



**KUMARİN-TİYOFEN TEMELLİ YENİ FLORESAN ORGANİK BOYAR
MADDELERİN SENTEZİ VE TİYOL GRUBU İÇEREN AMİNO ASİTLERİ
BELİRLEMESİNDE KULLANIMLARININ ARAŞTIRILMASI**

Deniz ÇAKMAZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2019

Deniz ÇAKMAZ tarafından hazırlanan “KUMARİN-TİYOFEN TEMELLİ YENİ FLORESAN ORGANİK BOYAR MADDELERİN SENTEZİ VE TİYOL GRUBU İÇEREN AMİNO ASİTLERİ BELİRLEMESİNDE KULLANIMLARININ ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Zeynel SEFEROĞLU

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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

.....

Başkan: Doç. Dr. Müjgan ÖZKÜTÜK

Kimya Ana Bilim Dalı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

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

.....

Üye: Doç Dr. Ebru AKTAN

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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

.....

Tez Savunma Tarihi: 30/12/2019

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

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Deniz ÇAKMAZ

30/12/2019

KUMARİN-TİYOFEN TEMELLİ YENİ FLORESAN ORGANİK BOYAR
MADDELERİN SENTEZİ VE TİYOL GRUBU İÇEREN AMİNO ASİTLERİ
BELİRLEMESİNDE KULLANIMLARININ ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Deniz ÇAKMAZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Aralık 2019

ÖZET

Kumarin ve türevleri iyi fotofiziksel özelliklere ve düşük toksisite değerlerine sahip olan ve biyolojik aktivite gösteren bileşiklerdir. Kumarin temelli kemosensörler hedef analitler ile etkileştiğinde absorpsiyon ve floresans sinyallerinde azalma/artma görülürken, renk ve floresan özelliklerinde ortam ışığında ve UV ışığı altında belirgin renk değişimleri göstermektedir. Bu nedenle kumarin temelli boyar maddelerin floresan algılayıcı olarak kullanım potansiyelleri oldukça yüksektir. Bu tez kapsamında sistein, homosistein ve glutatyon biyotiyoller ile farklı mekanizmalar üzerinden etkileşebilecek bir seri kumarin temelli floresan kemosensör sentezlenmiş ve yapıları FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve HRMS spektroskopik yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Biyotiyollerle etkileşim çalışmaları fizyolojik pH değeri olan pH = 7,4 ve biyotiyollerin anyonik forma geçebileceği pH = 9,2 değerlerinde UV-GB absorpsiyon ve florimetri yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca etkileşim mekanizmalarının açıklanmasında ¹H-NMR spektroskopi yöntemi kullanılmıştır. Etkileşim sonuçları teorik yöntemler kullanılarak da açıklanmaya çalışılmıştır.

BilimKodu : 20114
Anahtar Kelimeler : Kumarin, Floresan, Biyotiyoller, Sistein, Homosistein, Glutatyon, Boyar madde, Kemosensör
Sayfa Adedi : 90
Danışman : Prof. Dr. Zeynel SEFEROĞLU

SYNTHESIS OF NEW FLUORESCENCE ORGANIC DYES BASED ON COUMARIN-
THIOPHENE AND INVESTIGATION OF THEIR USAGE IN THE DETERMINATION
OF AMINO ACIDS CONTAINING THIOL GROUP

(M. Sc. Thesis)

Deniz ÇAKMAZ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2019

ABSTRACT

Coumarin and its derivatives have good photophysical properties and low toxicity values and exhibit biological activity. When coumarin-based chemosensors interact with target analytes, there is a decrease/increase in absorption and fluorescence signals, while color and fluorescence properties exhibit significant color changes under ambient light and UV light. Therefore, the potential for use of coumarin-based dyes as fluorescent sensors is quite high. In this thesis, a series of coumarin based fluorescent chemosensors that can interact with cysteine, homocysteine and glutathione biothiols have been synthesized and their structures have been determined by FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and HRMS spectroscopic methods. Interaction studies with biothiols were carried out using UV-GB absorption and fluorimetry methods at pH = 7.4, which is the physiological pH value, and pH = 9.2, where biothiols can be converted to anionic form. In addition, ¹H-NMR spectroscopy method was used to explain the interaction mechanisms. Interaction results were also explained by using theoretical methods.

Science Code : 20114

Key Words : Coumarin, Fluorescence, Biothiols, Cysteine, Homocysteine,
Glutathion, Dye, Chemosensor

Page Number : 90

Supervisor : Prof. Dr. Zeynel SEFEROĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım boyunca eğitim hayatımda bana yol gösteren ve desteğini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Zeynel SEFEROĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Yardımlarını esirgemeyerek her zaman yanımda olan Dr. Burcu AYDINER'e, çalışmalarımı yapabilmem için florimetre cihazını ve laboratuvarını kullanıma açarak destek olan Prof. Dr. Mehmet Sayim KARACAN, UV-GB absorpsiyon cihazını kullanmak için laboratuvarını açarak desteğini gösteren Prof. Dr. Gülsen ASMAN'a, yardımlarından dolayı Doç. Dr. Nurgül SEFEROĞLU'na ve Dr. Banu BABÜR'e teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar arkadaşlarım Anka Utama Putra, Dr. Ebru GÜLŞEN, M.Sc. Ergin KELEŞ, M. Sc. Emine ÇATAL, Dr. Meryem CHEMCHEM, Rümeysa METİN ve çalışma grubumuz SYNGTOM'un diğer üyelerine yardımlarından ve arkadaşlıklarından dolayı teşekkür ederim. Gazi Üniversitesi Kimya bölümünde edindiğim bütün dostlarıma en samimi duygularımı sunarım.

Tez kapsamında ki çalışmalarımı yapmama 114Z980 no'lu 1001 projesi destek sağlayan TÜBİTAK'a (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) teşekkür ederim.

Desteklerini esirgemeyen ve beni aydın ve Cumhuriyet'e yakışır bir birey olarak yetiştirmeye çalışan annem Berrin ÇAKMAZ ve babam Remzi ÇAKMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Modern Türk Eğitim sistemini kurarak bütün bu fırsatları ve iyi bir eğitim almamı sağlayan, Türkiye Cumhuriyeti'nin kurucusu Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK'e en derin saygılarımı sunarım.

Biz, ilhamımızı gökten ve gaipten değil, doğrudan doğruya hayattan almış bulunuyoruz.
Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemosensörler.....	3
2.2. Boyar Maddeler.....	4
2.3. Kumarin Temelli Kemosensörler	7
2.4. Biyotiyoller	12
2.5. Kemosensör-Biyotiyol Etkileşimleri.....	13
3. ÇALIŞMANIN AMACI.....	19
4. DENEYSEL KISIM	21
4.1. Materyal ve Araçlar.....	21
4.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar	21
4.3. Yöntem.....	21
4.3.1. Deneysel yöntem.....	21
4.3.2. Hesaplamalı yöntem.....	22
5. HEDEF BİLEŞİKLERİN SENTEZİ.....	23
5.1. Kumarin Bileşiklerinin Sentezi	23
5.1.1. 3-Asetil-7-(dietilamino)-2 <i>H</i> -kromen-2-on (C-1)'un sentezi.....	23

	Sayfa
5.1.2. 2-(1-(7-Dietilamino)-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)etiliden)malononitril (CY-1)'in sentezi	24
5.1.3. 3-Asetil-7-metoksi-2 <i>H</i> -kromen-2-on (C-2)'un sentezi	24
5.1.4. 2-(1-(7-Metoksi-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)etiliden)malononitril (CY-2)'in sentezi	25
5.2. Kumarin-Tiyofen Bileşiklerinin Sentezi	25
5.2.1. 2-Amino-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CT-1)'in sentezi	26
5.2.2. 2-Amino-4-(7-metoksi-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CT-2)'in sentezi	26
5.3. Kumarin Temelli Floresans Kemosensörlerin Sentezi	27
5.3.1. <i>N</i> -(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)tiyofen-2-il)akrilamit (CTVA-2)'nin sentezi	27
5.3.2. 2-Kloro- <i>N</i> -(3-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)tiyofen-2-il)asetamit (CTCA-1)'in sentezi	28
5.3.3. 2-Kloro- <i>N</i> -(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)tiyofen-2-il)acetamit (CTCA-2)'nin sentezi	29
5.3.4. <i>N</i> -(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1)'in sentezi	30
5.3.5. <i>N</i> -(5-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-2)'nin sentezi	31
5.3.6. 4-(7-(Dietilamino)-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)-2-((4-formilbenziliden)amino) tiyofen-3-karbonitrile (CTSB-1)'in sentezi	32
5.3.7. 2-((4-Formilbenziliden)amino)-4-(7-metoksi-2-okso-2 <i>H</i> -kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-2)'nin sentezi	32
6. HEDEF BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ ÜZERİNE ELDE EDİLEN SONUÇLAR	35
7. BİYOTİYOL DUYARLILIK VE SEÇİCİLİK ÇALIŞMALARI	43
7.1. Spektrofotometrik Etkileşim Çalışmaları	43
7.2. ¹ H-NMR Çalışmaları	57

	Sayfa
7.3. Teorik Hesaplamalar	59
8. SONUÇLAR.....	63
KAYNAKLAR	65
EKLER.....	71
EK-1. CT-1 bileşiği.....	72
EK-2. CT-2 bileşiği.....	73
EK-3. CTVA-2 bileşiği.....	74
EK-4. CTCA-1 bileşiği	76
EK-5. CTCA-2 bileşiği	78
EK-6. CTIA-1 bileşiği	80
EK-7. CTIA-2 bileşiği	82
EK-8. CTSB-1 bileşiği.....	84
EK-9. CTSB-2 bileşiği.....	86
EK-10. CTIA-1 ve amino asit ¹ H-NMR etkileşim spektrumları	88
ÖZGEÇMİŞ	90

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 6.1. CTVA-1 hedef bileşiğinin sentezine ilişkin yapılan denemeler ve sonuçları.....	36
Çizelge 6.2. Maleimit türevlerinin (CTMA-1 ve CTMA-2 bileşikleri) sentezine ilişkin yapılan denemeler ve sonuçları.	40
Çizelge 6.3. Maleimit türevlerinin (CTMA-1 ve CTMA-2 bileşikleri) sentezine ilişkin yapılan denemeler ve sonuçları.	41
Çizelge 7.1. CTCA-1 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamında ki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiği (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiği (sağ-alt).	45
Çizelge 7.2. CTCA-1 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamında ki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiği (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiği (sağ-alt).	46
Çizelge 7.3. CTIA-1 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamında ki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiği (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiği (sağ-alt).	47
Çizelge 7.4. CTIA-1 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamında ki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiği (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiği (sağ-alt).	48
Çizelge 7.5. CTIA-2 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamında ki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiği (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiği (sağ-alt).	49
Çizelge 7.6. CTIA-2 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamında ki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiği (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiği (sağ-alt).	50
Çizelge 7.7. CTCA-1 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamında ki etkileşim çalışmaları. Tirol içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).....	51
Çizelge 7.8. CTCA-1 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamında ki etkileşim çalışmaları. Tirol içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).....	52
Çizelge 7.9. CTIA-1 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamında ki etkileşim çalışmaları. Tirol içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).....	53

Çizelge	Sayfa
Çizelge 7.10. CTIA-1 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamında ki etkileşim çalışmaları. Tiyoil içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).....	54
Çizelge 7.11. CTIA-2 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamında ki etkileşim çalışmaları. Tiyoil içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).....	55
Çizelge 7.12. CTIA-2 ileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamında ki etkileşim çalışmaları. Tiyoil içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).....	56
Çizelge 7.13. CTCA-1, CTIA-1 ve CTIA-2 bileşikleri ve Cys ile etkileşim sonrası yapıları (CTCA-1+Sistein, CTIA-1+Sistein ve CTIA-2+Sistein) için su ortamında TD-DFT metodu ile hesaplanan $\lambda_{\max}$, osilatör kuvveti (f), ilgili geçişler ve katkıları (w).....	60

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Bir kemosensörün alt birimlerini ve analite bağlanmasını gösteren diyagram.	3
Şekil 2.2. İndigo boyasının elde edildiği indigofra bitkisi (sol) ve İndigo boyasının kimyasal yapısı (sağ).	4
Şekil 2.3. Sentetik olarak elde edilen indigo boyasının sentez şeması.	4
Şekil 2.4. Muaveine bileşğinin sentez şeması.....	5
Şekil 2.5. Trifenilamin kromofor grubuna sahip boyar maddenin kimyasal yapısı (sol) ve kloroform içerisinde ki çözeltisi (sağ).	5
Şekil 2.6. Kromoforların yaptığı abnsorpsiyona göre aldığı renklerin şematik gösterimi.	6
Şekil 2.7. Kumarin temelli floresans kemosensörün yapısı (sol), UV ışığı altında ki fotoğrafı (orta) ve proton ile etkileşim sonrası UV ışığı altında ki fotoğrafı (sağ).	7
Şekil 2.8. Kumarin temelli floresans pH kemosensörünün yapısı (a), farklı pH değerleri ile gün ışığı altında ki fotoğrafı (b) ve farklı pH değerleri ile UV ışığı altında ki fotoğrafı (c).	7
Şekil 2.9. Fu ve arkadaşlarının sentezlediği 1 (a) ve 2 (b) numaralı kemosensörlerin yapısı, 1 numaralı kemosensörün çeşitli metal katyonları ile titrasyonunun floresans grafiği ve verdiği floresans sinyalin UV ışığı altında ki fotoğrafı (c) ve 2 numaralı kemosensörün çeşitli metal katyonları ile titrasyonunun floresans grafiği ve verdiği floresans sinyalin UV ışığı altında ki fotoğrafı (d).	8
Şekil 2.10. Warriier ve arkadaşlarının sentezlediği 3 numaralı kemosensörün yapısı, kemosensör uygulanmadan önceki hücrelerin görüntüsü (a), kemosensör uygulandıktan sonraki hücrelerin UV ışığı altında ki floresans görüntüsü (b) ve kemosensör uygulanan hücrelere Cu^{2+} katyonu uygulandıktan sonraki UV ışığı altında ki fotoğrafı (c).	8
Şekil 2.11. Sarkar ve arkadaşlarının sentezlediği 4 numaralı kemosensörün yapısı (a), kemosensör uygulanan hücrelerin UV ışığı altında ki fotoğrafı (a) ve kemosensör uygulanan hücrelere Al^{3+} katyonu uygulandıktan sonraki UV ışığı altında ki fotoğrafı (c).	9
Şekil 2.12. Chemchem ve arkadaşlarının sentezlediği 5 numaralı kemosensörün yapısı (üstte) ve kemosensörün çeşitli anyonlar ile titrasyonunun floresans grafiği (altta).	10

Şekil	Sayfa
Şekil 2.13. Yahaya ve arkadaşlarının sentezlediği 6 numaralı kemosensörün yapısı (üstte) ve kemosensörün çeşitli OH ⁻ anyonu ile titrasyonunun absorpsiyon grafiği ve gün ışığı altında ki fotoğrafları (altta).....	10
Şekil 2.14. Yalçın ve arkadaşlarının sentezlediği 7 numaralı kemosensörün yapısı (üstte) ve kemosensörün F ⁻ anyonu ile etkileşimi sonrası floransının sönümlenmesinin fotoğrafı (altta).	11
Şekil 2.15. Yagn ve arkadaşlarının sentezlediği 8 numaralı kemosensörün yapısı (üstte), kemosensörün hücre içi uygulamasının (a), kemosensör uygulanmış hücrenin 5 µM (b), 25 µM (c), 50 µM (d) H ₂ S uygulanmasının fotoğrafları.	11
Şekil 2.16. Fagn ve arkadaşlarının sentezlediği 9 numaralı kemosensörün yapısı (üstte) ve kemosensörün zebra balığı uygulaması (altta). Sol kolon zebra balığına UV lambası altında ki, orta kolon gün ışığı altında ki fotoğrafı ve sağ kolon iki resmin birleştirilmesi. Üst sütun kemosensörün zebra balığına uygulanmasının ve alt kolon Na ₂ S uygulanmasının fotoğrafı.....	11
Şekil 2.17. Biyolojik sistemlerde tiyol grubu içeren önemli biyomoleküller.	12
Şekil 2.18. -SH grubunun tiyoetere dönüşümü.	14
Şekil 2.19. Nükleofilik yerdeğiştirme mekanizması ile çalışam Cys ve Hcy sensörü....	14
Şekil 2.20. Nükleofilik yerdeğiştirme mekanizması ile çalışan GSH sensörü.	15
Şekil 2.21. Thermofisher tarafından sağlanan kumarin temelli iyodoasetamit sensörlerinin yapıları.	15
Şekil 2.22. Akriloil ucu içeren Cys'ye karşı seçici sensör.....	16
Şekil 2.23. Akriloil ucu içeren Cys'ye karşı seçici sensör.....	16
Şekil 2.24. Michael katılması mekanizması ile çalışan biotiyol sensörü.....	17
Şekil 4.1. Literatür sentezi bilinen bileşiklerin şekli.....	21
Şekil 4.2. Hedef bileşiklerin genel sentez şeması.	22
Şekil 5.1. C-1 bileşiğinin sentez şeması.....	23
Şekil 5.2. CY-1 bileşiğinin sentez şeması.....	24
Şekil 5.3. C-2 bileşiğinin sentez şeması.....	24
Şekil 5.4. CY-2 Bileşiğinin sentez şeması.	25
Şekil 5.5. CT-1 bileşiğinin sentez şeması.	26

Şekil	Sayfa
Şekil 5.6. CT-2 bileşiğinin sentez şeması	26
Şekil 5.7. CTIA-1 bileşiğinin sentez şeması.....	30
Şekil 5.8. CTIA-2 bileşiğinin sentez şeması.....	31
Şekil 5.9. CTSB-1 bileşiğinin sentez şeması.....	32
Şekil 5.10. CTSB-2 bileşiğinin sentez şeması.....	32
Şekil 6.1. CTMA-1a ve CTMA-2a bileşiklerinin yapısı.....	37
Şekil 6.2. CTMA-1a bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.....	37
Şekil 6. 3. CTCA-1 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	39
Şekil 6. 4. Kumarin halkasının numaralandırılması.....	39
Şekil 7. 1. Sentezlenen kemosenörlerin tiyol grubu ile ön görülen etkileşim mekanizmaları.....	43
Şekil 7.2. DMSO- <i>d</i> ₆ içindeki (<i>c</i> = 10 mM) CTIA-1 ligant bileşiği üzerine 0,05 eşdeğer mol sistein (cys), metiyonin (Met) ve arginin (Arg) eklenmesi ile alınan ¹ H-NMR spektrumu.....	58
Şekil 7.3. CTIA-1 bileşiğinin sistein (cys), metiyonin (Met) ve arginin (Arg) eklenmesi ile tepkimesi sonucu elde edilen olası yapılar.....	59
Şekil 7.4. CTCA-1 ve CTCA-1+Sistein için gaz fazında taban durum geometrileri.	60
Şekil 7.5. CTIA-1, CTIA-1+Sistein ve CTIA-2, CTIA-2+Sistein için gaz fazında taban durum geometrileri.....	61
Şekil 7. 6. CTCA-1, CTIA-1 ve CTIA-2 bileşikleri ve Cys ile etkileşim sonrası yapıları (CTCA-1+Sistein, CTIA-1+Sistein ve CTIA-2+Sistein) için molekül orbitalleri.....	62

SİMGELER ve KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

cm	Santimetre
Hz	Hertz
J	Eşleşme sabiti
ml	Mililitre
mmol	Milimol
nm	Nanometre

Kısaltmalar

Açıklamalar

ACN	Asetonitril
Arg	Arginin
b	Birli
Cys	Sistein
ç	Çoklu
dk	Dakika
e.n.	Erime noktası
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GB	Görünür Bölge
GSH	Glutasyon
Hcy	Homosistein
HRMS	Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
i	İkili
ii	İkilinin ikilisi
Met	Metiyonin
MDI	Mikrodalga Işıması
NEt₃	Trietilamin
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans

Kısaltmalar**Açıklamalar****Sa**

Saat

THF

Tetrahidrofuran

UV

Ultraviyole

ü

Üçlü

1. GİRİŞ

Biyolojik sistemlerde rol alan yapıların izlenmesi insan metabolizmasını anlaşılmasında ve çeşitli hastalıkların tedavisinde oldukça önemlidir. Sistein (Cys), homosistein (Hcy) ve glutatyon (GSH) insan metabolizmasında önemli görevleri olan biyotiyollerdir [1]. Biyotiyoller insan metabolizmasında belirli bir seviyede bulunmakta ve bu seviye azaldığında veya arttığında, kanser, otoimmün bozukluklar ve kardiyovasküler gibi çeşitli patolojik sorunlara neden olmaktadır [2]. Bu nedenle biyotiyollerin belirlenmesi oldukça önemlidir.

Biyotiyollerin belirlenmesi için pek çok yöntem mevcuttur. Fakat bu yöntemlerin uygulanması gerek hız gerekse maliyet bakımından dezavantajlara sahiptirler. Bundan dolayı daha kolay uygulanabilir, hızlı ve düşük maliyetli yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir.

Kemosensörler belirli analitler karşısında belirli sinyaller üreten kimyasal yapılardır [3]. Kemosensörlerin ürettiği sinyaller kolay ve hızlı yöntemlerle saptanabilmektedir. Bu da bize biyotiyollerin seçici olarak belirlenmesi için bir yöntem sunmaktadır. Kemosensörler çeşitli alt birimlerden oluşur ve bir kemosenörün sinyal üreten birimi hedef analitlerin nitel ve nicel olarak belirlenmesini sağlarken algılayıcı uç birimi analitlere karşı seçicilik göstermesini sağlar [4].

Birçok farklı alanlarda kullanımları olan boyar maddeler önemli fotofiziksel özelliklere sahip olduklarından dolayı kemosenörlerin sinyal üreten birimi için seçilirler. Boyar maddelerin fotofiziksel özelliklerini ortaya koyan yapılara kromofor ve florofor denir. Floroforlar kromoforlardan farklı olarak floresans özelliğe sahip olan yapılardır [5].

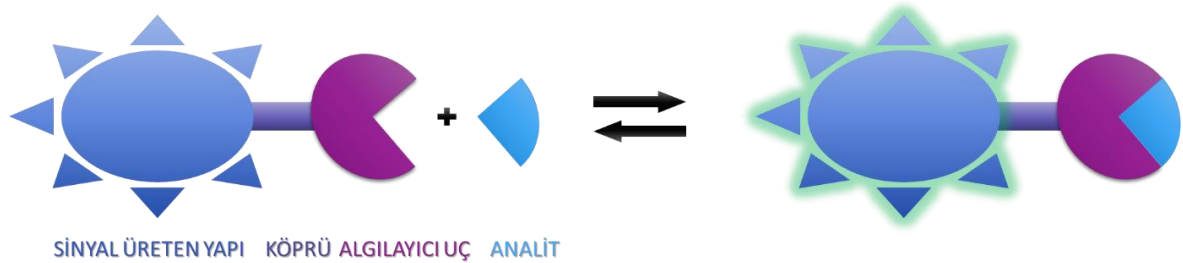
İyi bir boyar madde olan kumarin aynı zamanda kuvvetli floresans özelliğine sahiptir. Önemli fotofiziksel özelliklere sahip olan kumarinler aynı zamanda düşük toksisiteye sahip oldukları için biyolojik sistemlerde de görüntüleme ve analitlerin nitel ve nicel olarak belirlenmesi amacıyla kemosenör olarak kullanılmaktadırlar [6]. Son yıllarda, ticari olarak kullanılan kemosenörlerin pahalı ve seçiciliklerinin düşük olmaları (diğer analitler ile girişim yapması, ortam pH'ında çalışmamaları ve çözünürlük sorunları vb.) nedeni ile bu alanda yeni kemosenörlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Sunulan tez kapsamında çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçte önemli rol oynayan biyotiyollerin hızlı ve düşük maliyetle belirlenmesi için 7-süstitüekumarin temelli yeni bir seri kemosensör sentezlenmiştir. Kemosensörlerin yapıları FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve HR-MS spektroskopik yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Sentezlenen kemosensörlerin fizyolojik pH=7,4'te ve biyotiyollerin anyonik formda bulunabilceği pH=9,2 seviyelerinde etkileşim çalışmaları yapılmıştır. Etkileşimler spektrofotometrik ve florimetrik yöntemlerle incelenmiştir. Etkileşim mekanizmasının belirlenmesi için ^1H -NMR spektroskopisi kullanılmıştır. Deneysel sonuçlar teorik olarak da açıklanmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemosensörler

Kemosensörler, analitler karşısında belirli sinyaller üretebilen yapılardır [3]. Kemosensörlerin tanımı olarak bilinen “Cambridge tanımına” göre kemosensörler, karmaşık örneklerde bile belirli bileşiklerin veya iyonların varlığı hakkında gerçek zamanlı ve çevrimiçi bilgi sağlayabilen minyatür cihazlardır [7]. Kemosensörler, sinyal üreten yapı, analit ile etkileşime giren algılayıcı uç ve bu ikisini birbirine bağlayan bir köprü olmak üzere üç temel kısımdan oluşur (Bkz. Şekil 2.1) [4].



Şekil 2.1. Bir kemosensörün alt birimlerini ve analite bağlanmasını gösteren diyagram.

Etkileşim sonucunda kemosensörler optik veya elektronik olarak yararlı sinyaller üretir [8]. 1980 yıllarında kemosensörlerin ilk tanımı yapılırken, alüminyum iyonunun (Al^{+3}) belirlenmesi için bir yöntem geliştiren Friedrich Goppelsroder ilk floresans kemosensörü literatüre kazandırmıştır [9]. Bu gelişmeyi takip eden yıllarda birçok metal iyonu için kemosensörler geliştirildi. Günümüze kadar olan süreçte kemosensörler uygulanabilirlik ve kapsam olarak yoğun bir şekilde geliştirildi. Özellikle belirli metal anyonunu belirleyen kemosensörler dışında çevresel ve biyolojik olarak önemli katyonlar, anyonlar, nötr yapılar ve biyomolekülleri belirleyen kemosensörler geliştirilmiştir [1].

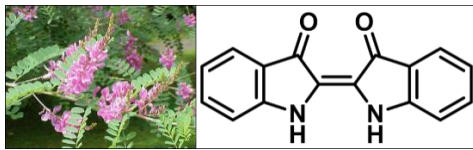
Kimyada analitleri belirlemek için elektrokimya, X-Ray, atomik absorpsiyon spektroskopisi, atomik emisyon spektroskopisi, indüktif eşleşmiş plazma emisyonu, kütle spektroskopisi gibi bir çok metot olsa da analitlerin çıplak göz ile tespiti ve spektroskopik metotlardan UV-GB absorpsiyon spektroskopisi ile florimetre spektroskopisi kolay uygulanabilir olması, düşük maliyet ve cihaz kullanımının kolay olmasından dolayı daha çok tercih edilmektedir. Kemosensörlerin ürettikleri sinyaller bu noktada önem kazanmaktadır.

Kemosensörler ürettikleri sinyale göre elektronik ve optik sensörler olmak üzere iki başlık altında incelenir. Elektronik sensörler: biyosensörler, elektroaktif sensörler, alan etkili transistörler, mikroelettrotlar ve iyon seçici elektrotlardır. Optik sensörler ise kromojenik kemosenörler ve florojenik kemosenörlerdir. Kromojenik kemosenörler hedef analit ile etkileşim sonucunda verdiği sinyal renk değişimidir ve çıplak göz ve UV-GB absorpsiyon spektroskopisi ile kolaylıkla gözlemlenebilir. Florojenik kemosenörler ise analit ile etkileştiğinde floresans sinyal verir, çıplak göz ve florimetre ile kolaylıkla gözlemlenebilir [10].

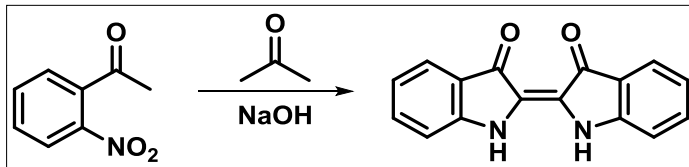
Etkileşim sonucunda kemosenörün ürettiği sinyal, sinyal üreten yapının yani boyar maddenin fotofiziksel özelliklerinde meydana gelen değişimlerden kaynaklanmaktadır. Boyar maddenin fotofiziksel özelliğinde meydana gelen değişim, yani absorpsiyon ve emisyon maksimum dalga boylarının uzun/kısa dalga boyuna kayması ya da şiddetlerinin artması/azalması çıplak gözle görülebildiği gibi UV-GB absorpsiyon spektroskopisi ve florimetre ile de kolaylıkla ölçülebilmektedir [11].

2.2. Boyar Maddeler

Boyar maddeler görünür ışık bölgesinde kuvvetli absorpsiyon yapan maddelerdir. Boyar maddeler doğal olabileceği gibi sentetik olarak da elde edilebilirler. İndigo boyası yaklaşık 1500 yıl öncesi indigofera bitkisinden elde edilirken [12] Adolf Baeyer ve Viggo Drewsen tarafından 1882 yılında sentetik olarak elde edilmiştir [13].

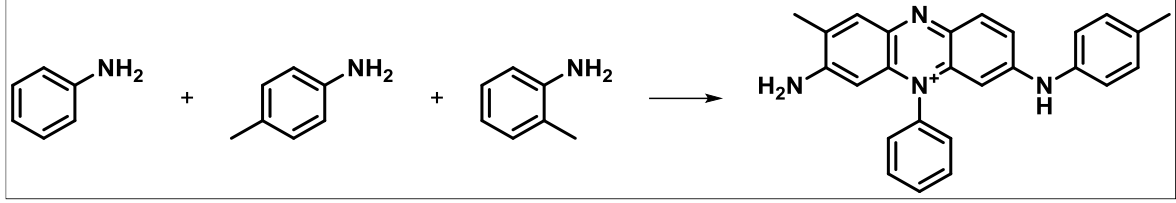


Şekil 2.2. İndigo boyasının elde edildiği indigofera bitkisi (sol) ve İndigo boyasının kimyasal yapısı (sağ).



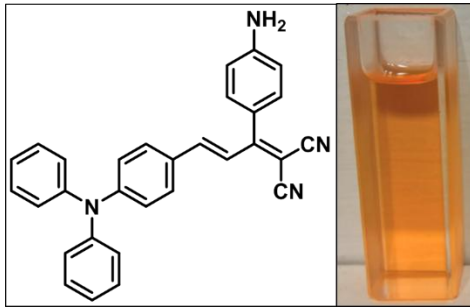
Şekil 2.3. Sentetik olarak elde edilen indigo boyar maddesinin sentez şeması.

İlk sentetik boyar madde 1856'da William Henry Perkin tarafından sıtma ilacı çalışmaları sırasında sentezlenen Muaveine'dir [14].



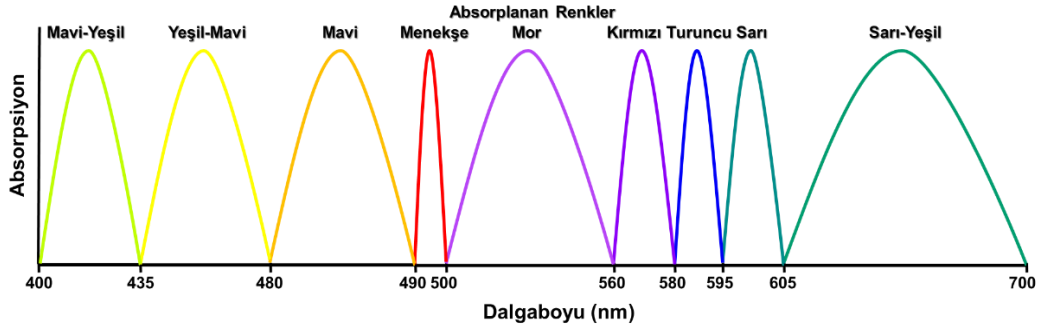
Şekil 2.4. Muaveine A bileşiğinin sentez şeması.

Boyar maddelerin renklerinden sorumlu yapıya kromofor denir [5]. Kromofor yapı, içerdiği π bağlarındaki elektronlar sayesinde boyar madde üzerine düşen ışığı belirli bir dalga boyunda absorplar ve bir kısmını geri yansıtır, böylece renklenme oluşur. Oluşan renk, absorplanan rengin tamamlayıcı rengidir.



Şekil 2.5. Trifenilamin kromofor grubuna sahip boyar maddenin kimyasal yapısı (sol) ve kloroform içerisindeki çözeltisinin rengi (sağ) [15].

Kromofor yapının absorpsiyon yaptığı bölgeye göre çeşitli renkler oluşur. Örneğin 435-480 nm'de absorpsiyon yapan kromofor mavi renkli ışığı absorplarırken sarı rengin, 500-560 nm'de absorpsiyon yapan kromofor ise yeşil renkli ışığı absorplarırken pembe rengin oluşmasını sağlar (Bkz. Şekil 2.6) [16].

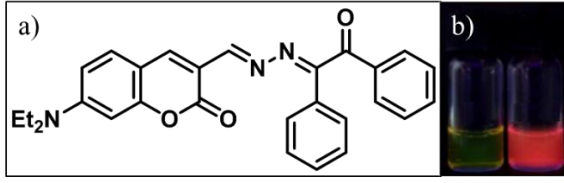


Şekil 2.6. Kromoforların yaptığı absorpsiyona göre sahip oldukları renklerin şematik gösterimi.

Her renkli madde boyar madde değildir. Bir maddenin boyar madde olabilmesi için, sabit ve kuvvetli bir renge sahip olması, kolayca yapısal değişikliğe uğramaması ve uygulandığı yüzeyde sabit kalabilmesi gerekir [17].

Kromoforun yaptığı absorpsiyon sonucunda yapıda bulunan π bağlarındaki bir elektron uyarılarak HOMO orbitalinden LUMO orbitaline geçer. Uyarılmış elektron tekrar temel hali olan HOMO orbitaline geri dönerken bir ışık yayar. Bu olaya floresans denir. Boyar maddelerin yapısında bulunan ve floresans yapan gruplara florofor gruplar denir. Florofor grupların kromofor gruplardan farkı floresans olayını gerçekleştirebilmeleridir. Floresans boyar maddeler genellikle konjuge π bağları içeren, düzlemsel bir yapıya sahip ve halkalı yapılar içeren moleküllerdir [18].

Flofor grup içeren boyar maddeler sayesinde floresans kemosensörlerin kullanım ve uygulama alanları oldukça gelişmektedir. Çünkü bir kemosensör, bir analit ile etkileşime girdiğinde ürettiği sinyal ölçülebilir bir sinyal olmalıdır ve floresans sinyali diğer spektrofotometrik yöntemlere göre kolay algılanabilir ve hassas bir sinyaldir. Ayrıca floresans sinyali μM düzeyinde tespit edilebilir. Bu durum floresans kemosensörlerin analitlere karşı daha duyarlı olmasını sağlamaktadır [19]. Floresans kemosensörler kimya, biyoloji, çevre bilimleri ve farmakoloji gibi alanlarda iyonlar ve nötür yapıların belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır [1].

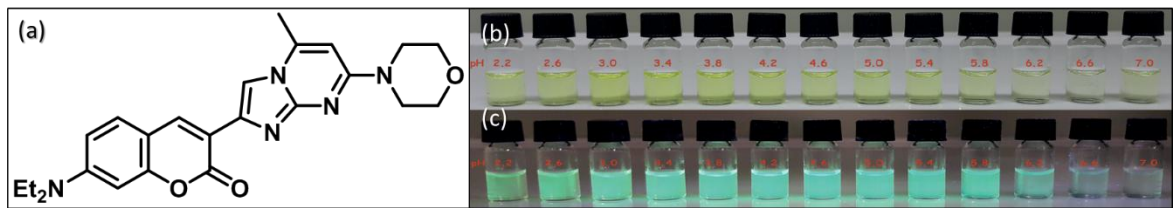


Şekil 2.7. Kumarin temelli floresans kemosenörün yapısı (a), UV ışığı altındaki fotoğrafı (b, sol) ve proton ile etkileşim sonrası UV ışığı altındaki fotoğrafı (b, sağ) [20].

2.3. Kumarin Temelli Kemosenörler

Floresans kemosenörler ile ilgili yapılan çalışmalar son yıllarda önemli bir konu haline gelmiştir [21]. Bunun nedeni floresans kemosenörlerin katyonlar, anyonlar ve nötr analitler için yüksek seçicilik ve hassasiyet göstermeleridir. Floresans kemosenörlerin florofor grupları çoğunlukla kumarin, floresein, rodamin ve BODIPY türevi bileşiklerden oluşur.

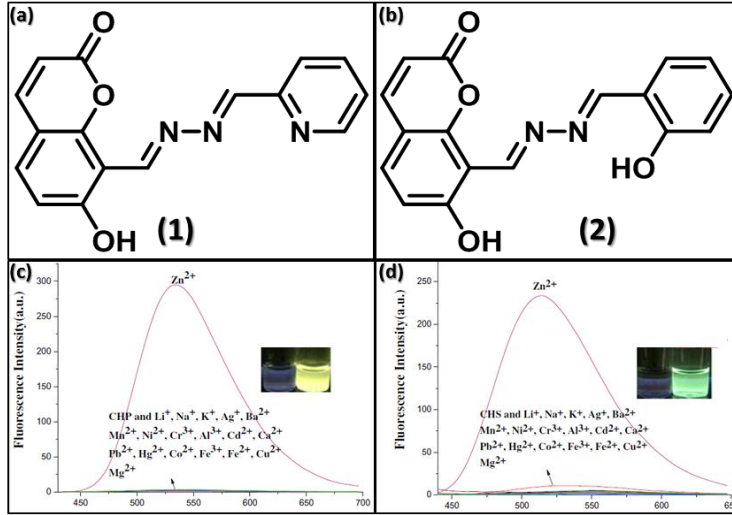
Kumarin ilk olarak Tonka bitkisinden izole edilmiştir, daha sonra yapılan çalışmalarda 1868 yılında ilk defa Perkin tarafından sentezlenmiştir [22]. Kumarinin yapısı benzen ve piron halkalarından oluşan benzo- α -pironudur [23]. Boyar madde özelliklerinin iyi olması, yüksek floresans, büyük Stokes kayması ve düşük toksisite gibi özellikler göstermesi nedeni ile kumarinler kimya, biyoloji, tıp ve farmakoloji alanlarında sıkça kullanılmaktadırlar. Ayrıca, kumarin temelli kemosenörler floresans pH problemleri [24], biyotiyoller, amino asitler, DNA ve RNA [25] ve iyonların belirlenmesi amacı ile kullanılırlar [6].



Şekil 2.8. Kumarin temelli floresans pH kemosenörünün yapısı (a), farklı pH değerleri ile gün ışığı altındaki fotoğrafı (b) ve farklı pH değerleri ile UV ışığı altında ki fotoğrafı (c) [21].

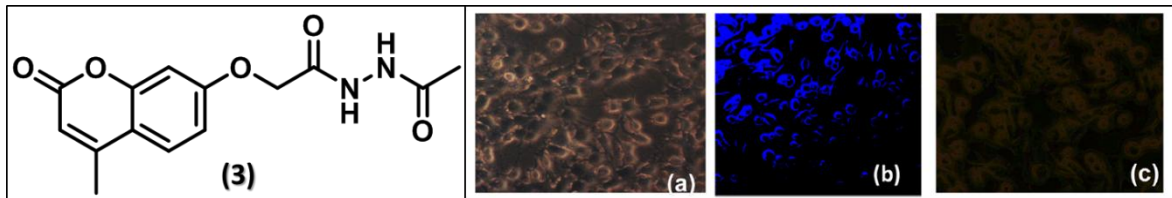
Literatürde metal iyonlarının belirlenmesinde kromofor olarak kumarinlerin yer aldığı pek çok çalışma vardır. Metal iyonları, homeostaz, nörofizyoloji, gen transkripsiyonu ve enzimatik reaksiyonlar gibi çeşitli kimyasal ve biyolojik süreç içerisinde önemli rol almaktadır ve insan vücudunda bulunan metal iyonlarının miktarlarındaki azalma ya da artma patolojik durumlara yol açmaktadır [26]. Fu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada

sentezlenen 1 ve 2 numaralı kemosensörler pH=7,4 olan bir ortamda Zn^{2+} katyonuna diğer metal iyonlarına göre seçicilik göstermiştir ve kemosensörün verdiği sinyal çıplak gözle gözlemlenmiştir (Bkz. Şekil 2.9) [27].



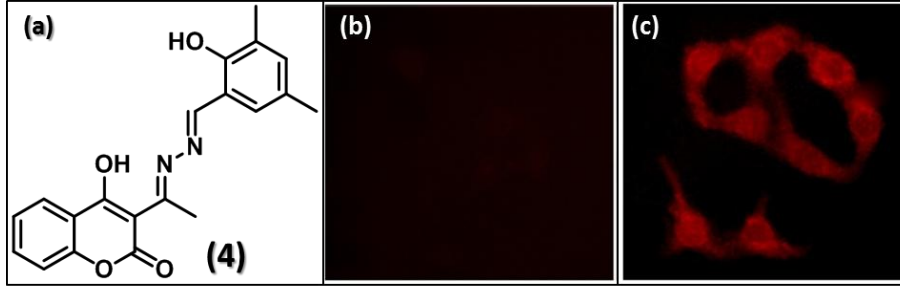
Şekil 2.9. Fu ve arkadaşlarının sentezlediği 1 (a) ve 2 (b) numaralı kemosensörlerin yapısı, 1 numaralı kemosensörün çeşitli metal katyonları ile titrasyonunun floresans grafiği ve verdiği floresans sinyalin UV ışığı altında ki fotoğrafı (c) ve 2 numaralı kemosensörün çeşitli metal katyonları ile titrasyonunun floresans grafiği ve verdiği floresans sinyalin UV ışığı altında ki fotoğrafı (d).

Warrier ve arkadaşlarının sentezledikleri 3 numaralı kemosensör ise sulu ortamda Cu^{2+} katyonu ile etkileşime girerek diğer metal iyonlarından farklı olarak floresansın sönümlenmesini sağlamıştır. Ayrıca geliştirilen bu kemosensör hücre görüntülemeye de kullanılmıştır (Bkz. Şekil 2.10) [28].



Şekil 2.10. Warrier ve arkadaşlarının sentezlediği 3 numaralı kemosensörün yapısı, kemosensör uygulanmadan önceki hücrelerin görüntüsü (a), kemosensör uygulandıktan sonraki hücrelerin UV ışığı altında ki floresans görüntüsü (b) ve kemosensör uygulanan hücrelere Cu^{2+} katyonu uygulandıktan sonraki UV ışığı altındaki fotoğrafı (c).

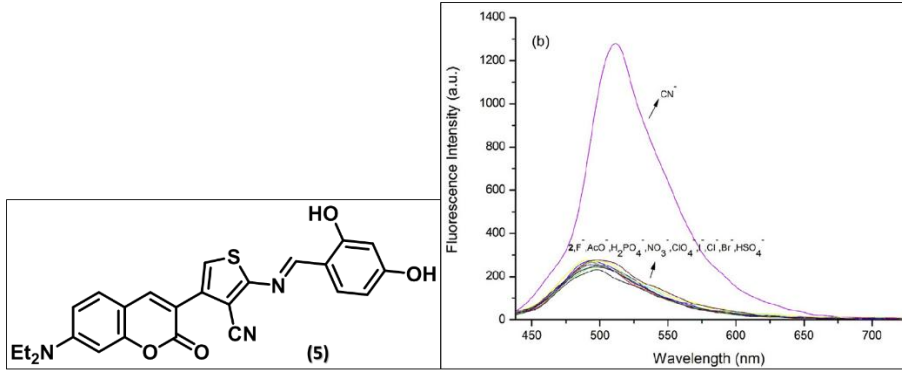
Sarkar ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise 4 numaralı bileşik sentezlenmiş ve kemosensörün Al^{3+} katyonu ile etkileşimi sonucunda sulu ortamda floresansın arttığı görülmüştür. Hücre görüntüleme çalışmalarında ise hücre içerisindeki Al^{3+} katyonun varlığı belirlenmiştir (Bkz. Şekil 2.11) [29].



Şekil 2.11. Sarkar ve arkadaşlarının sentezlediği 4 numaralı kemosensörün yapısı (a), kemosensör uygulanan hücrelerin UV ışığı altında ki fotoğrafı (b) ve kemosensör uygulanan hücrelere Al^{3+} katyonu uygulandıktan sonraki UV ışığı altındaki fotoğrafı (c).

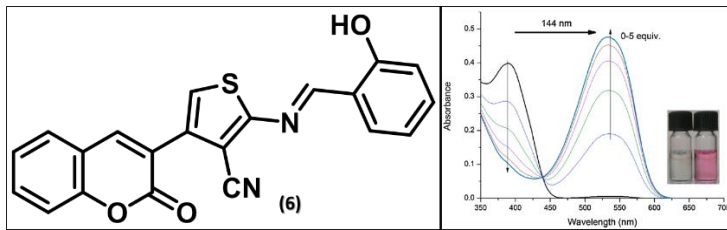
Literatürde anyonların belirlenmesi için kumarin temelli kemosensörlerin çok sayıda çalışması yer almaktadır. Anyonlar, özellikle florür ve siyanür anyonları canlıların metabolizmasında önemli süreçlerde rol oynamaktadır. Bu anyonların vücutta belirli bir miktarın üstünde bulunması patolojik durumlara yol açar, özellikle siyanür anyonu zehir olarak bile kullanılmaktadır [30].

Chemchem ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sentezlenen 5 numaralı kumarin temelli kemosensör musluk suyunda CN^- anyonunu belirlemede seçicilik göstermiştir. Kemosensörün CN^- ile etkileşimi sonucunda absorpsiyon maksimumunda batokromik bir kayma, floresans şiddetinde ise belirgin bir artma görülmüştür (Bkz. Şekil 2.12) [31].



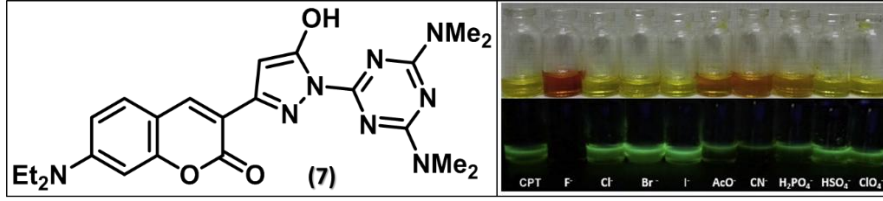
Şekil 2.12. Chemchem ve arkadaşlarının sentezlediği 5 numaralı kemosensörün yapısı (sol) ve kemosensörün çeşitli anyonlar ile titrasyonunun floresans grafiği (sağ).

Yahaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 6 numaralı bileşik sentezlenmiştir. Bileşiğin OH^- anyonuna karşı duyarlılığı hem absorpsiyon spektrumunda maksimum dalga boyunun batokromik kaymasıyla hem de çıplak gözle gözlemlenmiştir. Sentezlenen bileşiğin OH^- anyonuna duyarlı olması kemosensörün pH sensörü olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Bkz. Şekil 2.13) [32].



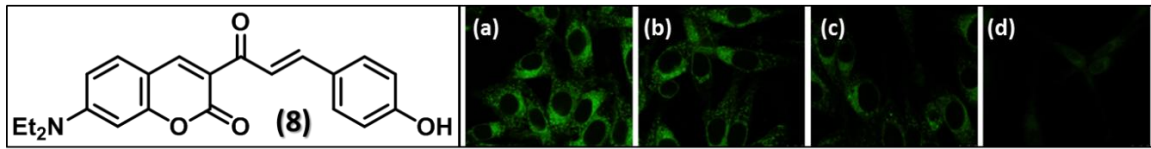
Şekil 2.13. Yahaya ve arkadaşlarının sentezlediği 6 numaralı kemosensörün yapısı (sol) ve kemosensörün çeşitli OH^- anyonu ile titrasyonunun absorpsiyon grafiği ve ortam ışığı altındaki fotoğrafları (sağ).

Yalçın ve arkadaşlarının sentezlediği 7 numaralı bileşik F^- anyonuna karşı seçicilik göstermiştir. Kumarin temelli floresans kemosensör F^- anyonu ile etkileşime girdikten sonra floresansın sönümlendiği gözlemlenmiştir. Floresans sinyalindeki bu değişim hem spektroskopik yöntemlerle hem de çıplak gözle gözlemlenmiştir (Bkz. Şekil 2.14) [33].



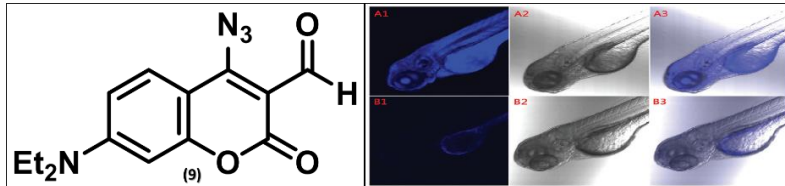
Şekil 2.14. Yalçın ve arkadaşlarının sentezlediği 7 numaralı kemosensörün yapısı (sol) ve kemosensörün F⁻ anyonu ile etkileşimi sonrası floransının sönmülmesinin fotoğrafı (sağ).

Yang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sentezlenen 8 numaralı bileşik sulu ortamda H₂S yapısına karşı seçici bir kemosensör olarak çalışmaktadır. Sulu ortam içerisinde kemosensörün etkileşim sonrası floresansı sönmülmüştür. pH 4-11 arasında çalışan kemosensör hücre görüntüleme çalışmalarında kullanılmıştır (Bkz. Şekil 2.15) [34].



Şekil 2.15. Yagn ve arkadaşlarının sentezlediği 8 numaralı kemosensörün yapısı (üstte), kemosensörün hücre içi uygulamasının (a), kemosensör uygulanmış hücrenin 5 μ M (b), 25 μ M (c), 50 μ M (d) H₂S uygulanmasının fotoğrafları.

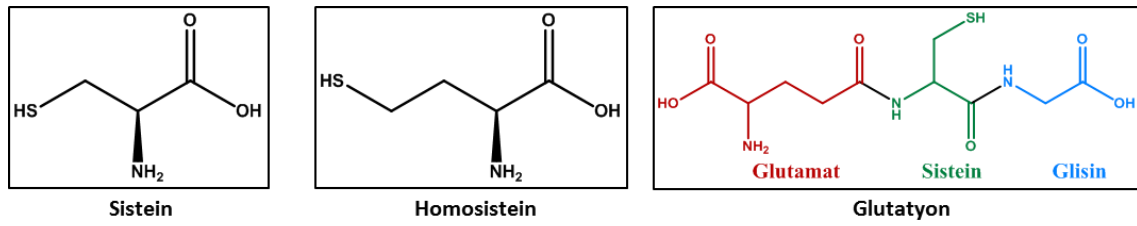
Fang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 9 numaralı kemosensör sentezlenmiştir. Kemosensör sulu ortamda H₂S ile etkileşime girerek floresans bir sinyal üretmiştir. Üretilen bu sinyal hem spektroskopik yöntemler ile hem de çıplak göz ile gözlemlenmiştir. Yapılan canlı çalışmalarında ise kemosensörün zebra balığında bulunan H₂S'i belirleyebildiği gözlemlenmiştir (Bkz. Şekil 2.16) [35].



Şekil 2.16. Fang ve arkadaşlarının sentezlediği 9 numaralı kemosensörün yapısı (sol) ve kemosensörün zebra balığı uygulaması (sağ). Sol kolon zebra balığına UV lambası altındaki, orta kolon gün ışığı altındaki fotoğrafı ve sağ kolon iki resmin birleştirilmesi. Üst sütun kemosensörün zebra balığına uygulanmasının ve alt sütun Na₂S uygulanmasının fotoğrafı.

2.4. Biotiyoller

Biyolojik sistemlerde tiyol grubu içeren yapılar önemli roller almaktadırlar. Cys, Hyc ve GSH (Bkz. Şekil 2.17) insan metabolizmasında çalışan, üç ana tiyol grubu içeren yapıdır. Bu yapılar biyolojik sistemlere dahil oldukları için biyotiyoller olarak adlandırılırlar [1]. Biotiyoller insan metabolizmasında çeşitli görevler aldıkları için hücre ve plazma ortamındaki miktarları insan sağlığı için çeşitli durumlara işaret eder.



Şekil 2.17. Biyolojik sistemlerde tiyol grubu içeren önemli biyomoleküller.

Biotiyoller sahip oldukları nükleofilik ve yükseltgenme indirgenme özelliklerinden dolayı antioksidan ve serbest radikal süpürücü olarak görev yaparlar. Böylece hücrelerin oksidatif stresi korunmuş olur [36]. Metabolik süreçler sonunda meydana gelen reaktif oksijen radikalleri gibi ürünler biyotiyoller tarafından indirgenir. Diğer taraftan biyotiyoller bu işlem sonunda yük dengesini korumak için kendiliğinden disülfürleşerek nötralize olurlar [37]. Oksidatif stres, yaşlanma, katarakt, kanser, otoimmün bozukluklar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalığın ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır [2]. Bu yüzden biyotiyol seviyelerinin belirlenmesi insan sağlığı için oldukça önemlidir.

Sistein, $-\text{CH}_2\text{-SH}$ grubu içeren bir amino asittir. Hücre içi serbest Cys miktarı 30-200 μM seviyelerindedir [38]. Hücre içerisinde serbest tiyol formunda bulunurken, hücre dışında disülfür bağları oluşturur [39]. Proteinlerin yapısında yer alırlar [40], proteinlerin kuartern yapılarını oluşturmalarını sağlarlar [41] ve proteinlerin hücre dışında kararlı kalmalarını sağlarlar. Cys eksikliğinde çocuklarda yavaş büyüme, saçlarda pigment kaybı, ödem, karaciğer hasarı, cilt lezyonları, uyuklama, halsizlik, kas ve yağ kaybı gibi rahatsızlıklar görülmektedir [42]. Ayrıca Cys civa, kurşun gibi çeşitli metal iyonları ile bağlanarak detoksifikasyon da sağlamaktadır [43].

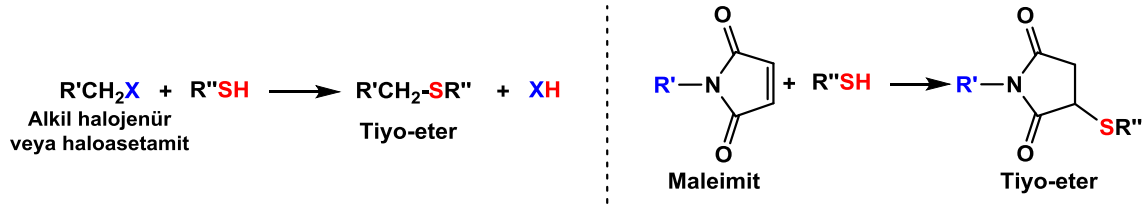
Homosistein, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$ grubu içeren, protein olmayan başka bir amino asittir. Hücre içinde 5-15 μM seviyelerindedir [44]. Antioksidan aktivite [45] göstermesinin yanı sıra plazmada yüksek seviyelerde bulunmasının Alzheimer [46], iltihaplı bağırsak sendromu ve osteoporozla [47] ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Down Sendromu gibi kalıtsal hastalıkların varlığı [48], B12 ve B6 vitamin eksiklikleri [49, 50] ve böbrek yetmezliği [51] için bir işaret olacağı hakkında raporlar vardır.

Glutasyon bir tripeptittir ve hücrede 0,1-10 mM seviyelerinde bulunur [52]. Hücre içi redoks tepkimelerinin onarımı, gen aktarımı ve gen dizilimi [53] gibi süreçlerde görev yapar. GSH'un özellikle DNA ve RNA'ya zarar veren serbest radikalleri yakalayarak hücreyi oksidatif etkiye karşı koruduğu tespit edilmiştir. [54, 55]. Kanser hücrelerinde GSH seviyesinin yüksek olması kemoterapi etkinliğini azaltmaktadır. Diyabet ve çeşitli kanser rahatsızlıkları için de önemli bir belirteçtir [56].

2.5. Kemosensör-Biyotiyol Etkileşimleri

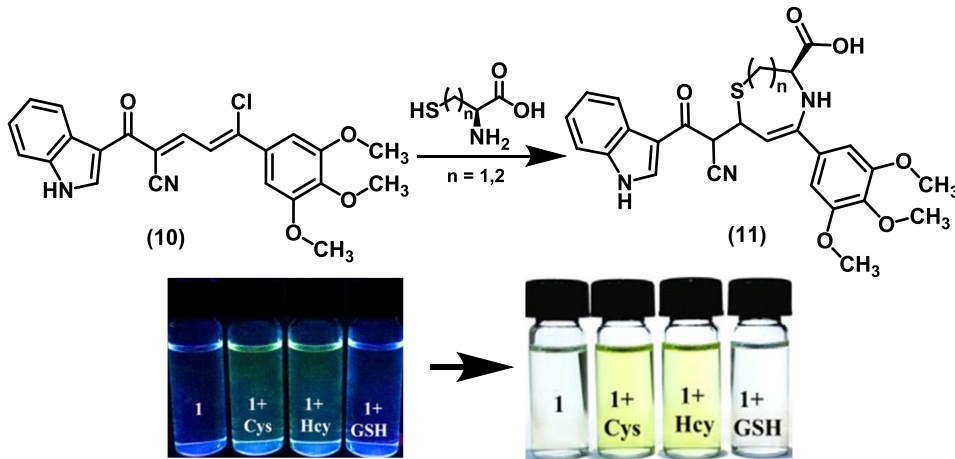
Biyotiyollerin saptanmasında Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi [57], Kapiler Elektroforez [58], Voltametri [59], ve Kütle Spektrometrisi [60] gibi yöntemler kullanılsa da bunlar hız ve maliyet olarak dezavantajları olan yöntemlerdir. Daha hızlı ve düşük maliyetli yöntemlerin geliştirilmesi için kimyasal sensörlere ihtiyaç vardır. Biyotiyollerin saptanmasında birçok kimyasal sensör literatürde yer alsa da [61] seçicilik açısından birçoğu uygun yapılar değildir. Bugüne kadar yapılan pek çok çalışma kimyasal sensörlerin seçicilik ve sinyalizasyon alanına yoğunlaşmıştır.

Biyotiyollerin saptanmasına yönelik çalışmalarda genellikle $-\text{SH}$ grubunun vereceği tepkimeler dikkate alınarak buna yönelik sensör tasarımları yapılmaktadır [62]. Michael katılması ve nükleofilik yerdeğiştirme veya katılma sensör tasarımında en çok kullanılan etkileşim mekanizmalarıdır. $-\text{SH}$ grubunun verdiği bu tepkimeler sonucu tiyo-eterler oluşmaktadır (Bkz. Şekil 2.18).



Şekil 2.18. -SH grubunun tiyoetere dönüşümü.

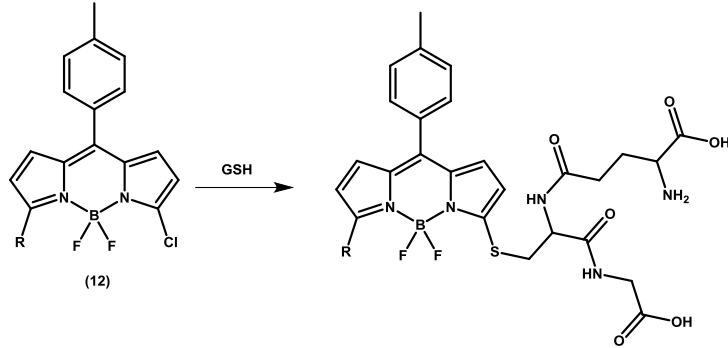
Chen ve arkadaşları 2018 yılında indol tabanlı 10 numaralı bileşiği sentezlemişlerdir. Cys ve/veya Hcy yapı üzerinde bulunan ikili bağa Michael katılması ile bağlanır. Daha sonra yapıda bulunan klor atomu ile Cys'nin yapısında bulunan amino grubunun yer değiştirmesi sonucu floresans özellik gösteren yeni bir bileşik olan 11 numaralı bileşiği elde etmişlerdir. Bu yer değiştirme tepkimesi Cys ve Hcy'ye özgü iken GSH bu tepkimeye girmemiş ve yapı floresans özellik kazanmamıştır. Böylece elde edilen bileşiğin (10) Cys ve Hcy için florimetrik ve kolorimetrik sensör olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir. Bileşik 10, gün ışığı ve floresans ışık altında ve DMSO/PBS (%30; h/h, pH 7,4) karışımında renksiz iken Cys ve Hcy eklendikten sonra UV ve gün ışığı altında sarı renkli olmaktadır (Bkz. Şekil 2.19) [62].



Şekil 2.19. Michael katılması ve nükleofilik yerdeğiştirme mekanizması ile çalışan Cys ve Hcy sensörü.

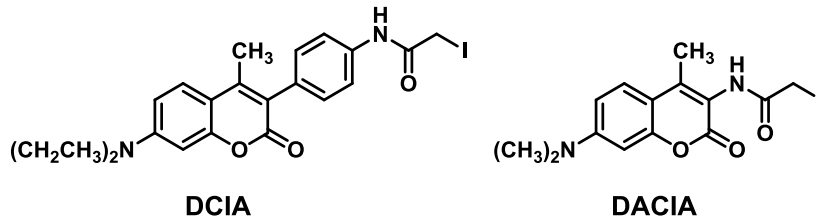
Literatürde bulunan başka bir çalışmada ise Xia ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları çalışmada yer değiştirme mekanizması üzerinden ilerleyen başka bir biyotiyol sensörü, 12 numaralı bileşiği sentezlemişlerdir. BODIPY temelli bu sensörde bulunan klor atomu ve

–SH grubunun reaksiyonu sonucunda GSH’a duyarlı bir florimetrik sensör elde edilmiştir (Bkz. Şekil 2.20) [63].



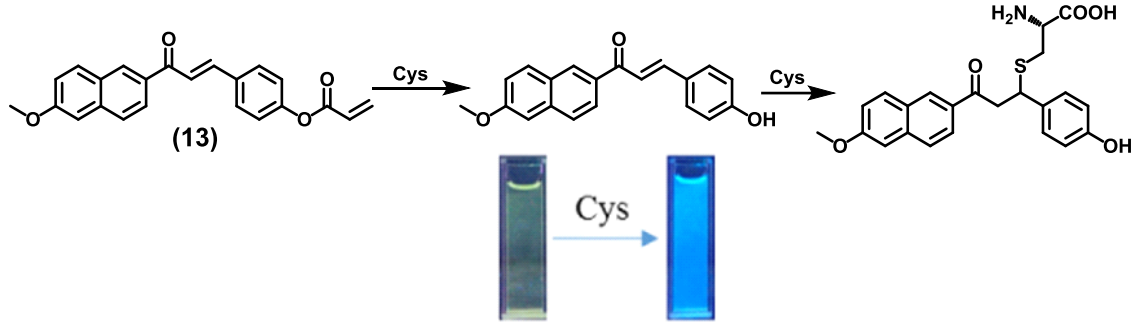
Şekil 2.20. Nükleofilik yerdeğiştirme mekanizması ile GSH belirlenmesi.

Literatürde yapılan çalışmaların yanı sıra ticari olarak da satılan biyotiyol sensörlerin arasında (Bkz. Şekil 2.20) nükleofilik yer değıştirme mekanizması ile çalışan sensörler de mevcuttur.



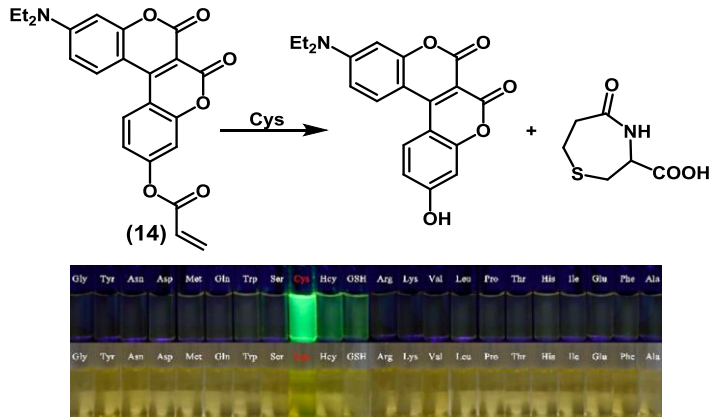
Şekil 2.21. Thermofisher tarafından sağlanan kumarin temelli iyodoasetamit sensörlerinin yapıları.

Literatürde üzerinde çalışılan ve Michael katılması ile biyotiyoller ile etkileşime giren diğer yapılar ise maleimide, akrilil grubu ve doymamış bağlar içeren yapılardır. Xiang-Mei ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları çalışmada sentezlenen naftalin temelli 13 numaralı bileşik Cys ile önce Michael katılması ile akrilil ucu etkileşmektedir. Daha sonra bileşik ile Cys tekrar yapıdaki π -köprüsü ile Michael katılması ile etkileşip yapıya bağlanmaktadır ve yapıya floresans özellik kazandırmaktadır. Yapılan bu çalışmada bileşik Cys’ye karşı oldukça seçicidir (Bkz. Şekil 2.22) [64].



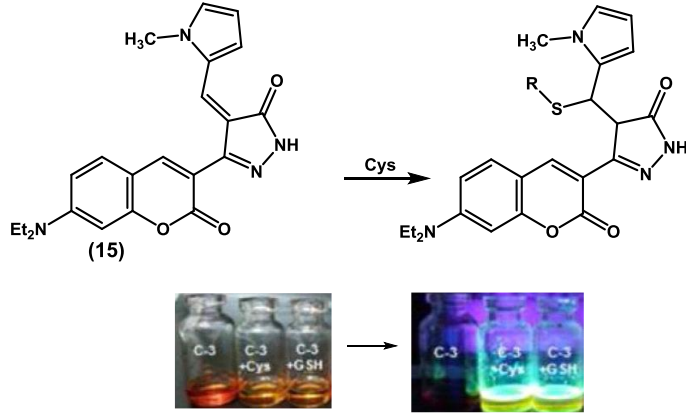
Şekil 2.22. Akriloil süstitüenti içeren Cys'ye karşı seçici sensörün etki mekanizması.

Chen ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları çalışmada kumarin temelli akriloil grubu içeren 14 numaralı bileşiği sentezlemişlerdir ve yapılan çalışmalar sonucunda bileşiğin diğer amino asit ve biyomoleküllere kıyasla Cys'ye karşı oldukça seçici olduğu görülmüştür. Cys bileşik ile akriloil grubundaki çift bağdan Michael katılması ile etkileşmekte, grup yapıdan ayırarak halkalı bir yapı oluşturmaktadır ve floresans özelliğini arttırmaktadır (Bkz. Şekil 2.23) [65].



Şekil 2.23. Akriloil süstitüenti içeren Cys'ye karşı seçici sensör.

Babür ve arkadaşlarının 2016 yaptığı çalışmada ise sentezlenen kumarin temelli 15 numaralı bileşiğin yapısındaki π -köprüsü, $-SH$ ile Michael katılması mekanizması ile etkileşerek GHS'a ve Cys'ye karşı seçici bir sensör sentezlemişlerdir. Bileşik gün ışığında DMSO/H₂O (%20; h/h) kırmızı renkli ve floresansı yok iken Cys ile etkileştikten sonra floresans ışık altında sarı renkli olmaktadır (Bkz. Şekil 2.24) [66].



Şekil 2.24. Michael katılması mekanizması ile Cys biyotiyolünün belirlenmesi.

Literatürdeki bilgiler doğrultusunda, 7-konumunda elektron veren $-\text{OCH}_3$ ve $-\text{NEt}_2$ gruplarını içeren, kumarin temelli florofofor yapıya 3-konumundan tiyofen köprüsü ile bağlı maleimit, akrilamit, iyodoasetamit ve serbest aldehit içeren Schiff bazı türevlerinin sentezi amaçlanmıştır. Hedeflenen Schiff bazı, maleimit ve akrilamit yapılarının Cys, Hyc ve GSH ile etkileşiminin Michael katılması, iyodo ve kloro asetamit türevlerinin ise nükleofilik yer değiştirme mekanizması ile etkileşebileceği düşünülmüştür. Bu etkileşim sonucunda özellikle akrilamit türevlerinin Cys ile seçici olarak etkileşmesi beklenmektedir. Tüm etkileşim çalışmaları ve kemosensörün fotofiziksel özelliklerinin belirlenmesinde spektroskopik yöntemler kullanılacaktır.

3. ÇALIŞMANIN AMACI

Sunulan tez kapsamında ilk durumda başlangıç bileşiği olarak 7-konumunda kuvvetli elektron donör grubu olarak $-NEt_2$ ve $-OMe$ grubu 3-konumunda akseptör grup olarak amino-tiyofen halkası içeren 2-amino-4-(7-(diethylamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril ve 2-amino-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril bileşiklerinin literatürdeki sentez yöntemleri kullanılarak sentezlenmesi planlanmıştır. (Alt Bölüm 5.2.1. ve 5.2.2.) [67, 68].

İkinci aşamada ise serbest amino grubu üzerinden türevlendirme sonucunda bir seri yeni bileşiklerin sentezi ve spektroskopik yöntemlerle yapılarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Son yıllarda biyotiyollerin çeşitli ortamlarda belirlenmesi için başarılı floresan kemosensörler geliştirilmesine rağmen, yeni kemosensörlerin özellikle seçicilikleri yüksek ve fizyolojik ortamda çalışabilen yeni kemosensörlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Bu amaçla tez kapsamında biyotiyollerle etkileşime girebilecek floresan kemosensörler tasarlanmıştır. Kemosensörlerin fizyolojik pH=7,4 değerinde ve biyotiyoller ile amino asitlerin iyonik forma geçebilecekleri pH=9,2 değerinde spektrofotometrik etkileşim çalışmaları yapılacaktır. Spektrofotometrik etkileşim çalışmalarından elde edilen sonuçlar temel alınarak teorik hesaplama ve 1H -NMR spektroskopisi ile kemosensörlerin biyotiyoller ile etkileşim mekanizmalarının açıklanması da hedeflenmiştir.

4. DENEYSEL KISIM

4.1. Materyal ve Araçlar

Hedef bileşiklerin sentezi için kullanılacak kimyasallar Merck ve Aldrich firmalarından yüksek saflıkta temin edilmiştir.

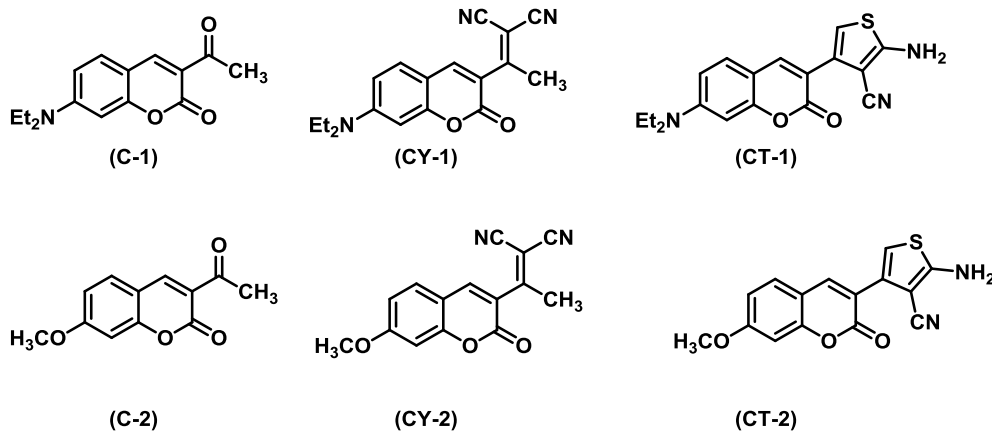
4.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Bileşiklerin mikrodalga ışıması (MDI) yöntemi ile sentezleri için Milestone Start mikrodalga cihazı kullanılmıştır. ^1H NMR (300 MHz) ve ^{13}C NMR (75 mHz) spektrumları Bruker Ultrashield NMR spektrofotometresi ile çekilmiştir. Elde edilen bileşiklerin erime noktaları Elektrotermal 9200 erime noktası cihazı ile ölçülmüştür. Sentezlenen bileşiklerin kütle spektrumları Waters 2695 Alliance Micromass ZQ LC/MS cihazı ile alınmıştır. UV-GB absorpsiyon spektrumları Shimadzu UV-1800 UV-VIS spektrofotometresi, emisyon spektrumları HITACHI F-7000 FL ile ölçülmüştür. Sentezlenen bileşiklerin FT-IR spektrumları Thermo Scientific Nicolet iS5 ATR cihazı ile çekilmiştir.

4.3. Yöntem

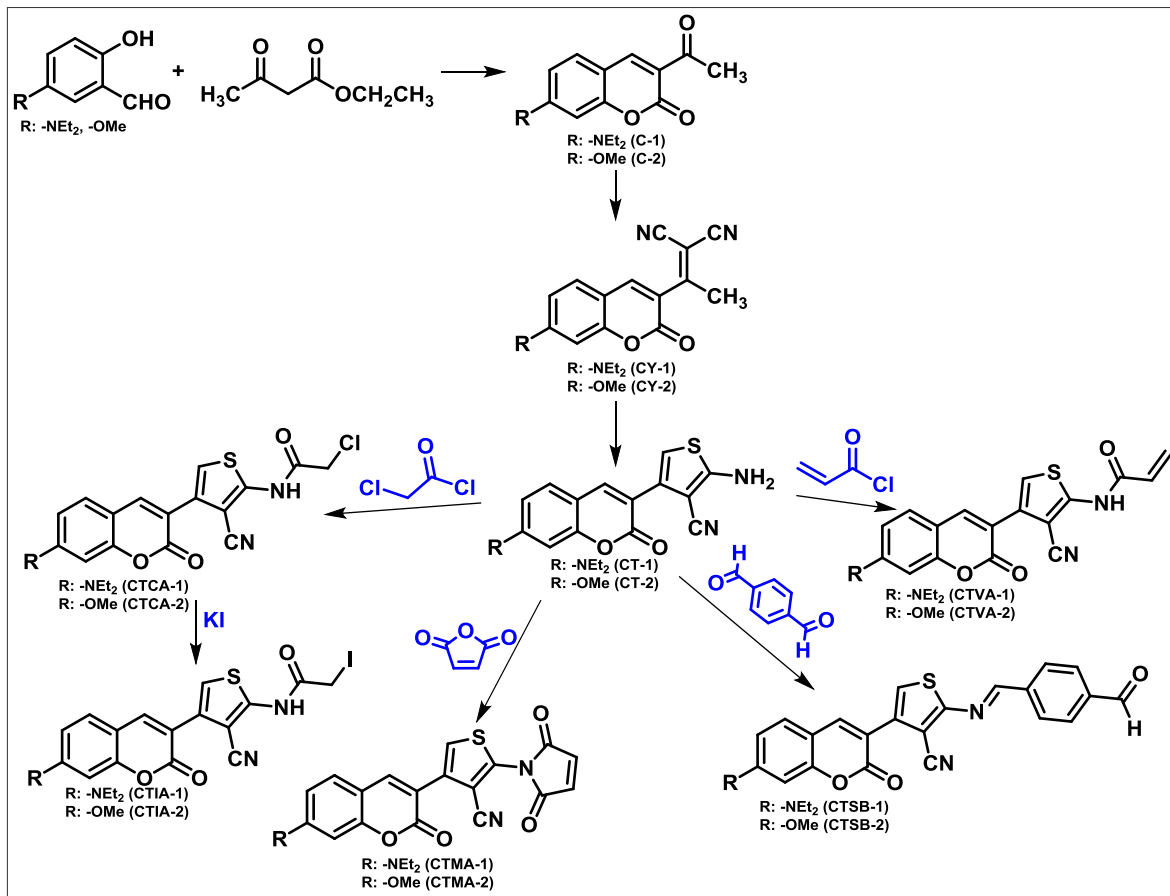
4.3.1. Deneysel yöntem

Şekil 4.1’de gösterilen bileşikler literatürde bilinen bileşiklerdir ve sentezi literatürdeki yöntemler kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 4.1. Tez kapsamında kullanılan ve literatürde bilinen bileşiklerin yapıları

Tez kapsamında sentezlenmesi hedeflenen bileşiklerin genel sentez şeması Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Hedef bileşiklerin genel sentez şeması.

4.3.2. Hesaplamalı yöntem

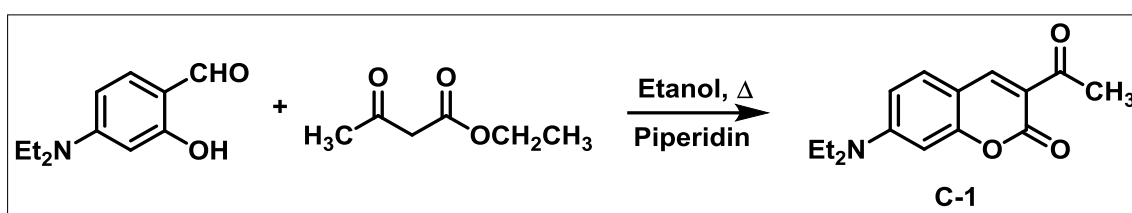
Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin, taban durum geometrileri Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) kapsamında B3LYP metodu ile 6-31G(d) ve LANL2DZ temel setleri kullanılarak belirlendi [69]. Elde edilen geometrilerin doğru taban durum geometrileri olduğu analitik frekans hesaplamaları ile doğrulandı. Hesaplamalarda, Gaussain 09 paket programı [70] kullanıldı.

5. HEDEF BİLEŞİKLERİN SENTEZİ

5.1. Kumarin Bileşiklerinin Sentezi

Tez kapsamındaki hedef bileşiklerin sentezinde kullanılan kumarin temelli bileşikler (C-1 ve 2, CY-1 ve 2, CT- 1 ve 2, Şekil 4.1) literatürde bilinen bileşiklerdir ve literatürdeki sentez yöntemleri kullanılarak sentezlenmiştir [67, 68].

5.1.1. 3-Asetil-7-(dietilamino)-2H-kromen-2-on (C-1)'un sentezi



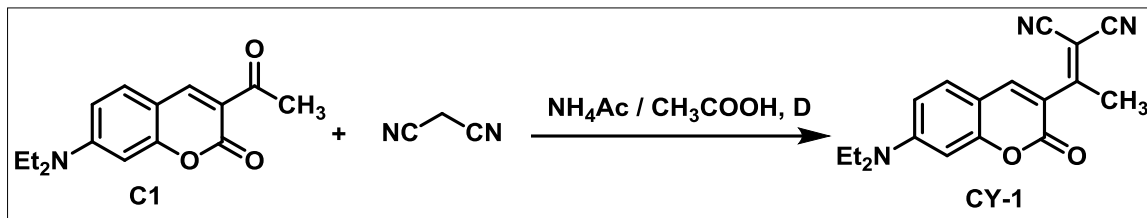
Şekil 5.1. C-1 bileşiğinin sentez şeması.

C-1 bileşiğinin sentezi literatürde bilinen Knoevenagel kondenzasyonu yöntemine göre yapılmıştır. 2,00 mmol 4-*N,N*-dietilamino-2-hidroksibenzaldehit, 2,40 mmol etilasetoasetat ve 20,00 mL etanol karışımına katalitik miktarda piperidin ilave edilerek, buz banyosunda karıştırıldı. İnce tabaka kromatografisi (İTK) ile reaksiyon takip edilerek 24 Sa sonra sonlandırıldı. Oluşan sarı renkli çökelek süzülerek kurutuldu, etanol kullanılarak kristallendirildi, verim: % 89, e.n.: 152-153 °C, lit. e.n.: 152-154 °C [67].

FT-IR (ATR, ν_{maks} , cm⁻¹): 3120 (aromatik C–H gerilmesi), 2966 (alifatik C–H gerilmesi), 1713 (C=O gerilmesi), 1661 (C–O gerilmesi), 1566 (aromatik C=C gerilmesi), 1274 (C–O gerilmesi).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ): 8,50 (t, 1H), 7,70 (i, J = 9,0 Hz, 1H), 6,75 (ii, J_1 = 9,0 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 1H), 6,58 (i, J = 2,0 Hz, 1H), 3,46 (d, J = 7,0 Hz 4H), 2,50 (t, 3H), 1,14 (ü, J = 7,0 Hz, 6H).

5.1.2. 2-(1-(7-Dietilamino)-2-okso-2H-kromen-3-il)etiliden)malononitril (CY-1)'in sentezi



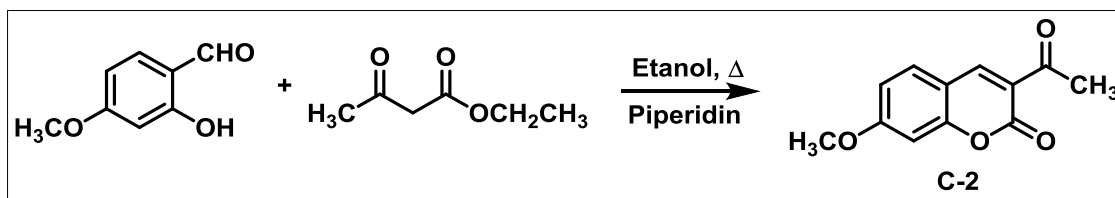
Şekil 5.2. CY-1 bileşiğinin sentez şeması.

CY-1 bileşiğinin sentezi literatürde bilinen yöntemlere göre yapılmıştır. 2,00 mmol 3-asetil-7-(dietilamino)-2H-kromen-2-on, 2,0 mmol malononitril ve 5,00 mL CH₃COOH/NH₄Ac (1:4 eşdeğer) çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı. İTK ile reaksiyon takip edilerek 4,00 Sa sonra sonlandırıldı. Oluşan kırmızı renkli katı süzülerek kurutuldu, etanol kullanılarak kristallendirildi, verim: % 82, e.n.: 166-167 °C, lit e.n.: 166-168 °C [67].

FT-IR (ATR, ν_{maks} , cm⁻¹): 3093 (aromatik C–H gerilmesi), 2978 (alifatik C–H gerilmesi), 2230 (C≡N gerilmesi), 1714 (C=O gerilmesi), 1605 (C–O gerilmesi), 1557 (aromatik C=C gerilmesi).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ): 8,30 (t, 1H), 7,64 (i, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,75 (ii, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,3 Hz, 1H), 6,58 (i, *J* = 2,3 Hz, 1H), 3,46 (d, *J* = 7,0 Hz, 4H), 2,60 (t, 3H), 1,14 (ü, *J* = 7,0 Hz, 6H).

5.1.3. 3-Asetil-7-metoksi-2H-kromen-2-on (C-2)'un sentezi



Şekil 5.3. C-2 bileşiğinin sentez şeması.

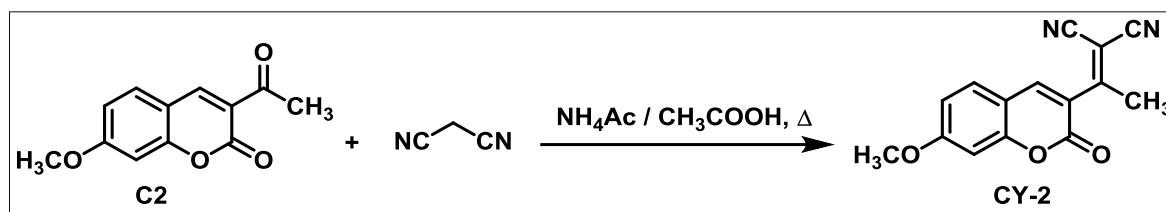
C-2 bileşiğinin sentezi literatürde bilinen Knoevenagel kondenzasyonu yöntemine göre yapılmıştır. 2,00 mmol 2-hidroksi-4-metoksi benzaldehit, 2,40 mmol etilasetoasetat ve 20,00 mL etanol karışımına katalitik miktarda piperidin ilave edilerek buz banyosunda karıştırıldı. İTK ile reaksiyon takip edilerek 24 Sa sonra sonlandırıldı. Oluşan sarı renkli çökelek

süzülerek kurutuldu, etanol kullanılarak kristallendirildi, verim: % 87, e.n.: 172-173 °C, lit. e.n.: 173-175 °C [68].

FT-IR (ATR, ν_{maks} , cm^{-1}): 3039 (aromatik C–H gerilmesi), 2980 (alifatik C–H gerilmesi), 1723 (C=O gerilmesi), 1546 (C–O gerilmesi).

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ): 8,70 (t, 1H), 7,78 (i, $J = 8,7$ Hz 1H), 7,08 (i, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,01 (ii, $J_1 = 8,7$ Hz, $J_2 = 2,3$ Hz, 1H), 3,89 (t, 3H), 2,60 (t, 3H).

5.1.4. 2-(1-(7-Metoksi-2-okso-2H-kromen-3-il)etiliden)malononitril (CY-2)'in sentezi



Şekil 5.4. CY-2 Bileşiğinin sentez şeması.

CY-2 bileşiğinin sentezi literatürde bilinen Knoevenagel kondenzasyonu yöntemine göre yapılmıştır. 2,00 mmol 3-asetil-7-metoksi-2H-kromen-2-on, 2,00 mmol malonitril ve 5,00 mL $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NH}_4\text{Ac}$ (1:4 eşdeğer) çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı. İTK ile reaksiyon takip edilerek 4 Sa sonra sonlandırıldı. Oluşan sarı renkli çökelek süzülerek kurutuldu, etanol kullanılarak kristallendirildi, verim: % 79, e.n.: 187-188 °C lit. e.n.: 187-189 °C [68].

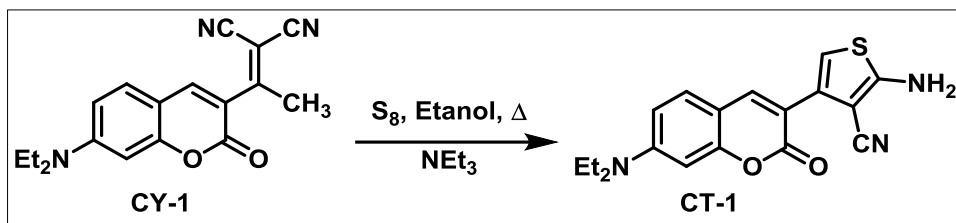
FT-IR (ATR, ν_{maks} , cm^{-1}): 3093 (aromatik C–H gerilmesi), 2978 (alifatik C–H gerilmesi), 2230 (C≡N gerilmesi), 1714 (C=O gerilmesi).

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ): 8,47 (t, 1H), 7,78 (i, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,13 (i, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,06 (ii, $J_1 = 8,7$ Hz, $J_2 = 2,3$ Hz, 1H), 3,90 (t, 3H), 2,60 (t, 3H).

5.2. Kumarin-Tiyofen Bileşiklerinin Sentezi

Kumarin-Tiyofen bileşikleri literatürde bilinen bileşiklerdir ve literatürdeki sentez yöntemleri kullanılarak sentezlenmiştir [67, 68].

5.2.1. 2-Amino-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2H-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CT-1)'in sentezi



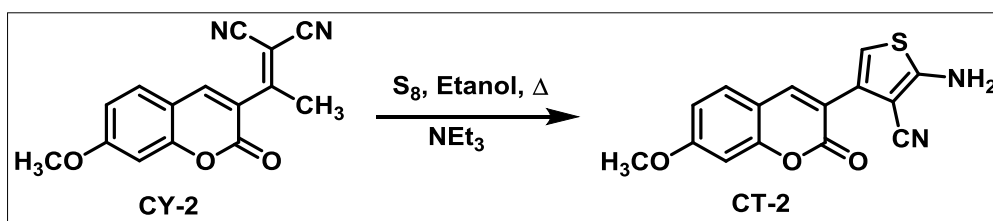
Şekil 5.5. CT-1 bileşiğinin sentez şeması.

CT-1 bileşiğinin sentezi literatürde bilinen Gewald reaksiyonu yöntemine göre yapılmıştır. 2,00 mmol 2-(1-(7-(dietilamino)-2-okso-2H-kromen-3-il) etiliden) malononitril (CY-1), 2,40 mmol kükürt ve 10,00 mL etanol karışımına 1-2 damla trietilamin eklenerek geri soğutucu altında kaynatıldı. İTK ile reaksiyon takip edilerek 4 Sa sonra sonlandırıldı. Oluşan koyu sarı renkli çökelek süzülerek kurutuldu, etanol kullanılarak kristallendirildi, verim: % 81, e.n.: 213-214 °C, lit. e.n.: 211-214 [67].

FT-IR (ATR, ν_{maks} , cm^{-1}): 3406 (N-H₂ gerilmesi), 3325 (N-H₂ gerilmesi), 3221 (aromatik C-H gerilmesi), 2968 (alifatik C-H gerilmesi), 2190 (C≡N gerilmesi), 1695 (C=O gerilmesi), 1522 (aromatik C=C gerilmesi), 1247(C-O gerilmesi), 540 (C-S gerilmesi).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ): 8,0 (1H, t), 7,5 (1H, i, $J=8,9$ Hz), 7,2 (2H, t), 6,8 (1H, ii, $J_1=2,3$ Hz, $J_2=8,9$ Hz), 6,7 (1H, t), 6,6 (1H, i, $J=2,3$ Hz), 3,5 (4H, d, $J=7,0$ Hz), 1,1 (6H, ü, $J=7,0$ Hz).

5.2.2. 2-Amino-4-(7-metoksi-2-okso-2H-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CT-2)'in sentezi



Şekil 5.6. CT-2 bileşiğinin sentez şeması

CT-2 bileşiğinin sentezi literatürde bilinen Gewald reaksiyonu yöntemine göre yapılmıştır. 2,00 mmol 2-(1-(7-metoksi-2-okso-2H-kromen-3-il)etiliden)malononitril (CY-2), 2,40

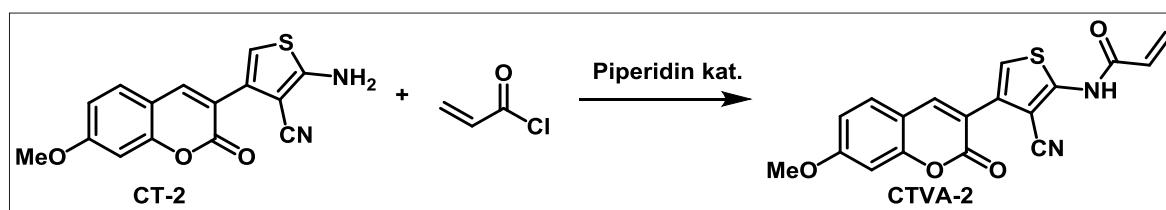
mmol kükürt ve 10,00 ml etanol çözeltisine 1-2 damla trietilamin eklenerek geri soğutucu altında kaynatıldı. İTK ile reaksiyon takip edilerek 4 Sa sonra sonlandırıldı. Oluşan açık sarı renkli çökelek süzülerek kurutuldu, etanol kullanılarak kristallendirildi, verim: % 84, e.n.: 305-306 °C, lit. e.n.: 304-306 [68].

FT-IR (ATR, ν_{maks} , cm^{-1}): 3292 (N-H₂ gerilmesi), 3196 (N-H₂ gerilmesi), 3139(aromatik C-H gerilmesi), 3080 (alifatik C-H gerilmesi), 2209 (C≡N gerilmesi), 1704 (C=O gerilmesi), 1561 (aromatik C=C gerilmesi), 1265 (C-O gerilmesi), 586 (C-S gerilmesi).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ): 8,13 (1H, t), 7,69 (1H, i, $J=8,7$ Hz), 7,25 (2H, t), 7,25 (2H, t), 7,04 (1H, i, $J=2,4$ Hz), 6,99 (1H, ii, $J_1=8,7$ Hz, $J_2=2,4$ Hz), 6,74 (1H, t), 3,90 (3H, t).

5.3. Kumarin Temelli Floresans Kemosensörlerin Sentezi

5.3.1. *N*-(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)akrilamit (CTVA-2)'nin sentezi



Şekil 5.7. CTVA-2 bileşiğinin sentez şeması.

1,00 mmol 2-amino-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril, 50,00 mL aseton içerisinde çözüldü. Bu çözeltiye katalitik miktarda (3 damla) piperidin ilave edildi. Karışım 15 dk oda sıcaklığında karıştırıldı ve sonra 1,50 mmol akriloil klorür karışıma ilave edildi. Karışım 6 Sa oda sıcaklığında karıştırıldı. Deney ince tabaka kromografisiyle (İTK) kontrol edilerek sonlandırıldı. Çöken katı süzüldü ve deney ortamından alındı. Daha sonra elde edilen katı etil asetat kullanılarak kristallendirildi, verim: % 67, e.n.: 219-220 °C.

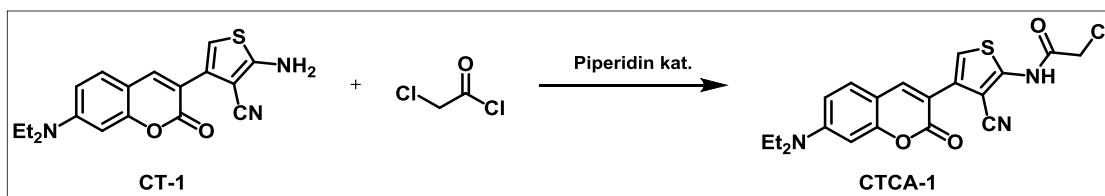
FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3261 (N-H gerilmesi), 3076 (aromatik veya vinilik C-H gerilmesi), 2995 (aromatik C-H gerilmesi), 2213 (C≡N gerilmesi), 1710 (C=O gerilmesi), 1607 (aromatik C=C gerilmesi), 1577 (Amit C=O gerilmesi), 1562 (Amit C-H gerilmesi).

^1H -NMR (DMSO- d_6 , δ): 11.94 (t, 1H), 8.22 (t, 1H), 7.72 (i, J = 8.7 Hz, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.08 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 7.02 (ii, J = 8.6, 2.3 Hz, 1H), 6.79 (ii, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.41 (ii, J = 17.1, 1.4 Hz, 1H), 5.98 – 5.90 (t, 1H), 3.89 (s, 3H).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ): CTVA-2 kodlu bileşiğin çözünürlüğünün düşük olmasından dolayı iyi bir spektrum elde edilememiştir.

HRMS (m/z), ($M\text{-H}$) $^{+}$: $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$, hesaplanan: 353.0596; bulunan: 353.0591.

5.3.2. 2-Kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)asetamit (CTCA-1)'in sentezi



Şekil 5.8. CTCA-1 bileşiğinin sentez şeması.

1,00 mmol 2-amino-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril, 100,00 mL asetonitril içerisinde çözüldü. Bu çözeltiye 3,00 mmol piperidin ilave edildi. Karışım 15 dk oda sıcaklığında karıştırıldı sonra 3,00 mmol kloroasetil klorür karışıma ilave edildi. Karışım 12 Sa oda sıcaklığında karıştırıldı. Deney ince tabaka kromografisiyle (İTK) kontrol edilerek sonlandırıldı. Çöken katı süzüldü ve deney ortamından alındı. Daha sonra elde edilen katı etil asetat kullanılarak kristallendirildi, verim: % 69; e.n.: 202-204 °C.

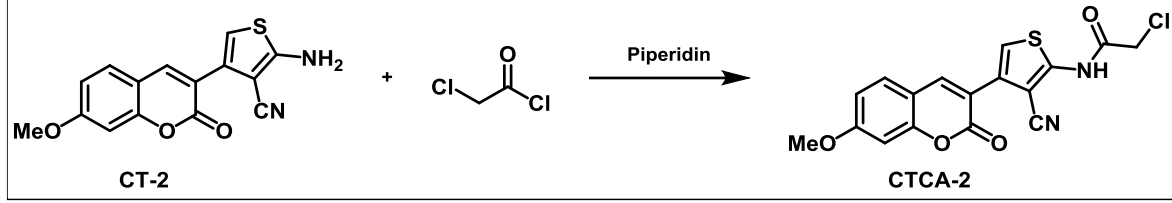
FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3232 (N-H gerilmesi), 2948 (aromatik C–H gerilmesi), 2839 (alifatik C–H gerilmesi), 2216 ($\text{C}\equiv\text{N}$ gerilmesi), 1704 ($\text{C}=\text{O}$ gerilmesi), 1617 (aromatik $\text{C}=\text{C}$ gerilmesi), 1591 (amit $\text{C}=\text{O}$ gerilmesi), 1560 (amit C–H gerilmesi).

^1H -NMR (DMSO- d_6 , δ): 12.07 (t, 1H), 8.04 (t, 1H), 7.50 (i, J = 8.9 Hz, 1H), 7.37 (t, 1H), 6.75 (ii, J = 8.9, 2.4 Hz, 1H), 6.58 (i, J = 2.2 Hz, 1H), 4.52 (t, 2H), 3.46 (d, J = 13.9, 6.9 Hz, 4H), 1.14 (ü, J = 7.0 Hz, 6H).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ): 165.2, 159.7, 156.0, 150.9, 149.0, 142.6, 132.6, 129.9, 118.2, 114.1, 112.6, 109.4, 107.5, 96.3, 44.2, 42.4, 12.3.

HRMS (m/z), ($M\text{-H}$) $^{+}$: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$, hesaplanan: 417.0728; bulunan: 417.0862.

5.3.3. 2-Kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)acetamit (CTCA-2)'nin sentezi



Şekil 5.9. CTCA-2 Bileşiğinin sentez şeması.

1,00 mmol 2-amino-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofene-3-karbonitrile, 50,00 mL aseton içerisinde çözüldü. Bu çözeltiye 3,00 mmol piperidin ilave edildi. Karışım 15 dk oda sıcaklığında karıştırıldı sonra 3,00 mmol akriloyl klorür karışıma ilave edildi. Karışım 6 Sa oda sıcaklığında karıştırıldı. Deney ince tabaka kromografisiyle (İTK) kontrol edilerek sonlandırıldı. Çöken katı süzülür ve deney ortamından alındı. Daha sonra elde edilen katı etil asetat kullanılarak kristallendirildi, verim: 63 %, e.n.: 196-198 °C.

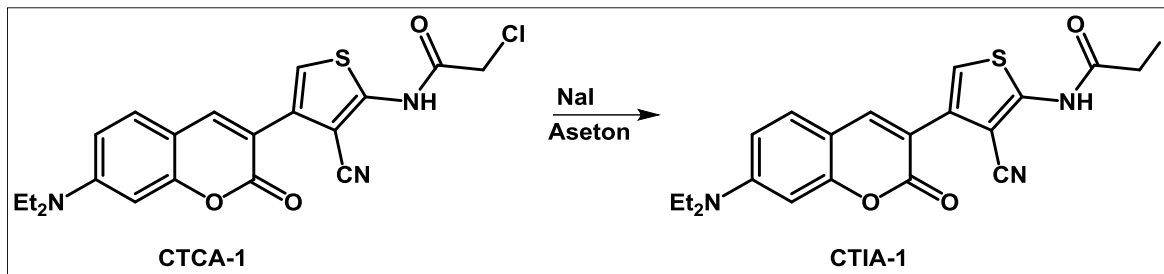
FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm⁻¹): 3233 (N-H gerilmesi), 3128 (aromatik C-H gerilmesi), 2989 (alifatik C-H gerilmesi), 2212 (C≡N gerilmesi), 1707 (C=O gerilmesi), 1617 (aromatik C=C gerilmesi), 1606 (amit C=O gerilmesi), 1557 (amit C-H gerilmesi).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ): 12.14 (t, 1H), 8.22 (t, 1H), 7.71 (i, *J*=8.7 Hz, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.08 (i, *J*=2.2 Hz, 1H), 7.01 (ii, *J*=8.6, 2.4 Hz, 1H), 4.53 (t, 2H), 3.89 (t, 3H).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ): 165.3, 163.0, 159.1, 155.1, 149.3, 142.4, 131.8, 130.0, 119.2, 117.1, 113.9, 113.0, 112.3, 100.5, 56.1, 42.3.

HRMS (*m/z*), (*M*-H)⁺: C₁₇H₁₁ClN₂O₄S, hesaplanan: 376.0099; bulunan: 376.0238.

5.3.4. *N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1)'in sentezi



Şekil 5.7. CTIA-1 bileşiğinin sentez şeması.

0,50 mmol 2-kloro-*N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)asetamit, 150,00 mL aseton içerisinde çözüldü. Bu çözeltiye 0,55 mmol sodyum iyodür ilave edildi. Karışım 12 Sa oda sıcaklığında karıştırıldı. Deney ince tabaka kromografisiyle (İTK) kontrol edilerek sonlandırıldı. Çöken katı süzülür ve çözeltiden ayrıldı. Çözelti döner buharlaştırıcı ile çektirildi ve elde edilen katı etil asetat kullanılarak kristallendirildi, verim: 87%, e.n.: 236-237 °C.

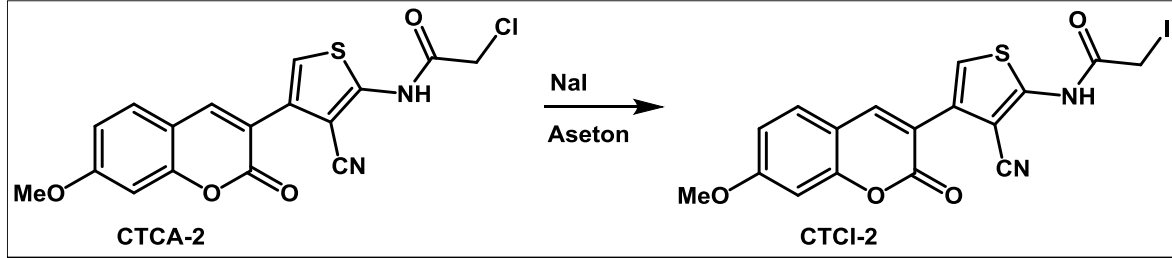
FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3263 (N-H gerilmesi), 3126 (aromatik C–H gerilmesi), 2972 (alifatik C–H gerilmesi), 2208 ($\text{C}\equiv\text{N}$ gerilmesi), 1689 (C=O gerilmesi), 1631 (aromatik C=C gerilmesi), 1585 (amit C=O gerilmesi), 1549 (amit C–H gerilmesi).

^1H -NMR (DMSO- d_6 , δ): 12.04 (t, 1H), 8.04 (t, 1H), 7.50 (i, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.34 (t, 1H), 6.74 (ii, $J=2.1$ Hz, 1H), 6.58 (i, $J=2.1$ Hz, 1H), 4.07 (t, 2H), 3.45 (d, $J=6.58$ Hz, 4H), 1.14 (ü, $J=6.89$ Hz, 6H).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ): 167.3, 159.7, 156.0, 150.9, 149.4, 142.5, 132.6, 129.8, 118.0, 114.2, 112.7, 109.4, 107.6, 96.3, 93.9, 44.2, 12.3.

HRMS (m/z), ($\text{M}-\text{H}$) $^{+}$: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{IN}_3\text{O}_3\text{S}$, hesaplanan: 508.0147; bulunan: 508.0190.

5.3.5. *N*-(5-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-2)'nin sentezi



Şekil 5.8. CTIA-2 bileşiğinin sentez şeması.

0,50 mmol 2-kloro-*N*-(5-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)asetamit, 150,00 mL aseton içerisinde çözüldü. Bu çözeltiye 0,55 mmol sodyum iyodür ilave edildi. Karışım 12 Sa oda sıcaklığında karıştırıldı. Deney ince tabaka kromografisiyle (İTK) kontrol edilerek sonlandırıldı. Çöken katı süzüldü ve çözeltiden ayrıldı. Çözelti döner buharlaştırıcı ile çektilirdi ve elde edilen katı etil asetat kullanılarak kristallendirildi, verim: % 83, e.n.: 226-227 °C.

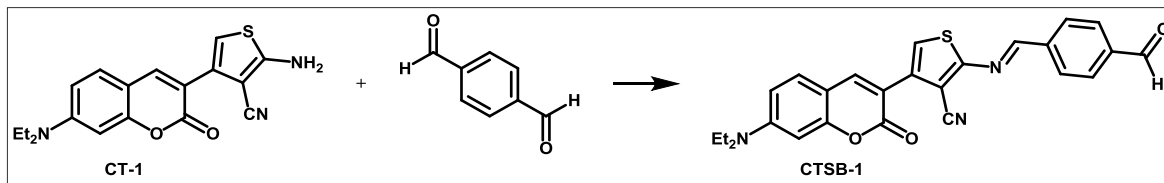
FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3265 (N-H gerilmesi), 3071 (aromatik C-H gerilmesi), 2999 (alifatik C-H gerilmesi), 2210 ($\text{C}\equiv\text{N}$ gerilmesi), 1709 (C=O gerilmesi), 1698 (aromatik C=C gerilmesi), 1615 (amit C=O gerilmesi), 1552 (amit C-H gerilmesi).

^1H -NMR ($\text{DMSO-}d_6$, δ): 12.09 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.71 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.07 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J=8.6, 2.1$ Hz, 1H), 4.07 (s, 2H), 3.89 (s, 4H).

^{13}C -NMR ($\text{DMSO-}d_6$, δ): 167.4, 162.9, 159.1, 155.1, 149.7, 142.3, 131.8, 130.0, 119.1, 117.1, 114.0, 112.9, 112.3, 100.5, 93.7, 56.1.

HRMS (m/z), (M-H) $^+$: $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{IN}_2\text{O}_4\text{S}$, hesaplanan: 466.9518; bulunan: 466.9556.

5.3.6. 4-(7-(Dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)-2-((4-formilbenziliden)amino)tiyofen-3-karbonitrile (CTSB-1)'in sentezi



Şekil 5.9. CTSB-1 bileşiğinin sentez şeması.

1,00 mmol 2-amino-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril ve 2,10 mmol tereftalaldehit 10 mL etanol içerisinde çözüldü. 4 dk 300 W 80 °C mikrodalga ışınlama yapıldı. Elde edilen katı süzülerek deney ortamından ayrıldı ve sıcak etanol ile yıkandı. Verim: % 73, e.n.: 341-342 °C.

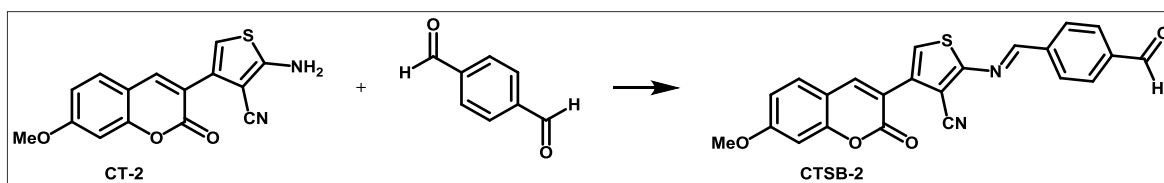
FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3122 (aromatik C–H gerilmesi), 2936 (alifatik C–H gerilmesi), 2842 (aldehit C–H gerilmesi), 2221 ($\text{C}\equiv\text{N}$ gerilmesi), 1717 ($\text{C}=\text{O}$ gerilmesi), 1610 (aromatik $\text{C}=\text{C}$ gerilmesi).

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, δ): 10.11 (t, 1H), 8.93 (t, 1H), 8.18 (i, $J=14.5$ Hz, 1H), 8.09 (i, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.79 (t, 2H), 7.53 (i, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.77 (ii, $J=9.0$, 1.7 Hz, 2H), 6.61 (i, $J=1.0$ Hz, 1H), 3.47 (d, $J=13.5$, 6.8 Hz, 4H), 1.15 (ü, $J=6.8$ Hz, 6H).

^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, δ): CTSB-1 kodlu bileşiğin çözünürlüğünün düşük olmasından dolayı iyi bir spektrum elde edilememiştir.

HRMS (m/z), ($\text{M}-\text{H}$) $^{+}$: $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$, hesaplanan: 456.1382; bulunan: 456.1375.

5.3.7. 2-((4-Formilbenziliden)amino)-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il) tiyofen-3-karbonitril (CTSB-2)'nin sentezi



Şekil 5.10. CTSB-2 bileşiğinin sentez şeması.

1,00 mmol 2-amino-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril ve 2,10 mmol tereftaldehit 10 mL etanol içerisinde çözöldü. 4 dk 300 W 80 °C mikrodalga ışınlama yapıldı. Elde edilen katı süzölerek deney ortamından ayrıldı ve sıcak etanol ile yıkandı. Verim: % 73, e.n.: 341-342 °C.

FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3230 (aromatik C–H gerilmesi), 3073 (alifatik C–H gerilmesi), 2988(aldehit C–H gerilmesi), 2839 (aldehit C–H gerilmesi), 2219 ($\text{C}\equiv\text{N}$ gerilmesi), 1713 ($\text{C}=\text{O}$ gerilmesi), 1611 (aromatik $\text{C}=\text{C}$ gerilmesi).

^1H -NMR ($\text{DMSO-}d_6$, δ): 10.11 (t, 1H), 8.97 (t, 1H), 8.33 (t, 1H), 8.23 (i, $J=8.0$ Hz, 2H), 8.10 (i, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.89 (t, 1H), 7.75 (i, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.11 (i, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.04 (ii, $J=8.8$, 2.0 Hz, 1H), 3.90 (t, 3H).

^{13}C -NMR ($\text{DMSO-}d_6$, δ): 192.9, 163.1, 161.8, 159.1, 155.2, 142.4, 139.5, 138.6, 134.4, 130.2, 130.0, 123.9, 116.7, 114.1, 113.1, 112.2, 100.6, 56.1.

HRMS (m/z), (M-H) $^{+}$: $\text{C}_{23}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$, hesaplanan: 415,0753; bulunan: 415,0739.

6. HEDEF BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ ÜZERİNE ELDE EDİLEN SONUÇLAR

Sentez çalışmalarında literatürde bilinen kumarin türevleri (C-1, C-2, CY-1, CY-2, CT-1 ve CT-2 bileşikleri) başarı ile sentezlenip yapıları spektroskopik yöntemler ile kontrol edilmiştir [67, 68].

Hedef bileşikler olan CTVA-2, CTCA-1, CTCA-2, CTIA-1, CTIA-2, CTSB-1 ve CTSB-2 bileşikleri başarıyla sentezlenmiştir ve yapıları spektroskopik yöntemler ile aydınlatılmıştır. CTSB-1 ve CTSB-2 bileşikleri literatürün aksine geleneksel metotlarda sentezlenemeyip mikrodalga ısıma metodu (MDI) ile sentezlenmiştir.

Hedef bileşiklerinden olan CTVA-1 bileşiğinin sentezi geleneksel ve MDI yöntemleri ile çeşitli çözücüler ve katalizörler ile sentezi denemiştir fakat hedef bileşik sentezlenemeyip giriş bileşiği olan CT-1 bileşiği reaksiyon sonucunda geri alınmıştır. CTVA-1 bileşiğinin sentezi için yapılan çalışmalar Çizelge 6.1.'da verilmiştir.

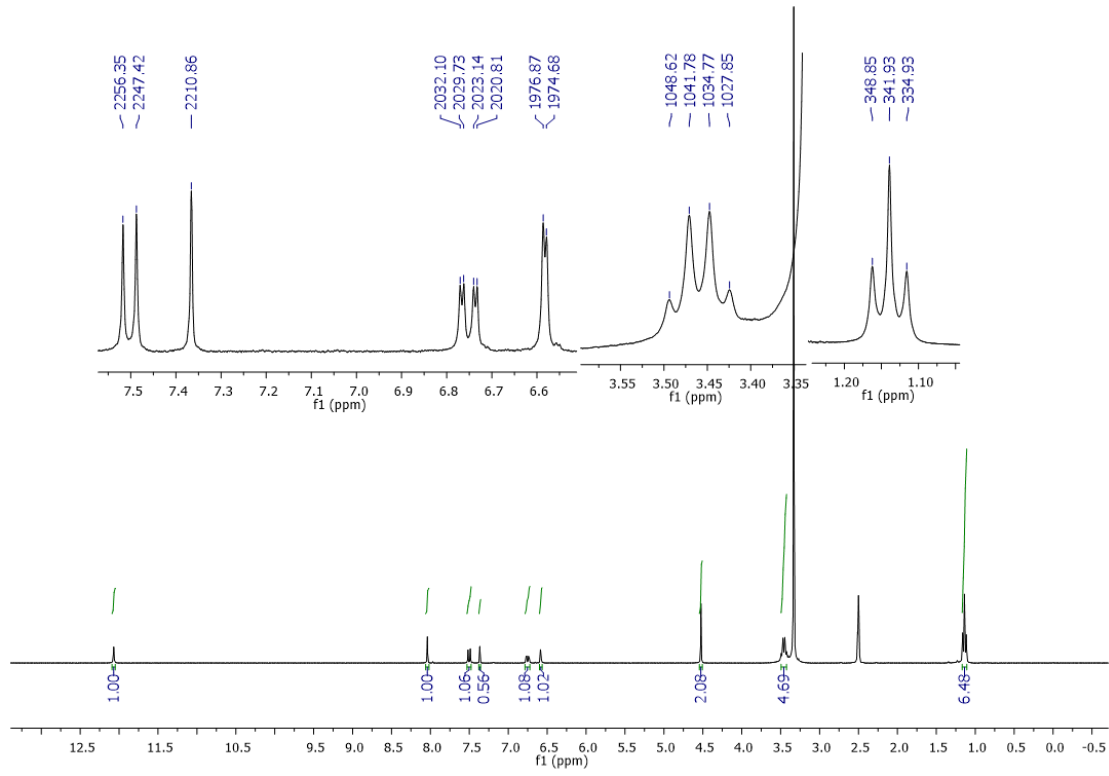
Çizelge 6.1. CTVA-1 hedef bileşiğinin sentezine ilişkin yapılan denemeler ve sonuçları.

Hedeflenen Bileşik	Yöntem	Reaktif	Çözücü	Katalizör	Sıcaklık (°C)	Enerji (W)	Süre	Sonuç
CTVA-1	Geleneksel	Akriloil Klorürü	Aseton, ACN ve THF	Piperidin, Piridin ve NEt ₃	Oda sıcaklığı ve geri soğutucu altında ısıtma	-	24 Sa	Giriş bileşiği geri alındı.
CTVA-1	MDI	Akriloil Klorürü	Aseton, ACN ve THF	Piperidin, Piridin ve NEt ₃	56, 82 ve 66	200	5 dk	Giriş bileşiği geri alındı.
CTVA-1	MDI	Akriloil Klorürü	Aseton, ACN ve THF	Piperidin, Piridin ve NEt ₃	56, 82 ve 66	400	5 dk	Giriş bileşiği geri alındı.
CTVA-1	MDI	Akriloil Klorürü	Aseton, ACN ve THF	Piperidin, Piridin ve NEt ₃	56, 82 ve 66	200	15 dk	Giriş bileşiği geri alındı.
CTVA-1	MDI	Akriloil Klorürü	Aseton, ACN ve THF	Piperidin, Piridin ve NEt ₃	56, 82 ve 66	400	15dk	Giriş bileşiği geri alındı.

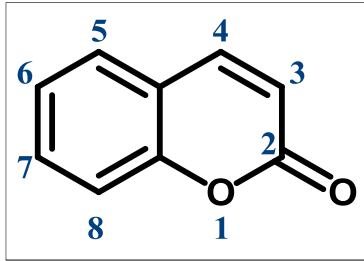
göstermektedir. Geleneksel yöntemle göre daha verimli bir yöntem olan MDI ile aynı reaksiyonun gerçekleştirilmesi denendiğinde yine asetik anhidrit içerisinde ışınlama yapıldığında aynı maleik asit türevinin elde edildiği $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile görüldü. CTMA-1 ve CTMA-2 bileşiklerinin sentezi baz katalizörlüğünde de geleneksel ve MDI yöntemleri ile denenmesine rağmen reaksiyon sonunda giriş bileşikleri alınmıştır. Elde edilen maleik asit türevleri CTMA-1a ve CTMA-2a kullanılarak asit ve baz katalizörlüğünde geleneksel ve MDI yöntemleri ile maleimit halkası kapatılmaya çalışılmasına rağmen istenilen yapı elde edilememiştir. Maleimit türevlerinin sentezine ilişkin çalışmalar ve sonuçları Çizelge 6.2 ve Çizelge 6.3’de verilmiştir.

Çalışmalar sonunda maleik ait türevlerinin sentezi için en verimli metot 1,00 mmol CT-1 veya 1,00 mmol CT-2 ve 2,00 mmol maleik anhidrit 10,00 mL asetik anhidrit içerisinde çözülüp 15 dk 500 W 140 °C mikrodalga ışıması yapılması olarak belirlenmiştir.

CTCA-1 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spekturumu incelendiğinde; CT-1 bileşiğinde $-\text{NH}_2$ yapısına ait hidrojenler 7,20 (t, 2H) pikini vermektedirler. CTCA-1 bileşiği serbest amino grubundan asetil klorür ile türevlendirilmesi sonucu elde edilmiştir. Amino grubuna daha elektronegatif bir yapı bağlanınca CTCA-1 yapısındaki $-\text{NH}$ hidrojeni düşük alana kayarak 12,07 (t, 1H) pikini vermektedir. CTIA-1 bileşiğinde $-\text{NH}$ hidrojeni 12,04 (t, 1H) ppm’de görülmektedir. 8,04 (t, 1H) ppm’de görülen pik kumarin halkasının 4 numaralı konumunda bulunan hidrojene, 7,50 (t, 1H) ppm’de görülen pik kumarin halkasının 5 numaralı konumunda bulunan hidrojene, 7,37 (t, 1H) ppm’de görülen pik tiyofen halkasında bulunan hidrojene, 6,75 (ii, $J = 8,9, 2,4$ Hz, 1H) ppm’de görülen pik kumarin halkasının 6 numaralı konumunda bulunan hidrojene, 6,58 (i, $J = 2,2$ Hz, 1H) ppm’de görülen pik kumarin halkasının 8 numaralı konumunda bulunan hidrojene ait piklerdir. Bu pikler diğer 7-dietilamino kumarin-tiyofen türevlerinde de yaklaşık olarak aynı değerde görülür. 4,52 (t, 2H) piki azota bağlı metilen grubuna ait piktir. CTIA-1 türevinde metilen grubuna daha elektronegatif bir atom olan iyot atomunun bağlanması ile yüksek alana kayarak 4,07 (t, 2H) pikini verir. 3,46 (d, $J = 13,9, 6,9$ Hz, 4H) piki azota bağlı dietil amino grubunda bulunan metilen gruplarına ait, 1,14 (ü, $J = 7,0$ Hz, 6H) piki azota bağlı dietilamino grubunda bulunan metil gruplarına ait piklerdir. Yapıda bulunan iki metilen grubu ve iki metil grubu aynı kimyasal çevreye sahip oldukları için pikleri aynı ppm’de görülür. CTCA-1 bileşiğine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ve kumarin halkasının numaralandırılması Şekil 6.3 ve Şekil 6.4’te gösterilmiştir.



Şekil 6. 3. CTCA-1 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 6. 4. Kumarin halkasının numaralandırılması.

Çizelge 6.2. Maleimit türevlerinin (CTMA-1 ve CTMA-2 bileşikleri) sentezine ilişkin yapılan denemeler ve sonuçları.

Hedeflenen Bileşik	Yöntem	Reaktif	Asit	Baz	Sıcaklık (°C)	Enerji (W)	Süre	Sonuç
CTMI-1 ve CTMI-2	Geleneksel	Maleik Anhidrit (1:1)	Asetik Asit	-	Geri soğutucu altında ısıtma	-	24 Sa	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1 ve CTMI-2	Geleneksel	Maleik Anhidrit (1:2)	Asetik Asit	-	Geri soğutucu altında ısıtma	-	24 Sa	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1 ve CTMI-2	Geleneksel	Maleik Anhidrit (1:2)	Asetik Anhidrit	-	Geri soğutucu altında ısıtma	-	24 Sa	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1a ve CTMI-2a	Geleneksel	HOAc:HCl (1:1)	Asetik Anhidrit	-	Geri soğutucu altında ısıtma	-	24 Sa	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1a ve CTMI-2a	Geleneksel	-	Asetik Asit	-	Geri soğutucu altında ısıtma	-	24 Sa	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI	Maleik Anhidrit (1:1)	Asetik Asit	-	120	300	5 dk	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI	Maleik Anhidrit (1:1)	Asetik Asit	-	120	300	15 dk	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI	Maleik Anhidrit (1:1)	Asetik Anhidrit	-	140	300	15 dk	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI	Maleik Anhidrit (1:2)	Asetik Anhidrit	-	140	300	15 dk	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI	Maleik Anhidrit (1:2)	Asetik Anhidrit	-	140	500	15 dk	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1a ve CTMI-2a	MDI	-	Asetik Asit	-	120	500	15 dk	Giriş bileşikleri geri alındı.

Çizelge 6.3. Maleimit türevlerinin (CTMA-1 ve CTMA-2 bileşikleri) sentezine ilişkin yapılan denemeler ve sonuçları.

Hedeflenen Bileşik	Yöntem	Reaktif	Asit	Baz	Sıcaklık (°C)	Enerji (W)	Süre	Sonuç
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI	Maleik Anhidrit (1:2)	Asetik Anhidrit	-	140	500	15 dk	Maleik Asit ütrevi elde edildi (CTMI-1a ve CTMI-2a)
CTMI-1a ve CTMI-2a	MDI	-	Asetik Asit	-	120	500	15 dk	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1a ve CTMI-2a	MDI	-	Asetik Anhidrit	-	140	500	15 dk	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1 ve CTMI-2	Geleneksel (Çözücü: THF)	Maleik Anhidrit (1:2)	-	EtN ₃	-	-	24 Sa	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI (Çözücü: THF)	Maleik Anhidrit (1:2)	-	EtN ₃	66	300	15 dk	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1 ve CTMI-2	Geleneksel (Çözücü: THF)	Maleik Anhidrit (1:2)	-	Piridin	-	-	24 Sa	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI (Çözücü: THF)	Maleik Anhidrit (1:2)	-	Piridin	66	300	15 dk	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1 ve CTMI-2	Geleneksel (Çözücü: THF)	Maleik Anhidrit (1:2)	-	Piperidin	-	-	24 Sa	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1 ve CTMI-2	MDI (Çözücü: THF)	Maleik Anhidrit (1:2)	-	Piperidin	66	300	15 dk	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1a ve CTMI-2a	Geleneksel (Çözücü: THF)	Maleik Anhidrit (1:2)	-	Piperidin	-	-	24 Sa	Giriş bileşikleri geri alındı.
CTMI-1a ve CTMI-2a	MDI (Çözücü: THF)	Maleik Anhidrit (1:2)	-	Piperidin	66	300	15 dk	Giriş bileşikleri geri alındı.

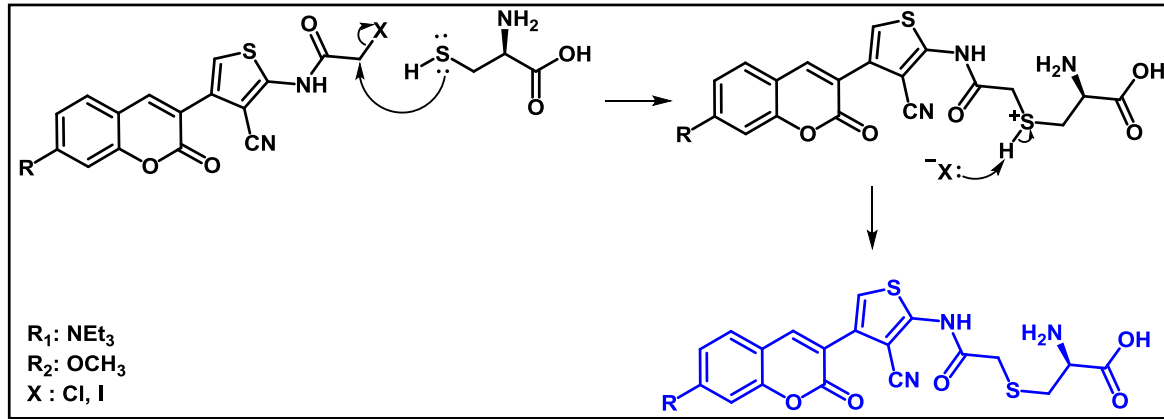
7. BİYOTİYOL DUYARLILIK VE SEÇİCİLİK ÇALIŞMALARI

7.1. Spektrofotometrik Etkileşim Çalışmaları

Etkileşim çalışmalarında fizyolojik pH değeri için Polifosfat (PBS) tamponu (10 mM, pH 7,4) ve biyomoleküllerin anyonik form kazanmaları için de Tris-HCl tamponu (50 mM pH 9,2) literatür ile uyumlu olacak şekilde belirlenmiştir [63].

PBS tamponu hazırlanırken 0,55 g K_2HPO_4 , 0,22 g KH_2PO_4 , 4,50 g NaCl alınıp 500,00 mL saf su içerisinde çözülüp pH ayarlanması ise 0,10 M $NaHCO_3$ ile pH metre yardımı ile yapılmıştır. Tris-HCl tamponu hazırlanırken 3,029 g tris(hidroksimetil)-aminometan alınıp 500,00 mL saf su içerisinde çözülüp pH ayarlaması 0,10 M HCl ile pH metre yardımı ile yapılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin Şekil 7.1’de gösterilen mekanizma üzerinden tiyol grubu etkileşeceği öngörülmüştür.



Şekil 7. 1. Sentezlenen kemosensörlerin tiyol grubu ile etkileşimlerinin önerilen mekanizmaları.

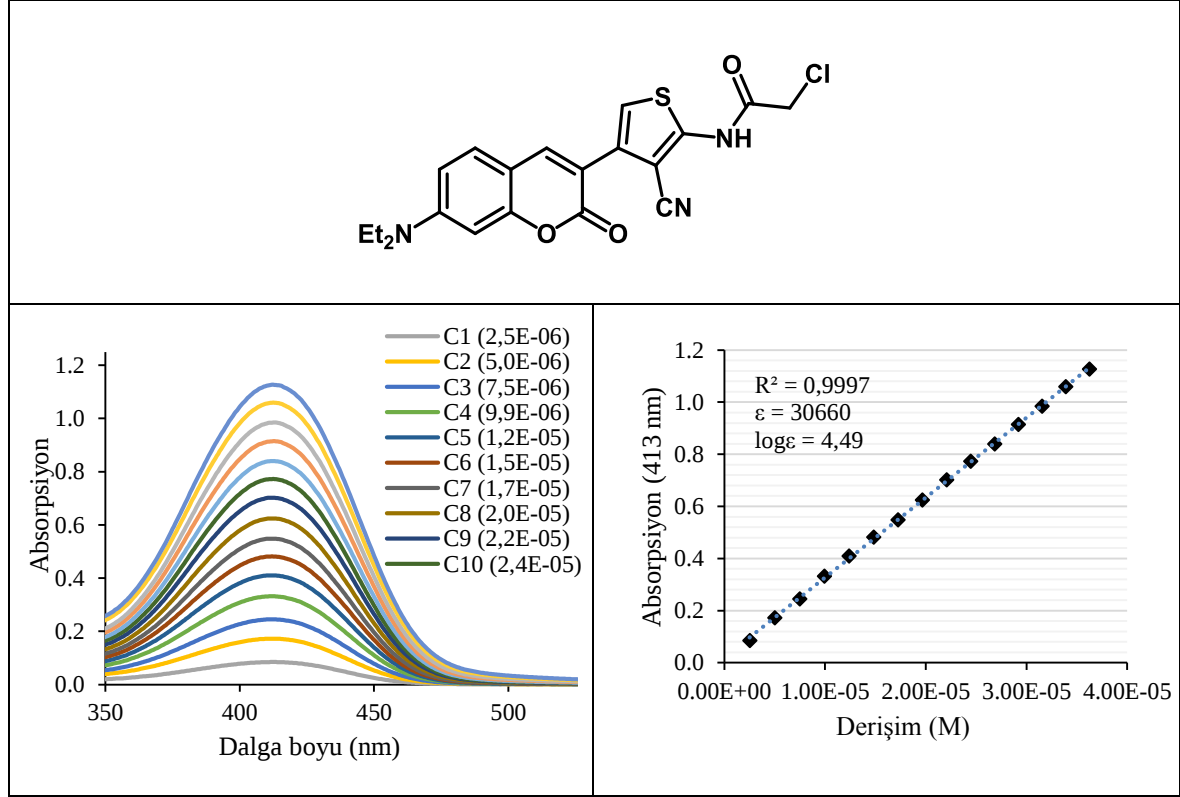
Biyotiyol duyarlılık çalışmaları için yapılan florimetre çalışmalarında CTCA-1 bileşiği için slit aralığı ex.: 5,0 nm; em.: 5,0 nm, ex. wl.: 413 nm olarak ve PMT voltajı 700 V, CTIA-1 bileşiği için slit aralığı ex.: 2,5 nm; em.: 2,5 nm, ex. wl.: 411 nm olarak ve PMT voltajı 700 V ve CTIA-2 bileşiği için slit aralığı ex.: 10 nm; em.: 5,0 nm, ex. wl.: 343 nm olarak ve PMT voltajı 700 V olarak ayarlanmıştır.

Etkileşim çalışmaları için biyomoleküller ile etkileşecek yapıların polifosfat ve Tris-HCl tampon ortamlarında çalışma aralığı ve molar absorpsiyon katsayısı belirlenmiştir.

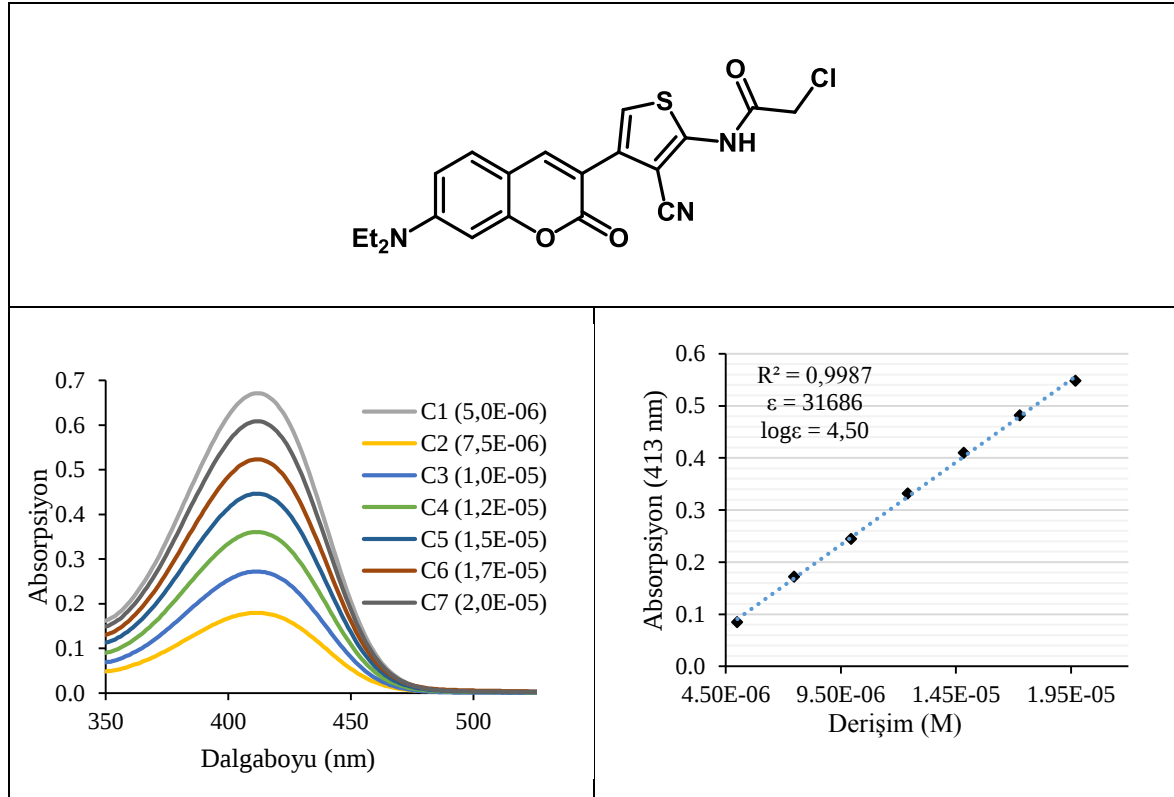
Çalışma aralıkları belirlenirken bileşiklerin 1×10^{-3} M DMSO içindeki stok çözeltileri hazırlanıp, UV-GB spektroskopisi ile tampon içinde farklı konsantrasyonlarda maksimum absorpsiyon dalga boyuna karşılık gelen absorpsiyon değerleri belirlenmiş ve veriler grafiğe geçirilmiştir. Yapılan çalışma aralığı ve molar absorpsiyon katsayısı belirleme çalışmalarının sonuçları Çizelge 7.1 – Çizelge 7.6 arasında gösterilmiştir.

CTSB-1, CTSB-2, CTCA-2 ve CTVA-2 bileşikleri DMSO içerisinde uygun stok çözeltileri, çözünürlüklerinin az olması nedeni ile hazırlanamadığı için bu bileşiklere biyotiyol duyarlılık çalışmaları yapılamamıştır.

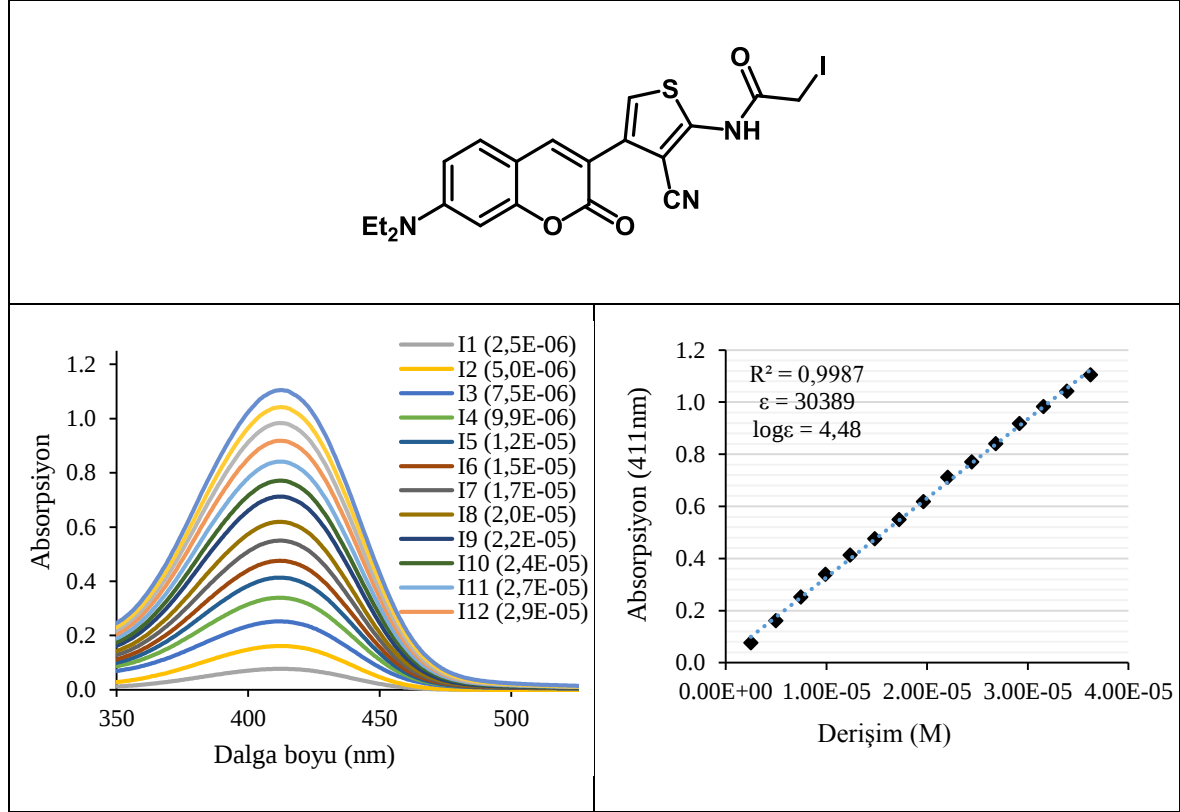
Çizelge 7.1. CTCA-1 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamındaki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiğı (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiğı (sağ-alt).



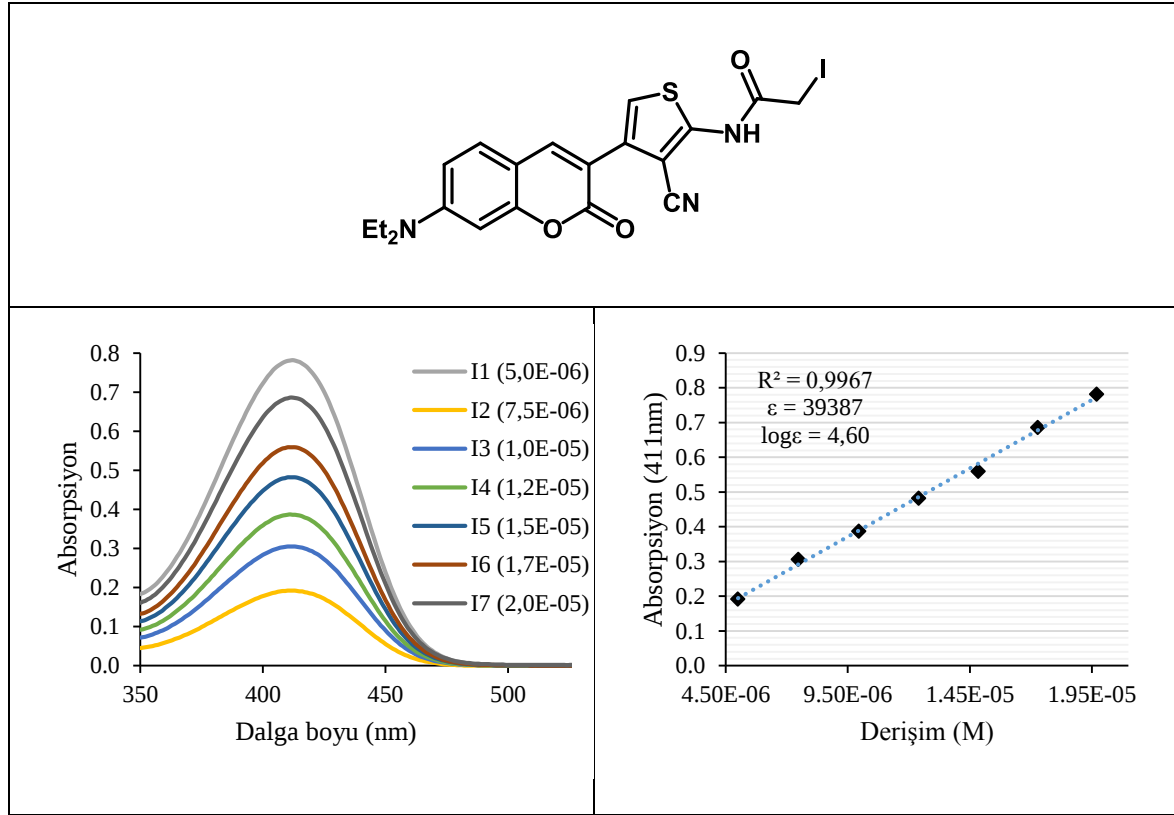
Çizelge 7.2. CTCA-1 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamındaki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiğı (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiğı (sağ-alt).



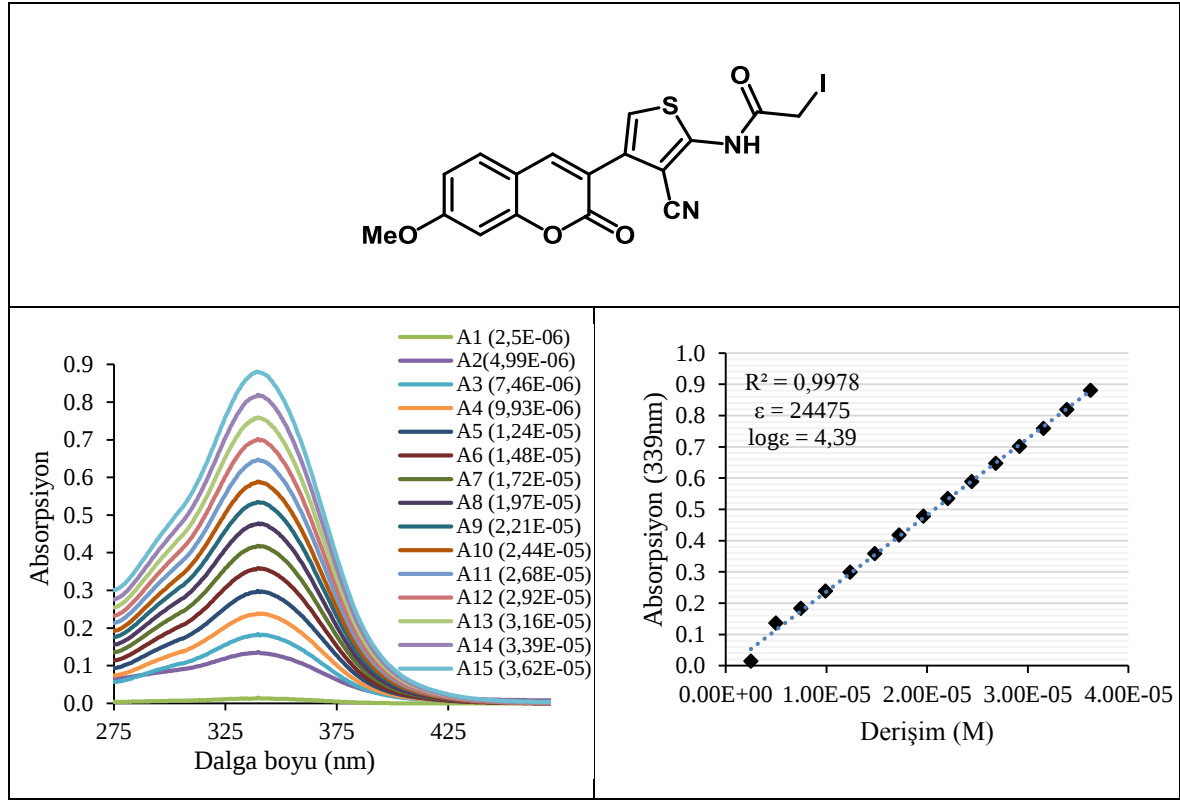
Çizelge 7.3. CTIA-1 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamındaki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiğı (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiğı (sağ-alt).



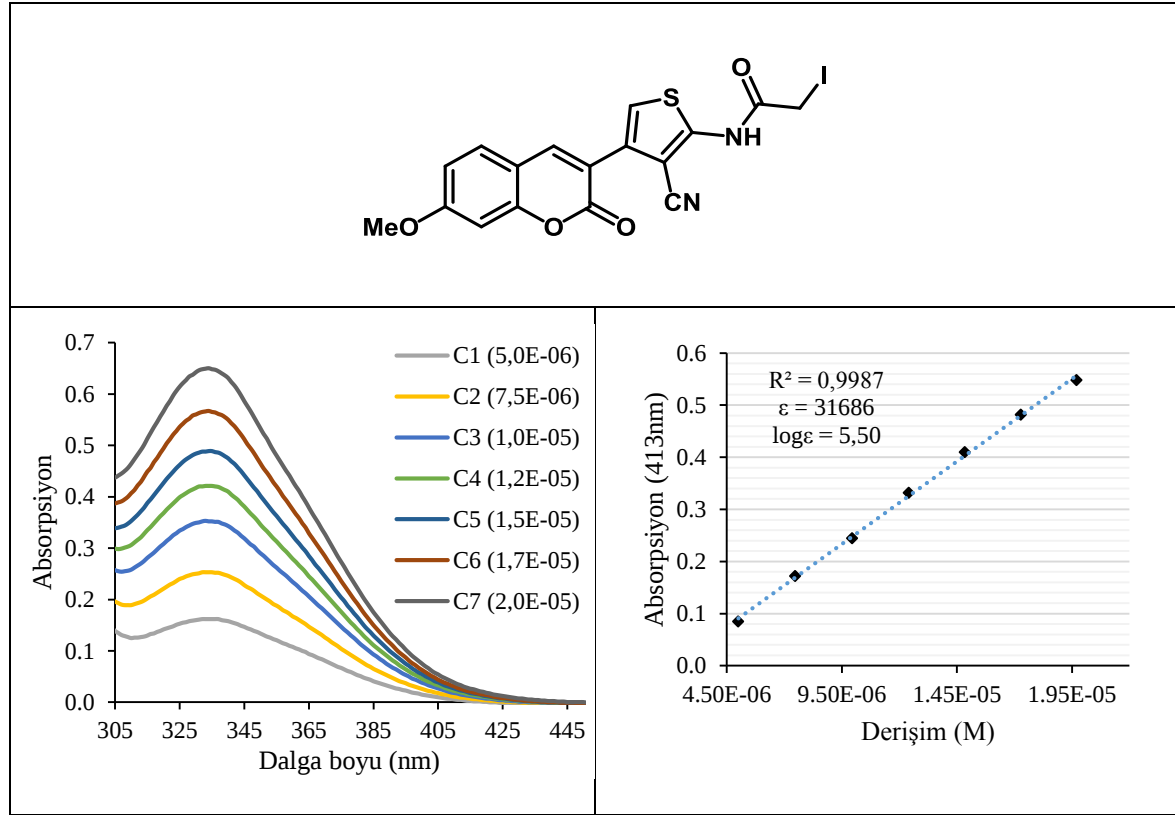
Çizelge 7.4. CTIA-1 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamındaki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiğı (sol-alt) ve absorpsiyon-Derişim grafiğı (sağ-alt).



Çizelge 7.5. CTIA-2 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamındaki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiğı (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiğı (sağ-alt).



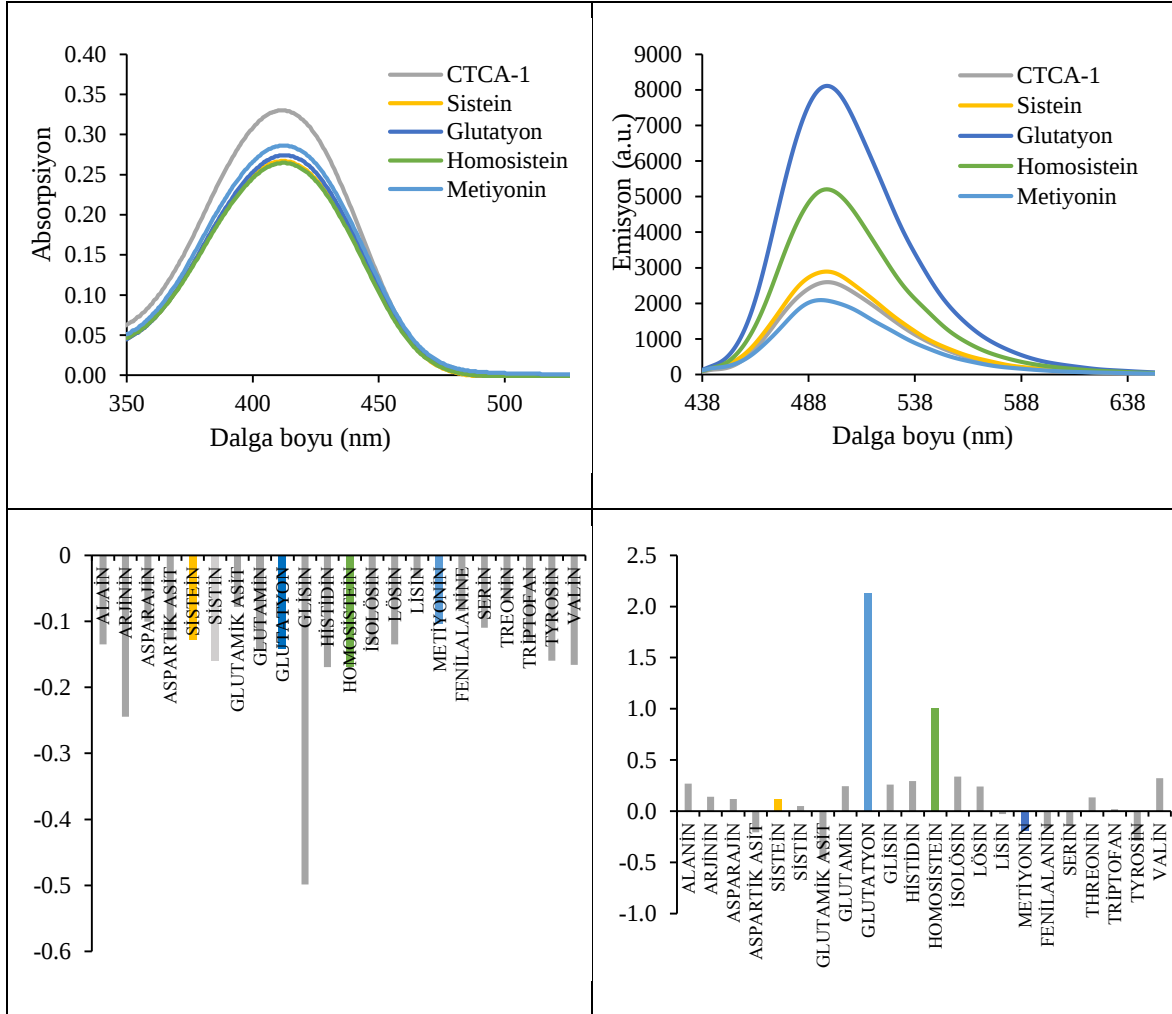
Çizelge 7.6. CTIA-2 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamındaki çözünürlük çalışması. Bileşiğin çeşitli derişimlerdeki grafiğı (sol-alt) ve Absorpsiyon-Derişim grafiğı (sağ-alt).



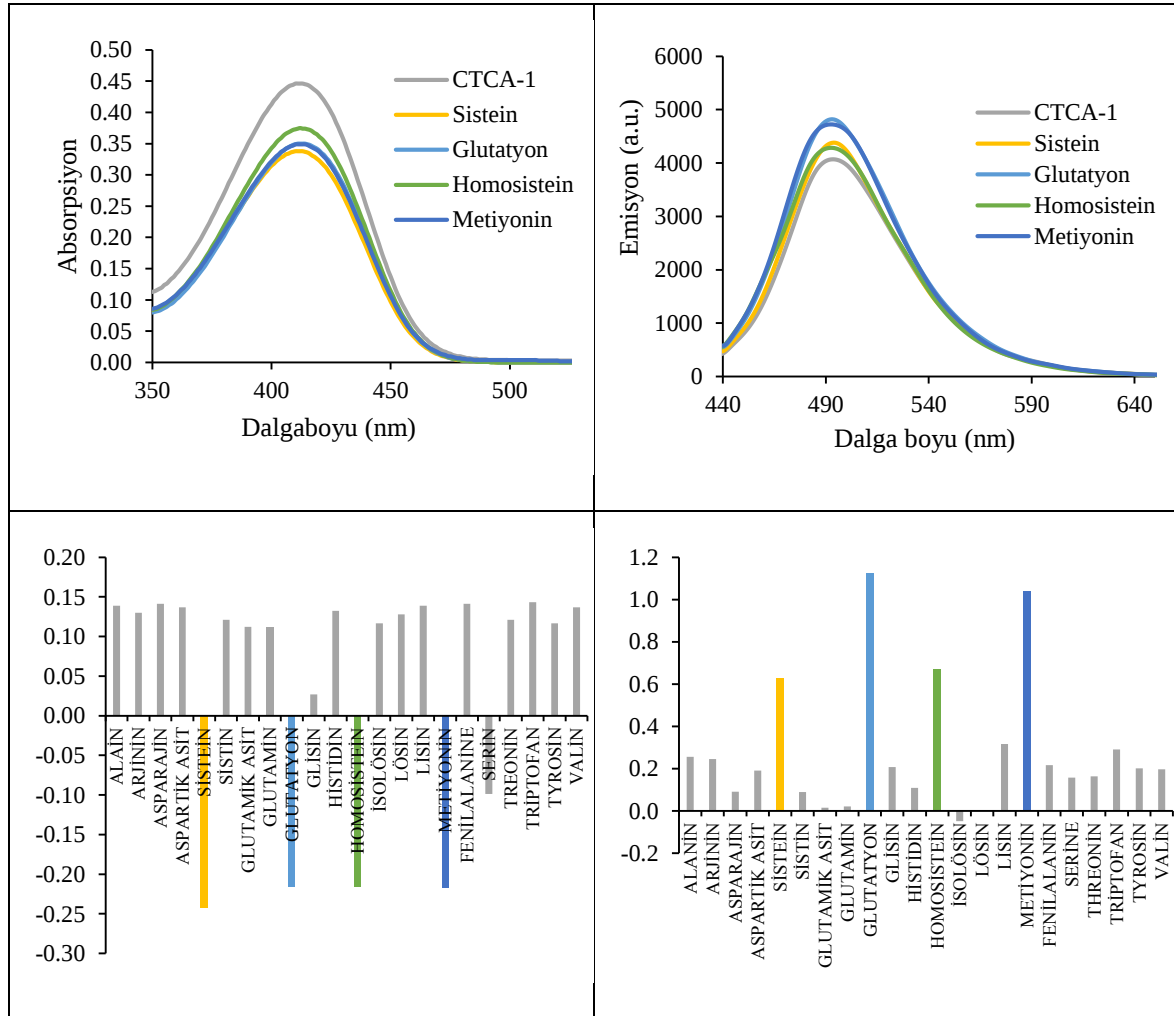
Etkileşim çalışmaları yapılırken her bileşik için 1×10^{-3} M DMSO içindeki stok çözeltisinden ve her biyomolekül çözeltisinin 1×10^{-3} M tampon çözeltisi içindeki stok çözeltisinden eklenerek ($200 \mu\text{L}$, $c = 10^{-4}$ M) oluşan toplam hacimde ($2000 \mu\text{L}$) bileşik konsantrasyonunun UV-GB spektroskopisinde CTCA-1, CTIA-1 ve CTIA-2 için $12,5 \times 10^{-6}$ M, Emisyon spektroskopisinde CTCA-1, CTIA-1 ve CTIA-2 için 5×10^{-6} M olması sağlanmıştır. Her ölçüm için taze stok çözeltiler hazırlanmıştır. Tüm ölçümler için toplam hacim ($2000 \mu\text{L}$) aynıdır. Etkileşim çalışmaları için önce inkübasyon süresi belirlenmesi amacı ile her 10 dk'da bir pH=7,4 ve pH=9,2'de Cys, Hcy ve GSH ile UV-GB spektroskopisi ile ölçüm alınmıştır. Bu ölçümlerin sonucunda bileşiklerin biyomoleküller ile etkileşimini 30 dk sonunda tamamladığı görülmüştür. 30 dk'lık inkübasyon süresi literatürde de biyomoleküllerin etkileşimi için en uygun süre olarak belirtilmiştir [63].

Belirlenen inkübasyon süresi göz önüne alınarak biyotiyoller ve diğer amino asitler için etkileşim çalışmaları yapılmıştır. Etkileşim çalışmalarının sonuçları Çizelge 7.7 - Çizelge 7.12 arasında verilmiştir.

Çizelge 7.7. CTCA-1 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamındaki etkileşim çalışmaları. Tiyol içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).



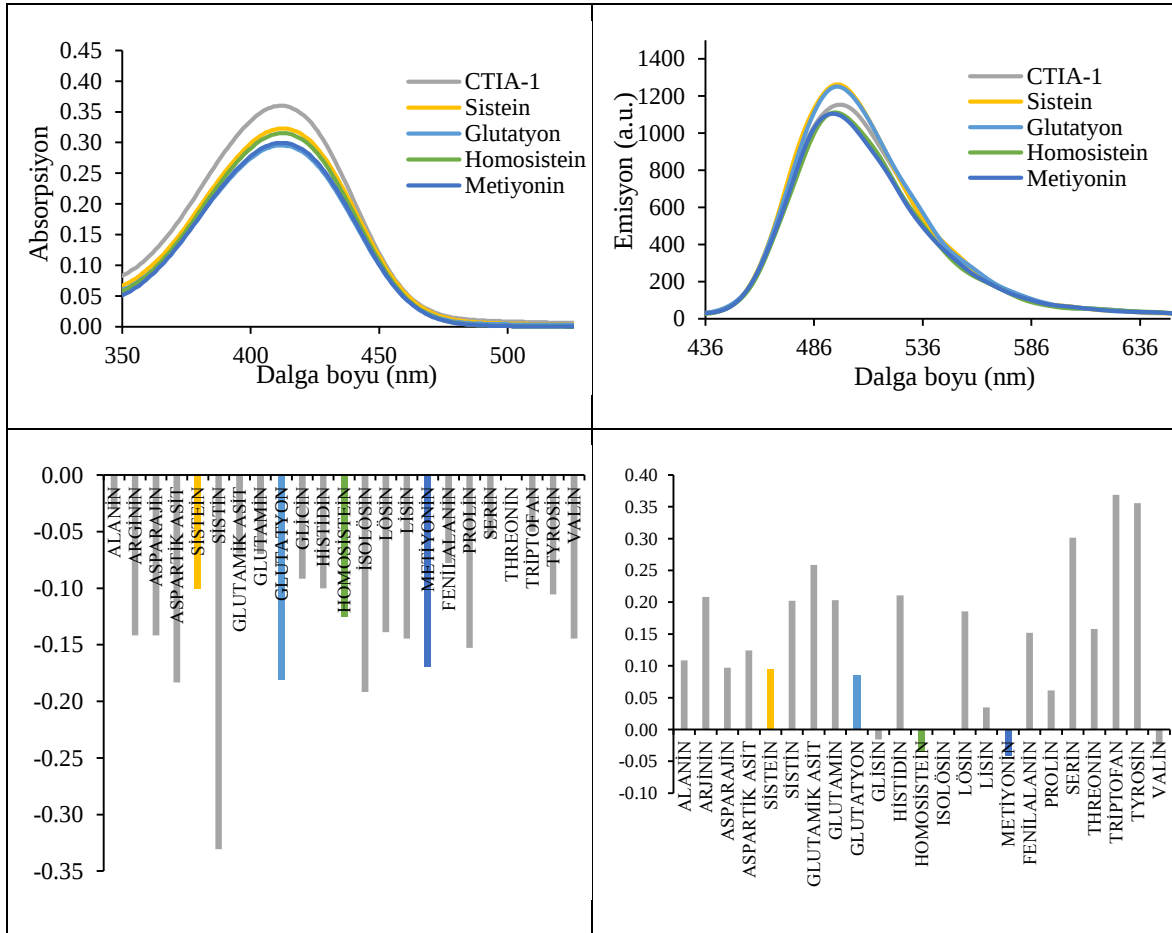
Çizelge 7.8. CTCA-1 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamındaki etkileşim çalışmaları. Tiyo içerden biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).



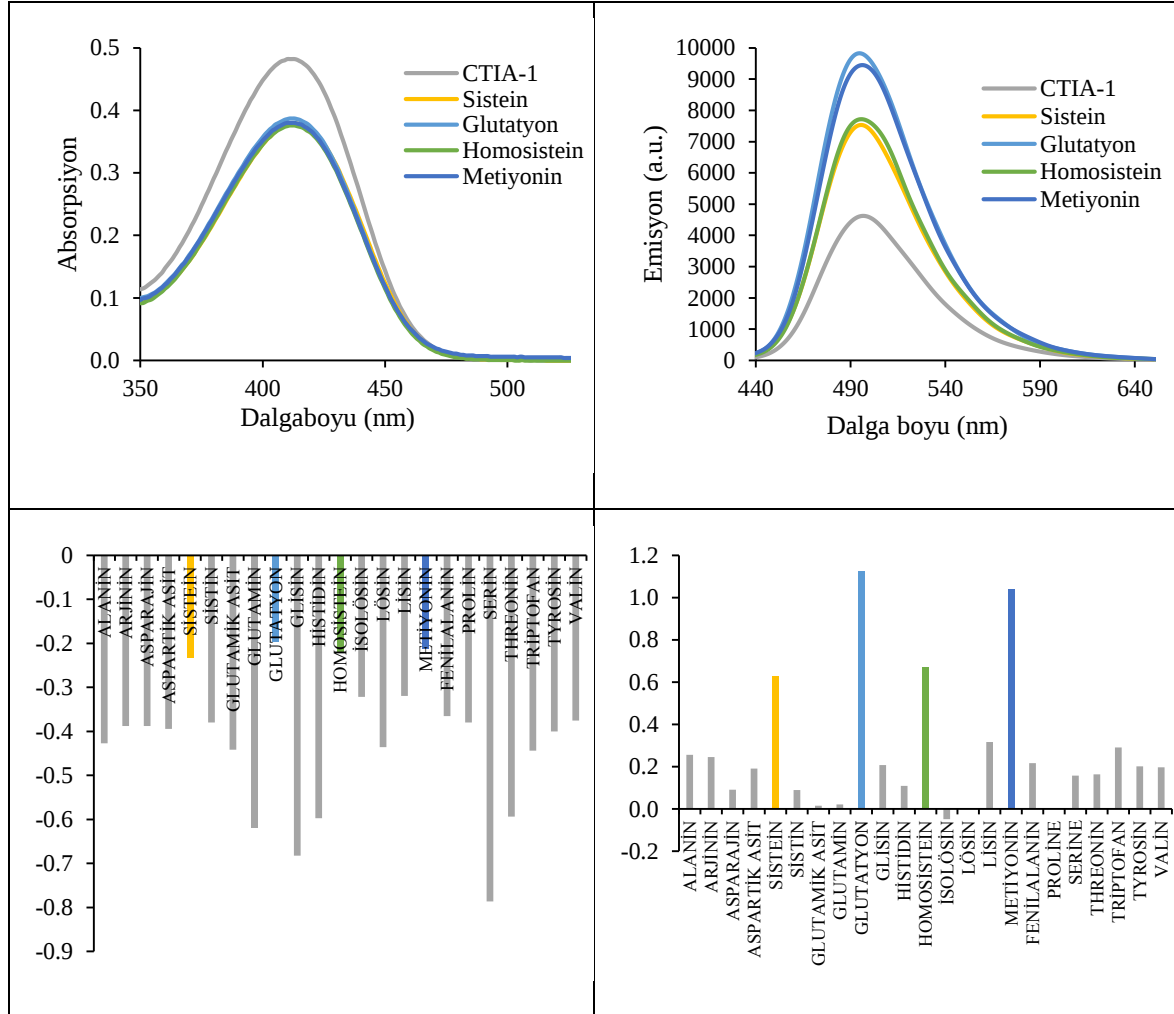
CTCA-1 bileşiğinin biyomoleküller ile etkileşimi incelendiğinde inkübasyon süresi tamamlandığında pH = 7,4'te absorpsiyon maksimum dalga boyu değerinde bir değişiklik görülmez iken absorpsiyon değerinde bir düşüş görülmüştür. Tiyo grubu içeren biyomoleküller ve amino asitler için aynı sonuçlar alınmıştır. pH = 7,4'teki emisyon spektrumları incelendiğinde ise emisyon dalga boyu değişmezken emisyon şiddetinde genel olarak bir artış görülmüştür. Emisyon şiddetindeki bu artış özellikle GSH ve Hcy için oldukça belirleyicidir. Emisyon şiddeti inkübasyon süresi sonunda CTCA-1 bileşiğine göre GHS'da yaklaşık 3 kat, Hcy'de yaklaşık 2 kat arttığı görülmüştür. Cys için emisyon şiddetinde ayırt edici bir artış görülmezken Cys benzeri bir amino asit olan Met'in emisyon şiddeti CTCA-1 bileşiğinin emisyon şiddetine göre azalmıştır. pH = 9,2'de ki absorpsiyon spektrumunda tiyo grubu içeren biyomoleküllerin CTCA-1 bileşiğine göre absorpsiyon

şiddetlerinin diğer amino asitlerin aksine azaldığı görülmüştür. Emisyon spektrumlarında ise tiyol grubu içeren biyomoleküllerin emisyon şiddetleri diğer amino asitlere göre oldukça fazla bir şekilde artmıştır.

Çizelge 7.9. CTIA-1 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamındaki etkileşim çalışmaları. Tiyol içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).



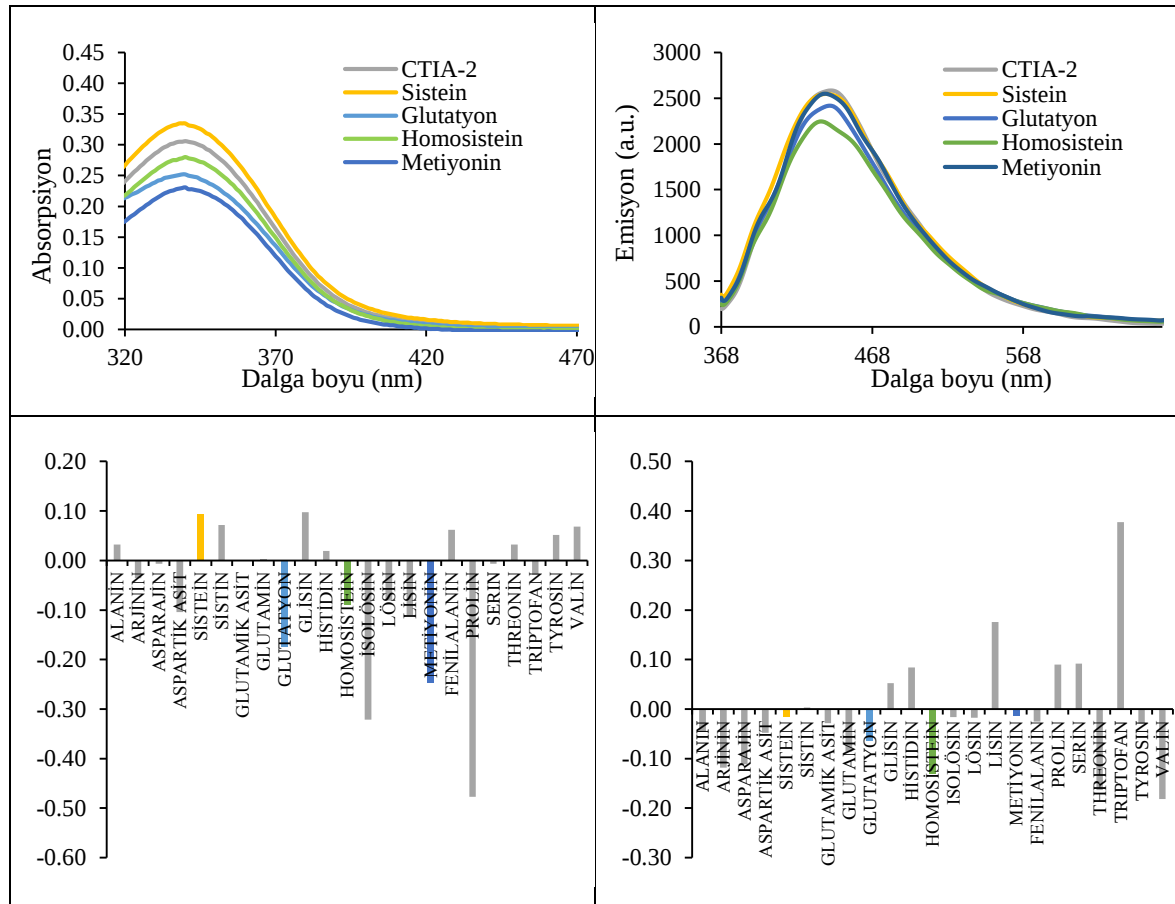
Çizelge 7.10. CTIA-1 bileşiğinin TRIS (pH 9,2) ortamındaki etkileşim çalışmaları. TiyoI içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).



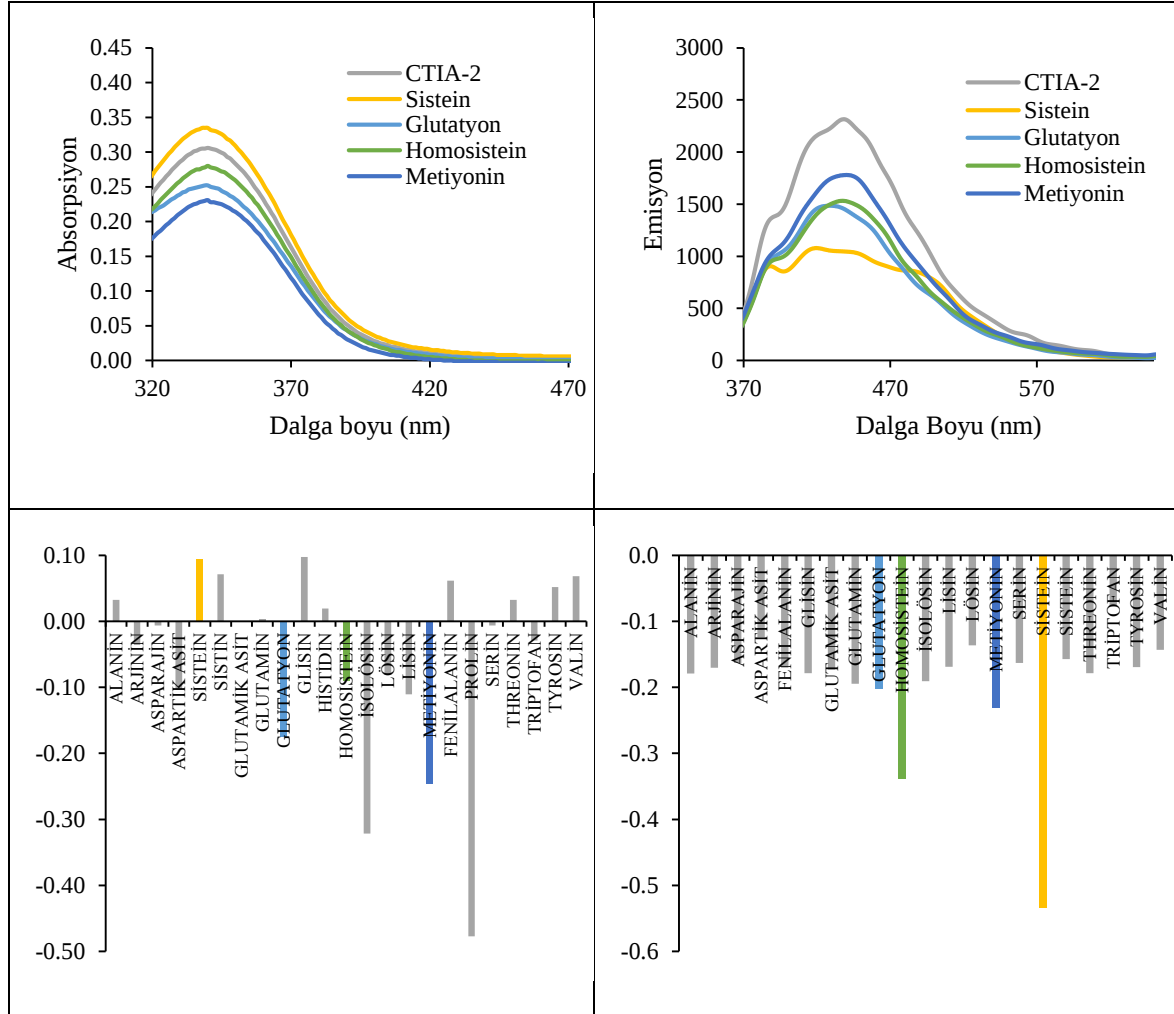
CTIA-1 bileşiğinin biyomoleküller ile etkileşimi incelendiğinde inkübasyon süresi tamamlandığında pH = 7,4'te absorpsiyon maksimum dalga boyunda bir değişiklik görülmez iken absorpsiyon değerinde bir düşüş görülmüştür. TiyoI gurubu içeren biyomoleküller ve amino asitler için aynı sonuçlar alınmıştır. pH= 7,4'te ki emisyon spekturumları incelendiğinde emisyon dalga boyu değişmez iken emisyon şiddetinde genel olarak bir artış durumu söz konusudur. CTIA-1 bileşiği ile Cys ve GSH biyomolekülleri etkileştiği zaman emisyon şiddeti artmaktadır. Bileşiğin Hcy ve Met ile etkileşimi sonucunda ise emisyon şiddeti azalmaktadır. Emisyon şiddetindeki bu azalış diğer amino asitler ile genel olarak ters bir etki gösterdiği için ayırt edici bir özelliktir. Etkileşim sonucu emisyon şiddetini azaltan diğer amino asitler glisin, izolösün ve valin'e karşı kıyasladığımız zaman Hcy ve Met ile etkileşim sonucu emisyon şiddeti daha fazla oranda azalmaktadır. pH = 9,2'

deki absorpsiyon spektrumunu incelendiğinde tiyol grubu içeren biyomoleküllere ait bir ayırt edicilik görülmemiştir. Emisyon spektrumlarında ise tiyol grubu içeren biyomoleküllerin emisyon şiddetleri diğer amino asitlere göre oldukça fazla bir şekilde artmıştır.

Çizelge 7.11. CTIA-2 bileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamındaki etkileşim çalışmaları. Tiyol içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).



Çizelge 7.12. CTIA-2 ileşiğinin PBS (pH 7,4) ortamındaki etkileşim çalışmaları. Tiyol içeren biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon spektrumu (sol-üst), emisyon spektrumu (sağ-üst). Biyomoleküller ile etkileşim absorpsiyon çubuk grafiği (sol-alt) ve emisyon çubuk grafiği (sağ-alt).



CTIA-2 bileşiğinin biyomoleküller ile etkileşimi incelendiğinde inkübasyon süresi sonunda pH = 7,4'te absorpsiyon maksimum dalga boyunda bir değişiklik görülmez iken absorpsiyon değerinde bir genel olarak düşüş görülmüştür. Tiyol grubu içeren biyomoleküllerin aksine Cys etkileşim sonucunda absorpsiyon değerini yükseltmiştir. Diğer biyotiyoller ile karşılaştırıldığında absorpsiyonda ki bu yükseliş ayırt edicidir. pH = 7,4'te ki emisyon spektrumları incelendiğinde ise emisyon dalga boyunda bir değişiklik görülmez iken emisyon şiddetinde genel olarak bir azalma durumu söz konusudur. Etkileşim sonunda tiyol grubu içeren biyomoleküller için Hcy'nin emisyon şiddetinde ki azalış ayırt edicidir. pH = 9,2'de ki absorpsiyon spekturumda genel olarak absorpsiyon şiddetinde bir azalış görülmüştür. Bu genel durumun aksine Cys'nin absorpsiyon şiddeti artmıştır. Emisyon

spektrumunda ise emisyon şiddetlerinde düşüş görülmüştür, Cys'deki düşüş ise dikkat çekicidir.

7.2. ¹H-NMR Çalışmaları

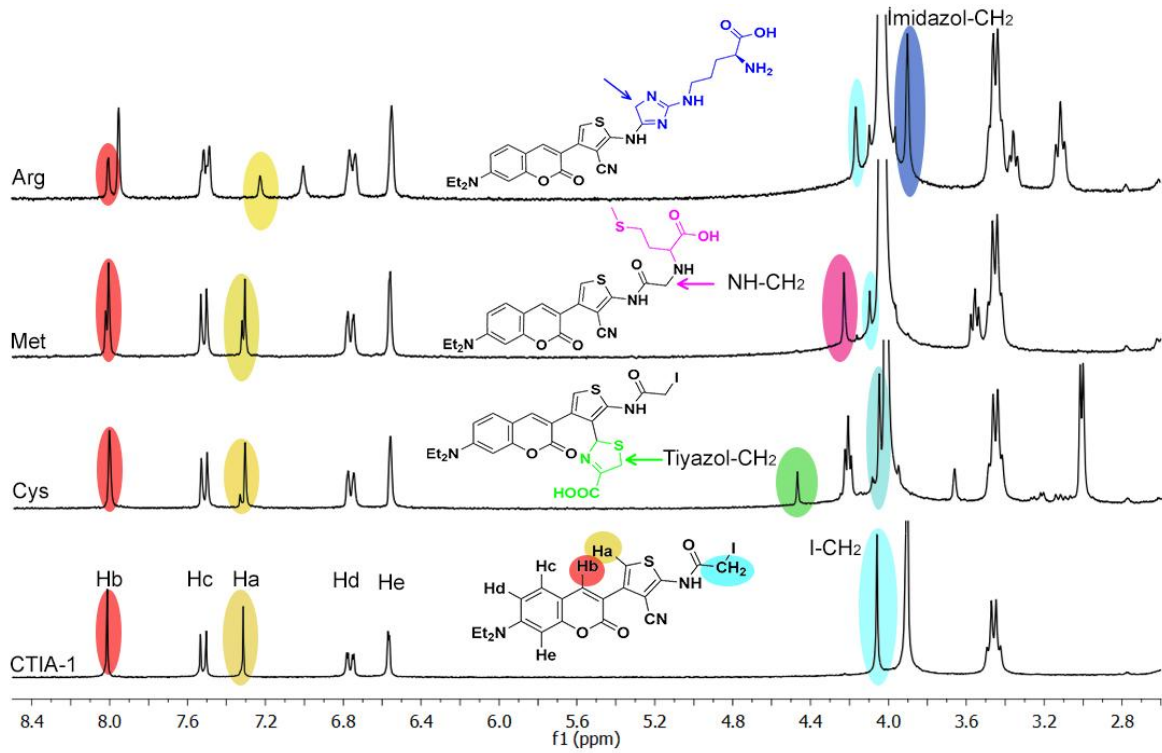
Biyotiyol duyarlılık çalışmalarında bileşiklerin Cys'nin dışında Met ve bazı amino asitler ile de etkileştiği emisyon spektrumlarındaki belirgin değişikliklerden belirlenmiştir. Bu biyomoleküllerin etkileşim mekanizmalarını belirlemek için CTIA-1 bileşiğine Cys, Met ve Arg eklenmesi ile ¹H-NMR spektrumları alınmıştır. Çalışma, 5:1 oranında DMSO-*d*₆:D₂O çözücü karışımında (10 mM) 25 °C'da 1,0 eşdeğer mol biyomolekül eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada 3 biyomolekülün de farklı mekanizmalar üzerinden tepkime verdiği belirlenmiştir. Elde edilen spektrumdan tepkimelerin tam gerçekleşmediği gözlenmiştir ancak yan ürünlerin varlığı üzerinde mekanizmalar önerilmektedir.

Bileşiklerin yapı tasarımlarını yaparken öncelikli olarak biyotiyoller ile etkileşeceği düşünülen gruplar seçilmişti. Planlanan etkileşimlerden biri iyodoamit türevindeki iyotun Cys'nin -SH grubu ile yer değiştirme tepkimesi vermesidir. Bu sonuç ¹H-NMR spektrumdaki metilen grubunun yer değiştirme tepkimesi sonucunda (I-CH₂ → S-CH₂) daha düşük kimyasal kaymada gözlenmesi ile desteklenecekti. Ancak alınan ¹H-NMR spektrumda iyodometilen sinyalinden daha yüksek bir değer olan 4,45 ppm de yeni bir sinyalin gözlenmesi tepkimenin farklı yönde ilerlediğini göstermektedir. Literatürde yapılan bir çalışmada, 2-siyanobenzotiyazol bileşiğinin Cys ile etkileşmesi sonucunda siyano üzerinden halkalaşma tepkimesi verdiği ve 4,5-dihidrotiyazol grubunun oluştuğu belirlenmiştir [71]. Bu sonuç üzerine, CTIA-1 bileşiğinin yapısında bulunan siyanotiyofen üzerinden benzer bir halkalaşma tepkimesi verebileceği görülmektedir. Spektrum incelediğinde 4,45 ppm'de çıkan yeni sinyalin 4,5-dihidrotiyazol yapısındaki metilen hidrojenlerine ait olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca spektrumda CTIA-1 bileşiğine ait spektruma kıyasla sadece tiyofen hidrojenin (Ha) yanında düşük şiddette bir pik gözlenmesi halkalaşma tepkimesini desteklemektedir. Çünkü oluşacak tiyazol grubu sadece tiyofen hidrojenin kimyasal kaymasını etkilemesi beklenmektedir.

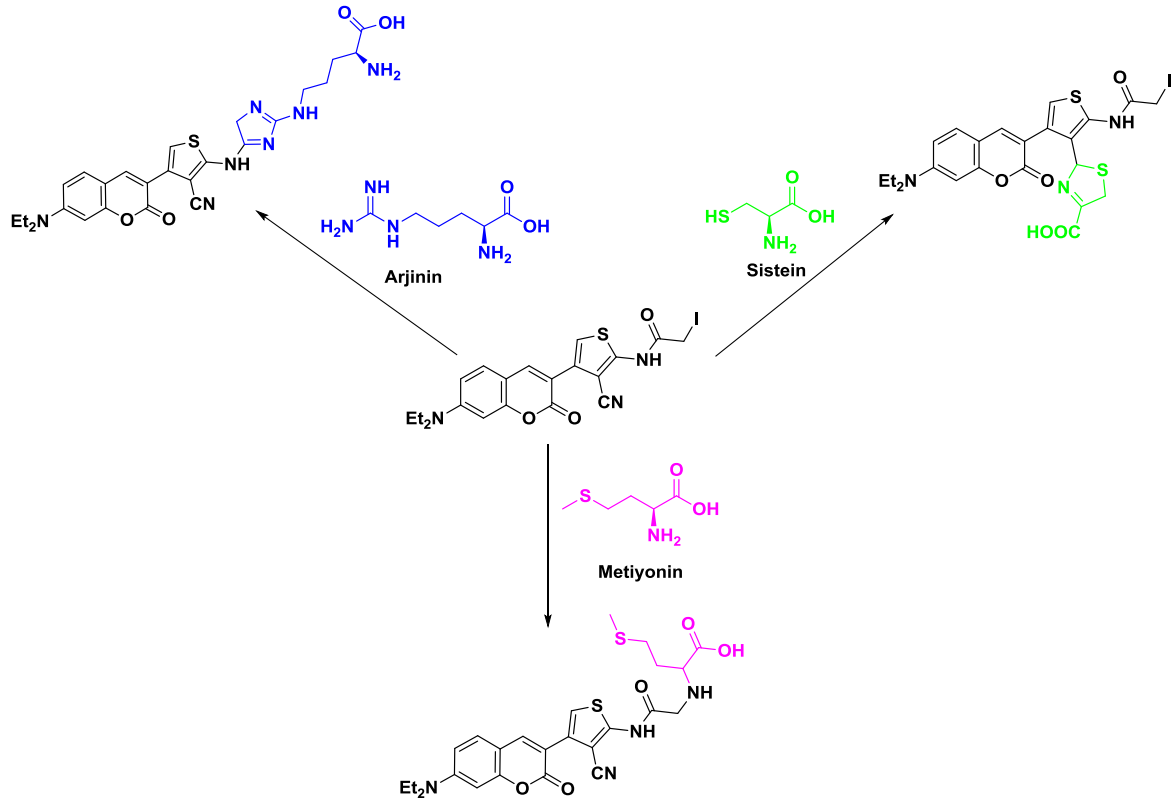
Nükleofilik -SH içermeyen amino asit olan Met'in tepki vermemesi beklenmektedir ve etkileşim mekanizmasının kontrolü amacı ile seçilmiştir. CTIA-1 bileşiğine Met ilavesi sonrasında bileşiğin tepkime vermemesi beklenmesine rağmen 4,50 ppm de yeni bir sinyal gözlenmektedir. Cys'ye benzer tepkime veremeyecek olan bu amino asitin spektrumu

incelendiğinde tepkimenin amino grubu üzerinde yürüdüğüne karar verilmiştir. Amino grubunun iyot ile yerdeğiştirme tepkimesi vermesi sonucunda metilen sinyalinin daha yüksek kimyasal kayma göstermektedir (azotun elektronegatifliği iyottan daha fazladır).

Met ile bir etkileşim gördükten sonra amino grubunun etkileşim mekanizmasının kontrol edilmesi amacı ile Arg amino asiti seçilmiştir. Arg ile yapılan çalışmada beklenenden çok farklı bir sonuç ile karşılaşılmıştır. Met amino grubu üzerinden tepkimesi vermesi ile aynı ortamda Arg'den de benzer bir tepime beklenilmekteydi. Met'de olduğu gibi metilenin daha yüksek kimyasal kaymaya sahip bir sinyal vermesi beklenirken daha düşük kimyasal kaymaya değeri olan 3,85 ppm'de yeni bir sinyal gözlenmiştir. Bu sonucun Arg yapısında bulunan guanidil grubunun iyodoamit üzerinden bir halkalaşma tepkimesi ile ilerdiği ve 4*H*-imidazol halkasının oluştuğu görülmektedir. Yeni oluşan bu sinyalin imidazole ait metilen sinyalleri olduğu düşünülmektedir.



Şekil 7.2. DMSO-*d*₆ içindeki (*c* = 10 mM) CTIA-1 ligant bileşiği üzerine 1,0 eşdeğer mol sistein (cys), metiyonin (Met) ve arginin (Arg) eklenmesi ile alınan ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 7.3. CTIA-1 bileşiğinin sistein (cys), metiyonin (Met) ve arginin (Arg) eklenmesi ile tepkimesi sonucu elde edilen olası yapılar.

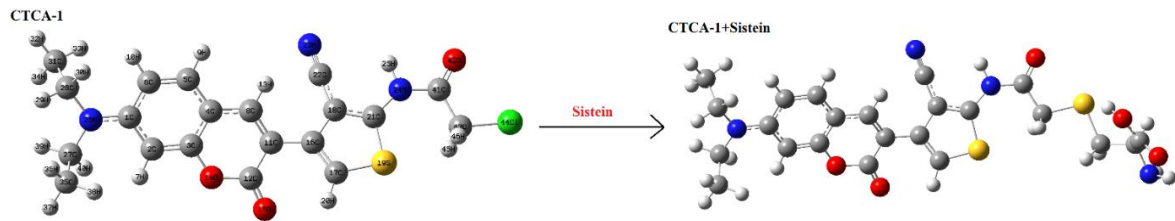
7.3. Teorik Hesaplamalar

Bölüm 7.1’de, CTCA-1, CTIA-1 ve CTIA-2 bileşiklerinin tiyol grupları ile önerilen etkileşim mekanizmaları Şekil 7.1.’de verilmektedir. Deneysel verilerin analizi sonucunda önerilen bu mekanizmaların doğruluğunun tespit edilmesi amacıyla bileşiklerin Cys grubu ile etkileşimleri teorik çalışmalar kapsamında DFT hesaplamaları ile incelenmiştir. Hesaplamalarda, CTCA-1 bileşiğinin optimizasyonu B3LYP/6-31G(d) seviyesinde, CTIA-1 ve CTIA-2 bileşiklerinin optimizasyonları, yapılarında iyot (I) atomu içermelerinden dolayı, B3LYP/LANL2DZ seviyesinde yapılmıştır. Söz konusu moleküllerin Cys ile etkileşimleri sonucunda önerilen yapıların (CTCA-1+Sistein, CTIA-1+Sistein ve CTIA-2+Sistein) optimizasyonları B3LYP/6-31G(d) seviyesinde gerçekleştirilmiştir.

Şekil 7.4’te CTCA-1 ve CTCA-1+Sistein moleküllerinin gaz fazında elde edilen taban durum geometrileri verilmektedir. CTCA-1 bileşiğinde, C8-C11-C16-C17 dihedral açısı $149,79^\circ$ ve kumarin ile tiyofen arasındaki bükülme açısı (C8-C11-C22-N23) $-30,05^\circ$ olarak elde edilmiştir. Bileşiğin Cys ile etkileşimi sonucunda (CTCA-1+sistein), C8-C11-C16-C17

dihedral açısı $149,36^\circ$ ve kumarin ile tiyofen arasındaki bükülme açısının ise $30,36^\circ$ olduğu görülmüştür. Buna göre, bileşiğin Cys ile etkileşimi sonunda yapısal bir değişim olmadığı görülmektedir.

Çizelge 7.13’de TD-DFT metodu ile su ortamında elde edilen elektronik absorpsiyon spektrumu hesaplamalarından tespit edilen absorpsiyon maksimum ($\lambda_{\max}$), osilatör kuvveti (f), söz konusu maksimuma karşılık gelen geçişler ve yüzde olarak katkı değerleri (w) verilmektedir. CTCA-1 bileşiğinin Cys ile etkileşmesi sonucunda $\lambda_{\max}$ değerinde bir değişim olmadığı (393 nm) görülmektedir.



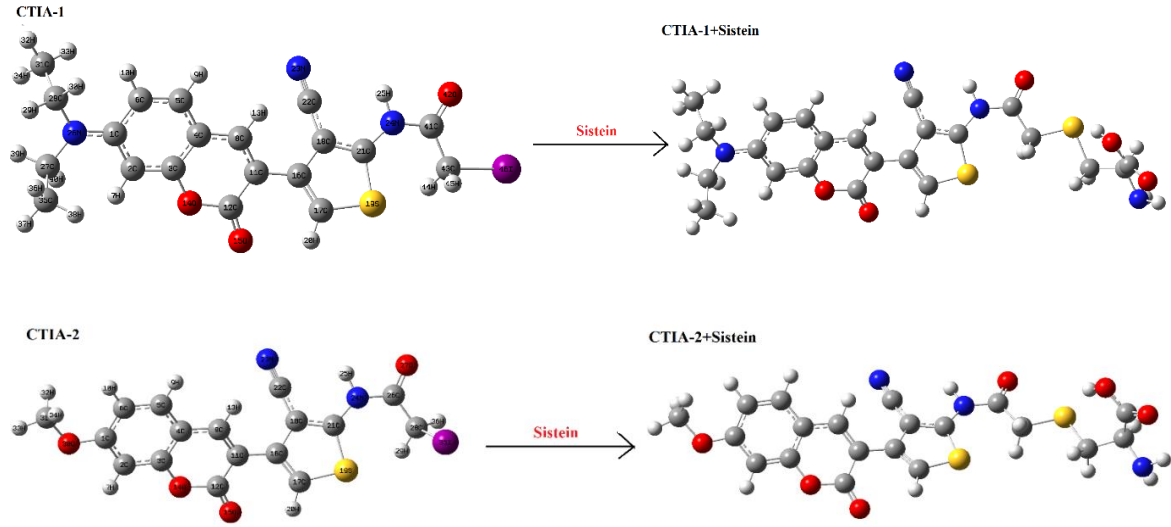
Şekil 7.4. CTCA-1 ve CTCA-1+Sistein için gaz fazında taban durum geometrileri.

Çizelge 7.13. CTCA-1, CTIA-1 ve CTIA-2 bileşikleri ve Cys ile etkileşim sonrası yapıları (CTCA-1+Sistein, CTIA-1+Sistein ve CTIA-2+Sistein) için su ortamında TD-DFT metodu ile hesaplanan $\lambda_{\max}$, osilatör kuvveti (f), ilgili geçişler ve katkıları (w).

	$\lambda_{\max}$ (nm)	f	Geçişler, w		$\lambda_{\max}$ (nm)	f	Geçişler, w
CTCA-1	393	0,9083	H→L, 92,5 H→L+1, 5,7	CTCA-1+Sistein	393	0,9405	H→L, 92,7 H→L+1, 5,5
CTIA-1	410	0,7906	H→L, 86,3 H→L+1, 11,8	CTIA-1+Sistein	393	0,9405	H→L, 92,7 H→L+1, 5,5
CTIA-2	363	0,3949	H→L, 86,8 H→L+1, 7,4 H-1→L, 3,3	CTIA-2+Sistein	357	0,6892	H→L, 92,4 H→L+1, 3,6 H-1→L, 2,3

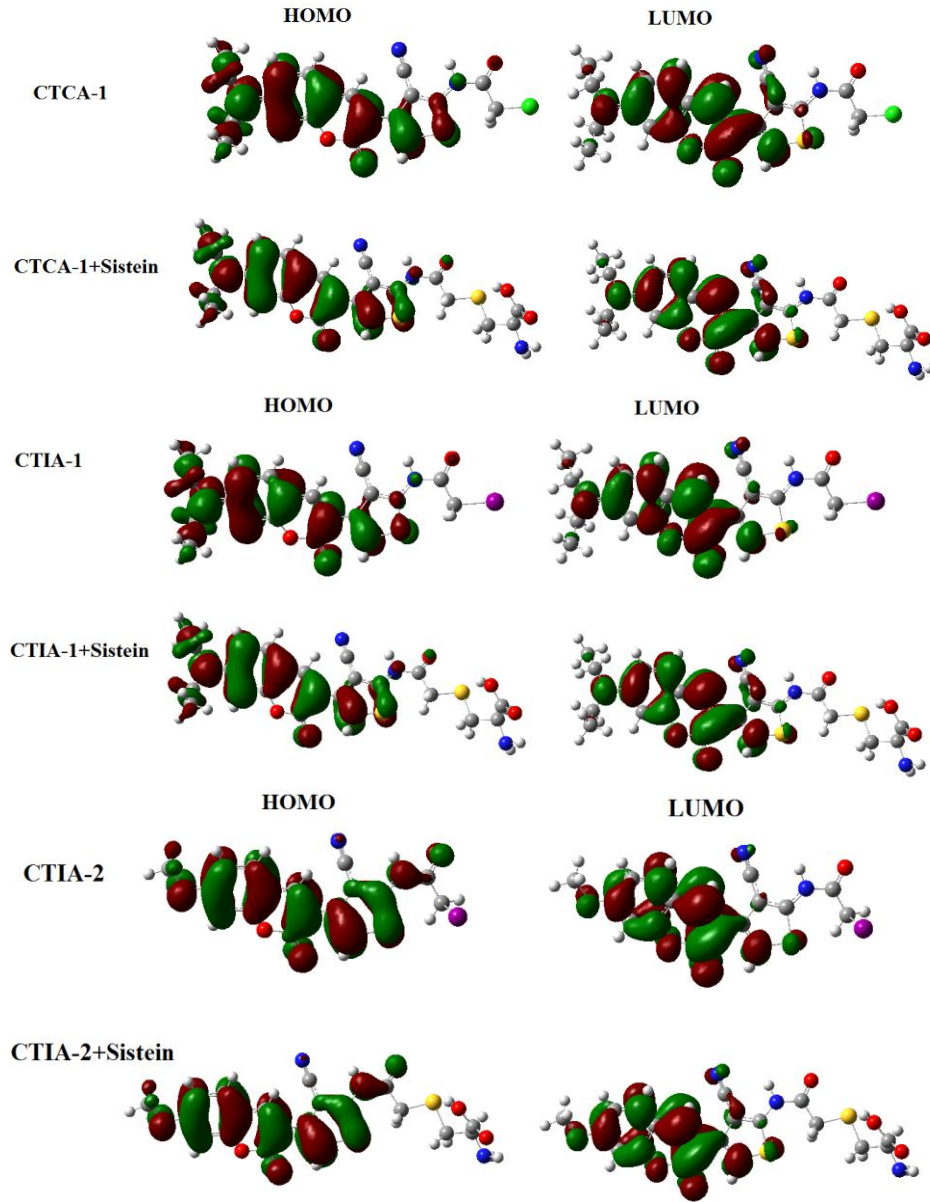
CTIA-1 ve CTIA-2 bileşikleri ve etkileşim sonrasında CTIA-1+Sistein ve CTIA-2+Sistein yapılarının B3LYP/ LANL2DZ seviyesinde gaz fazında elde edilen taban durum geometrileri Şekil 7.5’te verilmektedir. CTIA-1 bileşiği için, C8-C11-C16-C17 dihedral açısı $145,46^\circ$ ve kumarin ile tiyofen arasındaki bükülme açısı (C8-C11-C22-N23) $-34,38^\circ$ olarak elde edilmiştir. CTIA-2 bileşiğinde ise C8-C11-C16-C17 dihedral açısı ve C8-C11-C22-N23 bükülme açısı, sırasıyla, $143,26^\circ$ ve $-35,71^\circ$ ’dir. CTIA-1+Sistein ve CTIA-

2+Sistein için, C8-C11-C16-C17 dihedral açısı, sırasıyla, $149,36^\circ$ ve $148,28^\circ$ ve kumarin ile tiyofen arasındaki bükülme açısı ise, sırasıyla, $30,36^\circ$ ve $-30,98^\circ$ 'dir. Sonuç olarak, CTIA-1 ve CTIA-2 bileşiklerinin Cys ile etkileşimleri sonucunda anlamlı yapısal değişimler oluşmamaktadır. Hesaplanan $\lambda_{\max}$ değerleri CTIA-1 bileşiği için 398 nm, CTIA-1+Sistein için 399 nm olarak tespit edilmiştir (Bkz. Çizelge 7.13) Benzer şekilde, CTIA-2 bileşiğinin sistein ile etkileşiminden sonra $\lambda_{\max}$ değerinde anlamlı bir değişim görülmemektedir.



Şekil 7.5. CTIA-1, CTIA-1+Sistein ve CTIA-2, CTIA-2+Sistein için gaz fazında taban durum geometrileri.

Çizelge 7.13'de verildiği üzere, bileşiklerin ve Cys ile etkileşim sonrası yapılar için hesaplanan maksimum absorpsiyon dalgaboyuna karşı gelen geçişlerden en yüksek katkıya sahip geçişin H→L geçişleri olduğu görülmektedir. (en yüksek dolu orbital, HOMO:H; en düşük boş orbital, LUMO:L). Şekil 7.7'da HOMO ve LUMO yapıları verilmektedir. Orbitaler üzerinde, elektron yoğunluğunun kumarin ve tiyofen üzerinde olduğu ve etkileşimden sonra bu dağılımın değişmediği görülmektedir.



Şekil 7. 6. CTCA-1, CTIA-1 ve CTIA-2 bileşikleri ve Cys ile etkileşim sonrası yapıları (CTCA-1+Sistein, CTIA-1+Sistein ve CTIA-2+Sistein) için molekül orbitalleri.

8. SONUÇLAR

Tez kapsamında bir seri kumarin temelli floresans kemosenörler sentezlendi. Sentez çalışmaları sırasında Shiff bazı türevi olan CTSB-1 ve CTSB-2 bileşikleri geleneksel yöntemlerle elde edilemedi. Fakat mikro dalga ısıma yöntemi kullanılarak sentezlendi. Hedeflenen Maleimit türevleri olan CTMI-1 ve CTMI-2 bileşiklerinin sentezi geleneksel ve MDI yöntemleri ile yapılmış fakat bu bileşikler elde edilememiştir. Yapılan sentez çalışmalarında ürün olarak maleimit türevleri yerine maleik asit türevlerinin elde edildiği ¹H-NMR spekturumu ile gözlemlendi. Sentezlenen CTVA-2, CTCA-1, CTCA-2, CTIA-1, CTIA-2, CTSB-1 ve CTSB-2 bileşiklerinin yapıları spektroskopik yöntemler ile aydınlatıldı.

Elde edilen bileşiklerin biyotiyollere karşı etkileşim çalışmaları spektrofotometrik yöntemler, ¹H-NMR spektroskopisi ve teorik çalışmalarla araştırıldı.

Biyomoleküllere karşı yapılan duyarlılık çalışmaları fizyolojik pH için PBS (pH 7,4) ve yapıların anyonik form kazanmaları için TRIS-HCl (pH 9,2) ortamlarında yapıldı.

Elde edilen sonuçlara göre CTCA-1 bileşiğinin PBS ortamında GSH ve Hcy'ne karşı etkileşiminin emisyon şiddetini diğer amino asit ve biyotiyollere karşı oldukça fazla arttırdığı görüldü. CTCA-1 bileşiğinin emisyonu, Cys, Hcy ve Met biyomoleküllerine kıyasla GSH biyomolekülü ile etkileşiminde floresans şiddeti oldukça arttı. TRIS-HCl ortamında tekrarlanan etkileşim çalışmalarında ise CTCA-1 bileşiğinin emisyon şiddetindeki artış diğer amino asitler göz önüne alındığında biyotiyoller için oldukça belirleyici oldu. CTIA-1 bileşiğinde ise PBS ortamında Hcy ile etkileşiminde ayırt edici olarak emisyon şiddeti diğer amino asit ve biyotiyollere göre ters bir etki göstererek azaldığı görüldü. TRIS-HCl ortamında ise biyomoleküller ile etkileşim sonucunda emisyon şiddeti diğer amino asitler ile etkileşimine kıyasla ayırt edici şekilde arttı. CTIA-2 bileşiğinin PBS ortamında etkileşim sonucu absorpsiyon değerlerinde genel olarak düşüş görüldü. Bu düşüşün aksine Cys ile etkileşim sonucunda özellikle diğer tiyol grubu içeren biyomoleküllerle kıyaslandığında farklı bir etki göstererek absorpsiyon değerini arttırdığı görüldü. TRIS-HCl ortamında etkileşim sonucunda elde edilen absorpsiyon değerleri ile PBS ortamında elde edilen değerler benzerlik göstermektedir. Cys ile etkileşim sonucunda

elde edilen CTIA-2 bileşimine ait emisyon değerinde ise diğer amino asit ve biyomoleküllere göre ayırt edici bir şekilde azaldı.

Yapılan deneysel çalışmaların sonuçları teorik hesaplamalar ve ^1H -NMR etkileşim sonuçları ile karşılaştırıldı ve etkileşim mekanizmaları belirlendi. Anyon ve tiyol grubu içeren biyomolekül etkileşim mekanizması çalışmaları için yapılan teorik hesaplama ve ^1H -NMR etkileşim sonuçlarının birbirini desteklediği görüldü.

CTCA-1 bileşiği ise fizyolojik ortamda GSH biyomolekülünün tayini için, CTIA-2 bileşiği ise $\text{pH} = 9,2$ ortamında Cys biyomolekülünün tayini için iyi bir floresan kemosensör özelliği göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Demirkol, O., Adams, C., and Ercal, N. (2004). Biologically important thiols in various vegetables and fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 8151-8154.
2. Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
3. Wu, D., Sedgwick, A. C., Gunnlaugsson, T., Akkaya, E. U., Yoon, J., and James, T. D. (2017). Fluorescent chemosensors: the past, present and future. *Chemical Society Reviews*, 46(23), 7105-7123.
4. Silva, A. P., NimaláGunaratne, H. Q., MarkáLynch, P. L., Glenn, E. M., and SamankumaraáSandanayake, K. R. A. (1992). Molecular fluorescent signalling with 'fluor-spacer-receptor'systems: approaches to sensing and switching devices via supramolecular photophysics. *Chemical Society Reviews*, 21(3), 187-195.
5. Verhoeven, J. W. (1996). Glossary of terms used in photochemistry (IUPAC Recommendations 1996). *Pure and Applied Chemistry*, 68(12), 2223-2286.
6. Wang, W. (Ed.). (2012). *Advances in chemical sensors*. BoD-Books on Demand.
7. Orellana, G., and Moreno-Bondi, M. C. (Eds.). (2006). *Frontiers in chemical sensors: novel principles and techniques* (Vol. 3). Springer Science & Business Media.
8. Wolfbeis, O. S. (2004). Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Analytical chemistry*, 76(12), 3269-3284.
9. Rani, P. (2015). Chemosensor And Its Applications. *International Refereed Journal of Reviews and Research*, 5(3), 1-10.
10. Czarnik, A. W. (Ed.). (1993). *Fluorescent chemosensors for ion and molecule recognition*. American Chemical Society.
11. Daly, B., Ling, J., and De Silva, A. P. (2015). Current developments in fluorescent PET (photoinduced electron transfer) sensors and switches. *Chemical Society Reviews*, 44(13), 4203-4211.
12. Splitstoser, J. C., Dillehay, T. D., Wouters, J., and Claro, A. (2016). Early pre-Hispanic use of indigo blue in Peru. *Science advances*, 2(9), e1501623.
13. Baeyer, A., and Drewsen, V. (1882). Darstellung von indigblau aus orthonitrobenzaldehyd. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 15(2), 2856-2864.
14. Travis, A. S. (1990). Perkin's mauve: ancestor of the organic chemical industry. *Technology and Culture*, 31(1), 51-82.

- 15.Çatal, E., Keleş, E., Seferoğlu, N., Achelle, S., Barsella, A., Le Guen, F. R., and Seferoğlu, Z. (2018). Triphenylamine-based allylidenemalononitrile chromophores: synthesis, and photophysical and second-order nonlinear optical properties. *New Journal of Chemistry*, 42(18), 15052-15060.
- 16.International Agency for Research on Cancer. (2010). *Some aromatic amines, organic dyes, and related exposures* (Vol. 99). IARC Press, International Agency for Research on Cancer.
- 17.Chatwal, G. R. (2009). *Synthetic dyes*. Himalaya Publishing House.
- 18.Weller, A. (1968). Electron-transfer and complex formation in the excited state. *Pure and Applied Chemistry*, 16(1), 115-124.
- 19.Wang, B., and Anslyn, E. V. (Eds.). (2011). *Chemosensors: principles, strategies, and applications* (Vol. 15). John Wiley & Sons.
- 20.Aydiner, B. (2019). Coumarin-based benzilmonohydrazone as a new proton-sensitive fluorescence dye: synthesis and investigation of photophysical and acidochromic properties. *Turkish Journal of Chemistry*, 43(4), 1086-1097.
- 21.Song, Y., Chen, Z., and Li, H. (2012). Advances in coumarin-derived fluorescent chemosensors for metal ions. *Current Organic Chemistry*, 16(22), 2690-2707.
- 22.Ebbinghaus, S. W., Mohler, J. L., and Marshall, M. E. (1997). Coumarins: Biology, Applications and Mode of Actions.
- 23.Christie, R. M., and Lui, C. H. (1999). Studies of fluorescent dyes: part 1. An investigation of the electronic spectral properties of substituted coumarins. *Dyes and Pigments*, 42(1), 85-93.
- 24.Aydiner, B., and Seferoğlu, Z. (2018). Proton Sensitive Functional Organic Fluorescent Dyes Based on Coumarin-imidazo [1, 2-a] pyrimidine; Syntheses, Photophysical Properties, and Investigation of Protonation Ability. *European Journal of Organic Chemistry*, 2018(43), 5921-5934.
- 25.Chemchem, M., Yahaya, I., Aydiner, B., Seferoğlu, N., Doluca, O., Merabet, N., and Seferoğlu, Z. (2018). A novel and synthetically facile coumarin-thiophene-derived Schiff base for selective fluorescent detection of cyanide anions in aqueous solution: Synthesis, anion interactions, theoretical study and DNA-binding properties. *Tetrahedron*, 74(48), 6897-6906.
- 26.Liu, Z., He, W., and Guo, Z. (2013). Metal coordination in photoluminescent sensing. *Chemical Society Reviews*, 42(4), 1568-1600.
- 27.Fu, J., Yao, K., Li, B., Mei, H., Chang, Y., and Xu, K. (2019). Coumarin-based colorimetric-fluorescent sensors for the sequential detection of Zn²⁺ ion and phosphate anions and applications in cell imaging. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 117790.

28. Warrier, S. B., and Kharkar, P. S. (2018). A coumarin based chemosensor for selective determination of Cu (II) ions based on fluorescence quenching. *Journal of Luminescence*, 199, 407-415.
29. Sarkar, D., Ghosh, P., Gharami, S., Mondal, T. K., and Murmu, N. (2017). A novel coumarin based molecular switch for the sequential detection of Al³⁺ and F⁻: application in lung cancer live cell imaging and construction of logic gate. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 242, 338-346.
30. Xu, Z., Chen, X., Kim, H. N., and Yoon, J. (2010). Sensors for the optical detection of cyanide ion. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 127-137.
31. Chemchem, M., Yahaya, I., Aydinler, B., Seferoğlu, N., Doluca, O., Merabet, N., and Seferoğlu, Z. (2018). A novel and synthetically facile coumarin-thiophene-derived Schiff base for selective fluorescent detection of cyanide anions in aqueous solution: Synthesis, anion interactions, theoretical study and DNA-binding properties. *Tetrahedron*, 74(48), 6897-6906.
32. Yahaya, I., Chemchem, M., Aydinler, B., Seferoğlu, N., Tepe, F. E., Açık, L., Çerçi, N. A., Türk, M., and Seferoğlu, Z. (2019). Novel fluorescent coumarin-thiophene-derived Schiff bases: Synthesis, effects of substituents, photophysical properties, DFT calculations, and biological activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 368, 296-306.
33. Yalçın, E., Alkış, M., Seferoğlu, N., and Seferoğlu, Z. (2018). A novel coumarin-pyrazole-triazine based fluorescence chemosensor for fluoride detection via deprotonation process: Experimental and theoretical studies. *Journal of Molecular Structure*, 1155, 573-581.
34. Yang, Y., Liu, Y., Yang, L., Liu, J., Li, K., and Luo, S. (2015). A coumarin-based colorimetric fluorescent probe for hydrogen sulfide. *Journal of Chemical Sciences*, 127(3), 359-363.
35. Fang, Q., Xiong, H., Yang, L., Wang, B., and Song, X. (2019). An instantaneous fluorescent probe for detecting hydrogen sulfide in biological systems. *New Journal of Chemistry*, 43(34), 13594-13599.
36. Sen, C. K., and Packer, L. (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *The American journal of clinical nutrition*, 72(2), 653S-669S.
37. Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
38. Tüdös, É., Mészáros, B., Fiser, A., and Simon, I. (2014). A word of caution about biological inference—Revisiting cysteine covalent state predictions. *FEBS open bio*, 4, 310-314.
39. Lipton, S. A., Choi, Y. B., Takahashi, H., Zhang, D., Li, W., Godzik, A., and Bankston, L. A. (2002). Cysteine regulation of protein function—as exemplified by NMDA-receptor modulation. *Trends in neurosciences*, 25(9), 474-480.

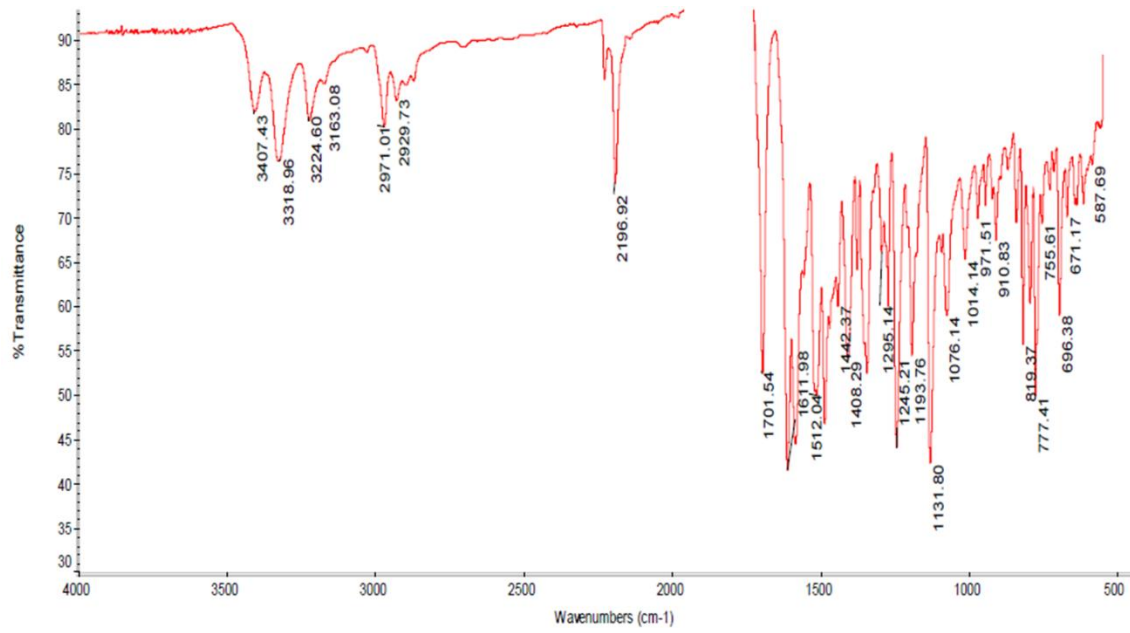
40. Petsko, G. A., and Ringe, D. (2004). *Protein structure and function*. New Science Press.
41. Shahrokhian, S. (2001). Lead phthalocyanine as a selective carrier for preparation of a cysteine-selective electrode. *Analytical Chemistry*, 73(24), 5972-5978.
42. Guan, Y., Qu, S., Li, B., Zhang, L., Ma, H., and Zhang, L. (2016). Ratiometric fluorescent nanosensors for selective detecting cysteine with upconversion luminescence. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 124-130.
43. Lee, S., Li, J., Zhou, X., Yin, J., and Yoon, J. (2018). Recent progress on the development of glutathione (GSH) selective fluorescent and colorimetric probes. *Coordination Chemistry Reviews*, 366, 29-68.
44. Lee, P. T., Lowinsohn, D., and Compton, R. G. (2014). The selective electrochemical detection of homocysteine in the presence of glutathione, cysteine, and ascorbic acid using carbon electrodes. *Analyst*, 139(15), 3755-3762.
45. Seshadri, S., Beiser, A., Selhub, J., Jacques, P. F., Rosenberg, I. H., D'Agostino, R. B., Wilson, P., and Wolf, P. A. (2002). Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine*, 346(7), 476-483.
46. Van Meurs, J. B., Dhonukshe-Rutten, R. A., Pluijm, S. M., van der Klift, M., de Jonge, R., Lindemans, J., Lisette, G., Hofman, A., Jacqueline, W., Leeuwen, J., Bretler, M., Lips, P., Pols, H. A. P., and Uitterlinden, A. G. (2004). Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *New England Journal of Medicine*, 350(20), 2033-2041.
47. Pogribna, M., Melnyk, S., Pogribny, I., Chango, A., Yi, P., and James, S. J. (2001). Homocysteine metabolism in children with Down syndrome: in vitro modulation. *The American Journal of Human Genetics*, 69(1), 88-95.
48. Klee, G. G. (2000). Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B12 and folate. *Clinical chemistry*, 46(8), 1277-1283.
49. Ubbink, J. B., van der Merwe, A., Delpport, R., Allen, R. H., Stabler, S. P., Riezler, R., and Vermaak, W. J. (1996). The effect of a subnormal vitamin B-6 status on homocysteine metabolism. *The Journal of clinical investigation*, 98(1), 177-184.
50. Bostom, A. G., and Culleton, B. F. (1999). Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 10(4), 891-900.
51. Meister, A. (1988). Glutathione metabolism and its selective modification. *Journal of biological chemistry*, 263(33), 17205-17208.
52. Qi, W., Li, J., Chain, C. Y., Pasquevich, G. A., Pasquevich, A. F., and Cowan, J. A. (2013). Glutathione-complexed iron-sulfur clusters. Reaction intermediates and evidence for a template effect promoting assembly and stability. *Chemical Communications*, 49(56), 6313-6315.

53. Rahman, I., and MacNee, W. (2000). Regulation of redox glutathione levels and gene transcription in lung inflammation: therapeutic approaches. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(9), 1405-1420.
54. Harfield, J. C., Batchelor-McAuley, C., and Compton, R. G. (2012). Electrochemical determination of glutathione: a review. *Analyst*, 137(10), 2285-2296.
55. Conklin, K. A. (2004). Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integrative cancer therapies*, 3(4), 294-300.
56. Vacek, J., Klejdus, B., Petrlová, J., Lojková, L., and Kubáň, V. (2006). A hydrophilic interaction chromatography coupled to a mass spectrometry for the determination of glutathione in plant somatic embryos. *Analyst*, 131(10), 1167-1174.
57. Stamler, J. S., and Loscalzo, J. (1992). Capillary zone electrophoretic detection of biological thiols and their S-nitrosated derivatives. *Analytical chemistry*, 64(7), 779-785.
58. Kaczyńska, A., Pelsers, M. M., Bochowicz, A., Kostrubiec, M., Glatz, J. F., and Pruszczyk, P. (2006). Plasma heart-type fatty acid binding protein is superior to troponin and myoglobin for rapid risk stratification in acute pulmonary embolism. *Clinica chimica acta*, 371(1-2), 117-123.
59. PaulaáVelasco, A. (2002). Combined cysteine and homocysteine quantitation in plasma by trap and release membrane introduction mass spectrometry. *Analyst*, 127(8), 1050-1053.
60. Spence, M. T., and Johnson, I. D. (2010). *The molecular probes handbook: a guide to fluorescent probes and labeling technologies*. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo.
61. Koval', I. V. (2007). Reactions of thiols. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 43, 319-346.
62. Chen, F., Han, D., Gao, Y., Liu, H., Wang, S., Zhou, F., Li, K., Zhang, S., Shao, W., and He, Y. (2018). A turn-on fluorescent probe for simultaneous sensing of cysteine/homocysteine and hydrogen sulfide and its bioimaging applications. *Talanta*, 187, 19-26.
63. Xia, L., Zhao, Y., Huang, J., Gu, Y., and Wang, P. (2018). A fluorescent turn-on probe for highly selective detection of cysteine and its bioimaging applications in living cells and tissues. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 270, 312-317.
64. Xiang-Mei, L., Shu-Juan, L., Hui-Ban, Y., Hai-Xia, Y., Jing-Xia, W., Zhao, Z., and Wei, H. (2012). "Turn-on" Phosphorescent Nanoprobes for Sensing Homocysteine and Cysteine. *Chinese Journal of Inorganic Chemistry*, 28(11), 2271-2279.
65. Chen, C., Zhou, L., Liu, W., and Liu, W. (2018). Coumarinocoumarin-based two-photon fluorescent cysteine biosensor for targeting lysosome. *Analytical chemistry*, 90(10), 6138-6143.

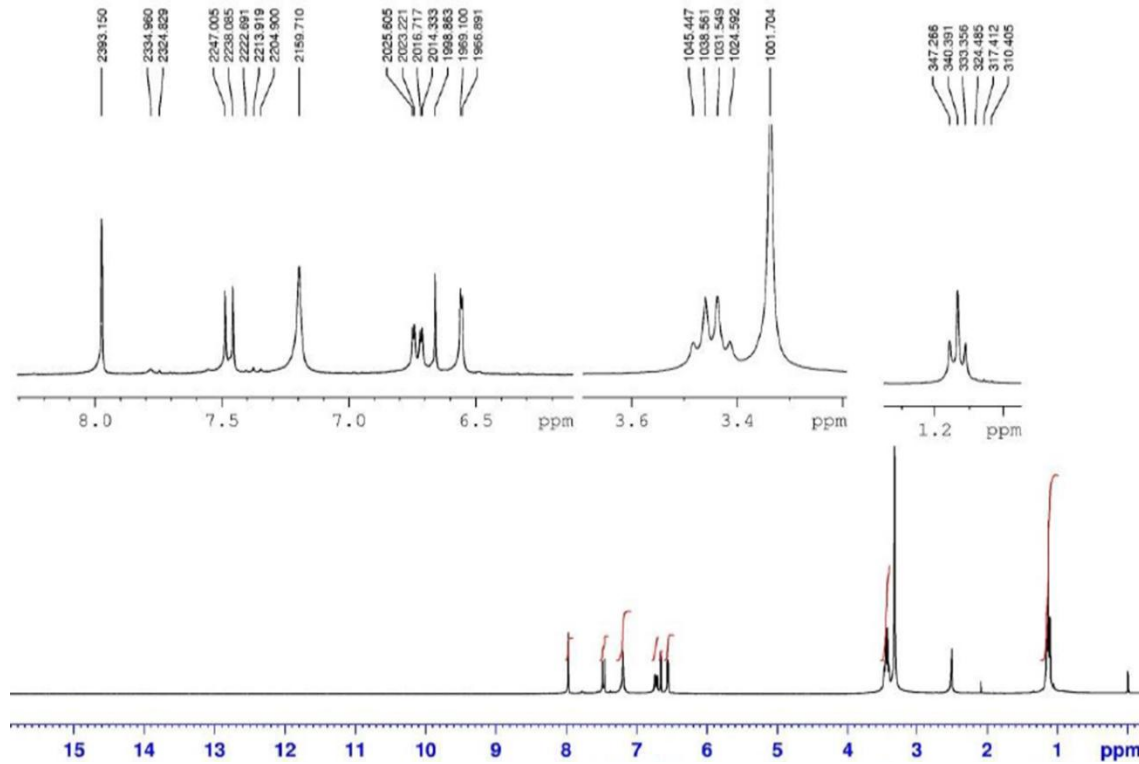
66. Babür, B., Seferoğlu, N., Öcal, M., Sonugur, G., Akbulut, H., and Seferoğlu, Z. (2016). A novel fluorescence turn-on coumarin-pyrazolone based monomethine probe for biothiol detection. *Tetrahedron*, 72(30), 4498-4502.
67. Yanar, U., Babür, B., Pekyılmaz, D., Yahaya, I., Aydın, B., Dede, Y., and Seferoğlu, Z. (2016). A fluorescent coumarin-thiophene hybrid as a ratiometric chemosensor for anions: Synthesis, photophysics, anion sensing and orbital interactions. *Journal of Molecular Structure*, 1108, 269-277.
68. Yahaya, I., Seferoğlu, N., and Seferoğlu, Z. (2019). Improved one-pot synthetic conditions for synthesis of functionalized fluorescent coumarin-thiophene hybrids: Syntheses, DFT studies, photophysical and thermal properties. *Tetrahedron*, 75(14), 2143-2154.
69. Becke, A. D. (1992). Density-functional thermochemistry. II. The effect of the Perdew-Wang generalized-gradient correlation correction. *The Journal of Chemical Physics*, 97(12), 9173-9177.
70. Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G. A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H. P., Izmaylov, A. F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J. L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery, J. A., Jr., Peralta, J. E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J. J., Brothers, E., Kudin, K. N., Staroverov, V. N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J. C., Iyengar, S. S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J. M., Klene, M., Knox, J. E., Cross, J. B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R. E., Yazyev, O., Austin, A. J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J. W., Martin, R. L., Morokuma, K., Zakrzewski, V. G., Voth, G. A., Salvador, P., Dannenberg, J. J., Dapprich, S., Daniels, A. D., Farkas, Ö., Foresman, J. B., Ortiz, J. V., Cioslowski, J., Fox, D. J. Gaussian 09, Revision C.01, Gaussian: Wallingford, CT, 2009.
71. Miao, Q., Li, Q., Yuan, Q., Li, L., Hai, Z., Liu, S., and Liang, G. (2015). Discriminative fluorescence sensing of biothiols in vitro and in living cells. *Analytical chemistry*, 87(6), 3460-3466.

EKLER

EK-1. CT-1 bileşiği

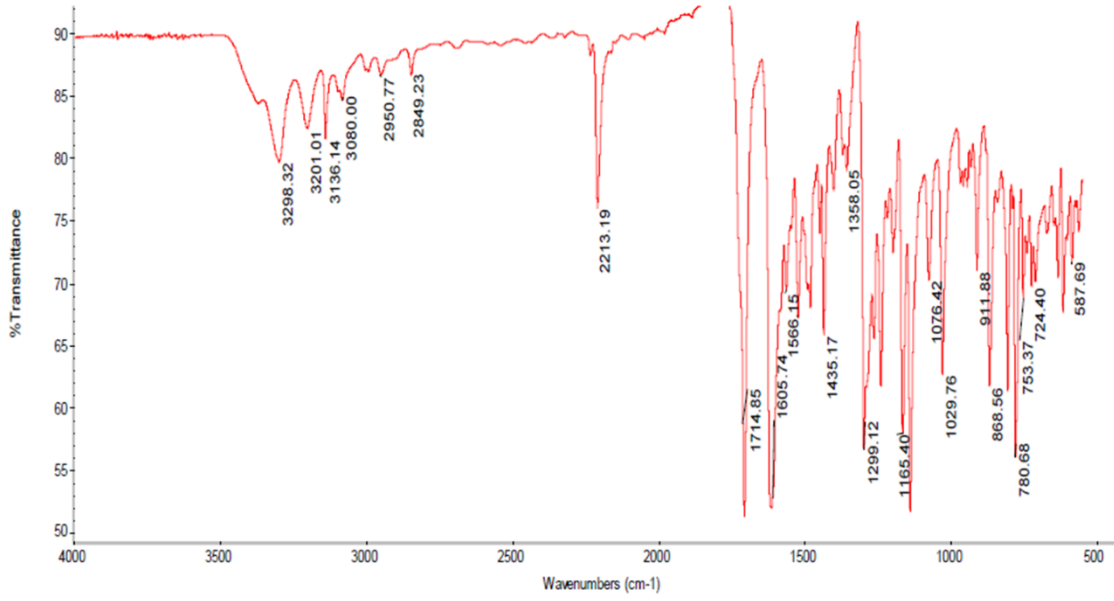


Şekil 1.1. 2-amino-4-(7-(diethylamino)-2-okso-2H-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CT-1) bileşiğinin FT-IR spektrumu.

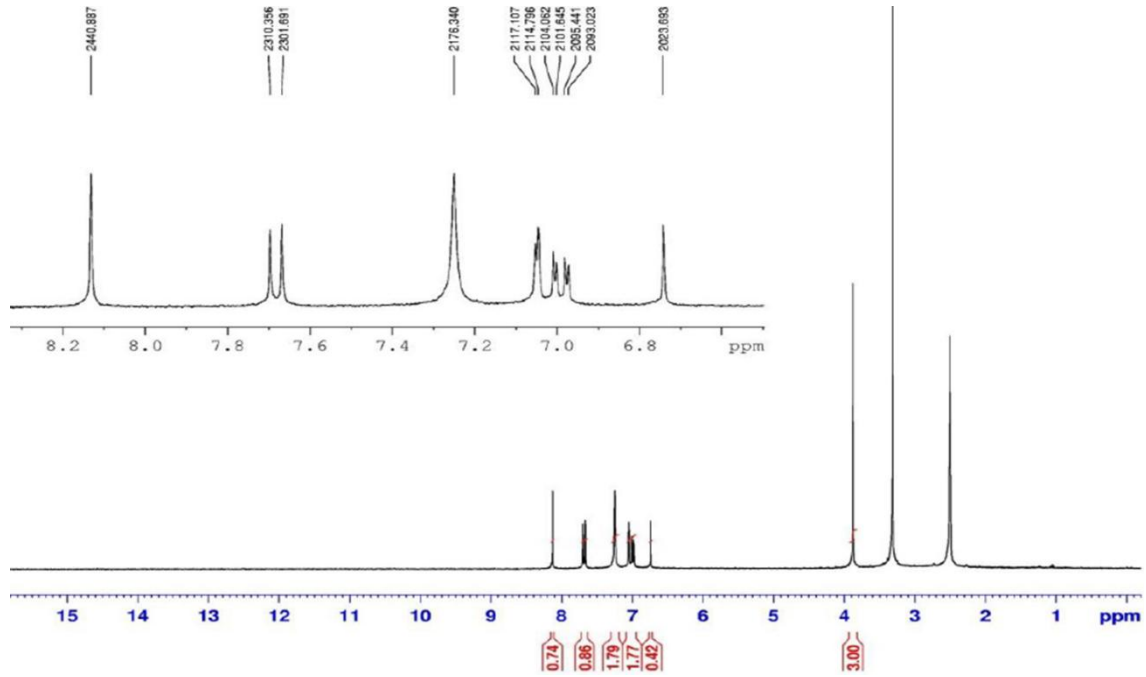


Şekil 1.2. 2-amino-4-(7-(diethylamino)-2-okso-2H-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CT-1) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹H-NMR spektrumu.

EK-2. CT-2 bileşiği

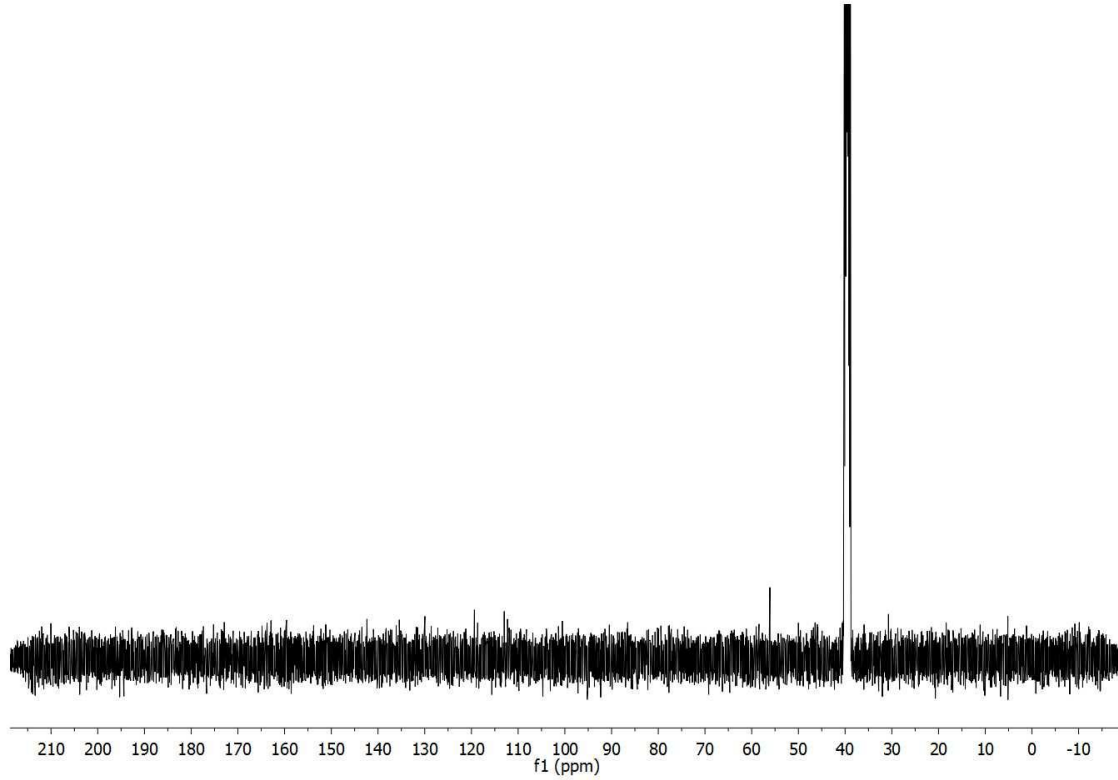


Şekil 2.1. 2-amino-4-(7-metoksi-2-okso-2H-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CT-2) bileşiğinin FT-IR spektrumu.

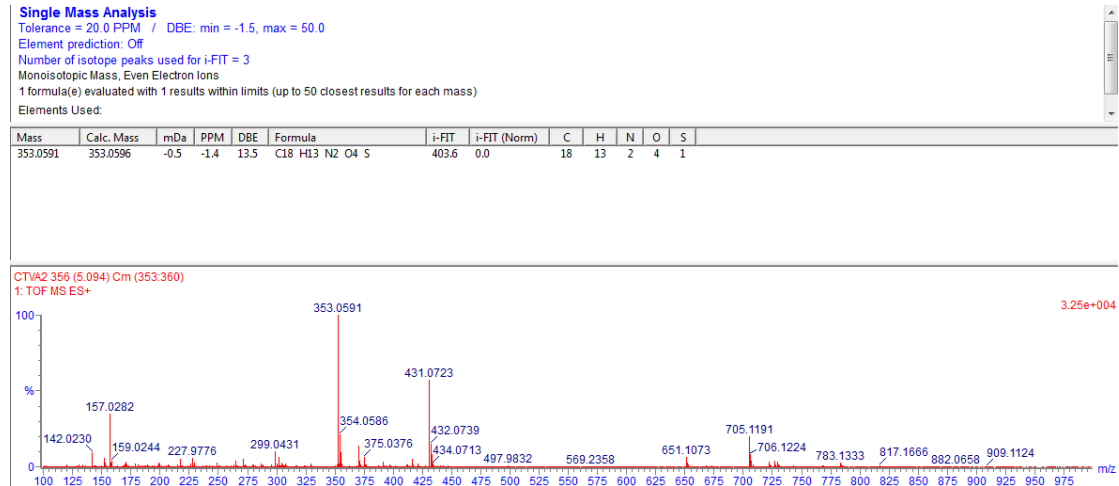


Şekil 2.2. 2-amino-4-(7-metoksi-2-okso-2H-kromen-3-il)tiyofen-3-karbonitril (CT-2) bileşiğinin DMSO- d_6 içinde elde edilen ^1H -NMR spektrumu.

EK-3. (devam) CTVA-2 bileşiği



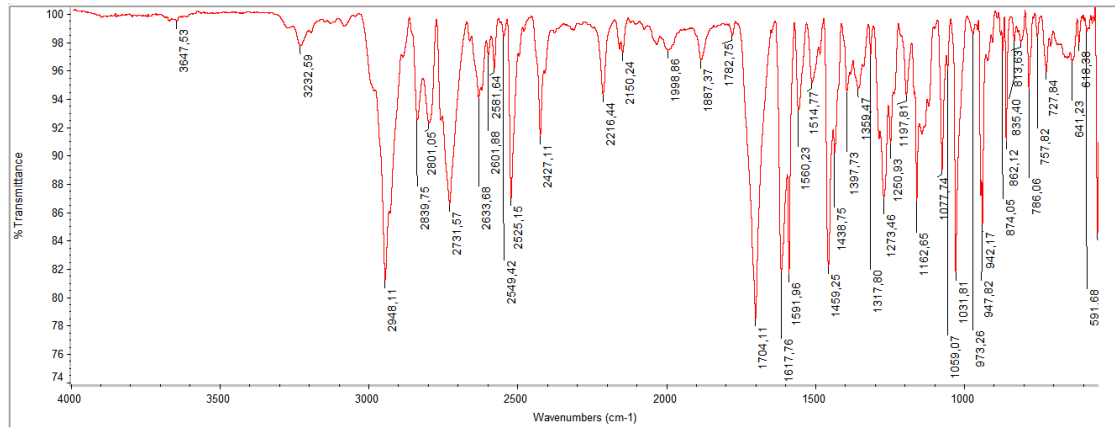
Şekil 3.3. *N*-(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)akrilamit (CTVA-2) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹³C-NMR spektrumu.



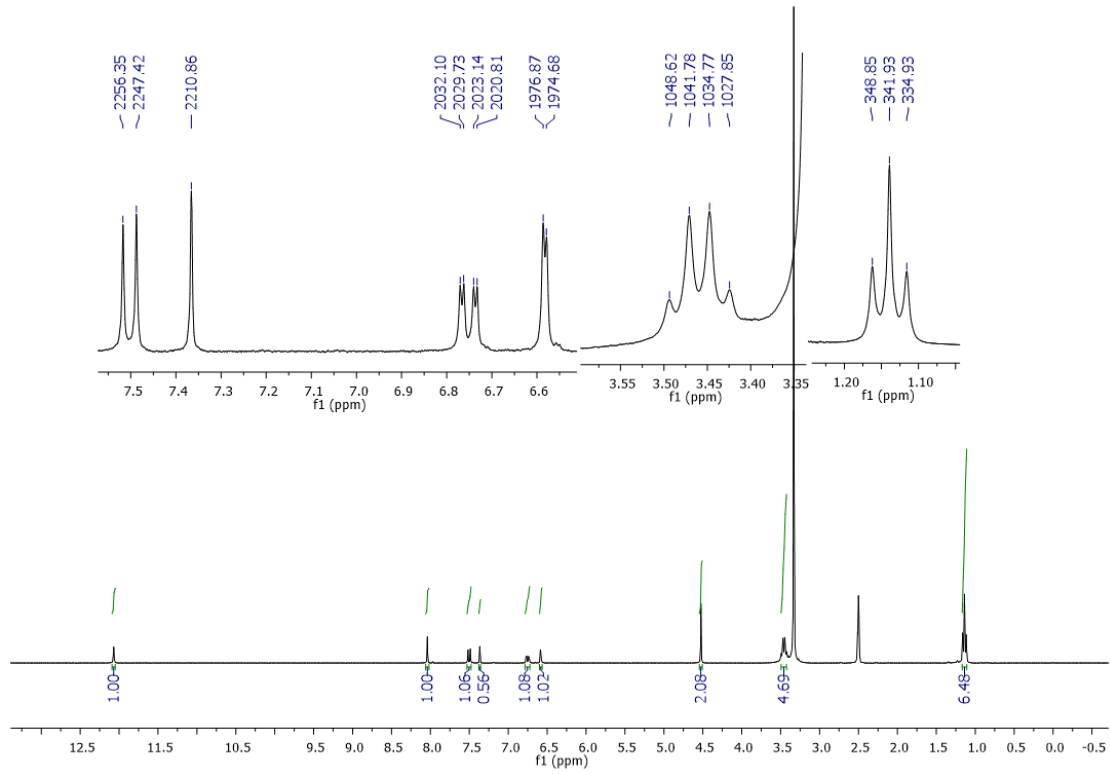
Şekil 3.4. *N*-(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)akrilamit (CTVA-2) bileşiğinin HR-MS spektrumu.

CTVA-2 bileşiğinin çözünürlük probleminden dolayı düzgün ¹³C-NMR sinyalleri elde edilememiştir.

EK-4. CTCA-1 bileşigi

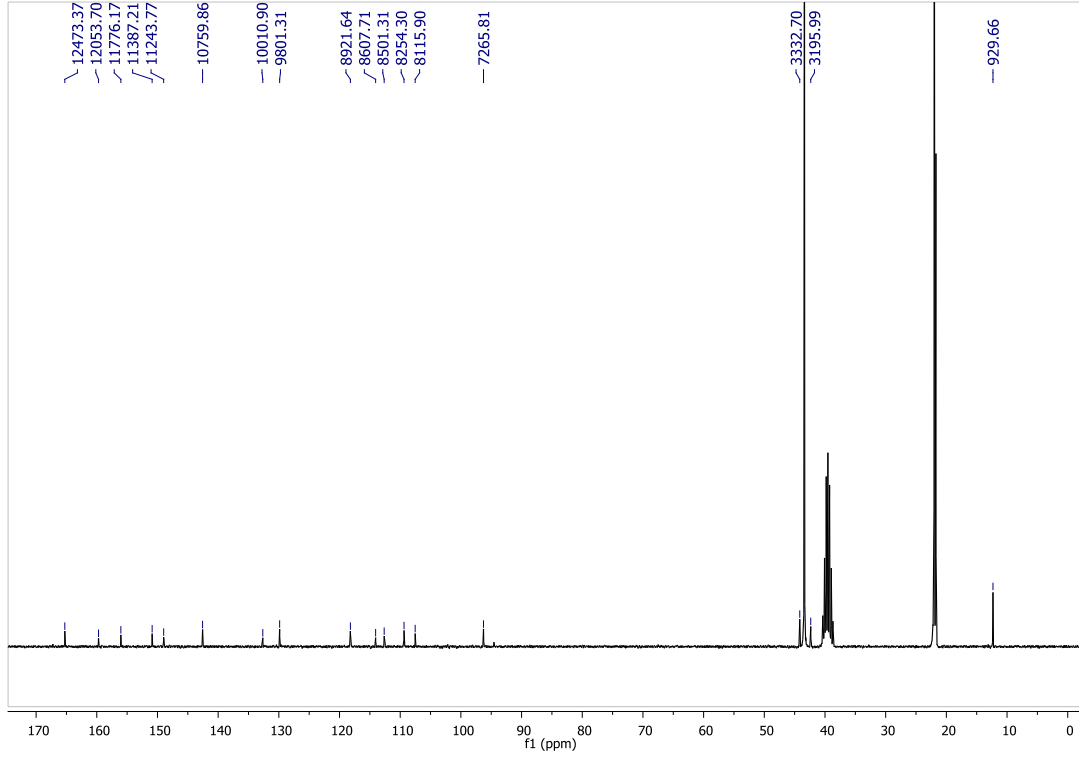


Şekil 4.1. 2-kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)asetamit (CTCA-1) bileşiğinin FT-IR spektrumu.

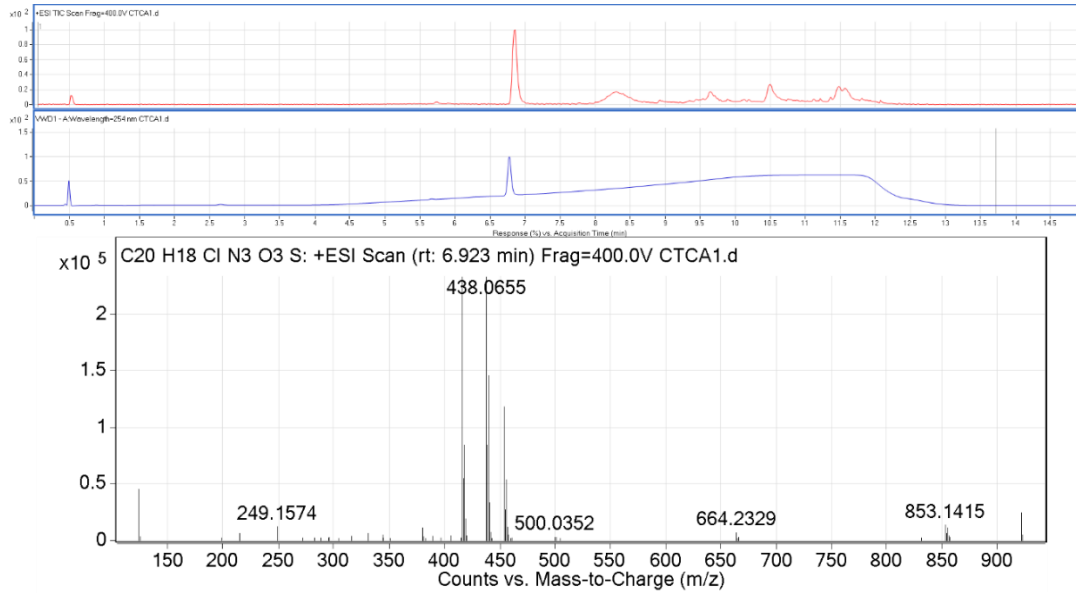


Şekil 4.2. 2-kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)asetamit (CTCA-1) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹H-NMR spektrumu.

EK-4. (devam) CTCA-1 bileşiği

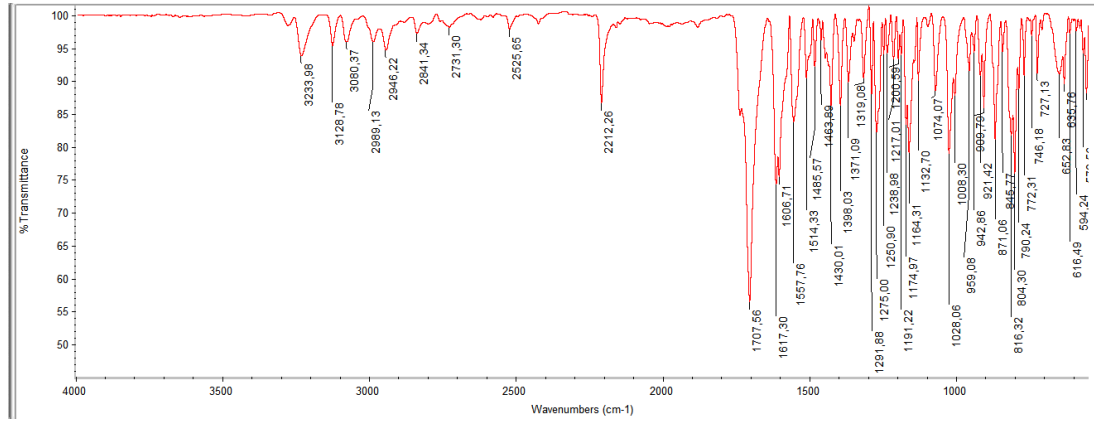


Şekil 4.3. 2-kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)asetamit (CTCA-1) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹³C-NMR spektrumu.

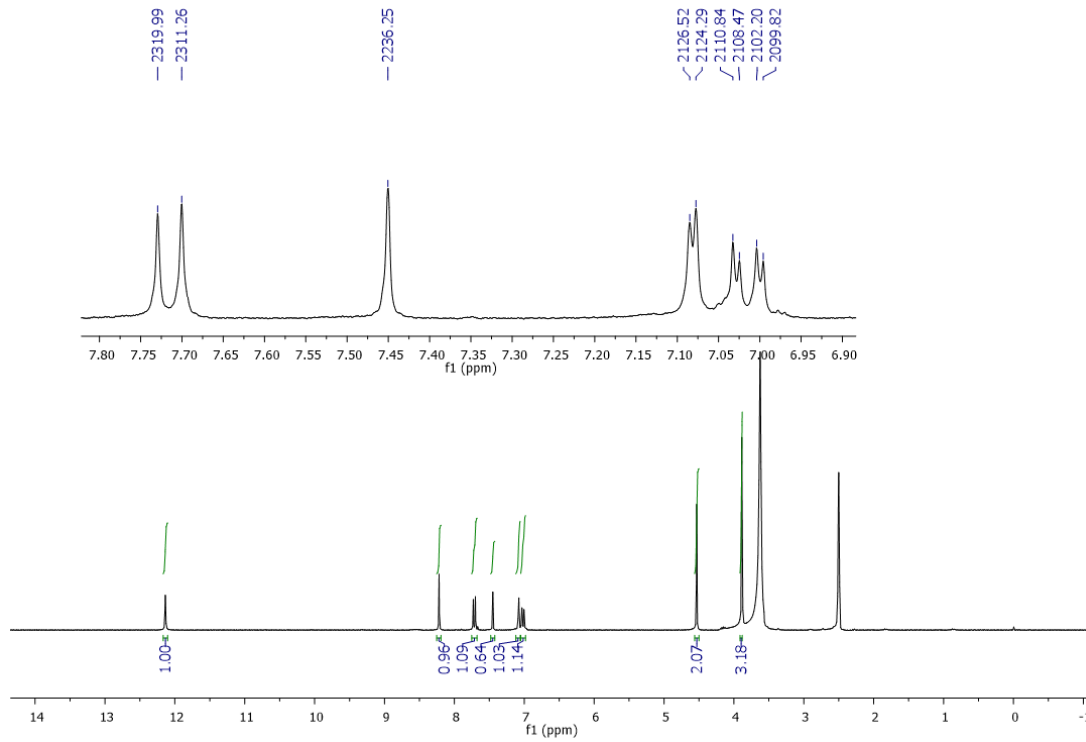


Şekil 4.4. 2-kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)asetamit (CTCA-1) bileşiğinin HR-MS spektrumu.

EK-5. CTCA-2 bileşiği

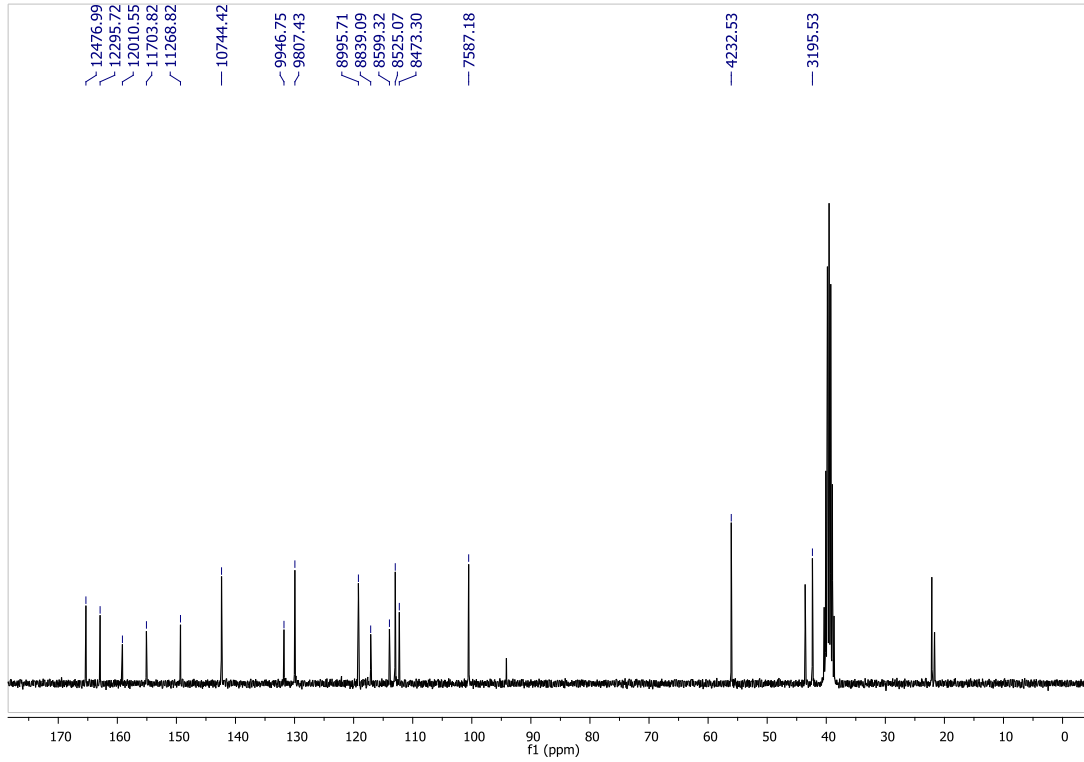


Şekil 5.1. 2-kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)acetamid (CTCA-2) bileşiğinin FT-IR spektrumu.

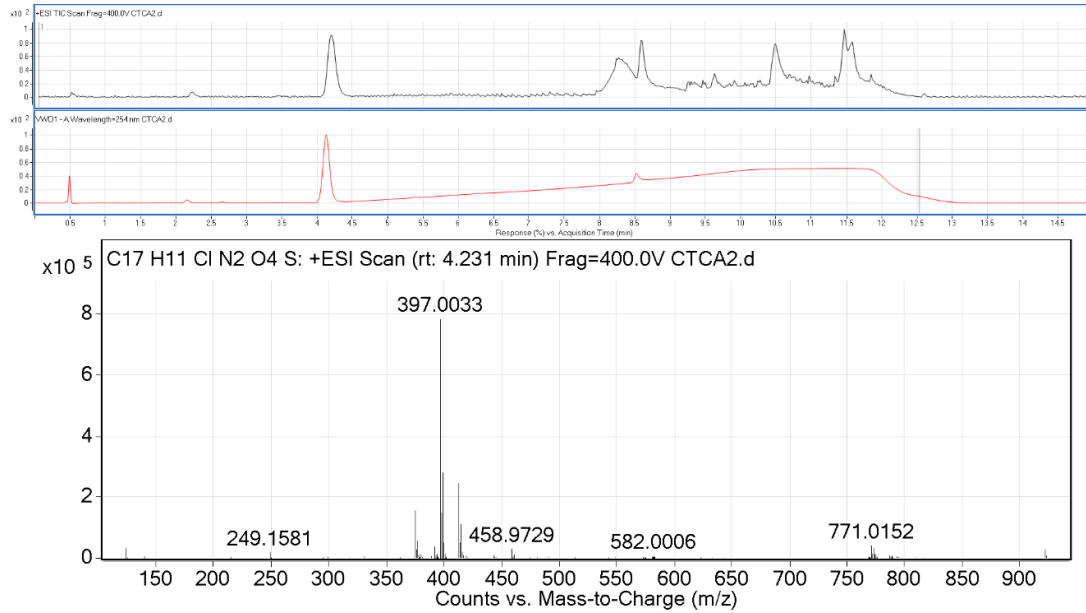


Şekil 5.2. 2-kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)acetamid (CTCA-2) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹H-NMR spektrumu.

EK-5. (devam) CTCA-2 bileşiği

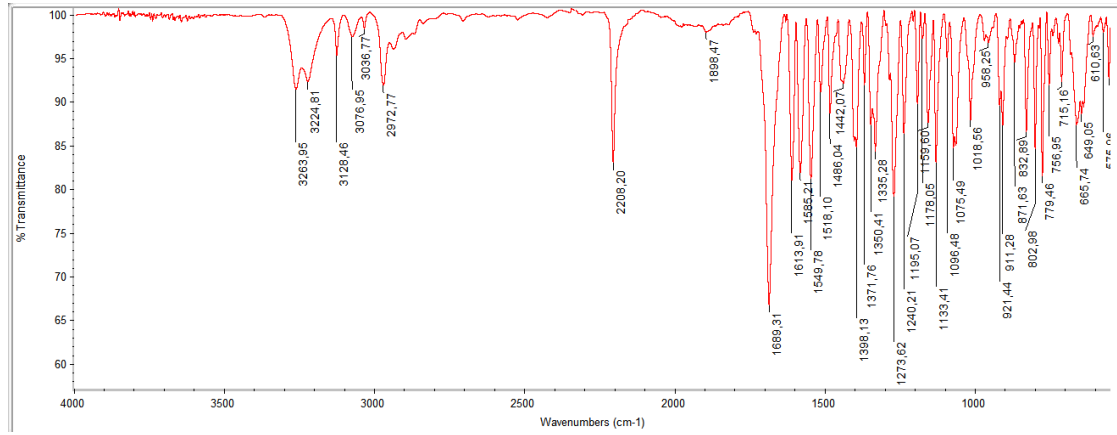


Şekil 5.3. 2-kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)acetamit (CTCA-2) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹³C-NMR spektrumu.

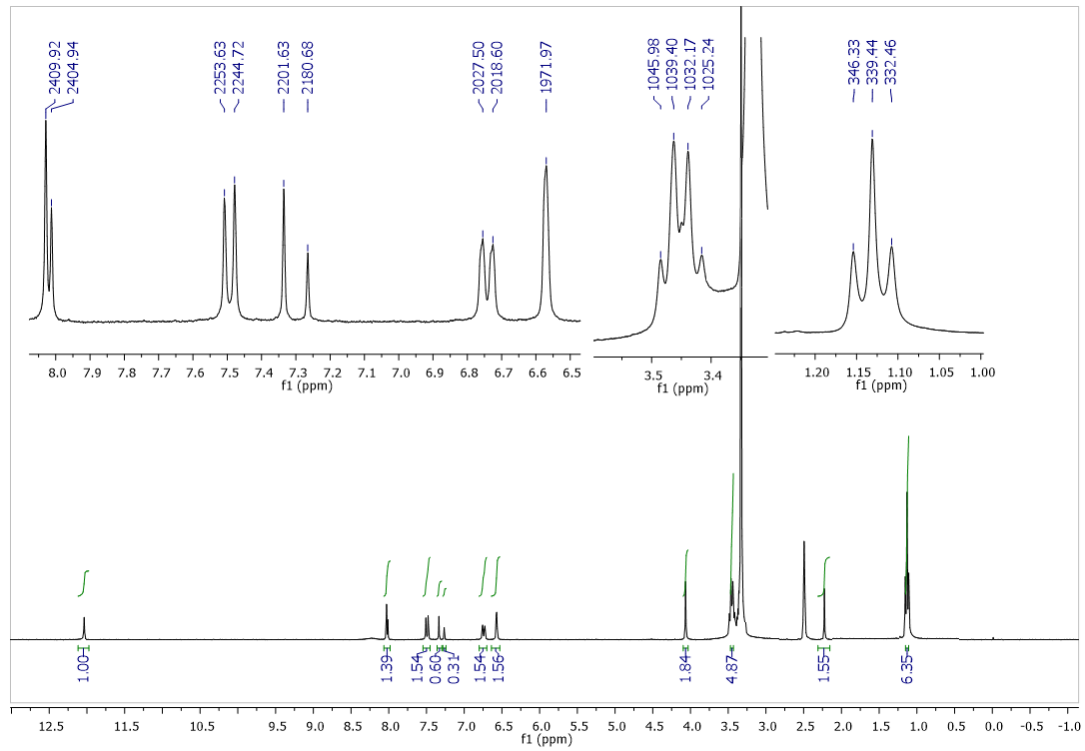


Şekil 5.4. 2-kloro-*N*-(3-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)acetamit (CTCA-2) bileşiğinin HR-MS spektrumu.

EK-6. CTIA-1 bileşiği

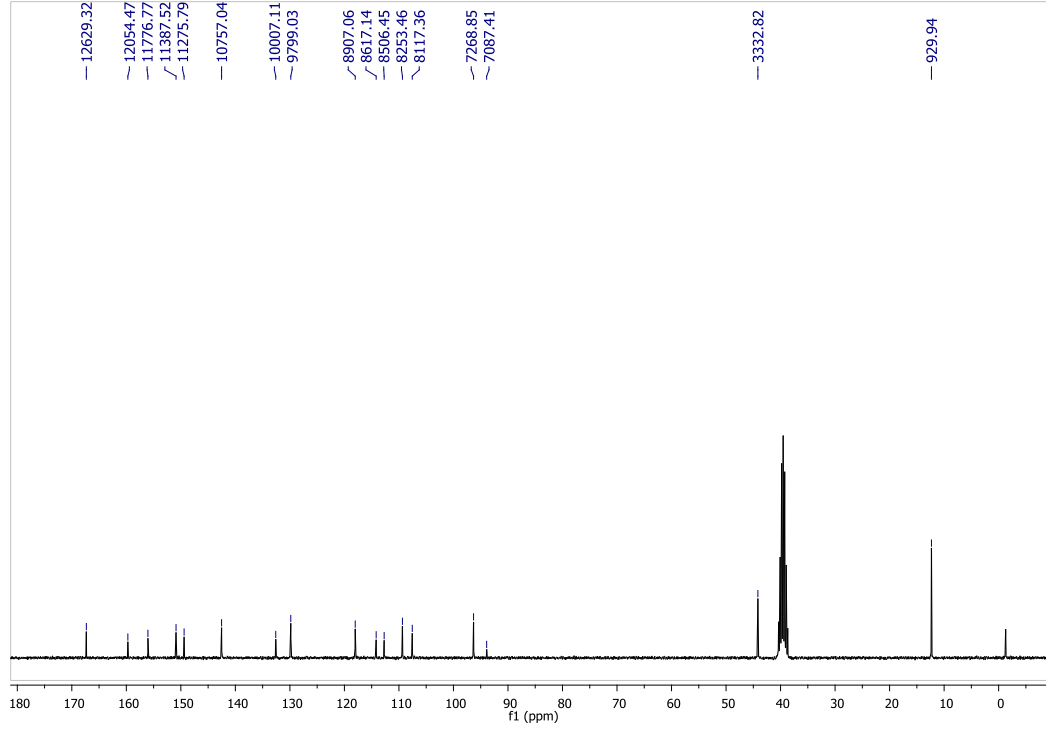


Şekil 6.1. *N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1) bileşiğinin FT-IR spektrumu.

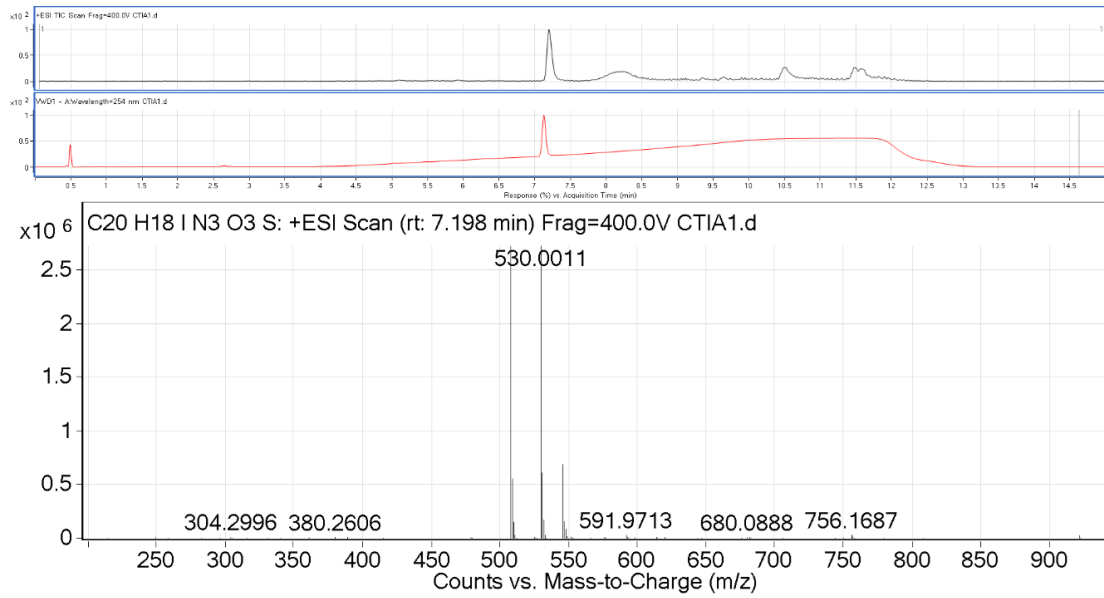


Şekil 6.2. *N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹H-NMR spektrumu.

EK-6. (devam) CTIA-1 bileşiği

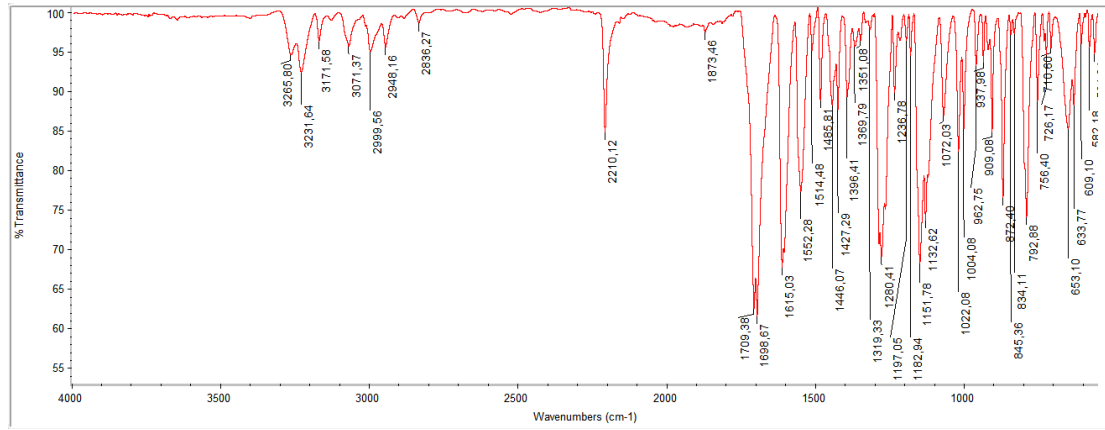


Şekil 6.3. *N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹³C-NMR spektrumu.

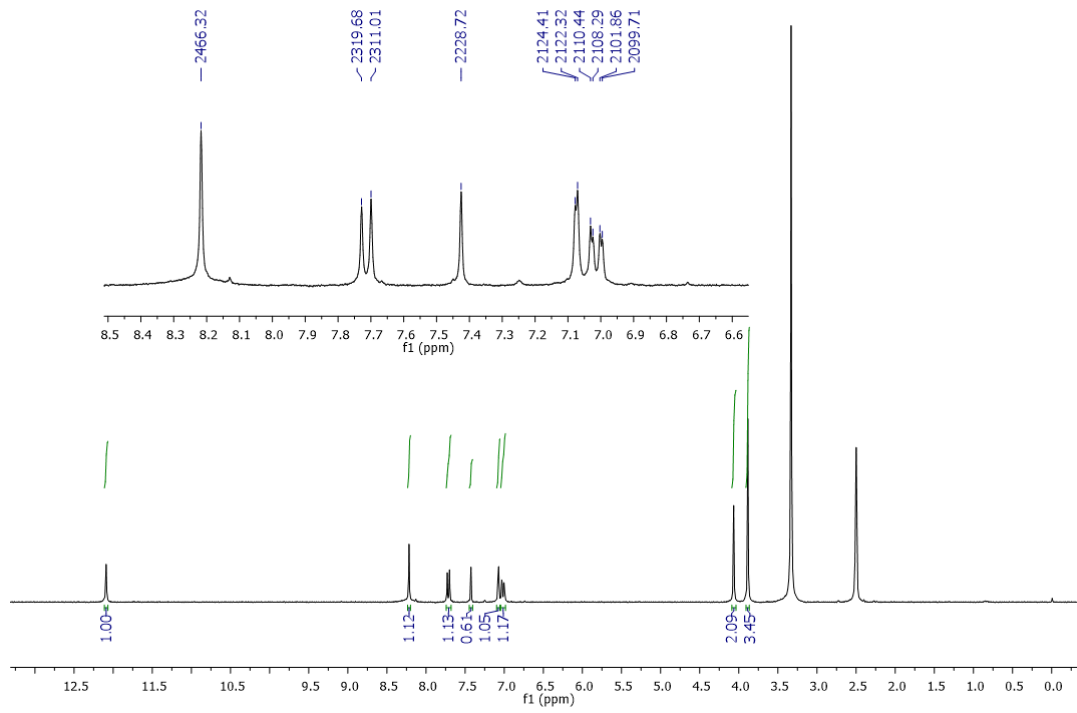


Şekil 6.4. *N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1) bileşiğinin HR-MS spektrumu.

EK-7. CTIA-2 bileşiği

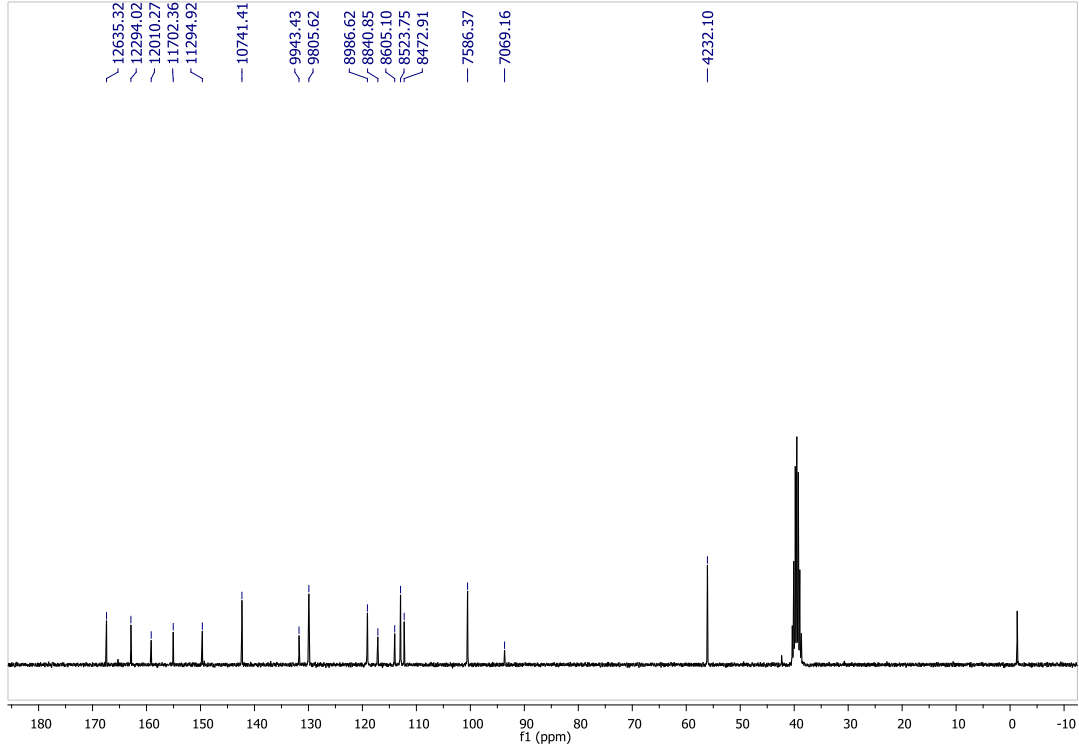


Şekil 7.1. *N*-(5-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-2) bileşiğinin FT-IR spektrumu.

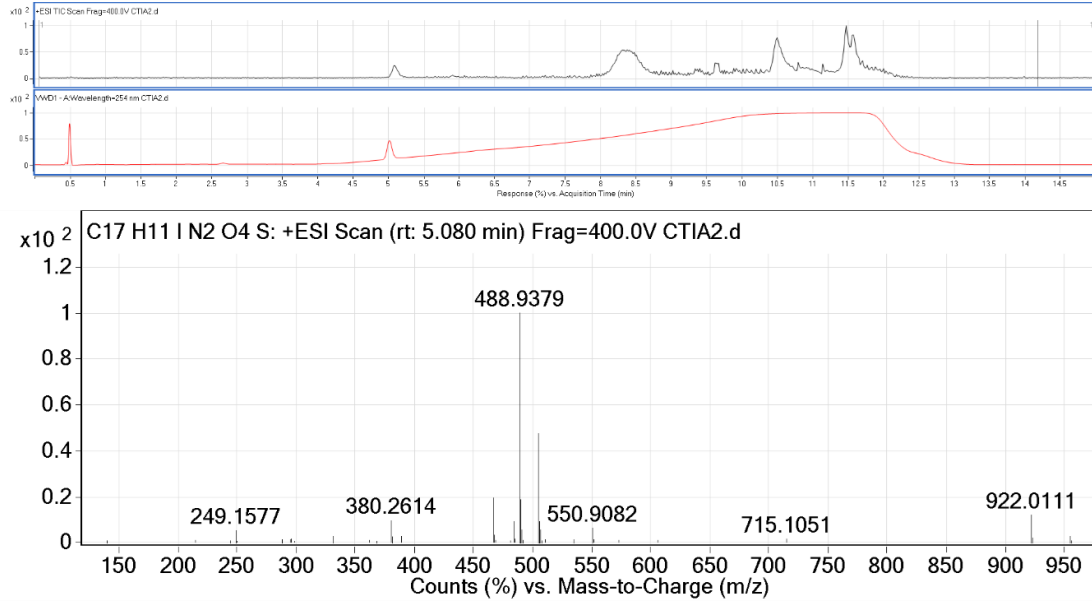


Şekil 7.2. *N*-(5-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-2) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹H-NMR spektrumu.

EK-7. (devam) CTIA-2 bileşiği

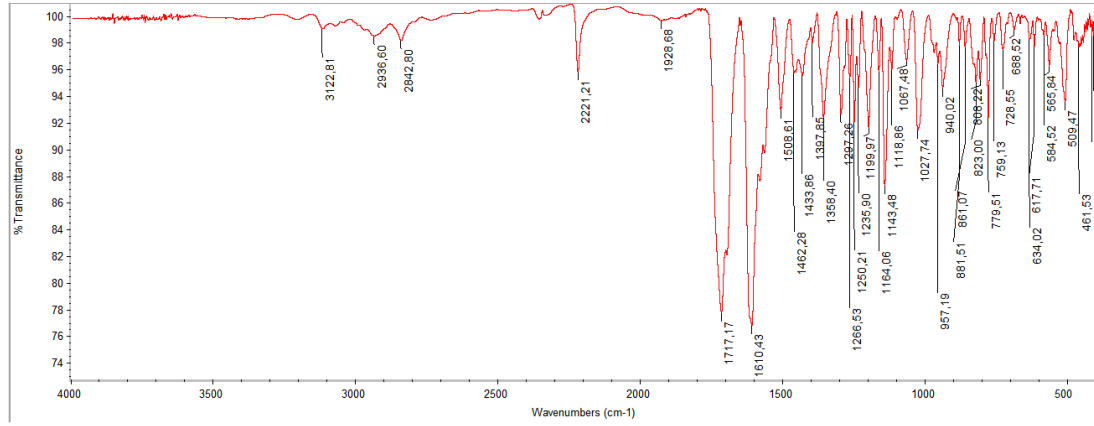


Şekil 7.3. *N*-(5-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-2) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹³C-NMR spektrumu.

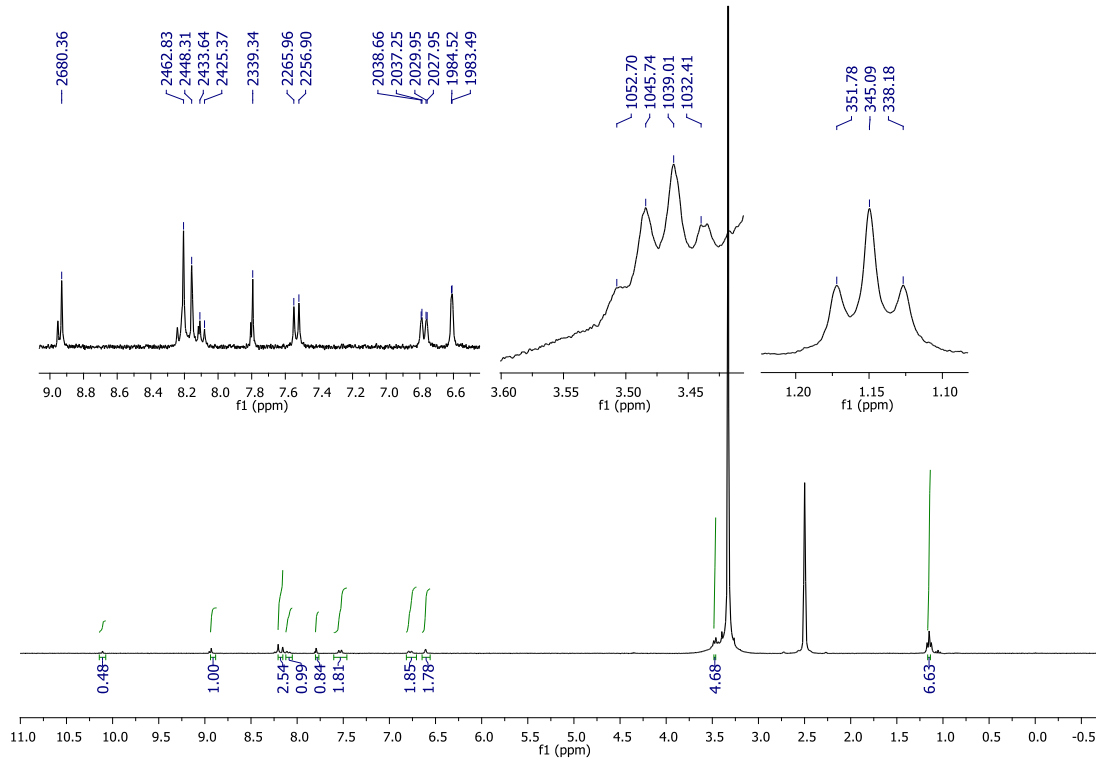


Şekil 7.4. *N*-(5-siyano-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-2) bileşiğinin HR-MS spektrumu.

EK-8. CTSB-1 bileşiği

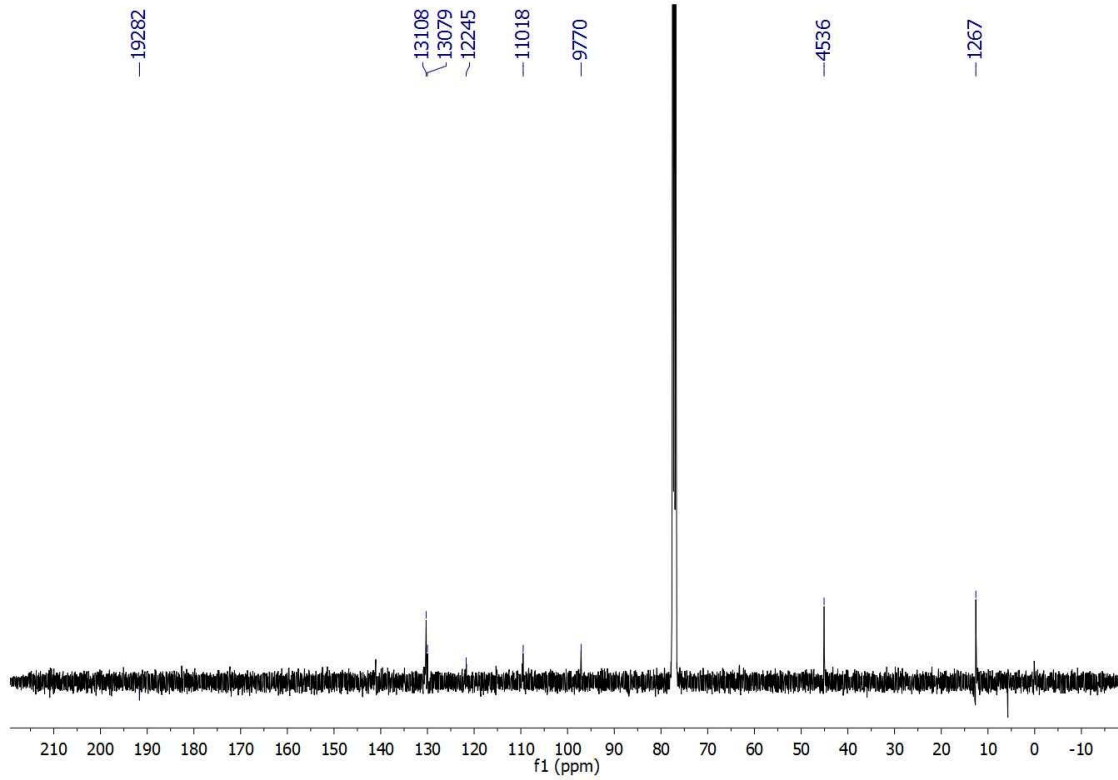


Şekil 8.1. 4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)-2-((4-formilbenziliden)amino)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-1) bileşiğinin FT-IR spektrumu.



Şekil 8.2. 4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)-2-((4-formilbenziliden)amino)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-1) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹H-NMR spektrumu.

EK-8. (devam) CTSB-1 bileşiği



Şekil 8.3. 4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)-2-((4-formilbenziliden)amino)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-1) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹³C-NMR spektrumu.

Single Mass Analysis

Tolerance = 20.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

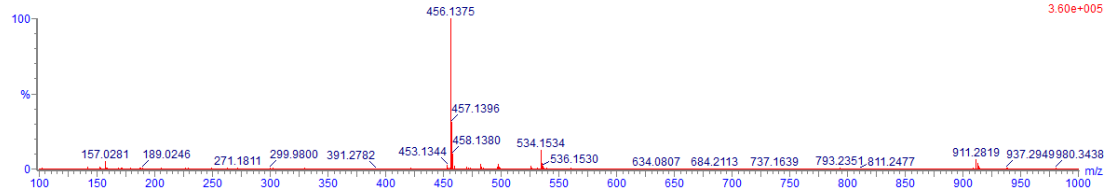
1 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

Elements Used:

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT (Norm)	C	H	N	O	S
456.1375	456.1382	-0.7	-1.5	17.5	C ₂₆ H ₂₂ N ₃ O ₃ S	453.4	0.0	26	22	3	3	1

CTSB1 417 (5.981) Cm (417.424)

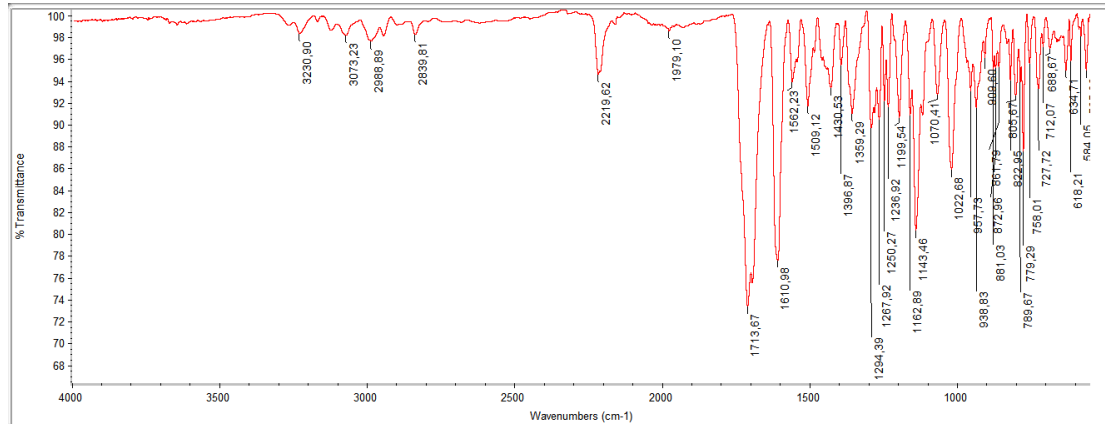
1: TOF MS ES+



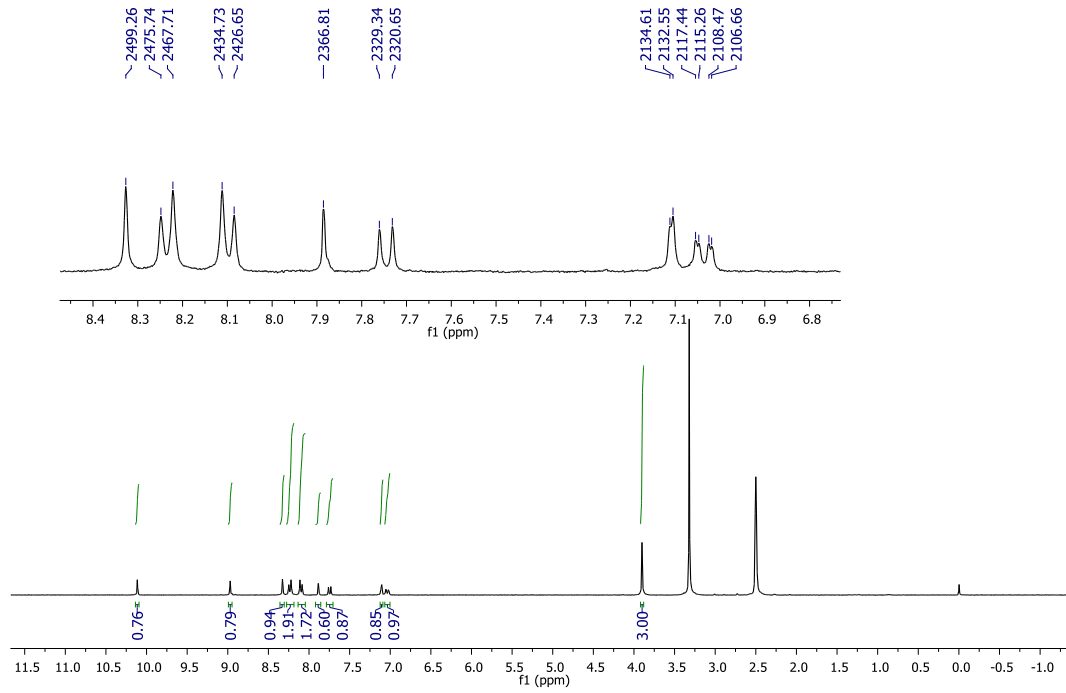
Şekil 8.4. 4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)-2-((4-formilbenziliden)amino)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-1) bileşiğinin HR-MS spektrumu.

CTSB-1 bileşiğinin çözünürlük probleminden dolayı düzgün ¹³C-NMR sinyalleri elde edilememiştir.

EK-9. CTSB-2 bileşiği

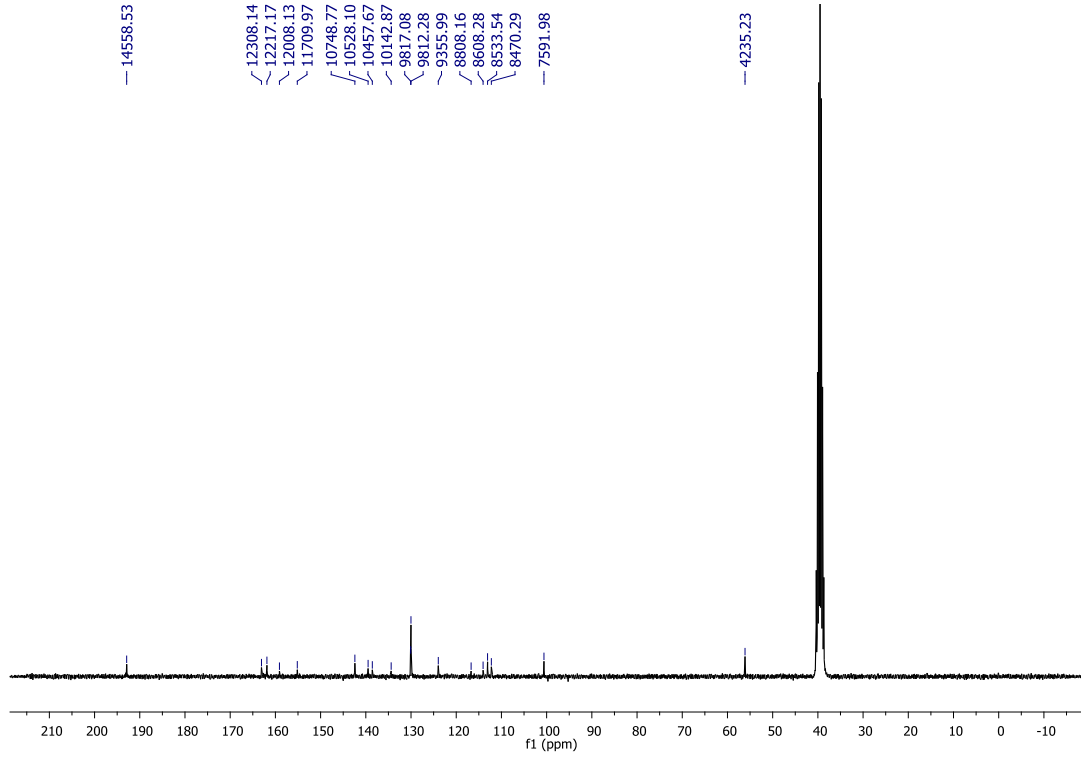


Şekil 9.1. 2-((4-formilbenziliden)amino)-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-yl)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-2) bileşiğinin FT-IR spektrumu.

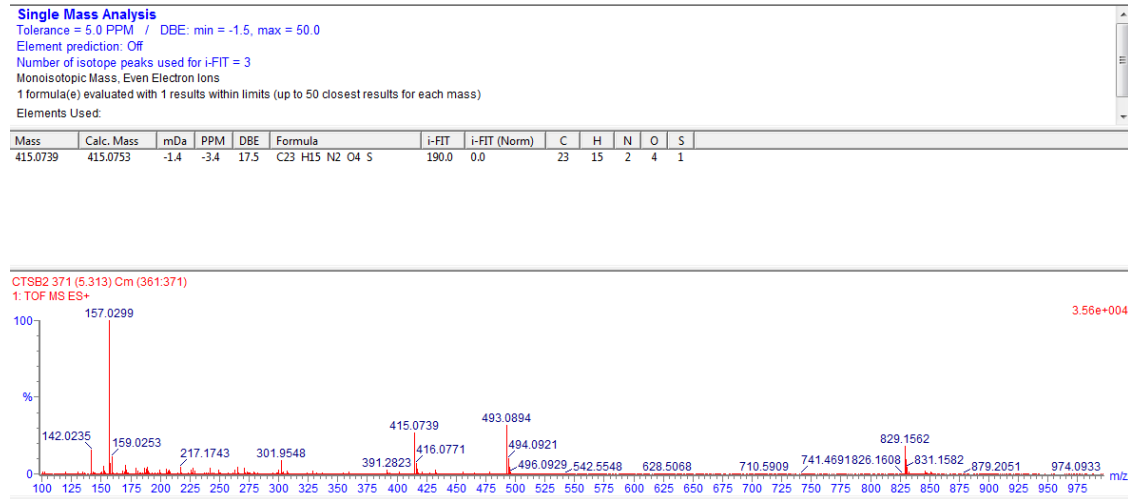


Şekil 9.2. 2-((4-formilbenziliden)amino)-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-yl)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-2) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹H-NMR spektrumu.

EK-9. (devam) CTSB-2 bileşiği

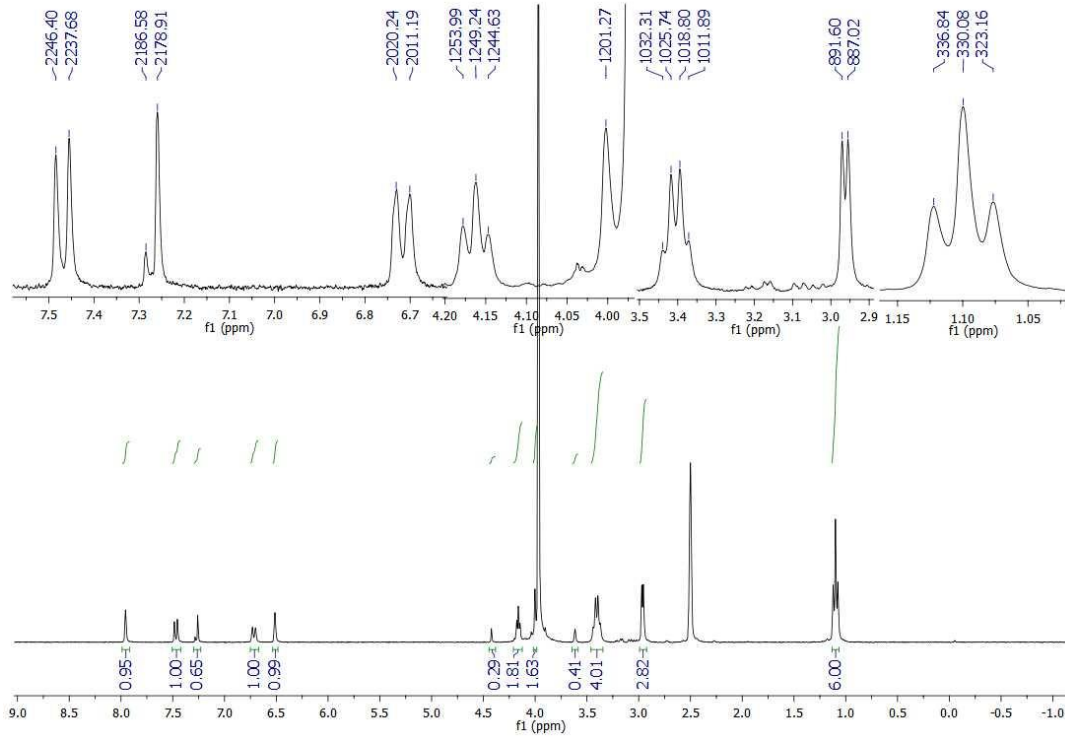


Şekil 9.3. 2-((4-formilbenziliden)amino)-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-yl)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-2) bileşiğinin DMSO-*d*₆ içinde elde edilen ¹³C-NMR spektrumu.

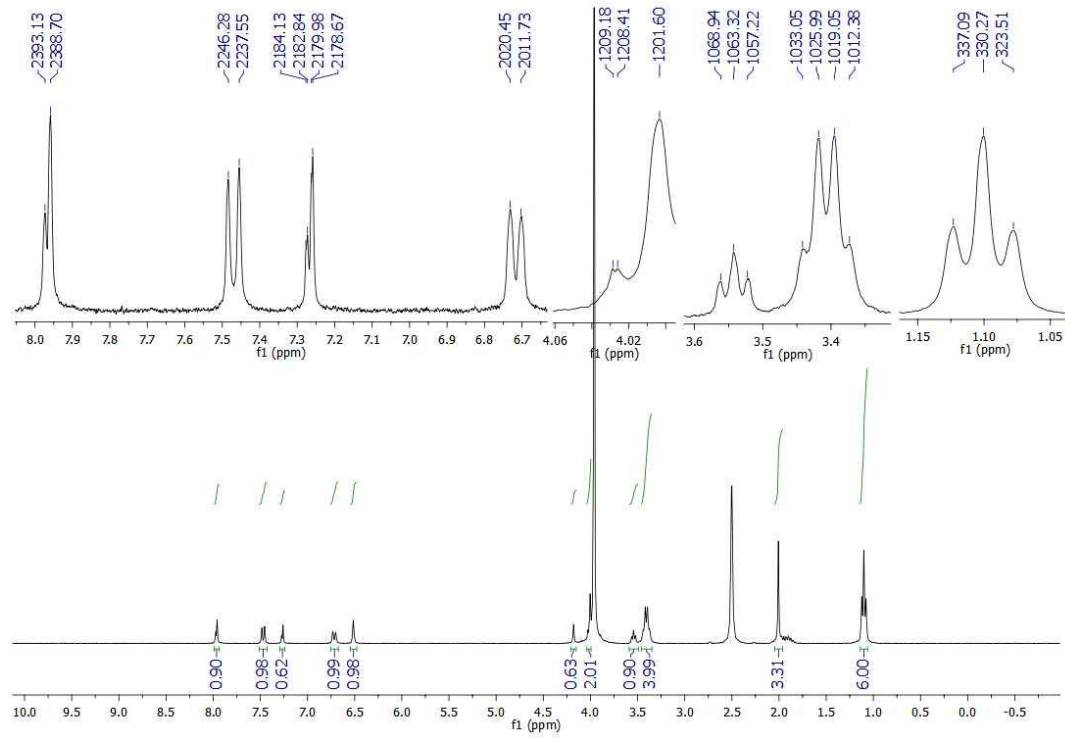


Şekil 9.4. 2-((4-formilbenziliden)amino)-4-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kromen-3-yl)tiyofen-3-karbonitril (CTSB-2) bileşiğinin HR-MS spektrumu.

EK-10. CTIA-1 ve amino asit ^1H -NMR etkileşim spektrumları

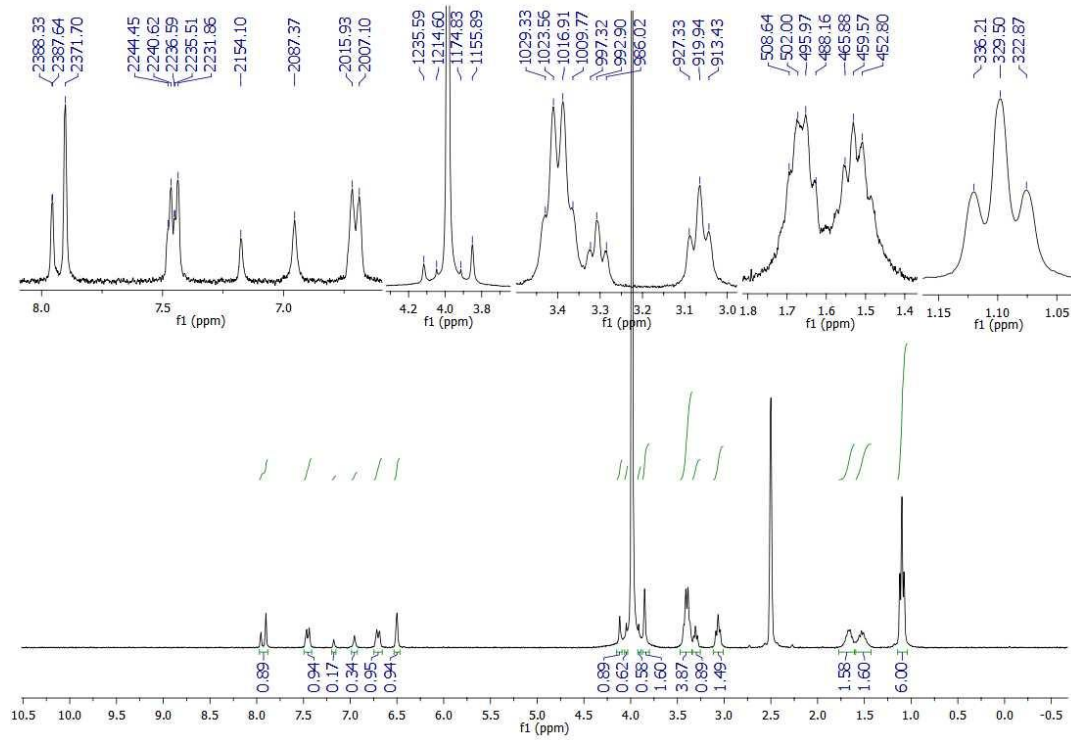


Şekil 10.1. *N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1) bileşiği ve 1 eş değer mol Sistein eklenmesiyle $\text{DMSO}-d_6$ içinde elde edilen ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 10.2. *N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1) bileşiği ve 1 eş değer mol Metiyonin eklenmesiyle $\text{DMSO}-d_6$ içinde elde edilen ^1H -NMR spektrumu.

EK-10. (devam) CTIA-1 ve amino asit ^1H -NMR etkileşim spektrumları



Şekil 10.2. *N*-(5-siyano-4-(7-(dietilamino)-2-okso-2*H*-kromen-3-il)tiyofen-2-il)-2-iyodoasetamit (CTIA-1) bileşiği ve 1 eş değer mol Arginin eklenmesiyle $\text{DMSO}-d_6$ içinde elde edilen ^1H -NMR spektrumu.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÇAKMAZ, Deniz
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 24.05.1992, Tekirdağ
 Medenihali : Bekar
 Telefon : +90 (538) 495 35 63
 e-mail : denizcakmaz@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/ Kimya Bölümü	Devam Ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Kimya	2016
Lise	Çorlu Cemile Yeşil Anadolu Lisesi	2010

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015	TÜBİTAK UME	Stajyer
2017	Gazi Üniversitesi	TÜBİTAK-1001 113Z704 Bursiyeri
2017	Gazi Üniversitesi	TÜBİTAK-1001 114Z980 Bursiyeri
2018	Gazi Üniversitesi	TÜBİTAK-1001 117Z302 Bursiyeri

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Yalçın, E., Duyar, H., Çakmaz, D., Şahin, E., and Seferoğlu, Z. (2019). The synthesis of blue emitting 3-Amino-1-hetarylfluorenes and their unprecedented alkylated derivatives. *Tetrahedron*, 75(35), 130464.

Hobiler

Koleksiyonerlik



GAZİ GELECEKTİR..