

**FLORESANS ÖZELLİK GÖSTEREN PERİLEN TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE SENSÖR UYGULAMALARININ
ARAŞTIRILMASI**

İbrahim Berk GÜNAY

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Eylül-2019

**T.C.
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FLORESANS ÖZELLİK GÖSTEREN PERİLEN TÜREVLERİNİN SENTEZİ
VE SENSÖR UYGULAMALARININ ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
İbrahim Berk GÜNAY**

Ana Bilim Dalı: Kimya

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

KARAMAN 2019

TEZ ONAYI

İbrahim Berk GÜNAY tarafından hazırlanan "Floresans Özellik Gösteren Perilen Türevlerinin Sentezi ve Sensör Uygulamalarının Araştırılması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Juri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Doç. Dr. Ahmed Nuri KURŞUNLU

Doç. Dr. Aysel ÇİMEN

İmza:



Tez Savunma Tarihi: 16/09/2019

Yukarıdaki sonucu onaylarım



Doç. Dr. Kamil ARI
Enstitü Müdürü ✓

TEZ BİLDİRİMİ

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İbrahim Berk GÜNAY



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FLORESANS ÖZELLİK GÖSTEREN PERİLEN TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE SENSÖR UYGULAMALARININ ARAŞTIRILMASI

İbrahim Berk GÜNAY

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Eylül, 2019, 61 sayfa

Bu tez çalışması genel olarak 4 aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada, floresans özellik gösteren bir perilen türevi prob sentezlenmiş ve FT-IR, ¹H NMR ve kütle spektroskopisi gibi spektroskopik yöntemler kullanılarak karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında, sentezlenen molekülün metal iyonlarına karşı seçicilik ve duyarlılığı, floresans spektroskopisi kullanılarak incelenmiştir. Sentezlenen perilen türevi probun Hg²⁺ iyonuna duyarlı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca probun cevap süresi, tayin limiti ve seçicilik çalışmaları yapılmıştır.

Çalışmanın üçüncü kısmında ise sentezlenen molekül ve Hg²⁺ iyonu ile yapmış olduğu kompleksin teorik hesaplamaları yapılmıştır. Hesaplamalarda Gaussian 09W programı ve yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) yönteminin B3LYP fonksiyonu ile 6-31G(d) ve LANL2DZ baz seti kullanılarak moleküllerin geometrik optimize yapılarının yanında HOMO ve LUMO orbitalleri ve enerjileri hesaplanmıştır.

Çalışmanın son aşamasında ise geliştirilen floresans probun HepG2 karaciğer kanser hücrelerinde görüntüleme çalışması gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak, sentezlenen perilen türevli prob, Hg²⁺ metal iyonuna karşı yüksek seçicilik ve duyarlılık göstermiştir. Ayrıca hücre içi floresans görüntüleme çalışmalarında başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Perilen, Civa, Floresans, Sensör, Canlı hücre görüntüleme

ABSTRACT

Master Thesis

SYNTHESIS OF PERYLENE DERIVATIVES DEMONSTRATING FLUORESCENT PROPERTY AND INVESTIGATION OF SENSOR APPLICATIONS

İbrahim Berk GÜNAY

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof.Dr. İbrahim YILMAZ

September, 2019, 61 pages

This thesis consists of 4 stages. In the first stage, the perylene derivative probe which showed fluorescence behaviour was synthesized and characterized by using FT-IR, ¹H NMR and mass spectroscopy.

In the second stage of these study, the selectivity and sensitivity of the synthesized molecule against metal ions were investigated by using fluorescence spectroscopy. The synthesized perylene derivative probe was observed to be sensitive to Hg²⁺ ion. Besides, response time, detection limit and selectivity studies of the probe were performed.

In the third part of the study, the theoretical calculations of the synthesized molecule and its Hg²⁺ ion complex were made. In the calculations, HOMO and LUMO orbitals and were calculated by using Gaussian 09W program and density functional theory (DFT) method with B3LYP function 6-31G (d) and LANL2DZ basis set.

In the last part, imaging studies of the developed fluorescence sensor in the liver cancer cell HepG2 was performed.

As a result, the developed perylene derivative probe showed high selectivity and sensitivity to Hg²⁺ metal ion. Also, successful results have been obtained in intracellular fluorescence imaging studies.

Keywords: Perylene, Mercury, Fluorescence, Sensor, Live cell imaging

ÖNSÖZ

Bu tez, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kamil Özdađ Fen Fakóltesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. İbrahim YILMAZ danışmanlığında tamamlanarak, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek Lisans çalışmalarım sırasında her türlü bilgi ve önerileriyle tez çalışmamın yürütülmesinde bana yol gösteren danışmanım Prof. Dr. İbrahim YILMAZ'a

Yüksek Lisans çalışmalarımda bana her türlü bilgiyi ve kendi birikimini aktaran her zaman yanımda olan Doç. Dr Oktay Talaz ve Arş. Gör. Dr. şükriye Nihan KARUK ELMAS hocalarıma

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kamil Özdađ Fen Fakóltesi Kimya Bölümünün sahip olduğu tüm imkanlarından faydalanmamı sağlayan değerli hocalarıma ve Biyoloji bölümünden Doç. Dr. Gökhan SADİ ve Aykut BOSTANCI'ya

Hayatımın her aşamasında oldukları gibi eğitimim boyunca benden desteklerini eksik etmeyen annem, babam ve kardeşlerime

Her zaman yanımda olan hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen eşim Tuba GÜNAY'a teşekkürlerimi sunarım.

Hocalarım ve ailem iyi ki varsınız.

Bu araştırma Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca kabul edilen 02–YL–19 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

İbrahim Berk GÜNAY

Karaman-2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Moleküler Lüminesans.....	3
2.1.1.Floresans	3
2.2.1. Katyonların Tayini İçin Floresans Kemosensörler	8
2.1.3. Anyonların Tayini İçin Floresans Kemosensörler	18
2.2. Perilen.....	23
2.3. Teorik Hesaplama Yöntemleri.....	24
2.4.1. Geometrik Optimizasyon ve HOMO-LUMO Enerji Düzeyleri.....	24
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. Kullanılan Cihazlar	25
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	25
3.3. Kullanılan Çözeltiler.....	25
3.4. Sentez Çalışmaları	26
Şekil 3. 1 PDI/TMA'nın sentezi	26
3.4.1. N,N ⁰ -Bis[tris-(2-aminoetil)amin]-3,4,9,10-perylentetrakarbosilik bisimid (PBI-TRIS) Sentezi.....	26
3.4.2. N,N ⁰ -Bis[(((bis-2-(tiyofen-2ylmetil)amino)etil)-amino)etil]-3,4,9,10- perilen tetrakarbosilik bisimid (PDI/TMA) Sentezi	27
3.5. Sensör Çalışmaları.....	27
3.5.1. Sensörün Duyarlılığının İncelenmesi.....	27
3.5.2. Sensörün Cevap Süresinin Belirlenmesi	27
3.5.3. Sensörün Florimetri Titrasyonları	27
3.5.4. Sensörün Seçiciliğinin İncelenmesi	28
3.5.5. Sensörün Tayin Limiti ve Çalışma Aralığının Belirlenmesi.....	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29

4.1. PDI/TRIS ve PDI/TMA'nın Karakterizasyonu	29
4.2. Sensörün Parametrelerinin Belirlenmesi	34
4.2.1. Sensörün Metal İyonlarına Duyarlılığı	34
4.2.3. Sensörün Cevap Süresi Çalışması	36
4.2.4. Sensörün Hg ²⁺ Floresans Titrasyonu	37
4.2.5. Sensörün Tayin Limiti ve Çalışma Aralığı.....	38
4.2.6. Sensörün Benesi Hildebrand Bağlanma Sabiti	39
4.2.7. PDI/TMA-Hg ²⁺ Kompleksinin Job's Grafiği	40
4.2.8. Sensörünün Seçicilik Çalışması	41
4.3. Teorik Hesaplama Çalışmaları	42
4.3.1.PDI/TMA ve PDI/TMA-Hg'nin Geometrik Optimize Yapıları	42
4.3.2.PDI/TMA Molekül Orbitaleri ve Enerji Seviyeleri	43
4.4. Hücre Çalışması	46
5. SONUÇ.....	54
6. KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Jablonski enerji diagramı	4
Şekil 2.2 Absorpsiyon ve emisyon spektrum.....	5
Şekil 2.3 Floresans moleküler sensörlerde üç strateji.....	7
Şekil 2.4 Floresans kemosensör 1-3.....	9
Şekil 2.5 Floresans kemosensörler 4-9.....	11
Şekil 2.6 Floresans kemosensör 10 ve mitokondri içindeki pH tayini mekanizması	12
Şekil 2.7 Floresans kemosensör 12.....	14
Şekil 2.8 Floresans kemosensör 13.....	15
Şekil 2.9 Floresans kemosensör 14.....	16
Şekil 2.10 Floresans kemosensör 16.....	17
Şekil 2.11 Floresans kemosensör 17-19.....	17
Şekil 2.12 Floresans kemosensör 20-22.....	19
Şekil 2.13 Floresans kemosensör 23 ve 24.....	19
Şekil 2.14 Floresans kemosensör.....	20
Şekil 2.15 Floresans kemosensör 27 ve 28.....	22
Şekil 2.16 Perilendimid molekülünün yapısı.....	23
Şekil 2.17 Perilen diimit molekülünün yapısı.....	23
Şekil 3. 1 PDI/TMA'nın sentezi	26
Şekil 4.1 PDI/TRIS FT-IR spekturumu.....	29
Şekil 4.2 PDI/TMA'nın ¹ H NMR spekturumu	30
Şekil 4.3 PDI/TMA FT-IR spekturumu	31
Şekil 4. 4 PDI/TMA kütle spekturumu	32
Şekil 4. 5 PDI/TMA ve PDI/TMA-Hg(II) kompleksinin FT-IR spekturumlarının karşılaştırılması.....	32
Şekil 4. 6 PDI/TMA-Hg ²⁺ kompleksinin yapısı.....	33
Şekil 4.7 PDI/TMA'nin katyonlara olan duyarlılığı (DMSO, HEPES, v/v :5/95), (λ _{eks} :355 nm, λ _{em} :544 nm)	34
Şekil 4. 8PDI/TMA'nın metal katyonlar varlığında floresans cevabı (DMSO, HEPES, v/v : 5/95), (λ _{eks} :355 nm, λ _{em} :544 nm).....	34
Şekil 4. 9 PDI/TMA ve PDI/TMA-Hg ²⁺ için pH çalışması	35

Şekil 4.10 PDI/TMA'nın Hg^{2+} varlığında cevap süresi grafiği(DMSO, HEPES, v/v : 5/95), (λ_{eks} :355 nm, λ_{em} :544 nm)	36
Şekil 4.11 Farklı derişimlerdeki Hg^{2+} varlığında PDI/TMA çözeltilisinin floresans titrasyon grafiği (DMSO, HEPES, v/v : 5/95), (λ_{eks} :355 nm, λ_{em} :544 nm) ...	37
Şekil 4.12 PDI/TMA'nin 544 nm'deki floresans şiddetine karşı Hg^{2+} grafiği	38
Şekil 4.13 PDI/TMA'nin Hg^{2+} varlığında Benesi Hildebrand grafiği	39
Şekil 4.14 PDI/TMA- Hg^{2+} arasındaki kompleks sitokiyometrisinin için Job's grafiği .	40
Şekil 4.15 PDI/TMA'nin diğer metaller varlığında Hg^{2+} iyonuna floresans cevabı (DMSO, HEPES, v/v : 5/95), (λ_{eks} :355 nm, λ_{em} :544 nm)	41
Şekil 4.16 PDI/TMA'nin geometrik optimize yapısı	42
Şekil 4.17 PDI/TMA- Hg 'nin geometrik optimize yapısı	42
Şekil 4.18 PDI/TMA'nin HOMO orbitalleri	43
Şekil 4.19 PDI/TMA'nin LUMO orbitalleri.....	43
Şekil 4.20 PDI/TMA- Hg 'nin HOMO orbitalleri	44
Şekil 4.21 PDI/TMA- Hg 'nin LUMO orbitalleri.....	44
Şekil 4.22 PDI/TMA ve PDI/TMA- Hg 'nin enerji seviyeleri.....	45
Şekil 4.23 PDI/TMA'nin 12.5 μM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (30dk).....	46
Şekil 4.24 PDI/TMA'nin 25 μM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (30dk).....	47
Şekil 4.25 PDI/TMA'nin 50 μM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (30dk).....	47
Şekil 4.26 PDI/TMA'nin 100 μM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (30dk).....	48
Şekil 4.27 PDI/TMA'nin 12.5 μM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (60dk).....	48
Şekil 4.28 PDI/TMA'nin 25 μM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (60dk).....	49
Şekil 4.29 PDI/TMA'nin 50 μM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (60dk).....	49
Şekil 4.30 PDI/TMA'nin 100 μM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (60dk).....	50
Şekil 4.31 PDI/TMA'nin 12.5 ve 50 μM Hg^{2+} ile NEM varlığında floresans görüntüsü (30dk).....	51
Şekil 4.32 PDI/TMA'nin 50 ve 100 μM Hg^{2+} ile NEM varlığında floresans görüntüsü (30dk).....	52
Şekil 4.33 PDI/TMA'nin 12.5 ve 25 μM Hg^{2+} ile NEM varlığında floresans görüntüsü (60dk).....	52
Şekil 4.34 PDI/TMA'nin 50 ve 100 μM Hg^{2+} ile NEM varlığında floresans görüntüsü (60dk).....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

A
I ve F
K
S₀
S₁
R ve S
T
Q

Açıklama

Absorbans
Floresans şiddeti
Bağlanma sabiti
Temel hal
Uyarılmış hal
Referans ve örnek
Triplet
Kuartet

Kısaltmalar

PBS
PDI
TRIS
ACN
AIE
BODIPY
DMSO
HOMO
ISC
IR
LUMO
MS
NCL
NMR
TMA

Açıklama

Fosfat tamponu
Perilen-3,4,9,10-tetrakarboksilik dianhidrit
N,N⁰-Bis[tris-(2-aminoetil)amin]
Asetonitril
Agregasyon ile emisyon azalması
Boron-dipirometen
Dimetil sülfoksit
Yüksek enerjili dolu orbital
İç dönüşümü
İnfrared spektroskopisi
Düşük enerjili boş orbital
Kütle spektroskopisi
Doğal kimyasal ligasyon
Nükleer manyetik rezonans
N,N⁰-Bis[(((bis-2-(tiyofen-2yl-
metil)amino)etil)-amino)etil]

1. GİRİŞ

Sensörler maddenin enerjiyle etkileşimini ölçmeye yarayan cihazlardır. Sensörler ilk kullanıldığı zamanlarda büyükölçekli makro aygıtlar olarak düşünülmekteydi, fakat günümüzde nanoteknoloji alanında bile kullanılabilen sensörler geliştirilmektedir. Son dönemde tasarlanan uygun kimyasal sensörler, hedef analiti spesifik tanımakta ve basitçe sinyal mekanizmasından oluşmaktadır. Bu sensör stratejileri UV-GB, floresans gibi spektroskopik tekniklerle ölçülmektedir. 1980'li yılların başından itibaren kullanılmaya başlanan floresans sensörler günümüzde birçok alanda kendine uygulama alanı bulmuştur. Floresans sensörler biyokimyasal ve biyomedikal çalışmalardan klinik analizlere ve çevresel atıklara kadar bir çok alanda kullanılmaktadır (Bakker ve ark., 1997). Floresans kemosenörlerle yapılan optik görüntülemeler oldukça avantajlıdır. Floresans kemosenörler, belirli koşullar altında sinyal verebilirler ya da var olan optik özelliklerini hedef yapı ile etkileştiğinde kaybederek tayin işlemi gerçekleştirebilirler. Bu yöntem ile diğer sinyal girişimleri engellenerek, düşük konsantrasyonlardaki analitlerin tespiti mümkün olmaktadır. Ayrıca florimetrik olarak yapılan tayinler hızlı, pratik, ucuz ve düşük limitlerde analit tayini için oldukça avantajlıdır. Son dönemde, özellikle doğaya ve insan sağlığına oldukça zararlı olan Hg²⁺ iyonunun tayini yönelik floresans sensörler geliştirilmektedir.

Civa ağır metalinin insan vücudunda sebep olduğu bazı hastalıklara bakacak olursak; beyin fonksiyonlarında, böbrek, sinir sistemi ve DNA üzerinde bozulmalara, akciğerde tahrişe, bebeklerde ishal vb gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır. Civanın insan vücuduna olduğu kadar çevreyede birçok zararı bulunmaktadır. Bu etkilere ek olarak, çevreye atılan atıklardan havaya, toprağa, suya karışan civa hayvanlara ulaştığında ise metil civaya dönüşmektedir. Dolaylı yoldan hayvanlardan da yine insanlara geçmektedir. İnsanlar üç değişik civa formuyla etkileşebilirler, bunlar elemental civa, inorganik civa ve organik civadır (Clarkson, 1998). İnsanların inorganik civa ile etkileşiminin en önemli sebebi amalgam diş dolgularıdır (Davidson ve ark, 2004). Metil civa ile temas ise civa ile kirlenmiş sularda yaşayan büyük balıklar tüketilmesiyle gerçekleşmektedir (WHO, 2000). Organik Hg bileşikleri yağda çözünebilir ve kısa hidrokarbon zinciri olması sebebiyle gastrointestinal kolaylıkla emilirler.

Bu çalışmada Hg^{2+} metal iyonuna seçici perilen dimid türevi esaslı floresans sensör geliştirilmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında boyar malzemelerde sıklıkla tercih edilen perilen diimid molekülü kullanılarak N,N⁰-Bis[(((bis-2-(tiyofen-2-il-metil)amino)etil)-amino)etil]-3,4,9,10-perilen tetrakarbosilik bisimid (**PDI/TMA**) sentezlenip, karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ardından geliştirilen probun metal iyonlarına karşı seçicilik ve duyarlılığını floresans spektroskopisi kullanılarak incelenmiştir. Çalışmanın devamında, **PDI/TMA** ile **PDI/TMA-Hg²⁺**'nin geometrik optimize yapıları ve HOMO ile LUMO orbitalleriyle bunların enerji değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca HepG2 kanser hücreleri kullanılarak hücre görüntülemesi gerçekleştirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda geliştirmiş olduğumuz prob (**PDI/TMA**) ile insan vücudunda hastalıklara sebep olan Hg^{2+} metali tayin edilmiştir.

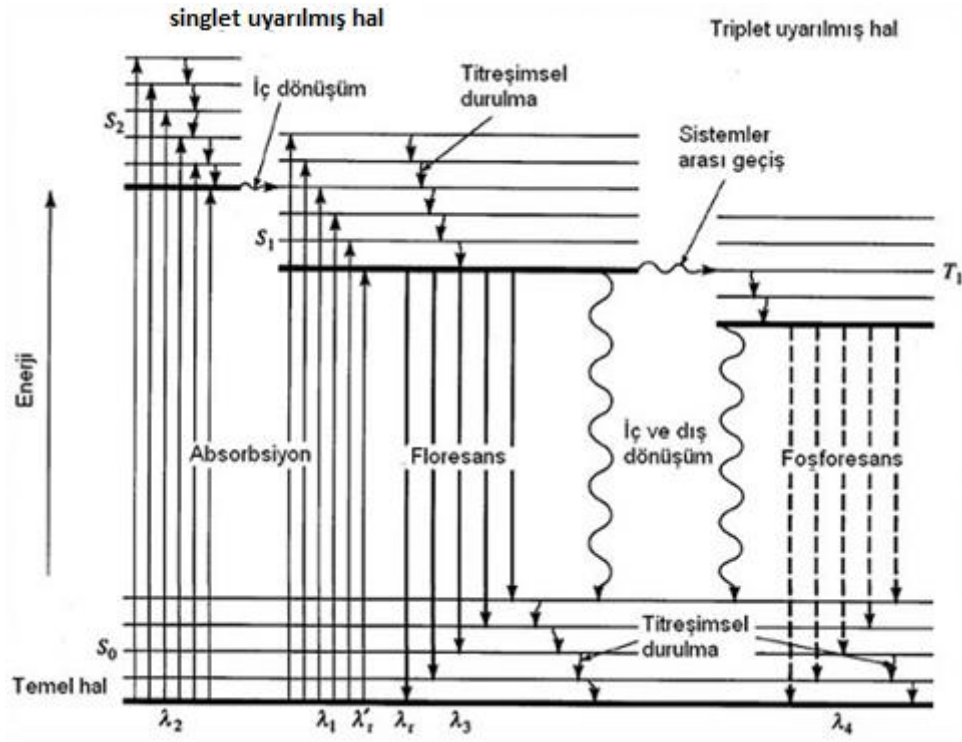
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Moleküler Lüminesans

2.1.1. Floresans

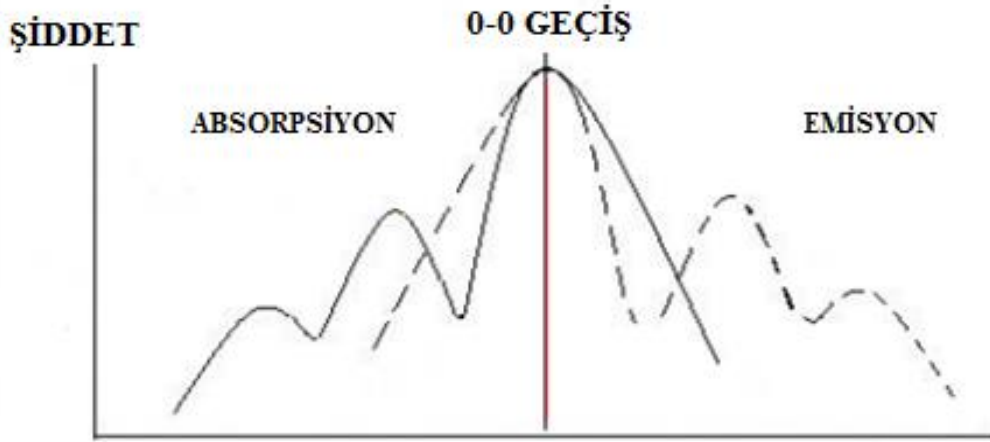
Fotonları soğuran bir moleküldeki elektron, temel halden uyarılarak yüksek enerjili seviyelere geçiş yapar. Bu uyarılmış elektronun temel hale geri dönmesi için birçok proses mevcuttur. Bu prosesler, Şekil 2.1.'de Jablonski diyagramı ile ifade edilmiştir. Bu diyagramdaki dolgun yatay hatlar, singlet (S_0 , S_1) ve triplet (T_1) elektronik enerji seviyelerini ifade etmektedir. İnce yatay çizgiler ise elektronik enerji seviyelerindeki titreşim seviyelerini ifade etmektedir. Sade siyah hatlar, foton ve elektron enerjisi arasındaki geçişleri, dalgalı çizgiler ise ışımsız geçişleri ifade eder (Jablonski Diagram, 2013). Uyarılmış molekül içerisindeki en süratli geçişler, farklı titreşim seviyeleri arasındaki geçişlerdir. Bu ışımsız geçişler, benzer enerji seviyelerindeki üç titreşim seviyesi arasındaki titreşimsel durulma ve farklı enerjili titreşim seviyeleri arasındaki iç dönüşüm diye isimlendirilir (Kuzu B., 2016).

Floresans, ışımaksızın diğer durulma proseslerine göre daha yavaş olduğundan dolayı foton soğurmalı moleküllerin genelinde floresans yoktur. Bunun yanında, kimi floresans ile ilk uyarılmış halden temel enerji seviyesine ulaşır. Floresans kimi moleküllerde fazla etkili olmasa da bazı moleküllerde soğurulan fotonların neredeyse hepsi floresansa sebep olabilir. Bu floresans verimi, soğurulan fotonların sayısına karşı yayılan (emisyon) fotonların sayısının oranıdır ve bu oran floresans kuantum verimi (Φ_F veya Φ_s) olarak isimlendirilir (Valeur, 2001). Floresans kuantum verimi aynı anda temel singlet halden floresansla dönme oranının bütün dönüş zamanlarının oranı arasındaki ilişki diye de ifade edilebilir. Bir elektronun singlet enerjili seviyesinden triplet enerji seviyesine geçmesi yasaklı olmasına rağmen bazı istisnalar gerçekleşmektedir. Sistemler arası geçiş (ISC) ismi verilen bu durum daha yavaş gerçekleşmektedir ancak bazı durumlarda bu süreç değişiklik gösterebilir. Elektronun triplet uyarılmış halden temel singlet hale geçişiyle meydana gelen ışımaya fosforesans adı verilir. Triplet halden singlet uyarılmış hale ve daha sonrasında temel singlet hale geçişe ise gecikmeli floresans denilir (Skoog ve ark., 2004).



Şekil 2.1 Jablonski enerji diagramı

Moleküldeki elektron UV-Vis fotonlarını absorbe ettiğinde, yüksek titreşim enerji seviyesine ulaşır. Elektron uyarılmış enerji seviyesinde, sahip olduğu fazla titreşim enerjisini yok etmeye çalışır. Bu fazla enerji, çarpışma ya da durulma prosesleriyle kaybedilebilir. Molekül enerjisini, uyarılmış halden en düşük titreşim enerji seviyesine ulaşana kadar kaybedebilir. Bu enerji seviyesine ulaştığında molekül, enerjisini floresans biçiminde yayabilir. Bu enerjiyi yayan molekül, temel enerji seviyesindeki rastgele bir titreşim enerji seviyesine inebilir. Şayet ışığı soğuran bütün moleküller bu prosesi gerçekleştirirse kuantum verimleri en yüksek değere ulaşacaktır. Farklı proseslerin takip edilmesi sonucu ise kuantum verimleri daha düşük olabilmektedir. Bu durumda kuantum verimi bazen sıfır bile olabilir. Temel haldeki en düşük titreşim bandı ile ilk uyarılmış enerji seviyesi arasındaki geçişe, 0-0 geçiş diye isimlendirilir (Şekil 2.2.). Floresans emisyonundaki rastgele bir geçiş, diğer bütün absorpsiyon geçişlerinden daha düşük enerjiye ihtiyaç duyar.



Şekil 2.2 Absorpsiyon ve emisyon spektrum

2.2.Floresans Moleküler Sensörler

Son dönemlerde analitik kimyada, klinik biyokimya, tıp ve çevre uygulamalarında floresansın kullanımı artmıştır. Çağımızda floresans, biyoteknoloji (Morrison ve Stols, 1993), akış sitometrisi (Gardner ve Hewlett, 2003), tıbbi tanı (Morrison ve Stols,1993), DNA dizilişi (Morrison ve Stols, 1993), adli tıp (Gardner ve Hewlett, 2003) ve genetik analiz (Gambetta ve Lagarias, 2001) uygulamalarında çokça kullanılan bir teknik durumuna gelmiştir. Floresans teknikler ile eş zamanlı olarak sayısız kimyasal ve biyokimyasal analit saptanabilmektedir (Katyonlar, anyonlar, nötr moleküller ve gazlar). Floresans tekniği yüksek seçiciliğe sahip olmasının yanı sıra önemli bir diğer konu biyokimyasal ölçümlerde pahalı ve radyoaktif maddelere gerek olmamasıdır. Çağımızda hücrel ve moleküler floresans görüntüleme uygulamalarının gerçekleştirilmesiyle, kimyasal analizlerde floresans uygulamalarında artış izlenmiştir.

Bilinen ilk florofor olan kinin (Heller ve ark., 1974) 1950'lerde icat edilen ilk spektrofluorometrelerin gelişmesine katkı sağlamıştır. Avrupa'daki İkinci Dünya Savaşı sırasında, kinini çeren antimalaria ilaçlar hızlı tanı koymak için kullanılmıştır. Buhuzlu ilaç denemeleri, Ulusal Sağlık Enstitüsü programında ilk kullanışlı spektrofluorometre deneyleri olarak kabul edilmektedir.

Floresans emisyon spektrumu floresans şiddetine karşı çizilen dalga boyu (nanometre) değerlerinden elde edilen grafiklerdir. Floresans emisyon spektrumu floroforun kimyasal yapısına ve çözündüğü çözücüyle bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bazı bileşiklerin

spektrumları (Klonis ve ark., 2001) temel ve uyarılmış durumdaki karakteristik titreşim enerjisinden dolayı önemlidir. Başka bileşikler, örneğin kinin gibi (Chen, 1967) titreşim yapısından yoksun spektrumlar gösterirler. Floresansın diğer önemli karakteristiği, yüksek duyarlılığıdır. 1877'de floresans duyarlılığı, Tuna ve Ren nehirlerinin yeraltı ilişkisini ispatlamak amacıyla kullanılmıştır (Axelrod ve ark., 1992). Nehirlerin birbiriyle bağlantısını floresein boyasının (yüksek derecede floresans boya) Tuna nehrine uygulanmasıyla kanıtlanmıştır. Floresans boyanın nehre uygulanmasından altmış saat sonra, ufak nehir kolunda tespit edilmiştir.

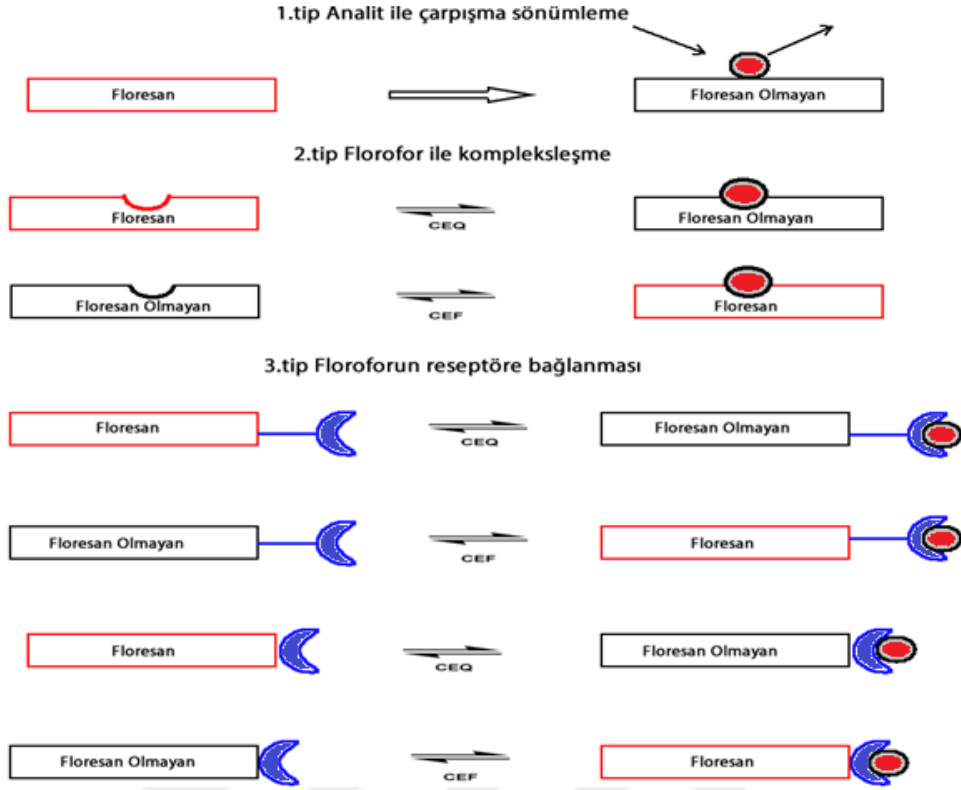
Floresans moleküler sensörlerin florofor kısmı sinyalizasyonu sağlamaktadır, analitten gelen optik sinyali bilgiye dönüştürerek nitel ve nicel analiz gerçekleştirilir.

Floresans moleküler sensörlerin etkileşim mekanizmaları üç prosesle gerçekleşmektedir.

1-Floroforun analit ile rastgele bir çarpışması, floresansın sönmülmesine sebep olabilir (Gaz partiküllerinin çarpışması gibi)

2-Bir analitin tersinir biçimde floroforla bağlandığı durumda iki ihtimal söz konusudur. İlki analitle floroforun bağlanmasıyla floresans şiddeti sönmülenebilir, bu kompleksleşme ile sönmülenmez. Analit ile birleştirmesi sonucu floresans şiddeti artış gösterirse, bu hâl kompleksleşme ile floresans artışı diye adlandırılır.

3-Floroforlar reseptörlere aralıklıyada aralıksız bağlanabilir. Floroforun analitle etkileşime girmesi esnasındaki fotofiziksel değişikliği, kimi optik proseslerin sonucudur (Elektron transferi, yük transferi, enerji transferi, eksimer oluşumu gibi). Bunun yanında analit ile koordinasyon halindeki kompleks ile floresans sönmülenebilir yada floresans artabilir. Yeniden floresans söndürülür (CEQ) yada analit koordinasyonunu takiben floresans artar (CEF).



Şekil 2.3 Floresans moleküler sensörlerde üç strateji

Bir bağlama bölgesi, bir florofor ve bu ikili arasındaki etkileşim mekanizmasına sahip bileşiklere floresans kemosensörler denir (Czarnik,1994). Bağlanma bölgeleri geri dönüşümlü olmayan kimyasal reaksiyonlar ile gerçekleşiyor ise bunlar floresans kemodosimetreler olarak tanımlanmaktadır. Bu iki tanım ve "floresans prob" terimi, son yıllarda birbirinin yerine çokça kullanılmaktadır. İlk floresans kemosensör, 1867'de F. Goppelsroder tarafından rapor edilmiştir ve Al(III) iyonu ile kuvvetli bir floresans morin şelatı oluşturarak aliminyum tayini için kullanılmıştı (Czarnik,1993). Bu çalışmayla başlayıp ilerleyen dönemde diğer birçok metal iyonunun tayini için çok sayıda floresans kemosensör geliştirilmiştir. Aslında erken floresans kemosensörleri, esas olarak anyonların veya nötr türlerin tespiti yerine metal iyonlarının tespitine yoğunlaşmıştır. Bunun nedeni, sudaki metal iyonlarının seçici bağlanması, anyonlardan veya nötr türlerden daha kolay olmasıdır. Bununla birlikte, 1980'den bu yana, modern kemosensörlerin gelişmesine öncülük eden Silva ve Czarnik tarafından ilham verici ve öncü çalışmalarla katalizlenen alan, son yıllarda ciddi bir büyüme ve gelişme göstermiştir (Silva ve ark., 1997) .

Son yıllarda çok sayıda farklı floresans kemosensör geliştirildi ve uygulanabilirlik kapsamı biyolojik olarak önemli birçok analiti içerecek şekilde genişletildi. Özellikle, biyolojik ve

çevresel olarak önemli katyonlar, anyonlar, küçük nötr moleküller ve biyomakromoleküller (proteinler ve DNA gibi) için floresans kemosensörleri, mikroskopik görüntüleme teknolojileriyle birlikte hızlı bir ilerleme göstermiştir.

Bir floresans kemosensörün analit tespiti, genellikle (1) şellatlanma ile indüklenmiş floresans (CHEF), (2) molekül içi yük transferi (ICT), (3) foto-indüklenmiş elektron transferi (PET), (4) agregasyonla indüklenen emisyon (AIE) dahil olmak üzere bir veya daha fazla yaygın fotofiziksel mekanizma yoluyla sağlanmaktadır ve yaklaşımların sayısı gün geçtikçe artmaktadır.

Yüksek hassasiyet özellikleri ile zamansal ve mekansal örnekleme için kullanılma kabiliyetleri nedeniyle, floresans kemosensörleri biyoloji, fizyoloji, farmakoloji ve çevre bilimleri gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak uygulanmaktadır. İki veya çok fotonlu uyarma, yüksek ve süper çözünürlüklü floresans mikroskopisinin ortaya çıkmasıyla, hücre içi biyolojik uygulamalarda oldukça hassas ve seçici kemosensörlere olan ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır.

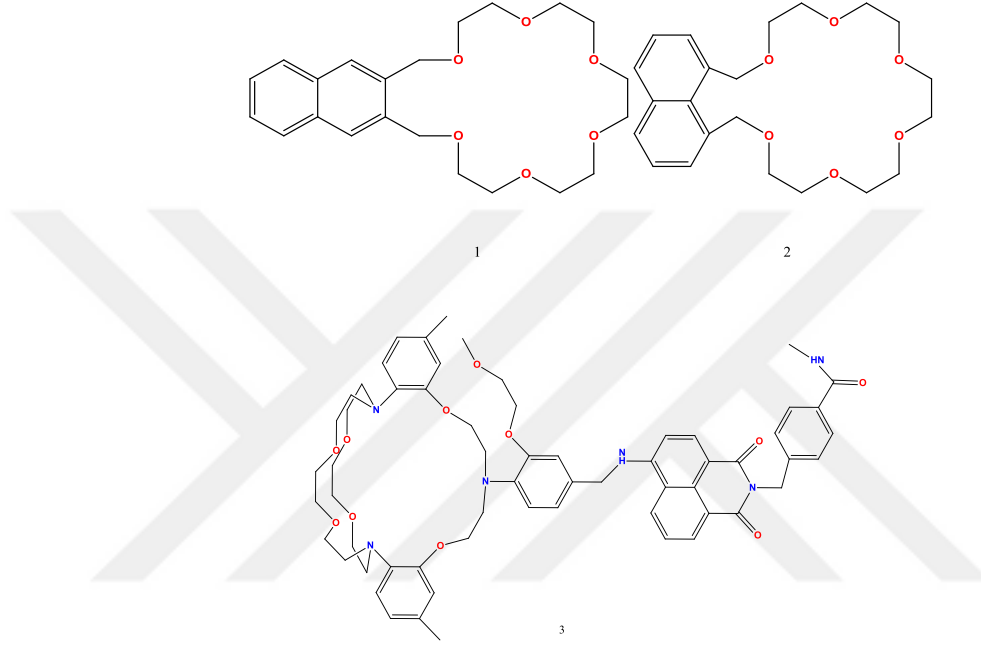
2.2.1. Katyonların Tayini İçin Floresans Kemosensörler

Günlük fizyolojik yaşamımızda hayati role sahip bir dizi metal iyonu vardır. Bunlara sodyum (Na^+) potasyum (K^+), kalsiyum (Ca^{2+}), bakır (Cu^+ ve Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+})'da dahildir. Bununla birlikte, kurşun (Pb^{2+}), kadmiyum (Cd^{2+}) ve civa (Hg^{2+}) gibi bazı metal iyonları toksiktir ve ciddi sağlık ve çevre sorunlarına neden olmaktadır.

2.2.1.1 Alkali Ve Toprak Alkali Metal İyonları İçin Floresans Kemosensörler

Yukarıda da bahsedildiği gibi, katyonlar için ilk kaydedilen floresans kemosensörü 1867'de Goppelsroder tarafından, morinin Al^{3+} tayini için kullandığı kemosensördür. Başlangıçta çoğu floresans kemosensör katyonlar ile koordinasyon etkileşimleriyle gerçekleşiyordu. Örneğin, Sousa ve ark. alkali metal iyonlarının tespiti için iki tane naftalen bazlı kemosensör 1 ve 2 rapor etmişlerdir (Şekil 2. 4). Bu, floresans kemosensör tasarımında supramoleküler kimyanın kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir (Larson ve ark., 1977). 1 nolu bileşik floresans kuantum veriminde bir düşüş, ayrıca fosforesans kuantum veriminde bir artış ve de 77 K'de % 95 etanol içerisinde alkali metal klorür tuzları ile bir kompleks oluşturduğunda fosforesans ömründe hafif bir azalma sergilemiştir. Aksine, 2'nin

potasyum (K^+), rubidyum (Rb^+) ve sezyum (Cs^+) klorür tuzlarıyla kompleksleştirilmesi, floresans kuantum veriminde gözle görülür bir artışa, ayrıca fosforesans kuantum veriminde bir düşüşe ve de fosforesans ömründe önemli bir azalmaya neden olmuştur. Bu gözlenen değişiklikler, ağır atom etkisine (Rb^+ ve Cs^+ için), temel ve uyarılmış singlet haldeki enerjilerine göre üçlü triplet halden düşük bir kompleksleşmeye, ayrıca katılma ve konformasyonel etkilerine bağlı olarak değişebilir.



Şekil 2.4 Floresans kemosensör 1-3

Potasyum iyonları (K^+) canlı organizmalardaki en önemli katyonlardan biridir, çünkü birçok biyolojik süreçte önemli rol oynamaktadırlar. Memelilerde, K^+ içindeki hücrelerin konsantrasyonu yaklaşık 150 mM'dir, bu konsantrasyon hücre dışı ortamdan yaklaşık 30 kat daha yüksektir. Potasyum dengesizlikleri, Alzheimer hastalığı (AD), anoreksiya, kalp hastalığı ve diyabet gibi birçok hastalıkla yakından ilgilidir. K^+ tayini için bir takım floresans kemosensör geliştirilmiştir. Halen, K^+ 'nın diğer fizyolojik olarak ilgili metal iyonları varlığında tespit edilmesinde, çok yüksek seçicilik sergileyen 2-triazakriptan [2,2,3]-1-(2-metoksietoksi) benzen (TAC) grubu kullanılmaktadır. TAC grubu ilk defa He ve ark. tarafından 2003 yılında literatüre kazandırılmıştır (Leiner ve ark., 2003).

PET mekanizmasına dayalı hücre dışında (serum veya tam kan) potasyum tayini için kemosensör 3'ü, TAC grubunu bir etilen grubu aracılığıyla 4-aminonaftalimidbazol bir polimere bağlamıştır. Bu kemosensör, tam kan numunelerinde potasyum

konsantrasyonlarındaki değişiklikleri hızlı ve geri dönüşümlü olarak tespit etmektedir. Dahası, klinik konsantrasyonlardaki Ca^{2+} 'nın tayininde, pH'nın ve girişim yaptığı bilinen Na^+ 'nın 160 mM'lık konsantrasyonlarına kadar herhangi bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Ek olarak, bu kemosensör ticari olarak temin edilebilen bir tam kan analiz cihazı olan Roche OPTI CCA'da kullanılmıştır ve bu sistem Silva ile işbirliği içinde geliştirilmiştir. TAC bazlı kemosensörler K^+ için yüksek seçicilik ve hassasiyet gösterse de bunların sentezleri genellikle uzun sentetik yollar ve sert reaksiyon koşulları gerektirmektedir. Dolayısıyla, TAC ile benzer özellikler gösterebilen daha kolay temin edilebilir ligandların geliştirilmesi için önemli talepler vardır.

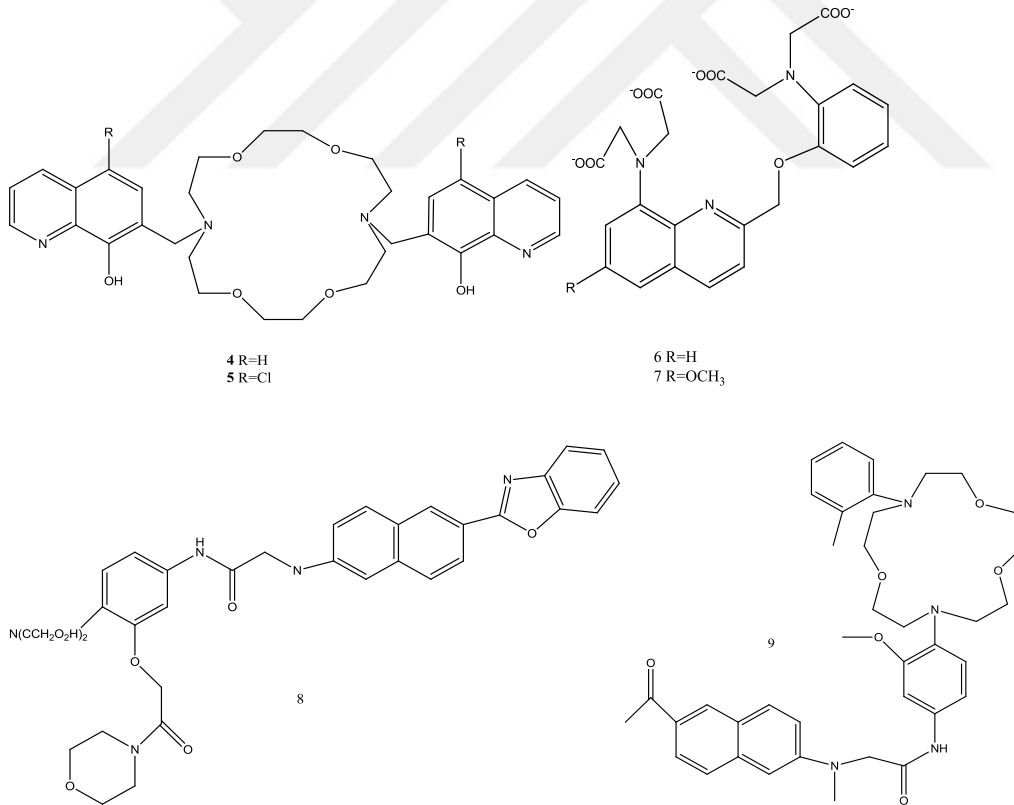
Bir enzim kofaktörü, DNA'nın konformasyonunun dengeleyicisi ve bir transmembran iyon taşınmasını kolaylaştırıcı role sahip olan magnezyum iyonu (Mg^{2+}), hücrelerde en bol bulunan iki değerlikli katyondur. Normal olmayan seviyelerdeki Mg^{2+} iyon konsantrasyonları migren, diyabet, hipertansiyon ve Parkinson hastalığı gibi birçok hastalıkla ilişkilidir. Hücresel magnezyum iyonlarını tespit etmek için, Farruggia ve ark. Mg^{2+} 'nın tespiti için iki adet 8-hidroksikinolin bazlı floresans kemosensör 4 ve 5'i geliştirmiştir (Wolf ve ark., 2006). Başlangıçta bu iki kemosensör, moleküller arası foto-kaynaklı proton transferi (PPT) ve PET mekanizmaları sebebiyle çok zayıf floresans gösterirler. Bununla birlikte, Mg^{2+} ile bağlandıktan sonra, PPT ve PET işlemi bloke olur ve bu durum floresans şiddetinde belirgin bir artışa neden olur.

Sırasıyla Kd'si 44 ve 73 μM olan 4 ve 5 kemosensörleri, Ca^{2+} dahil diğer katyonlar varlığında Mg^{2+} 'ya karşı yüksek seçicilik ve hassasiyet göstermiştir. Bu iki kemosensör canlı hücrelerde Mg^{2+} 'yı görüntülemek için kullanılmıştır. Bununla birlikte, bu iki kemosensörün pratik uygulamalar için kullanılabilirliğini engelleyen durumu, UV bölgesinde uyarılmalarının gereksinimidir.

Kalsiyum iyonlarının (Ca^{2+}), bir başka önemi toprak alkali metal iyonu olmasıdır. Ca^{2+} insan vücudunda en bol bulunan elementtir ve birçok biyolojik süreçte önemli rolleri vardır. Hücre içi serbest Ca^{2+} 'nin izlenmesi önemlidir, çünkü Ca^{2+} 'nin dengesizlikleri, nörodejenerasyon, kalp hastalığı ve iskelet kası defektleri gibi bir dizi hastalıkla ilişkilidir. Ca^{2+} için başlangıçta bildirilen floresans kemosensörleri (1) yarışmalı katyonlara karşı düşük seçicilik özellikle H^+ ve Mg^{2+} , (2) Ca^{2+} ile kompleks stokiometrisi, (3) moleküler tasarımın esnek olmaması veya farkı floroforlar ile şellatlama özelliğinin ayarlanmasından

rasyonel ve yinelemenin zorluğu gibi birçok sorun yaşanmaktadır (Tsien ve ark., 1980). Bu problemler ancak Nobel Ödüllü Roger Y. Tsien, 1980 yılında Ca^{2+} için 6 ve 7 nolu iki 1,2-bis (2-aminofenoksi) etan-N, N, N0, N0-tetraasetik asit (BAPTA) bazlı floresans kemosensörlerini geliştirdiğinde çözülmüştür (7). (Şekil 2. 5) (Tsien ve ark., 1980). Bu kemosensörlerin her ikisi de Mg^{2+} varlığında Ca^{2+} 'ya karşı iyi seçicilik ve duyarlılık göstermiştir. Bu çalışma hücre içi uygulamaları sırasında hücresel fonksiyonun ve hücrelerdeki biyokimyasal prosesler anlaşılmasında devrim yaratmıştır.

Floresans boyaların ve mikroskobik görüntüleme teknolojilerindeki gelişmeler ile birlikte, bir dizi BAPTA ve Ca^{2+} için üretilmiş floresans kemosensör rapor edilmiştir. 2010 yılında Kim, Cho ve arkadaşları, iki adet iki foton (TP) floresans kemosensör 8'i literatüre kazandırmıştır; burada 2-(20-morfolino-20-oksoetoksi) -N, N-bis (hidroksikarbonilmetil) anilin (MOBHA) Ca^{2+} reseptörü olarak ve 6- (benzo [d] oksazol-20-il) -2- (N, N-dimetilamino) naftalen florofor olarak kullanılmıştır (Şekil 2.5).

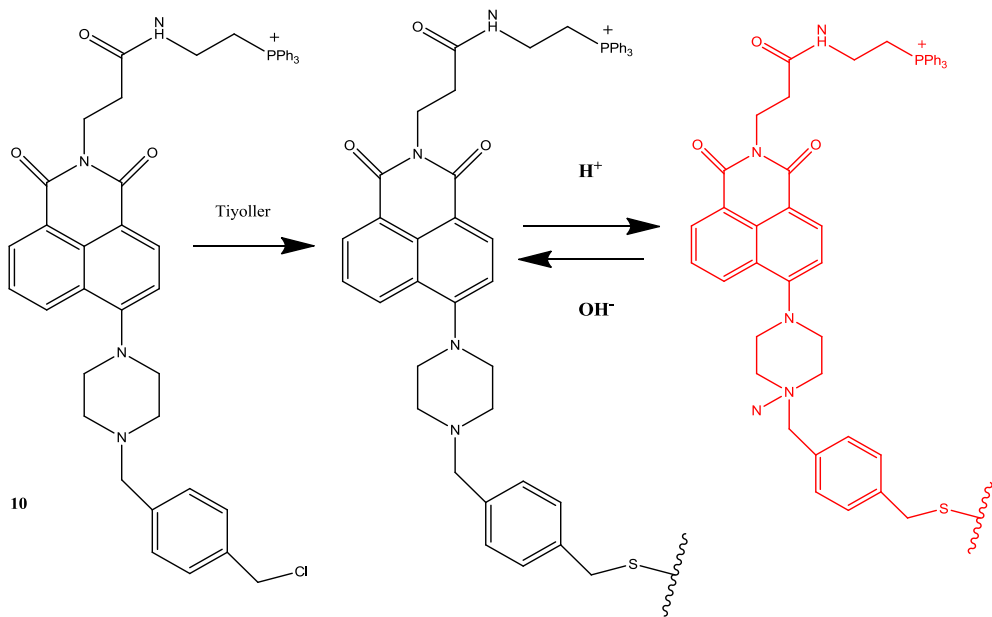


Şekil 2.5 Floresans kemosensörler 4-9

Chemosensor 8, Ca^{2+} için yüksek seçicilik göstermiştir ve biyolojik pH'lara karşı duyarlı olduğu saptanmıştır. Ca^{2+} homeostazı için hayati öneme sahip olan Na^+/Ca^{2+} değişim

prosesini anlamak için, Ca^{2+} kemosensörü 8 ve Na^+ kemosensörü 9, HeLa hücrelerinin hücre zarının yakınına uygulanarak, Ca^{2+} ve Na^+ 'nın eşzamanlı olarak tayinini gerçekleştirmiştir.

Proton (H^+) (veya hidronyum iyonu (H_3O^+)), en önemli yüklü türlerden biridir ve reseptör aracılı sinyal iletimi, iyon nakli, endositoz, homeostaz, proliferasyon ve apoptoz, çoklu ilaç direnci ve kas kasılması dahil olmak üzere birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli bir role sahiptir. Önemli bir organel olan mitokondri enerji üretimi, sinyal, hücre farklılaşması, hücre büyümesi ve ölümü gibi hücresel metabolizmada kritik bir role sahiptir. Mitokondrinin benzersiz işlevi pH'ya bağlıdır. Bu nedenle, mitokondriyal pH'nın ve özellikle mitofajiye bağlı değişikliklerin izlenmesi, fizyolojik ve patolojik koşullar altında mitokondriyal fonksiyona ilişkin içgörü sağlayabilmektedir. Sessler ve arkadaşları, pH'yı ölçmek için mitokondriye immobilize edilmiş bir floresans kemosensör olan 10 numaralı probu geliştirmişlerdir (Şekil 2. 6)(Lee ve ark., 2014). Kemosensör, PET prosesi nedeniyle nötral formda floresans değildir. Bununla birlikte, PET prosesi asidik pH'da inhibe edilir ve floresans artışı sağlar. Kemosensör 10'un mitokondride pH'nın nicel ölçümüne ve hücrelerde mitofajinin gerçek zamanlı izlenmesi için kullanılabilmesi belirtilmiştir. Bu sonuçlar, kemosensör 10'un biyolojik sistemlerde uygulanarak önemli potansiyele sahip olduğunu ve kurulu bir PET pH sensörünün basit yapısal modifikasyonlarıyla ortaya çıkan biyoteknolojilere yönelik yeni rotalar oluşturabileceğini göstermektedir.



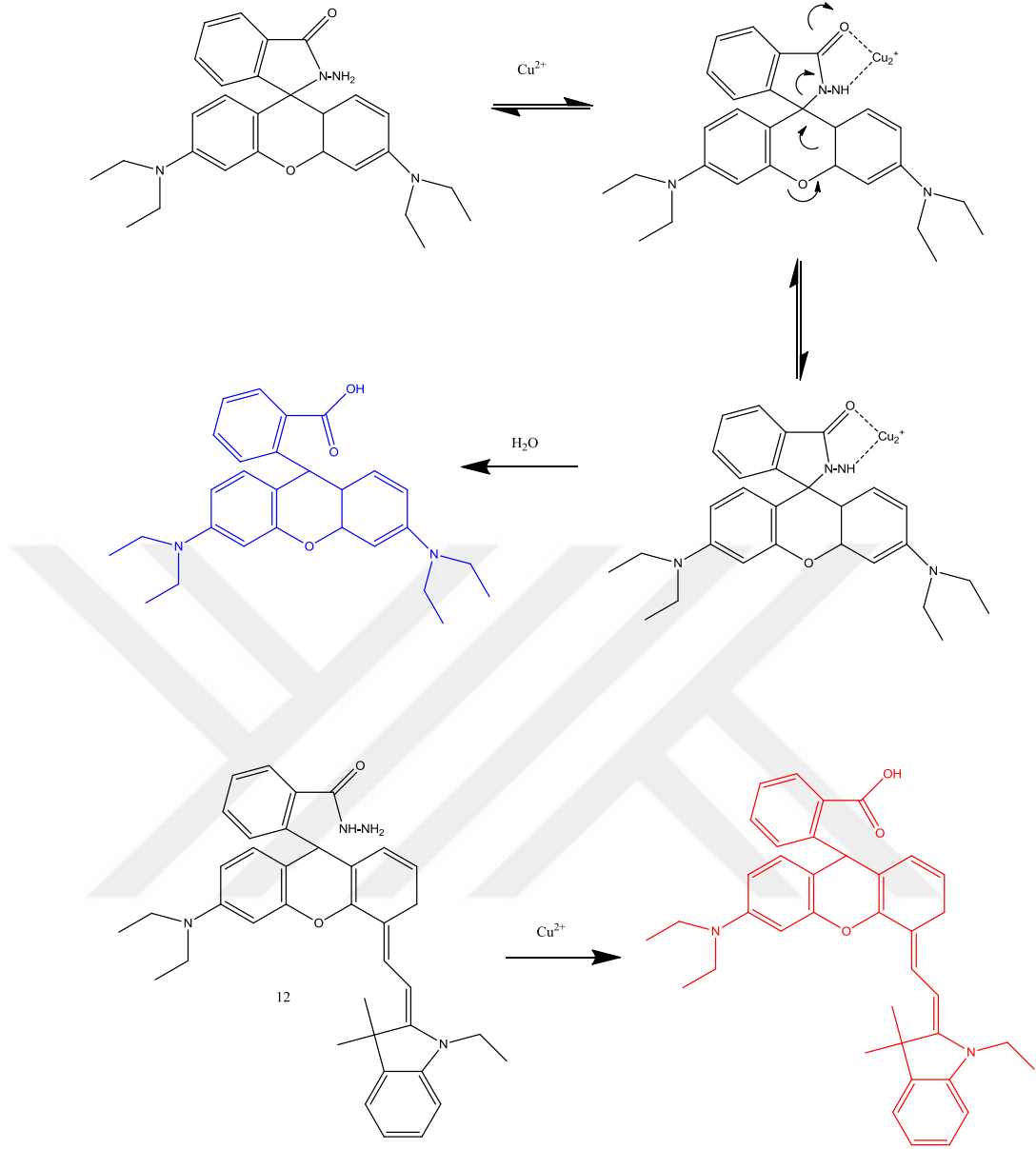
Şekil 2.6 Floresans kemosensör 10 ve mitokondri içindeki pH tayini mekanizması

2.1.2.2. d-blok Metal İyonları için Floresans Kemosensörler

Alkali ve toprak alkali metal iyonları için yukarıda tarif edilen floresans kemosensörlerin hepsinin koordinasyon etkileşimi üzerine kurulu olmasının aksine, d-blok metal iyonları spesifik reaksiyonları tetikleyebildiğinden geçiş metal iyonları için bazı kimyasal reaksiyon bazlı floresans kemosensörleri geliştirilmiştir. Analitleri algılamak için bu tür reaksiyonları kullanma stratejileri, kemosensörlerin gelişmesi alanında önemli ölçüde avantaj sağlamıştır. Bakır (Cu), insan vücudunda en bol bulunan üçüncü geçiş metalidir ve çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde rol oynamasından dolayı canlı organizmalar için önemlidir. Bakır homeostazı kaybı, Menkes (bakır eksikliği), Wilson (bakır aşırı yüklenmesi), Alzheimer hastalığı, prion bozuklukları, nörodejenerasyon ve kanser gibi hastalıklarla bağlantılıdır.

1997 yılında Czarnik ve arkadaşları, bir rodamin-B türevi ve bakır iyonunu (Cu^{2+}) tayini için halka açılma reaksiyonunu kullanarak öncü çalışmalar yapmışlardır (Dujols ve ark., 1997). Şekil 2. 7'de gösterildiği gibi floresans kemosensör 11, Cu^{2+} ile seçici bir hidroliz reaksiyonuna girmiş ve ürün olarak floresans rodamin B elde edilmiştir. Bu çalışma, floresans kemosensörlerde rodamin türevlerinin halka açılması işlemlerinden ötürü büyük dikkat çekmiştir.

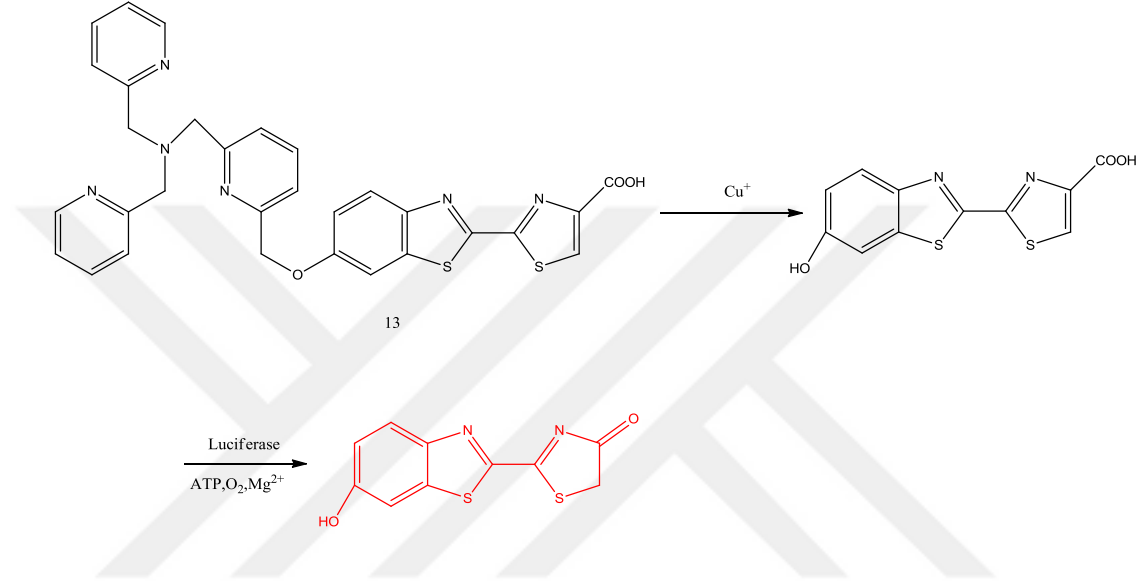
Aynı reaksiyona dayanarak, Li ve grubu Cu^{2+} için bir NIR floresans kemosensör 12'yi geliştirmişlerdir (Şekil 2. 7) (Liu ve ark., 2016). Kemosensör 12, diğer ilgili metal iyonlarına göre Cu^{2+} 'ya karşı yüksek duyarlılık ve seçicilik göstermiştir. Bu kemosensörün benzersiz tek foton frekanslı yukarı dönüşüm lüminesansı (FUCL) sergilemesi, özellikle dikkat çekicidir. Böylece kemosensör 12'nin Cu^{2+} ile reaksiyonu ile oluşan ürün hem 670 nm'de hem de 808 nm'de ışıkla uyarılabilmektedir. NIR uyarma (808 nm) ve NIR emisyonu (730 nm) ile ilişkili düşük arka plan sinyali nedeniyle, sulu çözeltide kemosensörün tayin limiti 3.2 ppb olarak belirlenmiştir. 670 nm'de uyarma ile Stokes floresans yöntemi kullanılarak hesaplanan tayin limiti yaklaşık 6,5 ppb'dir ve bu kullanılan yöntemde elde edilen tayin limiti çok daha düşüktür. Ayrıca, bu kemosensör Wilson hastalığına sahip canlı farelerde teşhis amacıyla kullanılmıştır ve bu durum tanısal algılama için umut vaat etmekte olduğu belirtilmiştir.



Şekil 2.7 Floresans kemosensör 12

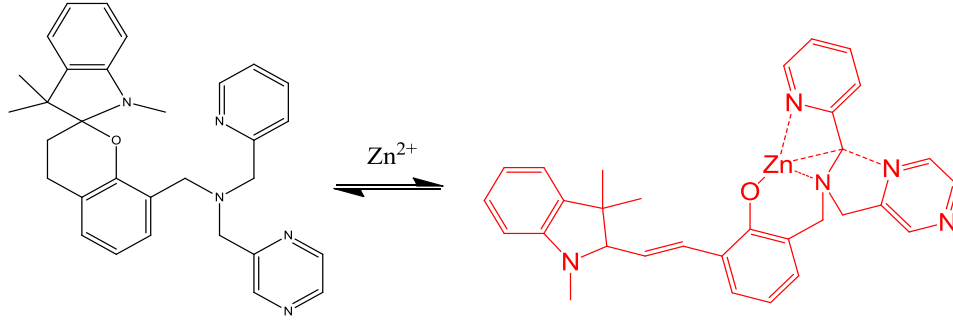
Fizyolojik koşullar altında, bakır kararlı oksitlenmiş Cu^{2+} ve indirgenmiş Cu^+ durumlarında bulunur. Cu^+ tespiti Cu^{2+} tespiti kadar önemlidir, ancak Cu^+ için Cu^{2+} 'dan çok daha az sayıda floresans kemosensör geliştirilmiştir. Chang ve grubu tarafından geliştirilen floresans kemosensör 13, bağlanma ve reaksiyon alanı olarak bir tris [(2-piridil)-metil]amin (TPA) ve bir biyoluminesans olan D-luciferi kullanarak elde edilmiştir (Şekil 2. 8). Genel olarak bilinen florofor bazlı kemosensörler ile bu biyoluminesans raportör tabanlı algılama platformlarını karşılaştıracak olursak biyoluminesans tabanlı kemosensörler düşük arka plana ve yüksek sinyal cevabına sahiptir. Kemosensör 13, diğer türlerin içinde sadece serbest Co^{2+} (100 mM) dışında Cu^+ 'ya karşı hassasiyeti ve seçiciliği gösterir.

Bununla birlikte, Co^{2+} (100 mM) konsantrasyonu fizyolojik olarak uygun bir konsantrasyon kabul edilmez, çünkü çoğu Co^{2+} proteinlere sıkıca bağlanmıştır. Kemosensör 13, farelerde alkolsüz yağlı karaciğer hastalığının değişken bakır konsantrasyonlarında görüntüleme işlemi için kullanılmıştır. Sonuçlar hepatic bakır eksikliğinin ve değişmiş bakır homeostaz proteinlerinin ekspresyon seviyelerinin, glukoz intoleransı ve kilo alımına eşlik ettiğini göstermektedir.



Şekil 2.8 Floresans kemosensör 13

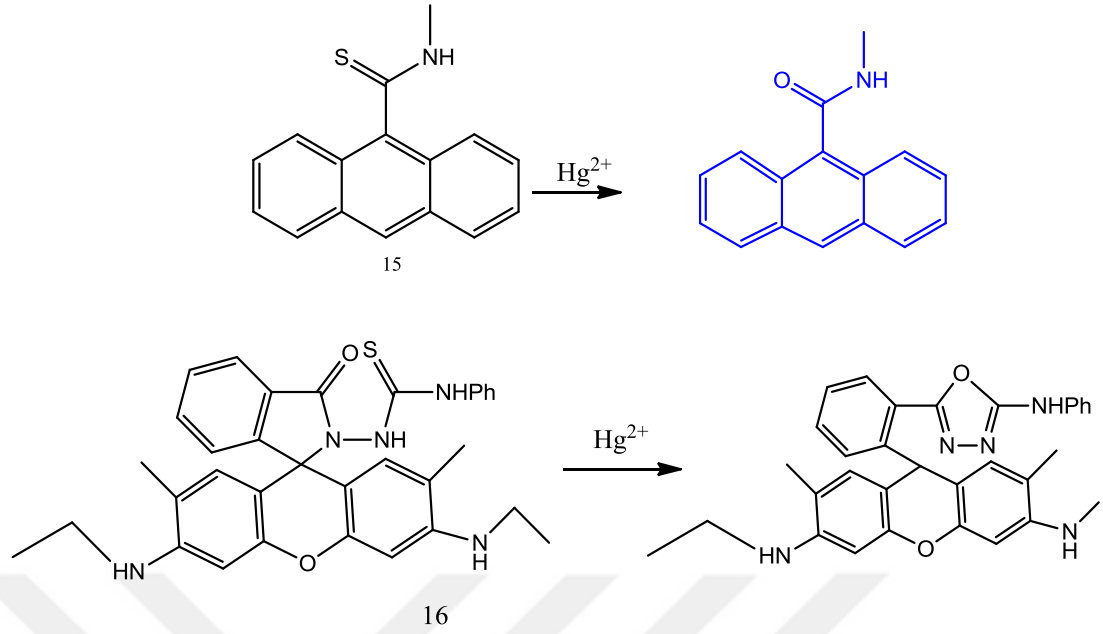
Çinko (Zn), insan vücudunda sıklıkla vücudun belirli dokularında, hareketli iyon havuzlarında bulunan ikinci en bol d blok metalidir. Serbest çinko iyonlarının homeostazındaki başarısızlık nörolojik hastalıklar ile yakından ilişkilidir ve serbest çinko iyonları (Zn^{2+})'da apoptozda (programlanmış hücre ölümü) rol oynarlar. Hareketli (mobil) çinko iyonları için küçük moleküllü floresans kemosensörlerin çoğu, bir florofor ve üçüncül aminler içeren bir şelatlama ünitesinden oluşur. Bununla birlikte, asidik pH bu sistemlerde Zn^{2+} iyonunun tayininde engel oluşturabilmektedir. Bu problemin üstesinden gelmek için, Lippard ve grubu Zn^{2+} için spirobenzopiran bazlı iki fotonlu floresans kemosensör 14'ü geliştirmiştir (Şekil 2. 9).(Rivera ve ark., 2015). Kemosensör 14, 3 ile 7 arasında geniş bir pH skalasında diğer ilgili metal iyonlarının varlığında Zn^{2+} 'yı seçici olarak tespit edebilmiştir.



Şekil 2.9 Floresans kemosensör 14

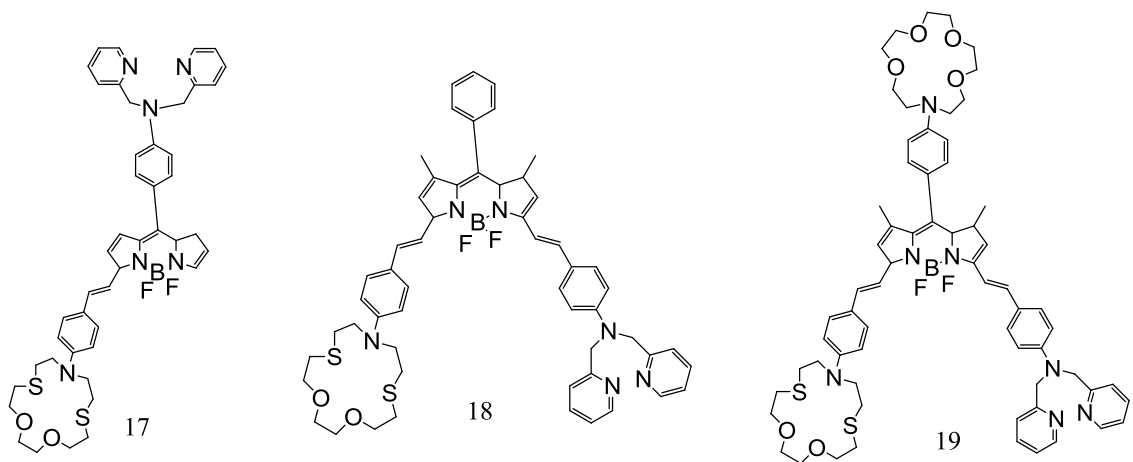
Civa altın üretiminde, kömür santrallerinde, termometreler, barometreler ve civa lambaları gibi birçok kaynaktan elde edilebilen dünyadaki en yaygın ölümcül toksik maddelerden biridir. Geçtiğimiz yıllarda Hg^{2+} 'nın tespiti için çok sayıda floresans kemosensör geliştirilmiştir. Czarnik ve arkadaşları kükürt giderme reaksiyonundaki çalışmalarını Hg^{2+} 'nın tiyofilik karakterini kullanarak gerçekleştirmiştir (Chae ve ark., 1992). İlk olarak, floresans kemosensör 15 PET prosesi nedeniyle floresans değildir. Hg^{2+} ilavesi floresansta bir artışa neden olurken, Ag^+ dışındaki diğer metal iyonları herhangi bir girişime neden olmamıştır (Şekil 2. 10).

Tae, Shin ve arkadaşları Hg^{2+} tayini için rodamin bazlı floresans kemosensör 16'yı geliştirdiler; bu kemosensör Hg^{2+} varlığında semikarbazid yapısından 1,3,4-oksadiazole elde edilmesine neden olmuştur (Şekil 2.10) (Yang ve ark.2006). Kükürt giderme reaksiyonlarında da kullanılabilen kemosensör 16, Ag^+ ve Pb^{2+} dahil diğer metal iyonları varlığında bile Hg^{2+} iyonuna karşı yüksek duyarlılık ve seçicilik göstermiştir. Ayrıca kemosensör, C2C12 hücrelerinde ve zebra balıklarında ekzojen Hg^{2+} alımını gerçek zamanda algılamak ve zebra balıklarının organlarında birikmiş Hg^{2+} tespit etmek için kullanılmıştır.



Şekil 2.10 Floresans kemosensör 16

"Kemosensör" ve "moleküler mantık" alanlarının arasındaki yakın ilişki nedeniyle, moleküler mantık geçidini oluşturmak için iki veya daha fazla bağlanma (reaksiyon) yerine sahip bir miktar floresans kemosensör kullanılmıştır. Örneğin, Akkaya ve arkadaşları, Hg^{2+} , Zn^{2+} ve Ca^{2+} kullanarak üç stiril-Bodipy bazlı moleküler mantık geçidi 17, 18 ve 19 kemosensörlerini geliştirmiştir (Şekil 2. 11) (Bozdemir ve ark., 2010). Kemosensör 19'da, dithiaazataç eter grubu bir Hg^{2+} bağlama bölgesi olarak kullanılırken, di-2-pikolamin (DPA) bir Zn^{2+} bağlama bölgesi olarak ve aza-taç eter ligandı Ca^{2+} bağlama bölgesi olarak kullanılmıştır.



Şekil 2.11 Floresans kemosensör 17-19

2.1.3. Anyonların Tayini İçin Floresans Kemosensörler

Anyon seçici kemosensörlerin gelişimi, anyonların kuvvetli hidratasyonu nedeniyle katyon kemosensörlerinin gerisinde kalmıştır. Bununla birlikte, günümüzde anyonların tespiti katyon algılama çalışmalarıyla uyumlu olarak daha gelişmiştir. Biyolojik ve endüstriyel süreçlerde anyonların oynadığı önemli rollerin yanı sıra, çevrede anyonik kirleticilerin tayinine yönelik yeni yöntemlere ihtiyaç artmaktadır. Literatürde sahip-konuk (host-guest) etkileşimi ya da kimyasal reaksiyonlar kullanılarak anyonların tespiti için geliştirilen bir dizi floresans kemosensör bulunmaktadır.

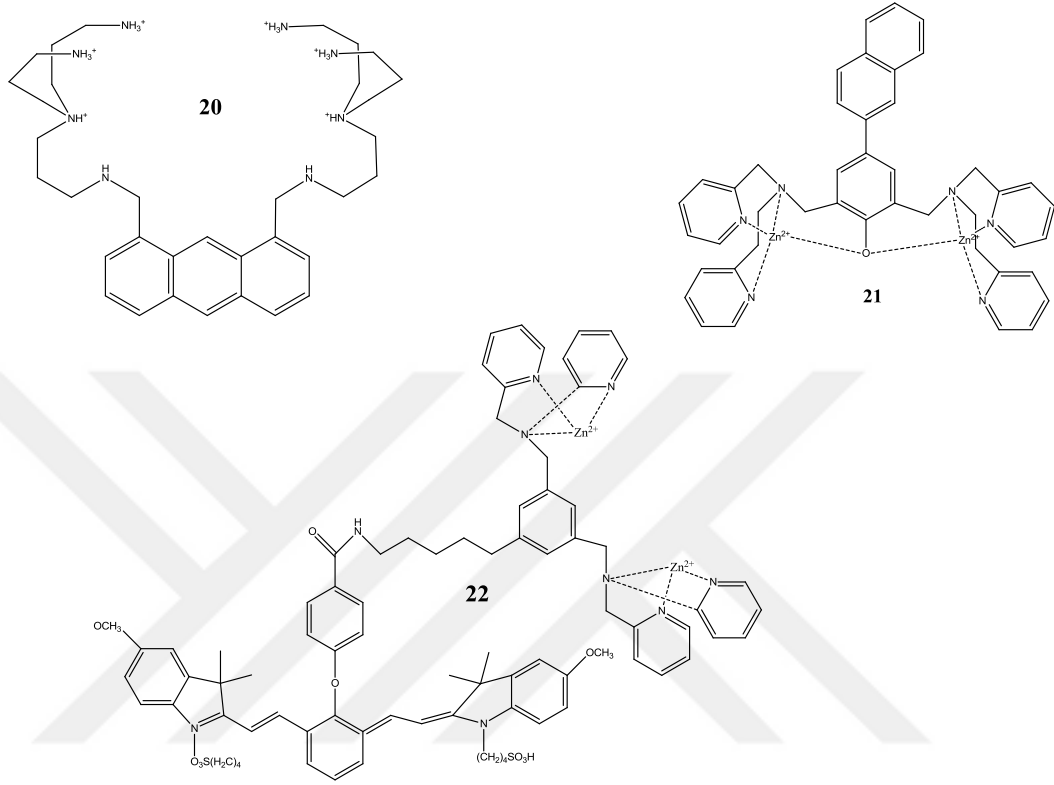
2.1.3.1 Anyonların Tayini için Sahip-Konuk (Host-Guest) Etkileşimi Stratejini Kullanan Floresans Kemosensörler

1994 yılında Czarnik ve arkadaşları, polyaazaalkan grupları içeren pirofosfat (PPi) tayini için bir antrasen türevi floresans kemosensör 20'yi geliştirmiştir (Şekil 2. 12) (Vance ve ark., 1994). Şekil 2.9'da da görüldüğü üzere PPi'ye benzer bir yapıya sahip olan fosfat (Pi) dahil olmak üzere diğer anyonlara varlığında PPi'ye karşı iyi seçicilik göstermiştir.

Zn²⁺ ile oluşturulan kemosensör komplekslerinin metal bölge ile PPi arasında kuvvetli bir bağlanma bölgesi olarak kullanılmasının nedeni Zn²⁺ ve PPi arasındaki güçlü bağlanma afinitesidir. Bu afinitenin kullanılması PPi tayini için oldukça başarılı bir strateji olduğunun anlaşılmasını sağlamıştır. Özellikle, Hong ve grubu bu kemosensör gelişimi alanını kapsamlı bir şekilde araştırmıştır. Grubun çalışmalarının bir kısmı Şekil 2.12'da gösterildiği gibi bir naftalen türevi bazlı Zn²⁺ kompleksi olan kemosensör 21'dir. Kemosensör 21, PPi tayini için Ka değeri 2,9 10⁸M olduğu hesaplanmıştır ve bu durum kemosensör 21'in PPi'yi sudaki nanomolar konsantrasyonlarında tespit edebileceği anlamına geldiği belirtilmiştir. Ayrıca kemosensör 21, 50 ile 250 kat ATP varlığında 1 eşdeğer PPi tespit edebildiği belirtilmiştir. Bu sensör PPi'yi sulu çözeltilerde ATP'den ayırt edebilen ilk kemosensör örneğidir.

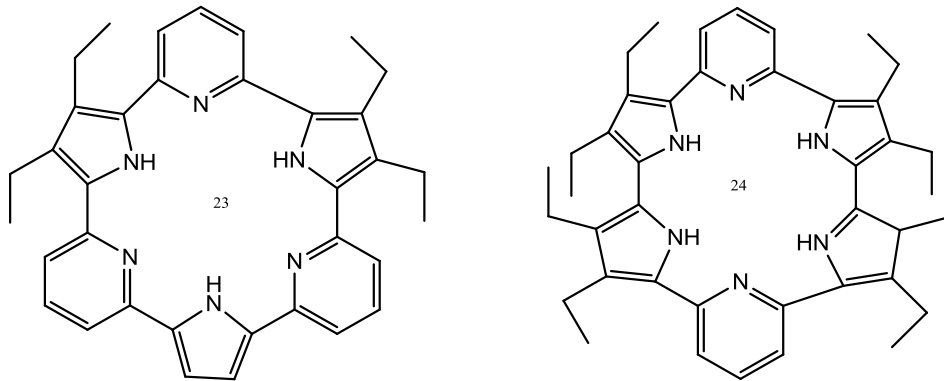
Smith ve arkadaşları, tümörlerin ve hücre ölümü olaylarının hücre içi optik görüntüleme için siyanin anyonunun tayinine olanak sağlayan Zn²⁺ ile kompleksleşebilen kemosensör 22'yi geliştirmişlerdir (Şekil 2. 12) (Smith ve ark., 2010). Çinko ile kompleksleşebilen kemosensör 22, iki farklı ksenograft hayvan modelinde prostat ve meme tümörlerinde

seçici olarak birikebildiği ve günümüzde ticari olarak temin edilebildiği belirtilmiştir. Bu durum gerçek hayatta pratik uygulamalar için uygulanabilen bir floresans kemosensöre mükemmel bir örnektir.



Şekil 2.12 Floresans kemosensör 20-22

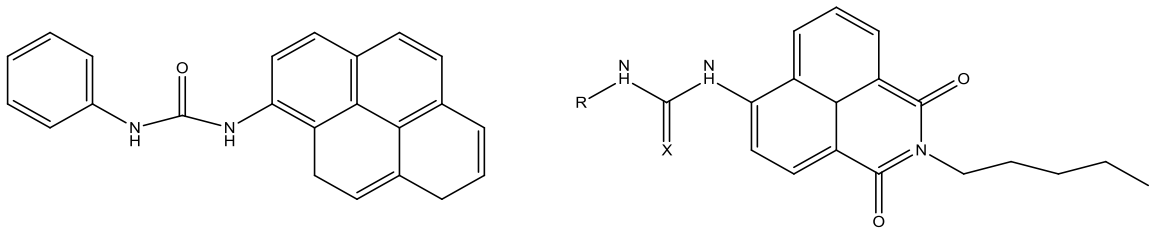
Sessler ve arkadaşları iki anyon kaynaklı genişletilmiş porfirin 23 ve 24 supramoleküler sensörleri rapor etmişlerdir (Şekil 2.13) (Zhang ve ark., 2015). Porfirinler 23 ve 24, hem anyonlar hem de organik çözücüler için kemosensör olarak kullanılabilir bir kaç diasit grup içeren supramoleküler polimerler oldukları belirtilmiştir.



Şekil 2.13 Floresans kemosensör 23 ve 24

Fabbrizzi ve Amendola grubu, bir florofor olarak ve üreyi bağlayıcı özelliğini olan piren grubu kullanılarak bir floresans kemosensör (25) geliştirmiştir. Chemosensör 25, F⁻iyonuna karşı "on-off-on" floresans yanıtı göstermiştir (Şekil 2.14) (Amendola ve ark., 2013). İlk olarak, kemosensör 25, MeCN içinde tipik piren emisyonunu 394 nm'de (on1) göstermiştir. Ardından, F⁻'nin eklenmesi üzerine floresans, lokal olarak uyarılmış kompleks içinde meydana gelen bir elektron transfer işleminden ve lokal olarak uyarılmış kompleksin zayıf emisyonlu uyarılmış tautomere dönüştürülmesinden dolayı azalır (off2). F⁻'nin ilave edilmesinin ardından floresans tekrar elde edilir ve 500 nm'de (on2) yeni bir emisyon bandı ortaya çıkar. Bu da deprotonlanmış reseptör tarafından bir yük transfer emisyonuna bağlanmıştır.

Gale ve arkadaşları, üre veya tiyoüre reseptörlerini içeren naftalimid floroforlarından oluşan bir dizi floresans anyon sensörü kemosensör 26a-f'yi tasarlayıp ve sentezlemiştir (Şekil 2.14) (Berry ve ark., 2016). Bu sensörler hücre içinde iki farklı lokalizasyon modu gösterir. Aromatik süstitüe edilmiş taşıyıcılar sitoplazma içinde lokalize olur ve daha az lipofilik alkil süstitüe edilmiş taşıyıcılar zaman içerisinde spesifik veziküllerde lokalize olurlar. Dahası, aromatik susitiyeli 26c-f'nin hepsi, kanser hücresi hatlarında sitotoksititeyi azaltmıştır, 26f A549 hücrelerinin apoptozunu azaltırken, alkil grupları içeren 26a ve 26b, kanser hücreleri için toksik değildir. Bu sonuçlar, toksik etkilerin, plazma zarından ziyade hücre içi zarlar boyunca iyonik veya pH gradyanlarındaki değişikliklere ilgili olabileceğini göstermektedir.



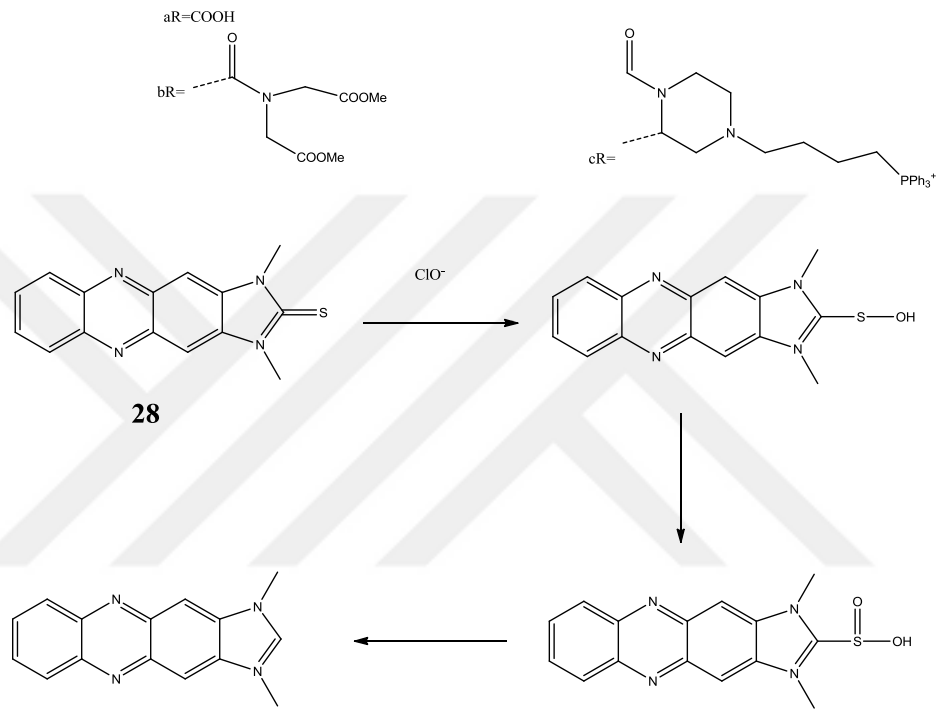
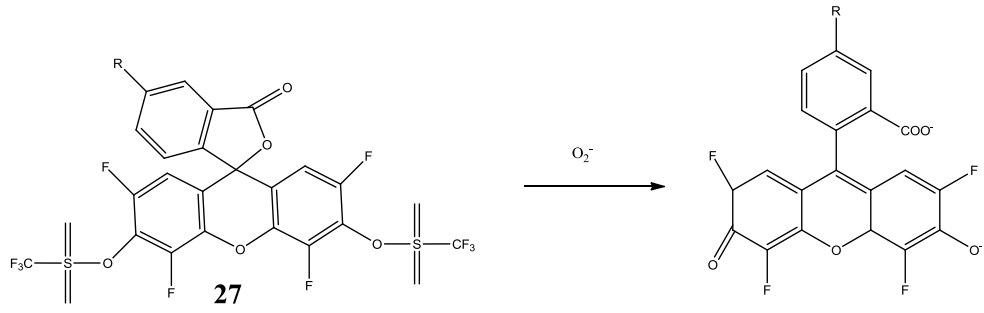
Şekil 2.14 Floresans kemosensör

2.1.3.2 Kimyasal Reaksiyonlara Dayalı Anyon Floresans Kemosensörleri

Yukarıda tartışılan anyonların tespiti için sahip-konuk (host-guest) etkileşimi bazlı floresans kemosensörleri yanı sıra, anyonlar için bir dizi kimyasal reaksiyon bazlı floresan kemosensörü geliştirilmiştir. Bunlar, reaktif anyonların (reaktif oksijen (ROS) ve azot (RNS) türlerinin) tespitini içerir. Süperoksit radikali (O₂) moleküler oksijenin bir elektron

indirgemesi ile üretilir. ROS ve RNS diğer belirtecilerdir. Bu nedenle, O₂ ile hastalıklar arasındaki ilişkinin aydınlatılması büyük öneme sahiptir. Yang ve grubu, ROS/RNS tayinine yönelik bir dizi yeni floresans kemosensör geliştirmiştir. 2015 yılında, O₂ tayini için floresein bazlı kemosensörleri geliştirmişlerdir (Şekil 2.15) (Hu ve ark., 2015). Triflorometil grubunun bu kemosensörlerde önemli bir rol oynadığını belirtmek gerekir. Güçlü bir elektron çeken grup olan sülfonat esteri O₂ tarafından nükleofilik atak yapar ve aktive olur ve böylelikle serbest floroforlar elde edilir. Triflorometil grubu, sistein (Cys) ve glutasyon (Gsh) gibi hücrel indirgeyicilerin de girişimini önleyebilir. Tüm bu üç flüoresans kemosensörü, diğer ROS / RNS ve tiyoller varlığında O₂'yi spesifik olarak tespit edebilir. Ayrıca, 27c, mitokondride O₂ değişimlerini izlemek için kullanılmasına izin veren bir trifenilfosfonyum grubu içerir.

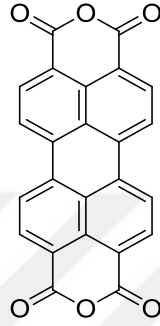
Yoon, Kim ve arkadaşları, imidazolin-2-trion bazlı iki foton floresans kemosensör 28'i rapor etmişlerdir (Şekil 2.12). İlk olarak, kemosensör 28 PBS tamponunda floresans değildir. ClO₄ ilave edildiğinde imidazolyumun oluşumu nedeniyle 505 nm'de çarpıcı bir şekilde floresans artışı gözlenir. ROS/RNS varlığı kemosensörün ClO₄'ya karşı üstün seçiciliğini etkilememektedir. Chemosensör 28 ayrıca ClO₄'ü 0.071 mM tayin limiti ile yüksek hassasiyetle saptamıştır. Ayrıca canlı hücrelerde ve dokularda ClO₄ görüntülemeye uygulanmıştır.



Şekil 2.15 Floresans kemosensör 27 ve 28

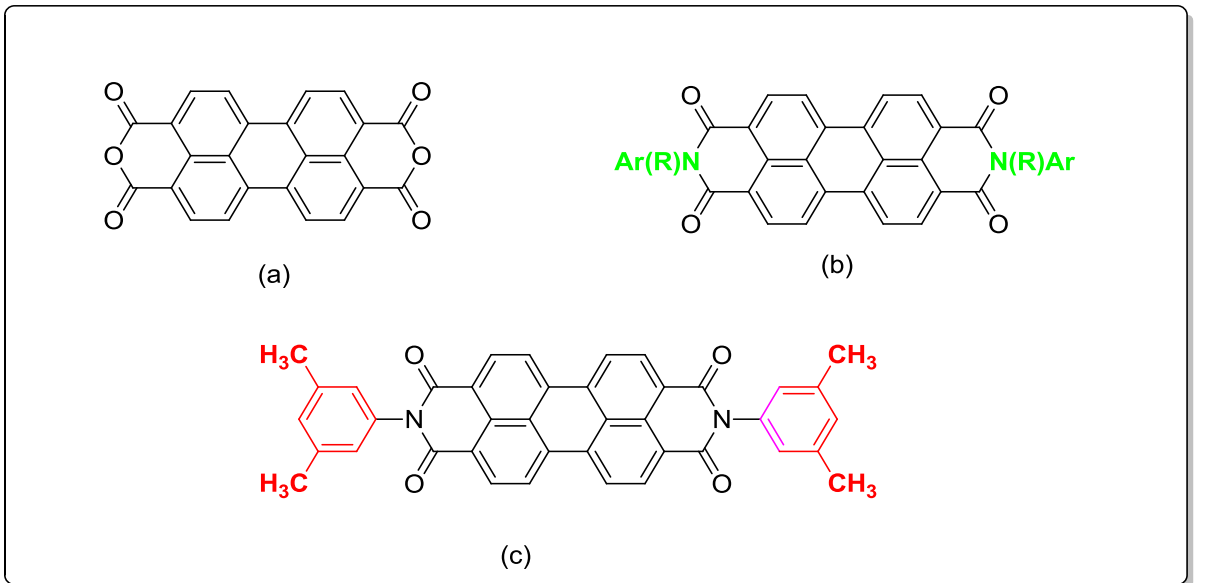
2.2. Perilen

Perilen bisanhidrit molekül formülü ile polisiklik aromatik hidrokarbon sınıfındadır. Perilen bisanhidrit ilk olarak 1913 tarihinde Kardos sentezlemesini yapmış olup, yüksek foto-kararlılık dolayı boyar madde sınıfında kullanılmıştır (Lee ve ark., 1999). Perilenin sentez türevlerinde renk kırmızıdan yeşile, kahverengi mora, mordan siyaha geniş aralıklı bir boyama özelliğine sahiptirler.



Şekil 2.16 Perilendimid molekülünün yapısı

Perilen sentezlerinin türevlerindeki boyar madde özelliklerine ek bilgi olarak, optik, elektronik ve fotokimyasal özellikler sebebiyle organik fotovoltaiik hücreler boya lazerleri, güneş pilleri vb birçok alanda çalışmalarda bulunmaktadır. Perilen diimit türevlerini renk skalaları oldukça geniştir. Pigment kırmızı 149 sarı renkte olduğu görülürken, pigment kırmızı 178 ve pigment 179 mavi-gölgeli kırmızı renge sahiptirler (Şekil 2-17).



Şekil 2.17 Perilen diimit molekülünün yapısı

2.3. Teorik Hesaplama Yöntemleri

Günümüzde kimya üzerinde yapılan çalışmalar; molekül yapısı, enerji seviyeleri vb. özelliklerinin incelenmesi reaksiyona gerek duymadan teorik olarak hesaplaması yapıp önceden bir tanı koyulabilmektedir. Teorik hesaplama yapılan kimyasal çalışmalarda; molekülün modellenmesi, üçboyutlu olarak moleküllerin görüntüsünü elde edebilmesi gibi birçok çalışma yapılabilmektedir. Bir deneyle molekülün yapısının elektron yoğunluğunu nmr spektrumu uv spekturumu gibi birçok karakterizasyonu yapılması imkansızdır. Teorik hesaplamalı kimyada ise bu verilerin hepsini tek bir işlemle ve daha hızlı, daha pratik, daha az maliyetli olarak yapılmaktadır. En önemli çalışmalardan biriside ilaç sektöründe yaşanmaktadır. İnsan üzerinde yeni yapılmış bir ilacı denemeden insan vücudundaki aminoasitleri hücreleri vb etkenleri teorik hesaplamalı kimyada alıp insan üzerinde denemeden ilacın etkisi öngörülebilmektedir (Hargittai, 2001; Yarlıgan, 2001; Canavar, 2012).

Teorik hesaplamalı kimyanın programlarındaki hesaplanabilen özellikler ise sırası ile;

Moleküler Geometri: Sentezlenecek molekülün bağ açısı ve uzunluğu, elektron geçişi sırasında enerji seviyesi ve HOMO LUMO orbitalleri.

Kimyasal Reaktif Bölgeleri: Molekülde elektron yoğunluğunun tespit edilmesi ve nükleofilik ile elektrofilik bölgelerinin tespit edilmesi.

Enzim ile Substrat Etkileşimi: Yeni yapılan bir ilacın enzimler bağlanması uyumlu olup olmamasının ilişkisi (Yarlıgan, 2001).

2.4.1. Geometrik Optimizasyon ve HOMO-LUMO Enerji Düzeyleri

Hesaplaması yapılan moleküler yapıların, belirli bir düzende ve geometrik yapıda olması gerekmektedir. Molekülün içindeki en küçük farklılık molekülün enerjisini ve birçok özelliğininde değişmesine neden olmaktadır. Optimizasyon hesaplamalarında molekülü ifade eden koordinatlarla (bağ açıları ve uzunlukları gibi) yaklaşık olarak bir geometrisi öngörülür ve bu durumda enerjisi minimum düzeye indirilir. Molekülün geometrisi enerjisi değişmediği zamana kadar değiştirilir ve geometrik optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiş olur.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Cihazlar

Sentezlenen moleküllerin karakterizasyonlarında ^1H NMR spektrumu Bruker 400 MHz spektrofotometre ile, IR spektrumları Perkin Elmer FT-IR Spektrofotometre-spectrum 100 ile alınmıştır. Floresans spektroskopisi uygulamalarından Agilent Cary Eclipse Floresans Spektrometre cihazları kullanılmıştır.

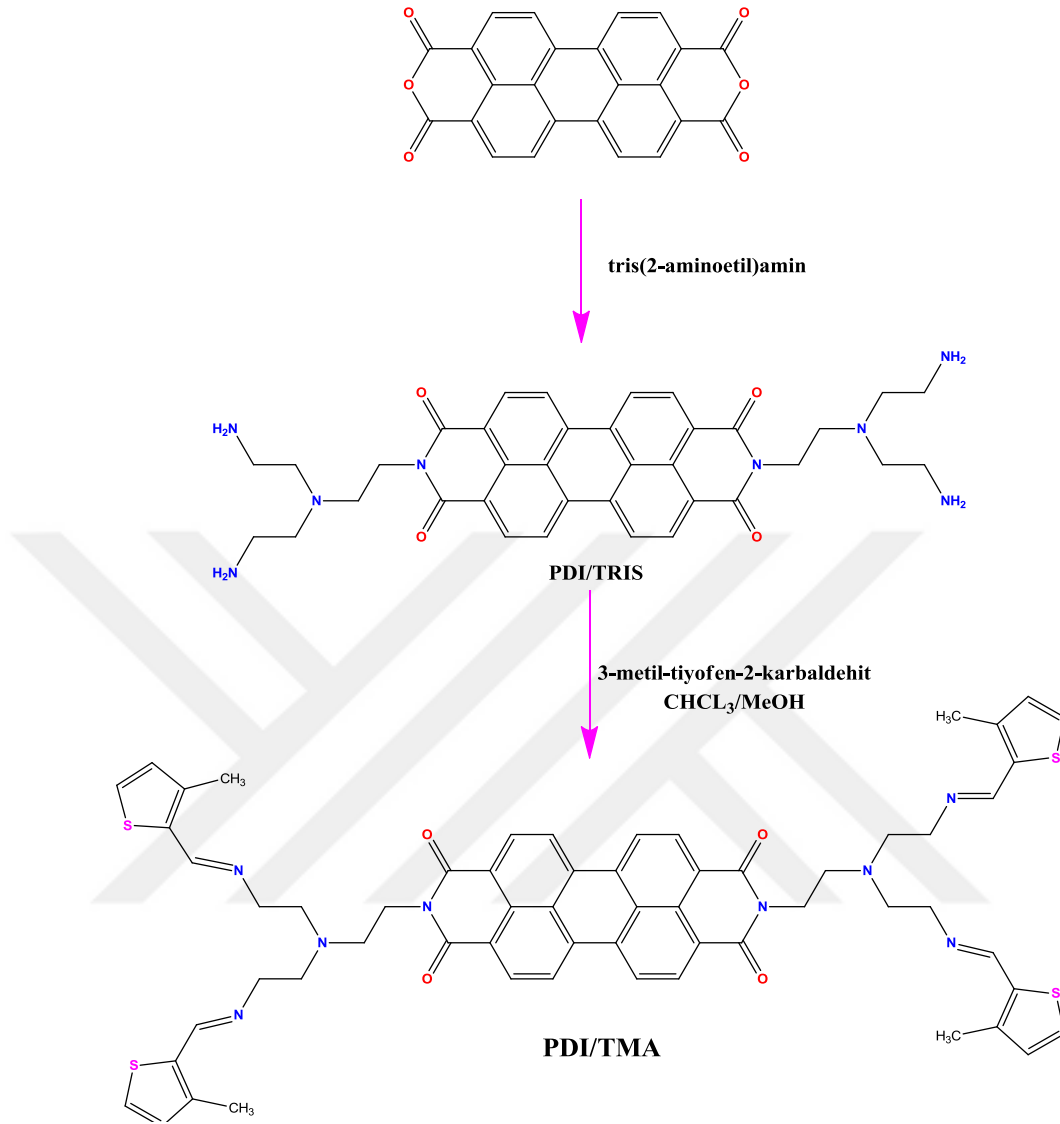
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sentez ve floresans ölçümleri sırasında kullanılan kimyasal madde ve çözücüler; Merck, Sigma-Aldrich, Acros organics firmalarından temin edilmiş, farklı bir saflaştırma işlemine gerek duyulmamıştır.

3.3. Kullanılan Çözeltiler

Floresans ölçümlerinde **PDI/TMA**'nın 10 mM'lık stok çözeltisi hazırlanmıştır. Al^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Ag^+ , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} ve Sr^{2+} metallerinin stok çözeltileri 10 mM olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.4. Sentez Çalışmaları



Şekil 3. 1 PDI/TMA'nın sentezi

3.4.1. N,N⁰-Bis[tris-(2-aminoetil)amin]-3,4,9,10-perylentetrakarbosilik bisimid (PBI-TRIS) Sentezi

PDI/TRIS, perilen 3,4,9,10-tetrakarboxianhidritin (0.27 g, 0.7 mmol) ve tris-(2-aminoetil)amin (5 mL, 33.85 mmol) içinde reflüks edilmesiyle, literatüre uygun olarak sentezlenmiştir (Pearson RG., 1963). Reaksiyon sonrasında elde edilen çökelek 1-butanol/eter (1:4) karışımı ile yıkanarak safsızlıklardan uzaklaştırılmıştır.

3.4.2. N,N⁰-Bis[(((bis-2-(tiyofen-2ylmetil)amino)etil)-amino)etil]-3,4,9,10-perilen tetrakarbosilik bisimid (PDI/TMA) Sentezi

PDI/TRIS (0,10 g, 0,144 mmol) CHCl₃/MeOH (1:1, 15 mL) çözeltilinde çözülmüş ve üzerine 3-metil-tiyofen-2-karbaldehit (0,90 g, 5,76 mmol) damla damla ilave edilmiştir. 50⁰C’de 48 saat devam ettirildikten sonra çözücüsü uçurulmuştur. 3-metil-tiyofen-2-karbaldehitin aşırısı MeOH ile yıkama işlemi ile uzaklaştırılmıştır. **PDI/TMA** molekülünün karakterizasyon işlemi IR, ¹H NMR ve kütle spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir.

3.5. Sensör Çalışmaları

3.5.1. Sensörün Duyarlılığının İncelenmesi

Çalışmanın bu kısmında, geliştirilen sensörün katyonların hangisine duyarlı olduğu, hazırlanmış olan metal çözeltileri kullanılarak incelenmiştir (Al³⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Cu²⁺, Hg²⁺, Pb²⁺, K⁺, Mg²⁺, Cd²⁺, Ag²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺, Ba²⁺ ve Sr²⁺).Hazırlanan sensor ile metal çözeltilerin duyarlılığını incelerken, ortamda bulunan metal iyonlarıyla spesifik bir etkileşim oluşturulup, oluşturmadığı incelenmiştir. Floresans spektrumunda yaklaşık 544 nm emisyon bandında değişimler gözlenmiştir.

3.5.2. Sensörün Cevap Süresinin Belirlenmesi

Sensör çalışmalarında sensörün cevap süresi oldukça önemli bir parametredir. Bu sebeple, geliştirilen sensörün, ortamdan bulunan Hg²⁺ metal çözeltilisine cevap süresi çalışmada ayrı olarak incelenmiştir. 10⁻² M Hg²⁺metal stok çözeltilisinden eklenerek floresans cihazında emisyon değişimi incelenmiştir. Kararlı hale geldiği süre cevap süresi olarak belirlenmiştir.

3.5.3. Sensörün Florimetri Titrasyonları

Floresans spektrofotometre cihazı kullanılarak, **PDI/TMA** çözeltilisine değişik konsantrasyonlarda Hg²⁺metal iyonunu eklenerek konstantrasyon farklılığına olan duyarlılık belirlenmiştir. Bu amaçla hazırlanan 5 µM ligand çözeltilisinin üzerine, Hg²⁺ metal çözeltilisinin konstantrasyonu 125 µM olana dek ekleyerek emisyonunda değişim gözlenmiş ve grafiğe dönüştürülmüştür.

3.5.4. Sensörün Seçiciliğinin İncelenmesi

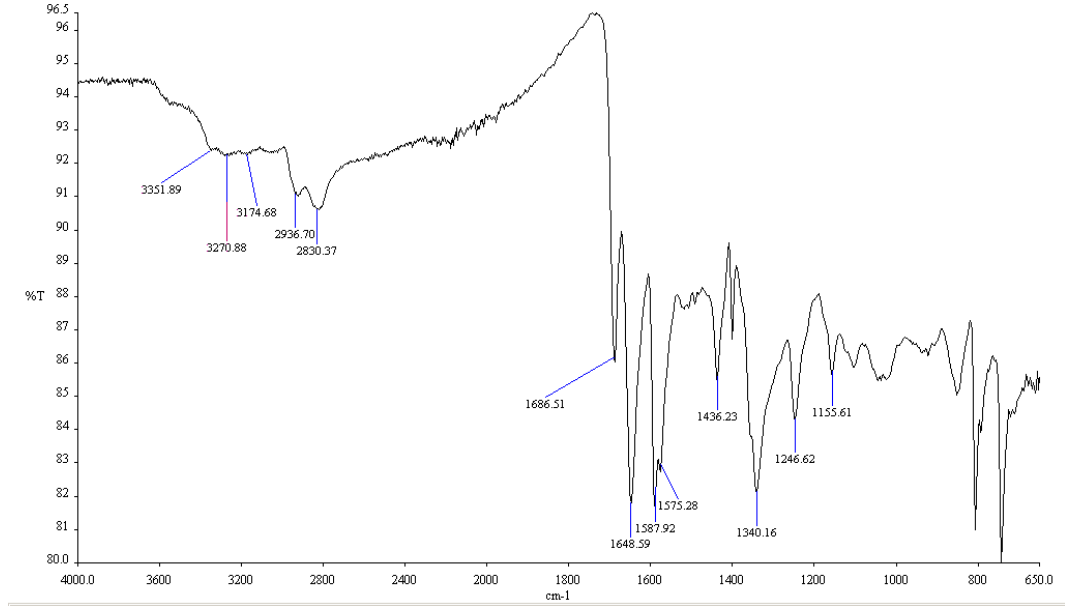
Çalışmanın bu kısmında, elde ettiğimiz sensörü farklı metal çözeltileri varlığında Hg^{2+} metal iyonuna cevabı incelenmiştir. Ligand çözeltisine konsantrasyonu 10^{-2} M olan (Al^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Ag^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} ve Sr^{2+}) metal çözeltiler eklenerek, Hg^{2+} emisyon şiddetindeki değişiklik gözlemlenmiştir.

3.5.5. Sensörün Tayin Limiti ve Çalışma Aralığının Belirlenmesi

Çalışmanın bu aşamasında ise ligand çözeltisine artan konsantrasyonlarda Hg^{2+} metal iyonu eklenerek emisyon ölçümü gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar neticesinde Hg^{2+} metal iyonu derişimine karşı emisyon şiddetleri kullanılarak kalibrasyon grafiğı çizilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. PDI/TRIS ve PDI/TMA'nın Karakterizasyonu



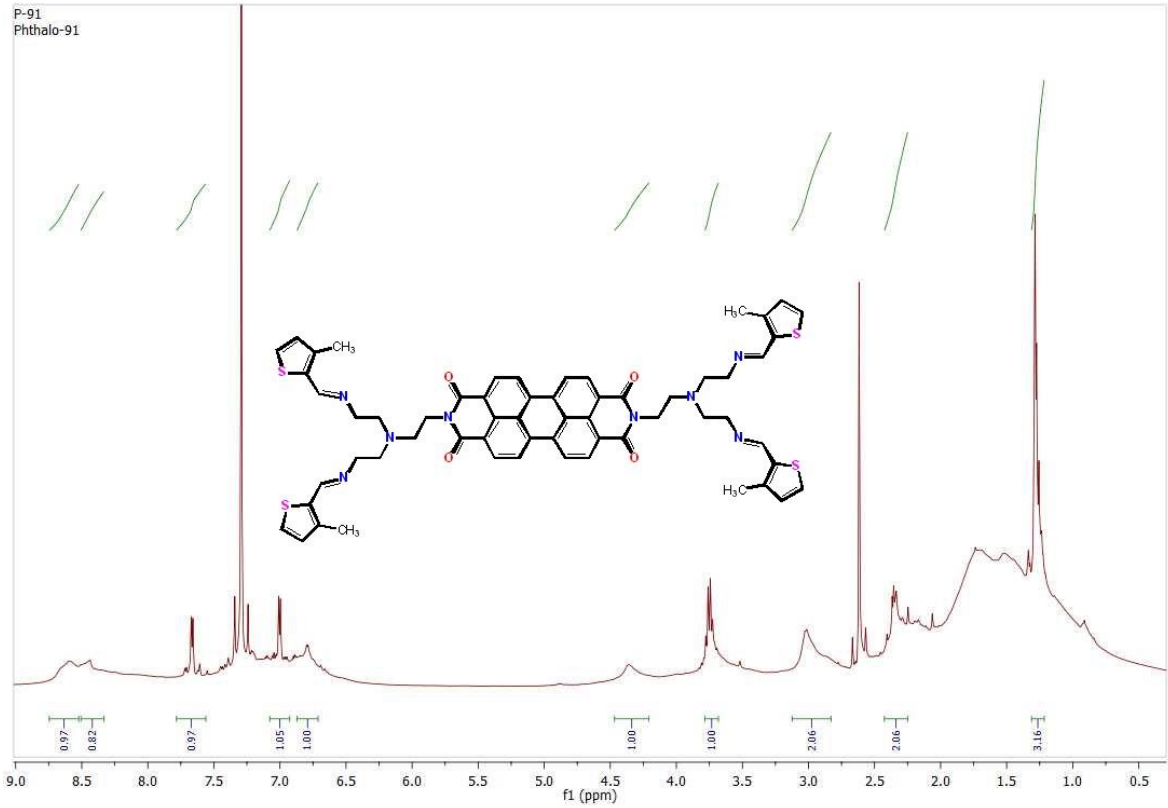
Şekil 4.1 PDI/TRIS FT-IR spektrumu

FT-IR (solid, ATR) cm⁻¹ 3351, 3270, 2936, 2830, 1686, 1648, 1575

PDI/TRIS'in IR spektrumu incelendiğinde,

3351 cm⁻¹'deki pik N-H gerilmesine, 2936, 2830 cm⁻¹'deki pik alifatik veya aromatik CH gerilmesine, 1686, 1648 cm⁻¹'deki pik C=O gerilmesine, 1648 cm⁻¹ –C=N gerilmesine ve 1600 cm⁻¹'de gözlenen çoklu pikler C=C gerilmelerine işaret etmektedir.

Çözünürlük probleminden dolayı karakterizasyon işlemlerinde NMR spektroskopisi kullanılmamıştır.

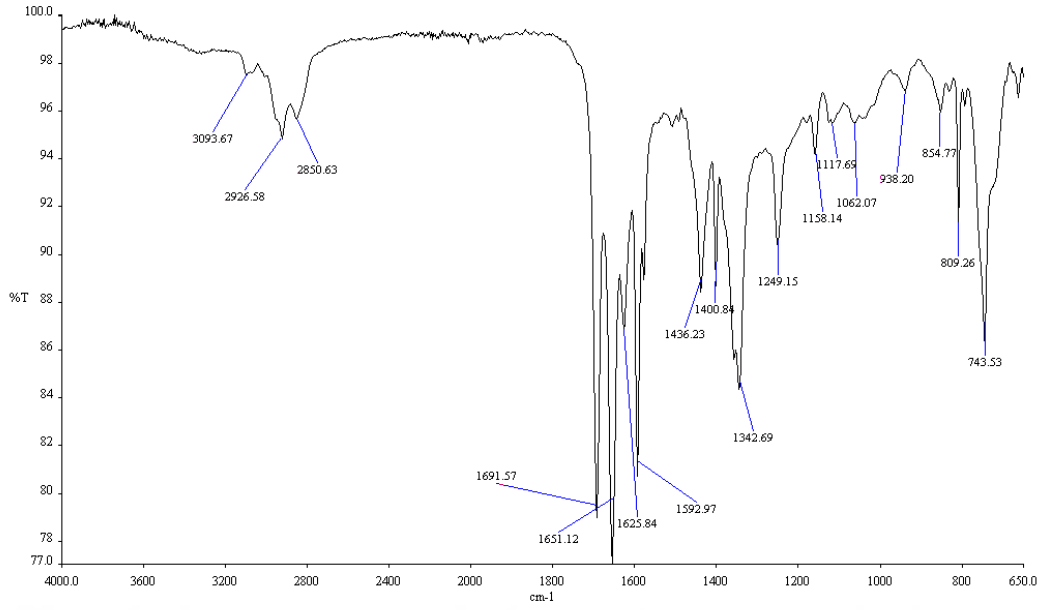


Şekil 4.2 PDI/TMA'nın ^1H NMR spekturumu

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.65 (br, s, 4H, ArH), 8.45 (4H, s, ArH), 7.65 (m, 4H, ArH), 7.08 (br, s, 4H, CH=N), 6.95 (br, s, 4H, ArH), 4.35 (br, s, 4H, CO-N- CH_2), 3.67 (br, s, 4H, CHN- CH_2), 2.97 (br, s, 8H, N- CH_2), 2.21 (br, s, 8H, N- CH_2), 1.22 (br, m, 12H, CH_3)

PDI/TMA'ya ait NMR spektrumunda;

- 8.65'teki pik, 4 proton aromatik pik, (perilen); 8.45'teki pik, 4 proton aromatik piki (perilen); 7.65'daki pik, 4 proton piki (CH=N imin); 7.08'daki pik, 4 proton aromatik ait piki (tiyofen); 6.95'deki pik, 4 proton aromatik piki (tiyofen); 4.35'daki pik, 4 proton CO-N- CH_2 ait piki; 3.67'daki pik, 4 proton CHN- CH_2 ait piki; 2.97'daki pik, 8 proton, N- CH_2 ait piki; 2.21'daki pik, 8 proton, N- CH_2 ait piki; 1.25'deki pik, 12 proton - CH_3 ait piktir.

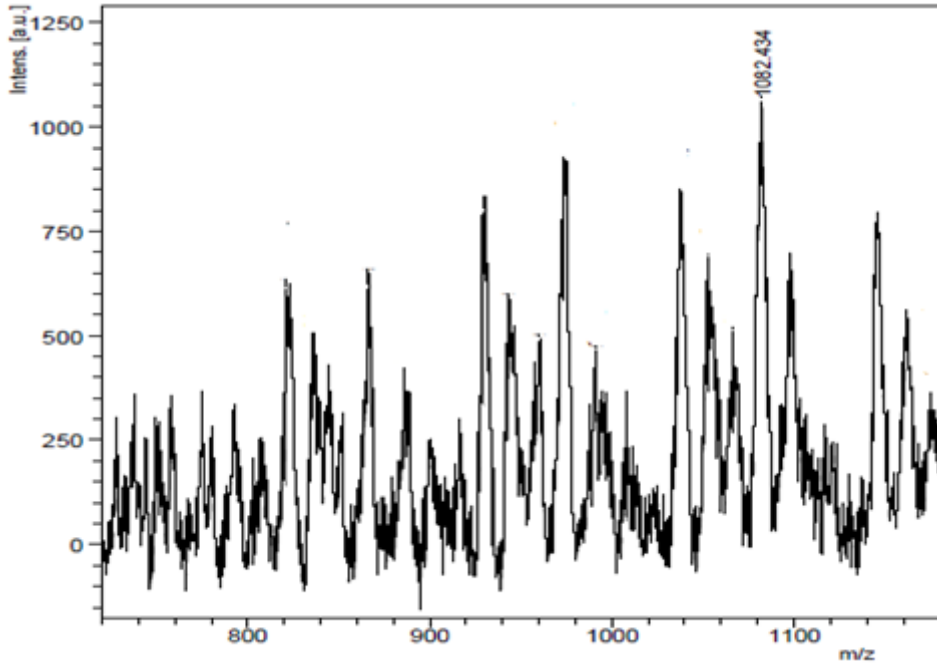


Şekil 4.3 PDI/TMA FT-IR spektrumu

FT-IR (solid, ATR) cm^{-1} , 3093, 2926, 2850, 1691, 1651, 1625, 1592, 1577, 1436

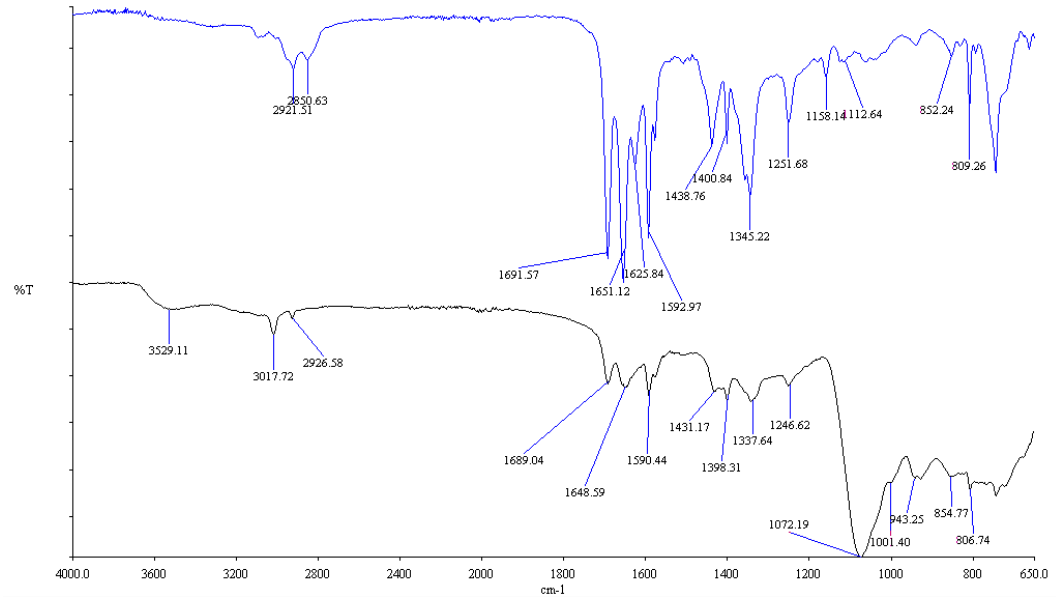
PDI/TMA'nın IR spektrumu incelendiğinde,

- 3093 cm^{-1} 'deki pik aromatik C-H gerilmelerine, 2926, 2850 cm^{-1} 'deki pikler alifatik C-H gerilmelerine, 1691 cm^{-1} 'deki pik C=O gerilmelerine ve 1651 cm^{-1} 'deki pik, C=N gerilmelerine ve 1625-1592 cm^{-1} deki aromatik pikler C=C gerilmelerine işaret etmektedir.



Şekil 4. 4 PDI/TMA kütle spekturumu

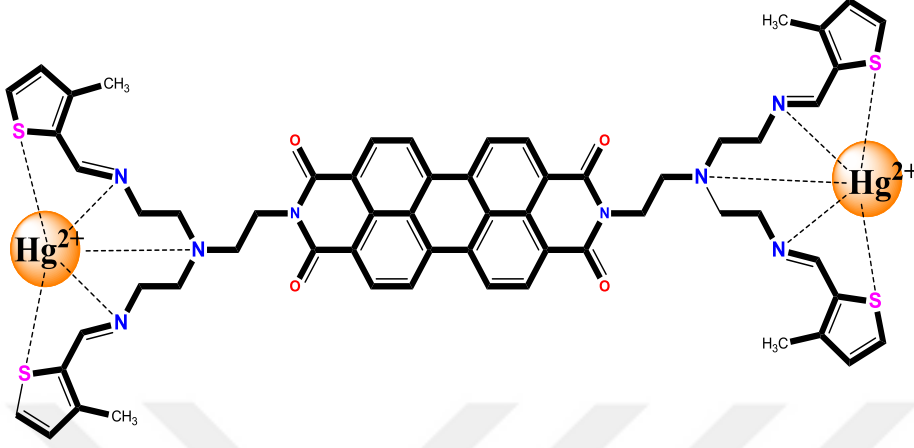
MS-ESI (m/z) ölçümü sonucunda **PDI/TMA** ait kütle $[M-H^+]$ – 1082.434 olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 5 PDI/TMA ve PDI/TMA-Hg(II) kompleksinin FT-IR spekturularının karşılaştırılması

PDI/TMA ile Hg^{2+} 'nin bağlanma mekanizmasının daha iyi anlaşılması için **PDI/TMA** ve **PDI/TMA-Hg**'nin FT-IR spekturuları karşılaştırılmıştır. FTIR spekturuları incelendiğinde, 1345 cm^{-1} 'deki -C-S-C'ye ait pikin kompleks oluşumuyla 1337 cm^{-1} 'e kaydığı gözlenmiştir. Ayrıca 1625 cm^{-1} 'de -C=N 'e ait pik 1590 cm^{-1} 'a, 1251 cm^{-1} 'deki -C-N-C piki de 1246 cm^{-1} 'e kaymıştır. Bütün bunlar kombine bir şekilde değerlendirildiğinde

kompleksleşmenin imin azotu –S- ve -C-N-C azotu üzerinden gerçekleştiği söylenebilir. Ayrıca MS-ESS spektrumunda 1082,43 teki pik, kompleksin Hg_2L yapısında olduğunu göstermektedir.

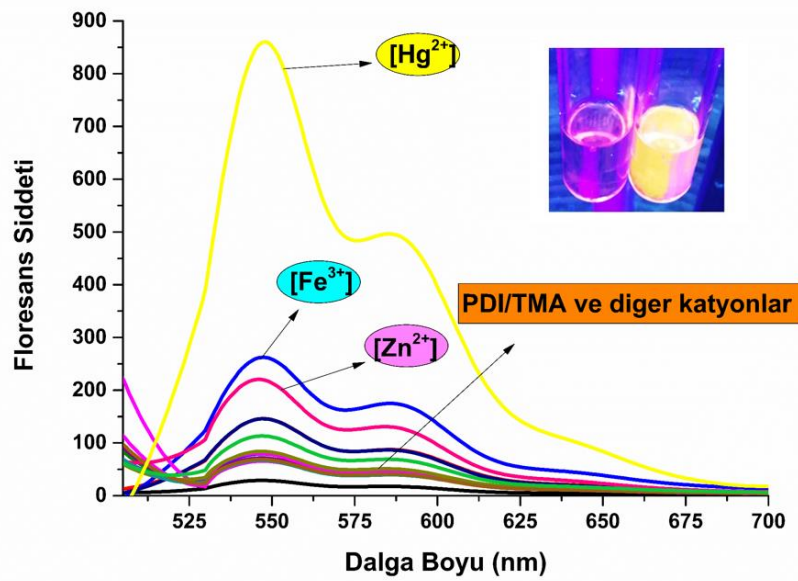


Şekil 4. 6 PDI/TMA- Hg^{2+} kompleksinin yapısı

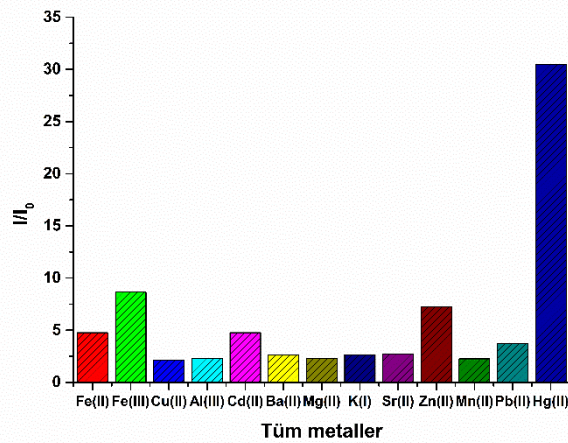
4.2. Sensörün Parametrelerinin Belirlenmesi

4.2.1. Sensörün Metal İyonlarına Duyarlılığı

PDI/TMA çözeltisine metal iyonlarının stok çözeltilerinden ekleyerek, sensörün duyarlılığı incelenmiştir. Sensörün emisyon şiddetinde Hg^{2+} metal iyonunun varlığında yaklaşık 900 kat artış gözlenmiştir. Diğer metal iyonlarının floresans emisyonunda kayda değer bir değişim gözlenmemiştir (Şekil 4. 7). Bu durum sensörün Hg^{2+} iyonuna duyarlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca küçük resimde de görüldüğü gibi sensör "turn on" olarak çalışmaktadır.



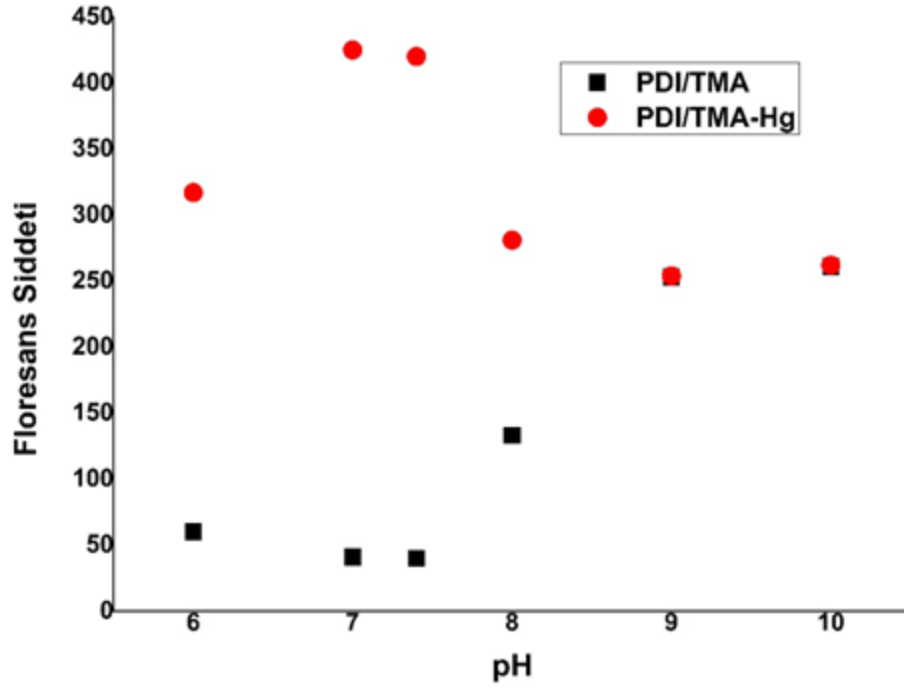
Şekil 4.7 PDI/TMA'nin katyonlara olan duyarlılığı (DMSO, HEPES, v/v :5/95), (λ_{eks} :355 nm, λ_{em} :544 nm)



Şekil 4. 8 PDI/TMA'nin metal katyonlar varlığında floresans cevabı (DMSO, HEPES, v/v : 5/95), (λ_{eks} :355 nm, λ_{em} :544 nm)

4.2.2. Sensörün pH Çalışması

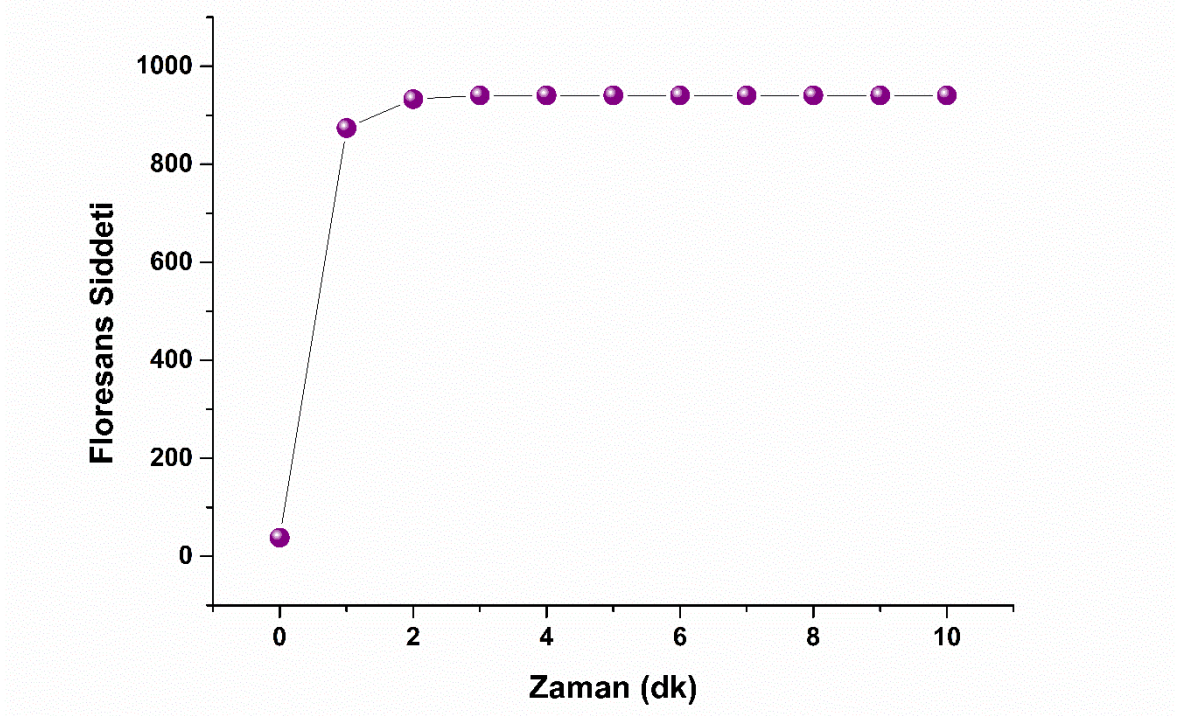
Geliştirilen sensörün optimum pH değerini belirlemek için pH 5-10 aralığında **PDI/TMA** ve **PDI/TMA-Hg²⁺** çözeltilerinden hazırlanarak, floresans ölçümleri alınmıştır. Şekil 4.9'dan anlaşıldığı üzere pH 6,5-7,5 aralığı, sensör için çalışılabilir pH aralığıdır. Hücre uygulamalarında herhangi bir problemle karşılaşmamak için ölçümler 0.01 M HEPES'de pH 7.4 olan çözeltilerde alınmıştır (Şekil 4. 9).



Şekil 4. 9 PDI/TMA ve PDI/TMA-Hg²⁺ için pH çalışması

4.2.3. Sensörün Cevap Süresi Çalışması

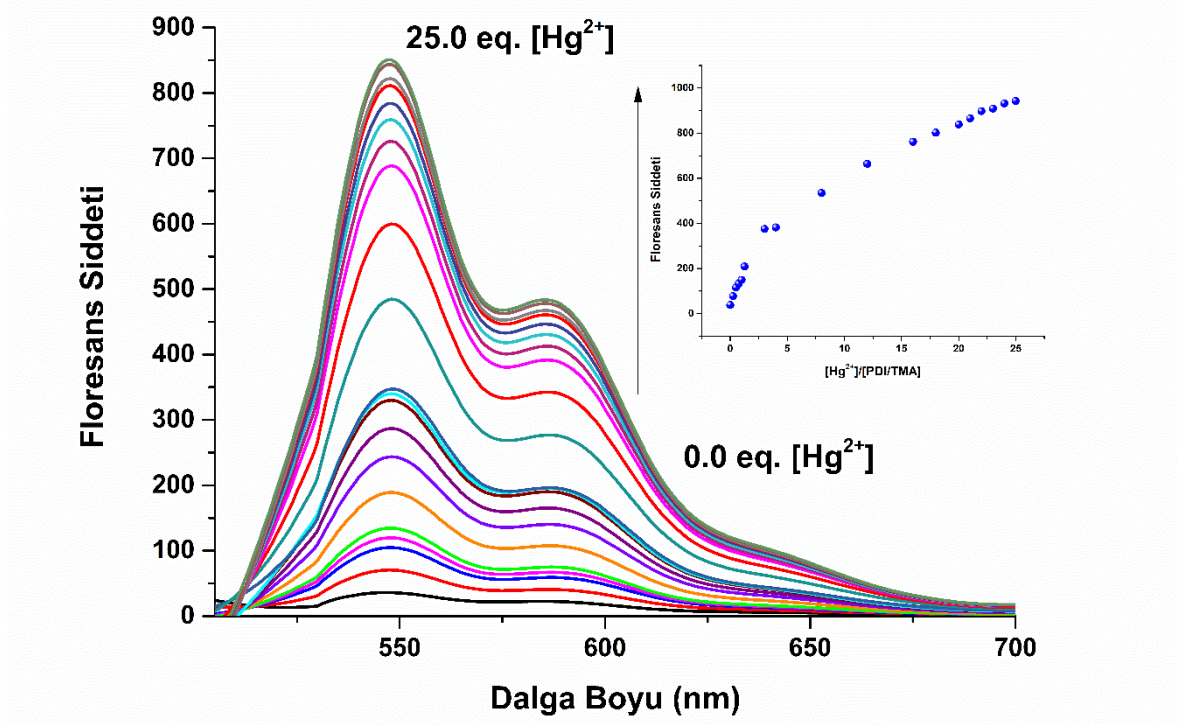
PDI/TMA çözeltisinde Hg^{2+} metal iyonuna karşı verdiği cevabın floresans değişimi zamana karşı değerlendirilmiştir. Sensörün floresans şiddetinin yaklaşık olarak 2 dakika içerisinde maksimum değere ulaştığı gözlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 PDI/TMA'nın Hg^{2+} varlığında cevap süresi grafiği(DMSO, HEPES, v/v : 5/95), (λ_{eks} :355 nm, λ_{em} :544 nm)

4.2.4. Sensörün Hg^{2+} Floresans Titrasyonu

PDI/TMA sensörüne değişik konsantrasyonlarda Hg^{2+} metal iyonu ekleyerek, sensörümüzün Hg^{2+} metal iyonuna karşı verdiği cevap incelenmiştir. Hg^{2+} konsantrasyonunu artırdıkça **PDI/TMA**'nın floresans şiddeti aşamalı bir şekilde arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.11).



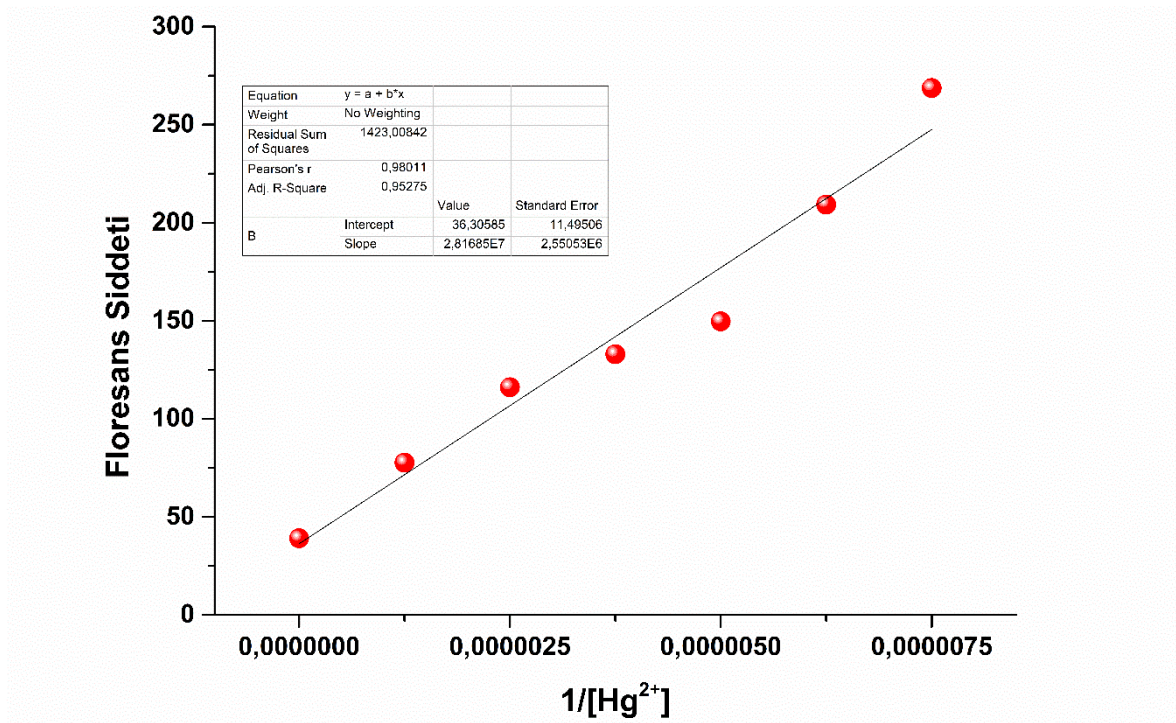
Şekil 4.11 Farklı derişimlerdeki Hg^{2+} varlığında PDI/TMA çözeltisinin floresans titrasyon grafiği (DMSO, HEPES, v/v : 5/95), (λ_{eks} :355 nm, λ_{em} :544 nm)

4.2.5. Sensörün Tayin Limiti ve Çalışma Aralığı

Yapılan titrasyon çalışmasından yararlanarak, sensörün Hg^{2+} iyonu için kalibrasyon grafiği elde edilmiştir.

$$LOD = 3\sigma/S$$

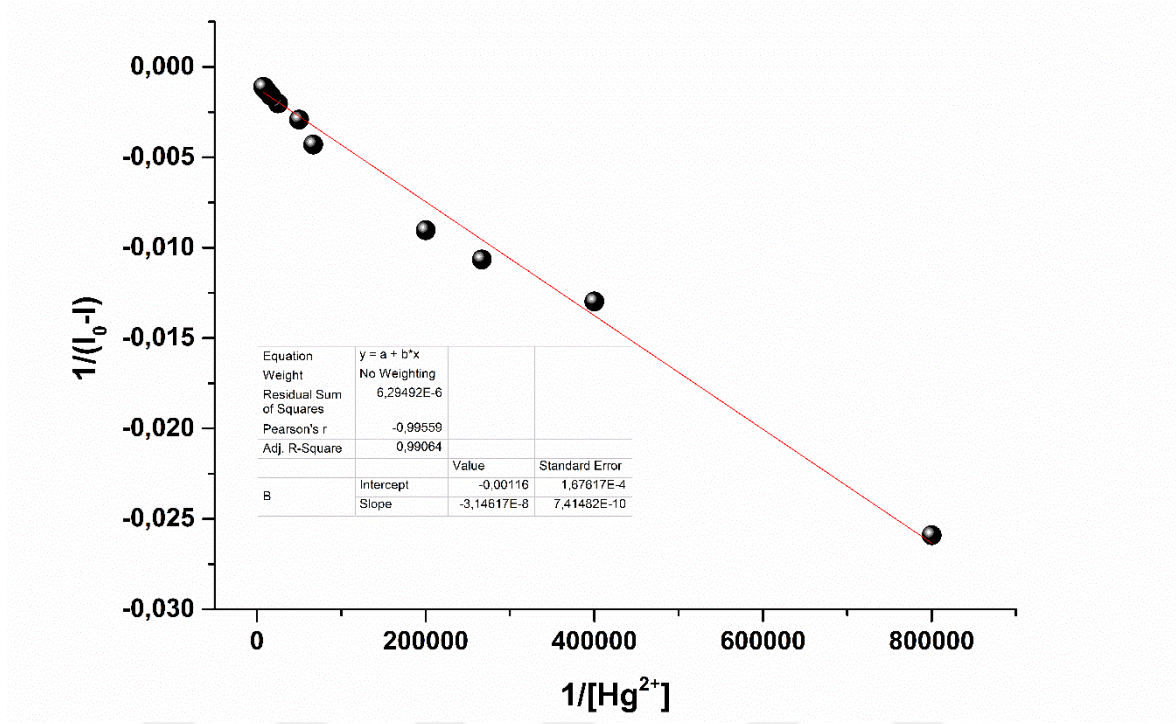
σ değeri 0.029 ve S değeri 2.81×10^{-7} olarak bulunmuştur. Şekil 4. 12'den anlaşıldığı gibi Hg^{2+} konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak floresans şiddetinde doğrusal bir artış olduğu gözlemlenmiştir. LOD değeri 10.3 nm olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.12 PDI/TMA'nin 544 nm'deki floresans şiddetine karşı Hg^{2+} grafiği

4.2.6. Sensörün Benesi Hildebrand Bağlanma Sabiti

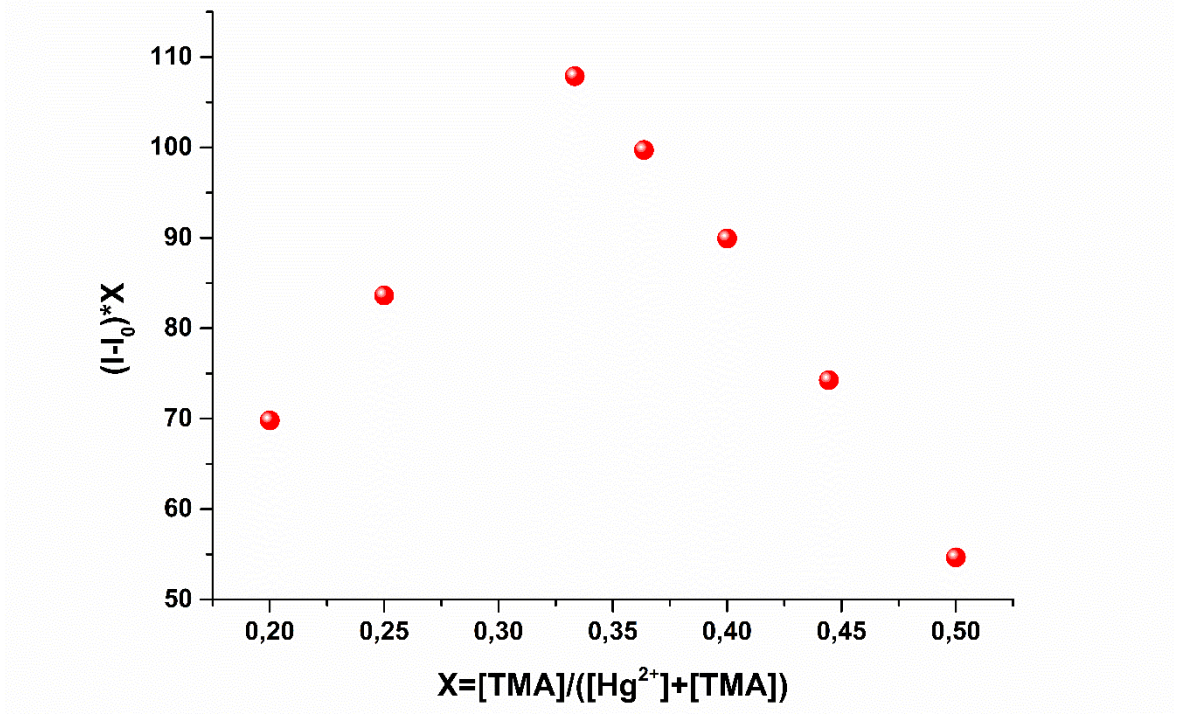
PDI/TMA-Hg kompleksin bağlanma sabiti $1/(I-I_0) = 1/\{K(I_{\max}-I_0) [M]_n\} + 1/[I_{\max}-I_0]$ eşitliğinden yararlanarak hesaplanmıştır. K sabiti $=3.69 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.13 PDI/TMA'nin Hg^{2+} varlığında Benesi Hildebrand grafiği

4.2.7. PDI/TMA-Hg²⁺ Kompleksinin Job's Grafiği

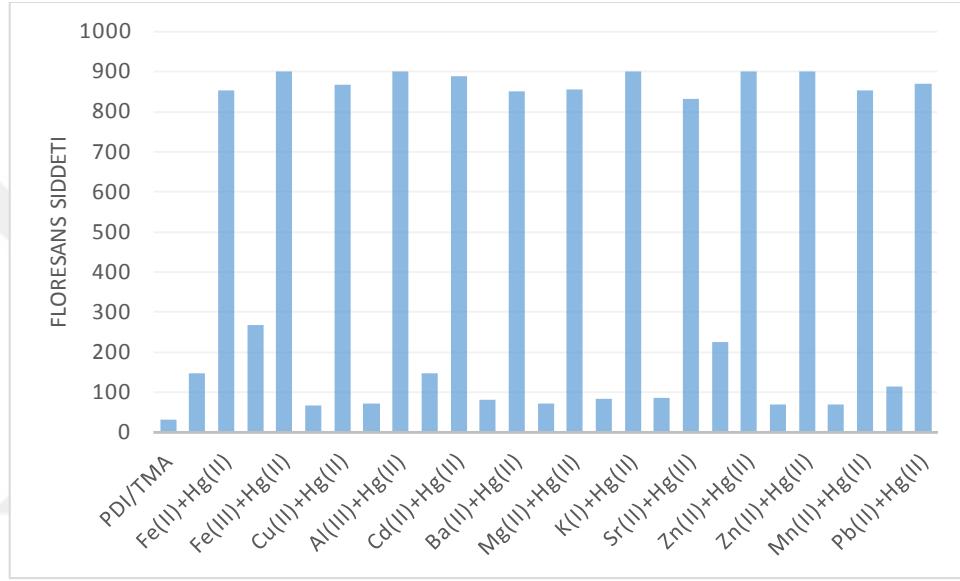
PDI/TMA'nın mol oran değeri kullanılarak çizilen Job's grafiğinden faydanılarak kompleks yapısının stokiyometrisi hakkında bilgi edinilmiştir. Grafiğin maksimum noktası 0,33 değerine karşılık gelmiştir. Bu durum kompleksin 1:2 stokiyometrisinde gerçekleştiğini göstermektedir (şekil 4.14).



şekil 4.14 PDI/TMA-Hg²⁺ arasındaki kompleks stokiyometrisinin için Job's grafiği

4.2.8. Sensörünün Seçicilik Çalışması

Sensörün seçiciliğini belirlemek amacıyla **PDI/TMA** çözeltisi üzerine metal çözeltileri ayrı ayrı eklenerek ölçümler alınmıştır. Daha sonra metal çözeltileri eklenmiş prob çözeltileri üzerine, Hg^{2+} metal iyonu çözeltileri eklenerek seçicilik çalışması gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.15’de de görüldüğü üzere diğer metaller varlığında Hg^{2+} iyonu belirgin bir floresans artışına sebep olmuştur ve sensörün çok iyi bir seçiciliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

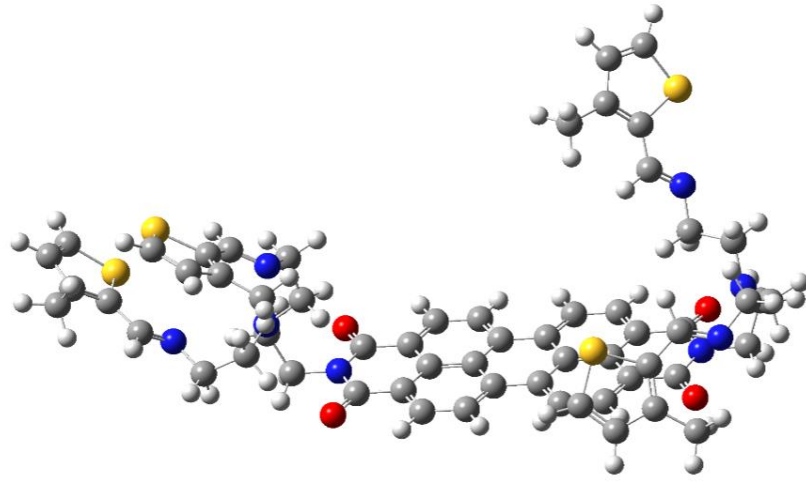


Şekil 4.15 PDI/TMA'nin diğer metaller varlığında Hg^{2+} iyonuna floresans cevabı (DMSO, HEPES, v/v : 5/95), (λ_{eks} :355 nm, λ_{em} :544 nm)

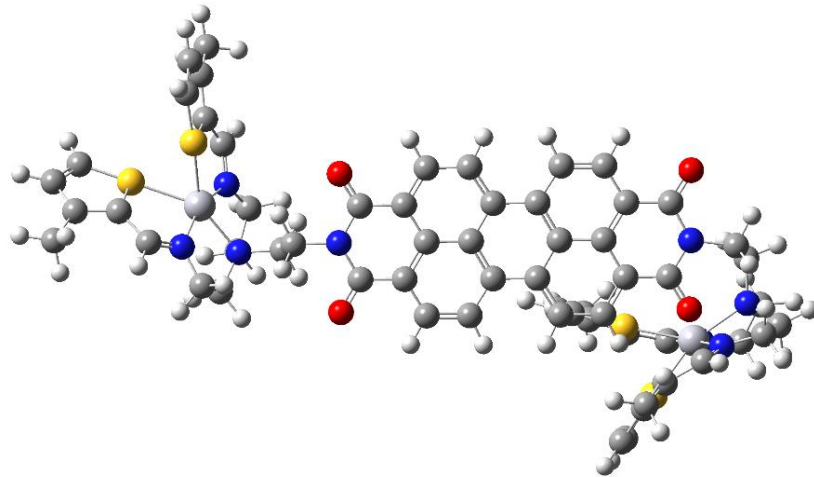
4.3. Teorik Hesaplama Çalışmaları

4.3.1. PDI/TMA ve PDI/TMA-Hg'nin Geometrik Optimize Yapıları

PDI/TMA ve **PDI/TMA-Hg** kompleksinin minimum enerjili kararlı hallerini elde etmek için, Gaussian 09W programı ile yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) yönteminin B3LYP/6-31G(d) fonksiyonu ile LANL2DZ seti kullanılmıştır. Kemosensörün ve komplekslerin minimum enerjili optimize yapıları elde edilmiştir (Şekil 4.16-17).



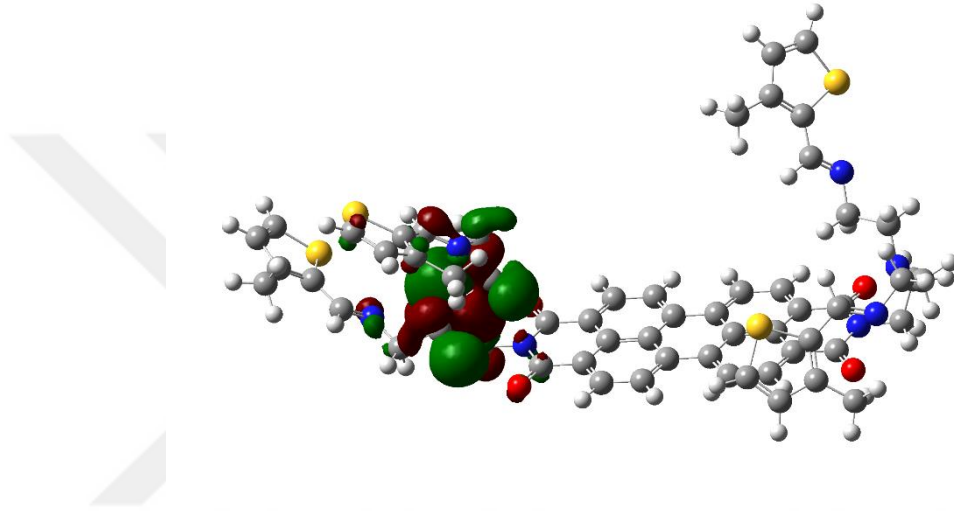
Şekil 4.16 PDI/TMA'nın geometrik optimize yapısı



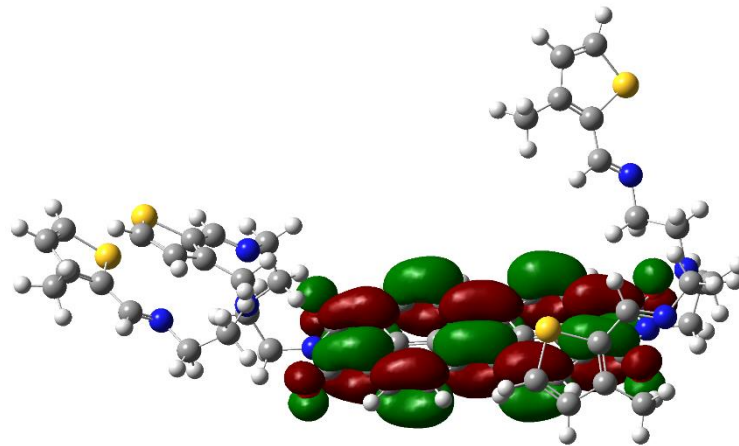
Şekil 4.17 PDI/TMA-Hg'nin geometrik optimize yapısı

4.3.2.PDI/TMA Molekül Orbitalleri ve Enerji Seviyeleri

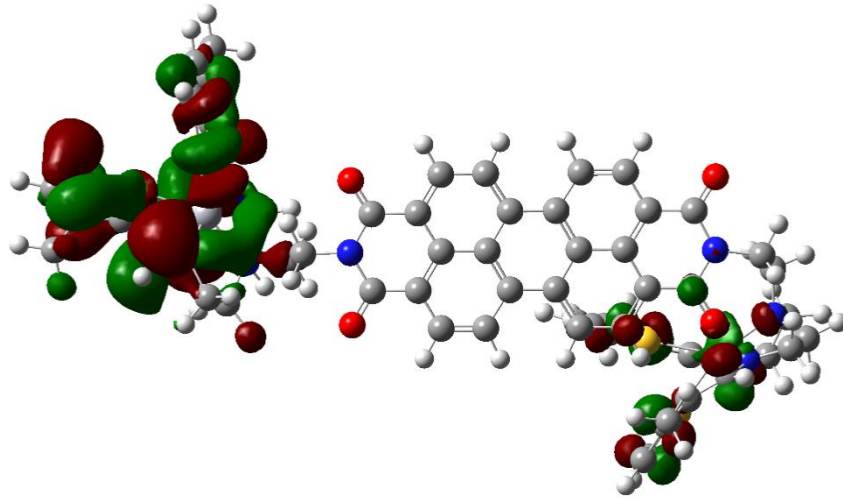
DFT7B3LYP ile yapılan hesaplamalar sonucunda **PDI/TMA** için en düşük enerjili boş moleküler orbital LUMO ve en yüksek enerjili moleküler orbital HOMO için enerji değerleri -4.95 eV ve -3.77 eV olarak hesaplanmıştır. HOMO ve LUMO enerji farkı ise 1.18 eV olarak hesaplanmıştır. **PDI/TMA-Hg** için HOMO -3.02 eV ye LUMO -2.58 eV olarak hesaplanmıştır. HOMO ve LUMO enerji farkı ise 0.44 eV olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlara göre kompleks yapısının liganda göre daha kararlı olduğu söylenebilir.



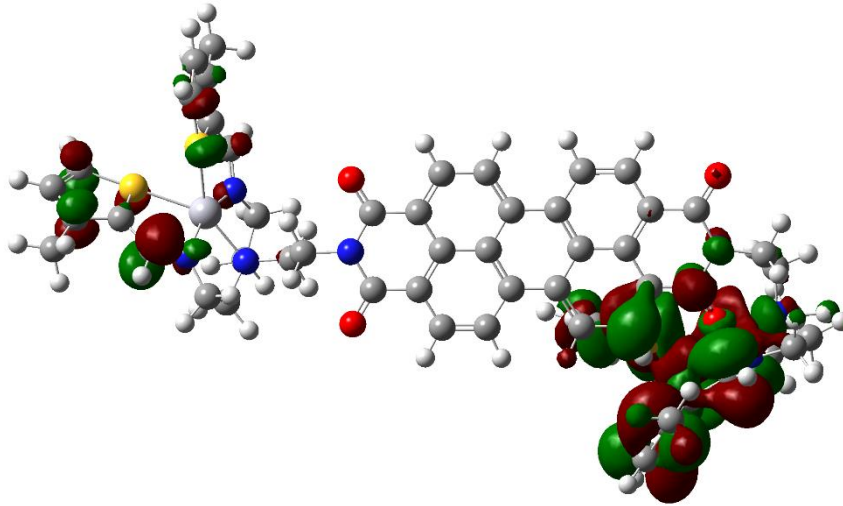
Şekil 4.18 PDI/TMA'nın HOMO orbitalleri



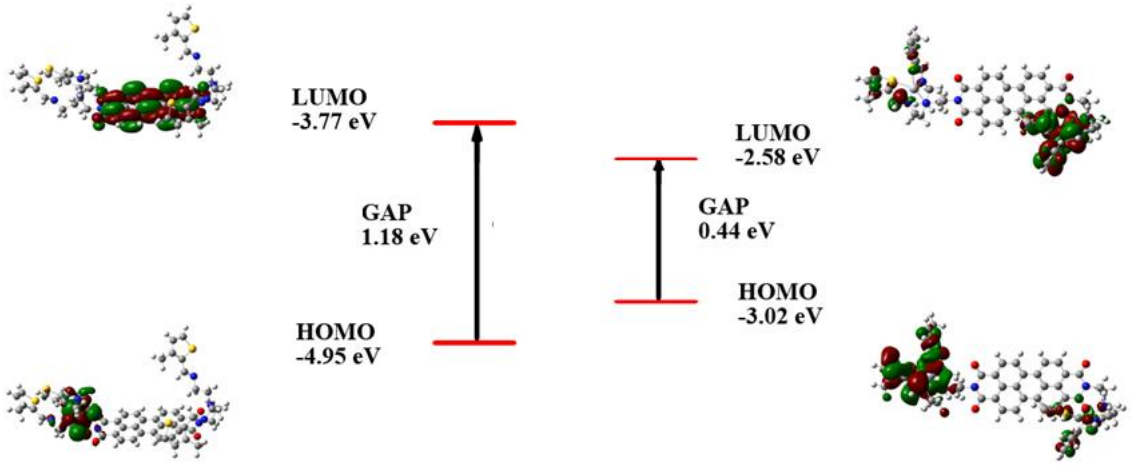
Şekil 4.19 PDI/TMA'nın LUMO orbitalleri



Şekil 4.20 PDI/TMA-Hg'nin HOMO orbitalleri



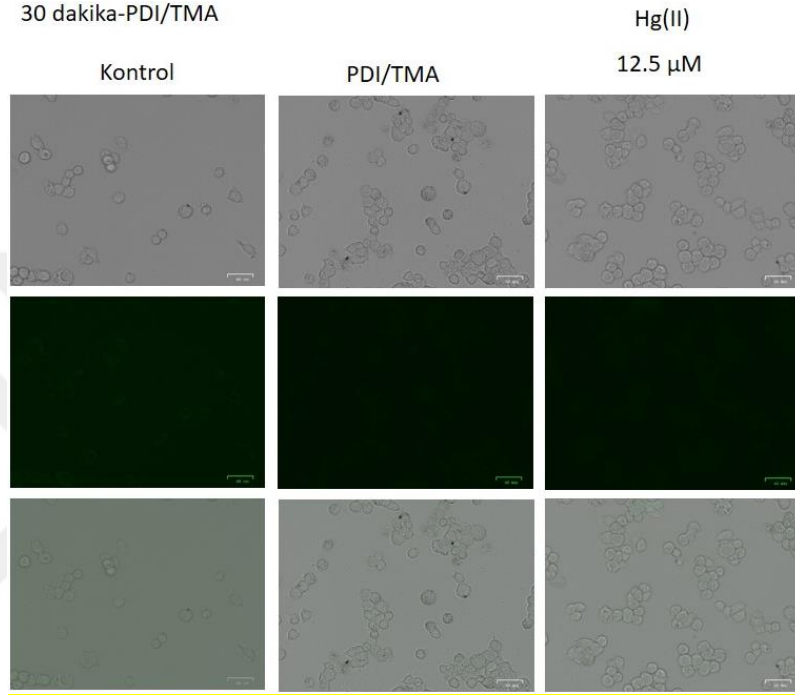
Şekil 4.21 PDI/TMA-Hg'nin LUMO orbitalleri



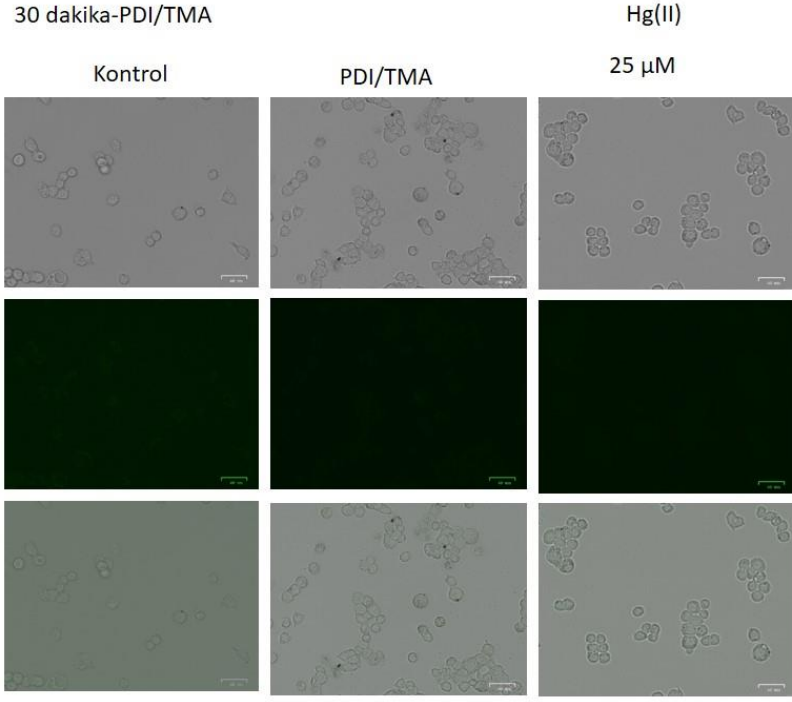
Şekil 4.22 PDI/TMA ve PDI/TMA-Hg'nin enerji seviyeleri

4.4. Hücre Çalışması

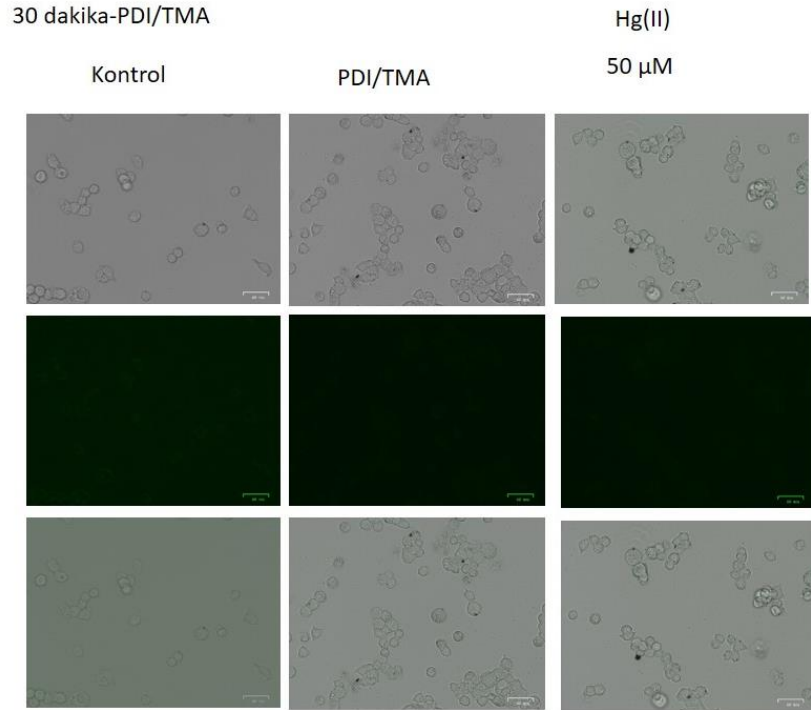
PDI/TMA sensörü HepG2 kanser hücrelerine uygulanarak inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından farklı derişimlerde Hg^{2+} çözeltileri eklenerek tekrar inkübe edilmiştir. **PDI/TMA** probu ve **PDI/TMA** probu üzerine Hg^{2+} uygulanarak elde edilen hücrelerde floresans görüntüsü saptanmıştır.



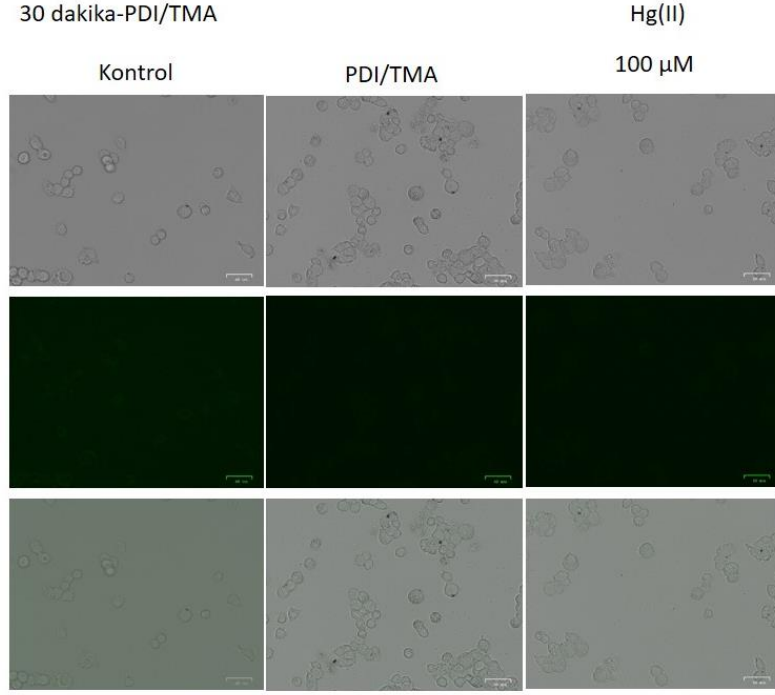
Şekil 4.23 PDI/TMA'nın 12.5 µM Hg^{2+} varlığında floresans görüntüsü (30dk)



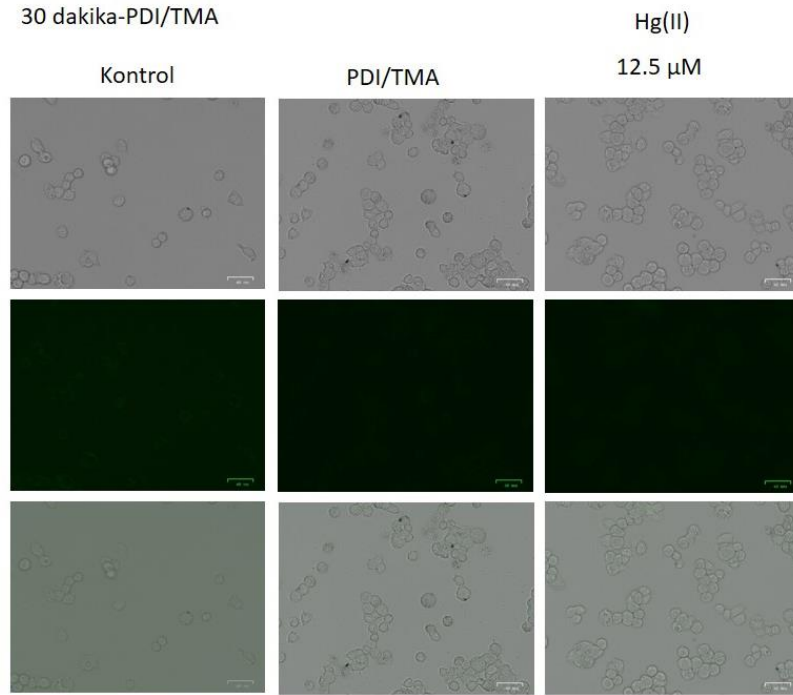
Şekil 4.24 PDI/TMA'nın 25 µM Hg²⁺ varlığında floresans görüntüsü (30dk)



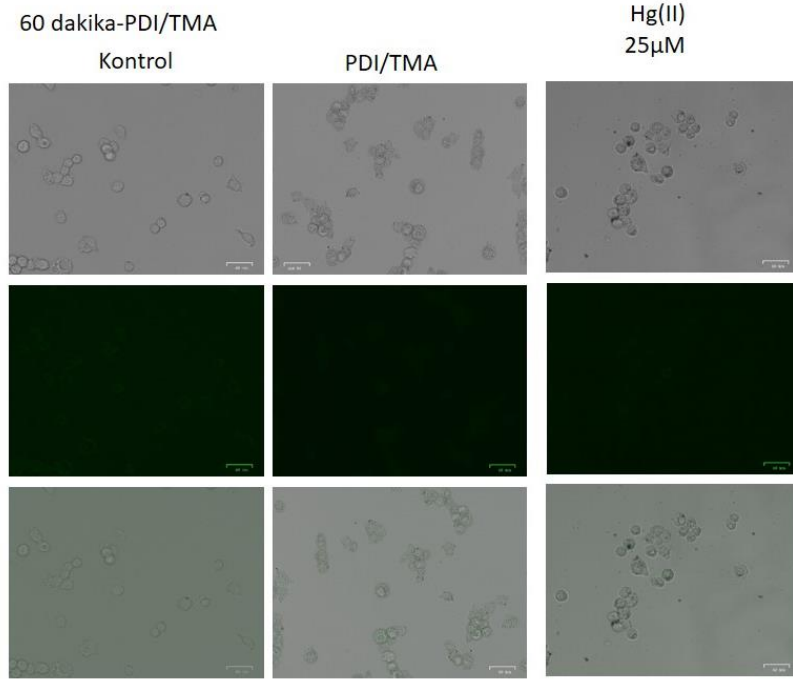
Şekil 4.25 PDI/TMA'nın 50 µM Hg²⁺ varlığında floresans görüntüsü (30dk)



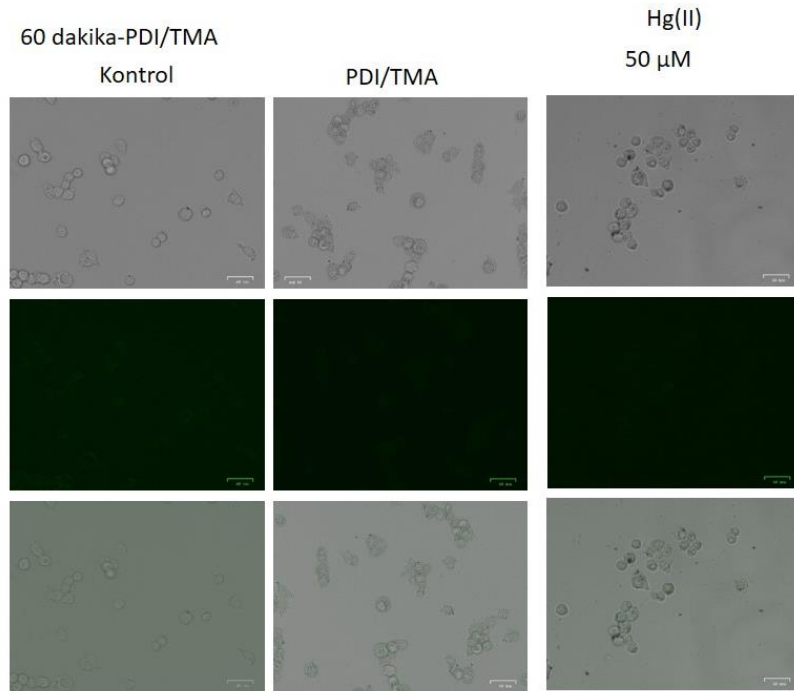
Şekil 4.26 PDI/TMA'nın 100 µM Hg²⁺ varlığında floresans görüntüsü (30dk)



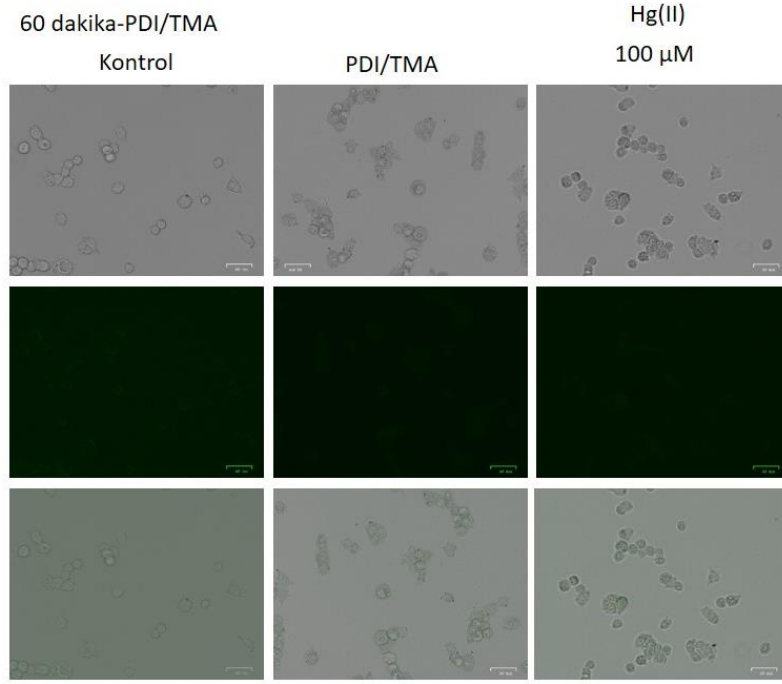
Şekil 4.27 PDI/TMA'nın 12.5 µM Hg²⁺ varlığında floresans görüntüsü (60dk)



Şekil 4.28 PDI/TMA'nın 25 μ M Hg²⁺ varlığında floresans görüntüsü (60dk)

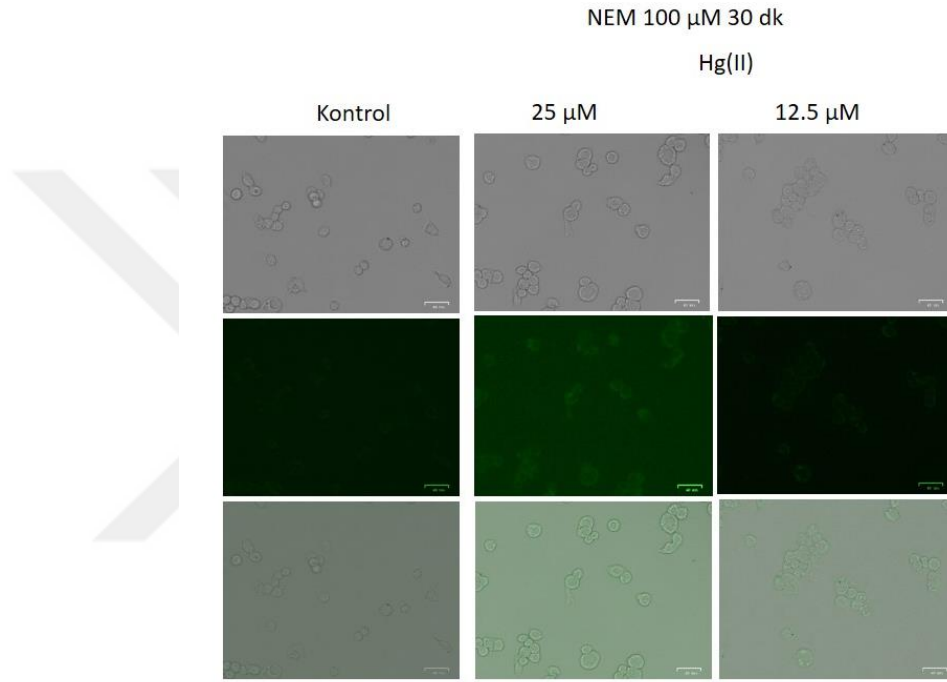


Şekil 4.29 PDI/TMA'nın 50 μ M Hg²⁺ varlığında floresans görüntüsü (60dk)

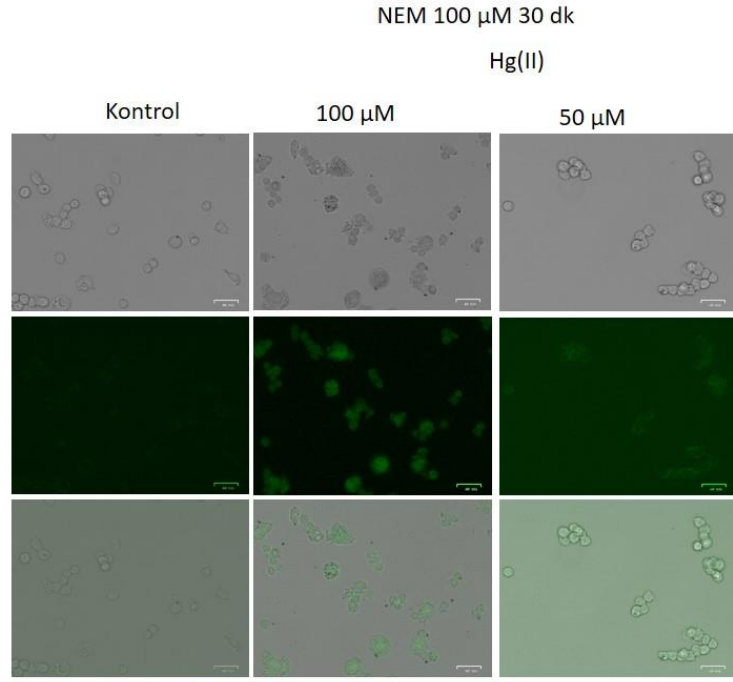


Şekil 4.30 PDI/TMA'nın 100 µM Hg²⁺ varlığında floresans görüntüsü (60dk)

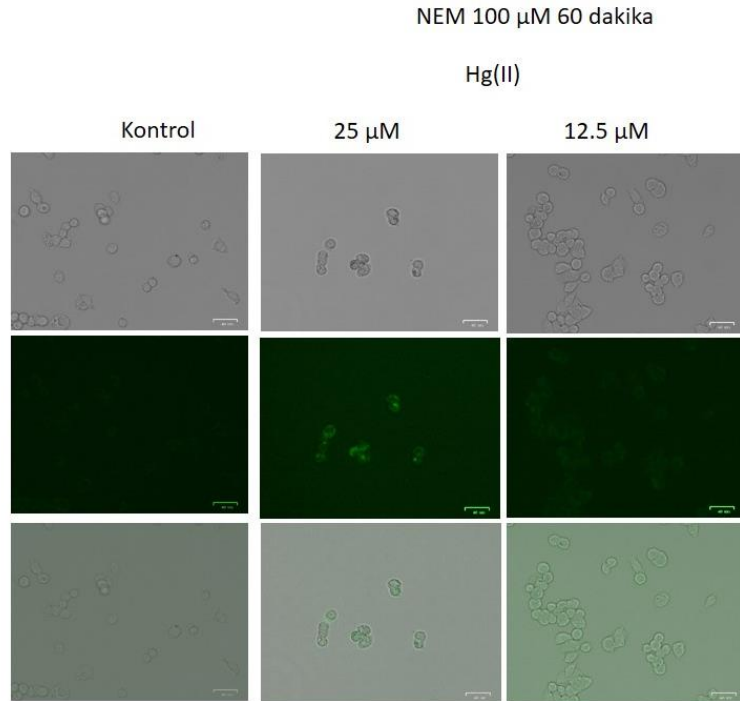
Başka bir mikropalakada kanser hücresinde bulunan biyolojik tiyoller, NEM ile kapatılmış ve PDI/TMA'nın floresans görüntüleri alınmıştır. PDI/TMA'nın varlığında hücre içinde floresans görüntü elde edilememiştir. Ortama Hg^{2+} eklendiğinde ise biyolojik tiyoller Hg^{2+} ile etkileştiğinden dolayı hücre içinde floresans görüntü elde edilememiştir. Kanser hücrelerinde bulunan $-SH$ grubu NEM ile kapatıldığında ise PDI/TMA probu Hg^{2+} varlığında emisyon gerçekleştirmiştir.



Şekil 4.31 PDI/TMA'nın 12.5 ve 50 μ M Hg^{2+} ile NEM varlığında floresans görüntüsü (30dk)



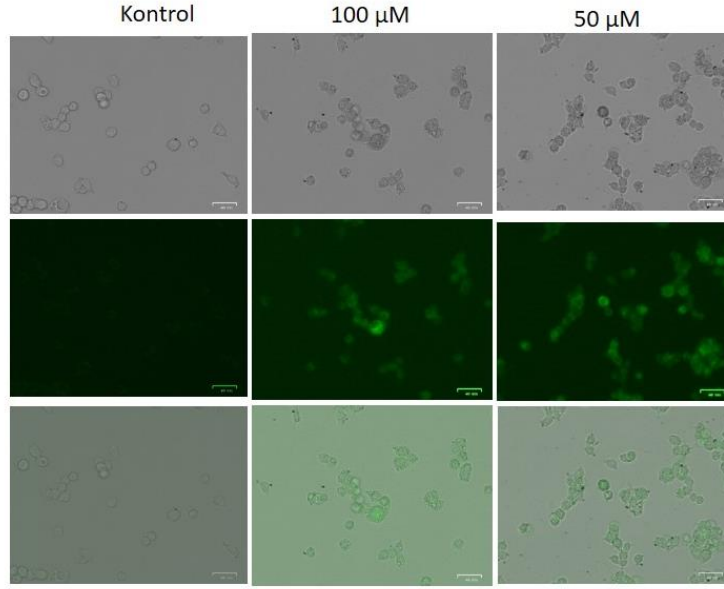
Şekil 4.32 PDI/TMA'nın 50 ve 100 μ M Hg²⁺ ile NEM varlığında floresans görüntüsü (30dk)



Şekil 4.33 PDI/TMA'nın 12.5 ve 25 μ M Hg²⁺ ile NEM varlığında floresans görüntüsü (60dk)

NEM 100 µM 60 dakika

Hg(II)



Şekil 4.34 PDI/TMA'nın 50 ve 100 µM Hg²⁺ ile NEM varlığında floresans görüntüsü (60dk)

5. SONUÇ

Sunulan tez çalışması; perilen içeren floresan bir sensörün sentezlenmesi, elde edilen kemosensörün çeşitli metaller ile duyarlılığının incelenmesi, teorik hesaplama ve biyolojik uygulamalar olmak üzere başlıca dört kısımdan oluşmaktadır. Hg^{2+} iyonu çevreye ve insan sağlığına zarar veren en toksik ağır metal iyonlarından biridir. Civa kirliliği başlıca kömür santralleri, altın üretimi, barometreler, termometreler, civa lambaları ve kostik soda üretiminden kaynaklanmaktadır. Hg^{2+} metalinin düşük konsantrasyonları bile canlılar için oldukça zararlıdır. Düşük konsantrasyonlardaki civa, insanların beyin fonksiyonlarında tahribata yol açmakta ayrıca akciğerlerde tahrişe, böbrek ve sinir sistemlerinde bozulmalara neden olmaktadır. Tüm bu etkiler düşünüldüğünde civa iyonunun tespiti ve hızlı bir şekilde analizi oldukça önemlidir. Civa gibi ağır metal iyonlarının analizi için örneğin atomik absorpsiyon spektroskopisi gibi çeşitli geleneksel yöntemler kullanılmakta, fakat bu metotlar oldukça pahalı, karışık ve zaman alıcı olduğu için son yıllarda hızlı cevap verme süresi ve uygulanabilme kolaylığından dolayı floresans sensörler yaygın bir şekilde tercih edilmektedir.

Çalışmanın ilk aşamasında, Hg^{2+} ağır metal iyonuna seçici ve duyarlı olarak cevap veren perilen türevi floresans sensör **PDI/TMA** geliştirilmiştir. Geliştirmiş olduğumuz probun karakterizasyon işlemleri 1H -NMR, infrared ve kütle spektroskopisi yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Karakterizasyon işlemleri tamamlandıktan sonra, çalışmanın ikinci aşaması, floresans spektroskopisi cihazı kullanılarak **PDI/TMA**'nın, Al^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Ag^+ , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} ve Sr^{2+} metal iyonlarına karşı seçicilik ve duyarlılık çalışması ile gerçekleştirilmiştir. **PDI/TMA**'nın Hg^{2+} metal katyonuna karşı yüksek seçicilik gösterdiği ve kompleksleşmenin floresans şiddetinde artışa sebep olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın diğer aşamasında, geliştirdiğimiz probun ve kompleksin geometrik optimize yapıları HOMO ve LUMO orbitalleriyle enerji değerleri hesaplanmıştır. Çalışmanın son kısmında ise HepG2 kanser hücreleri kullanılarak hücre görüntülemesi işlemi başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak, geliştirmiş olduğumuz kimyasal sensörün civa (Hg^{2+}) iyonlarına karşı elde ettiğimiz floresans cevapları, ileri dönemlerde birçok hastalığın biyo-belirteci olarak erken tanı ve tedavisi sırasında kullanılabilmesine imkan sağlayacaktır. İlave olarak teorik hesaplamalar, geliştirilmesi planlanan kimyasal sensörlerin deneysel prosedürleri

uygulamadan önce yapıların incelenmesine ve yeni mekanizmalarının öngörülmesine
imkan sağlanmıştır.



6. KAYNAKLAR

- Axelrod D. ve Hellen, E.H., 1992. Fulbright, R.M. Vol. 3: *Biochemical applications*, 1992. 289–343. Ed JR Lakowicz. Plenum Press, New York.
- Amendola, V., Bergamaschi, G., Boiocchi, M., Fabbrizzi, L., ve Mosca, L., 2013. "J. Am. Chem. Soc" 135, 6345–6355.
- Boens, N., Leen, V. ve Dehaen, W., 2012. Fluorescent indicators based on BODIPY. *Chem Soc Rev*, 41, 1130–1172.
- Bozdemir, O.A., Guliyev, R., Buyukcakir, O., Selcuk, S., Kolemen, S., Gulseren, G., Nalbantoğlu, T., Boyaci, H., ve Akkaya, E.U., 2010. "J. Am. Chem. Soc" 132, 8029–8036.
- Berry, S.N., Soto-Cerrato, V., Howe, E.N.W., Clarke, H.J., Mistry, I., Tavassoli, A., Chang, Y.-T., Pe'rez-Toma's, R., ve Gale, P.A., 2016. "Chem. Sci" 7, 5069–5077.
- Canavar, Ö. A., 2012. Bazı 4,4"-Oxybis- (N-Benzilideanilin) türevi bileşikleri ile teorik hesaplamalar, *Yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı*, Eskişehir.
- Chae, M.-Y., ve Czarnik, A.W., 1992. "J. Am. Chem. Soc" 114, 9704–9705.
- Chen, R.F., 1967. "Practical aspects of the calibration and use of the aminco Bowman spectro photofluorometer", *Anal Biochem*. 19:374–387.
- Czarnik, A.W., 1994. "Acc. Chem. Res" 27, 302–308.
- Czarnik, A.W., 1993, "Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition, *American Chemical Society, Washington, DC*"
- Chem, W., Pacheco, A., Takano, Y., Day, J.J., Hanaoka, K., ve Xian, M., 2016. "Angew. Chem. Int" 55, 9993-9996.
- Daia, X., Zhang, T., Liuc, Y., Yana, T., Lia, Y., Miao, J. ve Zhaoa, B., 2015. "A ratiometric fluorescent probe for Cysteine and its application in living cells" ,*Sensors and Actuators t*, 207, 872–877.
- Dhami, S., Mell, A. J., Rumbles, G., Bishop, S.M., Phillips, D. ve Beeby, A., 1995. "Phthalocyanine fluorescence at high concentration: dimers or reabsorption effect" *Photochemical Photobiology*, 61, 341.
- Daly, B., Linh, J., ve :Silva de, A.P., 2015. "Chem. Soc. Rev" 44, 4203–4211.
- Dujols, V., Ford, F., ve Czarnik, A.W., 1997. "J. Am. Chem. Soc" 119, 7386–7387.
- Falchuk, K., 1998. "The molecular basis for the role of zinc in developmental biolog". *Mol Cell Biochem*, 188, 41-48.

- Farrugia, G., Iotti, S., Prodi, L., Montalti, M., Zaccheroni, N., Savage, P.B., Trapani, V., Sale, P., ve Wolf, F.I., 2006. "J. Am. Chem. Soc" 128, 344–350.
- Gambetta, G.A. ve Lagarias, J.C., 2001. "Genetic engineering of phytochrome biosynthesis in bacteria", *Proc Natl Acad Sci*, 98(19), 10566–10571.
- Gardner, S.J. ve Hewlett, D.F., 2003. "Optimization and initial evaluation of 1,2-indandione as a reagent for fingerprint detection", *Forensic Sci*, 48(6):1–5.
- Hall, E.A.H., 1990. "Biosensors, Ch.1: Biosensors in context", *Open University Press: England*.
- Hu, J.J., Wong, N.-K., Ye, S., Chen, X., Lu, M.-Y., Zhao, A.Q., Guo, Y., Ma, A.C.-H., Leung, A.Y.-H., Shen, J., ve Yang, D., 2015. "J. Am. Chem. Soc" 137, 6837–6843.
- Hargittai, M., Schulz, A., Reffy B., Kolonits, 2001, *Journal of the American Chemical Society*, 123, 1149.
- He, H., Mortelaro, M.A., Leiner, M.J.P., Fraatz, R.J., ve Tusa, J.K., 2003. "J. Am. Chem. Soc" 125, 1468–1469.
- Heffern, M.C., Park, H.M., Au-Yeung, H.Y., VandeBittner, G.C., Ackerman, C.M., Stahl, A., ve Chang, C.J., 2016. "Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A" 113, 14219–14224.
- Haugland, R., 1996. *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*(6th Ed.). Eugene, Oregon: Molecular Probes.
- Heller, C.A., Henry, R.A., McLaughlin, B.A. ve Bliss, D.E., 1974. *Chem Eng Data*,19(3), 214–219.
- Lakowicz, J.R., 2006. *Principles of Fluorescence Spectroscopy* .
- Jiang, P. ve Guo, Z., 2004. "Fluorescent detection of zinc in biological systems: recent development on the design of chemosensors and biosensors". *Coord Chem Rev*, 248, 205-229.
- Jia, Z., Chen, Q., Yang, Y., Tang, Y., Wang, R., Xu, Y., Zhu, W., ve Qian, X., 2016. "J. Am. Chem. Soc" 138, 10778–10781.
- Ko, S.-K., Yang, Y.-K., Tae, J., ve Shin, I., 2006. "J. Am. Chem. Soc" 128, 14150–14155.
- Kwok, R.T.K., Leung, C.W.T., Lam, J.W.Y., ve Tang, B.Z., 2015. "Chem. Soc. Rev" 44, 4228–4238.
- Kim, H.J., Han, J.H., Kim, M.K., Lim, C.S., Kim, H.M., ve Cho, B.R., 2010. "Angew. Chem., Int. Ed" 49, 6786–6789.
- Klonis, N., Wang, H., Quazi, N.H., Casey, J.L., Neumann, G.M., Hewish, D.R., Hughes, AB., Deady, L.W. ve Tilley, L., J., 2001. *Fluoresce*, 11(1), 1–11.

- Kuzu, B., 2016 “Ph Duyarlı ve Solvatokromik Özelliğe Sahip Sensörlerin Geliştirilmesi Ve Hücre Görüntüleme Uygulamaları”, *Yüksek Lisans Tezi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Van.
- Lakowicz, J.R., 1999. “Principles of Fluorescence Spectroscopy (second edition)”, *Kluwer Academic / Plenum Publishers*, 277-330.
- Lee, D.H., Kim, S.Y., ve Hong, J.-I., 2004. "Angew. Chem., Int. Ed" 43, 4777–4780.
- Lee Min, H., Jong Seung, K., Jonathan L. ve Sessler., 2015. “Small Molecule-Based Ratiometric Fluorescence Probes for Cations, Anions. ve Biomolecules”, *Chemical Society Reviews* 44(September 1984): 4185–91.
- Li, X., Gao, X., Shi, W., ve Ma, H., 2014. "Chem. Rev" 114, 590–659.
- Lee, M.H., Park, N., Yi, C., Han, H., Hong, J.H., Kim, K.P., Kang, D.H., Sessler, J.L., Kang, C., ve Kim, S., 2014. "J. Am. Chem. Soc" 136, 14136–14142.
- Liu, Y., Su, Q., Chen, M., Dong, Y., Shi, Y., Feng, W., Wu, Z.-Y., ve Li, F., 2016. "Adv. Mater" 28, 6625–6630.
- Liu, J., Sun, Y.-Q., Zhang, H., Huo, Y., Shi, Y., ve Guo, W., 2014. "Chem. Sci" 5, 3183–3188.
- Liu, Y. ve Yu, T., 1997. "Polymers and Enzyme Biosensors", *Reviews in Macromolecular Chemistry & Physics*, C37 (3), 459-500.
- Loudet, A. ve Burgess, K., 2007. “BODIPY dyes and their derivatives: syntheses and spectroscopic properties”, *Chem Rev*, 107, 4891-4932.
- Ma, Y., Chen, H., Wang, F., Kambam, S., Wang, Y. ve Chen, X., 2014. “A highly sensitive and selective ratiometric fluorescent sensor for Zn⁺² ion based on ICT and FRET”, *Dyes Pigments*, 102, 301-307.
- Maret, W., 2001. “Zinc biochemistry, physiology and homeostasis e recent insights and current trends”, *Biomaterials*, 14, 187-190.
- Morrison, L.E. ve Stols, L.M. 1993. “Sensitive fluorescence-based thermodynamic and kinetics measurements of DNA hybridization in solution” *Biochemistry*, 32, 3095–3104.
- O’Halloran, T.V. 1993. “Transition metals in control of gene expression”, *Science*, 61, 715-725.
- Rivera-Fuentes, P., Wrobel, A.T., Zastrow, M.L., Khan, M., Georgiou, J., Luyben, T.T., Roder, J.C., Okamoto, K., ve Lippard, S.J., 2015. "Chem. Sci" 6, 1944–1948.
- Ros-lis, J.V., Garcí’a, B. Jime’nez, D., Marti’nez-Ma’n’ez, R., Sanceno’n, F., Soto, J., Gonzalvo, F., ve Valdecabres, M.C., 2004. "J. Am. Chem. Soc" 126, 4064–4065.
- Skoog, A., West, M., Holler, J. ve Crouch, R., 2004. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8. Baskı, 739.

- Smith, B.A., Akers, W.J., Leevy, W.M., Lampkins, A.J., Xiao, S., Wolter, W., Suckow, M.A., Achilefu, S., ve Smith, B.D., 2010. "J. Am. Chem. Soc" 132, 67–69.
- Sun, X., Xu, Q., Kim, G., Flower, S.E., Lowe, J.P., Yoon, J., Fossey, J.S., Qian, X., Bull, S.D., ve James, T.D., 2014. "Chem. Sci" 5, 3368–3373.
- Skoog, D.A., 1981. *Principles of Instrumental Analysis*, 58(10).
- Silva de, A.P., Gunaratne, H.Q.N., ve Gunnlaugsson, T., 1998. "Tetrahedron Lett" 39, 5077–5080.
- Silva de, A.P., Gunaratne, H.Q.N., Gunnlaugsson, T., Huxley, A.J.M., McCoy, C.P., Rademacher, J.T., ve Rice, T.E., 1997. "Chem. Rev" 97, 1515–1566.
- Sousa, L.R., ve Larson, J.M., 1977. "J. Am. Chem. Soc" 99,307–310.
- Tsien, R.Y., 1980. "Biochemistry" 19, 2396–2404.
- Thermo Scientific, "Fluorescent Labeling and Detection", <http://www.piercenet.com/method/fluorescent-probes> (Access date: August 30, 2014).
- Thevenot, D.R., Toth, K., Drust, R.A. ve Wilson, G.S., 2001. "Electrochemical biosensors, recommended definition and classification", *Biosens. & Bioelec* 16, 121-131.
- Umezawa, K., Yoshida, M., Kamiya, M., Yamasoba, T., ve Urano, T., 2017. "Nat. Chem" 279–286.
- Vallee, L. ve Falchuk, H., 1993. "The biochemical basis of zinc physiology", *Physiol Rev*, 118, 73-79., S.A. ve Miller, J.N., 1983. "Relative fluorescence quantum yields using a computer
- Vance, D.H., ve Czarnik, A.W., 1994. "J. Am. Chem. Soc" 116,9397–9398.
- Xu, Q., Heo, C.H., Kim, G., Lee, W.H., Kim, H.M., ve Yoon, J., 2015. "Angew. Chem., Int. Ed" 54, 4890–4894.
- Wang, L., Zhang, J., Kim, B., Peng, J., Berry, S.N., Ni, Y., Su, D., Lee, J., Yuan, L., ve Chang, Y.-T., 2016. "J. Am. Chem. Soc" 138, 10394–10397.
- Williams, A.T., Winfieldcontrolled luminescence spectrometer", *Analyst*, 108, 1067.
- Wolfbeis, O.S., 1991. "Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors" Vol. I., *CRC Press*, London, 385.
- Yarlıgan, S., 2001. Bazı Piridazinon türevleri üzerinde sentetik deneysel ve teorik çalışmalar, *Doktora tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir*.
- Yang, Y., Zhao, Q., Feng, W., ve Li, F., 2013. "Chem. Rev" 113, 192–270.
- Zhang, Z., Kim, D.S., Lin, C.-Y., Zhang, H., Lammer, A.D., Lynch, V.M., Popov, I., Miljanic, O.S., Anslyn, E.V., ve Sessler, J.L., 2015. "J. Am. Chem. Soc" 137, 7769–7774.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : İbrahim Berk GÜNAY
Doğum Tarihi ve Yer : 25/08/1992
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 5383497759
e-mail : ibrahimberkgunay@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD.	2019
Lisans	Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Öğretmenliği	2015
Lise	Karaman Lisesi	2010