

**T.C.**

**AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PALADYUM (Pd) PROBU OLARAK KEMİLÜMİNESAN  
REAKTİFLERİN TASARIM, SENTEZ ve  
KARAKTERİZASYONU**

**Özge YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**KIRŞEHİR 2014**

**T.C.**

**AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PALADYUM (Pd) PROBU OLARAK KEMİLÜMİNESAN  
REAKTİFLERİN TASARIM, SENTEZ ve  
KARAKTERİZASYONU**

**Özge YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMANLAR**

**Yrd. Doç. Dr. Betül KARATAŞ**

**Prof. Dr. Engin U. AKKAYA**

**KIRŞEHİR 2014**

**Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne**

Bu çalışma jürimiz tarafından KİMYA Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan .....

Prof. Dr. Nadir DEMİREL

Üye.....

Prof. Dr. Engin U. AKKAYA

Üye.....

Doç. Dr. Gani KOZA

Üye.....

Yrd. Doç. Dr. Betül KARATAŞ

Üye.....

Yrd. Doç. Dr. N. Tuna SUBAŞI CANBAZ

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

.../.../20..

Doç. Dr. Mahmut YILMAZ

Enstitü Müdürü

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına atıf yapıldığını bildiririm.

Özge YILMAZ

**PALADYUM (Pd) PROBU OLARAK KEMİLÜMİNESAN  
REAKTİFLERİN TASARIM, SENTEZ ve KARAKTERİZASYONU**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Özge YILMAZ**

**Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Ekim 2014**

**ÖZET**

Son yıllarda, katalitik konvertörler veya çeşitli Pd-katalizli reaksiyonlardan arta kalan serbest paladyum iyonlarının farkedilmesiyle paladyum iyonlarının analizinde kullanılan optik problemlerin gelişimi büyük ölçüde ilgi görmeye başlamıştır. Çünkü arta kalan bu paladyum iyonları potansiyel sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Ek olarak, paladyum birçok klinik ilaç içeren kompleks moleküllerin sentezi için zor bağların oluşumuna neden olan Buchwald-Hartwig, Heck, Sonogashira ve Suzuki-Miyura gibi C-C çapraz bağlama reaksiyonlarında katalizör olarak kullanılmaktadır. Farmasötik endüstrisinde paladyum-katalizli reaksiyonların verimli bir şekilde kullanımı da ilaç aktif maddeleri için Pd-kontaminasyonları riskini daha da arttırmaktadır. Çünkü çok titiz saflaştırma işlemlerine rağmen elde edilen son üründe dahi yüksek düzeyde artık paladyum kalıntılarına rastlanmaktadır ve bu da insan vücuduna zarar verebilmektedir. Bu nedenlerden dolayı kemilüminesans (CL) bazlı problemlerin gelişimi oldukça önemlidir. Bu çalışmada paladyum katalizli iki farklı reaksiyon yoluyla beklenen lüminesans oluşumunu sağlayan, proparjil eter ve allil ester kısımları içeren iki farklı 1,2-Dioksetan türevinin dizaynı hedeflendi.

**Bilim Kodu:** Lüminesans, kemilüminesans (CL), 1,2-Dioksetan, paladyum (Pd), ışık emisyonu.

**Sayfa Adedi:** 74

**Tez Yöneticileri:** Yrd. Doç. Dr. Betül KARATAŞ

Prof. Dr. Engin U. AKKAYA

**THE DESIGN, SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF  
CHEMILUMINESCENT REAGENTS AS PALLADIUM (Pd) PROBE**

**(Master of Science Thesis)**

**Özge YILMAZ**

**Ahi Evran University, Institute of Science**

**October 2014**

**ABSTRACT**

In recent years, the development of optical probes to analyse palladium ions has attracted great attention since residual palladium ions may cause potential health hazards. In addition, palladium is also exploited as catalyst in many cross-coupling reactions such as Buchwald-Hartwig, Heck, Sonogashira and Suzuki-Miyura, leading to the formation of difficult bonds for the synthesis of complex molecules involving many clinical drugs. Fruitful use of Pd-catalysed reactions in pharmaceutical industry increases the risk of Pd-contamination in active pharmaceutical ingredients because a high level of residual palladium is often found in final products despite rigorous purification steps and thus, it can cause harm to human body. For these reasons, it is quite important for the development of probes based on chemiluminescence (CL). In this work, we wanted to design two different 1,2-Dioxetane derivatives by incorporating propargyl ether and allyl ester moieties which are expected to luminescence via two different palladium catalysed reactions.

**Science Code:** Luminescence, chemiluminescence (CL), 1,2-Dioxetane, palladium (Pd), light emission.

**Number of Pages:** 74

**Advisors of Thesis:** Assist. Prof. Dr. Betül KARATAŞ

Prof. Dr. Engin U. AKKAYA

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilimsel katkıları ile bana yol gösteren maddi manevi desteklerini esirgemeyen, bu çalışmayı bana vererek kendimi geliştirmeme imkan sağlayan, fikirlerinden ve tecrübelerinden yararlanırken göstermiş oldukları sabırlarından ve hoşgörülerinden dolayı değerli danışman hocalarım Prof. Dr. Engin U. Akkaya ve Yrd. Doç. Dr. Betül Karataş'a sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisansım boyunca her türlü bilgisinden faydalandığım yardımlarını esirgemeyen İlke Şimşek Turan'a özel olarak teşekkür ederim.

Laboratuvardaki çalışmalarım sırasında benden yardımlarını esirgemeyen değerli grup arkadaşlarım Sündüs Erbaş Çakmak, Özlem Seven, Fazlı Sözman, Dilek Taşgın, Safacan Kölemen, Tuğba Ö. Kütük, Bilal Uyar, Nisa Yeşilgül, Seylan Ayan, Deniz Yıldız, Hale Atılğan, Ceren Çamur, Cansu Kaya, Tuğçe Karataş, Darika Okeeva, Jose Luis Bila ve Melek Baydar'a teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan maddi ve manevi fedakarlıkları ile her zaman yanımda olan ve bana inanan destekleyen değerli aileme, yüksek lisansım boyunca özellikle desteğini, yardımlarını ve anlayışını esirgemeyen kardeşim Emel Yılmaz'a ve arkadaşı Fatma Balaban'a, dostluğu, sevgisi ve sonsuz desteği ile hep yanımda olan sevgili arkadaşlarım Merve Şenkal'a ve Nilgün Aksakal'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca deneysel çalışmalarımı gerçekleştirmeme imkan sağlayan UNAM (Ulusal Nanoteknoloji ve Araştırma Merkezi) ve Bilkent Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

Bu projeye finansal katkılarından dolayı Ahi Evran Üniversitesi'ne (BAP PYO-FEN.4003/2.13.008) çok teşekkür ederim.

Özge YILMAZ

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT .....	vi
TEŞEKKÜR .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	viii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	3
2.1. KEMİLÜMİNESANS.....	3
2.1.1.Tarihsel Gelişimi.....	3
2.2. GENEL İLKELER.....	5
2.3. KEMİLÜMİNESAN SİSTEMLER .....	14
2.3.1. Açıl Hidrazidler .....	14
2.3.2. Akridinyum Esterleri.....	16
2.3.3. Perokzalat Türevleri.....	18
2.3.4. Dioksetan Türevleri.....	21



2.4. POLAR ORGANİK ORTAMLARDA PALADYUM İYONU İÇİN KEMİLÜMİNOJEN PROBLAR .....	29
2.5. PALADYUM ALGILAMA.....	29
2.5.1. Paladyum İyonlarının Floresan Tayini.....	30
2.5.2. Kemilüminesan Proben Dizaynı .....	32
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>34</b>
3.1. GENEL .....	34
3.2. SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN YAPILIŞI ve ANALİZİ.....	35
3.2.1. Kemilüminesan Pd(0) Problarının Sentez Yolu.....	35
3.2.2. Bileşik 1'in Sentezi: .....	36
3.2.3. Bileşik 2'nin Sentezi: .....	37
3.2.4. Bileşik 3'ün Sentezi: .....	38
3.2.5. Bileşik 4'ün Sentezi: .....	39
3.2.6. Bileşik 5'in Sentezi: .....	40
3.2.7. Bileşik 6'nın Sentezi: .....	41
3.2.8. Bileşik 7'nin Sentezi: .....	42
3.2.9. Bileşik 8'in Sentezi: .....	43
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>44</b>

4.1. KEMİLÜMİNESAN PALADYUM PROBLARI İÇİN SENTETİK YAKLAŞIM .....	44
4.2. KEMİLÜMİNESAN PALADYUM PROBLARININ ÇALIŞMA PRENSİBİ .....	46
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>49</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>56</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>64</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>74</b>

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

- Şekil 1.** Kemilüminesan sensörün kısımları ve 1,2-Dioksetan oksidasyonu ..... 2
- Şekil 2.** Termolüminesans eğrisinin klasik bir gösterimi ..... 4
- Şekil 3.** En tipik fotofiziksel süreçlerle birlikte kemilüminesansın Jablonski Diyagramı'nda gösterimi [5]..... 6
- Şekil 4.** Dolaylı ve doğrudan CL'nin şematik gösterimi. (\*) uyarılmış ürünleri gösterir..... 10
- Şekil 5.** Uyarılmış bir hal durumunda kaybedilen enerji için gerekli muhtemel prosesler (1) doğrudan CL, (2) moleküllerin ayrılması; (3) diğer benzer türlerle olan kimyasal reaksiyonlar, (4) molekül-içi enerji transferi, (5) moleküller-arası enerji transferi (bir floroforun varlığı durumunda, dolaylı CL), (6) izomerizasyon, ve (7) fiziksel sönmüleme [5]..... 12
- Şekil 6.** Lüminolün reaksiyon mekanizmasının gösterimi..... 14
- Şekil 7.** Lüminol türevlerinin literatür örnekleri..... 16
- Şekil 8.** Akridinyum esterlerin kemilüminesansı için en olası mekanizma ve alternatif mekanizma yolları [1]. ..... 17
- Şekil 9.** PO-CL sistem için olası reaksiyon yolu ..... 19
- Şekil 10.** Okzalal türevlerinin en yaygın örnekleri ..... 20
- Şekil 11.** HPOX kemilüminesan miselleri ..... 21
- Şekil 12.** 1,2-Dioksetanların dihedral açısı ve gerilme enerjisinin gösterimi[33]. .... 22

<b>Şekil 13.</b> Tetrametildioksetanın termal ayrışmasıyla elektronikçe uyarılmış bir aseton üretiminin gösterimi [33]. .....	23
<b>Şekil 14.</b> Basit bir dioksetanın termal ayrışmasının gösterimi .....	23
<b>Şekil 15.</b> 1,2-Dioksetanın iki ayrışma mekanizması: (I) Diradikal mekanizması ve (II) CIEEL mekanizması. CIEEL mekanizması genellikle singlet uyarılmış hal ( $S_1$ ) ile sonuçlanırken, diradikal mekanizması daha çok triplet uyarılmış hal ( $T_1$ ) ile sonuçlanır [1]. .....	24
<b>Şekil 16.</b> 1,2-Dioksetanların CIEEL mekanizmasına göre ayrışması [39] .....	25
<b>Şekil 17.</b> Kemilüminojenik molekülün kısımlarının gösterimi .....	25
<b>Şekil 18.</b> Glow ve flash emisyonun zamana bağlı şiddetinin gösterimi .....	27
<b>Şekil 19.</b> 1,2-Dioksetanların kemilüminesan tayini için kullanımına literatür örnekleri .....	28
<b>Şekil 20.</b> Pd-katalizli depropajilasyon reaksiyonu [46] .....	32
<b>Şekil 21.</b> Deproparjilasyon reaksiyonu ile Pd iyonunun floresan tayini.....	32
<b>Şekil 22.</b> Kemilüminesan paladyum problemlerinin (bileşik 6 ve bileşik 8) sentez şeması.....	35
<b>Şekil 23.</b> Kemilüminesan paladyum problemlerinin (bileşik 6 ve bileşik 8) sentez şeması.....	45
<b>Şekil 24.</b> Pd(0) katalizli deproparjilasyon mekanizmasına göre önerilen kemilüminesan reaksiyonları .....	47
<b>Şekil 25.</b> Pd(0) katalizli Tsuji-Trost mekanizmasına göre önerilen kemilüminesan reaksiyonları.....	48

- Şekil 26.** Prob 1 (bileşik 6) ( $200\mu\text{M}$ )'in  $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de  $\text{PPh}_3$  ( $1\text{mM}$ ) içeren  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ - $\text{NaHCO}_3$  tampon ( $50\text{mM}$ , pH: 9.0) ile  $\text{DMSO-H}_2\text{O}$  ( $95:5$ , v/v) çözeltisi içerisinde  $\text{PdCl}_2$  konsantrasyonlarının ( $0.1$ ,  $0.2$ ,  $0.3$ ,  $0.4$ ,  $0.5$ ,  $0.6\text{ mM}$ ) artırılmasıyla elde edilen kemilüminesans spektrumu ..... 50
- Şekil 27.** Dioksetan 6 ( $200\mu\text{M}$ )'nın  $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de,  $\text{PdCl}_2$  ( $0.4\text{mM}$ ) içeren  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ - $\text{NaHCO}_3$  tampon ( $50\text{mM}$ , pH: 9.0) ile  $\text{DMSO-H}_2\text{O}$  ( $95:5$ , v/v) çözeltisi içerisinde  $\text{PPh}_3$ 'in farklı konsantrasyonları varlığında pH'a bağlı deallilasyonunun kemilüminesans spektrumu..... 51
- Şekil 28.** Prob 1 (bileşik 6) ( $200\mu\text{M}$ )'in  $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de  $\text{PPh}_3$  ( $1\text{mM}$ ) ve  $\text{PdCl}_2$  ( $0.4\text{mM}$ ) içeren çözeltisinin  $\text{DMSO}$  içerisindeki farklı tampon yüzdelerinde ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ - $\text{NaHCO}_3$  tamponu,  $50\text{mM}$ , pH: 9.0) kemilüminesans spektrumu..... 52
- Şekil 29.** Dioksetan 6 ( $200\mu\text{M}$ )'nın  $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de  $\text{DMSO-H}_2\text{O}$  ( $95:5$ , v/v) ile Kpi (pH: 7.0-8.0 için  $50\text{mM}$ ) tamponu ve  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ - $\text{NaHCO}_3$  (pH: 9.0-10.8 için  $50\text{mM}$ ) tamponları içerisinde,  $\text{PdCl}_2$  ( $0.4\text{mM}$ ) ve  $\text{PPh}_3$  ( $1\text{mM}$ ) varlığında pH'a bağlı deallilasyonunun kemilüminesans spektrumu..... 52
- Şekil 30.** Çeşitli Pd türlerine ve oksitlenme koşullarına karşı prob 1 (bileşik 6) ( $200\mu\text{M}$ )'in kemilüminojenik tepkisi, A= $\text{PdCl}_2$ , B= $\text{Na}_2\text{PdCl}_4$ , C= $\text{Na}_2\text{PdCl}_6$ , D= $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ , E= $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  ..... 53
- Şekil 31.**  $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de  $\text{PPh}_3$  ( $1\text{mM}$ ) içeren,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ - $\text{NaHCO}_3$  tamponu ( $50\text{mM}$ , pH: 9.0) ile  $\text{DMSO-H}_2\text{O}$  ( $95:5$ , v/v) çözeltisi içerisinde farklı metal iyonlarının dioksetan 6 ( $200\mu\text{M}$ )'ya eklenmesiyle elde edilen kemilüminesans spektrumu. (Metal iyonları peroksalat tuzları halinde kullanılmıştır.) ..... 54

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
<b>g</b>	Gram
<b>mg</b>	Miligram
<b>mmol</b>	Milimol
<b>mL</b>	Mililitre
<b>ppm</b>	Milyonda parça

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	Proton Nükleer Manyetik Rezonans
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
<b>FT-IR</b>	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
<b>IR</b>	Kızılötesi Spektroskopisi
<b>TLC</b>	İnce Tabaka Kromatografisi
<b>TMS</b>	Tetrametilsilan
<b>L</b>	Lüminesans
<b>CL</b>	Kemilüminesans
<b>BL</b>	Biyolüminesans

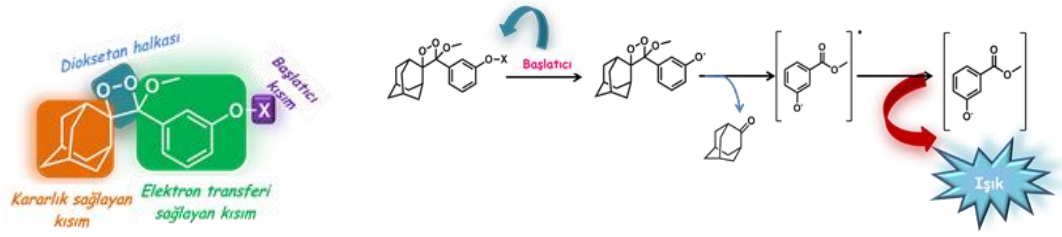
<b>F</b>	Floresans
<b>P</b>	Fosforesans
<b>IC</b>	İçsel Dönüşüm
<b>ISC</b>	Sistemlerarası Geçiş
<b>MB</b>	Metilen mavisi
<b>LDA</b>	Lityum diisopropil amid
<b>DMF</b>	Dimetilformamid
<b>DMSO</b>	Dimetil sülfoksit
<b>THF</b>	Tetrahidrofüran

## 1. GİRİŞ

Kemilüminesans, kimyasal bir reaksiyon sonucunda uyarılmış halde oluşan ürünün radyatif relaksasyonu olarak tanımlanabilir. Emisyon, kimyasal reaksiyon sonucunda elde edildiği için harici ışık kaynağına gerek yoktur ve buna bağlı olarak da gerek detektördeki ısınmadan ve sapmalardan kaynaklı gerekse ışık saçılmalarından kaynaklı hatalar ortadan kalkmaktadır. Ayrıca kimyasal reaksiyon, analite spesifik olduğu için sadece hedeflenen analitin varlığında emisyon gözlenmektedir ve bu nedenle diğer metodlarda görülen arka plan emisyonları görülmemektedir. Dahaası reaksiyon sonucunda açığa çıkan ışığın şiddeti, analitin konsantrasyonuna doğrudan bağlı olduğundan hedeflenen analitin duyarlı ve doğru tayini kolaylıkla yapılabilir. Literatürde kemilüminesans özelliğe sahip bir çok bileşik bulunmaktadır. Bunlardan 1,2-Dioksetanların, termal kararlılıklarından dolayı biyoanalitik ve klinik olarak birçok uygulama alanı bulunmaktadır. Kimyasal olarak kolaylıkla fonksiyonlandırılabilir oldukları için ise hedef analite yönelik değişik türevleri sentezlenebilmektedir.

Platinyum grup elementlerden olan paladyum, Buchwald-Hartwig, Heck, Sonogashira, Suzuki-Miyaura gibi önemli reaksiyonlarda C-C bağ oluşumunu katalizleyerek birçok ilacın sentezinde kullanılmaktadır. Ancak, ilaç endüstrisinde paladyumun sürekli kullanımı sonucunda, uygulanan çok yönlü saflaştırma prosedürlerine rağmen, elde edilen üründe paladyum tespit edilmiştir. Bu da insan sağlığı için potansiyel tehlikeler yaratmaktadır. Ayrıca, paladyum araçların egzoz katalizör sistemlerindeki karbonmonoksit, hidrokarbon ve nitrojen oksit gibi gaz halindeki kirleticilerin emisyonunu azaltmak için de kullanılmaktadır. Araçların katalitik konvörterlerindeki emisyon sonucunda çevreye salınması ve buna bağlı olarak da besin zincirindeki birikimi ile de canlılara taşınan paladyum konsantrasyonunda artış gözlenmektedir. Tüm bu olaylar sonucunda paladyum iyonunun aşırı alınımı astım, bulantı, saç dökülmesinde artış ve dermatit gibi birçok önemli rahatsızlığın gelişmesine neden olmaktadır. Bu nedenle paladyum konsantrasyonunu doğru, hassas ve spesifik olarak tayin edebilecek yeni problemlerin dizayn ve sentezi son derece önemlidir.





**Şekil 1.** Kemilüminesan sensörün kısımları ve 1,2-Dioksetan oksidasyonu

Bu çalışmada iki farklı 1,2-Dioksetan türevi kullanılarak Pd problemleri olarak kemilüminesan reaktiflerin geliştirilmesi planlanmıştır. Tasarlanan sensörlerin kemilüminesans yaparak kendi ışımalarını sağlaması paladyumun algılanmasını daha avantajlı kılmaktadır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. KEMİLÜMİNESANS

#### 2.1.1. Tarihsel Gelişimi

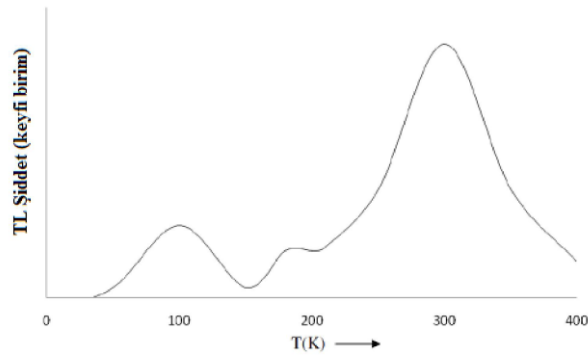
Bilim her zaman doğanın muhteşemliğinden etkilenmiştir ve böylelikle doğa, bilimin temelini oluşturmuştur. İnsanoğlu, yüzyıllardır doğanın fısıltılarını dinleyerek, doğayı gözlemleyerek ve doğa tarafından açıklanan sorulardan yola çıkarak birçok konuda oldukça önemli bilimsel fikirler ortaya sunmaktadır. Böylelikle “lüminesans (ışıldama)” terimi de bilim literatüründe yerini almıştır.

**İşıldama** veya **lüminesans**; uyarılmış haldeki molekülün relaksasyonu sonucunda tekrar temel hale dönerken ışık emisyonu vermesi olarak tanımlanabilir [1]. Lüminesans olayında maddelerin ısısı değişmeksizin elektromanyetik bir ışınım yayılır ve lüminesansın elektromanyetik ışınım kaynaklarından temel farkı da kaynağın ısısında bir değişimin olmamasıdır. Bu yüzden lüminesans “soğuk ışık” olarak da adlandırılır. Aristoteles’e (M.Ö. 384-322) göre; lüminesans olayların tarihsel evrimi, ölü balıklar, bazı mantar türleri, ışık salgılayan mürekkep balığı, ışık sağlayan bazı hayvanlar ve böcekler ile fosforlu tahtalar içindeki soğuk ışığın tanınması ile Antik Çağ kalıntıları üzerinde temellenmiştir. 1877 yılında Radziszewski tarafından, sentetik yolla ilk kez ışığın yayılımı gözlemlenmiş ve oksijen varlığında güçlü bir bazla reaksiyon vererek yeşil ışık saçan lüminesan lopine (2,4,5-trifenilimidazol) molekülü elde edilmiştir [2]. Daha sonra, ortalama kinetik enerjilerini arttırmadan diğer mekanizmalar aracılığıyla tahriklenen moleküller tarafından yayılan ışık ile maddelerin termal uyarılmasıyla açığa çıkardığı ışığı ayırt etmek amacıyla, 1888 yılında ilk kez Eilhardt Wiedemann tarafından lüminesans literatürüne kemilüminesans terimi dahil edilmiştir. Eilhardt Wiedemann fosforesansın ve floresansın ısıya ihtiyaç duymadan ışığı gönderebilen bileşikler tarafından yayılabildiğini söyleyerek lüminesansı “soğuk ışık” olarak tanımlamıştır [3]. O zamandan beri, lüminesans; uyarma yoluna göre farklı sınıflara kategorize edilmiştir. Bu kategorizasyon şu şekildedir; fotolüminesans (optik ışıma), termolüminesans (ısıl ışıma), elektrolüminesans (elektro ışıma), kristalolüminesans,

tribolüminesans (sürtünmeyle ışıma), ışın ışıması, kemilüminesans (kimyasal ışıma, CL) [3].

*Fotolüminesans (optik ışıma)*: Elektronların optik ışınlarla bir üst enerji seviyesine yükseltilmesiyle gerçekleşmektedir. Bu uyarıma, ara enerji düzeyleri üzerinden geçerek bir, iki veya çok kademeli olarak da gerçekleşebilir. Uyarılan elektronun pozitif delikle birleşmesi faz içi çarpışmalar ve muhtemel enerji kayıpları yüzünden gecikmeli olarak yürüyebilir. Uyarıcı ışınla aynı dalga boylu olan ve birkaç kademe üzerinden gerçekleşen emisyonlar ışıma sayılmazlar. Örneğin; Raman, Brillouin ve Rayleigh saçılmaları, üst dalga üretimleri (overtones) vb. Stokes kuralına göre, genelde emisyon ışınlarının dalga boyu, uyarıcı kaynağinkinden daha uzun boyludur; iki veya daha çok kuantlı ya da kademeli uyarmalar buna dahil değildir. Kısacası ışık absorpsiyonunun neden olması ile gerçekleşen lüminesans *fotolüminesans* olarak adlandırılmaktadır.

*Termolüminesans (ısı ışıma)*: Uyarılmış, uzun ömürlü kararsız bir yük taşıyıcı, madde sıcaklığının arttırılması ile uyarılabilir ve ışıma yaparak bir merkezle birleşebilir. Işıma eşliğinde gerçekleşen birleşme süreçleri, taşıyıcı yükün tutunduğu merkezler hakkında sıcaklığa bağlı olarak bir grafiğe geçirilir. Bu grafik ışıma spektrumu olarak isimlendirilmektedir. Şekil 2.'de şiddetin sıcaklığa karşı bir grafiği bulunmaktadır ve bu grafik termolüminesans işlemi sonucunda elde edilen ışıma spektrumunu göstermektedir. Kısacası hafif bir ısıtmanın neden olması ile gerçekleşen lüminesans *termolüminesans* olarak adlandırılmaktadır.



**Şekil 2.** Termolüminesans eğrisinin klasik bir gösterimi

*Işın Işıması (radyolüminesans: katado-iyono, x-ray lüminesans v.s.):* Madde, elektronlar,  $\alpha$ -tanecikleri, özellikle de iyonlar veya  $\gamma$ -kuantları gibi ışınlar ile ışınlanır.

*Kemilüminesans, CL, (kimyasal ışıma):* Kimyasal bir tepkime sırasında molekül uyarılmış hale geçebilir. Bu molekül uyarılmış halden temel hale geçerken bünyesinde bulundurduğu fazla enerjiyi ışık olarak geri verebilir. Eğer bu olay ateş böcekleri ve algler gibi bazı deniz bitkilerinde gözlemlenirse olay *biyolüminesans, BL, (biyo-ışıma)* olarak adlandırılır. Ayrıca bitkiler de fotosentez işlemi sırasında kızılötesi veya yakın IR bölgesinde ışıma yaparlar. Bu anlamda, kemilüminesans (CL); kimyasal bir reaksiyonun sonucunda elektronik olarak uyarılmış, kendisi lüminesan özellikte olan ya da daha sonra lüminesans yapmak üzere enerjisini başka bir moleküle aktaran bir molekülün, elektromanyetik radyasyon (UV,Vis ya da infrared) üretmesi olarak tanımlanabilir [4].

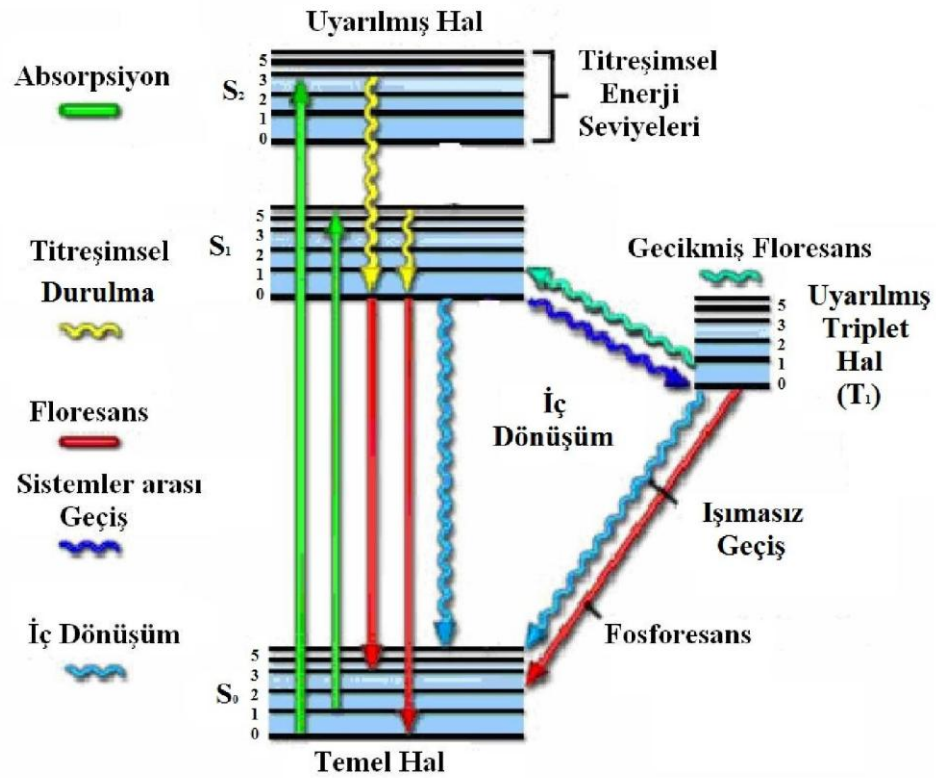
Diğer taraftan bir yarıiletken veya yalıtıkana elektrik akımı verildiğinde (elektrolüminesans), bazı kristaller mekanik olarak öğütülür ve ya ezilirken (tribolüminesans), (örneğin NaOH veya As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gibi) eriyikler kristallendirilirken (kristalo-lüminesans), kristalleri çözerken (aquo-lüminesans), elektroliz sırasında (galvano-lüminesans) ışımalar da gözlenebilir.

## 2.2. GENEL İLKELER

“Kemilüminesans olayı, kimyasal reaksiyon boyunca kırılan ve oluşan bağlar tarafından açığa çıkarılan enerjiye dayanmaktadır.” tanımı göz önüne alınarak, iki sonuç çıkarılabilir: Birincisi, kemilüminesans reaksiyonu için ürünlerden birinin floresan olması gerekir. İkincisi, ışıma yapan ürün oluşumuna neden olan kimyasal reaksiyon molekülün uyarılmış hale geçebilmesi için yeterli enerjiye sahip olmalıdır. Molekülün uyarılmış halden temel hale geçerken elektron gönderimi, genellikle molekül içi dairesel ve titreşimsel değişimlerle gerçekleşir. Ek olarak, uyarılmış molekül, fosforesans ve floresans gibi diğer fotofiziksel süreçlerde olduğu gibi kemilüminesan emisyonun azalması veya kaybolması ile sonuçlanabilecek istenmeyen durumlara neden olabilen; kimyasal reaksiyonlar, çarpışmaları

etkisizleştirme, içsel dönüşüm (IC) ya da sistemler arası geçiş (inter-sistem geçiş (ISC)) gibi proseslerle radyasyonsuz olarak enerjisini kaybedebilir [1]. Uyarma işlemi hariç, kemilüminesans (CL), floresans (FL), fosforesans (P) işlemlerinde uyarılan molekül, en düşük uyarılmış singlet halden ( $S_1$ ) ya da uyarılmış triplet halden ( $T_1$ ) temel hale ( $S_0$ ) tekrar geri döner.

Moleküler floresans spektroskopisi madde üzerine gelen elektromanyetik ışıma ile uyarılması ve temel haldeki elektronların uyarılmış enerji düzeyine geçmesi ve sonra bu halde kararlı kalamadıklarından tekrar temel enerji düzeyine geri dönerken ortama verdiği ışımının ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır.



**Şekil 3.** En tipik fotofiziksel süreçlerle birlikte kemilüminesansın Jablonski Diyagramı'nda gösterimi [5].

Işıma yapan bir maddede gözlenen uyarma ve ışıma olayları sadece bir merkez ya da atomda meydana gelmediği için ışıma mekanizması oldukça karışıktır.

Işıma mekanizmasının açıklamasını basitleştirebilmek için kullanılan en iyi modellerden birisi de “**Enerji Band Modeli**” olarak bilinen *Jablonski Diyagramı*’dır.

Uyarılan bu elektronun temel düzeye dönerken izleyebileceği farklı yollar vardır. Bu yollar Şekil.3’de Jablonski Diyagramı ile gösterilmiştir. Jablonski Diyagramı’nda;  $S_0$  singlet temel hali,  $S_1$  uyarılmış birinci singlet elektronik enerji seviyesini,  $S_2$  ikinci singlet uyarılmış hali ve  $T_1$  ise uyarılmış triplet hali temsil etmektedir. Temel ve uyarılmış hallerde 0, 1, 2, 3,... ile tanımlanan çizgiler titreşim kuantum sayılarını ve enerji seviyelerini göstermektedir.

Çeşitli dalga boylarında ışın içeren bir demet şeffaf bir ortamdan geçirilirse içinden bazı dalga boylarının kaybolduğu görülür. Bu olaya “**absorbsiyon**” denir. Absorbsiyonla ışın enerjisi maddenin iyon, atom veya moleküllerine aktarılır. Böylece ışın enerjisini absorblamış olan iyon, atom veya moleküller uyarılmış hale geçerler. Uyarılmış bir atom veya molekül  $10^{-8}$  saniye kadar yaşayabilir. Absorbladığı enerjiyi geri vererek tekrar eski hale döner.

Bu diyagramda; absorpsiyon olayı sırasında, singlet temel halden ( $^1S_0$ ) singlet herhangi bir uyarılmış hale ( $^1S_1^*$ ) veya ( $^1S_2^*$ )  $10^{-15}$  saniye kadar kısa bir süre içerisinde elektronik bir geçiş meydana gelmektedir. Meydana gelen bu singlet→singlet geçişi spektroskopik olarak izinli bir geçiştir. Singlet→triplet geçişi ise fotofiziksel olarak yasaklı bir geçiştir. Sistemin triplet uyarılmış hale geçiş yapabilmesi için ancak singlet uyarılmış halden geçiş yapması gerekmektedir.

Bir molekül yüksek enerji düzeyinden daha düşük enerji düzeyine geçiş yaparken sahip olduğu fazla enerjiyi foton olarak yayar. Bu olaya “**emisyon**” denir.

**Floresans** soğuk cisimlerde moleküler fotonun yutulmasının daha uzun bir dalga boyunda diğer bir fotonun yayılmasını tetiklemesiyle gerçekleşen ışık verme (ışınım) olayıdır. Floresans, ışınımsız diğer rahatlama türlerine göre çok daha yavaş gerçekleştiği için foton absorpsiyonu yapan çoğu molekülün floresansı yoktur. Ancak bazı türlerde elektron birinci uyarılmış düzeyden temel enerji seviyesine

floresans yaparak geçer. Bazı moleküllerde floresans çok etkili değilken, başka moleküllerde absorblanan fotonun neredeyse tamamı floresans olarak geriye dönebilir. Floresansın bu etkinliği, floresans ile verilen foton sayısının, soğurulan foton sayısına oranıyla tanımlanır ve bu oran floresans kuantum verim ( $\Phi_F$  veya  $Q$ ) olarak adlandırılır. Floresans kuantum verim ayrıca temel singlet düzeye floresans ile dönme hızının bütün geri dönüş süreçlerinin hızına oranı olarak da tanımlanabilir ( $Q = k_{ışınımlı} / (k_{ışınımlı} + k_{ışınımsız})$ ).

*İçsel Dönüşüm:* İçsel dönüşüm prosesi ışımsız bir şekilde gerçekleşmektedir. Bu işlem uyarılmış enerji seviyeleri ile titreşim enerji seviyeleri arasında olabileceği gibi, sistem uyarılmış halden temel hale geçerken de gerçekleşebilir. Sistem almış olduğu uyarma enerjisini dışarıya ısı enerjisi şeklinde verdiği için sistemin sıcaklığı yerine sadece moleküllerin kinetik enerjilerinde bir artış gözlenir. Çünkü bu uyarma enerjisi, sistemin sıcaklığını arttırabilecek kadar fazla değildir. İçsel dönüşüm olayı yaklaşık  $10^{-12}$  sn'lik bir zamanda meydana gelir. Bu olay izomerleşme özelliği olan veya rezonans halleri bulunan bileşiklerde daha sık görülür.

*Titreşimsel Durumlar:* Elektronik enerji seviyeleri titreşim enerji seviyelerine, bunlar da dönme enerji seviyelerine yarılmıştır. Sistem uyarıldığı zaman molekül uyarılmış enerji seviyesindeki herhangi bir titreşimsel enerji seviyesine çıkar. Temel hale dönmek için uyarılmış enerji seviyesindeki en düşük titreşim enerji seviyesine gelmek zorundadır. Bu olay ışımsız bir şekilde meydana gelir ve sistem enerjisini etrafındaki diğer moleküllerle veya çözücü molekülleriyle çarpışarak harcar.

*Sistemler Arası Geçiş:* Singlet uyarılmış halden triplet uyarılmış hale ya da triplet uyarılmış halden singlet uyarılmış hale geçiş olayıdır. Bu olayın olabilmesi için her iki halin titreşim enerji seviyelerinin çakışması gerekmektedir.

*Gecikmiş Floresans:* Uyarılmış singlet enerji düzeyindeki bir elektronun uyarılmış triplet enerji seviyesine geçişi, yasaklı olmasına rağmen, birçok molekülde gerçekleşir. Sistemler arası geçiş denilen bu süreç diğer süreçlere kıyasla çok daha yavaş işler ancak bazı durumlarda bu süreçler ile yarışabilir. Triplet uyarılmış düzeyden temel singlet düzeyine geçerken yapılan ışımaya **fosforesans** olarak

adlandırılır. Triplet uyarılmış düzeyden önce singlet uyarılmış düzeye, ardından temel singlet düzeye ışınımlı dönüşe ise **gecikmiş floresans** denir. Gecikmiş floresans normal floresansa göre daha uzun zamanda meydana gelir ve oluşum şekline göre ikiye ayrılır:

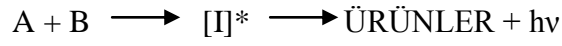
- a) *E-Türü Gecikmiş Floresans*: Temel halden singlet uyarılmış hale çıkan molekül, sistemler arası geçişle triplet uyarılmış hale geçer. Ancak sistemin sıcaklığı arttırıldığında triplet uyarılmış haldeki molekül tekrar singlet uyarılmış hale geri döner. Bu durumun gözlenebilmesi için sadece sıcaklığın arttırılması değil aynı zamanda uyarılmış singlet ve triplet hallerinin titreşim enerji seviyelerinin de çakışmış olması gerekir. Bu geri dönüşümle singlet uyarılmış haldeki molekül tekrar singlet uyarılmış hale döner ve bu dönüşüm ışımali olarak gerçekleşir. Bu olaya E-türü gecikmiş floresans denir.
- b) *P-Türü Gecikmiş Floresans*: Bu tür floresansta molekül singlet uyarılmış halden sistemler arası geçişle triplet uyarılmış hale geçer. Bu geçişten sonra triplet uyarılmış haldeki moleküllerin birbirinden etkilenmesiyle enerjilerini birbirlerine aktarırlar ve triplet uyarılmış haldeki moleküllerin bazıları singlet uyarılmış hale ışımalsız olarak geri dönerler. Singlet uyarılmış haldeki moleküller ise ışımali bir biçimde temel hale dönerler. Bu olaya P-türü gecikmiş floresans denilmektedir.

Kemilüminesans (CL) reaksiyonları doğrudan ve dolaylı (ya da duyarlaştırılmış) olmak üzere iki farklı mekanizma üzerinden gerçekleşir. Doğrudan kemilüminesans modelinde substrat ve oksidan madde ışığın emisyonuyla temel hallerine geri dönebilen bir ürün ya da ara ürün oluşturulması için reaksiyona sokulur (Şekil 4. A). Bu tip kemilüminesans modelinde substrat CL ön maddesidir ve ışığın emisyonunda görevli uyarılmış maddeye çevrilmek üzere kullanılır. Oksidan madde ise genellikle CL reaksiyonlarını başlatabilecek özelliğe sahip moleküller arasından tercih edilir. Doğrudan reaksiyonda; katalizör, enzim ya da metal iyonu, reaksiyonun aktivasyon enerjisini azaltarak CL verimini artırmak için kullanılabilir. Ayrıca, kofaktörler bir ya da birden fazla substratı katalistle reaksiyona girebilecek şekilde

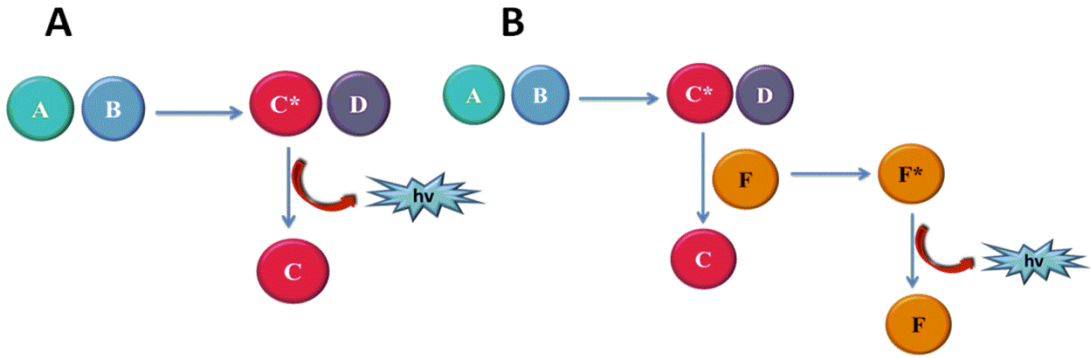
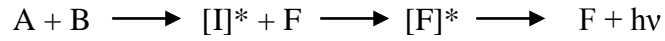


değiştirmek üzere kullanılabilir ve bu kofaktörler ayrıca iyi bir ayrılan grup oluşturarak bağ kopma emisyonunun gerçekleşeceği durumlarda kullanılabilirler [2]. Diğer yandan, dolaylı ya da duyarlaştırılmış reaksiyon durumunda elektronik olarak uyarılan ürün ya da ara ürün floresan özelliğe sahip olmadığından, ışık emisyonu floroforla uyarılmış türlerin enerji transferinin bir sonucu olarak görülmektedir (Şekil 4. B). Enerji florofor tarafından absorblandığında; foton emisyonunun temel hale geri relaksasyonu sonucunda, florofor elektronik olarak enerjik hale uyarılır [4].

Kısacası doğrudan kemilüminesans tepkimesinde birincil uyarılmış halde olan bir bileşik  $[I]^*$  ortaya çıkar ve bu bileşiğin kendisi ışıma tepkimesini gerçekleştirir.



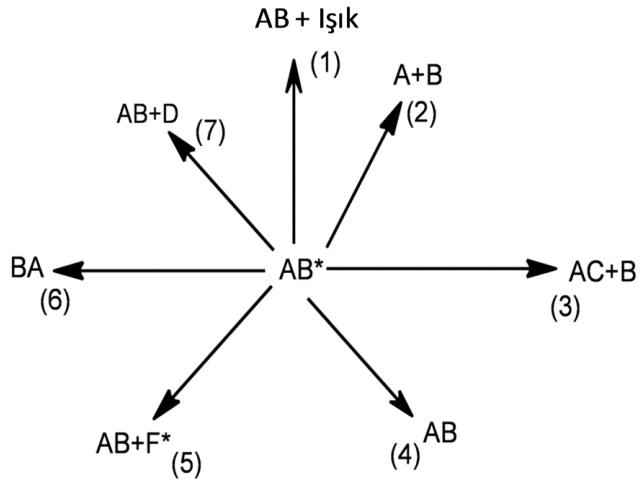
Dolaylı CL tepkimesinde ise, uyarılmış tepkime ürünü  $[I]^*$  ışımayı kendisi yapmaz, fakat enerjisini ışıma yapacak olan başka bir alıcıya  $[F]^*$  aktarır ve bu alıcı sayesinde ışıma gerçekleşir.



**Şekil 4.** Dolaylı ve doğrudan CL'nin şematik gösterimi. (\*) uyarılmış ürünleri gösterir.

Bir bileşiğin kemilüminesans özellik gösterebilmesi için aşağıdaki temel gereklilikleri yerine getirmesi gerekir:

1. Elektronikçe uyarılmış hali oluşturabilmek için tepkimenin ekzotermik olması gerekmektedir. Genellikle CL reaksiyonlarının emisyonları 400 nm ile 750 nm arasında yer alır. Yalnızca elektronik olarak uyarılmış hal için değil CL emisyonu için gerekli 40-70 Kcal.mol<sup>-1</sup> enerjiyi sağlamak için de ekzotermik reaksiyon gerekmektedir. Aynı zamanda, bu ekzotermik reaksiyon, oksijen ve hidrojen peroksit ya da benzer oksidanların kullanıldığı redoks tepkimeleri ile ilişkilendirilir.
2. Elektronikçe uyarılmış hale geçmek için izlenen tepkime yolu reaksiyon için tercih edilen olmalıdır. Enerji; ısı yoluyla, titreşimsel ya da rotasyonel çarpışmalarla kaybedilmemelidir. Eğer reaksiyonlarda açığa çıkan kimyasal enerjinin büyük bir bölümü bu yollarla kaybedilirse reaksiyonlar kemilüminesan özellikte olmazlar ve ışımaya yapamazlar. Ek olarak reaksiyonların foton emisyonu yapması için, azalmakta olan prosesler elverişli oranlarda olmalıdır. Reaksiyon süresi ne kadar uzun olursa, enerji kaybı o kadar fazla olur, bu yüzden de bu tür reaksiyonların kemilüminesan olma olasılığı azalır.
3. Deaktivasyon için izlenen yolun baskın olması gerekmektedir. Foton ışınması sırasında gerçekleşebilecek olan diğer radyasyonsuz işlemler (molekül-içi veya moleküller-arası enerji geçişi, moleküler bozulma, izomerizasyon veya fiziksel sönmüleme (quenching)) radyasyonlu CL işlemine oranla az olmalıdır. Böylece, radyasyonsuz yöntemler yerine, ışık emisyonu tercih edilmiş olur.



**Şekil 5.** Uyarılmış bir hal durumunda kaybedilen enerji için gerekli muhtemel prosesler (1) doğrudan CL, (2) moleküllerin ayrılması; (3) diğer benzer türlerle olan kimyasal reaksiyonlar, (4) molekül-içi enerji transferi, (5) moleküller-arası enerji transferi (bir floroforun varlığı durumunda, dolaylı CL), (6) izomerizasyon, ve (7) fiziksel sönmüleme [5].

Bütün lüminesan prosesler dikkate alınır, uyarılmış halde üretilen moleküllerin verimliliğine bağlı olan emisyon yoğunluğu, temel hale dönerken bir foton yayan moleküllerin fraksiyonu olarak tanımlanan kuantum verimi ( $\Phi_{CL}$ ) tarafından temsil edilir.

$$\Phi_{cl} = \Phi_c \cdot \Phi_e \cdot \Phi_f$$

Yukarıdaki formülde;  $\Phi_c$ , uyarılabilir molekül veren reaksiyon moleküllerinin fraksiyonunu ve kimyasal reaksiyonların verimi için hesaplamaları temsil eder.  $\Phi_e$  ise elektronik olarak uyarılmış haldeki moleküllerin fraksiyonunu temsil eder ve enerji transferi verimi ile de ilgilidir. Son olarak  $\Phi_f$ , yayılan foton aracılığıyla temel hale dönen uyarılmış moleküllerin fraksiyonunu temsil eder [5].

Kemilüminesans güçlü bir analitik yöntem olmasına rağmen, CL verimliliği; sıcaklık, pH, iyonik güç, solvent, çözelti bileşenleri, substrat derişimi, elektronik uyarılmadan sorumlu kısım olan kemilüminesans öncülerinin kimyasal yapısı, diğer substratların derişimi, enerji transfer akseptörlerin varlığı gibi birçok deneysel

faktörlere bağlıdır [1, 5]. CL analitiksel bir teknik olarak kullanılırsa, emisyon yoğunluğu için etkili olduğu düşünülen parametreler en iyi şekilde kullanılmalıdır. Bu deneysel faktörlerin etkisi kemilüminojenik öncü çeşidine göre göz önüne alınmalıdır.

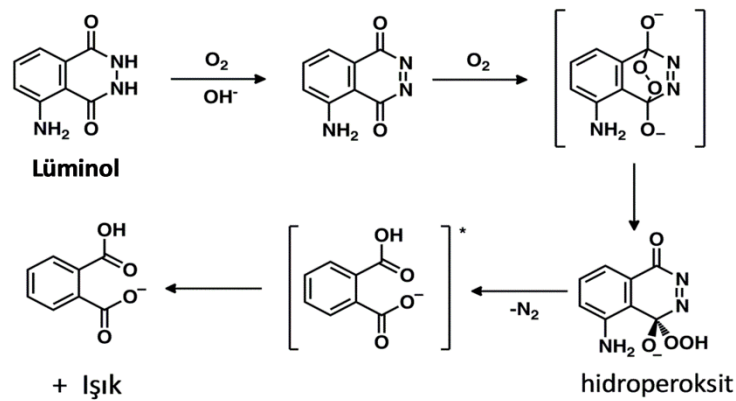
Kemilüminesans diğer lüminojenik tekniklerden daha fazla avantaja sahip olan üstün bir tekniktir. Bu avantajları şu şekilde sıralayabiliriz: 1) Kimyasal reaksiyon sonucu üretilen ışık emisyonu, uyarılma için herhangi bir ışık kaynağına gerek duyulmadan sağlanır ve ışık kaynağından kaynaklı arkaplan sinyalleri elimine edilir. 2) Kimyasal reaksiyondan elde edilen ışık miktarı oldukça kullanışlıdır, çünkü ışık yoğunluğu, duyarlı ve doğru ölçümü sağlayan analit yoğunluğuyla doğrudan ilişkilidir. 3) CL miktarının yüksek gözlemlenebilirliği, ışık kaynağı ya da dedektörün ısınması, absorban ve floresans metodlarında olduğu gibi ışık saçılımı vb. arkaplan emisyonlarının düşük olmasının bir sonucudur. 4) Böylelikle numune matrisi bileşenlerinin tipik floresan arka plan emisyonlarından kaçınılır ve analite özgü spesifik reaksiyonlar sonucu ışık emisyonu sağlanır. 5) Dahası, numunelerin geniş dinamik aralığa sahip olmasından dolayı, numunenin modifikasyonunu ya da seyreltilmesini gerektirmeden cihaza bağlı konsantrasyon ölçümü en az 5 yıl içinde yapılabilir. 6) Ayrıca, CL ve BL yi birkaç sn içinde hızlı bir şekilde yapan ışık emisyonu gerçekleşir [7]. 7) Kemilüminesansın en yaygın diğer avantajı ise basit enstrümantasyon gerektirmesi ve düşük arkaplan sinyallerinden dolayı düşük tayin sınırına sahip olmasıdır [8]. 8) Kemilüminesans prosesindeki sürece katılan; CL substratları, CL öncüsü maddeler, oksidanlar, CL reaksiyonlarının verimliliğini veya oranını etkileyen türler, katalizör gibi aktivatörler, CL emisyonunu önleyici indirgeyiciler gibi inhibitörler, dolaylı CL reaksiyonları durumunda kullanılan floroforlar, doğrudan tepkimeye karışmayan fakat diğer reaktiflerle etkileşerek CL reaksiyonunda reaktif olacak bir ürün oluşturabilen türler, bazı CL öncüsü maddeler ya da floroforlar (doğrudan ya da dolaylı CL olmasıyla florofor ya da CL öncüsü kullanılıp kullanılmayacağı belirlenir.) tarafından modifiye olabilen türler gibi birçok bileşenin belirlenmesinde CL kullanılabilir. 9) CL reaksiyonları nicel veya nitel bilgi vermek için immünoassay (antikor kullanılan test metodu) ya da kılcal elektroforez gibi kromatografi tekniklerinde de bir tayin tekniği olarak kullanılabilir [2].

CL çeşitli avantajlara sahip olmasına rağmen, çeşitli çevresel faktörlere bağlı olarak bazı olası dezavantajları da düşünmemizi mümkün kılar. Örneğin; ışık emisyonu tek bir analite spesifik değildir ve böylece seçicilikte eksiklik oluşabilir. Ayrıca, emisyon yoğunluğundaki dalgalanmaları önlemek için optimize edilmesi gereken; pH, iyonik güçler, sıcaklık, solvent gibi çeşitli faktörler de dikkate alınmalıdır. CL emisyonu sabit değildir, zamanla değişebilir ve aynı zamanda emisyonla karşı zaman profili CL sistemine göre değiştirilebilir. Bu yüzden sinyaller muhakkak belirlenen periyotlarda ve kesinlikle optimize edilmiş çevresel faktörler uygulanarak tayin edilmelidir [9].

### 2.3. KEMİLÜMİNESAN SİSTEMLER

#### 2.3.1. Açıl Hidrazidler

**Reaksiyon Mekanizması:** Lüminolün (5-amino-2,3-dihidro-1,4-phthalazinedione) alkalın ortamdaki oksidasyonu doğrudan kemilüminesans reaksiyonları arasındaki en ünlü olanıdır. Bu reaksiyon ilk kez 1928 yılında Albrecht tarafından rapor edilmiştir. Lüminolün doğrudan CL mekanizması, heterosiklik halkanın oksidasyonu sayesinde elde edilen  $\alpha$ -hidroperoksit formunun (mekanizma için önemli ara ürün) oluştuğu mekanizma üzerinden ilerlemektedir. Bu oluşum aşağıdaki şekilde basitçe gösterilmiştir (Şekil.6).

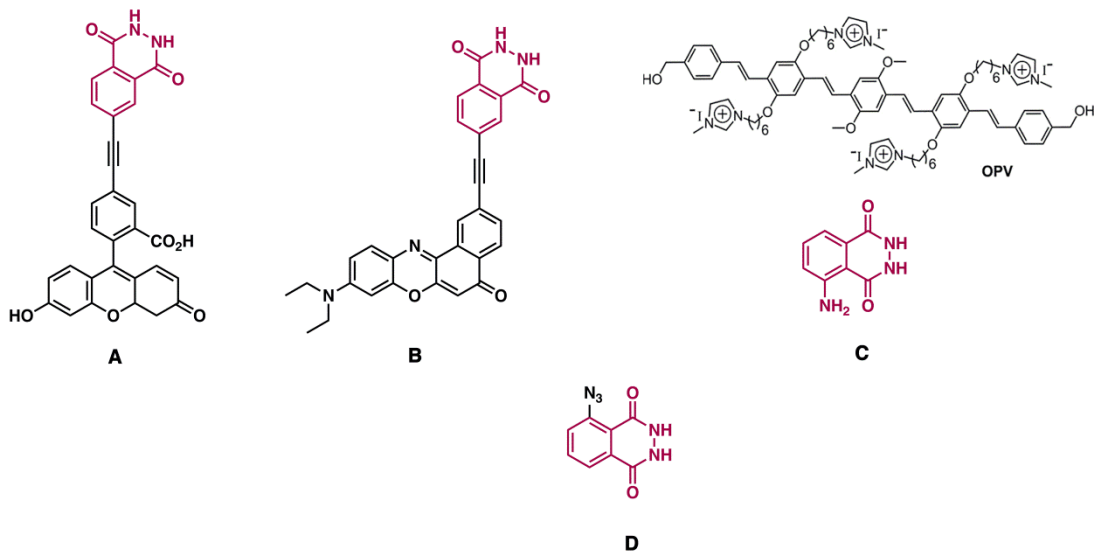


**Şekil 6.** Lüminolün reaksiyon mekanizmasının gösterimi

Direkt CL reaksiyon mekanizması alkalın ortamda ya oksijen ile ya da başka alternatif bir oksitleyici madde ile lüminolün reaksiyonunu takip eder. Bazık ortamda elektronik olarak uyarılmış halde  $\alpha$ -hidroperoksit oluşur. Bu molekül ise uyarılmış halden temel düzeye dönerken ışık yapar ve böylelikle CL oluşur [10, 11]. Işık, lüminolün potasyum ferrisiyonit, permanganat, periyodat, hekzasiyanoferrat(III) ve hidrojen peroksit gibi oksitleme maddeleriyle oksijenli bazık sıvı çözeltilerdeki oksidasyonu ile açığa çıkar.  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , ve  $Co^{2+}$  gibi metal iyonları lüminolün yükseltgenme tepkimesini katalizler. Ancak gelişmiş emisyon; hidrojen peroksitlerin (Reaksiyon ürünlerinin bozunmalarını artırır.) oksitlenme maddesi olarak uygulandığında elde edilir [11]. Ayrışma mekanizması göz önüne alındığında, ilk adım bileşimin olduğu ortama bağlı iken; bozunmanın düzeni ve ışık emisyonu sistemin pH'ına bağlıdır. Dimetilsülfoksit ve dimetilformamit gibi aprotik çözücülerdeki CL daha kolaydır, oksijen ve güçlü baz ister. Diğer bir yandan, su gibi protik çözücüler (sulu çözücü karışımları ve düşük oranlarda su bulunduran alkoller), moleküler oksijen, peroksitler, superoksitler anyon gibi birçok oksijen türevleri, lüminol türevlerini enzimler ya da mineraller sayesinde oksitleyebilirler [12]

**Lüminesan özellikleri:** Lüminole dönüşen miktarların %5'i DMSO'da [13] ve %1,5'i sıvı çözeltilerde olacaktır [12]. Heterosiklik kısmın yapısal modifikasyonları, Lüminol sistemin verimliliğini artırmak için denenmiştir. Ancak bu kemilüminesansın tamamen kaybolmasına sebep olmuştur. Bir diğer yandan, non-heterosiklik kısmının modifikasyonları emisyonun artmasına sebep olmuştur. Elektron veren süstitüentler daha iyi olduğu zaman, elektron alan süstitüentler kemilüminesansın kaybolmasına sebep olmuştur [13]. Kemilüminesansın artması için uygulanan bir diğer metod ise enzimlerin kullanılmasıdır. Kemilüminesans verimliliğinin ve ışık yoğunluğunun ayarlanamamasına rağmen enzimlerin sürekli olarak geri dönüşümü sayesinde daha çok ışık uzun bir zamandan sonra yayılır [1]. Ayrıca, karbonat ve bikarbonat kullanılan ortamlar da düşük konsantrasyonlu peroksitlerin belirlenmesinde daha iyidir. Bunlara ek olarak, kimyasal artırıcılar da sistemin emisyonlarını artırmak için bir başka yöntemdir.

**Uygulamalar:** Lüminol ve onun en yaygın şekilde kullanılan türevi isolüminol, immünoassay ya da non-immunoassay uygulamalarının teşhisinde, görüntülenme tekniklerinde ve biyosensörlerde geniş uygulama alanı bulur. Lüminol tepkimeleri akış-enjeksiyon, sıvı kromatografisi ve kapiler elektroforez sistemlerinde tayin sistemi olarak kullanılabilir. Lüminol ve türevleri literatürde kemilüminesan enerji transfer kasetleri (bileşik A ve B) [14], fotodinamik terapiler için kemilüminesan maddeleri (bileşik C) [15], ve kemilüminesansa dayalı sensörler (bileşik D) [16] olarak rapor edilmiştir.

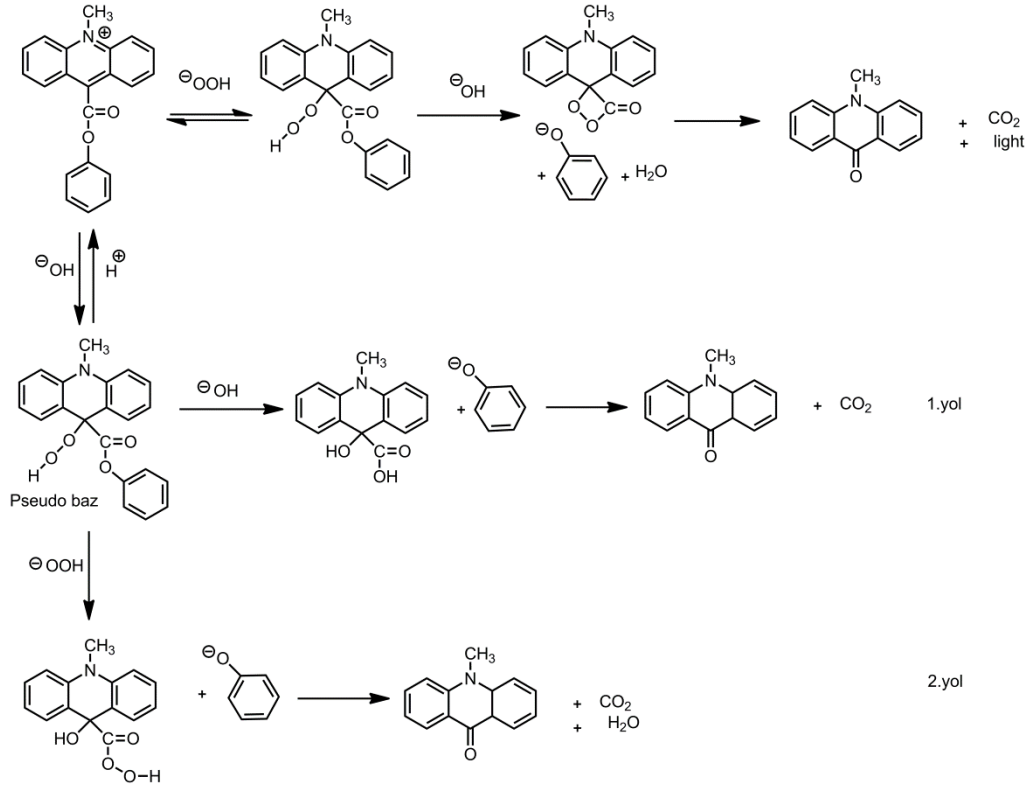


**Şekil 7.** Lüminol türevlerinin literatür örnekleri

### 2.3.2. Akridinyum Esterleri

**Reaksiyon Mekanizması:** Bir diğer kemilüminesan bileşiği de Lucigenin'dir (10,10'-dimetil-9,9'-bisakridinyum nitrat). Bu bileşik hidrojen peroksit yada alkalın ortamda oksijen ile oksitlendikten sonra yoğun yeşil ışık yayar. Bu olay Gleu ve Petsch tarafından 1935 yılında keşfedilmiştir [17]. Akridinyum esterleri şekil.8'de gösterilen mekanizma ile alkalın bir ortam içinde hidrojen peroksit oksidasyonu ile ışık üretebilir. Çünkü akridinyum esterlerin türevleri hidroksil süstitüsüyonu ile elde edilen non-kemilüminesan pseudo-baz ile dengede bulunmaktadır. Pseudo bazın yarı ömrü pH 9'da 26 sn, pH 11'de 8 sn, pH 13'de 1 sn olduğu için, akridinyum esterlerinin kemilüminesansı ardışık olarak hidrojen peroksit ve bundan sonra da

güçlü bazın eklenmesiyle tetiklenebilir [1]. Işık emisyonu için Co(II), Fe(II), Fe(III), Cu(II), Cr(III), Ni(II), Pb(II), Bi(III), Tl(III) ve Hg(I) gibi farklı birçok katalizör seçeneği vardır. Bunlar daha yoğun bir emisyonun sağlanmasına katkı sağlarlar [2].



**Şekil 8.** Akridinyum esterlerin kemilüminesansı için en olası mekanizma ve alternatif mekanizma yolları [1].

**Lüminesan özellikleri:** Akridinyum türevlerinin çoğu akridinyum heterohalkası ve ayrılan grup olmak üzere iki kısımdan oluşur. Her iki grup da kemilüminesans için önemli rollere sahiptir. Akridinyum esterleri dengeye pseudo baz tarafına hızla kayması sonucu, kimyasal tepkimenin tetiklenmesinden hemen sonraki 5 sn içinde bir flaş gibi ışık yayarlar. Işık emisyonu oranı ayrılan grup üzerindeki modifikasyonlar tarafından ayarlanır. Fenol serileri göz önüne alındığında, akridinyum halkasının metilasyonu ışık emisyonu kinetiğini yavaşlatır; disüstitüsyon monosüstitüsyona göre reaksiyon kinetiğini daha fazla yavaşlatır. Elektron çekici bir grubu fenil halkasına takmak ışık emisyonunu ve reaksiyon hızını artırırken; elektron verici bir grubu takmak tam tersi etki göstermektedir [18].



Sistemin kemilüminesans verimliliği periyodat içeren katyonik surfaktan (yüzey aktif madde) miselleri içindeki epinefrin kullanılarak arttırılabilir ancak arttırıcı kullanımı henüz daha rapor edilmemiştir [19]. Diğer taraftan, ortama bağlı kalarak, sistemin lüminesans verimliliği Triton X-100 ve hexa-desil trimetil amonyum klorür gibi surfaktanlar kullanılarak arttırılabilir. Bu maddeler rapor edilenler içindeki en etkililerdendir [20].

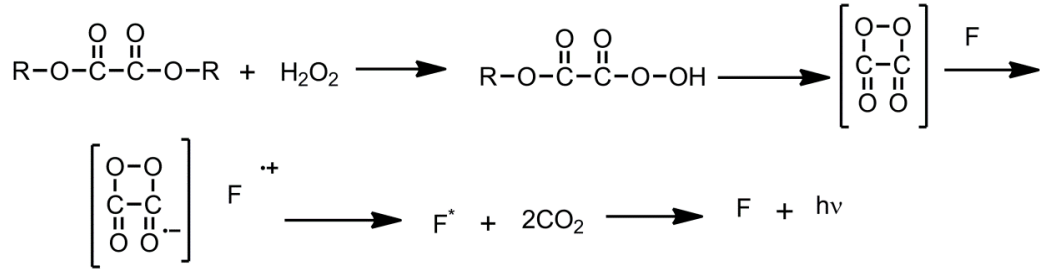
**Uygulamalar:** Düşük arka plan sinyaliyle birlikte yüksek kuantum verimine sahip olmasına rağmen, katalizör kullanımını gerektirmemesi ve esterler ya da imidler aracılığıyla rahatlıkla proteinlere bağlanma kolaylığı sağlamasıyla [21, 22], arkidinyum türevleri; tiroid uyarıcı hormon (TSH) [23], tümör belirteçleri (a-fetoprotein) [24], imminoglobülinler ve ilgili benzer bileşiklerin immunoassaylerinde kullanılmak için en iyi adaydır. Buna ek olarak, akridinyum bileşikleri kemilüminojenik DNA problemlerinin sentezinde DNA etiketlemek için de kullanılabilir [25].

### 2.3.3. Perokzalit Türevleri

**Reaksiyon Mekanizması:** Kemilüminesans ajanlarını başka bir çeşiti de okzalik asit türevleridir. Bunlar florofor varlığında çok fazla emisyon verirler. Bu tip CL reaksiyonları, dioksetanlar, dioksetononlar, dioksetandionlar gibi okzalik asit türevlerinin siklik peroksitlerinin bozunmaları sonucunda uyarılmış halde bulduklarından dolayı perokzalit kimyası (PO-CL) olarak adlandırılırlar. Perokzalit kimyasının ilk örneği, 1963 yılında Chandross tarafından rapor edilen ve parlak, kısa ömürlü, mavi emisyon veren 9,10-difenilantrasen gibi floresan bir bileşiğin varlığında okzalit asit türevlerinin hidrojen peroksit oksidasyonudur [26]. CL emisyonu, perokzalit reaksiyonlarının duyarlaştırılmış ya da dolaylı CL mekanizmalarına göre ilerlemesi sonucunda oluşurlar. Böylece CL öncüsü maddenin oksidasyonu sırasında üretilen enerji florofora aktarılır ve florofor en düşük uyarılmış halden temel hale dönerken floresans yayar [3].

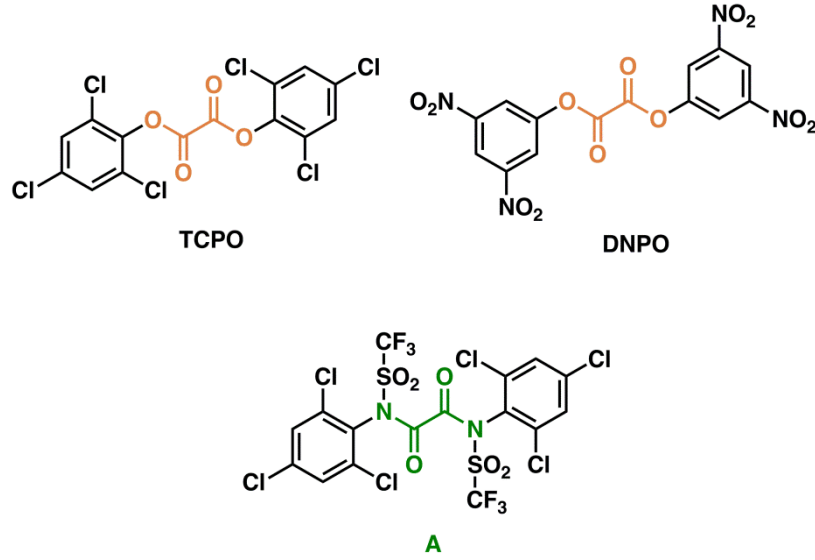
Işık emisyonuyla sonuçlanan bozunma mekanizmasını, CIEEL'i (Kimyasal olarak Başlatılmış Elektron Değişim Lüminesans) takip eder. Perokzalit türevleri,

florofor oluşturuvcu yük transfer kompleksine bir elektron veren yüksek enerjili ara ürün 1,2-Dioksetandion yoluyla (şekil.9) ayrışması için oksitlenirler. Bu elektron tekrar florofora transfer edilirse, florofor uyarılmış hale geçer ve floresans emisyonundan sorumlu olur [4, 27]. Emisyon rengi floroforun çeşidine bağlı olarak ayarlanabilir.



Şekil 9. PO-CL sistem için olası reaksiyon yolu

**Lüminesan özellikleri:** PO-CL duyarlaştırılmış CL mekanizmasından ilerlediği için, okzalit türevleri ve florofor ya CL kuantum verimini ya da floresan kuantum verimini arttıracak şekilde seçilebilir. Bunun yanı sıra, ortam (sulu, sulu olmayan), tampon bileşimi ve oranı, pH, emisyonun dalgaboyu ve konjuge sentez gibi gereksinimleri karşılayacak şekilde modüle edilebilir [1]. Reaksiyon optimum koşullar altında yürütüldüğünde, hidrojen peroksitle oksidasyonunda %22-27 arasındaki bir oranda CL verimi ile uzun süreli emisyon verir. Okzalit türevlerinin en bilinen örnekleri şekil.10'da gösterilen bis (2,4,6-triklorofenil) okzalit (TCPO) ve bis (2,4-dinitrofenil) okzalit'dir. Buna ek olarak, okzalit esterlerinin ünü CL kuantum verimi 0.34 olan okzamid A'nın bir türevi olan triflorometilsulfonilin keşfiyle zirveye ulaşmıştır [28]. Işık emisyonunun oranı sabit kalırken oksitlenmiş moleküllerin sayısının artışı yüzünden kemilüminesans kuantum verimi hidrojen peroksit konsantrasyonu arttırılarak doğrusal bir şekilde arttırılabilir. Bunun yanı sıra, okzalit esterlerinin konsantrasyonunu arttırmak da sistemin tüm verimini düşürmek için bir diğer önemli yoldur.

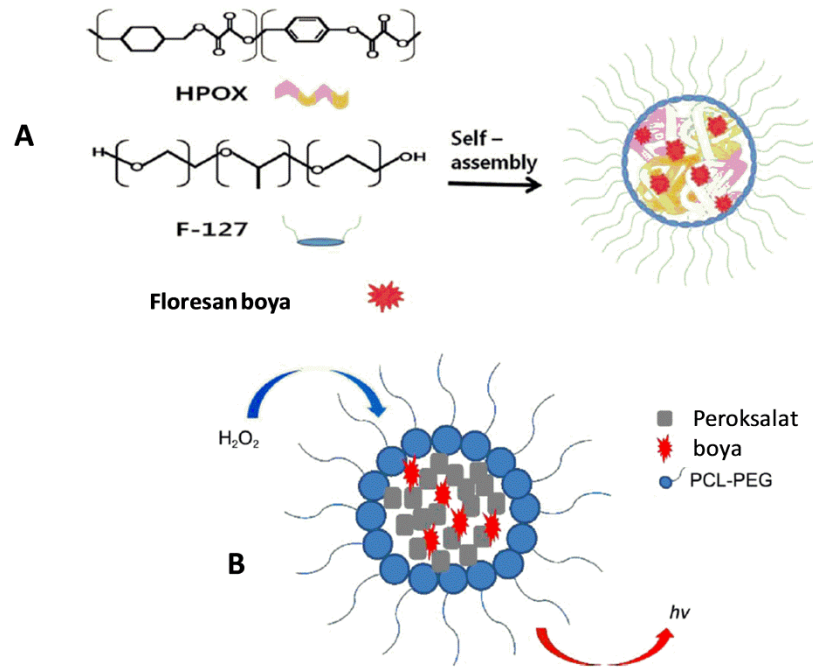


**Şekil 10.** Okzalal türevlerinin en yaygın örnekleri

Reaksiyonun mekanizması göz önüne alındığında, ayrılan grubun kimyasal yapısının, PO-CL'nin verimi üzerinde önemli bir etkisi vardır. Elektron çekici süstitüentler taşıyan ayrılan gruplar sadece yüksek CL kuantum verimi üzerinde değil aynı zamanda PO sistemi için standart reaktiflerin hazırlanma kolaylığını ve oksalik ester türevlerinin hidrolize karşı kararlılığını da sağlar [28]. Ayrıca, elektron çekici süstitüentlerin varlığı yapıdaki konjugasyonları uzatarak ayrılan grubun kararlılığının artmasını ve böylelikle ışık emisyonunun da oranının artmasını sağlar. Ek olarak, asidik ortamda kayda değer herhangi bir ışık gözlenmemiş olsa da, optimum pH nötre yakın olmalıdır. Ancak, hidrojen peroksit varlığında oksidasyon üzerinden ışık emisyonu oluşturulduğundan, sistemi aktifleştirmek için alkalın koşullar gereklidir.

**Uygulamalar:** PO-CL sistemlerinde CL ara ürünlerinin oluşumunun ve ayrışmasının, reaktiflerin sürekli olarak ortama eklenmesiyle kaldırılabilir olan yüksek arkaplan emisyonlarından sorumlu olduğu görülmektedir [1]. Bu sistemin başka bir dezavantajı esterlerin sudaki düşük çözünürlüğü ve asetonitril, dioksan, tert-bütanol, etilasetat gibi organik çözücülerin birlikte kullanımını gerektiren hidroliz için yüksek duyarlılık gerektirmesidir. PO-CL sisitemi ürikaz, kolin oksidaz, kolesterol oksidaz, ksantin oksidaz ve glukoz oksidaz gibi hidrojen peroksit formu

enzimlerin tespiti için uygulanmıştır [1, 29]. Literatürde, çok işlevli yeni geliştirilen HPOX miseller ya hidrojen peroksitleri görüntülemek amacıyla ya da güçlü antioksidan ve antiapoptik aktiviteli terapötik ajanlar olarak görev yapmak için tasarlanmıştır **A** [30]. Bu yüzden, biyolojik ortamda hidrojen peroksit tayini yapmak için kullanılan hidrofobik kısmının içindeki floresan boya ve peroksalatın etrafını sararak ayrılmış amfifilik PCL-PEG moleküllerinin kendiliğinden bir araya gelip bağ oluşturmasıyla (self-assembly) kemilüminesan miselleri hazırlanmıştır **B** (Şekil 11) [31, 32].

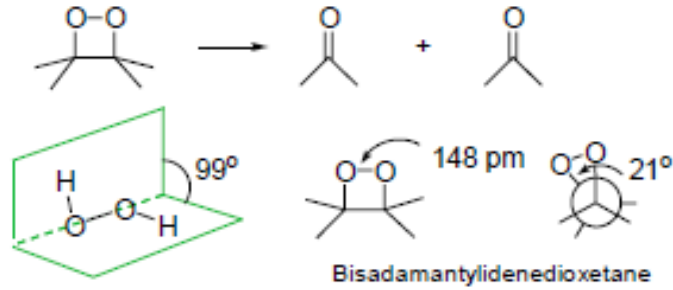


**Şekil 11.** HPOX kemilüminesan miselleri

#### 2.3.4. Dioksetan Türevleri

**Reaksiyon Mekanizması:** Kemilüminesan bileşiklerin ve biyoluminesan bileşiklerin (lüsiferin substratı/lüsiferaz enzimi) daha önce belirtilen ayrışma mekanizmaları incelendiğinde enerjik 1,2-Dioksetan ara ürününden elde edilen emisyon bu mekanizmalardan birinin sonucunda fark edilebilmiştir ve kemilüminesan maddelerin asıl gelişimi 1,2-Dioksetanlar olarak adlandırılan dörtlü halkanın tanınmasıyla başlamıştır.

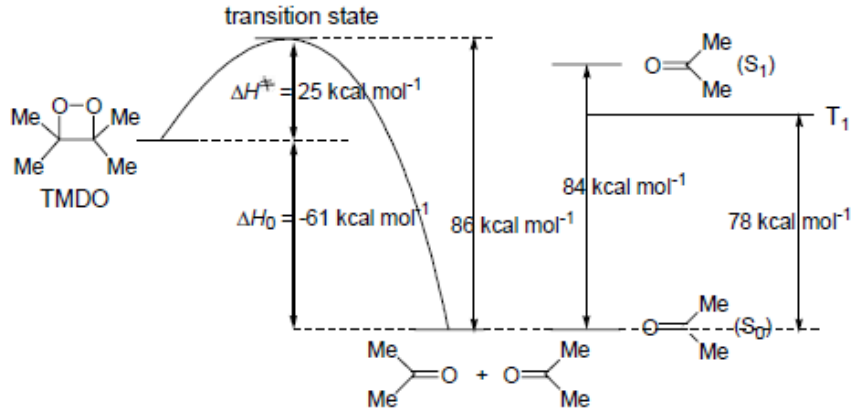
1,2-Dioksetanların hidrojen peroksitle yaptığı dihedral açısı (COOC) ve kendi bağ açısı (CCO) karşılaştırıldığında, beklenildiği gibi 1,2-Dioksetanların yüksek gerilme enerjisine sahip olduğu gözlenmiştir [33].



**Şekil 12.** 1,2-Dioksetanların dihedral açısı ve gerilme enerjisinin gösterimi[33].

1,2-Dioksetanların hafifçe ısıtılmasıyla, ürün olarak iki tane aseton molekülü veren ayrışma reaksiyonu başlatılır. Bunlardan bazısı temel hale dönerken ışığın bir foton emisyonunun sonucunda uyarılmış haldedir [34]. Dioksetanların kemilüminesansının arkasındaki kriter, elektronikçe uyarılmış ürünün öncü maddeye ayrışmasını sağlayan enerjik kriterin yerine getirilmesidir.

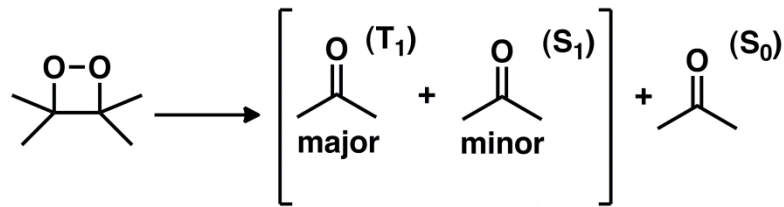
En basit ve en küçük kemilüminesan öncüsü tetrametildioksetan molekülüdür. Tetrametildioksetan molekülünün termal olarak ayrışması sonucunda, deneysel olarak reaksiyon ısı entalpisi ( $\Delta H_0$ )  $-61 \text{ kcal mol}^{-1}$  ve aktivasyon entalpisi ( $\Delta H^{++}$ )  $25 \text{ kcal mol}^{-1}$  olan iki tane aseton molekülü elde edilir (şekil.13). Singlet ve triplet enerjileri sırasıyla  $84$  ve  $78 \text{ kcal mol}^{-1}$  olduğundan, aseton moleküllerinden birini  $n\pi^*$  uyarılmış hale geçirmek için toplam oluşum entalpisi olan  $86 \text{ kcal mol}^{-1}$  yeterlidir. Böylece, bu kemilüminesan öncülerinin, geçiş halindeki aktifleşmiş kompleksin termal ayrışmasını sağlamak için yeterli enerjiyi sağladıkları kanıtlanmıştır [33].



**Şekil 13.** Tetrametildioksetanın termal ayrışmasıyla elektronikçe uyarılmış bir aseton üretiminin gösterimi [33].

**Ayrışma Mekanizması:** Yeni nesil dioksetan türevleri yıllar sonra bile termal kararlılığa sahip olacak şekilde sentezlenmiştir. 20 yıldan fazla yarı ömre sahip ve aktifleşme enerjisi  $37 \text{ kcal/mol}^{-1}$  olan en kararlı dioksetan türevi sentezlenmiştir [35, 36]. Kemilüminesan öncüsünün uyarılmış haldeki ara ürüne ayrışması ancak ısı yoluyla sağlanabilir ve bu da bu moleküllerin uygulama alanlarını kısıtlar. Diğer yandan, dioksetanların reaktivitesi ve termal kararlılığı yüksek enerjili bağ kırılması mekanizması üzerinden ve kimyasal yapısı tarafından kontrol edilebilir [37].

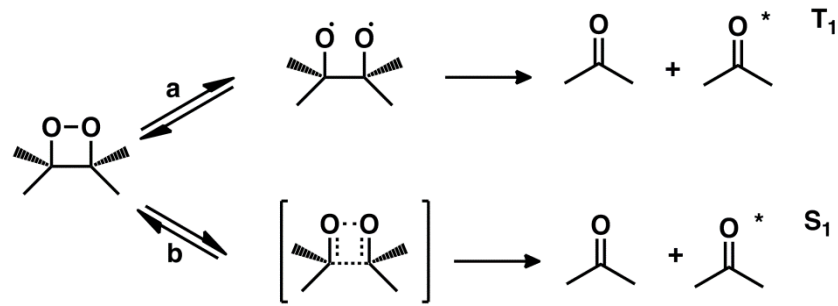
Sterik olarak az engellenmiş olan basit dioksetanların termal ayrışması, singlet uyarılmış karbonil bileşiklerinin az bir miktarıyla birlikte triplet uyarılmış karbonil bileşiklerinin oluşumuna yol açar. Bunun bir sonucu olarak ışığın doğrudan emisyonu beklenemez [33].



**Şekil 14.** Basit bir dioksetanın termal ayrışmasının gösterimi

1,2-Dioksetanlar konserted (concerted), biradikal ve alternatif bir mekanizmanın yarışması yoluyla termal olarak ayrışırlar. Konserted (concerted)

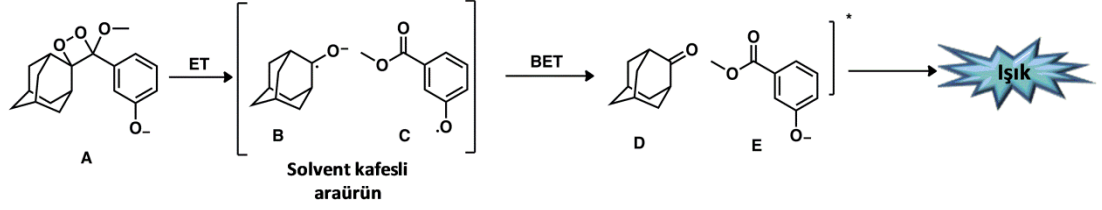
mekanizma, eşzamanlı termal indüklenmeyi takip eder ve birisi uyarılmış halde olan iki karbonil bileşiğinin oluşumu için dörtlü halkanın C-C ve O-O bağlarının homolitik kırılmasına doğrudan yol açar (Şekil.15-a). Biradikal mekanizma durumunda ise, O-O bağları ara ürün formunu oluşturmak için iki farklı yol izleyebilir. Birinci olasılığın olduğu durumlarda ara ürünlerden bazıları hala temel haldeyken bazıları singlet uyarılmış hale geçebilir. İkinci olasılığın olduğu durumlarda ise, ara ürün moleküllerinin bazıları hala temel haldeyken, bazıları da sistemler arası geçiş (intersystem crossing) yoluyla triplet uyarılmış hale geçebilir. Her iki prosesinde de, C-C bağının kırılması gerçekleşmektedir ve böylece iki farklı karbonil bileşiği oluşmaktadır (Şekil.15-b) [38]. Konserted ve biradikal mekanizmaları tek bir ortak özellik üzerinde ilerlemiştir: Geçiş halinde dioksetan halkasının bükülmesidir. Böylece reaksiyon bu bükülmüş geçiş hali üzerinden ilerler.



**Şekil 155.** 1,2-Dioksetanın iki ayrışma mekanizması: (I) Diradikal mekanizması ve (II) CIEEL mekanizması. CIEEL mekanizması genellikle singlet uyarılmış hal (S<sub>1</sub>) ile sonuçlanırken, diradikal mekanizması daha çok triplet uyarılmış hal (T<sub>1</sub>) ile sonuçlanır [1].

Üçüncü fenomen olarak bilinen *kimyasal olarak başlatılmış elektron değişim kemilüminesans mekanizmasında (CIEEL)*, bozunma reaksiyonu fenoksit iyonu gibi yükseltgenabilir bir donörden elektron transferiyle başlar. Fenoksit iyonu kullanılarak çözücü içinde hapsolmuş diradikal çifti oluşumu ve dioksetan bağının kırılması meydana gelmektedir. Geri elektron transferi sonucunda uyarılmış halde bulunan fenoksit ara ürünü temel hale geçerken foton emisyonu verir [39]. Özellikle aromatik bir grubun ayrışmasında, yükseltgeyici gruplar içeren 1,2-Dioksetanlar

CIEEL mekanizması sırasında çok daha yüksek verimde singlet uyarılmış halde ara ürün oluştururlar (Şekil.16).



Şekil 16. 1,2-dioksetanların CIEEL mekanizmasına göre ayrışması [39]

**Lüminesans özellikleri:** Kemilüminojenik maddeler beş kısımdan oluşur (şekil.17).



Şekil 16. Kemilüminojenik molekülün kısımlarının gösterimi

1. Dioksetan Halkası: Dörtlü halkanın ayrışması ile lüminesans oluşumundan sorumlu parçadır.
2. Aktifleyici (tetikleyici) Kısım: Analite özgü dizayn edilebilen, aromatik kısmın aktivasyonu ile ayrışma reaksiyonlarını başlatan parçadır.



3. Aromatik-elektron Transferi Sağlayan Kısım: Elektron transferiyle aktifleştiginde 1,2-Dioksetan halkasının açılmasını tetikler ve ayrıca emisyonundan sorumlu olan parçadır.
4. Alkoksı Grubu: Dioksetan halkasının C-O kısmıyla ve aromatik grup ile aromatik ester formu oluşturarak en düşük uyarılmış hal ( $\pi\pi^*$  singlet) yapan kısımdır. Dahası, dörtlü halkanın sentezi sırasında, alkoksı grubu singlet oksijenin katılımını sağlamak için olefinik fonksiyonu aktifleştirir.
5. Adamantil Grubu: Dioksetan halkasının kararlılığını sağlayan kısımdır. Aromatik gruplar ve alkoksı grubu ile birlikte dioksetan halkasındaki C-C bağının bükülmesini engelleyerek termal kararlılığın artmasını sağlar [33].

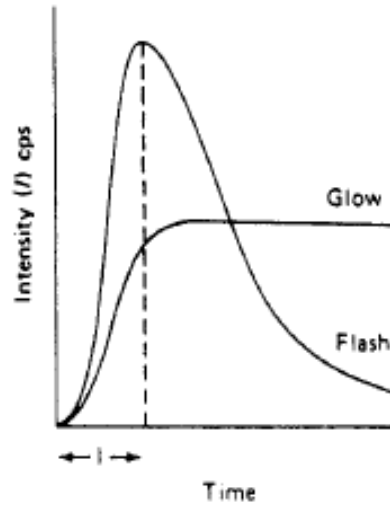
Lüminesansa etki eden yalnızca beş parametre görünmesine rağmen, dikkate alınması gereken önemli bir özellik daha vardır. Uyarılan kısmın pozisyonu oldukça önemlidir. Çünkü, uyarılan kısım CL kuantum verimini, uyarılan ara ürünün emisyonun dalga boyunu, ayrışma oranını ve ışığın emisyon oranını etkiler. Uyarılan kısım, dioksetan halkasına orto ya da para konumda bağlanmaktansa aril kısmında meta pozisyonunda bağlandığı zaman, meta pozisyonundan en büyük yük miktarlarının halkaya transferi sağlanabilir ve yüksek singlet uyarılmış verimleri rahatlıkla gözlemlenebilir. Böylece kimyasal uyarılmış kuantum verimi artırılarak CL kuantum veriminin de artması sağlanır [37].

Aromatik halkanın anilin ile modifikasyonu dioksetan halkasını negatif olarak etkiler. Çünkü amino gruplarının bazik özelliği yüksektir ve ayrışma reaksiyonu sırasında elektronları üzerinde tutarak elektronların transferini engeller. Bu da emisyon yoğunluğunun azalmasına neden olur [40].

Aromatik kısımdan elektron transferiyle başlatılan dioksetan halkasının ayrışması reaksiyon verimini belirleyen aşamadır. Emisyon oranı, kuantum verimi vs. açısından ortam pH'ı çok önemlidir. Fenolik sübstitüent ile modifiye edilmiş

dioksetanın kemilüminesansı aprotik solventler içinde bir baz yardımı ile başlatılabilir. Protonu koparılan (deprotonated) dioksetanın ayrışma oranı, protonlanmamış (unprotonated) olandan  $4.4 \times 10^6$  kez daha hızlıdır. Bu da başka bir noktaya dikkat çeker; tetikleyici kısım analit tarafından kaldırılrsa bile kullanılan çözücü türü ve ortam pH'ının uygunsuzluğundan dolayı emisyon gözlenemez. Örneğin, pKa'sı 9 civarı olan ariloksi grubunun protonlanmasından dolayı sudaki emisyon oranı ve yoğunluğu azalır. Bu yüzden, ayrışma reaksiyonu 9 ya da üzerindeki pH'larda fenoksit iyonunu protonlamayan ama kararlılığı sağlayan aprotik çözücüler kullanılarak gerçekleştirilmelidir [37].

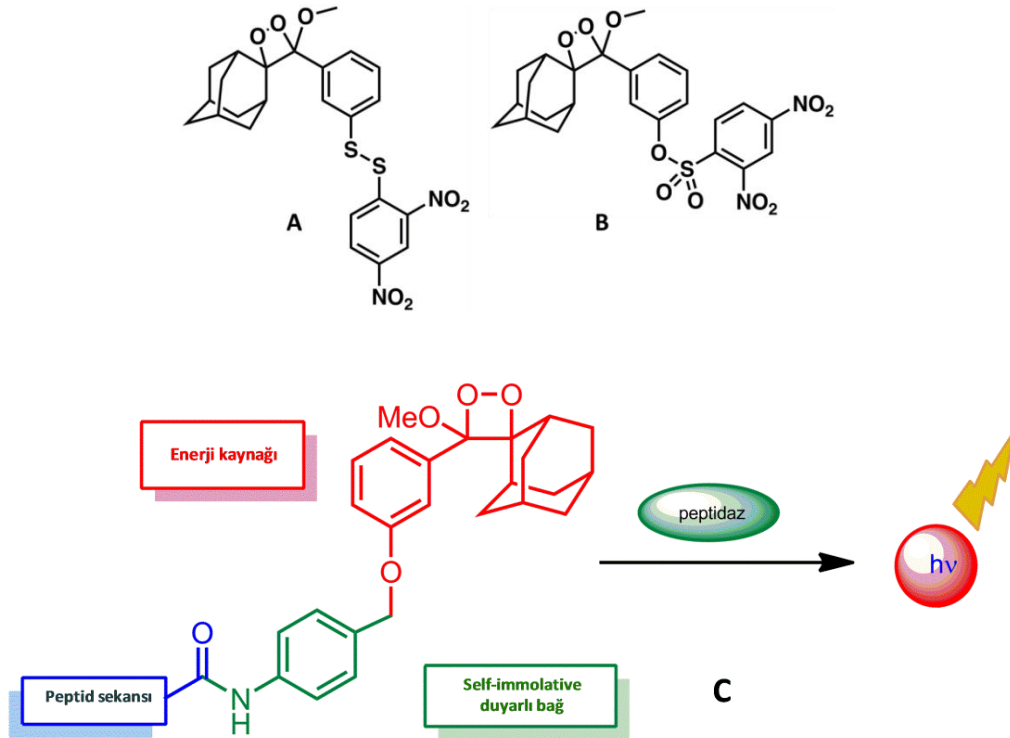
Fenoksit anyonu, ortamın pH'ına, çözücüsüne vs. ye bağlı olarak 2 ile 3 dakika arasında bir yarı ömre sahip orta kararlılıkta bir anyondur. Aslında ışık emisyonu oluşumu iki aşamalı bir süreçtir. İlk aşamada, analit tetikleyici kısmın (X) ayrılmasını sağlar ve bu ayrılma analitin konsantrasyonuna bağlı olarak sabit bir hızda ilerler. İkinci aşamada ise, yavaş ayrılan alkoksi ester ara ürününün uyarılmış halde sürekli üretiminden dolayı bir gecikme fazı oluşur. Böylece, bir süre sonra CL reaksiyonu bir düzliğe ulaşır. Bunun sonucunda, diğerleri hızla kaybolan bir emisyon (flash emisyon) oluştururken, 1,2-Dioksetanların ayrışması parlak ve daha uzun süreli bir emisyonun (glow emisyon) oluşmasına yol açar [37].



**Şekil 17.** Glow ve flash emisyonun zamana bağlı şiddetinin gösterimi

**Uygulamalar:** Bazı türlerin termal kararsızlığı, sulu ortamda emisyonun sönümlenmesi, alkalın ortam yokluğunda emisyonun sönümlenmesi ve lüminesans proseslerinin zorluğundan dolayı, 1,2-Dioksetan türevleri uzun yıllar boyunca teşhis uygulamaları için uygunsuz kabul edilmiştir. Moleküldeki süstitüentlerin yarı ömürleri ve  $S_1$  ve  $T_1$  oranlarına bağı olarak gelişimi araştırmacıları daha kararlı dioksetanlar keşfetmeleri konusunda teşvik etmiştir. Ayrıca, pratik uygulamaları anlamında, dioksetanların termal kararlılığı onların biyoanalitik ve klinik uygulamalarını kolaylaştırmıştır. Hatta, modifiye olmuş tetikleyici grubun reaktivitesiyle fosfataz enzimi [41],  $\beta$ -galaktosidaz enzimi [42] gibi farklı türden analitlerin tayini yapılabilir [1].

1,2-Dioksetanların yeni türleri, kolin esteraz aktivitesinin A [43], glutation transferaz aktivitesinin B [44], ve proteaz aktivitesinin C [40] kemilüminesan tayini için dizayn edilmiş ve sentezlenmiştir.



**şekil 18.** 1,2-Dioksetanların kemilüminesan tayini için kullanımına lüteratür örnekleri

## 2.4. POLAR ORGANİK ORTAMLARDA PALADYUM İYONU İÇİN KEMİLÜMİNOJEN PROBLAR

Bu çalışmada, kemilüminesansın gücünün diğer problemlerle birleştirildiğinde, ilgili analitler için hızlı, nitel ve/veya nicel analiz sağlayabildiği gerçeği göz önüne alınarak kemilüminesans öncüsü maddeler kullanılıp yüklerinin ne olduğu dikkate alınmadan Pd iyonlarını algılamak amacıyla yeni bir perspektif geliştirilmek istenmiştir. Su, toprak, toz, biyolojik bitkiler vs. gibi birçok maddedeki Pd konsantrasyonlarının kemilüminojenik değerlendirilmesi için parlak kemilüminesans problemlerinin veya yapısal olarak ilgili türevlerinin kullanımı ümit verici bir alternatif olacaktır.

Biz bu çalışmanın Pd(0)/Pd(II) temelli kemilüminesans algılayıcıların analitik bakış açısının gelişimine öncü olacağına inanıyoruz.

## 2.5. PALADYUM ALGILAMA

C-C bağı oluşturan reaksiyonlar birçok yeni maddenin sentezini sağlamak için oldukça önemlidir. Örneğin; Buchwald-Hartwig, Heck, Sonogashira, Suzuki-Miyaura Reaksiyonları elde etmesi kolay olmayan kovalent bağlar oluşturma gücüne sahip oldukları için dikkatleri bir hayli üzerlerine çekerler. Bu reaksiyonlar birçok ilacın sentezini de katalizleyen paladyum (Pd) katalizörü varlığında gerçekleşir [45]. Pd ilaç kimyasında da katalizör olarak çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve ilaç endüstrisindeki kullanımından sonra, yapılan geniş analizler sonucunda bile nihayi üründe artık Pd kalıntıları tespit edilmiştir.

Ayrıca, Pd katalizör olarak kullanılmasının yanı sıra, hidrokarbonlar, azot oksitler ve karbon monoksit gibi gaz içerikli kirliliklerin emisyonlarını azaltmak amacıyla araçların egzoz katalizör sistemlerinde Pt, Rh, Ru gibi diğer platinyum grup elementleri ile birlikte kullanılır. Araçların katalitik konvertörlerindeki emisyonlar, kıyı ve okyanus çevreleri, nehirler, bitkiler, ve toprak gibi çevresel alanlarda platinyum grup elementlerinden olan Pd konsantrasyonundaki artışa da yol açar. Bu

durumda da, Pd iyonları besin zinciri yoluyla birçok biyolojik materyale aktarılabilir [46].

İlaç endüstrisinde elde edilen nihai üründe ve besin zinciri yoluyla biyolojik materyallere aktarılan artık Pd iyonları varlığı göz önüne alındığında, bu Pd iyonları potansiyel sağlık tehlikelerini temsil etmektedir. Çünkü önerilen paladyum alımı her bir birey için  $<1.5-15 \mu\text{g/gün}$ 'dür ve ilaçlardaki eşik değeri 5-10 ppm'dir. Pd katalizli reaksiyonlar yaklaşık 300-2000 ppm arasında Pd içerdiği için bu eşik değerini kolaylıkla aşarlar [47].

Gereğinden fazla alınan paladyum ve platinyum grup elementleri astım, bulantı, saç dökülmesi, hamilelerde aniden gözlenen düşük ve dermatit gibi birçok hastalığın gelişmesine yol açabilir. Üstelik,  $\text{Pd}^{+2}$  iyonu tiyol grubu içeren amino asitler, proteinler, DNA ve B6 vitamini gibi biyokimyasalları bağlayarak çeşitli hücrel süreçlerin bozulmasına yol açabilir. Hatta  $\text{Pd}^{+2}$  iyonunun çok küçük miktarı bile birçok alerjik reaksiyonun oluşmasına neden olabilir [46].

Bu nedenlerden dolayı, paladyum iyonlarının hassas ya da seçici yöntemlerle tayini için acil metodlar geliştirilmelidir. Bugüne kadar, atomik absorpsiyon spektrometresi, plazma emisyon spektrometresi, katı fazlı mikro-ekstraksiyon-yüksek-performans sıvı kromatografisi (HPLC), X-ışını floresansı ve indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometresi gibi geleneksel yöntemler yüksek hassasiyet ve hızlı ölçümü elde etmek için uygulanmıştır [48]. Fakat, bu metodların uygulanması sırasında ön analizlerdeki çapraz kontaminasyonları önlemek için büyük ve pahalı ekipmanlara, gelişmiş örnek hazırlama tekniklerine ve iyi eğitilmiş operatörlere ihtiyaç duyulmaktadır.

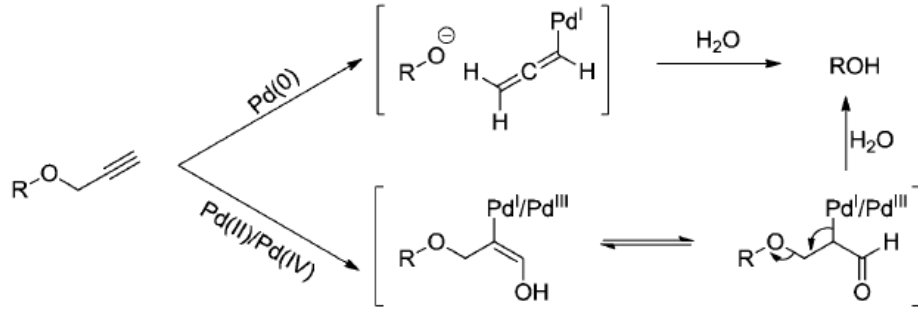
### 2.5.1. Paladyum İyonlarının Floresan Tayini

Floresan tayin metodları geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığı zaman, düşük maliyetli olmalarından ve düşük tayin sınırına sahip olmalarından dolayı daha fazla tercih edilmektedirler. Literatürde oldukça fazla kolorimetrik ve floresan yöntemler kullanılarak tayin edilen Pd iyonu algılayıcı örnekler vardır. Kolorimetrik

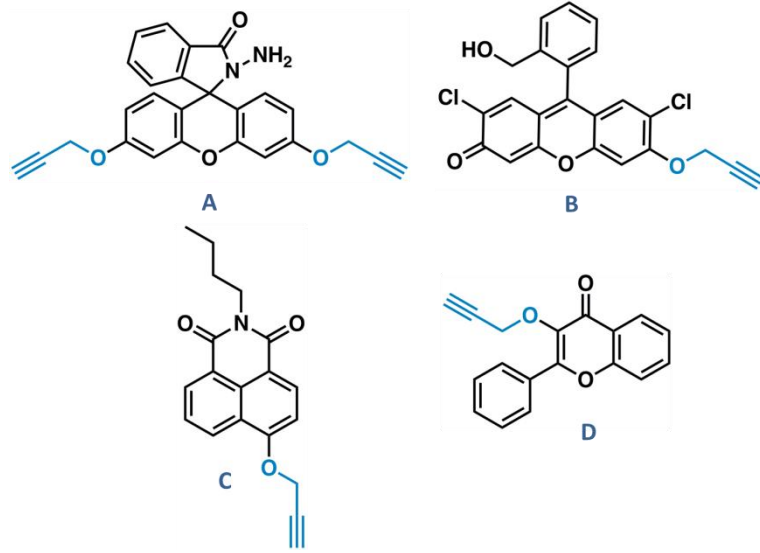
problar çoğunlukla Pd<sup>+2</sup> iyonlarının tayinleri baz alınarak geliştirilmektedirler. Örneğin; bazı problar *p*-nitrofenilamino [49] bileşiklerinin türevlerinin kullanımına göre tasarlanırken, bazı problar da azo bileşikleri [50], oksimler [51], hidrazonlar [52] ve merkaptoreseptörlerinin [53, 54] baz alınmasına göre tasarlanmıştır. Bunların yanı sıra, floresan bazlı yöntemlerin kullanılması durumunda, problar, floresan koordinasyonlu sönümlenme [55], floresan koordinasyonlu geliştirme [56], reaksiyon tabanlı algılama ve floroforun oluşum yöntemleri [57] de düşünülerek dizayn edilir. Çünkü bu problar, canlı hücreler ve canlı dokulara ait analitlerin mikroskopik görüntüleme teknikleriyle tayini için kullanılabilir.

Koordinasyon mekanizmalarına dayanılarak sentezlenen floresan problar, paladyum iyonlarının diğer geçiş metallere önemli derecede etkilenmesinden kaynaklı dezavantajları ile birlikte paladyum iyonlarının paramanyetik özelliğinin bir sonucu olarak sönümlenirler. Diğer yandan, probları baz alan algılama mekanizmaları, reaksiyon parametrelerinin etkili bir şekilde kontrolünü sağlayacak özel bir mekanizma üzerinden ilerlediği için bu problar olağanüstü bir seçiciliği temsil eder [58]. Allilik kısımda ayrılan grup içeren bir substrat ile Pd(0) katalizörlüğünde gerçekleşen nükleofilik süstitüsyon reaksiyonu olan Tsuji-Trost reaksiyonuna göre allil eter grubu içeren problar elde edilir [59, 61].

Pd iyonlarının spesifik tespiti için uygulanan bir diğer reaksiyon çeşidi de proparjil kısmının bozunma (depropargylation) reaksiyonlarıdır. Proparjil eterle modifiye edilmiş problar, Pd<sup>+2</sup>/Pd<sup>+4</sup> katalizli hidrasyon ara ürünlerinden ya da alkin kısmına Pd<sup>0</sup>'ın oksidatif katılımıyla elde edilen allenil-Pd ara ürününden sağlanan paladyum kaynağına bağlı olarak iki farklı mekanizma üzerinden (Şekil.19) hidroliz edilebilir. Şekil.20'deki moleküllerin depropajilasyon reaksiyonları temel alınarak dizayn edilen probların Pd iyonları ile reaksiyonları dikkatleri üzerine çeker [58, 62-64].



Şekil 19. Pd-katalizli depropajilasyon reaksiyonu [46]



Şekil 20. Deproparjilasyon reaksiyonu ile Pd iyonunun floresan tayini

### 2.5.2. Kemilüminesan Proben Dizayını

1,2-Dioksetanların yapısı ve emisyon yoğunluğunu etkileyen parametreler dikkate alınarak, spektroskopik ölçümler sırasında kullanım kolaylığı sağlayan adamantil grubu, bileşiğin termal kararlılığını sağlamak için seçildi. Ayrıca, reaksiyonu tetikleyici (aktifleştirici) kısım olarak problardan birinin bir parçası propargil eter ile diğerinin bir parçası ise allil ester ile modifiye edildi. Böylelikle ışık emisyonu çıkaran kemilüminojenik bir reaksiyon için en önemli koşullardan biri olan; güçlü ve spesifik ayrışma için problardan biri deproparjilasyon reaksiyonuna göre diğeri ise Tsuji-Trost reaksiyonuna göre, hızlı bir şekilde ayrışma reaksiyonunu

başlatacaktır. Olefinik kısmının aktivasyonunu sağlamak için de metoksi grubu seçildi ve aktifleyici kısım, kemilüminojenik reaksiyonun hızlanmasına katkı sağlamak amacıyla doğrudan aril kısmına takıldı.

Bildiğimiz kadarıyla şimdiye dek, Pd iyonlarının tayini için kemilüminesans yöntemini baz alan bir çalışma yapılmamıştır. Biz bu çalışmanın farklı analitik bakış açısıyla kemilüminesans bazlı yeni sensörlerin sentezinde öncü olacağını umut ediyoruz.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

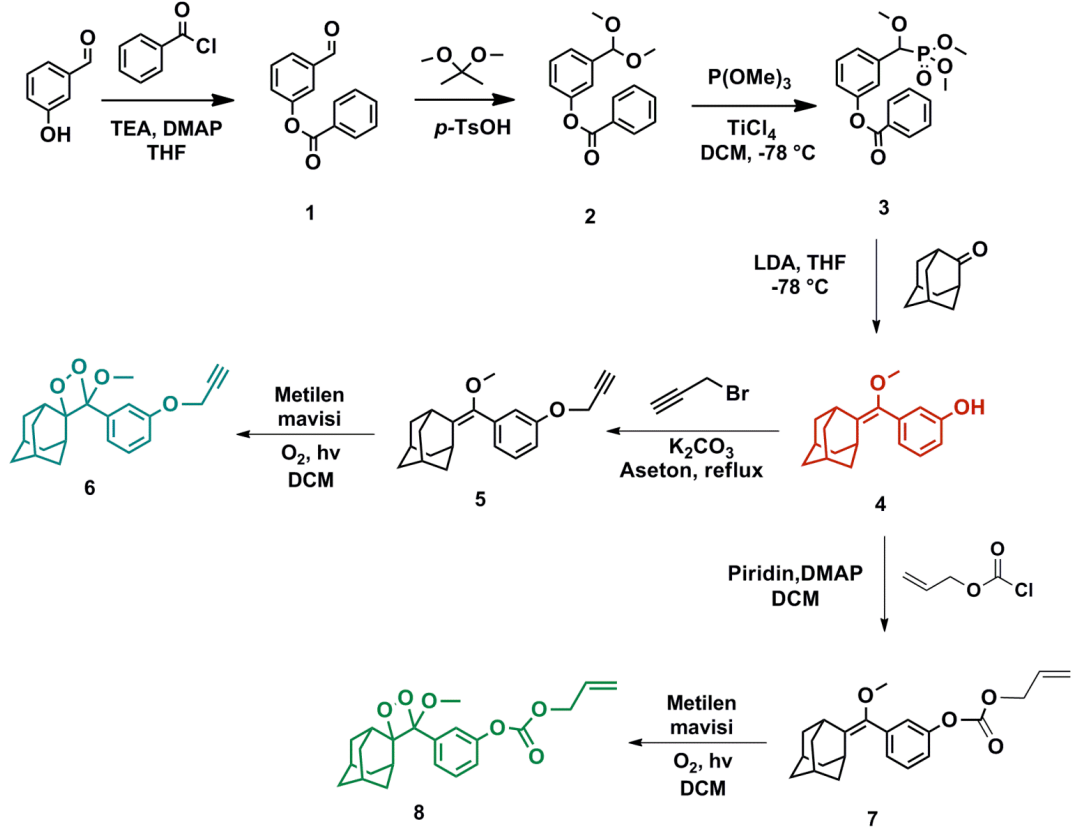
#### 3.1. GENEL

Aksi belirtilmedikçe ticari olarak satın alınan kimyasallar daha fazla saflaştırılmadan kullanılmıştır.  $^1\text{H-NMR}$  ve  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumları *Bruker* Instrument Avance Series-Spectrospin DPX-400 Ultra Shield cihazı ile içerisinde referans miktarda TMS bulunan  $\text{CDCl}_3$  çözücüsü kullanılarak alınmıştır.  $^1\text{H-NMR}$  sinyalleri kimyasal kayma  $\delta$  (ppm), yarıma [singlet (s), dublet (d), dubletin dublet (dd), triplet (t), kvartet (q), multipl (m) ve broad (br.)], yarıma sabiti  $J$  (Hz) ve integrasyon olarak verilmiştir.  $^{13}\text{C-NMR}$  için kimyasal kayma değerleri yazılmıştır.  $^1\text{H-NMR}$ 'ında TMS  $\delta = 0$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ 'ında  $\text{CDCl}_3$   $\delta = 77.23$  referans alınmıştır. Tam kütle tayini (HRMS) *Agilent* Technologies 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Kemiluminesans ölçümleri *Varian Eclipse* spektrofloreometre cihazı ile yapılmıştır. Spektroskopi deneyleri için spektrofotometrik grade solventler kullanılmıştır. Flash kolon kromatografisi (FCC) flash grade kalite silika jel (Merck Silica Gel 60 (40–63  $\mu\text{m}$ )) ile cam kolonlarda yapılmıştır. İnce tabaka kromatografisi (TLC) için *Merck* (Silica Gel PF-254) 0.25 mm silika jel ile kaplı 20x20 cm çapındaki alüminyum tabakalar kullanılmıştır ve UV-Vis ışık altında gözlenerek gereken durumlarda uygun boyar madde ile boyanmıştır. Bütün organik özütler FCC'ye verilmeden önce kuru  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  eklenerek kurutulmuş ve vakum altında konsantre hale getirilmiştir. Çözücüler literatürde bilinen yöntemlerle kurutulmuştur. Diğer bütün kimyasallar ve çözücüler ticari kaynaklardan elde edilmiş ve alındığı gibi kullanılmıştır.

## 3.2. SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN YAPILIŞI ve ANALİZİ

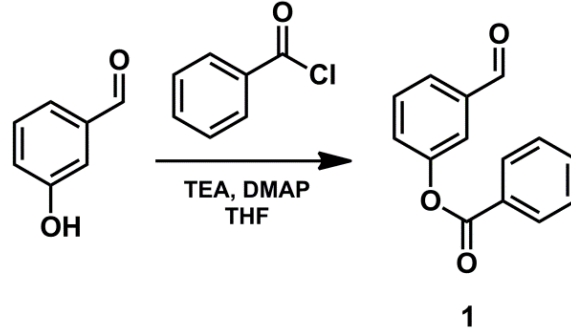
### 3.2.1. Kemilüminesan Pd(0) Problarının Sentez Yolu

Hedef bileşikler (**6** ve **8**) için izlenen sentez şeması aşağıdaki gibidir:



Şekil 21. Kemilüminesan paladyum problemlerinin (bileşik **6** ve bileşik **8**) sentez şeması

### 3.2.2. Bileşik 1'in Sentezi:

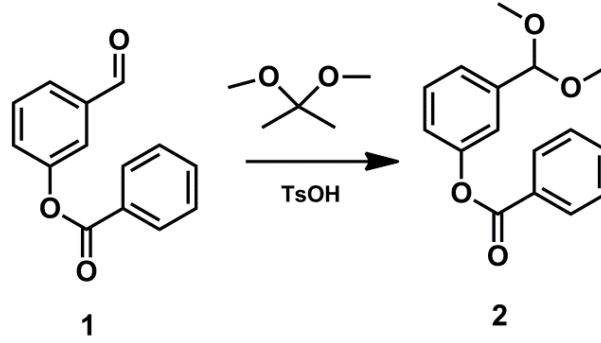


3-Hidroksi benzaldehit (1 g, 8.19 mmol) kuru THF içinde çözüldükten sonra reaksiyon karışımı 0 °C'ye soğutuldu ve üzerine TEA (1.71 mL, 12.2 mmol) ilave edilerek 20 dakika karıştırıldı. Katalitik miktarda DMAP eklendikten sonra, benzoil klorür (1.38 mL, 12.2 mmol) reaksiyon karışımına damla damla ilave edildi ve oda sıcaklığında karıştırılmaya bırakıldı. Reaksiyonun ilerleyişi TLC ile takip edildi. TLC'de başlangıç maddesi görülmediğinde reaksiyon yarısına kadar konsantre edildi. Konsantre edilen reaksiyon karışımı EtOAc ile seyreltildi ve NaCl çözeltisi (brine) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> üzerinden kurutuldu. Çözücünün vakum altında uzaklaştırılmasından sonra flash silika-jel kolon kromatografisi (EtOAc/Hexane (1:5, v/v) ) kullanılarak saflaştırıldı. Beyaz katı halde bileşik **1** elde edildi (1.41 g, 76%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.04 (s, 1H), 8.23 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.78-7.82 (m, 2H), 7.57-7.69 (m, 2H), 7.51-7.57 (m, 3H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 191.1, 164.8, 151.5, 137.8, 133.9, 130.24, 130.21, 129.0, 128.71, 128.69, 127.9, 127.3, 122.5 ppm.

### 3.2.3. Bileşik 2'nin Sentezi:



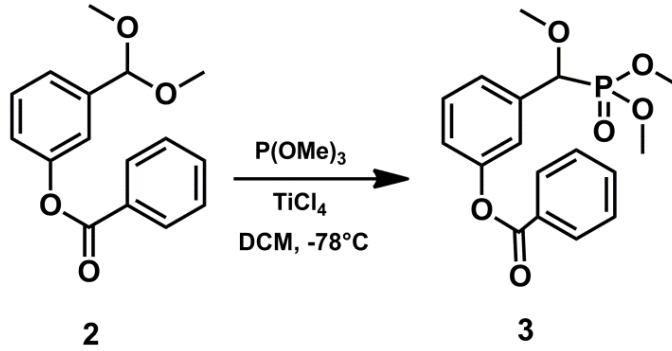
Bileşik **1** (1 g, 4.42 mmol), 2,2-Dimetoksi propan (1.2 mL) ve katalitik miktarda *p*-toluensülfonik asit  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de karıştırıldı. Reaksiyonun ilerlemesi TLC ile izlendi. TLC'de başlangıç maddesi görülmediğinde, reaksiyon yarısına kadar konsantre edildi. Konsantre edilen reaksiyon karışımı EtOAc ile seyreltildi ve NaCl çözeltisi (brine) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  üzerinden kurutuldu. Çözücünün vakum altında uzaklaştırılmasından sonra flash silika-jel kolon kromatografisi (EtOAc/Hexane (1:5, v/v) ) kullanılarak saflaştırıldı. Açık sarı renkli vizkos sıvı halde bileşik **2** elde edildi (745 mg, 62%).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.24 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.65 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.39-7.55 (m, 5H), 7.23 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 3.37 (s, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.1, 151.0, 140.0, 133.6, 130.1, 129.5, 129.3, 128.6, 124.2, 121.7, 120.2, 102.2, 52.5 ppm.

MS (TOF- ESI): m/z: Hesaplanan  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$ : 295.09408  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Bulunan: 295.09078  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $\Delta = 11.18$  ppm

### 3.2.4. Bileşik 3'ün Sentezi:



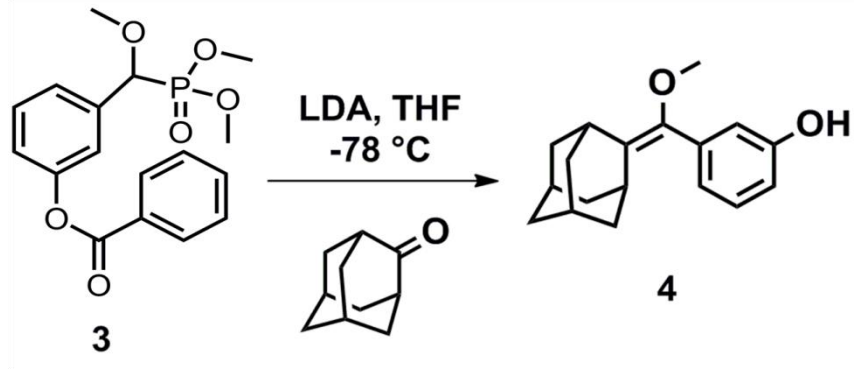
Bileşik 2'nin (500 mg, 1.84 mmol) nin DCM içerisindeki çözeltisine, -78 °C'de Ar altında trimetil fosfit (0.3 mL, 2.58 mmol) ilave edildi. 15 dakika sonra, -78 °C'de TiCl<sub>4</sub> (0.3 mL, 2.58 mmol) reaksiyon karışımına damla damla ilave edildi. Karışım, oda sıcaklığına gelmesine izin verilmeden önce 30 dakika karıştırıldı ve daha sonra 1 saat boyunca da oda sıcaklığında karıştırıldı. H<sub>2</sub>O:MeOH (2:1) ilave edildikten sonra, reaksiyon karışımı DCM ile seyreltildi ve ilk olarak doymuş NaHCO<sub>3</sub> çözeltisi ile daha sonra da NaCl çözeltisi (brine) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> üzerinden kurutuldu. Çözücünün vakum altında uzaklaştırılmasından sonra flash silika-jel kolon kromatografisi (EtOAc) kullanılarak saflaştırıldı. Beyaz katı halde bileşik 3 elde edildi (583 mg, 91%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.22 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.66-7.68 (m, 1H), 7.52-7.55 (m, 2H), 7.48 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.24 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.60 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 7.0, *J* = 10 Hz, 6H), 3.45 (s, 3H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.0, 151.19, 151.16, 136.1, 133.6, 130.1, 129.6, 129.5, 128.6, 125.4, 125.3, 122.0, 121.94, 121.2, 121.1, 80.7, 79.0, 59.0, 58.8, 54.0, 53.9, 53.8, 53.7 ppm.

MS (TOF- ESI): m/z: Hesaplanan C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>O<sub>6</sub>P: 373.07657 [M+ Na]<sup>+</sup>. Bulunan: 373.07657 [M+ Na]<sup>+</sup>, Δ=12.27 ppm.

### 3.2.5. Bileşik 4'ün Sentezi:



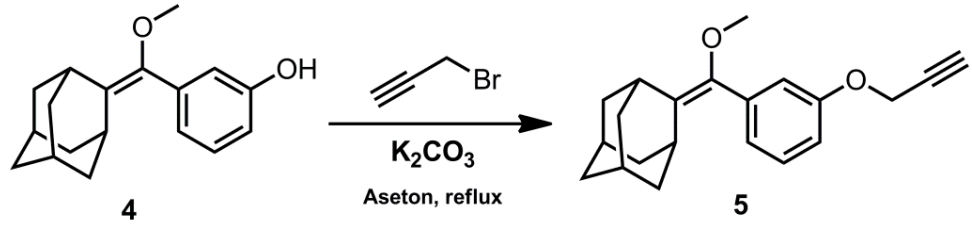
Ar altında -78 °C'de 1 mL kuru THF içerisinde çözülmüş olan bileşik **3**'ün (430 mg, 1.23 mmol) reaksiyon karışımı üzerine damla damla lityumdiisopropil amit (1.8 mL, 3.07 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 45 dakika boyunca karıştırıldıktan sonra, 2-adamantanon (166 mg, 1.11 mmol) kuru THF içerisinde çözüldü ve Ar altında -78 °C'de reaksiyon karışımına damla damla ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığında gece boyunca karışmaya bırakıldı. Reaksiyon karışımı fosfat tamponu (0.2 M, pH = 7) içine döküldükten sonra, EtOAc ile ekstrakt edildi. Organik faz  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  üzerinden kurutuldu. Çözücünün vakum altında uzaklaştırılmasından sonra flash silika-jel kolon kromatografisi (EtOAc/Hexane (1:5, v/v) ) kullanılarak saflaştırıldı. Beyaz katı halde bileşik **4** elde edildi (312 mg, 94%).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.17 (s, br, 1H), 7.09 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.70-6.77 (m, 2H), 3.24 (s, 3H), 3.15 (s, 1H), 2.57 (s, 1H), 1.67-1.85 (m, 12H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  155.8, 142.8, 136.7, 132.4, 129.1, 121.8, 115.9, 114.6, 57.7, 39.1, 39.0, 37.1, 32.2, 30.3, 28.2 ppm.

MS (TOF- ESI): m/z: Hesaplanan  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_2$ : 271.16926  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Bulunan: 271.16357  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $\Delta = 13.59$  ppm.

### 3.2.6. Bileşik 5'in Sentezi:



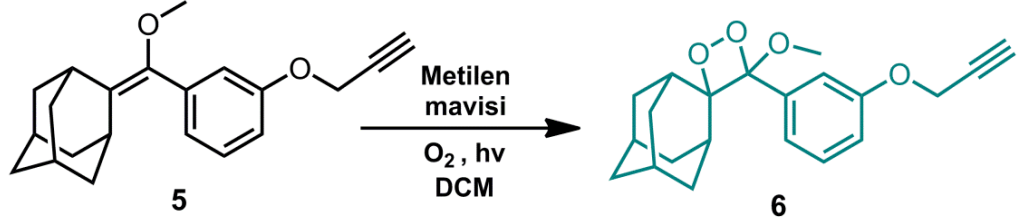
Bileşik 4 (70 mg, 0.26 mmol) ve propargil bromür (45 uL, 0.52 mmol), 5 ml aseton içinde çözülerek reaksiyon karışımına, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (107 mg, 0.78 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımına KI'nın katalitik miktarının ilave edilmesinden sonra, 65 °C'de reflux edildi. Reaksiyonun ilerleyişi TLC ile takip edildi. TLC'de hiçbir başlangıç maddesi görülmediğinde reaksiyon su ile (3x100 mL) ile ekstrakt edildi ve organik faz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> üzerinden kurutuldu. Çözücünün vakum altında uzaklaştırılmasından sonra flash silika-jel kolon kromatografisi ( EtOAc/Hexane (1:5, v/v) ) kullanılarak saflaştırıldı. Renksiz katı halde bileşik 5 elde edildi (75 mg, 94%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.29 (td, *J*=8.1, 1.1 Hz, 1H), 6.99-6.97 (m, 2H), 6.94-6.91 (m, 1H), 4.72 (s, 2H), 3.32 (s, 1H), 3.28 (s, 1H), 2.65 (s, 1H), 2.55-2.54 (m, 1H), 2.00-1.81 (m, 12H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 157.3, 143.2, 136.9, 131.7, 128.9, 122.7, 115.6, 114.0, 75.5, 57.7, 55.7, 39.3, 39.1, 37.2, 32.2, 30.2, 28.3 ppm.

MS (TOF- ESI): *m/z*: Hesaplanan C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>: [M+H]<sup>+</sup>. Bulunan: 309.18983 [M+H]<sup>+</sup>, Δ = -1.68 ppm.

### 3.2.7. Bileşik 6'nın Sentezi:



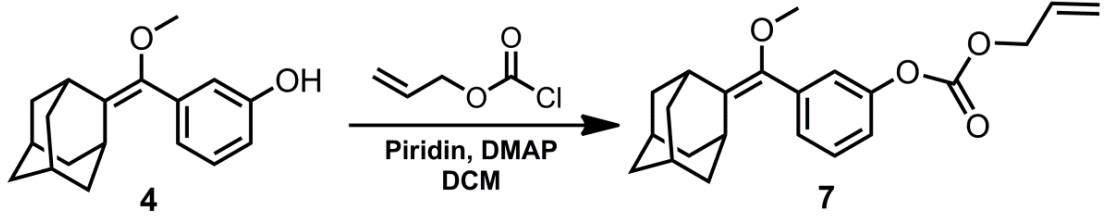
Bileşik 5 (100 mg, 0.32 mmol), DCM içerisinde çözüldü. Işınlandırılan reaksiyon karışımının içinden oksijen gazı geçerken, metilen mavisi (5 mg) karışıma ilave edildi. Reaksiyonun ilerleyişi TLC ile takip edildi. TLC’de hiçbir başlangıç maddesi görülmediğinde karışım vakum altında konsantre edildi ve çözücünün vakum altında uzaklaştırılmasından sonra flash silika-jel kolon kromatografisi (DCM) kullanılarak saflaştırıldı. Beyaz katı halde bileşik 6 elde edildi (108 mg, 98%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.37-7.13 (br, m, 3H), 7.05-7.02 (m, 1H), 4.74 (s, 2H), 3.24 (s, 3H), 3.04 (s, 1H), 2.52 (s, 1H), 2.22 (s, 1H), 1.92-1.01 (m, 12H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 157.5, 136.3, 129.3, 122.8, 121.3, 120.2, 119.1, 116.2, 111.9, 95.4, 75.7, 55.8, 49.9, 36.4, 34.7, 33.1, 32.9, 32.3, 31.6, 31.5, 26.0, 25.9 ppm.



### 3.2.8. Bileşik 7'nin Sentezi:



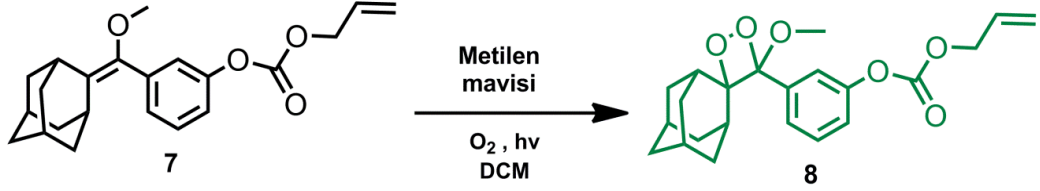
Molekül 4 (135 mg, 0.5 mmol) DCM içinde çözüldü ve piridin (56 µL, 0.7 mmol) ilave edildi Reaksiyon karışımı 10 dakika boyunca oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Katalitik miktarda DMAP ilave edildikten sonra, allyl kloroformat (72.3 mg, 0.6 mmol) DCM içerisinde çözülerek 0 °C'de reaksiyon karışımına damla damla ilave edildi ve reaksiyon karışımı gece boyunca oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Reaksiyonun ilerleyişi TLC ile takip edildi. TLC'de hiçbir başlangıç maddesi görülmediğinde, reaksiyon karışımı vakum altında konsantre hale getirildi. Çözücünün uzaklaştırılmasından sonra ham ürün flash silika-jel kolon kromatografisi ( EtOAc/Hexane (1:5, v/v) ) kullanılarak saflaştırıldı. Renksiz katı halde bileşik 7 elde edildi (150 mg, 85%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.37 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.12 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.07-5.99 (m, 1H), 5.45 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 5.34 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 4.77 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 3.27 (s, 1H), 2.68 (s, 1H), 2.00-1.81 (m, 12H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 153.4, 150.9, 142.5, 137.1, 132.6, 131.1, 128.9, 126.9, 121.7, 119.8, 119.4, 69.1, 57.8, 39.1, 39.0, 37.1, 32.1, 30.2, 26.2 ppm.

MS (TOF- ESI): *m/z*: Hesaplanan C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>: 355.19039 [M+H]<sup>+</sup>. Bulunan: 355.19886 [M+H]<sup>+</sup>, Δ = -1.52 ppm.

### 3.2.9. Bileşik 8'in Sentezi:



Bileşik 7 (120 mg, 0.34 mmol) DCM içerisinde çözüldü. Oksijen gazı içinden geçerken ışınlandırılan reaksiyon karışımına, metilen mavisi (5 mg) ilave edildi. Reaksiyonun ilerlemesi TLC ile izlendi. TLC’de hiçbir başlangıç materyali görülmediğinde karışım vakum altında konsantre edildi ve çözücünün uzaklaştırılmasından sonra flash silika-jel kolon kromatografisi (DCM) kullanılarak saflaştırıldı. Beyaz katı halde bileşik 8 elde edildi (124 mg, 95%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.46 (br, m, 3H), 7.25 (dd, *J* = 9.13, 2.4 Hz, 1H), 6.06-5.96 (m, 1H), 5.47-5.41 (m, 1H), 5.36-5.33 (m, 1H), 4.76 (d, *J* = 5.82 Hz, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.04 (s, 1H), 2.15 (s, 1H), 1.82-0.99 (m, 12H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 153.2, 151.1, 136.6, 131.0, 129.3, 127.2, 125.6, 122.3, 122.0, 119.5, 117.5, 95.3, 69.2, 49.9, 36.3, 34.7, 33.1, 32.8, 32.2, 31.7, 31.5, 26.0, 25.8 ppm.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

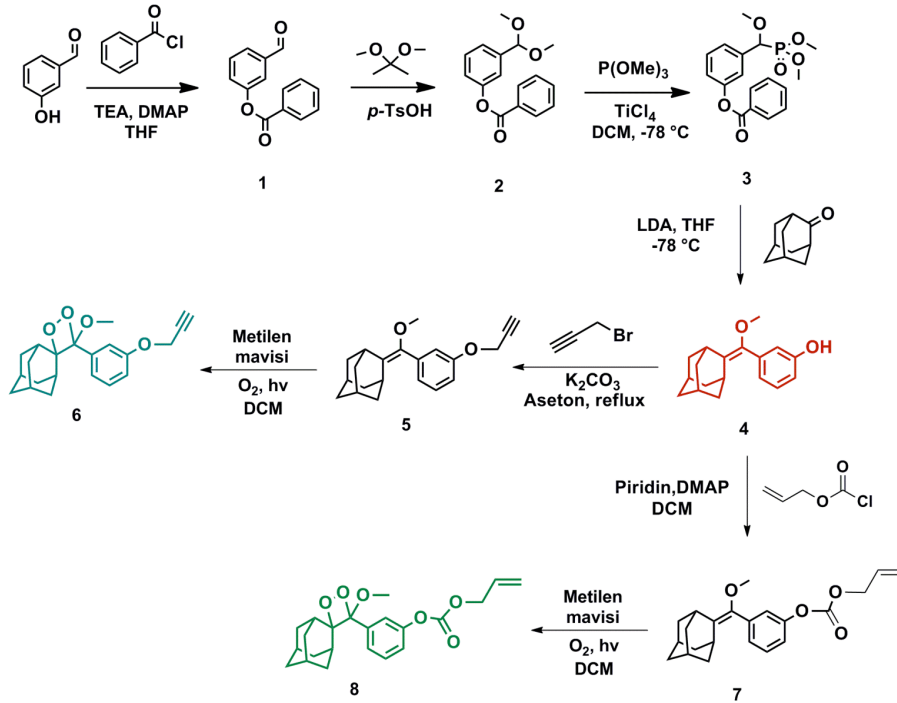
### 4.1. KEMİLÜMİNESAN PALADYUM PROBLARI İÇİN SENTETİK YAKLAŞIM

Probların sentezi için, keton, ester ve keton-ester etkileşim ürününe neden McMurry kenetlenme reaksiyonu yerine Wadworth-Emmons Wittig Olefination reaksiyonu kullanıldı. Çünkü McMurry reaksiyonu sonucunda olası üç ürünün oluşması hem reaksiyon veriminin düşmesine hem de reaksiyonun keton formu ürün oluşumunu tercih etmesine neden olmaktadır. Oysa Wadworth-Emmons Wittig Olefination reaksiyonu sırasında reaksiyonun kontrol edilmesine neredeyse hiç ihtiyaç duyulmadan dioksetan türevlerinin sentezi kolaylıkla gerçekleştirildi. Wittig Olefination reaksiyonlarına, asetal oluşumu sırasında polimerleşmeyi engellemek için 3-hidroksibenzaldehitin benzoil ester türevi sentezlenerek yapının korunmasıyla başlandı. Hem olefinik grubun yapıya katılımını sağlamak için hem de olefinik grubun aktivasyonu ile singlet oksijen katılım reaksiyonunu gerçekleştirmek için probun alkoksi grubu sentezlendi. Alkoksi grubu sentezi için, katalitik miktarda *p*-toluensulfonik asit ile 2,2-Dimetoksipropan, asetal ile fonksiyonlandırılan yapıya eklendi. Wittig olefinleştirilmesi ile elde edilen yapının son halinde çift bağ oluşturmak için titanyum tetraklorür katalizörlüğünde Michaleis-Arbusov reaksiyonu yoluyla yapı fosfonat varlığında fonksiyonlandırıldı. Titanyum tetraklorür düşük sıcaklıklarda reaksiyonu hızlandıran ve istenen ürünün basit bir şekilde izolasyonunu sağlayan bir Lewis asitidir. Fosfonat türevinin LDA ile muamelesi sonucunda, bileşik 3'ün yilür (ylide) formunun öncüsünün oluşmasını sağlamak için asidik proton koparıldı. Daha sonra bileşik 3 ile adamantanon reaksiyona sokularak olefin 4'ün oluşumu sağlandı.

Birinci prob olan bileşik 6'nın sentezi sırasında, dörtlü halka biriminin hassasiyeti ve reaktivitesi yüzünden fotooksidasyon reaksiyonundan önce proparjil grubu yapıya eklendi. Bileşik 4'ün proparjilasyonu, proparjil bromürün süstitüsyon reaksiyonu ile gerçekleştirildi. Son olarak probun sentezi dioksetanın bileşik 5 ile fotooksidasyonu ile tamamlandı. Oksijen molekülü doğada triplet halde bulunur. Ancak fotoduyarlaştırıcılar varlığında kendi fotooksidasyonunu sağlayan singlet

oksijen siklokatalıma reaksiyonu için aktif olanıdır. Bu çalışmada, fotoduyarlastırıcı olarak ışıkla uyarılan metilen mavisi (methylen blue, MB) kullanıldı. MB temel hale tekrar relaks olurken, enerjisini triplet oksijene aktararak reaktif singlet oksijenin üretimini sağlar. Bu da, daha sonra bileşik 6'yı oluşturmak için [2+2] siklokatalıma reaksiyonu yaparak olefin 5 ile reaksiyona girmektedir. Organik fonksiyonları açısından probun yapısını incelediğimizde, oksijen alkalın parça yerine çift bağa katılmayı tercih eder. Çünkü, elektron pompalayıcı metoksi biriminden dolayı çift bağın elektron yoğunluğu alkalın birimine göre daha fazladır.

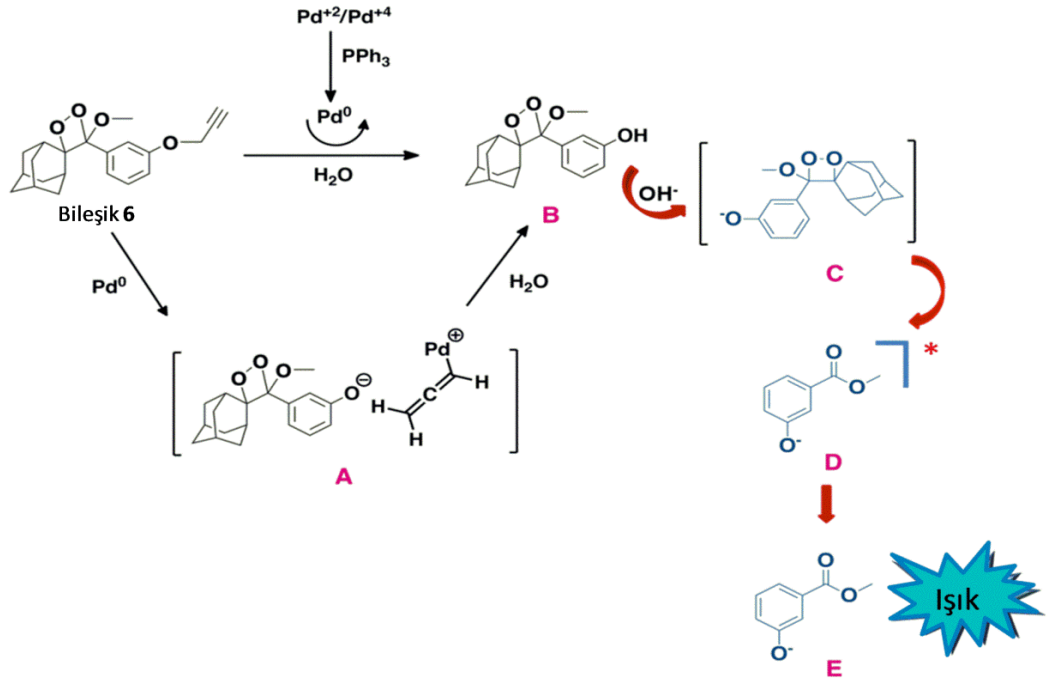
İkinci prob olan bileşik 8'in sentezi için, DMAP katalizörlüğünde allilkloroformatın nükleofilik süstitüsyon reaksiyonuna göre bileşik 4 modifiye edildi. Bileşik 7'nin MB ile ışık altında fotooksidasyonu sonucunda da bileşik 8 sentezlendi. Fotooksidasyon reaksiyonları -78 °C'de yapıldı. Fakat ikinci prob olan bileşik 8'in sentezi sırasında, CO<sub>2</sub>'nin yapıdan kolayca elimine olmasından kaynaklı allil grubunun ve karbonat grubunun yüksek hassasiyetinden dolayı reaksiyonlar temkinli bir şekilde yapıldı.



**Şekil 22.** Kemilüminesan paladyum problemlerinin (bileşik 6 ve bileşik 8) sentez şeması

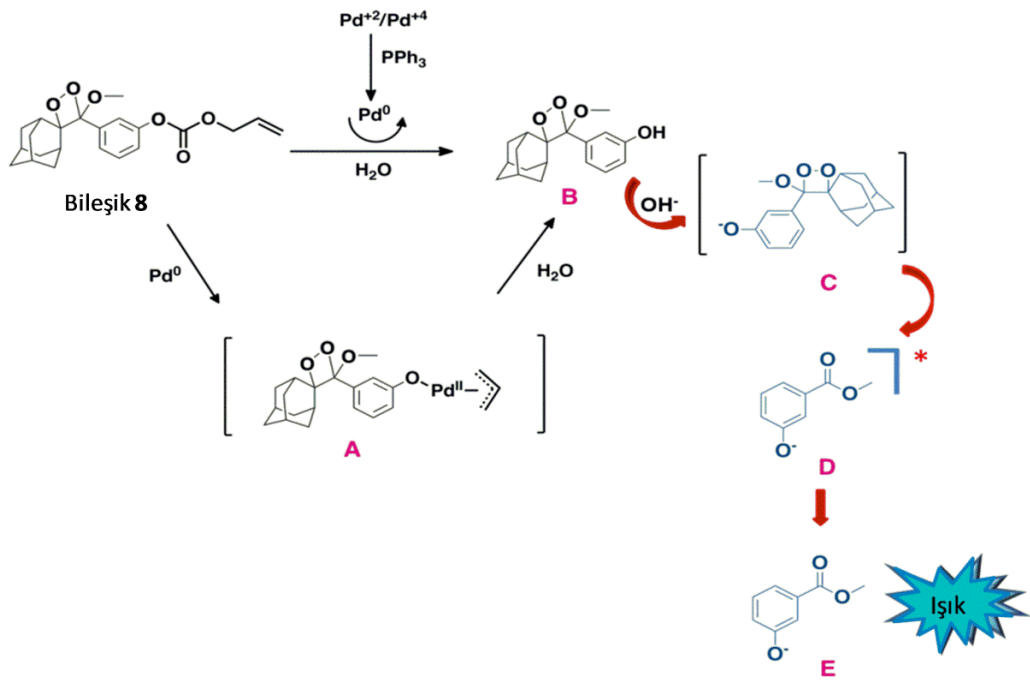
## 4.2. KEMİLÜMİNESAN PALADYUM PROBLARININ ÇALIŞMA PRENSİBİ

Deproparjilasyon reaksiyonunun sonucunda Paladyum iyonlarını tayin eden birinci prob (bileşik **6**) dizayn edildi. Başlangıçta, ayrışma mekanizmasının klasik deproparjilasyon reaksiyonundan önce geleceği umuluyordu. Fakat kemilüminesans reaksiyonlarının doğasının bir sonucu olarak paladyum iyonlarının yüküne bakılmaksızın deproparjilasyon reaksiyonlarının daha önce gerçekleştiği gözlemlendi. Önerilen kemilüminesans deproparjilasyon reaksiyonu alkin grubuna Pd(0)'ın eklenmesiyle başlatıldı ve bunun sonucunda allenil-Pd formu olan ara ürün **A** elde edildi. Daha sonra, ara ürün **A**, su moleküllerinin bir nükleofil gibi davranmasıyla bileşik **B**'nin oluşmasını sağladı. Fenoksit iyonunun pKa'sının 9 civarı olmasından dolayı bileşik **B** ile bileşik **B**'nin fenolik formu olan bileşik **C** dengede bulunmaktadır. Bu sebepten dolayı, reaksiyon ortamına kuvvetli bir baz eklenmesiyle denge 1,2-Dioksetanın aktifleştirilmiş formunun oluşumu yönüne kaydırıldı. Elde edilen aktifleştirilmiş 1,2-Dioksetan formunun enerjisini dört üyeli halkaya aktarmasıyla da ayrışma reaksiyonu başlatıldı ve uyarılmış halde **D** bileşiğinin oluşumu sağlandı. **D** bileşiğinin temel hale tekrar relaks olmasıyla da foton emisyonu veren bileşik **E** elde edildi.



**Şekil 23.** Pd(0) katalizli deproparjilasyon mekanizmasına göre önerilen kemilüminesan reaksiyonları

Prob 2'nin (bileşik 8) kullanıldığı durumda, Pd(0)'ın A bileşiğine allilik oksidatif katılmasıyla başlatılan Tsuji-Trost reaksiyonuna göre mekanizmanın ilerleyeceği umuluyordu. Bu reaksiyona göre A bileşiğine suyun nükleofilik eklenmesiyle de bileşik B elde edilip yukarıda bahsettiğimiz prosese göre en sonunda da bileşik E elde edilip foton emisyonu gözlemlenecekti. Ancak, format grubunun nükleofilik ataklara karşı dayanıksızlığından dolayı, orta kuvvette bir bazın reaksiyon ortamına eklenmesiyle sonuçlanan arka plan emisyonunun oluşması engellenemedi. Bu yüzden, prob 2 başta beklenildiği gibi spesifik bir şekilde çalıştırılmadı.

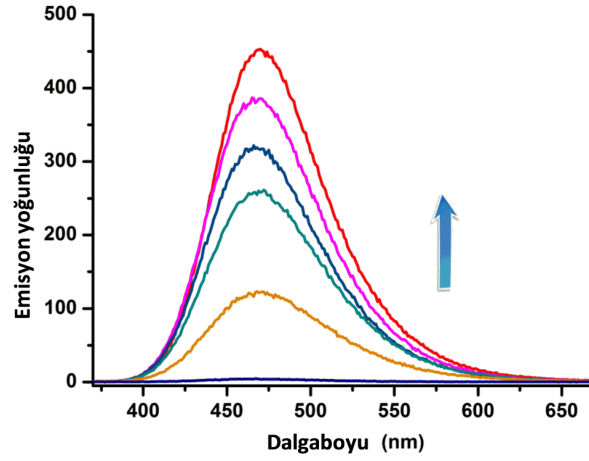


**Şekil 24.** Pd(0) katalizli Tsuji-Trost mekanizmasına göre önerilen kemilüminesan reaksiyonları

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

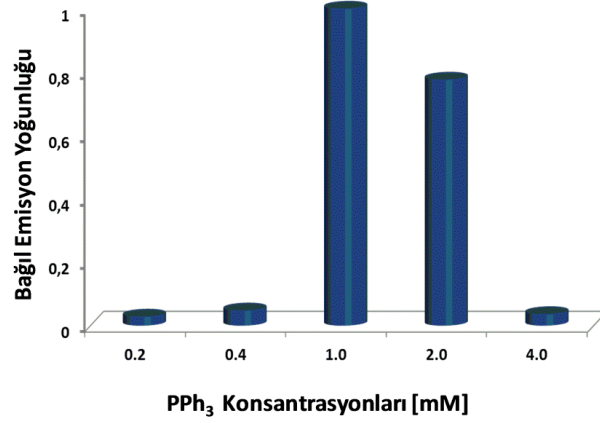
Paladyum problemlerinin analitik araştırmaları sırasında, paladyum türlerini temsil etmesi açısından ilerinde en toksik olan PdCl<sub>2</sub> kullanıldı. İlk olarak paladyum probunun parçalanma prosesinin anlaşılması için deproparjilasyon reaksiyonunun Pd(0) mı yoksa Pd(II)/Pd(IV) üzerinden mi ilerlediğinin tespit edilmesi istendi. Bunun için, Pd(0) üretiminin olduğu durumda kullanılan PPh<sub>3</sub> varlığında ya da yokluğunda PdCl<sub>2</sub> kullanıldı. Daha sonra, kemilüminojen probun ayrışma reaksiyonları sırasında Pd(0) aracılığıyla parçalandığı fark edildi. Dioksetan türevlerinin emisyon yoğunluğunun, ortam pH'sının değıştirilmesiyle ya da parçalanma reaksiyonu için gerekli olan aktivasyon enerjisinin azaltılmasıyla kontrol edilebilmesinden dolayı her iki parametreyle de oynayarak emisyon yoğunluğunun artırılması istendi. Literatürde, fenoksit iyonunun parçalanmasının fenol grubuna göre daha hızlı olmasından dolayı kemilüminojenik reaksiyonların kuvvetli bir baz varlığında gerçekleşeceğinden bahsedilir. Bu göz önüne alınarak, Pd iyonları yokluğunda hiçbir arka plan emisyonu yaratmayacak kuvvetli bir baz kullanıldı. Tasarlanan mekanizmada, Pd(II)/Pd(IV) üretimin olduğu durumlar sırasında ligand değışimi sonucunda asidik birimlerin etkisini elimine etmek için kuvvetli baz kullanımı gereklidir. Ek olarak, en sonunda parçalanma reaksiyonları ile birlikte ışık emisyonunun açığa çıkmasını sağlayan ayrışma reaksiyonunun oranını arttırmak için reaksiyon sıcaklığı 70 °C'ye optimize edilmelidir. Tüm bu parametrelerin belirlenmesinden sonra kemilüminojenik prob 1'in ( bileşik 6) titrasyonları ile işlemlere devam edildi. Emisyon yoğunluğu ilgilenilen analitin konsantrasyonları ile ilişkilidir ve Şekil. 26'da da gösterildiği gibi Pd(0) konsantrasyonlarının artırılmasıyla daha güçlü emisyonlar elde edildi. Ayrıca, deproparjilasyon reaksiyonunun başlamasından sorumlu olan analit konsantrasyonunun artırılmasıyla, reaksiyon oranında da artış gözlemlendi.





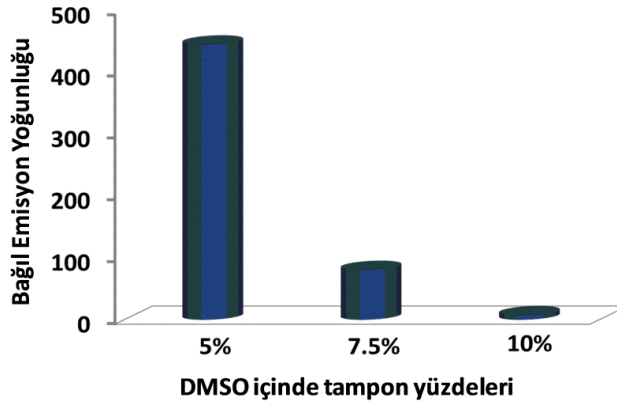
**Şekil 25.** Prob 1 (bileşik **6**) ( $200\mu\text{M}$ )'in  $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de  $\text{PPh}_3$  ( $1\text{mM}$ ) içeren  $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$  tampon ( $50\text{mM}$ , pH: 9.0) ile  $\text{DMSO-H}_2\text{O}$  ( $95:5$ , v/v) çözeltisi içerisinde  $\text{PdCl}_2$  konsantrasyonlarının ( $0.1$ ,  $0.2$ ,  $0.3$ ,  $0.4$ ,  $0.5$ ,  $0.6\text{ mM}$ ) artırılmasıyla elde edilen kemilüminesans spektrumu

Çalışmanın en başında, kemilüminojenik deproparjilasyon reaksiyonunun  $\text{Pd}(0)$  iyonu ile gerçekleştiği ve buna bağlı olarak da reaksiyonda indirgeyici olarak kullanılan  $\text{PPh}_3$  (trifenilfosfin) miktarının da ışık emisyonu için önemli olduğu anlaşıldı.  $\text{PPh}_3$ 'ün çeşitli konsantrasyonları varlığında prob 1 (bileşik **6**)'in titrasyonundan sonra, Şekil. 27'de de gösterildiği gibi en iyi  $1\text{ mM}$  konsantrasyonda çalıştığı belirlendi. Kemilüminesans probun paladyum iyonlarına karşı tepkisi, metal türlerini (örneğin;  $\text{M}^{\text{II}}$  den  $\text{M}^0$ 'a indirgenmesi) indirgeyen  $\text{PPh}_3$  varlığında çalışılmıştır. Bu da oksidasyon durumundan bağımsız paladyum iyonunun toplam miktarının belirlenmesine olanak sağlamıştır. Ancak kullanılan  $\text{PPh}_3$  miktarları, yüksek konsantrasyonlarda reaktif paladyum türlerinin konsantrasyonlarının azalmasına yol açtığı için oldukça önemlidir. Eğer reaktif paladyum türlerinin konsantrasyonlarında azalma olursa deproparjilasyon reaksiyonu gecikecektir ve bu da reaksiyonların ilerleyişi için istenmeyen bir durum olacaktır [47].

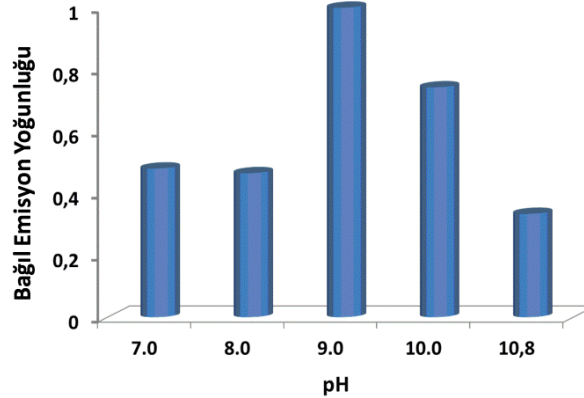


**Şekil 26.** Dioksetan **6** (200 $\mu$ M)'nın 70 °C'de, PdCl<sub>2</sub> (0.4mM) içeren Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub> tampon (50mM, pH: 9.0) ile DMSO-H<sub>2</sub>O (95:5, v/v) çözeltisi içerisinde PPh<sub>3</sub>'in farklı konsantrasyonları varlığında pH'a bağlı deallilasyonunun kemilüminesans spektrumu

Reksiyon mekanizması göz önüne alındığında, deproparjilasyon reaksiyonu sırasında bir nükleofile ihtiyaç duyulduğu görülmektedir, bu yüzden H<sub>2</sub>O reaksiyon ortamında nükleofil olarak kullanıldı. Reaksiyonda parçalanma proseslerinden sorumlu fenoksit iyonunu protonlaması ihtimali nedeniyle, reaksiyonda kullanılan suyun miktarı oldukça önemlidir. Bu yüzden, şekilde de gösterildiği gibi spektroskopik ölçümler, DMSO içinde farklı tampon çözeltisi oranları kullanılarak yapıldı (Şekil. 28). Burdan DMSO içerisindeki tampon oranları arttırılırsa fenoksit iyonunun protonlanma olasılığının da artacağı ve böylece emisyon yoğunluğunun azalacağı sonucu elde edilebilir. Dioksetanın ayrışma reaksiyonunun oranını arttırmak için kuvvetli bir baz kullanmakla birlikte ortam pH'ı da reaksiyon için oldukça önem taşımaktadır. Çünkü nükleofilik özellik bazlıkla doğru orantılı bir şekilde artmaktadır (Şekil. 29). Fenoksit iyonunun pH değeri 9 civarı olduğu için fenol formu ile denge halinde bulunmaktadır. Ortam pH'ı 9'un altına düştüğü zaman fenoksit iyonunun protonlanma ihtimali artmakta ve bu da emisyon yoğunluğunda azalmaya yol açmaktadır. Ortam pH'ı 9'un üstüne çıktığında ise kemilüminesans reaksiyonları için daha iyi bir ortam oluşsa bile paladyum iyonunun şelat oluşturmasından dolayı emisyon yoğunluğu azalmaktadır [47].



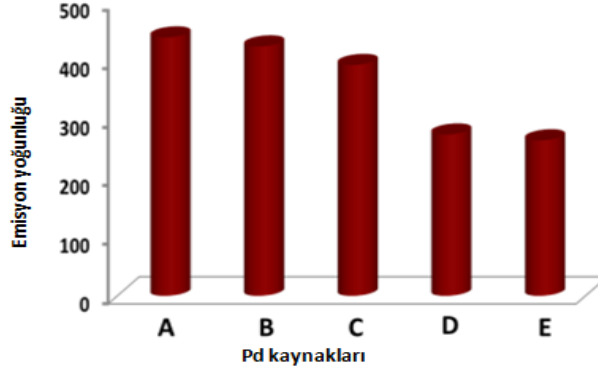
**Şekil 27.** Prob 1 (bileşik **6**) ( $200\mu\text{M}$ )'in  $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de  $\text{PPh}_3$  ( $1\text{mM}$ ) ve  $\text{PdCl}_2$  ( $0.4\text{mM}$ ) içeren çözeltisinin DMSO içerisindeki farklı tampon yüzdelerinde ( $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$  tamponu,  $50\text{mM}$ , pH: 9.0) kemilüminesans spektrumu



**Şekil 28.** Dioksetan **6** ( $200\mu\text{M}$ )'nın  $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'de DMSO- $\text{H}_2\text{O}$  (95:5, v/v) ile Kpi (pH: 7.0-8.0 için  $50\text{mM}$ ) tamponu ve  $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$  (pH: 9.0-10.8 için  $50\text{mM}$ ) tamponları içerisinde,  $\text{PdCl}_2$  ( $0.4\text{mM}$ ) ve  $\text{PPh}_3$  ( $1\text{mM}$ ) varlığında pH'a bağlı deallilasyonunun kemilüminesans spektrumu

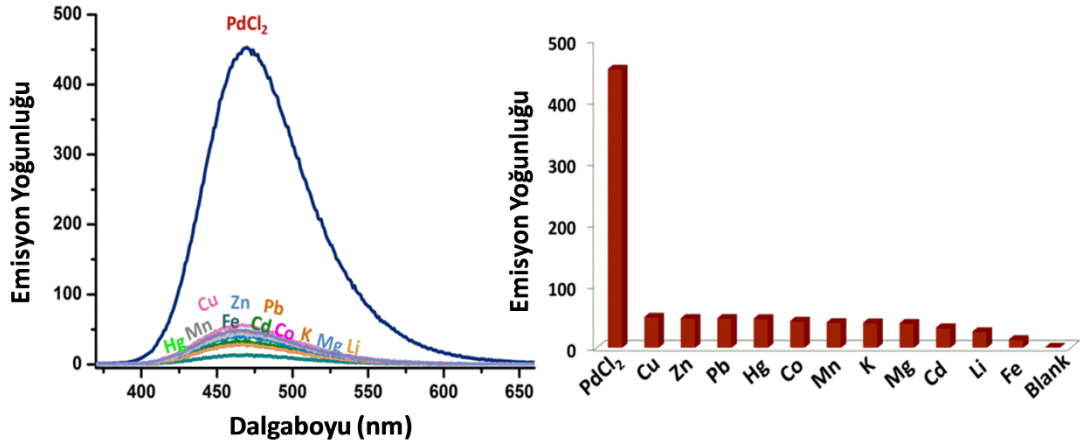
Kemilüminojenik deproparjilasyon reaksiyonunun sonunda parçalanmanın  $\text{Pd}(0)$  iyonu ile gerçekleşmesinin anlaşılmış olmasına rağmen, reaksiyon koşulları optimize edildikten sonra, analitik ölçümlerle geliştirilmek istendi. Şekil. 30'da da görüldüğü gibi kemilüminojenik öncülerin parçalanmasında aktif iyon  $\text{Pd}(0)$ 'dir. Şekil incelendiğinde,  $\text{Pd}(0)$  kaynağı olarak  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  kullanıldığı durumda emisyon yoğunluğunda azalma gözlenmiştir. Bu  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 'ün hassaslığından ve havadan

etkilenmesiden kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak, Pd(0) üretiminin olduğu durumlar, aktif paladyum türlerinin üretimi açısından daha etkilidir.



**Şekil 29.** Çeşitli Pd türlerine ve oksitlenme koşullarına karşı prob 1 (bileşik 6) ( $200\mu\text{M}$ )'in kemilüminojenik tepkisi, A =  $\text{PdCl}_2$ , B =  $\text{Na}_2\text{PdCl}_4$ , C =  $\text{Na}_2\text{PdCl}_6$ , D =  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ , E =  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$

Analitik koşulların optimize edilmesinden sonra, probun paladyum iyonlarına karşı özgülüğü kantlandı. Bunun için, Şekil. 31'de de gösterildiği gibi probun kemilüminesan ölçümleri farklı iyonlar için de yapıldı ve 1,2-Dioksetanın kemilüminesan deproparjilasyon reaksiyonunun sadece Pd(0) iyonları varlığında gerçekleştiği gözlemlendi.



**Şekil 30.** 70 °C’de PPh<sub>3</sub> (1mM) içeren, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub> tamponu (50mM, pH: 9.0) ile DMSO-H<sub>2</sub>O (95:5, v/v) çözeltisi içerisinde farklı metal iyonlarının dioksetan **6** (200µM)’ya eklenmesiyle elde edilen kemilüminesans spektrumu. (Metal iyonları peroksalat tuzları halinde kullanılmıştır.)

Bunlara ek olarak, probun DMSO/Tampon karışımları içinde tayin sınırlarını tespit etmek için de ölçümler yapıldı. Prob ve referans molekülün tayin sınırı ölçümleri için kemilüminesans titrasyonları baz alındı. S/N oranını belirlemek için içinde Pd iyonu bulunmayan blank çözeltisinin kemilüminesans emisyon yoğunluğu 10 kez ölçüldü ve bu ölçümlerin standart sapması hesaplandı. Eğimi belirlemek için de Pd iyonları varlığındaki probun konsantrasyonları kemilüminesans emisyon yoğunluklarına karşı grafiğe geçirildi. Grafikten emisyon yoğunluklarının ve Pd(0) konsantrasyonlarının arasındaki doğrusal ilişki belirlendi ve eğim hesaplandı.

Ölçümler sonunda std 0.026268 ve grafiğin eğimi 885.92 olarak elde edildi. Böylece, tayin sınırı aşağıdaki eşitliğe göre 88µM olarak hesaplandı.

#### **Tayin Sınırı: 3σ/m**

(σ: Blank ölçümlerinin standart sapması, m: Pd(0) iyonlarının konsantrasyonuna karşı kemilüminesans emisyon yoğunluğunu gösteren grafiğin eğimi)

Tsuji-Trost reaksiyonuna göre parçalanmış prob **2** (bileşik **8**) ele alındığında, Pd(0)’ın deallilasyon reaksiyonu ile oluşan bileşikten kaynaklı herhangi bir özel emisyon gözlenmedi. Karbonat varlığından dolayı kuvvetli bazın eklenmesiyle arka plan emisyonlarının oluşumu gözlemlendi.

Proparjil eter grubu ile modifiye edilen 1,2-Dioksetan molekülü, oluşan eter bağının kuvvetli bir baza karşı dayanıklı olmasından ve aynı zamanda bu bağın Pd(0) katalizli deproprajilasyon reaksiyonuna karşı da reaktif olmasından dolayı, Pd(0) iyonlarının üretiminin olduğu durumda kemilüminojenik tayin için uygun görüldü. Eter bağının mukavemetiyle allilil prob 2 (bileşik 8) karşılaştırıldığında, bir noktada seçicilik sağlar.

## 6. KAYNAKLAR

1. Dodeigne, C., L. Thunus, and R. Lejeune, *Chemiluminescence as diagnostic tool. A review*. Talanta, **2000**. 51(3): p. 415-439.
2. Garcia-Campana, A., et al., *Potential of chemiluminescence and bioluminescence in organic analysis*. Current Organic Chemistry, **2002**. 6(1): p. 1-20.
3. Garcia-Campana, A.M., *Chemiluminescence in analytical chemistry*. **2001**: CRC Press.
4. García-Campaña, A. and W. Baeyens, *Principles and recent analytical applications of chemiluminescence*. Analisis, **2000**. 28(8): p. 686-698.
5. Fereja, T.H., A. Hymete, and T. Gunasekaran, *A Recent Review on Chemiluminescence Reaction, Principle and Application on Pharmaceutical Analysis*. ISRN Spectroscopy, **2013**.
6. Jimenez, A. and M. Navas, *Chemiluminescence methods (present and future)*. Grasas y Aceites, **2002**. 53(1): p. 64-75.
7. Roda, A., et al., *Bio-and chemiluminescence in bioanalysis*. Fresenius' journal of analytical chemistry, **2000**. 366(6-7): p. 752-759.
8. Baeyens, W., et al., *Chemiluminescence-based detection: principles and analytical applications in flowing streams and in immunoassays*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, **1998**. 17(6): p. 941-953.
9. Baeyens, W., J. Bruggeman, and B. Lin, *Enhanced chemiluminescence detection of some dansyl amino acids in liquid chromatography*. Chromatographia, **1989**. 27(5-6): p. 191-193.

10. White, E.H. and M.M. Bursley, *Chemiluminescence of luminol and related hydrazides: the light emission step*. Journal of the American Chemical Society, **1964**. 86(5): p. 941-942.
11. White, E.H., et al., *Chemilunimescence of luminol: The chemcial reaction*. Journal of the American Chemical Society, **1964**. 86(5): p. 940-941.
12. Schroeder, H.R. and F.M. Yeager, *Chemiluminescence yields and detection limits of some isoluminol derivatives in various oxidation systems*. Analytical Chemistry, **1978**. 50(8): p. 1114-1120.
13. McCapra, F. and I. Behesti, *Bioluminescence and Chemiluminescence: Instruments and Applications*, ed. by K. van Dyke. CRC Press: Boca Raton, FL, **1985**. 1: p. 9-42.
14. Han, J., et al., *Chemiluminescent Energy-Transfer Cassettes Based on Fluorescein and Nile Red*. Angewandte Chemie International Edition, **2007**. 46(10): p. 1684-1687.
15. Yuan, H., et al., *Chemical molecule-induced light-activated system for anticancer and antifungal activities*. Journal of the American Chemical Society, **2012**. 134(32): p. 13184-13187.
16. Bailey, T.S. and M.D. Pluth, *Chemiluminescent Detection of Enzymatically Produced Hydrogen Sulfide: Substrate Hydrogen Bonding Influences Selectivity for H<sub>2</sub>S over Biological Thiols*. Journal of the American Chemical Society, **2013**. 135(44): p. 16697-16704.
17. Schuster, G.B. and S.P. Schmidt, *Chemiluminescence of Organic Compounds*. **1981**, DTIC Document.
18. Nelson, N.C., et al., *Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format*. Biochemistry, **1996**. 35(25): p. 8429-8438.



19. Kamidate, T., et al., *Enhanced chemiluminescence of lucigenin with epinephrine in cationic surfactant micelles containing periodate*. Journal of bioluminescence and chemiluminescence, **1995**. 10(1): p. 55-61.
20. Bagazgoitia, F.J., et al., *Effect of surfactants on the intensity of chemiluminescence emission from acridinium ester labelled proteins*. Journal of bioluminescence and chemiluminescence, **1988**. 2(3): p. 121-128.
21. Hart, R.C. and L.R. Taaffe, *The use of acridinium ester-labelled streptavidin in immunoassays*. Journal of immunological methods, **1987**. 101(1): p. 91-96.
22. Batmanghelich, S., et al., *Preparation of a chemiluminescent imidoester for the non-radioactive labelling of proteins*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, **1992**. 12(2): p. 193-201.
23. Berry, D., P. Clark, and C. Price, *A laboratory and clinical evaluation of an immunochemiluminometric assay of thyrotropin in serum*. Clinical chemistry, **1988**. 34(10): p. 2087-2090.
24. Weeks, I., et al., *Acridinium esters as high-specific-activity labels in immunoassay*. Clinical chemistry, **1983**. 29(8): p. 1474-1479.
25. Paradh, A., A. Hill, and W. Mitchell, *Detection of beer spoilage bacteria *Pectinatus* and *Megasphaera* with acridinium ester labelled DNA probes using a hybridisation protection assay*. Journal of microbiological methods, **2014**. 96: p. 25-34.
26. Chandross, E.A., *A new chemiluminescent system*. Tetrahedron Letters, **1963**. 4(12): p. 761-765.
27. Schuster, G.B., *Chemiluminescence of organic peroxides. Conversion of ground-state reactants to excited-state products by the chemically initiated*

*electron-exchange luminescence mechanism.* Accounts of Chemical Research, **1979**. 12(10): p. 366-373.

28. Jonsson, T., *Peroxyoxalate Chemiluminescence for Miniaturized Analytical Flow Systems.* **2003**.
29. Nakashima, K., et al., *Peroxyoxalate chemiluminescent assay for oxidase activities based on detecting enzymatically formed hydrogen peroxide.* Journal of bioluminescence and chemiluminescence, **1995**. 10(3): p. 185-191.
30. Cho, S., et al., *Chemiluminescent and Antioxidant Micelles as Theranostic Agents for Hydrogen Peroxide Associated-Inflammatory Diseases.* Advanced Functional Materials, **2012**. 22(19): p. 4038-4043.
31. Lee, I., et al., *Detection of hydrogen peroxide in vitro and in vivo using peroxalate chemiluminescent micelles.* Bull Korean Chem Soc, **2011**. 32: p. 2187-2192.
32. Lee, D., et al., *In vivo imaging of hydrogen peroxide with chemiluminescent nanoparticles.* Nature materials, **2007**. 6(10): p. 765-769.
33. Matsumoto, M., *Advanced chemistry of dioxetane-based chemiluminescent substrates originating from bioluminescence.* Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, **2004**. 5(1): p. 27-53.
34. De Vico, L., et al., *Chemiluminescence of 1, 2-dioxetane. Reaction mechanism uncovered.* The Journal of Physical Chemistry A, **2007**. 111(32): p. 8013-8019.
35. Wieringa, J., et al., *Adamantylideneadamantane peroxide, a stable 1, 2-dioxetane.* Tetrahedron Letters, **1972**. 13(2): p. 169-172.

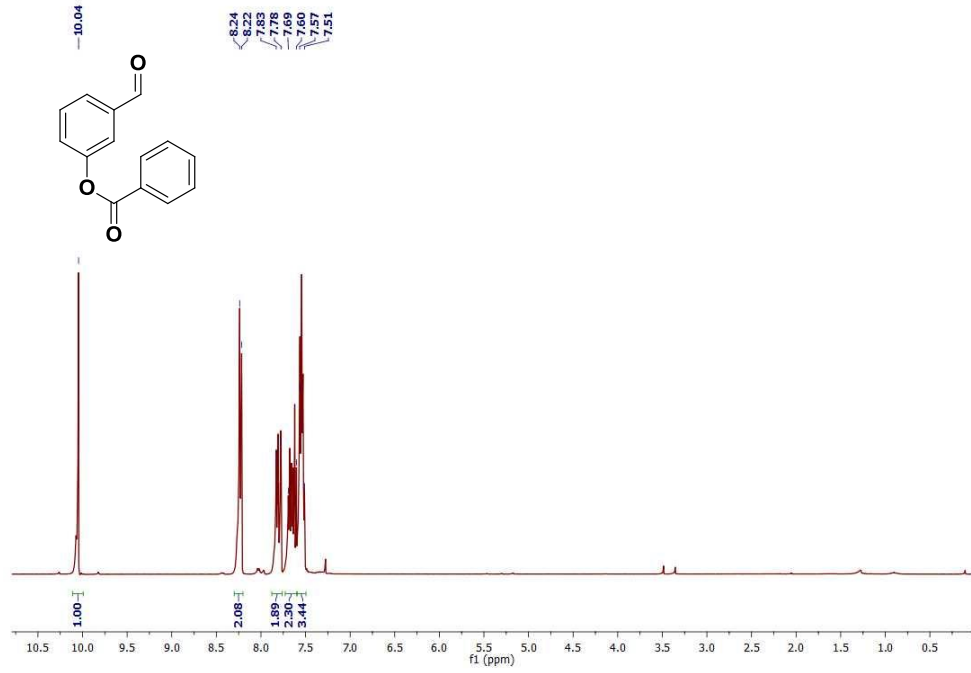
36. Schuster, G.B., et al., *Adamantylideneadamantane-1, 2-dioxetane. Chemiluminescence and decomposition kinetics of an unusually stable 1, 2-dioxetane*. Journal of the American Chemical Society, **1975**. 97(24): p. 7110-7118.
37. Beck, S. and H. Koster, *Applications of dioxetane chemiluminescent probes to molecular biology*. Analytical chemistry, **1990**. 62(21): p. 2258-2270.
38. Hummelen, J.C., et al., *1, 2-dioxetanes: Luminescent and nonluminescent decomposition, chemistry, and potential applications*. Order, **1991**. 501: p. 1008.
39. Adam, W., I. Bronstein, and A.V. Trofimov, *Solvatochromic effects on the electron exchange chemiluminescence (CIEEL) of spiroadamantyl-substituted dioxetanes and the fluorescence of relevant oxyanions*. The Journal of Physical Chemistry A, **1998**. 102(28): p. 5406-5414.
40. Richard, J.-A., et al., *Chemiluminescent probe for the in vitro detection of protease activity*. Organic letters, **2007**. 9(23): p. 4853-4855.
41. Schaap, A., H. Akhavan, and L. Romano, *Chemiluminescent substrates for alkaline phosphatase: application to ultrasensitive enzyme-linked immunoassays and DNA probes*. Clinical chemistry, **1989**. 35(9): p. 1863-1864.
42. Beale, E., et al., *A rapid and simple chemiluminescent assay for Escherichia coli beta-galactosidase*. BioTechniques, **1992**. 12(3): p. 320-323.
43. Sabelle, S., et al., *Design and synthesis of chemiluminescent probes for the detection of cholinesterase activity*. Journal of the American Chemical Society, **2002**. 124(17): p. 4874-4880.

44. Ito, M., et al., *Universal Caging Group for the in-Cell Detection of Glutathione Transferase Applied to <sup>19</sup>F NMR and Bioluminogenic Probes*. *ChemBioChem*, **2012**. 13(10): p. 1428-1432.
45. Song, F., A.L. Garner, and K. Koide, *A highly sensitive fluorescent sensor for palladium based on the allylic oxidative insertion mechanism*. *Journal of the American Chemical Society*, **2007**. 129(41): p. 12354-12355.
46. Li, H., J. Fan, and X. Peng, *Colourimetric and fluorescent probes for the optical detection of palladium ions*. *Chemical Society Reviews*, **2013**. 42(19): p. 7943-7962.
47. Garner, A.L., F. Song, and K. Koide, *Enhancement of a catalysis-based fluorometric detection method for palladium through rational fine-tuning of the palladium species*. *Journal of the American Chemical Society*, **2009**. 131(14): p. 5163-5171.
48. Liu, B., et al., *Synthesis and characterization of a fluorescent polymer containing 2, 6-bis (2-thienyl) pyridine moieties as a highly efficient sensor for Pd 2+ detection*. *Chemical Communications*, **2011**. 47(6): p. 1731-1733.
49. Overholser, L.G. and J.H. Yoe, *The Colorimetric Detection and Determination of Palladium with Compounds Containing the p-Nitrosophenylamino Group I*. *Journal of the American Chemical Society*, **1941**. 63(11): p. 3224-3229.
50. Blanco, M. and S. Maspocho, *5-phenylazo-8-aminoquinoline as a sensitive reagent for the extraction-spectrophotometric determination of palladium (II)*. *Microchimica Acta*, **1983**. 81(1-2): p. 11-20.
51. Menis, O. and T. Rains, *Colorimetric Determination of Palladium with  $\alpha$ -Furildoxime*. *Analytical Chemistry*, **1955**. 27(12): p. 1932-1934.

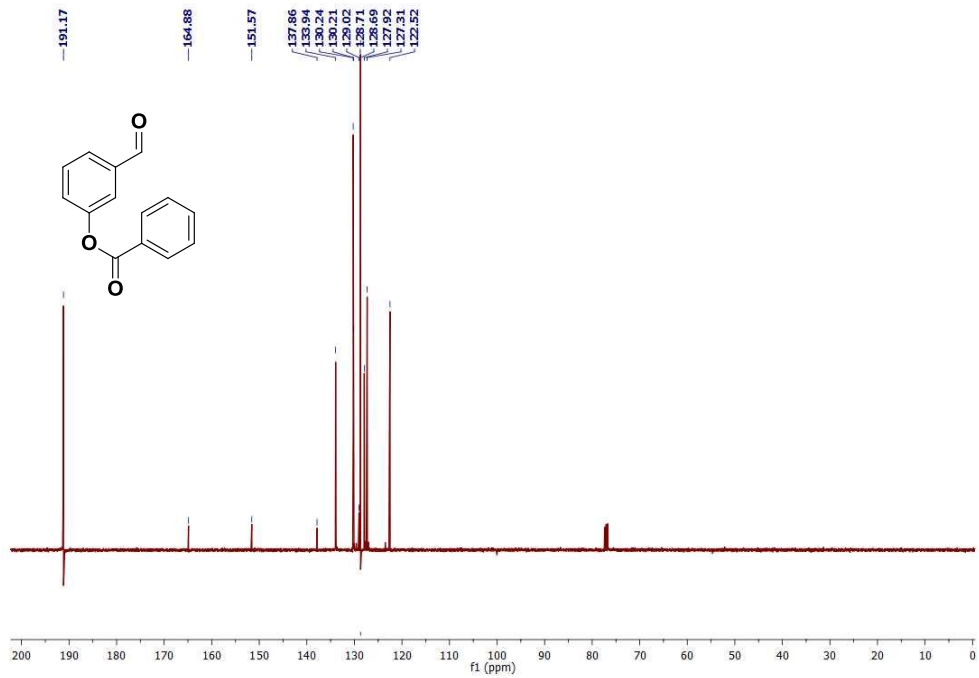
52. Mukherjee, S., et al., *Spectroscopic, cytotoxic and DFT studies of a luminescent palladium (II) complex of a hydrazone ligand that induces apoptosis in human prostate cancer cells*. *Inorganica Chimica Acta*, **2011**. 373(1): p. 40-46.
53. Safavi, A., M. Gholivand, and S.R. Dastghaib, *Selective Extraction–Spectrophotometric Determination of Traces of Palladium in Catalysts*. *Microchemical journal*, **1997**. 57(3): p. 288-293.
54. Sahu, R., S. Sondhi, and B. Gupta, *Extraction and spectrophotometric determination of Pd (II) with 3, 4, 4a, 5-tetrahydro-3, 3, 4a-trimethyl-7-(substituted)-pyrimido (1, 6-*a*)-benzimidazole-1-thiol (PBT)*. *Talanta*, **1995**. 42(3): p. 401-405.
55. Kubo, K., et al., *Synthesis and emission behavior of double-armed tetrathiacrown carrying two naphthalenes*. *Heterocycles*, **1999**. 51(5): p. 965-968.
56. Schwarze, T., et al., *Combination of a CT modulated PET and an intramolecular excimer formation to quantify PdCl<sub>2</sub> by large fluorescence enhancement*. *Chemical Communications*, **2010**. 46(12): p. 2034-2036.
57. Wu, Q. and E.V. Anslyn, *Heavy metal analysis using a Heck-catalyzed cyclization to create coumarin*. *J. Mater. Chem.*, **2005**. 15(27-28): p. 2815-2819.
58. Wei, G., et al., *Cu<sup>2+</sup> triggered fluorescence sensor based on fluorescein derivative for Pd<sup>2+</sup> detection*. *Tetrahedron Letters*, **2012**. 53(27): p. 3459-3462.
59. Jiang, J., et al., *A colorimetric and ratiometric fluorescent probe for palladium*. *Organic letters*, **2011**. 13(18): p. 4922-4925.

60. Garner, A.L. and K. Koide, *Studies of a fluorogenic probe for palladium and platinum leading to a palladium-specific detection method*. Chemical Communications, **2009**(1): p. 86-88.
61. Li, D., et al., *Detection of trace palladium in flasks and metal reagents using a fluorogenic Tsuji–Trost reaction*. ChemPlusChem, **2012**. 77(4): p. 281-283.
62. Santra, M., et al., *Fluorescent detection of palladium species with an O-propargylated fluorescein*. Chemical Communications, **2010**. 46(22): p. 3964-3966.
63. Liu, B., et al., *A new ratiometric ESIPT sensor for detection of palladium species in aqueous solution*. Chem. Commun., **2012**. 48(23): p. 2867-2869.
64. Zhu, B., et al., *A 4-hydroxynaphthalimide-derived ratiometric fluorescent chemodosimeter for imaging palladium in living cells*. Chemical Communications, **2011**. 47(30): p. 8656-8658.

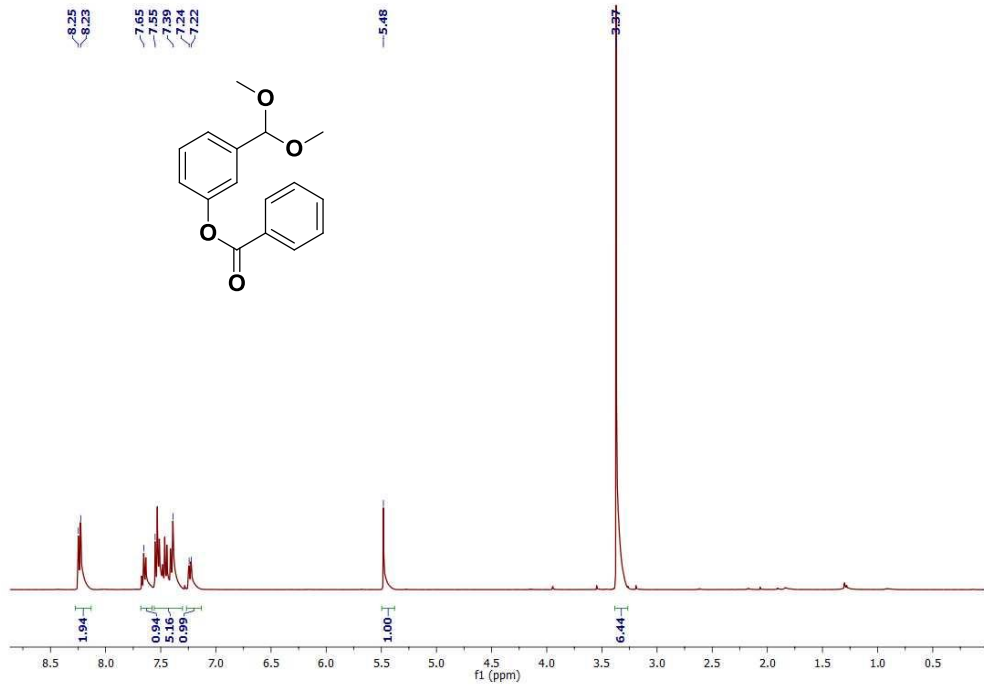
## EKLER



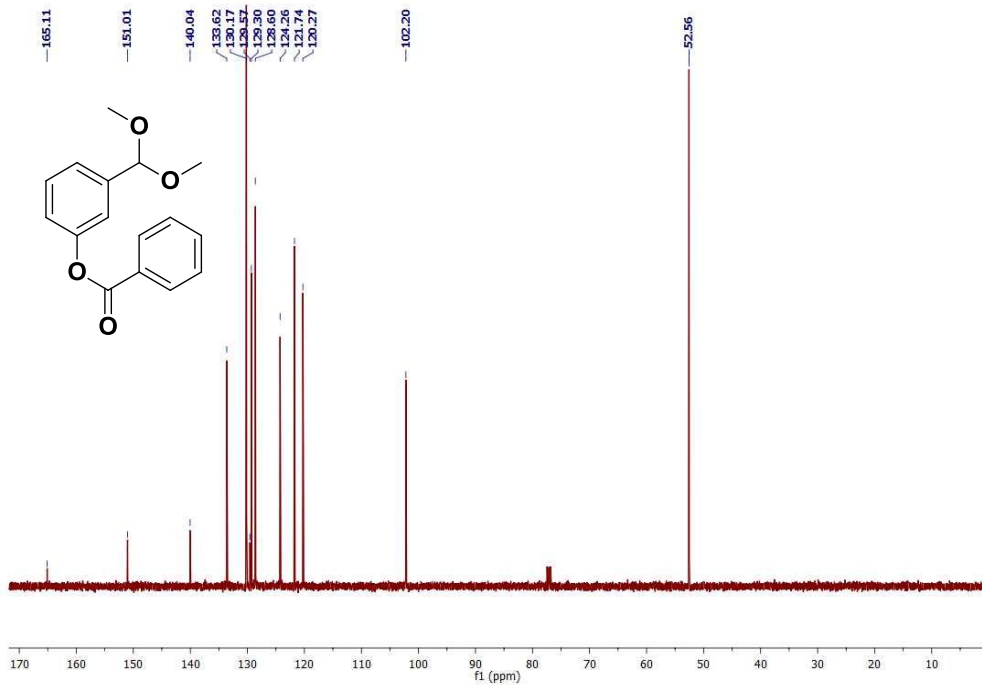
Bileşik 1'in <sup>1</sup>H-NMR Spekturumu



Bileşik 1'in <sup>13</sup>C-NMR Spekturumu

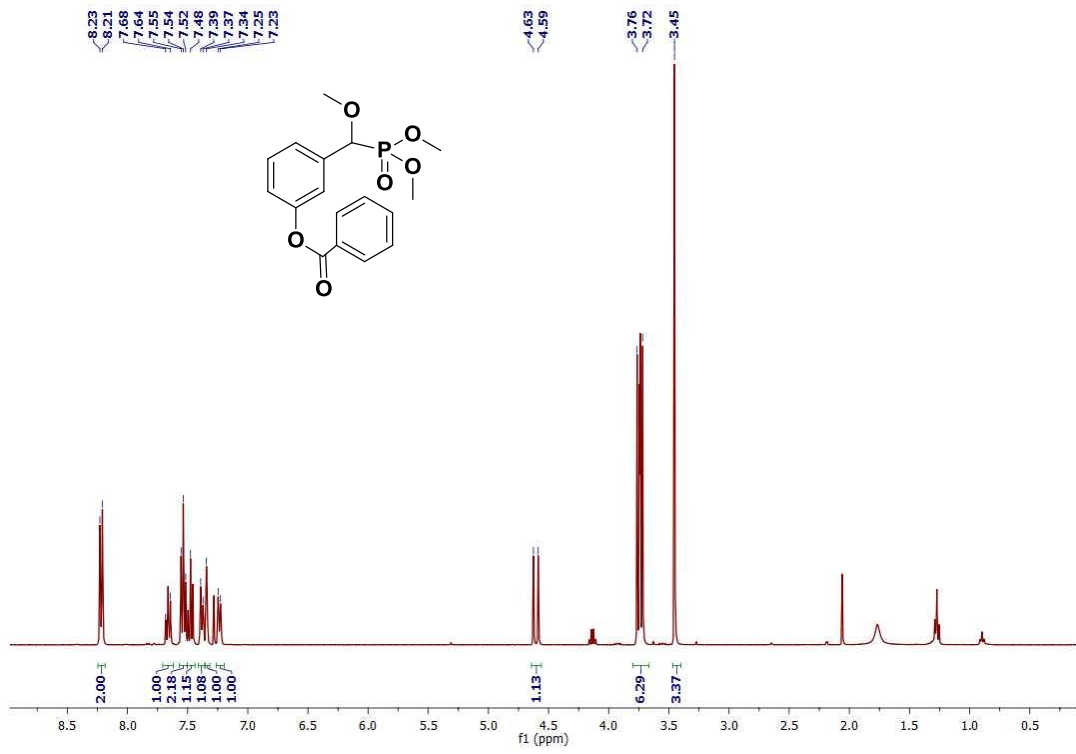


Bileşik 2'nin  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu

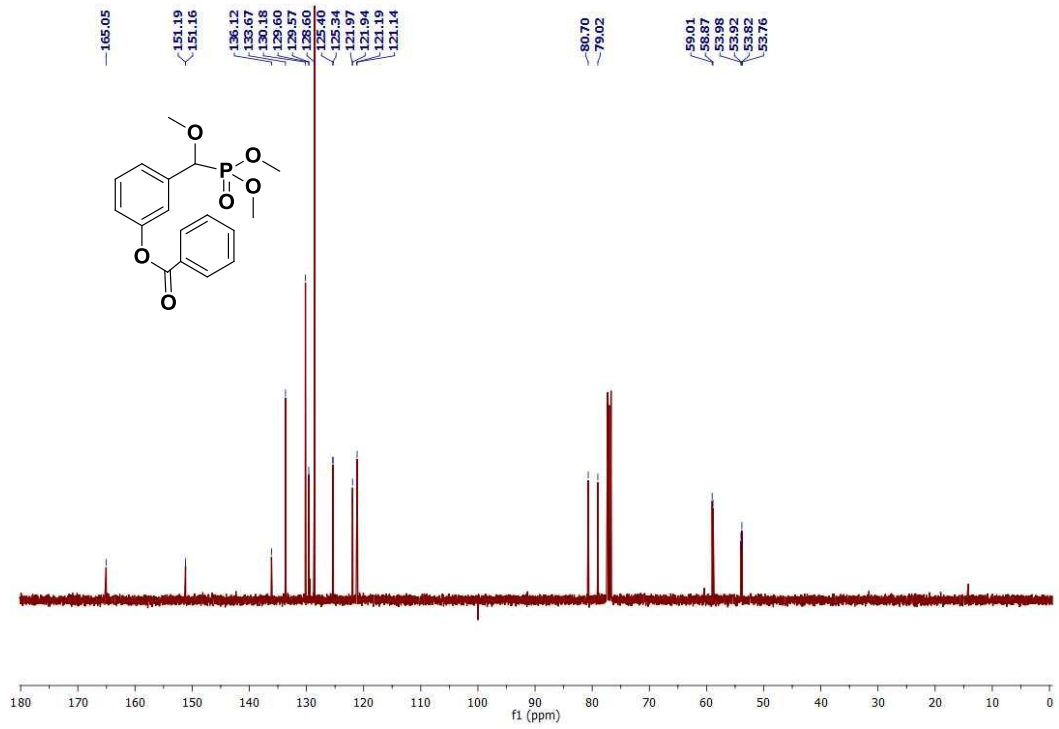


Bileşik 2'nin  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrumu

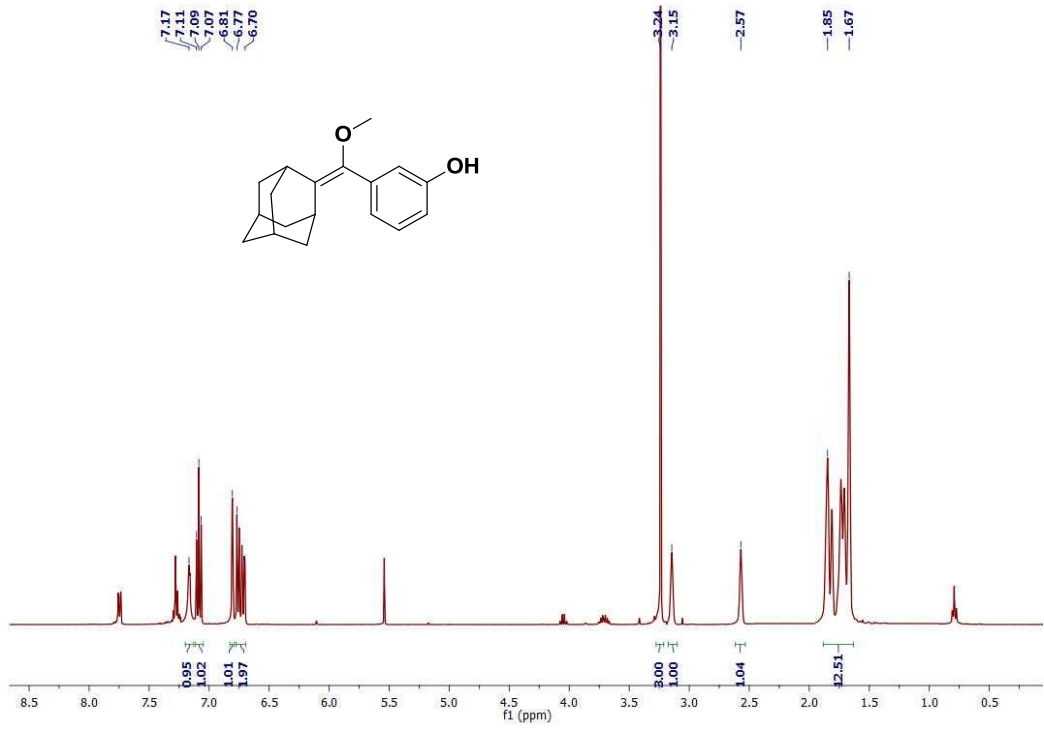




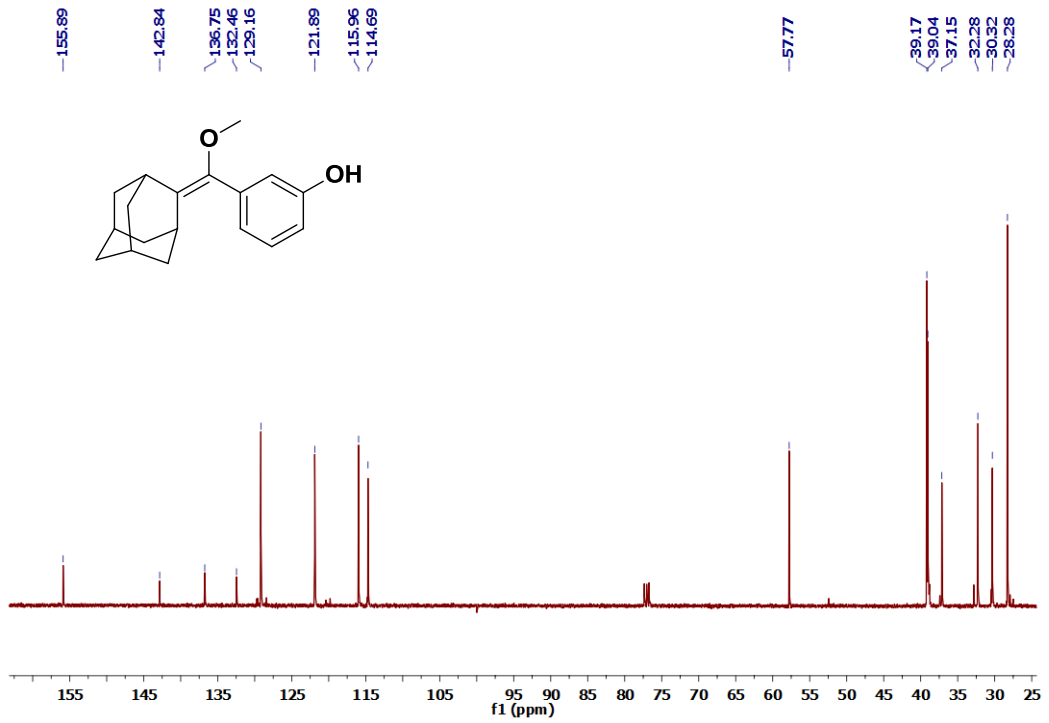
Bileşik 3'ün <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



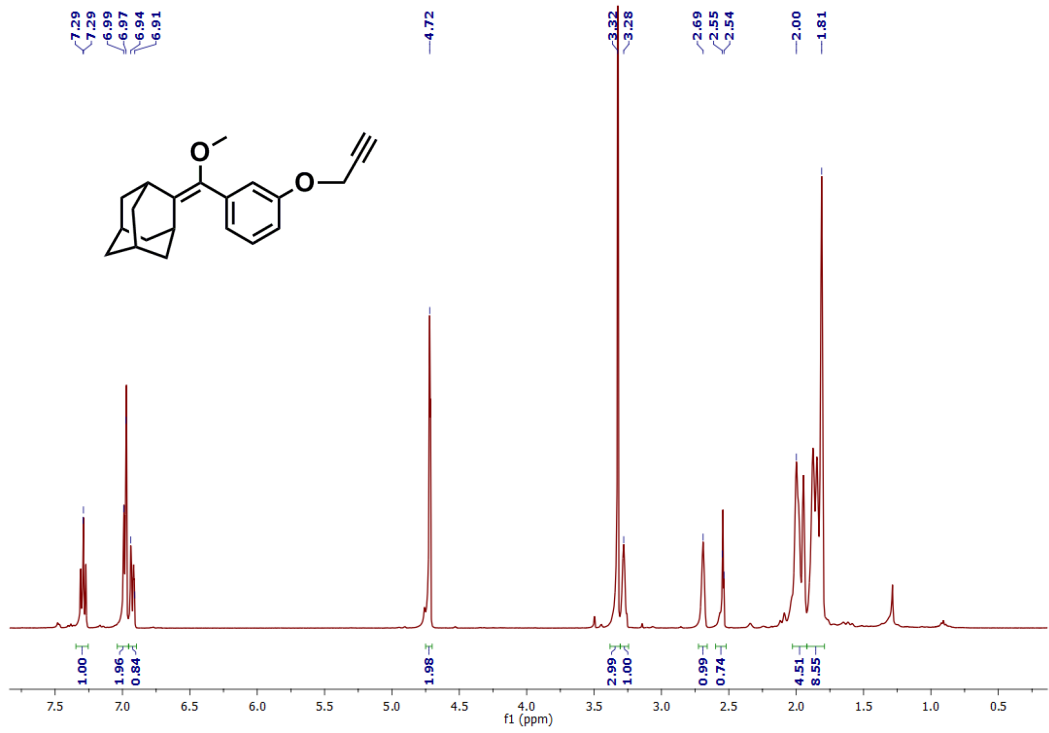
Bileşik 3'ün <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu



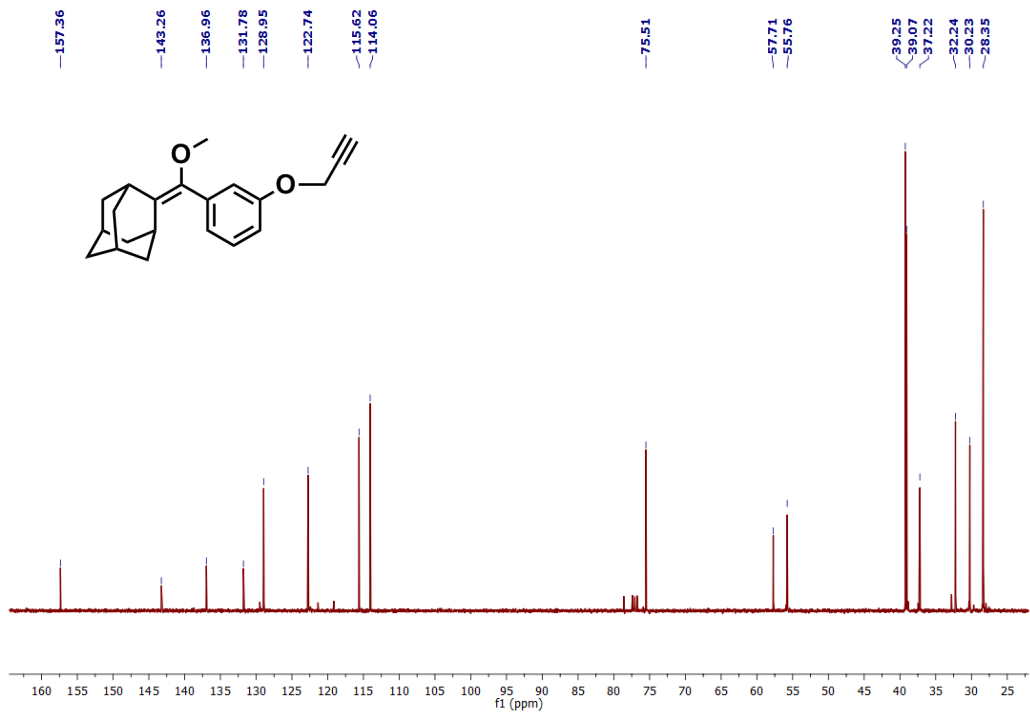
Bileşik 4'ün <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



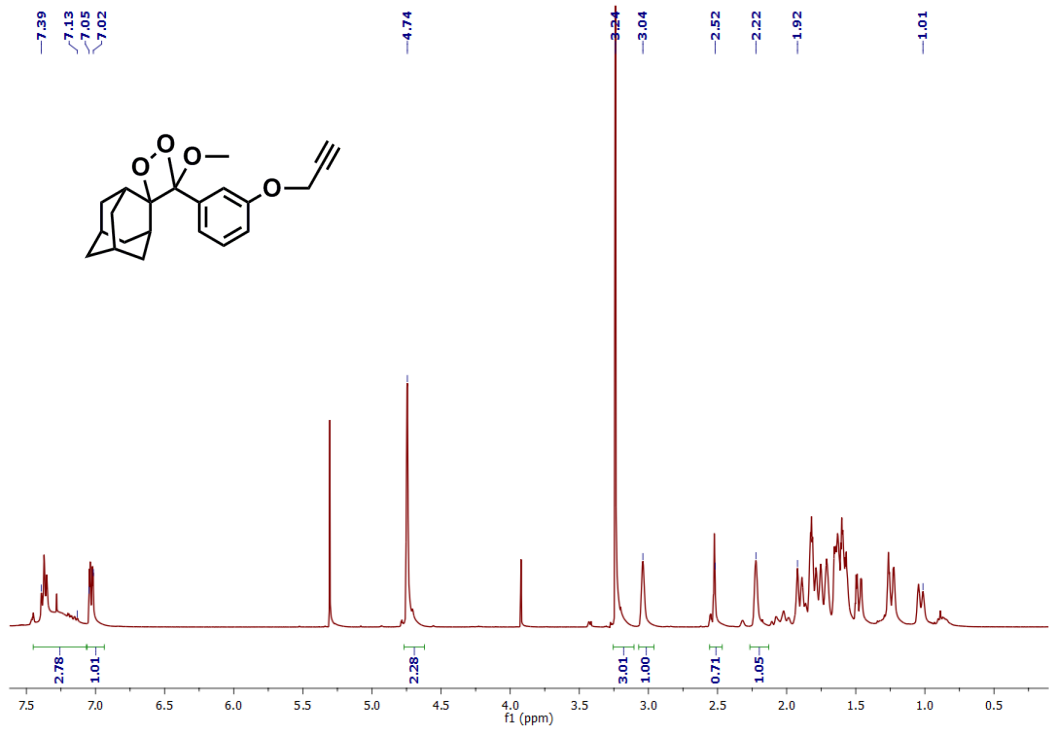
Bileşik 4'ün <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu



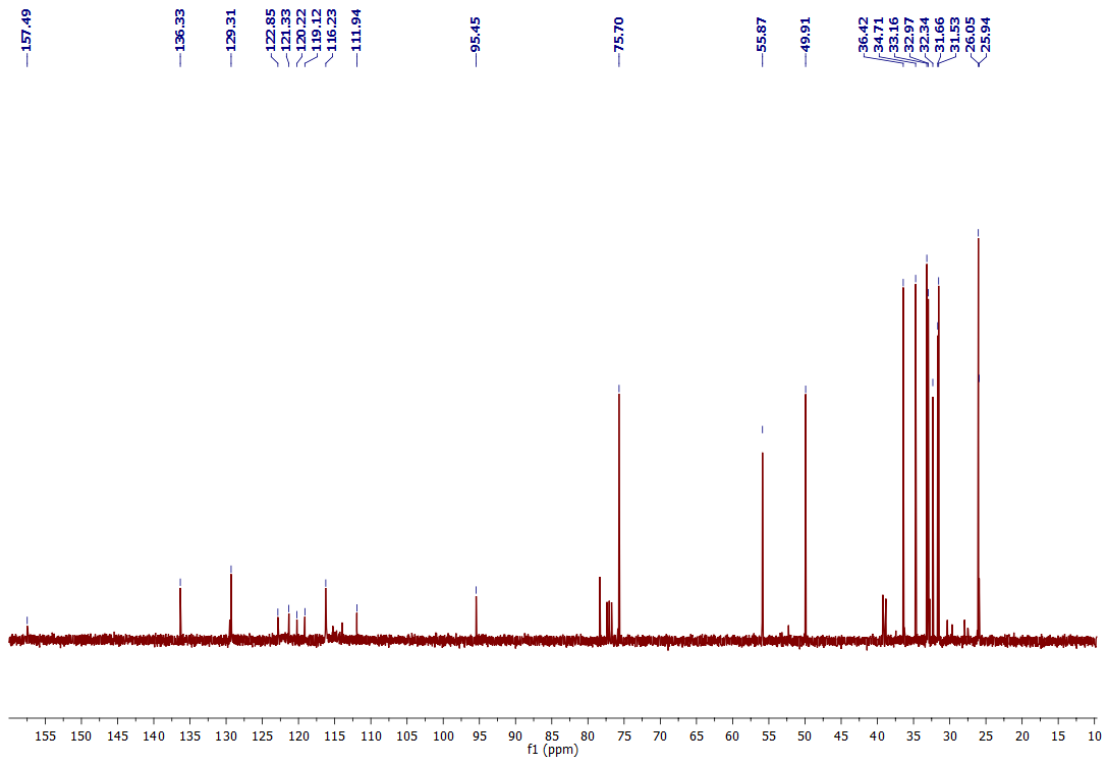
Bileşik 5'in <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



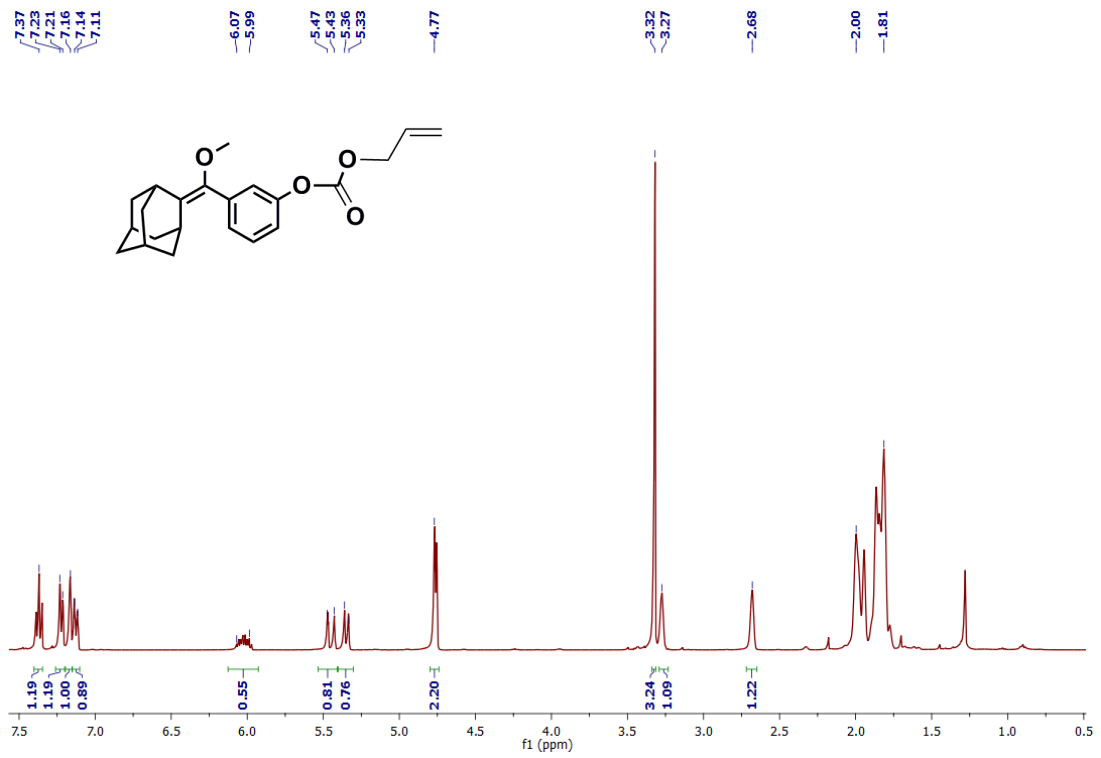
Bileşik 5'in <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu



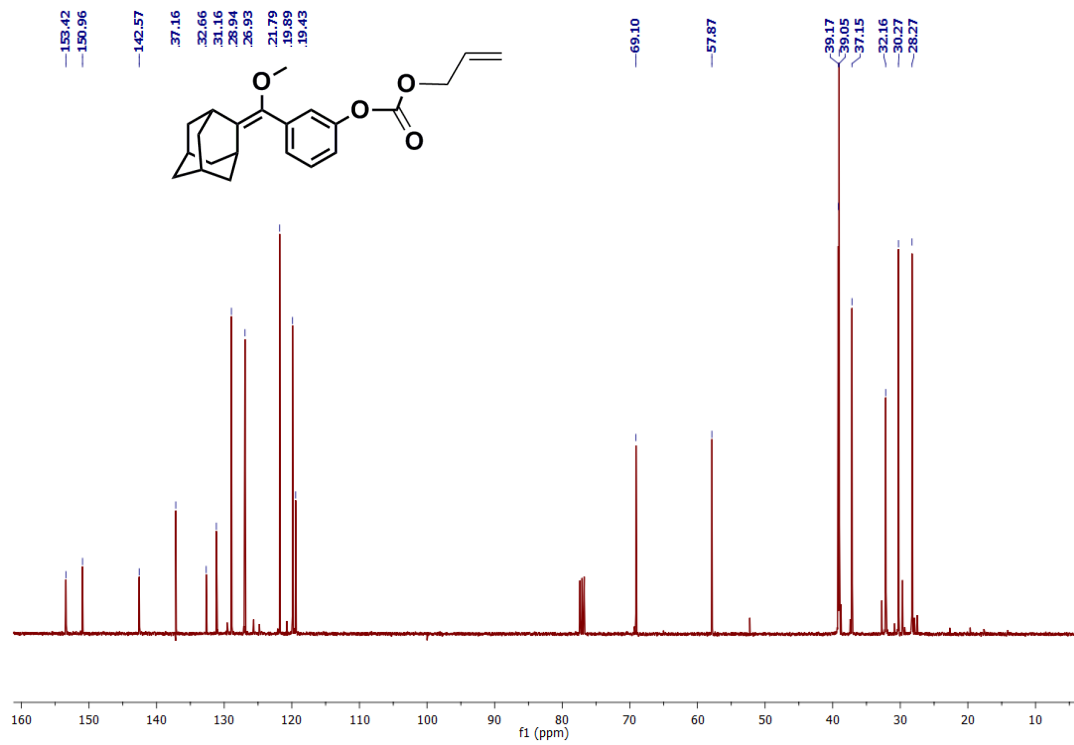
Bileşik 6'nın <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu



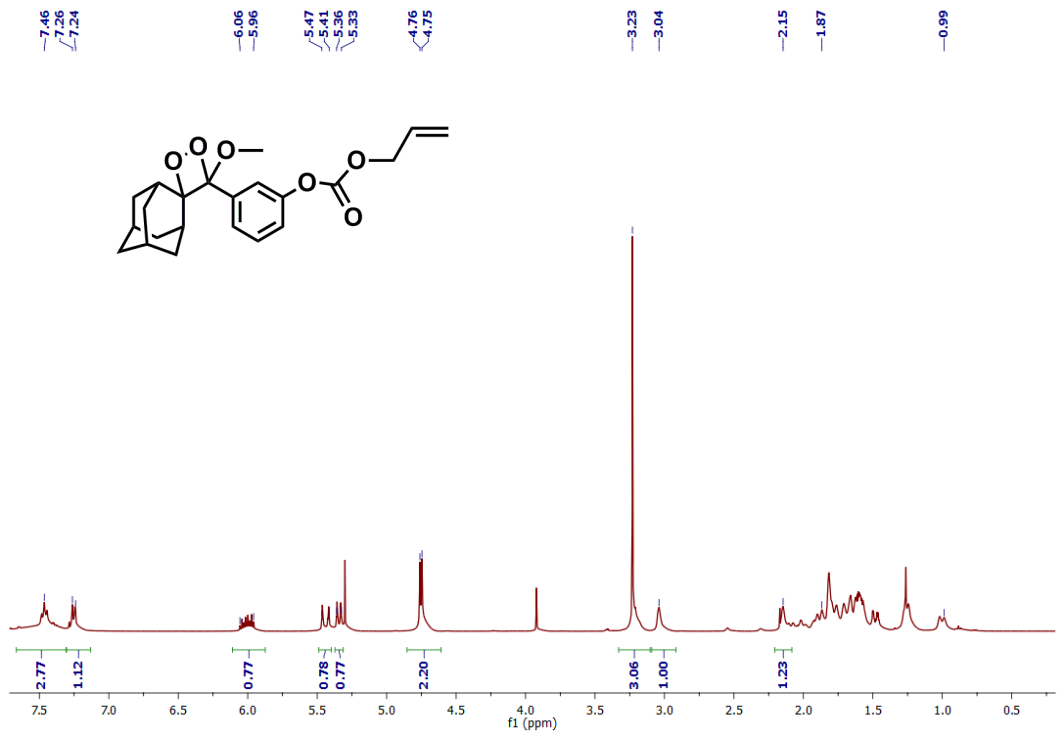
Bileşik 6'nın <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu



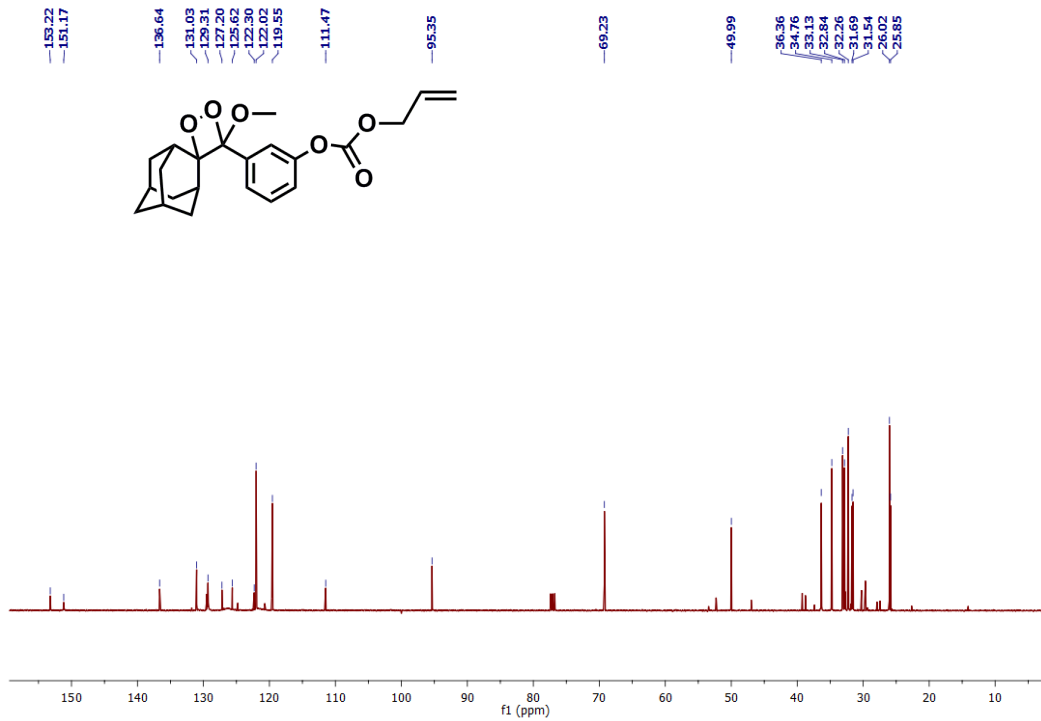
Bileşik 7'nin  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu



Bileşik 7'nin  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrumu

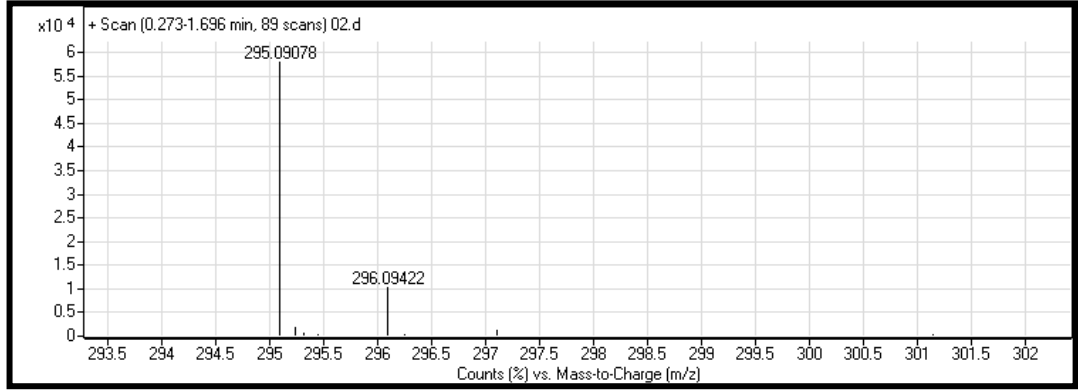


Bileşik 8'in <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu

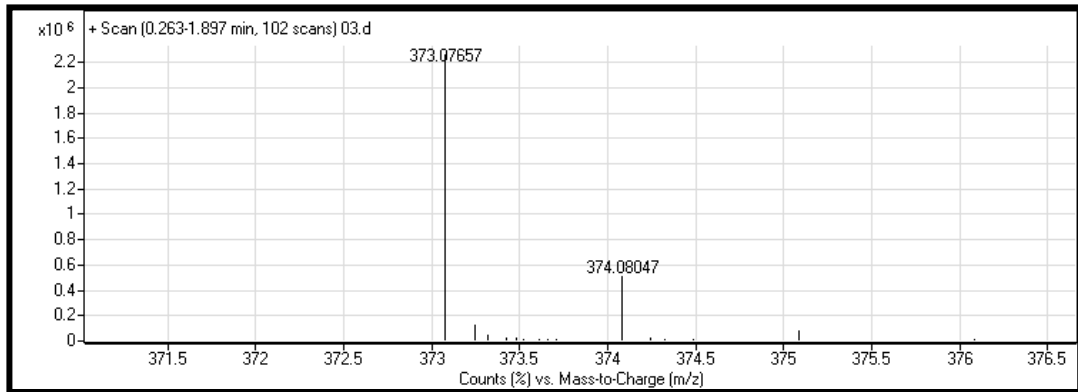


Bileşik 8'in <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu

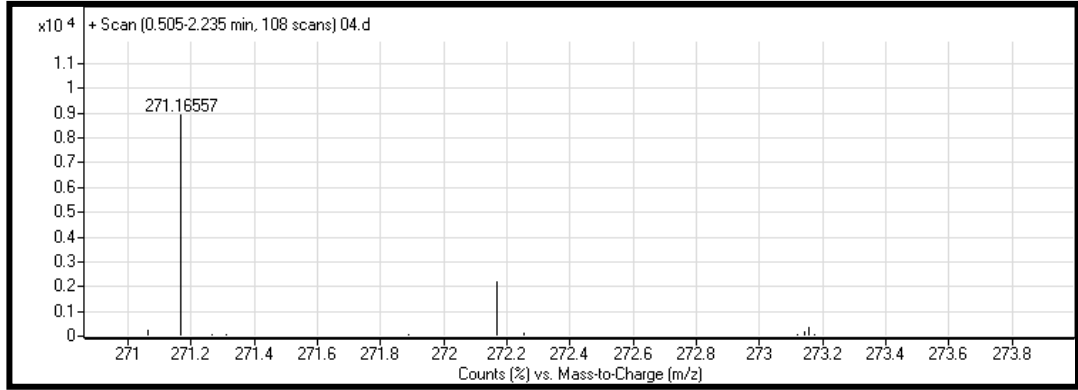
## Sentezlenen Bileşiklerin HRMs Spektrumları



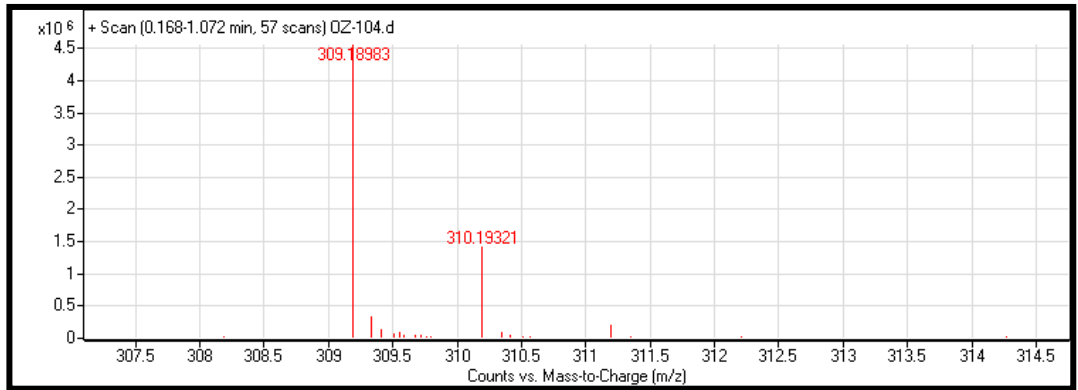
Bileşik 2'nin HRMs Spektrumu



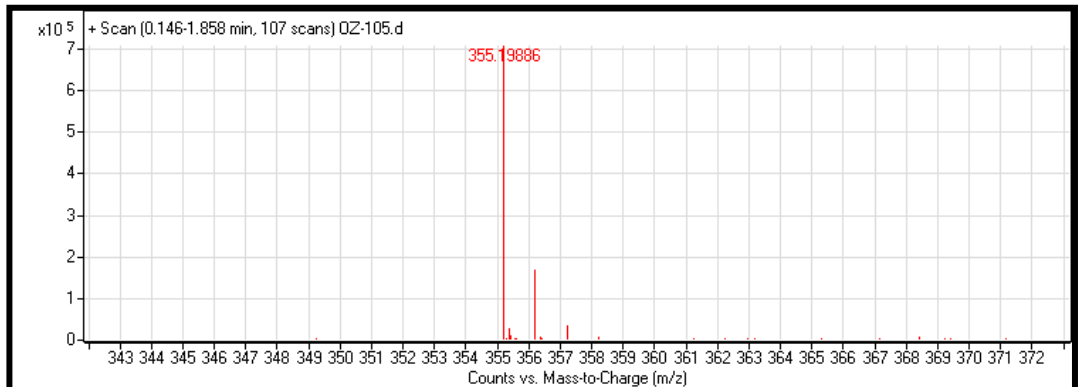
Bileşik 3'ün HRMs Spektrumu



Bileşik 4'ün HRMs Spektrumu



Bileşik 5'in HRMs Spektrumu



Bileşik 7'nin HRMs Spektrumu



## ÖZGEÇMİŞ

### **Kişisel Bilgiler**

Soyadı, Adı: YILMAZ Özge

Uyruğu: T.C.

Doğum Tarihi ve Yeri: 08.10.1990 / Çekerek

e-mail: ossgee.yilmaz@gmail.com

### **Eğitim**

Lise: Etimesgut Anadolu Lisesi / ANKARA

Lisans: Ahi Evran Üniversitesi , Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü/ KIRŞEHİR

Yüksek Lisans: Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü / KIRŞEHİR

Lisans Tezi: -

Yüksek Lisans Tezi: Paladyum (Pd) Probu Olarak Kemilüminesan  
Reaktiflerin Tasarım, Sentez ve Karakterizasyonu

### **Yabancı Dil**

İngilizce, Almanca