



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

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**Tb (III) DO3A VE 1,4-DİOKSO-
1,2,3,4TETRAHİDROBENZO[g]FTALAZİN İKİLİSİNDEN
OLUŞAN YENİ BİR BİLEŞİĞİN SENTEZİ VE ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emre ÜNLÜ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Fatih ALGI**

AKSARAY, 2020

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 172330412 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Emre ÜNLÜ tarafından hazırlanan “Tb (III) DO3A VE 1,4-DİOKSO-1,2,3,4TETRAHİDROBENZO[g]FTALAZİN İKİLİSİNDEN OLUŞAN YENİ BİR BİLEŞİĞİN SENTEZİ VE ÖZELLİKLERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

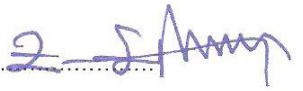
Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

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: 25/08/2020

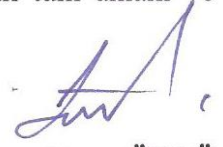
Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
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.


Emre ÜNLÜ



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.

Laboratuvarda bana nasıl çalışılması gerektiğini ve çalışma inceliklerini büyük bir özenle öğreten yaşadığım bütün zorluklarda önemli ölçüdeki pratik ve uygulama bilgisi ile yardım elini uzatan ve desteklerini esirgemeyen Öğr. Gör. Ömer SONKAYA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Tezimin yazım aşamasında gerekli olan elektronik ortam ve yazılım bilgisi ile yardımlarından dolayı Alihan TOKSOY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Beni bugünlerime getiren maddi ve manevi her türlü fedakarlığı yapmaktan hiç bir zaman kaçınmayan hayatım boyunca yarımalarımı tam etmek uğruna ne gerekiyorsa bedellerini fazlasıyla ödeyen, çok sevgi ve saygı değer aile bireylerim, babam Lütfi ÜNLÜ annem Züleyha ÜNLÜ ağabeylerim Yusuf Özgür ÜNLÜ ve Mehmet Özkan ÜNLÜ'ye en içten şekilde teşekkürlerimi saygı ile sunarım.

Projeye finansal katkılarından dolayı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumuna (TÜBİTAK, Proje No: 118Z293) teşekkür ederiz.

Tezimin gerçekleşmesinde 118Z293 numaralı proje ile burs desteği sağlayan TÜBİTAK kurumuna teşekkür ederim.

Emre ÜNLÜ
AKSARAY, 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Kimyasal Işıl Işıma (Kemilüminesans, KL).....	3
1.2 Luminol Tabanlı Kemilüminesans Bileşikler.....	4
1.3 Lantanit Metal Elementleri (Nadir Toprak Metalleri).....	5
1.3.1 Lantanitlerin tarihçesi	5
1.4 Organo Lantanit Metal Kompleksleri ve Ön Uygulama Alanları	6
1.5 Lantanit Komplekslerinin Lüminesansı	7
1.6 Çalışmanın Amacı	10
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	11
2.1 Luminol ve Türevleri ile Yapılan Çalışmalar	11
2.2 Lantanit Metal Kompleksleri ile Yapılan Çalışmalar.....	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1 Materyal.....	21
3.2 tri-tert-butil 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazasiklododekan-1,4,7-triil) triasetat (24) Sentezi	21
3.3 tri-tert-butil 2,2',2''-(10-(prop-2-yn-1-il)-1,4,7,10-tetraazasiklododekan- 1,4,7-triil) triasetat (25) Sentezi	22
3.4 2,2',2''-(10-(prop-2-yn-1-il)-1,4,7,10-tetraazasiklododekan-1,4,7-triil) triasetik asit (26) Sentezi	22
3.5 Tb ³⁺ DO3A Kompleksinin (27) Sentezi	23
3.6 Nafto[2,3-c]furan-1,3-dion (29) Sentezi	23
3.7 2-(2-etilhekzil)-1 <i>H</i> -benzo[f]izoindol-1,3(2 <i>H</i>)-dion (31) Sentezi.....	24
3.8 5-(klorometil)-2-(2-etilhekzil)-1 <i>H</i> -benzo[f]izoindol-1,3(2 <i>H</i>)-dion (33) ve 5,8 bis(klorometil)-2-(2-etilheksil)-1 <i>H</i> -benzo[f]izoindol-1,3(2 <i>H</i>)-dion (34) Sentezi	24
3.9 5-(azidometil)-2-(2-etilheksil)-1 <i>H</i> -benzo[f]izoindol-1,3 (2 <i>H</i>)-dion (35) Sentezi	25
3.10 6-(azidometil)-2,3-dihidro-benzo[g]ftalazin-1,4-dion (36) Sentezi	26
3.11 Click Tepkimesi	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	28
4.1 Çoklu Emisyon Ajanının Sentezi	28

4.2 Çoklu Emisyon Ajanının Fotofiziksel Özellikleri.....	46
4.3 Çoklu Emisyon Ajanının pH Değişimine Karşı Fotofiziksel Davranışları	47
4.4 Çoklu Emisyon Ajanının Kemilüminesans Emisyon Deneyleri	49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR	54
EKLER.....	63
EK A. 8. Uluslararası İlaç Kimyası Kongresi Bildiri Özeti.	63
ÖZGEÇMİŞ.....	64



YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tb (III) DO3A VE 1,4-DİOKSO-1,2,3,4TETRAHİDROBENZO[G]FTALAZİN İKİLİSİNDEN OLUŞAN YENİ BİR BİLEŞİĞİN SENTEZİ VE ÖZELLİKLERİ

Emre ÜNLÜ

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih ALGI

ÖZET

Bu tez çalışmasında terbiyum (III) DO3A kompleksi ve 1,4-diokso-1,2,3,4tetrahidrobenzo[G]ftalazin ünitesinin kovalent olarak bir araya getirilmesi amaçlanmış olup, bu amaçla öncelikle iki ünite ayrı ayrı sentezlenmiş olup spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir. Bir sonraki aşamada ise bu iki ünite uygun kimyasal tepkimeler üzerinden bir araya getirilmiştir. Tasarımı ve sentezi gerçekleştirilen bu yeni bileşiğin yapısal karakterizasyonu, çoklu emisyon yapabilme yeteneği spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Terbiyum (III) DO3A, 1,4-diokso-1,2,3,4tetrahidrobenzo[G]ftalazin, Çoklu Emisyon.

Ağustos, 2020; 64 Sayfa

M.Sc. THESIS

**SYNTHESIS AND CHARACTERISTICS OF A NEW COMPOUND OF Tb
(III) DO3A AND 1,4-DIOXO-1,2,3,4TETRAHIDROBENZO [G]
PHTHALAZIN BINARY**

Emre ÜNLÜ

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

Supervisor: Prof. Dr. Fatih ALGI

ABSTRACT

In this thesis, it was aimed to covalently attach the terbium (III) DO3A complex and 1,4-dioxo-1,2,3,4tetrahydrobenzo [G] phthalazine units. For this purpose, firstly, two units were synthesized separately and were analyzed by spectroscopic methods. In the next step, these two units are combined by using appropriate chemical methods. The structural characterization, photophysical properties, and multi emission capability of this new were investigated by using spectroscopic methods.

Keywords: Terbium (III) DO3A, 1,4-dioxo-1,2,3,4tetrahydrobenzo [G] phthalazine, Multiple Emission.

August, 2020; 64 Pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Uyarıcıya bağlı lüminesans türleri.....	1
Şekil 1.2. Jablonski enerji diyagramı: S0, Temel tekli hal; S1, S2, Uyarılmış tekli haller; T1, Uyarılmış üçlü hal, absorpsiyon, floresans ve fosforesans	2
Şekil 1.3. Elektromanyetik spektrum.....	2
Şekil 1.4. Taşınabilir soğuk ışık kaynağı (light stick)	3
Şekil 1.5. Luminol ve türevlerinin KL ışırma mekanizmasının şematik gösterimi.	4
Şekil 1.6. Lantanitlerin uygulama alanları.....	7
Şekil 1.7. Lantanit lüminesansının gerçekleşmesi için gerekli prensipler	9
Şekil 1.8. Çoklu emisyon ajanı hedef bileşik 1'in şematik gösterimi	10
Şekil 2.1. AgInS ₂ kuantum noktaları ile ROT üretimi ve luminol bazlı izlenmesi....	11
Şekil 2.2. Luminol-KMnO ₄ için KL sistemi, Ni-Al-NO ₃ LDH ile geliştirilmiş KL ve KL şiddeti üzerindeki azaltıcı etkisi nedeniyle dopamin ölçümü için olası mekanizma.	12
Şekil 2.3. (A) Singlet oksijen üretimi ve Tip-II fotoduyarlaştırma (B) Luminol kemilüminesansı amplifikasyonu için singlet oksijen arabulucusuyla singlet oksijenin yakalanmasının şematik gösterimi.	12
Şekil 2.4. HRP/Ab-luminol-AuNP ile KL immüno-analizinin şematik gösterimi. ...	13
Şekil 2.5. Fe ³⁺ sensörü ETE-Lum, 2 ve kemilüminesan SRA belirteci SNS-Lum 3 kimyasal yapısı	13
Şekil 2.6. Hemin ve/veya kan belirteçlerinin (4 ve 5) kimyasal yapısı	14
Şekil 2.7. Kemilüminojenlerin (6 ve 7), bileşiğin 8, TTT-Lum kimyasal yapısı.	14
Şekil 2.8. Tb ³⁺ lantanit metali bazlı belirtecin ve DPA algılama sürecinin şematik gösterimi.	15
Şekil 2.9. NTR ile aktifleştirilebilen lüminesan Tb ³⁺ DO3A kompleksli belirtecin yapısı, nitroredüktaz etkisi ve enerji transfer mekanizması.	16
Şekil 2.10. Belirtecin (TR-HOCl) kimyasal yapısı ve HOCl ile etkileşimi sonucu lüminesans yanıtı, FRET prosesinin gerçekleşmesi.....	17
Şekil 2.11. 1-(3-(λ ² -azanil)propil)-1,4,7,10-tetraazasiklododekan-çinko (II) bağlayıcı bir kısım içeren “karanlık” lantanit bazlı belirteç Tb-1'in şeması	17
Şekil 2.12. K ⁺ sensörünün 9 ve polarize emisyon yapabilen lantanit kompleksinin 10 kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.13. Bileşik 11, Tb ³⁺ tabanlı hidroksil radikali için geliştirilen belirteç.	18
Şekil 2.14. Tasarlanan ve sentezlenen belirteçlerin 13 ¹ O ₂ ile etkileşimleri	19
Şekil 2.15. Bileşiğin 15, peroksidaz varlığında H ₂ O ₂ ile tepkimesi ve lüminesansı .	19
Şekil 2.16. Tb ³⁺ kompleks tabanlı hidrojen peroksit belirteci (17 ve 19).	20
Şekil 2.17. F ⁻ belirteci SNS-Eu ³⁺ (21) şematik gösterimi	20
Şekil 3.1. Bileşik 24 sentezi.....	21

Şekil 3.2. Bileşik 25 sentezi.....	22
Şekil 3.3. Bileşik 26 sentezi.....	22
Şekil 3.4. Bileşik 27 sentezi.....	23
Şekil 3.5. Bileşik 29 sentezi.....	23
Şekil 3.6. Bileşik 31 sentezi.....	24
Şekil 3.7. Bileşik 33 ve 34 sentezi.	24
Şekil 3.8. Bileşik 35 sentezi.....	25
Şekil 3.9. Bileşik 36 sentezi.....	26
Şekil 3.10. Bileşik 1 sentezi.....	26
Şekil 4.1. Hedef bileşiğin 1 genel sentez şeması.	29
Şekil 4.2. Bileşik 24 ve sentez basamağı	29
Şekil 4.3. Bileşiğin 24 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃)	30
Şekil 4.4. Bileşiğin 24 ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃)	30
Şekil 4.5. Bileşik 25 ve sentez basamağı	31
Şekil 4.6. Bileşiğin 25 ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	31
Şekil 4.7. Bileşiğin 25 ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃)	32
Şekil 4.8. Bileşik 26 ve sentez basamağı	32
Şekil 4.9. Bileşiğin 26 ¹ H NMR spektrumu (D ₂ O).....	33
Şekil 4.10. Bileşiğin 26 LC MS kütle spektrumu.	33
Şekil 4.11. Bileşik 27 ve sentez basamağı	34
Şekil 4.12. Tb ³⁺ kompleksinin 27 LC MS kütle spektrumu.	34
Şekil 4.13. Bileşik 29 ve sentez basamağı	34
Şekil 4.14. Bileşik 29'un ¹ H NMR spektrumu (DMSO-d ₆).	35
Şekil 4.15. Bileşik 29'un ¹³ C NMR spektrumu (DMSO-d ₆).	35
Şekil 4.16. Bileşik 31 ve sentez basamağı	36
Şekil 4.17. Bileşik 31'in ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃).....	36
Şekil 4.18. Bileşik 31'in ¹³ C-NMR spektrumu (CDCl ₃)	37
Şekil 4.19. Bileşik 31'in LC MS kütle spektrumu.....	37
Şekil 4.20. Bileşik 33, 34 ve sentez basamağı	38
Şekil 4.21. 5-(klorometil)-2-(2-etilhekzil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3(2H)-dion (33) için ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃).....	38
Şekil 4.22. 5-(klorometil)-2-(2-etilhekzil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3(2H)-dion (33) için ¹³ C-NMR spektrumu (CDCl ₃).....	39
Şekil 4.23. 5-(klorometil)-2-(2-etilhekzil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3(2H)-dion (33) için LC-MS kütle spektrumu.....	39

Şekil 4.24. 5,8-bis (klorometil)-2-(2-etilheksil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3(2H)-dion (34) için ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).	40
Şekil 4.25. 5,8-bis(klorometil)-2-(2-etilheksil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3 -(2H)-dion (34) için ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3).	40
Şekil 4.26. 5,8-bis(klorometil)-2-(2-etilheksil)-1H-benzo[f]izoin dol-1,3 -(2H)-dion (34) için LC-MS kütle spektrumu.	41
Şekil 4.27. Bileşik 35 ve sentez basamağı.	41
Şekil 4.28. 5-(azidometil)-2-(2-etilheksil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3(2H)-dion (35) için ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).	42
Şekil 4.29. 5-(azidometil)-2-(2-etilheksil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3(2H)-dion (35) için ^{13}C -NMR spektrumu ($\text{DMSO}-d_6$).	42
Şekil 4.30. 5-(azidometil)-2-(2-etilheksil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3(2H)-dion (35) için LC-MS kütle spektrumu.	43
Şekil 4.31. Bileşik 36 ve sentez basamağı.	43
Şekil 4.32. 6-(azidometil)-2,3-dihidro-benzo[g]fitalazin-1,4-dion (36) için ^1H NMR spektrumu ($\text{DMSO}-d_6$).	44
Şekil 4.33. 6-(azidometil)-2,3-dihidro-benzo[g]fitalazin-1,4-dion (36) için ^{13}C NMR spektrumu ($\text{DMSO}-d_6$).	44
Şekil 4.34. 6-(azidometil)-2,3-dihidro-benzo[g]fitalazin-1,4-dion (36) için LC-MS kütle spektrumu.	45
Şekil 4.35. Bileşik 1 ve sentez basamağı.	45
Şekil 4.36. Bileşik 1 için MALDI-TOFF kütle spektrumu.	46
Şekil 4.37. Bileşiğin 1 normalize edilmiş soğurma ve çoklu emisyon spektrumu ($1.18 \times 10^{-4}\text{M}$ 1 ve 0.01M pH=7.4 PBS için absorbans; $\lambda_{\text{max}} = 249\text{ nm}$, floresans; $\lambda_{\text{exc}} = 245\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 370\text{ nm}$, fosforesans; $\lambda_{\text{exc}} = 250\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 490\text{ nm}$, 546 nm , 586 nm , 620 nm . Kemilüminesans; $3.12 \times 10^{-5}\text{M}$ 1 $\lambda_{\text{em}} = 360\text{ nm}$).	47
Şekil 4.38. Bileşiğin 1 farklı pH değerlerindeki floresans spektrumunda meydana gelen değişimler (Universal Buffer; $1.17 \times 10^{-4}\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 245\text{ nm}$).	48
Şekil 4.39. Bileşiğin 1 farklı pH değerlerindeki floresans spektrumunda meydana gelen değişimleri içeren sütun grafiği (Universal Buffer; $1.17 \times 10^{-4}\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 245\text{ nm}$).	48
Şekil 4.40. Bileşiğin 1 farklı pH değerlerindeki floresans çizgi grafiği (Universal Buffer; $1.17 \times 10^{-4}\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 245\text{ nm}$).	49
Şekil 4.41. Bileşiğin 1 bazı reaktif oksijen türleri varlığında kemilüminesans emisyon spektrumu (3M NaOH , $3.22 \times 10^{-5}\text{M}$, Mavi Bant= $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ N/10, Kırmızı Bant= $3.12 \times 10^{-3}\text{M ClO}^-$).	50
Şekil 4.42. Bileşiğin 1 bazı reaktif oksijen türleri varlığında kemilüminesans emisyon spektrumu ($3.77 \times 10^{-2}\text{M Na}_2\text{CO}_3$, $2.85 \times 10^{-1}\text{M NaHCO}_3$, $2.50 \times 10^{-3}\text{M CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $3.22 \times 10^{-5}\text{M}$, $3.22 \times 10^{-5}\text{M}$, Siyah Bant= $3.03 \times 10^{-2}\text{M H}_2\text{O}_2$, Kırmızı Bant= $3.12 \times 10^{-3}\text{M H}_2\text{O}_2$).	51
Şekil 5.1. Hedef bileşik 1'e ait sentez kademeleri.	52

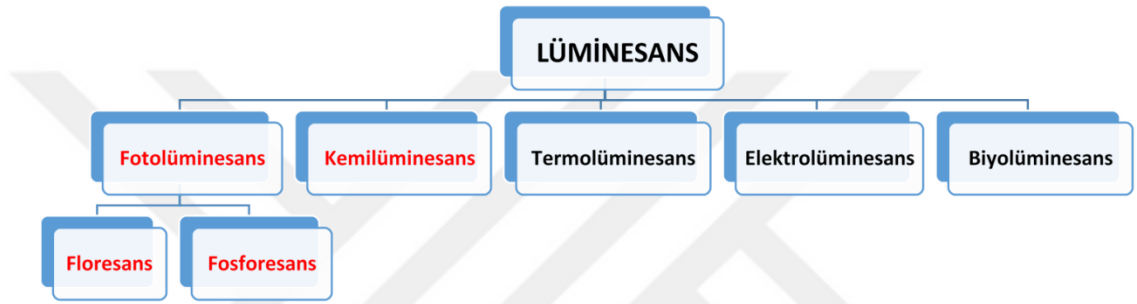
SİMGELER VE KISALTMALAR

^{13}C NMR	Karbon Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi
^1H NMR	Hidrojen Çekirdek Magnetik Rezonans Spektroskopisi
Ab	Antikor
Ar	Argon
BET	Geri Enerji Transferi
DA	Dopamin
DNA	Deoksiribonükleik Asit
Dy	Disprozyum
Er	Erbiyum
Eu	Europiyum
FRET	Förster Rezonans Enerji Transferi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kırmızı Ötesi Spektrofotometresi
Gd	Gadolonyum
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
Ho	Holmiyum
HOCl	Hipoklorik Asit
IR	Kızılötesi
ISC	Sistemler Arası Geçiş
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KL	Kemilüminesans
LC MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
Ln³⁺	Lantanit (III) İyonları
Lu	Lutesyum
Lum	Luminol
mg	Miligram
ml	Mililitre
MOF	Metal Organik Çerçeve
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
Nd	Neodmiyum
NIR	Yakın Kızılötesi
PET	Foto İndüklenmiş Enerji Transferi
Pm	Prometyum
ppm	Milyonda Bir
Pr	Praseodim
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
Sm	Samaryum
SRA	Süperoksit Radikal Anyonu
Tb³⁺	Terbiyum (III) İyonu
TFA	Trifloroasetik Asit
Tm	Tulyum
UV-VIS	Morötesi ve Görünür Işık
Yb	İterbiyum
λ_{em}	Emisyon Dalga Boyu
λ_{exc}	Uyarma Dalga Boyu

1. GİRİŞ

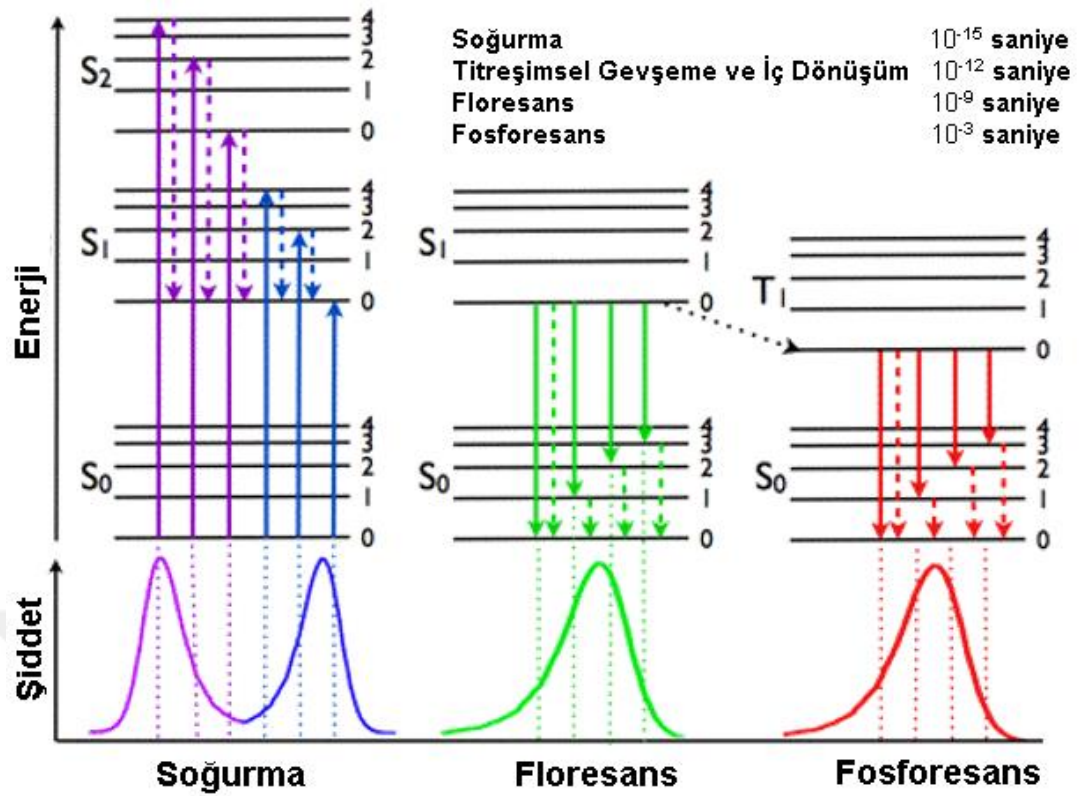
Lüminesans (ışılma) genellikle dıştan alınan bir uyarım sonucu oluşan ara-ürünün fazla enerjisini uyarılmış halden temel hale dönerken çok az veya hiç ısı açığa çıkarmadan dış ortama ışık olarak vermesidir [1-3]. Fazla enerjili ara-ürünü meydana getiren dış uyarıcı ya da enerjinin türüne göre lüminesansın türü de değişmektedir.

Uyarım işlemi ışık kaynaklı ise fotolüminesans, ısı kaynaklı ise termolüminesans, kimyasal reaksiyon ise kemilüminesans olarak isimlendirilir, lüminesans türleri Şekil 1.1’de gösterildiği gibi sınıflandırılabilir.



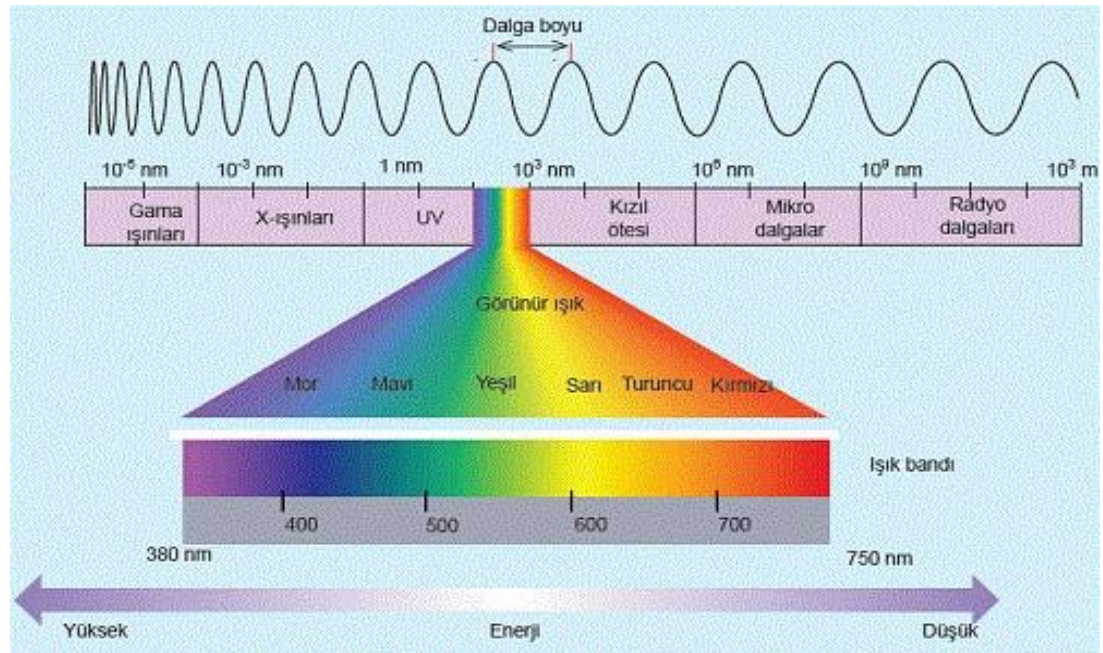
Şekil 1.1. Uyarıcıya bağlı lüminesans türleri.

Dış uyarıcı etkisi ile oluşan yüksek enerjili halin ışıması sırasında uyarılmış singlet halden temel hale dönüş söz konusu ise floresans, uyarılmış triplet halden temel hale dönüş söz konusu ise fosforesans ışıma ortaya çıkar lüminesans türleri ve söz konusu enerji geçişleri Jablonski enerji diyagramında ifade edilmiştir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Jablonski enerji diyagramı: S₀, Temel tekli hal; S₁, S₂, Uyarılmış tekli haller; T₁, Uyarılmış üçlü hal, absorpsiyon, floresans ve fosforesans (URL-1).

Lüminesans, mor ötesi (UV), görünür ışık (Vis) veya kızılötesi (IR) ışınlar gibi elektromanyetik spektrumun çeşitli bölgelerinde gerçekleşebilir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Elektromanyetik spektrum (URL-2).

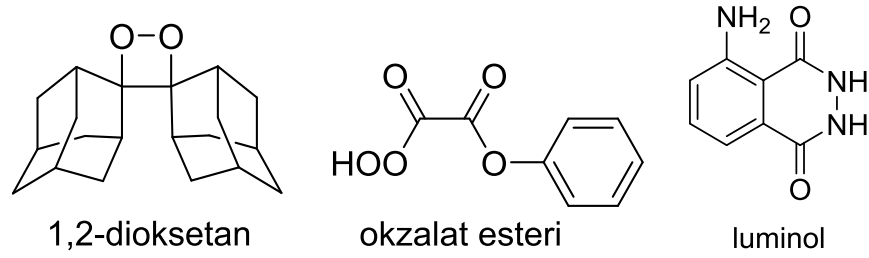
1.1 Kimyasal Işıl Işıma (Kemilüminesans, KL)

Uyarılmış halin oluşması için ışık yerine bir kimyasal tepkimenin ve/veya tepkiyenin (asit, baz, indirgen, yükseltgen vb) rol oynaması ile gerçekleşen ışıma kemilüminesans olarak adlandırılır. Organik bileşikler arasında kemilüminesans yapma yeteneğine sahip bileşikler; 1,2-dioksetanlar, okzalat esterleri ve 3-Aminoftalhidrazit (luminol) ve luminol türevi bileşikler olarak tanımlanabilir. Kemilüminesans özelliğe sahip maddeler, analitik uygulamalar [4-6], klinik testler [7,8], metal analizleri [9-11], peroksit analizleri [12-14] ve gen analizleri [15] gibi birçok alanda kullanılabilir. Günlük hayatta ise elektriğin olmadığı veya tehlike oluşturabileceği durumlarda taşınabilir soğuk ışık kaynağı (Şekil 1.4) olarak kullanılabilirler; ısı açığa çıkmayacağından termal ışığın ortaya çıkarabileceği yangın, patlama vb. durumlara mahal vermezler.

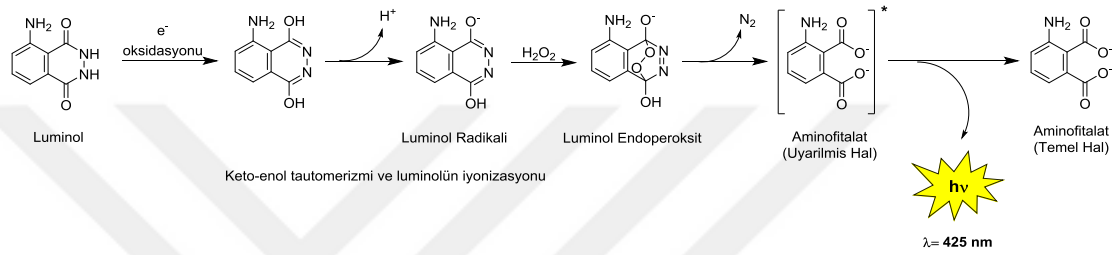


Şekil 1.4. Taşınabilir soğuk ışık kaynağı (light stick).

Lüminol türevi yapılar, ısı ve ışık gibi organik bileşiklerin kimyasal kararlılığını ve dayanıklılığını etkileyebilen durumlara karşı daha kararlı kemilüminesans bileşikler olmasından dolayı daha avantajlı konumdadırlar. Bu yapıların en önemli ve yaygın olarak bilinenleri, luminol (3-aminoftalhidrazid,) ve izoluminoldür (4-aminoftalhidrazid) [16,17].



Luminol ve turevleri için gerçekteşen kemilüminesans ışıma mekanizması [18] Şekil 1.5 üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 1.5. Luminol ve turevlerinin KL ışıma mekanizmasının şematik gösterimi.

1.2 Luminol Tabanlı Kemilüminesans Bileşikler

Kemilüminesans özelliğe sahip olan lüminol, bu özelliği sayesinde oldukça hassas bir şekilde kimyasal ve biyokimyasal türdeki analitlerin tespiti ve analizinde kullanılmaktadır. Yapısındaki dihidroftalazindion halkasının peroksit duyarlı olmasından dolayı peroksit analizlerinde kullanılmaktadır [19].

Öte yandan bazı önemli biyolojik bileşiklerin (glikoz [20], adenin [21], folik asit [22], laktik asit [22], dopamin [23] gibi) tespitinde kullanılmaktadır.

En önemli kullanım alanlarından biride adli bilimlerde kan bulgusu analizleri olup [24-31], olay yeri kan bulgusu incelemelerinde basitliği, hassas [30] ve spesifik [26] test özelliklerinden dolayı yaygın [31] olarak kullanılmaktadır.

Belirtilen uygulama alanları, sayı ve önem açısından küçümsenemez olsada,

- özellikle organik çözücülerdeki çözünürlük sorunu ve yapı modifikasyonunun zorluğu,
- düşük ışıma kuantum verimi,
- analiz ortamında başka kimyasalların varlığında yanıltıcı [27] sonuçlar
- biyolojik olarak önemli materyallere zarar vermesi,

- literatürde dihidroftalazindion tabanlı bileşiklerin geliştirilmesine yönelik çalışmaların azlığı, literatürde önemli bir eksikliklerdir.

1.3 Lantanit Metal Elementleri (Nadir Toprak Metalleri)

1.3.1 Lantanitlerin tarihçesi

14 elementten oluşan lantanit serisi Yunanca “gizli kalan/kalmak” [32] anlamına gelen lantanhanne olarak adlandırılmasından dolayı nadir toprak elementleri şeklinde de isimlendirilmiştir.

Lantanitlerin en fazla ve en az bulunan (sırasıyla, tulyum ve seryum) üyelerinden yola çıkıldığında, nadir ve/veya nadirlik kavramının lantanit metalleri için doğada bulunma yoğunluğuna bağlı olmadığı anlaşılmaktadır. Çünkü tulyum (Tm) doğada arsenik ve civadan daha fazladır seryum ise 46 ppm gibi bir değer ile kalaydan daha fazla bulunmaktadır. Eğer nadirlik kavramı elementin doğada bulunma yoğunluğu yerine saf bir elementin elde edilme güçlüğüne dayandırılır ise lantanitlerin nadirliği daha anlaşılır hale gelecektir [33].

Benzer özellikte oldukları için, lantanitlerin saflaştırılması ve karakterizasyonu işlemleri bir asırdan fazla süren zorlu bir iş halini almıştır, sonunda “lantanit serileri” veya “lantanitler” terimleri uzun bir süre kullanılmamıştır. Daha doğrusu bilim insanları yeni bir grup metalle uğraştıklarını bilmiyorlardı ayrıca lantanitlerin izolasyonu düzensiz bir biçimde ve atom numarası sırasına göre yapılamamıştır [34] Seryum 1875 yılına kadar cevherden izole edilememiştir ancak 1801’de Mars ve Jüpiter arasında konumlanmış olan asteroit Ceres’ten isim esinlenmesi yapılarak seryum olarak adlandırılmıştır [33-35]. İsveç’in Ytterby kasabası yakınlarında 1787’de bulunan ve adını bu kasabadan almış olan mineral itterbiyumun [33-35] keşfini 1907’de lutesyum (Lu) keşfi ve izolasyonu izledi. Element numarası 61 olan prometyum (Pm) 1947’ de lantanit serisini tamamlayarak sentez ve karakterize edildi [34].

Lantanitlerin birkaçında lüminesans özellik keşfedilmesinin ardından bu elementler lazerler, katot ışını ve plazma ekranlar, ışık yayan diyotlar gibi ışık ve ışık dönüştürme teknolojilerinde önemli rol oynamıştır. Günümüzde lantanit iyonlarının kendilerine özgü lüminesans özellikleri sayesinde biyomedikal, algılama ve

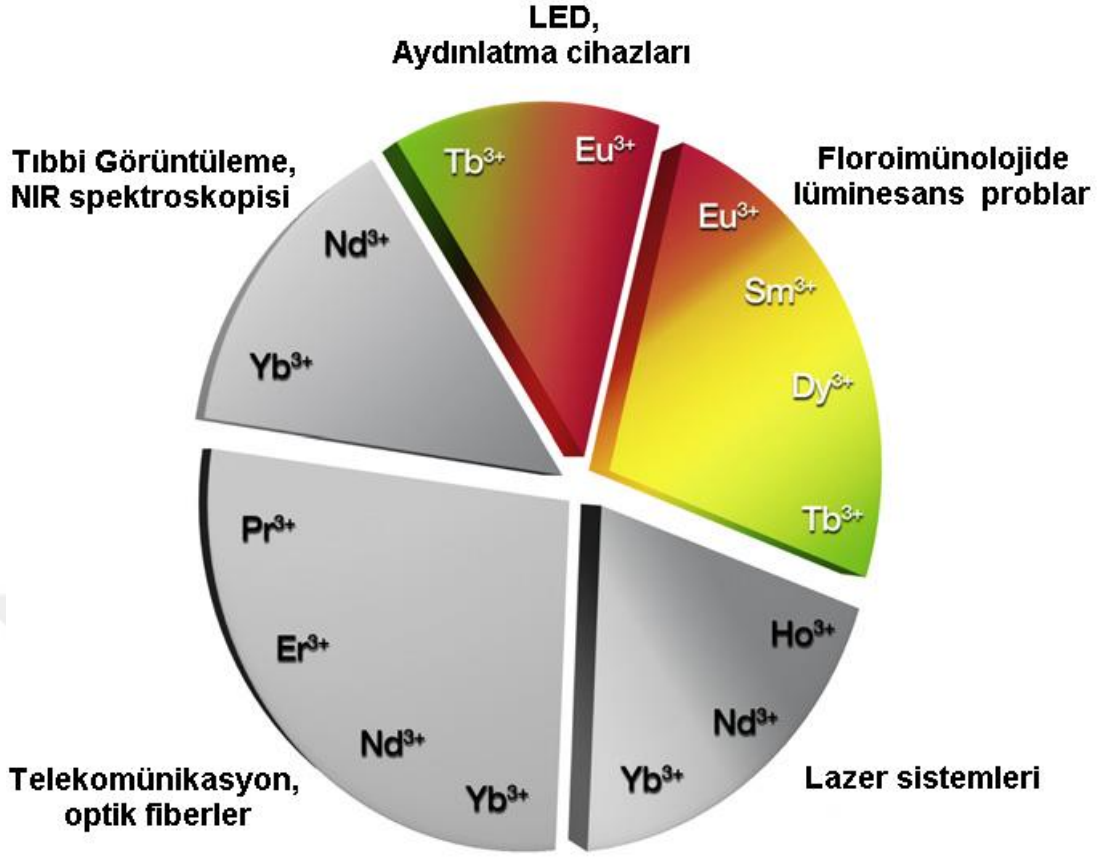
lümİnesans görüntülemeyi içeren değişik uygulama alanlarında kullanılabİlmeleri bu İyonların koordinasyon kimyasında ilginç gelişmelere yol açmıştır [32].

1.4 Organo Lantanit Metal Kompleksleri ve Ön Uygulama Alanları

Üç değerlikli lümİnesans lantanit İyonlarının kompleksleri manyetik [40-43] veya lümİnesans özelliklerinin [32, 44-46] incelenmesine dayanan önemli uygulamalar [37] açısından uzun süredir incelenmektedir. Manyetik rezonans görüntülemede (MRI) yaygın olarak kullanılan gadolinyum (Gd^{3+}) bazlı kontrast maddelerinin iyi bilinen özelliklerini geliştirmek için paramanyetik lantanit (Ln^{3+}) komplekslerinin ($Ln \neq Gd$) kayma özelliklerinden yararlanılabilir [41].

Ln^{3+} komplekslerinin şiddetli lümİnesansı gözlemlendiğinde, lantanit İyonlarının uzun ömürlü (milisaniye) uyarılmış hal pozisyonuna dayanan biyomedikal [37] ve algılama alanlarına [38], optik görüntülemeye [40-47] kadar uzanan uygulamalar yapılmaktadır. Europiyum (Eu^{3+}) ve terbiyum (Tb^{3+}) kompleksleri görünür bölgede çizgisel emisyon sergileyebildikleri bilinmektedir. Samaryum (Sm^{3+}), disprozyum (Dy^{3+}), praseodim (Pr^{3+}), holmiyum (Ho^{3+}), İterbiyum (Yb^{3+}), neodimyum (Nd^{3+}) ve erbiyum (Er^{3+}) lantanit komplekslerinin yakın kızılötesi (NIR) bölgede fotofiziksel özellik göstermeleri ile beraber literatürde daha az çalışılmıştır [48-52]. Günümüzde bu lantanit komplekslerine oldukça ilgi duyulmaktadır ve biyomedikal, telekomünikasyon ve çeşitli fotonik uygulamalar için olası kullanımları mümkündür [53-59]. İnsan dokusuna daha verimli nüfuz etmek için uzun dalga boyu emisyonları görünür bölge ışımasından daha etkilidir bu nedenle yakın kızıl ötesi (NIR) ışıma yapan lantanit komplekslerinden tıbbi teşhis proseslerinde uygulamalar yapılabilir, benzer şekilde Nd^{3+} , Yb^{3+} ve Er^{3+} gibi lantanit İyonlarının NIR lümİnesansı telekomünikasyon optik sinyal yükseltici olarak kullanımının yararlı olduğu kanıtlanmıştır [60,61].

Bazı yaygın lantanit uygulama alanlarının şematik gösterimi Şekil 1.6 da ifade edilmiştir.



Şekil 1.6. Lantanitlerin uygulama alanları.

1.5 Lantanit Komplekslerinin Lüminesansı

Günümüzde, üç değerlikli lantanit (Ln^{3+}) kompleksleri biyoanalitik uygulamalar [62] ve çok sayıda optik ve aydınlatma cihazında [63] ışık yayan malzemeler olarak işlev görürler. Çizgi şeklindeki emisyon spektrumları değişen lantanit metaline göre görünür ve yakın kızılötesi (NIR) aralıklarını kapsar ve uyarılmış durum ömürleri uzundur.

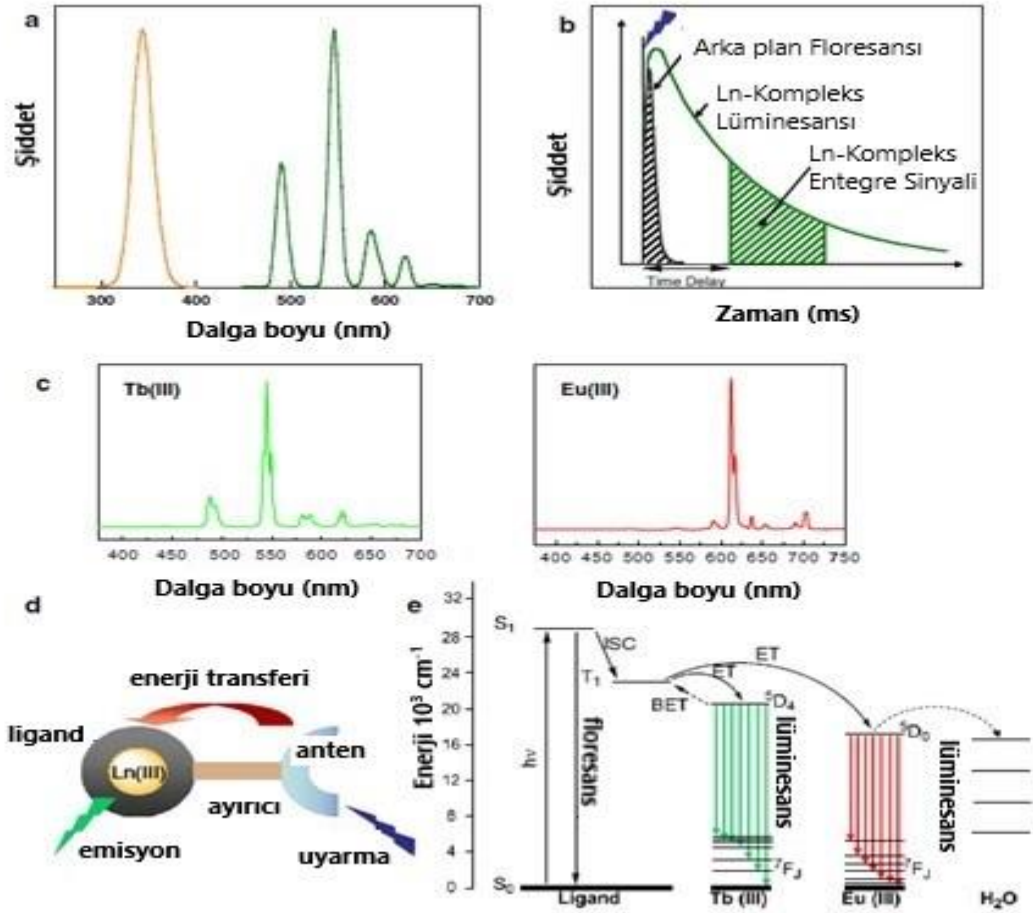
Lüminesan lantanit kompleksleri, hücre görüntüleme için hassas problemler olarak birçok avantaja sahiptir. Birincisi, lantanit kompleksinin uyarılmış emisyonu, anten emisyonu ve lantanit emisyonu arasında büyük bir Stokes kayması ile sonuçlanır, böylece kendi konsantrasyonuyla ilgili soğurma problemlerinden kaçınır (Şekil 1.7.a). İkinci özellik, çevresel değişikliklere duyarlı olan çok dar bantlar [64] şeklinde emisyon spektrumlarının olmasıdır (yaklaşık 20 nm genişliğindedir). (Şekil 1.7.c). Lantanitlerin ışıma pikleriyle oluşan emisyon spektrumları birbiriyle üst üste çakışmamaktadır çünkü emisyon piklerinin ortaya çıktığı dalga boyları arasında

farklar bulunmaktadır. Terbiyumun, emisyon spektrumundaki $^7F_5 \rightarrow ^5D_4$ ve $^7F_4 \rightarrow ^5D_4$ bantları, Europiyum lantanit emisyonunun hiçbir bandı ile üst üste örtüşmez. Dolayısıyla, birden çok analiti aynı anda izlemek için çoklu lantanit problemleri kullanılabilir. Örneğin herhangi bir kırmızı emisyonu izlemek için bir Europiyum kompleksi ile 490 nm ve 545 nm emisyonlarını izlemek için bir Terbiyum kompleksi bir arada kullanılabilir. Europiyum ve Terbiyum komplekslerinin luminesans ömürleri uzun ve milisaniye skalasındadır. Dolayısıyla uzun luminesans sürelerine sahip olmalarıyla karmaşık biyolojik ortamlarda (örn. Hücreler) zamana bağlı tespit için idealdir. Tespitin gerçekleştirileceği pencere ve uyarma sinyalinin oluşturulacağı dalga boyunun bulunduğu nokta arasında zamana bağlı bir gecikme uygulanır (Şekil 1.7.b). Anten etkisi ise, UV-Görünür ışıktan kaynaklanan enerjiyi absorblayarak, gelen ışık enerjisini iyon haldeki lantanite transfer etmek ve lantanit kompleksinin uyarılmış hale geçişini sağlamaktadır (Şekil 1.7.d). Temel haldeki anten uyarılmış singlet hale geçer, daha sonra lantanitin uyarılmış durumuna anten vasıtası ile bir moleküler arası enerji transferi (ET) etkinliği ve söz konusu antenin uyarılmış triplet hal durumuna sistemler arası geçişi (ISC) gerçekleşir (Şekil 1.7.e). Bu süreç Tb için 545 nm ve Eu için ise 615 nm dalga boyunda ışıma ile sonuçlanır. Lantanit metali luminesansı kuantum verimi için beş parametre geçerlidir;

- Uyarılmış durumdaki antenin triplet hali,
- Antenin uyarılmış triplet haldeki enerjisi ise lantanitin 5D uyarılmış durumuna bağlıdır. Enerji aktarımının gerçekleşebilmesi için hem anten yapısının hemde lantanitin uyarılmış 5D durumları önem arz etmektedir ve antenin 5D durumunun lantanitin 5D durumundan daha yüksek enerjili olması gereklidir. Ayrıca antenin triplet hali için söz konusu enerji çok yüksek veya düşük ise enerji transferi yerine antenden direk olarak floresans gözlemlenir. Antenin triplet halinin 5D durumun enerji düzeyi lantanitin 5D durumunda ki enerji düzeyine çok yakın olduğu hallerde, lantanit emisyonunda bir düşüş meydana gelir, bu durum sonucu enerji lantanitten antene geri dönerek geri enerji transferini (BET) meydana getirir.
- Lantanit metal kompleksi ve/veya iyonu ile anten arasındaki uzaklık.
- Förster enerji transferinin verimi, anten kaynaklı enerjinin lantanite transferi bir τ^6 bağıllığı izler.

- Koordine su moleküllerinin sayısı. Lantanite koordine olan suyun O-H osilatörünün enerji düzeyi.

Lantanit lüminesansı için geçerli olan bu dört parametre, emisyonu istenen bir analitle modifikasyonu yapılmış lantanit komplekslerinin tasarlanmasını ve emisyonunu olası bir hale getirmektedir. Benzer şekilde, doğru ligandın seçilmesi, sensörün suda yüksek çözünürlüğe ve yüksek stabiliteye sahip olmasını ve ayrıca göz ardı edilebilir toksisite gösteren son derece kullanışlı hücre problemleri için gereksinimleri sağlayacaktır [65].

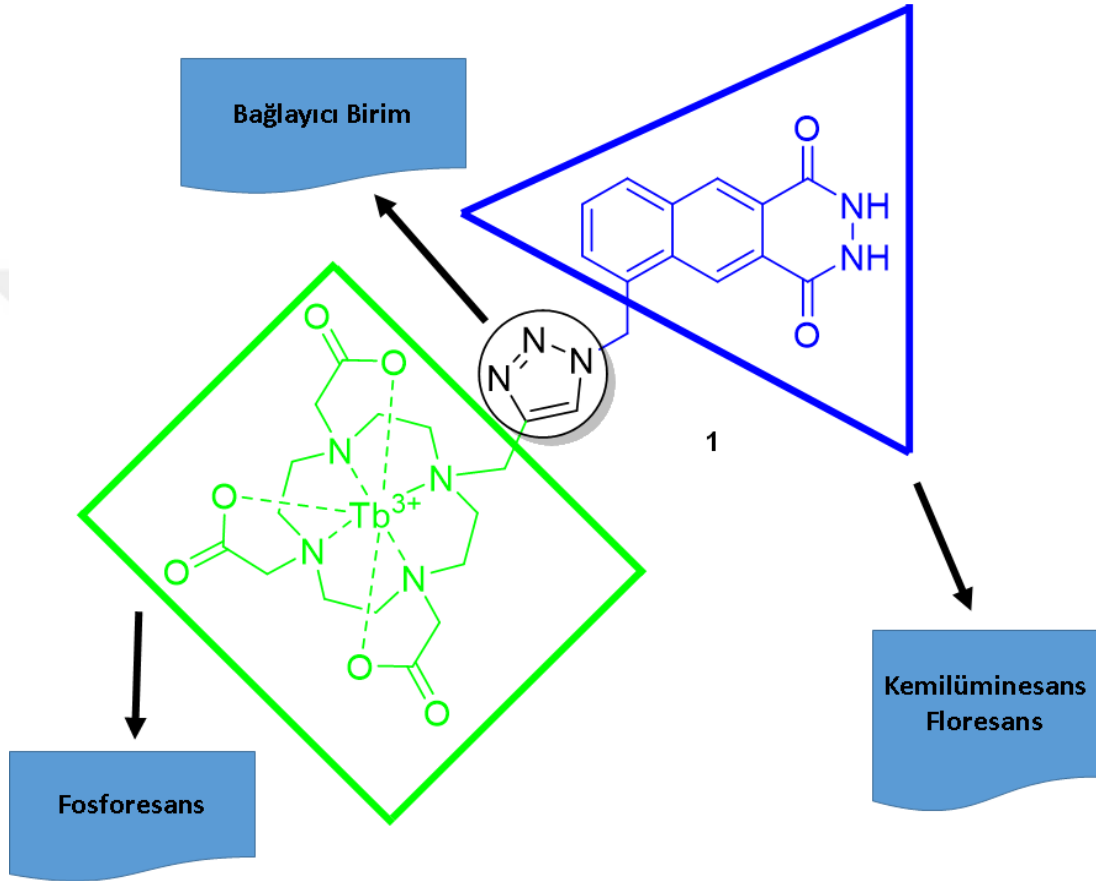


Şekil 1.7. Lantanit lüminesansının gerçekleşmesi için gerekli prensipler.

- Lantanit emisyonu ve anten absorpsiyonu ile oluşan Stokes kayması.
- Zamana bağlı spektroskopi tekniği.
- Terbiyum ve Europiyum lantanitlerinin emisyon pikleri.
- Lantanitin antenden uyarılma mekanizması.
- Enerji geçiş hatlarını ifade eden Jablonski diyagramı [65].

1.6 Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışması kapsamında, literatürde örneği bulunmayan bileşik **1** (Şekil 1.8) tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bir sonraki adımda ise bileşiğin **1** yapısal ve fotofiziksel karakterizasyonu spektroskopik (FTIR, kütle analizi, NMR, UV-GB, lüminesans) yöntemlerle aydınlatılmıştır.



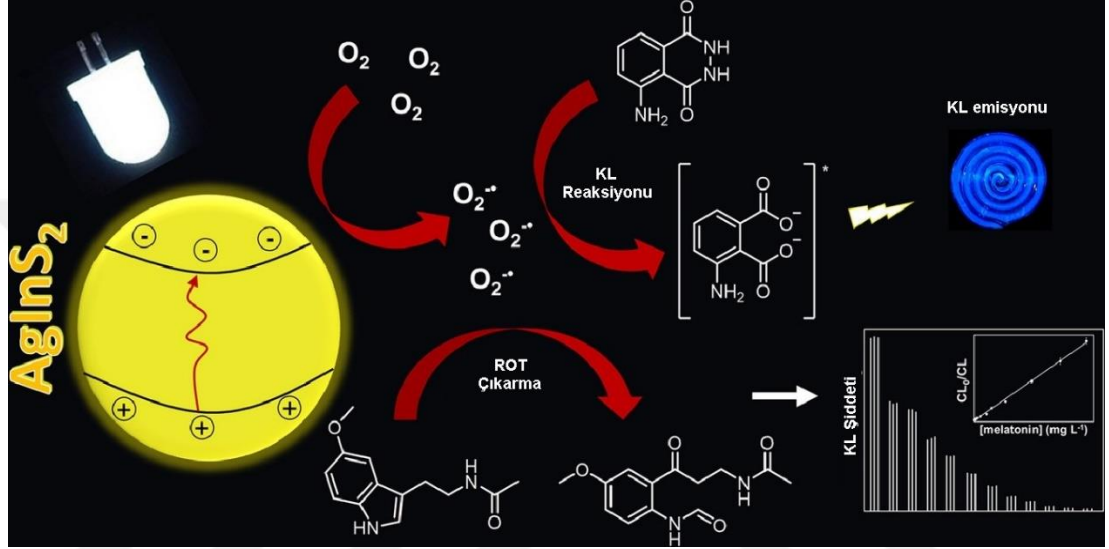
Şekil 1.8. Çoklu emisyon ajanı hedef bileşik **1**'in şematik gösterimi.

Tasarımı ve sentezi gerçekleştirilen bileşik **1**'in potansiyel çoklu emisyon ajanı olup olmayacağı üzerinde durulmuştur.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

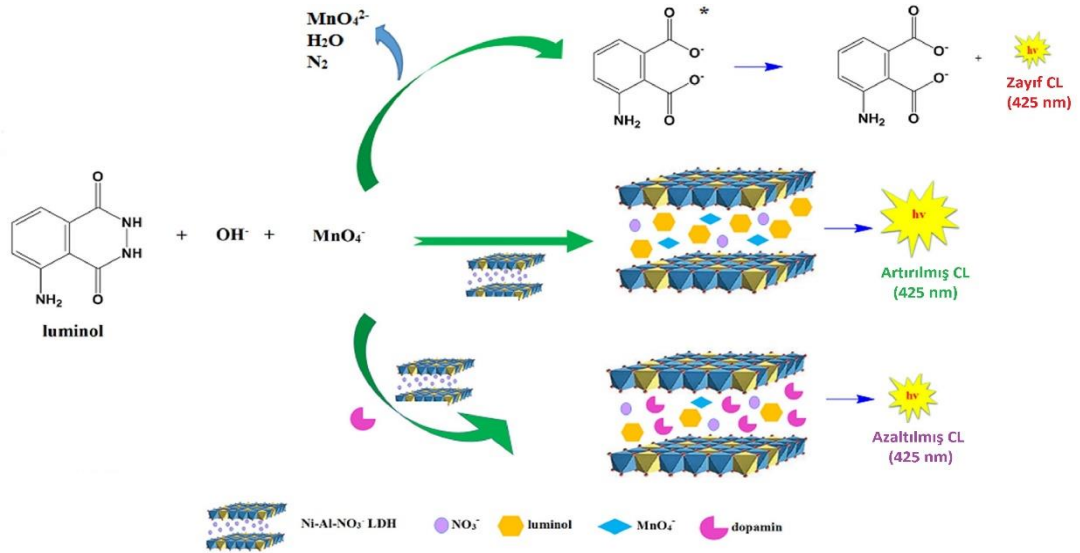
2.1 Luminol ve Türevleri ile Yapılan Çalışmalar

Ribeiro vd., tarafından tiomalik asit (TMA) kaplı AgInS₂ kuantum noktalarının görünür ışıkla ışınlama üzerine reaktif oksijen türleri (ROT) üretme kabiliyeti araştırıldı, daha sonra ROT'ların izlenmesi için luminol bazlı bir kemiluminometrik yöntem (Şekil 2.1) geliştirmişlerdir [66].



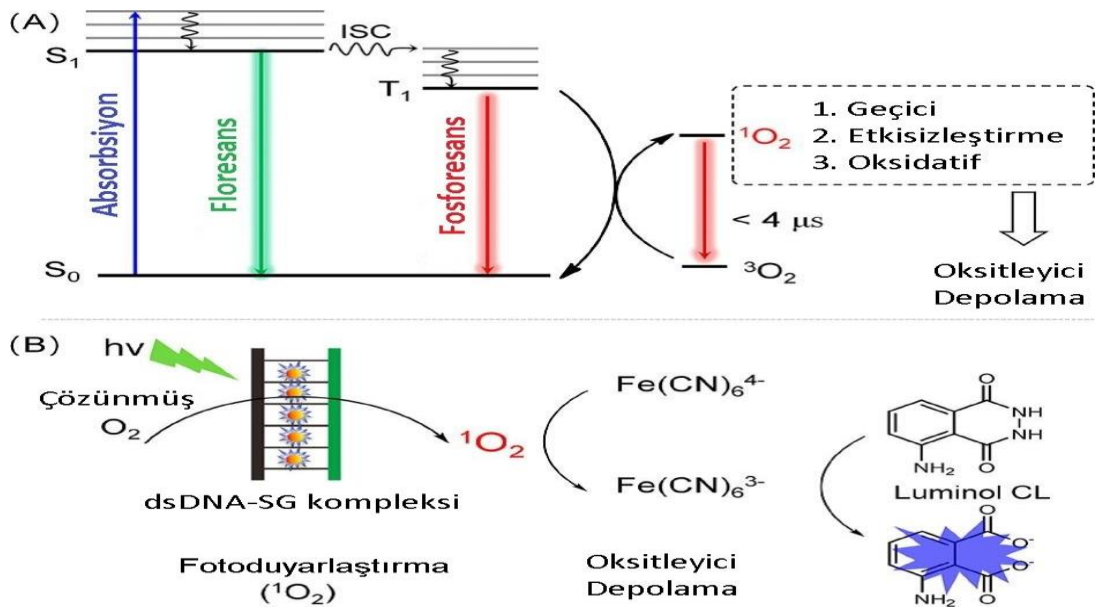
Şekil 2.1. AgInS₂ kuantum noktaları ile ROT üretimi ve luminol bazlı izlenmesi.

Dopamin ölçümü için geliştirilen yenilikçi bir kemilüminesans (KL) bazlı nano-belirteç ile [67], katmanlı bir nano malzeme kullanılarak luminol-KMnO₄ KL sinyalinin artırılması ile dopaminin ölçümü hedeflenmiştir (Şekil 2.2). KL sinyalinin yoğunluğu, nikel-alüminyum tabakalı çift hidroksit (Ni-Al LDH) kullanılarak 18 kat büyütülmüştür. Nano yapılı Ni-Al-NO₃ LDH varlığında KL sisteminin olası geliştirme mekanizması tartışılmıştır.



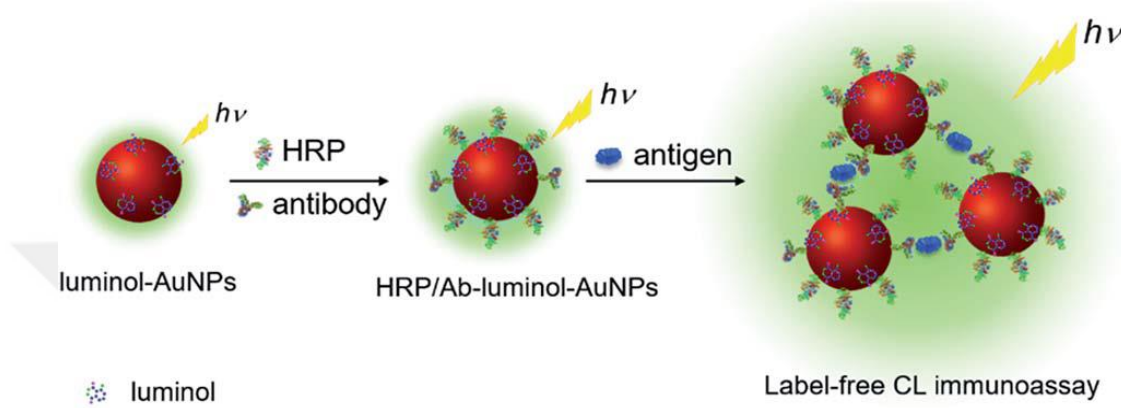
Şekil 2.2. Luminol-KMnO₄ için KL sistemi, Ni-Al-NO₃ LDH ile geliştirilmiş KL ve KL şiddeti üzerindeki azaltıcı etkisi nedeniyle dopamin ölçümü için olası mekanizma.

Çift zincirli DNA-SYBR Green I (dsDNA-SG) kompleksinin ışığa duyarlı hale getirilmesinden üretilen singlet oksijenin bir redoks mediatörü kullanarak oksitleyici depolama sonucu luminolün kemilüminesansı gözlemlenmiştir [68], singlet oksijenin oksidatif kapasitesinin bir redoks mediatörü ile depolanmasının, basit ve hassas biyo-deneylelerin tasarımı için oldukça cazip olabileceği yapılan çalışma sonucu belirtilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. (A) Singlet oksijen üretimi ve Tip-II fotoduyarlaştırma (B) Luminol kemilüminesansı amplifikasyonu için singlet oksijen arabulucusuyla singlet oksijenin yakalanmasının şematik gösterimi.

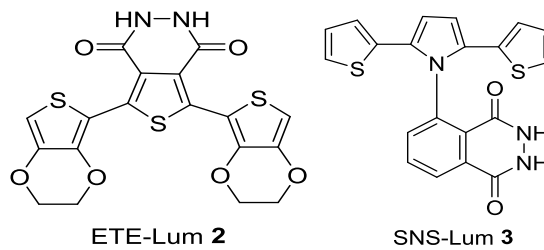
Kemilüminesans reaktifi luminol, kemilüminesans katalizörü peroksidaz (HRP) ve antikor ile birleştirilmiş altın nanopartikülleri (AuNP) kemilüminesans immünoanaliz sistemleri için geliştirilmiştir [69]. İlk olarak kemilüminesans aktiviteye sahip luminol, katalitik özelliklere sahip HRP ve AuNP'ler (HRP luminol-AuNP) sentezlenmiş, daha sonra antijen spesifikliği için HRP, luminol, antikor ve AuNP'ler (HRP/Ab-luminol-AuNP) ayrıca birleştirilmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. HRP/Ab-luminol-AuNP ile KL immüno-analizinin şematik gösterimi.

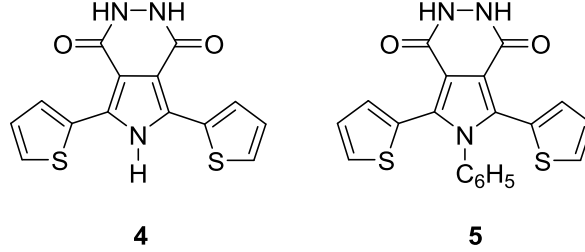
Hem organik ortamda hem de bazık sulu ortamda çözünebilen kemilüminojenin (ETE-Lum) sentezi gerçekleştirilmiştir [70]. ETE-Lum, H_2O_2 ve/veya $KMnO_4$ varlığında KL reaksiyonu verir ve parlak yeşil ışık yayar. Reaksiyon, ETE-Lum'ın metal iyonları arasında oldukça hassas olduğu Fe^{3+} ilavesiyle hızlandırılabilir. Bu özellik, ETE-Lum'ı bir Fe^{3+} sensörü olarak kullanılmaya uygun kılarken, adli bilimlerde kan lekelerinin tespiti için alternatif bir adaydır (Şekil 2.5).

Bir diğer luminol tabanlı bileşik (SNS-Lum) ile (Şekil 2.5) nötral şartlar altında süperoksit radikal anyonu (SRA) gibi bir reaktif oksijen türüne oldukça duyarlı olduğu ve SRA varlığında kemilüminesans özellik gösterdiği not edilmiştir [71].



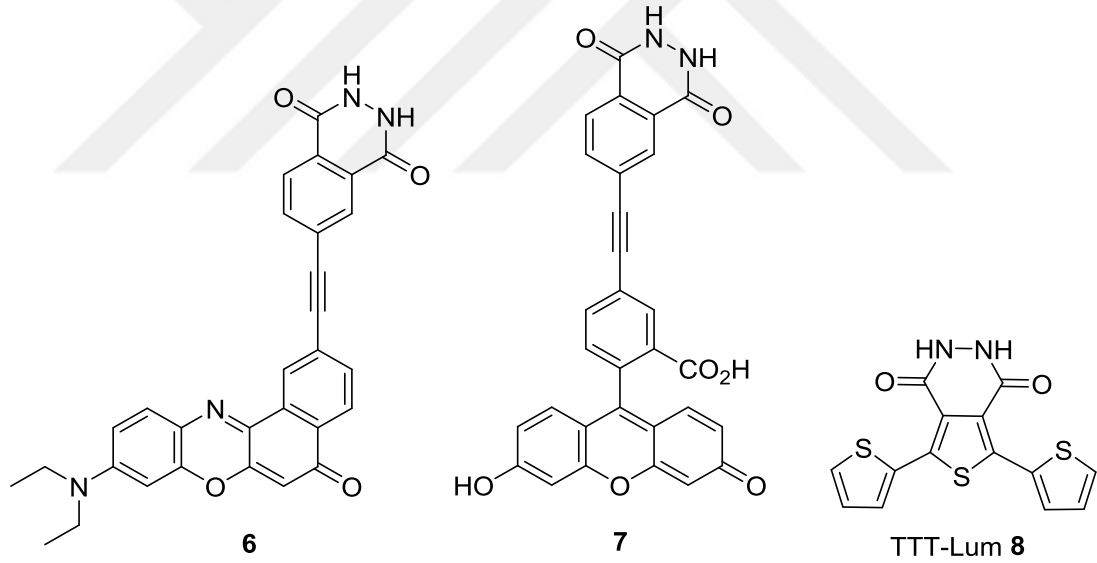
Şekil 2.5. Fe^{3+} sensörü ETE-Lum, 2 ve kemilüminesans SRA belirteci SNS-Lum 3, kimyasal yapısı.

Eser miktarda (1 ppm) demir, hemin ve/ya kan içeren örneklerin **4-5** ile (Şekil 2.6) ışığa üzerinden etkin bir şekilde tayin ve tespit edilebileceği yapılan çalışma sonucunda rapor edilmiştir [72].



Şekil 2.6. Hemin ve/veya kan belirteçlerinin (**4** ve **5**) kimyasal yapısı.

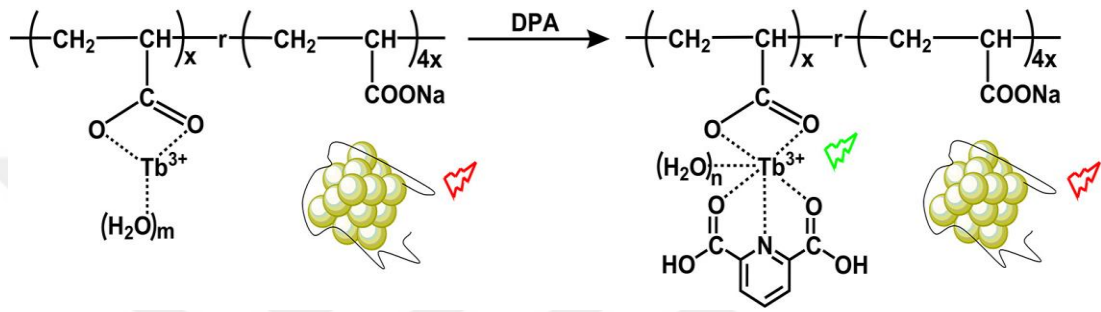
Tasarımı ve sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin **6-7** (Şekil 2.7) ışığa ve enerji transfer etkinliklerini incelenmiştir [73]. Elektro-kemilüminesans özellik gösteren yeni bir bileşiğin **8** (TTT-Lum) sentezi rapor edilmiştir [74].



Şekil 2.7. Kemilüminojenlerin (**6** ve **7**), bileşiğin **8**, TTT-Lum kimyasal yapısı.

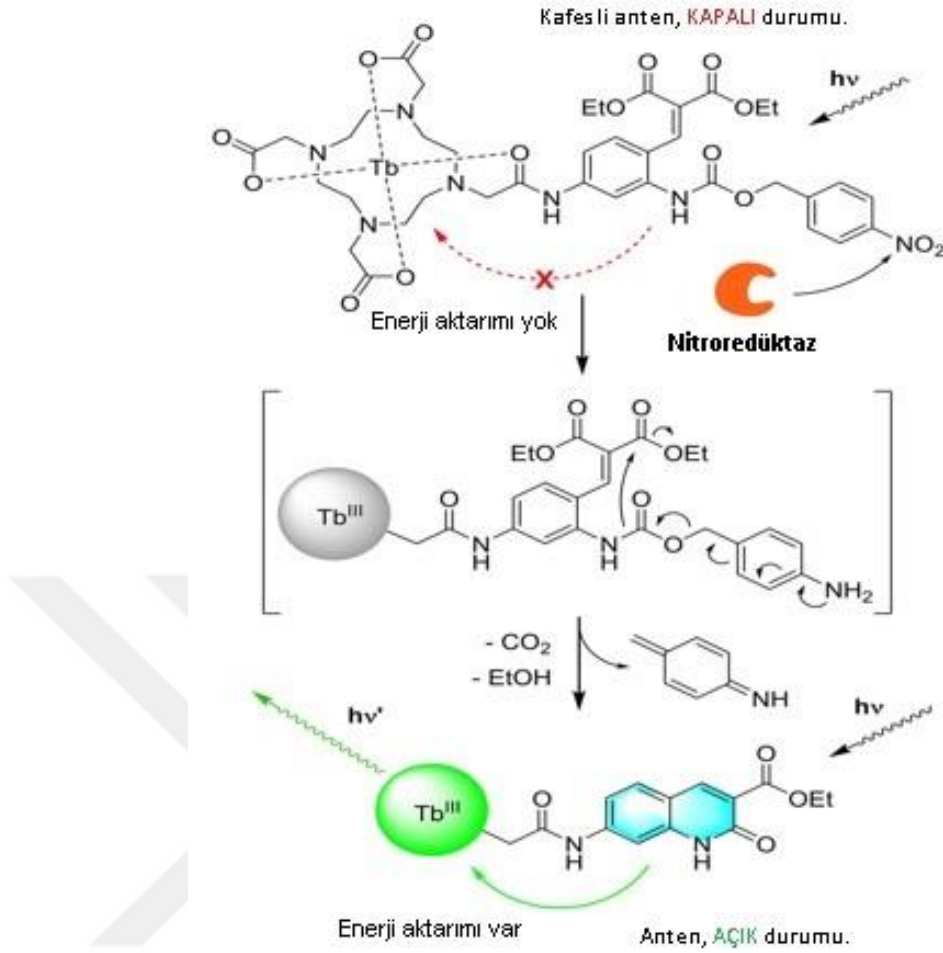
2.2 Lantanit Metal Kompleksleri ile Yapılan Çalışmalar

Şarbon sporları biyobelirteci olan piridin-2,6-karboksilik asitin (DPA) hassas ve seçici bir şekilde tespit edilmesi için lantanit (Tb^{3+}) içeren rasyometrik lüminesans bir belirteç sentezlenmiş ve DPA tespit yeteneği incelenmiştir [75]. Belirteç DPA eklendikten sonra dikkate değer bir ışıma artışı göstermektedir. Ayrıca sentezlenen Tb^{3+} bazlı belirtecin DPA'yı sulu çözeltideki çok sayıda molekülden seçici olarak ayırt edebileceği bildirilmiştir (Şekil 2.8).



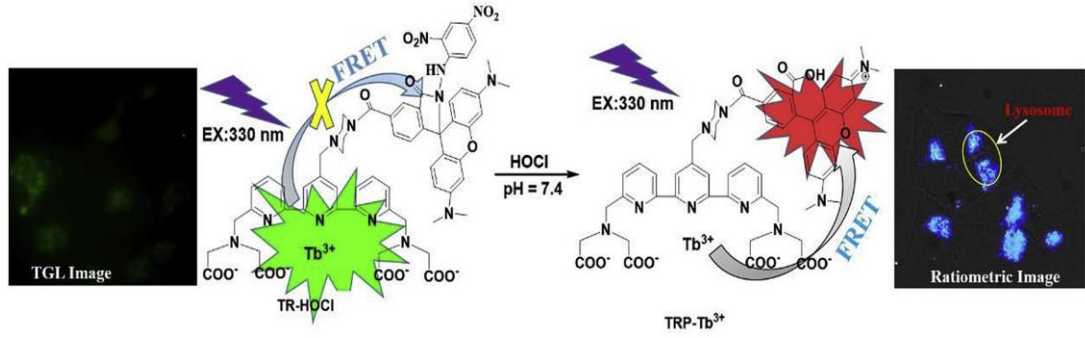
Şekil 2.8. Tb^{3+} lantanit metali bazlı belirtecin ve DPA algılama sürecinin şematik gösterimi.

Canlı bakterilerde nitroredüktazların (NTR) tespiti için yapısında Tb^{3+} DO3A kompleksli yapı bulunduran lüminesans belirtecin geliştirildiği bildirilmiştir ve bileşiğin karbostiril antenin NTR ile etkileşimi sonucu lantanit merkezini enerji transferi yoluyla aktive ettiğini not edilmiştir [76]. Ayrıca sentezlenen bu yeni belirtecin inaktif halinin neredeyse floresan özellik göstermediği, NTR duyarlı tektikleyeci etki ile büyük bir sinyal artışı gözlemlenmiştir (Şekil 2.9).



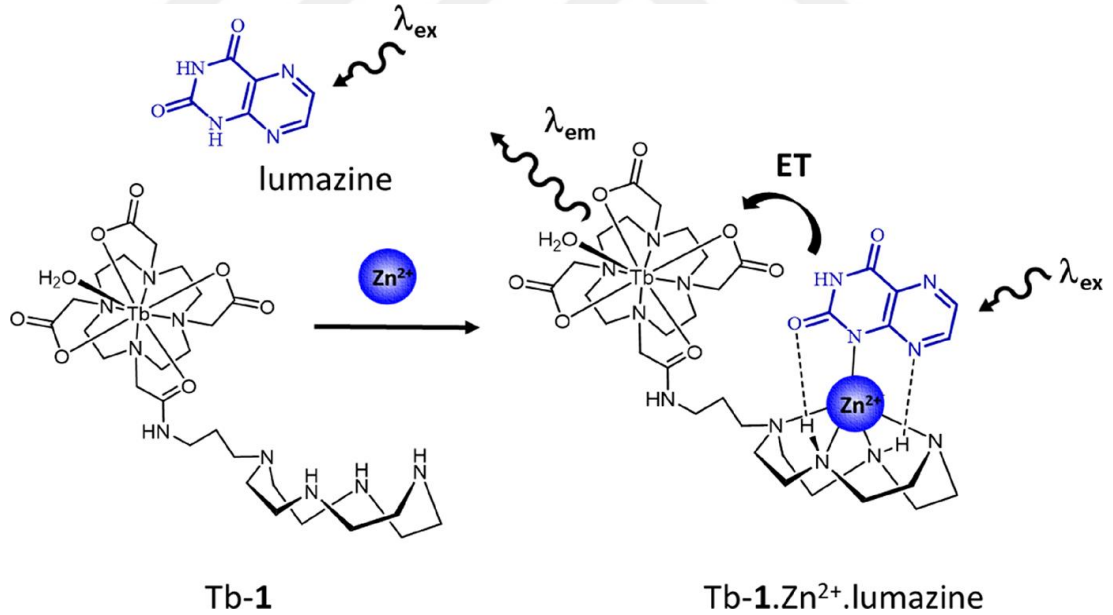
Şekil 2.9. NTR ile aktifleştirilebilen lüminesan Tb³⁺ DO3A kompleksli belirtecin yapısı, nitroredüktaz etkisi ve enerji transfer mekanizması.

Hipoklorik asidin (HOCl) spesifik tayini için molekül içi Förster rezonans enerji transferi (FRET) sistemine dayalı gerçekleştirilen bir çalışmada ise zaman geçişli lüminesans (TGL) belirteci (TR-HOCl) tasarlanmış ve sentezlenmiştir (Şekil 2.10), bir rodamin türevi (enerji alıcısı) ve ışımaya yapan Tb³⁺ kompleksi (enerji verici) olarak dizayn edilmiştir [77]. Belirtecin HOCl ile reaksiyona sokulduktan sonra 0.5-45 µM konsantrasyonları arasında iyi bir doğrusallığı olduğunu ve HOCl için LOD değerinin 0.34 µM belirtilmiştir. Ayrıca Tb³⁺ emisyonunun ortalama lüminesans ömrünün, FRET prosesinin gerçekleşmesi neticesinde azaldığı (588 µs'den 254 µs'ye) bildirilmiştir.



Şekil 2.10. Belirtecini (TR-HOCl) kimyasal yapısı ve HOCl ile etkileşimi sonucu lüminesans yanıtı, FRET prosesinin gerçekleşmesi.

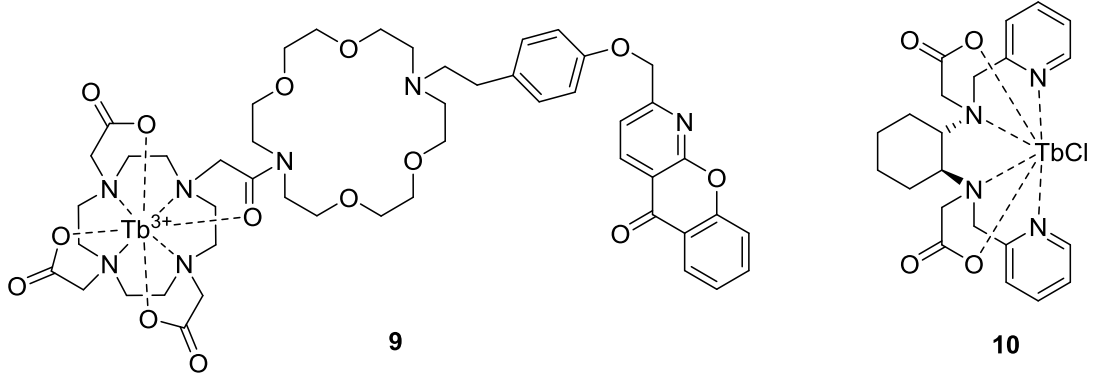
Çinko (Zn^{2+}) iyonlarının algılanması için duyarlaştırıcının lantanit şelat ile kovalent olarak bağlı olmadığı “karanlık” lantanit bazlı belirteç geliştirilmiştir [78]. “Karanlık” terbiyum kompleksi, lumazine ve Zn^{2+} arasındaki üçlü bir kompleks oluşumuna dayanan Tb^{3+} esaslı belirteç Zn^{2+} iyon bağlama grubu olan bir 1-(3-(λ^2 -azanil)propil)-1,4,7,10-tetraazasiklododekan parçasına kovalent olarak bağlanmış makrosiklik şelatları içerir (Şekil 2.11). Ortaya çıkan kompleksin, yüksek derecede ışıma ve Zn^{2+} seçiciliği rapor edilmiştir.



Şekil 2.11. 1-(3-(λ^2 -azanil)propil)-1,4,7,10-tetraazasiklododekan-çinko (II) bağlayıcı bir kısım içeren “karanlık” lantanit bazlı belirteç Tb-1'in şeması.

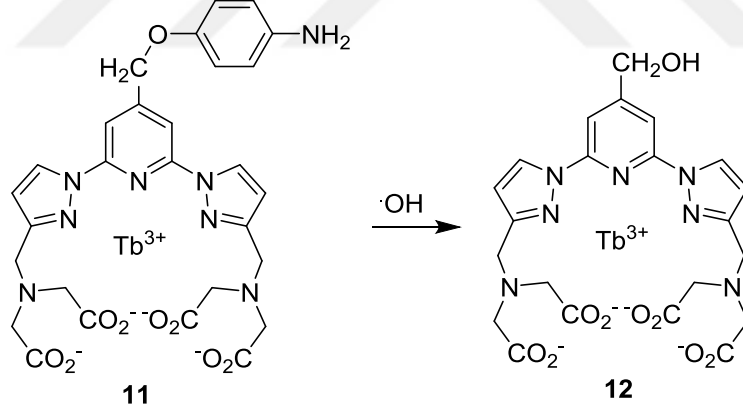
Bir diğer çalışmada ise, içerdiği taç eter ünitesi aracılığı ile potasyum iyonlarını oldukça seçici bir biçimde tespit edebilen Tb^{3+} tabanlı lüminesans bir algılayıcı **9** (Şekil 2.12) geliştirilmiştir [79].

Kiral bazı lantanit komplekslerinin polarize emisyon yapabileceği sentezi gerçekleştirilen bileşik **10** (Şekil 2.12) ile rapor edilmiştir [80].



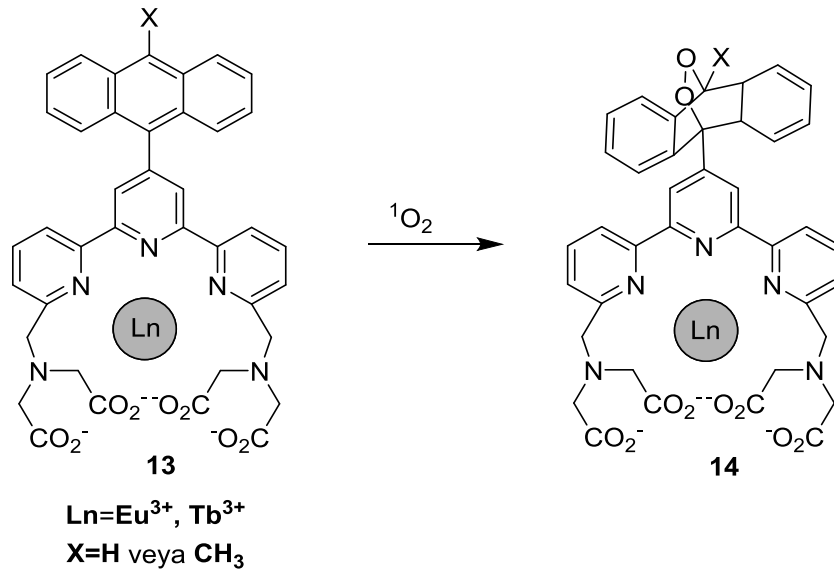
Şekil 2.12. K⁺ sensörünün **9** ve polarize emisyon yapabilen lantanit kompleksinin **10** kimyasal yapısı.

Sentezi yapılan Tb³⁺ tabanlı belirteç ile hidroksil radikali için son derece seçici bir bileşik geliştirilmiştir [81]. Hidroksil radikalının canlı hücre ortamında görüntülenebilmesi ve in vivo koşullarda tayin/tespitinin yapılabilmesinin mümkün olacağını ifade edilmiştir (Şekil 2.13).



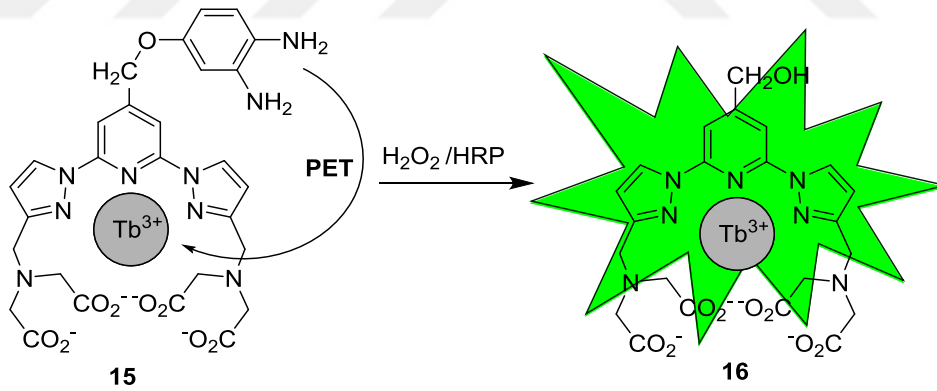
Şekil 2.13. Bileşik **11**, Tb³⁺ tabanlı hidroksil radikali için geliştirilen belirteç.

Geliştirilen Eu³⁺ ve Tb³⁺ tabanlı [82-84] belirteçler ile ¹O₂ etkileşimi ile meydana gelen antrasen endoperoksitlerin ve artan lüminesans şiddeti incelenmiş ve ¹O₂'nin tayin ve tespiti üzerinde durulmuştur (Şekil 2.14).



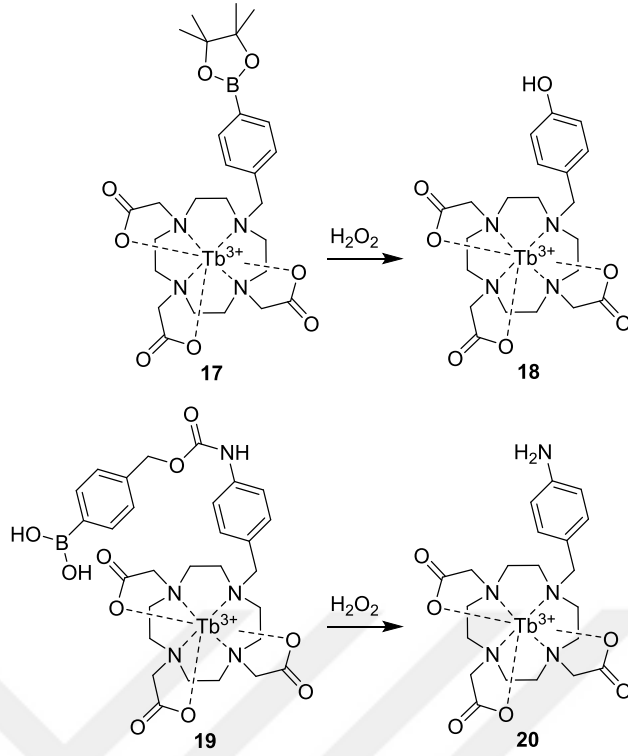
Şekil 2.14. Tasarlanan ve sentezlenen belirteçlerin **13** $^1\text{O}_2$ ile etkileşimleri.

Tasarımı ve sentezi yapılan Tb^{3+} tabanlı belirteç ile hidrojen peroksiti (H_2O_2) sulu çözelti içerisinde tayini ve tespiti rapor edilmiştir [85]. Belirteçlerin, (Şekil 2.15) peroksidaz ve H_2O_2 ile tepkimesi sonucu Tb^{3+} lüminesansının gözlemlenmesi üzerinde durulmuştur.



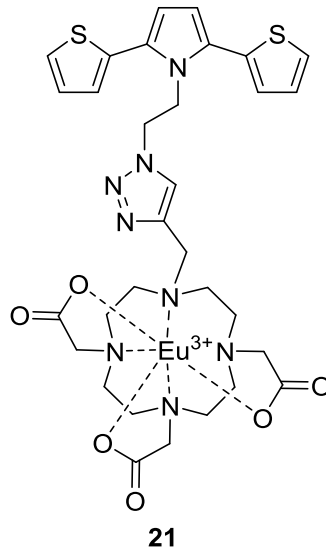
Şekil 2.15. Bileşiğin **15**, peroksidaz varlığında H_2O_2 ile tepkimesi ve lüminesansı.

Tasarlanan belirteçler ile **17** ve **19** (Şekil 2.16) canlı sistemlerde (H_2O_2) tespiti yapılabileceği rapor edilmiştir [86].



Şekil 2.16. Tb³⁺ kompleks tabanlı hidrojen peroksit belirteci (**17** ve **19**).

Tasarımı ve sentezi gerçekleştirilen SNS-Eu³⁺ (**21**) ile analiz ortamında bulunan anyon havuzu içersinden F⁻ anyonun seçici tespitinin yapılabileceği belirtilmiştir (Şekil 2.17). F⁻ anyonun Eu³⁺ emisyon şiddetini dramatik bir şekilde artırdığı not edilmiştir [87].



Şekil 2.17. F⁻ belirteci SNS-Eu³⁺ (**21**) şematik gösterimi.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

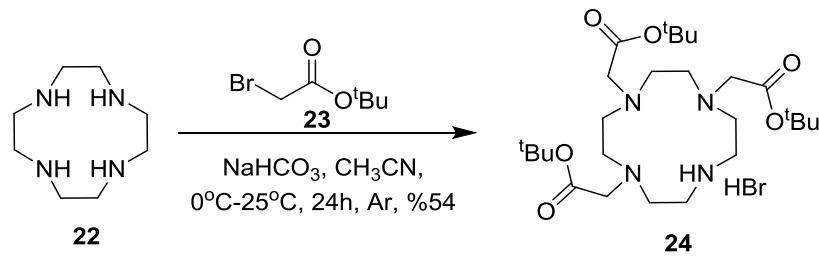
Kullanılan bütün kimyasal malzemeler ve çözücüler Aldrich ve Merck markalarından tedarik edilmiş olup çözücüler için uygulanan saflaştırma işlemi için genellikle literatürde bilinen yöntemler kullanılmıştır [88].

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) uygulamaları, 0,2 mm Analitik Alüminyum Tabaka Merck silica jel 60 F254 ile yapılmıştır. Erime noktası tayin işlemleri kapiler tüpler vasıtası ile Schorpp marka MPM-H2 model erime noktası cihazı tespit edilmiştir. FTIR analizleri sonucu elde edilen spektrumlar ID5 ATR aparatlı Thermoscientific Nicolet IS5, absorbans spektrumları Varian Cary 50 model UV-Vis ve emisyon (yayınma) spektrumları ise Varian Cary Eclipse Fluorescence spektrofotometre cihazları kullanılarak elde edilmiştir. Kütle spektrumları LC-MS için Thermo Tsq Quantum Access Max, MALDI spektrumları Bruker Microflex LT, ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları Agilent 600 ve 150 MHz Premium Compact veya Bruker Ultrashield 300 ve 75 MHz NMR spektrometreleri aracılığıyla elde edilmiştir.

Hedef bileşik **1'** i elde etmek için geliştirilen sentez yolları ve deneysellerin şematik gösterimi Şekil 3.1-3.10 üzerinden ifade edilmiştir.

3.2 tri-tert-butil 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazasiklododekan-1,4,7-triil) triasetat (**24**)

Sentezi

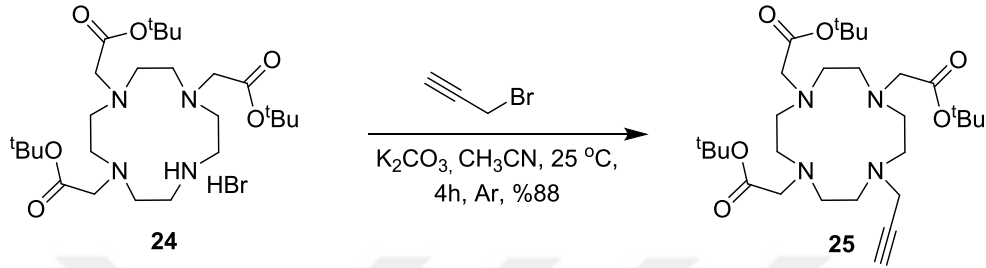


Şekil 3.1. Bileşik **24** sentezi.

22 (2.42 g, 14.1 mmol), Argon atmosferinde, asetonitril (80 mL) içerisinde çözündü. Solüsyona fazla miktarda NaHCO₃ (5.91 g, 70.0 mmol,) eklendi. Karışım 0°C'de 30 dakika boyunca karıştırıldı ve **23** (9.05 g, 46.4 mmol) 60 dakika boyunca karışıma damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 24 saat inert atmosferde karıştı, karışım daha sonra vakumla süzüldü. Süzüntü döner

buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı konsantre edilen ham ürün tolüenden yeniden kristalleştirildi. Beyaz katı: 3.88 g, verim % 54; en 208-210 °C (lit. 208-210 °C, [89]).

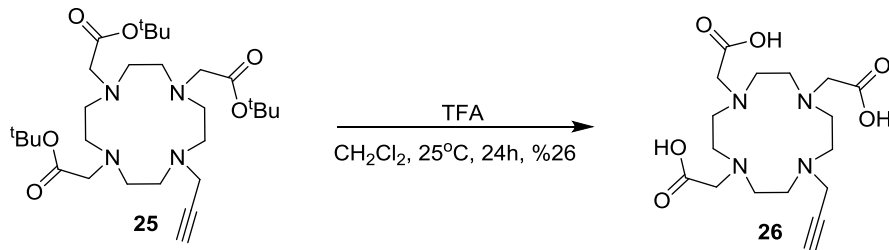
3.3 tri-tert-butil 2,2,2''-(10-(prop-2-yn-1-il)-1,4,7,10-tetraazasiklododekan-1,4,7-triil) triasetat (25) Sentezi



Şekil 3.2. Bileşik 25 sentezi.

24 (100 mg, 0.194 mmol), propargil bromür (22 mg, 164 µL, %80 tolüen içerisinde, 0.194 mmol) ve K₂CO₃ (26 mg, 0.194 mmol) Asetonitril (2 mL) içerisinde argon atmosferinde çözündü. Oda sıcaklığında 4 saat karıştırıldı. K₂CO₃ vakumla süzüldü ve süzüntü döner buharlaştırıyla konsantre edildi, Ham ürün diklorometan (100 mL) içinde yeniden çözündü ve sırasıyla su (3x20 mL) ve tuzlu suyla (3x20 mL) çekme yapıldı. Organik katman MgSO₄ üzerinden kurutuldu. Düşük basınç altında çözücü buharlaştırıldı.(Sarı viskoz madde, 102 mg, verim: % 88).

3.4 2,2,2''-(10-(prop-2-yn-1-il)-1,4,7,10-tetraazasiklododekan-1,4,7-triil) triasetik asit (26) Sentezi

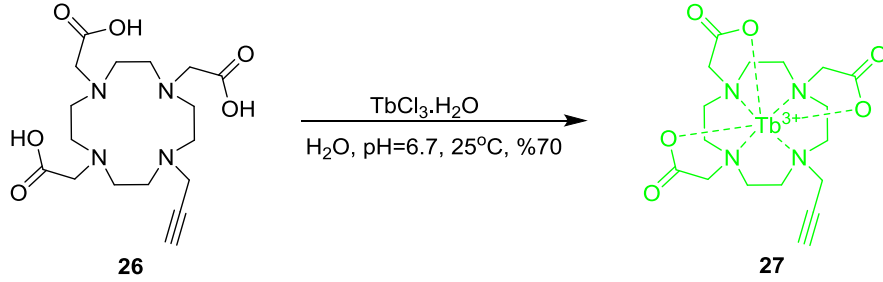


Şekil 3.3. Bileşik 26 sentezi.

25 (364 mg, 0,66 mmol) diklorometan (4 mL) çözdürüldü ve trifloroasetik asit (3 mL) yavaşça ilave edildi. Reaksiyon bir gün süresince 25°C' de devam etti. Reaksiyon sonunda çözücü basınç altında elimine edildi. Elde edilen kahverengi

viskoz yapı asgari miktarda CH_3OH ile çözdürüldü ve $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$ ilave edilerek çöktürme işlemi uygulandı çöktürme sonucu beyaz renkli katının eldesi ile **26** izole edildi, süzüldü ve vakumda kurutuldu; %26 verim.

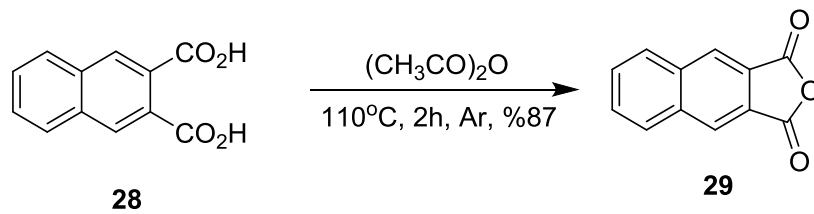
3.5 Tb^{3+} DO3A Kompleksinin (**27**) Sentezi



Şekil 3.4. Bileşik **27** sentezi.

26 (420 mg, 1,1 mmol) saf su eklenerek çözdürüldü ve üzerine asgari miktarda saf su ile çözünmüş durumda olan TbCl_3 eklendi. Reaksiyon serbest Tb^{3+} bitene kadar sürdürüldü. Reaksiyon sonucu elde edilen karışım liyofize edildi ve kalan katı asgari CH_3OH çözdürüldü ve $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$ aracılığıyla çöktürme işlemi yapıldı, beyaz renteki katı yapı elde edildi ve vakumda kurutuldu. Ürün, e.n. 271-273 $^\circ\text{C}$, verim %70.

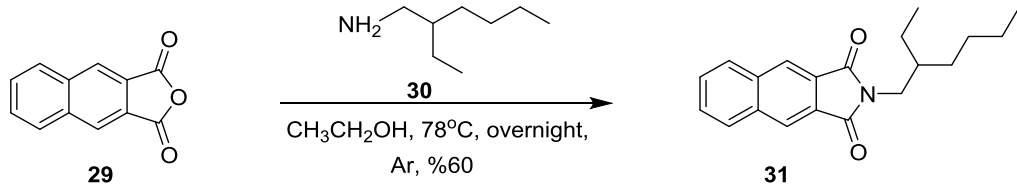
3.6 Nafto[2,3-c]furan-1,3-dion (**29**) Sentezi



Şekil 3.5. Bileşik **29** sentezi.

28 (2 g, 9,25 mmol) üzerine asetik anhidrit (8 mL, 8,64 g, 91,14 mmol) eklendi ve karışım 2 saat süresince kaynatıldıktan sonra, reaksiyon ortamının oda sıcaklığına dönmesi ile çöken katı kısım vakum altında süzüldü ve minimum miktarda ksilen ile yıkandıktan sonra vakum altında kurutuldu. (Kahve rengi katı, %87 verim, e.n: 248-254 $^\circ\text{C}$.) ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.78 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.88 (s, 1H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 163.8, 135.9, 130.9, 130.7, 127.8, 126.5.

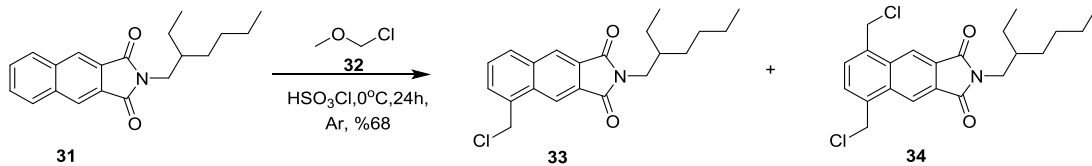
3.7 2-(2-etilhekzil)-1*H*-benzo[f]izindol-1,3(2*H*)-dion (31) Sentezi



Şekil 3.6. Bileşik **31** sentezi.

29 (0.2 g, 1 mmol) üzerine etanolde (25 ml) çözüldü, inert atmosfer altında etanolde (5 ml) **30** (0.2 mL, 0.152 g, 1.2 mmol) damla damla eklendi. Geri soğutucu altında bir gece kaynatıldı. İTK (1:1 Hekzan:DKM) ile takip edilen reaksiyon oda sıcaklığına soğutuldu. Çöken kısım vakum altında süzülde ve soğuk etanol ile yıkandı, elde edilen katı vakumda kurutuldu. (Beyaz katı, %60 verim, e.n=120-126°C.). LC-MS kütle spektrumu $C_{20}H_{23}NO_2$ için bulunan $[M]^+$: 309,98. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.25 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 3.60 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 1.86 (s, 1H), 1.30 (d, $J = 40.0$ Hz, 5H), 0.88 (d, $J = 29.0$ Hz, 4H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 168.3, 135.4, 130.2, 129.0, 127.8, 124.4, 42.1, 38.2, 30.5, 28.5, 23.9, 22.9, 14.0, 10.4.

3.8 5-(klorometil)-2-(2-etilhekzil)-1*H*-benzo[f]izindol-1,3(2*H*)-dion (**33**) ve 5,8 bis(klorometil)-2-(2-etilheksil)-1*H*-benzo[f]izindol-1,3(2*H*)-dion (**34**) Sentezi



Şekil 3.7. Bileşik **33** ve **34** sentezi.

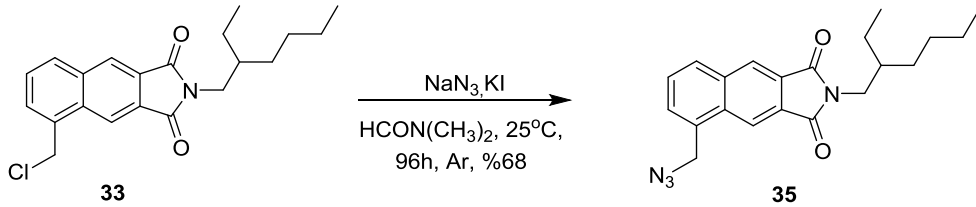
31 (0,102 g, 0,33 mmol) **32** (0,6 mL 0,636 g, 7.9 mmol) ile çözüldü ve karışım argon gazı geçirilirken buz banyosu yardımıyla soğutuldu. Ardından ortama klorosülfonik asit (0,5 mL 0,895 g, 7,7 mmol) damla damla eklendi. Oda sıcaklığında karıştırılan reaksiyon İTK (15:1 hekzan:etil asetat) ile takip edildi. Karışıma kloroform ve su eklenerek çekme yapıldı. Organik faz doygun sodyum bikarbonat (3x50 ml) ile yıkandı, Mg_2SO_4 üzerinden kurutuldu ve çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı.

Ardından kolon kromatografisi (silika jel, 15:1 hekzan:etil asetat) yapılarak iki ürün elde edildi.

33: beyaz katı, %68 verim, e.n=80-84°C. LC-MS kütle spektrumu $C_{21}H_{24}ClNO_2$ için bulunan $[M]^+$: 357,94 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.67 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 8.35 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.68 (dt, J = 15.3, 7.1 Hz, 1H), 5.08 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 3.77 – 3.54 (m, 1H), 1.91 (s, 1H), 1.58 (s, 1H), 1.33 (dt, J = 23.4, 13.1 Hz, 1H), 0.92 (dd, J = 14.4, 7.0 Hz, 1H). ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ 168.2, 168.1, 136.1, 135.7, 133.4, 131.6, 130.6, 128.5, 128.4, 127.9, 125.1, 120.2, 43.7, 42.2, 38.2, 30.4, 28.4, 23.8, 23.0, 14.1, 10.4.

34: beyaz katı, %32 verim, e.n=148-152°C. LC-MS kütle spektrumu $C_{22}H_{25}Cl_2NO_2$ bulunan $[M]^+$: 405,92 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.68 (s, 6H), 7.69 (s, 6H), 5.07 (s, 16H), 3.78 - 3.62 (m, 13H), 3.58 – 3.43 (m, 9H), 1.98 – 1.85 (m, 6H), 1.65 - 1.51 (m, 10H), 1.35 (ddd, J = 27.1, 16.3, 13.1 Hz, 45H), 0.97 – 0.86 (m, 30H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 168.0, 137.0, 134.2, 130.0, 128.6, 120.8, 43.5, 42.3, 38.2, 30.5, 28.5, 23.8, 23.0, 14.0, 10.4.

3.9 5-(azidometil)-2-(2-etilheksil)-1H-benzo[f]izindol-1,3 (2H)-dion (35) Sentezi

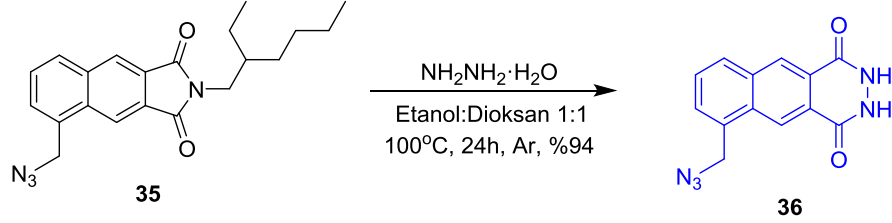


Şekil 3.8. Bileşik 35 sentezi.

33 numaralı bileşik (0,1 g, 0,28 mmol) NaN_3 (0.040 g, 0.62 mmol) ve KI (0.023 g, 0,14 mmol) 25 ml yuvarlak dipli balona alındı, minimum DMF ile çözüldü argon gazı sisteme eklendi. Oda sıcaklığında 4 gün karıştırıldı. İTK (15:1 hekzan:etil asetat) ile takip edildi reaksiyon ortamına 250 ml su eklenerek 5x40 ml DCM ile çekme yapıldı kuru Mg_2SO_4 atılarak süzülde çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. (Sarı katı, %90 verim e.n=105-108°C.). LC-MS kütle spektrumu $C_{21}H_{24}N_4O_2$ için bulunan $[M]^+$: 364,96 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.54 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.07 (dd, J = 6.0, 3.5 Hz, 1H), 7.72 – 7.65 (m, 2H), 4.86 (s, 3H), 3.67 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 1.97 – 1.84 (m, 2H), 1.55 (s, 3H), 1.45 – 1.20 (m, 14H), 1.00 – 0.84 (m, 9H). ^{13}C

NMR (75 MHz, DMSO) δ 168.2, 168.1, 136.1, 133.8, 133.6, 131.3, 130.1, 128.4, 125.1, 120.2 (s), 52.7, 42.2, 38.2, 30.5, 29.7, 28.5, 23.8, 23.0, 14.0, 10.4.

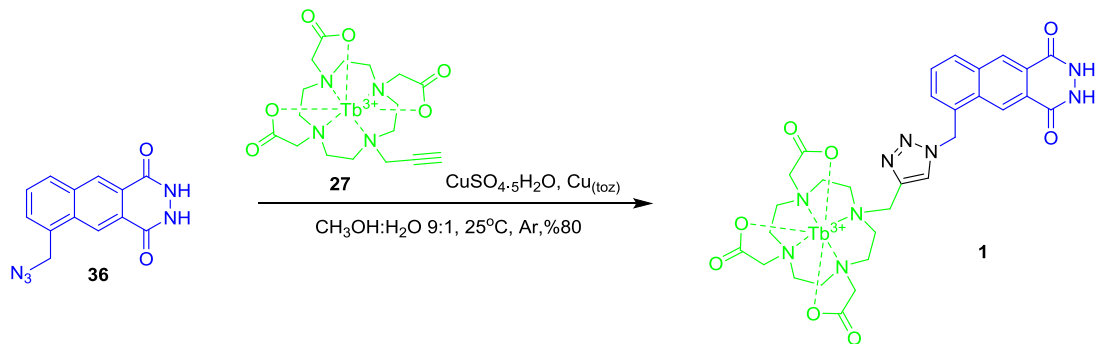
3.10 6-(azidometil)-2,3-dihidro-benzo[g]ftalazin-1,4-dion (36) Sentezi



Şekil 3.9. Bileşik 36 sentezi.

35 numaralı bileşik (0,2 g, 0.548 mmol) 50 ml yuvarlak dipli balona alındı 20 ml 1:1 dioksan:etanol ile çözdürüldü. N_2H_5OH (0,9 ml, 0,082 g, 1,644 mmol) eklendi argon gazı sisteme eklendi 24 saat geri soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon oda sıcaklığına soğutulurak çöktürüldü ardından 1:1 dioksan:etanol ile vakumda yıkandı, birgün vakumda kurutuldu. (Sarı katı, %94 verim, bozulma sıcaklığı=310°C kahverengi katı). LC-MS kütle spektrumu $C_{13}H_9N_5O_2$ için bulunan $[M]^+$: 267,93 1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.80 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.77 – 7.67 (m, 1H), 5.08 (s, 1H), 3.77 (d, J = 120.1 Hz, 17H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 156.2, 155.8, 135.0, 133.1, 132.4, 130.7, 129.9, 128.0, 127.4, 125.5, 125.2, 122.5, 52.1.

3.11 Click Tepkimesi



Şekil 3.10. Bileşik 1 sentezi.

36 numaralı bileşik (0,100 g, 0,37 mmol), Tb(III)DO3A kompleksi **27** (0,200 g, 0.37 mmol), CuSO₄.5H₂O (0.020 g, 0,084 mmol) ve Cu_(toz) (0,050 g, 0,84 mmol) 20 ml yuvarlak balona alındı 9:1 metanol:su karışımı hazırlandı argon gazı geçirildi ve balona minimum miktarda eklendi argon gazı devam ettirildi 15 gün oda sıcaklığında karıştırıldı ters ve düz faz İTK (%100 etil asetat) ile kontrol edildi ardından HPLC ile başlangıcın bittiğine emin olundu.15 dk 13500 rpm de çöktürme yapıldı süpernatant alınarak liyofilize edildi. (Yeşil katı %80 verim, bozulma sıcaklığı=305-308°C). MALDI-TOFF kütle spektrumu C₃₂H₄₀N₉O₈Tb³⁺ için bulunan[M]⁺: 838,67.

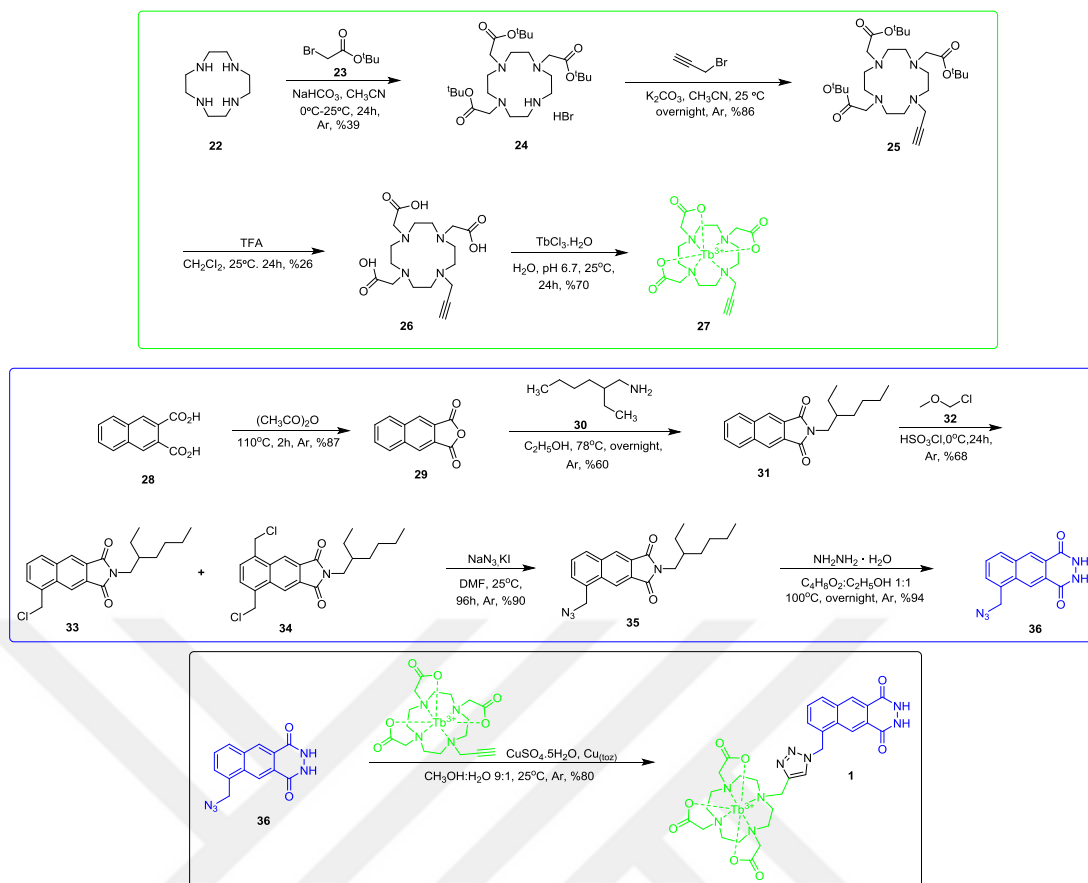
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Luminol türevi ve lantanit metal kompleksinden oluşan iki ünitenin birleşmesiyle oluşturulan yeni nesil çoklu emisyon ajanının **1** tasarımı ve sentezi hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda luminol türevi ünite ve lantanit metal kompleksli ünite ayrı ayrı sentezlenmiş ve karakterize edilmiş olup click (çıt çıt) kimyası ile birleştirilmiştir. Elde edilen bileşiğin **1** özellikle fizyolojik koşullara yakın ortamlarda (0.01M pH=7.4 PBS) çoklu emisyon spektrumları incelenmiş ve söz konusu ortamda çalışıp çalışamayacağı üzerinde durulmuştur. Luminol türevli ve lantanit metal kompleksli yapılar ayrı ayrı olarak literatürde çalışılmış olsa da söz konusu iki yapının bir araya getirildiği ve soğurma bantlarına ek olarak floresans, fosforesans ve kemilüminesans gibi emisyon yeteneklerine sahip herhangi bir yapı literatürde bulunmamaktadır.

Bu sebeplerden ötürü bileşik **1** hem çoklu emisyon yapabilen moleküler sistemlere ışık tutacak yeni bir jenerik platform olması hem de literatürdeki bu denli önemli ve bir o kadarda büyük olan boşluğu doldurması münasebetiyle son derece önem arz etmektedir. Bu bilgiler ve hedefler doğrultusunda öncelikle hedeflenen bileşiğin sentezi üzerine yoğunlaşmıştır (Şekil 4.1).

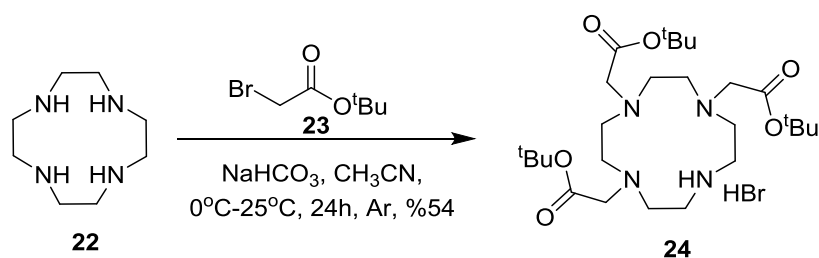
4.1 Çoklu Emisyon Ajanının Sentezi

Hedeflenen çoklu emisyon ajanının **1** sentezi iki kademede yapılmıştır. Bu nedenle ilk olarak lantanit metal kompleksi **27** sentezlenmiş ($Ln = Tb^{3+}$) [90] ve spektroskopik karakterizasyon prosesleriyle yapısal olarak aydınlatılmıştır. Bir sonraki aşamada ise **36** uygun reçeteler üzerinden elde edilmiştir. Son aşamada ise lantanit metal kompleksi **27** ile luminol türevi yapı **36** click tepkimesi ile bütünleştirilerek hedeflenen çoklu emisyon ajanının **1** rasyonel tasarımı ve sentezi yapılmıştır.



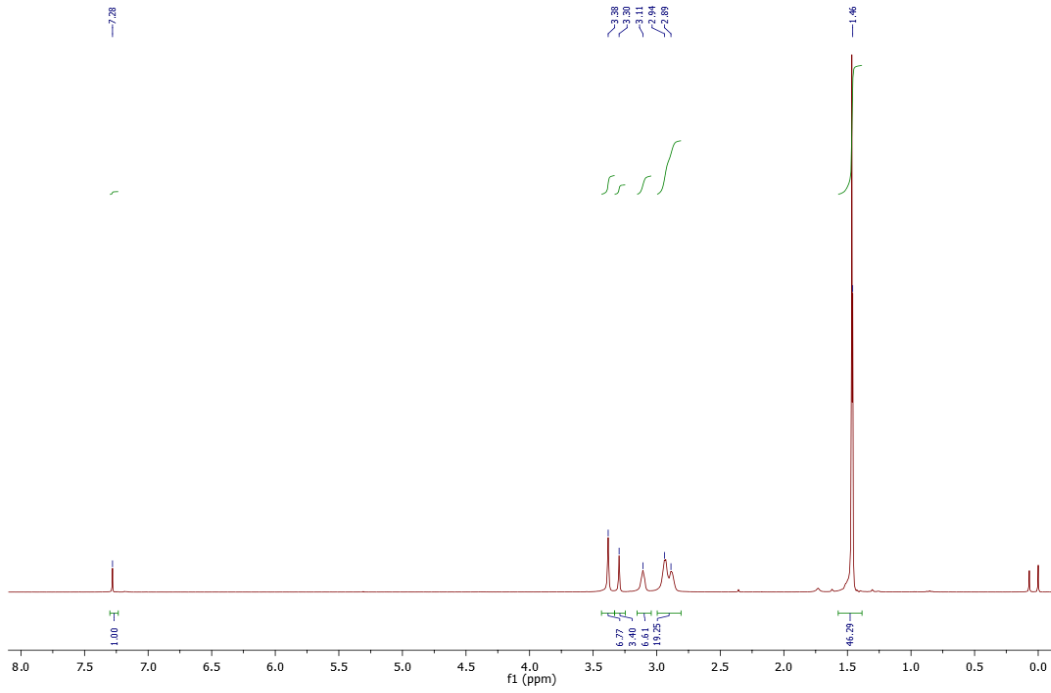
Şekil 4.1. Hedef bileşiğin 1 genel sentez şeması.

Hedef bileşiğin 1 sentezi 10 basamaklı bir dizi tepkime üzerinden gerçekleştirilmiştir. İlk tepkime basamağında 22 ve 23 literatürde bilinen bir yöntem [89] üzerinden etkileştirilerek ester 24 elde edilmiştir (Şekil 4.2).



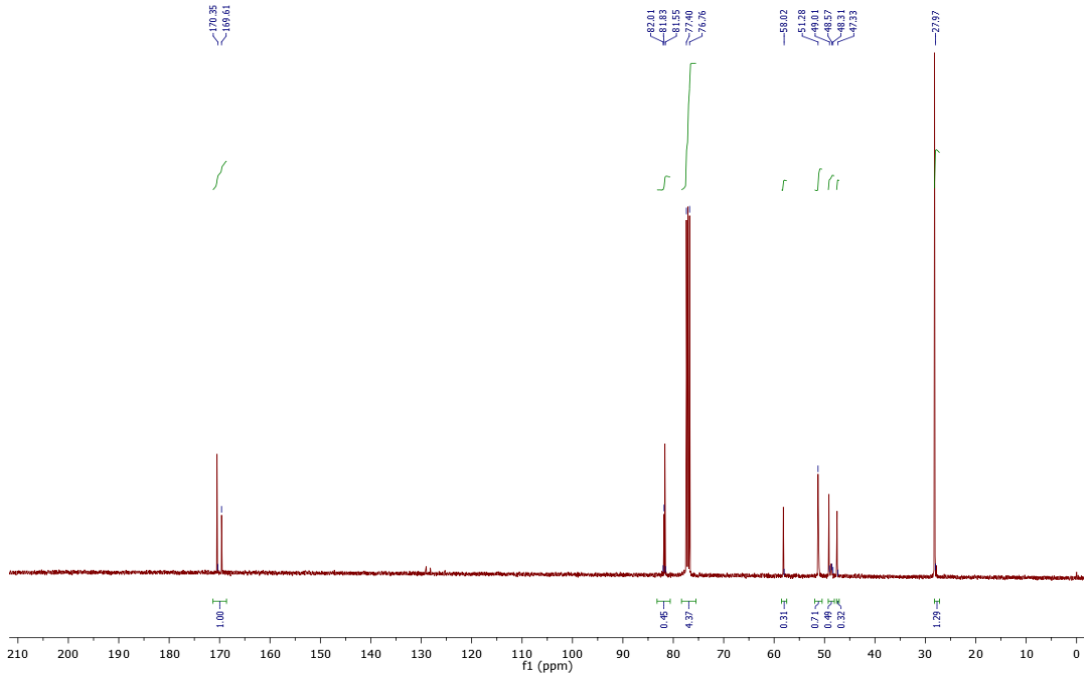
Şekil 4.2. Bileşik 24 ve sentez basamağı.

Bileşiğin 24 ^1H NMR spektrumuna (Şekil 4.3) bakıldığında, 3,38, 3,30, 3,11, 2,94-2,89 ppm'de sinyal veren metilen protonları ile tersiyer bütıl gruplarına ait metil protonlarının 1,47 ppm noktasında sinyali belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Bileşiğin 24 ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

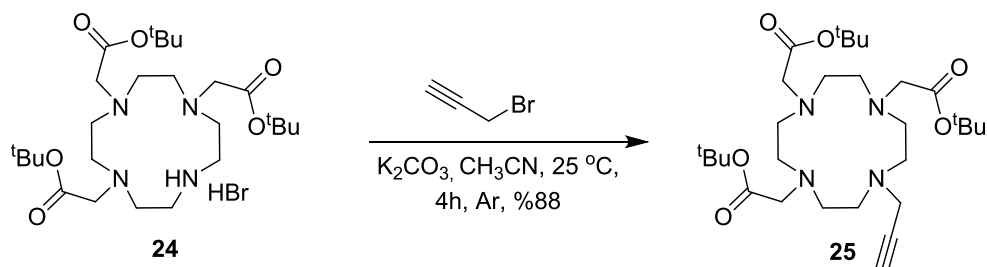
24 ^{13}C NMR spektrumuna (Şekil 4.4) bakıldığında, karbonil sinyalleri (170,49, 169,59 ppm) ile doymuş karbon sinyalleri (81,82; 81,66; 58,17; 51,28; 51,13; 49,12; 48,64; 47,51; 28,21; 28,17) yapıyı destekler niteliktedir.



Şekil 4.4. Bileşiğin 24 ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3).

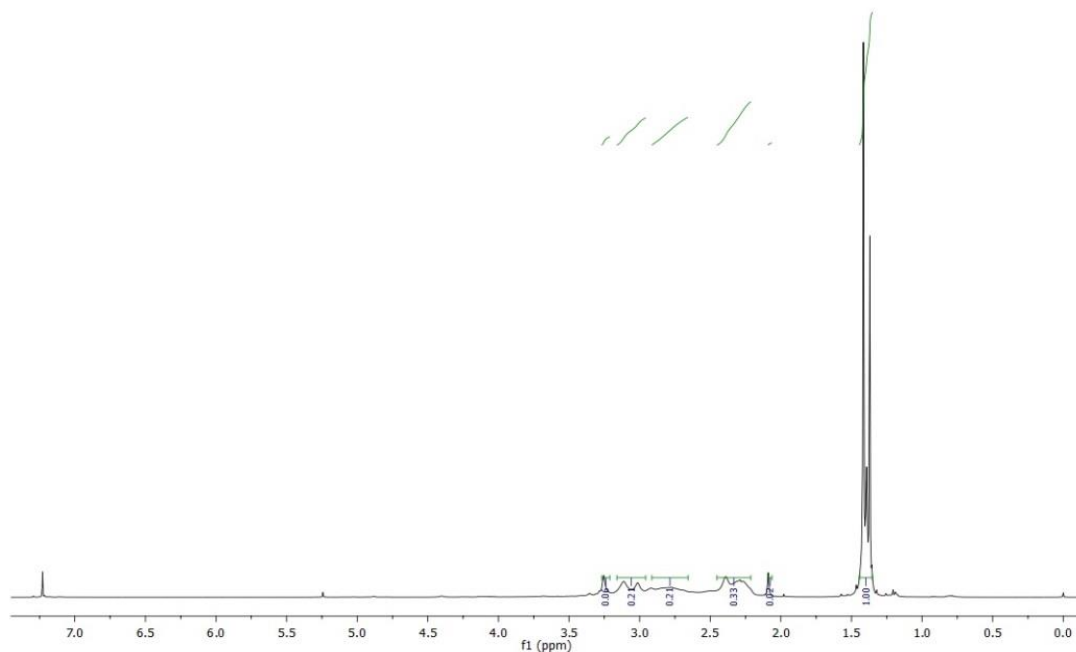
İkinci basamakta, bileşik **24** başlayan ve üç adımdan oluşan tepkime dizisi gerçekleştirilmiştir [90,91].

Bileşik **24** proparjil bromür ile bazik ortamda tepkimeye sokulmuş ve **25** bileşiği ürün olarak elde edilmiştir (Şekil 4.5) [92].



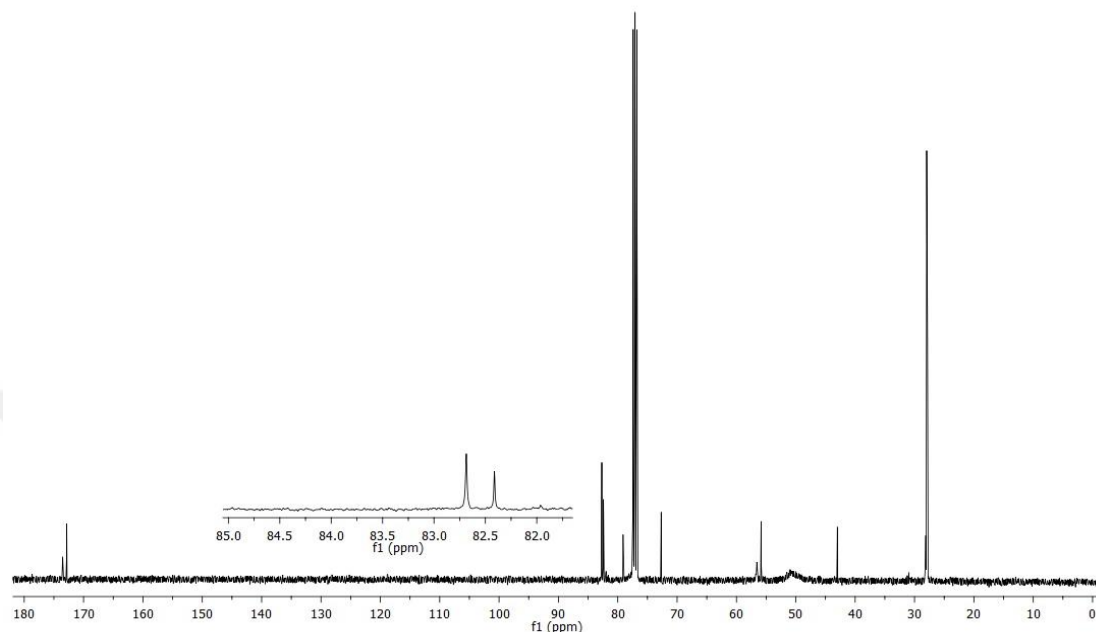
Şekil 4.5. Bileşik **25** ve sentez basamağı.

Bileşiğin **25** ^1H -NMR spektrumunda (Şekil 4.6) metilenik proton ($\sim \text{CH}_2\text{CCH}\sim$) sinyali 3,25 ppm'de ve asetilenik proton ($\sim \text{CCH}\sim$) sinyali 2,08 ppm de belirlenmiş ve yapı desteklenmiştir.



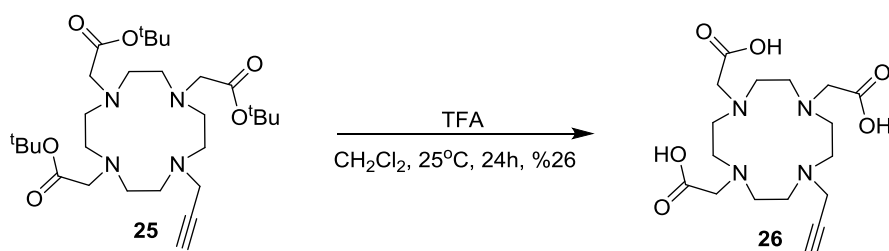
Şekil 4.6. Bileşiğin **25** ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

^{13}C NMR spektrumunda (Şekil 4.7) belirlenen sinyaller [173,5, 173,0, 82,7, 82,4, 79,1, 72,7, 56,7, 55,8, 51,5, 50,9, 49,9, 49,3 (-NCH₂-), 42,9, 28,0] yapının doğrulanması için gerekli niteliktedir.



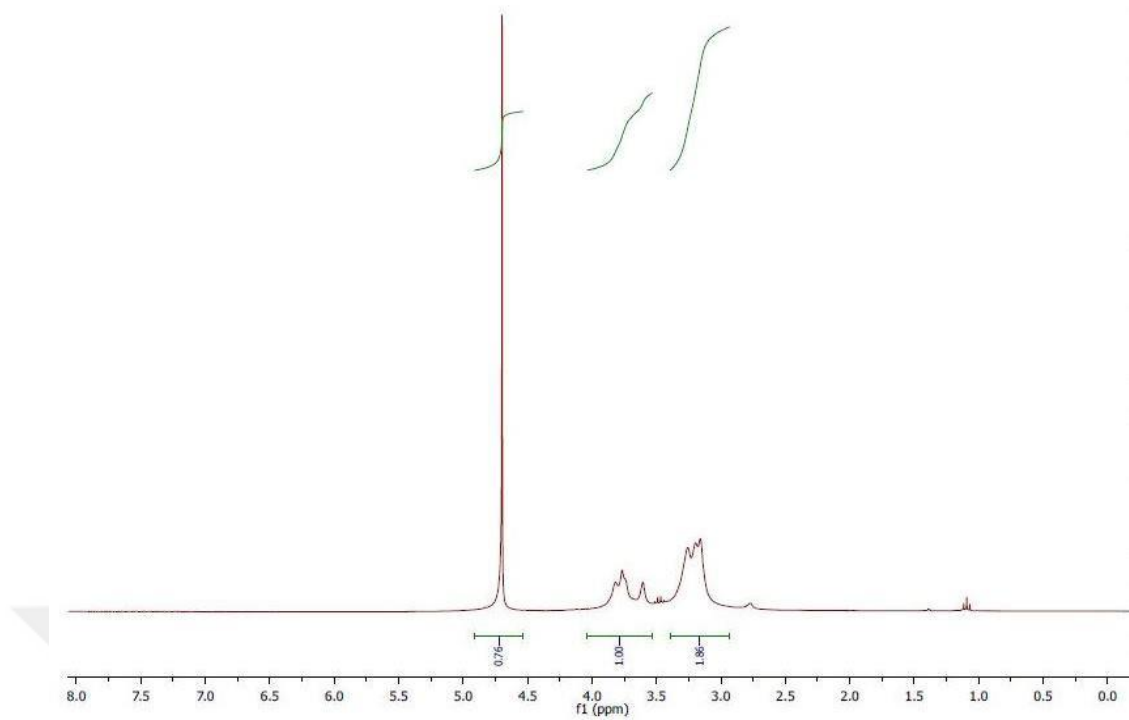
Şekil 4.7. Bileşiğin 25 ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3).

Üçüncü basamakta, Bileşiğin 25 CH_2Cl_2 içerisinde trifloroasetikasit (TFA) ile hidrolizi ile bileşik 26 elde edilmiştir (Şekil 4.8) [90].

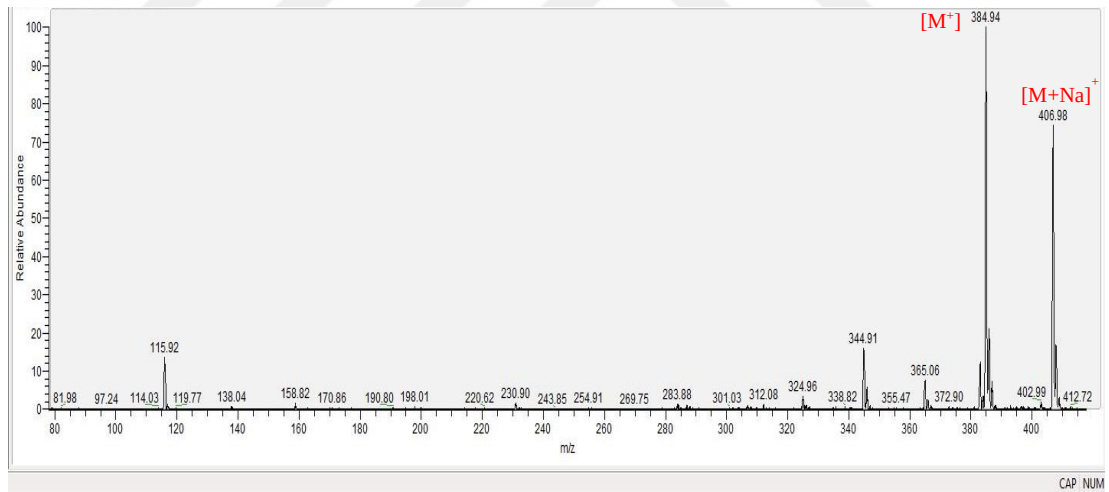


Şekil 4.8. Bileşik 26 ve sentez basamağı.

Bileşiğin 26 karakterizasyonu ^1H -NMR spektrumu ve LC MS/MS kütle spektrumu ile gerçekleştirilmiş olup şekil 4.9 ve 4.10'da gösterilmiştir. Bileşiğin 26 LC MS (m/z) hesaplanan M^+ : 384,94 değeri ile yapıyı doğrular niteliktedir.

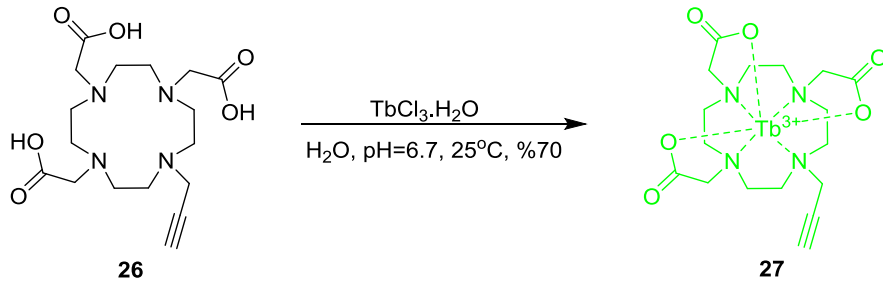


Şekil 4.9. Bileşiğin 26 ^1H NMR spektrumu (D_2O).



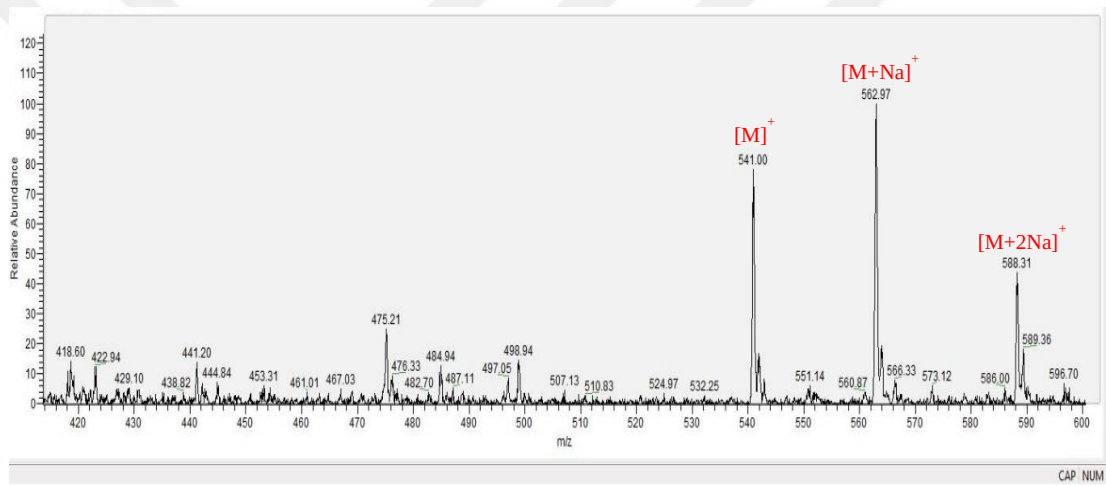
Şekil 4.10. Bileşiğin 26 LC MS kütle spektrumu.

Dördüncü basamakta, **26** ile terbiyum tuzunun tepkimesi neticesinde Tb^{3+} DO3A kompleksi **27** elde edilmiştir (Şekil 4.11).



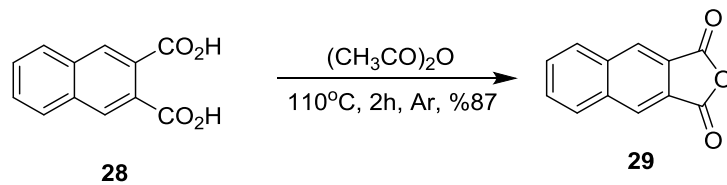
Şekil 4.11. Bileşik 27 ve sentez basamağı.

Tb³⁺ DO3A kompleksinin 27 LC MS/MS spektrumunda (Şekil 4.12) gözlenen kütle spektrumu (LC MS (m/z) hesaplanan M⁺: 540,10 ölçülen [M]⁺: 541,00, [M+Na]⁺: 562,97, [M+2Na]⁺: 588,31) yapıyı doğrular niteliktedir.



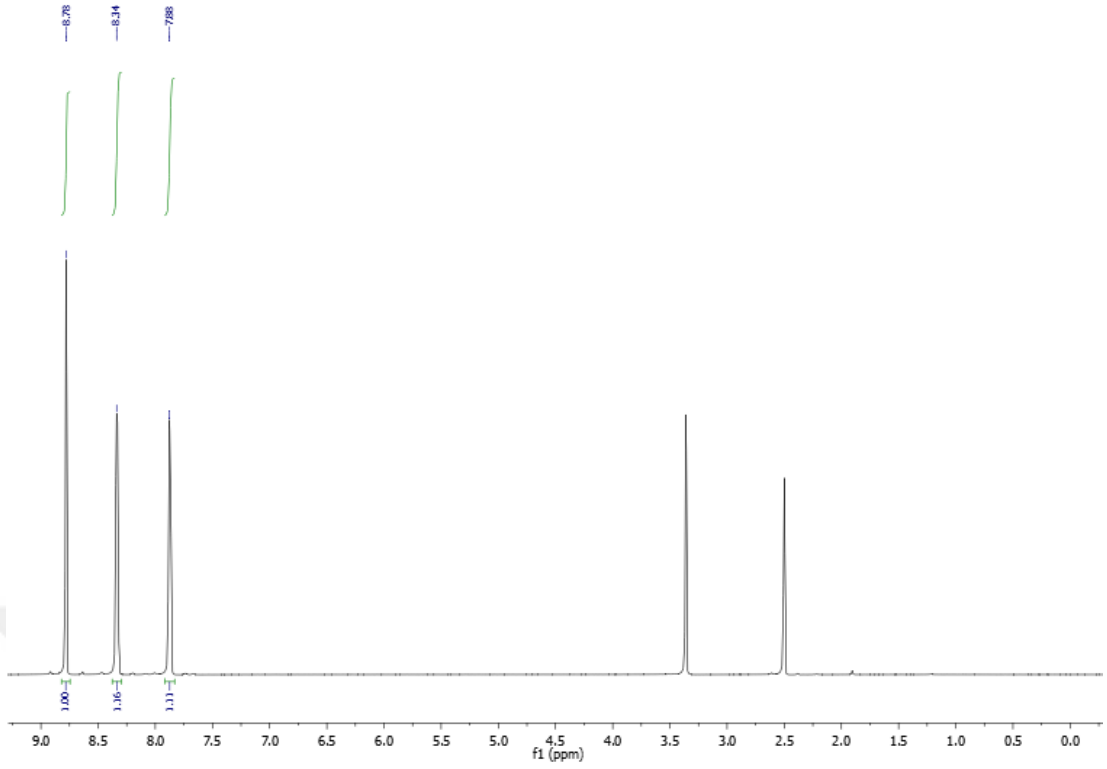
Şekil 4.12. Tb³⁺ kompleksinin 27 LC MS kütle spektrumu.

Sonraki aşamada bileşik 36'nın sentezine geçilmiştir (Şekil 4.13). Bunun için diasit 28 asetik anhidrit ile muamele edilerek 29 elde edilmiştir [93].

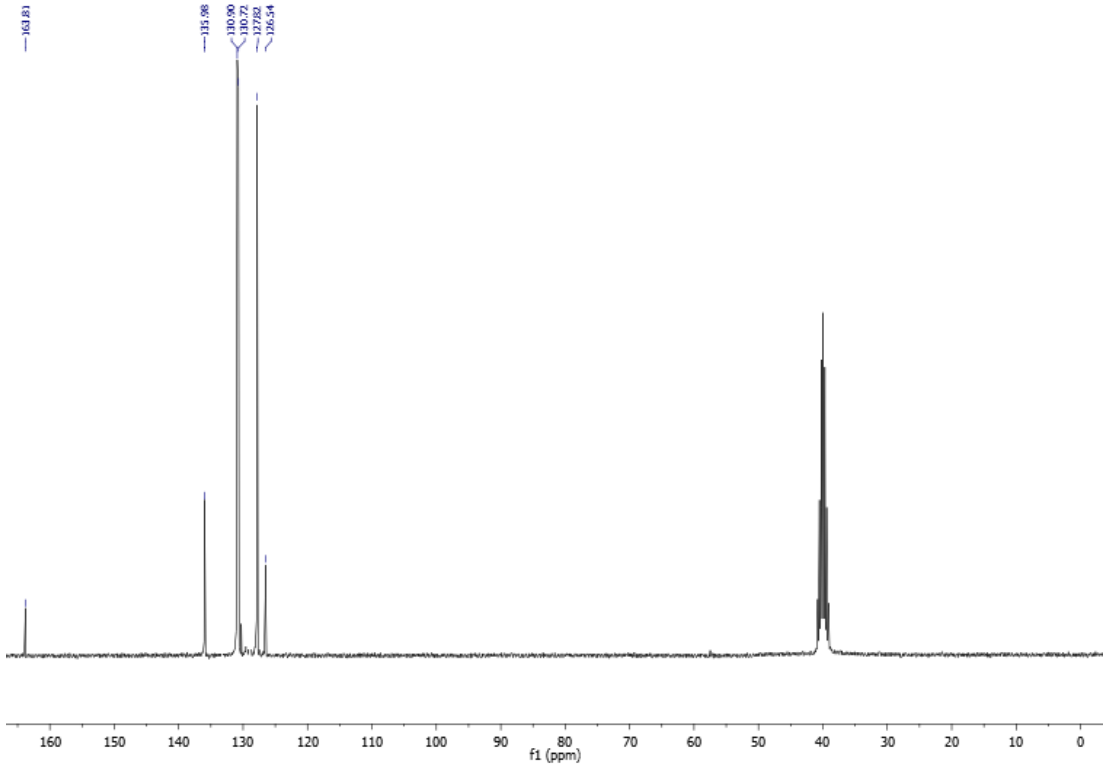


Şekil 4.13. Bileşik 29 ve sentez basamağı.

Bileşik 29 ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumu incelenerek (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15) yapıların doğruluğu gösterilmiştir.

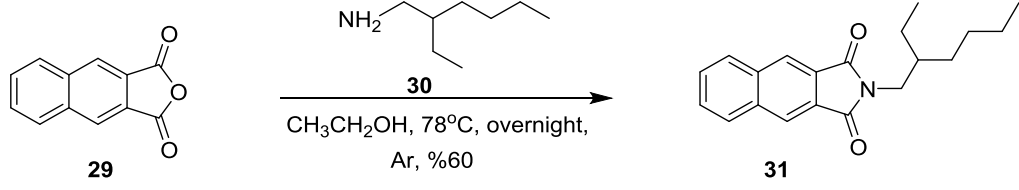


Şekil 4.14. Bileşik 29'un ¹H NMR spektrumu (DMSO-*d*₆).



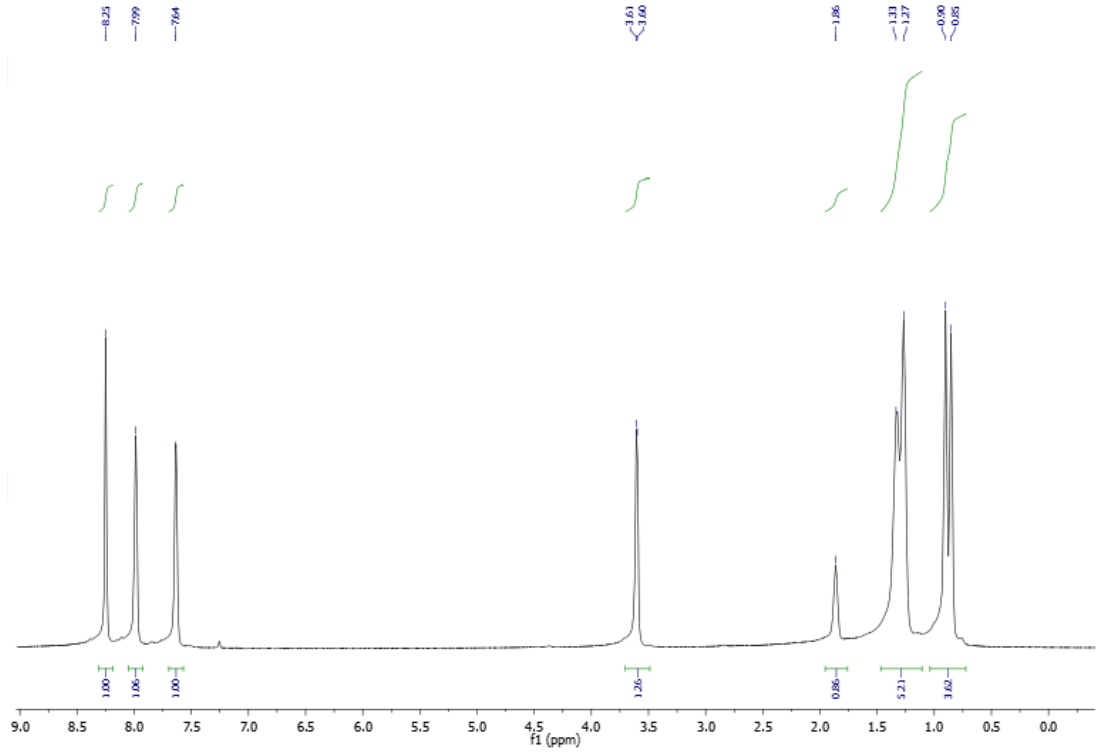
Şekil 4.15. Bileşik 29'un ¹³C NMR spektrumu (DMSO-*d*₆).

Altıncı basamakta, Anhidritin **29**, 2-etil hekzilamin **30** ile etanolde reaksiyonu sonucunda (Şekil 4.16) amit **31** %60 verim ile elde edildi [94].

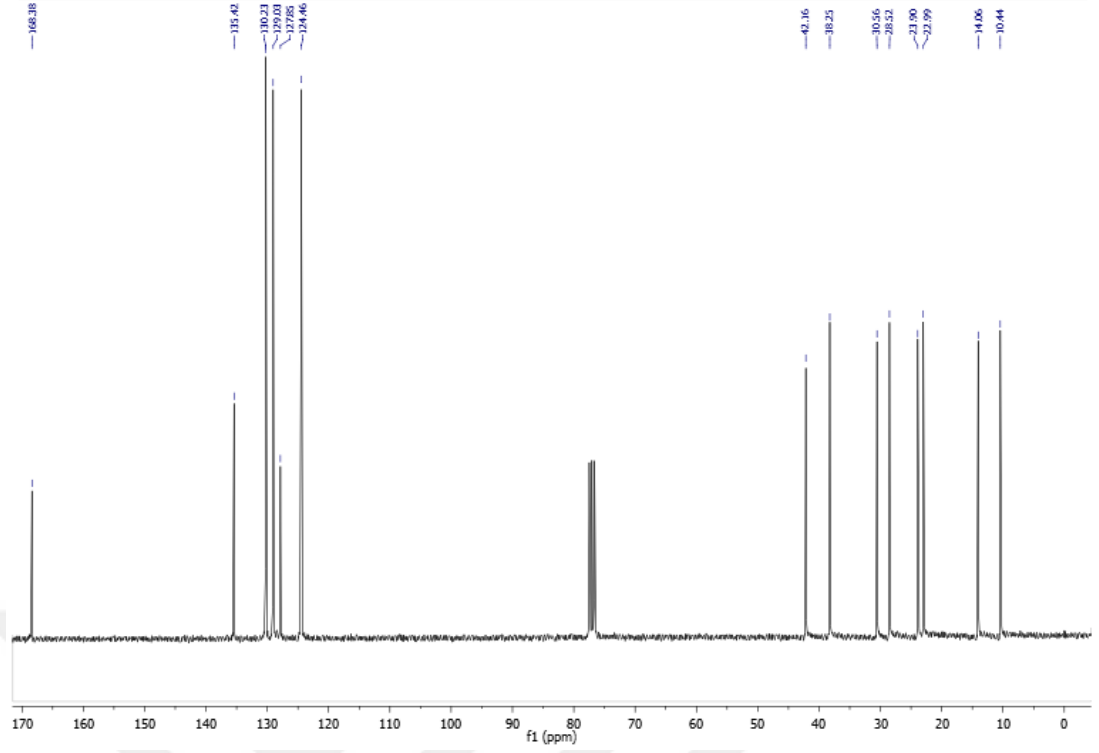


Şekil 4.16. Bileşik **31** ve sentez basamağı.

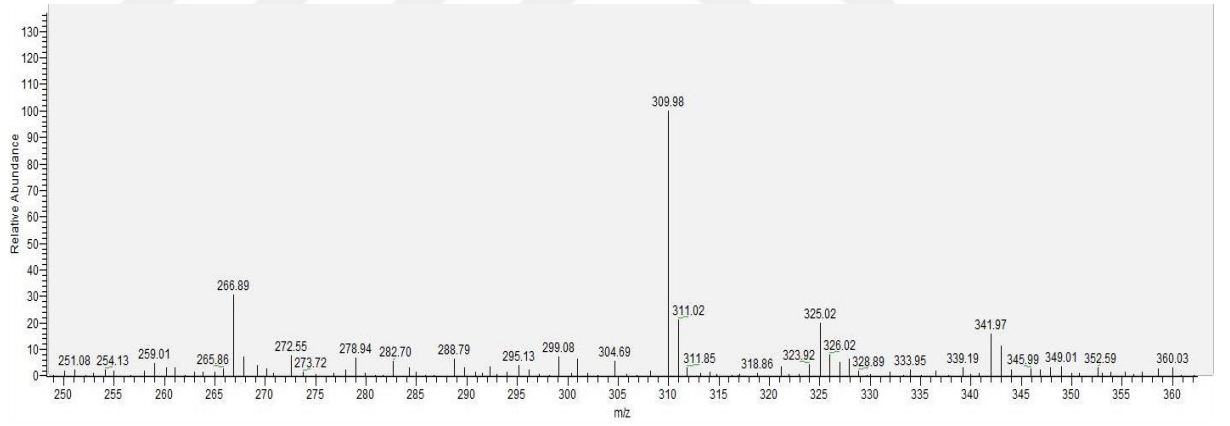
Amitin **31** yapısı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumlarına (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18) ek olarak LC MS kütle spektrumu (Şekil 4.19) ile doğrulanmıştır (LC MS (m/z) hesaplanan $[\text{M}]^+$: 309,17 ölçülen $[\text{M}]^+$: 309,98).



Şekil 4.17. Bileşik **31**'in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).

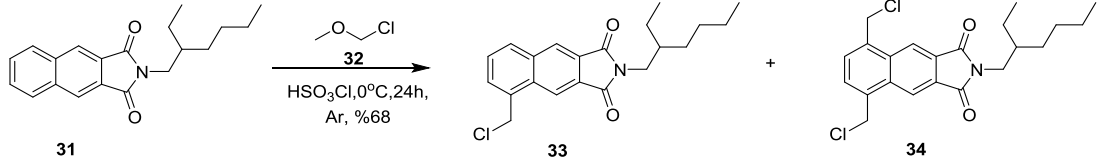


Şekil 4.18. Bileşik 31'in ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3).



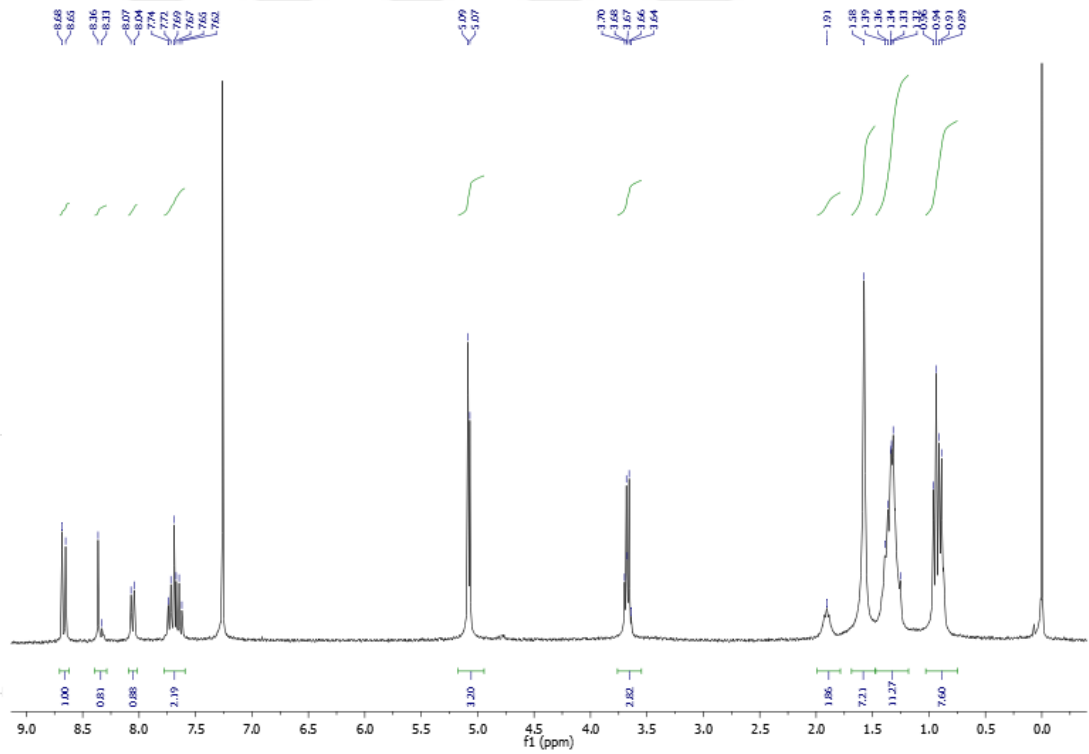
Şekil 4.19. Bileşik 31'in LC MS kütle spektrumu.

Yedinci basamakta, amit **31**, klorometil metil eter **32** ile asidik ortamda tepkimeye sokulmuş (Şekil 4.20) ve kolon kromatografisi neticesinde iki ürün **33** ve **34** izole edilmiştir [95].

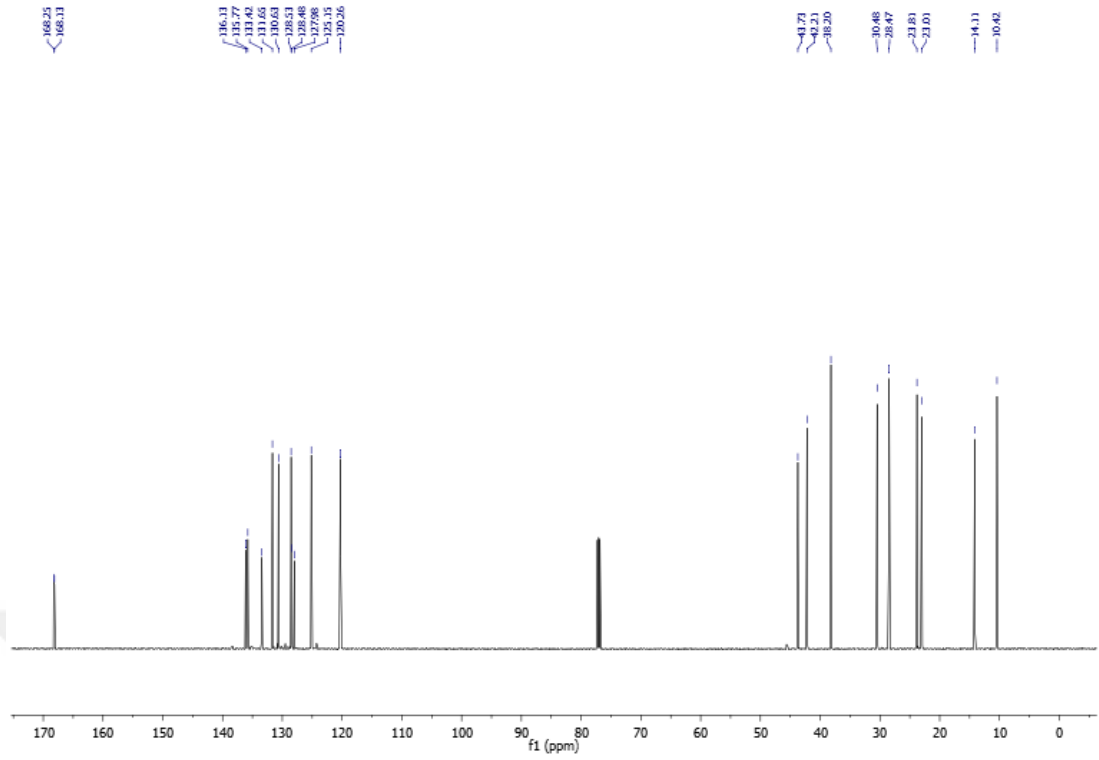


Şekil 4.20. Bileşik **33**, **34** ve sentez basamağı.

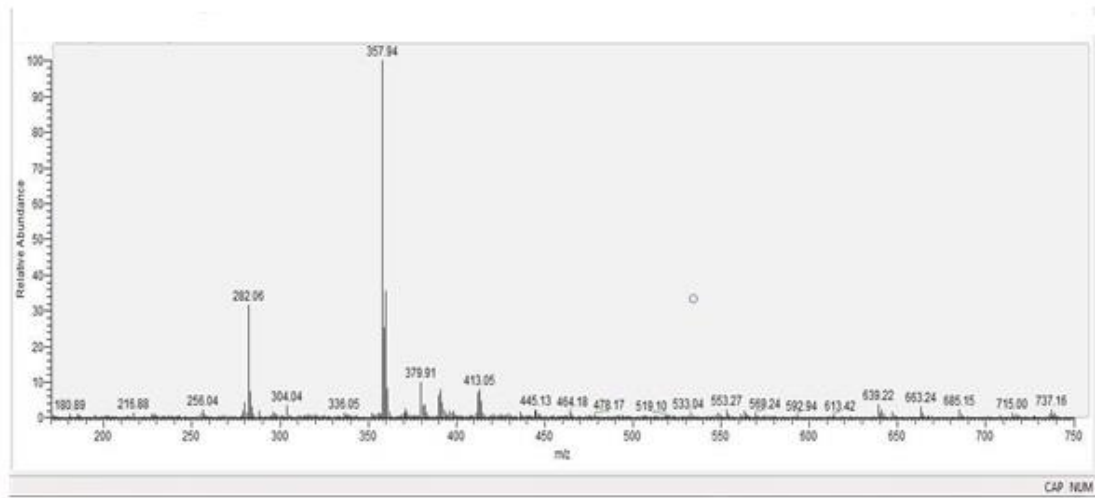
Ürünlerin NMR ve kütle spektrumlarının (Şekil 4.21, 4.22, 4.23, 4.24, 4.25 ve 4.26) analizi neticesinde **33** ve **34** ile gösterilen bileşikler olduğu belirlenmiştir. **33** için LC MS (m/z) hesaplanan $[M]^+$: 357,15 ölçülen $[M]^+$: 357,94. **34** için LC MS (m/z) hesaplanan $[M]^+$: 405,13 ölçülen $[M]^+$: 405,92 olarak kaydedilmiştir.



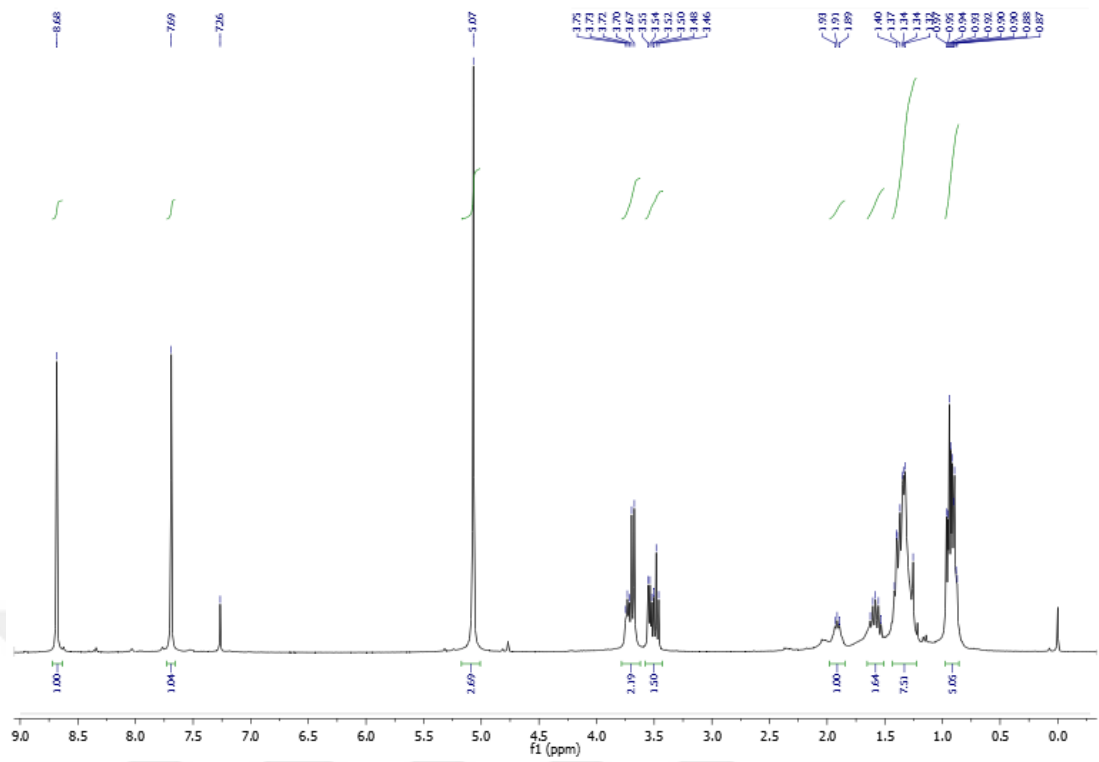
Şekil 4.21. 5-(klorometil)-2-(2-etilhekzil)-1H-benzo[f]izoindol-1,3(2H)-dion (**33**) için ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).



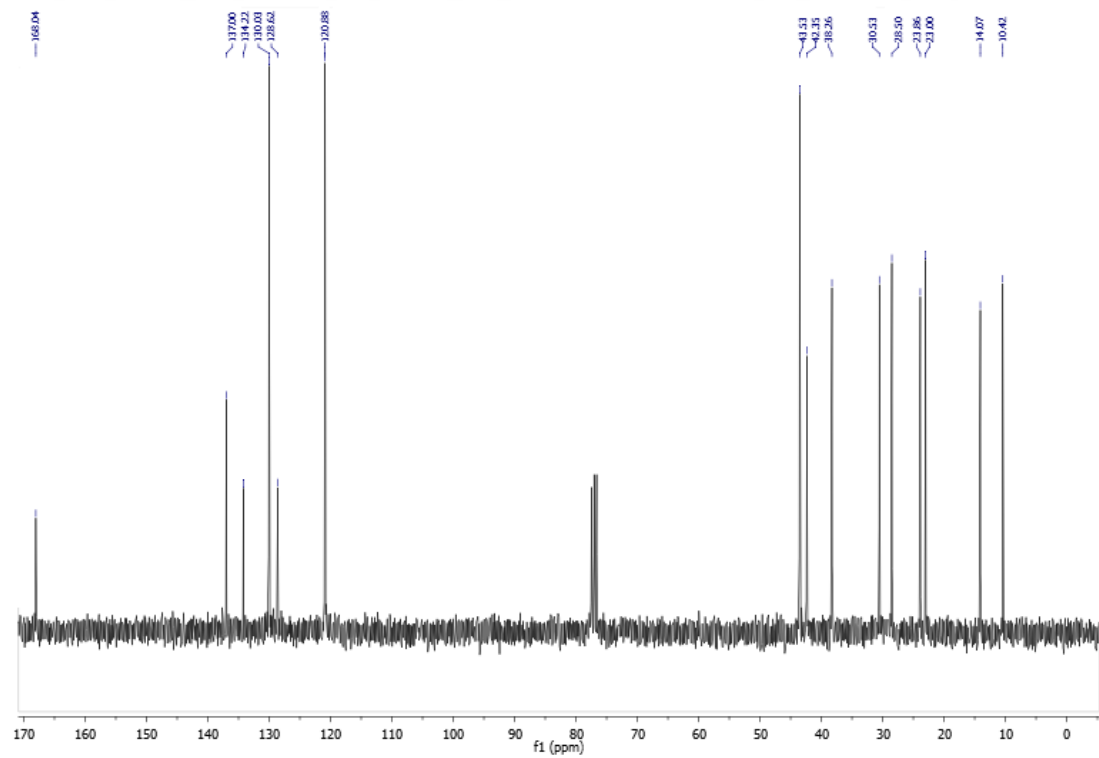
Şekil 4.22. 5-(klorometil)-2-(2-etilhekzil)-1*H*-benzo[f]izoindol-1,3(2*H*)-dion (33) için ¹³C-NMR spektrumu (CDCl₃).



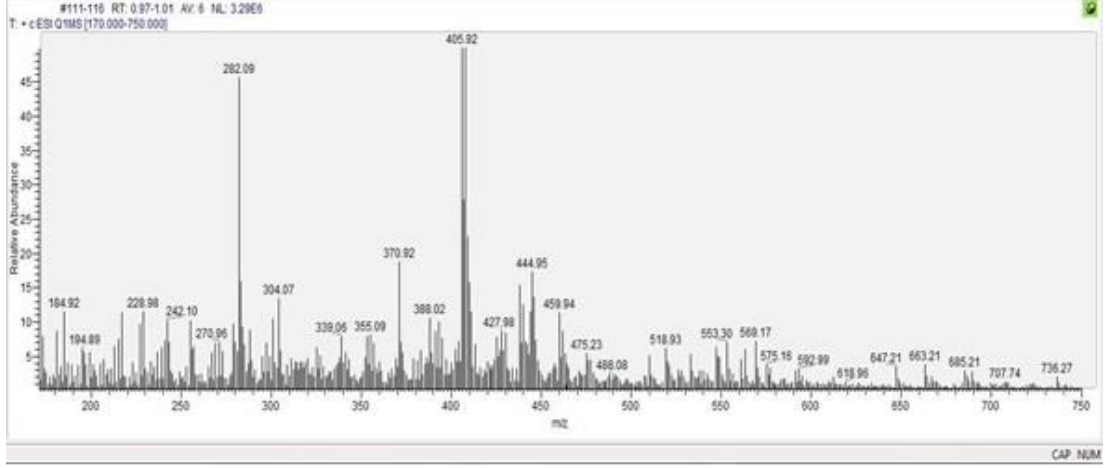
Şekil 4.23. 5-(klorometil)-2-(2-etilhekzil)-1*H*-benzo[f]izoindol-1,3(2*H*)-dion (33) için LC-MS kütle spektrumu.



Şekil 4.24. 5,8-bis (klorometil)-2-(2-etilheksil)-1*H*-benzo[f]izindol-1,3(2*H*)-dion (34) için ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).

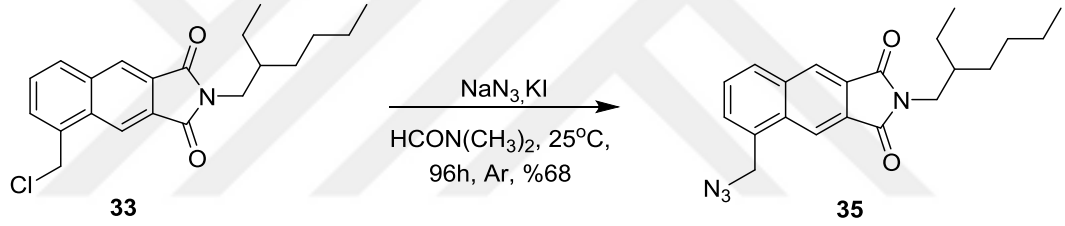


Şekil 4.25. 5,8-bis(klorometil)-2-(2-etilheksil)-1*H*-benzo[f]izindol-1,3 -(2*H*)-dion (34) için ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3).



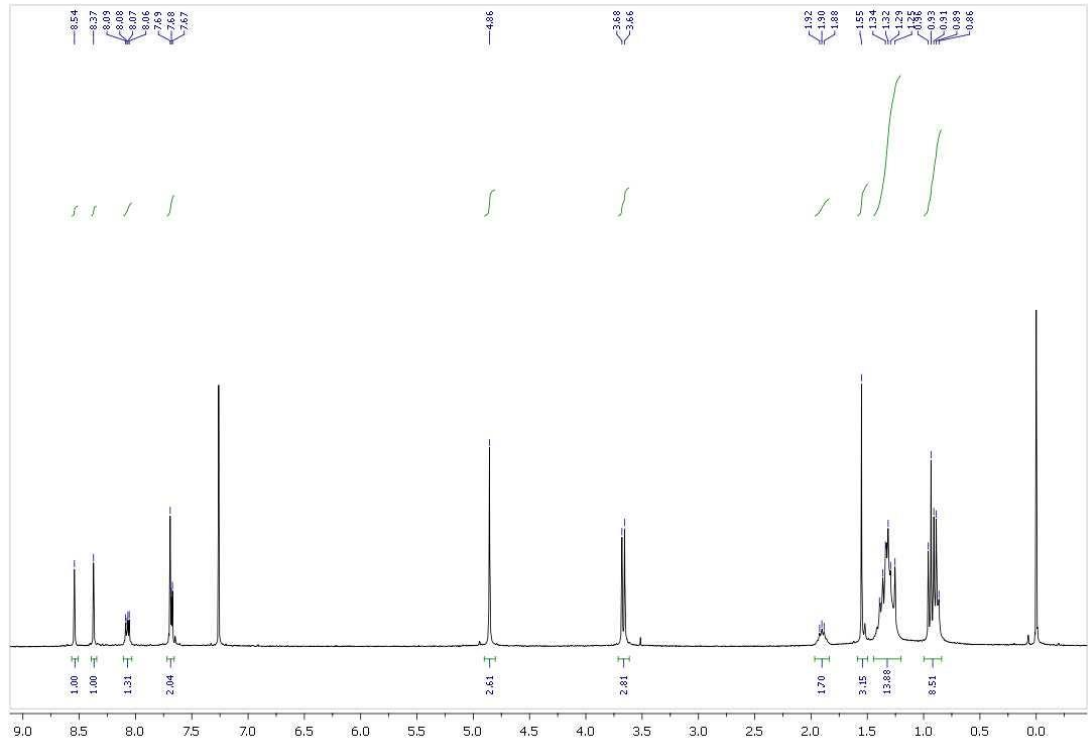
Şekil 4.26. 5,8-bis(klorometil)-2-(2-etilheksil)-1*H*-benzo[*f*]izoin dol-1,3 -(2*H*)-dion (**34**) için LC-MS kütle spektrumu.

Sekizinci basamakta, bileşik **33** ve sodyum azit ile etkileştirilmiş (Şekil 4.27) ve tepkime sonucu bileşik **35**, %68 verim ile sentezlenmiştir [96].

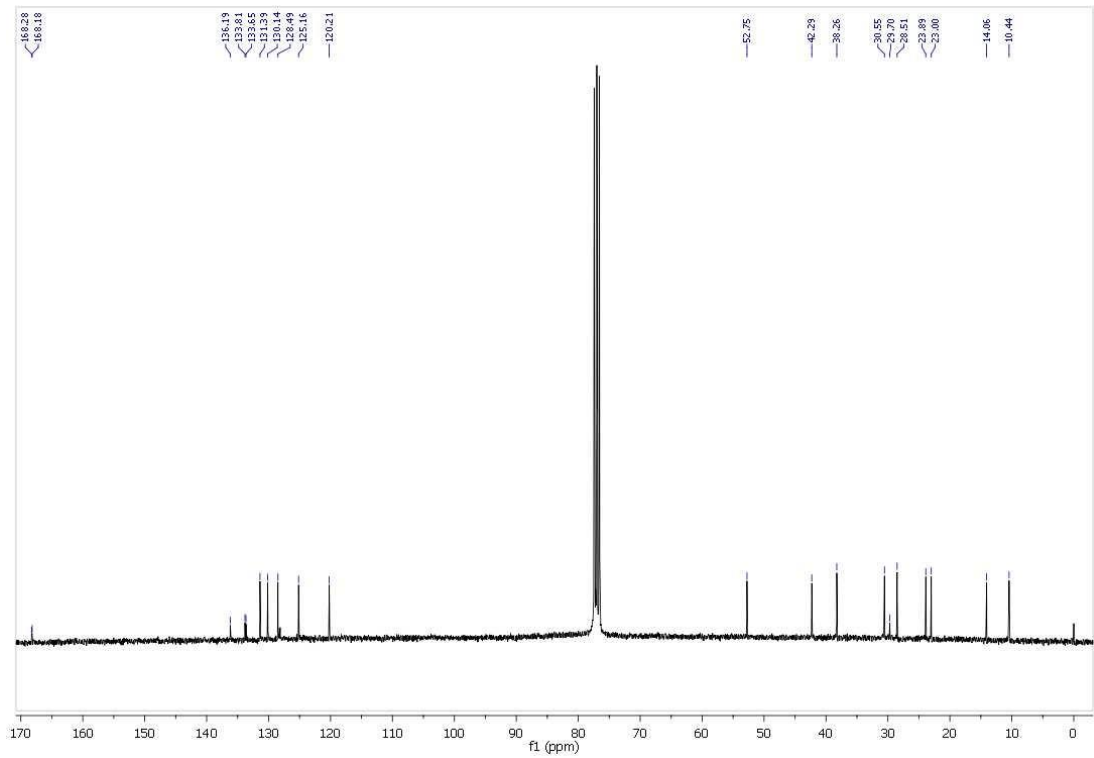


Şekil 4.27. Bileşik **35** ve sentez basamağı.

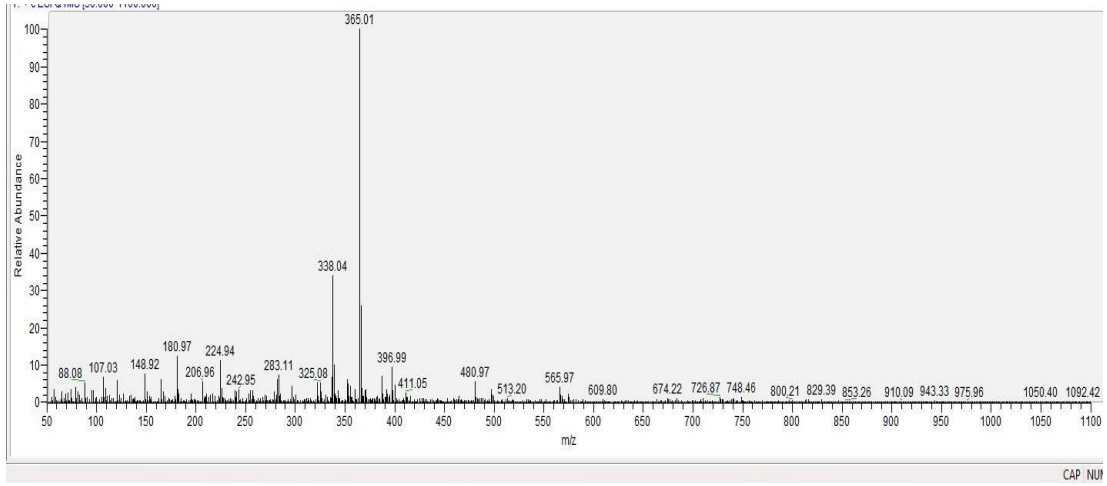
Bileşiğin **35** yapısı ^1H ve ^{13}C NMR ile kütle spektrumları (Şekil4.28-4.30) üzerinden doğrulanmıştır. **35** için LC MS (m/z) hesaplanan $[\text{M}]^+$: 364,19, ölçülen $[\text{M}]^+$: 365,01.



Şekil 4.28. 5-(azidometil)-2-(2-etilheksil)-1*H*-benzo[f]izoindol-1,3(2*H*)-dion (35) için ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).

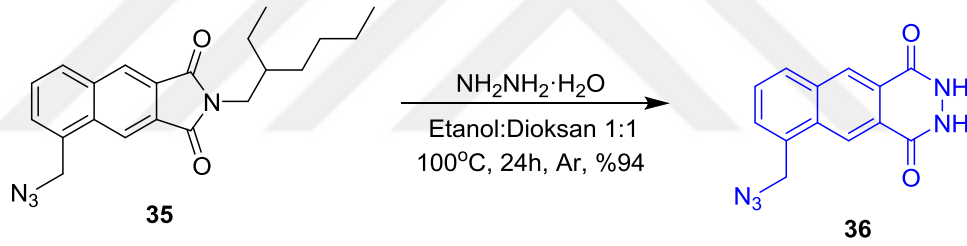


Şekil 4.29. 5-(azidometil)-2-(2-etilheksil)-1*H*-benzo[f]izoindol-1,3(2*H*)-dion (35) için ^{13}C -NMR spektrumu ($\text{DMSO}-d_6$).



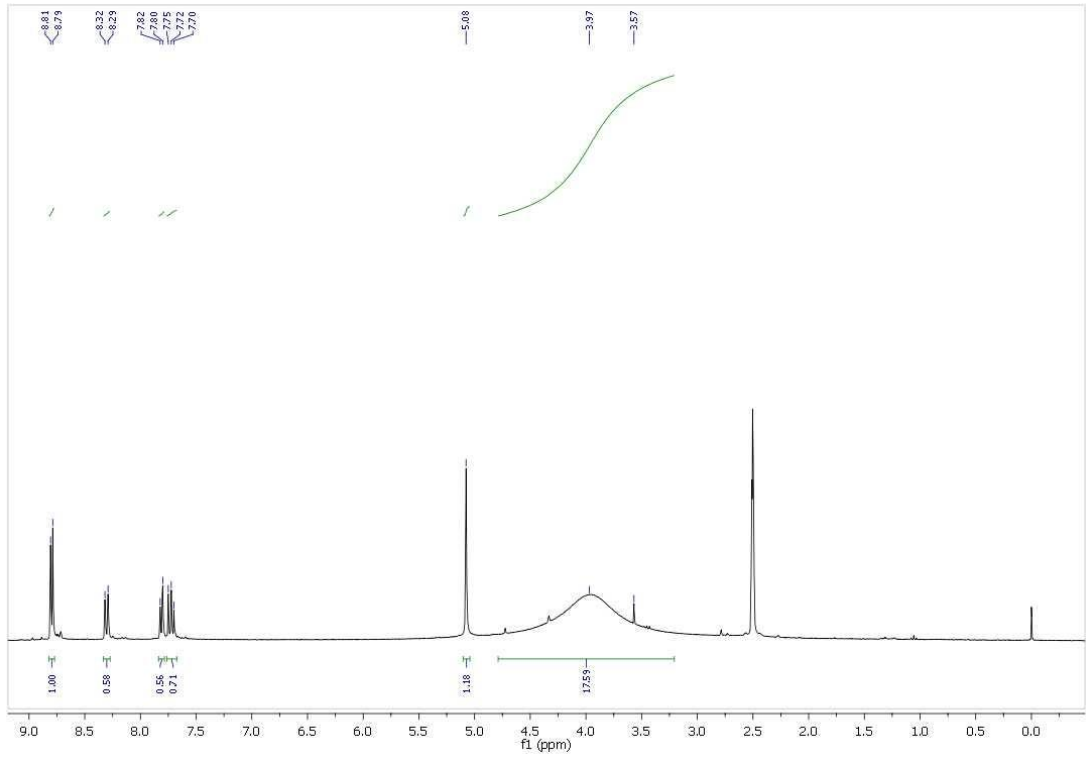
Şekil 4.30. 5-(azidometil)-2-(2-etilheksil)-1*H*-benzo[*f*]izoindol-1,3(2*H*)-dion (**35**) için LC-MS kütle spektrumu.

Dokuzuncu basamakta, bileşiğin **35** hidrazin hidrat ile muamele edilmesi ile (Şekil 4.31) tepkime sonucunda [96] çöktürülen ürünün **36** yapısı ^1H ve ^{13}C NMR ile kütle spektrumları (Şekil 4.32-4.34) analiz edilerek doğrulanmıştır.

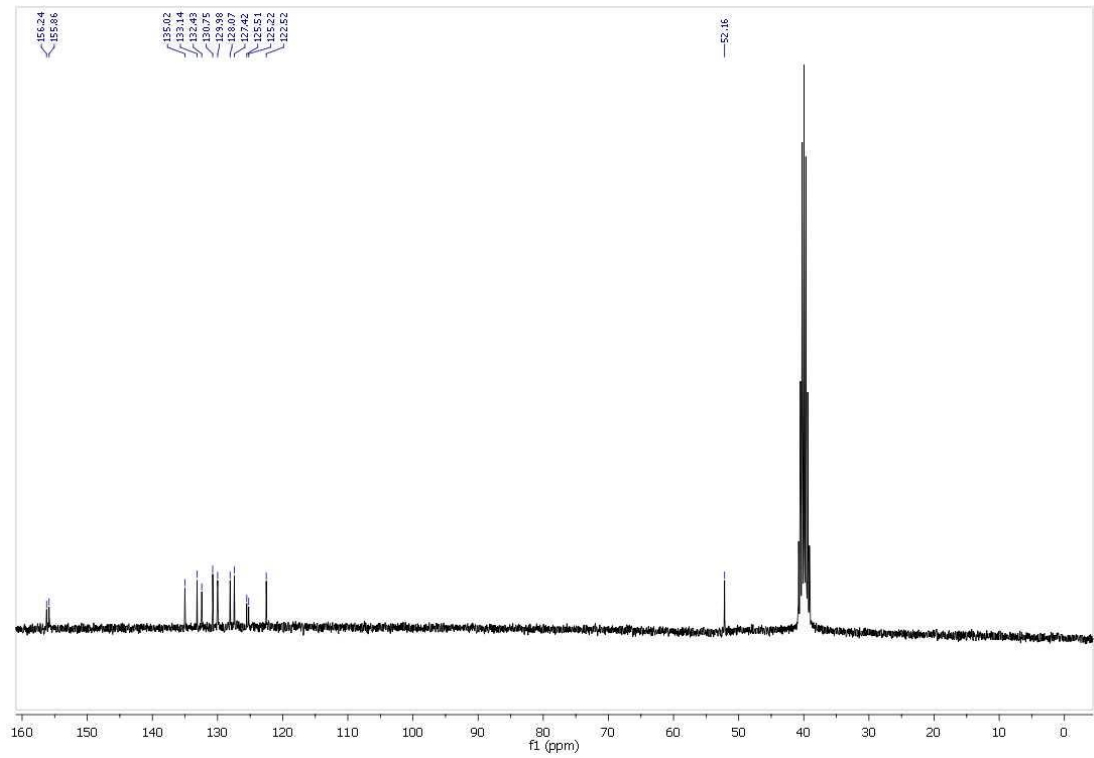


Şekil 4.31. Bileşik **36** ve sentez basamağı.

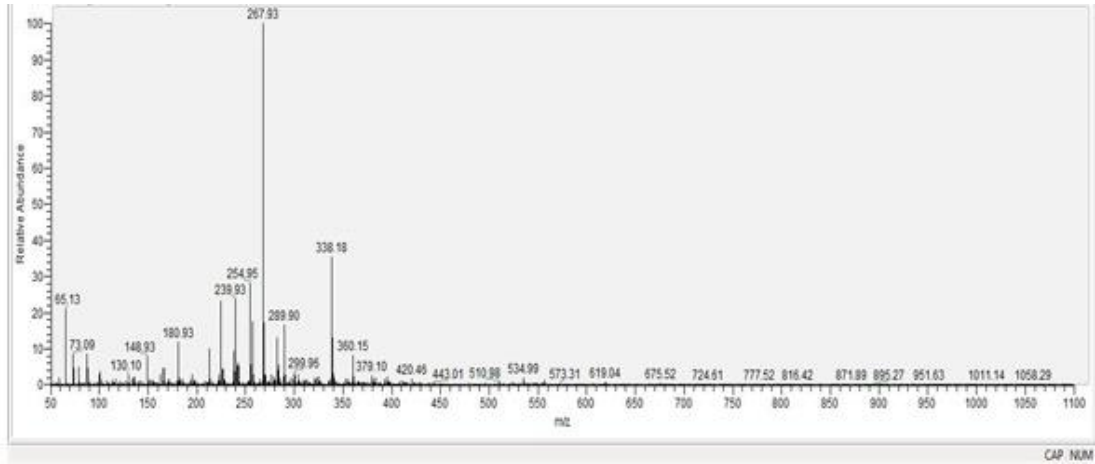
36 için LC MS [(*m/z*) hesaplanan [*M*]⁺: 267,08, ölçülen [*M*]⁺: 267,93] kütle spektrumu yapıyla uyumludur.



Şekil 4.32. 6-(azidometil)-2,3-dihidro-benzo[g]fitalazin-1,4-dion (36) için ¹H NMR spektrumu (DMSO-*d*₆).

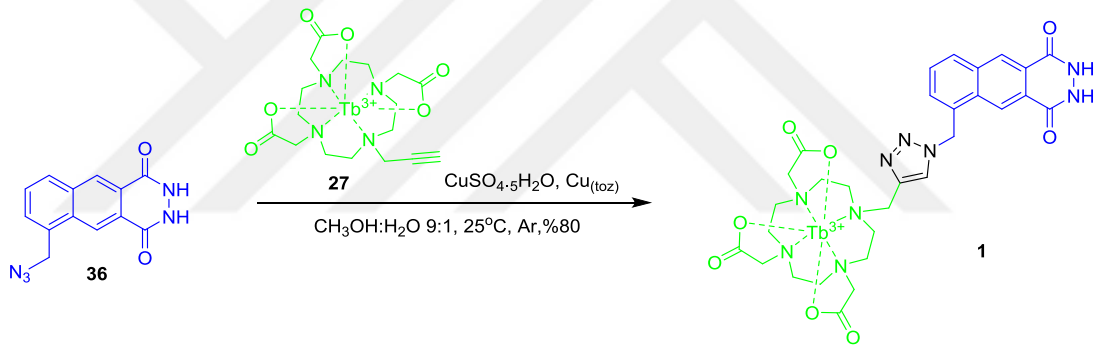


Şekil 4.33. 6-(azidometil)-2,3-dihidro-benzo[g]fitalazin-1,4-dion (36) için ¹³C NMR spektrumu (DMSO-*d*₆).



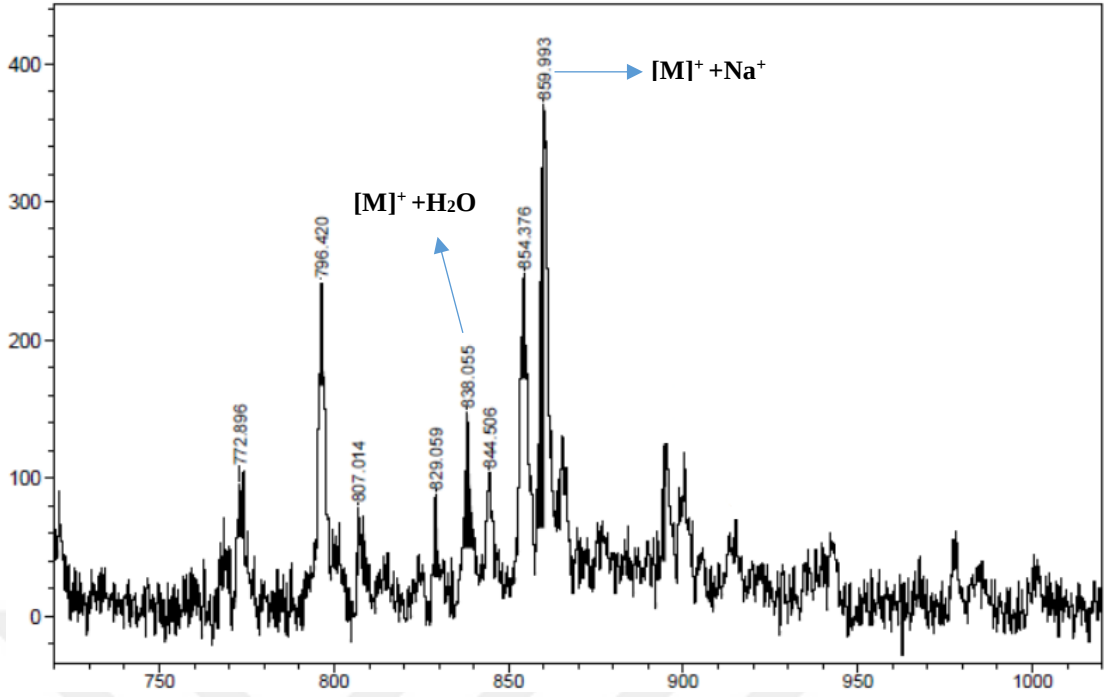
Şekil 4.34. 6-(azidometil)-2,3-dihidro-benzo[g]fitalazin-1,4-dion (**36**) için LC-MS kütle spektrumu.

Onuncu basamakta, bileşik **36** ile Tb (III) DO3A kompleksi **27** uygun koşullarda etkileştirilmiştir [97] (Şekil 4.35).



Şekil 4.35. Bileşik **1** ve sentez basamağı.

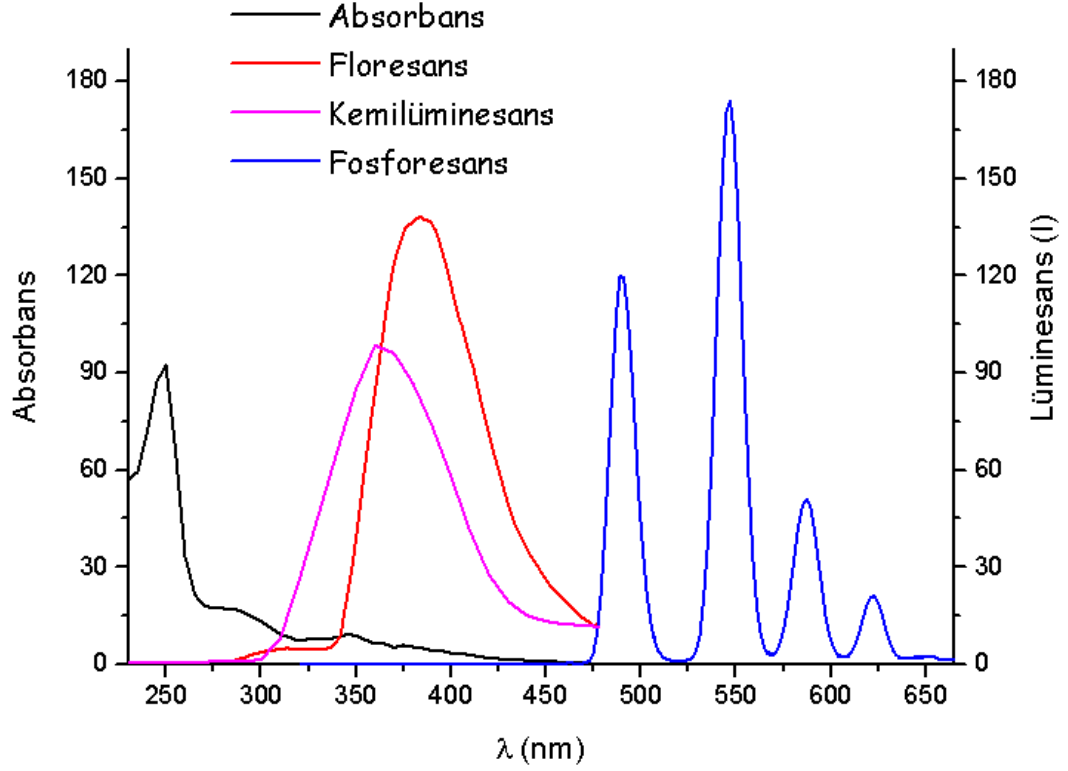
Gerçekleştirilen tepkimede hedef bileşiğin **1** olduğu kütle spektrumu (Şekil 4.36) analizi neticesinde anlaşılmıştır. (Hedef bileşik **1** için MALDI-TOFF (m/z) hesaplanan $[M]^+$: 837,23, ölçülen $[M]^+$: 838,05 ve $[M]^+ + H_2O = 854,37$ $[M]^+ + Na^+ = 859,99$).



Şekil 4.36. Bileşik 1 için MALDI-TOFF kütle spektrumu.

4.2 Çoklu Emisyon Ajanının Fotofiziksel Özellikleri

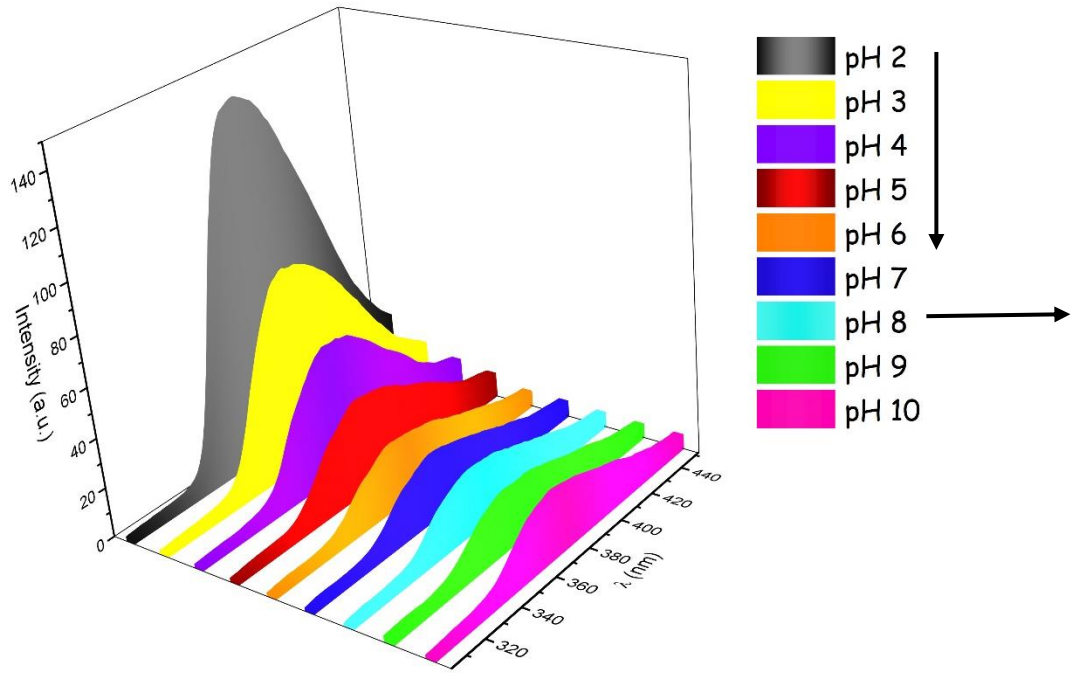
Bileşiğin 1 fizyolojik koşullara yakın ortamda (0.01M pH=7.4 PBS) soğurma, floresans ve fosforesans spektrumlarına ek olarak kemilüminesans emisyon spektrumu incelendi ve fotofiziksel özellikleri aydınlatıldı. Elde edilen veriler sonucu bileşiğin 1 çoklu emisyon yapabilme yeteneğine sahip yeni bir ajan ve çoklu emisyon yapabilen moleküler sistemlere ışık tutabilecek olan jenerik bir platform olabileceği anlaşılmıştır. Şekil 4.37’ de bileşik 1’e ait çoklu emisyon spektrumu gösterilmiştir.



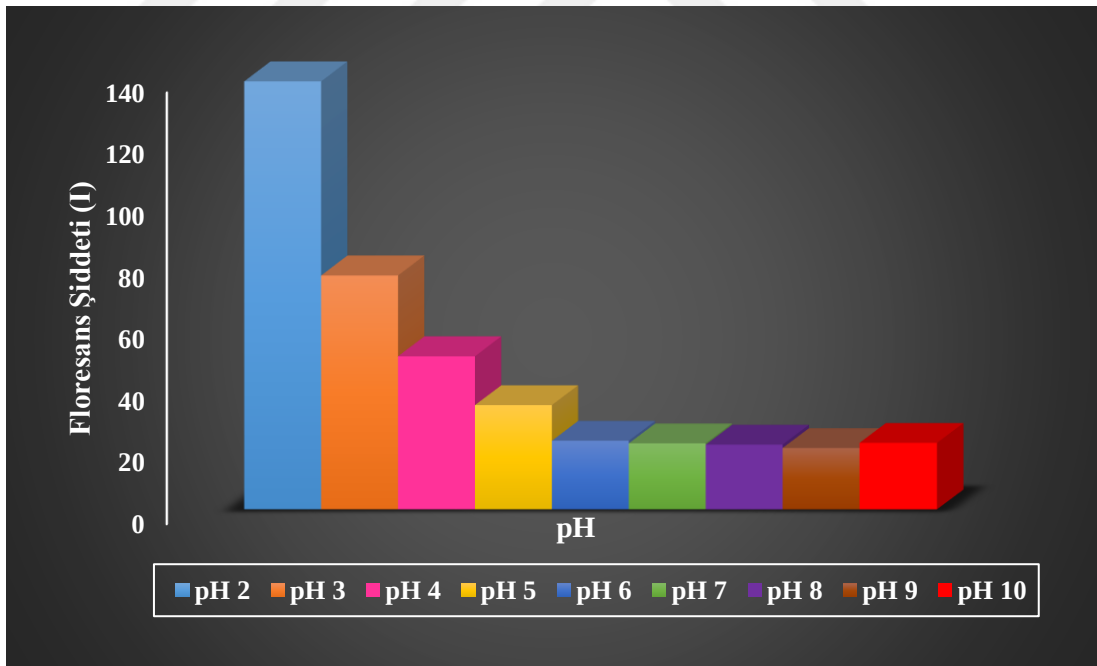
Şekil 4.37. Bileşiğin **1** normalize edilmiş soğurma ve çoklu emisyon spektrumu ($1.18 \times 10^{-4} \text{ M}$ **1** ve 0.01 M pH=7.4 PBS için absorbans; $\lambda_{\text{max}} = 249 \text{ nm}$, floresans; $\lambda_{\text{exc}} = 245 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}$, fosforesans; $\lambda_{\text{exc}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 490 \text{ nm}$, 546 nm , 586 nm , 620 nm . Kemilüminesans; $3.12 \times 10^{-5} \text{ M}$ **1** $\lambda_{\text{em}} = 360 \text{ nm}$).

4.3 Çoklu Emisyon Ajanının pH Değişimine Karşı Fotofiziksel Davranışları

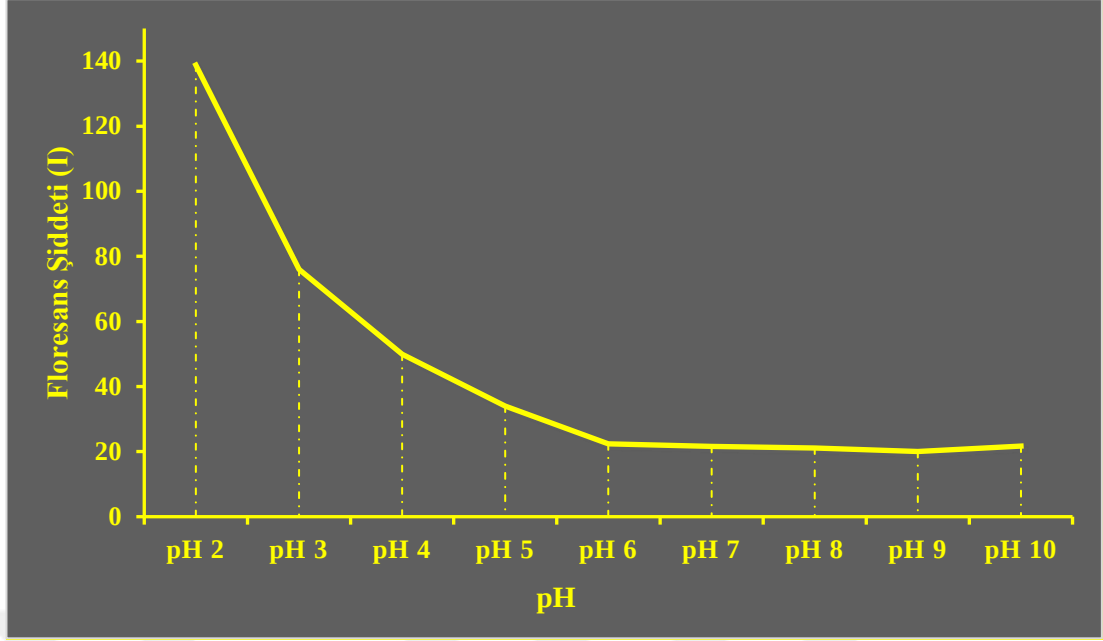
Bileşiğin **1** farklı pH değerlerindeki floresans emisyonu incelendi. Özellikle asidik pH'dan nötral pH'lara doğru ilerledikçe pH [2-10] aralıklarında bileşiğin emisyon bandında ortaya çıkan değişimler (Şekil 4.38-4.40) dikkat çekicidir.



Şekil 4.38. Bileşiğin 1 farklı pH değerlerindeki floresans spektrumunda meydana gelen değişimler (Universal Buffer; $1.17 \times 10^{-4} \text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 245 \text{ nm}$).



Şekil 4.39. Bileşiğin 1 farklı pH değerlerindeki floresans spektrumunda meydana gelen değişimleri içeren sütun grafiği (Universal Buffer; $1.17 \times 10^{-4} \text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 245 \text{ nm}$).



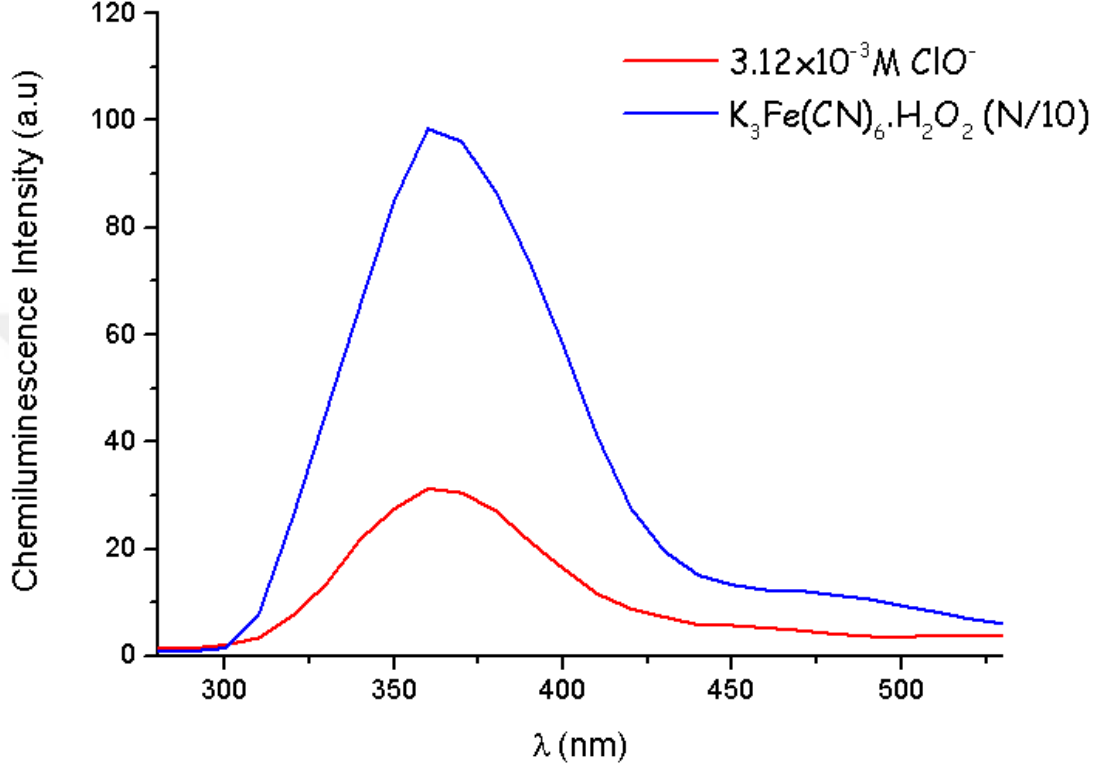
Şekil 4.40. Bileşiğin **1** farklı pH değerlerindeki floresans çizgi grafiği (Universal Buffer; $1.17 \times 10^{-4} \text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 245 \text{ nm}$).

Bileşiğin **1**, ortam pH'nın asidik pH'dan nötral pH'a doğru ilerlemesi ile floresans emisyon bandında ki değişimlere bakıldığında ışıma şiddetinin azaldığı, nötral pH'dan bazik pH'a doğru ilerledikçe bileşiğin **1**, pH kararlılığı gözlemlenerek floresans emisyon şiddetinde dramatik değişikliklerin olmadığı tespit edilmiştir.

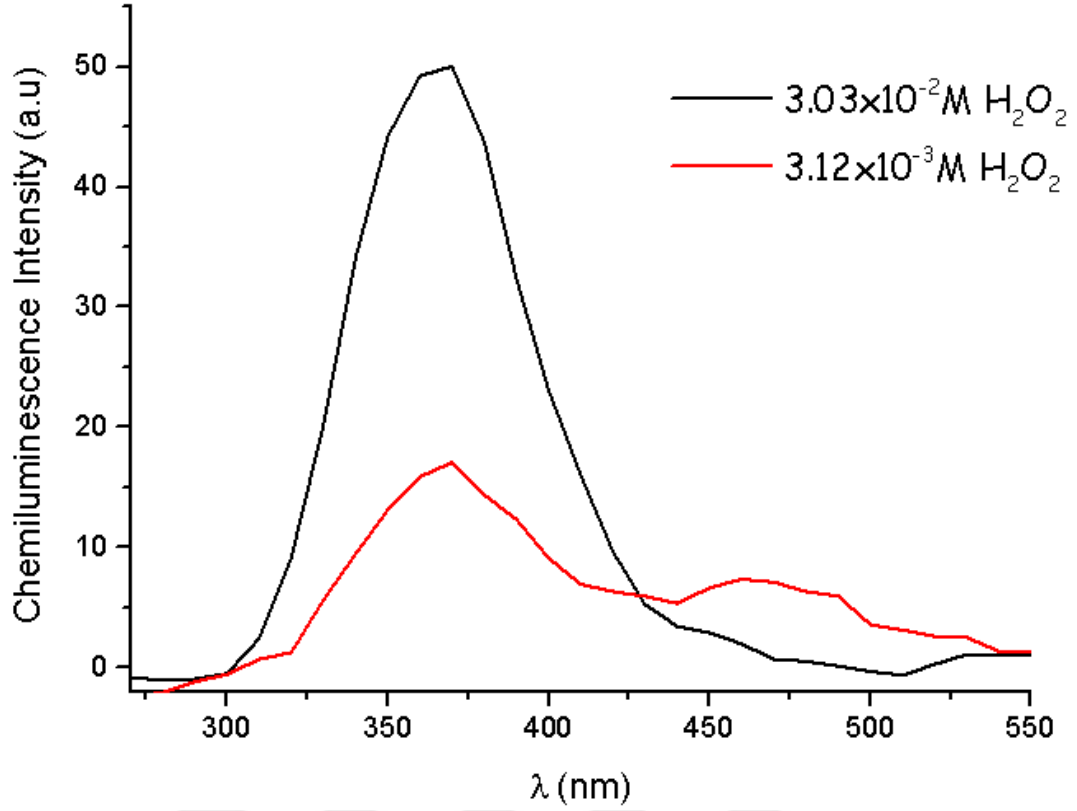
4.4 Çoklu Emisyon Ajanının Kemilüminesans Emisyon Deneyleri

Öncelikle bileşik **1**'in, kemilüminesans emisyon deneylerini gerçekleştirmek için belirlenmesi gereken en önemli parametrelerden biri olan deney ortamı, azami sinyalleri elde etme öngörüsüne dayanarak belirlenmiştir, bu öngörü sonucu iki deney ortamı ve kemilüminesans ışıma prosesi için gerekli olan kimyasal tetikleyici ve/veya tetikleyiciler yapılan denemeler sonucu şu şekilde belirlenmiştir; ortam, 3M sodyum hidroksit (NaOH) ve karbonat tampon ortamı ($3.77 \times 10^{-2} \text{M}$ Na_2CO_3 , $2.85 \times 10^{-1} \text{M}$ NaHCO_3 , $2.50 \times 10^{-3} \text{M}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Kimyasal uyarıcılar (tetikleyiciler) ise reaktif oksijen türlerinden (ROT) seçilmiş olup deney ortamına göre farklılık göstermiştir. 3M NaOH deney ortamında gerçekleştirilen kemilüminesans emisyon deneyleri sonucu $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ ve $3.12 \times 10^{-3} \text{M}$ ClO^- ile ayrı ayrı kemilüminesans emisyon spektrumları gözlemlenmiştir Şekil 4.41.

Karbonat tampon ortamında ise $3.03 \times 10^{-2} \text{M}$ H_2O_2 ve $3.12 \times 10^{-3} \text{M}$ H_2O_2 gibi farklı derişimlerde eklenen ROT sonucu kemilüminesans emisyon spektrumu gözlemlenmiş ve ROT derişiminin emisyon şiddeti üzerine etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır Şekil 4.42.



Şekil 4.41. Bileşiğin **1** bazı reaktif oksijen türleri varlığında kemilüminesans emisyon spektrumu (3M NaOH, $3.22 \times 10^{-5} \text{M}$, Mavi Bant= $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ N/10, Kırmızı Bant= $3.12 \times 10^{-3} \text{M ClO}^-$).

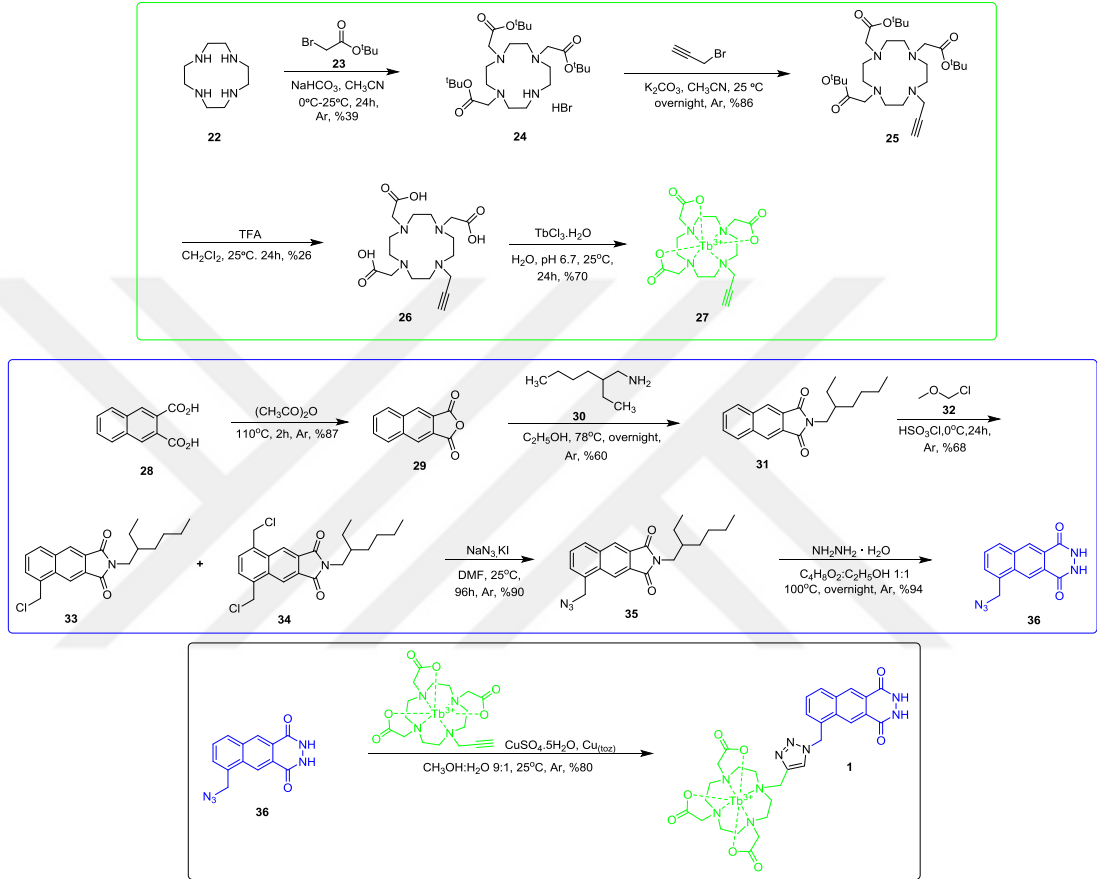


Şekil 4.42. Bileşiğin **1** bazı reaktif oksijen türleri varlığında kemilüminesans emisyon spektrumu ($3.77 \times 10^{-2} \text{M Na}_2\text{CO}_3$, $2.85 \times 10^{-1} \text{M NaHCO}_3$, $2.50 \times 10^{-3} \text{M CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $3.22 \times 10^{-5} \text{M}$, $3.22 \times 10^{-5} \text{M}$, Siyah Bant= $3.03 \times 10^{-2} \text{M H}_2\text{O}_2$, Kırmızı Bant= $3.12 \times 10^{-3} \text{M H}_2\text{O}_2$).

Yapılan kemilüminesans testler sonucu, bileşiğin **1** bazik ortam 3M NaOH içerisinde H_2O_2 ve ClO^- , karbonat tampon ortamı içerisinde ise sadece H_2O_2 duyarlılığı emisyon spktrumlarında gözlemlenmiştir, test ortamının değişmesi bileşiğin **1** kemilüminesans yapma yeteneğini etkilemezken, reaktif oksijen türü seçiciliği üzerine etkili olmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında tasarım, sentez ve çalışma ortamı açısından literatürde eşi ve benzeri bir çoklu emisyon ajanı bulunmayan hedef bileşik **1** aşağıda gösterilen sentez kademeleri üzerinden başarıyla sentezlenmiş olup (Şekil 5.1) temel fotofiziksel özellikleri incelenmiştir.



Şekil 5.1. Hedef bileşik **1**'e ait sentez kademeleri.

Lüminol türevi ve lantanit metali içeren bileşiklerle ilgili araştırmalar ve çalışmalar son dönemlerde birbirinden farklı olarak ilgi çekmektedir. Fakat hedef bileşik **1**, benzeri çoklu lüminesan ajanlarına ilişkin çalışmalar literatürde bulunmamaktadır. Bu nedenle hedef bileşik literatürde ilk olması nedeniyle oldukça önemlidir. Bu tez çalışması kapsamında öncelikle çoklu lüminesan ajanı olan hedef bileşik **1**, sentezlenmiş ve yapısal karakterizasyonu spektroskopik yöntemlerle doğrulanmıştır. Öncelikle bileşiğin **1**, temel olarak fotofiziksel özellikleri ve spektrumlarını incelemek için 0.01M pH= 7.4 PBS ortamında soğurma, floresans ve fosforesans emisyon bantlarına ek olarak 3M NaOH ve karbonat tampon ortamında

kemilüminesans emisyon bantları incelenmiş olup ve tasarımı ve sentezi gerçekleştirilen bileşiğin **1**, öngörüldüğü gibi son derece mükemmel ve başarılı bir çoklu emisyon ajanı olduğu ortaya konmuştur. Ardından bileşiğin pH'ya bağlı fotofiziksel özelliklerindeki değişim incelenmiş ve pH [2-6] aralığında floresans emisyon bandında dramatik değişimler olduğu ve pH [7-10] arasındaki pH kararlılığı not edilmiştir.



KAYNAKLAR

1. Gundermann, K. D., 1974. Recent advances in research on the chemiluminescence of organic compounds, In Photochemistry, Springer., Clausthal-Zellerfeld, Germany.
2. Harvey, E. N., 1958. A history of luminescence from the earliest times until 1900, The American Historical Review, 63, 4, 937-939
3. White, E. H., Miano, J. D., Watkins, C. J. ve Breaux, E. J., 1974. Chemically produced excited states, Angewandte Chemie International Edition in English, 13, 4, 229-243.
4. 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.
5. 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, 6, 1966-1968.
6. Szalay, A. A., Kricka, L. J. ve Stanley, P. E., 1993. Bioluminescence and chemiluminescence, In International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence, Banff, Canada, Proceedings Book, 65-132.
7. Wienhausen, G. ve De Luca, M., 1986. Bioluminescent assays using coimmobilized enzymes, Methods in Enzymology, 133, 17, 198-208.
8. 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, 4, 183-199.
9. Shimomura, O., Johnson, F. H. ve Saiga, Y., 1963. Microdetermination of calcium by aequorin luminescence, Science, 140, 3573, 1339-1340.
10. Cormier, M., 2013. Chemiluminescence and bioluminescence. Springer Science & Business Media., Georgia, USA.
11. Babko, A. ve Dubovenko, L., 1964. Verbesserung der empfindlichkeit der katalytischen chemilumineszenzreaktion auf kupfer, Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie, 200, 6, 428-434.
12. Patrovský, V., 1976. Hydrogen peroxide determination with luminol and a new catalyst, Talanta, 23, 7, 553-554.
13. Bostick, D. T. ve Hercules, D. M., 1975. Quantitative determination of blood glucose using enzyme induced chemiluminescence of luminol, Analytical Chemistry, 47, 3, 447-452.

14. 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, 3, 195-206.
15. Bronstein, I., Fortin, J., Stanley, P. E., Stewart, G. S. ve Kricka, L. J., 1994. Chemiluminescent and bioluminescent reporter gene assays, *Analytical Biochemistry*, 219, 2, 169-181.
16. Vaughan, W. R., 1948. The chemistry of the phthalazines, *Chemical Reviews*, 43, 3, 447-508.
17. Roswell, D. F. ve White, E. H., 1978. The chemiluminescence of luminol and related hydrazides, *Methods in Enzymology*, 57, 36, 409-423.
18. 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, 1-12.
19. Sassolas, A., Blum, L. J. ve Leca-Bouvier, B. D., 2008. Electrogeneration of polyluminol and chemiluminescence for new disposable reagentless optical sensors, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390, 3, 865-871.
20. Panoutsou, P. ve Economou, A., 2005. Rapid enzymatic chemiluminescent assay of glucose by means of a hybrid flow-injection/sequential-injection method, *Talanta*, 67, 3, 603-609.
21. Erbao, L. ve Bingchun, X., 2006. Flow injection determination of adenine at trace level based on luminol- $K_2Cr_2O_7$ chemiluminescence in a micellar medium, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 2, 649-653.
22. 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, 1-2, 290-293.
23. 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, 6-7, 585-589.
24. Burr, J. G., 1985. *Chemi-and bioluminescence*, 270 Madison Avenue., New York, USA.
25. Stanley, P. E. ve Kricka, L. J., 1991. Bioluminescence and chemiluminescence, In *International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence*, Cambridge, United Kingdom, Proceedings Book, 548.
26. 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, 3, 251-253.

27. 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, 4, 193-198.
28. 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, 5, 271-277.
29. 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, 6, 411-413.
30. Webb, J. L., Creamer, J. I. ve Quickenden, T. I., 2006. A comparison of the presumptive luminol test for blood with four non- chemiluminescent forensic techniques, *Luminescence: The Journal of Biological and Chemical Luminescence*, 21, 4, 214-220.
31. Stoica, B. A., Bunescu, S., Neamtu, A., BulgaruIliescu, D., Foia, L. ve Botnariu, E. G., 2016. Improving luminol blood detection in forensics, *Journal of Forensic Sciences*, 61, 5, 1331-1336.
32. Bünzli, J. C. G. ve Piguet, C., 2005. Taking advantage of luminescent lanthanide ions, *Chemical Society Reviews*, 34, 12, 1048-1077.
33. Jørgensen, C., 1973. The inner mechanism of rare earths elucidated by photo-electron spectra, In *Rare Earths* Springer., Geneva, Switzerland.
34. Armelao, L., Quici, S., Barigelletti, F., Accorsi, G., Bottaro, G., Cavazzini, M. ve Tondello, E., 2010. Design of luminescent lanthanide complexes: from molecules to highly efficient photo-emitting materials, *Coordination Chemistry Reviews*, 254, 5-6, 487-505.
35. Weeks, M. E., 1932. The discovery of the elements. XVI. The rare earth elements, *Journal of Chemical Education* 9, 10, 1751.
36. Bünzli, J. C. G., 2006. Benefiting from the unique properties of lanthanide ions, *Accounts of Chemical Research*, 39, 1, 53-61.
37. Yam, V. W. W. ve Lo, K. K. W., 1999. Recent advances in utilization of transition metal complexes and lanthanides as diagnostic tools, *Coordination Chemistry Reviews*, 184, 1, 157-240.
38. Beeby, A., Botchway, S. W., Clarkson, I. M., Faulkner, S., Parker, A. W., Parker, D. ve Williams, J. G., 2000. Luminescence imaging microscopy and lifetime mapping using kinetically stable lanthanide (III) complexes, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 57, 2-3, 83-89.

39. Dos Santos, C. M., Harte, A. J., Quinn, S. J. ve Gunnlaugsson, T., 2008. Recent developments in the field of supramolecular lanthanide luminescent sensors and self-assemblies, *Coordination Chemistry Reviews*, 252, 23-24, 2512-2527.
40. Davies, G. M., Pope, S. J., Adams, H., Faulkner, S. ve Ward, M. D., 2005. Structural and photophysical properties of coordination networks combining [Ru(bipy)(CN) 4]2-anions and lanthanide (III) cations: rates of photoinduced Ru-to-lanthanide energy transfer and sensitized near-infrared luminescence, *Inorganic Chemistry*, 44, 13, 4656-4665.
41. Aime, S., Crich, S. G., Gianolio, E., Giovenzana, G., Tei, L. ve Terreno, E., 2006. High sensitivity lanthanide (III) based probes for MR-medical imaging, *Coordination Chemistry Reviews*, 250, 11-12, 1562-1579.
42. Benelli, C. ve Gatteschi, D., 2002. Magnetism of lanthanides in molecular materials with transition-metal ions and organic radicals, *Chemical Reviews*, 102, 6, 2369-2388.
43. Crich, S. G., Biancone, L., Cantaluppi, V., Duo, D., Esposito, G., Russo, S., Camussi, G. ve Aime, S., 2004. Improved route for the visualization of stem cells labeled with a Gd- /Eu- chelate as dual (MRI and fluorescence) agent, *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 51, 5, 938-944.
44. Aime, S., Botta, M., Parker, D. ve Williams, J. G., 1996. Extent of hydration of octadentate lanthanide complexes incorporating phosphinate donors: solution relaxometry and luminescence studies, *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 1, 17-23.
45. Bünzli, J., Comby, S., Chauvin, A. ve Vandevyver, C., 2007. New opportunities for lanthanide luminescence, *Journal of Rare Earths*, 25, 3, 257-274.
46. Dos Santos, C. M., Fernández, P. B., Plush, S. E., Leonard, J. P. ve Gunnlaugsson, T., 2007. Lanthanide luminescent anion sensing: evidence of multiple anion recognition through hydrogen bonding and metal ion coordination, *Chemical Communications*, 32, 3389-3391.
47. Faulkner, S., Pope, S. J. ve Burtonpye, B. P., 2005. Lanthanide complexes for luminescence imaging applications, *Applied Spectroscopy Reviews*, 40, 1, 1-31.
48. Klink, S., Hebbink, G., Grave, L., Van Veggel, F., Reinhoudt, D., Slooff, L., Polman, A. ve Hofstraat, J., 1999. Sensitized near-infrared luminescence from polydentate triphenylene-functionalized Nd³⁺, Yb³⁺, and Er³⁺ complexes, *Journal of Applied Physics*, 86, 3, 1181-1185.
49. Bakker, B., Goes, M., Hoebe, N., Van Ramesdonk, H., Verhoeven, J., Werts, M. ve Hofstraat, J., 2000. Luminescent materials and devices: lanthanide azatriphenylene complexes and electroluminescent charge transfer systems, *Coordination Chemistry Reviews*, 208, 1, 3-16.

50. Foley, T. J., Harrison, B. S., Knefely, A. S., Abboud, K. A., Reynolds, J. R., Schanze, K. S. ve Boncella, J. M., 2003. Facile preparation and photophysics of near-infrared luminescent lanthanide (III) monoporphyrate complexes, *Inorganic Chemistry*, 42, 16, 5023-5032.
51. Quici, S., Cavazzini, M., Marzanni, G., Accorsi, G., Armaroli, N., Ventura, B. ve Barigelletti, F., 2005. Visible and near-infrared intense luminescence from water-soluble lanthanide [Tb (III), Eu (III), Sm (III), Dy (III), Pr (III), Ho (III), Yb (III), Nd (III), Er (III)] complexes, *Inorganic Chemistry*, 44, 3, 529-537.
52. Quici, S., Marzanni, G., Forni, A., Accorsi, G. ve Barigelletti, F., 2004. New lanthanide complexes for sensitized visible and near-IR light emission: synthesis, ^1H NMR, and X-ray structural investigation and photophysical properties, *Inorganic Chemistry*, 43, 4, 1294-1301.
53. Guo, D., Duan, C. Y., Lu, F., Hasegawa, Y., Meng, Q. J. ve Yanagida, S., 2004. Lanthanide heterometallic molecular squares $\text{Ru } 2\text{-Ln } 2$ exhibiting sensitized near-infrared emission, *Chemical Communications*, 13, 1486-1487.
54. Faulkner, S. ve Pope, S. J., 2003. Lanthanide-sensitized lanthanide luminescence: terbium-sensitized ytterbium luminescence in a trinuclear complex, *Journal of the American Chemical Society*, 125, 35, 10526-10527.
55. Dickins, R. S., Aime, S., Batsanov, A. S., Beeby, A., Botta, M., Bruce, J. I., Howard, J. A., Love, C. S., Parker, D. ve Peacock, R. D., 2002. Structural, luminescence, and NMR studies of the reversible binding of acetate, lactate, citrate, and selected amino acids to chiral diaqua ytterbium, gadolinium, and europium complexes, *Journal of the American Chemical Society*, 124, 43, 12697-12705.
56. Hebbink, G. A., Klink, S. I., Grave, L., Alink, P. G. O. ve van Veggel, F. C., 2002. Singlet energy transfer as the main pathway in the sensitization of near-infrared Nd^{3+} luminescence by dansyl and lissamine dyes, *ChemPhysChem*, 3, 12, 1014-1018.
57. Kamenskikh, I., Guerassimova, N., Dujardin, C., Garnier, N., Ledoux, G., Pedrini, C., Kirm, M., Petrosyan, A. ve Spassky, D., 2003. Charge transfer fluorescence and f-f luminescence in ytterbium compounds, *Optical Materials*, 24, 1-2, 267-274.
58. Wong, W. K., Liang, H., Wong, W. Y., Cai, Z., Li, K. F. ve Cheah, K. W., 2002. Synthesis and near-infrared luminescence of 3d-4f bi-metallic schiff base complexes, *New Journal of Chemistry*, 26, 3, 275-278.
59. Shavaleev, N. M., Moorcraft, L. P., Pope, S. J. A., Bell, Z. R., Faulkner, S. ve Ward, M. D., 2003. Sensitized near- infrared emission from complexes of Yb^{III} , Nd^{III} and Er^{III} by energy- transfer from covalently attached Pt^{II} - based antenna units, *Chemistry A European Journal*, 9, 21, 5283-5291.

60. Ohishi, Y., Kanamori, T., Kitagawa, T., Takahashi, S., Snitzer, E. ve Sigel, G. H., 1991. Pr³⁺-doped fluoride fiber amplifier operating at 1.31 μ m, Optics Letters, 16, 22, 1747-1749.
61. Slooff, L., Polman, A., Oude Wolbers, M., Van Veggel, F., Reinhoudt, D. ve Hofstraat, J., 1998. Optical properties of erbium-doped organic polydentate cage complexes, Journal of Applied Physics, 83, 1, 497-503.
62. Bünzli, J. C. G., 2009. Lanthanide luminescent bioprobes (LLBs), Chemistry Letters, 38, 2, 104-109.
63. Eliseeva, S. V. ve Bünzli, J. C. G., 2010. Lanthanide luminescence for functional materials and bio-sciences, Chemical Society Reviews, 39, 1, 189-227.
64. Lis, S., 2002. Luminescence spectroscopy of lanthanide (III) ions in solution, Journal of Alloys and Compounds, 341, 1-2, 45-50.
65. Thibon, A. ve Pierre, V. C., 2009. Principles of responsive lanthanide-based luminescent probes for cellular imaging, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 394, 1, 107-120.
66. Ribeiro, D. S., Castro, R. C., Soares, J. X. ve Santos, J. L., 2020. Photocatalytic activity of AgInS₂ quantum dots upon visible light irradiation for melatonin determination through its reactive oxygen species scavenging effect, Microchemical Journal, 155, 104728.
67. Abdolmohammad, Z. H. ve Zamani, K. M., 2020. A novel chemiluminescent-based nano-probe for ultra-trace quantification of dopamine in human plasma samples, Microchemical Journal, 155, 104704.
68. Fan, X., Wang, Y., Deng, L., Li, L., Zhang, X. ve Wu, P., 2019. Oxidative capacity storage of transient singlet oxygen from photosensitization with a redox mediator for improved chemiluminescent sensing, Analytical Chemistry, 91, 15, 9407-9412.
69. Li, F., Zhang, Y., Liu, J. ve He, J., 2018. Luminol, horseradish peroxidase and antibody ternary codified gold nanoparticles for a label-free homogenous chemiluminescent immunoassay, Analytical Methods, 10, 7, 722-729.
70. Atılğan, N., Algı, 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, 29-30, 5776-5781.
71. Asil, D., Cihaner, A., Algı, F. ve Önal, A. M., 2010. A diverse- stimuli responsive chemiluminescent probe with luminol scaffold and its electropolymerization, Electroanalysis, 22, 19, 2254-2260.

72. 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, 2, 509-519.
73. Han, J., Jose, J., Mei, E. ve Burgess, K., 2007. Chemiluminescent energy-transfer cassettes based on fluorescein and nile red, *Angewandte Chemie*, 119, 10, 1714-1717.
74. 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*, 3, 307-309.
75. Liu, X., Qiu, Y., Li, B., Li, Z., Zhang, Y., Wang, J. ve Xiong, Q., 2020. Construction of lanthanide-containing ratiometric probe for facile anthrax biomarker detection, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 240, 118541.
76. Brennecke, B., Wang, Q., Zhang, Q., Hu, H. Y. ve Nazaré, M., 2020. An activatable lanthanide luminescent probe for time-gated detection of nitroreductase in live bacteria, *Angewandte Chemie International Edition*, 59, 22, 8512-8516.
77. Tian, L., Ma, H., Song, B., Dai, Z., Zheng, X., Zhang, R., Chen, K. ve Yuan, J., 2020. Time-gated luminescence probe for ratiometric and luminescence lifetime detection of Hypochorous acid in lysosomes of live cells, *Talanta*, 212, 120760.
78. Winnett, M. R., Mini, P., Grace, M. R. ve Tuck, K. L., 2019. Time-resolved terbium-based probe for the detection of zinc (II) ions: investigation of the formation of a luminescent ternary complex, *Inorganic Chemistry*, 59, 1, 118-127.
79. Thibon, A. ve Pierre, V. C., 2009. A highly selective luminescent sensor for the time-gated detection of potassium, *Journal of the American Chemical Society*, 131, 2, 434-435.
80. Leonzio, M., Melchior, A., Faura, G., Tolazzi, M., Zinna, F., Di Bari, L. ve Piccinelli, F., 2017. Strongly circularly polarized emission from water-soluble Eu (III)-and Tb (III)-based complexes: a structural and spectroscopic study, *Inorganic Chemistry*, 56, 8, 4413-4421.
81. Cui, G., Ye, Z., Chen, J., Wang, G. ve Yuan, J., 2011. Development of a novel terbium (III) chelate-based luminescent probe for highly sensitive time-resolved luminescence detection of hydroxyl radical, *Talanta*, 84, 3, 971-976.
82. Song, B., Wang, G., Tan, M. ve Yuan, J., 2006. A europium (III) complex as an efficient singlet oxygen luminescence probe, *Journal of the American Chemical Society*, 128, 41, 13442-13450.

83. Song, B., Wang, G. ve Yuan, J., 2005. A new europium chelate-based phosphorescence probe specific for singlet oxygen, *Chemical Communications*, 28, 3553-3555.
84. Tan, M., Song, B., Wang, G. ve Yuan, J., 2006. A new terbium (III) chelate as an efficient singlet oxygen fluorescence probe, *Free Radical Biology and Medicine*, 40, 9, 1644-1653.
85. Ye, Z., Chen, J., Wang, G. ve Yuan, J., 2011. Development of a terbium complex-based luminescent probe for imaging endogenous hydrogen peroxide generation in plant tissues, *Analytical Chemistry*, 83, 11, 4163-4169.
86. Lippert, A. R., Gschneidtnr, T. ve Chang, C. J., 2010. Lanthanide-based luminescent probes for selective time-gated detection of hydrogen peroxide in water and in living cells, *Chemical Communications*, 46, 40, 7510-7512.
87. Bilmez, M., Degirmenci, A., Algi, M. P. ve Algi, F., 2018. A phosphorescent fluoride probe based on Eu (III)-DO3A clicked with a 2, 5-di (thien-2-yl) pyrrole scaffold, *New Journal of Chemistry*, 42, 1, 450-457.
88. Furniss, B. S., 1989. *Vogel's textbook of practical organic chemistry*, Fifth Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.
89. Mizukami, S., Tonai, K., Kaneko, M. ve Kikuchi, K., 2008. Lanthanide-based protease activity sensors for time-resolved fluorescence measurements, *Journal of the American Chemical Society*, 130, 44, 14376-14377.
90. Stasiuk, G. J. ve Lowe, M. P., 2009. Click chemistry with lanthanide complexes: a word of caution, *Dalton Transactions*, 44, 9725-9727.
91. Szíjjártó, C., Pershagen, E. ve Borbas, K. E., 2012. Functionalisation of lanthanide complexes via microwave-enhanced Cu (I)-catalysed azide-alkyne cycloaddition, *Dalton Transactions*, 41, 25, 7660-7669.
92. Vanasschen, C., Bouslimani, N., Thonon, D. ve Desreux, J. F., 2011. Gadolinium DOTA chelates featuring alkyne groups directly grafted on the tetraaza macrocyclic ring: synthesis, relaxation properties, "click" reaction, and high-relaxivity micelles, *Inorganic Chemistry*, 50, 18, 8946-8958.
93. Cava, M. P. ve VanMeter, J., 1969. Condensed cyclobutane aromatic compounds. XXX. synthesis of some unusual 2, 3-naphthoquinonoid heterocycles. A synthetic route to derivatives of naphtho [2, 3-b] biphenylene and anthra [b] cyclobutene, *The Journal of Organic Chemistry*, 34, 3, 538-545.
94. Sun, J., Wu, W. ve Zhao, J., 2012. Long-lived room-temperature deep-red-emissive intraligand triplet excited state of naphthalimide in cyclometalated Ir^{III} complexes and its application in triplet-triplet annihilation-based upconversion, *Chemistry—A European Journal*, 18, 26, 8100-8112.

95. Roswell, D. F., Paul, V. ve White, E. H., 1970. Energy transfer in chemiluminescence II, Journal of the American Chemical Society, 92, 16, 4855-4860.
96. 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.
97. URL-1 < <https://www.lambertinstruments.com/technologies-1/2014/12/4/frequency-domain-flim-basic-equations?rq=jablonski>>, Eriřim Tarihi: 29.09.2020.
98. URL-2 < [http://www.prosafety.com.tr/elektromanyetik-spektrum radyoaktivite/](http://www.prosafety.com.tr/elektromanyetik-spektrum-radyoaktivite/)>, Eriřim Tarihi: 29.09.2020.



EKLER

EK A. 8. Uluslararası İlaç Kimyası Kongresi Bildiri Özeti.



Determination of anthrax by strong luminescence of lanthanide phosphorescence

Emre ÜNLÜ ^a, Memduh Bilmez ^a, Melek Pamuk Algi ^{ab} and Fatih Algi ^{ac}

^aASUBTAM Memduh Bilmez BioNanoTech Lab., Aksaray University, TR-68100 Aksaray, Turkey

^bDepartment of Chemistry, Aksaray University, TR-68100 Aksaray, Turkey

^cDepartment of Biotechnology and Molecular Biology, Aksaray University, TR-68100 Aksaray, Turkey

E-mail: algif@aksaray.edu.tr

Anthrax is an acute infectious disease caused by *Bacillus anthracis*, mainly found in the form of spore.¹ The spore have been found all over the world with its stability in the soil for many years. Exposures to more than 10⁴ *Bacillus anthracis* spore can cause death within 24-28 hours if an effective treatment is not performed.^{2,3} Therefore, *Bacillus anthracis* can be mentioned as a potential bioterrorism agent or biological weapon.

In this study, we have synthesized a new compound which can selectively detect DPA, anthrax marker, in aqueous solution. The ability of the designed compound to detect DPA has been clarified photophysically with a sharp intensity change in the phosphorescence emission band.

Acknowledgement:

The authors are indebted to The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK, Grant No. 118Z293) for financial support.

References

- 1) Zhou, Y.; Yu, B.; Levon, K. *Biosens. Bioelectron.* **2005**, 20, 1851–1855
- 2) Enserink, M. *Science* **2001**, 294, 490–491.
- 3) King, D.; Luna, V.; Cannons, A.; Cattani, J.; Amuso, P. *J. Clin. Microbiol.* **2003**, 41, 3454–3455.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Emre ÜNLÜ
Adres : Viranşehir, 33340 Mersin Mezitli/MERSİN
E-posta adresi : emreunlu3833@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji
Bölümü, 2013-2017

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji
Anabilim Dalı, 2017-2020

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. Ünlü E., Bilmez M., Algı M. P. ve Algı F., 2020. Determination of anthrax by strong luminescence of lanthanide phosphorescence. 8. Uluslararası İlaç Kimyası Kongresi, Mirage Park Resort, Kemer, Antalya.

Projeler

1. Ünlü E., Susam A., Ocakçı Ş. ve Algı F., 2018-2021. Çoklu emisyon yapabilen moleküler sistemler için jenerik bir platform: lantanit lüminesansının karanlıkta uyanışı, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No: 118Z293, Bursiyer).