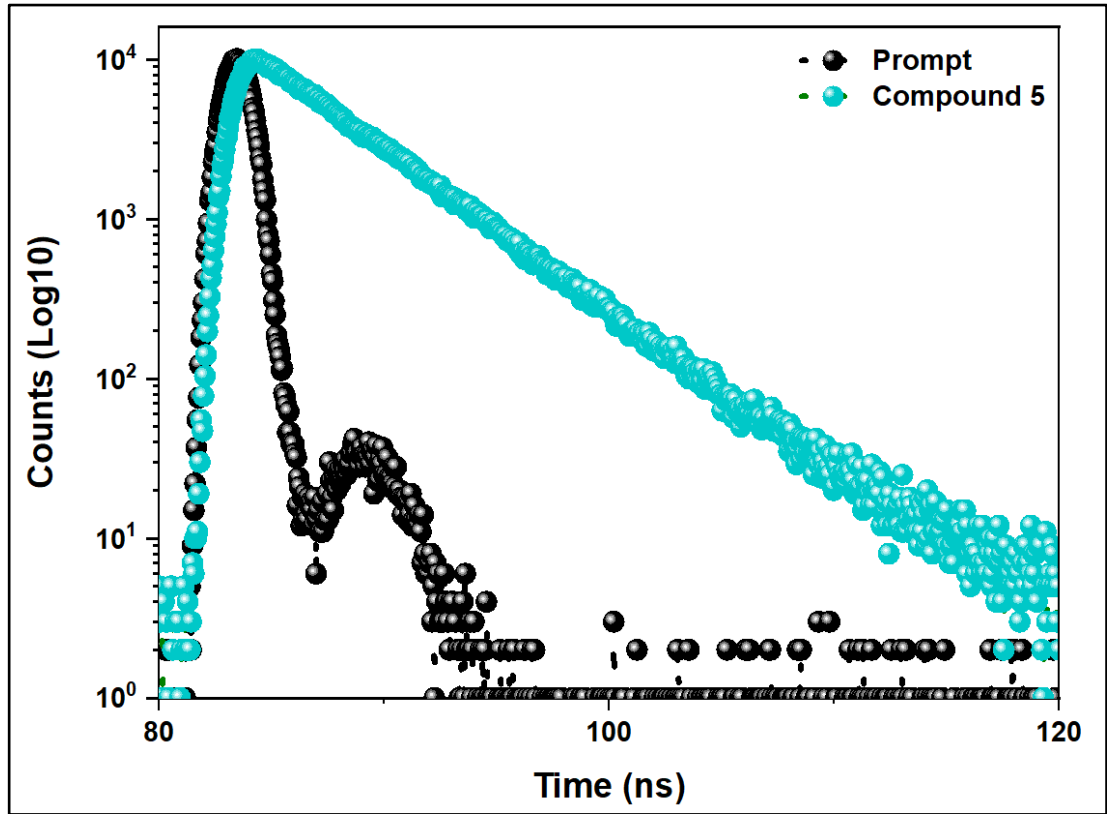
3.4.14. Fenil Bodipy Bileşiğinin Lifetime Çalışması



Şekil 3.27 : Fenil Bodipy bileşiğinin lifetime çalışma grafiği.

Grafikte Fenil Bodipy bileşiğinin Lifetime çalışma grafiğini görmekteyiz. Fenil Bodipy Bileşiğinin Lifetime değeri 3,30 ns olarak ölçülmüştür. Diğer iki bileşiğe göre orta seviyede bir floresans ömrüne sahiptir. Bu, bileşiğin ışığı absorbe ettikten sonra yaydığı enerjinin kısa sürede sona erdiğini, dolayısıyla kısa süreli floresans sinyali verdiğini gösterir. Ancak bu değer, biyogörüntülemeye yeterli olabilir ve hücre içi etkileşimleri göstermek için kullanılabilir.

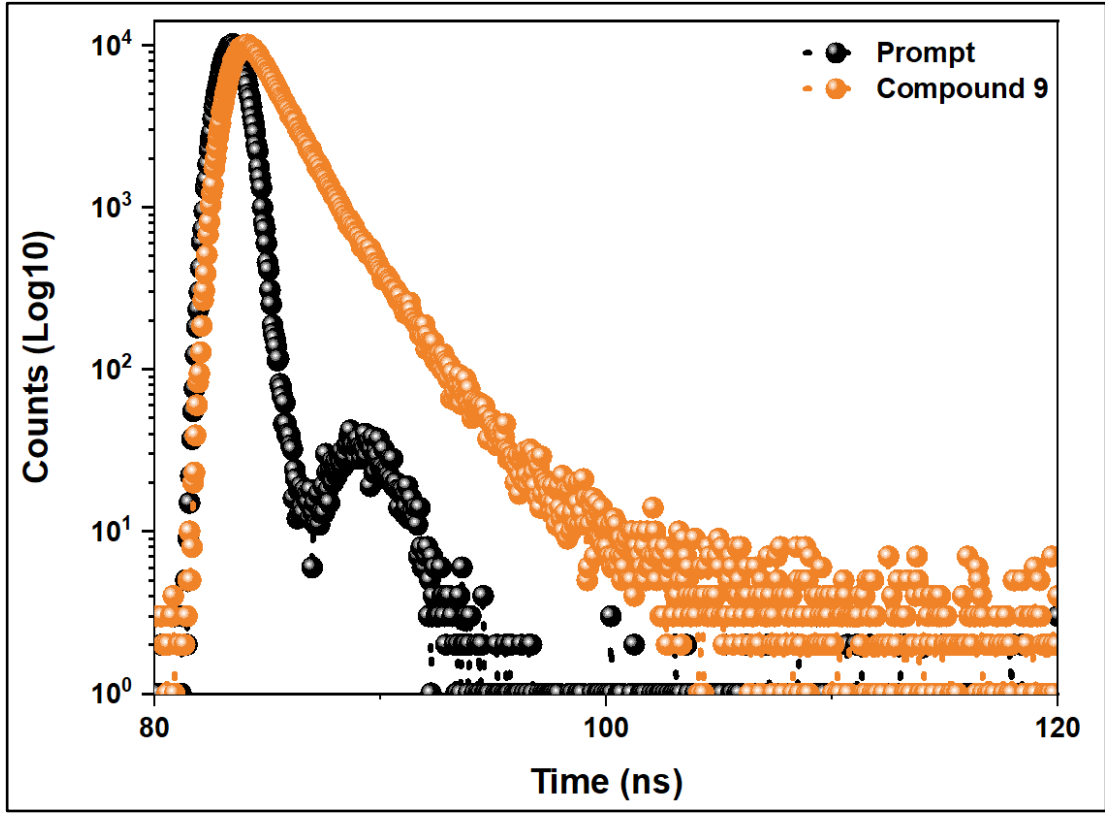
3.4.15. Sentezlenen 5 Numaralı Bileşiğin Lifetime Çalışması



Şekil 3.28 : 5 numaralı bileşiğin lifetime çalışma grafiği.

Grafikte 5 bileşiğinin Lifetime çalışma grafiğini görmekteyiz. 5 Bileşiğinin Lifetime değeri 4,17 ns olarak ölçülmüştür. Diğer iki bileşiğe göre en uzun floresans ömrüne sahip bileşiktir. Bu, bileşiğin ışığı absorbe ettikten sonra uzun süre floresans yayacağını ve daha kalıcı sinyaller sağlayacağını gösterir. Bu, derin doku görüntüleme ve uzun süreli hücre takipleri için ideal bir özelliktir.

3.4.16. Sentezlenen 9 Numaralı Bileşiğin Lifetime Çalışması



Şekil 3.29 : 9 numaralı bileşiğin lifetime çalışma grafiği.

Grafikte 9 bileşiğinin Lifetime çalışma grafiğini görmekteyiz. 9 Bileşiğinin Lifetime değeri 1,67 ns olarak ölçülmüştür. Diğer iki bileşiğe göre en kısa floresans ömrüne sahiptir, bu da bileşiğin ışığı absorbe ettikten sonra hızla enerjiyi yayarak kısa sürede floresans sinyali verdiğini gösterir. Bu, yüzeysel hücre görüntüleme ve kısa süreli biyogörüntüleme uygulamaları için avantaj sağlar.

3.5. Biyogörüntüleme Çalışmaları

3.5.1. Sentezlenen 5 Numaralı ve 9 Numaralı Bileşiğin Biyogörüntüleme Çalışmaları

3.5.1.1. Hücre Kültürü

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin (5 ve 9) biyolojik değerlendirmeleri HCT-116 kolon kanseri hücre hattı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hücreler, %10

fetal bovin serum (FBS; ThermoFisher Scientific, ABD) ve %1 penisilin-streptomisin (ThermoFisher Scientific, ABD) içeren Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; ThermoFisher Scientific, ABD) içerisinde 37°C ve %5 CO₂ koşullarındaki bir inkübatörde kültürlenmişlerdir. Bileşik uygulamaları öncesi hücrelerin iki pasaj geçirmesi sağlanmıştır. Hücreler %80 yoğunluğa ulaştığında Tripsin (Sigma Aldrich, ABD) ile muamele edilerek santrifügasyon ve fosfat tamponlu salin (phosphate-buffered saline; PBS, Sigma Aldrich, ABD) yıkamaları ile daha düşük yoğunluklarda tekrar ekilerek pasajlama sağlanmıştır. Tüm uygulamalar, hücre yoğunluğu %80'e ulaştığında gerçekleştirilmiştir.

3.5.1.2. Hücre Viyabilitesi

Bileşiklerin hücre viyabilitelerine olan etkileri 3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid (MTT) yardımıyla belirlenmiştir. Buna göre, 10x10³ hücre, 96 kuyucuklu plakaların kuyucuklarına ekilmiş ve 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda hücreler, 2 kez PBS ile yıkanmıştır ve mediumlarına artan konsantrasyonlarda (0-100 mg/ml) dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözünmüş bileşiklerden içeren besiyerleri eklenmiştir. Hücreler, bileşikler varlığında 48 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda hücreler üzerine 10 µl PBS içerisinde çözünmüş 5 mg/ml konsantrasyonda MTT solüsyonu (Sigma Aldrich, ABD) eklenmiş ve 4 saat boyunca inkübe edilmiştir. Süre sonunda, hücreler 10 ml final hacimde 1 g sodyum dodesil sülfat (SDS) ve 0.01 M HCl içeren solüsyonla 24 saat inkübasyon ile parçalanmıştır. Kolorimetrik değişim, bir spektrofotometre (Multiscan GO, ThermoFisher Scientific, ABD) yardımıyla 570 nm'de izlenmiştir. Çalışmada her bir bileşik için her bir doz en az 3 replika ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya, hiçbir uygulama yapılmamış ve sadece DMSO verilen hücreler kontrol olarak dahil edilmiştir. Bileşik verilmiş hücre gruplarından elde edilen değerler, sadece besiyeri ve ilgili konsantrasyonda bileşik içeren besiyeri grubundan elde edilen değerlerden çıkartılarak final değerlere ulaşılmıştır. Elde edilen değerlerde, hiçbir uygulama yapılmamış hücre grubunun viyabiliteleri %100 olarak kabul edilmiştir ve diğer uygulamaların hücre viyabiliteleri bu gruba kıyaslanmıştır. Analizler sırasında Tek Yönlü AVONA metodu kullanılmıştır ve p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.5.1.3. Hücre Görüntülemeleri

Bileşiklerin hücre ile etkileşimleri sonrası olası floresan özelliklerinin takibi canlı hücre görüntüleme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 2×10^5 hücre, 6 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda hücreler iki kez PBS ile yıkanmıştır ve besiyerleri yenilenmiştir. Daha sonra hücreler üzerine 100 mg/ml bileşiklerden 10 µl eklenmiştir ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyon sağlanmıştır. Hücrelerden, PBS yıkaması Tripan mavisi eklenmiş ve eklenmemiş görüntüler, FLoid Cell Imaging Station (ThermoFischer Scientific, ABD) yardımıyla görünen ışık görüntüsü varlığında, mavi (uyarım: 390/40 nm ve emisyon: 446/33 nm), yeşil (uyarım: 482/18 nm ve emisyon: 532/59 nm) ve kırmızı (uyarım: 586/15 nm ve emisyon: 646/68 nm) kanallarda, dört farklı bölgeden görüntü elde edilmiştir. Sadece DMSO uygulanmış hücre grubu kontrol olarak kullanılmıştır.

4. DENEYSEL SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Fenil Bodipy, 5 ve 9 numaralı bileşikler, DCM içinde çözdürülmüş ve fotofiziksel özellikleri incelenmiştir. Sentezlenen 5 ve 9 numaralı bileşikler ^1H NMR, ^{13}C NMR, Kütle spektrometresi ve FT-IR gibi yöntemler ile karakterize edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin UV-Vis ve Floresans spektrometresi ile solvent etkileşimleri incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlar, sentezlenen bileşiklerin belirli koşullar altında çözünürlük ve emisyon özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, biyogörüntüleme çalışmaları, bileşiklerin hücre viyabilitesi üzerindeki etkilerini göstermiştir. Gelecekte, bu bileşiklerin daha kapsamlı biyolojik testlere tabi tutulması ve potansiyel terapötik uygulamalarının araştırılması öngörülmektedir.

4.1. Fotofiziksel Çalışmaların Sonuçları

Fenil Bodipy;

UV-Vis Absorpsiyon: Fenil Bodipy'nin UV-Vis spektrumunda, diğer iki bileşiğe kıyasla düşük bir epsilon değerine ($3,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) sahip olması, ışığın daha sınırlı bir şekilde absorbe edildiğini gösterir. Fenil grubu, molekülün konjugasyon sistemini genişlettiği için absorpsiyon spektrumunda bir bathokromik kayma gözlemlenir. Bu kayma, daha uzun dalga boylarında absorpsiyon sağlayarak bileşiğin kırmızı ışık bölgesine kaymasını sağlar. Ancak absorpsiyon kapasitesinin düşük olması nedeniyle, Fenil Bodipy'nin biyogörüntüleme uygulamalarında daha zayıf bir sinyal vermesi beklenir.

Floresans Emisyon: Fenil grubu, bileşiğin floresans özelliklerini olumlu yönde etkileyerek uzun dalga boylarında emisyon sağlar. Diğer iki bileşiğe kıyasla orta seviyede bir floresans ömrüne (3,30 ns) sahip olması, bileşiğin kısa süreli floresans sinyalleri yayabileceğini gösterir. Bu özellik, yüzeysel biyogörüntüleme uygulamaları için yeterli olabilir, ancak derin dokularda güçlü bir floresans sinyali elde edilemeyebilir. Düşük absorpsiyon kapasitesi nedeniyle floresans verimi de daha düşük olacaktır.

5 numaralı bileşik;

UV-Vis Absorpsiyon: 5 numaralı bileşik, diğer iki bileşiğe kıyasla en yüksek epsilon değerine ($8,26 \times 10^4 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) sahip olup, UV-Vis spektrumunda geniş bir absorpsiyon bandı gösterir. Fenil gruplarının varlığı, bileşiğin konjugasyon sistemini artırarak bathokromik kayma sağlar. Bu kayma, bileşiğin daha uzun dalga boylarında absorpsiyon yapmasını sağlar, bu da özellikle derin doku görüntüleme uygulamaları için ideal bir özellik sunar. Bu bileşiğin yüksek ışık absorpsiyonu, biyogörüntüleme sırasında daha parlak ve güçlü sinyaller verir.

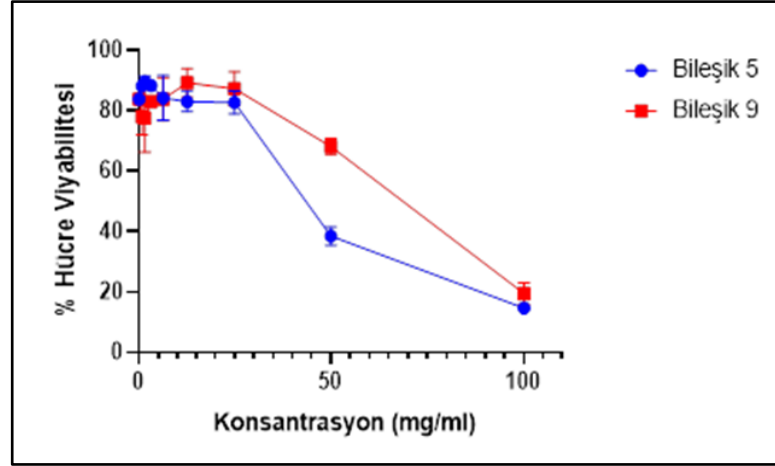
Floresans Emisyon: 5 numaralı bileşik, diğer iki bileşiğe kıyasla uzun bir floresans ömrüne (4,17 ns) sahiptir. Bu, bileşiğin absorbe ettiği enerjiyi uzun süre boyunca yayarak kalıcı ve güçlü floresans sinyalleri üretmesini sağlar. Fenil gruplarının etkisiyle, bileşiğin floresans emisyonu güçlü ve geniş spektrumda gerçekleşir. Derin dokuların görüntülenmesi gibi daha zor koşullarda bile etkili bir floresans sinyali sağlayarak, biyogörüntüleme uygulamaları için en uygun bileşik haline gelir.

9 numaralı bileşik;

UV-Vis Absorpsiyon: 9 numaralı bileşiğin epsilon değeri ($6,88 \times 10^4 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), diğer iki bileşiğe göre orta seviyede güçlü bir absorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu gösterir. Kumarin yapısı, bileşiğin UV-Vis spektrumunda geniş bir absorpsiyon bandı oluşturur. Kumarinlerin yapısal özellikleri nedeniyle, bu bileşik genellikle mavi-yeşil bölgedeki dalga boylarını absorbe eder. Bu durum, hızlı floresans sinyalleri üretmesine olanak tanır, ancak absorpsiyon kapasitesi 5 numaralı bileşiğe göre biraz daha düşüktür. Bu nedenle, yüzeysel görüntüleme uygulamaları için uygun olabilir.

Floresans Emisyon: 9 numaralı bileşik, diğer iki bileşiğe kıyasla en kısa floresans ömrüne (1,67 ns) sahiptir. Kumarin yapısının hızlı emisyon özelliği, bileşiğin kısa sürede parlak bir floresans sinyali yaymasına olanak tanır. Bu, biyogörüntüleme uygulamalarında hızlı ve etkili sonuçlar elde etmek için avantaj sağlar. Özellikle hücre yüzeyinde veya hızlı floresans takiplerinde kullanılabilir. Ancak, daha kısa ömrü nedeniyle uzun süreli veya derin doku uygulamalarındaki kullanımı sınırlı olabilir.

4.2. Biyogörüntüleme Çalışmaların Sonuçları



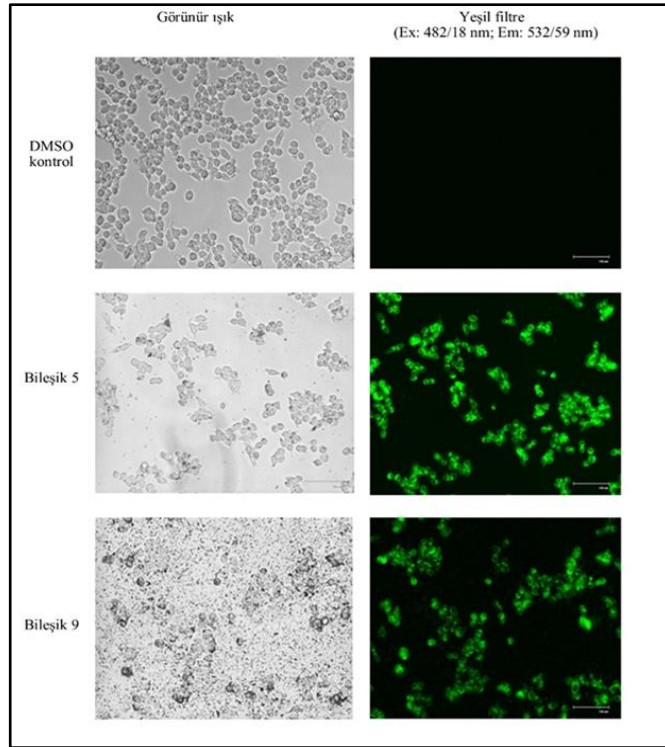
Şekil 4.1 : 5 ve 9 numaralı bileşiklerin konsantrasyona bağlı hücre viyabilitesi grafiği.

Bileşik 5 ve 9 50 mg/ml üzeri konsantrasyonlarda toksiktir. Bileşik 5, bileşik 9'a kıyasla daha toksik özellik göstermektedir. Bileşik 5 için IC₅₀ değeri 46 mg/ml'den küçük ve Bileşik 9 için bu değer 60 mg/ml'den büyüktür.

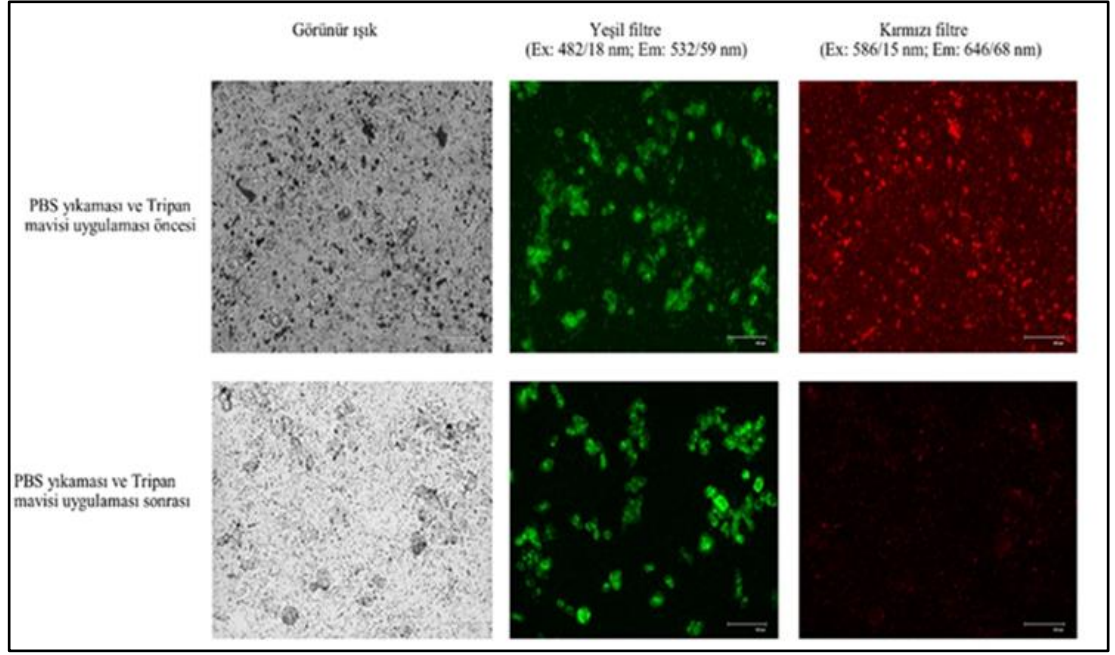
Bileşiklerin biyolojik faydaları, insan kolon hücre dizisi HCT-116'da sitotoksosite ve görüntüleme açısından değerlendirildi. Sitotoksosite sonuçlarına göre her iki bileşik de yüksek konsantrasyonlarda toksiktir (Şekil 4.1) Çeşitli literatür taramalarında BODIPY tarafından olmasa da, çeşitli bileşiklerin pirazol-4-karbaldehit ile kombinasyonunun çeşitli organizmalar ve kanser hücreleri için toksik olduğu vurgulanmıştır [80]-[82]. Moleküler düzeyde pirazol içeren bileşiklerin toksik etkisi, hücre içi iyon dengelerinin değişmesiyle açıklanmaktadır [81]. Ayrıca BODIPY çekirdeğinin, yeni komplekslerin yüksek konsantrasyonlarda çeşitli kanser hücrelerine karşı toksik olduğu pirazol içeren gruplarla türetilmesi de rapor edilmiştir [83], [84]. Bu çalışmalar da verilerimizi doğrulamaktadır. Sentezlenen 9 numaralı bileşik kumarin yapısını içermektedir. Kumarinin kendisi kanser çalışmalarında yaygın olarak araştırılan toksik bir bileşiktir [85]. BODIPY çekirdeğine konjuge edildiğinde gösterilen toksisitelere ek olarak [86] kumarin ve pirazol birimlerinin kombinasyonunun hücresel toksisiteyi daha da tetiklediği gösterilmiştir [87]. Ancak tez çalışmamızda kumarin içeren bileşik 9'un toksisitesi bileşik 5'inkinden fazla

değildi. Bu durum bileşik 9'un hücreler tarafından sınırlı içselleştirilmesinin bir sonucu olabilir.

Bileşiklerin kanser hücreleri tarafından içselleştirilmesini araştırmak için floresan mikroskopu kullanarak canlı hücre görüntüleme gerçekleştirdik. Hücre dışı sinyali bloke etmek [88] ve yalnızca hücre içi floresan sinyali elde etmek için Trypan Blue'yu kullandık. Mikroskopun sınırlamaları nedeniyle bileşiklerin hücre içi lokalizasyonlarını inceleyememek de, sonuçlar bileşiklerin hücreler tarafından içselleştirilebildiğini gösterdi. Bu, uyarılma dalga boyunun 482/18 nm olduğu bir filtre ile kanıtlandı ve birinci emisyon 532/59 nm idi. (Şekil 4.2) Sonuçlara göre, aynı konsantrasyonlarla (1 mg/ml nihai konsantrasyon) işlendiğinde 9 numaralı bileşiğin floresansı 5 numaralı bileşiğin floresansından daha azdı; bu da bileşik 9'un sınırlı içselleştirme modelini doğrulayabilir. Ayrıca biyolojik çözeltilerde 9 numaralı bileşik, çözünürlük ve topaklaşma sorunları sergiledi. Bu nedenle 9 numaralı bileşiğin floresans özelliklerinde olabilecek herhangi bir değişikliğe odaklanmayı amaçladık.



Şekil 4.2 : 5 ve 9 numaralı bileşiklerin canlı hücre görüntüleme ve içselleştirme modelleri.



Şekil 4.3 : Bileşik 5 ve Bileşik 9 ‘un PBS ile yıkama ve tripan mavisi uygulaması.

Fluoresan değişiklikleri, çözünürlük ve agregasyon problemlerini takip etmek amacıyla, bileşik 9 ile yapılan denemelerde hücreleri Trypan Blue uygulaması yapmadan kasıtlı olarak bıraktık. Sonuçlar, yıkama adımının eksikliği nedeniyle bileşik 9’un hücreler üzerindeki agregasyonunun, 586/15 nm uyarılma dalga boyu ve 646/68 nm emisyon dalga boyu filtresine sahip bir filtrasyon aracılığıyla tespit edilen ikincil bir floresans oluşturduğunu gösterdi (Şekil 4.3). Agregasyon kaynaklı floresans değişiklikleri, kumarin içeren kompleksler için daha önce rapor edilmiştir [89]-[91]. Bu da mevcut çalışmanın sonuçlarını doğrulamaktadır.

Genel Değerlendirme;

Fenil Bodipy, düşük epsilon değeri ve orta düzeyde floresans ömrü ile yüzeysel görüntüleme ve daha az derin uygulamalar için uygun olabilir. Bathokromik kayma nedeniyle daha uzun dalga boylarında emisyon yapabilir, ancak floresans sinyali 5 ve 9 numaralı bileşiklere kıyasla daha zayıf olacaktır.

5 numaralı bileşik, en yüksek epsilon değeri ve uzun floresans ömrü ile derin doku görüntüleme için en uygun bileşiktir. Yüksek ışık absorpsiyonu ve güçlü floresans sinyalleri sayesinde, bu bileşik daha parlak ve kalıcı sinyaller sağlayarak biyomedikal uygulamalarda en etkili ajan olarak öne çıkar.

9 numaralı bileşik, orta seviyede bir absorpsiyon kapasitesine ve kısa floresans ömrüne sahiptir. Kumarin yapısı, bileşiğin mavi-yeşil aralığında hızlı ve parlak floresans sinyalleri üretmesine olanak tanır. Bu nedenle, yüzeysel hücre görüntüleme ve hızlı biyogörüntüleme uygulamaları için idealdir. Ancak derin dokularda kullanım için uygun olmayabilir.

Elde edilen sonuçlar, bileşiklerin hücre viyabilitesi üzerinde belirli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Dolayısı ile kanserli hücrelerde sentezlenen bileşiklerimizin kullanımı gerçekleştirilmiş ve bulgular ile kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak, fenil ve kumarin birimleri içeren meso pirazol BODIPY 5 ve 9'un sentezi başarıyla gerçekleştirilmiş ve kanser hücrelerindeki kullanımını biyogörüntüleme çalışmaları ile görüntüleyip etkinlik testleri ile etkinliği kanıtlanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Jain A., Gupta R., Agarwal M., (2017), "Instantaneous and Selective Bare Eye Detection of Inorganic Fluoride Ion by Coumarin–Pyrazole-Based Receptors", *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 54 (5), 2808-2816.
- [2] Wang D., Liu R., Chen C., Wang S., Chang J., Wu C., Waclawik E. R., (2013), "Synthesis, photophysical and electrochemical properties of aza-boron-diquinomethene complexes", *Dyes and Pigments*, 99 (1), 240-249.
- [3] Coskun A., Akkaya E. U., (2006), "Signal ratio amplification via modulation of resonance energy transfer: proof of principle in an emission ratiometric Hg (II) sensor", *Journal of the American Chemical Society*, 128(45), 14474-14475.
- [4] Zeng L., Miller E. W., Pralle A., Isacoff E. Y., Chang C. J., (2006), "A selective turn-on fluorescent sensor for imaging copper in living cells", *Journal of the American Chemical Society*, 128(1), 10-11.
- [5] Niu L. Y., Guan Y. S., Chen Y. Z., Wu L. Z., Tung C. H., Yang Q. Z., (2012), "BODIPY-based ratiometric fluorescent sensor for highly selective detection of glutathione over cysteine and homocysteine", *Journal of the American Chemical Society*, 134(46), 18928-18931.
- [6] Eçik E. T., Özcan E., Kandemir H., Sengul I. F., Çoşut B., (2017), "Light harvesting systems composed of carbazole based subphthalocyanine-BODIPY enhanced with intramolecular fluorescence resonance energy transfer (FRET)", *Dyes and Pigments*, 136, 441-449.
- [7] Kim B., Ma B., Donuru V. R., Liu H., Frechet J. M., (2010), "Bodipy-backboned polymers as electron donor in bulk heterojunction solar cells", *Chemical communications*, 46(23), 4148-4150.
- [8] Kolemen S., Bozdemir O. A., Cakmak Y., Barin G., Erten-Ela S., Marszalek M., Akkaya E. U., (2011), "Optimization of distyryl-Bodipy chromophores for efficient panchromatic sensitization in dye sensitized solar cells", *Chemical Science*, 2(5), 949-954.
- [9] Usta H., Yilmaz M. D., Avestro A. J., Boudinet D., Denti M., Zhao W., Facchetti, A., (2013), "BODIPY–Thiophene Copolymers as p-Channel Semiconductors for Organic Thin-Film Transistors", *Advanced Materials*, 25(31), 4327-4334.
- [10] Yang Y., Guo Q., Chen H., Zhou Z., Guo Z., Shen Z., (2013), "Thienopyrrole-expanded BODIPY as a potential NIR photosensitizer for photodynamic therapy", *Chemical communications*, 49(38), 3940-3942.
- [11] Kamkaew A., Lim S. H., Lee H. B., Kiew L. V., Chung L. Y., Burgess K. (2013), "BODIPY dyes in photodynamic therapy", *Chemical Society Reviews*, 42(1), 77-88.

- [12] Ozcan E., Saglam M. F., Kazan H. H., Erol I., Sengul I. F., Cosut B., (2023), "Indolyl imine substituted BODIPY systems; synthesis, photophysical, and biological properties", *Tetrahedron*, 137, 133367.
- [13] Kaur P., Singh K., (2019), "Recent advances in the application of BODIPY in bioimaging and chemosensing", *Journal of Materials Chemistry C*, 7(37), 11361-11405.
- [14] Yadav I. S., Misra R., (2023), "Design, synthesis and functionalization of BODIPY dyes: applications in dye-sensitized solar cells (DSSCs) and photodynamic therapy (PDT)", *Journal of Materials Chemistry C*, 11(26), 8688-8723.
- [15] Shi W., Li J., He X., Zhou S., Sun H., Wu H., (2022), "Tuning the physicochemical properties of BODIPY for bioimaging via meso-amino acylation", *Organic Letters*, 24(18), 3368-3372.
- [16] Gayathri T., Barui A. K., Prashanthi S., Patra C. R., Singh S. P., (2014), "Correction: meso-Substituted BODIPY fluorescent probes for cellular bioimaging and anticancer activity", *RSC advances*, 4(94), 51977-51977.
- [17] Paitandi R. P., Mukhopadhyay S., Singh R. S., Sharma V., Mobin S. M., Pandey D. S., (2017), "Anticancer activity of iridium (III) complexes based on a pyrazole-appended quinoline-based BODIPY", *Inorganic chemistry*, 56(20), 12232-12247.
- [18] Ji D., Li G., Zhang S., Zhu M., Li C., Qiao R., (2018), "Mitochondria-targeted fluorescence probe for endogenous hypochlorite imaging in living cells and zebrafishes", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 259, 816-824.
- [19] Pewklang T., Saiyasombat W., Chueakwon P., Ouengwanarat B., Chansaenpak K., Kampaengsri S., Kamkaew A., (2024), "Revolutionary Pyrazole-based Aza-BODIPY: Harnessing Photothermal Power Against Cancer Cells and Bacteria", *ChemBioChem*, 25(3), e202300653.
- [20] Paitandi R. P., Mukhopadhyay S., Singh R. S., Sharma V., Mobin S. M., Pandey D. S., (2017), "Anticancer activity of iridium (III) complexes based on a pyrazole-appended quinoline-based BODIPY", *Inorganic chemistry*, 56(20), 12232-12247.
- [21] Zhang Y., Zheng X., Zhang L., Yang Z., Chen L., Wang L., Xie Z., (2020), "Red fluorescent pyrazoline-BODIPY nanoparticles for ultrafast and long-term bioimaging", *Organic & Biomolecular Chemistry*, 18(4), 707-714.
- [22] Descalzo A. B., Xu H. J., Shen Z., Rurack K., (2018), "Influence of the meso-substituent on strongly red emitting phenanthrene-fused boron-dipyrromethene (BODIPY) fluorophores with a propeller-like conformation", *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 352, 98-105.
- [23] Arroyo I. J., Hu R., Merino G., Tang B. Z., Pena-Cabrera E., (2009), "The smallest and one of the brightest. Efficient preparation and optical description of the parent

borondipyrromethene system”, The Journal of organic chemistry, 74(15), 5719-5722.

- [24] Poddar M., & Misra R., (2020), “Recent advances of BODIPY based derivatives for optoelectronic applications”, Coordination Chemistry Reviews, 421, 213462.
- [25] Yadav I. S., Misra R., (2023), “Design, synthesis and functionalization of BODIPY dyes: applications in dye-sensitized solar cells (DSSCs) and photodynamic therapy (PDT)”, Journal of Materials Chemistry C, 11(26), 8688-8723.
- [26] Wang D., Malmberg R., Pernik I., Prasad S. K., Roemer M., Venkatesan K., Messerle B. A., (2020), “Development of tethered dual catalysts: synergy between photo- and transition metal catalysts for enhanced catalysis”, Chemical Science, 11(24), 6256-6267.
- [27] Staudinger C., Breininger J., Klimant I., Borisov S. M., (2019), “Near-infrared fluorescent aza-BODIPY dyes for sensing and imaging of pH from the neutral to highly alkaline range”, Analyst, 144(7), 2393-2402.
- [28] Yıldırım S. K., Ömeroğlu İ., Durmuş M., (2024), “Optical sensor properties of a novel BODIPY compound for non-enzymatic detection of glucose”, Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, 28(03), 135-142.
- [29] Pfeifer D., Russegger A., Klimant I., Borisov S. M., (2020), “Green to red emitting BODIPY dyes for fluorescent sensing and imaging of carbon dioxide”, Sensors and Actuators B: Chemical, 304, 127312.
- [30] Squeo B. M., Gregoriou V. G., Avgeropoulos A., Baysec S., Allard S., Scherf U., Chochos C. L., (2017), “BODIPY-based polymeric dyes as emerging horizon materials for biological sensing and organic electronic applications”, Progress in Polymer Science, 71, 26-52.
- [31] Khan T. K., Sheokand P., Agarwal N., (2014), “Synthesis and Studies of Aza-BODIPY-Based π -Conjugates for Organic Electronic Applications”, European Journal of Organic Chemistry, 2014(7), 1416-1422.
- [32] Kamkaew A., Lim S. H., Lee H. B., Kiew L. V., Chung L. Y., Burgess K., (2013), “BODIPY dyes in photodynamic therapy”, Chemical Society Reviews, 42(1), 77-88.
- [33] Awuah S. G., You Y., (2012), “Boron dipyrromethene (BODIPY)-based photosensitizers for photodynamic therapy”, Rsc Advances, 2(30), 11169-11183.
- [34] Gurubasavaraj P. M., Sajjan V. P., Muñoz-Flores B. M., Jiménez Pérez V. M., Hosmane N. S., (2022), “Recent advances in BODIPY compounds: synthetic methods, optical and nonlinear optical properties, and their medical applications”, Molecules, 27(6), 1877.

- [35] Kolemen S., Akkaya E. U., (2018), "Reaction-based BODIPY probes for selective bio-imaging", *Coordination Chemistry Reviews*, 354, 121-134.
- [36] Skoog D. A., Holler F. J., Nieman T. A., (1998), "Potentiometry. Principles of Instrumental Analysis", 5th Edition, Philadelphia: Harcourt Brace & Company.
- [37] Gündüz, T., (2002), "İnstrümental Analiz", 6. baskı. Gazi Kitabevi.
- [38] Braude, E. A., (1950), "Studies in light absorption. The relation between absorption intensities and molecular dimensions, and its application to the electronic spectra of polyenes and polycyclic benzenoid hydrocarbons", Part IX, *Journal of the Chemical Society (Resumed)*.
- [39] Mayerhöfer T. G., Pahlow S., Popp J., (2020), "The Bouguer-Beer-Lambert law: Shining light on the obscure", *ChemPhysChem*, 21(18), 2029-2046.
- [40] Oldham P. B., McCarroll M. E., McGown L. B., Warner I. M., (2000), "Molecular fluorescence, phosphorescence, and chemiluminescence spectrometry", *Analytical chemistry*, 72(12), 197-210.
- [41] M. M., Turro N. L., (1991), "Photochemistry, University Science Books", Mill Valley, California.
- [42] Faria J. L. F. J., Pereira M. M., Faria, J., (2008), "Catalysis from Theory to Application: An Integrated Course: An Integrated Course", *Imprensa da Universidade de Coimbra/Coimbra University Press*.
- [43] Naresh K., (2014), "Applications of fluorescence spectroscopy", *J. Chem. Pharm. Sci*, 974, 2115.
- [44] Bose A., Thomas I., Abraham E., (2018), "Fluorescence spectroscopy and its applications: A Review", *Int. J. Adv. Pharm. Res*, 8(1), 1-8.
- [45] Kursunlu A. N., Oguz M., Yilmaz M., (2018), "On/off rhodamine-BODIPY-based fluorimetric/colorimetric sensor for detection of mercury (II) in half-aqueous medium", *IEEE Sensors Journal*, 19(6), 2009-2015.
- [46] Li L. L., Li K., Li M. Y., Shi L., Liu Y. H., Zhang H., Yu X. Q., (2018), "BODIPY-based two-photon fluorescent probe for real-time monitoring of lysosomal viscosity with fluorescence lifetime imaging microscopy", *Analytical chemistry*, 90(9), 5873-5878.
- [47] Lledos M., Calatayud D. G., Cortezon-Tamarit F., Ge H., Pourzand C., Botchway S. W., Pascu S. I., (2024), "Tripodal BODIPY-Tagged and Functional Molecular Probes: Synthesis, Computational Investigations and Explorations by Multiphoton Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy", *Chemistry–A European Journal*, e202400858.

- [48] Hinkeldey B., Schmitt A., Jung G., (2008), “Comparative photostability studies of BODIPY and fluorescein dyes by using fluorescence correlation spectroscopy”, *ChemPhysChem*, 9(14), 2019-2027.
- [49] Kinjo M., Rigler R., (1995), “Ultrasensitive hybridization analysis using fluorescence correlation spectroscopy”, *Nucleic acids research*, 23(10), 1795-1799.
- [50] Kim S. Y., Cho Y. J., Son H. J., Cho D. W., Kang S. O., (2018), “Photoinduced Electron Transfer in a BODIPY-Ortho-Carborane Dyad Investigated by Time-Resolved Transient Absorption Spectroscopy”, *The Journal of Physical Chemistry A*, 122(13), 3391-3397.
- [51] Cullen A. A., Heintz K., O'Reilly L., Long C., Heise A., Murphy R., Pryce M. T., (2020), “A Time-Resolved Spectroscopic Investigation of a Novel BODIPY Copolymer and Its Potential Use as a Photosensitiser for Hydrogen Evolution.”, *Frontiers in Chemistry*, 8, 584060.
- [52] Hassan M., Klaunberg B. A., (2004), “Biomedical applications of fluorescence imaging in vivo”, *Comparative medicine*, 54(6), 635-644.
- [53] Ntziachristos V., (2006), “Fluorescence molecular imaging. Annu. Rev”, *Biomed. Eng.*, 8(1), 1-33.
- [54] Brandtzaeg P., (1998), “The increasing power of immunohistochemistry and immunocytochemistry”, *Journal of immunological methods*, 216(1-2), 49-67.
- [55] Rabut G., Ellenberg J., (2004), “Automatic real-time three-dimensional cell tracking by fluorescence microscopy”, *Journal of microscopy*, 216(2), 131-137.
- [56] Shahzad A., Edetsberger M., Koehler G., (2010), “Fluorescence spectroscopy: an emerging excellent diagnostic tool in medical sciences”, *Applied Spectroscopy Reviews*, 45(1), 1-11.
- [57] Das S., Dey S., Patra S., Bera A., Ghosh T., Prasad B., Debnath S., (2023), “BODIPY-based molecules for biomedical applications”, *Biomolecules*, 13(12), 1723.
- [58] Wang D., Xia J., (2019), “Optics based biomedical imaging: principles and applications”, *Journal of Applied Physics*, 125(19).
- [59] Corrêa Jr, I. R., (2014), “Live-cell reporters for fluorescence imaging”, *Current opinion in chemical biology*, 20, 36-45.
- [60] Drummen G. P., (2012), “Fluorescent probes and fluorescence (microscopy) techniques—illuminating biological and biomedical research”, *Molecules*, 17(12), 14067-14090.

- [61] Stachelek P., MacKenzie L., Parker D., Pal R., (2022), “Circularly polarised luminescence laser scanning confocal microscopy to study live cell chiral molecular interactions”, *Nature Communications*, 13(1), 553.
- [62] Piston D. W., (1999), “Imaging living cells and tissues by two-photon excitation microscopy”, *Trends in cell biology*, 9(2), 66-69.
- [63] Aoki K., Kamioka Y., Matsuda M., (2013), “Fluorescence resonance energy transfer imaging of cell signaling from in vitro to in vivo: basis of biosensor construction, live imaging, and image processing”, *Development, growth & differentiation*, 55(4), 515-522.
- [64] Sanderson M. J., Smith I., Parker I., Bootman M. D., (2014), “Fluorescence microscopy”, *Cold Spring Harbor Protocols*, 10, pdb-top071795.
- [65] Wan J., Zhang X., Zhang K., Su Z., (2020), “Biological nanoscale fluorescent probes: From structure and performance to bioimaging”, *Reviews in Analytical Chemistry*, 39(1), 209-221.
- [66] Bittel A. M., Nickerson A. K., Lin L. J., Nan X., Gibbs S. L., (2014), “Design and development of BODIPY-based photoswitchable fluorophores to visualize cell signaling with multispectral super resolution microscopy”, In *Single Molecule Spectroscopy and Superresolution Imaging VII*, Vol. 8950, 97-103.
- [67] Collot M., Boutant E., Lehmann M., Klymchenko A. S., (2018), “BODIPY with tuned amphiphilicity as a fluorogenic plasma membrane probe”, *Bioconjugate Chemistry*, 30(1), 192-199.
- [68] Li G., Li J., Otsuka Y., Zhang S., Takahashi M., Yamada K., (2020), “A BODIPY-based fluorogenic probe for specific imaging of lipid droplets”, *Materials*, 13(3), 677.
- [69] Zhang J., Wang N., Ji X., Tao Y., Wang J., Zhao W., (2020), “BODIPY-based fluorescent probes for biothiols”, *Chemistry–A European Journal*, 26(19), 4172-4192.
- [70] Liu H., Song W., Gröninger D., Zhang L., Lu Y., Chan K. S., Shen Z., (2019), “Real-time monitoring of newly acidified organelles during autophagy enabled by reaction-based BODIPY dyes”, *Communications biology*, 2(1), 442.
- [71] Blázquez-Moraleja A., Álvarez-Fernández D., Montero R. P., García-Moreno I., Martínez-Martínez V., Bañuelos J., Chiara J. L., (2019), “A general modular approach for the solubility tagging of BODIPY dyes”, *Dyes and Pigments*, 170, 107545.
- [72] Ono M., Watanabe H., Ikehata Y., Ding N., Yoshimura M., Sano K., Saji H., (2017), “Radioiodination of BODIPY and its application to a nuclear and optical dual functional labeling agent for proteins and peptides”, *Scientific reports*, 7(1), 3337.

- [73] Zhu X., Shinohara H., (2014), "Fluorescence enhancement of fluorescent unnatural streptavidin by binding of a biotin analogue with spacer tail and its application to biotin sensing", *The Scientific World Journal*, 2014(1), 165369.
- [74] Gökerküçük E. B., Tramier M., Bertolin G., (2020), "Imaging mitochondrial functions: from fluorescent dyes to genetically-encoded sensors", *Genes*, 11(2), 125.
- [75] Raudsepp P., Brüggemann D. A., Andersen M. L., (2014), "Detection of radicals in single droplets of oil-in-water emulsions with the lipophilic fluorescent probe BODIPY665/676 and confocal laser scanning microscopy", *Free radical biology and medicine*, 70, 233-240.
- [76] Li M., Tian R., Fan J., Du J., Long S., Peng X., (2017), "A lysosome-targeted BODIPY as potential NIR photosensitizer for photodynamic therapy", *Dyes and Pigments*, 147, 99-105.
- [77] Zaleskaya-Hernik M., Dobrzycki Ł., Romański J., (2023), "Interaction of Ions in Organic and Aqueous Media with an Ion-Pair Sensor Equipped with a BODIPY Reporter: An ON1-OFF-ON2-ON3 Fluorescent Assay", *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10), 8536.
- [78] Adhikari S., Moscatelli J., Smith E. M., Banerjee C., Puchner E. M., (2019), "Single-molecule localization microscopy and tracking with red-shifted states of conventional BODIPY conjugates in living cells", *Nature communications*, 10(1), 3400.
- [79] Kowada T., Maeda H., Kikuchi K., (2015), "BODIPY-based probes for the fluorescence imaging of biomolecules in living cells", *Chemical Society Reviews*, 44(14), 4953-4972.
- [80] El Shehry M. F., Abbas S. Y., Farrag A. M., Fouad S. A., Ammar Y. A., (2020), "Synthesis and biological evaluation of 3-(2, 4-dichlorophenoxyethyl)-1-phenyl-1 H-pyrazole derivatives as potential antitumor agents", *Journal of the Iranian Chemical Society*, 17, 2567-2575.
- [81] Martins D. R., Pazini F., de Medeiros Alves V., de Moura S. S., Lião L. M., de Magalhães M. T. Q., Rocha M. L., (2013), "Synthesis, docking studies, pharmacological activity and toxicity of a novel Pyrazole derivative (LQFM 021) Possible effects on phosphodiesterase", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 61(5), 524-531.
- [82] Reddy V. N., Yamini L., Rao Y. J., Rao C. P., (2017), "Synthesis of pyrazole-4-carbaldehyde derivatives for their antifungal activity", *Medicinal Chemistry Research*, 26, 1664-1674.
- [83] Trukhan I. S., Tomilin D. N., Dremina N. N., Sobenina L. N., Shurygin M. G., Petrushenko K. B., Shurygina I. A., (2022), "Application of meso-CF3-Fluorophore BODIPY with Phenyl and Pyrazolyl Substituents for Lifetime Visualization of Lysosomes", *Molecules*, 27(15), 5018.

- [84] Pewklang T., Saiyasombat W., Chueakwon P., Ouengwanarat B., Chansaenpak K., Kampaengsri S., Kamkaew A., (2024), "Revolutionary Pyrazole-based Aza-BODIPY: Harnessing Photothermal Power Against Cancer Cells and Bacteria", *ChemBioChem*, 25(3), e202300653.
- [85] Küpeli Akkol E., Genç Y., Karpuz B., Sobarzo-Sánchez E., Capasso R., (2020), "Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer", *Cancers*, 12(7), 1959.
- [86] Antina E., Bumagina N., Marfin Y., Guseva G., Nikitina L., Sbytov D., Telegin F., (2022), "BODIPY conjugates as functional compounds for medical diagnostics and treatment", *Molecules*, 27(4), 1396.
- [87] Thakor T., Savjani J., (2014), "Synthesis and cell line study of pyrazole substituted coumarin derivatives", *Int. J. Pharm. Tech. Res*, 4, 1397-1406.
- [88] Aksakal N. E., Kazan H. H., Eçik E. T., Yuksel F., (2018), "A novel photosensitizer based on a ruthenium (II) phenanthroline bis (perylene-diimide) dyad: synthesis, generation of singlet oxygen and in vitro photodynamic therapy", *New Journal of Chemistry*, 42(21), 17538-17545.
- [89] Xiao H, Chen K, Cui D, Jiang N, Yin G, Wang J, Wang R., (2014), "Two novel aggregation-induced emission active coumarin-based Schiff bases and their applications in cell imaging", *New Journal of Chemistry*, 38(6), 2386-93.
- [90] Bu F, Duan R, Xie Y, Yi Y, Peng Q, Hu R, Qin A, Zhao Z, Tang BZ., (2015), "Unusual aggregation-induced emission of a coumarin derivative as a result of the restriction of an intramolecular twisting motion", *Angewandte Chemie*, 127(48), 14700-5.
- [91] Zhang P, Liu W, Niu G, Xiao H, Wang M, Ge J, Wu J, Zhang H, Li Y, Wang P., (2017), "Coumarin-based boron complexes with aggregation-induced emission", *The Journal of Organic Chemistry*, 82(7), 3456-62.

ÖZGEÇMİŞ

Ercan COŞAR, 2008 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 2012 yılında başarı ile tamamladı ve 2020 yılında yüksek lisans eğitimine Gebze Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda başladı.2013 yılından günümüze kadar Arge Merkezleri ve akredite laboratuvar kuruluşlarında Kimyager olarak çalışmıştır.2023 yılı Mart ayından itibaren bitkisel ekstrakt üretimi yapan bir firmanın Kalite Kontrol ve Arge Müdürü olarak görev almaktadır.