T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kaliks[4]aren 1,3-Dibenzooksodiazol Türevlerinin Sentezi, Seçimli Anyon Taşıma Özelliklerinin İncelenmesi ve Canlı Hücre Görüntülenmesinde Kullanılması

Malak ALIZADA

YÜKSEK LİSANS

Kimya Anabilim Dalı

Şubat-2020

KONYA

Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KALİKS[4]AREN 1,3-DİBENZOOKSODİAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ, SEÇİMLİ ANYON TAŞIMA ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE CANLI HÜCRE GÖRÜNTÜLENMESİNDE KULLANILMASI

Malak ALIZADA

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

2020, 102 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
Prof. Dr. Ahmet KOÇAK
Prof. Dr. Erol PEHLİVAN

Kaliksarenler, basit yoldan sentezlenebilmeleri ve kolay fonksiyonlandırılabilmelerinden dolayı sentetik organik kimyada popüler bileşikler olmayı sürdürmektedirler. Bu bileşikler hem fenolik-O üzerinden hem de ter-bütil gruplarının dealkilasyonundan sonra aromatik birimlerin *p*-konumundan fonksiyonlandırılarak anyon, katyon ve nötral molekül taşıyıcı olarak kullanılmaktadırlar.

Bu çalışmada 1,3-dibenzooksodiazol (NBD) grupları taşıyan kaliks[4]aren türevleri sentezlendi ve yapıları spektroskopik teknikler (FTIR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR) ile aydınlatıldı. Sentezlenen kaliks[4]aren türevlerinin katyon ve anyon taşıma özellikleri UV-Vis. ve floresans spektroskopik teknikleri kullanılarak incelendi. Metal katyonu olarak Na^{+}, Mg^{+2}, Ca^{+2}, Fe^{+2}, Fe^{+3}, Co^{+2}, Ni^{+2}, Cu^{+2}, Zn^{+2}, Hg^{+2}, Al^{+3}, Cr^{+3}, Ag^{+}, Pb^{+2} ve anyon olarak F^{-}, Cl^{-}, Br^{-}, I^{-}, $H_2PO_4^{-}$, PO_4^{-3}, HSO_4^{-}, SO_4^{-2}, NO_3^{-}, CH_3COO^{-} kullanıldı.

Sentezlenen kaliks[4]aren türevlerinin (**4**, **8**, **12** no'lu bileşikler) Cu^{+2} iyonuna karşı seçimli olduğu ve floresans özellik gösterdiği, **4**, **8** no'lu bileşiklerin F^{-} ve $H_2PO_4^{-}$ iyonlarına karşı seçimli floresans özellik gösterdiği anlaşıldı. **12** no'lu kaliks[4]arenler türevinin ise F^{-} ve CH_3COO^{-} iyonlarına karşı seçimli floresans özellikte olduğu gözlendi. Bu kompleksleşme çalışmalarının yanında bu bileşikler A549 (akciğer kanseri) hücresi kullanılarak hücre içi görüntülemede kullanıldılar.

Anahtar Kelimeler: Floresans, Kaliks[4]aren, Katyon ve Anyon Sensör, NBD

ABSTRACT

MS THESIS

SYNTHESIS OF CALIX[4]ARENE 1,3-DIBENZOOXADIAZOLE DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF SELECTIVE ANION CARRYING PROPERTIES AND THEIR APPLICATION IN LIVING CELL IMAGING

Malak ALIZADA

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

Advisor: Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

2020, 102 Pages

Jury
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
Prof. Dr. Ahmet KOÇAK
Prof. Dr. Erol PEHLİVAN

Calixarenes continue to be popular compounds in synthetic organic chemistry due to their simple synthesis and easily functionalized. These compounds are used as the anion, cation, and neutral molecule carrier, both from phenolic-O and after dealkylation of tert-butyl groups by functionalized the p-position of aromatic units.

In this study calix[4]arene derivatives bearing 1,3-dibenzooxodiazole (NBD) groups were synthesized and their structures were examined by spectroscopic techniques (FTIR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR). Fluorescence properties of the synthesized calix[4]arene derivatives were examined by UV-Vis and fluorescence spectroscopic techniques. As the metal cations Na^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Hg^{2+}, Al^{3+}, Cr^{3+}, Ag^{+}, Pb^{2+} and the anions F^{-}, Cl^{-}, Br^{-}, I^{-}, $H_2PO_4^{-}$, PO_4^{3-}, HSO_4^{-}, SO_4^{2-}, NO_3^{-}, CH_3COO^{-} were used.

It was understood that the synthesized calix[4]arene derivatives (compounds **4**, **8**, **12**) were selective against Cu^{+2} ion and had fluorescence properties and compounds **4**, **8** had selective fluorescence against F^{-} and $H_2PO_4^{-}$ ions. Compound **12** of calix[4]arene derivative had selective fluorescence against F^{-} and CH_3COO^{-} ions was observed. In addition to these complexation studies, these compounds were used for intracellular imaging using the A549 (lung cancer) cell.

Keywords: Fluorescence, Calix[4]arene, Cation and Anion Sensor, NBD

ÖNSÖZ

Bilimin ve bilgiye ulaşmanın öneminin giderek arttığı çağımızda, benim de bilime katkıda bulunmamda yardımcı olan, iki yıl boyunca bana destek veren, beni yönlendiren, engin bilgi ve görüşlerini hiçbir zaman benden esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Kimya Bölümündeki diğer hocalarımın da bana eğitimim sürecinde kazandırdıkları herbir bilgi için teşekkürlerimi sunmayı borç biliyorum.

Bu çalışmayı BAP 19201072 no'lu proje ile dektekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek lisans eğitimime başladığım günden itibaren tecrübe ve bilgileri ile çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından hiçbir zaman desteğini benden eksik etmeyen, ne zaman ihtiyacım olsa zamanı olmamasına rağmen bana sürekli yardımda bulunarak eleştirileriyle yol gösteren değerli Öğr. Gör. Mehmet OĞUZ'a, çalışmamda bana fazlasıyla destek sağlayan, benimle beraber benim için her şartta çalışan, hücre kültürü çalışmamda sonsuz emeği olan, birlikte çalışmaktan zevk aldığım, gelecekteki hayatında çok daha başarılı olacağına inandığım yüksek lisans hayatımda kazandığım arkadaşım değerli doktora öğrencisi Alev GÜL'e, birlikte güzel vakit geçirdiğimiz ve manevi dekteklerinden dolayı değerli arkadaşım Arş. Gör. Ayşen IŞIK'a ve tez çalışmamım sonlarında sürekli sorularımla kıymetli zamanını aldığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ahmed Nuri KURŞUNLU'ya teşekkürlerimi borç biliyorum.

Son olarak beni bu güne kadar büyüten, sevgisini, maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen, bana olan güvenlerini hiç kaybetmeyen, her daim varlıklarını yanımda hissettiğim babam Razim ALİYEV'a, annem Arifa ALİYEVA BABAYEVA'ya, ağabeyim Mammad ALİZADA'ya ve ablam Fatma ALİZADA'ya, üniversite seçimimde bana fazlasıyla yardımda bulunan, buradaki hayatım boyunca destek sağlayan Sakhavat HASANOV'a ve diğer tüm dostlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Malak ALIZADA
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Kaliksarenler 1
1.1.1. Kaliksarenlerin Tarihçesi 2
1.1.2. Kaliksarenlerin Adlandırılması 3
1.1.3. Kaliksarenlerin Sentezi 4
1.1.4. Kaliksarenlerin Fonksiyonlandırılması 5
1.1.5. Kaliksarenlerin Konformasyonları 8
1.1.6. Kaliksarenlerin Kullanım Alanları 9
1.2. Floresans 23
1.2.1. Floresansı Etkileyen Faktörler 27
1.2.2. Moleküler Sensör 28
1.2.3. Floresans Sensör 30

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **35**

2.1. 1,3-Dibenzooksodiazol Bileşiği ile Yapılan Çalışmalar 35
2.2. Kaliks[4]aren 1,3-dibenzooksodiazol türevleri 38

3. MATERYAL VE YÖNTEM **42**

3.1. Enstrümental Teknikler 42
3.2. Kimyasal Sentezler ve Karakterizasyon 42
3.2.1. 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1) Gutsche ve Iqbal, 2003 43
3.2.2. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-dimetoksikarbonilmetoksi 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren (Arnaud-Neu ve ark., 1989) 44
3.2.3. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-dihidrazonamid karbonilmetoksi-26-28-dihidroksi-kaliks[4]aren (Maity ve ark., 2011) 44
i3.2.4. 4 no'lu bileşiğin sentezi 45
3.2.5. 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren'nin dealkilasyonu (Gutsche ve Iqbal, 2003) 46
3.2.6. 25,27-dimetoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (Arnaud-Neu ve ark., 1989) 47
3.2.7. 25,27-dihidrazonamid karbonilmetoksi-26-28- dihidroksi-kaliks[4]aren (Maity ve ark., 2011) 48
3.2.8. 8 no'lu bileşiğin sentezi 48

3.2.9. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-dimetoksikarbonilmetoksi 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren ile etilendiamin'in etkileştirilmesi (Ostaszewski ve ark., 1991).....50
3.2.10. 9 no'lu bileşiğin hekzametilentetraamin ile etkileştirilmesi (Chawla ve ark., 2006).....51
3.2.11. 1,3-dibenzooksodiazol bileşiğinin hidrazin ile etkileştirilmesi (Meng ve ark., 2015a).....51
3.2.12. 12 no'lu bileşiğin sentezi.....52
3.2.13. Kaliks[4]aren türevlerinin hücre içi görüntülemesi 53

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 54

4.1. Kaliksaren Bileşiklerinin Sentezi 54
4.2. Spektroskopik Ölçümler 73
4.2.1. Katyon ve Anyon Çözeltilerinin Hazırlanması.....73
4.2.2. Ligand Çözeltilerinin Hazırlanması 73
4.2.3. Spektroflorimetrik Ölçümler 73
4.2.4. Kompleks Bileşiminin Tayini.....80
4.2.5. Floresans Söndürme Sabitlerinin Hesaplanması 81
4.3. Hücre İçi Görüntüleme 84

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 88

KAYNAKLAR 90

ÖZGEÇMİŞ.....93

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

N	Normalite
M	Molarite
M_A	Molekül Ağırlığı
mL	Mililitre
Mmol	Milimol
-*p*-	Para
-*o*-	Orto
Ter-	Tersiyer
Eqv	Eşdeğer Gram
µM	Mikromolar
°C	Santigrat Derece

Kısaltmalar

DMSO	Dimetil Sülfoksit
UV-Vis.	Ultraviole Visible Spektroskopisi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
E.N	Erime Noktası
NBD	1,3-Dibenzooksodiazol

1. GİRİŞ

Teknolojinin gelişimi, çevre ve insanları etkilediği gibi bilim dünyasını da çok fazla etkilemektedir. Teknolojinin gelişmesi ile insanlar bilim dünyasında günümüzün en büyük sorunu olan, tedavisi tam bulunmamış hastalıklar örneğin kanser gibi hücrelere etki eden molekül yapıları aramakta ve yeni yollar keşfetmektedir.

Taç eterler ve siklodekstrinler supramoleküller kimyada birinci ve ikinci kuşak, kaliksarenler ise üçüncü kuşak bileşikler olarak bilinmektedir.

Kaliksarenler halkalı sepet yapısında olmalarından dolayı iyon ve moleküllerin taşınmasında çok fazla kullanılmaktadır. Son yıllarda bazı suda çözünen kaliks[n]aren türevlerinin ilaç çözünürlüğünü arttırması ve farklı biyokimyasal çalışmalarda kullanılmasından dolayı supramoleküler kimyada oldukça fazla yer almış ve geniş uygulama alanı kazanmıştır. Örnek olarak; anyon/katyon molekül taşıyıcı, çeşitli sensör çalışmaları, membran çalışmaları, iyon seçimli elektrot yapımı, kolon dolgu materyali, ilaç taşınımı ve enzim immobilizasyonu gibi birçok kullanım alanları bilinmektedir (Şahin, 2011).

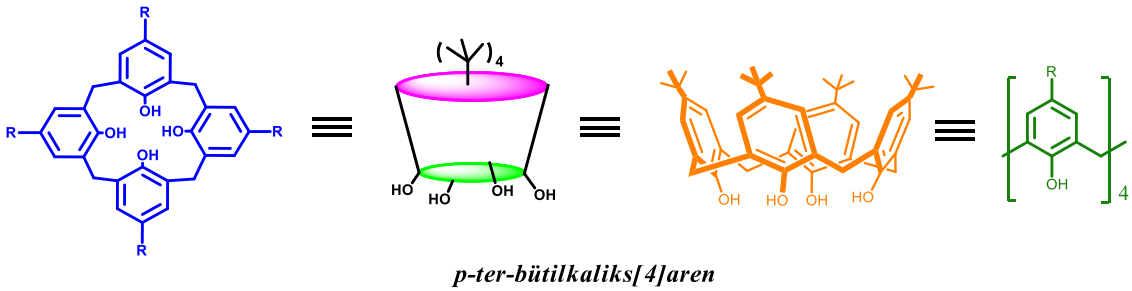
1.1. Kaliksarenler

Kaliksarenler, *p-ter*-bütilfenol ve formaldehit reaksiyonu sonucunda elde edilen halkalı oligomerlerdir. Kullanlan baz seçimi, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi sayesinde, farklı halka boyutlarına sahip yüksek verimli kaliksarenler sentezlenebilmektedir.

Kaliksaren adı, Yunanca moleküler yapılarını açık bir şekilde tanımlayan "vazo" kelimesinden türetilmiştir. *p-ter*-bütilkaliks[n]aren (n=5,6,7,8) yapıları sadece oligomerin halka boyutunda farklılık göstermektedir. Diğer halka boyutları da mevcuttur, ancak bunlarla birkaç metal iyon kompleksleri izole edilmiştir (Atwood, 2017).

p-ter-bütilkaliks[4]aren bileşiklerinin tasarlanmasında kullanılan farklı yapılar ve kısaltmalar Şekil 1.1'de gösterilmiştir. *p-ter*-bütilkaliks[4]arenlerin fenolik-O gruplarının bulunduğu dar kısım fenolik boşluk; (lower rim) aril halkalarının *p*-pozisyonunun bulunduğu geniş kısım *p*-köşesi (upper rim) olarak bilinmektedir. *p-ter*-

Bütilkaliks[4]arenler upper rim ve lower rim pozisyonundan kolaylıkla fonksiyonlandırılmaktadır (Neri ve ark., 2016).

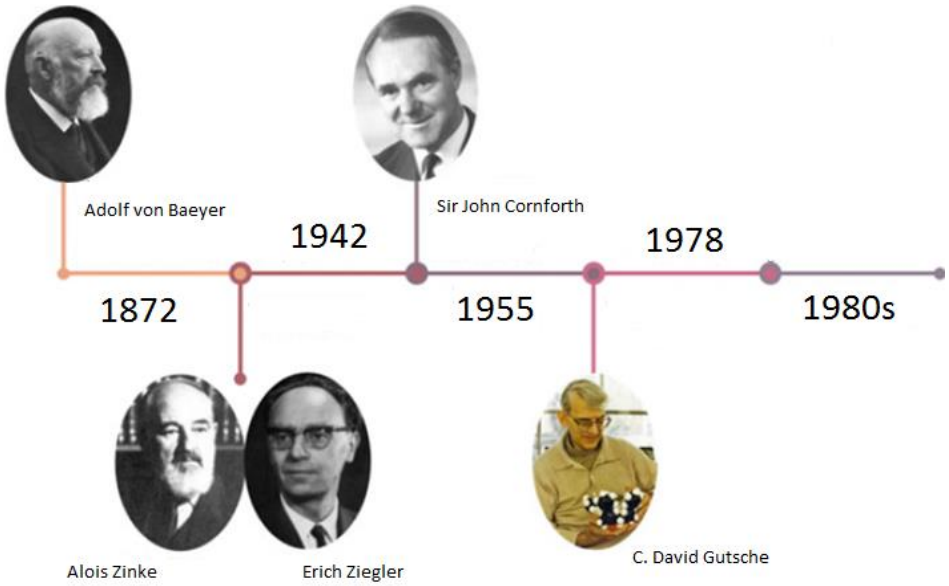


p-ter-bütilkaliks[4]aren

Şekil 1.1: *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin farklı gösterimleri

1.1.1. Kaliksarenlerin Tarihçesi

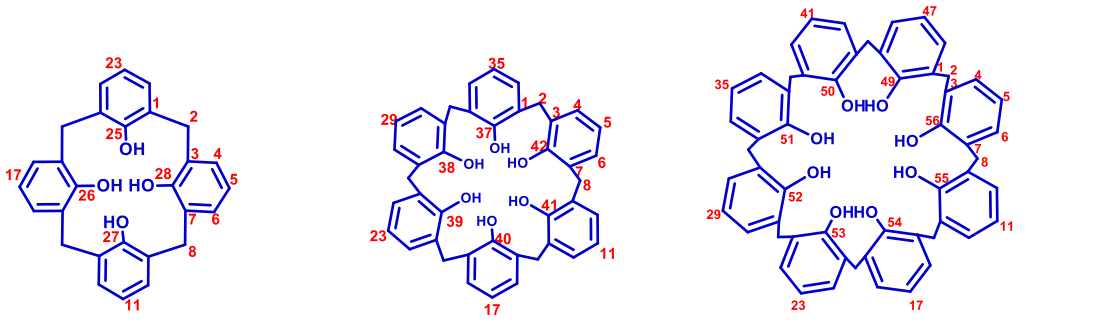
Kaliksarenlerin tarihi, ilk kez fenol-formaldehit reaksiyonunu inceleyen ve çok sert yapıda reçinemsi malzeme elde eden, 1872 yılında Adolf von Baeyer'in öncü çalışmasıyla başlamıştır (Gao ve Guo, 2019). O sulu formaldehit ile fenolu ısıtarak oldukça sert, kristal olmayan reçinemsi bir ürün elde etmiştir. Daha sonra Leo Bakeland (1905-1909), bu prosedürü ticari anlamda geliştirmiş ve "Bakalit" adıyla bilinen reçineyi bulmuştur. Bakalit ve benzeri maddeler kuvvetli plastik özellikte ve yalıtkan sahip olması nedeniyle özellikle elektrikli cihazların yapımında günümüze kadar kullanılmaktadır. Bu malzemeye olan ilginin artması nedeniyle, Zinke ve Ziegler (1942), alkilfenol ve formaldehitin kondenzasyon reaksiyonu ürünlerinin, NaOH varlığında tetramerler olabileceğini analiz etmiştir. 1955'te Sir John Cornforth bu tetramerleri incelemiş ve dört farklı konformasyonlu izomer olduğunu bulmuştur. Son olarak, Gutsche'nin araştırması, bu polimerlerin döngüsel homologlar, tetramerler, hekzamerler ve oktamerler olduğunu göstermiştir. Böylece, Gutsche ve arkadaşları, ortak kaliksaren makrosiklerinin sentezi için deneysel koşulları araştırmış ve baz türü, formaldehit kaynağı, çözücü ve sıcaklık gibi sentez ürünlerini ayarlamak için çeşitli reaksiyon koşullarını belirlemiştir (Gutsche ve ark., 1989).



Şekil 1.2: Kaliksarenlerin tarihçesi

1.1.2. Kaliksarenlerin Adlandırılması

"Kaliksaren" adı, dört aril grubunun hepsinin aynı yöne yönlendirildiği konformasyondaki fenol türevli siklik tetramer şeklini belirtmek için tasarlanmıştır. Daha sonra keşfedilen dörtten fazla aril grubu içeren siklooligomerleri isimlendirmek için "kaliks" ve "aren" arasına parantez içinde bir sayı eklenmiştir. Hangi fenolden kaliksaren türetildiğini belirtmek için p-sübstitüe edici kullanılmaya başlanmıştır. Örneğin *p-ter*-bütilfenolden elde edilen halkalı tetramer, *p-ter*-bütilkaliks[4]aren olarak adlandırılmıştır. "Kaliksaren" terimini sübstitüe ediciler olmadan temel yapıya uygulamak için daha sistematik bir isimlendirme geliştirilmiştir. Buna göre, *p-ter*-bütilfenol ve formaldehitten elde edilen halkalı tetramer, 5,11,17,23-tetra-alkil-25,26,27,28-tetra hidroksi-kaliks[4]aren şeklinde ya da daha kısa olarak *p*-alkil kaliks[n]arenler şeklinde isimlendirilebilir.



Şekil 1.3: Kaliks[4,6,8]aren'lerin yapıları ve numaralandırılması

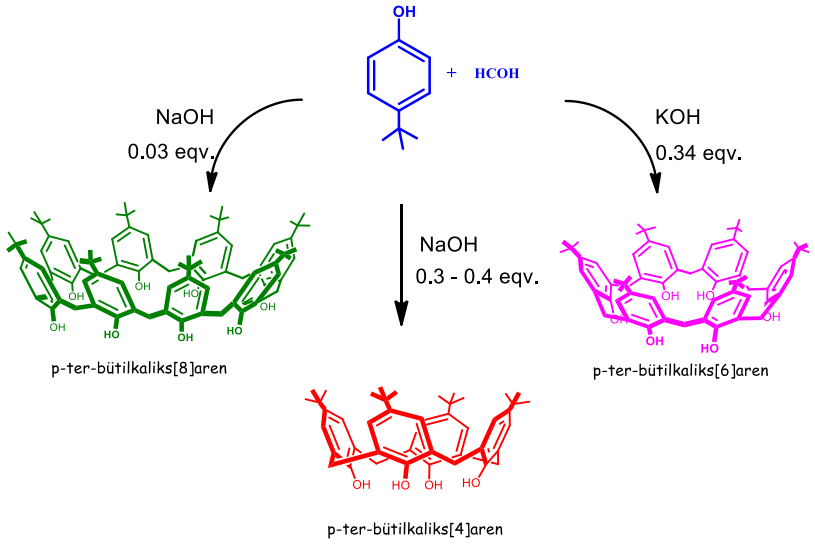
1.1.3. Kaliksarenlerin Sentezi

Kaliksarenler, supramoleküler kimyada siklodekstrin ve taç eterlerden sonra ortaya çıkan üçüncü kuşak oligomerler olarak bilinmektedir. Bu moleküller, genellikle inorganik bazların varlığında, *p-ter*-bütilfenol ile formaldehit reaksiyonu sonucunda elde edilir.

p-ter-bütilkaliks[4]aren sentezi için önce *p-ter*-bütilfenol ve %37 HCHO çözeltisine 0,45 eqv. oranında NaOH karışımı eklenir ve reaksiyon sıcaklığı 110-120 °C ulaştığında ksilol cihazı takılarak 2 saat boyunca ısıtılır ve ön ürün elde edilir. Elde edilen ürün difenil eterle 4 saat daha geri soğutucu altında kaynatılır ve reaksiyonun oda sıcaklığına gelmesi için bir süre bekletilir. Daha sonra karışım etil asetat ile çöktürülür ve 342-344 °C de eriyen beyaz renkli *p-ter*-bütilkaliks[4]aren elde edilir.

p-ter-bütilkaliks[6]aren sentezi için *p-ter*-bütilfenol, %37'lik HCHO çözeltisi ve 0,34 eqv. KOH karışımı eklenerek 2 saat ısıtılır ve ön ürün oluşur. Fakat *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin sentezinden farklı olarak difenileter yerine ksilen kullanıldığında elde edilen ürünün kloroform-asetonda kristallenmesiyle %85 verimle 380-381°C erime noktasına sahip *p-ter*-bütilkaliks[6]aren elde edilir.

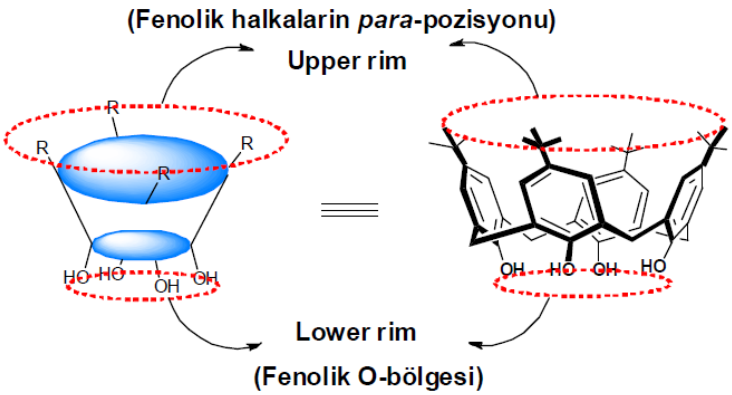
p-ter-bütilkaliks[8]aren sentezinde ise *p-ter*-bütilfenol, %37'lik HCHO ve 0,03 eqv. NaOH içeren karışım ksilen içerisinde 4 saat ısıtılır, daha sonra oluşan çökelek süzülerek kloroformda tekrar kristallendirildiğinde % 65 verimle 411-412°C erime noktasına sahip *p-ter*-bütilkaliks[8]aren elde edilir.



Şekil 1.4: *p-ter*-bütilkaliks[4,6,8]aren' in sentezi

1.1.4. Kaliksarenlerin Fonksiyonlandırılması

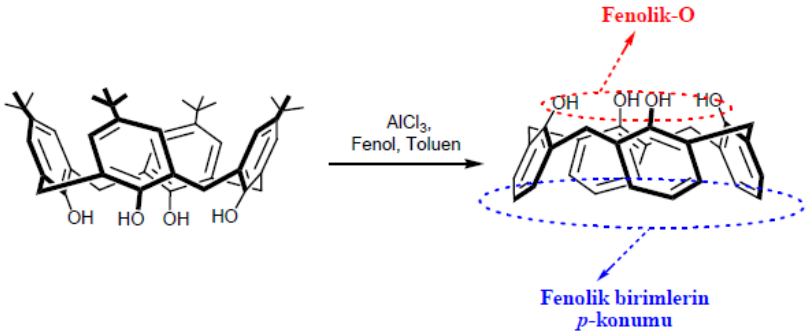
Kaliksarenler isimlerini bir Yunan kelimesi olan "vase"dan aldığından, kaliksaren yapıları, tercihen OH grupları aşağıya bakacak şekilde ve *p-ter*-bütil grupları yukarı bakacak şekilde çizilmelidir. Kaliksarenlerin çözünürlük problemleri olduğundan, fenolik-OH gruplarının bulunduğu kısım (lower rim), aril halkalarının *p*-pozisyonunun bulunduğu kısım (upper rim) üzerinden farklı fonksiyonel gruplarla türevlendirilmektedir (Şekil 1.5).



Şekil 1.5: *p-ter*-Bütilkaliks[4]aren yapısının şematik gösterimi

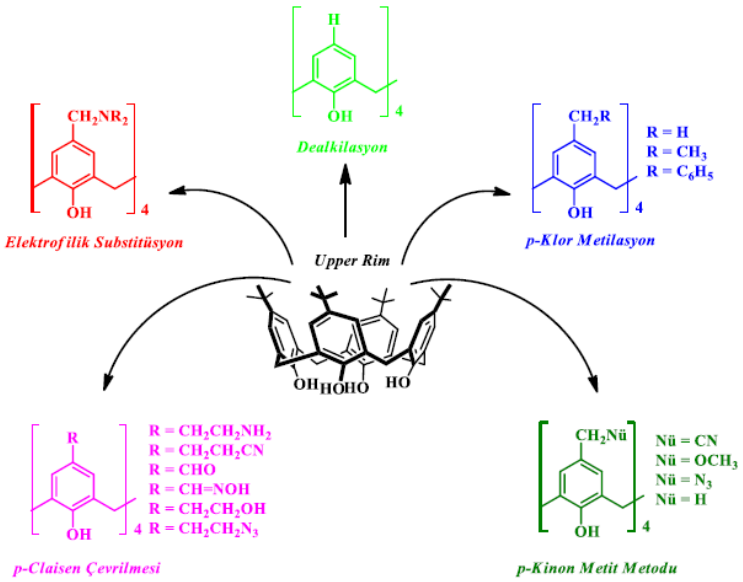
1.1.4.1. Kaliksarenlerin Aril Halkalarının *p*-Pozisyonu (Upper Rim) Üzerinden Fonksiyonlandırılması

p-ter-bütilkalilks[n]arenlerin *para* konumundaki ter-bütil gruplarını $AlCl_3$ ile kolayca giderip (dealkilasyon reaksiyonu) kaliks[n]arenleri sentezlemişlerdir (Gutsche ve Iqbal, 2003).



Şekil 1.6: *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin dealkilasyonu

Dealkilasyon reaksiyonu ile oluşan kaliksarenler para konumundan fonksiyonlandırılabilmektedir. Bu işlem ilk defa Claisen düzenleme tepkimelerinde kullanılmıştır (Gutsche ve Pagoria, 1985). Bu tepkime öncelikle fenolik kısımlar allil eter olacak şekilde fonksiyonlandırılır ve sonra dietilanilin içinde ısıtılarak allil grupları p-pozisyonuna gider. Bu yöntem 1990 yıllarında sadece kaliks[4]arenler için kullanılmaktaydı. Gutsche'nin çalışma arkadaşı Gibbs ise yeni bir metot geliştirerek Claisen düzenleme reaksiyonlarını diğer kaliksarenlerde de uygulamaya başlamıştır (Gibbs ve Gutsche, 1993). Bu yöntem kullanılarak kaliksarenlerin bütün para konumları fonksiyonlandırılabilmektedir.



Şekil 1.7: *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin fenolik birimlerin p-konumu üzerinden fonksiyonlandırılması

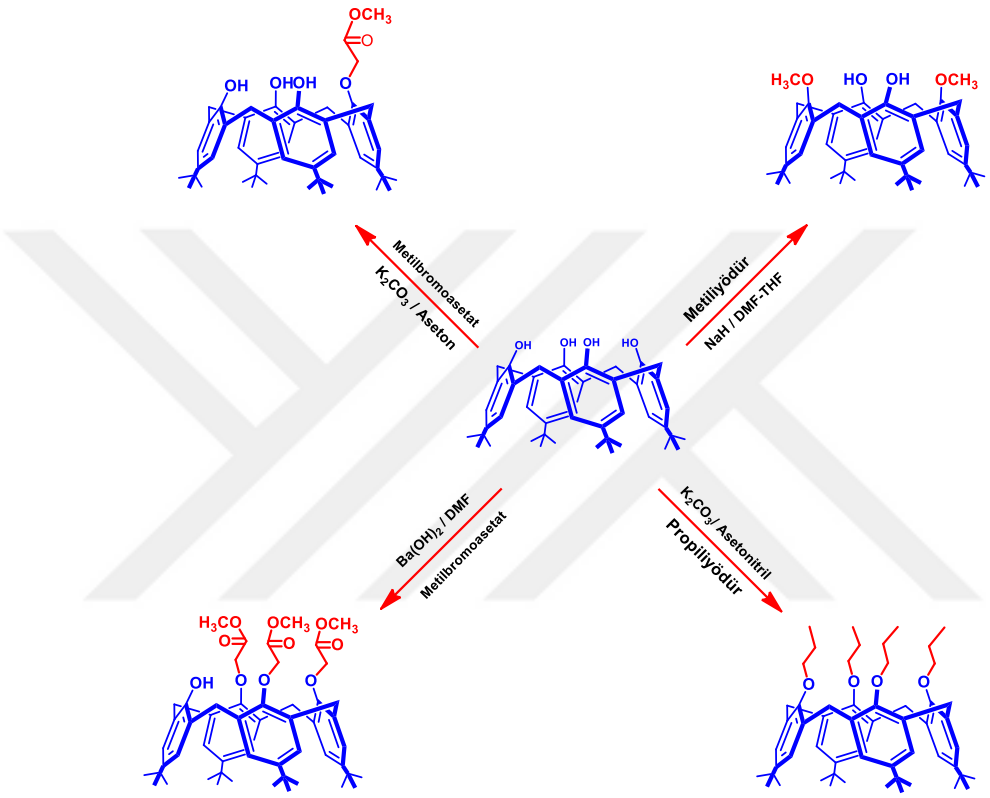
Kaliksarenlerin para konumundaki *ter*-bütil grupları giderildikten sonra bromlama, iyotlama, nitrolama, sülfolama, klorsülfolama, klormetilleme, açilleme, diazolama ve formülasyon gibi sübstitüsyon reaksiyonları gerçekleştirilmektedir (Gutsche ve Lin, 1986; Shinkai ve ark., 1986; Hamada ve ark., 1990; Arduini ve ark., 1991; Verboom ve ark., 1992; Morzherin ve ark., 1993; Alam ve ark., 1994; Deligöz ve Ercan, 2002).

1.1.4.2. Kaliksarenlerin Fenolik OH (Lower Rim) Üzerinden Fonksiyonlandırılması

p-ter-bütilkaliks[n]arenlerin fenolik-OH (lower rim) üzerinden modifikasyonu ester ve eter gruplarının kolay bir şekilde bağlanmasıyla yapılmaktadır. Kaliksarenlerin ester ve eter türevlerinin reaksiyon şartları iyi ayarlandığı zaman mono fonksiyonlu, 1,2-di, 1,3-di, tri ve tetra fonksiyonlu olarak yüksek verimle elde edilir. Örneğin; kaliksarenlerin mono ester veya eter türevleri asetonitril çözücü ortamında K_2CO_3 veya DMF çözücü ortamında CsF gibi zayıf bazlar kullanılarak elde edilebilir (Shinkai ve ark., 1991).

p-ter-bütilkalilks[n]arenlerin 1,2-di-, 1,3-di-, tri- veya tetra- türevlerini sentezinde baz ve çözücünün önemi çok fazladır. Aseton veya asetonitril ortamında Na_2CO_3 veya K_2CO_3 gibi bazlar kullanıldığında 1,3-difonksiyonlu, DMF/THF

ortamında NaH gibi güçlü bazlar kullanılarak 1,2-difonksiyonlu ve DMF ortamında $Ba(OH)_2$ kullanıldığında ise trifonksiyonlu kaliks[4]aren türevleri sentezlenebilir (Groenen ve ark., 1991). Tetra fonksiyonlu kaliksaren türevlerinin sentezinde aseton veya asetonitril ortamında baz olarak NaOH kullanılırsa koni konformasyon, K_2CO_3 veya $CsCO_3$ kullanılırsa kısmi koni ve 1,3-karşılıklı konformasyonda ürünler elde edilir (Neri ve ark., 2016).



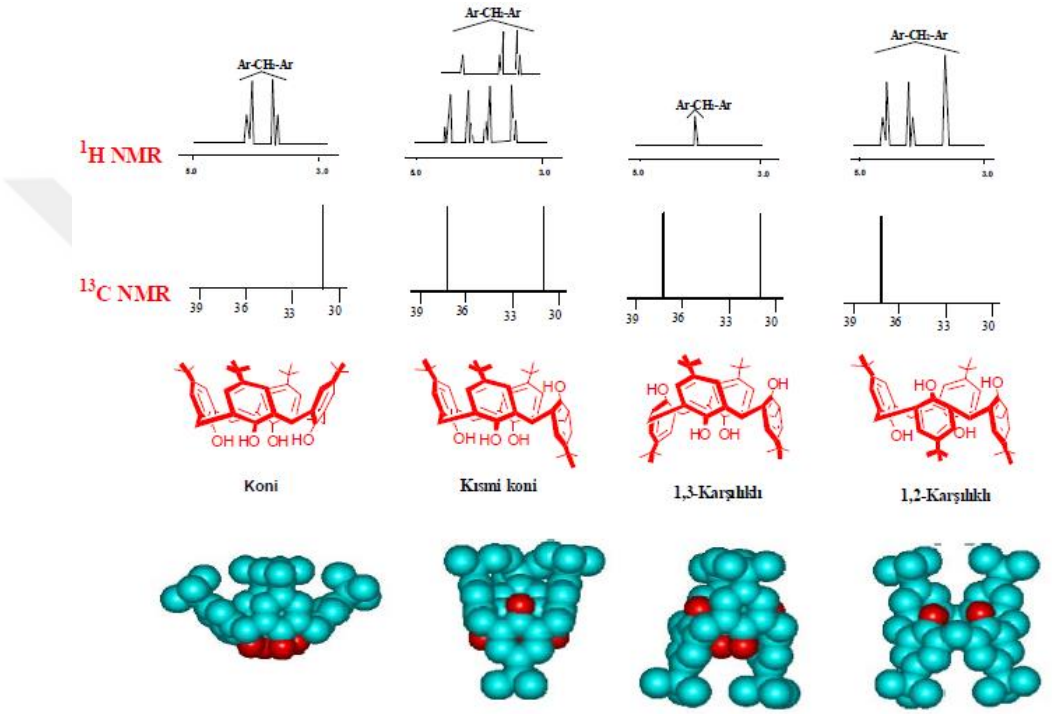
Şekil 1.8. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenlerin fenolik OH konumundan seçimli fonksiyonlandırılması

1.1.5. Kaliksarenlerin Konformasyonları

Kaliks[4]arenlerin 4 farklı konformasyona sahip olduğu bilinmektedir. Bu konformasyonlar "koni" (u,u,u,u), "kısmi koni" (u,u,u,d), "1,2-karşılıklı" (u,u,d,d) ve "1,3-karşılıklı" (u,d,u,d) olarak adlandırılmıştır (Gutsche ve ark., 1983). Bileşiğin hangi konformasyonda olduğunu ^{1}H-NMR spektrumunda köprü Ar-CH_2-Ar protonlarına bakılarak aydınlatılabilir.

Tablo 1.1: Kaliks[4]aren konformasyonlarının Ar-CH_2-Ar protonlarının ^{1}H NMR spektrumları

Konformasyon	Ar-CH_2-Ar protonları
Koni	Bir çift dublet
Kısmi Koni	İki çift dublet (1:1) veya bir çift dublet ve bir singlet (1:1)
1,3-Karşılıklı	Bir singlet
1,2-Karşılıklı	Bir singlet ve iki dublet (1:1)



Şekil 1.9: *p-ter*-bütilkaliks[4]arenlerin ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR spektrumları ve 4 farklı konformasyonu

1.1.6. Kaliksarenlerin Kullanım Alanları

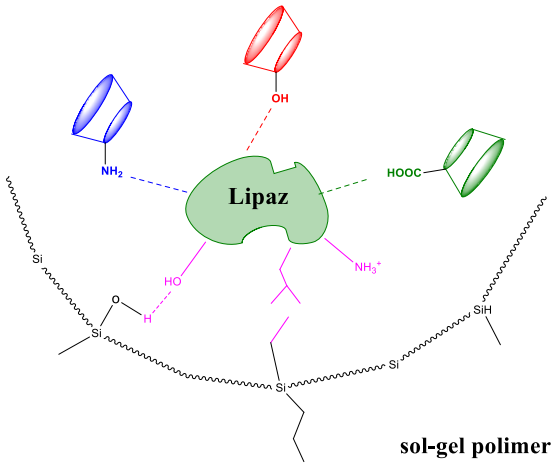
Kaliksarenler halkalı bir sepet yapıda olduğu için, iyon ve moleküllerle konuk-konak kompleksleri oluşturabildiklerinden supramoleküler kimyada oldukça önem kazanmış ve yaygın uygulama alanına sahip olmuştur (Nimse ve Kim, 2013).

Tablo 1.2: Kaliksarenlerin Kullanım Alanlarını Gösteren Tablo

Kaliksarenlerin Kullanım Alanları
➢ Enantiomerlerin tanınması ve ayrılmasında kaliksarenlerin kullanılması
➢ Katalizör olarak kaliksarenlerin kullanılması
➢ Biyokatalizör olarak kaliksarenlerin kullanılması
➢ Anti-kanser uygulamalarda kaliksarenlerin kullanılması
➢ Molekül/iyon taşıyıcı olarak kaliksarenlerin kullanılması
❖ **Sensör olarak kaliksarenlerin kullanılması**

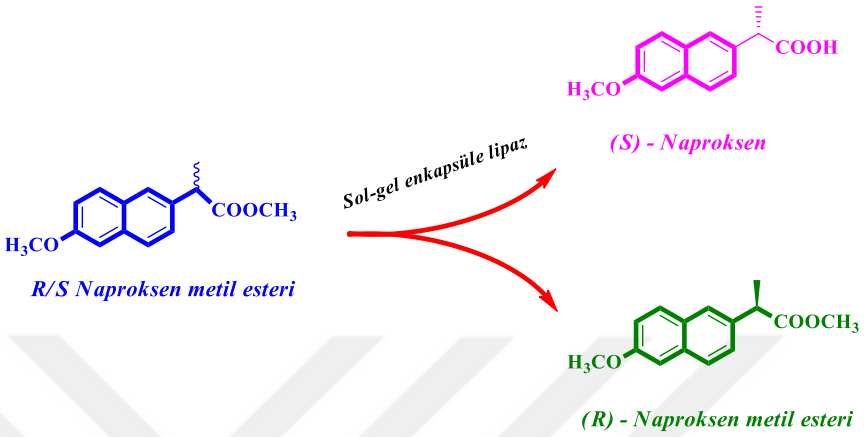
1.1.7.1. Biyokatalizör Olarak Kaliksarenlerin Kullanılması

Enzim immobilizasyonunda farklı tekniklerin kullanımı bilinmektedir. Kullanılan tekniğine uygun olarak Yılmaz ve ekibi farklı kaliksaren türevleri sentezleyerek enzimlere immobilize etmişlerdir. Daha sonra immobolize enzimin aktivitesi ve enantiyoseçimliliğindeki değişimler incenlemişlerdir. Bu çalışmalara örnek olarak Sahin ve ark. (2009) farklı fonksiyonel gruplar (-OH, -NH_2 ve –COOH) bulunduran kaliksaren bileşikleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşikler sol-gel enkapsülasyon metoduna göre enzim immobilizayonunda ilave materyal olarak kullanmışlardır. İlave edilen kaliksaren türevlerinin enantiyoselektif tepkimelerdeki etkisi incelemişlerdir (Sahin ve ark., 2009).



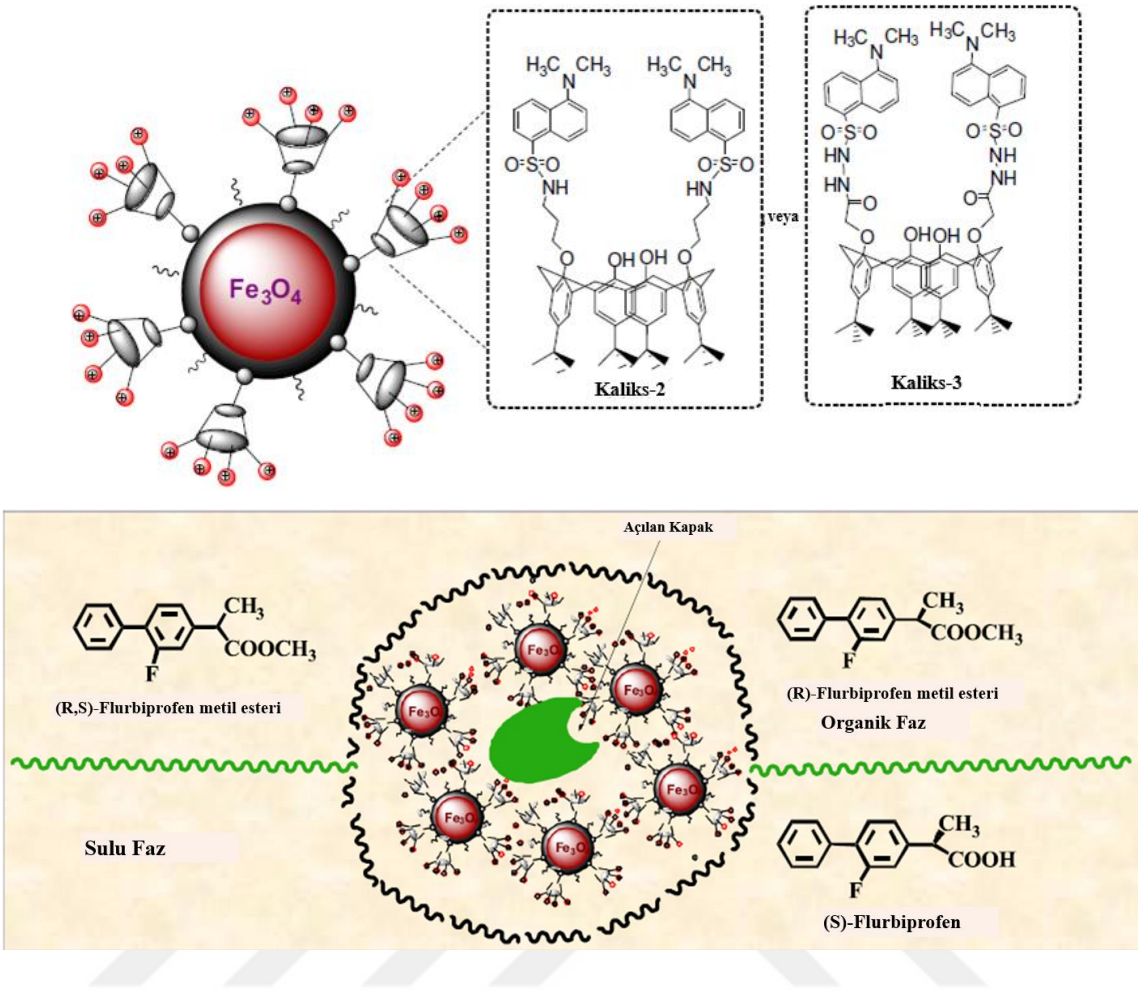
Şekil 1.10: Kaliksaren türevinin sol-gel enkapsülasyon prosedürünün şematik gösterimi

Bu çalışmada kullanılan kaliksaren bileşikleri özellikle kaliks[6]aren'in -NH_2 ve –COOH türevleri rasemik naproksen metil esterinin enantiyoselektif hidrolizinde serbest lipaza göre daha iyi enantiyoselektivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir.



Şekil 1.11: R/S-Naproksen metil esterinin enantiyoselektif hidrolizi

Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada ise floresans özelliğe sahip dansil grubu taşıyan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevleri (Fe_3O_4@Kaliks-2 ve Fe_3O_4@Kaliks-3) ile kaplanmış manyetik demir nanoparçacıklar ve *Candida Rugosa* lipaz enzimi sol-gel yöntemi ile kapsüllenmişdir. Optimum koşullar altında, kapsüllenmiş lipazın (Fe3O4 @Calix-2E) aktivitesinin, kaliks[4]aren türevi içermeyen kapsüllenmiş lipazdan (Fe3O4@-E) 4,1 kat daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak immobilize edilmiş lipaz rasemik flurbiprofenin enantiyoseçimli tepkimelerinde kullanılmış ve yüksek enantiyoseçimlilik ve verimle S-flurbiprofen elde etmişlerdir (Ozyilmaz ve ark., 2019).



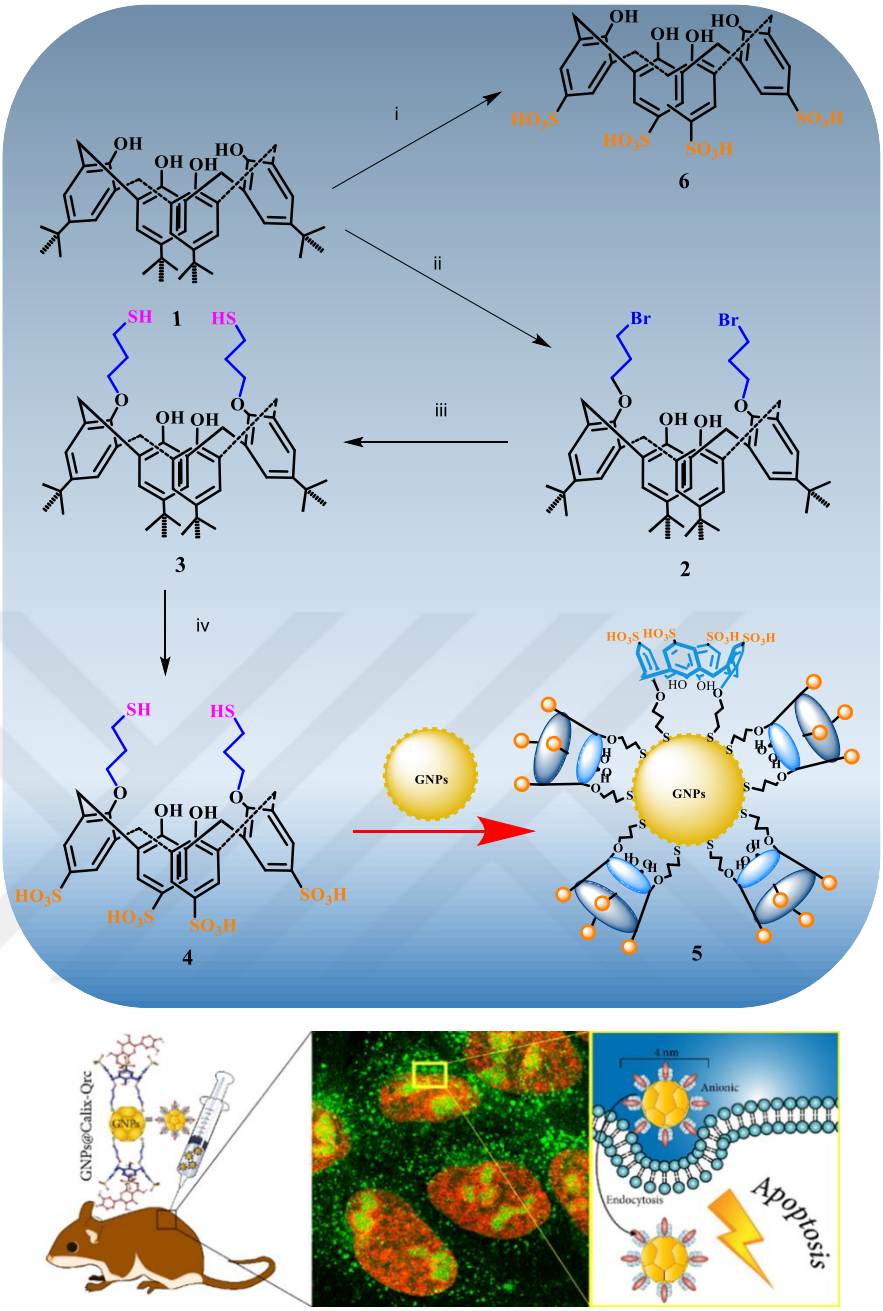
Şekil 1.12: Fe_3O_4@Kaliks-2E veya Fe_3O_4@Kaliks-3E ile (R, S) Flurbiprofen metil esterin enantioselektif hidrolizinin şematik gösterimi

1.1.7.2. Kaliksarenlerin Anti-kanser Uygulamalarda Kullanılması

Kaliksarenlerin sentezinden günümüze kadar bu moleküllerin antibakteriyal, antifungal, antiviral ve anti-karsinojen etkileri araştırılmaktadır (Rodik ve ark., 2009; Perret ve Coleman, 2011). Kanser Dünya çapında sonucu ölüm olan hastalıklar içerisinde ilk sırada olduğundan anti-kanser çalışmalarında kaliksarenlerin rolü üzerinde araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir. Kalik[n]aren türevli bileşiklerin antikarsinojen ve ilaç taşınımı gibi özelliklere sahip olduğundan dolayı kanser tedavisinde kullanımı için yeni türevlerinin sentezi önem taşımaktadır.

Grubumuz tarafından yapılan çalışmaların birinde, bitkilerden elde edilen doğal olarak oluşan ve ayrıca ticari olarak da satılan, antikanser aktivitesine sahip flavonoid türevlerinden kuersetin molekülü toksik olmayan suda çözünebilen sülfo grupları taşıyan kaliks[4]aren bileşikleri ile kompleksleştirilmiştir. Flavonoidlerin suda

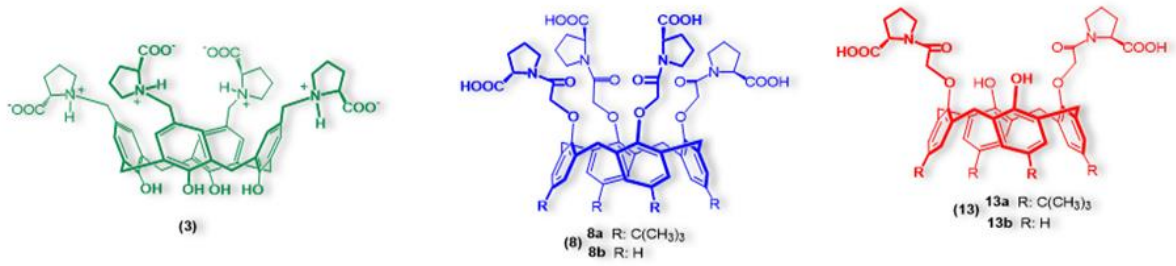
çözünürlüğünün düşük olması bu bileşiklerin fizyolojik kullanımını sınırlı kılmaktadır. Sülfo grupları taşıyan kaliks[4]aren bileşikleri ile kompleksleştirilmesi kompleksin sudaki çözünürlüğünü artırmak için tasarlanmıştır. Komplekslerin insan kanser hücrelerinde sitotoksisite testleri yapılmıştır. Kaliksaren bileşiğine kuersetin molekülü pH 7,4 te yüklenmiştir. Yapılan kontrollü salınım testlerinde kuersetin molekülünün kompleks yapıdan yaklaşık pH 6.0 civarında büyük oranda ayrıldığı gözlemlenmiştir. Kanserli hücrenin pH ı 6.0-5,5 civarı olduğu bilindiğinden bu sonuç kuersetinin kanserli hücreye hedefli salınımının olabileceğini göstermektedir. Bu kompleksler kullanılarak yapılan sitotoksitite testlerinde insan kolon hücre (SW-620) hatlarında IC_{50} 4.6 μM olarak bulunmuştur. Çalışmanın devamında ise altın nanopartiküller hazırlanarak tiyol grupları taşıyan *p*-sülfokaliks[4]aren molekülleri immobilize edilip kuersetin molekülleri yüklenmiştir. Daha sonra sitotoksite testleri yapılmış ve elde edilen IC_{50} değerlerine göre bu kompleksin immobilize olmayan kuersetine göre 52 kat daha etkili olduğu gözlemlenmiştir (Yilmaz ve ark., 2019).



Şekil 1.13: Sülfo grupları taşıyan kaliks[4]aren bileşiklerinin sentezi ve kuersetin molekülü ile kompleksleştirilmesi

Oguz ve ark., (2019), yapmış olduğu çalışmada lower rim ve upper rim üzerinden fonksiyonlandırılmış L-prolin türevli kaliks[4]aren türevlerini sentezlemiş, insan kanser hücre hatlarının sitotoksik etkileri ve ölüm mekanizmasını belirlemişlerdir. Sentezlenen kaliks[4]aren türevleri ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ve FTIR gibi farklı spektroskopik tekniklerle karakterize etmiş, sentezlenen bileşiklerin *in vitro* etkileri, insan kanser hücreleri (HEPG2, PC-3, A-549 ve DLD-1) ve ayrıca insan sağlıklı epitel hücresi (PNT1A) üzerinde test etmişlerdir. Sonuç olarak, L-pirolin türevli kaliks[4]aren

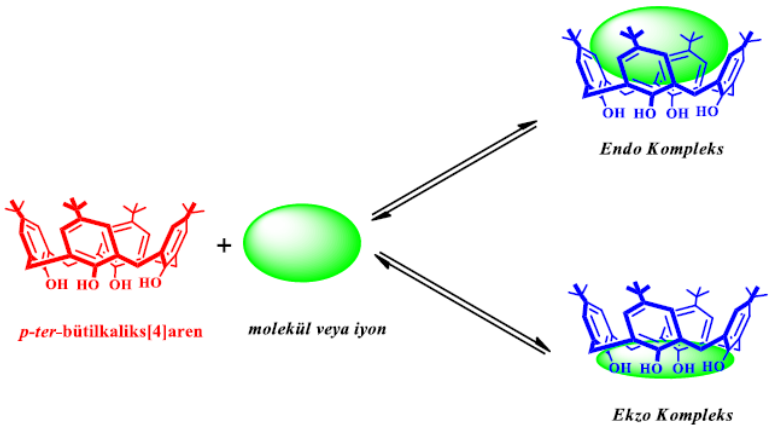
bileşiklerinin insan kanser hücreleri üzerindeki seçici sitotoksik etkilerinin insan CRC (kolon kanseri) ve akciğer kanserinin tedavisi için potansiyel bir aday olabileceğini söylemişlerdir (Oguz ve ark., 2019).



Şekil 1.14: L-pirolin türevli kaliks[4]aren bileşikleri

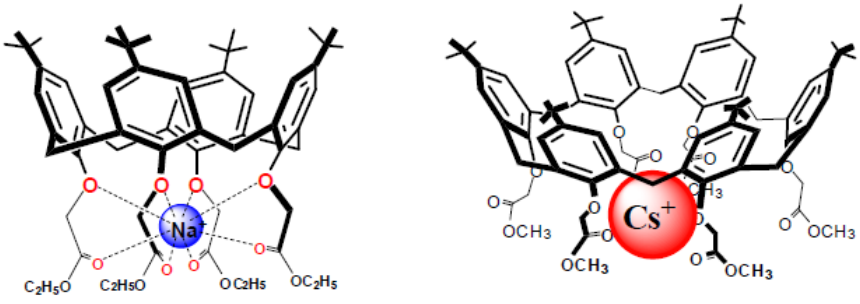
1.1.7.3. Molekül / İyon Taşıyıcı Olarak Kaliksarenlerin Kullanımı

Kaliksarenler yapısındaki halkalı boşluklardan dolayı çok çeşitli molekül ve iyonlarla kompleks oluşturmaktadır. Bu nedenle kaliksarenlerin molekül/iyon taşıyıcı olarak kullanımı çok fazladır. Şekil 1.15'de gösterildiği gibi kaliksarenler molekül ve iyonlarla endo- ve ekzo- kompleksleri oluşturmaktadır. Bu kompleksleşme sayesinde kaliksarenler, katyon, anyon ve molekül taşıyıcı gibi özellikler ile kullanılmaktadır.



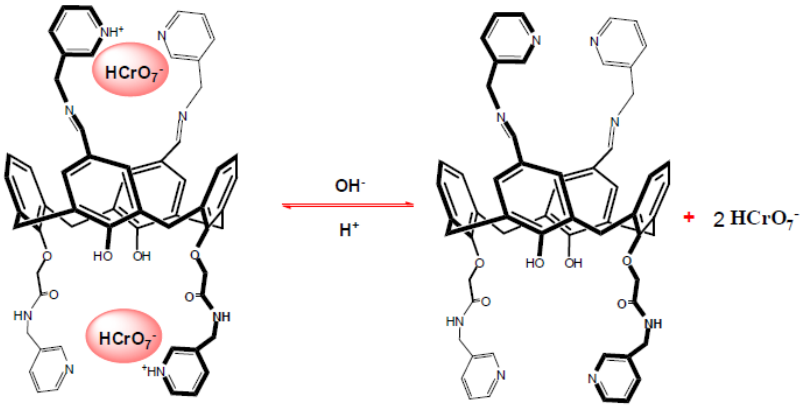
Şekil 1.15: Kaliksarenlerin endo ve ekzo kompleks oluşumu

McKervey ve ark. (1985) katyon taşıyıcı olarak kaliksarenlerin ester türevlerini kullanmışlardır. *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin etil esteri türevinin Na^+ iyonuna karşı, *p-ter*-bütilkaliks[6]arenin metil esteri türevinin ise Cs^+ iyonuna karşı seçimli olarak kompleks oluşturduğunu gözlemlemişlerdir (McKervey ve ark., 1997).



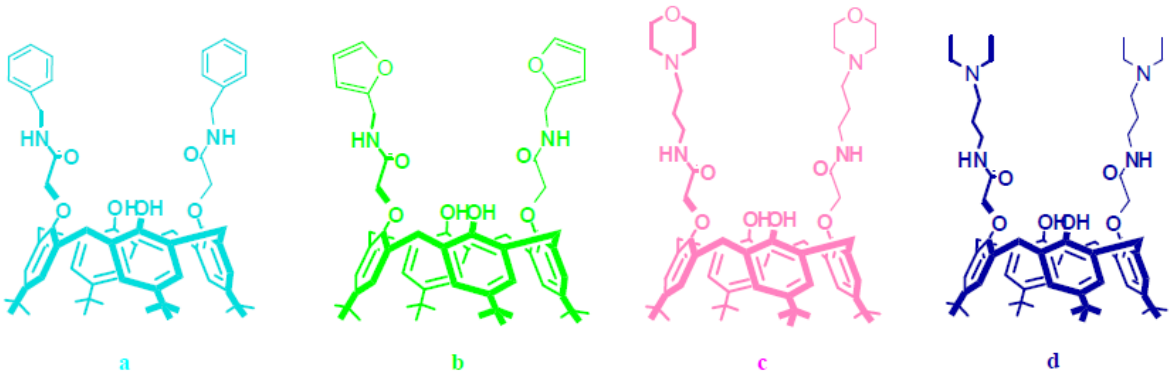
Şekil 1.16: Kaliks[n]aren türevlerinin Na^+ ve Cs^+ katyonları ile kompleksleşmesi, (n=4,6)

Ediz ve ark., (2004), yapmış olduğu çalışmada anyon taşıyıcı olarak, oksi anyonlardan kromat (CrO_4^{-2}), dikromat ($Cr_2O_7^{-2}$) anyonlarının toksik olmalarından dolayı su ve topraktan giderilmesinin oldukça önem taşıdığını vurgulamıştır. Bu çalışmada dört tane piridil grubu taşıyan kaliks[4]aren türevi sentezlenmiştir (Şekil 1.17). Bu gruplardan ikisi *lower* rim pozisyonundan amit grubu olarak bağlanmış, diğer iki tanesi ise *upper* rim pozisyonundan imin grubu olarak bağlanmıştır (Ediz ve ark., 2004).



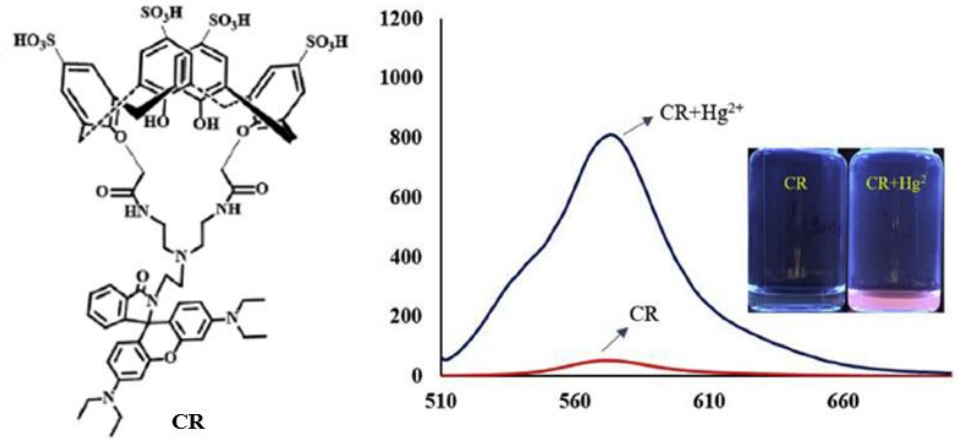
Şekil 1.17: Kaliks[4]aren türevinin dikromat anyonu ile kompleksi

Diğer çalışmada ise kaliks[4]arenlerin diamit türevi sentezlenmiştir (Şekil 1.18) Sentezlenen bileşiklerin dikromat ($Cr_2O_7^{-2}$) anyonu ile kompleksleşmelerini incelemişlerdir. Sonuç olarak protonlanabilir olanların, yani c ve d bileşiklerinin diğerlerinden daha iyi bir ekstraktant olduğunu gözlemlemişlerdir (Bozkurt ve ark., 2005).



Şekil 1.18: *p-ter*-bütilkaliks[4]aren'nin diamit türevleri

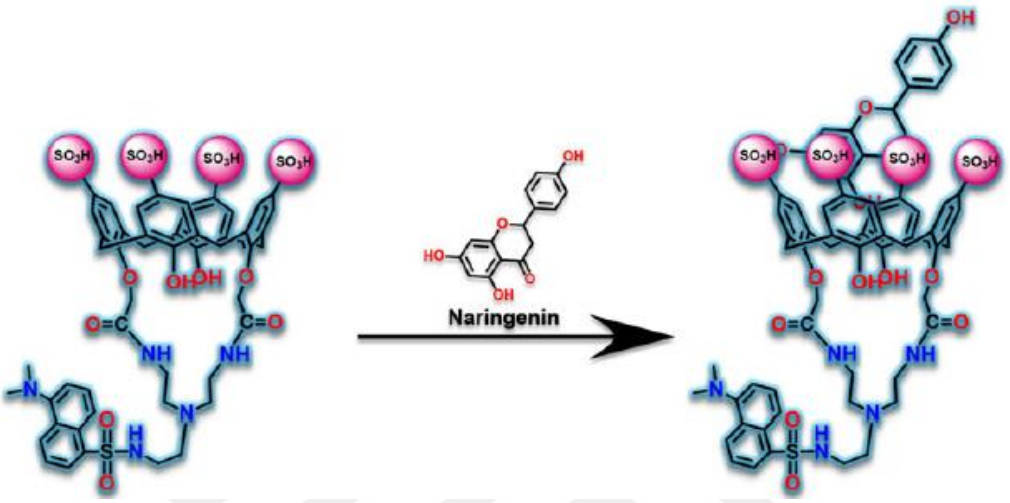
Bhatti ve ark., (2019), yapmış olduğu çalışmada, lower rim üzerinden floresans özelliğe sahip olan rodamin bağlı suda çözünebilen kaliks[4]aren türevi (CR) sentezlemiş ve yapısını spektroskopik tekniklerle karakterize etmişlerdir. Sentezlenen bileşiğin Hg^{2+} iyonuna karşı seçici sensör özellik gösterdiğini ve Hg^{2+} iyonunun eklenmesi ile floresans ışımanın tekrar yandığını (Off-On) ve bu mekanizmanın CHEF tipli bir mekanizma ile gerçekleşdiğini gözlemlemişlerdir (Bhatti ve ark., 2019).



Şekil 1.19: Suda çözünebilen kaliks[4]aren türevinin Hg^{2+} katyonuna karşı floresans görüntüsü

Oguz ve ark., (2019), yapmış olduğu bir çalışmada, suda çözünmeyen naringenin molekülünün sudaki çözünürlüğünü arttırmak, kanser hücrelerinde sitotoksisite etkisini arttırmak ve hücre içi lokalizasyonunun belirlemek amacıyla suda çözünebilen floresans özelliğe sahip kaliks[4]aren türevi sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşik ile naringenin molekülü arasındaki konuk-konak kompleks oluşumu UV-Vis, floresans, FTIR gibi çeşitli spektroskopik teknikler ve moleküler modelleme çalışmaları

ile analiz etmişlerdir. Naringenin kompleksinin antikanserojen etkileri, DLD-1 insan kanser hücresinde denemiş ve kompleksin serbest naringenine göre DLD-1 hücrelerinin proliferasyonunu 3,4 kat daha fazla inhibe ettiğini göstermişlerdir. Floresans görüntüleme çalışmaları ile kompleksin hücrenin çekirdeğine değil, sitoplazmasına etki ettiğini göstermişlerdir (Oguz ve ark., 2019a).



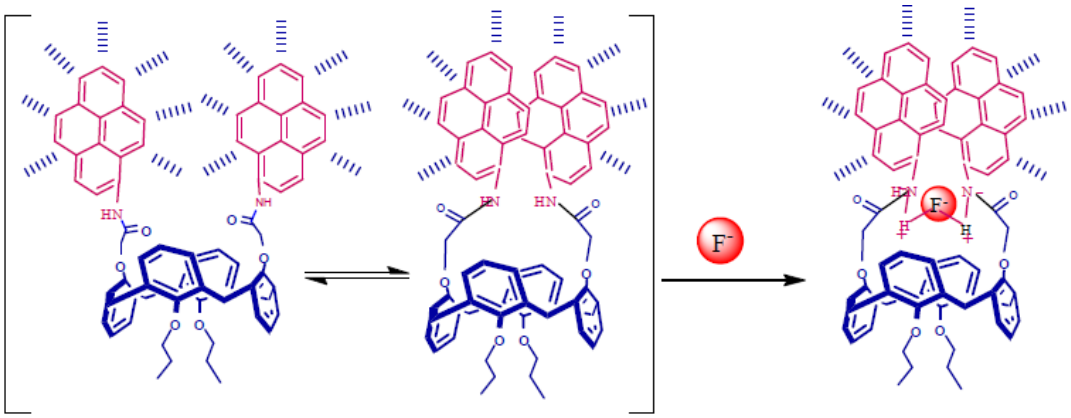
Şekil 1.20: Kaliks[4]aren türevinin naringinin molekülü ile kompleks oluşumu

1.1.7.4. Sensör Olarak Kaliksarenlerin Kullanımı

Son zamanlarda tıbbi, biyolojik çevre ve kimyasal bilimlerde önemli role sahip olan moleküler tanıma ve algılama için yapay reseptörlerin geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalarda büyük bir artış gözlemlenilmiştir. Civa, kadminyum, kurşun gibi toksik ağır metallerin insan sağlığına olumsuz etki ettiği ve çevreye geri dönüşümsüz hasarlar verdiği bilinmektedir. Ayrıca bu toksik metaller insanlarda sindirim sistemi, kalp, böbrek ve nörolojik hastalıklar gibi birçok hastalıklara neden olmaktadır. Bu sebeplerden dolayı son yıllarda zararlı iyonların tesbiti analitik kimya, biyoloji ve çevre kimyası alanlarında çok fazla ilgiye sahiptir ve bu iyonların tesbit etmek için atomik emisyon, atomik absorpsiyon, indüktif eşleşmiş plazma spektroskopisi (ICP) gibi yöntemler kullanılmaktadır. Fakat florimetrik yöntemler daha hassas, daha seçici ve daha düşük maliyetli olduğu için diğer yöntemlere göre birçok avantajı vardır. Kaliksarenler farklı iyonlarla kompleks oluşturabilecek ve floresans sinyali verebilecek

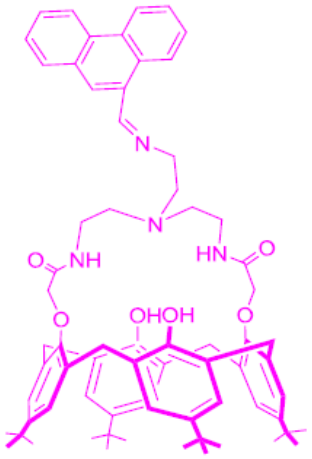
gruplarla kolay fonksiyonlandırılabilmelerinden dolayı sentetik organik kimyada popüler bileşikler olmayı sürdürmektedirler.

Kim ve grubu pren grubu içeren kaliksarenin diamit türevini sentezlemiş ve sentezlenen bileşiğin çeşitli anyonlarla (F^-, Cl^-, Br^-, I^-, $CH_3CO_2^-$, HSO_4^- ve $H_2PO_4^-$) kompleksleşme özelliklerini incelemiştir. Sonuç olarak pren grubu içeren kaliks[4]aren türevinin F^- anyonu ile kompleksinde floresans şiddetinin arttırdığı görülmüştür (Kim ve ark., 2005).

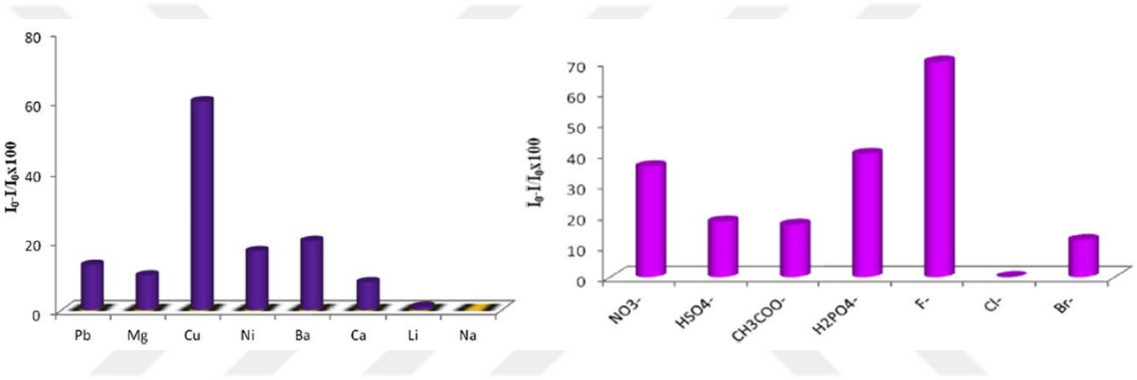


Şekil 1.21: Pren grubu içeren kaliks[4]aren türevinin F^- anyonu ile kompleksleşmesi

Sahin ve Akceylan, fenantren grubu taşıyan kaliks[4]aren türevi sentezlemişlerdir. Önceki çalışmalarında 2 piren amin grubu taşıyan kaliks[4]aren türevinin Cu^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarına karşı, naftalimid grubu taşıyan kaliks[4]aren türevinin ise Cu^{2+} iyonuna karşı yüksek floresans özellik gösterdiği sonucuna varmışlardır. Buradan yola çıkarak sentezledikleri fenantren grubu taşıyan kaliks[4]aren türevini farklı metal iyonlarında ve anyonlarda denemiş sonuç olarak Cu^{2+} ve F^- sensörü olabileceğini gözlemlemişlerdir (Sahin ve Akceylan, 2014).

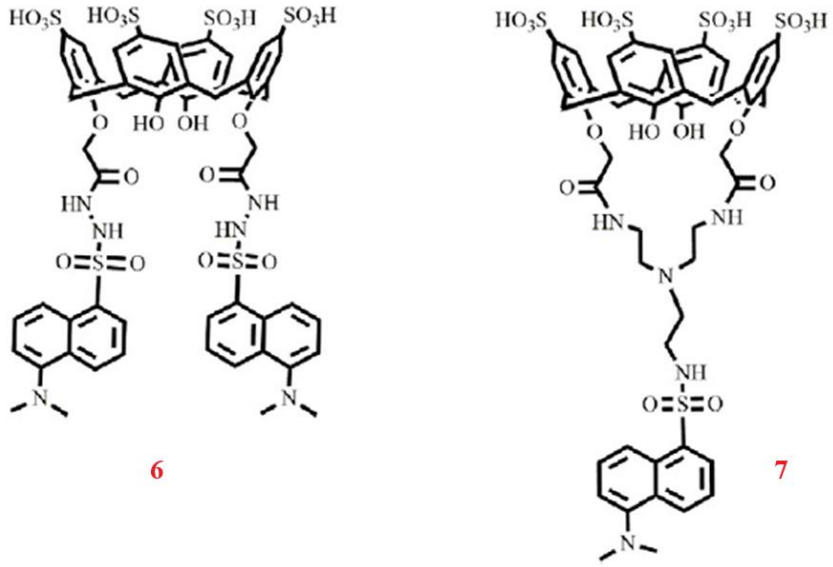


Şekil 1.22: Fenantren grubu taşıyan kaliks[4]aren türevi

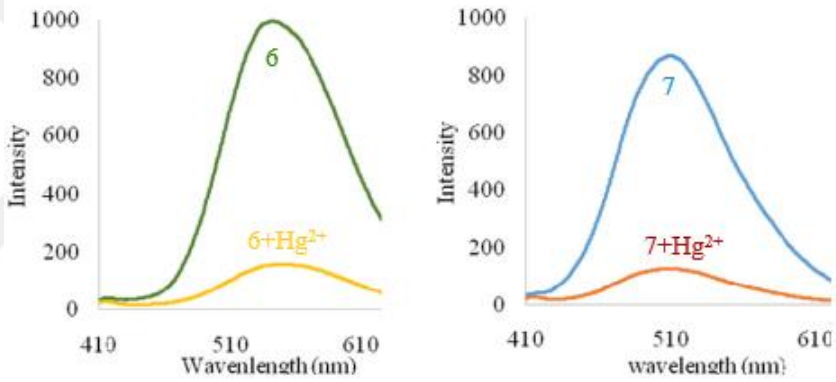


Şekil 1.23: Kaliks[4]aren türevinin Cu^{2+} ve F^- iyonlarına karşı selektif olduğunu gösteren grafikler

Oğuz ve ark., dansil grubu taşıyan suda çözünebilen p-sülfokaliks[4]aren türevlerini sentezlemiş ve sentezlenen her iki türevin de Hg^{2+} için iyi bir bağlanma affinitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Daha sonra canlı hücrelerde toksik olmayan, suda çözünebilen bu p-sülfokaliks[4]aren türevlerinin floresans görüntüleme uygulamaları yapmışlardır (Oguz ve ark., 2017).

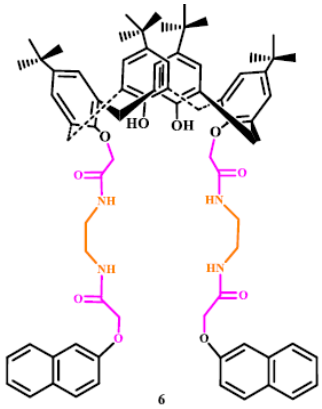


Şekil 1.24: Dansil grubu taşıyan suda çözünen p-sülfokaliks[4]aren türevleri

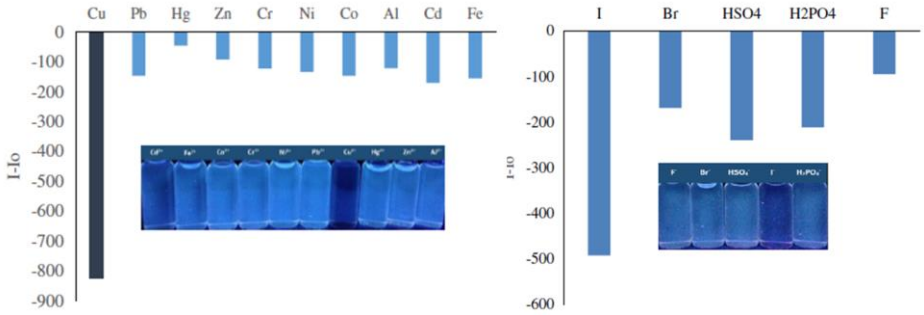


Şekil 1.25: Dansil grubu taşıyan p-sülfokaliks[4]aren türevlerinin Hg^{2+} ile floresans spektrumu

Diğer bir çalışmada ise floresans özellik gösteren naftalin grubu bağlanmış kaliks[4]aren türevi sentezlenmiş ve çeşitli anyon ve metal iyonları ile çalışılmıştır. Sonuç olarak naftil grubu bağlanmış ve bu kaliks[4]aren türevinin Cu^{2+} ve I^- iyonlarına karşı yüksek seçimli olduğu gözlemlenmiştir (Bhatti ve ark., 2017).

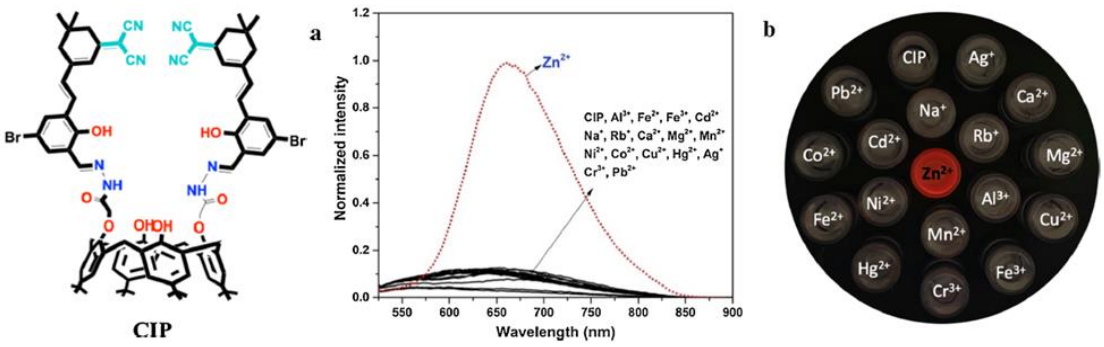


Şekil 1.26: Naftil grubu bağlanmış kaliks[4]aren türevi



Şekil 1.27: Farklı iyonların eklenmesiyle floresans yoğunluğunun ($I-I_0$) değişim grafikleri

Diğer bir çalışmada ise yeni bir kaliks[4]aren türevi sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşik farklı metal iyonları üzerinde denemiş ve Zn^{2+} için yüksek seçicilik göstermiş ve çok düşük emisyona sahip olduğu ancak yakın kızılötesi bölgede Zn^{2+} ya karşı belirgin "turn-on" tepkisini gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak bileşiğin Zn^{2+} iyonunun seçiciliği tespiti için hızlı ve kullanışlı bir TLC şerit sensörü olabileceği sonucuna varmışlardır (Erdemir ve Malkondu, 2019).



Şekil 1.28: Kaliks[4]aren türevinin floresans spektrumu

1.2. Floresans

Lüminesans elektronik olarak uyarılmış bir türden ultraviyole, görünür ya da infrared ışınlarının emisyonudur. Lüminesans kelimesi latinceden *lümen* yani ışık anlamına gelen kelimeden, ilk defa 1888 yılında alman fizikçi Eilhardt Wiedemann tarafından ısı ile ışık yaymanın aksine "sıcaklıkta bir artış olmaksızın ışığın bütün olayları" şeklinde belirtilerek tanımlanmıştır.

Lüminesans; uyarılmış enerji seviyesinin durumuna göre iki şekilde olabilir: Floresans veya fosforesans. Uyarılma zamanı fotonlar absorpsiyonlanarak absorpsiyon yapan türlerin uyarılmış hallerini meydana getirir.

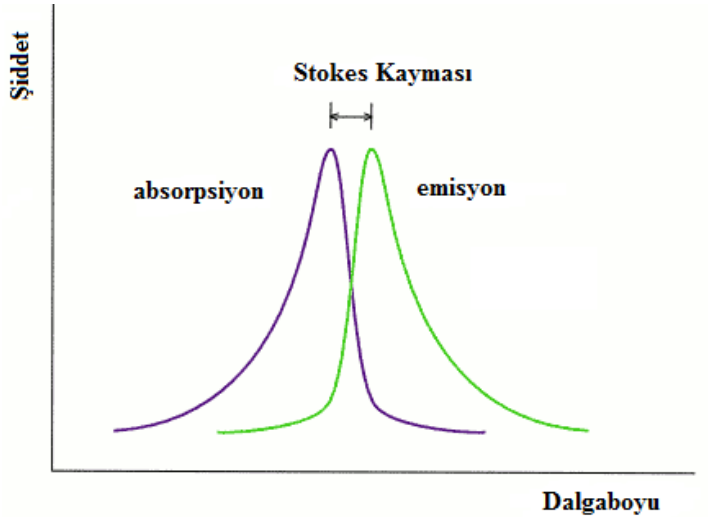
Floresans ışıma basit veya karmaşık gaz, sıvı ve katı kimyasal sistemlerde oluşur. Floresans ışımanın en basit tipi, seyreltik atomik buharların göstermiş olduğu floresanstır. Örnek olarak, buhar halindeki Na atomunun 3s elektronları, 589,6 ve 589 nm'lik dalga boylarındaki ışınların absorpsiyonlanmasıyla *3p* enerji seviyesine uyarılır ve 10^{-5} - 10^{-8} s sonra, elektronlar temel duruma geri dönerler. Her yöne doğru, aynı iki dalga boyunda da ışın yayar. Frekansta herhangi bir değişiklik olmadan absorplanmış ışının yeniden yayılması floresansın *rezonans ışıması* ya da *rezonans floresansı* tipi olarak bilinmektedir.

Floresans yayılımın üç önemli karakteristik özelliği:

1. Stokes kayması floroforun uyarma enerjisinden daha düşük bir enerji ile yayılım vermesi olarak tanımlanmaktadır ve bu durum spektrum üzerinde yayılım spektrumunun absorbans spektrumuna oranla daha büyük dalga boyuna (düşük enerjiye) kayması açıkça görülür (Şekil 1.29).

2. Floroforun enerjisinin bir kısmını hızlı bir şekilde ortama aktararak S1'e inmesi nedeniyle oluşan emisyon spektrumunun dalga boyu, uyarma dalga boyundan bağımsızdır.

3. Floresans spektrumu, absorbansın ayna görüntüsüdür.

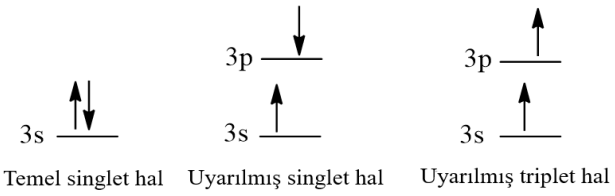


Şekil 1.29: Stokes kaymasının gösterimi

Işık ile uyarılan aromatik organik bir molekülün, birinci uyarılmış singlet elektronik durumdan ışıma yapması floresans olayıdır. Triplet bir halde sistemlerarası geçişten sonra, iç veya dış dönüşüm veyahut fosforesans ışıma ile biraz daha sönüm olabilir. Triplet→singlet geçişi, singlet→singlet dönüşümüne göre çok daha az olmaktadır ve dolaysıyla uyarılmış triplet halin ortalama ömrü, emisyona göre 10^{-4} s'den 10 s'ye kadar veya daha fazla olabilir. Böyle bir geçişten kaynaklanan emisyon olduğu zaman ışınlanma kesildikten sonra biraz daha ışıma devam edebilmektedir.

Elektron spinlerinin tamamının eşleşmiş olduğu bir moleküler *elektronik* hal veya bir *singlet* hal olarak adlandırılmaktadır. Moleküller manyetik alana maruz kaldığında elektronik enerji seviyelerinde herhangi bir yarılma meydana gelmez ve diğer taraftan, serbest bir radikal için temel hal olan *dublet* halidir.

Herhangi bir molekülün çift elektronlarından biri daha yüksek enerji seviyesine uyarıldığında ya bir singlet ya da bir triplet hal olmaktadır. Uyarılmış singlet halde, uyarılmış elektronun spini hala temel haldeki elektron ile eşleşmiş durumdadır ve aynı zamanda triplet halde, iki elektronun spinleri eşleşmemiş ve paralel durumda olmaktadır (Şekil 1.30).

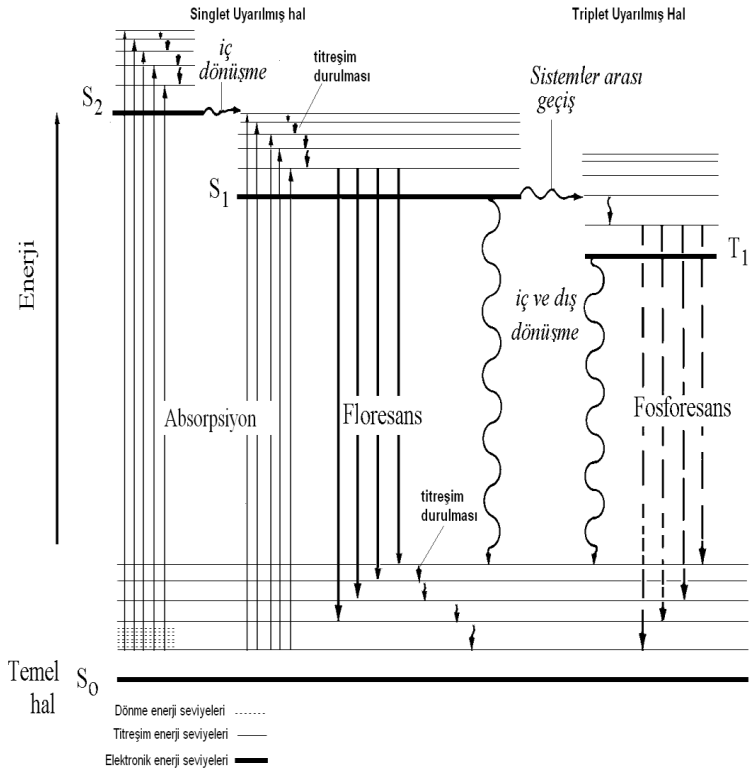


Şekil 1.30: Molekülün çift elektronlarından birinin uyarılması

Molekülün uyarılmış triplet haldeki özellikleri ile uyarılmış singlet halindeki özellikleri arasında önemli derecede fark mevcuttur. Uyarılmış singlet halden, temel singlet hale dönüş, zıt yönlü elektronların yönlerini değiştirmezken, triplet halde bu zorunludur. Pauli prensibine göre aynı spin yönlü sahip iki elektronun bir arada bulunması yasaklanmıştır. Lakin kuantum mekaniğe göre bazı izinli geçişler vardır. Triplet durumda bu elektronlar "çiftlenmemişlerdir", yani aynı spin yönelimine sahiptirler ve bu seviyeden yapılan ışımalar fosforesans olarak bilinmektedir. Floresans ve fosforesans mekanizması ilk kez Alexander Jablonski tarafından önerilen enerji seviyeleri diyagramı ile açıklanmıştır.

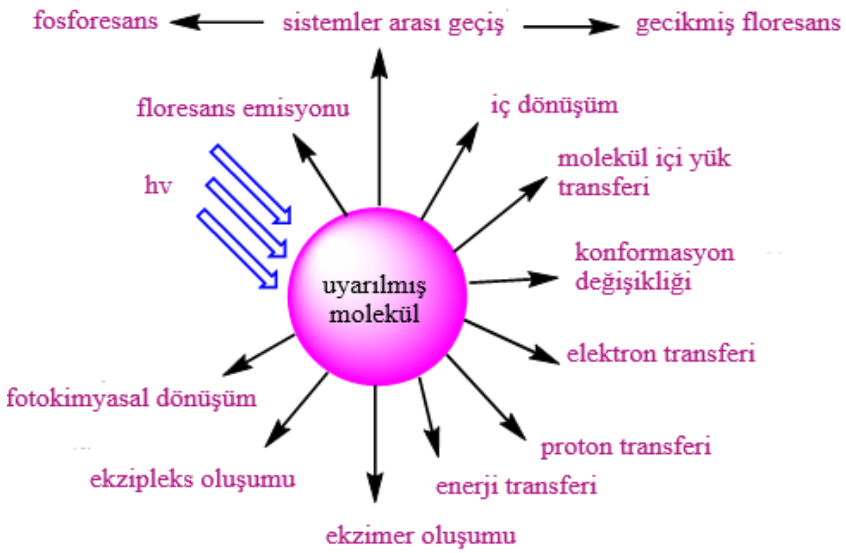
Şekil 1.31 de herhangi bir fotolüminesans molekülün kısmi bir enerji seviyesi diagramı gösterilmektedir. Koyu siyah yatay çizgi ile gösterilen (en altta) singlet haldeki molekülün temel hal enerjisidir ve S_o şeklinde gösterilmektedir. En üstteki koyu siyah çizgiler üç uyarılmış elektronik halin temel titreşim halleri için enerji seviyelerini, soldaki iki çizgi, birinci (S_1) ve ikinci (S_2) elektronik singlet hallerin enerjisini, sağdaki tek çizgi (T_1) ise birinci elektronik triplet halin enerjisini göstermektedir. Birinci uyarılmış triplet halin enerjisinin, karşı gelen singlet halin enerjisinden daha düşük olduğu bilinmektedir.

Daha ince yatay çizgiler çok sayıdaki titreşim enerji seviyesini göstermekte olup, dört elektronik halin her biriyle ilgilidir. Temel halden bu molekülün uyarılması biri uzun dalga boyunda ($S_o \rightarrow S_1$), diğeri daha kısa dalga boyunda ($S_o \rightarrow S_2$) merkezlenmiş iki ışın bandın absorpsiyonlanmasıyla meydana gelebilir. Diagramda triplet hale doğrudan uyarılma gösterilmemiştir, çünkü bu işlem, multiplisitede bir değişmeyi gerektirmektedir. Daha önce de bahsedildiği gibi bu geçişin olma olasılığı çok düşüktür ve dolaysıyla bu tip düşük olasılıktaki geçişe *yasaklanmış geçiş* denilmektedir (moleküler floresans).



Şekil 1.31: Jablonski diagramı

Işığın absorpsiyonlanmasıyla uyarılan molekül floresans emisyonla temel hale geri dönmektedir. Uyarılan molekülün temel hale geri dönmesi için başka yollar da vardır. Örneğin, iç dönüşüm - temel hale floresans emisyonu olmadan direk dönüş, sistemler arası geçiş - fosforesans emisyonu, molekül içi yük transferi ve konformasyonel değişiklik gibi farklı yollar mevcuttur. Uyarılmış seviyede diğer moleküllerle etkileşim de temel hale dönüş ile sonuçlanabilmektedir, bunlar elektron transferi, proton transferi, enerji transferi, eksimer veya ekzipleks oluşumu gibi moleküllerarası fotofiziksel etkileşimlerdir (Şekil 1.32) (Valeur, 2003).

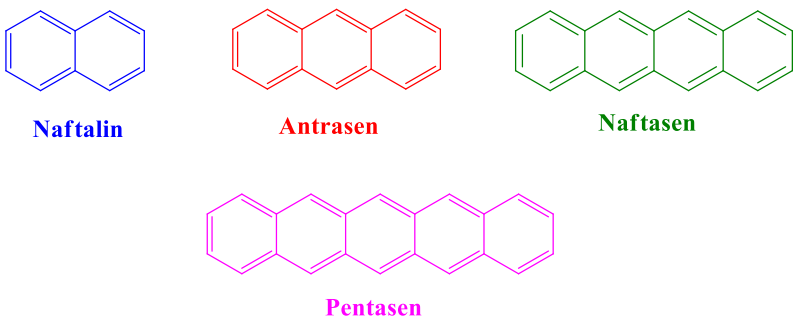


Şekil 1.32: Uyarılmış molekül temel hale dönerken mümkün olabilecek olaylar

1.2.1. Floresansı Etkileyen Faktörler

Bir maddenin lüminesans yapıp yapmayacağına, hem moleküler yapı hem de kimyasal çevre etki etmekte ve bu faktörler, emisyon şiddetini de belirlemektedir.

Moleküler Yapı: Floresans, çoğunlukla düşük enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine sahip aromatik fonksiyonel gruplar içeren katı yapılara sahip bileşiklerde gözlenmektedir (Wardle, 2009). Alifatik ve alisiklik karbonil gruplar veyahut çok sayıda konjüge çift bağlı yapıya sahip bileşikler de floresans göstermektedi. Ancak bu bileşikler aromatik sistemlerin sayısı ile karşılaştırıldığında çok daha az sayıdadır (Şekil 1.33).



Şekil 1.33: Floresans özellikli bazı aromatik bileşikler

Yapısal rijitlik: Molekül yapısı rijitse molekülün floresans özelliği de artmış olur.

pH: Aromatik bileşiklerin pH ile birlikte asit veya baz grubu içermesine göre floresansı da değişmektedir.

Sıcaklık: Birçok molekül için sıcaklık arttıkça floresans kuantum verimi azalmaktadır. Sıcaklığın yükselmesi moleküllerin çarpışmasını arttırdığından floresans ışımasının azalmasına sebep olmaktadır.

Çözücü Etkisi: Farklı çözücülerin floresans emisyonu üzerinde etkilerinin olduğu bilinmektedir. Örneğin, ağır atomlar içeren çözücüler içerisinde spin orbital eşleşmesi olasılığındaki artışa bağlı kalarak floresans yoğunluğu azalabilmekte ve bu da floresans yoğunluğunda artışa neden olabilmektedir (Homocianu, 2011).

Çözünmüş oksijen: Genellikle floresans şiddetinin azalmasına sebep olmaktadır.

Gelen ışığın dalga boyu ve şiddeti: Floresansı oluşturan ışığın dalga boyunun alt sınırı 250 nm'dir ve gelen ışığın şiddetinin artması floresansı arttırmaktadır.

Konsantrasyon: Floresans şiddeti çözelti içerisindeki floresans maddenin konsantrasyonu ile orantılıdır.

Viskozite: Floresans, çözücülerin viskozitesinden de etkilenebilmektedir. Viskoz çözeltilerde, moleküler çarpışmalar azaldığından enerji transferini de azaltmakta ve sonuç olarak, moleküler çarpışmaların az olması enerji kaybını da azaltmaktadır, dolayısıyla floresansı daha fazla yükseltmektedir.

1.2.2. Moleküler Sensör

Herhangi bir analit ile etkileştirildiğinde tespit edilebilen farklılık gösteren moleküller, *moleküler sensörler* veya *kemosensörler* olarak bilinmektedir. Bu farklılık genellikle spektroskopik olarak incelenebilen farklılıklardır ve belirli bir molekül için seçici olduklarında ölçülebilir sinyal üretme yeteneğine sahiplerdir (Kim ve Quang, 2007). Bu sensörler moleküler ve iyon tanınmada, biyolojik sistemlerde, çevre ve kimyasal alanlarda oldukça fazla önem taşımaktadır. Birçok ağır metal iyonlarının toksik özellikleri hem canlı metabolizmasına zararlı etki etmekte, hem de çevrede çok fazla kirlilik oluşturmaktadır ve bu nedenle de bu metallerin belirlenmesi büyük önem teşkil etmektedir. Bu metaller iyonlarının tanımı atomik absorpsiyon ve emisyona dayalı

analitik metotlarla gerçekleştirilmektedir. Kemosensörler arasında floresans spektroskopik yöntemler, hassaslık, seçicilik, fiyatının düşük olması, aleti kullanmanın basitliği ve çözeltilerde direk tayin edilebilmesi gibi çok fazla üstünlüğe sahiptir. Floresans çalışmalar zamanı nanomolar seviyede bile uygulama yapılmaktadır.

1.2.2.1. Floresans Moleküler Sensörlerin Sınıflandırılması

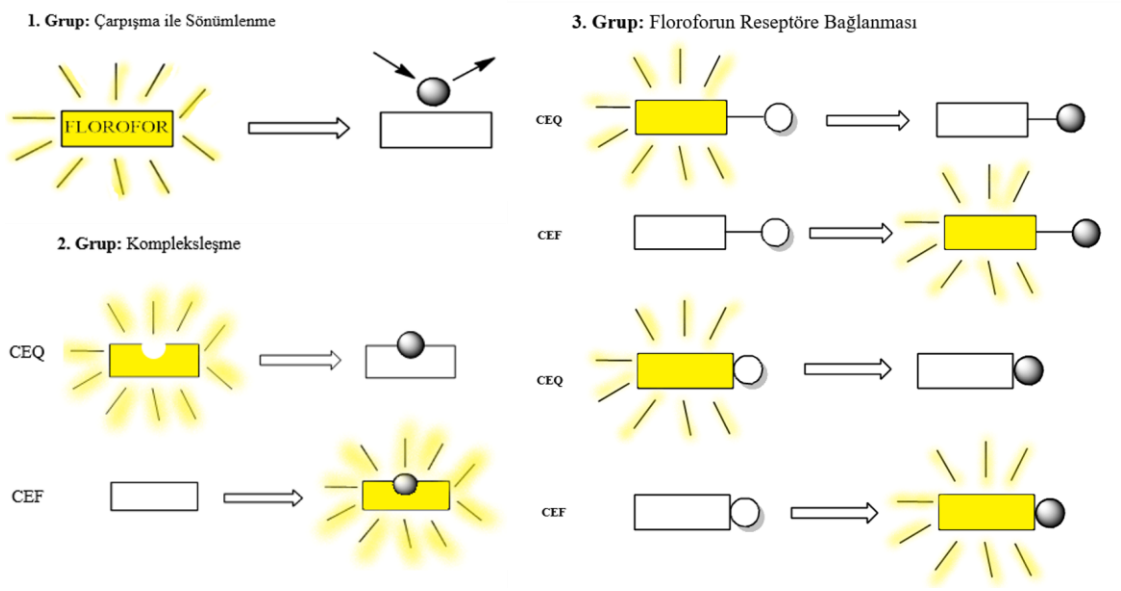
Floresans sensörlerin tanımlanmasında farklı terimler kullanılır, bunlardan daha sık kullanılanlar *florosensörler, floresans kemosensörler, floresans moleküler sensörler, lüminesans moleküler sensörler* ve *floresans optik sensörler*dir. Ayrıca kemosensörlerle biyosensörlerin anlam farkı da oldukça önem taşımaktadır. Biyosensörlerde analite cevap veren kısım biyolojik bir makromolekül (proteinler gibi) kökenliyse, kemosensörlerde bu abiyotik kökenlidir.

Genel olarak floresans moleküler sensörler 3 grupta sınıflandırılabilir (Şekil 1.34).

1. Grup sensörler floroforun herhangi bir analitle örneğin, O_2, Cl_2 gibi gaz molekülleri ile çarpışma nedeniyle sahip olduğu floresans ışımasının sönümlenmesi ile oluşan sensörledir.

2. Grup sensörlerde floroforla analit arasında tersinir bir ilişkiden bahsedilmektedir. Eğer analit proton ise pH indikatörü, bir iyon ise floresans şelatlama ifadesi kullanılmaktadır. Floresans ışıması, florofor ile analitin bağlanmasıyla sönümlenebilir, buna *CEQ tipi* yani, *Floresansın Şelatlaşma ile Sönümlenmesi* denilmekte, veyahut floresans ışıması kompleksleşme ile artabilir, buna ise *CEF tipi* yani, *Floresansın Şelatlanma ile Artması* denilmektedir.

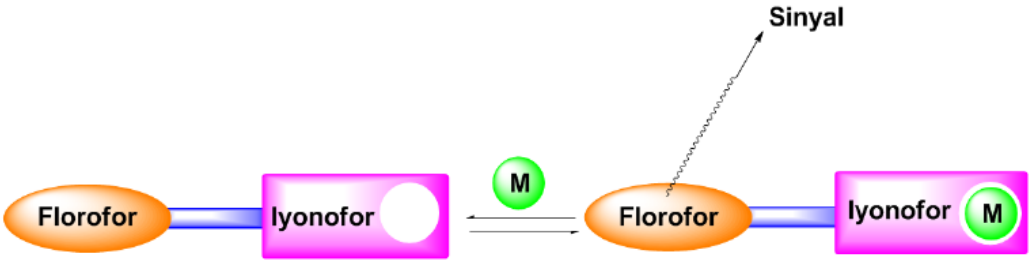
3. Grup sensörler ise ya reseptörle florofor arasında boşluk bulunduğu, ya da reseptörün florofora direk bağlandığı sensörler olarak bilinmektedir. Oluşan fotofiziksel değişiklikler, elektron transferi, yük aktarımı, enerji transferi, eksimer oluşumu ya da kaybolması gibi foto-indüklenmiş prosesler sonucu meydana gelmektedir. Eğer iyon sensörü tasarlanmış ise reseptöre *iyonofor*, moleküler sensör tasarlanmış ise bu zaman reseptöre *floroiyonofor* adı verilmektedir. 2. Grup sensörlerde olduğu gibi etkileşim sonucu floresans ya sönümlenmekte (CEQ) ya da artmaktadır (CEF).



Şekil 1.34: Floresans moleküler sensörlerin sınıflandırması

1.2.3. Floresans Sensör

Kaliksarenler yapısında bulunan üç boyutlu bir boşluğun olmasından ve hem fenolik-O üzerinden hem de ter-bütil grupların dealkilasyonundan sonra aromatik birimlerin p-konumundan uygun reaktiflerle fonksiyonlandırıldığından floresans özellik gösteren reseptörlerin sentezinde kullanılması da oldukça uygun bileşiklerdir. Floresans kemosensörler florofor ve iyonofor olarak sınıflandırılmaktadır (Kim ve Quang, 2007). Floresans sensörlerin genel yapısı Şekil 1.35 de verilmiştir.



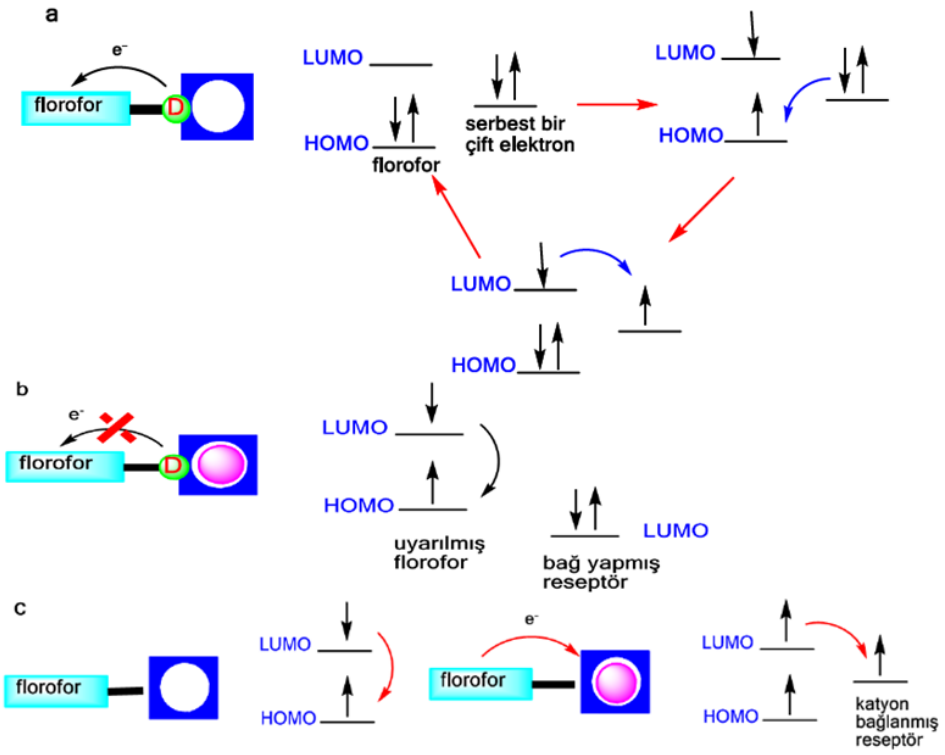
Şekil 1.35: Floresans sensörlerin genel yapısı

İyonofor grupların en önemli özelliği analitin bağlanmasında seçici olmasıdır ki; bu durum gerçekleştiği zaman bağlanma olayı PET (photo-induced electron transfer), PCT (photo-induced charge transfer), eksimer oluşumu veya FRET (fluorescence

resonance energy transfer) gibi farklı mekanizmalarla açıklanmaktadır (Kim ve Quang, 2007; Lee ve ark., 2007).

1.2.3.1. Işına Dayalı Elektron Transferi (Photo-induced electron transfer, PET)

Floresans olayı ışının emisyonu ile moleküldeki elektronun HOMO'dan LUMO'ya uyarılmasıyla basit olarak açıklanabilir. Emisyon etkili olduğu halde bu moleküle *florofor* denilmektedir. Çeşitli etkileşimler sayesinde emisyon olayı değişebilmektedir ve bu floresansın analitik uygulamalardaki önemini ortaya çıkarmaktadır. Akseptör-PET ve donör-PET olarak genellikle iki proses vardır. Titreşimsel kayıbdan sonra luminoforun (ışığı absorplayan molekül) HOMO seviyesindeki uyarılmış elektron ışıma yaparak LUMO seviyesine geçer. Reseptör grup elektron alabiliyor veya verebiliyorsa bu o demek oluyor ki florofora konjugasyon olmadan bağlanmıştır. Florofor veya komşu molekülün bir çift elektronunun bulunduğu orbitalin enerjisi HOMO ve LUMO'nun enerji seviyeleri arasında yer alarak ışığın absorpsiyonlanmasıyla önce HOMO seviyesinde oluşan boşluğa elektron çiftinden biri transfer edilir ve uyarılmış halde olur. Bu proses PET mekanizması olarak bilinmektedir (Jiang ve ark., 2007; De Silva ve ark., 2009).

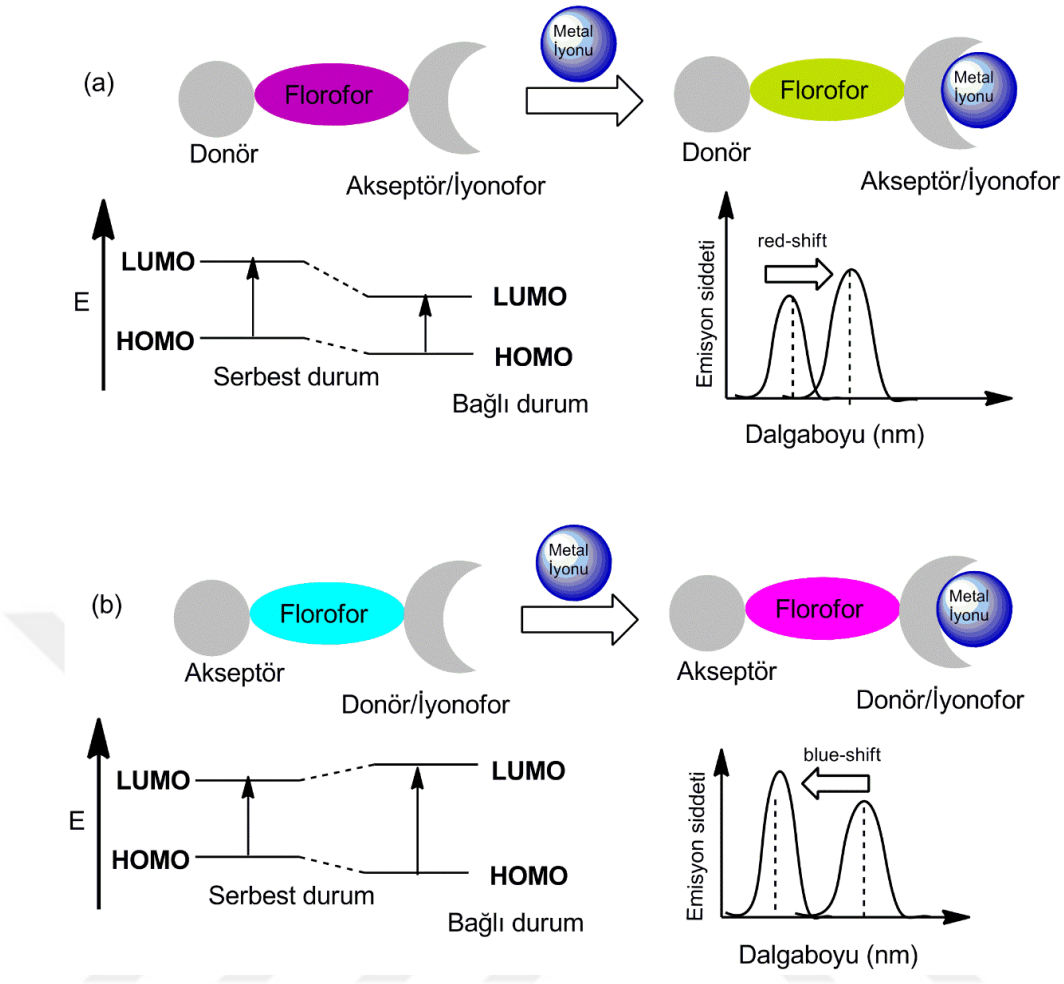


Şekil 1.36: PET (a), CHEF (b) ve reverse-PET (c) mekanizmasının şematik gösterimi

Uyarılmış elektron PET durumuna ışıma olmadan emisyon şiddeti düşerek ya da floresansı sönümlenerek geçebilmektedir. Floresans yalnız elektron çiftinin bağlanma etkileşimi; protonlanma veya metal iyonunun bağlanmasıyla yeniden geri kazanılarak elektron transferi gerçekleştirilir. Bu durumda HOMO'nun enerji seviyesi floroforun enerji seviyesinin altına inerek PET'in gerçekleşmesini önlemiş olur. Böylelikle de floresans şiddeti metal iyonunun bağlanmasına bağlı olarak artmaktadır (Valeur ve Leray, 2000). Metal iyonunun bağlanması CHEF (floresans chelation-enhanced fluorescence), yani şelatlaşma ile gelişmiş floresans olarak bilinmektedir (Şekil 1.36).

1.2.3.2. Işına Dayalı Yük Transferi (Photo-Induced ChargeTransfer, PCT)

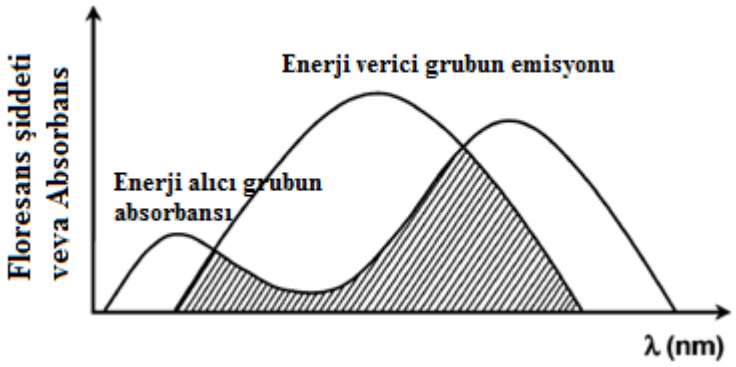
Elektron çekici grup (akseptör; A) ile konjüge çiftleri içeren elektron verici grup (donör; D) florofor ışık ile uyarılmaya bağlı olarak donörden akseptöre doğru molekül içi yük transferi (internal charge transfer; ICT) yapmaktadır. Bunun sonucunda dipol momentteki değişiklikten dolayı floroforun çevresine bağlı olarak Stokes kayması, görünür ışıkta uyarılabilirlik ve metal koordinasyonu kaynaklı emisyon kayması olmakta ve donör/akseptör gruplarla yakın etkileşimde olan katyonlar floroforun fotofiziksel özelliklerini değiştirmektedir. Şekil 1.37 de görüldüğü gibi molekül içi yük transferi (ICT) floroforun donörüne metal koordinasyonu sonucu HOMO enerjisini düşürerek emisyon veya uyarılma maksimumlarını kırmızıya doğru (batokromik) kaymasına sebep olacaktır. Eğer metal koordinasyonu donörde değil akseptörde olursa, bu olayın tersi yani, HOMO enerjisini arttırarak maviye doğru (hipsokromik) kayma gözlenmektedir. Floresans spektrumunda da benzer kaymalar gözlenilmektedir (Liu ve ark., 2013).



Şekil 1.37: PCT mekanizmasının şematik gösterimi

1.2.3.3. Floresans Rezonans Enerji Transferi (FRET)

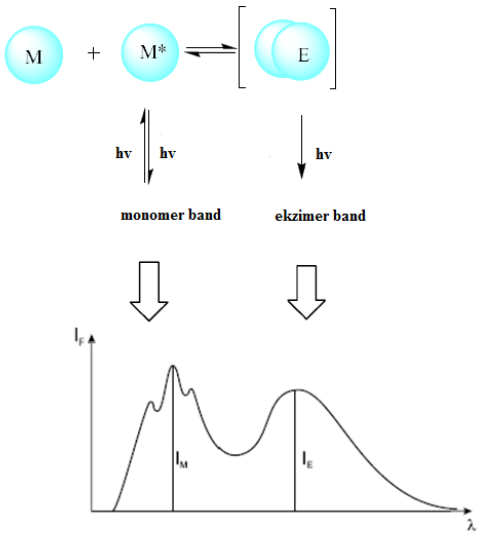
Floresans rezonans enerji transferi (FRET) mekanizması floroforun uyarılmış haldeki donör grubun enerjisinin, floroforun temel haldeki akseptörüne transferi sayesinde gerçekleşmektedir. FRET bir floroforun (FRET verici) emisyon spektrumu diğer floroforun (FRET alıcı) absorpsiyon spektrumuyla çakıştığında uyarılmış seviyedeki iki florofor grubun etkileşimi sonucunda artmaktadır. Verici grubun uyarma enerjisi ışın emisyonu olmadan alıcı gruba transfer edilmektedir (Şekil 1.38). Floresans rezonans enerji transferi mesafeye bağlı etkileşimdir (Kim ve Quang, 2007).



Şekil 1.38: FRET mekanizması için spektral örtüşme

1.2.3.4. Ekzimer Oluşumu

Basit olarak *ekzimer* uyarılmış haldeki floroforun temel haldeki başka bir florofor ile etkileşimiyle oluşan komplekstir (Kim ve Quang, 2007). Aromatik halkalarda zayıf etkileşimler (Van der Waals etkileşimi gibi) olduğu durumlarda, uyarılmış seviyede dimer veya "ekzimer" olarak adlandırılan komşu halkayla etkileşimin artması sonucu halkalardan birinin elektronik olarak uyarılmasına sebep olmaktadır. Bu durumda iki floresans bandı; monomer bandı ve daha uzun dalga boyunda, şekilsiz geniş bir band halinde ekzimer bandı gözlenilmektedir (Şekil 1.39). Moleküler hareketliliğe ve viskoziteye bağlı olarak monomer ve ekzimer emisyonuna bağlı floresans şiddetinin oranı değişmektedir (Valeur ve Leray, 2000).

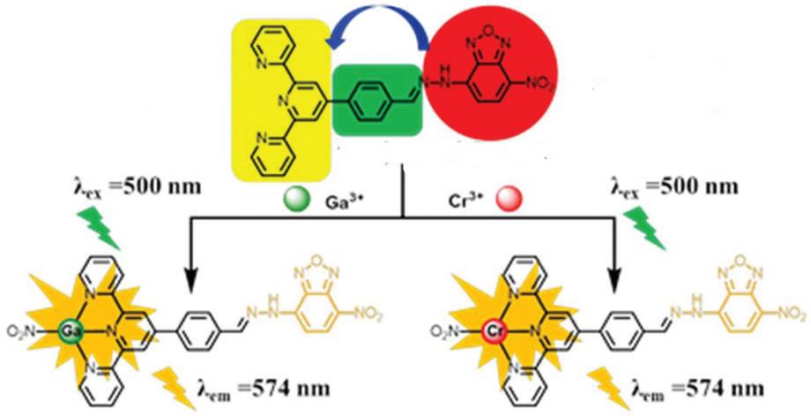


Şekil 1.39: Ekzimer oluşum mekanizması

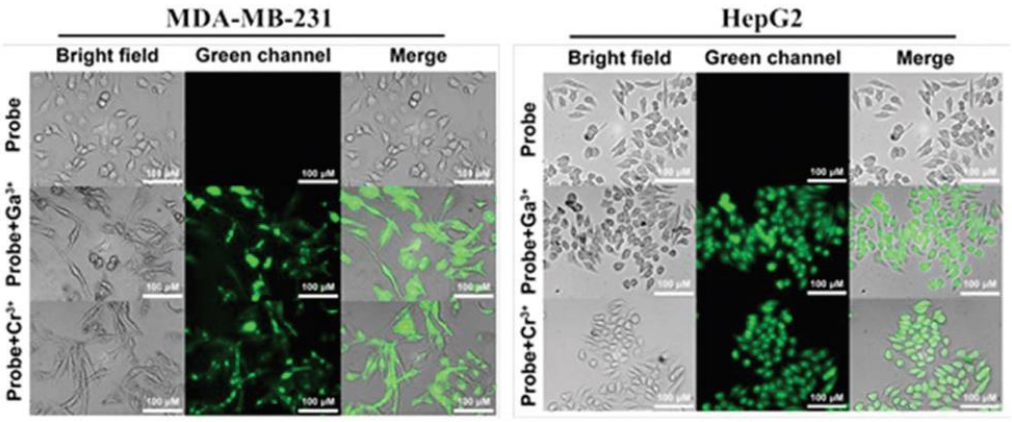
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. 1,3-Dibenzooksodiazol Bileşiği ile Yapılan Çalışmalar

Son on yılda, galyum (Ga) bileşikleri kanser tedavisi alanında önem kazanmıştır. *İn vitro* ve *in vivo* çalışmalarla galyumun toksisitesi hayvanlar üzerinde de tesbit edilmiştir. Doğal olarak oluşan ağır bir metal olan krom (Cr), endüstriyel işlemlerde yaygın olarak kullanılmakta ve insanlarda ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Kromun insan vücudunda asit, protein ve yağların metabolizmasında önem taşıdığı bulunmuştur. Galyum (Ga^{+3}) gibi krom (Cr^{+3}) da aşırı derecede birikimi insan vücuduna zarar göstermektedir. Bu nedenlerden dolayı bu çalışmada 1,3-dibenzooksodiazol (NBD) türevli floresans probu (NBDT) hazırlamış ve bu prob Ga^{+3} ve Cr^{+3} iyonlarına karşı yüksek seçicilik ve hassaslık gösterdiğini gözlemlemişlerdir. *İn vitro* çalışmalarda MDA-MB-231 (meme kanseri) ve HepG2 (karaciğer kanseri) insan kanser hücrelerinde Ga^{+3} ve Cr^{+3} iyonlarını tespit etmek için kullanmış ve başarıyla sonuçlamışlardır. *İn vivo* çalışmalarda ise zebra balığı kullanarak, NBDT probunun zebra balığında Ga^{+3} ve Cr^{+3} iyonlarını tespiti ve görüntülemesi yapmışlardır (He ve ark., 2019).

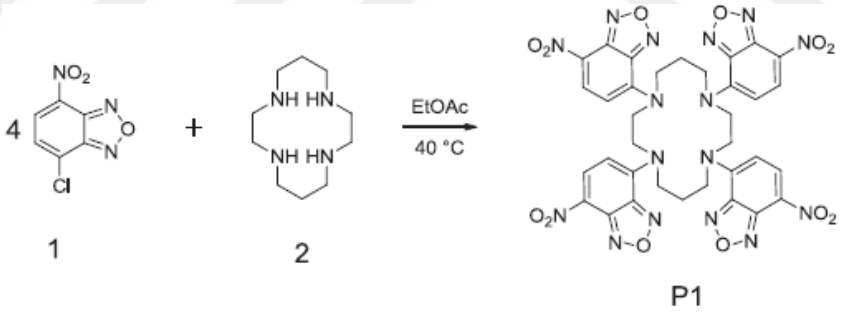


Şekil 2.1: NBDT kemosensörü ve Ga^{+3} ve Cr^{+3} iyonlarının bağlanma mekanizması

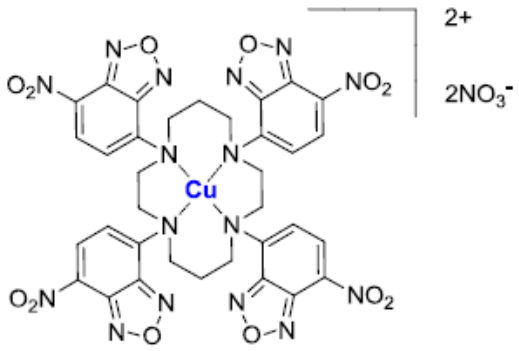


Şekil 2.2: MDA-MB-231 ve HepG2 insan kanser hücre görüntülemeleri

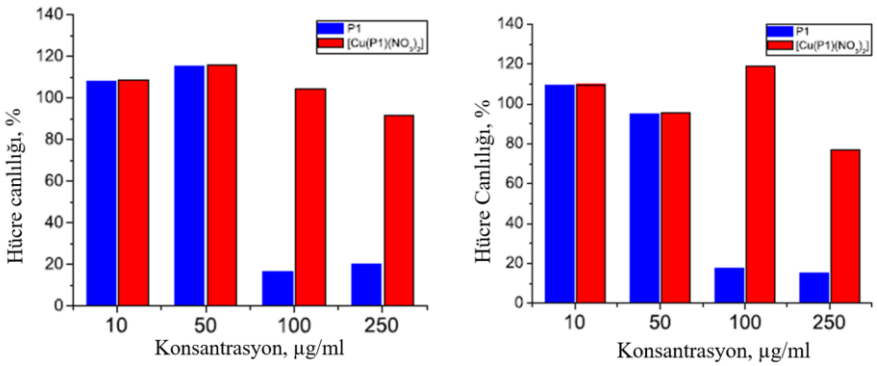
Grabchev ve ark., benzofurazan-cyclam ve onun Cu^{+2} kompleksini yapmış, sitotoksik ve antimikrobiyal aktivitelerini ölçmüş ve bakır kompleksi oluştuktan sonra kompleksin artan antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir. MTT test sonuçlarının ise serbest ligandın insan Hela (rahim kanseri) hücresine ve MDA-MB-231 (meme kanseri) hücrelerine karşı etkili olduğunu göstermektedir. Sentezlenen bileşiğin tıpta umut vaad ettiği bildirilmektedir (Grabchev ve ark., 2016).



Şekil 2.3: Benzofurazan-cyclam (P1) bileşiğinin sentezi

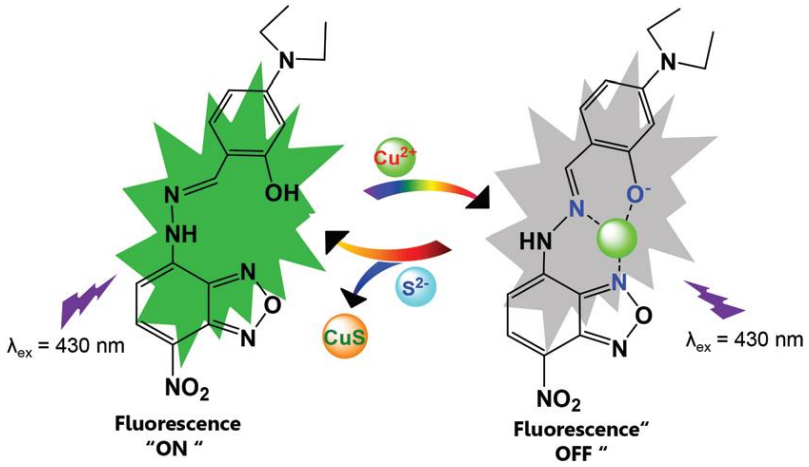


Şekil 2.4: $[Cu(P1)(NO_3)_2]$ kompleksi



Şekil 2.5: P1 ve $[Cu(P1)(NO_3)_2]$ kompleksinin insan Hela (rahim kanseri) ve MDA-MB-231 (göğüs kanseri) hücrelerinde MTT test sonuçları

Yapılan diğer bir çalışmada, Cu^{+2} miktarının belirlenmesi için NBD floroforuna dayalı yeni bir floresans kemosensörü (NL) sentezlenmiştir. NL spesifik olarak diğer katyonların varlığında NL-Cu^{+2} kompleksi oluşturmuş, UV-vis ve floresans spektrumlarında belirgin değişiklikler göstermiştir. Bakır iyonlarının bağlanmasıyla sönümlenen floresans S^{-2} iyonlarıyla geri kazanılmaktadır. Sentezlenen bileşik ve NL-Cu^{+2} kompleksi, canlı MDA-MB-231 hücrelerinde denenmiş ve düşük sitotoksik etki gösterdiği gözlemlenmiştir gösterdiğini gözlemlemişlerdir (Meng ve ark., 2015b).

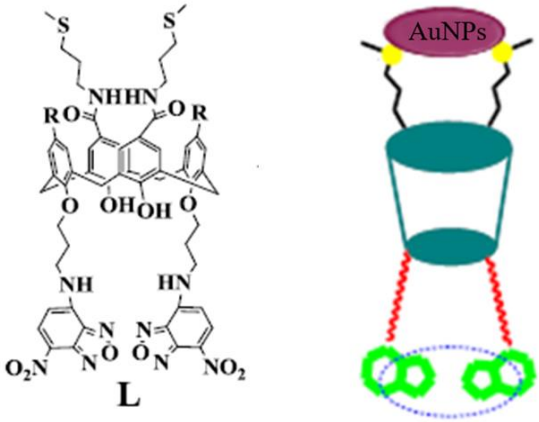


Şekil 2.6: NL-Cu^{+2} kompleksi oluşumu ve floresansın geri kazanılma mekanizması

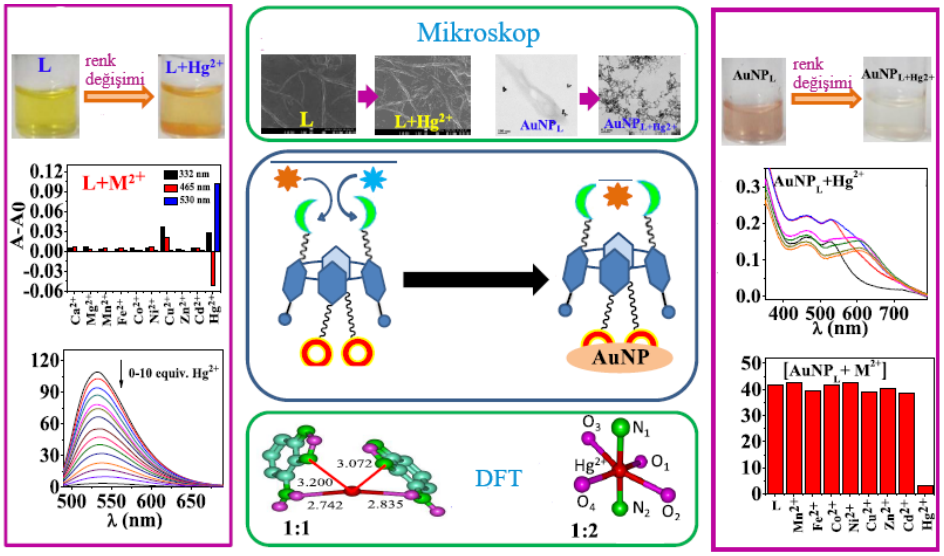
2.2. Kaliks[4]aren 1,3-dibenzooksodiazol türevleri

Kaliksarenler, basit yoldan sentezlenebilmeleri ve kolay fonksiyonlandırılabilmelerinden dolayı sentetik organik kimyada popüler bileşikler olmayı sürdürmektedirler. Bu bileşikler hem fenolik-O üzerinden hem de ter-bütil grupların dealkilasyonundan sonra aromatik birimlerin p-konumundan fonksiyonlandırılarak anyon, katyon ve nötral molekül taşıyıcı olarak kullanılmaktadırlar.

Literatürde 1,3-dibenzooksodiazol bileşiğinin kaliks[4]aren türevleri sınırlı sayıdadır. Bunlardan biri Uttam ve ark., yapmış olduğu çalışmada Hg^{+2} ve Cu^{+2} iyonlarına karşı sensör olarak kullanmışlardır. Öncelikle 1,3-dibenzooksodiazol bileşiğinin kaliks[4]aren türevini sentezlemiş, sonra 10 farklı metal iyonunda denemiş ve en iyi Hg^{+2} ve Cu^{+2} iyonları ile kompleksleştiği sonucunu gözlemlemişlerdir. Daha sonra sentezlenen bileşiği altın nanopartiküle immobolize etmiş ve yine Hg^{+2} iyonlarına karşı seçimli olduğunu görmüşlerdir (Uttam ve ark., 2018a).

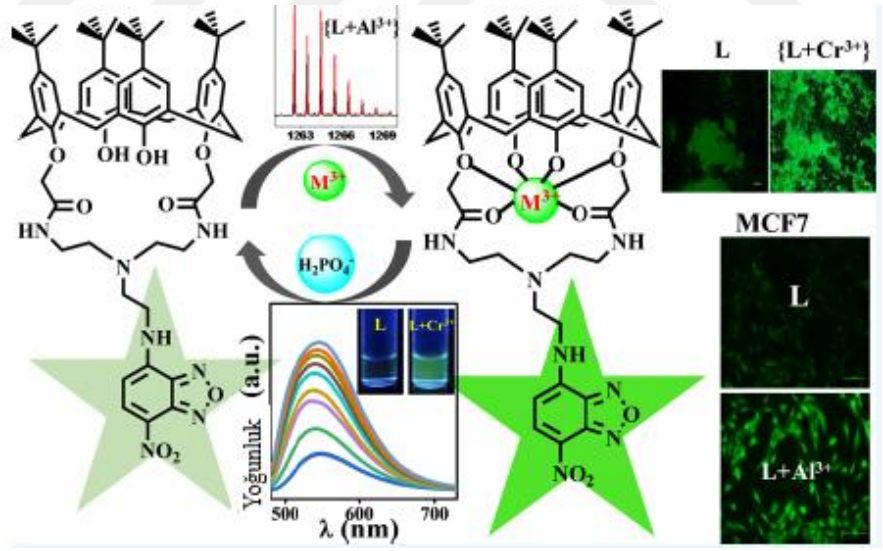


Şekil 2.7: Kaliks[4]aren 1,3-dibenzooksodiazol türevi (L) ve AuNPs immobilizasyonun şematik gösterimi



Şekil 2.8: L ve $AuNP_L$ bileşikleri ile yapılan çalışmaların şematik gösterimi

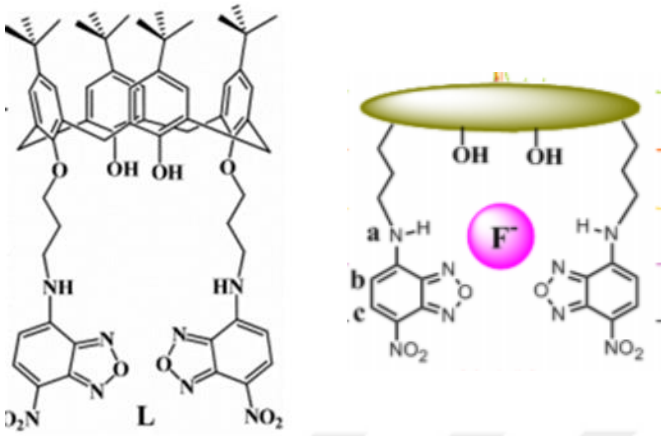
Diğer bir çalışmada ise 1,3-dibenzooksodiazol bileşiğinin kaliks[4]aren türevi sentezlenmiş ve Cr^{+3}, Al^{+3} ve Fe^{+3} iyonlarına karşı seçimli olduğu görülmüş ve MCF-7 (meme kanseri) hücre görüntülemesinde kullanmışlardır (Dinda ve ark., 2019).



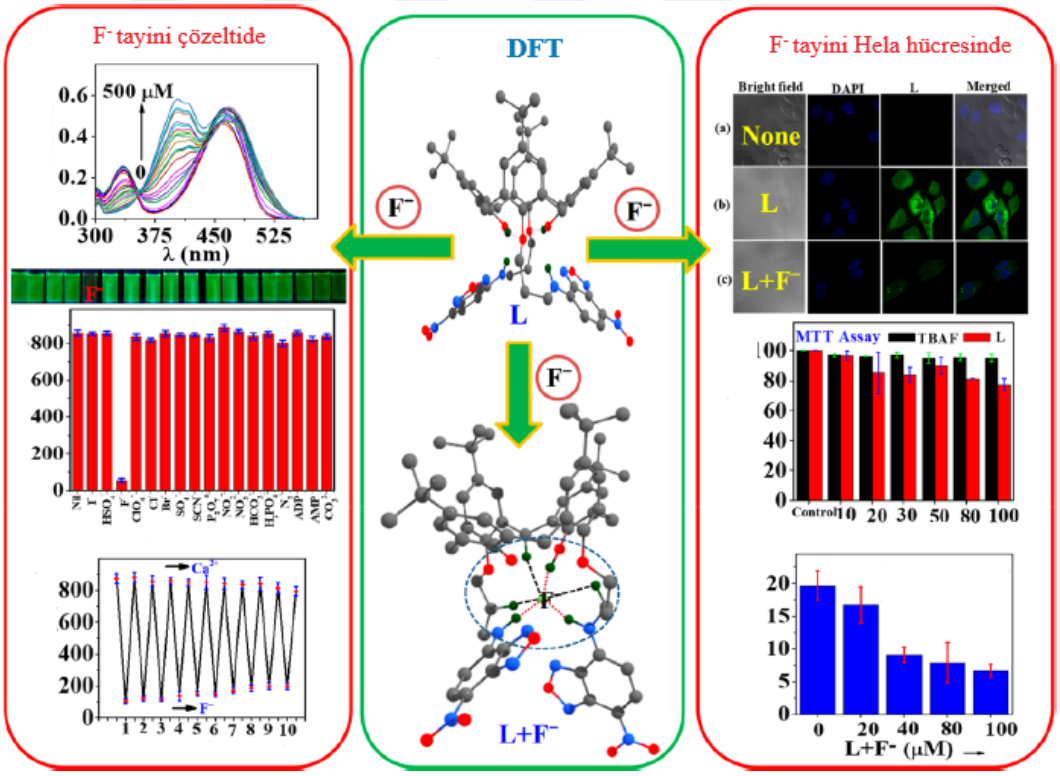
Şekil 2.9: Yapılan çalışmanın özet gösterimi

Uttam ve ark., *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin benzooksadiazol türevini (L) sentezlemiş ve bu türevin 17 anyon ile kompleksleştirme çalışması yapmışlardır. 17 anyon içerisinde sadece flor anyonu ile kompleks oluşturan L maddesinin HeLa (rahim

ağzı) insan kanser hücresine etki etdiği gözlemlemiş ve sentezlenen L bileşiğinin flor anyonu için seçici etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (Uttam ve ark., 2018b).



Şekil 2.10: *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin benzooksadiazol türevi ve onun F^- anyonu ile kompleksi



Şekil 2.11: L bileşiği ve onun F^- anyonu ile kompleks çalışmaların özet gösterimi

Bu çalışmada, yukarıda anlatılan literatürler doğrultusunda kaliks[4]aren bileşikleri florofor bir bileşi olan 1,3-dibenzooksodiazol ile fonksiyonlandırılarak anyon taşıma özelliklerinin incelenmesi ve ayrıca canlı hücre görüntülemesinde kullanılması

amaçlanmıştır. Bunun için kaliks[4]aren bileşikleri hem fenolik-O konumundan hem de fenolik birimlerin p-konumundan 1,3-dibenzooksodiazol bileşiği ile fonksiyonlandırılıp karakterize edildikten sonra farklı iyonlarla floresans özellikleri incelenerek hücre içi görüntülemede kullanıldı.

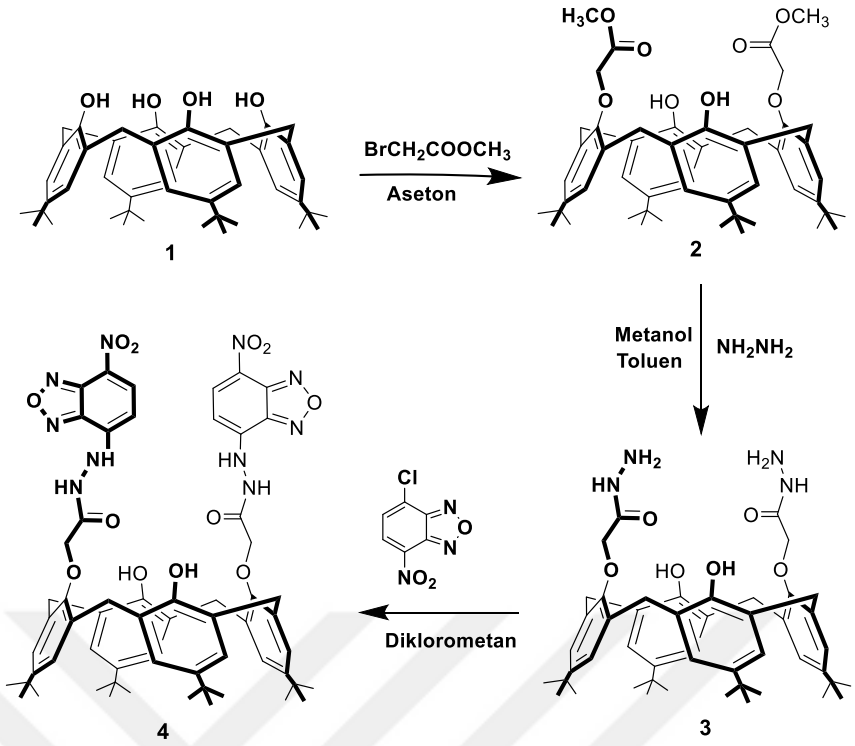
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Enstrümental Teknikler

Erime noktası SRS markalı cihazla tayin edildi. ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR spektrumları $CDCl_3$ ve DMSO çözücülerinde Varian 400 MHz spektrometresinde alındı. NMR spektrumlarındaki kimyasal kaymalar ppm (δ) cinsinde belirtildi. IR spektrumları Bruker Vertex ATR-FTIR spektrometresinde alındı. Floresans sonuçları Perkin Elmer LS55 spektrometresiyle, UV-visible sonuçları Shimadzu UV-1700 markalı cihazlarla alındı. Deneylerde kullanılan her bir kimyasal madde analitik saflıkta Merck, Fluka, Aldrich ve Sigma firmalarından birinden temin edilmiştir. Analitik TLC'ler silika jel tabakası ile (SiO_2, Merck 60 F_{254}) kaplanmış alüminyum plakalar kullanıldı. Deneylerde kullanılan saf su Millipore Milli-Q Plus arıtma cihazı ile saflaştırılıp kullanılmıştır.

3.2. Kimyasal Sentezler ve Karakterizasyon

Bu çalışmada sentezi yapılan bileşiklerin bazıları literatürde yer alan metotlara göre, bazıları ise daha önceki metodların modifiye edilmesi sonucunda yeni metod geliştirerek toplamda 12 bileşik sentezlenmiştir.

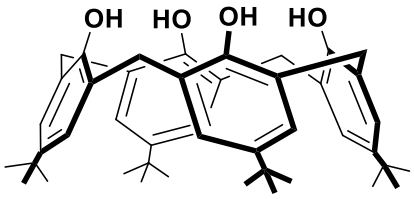


Şekil 3.1: 4 no'lu kaliks[4]aren bileşiğinin sentez şeması

3.2.1. 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1) Gutsche ve Iqbal, 2003

1000 ml ikiboyunlu balona 100 g (0,665 mol) *p-ter*-bütilfenol, %37 lik HCHO 62,3 mL (0,83 mol) ve 1,2 g (0,03 mol) NaOH çözeltisi eklendi. Reaksiyon karışımı yağ banyosunda sabit 110-120 ^{0}C da ksilol cihazı takılarak geri soğutucu ve azot gazı altında 1,5-2 saat ısıtıldı. Bu işlem sırasında reaksiyon karışımı viskoz bir hale gelerek önce turuncu renge ardından katı sarı kütle haline çevrildi ve sıcaktık kapatılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Daha sonra 800-1000 mL difenil eter eklendi ve ksilol cihazı, azot gazı takılarak yeniden ısıtıldı. Suyun ortamdan uzaklaşması ve reaksiyon karışımının berraklaşması beklendi. Su çıkışı bittikten sonra karışıma geri soğutucu takıldı ve 1,5-2 saat daha kaynatıldı. Süre sonunda reaksiyon karışımı oda sıcaklığına kadar soğumaya bırakıldı. Reaksiyon karışımı soğuduğunda 1L etil asetat eklenerek çöktürme işlemi yapıldı. Çöktürülen madde vakuum altında süzme işlemi yapılarak 200 mL etil asetat, 200 mL asetik asit ve son olarak pH-7 olacak şekilde saf su ile yıkandı ve kurutuldu. Kurutulan 66,5g (% 62) ham ürün toulen ile tekrar kristallendirildi ve 61,6 g parlak ve beyaz kristal formda, erime noktası 343-344^{0}C (lit., 344-346^{0}C) ürün elde

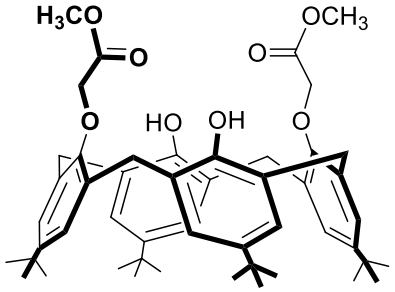
edildi (Gutsche ve Iqbal, 2003). ^{1}H-NMR (400 MHz $CDCl_3$) δ (ppm): 1.20 (s, 36H, But), 3.45 (d, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.25 (d, 4H, $ArCH_2Ar$), 7.05 (s, 8H, ArH), 10.35 (s, 4H, OH).



1

3.2.2. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-dimetoksikarbonilmetoksi 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren (Arnaud-Neu ve ark., 1989)

p-ter-Bütilkaliks[4]aren 5 g (7.71 mmol) ile potasyum karbonat 1.29 g (9.4 mmol) 250 mL aseton ortamında geri soğutucu altında 2 saat kaynatılarak karıştırıldı. Süre sonunda metilbromasetat 1.48 mL (16.19 mmol) ilave edilerek 24 saat daha kaynatılarak karıştırıldı. Reaksiyon ince tabaka kromotogrofisi ile takip edilerek sonlandırıldı ve çözücü vakum altında uzaklaştırıldı. Kalan katı etanol içerisinde kristallendirildi. Verim % 65, E.n. 180-182^{0}C (lit. 182-184^{0}C). IR: 3424 cm^{-1}(OH), 1757 cm^{-1}(C=O). ^{1}H NMR (CDCl3) δ (ppm): 0.98 (s, 18H, But), 1.28 (s, 18H, But), 3.35 (d, 4H, J=14.6 Hz, $ArCH_2Ar$), 3.85 (s, 6H, OCH_3), 4.45 (d, 4H, J=14.6 Hz, $ArCH_2Ar$), 4.55 (s, 4H, OCH_2), 6.80 (s, 4H, ArH), 6.98 (s, 2H, OH), 7.05 (s, 4H, ArH).

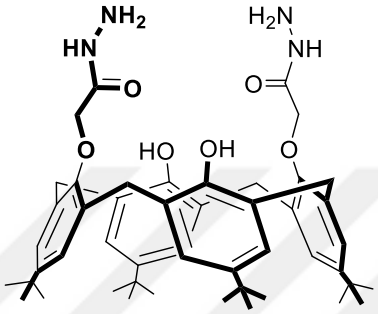


2

3.2.3. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-dihidrazonamid karbonilmetoksi-26-28-dihidroksi-kaliks[4]aren (Maity ve ark., 2011)

2 no'lu bileşik (0.79 g, 1 mmol) ve 2 mL 80 % hidrazin hidrat çözeltisi toluen/metanol (1:1, 200 mL) karışımında 12 saat karıştırılarak kaynatılır. Bu süre

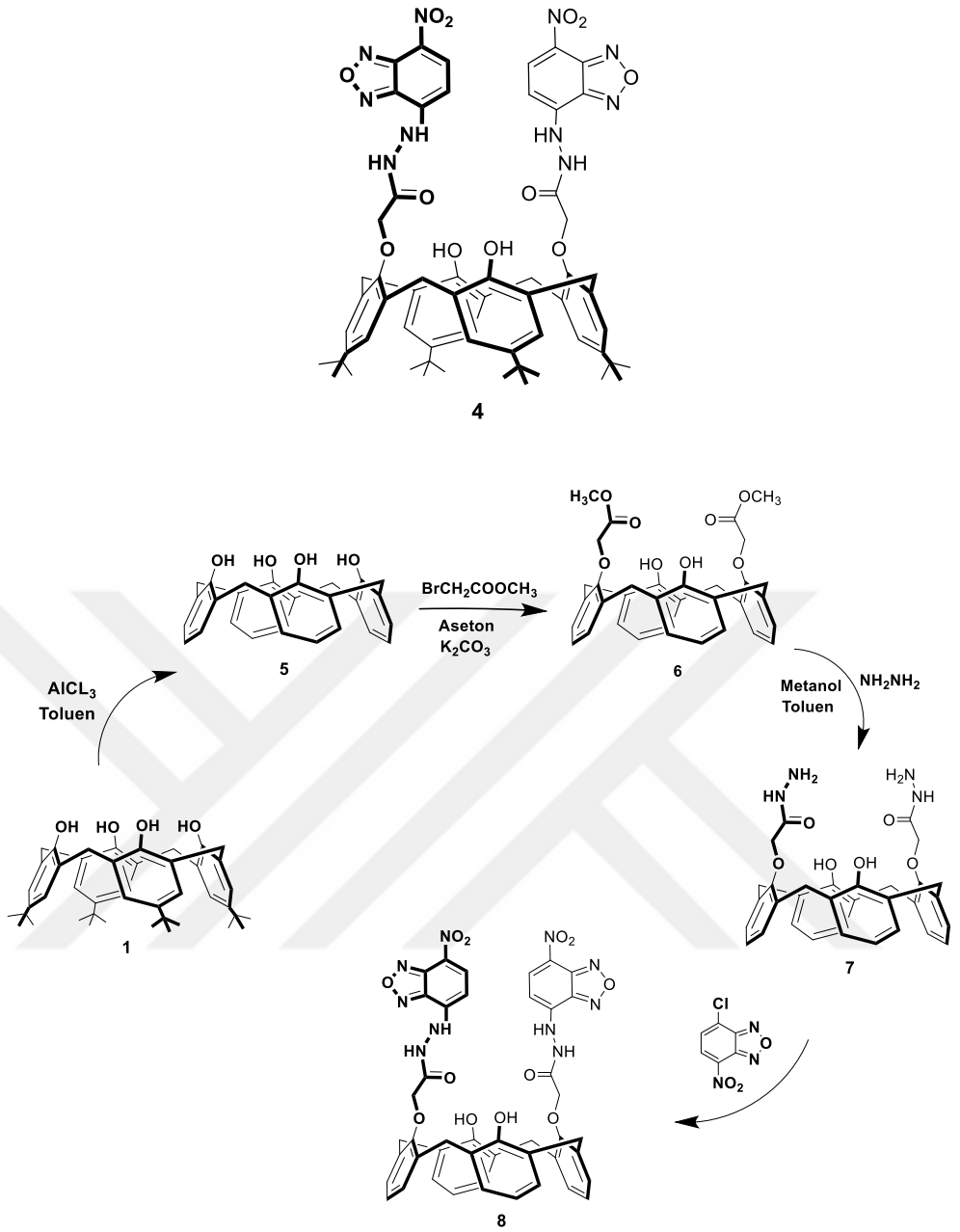
sonunda çözücü uzaklaştırıldı ve kurutuldu. Kurutulan katı madde hekzanla bir kaç kere yıkandı ve yeniden kurutuldu. Verim 0.75 g (% 90), E.n: 245-246 ^{o}C. IR: 1677 cm^{-1} (C=O). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 1.27 (s, 18H, But), 1.02 (s, 18H, But), 3.44 (d, 4H, *J* = 13.5 Hz, $ArCH_2Ar$), 4.11 (d, 4H, *J* = 13.5 Hz, $ArCH_2Ar$), 4.65 (s, 4H,-OCH_2CO), 6.93 (s, 4H, Ar-H), 7.08 (s, 4H, Ar-H), 7.80 (s, 2H, –CONH), 9.70 (s, 2H, -OH). ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$):δ (ppm) 167,50, 149.43, 148.19,143.19, 132.26, 126.94, 126.21, 125.72, 74.21, 34.19, 33.91, 31.94, 31.63, 30.98.



3

i3.2.4. 4 no'lu bileşiğin sentezi

3 no'lu bileşik (0,2 g; 0,25 mmol) dikorometanda çözüldü ve üzerine 10 ml diklorometan içerisinde çözülmüş 1,3-dibenzooksodiazol (NBD) bileşiği (0,11 g; 0,55 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımına sodyum karbonat (0,14 g; 1,37 mmol) eklenerek 6 saat karıştırıldı. Reaksiyon ince tabaka kromotografisi ile takip edilerek sonlandırıldı. Çözücü evaparatörde uzaklaştırıldı ve geriye kalan katı madde dietileterde bir kaç kere yıkandı ve yeniden kurutuldu. Katı kiremit renkli madde flaş süzme yapılarak kurutuldu. Verim % 85, IR: 1317 cm^{-1} (NO_2) ve 1525 cm^{-1} (NO_2). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ (ppm) 1.07 (bs, 18H, But), 1.22 (bs, 18H, But), 3.81 (bs, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.26 (bs, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.86 (bs, 4H-OCH_2CO), 7.36 (s, 8H, Ar-H), 8.02 (bs, 2H, Ar-H_{NBD}), 8.41-8.54 (m, 2H, –CONH), 8.67 (bs, 2H, Ar-H_{NBD}), 11.06 (s, 2H, -OH). ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO):δ (ppm) 167,66, 150.04, 143.86, 142.28, 136.00, 133.45, 133.00, 131.01, 129.26, 127.56, 126.05, 73.58, 34.55, 34.12, 31.82, 31.33.

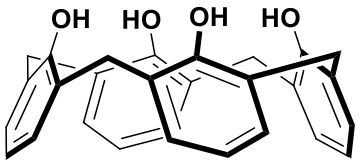


Şekil 3.2: 8 no'lu kaliks[4]aren bileşiğinin sentez şeması

3.2.5. 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren'nin dealkilasyonu (Gutsche ve Iqbal, 2003)

p-ter-Bütilkaliks[4]aren 52.4 g (70,71 mmol) 675 mL kuru toluen ile çözülüp 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre sonunda önce 32 g (340 mmol) fenol, daha sonra $AlCl_3$ üç adımda 76 g (570 mmol) 15 dk aralıklı ilave edildi. En son 4 saat boyunca azot atmosferinde oda sıcaklığında karıştırılmaya bırakıldı. Süre sonunda 0.2 N HCl eklendi ve sulu ve organik faz ayrılarak nötralleştirildi. Alınan organik faz $MgSO_4$ ile kurutuldu

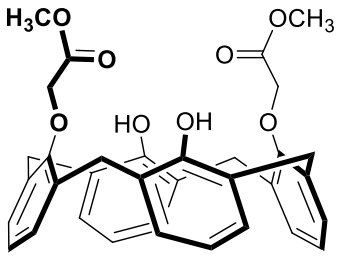
ve oluşan sarı çözelti distille edildi. Son olarak 500 mL metanol ilave edildi ve çöken bej renkli ürün süzülerek kurutulmaya bırakıldı. Katı madde $CHCl_3$-CH_3OH varlığında kristallendirilir ve %78 verimle beyaz renkli kristaller elde edildi. E.n: 313-315 ^oC. ^1H-NMR (400 MHz $CDCl_3$) δ (ppm): 4,23 (d, 4H, *J = 13 Hz*, $ArCH_2Ar$), 4,23 (d, 4H, *J = 13 Hz*, $ArCH_2Ar$), 6,67 (t, 4H, *J=7,44 Hz*, ArH), 7,45 (d, 8H *J=7,56 Hz*, ArH), 10,16 (s, 4H, OH).



5

3.2.6. 25,27-dimetoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (Arnaud-Neu ve ark., 1989)

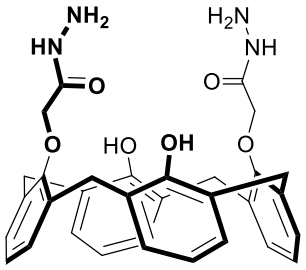
6,16 g (15,00 mmol) kaliks[4]aren 250 mL kuru aseton içerisinde çözüldü. Üzerine 2,23 g (16,0 mmol) K_2CO_3 ilave edilerek 30 dakika karıştırılırdı. Daha sonra bu karışıma 4,87 g (31,5 mmol) $BrCH_2COOCH_3$ eklendi ve reaksiyon 24 saat kaynatıldı. Bu süre sonunda çözücü uzaklaştırıldı, oluşan katı madde metanol ile yıkandı**.** Verim %75. E.n.:214-215 ^oC. IR (cm^{-1}): 1760 (C=O). ^1H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.40 (d, *J*=13.0 Hz, $ArCH_2Ar$), 3.85 (s, 6H, $CH_2CO_2CH_3$), 4.45 (d, *J*=13.0 Hz, $ArCH_2Ar$), 4.73 (s, 4H, $CH_2CO_2CH_3$), 6.65 (t, 2H, *J*=7.6 Hz, ArH), 6.73 (t, 2H, *J*=7.6 Hz, ArH), 6.89 (d, 4H, *J*=7.6 Hz, ArH), 7.10 (d, 4H, *J*=7.6 Hz, ArH), 7.52(s, 2H, ArOH).



6

3.2.7. 25,27-dihidrazonamid karbonilmetoksi-26-28- dihidroksi-kaliks[4]aren (Maity ve ark., 2011)

6 no'lu bileşik (3 g, $4x10^{-3}$ mmol) ve 2 mL % 80 hidrazin hidrat çözeltisi toluen/metanol (1:1, 200 mL) karışımında 8 saat karıştırılarak kaynatıldı. Bu süre sonunda çözücü uzaklaştırıldı. Süzülen katı madde hekzan ile yıkandı ve vakumda kurutuldu. Verim %70, IR: 1662 cm^{-1} (C=O). ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.54 (d, 4H, *J* = 13.5 Hz, $ArCH_2Ar$), 4.19 (d, 4H, *J* = 13.5 Hz, $ArCH_2Ar$), 4.70 (s, 4H,–OCH_2CO), 6.76 (t, 2H, *J* =7.3 Hz, Ar-H), 6.87 (t, 2H, *J* =7.3 Hz, Ar-H), 6.98 (d, 4H, *J* =7.3 Hz, Ar-H), 7.11 (d, 4H, *J* =7.3 Hz, Ar-H), 7.8(t, 2H, –CONH), 9.70 (s, 2H, –OH).

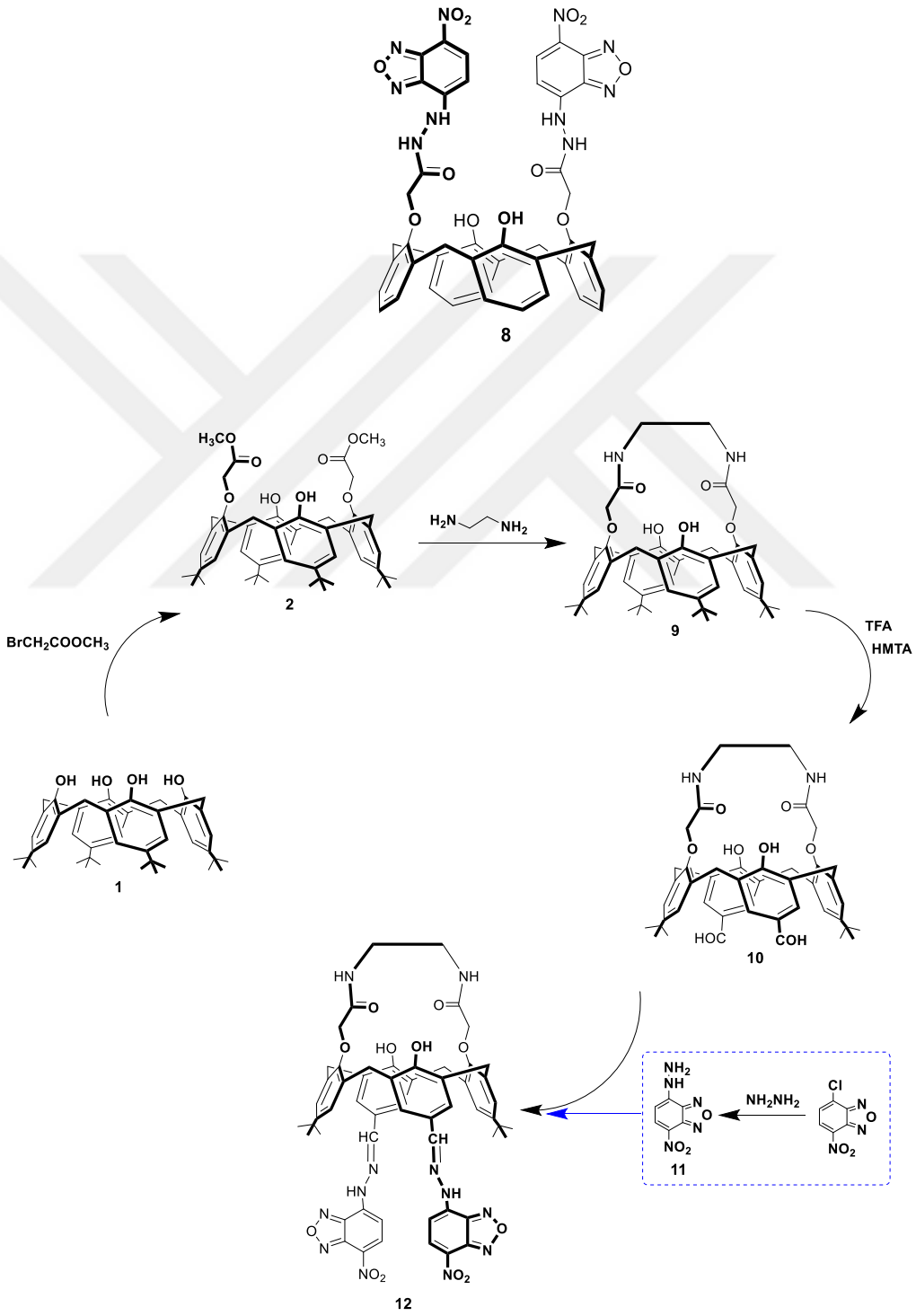


7

3.2.8. 8 no'lu bileşiğin sentezi

1,3-dibenzooksodiazol bileşiği (NBD) (0,15 g; 0,77 mmol) diklorometanda çözüldü ve üzerine **7** no'lu bileşik (0,2 g; 0,35 mmol) diklorometan ortamında çözülerek eklendi. Reaksiyon karışımına sodyum karbonat (0,2 g; 1,93 mmol) eklenerek 6 saat karıştırıldı. Reaksiyon ince tabaka kromotografisi ile takip edilerek sonlandırıldı. Çözücü uzaklaştırıldı ve dietileter eklenerek karıştırıldı. Çöken kiremit renkli madde süzüldü ve kurutuldu. Verim % 80, IR: 1320 cm^{-1} (NO_2) ve 1519 cm^{-1} (NO_2). ^{1}H NMR (400 MHz,

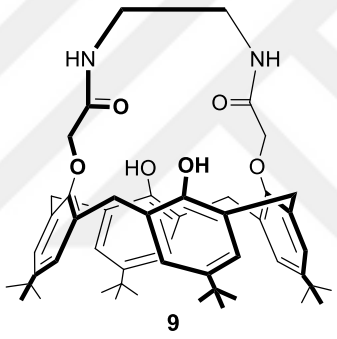
DMSO): δ (ppm) 3.81 (bs, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.59 (bs, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.90 (s, 4H-OCH_2CO), 6.83 (s, 2H, Ar-H), 6.61 (s, 2H, Ar-H), 7.07-7.16 (m, 8H, Ar-H), 7.82-8.25(m, 4H, Ar-H_{NBD} + NH-CO), 8.67 (bs, 2H, Ar-H_{NBD}), 11.29 (s, 2H, -OH). ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO):δ (ppm) 167,61, 152.62, 150.03, 143.83, 142.94, 135.95, 134.04, 131.01, 129.67, 129.22, 128.00, 73.56, 55.39, 31.16.



Şekil 3.3: 12 no'lu kaliks[4]aren bileşiğinin sentez şeması

3.2.9. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-dimetoksikarbonilmetoksi 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren ile etilendiamin'in etkileştirilmesi (Ostaszewski ve ark., 1991)

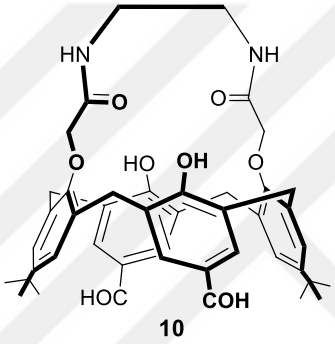
2.5 g (3.15 mmol) *p-ter*-bütil-kaliks[4]aren dimetil ester türevi 100 ml kloroform ve 100 mL metanol içerisinde çözüldü ve 1.265 mL (18.94 mmol) etilendiamin ilave edilerek 16 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Bu süre sonunda çözücü evoparatörde uzaklaştırıldı. Katı kısım metanolde kristallendirildi. Verim % 82, E.n. 328-329 ^{o}C (lit. >300), (Ostaszewski ve ark., 1991). ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ (ppm): 1.16 (s, 18H, But), 1.25 (s, 18H, But), 3.49 (d, 4H, *J=13 Hz*, $ArCH_2Ar$), 3.68 (m, 4H, CH_2-NH), 4.25 (d, 4H, *J=13 Hz*, $ArCH_2Ar$), 4.54 (s, 4H, OCH_2), 7.05(s, 8H, ArH), 8.31 (s, 2H, OH), 8.60 (t, 2H, NH).



9

3.2.10. 9 no'lu bileşiğin hekzametilentetraamin ile etkileştirilmesi (Chawla ve ark., 2006)

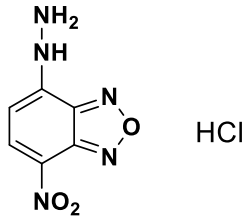
1 g (1.26 mmol) **9** no'lu bileşik ve 7.12 g (38.9 mmol) hekzametilentetraamin 60 mL TFA içerisinde çözülerek 45 saat kaynatılarak karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra asitli suda çöktürüldü ve çöken katı ürün saf su ile pH 7 oluncaya kadar yıkandı. Bileşik **10** %78 verimle elde edildi. E.n. 231-233ºC. ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ (ppm): 1.15 (s, 18H, But), 3.55 (d, 4H, J=13.6 Hz, $ArCH_2Ar$), 3.70 (m, 4H, CH_2-CH_2), 4.18 (d, 4H, *J=13.6 Hz*, $ArCH_2Ar$), 4.55 (s, 4H, OCH_2), 7.10 (s, 4H, ArH), 7.65 (s, 4H, ArH), 9.18 (s, 2H, NH), 9.80 (s, 2H, CHO).



10

3.2.11. 1,3-dibenzooksodiazol bileşiğinin hidrazin ile etkileştirilmesi (Meng ve ark., 2015a)

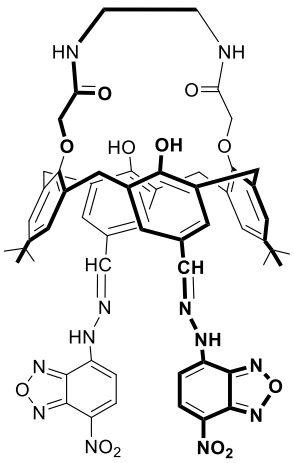
0.1 g (0.5 mmol) 1,3-dibenzooksodiazol bileşiği (NBD) 50 ml kloroformda çözüldü. Daha sonra çözeltiye 50 ml metanol içerisinde çözünmüş 0.77 ml % 80 hidrazin hidrat ilave edildi. Reaksiyon karışımı 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre sonunda oluşan katı süzüldü ve kloroformda yıkandı. IR: 1254 cm^{-1} (C-N), 1617 cm^{-1} (NH_2), 3369 cm^{-1} (N-H). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ (ppm) 5.46-6.23 (bs, 1H, Ar-H_{NBD}) 6.45-7.53 (m, 3H, $\underline{NH\text{-}NH_2}$), 8.02 (s, 1H, Ar-$H_{NBD}$).



11

3.2.12. 12 no'lu bileşiğin sentezi

0.19 g (0.26mmol) **10** nolu bileşik kloroformda çözüldü ve bu çözeltiye 0.1 g (0.59 mmol) **11** nolu bileşik metanolda çözülerek eklendi. Reaksiyon karışımı 48 saat süre boyunca kaynatıldı ve ince tabaka kromotografisi ile takip edilerek sonlandırıldı. Daha sonra çözücü evaparatörde uzaklaştırıldı. Geriye kalan katı kısım kloroform ve saf su karışımında ekstraksiyon yapıldı. Daha sonra organik faz $MgSO_4$ kullanılarak kurutulduktan sonra çözücü evaparatörde uzaklaştırıldı ve katı madde elde edildi. Verim % 40, IR: 1687 cm^{-1} (C=N). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ (ppm) 1.12-1.49 (s, 18H, But), 3.50 (bs, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.63 (bs, 4H, CH_2-CH_2), 4.19 (bs, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.50 (bs, 4H,-OCH_2CO), 7.31 (bs, 4H, Ar-H), 7.74 (bs, 4H, Ar-H), 8.50 (m, 4H, Ar-H_{NBD} + NH-Ar), 9.05 (s, 2H, Ar-H_{NBD}). ^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO):δ (ppm) 167.62, 161.14, 160.28, 155.14, 154.53, 148.80, 147.17, 143.48, 133.24, 132.84, 129.86, 128.97, 127.89 126.68, 75.12, 38.96, 34.83, 31.55.



12

3.2.13. Kaliks[4]aren türevlerinin hücre içi görüntülemesi

Sentezlenen **4**, **8** ve **12** no'lu kaliks[4]aren türevlerinin hücre içi lokalizasyonlarının belirlenmesi amacıyla A549 (akciğer kanseri) hücresi cam tabanlı 24 kuyucuklu plakalar üzerinde 24 saatlik 37°C de % 95 nem ve %5 CO_2 li ortamda büyütüldü. İnkübasyondan sonra hücreler üzerine 10 μM olacak şekilde her bir bileşik eklenerek 45 dakika inkübe edildi ve daha sonra PBS ile yıkanarak hücre içine girmeyen fazla kompleks uzaklaştırıldı. İnkübasyondan sonra hücre görüntülemesi konfokol mikroskobu ile görüntülendi.

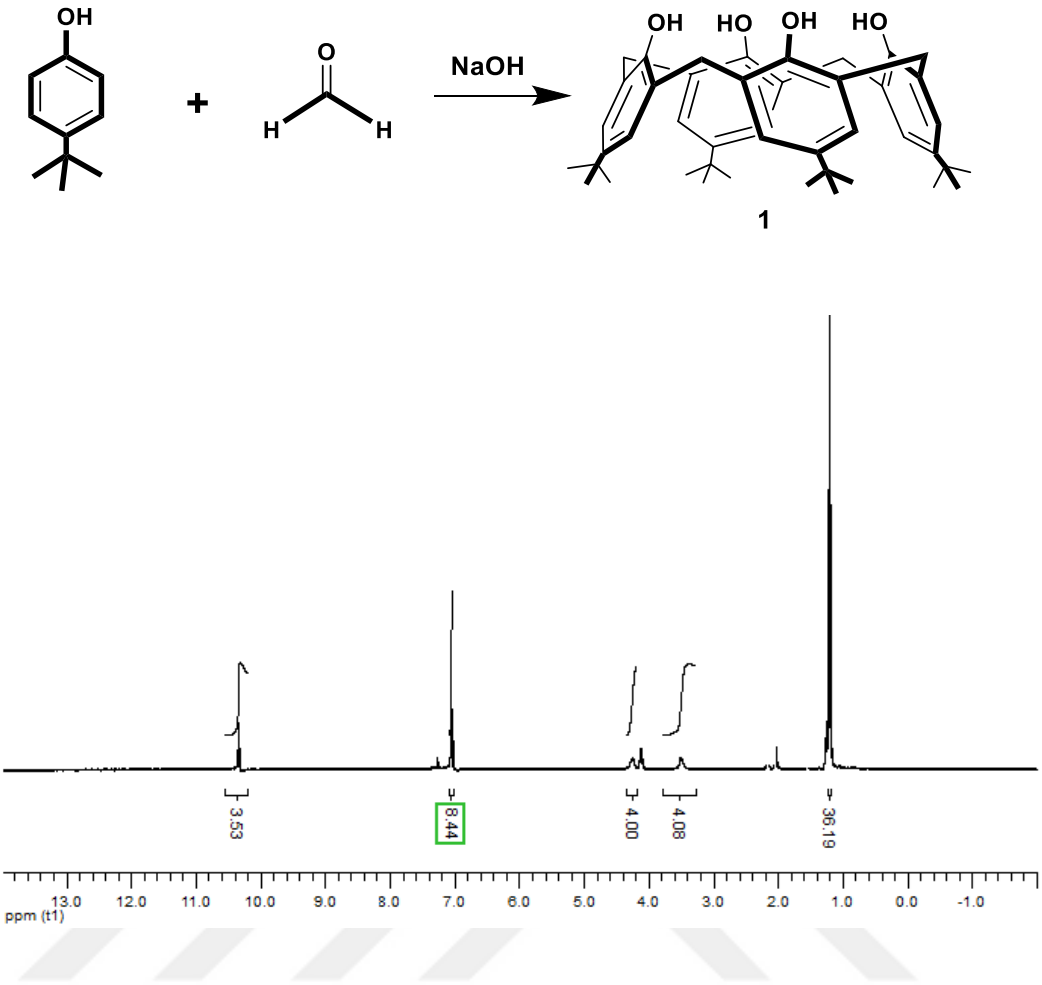
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Kaliksaren Bileşiklerinin Sentezi

Kaliksarenler, *p-ter*-bütilfenol ile formaldehitin bazik koşullarda tepkimeye girmesi sonucunda elde edilen halkalı oligomerlerdir. Uygun baz seçimi, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi sayesinde, farklı halka boşluklarında ve boyutlarında kaliksarenler sentezlenebilmektedir (Gutsche ve Iqbal, 2003).

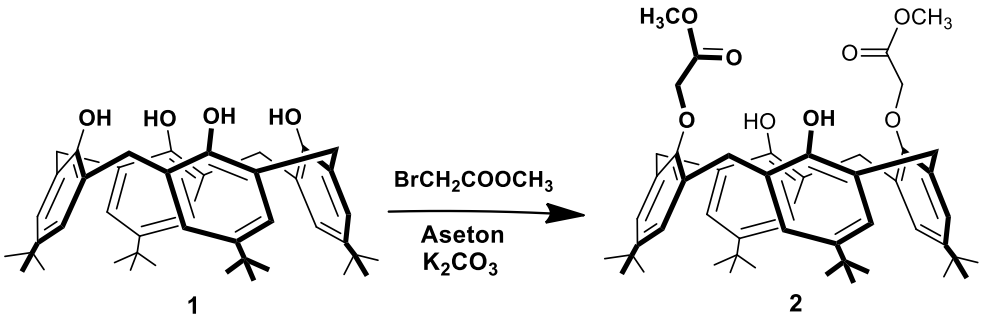
Bu çalışmada sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin yapıları NMR, FTIR gibi çeşitli spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı. Floresans özellikte olan yeni kaliks[4]aren bileşikleri bazı metal katyon (Na^{+}, Mg^{+2}, Ca^{+2}, Fe^{+2}, Fe^{+3}, Co^{+2}, Ni^{+2}, Cu^{+2}, Zn^{+2}, Hg^{+2}, Al^{+3}, Cr^{+3}, Ag^{+}, Pb^{+2}) ve anyonları (F^{-}, Cl^{-}, Br^{-}, I^{-}, $H_2PO_4^{-}$, PO_4^{-3}, HSO_4^{-}, SO_4^{-2}, NO_3^{-}) ile etkileştirilerek floresans özellikleri incelendi. Sentezlenen yeni kaliks[4]aren bileşikleri hücre içi görüntülemede kullanıldı.

Bu amaçla ilk şemada verilen **4** no'lu bileşiğin sentezi için başlangıç maddesi olan, 5,11,17,23-*tetra-ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (**1**) bileşiğinin sentezi literatüre göre gerçekleştirildi (Gutsche ve Lin, 1986). Bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



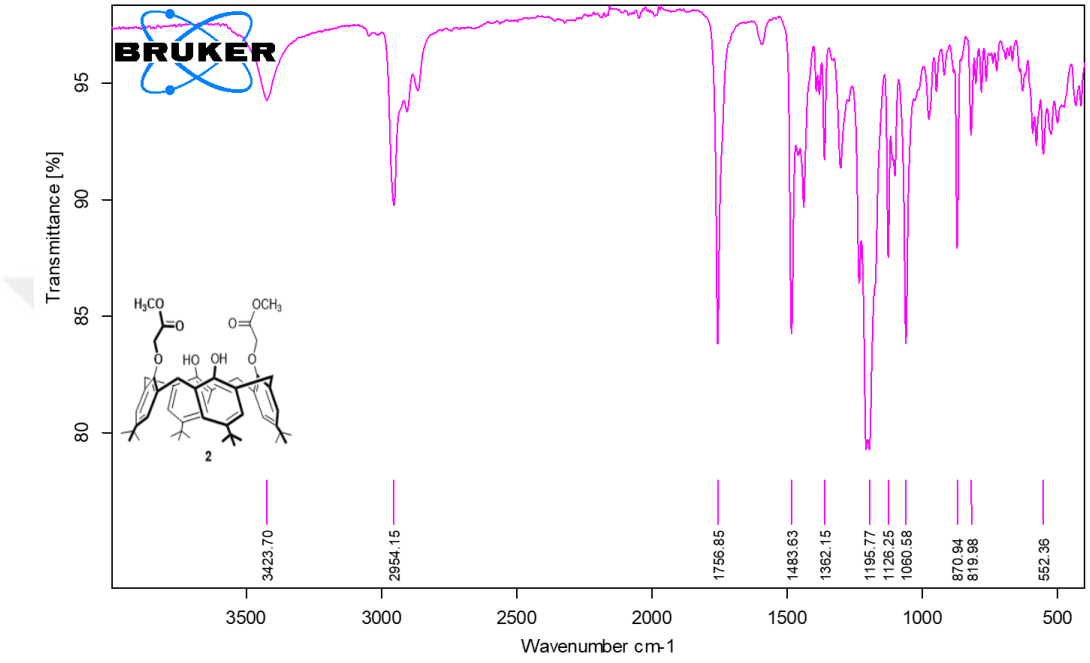
Şekil 4.1: *p-ter*-Bütilkaliks[4]aren (**1**) bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu

p-ter-Bütilkaliks[4]aren (**1**) bileşiği K_2CO_3 varlığında aseton içerisinde metilbromasetat ile tepkimeye sokularak **2** no'lu bileşik olan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren diester türevi literatüre uygun olarak sentezlendi (Arnaud-Neu ve ark., 1989).

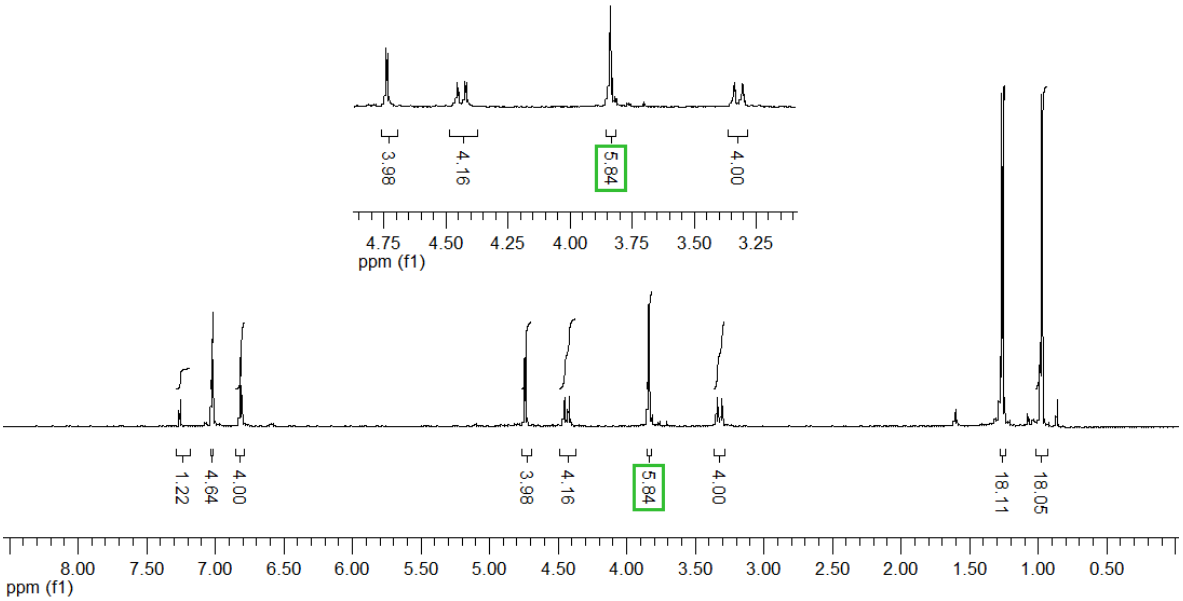


Bu bileşiğe (**2**) ait FTIR spektrumuna baktığımızda 1757 cm^{-1} de ester karboniline ait band görülmektedir. ^{1}H-NMR spektrumunda 3.35 ve 4.45 ppm de köprü metilen ($ArCH_2Ar$) protonları AX tipi spin sisteminde iki dublet olarak görünmektedir

ki, bu da bileşiğin koni konformasyonunda olduğunu göstermektedir (Şekil 4.3). 4.73 ppm deki 4 eşdeğer protonlu -OCH_2 pikleri ve 3.83 ppm deki 6 eşdeğer protonlar ester grubunu göstermektedir. Ayrıca 1.15 ve 1.42 ppm deki farklı *ter*-bütil gruplarına ait protonlar da kaliksaren bileşiğinin fenolik OH gruplarından ikisine ester gruplarının bağlandığını anlaşılmaktadır.

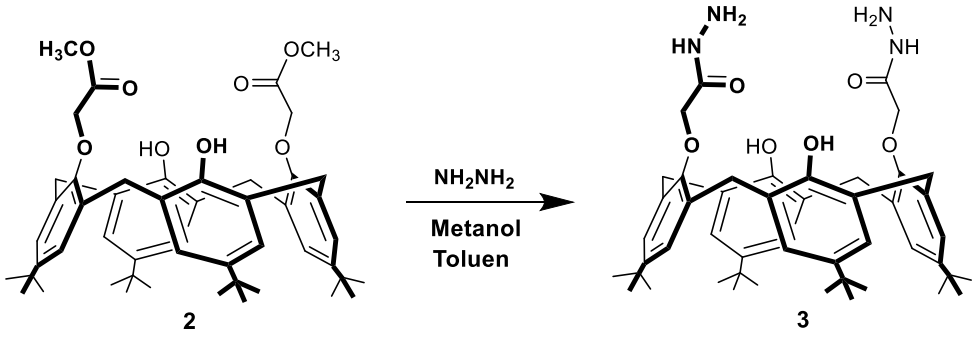


Şekil 4.2: 2 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu

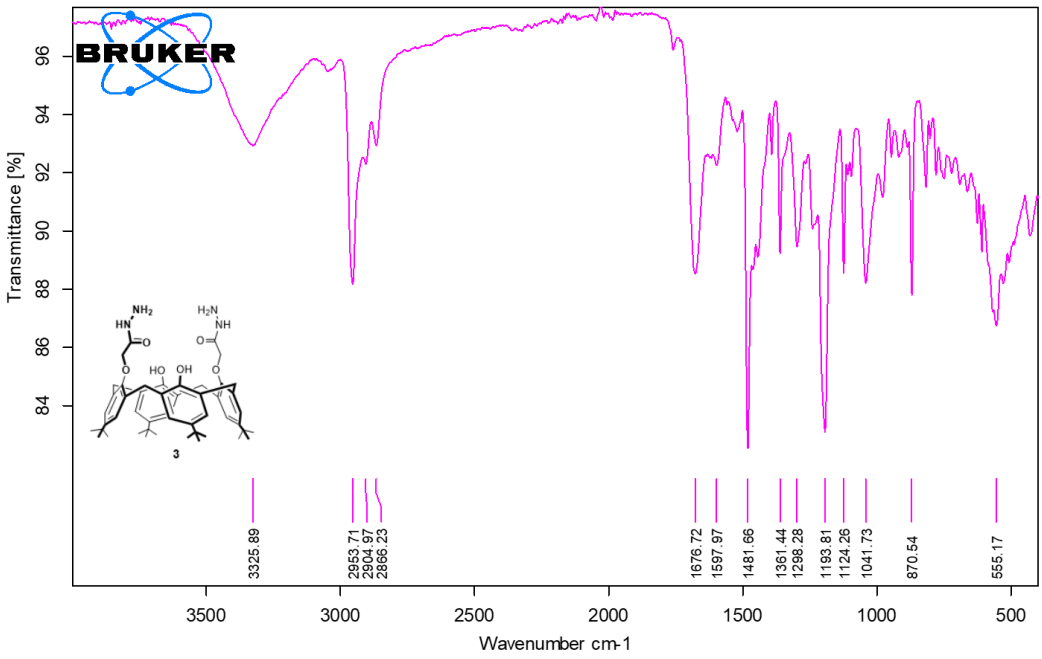


Şekil 4.3: 2 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

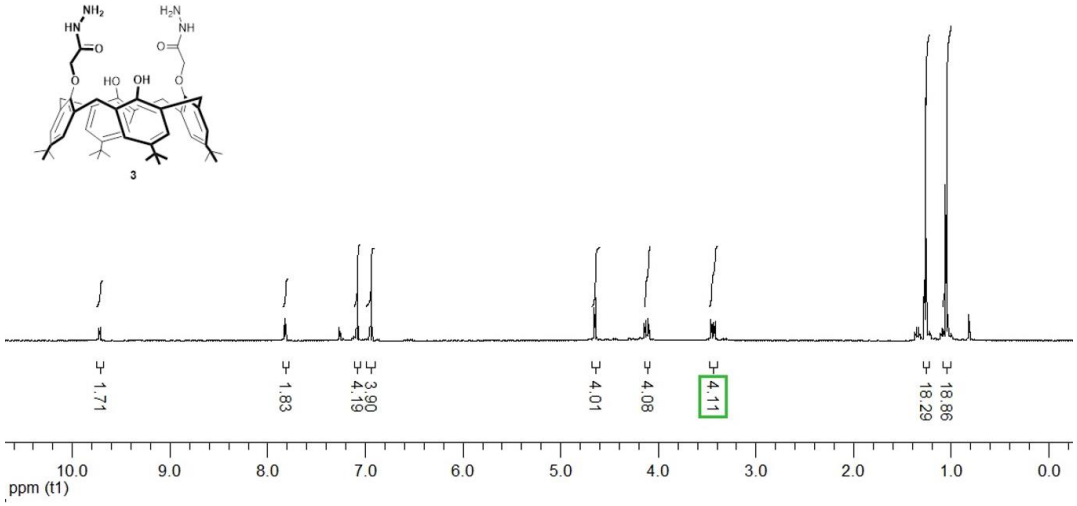
Sonraki basamakta **2** no'lu bileşik hidrazin ile toluen/metanol çözücü karışımı içerisinde etkileştirilerek dihidrazit türevi (**3**) elde edildi (Maity ve ark., 2011). Sentezlenen bileşiğin yapısı spektroskopik yöntemler ile aydınlatıldı.



3 no'lu bileşiğin FTIR spektrumuna baktığımızda 1757 cm^{-1} deki ester karboniline ait pikin kaybolarak yeni oluşan 1677 cm^{-1} de karakteristik amit bandının gözlenmesi yapıyı doğrulamaktadır. Ayrıca bu bileşiğe ait ^{1}H-NMR spektrumuna baktığımızda reaksiyonun başarılı bir şekilde gerçekleşdiği δ 3.85 ppm deki karakteristik metoksi grubuna ait (-OCH_3) metil protonlarının sinyallerinin kaybolması ile anlaşıldı.

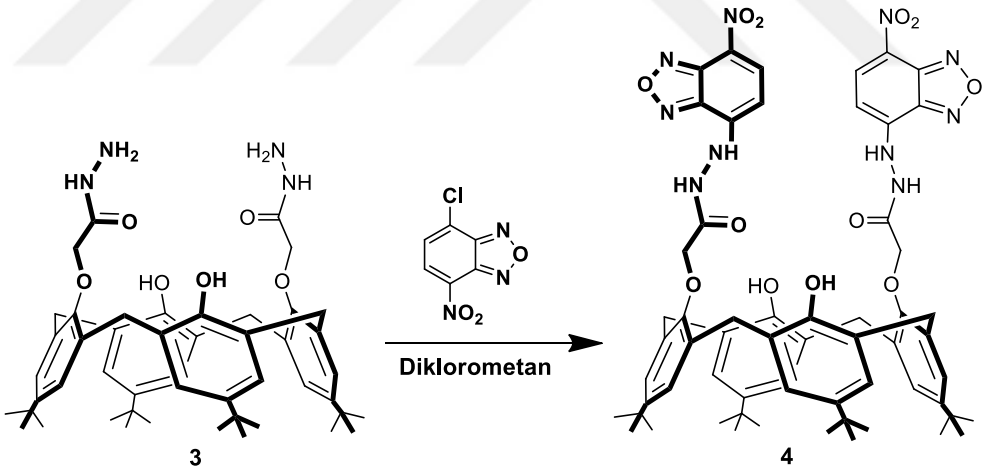


Şekil 4.4: 3 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu

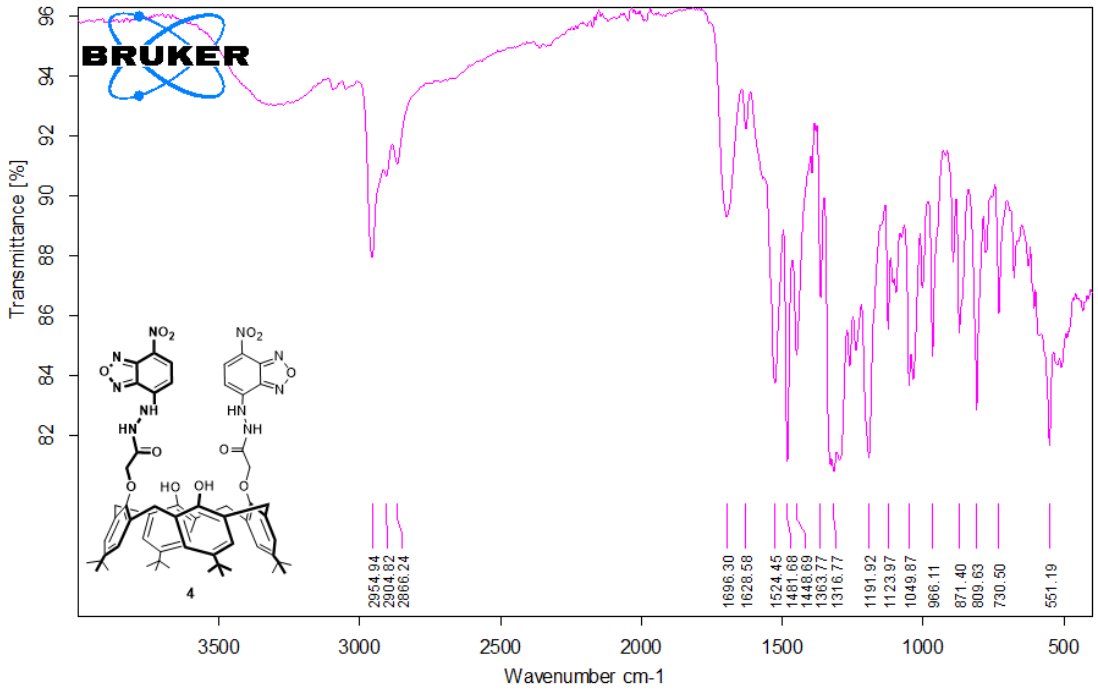


Şekil 4.5: 3 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

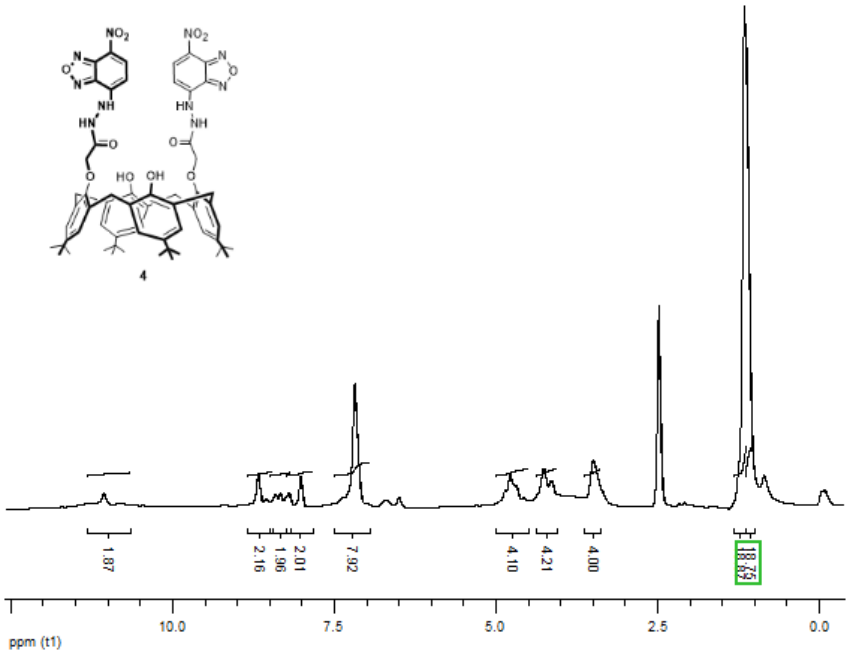
p-ter-Bütilkaliks[4]aren dihidrazit türevi (**3**) Na_2CO_3 varlığında diklorometan içerisinde 1,3-dibenzooksodiazol (NBD) bileşiği ile tepkimeye sokularak birinci hedef bileşik sentezlendi.



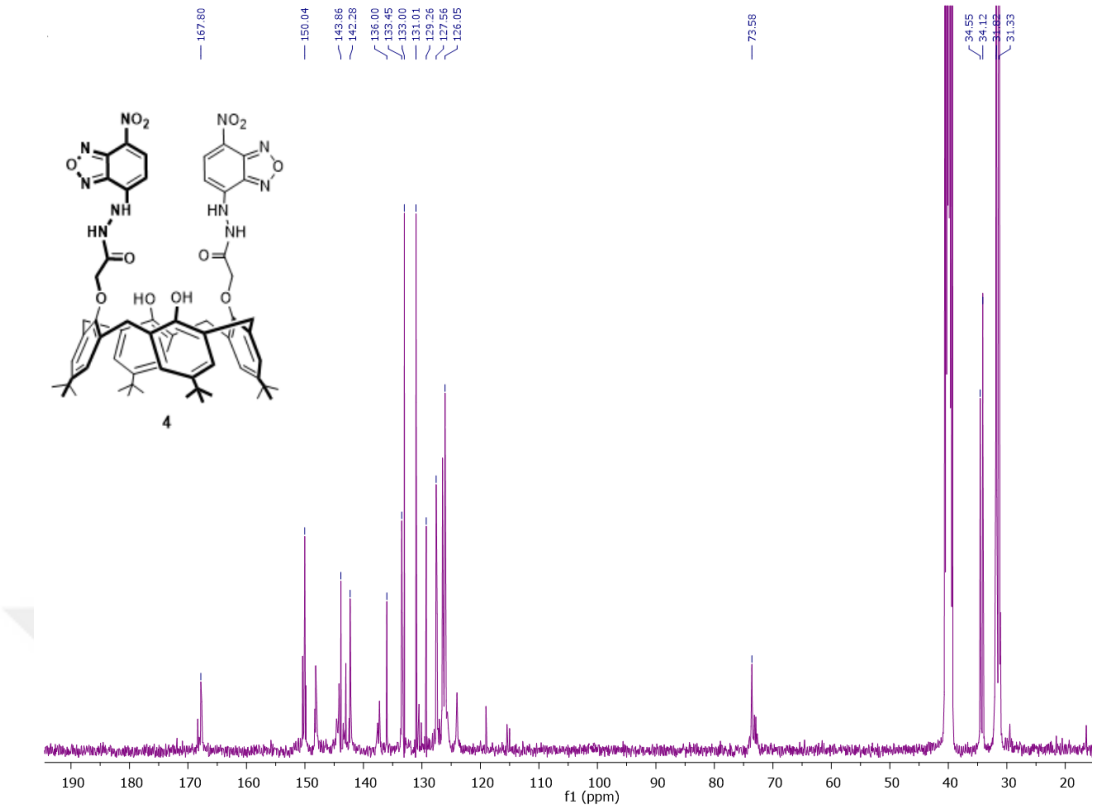
4 no'lu Bileşiğin FTIR spektrumuna baktığımızda 1317 cm^{-1} ve 1525 cm^{-1} deki nitro grubuna ait piklerin gözlenmesi yapıyı doğrulamaktadır. Bu bileşiğe ait ^{1}H-NMR spektrumunda 8.02 ppm de ve 8.67 ppm de NBD ye ait yeni aromatik sinyallerin gözlenmesi ile bileşiğin yapı ile uyumlu olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca ^{13}C-NMR spektrumunda 167.7 ppm de karbonil karbonuna ait pik gözlenmektedir.



Şekil 4.6: 4 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu

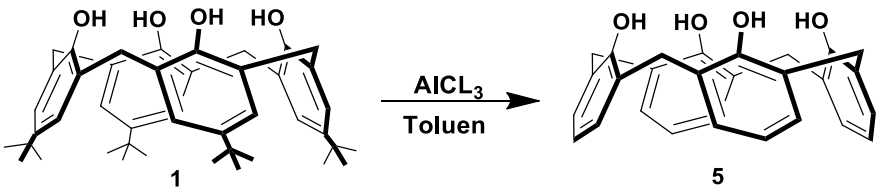


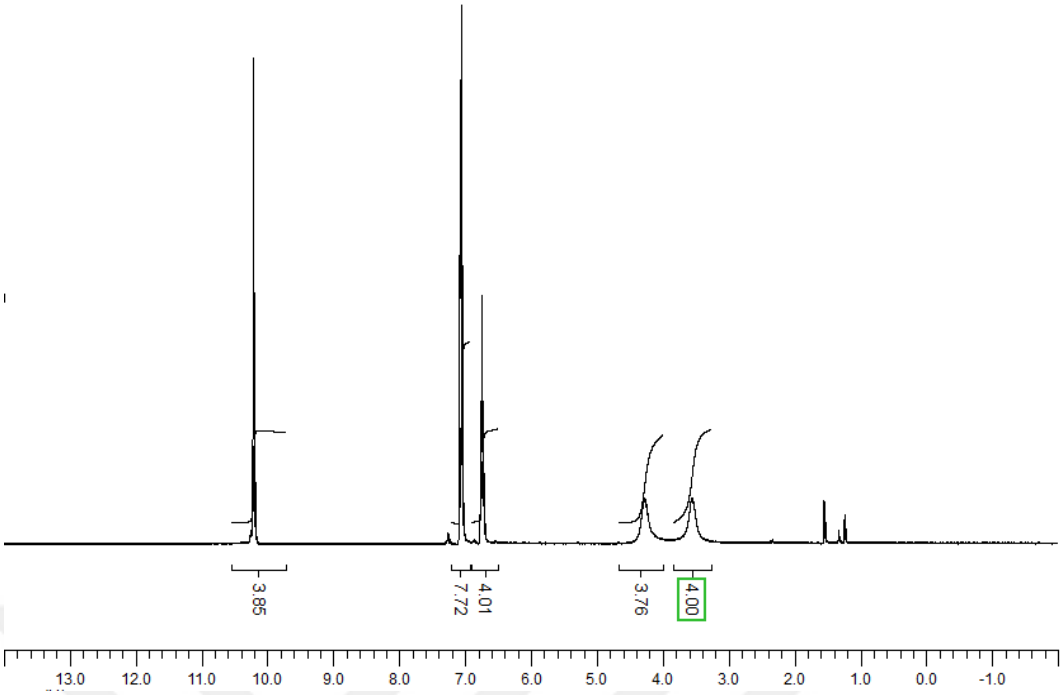
Şekil 4.7: 4 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu



Şekil 4.8: 4 no'lu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu

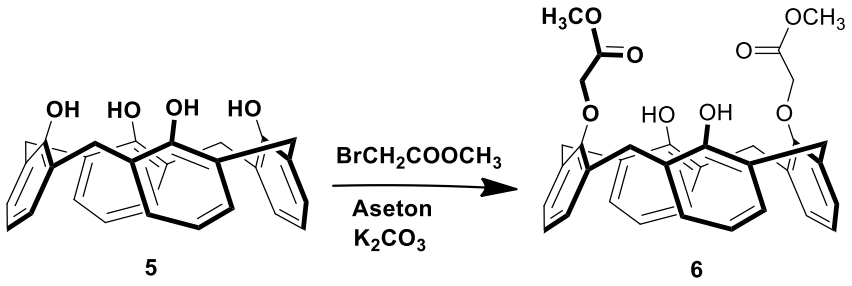
Sentezlenen *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşiğindeki (**1**) *ter*-butil grupları literatüre göre uygun koşullarda toluen içerisinde susuz $AlCl_3$ ile etkileştirilerek uzaklaştırıldı (Gutsche ve Iqbal, 2003). **5** no'lu kaliks[4]aren bileşiğinin sentezlendiği, bu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumunda 1.65 ppm deki *ter*-butil gruplarının uzaklaştırılmasından anlaşıldı (Şekil 4.9).



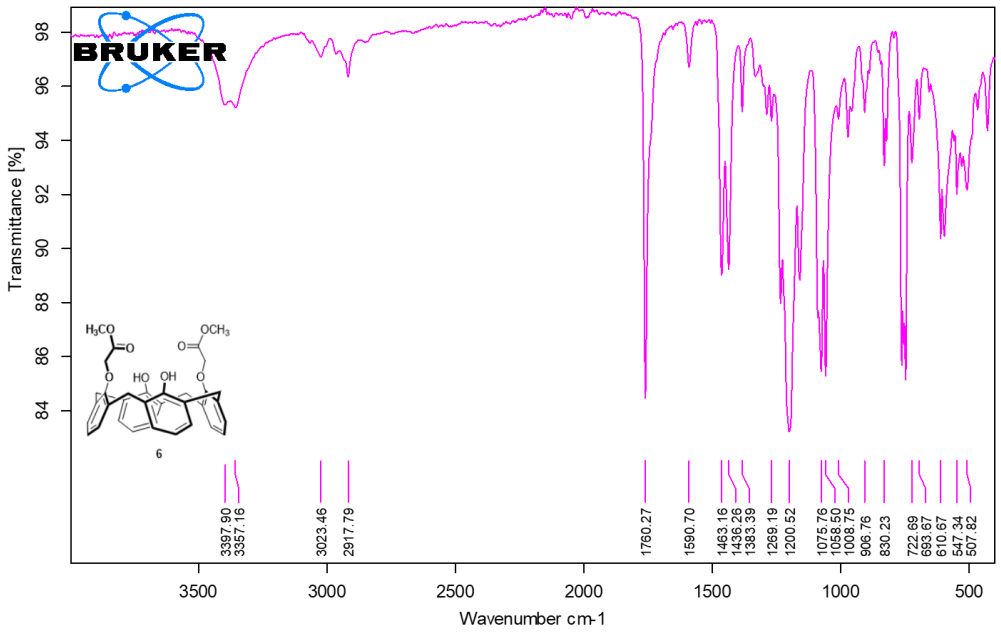


Şekil 4.9: Kaliks[4]arenin (**5**) ^{1}H-NMR spektrumu

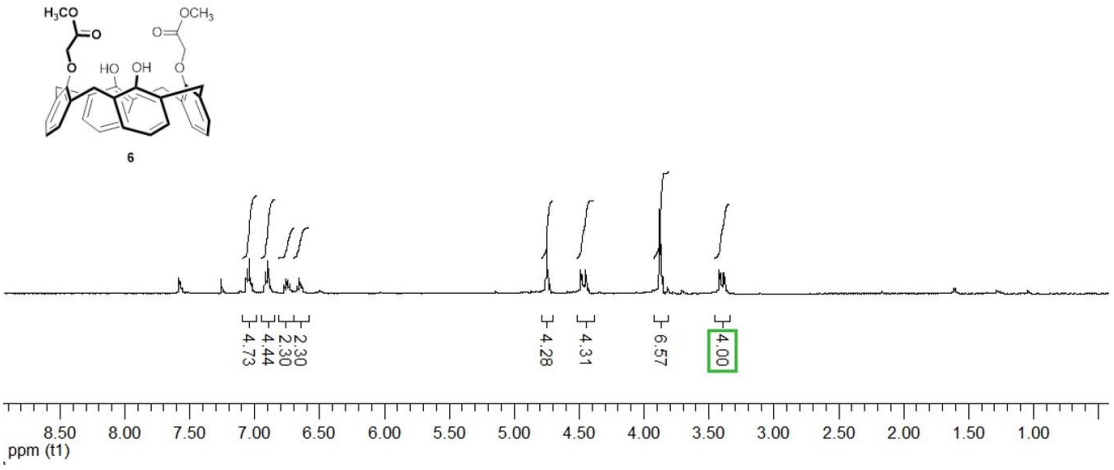
5 no'lu kaliks[4]aren bileşiği metilbromasetat ile K_2CO_3 varlığında aseton içerisinde etkileştirilerek **6** no'lu bileşiğin sentezi gerçekleştirildi (Arnaud-Neu ve ark., 1989).



6 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu incelendiğinde 1760 cm^{-1}deki ester karboniline ait band bileşiğin oluştuğunu göstermektedir. ^{1}H-NMR spektrumundaki δ 3.4 ve 4.45 ppm'de görülen $ArCH_2Ar$ protonlarına ait AB spin sistemindeki bir çift dublet bu bileşiğin koni konformasyonunda olduğunu, δ 3.85 ppm'deki singlet pik OCH_3 gruplarının varlığını ve δ 6.65-7.1 ppm arasındaki pikler aromatik halkanın varlığını göstermektedir.

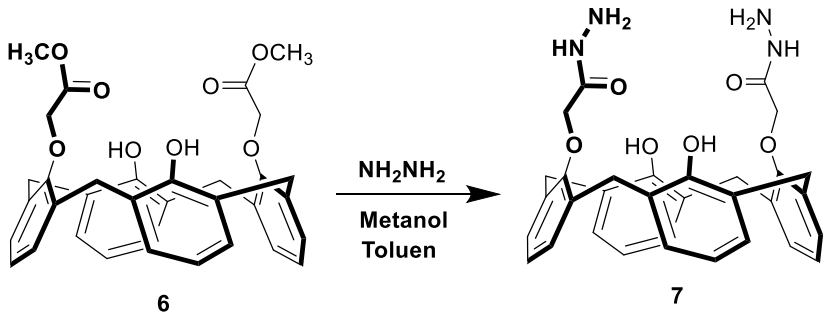


Şekil 4.10: 6 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu

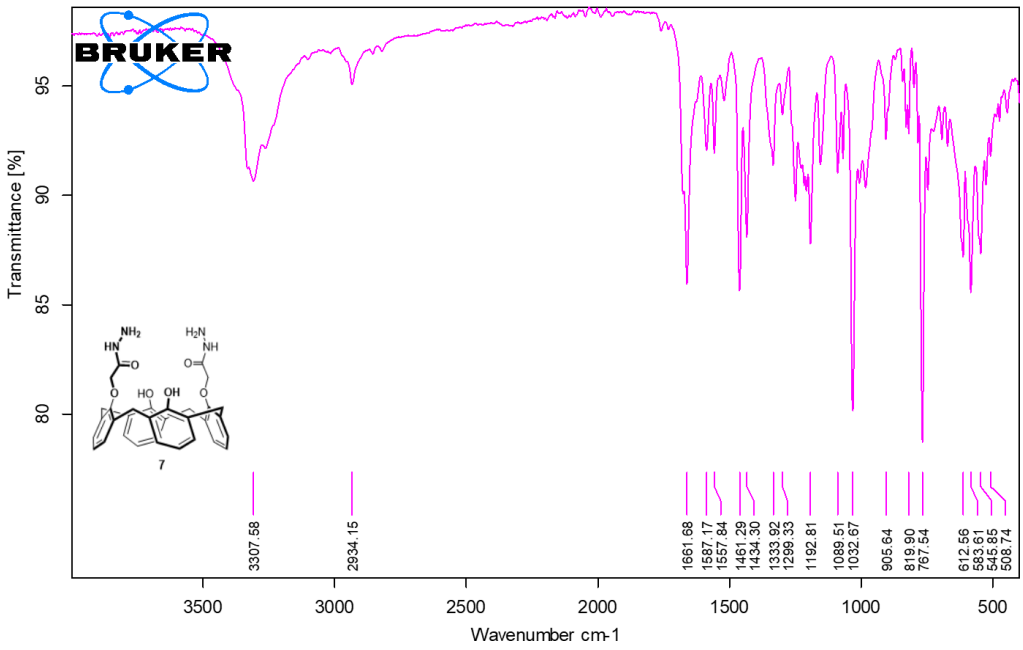


Şekil 4.11: 6 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

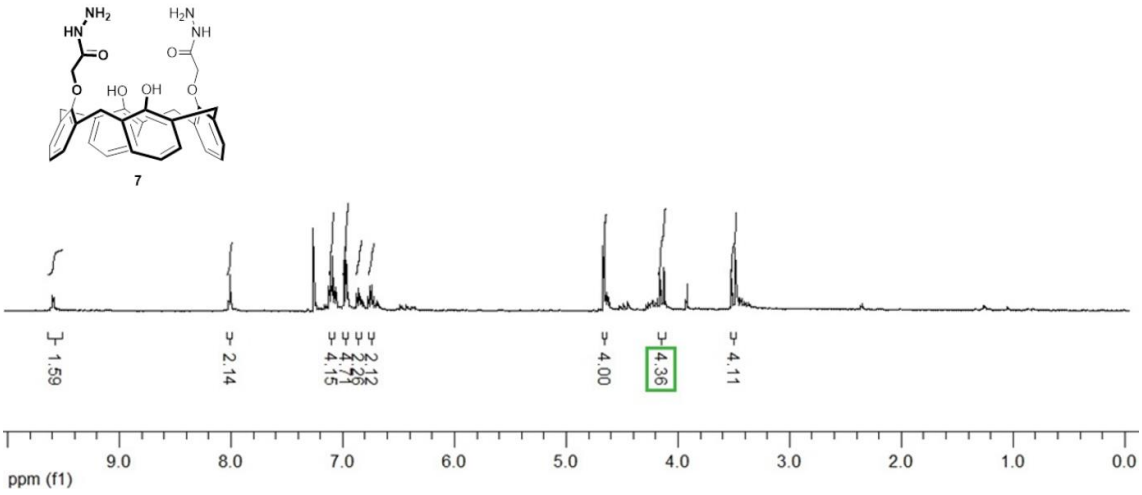
Daha sonra kaliks[4]aren-diester türevi (**6**) hidrazin ile toluen/metanol ortamında etkileştirilerek kaliks[4]arenin dihidrazit türevi **7** no'lu bileşik elde edildi (Maity ve ark., 2011).



7 no'lu bileşiğin başarılı bir şekilde sentezlendiği FTIR spektrumunda 1760 cm^{-1} deki ester karboniline ait pikin kaybolarak 1662 cm^{-1} de amit karboniline ait gerilme bandının oluşmasıyla anlaşılmaktadır. Bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumunda δ 3.54 ve 4.19 ppm'de görülen $ArCH_2Ar$ protonlarına ait AB spin sistemindeki bir çift dublet bu bileşiğin koni konformasyonunda olduğunu gösterir. Ayrıca δ 3.85 ppm deki metoksi grubuna ait ($-OCH_3$) sinyallerin kaybolması bileşiğin yapısını doğrulamaktadır.

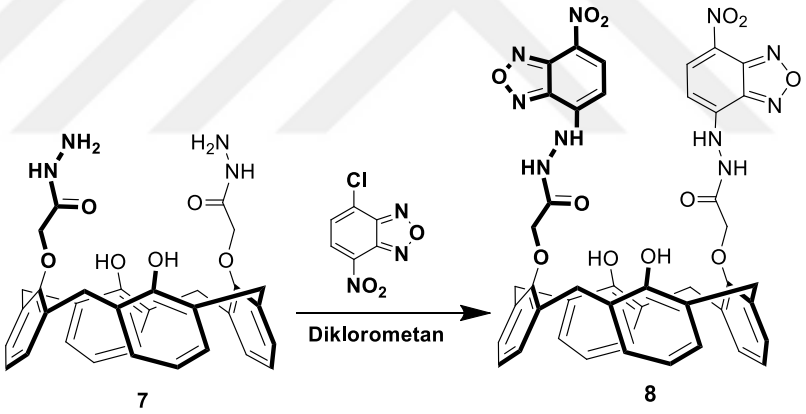


Şekil 4.12: 7 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu

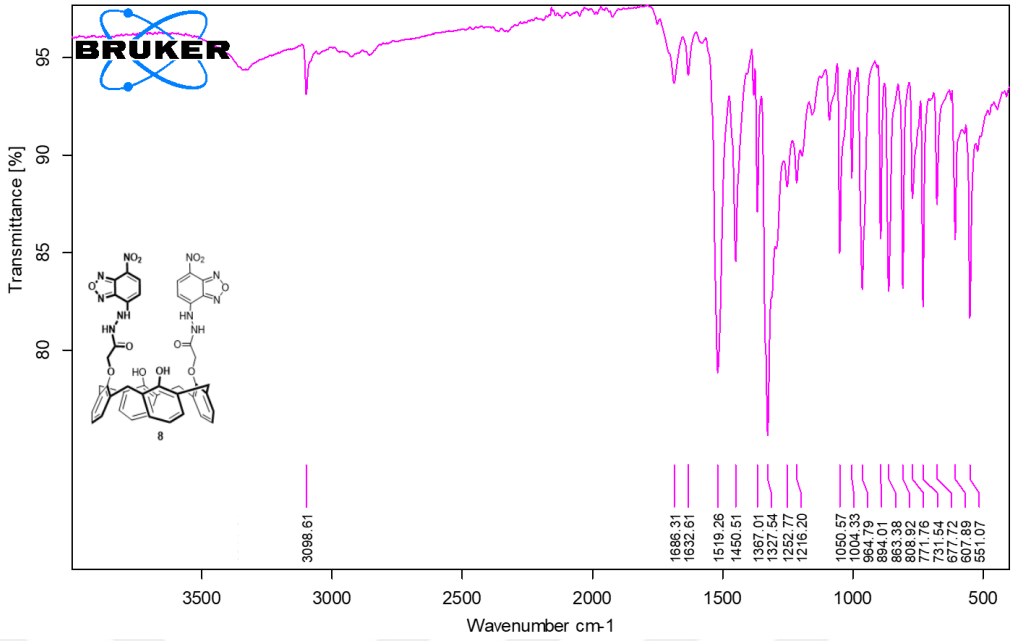


Şekil 4.13: 7 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

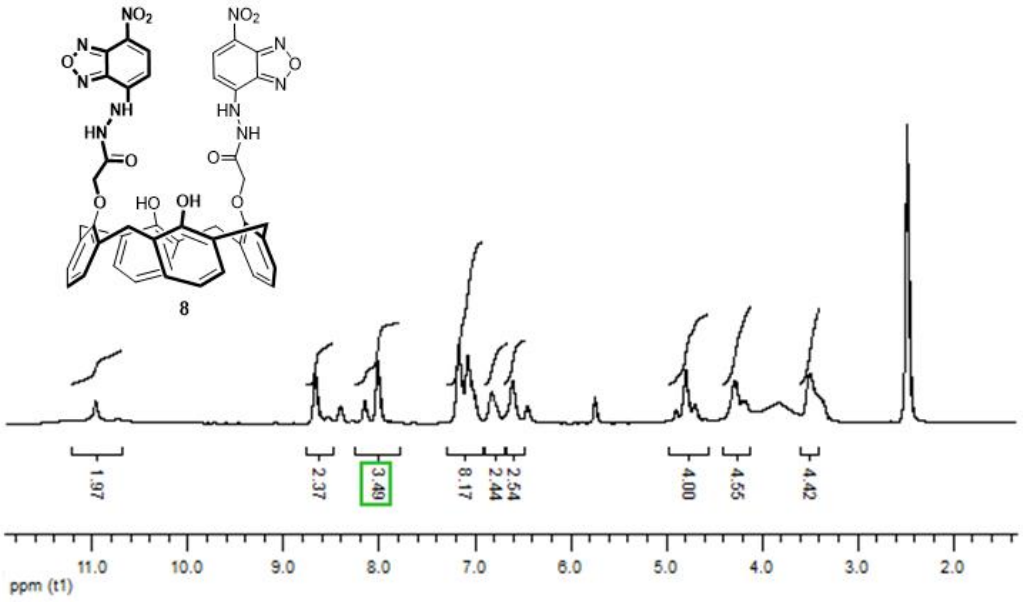
Kaliks[4]aren dihidrazit türevi (**7**) Na_2CO_3 varlığında diklorometan içerisinde 1,3-dibenzooksodiazol (NBD) bileşiği ile tepkimeye sokularak ikinci hedef bileşiğin sentezi tamamlandı.



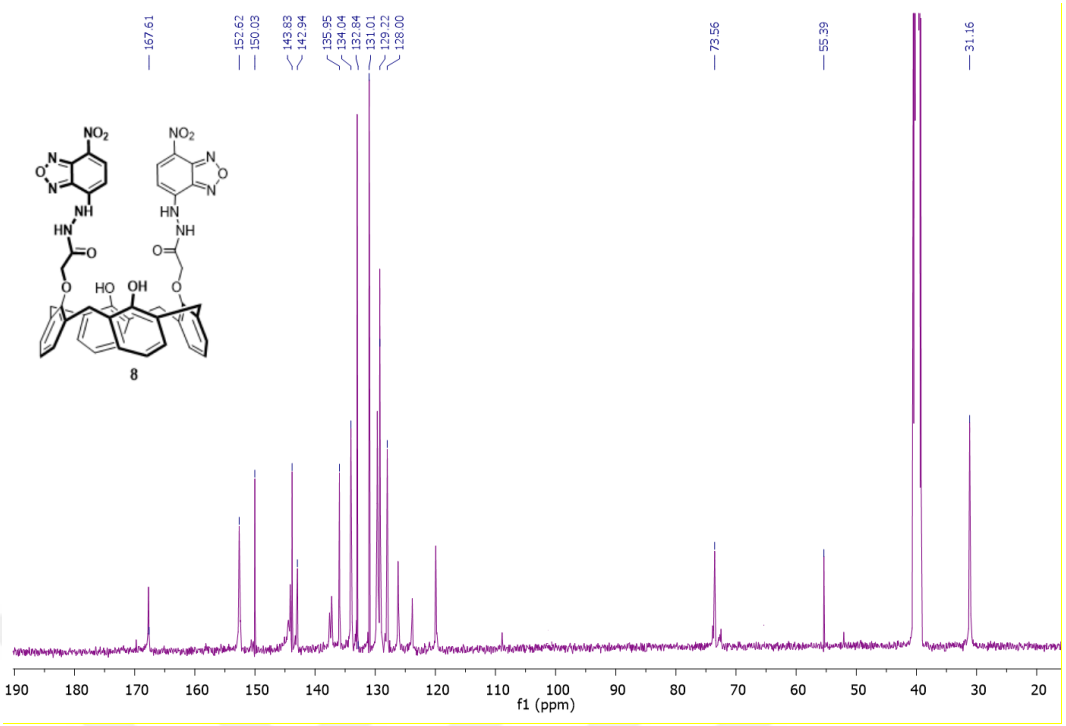
8 no'lu bileşiğin FTIR spektrumuna baktığımızda 1320 cm^{-1} ve 1519 cm^{-1} deki nitro grubuna ait piklerin gözlenmesi yapıyı doğrulamaktadır. Bu bileşiğe ait ^{1}H-NMR spektrumunda 7.82-8.25 ppm de ve 8.67 ppm de NBD ye ait yeni aromatik sinyallerin gözlenmesi ile bileşiğin yapı ile uyumlu olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca ^{13}C-NMR spektrumunda 167.6 ppm de karbonil karbonuna ait pikin gözlenmesi yapıyı doğrulamaktadır.



Şekil 4.14: 8 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu

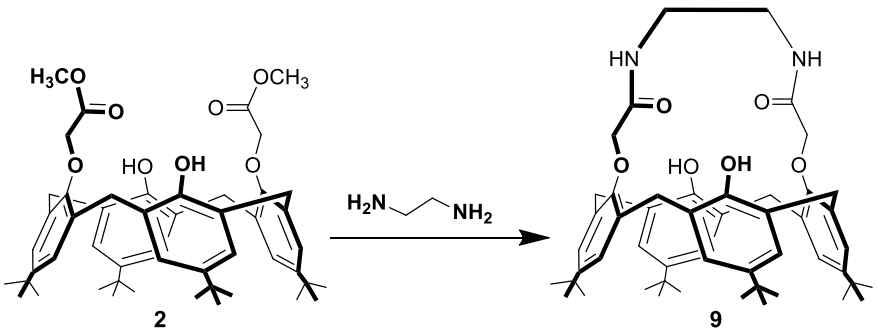


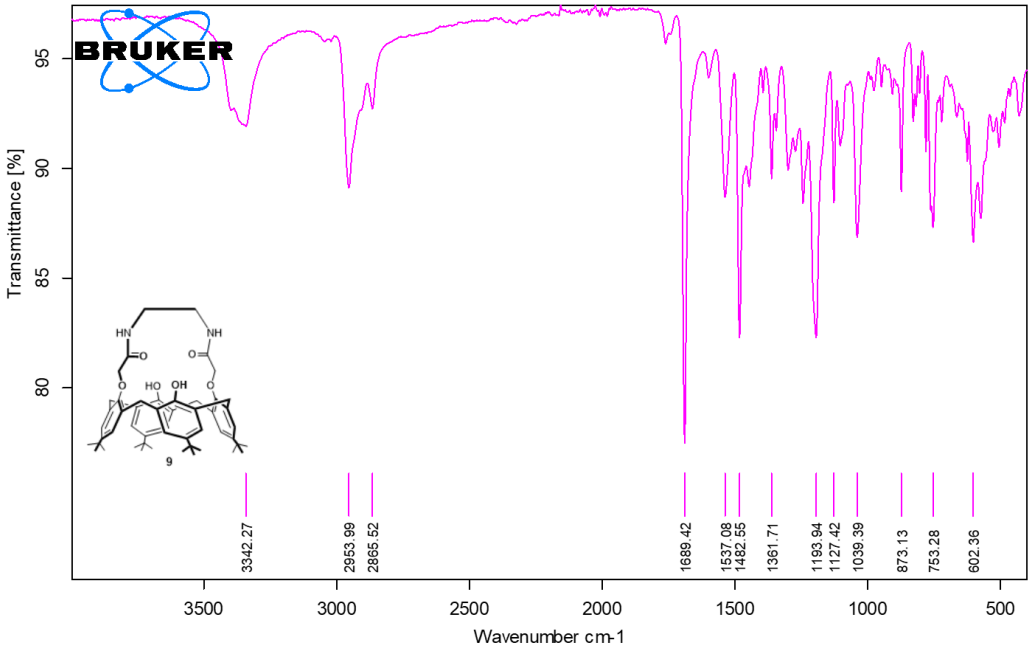
Şekil 4.15: 8 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu



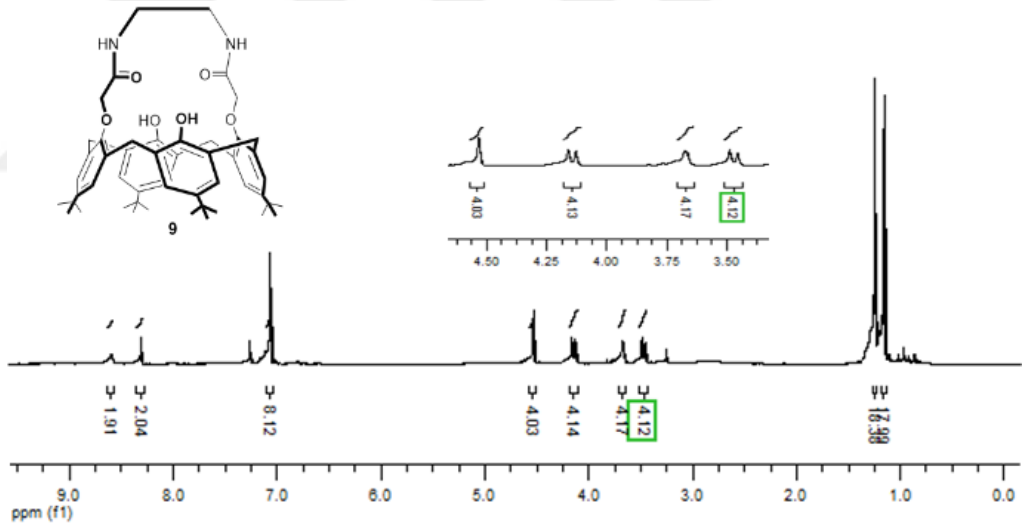
Şekil 4.16: 8 no'lu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu

12 no'lu bileşiği sentezlemek için **2** no'lu bileşik kloroform/metanol çözücü ortamında etilendiaminle etkileştirildi ve % 82 verimle **9** no'lu bileşik elde edildi. Reaksiyon **2** no'lu bileşiğin FTIR spektrumunda 1757 cm^{-} de görülen ester karboniline ait bandın kaybolup, 1689 cm^{-1} deki amit grubuna ait bandın ortaya çıkması ile anlaşıldı. Ayrıca ^{1}H-NMR spektrumundaki δ 3.46 ve 4.14 ppm deki AB tipi protonlar bileşiğin koni konformasyonunda olduğunu ve δ 8.59 ppm deki protonlar da amit bağının oluştuğunu ispatlamaktadır.



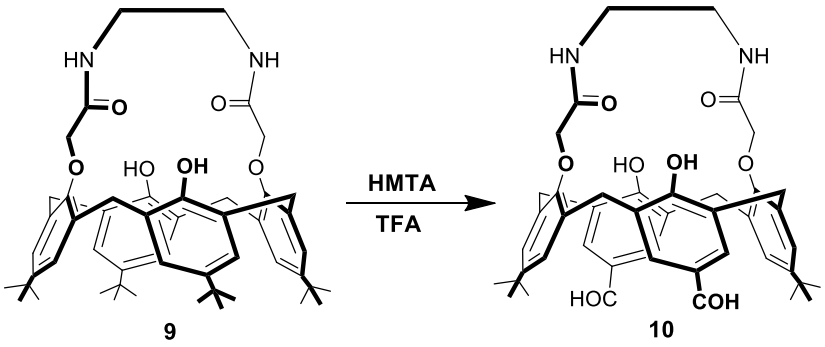


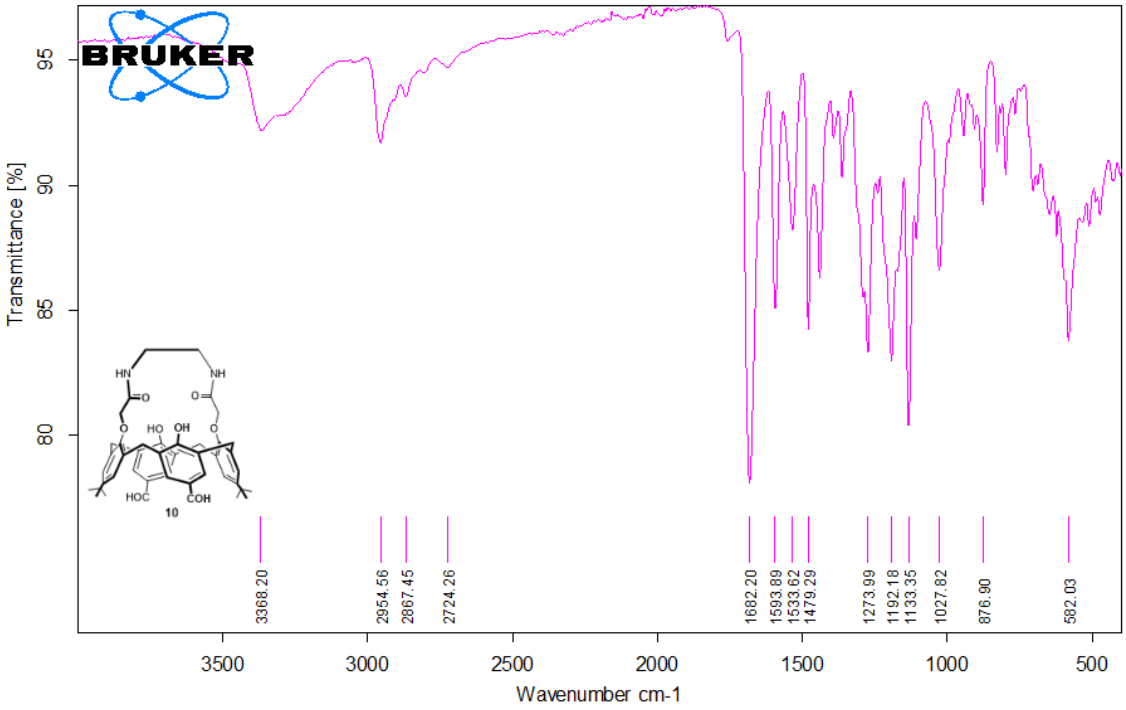
Şekil 4.17: 9 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu



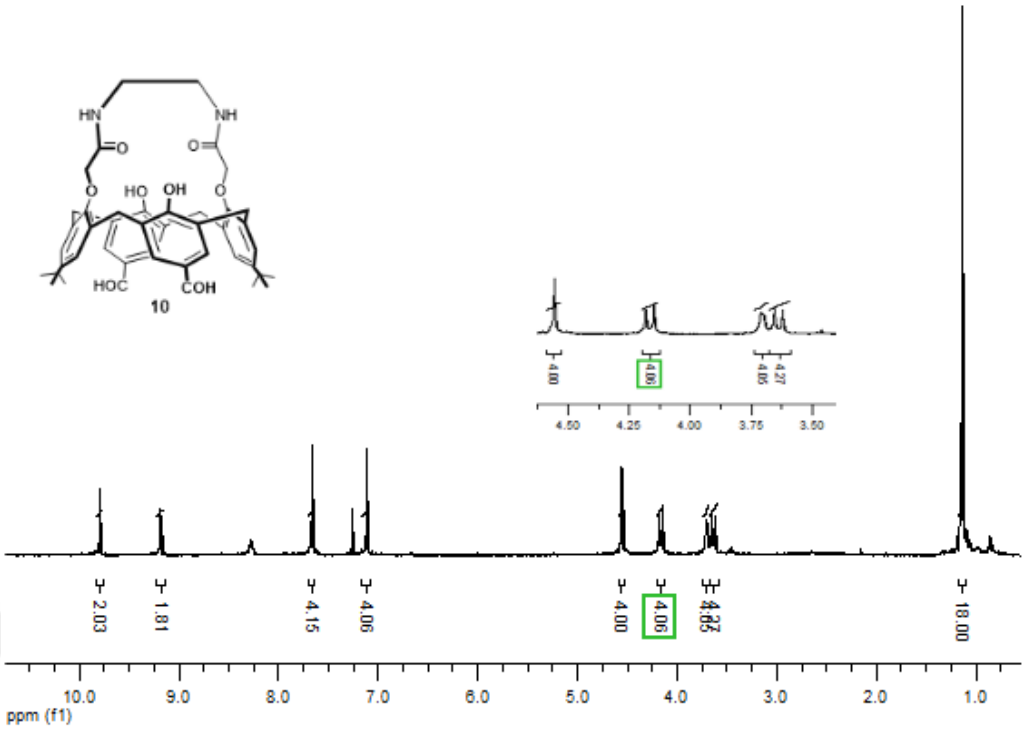
Şekil 4.18: 9 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

Daha sonra **9** no'lu bileşik literatüre göre triflorasetikasit ortamında hekzametilentetraamin ile etkileştirilerek aril halkalarının *p*-pozisyonunda aldehit grubu bulunduran **10** no'lu bileşik % 78 verimle elde edildi (Chawla ve ark., 2006). ^{1}H-NMR spektrumundaki δ 3.63 ve 4.16 ppm deki AB tipi dublet protonlar bileşiğin koni konformasyonunda olduğunu ve δ 9.79 ppm deki protonlar aldehit grubunun varlığını göstermektedir.



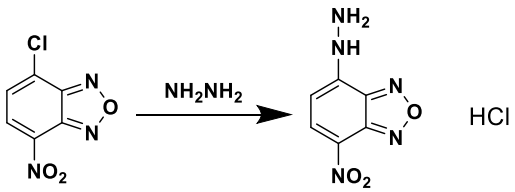


Şekil 4.19: 10 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu



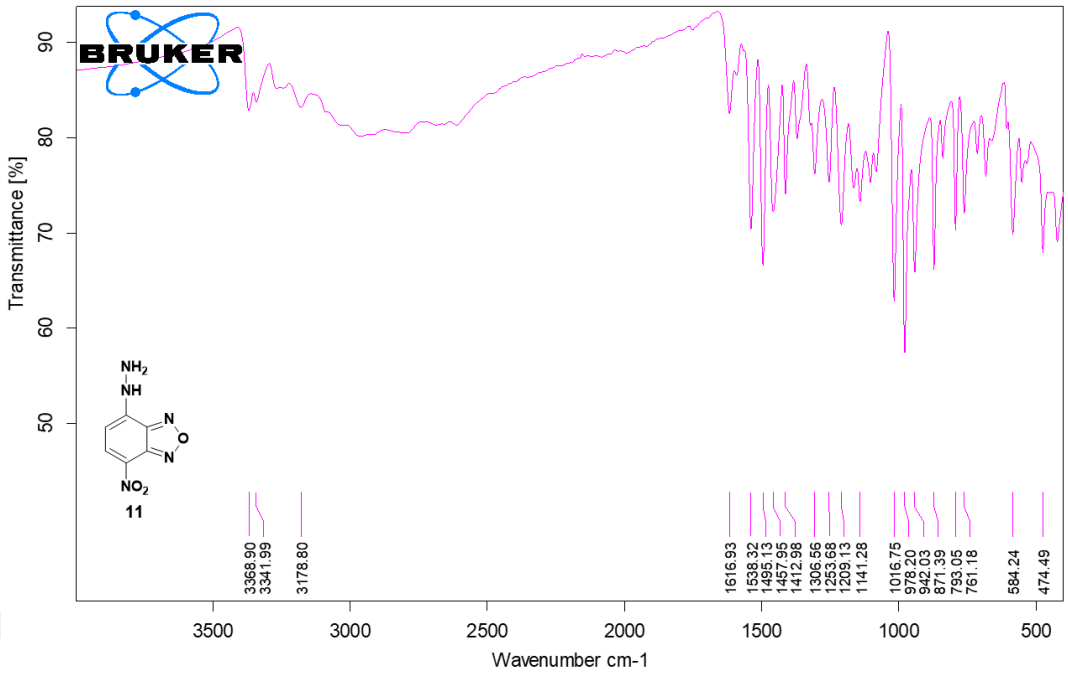
Şekil 4.20: 10 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

Hedef bileşiği (**12** no'lu bileşik) sentezlemek için literatüre göre hidrazin hidrat çözeltisi metanolda çözülerek NBD bileşiği ile kloroform çözücü ortamında etkileştirilerek **11** nolu bileşik sentezlendi (Meng ve ark., 2015a).

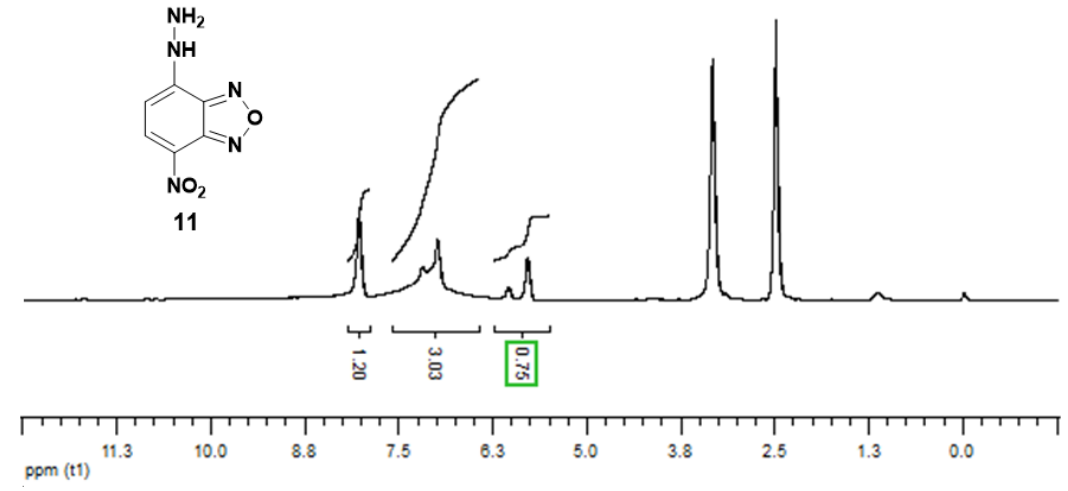


11

Bu bileşiğin yapısı FTIR spektrumundaki 1254 cm^{-1} de C-N, 1617 cm^{-1} de NH_2 ve 3369 cm^{-1} de N-H piklerinin varlığı ve ^{1}H-NMR spektrumundaki 6.45-7.53 ppm de NH-NH_2 protonuna ait pikin görülmesi ile anlaşıldı.

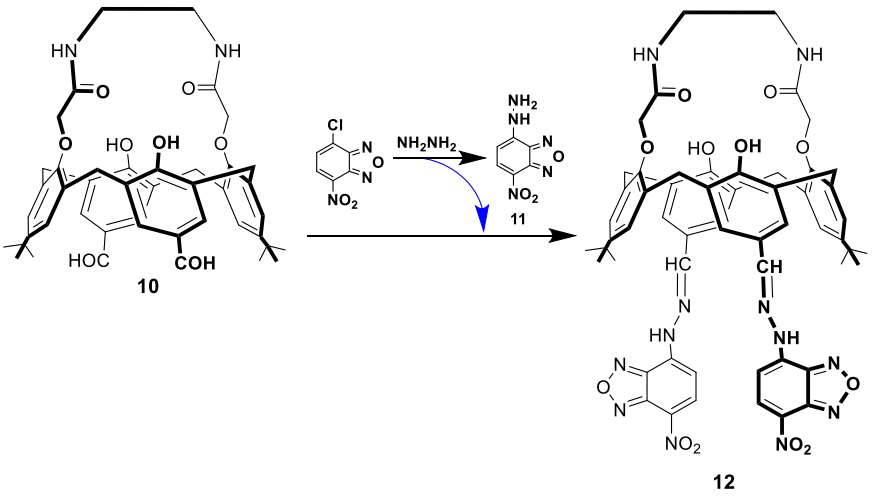


Şekil 4.21: 11 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu

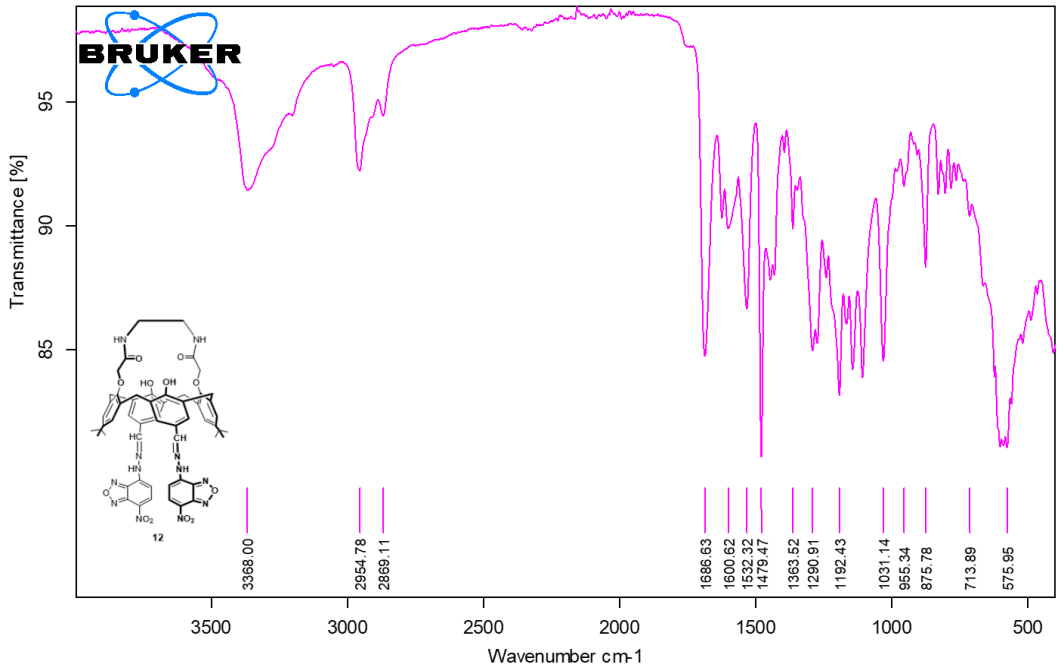


Şekil 4.22: 11 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu

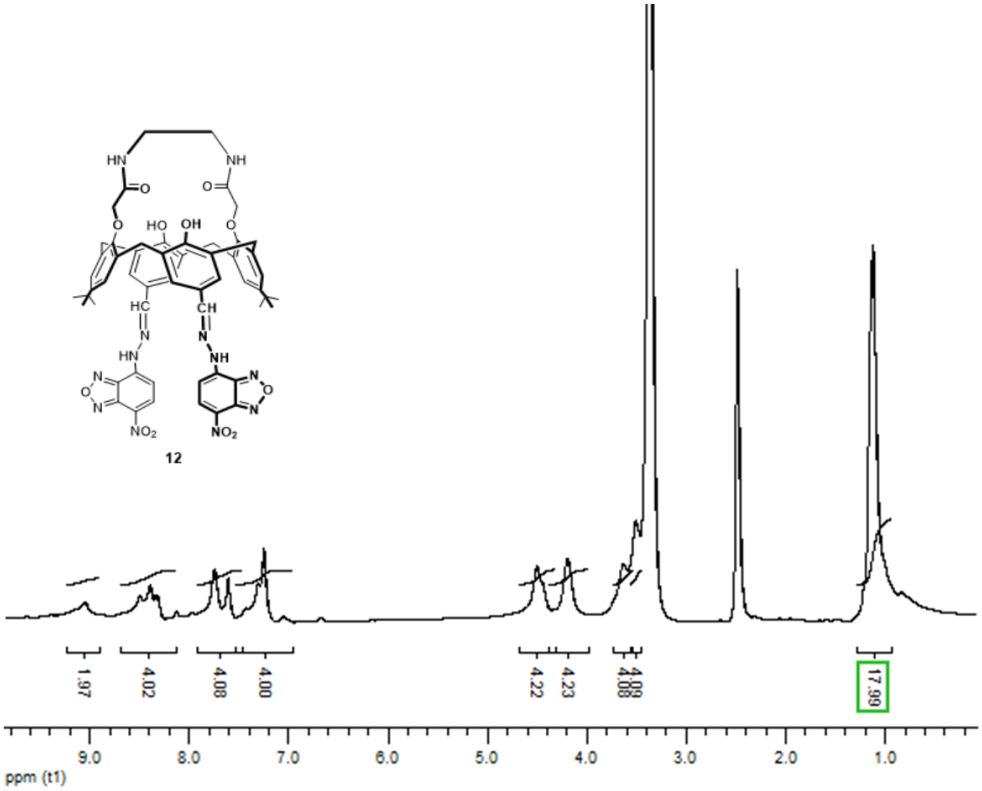
Hedef bileşik (**12**) sentezlenmesi için **11** no'lu bileşik ile **10** no'lu bileşik metanol/kloroform çözücü ortamında etkileştirilerek elde edildi.



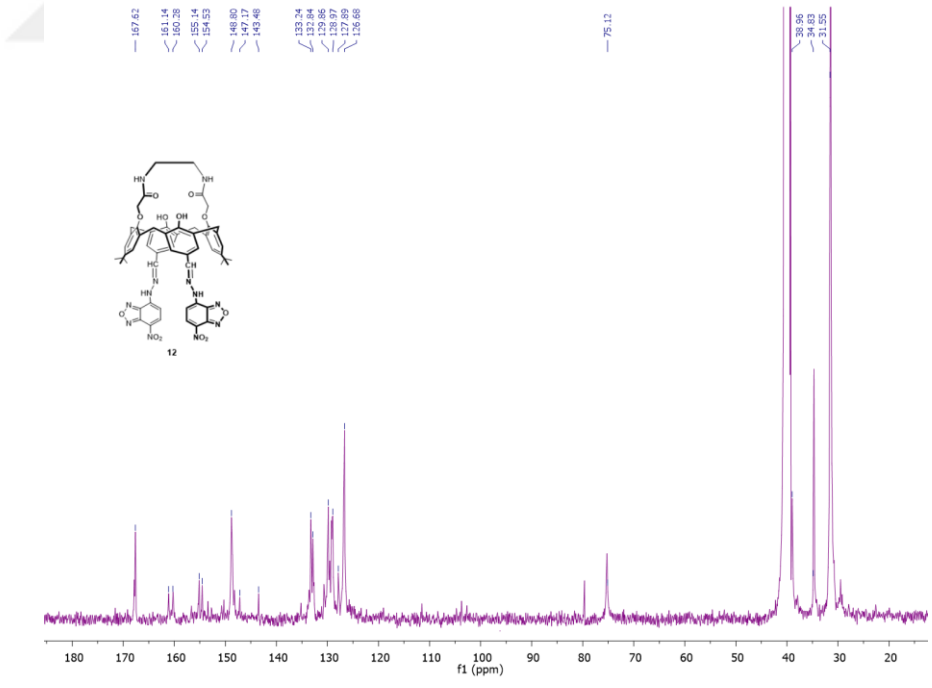
Bu bileşiğin yapısı incelendiğinde FTIR spektrumundaki 1687 cm^{-1} de gözlenen karakteristik imin bandının (C=N) gözlenmesi reaksiyonun başarılı bir şekilde gerçekleşdiğini göstermektedir. ^{1}H-NMR spektrumuna baktığımızda 9.80 ppm deki aldehit grubuna (CHO) ait piklerin kaybolması ve aromatik bölgede NBD bileşiğine ait yeni aromatik protonların gözlenmesi bileşiğin yapı ile uyumlu olduğunu ispatlamaktadır. Ayrıca ^{13}C-NMR spektrumunda 167.6 ppm de karbonil karbonuna ait pikin gözlenmesi yapıyı doğrulamaktadır.



Şekil 4.23: 12 no'lu bileşiğin FTIR spektrumu



Şekil 4.24: 12 no'lu bileşiğin ^{1}H-NMR spektrumu



Şekil 4.25: 12 no'lu bileşiğin ^{13}C-NMR spektrumu

4.2. Spektroskopik Ölçümler

4.2.1. Katyon ve Anyon Çözeltilerinin Hazırlanması

Spektroflorimetrede alınan floresans spektrumları ile metal ligand etkileşimi incelendi. Floresans ölçümlerinin alınması için asetonitrilde $1x10^{-3}$ M metal perklorat çözeltileri ve $1x10^{-3}$ M anyonların tetrabütilamonyum tuzlarının çözeltileri hazırlandı. Ayrıca absorbans ve floresans ölçümleriyle floresans sönümleme sabiti ve kompleks bileşimi hesapları yapıldı.

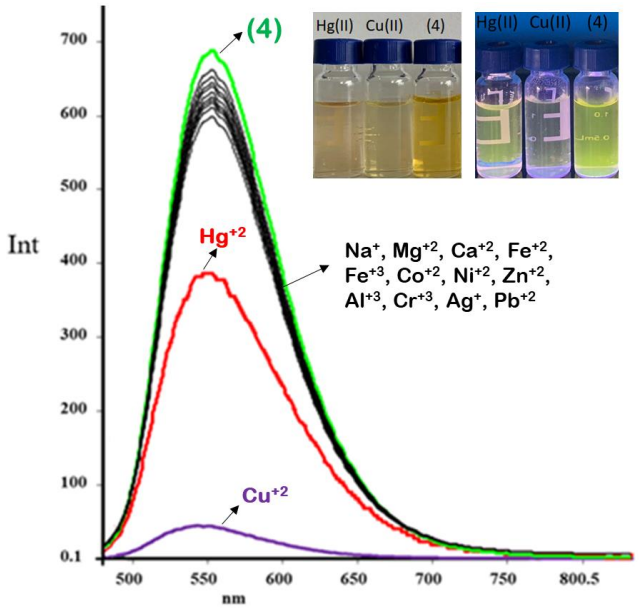
4.2.2. Ligand Çözeltilerinin Hazırlanması

Floresans spektrumların alınması için ligandların çözeltileri DMSO da $1x10^{-3}$ M olarak hazırlandı. Daha sonra hazırlanan çözeltiler $1x10^{-5}$ M olarak asetonitrilde seyreltildi.

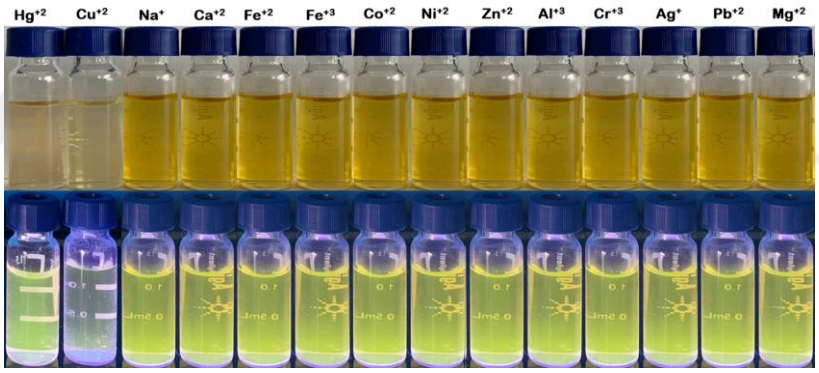
4.2.3. Spektroflorimetrik Ölçümler

3 mL 1.10^{-5} M ligand çözeltisine 3 mL 1.10^{-4} M metal perklorat (Na^{+}, Mg^{+2}, Ca^{+2}, Fe^{+2}, Fe^{+3}, Co^{+2}, Ni^{+2}, Cu^{+2}, Zn^{+2}, Hg^{+2}, Al^{+3}, Cr^{+3}, Ag^{+}, Pb^{+2}) çözeltisi veya 3 mL 1.10^{-4} M bazı anyonların (F^{-}, Cl^{-}, Br^{-}, I^{-}, $H_2PO_4^{-}$, PO_4^{-3}, HSO_4^{-}, SO_4^{-2}, NO_3^{-}, CH_3COO^{-}) tetrabütilamonyum tuzlarının çözeltileri eklenerek oda sıcaklığında 3-4 dak. çalkalandı. Kör okumaları için; ayrıca 3 mL $1x10^{-5}$ M ligand çözeltisi 3 mL asetonitrilde karıştırıldı, oluşan çözeltinin floresans spektrumu alındı.

1,3-dibenzooksodiazol NBD grupları taşıyan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşiğinin (**4**) spektroflorimetrik ölçümleri sonucunda bu bileşiğin λ_{eks}=460 nm de uyarıldığı zaman 560 nm de eksimer emisyon bandı verdiği gözlenmiştir. Bu bileşiğin çözeltisine metal iyonları ilave ederek tekrar spektrum taratıldığında sadece Cu^{+2} ve Hg^{+2} iyonlarının eksimer emisyon şiddetini azaldığı görüldü. En fazla söndürme etkisi Cu^{+2} iyonunda gözlendi. Bunun sebebi olarak birinci bölümde yer verilen mekanizmalardan PET nin geri dönüşünü verebiliriz.

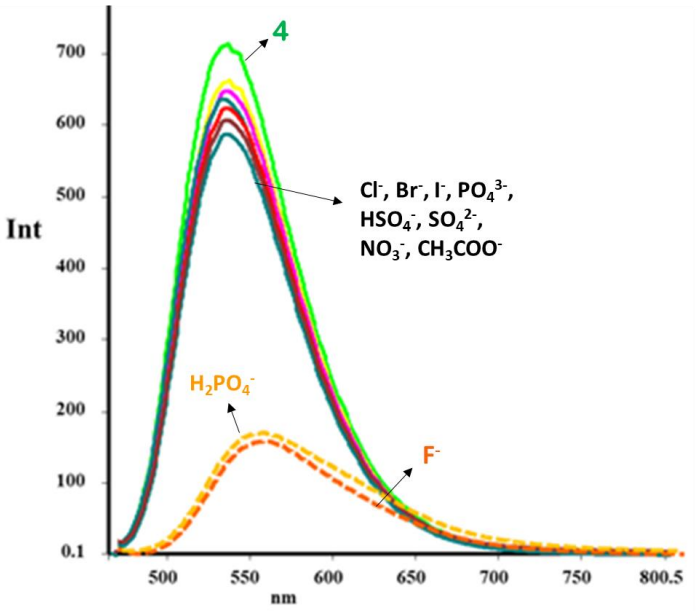


Şekil 4.26: 4 numaralı bileşiğin ($1x10^{-5}$ M, CH_3CN) değişik metal iyonları varlığında floresans spektrumu (λ_{eks}=460 nm)



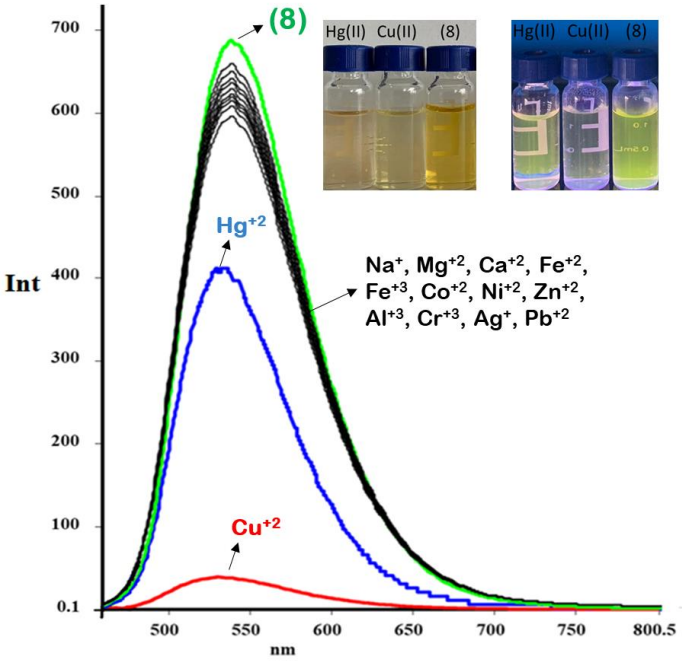
Şekil 4.27: 4 no'lu bileşiğin farklı metal iyonları varlığındaki renk değişimi

4 no'lu bileşiğin farklı anyonlara karşı floresans şiddetindeki değişmeler incelendiği zaman F^- ve $H_2PO_4^-$ anyonların emisyon şiddetini azaltarak dalğa boyunu hafif kaydırdığı spektrumdan görülmektedir. **4** no'lu bileşiğin anyonlar ile kompleks oluşumu, amit protonları ve NBD bileşiğinin N atomları ile hidrojen bağı oluşturması ile açıklanabilir.

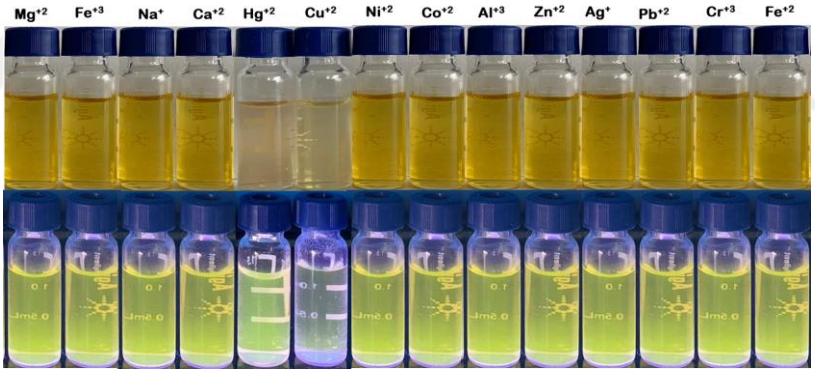


Şekil 4.28: 4 no'lu bileşiğin ($1x10^{-5}$ M, CH_3CN) farklı anyonlar varlığında floresans spektrumu (λ_{eks}=460 nm)

8 no'lu bileşiği λ_{eks}=460 nm de uyarıldığı zaman 550 nm de eksimer emisyon bandı verdiği gözlendi. Bu bileşiğin floresans şiddeti üzerine metallerin etkisi incelendiği zaman yine Cu^{+2} ve Hg^{+2} iyonlarının eksimer emisyon şiddetlerini azalttığı görüldü. En fazla söndürme etkisi Cu^{+2} iyonunda gözlendi. Bunun sebebini yine PET mekanizması ile açıklayabiliriz.

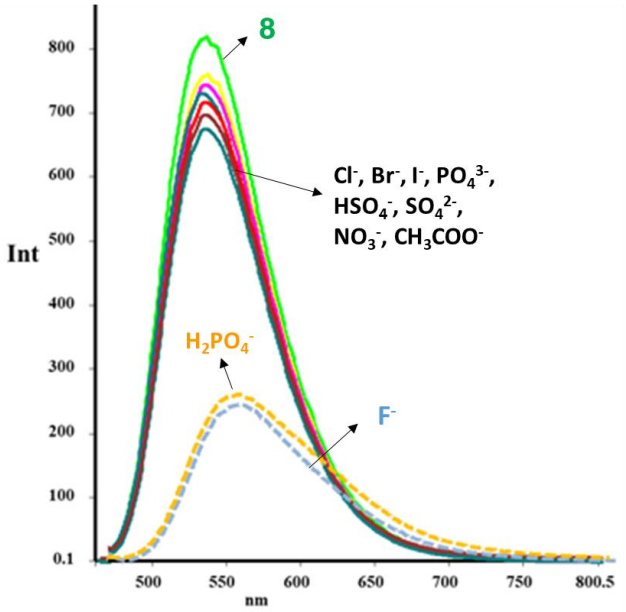


Şekil 4.29: 8 no'lu bileşiğin ($1x10^{-5}$ M, CH_3CN) değişik metal iyonları varlığındaki floresans spektrumu (λ_{eks}=460 nm)



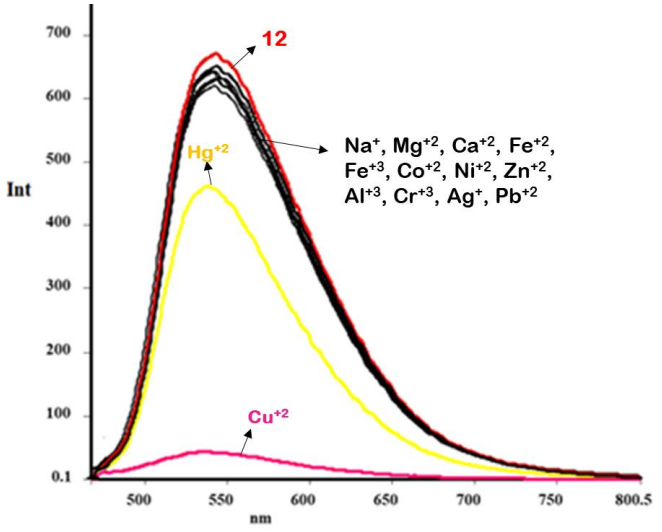
Şekil 4.30: 8 no'lu bileşiğin farklı metal iyonları varlığındaki renk değişimi

8 no'lu bileşiğin farklı anyonlara karşı floresans şiddetindeki değişmeler incelendiğinde F^- ve $H_2PO_4^-$ anyonlarının emisyon şiddetini azalttığı spektrumdan görülmektedir. **8** no'lu bileşiğin anyonlar ile kompleks oluşumu, amit protonları ve NBD bileşiğinin N atomları ile hidrojen bağı oluşturması ile açıklanabilir.



Şekil 4.31: 8 no'lu bileşiğin ($1x10^{-5}$ M, CH_3CN) değişik metal iyonları varlığındaki floresans spektrumu (λ_{eks}=460 nm)

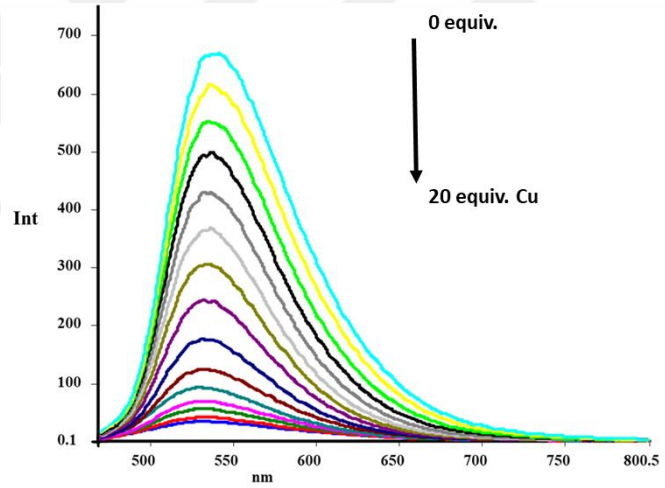
1,3-dibenzooksodiazol (NBD) grupları taşıyan Schiff bazı türevli *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşiği (**12**) λ_{eks}=460 nm de uyarıldığı zaman 560 nm de eksimer emisyon bandı verdiği gözlenmiştir. Bu bileşiğin floresans şiddeti üzerine metallerin etkisi incelendiğinde yine Cu^{+2} ve Hg^{+2} iyonlarının eksimer emisyon şiddetlerini azalttığı görüldü. En fazla söndürme etkisi ise Cu^{+2} iyonunda gösterdiğinden dolayı bileşiğin Cu^{+2} iyona karşı sensör özellik gösterdiğini söyleyebilir ve PET mekanizması ile açıklayabiliriz.



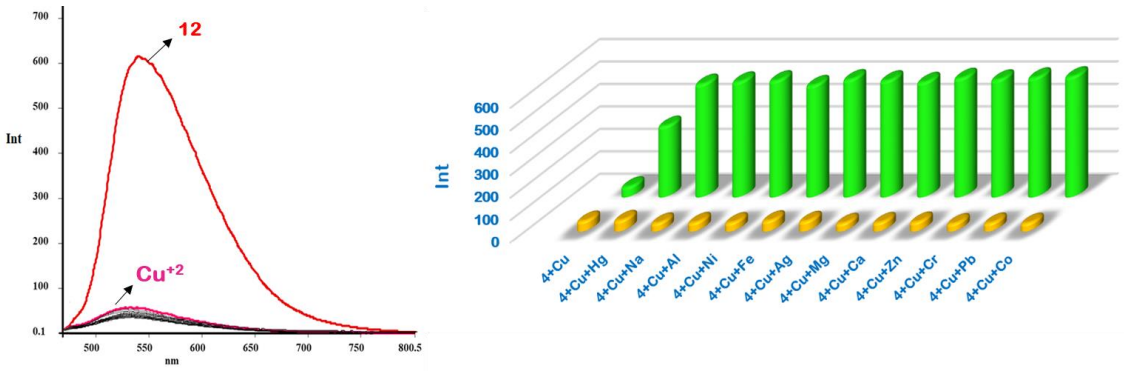
Şekil 4.32: 12 no'lu bileşiğin ($1x10^{-5}$ M, CH_3CN) değişik metal iyonları varlığındaki floresans spektrumu (λ_{eks}=460 nm)



Şekil 4.33: 12 no'lu bileşiğin farklı metal iyonları varlığındaki renk değişimi

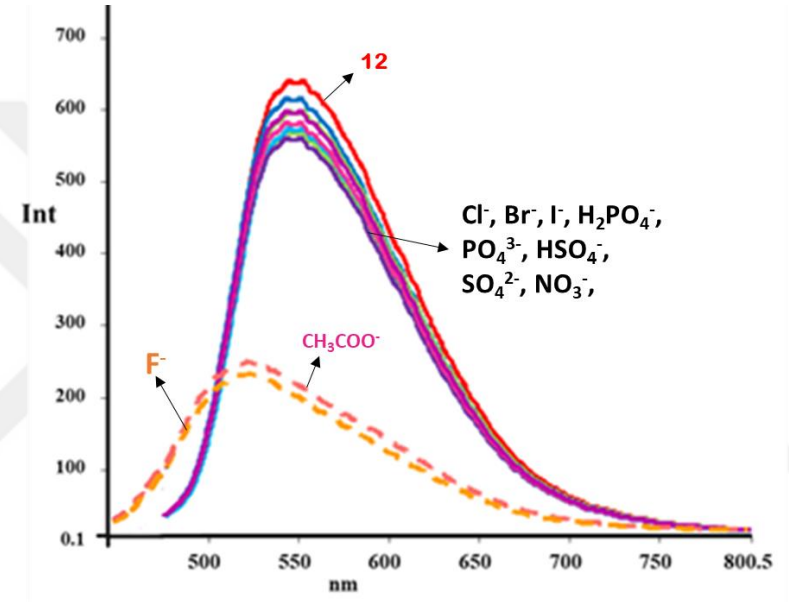


Şekil 4.34: Farklı konsantrasyonlarda $Cu(ClO4)_2$ (0-20 equiv) varlığında **12** no'lu bileşiğin ($1x10^{-5}$ M, CH_3CN) floresans spektrumundaki değişmeler (λeks=460 nm).

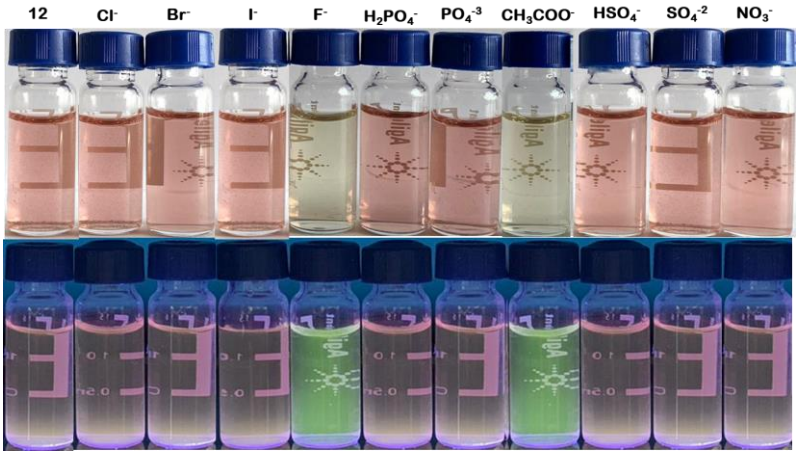


Şekil 4.35: 12 no'lu bileşiğin ($1x10^{-5}$ M, CH_3CN) Cu^{+2} varlığında diğer metal iyonların etkisinin olmadığını gösteren floresans spektrumu ve grafiği (λ_{eks}=460 nm)

1,3-dibenzooksodiazol (NBD) grupları taşıyan Schiff bazı türevli *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşiği (**12**) farklı anyonlara karşı floresans şiddetindeki değişmeler incelendiğinde F^- ve CH_3COO^- anyonlarının dalga boyunu 490 nm ye doğru kaydırdırarak emisyon şiddetini azalttığı spektrumdan görülmektedir. Bu durumu ise PCT mekanizması ile açıklayabiliriz.



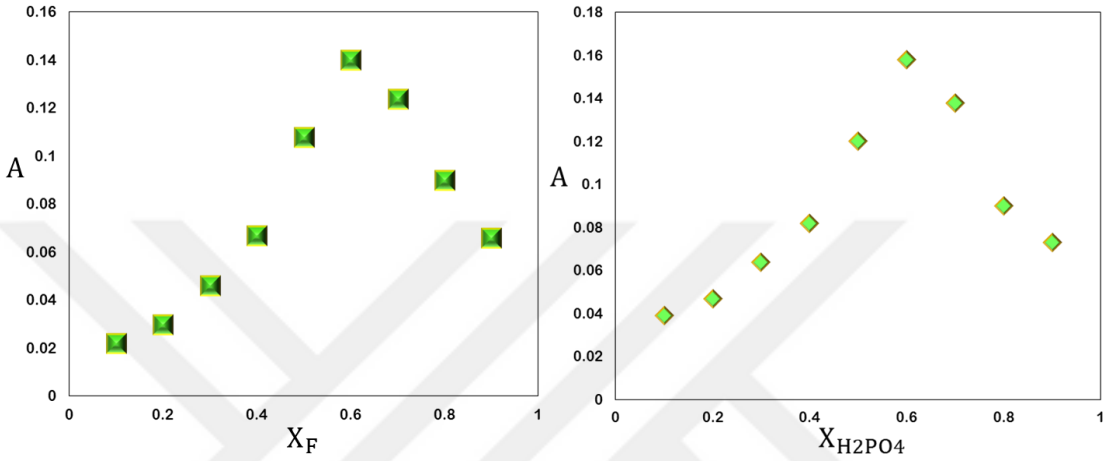
Şekil 4.36: 12 no'lu bileşiğin ($1x10^{-5}$ M, CH_3CN) değişik metal iyonları varlığındaki floresans spektrumu (λ_{eks}=460 nm)



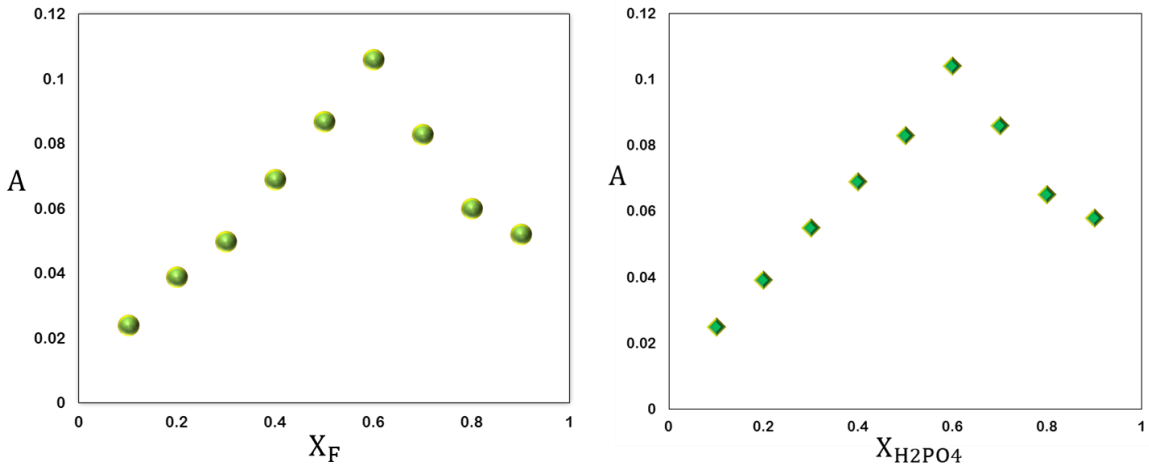
Şekil 4.37: 12 no'lu bileşiğin farklı anyonlar varlığındaki renk değişimi

4.2.4. Kompleks Bileşiminin Tayini

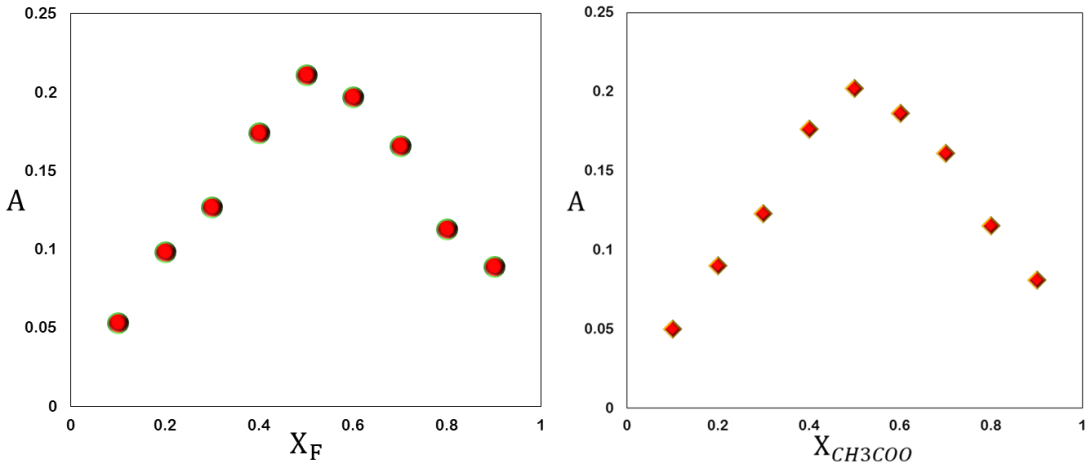
Sürekli Değiştirme Metodu (Job Plot Metodu): UV-Vis. spektrumunda ligandların ve onların yeni dalga boyu oluşturan iyonlarıyla oluşturdukları komplekslerin bileşimini tayin etmek için bu dalga boyunda yapılan ölçümlerden faydalanarak çizilen grafikler elde edildi.



Şekil 4.38: 4 no'lu bileşiğin F^- ve $H_2PO_4^-$ iyonları varlığındaki absorbansa karşılık anyonun mol kesirinin grafikleri



Şekil 4.39: 8 no'lu bileşiğin F^- ve $H_2PO_4^-$ iyonları varlığında absorbansa karşılık anyonun mol kesirinin grafikleri



Şekil 4.40: 12 no'lu bileşiğin F^- ve CH_3COO^- iyonları varlığındaki absorbansa karşılık anyonun mol kesirinin grafikleri

Çizelge 4.1: Kompleks stokiyometrisi

Ligand	Anyon	Anyon : Ligand oranı
4	F^-	2:1
	$H_2PO_4^-$	2:1
8	F^-	2:1
	$H_2PO_4^-$	2:1
12	F^-	1:1
	CH_3COO^-	1:1

4.2.5. Floresans Söndürme Sabitlerinin Hesaplanması

Floresans söndürme olayı Stern-Volmer eşitliği ile incelenmektedir.

$$I_0/I=1+k_q\tau_0[Q]=1+K_{SV}[Q]$$

I_0: Metal iyonu olmadığı durumdaki floresans şiddeti

I: Metal iyonu olduğu durumdaki floresans şiddeti

k_q: Bimoleküler söndürme sabiti

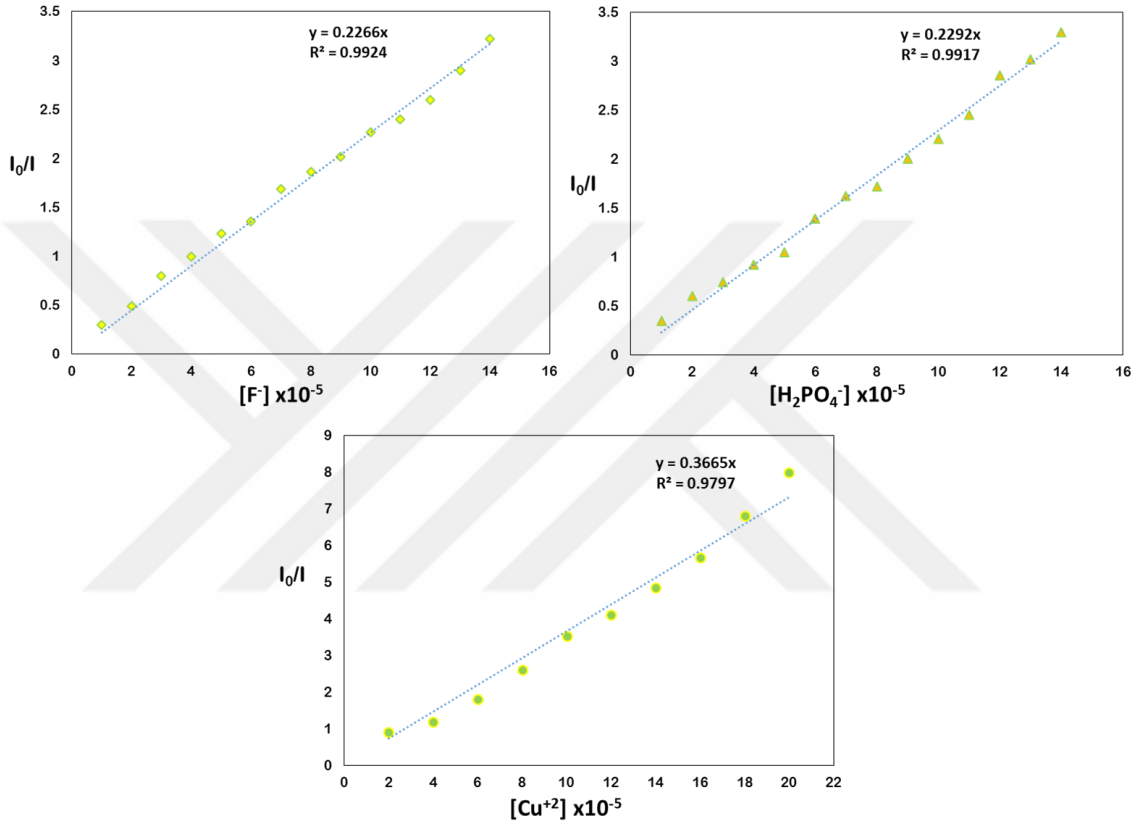
τ_0: Metal iyonu olmadığı durumdaki floresans ömrü

[Q]: Metal iyonu konsantrasyonu

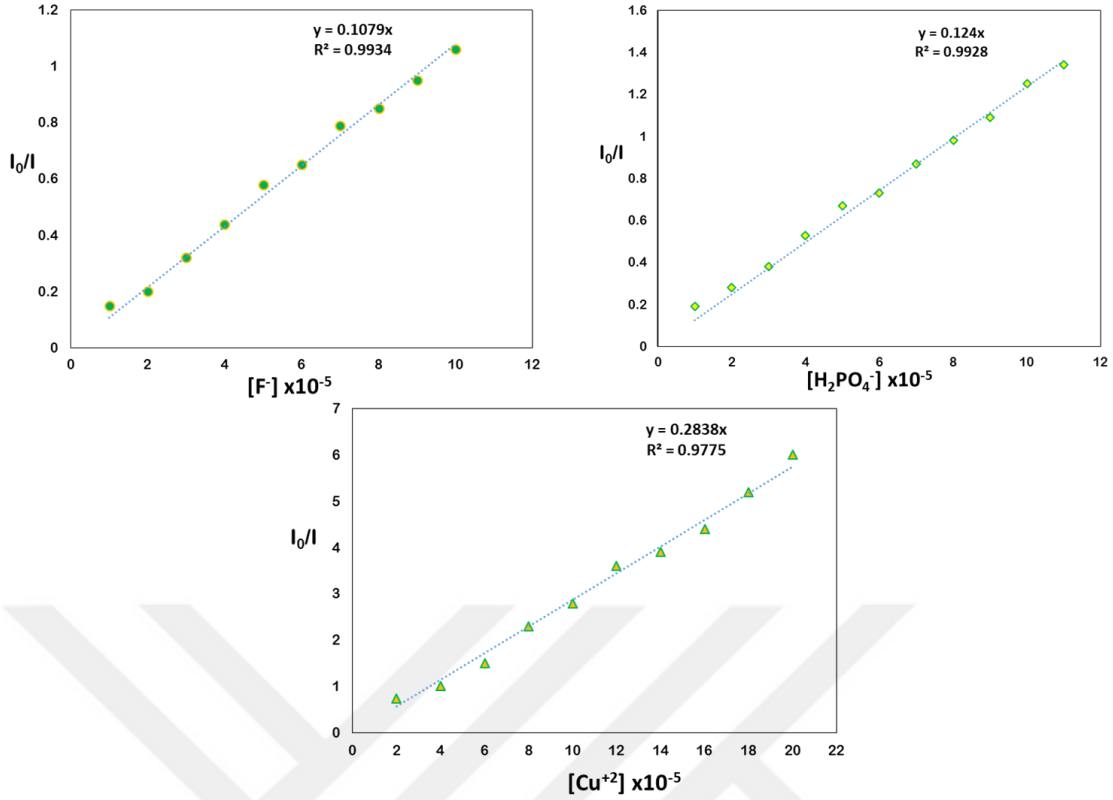
$K_{SV} = k_q\tau_0$: Stern- Volmer söndürme sabiti

I_0/I ya karşılık **[Q]** grafiğinin eğimi floresans söndürme sabitini verir.

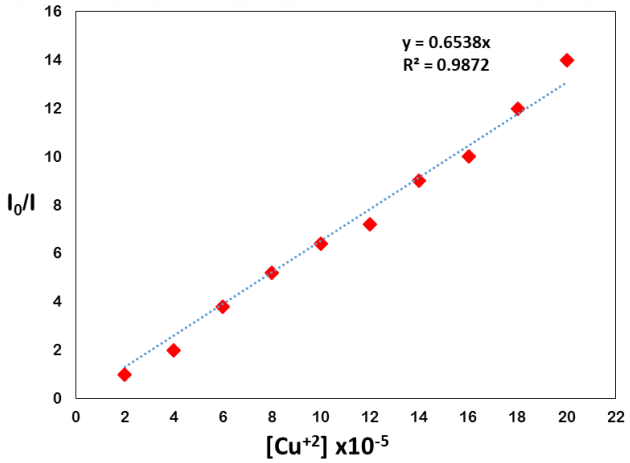
Şekil 4.41-4.43 de floresans özellik gösteren ligandların emisyon şiddetini azaltan iyonlar varlığında **I_0/I** ya karşılık **[Q]** grafikleri verildi. Bu grafiklerin eğimlerinden söndürme sabitleri bulundu ve Çizelge 4.2 de verildi.



Şekil 4.41: 4 no'lu bileşiğin I_0/I ya karşı $[Cu^{+2}]$, I_0/I ya karşı $[F^-]$ ve I_0/I ya karşı $[H_2PO_4^-]$ grafikleri



Şekil 4.42: 8 no'lu bileşiğin I_0/I ya karşı $[Cu^{+2}]$, I_0/I ya karşı $[F^-]$ ve I_0/I ya karşı $[H_2PO_4^-]$ grafikleri



Şekil 4.43: 12 no'lu bileşiğin I_0/I ya karşı $[Cu^{+2}]$ grafiği

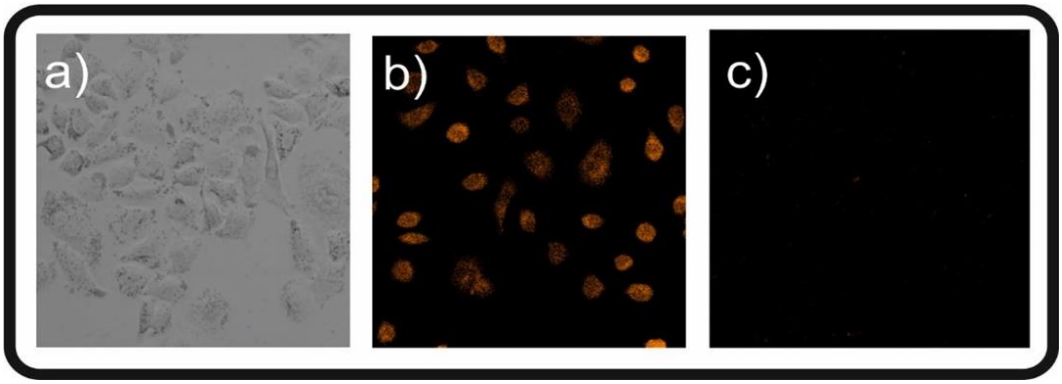
Çizelge 4.2: 4, **8**, **12** no'lu bileşikler için floresans söndürme sabitleri

Ligand	Anyon/Katyon	Söndürme sabiti K_{SV}	R^2
4	Cu^{+2}	$4.7x10^5$	0.9797
	F^-	$1.7x10^5$	0.9924
	$H_2PO_4^-$	$1.9x10^5$	0.9917
8	Cu^{+2}	$3.1x10^5$	0.9775
	F^-	$0.2x10^5$	0,9934
	$H_2PO_4^-$	$0.18x10^5$	0,9928
12	Cu^{+2}	$1,15x10^6$	0,9872

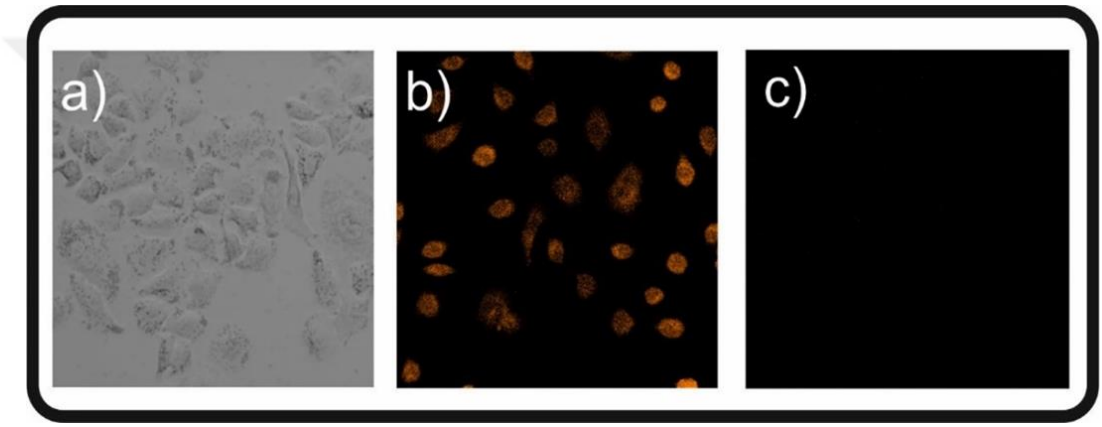
4.3. Hücre İçi Görüntüleme

A549 (akciğer kanseri) hücre hattı, A549 üzerine belirlenen **4**, **8**, **12** no'lu bileşiklerin hücre içi lokalizasyonlarını belirlemek amacıyla hücre içi görüntüleme çalışmaları konfokal mikroskop yardımıyla gerçekleştirildi. Hücreler üzerine 20 µM **4**, **8**, **12** no'lu bileşikler ilave edildikten sonra hücreler 45 dakika 37°C'de %95 nem ve %5 CO_2'li ortamda inkübe edildi. Hücre içine girmeyen bileşikler 10 mM PBS kullanılarak yıkandı. Metal ve anyon iyonları 100 µM hazırlanarak hücrelerle muamele edildi.

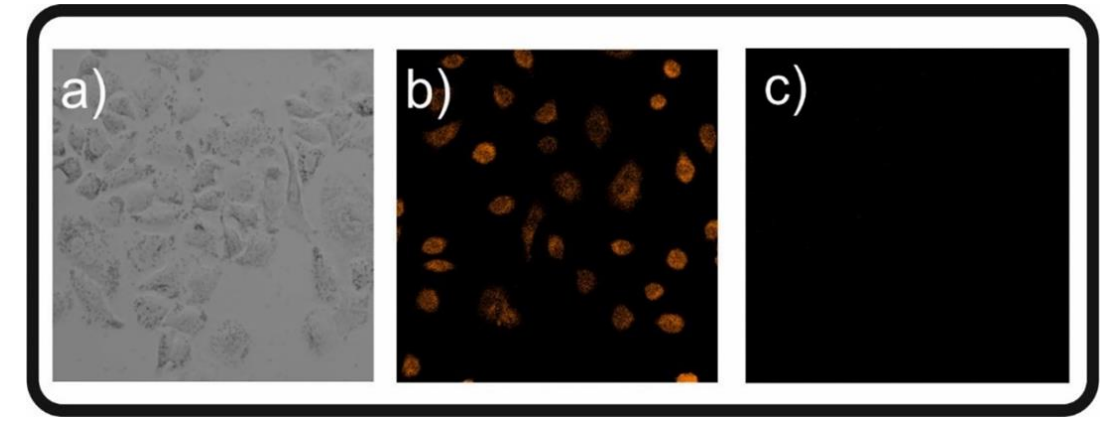
Konfokal mikroskop yardımıyla bileşiklerin hücre içindeki görüntüleri Şekil 4.44-4.52 da gösterildi. Elde edilen görüntüler incelendiğinde, **4**, **8**, **12** no'lu bileşiklerin metal iyonları arasında sadece Cu^{+2} iyonuna karşı seçimlilik gösterdiği, anyon iyonları arasında ise **4** ve **8** no'lu bileşiklerin $H_2PO_4^-$ ve F^-, **12** no'lu bileşiğin ise CH_3COO^- ve F^- anyonlarına karşı seçimli olduğu gözlendi.



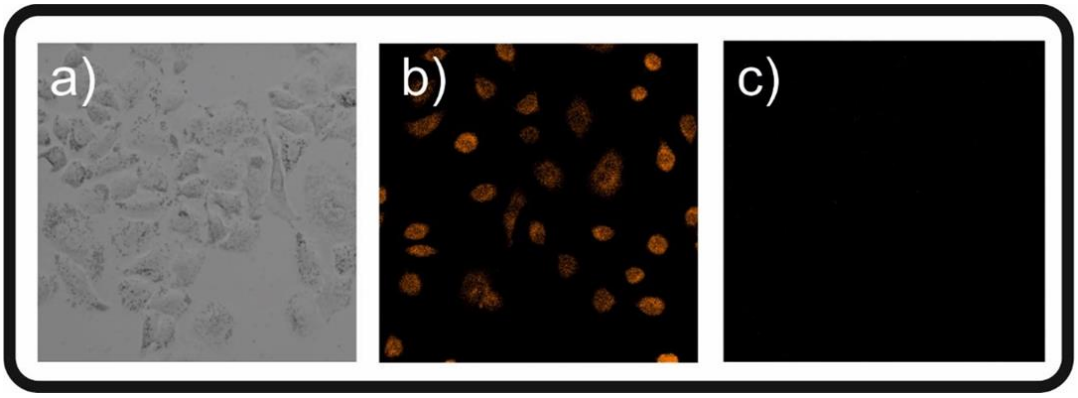
Şekil 4.44: a) kontrol grubu hücreleri, b) 4 no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) 4 no'lu bileşiğe Cu^{+2} muamele edilmiş hücreler



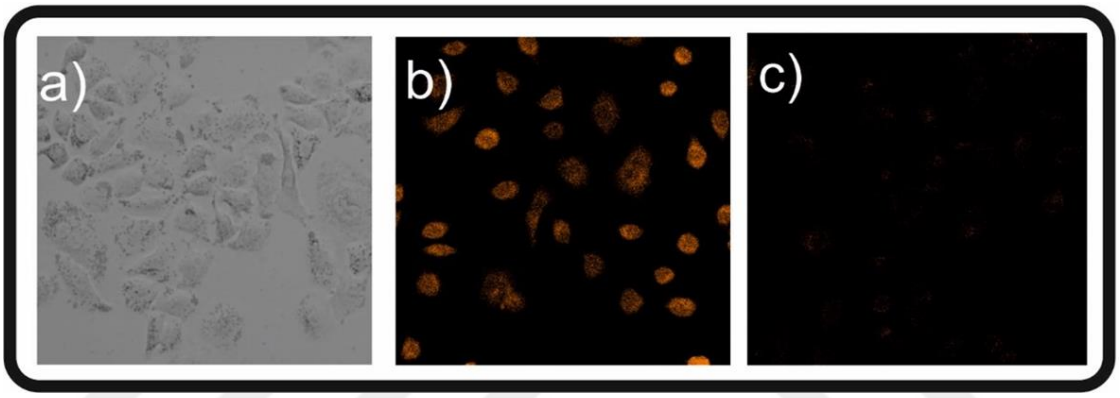
Şekil 4.45: a) kontrol grubu hücreleri, b) 4 no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) 4 no'lu bileşiğe F^- muamele edilmiş hücreler



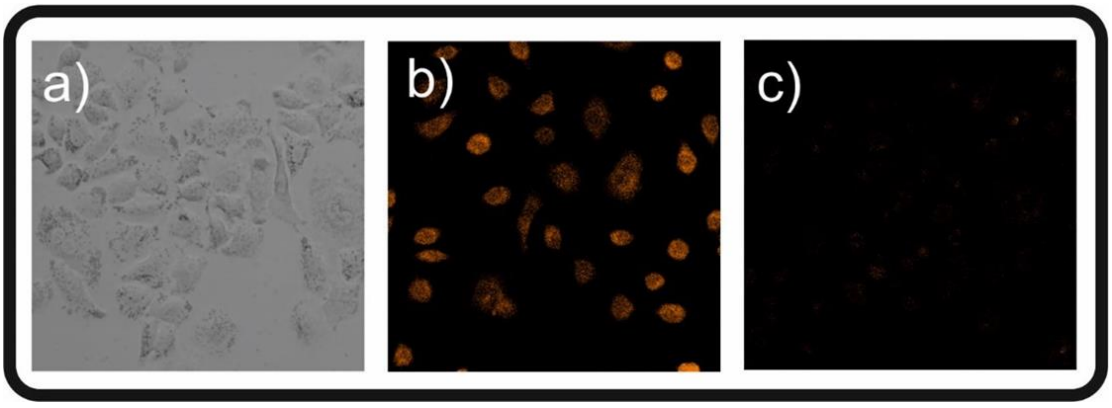
Şekil 4.46: a) kontrol grubu hücreleri, b) **4** no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) **4** no'lu bileşiğe $H_2PO_4^-$ muamele edilmiş hücreler



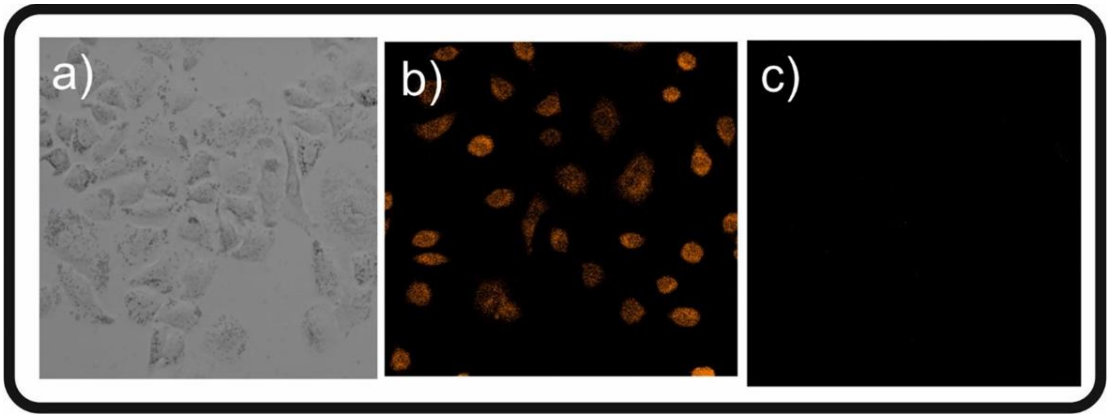
Şekil 4.47: a) kontrol grubu hücreleri, b) 8 no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) 8 no'lu bileşiğe Cu^{+2} muamele edilmiş hücreler



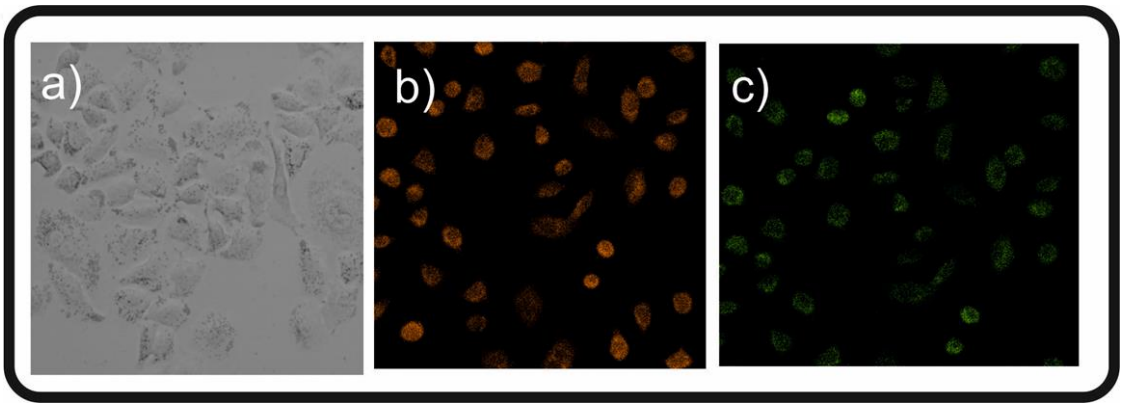
Şekil 4.48: a) kontrol grubu hücreleri, b) 8 no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) 8 no'lu bileşiğe F^- muamele edilmiş hücreler



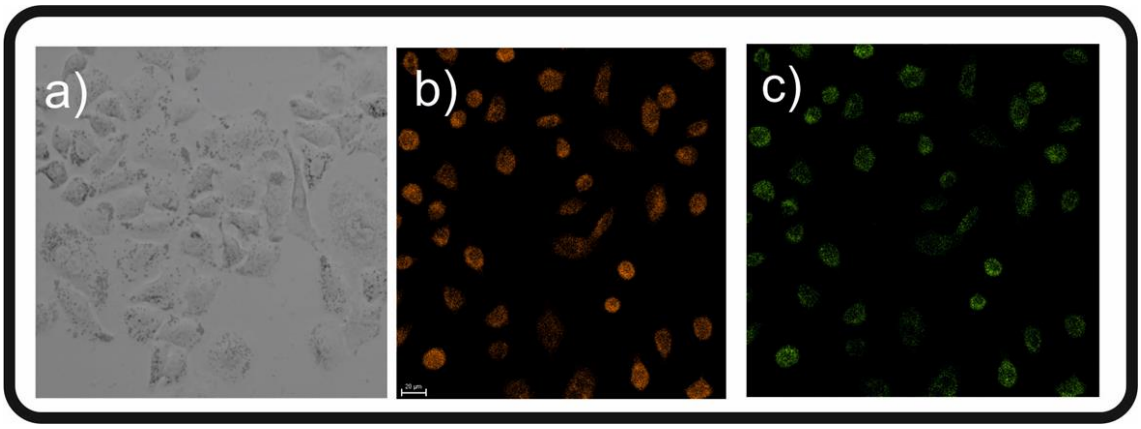
Şekil 4.49: a) kontrol grubu hücreleri, b) **8** no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) **8** no'lu bileşiğe $H_2PO_4^-$ muamele edilmiş hücreler



Şekil 4.50: a) kontrol grubu hücreleri, b) 12 no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) 12 no'lu bileşiğe Cu^{+2} muamele edilmiş hücreler



Şekil 4.51: a) kontrol grubu hücreleri, b) 12 no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) 12 no'lu bileşiğe F^- muamele edilmiş hücreler



Şekil 4.52: a) kontrol grubu hücreleri, b) **12** no'lu bileşik ile muamele edilmiş hücreler, c) **12** no'lu bileşiğe CH_3COO^- muamele edilmiş hücreler

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- ✓ Bu çalışmada kaliks[4]aren bileşiği fenolik-O üzerinden ve aromatik birimlerin *p*-konumundan fonksiyonlandırılarak 1,3-dibenzooksodiazol (NBD) grupları taşıyan kaliks[4]aren türevleri sentezlendi.
- ✓ Sentezlenen her bir bileşiğin yapıları spektroskopik teknikler (FTIR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR) ile aydınlatıldı.
- ✓ Sentezlenen **4**, **8**, **12** no'lu bileşikler için spektroflorimetrik ölçümler yapıldı.
- ✓ Bu bileşikler için metal katyonu olarak Na^{+}, Mg^{+2}, Ca^{+2}, Fe^{+2}, Fe^{+3}, Co^{+2}, Ni^{+2}, Cu^{+2}, Zn^{+2}, Hg^{+2}, Al^{+3}, Cr^{+3}, Ag^{+}, Pb^{+2} ve anyon olarak F^{-}, Cl^{-}, Br^{-}, I^{-}, $H_2PO_4^{-}$, PO_4^{-3}, HSO_4^{-}, SO_4^{-2}, NO_3^{-}, CH_3COO^{-} kullanılarak spektroflorimetrik ölçümler alındı.
- ✓ **4**, **8**, **12** no'lu bileşiklerin Hg^{+2} ve Cu^{+2} iyonları ile emisyon şiddetini azaltdığı gözlendi. **4**, **8** no'lu bileşiğin F^{-} ve $H_2PO_4^{-}$ iyonları varlığında emisyon şiddetini azaltığı, **12** no'lu bileşik ise F^{-} ve CH_3COO^{-} iyonları varlığında emisyon şiddetini azaltarak maviye kayma yaptığı görüldü.
- ✓ **4** ve **8** no'lu bileşiklerin Cu^{+2}, F^{-} ve $H_2PO_4^{-}$ iyonları ile, **12** no'lu bileşik ise Cu^{+2}, F^{-} ve CH_3COO^{-} iyonları ile oluşturduğu komplekslerin bileşimini tayin etmek için eşit konsantrasyonlarda hazırlanan anyon ve ligand çözeltileri belli oranlarda karıştırılıp yeni oluşan dalga boyunda absorbansları ölçülerek grafiğe geçirilerek Job metoduna göre kompleks bileşimlerin tayini yapıldı.
- ✓ Spektroflorimetride yapılan titrasyon deneylerinden elde edilen verilerden faydalanılarak **4** ve **8** no'lu bileşiklerin Cu^{+2}, F^{-} ve $H_2PO_4^{-}$ iyonları ile oluşturduğu komplekslerinin, **12** no'lu bileşik ise Cu^{+2} iyonu ile oluşturduğu komplekslerinin söndürme sabitleri Stern-Volmer eşitliğine göre hesaplandı.
- ✓ Kompleks çalışmaları sonucunda **4** ve **8** no'lu bileşiklerin Cu^{+}, F^{-} ve $H_2PO_4^{-}$ iyonları ile, **12** no'lu bileşik ise Cu^{+2}, F^{-} ve CH_3COO^{-} iyonları ile oluşturduğu kompleksler A549 (akciğer kanseri) hücresi kullanılarak hücre içi görüntüleme kullanıldı.
- ✓ Sonuç olarak bu tez çalışmasında NBD grupları taşıyan kaliks[4]aren bileşikleri sentezlenendi ve bu bileşiklerin farklı metal katyonları ve anyonlara karşı spektroflorimetrik özellikleri floresans spektroskopisi ile incelendi. Job Plot metoduna göre komplekslerin bileşimi ve Stern-Volmer eşitliğine göre söndürme sabitleri hesaplandı. Bu sonuçların varlığında sentezlenen yeni

kaliks[4]aren bileşiklerinin Cu^{+2}, F^-, $H_2PO_4^-$ ve CH_3COO^- iyonlarına karşı sensör özellikte olduğu sonucuna varıldı ve A549 (akciğer kanseri) hücresi kullanılarak hücre içi görüntülemede kullanıldı.

- ✓ Bileşikler ve kompleksleri her ne kadar hücre içerisine girdiği görüntülendiyse de sitotoksisite çalışmaları yapıldıktan sonra toksik özellikte olup-olmadıkları belirlenecek. Eğer toksik özellikleri olmadıkları görülürse hücre içi görüntüleme çalışmalarında, toksik oldukları görülürse kanser çalışmalarında kullanıla bilecektir.

KAYNAKLAR

Alam, I., Sharma, S. K. ve Gutsche, C. D., 1994, The Quinone Methide Route to Mono- and Tetrasubstituted Calix [4] arenes, *J. Org. Chem.* 59 (13), 3716-3720.

Arduini, A., Manfredi, G., Pochini, A., Sicuri, A. R. ve Ungaro, R., , 1991, Selective formylation of calix [4] arenes at the 'upper rim'and synthesis of new cavitands, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (14), 936-937.

Arnaud-Neu, F., Collins, E. M., Deasy, M., Ferguson, G., Harris, S. J., Kaitner, B., Lough, A. J., McKervey, M. A. ve Marques, E., 1989, Synthesis, X-ray crystal structures, and cation-binding properties of alkyl calixaryl esters and ketones, a new family of macrocyclic molecular receptors, *Journal of the American Chemical Society*, 111 (23), 8681-8691.

Atwood, J. L., 2017, Comprehensive supramolecular chemistry II, Elsevier, p.

Bhatti, A. A., Oguz, M., Memon, S. ve Yilmaz, M., 2017, Dual Fluorescence Response of Newly Synthesized Naphthalene Appended Calix [4] arene Derivative towards Cu^{2+} and I^{-}, *Journal of Fluorescence*, 27 (1), 263-270.

Chawla, H., Pant, N., Srivastava, B. ve Upreti, S., 2006, Convenient Direct Synthesis of Bisformylated Calix [4] arenes via I pso Substitution, *Organic letters*, 8 (11), 2237-2240.

De Silva, A. P., Moody, T. S. ve Wright, G. D., 2009, Fluorescent PET (Photoinduced Electron Transfer) sensors as potent analytical tools, *Royal Society of Chemistry*, 134 (12), 2385-2393.

Deligöz, H. ve Ercan, N., 2002, The synthesis of some new derivatives of calix [4] arene containing azo groups, *Tetrahedron*, 58 (14), 2881-2884.

Dinda, S. K., Upadhyay, A., Polepalli, S., Althaf Hussain, M. ve Rao, C. P., 2019, Development of Nitrobenzoxadiazole-Appended Calix[4]arene Conjugate (L) for Selective Sensing of Trivalent Cr^{3+}, Fe^{3+}, and Al^{3+} Ions in Solution and in the Solid State and Imaging MCF7 cells by {L+ Al^{3+}}, *ACS Omega*, 4 (4), 7723-7733.

Erdemir, S. ve Malkondu, S., 2019, Calix[4]arene based a NIR-fluorescent sensor with an enhanced Stokes shift for the real-time visualization of Zn(II) in living cells, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 127574.

Gao, J. ve Guo, D. S., 2019, Supramolecular Medicine of Diverse Calixarene Derivatives, 1-30.

Gibbs, C. G. ve Gutsche, C. D., 1993, Calixarenes. 31. Synthesis and conformation of p-tert-butyltetramercaptocalix [4] arene, *Journal of the American Chemical Society*, 115 (12), 5338-5339.

Grabchev, I., Yordanova, S., Vasileva-Tonkova, E., Cangiotti, M., Fattori, A., Alexandrova, R., Stoyanov, S., Ottaviani, M. F., 2016, A novel benzofurazan-cyclam conjugate and its Cu (II) complex: Synthesis, characterization and in vitro cytotoxicity and antimicrobial activity, *Dys and Pigments*, 129, 71-79.

Groenen, L. C., Ruel, B. H., Casnati, A., Timmerman, P., Verboom, W., Harkema, S., Pochini, A., Ungaro, R. ve Reinhoudt, D. N., 1991, syn-1, 2-dialkylated calix[4]arenes: general intermediates in the NaH/DMF tetraalkylation of calix [4] arenes, *Tetrahedron Letters*, 32 (23), 2675-2678.

Gutsche, C. ve Iqbal, M., 2003, p-tert-Butylcalix [4] arene, *Organic Syntheses*, 68, 234-234.

Gutsche, C. D., Dhawan, B., Levine, J. A., No, K. H. ve Bauer, L. J., 1983, Calixarenes 9: Conformational isomers of the ethers and esters of calix [4] arenes, *Tetrahedron*, 39 (3), 409-426.

Gutsche, C. D. ve Pagoria, P. F., 1985, Calixarenes. 16. Functionalized calixarenes: the direct substitution route, *J. Org. Chem*, 50 (26), 5795-5802.

Gutsche, C. D. ve Lin, L.G., 1986, Calixarenes 12: the synthesis of functionalized calixarenes, *Tetrahedron*, 42 (6), 1633-1640.

Gutsche, C. D., Alam, I., Iqbal, M., Mangiafico, T., Nam, K. C., Rogers, J., See, K. A., 1989, Topics in calixarene chemistry, *Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry*, 7 (1), 61-72.

Hamada, F., Bott, S. G., Orr, G. W., Coleman, A. W., Zhang, H., Atwood, J. L., 1990, Thiocalix [4] arenes. I. Synthesis and structure of ethylthiocalix [4] arene methyl ether and the related structure of bromocalix [4] arene methyl ether, *Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry*, 9 (3), 195-206.

He, X., Wu, C., Qian, Y., Li, Y., Zhang, L., Ding, F., Chen, H. and Shen, J., 2019, Highly sensitive and selective light-up fluorescent probe for monitoring gallium and chromium ions in vitro and in vivo, *Royal Society of Chemistry*, 144 (12), 3807-3816.

Homocianu, M., Airinei A, Dorohoi D. O., 2011, Solvent effects on the electronic absorption and fluorescence spectra, *Journal of Advanced Research in Physics*, 2 (1).

Jiang, W., Fu, Q., Fan, H. and Wang, W., 2007, An NBD fluorophore-based sensitive and selective fluorescent probe for zinc ion, *Royal Society of Chemistry, Chemical Communications* (2), 259-261.

Kim, J. S. and Quang, D. T. 2007, Calixarene-derived fluorescent probes, *Chemical Reviews*, 107 (9), 3780-3799.

Kim, S. K., Bok, J. H., Bartsch, R. A., Lee, J. Y. ve Kim, J. S., 2005, A fluoride-selective PCT chemosensor based on formation of a static pyrene excimer, *Organic Letters*, 7 (22), 4839-4842.

Lee, M. H., Quang, D. T., Jung, H. S., Yoon, J., Lee, C.-H. ve Kim, J. S., 2007, Ion-induced FRET On−Off in fluorescent calix[4]arene, *The Journal Organic Chemistry*, 72 (11), 4242-4245.

Liu, Z., He, W. ve Guo, Z., 2013, Metal coordination in photoluminescent sensing, *Chemical Society Reviews*, 42 (4), 1568-1600.

Maity, D., Chakraborty, A., Gunupuru, R. ve Paul, P., 2011, Calix[4]arene based molecular sensors with pyrene as fluoregenic unit: Effect of solvent in ion selectivity and colorimetric detection of fluoride, *Inorganica Chimica Acta*, 372 (1), 126-135.

Meng, Q., Shi, Y., Wang, C., Jia, H., Gao, X., Zhang, R., Wang, Y. ve Zhang, Z., 2015a, NBD-based fluorescent chemosensor for the selective quantification of copper and sulfide in an aqueous solution and living cells, *Organic & biomolecular chemistry*, 13 (10), 2918-2926.

Meng, Q., Shi, Y., Wang, C., Jia, H., Gao, X., Zhang, R., Wang, Y., Zhang, Z., 2015b, NBD-based fluorescent chemosensor for the selective quantification of copper and sulfide in an aqueous solution and living cells, *Organic & biomolecular chemistry*, 13 (10), 2918-2926.

Morzherin, Y., Rudkevich, D. M., Verboom, W. ve Reinhoudt, D. N., 1993, Chlorosulfonylated calix [4] arenes: precursors for neutral anion receptors with a selectivity for hydrogen sulfate, *The Journal Organic Chemistry*, 58 (26), 7602-7605.

Neri, P., Sessler, J. L. ve Wang, M.-X., 2016, Calixarenes and beyond, Springer, p.

Nimse, S. B. ve Kim, T., 2013, Biological applications of functionalized calixarenes, *Chemical Society Reviews*,42 (1), 366-386.

Oguz, M., Bhatti, A. A., Karakurt, S., Aktas, M., Yilmaz, M., B., 2017, New water soluble Hg2+ selective fluorescent calix [4] arenes: Synthesis and application in living cells imaging, *Spectrochimica Acta Part:A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 171, 340-345.

Oguz, M., Gul, A., Karakurt, S. ve Yilmaz, M., 2019, Synthesis and evaluation of the antitumor activity of Calix [4] arene l-proline derivatives, *Bioorganic Chemistry*, 103207.

Ostaszewski, R., Stevens, T. W., Verboom, W., Reinhoudt, D. N. ve Kaspersen, F. M., 1991, Calix (aza-) crowns as potential ionophores for divalent and trivalent cations, *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 110 (6), 294-298.

Ozyilmaz, E., Cetinguney, S. ve Yilmaz, M., 2019, Encapsulation of lipase using magnetic fluorescent calix [4] arene derivatives; improvement of enzyme activity and stability, *International journal of biological macromolecules*, 133, 1042-1050.

Perret, F. ve Coleman, A. W., 2011, Biochemistry of anionic calix [n] arenes, *Chemical Communications*, 47 (26), 7303-7319.

Rodik, R. V., Boyko, V. I. ve Kalchenko, V. I., 2009, Calixarenes in bio-medical researches, *Calixarenes in Bio-Medical Researches*, 16 (13), 1630-1655.

Sahin, O., Erdemir, S., Uyanik, A. ve Yilmaz, M., 2009, Enantioselective hydrolysis of (R/S)-Naproxen methyl ester with sol–gel encapculated lipase in presence of calix [n] arene derivatives, A*pplied Catalysis A: General*, 369 (1-2), 36-41.

Sahin, O. ve Akceylan, E., 2014, A phenanthrene-based calix[4]arene as a fluorescent sensor for Cu^{2+} and F^{-}, *Tetrahedron*, 70 (39), 6944-6950.

Şahin, Ö., 2011, Floresans özellik gösteren kaliks[4]aren türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve bazı özelliklerinin incelenmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Shinkai, S., Mori, S., Koreishi, H., Tsubaki, T. and Manabe, O., 1986, Hexasulfonated calix [6] arene derivatives: a new class of catalysts, surfactants, and host molecules, *Journal of the American Chemical Society*, 108 (9), 2409-2416.

Shinkai, S., Araki, K., Grootenhuis, P. D. ve Reinhoudt, D. N., Perkin Transactions 2, 1991, p K a determination of water-soluble calix [4] arenes, (12), 1883-1886.

Tsien, R. Y., 1980, New calcium indicators and buffers with high selectivity against magnesium and protons: design, synthesis, and properties of prototype structures, *Biochemistry*, 19 (11), 2396-2404.

Uttam, B., Hussain, M. A., Joshi, S. ve Rao, C. P., 2018a, Physicochemical and Ion-Sensing Properties of Benzofurazan-Appended Calix [4] arene in Solution and on Gold Nanoparticles: Spectroscopy, Microscopy, and DFT Computations in Support of the Species of Recognition, *Acs Omega*, 3 (12), 16989-16999.

Uttam, B., Kandi, R., Hussain, M. A. ve Rao, C. P., 2018b, Fluorescent Lower Rim 1, 3-Dibenzooxadiazole Conjugate of Calix [4] arene in Selective Sensing of Fluoride in Solution and in Biological Cells Using Confocal Microscopy, *The Journal of Organic Chemistry*, 83 (19), 11850-11859.

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

Valeur, B., 2001, Molecular Fluorescence: Principles and Applications, *Wiley- VCH*,. Weinheim, Germany.

Verboom, W., Durie, A., Egberink, R. J., Asfari, Z. ve Reinhoudt, D. N., 1992, Ipso nitration of p-tert-butylcalix [4] arenes, *The Journal of Organic Chemistry*, 57 (4), 1313-1316.

Wardle, B., 2009, Principles and applications of photochemistry, John Wiley & Sons, p.

Yilmaz, M., Karanastasis, A. A., Chatziathanasiadou, M. V., Oguz, M., Kougioumtzi, A., Clemente, N., Kellici, T. F., Zafeiropoulos, N. E., Avgeropoulos, A. ve Mavromoustakos, Dianzani, U., Karakurt, S., and Tzakos A. G., 2019, Inclusion of quercetin in gold nanoparticles decorated with supramolecular hosts amplifies its tumor targeting properties 2, 7, 2715-2725.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Malak ALIZADA
Uyruğu : AZERBAYCAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Baku, 22.03.1996
Telefon : 05550596965
Faks : -
e-mail : malakalizada96@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	**311 No'lu Okul**	**2013**
Üniversite	:	**Bakü Devlet Üniversitesi**	**2017**
Yüksek Lisans	:	**Selçuk Universitesi**	**2020**
Doktora	:	-	

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

GÜL A., OĞUZ M., **ALİZADA M.**, KARAKURT S., YILMAZ M. 2019, DLD-1 ve MDA-231 Kanser Hücre Hatlarında *L*-Prolin Grubu Taşıyan Kaliks[4]aren Bileşiklerinin Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi, *Uluslararası 7. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi,* Antalya/Kemer (Sözlü Sunum).