

Mevcut sayıya ait içindekiler listesine [DergiPark](#) üzerinden ulaşılabilir

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi

Dergi web sayfası: dergipark.org.tr/tr/pub/sufefd

Araştırma Makalesi

Sistein Tayini İçin Yeni Bir Algılayıcı Molekülün Sentezi ve Karakterizasyonu

Sait Malkondu ^{a,1,*}, Serkan Erdemir ^{b,2}^a Giresun Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Giresun, Türkiye^b Selçuk Üniversitesi, Kimya Bölümü, Konya, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Makale Geçmişi

Geliş 13 Mayıs 2022

Revizyon 24 Haziran 2022

Kabul 27 Haziran 2022

Anahtar Kelimeler

Algılayıcı

ESIPT

Fluoresans

Sistein

ÖZ

Sistein canlı organizmada önemli rolleri olan tiyol grubu içeren bir amino asittir. Dolayısıyla sistein varlığının ve miktarının tespit edilmesi araştırmacıların ilgilendiği konuların başında gelmektedir. Bu çalışmada, sisteini ESIPT mekanizmasına dayalı fluoressans metodu ile tayin etmek amacı ile benzotiyazol temelli yeni bir algılayıcı molekül tasarlanmıştır. Hedef algılayıcının molekül yapısı FT-IR, NMR ve MALDI-TOF (Matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı) kütle spektrokopisi gibi metodlarla aydınlatılmıştır. Ayrıca, algılayıcı ve sistein arasındaki etkileşim mekanizması teorik hesaplamalar aracılığıyla incelenmiştir.

Research Article

Synthesis and Characterization of A New Probe For The Detection of Cystein

ARTICLE INFO

Article History

Received 13 May 2022

Revised 24 June 2022

Accepted 27 June 2022

Keywords

Cysteine

ESIPT

Fluorescence

Probe

ABSTRACT

Cysteine is an amino acid containing a thiol group, which has important roles in living organisms. Therefore, the determination of the presence and amount of cysteine is one of the main topics of interest for researchers. In the present study, a new benzothiazole-based sensor has been designed to detect cysteine by fluorescence method based on ESIPT mechanism. The molecule structure of the target probe molecule has been confirmed by methods such as FT-IR, NMR and MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization time-of-flight) mass spectroscopy. In addition, the interaction mechanism between the probe and cysteine has been investigated through theoretical calculations.

Kısaltmalar

¹ H NMR	Hidrojen Nükleer Manyetik Rezonans
¹³ C NMR	Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
APT	Attached Proton Test
FTIR	Fourier Dönüşümü Infrared Spektroskopisi
HOMO	En Yüksek Enerjili Dolu Molekül Orbitali
LUMO	En Düşük Enerjili Boş Molekül Orbitali
EN	Erime Noktası
CHCl ₃	Kloroform
CDCl ₃	Dötero Kloroform
DMSO	Dimetil sülfoksit
ESIPT	Uyarılmış seviye molekül içi proton transferi
GS IPT	Temel seviye molekül içi proton transferi

1. Giriş

Sistein kükürt atomu içeren önemli bir amino asittir ve insan vücudu için gereklidir (Dickinson ve Forman, 2002; Wu ve ark., 2004). L-sistein doğada bulunan en bilinen formudur (Stipanuk ve ark., 2006). Yapısı polardır ve tiyol grubu içerir. Tiyol grupları yükseltgendiğinde, iki L-sistein molekülü disülfür bağları ile bağlanarak sistini oluşturabilir. Tersinir bir tepkime ile, disülfid bağının indirgenmesi iki L-sistein molekülü oluşturur (Ralph ve ark., 1994; Paulsen ve Carroll, 2013). Disülfid bağları proteinlerin yapısını belirlemede önemli bir rol oynar. Günümüzde, sistein gıda, ilaç ve kozmetik gibi birçok endüstride yaygın olarak

* Sorumlu Yazar

E-posta adresleri: sait.malkondu@giresun.edu.tr (S. Malkondu), serdemir82@selcuk.edu.tr (S. Erdemir)¹ ORCID: 0000-0002-6806-4188² ORCID: 0000-0003-0790-0549Doi: [10.35238/sufefd.1115890](https://doi.org/10.35238/sufefd.1115890)

E-ISSN: 2458-9411

kullanılmaktadır. Kuruyemiş, et, tahıl, meyve ve sebzelerin doğal yapısında bulunur ve eksikliği bu gıdalar ile giderilebilir (Demirkol ve ark., 2004; Berehoiu ve ark., 2013). Dahası, vücut metabolizmasında önemli rolleri vardır. Protein ve hormon sentezi, biyolojik tiyol homeostasisin korunması, biyokataliz, metal bağlama ve ksenobiyotik detoksifikasyon gibi birçok fizyolojik süreçte kritik rol oynar (Quig, 1998; Dickinson ve Forman, 2002; Dietz ve ark., 2002). Sistein seviyesinin anormal seviyelere çıkması birçok hastalığın oluşmasına yol açabilir. Dolayısıyla sistein seviyesinin biyolojik ortamda belirlenmesi oldukça önemlidir.

Şimdiye kadar sistein tayini için gaz kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, voltametri, kapiler elektroforez gibi teknikler uygulanmıştır (Amini ve ark., 2003; Küster ve ark., 2008; Özyürek ve ark., 2012; Tao ve ark., 2012). İlave olarak raman spektroskopisi kullanılarak un numunelerindeki L-sistein miktarı tayin edilmiştir (Cebi ve ark., 2017). Bununla birlikte bu metotlar pahalı cihaz gereksinimi, yerinde ölçüm yapamama, pahalı, karmaşık ve uzun analiz süresi gibi birçok dezavantaja sahiptir. Floresans metodu kısa tayin zamanı, yüksek hassasiyet, anlık izleme, yerinde tayin gibi avantajlara sahip olduğundan son zamanlarda oldukça çok kullanılan bir metot haline gelmiştir. Uyarılmış hal molekül içi proton transferi (Excited state intramolecular proton transfer, ESIPT) reaktif analitlerin floresans temelli tayinini mümkün kılacak hızlı fotoizomerleşme yollarına dayalıdır (Bao ve ark., 2017). Uyarılmış moleküllerde proton transferi deneysel olarak ilk olarak gözlemlendiği 1956 yılından bu yana, ESIPT reaksiyonları ışık yayan diyotlar (OLED) (Gupta ve ark., 2021), moleküler anahtarlar (Das ve ark., 2021) ve floresans algılama (Qin ve ark., 2018; Sedgwick ve ark., 2018) alanında geniş uygulama bulmasından ötürü, birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Genelde, ESIPT floresansı tautomer (enol ve keton) oluşumuyla sonuçlanan ve molekülde proton vericisinden hidrojen bağı aracılığıyla komşu pozisyonundaki proton alıcısına transfer olan çok hızlı bir işlemdir (Li ve ark., 2011; Su ve ark., 2019). Bu fotofiziksel özelliğe dayalı olarak, birçok floresans algılayıcı ESIPT işleminin bozulmasıyla veya oluşmasıyla tasarlanmıştır (Zhao ve ark., 2012).

Sistein tayini için şimdiye kadar birçok floresans sensör molekülü rapor edilmiştir (Niu ve ark., 2015; Yan ve ark., 2018; Xu ve ark., 2019; Yang ve ark., 2019; Dai ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020). Bu tekniklerin çoğunun etkinlik önünden farklılık göstermekle birlikte düşük seçicilik, düşük hassasiyet, geç cevap alma gibi sınırlamaları mevcuttur. Dolayısıyla, bu çalışmada seçici ve hassas sistein tayininde kolorimetrik ve floresans sensör olarak kullanılabilen sentezi kolay ve ekonomik benzotiyazol temelli yeni bir algılayıcı molekül sentezi ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Yapısı itibarıyla oldukça seçimli ve hassas bir algılayıcı olması beklenmektedir. Çalışma kapsamı sadece algılayıcı molekülün sentezi ve karakterizasyonuna imkân vermiştir ve algılayıcının sistein ile etkileşim mekanizması teorik hesaplamalar aracılığıyla incelenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kullanılan cihazlar ve kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Sigma-Aldrich, Merck ve Fluka şirketlerinden temin edildi. Ticari kimyasal maddeler ön saflaştırma işlemi yapılmadan alındığı

şekilde kullanıldı. Reaksiyonlar, ince tabaka kromatografisi (Merck 60 Kieselgel F 254) yapılarak UV lambası altında izlendi.

Sentezlenen bileşiklerin ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları Varian 400 MHz spektrometresinde CDCl₃ veya DMSO-d₆ çözücülerini kullanılarak alındı. NMR spektrumunda kimyasal kayma değerleri (δ) ppm cinsinden belirtildi. Erime noktası Gallenkamp marka erime noktası tayin cihazı ile yapıldı. FT-IR spektrumları Perkin Elmer spektrum 100 spektrofotometresinde alındı. MALDI-TOF-MS analizi ise Agilent 6230B TOF LC kütle spektrometresi ile gerçekleştirildi.

2.2. 4-(2-benzotiyazolil)fenol (2)

Bu bileşik literatürde belirtilen metoda göre hazırlanmıştır (Wang ve ark., 2009).

2.3. 5-(2-Benzotiyazolil)-2-hidroksibenzaldehit (3)

Bu bileşik literatürde belirtilen metoda göre hazırlanmıştır (Dahal ve ark., 2017).

2.4. 2,4-Bis(benzo[d]tiyazol-2-il)fenol (DBF)

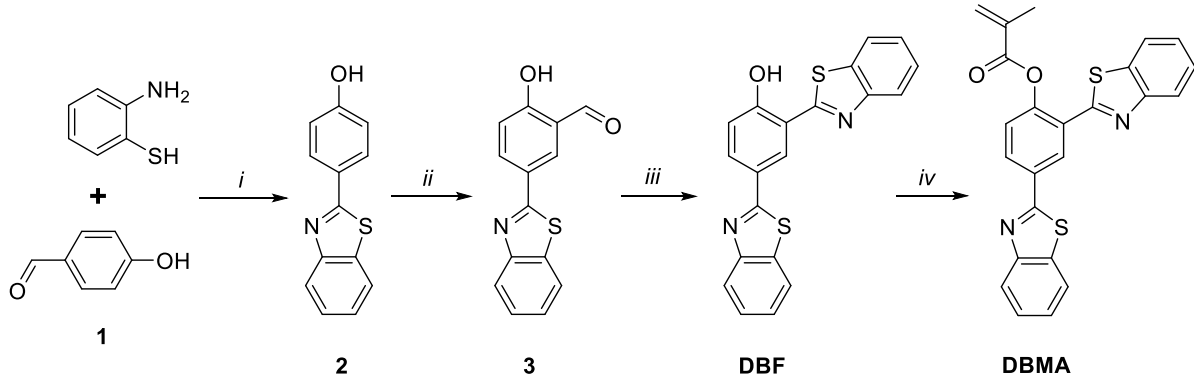
Bu bileşik literatürde belirtilen metoda göre hazırlanmıştır (Li ve ark., 2019).

2.5. 2,4-bis(benzo[d]tiyazol-2-il)fenil metakrilat (DBMA)

Buz banyosundaki bir balonda bulunan 2,4-bis(benzo[d]tiyazol-2-il)fenol (DBF) (360 mg, 1.0 mmol) ve trietilaminin (400 mg, 4.0 mmol) susuz diklormetan (8 ml) içerisindeki karışımı üzerinde metil metakrilik asit klorürü (3.0 ml) ilave edildi. Karışım 0 °C sıcaklıkta 30 dk. boyunca karıştırıldı ve sonrasında oda sıcaklığına gelmesi için 4 saat daha karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, çözücü uzaklaştırıldı ve geride kalan kalıntı kolon kromatografisi ile etil asetat/hekzan (6/1, v/v) karışımından izole edildi. Ürün sarı renkli olarak %45 verimle 186 mg ürün elde edildi. FTIR (ATR, cm⁻¹): ν = 1733 (C=O), 1637 (C=N), 1583 (C=C); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.05 (d, 1H, J=2.4Hz, ArH), 8.26 (dd, J = 6.3, 4.2 Hz, 1H, ArH), 8.15 (dd, J = 8.2, 5.0 Hz, 4H, ArH), 7.60 (dd, J = 12.3, 3.9 Hz, 3H, ArH), 7.50 (d, J = 2.6 Hz, 2H), 6.48 (d, J = 3.7 Hz, 1H, akril CH), 6.10 (s, 1H, akril CH), 2.11 (d, 3H, CH₃). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ 165.9, 165.4, 161.0, 153.9, 152.4, 150.6, 135.4, 135.4, 135.1, 131.7, 130.9, 130.2, 128.0, 127.4, 127.43, 126.9, 126.4, 126.3, 126.1, 123.6, 123.5, 122.9, 122.75, 18.4. MALDI-TOF-MS: hesaplanan C₂₄H₁₆N₂O₂S₂ (M+H)⁺: 429.0800, bulunan: 429.0741.

3. Sonuçlar ve Tartışma

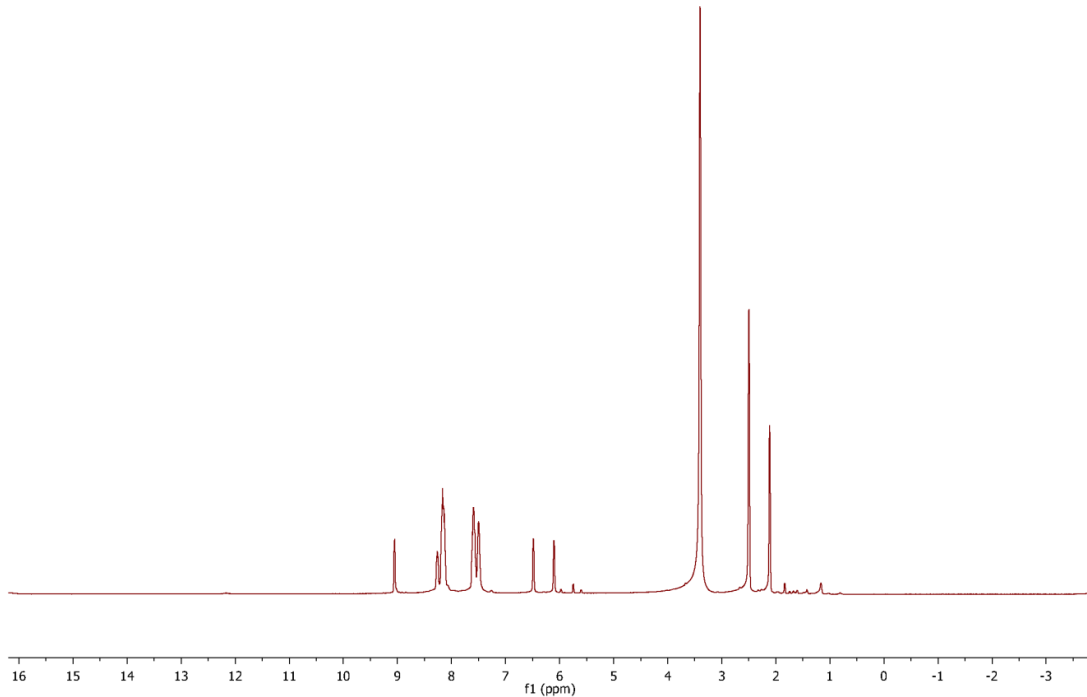
Algılayıcı molekülün sentezi dört sentez basamağı üzerinden gerçekleştirilmiştir (Şema 1). İlk basamakta 4-hidroksi benzaldehit ile 2-aminotiyofenol arasındaki halkalaşma tepkimesinden 4-(2-benzotiyazolil)fenol (2) bileşiği elde edilmiştir. Ardından, bileşik 2 Duff reaksiyonu aracılığıyla aldehit türevine (3) dönüştürülmüştür. Birinci basamakta uygulanan halkalaşma tepkimesi aracılığıyla 2,4-bis(benzo[d]tiyazol-2-il)fenol (DBF) elde edilmiştir. Son basamakta metil metakrilik asit klorürü ile DBF bileşiği etkileştirilerek 2,4-bis(benzo[d]tiyazol-2-il)fenil metakrilat (DBMA) bileşiği elde edilmiştir.



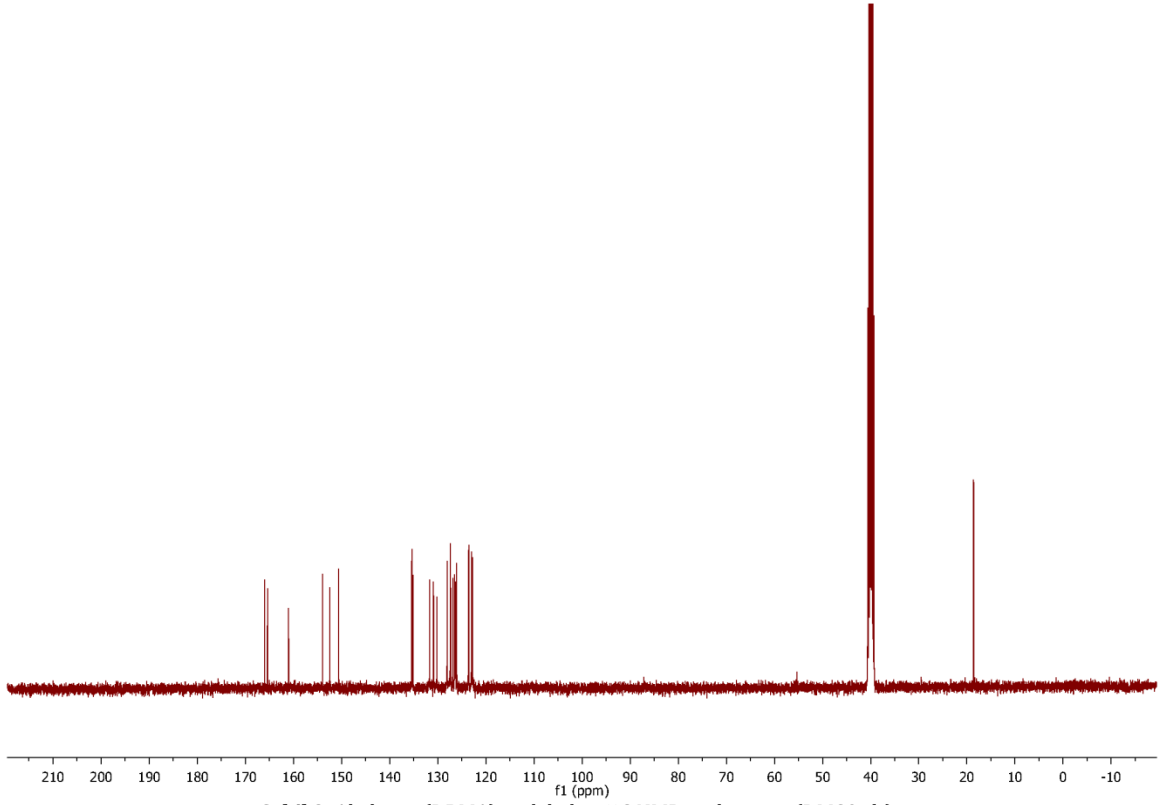
Şema 1. Sistein algılayıcısının (DBMA) sentez şeması, i) EtOH, ısı; ii) heksametilentetramin, trifloro asetik asit (iii) 2-aminotiyoferol, EtOH, ısı; iv) metil metakrilik asit klorürü, trietilamin, CH₂Cl₂, 0 °C.

Sentezlenen ara ürünlerin kimyasal yapıları ¹H NMR ve son ürünün yapısı ¹H, ¹³C, APT NMR, FT-IR ve TOF-MS teknikleri kullanılarak aydınlatılmıştır. 4-(2-Benzotriazolil)fenol (2) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu incelendiğinde, δ 10.25 ppm de gözlenen singlet pik fenolik hidroksil grubuna ait olan proton sinyalidir (Şekil 1). Aromatik protonlara ait sinyaller δ 8.04-6.92 ppm aralığında dublet, dubletin dubleti ve multipler olarak gözlenmektedir. İntegrasyon değerleri de dikkate alındığında bileşik 2'nin kimyasal yapısı doğrulanmıştır. Bileşik 2'nin aldehit türevi olan 5-(2-benzotriazolil)-2-hidroksibenzoaldehit bileşiğine (3) dönüşmesi ¹H NMR spektrumunda δ 10.33 ppm de aldehit grubuna ait proton sinyalinin ortaya çıkması ile doğrulanmıştır. Bileşik 3'ün 2-aminotiyoferol ile halkalaşma tepkimesinden oluşan 2,4-bis(benzo[d]tiyazol-2-il)fenol (DBF) bileşiğinin yapısı, bileşik 3'ün ¹H NMR spektrumunda aldehit grubuna ait proton sinyalinin kaybolması ve yeni δ 9.00-7.22 ppm aralığında yeni aromatik proton sinyallerin gözlenmesi ile doğrulanmıştır. Son basamakta, algılayıcı birim metil metakrilik asit klorürün 2,4-bis(benzo[d]tiyazol-

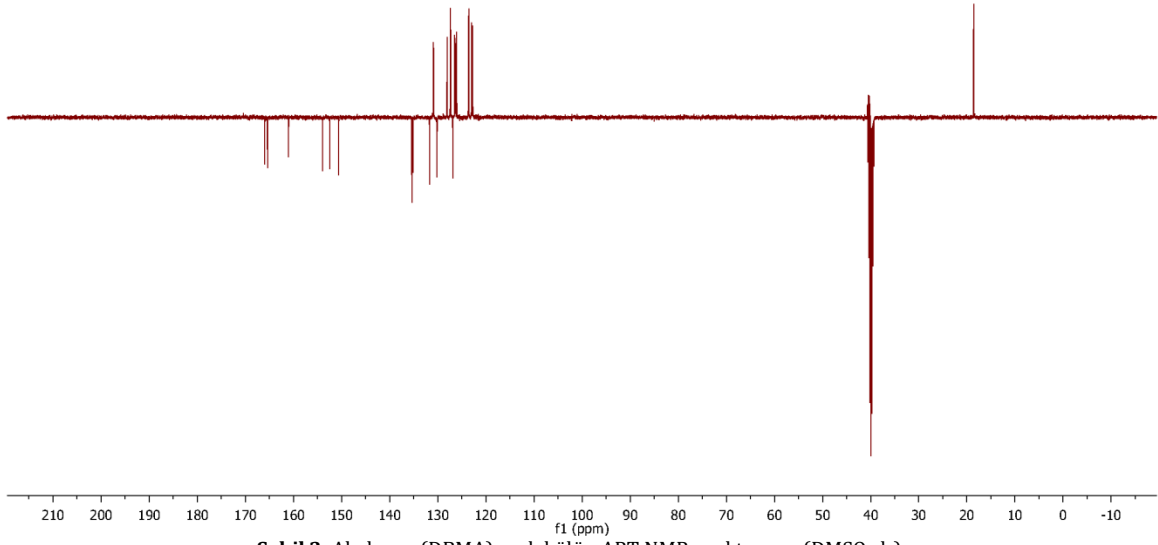
2-il)fenol bileşiğine dahil edilmesi, ¹H NMR spektrumunda, metakril grubuna ait alken hidrojenlerinin δ 6.48 ve 6.10 ppm de, metil hidrojenlerinin δ 2.11 ppm de gözlenmesiyle doğrulanmıştır. ¹³C NMR spektrumu incelendiğinde, beklenen 24 farklı karbon atomuna ait 24 adet sinyal gözlenmesi bileşiğin yapısı desteklenmiştir (Şekil 2). APT NMR spektrumu incelendiğinde bileşiğin yapısına uygun olarak karbon atomlarının hidrojen bağlı durumlarına göre uygun şekilde ayrıştığı görülmektedir (Şekil 3). FTIR spektrumunda 1733 cm⁻¹ bölgesinde gözlenen şiddetli bant C=O titreşim frekansına işaret etmektedir. C=N ve C=C gruplarına ait titreşim frekansları sırasıyla 1637 ve 1583 cm⁻¹ bölgesinde düşük şiddette gözlenmiştir (Şekil 4). Ayrıca, algılayıcı DBMA'nın yapısı TOF-MS analizi ile doğrulanmıştır. Teorik olarak hesaplanan C₂₄H₁₆N₂O₂S₂ [DBMA+H]⁺: 429.0800 kütle, deneysel olarak 429.0741 bulunmuştur (Şekil 5). Bu değerlendirmeler ışığında, hedef algılayıcı bileşiğin başarılı bir şekilde sentezlendiği görülmektedir.



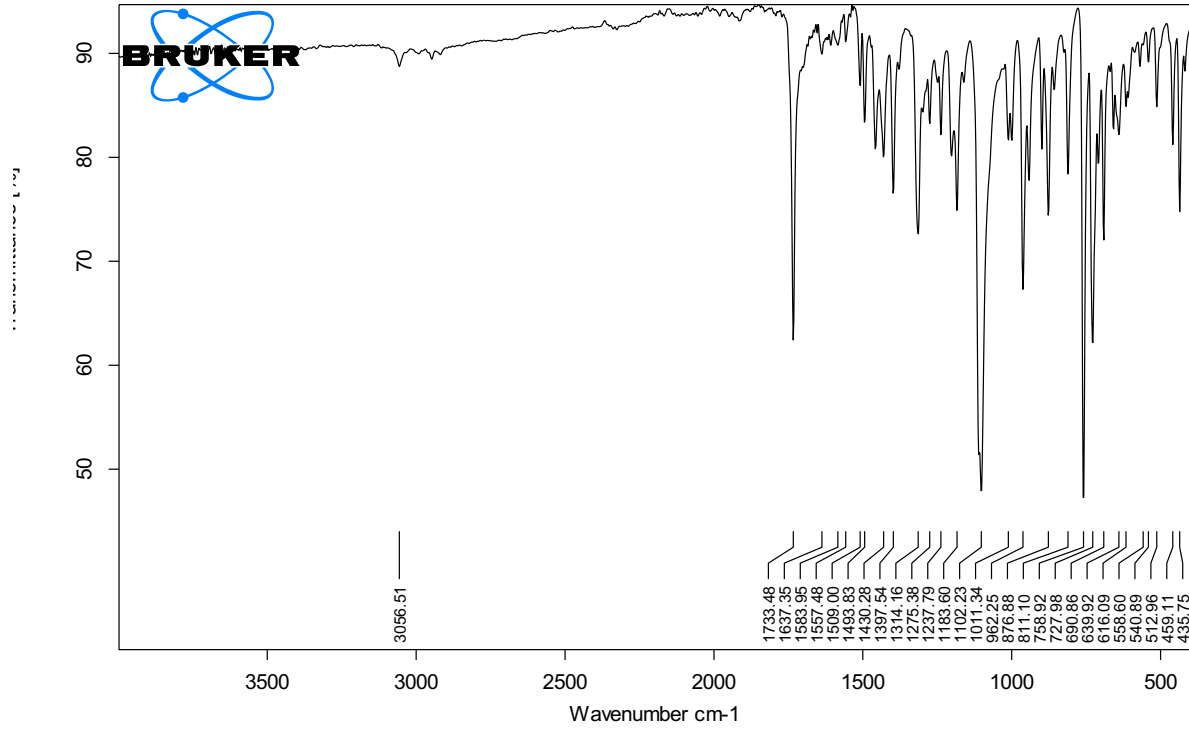
Şekil 1. Algılayıcı (DBMA) molekülün ¹H NMR spektrumu, (DMSO-d₆).



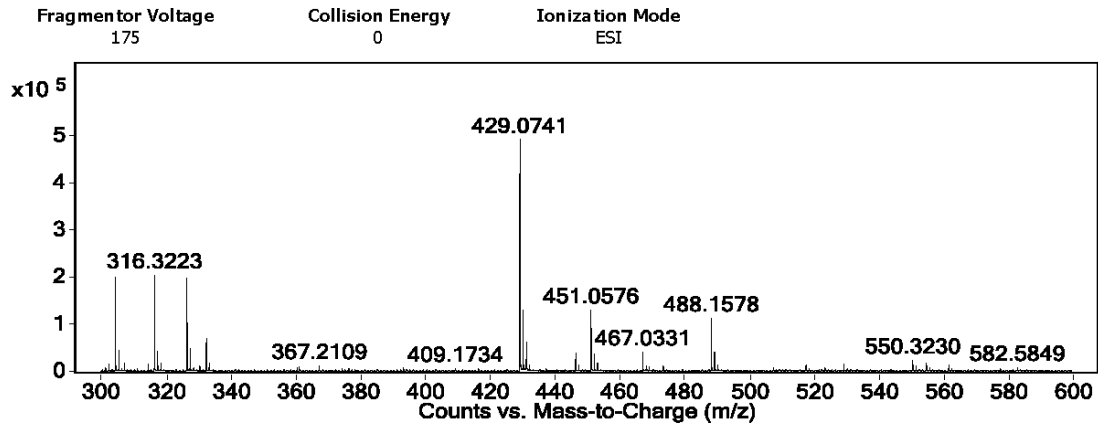
Şekil 2. Algılayıcı (DBMA) molekülün ^{13}C NMR spektrumu, (DMSO-d_6).



Şekil 3. Algılayıcı (DBMA) molekülün APT NMR spektrumu, (DMSO-d_6).



Şekil 4. Algılayıcı (DBMA) molekülün FT-IR spektrumu, (ATR, katı).

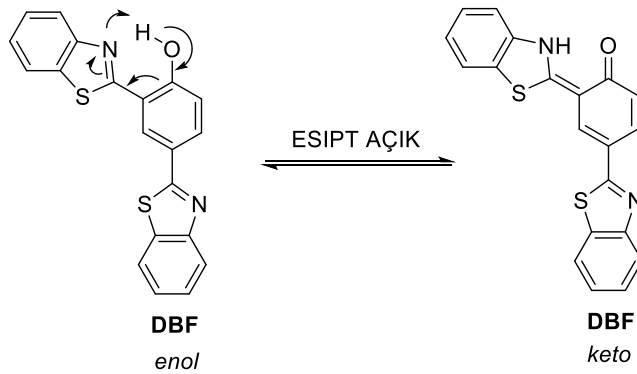
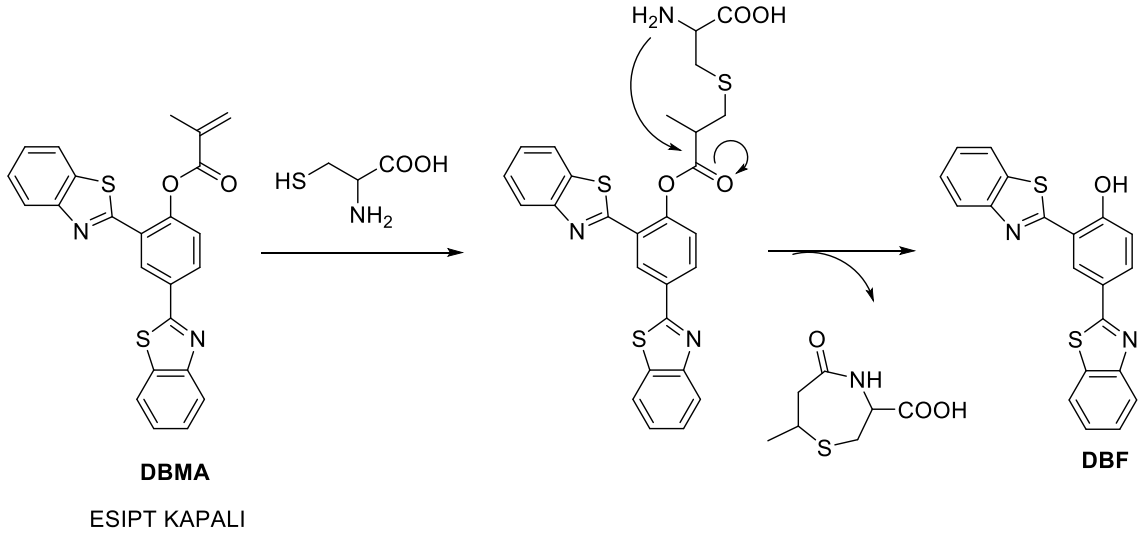


Şekil 5. Algılayıcı (DBMA) molekülün TOF-MS spektrumu.

Sistein tarafından başlatılan hızlı tiyolaktam halkalaşma reaksiyonu aracılığıyla sisteini kolorimetrik ve fluorimetrik olarak tayin edebilecek bir molekül tasarımı yapılmıştır (Şema 2). Algılayıcı molekül yapısında sinyal üretici birim olarak iki adet benzotiyazol ve algılama birimi olarak reaktif akril birimi içermektedir. Akrilat grubu algılayıcı molekülde mevcut olduğunda uyarılmış hal ESIPT işlemini engelleyecektir ve algılayıcının belirli bir dalga boyunda fluoresansı olacaktır. Sistein varlığında, algılayıcı DBMA katılma-halkalaşma reaksiyonuna uğrayarak fenolik OH grubunun serbest olduğu DBF bileşiğine dönüşecek ve ESIPT işlemi aktif hale gelerek kırmızıya kayan bir tautomer (enol-keto) emisyonuna yol açacaktır. 2-(2'-Hidroksifenil)benzotiyazol (HBT) ve türevleri oldukça hızlı dört seviyeli fotokimyasal bir proses üzerinden $k_{ESIPT} > 10^{12}$

S^{-1} katsayısı ile enol formundan keto formuna geçtiğinden araştırmacılar tarafından sürekli incelenmektedir. Uyarıldığında, ESIPT prosesi aktive olur ve güçlü molekül içi hidrojen bağı sayesinde molekülün düzlemselliği ve rijitliği artar.

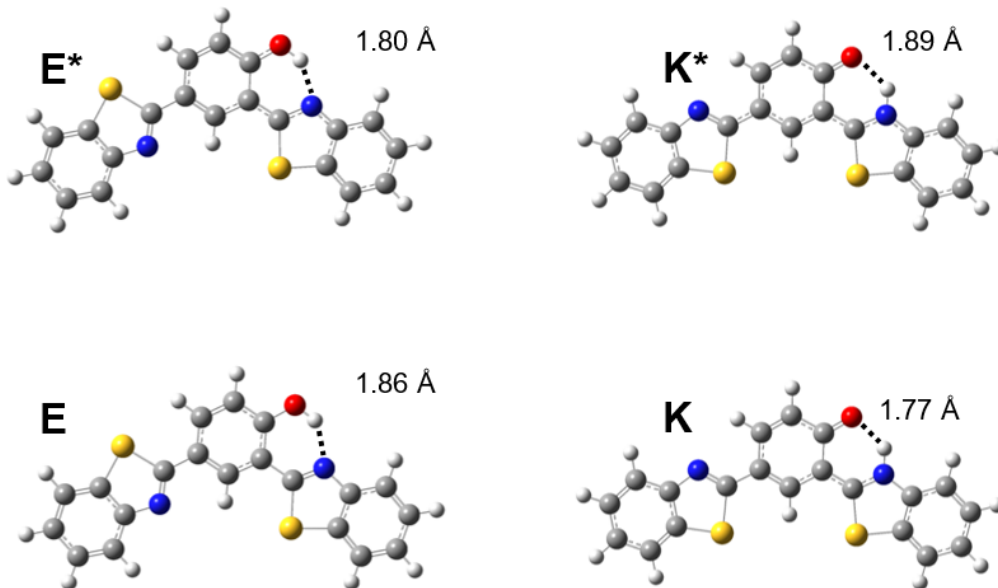
Sistein tayininde yer alan DBMA ve DBF bileşiklerinin molekül yapılarını ve fotofiziksel özelliklerini ortaya çıkarmak üzere, ab initio moleküler orbital yöntemlerini içeren hesaplamalar Gaussian 09 moleküler modelleme yazılımı üzerinde HF/6-31G baz seti ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, her iki bileşiğin temel hal geometrileri optimize edilmiştir. Daha sonra singlet uyarılmış hallerin enerjileri, λ_{max} , osilatör gücü (f) ve temel orbital katkıları hesaplanmıştır.



Şema 2. Algılayıcı DBMA ile sistemin etkileşimi neticesinde ortaya çıkan ESIPT mekanizması.

Bileşik DBF nin temel ve uyarılmış haldeki enol ve keto formlarının optimize geometrik yapıları ve karşılık gelen hidrojen bağ uzunlukları ab initio moleküler orbital yöntemi ve 6-31G baz seti kullanılarak hesaplanmıştır (Şekil 6). E (K*) ve E* (K) formlarına bakıldığında, molekül içi hidrojen bağının 1.86 (1.89) Å dan 1.80 (1.77) Å uzunluğuna azaldığı görülmüştür. Sonuçlar, $S_0 \rightarrow S_1$ ($S_1 \rightarrow S_0$) molekül içi hidrojen

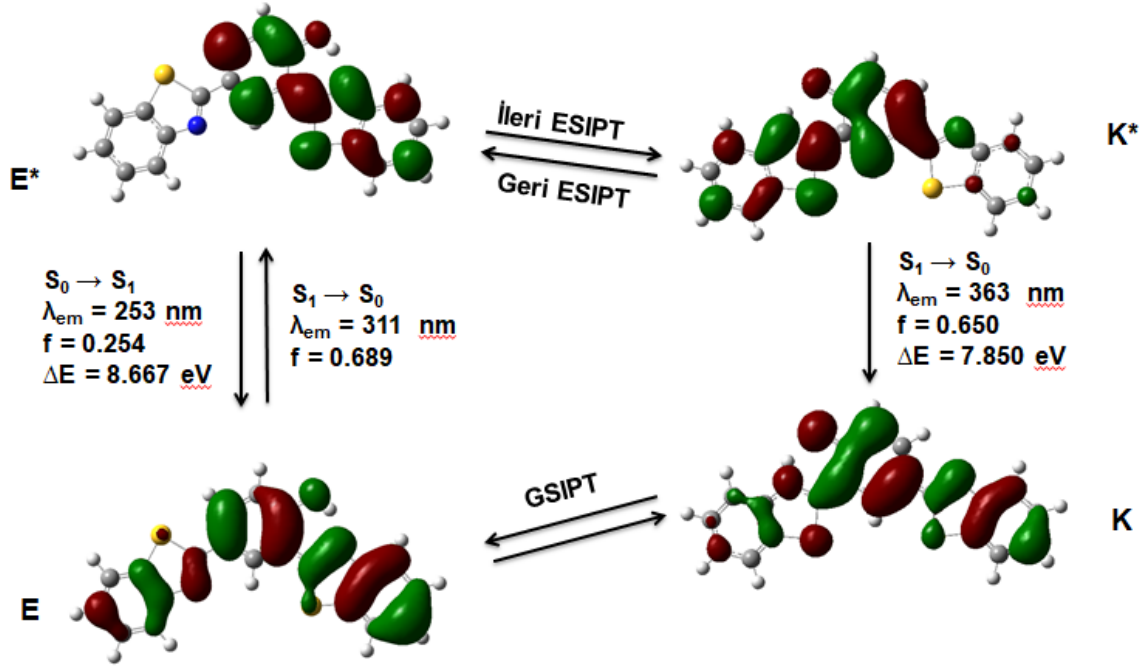
bağının gücünün önceki çalışmalar ile uyum içerisinde olduğunu göstermektedir (Chen ve ark., 2014). Dolayısıyla, molekül içi hidrojen bağ uzunluğunun E (K*) den E* (K) ya doğru azalması ESIPT (GSIPT: temel seviye molekül içi proton transferi) reaksiyonu için çok önemli pozitif bir faktördür.



Şekil 6. DBF bileşiğinin enol (E) ve keto (K) formlarının temel ve uyarılmış haldeki optimize geometrik yapıları ve molekül içi hidrojen bağ uzunlukları.

Şekil 7'de DBF bileşiğinin enol ve keto formları için en yüksek enerjili dolu molekül orbitaller (HOMO) ve en düşük enerjili boş molekül orbitaller (LUMO) görülmektedir. HOMO orbitallerin tüm π -konjüge sistem üzerine dağıldığı ve LUMO orbitallerinin ise 2-(2'-hidroksifenil)benzotiyazol grubu üzerine lokalize olduğu görülmektedir. Ayrıca, molekül içi hidrojen bağ sistemi etrafındaki HOMO ve LUMO orbitallerindeki elektron yoğunluğu başlıca hidroksil oksijeni ve tiyazol azot atomunda bulunmaktadır. Sonuçlar,

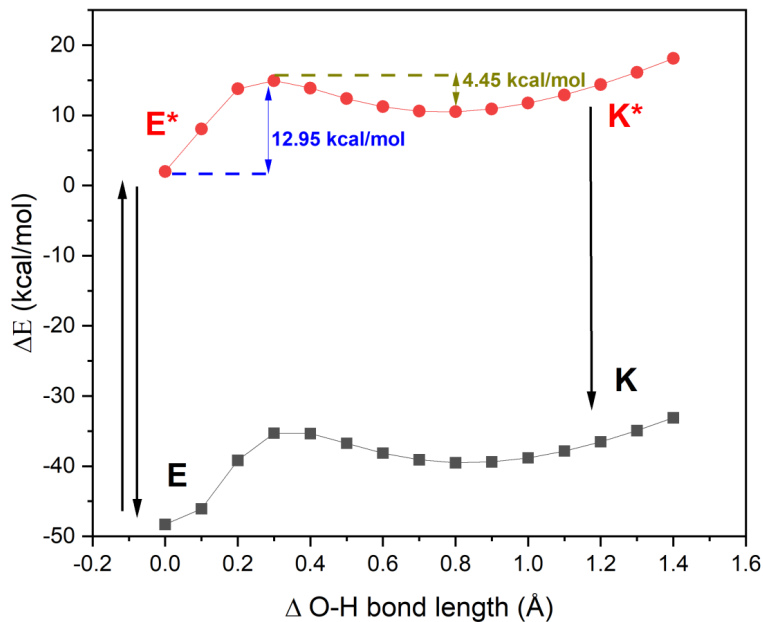
DBF bileşiği uyarıldığında proton transfer reaksiyonunu (ileri ESIPT) yönlendiren hidroksil protonunun en asidik olduğunu ve aksine temel seviyeye nazaran tiyazol azotunun daha bazik olduğunu göstermektedir. İleri ESIPT ($E^* \rightarrow K^*$) sonrasında oksijen üzerindeki elektron yoğunluğu artarken azot üzerindeki azalması, azottan oksijene belirgin molekül içi bir yük transferinin olduğuna işaret etmektedir. Bu durum azottan oksijene proton transferi için sürücü güç olabilir ve böylece uyarılmış halde denge söz konusu olabilir.



Şekil 7. Bileşik DBF nin E, E*, K ve K* formlarına ait sınır molekül orbitalleri.

DBF bileşiğinin ESIPT özelliklerinin açıklamak için, O-H bağ uzunluğunun (enol formundan keto formuna geçiş) fonksiyonu olarak temel ve uyarılmış seviyede molekül içi proton transferinin potansiyel enerji eğrileri elde edilmiştir (Şekil 8). Diğer taraftan, HF/6-31G teorik seviyeye dayalı olarak tam geometri optimizasyonu temel ve uyarılmış seviyelerdeki enol formunun karşılık gelen keto seviyesinden daha kararlı olduğunu göstermektedir. Sonuç

olarak, ketodan enole proton transferi baskındır. Ayrıca, artan fenolik asitlik (hidrojen bağ uzunluğu) tautomerlerin kararlılaşmasıyla tautomerleşme enerjisini düşürür. Uyarılmış halde, ileri ESIPT (12.95 kcal/mol) ve geri ESIPT (4.45 kcal/mol) tepkimelerinin potansiyel enerji bariyerleri hesaplanmıştır. Dolayısıyla, ileri ve geri ESIPT benzer bir zaman ölçeğinde gerçekleşebilir ve sonuçta hızlı kurulan uyarılmış hal dengesine yol açabilir.



Şekil 8. Temel ve uyarılmış seviyede bileşik DBF nin enol ve keto formlarının potansiyel enerji eğrileri.

Özetle, ESIPT temelli yeni bir sistein algılayıcı molekül başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. Algılayıcı bileşiğin kimyasal yapısı FT-IR, NMR ve MS gibi metotlar yardımıyla karakterize edilmiştir. Bileşik DBMA sistein ile katılma-halkalaşma tepkimesi sonrasında, uyarılmış halde molekül için proton transfer reaksiyonuna uğrayan DBF bileşiğine dönüşür. DBF bileşiğinin enol ve keto formlarının dengede bulunmasından ötürü farklı dalga boylarında emisyon sergileyen tautomer yapılar ortaya çıkar. Teorik olarak geometrik yapıların analizi, molekül uyarıldığında molekül için hidrojen bağ uzunluğunun açıkça kısalacağını göstermiştir. Potansiyel enerji eğrileri ileri ve geri yönlü ESIPT prosesinde temel ve uyarılmış hal enol formunun baskın olacağına işaret etmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmaya (FEN-BAP-A-270220-58) maddi destek veren Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

Referanslar

- Amini, M. K., Khorasani, J. H., Khaloo, S. S. ve Tangestaninejad, S., 2003, Cobalt (II) salophen-modified carbon-paste electrode for potentiometric and voltammetric determination of cysteine, *Analytical biochemistry*, 320 (1), 32-38.
- Bao, D., Wang, M., Yang, C., Yang, Y. ve Ma, X., 2017, Concerted Mechanisms of Excited-State Proton Intramolecular Transfer for Bis-2, 4-(2-benzoxazolyl)-hydroquinone and Its Derivatives, *The Journal of Physical Chemistry A*, 121 (43), 8217-8226.
- Berehoiu, R. M. T., Popa, C. N. ve Popescu, S., 2013, Assessment of the E 920 additive (L-cysteine) in relation to some problems of modern food industry, *ASSESSMENT*, 13 (1).
- Cebi, N., Dogan, C. E., Develioglu, A., Yayla, M. E. A. ve Sagdic, O., 2017, Detection of L-Cysteine in wheat flour by Raman microspectroscopy combined chemometrics of HCA and PCA, *Food chemistry*, 228, 116-124.
- Chen, K.-Y., Tsai, H.-Y., Lin, W.-C., Chu, H.-H., Weng, Y.-C. ve Chan, C.-C., 2014, ESIPT fluorescent dyes with adjustable optical properties: Substituent and conjugation effects, *Journal of Luminescence*, 154, 168-177.
- Dahal, D., McDonald, L., Bi, X., Abeywickrama, C., Gombedza, F., Konopka, M., Paruchuri, S. ve Pang, Y., 2017, An NIR-emitting lysosome-targeting probe with large Stokes shift via coupling cyanine and excited-state intramolecular proton transfer, *Chemical Communications*, 53 (26), 3697-3700.
- Dai, J., Ma, C., Zhang, P., Fu, Y. ve Shen, B., 2020, Recent progress in the development of fluorescent probes for detection of biothiols, *Dyes and Pigments*, 177, 108321.
- Das, M., Brahma, M. ve Krishnamoorthy, G., 2021, Light-Driven Switching between Intramolecular Proton-Transfer and Charge-Transfer States, *The Journal of Physical Chemistry B*, 125 (9), 2339-2350.
- Demirkol, O., Adams, C. ve Ercal, N., 2004, Biologically important thiols in various vegetables and fruits, *Journal of agricultural and food chemistry*, 52 (26), 8151-8154.
- Dickinson, D. A. ve Forman, H. J., 2002, Cellular glutathione and thiols metabolism, *Biochemical pharmacology*, 64 (5-6), 1019-1026.
- Dietz, K.-J., Horling, F., Konig, J. ve Baier, M., 2002, The function of the chloroplast 2-cysteine peroxidoredoxin in peroxide detoxification and its regulation, *Journal of experimental botany*, 53 (372), 1321-1329.
- Gupta, A. K., Li, W., Ruseckas, A., Lian, C., Carpenter-Warren, C. L., Cordes, D. B., Slawin, A. M., Jacquemin, D., Samuel, I. D. ve Zysman-Colman, E., 2021, Thermally activated delayed fluorescence emitters with intramolecular proton transfer for high luminance solution-processed organic light-emitting diodes, *ACS applied materials & interfaces*, 13 (13), 15459-15474.
- Küster, A., Tea, I., Sweeten, S., Rozé, J.-C., Robins, R. J. ve Darmaun, D., 2008, Simultaneous determination of glutathione and cysteine concentrations and 2 H enrichments in microvolumes of neonatal blood using gas chromatography-mass spectrometry, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 390 (5), 1403-1412.
- Li, H., Li, H., Yang, L., Xu, X., Zhang, S. ve Gao, F., 2011, Excited state intramolecular proton transfer fluorescence emission of o-hydroxyphenyl-triazine derivatives, *Chinese Science Bulletin*, 56 (14), 1457-1460.
- Li, M., Zheng, K., Chen, H., Liu, X., Xiao, S., Yan, J., Tan, X. ve Zhang, N., 2019, A novel 2, 5-bis (benzo [d] thiazol-2-yl) phenol scaffold-based ratiometric fluorescent probe for sensing cysteine in aqueous solution and serum, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 217, 1-7.
- Niu, L.-Y., Chen, Y.-Z., Zheng, H.-R., Wu, L.-Z., Tung, C.-H. ve Yang, Q.-Z., 2015, Design strategies of fluorescent probes for selective detection among biothiols, *Chemical Society Reviews*, 44 (17), 6143-6160.
- Özyürek, M., Baki, S., Güngör, N., Çelik, S. E., Güçlü, K. ve Apak, R., 2012, Determination of biothiols by a novel on-line HPLC-DTNB assay with post-column detection, *Analytica chimica acta*, 750, 173-181.
- Paulsen, C. E. ve Carroll, K. S., 2013, Cysteine-mediated redox signaling: chemistry, biology, and tools for discovery, *Chemical reviews*, 113 (7), 4633-4679.
- Qin, T., Liu, B., Huang, Y., Yang, K., Zhu, K., Luo, Z., Pan, C. ve Wang, L., 2018, Ratiometric fluorescent monitoring of methanol in biodiesel by using an ESIPT-based flavonoid probe, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 277, 484-491.
- Quig, D., 1998, Cysteine metabolism and metal toxicity, *Alternative Medicine Review*, 3, 262-270.
- Ralph, T., Hitchman, M., Millington, J. ve Walsh, F., 1994, The electrochemistry of l-cystine and l-cysteine: Part 1: Thermodynamic and kinetic studies, *Journal of electroanalytical chemistry*, 375 (1-2), 1-15.
- Sedgwick, A. C., Wu, L., Han, H.-H., Bull, S. D., He, X.-P., James, T. D., Sessler, J. L., Tang, B. Z., Tian, H. ve Yoon, J., 2018, Excited-state intramolecular proton-transfer (ESIPT) based fluorescence sensors and imaging agents, *Chemical Society Reviews*, 47 (23), 8842-8880.
- Stipanuk, M. H., Dominy Jr, J. E., Lee, J.-I. ve Coloso, R. M., 2006, Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism, *The Journal of nutrition*, 136 (6), 1652S-1659S.
- Su, Y., Li, K. ve Yu, X., 2019, Theoretical studies on the fluorescence enhancement of benzaldehydes by intermolecular hydrogen bonding, *The Journal of Physical Chemistry B*, 123 (4), 884-890.
- Tao, Y., Zhang, X., Wang, J., Wang, X. ve Yang, N., 2012, Simultaneous determination of cysteine, ascorbic acid and uric acid by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence, *Journal of electroanalytical chemistry*, 674, 65-70.
- Wang, Y.-T., Jin, K. J., Myers, L. R., Glover, S. A. ve Novak, M., 2009, Hydrolysis and photolysis of 4-Acetoxy-4-

- (benzothiazol-2-yl)-2, 5-cyclohexadien-1-one, a model anti-tumor quinol ester, *The Journal of organic chemistry*, 74 (12), 4463-4471.
- Wu, G., Fang, Y.-Z., Yang, S., Lupton, J. R. ve Turner, N. D., 2004, Glutathione metabolism and its implications for health, *The Journal of nutrition*, 134 (3), 489-492.
- Xu, Z., Qin, T., Zhou, X., Wang, L. ve Liu, B., 2019, Fluorescent probes with multiple channels for simultaneous detection of Cys, Hcy, GSH, and H₂S, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 121, 115672.
- Yan, F., Sun, X., Zu, F., Bai, Z., Jiang, Y., Fan, K. ve Wang, J., 2018, Fluorescent probes for detecting cysteine, *Methods and applications in fluorescence*, 6 (4), 042001.
- Yang, M., Ma, L., Li, J. ve Kang, L., 2019, Fluorescent probe for Cu²⁺ and the secondary application of the resultant complex to detect cysteine, *RSC Advances*, 9 (29), 16812-16818.
- Zhang, J., Wang, N., Ji, X., Tao, Y., Wang, J. ve Zhao, W., 2020, BODIPY-based fluorescent probes for biothiols, *Chemistry-A European Journal*.
- Zhao, J., Ji, S., Chen, Y., Guo, H. ve Yang, P., 2012, Excited state intramolecular proton transfer (ESIPT): from principal photophysics to the development of new chromophores and applications in fluorescent molecular probes and luminescent materials, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14 (25), 8803-8817.