



**5-FLUOROURASİL TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ TEMELLİ
SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ VE MODELLENMESİ**

HABİBE ŞENBABA

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Yelda YALÇIN GÜRKAN

İkinci Danışman: Doç. Dr. Aysu YARMAN

2024

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



5-FLUOROURASİL TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ TEMELLİ
SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ VE MODELLENMESİ

HABİBE ŞENBABA

ORCID: 0009-0009-3051-4997

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Danışman: Prof. Dr. Yelda YALÇIN GÜRKAN
İkinci Danışman: Doç. Dr. Aysu YARMAN

HAZİRAN-2024

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

5-FLUOROURASİL TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ TEMELLİ SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ VE MODELLENMESİ

Habibe ŞENBABA

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Yelda YALÇIN GÜRKAN

İkinci Danışman: Doç. Dr. Aysu YARMAN

Bu çalışmada, antikanser ilaç olan 5-Fluorourasil (5-FU) tespiti için elektrokimyasal moleküler baskılanmış polimer (MIP) esaslı bir sensör geliştirilmiştir. 5-Fluorourasil ve o-fenilendiamin GaussView 5.0 programı ile modellenmiş ve hesaplamalar Gaussian 09W paket programı kullanılarak DFT/B3LYP/6-31G* yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu sayede, her iki molekülün optimum geometrik parametreleri ile termodinamik ve elektronik özellikleri belirlenmiştir. Deneysel kısımda, 5-FU ve o-fenilendiamin kullanılarak camı karbon elektrot üzerinde doğrudan elektropolimerizasyon yöntemi ile MIP'ler hazırlanmıştır. Sensör oluşum basamakları ve yeniden bağlanma adımlarının tamamı redoks belirtici olan ferrisiyanür çözeltisi ile voltametrik yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir. Optimum koşullarda diferensiyel puls voltammetresi (DPV) ile kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş, 5-FU konsantrasyonunun artışıyla akımın azaldığı ve ferrisiyanür sinyalinin baskılandığı gözlemlenmiştir. Bu, kalıp molekülün boşluklara bağlandığını ve ferrisiyanürün serbestçe difüze olacağı por miktarının azaldığını göstermektedir. Sensörün lineer yanıt aralığı $1,5 \times 10^{-5}$ M ile 1×10^{-2} M arasında belirlenmiş, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla $5,33 \times 10^{-7}$ M ve $1,61 \times 10^{-6}$ M olarak hesaplanmıştır. Askorbik asit ve ürik asit ile yapılan seçicilik çalışmaları, 5-FU'nun MIP'e tercihli bağlanmasının belirgin bir kanıtıdır.

Anahtar Kelimeler: 5-Fluorourasil, Orto-Fenilediamin, Moleküler Modelleme, Gaussian 09W, DFT, Moleküler Baskılanmış Polimerler, Biyomimetik Sensörler

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND MODELING OF MOLECULARLY IMPRINTED SENSORS FOR DETERMANATION OF 5-FLUOROURACIL

Habibe ŞENBABA

Department of Chemistry

MSc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Yelda YALÇIN GÜRKAN

Co-Supervisor: Assoc. Dr. Aysu YARMAN

In this study, an electrochemical molecularly imprinted polymer (MIP) based sensor has been developed to detect the anticancer drug 5-Fluorouracil (5-FU). 5-Fluorouracil and o-phenylenediamine were modeled using the GaussView 5.0 program, and calculations were performed using the Gaussian 09W package program with the DFT/B3LYP/6-31G* method. Thus, both molecules' optimum geometric parameters and thermodynamic and electronic properties were determined. In the experimental part, MIPs were prepared on a glassy carbon electrode via direct electropolymerization using 5-FU and o-phenylenediamine. The sensor formation and rebinding steps were analyzed using voltammetric methods with a redox marker ferricyanide solution. Under optimum conditions, a calibration curve was constructed using differential pulse voltammetry (DPV), and the linear response range of the sensor was determined to be between 1.5×10^{-5} M and 1×10^{-2} M, with LOD and LOQ values calculated as 5.33×10^{-7} M and 1.61×10^{-6} M, respectively. Selectivity studies conducted with ascorbic acid and uric acid provide strong evidence of the preferential binding of 5-FU to the MIP.

Keywords: 5-Fluorouracil, Orto-Phenyenediamine, Molecular Modelling, Gaussian 09W, DFT, Molecularly Imprinted Polymers, Biomimetic Sensors

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
1. GİRİŞ	1
1.1 5-Fluorourasil.....	2
1.1.1. 5-FU Etki Mekanizması.....	3
1.1.2. 5-FU Yan Etkileri	5
1.2. Fenilendiamin ve Türevleri Fenilendiaminler	5
2. MOLEKÜLER BASKILANMIŞ POLİMERLER	6
2.1. Moleküler Baskılama Yöntemleri.....	6
2.2. Moleküler Baskılanmış Polimer Esaslı Sensör Hazırlanması.....	7
2.3. Moleküler Baskılanmış Polimer Esaslı Elektrokimyasal Sensörlerin Çalışma Prensipleri	8
3. HESAPLAMALI KİMYA VE MOLEKÜLER MODELLEME YÖNTEMLERİ	11
3.1. Kuantum Mekaniksel Yaklaşımlar.....	11
3.1.1. Yoğunluk fonksiyoneli teorisi (DFT)	11
3.1.2. B3LYP hibrit yoğunluk fonksiyoneli.....	12
4. GAUSSİAN 09W	14
5. HESAPLAMALAR.....	15
5.1. 5-FU	15
5.2. Orto-Fenilendiamin.....	16
6. DENEYSEL ÇALIŞMA	21
6.1. Materyal ve Metot.....	21
6.2. Elektropolimerizasyon	22
6.3. MIP-Sensör Oluşum Basamaklarının Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi	23
6.4. Kalıp Molekülün uzaklaştırılması.....	23
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	26
KAYNAKLAR.....	28
ÖZGEÇMİŞ	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Çalışılan moleküllerin iki boyutlu şekilleri, molekül isimleri ve molekül formülleri	2
Çizelge 2.1 Redoks belirteci ile analit tayini	9
Çizelge 2.1 Redoks belirteci ile analit tayini (devamı)	10
Çizelge 5.1 5 -Fluorourasil molekülünün teorik bağ uzunlukları.....	15
Çizelge 5.2 5-Fluorourasil molekülünün Mulliken yükleri	15
Çizelge 5.2 5-Fluorourasil molekülünün Mulliken yükleri (devamı).....	16
Çizelge 5.3 Tek protonlanmış Orto-fenilendiamin molekülünün teorik bağ uzunlukları	17
Çizelge 5.4. Tek Protonlanmış Orto-fenilendiamin Mulliken Yükleri.....	17
Çizelge 5.4. Tek Protonlanmış Orto-fenilendiamin Mulliken Yükleri (devamı)	18
Çizelge 5.5 Çift Protonlanmış Orto-fenilendiamin molekülünün atomlar arası bağ uzunlukları(Å)	18
Çizelge 5.6. Çift Protonlanmış Orto-fenilendiamin Mulliken Yükleri.....	19
Çizelge 7.1. 5-FU ve Orto-fenilendiamin enerji değerleri.....	26
Çizelge 7.2. 5-FU MIP	27

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 5-FU ‘nun hücre içinde dönüştüğü metabolitler [10].....	4
Şekil 2.1.1. MIP hazırlama şeması [20].....	6
Şekil 2.2 Elektrokimyasal tayin yöntemleri: Elektroaktif analitler, katalitik olarak aktif analitler ve redoks-inaktif analitler (soldan sağa) [28]	9
Şekil 5.1 5-Fluorourasil molekülünün DFT/6-31G(d) metodu ile optimize edilmiş yapısı	15
Şekil 5.2. Tek protonlanmış Orto-fenilendiamin molekülünün DFT/6-31G(d) metodu ile optimize edilmiş yapısı.....	16
Şekil 5.3 Çift protonlanmış o-fenilendiamin molekülünün DFT/6 -31G(d) metodu ile optimize edilmiş yapısı.....	18
Şekil 5.4DFT/B3LYP hesaplamalarına dayanan 1: 1 oranındaki 5- ön polimerizasyon kompleksinin moleküler model sunumu	20
Şekil 6.1. 5-FU-MIP doğrudan GCE üzerine 0,5 mM 5-FU ve 5 mM o-PD içeren bir çözeltide siklik voltametri kullanarak elektropolimerizasyon yöntemiyle hazırlanması.....	21
Şekil 6.2. 0,5 mM 5 FU içeren 5 mM o-fenilendiamin çözeltisinin (100 mM asetat tamponunda, pH 5,2) elektropolimerizasyonuna ait siklik voltamogramlar (0,0-0,8 V; Tarama hızı: 50 mV/s ve Tarama sayısı: 20).....	22
Şekil 6.3. Siklik voltamogramlar (5 mM ferrisiyanür çözeltisinde): Modifiye edilmemiş GCE (pembe), elektropolimerizasyondan sonra 5-FU-MIP/GCE (kırmızı), kalıp molekülün uzaklaştırılmasından sonra (mavi), 5-FU bağlandıktan sonra (siyah).....	23
Şekil 6.4 Kalibrasyon eğrisi ile 5-FU-MIP GC elektrodunun kalıp molekül uzaklaştıktan sonra (yeşil), 0.005 mM (mavi) ve 1 mM 5-FU (turuncu) bağlanmasından sonra 5 mM ferrisiyanür çözeltisindeki (100 mM KCl’de çözünmüş) diferansiyel puls voltamogramları.	24

KISALTMALAR DİZİNİ

B3LYP	Kolerasyon enerjili 3 parametreli Becke karma metodu
DCE	Damlayan Civa Elektrodu
DFT	Yoğunluk fonksiyoneli teorisi
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleotid
DPASV	Diferansiyel Puls adsorptif anodik sıyırma voltametrisi
DPKSV	Diferansiyel Puls adsorptif katodik sıyırma voltametrisi
dTMP	Dietilen Triamin Penta Metilen Fosfonik Asit
dUMP	Deoksiüridin Monofosfat
FdUMP	Florouridin trifosfat
HF	Hartree-Fock metodu
MIP	Moleküler Baskılama Yöntemleri
o-FDA	o-Fenilendiamin
p-FDA	p-Fenilendiamin
RNA	Ribonükleik Asit
5-FU	5-Fluorourasil

TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Yelda YALÇIN GÜRKAN ve Doç. Dr. Aysu YARMAN’a teşekkür ederim. Sizin kılavuzluğunuz, desteğiniz ve özveriniz sayesinde büyük bir ilerleme kaydettim. Sizlerin rehberliği ve önerileri, tezimin kalitesini artırdı ve beni daha iyi bir araştırmacı yapma yolunda cesaretlendirdi. Size minnettarım.

Aileme, bu süreçteki sabır ve destekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunmak isterim. Her zaman beni cesaretlendirdiler ve desteğini esirgemediler. Onların varlığı, bu yolculukta benim için en büyük motivasyon kaynağı oldu.

Sizlerin katkıları olmadan bu tez aşamasını başarıyla tamamlayamazdım. Yaptığım her adımda sizlerin desteğini hissettim. İlgi, zaman ve bilgi paylaşımınız için size minnettarım.

En içten saygılarımla,

Habibe ŞENBABA

Biyomedikal Mühendisi

1. GİRİŞ

Günümüzde biyosensörler, klinik analizden gıda kontrolüne, çevresel analizlerden farmasötik analizlere ve kriminal çalışmalara kadar geniş bir yelpazede büyük ilgi görmektedir. Standart analiz yöntemlerinde (kromatografi, spektroskopi) kullanılan cihazlar hem yüksek maliyetli hem de eğitilmiş personel gerektirmektedir. Buna karşın, biyosensörler kullanım kolaylığı ve uygun fiyat avantajları sunarak bu sorunlara etkili çözümler sağlar. Biyosensörler, spesifik hedef molekülleri tanıyıp ölçebilen biyolojik tanıma elemanlarını içerir ve bu nedenle birçok uygulama alanında tercih edilmektedir [28,52,53].

Ancak, biyosensörlerin temel bileşenlerinden biri olan biyolojik moleküller, yüksek spesifikite ve/veya katalitik aktiviteye sahip olmalarına rağmen, yapısal kırılganlıkları nedeniyle bazı zorluklar yaratmaktadır. Bu biyolojik moleküller, pH, sıcaklık, basınç ve organik solventlerdeki instabiliteleri nedeniyle kullanımda kısıtlamalarla karşılaşabilirler. Bu durum, biyosensörlerin pratik uygulamalarda daha dayanıklı ve stabil bileşenlerle geliştirilmesi ihtiyacını doğurur. Bu nedenle doğadan ilham alınarak, son yıllarda biyomoleküllerin biyoanaliz ve ayırma tekniklerinde tamamen sentetik organik polimerler (moleküler baskılanmış polimerler, MIP'ler) ve aptamerler ile ikame edilmesine giderek daha fazla önem verilmektedir. Aptamerler ve MIP'lerin geliştirilmesindeki ortak motivasyon, tanı, tedavi ve downstream işlemlerinde antikorların yerini almaktır. Son zamanlarda yayınlanan EURL ECVAM (EU Reference Laboratory for alternatives to animal testing) de biyomimetik kavramların önemini vurgulamaktadır [28,52,53].

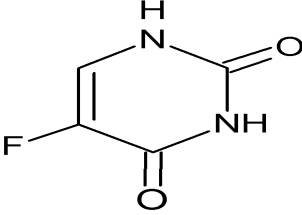
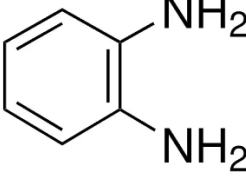
Biyomimetik sensörler, doğal kimyasal süreçleri taklit eden laboratuvar prosedürleri veya yapısal ve işlevsel olarak biyolojik materyalleri taklit eden bileşikler kullanılarak tasarlanmıştır. Biyomimetik yaklaşım, enzimler ve antikorlar gibi biyolojik makromoleküllerin yüksek kimyasal seçiciliği ve katalitik gücünden yararlanır. Doğal biyomoleküllerin, amino asitler ve nükleotitlerin kullanıldığı biyopolimerler oluşturduğu evrimsel süreç, moleküler tanıma ve katalitik dönüşüm süreçlerinde yüksek bir spesifiklik sağlar. Bu spesifiklik, epitoplar veya katalitik merkezler olarak bilinen, genellikle 10-15 amino asit içeren makromolekül bölgelerinde gerçekleşir [28,52,53].

Bu tezde, yaygın olarak kullanılan bir antineoplastik ilaç olan 5-Fluorouracil (5-FU) için biyomimetik bir sensörün geliştirilmesi üzerine odaklanılmıştır. 5-FU, DNA ve RNA sentezini inhibe ederek kanser hücrelerinin çoğalmasını durduran bir ilaçtır. Ancak, 5-FU'nun dar

terapötik aralığı ve ciddi yan etkileri, tedavi sırasında plazma konsantrasyonunun dikkatlice izlenmesini gerektirir. Bu nedenle, 5-FU'nun hızlı, hassas ve seçici bir şekilde tespit edilebilmesi büyük önem taşımaktadır [6,7].

Bu çalışmanın temel amacı, 5-FU MIP esaslı sensörünü hazırlamadan önce hazırlamak 5-FU ve *o*-fenilendiamin (fonksiyonel monomer) ön polimerizasyon kompleksin hesaplamalı kimya yöntemleri kullanılarak modellenmesidir. İkinci amaç ise 5-FU için MIP-esaslı sensörün *o*-fenilendiamininin elektropolimerizasyonu direkt olarak camı karbon elektrot yüzeyinde sentezlenmesidir. MIP sentezinin ve yeniden bağlanma adımlarının tamamı redoks belirtici olan ferrisiyanür çözeltisi ile voltametrik yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir.

Çizelge 1.1 Çalışılan moleküllerin iki boyutlu şekilleri, molekül isimleri ve molekül formülleri

Moleküllerin iki boyutlu şekilleri	Molekül İsimleri	Molekül Formülleri
	5-Fluorourasil	$C_4H_3FN_2O_2$
	Orto-fenilendiamin	$C_6H_4(NH_2)_2$

1.1 5-Fluorourasil

5-Fluorourasil antimetabolitler adı verilen ilaç ailesi üyesidir. Bir pirimindin analogu ve sistemik antineoplastik ilaçlardandır. Antineoplastik kemoterapinin esas amacı, sağlıklı hücrelere zarar vermemek ya da zararı minimum düzeyde tutarak hastada tümör hücrelerinin gelişimini ve üremesini durdurmaktır. Bu ilaç grubunun dezavantajı ise kanser hücrelerini seçmekte yetersiz kalmalarıdır. Bu yetersizliğin nedeni ise hücre artışı durdurmaya nükleotit sentezi inhibisyonu ile yapmalarıdır. Bu durumun sonucu olarak kemik iliği hücreleri, epitel doku oluşum hücreleri benzeri çok fazla polifere olan hücrelerde kanser hücreleriyle birlikte yüksek oranda yok olmaktadır [1]. 5-Fluorourasile ait anti-tümör özellikler 1950'li yıllarda keşfedilmiş ve yıllardır kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya devam etmektedir. 5-

Florourasil, Urasil pirimidinin analogudur ve organik bir bileşiktir. Urasil ile arasındaki tek fark 5-C konumunda Hidrojen yerine Flor bağlı olmasıdır [2].

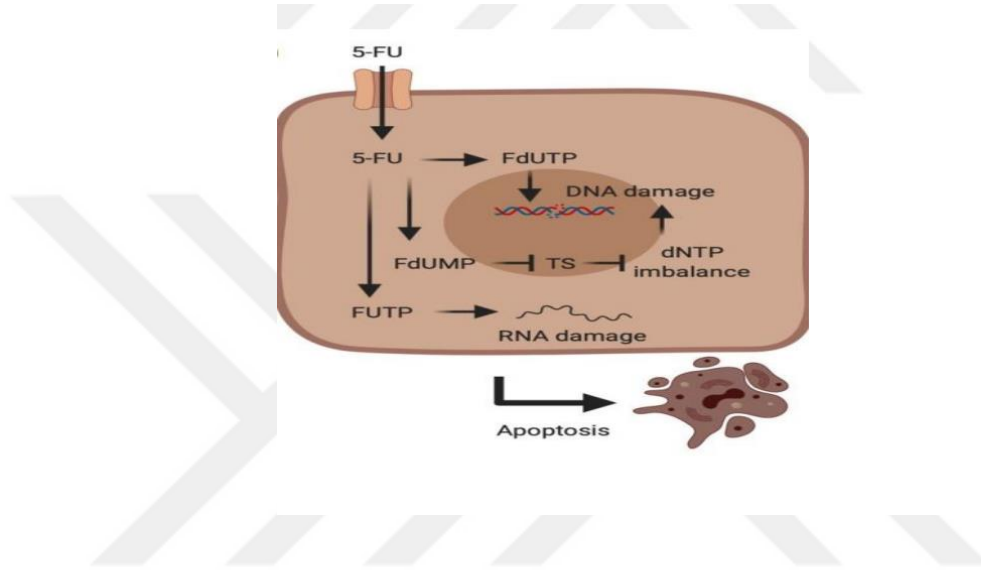
5-Fluorourasil kolon, göğüs, sindirim sistemi, akciğer kanseri gibi birçok kanser çeşidinin tedavisinde kullanılır. Başka kemoterapik ilaçlarla beraber kombine olarak kullanılabildiği gibi intravenöz yollarla tek başına da hastaya verilebilmektedir. Araştırmaların sonucunda, kombinasyon halde kullanıldığı zaman larenks kanseri, nazofarenks kanseri gibi baş ve boyun bölgesi kanserlerinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir. 2001 yılında yapılan denemelerde 5-FU ileri düzey kolorektal kanserlerde tek başına etki mekanizmasının %10 oranlarında kaldığı ve düşük olduğu bulunmuştur. Bu veriler ışığında yapılan çalışmalarda Irinotecan ve Oxaliplatin ile kombine edildiğinde tedaviye yanıt oranının %40-50 seviyesine yükseldiği görülmüştür [3,4]. 5-FU katabolizmasında hızı sınırlayan enzim dihidropirimidin dehidrojenaz (DPD) 'dır. DPD, 5-FU 'yu dihidrofluorourasil (DHFU) 'e dönüştüren enzimdir. Uygulanan 5-FU miktarının %80'den çoğu normalde DPD'nin de bol miktarlarda eksprese edildiği karaciğerde katabolize edilmektedir [5].

Kanser hücreleri sürekli olarak mutasyon geçirdikleri için klinik öncesi ya da klinik uygulamalar sırasındaki tepkilerden antikanser ilaçların etkinlik düzeylerinin belirlenmesi sınırlıdır. Kişiye özel tedavi yöntemleri ve antikanser hücre çalışmalarında ilerleme kaydedilse de 5-FU içeren kemoterapi ilaçları günümüzde kanser tedavilerinde tercih edilen ürün olmaktadır. 5-FU'nun muadillerine göre uygun fiyatlı olması da tercih edilme nedenleri arasındadır.

1.1.1. 5-FU Etki Mekanizması

5-FU, Urasil analogu olduğu için hücrelere taşınması sırasında urasilin izlediği yollara benzer yollar kullanarak taşınır [6]. Hücre içindeki 5-FU, esas olarak DNA/RNA hasarına sebep olan üç metabolite dönüştürülür. Bu metabolitler; Florodeoksiüridin monofosfat (FdUMP), Florodeoksiüridin trifosfat (FdUTP) ve Florouridin trifosfat (FUTP) şeklindedir. FdUMP, timidilat sentazı (TS) inhibe ederek etki gösterir ve bu inhibisyonla deoksitimidin trifosfat (dTTP) düzeyleri azalırken, deoksiüridin trifosfat (dUTP) düzeyleri artar ve dNTP dengesizliği ortaya çıkar [6,7]. Timidilat sentazın işlevi, deoksiüridin monofosfatı, timidin monofosfata metilatlamaktır. Bu nedenle timidilat sentetaz enziminin bloke edilmesi, hücrede timidin monofosfat eksikliğine yol açmakta [7] ve DNA yapımını bozmaktadır. Sonuç olarak da hızla bölünen kanserli hücreler hücre ölümüne uğramaktadır. Timidilat sentaz, deoksiüridin

monofosfatın (dUMP) ve bir metil donörü olan 5,10- metilentetrahidrofolat (CH_2THF)'ın deoksitimidin monofosfata (dTTP) dönüşümünü katalize etmektedir. 5-FU 'nun aktif metabolitlerinden biri olan FdUMP, TS'nin nükleotid bağlanma bölgesine bağlanarak TS ve CH_2THF ile stabil üçlü bir kompleks oluşturmaktadır. Bu kompleks dUMP'nin nükleotid bağlanma bölgesine olan erişimini engelleyerek dTTP sentezinin inhibe olmasına sebep olur. Bu olaylar sonucunda oluşan dNTP dengesizliği ve artan dUTP seviyelerini DNA hasarlarının oluşmasına neden olmaktadır [8,9].



Şekil 1.1 5-FU 'nun hücre içinde dönüştüğü metabolitler [10]

FdUTP'nin DNA ile yanlış birleşmesi sonucunda FdUTP/ dTTP oranı artar ve yanlış nükleotid birleşmesi oluşur ve DNA hasarı ortaya çıkar. FUTP metaboliti, RNA'ya dahil edilir. Bu durum sonucunda farklı RNA toksisiteleri oluşabilir. Bunlar, olgun rRNA'ya dönüşecek olan pre-rRNA 'nın işlenmesinin engellenmesi, tRNA'ların transkripsiyon sonrası modifikasyonunun ve snRNA/protein komplekslerinin aktivitesinin bozularak pre-mRNA'nın eklenmesinin engellenmesidir. 5-FU hücrede farklı yollardan varlık gösterse de temel etki mekanizması Timidilat Sentaz inhibitörü olarak görev yapmasıdır. Timidilat, DNA onarım ve replikasyonunda etkin görev yapan temel bir nükleotid öncüsüdür ve TS, timidilat metabolik yolunda merkezi bir rol oynamaktadır [11]. Hücresel metabolizmadaki ihtiyaçların korunmasında olduğu gibi kritik önemlere sahip olması nedeniyle TS hem folat hem de nükleotid bazlı inhibitörler için kemoterapötik ilaç ajanı olarak [12,13]. Deoksitimidin trifosfat (dTTP) TS enziminin inhibisyonu sonucuyla oluşur ve tükenmesi halinde hücrelerde ölüm ve kromozom kırıkları gözlenmektedir. Çoğalan hücrelerde oldukça önemli bir etkiye sahip olduğundan, TS, çeşitli antikanser ilaçları için de önemli bir hedef halindedir. İnhibisyonun başarısızlığı, bu enzimi hedefleyen ilaçlara karşı hücrelerde gelişen direncin en önemli

nedenlerindendir [14]. Bunun yanı sıra TS enziminin aşırı ekspresyonu, 5-FU ilaç direnci nedenleri arasındadır [15].

1.1.2. 5-FU Yan Etkileri

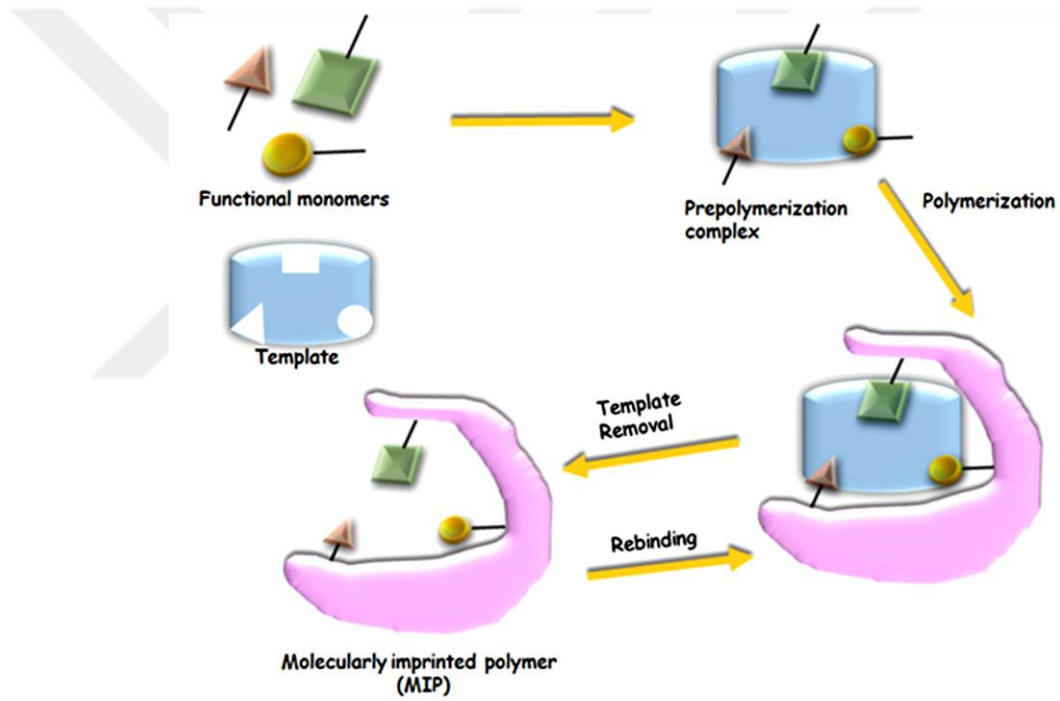
5-FU'e ait en yaygın yan etkiler kemik iliği, gastrointestinal sistem, deri ve sinir sistemi üzerindedir. Yan etkiler hastanın fiziksel özelliklerine, yaşına, uygulama dozu ve şekline göre farklılıklar gösterebilir. Nadir de olsa kardiyotoksisite görülebilmektedir [16]. Kemik iliği üzerinde oldukça toksik olan ilaç, kemik iliğinin baskılanması ile anemi ve lökopeni olarak iki şekilde ortaya çıkmaktadır. Anemi oldukça şiddetli olduğundan, kullanım sırasında ana doz sınırlayıcı faktör olarak dikkate alınmaktadır. Anoreksi, bulantı ve kusma da yaygın görülen etkiler arasındadır. Ancak diyare ve stomatisis görülmesi durumunda tedavi kesilmektedir [1].

1.2. Fenilendiamin ve Türevleri Fenilendiaminler

o-FDA yukarıdaki uygulama alanlarına ilaveten MIP esaslı sensör hazırlamada da tercih edilen bir monomerdur [17]. Camurri ve arkadaşlarının çalışmasında belirtildiği gibi, pH ve potansiyel aralığı gibi parametreler polimerin yapısını ve özelliklerini önemli ölçüde etkiler [18] Polimerizasyon sürecinde oluşan film iletken değildir. Bulgular, polimerizasyonun ilk aşamasının pH'dan bağımsız olduğunu göstermektedir [19]. Zincir yayılımı, oksidatif birleşme ile intramoleküler oksidasyonlarla rekabet eder ve fenazin (düşük pH ve potansiyelde) veya 1,4-benzoquinonediimin (yüksek pH ve potansiyelde) birimlerini veya her ikisini de oluşturur. Bu mekanizmalar, MIP'lerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini belirlemede kritik rol oynar.

2. MOLEKÜLER BASKILANMIŞ POLİMERLER

Rus bilim insanı Polyakov, 1931 yılında, "moleküler hafıza"ya sahip ilk sentetik polimeri geliştirdi[54]. Bu polimer, daha sonra "Moleküler Baskılanmış Polimerler (Molecularly Imprinted Polymers: MIPs)" olarak bilinen malzemelerin temelini oluşturdu. Wulff ve Mosbach, MIP'lerin gelişimini büyük ölçüde ileriye taşımışlardır. Teknik, "kalıp molekül" olarak adlandırılan analitin, fonksiyonel monomerlerle (çapraz bağlayıcı ile veya çapraz bağlayıcı olmadan) birlikte polimerleştirilmesi ve ardından uygun bir solvent veya solvent karışımı kullanılarak polimerden çıkarılması prensibine dayanır (Şekil 1) [20]. Bu ekstraksiyon işlemi sonucunda, analitin şekil, yapı ve/veya işlevine uygun boşluklar oluşur. Bu boşluklar, polimerin analite karşı yüksek bir seçicilik göstermesini sağlar.



Şekil 2.1.1. MIP hazırlama şeması [20]

2.1. Moleküler Baskılama Yöntemleri

Moleküler baskılanmış polimerlerin sentezi için iki ana yaklaşım mevcuttur [21,17].

Kovalent Yaklaşım: 1972'de Wulff ve Sarhan [22] ve Shea [23] tarafından geliştirilen kovalent yaklaşımda, polimerizasyon öncesinde kalıp molekül-fonksiyonel monomer kompleksi, reversibl kovalent bağlarla oluşturulur. MIP'ten kalıp molekülün çıkarılması için

kimyasal bağların kırılması gerekmektedir ve yeniden bağlanma aynı kovalent bağlar üzerinden gerçekleşir.

Kovalent yaklaşımın en önemli avantajı bir avantajı, monomer-kalıp molekül kompleksinin stabil olması ve stokiometrik bir orana sahip olmasıdır. Kalıp molekülün uzaklaştırılması sonucunda oluşan boşluklar kompakt ve homojen olarak dağılmıştır. Ayrıca, monomerler ve kalıp molekül arasında stabil kovalent bağların oluşumu nedeniyle, yüksek sıcaklık, düşük veya yüksek pH veya organik çözücüler gibi geniş bir polimerizasyon koşulları yelpazesi uygulanabilir [21,17].

Ancak, bazı dezavantajları da vardır; hedef ve kovalent bağın kırılması zorlu koşullar gerektirir ve bu süreç yavaştır [24,25].

Non-Kovalent Yaklaşım: Arshady ve Mosbach tarafından geliştirilen non-kovalent yaklaşımda, kalıp molekül ve fonksiyonel monomer hidrojen bağları, iyonik etkileşimler, van der Waals ve hidrofobik kuvvetler aracılığıyla etkileşime girer [26]. Bu etkileşim doğada meydana gelen moleküler tanımayı andırır. Pratikte non-kovalent yaklaşımın uygulanması daha kolaydır ve daha geniş bir kalıp molekül çeşitliliği kullanılabilir [17,21].

MIP, kalıp molekülün yapısı ve reaktivitesi hakkında spesifik bilgi olmadan hazırlanabilir. Bu yöntemle hazırlanan MIP'teki kalıp molekül ve fonksiyonel gruplar arasındaki etkileşim daha az spesifiktir. Ayrıca bağlanma bölgeleri daha heterojendir, hedef molekül dışındaki diğer moleküllerin bağlanmasına neden olabilir. İlaveten bağlanma kinetiği daha yavaştır.

Yavaş bağlanma kinetiğinin üstesinden gelmek için Whitcombe ve arkadaşları semi-kovalent yaklaşım adı verilen bir yaklaşım geliştirmişlerdir. Bu yaklaşım yukarıda açıklanan iki yöntemin bir karışımıdır MIP oluşumu kovalent bağlara dayanır. Kalıp molekülün yeniden bağlanması ise kovalent olmayan etkileşim yoluyla gerçekleşir [27].

2.2. Moleküler Baskılanmış Polimer Esaslı Sensör Hazırlanması

Moleküler baskılanmış polimer esaslı bir sensörün etkili bir performans göstermesi için MIP'in elektrot yüzeyi ile yakın kontakta olması gerekmektedir. Literatürde MIP-esaslı sensörlerinin hazırlanması için iki farklı prosedür uygulanmıştır [28].

İlk prosedürde, MIP ayrı olarak sentezlenip sonrasında transdüser yüzeyine immobilize edilir. Geçmişte, MIP'ler çoğunlukla bulk polimerizasyon yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir. Bu yöntem sonucunda monolitik malzemeler elde edilir, ancak bunların sonra daha sonra öğütülüp küçük partiküller haline getirilmesi gerekir. Bu yöntemin en büyük dezavantajlarından bir bölümü, kalıp molekülün uzaklaştırılmasıyla oluşan spesifik oyuklara erişebilirliğinin zorluğu, bu oyukların homojen dağılmaması, kalıp molekülün uzaklaştırılması ve/veya geri bağlanması için daha uzun süre gerekmesi gibi etmenlerdir. Bu sorunların üstesinden gelmek için mikro veya nanoboncuklar, nanopartiküller veya nanoküreler gibi farklı formda MIPler hazırlanmıştır [28-31].

MIP'lerin transdüser immobilizasyonu için çeşitli yöntemler uygulanmıştır. En basit yaklaşım transdüser üstüne damlatma yöntemidir. Bununla birlikte spin kaplama veya spreycaplama uygulanan diğer yöntemlere örnektir.

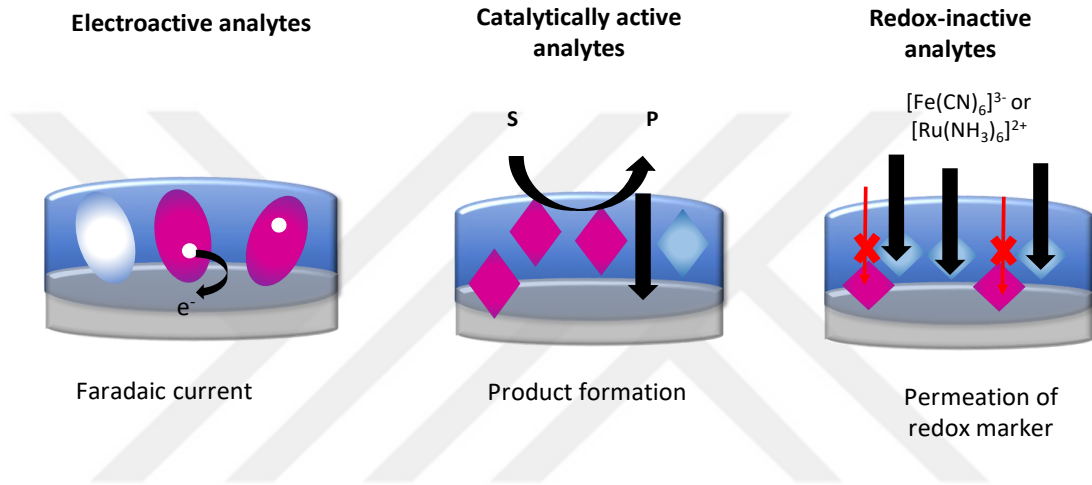
İkinci prosedürde, MIP doğrudan transdüser üzerinde oluşturulur. Bunlara örnek olarak dopamin monomeri kullanılarak yapılan bir çalışmada olduğu gibi kendi kendine polimerizasyon, mikrokontakt printing veya elektropolimerizasyon yöntemleri verilebilir. Bu yöntemler içinde elektropolimerizasyon çeşitli avantajlara sahiptir: Polimerizasyon sırasında sistemden geçirilen yük miktarı değiştirilerek film kalınlığının ayarlanabilir. Polimerizasyon sırasında diğer yöntemlerde kullanılan çapraz bağlayıcı bu yöntemde kullanılmasa da olur. Ayrıca, bu yöntem basit ve hızlıdır.

2.3. Moleküler Baskılanmış Polimer Esaslı Elektrokimyasal Sensörlerin Çalışma Prensipleri

MIP esaslı biyomimetik sensörler ağırlıklı olarak elektrokimyasal ve optik transdüktörler kullanılarak uygulama alanı bulsa da piezoelektrik termal ve mikromekanik transdüktörler de kullanılmıştır [28].

Elektrokimyasal biyosensörlerin temeli 1962 yılında Leland Clark tarafından ilk glikoz sensörü ile atılmıştır [32]. İlk defa enzim esaslı geliştirilen elektrokimyasal biyosensörlere ilaveten antikorları ve nükleik asitleri biyolojik bileşen olarak içeren biyosensörler de geliştirilmiştir. İlerleyen yıllarda da MIP'lere veya aptamerlere dayalı elektrokimyasal biyomimetik sensörler de geliştirilmiştir. Kullanılan elektrokimyasal tayin yöntemleri temel olarak üç gruba ayrılabilir (Şekil 2.2). Eğer analit elektroaktif ise faradik akım ölçülür. Bu hedef madde ile elektrot arasındaki direkt elektron transferine dayanır. Özcan ve Şahin'in parasetamol

tayini için geliştirdikleri MIP esaslı sensör ile Reddy ve arkadaşlarının hazırladığı hemoglobin-MIP sensörü bu yöntemle örneklerdir [33,34]. Eğer analit enzim veya enzim-bağlı ise, Jetzschmann ve arkadaşlarının geliştirdiği asetilkolinesteraz-MIP sensöründe olduğu gibi enzimatik aktivite ölçölür. Üçünce ve literatürde gerek elektroaktif gerekse elektroinaktif maddelerin tayini için uygulanan yöntem redoks belirteci kullanmayı içerir. Yöntem, analitin bağlanmasıyla redoks belirtecinin sinyalinin değişiminin ölçölmesine dayanır. Çizelge 2.1.'de bu yöntemle ait örnekler gösterilmiştir.



Şekil 2.2 Elektrokimyasal tayin yöntemleri: Elektroaktif analitler, katalitik olarak aktif analitler ve redoks-inaktif analitler (soldan sağa) [28]

Çizelge 2.1 Redoks belirteci ile analit tayini

Kalıp Molekül	Monomer	Elektrot	Analitik Yöntem	Tayin Aralığı ve LOD	Referans
Tamoksifen	o-PD/Resorsinol	GCE	CV	1 nM-100 nM	[35]
Lorazepam	Pirol	Sol-jel-AuNP- Grafit	KDV	0.2-2 nM ve 2-20 nM; LOD: 0.09 nM	[36]
2,4-Diklorofenol	o-PD	PDA-rGO GCE	- DPV	2-10 nM ve 10-100 nM; LOD: 0.8 nM	[37]
Gemsitabin	PATP	AuNP-Au elektrot	LTV	3.8 fM -38 nM; LOD: 3 fM	[38]

Çizelge 2.2 Redoks belirteci ile analit tayini (devamı)

Kalıp Molekül	Monomer	Elektrot	Analitik Yöntem	Tayin Aralığı ve LOD	Referans
Sülfametoksazol	o-PD	GCE	KDV	0.2-1.4 μ M; LOD: 0.05 μ M	[39]
Lidokain	Resorsinol	Poröz C-GCE	CV	0.2 pM-8 nM; LOD: 67 fM	[40]
Kolesterol	PATP	AuNP-MWCNT-GCE	DPV	1×10^{-13} - 1×10^{-9} M; LOD: 3.3×10^{-14} M	[41]
17- β -Estradiol	3,6-diamino-9-ethylcarbazole	GCE	EIS	1 aM to 10 μ M; LOD: 0.36 aM	[42]
Transferrin	Skopoletin	Au elektrot	KDV	0.1 - 1 μ M	[43]
Ferritin	Fenol	Nanotüp array	EIS	1×10^{-12} - 10^{-7} g/L	[44]
IL-1 β	Eriochrome black T	EDOT-PATP-Carbon-SPE	EIS	60 pM-600 nM LOD: 1.5 pM	[45]
HER2-ECD	Fenol	Au-SPE	DPV	10-70 ng/mL; LOD: 1.6 ng/L	[46]

o-PD: o-Fenilendamin; GCE: Glassy carbon electrode; AuNP: Altın nanopartikül; KDV: Kare Dalga Voltametri; LTV: Lineer Taramalı Voltametri; DPV: Diferansiyel Puls Voltametri; EIS: Elektrokimyasal İmpedanz Spektroskopisi; PDA-rGO: Polydopamin-indirgenmiş grafen oksit; PATP: p-Aminotiyofenol; PGE: Kalem grafit elektrot (Pencil graphite electrode); SPE: Yüzey baskılı elektrot (Screen-printed electrode); MWCNT: Çok duvarlı karbon nanotüp (Multi-walled carbon nanotubes); IL-1 β : Interleukin-1beta; CV: Siklik Voltametri; EDOT: 3,4-Etilendioksitiyofen; HER2-ECD: Human epidermal growth factor receptor 2

3. HESAPLAMALI KİMYA VE MOLEKÜLER MODELLEME YÖNTEMLERİ

Hesaplamalı kimya temel olarak iki temel temele dayanmaktadır. Bunlar kompakt mekanik ve kuantum mekaniği yöntemleridir.

3.1. Kuantum Mekaniksel Yaklaşımlar

Elektronik yapı yöntemleri kullanılarak Schrödinger denklemlerinin çözümüne dayanan yöntemlerin hepsi kuantum mekaniksel yasalara başvurur. Moleküler mekanik yöntemlerine göre oldukça karmaşık ve uzun hesaplamalar gerektirmektedir. Bu yaklaşıma göre, evrende var olan her parçacığa eşlik eden teorik bir pilot dalga olması gerekir ve bu dalganın fonksiyonunun çözümü klasik fizik yasaları ile yapılamaz. Çünkü atom altı dünyada fiziksel geçişler sürekli değildir ve enerji kuantlaşmıştır [47].

3.1.1. Yoğunluk fonksiyoneli teorisi (DFT)

DFT – yoğunluk fonksiyoneli teorisi, moleküllerin temel hal enerjilerinin, elektron yoğunluğunun bir fonksiyoneli olarak yazılabileceği fikriyle 1964 yılında Hohenberg ve Kohn tarafından önerilmiştir. Toplam elektronik enerji ile toplam elektronik yoğunluk arasında bir ilişkinin var olduğu varsayımından yol çıkılır. Hartree-Fock metodunun genişletilmiş versiyonu olarak da bilinen DFT’deki hesaplamalarda, elektron yoğunluğunu (ρ) hesaplayan iki yeni fonksiyon tanımlanır ve bunlara yoğunluk fonksiyonelleri adı verilmektedir. Bu sayede, HF metodundaki çözülmesi zor olan iki veya daha fazla sayıdaki elektron-elektron etkileşimi problemini tek bir problem haline dönüştürerek hesaplamaya çalışır. Yani, sistemdeki tüm elektronlar, tek bir yoğunluk fonksiyoneli şeklinde tanımlanabilmektedir.

Kohn-Sham eşitliklerinin çözülmesiyle bir başlangıç orbital dizisi elde edilir ve bu orbital dizisi, elektron yoğunluğunu hesaplamak için kullanılır. Bu sıralı işlemler, yoğunluktaki ve değişim enerjisindeki fark belli bir minimuma ulaşınca kadar devam eder ve sonrasında da elektronik enerji hesaplanır. Sonuçların güvenilirliği ise günümüzde dahi tartışmalıdır.

Günümüzde DFT metotları elektronik enerjiyi, aşağıdaki terimlerin toplamı olarak tanımlarlar.

$$E_{\text{toplam}} = E_T + E_{\text{NN}} + E_V + E_J + E_{\text{XC}} \quad (3.1)$$

E_T : Elektronların hareketinden kaynaklanan kinetik enerjiye ait terimdir.

E_{NN} : Çekirdek-çekirdek itme potansiyel enerjisini tanımlar.

E_V : Çekirdek-elektron çekimlerine ait potansiyel enerjiyi tanımlar.

E_J : Elektron-elektron itmesine ait terimdir. E_{Coul} olarak da bilinir çünkü Coulomb itmesini ifade eder.

E_{XC} : Geriye kalan diğer elektron-elektron etkileşimlerini kapsar ve değişim- korelasyon terimi olarak adlandırılır. E_{XC} terimi genellikle “değişim” ve “korelasyon” olarak iki kısma ayrılır:

$$E_{XC}(\rho) = E_X(\rho) + E_C(\rho) \quad (3.2)$$

1990'lı yıllardan itibaren Hartree-Fock ve DFT yöntemlerinin birleştirme teknikleri geliştirilmiş olup bunlara hibrit fonksiyoneller adı verilmektedir. HF ile elde edilen değişim ile DFT ile elde edilen sağlıklı fonksiyonellerin belirli katsayılar ve iyileştirme yetenekleri ile parçalara uyum sağlayacak şekilde çarpılması ve daha sonra genişletilmesiyle oluşturulurlar. En iyi performans gösteren ve yaygın olarak kullanılan hibrit fonksiyonel, kısaca B3LYP ve B3PW91 olarak bilinen Becke'nin üç parametrelili fonksiyonudur.

DFT yöntemi Hartree-Fock'a oldukça benzese de; Sistemler elektron verilerini de hesaplayarak daha yakın sonuçlar sağlar. Çalışma koşulları ve işlemci yükleri neredeyse aynı. Birçok DFT yöntemi ampirik verilerin elde edilmesinde daha güvenilir sonuçlar sağlar. Büyük yapıli moleküllere, geçiş veya normal metal komplekslerine, büyük organik moleküllere ve proteinlere uygulanarak başarılı sonuçlar elde edilebilir. Günümüzde anlatılan bu çarpıklıklar geliştirilmeye devam etmekte ve yeni işlevsellikler sıklıkla yaşanmaktadır [48].

3.1.2. B3LYP hibrit yoğunluk fonksiyoneli

Temel dalga mekanizmasını temel alan Hartree-Fock yaklaşımında ilişkili enerjiler hesaplanamaz ancak kinetik enerji hakkında fikir edinmemizi sağlar. Yoğun fonksiyonel sistem, alışverişi ve enerji enerjilerini daha iyi sağlar. Ortaya çıkan tam enerji tanımı için saf Hartree-Fock veya saf dağıtılmış fonksiyonel teori yerine, bu uygulamaların enerji ifadelerinin toplam elektronik enerji ifadelerinde kullanılan hibrit modeller türetilmiştir. Bu modeller, toplam enerji, bağ uzunlukları ve iyonlaşma enerjileri gibi ifadelerin saf modellere göre daha iyi programlanmasıyla daha kesin sonuçlar sağlar. Bazı yaygın enerji fonksiyonları aşağıdaki gibidir ve B3LYP, Becke'nin üç parametrelili enerji fonksiyonel hibrit yaklaşımı (B3) ve Lee-Yang ve Parr'ın sağlıklı fonksiyoneliinden oluşan bir salgın hibrit fonksiyoneldir (LYP).

Kinetik enerji fonksiyoneli: H28, TF27

Değiş-tokuş enerji fonksiyoneli: F30, D30

Korelasyon enerji fonksiyoneli: LYP, VWN

Becke, çalışmasında değiş-tokuş ve korelasyon enerjisi E^{xc} için aşağıdaki denklemde görülen E_{karma}^{xc} karma modelini ortaya çıkarmıştır. Burada c ifadeleri sabittir.

$$E_{karmaXC} = C_{HF} + C_{DFT}E_{DFTXC} \quad (3.3)$$

Buradan hareketle Becke BLYP ve B3LYP karma modellerini önermiştir. Bu karma modellerden en iyi sonuç vereni ve en yaygın olarak kullanılanı LYP korelasyon enerjili üç parametrelili Becke karma metodu olan B3LYP'dir. B3LYP modelinde değiş tokuş ve korelasyon enerjisi aşağıdaki denklemdeki gibidir.

$$E_{B3LYP}^{XC} = E_{LDA}^X + C_0(E_{HF}^X - E_{LDA}^X) + C_1\Delta E_{B88}^X + E_{VWN3}^C + C_2(E_{LYP}^C - E_{VWN3}^C) \quad (3.4)$$

Burada C_0 , C_1 , ve C_2 katsayıları deneysel değerlerden türetilmiş sabitler olup değerleri sırası ile 0,2, 0,7 ve 0,8 dir. Dolayısı ile B3LYP modelinde bir molekülün toplam elektronik enerji ifadesi aşağıdaki formüldeki gibidir [47].

$$E_{B3LYP} = E_V + E_J + E_{B3LYP}^{XC} \quad (3.5)$$

Burada:

E_J : elektron-elektron itme ifadesi

E_{B3LYP}^{XC} : B3LYP değiş tokuş ve korelasyon enerjisi

E_V : çekirdek-elektron çekimi ya da çekirdekler arası itme potansiyel enerjisidir.

4. GAUSSIAN 09W

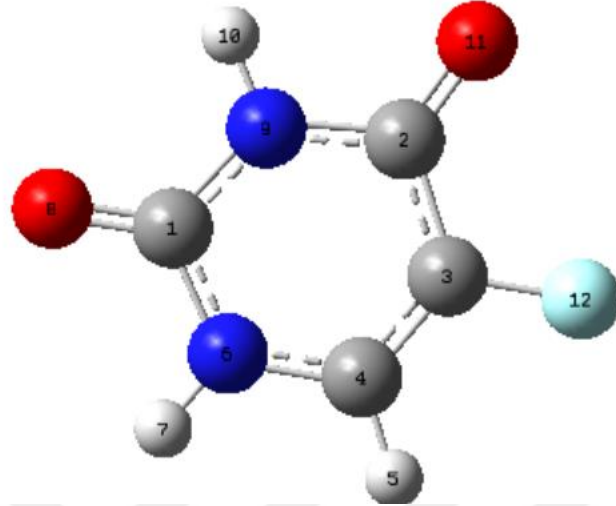
Gaussian 09, bilimsel hesaplamalarda kullanılan bir program paketidir ve yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT), Hartree-Fock yöntemi, manyetik alanlar, manyetik özellikler, rezonans yapıları gibi çeşitli kuantum kimya hesaplamalarını gerçekleştirmek için kullanılır. Gaussian 09, elektronik yapı, tepkime enerjileri, moleküler özellikler ve daha birçok kimyasal özelliklerle ilgili hesaplamalar yapabilen geniş bir program yelpazesi sunar.

Gaussian 09, GaussView adlı bir grafik arayüzle birlikte gelir ve kullanıcılara daha interaktif bir çalışma ortamı sunar. Gaussian programları genellikle bir dizi giriş dosyası ile çalışır ve bu dosyalar, kullanıcının yürütmek istediği belirli hesaplamaları belirtir. Gaussian 09, oldukça esnek ve özelleştirilebilir bir programdır, bu da araştırmacıların farklı hesaplamaları yapmak için gereksinim duydukları çeşitli parametreleri ayarlamalarına olanak tanır.

Bu program, teorik hesaplamalara dayalı moleküler yapı analizi, reaksiyon mekanizmalarının anlaşılması, elektron dağılımları, enerji seviyeleri gibi birçok kimyasal problemin çözümü için kullanılır. Gaussian 09, özellikle organik, inorganik ve biyokimya alanlarında çalışan teorik kimyagerler ve moleküler modelleme uzmanları arasında yaygın olarak kullanılmaktadır.

5. HESAPLAMALAR

5.1. 5-FU



Şekil 5.1 5-Fluorourasil molekülünün DFT/6-31G(d) metodu ile optimize edilmiş yapısı

5-Fluorourasil molekülünün üç boyutlu geometrisi, GaussView 05 moleküler görüntüleme programı kullanılarak çizilmiş ve moleküldeki atomların uzaydaki konumları belirlenmiştir. Tüm teorik hesaplamalar, Gaussian 09W paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.1.'de incelenen molekülün DFT/6-31G(d) yöntemiyle hesaplanan geometrik yapısı, atomların numaralandırılmış şekliyle gösterilmiştir. Hesaplamalar, Gaussian 09W programında kodlanmış bulunan Hartree-Fock ve Becke'nin üç parametrelili enerji fonksiyoneli hibrit yaklaşımı ile Lee-Yang ve Parr'ın korelasyon fonksiyoneli ile oluşan B3LYP teorisi kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 5.1 5 -Fluorourasil molekülünün teorik bağ uzunlukları

Atomlar	Bağ Uzunlukları (Å)
C3-F12	1,35000
C1-N6:	1,39543
C2-O11	1,43000
C1-O8	1,39516

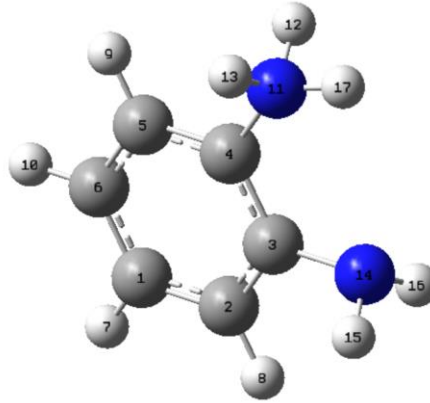
Çizelge 5.2 5-Fluorourasil molekülünün Mulliken yükleri

Atom Numarası	Atom	Mulliken Yükleri
1	C	0,467211

Çizelge 5.3 5-Fluorourasil molekülünün Mulliken yükleri (devamı)

Atom Numarası	Atom	Mulliken Yükleri
2	C	0,397771
3	C	0,281558
4	C	0,060956
5	H	0,205324
6	N	-0,550470
7	H	0,337675
8	O	-0,233120
9	N	-0,614196
10	H	0,364645
11	O	-0,416838
12	F	-0,300517

5.2. Orto-Fenilendiamin



Şekil 5.2. Tek protonlanmış Orto-fenilendiamin molekülünün DFT/6-31G(d) metodu ile optimize edilmiş yapısı

Orto-fenilendiamin molekülünün üç boyutlu geometrisi, GaussView 05 moleküler görüntüleme programı kullanılarak çizilmiş ve moleküldeki atomların uzayda yerleşimleri belirlenmiştir. Tüm teorik hesaplamalar Gaussian 09W paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.1 ve Şekil 5.2’de incelenen moleküllerin DFT/6-31G(d) yöntemiyle hesaplanan geometrik yapısı, atomların numaralandırılmış şekliyle gösterilmiştir. Hesaplamalar, Gaussian 09W programında kodlanmış bulunan Hartree-Fock ve Becke'nin üç

parametrelili enerji fonksiyoneli hibrit yaklaşımı ile Lee-Yang ve Parr'ın korelasyon fonksiyoneliinden oluşan B3LYP teorisi kullanılarak yapılmıştır. Kutuplanma etkisini gidermek için eklenen polarize fonksiyonları ve uyarılmış iyonik moleküllerde elektron yoğunluğunun molekülün temel durumuna göre daha dağınık olma durumunu modellemek adına eklenen difüz fonksiyonları içeren 6-31G(d) baz seti hesaplamalarda kullanılmıştır.

Tek protonlanmış Orto-fenilendiamin molekülünün DFT/6-31G(d) seti ile hesaplanan teorik geometrik parametreleri (Bağ uzunlukları (Å)) Çizelge 5.3. 'te gösterilmiştir. Bu teorik bağ uzunlukları, Çizelge 5.4.'teki Mulliken yük değerleriyle karşılaştırıldığında, paylaşılan elektronlar ve uzunluklar arasındaki farkları atomlar arası bağ uzunluklarını ortaya koyacaktır.

Çizelge 5.4 Tek protonlanmış Orto-fenilendiamin molekülünün teorik bağ uzunlukları

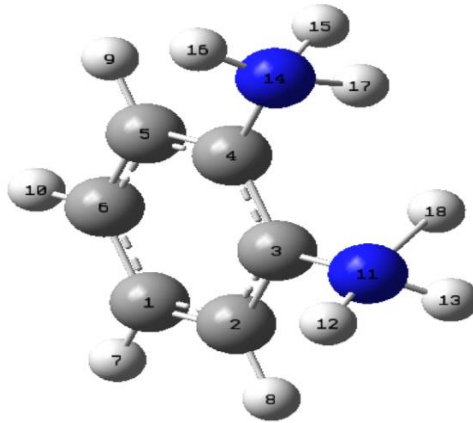
Atomlar	Bağ Uzunlukları (Å)
C1-H7	1,09961
C3-N14	1,47000
C1-C2	1,39516
N14-H16	1,00000

Çizelge 5.5. Tek Protonlanmış Orto-fenilendiamin Mulliken Yükleri

Atom Numarası	Atom	Mulliken Yükleri
1	C	-0,169066
2	C	-0,168640
3	C	0,126934
4	C	0,177820
5	C	-0,210650
6	C	-0,116096
7	H	0,083833
8	H	0,084337
9	H	0,075383
10	H	0,098642
11	N	-0,729023
12	H	0,195930
13	H	0,384942

Çizelge 5.6. Tek Protonlanmış Orto-fenilendiamin Mulliken Yükleri (devamı)

14	N	-0,744578
15	H	0,288570
16	H	0,285705
17	H	0,335957



Şekil 5.3 Çift protonlanmış o-fenilendiamin molekülünün DFT/6 -31G(d) metodu ile optimize edilmiş yapısı

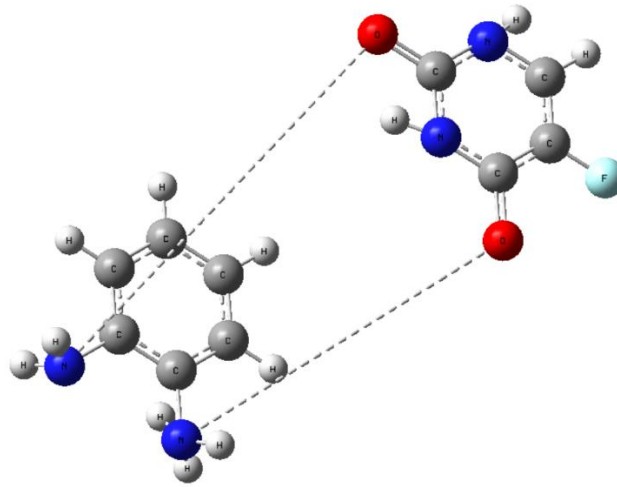
Molekülün DFT/6-31G(d) seti ile hesaplanan teorik geometrik parametreleri (Bağ uzunlukları (Å)) Çizelge 5.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 5.7 Çift Protonlanmış Orto-fenilendiamin molekülünün atomlar arası bağ uzunlukları(Å)

Atomlar	Bağ Uzunlukları (Å)
C1-H7	1,09961
C3-N11	1,47000
C1-C2	1,39516
N14-H17	1,26441

Çizelge 5.8. Çift Protonlanmış Orto-fenilendiamin Mulliken Yükleri

Atom Numarası	Atom	Mulliken Yükleri
1	C	-0,134761
2	C	-0,146544
3	C	0,258092
4	C	0,247792
5	C	-0,144252
6	C	-0,136171
7	H	0,112418
8	H	0,107863
9	H	0,108331
10	H	0,112355
11	N	-0,794689
12	H	0,301357
13	H	0,306836
14	N	-0,787670
15	H	0,302944
16	H	0,305838
17	H	0,017052
18	H	-0,036790



Şekil 5.4DFT/B3LYP hesaplamalarına dayanan 1: 1 oranındaki 5- ön polimerizasyon kompleksinin moleküler model sunumu

Şekil 5.4.'te, orto-fenilendiamin ve 5-Fluorourasil potansiyel bir düzenlenişini ön polimerizasyon kompleksinin teorik modelini göstermektedir.



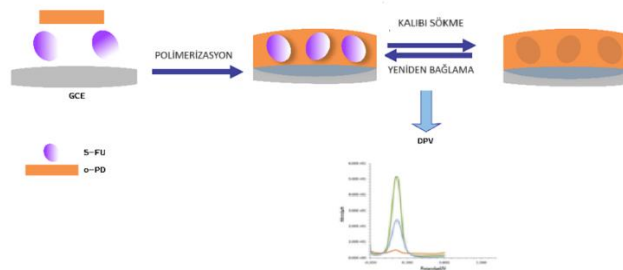
6. DENEYSEL ÇALIŞMA

6.1. Materyal ve Metot

o-Fenilendiamin dihidroklorür (o-PD), 5-Fluorouracil Sigma'dan (Steinheim, Almanya) satın alındı. Askorbik asit, ürik asit ve ferrisiyanür Merck'ten (Almanya) temin edildi. Tüm reaktifler analitik saflıkta olup, ilave saflaştırma yapılmadan kullanıldı.

Elektrokimyasal ölçümler, üçlü elektrot sistemi ile PalmSens potansiyostat (Utrecht, Hollanda) kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışma elektrodu olarak camsı karbon elektrot (GCE, çap: 3 mm), referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot (3 M KCl içinde) ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanıldı.

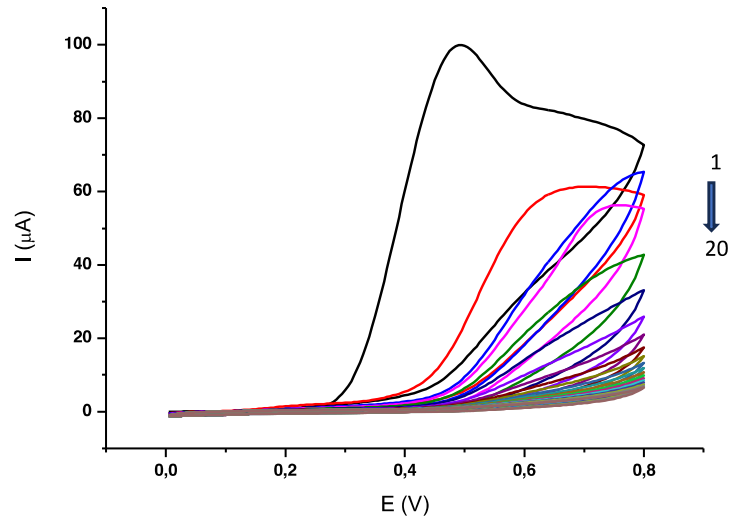
5-FU-MIP doğrudan GCE üzerine 0,5 mM 5-FU ve 5 mM o-PD içeren bir çözeltide (100 mM asetat tamponunda, pH 5.2) siklik voltametri kullanarak elektropolimerizasyon yöntemiyle üretildi (Şekil 6.1.). Potansiyel, farklı tarama sayılarıyla (10, 20 ve 30) 0 ile 0,8 V arasında ve 50 mV/s tarama hızıyla tarandı. Kalıp moleküllerinin uzaklaştırılması için farklı stratejiler uygulandı. 5-FU'nun yeniden bağlanması ve uzaklaştırılması, 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ çözeltisinin (100 mM KCl içinde) DPV'deki değişiklikler izlenerek takip edildi ve ilgili koşullar uygulanarak gerçekleştirildi: Potansiyel aralığı: -0,2 - 0,7 V, potansiyel adımı: 5 mV, puls genliği: 25 mV ve puls süresi: 0,7 s.



Şekil 6.1. 5-FU-MIP doğrudan GCE üzerine 0,5 mM 5-FU ve 5 mM o-PD içeren bir çözeltide siklik voltametri kullanarak elektropolimerizasyon yöntemiyle hazırlanması

6.2. Elektropolimerizasyon

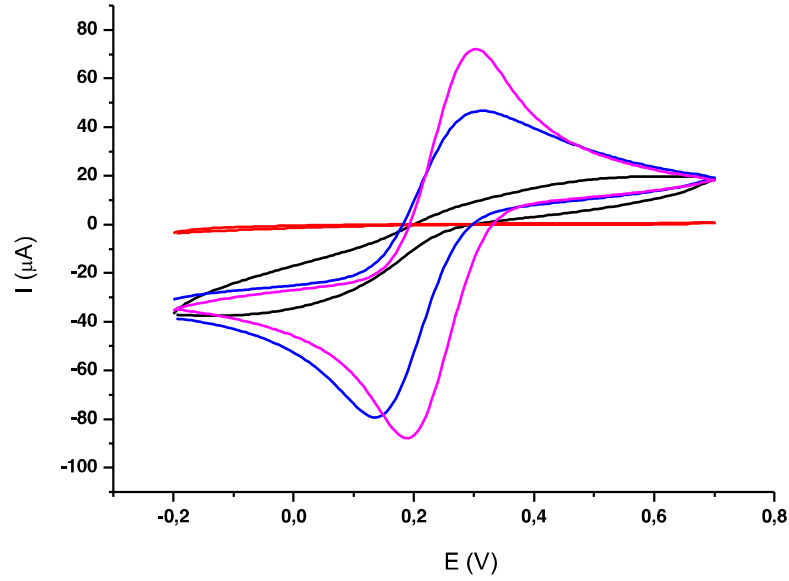
Hesapsal çalışmaların ardından elektropolimerizasyon yöntemi kullanılarak 5-fluorourasil (5-FU) için MIP direkt GCE üzerinde sentezlenmiştir. İlk aşamada polimerizasyon koşulları siklik (döngüsel) voltametri yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Literatürdeki çalışmalar baz alınarak, o-fenilendiamin konsantrasyonu (5 mM, 100 mM asetat tamponunda, pH 5,2) ve tarama sayısı (20) sabit tutulup, kalıp molekülün konsantrasyonu (0,1 mM, 0,5 mM ve 1 mM) optimize edilmiş ve 0,5 mM olarak bulunmuştur. Daha sonra tarama sayısı değiştirilip (10, 20 ve 30) optimum tarama sayısının 20 olduğu gözlemlenmiştir. Diğer koşullar, yani o-fenilendiamin konsantrasyonu veya potansiyel aralığı (0 V ile 0,8 V) ile tarama hızı (50 mV/s) değiştirilmeden kullanılmıştır. Şekil 6.2.'de optimum koşullarda gerçekleştirilen polimerizasyon gösterilmektedir. Görüldüğü üzere tarama sayısı arttıkça yaklaşık 0,5 V 'ta gözlemlenen akım (siyah), tarama sayısının artışıyla, düşüp 0'a (μA) yaklaşmaktadır. Bu sonuç elektrot yüzeyinde yalıtkan polimer oluşumunu göstermektedir.



Şekil 6.2. 0,5 mM 5 FU içeren 5 mM o-fenilendiamin çözeltisinin (100 mM asetat tamponunda, pH 5,2) elektropolimerizasyonuna ait siklik voltamogramlar (0,0-0,8 V; Tarama hızı: 50 mV/s ve Tarama sayısı: 20).

6.3. MIP-Sensör Oluşum Basamaklarının Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi

MIP oluşum aşamaları redoks belirteci olan ferrisiyanür çözeltisi ile analiz edilmiştir. Siklik voltamogramlardan da görüldüğü üzere polimerizasyon sonucu yalıtkan bir polimer oluştuğu için modifiye edilmemiş GCE'ye (pembe) göre ferrisiyanür sinyali polimerizasyon sonucunda (kırmızı) neredeyse tamamen baskılanmıştır (Şekil 6.3.).



Şekil 6.3. Siklik voltamogramlar (5 mM ferrisiyanür çözeltisinde): Modifiye edilmemiş GCE (pembe), elektropolimerizasyondan sonra 5-FU-MIP/GCE (kırmızı), kalıp molekülün uzaklaştırılmasından sonra (mavi), 5-FU bağlandıktan sonra (siyah).

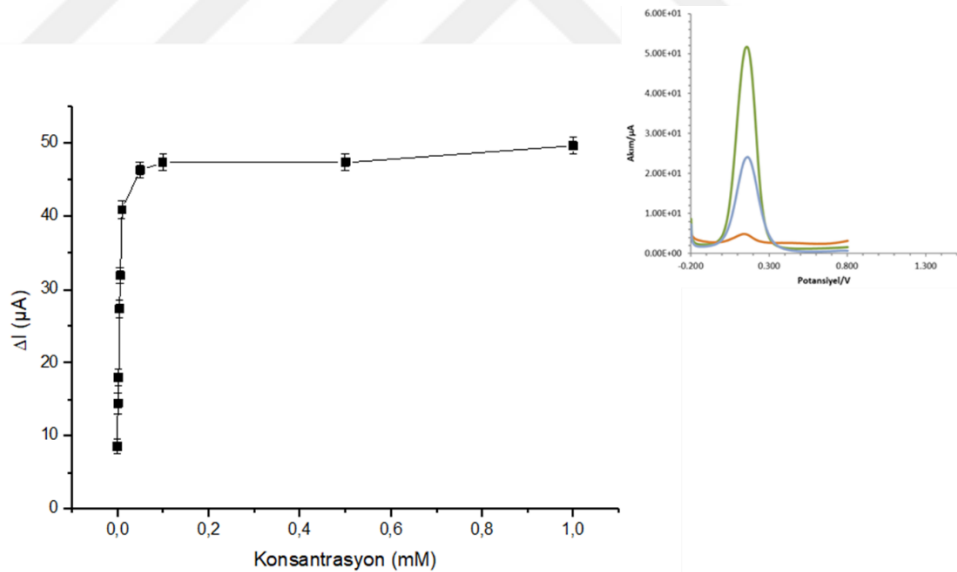
6.4. Kalıp Molekülün Uzaklaştırılması

MIP esaslı sensör hazırlamada en önemli parametrelerden biri de kalıp molekülün uzaklaştırılması aşamasıdır. Aptamerlerin rejenerasyonunun aksine, MIP'ler için genel bir prosedür yoktur [57]. Gerek düşük molekül ağırlıklı moleküllerin gerekse (biyo)makromoleküllerin polimerden uzaklaştırılması için pH veya iyonik şiddeti değiştirmek, organik solventler, sıcaklık artışı, deterjanlar veya potansiyel uygulama (elektrokimyasal) dahil olmak üzere farklı kimyasal ve fiziksel işlemler kullanılmıştır [42,57]. Ayrıca birkaç farklı işlemin kombine edildiği çalışmalar da mevcuttur. Her ne kadar kalıp molekülün tamamını uzaklaştırmak, sensörün hassasiyetini arttırsa da polimerin bütünlüğünü bozulmamasına da dikkat etmek gerekir. Bu çalışmada 5-FU'yu uzaklaştırmak için elektrotlar 15 dk, 30 dk, 1 saat, 2 saat 3 saat 0,1 M NaOH NaOH çözeltisinde veya sadece metanolde inkübe edildi. Etkin

uzaklaştırma şekilde de görüldüğü üzere 4,5 saat 1:1 0,1 M NaOH ve metanol çözeltilerinde gerçekleştirildi (mavi). (Şekil 6.4.). Ferrisiyanür sinyali artmış bu da kalıp molekülün uzaklaşıp, üzere ferrisiyanürün difüze olabileceği porların oluştuğunu göstermiştir.

Kontrol olarak aynı işlemler NIP (non-imprinted polymer) modifiye elektroda da uygulanmıştır. NIP esaslı sensör MIP ile benzer şartlarda hazırlanmıştır, ancak elektropolimerizasyon çözeltisinde kalıp molekül, 5-FU, mevcut değildir. Kalıp molekül olmadığı için ferrisiyanit sinyali neredeyse tamamen baskılanmıştır.

Optimum koşullarda diferensiyel puls voltammetrisi kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. 5-FU konsantrasyonunu arttıkça, akım azalmakta, ya da başka bir deyişle ferrisiyanür sinyali daha çok baskılanmaktadır. Bu da kalıp molekülün boşluklara bağlandığını, dolayısıyla da ferrisiyanürün serbestçe difüze olacağı por miktarının azaldığını göstermektedir. Sensörün lineer yanıt aralığı $1,5 \times 10^{-5}$ M ile 1×10^{-2} M'dir. LOD ve LOQ kalibrasyon eğrisinden sırasıyla 3,3 S/m ve 10 S/m (S: Standart Sapma, m: Eğim) formülleri kullanılarak $5,33 \times 10^{-7}$ M ve $1,61 \times 10^{-6}$ M olarak hesaplanmıştır.



Şekil 6.4 Kalibrasyon eğrisi ile 5-FU-MIP GC elektrodunun kalıp molekül uzaklaştıktan sonra (yeşil), 0.005 mM (mavi) ve 1 mM 5-FU (turuncu) bağlanmasından sonra 5 mM ferrisiyanür çözeltisindeki (100 mM KCl'de çözünmüş) diferansiyel puls voltamogramları.

Biyoyomimetik sensörlerin en önemli parametrelerinden biri, analiz edilen maddelerin analiti seçici olarak tanınmasıdır. Geliştirilen 5-FU-MIP sensörün seçiciliğini kontrol etmek amacıyla MIP-sensöre askorbik asit ve ürik asidin (10 μM) bağlanması çalışılmıştır. Bağlanma

sonrasında DPV ile yapılan çalışmada ferrisiyanürün sinyalinde herhangi bir değişme gözlenmemiştir. Bu sonuç, 5-FU'nun MIP'ye tercihli bağlanması belirgin bir kanıttır.



7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, tüm enerji hesapları ve bağ uzunlukları yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) yöntemi ile hesaplandı. Analit ve monomer arasında 1: 1 oranında kompleks oluşumu hesaplandı. Hesaplanan farklı ΔG değerleri ve 1: 1 kompleksi çizelge 7.1'de özetlenmiştir.

Kompleksin ΔG 'si tek ve çift protonlanmış o-fenilendiamin değerinin arasında çıkmıştır. Bunun sebebi sterik engelden kaynaklıdır. Hesaplarda kullanılan 10 kat daha düşük oranda kalıp molekül: monomer oranı (1:10) ile denemeler yapılmıştır, çünkü 5 kat düşük oranda (1:5) etkin bir MIP hazırlanamamıştır. Bu nedenle oran ileride değiştirilip, 1:10 ve/veya düşük kalıp molekül: monomer oranları için de çalışmalar yapılması planlanmaktadır. Geliştirilen MIP sensörün deneysel sonuçları ve geliştirilen diğer MIP sensörlerle kıyaslanması Çizelge-7.22de özetlenmiştir. Sensörün doğrusal aralığı ve LOD'si, 5×10^{-5} M ile 1×10^{-2} M ve $5,33 \times 10^{-7}$ M bulunmuştur. Askorbik asit ve ürik asitle yapılan çalışmalar 5-FU'nun MIP'e tercihli bağlanmasının belirgin bir farkın kanıtıdır. Sensörün analitik performansının literatürde geliştirilen diğer sensörlerden daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ancak elde edilen gelecekte çeşitli nanokompozitler kullanılarak sensörün hassasiyetinin ve performansının artırılması planlanmaktadır.

Çizelge 7.1. 5-FU ve Orto-fenilendiamin enerji değerleri

Bileşik	Enerji Türleri	Enerji
5-FU	5-FU Enerjisi	-298409,9333
	Entalpi	-298405,1649
	Gibbs serbest enerjisi	-298429,2629
Orto- fenilendiamin Tek protonlanmış	Orto-fenilendiamin enerjisi	-215391,314
	Entalpi	-215384,8859
	Gibbs serbest enerjisi	-215413,4793
Orto-fenilendiamin Çift Protonlanmış	Orto-fenilendiamin enerjisi	-215799,3867
	Entalpi	-215792,5476
	Gibbs serbest enerjisi	-215821,2891
Kompleks	Gibbs serbest enerjisi	-537854,529

Çizelge 7.2. 5-FU MIP

Elektrot	Yöntem	Doğrusal Aralık	LOD	Referans
MIP-Nanoarray/Ag	DPASV	1,33-401,15 ng mL ⁻¹	0,33 ng mL ⁻¹	[49]
MIP/Pt	DPV	20 to 400 nM	56 nM	[50]
MIP/DCE	DPKSV	0,00099–0,03614 µg mL ⁻¹ ; 0.49–32.27 µg mL ⁻¹	0.26 ng mL ⁻¹	[51]
MIP/GCE	DPV	1,5 x 10 ⁻⁵ M- 1x 10 ⁻² M	5,33x10 ⁻⁷ M	Bu çalışma

Sonuçlardan da görüldüğü gibi DFT yöntemiyle enerji, entalpi ve gibss serbest enerjileri hesaplanmış, bağ uzunluk ve açıları bulunmuştur. En düşük enerjili molekül en kararlı yapıya sahiptir. Teorik sonuçlar ve deneysel sonuçlar birbiri ile uyumlu çıkmış olup deneysel çalışanlara reaksiyon yolları yol gösterecektir.

KAYNAKLAR

- [1] E. Eren, A.T.A. Alper, and A. Arıcan, "Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar ve nefrotoksisite," *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, vol. 26, no. 3, pp. 229-235, 2012.
- [2] R.J. Rutman, A. Cantarow, and K.E. Paschkis, "Studies on 2-acetylaminofluorene carcinogenesis: III. The utilization of uracil-2-C14 by pre-neoplastic rat liver," *Cancer Research*, vol. 14, pp. 119–123, 1954.
- [3] S. Giacchetti et al., "Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 18, pp. 136–147, 2000.
- [4] J.Y. Douillard et al., "Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial," *Lancet*, vol. 355, pp. 1041–1047, 2000.
- [5] R.B. Diasio and B.E. Harris, "Clinical pharmacology of 5-fluorouracil," *Clinical Pharmacokinetics*, vol. 16, pp. 215–237, 1989.
- [6] R.M. Wohlhueter, R.S. McIvor, and P.G. Plagemann, "Facilitated Transport of Uracil and 5-Fluorouracil, and Permeation of Orotic Acid Into Cultured Mammalian Cells," *Journal of Cellular Physiology*, vol. 104, no. 3, pp. 309–319, 1980.
- [7] D.B. Longley, D.P. Harkin, and P.G. Johnston, "5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies," *Nature Reviews Cancer*, vol. 3, no. 5, pp. 330-338, 2003.
- [8] D.V. Santi, C.S. McHenry, and H. Sommer, "Mechanism of Interaction of Thymidylate Synthetase With 5-Fluorodeoxyuridylate," *Biochemistry*, vol. 13, no. 3, pp. 471–481, 1974.
- [9] H. Sommer and D.V. Santi, "Purification and amino acid analysis of an active site peptide from thymidylate synthetase containing covalently bound 5-fluoro-2'-deoxyuridylate and methylenetetrahydrofolate," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 57, pp. 689–695, 1974.
- [10] Y. Kanno et al., "Molecular mechanisms of chemotherapy resistance in head and neck cancers," *Frontiers in Oncology*, vol. 11, 2021.
- [11] M. Friedkin and A. Kornberg, "Chemical Basis of Heredity," Johns Hopkins Press, Maryland, pp. 609-614, 1957.
- [12] P.V. Danenberg, "Thymidylate synthase: A target enzyme in cancer chemotherapy," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 473, pp. 73-79, 1977.
- [13] L.W. Hardy et al., "Atomic structure of thymidylate synthase: Target for rational drug design," *Science*, vol. 235, pp. 448-455, 1987.

- [14] M. Krajcinovic, I. Costea, and S. Chiasson, "Polymorphism of the thymidylate synthase gene and outcome of acute lymphoblastic leukaemia," *Lancet*, vol. 359, pp. 1033-1034, 2002.
- [15] S.H. Berger et al., "Thymidylate synthase overproduction and gene amplification in fluorodeoxyuridine-resistant human cells," *Molecular Pharmacology*, vol. 28, pp. 461-467, 1987.
- [16] K. Becker et al., "Cardiotoxicity of the antiproliferative compound fluorouracil," *Drugs*, vol. 57, no. 4, pp. 475-484, 1999.
- [17] A. Yarman, A.P.F. Turner, and F.W. Scheller, "Electropolymers for (nano-)imprinted biomimetic biosensors," in **Sensing with Nanotubes, Nanowires and Nanoparticles**, pp. 125-149, 2014.
- [18] G. Camurri et al., "Modelling of the initial stages of the electropolymerization mechanism of the o-phenylenediamine," *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 585, pp. 181–190, 2005.
- [19] I. Losito, F. Palmisano, and P.G. Zambonin, "o-Phenylenediamine electropolymerization by cyclic voltammetry combined electrospray ionization-ion trap mass spectrometry," *Analytical Chemistry*, vol. 75, pp. 4988–4995, 2003.
- [20] A. Yarman, S. Kurbanoglu, I. Zebger, and F.W. Scheller, "Simple and robust: The claims of protein sensing by molecularly imprinted polymers," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 330, p. 129369, 2021.
- [21] A. Yarman et al., "Electrochemical MIP-Sensors for Drugs," *Current Medicinal Chemistry*, vol. 25, no. 33, pp. 4007-4019, 2018.
- [22] G. Wulff and A. Sarhan, "The Use of Polymers with Enzyme-Analogous Structures for the Resolution of Racemates," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 11, pp. 341, 1972.
- [23] K.J. Shea and E.A. Thompson, "Template Synthesis of Macromolecules. Selective Functionalization of an organic polymer," *Journal of the American Chemical Society*, vol. X, pp. Y-Z, 20XX.
- [24] T. Takeuchi and J. Haginaka, "Separation and sensing based on molecular recognition using molecularly imprinted polymers," *Journal of Chromatography B*, vol. 728, pp. 1-20, 1999.
- [25] M. Komiyama et al., *Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications*, Wiley and Sons, New York, 2003.
- [26] R. Arshady and K. Mosbach, "Synthesis of Substrate-selective Polymers by Host-Guest Polymerization," *Macromolecular Chemistry and Physics*, vol. 182, pp. 687-692, 1981.
- [27] M.J. Whitcombe et al., "A New Method for the Introduction of Recognition Site Functionality into Polymers Prepared by Molecular Imprinting: Synthesis and

- Characterization of Polymeric Receptors for Cholesterol," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 117, pp. 7105-7111, 1995.
- [28] A. Yarman and F.W. Scheller, "How Reliable Is the Electrochemical Readout of MIP Sensors?", *Sensors*, vol. 20, no. 9, p. 2677, 2020.
- [29] C. Branger and H. Brisset, "Advanced Electrochemical Molecularly Imprinted Polymer as Sensor Interfaces", *Proceedings*, vol. 15, p. 22, 2019.
- [30] A.H. Kamel et al., "A paper-based potentiometric sensing platform based on molecularly imprinted nanobeads for determination of bisphenol A," *Analytical Methods*, vol. 10, pp. 3890–3895, 2018.
- [31] D. Refaat et al., "Strategies for molecular imprinting and the evolution of MIP nanoparticles as plastic antibodies—Synthesis and applications," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, p. 304, 2019.
- [32] A.R. Cardoso et al., "An impedimetric molecularly-imprinted biosensor for Interleukin-1 β determination, prepared by in-situ electropolymerization on carbon screen-printed electrodes," *Bioelectrochemistry*, vol. 130, pp. 1–9, 2019.
- [33] L. Özcan and Y. Şahin, "Determination of paracetamol based on electropolymerized-molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 127, pp. 362–369, 2007.
- [34] S. Reddy, G. Sette, and Q. Phan, "Electrochemical probing of selective haemoglobin binding in hydrogel-based molecularly imprinted polymers," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. X, pp. Y-Z, 2011.
- [35] A. Yarman and F.W. Scheller, "The first electrochemical MIP sensor for tamoxifen," *Sensors*, vol. 14, pp. 7647–7654, 2014.
- [36] B. Rezaei et al., "A novel electrochemical nanocomposite imprinted sensor for the determination of lorazepam based on modified nanoparticles/pencil graphite electrode," *Electrochimica Acta*, vol. 123, pp. 332–339, 2014.
- [37] Y. Liu et al., "A highly sensitive and selective electrochemical sensor based on polydopamine functionalized graphene and molecularly imprinted polymer for the 2,4-dichlorophenol recognition and detection", *Talanta*, vol. 195, pp. 691–698, 2019.
- [38] A. Florea et al., "Anticancer drug detection using a highly sensitive molecularly imprinted electrochemical sensor based on an electropolymerized microporous metal organic framework" *Talanta*, vol. 138, pp. 71–76, 2015.
- [39] H. Zhang et al., "Molecularly Imprinted Sensor based on o-phenylenediamine for Electrochemical Detection of Sulfamethoxazole", *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 14, pp. 11630–11640, 2019.

- [40] J. Zhang et al., "Voltammetric lidocaine sensor by using a glassy carbon electrode modified with porous carbon prepared from a MOF, and with a molecularly imprinted polymer", *Microchimica Acta*, vol. 185, pp. 3–10, 2018.
- [41] Ji J, Zhou Z, Zhao X, Sun J, Sun X. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted film at Au nanoparticles-carbon nanotubes modified electrode for determination of cholesterol. *Biosens Bioelectron.* 2015 Apr 15;66:590-5. doi: 10.1016/j.bios.2014.12.014. Epub 2014 Dec 3. PMID: 25530539.
- [42] W. Liu et al., "Poly(3,6-diamino-9-ethylcarbazole) based molecularly imprinted polymer sensor for ultra-sensitive and selective detection of 17- β -estradiol in biological fluids" *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 104, pp. 79–86, 2018.
- [43] X. Zhang et al., "Electrosynthesized MIPs for transferrin: Plastibodies or nano-filters?", *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 105, pp. 29–35, 2018.
- [44] D. Cai et al., "A molecular-imprint nanosensor for ultrasensitive detection of proteins", *Nature Nanotechnology*, vol. 5, pp. 597–601, 2010.
- [45] J.G. Pacheco et al., "Breast cancer biomarker (HER2-ECD) detection using a molecularly imprinted electrochemical sensor", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 273, pp. 1008–1014, 2018.
- [46] A. Yarman, S. Kurbanoglu, I. Zebger, and F.W. Scheller, "Simple and robust: The claims of protein sensing by molecularly imprinted polymers", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 330, p. 129369, 2020.
- [47] E. Özdemir, "Korozyon İnhibitörü Olarak Kullanılan Bazı N-Süstitüe Amino Asitlerin Kuantum Mekaniksel Olarak İncelenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Bursa Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 2019.
- [48] Ö. Küçükterzi, "N-Trans-Sinamiliden-M-Toluidin Schiff Bazı Molekülünün Yapısının ve Spektroskopik Özelliklerinin DFT ve HF Metotları ile Teorik Olarak İncelenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2020.
- [49] B.B. Prasad and A. Kumar, "Development of molecularly imprinted polymer nanoarrays of N-acryloyl-2-mercaptobenzamide on a silver electrode for ultratrace sensing of uracil and 5-fluorouracil", *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, pp. 5864-5876, 2015.
- [50] T.P. Huynh et al., "Molecularly imprinted polymer for recognition of 5-fluorouracil by RNA-type nucleobase pairing", *Analytical Chemistry*, vol. 85, pp. 8304-8312, 2013.
- [51] B. Prasad et al., "Development of Uracil and 5-Fluorouracil Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymer-Modified Hanging Mercury Drop Electrode", *Sensors and Materials*, vol. 21, pp. 291-306, 2009.
- [52] G. Pilvenyte et al., "Molecularly Imprinted Polymer-Based Electrochemical Sensors for the Diagnosis of Infectious Diseases", *Biosensors*, vol. 13, no. 6, p. 620, 2023.

- [53] X. Zhang et al., "Imprinted Polymers on the Route to Plastibodies for Biomacromolecules (MIPs), Viruses (VIPs), and Cells (CIPs)", *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, vol. 187, pp. 107-148, 2024.

