

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**3-HİDROKSİFLAVON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
MİKROHETEROJENİK SİSTEMLERLE
ETKİLEŞİMLERİNİN FLORESANS SPEKTROSKOPİ
YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ash ÇAPAN

Anabilim Dalı: KİMYA

Programı: KİMYA

OCAK 2008

**3-HİDROKSİFLAVON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
MİKROHETEROJENİK SİSTEMLERLE
ETKİLEŞİMLERİNİN FLORESANS SPEKTROSKOPİ
YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aslı ÇAPAN

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 25 Aralık 2007
Tezin Savunulduğu Tarih : 31 Ocak 2008**

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Turan ÖZTÜRK

Diğer Jüri Üyeleri Prof. Dr. Ümit TUNCA (İ.T.Ü.)

Prof. Dr. Atilla GÜNGÖR (MARMARA)

OCAK 2008

ÖNSÖZ

Çalışmalarında hiçbir desteği esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Turan Öztürk' e, birlikte çalıştığım laboratuvar arkadaşlarıma ve aileme teşekkür ederim.

ARALIK 2007

ASLI ÇAPAN

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	ix
SUMMARY	x
1.GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	1
2.TEORİK BİLGİ	1
2.1 Flavonoidler	1
2.2 Flavonlar	2
2.3 Flavonoller	3
2.4 Kalkonlar	3
2.5 Flavonoidlerin Tanınmaları	3
2.6 Flavonoidlerin Biyolojik Sistemlerdeki Önemi	4
2.7 Floresans Spektroskopisi	5
2.7.1 Floresans Spektroskopisinin Teorisi	5
2.7.1.1 Titreşimsel Dinlenme	8
2.7.1.2 İç Dönüşüm	8
2.7.1.3 Sistemler Arası Geçiş	8
2.7.1.4 Enerji Transferi	9
2.7.2 Floresansı Etkileyen Faktörler	9
2.7.2.1 Yapısal Faktörler	9
2.7.2.2 Moleküler Katılık	9
2.7.2.3 Sıcaklık ve Viskozite	10
2.7.2.4 Çözücü	10
2.7.2.5 pH	10
2.7.2.6 Çözünmüş Oksijen, Paramanyetikler ve Ağır Atomlar	11
2.7.2.1 Yapısal Faktörler	11
2.7.2.1 Yapısal Faktörler	12
2.7.3 Işık Soğurumu	13
2.7.4 Floresans Yayılım Grafiği	14
2.7.5 Florometre ve Spektrofluorometre Aleti	14
2.7.6 Floresans Uygulamaları	14
2.7.6.1 Anorganik Maddelerin Analizi	14
2.7.6.2 Organik Maddelerin Analizi	14
2.8 Uyarılmış Hal Molekül İçi Proton Transfer Reaksiyonu (ESIPT)	15
2.8.1 3-HF' ların ESIPT Reaksiyonları	15
2.8.2 Prob- Çözücü Etkileşimleri	16
2.8.3 Problemlerin Fosfolipid Keselerdeki Floresans Özellikleri	16

2.9 Floresans Problar	16
2.10 Gerçekleştirilen reaksiyonların mekanizmaları	17
2.10.1 Dialkilamino benzenden dialkilamino benzaldehid eldesi	17
2.10.2 Halka kapama reaksiyon mekanizması	18
3.DENEYSEL BÖLÜM	19
3.1 Genel Teknikler	19
3.1.1 Kromatografi	19
3.1.1.1 Kolon Kromatografisi	19
3.1.1.2 İnce Tabaka Kromatografisi	19
3.1.2 Spektrometreler	19
3.1.2.1 ¹ H-NMR Spektrometresi	19
3.1.2.2 Floresans Spektrofotometresi	19
3.2 Çözücüler ve Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
3.3 Deney Prosedürü	20
3.3.1 N,N-dibutilaminobenzen eldesi	20
3.3.2 N,N-dioktilaminobenzen eldesi	20
3.3.3 N,N-didodesilbenzamin eldesi	21
3.3.4 N,N-dibutilaminobenzaldehit eldesi (Vilsmeier Formulation)	21
3.3.5 N,N-dioktilaminobenzaldehit eldesi	22
3.3.6 N,N-didodesilaminobenzaldehit eldesi	22
3.3.7 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon Sentezi	23
3.3.8 Kalkon Sentezi İçin Genel Yöntem	24
3.3.9 (2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) (FN4) eldesi	24
3.3.10 (2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) eldesi	25
3.3.11 (2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) eldesi	26
3.3.12 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on eldesi	26
3.3.13 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on eldesi	27
3.3.14 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on eldesi	27
3.3.15 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on eldesi	28
3.3.16 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on eldesi	28
3.3.17 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on eldesi	29
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	30
4.1 Gerçekleştirilen Reaksiyonlar	31
4.1.1 N,N-dibutil amino benzen için ¹ H-NMR Spektrumu	31
4.1.2 N,N-dioktilaminobenzen için ¹ H-NMR Spektrumu	31
4.1.3 N,N-Didodesilbenzamin için ¹ H-NMR Spektrumu	32
4.1.4 N,N- dibutilaminobenzaldehit için ¹ H-NMR Spektrumu	32
4.1.5 N,N-dioktilaminobenzaldehit için ¹ H-NMR Spektrumu	34
4.1.6 N,N-didodesilaminobenzaldehit için ¹ H-NMR spektrumu	35
4.1.7 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon için ¹ H-NMR Spektrumu	36

4.1.8 FN4 için 1H-NMR Spektrumu	37
4.1.9 OFN4 için 1H-NMR Spektrumu	38
4.1.10 MFN4 için 1H-NMR Spektrumu	39
4.1.11 FN8 için 1H-NMR Spektrumu	40
4.1.12 OFN8 için 1H-NMR Spektrumu	42
4.1.13 MFN8 için 1H-NMR Spektrumu	43
4.1.14 FN12 için 1H-NMR Spektrumu	45
4.1.15 OFN12 için 1H-NMR Spektrumu	46
4.1.16 MFN12 için 1H-NMR Spektrumu	47
4.2 Misellerle Yapılan Floresans Çalışmaları	47
4.2.1 Triton X-100 ile oluşturulan misellerle yapılan ölçüm sonuçları	48
4.2.2 CTAB ile oluşturulan misellerle yapılan ölçüm sonuçları	48
4.3 Sonuç	51
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	56

KISALTMALAR

DMF	: Dimetil Formamid
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi
CTAB	: Cetyltrimethyl ammonium bromide
CMC	: Kritik misel konsantrasyonu
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
3HF	: 3-hidroksiflavon
ESIPT	: Excited State Intramolecular Proton Transfer
N	: Proben normal formunun temel hali
T	: Proben tautomer formunun temel hali
N*	: Proben normal formunun uyarılmış hali
T*	: Proben tautomer formunun uyarılmış hali
MFN4	: 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on
FN4	: 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on
OFN4	: 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on
MFN8	: 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on
FN8	: 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on
OFN8	: 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on
MFN12	: 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on
FN12	: 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on
OFN12	: 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 : Flavonoidlerin sınıflandırılması.....	2
Şekil 2.2 : Kalkan ve kalkon bileşiklerine örnekler.....	3
Şekil 2.3 : A ve B Halkaları.....	4
Şekil 2.4 : Jablonski diyagramı.....	6
Şekil 2.5 : Moleküler elektronik enerji seviyeleri arası geçişler.....	7
Şekil 2.6 : Fluorescein ve fenolftaleyn.....	9
Şekil 2.7 : Pontokrom BBR ve Pontokrom BBR'nin alüminyum şelatı.....	10
Şekil 2.8 : Anilinyum iyonu ve anilin bazı rezonans şekilleri.....	11
Şekil 2.9 : Florometre cihazı.....	13
Şekil 2.10 : 3-Hidroksi Flavonlarda Uyarılmış durum Proton Transferi.....	15
Şekil 2.11 : Elektronik uyarılma sırasında dipol momentleri değişen problemler.....	17
Şekil 2.12 : Dialkil amino benzaldehid sentezi.....	17
Şekil 2.13 : Dialkilamino benzaldehid sentezi için reaksiyon mekanizması.....	18
Şekil 2.14 : Halka kapama reaksiyon mekanizması.....	18
Şekil 3.1 : N,N-dibutilaminobenzen sentezi.....	20
Şekil 3.2 : N,N-dioktilaminobenzen sentezi.....	20
Şekil 3.3 : N,N-didodesilbenzamin sentezi.....	21
Şekil 3.4 : N,N-dibutilaminobenzaldehid sentezi.....	21
Şekil 3.5 : N,N-dioktilaminobenzaldehid sentezi.....	22
Şekil 3.6 : N,N-didodesilaminobenzaldehid sentezi.....	22
Şekil 3.7 : 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon sentezi.....	23
Şekil 3.8 : Kalkon eldesi.....	24
Şekil 3.9 : (2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) eldesi.....	24
Şekil 3.10 : (2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) eldesi.....	25
Şekil 3.11 : (2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) eldesi.....	26
Şekil 3.12 : 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on ...	26
Şekil 3.13 : 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on	27
Şekil 3.14 : 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on	27
Şekil 3.15 : 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on ..	28
Şekil 3.16 : 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on ..	28
Şekil 3.17 : 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on	29
Şekil 4.1 : Sentezlenen 3-hidroksiflavon türevleri.....	30
Şekil 4.2 : N,N-dibutilaminobenzen sentezi.....	31
Şekil 4.3 : N,N-dibutil amino benzen için ¹ H-NMR Spektrumu.....	31
Şekil 4.4 : N,N-dioktilaminobenzen sentezi.....	31

Şekil 4.5	: N,N-dioktilaminobenzen' e ait H-NMR spektrumu.....	32
Şekil 4.6	: N,N-didodesilbenzamin sentezi.....	32
Şekil 4.7	: N,N-didodesilbenzamin 1H-NMR spektrumu.....	33
Şekil 4.8	: N,N-dibutilaminobenzaldehit sentezi.....	33
Şekil 4.9	: N,N-dibutilaminobenzaldehit için 1H-NMR spektrumu.....	34
Şekil 4.10	: N,N-dioktilaminobenzaldehit sentezi.....	34
Şekil 4.11	: N,N-dioktilaminobenzaldehite ait 1H-NMR spektrumu.....	35
Şekil 4.12	: N,N-didodesilaminobenzaldehit sentezi.....	35
Şekil 4.13	: N,N-didodesilaminobenzaldehit 1H-NMR spektrumu.....	36
Şekil 4.14	: 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon sentezi.....	36
Şekil 4.15	: 2-hidroksi-4oktiloksiasetofenona ait 1H-NMR spektrumu.....	37
Şekil 4.16	: FN4 eldesi.....	37
Şekil 4.17	: FN4'ün 1H-NMR spektrumu.....	38
Şekil 4.18	: OFN4 eldesi.....	38
Şekil 4.19	: OFN4'ün 1H-NMR spektrumu.....	39
Şekil 4.20	: MFN4 eldesi.....	39
Şekil 4.21	: MFN4 için 1H-NMR Spektrumu.....	40
Şekil 4.22	: FN8 sentezi.....	40
Şekil 4.23	: FN8'e ait 1H-NMR spektrumu.....	41
Şekil 4.24	: FN8'e ait H1-NMR Spektrumu(8.4-6.6ppm).....	41
Şekil 4.25	: OFN8 için özet sentez reaksiyonu.....	42
Şekil 4.26	: OFN8'e ait 1H-NMR spektrumu.....	42
Şekil 4.27	: OFN8'e ait 1H-NMR spektrumu(8.2-6.4ppm).....	43
Şekil 4.28	: MFN8 eldesi.....	43
Şekil 4.29	: MFN8'e ait 1H-NMR spektrumu.....	44
Şekil 4.30	: MFN8'e ait 1H-NMR spektrumu (8.2-6.4 ppm).....	44
Şekil 4.31	: FN12 eldesi.....	45
Şekil 4.32	: FN12 ait 1H-NMR spektrumu.....	45
Şekil 4.33	: OFN12 için özet sentez reaksiyonu.....	46
Şekil 4.34	: OFN12 ait 1H-NMR spektrumu.....	46
Şekil 4.35	: MFN12 eldesi.....	47
Şekil 4.36	: MFN12'ye ait 1H-NMR spektrumu.....	47
Şekil 4.37	: Su içinde oluşturulmuş Triton X-100 miseli ile prob etkileşimleri....	49
Şekil 4.38	: Su içinde oluşturulmuş CTAB miseli ile prob etkileşimleri.....	50

3-HİDROKSİFLAVON PROBLARIN SENTEZLERİ VE MİKRO HETEROJENİK SİSTEMLERDEKİ HİDROFOBİK YÜZEYLERİN FLORESANS TEKNİĞİ İLE İNCELENMESİ

ÖZET

3-Hidroksiflavonlar uyarılmış hal molekül içi proton transfer reaksiyonu (ESIPT) vermeleri nedeniyle sahip oldukları ilgi çekici floresan özellikleri sayesinde önemli birer floresan moleküler sensör adaydırlar [23]. Bu özellik, iki adet birbirinden iyi ayrılmış, oldukça şiddetli ve solvante bağımlı emisyon bandlarının görülmesine neden olur. Bu iki bandın oranı, protein [25], misel [26] ve polimer [27] yapılarındaki hidrojen bağı perturbasyonlarına [24] karşı oldukça hassastır. Bu bandlar normal uyarılmış hal (N^*) ve fototautomer uyarılmış hal (T^*) 'den kaynaklanır [28]. 3-HF un 4'-pozisyonuna elektron donör bir grubun bağlanması sonucu molekülün floresan spektrumundaki hassasiyetin artması ile değişik perturbasyonlarda oransal değişim veren iki bandlı floresan boyalar araştırma gruplarının dikkatini çekmiştir [29]. Sonuç olarak bu özellikler 3-HF ların, miseller ve fosfolipidler gibi organize sistemlerde iyon sensörü ve prob olarak kullanıldığı çalışmalarda uygulama çeşitliliği sağlamıştır [30,31,32].

3-HF ların canlı hücrelerle olan etkileşimini anlamak için yapılan çalışmalar, 3-HF ların lipid çift katmanına girebildiğini göstermiştir [33,34]. Son yıllarda ters misellerin suda çözünmesinin etkisinin incelendiği çalışmalarla uygulama alanları önemli şekilde artmıştır. Bu sonuçlar, miseller ve fosfolipid çiftkatmanı gibi makromoleküler topluluklardaki konumu belirlenebilen bileşikler sentezlenmesini teşvik edici olmuştur. Böylece hücre zarı ile etkileşebilecek 3-HF türevleri tasarlanarak hücrelerin su ortamında tanınması amaçlanmıştır. Bu tür problemlerin geliştirilmesi doğadaki biyo-kirliliğin hızlı şekilde belirlenebilmesine duyulan gereksinimden dolayı oldukça önemlidir.

Elde edilen 3-HF türevlerinin, katyonik CTAB ve nötral Triton-X 100 yüzeyaktif maddeleri ile oluşturulacak misellerle etkileşimleri spektrofluorometre ile yapılan ölçümlerle incelenmiştir.

SYNTHESIS OF 3-HYDROXYFLAVONE DERIVATIVES FOR PROBING HYDROPHOBIC SITES IN MICROHETEROGENEOUS SYSTEMS

SUMMARY

3-Hydroxyflavones (3HF) are important candidates as fluorescent molecular sensors since they have interesting fluorescent properties, resulting from their excited state intramolecular proton transfer (ESIPT) reaction [23]. This property leads to the exhibition of two well-separated, highly intensive and solvent-dependent emission bands, the ratio of the intensities of which is strongly sensitive to the hydrogen bonding perturbations in proteins, micelles, and polymers [24,25,26,27].

These bands originate from the normal excited form (N^*) and the phototautomer (T^*) [28]. Introduction of an electron donor groups to the 4'-position of the 3HF increases the sensitivity of fluorescence spectra of the molecule, which has attracted the interest of the research groups as two-band fluorescent dyes with a ratiometric response to different perturbations [29]. This resulted in a variety of applications for substituted 3HFs as ion sensors and probes in the studies of organized systems such as micelles and phospholipid vesicles [30,31].

Recent investigations to understand the behaviours of 3HFs toward their interaction with living cells, indicated that 3HFs can enter into lipid bilayers. Their application area is dramatically increased in recent years—from studies of effects of solubilisation of water in reverse micelles and inclusion complexes with cyclodextrins to the studies of supercritical liquids [36,37]. These results have stimulated new efforts to synthesize compounds with improved and, particularly, with the ability to occupy well-determined location and orientation in macromolecular ensembles, such as micells and phospholipid bilayers, which let us to design a series of 3-HF derivatives to improve the interaction of 3HF with cell membrane, which could lead to the recognition of cells in a medium such as water.

Development of such probes is very important since the fast detection of bio-pollution in environment is highly desired.

Fluorescent dyes were investigated in micelles formed by cationic surfactant CTAB and neutral Triton X-100 via spectrofluorometer.

1. GİRİŞ

1.1 Tezin Amacı

Bu çalışmada, 3-hidroksiflavon'un yağsı özelliğini artırmak üzere, elektron verici grup olarak benzaldehitin para pozisyonuna dioktil amino grupları takılması planlanmıştır. Nonpolar özelliği artan sensörün, biyolojik sistemlerle daha iyi iletişime girmesi, biyolojik kirliliği belirleme özelliklerinin geliştirilmesi, seçici olarak hücrelere duyarlılığının artırılması ve hücre hakkında daha fazla bilgi edinilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, sentezlenen problemlerin misellerde etkileşimlerinin floresans ölçümleriyle incelenmesi planlanmıştır.

2. TEORİK BİLGİ

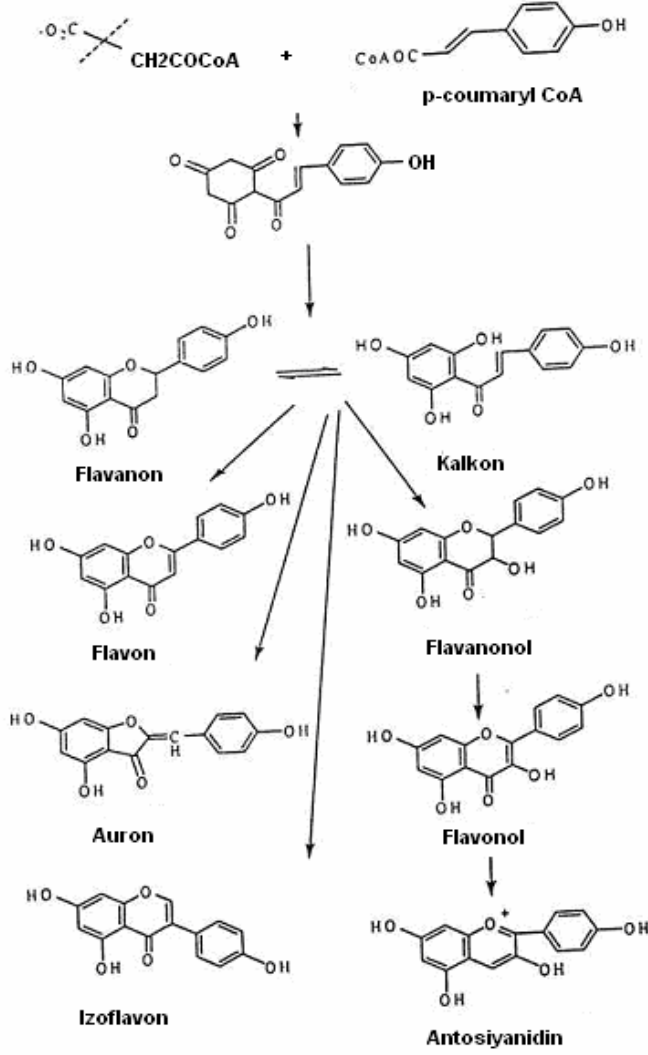
2.1 Flavonoidler

Flavon ismi Latince flavus (sarı) kelimesinden gelmektedir. Flavonoidler bitki kaynaklı bileşikler olup doğada yaygın olarak bulunurlar. Günümüzde bitkilerden 4000'den fazla flavonoid izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır [2]. Flavonoidlere genellikle meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak ve dallarda rastlanır.

Flavonoidler bitkilerde antioksidan, enzim inhibitörü ve aynı zamanda ışıktan korunma gibi bir dizi önemli özelliklere sahiptir [3].

Tıpta, son yıllarda flavonoidlerle gerçekleştirilen araştırmalar sonucu, flavonoidlerin antioksidatif, antiinflamatuar, antimikrobiyal, antiülserojen, antiviral, antitumörjenik ve antikarsinogenik etki gibi çok yönlü biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir [3,4, 22].

UV ışınlarından koruma özelliklerine sahip olmaları sebebiyle kozmetik ürünlerde katkı maddesi olarak kullanılmaktadırlar. Metal iyonları ile reaksiyon vermelerinden dolayı analitik amaçla, uranyum, zirkonyum, titan gibi metallerin tayininde kullanılabilirler.



Şekil 2.1: Flavonoidlerin sınıflandırılması

2.2 Flavonlar

Flavonların iskeletinde hetero halkasında 2 ve 3 numaralı karbon atomları arasında çift bağın bulunması karakteristiktir. Bitkilerde hem serbest (aglikon), hem de glikozitleri halinde bulunurlar. Flavonlar sübtütientlerinin türüne bağlı olarak Flavonun piran halkasının C-3 üzerindeki hidrojeni bir hidroksil grubu ile sübtitüe olduğunda flavanol (3-hidroksiflavon) oluşur[6]. Flavon molekülünde A ve B halkaları, aromatik halkalar gibi reaksiyona girerler. Özellikle, hidroksiflavonlar ve bunların eterleri, sübtütüsyon reaksiyonların da fenoller ya da eterleri gibi davranırlar [7]. Bu özelliklerinden yararlanarak nitrolama, bromlama gibi değişik reaksiyonlarla hidroksiflavonların türevleri elde edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır.

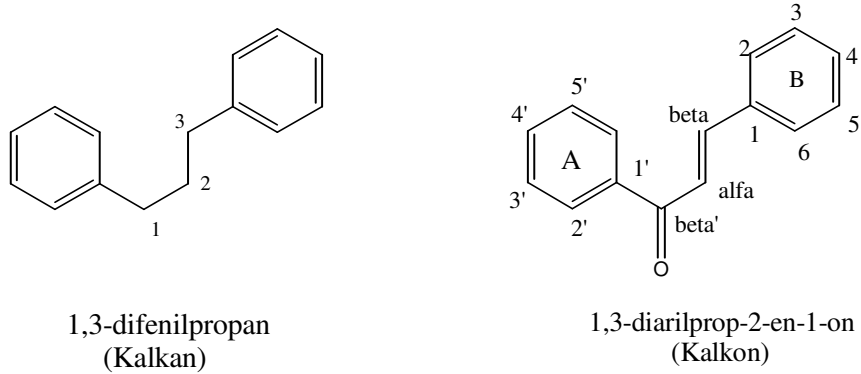
2.3 Flavonoller

Flavonoller, C-3 pozisyonunda hidroksil grubu içeren 2-fenilbenzopiran çekirdeği içerirler. Bu nedenle, flavonollere 3-hidroksiflavonlar da denilebilir. Flavonoller, kristal veya amorf özellikli olup, flavonlar gibi açık sarı veya sarı renklidirler. Flavonolun hidroksil ve/veya metoksil grupları içeren türevleri bitki aleminde yaygındır. [8,9,10]

2.4 Kalkonlar

Kalkonoidler, molekül yapılarında C₆-C₃-C₆ karbon iskeletine sahip, iki aromatik halkalı bileşiklerdir. Kalkonoidler biyogenetik ve kimyasal yünden flavonoidlere çok yakın olduklarından bu sınıfa dahil edilirler.

Kalkonoidlerin en yaygın grubu, 1,3-difenilpropan iskeletinin propan zincirine çift bağ ve karbonil grubu takılmasından oluşan, 1,3-diarilprop-2-en-1-on (Şekil 2.2) karbon iskeleti içeren kalkonlardır.



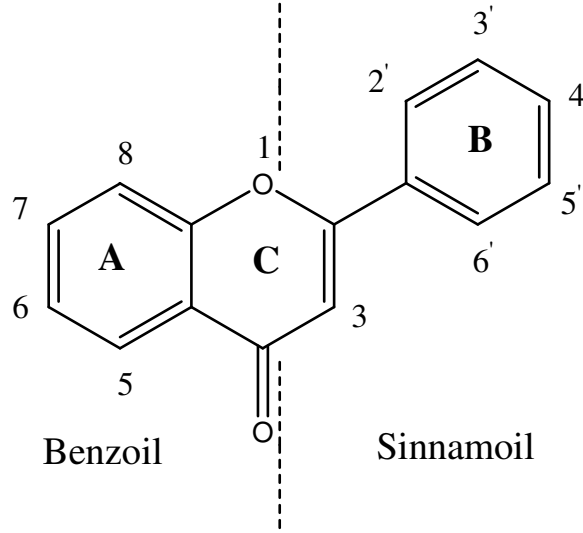
Şekil 2.2: Kalkan ve kalkon bileşiklerine örnekler

Bu bileşiklerin karakteristik özellikleri, propan zincirinde olefinik bağ ve keto grubunun bulunmasıdır. Kalkonlar ve kalkanonlar, flavonoidlerden farklı olarak heterosiklik C halkasına sahip değildir.

2.5 Flavonoidlerin Tanınmaları

Kromotogramlardaki flavonoid izini UV ışık altında inceleme ve bu izin NH₃ buharına tutulup NA (Naturstoffreagenz A) belirteci püskürtüldükten sonra UV ışık altında göstermiş olduğu renk değişikliğinin incelenmesi, flavonlar için en çok kullanılan renk reaksiyonudur. Böylece flavonoidin tipi ve süstitüsyonları hakkında ön bilgi edinmek mümkün hale gelir. Ayrıca, UV spektroskopi yöntemi de

flavonoidlerin yapı tayininde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Flavonoid Bileşiklerinin çoğunda, UV spektrumunda iki büyük absorpsiyon bandı gözlenir. Bunlardan uzun dalga boyunda olanı flavonoid yapının B halkası ile kısa dalga boyunda olanı ise A halkası ile ilişkilidir.(Şekil 2.3).



Şekil 2.3: A ve B Halkaları

Bunlar dışında NMR ve kütle spektroskopisi yöntemleri de flavonoidlerin yapısını aydınlatmada önemlidir. [2].

2.6 Flavonoidlerin Biyolojik Sistemlerdeki Önemi

Flavonoid bileşikler antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antitümör, östrojenik, inteksidal, ve antispazmolitik ajanlar olarak önemli rol oynarlar. Hemoroid, katarakt, varislerin ve diğer kapiller problemlerin tedavisinde hala kullanılmaktadır. [11]. C-6 'da OCH₃ taşıyan flavonoidler ile bazı biflavonoidlerin antitümör aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Flavonoidlerin kılcal damarlarda kan sızdırmasının önlenmesi, kırılabilirlik ve geçirgenliğin ortadan kaldırılması gibi olumlu etkileri vardır. Bunun yanı sıra, zayıf kardiyotonik (kalp kuvvetlendirici) maddeler olduğu da bilinmektedir. Ayrıca zayıf hipotansif etki gösterdikleri de açıklanmıştır. Flavonoidlerin en önemli özelliklerinden biri; karaciğere faydalarıdır. Flavonoidlerin safra salgısını hızlandırdığı, karaciğerin barbiturat ve arsenik gibi bileşiklere karşı detoksikasyonuna etki ettikleri gözlenmiştir. [12].

2.7 Floresans Spektroskopisi

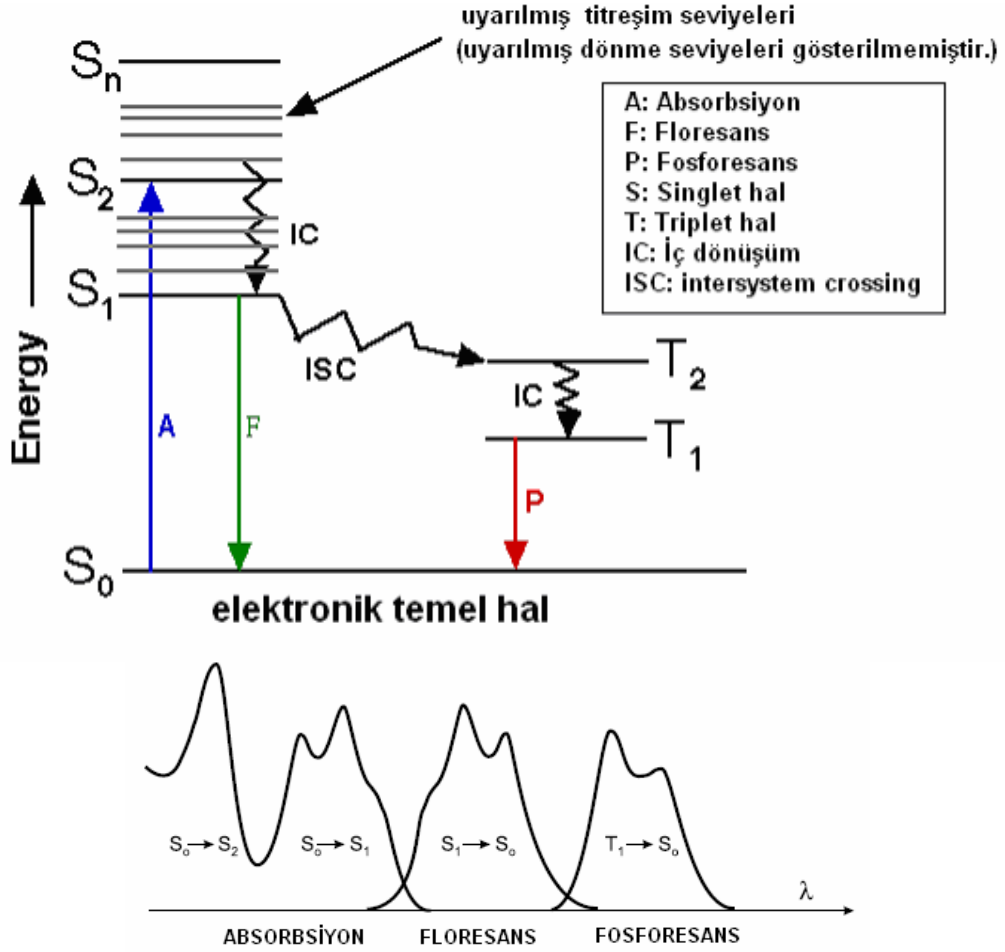
2.7.1 Floresans Spektroskopisinin Teorisi

Fotonların bir molekül tarafından soğurulması olarak tanımlanan ışık absorpsiyonu sonucu, molekül temel enerji durumundan uyarılmış duruma geçer. Bu durumda yaklaşık 10^{-9} saniye kalan molekül enerjisini radyasyon (ışık ile) ya da radyasyonsuz olarak ortama aktararak tekrar kararlı durum olan temel duruma döner. Radyasyon ile uyarma sonucu molekülün enerjisini ortama radyasyon olarak yayması olayı fotoluminesans ya da lüminesans olarak adlandırılır. Lüminesans, uyarılmış enerji seviyesinin durumuna göre iki şekilde olabilir: Floresans veya fosforesans [13].

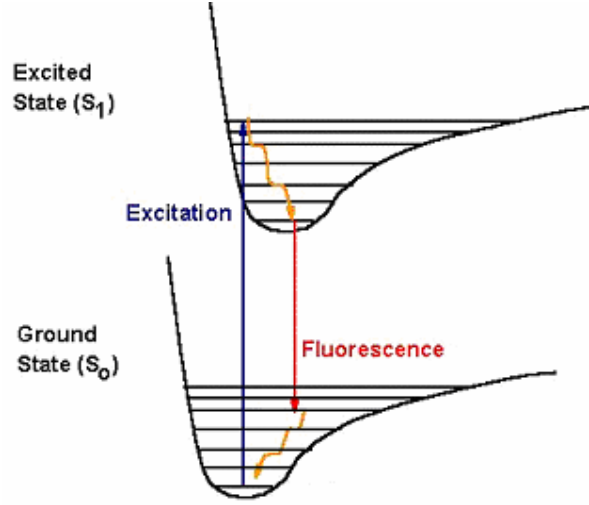
Temel seviyedeki bir organik molekül, S_0 olarak adlandırılan singlet temel elektronik durumda bulunur. Uyarılmış singlet durumda, yüksek-enerji orbitalindeki bir elektron ile düşük-enerji orbitalindeki ikinci bir elektron zıt spin yönelimlerine sahiptirler. Singlet durumu belirleyen zıt spin yönelimli bu elektronlara “çiftlenmiştir” denir. Floresans; ışık ile uyarılan aromatik organik bir molekülün, birinci uyarılmış singlet elektronik durumdan ışıma yapması olayıdır. Singlet uyarılmış durumdan, singlet temel duruma dönüş, zıt yönelimli elektronların yönelimlerini değiştirmelerini gerektirmezken, triplet durumda bu zorunludur. Pauli Dışarlama İlkesi’ne göre aynı spin yönelimine sahip iki elektronun bir arada bulunmaları yasaklanmıştır. Bu durumda elektronlar çiftlendiklerinden floresansda, kuantum mekaniğince izinli geçişler söz konusudur. Triplet durumda bu elektronlar “çiftlenmemişlerdir”, yani aynı spin yönelimine sahiptirler. Triplet seviyeden yapılan ışımalar fosforesans olarak adlandırılır. Floresans ve fosforesans mekanizması ilk kez Alexander Jablonski tarafından önerilen enerji seviyeleri diyagramı ile açıklanmaya çalışılmıştır (Şekil 2.4).

Şekilde temel, 1. ve 2. uyarılmış elektronik seviyeler S_0 , S_1 ve S_2 ile gösterilmiştir. Floresans özellik gösteren molekülü tanımlayan florofor, uyarıldığı herhangi bir elektronik enerji seviyesinin 0.,1.,2.,...vs titreşim enerji seviyelerinden birinde bulunur. Belirtilmesi gereken bir diğer nokta da çeşitli elektronik enerji seviyeleri arasındaki geçişlerin dik olmasıdır, bu geçişler 10^{-15} saniye gibi kısa bir sürede gerçekleşir. Molekül uyarılmış hale o kadar hızlı geçer ki çekirdek koordinatları değişmez. Bu Franck-Condon yasası olarak adlandırılır. Uyarılma 10^{-15} saniyede gerçekleşen oldukça hızlı bir süreçtir. Böylece singlet uyarılmış hal için potansiyel enerji diyagramı, temel hal ile tam simetrik değildir (Şekil 2.5). Temel halden

uyarılma ilk singlet uyarılmış halin en düşük enerjili durumuyla sonuçlanmak zorunda değildir. İlk singlet uyarılmış halin en düşük enerji seviyesine geçişler emisyonla kıyaslandığında oldukça hızlı gerçekleşir. Singlet uyarılmış halin en düşük enerji seviyesinden emisyon 10^{-9} saniyede gerçekleşir. Bu yüzden, bu seviye ilk absorpsiyon haline göre yarı kararlı bir durum sergiler. Bu yarı kararlı durum uyarılmış denge hali olarak düşünülebilir ve çoğunlukla Franck-Condon uyarılmış hali olarak adlandırılır. Temel halde, normal sıcaklıklarda çoğu elektron en düşük enerji seviyelerini tercih edeceğinden, absorpsiyon genelde bu seviyelerden gerçekleşir. Uyarılmış hal titreşim enerjisi, uyarılma sırasında kullanılan ışığın dalga boyuna bağlıdır. Bununla birlikte, floresans ile temel enerji düzeyine dönüş her zaman uyarılmış denge halinden gerçekleşir. Franck-Condon prensibine göre, uyarılmış denge halinden, temel hale geçişte de çekirdekler arası mesafe değişmez.



Şekil 2.4: Jablonski diyagramı



Şekil 2.5: Moleküler elektronik enerji seviyeleri arası geçişler

Bazı istisnalar dışında, katı fazdaki moleküller uyarıldıktan sonra enerjilerinin bir kısmını titreşim veya ısı olarak ortama aktarırlar ve bu şekilde S_1 elektronik enerji seviyesine dönerler. Bu işlem iç dönüşüm olarak adlandırılır ve 10^{-12} saniye gibi kısa bir süre içinde gerçekleşir. Proteinlerin uyarılmış düzeyde bulunma süreleri olarak tanımlanan “lifetime”, yaklaşık 10^{-8} olduğundan iç dönüşüm, emisyonun daha kısa bir süre içerisinde gerçekleşir. S_1 seviyesinde bulunan moleküller T_1 'e geçerek oradan ışık yayabilirler. Bu işlem de çapraz geçiş olarak adlandırılır [14].

Floresans yayılımının üç önemli karakteristik özelliği:

1. Stoke's kayması floroforun uyarma enerjisinden daha düşük bir enerji ile yayılım vermesi olarak tanımlanabilir. Bu durum, yayılım spektrumunun absorpsiyon spektrumuna oranla daha büyük dalga boyuna (düşük enerjiye) kayması olarak, spektrum üzerinde açıkça görülür.
2. Floroforun enerjisinin bir kısmını hızlı bir şekilde ortama aktararak S_1 'e inmesi nedeniyle oluşan emisyon spektrumunun dalga boyu, uyarma dalga boyundan bağımsızdır.
3. Floresans spektrumu, absorpsiyonun ayna görüntüsüdür.

Genel olarak floresans yayılması, molekülün radyasyonu absorblamasından hemen sonra (yaklaşık 10^{-4} - 10^{-8} saniye) olur. Fosforesans yayılması ise daha yavaş ortaya çıkar ($> 10^{-4}$ saniye). Bu nedenle floresans gösteren birçok madde radyasyon kaynağı uzaklaştırıldıktan sonra görülmezken, fosforesans gösteren maddeler

ışımaya devam edebilirler. Saptanan en uzun fosforesans Willemite($ZnSiO_4$) mineralinin gösterdiği fosforesanstır. Bu mineralin 340 saat fosforesans gösterdiği bildirilmiştir.

Eğer floresans yayma ile deaktivasyon işlemi radyasyonsuz yola kıyasla daha çabuk oluyorsa floresans yayar. Aksine, uyarılmış singlet hal nispeten dayanıksızsa molekül temel duruma genellikle radyasyon yaymaksızın döner. Temel duruma dönmenin dışında uyarılmış veya temel durumların çeşitli titreşim seviyelerinden en düşük seviyeye inişlerde ya da bir uyarılmış singlet halden bir başkasına veya uyarılmış triplet hale geçişlerde de enerji kayıpları olmaktadır.

Radyasyon yaymaksızın enerji kaybına neden olan durumlar şunlardır:

1. Titreşimsel dinlenme (vibrational relaxation : VR)
2. İç dönüşüm (internal conversion: IC)
3. Sistemler arası geçiş (intersystem crossing : ISC)
4. Enerji transferi (energy transfer)

2.7.1.1 Titreşimsel Dinlenme

Uyarılma ile herhangi bir titreşim seviyesine geçiş olabilir. Çözeltide uyarılmış haldeki moleküller ile çözücü moleküllerinin çarpışması sonucu titreşim enerjisinin fazlası derhal kaybedilir ve uyarılmış halin en düşük seviyesine geçiş olur. Bunun sonucunda ısı açığa çıkar.

2.7.1.2 İç Dönüşüm

İki elektronik durumun titreşim seviyelerinin aynı olması halinde iki uyarılmış halin potansiyel enerjileri aynı olur. Bu durumda aynı enerjili titreşim seviyeleri arasında bir geçiş olur. İç dönüşüm sonucunda elektronun spini aynı yönde kalır.

2.7.1.3 Sistemler Arası Geçiş

Uyarılmış singlet durumdan triplet duruma geçişlerdir. Bu işlem sırasında elektronun spini döner. İç dönüşümde olduğu gibi iki durumun titreşim enerjilerinin aynı olması şarttır. Genellikle iyot, brom gibi ağır atomlu moleküllerde bu geçiş görülmektedir. Oksijen gibi paramagnetik türlerin varlığı da sistemler arası geçişi arttırmakta, floresans oluşumunu azaltmaktadır.

2.7.1.4 Enerji Transferi

Bu işlem uyarılmış durumdaki bir molekülün fazla enerjisini alıcı bir moleküle doğrudan ve ışıksız bir şekilde aktararak normal duruma dönmesidir. Enerji nakli aynı zamanda bir molekülde birbirinden uzaktaki iki kromofor grup arasında da ortaya çıkabilir.

2.7.2 Floresansı Etkileyen Faktörler

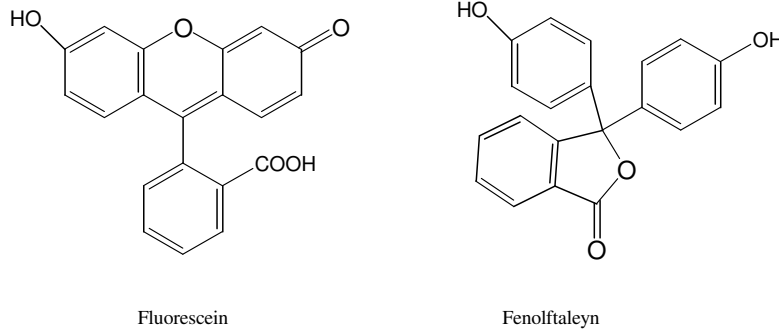
Bir bileşiğin floresans gösterip göstermemesi ve floresans ışını şiddeti hem molekül yapısı hem de kimyasal çevreye bağlı olmaktadır.

2.7.2.1 Yapısal Faktörler

Bir molekülün floresans gösterebilmesi için ilk koşul UV veya görünür alandaki radyasyonun absorblanmasıdır. En düşük enerjili elektronik geçişleri $\Pi \rightarrow \Pi^*$ olan moleküllerin hem ϵ değerleri hem de floresans etkinlikleri yüksek olmaktadır. Polienler ve aromatikler ile bunların türevleri floresans gösteren bileşiklerdir. Özellikle bunlardan düzlemsel ve katı yapıda olanların floresans etkinliği en yüksektir. Ketonlar, aldehytler, karboksilli asitler, amidler, esterler gibi Π bağlı heteroatom içeren ve endüşük enerjili geçişleri $n \rightarrow \Pi^*$ olan bileşikler genellikle absorbladıkları enerjiyi iç dönüşüm şeklinde harcarlar ve az floresans gösterirler. Basit alifatik yapılu bileşikler ise floresans göstermezler.

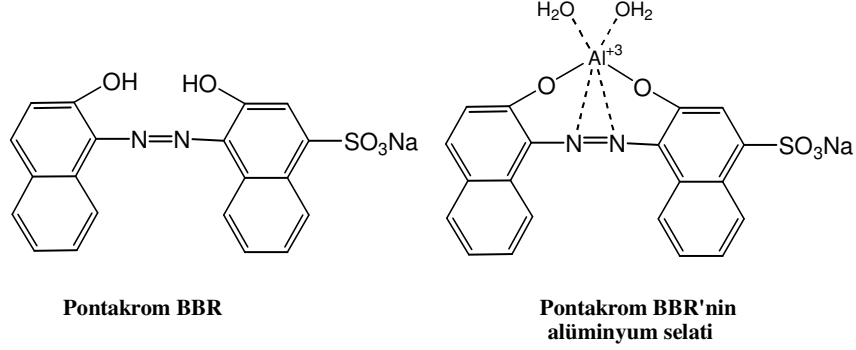
2.7.2.2 Moleküler Katılık

Moleküler katılık hareket serbestliğini azalttığından, triplet duruma sistemler arası geçişler ve moleküller arası çarpışmalar gibi ışın yaymadan geçiş olasılıkları azalır. Örneğin, benzer yapıda olan fluorescein ve fenolftaleyn bileşiklerinden fluorescein çözelti halinde kuvvetli floresans göstermesine karşılık moleküler katılık göstermeyen fenolftaleynin böyle bir özelliği yoktur (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Fluorescein ve fenolftaleyn

Metal iyonları ile şelat oluşturma da titreşimleri azaltan moleküler katılık sağladığından floresansı artırır. Örneğin, pontakrom BBR alüminyum ile şelat oluşturmada önce naftalen grupları azo grubu etrafında serbestçe dönebilmektedir ve floresans göstermez. Şelat oluşumundan sonra molekül düzlemsel ve katı bir duruma kavuşur ve kuvvetli floresans gösterir. (Şekil 2.7)



Şekil 2.7: Pontokrom BBR ve Pontokrom BBR'nin alüminyum şelati

2.7.2.3 Sıcaklık ve Viskozite

Birçok molekülün floresansı sıcaklığın artması ile azalır. Düşük sıcaklıkta ve yüksek viskoziteli ortamda ise dinlenme zamanı uyarılmış durumun ömründen daha uzun olmakta ve floresans artmaktadır.

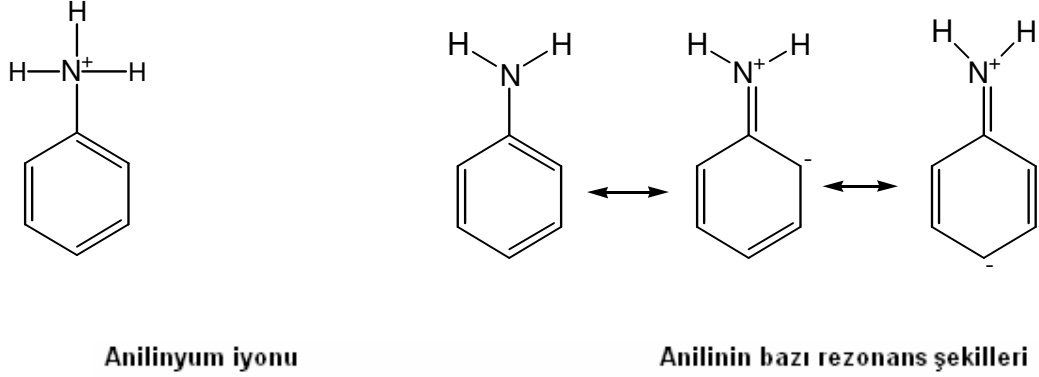
2.7.2.4 Çözücü

Çözücünün uyarılmış durumdaki moleküller ile hidrojen bağı oluşturmaları temel hale radyasyonsuz dönüş işleminin hızını artırdığından floresansın şiddetinde azalma olur. Bir veya daha çok sayıda ağır atom içeren çözücüler, sistemler arası geçiş olasılığını arttırdıklarından floresansı azaltırlar. Ayrıca polaritenin artması ile floresans emisyonunun maksimumu daha uzun dalga boyuna kayar. [13].

2.7.2.5 pH

Asidik ve bazik grup içeren bir bileşiğin floresansı ortamın pH'ına bağlıdır. Örneğin, nötr ortamda hem fenol hem metoksibenzen floresans gösterir. Bazik ortamda fenol, floresans göstermeyen anyonuna dönüşürken, metoksibenzen değişiklik göstermeden kalır. Anilin çözeltisi nötr ve bazik ortamda iken görünür alanda floresans gösterir. Çözelti asitlendirildiğinde bu floresans kaybolur. Diğer taraftan anilin pH'a bağlı olmaksızın UV alanda floresans göstermektedir. Asidik çözeltide azot atomu pozitif yük ile yüklenerek anilinyum iyonu oluşturur. Bu durumda amin grubu halka ile

rezonansa girememekte ve bu nedenle anilinyum iyonunun rezonansı benzeninkiyle aynı olmaktadır (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Anilinyum iyonu ve anilinin bazı rezonans şekilleri

2.7.2.6 Çözünmüş Oksijen, Paramanyetikler ve Ağır Atomlar

Floresans gösteren bir çözeltinin floresans şiddeti çözünmüş halde bulunan oksijenin etkisi ile azalır. Bu etki organik maddenin fotokimyasal yolla oksidasyonu sonucu olabileceği gibi oksijenin paramanyetik yapısı da bu duruma neden olabilir. Oksijenden başka Fe^{+3} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} gibi paramanyetik ve dış d orbitalleri dolmamış geçiş elementleri de floresansı söndürmektedir. Paramanyetik yapı, uyarılmış durumdaki moleküllerin sistemler arası geçişler ile triplet duruma geçmelerine neden olur ve bunun sonucunda floresans azalır veya temel hale geçiş radyasyon yaymaksızın çarpışmalar ile olur [15].

Hg^{+2} , Au^+ , Tl^{+3} gibi diyamanyetik ağır atomlar sistemler arası geçişi hızlandırmakta ve floresansı azaltmaktadır. Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} gibi diyamanyetik hafif metaller floresansı değiştirmezler.

2.7.3 Işık Soğurumu

Moleküllerin ışığı soğurma özellikleri, absorpsiyon (soğurum) spektrometresinin esasını oluşturur. Absorpsiyon spektrometresi moleküllerin yapıları ve çevrelerine ilişkin önemli bilgiler verir [16]. Absorpsiyon (A), Bouger-Lambert-Beer yasasıyla:

$$A = \log (I_0 / I) = \epsilon \cdot C \cdot D \quad (2.1)$$

şeklinde ifade edilmiştir. Burada ϵ , molar soğurum(ekstinksiyon) katsayısı ($M^{-1} cm^{-1}$) C, derişim ve d, ışığın kuvvet boyunca geçtiği yol (cm)'dur. Bu eşitlik kullanılarak ϵ değeri bilinen ve absorpsiyonu ölçülen bir çözeltinin derişimi hesaplanır.

Floresans kuantum verimi (q), yayılan ışığın yüzdesini gösteren bir ifadedir ve floresans boyaların kalitesini belirleyen bir tanımdır (2.1). Deneysel olarak q , kuantum verimi belirli bir standartla kıyaslanarak belirlenir.

$$q = \text{yayılan fotonların sayısı} / \text{absorblanan fotonların sayısı} \quad (2.2)$$

Belli bir dalgaboyunda floresans emisyon veren fotonların ışık şiddetlerinin uyarma dalgaboylarına göre dağılımı floresans uyarma grafiğidir ve bu, absorpsiyon grafiğinin bir analogudur.

2.7.4 Floresans Yayılım Grafiği

Floresans yayılım spektrumu, floroforun kimyasal yapısı ve içinde bulunduğu çözücü ortamına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Uyarılmış seviyedeki molekülün temel elektronik seviyeye geçmeden önce geçirdiği zaman floresans yaşam süresi (lifetime) olarak tanımlanır ve τ ile gösterilir.

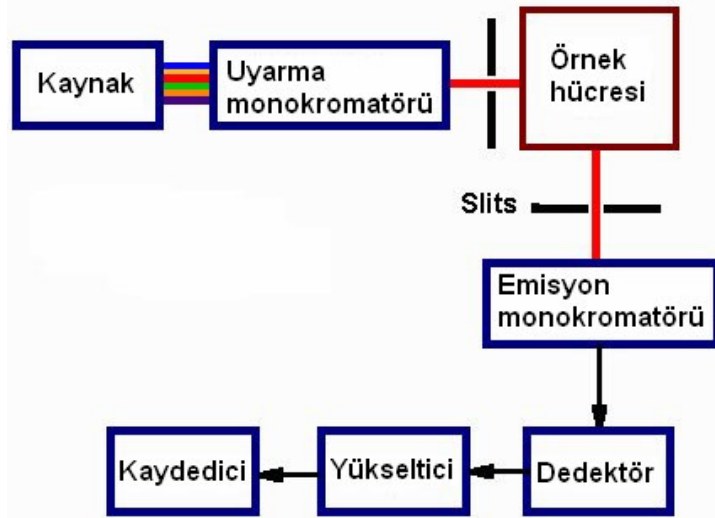
Işık kaynağının şiddeti zaman zaman değişebileceğinden floresans sinyalleri mutlak değerler olarak değil, bazı standartlara karşı alınmış bağıl değerlerle ifade edilir. Bu amaçla en çok kullanılan standart maddeler kininsülfat, diklorfluorescein, rhodamin B gibi maddeler veya cam referanslardır. Floresansın şiddeti molar absorbtivite ile orantılıdır. Bu nedenle uyarıcı ışının dalga boyunun maksimum absorpsiyonunun dalga boyunda olması gerekir.

Yayılan floresans ışının çözültideki bileşenler tarafından absorbe edilmesi nedeniyle şiddetinin azalması olayına söndürme (quenching) denir. Yüksek konsantrasyonlarda maddenin kendi kendini söndürmesi (self quenching) de söz konusu olabilir. Floresansın şiddeti ile floresans yayan maddenin konsantrasyonu arasında çizilecek grafik düşük konsantrasyonlar için doğrusaldır. Absorbansın 0.05'ten fazla olduğu konsantrasyonlarda doğrusallık bozulur. [14]. Uyarılmış durumdaki moleküllerin safsızlık olan moleküller ile çarpışması sonucu ışınsız enerji kaybı ile oluşan sönmeye safsızlık söndürmesi (impurity quenching) denir. Ayrıca ortamda bulunan çözülmüş haldeki oksijen, ağır metaller veya paramanyetikler sistemler arası geçiş hızını etkilediklerinden sönmeye neden olabilirler. Ayrıca maddenin uzun süre UV ışına maruz bırakılması sonucu fotokimyasal reaksiyon olabileceğinden floresans azalır.

2.7.5 Fluorometre ve Spektrofluorometre Aleti

Floresans analizlerinde floresans ışının şiddetini ölçmek için kullanılan aletin başlıca kısımları ışık kaynağı, örnek küveti, uyarma ve emisyon dalga boylarını seçecek bir çift filtre veya monokromatör ve floresansı ölçecek dedektördür. (Şekil 2.9)

Işık kaynağından ışın önce bir yarık ve sonra monokromatörden geçirilir. Örnek çözeltisinden her yöne dağılan floresans ışın belli bir açıdan, önce bir yarıktan ve sonra emisyon filtresi veya monokromatöründen geçirildikten sonra fototüpe gelir. Yükselticiden geçirildikten sonra floresans ışının şiddeti kaydedilir. Bazı aletlerde ise ışık kaynağının şiddetindeki ve dedektör cevabındaki değişiklikleri gidermek üzere çift ışınlı (double beam) düzenek kurulmuştur. Burada ışık kaynağından çıkan ışın monokromatörden geçtikten sonra ikiye ayrılır. Işınlardan biri örnek çözeltisinden geçtikten sonra, diğeri ise doğrudan doğruya fototüpe gelir. Bu şekilde çalışılarak ışık kaynağının şiddetindeki değişiklikler giderilebilmektedir. [13].



Şekil 2.9: Florometre cihazı

En çok kullanılan ışık kaynakları cıva ark lambası ve ksenon ark lambasıdır. Ksenon lamba değişik dalga boylarında çok fazla değişmeyen bir emisyon gösterirken, cıva lamba belirli dalga boylarında yüksek şiddette bandlar halinde emisyon yaymaktadır.

Spektrofluorometrelerde özellikle görünür alanda prizmaya karşı daha iyi bir ayırım sağlayan difraksiyon şebekeli monokromatörler (grating monochromator) kullanılır.

Yarık aralığının uygun bir genişlikte seçilmesi gerekir. Uyarılma spektrumu anlıyorsa uyarılma yarığı iyi ayırma için dar tutulurken emisyon yarığı daha yüksek hassasiyet için daha geniş ayarlanır. Emisyon spektrumu alınırken ise aksi yapılır.

2.7.6 Floresans Uygulamaları

Floresans gösteren bir maddenin yaydığı ışının maksimum dalga boyundan yararlanarak kalitatif, belli bir konsantrasyon aralığında floresans şiddeti ile konsantrasyon arasındaki ilişkinin doğrusal olmasından yararlanılarak da kantitatif ölçümler yapılmaktadır. [15].

2.7.6.1 Anorganik Maddelerin Analizi

Çözeltisi halindeyken floresans gösteren az sayıda anorganik iyondan en iyi bilineni uranil iyonudur. Bundan başka krom(III), seryum (III), talyum(I) iyonları da floresans göstermektedirler. Ayrıca çok sayıda anorganik iyon bazı aromatik yapıda maddeler ile şelat oluşturarak floresans yayan bileşikler oluştururlar. [16]. Siyanür ve florür gibi bazı anyonlar floresans söndürme özelliklerinden yararlanılarak analiz edilebilirler.

2.7.6.2 Organik Maddelerin Analizi

Biyokimya, farmasötik kimya ve çevre kirliliğinden pek çok maddenin analizi florometrik olarak yapılmaktadır. Çok sayıda aminoasit ve protein direk olarak ya da uygun maddeler ile türevlendirilerek floresans gösteren bileşiklerine dönüştürüldükten sonra analiz edilebilirler. Aminoasitler için, dansilklorür, NBD klorür, o-ftaldialdehit, feniltiohidantoin; amin grubu içeren maddeler için floreskamin, kinolin-8-sülfonil klorür, asetilbenzaldehit; alkol grubu içeren maddeler için 3-kloroformil-7-metoksikumarin türevlendirme için kullanılmaktadır.

Vitaminler, steroidler, sedatifler, tranklizanlar, analjezikler, antihistaminikler gibi bir çok ilaç maddesi florometrik yöntem ile tayin edilebilmektedir. Hem hava hem de su kirliliğine neden olan bazı maddelerin analizi de florometrik yöntem ile yapılabilmektedir.

Birçok organik madde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, kağıt ve ince tabaka kromatografisi gibi tekniklerle ayrılmalarından sonra floresans ölçümleri ile tanınmakta veya tayin edilmektedir [14].

2.8 Uyarılmış Hal Molekül İçi Proton Transfer Reaksiyonu (ESIPT)

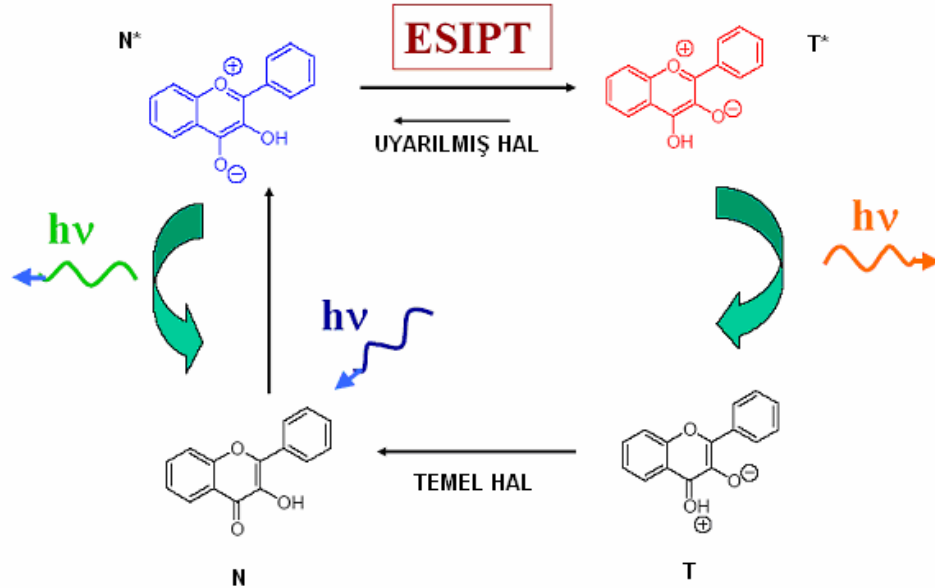
İki ya da daha fazla floresans emisyon bandı veren sistemlerin oluşturulması için farklı dalga boylarında floresans yayılma veren temel veya uyarılmış seviye reaksiyonlarının gerçekleşmesi gerekmektedir [17]. Beklenen reaksiyonlardan biri

temel seviyeden uyarılmış seviyeye geçişte bir izomerizasyonun gerçekleşmesidir. Bu durum, uyarılmış seviyedeki molekülün yapı konfigürasyonunun farklı olduğu ikinci bir molekülün de oluşması anlamına gelir.

Molekülün izomerizasyonuna ek olarak iki yayılım bandı eldesine imkan tanıyan diğer bir reaksiyon, Uyarılmış Hal Molekül İçi Proton Aktarımı reaksiyonudur (ESIPT).

2.8.1 3-hidroksi flavonların ESIPT Reaksiyonları

3-Hidroksiflavonların en belirgin özelliği uyarılmış hal molekül içi proton transferi gerçekleştirerek fluoresans spektrumunda farklı çözücü ortamlarında birbirinden oldukça iyi ayrılmış iki şiddetli pik veriyor olmalarıdır. Emisyon bantlarından biri normal uyarılmış duruma, N^* , diğeri ESIPT reaksiyon ürünü tautomeri T^* 'ye aittir. Işığın $h\nu$ 'nin absorpsiyonu öncelikle normal Franck-Condon durumuna N^{F-C} , daha sonra N^* durumuna geçerek çözücünün relaksasyonu gerçekleşir. Bunun ardında N^* durumu bir miktar $h\nu_{N^*}$ ışık yayar veya T^* durumunu oluşturmak üzere ESIPT reaksiyonunu gerçekleştirir. (Şekil 2.10). Bu iki bandın şiddetleri arasındaki oranlar farklı perturbasyonlara karşı oldukça duyarlıdır. Bu yüzden 3HF türevlerinin ters miseller, fosfolipid ve doğal membranlar alanında kullanımları oldukça popülerdir.



Şekil 2.10: 3-Hidroksi Flavonlarda Uyarılmış durum Proton Transferi

2.8.2 Prob-Çözücü Etkileşimleri

Floresans spektruma çözücü etkileri, genel ve spesifik çözücü etkileri olmak üzere ikiye ayrılır. Genel çözücü etkileri kırınım indeksi (n) ve dielektrik sabitten (ϵ) kaynaklanır. Bu fiziksel sabitler çözücü moleküllerindeki elektronların hareket serbestliği ve bu moleküllerin dipol momentine işaret etmektedir. Spesifik çözücü etkileri, kompleksleşme ve hidrojen bağı gibi florofor ve çözücü molekülleri arasındaki spesifik kimyasal etkileşimleri gösterir. Hem genel hem de spesifik çözücü etkileşimleri önemli spektral kaymalara neden olabilir. [18].

2.8.3 Probların Fosfolipid keselerdeki Floresans Özellikleri

Probların kesecikler içerisine nüfuz etmesi floresans şiddetinde artışa sebep olur. Bu durum da suyla karşılaştırıldığında kuantum veriminin oldukça yüksek olduğu gözlenir. Çalışılan tüm prob tiplerinde fosfolipid keseciklerdeki uyarılma spektrumunun büyük ölçüde absorpsiyon spektrumu ile aynı olduğu ve de N^* ve T^* emisyon bandlarının maksimumunun çok farklı olmadığı gözlenir.

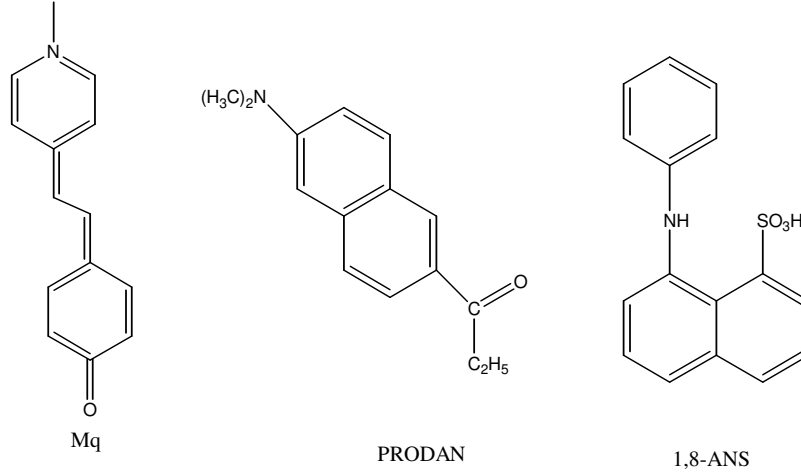
Yeni geliştirilen 3-hidroksiflavon türevleri mikroçevrelerinde olan olaylara karşı son derece hassastırlar. İki band gösteren 3-HF probları hücre içine yollandıklarında buldukları konuma bağlı olarak onları tanımlayan bir çok parametre belirlenmiştir [19].

2.9 Floresans Problar

Floresans problar, molar absorpsiyona ve floresans kuantum verimine bağlı olan hassasiyeti arttırmak, floresans ölçümlerinin görünür bölge ve yakın IR bölgesinde yapılmasına olanak sağlamak, floresans ömrünü arttırma, belirli moleküler etkileşimleri inceleyebilmek (hidrofobik bağlanma vb.), aromatik gruplar arasındaki uzaklıkları, uyarılma enerji transferi ile belirleyebilme amaçlarıyla kullanılırlar. Floresans problar ise genelde aromatik heterosiklik bileşiklerdir, suda zayıf çözünlükleri ve hidrofobik bağlanma bölgelerine yüksek ilgileri vardır. Bu yüzden, sıvı-sıvı ve sıvı-katı yüzeyler, proteinler, biyomembranlar ve onların fosfolipid modelleri, ince filmler, miseller ve ters miseller gibi mikroskopik olarak heterojen sistemlerin incelenmesinde önemli bir araç haline gelmektedirler. [20]. Probların en ilgi çekici özelliği, uyarılmış halde belirli bir reaksiyon göstermeleri (izomerizasyon, elektron veya proton transferi) sonucu floresans parametrelerinde (spektral pozisyon, polarizasyon, kuantum verimi) değişim göstermeleridir.

Etiketler (labels) ve proplar arasındaki fark; etiketler kovalent bağ ile bağlanırken, propların kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanmasıdır.

İlk grup floresan proplar, elektronik uyarılma sonucu, dipol momentlerinde büyük farklılık gösterirler (Şekil 2.11). Genel olarak dipol momentleri artar fakat dipol momentin azaldığı örnekler de mevcuttur. Bunun sebebi elektronik yükün uyarılmış halde tekrar dağılımıdır. [21].

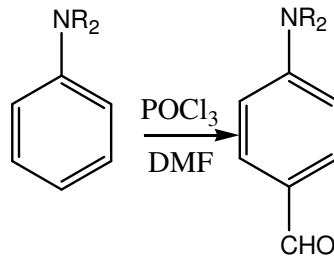


Şekil 2.11: Elektronik uyarılma sırasında dipol momentleri değişen floresans proplara örnekler; Mq: stilbazolium betain, PRODAN: 6-propionil-2-metilaminonaftalen, 1,8-ANS: 1-anilinoftalen-8-sulfonikasıit

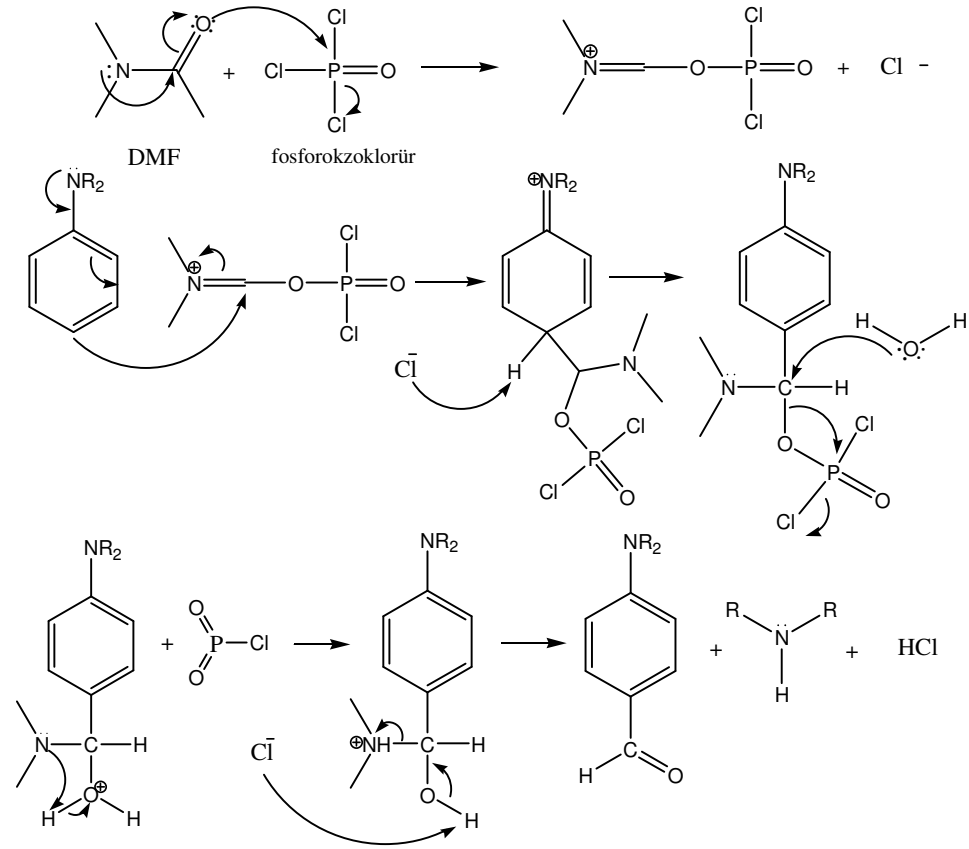
Prob moleküllerine diğer bir önemli örnek 3-hidroksi flavon ailesidir. Sentezlenmiş olan 3HK (3-hidroksikromon) türevi propların konfigürasyonel izomerizasyonu sözkonusu değildir, bu, uyarılmış seviyedeki molekülün yapı konfigürasyonunun farklı olduğu ikinci bir molekülün de oluşması anlamına gelmektedir ve kromon halkası dönüşlere izin vermeyecek özelliكتedir.

2.10 Gerçekleştirilen reaksiyonların mekanizmaları

2.10.1 Dialkil amino benzen' den dialkilamino benzaldehid eldesi

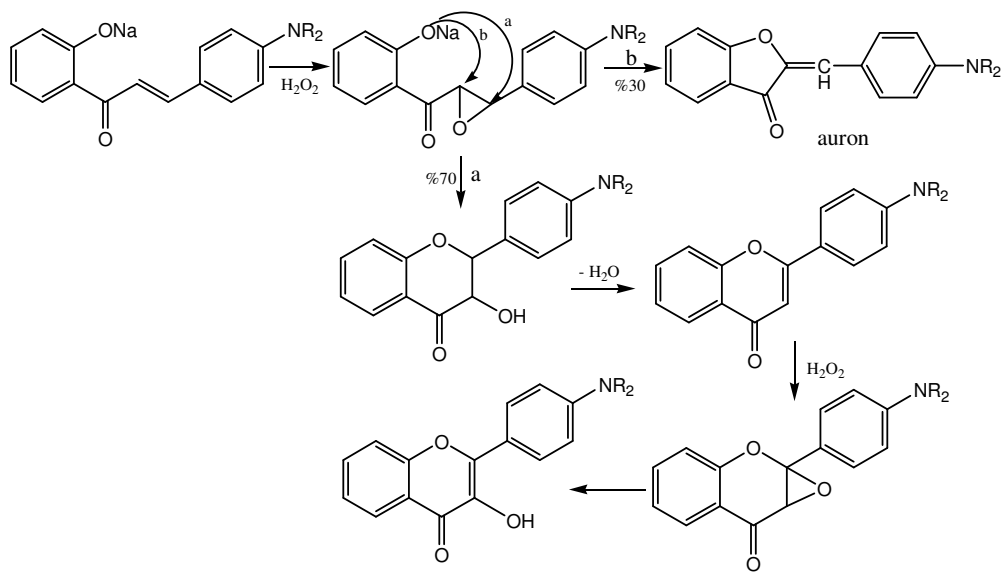


Şekil 2.12: Dialkil amino benzaldehid sentezi



Şekil 2.13: Dialkilamino benzaldehid sentezi için reaksiyon mekanizması

2.10.2 Halka kapama reaksiyon mekanizması



Şekil 2.14: Halka kapama reaksiyon mekanizması

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Genel Teknikler

3.1.1 Kromatografi

3.1.1.1 Kolon kromatografisi

Kolon kromatografisi yöntemi, ürünlerinin saf eldesi amacı ile kullanıldı. Adsorban olarak Merck firmasının, Kieselgel 100 (0.063-0.200mm, 70-230 mesh ASTM) alındı. Adsorban, dibine az miktarda pamuk yerleştirilmiş cam kolonlara, yürütücü çözelti sistemiyle karıştırılarak konular, ayrılacak madde ayrı bir balonda adsorbana emdirilerek düzgün şekilde ilave edilir. Fraksiyonlar ayrılarak kolondan toplanır.

3.1.1.2 İnce Tabaka Kromatografisi

Reaksiyon ilerleyişini ve kolon kromatografisinde çıkan fraksiyonları kontrol etmek amacıyla bu yöntem kullanılmıştır. Çalışmalarda (G.Merck 5554) hazır plaklardan yararlanıldı.

3.1.2 Spektrometreler

3.1.2.1 ¹H NMR Spektrometresi

¹H NMR spektrumları Bruker, 250 MHz AC Aspect 3000 aletlerinde alınmıştır. Referans bileşik olarak Tetrametilsilan (TMS), çözücü olarak ise CDCl₃ kullanılmıştır.

3.1.2.2 Floresans Spektrofotometresi

Probların floresans spektrumları; Quanta Master (PTI) ve Hitachi f-4500 Spektrometre ile alınmıştır.

3.2 Çözücüler Ve Kullanılan Kimyasal Maddeler

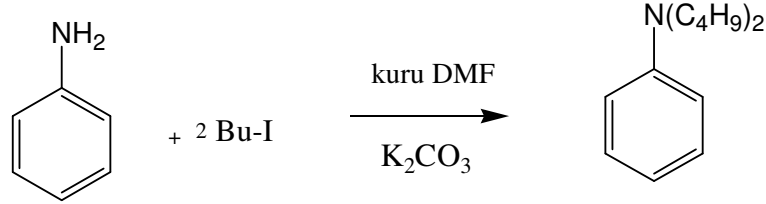
Derişik HCl (Fluka), 2-hidroksi asetofenon (Aldrich), 2,4-dihidroksiasetofenon (Aldrich), 1-iyodooktan(Aldrich), potasyumkarbonat(Sigma), POCl₃(Aldrich), H₂O₂ (%30'luk) Fluka, sodyum karbonat (Sigma), DMF (Acros), sodyumsülfat (Merck),

sodyummetoksit (Aldrich), etanol (Merck), hekzan (Merck), diklorometan (Merck), asetonitril (Merck), kloroform (Merck), etil asetat (Merck).

Absorpsiyon ve floresans ölçümleri için kullanılan tüm çözücüler Aldrich ve Fluka' dan alınmış olup, spektroskopi için kullanılacak saflıktadır.

3.3 Deney Prosedürü

3.3.1 N,N-dibutilaminobenzen eldesi

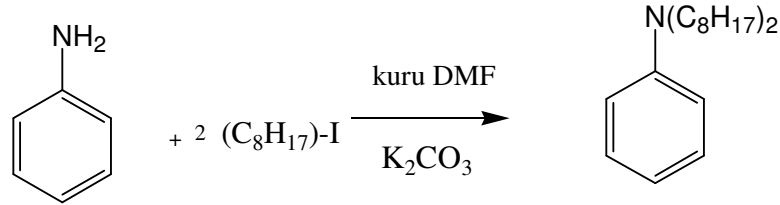


Şekil 3.1: N,N-dibutilaminobenzen sentezi

0.72mL anilin (0.008 mol) ve 2.18 gram K₂CO₃ (0.016mol) 5mL kuru DMF içerisinde, önceden 120 °C' deki yağ banyosunda karışmaya bırakılır, üzerine 3.05 gram (0.03 mol) butil iyodür eklenerek 10 saat, kuru ortamda reflux edilir (Şekil 3.1). Ürün diklorometan (CH₂Cl₂) ile ekstrakte edilir ve Na₂SO₄ ile kurutulur. 4/1 Hekzan/etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır. %82 verimle 1.029 gram açık kahverengi viskoz sıvı olarak elde edilmiştir.

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) δ 7.17 (t, J=5.3 Hz, 2H), 6.6 (m, 3H), 3.25 (t, J=7.06 Hz, 4H), 1.6 (m, 4H), 1.3 (m, 4H), 0.9 (t, J=6.2 Hz, 6H); C₁₄H₂₃N; EIMS (m/z) 205 (M⁺).

3.3.2 N,N-dioktilaminobenzen eldesi

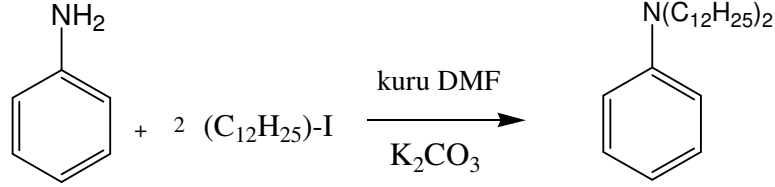


Şekil 3.2: N,N-dioktilaminobenzen sentezi

N,N-dibutilaminobenzen sentezi ile aynı yöntem kullanılmıştır. Ürün diklorometan (CH₂Cl₂) ile ekstrakte edilir ve Na₂SO₄ ile kurutulur. 4/1 Hekzan/etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır. %84 verimle 2.13 gram kahverengi viskoz sıvı olarak elde edilmiştir.

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ 7.18 (t, $J=5.20$ Hz, 2H), 6.67 (m, 3H), 3.20 (t, $J=7.3$ Hz, 4H), 1.7 (m, 4H), 1.35 (20H, m), 0.9 (t, $J=6.1$ Hz, 6H); $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}$; EIMS (m/z) 317 (M^+).

3.3.3 N,N-didodesilbenzamin eldesi

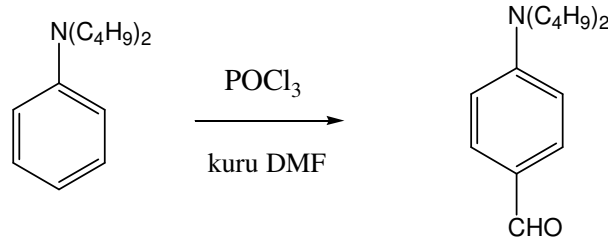


Şekil 3.3: N,N-didodesilbenzamin sentezi

N,N-dibutilaminobenzen sentezi ile aynı yöntem kullanılmıştır. Ürün diklorometan (CH_2Cl_2) ile ekstrakte edilir ve Na_2SO_4 ile kurutulur. 4/1 Hekzan/etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır. %78 verimle 2.77 gram kahverengi viskoz sıvı olarak elde edilmiştir.

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ 7.12 (t, $J=5.25$ Hz, 2H), 6.63 (m, 3H), 3.20 (t, $J=7.25$ Hz, 4H), 1.68 (m, 4H), 1.33 (m, 36H), 0.89 (t, $J=6.19$ Hz, 6H); $\text{C}_{30}\text{H}_{55}\text{N}$; EIMS (m/z) 430 (M^++1).

3.3.4 N,N-dibutilaminobenzaldehyt eldesi (Vilsmeier Formulation)

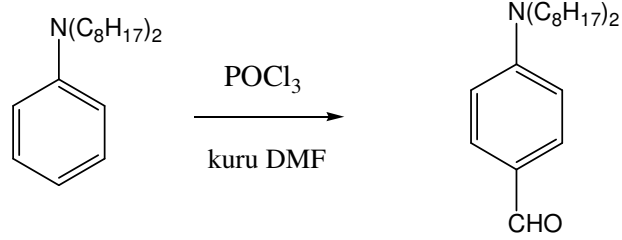


Şekil 3.4: N,N-dibutilaminobenzaldehyt sentezi

Bir balona alınan 10mL DMF'e buz banyosunda 3.06 mL (0.037 mol) POCl_3 ilave edilir. Açık sarı renkteki karışımda, yoğun gaz çıkışı gerçekleşir. Bu yüzden balonun ağzına CaCl_2 tüpü takılmalıdır. Gaz çıkışı bitene kadar, karışım buz banyosunda karıştırılır. Oda sıcaklığında 3.3 g (0.021 mol) N,N-dibutilaminobenzen ilave edilir ve 60°C su banyosunda, 4 saat karışmaya bırakılır (Şekil 3.4). Buz ilave edilerek reaksiyon tamamlanır. Diklorometan ile ekstrakte edilip Na_2SO_4 ile kurutulur. 5/1 Hekzan/etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır. %68 verimle 3.33 gram kahverengi viskoz sıvı olarak elde edilmiştir.

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ 9.67 (s, 1H), 7.7 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.6 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 3.35 (t, $J=7.6$ Hz, 4H), 1.56 (m, 4H), 1.37 (m, 4H), 0.95 (t, 7.24 Hz, 6H); $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}$; EIMS (m/z) 233 (M^+).

3.3.5 N,N-dioktilaminobenzaldehit eldesi

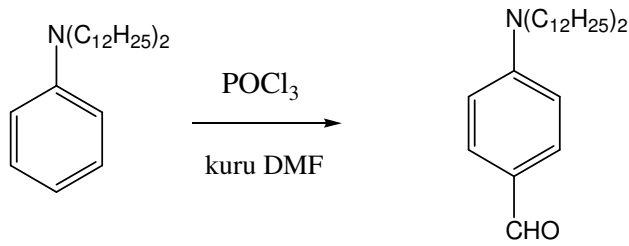


Şekil 3.5: N,N-dioktilaminobenzaldehit sentezi

N,N-dibutilaminobenzaldehit sentezi ile aynı yöntem izlenmiştir. Diklorometan ile ekstrakte edilip Na_2SO_4 ile kurutulur. 5/1 Hekzan/etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır. %65 verimle 4.5 gram kahverengi viskoz sıvı olarak elde edilmiştir.

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ 9.68 (s, 1H), 7.65 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 6.62 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.28 (t, $J=7.2$ Hz, 4H), 1.57 (m, 4H), 1.28 (m, 20H), 0.87 (t, $J=6.30$ Hz, 6H); $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{NO}$; EIMS (m/z) 345 (M^+).

3.3.6 N,N-didodesilaminobenzaldehit eldesi

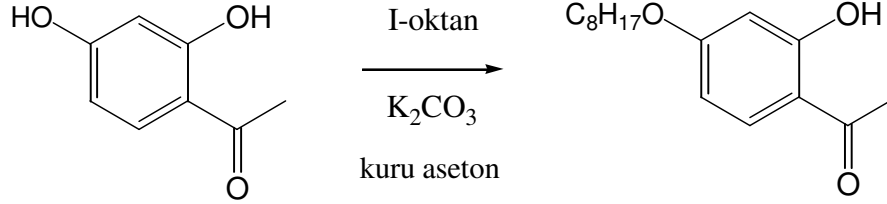


Şekil 3.6: N,N-didodesilaminobenzaldehit sentezi

N,N-dibutilaminobenzaldehit sentezi ile aynı yöntem izlenmiştir. Diklorometan ile ekstrakte edilip Na_2SO_4 ile kurutulur. 5/1 Hekzan/etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır. %67 verimle 6.23 gram kahverengi viskoz sıvı olarak elde edilmiştir.

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ 9.75 (s, 1H), 7.60 (d, J=8.2 Hz, 2H), 6.59 (d, J=8.2 Hz, 2H), 3.30 (t, J=7.29 Hz, 4H), 1.50 (m, 4H), 1.21 (m, 36H), 0.84 (t, J=6.27 Hz, 6H); $\text{C}_{31}\text{H}_{55}\text{NO}$; EIMS (m/z) 458 (M^+).

3.3.7 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon Sentezi



Şekil 3.7: 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon sentezi

5 g (0.033 mol) 2,4-dihidroksiasetofenon, 5.6 mL (0.033mol) oktilyodür ve 5 g K_2CO_3 20 mL aseton içerisinde 3 saat boyunca karıştırılır (reflux edilir) (Şekil 3.7). (Reaksiyon ilerleyişi TLC ile kontrol edilebilir fakat bunun için önce reaksiyon karışımından bir damla alınarak su içerisinde konur, nötralize edilir ve ekstrakte edildikten sonra TLC uygulanabilir. Bu işlem uygulanmadığı takdirde 2,4-dihidroksiasetofenon, tuz formunda olduğundan TLC’ de görünmeyecektir.)

Reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra 20ml su eklenir ve etilasetat ile ekstrakte edilir (3x30ml). MgSO_4 ile kurutulur. Süzülür ve solvent düşük basınç altında uzaklaştırılır.

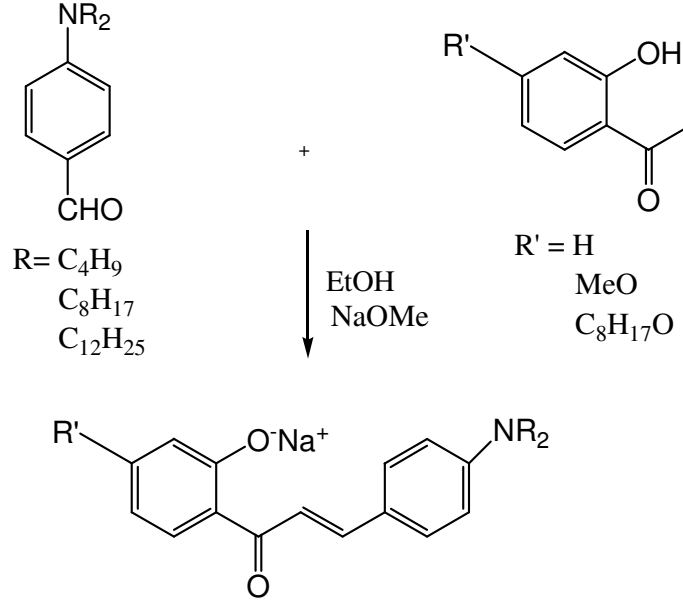
Saflandırma işlemi için diklorometan ile kolon kromatografisi uygulanır. Açık kahverengi viskoz sıvı haldeki sonuç ürün elde edilir. (6.88gram, %79)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ 12.74 (s, 1H, OH), 7.6 (d, J=8.7 Hz, 1H), 6.5 (dd, J=8.7 Hz, J=2.4 Hz, 1H), 6.4 (s, 1H), 4.0 (t, J=6.6 Hz, 2H), 2.53 (s, 3H), 1.4 (m, 12H), 0.9 (t, J=5.59 Hz, 3H); $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_3$; EIMS (m/z) 264 (M^+).

3.3.8 Kalkon Sentezi İçin Genel Yöntem

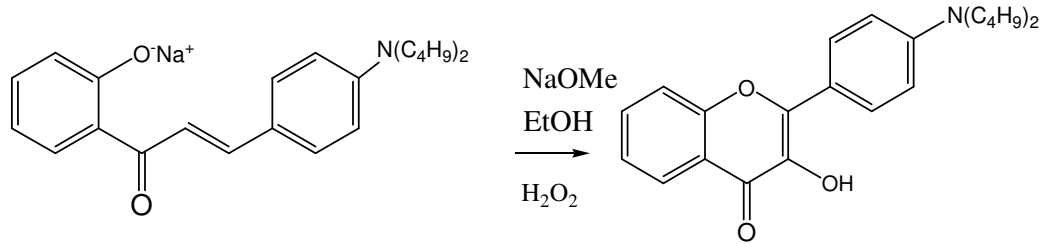
1.95 gram (0.0143 mol) 2-hidroksiasetofenon 30ml etanolde çözülür ve 0.18 g NaOMe (0.07 mol) ilave edilir. 3.33 gram (0.0143 mol) N,N-dibutilaminobenzaldehit eklenerek oda sıcaklığında 4 gün boyunca karışmaya bırakılır (Şekil 3.8). Reaksiyon ilerleyişi TLC ile kontrol edilir. Kırmızı-turuncu renkli “kalkon” elde edilir. Tüm türevler için aynı mol oranlarında keton ve aldehid

kullanılarak kalkonlar sentezlenip saflaştırılmadan, halka kapama reaksiyonları gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.8: Kalkon eldesi

3.3.9 (2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) (FN4) eldesi



Şekil 3.9: (2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) eldesi

Oluşan kırmızı renkli kalkon balonu buz banyosunda soğutulur ve 0.3 (0.8 mol) mL H_2O_2 eklenip daha önceden $120\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye getirilmiş yağ banyosunda, üzerine geri soğutucu takılarak, 5-10 dakika kaynatılır (Şekil 3.9). Köpürme başladığı anda yağ banyosundan uzaklaştırılmalıdır. Köpürerek sarıya dönen karışım, içinde yaklaşık 100 mL su bulunan bir behere konur. HCl çözeltisi ile nötralize edilir ve diklorometan ile ekstrakte edilir. Na_2SO_4 ile kurutulur. Süzüldükten sonra düşük

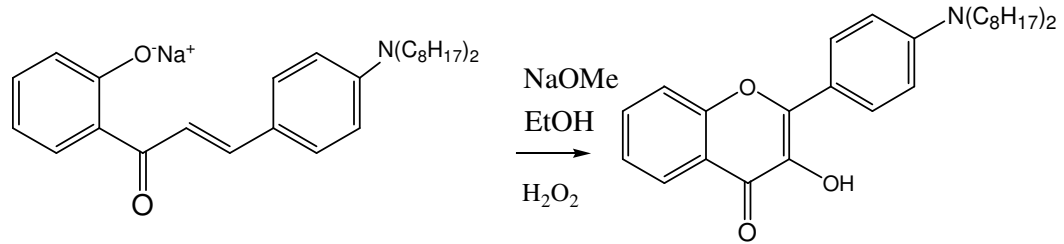
basınç altında çözücü uzaklaştırılır ve kolon kromatografisi ile saflaştırılır. Saflandırma işlemi için 6/1 Hekzan/Etilasetat çözücü sistemi kullanılır.

Dikkat edilmesi gereken hususlar:

H₂O₂ miktarından daha fazla mol oranında NaOMe kullanılır (12 mol H₂O₂ → 15 mol NaOMe).1 mol aldehit ile en az 10 mol, en çok 15 mol H₂O₂ (%35) kullanılmalıdır. Az miktarda madde ile çalışırken, çok miktarda H₂O₂ (15 mol); çok miktarda madde ile çalışırken, az miktarda H₂O₂ (12 mol) kullanılmalıdır. Ayrıca köpürme başladığı anda yağ banyosundan uzaklaştırılmadı önemlidir. Aksi halde aşırı ısınma nedeniyle soğutma suyu yetersiz kalmakta ve taşma meydana gelebilmektedir.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.21 (d, J=6.4 Hz, 1H), 8.15 (d, J=9.23 Hz, 2H), 7.63 (m, 1H), 7.53 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.38 (m, 1H), 6.72 (d, J=9.2 Hz, 2H), 3.34 (t, J=7.4 Hz, 4H), 1.60 (m, 4H), 1.35 (m, 4H), 0.96 (t, J=7.3 Hz, 6H); C₂₃H₂₇NO₃; EIMS (m/z) 366 (M⁺+1).

3.3.10 (2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) (FN8) eldesi

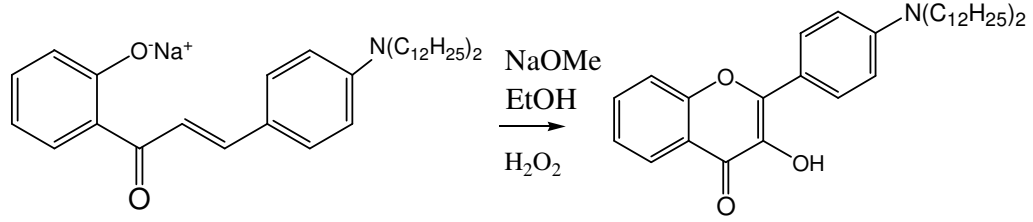


Şekil 3.10: (2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) eldesi

Halka kapama yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır. Saflandırma işlemi için 6/1 Hekzan/Etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.22 (d, J=7.9 Hz, 1H), 8.15 (d, J=9.2 Hz, 2H), 7.64 (m, 1H), 7.52 (d, J=7.6 Hz, 1H), 7.36 (m, 1H), 6.73 (d, J=9.2 Hz, 2H), 3.33 (t, J=7.4, 4H), 1.56 (m, 4H), 1.32 (m, 20H), 0.87 (t, J=6.6 Hz, 6H); C₃₁H₄₃NO₃; EIMS (m/z) 478 (M⁺+1).

3.3.11 (2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) (FN12) eldesi

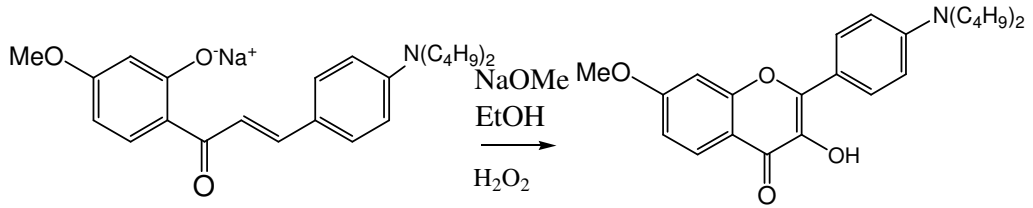


Şekil 3.11: (2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-4H-kromen-4-on) eldesi

Halka kapama yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır. Saflandırma işlemi için 6/1 Hekzan/Etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.1 (d, J=7.0 Hz, 1H), 8.12 (d, J=9.2 Hz, 2H), 7.59 (m, 1H), 7.5 (d, J=7.5 Hz, 1H), 7.32 (m, 1H), 6.68 (d, J=9.2 Hz, 2H), 3.35 (t, J=7.2 Hz, 4H), 1.58 (m, 4H), 1.30 (m, 36H), 0.83 (t, J=6.5 Hz, 6H); C₃₉H₅₉NO₃; EIMS (m/z) 590 (M⁺+1).

3.3.12 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on (MFN4) eldesi

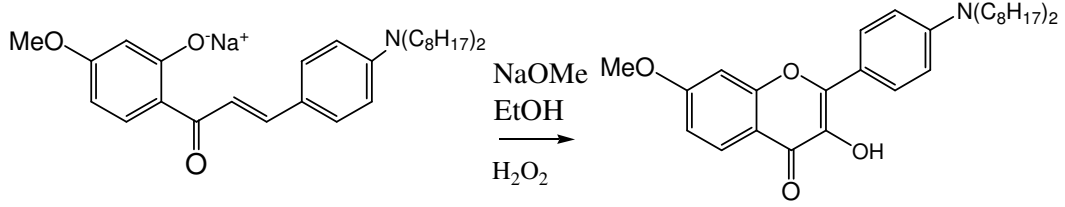


Şekil 3.12: 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on eldesi

Halka kapama yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır. Saflandırma işlemi için 5/2 Hekzan/Etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.10 (d, J=9.1 Hz, 2H), 8.09 (d, J=8.8 Hz, 1H), 6.94 (m, 2H), 6.72 (d, J=9.1 Hz, 2H), 3.9 (s, 3H), 3.33 (t, J=7.3 Hz, 4H), 1.6 (m, 4H), 1.38 (m, 4H), 0.96 (t, J=7.3 Hz, 6H); C₂₄H₂₉NO₄; EIMS (m/z) 396 (M⁺+1).

3.3.13 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on (MFN8) eldesi

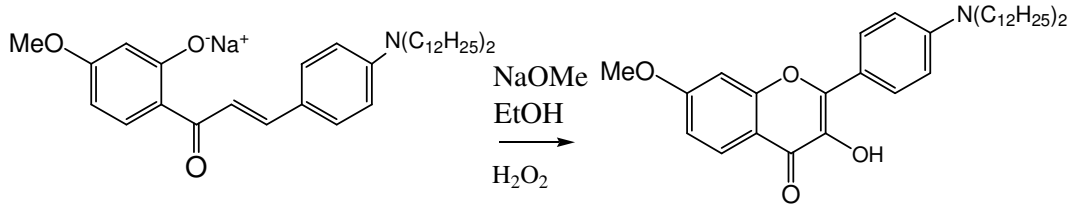


Şekil 3.13: 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on eldesi

Halka kapama yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır. Saflandırma işlemi için 5/2 Hekzan/Etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır.

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 8.12 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 8.09 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 6.93 (m, 2H), 6.42 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.32 (t, $J=7.1$ Hz, 4H), 1.61 (m, 4H), 1.28 (m, 20H), 0.88 (t, $J=6.7$ Hz, 6H); $\text{C}_{32}\text{H}_{45}\text{NO}_4$; EIMS (m/z) 508 (M^++1).

3.3.14 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on (MFN12) eldesi

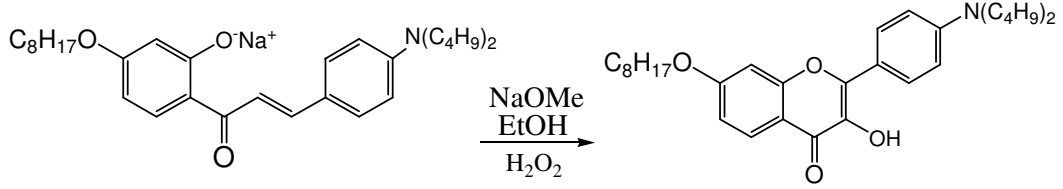


Şekil 3.14: 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-metoksi-4H-kromen-4-on eldesi

Halka kapama yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır. Saflandırma işlemi için 5/2 Hekzan/Etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır.

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 8.11 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 8.08 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 6.91 (m, 2H), 6.89 (m, 2H), 6.38 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.30 (t, $J=7.1$ Hz, 4H), 1.60 (m, 4H), 1.30 (m, 36H), 0.85 (t, $J=6.6$ Hz, 6H); $\text{C}_{40}\text{H}_{61}\text{NO}_4$; EIMS (m/z) 620 (M^++1).

3.3.15 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on (OFN4) eldesi

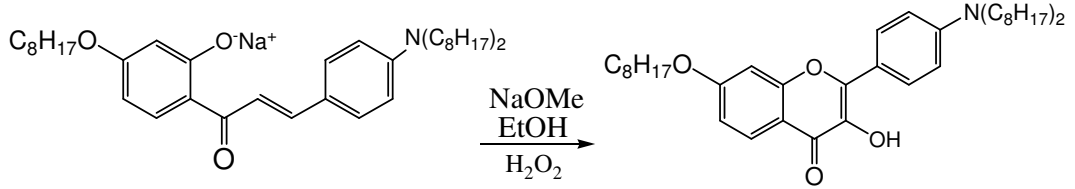


Şekil 3.15: 2-(4-(dibutilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on eldesi

Halka kapama yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır. Saflandırma işlemi için 5/2 Hekzan/Etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.13 (d, J=9.1 Hz, 2H), 8.05 (d, J=8.7 Hz, 2H), 6.90 (m, 2H), 6.73 (d, J=9.1 Hz, 2H), 4.02 (t, J=6.2 Hz, 2H), 3.30 (t, J=7.3 Hz, 4H), 2.10 (m, 6H), 1.52 (m, 6H), 1.28 (m, 8H), 0.84 (m, 9H); C₃₁H₄₃NO₄; EIMS (m/z) 494 (M⁺+1).

3.3.16 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on (OFN8) eldesi

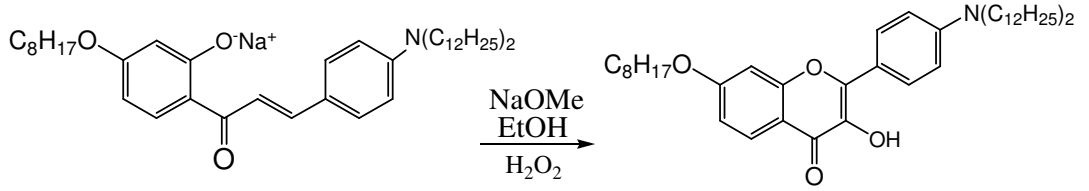


Şekil 3.16: 2-(4-(dioktilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on eldesi

Halka kapama yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır. Saflandırma işlemi için 5/2 Hekzan/Etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.1 (d, J=9.0 Hz, 1H), 8.08 (d, J=8.8 Hz, 2H), 6.92 (m, 2H), 6.70 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.04 (t, J=6.3 Hz, 2H), 3.35 (t, J=7.5 Hz, 4H), 2.13 (m, 6H), 1.55 (m, 6H), 1.31 (m, 30H), 0.88 (m, 9H); C₄₇H₇₅NO₄; EIMS (m/z) 606 (M⁺+1).

3.3.17 2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on (OFN12) eldesi



Şekil 3.17:2-(4-(didodesilamino)fenil)-3-hidroksi-7-oktiloksi-4H-kromen-4-on eldesi

Halka kapama yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır. Saflandırma işlemi için 5/2 Hekzan/Etilasetat çözücü sisteminde kolon kromatografisi uygulanır.

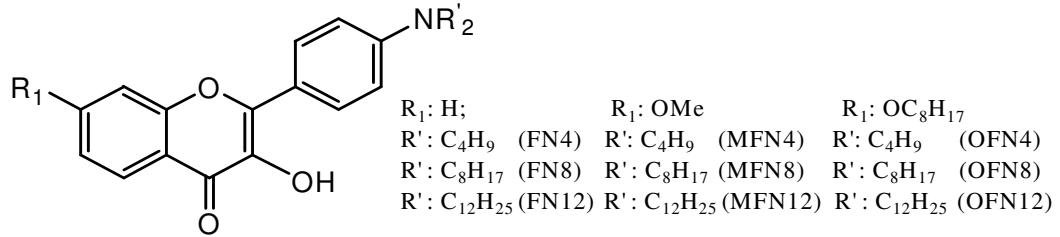
¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (d, J=9.1 Hz, 2H), 8.0 (d, J=8.8 Hz, 2H), 6.89 (m, 2H), 6.68 (d, J=9.1 Hz, 2H), 3.98 (t, J=6.3 Hz, 2H), 3.31 (t, J=7.5 Hz, 4H), 2.11 (m, 6H), 1.53 (m, 6H), 1.29 (m, 40H), 0.77 (m, 9H); C₄₇H₇₅NO₄; EIMS (m/z) 718 (M⁺+1).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

3-HF türevleri mikro çevrelerinde meydana gelen değişimlere karşı çok hassas olmaları ve bu değişimlere birbirlerinden oldukça iyi ayrılmış iki emisyon bandıyla yanıt vermelerinden dolayı önemli floresans sensörlerdir. İki floresans band vermelerinin, uyarılma durumunda ESIPT reaksiyonu gerçekleştirmelerinden dolayı olduğundan daha önce bahsedilmiştir. Bu yüzden misel ve fosfolipid kesecikler gibi biyolojik sistemlerde floresans sensör olarak kullanılabilirler.

3-HF probleminin dizaynında, konjugasyonunun artırılmasıyla floresans spektrumunda kırmızı alana kaymasını sağlamak ve elektron verici grup olarak benzaldehidin para pozisyonuna dialkilamino grupları farklı uzunluklarda takılarak probun membranda çözünürlüğünü artırmak amaçlanmıştır. Böylece biyolojik sistemlerde daha iyi iletişime girecek floresan sensörler geliştirilmiş olacaktır. Bunun için, probun yapısını lipid yapının özelliğine benzetmek üzere farklı uzunluklarda hidrokarbon zincirleri yerleştirmek önemlidir. Bu amaçla bu çalışmada, 3-hidroksiflavon'un yağsı özelliğini artıran, uzun zincirlerinin çeşitli 3-hidroksiflavon türevlerine takılması amaçlanmıştır.

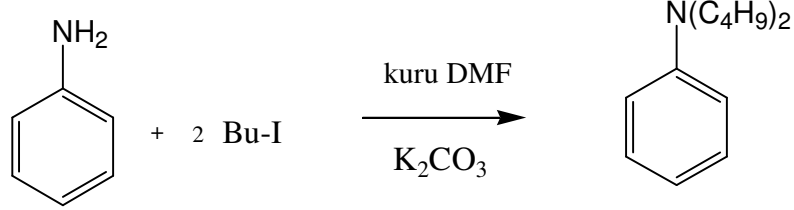
Apolar özelliği artacak olan sensörün, biyolojik sistemlerle daha iyi iletişime girmesi ve hücre hakkında daha fazla bilgi edinilmesi planlanmıştır.



Şekil 4.1: Sentezlenen 3-hidroksiflavon türevleri

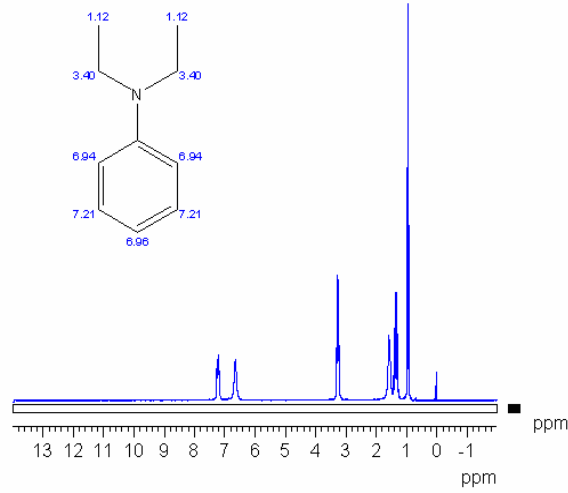
4.1 Gerçekleştirilen Reaksiyonlar

4.1.1 N,N-dibutil amino benzen için ¹H-NMR Spektrumu



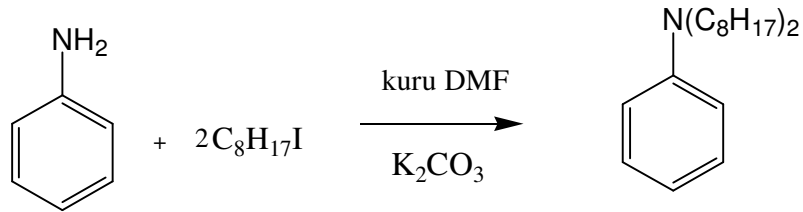
Şekil 4.2: N,N-dibutilaminobenzen sentezi

Bölüm 3.3.1’de anlatılan yöntemle sentezlenen bileşiğin, Şekil 4.3’deki beklenen ¹H-NMR spektrumu ile uyumlu olarak 7.17 ppm de (d, J= 2.5 Hz, 2H), 6.6 ppm de (m, 3H), azota bağlı CH₂’lerdeki protonlar, N varlığından dolayı düşük alana kayıp 3,25 ppm de (t, J= 7.3 Hz, 4H), zincir protonları ise 1,6 ppm de (m, 4H) ve 0.9 ppm’ de (t, J=6.2, 6H) pik vermişlerdir.



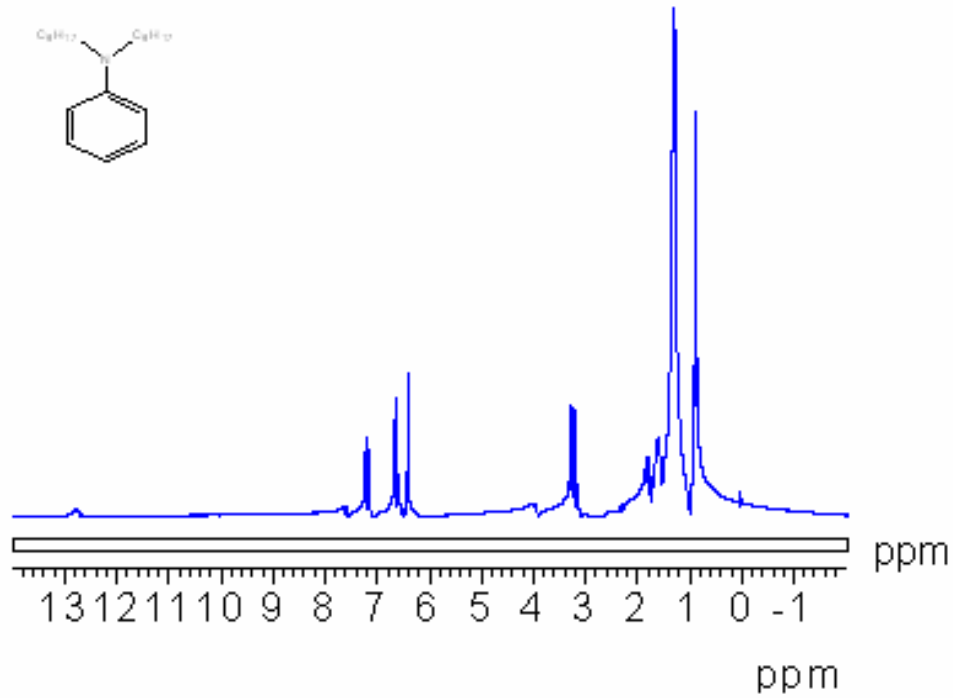
Şekil 4.3: N,N-dibutil amino benzen için ¹H-NMR Spektrumu

4.1.2 N,N-dioktilaminobenzen için ¹H-NMR Spektrumu



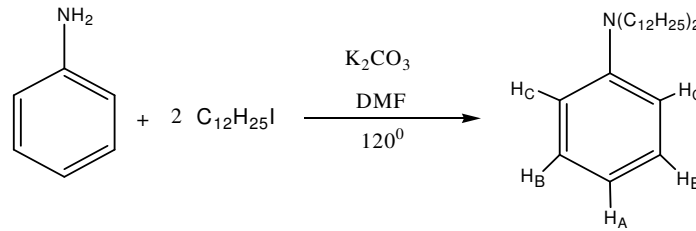
Şekil 4.4: N,N-dioktilaminobenzen sentezi

Şekil 4.4’de şematize edilen dioktil aminobenzen eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.2’de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.5), Aromatik halkaya ait protonlar, 7.18ppm de (2H) triplet ve 6.67 ppm’de (3H) multipllet bulunmaktadır. Azota komşu proton 3.20ppm’ de bir triplet şeklindedir(4H). 1.7 ve 1.35 ppm’de multipllet 0.9ppm’ de triplet şeklinde uzun hidrokarbon zincirine ait protonlar görülmektedir(30H).



Şekil 4.5: N,N-dioktilaminobenzen’ e ait H-NMR spektrumu

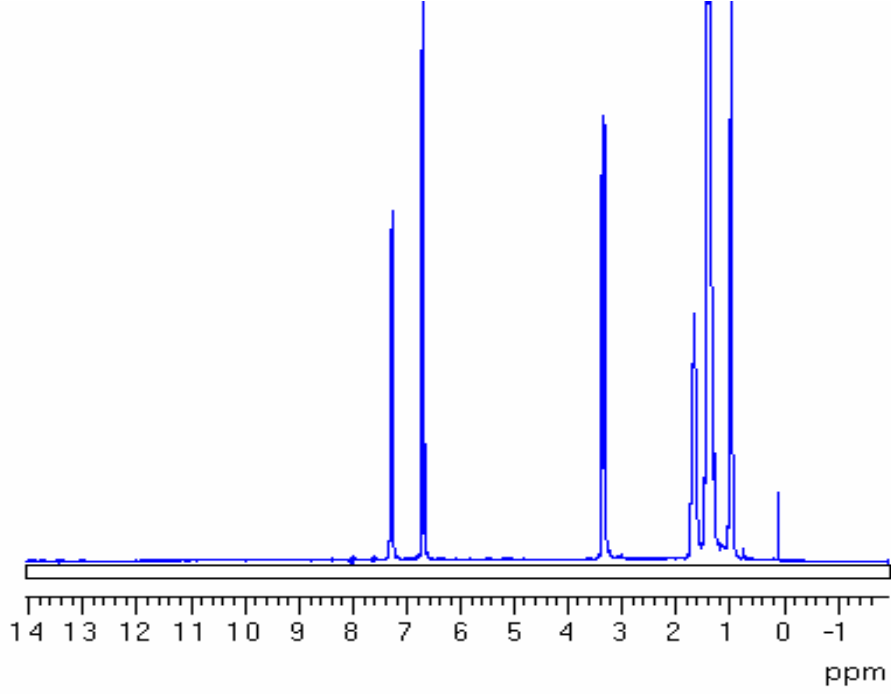
4.1.3 N,N-Didodesilbenzamin için $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



Şekil 4.6: N,N-didodesilbenzamin sentezi

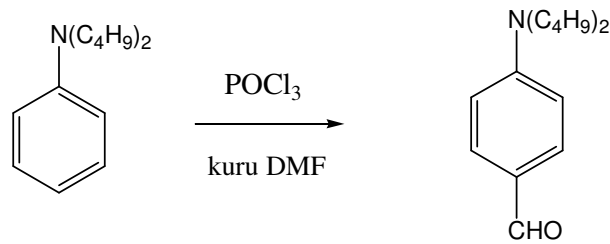
Sentezi bölüm 3.3.3’ de anlatılan ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.7) azota bağlı karbondaki protonlar için 3.20 ppm’de (triplet), en uçtaki protonlar için

yaklaşık 0.9 ppm'de triplet ve aradaki protonlar için yaklaşık 1.7 ve 1.3 ppm'de multiplerler görülmektedir. Aromatik halkada H_A, H_C protonları 6.63 ppm de multipler, H_B protonları da 7.12 ppm de triplet pik vermektedir. Piklere ait integral alanları yapıdaki proton sayısını doğrulamaktadır.



Şekil 4.7: N,N-didodesilbenzamin ¹H-NMR spektrumu

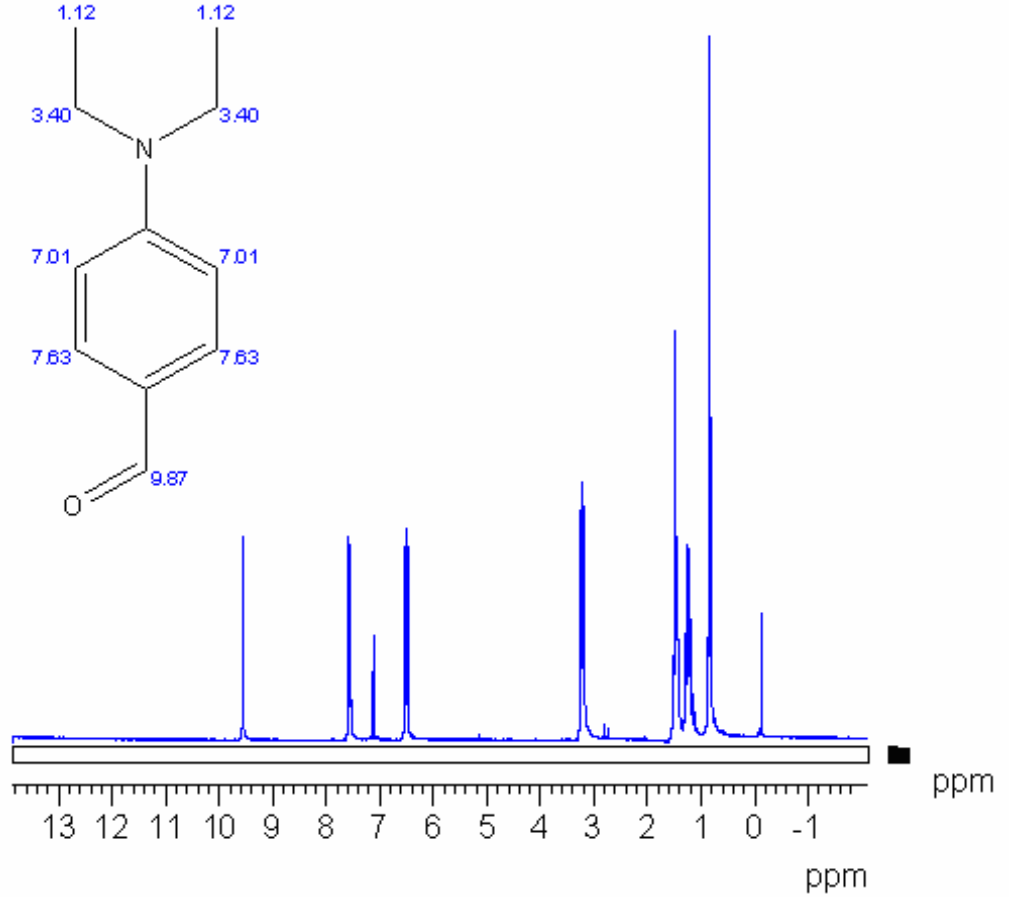
4.1.4 N,N- dibutilaminobenzaldehit için ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.8: N,N-dibutilaminobenzaldehit sentezi

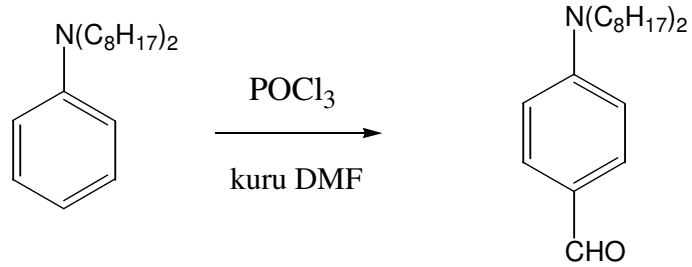
Sentezi bölüm 3.3.4' te anlatılan bileşiğin Şekil 4.8' daki beklenen spektrumunda da görüldüğü gibi 9.67 ppm de (s, 1H), 7.7 ppm de (d, J=8.5 Hz, 2H), 6,6 ppm de (d, J=8.9 Hz, 2H) 3.35 ppm de (t, J= 7.6 Hz, 4H) çıkmıştır. Azota bağlı CH₂'deki

protonlar N'dan dolayı düşük alana kayıp, 3.35 ppm de çıkmışlardır. Karbonile bağlı H ise, O'den dolayı oldukça düşük alana kayıp 9.67 ppm'de pik vermiştir.



Şekil 4.9: N,N-dibutilaminobenzaldehit için ¹H-NMR spektrumu

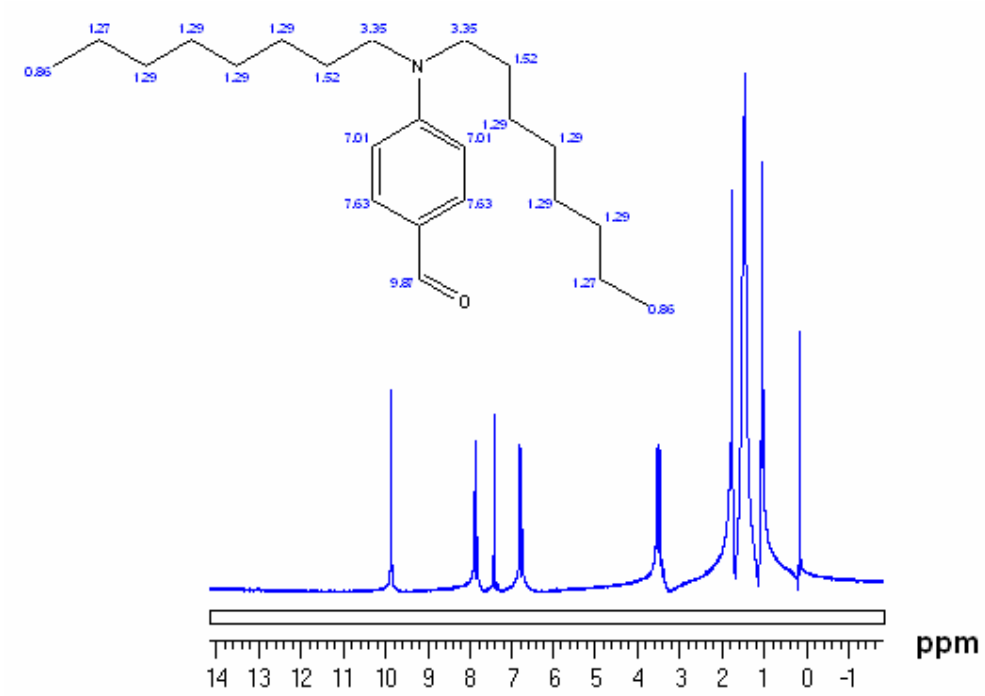
4.1.5 N,N-dioktilaminobenzaldehit için ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 4.10: N,N-dioktilaminobenzaldehit sentezi

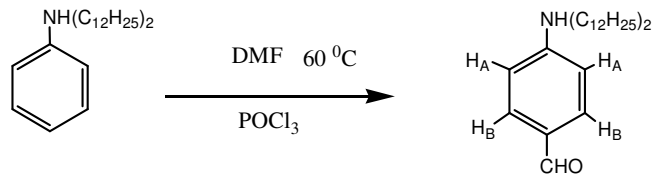
Şekil 4.10'de gösterilen dioktil aminobenzaldehit eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.5'de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait ¹H-NMR spektrumunda (Şekil

4.11), 9.68ppm’de karbonile komşu protona ait bir singlet, 7.65ppm ve 6.62 ppm’de aromatik halkaya ait protonların dubletleri (4H), 7.2ppm’de CDCl₃ piki, 3.28 ppm’de ise azota bağlı protona ait bir triplet görülmektedir. 1.57 , 1.28 ve 0.87ppm’ de zincir protonları multipler olarak sırasıyla 4, 20 ve 6 H e eşdeğer integral alanlarıyla gözlenmiştir.



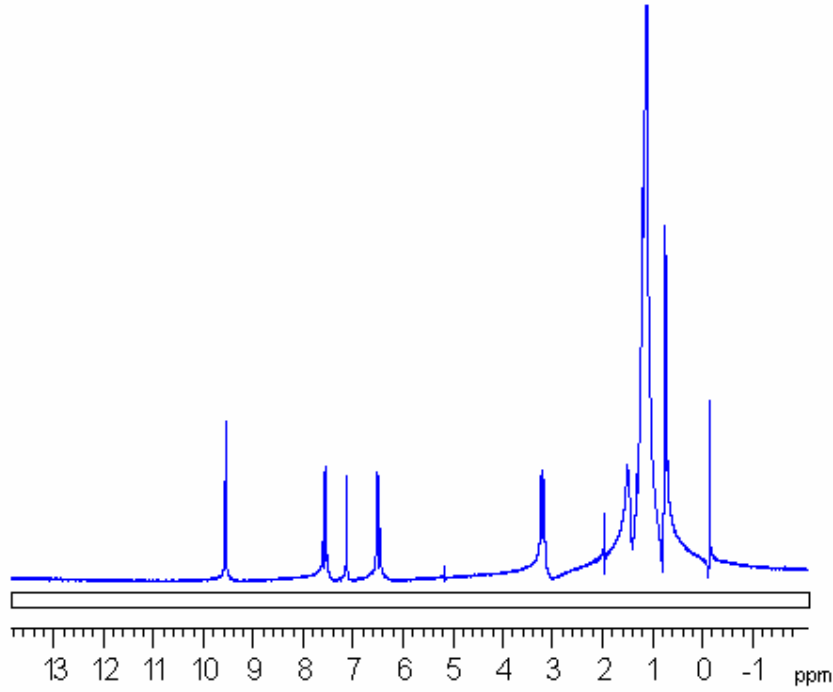
Şekil 4.11: N,N-dioktilaminobenzaldehite ait ¹H-NMR spektrumu

4.1.6 N,N-didodesilaminobenzaldehit için ¹H-NMR spektrumu



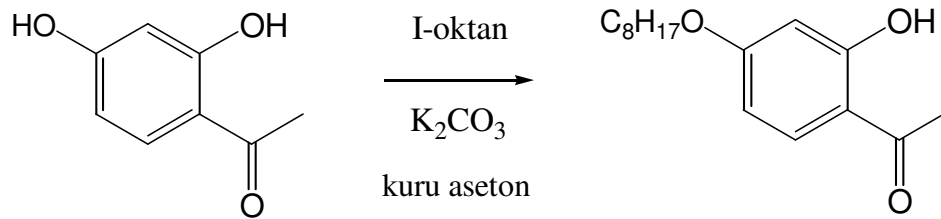
Şekil 4.12: N,N-didodesilaminobenzaldehit sentezi

Bölüm 3.3.6' da verilen yönteme göre sentezlenmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.13) azota bağlı karbondaki protonlar için 3.3 ppm'de (triplet), en uçtaki protonlar için yaklaşık 0.9 ppm'de triplet ve aradaki protonlar için yaklaşık 1.3 ppm'de multiplerler görülmektedir. H_A protonları 6.59 ppm de dublet ($J_{\text{AB}} = 8.2 \text{ Hz}$), H_B protonları 7.6 ppm'de dublet ($J_{\text{BA}} = 8.2\text{Hz}$) vermektedir. Aldehid $-\text{CHO}$ protonuna ait pik 9.75 ppm'de (singlet) görülmektedir. Piklere ait integral alanları yapıdaki proton sayısını doğrulamaktadır.



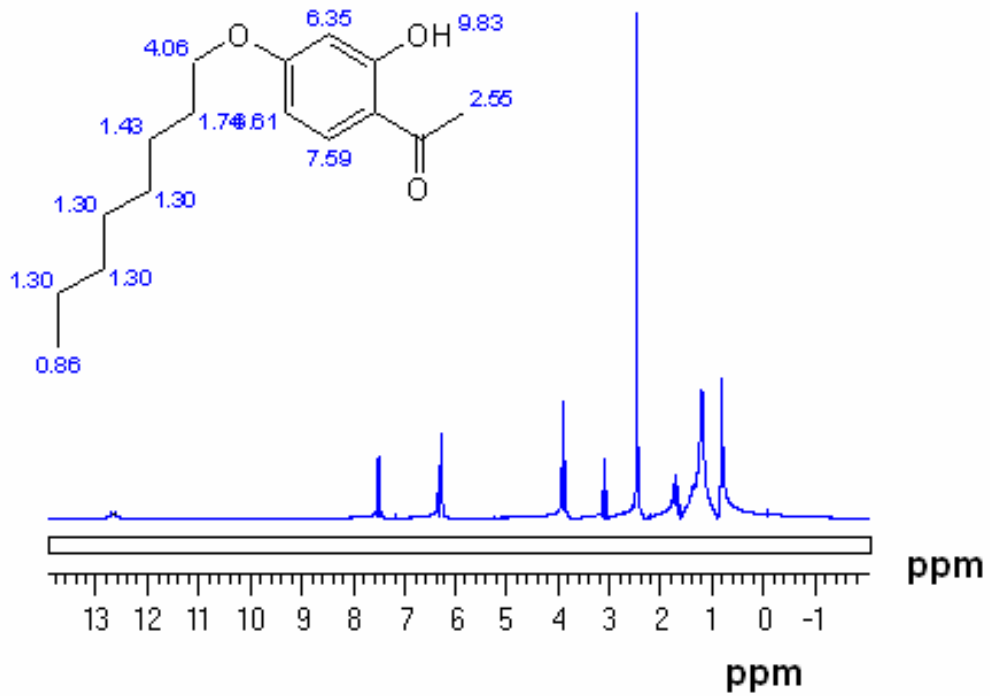
Şekil 4.13: N,N-didodesilaminobenzaldehit $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

4.1.7 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon için $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



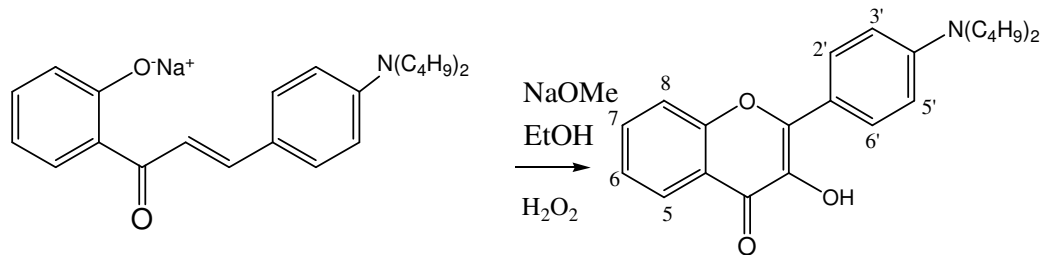
Şekil 4.14: 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon sentezi

Şekil 4.14’de gösterilen 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenon eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.7’de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu yapıyı doğrulamaktadır(Şekil 4.15). Aromatik halkaya ait protonlar, 7.6 ppm’de dublet (1H), 6.5 ppm’de dd (1H)ve 6.4 ppm’de singlet (1H)görülür. $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}$ grubuna ait, oksijene bağlı metilen protonları 4.0 ppm’de triplet (2H) halde görülmektedir. 2.53 ppm’deki 3H lik singlet keton metiline aittir. Ayrıca 1.4 ppm’deki multipler ile 0.9 ppm’deki triplet zincir protonlarına aittir. Piklere ait integral alanları yapıdaki proton sayısını desteklemektedir.



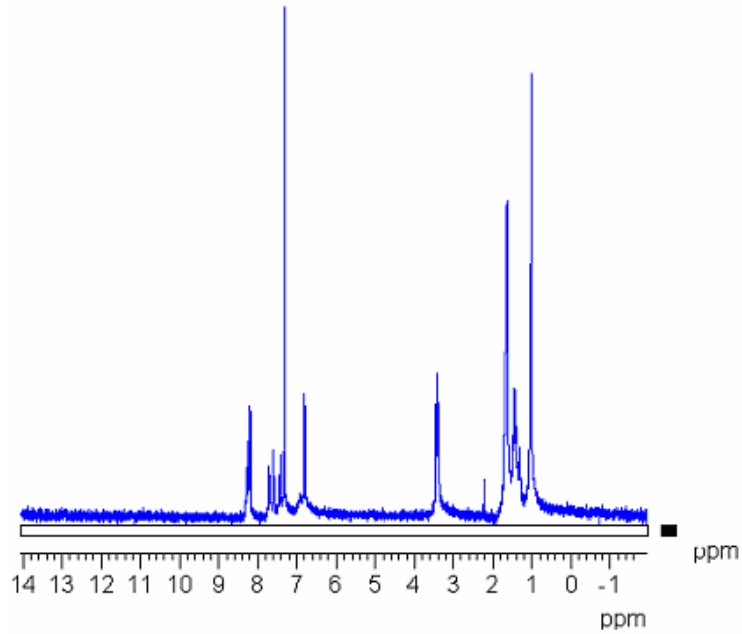
Şekil 4.15: 2-hidroksi-4-oktiloksiasetofenona ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

4.1.8 FN4 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



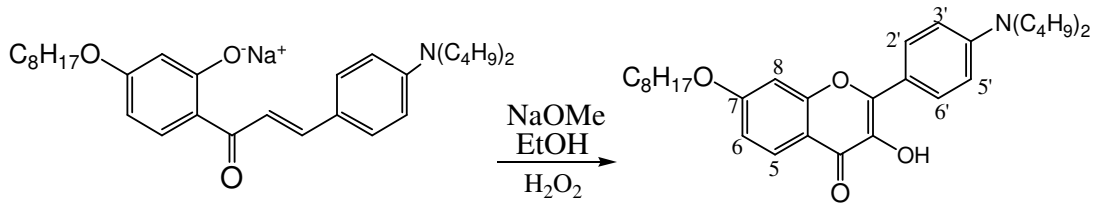
Şekil 4.16: FN4 eldesi

Şekil 4.16'da gösterilen FN4 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.9'da anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.17). 8.21ppm' de 5 protonuna ait bir dublet (1H), 8.15ppm'de 6' ve 2' protonlarına ait bir dublet (2H), 7.63ppm'de 7 no' lu protona ait multipllet (1H) görülmektedir. 7.53 ppm'de 6no' lu protona ait doublet (1H), 7.38ppm'de 8 no'lu protona ait multipllet (1H) ve 6.72ppm'de 3' ve 5' no'lu protonlara ait doublet (2H) görülmektedir. 3.34 ppm' de azota bağlı zincirin ilk karbonundaki hidrojenlerin triplleti (4H), devamında da yine zincire ait hidrojenlerin 1.6 ppm' de multipllet (4H), 1.35ppm'de multipllet (4H) ve 0.96 ppm' de tripllet (6H) verdikleri görülmektedir.



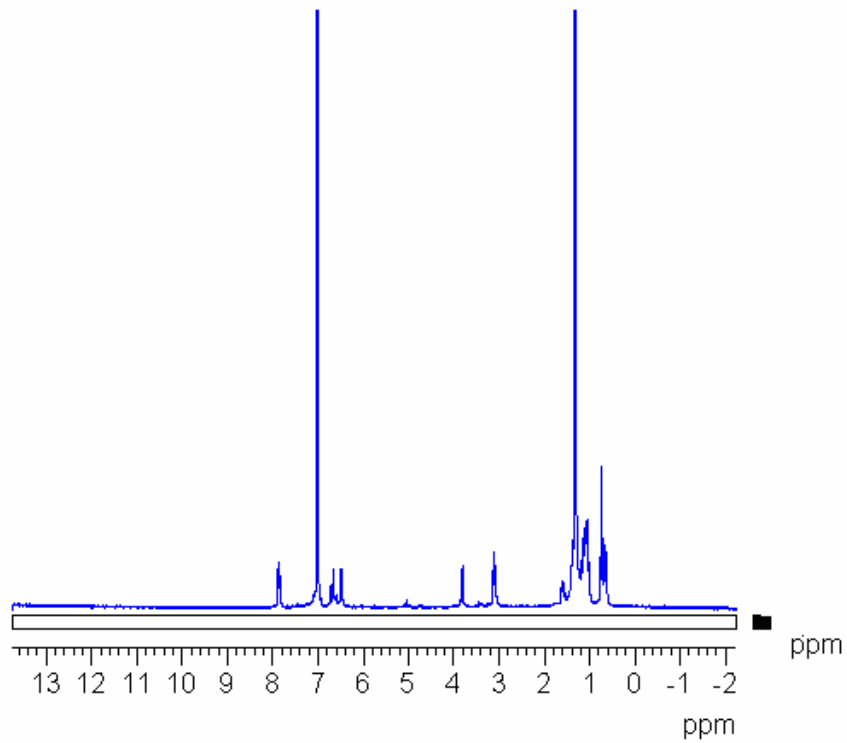
Şekil 4.17: FN4'ün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

4.1.9 OFN4 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



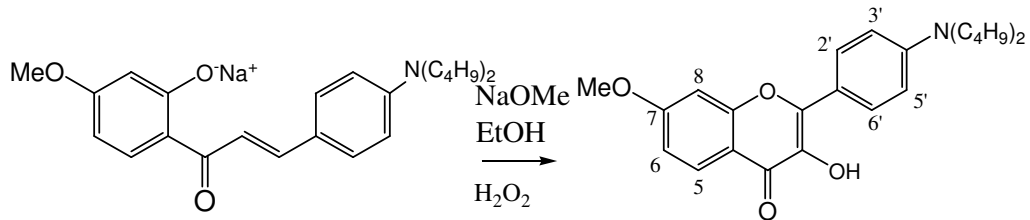
Şekil 4.18: OFN4 eldesi

Şekil 4.18’de şematize edilen OFN4 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.15’ de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.19). 8.05ppm 2’ ve 6’ protonlarına ait dublet, 8.13 ppm’de 5 numaralı protona ait bir dublet görülmektedir. 6.9 ppm’ deki multiplet 6 ve 8 numaralı protonlara aittir, 6.73 ppm’ de ise 3’ ve 5’ protonlarının dubleti görülmektedir (2H). 4.02 ppm’de $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}$ grubunda oksijene bağlı protonun tripleti (2H), 3.30ppm’de ise azota komşu protona ait triplet bulunmaktadır (4H).



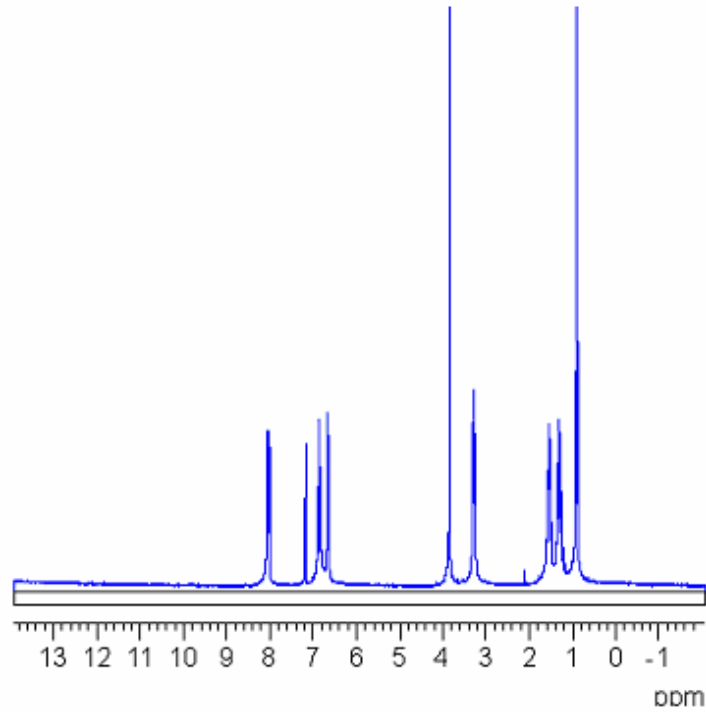
Şekil 4.19: OFN4’ün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

4.1.10 MFN4 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



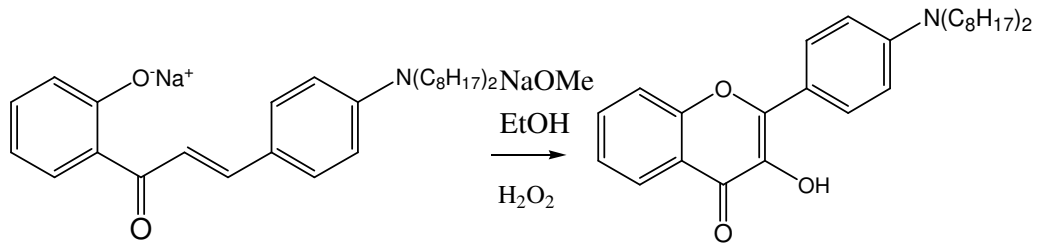
Şekil 4.20: MFN4 eldesi

Şekil 4.20’de gösterilen MFN4 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.12’de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır(Şekil 4.21). 8.09ppm’de 2’ ve 6’ protonlarının dubleti, 8.10ppm’de 6 no’lu protonun dubleti, 6.94ppm’de 5 ve 8 numaralı protonların multiyeti (2H), 6.72ppm’de 3’ ve 5’ protonlarının dubleti (2H) görülmektedir. 3.33ppm’de CH_3O grubundaki protonların singleti (3H), 3.9’de azota bağlı protonların tripleti görülmektedir.



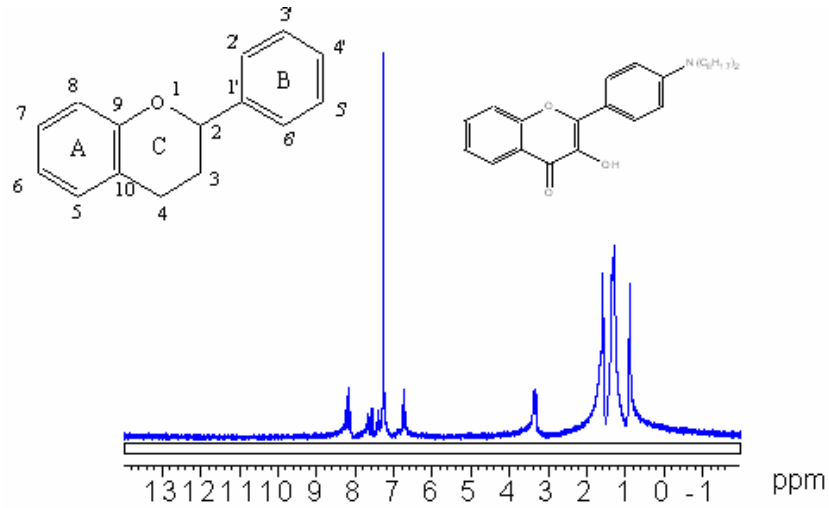
Şekil 4.21: MFN4 için $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu

4.1.11 FN8 için $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu

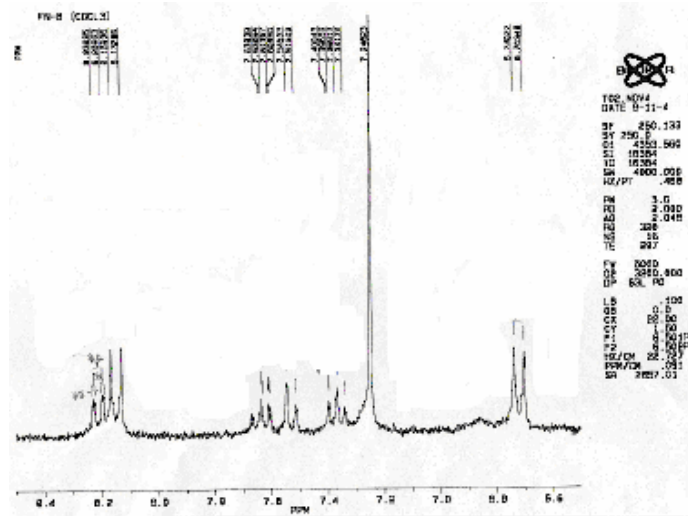


Şekil 4.22: FN8 sentezi

Şekil 4.22’de gösterilen FN8 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.10’da anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.23 ve Şekil 4.24). 8.22ppm’de 5 protonuna ait bir dublet (1H), 8.15ppm’de 6’ ve 2’ protonlarına ait bir dublet (2H), 7.64ppm’de 7 no’ lu protona ait multiyet (1H) görülmektedir. 7.52 ppm’de 6no’ lu protona ait doublet (1H), 7.36ppm’de 8 no’lu protona ait multiyet (1H) ve 6.73ppm’de 3’ ve 5’ no’lu protonlara ait doublet (2H) görülmektedir. 3.33 ppm’ de azota bağlı zincirin ilk karbonundaki hidrojenlerin tripleti (4H), devamında da yine zincire ait hidrojenlerin 1.56 ppm’ de multiyet (4H), 1.32ppm’de multiyet (20H) ve 0.87 ppm’ de tripleti (6H) verdikleri görülmektedir.

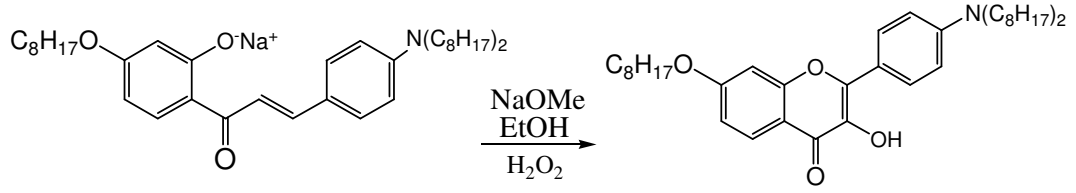


Şekil 4.23: FN8’e ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



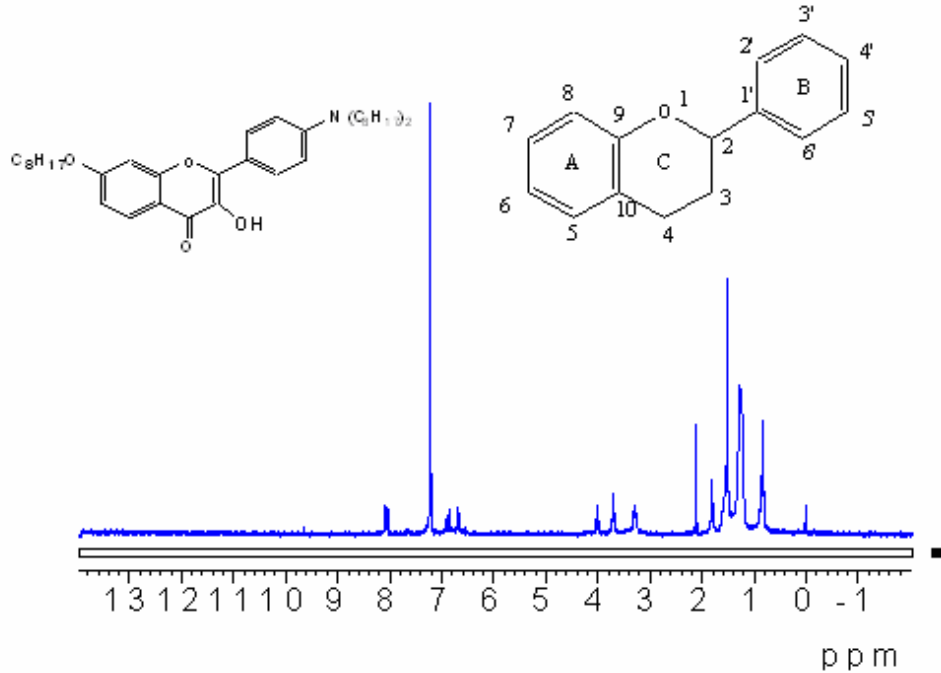
Şekil 4.24: FN8’e ait $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu(8.4-6.6ppm)

4.1.12 OFN8 için ¹H-NMR Spektrumu

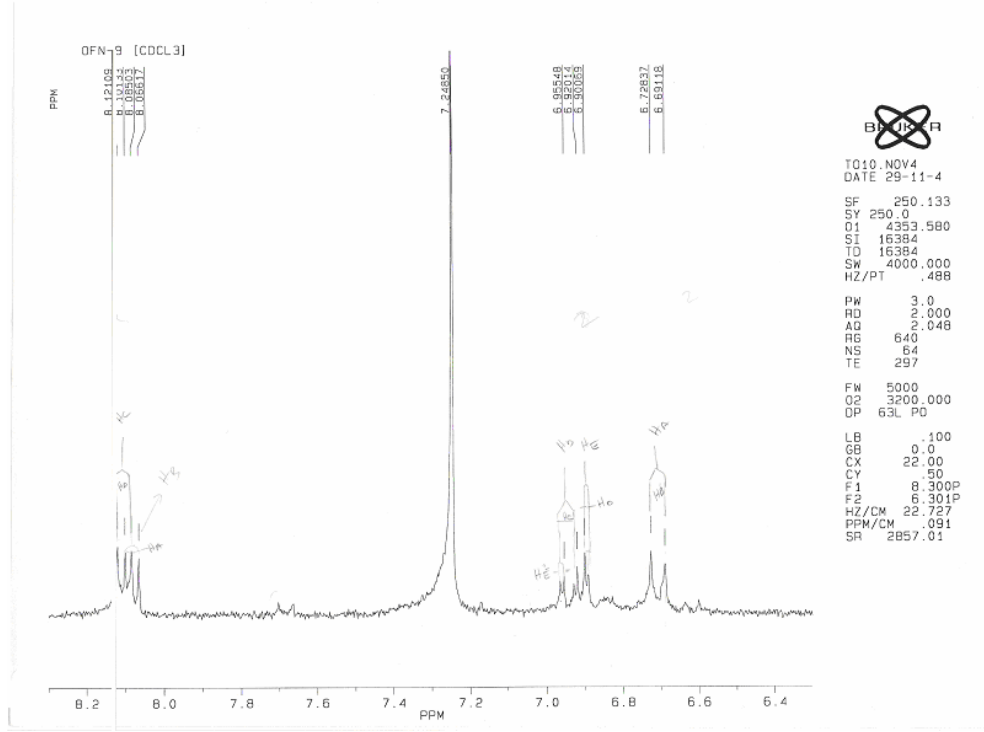


Şekil 4.25: OFN8 için özet sentez reaksiyonu

Şekil 4.25'te gösterilen OFN8 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.16' da anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait ¹H-NMR spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.26 ve Şekil 4.27). 8.08ppm 2' ve 6' protonlarına ait dublet, 8.1 ppm'de 5 numaralı protona ait bir dublet görülmektedir. 6.92 ppm' daki dublet 6 ve 8 numaralı protonlara aittir, 6.7 ppm' de ise 3' ve 5' protonlarının dubleti görülmektedir (2H). 4.04 ppm'de C₈H₁₇O grubunda oksijene bağlı protonun tripleti (2H), 3.35ppm'de ise azota komşu protona ait triplet bulunmaktadır (4H).

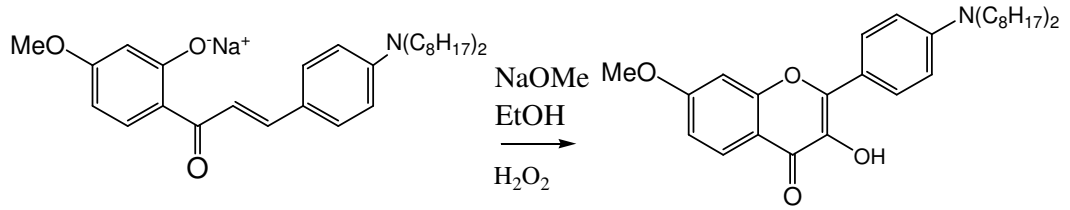


Şekil 4.26: OFN8'e ait ¹H-NMR spektrumu



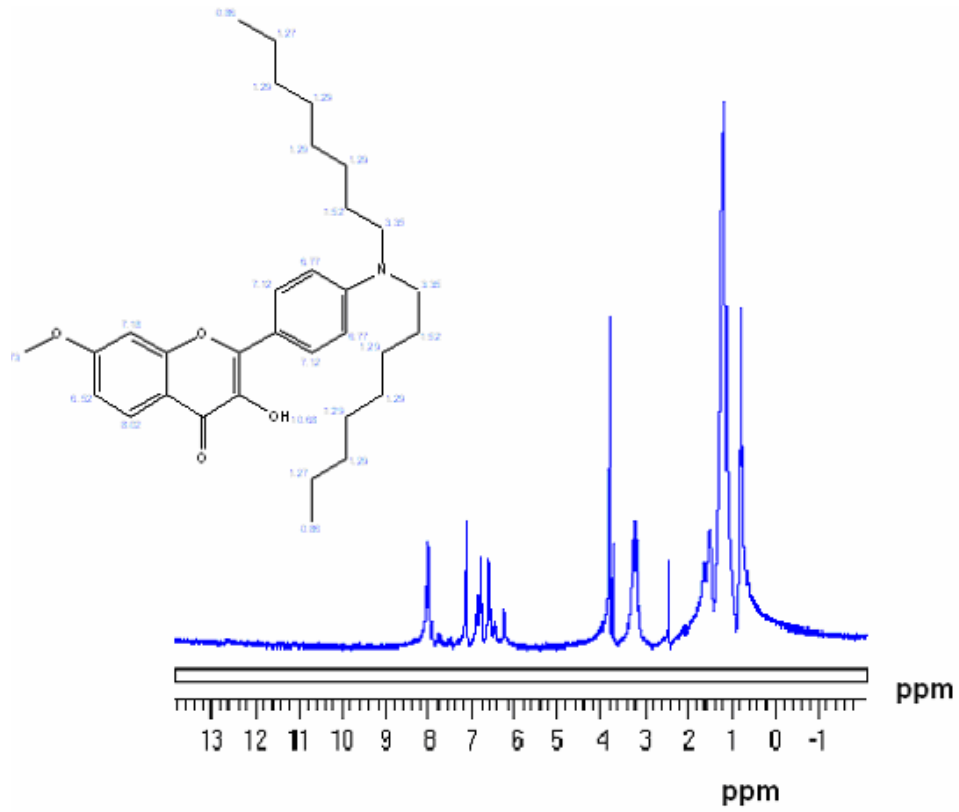
Şekil 4.27: OFN8'e ait ¹H-NMR spektrumu(8.2-6.4ppm)

4.1.13 MFN8 için ¹H-NMR Spektrumu

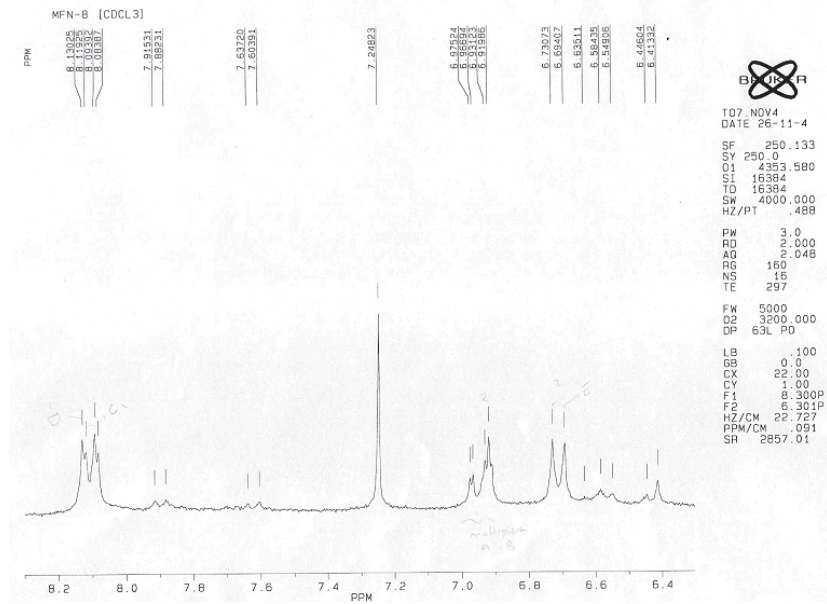


Şekil 4.28: MFN8 eldesi

Şekil 4.28'de gösterilen MFN8 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.13'de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait ¹H-NMR spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.29 ve Şekil 4.30). 8.09ppm'de 2' ve 6' protonlarının dubleti, 8.12ppm'de 6 no'lu protonun dubleti, 6.93ppm'de 5 ve 8 numaralı protonların dubleti(2H), 6.42ppm'de 3' ve 5' protonlarının dubleti (2H) görülmektedir. 3.1ppm'de CH₃O grubundaki protonların singleti (3H), 3.32'de azota bağlı protonların tripleti görülmektedir.

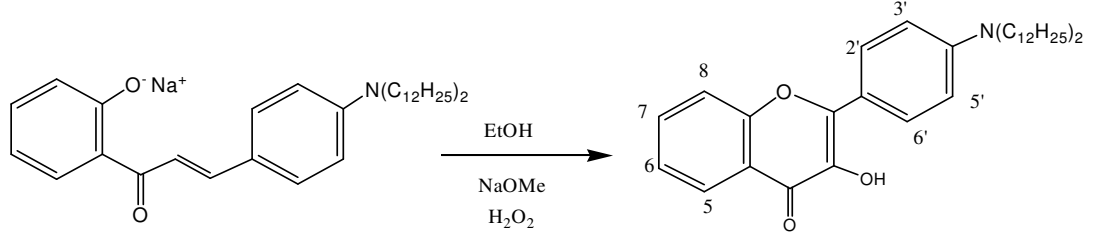


Şekil 4.29: MFN8'e ait ¹H-NMR spektrumu



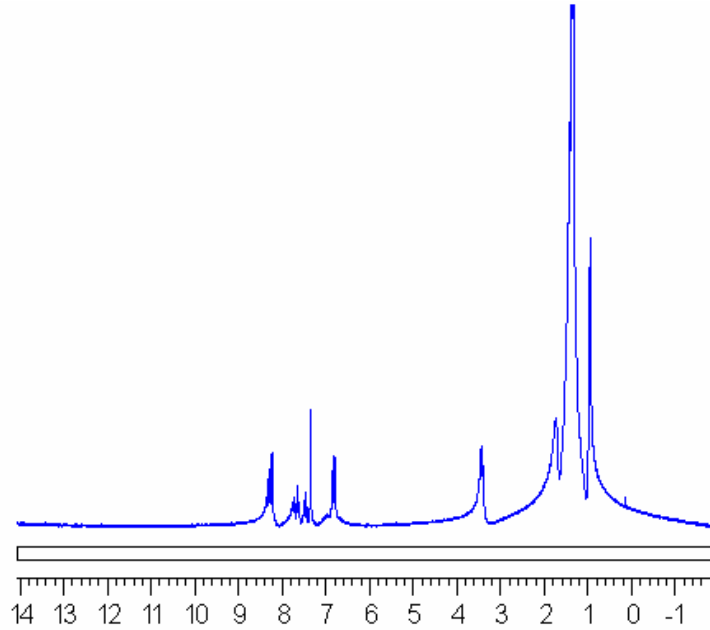
Şekil 4.30: MFN8'e ait ¹H-NMR spektrumu (8.2-6.4 ppm)

4.1.14 FN12 için ¹H-NMR spektrumu



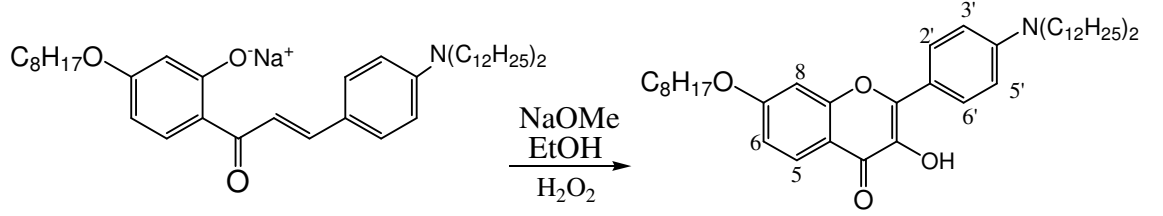
Şekil 4.31: FN12 eldesi

Şekil 4.31’de şematize edilen FN12 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.11’de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait ¹H-NMR spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.32). 8.1ppm’ de 5 protonuna ait bir dublet (1H), 8.12ppm’de 6’ ve 2’ protonlarına ait bir dublet (2H), 7.59ppm’de 7 no’ lu protona ait multiplet (1H) görülmektedir. 7.5 ppm’de 6no’ lu protona ait doublet (1H), 7.32ppm’de 8 no’lu protona ait multiplet (1H) ve 6.68ppm’de 3’ ve 5’ no’lu protonlara ait doublet (2H) görülmektedir. 3.35 ppm’ de azota bağlı zincirin ilk karbonundaki hidrojenlerin tripleti (4H), devamında da yine zincire ait hidrojenlerin 1.58 ppm’ de multiplet (4H), 1.30ppm’de multiplet (36H) ve 0.83 ppm’ de triplet (6H) verdikleri görülmektedir.



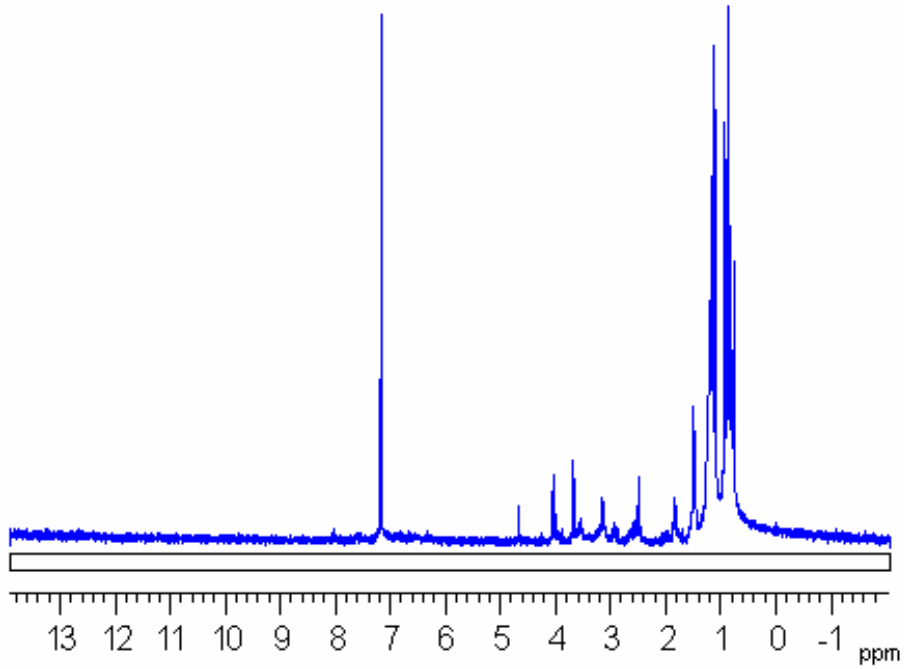
Şekil 4.32: FN12 ait ¹H-NMR spektrumu

4.1.15 OFN12 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



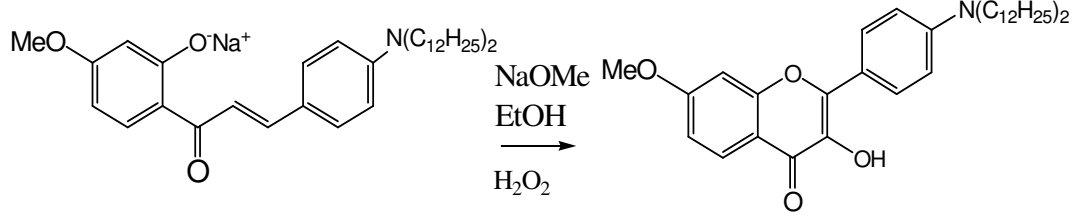
Şekil 4.33: OFN12 için özet sentez reaksiyonu

Şekil 4.33'da gösterilen OFN12 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.17' de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.34). 8.0ppm 2' ve 6' protonlarına ait dublet, 8.09 ppm'de 5 numaralı protona ait bir dublet görülmektedir. 6.89 ppm'daki multipllet 6 ve 8 numaralı protonlara aittir, 6.68 ppm'de ise 3' ve 5' protonlarının dubleti görülmektedir (2H). 3.98 ppm'de $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}$ grubunda oksijene bağlı protonun tripleti (2H), 3.31ppm'de ise azota komşu protona ait triplet bulunmaktadır (4H).



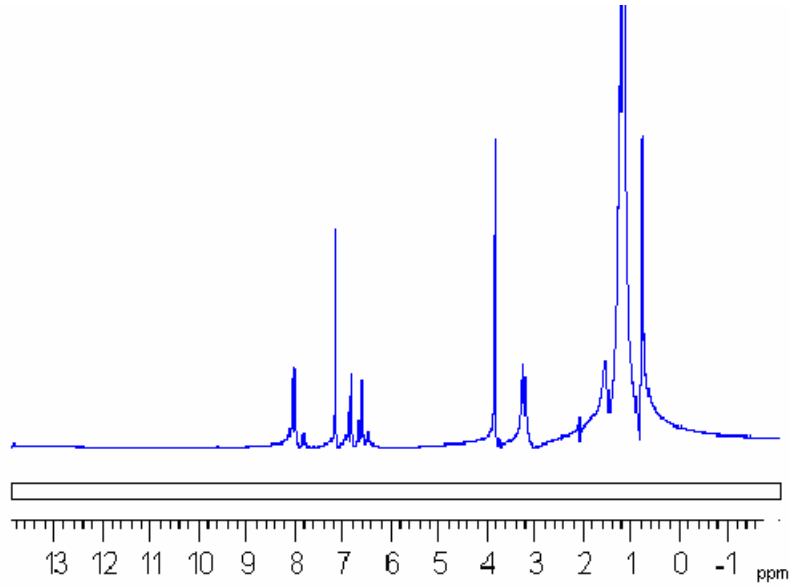
Şekil 4.34: OFN12 ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

4.1.16 MFN12 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



Şekil 4.35: MFN12 eldesi

Şekil 4.35'te gösterilen MFN12 eldesi reaksiyonu, bölüm 3.3.14'de anlatılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ve bu spektrumda piklere ait integral alanları yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 4.36). 8.08ppm'de 2' ve 6' protonlarının dubleti, 8.11ppm'de 6 no'lu protonun dubleti, 6.91ppm'de 5 ve 8 numaralı protonların multipleti (2H), 6.89ppm'de 3' ve 5' protonlarının dubleti (2H) görülmektedir. 3.30 ppm'de CH₃O grubundaki protonların singleti (3H), 4.01'de azota bağlı protonların tripleti görülmektedir.



Şekil 4.36: MFN12'ye ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

4.2 Misellerle Yapılan Floresans Çalışmaları

Miseller yüzeyaktif maddelerin kendi aralarında düzenlenerek oluşturduğu yapılardır. Sulu çözeltide polar kısım dış yüzeyi, hidrokarbon zincirleri ise hidrofobik iç çekirdeği meydana getirir. Birçok endüstriyel kullanımı dışında

miseller biyomembran modeli olarak da kullanılabilir. Misellerin ve biyomembranların hidrofobik çekirdekleriyle etkileşime girebilecek ve polariteye hassas 2 band verebilen problemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple, sentezlenen boyaların, nötral TritonX-100 ve katyonik CTAB yüzeyaktif maddelerinin oluşturduğu misellerle etkileşiminin incelendiği bir seri deneyler gerçekleştirilmiştir.

4.2.1 Triton X-100 ile oluşturulan misellerle yapılan ölçüm sonuçları

Tüm boyalar, Triton X-100 ile oluşturulan misellerle iyi etkileşime girmişlerdir. Suda yaklaşık sıfır olan floresans şiddeti, belli değerlere yükselmiş ve yüzeyaktif maddenin kritik misel konsantrasyonuna (CMC) uygun konsantrasyonda maksimum şiddet gözlenmiştir.

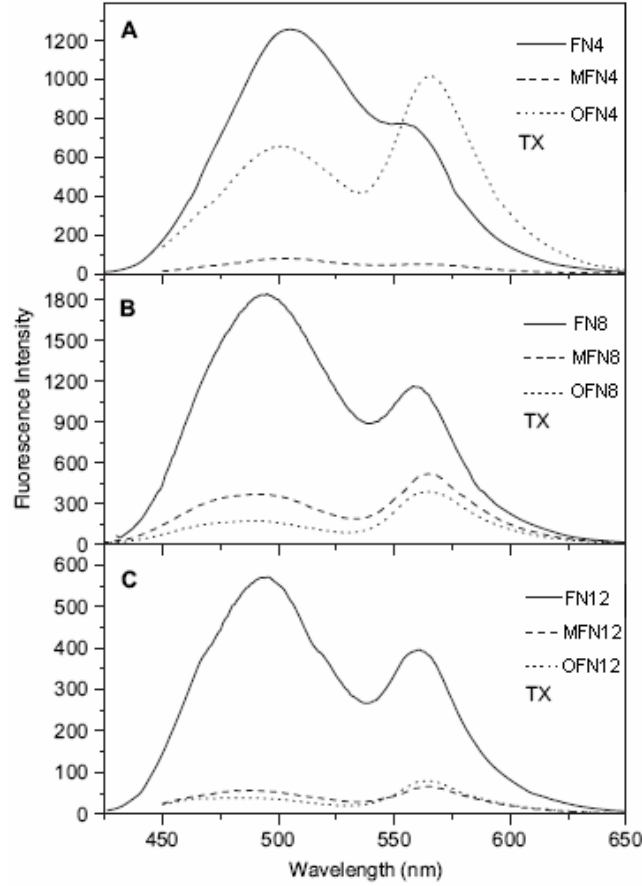
FN4-8-12 serisi N* ve T* bandlarının şiddet oranları birbirinden değişik olan ve en yüksek floresans şiddetini gösteren pikler vermişlerdir. Zincir uzunluğu arttıkça N*/T* oranı önemli şekilde azalmakta ve pikler daha kısa dalga boyuna kaymaktadır. Bu florofor çevresinin değiştiğinin önemli bir belirtisidir. Diğer bir deyişle, zincir boyunun uzaması ile miselin içinde daha polar ve hidrate kısımdan, hidrofobik kısma doğru geçiş olmaktadır.

MFN ve OFN serileriyle yapılan ölçümlerde oldukça değişik sonuçlar elde edilmiştir. MFN4' te yaklaşık aynı şiddette iki pik gözlenirken, OFN4' te T* bandı oldukça yüksektir. (Şekil 4.37) Bu bize boyanın düşük polarite yerleşimini işaret eder. Bunlara ek olarak, OFN4 dışında, bu boyalar azalan bir bağıl şiddet göstermektedir. Bunun nedeninin boyaların bazı kısımlarının miselde agregasyona uğraması ya da quenching (sönüm) etkisi olduğu düşünülmüştür.

4.2.2 CTAB ile oluşturulan misellerle yapılan ölçüm sonuçları

FN serisi ile yapılan ölçümlerde daha uzun dalga boyuna kaymış ve sadece bağıl olarak şiddetli N* bandı gözlenmiştir. Yani, bağıl zincirin uzunluğuna bakılmaksızın, florofor polar misel yüzeyinde kalmış ve hidrate olmuştur (4-pozisyonundaki karbonil grubu su ile hidrojen bağı yapmıştır).

MFN ve OFN serilerine baktığımızda MFN8 haricinde bağıl floresans şiddetlerinin oldukça düşük olduğu ya da MFN12 ve OFN12' de görüldüğü gibi önemli şekilde quenching (sönüm) etkisi olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.38). Burada meydana gelen quenching etkisinin, önemli bir quench edici olarak bilinen ve yüzeyaktif maddeden gelen brom iyonundan kaynaklandığı belirtilmelidir.



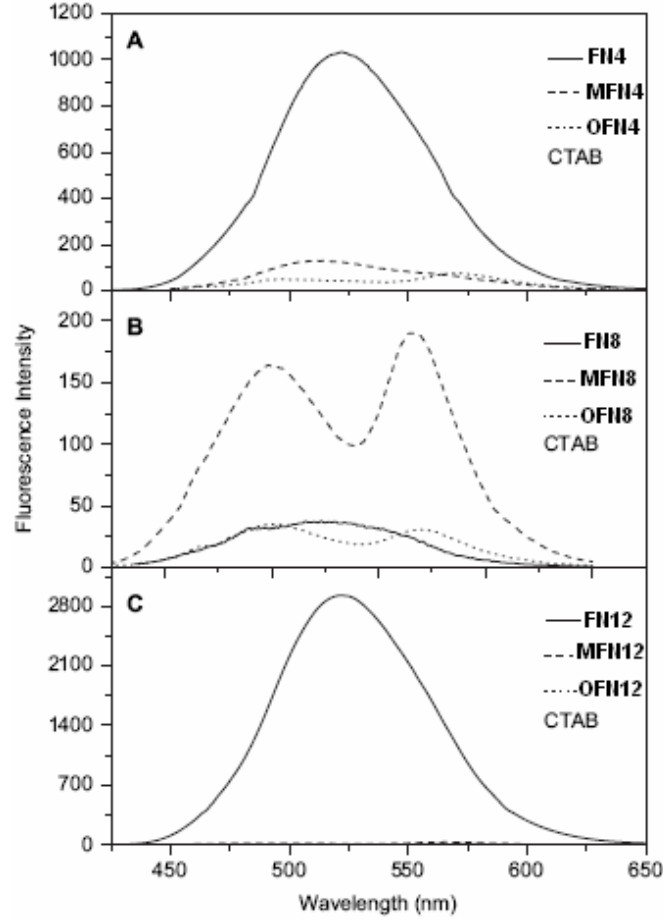
Şekil 4.37: Su içinde oluşturulmuş Triton X-100 miseli ile prob etkileşimleri MFN8 de gözlenen iyi ayrılmış ve eşit şiddetteki iki floresan bandı, bize boyanın polar ve hidrate olmamış bir çevrede olduğunu göstermektedir.

Bandların enlerinin bağıl olarak az olması, bize problemlerin buldukları ortamda heterojenlik olmadığını gösterir. [1]

Misel çalışmalarının sonucuna görülmüştür ki, sentezlenen boyalarda, floresans veren grup (florofor ünitesi) aynı olmasına rağmen, spektroskopik özellikleri, miselde yerleştikleri bölgeye ve yönelimlerine göre değişiklik göstermektedir. MFN8 ve OFN4 problemleri, florofor ünitelerinin hidrofobik yerleşim yapma olasılığından dolayı, değişik misel ve çiftkatmanlı yapılar, ayrıca apolar arayüzler için en dikkat çekici olanlarıdır. Problemlerin düşük polariteye sahip bölgeye yerleşimleri aşağıdaki olgularla kanıtlanabilir:

- (i) Polariteye en hassas olan N^* bandının konumu düşük politedeki aprotik solventlerde buna uymaktadır.
- (ii) Boyaların hidrojen bağı yapmış olduklarına dair hiçbir kanıt yoktur. Hidrojen bağı olması durumunda spektrumda şiddetli şekilde uzun dalga boyuna kayma

görülmesi gerekirdi. Misel çekirdekleri, hidrojen bağı donörü olabilecek gruplar taşımamaktadır. Dolayısıyla bu bağların kurulabilmesi için beklenebilecek en uygun grup, hidrasyon suyudur. Sonuç olarak, proplar su molekülleriyle tamamiyle etkileşimden uzak haldedirler.



Şekil 4.38: Su içinde oluşturulmuş CTAB miseli ile prob etkileşimleri

(iii) Suda çözünebilen ve çarpışma ile güçlü bir quencher (sönüm gerçekleştirici) etkisi olan iyot ilavesi ile quenching (sönüm) etkisi gözlenmemiştir. Bu bulgu, özellikle CTAB miselleri için kanıtlayıcı olmuştur. Çünkü, polar arayapıda, I⁻ iyonları Br⁻ iyonları ile yer değiştirerek lokal konsantrasyonlarını yeteri kadar çok arttırabilmektedirler.

Elde ettiğimiz verilere göre, polariteye hassas boyanın, suda hazırlanmış miseldeki susuz hidrofobik çekirdeği ile başarıyla etkileşime girebilen ilk örneğidir. Daha önce çalışılmış, daha basit yapıları 3HF türevleri bu hedefe ulaşamamışlardır. Ayrıca, aminofitalen, kumarin ve aminofitalimid türevleri gibi, düşük polaritede çalışılmış

probların, miselde çekirdek ile arayüzey bölgeleri arasında dağılım gösterdikleri ve hidrasyon suyu ile önemli ölçüde hidrojen bağı yaptıkları bilinmektedir.

4.3 Sonuç

Sonuç olarak, floresans spektrumunda çevre polaritesine duyarlı iki band veren ve seçimli olarak düşük polarite yerleşimini tercih eden problar geliştirilmesi amacıyla, 3-hidroksiflavon türevleri sentezlenmiştir. Bu maddeler, benzerleriyle aynı ana spektroskopik özellikleri göstermekle birlikte, seçimli olarak düşük polariteye sahip çevrelerle etkileşime girmektedirler. Bu özellikleri, nötral ve katyonik misellerle yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Buna göre, hidrofobik süstitüentin konumu ve uzunluğu, saf solventlerle yapılan ölçümlerde bir değişikliğe neden olmazken, misellerle yapılan ölçümlerde, spektroskopik özelliklerin önemli şekilde değişmesine neden olmuştur.

Böylece, biyolojik sistemlerle daha iyi iletişime girebilen, biyolojik kirliliği belirleme özelliğine sahip olabilecek, seçici olarak hücrelere duyarlılığı artmış ve hücre hakkında daha fazla bilgi edinmeye olanak sağlayabilecek problar sentezlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] **Ozturk T., Klymchenko A.S., Capan A, Oncul S, Cikrikci S, Taskiran S, Tasan B, Kaynak F.B., Ozbey S, Demchenko A.P,** 2007, New 3-hydroxyflavone derivatives for probing hydrophobic sites in microheterogeneous systems, *Tetrahedron*, **63**,10290–10299
- [2] **Guliyev, V.B. ve Harmandar, M.,** 1999. Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık, İstanbul.
- [3] **Harborne, J. B. ve Mabry, T. J.,** 1982. The Flavonoids: Advances in Research, Chapman and Hall, London.
- [4] **Deschner, E.E., Ruperto J., Wong G., et al.,** 1991. Quercetin and Rutin as Inhibitors of Azoxymethanol-Induced Colonic Neoplasia, *Carcinogenesis*, **12** ,1193-1196.
- [5] **Verma, A.K., Johnson, J.A., Gould, M.N., et al.,** 1988. Inhibition of 7,12-Dimethylbenz(A)Anthracene-Induced and N-Nitrosomethylurea-Induced Rat Mammary-Cancer by Dietary Flavonol Quercetin, *Cancer Research*, **48**, 5754-5758.
- [6] **Bennet, M., Burke, A.J., ve O'Sullivan, W.I.,** *Tetrahedron* 52, 20, 7163-78, (1996).
- [7] **Saleh, N.A.M., Ei-Negoimy, s.I and Abou-Zaid, M.M.** (1987), *Phifochemisoy* 26, 3059.
- [8] **Sevil Öksüz,** İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Doktora Tezi, İstanbul, (1976).
- [9] **Bennek, E., Nurten, R., Tiryaki, D., Gökçe, S.,** *Biyofizik Ders Notlari*, Gelistirilmis 2. Baski. ISBN 975-404-502-X, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Yayin No: 188, Üniversite Yayin No:4097, (1997).
- [10] **Klymchenko, AS., Ozturk, T., Pivovarenko, V.G., Me1y,Y. ve Demchenko, AP.** *Chem. Biol.*, 9, 1199-1208, (2002).

- [11] **Tomimori, T., Miyaichi Y., Imoto, Y., Kizu, H. and Namba, T.** (1986b),
Chem. Pharm. Bull. **34**, 406.
- [12] **Hesse, M., Meier H., Zech B.:** Spektroskopische Methoden in der Organischen
Chemie, Germany, 1979.
- [13] **Rendell, D.**, 1987. Fluorescence and Phosphorescence, Published on behalf of
ACOL, Thames Polytechnic, London.
- [14] **Lakowicz, I.R.**, 1986. Principles of Fluorescence Spectroscopy, Plenum Press,
New York and London.
- [15] **Bauer, H.H., Christian, G.D., O'Reilly, J.E., Scheik, Ed. G.II**, 1978.
Instrumental Analysis, Allyn and Bacon, Inc. Boston.
- [16] **Ewing, G.W.**, 1985. Instrumental Methods of Chemical Analysis, 5 nd. Ed., Mc
Graw-Hill Book Comp., New York.
- [17] **Sytnik, A., ve Litvinyuk, L., Proe.** Natl. Acad. Sci. USA, 93, 12959-63,
(1996).
- [18] **Klymchenko, A.S, Demchenko, A.P.**, 2002. Electrochromic modulation of
excited-state intramolecular proton transfer: The new principle in
design of fluorescence sensors, *Journal Of The American Chemical
Society*, **124**, 12372-12379.
- [19] **Klymchenko, A.S., Öztürk, T., Pivovarenko, V.G., Mely, Y. ve Demchenko,
A.P.**, 2001, A 3-hydroxychromone with dramatically improved
fluorescence properties, *Tetrahedron Letters*, **42**, 7967-7970.
- [20] **Demchenko, A.P.**, 1994, New generation of Fluorescent probes exhibiting
charge transfer reactions, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, **2137**, 588-
599.
- [21] **Volovik, Z.N., Demchenko, A.P., Skursky S.I.**, 1994. Solvent Dependant
photophysics of nonsymmetric polymethine dyes as fluorescence
probes: Dual emission and inhomogeneous broadening, *Proc. SPIE-
Int. Soc. Opt. Eng.*, **2137**, 600-607.

- [22] **Smith, D. A. ve Banks, S. W.**, 1986, Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship, pp.113-124, Chapman and Hall. London.
- [23] **Sengupta, P. K.; Kasha, M.** Chem. Phys. Lett. 1979, 68, 382–385.
- [24] **Chou, P.; McMorrow, D.; Aartsma, T. J.; Kasha, M. J.** Phys. Chem. 1984, 88, 4596–4599
- [25] **Sytnik, A.; Gormin, D.; Kasha, M.** Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1994, 91, 11968–11972.
- [26] **Sarkar, M.; Ray, J. G.; Sengupta, P. K.** Spectrochim. Acta Part, A 1996, 52, 275–278.
- [27] **Dharia, J. R.; Johnson, K. F.; Schlenoff, J. B.** Macromolecules, 1994, 27, 5167–5172.
- [28] **Formosinho, J. S.; Arnaut, G. L. J.** Photochem. Photobiol., A:Chem. 1993, 75, 21–48.
- [29] (a) **Chou, P.-T.; Martinez, M. L.; Clements, J. H. J.** Phys. Chem. 1993, 97, 2618–2622;
- (b) **Swiney, T. C.; Kelley, F. D. J.** Chem. Phys. 1993, 99, 211–221;
- (c) **Ormson, S. M.; Brown, R. G.; Vollmer, F.; Rettig, W. J.** Photochem. Photobiol., A: Chem. 1994, 81, 65–72
- (d) **Klymchenko, A. S.; Ozturk, T.; Pivovarenko, V. G.; Demchenko, A. P.** Can. J. Chem. 2001, 79, 358–363;
- (e) **Klymchenko, A. S.; Ozturk, T.; Pivovarenko, V. G.; Demchenko, A. P.** Tetrahedron Lett. 2001, 42, 7967–7970;
- (f) **Klymchenko, A. S.; Ozturk, T.; Demchenko, A. P.** Tetrahedron Lett. 2002, 43, 7079–7082;
- (g) **Klymchenko, A. S.; Pivovarenko, V. G.; Ozturk, T.; Demchenko, A. P.** New J. Chem. 2003, 27, 1336–1343;
- (h) **Klymchenko, A. S.; Demchenko, A. P.** Phys. Chem. Chem. Phys. 2003, 5, 461–468.
- [30] **Roshal, A. D.; Grigorovich, A. V.; Doroshenko, A. O.; Pivovarenko, V. G.; Demchenko, A. P.** J. Phys. Chem. A 1998, 102, 5907–5914.

- [31] (a) **Pivovarenko, V. G.; Tuganova, A. V.; Klymchenko, A. S.; Demchenko, A. P.** Cell. Mol. Biol. Lett. 1997, 2, 355–364;
(b) **Klymchenko, A. S.; Demchenko, A. P.** Langmuir 2002, 18, 5637–5639.
- [32] (a) **Bondar, O. P.; Pivovarenko, V. G.; Rowe, E. S.** Biochem. Biophys. Acta 1998, 1369, 119–130;
(b) **Duportail, G.; Klymchenko, A. S.; Mely, Y.; Demchenko, A. P.** FEBS Lett. 2001, 508, 196–200;
(c) **Duportail, G.; Klymchenko, A. S.; Mely, Y.; Demchenko, A. P. J.** Fluorescence 2002, 12, 181–185.
- [34] (a) **Chattopadhyay, A.; London, E.** Biochemistry 1987, 26, 39–45;
(b) **Abrams, F. S.; London, E.** Biochemistry 1993, 32, 10826–10831.
- [35] **Klymchenko, A. S.; Duportail, G.; Ozturk, T.; Pivovarenko, V. G.** Chem. Biol. 2002, 9, 1199–1206.
- [36] **Banerjee, A.; Sengupta, P. K.** Chem. Phys. Lett. 2006, 424, 379–386.
- [37] **Barroso, M.; Chattopadhyay, N.; Klymchenko, A. S.; Demchenko, A. P.; Arnaut, L. G.; Formosinho, S. J. J.** Phys. Chem. A 2006, 110, 13419–13424.

ÖZGEÇMİŞ

Aslı Çapan, 1983 yılında İstanbul'da dünyaya geldi. Orta Öğrenimini Burak Bora Anadolu Lisesi Fransızca Bölümü'nde tamamladı. 2001 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Ed. Fak. Kimya Bölümü'ne girmeye hak kazandı. Bir sene İngilizce hazırlık sınıfını takip ettikten sonra, 2002 yılında ders almaya başladığı Kimya Bölümü'nden 2006 yılında mezun oldu. Halen 2006 yılında girdiği İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimyagerlik programında yüksek lisans eğitimini sürdürmektedir.

Yayınlar

1 - Ozturk T., Klymchenko A.S., Çapan A, Oncul S, Cikrikci S, Taskiran S, Tasan B, Kaynak F.B., Ozbey S, Demchenko A.P, **2007**, New 3-hydroxyflavone derivatives for probing hydrophobic sites in microheterogeneous systems, Tetrahedron, 63,10290–10299.