T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

BAZI BİYOAKTİF KİNON MOLEKÜLLERİNİN KROMATOGRAFİK TAYİNİ

YAĞMUR ÇAKAN

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. MUSTAFA BENER

Temmuz, 2024

İSTANBUL

Bu çalışma, 11.07.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı, Kimya Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Doç. Dr. Mustafa BENER (Danışman)

Fen Fakültesi

Dr. Öğr. Üyesi Furkan Burak ŞEN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Doç. Dr. Burcu BEKDEŞER
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitim sürecim esnasında sabrını ve samimiyetini esirgemeyen, her aşamada sonsuz destek veren sevgili danışman hocam Doç. Dr. Mustafa BENER'e,

Deneysel çalışmalarımda bilimsel ve manevi desteğini esirgemeyen hocam Doç. Dr. Selda MERCAN'a, bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren Uzm. Biy. Murat YAYLA'ya,

Çalışmalarımda kullandığım kinon bileşiğin sentezini gerçekleştiren Prof. Dr. Amaç Fatih TUYUN ve Doç. Dr. Nilüfer BAYRAK'a,

Her konuda sabırla destek olan ve ilgilerini esirgemeyen sevgili babam Prof. Dr. Hüseyin Çakan olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Temmuz 2024 Yağmur ÇAKAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **vii**
TABLO LİSTESİ ..... **viii**
KISALTMA LİSTESİ ..... **ix**
ÖZET ..... **x**
SUMMARY ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **3**
2.1. BİYOAKTİF BİLEŞİKLER 3
2.2. KİNONLAR 6
2.2.1. Adlandırma 7
2.2.2. Tanıma ve Tespit Yöntemleri 9
2.2.3. Önemli Kinonlar 9
2.2.4. Genel Özellikleri 12
2.2.5. Sentez Yöntemleri 19
2.2.6. Reaksiyonları 23
2.2.7. Kullanım Alanları 25
2.3. KROMATOGRAFİK YÖNTEMLER 28
2.4. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi 30
3. MALZEME VE YÖNTEM **32**
3.1. KULLANILAN KİMYASALLAR, SARF MALZEMELER VE YÖNTEM 32
3.1.1. Gereçler 32
3.1.2. Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller 32
3.2. KULLANILAN CİHAZLAR 32
3.2.1. Gereçler 32
3.2.2. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi 32
3.2.3. Plakanın yürütülmesi 33
3.2.4. Kromatogramın görüntülenmesi 34
3.2.5. Rf değeri (alıkonma faktörü) 34
3.2.6. Kalitatif analiz 35

3.2.7. Kantitatif analiz 35
3.2.8. Densitometri 36
3.2.9. Ölçüm biçimleri 38
3.3. ÇALIŞMADA KULLANILAN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI 39
3.4. VALİDASYON 39
3.5. YPİTK İLE TAYİNİ İÇİN GEÇERLİLİK ÇALIŞMALARI 43
3.6. YPİTK ANALİZİ 43
4. BULGULAR 45
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 50
KAYNAKLAR 54
ÖZGEÇMİŞ 67

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Bazı kinonlar (Babayeva, 2017). 6
Şekil 2.2: Kinik asitten kinon sentezi reaksiyonu (Kroll ve diğ., 2000)..... 7
Şekil 2.3: Bazı kinonlarda adlandırma (Hu ve diğ., 2001). 8
Şekil 2.4: Bazı naftakinon türevleri (Morello ve diğ., 1995)..... 16
Şekil 2.5: Kinon sentezi 1. 20
Şekil 2.6: Kinon sentezi 2. 21
Şekil 2.7: Kinon sentezi 3. 21
Şekil 2.8: Kinon sentezi 4. 22
Şekil 2.9: Kinon sentezi 5. 22
Şekil 2.10: Kinon sentezi 6. 23
Şekil 3.1: Örneğin plakaya uygulanışı. 33
Şekil 3.2: Örneğin plakada yürütülmesi. 33
Şekil 3.3: Örneğin UV ışığı altında görüntülenmesi 34
Şekil 3.4: Rf değerinin plakada gösterimi ve hesaplanması. 35
Şekil 3.5: Metodun çalışma aralığının tanımlanması için çizilen kalibrasyon grafiği (Agila ve Barringer, 2012). 42
Şekil 4.1: 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione standart çözeltisi ile yapılan tayine ait YPİTK kromatogramı. 45
Şekil 4.2: Sistemin kalibrasyon eğrisi, kalibrasyon denklemi ve korelasyon katsayısı 46
Şekil 4.3: 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione etken maddesinin YPİTK analizinden elde edilen kalibrasyon eğrisi, kalibrasyon denklemi ve korelasyon katsayısı. 46
Şekil 4.4: Kalibrasyon eğrisinin üç boyutlu spektrumu 47
Şekil 4.5: 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione çözeltilerinin bitmiş ürüne spike edilmesi ile elde edilen YPİTK kromatogramları 48

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Polifenol bileşenlerin sınıflandırması (Turğay, 2023). 3
Tablo 2.2: Kinonların redoks özellikleri (Nemetova, 2023). 18
Tablo 2.3: Kromatografik yöntemler 29
Tablo 2.4: Kromatografik yöntemlerin özellikleri 29
Tablo 3.1: Kalibrasyon çözeltisi hazırlama prosedürü 39
Tablo 4.1: İki farklı konsantrasyon ile yapılan geri kazanım sonuçlarının karşılaştırması. 49
Tablo 4.2: Geçerlilik çalışmalarının bulguları. 49
Tablo 5.1: Kinon bileşikleri ile ilgili yapılan tez çalışmaları. 51

KISALTMA LİSTESİ

%: Yüzde

°C: Santigrat derece

TLC: İnce Tabaka Kromatografisi

YPİTK: Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi

mg: Miligram

ng: Nanogram

µL: Mikrolitre

mL: Mililitre

GK: Geri Kazanım

MeOH: Metanol

H_2SO_4: Sülfürik asit

MnO_2: Mangan dioksit

LOD: Tespit limiti

LOQ: Tayin limiti

r2: Korelasyon katsayısı

rpm: Dakikada dönme sayısı

RSD: Relatif standart sapma

RT: Alıkonma zamanı

SD: Standart sapma

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

UV- VIS: Ultraviyole ve görünür ışık

ÖZET

BAZI BİYOAKTİF KİNON MOLEKÜLLERİNİN KROMATOGRAFİK TAYİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YAĞMUR ÇAKAN

İstanbul Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. MUSTAFA BENER

Kinonlar, organik moleküllerin bir sınıfı olup, altı karbonlu bir siklik dion yapısına sahiptirler. Özellikle α ve β doymamış ketonlar şeklindeki alt sınıflarıyla bilinirler. Kinonlar, farklı kimyasal yapılarına göre gruplara ayrılabilirler, bu gruplar arasında benzokinon, naftokinon, fenantrenkinon ve antrakinonlar bulunur. Doğal halde mikroorganizmalar, bitki ve hayvanlarda yaygın bulunan kinonların türevleri antikanser, antiviral, antitrombotik, anti-inflamatuar, antifungal, antibakteriyel, antialerjik, gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik etkilere sahiptir. Bu nedenle, birçok araştırma alanında ilgi odağı olmuşlardır. Bugünün tıbbi alanında, kinonlar içeren bileşikler sıklıkla kullanılan ilaçların yapısında bulunur. Ayrıca, boya endüstrisinde de kinonlar ve onların türevleri, yoğun renklendirici maddeler olarak kullanılırlar. Kurutma endüstrisi de kinon bileşiklerini yaygın olarak kullanır. Bunların yanı sıra, kinonlar optik kuantum jeneratörlerinin üretiminde, fotokromik malzemelerin üretiminde, fotoğrafçılıkta, bitki büyüme düzenleyici solüsyonların yapımında, biyokimyasal reaksiyonları katalizör olarak hızlandırmak için kullanılırlar.

Bu çalışmada pek çok kullanım sahası olan biyoaktif kinon molekül grubundan 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione'un kromatografik tayini için yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (YPİTK) esaslı yeni bir yöntem geliştirilmesi ve böylece kimya literatürüne ve bilime katkı sağlanması hedeflenmektedir. Biyoaktif kinon moleküllerini tespit etmek için geliştirilen yöntemin özgünlük ve yüksek seçicilik sağladığı tespit edilmiştir.

Temmuz 2024, 78 sayfa.

Anahtar Kelimeler: Kinon, kromatografi, ince tabaka kromatografisi.

SUMMARY

CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF SOME BIOACTIVE QUINONE MOLECULES

M.Sc. THESIS

YAĞMUR ÇAKAN

Istanbul University
Institute of Graduate Studies in Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. MUSTAFA BENER

Quinones are a class of organic molecules with a six-carbon cyclic dione structure. They are particularly known for their subclasses of α and β unsaturated ketones. Quinones can be divided into groups according to their different chemical structures, including benzoquinone, naphthoquinone, phenanthrenequinone and anthraquinones. They are naturally widespread among animals, plants, and microorganisms. Quinone derivatives can have various biological and pharmacological effects such as antiallergic, antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, antithrombotic, antiviral, and anticancer. Therefore, they have been the center of interest in many research fields. In today's medical field, compounds containing quinones are often found in the structure of commonly used drugs. Also in the dye industry, quinones and their derivatives are used as intensive coloring agents. The drying industry also makes extensive use of quinone compounds. In addition, quinones are used in the production of optical quantum generators, in the production of photochromic materials, in photography, in the production of plant growth regulator solutions, to accelerate biochemical reactions as catalysts.

In this study, a new method based on high performance thin layer chromatography (YPİTK) was developed for the chromatographic determination of 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione, a bioactive quinone molecule group that has many uses, and thus It is aimed to contribute to chemistry literature and science. It has been determined that the method developed to detect bioactive quinone molecules provides specificity and high selectivity.

July 2024, 78 pages.

Keywords: Quinone, chromatography, thin layer chromatography.

1. GİRİŞ

Halokinon bileşiklerinin N-, S-, O-nükleofil reaksiyonlar neticesinde sentezlenen yeni kinon türevleri yüksek aktiviteye sahiptir. Bunun nedeni O, N, S gibi heteroatom ihtivasının yanı sıra kinoid yapıdan kaynaklanmaktadır. Bu özel yapılar, biyolojik aktivite göstermelerinin yanı sıra birçok farklı uygulama alanında kullanılmalarını sağlamaktadır. Belirli koşullar altında alkoller, tiyoller ve aminlerle sübstitüsyon reaksiyonları verdiğinde oluşan bileşikler ise O-, S-, N-sübstitüe kinon bileşikleri adını alır (Kutyrev ve Moskva, 1991).

Diğer bir yönden kinon bileşiklerinin özellikleri, aromatik özellikler taşımadığından dolayı reaksiyonlarının genellikle alifatik bileşiklere benzediğini, ancak bazı durumlarda tamamen aromatik bileşikler gibi davranabildiklerini gösterir. Kinonlar, aromatik bileşiklerden farklı olarak halkada iki çift bağ içerirler ve konjuge siklik ketonlar oldukları için diğer bileşiklerle reaksiyonları oldukça hızlıdır (Kutyrev ve Moskva, 1991).

Kinonlar biyoaktif özellikleri nedeniyle büyük bir ilgi çekmektedir. Kinonlar, altı karbonlu bir siklik dion yapısına sahip olup, özellikle α ve β doymamış ketonlar şeklinde alt gruplara ayrılırlar. Bu kinon türevleri, doğal olarak birçok canlı organizmada, yaygın bulunup çeşitli biyolojik etkilere sahip olabilirler. Bu özellikleri nedeniyle, kinonlar tıbbi ve endüstriyel uygulamalarda büyük bir öneme sahiptir (Bulut, 2019). Biyolojik aktivitelerini ve farmakolojik etkilerini belirlemek, özellikle tıp ve biyoteknoloji alanlarında önemli bir araştırma alanıdır (Abdassalam, 2020).

Kinon moleküllerinin biyolojik ve farmakolojik etkileri bir dizi alanda incelenmektedir. Bu nedenle, kinonların moleküler yapısını ve miktarını tespit etmek, biyomedikal araştırmalarda temel bir adımdır. Bu nedenle bu araştırmada çeşitli bilimsel ve endüstriyel alanlarda vazgeçilmez bir analiz yöntemi olan Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK) aracılığıyla kinon moleküllerinin kromatografik tayinini yapmak hedeflenmiştir. YPİTK, yüksek duyarlılık, seçicilik, çözünürlük ve maliyet etkinliği sunan güçlü bir analitik tekniktir. Çoklu numune analizi, esneklik ve kolay uygulama gibi avantajları ile laboratuvarlarda yaygın olarak tercih edilmektedir. Heterosiklik kinon türevleri, biyolojik aktiviteleri ve endüstriyel kullanım potansiyelleri açısından önem teşkil etmektedir. Bu tür bileşiklerin sentez yöntemlerinin geliştirilmesi hem farmasötik hem de kimya endüstrilerinde daha etkili ve verimli ürünlerin üretilmesini sağlayabilir. Türevleri de biyomedikal ve ilaç endüstrilerindeki araştırmalarda önemlidir. Bu nedenle, bu özgün kinon

bileşiklerinin sentez yöntemleri üzerine yapılan çalışmalar, bilimin ilerlemesine ve yeni ürünlerin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır.

2. GENEL KISIMLAR

Bu bölümde biyoaktif bileşikler, kinonlar ve kromatografik yöntemler hakkında literatürde yer alan bilgiler paylaşılmaktadır.

2.1. BİYOAKTİF BİLEŞİKLER

Bitkiler, büyümelerini sürdürebilmek ve yaşamlarını devam ettirebilmek için temel besin maddeleri olan karbonhidratlar, proteinler ve yağların yanı sıra, özellikle bitkilere özgü olan veya sınırlı miktarlarda bulunan ikincil metabolitlerin sentezini gerçekleştirirler. Bu ikincil metabolitler, bitkilerin savunma mekanizmalarında, renklerinin ve tatlarının oluşmasında, çevresel streslere karşı adaptasyonlarında ve çeşitli biyolojik etkilerde önemli rol oynarlar (Pandey ve Rizvi, 2009). Polifenol bileşiklerin sınıflandırması Tablo 2.1'de verilmiştir. Fenolik bileşikler yaygın bulundukları bitkilerde besinlerin lezzetine etki ederek, özellikle ağızda buruk bir tat oluşturan ve renklerine katkı sağlayan önemli bir besin bileşen grubunu oluştururlar (Shahidi ve Naczk, 2006). Bu fenolik maddeler, genellikle flavonoidler, hidroksisinamik asitler, hidroksibenzoik asitler olarak kategorize edilirken flavonoidler ise proantosiyanidinler (löykoantosiyanidinler), flavanonlar, flavonoller, antosiyanidinler, kateşinler şeklinde sınıflandırdılar (Cemeroğlu, 2001).

Tablo 2.1: Polifenol bileşenlerin sınıflandırması (Turğay, 2023).

Sınıf	Bileşik
Fenolik Asitler	Gallik asit, Ellajik asit, Vanilik asit, p-hidroksi-benozik asit, Ferulik asit, Kaffeik asit, Sinapik asit, Sirinjik asit
Flavonoidler	Flavonlar (luteolin, apigenin, tangeritin) Flavonoller (kuersetin, kampferol, mirisetin, izorhamnetin, pachypodol) Flavanonlar (hesperetin, naringenin, eriodictyol) Flavan-3-ol bileşikleri (kateşinler, epikateşinler, tannik asit, epigallokateşin gallat (EGCG) ve epikateşin gallat (ECG)) 'İzoflavonlar (genistein, daidzein, glycitein) Antosiyanin bileşikler (petunidin, peonidin, pelargonidin, malvidin, delfinidin, siyanidin)
Lignan Bileşikler	Sekoizolarisirezinol, Matairezinol, Sesamin, Pinorezinol
Kumarinler	Kumarin, Varfarin
Stilbenler	Resveratrol, Pterostilben

Polifenoller, yaklaşık olarak 8000'den fazla çeşidi bulunan bir bileşik sınıfını temsil eder ve bitkileri çeşitli dış etkenlere karşı, özellikle ultraviyole (UV) ışınlara ve zararlı mikroorganizmalara karşı korurlar (Pandey ve Rizvi, 2009; Oksana ve diğ., 2012). Bitkilerin gövde, dal, tohum, yaprak, çiçek, meyve gibi farklı kısımlarında bulunabilirler. Genel olarak, bitkilerin yapraklarında, çiçeklerinde ve meyvelerinde glikozitler halinde bulunurken, odunsu dokularda aglikon (glikozit olmayan) yapısında, bitkinin çekirdeklerinde ise her iki formda bulunurlar (Turğay, 2023). Bu bileşenler, gıdanın tat, koku, renk, acılık, burukluk gibi özelliklerini etkilerken, aynı zamanda ürünlerin oksidatif stabilitesini artırarak gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmada önemli bir rol oynarlar (Bakkalbaşı, 2012). Gıdalarda polifenoller çözünmez (pektin, selüloz, proteine vb. kovalent olarak bağlı) ya da çözünür (yağ asitlerine esterlenmiş veya serbest) yapıda bulunabilirler (De Oliveira ve diğ., 2020).

Fenolik bileşikler veya yaygın olarak kullanılan adıyla polifenoller, içerisinde fenol fonksiyonu bulunduran bir grup bileşiktir. Fenolik bileşiğin en basit hali; fenol, bir hidroksil grubu içeren benzen molekülüdür (Cemeroğlu, 2001). Bu bileşikler, özellikle zeytinlerin meyve eti içinde yoğun olarak bulunur ve zeytinyağı üretimi sırasında bir kısmı zeytinyağına geçer (Del Rio ve diğ., 2003). Fenolik bileşikler lignanlar, sekoiridoidler, flavonoidler, fenolik alkoller, fenolik asitler gibi farklı alt gruplara ayrılabilirler (Artajo ve diğ., 2006). Fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri hakkında daha fazla bilgi edinildikten sonra, bu bileşiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerini inceleyen birçok çalışma yapılmıştır (Ryan ve diğ., 2002; Tsarbopoulos ve diğ., 2003). Bu bileşiklerin, özellikle düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) olarak bilinen ve kalp ve damar hastalıklarına yol açabilen lipoproteinlerin oksidasyonunu engelleme potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir (Bozdoğan Konuşkan, 2008).

Araştırmalar, düzenli olarak zeytinyağı tüketen bireylerin fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi sayesinde kalp-damar hastalıkları ve kanser riskinin azaldığını göstermektedir (Owen ve diğ., 2003). Hidroksitirozol ve oleuropein'in, BHT (bütillendirilmiş hidroksitoluen) ve E vitamini gibi yaygın antioksidanlardan çok daha etkili olduğu belirtilmiştir (Aruoma ve diğ., 1998). Antioksidan etki, benzen halkasındaki hidroksil gruplarının sayısına ve bu grupların bulundukları konumlara bağlıdır. Özellikle hidroksil grubunun orto pozisyonunda bulunduğu kimyasal bileşiklerde daha yüksektir ve orto pozisyonundaki hidroksil grupları, metoksi gruplarına göre daha etkilidir (Baldioli ve diğ., 1996). Bununla birlikte, para pozisyonundaki hidroksil veya metoksi gruplarına ek olarak, para pozisyonundaki hidroksil veya metoksi gruplarının varlığı antioksidan etkiyi artırabilir (Bozdoğan Konuşkan ve Altan, 2008)

Fenolik bileşikler, yağlarda çeşitli önemli roller üstlenirler. Özellikle serbest radikal bağlayıcıları olarak görev yaparlar, lipid zincirlerinin oksidasyonunu engelleyebilirler ve singlet oksijen gibi reaktif türlerin etkilerini azaltabilirler (Babich ve Visioli, 2003). Fenolik bileşiklerin alt grubu olan flavonoidlerden flavonoller, 3-hidroksi-4 keto ve/veya 5-hidroksi-4 keto gruplarında bulunan metal inaktivatörleri olarak işlev görürler. Özellikle hidroksitirozol ve oleuropein gibi zeytinlerde bulunan fenolik bileşikler, bakır sülfat gibi maddelerin neden olduğu LDL'nin oksidasyonunu inhibe edebilirler. Bu bileşikler, metalleri bağlama ve serbest radikalleri yakalama yeteneklerine sahiptirler. Ayrıca, insan polimorfonükleer hücreleri veya xantin/xantin oksidaz sistemi tarafından üretilen süperoksit anyonlarını yakalayabilirler. Hidroksitirozol ayrıca bağırsak epitel hücrelerinde gelişen oksidatif stres üzerine etki edebilir. Tirozol ise ortodifenolik yapıya sahip olmadığı için benzer etkileri göstermez. Bir çalışmada, hidroksitirozolün insan eritrositlerine zarar veren hidrojen peroksiti engellemede koruyucu bir etki gösterdiği belirtilmiştir (Visioli ve Galli, 2002).

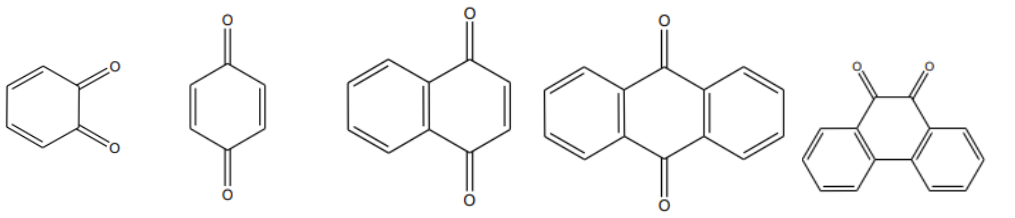
Bitkilerin fenolik bileşenlerinin miktarı, bir dizi faktörün etkisi altında değişebilir. Bu faktörler, hem bitkinin büyüme ve hasat sürecini hem de sonraki depolama, nakliye, işleme ve analiz yöntemlerini içerir (De Oliveira ve diğ., 2020). Bitkilerin yetiştirme koşulları, hasat yöntemleri ve hava koşulları gibi hasat öncesi faktörler, bitkilerin fenolik bileşenlerinin miktarını etkileyebilir. Fenolik bileşenler, besinlerin hem besin değeri hem de duyusal kalite özellikleri ile ilişkilendirilir. Bu bileşikler, düşük konsantrasyonlarda gıdaları oksidatif bozunmaya karşı korurken, yüksek konsantrasyonlarda besinlerin renginin bozulmasına neden olabilirler (Karabulut ve Yemiş, 2019). Ayrıca, fenolik bileşenlerin ortamın pH değeri 4'ün üzerinde ise metal tuzlarıyla reaksiyona girerek renk değişikliklerine ve metalik tat oluşumuna yol açabileceği bilinmektedir (Schobinger, 1988).

Bu araştırmanın konusu olan kinonlar, biyoaktif bileşikler arasında fenolik bileşikler olarak sınıflandırılırlar. Fenolik bileşikler, aromatik bir halkada (genelde benzen) en az bir hidroksil (-OH) grubu ihtiva eden organik bileşiklerdir. Kinonlar, benzen halkasında iki karbonil (-C=O) grubu içeren bir alt grubu temsil ederler ve bu nedenle fenolik bileşiklerin bir alt sınıfını oluştururlar. Kinonlar, doğal kaynaklarda bulunabilen ve birçok biyolojik aktiviteye sahip olan bileşiklerdir. Fenollerin oksidasyonu sonucu oluşan bileşiklerdir ve fenollerin kimyasal değişiklikleri sonucu elde edilirler. Özellikle antioksidan aktiviteleri ve biyolojik etkileri nedeniyle araştırma ilgi odağıdır.

2.2. KİNONLAR

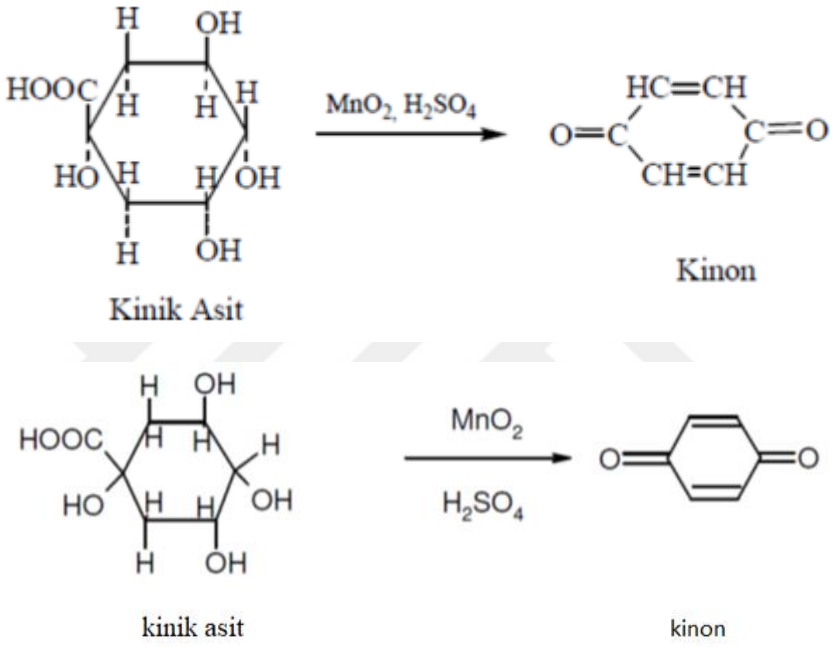
Kinonlar, kimyasal yapıları ve özellikleri açısından önemli olan bileşiklerdir. Bu moleküller, aromatik halkalarda bulunan iki adet konjuge çift bağ içerirler. Bu özellikleri, kinonları diğer bileşiklerden ayıran temel özelliklerden biridir. Kinonlar, 6 üyeli küçük dienon halkalarını oluşturan ve fonksiyonel aktiviteye sahip aromatik ve renkli bileşiklerdir. İki adet hidroksi grubuna sahip olmaları da kinonların özelliklerinden biridir (Nemetova, 2023). En basit kinon bileşiği, p-Benzokinon olarak bilinir (Babayeva, 2017). İlk kez 1838 yılında Liebig tarafından elde edilen kinonların oluşumu, kinik asidin H_2SO_4 ve MnO_2 gibi reaktiflerle tepkimesi sonucunda gerçekleşir. Bu tepkime sonucunda, p-Benzokinon yapısı meydana gelir (Nemetova, 2023).

Kinonlar, aromatik halka yapısına sahip olan ve içerdikleri iki keton (karbonil) grubu nedeniyle belirgin bir kimyasal sınıfı temsil eden bileşiklerdir. Bu tür bileşiklerde karbonil grupları, aromatik halkanın bir parçası haline gelir. Özellikle benzenden türeyen kinonlar için, o-kinon ve p-kinon olmak üzere iki ana izomer türü bulunur. Ayrıca, kinonlar sınıfının en basit üyesi olan p-benzokinon ($C_6H_4O_2$) da sıklıkla "kinon" olarak adlandırılır (Toprak, 2013). Benzokinonlar, dihidroaromatik sistemlerin renkli diketone türevleri olarak bilinirler. Siklohekzadiendionlar olarak da adlandırılabilen bu sınıfın bileşiklerinde bulunan oksijen atomları, karbon halkasının orta veya karşı pozisyonlarında yer alabilir. Bunun nedeni kinonların aromatik bileşiklerden farklı olması, karbonil gruplarının aromatik halka içine entegre olduğu bu bileşiklerin, benzen halkasından türetilmesidir. Bu yapı, o-kinon ve p-kinon olmak üzere iki izomeri mümkün kılar. Karbonil grupları halkanın ortasında veya karşı uçlarında bulunabilir, ancak m-kinonlar gibi karbonil gruplarının meta konumda olduğu izomerler mevcut değildir (Bayrak, 2009). Bunun nedeni karbon atomlarının dört bağ oluşturma kapasitesidir (Nemetova, 2023).



Şekil 2.1: Bazı kinonlar (Babayeva, 2017).

Önemli organik bileşiklerden biri haline gelen kinonlar, doğal kaynakların yanı sıra sentez yoluyla üretilebilirler. Temelde 1,3,4,5-tetraoksabenzoik asit yapısına sahip bileşiklerdir (Cerit, 2020). Bu yapı, kinik asidin dönüşümü sonucunda elde edilir (Şekil 2.2). Kinik asit, kina ağacının (Cinchona) kabuğundan ekstrakt edilen temel malzemedir (Kroll ve diğ., 2000). Kinik asidin ($C_7H_{12}O_6$) kinona dönüşümü, birkaç kimyasal basamağı içerir. Bu basamaklar arasında dehidrasyon, dekarboksilasyon ve oksidasyon yer alır (Cerit, 2020). Bu işlemler sonucunda 1,3,4,5-tetraoksabenzoik asit; kinon, oluşur (Considine, 2005).



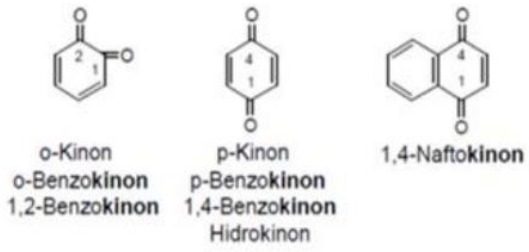
Şekil 2.2: Kinik asitten kinon sentezi reaksiyonu (Kroll ve diğ., 2000).

2.2.1. Adlandırma

Kinonlar, geniş bir doğal bileşik sınıfı olan kinonoidlerin en büyük alt grubunu oluşturan organik bileşiklerdir. Kinonlar, bu kinonoid sınıfının en büyük ve önemli temsilcisidir. Kinonlar, aromatik bileşiklerden türetilirler. Genel olarak, benzen veya naftalen gibi aromatik bileşiklerdeki çift sayıdaki CH= grupları, çift bağların yeniden düzenlenmesi yoluyla -C(=O)- gruplarına dönüşür ve böylece kinon yapısı oluşur. Temel örneklerden biri, sikloheksadienedion yapısına sahip olan ve genellikle "kinon" olarak adlandırılan 1,4-benzokinondur. Diğer önemli örnekler ise 9,10-antrakinon, 1,4-naftakinon, 1,2-benzokinon (orto-kinon)'dur. Kinonlar, aromatik bileşiklerin oksitlenmiş türevleri olarak kabul edilirler ve fenol veya katekol gibi elektron veren sübstituentlerle reaktif aromatik bileşiklerden kolayca elde edilebilirler. Bu reaksiyonlar, kinonların yapısına nükleofilliği artıran ve aromatiklikleri bozan yüksek redoks

potansiyeli kazandıran bir katkı sağlar. Kinonlar, konjuge yapılarına rağmen aromatik değildirler. Konjugasyonla stabilize edilmiş elektrofilik Michael alıcıları oldukları söylenebilir. Kinonların yapısı ve indirgeme yerine bağlı olarak, indirgeyici bir bileşik ya aromatikliği yeniden kazandırabilir ya da konjugasyonu bozabilir (Vigalok ve Milstein, 2001).

Kinonlar, belirli yapısal özelliklere sahip olduğundan adlandırmaları genellikle bu yapıya dayalı olarak yapılır. Aromatik halka yapıları nedeniyle içerdikleri iki keton (karbonil) grubu ile karakterize edilirler. Adlandırmalar, kinonun temel olarak hangi aromatik bileşikten türediğine bağlı olarak değişir. Örneğin, benzenden türeyen kinonlar o-ve p-benzokinon olarak adlandırılır. Benzen halkası, bu kinonların temel çerçevesini oluşturur. Benzer şekilde, toluen ve ksilenden türeyen kinonlara tolu- ve ksilo-kinon denir. Naftalin ve antrasenden türeyen kinonlar ise nafto- ve antrakinon adını alırlar. Sübstitüe ürünlerinin adlandırılmasında ise önce sübstitüentin adının ardından kinon ismi eklenir (oksi-antrakinon gibi). Kinonlar içindeki oksijen atomları, halkanın orta veya karşı uç pozisyonlarında bulunabilir. Benzen, o-ve p-kinonlar için temel halka yapısını sağlar. Naftalin, altı kinon çeşidi oluşturma yeteneğine sahip iken antrasen, sekiz kinon çeşidi sentezleyebilir. Fenantren, bir düzine kinon oluşturabilen bir yapıya sahiptir. Asenaften ve krisen ise yalnızca tek bir iyi bilinen kinonla temsil edilirler. Kinonların karakteristik özelliği, konjuge çifte bağlı bağ sistemi olan kinoid veya kinonoid yapısına sahip olmalarıdır. Bu yapılar, O haricinde N, S, C gibi elementleri ihtiva edebilen çok sayıda halkalı bileşikte bulunabilir (Yavuz, 2017).



Şekil 2.3: Bazı kinonlarda adlandırma (Hu ve diğ., 2001).

Şekil 2.3'te örneklendirildiği üzere kinonlar, genellikle temel aromatik hidrokarbonu belirten bir önek ile adlandırılırlar. Örneğin, benzen kökenli kinonlar için "benzo-", naftalen kökenli kinonlar için "nafto-", antrasen veya ksilenden türeyenler için ise "tolu-" ve "ksilo-kinon" gibi önekler kullanılır. Naftalinin bilinen kinon türevleri arasında 1,2-, 1,4- ve 2,6-naftakinonlar yer alır (Hu ve diğ., 2001). Kinonların adlandırılması, temel yapılarına, kökenlerine ve üzerlerindeki substituentlere bağlıdır. Bu nedenle spesifik bir kinonun adını belirlerken kuralları izlemek önemlidir.

2.2.2. Tanıma ve Tespit Yöntemleri

Kinonların tanımlanması ve analizi, özel kimyasal ve spektroskopik özelliklerine dayalı olarak gerçekleştirilir (Rittich ve Krska, 1977).

İndirgeme ve İyodür İyoda Yükseltgenme: Kinonların özelliklerinden biri, kolayca indirgenme yetenekleridir. Potasyum iyodür ile seyreltik sülfürik asit reaksiyonu sonucunda hidrojen iyodür (HI) üretilir. HI, kinonlarla reaksiyona girerek iyot (I_2) açığa çıkarır. İyodin kağıt ile yapılan tespit son derece yaygındır.

IR-Spektrumu: Kinonların IR (Kızılötesi) spektrumları, konjuge olmayan ketonlara göre farklıdır. Kinonlardaki C=O grubunun frekansı, konjugasyon nedeniyle ~30 cm^{-1} daha düşük bir frekansta kayar. Tipik olarak 1660-1675 cm^{-1} arasında absorpsiyon gözlenir. Bu nedenle, C=C grubu bandı 1660 cm^{-1} civarında kayar ve absorpsiyon şiddeti artar.

UV Spektrumu: α-β doymamış ketonların spektrumunu andırır. Genellikle güçlü bir pik 245 nm'de ve zayıf bir pik 435 nm'de gözlenir. Bu spektral özellikler, kinonların varlığını ve konsantrasyonunu belirlemek için kullanılabilir.

NMR Spektrumu: Kinonların NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) spektrumunda, α-β doymamış karbon atomlarına bağlı protonlar için tipik olarak δ=7.0 ppm civarında bir sinyal görülür. Örneğin, p-Benzokinon protonları δ=6.8 ppm civarında bir sinyal verir.

İzolasyon: Kinonlar genellikle TLC (İnce Tabaka Kromatografisi) yöntemi kullanılarak izole edilirler. Kinonlar renkli bileşikler olduğundan, UV lambası altında kolayca tespit edilebilirler (Danehy ve Hunter, 1967).

2.2.3. Önemli Kinonlar

Hidroksikinonlar

Kırmızı-kahverengi, mor, turuncu, sarı renklerdedir. Örneğin, kök boyası bitkisi köklerinden ekstrakt edilen 1-2-dihidroksi antrakinon (Alizarin), kırmızı bir pigmenttir. Türk kırmızısı olarak bilinen Ca-Al kompleksi renk ve parlaklığı ile ünlüdür. Tarihsel olarak Eski Mısırlılar, İranlılar ve Hintlilerin bildiği bu kinon boyasının kumaşa tutturulması için alüminyum gibi bazı metal iyonlarının kullanılması gerekmiştir (Bayrak, 2009). 1868'de kömür katranı türevi olan antrasenden elde edilmiş ve sentetik boyar madde endüstrisinin gelişmesine katkı sağlamıştır (Caro ve diğ., 2012). 2-antrakinonsülfonik asit sodyum tuzu sentetik olarak üretilmeye başlanmıştır. Kimyasal yapısı nedeniyle portakal kırmızısı bir renge sahip olan alizarin, 110ºC'de süblimleşmektedir. Erime noktası 290ºC ve kaynama noktası 430ºC'dir. Alkolde orta derecede çözünse de sıcak metanolde, eterde (25 ºC) kolayca çözünme eğilimindedir. Ksilen,

tolüen, benzen, karbon disülfit, glasiyel asetik asit, piridin gibi çeşitli organik çözgenlerde de çözünme yeteneği mevcuttur (Bayrak, 2009).

Hidroksinaftakinonlar

Kinonların özel bir alt sınıfını oluşturan bileşiklerdir. Bazı polihidroksinaftokinonlar (ekinokronlar), deniz canlılarının iğne ve kabuklarına kırmızı renk vermektedir (Kırk-Othmer, 2007).Bu sınıfa ait olan önemli örneklerden biri Juglon'dur ve ilk kez fındık kabuklarından (Juglans regia) izole edilmiş olup, doğal haliyle renksiz bir hidrokinondur. Juglon özellikle güçlü bir fungusit olarak tanınır ve bitkiler üzerinde mantar hastalıklarına karşı etkili bir koruyucu olarak kullanılır. Kimyasal özellikleri açısından, havada kinona oksitlenme eğilimindedir, bu nedenle temas ettiği yüzeyleri kahverengiye boyama yeteneği vardır. Rengi sarıdır ve erime noktası 155ºC'dir (Bayrak, 2009). Bir diğer önemli hidroksinaftakinon ise Lawson'dur ve bu bileşik, kına bitkisinin (Lawsonia inermis) yaprakları ve tomurcuklarından elde edilir (Özen, 2011). Pigment, özellikle yün ve ipek gibi tekstil malzemelerini turuncu veya saçı kızıl renkte boyamak için kullanılır. Kimyasal yapısı gereği, Lawson pigmenti ısıya dayanıklıdır ve erime noktası 192ºC'de bulunur (Bayrak, 2009).

Karminik Asit

Doğal kaynaklı bir pigment olan kırmız böceğin (Coccus cacti L.) öğütülmesi yoluyla elde edilen bir bileşiktir. Suda çözündüğünde yoğun bir kırmızı renge sahiptir ancak asidik çözeltilerde menekşe rengini alır. Gıda ve kozmetik endüstrisinde kullanılan bir boyadır (Bayrak, 2009).

Kinoniminler

Kinon yapısındaki bir veya iki oksijen (O) atomunun yerine azot-hidrojen (=NH) veya azot-alkil (=NR) gruplarının yer aldığı bileşiklerdir. Bu tür kimyasal dönüşümler, kinon türevlerinin değişikliğini ve yeni bileşiklerin sentezini mümkün kılar. Örneğin, p-benzokinon imin, p-aminofenolün oksidasyonu ile sentezlenirken p-benzokinon diimin ise p-fenilendiaminin oksidasyonu sonucu meydana gelir (Özen, 2011).

Plastokinonlar

Fotosentezin ışığa bağlı reaksiyonlarında elektron transferini sağlayan önemli yapılar arasındadır. Bu moleküller, fotosentez sırasında ışık enerjisinin yakalanması ve elektron transferi işlemlerine katkı sağlarlar. Plastokinonlardaki izoprenoit karbon zinciri, bu moleküllerin yağda çözünebilirliğini artırarak hücresel zarların lipid çekirdeği içinde serbestçe hareket etmelerine olanak tanır. Plastokinonlar, 2 proton alarak plastokinollere dönüşür (Özen, 2011). Bu kimyasal dönüşüm, fotosentez sırasında elektron taşıma zinciri içinde enerji

transferini sağlar. Bitki dokularında bulunan plastokinonlar, fotosentezin temel süreçlerinde önemli olup ışığa bağımlı reaksiyonlarda elektron taşıma zincirini destekler (Bayrak, 2009).

Timokinon

Akdeniz kıyısına komşu ülkelerde yetişen Nigella sativa'nın (çörek otu) genel olarak aktif bileşenlerinden biridir. Nigella sativa bitkisinin içerdiği temel bileşenler arasında timol, timohidrokimon, ditimokinon, timokinon yer alır. Timokinon, kimyasal olarak C10H12O2 formülüne sahip, 164.2 g/mol moleküler ağırlıklı, uçucu, sarı renkli, kristalize monoterpen bileşiğidir (Kaçar, 2020). Halk tarafından gastrointestinal rahatsızlıklar, egzama, baş ağrısı, diyabet, bronşit, astım, hipertansiyon, inflamasyon gibi bir dizi sağlık sorununa karşı çözüm olarak kullanılmıştır (Woo ve diğ., 2012). Timokinonun çeşitli toksisite türlerine karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Hepatotoksisite (Öngüç Aycan ve diğ., 2014), pulmoner hasar (Yetkin ve diğ., 2020), böbrek toksisitesi (Ulu ve diğ., 2012), sinir sistemi toksisitesi (Mehri ve diğ., 2014), endoplazmik retikulum stresi ve mitokondri kaynaklı apoptoz (Bouhlel ve diğ., 2017) bunlardan bazılarıdır.

Ubikinonlar

Yağda çözünen ve vitamin benzeri kinon bileşikleridir ve en yaygın olarak ökaryotik hücrelerin mitokondrilerinde bulunurlar. Bu bileşikler, elektron transfer zincirinin önemli bir bileşenidir ve özellikle aerobik solunumda görev alırlar. Ubikinonlar ayrıca koenzim Q, koenzim Q10 veya ubidekarenon olarak da adlandırılırlar ve kısaltılmış halleri CoQ, CoQ10 veya Q10 olarak ifade edilir. "Q" kinon grubunu, "10" ise yan zincirde yer alan izopren birimlerini temsil eder. Bu izopren birimleri, ubikinonların özellikle apolar (hidrofobik) iki tabakada çözünmesini sağlayan uzun yan zincirlerdir. Bu çözünme, ubikinonların mitokondri iç zarındaki elektron transfer zincirinde yanal geçişlerini kolaylaştırır. Ubikinonlar, elektron transfer zinciri içerisinde iki elektron ve iki hidrojen atomunu alarak ubikinollere dönüşürler. Bu ubikinoller, ardışık bileşenlere elektron taşıyan önemli aracılardır. Bu nedenle ubikinonların işlevi, hücresel solunum ve enerji üretimi süreçlerinin düzgün çalışmasında kritik bir role sahiptir. Ubikinonların doğadaki önemi büyüktür ve tüm canlı hücrelerin iç mitokondriyal zarlarında bulunurlar. İnsan ubikinonlarının yan zincirleri, on izopren biriminden oluşur. Bu yapı, ubikinonların elektron transfer zincirinde etkili bir şekilde hareket etmelerini ve enerji üretiminde temel bir işlevi yerine getirmelerini sağlar (Bayrak, 2009; Özen, 2011).

2,3-Dikloro-5,6-disiyoano-1,4-benzokinon (DDQ)

Kimyasal formülü $C_8Cl_2N_2O_2$ olan bir kimyasal reaktiftir. Bu bileşik, özellikle alkollerin, fenollerin ve steroid ketonlarının dehidrojenasyon (hidrojen atomlarının çıkarılması)

reaksiyonlarında kullanılır. DDQ, suda çözünmesi nedeniyle sulu ortamlarda ayrışır, ancak sulu mineral asitlerin etkisine karşı kararlılığını korur. DDQ, benzokinonun siyonlanması ve klorlanması gibi kimyasal reaksiyonlar sonucunda sentezlenebilir. Organik kimyada radikal reseptörü ve ılımlı oksitleme ajanı olarak yararlanılan bir reaktiftir (Özen, 2011).

2.2.4. Genel Özellikleri

Biyolojik Özellikleri

Kinonlar, doğada bitkisel ve hayvansal yapılar ile ilişkilendirilen önemli organik bileşiklerdir. Bu metinde ele alınan bazı kinon türevleri, çeşitli biyolojik aktiviteleriyle dikkat çekerler. Örneğin, naftakinonun belirli türevleri K1 ve K2 vitaminleri olarak bilinir (Nemetova, 2023). 1,4-naftakinon iskeletine sahip olan K1 vitamini, kanın pıhtılaşmasını sağlama özelliği ile tanınır. Bu, kanın normal pıhtılaşma işlevini yerine getirmesine katkıda bulunur (Kırk-Othmer, 2007).

Özellikle plastakinon ve ubikinon gibi kinonlar sıtma gibi hastalıklara karşı koruyucu etkileri de olan önemli bileşiklerdir (Kırk-Othmer, 2007). Plasmodium adı verilen sıtma mikrobunun biyokimyasal yapısının araştırılması, yeni sıtma önleyici ilaçların geliştirilmesine büyük katkı sağlamışlardır. Plasmodium'da bulunan çeşitli CoQ8 analogları sentezlenmiş ve bu bileşiklerin sıtma tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bu etkinin temel mekanizması, Plasmodiumun elektron transferinin engellenmesiyle ilişkilendirilmiştir (Hart ve diğ., 2013). Ayrıca canlı organizmalardaki çeşitli biyolojik reaksiyonları da katalizleyebilmektedir (İbiş ve diğ., 2016).

Bazı kinonların biyolojik aktiviteleri (fungusit, herbisit, nematosit, insektisit özelliği) olduğu önceden rapor edilmiştir (İbis ve diğ., 2011; Ibis ve diğ., 2014). Son zamanlarda kinon türevleri ile ilgili yoğun biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Genellikle S-, N-, N,S-, S,S-, S,O ve alkoksi sübstitüe kinonların aktivite özellikleri incelenmiştir (Ibis ve diğ., 2011; Ibıs ve diğ., 2014). 2,3-disübstitüe-1,4-naftakinon türevleri gibi kinonların biyolojik özellikleri de önemli bir araştırma konusudur.

Bu bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal etkileri bir dizi patojene karşı test edilmiştir. Örneğin, *Bacillus subtilis, Candida albicans, Aspergillus niger*, *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* ve *Trichophyton mentagrophytes* gibi patojenlere karşı potansiyel antibakteriyel etkiler gösterilmiştir (Hart ve diğ., 2013).

Kinon çekirdeğindeki kimyasal değişiklikler, antitümör aktivitesini etkileyebilir. Özellikle 5-kloro veya 5-hidroksi sübstitüentlerinin bulunması veya doymamış bir yan zincirin ve dallanmanın mevcut olması, antitümör etkisi gösteren kinon bileşiklerinin özelliklerini

artırabilir. Örneğin, 5-ω-fenilpropilmerkapto-2,3-dimetoksi-1,4-benzokinon, nükleik asit sentezini güçlü bir şekilde yavaşlatan bir bileşiktir. Bu tür bileşikler, hücresel çoğalma ve DNA sentezini inhibe ederek tümör hücrelerinin büyümesini engellemeye yardımcı olabilir (Yavuz, 2017).

Plumbagin (5-hidroksi-2-metil-1,4-naftokinon), tedavi edici ve antibakteriyel özelliklere sahiptir. Özellikle mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların kontrol edilmesi ve tedavi edilmesinde potansiyel bir rol oynayabilir (Bahrmann ve diğ., 2003; Johnstone ve diğ., 2007).

Daunomisin, çeşitli tümörlerin gelişimini engelleyen bir antibiyotik olarak kullanılır. Özellikle hayvansal tümörlerin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılır. Streptomyces peucetius bakterilerinin metaboliti olarak bilinir ve antikanser tedavisinde önemlidir. Bu antibiyotik, çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılarak tümörlerin büyümesini etkili bir şekilde engelleyebilir (Bahrmann ve diğ., 2003; Johnstone ve diğ., 2007).

Streptonigrin ise antikanser özelliklere sahip bir bileşiktir. Streptomyces caespitosus'dan elde edilen mitosin de etki gösteren bir antitümör antibiyotiktir. Bu tür bileşikler, kanser hücrelerinin mitoz sürecini bozarak tümör büyümesini önleyebilir, kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasını engellemeye yardımcı olurlar. Bu nedenle kinon bileşikleri, antitümör etkileri nedeniyle kanser tedavisinde potansiyel önleyicidir. Bu tür bileşiklerin antitümör aktiviteleri üzerine yapılan araştırmalar, kanserle mücadelede yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir (Yavuz, 2017). 1950'lerden bu yana kanser araştırmalarında çalışılan bileşiklerin 1500'den fazlası kinonlar olarak kayıtlara geçmiştir. Bu bileşikler arasında reaktif veya heterohalkalı gruplar içeren substitüe antrakinonlar ve p-benzokinonlar avantajlıdır (Mailman, 2011). Bu durumda kinonlar, biyolojik ve tıbbi araştırmalarda ilgi çeken önemli moleküler bileşiklerdir (Bahrmann ve diğ., 2003; Johnstone ve diğ., 2007).

Kinonlar genel olarak boyaların renkli bileşenleri olarak bilinirken, aynı zamanda birçok ilacın yapısında temel bir rol oynarlar. Bu bileşiklerin bir türü olan 1,4-benzokinon türevlerinden biri, koenzim Q veya ubikinonun bileşeni olup bütün canlılarda bulunmaktadır (ubiquitous quinone). Bu koenzim, elektron taşıma zincirinin işleyişine katılır ve hücresel enerji üretiminin temel bir parçasıdır. İşlem, mitokondri iç zarında gerçekleşir ve ATP üretiminin yapıldığı oksidatif fosforilasyonla ilişkilidir. Hidrokinon-kinon arası yükseltgenme-indirgenme süreci, 1 elektron aktarımını içeren 2 kez gerçekleşir ve bu iki yapı hızlı bir şekilde birbirine dönüşebilir. Bu tepkimenin kolayca geri dönebilme özelliği, karbonhidratları, suyu ve enerjiyi üretmek için

moleküler oksijeni kullanan bir organizmanın hücresel solunum sürecinde kinonların oynadığı kritik bir rolü vurgular (Lee ve diğ., 2017).

Kinon türevlerinin farmakolojik etkileri ve boya ürünleri olarak kullanılmaları, oksijenleri ile geçiş metallerinin koordinasyon yapabilme yeteneklerine dayanmaktadır (Mailman, 2011).

Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kinonlar doğada oldukça yaygın olarak bulunan kimyasal bileşiklerdir ve bitkilerden hayvanlara kadar birçok organizma tarafından üretilir veya izole edilirler. Bitkiler aleminde, 160'tan fazla kinon türü bulunmaktadır. Bu kinonlar bitkilerin metabolik işlevlerinde çeşitli roller oynayabilirler ve bitkilerin rengini etkileyebilirler. Özellikle bazı bitkiler, tokoferoller gibi halkalı kinon türevlerini içerirler. Hayvanlar aleminde, yaklaşık 30 kinon türü izole edilmiştir. Bu kinonlar, çoğunlukla böceklerde ve deniz kestanelerinde bulunur. Böcekler, yırtıcı hayvanlardan korunmak için savunma mekanizmaları olarak kullanabilirler. Bu kinonlar, yüksek buhar basıncına sahiptir ve kötü tatlar ve kokular üretebilirler. Ayrıca, bazı bitkiler, tütün ve kaba yonca gibi, çeşitli kinonları içerirler. Bu kinonlar bitkilerin kimyasal savunma mekanizmalarının bir parçası olarak işlev görebilirler. Bakteri kültürleri de kinon üretebilirler. Özellikle koenzim Q gibi biyolojik açıdan önemli olan kinonlar, hücresel solunum ve enerji üretimi gibi temel biyolojik süreçlerde rol oynarlar (Kırk-Othmer, 2007).

Kinonların kimyasal özellikleri, büyük ölçüde kinonların moleküler yapılarındaki ve bitişik halkalarda yer alan sübstitüent türlerine bağlıdır. Özellikle heterosiklik kinonlar, bu sübstitüentlerin türlerine göre kimyasal reaktiviteyi büyük ölçüde etkileyebilirler. Bu özellikleri nedeniyle kinonlar, birçok kimyasal ve biyokimyasal süreçte önemli roller oynayabilirler (Horiuchi ve diğ., 2006; Kobayashi ve diğ., 2012).

Kimyasal yapıları ve özellikleri bakımından ilginç bileşiklerdir. Moleküler yapılarına bakıldığında, kinonlar halkada 4 π elektron içerir ve bu nedenle sadece iki çift bağa sahiptirler. Bu yapı, kinonların konjugasyon ile zenginleşmesine ve kimyasal reaktifliklerine katkıda bulunur. Bir diğer dikkat çekici özellikleri renklilikleridir. Kinonlar, elektron yapılarındaki konjugasyonun bir sonucu olarak renkli bileşiklerdir. Bu konjugasyon, kinonların belirgin renklerinin kaynağıdır. Koku açısından, kinonlar keskin kokulara sahip olabilirler. Özellikle 1,4-naftokinon, p-benzokinona benzer bir koku taşır. Kinonların kristal yapıda bulunmaları, yapısal olarak stabil oldukları anlamına gelir. Bu, yüksek derecede konjugasyonlarına bağlıdır. Aromatiklik konusunda, kinonlar aromatik değildirler, ancak halkalarındaki konjugasyon, aromatiklik ile ilişkilendirilmemesine rağmen, hala konjugasyonun varlığına işaret eder (Chae ve diğ., 1999). Kinonlar, katı halde genellikle parlak, şeffaf, uzun iğnemsi kristal yapıya sahip

olan, birçoğu doğada bulunan renkli bitki pigmentleridir (Babayeva, 2017). Bu bileşikler, aromatik bileşiklere kıyasla daha kolay parçalanabilirler ve belirgin bir keskin kokuya sahiptirler. Renklerini büyük ölçüde çoklu konjugasyon yapılarından alırlar (Yavuz, 2017).

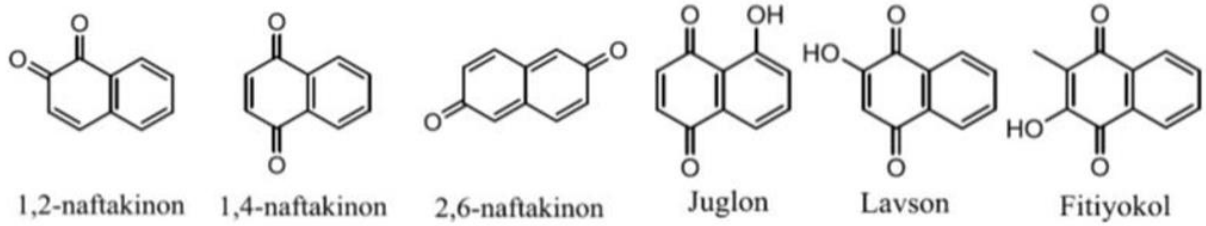
Kinonlar, konjuge yapıları nedeniyle renkli olan bileşiklerdir. Birçok kinon türevi doğada bulunan bitki pigmentlerinin bir parçasıdır. Bu kinon bileşikleri, tipik olarak keskin kokulu maddelerdir ve aromatik bileşiklerle karşılaştırıldığında daha kolay parçalanabilirler. Ayrıca, güzel kristal yapılar oluşturabilirler. Kinonlar, belirli koşullarda elektroaktif özellikler sergileyebilirler, özellikle asetonitril ve sulu çözeltilerde (pH 11'e kadar) kinon yapıları elektrokimyasal reaksiyonlara yol açabilirler. Bununla birlikte, kinonlar yaygın olarak elektron itici gruplar içeren benzen halkaları ile yük-transfer kompleksleri oluşturabilen donörlerdir. Bunlar -OH, $–CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-OCH_3$ gibi gruplar olup kinonlar, yaygın olarak elektron kabul eden bileşikler olan akseptörlere katılabilirler. Örnek olarak, pikrik asit veya nitro grupları içeren bileşikler, kinonlarla etkileşime girebilirler (Bektaş, 2022).

2,3-dikloro-1,4-naftakinonun erime noktası yaklaşık olarak 192-195°C'dir ve bu organik bileşik sarı renkte kristal yapılara sahiptir. Bu bileşik, soğuk suda çok az çözünebilir, ancak petrol eteri içindeki çözünürlüğü suya oranla biraz daha yüksektir. 1,4-naftokinon ve benzer türevleri, aromatik yapılarından kaynaklanan stabiliteye sahiptirler ve bu nedenle antibakteriyel ve antitümör özelliklere sahip olabilirler (Nemetova, 2023).

Antrakinon, sarı renkte bir kristaldir ve erime noktası 284-285°C civarındadır. Kokusuzdur, su buharına karşı stabil olup solventlerde zor çözünür (Clayden ve diğ., 2001). Antrakinonlar doğal kinonların en büyük grubunu oluşturup doğal ve sentetik pigmentlerin en geniş gruplarından birini temsil ederler. Doğal kaynaklardan elde edilen yaklaşık 700'den fazla doğal antrakinon türevi bulunur ve bunlar bitkiler, böcekler, mantarlar ve mikroplar gibi çeşitli organizmalardan türetilmiştir (Dave ve Ledwani, 2012; Obels ve diğ., 2016). Kağıt hamuru üretiminde kullanılan 9,10-antrakinon, bu süreçte 9,10-dihidroksiantrasen olarak indirgenir. Lignin ile reaksiyon verebilen bu yapı neticesinde fenolik bileşenlerin çapraz bağlanmasıyla karmaşık organik polimerlerin oluşabileceği anlaşılmaktadır (Gan ve diğ., 2008; İmimg, 2023).

Naftokinonlar genellikle sarı renkte ve uçucu karaktere sahiptirler. Özellikle 1,4-naftokinon adı verilen kinon bileşiği, p-benzokinona benzeyen bir koku taşır ve kolayca süblimleşir, yani katıdan doğrudan gaz fazına geçebilir (Clayden ve diğ., 2001). Yalnızca 1,4-naftakinon bileşikleri su buharından etkilenerek p-benzokinona benzer özellikler gösterir (Yavuz, 2017). 125-128ºC erime noktasına sahip olan organik yapı, genelde sarı renklidir. Polar organik çözücüler aracılığıyla daha kolay çözünme gerçekleşir (Hart ve diğ., 2013). Altı farklı yapısı

olabilen naftokinonların en bilinenleri1,2-, 1,4-, 2,6- naftakinonlardır. Şekil 2.4'te bazı türleri paylaşılmaktadır. Gündelik yaşamda en yaygın olan türü, pıhtılaşma ajanı olarak bilinen Vitamin K1 ve Vitamin K2'dir (Alçay, 2015).



Şekil 2.4: Bazı naftakinon türevleri (Morello ve diğ., 1995).

p-benzokinon, parlak sarı renkte bir kristaldir ve erime noktası 115-116°C civarındadır. Bu bileşik kolayca süblimleşebilir. Su, eter, etanol vb. organik çözücülerde kolayca çözünür. O-benzokinon, daha düşük bir erime noktasına sahiptir, yaklaşık olarak 70°C'dir ve 76,4°C civarında yanıcıdır. Ancak eterde çözünmez (Clayden ve diğ., 2001). P-benzokinon, hidrokinonun (1,4-benzendiol) oksidasyonu sonucu oluşan bir bileşiktir. Bu oksidasyon işlemi, hafif oksidasyon ajanları kullanılarak gerçekleştirilir. Bu ajanlar, hidrokinondan bir elektron çiftini ($2e^-$) ve iki protonu uzaklaştırarak p-benzokinonu oluşturur (Nemetova, 2023). Aksırmaya neden olan garip kokusu mevcuttur. Çözünmemiş, buhar ve katı formu görme kaybı yaratabilir. Tahriş edicidir (Kırk-Othmer, 2007).

P-kloranil, 290°C civarında eriyen altın sarısı kristal bir bileşiktir. Bu bileşik aseton, asetik asit, benzen, toluen gibi çözücüler kullanılarak kristalizasyon yoluyla elde edilebilir (Clayden ve diğ., 2001).

Fenantrenkinon, büyük portakal renkli kristaller şeklinde bulunur. Kokusuzur. Uçucu değildir ve erime noktası yaklaşık olarak 209°C'dir (Clayden ve diğ., 2001). Doğada hayvansal ve bitkisel olarak bulunan bazı türlerinde permanganat rengi teleforik asit, ksilin gibi pigmentler vardır. Teleforik asit liken ve mantarlarda, ksilen meşe gibi sert ağaçlarda bulunur (Kırk-Othmer, 2007).

Ultraviyole Bölge Absorbsiyon Spektrumu

Kinonların analitik olarak tayinlerinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem, HPLC-UV dedektörüdür. Kinonlar, UV bölgesinde absorbans gösterdiği için bu yöntem tercih edilir. Ancak, UV tespitin duyarlılığı kinonların izini belirlemek için yetersiz olabilir ve UV tespidin seçiciliği düşük olabilir, çünkü diğer UV absorbe eden bileşikler, kinonların tespitini zorlaştırabilir. Buna rağmen HPLC-UV, kinonların ve diğer bileşiklerin aynı anda belirlenmesi

gereken durumlarda kullanışlı bir araçtır. Örneğin, K vitamini ve Ubikinon gibi yağda çözünen vitaminlerin belirlenmesinde bu yöntem sıklıkla kullanılır (Kishikawa ve Kuroda, 2014).

p-benzokinonun UV spektrumu, alifatik bir karakter taşır ve konjuge diketonların tipik UV spektrumlarına benzerlik gösterir. Çözücünün polaritesine bağlı olarak, ana absorpsiyon pikinin genellikle 240-250 nm aralığında olduğu gözlemlenir. İkinci bir pik, 276-296 nm civarında görülebilir ve sarı renkli bir çözeltide genellikle 400 nm'nin üzerinde ikincil bir absorpsiyon gözlenir. Bu ikinci absorpsiyon, konjugasyonun konjuge benzen halkaları ile ilişkili olduğu bir sonuç olarak ortaya çıkar. Ayrıca, p-benzokinonun UV-VIS spektrumu çözeltisine yeşil bir renk katabilir. 400-500 ila 600 nm civarında da pikler gösterebilir (Clayden ve diğ., 2001; Kırk-Othmer, 2007).

o-Kinonlar, p-kinonlardan daha fazla renk gösterirler. Örneğin, o-benzokinonun absorpsiyon pikleri 260 ve 375 nm arasında yer alırken, daha yüksek dalga boylarında önemli bir absorpsiyon pikine, yaklaşık 590 nm civarında, bölgede rastlanır (Clayden ve diğ., 2001; Kırk-Othmer, 2007).

1,4-Naftakinonun UV spektrumu ise pikleri 245, 257 ve 335 nm civarında gösterir. Hidroksil grubunun naftakinon üzerindeki etkisi nedeniyle, bazı naftakinon türevleri 550 nm civarında kırmızı renkli bir maksimum absorpsiyona sahip olabilir (Clayden ve diğ., 2001).

Antrakinon bileşiklerinin UV spektrumu, genellikle 243, 263 ve 405 nm civarında pikler gösterir (Yavuz, 2012). Bu bileşiklerin çoğu gün ışığında renkli olup, UV254 ve UV366 ışıkları altında geniş bir renk yelpazesi sunarlar (Obels ve diğ., 2016).

Yük-Transfer Kompleksleri

Kinonlar, yük-transfer kompleksleri oluşturabilen önemli kimyasal bileşiklerdir. Bu kompleksler, özellikle p-benzokinon (1,4-benzokinon) ile hidrokinon (1,4-dihidroksibenzen) arasında meydana gelir (Mochida ve diğ., 2011).

Bu reaksiyon sırasında yeşil bir renk görülür ve oluşan ürün kinhidron olarak adlandırılır. Kinhidron, kinon ve hidrokinonun bir moleküler kompleksi olarak kabul edilir. Bu yük-transfer kompleksi, iki molekül arasında hidrojen bağları ve benzen halkasının nükleofilik yapısı nedeniyle oluşur (Özsoy Güneş, 2005). Hidrokinon halkasından kinon halkasına elektron aktarımı gerçekleşir. Bu, moleküllerin bir araya gelmesine ve asosiasyonun oluşmasına neden olur (Morello ve diğ., 1995; Gong ve diğ., 2008; Bektaş, 2022).

Redoks Özellikleri

Kinonların indirgenmesi, organik kimyanın önemli bir konusu olup inorganik kimyanın geri dönüşümlü süreçlerine benzer bir şekilde işler (Nemetova, 2023). Bu reaksiyonlar, özellikle

bitkilerde yaygın olarak bulunan kinonların izolasyonuyla ilgilidir. Organizmalarda gerçekleşen redoks tepkimelerinde de önemli rolleri vardır (Bulut, 2019). Özellikle kondense halka sistemleri üzerinde yoğunlaşan araştırmalarda önem arz etmektedir. Bu çalışmalar, aromatik özelliklerin tespiti için kinonların yükseltgenme ve indirgenme potansiyelini incelemeyi amaçlar (Nemetova, 2023). Kinonların redoks özelliklerinin bazı değerleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2: Kinonların redoks özellikleri (Nemetova, 2023).

Normal Potansiyel E®, Volt		
Kinon	Sulu Çözelti	Alkollü Çözelti
1,4-naftokinon	0,470	0,484
o-benzokinon	0,794	-
1,2-naftokinon	0,555	0,576
p- benzokinon	0,699	0,715
1,4-antrakinon	-	0,401
1,2-antrakinon	-	0,490
1,2-fenantrenkinon	-	0,660
1,4-fenantrenkinon	-	0,523

Kinonlar, üstün redoks özellikleri nedeniyle laboratuvar çalışmalarında biyolojik sentez faaliyetleri için önemli yükseltgeyiciler olarak kullanılırlar. Özellikle doymamış α, ß ketonların varlığı, kinonların birçok reaksiyona katılmasına olanak tanır. Nükleofilik yer değiştirme, elektrofilik, radikalik ve halka ekleme reaksiyonları gibi bir dizi reaksiyon kinonlar için karakteristiktir. Ayrıca fotokimya ve normal/olağandışı karbonil reaksiyonları da kinonlarla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle kinonlar, kimya alanında çeşitli reaksiyonları incelemek ve biyolojik sentezlerde önemli roller üstlenmek için önemli bir bileşen olarak kabul edilirler (Monks ve diğ., 1992; Mailman, 2011; Alçay, 2015).

Kinonlar, dışsal koşullar olarak çözücü, pH seviyesi ve iyon seçimi gibi faktörlere oldukça hassas bir şekilde tepki verirler. Bu özellikler, kinonların kimyasal davranışlarını ve reaktivitelerini büyük ölçüde etkiler. Kinonlar, merkezi metal iyonunun kimyasal yapısı ve kompleksin koordinasyon geometrisi ile birleşerek, metal kompleksleri içinde redoks-aktif ligandlar olarak sınıflandırılırlar. Bu tür komplekslerde, metal iyonunun d veya f orbitalleri ile kinon tabanlı ligandın p-orbitalleri arasındaki etkileşimler, çeşitli elektrokimyasal ve elektron transfer özelliklerinin ortaya çıkmasına neden olur (d-p veya f-p etkileşimleri). Yapılan araştırmalar, kinon bazlı ligandlara sahip bazı geçiş metal komplekslerinin, metal iyonu ile ligandlar arasında içsel moleküler elektron transferini sergilediğini ve bu sürecin valans tautomerizmine yol açtığını göstermiştir. Bu tautomerizm, kinonların redoks özelliklerini ve kimyasal davranışlarını önemli ölçüde etkileyebilir (Pierpont, 2001).

Kinon yapısı, tümör hücrelerini etkisiz hale getirmek amacıyla reaktif oksijen türleri üreterek geri dönüşümlü oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına tabi tutulur. Bu sayede kinonlar, güçlü oksitleyici maddeler olarak işlev görürler. Bu önemli özellikleri nedeniyle, kinonoid yapının elektrokimyası, basit iki aşamalı katodik indirgeme örneği olarak geniş çapta araştırılmıştır. Kinonların redoks özellikleri, özellikle biyokimya ve ilaç kimyası alanlarında, birçok önemli uygulama için temel oluşturur (Kim ve diğ., 2001; Guin ve diğ., 2011).

Kinon bileşiklerinin önemli bir özelliği, aromatik dihidroksi türevlerinden iki hidroksi grubunun hidrojen atomlarının eliminasyonu yoluyla oluşturulmalarıdır. Bu reaksiyonlar sonucunda hidrokinon adı verilen bileşikler elde edilir. Hidrokinon, kinonların sentezinde ve dönüşümünde önemli bir ara ürün olarak kullanılır. Bu reaksiyonlar genellikle tersinirdir, yani kinonların hidrokinona veya tersine dönüşümünü içerebilirler (Nemetova, 2023).

Aktarıldığı üzere redoks aktif bileşikler olarak bilinirler ve biyolojik sistemlerde, malzeme biliminde ve kimya alanında elektron transfer reaksiyonlarında etkilidir. Özellikle naftakinon türevleri, fotosentez gibi biyolojik süreçlerde hızlı elektron transfer süreçlerinin merkezinde yer alarak elektron taşıyıcıları olarak görev yaparlar. Bu elektron taşıyıcıları, enerjinin dönüşümünde ve biyolojik reaksiyonlarda kritik role sahiptir. Son olarak malzeme biliminde de elektronik cihazlarda ve enerji depolama sistemlerinde kullanılan bileşenlerin geliştirilmesinde önemli bir rol oynarlar (Horiuchi ve diğ., 2006; Kobayashi ve diğ., 2012).

2.2.5. Sentez Yöntemleri

Kinonlar özellikle yükseltgeme reaksiyonları, elektrofilik reaksiyonlar, halka katılma reaksiyonu ile sentezlenebilmektedir. Yükseltgenme reaksiyonlarından biri fenollerin yükseltgemesiyle yapılan sentezdir (Solomons ve Fryhle, 2002). Bu bileşikler diamin, difenol, aminofenol gibi çeşitli fonksiyonel grupları yapısında bulunduran bileşiklerdir. Oksidasyon zorluğunun büyükten küçüğe sırası dihidrokinon>fenol ve anilin>hidrokarbon şeklindedir (Al Ghorbani ve diğ., 2015). Kinonlar, dietil eter içinde gümüş oksidi o-dihidroksibenzen (katekol) ile muamele edilerek; $FeCl_3$, HBrO yükseltgenler ile hidrokinondan sentezlenebilir. p-Aminofenol ve diaminin oksidasyonunun başlangıcında kinondiiminler ve kinoniminler oluşur. Bu bileşenler sulu çözeltide hızla hidroliz edilerek kinona dönüşürler. Kinonlar, anilinin yükseltgenmesi yoluyla elde edilebilirler. Anilin, sülfat asitli dikromat çözeltisi içinde serbest radikalik bir mekanizma ile reaksiyona girer. Bu reaksiyonun ilk aşamasında, koyu renkli bir ara ürün olan anilin siyahı meydana gelir. Daha sonra bu ürünün daha fazla yükseltgenmesi ve hidrolizi ile kinon elde edilir. Arenler, CrO_3-CH_3COOH, H_2O_2-CH_3COOH gibi

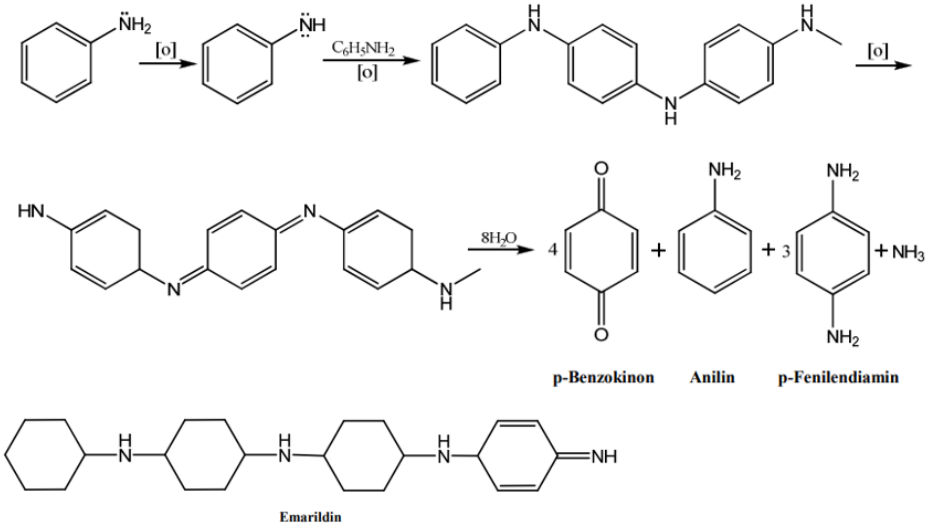
yükseltgeyicilerle kinonlara dönüştürülebilirler. Güçlü asitlerin varlığında, difenokinonlar p-benzokinonlara dönüşerek meydana gelirler (Yavuz, 2017).

Elektrofilik reaksiyon fenollerin, nitröz asit ile etkileşimiyle p-nitrozofenol oluşturmasıyla başlar. Bu bileşik, tautomerik bir denge içinde kinonmonoksim ile bulunur. Nitrozofenoller, indofenollerin sentezinde kullanılan kinonmonoksime dönüşen sübstitüe kinonmonoksimlerdir (Yavuz, 2017).

Halka Katılma (Diels-Alder) reaksiyonunda, kinonlar dienofil olarak hareket ederler ve bu reaksiyon sonucunda yeni kinon bileşikleri kolayca oluşturulabilirler (Yavuz, 2017).

Uygulanan elde yöntemleri araştırmanın devamında kısaca listelenmektedir (Özen, 2011).

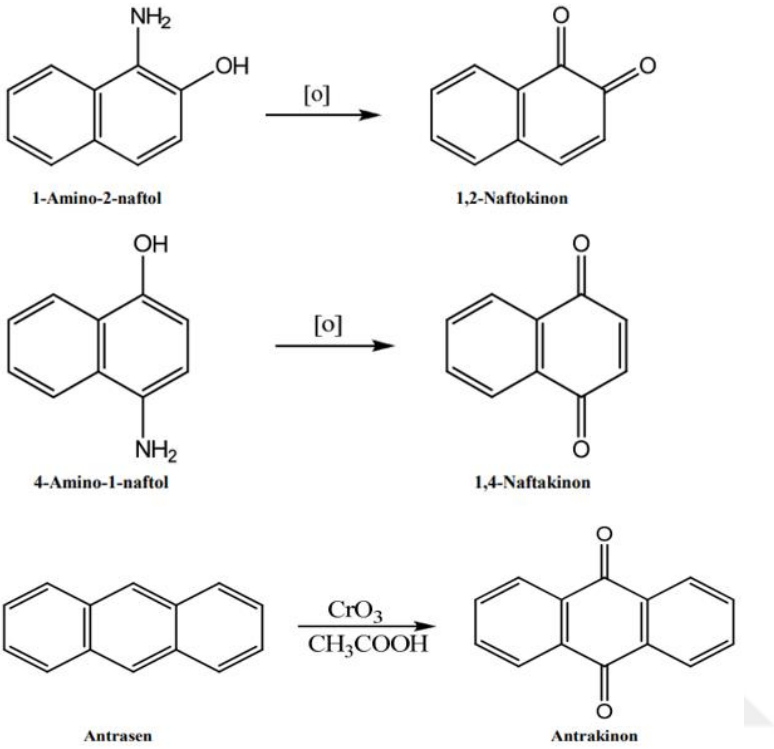
Anilinin Yükseltgenmesi*:* Kinonların elde edilmesi için bir yol olarak kullanılır. Bu reaksiyon, anilin adlı bileşiğin sülfürik asitli bikromat çözeltisi içinde ilerleyen serbest radikalik bir mekanizmayla gerçekleşir. İlk olarak, anilin siyahı olarak bilinen yoğun renkli bir ara ürün oluşur. Daha sonra bu ürün, daha fazla yükseltgenme ve hidroliz ile $C_6H_4O_2$ kapalı formülüne sahip p-benzokinon bileşiğine dönüşür. Sülfürik asitli bikromat çözeltisinin normal sıcaklıklarda anilin üzerinde etkisiyle, bir anilin molekülünün amino grubu, diğer bir anilin molekülünün para konumundaki bir yerine kondensasyon reaksiyonu ile bağlanır. Bu süreç, bir dizi reaksiyonun tekrarlanmasıyla sekiz anilin molekülünü içeren bir bileşik oluşturur. İzole edilemeyen bu bileşiğin dehidrojenasyonu sonucunda Şekil 2.5'te görüldüğü üzere emarildin elde edilir. Daha sonra nigranilin ve en sonunda pernigranilin meydana gelir. Pernigranilin molekülünde dört kinoid grup bulunur. Asit ortamda gerçekleşen bu reaksiyon sonucunda, p-Benzokinon ve p-fenilendiamin sabunlaşarak anilini kinona dönüştürmek mümkün hale gelir.



Şekil 2.5: Kinon sentezi 1.

Arenlerin Oksitlenmesi

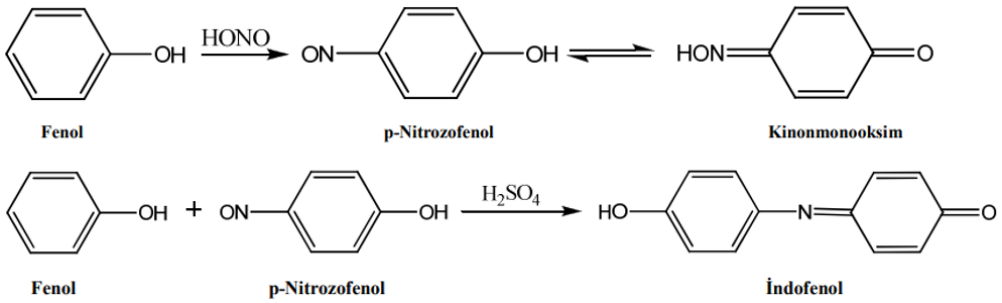
Kinonlar CrO_3-CH_3COOH, H_2O_2-CH_3COOH gibi oksitleyici maddelerle reaksiyonu sonucunda da elde edilir. Şekil 2.6'da kullanılan bu yöntemde genellikle kolay temin edilebilen maddeler tercih edilir, ancak verimlilik genellikle %50'nin altında kalır.



Şekil 2.6: Kinon sentezi 2.

Fenollerin Nitröz Asit ile Reaksiyonu

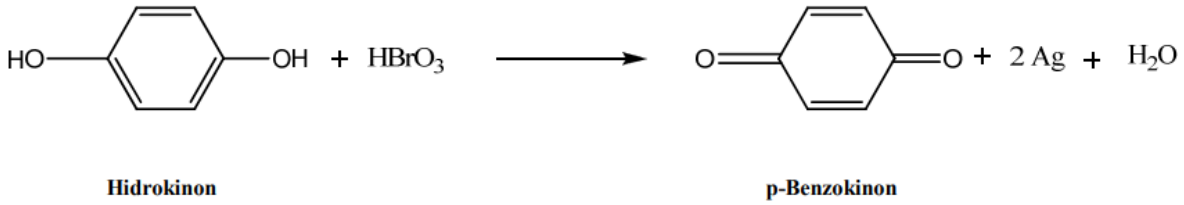
Reaksiyon sonucu p-Nitrozofenol elde edilir. Bu oluşan yapı, tautomerik bir denge içinde bulunan kinonmonooksim ile dengededir. Şekil 2.7'de nitrozofenoller, indofenollerin sentezinde kullanılan sübstitüe monooksim bileşiklerini elde etmek için kullanılırlar.



Şekil 2.7: Kinon sentezi 3.

Hidrokinonun Yükseltgenmesi

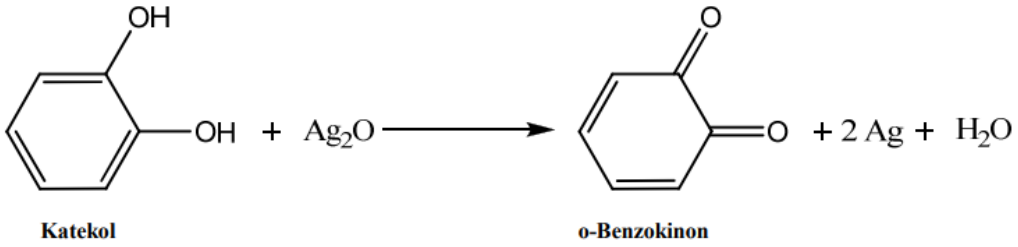
$FeCl_3$ ve $HBrO_3$ gibi oksidasyon ajanları ile gerçekleştirilerek Şekil 2.8'de p-Benzokinonun oluşmasını sağlar.



Şekil 2.8: Kinon sentezi 4.

o-Dihidroksibenzenlerin Yükseltgenmesi

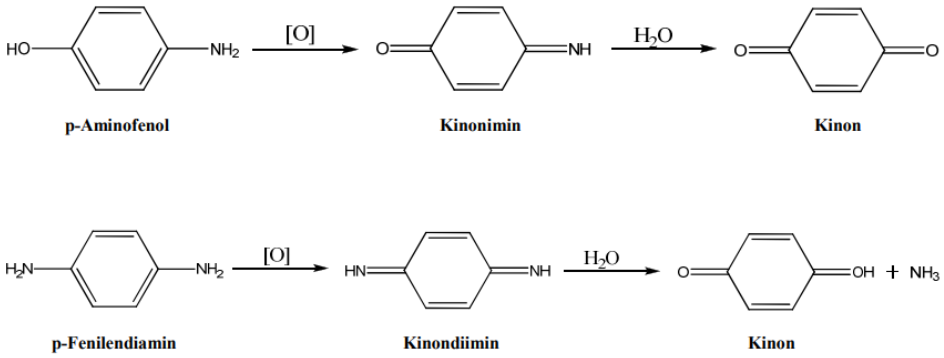
o-Dihidroksibenzenlerin oksidasyonu sonucunda katekolün yükseltgenmesi gerçekleşir ve bu süreçte Şekil 2.9'daki gibi o-Benzokinon elde edilir. o-Benzokinon, kararlı ve kararsız olmak üzere iki farklı formda bulunabilir. Kararlı formu parlak kırmızı iğne şeklinde kristaller oluşturur ve genellikle polimerleşme eğilimindedir. Kararsız formu ise yeşil iğneler şeklinde kristallenir. Birçok doğal ürünün rengi, içerdikleri pigmentlerin benzokinon benzeri bileşiklerinden kaynaklanır.



Şekil 2.9: Kinon sentezi 5.

p-Aminofenolün ve Diaminlerin Oksitlenmesi

p-Aminofenol ve diaminlerin oksidasyonu sırasında Şekil 2.10'da ilk olarak kinoniminler ve kinondiiminler oluşur. Bu oluşan bileşikler sulu çözeltide kolayca hidrolize uğrarlar. Sulu bazik ortamda yan reaksiyonların meydana gelme eğilimi vardır. Bu nedenle oksidasyon reaksiyonlarında genellikle yükseltgenme işlemini gerçekleştirmek için kuru gümüş oksit ve bikromat-sülfürik asit gibi asit reaktifler tercih edilir.



Şekil 2.10: Kinon sentezi 6.

2.2.6. Reaksiyonları

Kinonlar, aromatik bileşikler olmayıp, daha çok açık zincirli α, β doymamış ketonlara benzerler. Bu nedenle karakteristik reaktiviteleri vardır ve karbonil grubuna özgü reaksiyonları sergilerler. Ayrıca, α,β ketonlara özgü katılma reaksiyonlarını gerçekleştirirler. Birçok kinon, kendine özgü renk reaksiyonları gösterirler. Bu reaksiyonlar özellikle sulu alkali ve yoğun sülfürik asit çözeltilerinde belirgin bir şekilde gözlenir ve katılma reaksiyonlarına yol açarlar. Bu tür reaksiyonlar α, β doymamış ketonlara göre genellikle daha hızlı gerçekleşirler. Örnek olarak, o-Benzokinon, potasyum permanganat ile ısıtıldığında oksalik asit oluştururken, p-Benzokinon gümüş sülfat varlığında potasyum peroksidisülfat ile maleik ve fumarik asitlere yükseltgenme reaksiyonu gösterebilir (Özen, 2011).

1,4-Katılma Reaksiyonları: Kinonlar, asitler, aminler ve benzeri reaktiflerle 1,4-katılma reaksiyonları gösterirler. Bu tür reaksiyonların ilk ürünü genellikle hidrokinondur. Ancak, bu reaksiyon ilerlerken oluşan sübstitüe hidrokinonun p-Benzokinon'dan daha yüksek bir yükseltgenme potansiyeline sahip olduğu durumlarda reaksiyon ileriye gitmez. Diğer bir deyişle, eğer sübstitüe hidrokinon, p-Benzokinonun yükseltgenme potansiyelinden daha yüksekse, reaksiyon durur. Öte yandan, eğer sübstitüe hidrokinonun yükseltgenme potansiyeli, p-Benzokinonunkinden daha düşükse, reaksiyon ilerlemeye devam eder ve ürün, daha fazla HX katılması sonucu 2,5-disübstitüsyonlu bir bileşik oluşturur.

Alkoller ile Reaksiyonu

Kinonların alkollerle reaksiyonu genellikle bir katalizörün (Mg, Ca, Cd, Zn) varlığında gerçekleşir. Ancak, 2-Asetil-1,4-benzokinon gibi oldukça aktif bir bileşik, alkollerle katalizör olmadan da reaksiyon verebilir. p-Benzokinonun etanolle reaksiyonu ise Co(Salen), Co(bis-N,N-salisilenetilendiaminat) ve oksijen varlığında hızlı bir şekilde ilerler. Ayrıca, 5 ve 8 pozisyonlarında verici substitüent bulunan 1,4-naftakinonlar, H_2SO_4 ve $FeSO_4.7H_2O$

katalizörleri varlığında alkollerle reaksiyon verirler ve bu reaksiyon sonucunda 2-alkoksit türevleri meydana gelir. o-Naftakinonlar ise alkollerle katalizörün ($CaCl_2$, $NiCl_2.6H_2O$ vb.) varlığında reaksiyon verirler ve ürün, sıcaklık ve süre arttıkça 2 ile gösterilen ürünü oluşturur.

Amonyak ile Reaksiyonu

Kinonların amonyak ile reaksiyonu sonucunda sübstitüe kinonların gaz amonyak ile reaksiyonu, kararsız amorf ürünlerin oluşmasına yol açar. Ancak, sıvı amonyak kullanıldığında 1:1 katılma ürünleri meydana gelir (240°C). İkinci katılma ürünü ise 220°C'de oluşur.

Anilin ile Reaksiyonu

1,2-Naftokinonların anilinle reaksiyonunda 1,4-katılma ürünü oluşur. 4-Anilino-1,2-naftakinon, hava oksidasyonu ile izole edilir ve ayrıştırılır.

Diazonyum Tuzları ile Reaksiyonu

p Kinonların diazonyum tuzlarıyla reaksiyonu sonucunda p-Benzokinon arillenir.

Halojenler ile Reaksiyonları

p-Benzokinon, kendi etilenik atomlarına halojenleri bağlayabilir. Örneğin, buradaki halojen klor ise bir sübstitüsyon ürünü oluştururken, brom ise bir katılma ürününün oluşmasına yol açar.

İndirgenme Reaksiyonları

Kinonların hidrokinonlara geri dönüşümlü ve kantitatif olarak indirgenmesini içerir. o ve p-Benzokinonlar sulu çözeltilerinde SO2 ile hidrokinonlara ve pirokateşollere indirgenir. Bu reaksiyonlarda hidrokinonun teorik miktarının %80'i gibi bir verim elde edilir. Ticari olarak, p-Benzokinon hidrokinona sudaki demir tozları aracılığıyla indirgenir. Ayrıca asetik asi, çinko tuzları, sulu hidroksilamin, fenil hidrazin gibi indirgeme ajanları da kullanılabilir.

Katalitik Hidrojenlenme ve Metallerin Etkisi

Bu etkiyle hidrojen atomlarının kinonların negatif uçlarına bağlanması sonucunda kinoid sistemler benzoid sistemlere dönüşür.

o-Fenilendiamin ile Reaksiyonu

2- ve 1,4- kinonlar kolaylıkla birbirinden ayrılabilir. Örneğin, 1,2- kinonlar o-fenilendiamin ile fanazin türevlerini oluştururken, 1,4- kinonlar bu reaksiyona tepki vermezler.

Polimerleşme Reaksiyonları

Özellikle p-Benzokinon, $AlCl_3$ veya $SnCl_2$ gibi metal halojenür katalizörlerinin varlığında bir organik çözücüde ısıya dirençli polimerler oluşturarak polimerleşme reaksiyonlarına girerler.

Thiele Reaksiyonu

H_2SO_4 ve BF_3 etarat katalizörlüğünde asetik anhidritin kinonlara katılmasıyla gerçekleşen bir reaksiyondur. Bu şekilde hidroksihidrokinon triasetat elde edilir ve genel ürün olarak α,β-naftokinon meydana gelir.

Tiyoller ile Reaksiyonu

Kinonlar, tiyoller ve tiyofenollerle 1,4-katılma reaksiyonları yapabilirler. Bu reaksiyonlar sonucunda kinonlar, alkol-tiyo ve aril-tiyo kinonlarına dönüşebilir.

2.2.7. Kullanım Alanları

Kinonlar, biyokimyasal reaksiyonlarda önemli katalizörler olarak bilinirler. Bu bileşikler, özellikle redoks aktivitesi ve elektron transferi süreçlerinde kritik bir rol oynarlar. Araştırmalar, fosforlanmış kinollerin yükseltgen fosforilasyonu teşvik ederek solunum dolaşımını olumlu bir şekilde etkilediğini göstermiştir (Gee ve Schep, 2013). En önemli türlerden biri CoQ10 olup çeşitli 1,4-benzokinon analoglarıyla sentezlenmiş ve bu bileşiklerin günümüzün tedavi gerektiren hastalıkları, özellikle kanser, üzerinde antitümör aktivite sergilediği belirlenmiştir. Koenzim Q10, farelerde Walker karsinosarkom 256'nın uzun süreli tedavisinde en etkili antitümör özelliklerini gösterdiği bilinmektedir. Kinonların antitümör aktivitesi, moleküler yapılarında bulunan doymamış yan zincirler ve çekirdek bölgesindeki 5-kloro- veya 5-hidroksil sübstitüentlerinin varlığına dayanmaktadır (Hart ve diğ., 2013).

Lösemi-1210 hücrelerinde nükleik asit sentezi, koenzim Q10 antimetabolitleri ile engellenebilmektedir. Bu antimetabolitler, L1210 hücrelerinin DNA ve RNA sentezini yavaşlatarak çalışır. Ayrıca, tirityumla işaretlenmiş timin ve ürinin hücre içine alımını da engellerler. Bu nedenle, koenzim Q10 antimetabolitleri kanser hücrelerinin genetik materyal üretimini etkileyerek tümör büyümesini kontrol etmede potansiyel bir rol oynayabilirler. Özellikle sekiz antimetabolitin, Rubidazon ve Eliptisin gibi kanser ilaçlarına benzer şekilde etkili olduğu gözlemlenmiştir. ED50 değerleri 2.1 ve 4.0 μm olan 5-ω-fenilpropilmerkapto-2,3-dimetoksi-1,4-bezokinon gibi koenzim Q10 antimetabolitleri, nükleik asit sentezini güçlü bir şekilde inhibe edebilirler (Nemetova, 2023).

Kinonlar doğada yaygın olarak bulunan ve endüstriyel olarak üretilen çok yönlü bileşiklerdir. Tarihsel olarak, kinonlar ilk olarak boya endüstrisinde kullanılmışlardır. Ancak günümüzde, birçok farklı alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Brunton ve diğ., 2006). Kinonların, hidroiyodik asitten iyot açığa çıkarabilme özelliği, fotoğrafçılıkta önemli bir role sahiptir. Ayrıca, gümüşü yükseltgeyerek gümüş iyonlarını açığa çıkararak fotoğrafçılık işlemlerinde kullanılırlar. Bu, fotoğraf filmlerinin ve kağıtlarının oluşturulmasında önemlidir (Caccia,

2007). Kinonlar, lazerlerin çalışma prensiplerinde kullanılabilirler. Lazerlerin çeşitli uygulamalarında enerji transferinde ve ışık üretiminde önemli bir rol oynarlar. Bu, tıbbi lazerlerden iletişim teknolojisine kadar birçok alanda kullanılır. Fotokromik malzemeler, ışığın etkisi altında renk değiştiren malzemelerdir. Bu tür malzemelerde kinonlar da kullanılır ve güneş gözlükleri, otomatik camlar gibi ürünlerde bulunurlar. Bu, güneş ışığının yoğunluğuna bağlı olarak camların renk değiştirmesini sağlar. Kinonlar, radyasyon algılama ve tespiti için sintilatörlerde kullanılır. Bu alanda önemli bir uygulama olan sintilatörler, radyasyonun tespitini ve ölçümünü kolaylaştırır. Ayrıca, kinonlar vücut için önemli olan K1 ve K2 gibi vitamin aktivitelerine de katkı sağlarlar. Özellikle K1 vitamini, kanın pıhtılaşma özelliklerini düzenlemekte görevlidir ve sağlıklı bir kan dolaşımı için kritik öneme sahiptir. Diğer naftokinon bileşikleri de benzer vitamin aktivitelerini sergileyebilir, ancak yan zincir gereksinimi olmadan K vitamini etkilerini gösterebilirler (Calzetta ve diğ., 2018).

Kinonlar, polimerizasyon reaksiyonlarında katalizör olarak kullanılan ve önemli polimerleri oluşturan bileşiklerdir. Özellikle doymamış yan zincirli benzokinon ve antrakinonlar, bu polimerizasyon reaksiyonlarının önemli örnekleridir. Bu tür reaksiyonlarda, kinonların varlığı, polimerlerin oluşumunu tetikler ve kinon yapısı, son polimerlerin temel bileşenlerinden biri olur. Ayrıca, kinonlar hidrojen peroksitin üretilmesinde ve oksijenin sudan uzaklaştırılmasında kritik bir rol oynarlar. Kinon tabanlı polimerler su arıtma işlemlerinde ve atık su arıtımında da kullanılırlar. Bu polimerler, suyun kirleticilerden arındırılması ve temizlenmesi için etkili bir yol sağlarlar. Bununla birlikte, biyokimyasal reaksiyonlarda kullanıldıkları için kirliliğe neden olmazlar. Ayrıca, bu kinon bazlı polimerler ülser tedavisi ve renk azaltıcı fotoğraf sistemleri gibi alanlarda da kullanılır. Fotoğrafçılıkta ve elektrofotoğrafçılıkta luminoforlar olarak da kullanılarak görüntüleme işlemlerinde ışığın yakalanmasına yardımcı olurlar (Braga ve diğ., 1999).

Çeşitli fonksiyonel gruplar içeren kinonların sentezlenmesi ve önemli özelliklerinin incelenmesi, bu bileşiklerin sağlık alanında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Kinon bileşikleri, birçok hastalığın tedavisinde ve böbrek, akciğer, beyin, kalp gibi hayati organların korunmasında büyük öneme sahiptir. Biyolojik olarak aktif kinonlar, birçok sağlık sorununun tedavisinde ve vücudun enerji üretiminde kritik bir rol oynarlar (Cazzola ve diğ., 2019).

Özellikle farmasötik alanında kullanılan kinon bileşikleri, tıp dünyasında büyük bir etkiye sahiptir. Kinon bileşikleri, eczacılıkta bazı ilaç komplekslerinde kullanılır ve tıbbi alanda faydalı bileşiklerdir. Özellikle 1,4-naftakinon farmakoforu, antikanser aktivitesi gösteren ilaçların geliştirilmesinde kullanılır (Bulut, 2019).

Birçok kinon türü, vitamin aktivitesine sahiptir ve K1 vitamini özellikle bitkilerde yaygın olarak bulunur. Bu vitamin, kanın pıhtılaşma özelliklerini sürdürmede önemli bir rol oynar. Kinonların K vitaminlerinin etkisinin temel nedeni olarak genel olarak naftakinon halkasının kimyasal yapısının kabul edildiği bilinir. Yan zincirin varlığı K vitamin etkisinin meydana gelmesi için mutlak bir gereklilik olmasa da naftakinon yapısının korunması önemlidir (Patrizia ve diğ., 2006). Bu durum kanın pıhtılaşmasını düzenlemede ve bu pıhtılaşma özelliklerini koruma için gereklidir. Bu nedenle, beslenme yoluyla alınan K vitamini sıcaklığa dayanıklı olup vücut için önem arz etmektedir (Bulut, 2019).

Poli(aminokinon) (PAQ) türevleri, metaller için korozyon önleyici kaplama malzemesi olarak kullanılır. Amino kinon polimerleri, demir yüzeylerini koruyucu etkiye sahiptir ve korozyonu engeller. Bu özellikleri, çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılmalarını sağlar (Bulut, 2019). Örneğin boya ve vernik kurutma işlemlerinde kullanılarak hızlı kuruma sağlamaktadır. Optik kuantum jeneratörlerde ışığı enerjiye dönüştürmek için kullanılır. Böylece enerji üretiminde kullanılabilecek alternatif bir yöntem sunar. Sıvı kristal ekranlar gibi teknolojilerde kullanılarak görüntüleme teknolojilerinin gelişmesine katkıda bulunur. Ayrıca ışığın etkisi altında renk değiştiren fotokromik malzemelerin bir parçası olarak kullanılır. Bu tür malzemeler güneş gözlükleri ve otomatik camlar gibi ürünlerde bulunur (Kutyrev ve Moskva, 1991). Dolayısıyla kinonlar, fotorezistörlerin yapımında kullanılabilirler. Fotorezistörler, ışığın etkisi altında elektriksel özelliklerini değiştirirler ve optoelektronik cihazlar için önemlidirler (Topaloğlu, 2015).

Kinonlar, analitik reaktifler olarak da önemli bir rol oynarlar. Ayrıca, halojen- ve siyanokinonlar organik sentezlerde vazgeçilmez dehidrojenasyon ajanlarıdır (Kutyrev ve Moskva, 1991). Bu kimyasal bileşiklerin birkaç örneği şunlardır: tetrakloro-p-benzokinon, tetrabromo-p-benzokinon ve 2,3-dikloro- ile 2,3-dibrom-1,4-naftokinon türevleri gibi halojenlenmiş kinonlar, mantarları öldürme etkisine sahiptirler (Yavuz, 2017).

Kinonlar, herbisitler, fungisitler ve bitki geliştirme ajanları gibi tarım kimyasallarının hazırlanmasında önemli bir rol oynarlar. Bu kimyasal maddeler, bitkilerin hastalıklarla ve zararlı organizmalarla mücadelesinde etkilidirler. Polimer zinciri boyunca kinon yapıları içeren polimerlerin oluşturulmasında kullanılırlar. Bu polimerler, hidrojen peroksitin üretilmesi, sudan oksijenin uzaklaştırılması, suyun saflaştırılması ve sudaki atıkların uzaklaştırılması gibi bir dizi endüstriyel uygulamada kullanılırlar. Suyun saflaştırılması ve sudaki atıkların uzaklaştırılmasıyla çevresel kirliliğin azaltılmasında etkili olabilirler. Kimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak da kullanılabilirler (Topaloğlu, 2015).

Kinonlar bazı biyokimyasal reaksiyonlarda kullanılırlar. Özellikle redoks ajanlarının kirliliğin istenmediği yerlerde kullanılmasını gerektiren durumlarda yararlanılırlar. aromatik bileşikler olmasalar da indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarında önemli bir rol oynarlar. Bu reaksiyon yetenekleri, fotosentez ve solunum gibi biyolojik redoks tepkime zincirlerinin işleyişinde kritik bir öneme sahiptir. İndirgenme-yükseltgenme yetenekleri sayesinde elektronların bir koenzimden diğerine aktarılmasına katkı sağlarlar, bu da enerji üretimi ve metabolizma için hayati öneme sahiptir. Ayrıca kinon bileşikleri, konjuge olmaları nedeniyle renkli bileşiklerdir ve doğal boyar maddesi olarak kullanılırlar. Bu renkli özellikleri, kimyasal analizlerde ve boyama işlemlerinde yaygın olarak kullanılmalarını sağlar. Doğal renk pigmentlerinin üretiminde ve kimya endüstrisinde renklendirici olarak değerli araçlar olarak kabul edilirler (Toprak, 2013).

2.3. KROMATOGRAFİK YÖNTEMLER

Kromatografik yöntemler günümüzde sıkça kullanılan gelişmiş ayrışma yöntemlerinden biridir. Kromatografi bir ya da birden fazla kimyasal madde içeren bir karışımdan elde etmek istediğimiz tek bir maddeyi iki faz arasındaki (mobil faz ve sabit faz) etkileşimleri sağlanarak saflaştıran bir ayrışma tekniğidir. Bu teknik ayrışma işlemi bittikten sonra tanıma işlemi gerçekleştirmek için kullanılır. Tanımanın gerçekleşmesi için çeşitli dedektörlere ihtiyaç vardır. Kromatografik yöntemlere bağlı olan dedektörler, cihazdan çıkan analiti ve miktarını saptamak için kullanılır. İçinden geçen maddeyi zamana karşı kaydederek ve miktarını bir grafiğe dönüştürür, bu grafiğe kromatogram denir (Abdulkarim ve Adrian, 1998).

Kromatografik yöntemin ayırma işlemi iki faz arasında yapılır; bunlar sabit faz ve mobil fazdır. Sabit faz, kolon içinde bulunan eşit bir şekilde dağılmış bir katı ya da sıvı maddedir. Mobil faz ise, analiti taşıyan bir sıvı ya da basınç altında olan bir gazdır. Molekül büyüklüğü, polaritesi ve molekül yükü maddenin ayrımını sağlayan faktörler arasındadır. Maddelerin kolon ve fazlara karşı olan afiniteleri ayrımı sağlayan faktörlerden en önemlisidir. Analit maddeyi taşıyan mobil faz, sabit fazdan geçerek maddenin ilgisine göre sabit fazla etkileşim yaparak hızlı ya da yavaş kolondan geçer ve madde ayrımı gerçekleşir. Kromatografik yöntemlerde kullanılan önemli terimler:

- Elüent: ekstraksiyonda yıkama işlemi esnasında solventleri ayırmada kullanılan madde
- Analit: analiz edilen madde
- Kolon: maddeleri geçiren, madde ayırımını sağlayan kısım

- Sabit faz (adsorban): mobil fazın etkileşime girdiği, çeşitli materyalden tasarlanmış maddenin tutunmasını sağlayan bir kolondur.
- Mobil faz (taşıyıcı): fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip, analiti taşıyan çözücü bir karışımdır
- Elüsyon: maddeyi kolondan ayırma aşaması
- Elüat: elüsyon işlemiyle meydana gelen çözelti
- Alıkonma: maddenin fazlar arasında etkileşime girmesiyle belirli oranda tutulması, yavaşlatılması ve bu sayede daha geç olarak sabit fazı terk etmesi olayıdır

Bir kimyasalın varlığını ve/veya miktarını belirlemek için farklı kromatografik teknikler kullanılabilir. Her malzemenin kimyasal yapısına ve özelliklerine göre uygun bir kromatografik teknik seçilmelidir. Tablo 2.3'te ayrılma süreçlerine göre, faz tiplerine göre ve uygulama biçimine göre kromatografik yöntemin sınıflandırılması özetlenmiştir. Tablo 2.4'te kromatografik yöntemin özellikleri, kullanılan mobil ile sabit fazlan ve ayrışma şekli göstermektedir (Adrian, 1974).

Tablo 2.3: Kromatografik yöntemler.

Ayrılma Süreçlerine Göre	Uygulama Biçimine Göre	Faz Tiplerine Göre
Adsorpsiyon Kromatografisi	Düzlemsel Kromatografisi •Kağıt Kromatografisi •TLC	Sıvı Kromatografisi
Dağılım Kromatografisi		Sıvı-Katı Kromatografisi
İyon Değiştirme Kromatografisi		Sıvı-Sıvı Kromatografisi
Jel Filtrasyon (Moleküler Eleme) Kromatografisi Afinite Kromatografisi	Kolon Kromatografisi • GC • HPLC	Gaz kromatografisi Süperkritik Akışkan Kromatografisi

Tablo 2.4: Kromatografik yöntemlerin özellikleri.

Metot	Mobil Faz	Sabit Faz	Ayrışma Şekli
Gaz-Sıvı Kromatografisi	Gaz	Sıvı	Molekül büyüklüğü/polarite
Gaz-Katı Kromatografisi	Gaz	Katı	Molekül büyüklüğü/polarite
Süperkritik Akışkan Kromatografisi	Süperkritik sıvı	Katı	Molekül büyüklüğü/polarite
Ters Faz Kromatografisi	Polar sıvı	Apolar sıvı veya katı	Molekül büyüklüğü/polarite
Normal Faz Kromatografisi	Az polar sıvı	Daha polar sıvı/katı	Molekül büyüklüğü/polarite
Hidrofobik Etkileşim Kromatografisi	Polar sıvı	Apolar sıvı veya katı	Molekül büyüklüğü/polarite
Büyüklük Dışlaıumlı Kromatografisi	Sıvı	Katı	Molekül büyüklüğü
Afinite Kromatografisi	Su	Bağlanma bölgesi	Spesifik yapı
İyon Değişim Kromatografisi	Polar sıvı- iyonik katı	İyonik katı	Molekül yükü

2.4. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi

İnce tabaka kromatografisi kromatografide sıklıkla tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan ayırma yöntemlerinden biridir. Yöntemin çalışma prensibi oldukça basittir. Numuneler genellikle minimum ön işlem gerektirir. İTK her türlü organik maddenin ayırımında, referans standardın varlığında, tanımlanmasında ve yarı kantitasyonunda kullanılan bir yöntemdir. (Fried ve Sherma, 1999). Analitin oldukça kolay, hızlı ve yüksek kesinlikte tanımlanabilmesi nedeniyle gıda, çevre, eczacılık, klinik ve adli laboratuvarların yanı sıra kozmetik ve doğal bileşiklerin araştırılmasında sıklıkla kullanılmıştır. İTK'nın bu geleneksel hali çoğunlukla kullanıcıdan kaynaklı hatalara açık ve tekrarlanabilme yeteneği zayıf bir sistemken, nicel analizlerde kolaylıkla hizmet vermesi ve söz konusu hataların bertaraf edilmesi ile İTK yerini Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK)'ne bırakmıştır. Geleneksel İTK'nın modernize hali olan YPİTK, hataların en aza indirilmesi ve kolaylıkla nicel analize de hizmet vermesi dolayısıyla modern bir analitik cihaz halini almıştır. Günümüz silika teknolojisi ile birlikte ayrım gücünün arttırıldığı ve iyi çözünürlüğün sağlandığı plaka çeşitliliğine ek olarak Densitometre ve Kütle Dedektörlerinin de sisteme kazandırılmasıyla yüksek hassasiyette, kesin kantitatif sonuçlar vererek analitik uygulamalarda yerini sağlamlaştırmıştır.

Diğer kromatografik yöntemler ile karşılaştırıldığında avantajı tek bir çalışmada çok sayıda numunenin analiz edilebilmesidir. Basit bir ön işlem sonrasında analize tabi tutulan örneklerdeki bileşenleri, yaklaşık %1'lik bağıl standart sapma ile nanogram seviyesinde belirleme kabiliyetine sahiptir. YPİTK ile kalitatif ve kantitatif analizler yapılabildiği gibi (Turkmen ve diğ., 2013), bir karışımdan maddelerin saf halde elde edilmeleri amacıyla preparatif çalışmalar da yapılmaktadır (Srivastava, 2010).

YPİTK 'nin avantajlarından bazıları aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Yaylayan ve Huyghues-Despointes, 1996; Van Boekel ve Brands, 1998; Berg, 1993);

- Çok bileşenli ham numuneleri analiz edebilme.
- Ayırma işlemi özellikle renkli bileşiklerle takip edilmesi kolaydır.
- Aynı plaka üzerinde birkaç numune birbirine paralel olarak ayrılabilir, bu da yüksek çıktı, zaman tasarrufu ve hızlı düşük maliyetli analiz sağlar.
- HPTLC gelişimi için solvent seçimi, tespit adımından önce mobil fazlar tamamen buharlaştığından geniştir.
- İki boyutlu ayırmaların gerçekleştirilmesi kolaydır. Kromatografi sırasındaki kararlılık, iki boyutlu gelişim için test edilmelidir.

- Ayrılmış noktaları tespit etmek için özel ve hassas renk reaktifleri kullanılabilir (Dragendroff reaktifi/Kedde reaktifi).
- HPTLC, farklı ışık absorpsiyon özelliklerine veya farklı renklere sahip bileşiklerin tanımlanmasına izin vererek, farklı değerlendirme modları için birleştirilebilir ve sonuç olarak kullanılabilir.
- Temas tespiti, radyoetiketli bileşiklerin izlenmesine ve noktalardaki mikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesine olanak tanır.
- HPTLC yöntemi, toksik organik atıkların maruz kalma riskini en aza indirmeye yardımcı olabilir ve bertaraf sorunlarını önemli ölçüde azaltarak çevre kirliliğini azaltır.

YPİTK'da sabit faz olarak genellikle silika jel kullanılır. Tutucu madde seçimi, ayrılması istenen maddelerin asidik veya bazik oluşlarına göre yapılır. Genellikle asidik karakterli maddeler için silika jel gibi asidik adsorplayıcılar, bazik karakterli maddeler için de alüminyum oksit, talk gibi bazik adsorplayıcılar kullanılır. Adsorbanın plakaya yapışmasını sağlamada ilave olarak kalsiyum oksitten yararlanılır. Ticari ince tabaka plakaları, genel olarak da 5*20, 10*10, 20*20 cm ebatlarında, 150-250 μm tabaka kalınlığında ve 10-20 μm ortalama parçacık büyüklüğüne sahiptir (Srivastava, 2010).

YPİTK, günümüz silika teknolojisi ile birlikte ayrım gücünün arttırıldığı ve iyi çözünürlüğün sağlandığı plaka çeşitliliğine ek olarak Densitometre ve Kütle dedektörlerinin de sisteme kazandırılmasıyla yüksek hassasiyette, kesin kantitatif sonuçlar vererek analitik uygulamalarda yerini sağlamlaştırmış, böylelikle tekniğin bilim ve endüstride kullanım alanları daha da artmıştır. Silika teknolojisindeki yüksek plaka kat sayısı ile birlikte, örneklerin bant şeklinde plakaya tatbik edilmesi sayesinde YPİTK geleneksel İTK'ne göre daha etkili ayırım ve yüksek çözünürlükte pikler sunmaktadır. Bu sayede de güvenilir sonuçlar vermekte ve uygulamada önemli avantajlar sağlamaktadır (Wall, 2005; Halkina ve Sherma, 2006).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN KİMYASALLAR, SARF MALZEMELER VE YÖNTEM

3.1.1. Gereçler

Deneysel çalışmalarımızda kullanılan reaktifler metanol, kloroform, n-heptan, etil asetat, toluen) analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich & Merck (Almanya)'dan temin edilmiştir. (2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione İstanbul Üniversitesi Organik Kimya Anabilim Dalı laboratuvarında sentezlenmiştir. Cam malzemeler Isolab (almanya)'dan temin edilmiştir. 1,5 mL vial (CAMAG) ve 0,45 mm Membran filtre (Millipore – Millex) sarf malzeme olarak kullanılmıştır.

3.1.2. Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

HPTLC silica gel 60 F_{254} (Merck) 10x20 cm hazır plakalar kromatografik yöntem geliştirmek amacıyla kullanılmıştır. Çözücü sistemi olarak kloroform: n- hexan: etil asetat: toluen çözücüleri tercih edilmiştir. Lekelerin belirlenmesi için Ultraviole (UV) ışığı (254 ve 366 nm) kullanılmıştır.

3.2. KULLANILAN CİHAZLAR

3.2.1. Gereçler

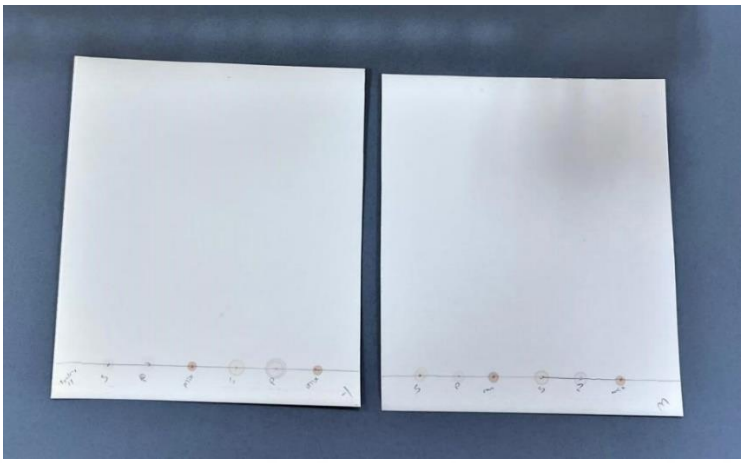
Başaran marka çeker ocak, Mettler Toledo marka analitik terazi, Hettich marka santrifüj Isolab marka vorteks, Bandelin marka ultrasonik banyo, Eppendorf marka otomatik pipetler ve Hettich marka santrifüj kullanılmıştır.

3.2.2. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi

İstanbul Üniversitesi -Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Enstrümental Analiz Laboratuvarı'nda bulunan, Otomatik TLC örnekleyici ünitesi, otomatik yürütme tankı ünitesi, TLC tarama 3, Wincats işletim sistemi dört kısımdan oluşan CAMAG marka ATS 4 model yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi kullanılmıştır.

Analizi yapılacak olan madde uygun bir çözücü içinde çözülür. İstenilen miktarda kontrollü olarak ATS 4'te bulunan (Automatic TLC Sampler 4) otomatik şırınga plakaya uygulanabilmektedir. Analiz edilecek örneğin uygulandığı yer plakanın alt kenarından yaklaşık

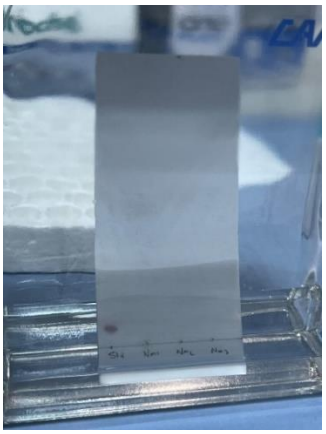
1.5–2 cm yukarıda olmalıdır. Böylece, analiz edilecek olan maddenin silika jel üzerinde istenilen darlıkta ve genişlikte bir leke oluşturması sağlanır (Flanagan ve diğ., 2007).



Şekil 3.1: Örneğin plakaya uygulanışı.

3.2.3. Plakanın yürütülmesi

Kromatografide kullanılan plakanın büyüklüğüne göre farklı boyutlarda cam tanklar kullanılır. Hareketli faz çözeltisi kullanılacak tankın içine uygulama noktasının seviyesini geçmeyecek şekilde konur. Spot hareketli çözeltiye batmamalıdır. Plaka, hareketli faz ile doyurulmuş tanka yerleştirilir ve çözücünün yükselmesi takip edilir. Çözücü yükselirken örnekteki bileşenleri de sürükler ve yukarıya çıkarır. Yükselme yaklaşık 10 cm olduğu zaman kromatograma son verilir, plaka tankın dışına çıkarılır ve kurutulur (Gündüz, 2004). Hareketli faz için çözücü veya çözücü sistemi seçiminde, çalışılan maddenin yapısı ve kullanılan tabaka dikkate alınmaktadır. Polar olması beklenen maddeler için polar, apolar olması beklenenler için apolar çözücüler kullanılır. Polar çözücüler maddelerin Rf (alıkonma faktörü) değerini arttırır. Maddeleri plakanın ortalarına kadar yürüten çözücü sistemi en uygun sistemdir (Ersoy, 1989).

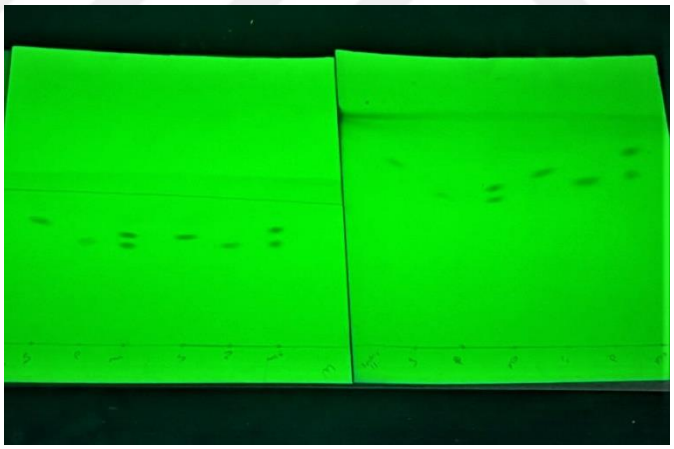


Şekil 3.2: Örneğin plakada yürütülmesi.

3.2.4. Kromatogramın görüntülenmesi

Kromatografide maddenin varlığının belirlenmesi için çeşitli spektroskopik yöntemler kullanılır. İnce Tabaka Kromatografisi'nde plakadaki leke analitin varlığına işaret eder. Lekelerin görüntülenmesi, yürütme işleminin hemen arkasından plakalardan mobil faz çözeltileri iyice uzaklaştırıldıktan sonra mümkündür. Plaka üzerindeki maddeye ait leke gözle görülebilir dalga boyunda ise kolaylıkla tespit edilebilir. Eğer leke/lekeler gözle görülemiyor ise, kromatogram karanlıkta UV (254 veya 366 nm) ışık altında incelenebilir. Maddelerin çoğu UV ışını absorpladığından karanlıkta lekeler halinde gözlenir. Görüntüleme floresans özellik içeren tabaka kullanılarak kolaylaştırılabilmektedir. Plakadaki lekeler uygun dalga boyundaki UV ışık altında, parlak floresans zeminde karanlık lekeler halinde görülecektir (Ersoy, 1989).

Çeşitli bileşik grupları için görünürlüğü ve kimyasal tanımlamayı sağlamak amacıyla renk veren belirteçler de kullanılabilir (Stains for Developing TLC Plates, 2019). Plakalar bu belirtece/belirteçlere daldırma veya püskürtme yolu ile uygulanmaktadır. Bu sayede çeşitli belirteç kombinasyonları, fonksiyonel grupların ve bilinmeyen maddeler tespit edilebilir (Flanagan ve diğ., 2007).

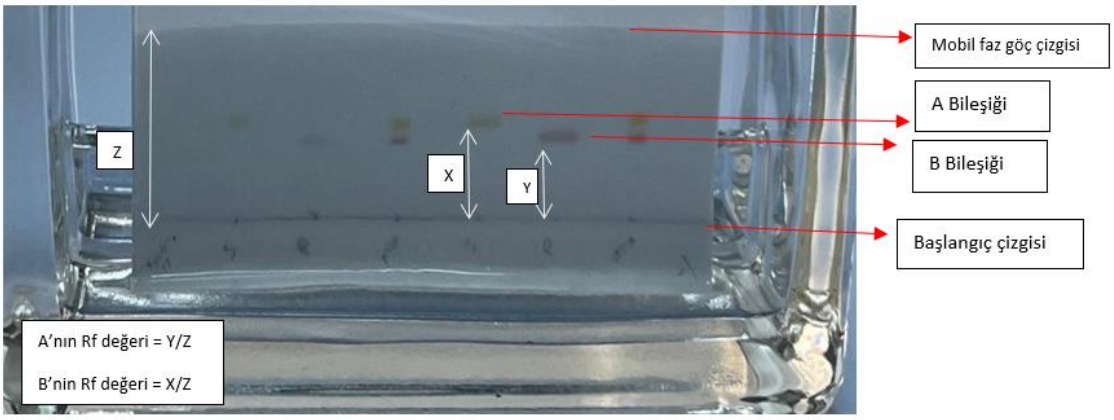


Şekil 3.3: Örneğin UV ışığı altında görüntülenmesi.

3.2.5. Rf değeri (alıkonma faktörü)

Rf değeri, maddeyi temsil eden saf lekenin plaka üzerinde göç ettiği mesafenin mobil fazın plaka üzerindeki göç ettiği uzaklığa oranıdır. 0-1 arasında değişen bir değerdir ve kromatogramın uzunluğundan (çözücünün başlangıç noktasından göç ettiği uzaklık) bağımsızdır (Flanagan ve diğ., 2007; Ersoy, 1989).

Kullanılan plakaların homojen olması, plakaya tek seferde uygulanan örnek miktarı, plakanın yürütme mesafesi, tankın çözücü buharıyla doyma derecesi, ortam şartları (sıcaklık, basınç gibi) ve matriks bileşenleri de Rf değerinin belirlenmesine önemli etkileri vardır (Halkina ve Sherma, 2006). Bu sebeple YPİTK sistemlerinde klasik İTK'ya nazaran bu gibi etkiler en aza indirgenmeye çalışılmıştır (Srivastava, 2010).



Şekil 3.4: Rf değerinin plakada gösterimi ve hesaplanması.

3.2.6. Kalitatif analiz

Kromatografik analizde analitin içindeki madde sayılarının belirlenmesi ve karışımda hangi maddelerin var olduğunu da tespit edilir. Bu nedenle, diğer kromatografilerde olduğu kadar ince tabaka kromatografisinde de kalitatif amaçlı çalışmalara yer verilmektedir. Rf değerini etkileyen faktörlerin varlığından dolayı özellikle YPİTK'da bu tür çalışmaların örneklerine rastlanmaktadır. Bu nedenle örnekle birlikte şüphelenilen maddelerin standartlarının da yürütülmesi ve böylece örnekte bulunan maddelere ait lekelerin Rf değerleri ile standart maddelere ait lekelerin Rf değerlerinin kıyaslanması gerekir. Aynı oldukları gözlemlenirse farklı mobil fazlarla birkaç farklı yürütme daha yapılabilir. Farklı mobil fazlarda aynı Rf değerine sahip olduğu belirlenerek analiz sağlamlaştırılır ve şüphelenilen madde tespit edilmiş olur.

3.2.7. Kantitatif analiz

Densitometrik yöntem ile tabaka üzerinde en hassas ölçüm yapılır. Lekelerin görünür veya UV alandaki absorbansına veya flouresans özellikli ise floresans şiddetine göre ölçümler değerlendirilir. Belirlenen dalga boyunda plakanın boş kısmına yollanan ışın yansır. Leke üzerine yollanması durumunda ise, gelen ışının bir kısmı absorplanır bir kısmı azaltılmış şekilde

aynı dalga boyunda yansıtılır. Absorplama lekenin konsantrasyonu arttıkça artacaktır. Plakanın taranması sırasında boş alandan yansıyan ışının şiddeti ile lekeden yansıyanın arasındaki fark ölçülür. Böylece lekeden elde edilen pik alanları ile artan veya azalan konsantrasyonlarda standart madde kullanılarak hazırlanan kalibrasyon çözeltilerinden elde edilen kalibrasyon eğrisinden, maddenin miktarı tayin edilmiş olur (Gündüz, 2004; Ersoy, 1989).

3.2.8. Densitometri

Densitometri, ışığa maruziyetin sonucu plaka, film gibi ışığa duyarlı malzemelerdeki optik yoğunluğun nicel ölçümüdür. Bu durum İnce tabaka kromatografisinde plaka üzerinde bileşiğin konsantrasyonunu temsil eden yansıyan ışık yoğunluğu ile kantitasyonun gerçekleştirilmesidir. Bu sayede günümüzde modern İTK'nın yeni adı olan YPİTK, HPLC ve GC ile karşılaştırılabilir seviyede güvenilir bir kantitatif analitik araç olarak kabul edilmiştir. YPİTK'da nicel ölçümler, konsantrasyonu bilinen bir maddenin bilinmeyenle karşılaştırılmasına dayanmaktadır. Konsantrasyonu bilinen standart maddeden oluşturulan kalibrasyon çözeltilerinin sistemdeki densitometrik ölçüm yanıtı yardımıyla sistem kalibre edilebilmektedir. Standartlar ve bilinmeyen maddeler aynı plakada yan yana tatbik edilerek analiz sonucu değerlendirilir.

Bir ışık kaynağı, bir monokromatör ve bir dedektör sistemi birleşerek bir densitometri dedektörünü oluşturur. Çalışmamızda CAMAG TLC Scanner 3 densitometrik tarayıcının kullanılmaktadır. Sistemin döteryum lambası ile 190–450 nm dalga boyu aralığında devamlı spektrum alabilme imkanı sunarken cihazın güncel hali ayrıca tungsten lamba (370–800 nm) ve civalı basınç lambası (254 ve 366 nm) içermektedir. Lensler, aynalar ve bir monokromatörden oluşan bu optik sistem, dar bir ışık bandının kullanılması yoluyla dalga boyunu ayarlarken düzgün şekilde de plakaya ulaşmasını sağlamaktadır. Daha sonra plakadan yansıyan ışın bir fotoçoğaltıcı tarafından ölçülür. Kullanılan plakanın geçirgen özellikle olması durumunda geçirgenlik de ölçülebilir. Analiz sırasında bütün işlemler WinCats olarak adlandırılan software kontrolü altındadır ve absorbans/floresans yardımıyla her ayrı örneğin plaka üzerindeki yolağında tanımlanmasına imkan vermektedir. Sonuç olarak elde edilen densitogram birleştirilebilmekte ve kantitatif değerlendirme yapılabilmektedir (Reich ve Schibli, 2006).

Diğer taraftan absorbansın veya floresans özelliklerine göre referans standardın konsantrasyonu ile ilgili olarak her biri arasındaki oranını gösteren lineer veya polinominal kalibrasyon eğrileri üretebilir ve buradan otomatik olarak ara değerini bulma ile bilinmeyenin konsantrasyonunu

hesaplayabilirler. İlgili örnek yolağındaki bileşiğe ait bant şeklindeki alan, yuvarlak spottan daha iyi nicel analiz sonucu vermektedir (Sherma, 2005).

Işının absorpsiyonu ve saçılımı, tabaka üzerinde örneklere ait yolak ölçümü sırasında meydana gelmektedir. UV Spektrometresinin temeli olan Lambert-Beer Kanunu, densitometri için geçerli değildir çünkü ışının absorpsiyonu ve saçılımı, direkt tabaka üzerinde beliren leke yoğunluğu ölçümü sırasında meydana gelmektedir (Sherma, 2005). Silika tabaka saydam değildir ama karmaşık optik bir ortamdır. Işın tabakanın arasından geçer ve özgün parçacıkların sınırlarındaki çoklu saçılma sebebiyle kısmen geri yansır (Huf, 1987).

İTK ve YPİTK, kimya, toksikoloji, gıda ve eczacılık alanında birçok uygulama bulmuştur (Ahadi ve diğ., 2011). Silika jel, bugüne kadar İTK'da en çok kullanılan adsorbanlardan biri olmuştur (Ahadi ve diğ., 2011). İTK silika jeli, partikül büyüklüğü, gözenek büyüklüğü, gözenek hacmi, özgül ağırlık, özgül yüzey ve pH kararlılığı ile karakterize edilen gözenekli bir inorganik malzemedir (Ahadi ve diğ., 2011). Standart bir İTK palakası, 5- 17 µm arasında partikül büyüklüğüne ve 0.25 mm tabaka kalınlığına sahip silika jel plakası kullanırken, YPİTK plakası, 2-10 µm arasında partikül büyüklüğüne ve 0.2 mm tabaka kalınlığına sahip silika jel plakası kullanır (Halkina ve Sherma, 2006; Ahadi ve diğ., 2011).

Partikül boyutu, tabaka kalınlığı, nem, asidite gibi farklı parametreler ışın absorbsiyonunu ve saçılmasını etkileyebilir. Işının saçılmayı sağlayan bir ortamda absorbsiyonunu tanımlayan birkaç teori vardır (Huf, 1987).

YPİTK'da yöntem geçerlilik çalışmaları densitometrik tarama sayesinde yapılabilmektedir. 190–800 nm dalga boyu aralığında monokromatize ışın kullanılır. Spektral seçicilik özelliği sayesinde söz konusu maddenin maksimum absorbans/floresansı yakalanıp yüksek hassaslıkta ölçülebilir. Deneysel çalışmalarda tespit limitleri, absorbans spektroskopisine dayalı nanogram seviyesinde veya floresansa dayalı pikogram seviyesindedir (Reich ve Schibli, 2006). Kromatogram beyaz veya ultraviyole ışık altında değerlendirilir. Seçenekler, elektronik görüntülerin görsel olarak incelenmesinden video veya tarama densitometrisi kullanılarak kantitatif belirlemeye kadar uzanır.

Klasik Densitometre ile Kromatogram Değerlendirmesi

YPİTK için dedektör iki kısımdan oluşur, densitometri kısmı ve elektronik görüntü elde etme kısmı. Klasik densitometre, seçilebilir uzunluk ve genişlikte bir slit aralığına bağlı olarak monokromdan çıkan ışığı ve analitin örnek içindeki konsantrasyonuna bağlı plakadaki lekeden yansıyan ışığı ölçerek bir kromatogram oluşturur. CAMAG TLC Scanning, veri toplama için

yüksek spektral seçiciliği ile birlikte 190 ila 900 nm arasındaki tüm spektral aralıkta işlem gören bir cihazdır. Bileşiğin tanımlaması ve en uygun dalga boyunun belirlenmesi için absorpsiyon spektrumları uygun aralıkta kaydedilebilir. Bir densitometrinin gücünü, ışık kaynağının spektral çözünürlüğü ve nicel analizlerde yüksek doğrulukta tekrarlanabilirliği belirler.

3.2.9. Ölçüm biçimleri

YPİTK nicel analize dayalı bir ölçüm yaparken, genellikle bir densitometre veya tarayıcı olarak adlandırılan bir spektrofotometrik dedektör kullanır. Böylelikle ölçümler, numunelerin ve referans standardın plaka üzerindeki lekesine, ayarlanabilir slit aralığına sahip dikdörtgen şeklinde bir yarık içinden sabit bir ışık demeti düşürülerek gerçekleştirilir. Genel olarak, nicel değerlendirme, winCATS yazılımı kullanılarak TLC Scanner 3 ile yapılır.

Densitometri absorbans ve floresans modu gibi her iki modda da gerçekleştirilebilir. Absorbans ölçümünde plakadan yansıyan ışın; ışın bandı örneğin absorplama zonuna çarptığı zaman küçülen temel sinyali temsil etmektedir. Sinyal elektronik olarak dönüştürülür ve absorbans densitogramda pozitif bir pik olarak sunulur.

Tarama hızı da nicel ölçümün değerini etkileyen parametrelerden biridir. Tarama hızı 100 mm/s'ye kadar seçilebilir. Tekli veya çoklu kalibrasyon noktaları ile doğrusal veya diğer regresyon (polynomial ve Michaelis-Menten) türlerinde kalibrasyon yapmak mümkündür.

Stabilite testi ve pikler arası çözünürlük için hedeflenen değerler doğrulandığında tek seviyeli kalibrasyon da uygundur. Numunedeki analit konsantrasyonu, başlangıçta alınan numune ve dilüsyon faktörleri dikkate alınarak hesaplanır. UV spektrumundan iki önemli bilgi edinilebilir: ilki bileşenin maksimum absorbansı, ikincisi tanımlanması. Elde edilen bir spektrum kütüphanede bulunan spektrumlarla karşılaştırılıp bilinmeyen maddenin tanımlaması yapılabilir (Reich ve Schibli, 2006).

Uygun mobil faz içinde plaka geliştirildikten sonra plakadan mobil fazın tamamen ısıtma yoluyla uzaklaşması sağlanır. Plaka üzerindeki lekeler doğal renginde, floresans ışık altında, floresansın ile uyarılarak bazen de bir reaktifle tepkimeye sokulduktan sonra (kromatografik türevlendirme) plaka üzerinde renkli, UV veya floresan bölgeler kolaylıkla saptanır. Floresans veya sönümlendirme fluoresans özelliğine sahip lekeler, kısa dalga (254 nm) ve uzun dalga (366 nm) içeren ışık kaynağı altında görüntülenmektedir.

YPİTK''nin çevrimdışı çalışmasının kolonlu kromatogramlara göre önemli bir avantajı, plakaların analizden sonra da saklanabilmesi ve farklı dalga boylarında tekrar tekrar çoklu yöntemlerin kullanılmasıyla analiz edilebilmesidir.

3.3. ÇALIŞMADA KULLANILAN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

- *2-(3,5-dımethoxyphenylamıno)-3-chloronaphthalene-1,4-dıone ana stok çözeltisinin hazırlanması*

2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione standardı 10 mg tartılarak 10 mL balon joje içinde metanol ile hacme tamamlandı. Oda sıcaklığında Ultrasonik banyoda 5 dakika çözüldü. Standart maddenin saflığı >%99,0 olduğundan, safsızlık oranı hesaplamada göz ardı edildi.

- *Kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması*

Kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması için Tablo 3.1'de belirtilen miktarlarda ana stok çözeltileri kullanılarak her bir kalibrasyon noktası için 10 mL hacimli balon jojelerde çözeltiler hazırlandı ve bu çözeltiler cam viallere alınarak analiz edildi.

Tablo 3.1: Kalibrasyon çözeltisi hazırlama prosedürü.

Kalibrasyon Basamakları	Hazırlama Yöntemi (10 mL balon jojede)
0. Nokta (Blank)	1000 µL MeOH
1. Nokta (4 ng/µL)	4 µL + 996 µL MeOH
2. Nokta (6 ng/µL)	6 µL + 994 µL MeOH
3. Nokta (8 ng/µL)	8 µL + 992 µL MeOH
4. Nokta (10 ng/µL)	10 µL +990 µL MeOH
5. Nokta (20 ng/µL)	20 µL +980 µL MeOH
6. Nokta (30 ng/µL)	30 µL + 970 µL MeOH
7. Nokta (40 ng/µL)	40 µL + 960 µL MeOH
8. Nokta (50 ng/µL)	50 µL +950 µL MeOH
9. Nokta (60 ng/µL)	60 µL +940 µL MeOH
10. Nokta (70 ng/µL)	70 µL + 930 µL MeOH

- *Hareketli faz çözeltisinin hazırlanması*

Kloroform: n- Hexan: Etil Asetat: Toluen (1:2:0.2:5). 5 mL Kloroform, 2 mL n-Hexan, 0.2 mL Etil Asetat ve 0.5 mL Toluen karışımı her yürütmeden önce taze olarak hazırlandı.

3.4. VALİDASYON

Validasyon, analitik tekniğin çeşitli gereklilikleri karşılayabilmesi sürecidir. Yöntemin kabul edilebilmesi için, analitik ve teknik bir dizi kılavuza uygun biçimde çalışılmalıdır (Jing ve Kitts,

2002). Analitik bir yöntemin geçerlilik çalışmaları, belirli bir test için kullanılan prosedürün kullanım amacına uygun olup olmadığını doğrulamak için yapılan işlemlerdir.

Herhangi bir yöntemde yapılan işlemlerin beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlaması için geçerli kılma çalışmaları yapılır. Böylece bilimsel bütünlük ve uygunluğun sağlanması, gereken amaç için yeterli güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilmesi analitik işlemlerin geçerliliğinin amacını oluşturmaktadır. Bunun için geçerlilik çalışmaları uluslararası bilimsel platformda kabul görmüş çalışmalarla belirlenmiş yöntemlere göre yürütülmelidir.

Yöntem geçerliliği (validasyonu) çalışmalarına ihtiyaç duyulan durumlar şunlardır:

- Standart bir yöntem bir laboratuvarda ilk defa uygulanacağı zaman,
- Bir analiz için yeni bir yöntem geliştirildiği zaman,
- Kullanılmakta olan yöntemde değişiklik yapıldığı zaman,
- Geçerliliği belirlenmiş bir yöntem başka bir laboratuvarda kullanılacağı zaman
- Farklı bir kişi tarafından veya farklı bir cihazla kullanılacağı zaman,
- İki yöntemi karşılaştırmak için,
- Kalite kontrol testleri sonucuna göre yöntemin performansında bir düşüş olduğunda.

ISO/IEC, ICH, US EPA, US FDA, USP, cGMP gibi kurumlar tarafından belirlenmiş uluslararası tanınırlığı olan çeşitli geçerlilik kriterleri kullanılmaktadır. Geçerlilik çalışmalarının ilk adımı yöntemin amacını belirlemektir. Daha sonra analitin içinde hangi bileşiğin hangi yöntem ile analiz edileceğine karar verilir. Amaç belirlendikten sonra uygulanacak yöntem bir dizi işlemle teste tabi tutulur. Yapılan test çalışmalarının kapsamı, analizin nicel veya nitel oluşuna göre değişmektedir. Bazı çalışmalarda söz konusu test basamaklarının hepsi uygulanmazken, bazılarında ilave parametreler de eklenebilir (Taverniers ve diğ., 2004).

Yeni bir yöntem geliştirirken kullanılan doğrulama parametreleri aşağıdaki gibi sıralanabilir (Abdulmalik ve diğ., 2005):

- Seçicilik (Selectivity) / Özgüllük (Specificity)
- Tespit Limiti (Limit of Detection)
- Tayin Limiti (Limit of Quantification)
- Ölçüm Aralığı / Doğrusallık (Range /Linearity)
- Doğruluk (Accuracy)
    - Kesinlik (Presicion)
        - Tekrarlanabilirlik (Repeatability)
        - Geri üretilebilirlik (Reproducibility)
    - Gerçeklik (Trueness)

    - Geri kazanım (Recovery)
- Sağlamlık / Tutarlılık (Robustness/ Ruggedness)

Özgüllük (Specificity): Bir analitik yöntemde testin bir maddeyi veya maddeleri kesin olarak belirleyebilme yeteneği, testin özgüllüğü olarak adlandırılır.

Seçicilik (Selectivity): Olası matrik etkisine rağmen (fiziksel/kimyasal girişimler/engelleyiciler) söz konusu bileşiğin doğru şekilde ölçülebilmesi yeteneğidir. Girişime neden olabilecek veya matrikste bulunduğu bilinen maddeler standart üzerine eklenerek girişimin varlığı belirlenebilir.

Tespit Limiti (Limit of Detection, LOD) ve Tayin Limiti (Limit of Quantitation, LOQ): LOQ, altında analitin tepe noktasının arka plan gürültüsünden ve tespit edilen kimyasalın varlığından ayrılabileceği konsantrasyondur. Algılama sınırı olarak da adlandırılır. Yöntemin performansının kabul edilebilir olarak belirlenebileceği en düşük konsantrasyon, belirleme sınırı (LOQ) olarak bilinir. Kimyasal Analiz Kılavuzlarında TURKLAB Metot Validasyon ve Doğrulamasına dayalı hesaplamalar; Boş numune sonuçları, az miktarda analit, yöntemin standart sapması veya cihazın sinyal-gürültü oranı kullanılarak yapılabilir. Ayrıca, türetilen LOD ve LOQ değerlerinin doğrulanması gerekir (Abraham ve diğ., 2011).

Doğrusallık (Linearite) ve Ölçüm Aralığı (Range): Konsantrasyonla orantılı olarak belirtilen konsantrasyon aralıklarında ölçüm bulgularının dalgalanması doğrusallık olarak adlandırılır. Eurachem el kitabına göre en az 6 kez ve 3 tekrar ile ölçüm yapılmalıdır. Bir referans konsantrasyonuna karşı bir ölçüm sonucu olarak veya sonuç grafiksel olarak gösterilen bir ölçüm sinyali olarak gösterilebilir. Doğru denklemi (y=ax+b) ve korelasyon katsayısı (r) ifade etmek için kullanılır. Korelasyon katsayısı 1'e yakınsa kalibrasyon eğrisi doğrusaldır (Abdulmalik ve diğ., 2005).

Doğruluk (Accuracy): Ölçülen bir değerin referans standarda veya değeri bilinen bir standart maddeye yakınlığı anlamına gelir. Mutlak hata ya da bağıl hata ile verilir. Bu iş için hazırlanmış Standart Referans Maddeler, uluslararası bağımsız laboratuvarlar tarafından tayin edilmiş değerleri olan maddelerdir. Bu değerler ile kullanılan yönteme göre test sonucu elde edilen değerler karşılaştırılır.

Kesinlik (Precision): Hem doğruluk hem de kesinlik, bir ölçümün gerçek bir değere ne kadar yakın olduğunu gösteren parametrelerdir. Ancak doğruluk bir ölçümün bilinen veya kabul edilen bir değere ne kadar yakın olduğunu belirtirken, kesinlik ise kabul edilen değerden uzakta bile olsalar, birbirine yakın değerlere sahip tekrar ölçümleri ile yöntemin yeniden üretilebilirliğe

sahip olduğunu gösterir. Bu istatistiksel değerler standart sapma, varyans veya varyasyon katsayısı ile ifade edilir.

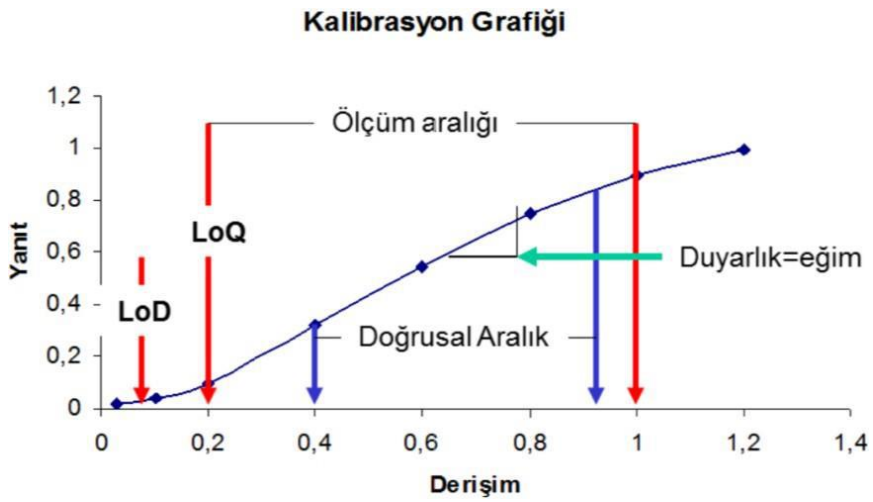
Tekrarlanabilirlik (Repeatability): Aynı laboratuvar, aynı araştırmacı, aynı cihaz ile 5-6 paralel tayin, en az iki farklı derişimle yapılır.

Geri Üretilebilirlik (Reproducibility): Geri üretilebilirlik, ölçüm sonuçlarının, farklı kişi, farklı cihaz, farklı laboratuvarda tekrarlanmasıdır.

Geri Kazanım (Recovery): Matriks ortamı içindeki analitin analiz ile elde edilen miktarının, saf analitin çözelti içindeki miktarına göre % ne kadar geri kazanıldığının analiz edilmesi gerekir. Bunun için alt, orta ve üst konsantrasyon seviyesindeki standart çözeltiler, matrikse sipke edilir ve belirlenen ayırma yöntemi ile geri elde edilir ve analiz sonucu bilinen miktarla karşılaştırılarak sonuç % cinsinden verilir.

Sağlamlık (Robustness): Yöntemin küçük değişmelerden etkilenmeden kalabilme kabiliyetine denir (Taverniers ve diğ., 2004).

Tutarlılık (Ruggedness): Aynı örneklerin farklı analizci, alet, seri numarasındaki reaktif, gün, sıcaklıkta değişmeden aynı sonuçları verebilme kabiliyetidir. Tutarlılık ve sağlamlık terimleri, analitik bir yöntemin, yöntem parametrelerindeki (mobil faz kompozisyonu, kolon yaşı, kolon sıcaklığı vb.) ve etkilenebileceği çevresel faktörler (oda sıcaklığı, nem, vb.) gibi küçük değişikliklerden etkilenmemesi anlamına gelir (Abraham ve diğ., 2011).



Şekil 3.5: Metodun çalışma aralığının tanımlanması için çizilen kalibrasyon grafiği (Agila ve Barringer, 2012).

3.5. YPİTK İLE TAYİNİ İÇİN GEÇERLİLİK ÇALIŞMALARI

Hazırlanan kalibrasyon çözeltileri aynı cam plaka üzerinde her kalibrasyon basamağı plakaya tatbik edildi ve analiz edildi. Bu analizin sonucunda her bir kalibrasyon noktasından elde edilen 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione pik alanları hesaplanarak kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Kalibrasyon eğrisinde korelasyon katsayının kabul kriteri >0,99 olarak belirlendi. Kalibrasyon eğrisinin denkleminden yola çıkılarak Tayin Limiti (LOD) ve Ölçüm Limitlerinin (LOQ) Belirlenmesi için iki eşitlik kullanıldı (LOD = ((3,3*Standart Sapma) /Eğim); LOQ = ((10* Standart Sapma) /) /Eğim).

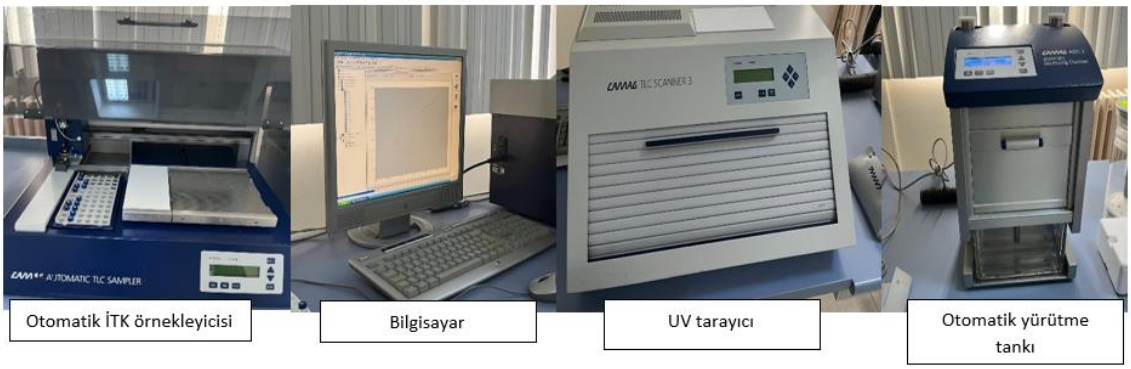
Geri kazanım deneyleri için piyasada bulunan, Indomethacin etken maddeli ve 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione ile benzer kimyasal yapıları içeren anti inflamatuvar özellikte bitmiş bir ürün ile katkı çalışması yapılması amaçlandı. Gerçeklik parametrisini de sağlayan bu spike ya da katım yöntemi ile matris,konsantrasyonu bilinen analit ile kirletildi. İki farklı konsantrasyonda (10 ve 20 µg /mL) stok çözelti hazırlandı. 1 adet kapsül 5 mL Metanol içerisinde 15 mL falkon tüpte çözüldü. Hazırlanan bu çözelti içerisine, 10 µg /mL ve 20 µg / mL olacak şekilde spike yapıldı. Örnek tüpler 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında çözelti 0,45 mm gözenekli membran filtreden süzüldü. Süzülen örneklere 1 mL Metanol eklendi ve karıştırıldı. Analiz her konsantrasyon için 3'er tekrarlı olarak yapıldı. 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione katılan bitmiş ürün 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione katılmadan da 3 defa analiz edildi ve elde edilen 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione miktarları bitmiş üründe tayin edilen Indomethacin miktarından çıkartılarak % geri kazanım elde edildi (%GK). Geri kazanım için kabul kriterleri %80-120 olarak belirlendi.3 tekrarlı yapılan geri kazanım çalışmalarından elde edilen standart sapma ve ortalama değerler elde edilerek bağıl standart sapma (%RSD) hesaplandı. Bu veriler için kabul kriteri ≤%20 olacak şekilde belirlendi.

3.6. YPİTK ANALİZİ

Çalışmamızda 20 x 10 cm boyutlarında silika jel 60 F254 HPTLC cam plaka (Merck Kat. No: 1.05649) kullanıldı. Tüm çözeltiler için enjeksiyon hacmi 1 µL olarak ayarlandı ve bant uzunluğu 5 mm olacak şekilde plakaya uygulandı. Hareketli faz olarak 5 mL Kloroform, 2 mL n-Hexan, 0.2 mL Etil Asetat ve 0.5 mL Toluen çözücü sistemi kullanıldı. Plaka 80 mm'ye kadar yürütüldü ve 5 dk sıcak hava akımında kurutuldu. Ayrım sağlandıktan sonra plaka densitometrik

tarama ünitesine yerleştirildi. Tarama parametreleri; döteryum lambası dalga boyu, 285 nm; slit ölçüleri, 4.00 x 0.10 mm; tarama hızı, 20 mm/s olacak şekilde seçildi. Spektrumlar 200 ile 400 nm arasında 20 mm/s hızla kaydedildi. Kantitatif analiz için tek dalga boylu reflektans modunda elde edilen pik alanı dikkate alındı.

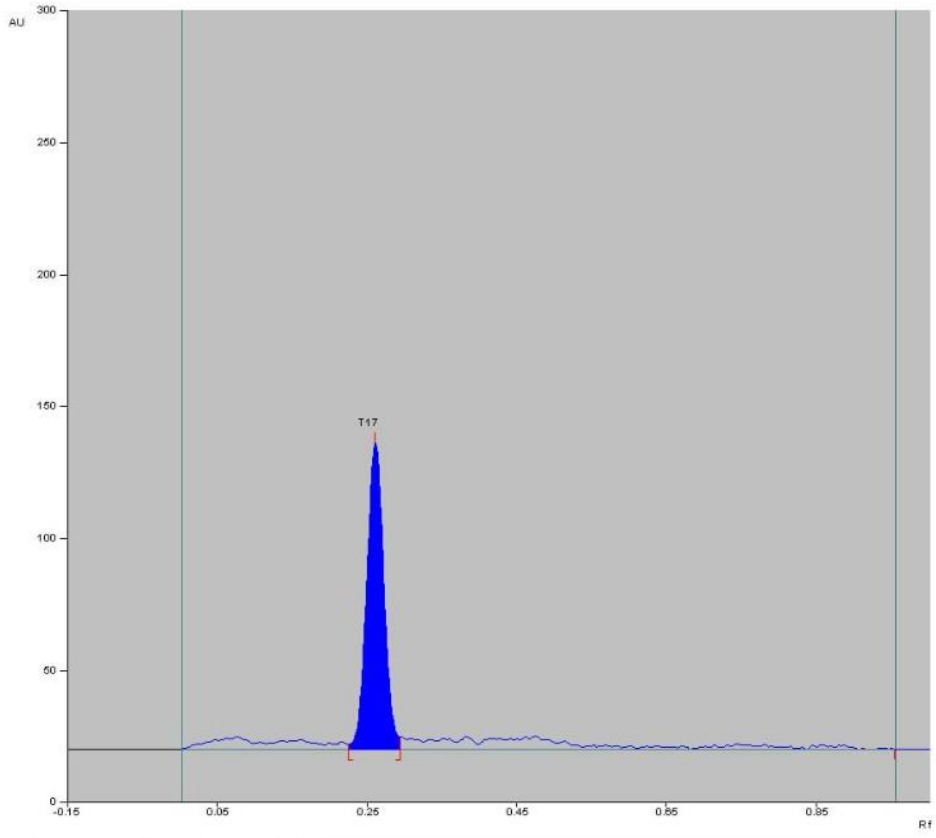
Analiz edilen her bir plakaya bir adet yalnızca metanol içeren çözelti tatbik edildi. Ayrıca her bir analizde örnekler ile beraber kalibrasyon noktalarından stok çözelti bilinmeyen örnek şeklinde kontrol amaçlı analiz edildi. Bu konsantrasyondan elde edilen ±%15'lik sapma olması durumunda analiz tekrar edildi. YPİTK sisteminin bileşenlerinin görünümü Şekil 3.6'da verilmektedir.



Şekil 3.6: YPİTK bileşenleri.

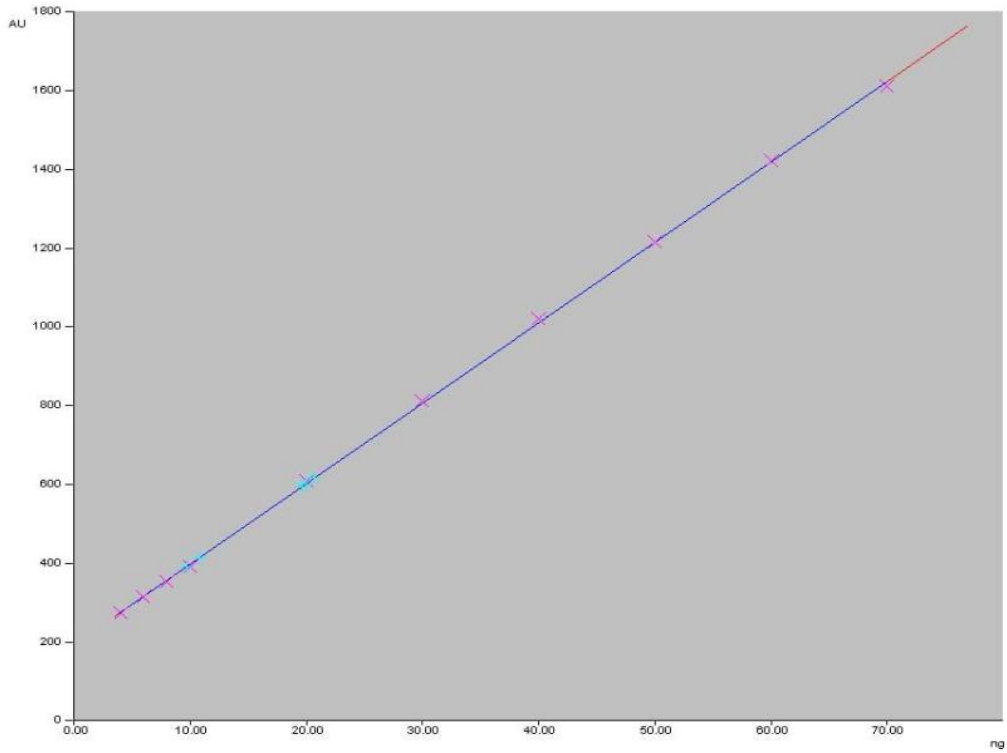
4. BULGULAR

Bu çalışmada, bir biyoaktif kinon molekülü olan 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione etken maddesinin YPİTK sistemi ile tayini için bir yöntem geliştirilmiştir. 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione etken maddesinin alıkonma faktörü (Rf) 0,25 (±0,02) dk olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1).

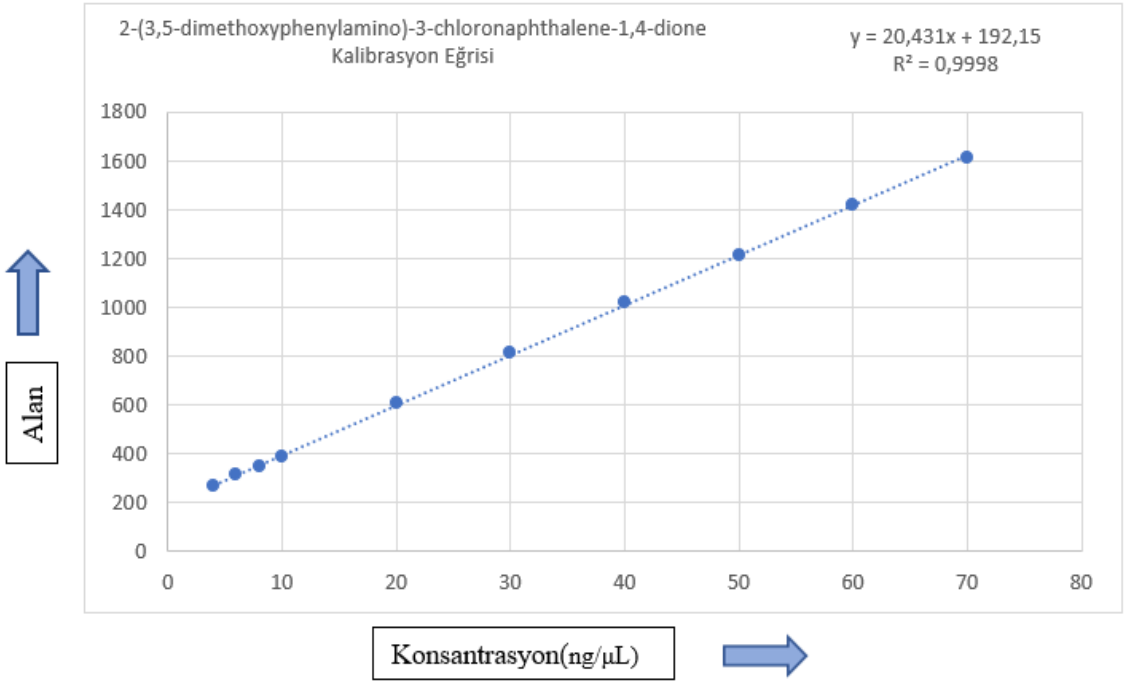


Şekil 4.1: 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione standart çözeltisi ile yapılan tayine ait YPİTK kromatogramı.

2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione etken maddesinin kalibrasyon aralığı 4-70 ng/µL olarak belirlendi. Kalibrasyon eğrisi, kalibrasyon denklemi ve korelasyon katsayısı Şekil 4.2.'de gösterildiği gibidir.

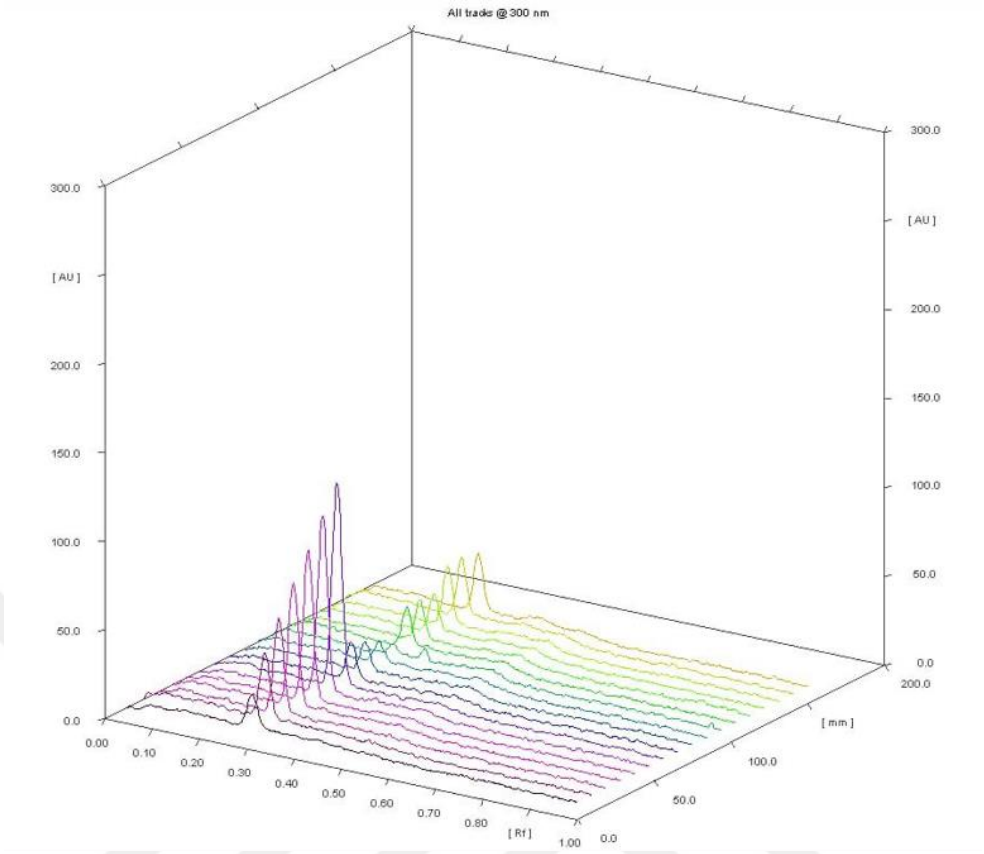


Şekil 4.2: Sistemin kalibrasyon eğrisi, kalibrasyon denklemi ve korelasyon katsayısı.



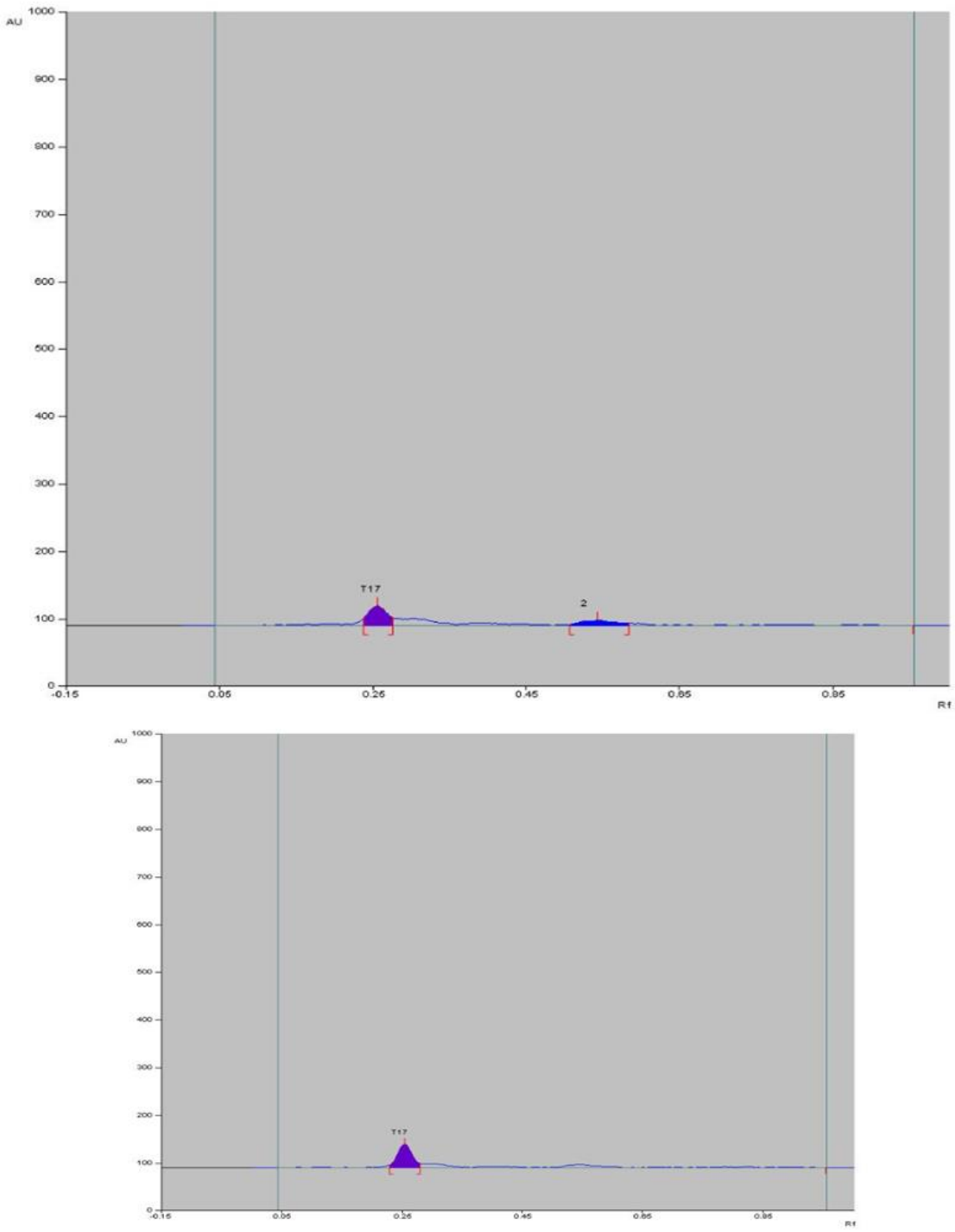
Şekil 4.3. 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione etken maddesinin YPİTK analizinden elde edilen kalibrasyon eğrisi, kalibrasyon denklemi ve korelasyon katsayısı.

Şekil 4.4'te kalibrasyon eğrisinin cihaz üzerindeki üç boyutlu spektrumu da görülmektedir.



Şekil 4.4: Kalibrasyon eğrisinin üç boyutlu spektrumu

YPİTK şartlarında benzer kimyasal yapıyı içeren bitmiş bir üründe 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione katkısı yapılarak matriks içerisinde miktar tespiti gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5: 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione çözeltilerinin bitmiş ürüne spike edilmesi ile elde edilen YPİTK kromatogramları.

Kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı ≥0,99 bulunması ile sistemin uygunluğu sağlandı. Kalibrasyon eğrisi denklemine göre hesaplanan LOD ve LOQ değerleri ise sırasıyla 0,15 ve 0,5 ng/µL bulunmuştur. Bu değerler kalibrasyon eğrisi kapsamında geçerli sayılmıştır. 10 ve 20

µg /mL konsantrasyonda hazırlanan stok çözelti ile 3 tekrarlı analiz ile spike yapılması sonucu elde edilen geri kazanım verimleri Tablo 4.1.'deki gibidir.

Tablo 4.1: İki farklı konsantrasyon ile yapılan geri kazanım sonuçlarının karşılaştırması.

Örnek	Matriks	Konsantrasyon	Sonuç	Geri Kazanım (%)	Ortalama Geri Kazanım (%)
Tekrar 1	Kapsül	10 µg /mL	8,81	88,1	93,1
Tekrar 2			8,84	88,4	
Tekrar 3			10,27	102,7	
Tekrar 1	Kapsül	20 µg /mL	18,43	92,2	94,7
Tekrar 2			18,1	90,5	
Tekrar 3			20,29	101,5	

Tablo 4.1.'den de anlaşılacağı üzere geri kazanım yüzdelerinin her iki konsantrasyon da kabul edilebilir sınırlarda (%80-120) olduğu tespit edilmiştir. Burada sunulan sonuçlara bakıldığında % geri kazanım her iki konsantrasyon için de %93,1ve %94,7 olarak kabul edilebilir aralıkta bulunmuştur.

Yöntemin tekrar edilebilirliğini değerlendirmek için her bir konsantrasyon için 3'er kez yapılan çalışmanın sonuçları Tablo 4.2.'de standart sapma değerleri ≤0,63 ve ≤0,53 bulunurken, %RSD değerleri ise ≤6,26 ve ≤2,64 bulunmuştur. Tekrarlanabilirlik kontrolleri RSD üzerinden yapılmakta olup ilgili RSD değerlerinin ≤%20 olması, yöntemin tekrarlanabilirliğini ve doğruluğunu kanıtlamaktadır.

Tablo 4.2: Tekrar edilebilirlik çalışmalarının bulguları.

Örnek	10 µg /mL				20 µg /mL			
	Sonuçlar	Ortalama	Standart sapma	%RSD	Sonuçlar	Ortalama	Standart sapma	%RSD
Tekrar 1	10,79	10,06	0,63	6,26	19,94	20,09	0,53	2,64
Tekrar 2	9,68				20,68			
Tekrar 3	9,72				19,66			

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kinon moleküllerinin biyolojik ve farmakolojik etkileri bir dizi alanda incelenmektedir. Bu nedenle, kinonların moleküler yapısını ve miktarını tespit etmek, biyomedikal araştırmalarda temel bir adımdır. Araştırmalarımızda çeşitli bilimsel ve endüstriyel alanlarda vazgeçilmez bir analiz yöntemi olan Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK) aracılığıyla kinon moleküllerinin kromatografik tayinini yapmak hedeflenmiştir. YPİTK, yüksek duyarlılık, seçicilik, çözünürlük ve maliyet etkinliği sunan güçlü bir analitik tekniktir. Çoklu numune analizi, esneklik ve kolay uygulama gibi avantajları ile laboratuvarlarda yaygın olarak tercih edilmektedir.

Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK), analitik kimyada sıklıkla kullanılan ve çeşitli avantajlar sunan önemli bir tekniktir. YPİTK, hızlı ve etkin analiz yapabilmesi sayesinde analitik süreçleri hızlandırır ve çeşitli bileşenlerin hızlı bir şekilde ayrılmasını sağlar, bu da zaman açısından kritik analizler için büyük önem taşır. Geniş bir uygulama yelpazesine sahip olan YPİTK, farmasötik ürünler, gıda analizleri, çevresel numuneler ve biyolojik örnekler gibi birçok alanda kullanılabilir. Diğer kromatografik tekniklere göre daha düşük maliyetli olan YPİTK, özellikle ekipman ve malzeme açısından ekonomik bir seçenektir. Ekipman boyutunun küçük olması, laboratuvar ortamında daha az yer kaplamasını sağlar.

YPİTK'nin duyarlılık ve seçicilik açısından üstün özellikleri, düşük konsantrasyonlardaki bileşenlerin tespit edilmesine ve benzer bileşiklerin ayrımına olanak tanır. İnce tabaka üzerindeki bileşenlerin ayrımı, yüksek çözünürlükle gerçekleştirilir, bu da kompleks karışımların bile bileşenlerine ayrılmasını sağlar. Aynı anda birden fazla numunenin analizine olanak tanıyan YPİTK, zaman tasarrufu sağlar ve analiz verimliliğini artırır. Esnek bir teknik olan YPİTK, farklı geliştiriciler ve tespit yöntemleri kullanılarak geniş bir analit yelpazesinin analizine olanak tanır.

Numune hazırlığının genellikle basit ve hızlı olması, YPİTK'nin önemli avantajlarından biridir. Ayrıca, numune miktarlarının küçük olması nedeniyle numune tüketimi minimaldir. Non-destrüktif bir yöntem olan YPİTK, numunelerin tahrip edilmeden analiz edilmesine olanak

tanır, bu da özellikle değerli veya sınırlı miktarda bulunan numuneler için büyük bir avantajdır. Gelişen tabakanın görselleştirilmesi ve sonuçların kolayca yorumlanabilmesi, kullanıcıların sonuçları hızlıca değerlendirmesini sağlar.

YPİTK, yüksek duyarlılık, seçicilik, çözünürlük ve maliyet etkinliği sunan güçlü bir analitik teknik olarak çeşitli bilimsel ve endüstriyel alanlarda sıklıkla yararlanılan avantajlı bir yöntem olarak antiinflamatuvar etki gösteren 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione'un doğru ve güvenilir biçimde tayinin de kullanılabileceğini göstermiştir.

Yapılan deneysel çalışmalarımızda geliştirilen yöntem ile literatürde kinon bileşiğinin tayinine dair karşılaştırılacak bir araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak ulusal ve uluslararası araştırmaları incelendiğinde Karayel (2007), Güneş (2010), Alagöz (2010) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda kinon bileşiklerinin saflaştırılmasında ince tabaka kromatografisi yönteminden yararlandığı görülmüştür. Jehto (2024), Kurban (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda ise sentez yöntemi ile karakterizasyon çalışmaları için de ince tabaka kromatografisi yönteminden yararlandığı görülmüştür. İlgili araştırmalar Tablo 5.1'de listelenmiştir.

Tablo 5.1: Kinon bileşikleri ile ilgili yapılan tez çalışmaları.

Yazar	Tez Adı (Orijinal/Çeviri)	Tez Türü	Alan
Jehto, 2024	Heterosiklik halkalı kinon türevlerinin sentezi ve karakterizasyonu	Yüksek Lisans	Kimya
Abdassalam,2020	The synthesis of new potential bioactive quinone and butadiene compounds	Doktora	Kimya
Yavuz, 2017	Halokinonların ve doymamış gruplu nitro bileşiklerinin N-, S-, O- nükleofillerle reaksiyonlarından yeni kinon ve nitro bileşiklerinin sentezi	Doktora	Kimya
Gezgin, 2017	Tiyoller ve halokinonlarrdan S-sübstitüe kinonların sentezi	Yüksek Lisans	Kimya
Tunceli, 2016	2,5-dihidroksi-1,4-benzokinon ile naringeninden kinon-flavonoid bağlı bileşiklerin sentezi	Yüksek Lisans	Kimya
Kurban, 2016	Azot ve kükürt içeren yeni hetero kinonların sentezi ve karakterizasyonu	Doktora	Kimya
Gezgin, 2017	Tiyoller ve halokinonlarrdan S-sübstitüe kinonların sentezi	Yüksek Lisans	Kimya
Topaloğlu, 2015	Halobenzokinon ve bazı O-, N- ve S-nükleofillerinden yeni sübstitüe kinonların sentezi	Yüksek Lisans	Eczacılık ve Farmakoloji
Asar, 2012	Heteroatom sübstitüe kinon ve nitrodien bileşiklerinin sentezi	Yüksek Lisans	Kimya
Özen, 2011	p-kloranilin S-nükleofillerle reaksiyonundan tetrakis-, tris- ve bistiyosübstitüe kinonların sentezi	Yüksek Lisans	Kimya

Alagöz, 2010	2-hidroksi-1,4-kinonların mangan(III) asetat aracılığıyla 2-tiyenil ve 2-furil sübstitüe alkenlerle radikalik halkalaşma reaksiyonları ve dihidrofurokinon bileşiklerinin sentezi	Doktora	Kimya
Özsoy ve Güneş, 2010	Halokinonların S-, O- ve N- nükleofilleri ile reaksiyonlarından bazı yeni kinon boyalarının sentezi	Doktora	Kimya
Bayrak, 2009	Kinonlar ve bazı nükleofillerden yeni sübstitüe kinonların sentezi	Doktora	Kimya
Karayel, 2007	Yeni sübstitüe kinon bileşiklerinin sentezi	Yüksek Lisans	Kimya
Mine, 1995	Bazı sübstitüe-benzo-5,6-kromanların kinon-metid ara-ürünü üzerinden sentezleri	Doktora	Kimya

Deneysel çalışmalarımız, iki ana başlık altında özetlenebilir: yöntem geliştirme ve validasyon çalışmaları. İlk olarak, yöntem geliştirme kısmında, 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione etken maddesinin YPİTK sistemi ile tayini için bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemde, etken maddenin alıkonma faktörü (Rf) 0,25 (±0,02) dakika olarak belirlenmiştir. Kalibrasyon aralığı 4-70 ng/ µL olup, kalibrasyon eğrisi korelasyon katsayısı ≥0,99 olarak bulunmuştur. LOD 0,15 ng/µL LOQ ise 0,5 ng/µL olarak hesaplanmıştır.

İkinci olarak, validasyon çalışmaları kapsamında, iki farklı konsantrasyonda (10 µg /mL ve 20 µg /mL) 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione geri kazanım verimleri incelenmiştir. 10 µg /mL konsantrasyonu için geri kazanım sonuçları sırasıyla %88,1, %88,4 ve %102,7 olup, ortalama geri kazanım %93,1 olarak belirlenmiştir. 20 µg /mL konsantrasyonu için geri kazanım sonuçları ise sırasıyla %92,2, %90,5 ve %101,5 olup, ortalama geri kazanım 94,7% olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, geri kazanım yüzdelerinin her iki konsantrasyon için de kabul edilebilir sınırlarda (%80-120) olduğunu göstermiştir.

Son olarak, validasyon çalışmaları kapsamında geçerlilik çalışmaları yapılarak yönteminin tekrarlanabilirliği değerlendirilmiştir. Her bir konsantrasyon için 3'er kez yapılan tekrar edilebilirlik çalışmalarında, 10 ng/µL için, standart sapma (SD) 0,63 ve relatif standart sapma (%RSD) 6,26 olarak bulunmuştur. 20 ng/µL için SD 0,53 ve %RSD 2,64 olarak hesaplanmıştır. Standart sapma değerlerinin ≤%20 olması gerektiği için elde edilen %RSD değerlerinin ≤6,26 ve ≤2,64 olması, yöntemin tekrarlanabilirliğini ve doğruluğunu doğrulamaktadır.

Genel değerlendirme olarak, geliştirilen yöntem, 2-(3,5-dimethoxyphenylamino)-3-chloronaphthalene-1,4-dione'nin YPİTK sistemi ile doğru ve güvenilir bir şekilde tayin edilebileceğini göstermektedir. Yüksek bir korelasyon katsayısına (≥0,99) sahip kalibrasyon

eğrisi, yöntemin doğruluğunu kanıtlamaktadır. Geri kazanım verimleri %80-120 aralığında olup, yöntemin güvenilirliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, yöntem tekrarlanabilirlik ve doğruluk açısından standart sapma ve %RSD değerleri ile başarılı bir şekilde doğrulanmıştır. Bu bulgular, geliştirilen yöntemin etkili bir analitik yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, günümüzde pek çok alanda kullanım sahası olan antiinflamatuvar etki gösteren kinon bileşikleri ile gelecekte farmakolojik alanda yapılacak farklı kimyasal analiz, karakterizasyon, sentez yöntemlerinin bilimsel verilerin ışığı altında literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

Abdassalam, A., (2020). *The synthesis of new potential bioactive quinone and butadiene compounds.* Doktora PhD Thesis, Istanbul University-Cerrahpaşa Institute of Postgraduate Education, Istanbul.

Abdulkarim, BG., Smith, JS. (1998). Heterocyclic amines in fresh and processed meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11):4680-4687.

Abdulmalik, O., (2005). 5-hydroxymethyl-2-furfural modi-fies intracellular sickle haemoglobin and inhibits sicklingof red blood cells.*British journal of haematology,* 128 (4), 552–561.

Abraham, K., (2011). Toxicology and risk assessment of5-Hydroxymethylfurfural in food. *Molecular nutrition &food research*, 55 (5), 667–678.

Adrian, J., (1974). Nutritional and physiological consequences of the Maillard reaction. *World review of nutrition and dietetics.* 19:71-122

Agila, A., Barringer, S., (2012). Effect of roasting conditionson color and volatile profile including HMF level insweet almonds (Prunus dulcis).*Journal of food science*,77(4), C461–C468.

Ahadi, A., Partoazar,A, Abedi-Khorasgani,M,H, Shetab-Boushehri,S,V. (2011). Comparison of liquid-liquid extraction-thin layer chromatography with solid-phase extraction-high-performance thin layer chromatography in detection of urinary morphine. *J Biomed Res*. 25: 362–367.

Al Ghorbani, M., Bushra,B., Zabiulla,S., Mamatha,S. (2015). Piperazine and morpholine: Synthetic preview and pharmaceutical applications. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 8*(5), 611. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/281194052_Piperazine_and_Morpholine_Synthetic_Preview_and_Pharmaceutical_Applications

Alçay, Y., (2015). *Yeni Çok Fonksiyonlu Ferrosenil Naftakinon Bileşiğinin Sentezi Ve Seçici Katyon Bağlama Özelliklerinin İncelenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Artajo, L., Romero,M., Morello,J., Motilva,M. (2006). Enrichment of refined olive oil with phenolic compounds: evaluation of their antioxidant activity and their effect on the bitter index. *J Agric Food Chem., 54*(16), 6079-6088. https://doi.org/https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf060874q

Aruoma, O., Deiana,M., Jenner,A., Halliwell,B., Kaur,H., Banni,S., Aeschbach,R. (1998). Effect of hydroxytyrosol found in extra virgin olive oil on oxidative dna damage and on low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46*(12), 5181-5187. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/231556366_Effect_of_Hydroxytyrosol_Found_in_Extra_Virgin_Olive_Oil_on_Oxidative_DNA_Damage_and_on_Low-Density_Lipoprotein_Oxidation

Babayeva, E., (2017). *Pentaklordienler ve Halonaftokinonların S- ve N- nükleofillerle yeni sübstitüe dien, trien ve kinon bileşiklerinin sentezi.* Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Babich, H., Visioli,F. (2003). In vitro cytotoxicity to human cells in culture of some phenolics from olive oil. *Il Farmaco, 58*(5), 403-407. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014827X0300048X

Bahrmann, H., Hahn,H., Mayer, D. (2003). *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Wiley-VCH.

Bakkalbaşı, E., (2012). Tanenlerin Kimyası, Gıdalardaki Varlığı ve Gıda İşlemenin Tanenler Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda, 10*(2), 96-108. https://doi.org/https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/issue/55822/764689

Baldioli, M., Servili,M., Perretti,G., Montedoro,G. (1996). Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc., 73*, 1589-1593. https://doi.org/https://link.springer.com/article/10.1007/BF02523530

Bayrak, N., (2009). *Kinonlar ve Bazı Nükleofillerden Yeni Sübstitüe Kinonların Sentezi.* Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi., Fen Bilimleri Enstitüsü., İstanbul.

Bektaş, N., (2022). *Halojenli kinon bileşiklerinin yeni N-sübstitüe, S-sübstitüe ve N,S-sübstitüe türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve antioksidan özelliklerinin incelenmesi.* Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.

Berg, H.E., (1993). *Reactions of Lactose During Heat Treatment of Milk: A Quantitative Study*, PhD thesis, Wageningen University, NL

Bouhlel, A., Mosbah,I., Abdallah,N., Ribault,C., Viel,R., Mannaş,S., Abdennebi,H. (2017). Thymoquinone prevents endoplasmic reticulum stress and mitochondria-induced apoptosis in a rat model of partial hepatic warm ischemia reperfusion. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 94*, 964-973. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S075333221732807X

Bozdoğan Konuşkan, D., (2008). *Hatay'da Yetiştirilen Halhalı, Sarı Haşebi Ve Gemlik Zeytin Çeşitlerinden Çözücü Ekstraksiyonuyla Elde Edilen Yağların Bazı Niteliklerinin Belirlenmesi Ve Mekanik Yöntemle Elde Edilen Zeytinyağları İle Karşılaştırılması.* Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana. https://doi.org/http://libratez.cu.edu.tr/tezler/6768.pdf

Bozdoğan Konuşkan, D., Altan,A. (2008). Zeytin ve Zeytinyağında Doğal Olarak Bulunan Biyoaktif Bileşikler ve Fizyolojik Etkileri. *Gıda, 33*(6), 297-302. https://doi.org/https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6836/91737

Braga, P., Dal Sasso,M., Sala,M., Gianelle,V. (1999). Effects of erdosteine and its metabolites on bacterial adhesiveness. *Arzneimittelforschung, 49*(4), 344-350. https://doi.org/https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0031-1300425

Brunton, L., Lazo,J., Parker,K. (2006). *Goodman & Gilman"s The Pharmacological Basis of Therapeutics.* McGraw-Hill. https://doi.org/0-07-160891-5. https://books-library.net/files/books-library.online_noo5e885b0f2c9a1bfce3b708-26243.pdf

Bulut, P., (2019). *Bazı kinon bileşiklerinin nükleofilik yerdeğiştirme reaksiyonlarının incelenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.

Caccia, S., (2007). N-dealkylation of arylpiperazine derivatives: disposition and metabolism of the 1-aryl-piperazines formed. *Curr Drug Metab., 8*(6), 612-622. https://doi.org/https://www.eurekaselect.com/article/4536

Calzetta, L., Matera,M., Rogliani,P., Cazzola,M. (2018). Multifaceted activity of N-acetyl-l-cysteine in chronic obstructive pulmonary disease. *Expert Rev Respir Med., 12*(8), 693-708. https://doi.org/https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17476348.2018.1495562

Caro, Y., Anamale,L., Fouillaud,M., Laurent,P., Petit,T., Dufosse,L. (2012). Natural hydroxyanthraquinoid pigments as potent food grade colorants: an overview. *Nat. Prod. Bioprospect, 2*(5), 174-193. https://doi.org/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4131637/

Cazzola, M., Calzetta,L., Page,C., Rogliani,P., Matera,M. (2019). Thiol-Based Drugs in Pulmonary Medicine: Much More than Mucolytics. *rends Pharmacol Sci., 40*(7), 452-463. https://doi.org/https://www.cell.com/trends/pharmacological-sciences/fulltext/S0165-6147(19)30092-6?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0165614719300926%3Fshowall%3Dtrue

Cemeroğlu, B., (2001). *Meyve ve sebze işleme teknolojisi.* Gıda Teknolojisi Derneği. https://doi.org/https://kutuphane.tarimorman.gov.tr/vufind/Record/12684/Description

Cerit,İ. (2020). *Tiyollerin Patatesteki Esmerleşme Reaksiyonları Ve Antioksidan Aktiviteye Etkisi.* Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya. https://doi.org/https://acikerisim.sakarya.edu.tr/bitstream/handle/20.500.12619/96805/T09399.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Chae, G., Song,G., Kim,Y., Cho,H., Sok,D., Ahn,B. (1999). 2- or 6-(1-azidoalkyl)-5,8-dimethoxy-1,4-naphthoquinone: synthesis, evaluation of cytotoxic activity, antitumor activity and inhibitory effect on DNA topoisomerase-I. *Arch Pharm Res., 22*(5), 507-514. https://doi.org/https://link.springer.com/article/10.1007/BF02979161

Clayden, J., Greeves,N., Warren,S., Wothers,P. (2001). *Organic Chemistry.* Oxford University Press. https://doi.org/978-0-19-927029-3. https://www.academia.edu/35962833/Clayden_Organic_Chemistry_1_

Considine, G., (2005). *Van Nostrand's Encyclopedia Of Chemistry.* Wiley Interscience. https://doi.org/0-471-61525-0. https://archive.org/details/VanNostrandsEncyclopediaOfChemistry5thEdition/page/n3/mode/2up

Danehy, J., Hunter, W., (1967). Alkaline decomposition of organic disulfides. II. Alternative pathways as determined by structure. *J. Org. Chem., 32*(7), 2047-2053. https://doi.org/https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jo01282a001

Dave, H., Ledwani,L. (2012). A Review on anthraquinones isolated from Cassia species and their applications. *Indian Journal of Natural Products and Resources, 3*(3), 291-319. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/237163942_A_review_on_anthaquinones_isolated_from_Cassia_species_and_their_applications

De Oliveira, F., Arruda,T., Da Silva,L., Casarotti,S., Morzelle,M. (2020). Pomegranate as a natural source of phenolic antioxidants. *Journal of Food Bioactives, 9*, 10-22. https://doi.org/http://www.isnff-jfb.com/index.php/JFB/article/view/127/218

Del Rio, J., Baidez,A., Botia,J., Ortuno,A. (2003). Enhancement of phenolic compounds in olive plants (olea europaea l.) and their influence on resistance against phytophthora sp. *Food Chemistry, 83*(1), 75-78. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814603000517

Ersoy, L., (1989) *Kromatografik Ayırma Yöntemleri,* Aletli Analiz Yöntemleri II Kromatografi Okulu, T.M.M.O.B. Kimya Mühendisleri Odası İstanbul Şubesi.

Flanagan, R.J., Taylor,A., Watson,I.D., Whelpton,R. (2007) F*undamentals of Analytical Toxicology*, pp. 131 143, John Wiley & Sons, Inc., England.

FriedB, ShermaJ. (1999) *Thin-Layer Chromatography,* 4th edt., pp. 1-8, Marcel Dekker, Inc., New York.

Gan, K., Teng,C., Lin,H., Chen,K., Chen,Y., Hsu,M., Lin,C. (2008). Antiplatelet effect and selective binding to cyclooxygenase by molecular docking analysis of 3-alkylaminopropoxy-9,10-anthraquinone derivatives. *Biol Pharm Bull., 31*(8), 1547-1551. https://doi.org/https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/31/8/31_8_1547/_article

Gee, P., Schep, L., (2013). 1-Benzylpiperazine and other Piperazine-based Derivatives. P. Dargan, & D. Wood içinde, *Novel Psychoactive Substances* (s. 179-209). https://www.researchgate.net/publication/285182009_1-Benzylpiperazine_and_other_Piperazine-based_Derivatives.

Gong, X., Gutala, R., Jaiswal, A., (2008). Quinone oxidoreductases and vitamin K metabolism. *Vitam Horm., 78*, 85-101. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0083672907000052?via%3Dihub

Guin,P., Das,S., Mandal,P. (2011). Electrochemical reduction of quinones in different media: a review. *International Journal of Electrochemistry, 22*(2), 1-22. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/228480229_Electrochemical_Reduction_of_Quinones_in_Different_Media_A_Review

Gündüz,T. (2004) *İnstrümental Analiz*, 7. baskı, Gazi Kitabevi, Ankara.

Halkina,T., Sherma, J. (2006). Comparative evaluation of the performance of silica gel TLC plates and irregular and spherical-particle HPTLC plates." Acta Chromatographica 17: 261.

Hart,D., Hadad,C., Craine,L., Hart,H. (2013). *Organic Chemistry A Short Course.* Brooks/Cole Cengage Learning. https://doi.org/https://www.academia.edu/44528163/Study_Guide_and_Solutions_Manual_Organic_Chemistry_A_Short_Course_Thırteenth_Edıtıon

Horiuchi,S., Hasegawa,T., Tokura,Y. (2006). Molecular Donor-Acceptor Compounds as Prospective Organic Electronics Materials. *Journal of the Physical Society of Japan, 75*(5). https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/239005261_Molecular_Donor-Acceptor_Compounds_as_Prospective_Organic_Electronics_Materials

Hu,H., Lim,B., Goto,N., Fujie,K. (2001). Analytical precision and repeatability of respiratory quinones for quantitative study of microbial community structure in environmental samples, Journal of Microbiological Methods. *Journal of Microbiological Methods, 47*(1), 17-24. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016770120100286X

Huf, F.A. (1987) I*n situ evaluation of thin-layer chromatograms,* In: Quantitative Thin Layer Chromatography and Its Industrial Applications (L.R. Treiber, Ed.), pp. 17-66, Marcel Dekker, Inc., New York.

Ibis,C., Sahinler Ayla,S., Bahar,H., Stasevych,M. (2014). Synthesis, Characterization, and Biological Properties of Novel Piperidinolyl-, Piperidinyl-, and Piperazinyl-Substituted Naphthoquinone Compounds and Their Reactions With Some Thiols. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 190*(9), 1-24. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/277970690_Synthesis_Characterization_and_Biological_Properties_of_Novel_Piperidinolyl-_Piperidinyl-

_and_Piperazinyl-Substituted_Naphthoquinone_Compounds_and_Their_Reactions_With_Some_Thiols

İbis,C., Tuyun,A., Bahar,H., Sahinler Ayla,S., Stasevych,M., Musyanovych,R., Novikov,V. (2013). Synthesis Of Novel 1,4- Naphthoquinone Derivatives: Antibacterial And Antifungal Agents. *Medicinal Chemistry Research, 22*, 2879-2888. https://doi.org/https://link.springer.com/article/10.1007/s00044-012-0300-y

Ibıs,C., Tuyun,A., Hakan,B., Sahinler Ayla,S., Stasevych,M., Rostyslav,Y., Novikov,V. (2014). Nucleophilic substitution reactions of 1,4-naphthoquinone and biologic properties of novel S-, S,S-, N-, and N,S-substituted 1,4-naphthoquinone derivatives. *Medicinal Chemistry Research, 23*, 2140-2149. https://doi.org/https://aperta.ulakbim.gov.tr/record/64553

Ibis,C., Tuyun,A., Ozsoy Gunes,Z., Bahar,H., Stasevych,M., Musyanovych R., Novikov,V. (2011). Synthesis and biological evaluation of novel nitrogen- and sulfur-containing hetero-1,4-naphthoquinones as potent antifungal and antibacterial agents. *Eur J Med Chem., 46*(12), 5861-5867. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0223523411007094?via%3Dihub

İbiş,C., Özsoy Güneş,Z., Tuyun,A., Şahinler Ayla,S., Bahar,H., Stasevych,M., Novikov, V. (2016). Synthesis, antibacterial and antifungal evaluation of thio- or piperazinyl-substituted 1,4-naphthoquinone derivatives. *Journal of Sulfur Chemistry, 37*(5), 477-487. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/org/science/article/abs/pii/S1741599322010741

İmimg. (2023). *Anthraquinone*. imimg: https://5.imimg.com/data5/SELLER/Doc/2022/11/AT/IB/IV/82519745/anthraquinone-97-powder.pdf adresinden alındı

Jing,H., Kitts,D.D. (2002). Chemical and biochemical properties of casein–sugar Maillard reaction products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 40:1007-1015.

Johnstone,A., Lea,R., Brennan,K., Schenk,S., Kennedy,M., Fitzmaurice,P. (2007). Benzylpiperazine: a drug of abuse? *J Psychopharmacol., 21*(8), 888-894. https://doi.org/https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0269881107077260?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed

Kaçar,S. (2020). *Akrilamitin C6 sıçan glioma hücreleri üzerindeki toksik etkisine karşı timokinon ve kuersetinin etkilerinin araştırılması.* Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

Karabulut,G., Yemiş,O. (2019). Fenolik Bileşiklerin Bağlı Formları ve Biyoyararlılığı. *Akademik Gıda, 17*(4), 526-37. https://doi.org/https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/issue/51394/667270

Kim,H., Chung,T., Kim,H. (2001). Voltammetric determination of the pKa of various acids in polar aprotic solvents using 1,4-benzoquinone. *Journal of Electroanalytical Chemistry, 498*(1), 209-215. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/244092398_Voltammetric_determination_of_the_p_K_a_of_various_acids_in_polar_aprotic_solvents_using_14-benzoquinone

Kırk-Othmer. (2007). *Encyclopedia of Chemical Technology.* Wiley-Interscience. https://doi.org/https://www.scribd.com/document/345757422/Encyclopedia-of-Chemical-Technology-Vol-09

Kishikawa,N., Kuroda,N. (2014). Analytical techniques for the determination of biologically active quinones in biological and environmental samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 87*, 261-270. https://doi.org/https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731-7085(13)00236-7

Kobayashi,K., Horiuchi,S., Kumai,R., Kagawa,F., Murakami,Y., Tokura,Y. (2012). Electronic Ferroelectricity in a Molecular Crystal with Large Polarization Directing Antiparallel to Ionic Displacement. *Phys. Rev. Lett., 108*(23). https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/258085269_Electronic_Ferroelectricity_in_a_Molecular_Crystal_with_Large_Polarization_Directing_Antiparallel_to_Ionic_Displacement

Kroll,J., Rawel,H., Seidelmann,N. (2000). Physicochemical properties and susceptibility to proteolytic digestion of myoglobin-phenol derivatives. *J Agric Food Chem., 48*(5), 1580-1587. https://doi.org/https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf991172m

Kurban,S. (2011). *Yüksek Karbonlu Bazı Alifatik Tiyoller Ve Aminlerden Naftakinon Türevlerinin Sentezi.* Yüksek Lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Kutyrev,A., Moskva,V. (1991). Nucleophilic reactions of quinones. *The British Library, 60*(1), 72-88. https://doi.org/https://www.russchemrev.org/RCR1032pdf

Lee,S., Tan,T., Kawamukai,M., Chen,E. (2017). Cellular factories for coenzyme Q10 production. *Microb Cell Fact., 16*(1), 39. https://doi.org/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5335738/

Mailman,A. (2011). *An exploration of the cycloaddition and oxidative dehydrogenation chemistry of SNS+ with 1,4-quinone derivatives and characterization of the corresponding hybrid quinone-thiazyl cations and radicals.* B. Sc. Bishops University Doctor of Philosophy in the Graduate Academic Unit of Chemistry. https://doi.org/https://central.bac-lac.gc.ca/.item?id=NR92835&op=pdf&app=Library&oclc_number=914077356

Mehri,S., Shahi,M., Razavi,B., Hassani,F., Hosseinzadeh,H. (2014). Neuroprotective effect of thymoquinone in acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rats. *Iran J Basic Med Sci., 17*(12), 1007-1011. https://doi.org/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4387223/

Mochida,T., Funasako,Y., Azumi,H. (2011). Charge-transfer complexes from decamethylferrocene and 1,4-quinone derivatives: neutral-ionic phase diagrams for metallocene complexes. *Dalton Trans.*, 1-21. https://doi.org/https://www.researchgate.net/profile/Tomoyuki-Mochida/publication/51556727_Charge-transfer_complexes_from_decamethylferrocene_and_14-quinone_derivatives_Neutral-ionic_phase_diagrams_for_metallocene_complexes/links/596885da458515e9afa557ce/Charge-transfer-

Monks,T., Hanzlik,R., Cohen,G., Ross,D., Graham, D. (1992). Contemporary issue in toxicology: Quinone chemistry and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology, 112*(1), 2-16. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0041008X9290273U

Morello,A., Pavani,M., Garbarino,J., Chamy,M., Frey,C., Macilla,J., Ferreira,J. (1995). Effects and mode of action of 1,4-naphthoquinones isolated from Calceolaria sessilis on tumoral cells and Trypanosoma parasites. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol., 112*(2), 119-128. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0742841395020039

Nemetova,U. (2023). *Hetereosübstitüe Kinonların Sentez ve Karakterizasyonu.* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.

Nizamlıoğlu,N., Nas,S. (2019). Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizmaları, Gıdaların Akrilamid İçeriği ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Akademik Gıda, 17*(2), 232-242. https://doi.org/https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/article/613588

Obels,D., Lievenbrück,M., Ritter, H. (2016). From N-vinylpyrrolidone anions to modified paraffin-like oligomers via double alkylation with 1,8-dibromooctane: access to covalent networks and oligomeric amines for dye attachment. *Beilstein J. Org. Chem., 12*, 1395-1400. https://doi.org/https://www.beilstein-journals.org/bjoc/content/pdf/1860-5397-12-133.pdf

Oksana,S., Brestic,M., Rai,M., Shao,H. (2012). Plant phenolic compounds for food, pharmaceutical and cosmetics production. *Journal of Medicinal Plants Research, 6*(13), 2526-2539. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/229476109_Plant_phenolic_compounds_for_food_pharmaceutical_and_cosmetiss_production

Owen,R., Haubner,R., Mier,W., Giacosa,A., Hull,W., Spiegelhalder,B., Bartsch,H. (2003). Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food and Chemical Toxicology, 41*(5), 703-717. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691503000115?via%3Dihub

Öngüç Aycan,İ., Tüfek,A., Tokgöz,O., Evliyaoğlu,O., Fırat,U., Ölmez Kavak,G., Yüksel,M. (2014). Thymoquinone treatment against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *International Journal of Surgery, 12*(3), 213-218. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743919113011424?via%3Dihub

Özen,M. (2011). *p-kloranilin S-nükleofillerle reaksiyonundan tetrakis-, tris- ve bistiyosübstitüe kinonların sentezi.* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Özsoy Güneş,Z. (2005). *Halokinonların mono ve difonksiyonel gruplu tiyollerle reaksiyonlarının incelenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Pandey,K., Rizvi,S. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev., 2*(5), 270-278. https://doi.org/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2835915/

Patrizia,D., Paolo,M., Graziano,Z. (2006). Effect of Vitamin K3 on plasma membrane-bound H+-ATPase and reductase activities in plants. *Plant Science, 170*(5), 936-941. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168945206000082

Pierpont,C. (2001). Studies on charge distribution and valence tautomerism in transition metal complexes of catecholate and semiquinonate ligands. *Coordination Chemistry Reviews, 216*, 99-125. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0010854501003095

Pierpont,C. (2001). Unique properties of transition metal quinone complexes of the MQ3 series. *Coordination Chemistry Reviews, 219*, 415-433. https://doi.org/https://www.academia.edu/29525628/Unique_properties_of_transition_metal_quinone_complexes_of_the_MQ3_series

Reich,E., Schibli,A. (2006) High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants, pp. 116-121, *Thieme Medical Publishers*, Inc., New York.

Rittich,B., Krska,M. (1977). Separation of quinones and their derivatives by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A, 130*, 189-194. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967300897952

Ryan,D., Antolovich,M., Prenzler,P., Robards,K. (2002). Biotransformations of phenolic compounds in Olea Europaea L. *Scientia Horticulturae, 92*(2), 147-176. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/223849811_Biotransformations_of_phenolic_compounds_in_Olea_Europaea_L

Schobinger,U. (1988). *Meyve Ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi (Çev. J. Acar).* Hacettepe Üniversitesi.

Shahidi,F., Naczk,M. (2006). *Phenolics in Food and Nutraceuticals.* CRC Press. https://doi.org/0-203-50873-4. https://www.academia.edu/4200762/Phenolics_in_Food_and_Nutraceuticals_Phenolics_in_Food_and_NutraceuticalsPrefaceFereidoon_Shahidi

Sherma,J. (2005) *Optical Quantification (Densitometry) in TLC,* In: Encyclopedia of Chromatography (J. Cazes, Ed.), 2nd edt., Vol. 2, pp. 1150-1157, Taylor & Francis Group, Boca Raton.

Solomons,G., Fryhle,C. (2002). *Organik Kimya (Çev. G. Okay, Y. Yıldırır)*. Literatür Yayıncılık. https://doi.org/975-8431-87-0

Srivastava,M. (2010). *High-performance thin-layer chromatography* (HPTLC). Springer Science & Business Media.

Stains for Developing TLC Plates, (2019) https://www.chemistry.mcmaster.ca/adronov/resources/Stains_for_Developing_TLC_Plates.pdf

Taverniers,I., Loose, M.D., Erik Van Bockstaele,E.V. (2004). "*Trends in quality in the analytical laboratory. I. Traceability and measurement uncertainty of analytical results.*" TrAC Trends in Analytical Chemistry 23.7: 480-490.

Topaloğlu,E. (2015). *Halobenzokinon ve bazı O-, N- ve S- nükleofillerinden yeni sübstitüe kinonların sentezi.* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Toprak,A. (2013). *Lipoksijenazın çapraz bağlı enzim agregatlarının oluşturulması ve çeşitli kinon sentezleinde kullanılması.* Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Tsarbopoulos,A., Gikas,E., Papadopoulos,N., Aligiannis,N., Kafatos,A. (2003). Simultaneous determination of oleuropein and its metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B., 785*(1), 157-164. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570023202009054?via%3Dihub

Turkmen,Z. (2013). Development and validation of a densitometric-high-performance thin-layer chromatographic method for quantitative analysis of amitriptyline in gastric lavage. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC* 26.6, 496-501

Turğay,Ü. (2023). *Biyoaktif bileşiklerle zenginleştirilmiş glutensiz kek üretimi ve fonksiyonel özelliklerinin saptanması.* Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Ulu,R., Doğukan,A., Tuzcu,M., Gençoğlu,H., Ulaş,M., İlhan,N., Şahin,K. (2012). Regulation of renal organic anion and cation transporters by thymoquinone in cisplatin induced kidney injury. *Food and Chemical Toxicology, 50*(5), 1675-1679.

https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691512001664?via%3Dihub

Van Boekel, M.A.J.S. , Brands, C. (1998)'Heating of Sugarcasein Solutions: Isomerization and Maillard Reactions' in *The Maillard Reaction in Foods and Medicine* (O'Brien, J., Nursten, H.E., Crabbe, M.J.C., Ames, J.M., eds), pp. 154–158, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK

Vigalok,A., Milstein,D. (2001). Advances in Metal Chemistry of Quinonoid Compounds: New Types of Interactions between Metals and Aromatics. *Acc. Chem. Res., 34*(10), 798-807. https://doi.org/https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ar970316k

Visioli,F., Galli,C. (2002). Biological properties of olive oil phytochemical. *Critical Rewies in Food Science and Nutrition, 42*(3), 209-221. https://doi.org/https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12058980/

Wall,P.E. (2005). *Thin-layer Chromatography – A Modern Practical Approach*, published by The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Woo,C., Kumar,A., Sethi,G., Tan,K. (2012). Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochem Pharmacol., 83*(4), 443-451. https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295211007350?via%3Dihub

Yavuz,Ş. (2012). *Bazı Naftakinon ve Benzokinon Gruplu Yeni Eterlerin ve Tiyoeterlerin Sentezi.* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Yavuz,Ş. (2017). *Halokinonların ve doymamış gruplu nitro bileşiklerinin N-, S-, O-nükleofillerle reaksiyonlarından yeni kinon ve nitro bileşiklerinin sentezi.* Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Yaylayan, V.A. , Huyghues-Despointes, A. (1996).'Retroaldol and Redox Reactions of Amadori Compounds: Mechanistic Studies with Various Labeled D-[13C] Glucose' in *J. Agric. Food Chem.* 44, 672–681

Yetkin,N., Büyükoğlan,H., Sönmez,M., Tutar,N., Gülmez,I., Yılmaz,I. (2020). The protective effects of thymoquinone on lung damage caused by cigarette smoke. *Biotech Histochem., 95*(4), 268-275. https://doi.org/https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10520295.2019.1681511

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Yağmur ÇAKAN
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	☑ T.C. ❒ Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Kimya Bölümü
Mezuniyet Yılı	2019

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Anabilim Dalı
Programı	Kimya Programı