



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RODAMİN BAZLI YENİ SCHİFF BAZI TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE METAL İYONLARINA KARŞI FLOROMETRİK VE KOLORİMETRİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Mesut YÜKSEKOĞUL

YÜKSEK LİSANS

Kimya Anabilim Dalı

Ağustos-2017
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Mesut YÜKSEKOĞUL tarafından hazırlanan "**Rodamin bazlı yeni Schiff bazı türevlerinin sentezi ve metal iyonlarına karşı florometrik ve kolorimetrik özelliklerinin incelenmesi**" adlı tez çalışması 03/08/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Başkan Doç. Dr. Nuriye KOÇAK	
Danışman Doç. Dr. Özcan KOÇYİĞİT	
Üye Doç. Dr. Serkan ERDEMİR	

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

03/08/2017



Mesut YÜKSEKOĞUL

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

RODAMİN BAZLI YENİ SCHİFF BAZI TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE METAL İYONLARINA KARŞI FLOROMETRİK VE KOLORİMETRİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Mesut YÜKSEKOĞUL

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özcan KOÇYİĞİT

2017, 60 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. Nuriye KOÇAK
Doç. Dr. Özcan KOÇYİĞİT
Doç. Dr. Serkan ERDEMİR

Bu çalışma, rodamin bazlı yeni reseptörlerin sentezini ve sentezlenen bileşiklerin metal iyonlarına karşı florometrik ve kolorimetrik özelliklerini içermektedir.

Sentez çalışmalarında, ilk olarak etilen diamin ve hidrazin kullanılarak rodamin'in iki tane amin türevi sentezlendi. İkinci olarak ise Bisphenol-A'nın dialdehit ve trifenilaminin mono aldehit türevleri hazırlandı. Daha sonra sentezlenen amin türevleri etanol ortamında Bisphenol-A'nın dialdehit ve trifenilaminin mono aldehit türevleri ile etkileştirilerek rodamin bazlı Schiff bazı türevleri elde edildi (**R1**, **R2**). Elde edilen tüm bileşiklerin yapıları NMR teknikleri (^{1}H NMR, ^{13}C NMR, COSY NMR), FT-IR ve elemental analiz yöntemleri ile aydınlatıldı.

Sentezlenen reseptörlerin (R1 ve R2) metal iyonlarına (Li^{+}, Na^{+}, Cs^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Ag^{+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Al^{3+}, Pb^{2+}) karşı florometrik ve kolorimetrik özellikleri floresans ve UV-vis. Spektroskopisi ile incelendi. **R1** (rodamin-bisfenol-A), asetonitril ortamında kullanılan metal iyonları arasında sadece Zn^{2+} iyonuna, asetonitril-su ortamında ise Hg^{2+} iyonuna karşı seçimlilik gösterdi. Bu seçimlilik farklı mekanizmalar (FRET ve ESIPT) ile açıklandı. Diğer taraftan, sentezlenen **R2** (rodamin-trifenilamin) reseptörü metal iyonlarına karşı kayda değer bir seçimlilik göstermedi. Ayrıca insan prostat kanser hücrelerinde Hg^{2+} iyonunu tayin etmek için BAR reseptörünün kullanılabilirliğini florosans hücre görüntüleme cihazı ile incelendi.

Anahtar Kelimeler: Rodamin, bisfenol-A, trifenilamin, reseptör, floresans

ABSTRACT

MS THESIS

SYNTHESIS OF NOVEL SCHIFF BASE DERİVATIVES BASED ON RHODAMINE AND THE INVESTIGATION OF THEIR FLUOROMETRIC AND COLORIMETRIC PROPERTIES TOWARDS METAL IONS

Mesut YÜKSEKOĞUL

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN CHEMISTRY

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Özcan KOÇYİĞİT

2017, 60 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Nuriye KOÇAK
Assoc. Prof. Dr. Özcan KOÇYİĞİT
Assoc. Prof. Dr. Serkan ERDEMİR

This study contains the synthesis of new receptors based rhodamine and their fluorometric and colorimetric properties towards metal ions.

In the syntheses, firstly, two amine derivatives of rhodamine were synthesized by using ethylenediamine and hydrazine. Secondly, the di-aldehyde of bisphenol-A and mono-aldehyde derivatives of triphenylamine were prepared. Then, rhodamine based Schiff bases (R1 and R2) were obtained by interacting of the prepared aldehyde compounds with rhodamin's amine derivatives in ethanol media. The structures of all compounds were characterized by NMR (^{1}H NMR, ^{13}C NMR, COSY NMR), FT-IR and elemental analysis techniques.

The fluorometric and colorimetric properties of the synthesized receptors (R1 and R2) towards metal ions (Li^{+}, Na^{+}, Cs^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Ag^{+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Al^{3+}, Pb^{2+}) were examined by fluorescence and UV-vis. spectroscopies. R1(rhodamine-bisphenol-A) exhibited an effectively selective toward Zn^{2+} and Hg^{2+} ions in pure MeCN and MeCN-H_2O over other cations, respectively. This selectivity was explained by different mechanisms (FRET and ESIPT). On the other hand, R2 (rhodamine-triphenylamine) did not show significant effect against metal ions. Furthermore, possible uti-lization of BAR as bio-imaging fluorescent probe to detect Hg^{2+}in human prostate cancer cell lines wasalso observed by Fluorescent Cell Imager.

Keywords: Rhodamin, bisphenol-A, triphenylamin, receptör, fluorescence

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Özcan KOÇYİĞİT yönetiminde yapılarak Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

İlk olarak bu çalışmanın seçiminde her türlü bilgi ve öneriyle bana yön veren, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özcan KOÇYİĞİT' a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın tüm aşamalarında bana her konuda yardımını esirgemeyen ve manevi desteğini her zaman hissettiğim Doç. Dr. Serkan ERDEMİR hocama teşekkür ederim.

Ayrıca hayatımın her anında benden desteklerini esirgemeyen, tez çalışmam boyunca bana büyük sabır gösteren ilgi ve sevgilerini her zaman hissettiğim aileme, daima yanımda olan eşim Arzu YÜKSEKOĞUL' a ve manevi desteklerini esirgemeyen tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler…

Mesut YÜKSEKOĞUL

KONYA-2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

1.1 Floresans 1
1.1.1. Floresans Spektroskopisinin Teorisi 1
1.1.1.1. Enerji Trasferi (Energy Transfer) 6
1.1.1.2. Sistemler Arası Geçişler (İntersystem Crossing) 6
1.1.1.3 . İç Dönüşüm(İnternal Conversion) 6
1.1.1.4 . Titreşimsel Dinlenme (Vibrational Relaxation) 6
1.2 Floresansı Etkileyen Değişkenler 6
1.2.1 Yapısal Faktörler 6
1.2.2. Çözünmüş Oksijen 7
1.2.3. Moleküler Katılık 7
1.2.4. Yapısal Rijitlik 8
1.2.5. Sıcaklık 8
1.2.6. pH 9
1.2.7. Çözücü 9
1.3. Floresans Uygulamaları 10
1.3.1. Organik Bileşiklerin Analizi 10
1.3.2. İnorganik Maddelerin Analizi 10
1.3.3. Organometalik Bileşiklerin Analizi 10
1.4. Işık Soğurumu 10
1.5. Moleküler Sensör 11
1.6. Floresans Sensör 11
1.6.1. Işına Dayalı Elektron Transferi(PET) 13
1.6.2. Işına Dayalı Yük Tranferi (PCT) 14
1.6.3. Eksimer Oluşumu 15
1.6.4. Floresans Rezonans Enerji Aktarımı (FRET) 16

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **17**

3.MATERYAL VE YÖNTEM **21**

3.1. Enstrümantal Teknikler 21
3.2 Sentezler 21
3.2.1. Rodamin'in amin türevlerinin sentezi (1,2) 21
3.2.2 Bisfenol-A'nın di-aldehit türevi (3) 22
3.2.3 Trifenilamin'in mono-aldehit türevi (4) 22
3.2.4. Rodamin bazlı Schiff bazlarının sentezi (BAR ve TAR) 23

4. SONUÇ VE TARTIŞMA 24

4.1. Rodamin bazlı reseptörlerin sentezi 24
4.2. UV-vis ve Floresans Ölçümleri 26
4.2.1. UV-vis ve floresans titrasyon deneyleri 26
4.2.2. Kompleks bileşiminin tayini 26
4.2.3. Kompleks bağlanma sabiti 27
4.2.4. Floresans ve Uv-vis çalışmaları 27
4.2.5. BAR'in Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları ile etkileşim mekanizması 34

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 39

KAYNAKLAR 40

EKLER 41

KISALTMALAR

^{1}H NMR	Hidrojen Nükleer Manyetik Rezonans
^{13}C NMR	Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
APT	Attached Proton Test
FT-IR	Fourier Dönüşümü Infrared Spektroskopisi
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
HOMO	En Yüksek Enerjili Dolu Molekül Orbitali
LUMO	En Düşük Enerjili Boş Molekül Orbitali
PET	Foto-indüklenmiş Elektron Transferi
PCT	Foto-indüklenmiş Yük Transferi
EN	Erime Noktası
$CHCl_3$	Kloroform
$CDCl_3$	Dötero Kloroform
DMSO	Dimetil sülfoksit
THF	Tetrahidrofuran
EtOH	Etanol
$NaHCO_3$	Sodyumbikarbonat

1. GİRİŞ

Canlı yaşamını oluşturan en önemli faktörlerin başında toprak, hava ve su gelmektedir. Bu faktörlerin bozulması demek canlı yaşamının tehlikeye girmesi anlamına gelmektedir. Özellikle teknolojinin gelişmesi ile birlikte toprak, hava ve su kirliliğinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu kirliliğe neden olan sebeplerin başında toksik metaller gelmektedir. Toksik metal iyonlarının tespit edilmesi ve bu konuda uygun reseptörlerin bulunması birçok bilim insanının araştırma konusu haline gelmiştir. Toksik metallerin katyonlarının belirlenmesinde birçok analitiksel metotlar olmasına rağmen bu metotların pahalı olması, büyük oranda numune gerektirmesi ve sürekli gözleme imkânının olmaması olumsuz yönleridir. Son zamanlarda hem kimyasal, hem biyolojiksel hem tıp hem de çevresel alanda metal iyonlarının belirlenmesinde florometrik ve kolorimetrik yöntemlerin kullanımı büyük önem arz etmektedir. Florometrik ve kolorimetrik yöntemler kullanarak oluşturulan sensörlerin en önemli özelliklerinin başında hassas olması, tepki süreliğinin kısalığı, seçiciliğinin olması ve sürekli gözleme imkanının olması en önemli avantajlarının başında gelir.

Bu çalışmada florojenik grup olarak rodamin B içeren yeni reseptörlerin hazırlanması ve bu reseptörlerin metal iyonlarına karşı florometrik ve kolorimetrik davranışlarının incelenmesi hedef alınmıştır.

1.1 Floresans

1.1.1. Floresans Spektroskopisinin Teorisi

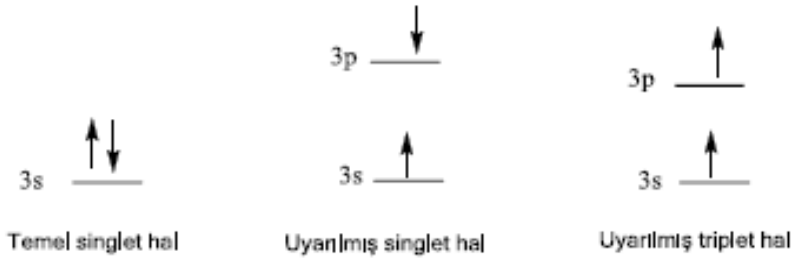
Floresans spekroskopisi fotonların bir molekül tarafından absorblanması sonucunda molekül temel enerji seviyesinden uyarılmış enerji seviyesine geçer. Bu durumda çok kısa bir süre durduktan sonra tekrar eski haline döner. Temel hale geçerken ultraviyole, görünür veya infrared ışınlarını yayar. Molekülün ortamdan aldığı enerjiyi tekrar ortama enerji olarak vermesi olayına “fotolüminesans” ya da “lüminesans” adı verilir. Latince bir kelime olan lüminesans (lümen=ışık) ilk defa Eilhardt Wiedemann tarafından lüminescenz kelimesi ile tanımlanmıştır. Lüminesans, floresans veya fosforesans olmak üzere uyarılmış türün enerji seviyesine göre iki şekilde karşımıza çıkar.

Pauli dışlama ilkesine göre; aynı baş kuantum sayısına sahip, aynı açısal momentum kuantum sayısına sahip, aynı manyetik momentum kuantum sayısına sahip

olan bir elektron çifti aynı spin kuantum sayısına sahip olamaz Mecburen zıt spinli olmak zorundadırlar. Spinlerin bu eşleşme durumlarından dolayı moleküller net bir manyetik alan gösteremezler bu nedenle "Diamanyetik" tirler. Eşleşmemiş elektron içeren radikallerin kendilerine ait bir manyetik momenti vardır. Bu nedenle serbest radikaller "Paramanyetik" olarak adlandırılırlar.

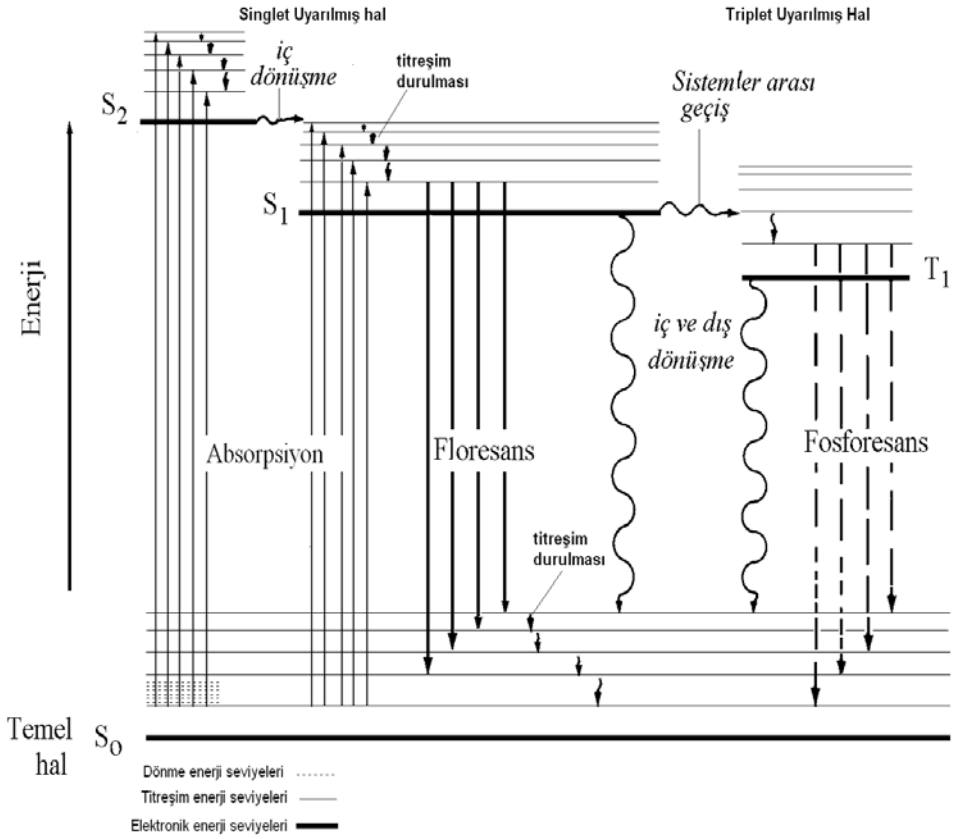
Bir molekülün bir çift elektronundan biri daha yüksek bir enerji seviyesine uyarılırsa ya bir singlet ya da bir triplet hal meydana gelir. Fluoresans; ışık ile uyarılan molekülün birinci uyarılmış singlet elektronik durumundan temel hale dönerken, yönelimleri zıt olan elektronların mevcut yönelimini değiştirmezken, triplet durumunda yönelimini değiştirmek zorundadır. Triplet seviyesinden yapılan ışımalar fosforesans olarak adlandırılır.

Uyarılmış singlet halde, uyarılmış elektron ve temel haldeki elektron zıt spinli; triplet halde ise iki elektronun spinleri birbirine paraleldir(Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Bir molekülün bir çift elektronundan birinin uyarılması

Fosforesans ve floresans mekanizması ilk kez Alexander Jablonski tarafından açıklanmıştır. Bu nedenle fotolüminesans molekülünün enerji seviyelerinin az bir kısmını gösteren diyagrama jabloski diyagramı denir. Bu diyagram aşağıdaki gibidir(Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Fotolüminesans bir sistem için kısmi enerji diyagramı

Şekilde S_0, S_1 ve S_2 ifadeleri 1. ve 2. Uyarılmış elektronik seviyeleridir. En altta yatay çizgi, S_0 ile gösterilen kısım normal singlet haldeki molekülün temel enerjisinin gösterimidir. Üst kısımda gösterilen koyu çizgiler ise üç uyarılmış elektronik halin temel titreşim halleri için enerji seviyelerini göstermektedir. Sol tarafta bulunan iki çizgi S_1 ve S_2 elektronik singlet hallerini gösterir. Sağ tarafta bulunan tek çizgi olan T_1 ile gösterilen kısım birinci elektronik triplet halinin enerjisini gösterir.

Fluoresans özellik gösteren molekülü tanımlayan florofor, uyarıldığı herhangi bir enerji seviyesinden 0,1,2,…vs. titreşim enerji seviyelerinden birinde bulunur. Enerji seviyeleri arasında geçişler dik gerçekleşir. Süresi 10^{-15} saniye olur. Bu geçişlerde Franck-Condon yasasına göre gerçekleşir. Bu yasaya göre molekül uyarılmış hale o kadar hızlı geçer ki çekirdek koordinatı değişmez.

Aralarda görülen yatay ince çizgiler çok sayıda titreşim enerji seviyelerini gösterir. Bu enerji seviyeleri dört halin hepsiyle ilişkilidir. Molekülün uyarılması iki şekilde gerçekleşebilir. S_0 enerji seviyesinden S_1 enerji seviyesine uzun dalga boyunda gerçekleşirken ikincisi ise S_0 enerji seviyesinden S_2 enerji seviyesine daha kısa dalga

boyu civarında merkezleşmiş iki ışın bandın absorbsiyonu ile meydana gelir. Triplet hale doğrudan uyarılma gösterilmemiştir. Bu işlemin olma olasılığı düşüktür. Bu tip düşük olasılıkla bir geçiş yasaklanmış denir.

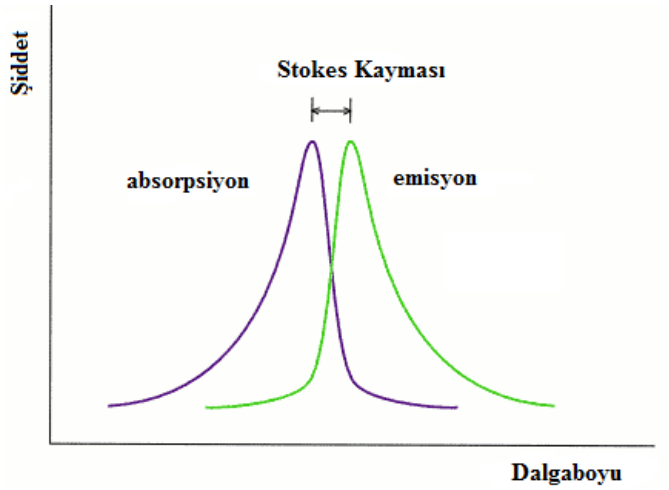
Katı fazda bulunan moleküller uyarıldıktan sonra almış olduğu enerjilerin bir kısmını ısı ya da titreşim olarak ortama aktarırlar ve S_1 enerji seviyesine dönerler. Bu durumun bazı istisnaları vardır. Bu işlem 10^{-12} saniyede gerçekleşir. Aynı zamanda bu olaya iç dönüşümde denir. Proteinlerde durum biraz farklıdır. Uyarılmış düzeyde bulunma süreleri "lifetime" diye tanımlanır. İç dönüşüm süresi 10^{-8} saniyedir. S1 elektronik enerji seviyesinde bulunan molekül T1' e geçerek ışık yayabilir. Bu işlem çapraz geçiş olarak tanımlanır.

Molekül absorbe etmiş olduğu ışığı sadece floresans emisyonu ile geriye döndürmez. Temel hale dönmelerde farklı yollarda vardır; konformasyonel değişiklikler, sistemler arası geçiş, iç dönüşüm, molekül içi yük transferi gibi. Uyarılmış halde diğer moleküller etkileşimde temel hale dönüş ile sonuçlanabilir. Bu dönüşüme fotofiziksel etkileşimde denir. Bunlar enerji transferi, exciplet oluşumu, proton transferi, elektron transferi (Şekil 1.3)(Valeur 2001, Guliyev 2008).



Şekil 1.3 Uyarılan molekülün temel seviyeye dönüşünde olabilecek olaylar

Floresans yayılımın bazı karakteristik özellikleri vardır. Bunlardan birincisi stokes kaymasıdır. Stokes kayması floroforun en yüksek enerjisi olan uyarma enerjisinden daha düşük bir enerji ile yayılma vermesi olarak tanımlanır (Şekil 1.4).



Şekil 1.4 Stokes kayması gösterimi

Diğer bir karakteristik özelliği ise floroforun enerjisinin S_1 elektronik enerji seviyesine hızlı bir şekilde inerken oluşturmuş olduğu emisyon spektrumun dalga boyu uyarma dalga boyundan bağımsızdır.

Floresans yayılma; molekülün ışığı absorplamasından hemen sonra (Yaklaşık 10^{-4} ile 10^{-8} saniye) olurken fosforesans yayılma daha kısa sürede ortaya çıkar (yaklaşık 10^{-4} saniyeden büyük). Floresans ve fosforesans yayılmaların bu özelliklerinden dolayı fosforesans gösteren maddeler ışık kaynağı ayrıldığında ışıma devam ederken floresans özellik gösteren maddeler ise ışık kaynağı ortamdan uzaklaştırıldığı anda görünmezler. Fosforesans maddeler içinde en uzun ışımayı yapan willemite ($ZnSiO_4$) mineralidir(Çapan 2015).

Elektromanyetik ışıma olmaksızın enerjinin kaybedilmesine neden olan dört durum vardır. Bunlar;

1. Enerji Transferi (Energy transfer)
2. Sistemler arası geçişler(Intersystem crossing: ISC)
3. İç dönüşüm (Internal Conversion: IC)
4. Titreşimsel dinlenme(Vibrational relaxation: VR)

1.1.1.1. Enerji Trasferi (Energy Transfer)

İki molekül arasında gerçekleşir. Moleküllerden biri uyarılmış halde olup diğer molekül ise fazla enerjiyi alıcı konumdadır. Enerji transferi esnasında fazla enerjili molekül enerjisini diğer moleküle doğrudan ve ışıksız bir şekilde aktarır ve temel hale döner.

1.1.1.2. Sistemler Arası Geçişler (İntersystem Crossing)

Uyarılmış yapılı moleküllerde görülür. Singlet durumdan triplet duruma geçer. Bu iki durumda da titreşim enerjileri aynı olmalıdır. Sistemler arası geçişte elektronun spini döner. Brom, iyot gibi moleküllerde görülür.

1.1.1.3 . İç Dönüşüm(İnternal Conversion)

Uyarılmış halde bulunan molekülün iki elektronik durumun titreşim seviyelerinin aynı olması potansiyel enerjilerinin aynı olması anlamına gelir. Aynı potansiyele sahip titreşim seviyeleri arasında bir geçiş olur. Bu işlem sonucunda elektronun spini aynı yönde kalır.

1.1.1.4 . Titreşimsel Dinlenme (Vibrational Relaxation)

Molekülün uyarılması sonucunda titreşim seviyelerinde değişiklik olur. Özellikle çözeltilerde bu şekilde bulunan uyarılmış molekül ile çözücü olarak kullandığımız molekül çarpışır. Bu çarpışma sonucu uyarılmış molekül temel hale iner. Işıma olmaz sadece ısı açığa çıkar.

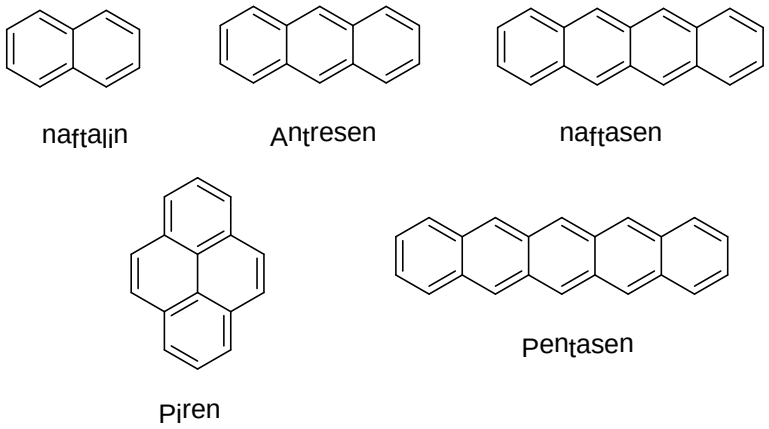
1.2 Floresansı Etkileyen Değişkenler

Bir maddenin floresans yapması veya yapmaması ve emisyon şiddeti hem molekül Yapısı hem de kimyasal çevreye bağlıdır.

1.2.1 Yapısal Faktörler

Bir maddenin floresans göstermesi bulunmuş olduğu ortamdaki görünür bölge

ya da ultraviyole ışınları absorblamasıdır. En şiddetli floresans aromatik fonksiyonel gruplar içeren yapılarda görülür. Bunun en önemli nedeni düşük enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlere sahip olmalarıdır. Aromatik fonksiyonel grupların düzlemsel ve katı yapıda olanları floresans etkinliği en yüksek olanlarıdır. Karbonil grubu içeren esterler, karboksilli asitler, ketonlar, aldehitler ve amidler absorbe ettiği enerjiyi iç dönüşümde harcadıklarından az floresans gösterirler. Floresans özellik gösteren bazı aromatik bileşikler aşağıda verilmiştir.



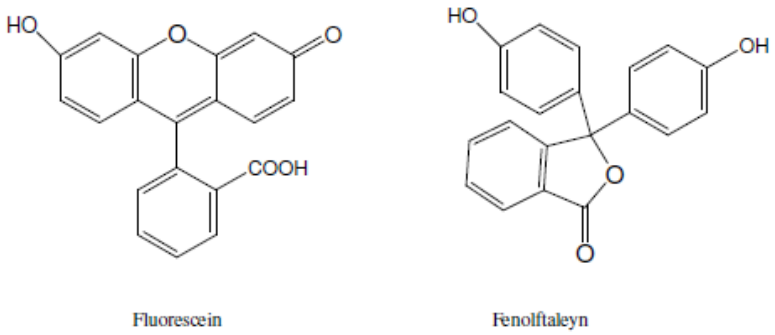
Şekil 1.5 Bazı aromatik bileşikler

1.2.2. Çözünmüş Oksijen

Çözünmüş oksijen genellikle floresans şiddetini azaltır.

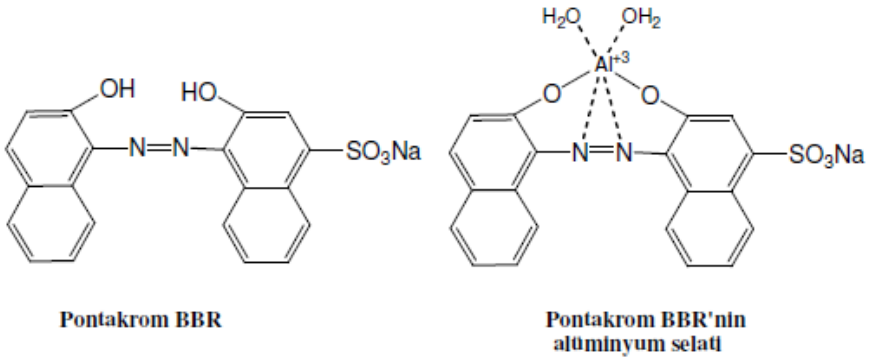
1.2.3. Moleküler Katılık

Moleküler katılığın en önemli özelliği elektronların hareket serbestliğini azaltmasıdır. Bu durumda triplet sistemler arası geçişler ve moleküllerin birbirleri ile olan çarpışmaları azalır. Bu duruma benzer yapılı iki maddeyi örnek olarak verebiliriz. Bunlar florosein bileşiği ile fenolftalein bileşiğidir (Şekil 1.6).



Şekil 1.6 Florosein ve Fenolftalein

Metallerle bir araya geldiğinde şelat oluşturan bazı kimyasal bileşikler vardır. Bu tür bileşikler başlangıçta floresans özellik göstermezken şelat oluşturduktan sonra kuvvetli floresans gösterebilir. Örneğin pantakrom BBR bileşiği ve pantakorom BBR' nin alüminyum şelatı (Şekil 1.7)(Çapan 2015).



Şekil 1.7 Pentakrom BBR ve Pentakrom BBR'nin Alüminyum Şelatı

1.2.4. Yapısal Rijitlik

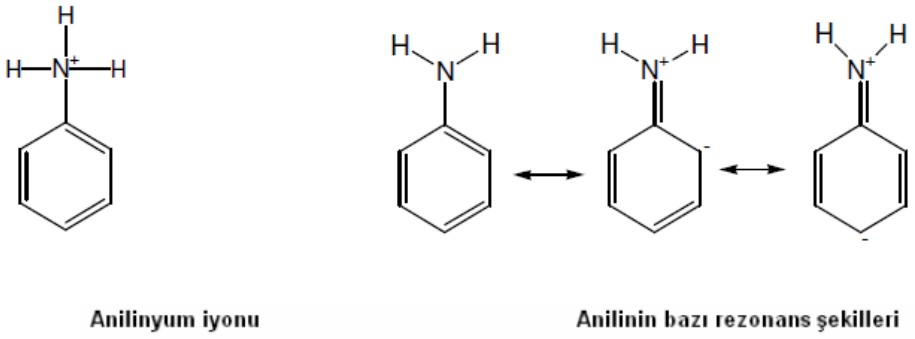
Molekül yapısı rijitse floresans özelliği artar.

1.2.5. Sıcaklık

Birçok molekülün floresans özelliği sıcaklık arttıkça azalmaktadır. Sıcaklığın artması moleküllerin birbirleri ile çarpışmasını arttıracağından floresans ışıma azalır.

1.2.6. pH

Kullanılan kimyasal türün asit veya baz grubu içeriğine göre aromatik bileşiklerin pH ile birlikte floresansı değişir. Örnek olarak fenol ve metoksibenzen verilebilir. Bu yapılar nötr durumda ve bazik ortamda ortamın pH'ına bağlı olarak floresans özelliğinin değiştiği gözlemlenmiştir. Nötr ortamda yapısında aromatik halka bulunan hem fenol hem de metoksibenzen floresans özellik gösterir. Bazik ortama alındığında ise fenol anyon haline dönüşür. Fenolün anyon hali floresans özellik göstermezken metoksibenzen ise floresans özellik gösterir. Çünkü bazik ortamda değişiklik göstermez. Başka bir örneğimizde anilin çözeltimizdir. Bu çözelti nötr ve bazik ortamda iken floresans özellik gösterirken asitli ortama geçtiğinde bu floresans özellik kaybolur. Anilinin bu alanda gösterdiği floresans görünür bölgededir. Anilinin diğer bir özelliğide pH' ına bağlı olmaksızın ultraviyole alanda floresans göstermesidir. Anilin asidik bir çözeltiye atıldığında anilinyum iyonu oluşur ve bunun sonucu anilin iyonunun rezonansı benzeninkiyle aynıdır(şekil 1.8)(Çapan 2015).



Şekil 1.8 Anilin iyonu ve anilinin bazı rezonansları

1.2.7. Çözücü

Uyarılmış halde bulunan molekül ile çözücü karıştırıldığında eğer hidrojen bağı oluşuyorsa bu bağ temel hale dönüşü hızlandırdığından floresans şiddeti azalır. Kullanılan çözücüler arasında eğer ağır atomlar varsa sistemler arası geçiş imkânı arttığından floresansı azaltırlar. Polarlılığın artması ile floresans emisyonu daha uzun dalga boyuna kayar.

1.3. Floresans Uygulamaları

Floresans uygulamalarla kalitatif ve kantitatif analizler yapılabilir. Floresans özellik gösteren maddenin yaydığı dalga boyu ile kalitatif, floresans şiddeti ve konsantrasyon özelliğinden yararlanılarak kalitatif analizler yapılır (Bauer 1978).

1.3.1. Organik Bileşiklerin Analizi

Birçok organik maddenin analizi florometrik olarak yapılmaktadır. Aromatik hidrokarbonlar rodamin, kumarin, oksasinler, aminoasitler, vitaminler, protein gibi maddeleri direk olarak yada uygun maddelerle türevlendirilerek floresans gösteren bileşiklere dönüştürülebilir. Hem hava hem de su çevre kirliliğinde önemli etkiye sahip olup bu yapıların kirliliğine neden olan bazı maddelerin analizi florometrik yöntemlerle yapılmaktadır.

1.3.2. İnorganik Maddelerin Analizi

İnorganik maddelerden oluşturulan çözeltilerin genelde floresans gösterme özelliği azdır. Bunlar içerisinde en iyi bilineni uranil iyonu (UO^{+2}), tantanit iyonları (Eu^{+3}, Tb^{+3} vb.) Bazı aromatik yapıdaki maddelerle çok sayıda anorganik iyon şelat oluşturarak floresans yayan bileşikler meydana gelir(Ewing 1985).

1.3.3. Organometalik Bileşiklerin Analizi

Organometalik bileşikler içerisinde floresans özellik gösteren bazı yapılar şunlardır. Rutenyum kompleksi (Ru(biPy)3 vb.), lantanit iyonları ile olan kompleksleri, floresans şelat ajanları ile olan kompleksler (8-hidroksikinolin, oksin olarak adlandırılır) vb.

1.4. Işık Soğurumu

Absorbsiyon(A), Bouger-Lambert Beer yasasında

$$\mathbf{A=\log(I_0/I)=\varepsilon.C.D}$$

Formülü ile ifade edilmiştir.

A: Absorbsiyon

ε : Molar soğurma(Ekstinksiyon) katsayısı

C: Derişim

D: Yol (ışığın kuvvet boyunca geçtiği)

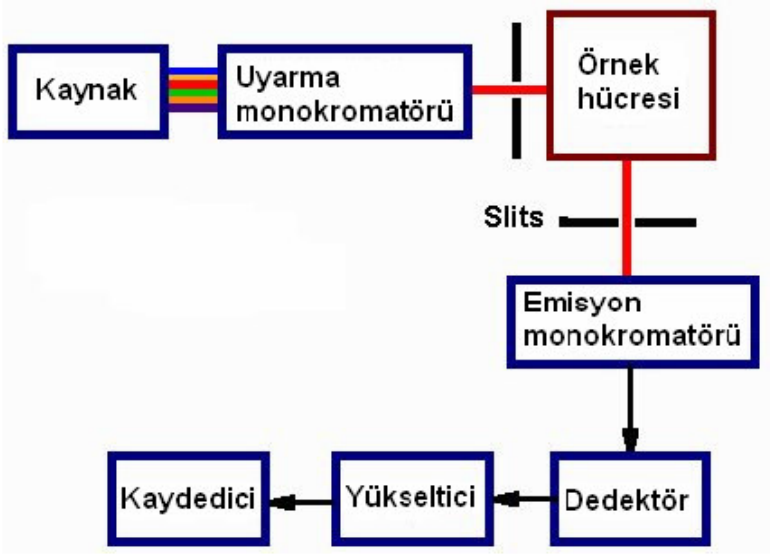
Absorbsiyon spektroskopisi moleküllerin ışığı absorblama özelliği üzerinden oluşturulmuştur. Bu spektroskopi moleküllerin yapıları çevrelerine ilişkin önemli bilgiler verir(Ewing 1985).

1.5. Moleküler Sensör

Moleküler sensör veya kemosensörler analizini yapmak istediğimiz madde biraraya geldiğinde değişiklik gösteren moleküllerdir. Bu değişiklik spektroskopik olarak incelenebilir. Kullandığımız bu moleküler sensör veya kemosensörler belli bir molekül için seçici olduğundan bir sinyal üretme yeteneğine sahiptir(Kim ve Quang 2007). Molekül ve iyon tanıma; biyokimya, farmasötik kimya ve çevre kirliliğinden pek çok maddenin analizinde önemli yere sahiptir. Toksik özellik gösteren ağır metal iyonları bu yöntemle belirlenir. Floresans yöntemlerin en önemli özelliklerinin başında hassas olması, seçici olması, fiyatının düşük olması gibi avantajları vardır(Çapan 2015).

1.6. Floresans Sensör

Florometre cihazının başlıca kısımları şunlardır. Işık kaynağı, örnek küvet, uyarma ve emisyon dalga boylarını seçecek bir çift filtre veya monokramotör ve floresansı ölçecek detektörlerdir(Şekil 1.9).



Şekil 1.9 Florometre cihazı

Florometre cihazının çalışma şekli ışık kaynağından gelen ışın önce bir yarık ve sonra monokramotörden geçirilir. Daha sonra fototüpe gelir. Yükseltici kısımdan geçirilir ve floresans ışının şiddeti kaydedilir. Bazı aletlerde çift ışınlı düzenek kurulmuştur. Bu tür düzenekte ışık kaynağıdan gönderilen ışın monokramotörden geçtikten sonra ikiye ayrılır. Biri örnek çözeltiye diğeri doğrudan doğruya fototüpe gider.

Işık kaynakları olarak civa ve ksenon ark lambaları kullanılır. Her iki ark lambasının dalga boylarının farklı özelliğine göre kullanım alanları değişmektedir. Mesala ksenon ark lambası farklı dalga boylarında değişmeyen bir emisyon gösterirken, civa ark lambası ise belirli dalga boylarında yüksek şiddetde bantlar halinde emisyon yaymaktadır. Kullanılan monokromatörlerin en önemli özelliği görünür alanda prizmaya karşı iyi bir ayırım sağlamasıdır(Çapan 2015).

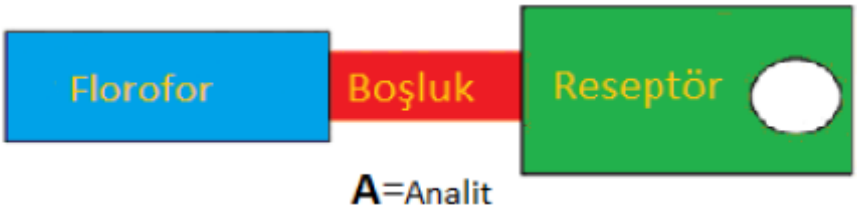
Bu alanda ilk çalışma yapan bilim insanları tsien ve arkadaşları olmuştur. Molekülü tanımada Ca indikatörlerinin sentezini yapmışlardır. Kromofor grup olarak aromatik halkaların veya boyaların Ca iyonu ile kompleks yapan bileşiklerini oluşturmuşlardır (Tsien 1980).

Uygun olan bazı bileşikler floresans özellik gösteren reseptörlerin sentezinde kullanılırlar. Bu yapılar uygun reaktiflerle türevlendirilebilen kalisarenlerdir. Floresans kemosensörleri kendi aralarında iki kısma ayrılır. Bunlar florofor ve iyonofor

kısımlardır. İyonofor kısımda kullanılan substrat belirgin bir şekilde tutulabilir. Florofor kısımda ise sinyal transferi ile emisyon olur(Kim ve Quang 2007). Kullanmış olduğumuz iyonofor gruplarının en önemli özelliği analite bağlanma noktasında seçici özellik göstermesidir. Bu bağlanma olayı PET(Photo-indoced electron transfer), PCT(Photo-induced charge transfer) eksimer oluşumu veya FRET(Fluorescence resonance energy transfer) gibi çeşitli mekanizmalar ile açıklanabilir(Kim ve Quang 2007).

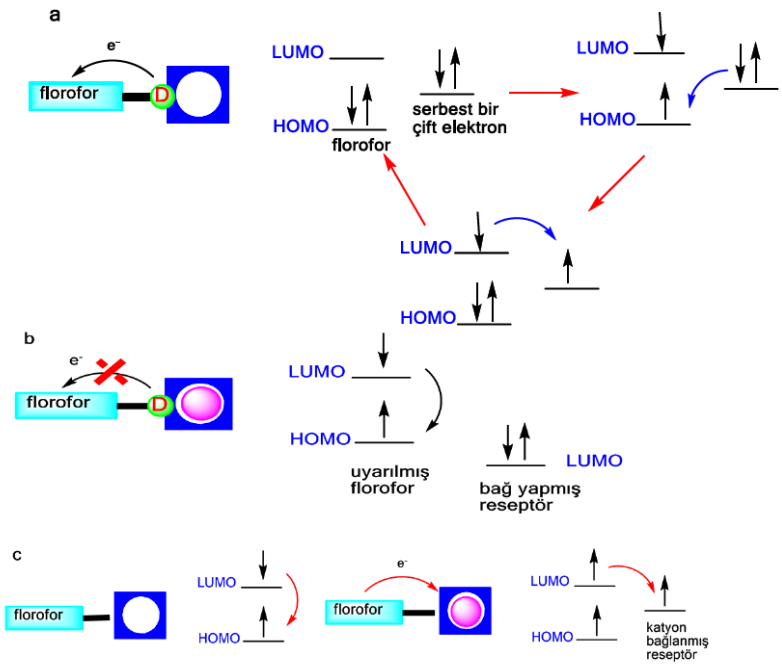
1.6.1. Işına Dayalı Elektron Transferi(PET)

Basit bir ışına dayalı elektron transferi şekil 1.10 da görüldüğü gibi florofor-boşluk-reseptör üçlü bileşik ile analit formatından oluşur.



Şekil 1.10 Floresans PET sensörler için Florofor-Boşluk-Reseptör Formatı

Reseptörün en yüksek dolu orbitaline HOMO yani donör orbitali denir. Floresans olay gerçekleştiğinde ışının emisyonu ile HOMO'dan LUMO'ya uyarılır. Eğer emisyon etkili olmuşsa molekül florofor adını alır. Genellikle stokes kayması görülür. Farklı etkileşimler sonuçu emisyon değişebilir. Bu durum floresans özelliğin analitik incelemedeki önemini gösterir. Florofor veya komşu molekülün bir çift elektron bulunduğu orbital enerjisi HOMO ve LUMO nun enerji seviyeleri arasında yer alır. Işığı absorbe etmesi sonucu HOMO da oluşan boşluğa elektronlardan biri transfer olur. PET mekanizması ile "söndürme(quenching)" veya emisyon şiddetinin azalması uyarılmış seviyenin geri dönmesine neden olur(Şekil 1.11)(Kim ve Quang 2007).



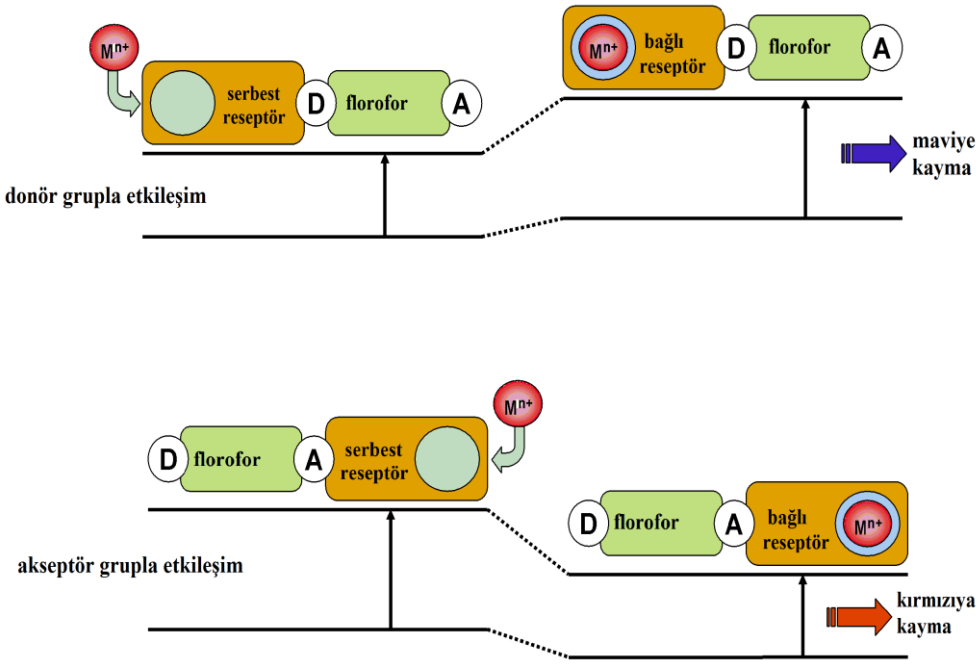
Şekil 1.11 PET (a), CHEF (b) ve reverse-PET (c) prensibinin şematik olarak gösterimi

Elektron çifti bağ yaparsa PET'in sonucu kaybolan floresans geri kazanılabilir. Bu durum sonucunda enerji seviyesi düşer. Elektron çifti bu düşük enerji seviyesinden metal iyonunun bağlanması veya protonlanmasında yer alır ve eletron transferi gerçekleşir. Böylece donör olarak kullanmış olduğumuz atomun HOMO orbital enerji seviyesi floroforun HOMO orbitalinin enerji seviyesinin altına iner ve PET gerçekleşmez. Floresans şiddeti metal iyonunun bağlanmasına bağlı olarak artar(Valeur ve Leray 2000).

1.6.2. Işına Dayalı Yük Tranferi (PCT)

Elektronik uyarılmalar yük geçişlerini içerirler. Ancak elektron çekici bir grup ile konjuge durumda elektron verici bir grup arasında floroforun ışık ile uyarılması sonucunda donör olan molekülden akseptör olan moleküle yük transferi gerçekleşir. Bunun sonucu stokes kayması olur. Nedeni ise dipol momentteki değişikliklerdir. Anyon, katyon ve nört kısımların florofordaki donör ve akseptör kısımlarla etkileşmesi sonuçu floroforun fiziksel özellikleri değişir. Bu durum özellikle katyonun etkileşiminde daha belirgin görülür. Florofordaki elektron verici grup ile katyon etkileştiğinde elektron verici grubun bu özelliği azalır. Bu durum sonunda spektrumda

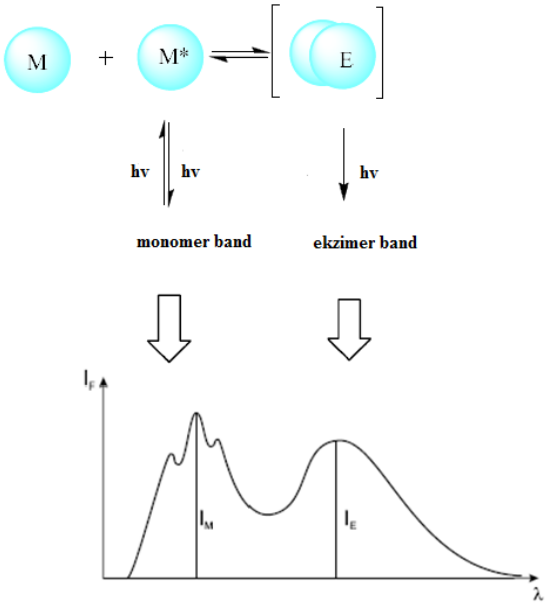
maviye kayma beklenir. Fakat elektron çekici gruba metal iyonunun bağlanması akseptör gruba olursa molar absorblama katsayısı artar yani akseptörün elektron çekme karakteri artar. Bu durum sonucunda kırmızıya kayma şeklinde görülür (Şekil 1.12). Hem floresans hem de absorbsiyon spekturumlarında benzer kaymalar gözlenir. Buradaki değişiklikler metal iyonunun büyüklüğüne ve yüküne bağlıdır(Kim, 2007)



Şekil 1.12 PCT sensörlerde spektral kaymalar

1.6.3. Eksimer Oluşumu

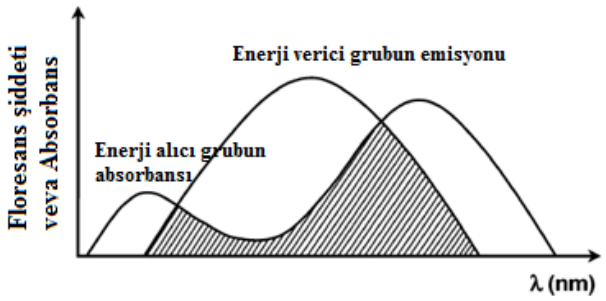
Aromatik halkalarda; moleküller birbirlerine vanderwaals etkileşim mesafesinde yaklaştıklarında zayıf etkileşimler oluşur. Halkalardan birinin uyarılması sonucu komşu sununda uyarılmasına neden olur. Bu uyarılma dimer veya eksimer uyarılma durumunu oluşturur. Başka bir deyişle eksimer uyarılan bir floroforun temel halde başka bir floroforla etkileşiminden oluşan komplekstir (Şekil 1.12)(Kim, 2007). Bu durumda iki bant gözlenir. Biri monomer bandı ve diğeri eksimer bandı(Valeur ve Leray 2000).



Şekil 1.12 Eksimer oluşum Mekanizması

1.6.4. Floresans Rezonans Enerji Aktarımı (FRET)

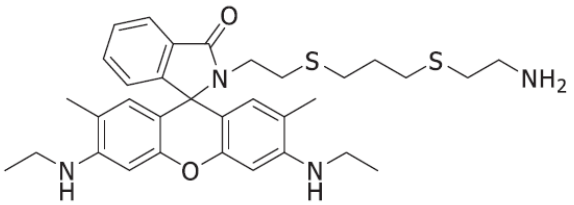
Bu enerji transferi bir çift farklı floroforun aralarındaki etkileşimden doğmaktadır. FRET verici emisyon spektrumu ile diğer FRET alıcı absorbsiyon spektrumunun çakışması sonucu verici grubun uyarılma enerjisi ışın emisyonu olmaksızın alıcı gruba transfer edilir. FRET mesafeye bağlı bir etkileşimdir (Şekil 1.13)(Kim,2007)



Şekil 1.13 FRET mekanizması için spektral örtüşme

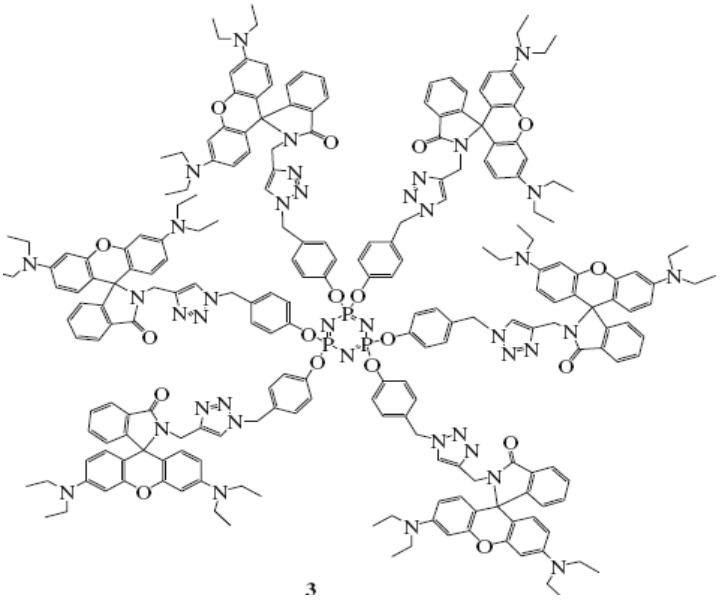
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Wanichacheva ve ark. (2014) Hg^{2+} iyonu için yapmış oldukları çalışmalarda hem kolorimetrik hem de florometrik olarak rodamin içeren sensor tasarlamışlar ve hazırladıkları reseptörün düşük konsantrasyonda (1.7 ppb) Hg^{2+} iyonuna karşı etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Birçok metal katyonları arasında sadece Hg^{2+} iyonunun varlığında, floresans şiddetinin arttığını ve görünüm olarak renksiz olan çözeltinin renginin pembeye döndüğünü bulmuşlardır(Wanichacheva ve ark 2014).



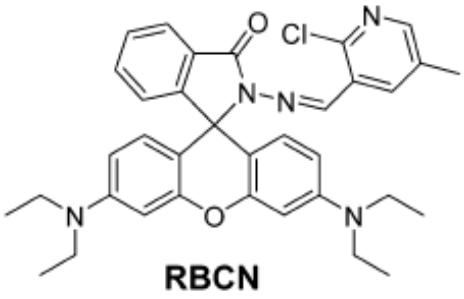
Şekil 2.1. Hg^{2+} için tiyo grupları içeren Rodamin türevi

Ozay ve ark.(2014) bir siklotrifosfozen çekirdeği içeren heksapodal Rodamin B türevini sentezlenmişler ve yapısını FT-IR, ^{1}H, ^{13}C ve ^{31}P NMR HR-MS MALDI-MS teknikler ile karakterize etmişlerdir. Bu bileşiğin birçok metal iyonlarının varlığın da sadece Hg^{2+} iyonları için kolorimetrik ve florometrik özellik gösterdiği görülmüştür(Ozay ve ark 2014).



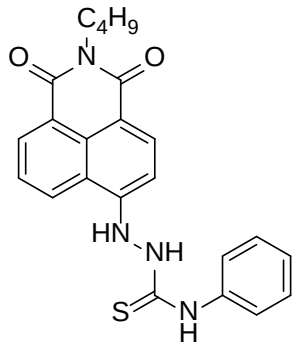
Şekil 2.2. Heksapodal Rodamin B Türevi

Jeong ve ark.(2014), yaptıkları çalışmalarda 2-kloronikotin aldehit ile rodamin B tepkimesinden rodaminin bir türevini (RBCN) sentezlemişlerdir. RBCN'nin çözeltisine uygun miktarlarda farklı metal iyonlarının (Li^{+}, Na^{+}, K^{+}, Cs^{+}, Mg^{+2}, Ca^{+2}, Fe^{+2}, Co^{+2}, Ni^{+2}, Cu^{+2}, Zn^{+2}, $Ag^{+,}$ Cd^{+2}, Hg^{+2} ve Pb^{+2}) ilave edilmesiyle, RBCN'nin Al^{+3} iyonuna karşı hem kolorimetrik hem de florometrik sensör olduğunu tespit etmişlerdir(Jeong ve ark 2015).



Şekil 2.3 Rodamin türevi (RBCN)

Zhang ve ark.(2015), bir 1,8-naftalimit-tiyoüre reseptörünü sentezlemişler ve MeCN/H_2O (99/1) ortamında Fe^{3+} ve Pb^{2+} iyonlarına karşı kolorimetrik, MeCN/H_2O (85/15) ortamında ise Hg^{2+} iyonuna karşı florometrik sensör olduğunu bulmuşlardır. Bulunan bu pozitif sonuçları canlı hücrelerde deneyerek test etmişlerdir(Zhang ve ark 2015).



Şekil 2.4. 1,8-Naftalimit-Tiyoüre Sentezi

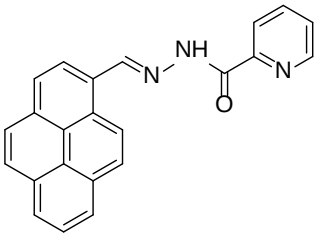
Erdemir ve ark. (2013) hem kolorimetrik hem de fluorometrik sensör olarak trifenilamin bağlı kaliks[4]aren türevini (CTP) tasarlamışlar ve sentezlemişlerdir. Asetonitril ortamında metal iyonlarına karşı yapılan seçicilik çalışmaları, hazırlanan reseptörün Hg^{2+} iyonuna kaşı hem kolorimetrik hem de fluorometrik sensör olduğunu göstermiştir(Erdemir ve Malkondu 2013).



Şekil 2.5. Kaliks(4)aren Türevi

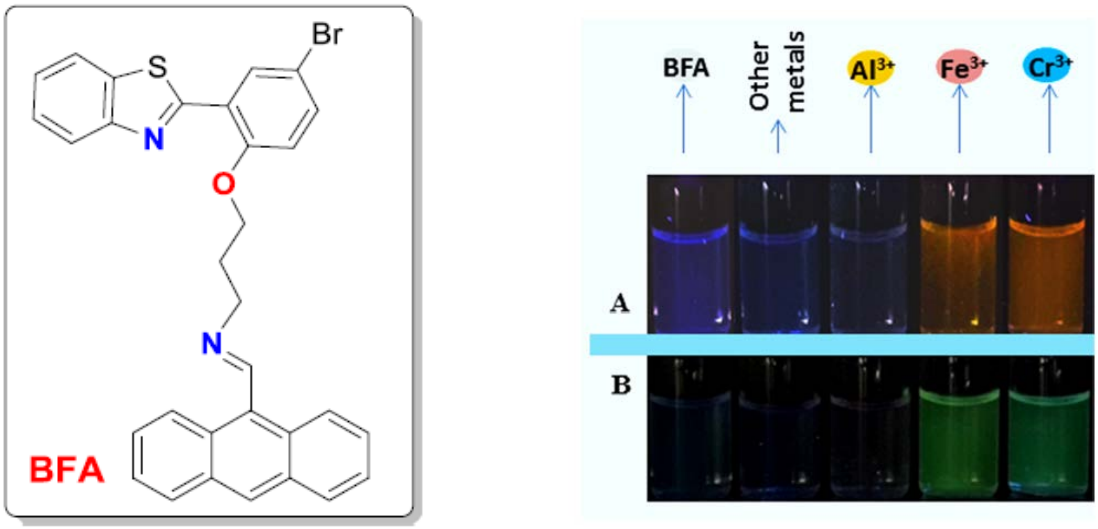
Wu ve ark. (2012) pikolinhidrazit içeren piren türevini metal iyonu tanımak için sensör olarak tasarlamıştır. Kemosensör iki kısımdan oluşmaktadır: piren kısmı raportör olarak görev yapmakta pikolinhidrazit kısmı ise metal iyon bağlayan birim olarak görev yapmaktadır. Kemosensör 1-pirenkarboksaldehit hidrazon ve pikolinil klorür arasında oluşan tepkimeyle sentezlenmiştir. Kemosensör, azotta bulunan ortaklanmamış elektron çiftinden piren'e elektron transferiyle (PET) oluşan floresans sönümlemeden dolayı zayıf floresans göstermiştir. Kemosensöre metal iyonu bağlanmasıyla elektron transferi (PET) engellenmiş ve floresans artışı gözlenmiştir. Kemosensörün sulu ortamda Cu^{2+} iyonuna karşı yüksek seçicilik gösterdiği belirlenmiştir. Cu^{2+} iyonunun varlığında kemosensörün floresans artışının önemli oranda arttırdığı gözlenmiştir. Floresans

mikroskop deneyleri kemosensörün canlılardaki hücrelerde Cu^{2+} iyonu tanınması için floresans prop olarak kullanılabileceği görülmüştür(Wu ve ark 2012).



Şekil 2.6. Pikolinhidrazit içeren piren türevi.

Erdemir ve ark. (2016) antrasene dayanan floresan probu içeren benzotiyazol (BFA) grubunu tasarladı ve sentezledi. Benzotiyozala katyon bağlama özellikleri çeşitli katyonların bulunduğu bir ortamda incelendi. UV-Vis ve floresans spektroskopik çalışmaların her ikisinde de BFA' nın üç değerlikli katyon olan Cr^{3+} ve Fe^{3+} 'e karşı son derece hassas ve seçici olduğunu gösterdi. Tek değerlikli iki değerlikli ve Al^{3+} iyonuna karşıda bağlanma olmadığını gözlemlemişlerdir. BFA'nın Cr^{3+} ve Fe^{3+} ile etkileşimi sonucu benzersiz bir antrasenil statik excimer formasyonunun kombinasyonundan kaynaklanan emisyon yoğunluğu, az miktarda olan C≡N izomerizasyonu yüksek verimli foto kaynaklı elektron transferi işlemi (PET) yapılmıştır. BFA' nın Cr^{3+} ve Fe^{3+} için tespit edilen sınırı 0,46 ve 0,45 µM dır. Ayrıca BFA'nın insanda oluşan prostat kanserinde bulunan Cr^{3+} ve Fe^{3+} yapılarının saptandığı floresansı mikroskopla gözlemlemişlerdir(Erdemir ve ark 2016).



Şekil 2.7. Benzotiyazol (BFA) grubu ve floresans etkisi

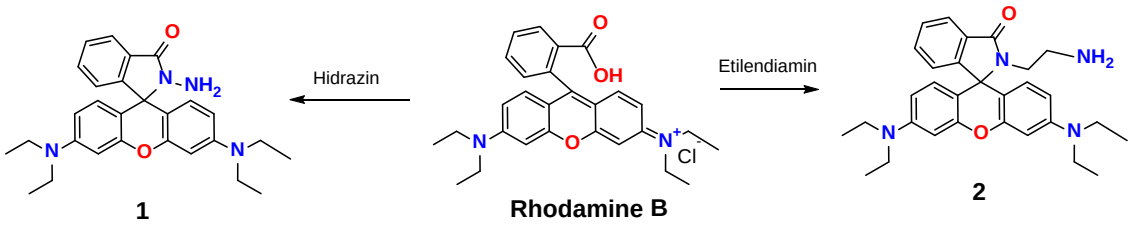
3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Enstrümantal Teknikler

Erime noktası Gallenkamp marka erime noktası tayin cihazı ile yapıldı. ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, APT, COSY spektrumları içinde Varian 400 MHz spektrometre ile alındı. NMR spektrumlarında kimyasal kayma değerleri (δ) ppm cinsinden belirtildi. IR spektrumları Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR spektrometresinden alındı. Floresans spektrumları Perkin Elmer LS55 spektrometresi, UV-vis. ölçümleri Perkin Elmer UV-visible spektrometresi ile alındı. Deneylerde kullanılan maddeler analitik saflıkta olup, Merck, Fluka ve Aldrich firmalarından alındı. Tüm sulu çözeltiler, Millipore Milli-Q Plus su arıtma cihazıyla saflaştırılan saf su ile hazırlanmıştır.

3.2 Sentezler

3.2.1. Rodamin'in amin türevlerinin sentezi (1,2)



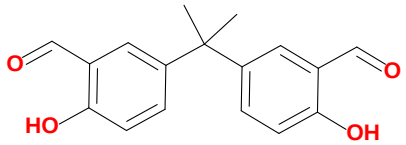
4.80 g (10.0 mmol) rodamin B'nin etanoldeki çözeltisine (30 mmol) damla damla etilen diamin ya da hidrazin (5 mL) ilave edilerek, karışımın kırmızı rengi kaybolunca kadar karıştırılarak kaynatılır. Daha sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılarak, geride kalan kısma 20 mL su ilave edilerek CH_2Cl_2 (20 mL × 2) ile ekstraksiyon yapılır. Organik faz birkaç kez su ile yıkanarak $MgSO_4$ ile kurutulur. Çözücünün tamamen giderilmesiyle, açık pembe renkli rodamin'in amin türevleri (1 ve 2) elde edildi(Kang ve ark 2009, Liu ve ark 2014).

1; Açık pembe, Verim: 70%; En = 175-177 ^{o}C; ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3): δ 7.90-7.93 (m, 1H), 7.42-7.44 (m, 2H), 7.09-7.10 (m, 1H), 6.28-6.46 (m, 6H), 3.60 (br s, 2H), 3.33 (q, J= 5.08 Hz, 8H), 1.16 (t, J = 6.84 Hz, 12H).

2; Açık pembe, Verim: 80%; En = 216-218 ^{o}C; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.88-7.90 (m, 1H), 7.42-7.44 (m, 2H), 7.07-7.09 (m, 1H), 6.43-6.25 (m, 6H), 3.33 (q, J= 7.04 Hz, 8H), 3.18 (t, J = 6.65 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 6.45 Hz, 2H), 1.25 (br s, 2H), 1.15 (t, J = 7.04 Hz, 12H).

3.2.2 Bisfenol-A'nın di-aldehit türevi (3)

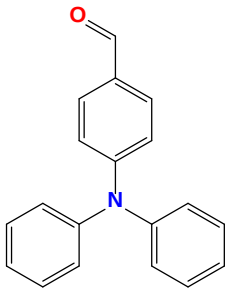
Bisfenol-A (0.5 g, 2.19 mmol) ve heksametilentetramin (HMTA, 3.67 g, 26.28 mmol) trifloroasetik asit (50 mL) içerisinde 24 saat karıştırılarak kaynatılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım oda sıcaklığına getirilir ve üzerine 1.0 M HCl (100 mL) ilave edilir. Daha sonra elde edilen karışım diklormetan (100 mL) ile ekstrakte edilir ve organik faz ayrılarak $MgSO_4$ ile kurutulur. Organik fazın tamamen giderilmesiyle sarı renkli yağımsı ürün (3) elde edilir. Verim: 75 %; ^{1}H NMR (400 MHz $CDCl_3$) δ 10.93 (s, 2H), 9,85 (s, 2H), 7.43 (s, 2H), 7.34 (d, 2H, J=8.4 Hz), 6.91 (d, 2H, J=8.6 Hz), 1.70 (s, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz $CDCl_3$) δ 196.59, 159.91, 141.50, 136.04, 130.77, 119.98, 117.62, 41.70, 30.67.



3

3.2.3 Trifenilamin'in mono-aldehit türevi (4)

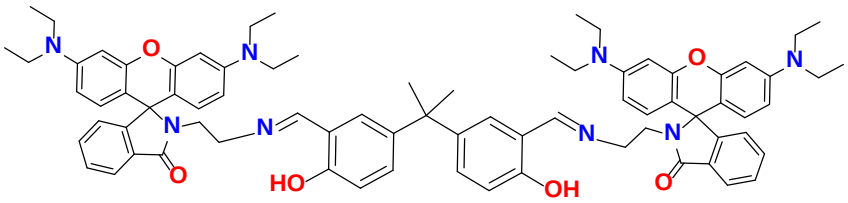
Trifenilamin'in (3.0.g, 12.23 mmol) 40mL DMF deki çözeltisine 0^{o}C de damla damla $POCl_3$ (1.2 mL, 12.87 mmol) ilave edilir. Elde edilen karışım 95-100 ^{o}C de ve azot atmosferinde yaklaşık 20 saat karıştırılarak kaynatılır. Reaksiyon İTK da başlangıç maddesi görülmeyene kadar devam edilir. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım oda sıcaklığına getirilir ve 150 mL su-buz karışımı üzerine dökülürek, 4.0 M NaOH ile nötralleştirilir. Oluşan katı kısım süzülür, su ile yıkanarak kurutur. Kolon kromatografisi (silika jel, etilasetat/hekzan, 1/5) ile saflaştırılarak trifenilamin'in mono aldehit (4) türevi elde edilir. ^{1}H NMR (DMSO-d_6 400 MHz) δ 9.77 (s, 1H), 7.72 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 7.43 (t, 4H, J = 15.6 Hz), 7.23 (m, 6H), 6.88 (d, 2H, J = 8.7 Hz); 13C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz): δ 117.7, 125.0, 126.0, 128.1, 129.6, 130.9, 145.1, 152.3, 190.1.



4

3.2.4. Rodamin bazlı Schiff bazlarının sentezi (BAR ve TAR)

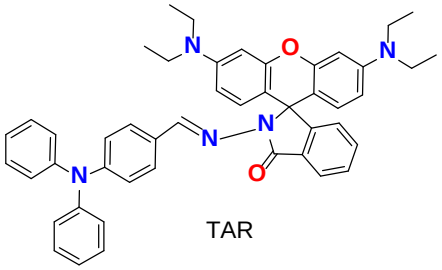
BAR; Bisfenol-A'nın dialdehit türevi (0.5 g, 1.76 mmol) 40 mL etanoldeki çözeltisi ile rodamin'in etilendiamin türevi'nin (2) (1.75 g, 3.61 mmol) 10 mL etanoldeki çözetisi karıştırılır ve azot atmosferine 12 saat kaynatılır. Reaksiyon sırasında çöken ürün süzülür ve etanol ile yıkanarak vakum altında kurutulur. Verim: 85 %; En=212-214 °C; FT-IR (katı, ATR); 1691 (C=O), 1632 (C=N) cm^{-1}; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$); δ 13.00 (s, 2H), 8.05 (s, 2H), 7.91 (s, 2H), 7.45 (br, s, 4H), 7.05–7.14 (m, 4H), 6.93 (s, 2H), 6.78 (d, 2H, J= 8.0 Hz) , 6.36-6.47 (m, 8H), 6.24 (d, 4H, J= 6.2 Hz), 3.25-3.45 (m, 24H), 1.58 (s, 6H), 1.16 (br, s, 24H). 13C NMR (100 MHz, $CDCl_3$); δ 168.15, 166.26, 158.99, 153.50, 153.27, 148.76, 140.44, 132.45, 131.06, 130.89, 128.83, 128.03, 123.79, 122.84, 117.90, 116.60, 108.01, 105.35, 97.69, 64.87, 57.11, 44.36, 41.40, 40.86, 30.95, 12.61. $C_{77}H_{84}N_8O_6$ (1216.65) için Anal. Hesaplanan (%) C, 75.96; H, 6.95; N, 9.20. Bulunan (%): C, 76.01; H, 6.99; N, 9.29.



BAR

TAR; Trifenilamin-monoaldehit (0.5 g, 1.83 mmol) ile rodamin'in hidrazit türevi (0.84 g, 1.84 mmol) 40 mL etanol içerisinde karıştırılarak kaynatılır. Reaksiyon sonrasında oluşan katı kısım süzülerek ayrılır ve etanol ile yıkanır, kurutulur. Verim; 80%; En=198-199 °C; FT-IR (katı, ATR); 1711 (C=O), 1684 (C=N) cm-1; ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3); δ 8.66 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.41-7.47 (m, 4H), 7.24 (m, 4H), 6.93-7.12 (m, 9H), 6.54 (m, 2H), 6.43 (s, 2H), 6.75 (m, 2H), 3.33 (br s, 8H), 1.16 (br, s, 12H). ^{13}C

NMR (100 MHz, $CDCl_3$); δ 160.57, 129.80, 127.80, 126.27, 124.88, 124.23, 114.87, 111.09, 103.67, 46.34, 13.01. $C_{49}H_{49}N_5O_2$ (739.39) için Anal. Hesaplanan (%) C, 79.54; H, 6.67; N, 9.46. Bulunan (%): C, 79.61; H, 6.69; N, 9.51.

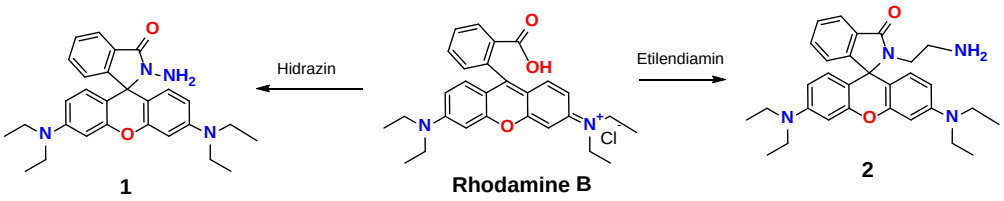


4. SONUÇ VE TARTIŞMA

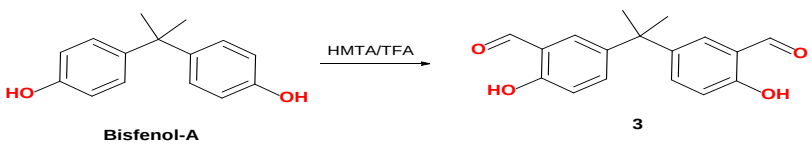
4.1. Rodamin bazlı reseptörlerin sentezi

Bu çalışmada amaç, rodamin içeren farklı yapıdaki Schiff bazı türevlerini sentezleyerek, bu bileşiklerin metal iyonlarına karşı florometrik ve kolorimetrik sensör özelliklerini araştırmaktır.

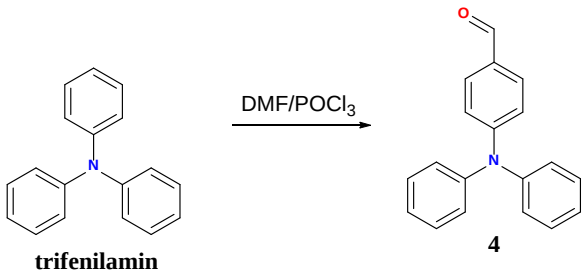
Bu amaçla, ilk olarak rodamin B'nin amin türevleri literatür prosedürüne göre sentezlendi. Rodamin B'nin etanoldeki çözeltisinin hidrazin veya etilendiamin ile etkileştirilmesiyle bileşik 1 ve 2 elde edildi. Bileşik 1 ve 2'nin yapısı FT-IR ve ^1H NMR ile doğrulandı.



Diğer taraftan, hedef Schiff bazlarının sentezi için gerekli olan aldehit türevleri hazırlandı. Bunun için ilk olarak bisfenol-A'nın TFA (trifloroasetik asit) içerisinde HMTA (hekzametilentetraamin) ile etkileştirilmesiyle bisfenol-A'nın dialdehit türevi sentezlendi. Dialdehit oluşumu ^1H NMR da 10.93 ppm deki aldehit protonuna ve ^{13}C NMR da ise 196.59 ppm deki aldehit karbonuna ait sinyallerin gözlenmesiyle anlaşıldı.

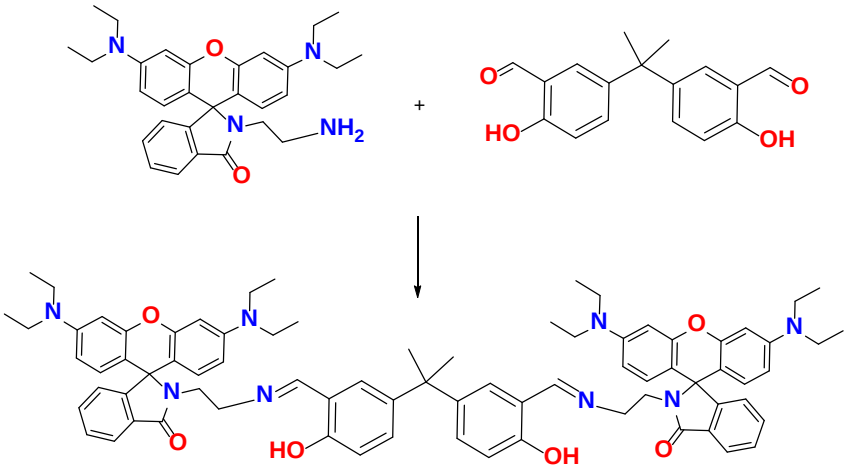


Başka bir aldehit türevi ise trifenilamin kullanılarak hazırlandı. Bu reaksiyon Vilsmeier–Haack reaksiyonu olarak bilinir ve uygun şartlarda trifenilamin DMF ortamında $POCl_3$ ile reaksiyona sokulmasıyla trifenilamin-monoaldehit elde edildi. Sentezlenen monoaldehit türevi ise ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR teknikleri ile karakterize edildi.



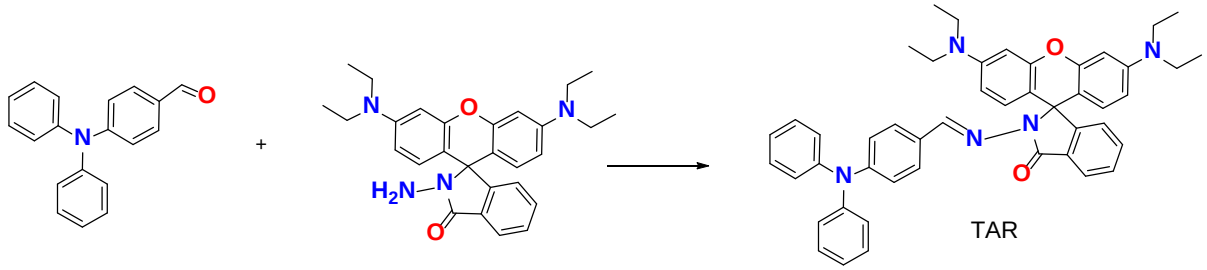
trifenilamin **4**

Son ürün olarak hedef reseptörler, hazırlanan aldehit ve amin türevleri arasındaki kondenzasyon reaksiyonu ile sentezlendi.



BAR

BAR reseptörü etanol ortamında, rodamin'in etilen diamin türevi ile bisfenol-A'nın dialdehit türevinin etkileştirilmesiyle, TAR reseptörü ise rodamin'in hidarazit türevi ile trifenilamin-monoaldehit türevinin etkileştirilmesiyle elde edildi. Hazırlanan rodamin bazlı Schiff bazlarının yapı karakterizasyonu, FTIR, ^{1}H NMR ve ^{13}CNMR ile yapıldı. ^{1}H NMR analizinde, 10.96 ve 9.77 ppm deki aldehit protonlarına ait sinyallerin kaybolarak, 8.05 ve 8.66 ppm de imin protonuna ait sinyallerin ortaya çıktığı tespit edildi. Ayrıca molekül yapıları FT-IR ve ^{13}C NMR analizleriyle doğrulandı.



4.2. UV-vis ve Floresans Ölçümleri

4.2.1. UV-vis ve floresans titrasyon deneyleri

UV-vis ve floresans ölçümleri için CH_3CN ve $CH_3CN–H_2O$ (8/2,v/v) de 2.0 x 10^{-5} M reseptörlerin çözeltisi hazırlandı. 1.0 x 10^{-3} M derişimindeki metal iyonlarının çözeltileri ise perklorat tuzlarının H_2O ve CH_3CN de çözülmesi ile hazırlandı. Absorbsiyon ve floresans spektrumları ligand çözeltisine farklı miktarlardaki metal iyonlarının ilave edilmesiyle elde edildi.

4.2.2. Kompleks bileşiminin tayini

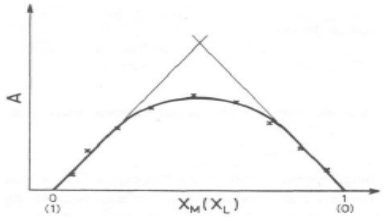
Spektrofotometri, kompleks iyonlarının bileşimlerinin aydınlatılmasında ve olusum sabitlerinin tayininde kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemin başlıca üstünlüğü, inceleme yapılan dengeyi bozmadan kantitatif absorpsiyon ölçümlerini sağlamasıdır. Komplekslerde metal-ligand oranın belirlenmesinde

1. Sürekli Değiştirme Metodu (Job Metodu),

2. Mol Oranı Metodu,

3. Eğim Oranı Metodu kullanılır.

Sürekli Degistirme Metodu (Job Metodu): Işığı absorplayan bir geçiş metali kompleksindeki metal/ligand oranı, yani kompleksin stokiyometrisi belli dalga boyunda absorbans ölçümleri ile belirlenebilir.



Şekil 4.1. Sürekli değişme yöntemi ile elde edilen grafik

Katyon ile ligand arasinda tek bir kompleksin oluştuğunu ve seçilen dalga boyunda sadece bu kompleksin absorbansını düşünelim. Ligand derişimi (CL) ile metal iyonu derişiminin (CM) toplamının (CT = CL + CM) sabit tutulduğu bir dizi çözelti hazırlanır ve her bir çözeltide kompleksin absorbansı ölçülür. Hiçbir reaksiyon yokken okunması beklenen absorbans hesaba katılarak düzeltilir. Düzeltilmiş absorbanslar, metal iyonunun (katyonun) veya ligandın mol kesrine, X (veya katyonun hacim kesrine, VM/(VM + VL), VM; katyon çözeltisinin hacmi, VL; ligand çözeltisinin hacmi) karşı grafiğe geçirilir. (Sekil 4.11).

Elde edilen iki doğru parçası kesiştirilir. Kesim noktasına karşı gelen mol kesirlerinin oranı, XM/XL, kompleks yapısında bulunan metal iyonu/ligand oranını verir. Bu değer 0,5 ise ML, 0,33 ise ML2, 0,25 ise ML3, 0,20 ise ML4 kompleksi söz konusudur.

4.2.3. Kompleks bağlanma sabiti

Kompleks bağlanma sabitleri aşağıda verilen Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılarak hesaplandı

$$1/(A-A_o) = 1/\{K(A_{max}–A_o)\,[M]_n\} + 1/[A_{max}-A_o] \quad \text{(UV-vis)}$$

$$1/(I-I_o) = 1/\{K(I_{max}–I_o)\,[M]_n\} + 1/[I_{max}-I_o] \quad \text{(Floresans)}$$

$\mathbf{A_o}$ ve $\mathbf{I_o}$; sadece reseptörün absorbans ve floresans şiddeti

A ve **I**; metal iyonu varlğında reseptörün absorbans ve floresans şiddeti

$\mathbf{A_{max}}$ ve $\mathbf{I_{max}}$; metal iyonu varlığında reseptörün maximum absorbans ve floresans şiddeti

K; bağlanma sabiti (M^{-n}).

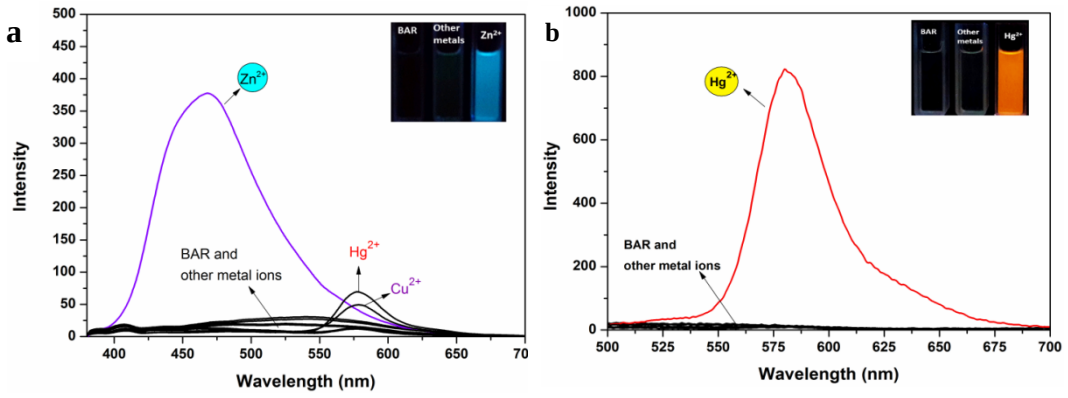
Bağlanma sabiti, $1/(I-I_o)$ veya $1/(A-A_o)$ değerlerinin $1/[M]^n$ değrine karşı çizilen grafiğin eğiminden hesaplandı.

4.2.4. Floresans ve Uv-vis çalışmaları

Sentezlenen rodamin bazlı reseptörlerin (BAR ve TAR) çeşitli metal iyonlarına karşı fluorometrik ve kolorimetrik özellikleri UV-vis. ve floresans teknikleri ile incelendi. Yapılan spektroskopik ölçümler, BAR reseptörünün CH_3CN ortamında

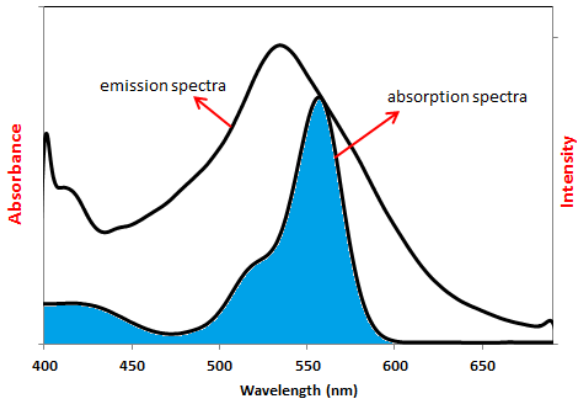
sadece Zn^{2+} iyonu için seçimli iken, $CH_3CN–H_2O$ ortamında ise sadece Hg^{2+} iyonuna karşı seçimli olduğunu gösterdi.

BAR reseptörünün farklı çözücü ortamında Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları varlığında UV-vis ve floresans spektrumlarındaki değişimler detaylı olarak incelendi. Asetonitril ortamında yapılan ölçümlerde, 20 μM BAR'in çözeltisine 5 kat farklı metal iyonları (Li^+, Na^+, Cs^+, Ag^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Hg^{2+}, Zn^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}, Pb^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Al^{3+}, Cr^{3+}) ilave edilerek floresans spektrumundaki değişimler gözlendi. Floresans spektrumlar, BAR reseptör için 364 nm de uyarılmasıyla elde edildi. (Şekil. 4.2). Herhangi bir metal yok iken, BAR reseptörü hem ESIPT (excited-state intramolecular proton transfer) hem de PET (Photo-induced electron transfer) proseslerinden dolayı 530 nm de zayıf bir emisyon bandı gösterdi. Metal iyonları ilave edildiğinde, sadece Zn^{2+} iyonu varlığında belirgin bir flüoresans değişim incelendi. Zn^{2+} iyonu ilavesiyle, moleküldeki ESIPT ve PET prosesleri kompleksleşmeyle engellendiğinden 468 nm de yeni bir emisyon bandı gözlendi. Diğer metal iyonlarından ise sadece Cu^{2+} ve Hg^{2+} iyonları azda olsa floresans değişimine neden oldu. Diğer taraftan asetonitril-su ortamında yapılan ölçümlerde ise BAR reseptörü sadece Hg^{2+} iyonuna karşı seçimlilik gösterdi. BAR reseptörünün asetonitril-su ortamındaki çözeltisine farklı metal iyonları ilave edildiğinde, sadece Hg^{2+} iyonu 580 nm de floresans tepki sergiledi. Aynı zamanda Hg^{2+} varlığında çözeltinin rengi renksiz iken pembeye dönüştü.



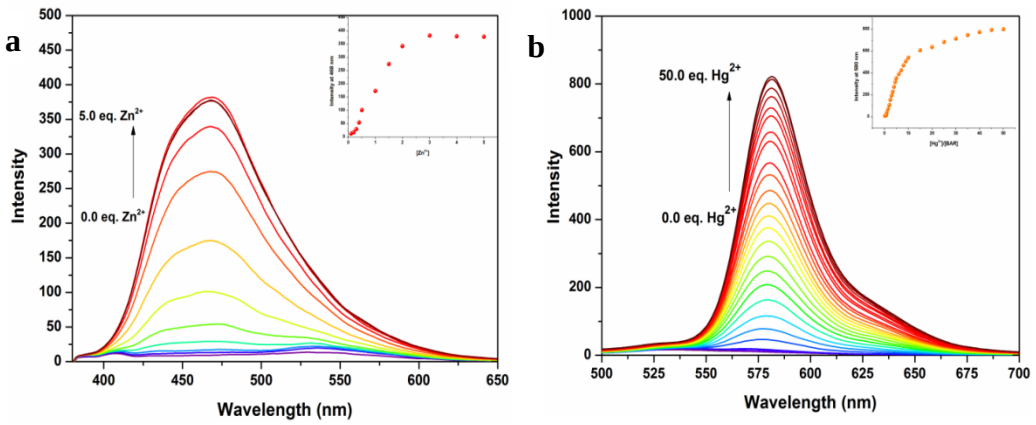
Şekil 4.2 Farklı metal iyonları varlığında BAR reseptörünün floresans spektrumları (a) MeCN ve (b) MeCN-H_2O (v/v, 8/2) (λ_{ex}=364 nm)

Hg^{2+} varlığında BAR'in flüoresans şiddetinin artması, rodamindeki spiro-lactam (floresans değil) halkasının metal ile etkileştikten sonra asiklik ksanten (floresans) yapısına dönüşmesiyle ilgilidir. Bu seçimliliğe eşzamanlı olarak birkaç foto-fiziksel olayda neden olmuş olabilir. Örneğin, (a) PET'in engellenmesi, (b) rodamin'in spiro-halka açılması ve (c) FRET (Fluorescence resonance energy transfer) prosesi. Rodamin molekülü FRET sistemi için iyi bir akseptördür. BAR molekülünde bisfenol-A grubu donor olarak davranır. Ayrıca ortamda bulunan su molekülleri, sadece PET prosesini engelemekle kalmaz, aynı zamanda spiro-halkasının açılmasını kolaylaştırarak FRET prosesini de neden olur. FRET mekanizmasına göre uyarılmış sistemde, donor (bisfenol-A)'dan akseptöre (rodamin) enerji transferi olur. FRET prosesinin varlığını anlamak için kullanılan en ideal yöntem, dönor'un emisyon spektrumu ile akseptörün absorbsiyon sepektrumlarının üst üste çakıştırılmasıdır. Bu spektrumların çakışması enerji transferinin uygun olup olmadığı hakkında fikir verir. BAR reseptörü için elde edilen emisyon ve absorbisyon spektrumları Şekil 4.3 de verildi. Grafikten de FRET mekanizmasının olabileceği açıkça görülmektedir.



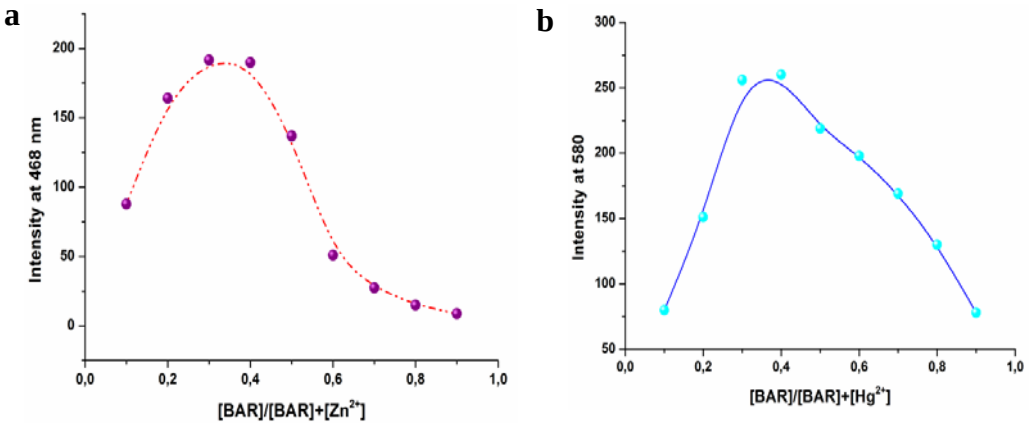
Şekil 4.3. Emisyon ve absorbsiyon spektrumlarının çakıştırılması.

Floresans titrasyon deneyleri, asetonitril ve asetonitril-su ortamındaki 20.0 μM BAR çözeltilerine değişen miktarlarda Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarının ilave edilesiyle gerçekleştirildi. Zn^{2+} ve Hg^{2+} konsantrasyonun arttırılmasıyla, 468 ve 580 nm dalga boylarındaki floresans şiddeti arttı (Şekil 4.4). Emisyon şiddetleri 5.0 ekivalent Zn^{2+}, 50 ekivalent Hg^{2+} ilavesinden sonra sabit hale geldi. Ayrıca Zn^{2+} iyonu 468 nm de yaklaşık 42 kat floresans artışına, Hg^{2+} iyonu ise 580 nm de 88 kat floresans artışına neden oldu.



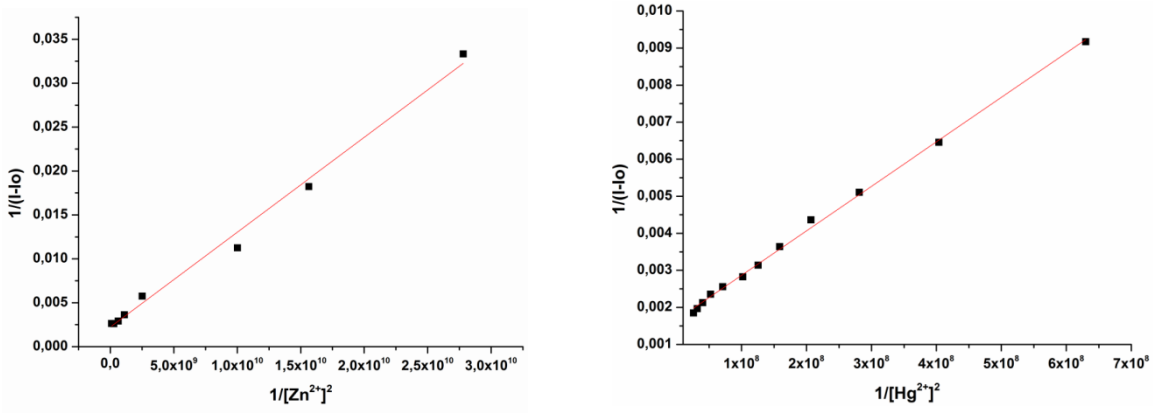
Şekil 4.4. BAR reseptörünün (20 µM) Zn^{2+} (a) ve Hg^{2+} (b) iyonları varlığındaki titrasyon eğrileri (λ_{ex}=364 nm).

Reseptör ve metal iyonları arasındaki bağlanma oranları Job metodu ile belirlendi. Şekil 4.5 de görüldüğü gibi, 468 ve 580 nm deki emisyon şiddetleri, reseptörün çözeltideki mol kesrine karşı grafiğe geçirildi. Maksimum emisyon şiddeti her iki kompleks içinde mol kesri 0.33 iken elde edildi. Bu sonuçlar reseptör-metal arasındaki bağlanma oranının 1:2 olduğunu gösterdi.

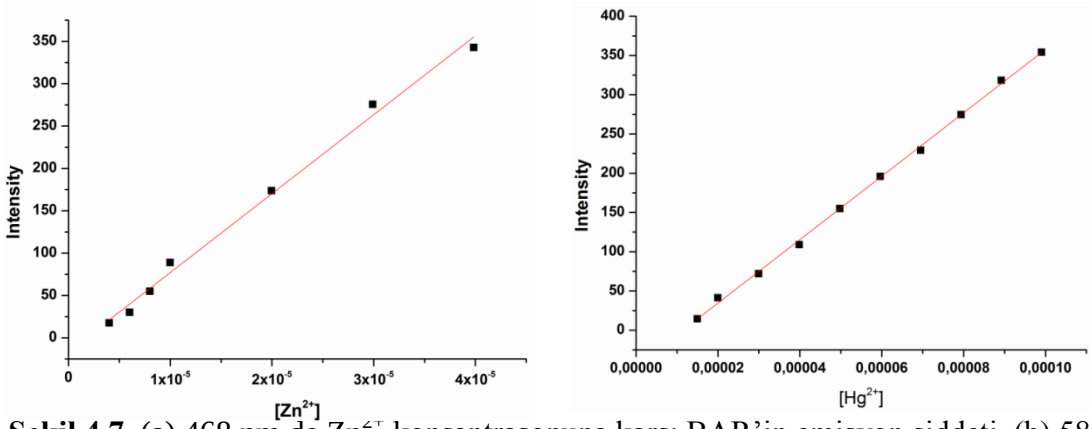


Şekil 4.5 BAR'in Zn^{2+} (a) ve Hg^{2+} (b) iyonlarına karşı Job eğrileri

Elde edilen titrasyon verileri kullanılarak hem Benesi-Hildebrand eşitliği ile bağlanma sabitleri (Tablo 4.1) hem de DL = 3S/K eşitliği ile dedeksiyon limitleri belirlendi (Şekil 4.6 ve 4.7).



Şekil 4.6. Zn^{2+} (a) ve Hg^{2+} (b) iyonları varlığında BAR reseptörünün Benesi–Hildebrand eğrileri



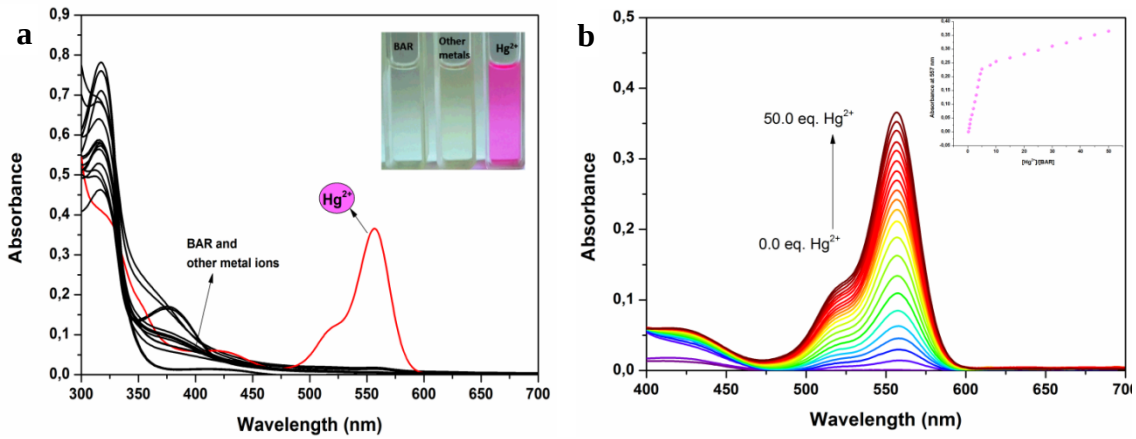
Şekil 4.7. (a) 468 nm de Zn^{2+} konsantrasonuna karşı BAR'in emisyon şiddeti, (b) 580 nm de Hg^{2+} konsantrasonuna karşı BAR'in emisyon şiddeti

Tablo 4.1. BAR-Zn^{2+} ve BAR-Hg^{2+} komplekslerinin bağlanma sabitleri ve dedeksiyon limitleri

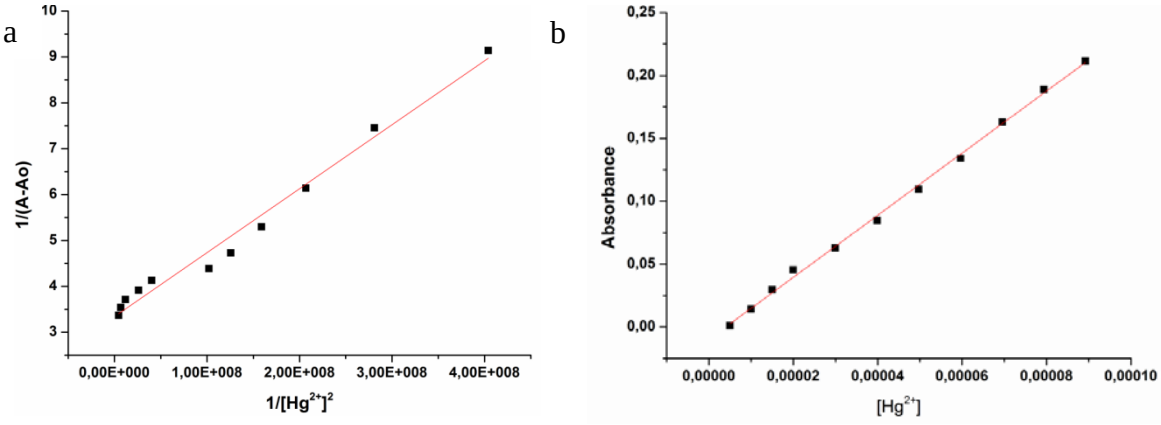
Reseptör	Metal iyonu	Bağlanma Sabiti (Ka)	LOD (dedeksiyon limit)
BAR	Zn^{2+}	2.10 x 10^9 M^{-2}	2.21 µM
	Hg^{2+}	1.70 x 10^8 M^{-2}	2.16 µM

BAR reseptörünün fotofiziksel özellikleri aynı zamanda farklı metal iyonları kullanılarak UV-vis spektroskopisi ile incelendi. Asetonitril ortamında yapılan ölçümlerde Zn^{2+} iyonu dahil hiç bir metal iyonu her hangi bir değişime neden olmadı. Asetonitril-su ortamında BAR (20 µM) çözeltisine metal iyonları ilave edilidiğinde ise sadece Hg^{2+} iyonu önemli bir absorbsiyon değişimine neden oldu. Başlangıçta renksiz olan BAR çözeltisi, Hg^{2+} iyonunun ilave edilmesiyle pembe renge dönüştü ve 557 nm de yeni bir absorbsiyon bandı gözlendi. Bu değişim spiro-halkasının asiklik ksanten

yapısına dönüşmesiyle meydana geldi. Elde edilen renk değişimi sulu ortamda Hg^{2+} iyonunun kolorimetrik olarak çıplak göz ile tayin edebilme imkanı sağlar. Ayrıca BAR çözeltisine artan oranlarda Hg^{2+} iyonu ilave edilerek titrasyon deneyleri gerçekleştirildi. 557 nm deki absorbsiyon bandı yaklaşık 50 ekivalent Hg^{2+} iyonu ilavesiyle sabit hale geldi (Şekil 4.8). Titrasyon verileri kullanılarak BAR reseptörünün Hg^{2+} iyonu için bağlanma sabiti 2.40 x 10^8 M^{-2} ve dedeksiyon limiti 2.24 µM olarak hesaplandı (Şekil 4.9)



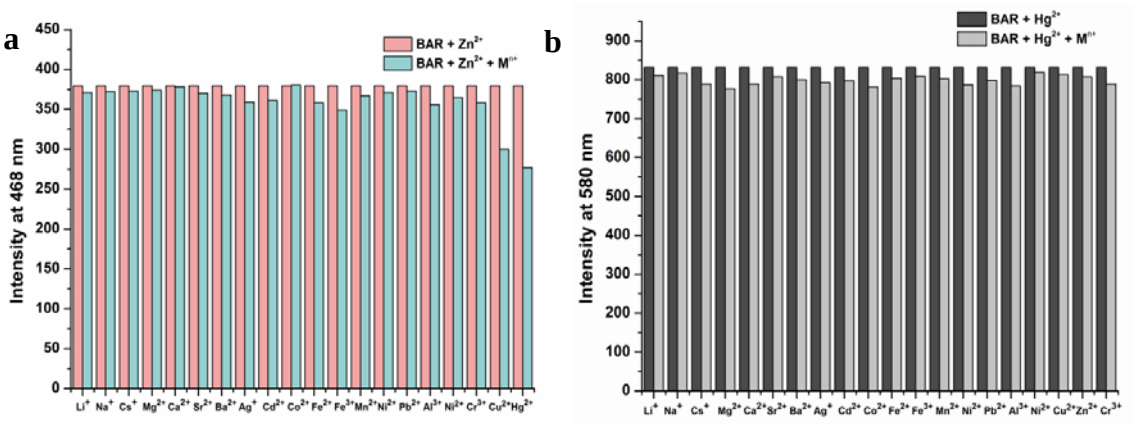
Şekil 4.8 (a) Farklı metal iyonları varlığında (50 ekv.) BAR'in absorbsiyon spektrumu (b) Artan oranlarda Hg^{2+} (0–50 ekv.) ilave edilmesiyle BAR'in absorbsiyon spektrumu



Şekil 4.9. (a) Hg^{2+} iyonları varlığında BAR reseptörünün Benesi–Hildebrand eğrisi, (b) 557 nm de Hg^{2+} konsantrasyonuna karşı BAR'in absorbsiyon şiddeti

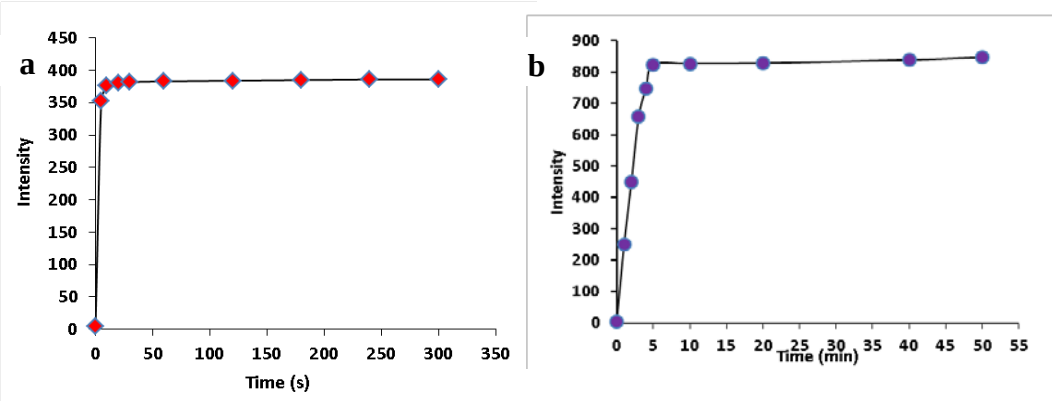
Başka bir seçimlilik çalışmasında, reseptör BAR'in Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarına karşı olan seçimliliğin de yarışmalı olarak diğer metal iyonların etkisi ayrı ayrı incelendi. Bunun için diğer metal iyonlarının varlığında asetonitril ortamında Zn^{2+} ile

BAR, asetonitril-su oramında ise Hg^{2+} ile BAR'in floresans şiddetleri ölçüldü (şekil 4.10). BAR'in Zn^{2+} iyonuna karşı olan seçimliğinde çok azda olsa Cu^{2+} ve Hg^{2+} iyonları çok azda olsa floresans şiddetinde azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.22). Diğer taraftan ise BAR reseptörü ile Hg^{2+} iyonun tayin edilmesinde diğer metallerin her hangi bir girişimi olmamıştır. Bu sonuçlar BAR reseptörü ile Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarının birçok metal iyonları varlığında bile kolaylıkla tayin edilebileceğini gösterir.



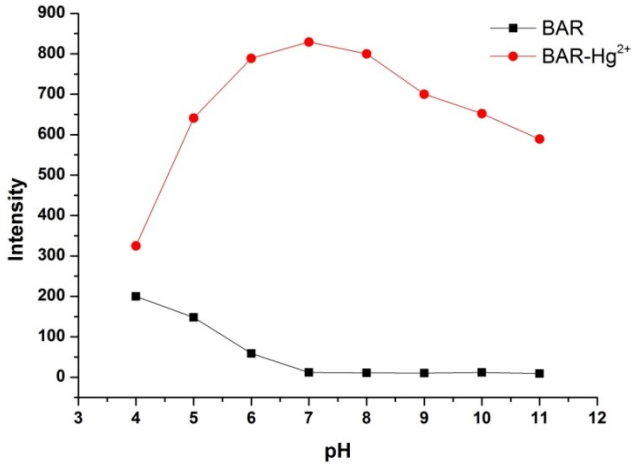
Şekil 4.10. Yarışmalı olarak farklı metal iyonları varlığında reseptör BAR'in Zn^{2+} (a) ve Hg^{2+} (b) iyonlarına karşı floresans tepkileri

Sensör çalışmalarındaki en önemli parametrelerden bir tanesi tepki süresidir. Bundan dolayı Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarının BAR reseptörüne bağlanma süreleri, 20 µM BAR çözeltisine 5 ekivalent Zn^{2+} ve 50 ekivalent Hg^{2+} ilavesiyle araştırıldı (Şekil 4.11). Sonuçlar BAR'in floresans şiddetinin Zn^{2+} için 10 saniye, Hg^{2+} iyonu için ise 5 dakikada sabit duruma geldiğini gösterdi. Bundan dolayı yapılan tüm ölçümlerde bu süreler kullanıldı.



Şekil 4.11. Zamana bağlı olarak Zn^{2+} (a) ve Hg^{2+} (b) ilavesiyle BAR'in floresans şiddeti

Sensör çalışmalarındaki diğer önemli parametrede pH'ın etkisidir. BAR reseptörü su içermeyen asetonitril içerisinde Zn^{2+} iyonuna karşı seçimlilik gösterdiği için BAR-Zn^{2+} kompleksi için pH'ın etkisi incelenemedi. Ancak asetonitril-su ortamında BAR-Hg^{2+} kompleksi için farklı pH lar (4-11) kullanılarak floresans şiddetindeki değişimler araştırıldı. Şekil 4.12 de görüldüğü gibi, asidik ortamda BAR, spiro-halkasının asiklik ksanten yapısına dönmesiyle belirli bir floresans şiddet gösterdi. Bu şiddet pH: 4 den pH; 6 ya kadar yavaş bir şekilde azaldı. Diğer taraftan BAR-Hg^{2+} kompleksi ise pH 6-8 aralığında belirgin bir floresans şiddeti gösterirken, bazik bölgede floresans şiddeti giderek azaldı. Bu azalma bazik bölgede OH^- iyonunun ve BAR reseptörünün Hg^{2+} iyonu için yarışmalı tür olarak hareket etmelerinden kaynaklanır ve metal-hidroksit türlerinin oluşması floresans şiddetinde azalmaya neden olur. Elde edilen sonuçlar BAR reseptörü ile Hg^{2+} iyonu tayininde ortam pH'nın 6-8 aralığında olmasının uygun olduğunu gösterdi.

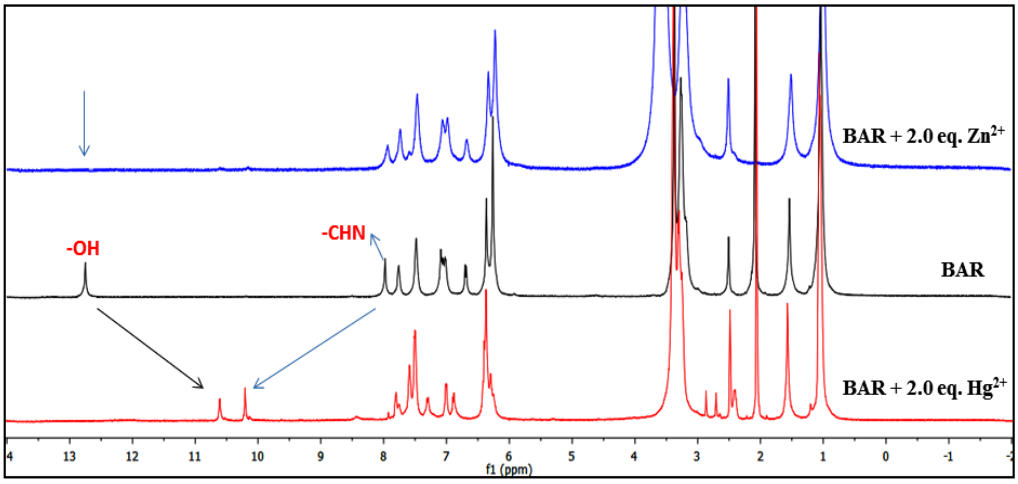


Şekil 4.12. BAR ve BAR-Hg^{2+} kompleksine pH'ın etkisi

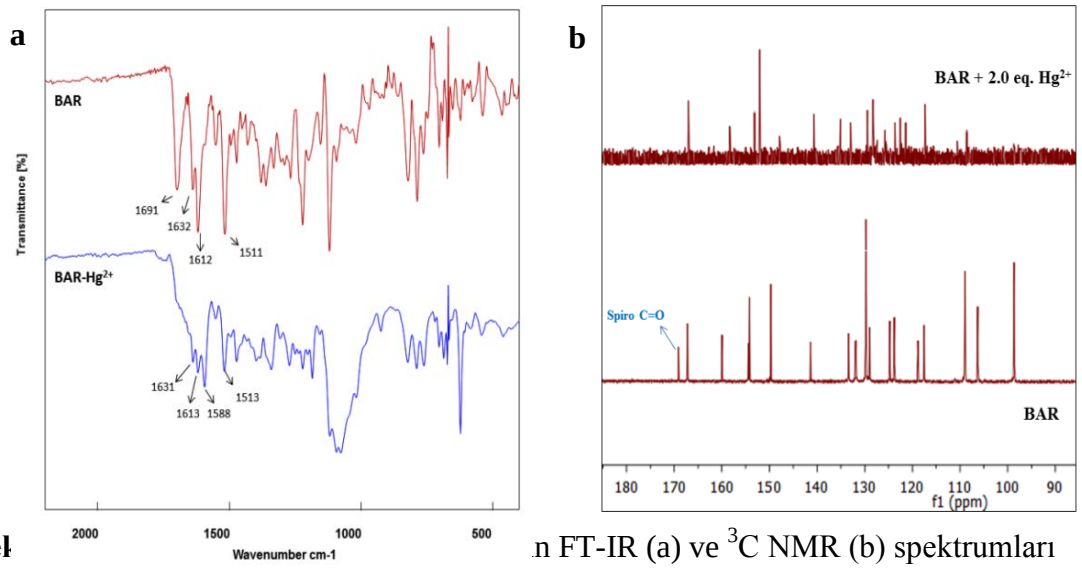
4.2.5. BAR'in Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları ile etkileşim mekanizması

BAR reseptörünün Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları arasındaki kompleksleşmeyi incelemek için bu metal iyonların varlığında ve yokluğunda BAR reseptörün ^1H NMR titrasyon deneyleri d_6-DMSO içerisinde gerçekleştirildi. BAR çözeltisine 2.0 ekivalent Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarının ilavesi farklı ^1H NMR spektrumların ortaya çıkmasına neden oldu (Şekil 4.13). Zn^{2+} iyonunun ilavesiyle 12.76 ppm deki –OH sinyali kaybolurken, 8.00 ppm deki CHN sinyali yukarı alana (7.95 ppm) kaydı. Bu sonuçlar BAR ve Zn^{2+} arasındaki kompleks oluşumunda fenolik OH ve Schiff bazı gruplarının etkili olduğunu gösterir. Diğer taraftan, BAR çözeltisine Hg^{2+} ilave edildiğinde, 8.00 ppm deki CHN

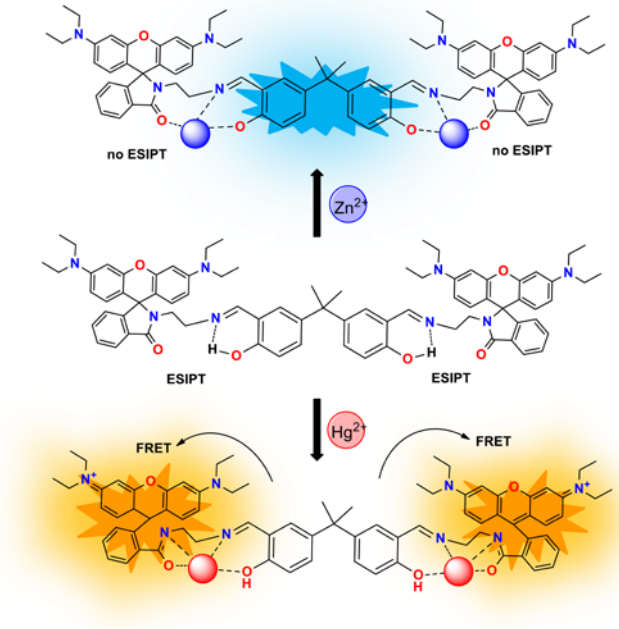
sinyali aşağı alana (10.20 ppm) kayarken, fenolik OH sinyali ise yukarı alana (10.62 ppm) kaydı. Ayrıca spiro-halkasının açılmasından kaynaklı olarak, elektron yoğunluğundaki değişimden dolayı benzen protonları iki pik olarak 7.49 ve 7.77 ppm de gözlendi. Spiro-halka açılma mekanizması aynı zamanda ^{13}C NMR ve FT-IR analizleri ile doğrulandı (Şekil 4.14). FTIR analizinde, 1691 cm^{-1} deki spirolaktam halkasındaki karbonil bandı, Hg^{2+} ilavesinden sonra kayboldu ve Hg^{2+} iyonun spiro-karbonil grubuna bağlandığını gösteren 1588 cm^{-1} de amit karbonil-O bandı gözlendi. ^{13}C NMR da ise, spiro-karboniline ait 169.35 ppm deki sinyal Hg^{2+} ilavesiyle tamamen kayboldu. Elde edilen veriler kullanılarak BAR'in Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları arasındaki kompleksleşme için Şekil 4.15 deki yapı önerildi.



Şekil 4.13. 2.0 ekiv. Zn^{2+}ve Hg^{2+} iyonları varlığında BAR'in ^{1}H NMR spektrumu



Şekil n FT-IR (a) ve ^{3}C NMR (b) spektrumları

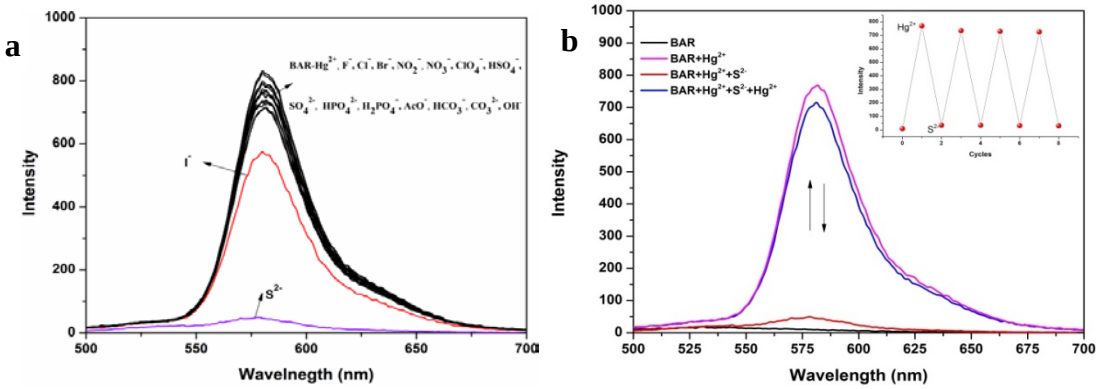


Şekil 4.15. BAR'in Zn^{2+} ve Hg^{2+} arasındaki önerilen kompleksleşme modeli

4.2.6. Tekrar kullanılabilirlik ve canlı hücre çalışmaları

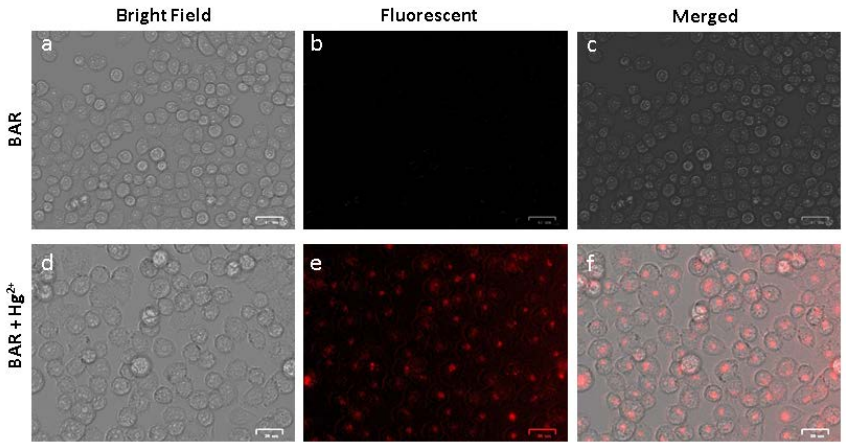
Hazırlanan sensörün pratik uygulamalar açısından tekrar kullanılabilirliği büyük önem arz eder. Bundan dolayı, sentezlenen BAR reseptörünün Hg^{2+} iyonuna karşı olan kullanılabilirliği araştırıldı. İlk olarak BAR-Hg^{2+} kompleks sistemine anyonların etkisi incelendi. Bunun için BAR-Hg^{2+} çözeltisine farklı anyonlar (F^{-}, Cl^{-}, Br^{-}, I^{-}, $H_2PO_4^{-}$, HPO_4^{2-}, NO_2^{-}, NO_3^{-}, AcO^{-}, ClO_4^{-}, SO_4^{2-}, HSO_4^{-}, CO_3^{2-}, HCO_3^{-} , S^{2-} ve OH^{-}) ilave ederek floresans şiddetindeki değişimler kaydedildi (Şekil 4.16a). Sonuçlar sadece S^{2-} anyonun floresans şiddetinde belirgin bir azalmaya neden olduğunu gösterdi. Diğer anyonlar herhangi bir etki yapmaz iken çok azda olsa I^{-} anyonu ile azalma gerçekleşti.

Bu durum Hg^{2+} iyonun sülfit anyonu ile güçlü kompleks yapabilme özelliğinden kaynaklanır. Çözelti ortamına tekrar Hg^{2+} ilave edildiğinde floresans şiddetinde tekrar bir artış gözlendi. Bu işlem çok az floresans kayıpları ile BAR reseptörünün Hg^{2+} iyonuna karşı floresans sensör olarak tekrar kullanılabilirliğini gösterdi (Şekil 4.16b).



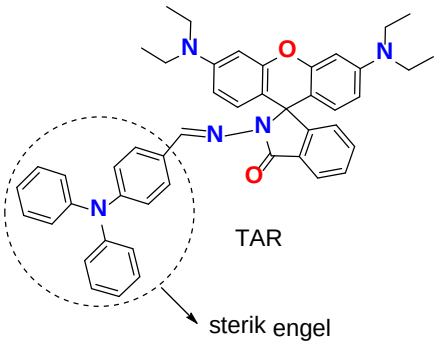
Şekil 4.16.(a) BAR-Hg^{2+} kompleksin floresans şiddetine farklı anyonların etkisi; (b) sülfit (S^{2-}) varlığında BAR-Hg^{2+} kompleksin tekrar kullanılabilirliği

Hazırlanan reseptör aynı zamanda canlı hücrelerdeki Hg^{2+} iyonu tayini için kullanıldı. Bunun için insan prostat kanser hücreleri (PC-3) uygun ortamda Hg^{2+} iyonu ile yaklaşık 1 saat muamele edildi ve hücre içine girmeyen Hg^{2+} iyonlarını uzaklaştırmak için fosfat tampon (pH 7.0) ile yıkandı. Hg^{2+} iyonu içeren hücreler daha sonra BAR reseptörü ile muamele edilerek her bir adımdaki hücrelerin floresans resimleri alındı. Başlangıçta floresans olmayan BAR reseptörü hücre içinde Hg^{2+} iyonu ile etkileşince floresans olarak ışık yaymaya başladı. Bu durum hem reseptörün hücre içine kolaylıkla girebildiğini hem de canlı hücredeki Hg^{2+} iyonunu tespit edebildiğini gösterdi (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. (a) BAR ile etkileştirilen PC-3 hücrelerinin aydınlık alan resmi; (b) a'nın floresans resmi; (c) a ve b'nin çakıştırılmış resmi, (d) BAR ve Hg^{2+} ile etkileştirilmiş hücrelerin aydınlık alan resmi; (e) d'nin floresans resmi; (f) e ve d'nin çakıştırılmış resmi.

Sentezlenen bir diğer reseptör olan TAR molekülü için hem florometrik hem de kolorimetrik çalışmalar yapıldı. Yapılan seçimlilik çalışmalarında, TAR reseptörü asetonitril-su ortamında sadece Hg^{2+} iyonuna karşı tepki gösterdi. Fakat TAR molekülünün Hg^{2+} iyonu ile etkileşmesi yaklaşık 1 saat sonra gerçekleşti. Reaksiyon süresinin fazla olması nedeniyle titrasyon ve diğer deneyler gerçekleştirilemedi.



Molekül yapısı incelendiğinde büyük bir hacme sahip olan trifenilamin grubu, metal iyonunun spiro-laktam bölgesine yaklaşmasını engellemiş olabilir. Zamana bağlı olarak bu etkileşmenin yaklaşık 1 saat sonra gerçekleştiği deneysel olarak tespit edildi. TAR molekülü sensör özellik göstermesine rağmen uzun süreli bir tepki süresi gösterdiği için, hem diğer parametrelerin değerlendirilmesine hem de pratik uygulama çalışmalarına engel teşkil eder.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- ✓ Bu tezde rodamin B'nin etilendiamin ve hidrazin türevleri hazırlanarak, bisfenol-A ve trifenilamin'in aldehit türevleri ile Schiff bazı türevlerine dönüştürülmüştür.

- ✓ Sentezlenen bileşiklerin yapıları FTIR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, COSY ve elemental analiz teknikleri ile aydınlatıldı.

- ✓ Sentezlenen reseptörlerin farklı metal iyonlarına (Li^{+}, Na^{+}, Cs^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Ag^{+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Al^{3+}, Pb^{2+}) karşı optik özellikleri hem floresans hem de UV-vis. spektroskopisi ile incelendi

- ✓ Trifenilamin içeren rodamin B türevinin Hg^{2+} iyonuna karşı hem kolorimetrik hem de florimetrik sensör olduğu tespit edilmesine rağmen, tepki süresinin çok fazla olması nedeniyle pratiksel olarak uygun olmadığı sonucuna varıldı.

- ✓ Bisfenol-A içeren diğer rodamin B türevinin (BAR) ise asetonitril ortamında Zn^{2+} iyonuna karşı asetonitril-su ortamında ise Hg^{2+} iyonuna karşı seçimli olduğu bulundu.

- ✓ BAR molekülünün Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarına karşı olan seçimlilik mekanizması hem floresans ölçümlerinden hem de FTIR, ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR teknikleri ile tespit edildi.

- ✓ Elde edilen sonuçlar BAR reseptörünün Zn^{2+} iyonu için ESIPT mekanizması, Hg^{2+} iyonu içim ise FRET mekanizmasının etkili olduğunu gösterdi.

- ✓ BAR'ın Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları ile olan etkileşimleri UV-vis ve flüoresans titrasyon deneyleri ile araştırıldı ve elde edilen sonuçlar ile Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılarak bağlanma sabitleri belirlendi. Ayrıca ilave edilen Zn^{2+} ve Hg^{2+} konsantrasyonuna bağlı olarak bu reseptörlerin dedeksiyon limitleri hesaplandı.

- ✓ BAR'ın Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları ile oluşturduğu komplekslerin bileşimini tayin etmek için Job metodu kullanıldı ve komplekslerin bileşimleri tayin edildi.

- ✓ Sonuç olarak bu çalışmada rodamin B bazlı yeni reseptörler sentezlendi ve yapıları detaylı olarak karakterize edildi. Bu reseptörlerin optik özellikleri farklı metal iyonlarına karşı incelendi ve bisfenol-A içeren rodamin B türevinin farklı çözücü siteminde Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarına karşı sensör özellik gösterdiği bulundu. Ayrıca yapılan bu çalışmalar ve elde edilen sonuçlar sensör alanında yapılacak olan bilimsel çalışmalara katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

Bauer H, (1978). G. Christian, and J, O'Reilly, Instrumental Analysis, Allyn and Bacon, Inc., Boston, MA.

Çapan A, 2015. 3-hidroksiflavon Türevlerinin Sentezi Ve Mikroheterojenik Sistemlerle Etkileşimlerinin Floresans Spektroskopi Yöntemi İle İncelenmesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Erdemir S, Malkondu S, 2013. A novel “turn on” fluorescent sensor based on hydroxy-triphenylamine for Zn 2+ and Cd 2+ ions in MeCN. Sensors and Actuators B: Chemical, 188, 1225-9.

Erdemir S, Tabakci B, Tabakci M, 2016. A highly selective fluorescent sensor based on calix [4] arene appended benzothiazole units for Cu 2+, S 2− and HSO 4− ions in aqueous solution. Sensors and Actuators B: Chemical, 228, 109-16.

Ewing GW, 1985. Instrumental methods of chemical analysis, McGraw-Hill, p.

Guliyev R, 2008. RATIONAL DESIGN OF RATIOMETRIC CHEMOSENSOR VIA MODULATION OF ENERGY DONOR EFFICIENCY. Yüksek Lisans Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Ankara.

Jeong JW, Rao BA, Son Y-A, 2015. Rhodamine-chloronicotinaldehyde-based “OFF–ON” chemosensor for the colorimetric and fluorescent determination of Al 3+ ions. Sensors and actuators B: chemical, 208, 75-84.

Kang S, Kim S, Yang Y-K, Bae S, Tae J, 2009. Fluorescent and colorimetric detection of acid vapors by using solid-supported rhodamine hydrazides. Tetrahedron Letters, 50, 17, 2010-2.

Kim JS, Quang DT, 2007. Calixarene-derived fluorescent probes. Chemical Reviews, 107, 9, 3780-99.

Liu D, Pang T, Ma K, Jiang W, Bao X, 2014. A new highly sensitive and selective fluorescence chemosensor for Cr 3+ based on rhodamine B and a 4, 13-diaza-18-crown 6-ether conjugate. RSC Advances, 4, 5, 2563-7.

Ozay H, Kagit R, Yildirim M, Yesilot S, Ozay O, 2014. Novel hexapodal triazole linked to a cyclophosphazene core rhodamine-based chemosensor for selective determination of Hg2+ ions. Journal of fluorescence, 24, 6, 1593-601.

Tsien RY, 1980. New calcium indicators and buffers with high selectivity against magnesium and protons: design, synthesis, and properties of prototype structures. Biochemistry, 19, 11, 2396-404.

Valeur B, 2001. Molecular Fluorescence: Principles and Applications.

Valeur B, Leray I, 2000. Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition. Coordination Chemistry Reviews, 205, 1, 3-40.

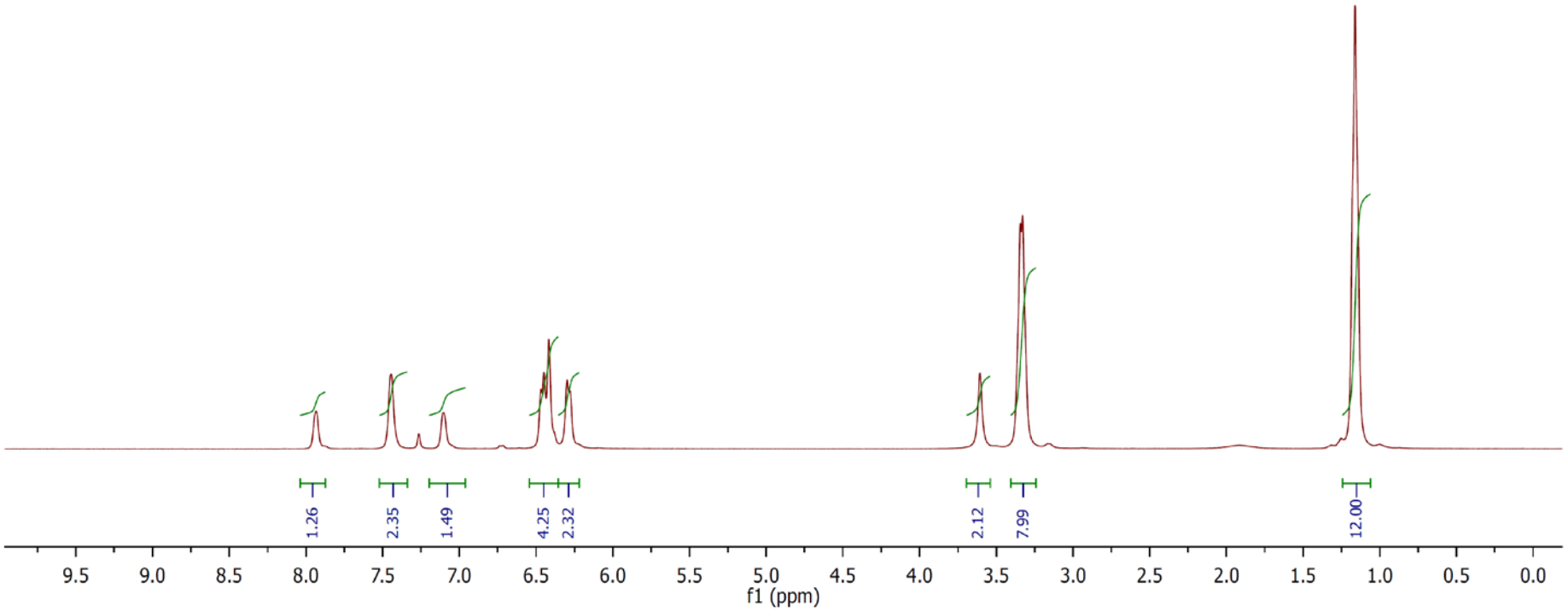
Wanichacheva N, Praikaew P, Suwanich T, Sukrat K, 2014. “Naked-eye” colorimetric and “turn-on” fluorometric chemosensors for reversible Hg 2+ detection. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 118, 908-14.

Wu S-P, Huang Z-M, Liu S-R, Chung PK, 2012. A Pyrene-based Highly Selective Turn-on Fluorescent Sensor for Copper(II) Ion and its Application in Live Cell Imaging. Journal of Fluorescence, 22, 1, 253-9.

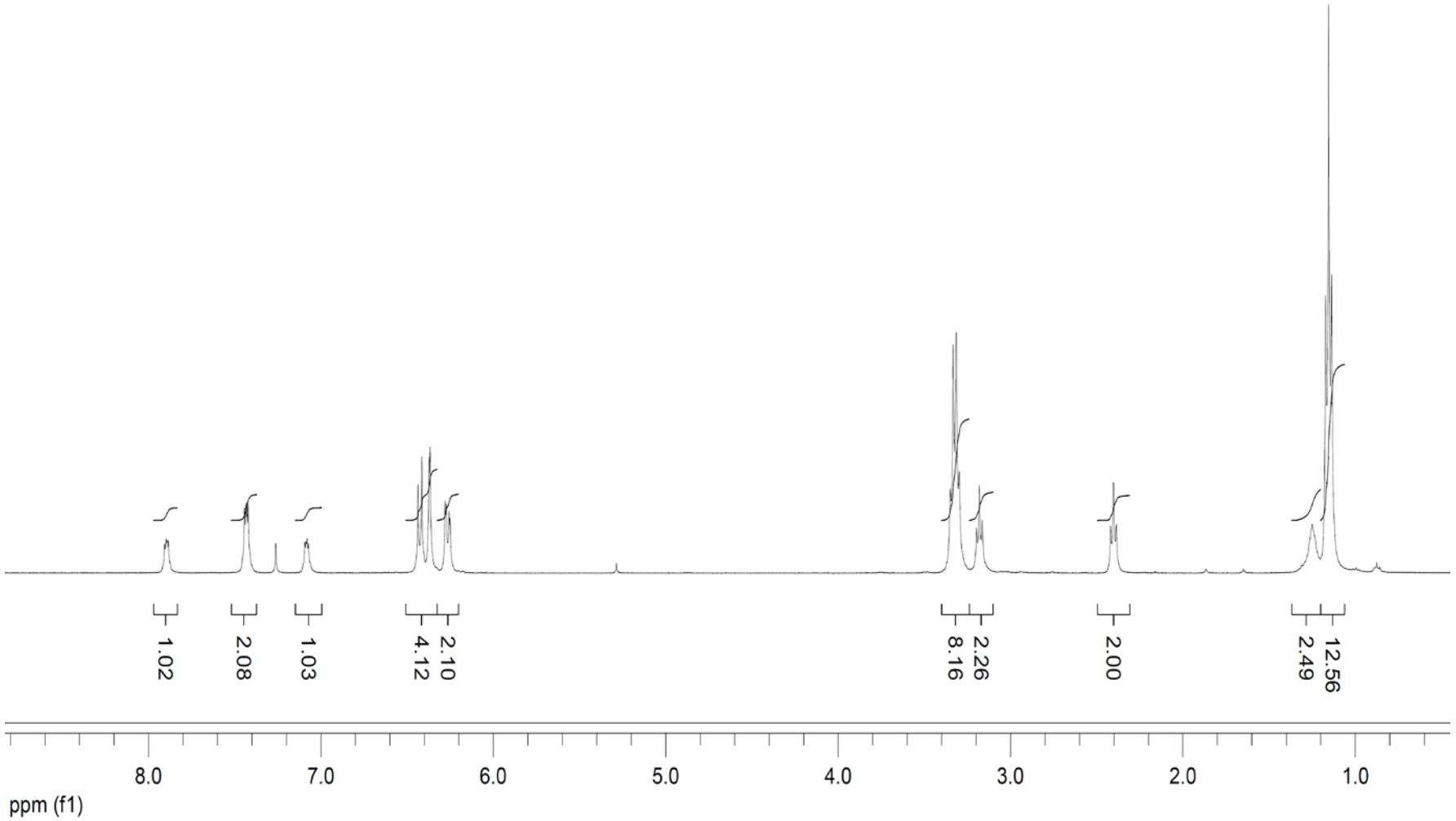
Zhang Z, Lu S, Sha C, Xu D, 2015. A single thiourea-appended 1, 8-naphthalimide chemosensor for three heavy metal ions: Fe 3+, Pb 2+, and Hg 2+. Sensors and Actuators B: Chemical, 208, 258-66.

EKLER

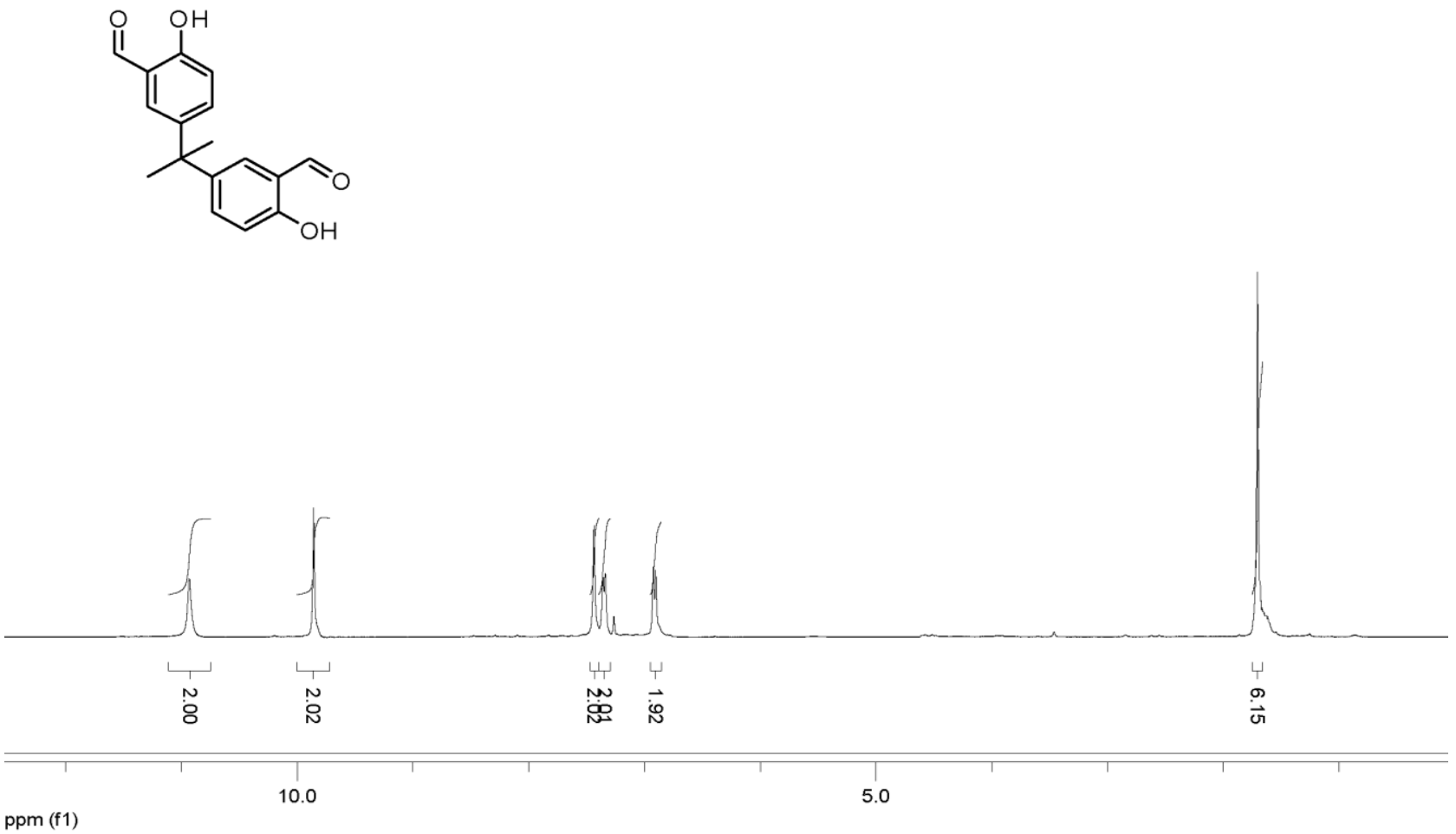
Ek. 1. Bileşik 1'in ^{1}H NMR spektrumu



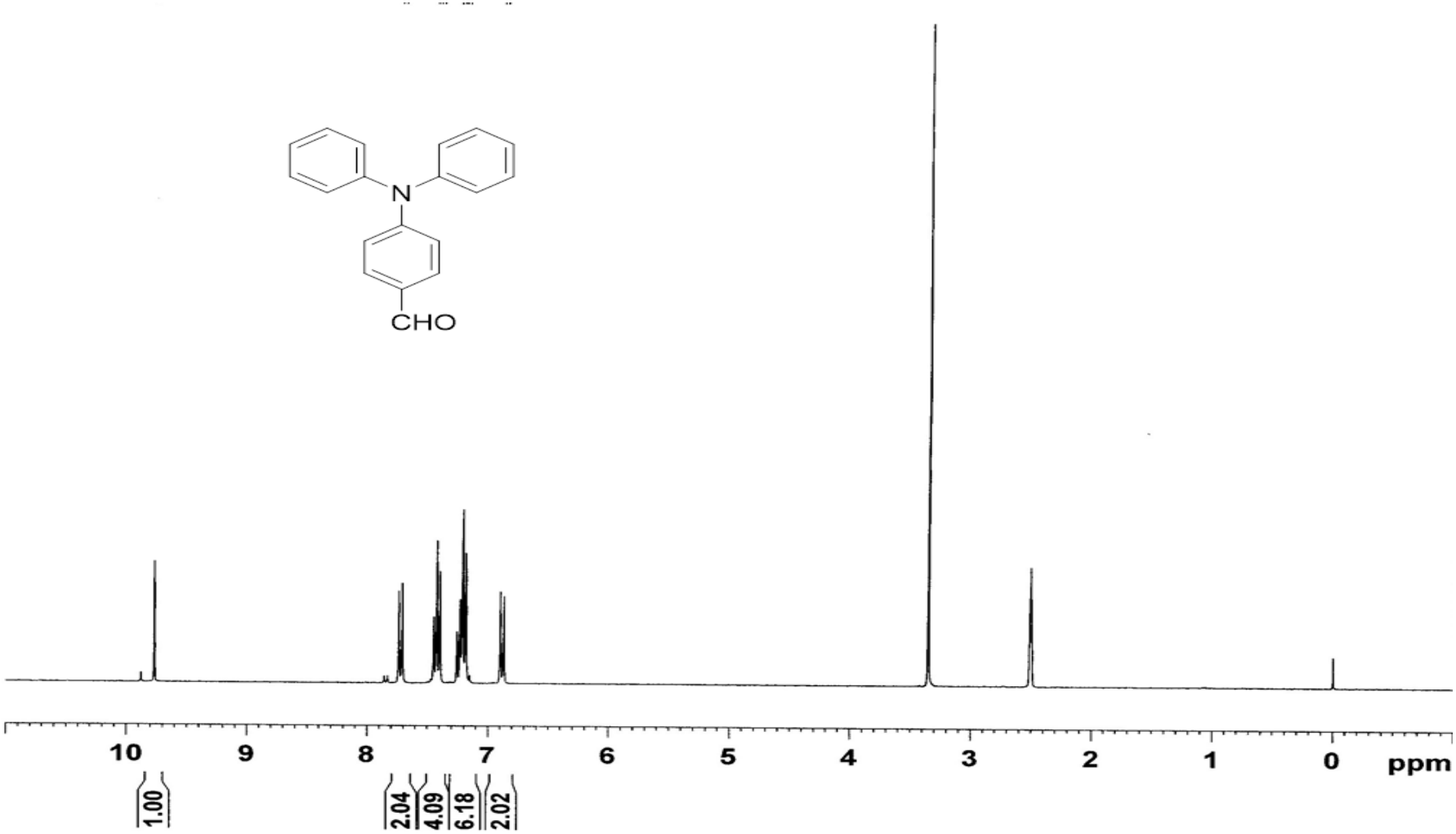
Ek. 2. Bileşik 2'in ^{1}H NMR spektrumu



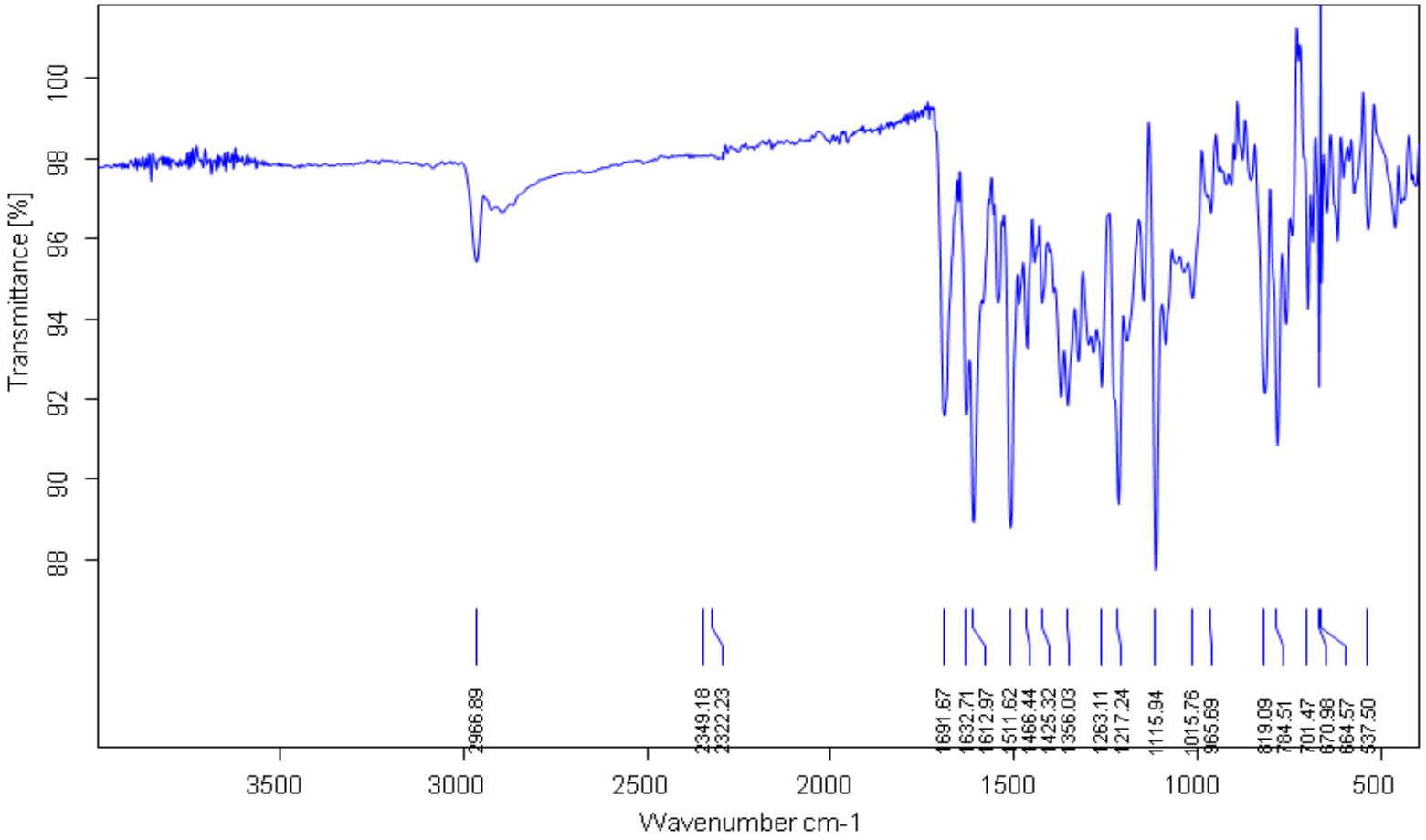
Ek. 3. Bileşik 3'in ^{1}H NMR spektrumu



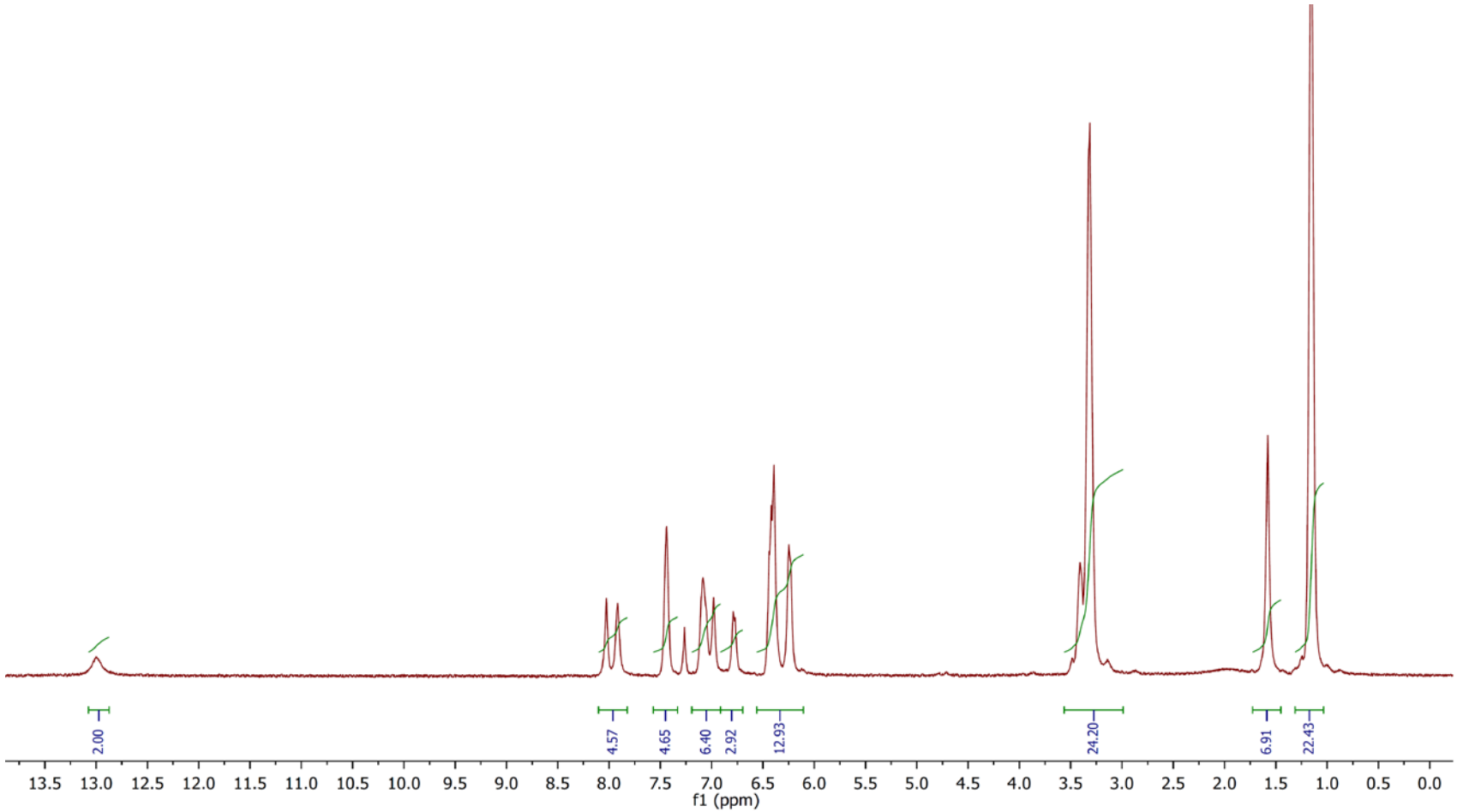
Ek. 4. Bileşik 4'in ^{1}H NMR spektrumu



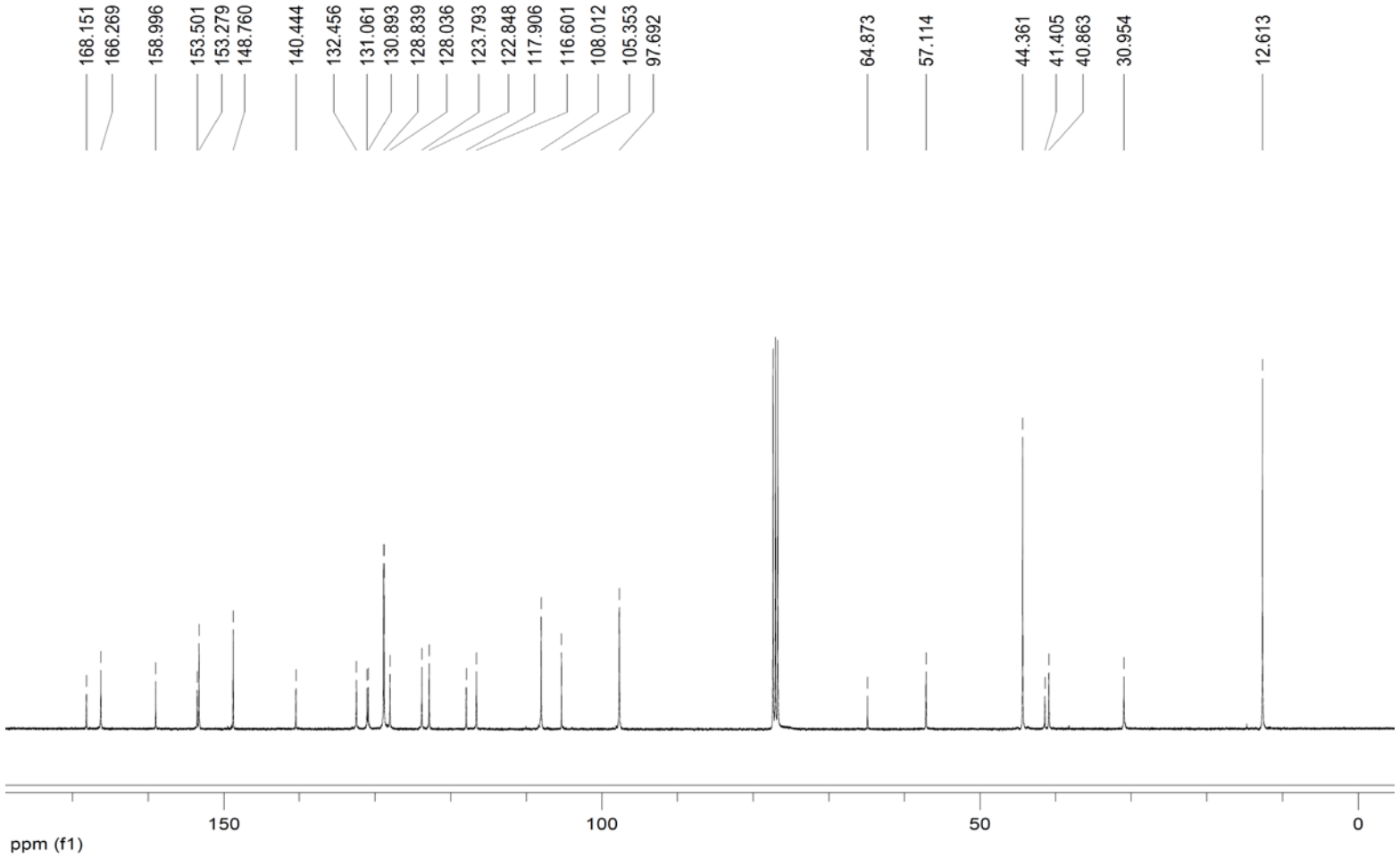
Ek. 5. BAR'ın FTIR spektrumu



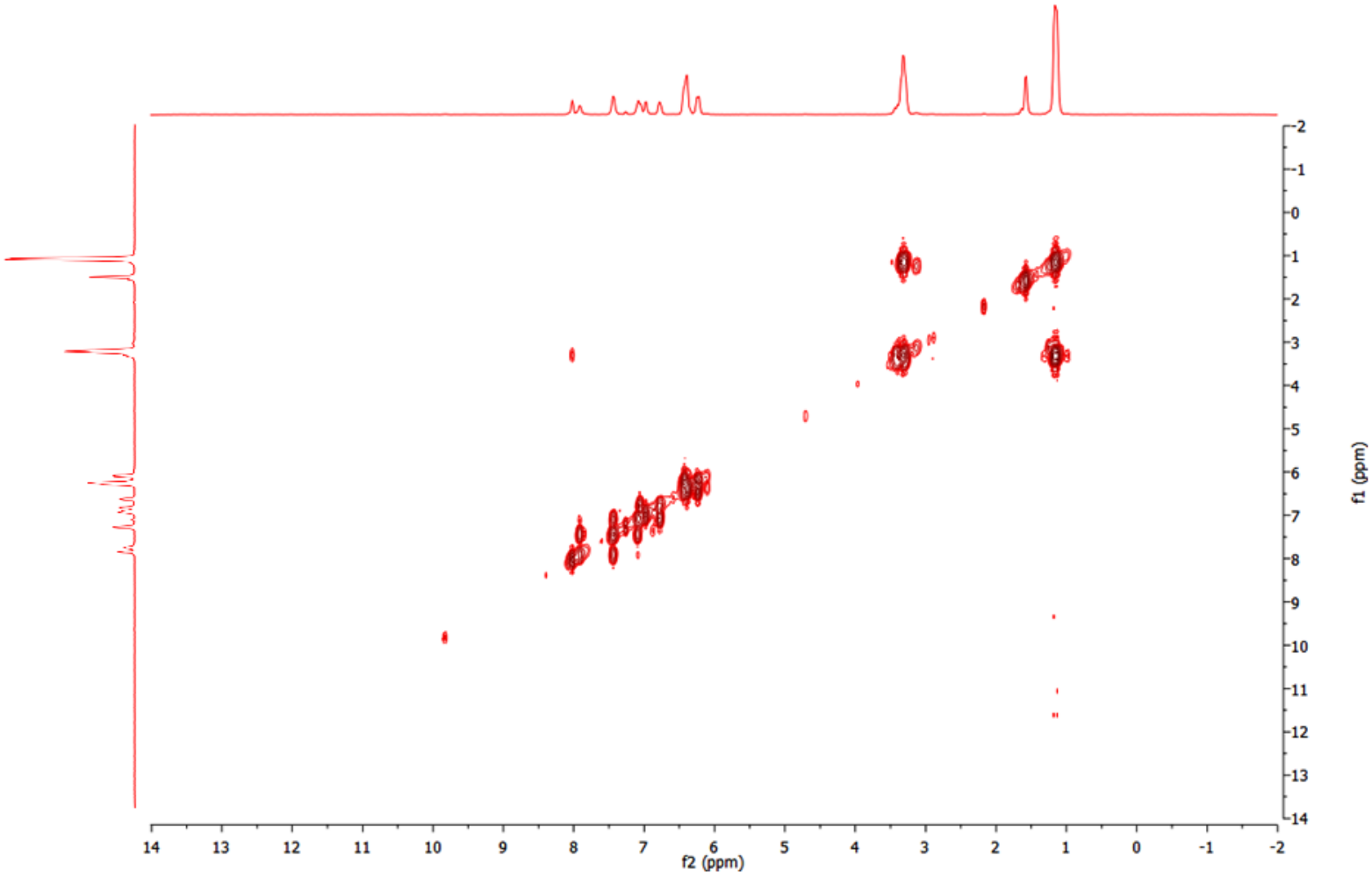
Ek. 6. BAR'ın ^{1}H NMR spektrumu



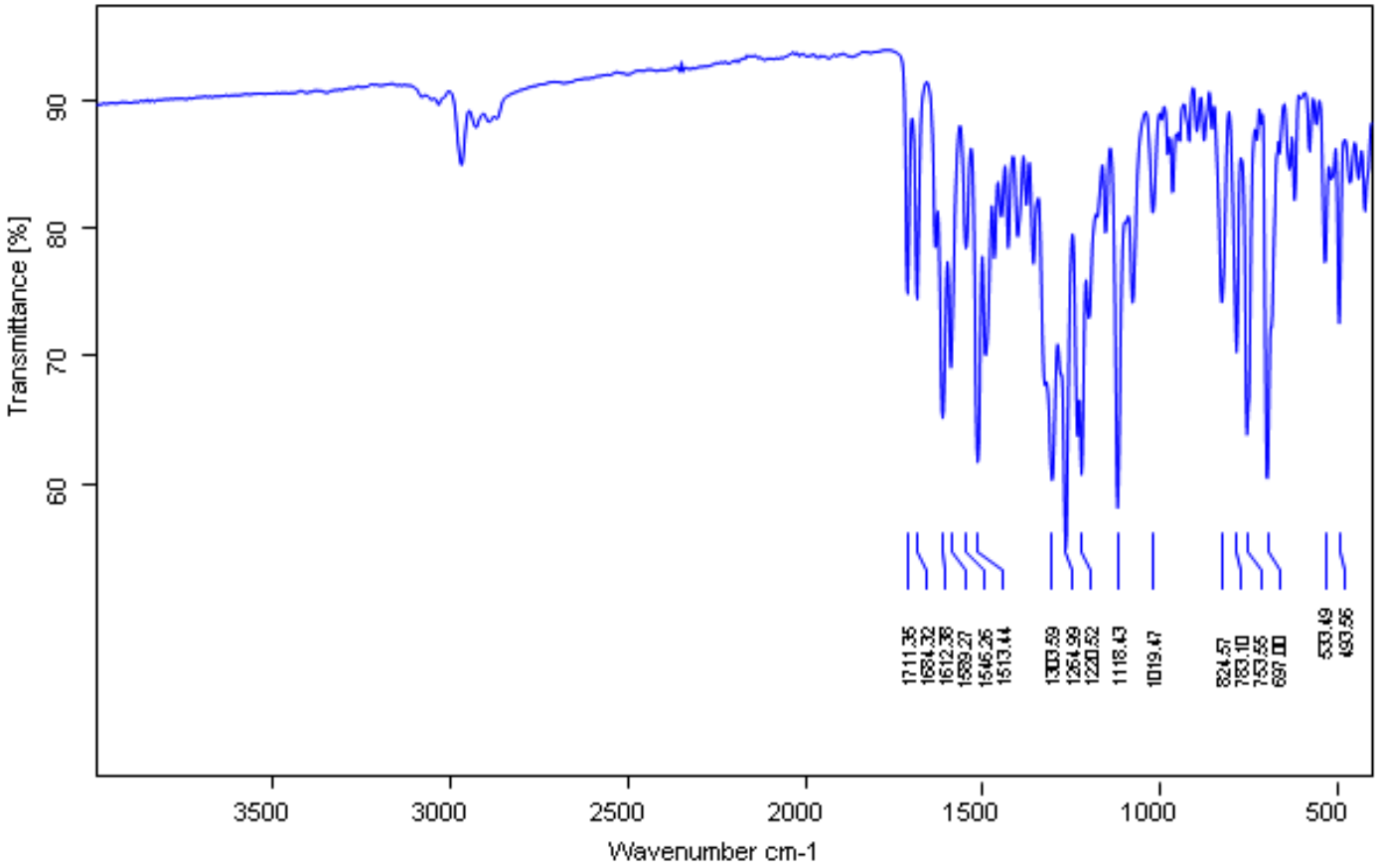
Ek. 7. BAR'ın ^{13}C NMR spektrumu



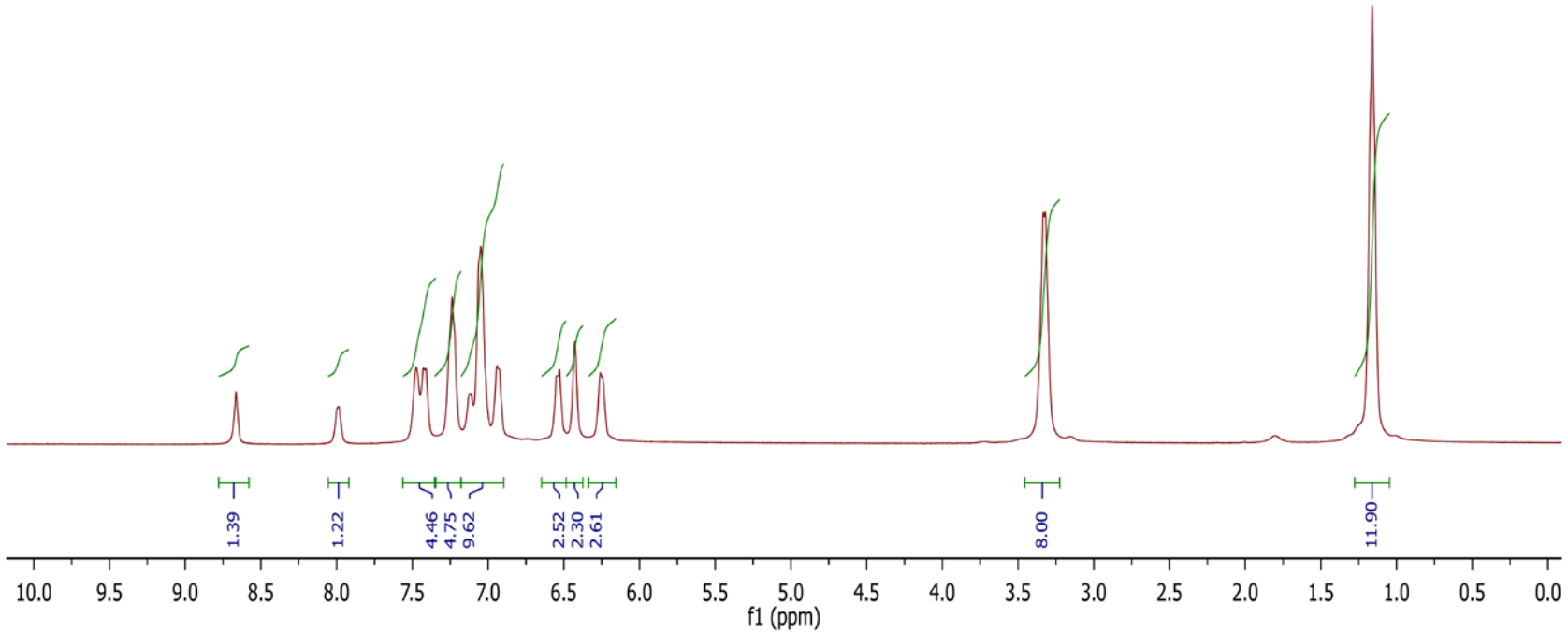
Ek. 8. BAR'ın COSY NMR spektrumu



Ek. 9. TAR'ın FTIR spektrumu



Ek. 10. TAR'ın ^{1}H NMR spektrumu



ÖZGEÇMİŞ
KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Mesut YÜKSEKOĞUL
Uyruğu	**:**	T.C
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	TUFANBEYLİ-01.06.1981
Telefon	**:**	0507 244 82 27
Faks	**:**	
e-mail	**:**	myuksekoglu@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	**Tufanbeyli Lisesi Tufanbeyli ADANA**	**1997**
Üniversite	:	**Kafkas Üniv. Fen Ede. Fak. Kimya Bölümü**	**2002**
Yüksek Lisans	:	**Selçuk Üniv. Fen Bil.Enst. Kimya A.B.D.**	**2017**
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**
2002-2017	**Final Okulları**	**Kimya Öğretmeni**

UZMANLIK ALANI

Anorganik Kimya

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

Erdemir S, Yuksekogul M, Karakurt S, Kocyigit O, 2017. Dual-channel fluorescent probe based on bisphenol A-rhodamine for Zn^{2+} and Hg^{2+} through different signaling mechanisms and its bioimaging studies. Sensors and Actuators B: Chemical, 241, 230-8.