



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HİPOKLORİT İYONUNA DUYARLI KEMİLÜMİNOJENİK BİR
BELİRTEÇ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şeyma OCAKÇI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatih ALGI

AKSARAY, 2021

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 182330404 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Şeyma OCAKÇI tarafından hazırlanan “**HİPOKLORİT İYONUNA DUYARLI KEMİLÜMİNOJENİK BİR BELİRTEÇ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Zeynel SEFEROĞLU

Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KARADUMAN

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 17/09/2021

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinallliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Şeyma OCAKÇI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince gerek teorik gerek pratik bilgi birikimi ile bana her zaman ışık tutan, sahip olduğu vizyon ve çalışma azmi ile nasıl bilim yapılacağını ve nasıl iyi yetişmiş bilim insanı olunabileceğini öğreten, her an her konuda maddi manevi desteklerini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Fatih ALGI'ya teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans öğrenim hayatım boyunca bilgi birikimleriyle katkılarından ve desteklerinden dolayı saygı değer hocam Doç. Dr. Melek PAMUK ALGI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvarında nasıl çalışılması gerektiğini ve çalışma inceliklerini büyük bir özenle ve sabırla öğreten yaşadığım bütün zorluklarda önemli pratik ve uygulama bilgisi ile yardım elini uzatan ve desteklerini esirgemeyen Öğr. Gör. Ömer SONKAYA ve Meltem ALP'e sonsuz teşekkür ederim.

Beni bugünlerime getiren maddi ve manevi her türlü fedakarlığı yapmaktan hiçbir zaman kaçınmayan hayatım boyunca iyi yerlere gelebilmem için ne gerekiyorsa ellerinden gelenin fazlasını yapan, aile bireylerim, babam Şükrü OCAKÇI annem Fatma OCAKÇI ve kardeşim Mertcan OCAKÇI'ya en içten şekilde teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde 118Z293 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) teşekkür ederim.

Şeyma OCAKÇI
AKSARAY, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Kemilüminesans (KL)	3
1.2 Luminol Bazlı Kemilüminesans Bileşikler	5
1.3 Hipoklorit	6
1.4 Çalışmanın Amacı	6
2. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI	8
2.1 Luminol ve Luminol Bazlı Bileşikler	8
2.2 Hipoklorit Sensörleri	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	20
3.1 Materyal.....	18
3.2 Bileşik 33.....	18
3.3 Bileşik 34.....	19
3.4 Bileşik 35.....	19
3.5 Bileşik 37.....	20
3.6 Bileşik 1	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	22
4.1 Hedef Bileşiğin 1 Sentezi	22
4.2 Hedef Bileşiğin 1 Fotofiziksel Özellikleri.....	30
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ.....	49

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HİPOKLORİT İYONUNA DUYARLI KEMİLÜMİNOJENİK BİR
BELİRTEÇ

Şeyma OCAKÇI

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

ÖZET

Reaktif oksijen türleri düşük yoğunlukta olduğu zaman, enfeksiyonlara karşı savunma, kanser hücrelerini öldürme gibi avantajları vardır. Yaşlanma, inflamasyon ve radyasyon gibi dış etkenlere maruz kalma sonucunda oksidatif denge bozularak Reaktif Oksijen Türleri (Serbest radikaller) artar ve DNA, proteinler, nükleik asitler ve membran lipidlerinde oksidatif hasar meydana gelir. Bu hasarlar sonucunda kanser, ateroskleroz, kalpte iskemi vb. ciddi hastalıklara yol açar.

Bu tez çalışmasında, suda çözünebilir ve hipoklorit iyonuna duyarlı kemilüminojenik bir bileşiğin **1** tasarımı ve sentezi gerçekleştirilmiştir. Tasarımı ve sentezi gerçekleştirilen bu yeni bileşiğin yapısal karakterizasyonu, fotofiziksel özellikleri ve floresans ve kemilüminesans ışıma yapabilme yeteneği spektroskopik yöntemler (^1H NMR, ^{13}C NMR, LCMS, absorpsiyon, emisyon ve kemilüminesans spektroskopileri) kullanılarak aydınlatılmıştır. Belirteç, bünyesinde barındırdığı dihidroftalazindion tabanlı ünite ile kemilüminesans yapma yeteneğine ve hipoklorit gibi önemli bir reaktif oksijen türüne karşı duyarlılık göstermiştir. Elde edilen belirteç **1** tamamen sulu ortamda çözünerek fizyolojik pH'da hipoklorite karşı çift kanaldan (florojenik ve kemilüminojenik) duyarlı olması bakımından emsallerinden daha üstündür.

Anahtar Kelimeler: Sodyum Hipoklorit, Floresans, Dihidroftalazindion, Kemilüminesans.

Eylül, 2021; 49 sayfa

M.Sc. THESIS

A HIPOCLORIDE ION SENSITIVE CHEMILUMINOGENIC MARKER

Şeyma OCAKÇI

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology**

Supervisor: Prof. Dr. Fatih ALGI

ABSTRACT

Low concentration of reactive oxygen species (ROS) can be useful in immune defence against infections or treatment of cancer cells. As a result of exposure to external factors such as aging, inflammation and radiation, oxidative balance is disrupted, which results in increased ROS levels. This may cause oxidative damage in DNA, proteins, nucleic acids and membrane lipids. Consequently, some pathological conditions including cancer, atherosclerosis, ischemia in the heart etc. may arise.

In this thesis, the design and synthesis of a new water soluble chemiluminogenic probe was carried out. Structural characterization and photophysical properties including, absorption, fluorescence and chemiluminescence, were elucidated using spectroscopic methods (^1H NMR, ^{13}C NMR, LCMS, absorption, emission and chemiluminescence spectra). It was shown that compound **1** was highly selective and sensitive to hypochlorite ion among many other species since it contains dihydrophthalazinedione unit. Furthermore, it can give dual-channel (fluorogenic and chemiluminescent) response to hypochlorite, which render **1** highly versatile compared to precedent analogues.

Keywords: Sodium Hypochlorite, Fluorescence, Dihydrophthalazinedione, Chemiluminescence.

September, 2021; 49 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Uyarıcıya bağlı lüminesans türleri.....	1
Şekil 1.2. Jablonski enerji diyagramı.....	2
Şekil 1.3. Elektromanyetik spektrum.....	3
Şekil 1.4. Luminol türevi bileşiklerin kimyasal yapıları.....	4
Şekil 1.5. light stick.	4
Şekil 1.6. Luminol ve luminol tabanlı bileşiklerin kemilüminesans ışırma mekanizmasının şematik gösterimi	5
Şekil 1.7. Hedef Bileşik 1 için genel sentez şeması.....	7
Şekil 2.1. H ₂ O ₂ tarafından tetiklenen bir baz (ve katalizör) varlığında luminolün kemilüminesans reaksiyonu.....	8
Şekil 2.2. Luminol tabanlı Hg ⁺² belirteci.	8
Şekil 2.3. Dioksetan tabanlı hidrojen peroksit belirteci	9
Şekil 2.4. Ürik asit sensörü.	9
Şekil 2.5. Ce (IV)'a duyarlı kemilüminojenik sensör.	9
Şekil 2.6. Dioksetan tabanlı singlet oksijen belirteci	10
Şekil 2.7. Dioksetan tabanlı sistein belirteci	10
Şekil 2.8. kemilüminojenlerin 10-17 kimyasal yapısı	11
Şekil 2.9. Hipoklorit sensörü.	12
Şekil 2.10. Floresan ClO ⁻ sensörünün kimyasal yapısı	12
Şekil 2.11. Hipokloritin kantitatif tespiti için uygulanan floresan sensör	13
Şekil 2.12. Hipokloriti kolorimetrik ve florojenik olarak tespit eden sensör. ..	13
Şekil 2.13. Hipokloriti spesifik bir şekilde kolorimetrik ve florojenik olarak tespit edebilen sensör	13
Şekil 2.14. Hipokloröz asit ve hidrojen sülfidi tespit eden florojenik sensörün yapısı	14
Şekil 2.15. Fenotiyazin ve hemisiyanin tabanlı hipoklorit sensörü	14
Şekil 2.16. Bileşik 25 HClO sensörünün yapısı.....	15
Şekil 2.17. Yakın kızılötesi (NIR) bölgede, mitokondriyal hedefli floresan hipokloröz asit sensörü.....	15
Şekil 2.18. BODIPY tabanlı 27 numaralı bileşiğin yapısı.....	16
Şekil 2.19. Bileşik 28 kimyasal yapısı	16
Şekil 2.20. Mitokondriyal hipoklorit sensörü	16
Şekil 2.21. HClO sensörü	17
Şekil 2.22. HClO duyarlı kemilüminesans sensör.....	17
Şekil 3.1. Hedef bileşik 1 genel sentez şeması.....	18
Şekil 3.2. Bileşik 33 sentezi.....	18
Şekil 3.3. Bileşik 34 sentezi.....	19
Şekil 3.4. Bileşik 35 sentezi.....	19
Şekil 3.5. Bileşik 37 sentezi.....	20
Şekil 3.6. Bileşik 1 sentezi.....	21
Şekil 4.1. Bileşik 33 için ¹ H-NMR spektrumu.	22
Şekil 4.2. Bileşik 33 için ¹³ C-NMR spektrumu.	23
Şekil 4.3. Bileşik 34 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	24
Şekil 4.4. Bileşik 34 için ¹³ C-NMR spektrumu.	24
Şekil 4.5. Bileşik 34 için LC-MS kütle analizi.	25

Şekil 4.6. Bileşik 35 için ^1H -NMR spektrumu	25
Şekil 4.7. Bileşik 35 için ^{13}C -NMR spektrumu.	26
Şekil 4.8. Bileşik 35 için LC-MS kütle analizi	26
Şekil 4.9. Bileşik 37 için ^1H -NMR spektrumu.	27
Şekil 4.10. Bileşik 37 için ^{13}C -NMR spektrumu.	28
Şekil 4.11. Bileşik 37 için LC-MS kütle analizi	28
Şekil 4.12. Bileşik 1 için ^1H NMR spektrumu.....	29
Şekil 4.13. Bileşik 1 için ^{13}C -NMR spektrumu.	29
Şekil 4.14. Bileşik 1 için LC-MS kütle analizi	30
Şekil 4.15. Bileşik 1 (33 μM) soğurma spektrumu.....	30
Şekil 4.16. Bileşik 1 (3,3 μM) floresans spektrumu.	31
Şekil 4.17. Bileşik 1 (3,3 μM) için çeşitli reaktif oksijen türleri (33 μM , $^1\text{O}_2$, H_2O_2 , ClO^- , tBuOOH , KO_2 , OH^- , tBuO^- , ONOO^- , OH^- , Na_2S , KCN , Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaN_3 , Bu_4NOAc , $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{PO}_4$, NaNO_2 , sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH , KIO_3 , Bu_4NClO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4 , ADP , AMP , ATP , GDP , GMP , GTP , PPi , GSH , pirolin, histidin, serin, homosistein, lizin, izolösin, tirozin, fenil alanin, sistein, glisin) varlığında floresans emisyon spektrumu (0.01 M PBS, $\text{pH}=7,4$, $\lambda_{\text{ex}}=270\text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}}=341\text{ nm}$).	32
Şekil.4.18 Bileşik 1 (3,3 μM) için ClO^- (0, 1.5, 1.75, 2, 2.25, 3, 3.5, 3.75 ve 4 eq) derişimine bağı olarak floresans şiddetinin artışı.....	33
Şekil 4.19. Bileşik 1 (3,3 μM) için ClO^- (0, 1.5, 1.75, 2, 2.25, 3, 3.5, 3.75 ve 4 eq) derişimine bağı olarak floresans şiddetinin artışının 3 boyutlu grafiğı.....	33
Şekil 4.20. Bileşik 1 (3,3 μM) için ClO^- (0, 1.5, 1.75, 2, 2.25, 3, 3.5, 3.75 ve 4 eq) derişimine bağı olarak elde edilen floresans şiddeti artışının çizgi grafiğı.	34
Şekil 4.21. PBS ortamında, Bileşik 1 (3,3 μM) floresansı için 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 6A, 6B, 6C, 6D, 6E (H_2O_2 , $^1\text{O}_2$, KO_2 , tBuO^- , tBuOOH , Na_2S , KCN , Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaN_3 , Bu_4NOAc , $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{PO}_4$, NaNO_2 , sodium citrate tribazik-CTB, NaSH , KIO_3 , Bu_4NClO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4) 6F ClO^- Bar grafiğı.....	34
Şekil 4.22. Bileşik 1 (3,3 μM) için çeşitli reaktif oksijen türleri (33 μM , $^1\text{O}_2$, H_2O_2 , ClO^- , tBuOOH , KO_2 , OH^- , tBuO^- , ONOO^- , OH^- , Na_2S , KCN , Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaN_3 , Bu_4NOAc , $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{PO}_4$, NaNO_2 , sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH , KIO_3 , Bu_4NClO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4 , ADP , AMP , ATP , GDP , GMP , GTP , PPi , GSH , pirolin, histidin, serin, homosistein, lizin, izolösin, tirozin, fenil alanin, sistein, glisin) varlığında floresans emisyon spektrumu (Çeşme Suyu, $\lambda_{\text{ex}}=270\text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}}=341\text{ nm}$).	35
Şekil 4.23. Bileşik 1 (3,3 μM) için ClO^- (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 eq) derişimine bağı olarak floresans emisyon şiddetinin artışı (Çeşme suyu, $\lambda_{\text{ex}}=270\text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}}=341\text{ nm}$).....	36

Şekil 4.24. Çeşme suyunda Bileşik 1 (3,3 µM) için ClO ⁻ (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 eq) derişimine bağı olarak artan floresans emisyon şiddetinin çizgi grafiğı.....	36
Şekil 4.25. Çeşme Suyunda, Bileşik 1 (3,3 µM) floresansı için 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 6A, 6B, 6C, 6D, 6E (H ₂ O ₂ , ¹ O ₂ , KO ₂ , tBuO [•] , tBuOOH, Na ₂ S, KCN, Bu ₄ NBr, Bu ₄ NOH, Bu ₄ NI, Bu ₄ NCl, Bu ₄ PF ₆ , Bu ₄ NF, K ₂ HPO ₄ , NaN ₃ , Bu ₄ NOAc, Bu ₄ NH ₂ PO ₄ , NaNO ₂ , sodium citrate tribazik-CTB, NaSH, KIO ₃ , Bu ₄ NClO ₄ , K ₃ PO ₄ , Na ₂ CO ₃ , Bu ₄ NBF ₄ , Na ₂ SO ₄ , NaNO ₃ , NaHSO ₄ , NaHCO ₃ , KH ₂ PO ₄) 6F ClO ⁻ Bar grafiğı.....	37
Şekil 4.26. Bileşik 1 (3,3 µM) için çeşitli reaktif oksijen türleri (33 µM, ¹ O ₂ , H ₂ O ₂ , ClO ⁻ , tBuOOH, KO ₂ , OH ⁻ , tBuO [•] , ONOO ⁻ , OH ⁻ , Na ₂ S, KCN, Bu ₄ NBr, Bu ₄ NOH, Bu ₄ NI, Bu ₄ NCl, Bu ₄ PF ₆ , Bu ₄ NF, K ₂ HPO ₄ , NaN ₃ , Bu ₄ NOAc, Bu ₄ NH ₂ PO ₄ , NaNO ₂ , sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH, KIO ₃ , Bu ₄ NClO ₄ , K ₃ PO ₄ , Na ₂ CO ₃ , Bu ₄ NBF ₄ , Na ₂ SO ₄ , NaNO ₃ , NaHSO ₄ , NaHCO ₃ , KH ₂ PO ₄ , ADP, AMP, ATP, GDP, GMP, GTP, PPI, GSH, pirolin, histidin, serin, homosistein, lizin, izolösin, tirozin, fenil alanin, sistein, glisin) varlığında kemilüminesans spektrumu (0.01,M PBS,pH=7,4, λ _{max} =370nm).....	38
Şekil 4.27. Bileşik 1 (3,3 µM) için çeşitli reaktif oksijen türleri (33 µM, ¹ O ₂ , H ₂ O ₂ , ClO ⁻ , tBuOOH, KO ₂ , OH ⁻ , tBuO [•] , ONOO ⁻ , OH ⁻ , Na ₂ S, KCN, Bu ₄ NBr, Bu ₄ NOH, Bu ₄ NI, Bu ₄ NCl, Bu ₄ PF ₆ , Bu ₄ NF, K ₂ HPO ₄ , NaN ₃ , Bu ₄ NOAc, Bu ₄ NH ₂ PO ₄ , NaNO ₂ , sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH, KIO ₃ , Bu ₄ NClO ₄ , K ₃ PO ₄ , Na ₂ CO ₃ , Bu ₄ NBF ₄ , Na ₂ SO ₄ , NaNO ₃ , NaHSO ₄ , NaHCO ₃ , KH ₂ PO ₄ , ADP, AMP, ATP, GDP, GMP, GTP, PPI, GSH, pirolin, histidin, serin, homosistein, lizin, izolösin, tirozin, fenil alanin, sistein, glisin) varlığında kemilüminesans spektrumunun 3 boyutlu grafiğı (0.01 M PBS, pH=7,4, λ _{max} = 370 nm).....	39
Şekil 4.28. Bileşik 1 (3,3 µM) için ClO ⁻ (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 ve 1 eq) derişimine bağı olarak kemilüminesans şiddetinin artışı.....	39
Şekil 4.29. Bileşik 1 (3,3 µM) için ClO ⁻ (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 ve 1 eq) derişimine bağı olarak kemilüminesans şiddetinin artışının 3 boyutlu grafiğı.....	40
Şekil 4.30. Bileşik 1 (3,3 µM) kemilüminesans spektrumu için 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 6A, 6B, 6C, 6D, 6E (H ₂ O ₂ , ¹ O ₂ , KO ₂ , tBuO [•] , tBuOOH, Na ₂ S, KCN, Bu ₄ NBr, Bu ₄ NOH, Bu ₄ NI, Bu ₄ NCl, Bu ₄ PF ₆ , Bu ₄ NF, K ₂ HPO ₄ , NaN ₃ , Bu ₄ NOAc, Bu ₄ NH ₂ PO ₄ , NaNO ₂ , sodium citrate tribazik-CTB, NaSH, KIO ₃ , Bu ₄ NClO ₄ , K ₃ PO ₄ , Na ₂ CO ₃ , Bu ₄ NBF ₄ , Na ₂ SO ₄ , NaNO ₃ , NaHSO ₄ , NaHCO ₃ , KH ₂ PO ₄) 6F ClO ⁻ Bar grafiğı.....	40
Şekil 5.1. Hedef bileşik 1 genel sentez şeması.	41
Şekil 5.2 Bileşik 1 (3,3 µM) için çeşitli analitler varlığında A) floresans spektrumu (0.01 M PBS, pH=7,4, λ _{ex} = 270 nm kemilüminesans spektrumu (0.01 M PBS, pH=7,4, λ _{max} = 370 nm).....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

^1H NMR	Hidrojen Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi
^{13}C NMR	Karbon Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LC MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle-Kütle Spektrometresi
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
ClO^-	Hipoklorit
UV-VIS	Morötesi ve Görünür Işık Soğurma Spektroskopisi
λ_{ex}	Uyarma dalga boyu
λ_{max}	En yüksek dalga boyu
SRA	Süperoksit Radikal Anyonu
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
KL	Kemilüminesans
HCl	Hipokloröz asit

1. GİRİŞ

Elektronik olarak uyarılmış türlerin; UV – VIS veya kızılötesi foton yayması “lüminesans” olarak adlandırılır. İsim latince “lūmen = ışık” kelimesinden gelmekte ve ilk olarak fizikçi bilim adamları tarafından “lūminescenz” olarak tanımlanmıştır [1]. Ayrıca lüminesans, elektromanyetik ışık yayması nedeni ile ışıldama olarakta bilinir ve diğer elektromanyetik ışık yayan sistemlerden ayırt edici özelliği ise kaynağın ısısında bir değişme meydana gelmeden ışın yaymasıdır. “Soğuk ışık” olarakta bilinen lüminesans bu yönüyle siyah cisim ışımasından ayrılır.

Lüminesans herhangi bir maddenin dış bir uyarıcı kaynaktan aldığı enerjinin, bir bölümünü elektromanyetik ışınlam olarak yaymasıdır [2].

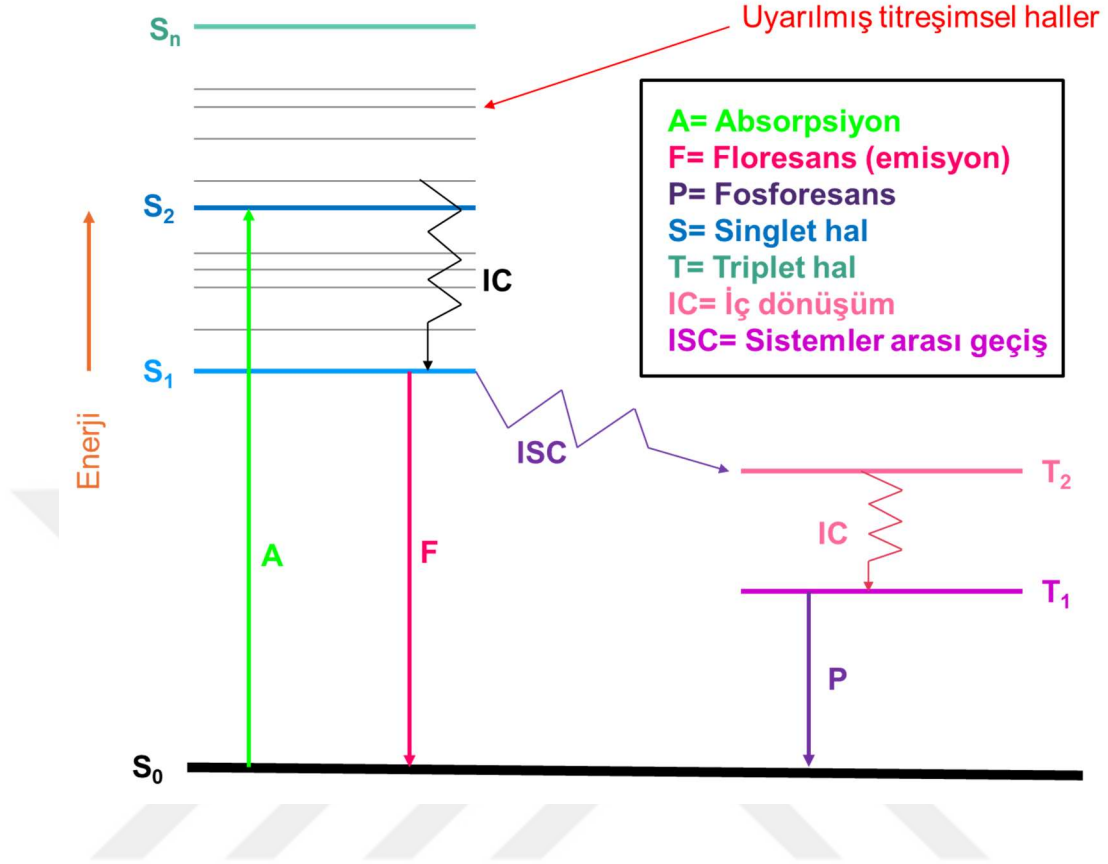
Uyarma işlemi ışık ile yapılırsa fotolüminesans, ısı kaynaklı uyarıcı ile yapılırsa termolüminesans, kimyasal bir tepkime kaynaklı uyarıcı ile yapılırsa kemilüminesans, elektrik kaynaklı uyarıcı ise elektrolüminesans, biyolojik bir molekül kaynaklı uyarıcı ise biyolüminesans olarak adlandırılır. Lüminesans çeşitleri sınıflandırılmıştır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Uyarıcı kaynaklı lüminesans ışınma çeşitleri

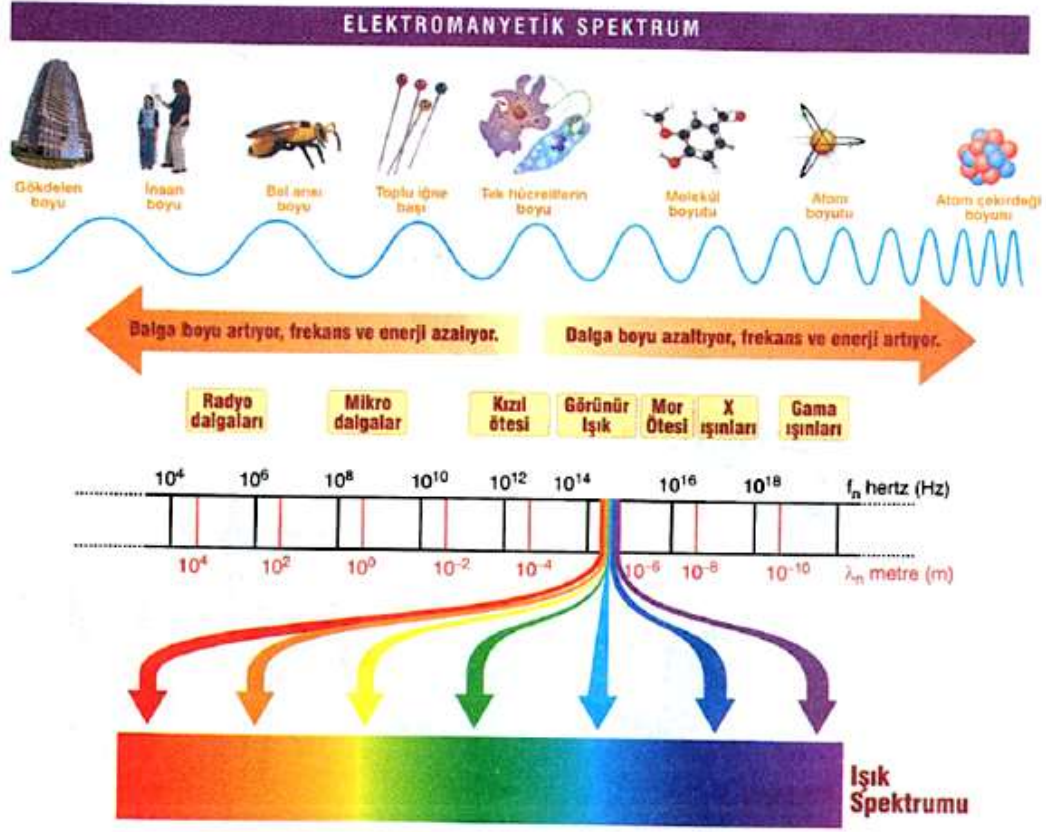
Uyarma ile oluşan yüksek enerjiden kaynaklı ışınma sırasında S_1 'den S_0 'a dönüyorsa emisyon, uyarılmış T_1 'den S_0 'a dönüyorsa fosforesans ortaya çıkar söz konusu

lümİnesans çeşİtleri ve enerji transferleri Jablonski diyagramında gösterİlmİştir. (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Jablonski diyagramı.

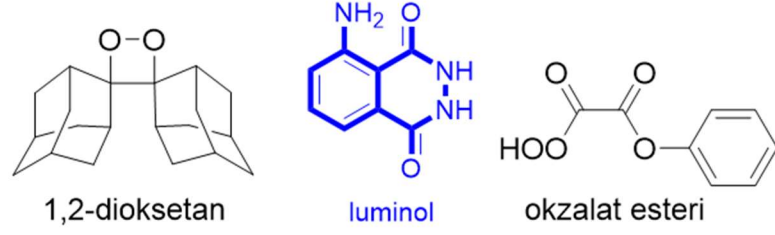
Lüminesans, UV (mor ötesi), Vis (görünür ışık) ve IR (kızılötesi) ışınlar gibi elektromanyetik spektrumunun farklı yerlerinde foton emisyonu yayabilir. (Şekil 1.3).



Şekil 1.3 Elektromanyetik spektrum (URL1).

1.1 Kemilüminesans (KL)

Uyarmanın gerçekleşmesi için uyarıcının ışık, ısı, elektrik vb. yerine bir kimyasal tepkimenin veya kimyasal reaksiyon sonucunda gerçekleşmesine kimyasal ışıl ışımaya (KL) denir. Organik bileşikler sınıfında olan kimyasal ışıl ışımaya yeteneğine sahip olan bileşikler, 1,2-dioksetanlar, okzalot esterleri ve luminol, luminol benzeri bileşikler şeklinde tanımlanır. Kimyasal ışıl ışımaya yeteneğine sahip bileşikler, analitik uygulamalarda [3-5], klinikte, [6,7], metal analizleri [8-10], peroksit analizleri [11-13] ve gen çalışmalarında [14] gibi birçok alanda kullanılabilmektedir. Günlük hayatta elektiriğin olmadığı yerlerde veya durumlarda light stick olarak kullanılırlar, light stick soğuk ışık kaynağı olduğundan dolayı ısı açığa çıkması durumu söz konusu olmaz. Bu yapıların en önemli ve en çok bilinenleri, 1,2-dioksetan, **dihidrofitalazindion** ve okzalot esteridir [15,16].



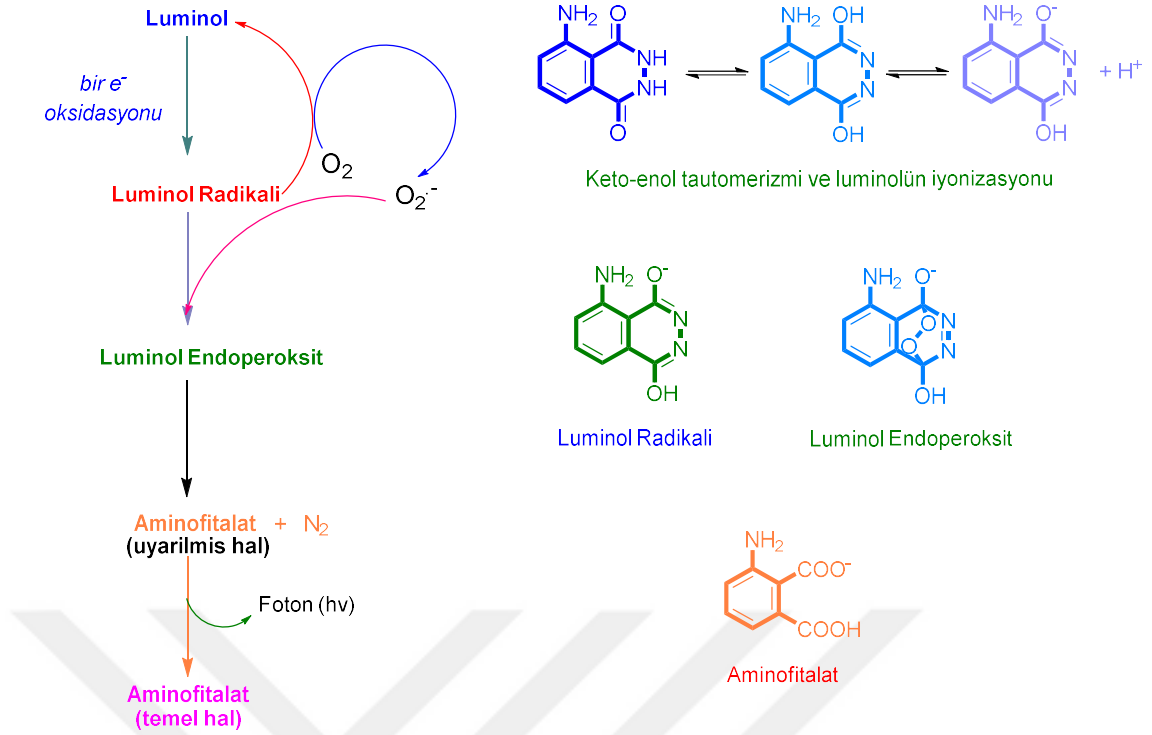
Şekil 1.4 Luminol türevi bileşiklerin kimyasal yapıları.



Şekil 1.5 light stick (URL2).

Luminol benzeri bileşikler, sıcaklık, ışık ve olumsuz çevre koşullarında bile kararlılığını korur.

Luminol ve luminol bazlı bileşikler için gerçekleşen kemilüminojenik ışıma mekanizması [17] Şekil 1.6' da gösterilmiştir.



Şekil 1.6 Luminol ile luminol tabanlı bileşiklerin kemilüminesans ışıma mekanizması.

Işıma mekanizmasında, luminol elektron oksidasyonu sonucunda oksijen açığa çıkararak luminol radikaline dönüşür. Açığa çıkan oksijen ile reaksiyona girerek luminol radikali, luminol endoperoksite dönüşmektedir. Luminol endoperoksit uyarılarak, foton açığa çıkararak aminofitalat hale dönüşür. Foton açığa çıktıktan sonra aminofitalat temel hale dönüşür.

1.2 Luminol Bazlı Kemilüminesans Bileşikler

Kimyasal ıslı ışıma yeteneğine sahip olan luminol, kemilüminojenik ışıma sayesinde oldukça duyarlı bir biçimde kimyevi ve biyolojik cinsteki bileşiklerin tayini ve incelemesinde kullanılır. Luminol bileşiğinin yapısında bulunan dihidrofitalazindion halkası hidrojen peroksit karşı hassasiyet gösterdiğinden dolayı hidrojen peroksit tespitinde kullanılmaktadır [18].

Diğer yandan, glikoz [19], adenin [20], folik asit [21], laktik asit [21], dopamin [22] gibi bazı önemli biyolojik bileşikler tespit etmek ve analiz etmek için kullanılır. En önemli uygulama alanlarından biri adli tıpta kan bulgusu analizidir. Hızlı, hassas ve seçici özelliği nedeniyle [23-30] olay mahallinde kan keşif araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Önemli bir bileşik olmasına rağmen, dezavantajları da vardır;

- Çözücülerde tamamen çözünmemesi
- düşük emisyon kuantum verimi,
- ortamda çeşitli interferanslar varsa yanıltıcı [26] sonuçlar vermesi,
- biyolojik bileşiklere geridönüşümsüz şekilde deforme etmesidir.

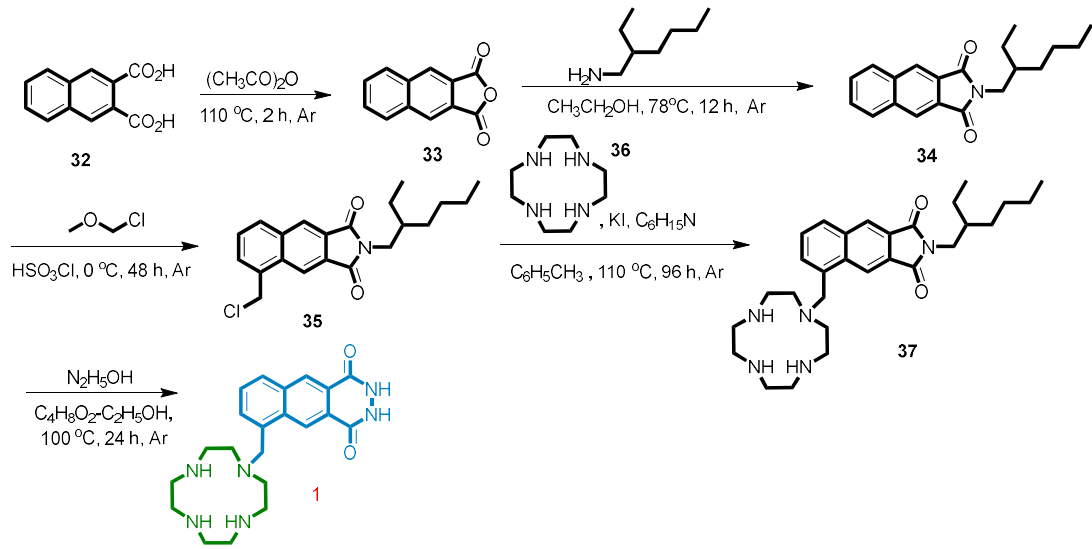
1.3 Hipoklorit

Reaktif oksijen türleri (ROT), çeşitli kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar, metabolik hastalıklar ve diğer önemli insan akut ve kronik hastalıklarda dahil olmak üzere patofizyolojik süreçlerde rol oynarlar. Hipoklorit (ClO^-), patolojik ve biyolojik süreçlerde anahtar rol oynayan reaktif oksijen türüdür. Endojen kaynaklı hipoklorit, bakterileri ve patojenleri ortadan kaldırma yeteneğine sahip olan miyeloperoksidaz enzimi tarafından katalize edilir. İnsan vücudunda aşırı miktarda bulunan hipoklorit, protein, nükleik asitler ve diğer önemli biyolojik molekülleri oksitleyerek; doku hasarlarına, böbrek hastalıklarına, kardiyovasküler hastalıklarına, inflamasyona, nörolojik hastalıklara, ateroskleroza ve kansere yol açmaktadır [31].

Hipoklorit, İstenmeyen ksenobiyotikleri ortadan kaldırmak için elektron taşıma zinciri sırasında esas olarak oksijenden üretildikleri iyi bilinmektedir [32]. Bununla birlikte, aşırı Reaktif oksijen türlerinin üretiminin oksidatif stresi arttırdığı ve bunun da Alzheimer ve nöron dejenerasyonunun yanı sıra kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve artrit gibi bazı nörodejeneratif hastalıklara yol açabilmektedir. Reaktif oksijen türlerinden biri olan hipoklorit, Miyeloperoksidaz enzimi varlığında klorür iyonlarının H_2O_2 ile reaksiyonundan oluşur [33,34].

1.4 Çalışmanın Amacı

Bu tez kapsamında yapılan çalışmada, literatürlerde mevcut olmayan bileşik **1**, bileşik **36** ve luminolün birleşimi ile sentezlendi. Daha sonra bileşik **1**'in karakterizasyonları (NMR, kütle spektrumu, absorpsiyon spektrumu, emisyon spektrumu, kemilüminesans spektrumu) tamamlanarak yapı doğrulandı.

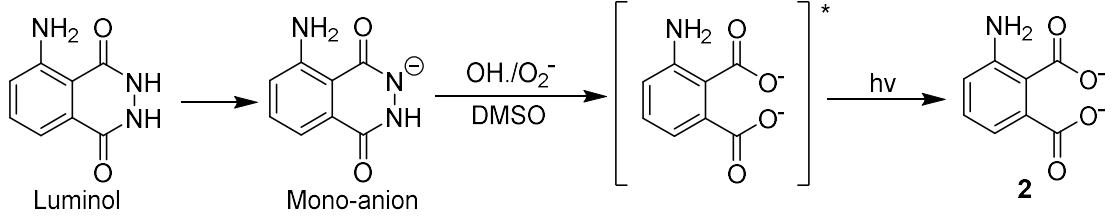


Şekil 1.7 Hedef Bileşik 1 için genel sentez şeması.

2. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI

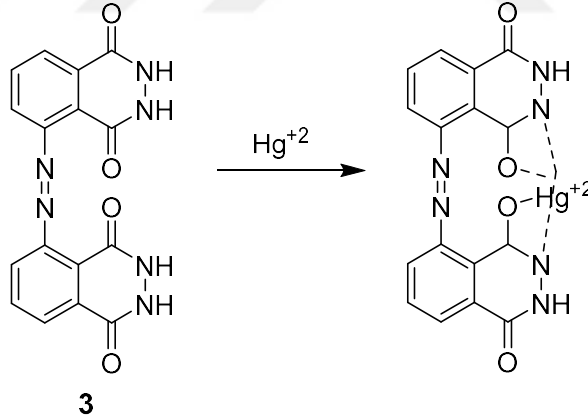
2.1 Luminol ve Luminol Bazlı Bileşikler

Geiselhart vd. (2019) Guanidin bazlı süper baz 1,5,7-triaza-bisiklo- [4.4.0] dek-5-enli (TBD-Bileşik 2), luminole dayalı kemilüminesans (KL) için iki bileşenli sistem olarak etkinleştirmişlerdir [35].



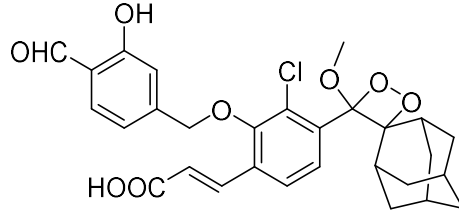
Şekil 2.1 H_2O_2 tarafından tetiklenen bir baz (ve katalizör) varlığında luminolün kemilüminesans reaksiyonu.

Deepa vd. (2018) civaya duyarlı, luminol tabanlı bir belirteç tasarlamışlardır. Civa (Hg^{+2}) derişimin artışına bağlı olarak kemilüminesans şiddetinin de arttığını ve bu belirteç ile hücre görüntülemesi yaptıklarını bildirmişlerdir [36].



Şekil 2.2 Luminol tabanlı Hg^{+2} belirteci.

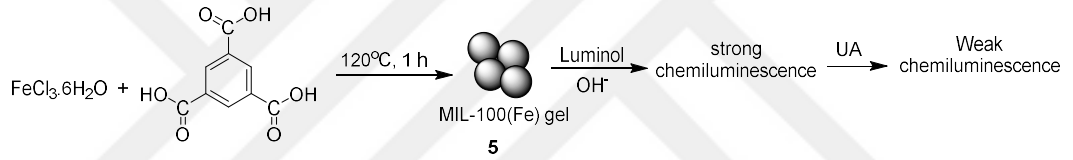
Yang vd. (2020) hidrojen peroksit (H_2O_2) karşı duyarlı kemilüminojenik bir belirteç (bileşik 4) sentezlemişlerdir. Hücrelerde ve hayvanlarda hidrojen peroksiti gerçek zamanlı olarak izlemişlerdir [37].



4

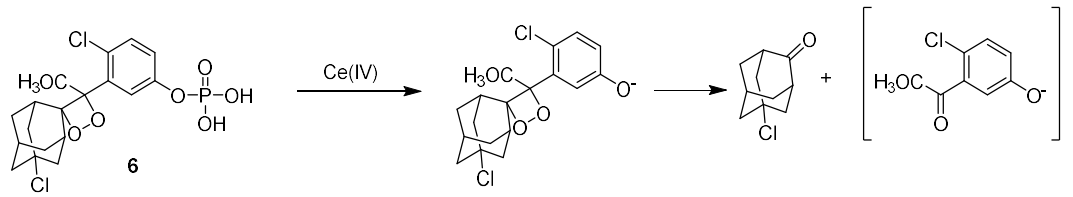
Şekil 2.3 Dioksetan tabanlı hidrojen peroksit belirteci.

Kong vd. (2021) Fe^{+3} ve trimesik asitten (H_3BTC) oluşan metal organik jelin (MIL-100(Fe) bileşik 5), reaktif oksijen türlerini artırarak, kemilüminesans ışımaya şiddetini artırdığı ve bu jelin luminol katalizörü olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir. Bu jel yapısındaki bileşiğin, ürik asit varlığında kemilüminesans ışımaya şiddetinin sönümlendiğini ve buna bağlı olarak kemilüminojenik ürik asit sensörü olduğunu bildirmişlerdir [38].



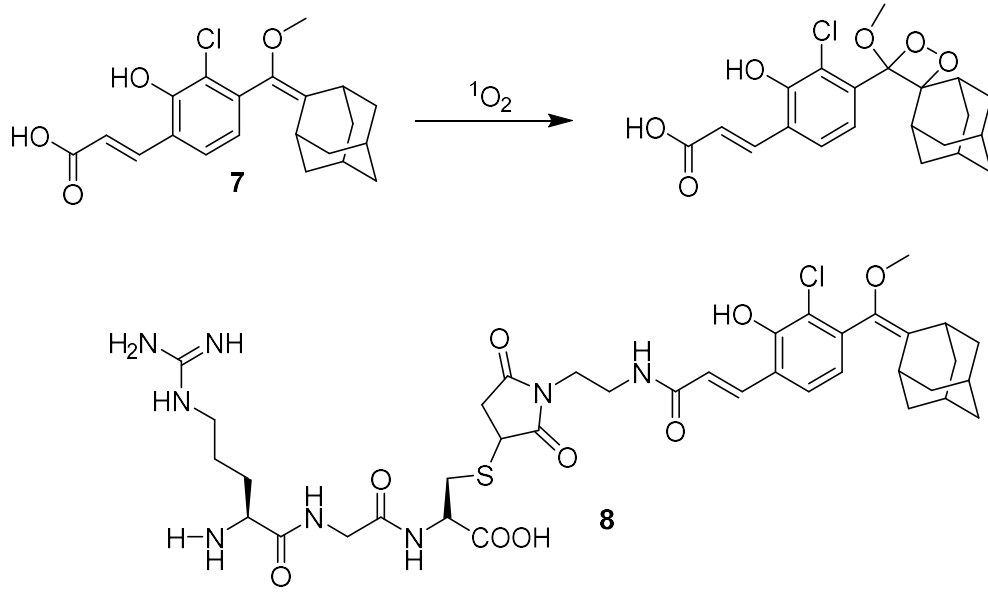
Şekil 2.4 Ürik asit sensörü.

Hu vd. (2021) 6 numaralı bileşik spesifik olarak Ce (IV) iyonuna duyarlı çıkmıştır. Ce (IV)'ün fosfotaz aktivitesini kemilüminesans şiddetindeki değişiklik için test etmişler ve Ce (IV)'ün kemilüminesans şiddetini artırdığını bildirmişlerdir [39].



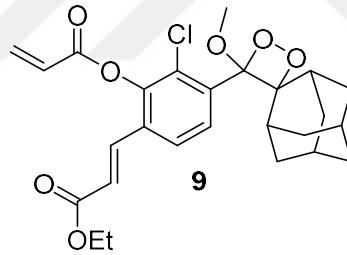
Şekil 2.5 Ce (IV)'a duyarlı kemilüminojenik sensörü.

Hananya vd. (2017) reaktif oksijen türlerinden biri olan singlet oksijeni ($^1\text{O}_2$) tespit eden dioksetan tabanlı kemilüminojenik bir belirteç (bileşik 7) sentezlemişlerdir. Daha sonra bu belirteci, hücre geçirgenliğini artırmak için bileşik 8, arjinin, glisin ve sistein tabanlı bir peptid bağlanmıştır ve hücre içindeki singlet oksijeni görüntülemişlerdir [40].

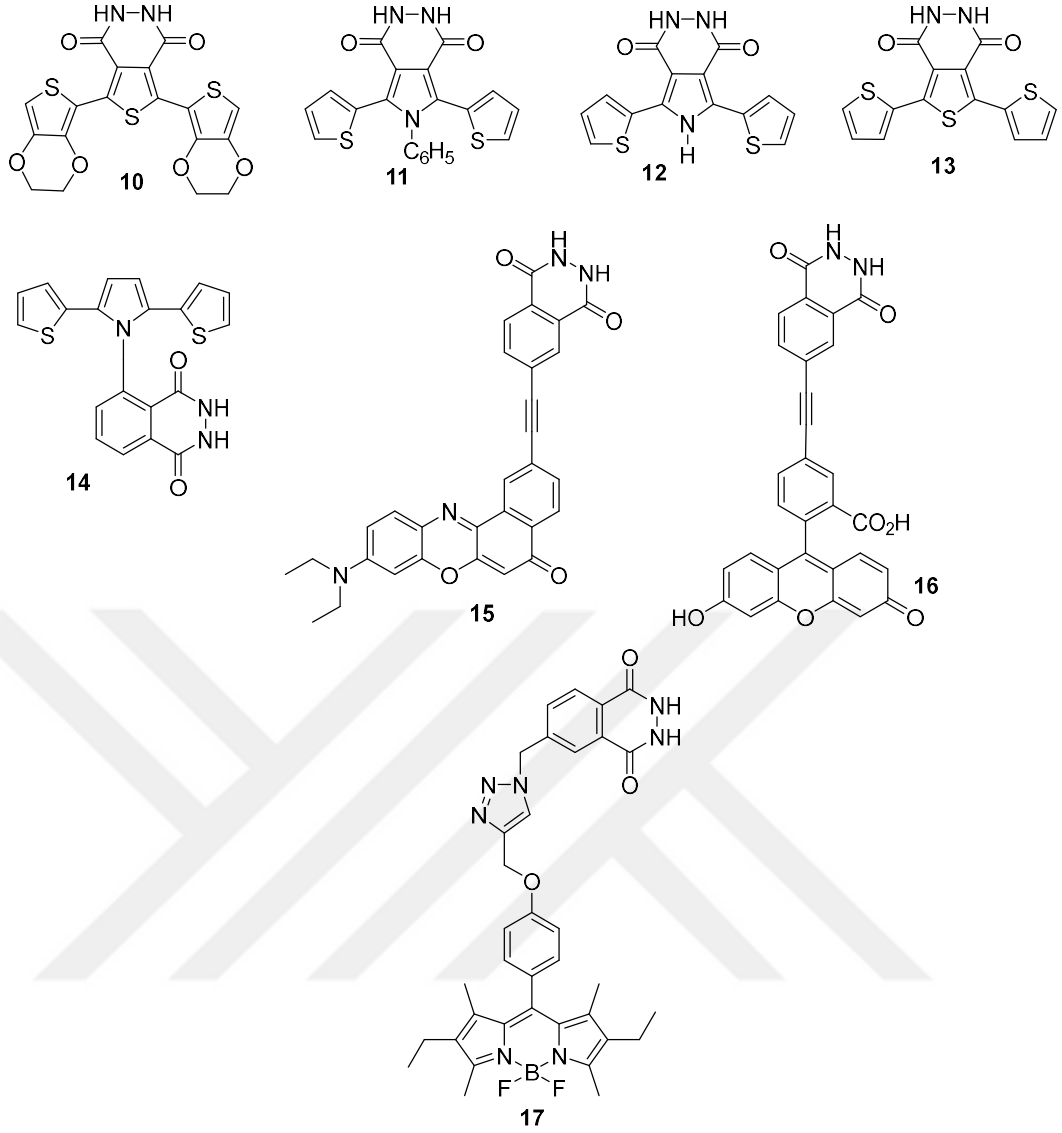


Şekil 2.6 Dioksetan tabanlı singlet oksijen belirteci.

Sun vd. (2018) biyotiyol grubundan olan sisteine karşı duyarlı dioksetan tabanlı kemilüminojenik bir bileşik (bileşik **9**) tasarlamışlardır. Fare üzerinde endojen kaynaklı sisteinin kemilüminesans görüntülemesini yapmışlardır [41].



Şekil 2.7 Dioksetan tabanlı sistein belirteci.

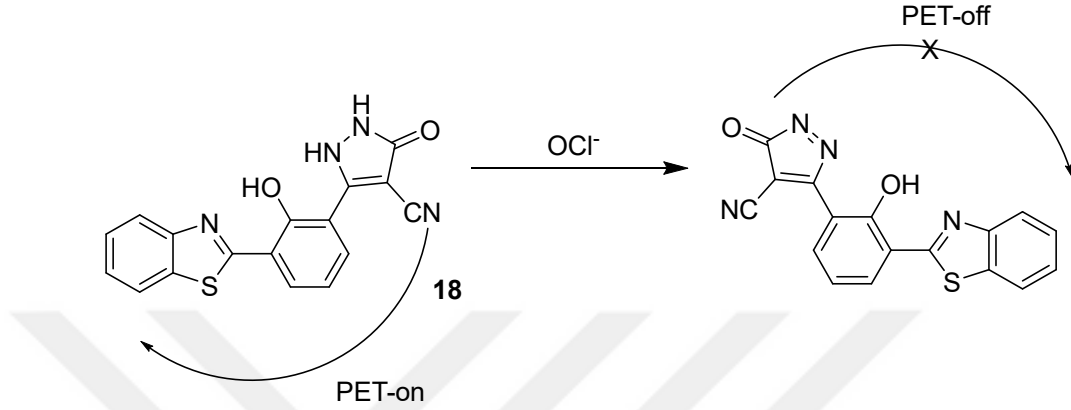


Şekil 2.8 Kemilüminojenlerin **10-17** kimyasal yapısı.

Bileşik **10** hidrojen peroksit varlığında kimyasal ışıma yapmaktadır. Metal iyonları arasında ise Fe^{+3} iyonuna karşı hassas ve spesifik olarak duyarlı çıkmıştır [42]. Bileşik **14**'ün nötr ortamda SRA'ya karşı kemilüminojenik olarak duyarlı olduğu edilmiştir [43]. Bileşik **11** ve bileşik **12** kimyasal ışıma özelliğinden dolayı ppm düzeyde demir-hemin vb. tespit edilebileceği not edilmiştir [44]. Bileşik **15** ve bileşik **16** için ışıma ve enerji transfer etkinlikleri incelenmiştir [45]. Bileşik **13**'ün elektro-kimyasal ışıma yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir [46]. Bileşik **17**'nin H_2O_2 ve Fe (III) varlığında görünür bölgede kemilüminesans spektrumu verdiği ortaya çıkmıştır [47].

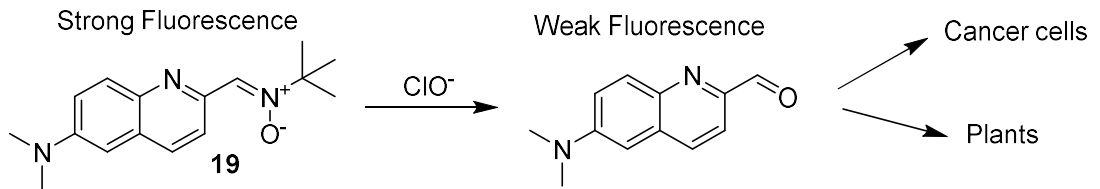
2.2 Hipoklorit Sensörleri

Gangopadhyay vd. (2018) sentezlemiş oldukları hidroksibenzotiyazolil dihidropirazol konjugatının (bileşik **18**) oransal olarak hipoklorit sensörü olduğunu rapor etmişleridir [48].



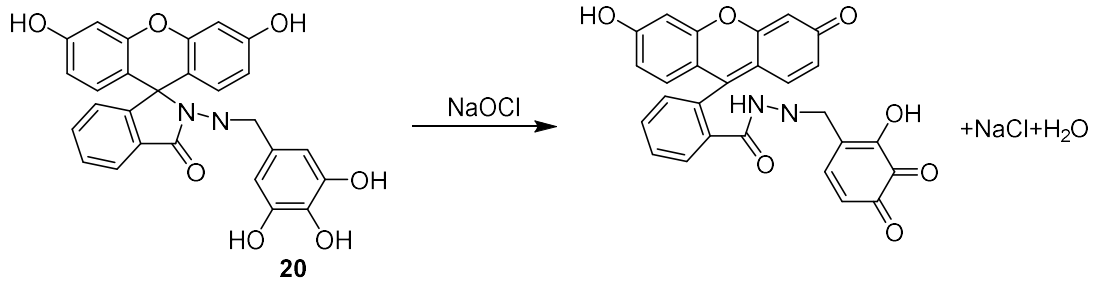
Şekil 2.9 Hipoklorit sensörü.

Zeng vd. (2020) Floresans algılama için suda çözünebilen yeni bir kinolin içeren nitron türevi bir sensör geliştirmişlerdir (bileşik **19**). Bu sensörün canlı hücrelerde hem eksojen hem de endojen ClO^- 'yu izleyebildiğini rapor etmişlerdir [49].



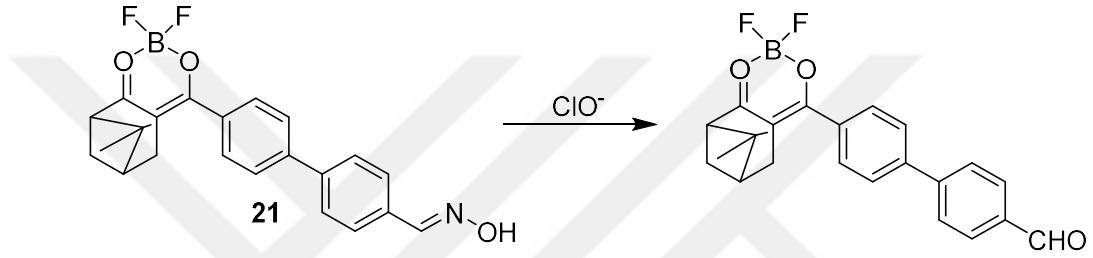
Şekil 2.10 Floresan ClO^- sensörünün kimyasal yapısı.

Jin vd. (2016) Hipokloritin diğer iyonlara göre oldukça hassas ve seçici floresan bir prob geliştirmişlerdir (bileşik **20**). Prob, su örneklerinde ve tatmin edici sonuçlarla sığır plazmasında hipokloritin kantitatif tespiti için uygulandığını rapor etmişlerdir [50].



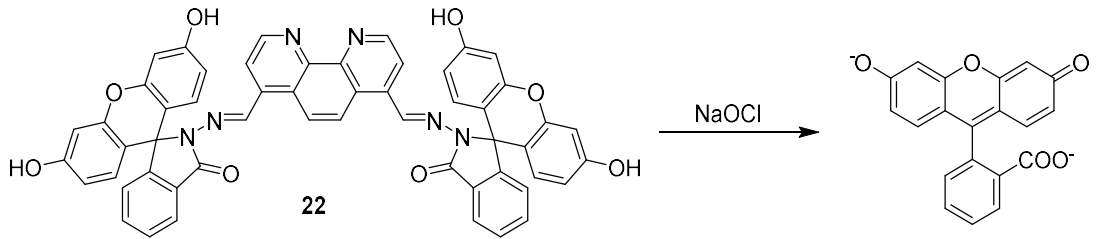
Şekil 2.11 Hipokloritin kantitatif tespiti için uygulanan floresan sensör.

Jiang vd. (2020) hipokloriti florojenik ve kolorimetrik olarak tespit edebilen sensör geliştirmişlerdir [51].



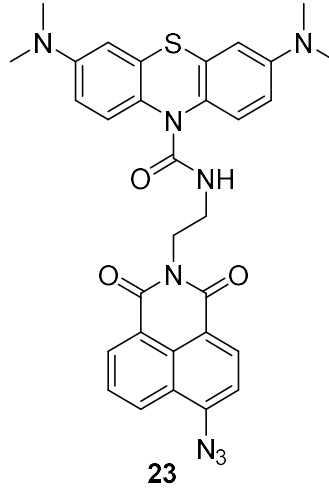
Şekil 2.12 Hipokloriti kolorimetrik ve florojenik olarak tespit eden sensör.

Algı (2016), diğer reaktif oksijen türleri arasında hipokloriti spesifik bir şekilde tespit edebilen florojenik ve kolorimetrik bir fenantrolin tabanlı sensör geliştirmiştir [52].



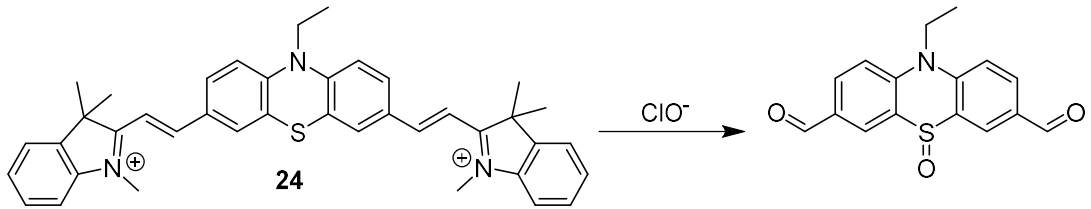
Şekil 2.13 Hipokloriti spesifik bir şekilde kolorimetrik ve florojenik olarak tespit edebilen sensör.

Cheng vd. (2021) hem HClO (hipokloröz asit) hem de H₂S'i (Hidrojen sülfid) tayin ve tespit eden florojenik sensör **23** numaralı bileşiği sentezlemişlerdir. Bu sensör, canlı hücrelerde endojen ve eksojen kaynaklı HClO ve H₂S'i hızlı, hassas ve spesifik olarak çift kanallı (kırmızı ve yeşil kanal) bir şekilde tespit ettiğini rapor etmişlerdir [53].



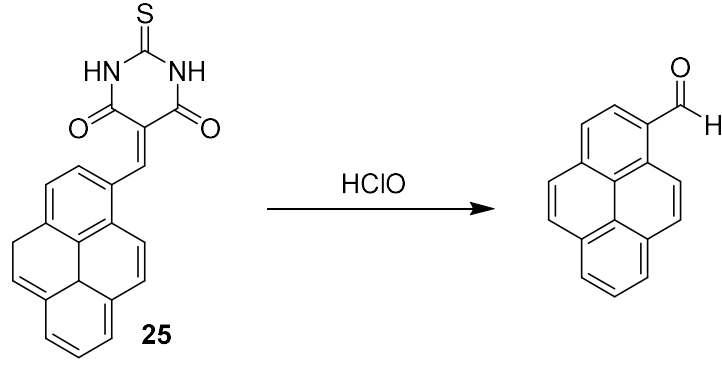
Şekil 2.14 Hipokloröz asit ve hidrojen sülfiti tespit eden florojenik sensörün yapısı.

Liang vd. (2021) fenotiyazin ve hemisiyanin bazlı bir sensör bileşik **24**' ü sentezlemişlerdir. Bu sensör, reaktif oksijen türleri arasından hipoklorite (ClO^-) karşı hassas ve spesifik olarak duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Hipoklorit varlığında, **24** numaralı bileşik hem absorpsiyon hem de emisyon spektrumlarındaki şiddetlerde ciddi oranda değişiklikler kaydetmişlerdir. Sentezlemiş oldukları bu sensörü hücreler üzerinde de deneyerek hipoklorite karşı duyarlı olduğunu doğrulamışlardır [54].



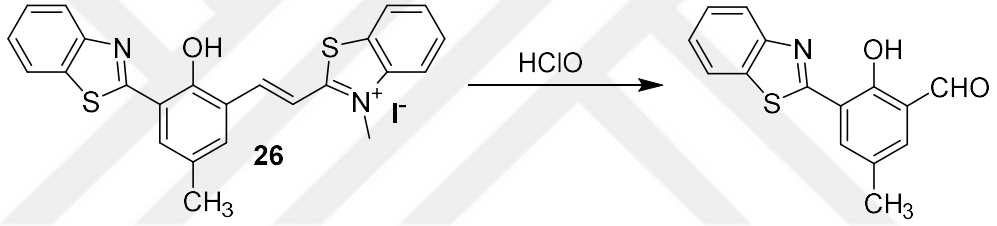
Şekil 2.15 fenotiyazin ve hemisiyanin tabanlı hipoklorit sensörü.

Wang vd. (2020) piren tabanlı bir kolorimetrik ve florojenik olarak hipoklorite karşı duyarlı bir sensör sentezlemişlerdir (bileşik **25**). Bu hipoklorit sensörünü, atardamar iltihabı olan fareler üzerinde test etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar sensörün iltihaplı damar hastalığı olan kişilerde de erken tanı ve teşhis için kullanılabileceğini bildirmişlerdir [55].



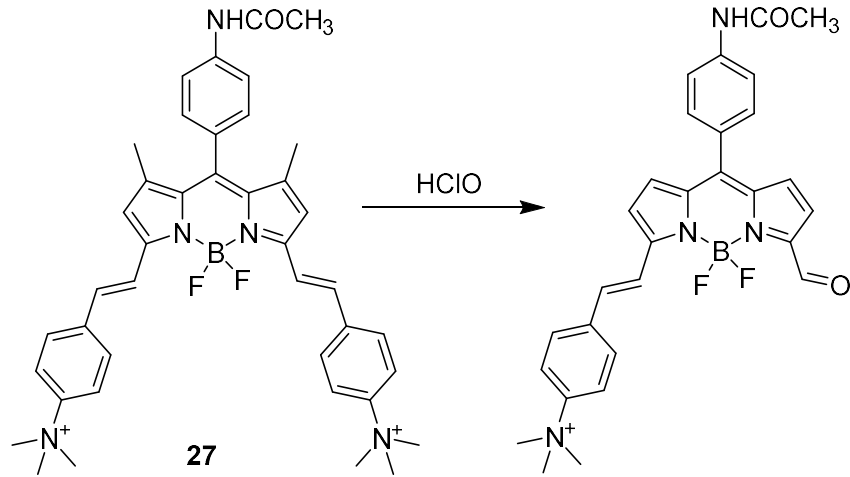
Şekil 2.16 Bileşik **25** HClO sensörünün yapısı.

Huang vd. (2020) benzotiyazol tabanlı, yakın kızılötesi (NIR) bölgede floresan olarak hipokloröz asite karşı duyarlı, mitokondriyal hedefli bileşik **27**'yi sentezlemişlerdir. Sentezlemiş oldukları bu boyanın, hipokloröz asiti canlı hücrelerde tespit ettiğini ve görüntülediğini rapor etmişlerdir [56].



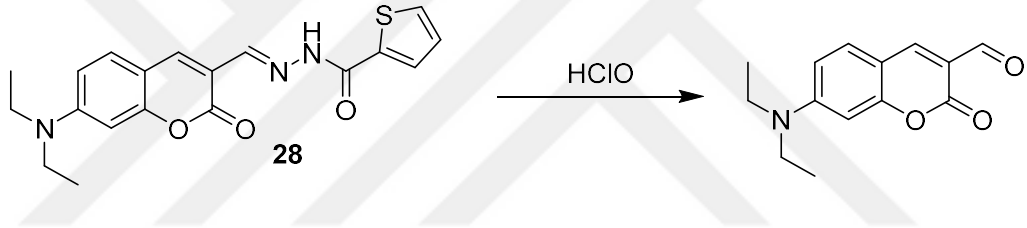
Şekil 2.17 Yakın kızılötesi (NIR) bölgede, mitokondriyal hedefli floresan hipokloröz asit sensörü.

Liu vd. (2019) suda çözünebilen, hipokloröz asite floresan olarak duyarlı bir sensör BODIPY tabanlı **27** numaralı bileşiği sentezlemişlerdir. Sentezlemiş oldukları bileşik **27**'nin, hipokloröz asit varlığında kırmızıdan turuncuya doğru bir renk değişimi gözlemlenmiştir. Floresan görüntülemelerde, **27** numaralı bileşiğin, hücre membranından geçtiğini, düşük toksisite gösterdiğini ve endojen ve eksojen kaynaklı hipokloröz asiti görüntülediklerini rapor etmişlerdir [57].



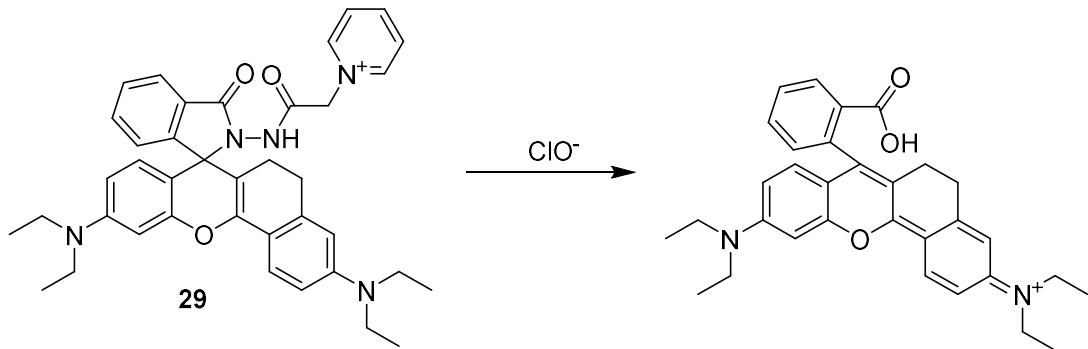
Şekil 2.18 BODIPY tabanlı **27** numaralı bileşiğin yapısı.

Ding vd. (2021) kumarin ve tenoilhidrazini reaksiyona sokarak **28** numaralı bileşiği elde etmişlerdir. Bu bileşik HClO'ya karşı hassas ve spesifik olarak duyarlı çıkmıştır. Bileşik **28**, HClO tespiti için canlı hücreler üzerinde denenmiş ve rapor edilmiştir [58].



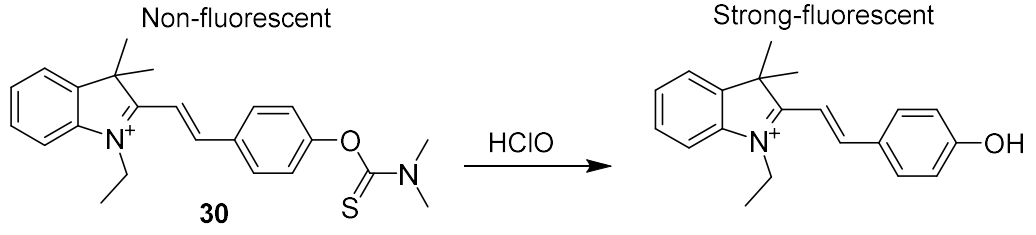
Şekil 2.19 Bileşik **28** kimyasal yapısı.

Wang vd. (2020) hipoklorite duyarlı floresan prob sentezlemişlerdir. Hipoklorit probu, mitokondri ve makrofaj hücrelerindeki hipokloriti tespit etmiştir [59].



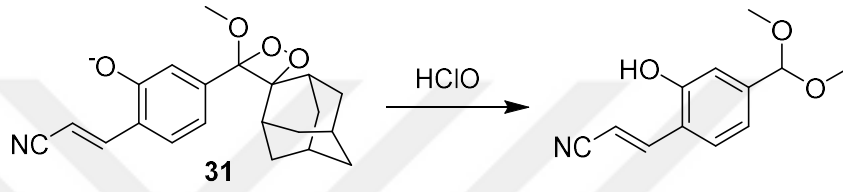
Şekil 2. 20 Mitokondriyal hipoklorit sensörü.

Luo vd. (2021) **30** numaralı bileşiği sentezlemişlerdir. Bu bileşik HClO'yu 8 saniyede 150 kat floresans artışı ile tespit ettiğini ve hücre görüntülemesi yaptıklarını bildirmişlerdir [60].



Şekil 2.21 HClO sensörü.

Wang vd. (2021) dioksetan tabanlı HClO'ya karşı duyarlı kemilüminesan bir sensör **31** numaralı bileşiği geliştirmişlerdir. Bu kemilüminesans sensörle, canlı hücrelerde ve fareler üzerinde HOCl'nin kemilüminesans görüntülemesi yapılmıştır [61].



Şekil 2.22 HClO duyarlı kemilüminesan sensör.

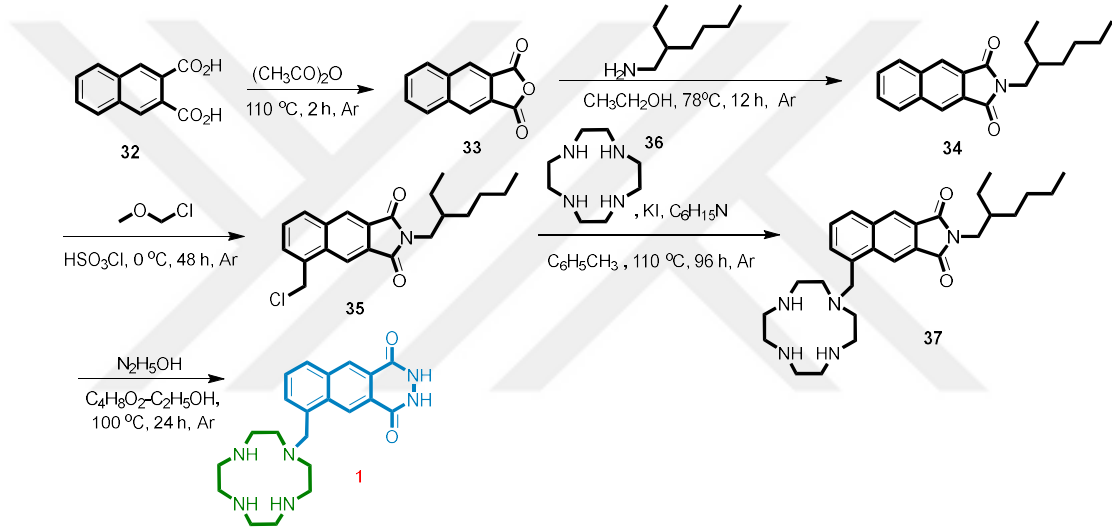
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Kullanılan bütün kimyasal malzemeler ve çözücüler Aldrich ve Merck markalarından satın alınmıştır. Çözücüler için uygulanan saflaştırma işlemi için genellikle literatürde bilinen yöntemler kullanılmıştır [62].

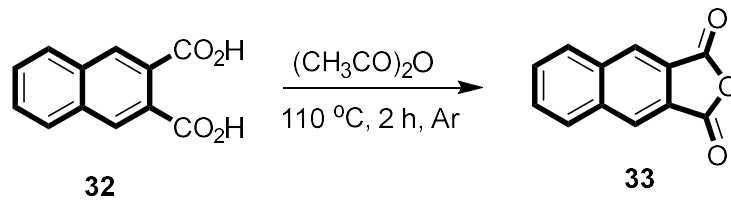
3.2 Hedef Bileşik 1 Genel Sentez Şeması

Genel sentez şeması 5 basamak altında gerçekleşmektedir. Hedef bileşik (1) için genel sentez şeması Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Hedef bileşik 1 genel sentez şeması.

3.3 Bileşik 33 Sentezi

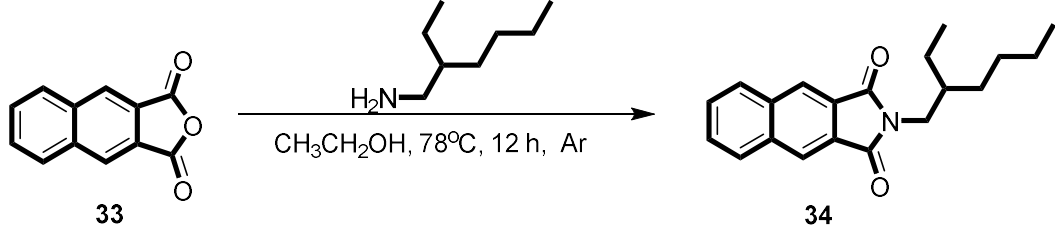


Şekil 3.2 Bileşik 33 sentezi.

32 (4 g, 18,5 mmol) üzerine asetik anhidrit (16 ml) ilave edildi. Reaksiyon 120 dk boyunca geri soğutucu altında kaynatıldıktan sonra oda sıcaklığına getirildi (Şekil 3.2). Katı kısım vakum ile süzüldü ve eser miktarda toluen ile yıkandıktan sonra vakum

etüvünde kurutuldu. (Kahverengi-sarı katı, %87 verim, e.n: 248-254 °C.) ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.56 (s, 2H), 8.17-8.14 (m, 2H), 7.85-7.81 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 169.15, 163.81, 135.98, 133.22, 130.90, 130.72.

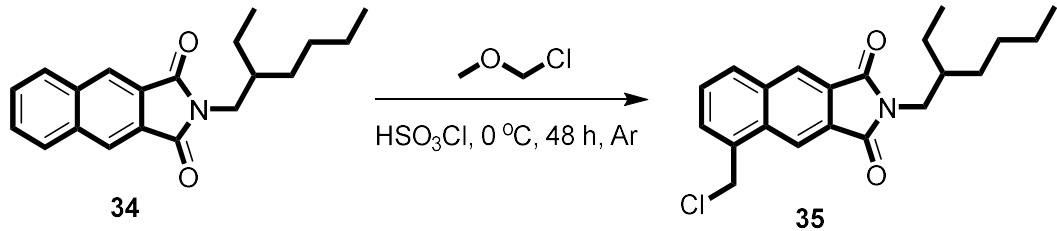
3.4 Bileşik 34 Sentezi



Şekil 3.3 Bileşik 34 sentezi.

33 (0.4 g, 2 mmol) etil alkolde (40 ml) çözüldü, argon gazı ile muamele edilmiş etil alkolde (10 ml) çözülmüş 2-Etil hekzilamin (0.4 ml) yavaş yavaş ilave edildi. Geri soğutucu altında bir gece kaynatıldı (Şekil 3.3). İTK (1:1 Hekzan:Diklorometan) ile takip edilen reaksiyon oda sıcaklığına soğutuldu. Çöken kısım vakum ile katı kısım alındı ve soğuk etil alkol ile yıkandı, elde edilen katı vakum yardımı ile kurutuldu. (Beyaz katı, %60 verim, e.n=120-126 °C, ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.25 (s, 2H), 7.99 (s, 2H), 7.64 (s, 2H), 3.60 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 1.86 (bs, 1H), 1.33-1.27 (m, 8H), 0.90-0.85 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 168.38, 135.42, 130.23, 129.03, 127.85, 124.46, 42.16, 38.25, 30.56, 28.52, 23.90, 22.99, 14.06, 10.44. LC-MS kütle spektrumu $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_2$ için hesaplanan $[\text{M}]^+$: 309,17 ölçülen $[\text{M}]^+$: 309,98.

3.5 Bileşik 35 Sentezi



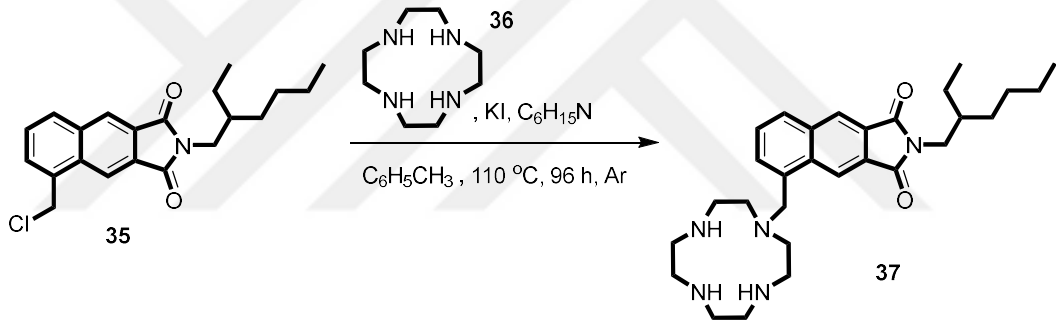
Şekil 3.4 Bileşik 35 sentezi.

34 (0,204 g, 0,66 mmol) Kloro (metoksi) metan (1,2 ml) ile muamele edildi. Ardından argon gazı geçirildi. Reaksiyon 0°C' ye getirildi. Daha sonra karışıma HSO_3Cl (1 ml) yavaş yavaş ilave edildi (Şekil 3.4). Reaksiyon İTK (15:1 hekzan:etil asetat) ile ürüne

dönüşüp dönüşmediğine bakıldı. Karışıma diklorometan ve saf su ilave edilerek work-up yapıldı. Organik faz sodyum bikarbonat ile yıkandı, magnezyum sülfat ile kurutulup, süzüldü ve çözücü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırıldı. Kalan katı kısım kolon kromatografisi yöntemi ile saflaştırıldı.

35: beyaz katı, %68 verim, e.n=80-84 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.67 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.74-7.62 (m, 2H), 5.08 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.67 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.91 (m, 1H) 1.97 - 1.84 (m, 1H), 1.58 (s, 2H), 1.39-1.32 (m, 8H), 0.96-0.89 (m, 6H); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 168.25, 168.13, 136.13, 135.77, 133.42, 131.65, 130.63, 128.53, 128.48, 127.98, 125.15, 120.26, 43.73, 42.21, 38.20, 30.48, 28.47, 23.81, 23.01, 14.11, 10.42. LC-MS kütle spektrumu C₂₁H₂₄ClNO₂ için hesaplanan [M]⁺: 357,15 ölçülen [M]⁺: 357,94.

3.6 Bileşik 37 Sentezi

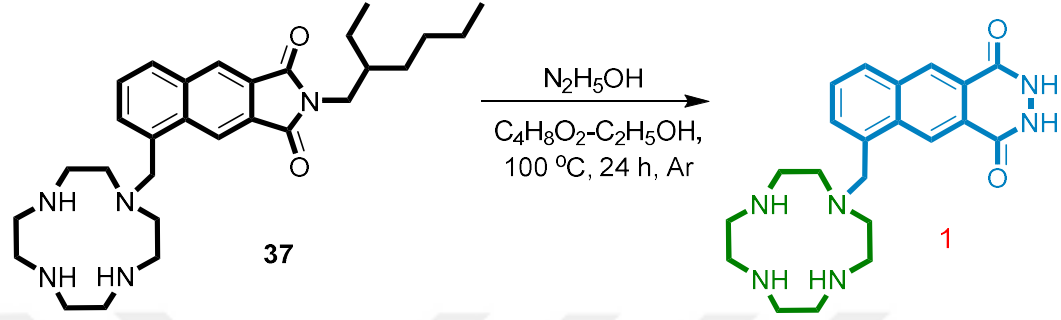


Şekil 3.5 Bileşik 37 sentezi.

36 (0,4 g, 2,272 mmol) ve KI (0,05 g, 0,284 mmol) bir balona alındı ve 30-35 ml kuru tolüen eklenerek ortamdan azot gazı geçirildi. Karışım manyetik olarak karıştırılırken üzerine kuru NEt₃ (0,085 ml, 0,62 mmol) damla damla eklendi. Ardından **35** (0,2 g, 0,585 mmol) minimum miktarda kuru tolüen ile çözülüp ortama eklendi ve karışım 72 saat geri soğutucu altında kaynatıldı (Şekil 3.5). İTK ile takip edilen tepkimede çöken katı süzülerek alındı; sarı-kahverengi katı. %83 verim, e.n.: 170-175 °C. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.73 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.02 – 7.95 (m, 1H), 7.65 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.24 (s, 2H), 3.60 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 3.26 (s, 1H), 3.03 (s, 2H), 2.98 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H), 2.92 (s, 2H), 2.81 (s, 1H), 2.63 (s, 10H), 1.82 (s, 1H), 1.26 (t, *J* = 26.5 Hz, 18H), 0.89 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H), 0.85 (t, *J* = 6.3 Hz, 6H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 168.80, 168.09, 137.06, 136.07, 134.54, 131.03, 130.79, 128.79,

125.18, 121.38, 52.24, 48.34, 46.88, 45.21, 42.22, 38.27, 30.58, 28.53, 23.83, 22.96, 14.02, 10.38. LC-MS kütle spektrumu için $C_{29}H_{43}N_5O_2$ için hesaplanan: 493.34 $[M]^+$ ölçülen: 520.10 $[M+Na+H]^+$.

3.7 Bileşik 1 Sentezi



Şekil 3.6 Bileşik 1 sentezi.

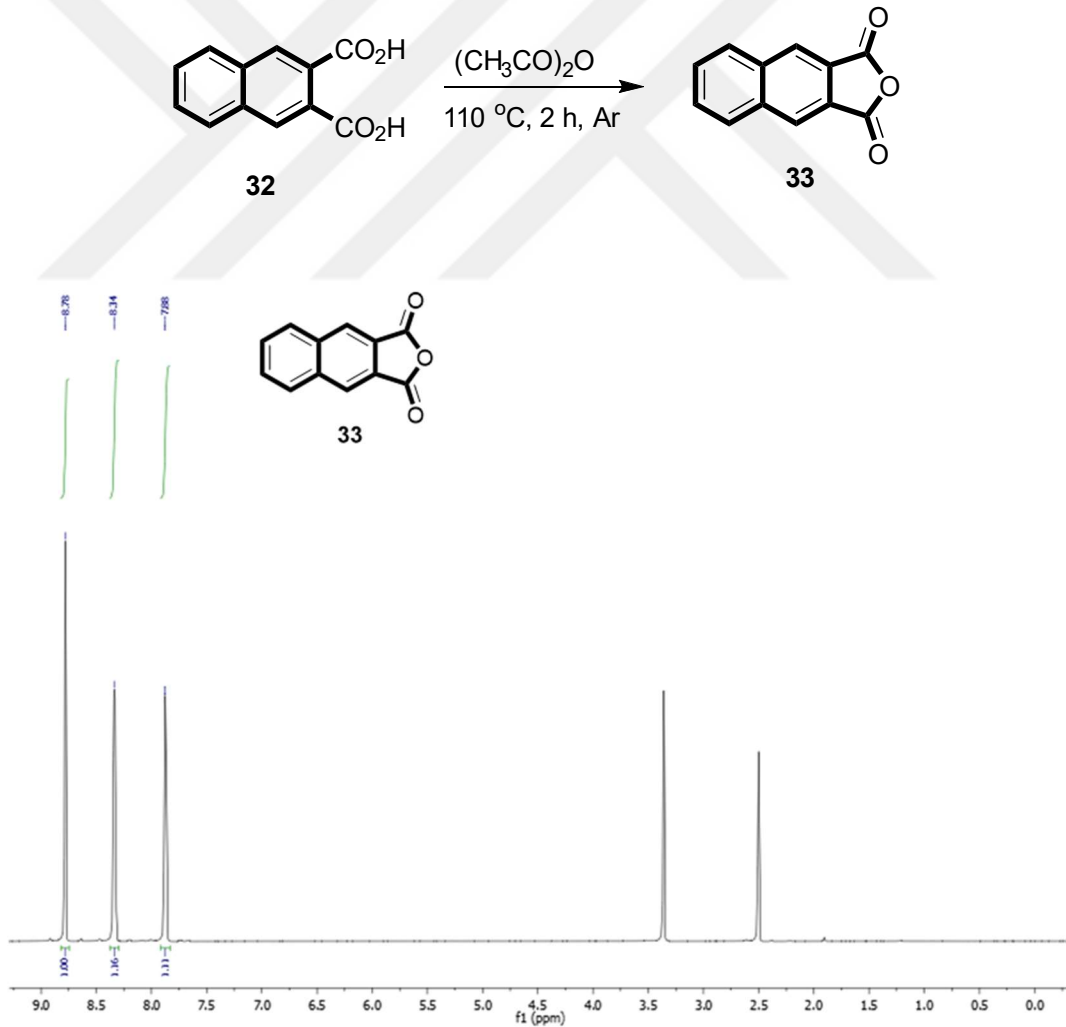
37 (0,01 g, 0,23 mmol) 1-4,dioksan:etil alkol (30 ml, 1:1) karışımı ile çözüldü ve üzerine hidrazin hidrat (1 ml, 0,69 mmol) ilave edildi. Karışım 48 saat geri soğutucu altında kaynatıldı ve tepkime İTK ile takip edildi (Şekil 3.6). Oda sıcaklığına getirilen karışımdan çözücü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırıldı. %86 verim, sarı katı. e.n.: 142-145 °C. 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 8.96 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.17 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.75 – 7.70 (m, 1H), 4.38 (s, 2H), 3.30 (s, 3H), 3.13 (s, 4H), 2.98 (s, 9H), 2.91 (s, 5H). ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD) δ 157.84, 155.42, 135.61, 134.13, 132.98, 131.39, 129.93, 128.29, 127.42, 124.47, 123.53, 122.31, 57.29, 49.63, 44.94, 42.98, 42.31. LC-MS kütle spektrumu $C_{21}H_{28}N_6O_2$ için hesaplanan: 396.23 $[M]^+$ ölçülen: 397.04 $[M+H]^+$.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

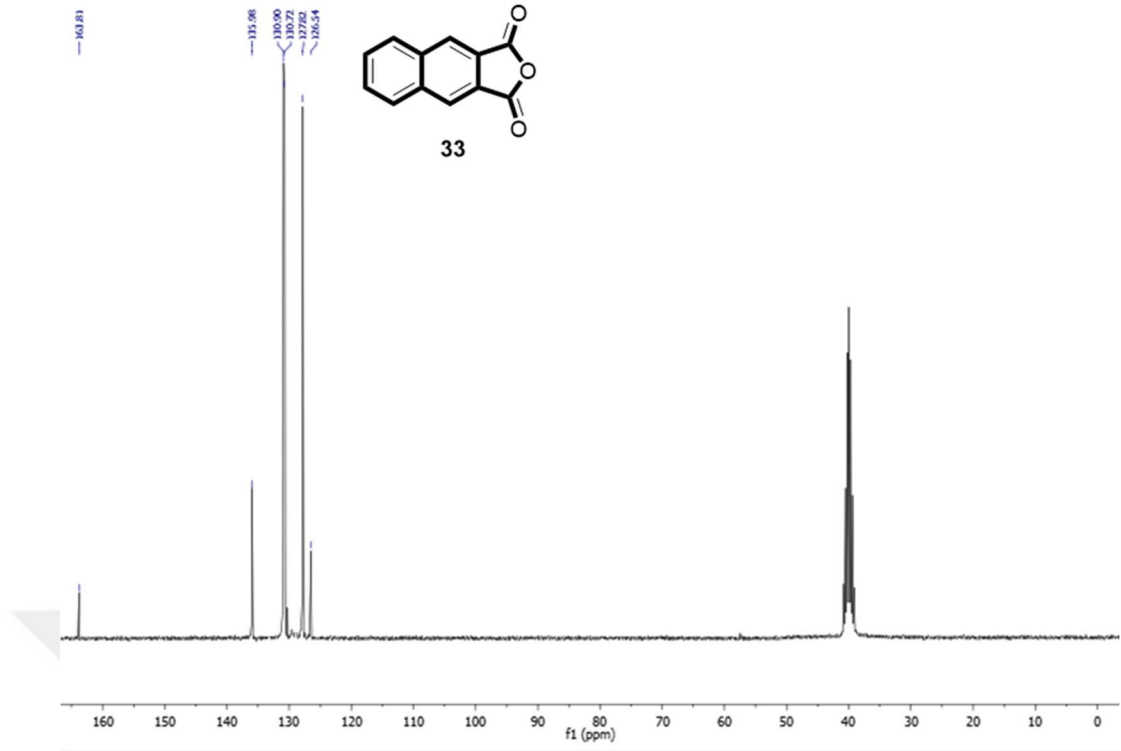
Luminol ile 1,4,7,10- Tetraazasiklododekan oluşan iki ünitenin bir araya gelmesi ile oluşan hipoklorit sensörünün (bileşik **1**) tasarımı, sentezi ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda bileşik **1** sentezlenip, karakterize edilmiştir. Bileşik **1** fizyolojik koşullarda (0.01M, pH; 7.4 PBS ortamı) reaktif oksijen türleri arasında sadece hipoklorit iyonuna hassas, spesifik ve kemilüminojenik olarak duyarlı olduğu belirlenmiştir.

4.1 Hedef Bileşiğin 1 Sentezi

İlk basamakta bileşik **32** uygun koşullar altında reaksiyona sokularak bileşik **33** sentezlenmiştir. Bileşik **33** ^1H ve ^{13}C NMR ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2).

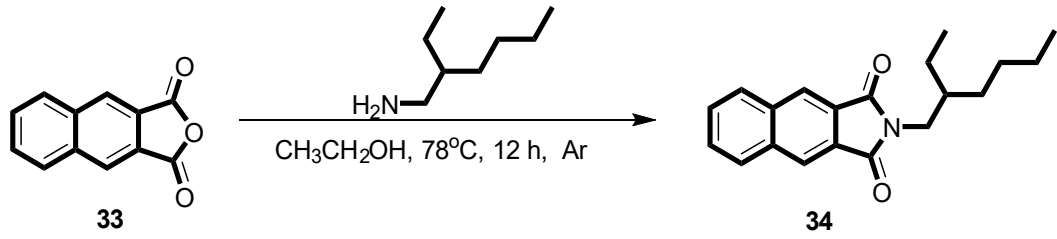


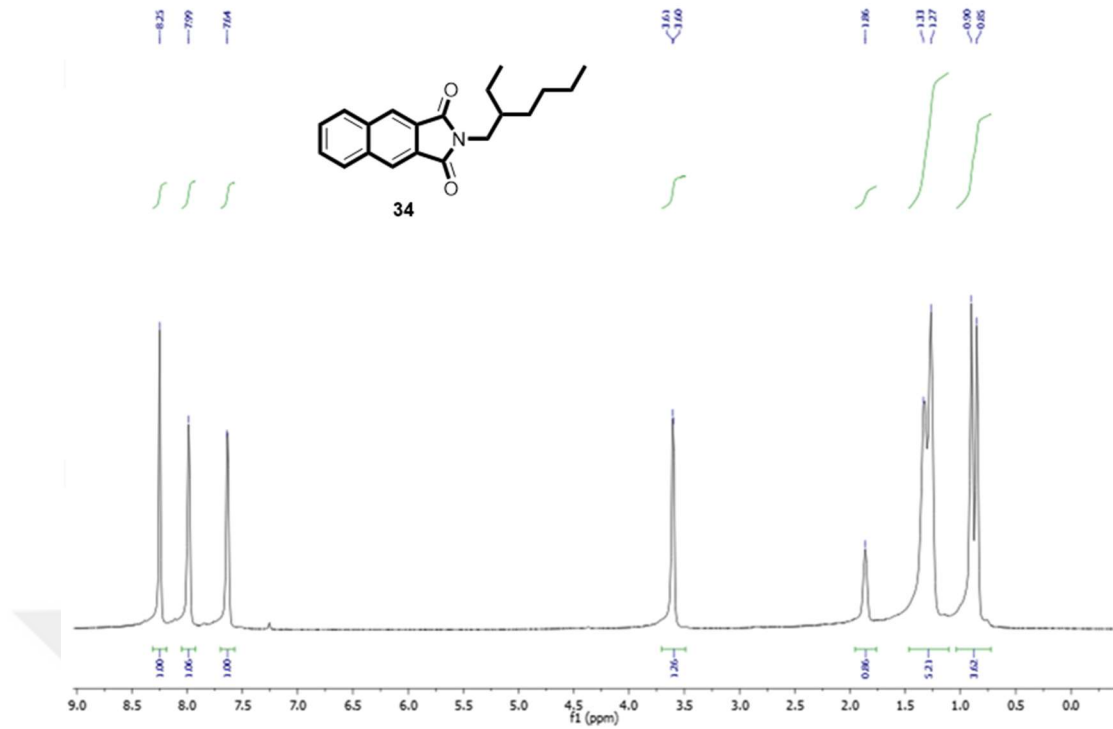
Şekil 4.1 Bileşik **33** için ^1H -NMR spektrumu (DMSO-d_6).



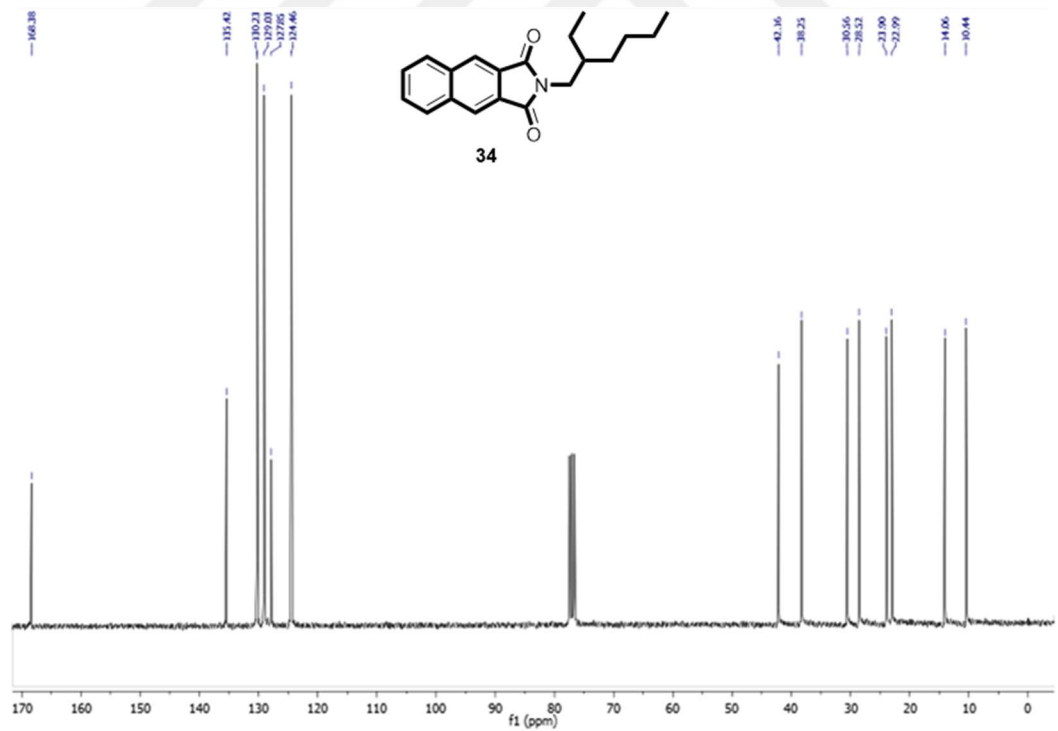
Şekil 4.2 Bileşik **33** için ^{13}C -NMR spektrumu (DMSO-d_6).

Bileşik **33**, geri soğutucu altında 2-etil heksilamin ile bileşik **34** %60 verim ile sentezlendi. Bileşik **33** ^1H NMR, ^{13}C NMR ve LC-MS ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.3, 4.4 ve 4.5).

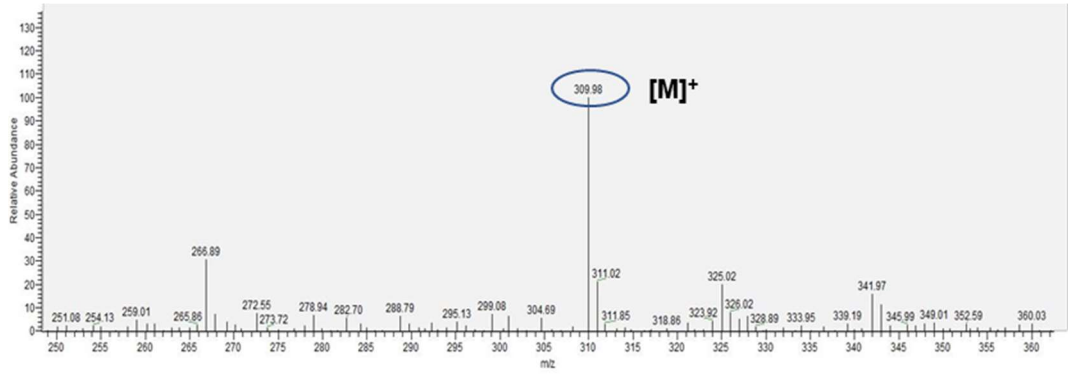




Şekil 4.3 Bileşik 34 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃).

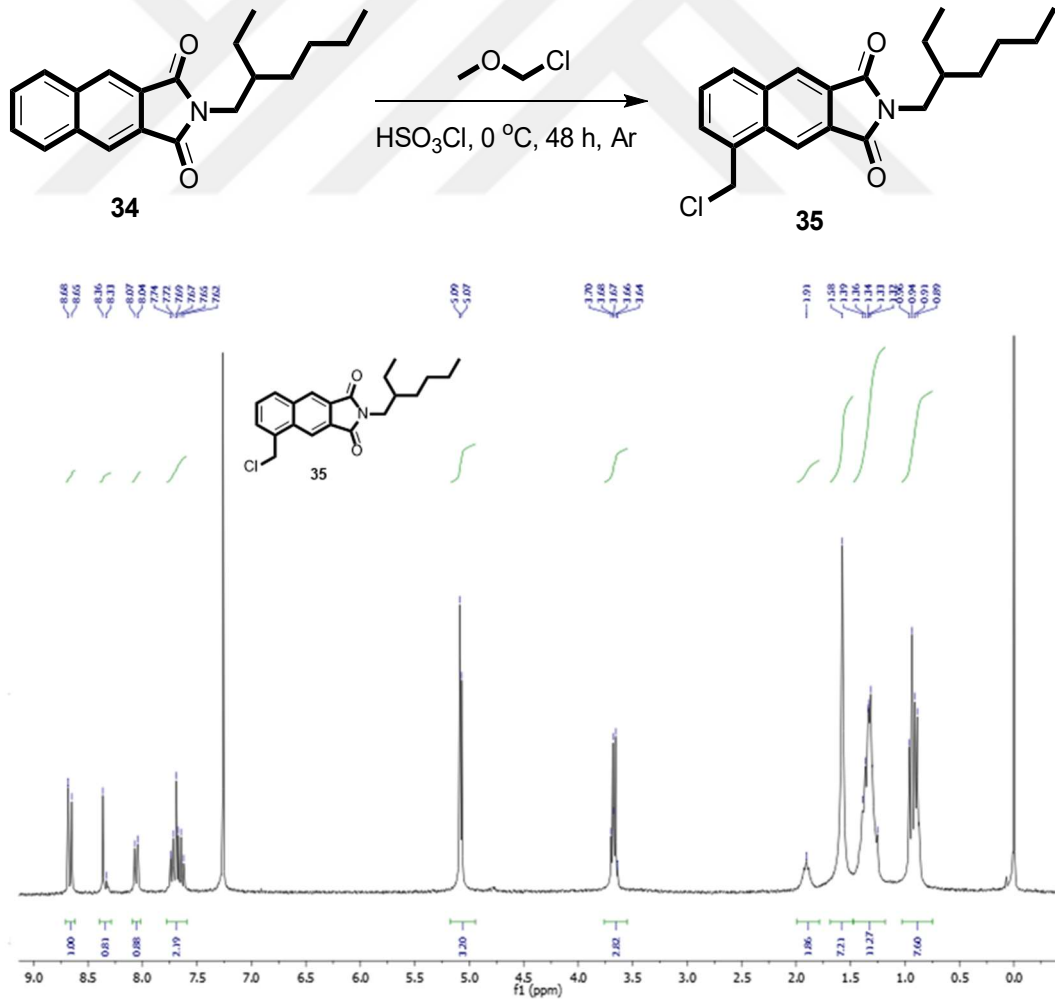


Şekil 4.4 Bileşik 34 için ¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃).

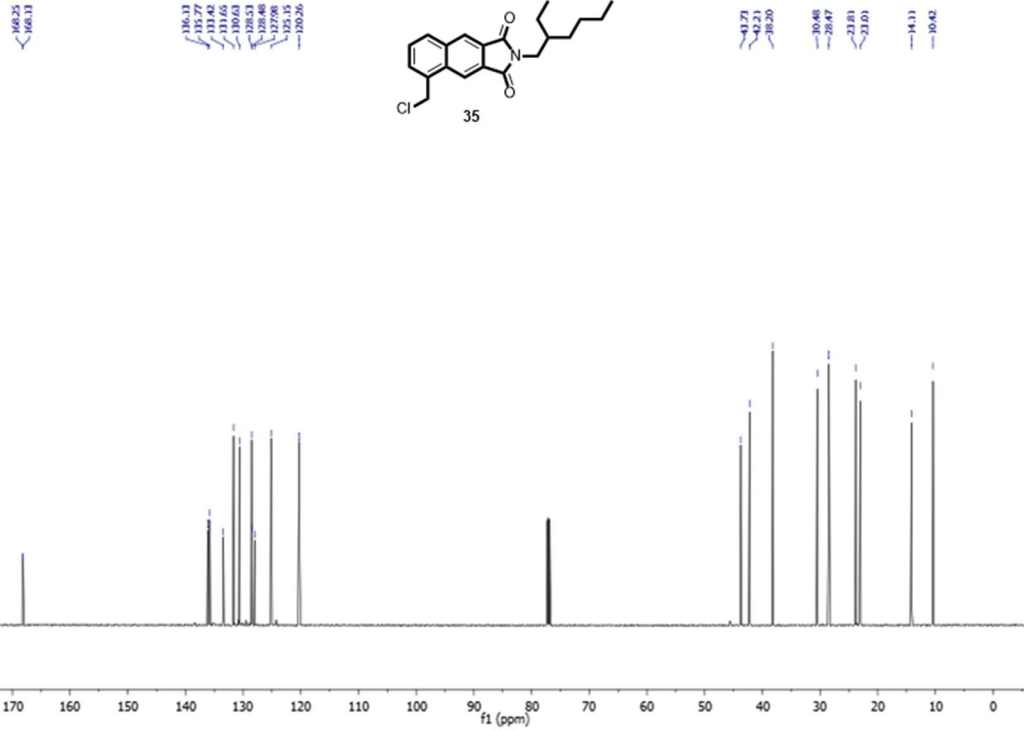


Şekil 4.5 Bileşik 34 için LC-MS kütle analizi.

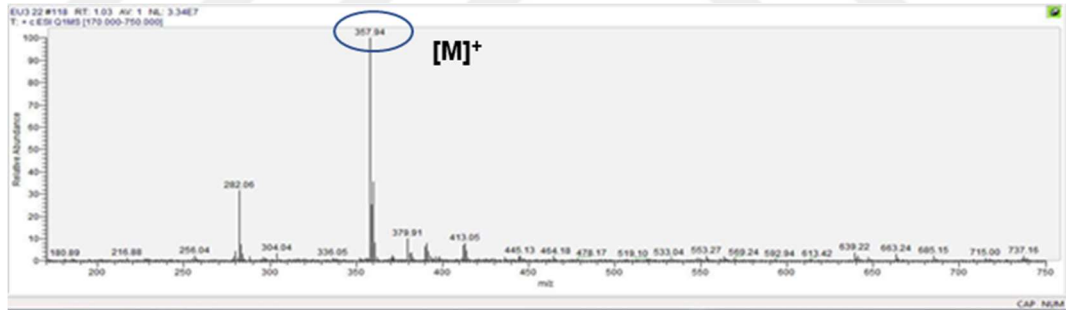
Bileşik 34 klorometil metil eter ile bileşik 35 elde edilmiştir. Kolon kromatografisi yöntemi ile bileşik 35 saflaştırılmıştır. Bileşik 35 ^1H NMR, ^{13}C NMR ve LC-MS ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8).



Şekil 4.6 Bileşik 35 için ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3),

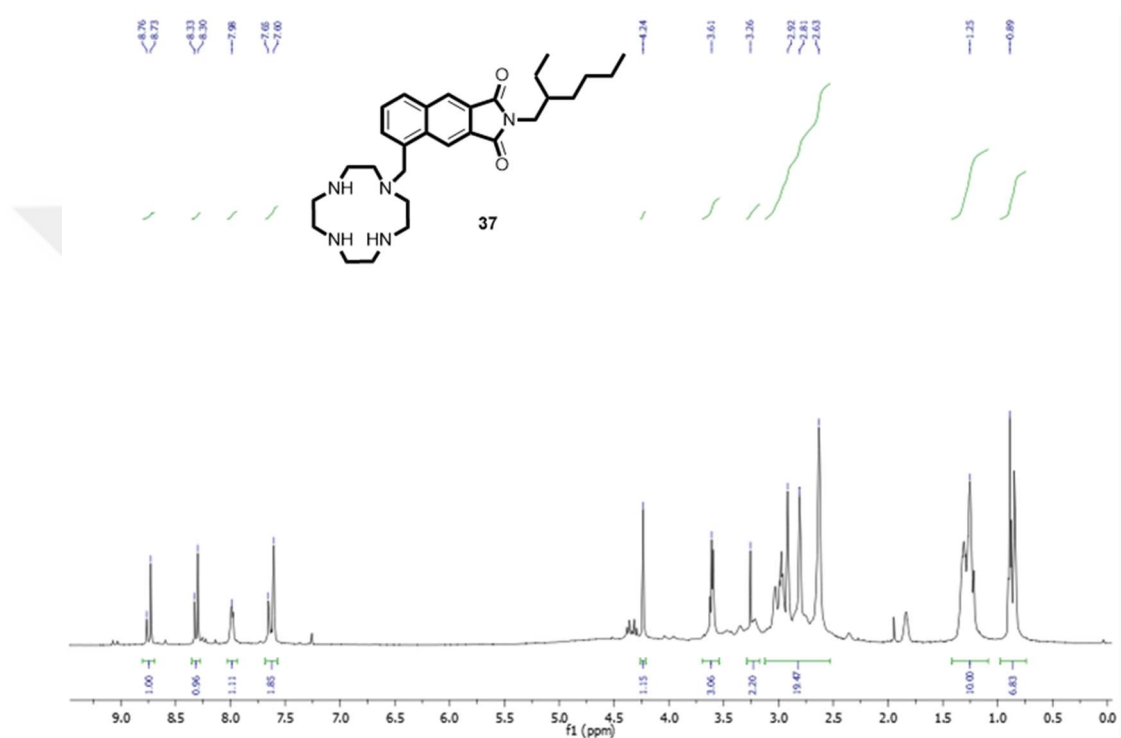
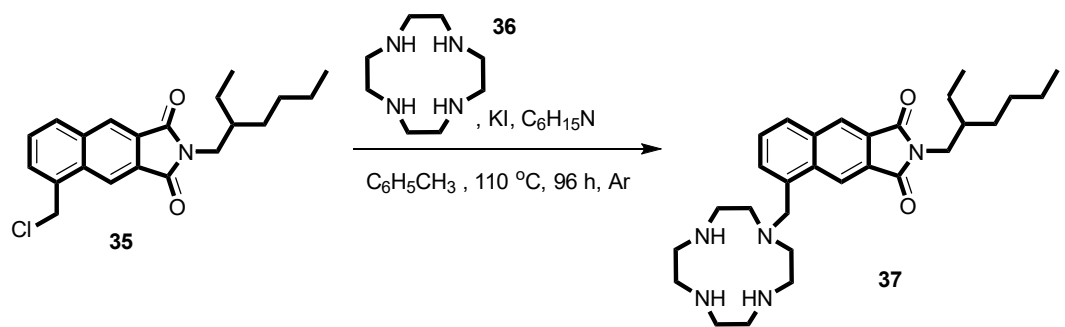


Şekil 4.7 Bileşik 35 için ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3).

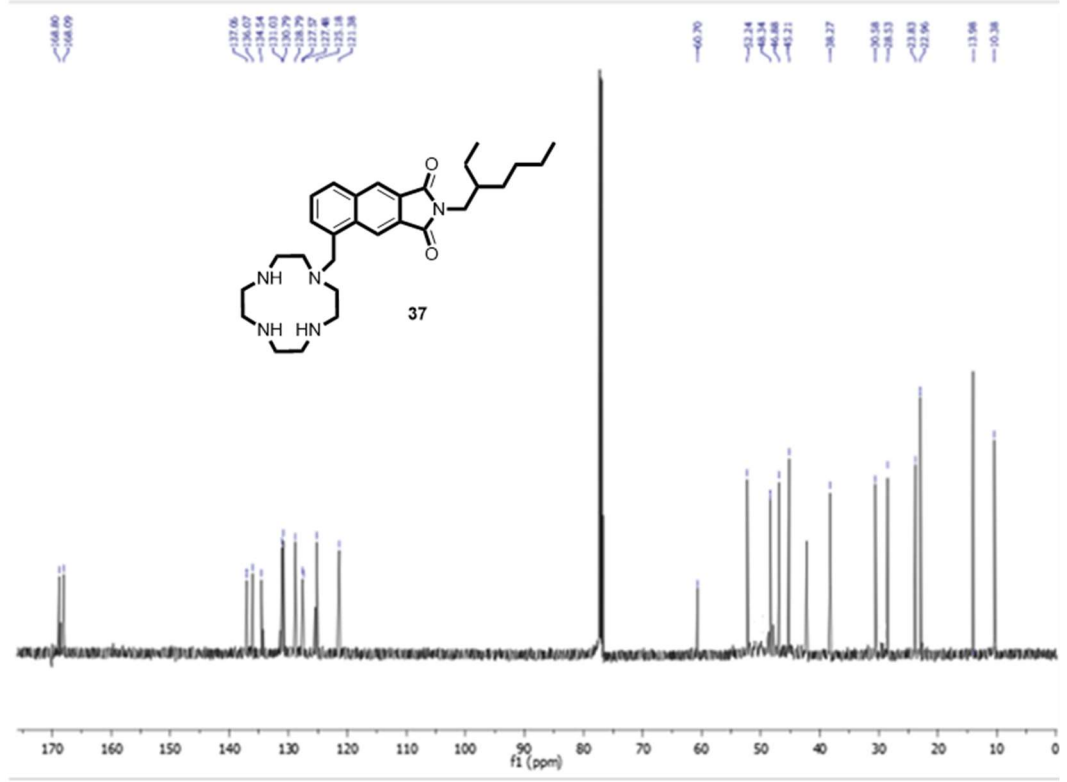


Şekil 4.8 Bileşik 35 için LC-MS kütle analizi.

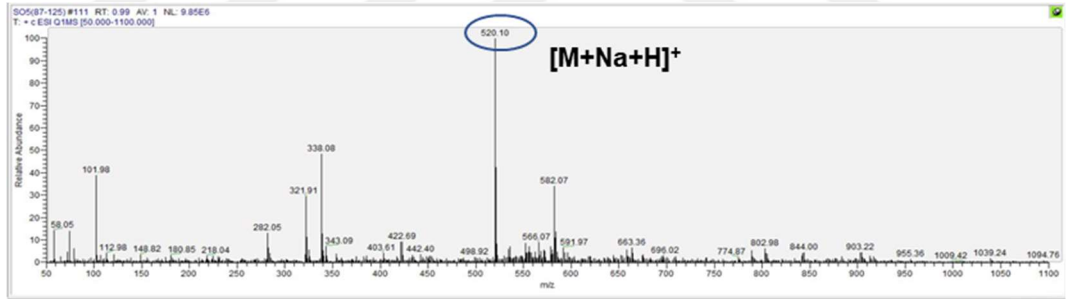
Sonraki kademede bileşik **35** ve **36** ile reaksiyona sokularak bileşik **37** %83 verim ile elde edilmiştir. Bileşik **37** ^1H NMR, ^{13}C NMR ve LC-MS ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.9, 4.10 ve 4.11).



Şekil 4.9 Bileşik **37** için ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).

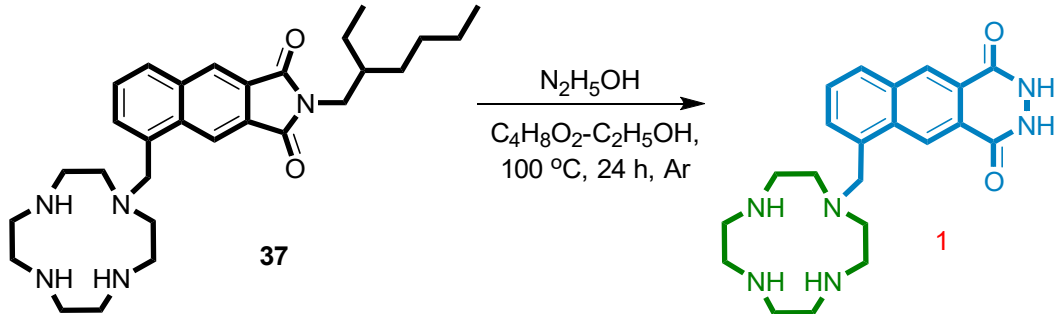


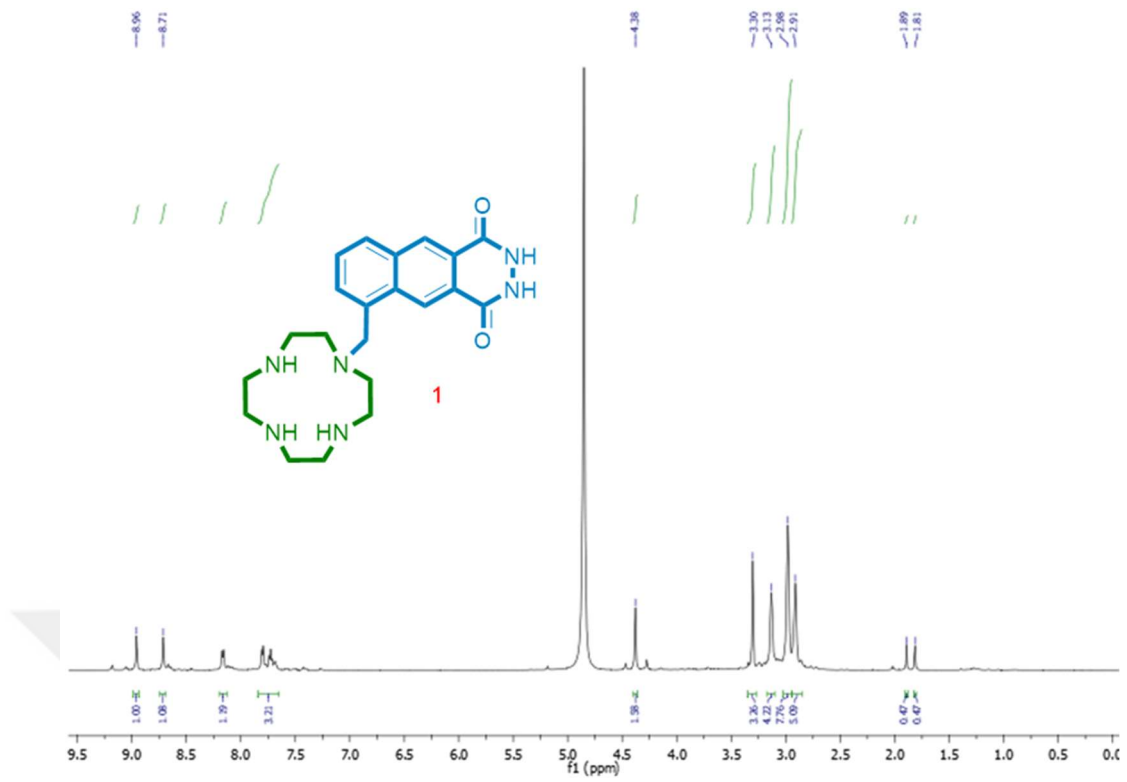
Şekil 4.10 Bileşik 37 için ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3).



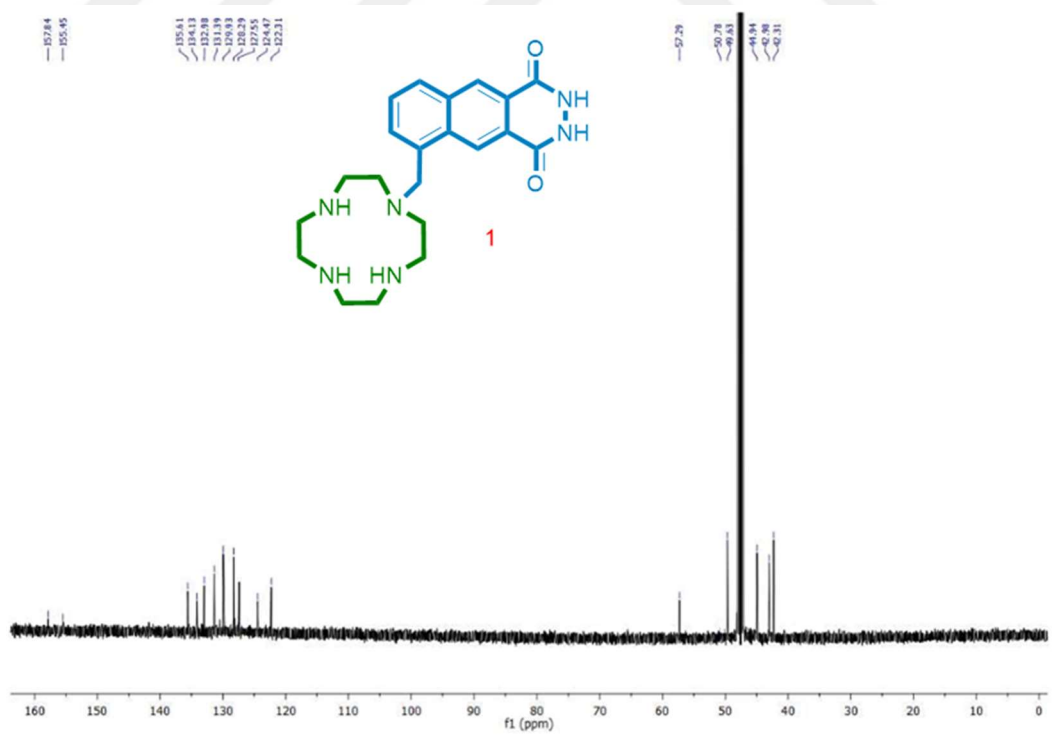
Şekil 4.11 Bileşik 37 için LC-MS kütle analizi.

Hedef bileşiğin **1** elde edilmesi için bileşik **37** dioksan:etanol (1:1) ile çözüldü ve üzerine hidrazin hidrat damla damla ilave edildi. Bileşik **1**, ^1H NMR (Şekil 4.12), ^{13}C NMR (Şekil 4.13) ve LCMS-MS (Şekil 4.14) ile yapı doğrulanmıştır.

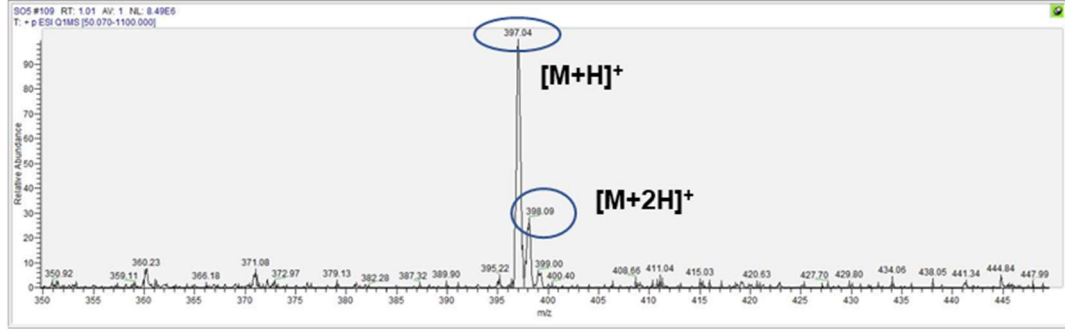




Şekil 4.12 Bileşik 1 için ¹H NMR spektrumu (CD₃OD).



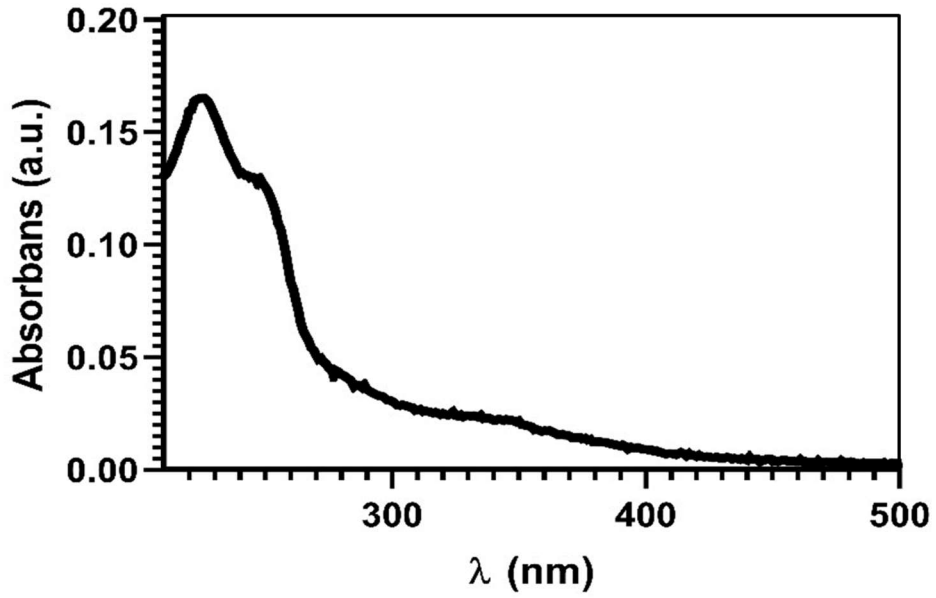
Şekil 4.13 Bileşik 1 için ¹³C NMR spektrumu (CD₃OD).



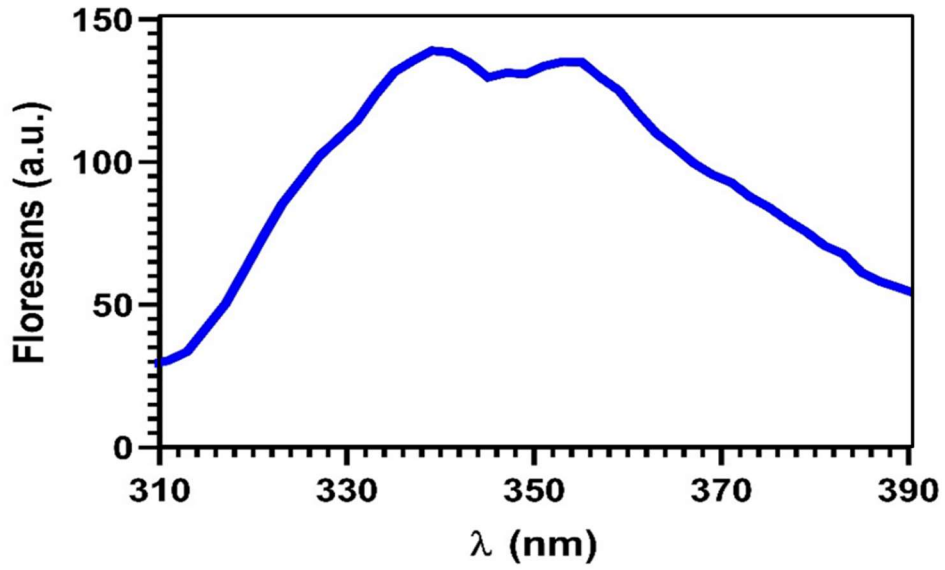
Şekil 4.14 Bileşik 1 için LC-MS kütle analizi.

4.2 Hedef Bileşiğin 1 Fotofiziksel Özellikleri

Bileşik 1 fizyolojik koşullarda (0.01M pH=7.4 PBS) absorpsiyon (Şekil 4.15), emisyon (Şekil 4.16) ve kemilüminesans emisyon spektrumları incelendi.

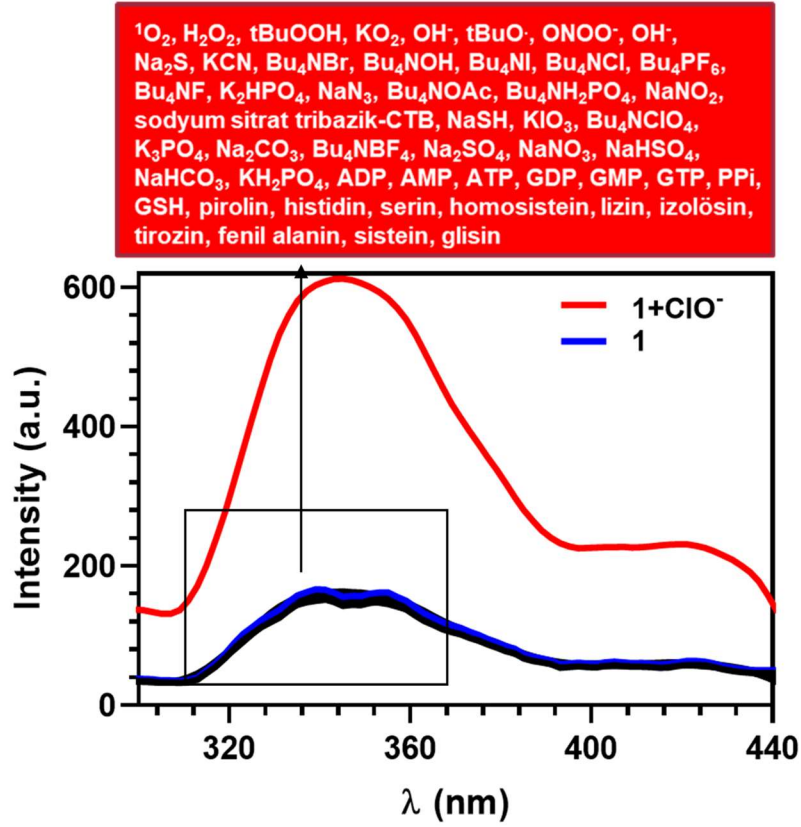


Şekil 4.15 Bileşik 1 (33 µM) soğurma spektrumu (H₂O, λ_{max} = 230 nm).

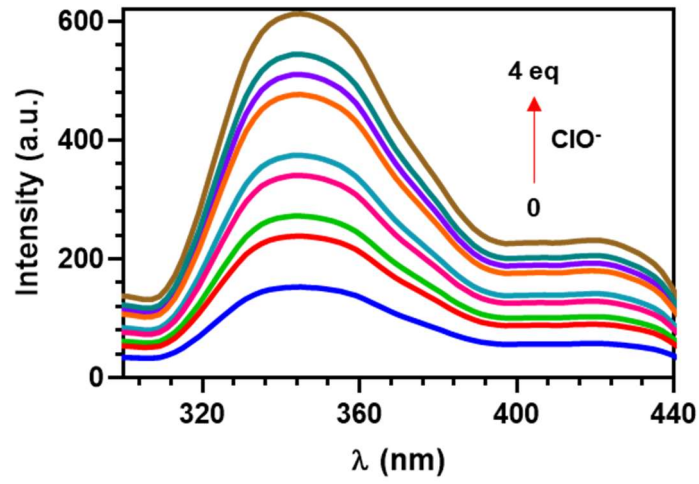


Şekil 4.16 Bileşik **1** (3.3 μM) floresans spektrumu. (H_2O , $\lambda_{\text{ex}} = 270 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 341 \text{ nm}$).

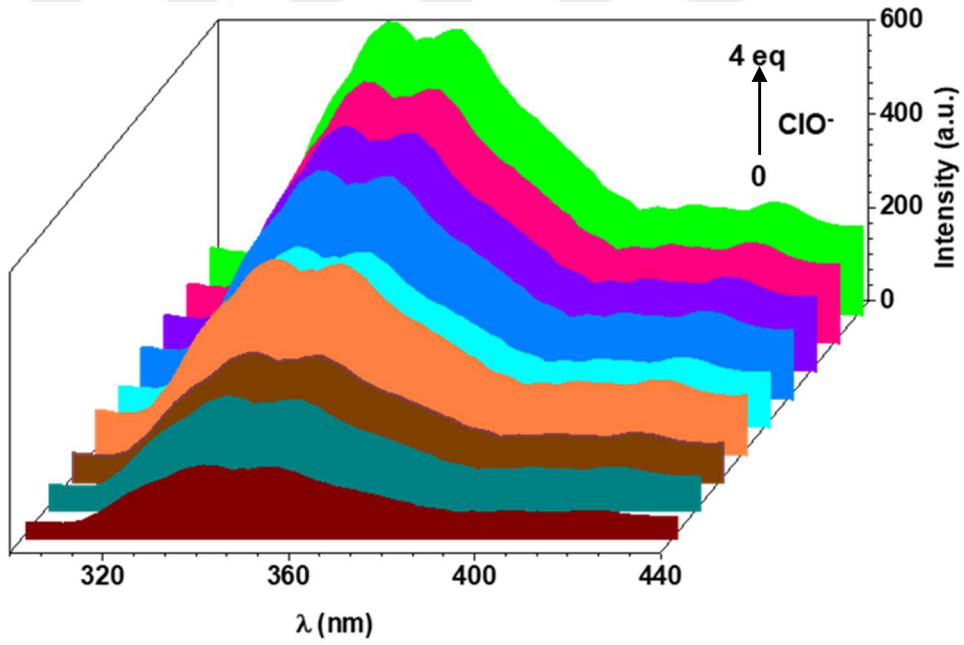
Hedef bileşiğin **1** florojenik özellikleri çeşitli Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve analitler varlığında incelenmiştir. Bileşiğin **1** test edilen analitlerden ClO^- dışında hiçbirisi ile etkileşime girmediği ancak ortama ClO^- eklenmesi durumunda floresans şiddetinde önemli derecede artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.17). Bu durum bileşiğin **1** oldukça seçici bir ClO^- belirteci olduğuna işaret etmektedir. Bileşik **1**, sodyum hipoklorit derişiminin artışına bağlı olarak floresans emisyon şiddeti de doğru orantılı olarak artmaktadır (Şekil 4.18). Bileşik **1** için kemilüminesans spektrumunun 3 boyutlu grafiği Şekil 4.19’ da çizgi grafiği Şekil 4.20.’de, BAR grafiği ise Şekil 4.21’de gösterilmiştir.



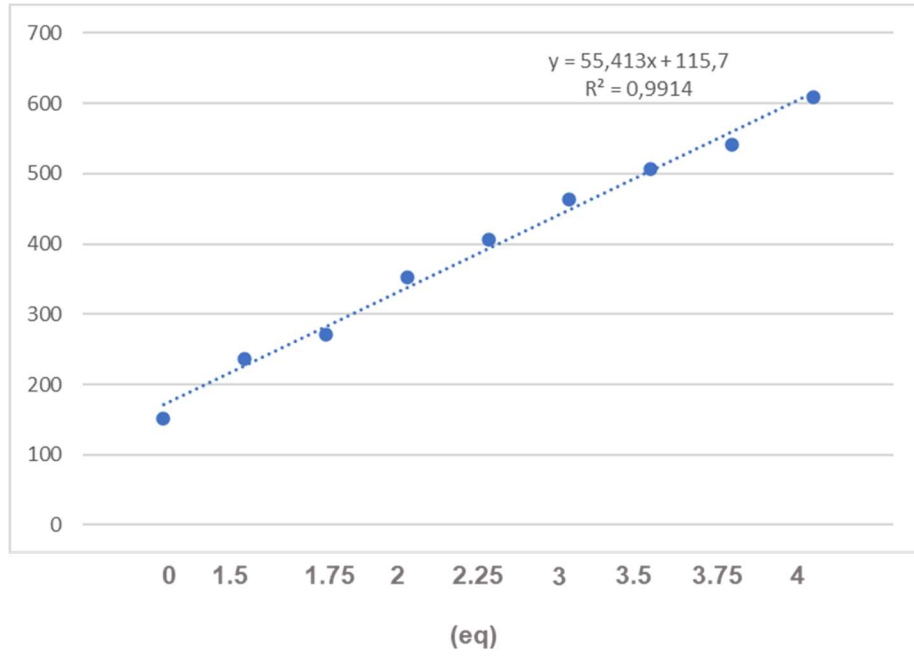
Şekil 4.17 Bileşik 1 (3,3 μM) için çeşitli reaktif oksijen türleri (33 μM , $^1\text{O}_2$, H_2O_2 , ClO^- , tBuOOH , KO_2 , OH^- , $\text{tBuO}^\cdot$, ONOO^- , $\text{OH}^\cdot$, Na_2S , KCN , Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaN_3 , Bu_4NOAc , $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{PO}_4$, NaNO_2 , sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH , KIO_3 , Bu_4NClO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4 , ADP , AMP , ATP , GDP , GMP , GTP , PPi , GSH , pirolin, histidin, serin, homosistein, lizin, izolösin, tirozin, fenil alanin, sistein, glisin) varlığında floresans emisyon spektrumu (0.01 M PBS, $\text{pH}=7,4$, $\lambda_{\text{ex}}=270\text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}}=341\text{ nm}$).



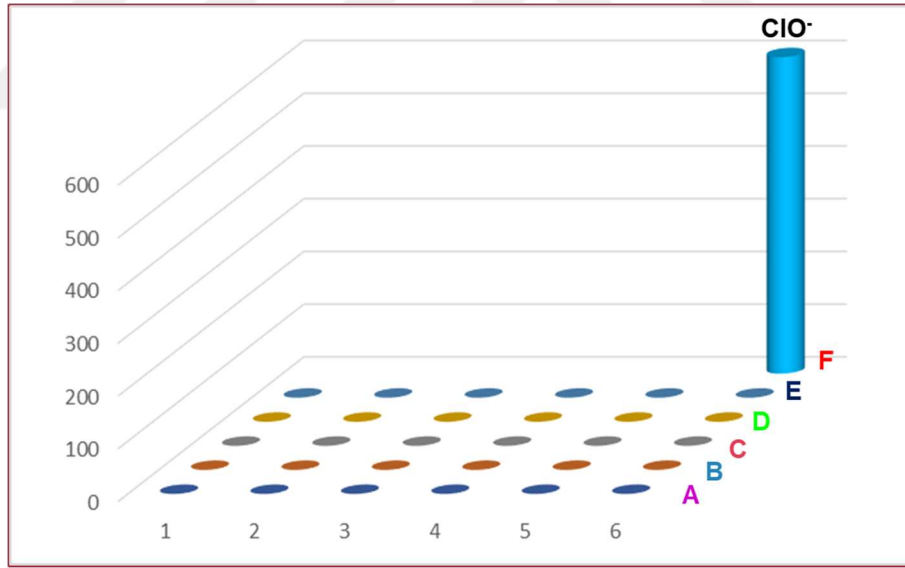
Şekil 4.18 Bileşik 1 (3,3 μM) için ClO^- (0, 1.5, 1.75, 2, 2.25, 3, 3.5, 3.75 ve 4 eq) derişimine bağı olarak floresans şiddetinin artışı.



Şekil 4.19 Bileşik 1 (3,3 μM) için ClO^- (0, 1.5, 1.75, 2, 2.25, 3, 3.5, 3.75 ve 4 eq) derişimine bağı olarak floresans şiddetinin artışının 3 boyutlu grafiğı.

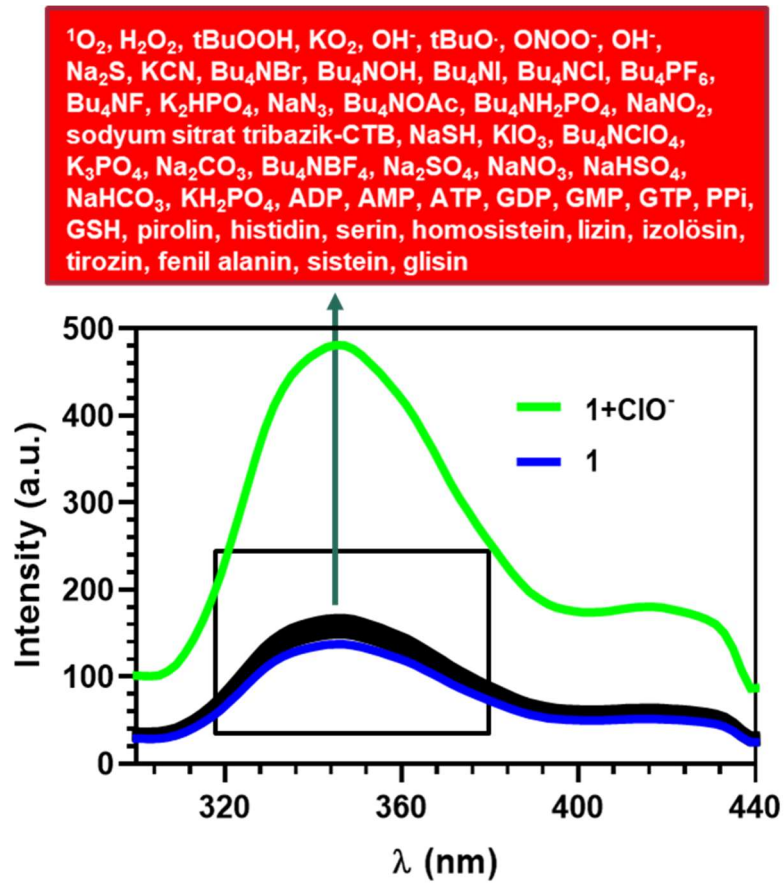


Şekil 4.20 Bileşik 1 (3,3 µM) için ClO⁻ (0, 1.5, 1.75, 2, 2.25, 3, 3.5, 3.75 ve 4 eq) derişimine bağılı olarak elde edilen floresans şiddeti artışının çizgi grafiğı.

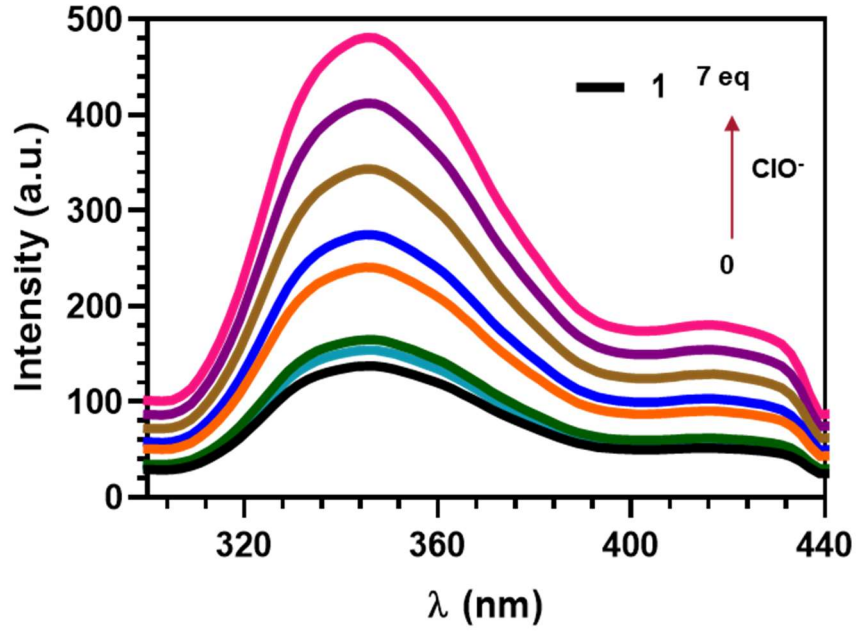


Şekil 4.21 PBS ortamında, Bileşik 1 (3,3 µM) floresansı için 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 6A, 6B, 6C, 6D, 6E (H₂O₂, ¹O₂, KO₂, tBuO₂, tBuOOH, Na₂S, KCN, Bu₄NBr, Bu₄NOH, Bu₄NI, Bu₄NCl, Bu₄PF₆, Bu₄NF, K₂HPO₄, NaN₃, Bu₄NOAc, Bu₄NH₂PO₄, NaNO₂, sodium citrate tribazik-CTB, NaSH, KIO₃, Bu₄NCIO₄, K₃PO₄, Na₂CO₃, Bu₄NBF₄, Na₂SO₄, NaNO₃, NaHSO₄, NaHCO₃, KH₂PO₄) 6F ClO⁻ Bar grafiğı.

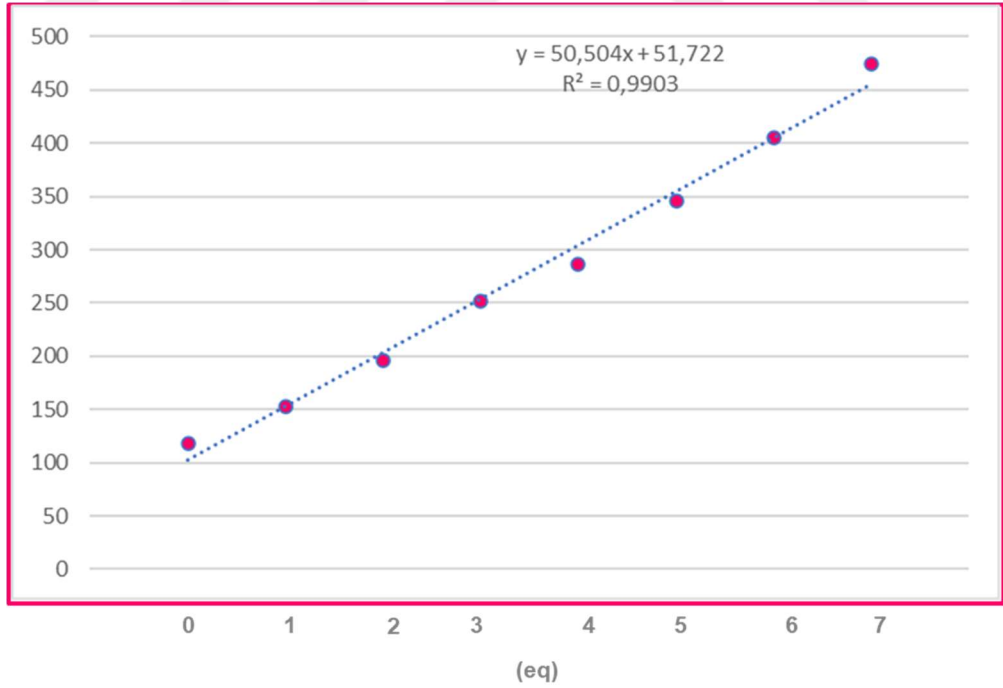
Hedef bileşiğin **1** çeşme suyunda florojenik özellikleri çeşitli Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve analitler varlığında incelenmiştir. Çeşme suyunda birçok analit (iyon, anyon, kation vb.) bulunmasına rağmen Bileşik **1** test edilen analitlerden ClO^- dışında hiçbirisi ile etkileşime girmediği ancak ortama ClO^- eklenmesi durumunda floresans şiddetinde önemli derecede artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.22). Bu durum bileşiğin **1** oldukça seçici bir ClO^- belirteci olduğuna işaret etmektedir. Bileşik **1**, hipoklorit derişiminin artışına bağlı olarak floresans emisyon şiddeti de doğru orantılı olarak artmaktadır (Şekil 4.23) Çizgi grafiği Şekil 4.24’de, BAR grafiği ise Şekil 4.25’de verilmiştir.



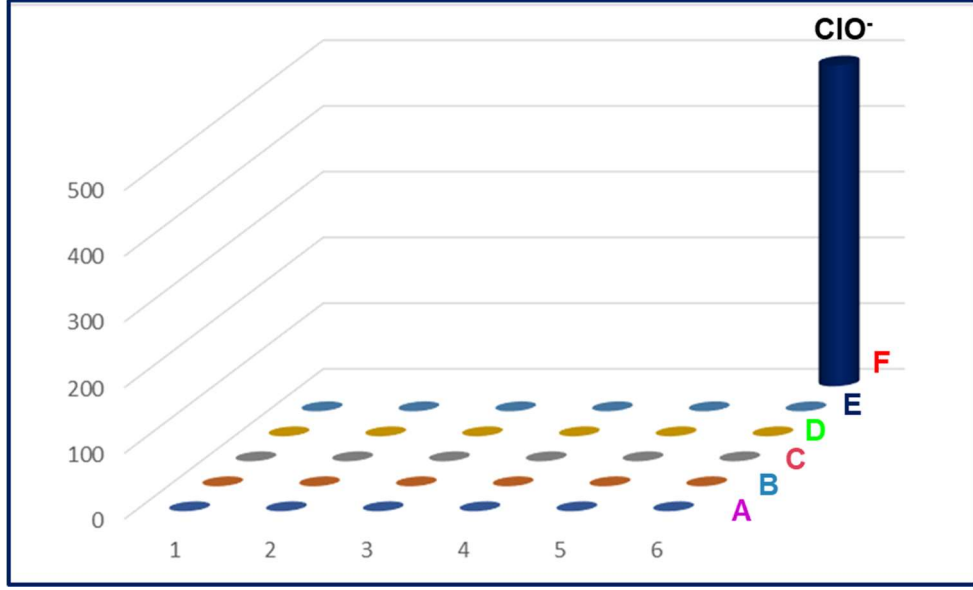
Şekil 4.22 Bileşik **1** (3,3 μM) için çeşitli reaktif oksijen türleri (33 μM , $^1\text{O}_2$, H_2O_2 , ClO^- , tBuOOH , KO_2 , OH^- , tBuO^- , ONOO^- , OH^- , Na_2S , KCN , Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaN_3 , Bu_4NOAc , $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{PO}_4$, NaNO_2 , sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH , KIO_3 , Bu_4NClO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4 , ADP , AMP , ATP , GDP , GMP , GTP , PPI , GSH , pirolin, histidin, serin, homosistein, lizin, izolösin, tirozin, fenil alanin, sistein, glisin) varlığında floresans emisyon spektrumu (Çeşme Suyu, $\lambda_{\text{ex}} = 270 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 341 \text{ nm}$).



Şekil 4.23 Bileşik 1 (3,3 µM) için ClO^- (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 eq) derişimine bağı olarak floresans emisyon şiddetinin artışı (Çeşme suyu, $\lambda_{\text{ex}}=270$ nm, $\lambda_{\text{max}}=341$ nm).

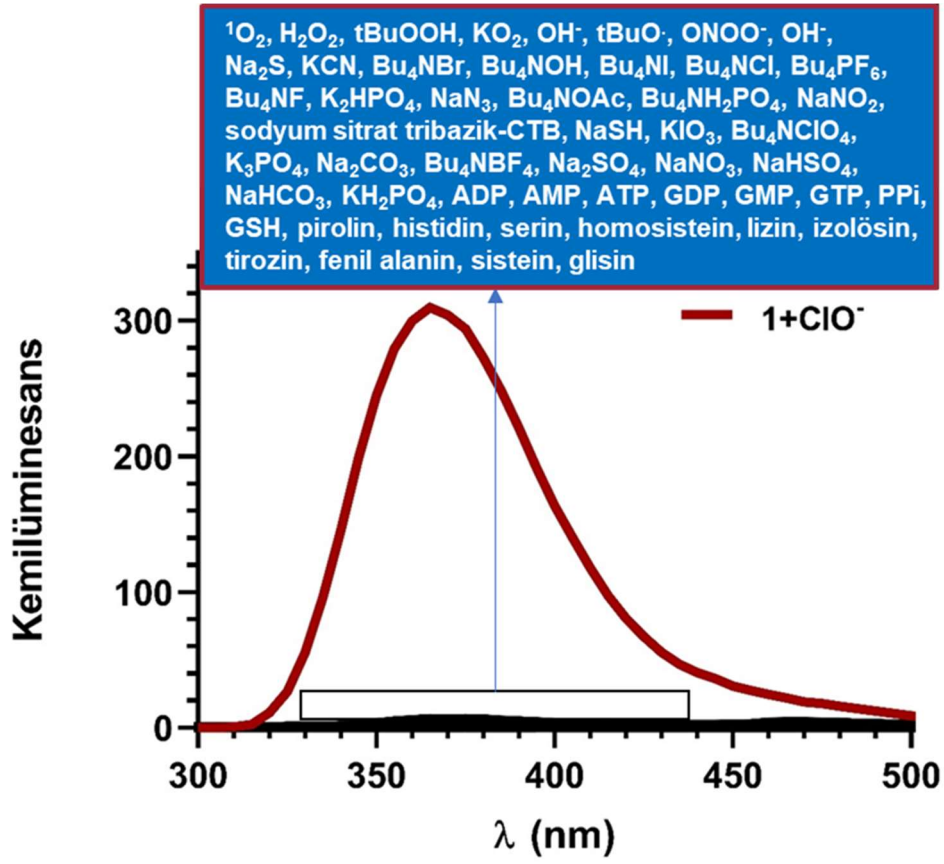


Şekil 4.24 Çeşme suyunda Bileşik 1 (3,3 µM) için ClO^- (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 eq) derişimine bağı olarak artan floresans emisyon şiddetinin çizgi grafiğı.

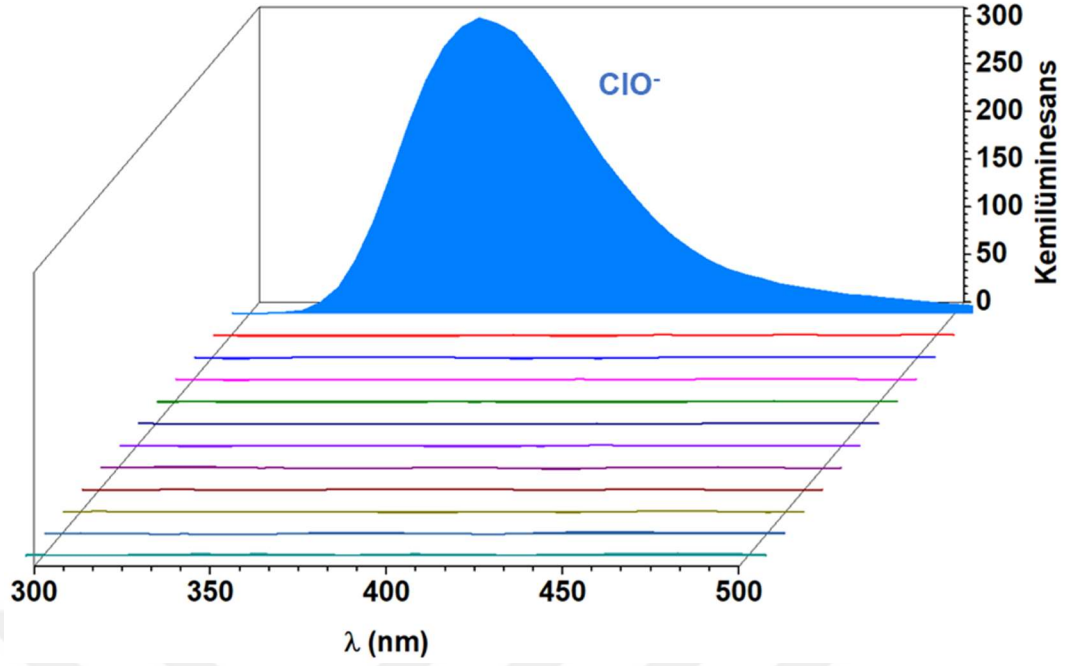


Şekil 4.25 Çeşme Suyunda, Bileşik **1** (3,3 µM) floresansı için 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 6A, 6B, 6C, 6D, 6E (H₂O₂, ¹O₂, KO₂, tBuO., tBuOOH, Na₂S, KCN, Bu₄NBr, Bu₄NOH, Bu₄NI, Bu₄NCl, Bu₄PF₆, Bu₄NF, K₂HPO₄, NaN₃, Bu₄NOAc, Bu₄NH₂PO₄, NaNO₂, sodium citrate tribazik-CTB, NaSH, KIO₃, Bu₄NClO₄, K₃PO₄, Na₂CO₃, Bu₄NBF₄, Na₂SO₄, NaNO₃, NaHSO₄, NaHCO₃, KH₂PO₄) **6F** ClO⁻ Bar grafiği.

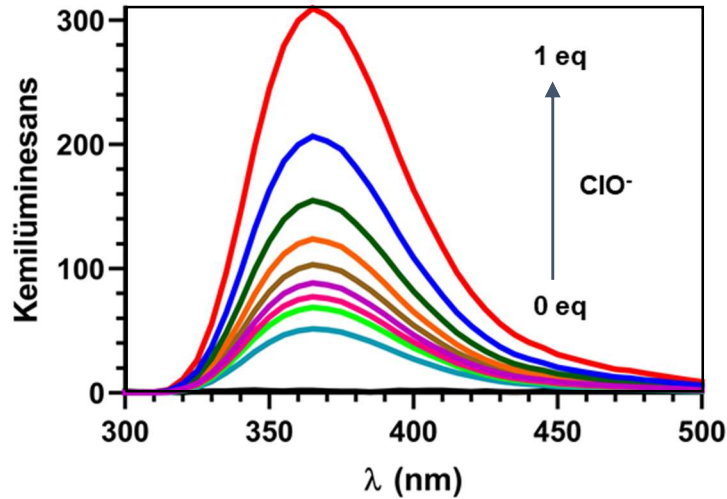
Hedef bileşiğin **1** kemilüminojenik özellikleri çeşitli Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve analitler varlığında incelenmiştir. Bileşiğin **1** test edilen analitlerden ClO⁻ dışında hiçbirisi ile etkileşime girmediği ancak ortama ClO⁻ eklenmesi durumunda kemilüminesans şiddetinde önemli derecede artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.26-4.27). Bu durum bileşiğin **1** oldukça seçici bir ClO⁻ belirteci olduğuna işaret etmektedir. Bileşik **1**, sodyum hipoklorit derişiminin artışına bağlı olarak kemilüminesans emisyon şiddeti de doğru orantılı olarak artmaktadır (Şekil 4.28-4.29). BAR grafiği ise Şekil 4.30'da verilmiştir.



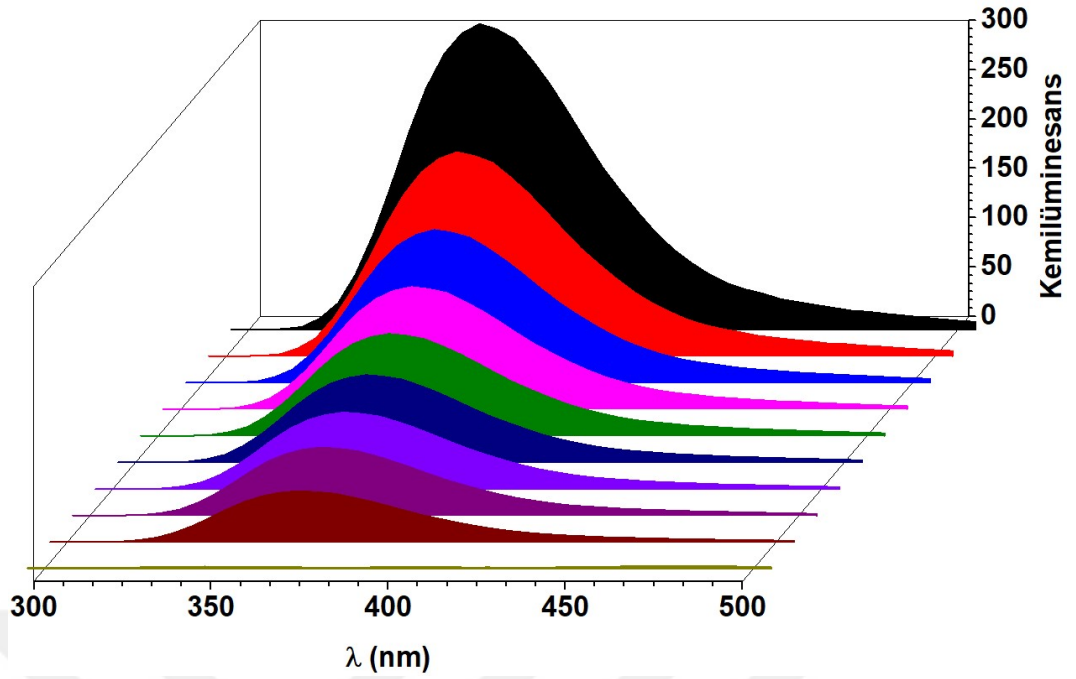
Şekil 4.26 Bileşik 1 (3,3 μM) için çeşitli reaktif oksijen türleri (33 μM , $^1\text{O}_2$, H_2O_2 , ClO^- , tBuOOH , KO_2 , OH^- , $\text{tBuO}^\cdot$, ONOO^- , OH^- , Na_2S , KCN , Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaN_3 , Bu_4NOAc , $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{PO}_4$, NaNO_2 , sodyum sitrat tribazik-CTB, NaSH , KIO_3 , Bu_4NCIO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4 , ADP , AMP , ATP , GDP , GMP , GTP , PPI , GSH , pirolin, histidin, serin, homosistein, lizin, izolösin, tirozin, fenil alanin, sistein, glisin) varlığında kemilüminesans spektrumu (0.01 M PBS, $\text{pH}=7,4$, $\lambda_{\text{max}}=370\text{ nm}$).



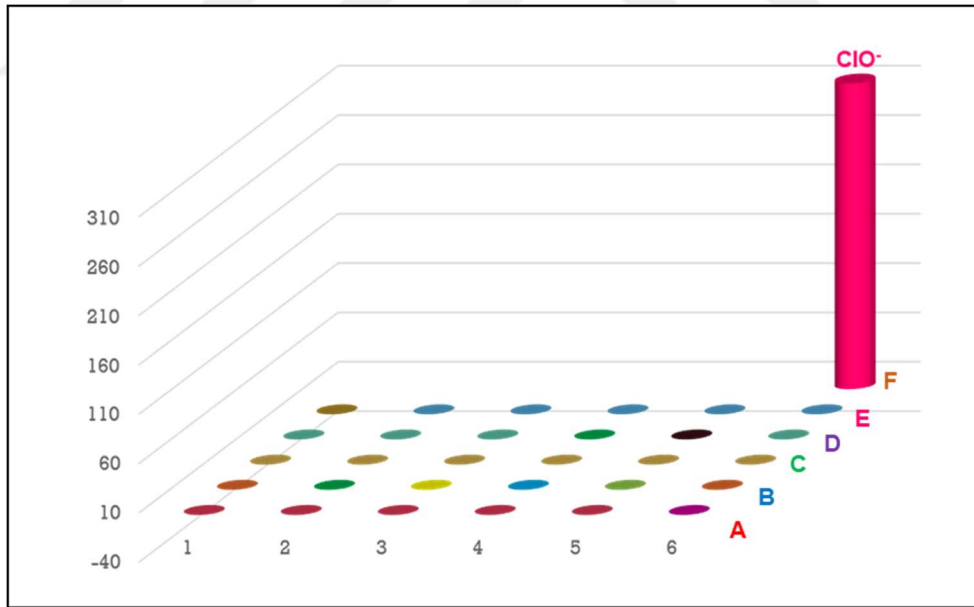
Şekil 4.27 Bileşik 1 ($3,3 \mu\text{M}$) için çeşitli reaktif oksijen türleri ($33 \mu\text{M}$, $^1\text{O}_2$, H_2O_2 , ClO^- , tBuOOH , KO_2 , OH^- , $\text{tBuO}^\cdot$, ONOO^- , OH^- , Na_2S , KCN , Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaN_3 , Bu_4NOAc , $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{PO}_4$, NaNO_2 , sodyum sitrat tribazık-CTB, NaSH , KIO_3 , Bu_4NClO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4 , ADP, AMP, ATP, GDP, GMP, GTP, PPI, GSH, pirolin, histidin, serin, homosistein, lizin, izolösin, tirozin, fenil alanin, sistein, glisin) varlığında kemilüminesans spektrumunun 3 boyutlu grafiği (0.01 M PBS , $\text{pH}=7,4$, $\lambda_{\text{max}}=370 \text{ nm}$).



Şekil 4.28 Bileşik 1 ($3,3 \mu\text{M}$) için ClO^- (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 ve 1 eq) derişimine bağılı olarak kemilüminesans şiddetinin artışı.



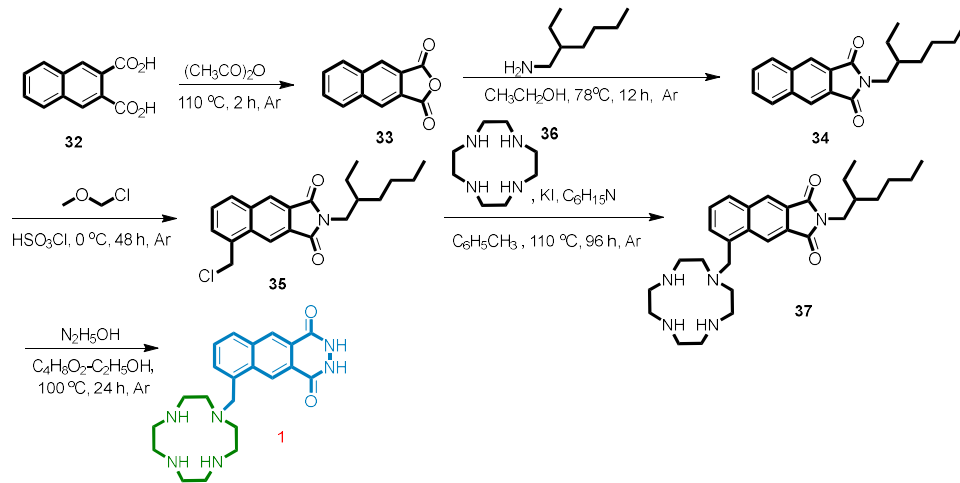
Şekil 4.29 Bileşik 1 (3,3 μM) için ClO^- (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 ve 1 eq) derişimine bağılı olarak kemilüminesans şiddetinin artışının 3 boyutlu grafiğı.



Şekil 4.30 Bileşik 1 (3,3 μM) kemilüminesans spektrumu için 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 6A, 6B, 6C, 6D, 6E (H_2O_2 , $^1\text{O}_2$, KO_2 , tBuO., tBuOOH, Na_2S , KCN, Bu_4NBr , Bu_4NOH , Bu_4NI , Bu_4NCl , Bu_4PF_6 , Bu_4NF , K_2HPO_4 , NaN_3 , Bu_4NOAc , $\text{Bu}_4\text{NH}_2\text{PO}_4$, NaNO_2 , sodium citrate tribazik-CTB, NaSH, KIO_3 , Bu_4NClO_4 , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , Bu_4NBF_4 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , NaHSO_4 , NaHCO_3 , KH_2PO_4) **6F** ClO^- Bar grafiğı.

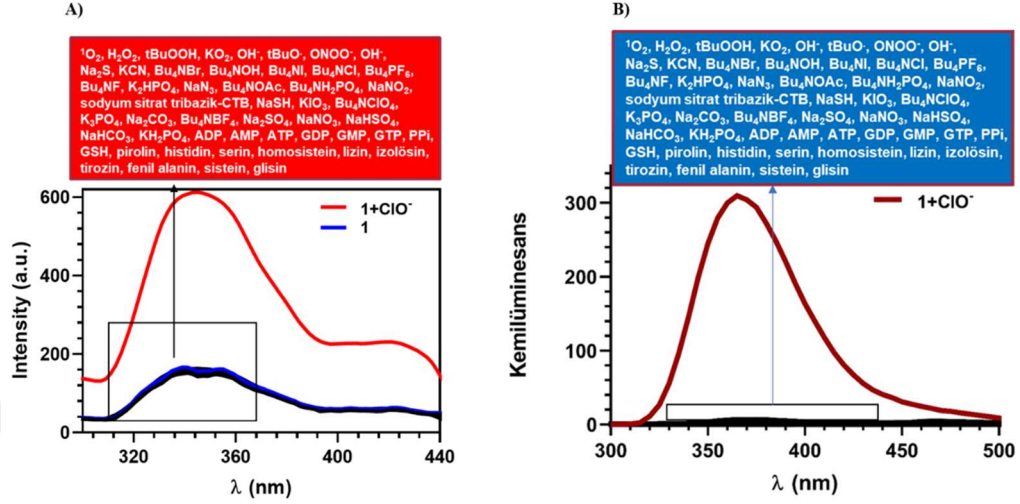
5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hedef bileşiğin **1** genel sentez şeması Şekil 5.1’ de gösterilmiştir. Genel sentez şeması 5 basamak altında gerçekleşmiştir. Bileşik **32**, asetik anhidrit ile muamele edilerek bileşik **33** elde edilmiştir. Bileşik **33** ise 2-etilhekzilamin katalizörlüğünde bileşik **34** sentezlenmiştir. Klorometil metil eter ile bileşik **34**’den, bileşik **35** elde edilmiştir. Bileşik **35**, 1,4,7,10-tetraazasiklododekan (bileşik **36**), potasyum iyodür ve trietilamin varlığında bileşik **37** sentezlenmiştir. Hidrazin hidrat katalizörlüğünde bileşik **37**’den hedef bileşik **1** elde edilmiştir. Tüm bileşikler, ^1H NMR, ^{13}C NMR ve LCMS-MS ile karakterize edilmiştir. Hedef bileşiğin **1**, fotofiziksel özellikleri (absorbsiyon, emisyon ve kemilüminesans spektrumları) fizyolojik ortamda (PBS, 0.01 M, pH:7.4) incelenmiştir. Reaktif Oksijen Türleri varlığında ($^1\text{O}_2$, H_2O_2 , ClO^- , tBuOOH , KO_2 , OH^- , $\text{tBuO}^\cdot$, ONOO^- , $\text{OH}^\cdot$) fotofiziksel özellikler incelendiğinde, sadece floresans ve kemilüminesans spektrumunda ClO^- ‘ya (0,6545 M) karşı artış meydana gelmiştir ve kemilüminesans spektrumunun şiddeti hipoklorit (ClO^-) derişimine bağlı olarak artmaktadır. Reaktif oksijen türlerinden biri olan hipokloritin, insan vücudunda fazla miktarda bulunması durumunda, proteinler ve diğer biyolojik olarak önemli moleküllerin yapısını veya işlevini bozarak çeşitli hastalıklara (kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörolojik hastalıklar, vb.) yol açmaktadır. Sentezlemiş olduğumuz hedef bileşik **1**, hem tamamen sulu ortamda (organik çözücü eklenmeksizin) çözünmesi hem de fizyolojik ortamda spesifik bir şekilde hipoklorite karşı çift kanallı olarak (hem kemilüminojenik hem de florojenik) duyarlı olması yönünden avantajlıdır. (Şekil 5.2)



Şekil 5.1 Hedef bileşik **1** genel sentez şeması.

Hedef bileşik **1**, daha da geliştirilerek visible bölgeden kırmızı bölgeye doğru kaydırılarak, biyolojik olarak önemli biyomoleküllere zarar vermeden hipokloritin tespiti ve tayini yapılabilir.



Şekil 5.2 Bileşik **1** (3,3 μM) için çeşitli analitler varlığında **A)** floresans spektrumu (0.01 M PBS, pH=7,4, λ_{ex} = 270 nm) **B)** kemilüminesans spektrumu (0.01 M PBS, pH=7,4, λ_{max} = 370 nm).

KAYNAKLAR

1. Schlotter, P., Schmidt, R. ve Schneider, J., 1997. Luminescence conversion of blue light emitting diodes, *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, 64 (4), 417-418.
2. Valeur, B. ve Berberan-Santos, M. N., 2012. *Molecular fluorescence: principles and applications*, John Wiley & Sons.
3. Gundermann, K.D., 1974. Recent advances in research on the chemiluminescence of organic compounds, In *Photochemistry*, Springer, 61-139.
4. Harvey, E. N., 1957. A history of luminescence from the earliest times until 1900 Vol. 44, American Philosophical Society.
5. Williams, D.C., Huff, G.F. ve Seitz, W.R., 1976. Evaluation of peroxyoxalate chemiluminescence for determination of enzyme generated peroxide, *Analytical chemistry* 48, 1003-1006.
6. Schmidt, S.P. ve Schuster, G.B., 1978. Dioxetanone chemiluminescence by the chemically initiated electron exchange pathway, Efficient generation of excited singlet states, *Journal of the American Chemical Society* 100, 1966-1968.
7. Szalay, A.A., Kricka, L.J. ve Stanley, P.E., 1993. Bioluminescence and chemiluminescence, In *International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence*.
8. Wienhausen, G. ve Deluca, M. 1986. Bioluminescent assays using coimmobilized enzymes, In *Methods in enzymology*, Elsevier, 198-208.
9. Lewis, S.W., Price, D. ve Worsfold, P.J., 1993. Flow injection assays with chemiluminescence and bioluminescence detection a review, *Journal of bioluminescence and chemiluminescence* 8, 183-199.
10. Shimomura, O., Johnson, F.H. ve Saiga, Y. 1963. Microdetermination of calcium by aequorin luminescence, *Science* 140, 1339-1340.
11. Cormier, M., 2013. *Chemiluminescence and bioluminescence*, Springer Science & Business Media.
12. Babko, A. ve Dubovenko, L., 1964. Verbesserung der Empfindlichkeit der katalytischen Chemilumineszenzreaktion auf Kupfer, *Fresenius Zeitschrift für analytische Chemie* 200, 428-434.
13. Patrovsky, V., 1976. Hydrogen peroxide determination with luminol and a new catalyst, *Talanta* 23, 553-554.
14. Bostick, D.T. ve Hercules, D.M., 1975. Quantitative determination of blood glucose using enzyme induced chemiluminescence of luminol, *Analytical chemistry* 47, 447-452.

15. Baeyens, W.R., Ling, B.L., Imai, K., Calokerinos, A.C. ve Schulman, S.G., 1994. Chemiluminescence detection in capillary electrophoresis, *Journal of Microcolumn Separations* 6, 195-206.
16. Bronstein, I., Fortin, J., Stanley, P.E., Stewart, G.S. ve Kricka, L.J., 1994. Chemiluminescent and bioluminescent reporter gene assays, *Analytical biochemistry* 219, 169-181.
17. Vaughan, W.R., 1948. The chemistry of the phthalazines, *Chemical reviews* 43, 447-508.
18. Roswell, D.F. ve White, E.H., 1978. The chemiluminescence of luminol and related hydrazides, In *Methods in enzymology*, Elsevier, 409-423.
19. Li, Y., Zhu, H. ve Trush, M.A., 1999. Detection of mitochondria-derived reactive oxygen species production by the chemilumigenic probes lucigenin and luminol, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1428, 1-12.
20. Sassolas, A., Blum, L.J. ve Leca-Bouvier, B.D., 2008. Electrogeneration of poly(luminol) and chemiluminescence for new disposable reagentless optical sensors, *Analytical and bioanalytical chemistry* 390, 865-871.
21. Panoutsou, P. ve Economou, A., 2005. Rapid enzymatic chemiluminescent assay of glucose by means of a hybrid flow-injection/sequential-injection method, *Talanta* 67, 603-609.
22. Erbao, L. ve Bingchun, X., 2006. Flow injection determination of adenine at trace level based on luminol-K₂Cr₂O₇ chemiluminescence in a micellar medium, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 41, 649-653.
23. Zhao, S., Yuan, H., Xie, C. ve Xiao, D., 2006. Determination of folic acid by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection, *Journal of Chromatography (a)* 1107, 290-293.
24. Li, B., Zhang, Z. ve Jin, Y., 2002. Plant tissue-based chemiluminescence flow biosensor for determination of unbound dopamine in rabbit blood with on-line microdialysis sampling, *Biosensors and bioelectronics* 17, 585-589.
25. White, E. H., Roswell, D. F. ve Burr, J. G., 1985. *Chemi- and bioluminescence*, Marcel Dekker, New York, 215.
26. Stanley, P.E. ve Kricka, L.J., 1991. Bioluminescence and chemiluminescence. In *International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence 1990*, Cambridge, England, Wiley.
27. Quickenden, T.I. ve Cooper, P.D., 2001. Increasing the specificity of the forensic luminol test for blood, *Luminescence, The journal of biological and chemical luminescence* 16, 251-253.

28. Creamer, J., Quickenden, T., Apanah, M., Kerr, K. ve Robertson, P., 2003. A comprehensive experimental study of industrial, domestic and environmental interferences with the forensic luminol test for blood, *Luminescence, The journal of biological and chemical luminescence* 18, 193-198.
29. Quickenden, T., Ennis, C. ve Creamer, J., 2004. The forensic use of luminol chemiluminescence to detect traces of blood inside motor vehicles, *Luminescence, The journal of biological and chemical luminescence* 19, 271-277.
30. Creamer, J.I., Quickenden, T.I., Crichton, L.B., Robertson, P. ve Ruhayel, R.A., 2005. Attempted cleaning of bloodstains and its effect on the forensic luminol test, *Luminescence, The journal of biological and chemical luminescence* 20, 411-413.
31. Zhang, S., Mu, X. ve Yan, L., 2021. A Fluorescent Probe for the Fast Detection of Hypochlorite and its Applications in Water, Test Strip and Living Cells, *Journal of Fluorescence*, 31(2), 569-576.
32. Mao, G. J., Gao, G. Q., Liang, Z. Z., Wang, Y. Y., Su, L., Wang, Z. X. ve Zhang, G., 2019. A mitochondria-targetable two-photon fluorescent probe with a far-red to near-infrared emission for sensing hypochlorite in biosystems, *Analytica chimica acta*, 1081, 184-192.
33. Han, D., Qian, M., Gao, H., Wang, B., Qi, H. ve Zhang, C., (2019). A “switch-on” photoluminescent and electrochemiluminescent multisignal probe for hypochlorite via a cyclometalated iridium complex, *Analytica chimica acta*, 1074, 98-107.
34. Algi, M. P., 2015. A Fluorescent Hypochlorite Probe Built on 1,10-Phenanthroline Scaffold and its Ion Recognition Features, *Journal of Fluorescence*, 26(2), 487–496.
35. Geiselhart, C. M., Schmitt, C. W., Jöckle, P., Mutlu, H. ve Barner-Kowollik, C., 2019. A Guanidine-Based Superbase as Efficient Chemiluminescence Booster, *Scientific reports* 9(1), 1-8.
36. Deepa, S. ve kumar, K. R., 2018. A symmetrical luminol based azo derivative for trimodal ratiometric Hg^{2+} sensing and its application to bioimaging in living cells, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 364, 773–786.
37. Ye, S., Hananya, N., Green, O., Chen, H., Zhao, A. Q., Shen, J. ve Yang, D., 2020. A Highly Selective and Sensitive Chemiluminescent Probe for Real-Time Monitoring of Hydrogen Peroxide in Cells and Animals, *Angewandte Chemie International Edition*, 59(34), 14326-14330.
38. Kong, M., Wei, W., Wang, W., Chen, H. ve He, J., 2021. A novel metal organic gel with superior oxidase-like activity for efficient and sensitive chemiluminescence detection of uric acid, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 257, 119773.

39. Hu, L., Hu, X., Huang, T., Wang, M. ve Xu, G., 2021. Chemiluminescence of the Ce (IV)/CDP-Star System Based on the Phosphatase-like Activity of Ce (IV) Ions, *ACS omega*, 6(9), 6379-6384.
40. Hananya, N., Green, O., Blau, R., Satchi-Fainaro, R. ve Shabat, D., 2017. A highly efficient chemiluminescence probe for the detection of singlet oxygen in living cells, *Angewandte Chemie International Edition*, 56(39), 11793-11796.
41. Sun, J., Hu, Z., Zhang, S. ve Zhang, X., 2018. A novel chemiluminescent probe based on 1, 2-dioxetane scaffold for imaging cysteine in living mice, *ACS sensors*, 4(1), 87-92.
42. Atılğan, N., Algi, F., Önal, A.M. ve Cihaner, A., 2009. Synthesis and properties of a novel redox driven chemiluminescent material built on a terthienyl system, *Tetrahedron* 65, 5776-5781.
43. Asil, D., Cihaner, A., Algi, F. ve Önal, A.M., 2010. A Diverse-Stimuli Responsive Chemiluminescent Probe with Luminol Scaffold and Its Electropolymerization, *Electroanalysis* 22, 2254-2260.
44. Algi, M.P., Oztas, Z., Tirkeş, S., Cihaner, A. ve Algi, F., 2017. Atomistic engineering of chemiluminogens: synthesis, properties and polymerization of 2, 3-dihydro-pyrrolo [3, 4-d] pyridazine-1, 4-dione scaffolds, *Journal of fluorescence* 27, 509-519.
45. Han, J., Jose, J., Mei, E. ve Burgess, K., 2007. Chemiluminescent Energy-Transfer Cassettes Based on Fluorescein and Nile Red, *Angewandte Chemie* 119, 1714-1717.
46. Asil, D., Cihaner, A. ve Önal, A.M., 2009. A glow in the dark: synthesis and electropolymerization of a novel chemiluminescent terthienyl system, *Chemical communications*, 307-309.
47. Degirmenci, A. ve Algi, F., 2017. Synthesis, chemiluminescence and energy transfer efficiency of 2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione and BODIPY dyad, *Dyes and Pigments*, 140, 92–99.
48. Gangopadhyay, A., Ali, S. S., Guria, U. N., Samanta, S. K., Sarkar, R., Datta, P. ve Mahapatra, A. K., 2018. A ratiometric hypochlorite sensor guided by PET controlled ESIPT output with real time application in commercial bleach, *New Journal of Chemistry*, 42(19), 15990-15996.
49. Zeng, Z.-X., Gu, J., Liu, Y.N., Li, D.-D., Yang, Y.-S., Wang, B.-Z. ve Zhu, H.L., 2020. A fluorescent sensor for selective detection of hypochlorite and its application in *Arabidopsis thaliana*, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 118830.
50. Jin, X., Jia, Y., Chen, W., Chui, P. ve Yang, Z., 2016. A reaction-based fluorescent probe for rapid detection of hypochlorite in tap water, serum, and living cells, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 232, 300–305.

51. Jiang, Q., Wang, Z., Li, M., Song, J., Yang, Y., Xu, X. ve Wang, S., 2020. A novel nopinone-based fluorescent probe for colorimetric and ratiometric detection of hypochlorite and its applications in water samples and living cells, *Analyst*, 145(3), 1033-1040.
52. Algi, M. P., 2016. A highly selective dual channel hypochlorite probe based on fluorescein and 1,10-phenanthroline, *Tetrahedron*, 72(12), 1558–1565.
53. Cheng, W., Xue, X., Gan, L., Jin, P., Zhang, B., Guo, M. ve Fang, J., 2021. Individual and successive detection of H₂S and HClO in living cells and zebrafish by a dual-channel fluorescent probe with longer emission wavelength, *Analytica Chimica Acta*, 1156, 338362.
54. Liang, L., Sun, Y., Liu, C., Zeng, X. ve Zhao, J., 2021. A phenothiazine-based turn-on fluorescent probe for selective quantification of HClO in living cells, *Dyes and Pigments*, 190, 109344.
55. Wang, B., Zhang, F., Wang, S., Yang, R., Chen, C. ve Zhao, W. 2020. Imaging endogenous HClO in atherosclerosis using a novel fast-response fluorescence probe, *Chemical Communications*, 56(17), 2598-2601.
56. Huang, Y., Zhang, Y., Huo, F., Liu, Y. ve Yin, C., 2020. Mitochondrial-targeted near-infrared “dual mode” fluorescent dyes with large Stokes shift for detection of hypochlorous acid and its bioimaging in cell and mice, *Dyes and Pigments*, 179, 108387.
57. Liu, S., Yang, D., Liu, Y., Pan, H., Chen, H., Qu, X. ve Li, H., 2019. A dual-channel and fast-response fluorescent probe for selective detection of HClO and its applications in live cells, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 299, 126937.
58. Ding, F., Wen, H., Zhuo, R., Li, J., Zheng, H., Deng, Y. ve He, X., 2021. A novel ratiometric and colorimetric chemosensor for highly sensitive, selective and ultrafast tracing of HClO in live cells, bacteria and zebrafish, *Analytica Chimica Acta*, 1161, 338472.
59. Wang, T. R., Zhang, X. F., Huang, X. Q., Cao, X. Q. ve Shen, S. L., (2020). Rapid and selective visualization of mitochondrial hypochlorite by a red region water-soluble fluorescence probe, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 119115.
60. Luo, P. ve Zhao, X., 2021. A Sensitive and Selective Fluorescent Probe for Real-Time Detection and Imaging of Hypochlorous Acid in Living Cells, *ACS omega*, 6(18), 12287-12292.
61. Wang, C., Wang, T., Zhang, M., Li, N., Fan, M. ve Cui, X., 2021. Chemiluminescence molecular sensor for endogenous HOCl in vivo, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 339, 129927.
62. Furniss, B. S., 1989. *Vogel's textbook of practical organic chemistry*, Pearson Education India.

63. URL1: <https://www.fizik.net.tr/site/elektromanyetik-dalgalar/> (Son erişim tarihi: 25.05.2021).
64. URL2: <https://www.teachersource.com/product/mini-light-sticks> (Son erişim tarihi: 01.06.2021).



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Şeyma OCAKÇI

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, 2013-2018

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 2018-2021

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. Şeyma OCAKÇI, Melek PAMUK ALGI ve Fatih ALGI 2020. Design and synthesis of a new chemiluminogenic probe for hypochlorite. 8.Uluslararası İlaç Kimyası Kongresi, Mirage Park Resort, Kemer, Antalya 27 Şubat- 01 Mart (Sözlü Sunum ve Poster Sunumu).

Projeler

1. Çoklu Emisyon Yapabilen Moleküler Sistemler İçin Jenerik Bir Platform: Lantanit Lüminesansının Karanlıkta Uyanışı. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No. 118Z293), 01.12.2018-24.06.2021 (Bursiyer).