

TIBBİ TANI KİTLERİNİN HAZIRLANMASINDA KULLANILMAK ÜZERE
 β -DİKETONAT ESASLI LİGANTIN VE ONUN LANTANİT ŞELATININ
SENTEZİ VE YAPILARININ KARAKTERİZASYONU

Semanur ŞEN

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Ağustos – 2015

TIBBİ TANI KİTLERİNİN HAZIRLANMASINDA KULLANILMAK ÜZERE
 β -DİKETONAT ESASLI LİGANTIN VE ONUN LANTANİT ŞELATININ
SENTEZİ VE YAPILARININ KARAKTERİZASYONU

Semanur ŞEN

Dumlupınar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca
Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman : Doç. Dr. Alper Tolga ÇOLAK

Ağustos-2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

Semanur ŞEN'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Tıbbi Tanı Kitlerinin Hazırlanmasında Kullanılmak Üzere β -Diketonat Esaslı Ligantın Ve Onun Lantanit Şelatının Sentezi Ve Yapılarının Karakterizasyonu” başlıklı bu çalışma, jürimizce Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

14/08/2015

Üye: Doç. Dr. Alper Tolga ÇOLAK (danışman)

Üye: Prof. Dr. Okan Zafer YEŐİLEL

Üye: Doç. Dr. Mehmet POYRAZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ... / ... /2015 gün vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan GÖÇMEZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tezin hazırlanmasında Akademik kurallara riayet ettiğimizi, özgün bir çalışma olduğunu ve yapılan tez çalışmasının bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olduğunu, çalışma kapsamında teze ait olmayan veriler için kaynak gösterildiğini ve kaynaklar dizininde belirtildiğini, Yüksek Öğretim Kurulu tarafından kullanılmak üzere önerilen ve Dumlupınar Üniversitesi tarafından kullanılan İntihal Programı ile tarandığını ve benzerlik oranının % 19 çıktığını beyan ederiz. Aykırı bir durum ortaya çıktığı takdirde tüm hukuki sonuçlara razı olduğumuzu taahhüt ederiz.

Danışman Adı Soyadı

Öğrenci Adı Soyadı

İmzası

İmza

**TIBBİ TANI KİTLERİNİN HAZIRLANMASINDA KULLANILMAK ÜZERE
β-DİKETONAT ESASLI LİGANDIN VE ONUN LANTANİT ŞELATININ SENTEZİ
VE YAPILARININ KARAKTERİZASYONU**

Semanur ŞEN

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2015

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Alper Tolga ÇOLAK

ÖZET

Bu çalışmada tıbbi tanı kitlerinde biyoetiket olarak kullanılabilir beta diketonat esaslı ligantın ve onun Eu(III) kompleksinin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla literatür araştırmasının sonucunda başlangıç maddesi olarak keton fonksiyonel grubuna alfa konumunda metil grubu içeren asetofenon molekülü seçilmiştir. İlk olarak bu molekül ile dietiloktafloroadipat molekülünün Claisen kondenzasyonu sonucu 4,4,5,5,6,6,7,7-oktafloro-1,10-difenildekan-1,3,8,10-tetraon (H₂ODİT) ligantı elde edilmiştir. Bu ligantın ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektrum analizleri yanında tek kristali de elde edilerek X-ışınları analizleri de yapılmış ve yapı karakterize edilmiştir. X-ışınları analizi sonucu bu ligandın keto-enol tautomerisi gösterdiği saptanmıştır. İkinci aşamada elde edilen H₂ODİT molekülüne antikora bağlanabilmesi için klorsülfonik asitle reaksiyonu sonucunda -ClSO₂ fonksiyonel grubu bağlanmıştır. Bu grup H₂ODİT molekülündeki asetofenon grubuna ait ketonun bağlı olduğu karbona göre orto konumundaki karbona bağlanmıştır. Bu molekülün (H₂CODİT) yapısı da yine NMR ve kütle spektrumu analizleri ile aydınlatılmıştır. Üçüncü aşamada ise elde edilen ligantın biyoetiket olarak kullanılabilirliğini anlamak amacı ile EuCl₃ ile kompleksi sentezlenmiştir. Kompleks bileşik saflaştırıldıktan sonra kurutulmuş ve lüminesans analizi yapılmıştır. Kompleks 306 nm dalga boyunda UV ışığı ile uyarıldığında Eu(III)'e özgü hiper duyarlı ⁵D₀→⁷F₂ fosforesans geçişinin literatüre uygun olarak 615 nm'de geldiği gözlenmiştir. Böylece H₂CODİT molekülünün tıbbi tanı kitlerinde kullanılmak üzere biyoetiket olarak kullanılabilirliği anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Beta-diketonat, Biyoetiket, Claisen kondenzasyonu, Europyum(III) kompleksi, Fosforesans, Keto-enol tautomeri, Klorosülfonik asit, Lüminesans, Tıbbi tanı kiti.

**SYNTHESIS AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF β -DIKETONATE
BASED LIGAND AND ITS LANTHANIDE CHELATE TO BE USED IN
PREPARATION OF MEDICAL DIAGNOSIS KITS**

Semanur ŞEN

Chemistry, M.S.Thesis, 2015

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Alper Tolga ÇOLAK

SUMMARY

In this study we aimed to synthesize β -diketonate based ligand and its Eu(III) complex which used in medical diagnosis kits. For this purpose, we chose acetophenone as the starting material which contains methyl group at the alpha position of the ketone group, after literature research results. Firstly, we obtained 4,4,5,5,6,6,7,7-octafluoro-1,10- diphenyldecane-1,3,8,10-tetraone ($H_2OD\dot{I}T$) ligand between the reaction of acetophenone and diethyloctafluoroadipate with claisen condensation. This ligand was characterized by 1H -NMR, ^{13}C -NMR and mass spektrum analyse. We were obtain single crystal of $H_2OD\dot{I}T$ ligand and characterized by X-ray analysis. The X-ray analysis shows that this ligand has keto-enol tautomerism. At the second step in order to bind $H_2OD\dot{I}T$ to the antibody, it is reacted with chlorosulfonic acid. As a result of this reaction the functional group of $-ClSO_2$ was bound. This group was bound carbon atom at the ortho position depending of carbon atom which bound keto group of acetophenone in $H_2OD\dot{I}T$ molecule. The structure of $H_2COD\dot{I}T$ was characterized by NMR and mass spektrum analysis. In the third step, to understand the usability of the ligand as a biolabel, the complex were synthesized with $EuCl_3$. After dried and purified the complex compound the luminescence analysis was performed. When the complex was excited with UV light at 306 nm wave length, specific hypersensitive $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ phosphorescence transition of the Eu (III) observed as the literature indicatig at 615 nm. Proven that, it was understood the $H_2COD\dot{I}T$ molecule can work as biolabel to be used in medical diagnosis kits.

Keywords: Beta-diketonate, Biolabel, Chlorosulfonic acid, Claisen condensation, Europium(III) complex, Keto-enol tautomerism, Luminescence, Medical diagnostic kit, Phosphorescence.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bana özgür bir araştırma olanağı sağlayarak çalışmanın her aşamasında hem bilimsel hem de manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Alper Tolga ÇOLAK'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Ligantın X-ışınları tek kristal yöntemi ile yapısının aydınlatılmasında, çözümlenmesinde ve yorumlanmasında yardımcı olan Sayın Dr. Onur ŞAHİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Bileşiklerin IR spektrumlarının çekiminde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Zeki KARTAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca her türlü yardım, destek ve anlayışını esirgemeyen başta Deniz DOĞAN olmak üzere Handan GÜNAY ve Kübra TURAN'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince bana gösterdikleri engin anlayış ile önce manevi sonra maddi desteklerinden dolayı sevgili anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

TÜBİTAK BİDEB'e 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında tez çalışmamı desteklemesinden ötürü teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1 Lüminesans Nedir?	1
1.2 Lüminesansın Tarihçesi	1
1.3 Lüminesansın Teorisi	7
1.3.1 Elektronik haller arasında ışıklı ve ışısız geçişler	9
1.3.2 İç dönüşüm	9
1.3.3 Floresans	9
1.3.4 Dış dönüşüm	10
1.3.5 Sistemler arası geçiş	10
1.3.6 Fosforesans	10
1.4.Floresans Ve Fosforesansı Etkileyen Değişkenler	11
1.4.1 Kuantum verimi	11
1.4.2 Floresansta geçiş tipleri	11
1.4.3 Kuantum verimi ve geçiş tipi	12
1.4.4 Ömür	12
1.5. Neden Europiyum?	13
1.6. Tıbbi Tanı Kiti	17
1.7. Claisen Kondensasyonu	18
2. LİTERATÜR ÖZETİ	20
2.1. Lüminesans Olmayan Ligantlar	20
2.2 Poliamino Karboksilat Esaslı Lüminesans Ligantlar	21
2.3. β -Diketonat Esaslı Lüminesans Ligantlar	22
2.4. Diğer Lüminesans Ligantlar	33
3. MATERYAL VE YÖNTEM	35
3.1. Materyal	35

İÇİNDEKİLER(devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2. Yöntem	35
3.3. Kullanılan Başlangıç Maddelerinin Bazı Fiziksel Özellikleri.....	36
3.4. Bileşiklerin Sentezi.....	36
3.4.1. ODİT ligantının (H ₂ ODİT) sentezi	36
3.4.2. CODİT ligantının (H ₂ CODİT) sentezi.....	37
3.4.3. Eu(III) kompleksinin sentezi	37
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4.1. Kızılötesi Spektroskopisi Çalışmaları.....	39
4.2. Kütle Spektroskopisi Çalışması	43
4.3. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi Çalışması	45
4.4. UV-Gör. Spektroskopisi Çalışmaları.....	49
4.5. X-ışınları Tek Kristal Çalışmaları	51
4.5. Kompleksin Fotoluminesans Çalışması.....	54
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	56
5.1. Sonuçlar	56
5.2. Öneriler.....	60
KAYNAKLAR DİZİNİ	61
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Gökyüzünde gerçekleşen lüminesans olayları	2
1.2. Hayvanlardaki ve böceklerdeki fosforesans	3
1.3. Denizlerdeki fosforesans	3
1.4. Fosforesans mantarlar.....	3
1.5. Lignum nephriticum ağacından yapılan bardak ve matlalinin kimyasal yapısı	4
1.6. Perrin-Jablonski diyagramı, absorpsiyon, floresans ve fosforesans arasındaki ilişki.....	8
1.7. Moleküllerin elektronik halleri.	13
1.8. Ln(III) iyonlarının uygulama alanları.....	14
1.9. Lantanit iyonlarının geliştirilmiş fotolüminesansını açıklamak için basitleştirilmiş Jablonski-Perrin diyagramı.....	15
1.10. Eu(III) iyonunun ligant tarafından duyarlılaştırılması.....	16
1.11. Bir lantanit kompleksinde enerjinin absorpsiyonu, göçü, emisyonu.....	17
1.12. Claisen kondensasyonu basamakları.	18
1.13. Çapraz claisen kondensasyonu.....	18
1.14. Bazı lantanit katyonların ve kromoforların emisyon seviyelerinin enerji diyagramı	19
2.1. DTPA, c-DTPAA, p-SCN-Bn-DTTA' nın yapıları	20
2.2. DELFIA tekniği ile biyomolekül ölçümü	21
2.3. DTPA-cs124 ve [EuL]H' ın yapıları	21
2.4. β -diketonatın genel yapısı.....	22
2.5. BCOT'un sentez aşamaları.....	24
2.6. BCDOT'un sentez aşamaları	25
2.7. CDPP'nin sentez aşamaları	26
2.8. BCTOT'un sentez aşamaları	27
2.9. BHHT ve BHHCT'nin sentez aşamaları	28
2.10. BHHBCB, BPPBCB, BTBBCB'nin sentez aşamaları	29
2.11. BHHCT-Eu ³⁺ -DPBT kompleksinin yapısı.....	30
2.12. Biyoetiketlemede kullanılan diğer ligantlar	33
2.13. DLCLLA tekniği ile biyomolekül ölçümü	34
3.1. H ₂ ODİT ve H ₂ CODİT ligantlarının ve Eu kompleksinin sentez mekanizması	38
4.1. AF'nin kızılötesi spektrumu	40
4.2. DEOFA'nın kızıl ötesi spektrumu	40

ŞEKİLLER DİZİNİ(devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3. H ₂ ODİT ligantının kızılötesi spektrumu.....	41
4.4. H ₂ CODİT ligantının kızılötesi spektrumu.	41
4.5. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin kızılötesi spektrumu.	42
4.6. H ₂ ODİT ligantının kütle spektrumu.	43
4.7. H ₂ CODİT ligantının kütle spektrumu.....	44
4.8. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin kütle spektrumu.	44
4.9. H ₂ ODİT ligantının ¹ H NMR spektrumu	46
4.10. H ₂ ODİT ligantının ¹³ C NMR spektrumu	46
4.11. H ₂ CODİT'in ¹ H NMR spektrumu	48
4.12. H ₂ CODİT'in ¹³ C NMR spektrumu	48
4.13. H ₂ ODİT ligantının 10 ⁻⁴ M sulu çözeltisinin UV-Gör. spektrumu	49
4.14. H ₂ CODİT ligantının 10 ⁻⁴ M sulu çözeltisinin UV-Gör. spektrumu	50
4.15. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin 10 ⁻⁴ M sulu çözeltisinin UV-Gör. spektrumu	50
4.16. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin 10 ⁻⁵ M sulu çözeltisinin UV-Gör. spektrumu.	51
4.17. H ₂ ODİT'in molekül yapısı.....	52
4.18. Ligantın moleküler yapısı (i) -x+1, -y+1, -z	52
4.19. π··π etkileşimleri sonucu molekülün görünümü	52
4.20. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin emisyon spektrumu	55
5.1. Kullanılan organik moleküllerin kimyasal yapıları.....	56
5.2. BOFA ligantının sentezi	57
5.3. DFA-1 ligantının sentezi	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Lüminesansın tarihi köşe taşları.....	5
1.2. Lüminesans türleri.....	7
1.3. Karakteristik ömürler	12
2.1. Biyoetiketlemede kullanılan β -diketonat esaslı ligantlar.....	31
3.1. Kullanılan organik moleküllerin bazı fiziksel özellikleri.....	36
4.1. Komplekslerin karakteristik kızılötesi titreşim değerleri (cm^{-1}).	43
4.2. $\text{H}_2\text{ODİT}$ ligantının bağ uzunlukları (Å), bağ açıları ($^\circ$).	53
4.3. $\text{H}_2\text{ODİT}$ ligantının kristal verileri	53
5.1. Deney süresince uygulanan yöntemler.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
H ₂ ODİT	4,4,5,5,6,6,7,7-oktafloro-1,10-difenildekan-1,3,8,10-tetraon
AF	Asetofenon
DEOFA	Dietiloktafloroadipat
UH	Uyarılmış hal
TH	Temel hal
DELFLA	Dissociation Enhanced Lanthanide Fluoroimmunoassay
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
DLCLLA	Direct Lanthanide Chelate Label-Based Luminescence Assay
DFA	1,1-difenilaseton
BA	Benzil asetat
λ_{uy}	Uyarma dalga boyu
λ_{em}	Emisyon dalga boyu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nadir toprak elementi komplekslerinin lüminesans özelliklerinin araştırılmasına 1942’de Weissman’ın Europyum β -diketon komplekslerinin mor ötesi ışıkla uyarıldığında lüminesans göstermesiyle başlanmıştır (Weissman, 1942). O zamandan beri özellikle Europyum β -diketon komplekslerinin biyomedikal ve biyoetikleme de lüminesans uygulamalarına da yoğun bir şekilde çalışılmıştır.

1.1 Lüminesans Nedir?

Lüminesans kelimesi Latince (lümen = ışık) kökenlidir ve ilk kez fizikçi ve bilim tarihçisi Eilhart Widemann tarafından 1888 yılında “Tüm ışık çeşitlerinin oluşması için bir malzemenin sıcaklığının artırılarak akkor haline getirilmesi şart değildir” şeklinde tarif edilmiş ve *luminescentz* şeklinde söylenmiştir (Valeur, 2001). Akkor olan malzemeden yayılan ışık sıcaklıktan kaynaklandığı için lüminesans sık sık soğuk ışık olarakta dikkate alınır (Andres ve Chauvin, 2012).

Lüminesansın kuantum açıklaması ise şu şekilde yapılabilir; elektronik olarak uyarılmış bir türden veya çevresi ile termal dengeye gelmesine gerek kalmaksızın titreşimsel olarak uyarılmış türlerden ışığın emisyonudur. Floresans ve fosforesans lüminesansın değişik şekilleridir. Floresans, aynı spin çokluğuna sahip uyarılmış moleküler bir türden lüminesans ışığının kendiliğinden yayılmasıdır (Braslavsky vd., 2007). Fosforesans ise uzun ömürlü lüminesansın tanımı için kullanılır. Tezin ilerleyen bölümlerinde floresans ve fosforesans olayları detaylı bir şekilde incelenmiştir.

1.2 Lüminesansın Tarihçesi

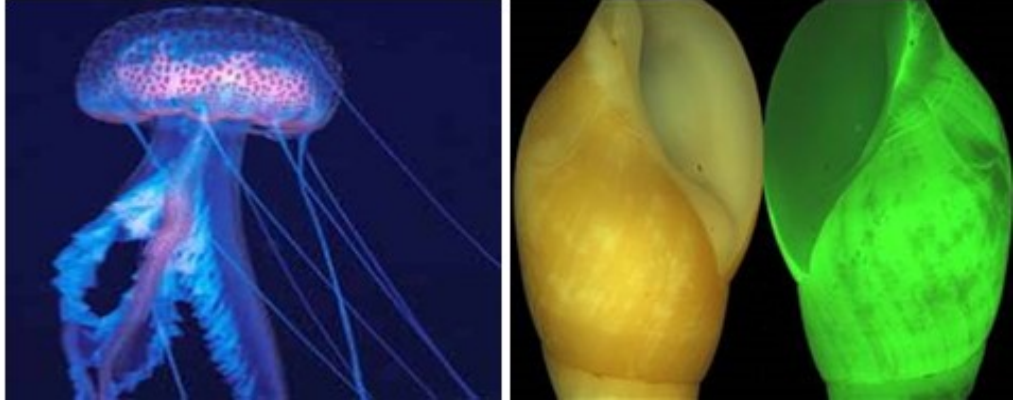
Lüminesans olayı ilk spektroskopik gözlemlerden önce de vardı ve doğada sürekli insanoğlu tarafından görülebiliyordu. Kutup ışıkları (aurora borealis) ve güney ışıkları (australis), böceklerde ve hayvanlardaki fosforesans, denizdeki fosforesans, ağaçların üstünde ki mantarların fosforesansı gibi çıplak gözden başka bir dedektöre ihtiyaç olmadan gözlenebilen lüminesans olayları uzun yıllar boyunca insanların ilgisini çekmiştir.



Şekil 1.1. Gökyüzünde gerçekleşen lüminesans olayları (solda) Aurora Borealis (kutup ışıkları), (sağda) Australis (güney kutup ışıkları).

Kutup ışıkları (aurora borealis) ve güney kutup ışıkları (aurora australis) güneşteki fırtınalar sonucu meydana gelip kutuplarda geceleri görülen renkli ve hareket eden ışıklardır (Şekil 1.1). Kuzey manyetik kutbu çevreleyen aurora borealis ve güney manyetik kutbu çevreleyen aurora australis, solar rüzgarlarla gelen hayli yüksek oranlarda yüklü elektronların dünya atmosferindeki elementlerle etkileşime girmesiyle oluşur. Elektronlar yeryüzünün en üst atmosferine girdiklerinde, yerkabuğu yüzeyinden 30 km ile 200 km yukarıdaki yüksekliklerde oksijen ve azot atomlarıyla karşılaşılırlar. Aurora'nın rengi, hangi atomla çarpıştığına ve karşı karşıya geldikleri yüksekliğe bağlıdır (Haddock, vd., 2010).

- Yeşil–oksijen 240 km yüksekliğe kadar
- Kırmızı–oksijen, 240 km yüksekliğin üstü
- Mavi–azot, 96 km yüksekliğe kadar
- Mor/eflatun – azot, 96 km üstündeki yüksekliklerde görülen renklerdir.



Şekil 1.2. Hayvanlardaki ve böceklerdeki fosforesans.



Şekil 1.3. Denizlerdeki fosforesans.

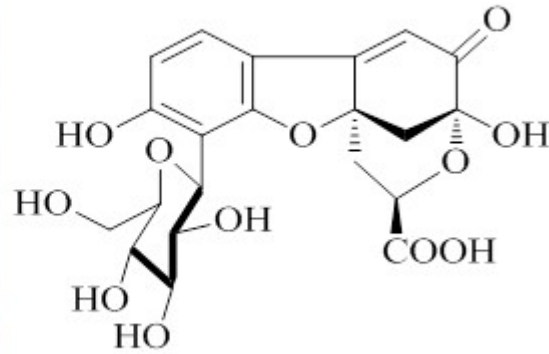
Noctiluca cinsi fitoplanktonlar gündüzleri denizde kırmızı adacıklar oluştururken, gece olduğunda mavi ışık yayarlar.



Şekil 1.4. Fosforesans mantarlar.

İlk yazılı lüminesans olaylarına Çin literatürlerinde rastlanır (M.Ö.1500-1000). Bu referanslarda lüminesans, solucanlar ve ateş böceği ile tarif edilmiştir. İlk yapay inorganik fosfor olan ve Bologna taşı olarak adlandırılan lüminesans madde 1603 yılında İtalyan ayakkabı yapımcısı ve amatör alşimist (simyacı) Vincenzo Cascariolo tarafından bulunmuştur. Bu meraklı simyacı bir gün Bologna şehrinin Monte Paterno kasabasında yürüyüşe çıkmış ve ilginç bulduğu bazı ağır taşları toplamıştır. Kömür ocağında bu taşları kalsine ettikten sonra taşların ışığa maruz kaldığında karanlıkta parladığını gözlemlemiştir. Sonraları bu taşların baryum sülfat içerdiği ve kömür ile indirgenmesi neticesinde fosforesans bir bileşik olan baryum sülfite dönüştüğü tanımlanmıştır (Goldberg ve Weiner, 1989).

Bir çözeltiliden floresansın gözlenmesine ilişkin ilk kayıt ise 1565'te Nicolas Monardes tarafından yapılmıştır. *Lignum nephriticum* olarak adlandırılan bir ağaçtan yapılan bardak, su ile doldurulduğunda mavi bir renk gözlenmiştir. Bu olay kayıtlı ilk floresanstır. Bu floresansa matlalin denilen flavanoidin oksitlenmesi sonucu oluşan bileşik sebep olmaktadır (Valeur ve Santos, 2012).



Şekil 1.5. Lignum nephriticum ağacından yapılan bardak ve matlalinin (4 halkalı tetrahidrometanobenzofuro[2,3-d]oksasin) kimyasal yapısı.

20. yy'a gelindiğinde, lüminesans olayı hakkında temel deneysel ve teorik gerçekler, kuantum teorisinin ortaya çıkmasından sonra anlaşılmuştur. Kuantum teorisi lüminesans emisyonunun anlaşılmasında tamamlayıcı bir görev görmüş ve önceki gözlemlerin açıklanmasında kolaylık sağlamıştır. Böylece yeni olayların tahmin edilmesine de izin vermiştir. Çizelge 1.1.'de lüminesansın tarihsel gelişimi kısa notlarla anlatılmaya çalışılmıştır.

Çizelge 1.1. Lüminesansın tarihi köşe taşları.

Yıl	Bilim Adamı	Gözlem veya Başarısı	Yıl	Bilim Adamı	Gözlem veya Başarısı
1565	N.Monardes	Lignum nepheriticum olarak adlandırılan ağacın demlenmesi ile ışığın emisyonu(Floresans gözlemi üzerine ilk rapor)	1858	E.Becquerel	İlk fosforoskop. İlk ömür ölçümleri.
1602	V.Cascariolo	Bologna taşından ışığın emisyonu (fosforesans üzerine ilk detaylı gözlem)	1871	A.Von Baeyer	Floresans terimine giriş
1640	Licetus	Bologna taşı üzerine çalışmalar. Nontermal ışık emisyonu üzerine ilk tanımlama	1888	E.Widemann	İlk fosforoskop. İlk ömür ölçümleri.
1833	D.Brewster	Fluospar kristalleri ve klorofil çözeltilerinden ışığın emisyonu	1905-1910	E.L.Nichols ve E.Merrit	İlk florometrik analiz(morin şelatından floresans ile Al(III) tayini)
1842	J.Herschel	Kinin sülfat çözeltilerinden ışığın emisyonu(Epipolik dispersiyon)	1907	E.L.Nichols ve E.Merrit	Floreseinin sentezi
1845	E.Becquerel	UV’de uyarma ile kalsiyum sülfitten ışığın emisyonu. Absorplanan ışıktan daha uzun dalga boylu ışığın yayıldığıının ilk tespiti.	1919	O.Stern ve M.Volmer	Lüminesans terimine giriş
1852	G.G.Stokes	UV’ de uyarma ile kinin sülfat çözeltilerinden ışığın emisyonu(ışığın kırılabilirliği)	1920	F.Weigert	Bir boyanın ilk floresans uyarma spektrumu
1853	G.G.Stokes	Floresans terimine giriş	1922	S.I.Vavilov	Floresans ve absorpsiyon arasında ayna simetrisi

Çizelge 1.1. Lüminesansın tarihi köşe taşları (devamı).

Yıl	Bilim Adamı	Gözlem veya Başarısı	Yıl	Bilim Adamı	Gözlem veya Başarısı
1922	S.I.Vavilov	Floresans kuantum veriminin uyarma dalga boyundan bağımsız olması	1926	F.Perrin	Floresans polarizasyonun teorisi (küre) Perrin'in eşitliği Çözeltilerde ömrün indirekt tayini
1923	S.I.Vavilov ve W.L.Levshin	Boya çözeltilerinin floresans polarizasyonlarının ilk çalışması	1929	F.Perrin	Orta kararlı bir halden ara hale geçiş ile ilgili ertelenmiş floresansın açıklanması için J.Perrin'in diyagramı üzerine tartışma
1923	S.I.Vavilov ve W.L.Levshin	Floresan sönüm için bağıntı	1929	J.Perrin ve N.Choucroun	Enerji transferi sebebi ile duyarlılaştırılmış boya floresansı
1923	S.I.Vavilov	Boya çözeltilerinin floresans polarizasyonlarının ilk çalışması	1929	F.Perrin	Rezonans enerji transferi ile floresans depolarizasyonunun ilk kalitatif teorisi
1924	S.I.Vavilov	Boya çözeltilerinde floresans veriminin ilk tayini	1932	F.Perrin	Atomlar arasında uzun mesafeli enerji transferinin kuantum mekanik teorisi
1924	F.Perrin	Statik sönümün kantitatif tanımı (aktif küre modeli)	1934	F.Perrin	Floresans polarizasyonunun teorisi (elipsoid)
1924	F.Perrin	Alfa fosforesansının ilk gözlemi (E tipi ertelenmiş floresans)	1935	A.Jablonski	Jablonski diyagramı
1925	F.Perrin	Floresans polarizasyonunun teorisi (Viskozite etkisi)	1943	A.Terenin	Triplet hal
1925	W.L.Levshin	Polarize floresans ve fosforesans teorisi	1944	G.Lewis ve M.Kasha	Triplet hal
1925	J.Perrin	Ertelenmiş floresans teriminin girişi (uzun aralıklı enerji transferinin tahmini)	1946-1948	Th.Förster	Dipol-dipol etkileşimi ile rezonans enerji transferinin teorisi
1926	E.Gaviola	Faz florometrisi ile nanosaniye ömürlerinin doğrudan ilk ölçümü (Pringsheim'in laboratuvarında inşa edilen cihaz)			

1.3 Lüminesansın Teorisi

Lüminesans maddenin uyarılma türüne göre değişiklik gösterir. Lüminesans türleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Çizelge 1.2. Lüminesans türleri.

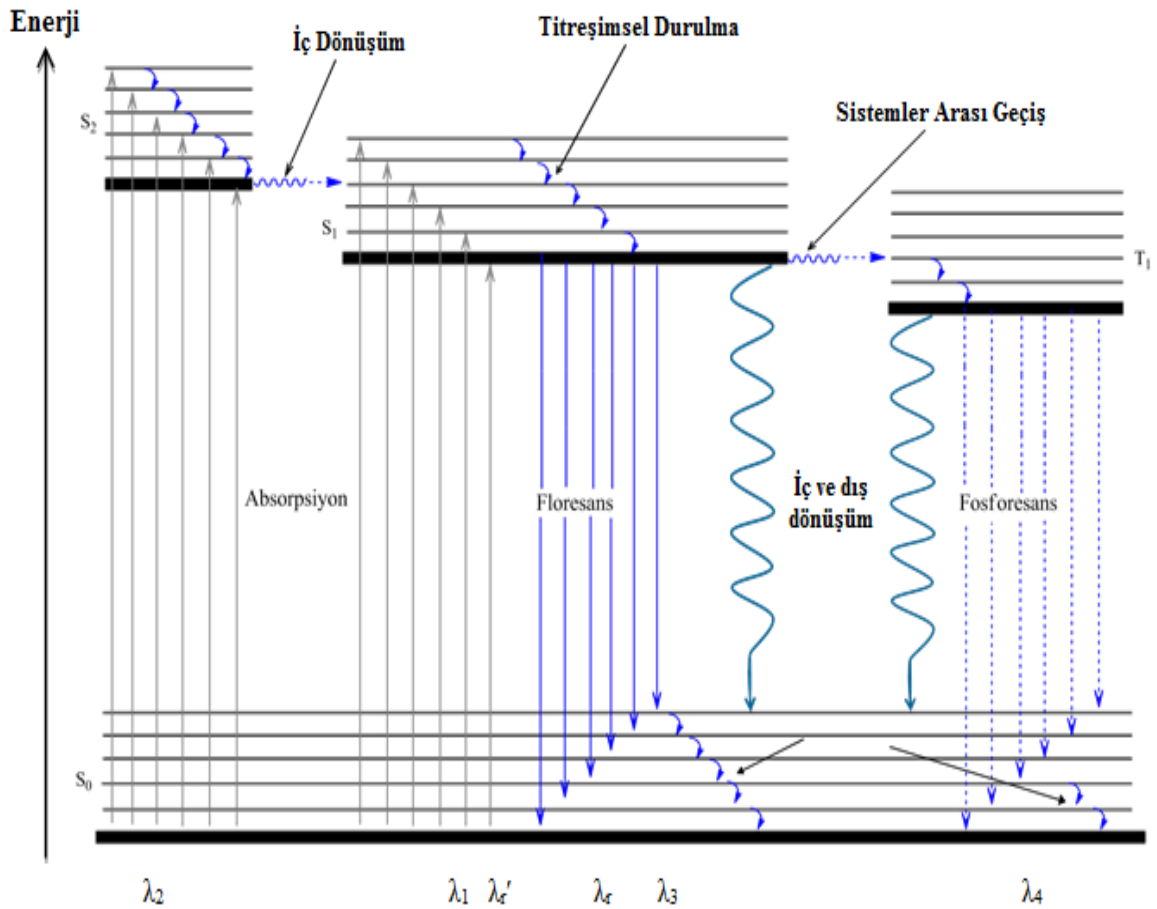
Lüminesans Tipi	Maddenin uyarılma türü
Fotolüminesans (floresans, fosforesans) (gecikmiş floresans)	Işığın absorpsiyonu (foton)
Radyolüminesans	İyonize radyasyon (X - ışınları, α , β , γ)
Katodoluminesans	Katot ışınları (elektron ışınları)
Elektrolüminesans	Elektrik alan
Termolüminesans	Enerji depolama öncesi sonra Isıtma (örn. radyoaktif ışınlama)
Kemilüminesans	Kimyasal reaksiyon (örn. oksidasyon)
Biyolüminesans	Canlı ortamda (in vivo) biyokimyasal reaksiyonda
Tribolüminesans	Sürtünme ve elektrostatik kuvvetler
Sonolüminesans	Ultras ses
Galvanolüminesans	Işık emisyonuna bir elektrik akımının eşlik etmesiyle
Kristalolüminesans	Işığın emisyonuna bazı kristallerin kristalizasyonla eşlik etmesi

Lüminesans olayı eğer ışık fotonları ile gerçekleşiyorsa bu olaya fotolüminesans denir. Bu bölümde kısaca fotolüminesansın teorisi, fotolüminesansı etkileyen faktörler anlatılmıştır. Şekil 1.6 tipik bir fotolüminesans molekülün enerji-düzey diyagramı olup *Perrin-Jablonski* diyagramı adını alır.

Bir molekül enerjiyi absorpladığında, daha yüksek enerji seviyesine çıkar, bu durum uyarılmış hal olarak tanımlanır. Molekül temel hale dönerken birçok farklı yol izleyebilir. Bu

enerjinin yayılımını ışık veya ısı şeklinde; molekülün hareketini arttırarak (titreşim, dönme, vb.) veya ışımasız yollarla olabilir.

Uyarılmış bir molekül temel haline Şekil 1.6’da gösterildiği üzere olası birkaç yol ile döner. Bu süreçte gerçekleşen olaylar iç dönüşüm, titreşimsel durulma, floresans, iç ve dış dönüşüm, sistemler arası geçiş ve fosforesansdır (Mortimer 2008).



Şekil 1.6. Perrin-Jablonski diyagramı, absorpsiyon, floresans ve fosforesans arasındaki ilişki.

Floresans ve fosforesans ayrımı ise floresansın doğrudan fotonla uyarılmış bir türden emisyon olarak düşünülürken fosforesans yasaklı ışımalı bir geçiş ile diğer uyarılmış türden emisyon olarak söylenebilir. Floresans ve fosforesans, uyarılmanın fotonların absorpsiyonu ile olması bakımından benzerdirler. Bunun bir sonucu olarak, bu iki olay, sıklıkla daha genel bir terim olan fotoluminesans ile ifade edilir. Bilindiği gibi, floresans, floresanstan sorumlu elektronik enerji aktarımının elektronun spininde bir değişiklik oluşturmaması ile fosforesanstan ayrılır.

1.3.1 Elektronik haller arasında ışımalı ve ışısız geçişler

Temel hale geçişte en tercih edilen yol, uyarılmış halin ömrünü en az yapan yoldur. Işımsız geçişlere göre floresans ile geçiş daha hızlı ise, floresans gerçekleşir. Ancak ışısız yol daha büyük hız sabitine sahipse floresans ya yoktur ya da çok düşük şiddettedir (Skoog ve West, 1998).

1.3.2 İç dönüşüm

İç dönüşüm bir molekülün aynı spin çokluğuna sahip iki elektronik seviye arasında ışısız gerçekleşen molekül içi olayları ifade eder. Bağlı olarak çok az bileşiğin floresans göstermesi bunların genellikle çok etkili olduklarını gösterir. Şekil 1.6'da görüldüğü gibi S_1 'den S_0 'a doğru iç dönüşüm gerçekleşebilir. Fakat S_2 'den S_1 'e doğru gerçekleşen dönüşümünden daha az etkilidir. Çünkü $S_1 \rightarrow S_0$ olan geçiş daha büyük enerji aralığına sahiptir. Bu yüzden $S_1 \rightarrow S_0$ 'a gerçekleşen iç dönüşüm floresans ve sistemler arası geçişle (ki buda fosforesansın gözlenmesine yol açar) yarışır. Yani iki elektronik enerji seviyesi, titreşim enerji seviyelerinde bir örtüşme görülecek kadar birbirlerine yakınsa, iç dönüşüm özellikle etkilidir. Örtüşen titreşim seviyeleri arasındaki iç dönüşüm olasılığı genellikle daha yüksek bir uyarılmış halden floresans ile enerji kaybından daha fazladır (Valeur, 2001).

1.3.3 Floresans

Emisyon $S_1 \rightarrow S_0$ durulmasıyla gerçekleşiyorsa bu floresans olarak adlandırılır. Floresansla ilgili olarak özellikle şu vurgulanmalıdır ki birkaç istisna dışında floresans emisyonu S_1 'den olur ve bu yüzden floresansın özellikleri (polarizasyon dışında) uyarılan ışığın dalga boyuna bağlı değildir (temel halde sadece tek bir tür varlığında). Uyarılmış halde titreşimsel durulmadan kaynaklanan enerji kaybı yüzünden floresans spektrumu absorpsiyon spektrumuna göre daha yüksek dalga boylarında (düşük enerji) bulunur (Şekil 1.6). Stokes Kuralı'na göre floresans emisyonunun dalga boyu absorpsiyonun dalga boyundan daha yüksek olmalıdır. Ancak birçok durumda absorpsiyon spektrumu floresans spektrumuyla kısmen örtüşür.

Genel olarak titreşim seviyeleri arasındaki farklar temel halde ve uyarılmış halde aynıdır böylece floresans spektrumu ilk absorpsiyon bandıyla benzer ('ayna görüntüsü' kuralı). İlk absorpsiyon bandının maksimumu ile floresans bandının maksimumu arasındaki boşluk (dalga sayısı olarak ifade edilmiştir) *Stokes kayması* olarak adlandırılır (Valeur, 2001).

1.3.4 Dış dönüşüm

Uyarılmış bir elektronik halin sönümlenmesi, uyarılmış molekül ve çözücü veya diğer çözünenler arasındaki etkileşimi ve aktarılmasını içerebilir. Bu olaylara topluca dış dönüşüm veya çarpışma ile sönüm denir. Buna delil çözücünün floresans şiddeti üzerindeki kuvvetli etkisini içerir, ayrıca tanecikler arasındaki çarpışma sayısını azaltan koşullar (düşük sıcaklık ve yüksek viskozite) genellikle floresansı artırır.

1.3.5 Sistemler arası geçiş

Sistemler arası geçiş S_1 'den T_1 'e olan bir durulma sürecidir. Sistemlerarası geçiş uyarılmış bir elektronun spininin ters döndüğü bir olaydır ve molekülün multiplitesinde (çokluğuna) bir değişme olur. İç dönüşümde olduğu gibi eğer her iki halin titreşim seviyeleri örtüşürse, bu geçişin olasılığı artar. Şekildeki $S \rightarrow T$ geçişi buna bir örnektir; burada, en düşük singlet titreşim seviyesi, daha yüksek triplet titreşim seviyelerinin biri ile örtüşmektedir ve böylece spin halinde bir değişme daha muhtemeldir. Sistemler arası geçişin gerçekleşme olasılığı singlet ve triplet halleri kapsamaktadır. S_0 'dan S_1 'e geçiş $n \rightarrow \pi^*$ tipiye sistemler arası geçiş etkilidir (Skoog ve West, 1998).

1.3.6 Fosforesans

Uyarılmış elektronik halin enerji kaybetmesi fosforesans yoluyla da olabilir. Triplet bir halde sistemler arası geçişten sonra, iç veya dış dönüşüm veya bir fosforesans ile biraz daha sönüm olabilir. Bir $T \rightarrow S$ geçişi, $S \rightarrow S$ geçişine göre çok daha az mümkündür. Dış ve iç dönüşümler, fosforesans ile o kadar başarılı bir şekilde rekabet ederler ki normal olarak bu tür emisyon sadece düşük sıcaklıklarda; çok viskoz ortamlarda veya katı yüzeyinde absorplanmış moleküllerde gözlenir.

Floresans emisyonu oluşturmadaki birinci basamak, uyarılmış haller elde etmek için ışının absorpsiyonu olduğundan, bir uyarma spektrumu esasen aynı şartlar altında elde edilen bir absorpsiyon spektrumuyla aynıdır. Diğer taraftan, floresans ve fosforesans spektrumları, dalga boyunun bir fonksiyonu olarak emisyon şiddeti kaydedilirken, sabit bir dalga boyundaki uyarılmayı kapsar.

Fotoluminesans ekseriya uyarma dalga boyundan daha uzun dalga boylarında olur. Ayrıca fosforesans bantları genellikle floresans bantlarından daha uzun dalga boylarında bulunur. Çünkü birçok durumda, uyarılmış triplet hal, karşılık gelen singlet halden daha düşük

enerjilidir. Hatta ikisi arasında dalga boyu farkı, triplet ve singlet haller arasındaki enerji farkının uygun bir ölçüsünü verir.

1.4.Floresans Ve Fosforesansı Etkileyen Değişkenler

Bir maddenin lüminesans yapıp yapmayacağına hem moleküler yapı hem de kimyasal çevre etki eder; lüminesans olurken bu faktörler emisyon şiddetini de belirler.

1.4.1 Kuantum verimi

Kuantum verimi lüminesans yapan moleküllerin sayısının toplam uyarılmış molekül sayısına oranıdır. Floresein gibi oldukça floresan bir molekül için bazı şartlar altında kuantum verimi bire yaklaşır.

Önemli derecede floresans yapmayan kimyasal türler sıfıra yakın verimlere sahiptir. Tartışmalar; bir bileşik için floresans kuantum veriminin (Φ), en düşük uyarılmış singlet halin sönümündeki olaylar için bağıl hız sabitleri (k_x) ile tayin edilebileceğini gösterir.

Bu olaylar floresans, sistemler arası geçiş (k_s), dış dönüşüm (k_{dd}), iç dönüşüm (k_{id}), ön ayrışma ($k_{öa}$) ve ayrışma (k_a) olaylarıdır. Bu ilişkileri aşağıdaki eşitlik ile ifade edebiliriz.

Burada; k terimleri yukarıda belirtilen olaylar için hız sabitleridir. Bu formül floresans şiddetine etki eden yapısal ve çevre faktörlerinin çoğunun kalitatif bir değerlendirmesine izin verir. k_p , $k_{öa}$ ve k_a 'nın büyüklüğü esas olarak kimyasal yapıya bağlıdır; diğer sabitler ise çevreden kuvvetlice etkilenirken yapıdan daha az etkilenir.

$$\varphi = \frac{k_f}{k_f + k_s + k_{dd} + k_{id} + k_{öa} + k_a}$$

1.4.2 Floresansta geçiş tipleri

250 nm'den daha küçük dalga boylarındaki UV ışınların absorpsiyonunun sonucu floresansın nadiren olduğunu bilmek önemlidir. Çünkü bu tür ışınlar, önayrışma ve ayrışma ile uyarılmış halin sönümüne sebep olmaya yetecek kadar enerjilidir. $\sigma^* \rightarrow \sigma$ geçişi sebebi ile olan floresans nadiren gözlenir; bunun yerine böyle emisyon, daha az enerjili $\pi^* \rightarrow \pi$ ve $\pi^* \rightarrow n$ geçişleri ile sınırlıdır.

Floresans genellikle birinci uyarılmış elektronik halin en düşük titreşim seviyesinden elektronik temel halin titreşim seviyelerinin birine geçişten kaynaklanır. Floresans yapan

bileşiklerin çoğu için, bu yüzden hangisinin daha düşük enerjili olduğuna bağlı olarak ya $n \rightarrow \pi^*$ ya da $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi ile ışıma elde edilir.

1.4.3 Kuantum verimi ve geçiş tipi

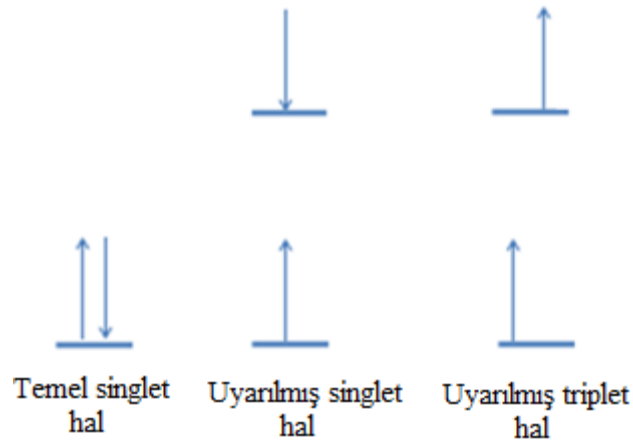
Floresansın en düşük enerjili geçişi $\pi \rightarrow \pi^*$ tipi olan bileşiklerde, en düşük enerjili geçişi $n \rightarrow \pi^*$ tipi olan bileşiklerden daha fazla olduğu gözlenmiştir; yani $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi için kuantum verimi daha büyüktür. Termodinamik düşünceler sistemler arası geçiş için hız sabitinin, (k_s), $\pi \rightarrow \pi^*$ uyarılmış hali için daha küçük olduğunu belirtir. Çünkü singlet/triplet haller arasındaki enerji farkı daha büyüktür; yani π^* uyarılmış halinin elektronlarının eşleşmesini bozmak daha fazla enerji gerektirir. Sonuç olarak, triplet titreşim seviyelerinin singlet halindekilerle örtüşmesi daha azalır ve sistemler arası geçiş olasılığı daha küçüktür.

1.4.4 Ömür

Emisyonun diğer önemli özellikleri uyarılmış halin durulma oranı ile ışımalı durulmanın oranlarıdır.

Çizelge 1.3. Karakteristik ömürler.

Karakteristik ömürler	
Absorpsiyon	10^{-15} s
Titreşimsel durulma	10^{-15} - 10^{-10} s
Uyarılmış halin ömrü (S_1)	10^{-10} - 10^{-7} s
Sistemler arası geçiş	10^{-10} - 10^{-8} s
İç dönüşüm	10^{-11} - 10^{-9} s
Uyarılmış halin ömrü (T_1)	10^{-6} -1 s



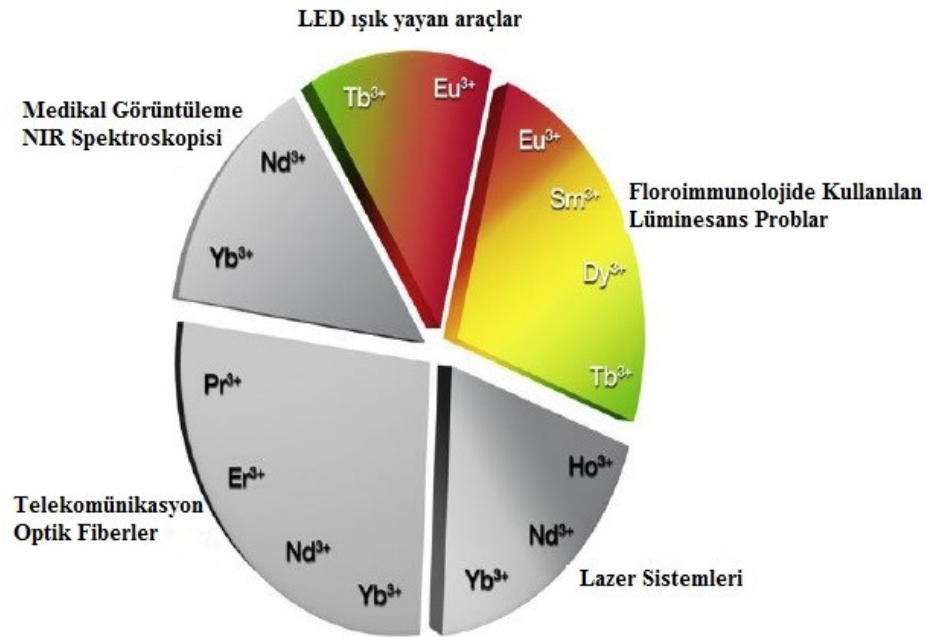
Şekil 1.7. Moleküllerin elektronik halleri.

Singletten triplete veya bunun tersi geçişler, elektronik haller arasındaki değişimi de içerdiğinden buna karşılık olarak singlet-singlet geçişine göre gerçekleşmesi daha az düşük ihtimallidir. Bunun sonucu olarak, bir uyarılmış triplet halinin ortalama ömrü 10^{-4} s'den birkaç saniyeye kadar uzayabilir. Bir uyarılmış singlet halin ortalama ömrü ise yaklaşık 10^{-8} s kadardır.

1.5. Neden Europiyum?

Europiyumun biyomedikal sensör, diagnostik, ilaç keşifleri ve optik görüntülemeye yoğun lüminesans uygulamaları vardır (Richardson, 1982; Hemilia, 1985; Dickson, vd. 1995a, 1995b; Hemilia ve Laitala 2005; Armaleo, vd., 2010). Ampullerden televizyonlara organik ışık yayan diyotlara kadar lantanit kompleksler her evde bulunur.

1967'de Sinha'nın 'Europium' adlı yayını Europiyum'un ve bileşiklerinin spektroskopik ve yapısal datasını ve mümkün kullanım alanlarını ve uygulamalarını içermektedir (Sinha, 1967). 1975'te Moeller 'The Chemistry of the Lanthanides' de europiyumun özelliklerinden ve bileşiklerinden bahsetmiştir (Moeller, 1975).



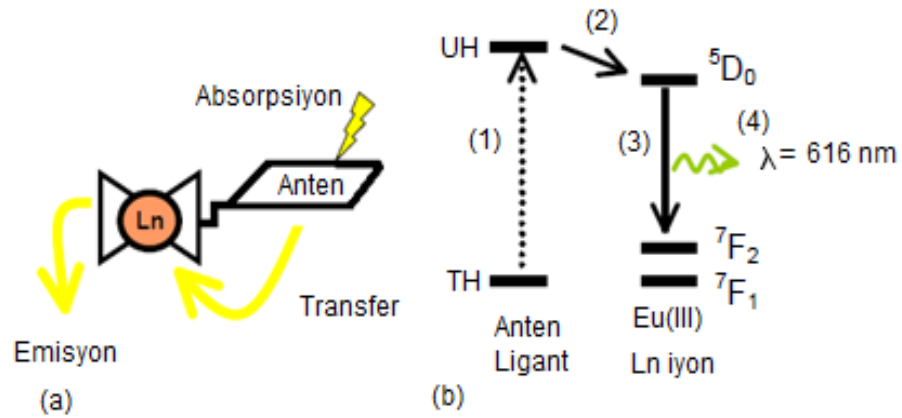
Şekil 1.8. Ln(III) iyonlarının uygulama alanları.

Europiyum çok yönlü bir lantanittir. Eu^{3+} 'ün görünür emisyon spektrumu $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_j$ geçişinden kaynaklanmaktadır. Europyuma ait belli dalga boylarındaki geçişler; ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$); 594 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$); 617 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$); 659 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$) şeklindedir (Andres ve Chauvin, 2012).

Lantanit metalleri periyodik tablonun f bloğunda bulunurlar ve atom numaraları 58 ile 71 arasındadır. Lantanitlerin kimyasal özellikleri birbirine çok benzer. Lantanitler diğer yükseltgenme basamaklarında bulunsalar bile genellikle +3 yükseltgenme basamağında bulunurlar. Örneğin televizyonlarda ve bilgisayar monitörlerinde inorganik fosfor olarak kullanılan europiyum; europiyum oksit, europiyum ortovanadat bileşikler halinde bulunur.

La'dan Lu'a kadar elektronik konfigürasyonları $[\text{Xe}]4f^05d^16s^2$ ile başlayıp $[\text{Xe}]4f^{14}5d^16s^2$ ile biten 15 element vardır. 14 elektron f orbitallerine çeşitli düzensizliklerle girerken Ln³⁺ iyonlarında 4f¹'den 4f¹⁴'e kadar mükemmel düzenlilikte orbitale dolarlar. Lantanit iyonlarındaki bu özel elektronik konfigürasyon, lantanitlerin iyonik çap, redoks potansiyelleri, oksidasyon basamakları gibi fiziksel ve kimyasal özelliklerin kararlılığından sorumludur. Bu elementlerdeki 4f elektronları 5s² ve 5p⁶ elektronlarınca perdelenir böylece komplekslerde 4f elektronları nadiren ligantlar ile kovalent etkileşime girer. Bir Ln(III)-ligant bağının kovalent karakteri %5-7 arasındadır. Bu perdeleme neticesinde f-f geçişlerinin dipol güçleri çok küçüktür ve bu geçişler aynı zamanda Laporte yasaklıdır. Bu yüzden bu geçişler hem absorpsiyon hem

de emisyon bakımından zayıftırlar. Yüksek lüminesans malzemelerde bile lazerle uyarmadıkça 4f'leri doğrudan uyarmak son derece güçtür. Yani Ln(III) iyonları UV ışığı absorplayarak floresans yapamazlar (Hemilia ve Laitala, 2005; Gregory ve Dean, 1998). Bu yüzden anten vazifesi görecek ve ışığı toplayarak uygun bir mekanizma ile lantanit iyonunun 5Dj enerji seviyesine aktaracak floresans ligantlara bir bakıma duyarlılaştırıcılara ihtiyaç vardır (Şekil 1.9 ve 1.10). Ln³⁺ iyonları kompleksleştğinde lantanit iyonlarının uyarılmış hallerinin uzun ömürlü olması (0.2-1.5 ms), büyük Stokes kaymalarına sahip olması (200 nm'den fazla), görünür bölgede emisyon yapması, emisyon bantlarının dar ve keskin olması yüzünden dikkate değer ölçüde çalışılan iyonlar Eu(III) ve Tb(III) iyonlarıdır (Şekil 1.8)(Richardson, 1982).



Şekil 1.9. a) Kromofor ligant anten vazifesi b) Lantanit iyonlarının geliştirilmiş fotoluminesansını açıklamak için basitleştirilmiş Jablonski-Perrin diyagramı.

Eu(III)'ü duyarlılaştırma mekanizmasının aşağıdaki gibi olduğu düşünülmektedir (Şekil 1.9).

- 1) Işık UV bölgede ligant tarafından absorbe edilir (anten etkisi) (Sabbatini, vd., 1993).
- 2) Enerji ligantın uyarılmış halinden lantanitin uyarılmış haline transfer edilir.
- 3) Uyarılmış Eu(III) iyonu görünür bölgede foton emisyonu ile temel hale sönmülenir (Mesquita, vd., 1997).
- 4) Eu(III) için bu duyarlı geçiş görünür bölgede 615-620 nm arasında gerçekleşir.

Lantanitlerde bir elementten diğerine gidildikçe, atom yarıçapında önemsenmeyecek ölçüde küçülme gözlenir. Ancak lantanitler grubunun sonuna varıldığında bu küçülme önemli büyüklüklere varır. Lantanit büzülmesi denen bu etki geçiş metallerinin ve bazı geçiş metali sonrası metallerin özelliklerini etkiler (Ölmez, 2008).

Lantanit içeren komplekslerin en çarpıcı özelliklerinden biri çevrelerindeki enerjiyi absorplama yetenekleri ve bu enerjiyi ışık olarak tekrar yansıtma veya ışığı bir dalga boyunda

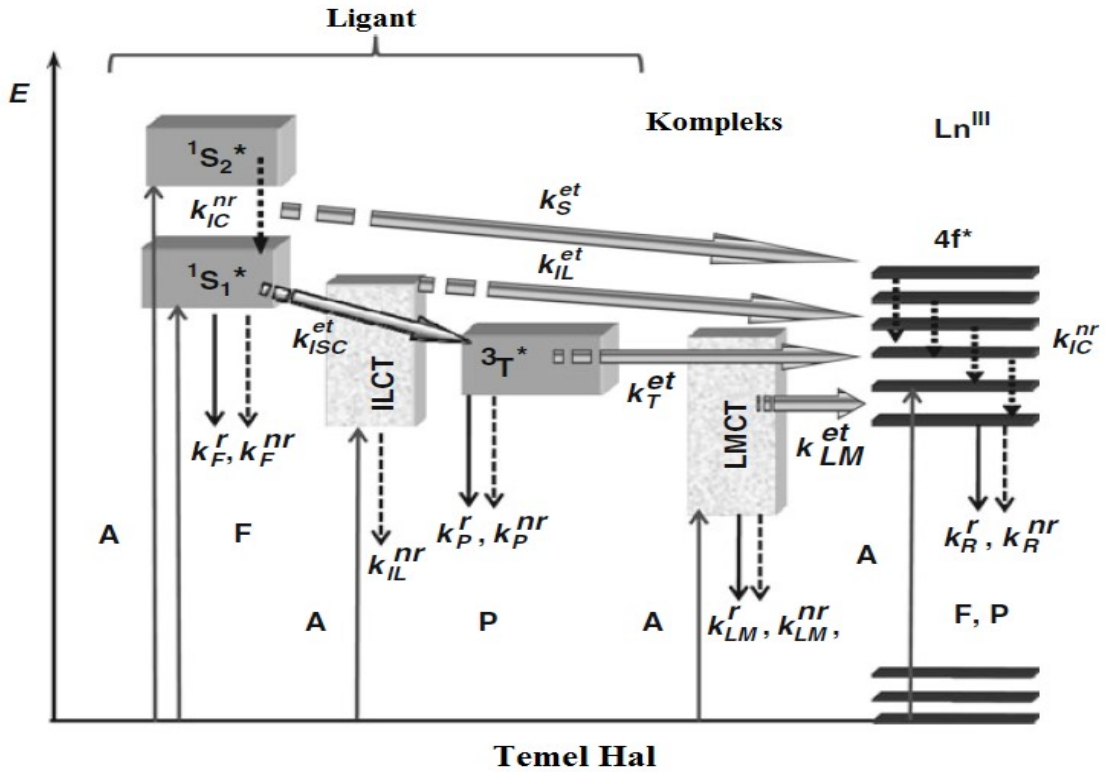
absorplamak ve bunu diğerk bir dalga boyunda tekrar yansıtmaktır. Uyarılmış halden ışıklı emisyon yapmak için floresans ve fosforesans gibi farklı yollar vardır. Lantanitler atomik esaslı emisyon özellikleriyle bilinirler. Lantanit molekülleri bir dalga boyunda ışığı absorpladığında ya ligant ya da metal merkezi de absorplar. Eğer ligant enerjii absorplarsa, ligant temel halden uyarılmış hale geçer. Enerji,

- Floresans veya fosforesans yaparak
- Isıya dönüşmüş olarak
- Fotokimyasal ürün oluşturmak gibi yollarda kullanılmak için tekrar yayımlanır (Melby, vd.,1964).

Tez kapsamında kullanılan ligant iki tane aromatik halka içermektedir. Bu halkalar hetero veya homosiklik yapıda olabilir. Ligandın seçimi daha çok ligandın kullanıldığı uygulamaya bağlı olarak değişir. Bu komplekslerden Eu^{3+} kompleksleri genellikle daha yüksek duyarlılık sağlar bu sebepten de en çok kullanılan lantanittir. Eu^{3+} kompleksleri bazı ayırt edici özellikler gösterirler. Bunlar arasında i) Eu^{3+} kompleksleri UV bölgesinde (yaklaşık 330 nm) absorpsiyon maksimumu göstermesi, yaklaşık 615 civarında ise güçlü bir floresans yayması ii) Emisyon bantının çok dar olması iii) Bu komplekslerin uyarılmış triplet hallerinin çok uzun ömre sahip olması (100 μs den uzun) iv) Düşük background sinyali göstermeleri v) Keskin emisyon piklerine sahip olmaları vi) ve radyoizotop kirlenmesi olmaması gibi özellikler sayılabilir (Şekil 1.10 ve Şekil 1.11).



Şekil 1.10. Eu(III) iyonunun ligant tarafından duyarlılaştırılması.



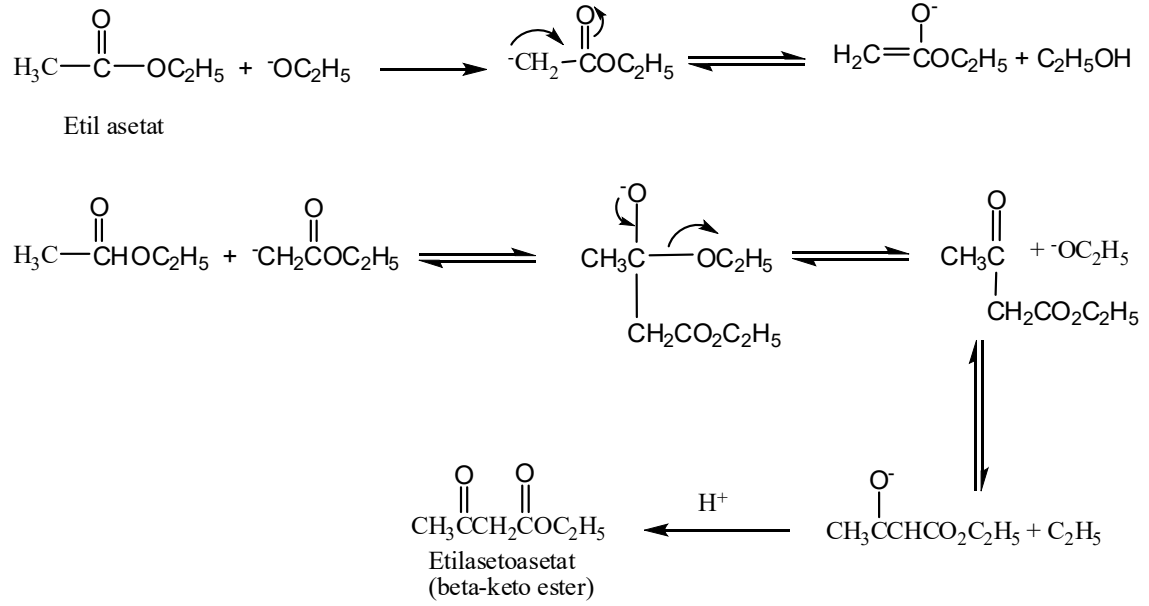
Şekil 1.11. Bir lantanit kompleksinde enerjinin absorpsiyonu, göçü, emisyonu (düz oklar) ve enerji kayıplarının (kesik oklar) sistematik gösterimi $^1S^*$: Singlet hal, $^3T^*$: Triplet hal, A: Absorpsiyon, F: Floresans, P: Fosforesans, k : Hız sabiti, r: Işımalı geçiş, nr: Işımsız geçiş, IC: İç dönüşüm, ISC: Sistemlerarası geçiş, et: Enerji tranferi, ILCT veya IL : Ligant içi yük transfer, LMCT veya LM : Liganttan metale yük transfer geçişleri.

1.6. Tıbbi Tanı Kiti

Tıbbi tanı kitleri (ultrahassas biyoanalitik tahlil kitleri) ölçümü yapılacak malzemeye (analit) bağlanan veya reaksiyon veren reaktif kullanarak analitin varlığını tespiti veya derişiminin ölçümüne dayanır (Dickson, vd., 1995). Lüminesans biyotahlil tekniğinde lüminesans lantanit komplekslerin biyoetiket olarak kullanımına dair uygulamalara 1983'te başlanmıştır (Siiatri, vd., 1983). Tıbbi tanı kitleri hastalığın tanısında kullanılan ticari olarak temin edilebilir testlerdir. Birçoğu biyokimyasal değerlendirme veya antijen veya antikorun kalitatif ölçümü için tasarlanmıştır. Tez kapsamında etiket olarak Eu(III) kompleksi seçilmiş olsa da bazı alanlarda sinyal oluşturan etiketler radyoaktif atomları (^{125}I , 3H ve ^{14}C) içerebildikleri gibi pek çok avantajından dolayı enzimler, floresan probalar, kemilüminesans bileşikler, metaller ve metal şelatları ve lipozomlar gibi alternatif radyoaktif olmayan etiketler de kullanılmaktadır (Darwish vd., 2006).

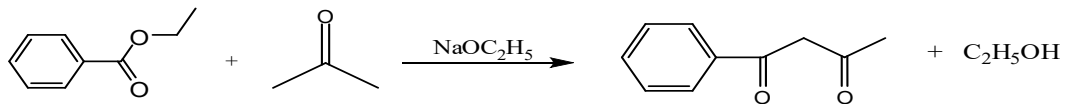
1.7. Claisen Kondensasyonu

Claisen Kondensasyonu iki ester molekülünün keto-ester vermek için birleştiği reaksiyondur. Reaksiyon baz katalizlidir. Genellikle sodyum metoksit, sodyum etoksit gibi alkoksitler kullanılır. Mekanizması Aldol reaksiyonu ile benzerdir.

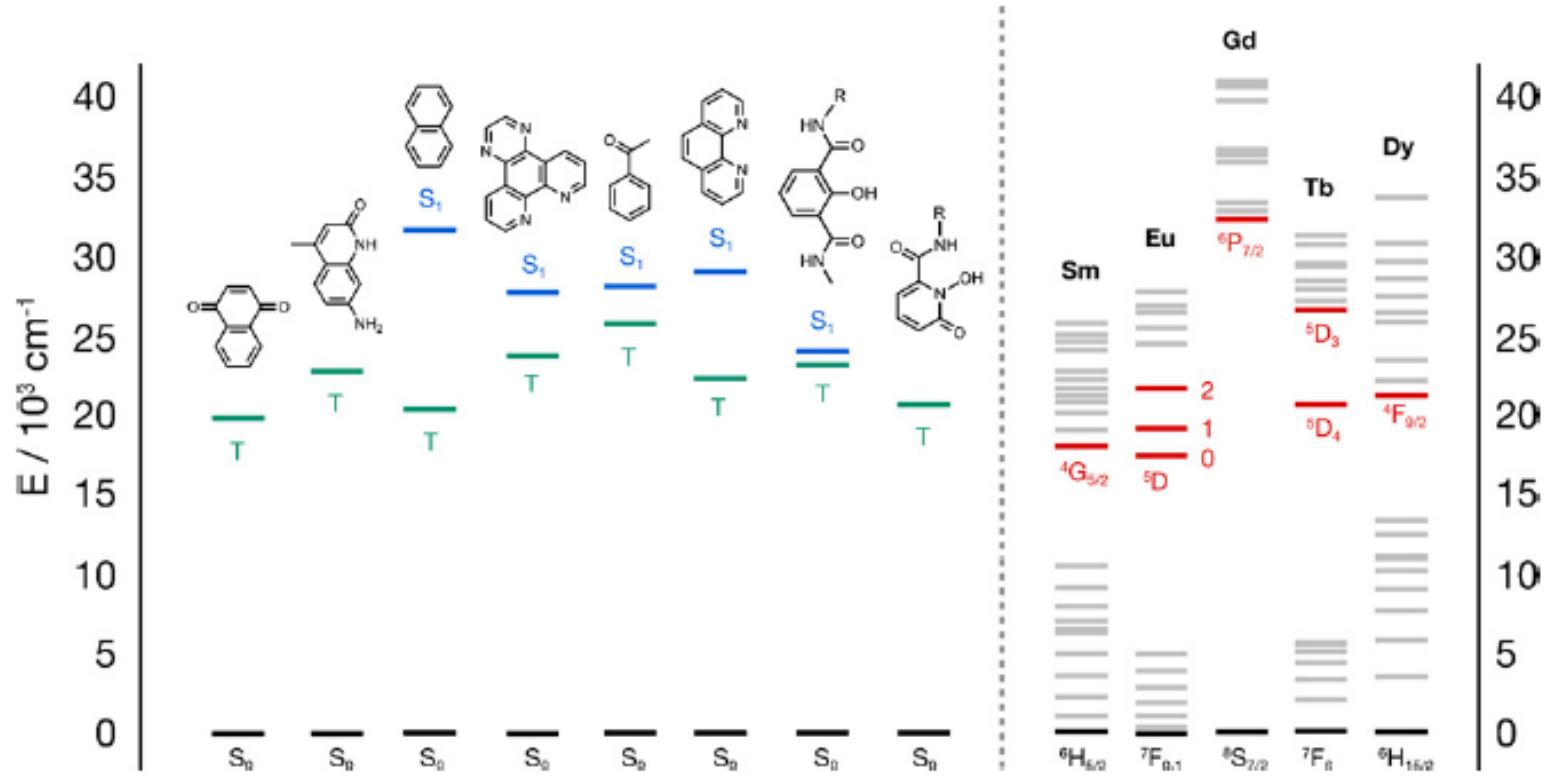


Şekil 1.12. Claisen kondensasyonu basamakları.

İlk basamak esterden karbanyum oluşturmaktır (ester enolatı). Esterin sabunlaşmasını önlemek için hidroksitten ziyade bir alkoksit kullanılır. Enolat alkoksit iyonundan daha kuvvetli bir baz olduğundan düşük derişimde oluşur. Çekirdekseven karbon tipik bir karbonil katılma tepkimesinde olduğu gibi karbonil grubuna saldırır. Bu katılmayı RO⁻ ayrılması izler. Ürün, β-keto ester, iki karbonil grubuna komşu α-hidrojenleri taşıdığından, bir alkolden daha asidiktir. Tepkime karışımının seyreltik asitle asitlendirilmesinden β-keto ester elde edilir. Çapraz Claisen kondensasyonları ise ketonlar ve esterler arasında olur. Etil benzoat ve aseton arasındaki reaksiyon buna örnektir. Ayrıca ligant sentezinin mekanizması da Claisen kondensasyon mekanizmasıdır (Şekil 1.13) (Fessenden ve Fessenden, 1990).



Şekil 1.13. Çapraz claisen kondensasyonu.



Şekil 1. 14. Bazı lantanit katyonların ve kromoforların emisyon seviyelerinin enerji diyagramı: kromoforların singlet ve triplet halleri sırasıyla mavi ve yeşille ifade edilirken bazı lantanitlerin uygun emisyon halleri kırmızıyla çizilmiştir (Armelo vd., 2010).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

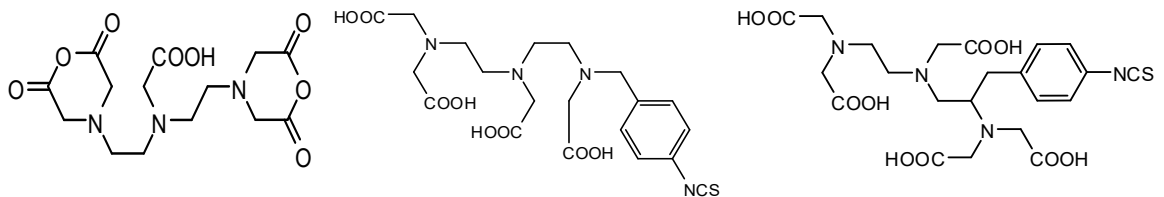
Europium(III) ile kompleks oluşturacak ligantların seçimi uygulama alanlarına bağlıdır. Tıbbi tanı kitlerinde biyoetiketlemede kullanılan ligantlar 4 ana başlıkta toplanmaktadır. Bunlar; lüminesans olmayan ligantlar, Poliamino karboksilat esaslı lüminesans ligantlar (PAC esaslı lüminesans ligantlar), β -Diketonat esaslı lüminesans ligantlar ve diğer lüminesans ligantlardır (Hagan ve Zuchner, 2011).

Lantanit şelatların immunoölçümlerde kullanılması için lantanit iyonuna bağlanabilen bir şelatlayıcı gruba ve biyomoleküle bağlanabilmesi için özel fonksiyonel gruba sahip olması gerekir. Bu şelatlayıcı grup ile etkin ışık hasadı yapan kararlı kompleks oluşturmak için aldığı enerjiyi transfer edip emisyon alınmasını sağlayabilen ve biyomoleküllerin aktivitelerine engel olmadan uygun bir şekilde bağlanabilen ligantlar seçilmelidir (Hagan ve Zuchner, 2011).

Tez kapsamında seçilen β -diketonat esaslı lüminesans ligant seçilmiş ve ayrıntılı olarak incelenmiştir.

2.1. Lüminesans Olmayan Ligantlar

İmmunoölçümlerde lantanit şelatları etiket olarak kullanılması 37 yıl önce Wieder (Wieder, 1978) tarafından daha sonra da Hemmilä ve Soini (Hemmila ve Soini, 1979) tarafından önerilmiştir. Son olarak 1983'te DELFIA sisteminin gelmesiyle lüminesans olmayan ligantlarla uygulamalara başlanmıştır (Siitari vd., 1983). Perkin-Elmer firmasınınca kullanılan ve tek başlarına floresans özellik göstermeyen ligantlar aşağıda gösterilmiştir. Bu ligantlar karboksilik asit esaslı olup bol miktarda alifatik kısımlar içerirler.



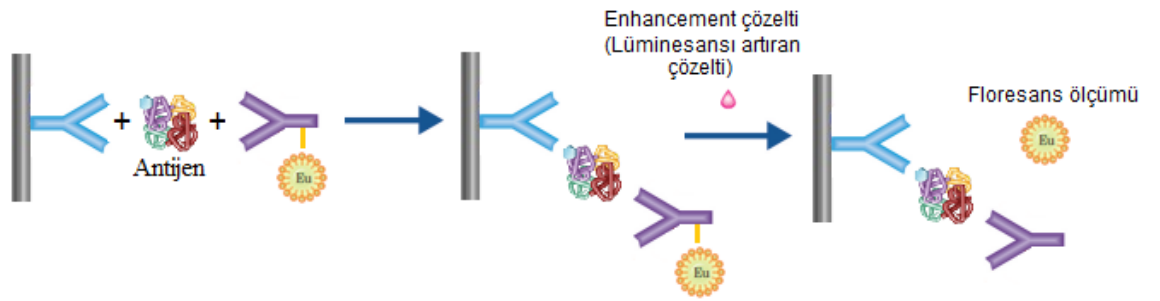
c-DTPAA

p-SCN-Bn-DTTA

p-SCN-Bn-DTPA

Şekil 2.1. DTPA: 2-(bis(2-(2,6-dioksomorfolino)etil)amino)asetik asit, c-DTPAA: DTPA'nın anhidriti, p-SCN-Bn-DTTA: dietilentriamin tetrakarbonsilik asit.

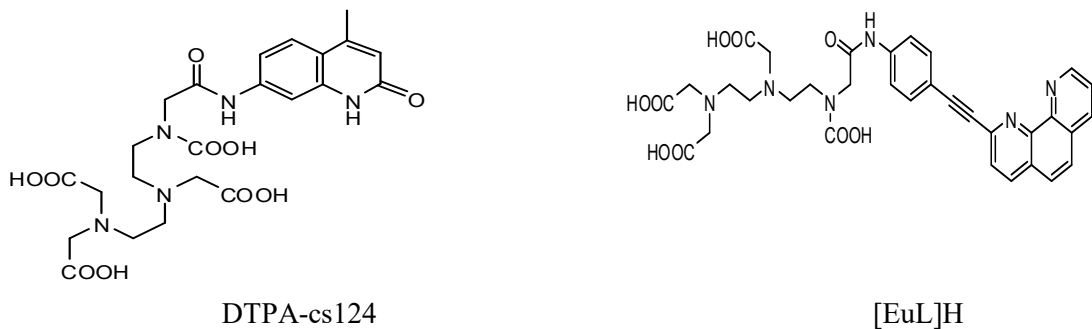
Biyotiket olan moleküller mevcut durumda biyomolekülleri TRFIA tekniği ile iki farklı şekilde ölçmektedir. TR-FIA tekniği, etiket olarak lantanit özellikle de europiyum (Eu^{3+}), terbiyum (Tb^{3+}), samaryum (Sm^{3+}) ve disprozyum (Dy^{3+}) komplekslerinin kullanıldığı assay yöntemidir. DELFIA Perkin-Elmer firmasının geliştirilen dolaylı yöntem olarak adlandırılan tekniktir. Dolaylı yöntemde Eu(III) ile birleştiğinde floresans olmayan ancak anten vazifesini gören ligantlarla çalışılır. Liganttan Eu(III) 'e enerji aktarımı gerçekleştiğinden sonra kompleks parçalanır ve Eu(III) 'ün floresansı bir lüminesans artırıcı çözelti ile birlikte okunur (Hemilia; 1985).



Şekil 2.2. DELFIA (Dissociation Enhanced Lanthanide Fluoroimmunoassay) tekniği ile biyomolekül ölçümü.

2.2 Poliamino Karboksilat Esaslı Lüminesans Ligantlar

Literatürde immünölçüm için pek çok poliaminokarboksilat ligantı sentezlenmiş olsa da bu iki ligant öne çıkmaktadır.



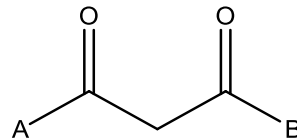
Şekil 2.3. DTPA-cs124 2,2'-(2-((2-(Karboksi(2-(4-metil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-7-ylamino)-2-oksooetil)amino)etil)(karboksimetil)amino)etil)azanedil)diasetik asit, [EuL]H = 2,2'-(2-((2-((2-(4-((1,10-fenantrolin-2-yl)etinin)fenilamino)-2-oksooetil)(karboksi)amino)etil) (Hagan ve Zuchner, 2011).

Lantanit-PAC komplekslerinin yüksek kararlılığa sahip olması çok sayıda amin ve karboksilat gruplarının lantanit iyonuna koordine olmasından kaynaklanmaktadır.

2.3. β -Diketonat Esaslı Lüminesans Ligantlar

Lüminesans lantanit β -diketonatlar elektrolüminesans cihaz, sensörler, lazerler ve biyoanaliz gibi alanlarda geniş uygulamalara sahiptir (Räsänen, 2014). β -diketonatların sulu çözeltilerinde Eu(III) komplekslerinin kararlı olduğu, klorosülfonatlandıkları için proteine rahatlıkla kovalent olarak bağlanabildiği ve yine sulu çözeltilerinde yüksek lüminesans karakterde oldukları tespit edilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı bu tez çalışmasında bu tip ligantın sentezlenmesine karar verilmiştir. Ayrıca bu ligantların sentezleri diğerlerine göre daha basittir. Reaksiyonlarında daha az yan ürün vermeleri, sentezlerinin kontrol edilebilmesi ve sentez işlemlerinin daha az maliyetli olması da diğer avantajlarından (Zhang vd., 2012).

β -diketonatlar veya 1,3-diketonlar bir karbon atomu tarafından ayrılan iki karbonil grubundan oluşur. Bu karbon atomu α -karbonudur. Çoğu β -diketonatlarda α -karbonunda ki substitüentler hidrojen atomlarıdır. Karbonil grubundaki substitüent alkil grubu, florlanmış alkil grubu, aromatik veya heteroaromatik grup olabilir. En basit β -diketon her 2 karbonil grubundaki substitüentin metil grubu olduğu asetil asetondur. Fonksiyonel grupların seçimi kullanılacak Eu(III) komplekslerinin özelliklerini etkiler. Örneğin tert-bütül grubu gibi dallanmış alkil zincirleri organik çözücülerde çözücülüğü ve uçuculuğu artırır. Perflorlanmış alkil grupları Lewis asitliğini artırır. Aromatik β -diketonlar ise alifatik olanlara göre ışığı daha iyi absorplar. Fonksiyonel gruplar ayrıca ligantın enerji seviyesinin halini etkiler (singlet ve triplet haller) (Binnemans, 2005). β -diketonat ($R_1COCHCOR_2$)-Eu komplekslerinde aynı ligantta bir elektron verici (R_1) ve bir elektron alıcı (R_2) grup olduğunda kompleksin floresans şiddeti artar (Yuan ve Matsumoto, 1996).

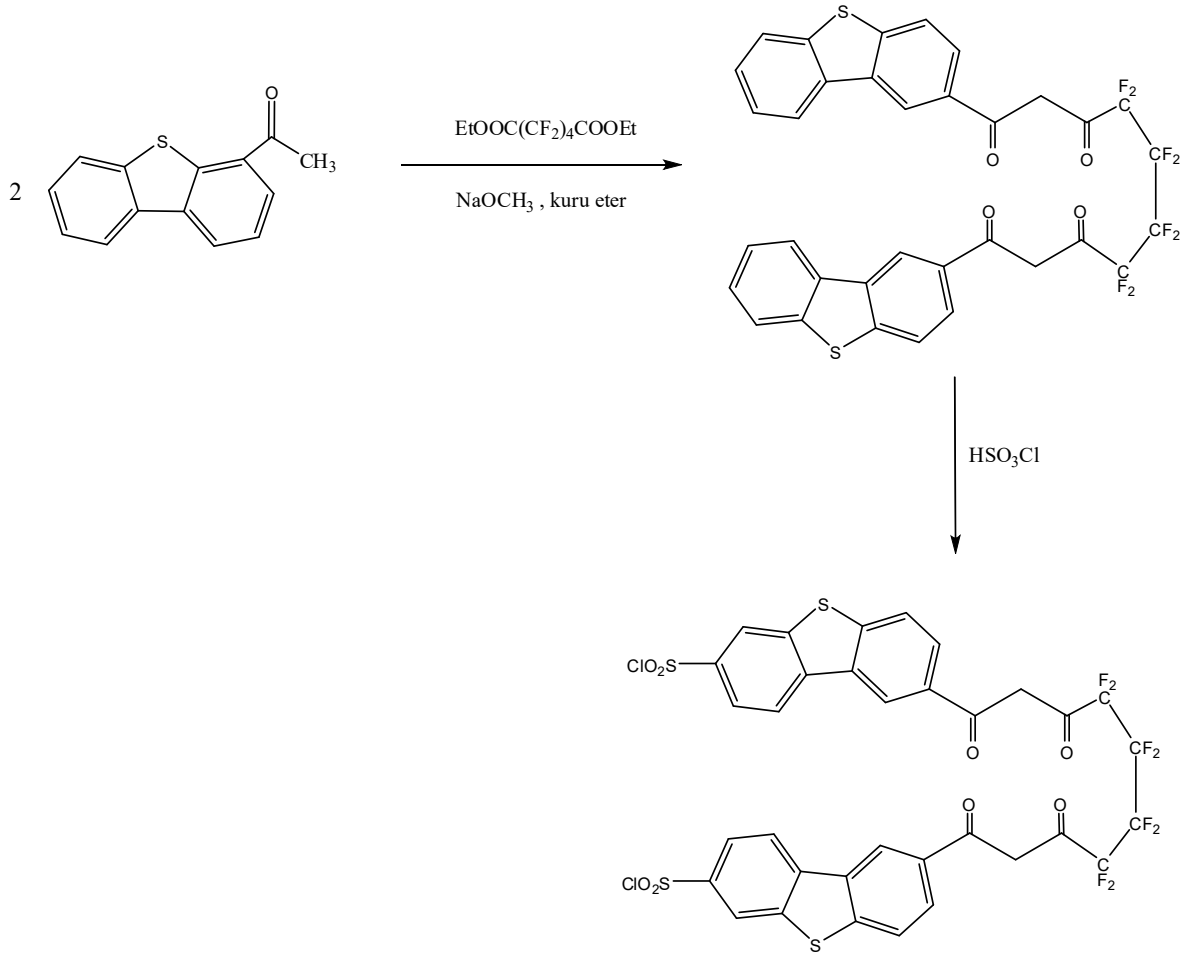


Şekil 2.4. β -diketonatın genel yapısı.

Literatürde başlangıç maddesi olarak keton ve florlu bileşikler kullanılarak Claisen kondenzasyonu ile sentezlenen dört madde bulunmaktadır. Bu ligantların çoğu aromatik halka içermektedir. Çok sayıda Lantanit- β -diketonat kompleksi sentezlenmesine rağmen bu

komplekslerin çok azı biyomolekülleri etiketlemede kullanılmıştır (Binnemans, 2005). Çünkü bu kompleksler sadece iki dişlidir, bu yüzden sınırlı kararlılığa sahiptir. Bu sınırı aşmak için bir molekülde iki β -diketon içeren dört dişli ligantlar sentezlenmiştir. Ve bu ligantlar immunoölçümlerde çeşitli biyomoleküllerin tayini için kullanılmışlardır (Yuan ve Matsumoto, 1997; Yuan ve Matsumoto, 1996; Wang vd., 2001).

Yuan ve Matsumoto tarafından 2-asetil-dibenzotiyofen ile dietil oktafloroadipat maddelerinin 2:1 molar oranında ve katalitik miktarda NaOCH_3 ile dietileter çözücüsü içerisinde 24 saat oda şartlarında gerçekleşen reaksiyonu sonucunda β -diketon esaslı ligant sentezlenmiştir. Sentez basamakları şöyledir. 24 saatlik karıştırma sona erdiğinde çözücü uzaklaştırılmıştır. Kalıntı %15'lik 100 mL H_2SO_4 ile asitlendirilerek 1,10-bis(dibenzotiyofen-2'-yl)-4,4,5,5,6,6,7,7-okta-florodekan-1,3,8,10-tetraon ligantı elde edilmiştir. Ligantın yapısı elementel analiz, $^1\text{H-NMR}$ ve kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Ligant proteine kovalent bağ ile bağlanması amacıyla klorosülfolanmıştır. Aşırı ClSO_3H (klorosülfonik asit) ile ligant 0 °C'ta 4 saat karıştırılmıştır. Daha sonra buzlu suya damla damla eklenmiş, çöken madde santrifüjle toplanmış ve soğuk suyla yıkanmıştır. 1,10-bis(8'-klorosulfodibenzotiyofen-2'-yl)-4,4,5,5,6,6,7,7- oktaflorodekan-1,3,8,10- tetron (BCOT) sentezlenmiştir (Yuan ve Matsumoto, 1997) (Şekil 2.4).

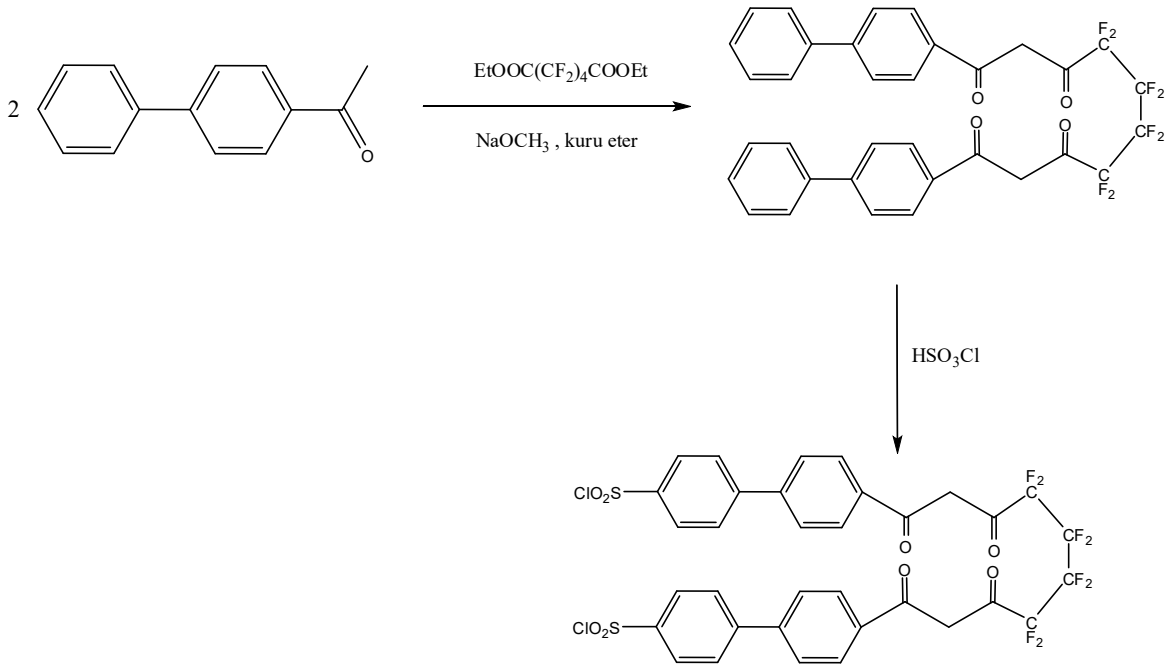


Şekil 2.5. BCOT'un sentez aşamaları.

BCOT, proteinlerin amino gruplarına oda koşullarında karbonat tamponuyla bağlanmış ve iki β-diketonat grubunun dört oksijen atomuyla kararlı Eu(III) kompleksi oluşturulmuştur. Lüminesans çalışmaları yapılmış ve kompleksin Eu(III) iyonuna özgü geçişi verdiği gözlemlenmiştir (Yuan ve Matsumoto,1997).

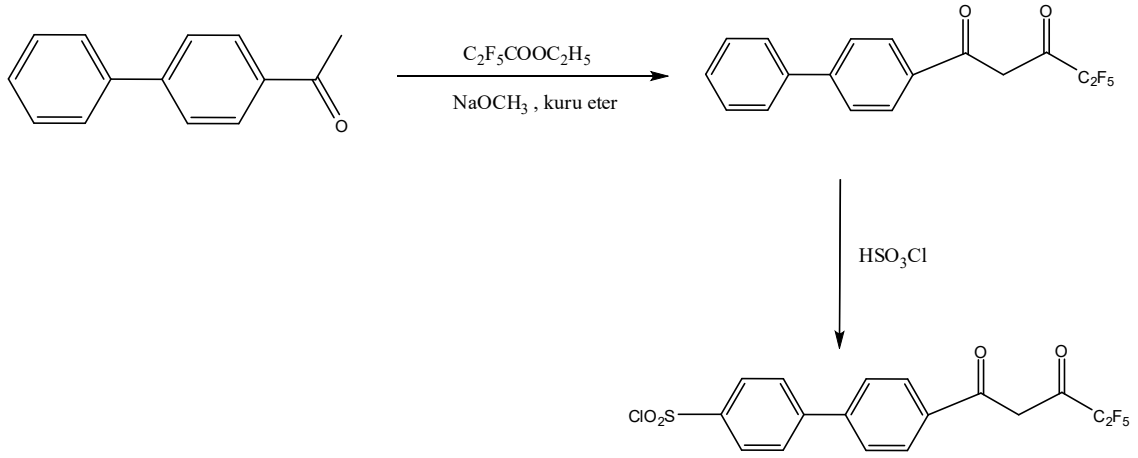
Yuan ve Matsumoto tarafından 4'-fenilasetofenon ile dietil oktafloroadipat maddelerinin 2:1 molar oranında ve katalitik miktarda NaOCH_3 ile dietileter çözücüsü içerisinde 24 saat oda şartlarında gerçekleşen reaksiyonu sonucunda β-diketon esaslı ligant sentezlenmiştir. Sentez basamakları şöyledir. 24 saatlik karıştırma sona erdiğinde çözücü uzaklaştırılmıştır. Kalıntı %15'lik 100 mL H_2SO_4 ile asitlendirilerek 1,10-bis(1',1''-difenil-4'-yl)-4,4,5,5,6,6,7,7-oktaflorodekan-1,3,8,10-tetraon ligantı elde edilmiştir. Ligantın yapısı elementel analiz, ^1H -NMR ve kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Ligant proteine kovalent bağ ile bağlanması

amacıyla klorosülfolanmıştır. Aşırı ClSO_3H (klorosülfonik asit) ile ligant 0°C 'ta 4 saat karıştırılmıştır. Daha sonra buzlu suya damla damla eklenmiş, çöken madde santrifüjle toplanmış ve soğuk suyla yıkanmıştır. 1,10-bis(4''-klorosulfo-1',1''-difenil-4'-yl)-4,4,5,5,6,6,7,7-octaflorodekan-1,3,8,10-tetraon (BCDOT) sentezlenmiştir (Yuan ve Matsumoto,1996) (Şekil 2.5).



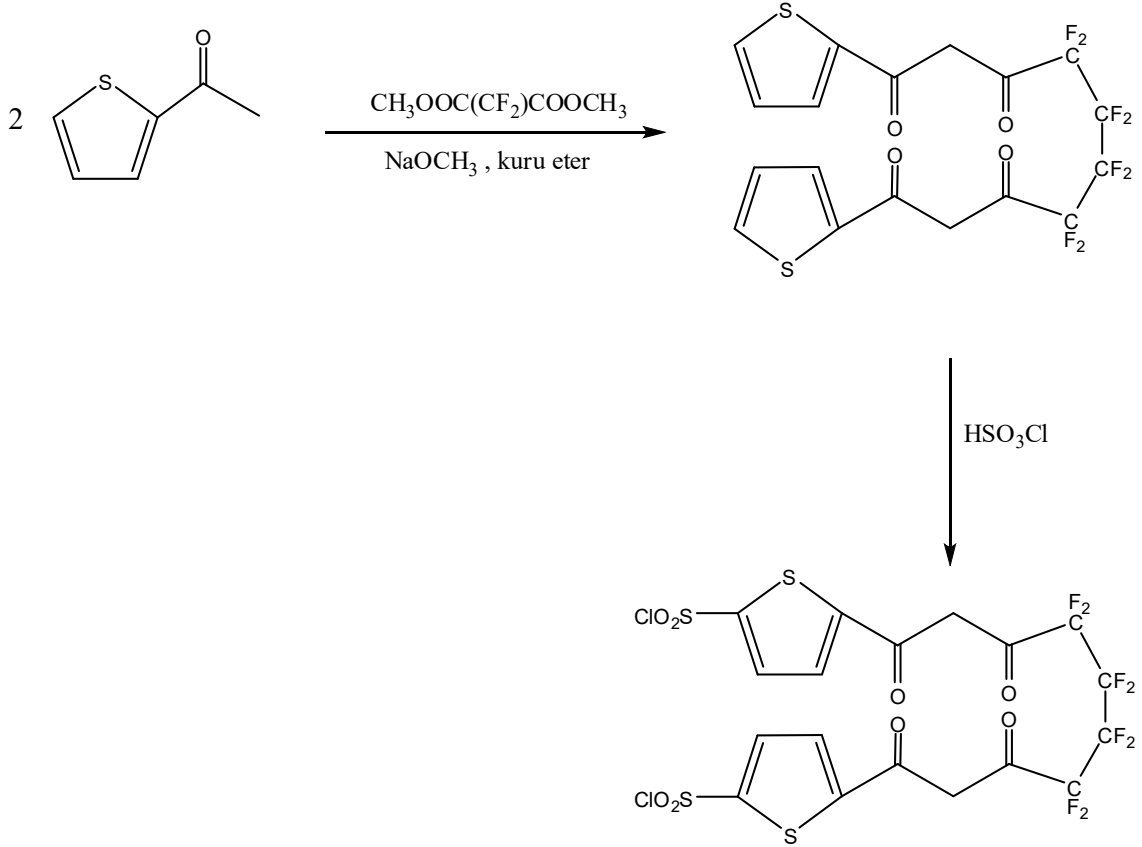
Şekil 2.6. BCDOT'un sentez aşamaları.

Wang ve arkadaşları tarafından 4'-fenilasetofenon ile pentafloropropionik asit etil esteri maddelerinin 1:1 molar oranında ve katalitik miktarda NaOCH_3 ile dietiler çözücüsü içerisinde 24 saat oda şartlarında gerçekleşen reaksiyonu sonucunda β -diketon esaslı ligant sentezlenmiştir. Sentez basamakları şöyledir. 24 saatlik karıştırma sona erdiğinde çözücü uzaklaştırılmıştır. Kalıntı %15'lik 100 mL H_2SO_4 ile asitlendirilerek 5-(1',1''-difenil-4'-yl)-1,1,1,2,2-pentafloro-3,5-pentadion ligantı elde edilmiştir. Ligantın yapısı elemental analiz, $^1\text{H-NMR}$ ve kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Ligant proteine kovalent bağ ile bağlanması amacıyla klorosülfolanmıştır. Aşırı ClSO_3H (klorosülfonik asit) ile ligant oda koşullarında 7 saat karıştırılmıştır. Daha sonra buzlu suya damla damla eklenmiş, çöken madde santrifüjle toplanmış ve soğuk suyla yıkanmıştır. 5-(4''-klorosulfo-1',1''-difenil-4'-yl)-1,1,1,2,2-pentafloro-3,5-pentadion(CDPP) sentezlenmiştir (Wang vd., 2001) (Şekil 2.6).



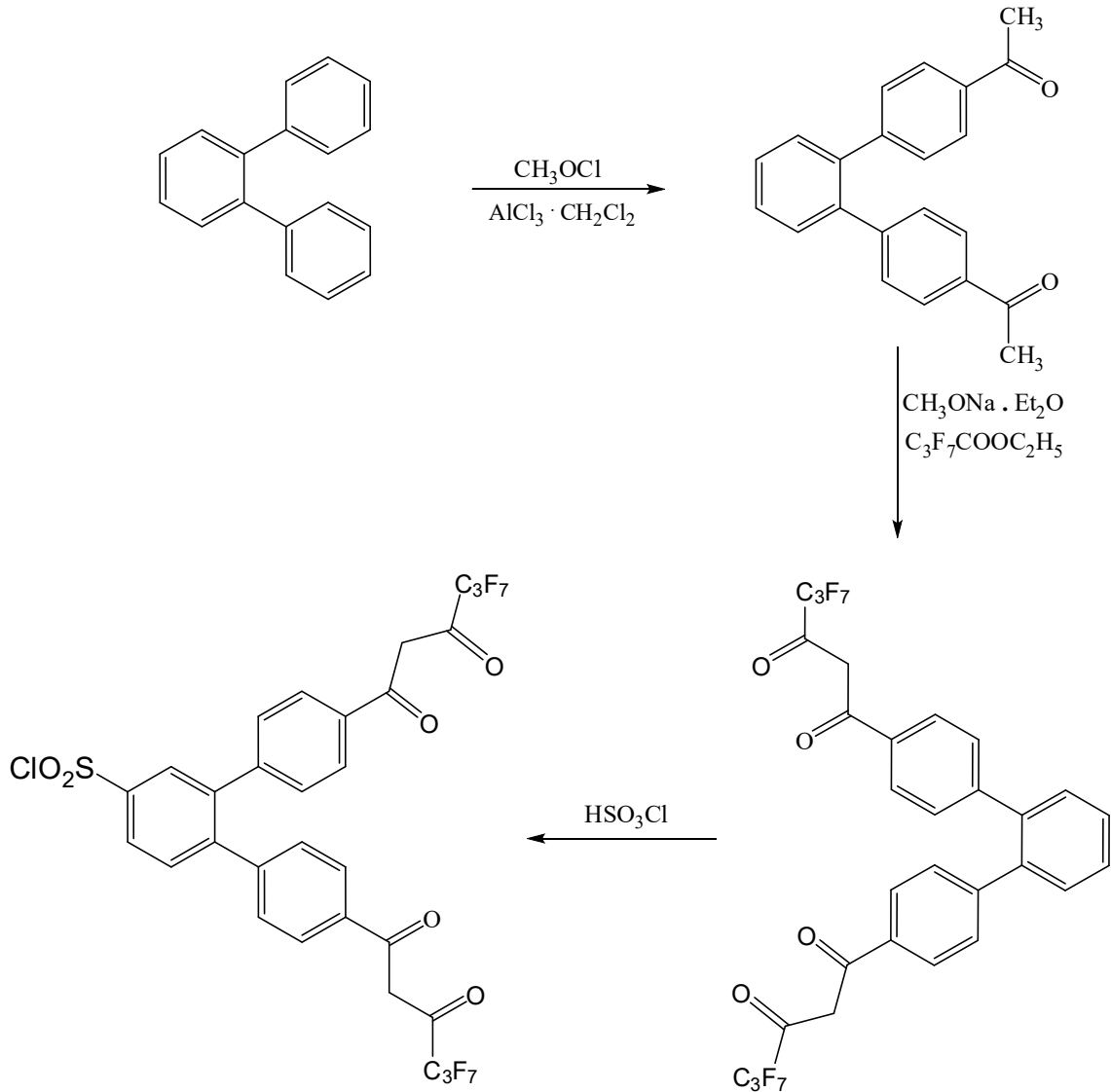
Şekil 2.7. CDPP'nin sentez aşamaları.

Wu ve arkadaşları tarafından 2-asetiltiyofen ile dimetil oktafloroadipat maddelerinin 1:1 molar oranında ve katalitik miktarda NaOCH_3 ile dietiler çözücüsü içerisinde 48 saat oda şartlarında gerçekleşen reaksiyonu sonucunda β -diketon esaslı ligant sentezlenmiştir. Sentez basamakları şöyledir. 48 saatlik karıştırma sona erdiğinde çözücü uzaklaştırılmıştır. Kalıntı %15'lik 200 mL H_2SO_4 ile asitlendirilerek 1,10-bis(tiyofen-2'-yl)-4,4,5,5,6,6,7,7-oktaflorodekan-1,3,8,10-tetraon (BTOT) ligantı elde edilmiştir. Ligantın yapısı elementel analiz, $^1\text{H-NMR}$ ve kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Ligant proteine kovalent bağ ile bağlanması amacıyla klorosülfolanmıştır. Aşırı ClSO_3H (klorosülfonik asit) ile ligant 40°C 'ta 3 saat karıştırılmıştır. Daha sonra buzlu suya damla damla eklenmiş, çöken madde santrifüjle toplanmış ve soğuk suyla yıkanmıştır. Böylece 1,10-bis(5'-klorosülfo-tiyofen-2'-yl)-4,4,5,5,6,6,7,7-oktaflorodekan-1,3,8,10-tetraon (BCTOT) sentezlenmiştir (Wu vd., 2002) (Şekil 2.7).



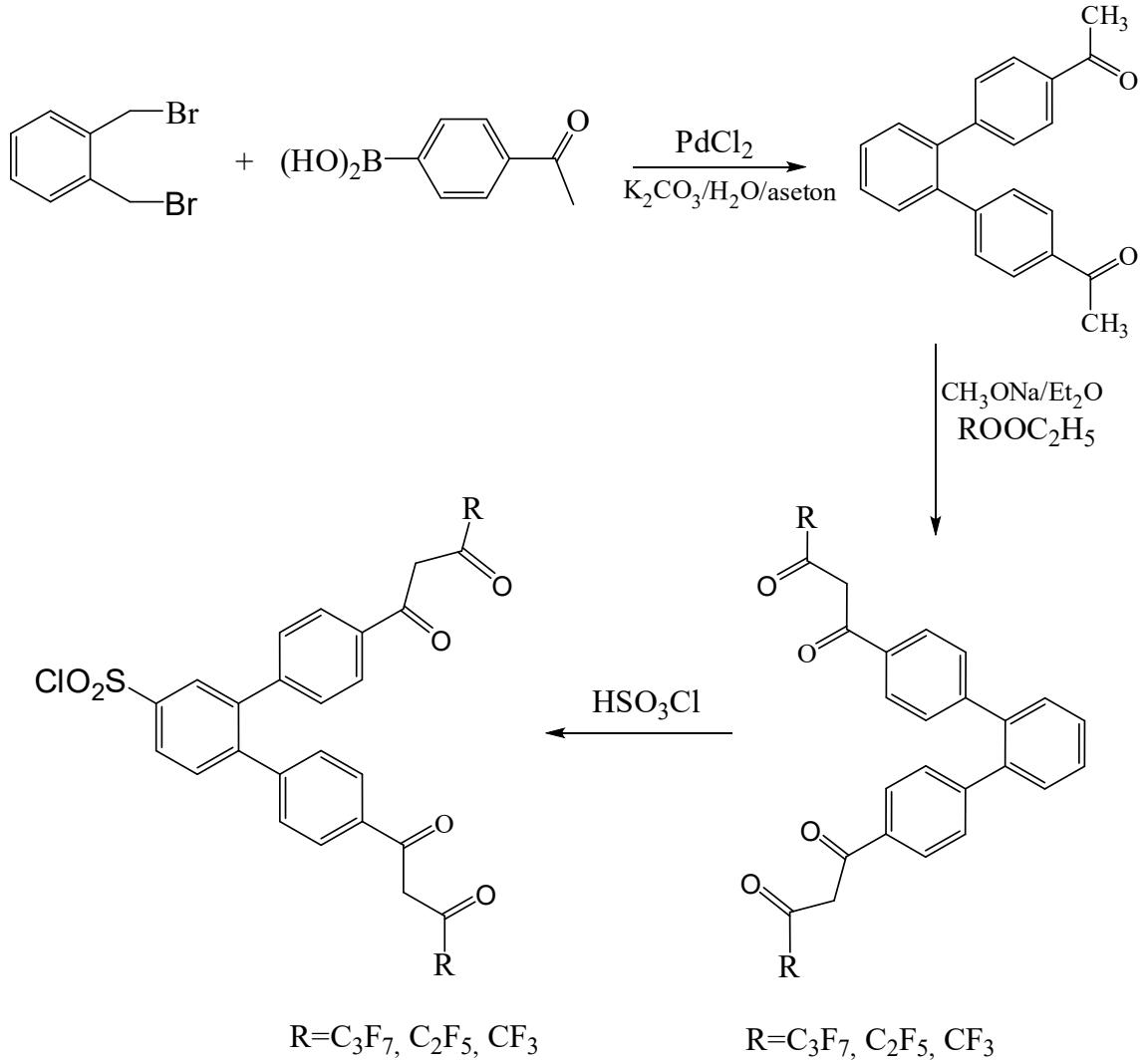
Şekil 2.8. BCTOT'un sentez aşamaları.

Jingli ve arkadaşları yukarıdaki sentez biçimlerinden farklı olarak ilk olarak *o*-terfenilden yola çıkarak sitokiyometrik oranlarda CH_3COCl ve $\text{AlCl}_3 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ ile krtonu kendileri sentezlemişlerdir. 4,4'-diasetil-*o*-terfenil ile florlu madde olarak kullandıkları $\text{C}_3\text{F}_7\text{COOC}_2\text{H}_5$ 'i 1:1 molar oranında ve katalitik miktarda NaOCH_3 ile dietiler çözücüsü içerisinde 36 saat oda şartlarında gerçekleşen reaksiyonu sonucunda β -diketon esaslı ligant sentezlenmiştir. 36saatlik karıştırma sona erdiğinde çözücü uzaklaştırılmıştır. Kalıntı %15'lik 100 mL H_2SO_4 ile asitlendirilerek 4,4'-Bis(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-heptafluoro-4'',6''-hexanedion-6''-yl)-*o*-terphenyl (BHHT) ligantı elde edilmiştir. Ligantın yapısı elementel analiz ve $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Ligant proteine kovalent bağ ile bağlanması amacıyla klorosülfolanmıştır. Aşırı ClSO_3H ile ligant 7 saat oda koşullarında karıştırılmıştır. Daha sonra buzlu suya damla damla eklenmiş, çöken madde santrifüjle toplanmış ve soğuk suyla yıkanmıştır. Böylece 4,4'-Bis(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-heptafluoro-4'',6''-hekzandion-6''-yl)klorosulfo-*o*-terphenyl (BHHCT) sentezlenmiştir (Yuan ve Matsumoto, 1998) (Şekil 2.8).



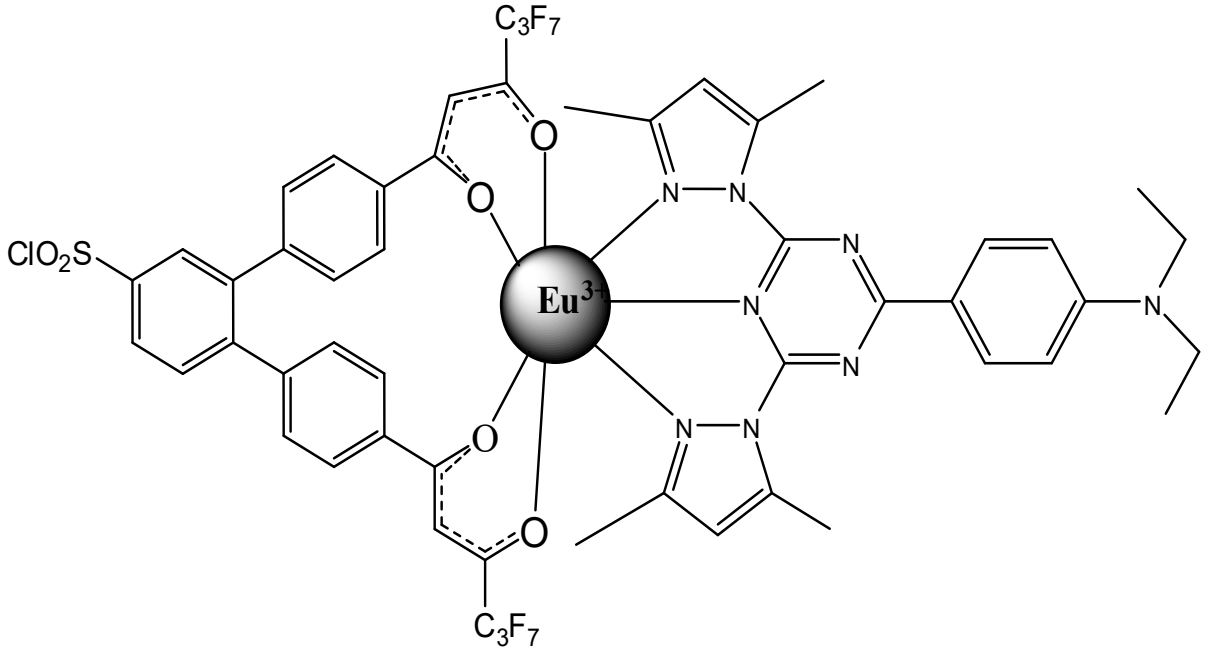
Şekil 2.9. BHHT ve BHHCT'nin sentez aşamaları.

Lin ve arkadaşları üç tane klorosülfolanmış dört dişli β -diketon sentezlemiştir. Suzuki çapraz birleştirme reaksiyonu ile 1,2-dibromometil-benzen ve 4-asetil-fenilboronik asit kullanarak 1,2-bis(4-asetil-benzil)-benzeni, daha sonra Claisen kondenzasyonu ile florlu kısmın farklılığı ile ligantları (BHHBCB, BPPBCB, BTBBCB) elde etmişlerdir (Lin, vd., 2012) (Şekil 2.9).



Şekil 2.10. BHHBCB, BPPBCB, BTBBCB'nin sentez aşamaları ($\text{R}=\text{C}_3\text{F}_7$:BTBBCB; C_2F_5 :BHHBCB; CF_3 :BPPBCB).

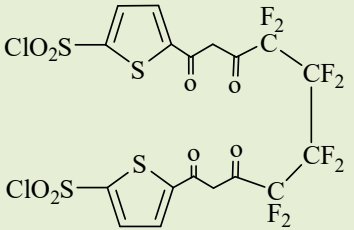
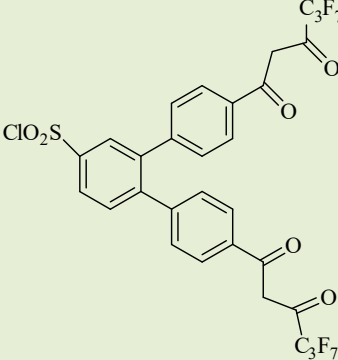
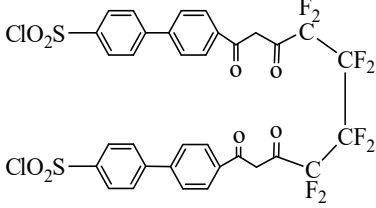
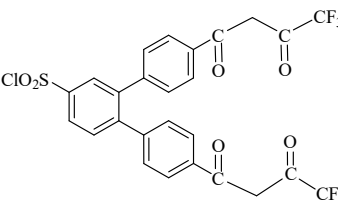
Lina ve arkadaşları daha önce Jingli ve arkadaşlarının sentezlediği BHHT ve BHHCT ligantlarını aynı metotla sentezlemişlerdir. Farklı olarak Eu^{3+} 'yı duyarlılaştırmak amacıyla 2-(N,N-dietilanilin-4-yl)-4,6-bis(3,5-dimetilpirazol-1-yl)-1,3,5-triazin (DPBT) ligantını kullanmışlardır (Lina, vd., 2010) (Şekil 2.10).



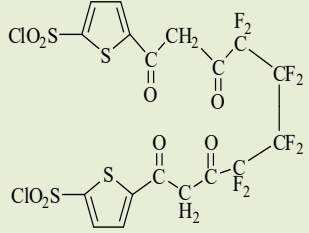
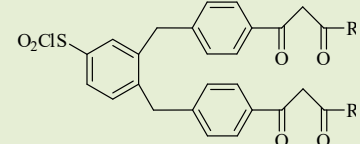
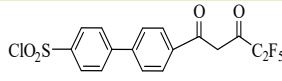
Şekil 2.11. BHHCT-Eu³⁺-DPBT kompleksinin yapısı.

Aşağıdaki tabloda biyoetiketlemede kullanılan ligantlar özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. Biyoetiketlemede kullanılan β -diketonat esaslı ligantlar.

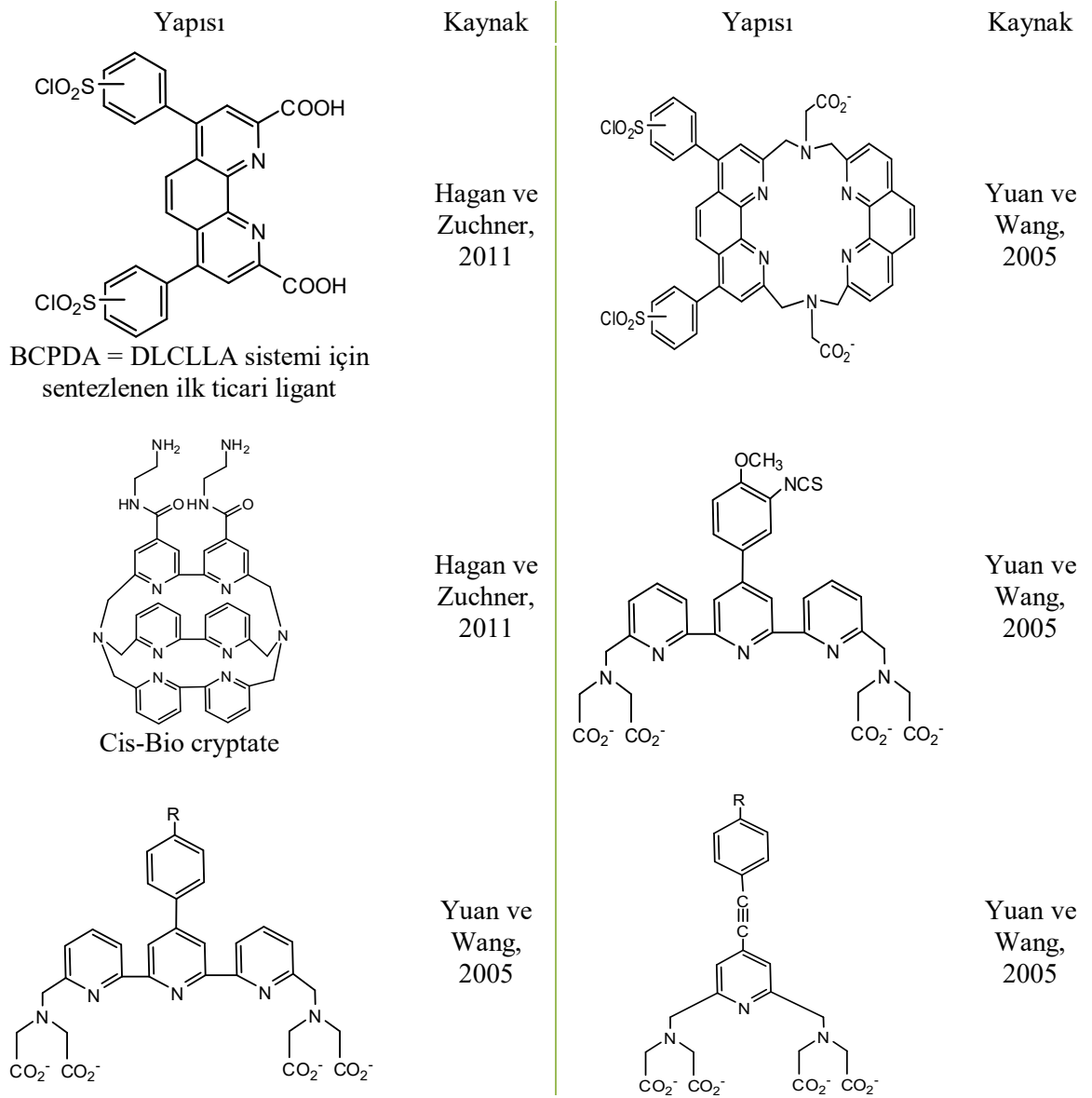
Kısaltma	Kullanılan Florlu Bileşik	Yapısı	Kaynak	Kısaltma	Kullanılan Florlu Bileşik	Yapısı	Kaynak
BCOT	EtOOC(CF ₂) ₄ COOEt		Yuan ve Matsumoto, 1997	BHHCT	C ₃ F ₇ COOC ₂ H ₅		Yuan ve Matsumoto, 1998
BCDOT	EtOOC(CF ₂) ₄ COOEt		Yuan ve Matsumoto, 1996	BTBCT	CF ₃ COOCH ₃		Wu ve Zhang, 2002

Çizelge 2.2. Biyoetiketlemede kullanılan β -diketonat esaslı ligantlar(devamı).

Kısaltma	Kullanılan Florlu Bileşik	Yapısı	Kaynak	Kısaltma	Kullanılan Florlu Bileşik	Yapısı	Kaynak
BCTOT	MeOOC(CF ₂) ₄ COOMe		Wu vd., 2002	BHHBCB	C ₃ F ₇ COOC ₂ H ₅	 <p>R: C₃F₇, BHHBCB R: C₂F₅, BPPBCB R: CF₃, BTBBCB</p>	Zhang vd., 2012
				BPPBCB	C ₂ F ₅ COOC ₂ H ₅		
				BTBBCB	CF ₃ COOC ₂ H ₅		
CDPP	C ₂ F ₅ COOC ₂ H ₅		Wang vd.,2001				

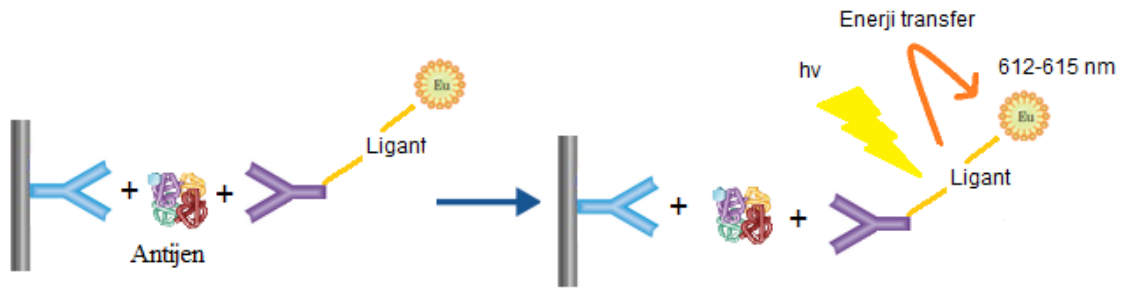
2.4. Diğer Lüminesans Ligantlar

BCDPA (Şekil 2.11) DLCLLA sisteminde kullanılan bir ligant olup yapısı son derece basit ve yine klorosülfolanmış grup içerdiğinden proteine bağlanması kolay olmaktadır. BCDPA halen pek çok biyomolekülün ölçümünde yaygın olarak kullanılmaktadır (Hagan ve Zuchner 2011). Cis-Bio cryptate (Şekil 2.11) gibi kriptat esaslı lüminesans ligantlarda immünoölçüm de kullanılıyor olsalar da diğerleri kadar yaygın oldukları söylenemez.



Şekil 2.12. Biyoetiketlemede kullanılan diğer ligantlar.

Direkt Yöntem ise DLCLLA (Direct Lanthanide Chelate Label-Based Luminescence Assay) yöntemidir. Burada ligant anten görevi gördüğü gibi aynı zamanda yüksek floresans özellik gösterir ve bir floresans artırıcı çözeltiye ihtiyaç duyulmadan doğrudan floresans okuma yapılabilir. Bu sistemde sentezlenen ilk ticari ligant 4,7-Bis- (klorosülfenil)-1,10-fenantroline-2,9-dikarboksilik (BCPDA) asit olup yapısı literatür kısmında verilmiştir (Lin, 2004).



Şekil 2.13. DLCLLA (Direct Lanthanide Chelate Label-Based Luminescence Assay) tekniği ile biyomolekül ölçümü.

Eu(III)'ü duyarlılaştırmak için kullanılan diğer ligantlar tridentat piridin dikarboksilik asitler, çok dişli piridin, terpiridin, ve bunların yapısal analogları olan polikarboksilatlar, kriptantlar, kaliksarenler, siklodekstrinler, taç-eter türevleri gibi şelatlayıcı ajanlardır (Sato vd., 1970; Takalo vd., 1993; Meskers vd., 1993; Buntinx vd., 1996; Saha vd., 1993; Mukkala vd., 1996; Takalo ve Mukkala, 1991; Sato ve Shinkai, 1993; Steemers vd., 1995; Pikramenou ve Nocera, 1992; Sabbatini vd., 1986).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

EuCl₃, asetofenon, dietiloktafloroadipat, sodyum metoksit (NaOCH₃), klorosüfonik asit (HSO₃Cl) ve çözücü olarak dietiler, etanol ve 1,4-dioksan Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiş ve saflaştırılmadan kullanılmıştır.

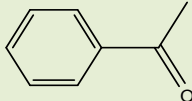
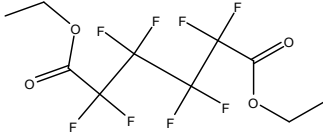
3.2. Yöntem

- Ligantın NMR analizi Bruker Biospin Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi Avance III 400 mhz cihazı kullanılarak, Giresun Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (GRÜMLAB)'a yaptırıldı.
- IR çalışmalarında Bruker Marka, Vertex 70 model (Dumlupınar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü) FT-IR cihazı kullanıldı ve 4000-400 cm⁻¹ aralığında ölçüm yapıldı.
- Bileşiklerin elektronik spektrumları, Shimadzu UV-2450 marka UV-Gör. Spektrofotometrisinde 200-800 nm aralığında kaydedildi. Çözücü olarak etanol kullanıldı. 10⁻³ ve 10⁻⁴, 10⁻⁵ M çözeltileri ile çalışıldı.
- Komplekslerin kütle analizleri Agilent 6530 Accurate Mass Q-TOF LC/MS cihazı kullanılarak, Dumlupınar Üniversitesi İleri Teknolojiler Araştırma Merkezinde (İLTEM) yaptırıldı.
- H₂ODİT ligantının yapısı X-ışınları tek kristal yöntemi ile aydınlatıldı. Analiz D8-QUEST difraktometresi kullanılarak grafit-monokromatik Mo-K_α ışın kaynağı ile 296 K 'de yapıldı. Yapı SHELXS-97 kullanılarak doğrudan metodlarla çözülmüş ve SHELXS-97 kullanılarak F² de matris en küçük kareler metoduyla WINGX yazılımından yararlanılarak saflaştırılmıştır. Moleküler diagramlar MERCURY programı kullanılarak oluşturulmuştur. Supramoleküler analizler PLATON yazılımı yardımı ile yapılmış ve yine diagramlar bu yazılımla hazırlanmıştır.
- Kompleksin Lüminesans spektrumu Perkin Elmer LS55 Florescence Spektrofotometre'sinde alındı.

3.3. Kullanılan Başlangıç Maddelerinin Bazı Fiziksel Özellikleri

Ligantın sentezinde asetofenon maddesinin yanı sıra florlu madde olarak dietiloktafloroadipat ($\text{EtOOC}(\text{CF}_2)_4\text{OOC}(\text{Et})$) kullanıldı. Bu bileşiklerin açık yapısı ve bazı fiziksel özellikleri Çizelge 3.1’de özetlendi.

Çizelge 3.1. Kullanılan organik moleküllerin bazı fiziksel özellikleri.

Adı	Formülü	Açık yapısı	M_A g/mol	d g/mL	Erime Nok. °C	Kayna ma Nok. °C
Asetofenon (AF)	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}$		120,15	1,03	20	202
Dietiloktafloro adipat (DEOFA)	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{F}_8\text{O}_4$		346,17	1,416	-	237,1

3.4. Bileşiklerin Sentezi

Europiyum(III) kompleksinin sentezi üç aşamada gerçekleştirildi.

3.4.1. $\text{H}_2\text{ODİT}$ ligantının sentezi

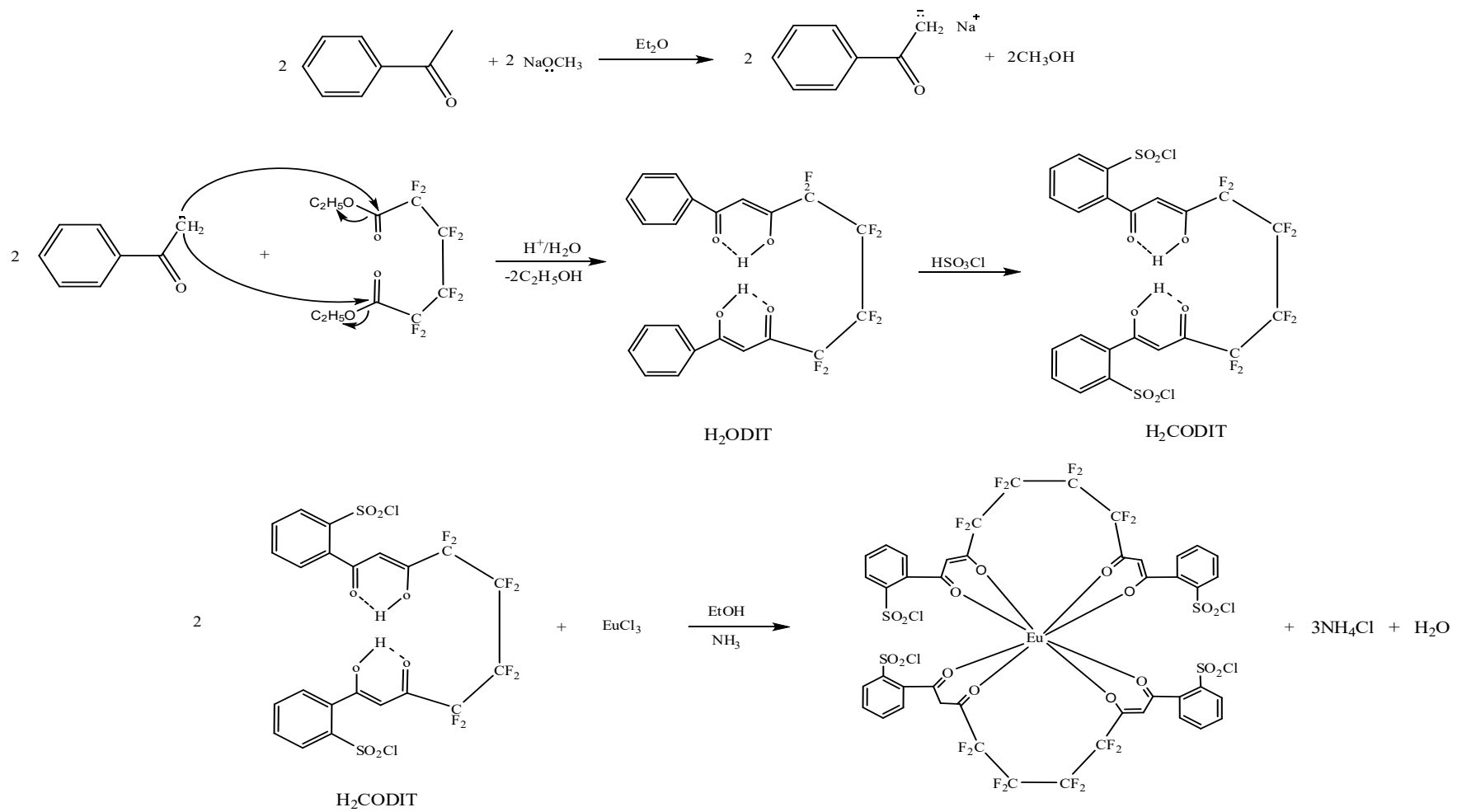
İlk aşamada asetofenonun (AF) katyonunu oluşturmak için katalitik miktarda NaOCH_3 ve 50 mL dietileter geri soğutucu takılmış 2 boyunlu balona konuldu ve asetofenon (2,50 g, 20 mmol) azar azar balona eklendi. Çözelti 1 saat karıştırıldı. Çözeltinin rengi krem rengi oldu. Daha sonra (3,60 g, 10 mmol) dietiloktafloroadipat (DEOFA) damla damla çözeltiliye eklendi. Çözeltinin rengi sarı oldu. Reaksiyon süresini, madde miktarlarını ve maddenin saflığını incelemek için belli zaman aralıklarında madde İTK ile kontrol edildi. İTK analizi 1:3 hekzan/kloroform karışımında yapıldı. Çözelti oda koşullarında 5 gün karıştırıldı. Daha sonra çözücü uçuruldu ve kalıntı bol suda çözüldü ve %15’lik H_2SO_4 ile kontrollü bir şekilde pH’ı yaklaşık 6’ya ayarlandı. Asitlendirmeye çöken madde kurutulduktan sonra etanol ve 1,4-dioksan karışımından kristallendirildi. % 48.5 verimle 2,50 g ürün elde edildi (Şekil 3.1).

3.4.2. H₂CODİT ligantının sentezi

2. aşamada ise molekülün antikorlara bağlanması için gerekli olan klorosülfonat kısmı bağlandı. Bu kısımda yöntem gereği klorosülfonik asitin aşırısı kullanıldı. 5 mL klorosülfonik asit (HSO₃Cl) geri soğutucu takılan balona konuldu ve sentezlenen ligant aside azar azar ilave edildi. Çözeltinin rengi DEOFA katıldıkça sarıdan açık yeşile ve maddenin tamamı katıldığında ise koyu yeşile döndü. Çözelti 5 gün oda koşullarında karıştırıldı. Klorosülfonik asit su ile çok ekzotermik bir reaksiyon gerçekleştirdiğinden çözelti buzlu suya damla damla ilave edildi. Maddenin buzlu suda sarı polikristal bir katı olarak çöktüğü gözlemlendi. Su uzaklaştırılarak kalıntı kurutuldu. % 72 verimle 0,78 g ürün elde edildi (Şekil 3.1).

3.4.3. Eu(III) kompleksinin sentezi

Son aşamada etanol içinde klorosülfolanmış ligant (H₂CODİT) (0,97 g, 1,4 mmol) karıştırıldı ve EuCl₃ (0,18 g, 0,70 mmol) eklendi, eklendiği anda çözeltide kompleksleşme gözlemlendi. Etanol uzaklaştırıldıktan sonra kalıntı su ve dietileterle yıkandı ve kurumaya bırakıldı (Şekil3.1).



Şekil 3.1. H₂ODİT ve H₂CODİT ligantlarının ve Eu kompleksinin sentez mekanizması.

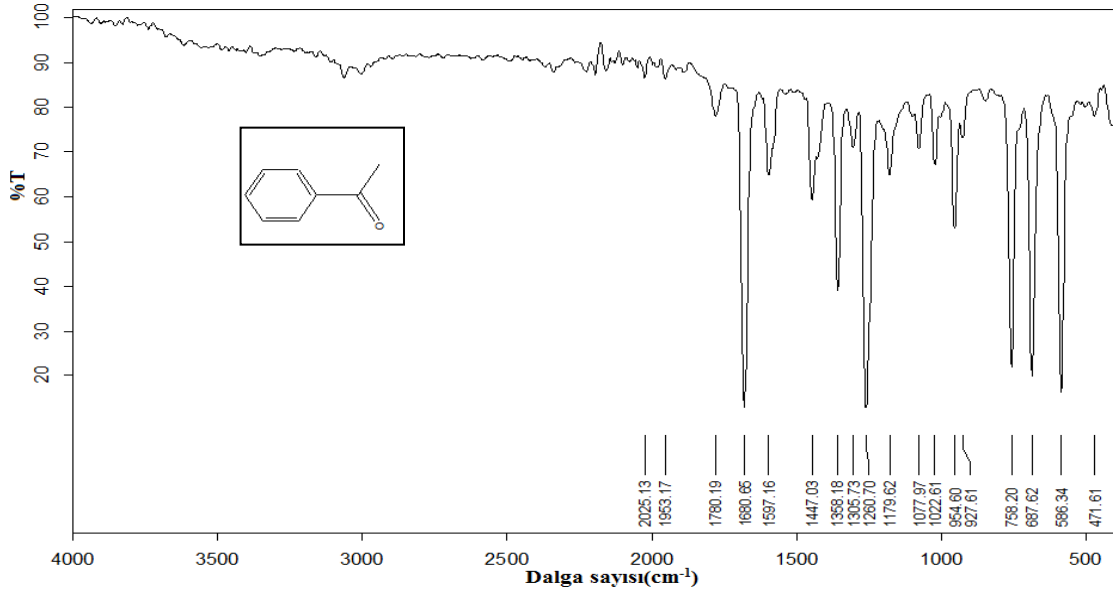
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Sentezlenen H₂ODİT ligantının yapısı ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopisi, kütle spektroskopisi, X-ışını tek kristal çalışmaları ve FT-IR teknikleri ile aydınlatılırken, H₂CODİT ligantı ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopisi, kütle spektroskopisi ve FT-IR teknikleri ile kompleksin yapısal özellikleri ise lüminesans spektroskopisi, FT-IR, UV-Vis., teknikleri ile aydınlatıldı.

4.1. Kızılötesi Spektroskopisi Çalışmaları

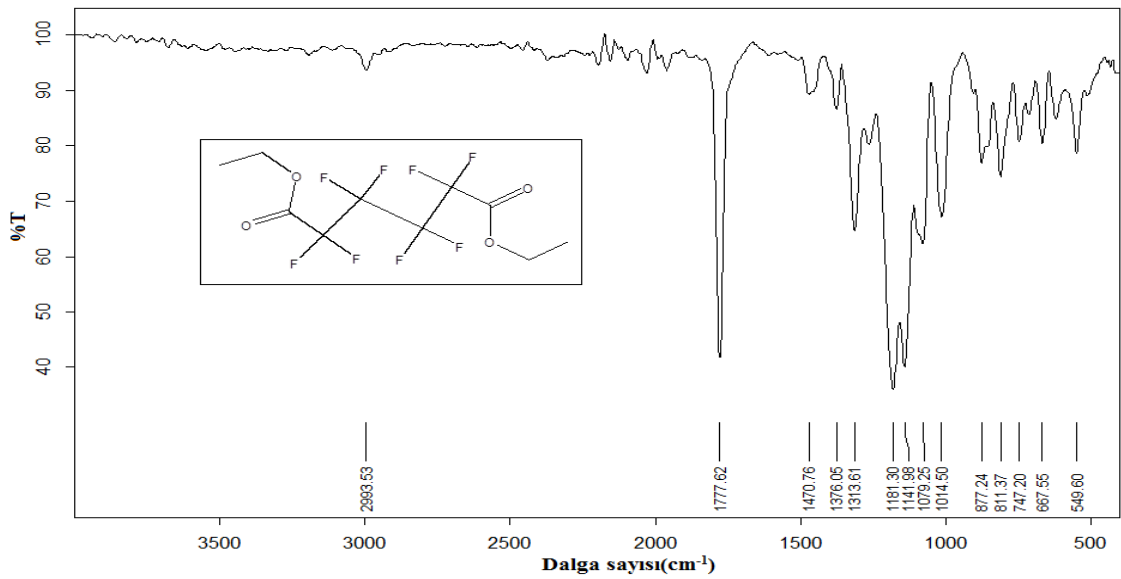
Sentezlenen ligantların ve kompleksin kızılötesi spektrumları 4000-400 cm⁻¹ aralığında ATR tekniği ile alındı ve kızıl ötesi spektrumları incelenip yapılarını aydınlatmada yardımcı olacak karakteristik titreşimler belirlendi. Asetofenon (AF) ve dietiloktafloroadipatın (DEOFA) kızılötesi spektrumları sırasıyla Şekil 4.1’de ve Şekil 4.2’de titreşim frekansları ise Çizelge 4.2’de verildi.

Şekil 4.1’de ki asetofenonun (AF) kızıl ötesi spektrumu incelendiğinde 1680 cm⁻¹’de C=O gerilmesine (ArCOCH₃ için) ait olan keskin bir pik görülmektedir. 1447 cm⁻¹’de ki pik karbonil karbonuna bağlı -CH₃ titreşiminden, 1597 cm⁻¹’de ki ise aromatik C=C gerilmelerinden ileri gelmektedir. Benzene monosüstitüe bağlanmadan kaynaklanan titreşimler 758 ve 688 cm⁻¹ gözlenmiştir.

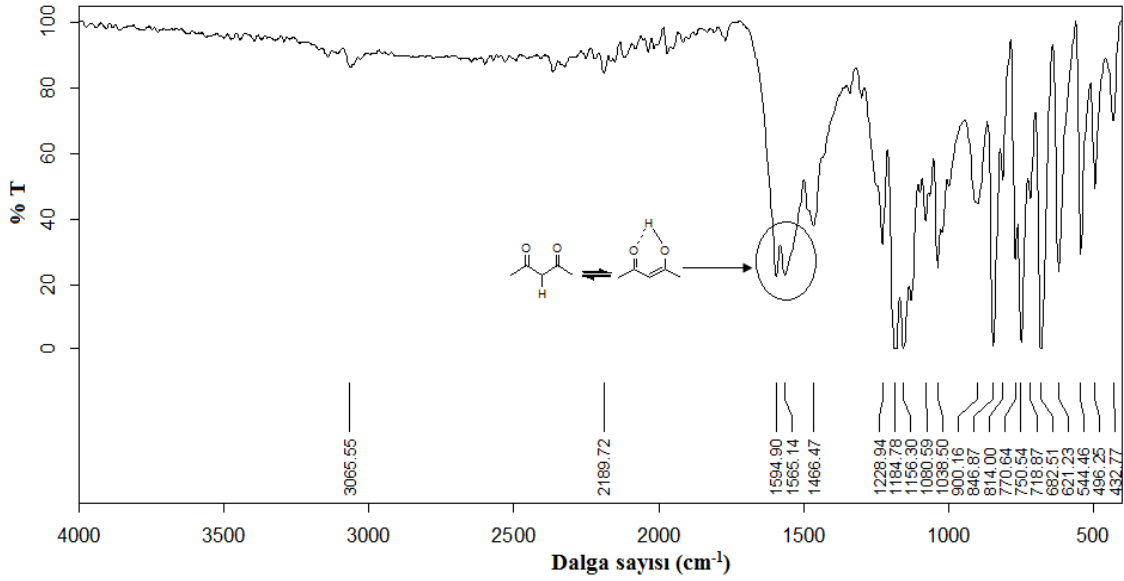


Şekil 4.1. AF'nin kızılötesi spektrumu.

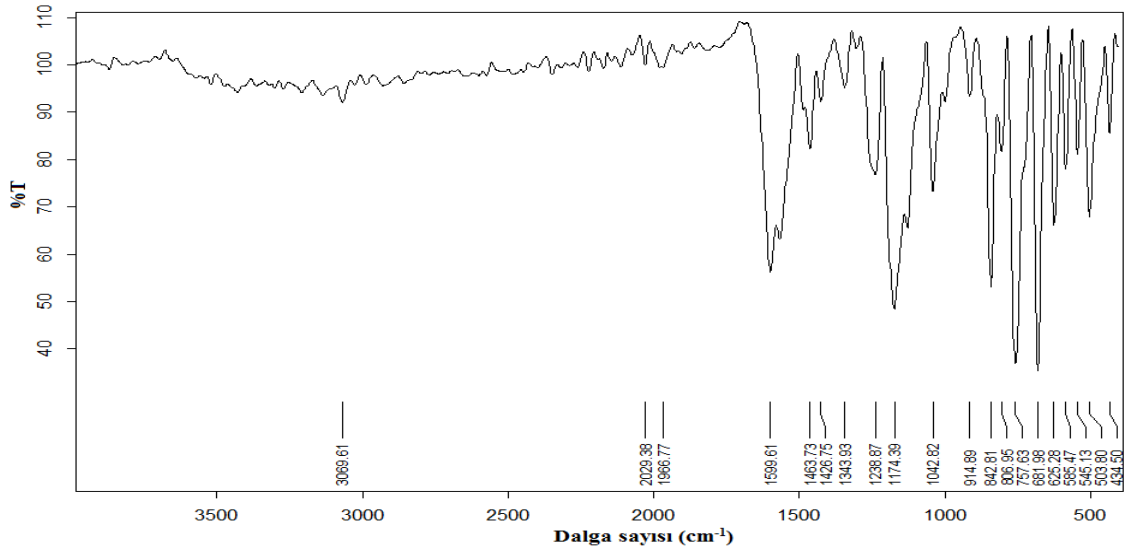
Şekil 4.2'de DEOFA'nın kızılötesi spektrumu verilmiştir. 1778 cm⁻¹'de görülen pik esterin C=O gerilmesinden (-CO-OR) kaynaklanmaktadır. Bileşikteki -CF₂ tireşimlerine ait pikler 1181 ve 1142 cm⁻¹'tir. Alifatik C-H gerilmesine karşılık gelen pik 2994 cm⁻¹'de görülmektedir.



Şekil 4.2. DEOFA'nın kızıl ötesi spektrumu.



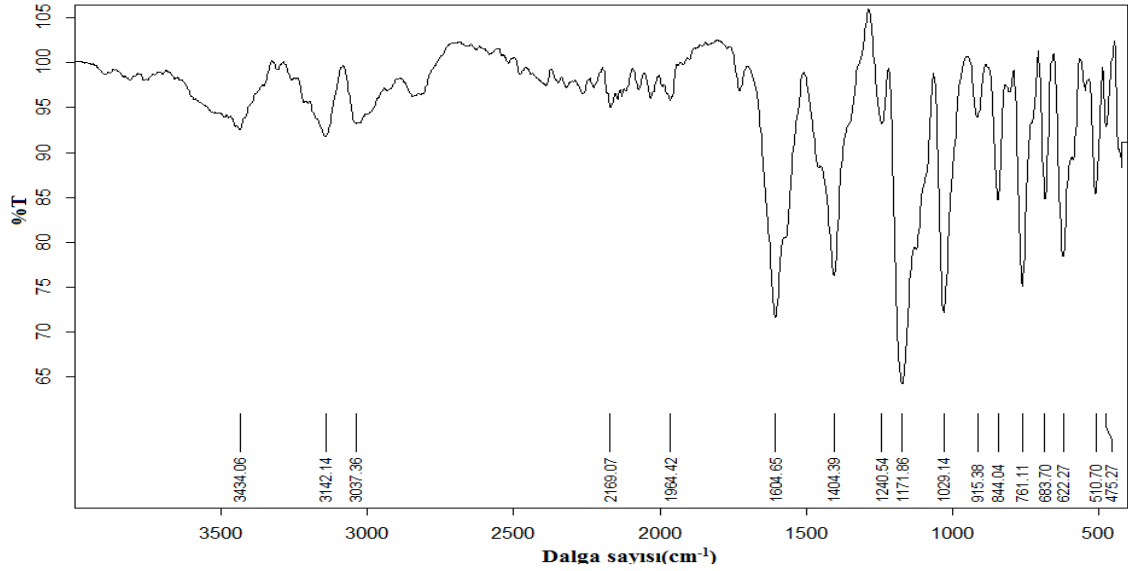
Şekil 4.3. H₂ODİT ligantının kızılötesi spektrumu.



Şekil 4.4. H₂CODİT ligantının kızılötesi spektrumu.

H₂ODİT ligantının kızılötesi spektrumu Şekil 4.3'te verildi. H₂ODİT'in spektrumu incelendiğinde 1565 ve 1595 cm⁻¹ piklerine tautomer durumunda olan beta diketon neden olmaktadır. 1156 ve 1185 cm⁻¹'deki keskin iki pik liganttaki ν (CF₂) titreşimlerine aittir. 751 cm⁻¹'de gözlenen şiddetli pik benzene karbonil grubundan monosüstitüe olarak bağlanma olduğunu gösteren titreşimlerden kaynaklanmaktadır (Erdik, 2008).

H₂CODİT ligantında H₂ODİT ligantından farklı olarak $\nu(\text{SO}_2\text{Cl})$ titreşim piki görülmektedir. 1343 cm^{-1} 'te ki pik $\nu(\text{SO}_2\text{Cl})$ asimetric titreşiminden kaynaklanmaktadır. 806 ve 842 cm^{-1} 'de ki iki pik benzene o-disüstitüe bağlanma olduğunu göstermektedir (Erdik, 2008).



Şekil 4.5. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin kızılötesi spektrumu.

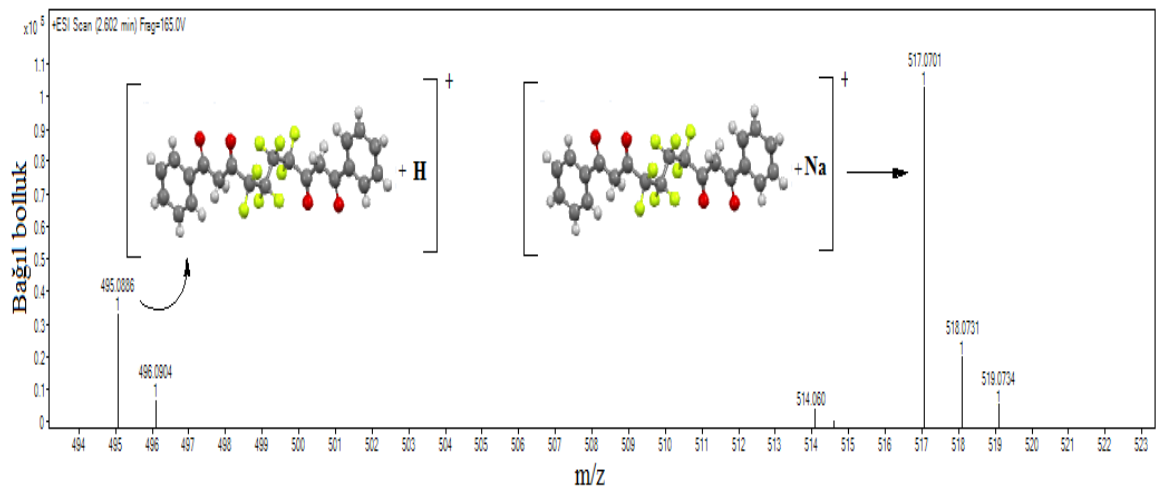
[Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin kızılötesi spektrumu Şekil 4.5'te verildi. Komplekste 1604 cm^{-1} 'te görülen pik H₂CODİT ligandındaki H bağlı enol şeklindeki ketona ait soğurmada kaynaklanmaktadır. Liganttaki $\nu(\text{CF}_2)$ titreşimleriyle uyumlu olan pik ise 1240 cm^{-1} 'dir. 1171 cm^{-1} pikine (SO_2Cl) titreşimi neden olmaktadır (Erdik, 2008).

Çizelge 4.1. Bileşiklerin karakteristik kızılötesi titreşim değerleri (cm^{-1}).

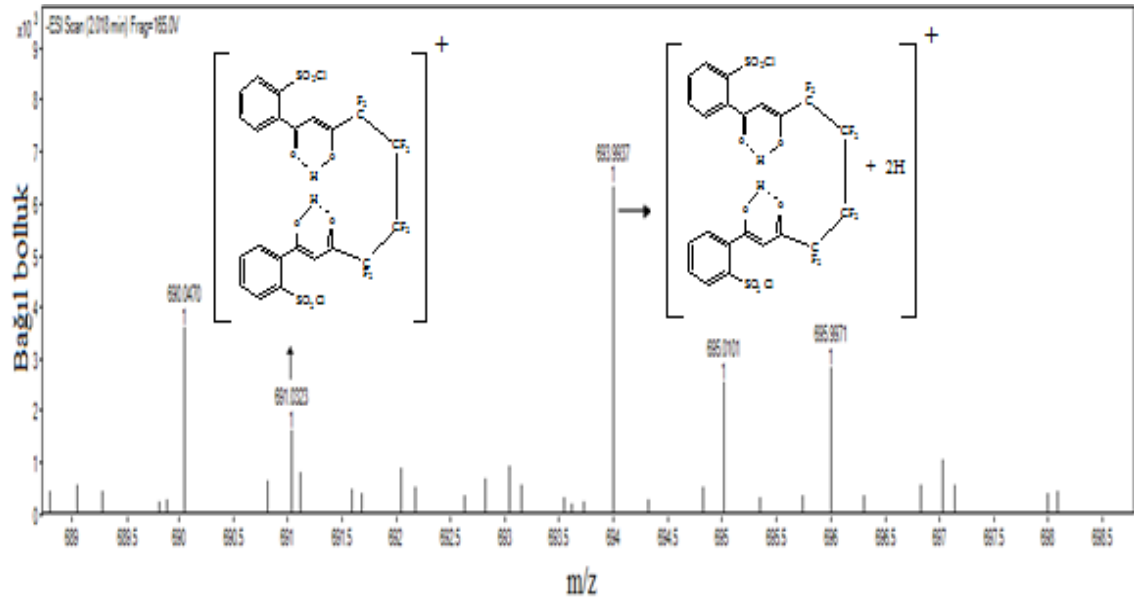
Fonksiyonel gruplar	Bileşikler				
	AF	DEOFA	H ₂ ODİT	H ₂ CODİT	[Eu(HCODİT) (CODİT)]
monosüstitüe benzen	758-688	-	751	-	
o-disüstitüe benzen	-	-	-	806-842	
$\nu(\text{CF}_2)$	-	1181-1142	1156-1185	1174	1240
$\nu(\text{C=O})$	1680	1778	1565-1595	1600	1604
$\nu(\text{SO}_2\text{Cl})$	-	-	-	1343	1171

4.2. Kütle Spektroskopisi Çalışması

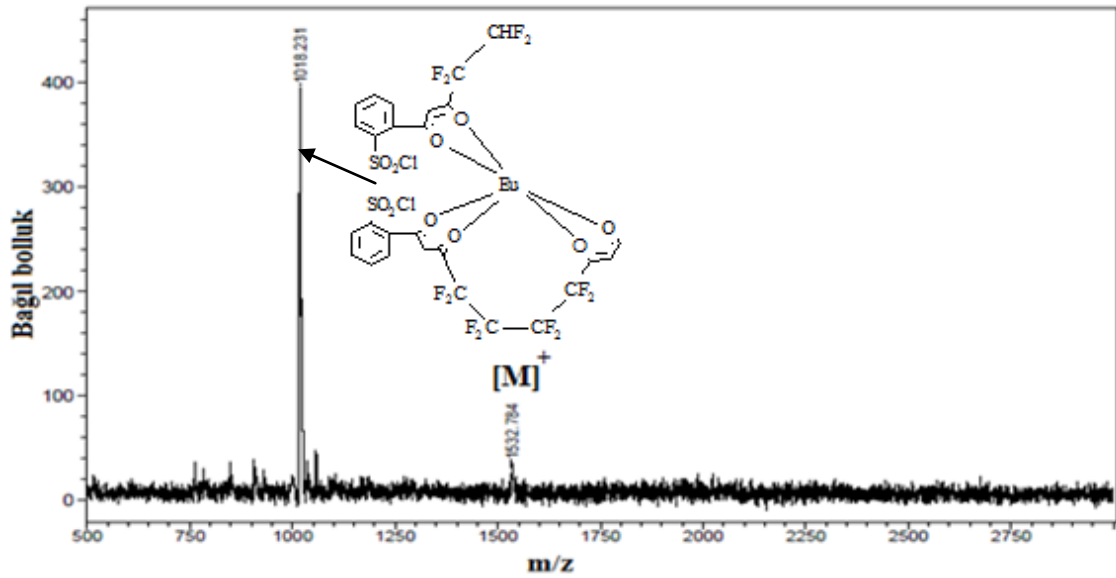
H₂ODİT molekülünün kütle spektrumu kloroform çözücüsünde kaydedildi ve Şekil 4.6'da verildi. H₂ODİT ligantına bir hidrojenin eklenmesiyle oluşan değer 495,33 akb'dir. Bu ligantın kütle spektrumu incelendiğinde gözlenen 495,08 akb'lik kuvvetli pik, [H₂ODİT +H]⁺'nin pikidir. 517,07 akb'ye denk gelen pik [H₂ODİT +Na]⁺ iyonuna aittir. 518,07 akb'lik pik ise [H₂ODİT +Na+H] iyon pikidir. H₂ODİT yapısı görüldüğü üzere kütle spektroskopisi ile desteklenmiştir.

**Şekil 4.6.** H₂ODİT ligantının kütle spektrumu.

H₂CODİT ligantının kütle spektrumu kloroform çözücüsünde kaydedildi ve Şekil 4.7’de verildi. Ligantın moleküler iyon piki olan 691,35 akb spektrumda ki 691,03 akb ile uyum içindedir. Spektrumdaki 690,34 ve 693,99 akb’lik değerler ise sırasıyla moleküler iyon pikinden bir hidrojen çıkarılmasıyla ve 2H ilavesiyle gözlenmiştir.



Şekil 4.7. H₂CODİT ligantının kütle spektrumu.

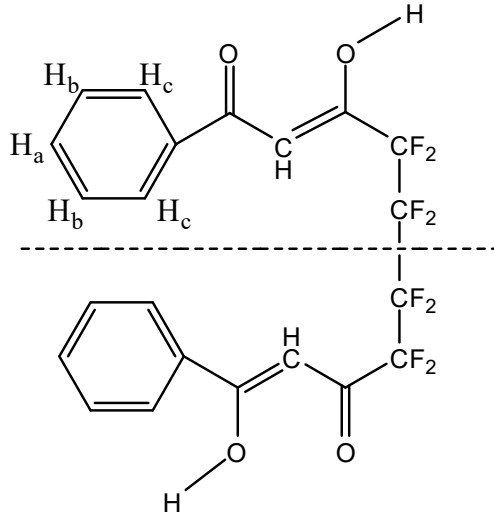


Şekil 4.8. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin kütle spektrumu.

[Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin kütle spektrumu etanol çözücüsünde kaydedildi ve Şekil 4.8’de verildi. Spektrumdaki 1532,78 akb’lik değer moleküler iyon piki olan 1531,64 akb’ye 1H eklenmesiyle gözlenmiştir. En yüksek bağıl bolluğa sahip 1018,231 akb’lik değer gösterilen yapıya aittir.

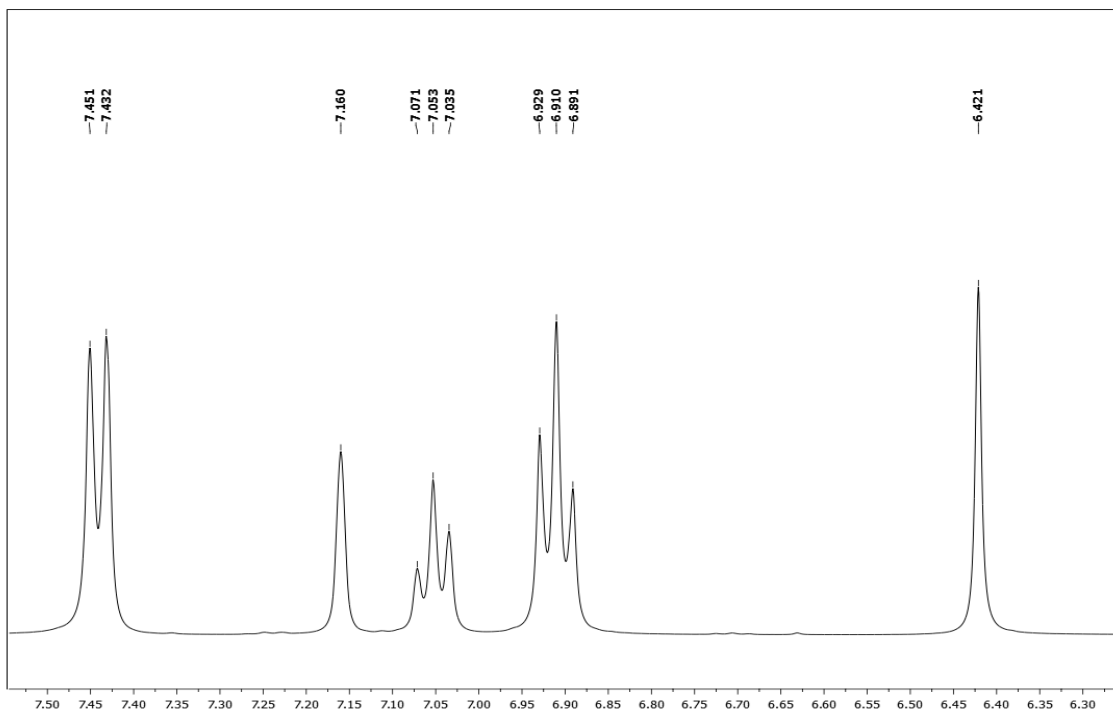
4.3. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi Çalışması

Ligantların ^{13}C -NMR ve ^1H -NMR spektrumları benzen- d_6 çözücüsünde kaydedildi. $\text{H}_2\text{ODİT}$ ’in ^{13}C -NMR ve ^1H NMR’ları sırasıyla Şekil 4.9 ve 4.10’ da verilmiştir. Spektrumu alınan bileşikler çözelti ortamında simetrik olduklarından, spektrumların değerlendirilmesi molekülün yarısı dikkate alınarak yapılmıştır.

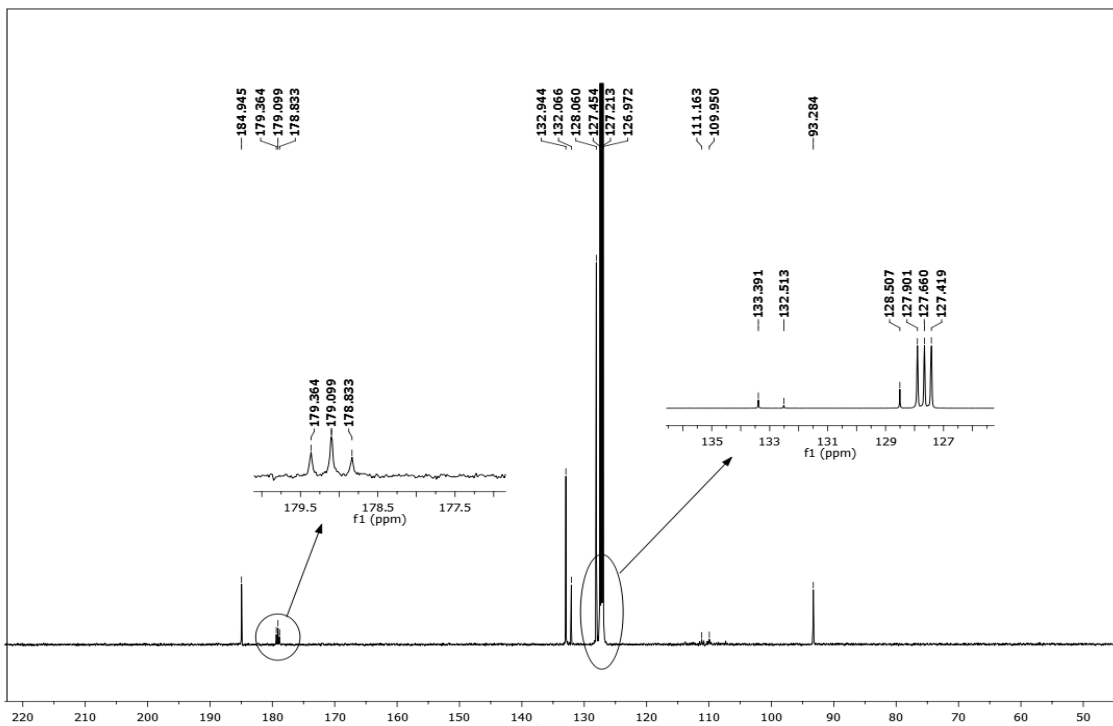


$\text{H}_2\text{ODİT}$ ligantının ^1H NMR spektrumu incelendiğinde aromatik halkaya bağlı H_a protonu 6,92-6,88 ppm üçlü 1H, H_b protonları 7,06-7,02 ppm çoklu 2H, H_c protonları 7,41-7,44 ppm çoklu 2H olarak gözlenmiştir. İki keton karbonili arasında olan $-\text{CH}$ protonu ise 6,41 ppm 1H, oksijene bağlı $-\text{H}$ ise 7,14 ppm 1H olarak gözlenmiştir (Şekil 4.9).

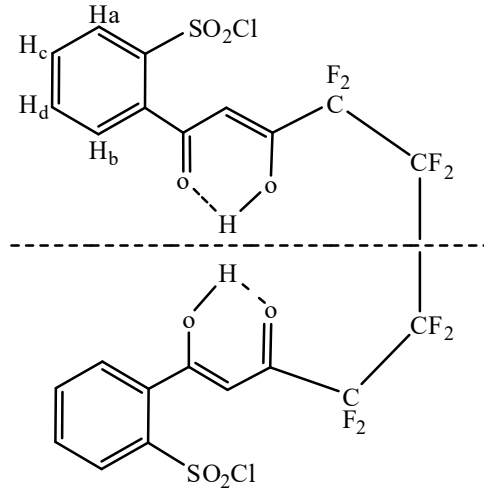
Bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde aromatik halkaya bağlı karbonlar 126,97-128,06 ppm değerlerinde gözlenmiştir. 93,27 (-CH), 179,09-184,94 (C=O), 132,06-132,94 (- CF_2) ppm olarak gözlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.9. H₂ODiT ligantının ¹H NMR spektrumu.

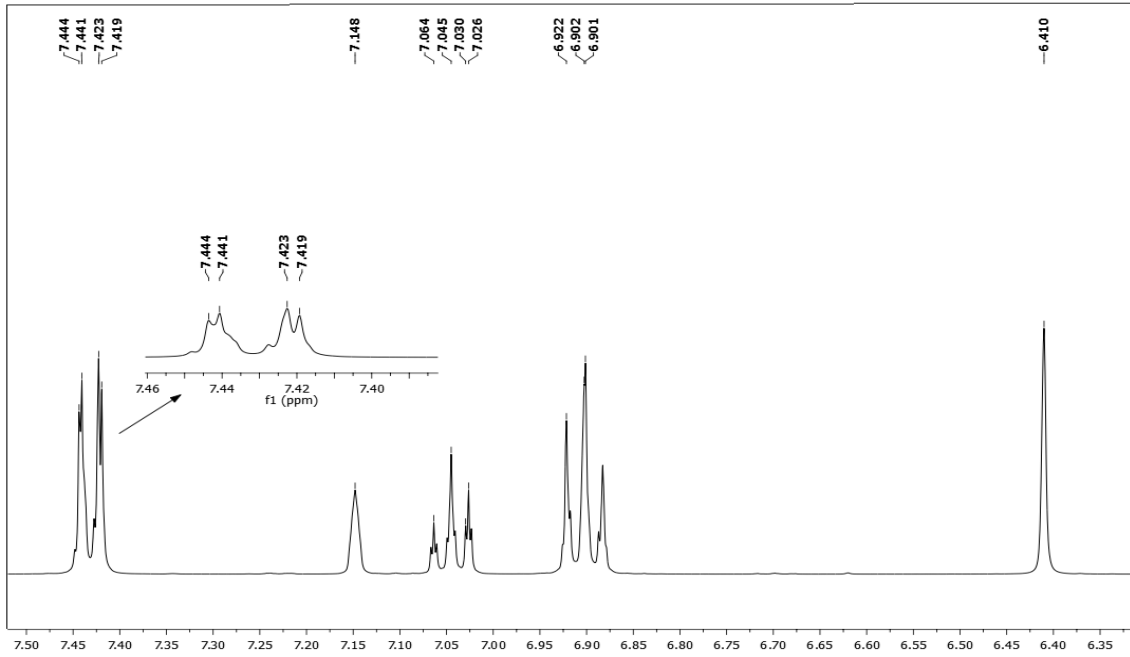


Şekil 4.10. H₂ODiT ligantının ¹³C NMR spektrumu.

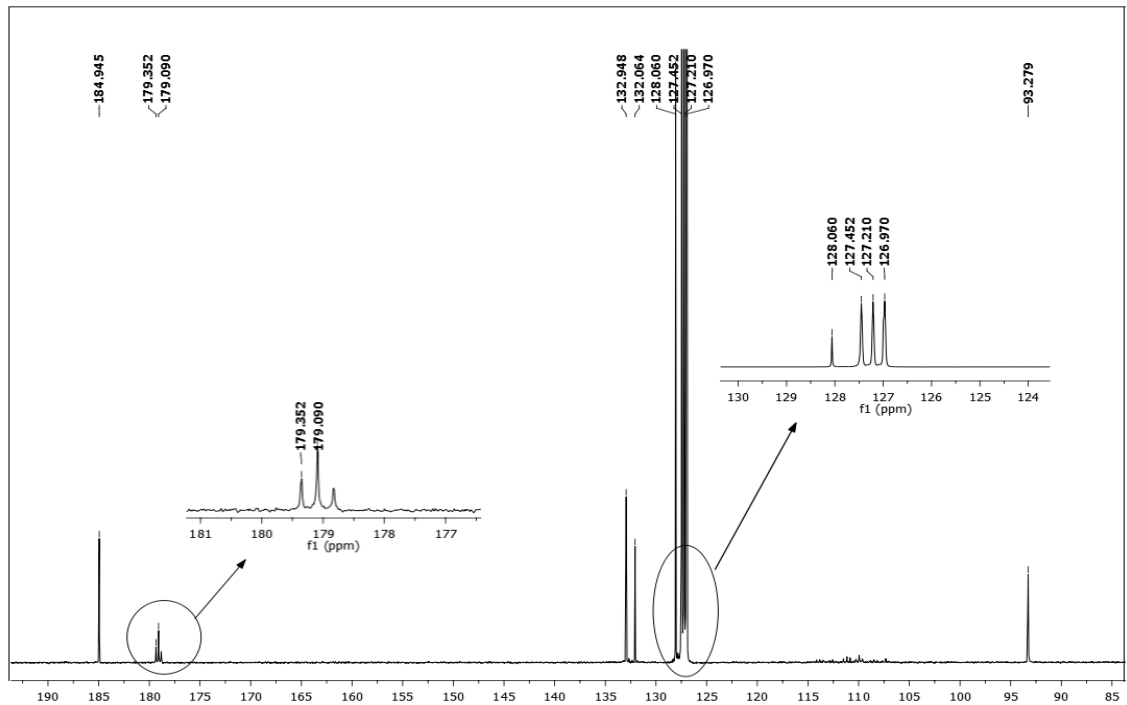


H₂CODİT ligantının ¹H NMR spektrumu incelendiğinde aromatik halkaya bağlı H_a ve H_b protonları 7,42-7,44 ppm'de iki dublet olarak, H_c protonu 7,02-7,06 ppm'de triplet ve H_d 6,88-6,92 ppm'de triplet olarak gözlenmiştir. İki keton karbonili arasında olan –CH protonu ise 6,41 ppm'de singlet, oksijene bağlı –H ise 7,14 ppm singlet olarak gözlenmiştir (Şekil 4.11).

Bileşiğin ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde aromatik halkaya bağlı karbonlar 127,41-128,50 ppm değerlerinde gözlenmiştir. 93,73 (-CH) , 179,81-185,39 (C=O) ve 132,51-133,39 (-CF₂) ppm olarak gözlenmiştir (Şekil 4.12).

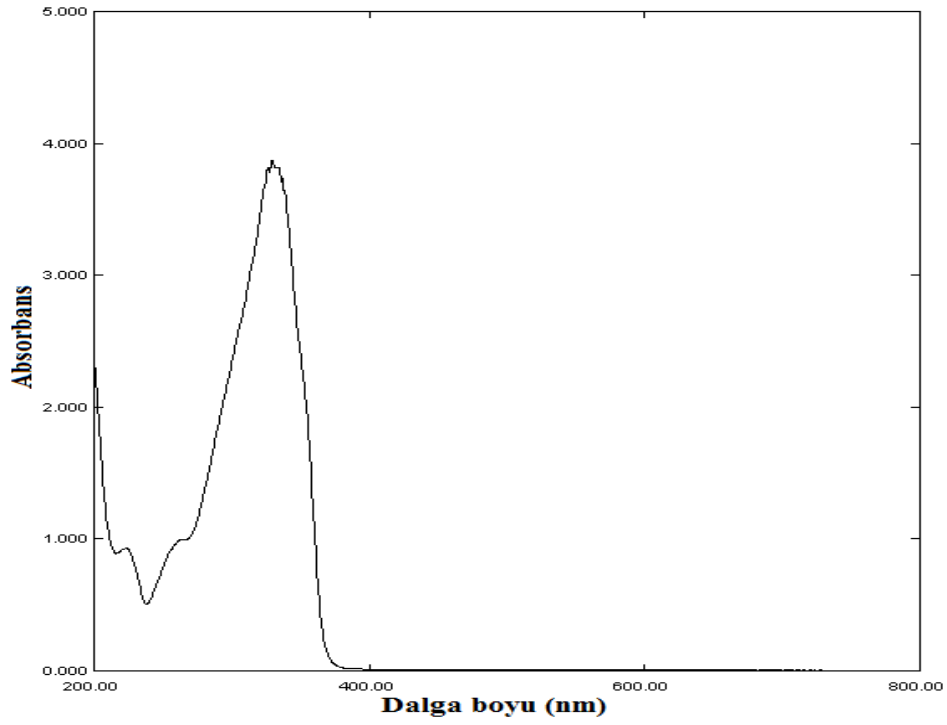


Şekil 4.11. H₂CODİT'in ¹H NMR spektrumu.



Şekil 4.12. H₂CODİT'in ¹³C NMR spektrumu.

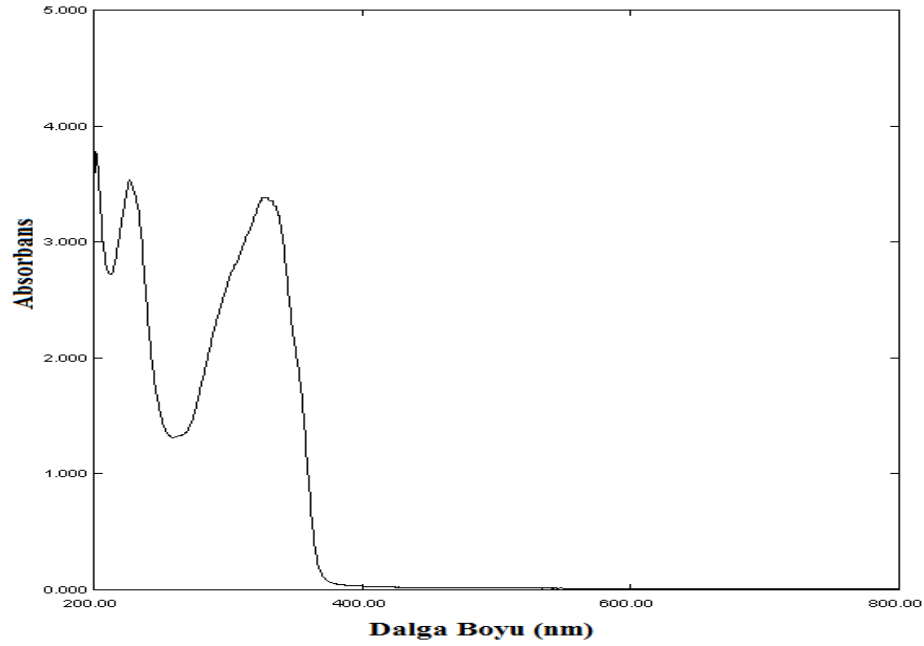
4.4. UV-Vis. Spektroskopisi Çalışmaları



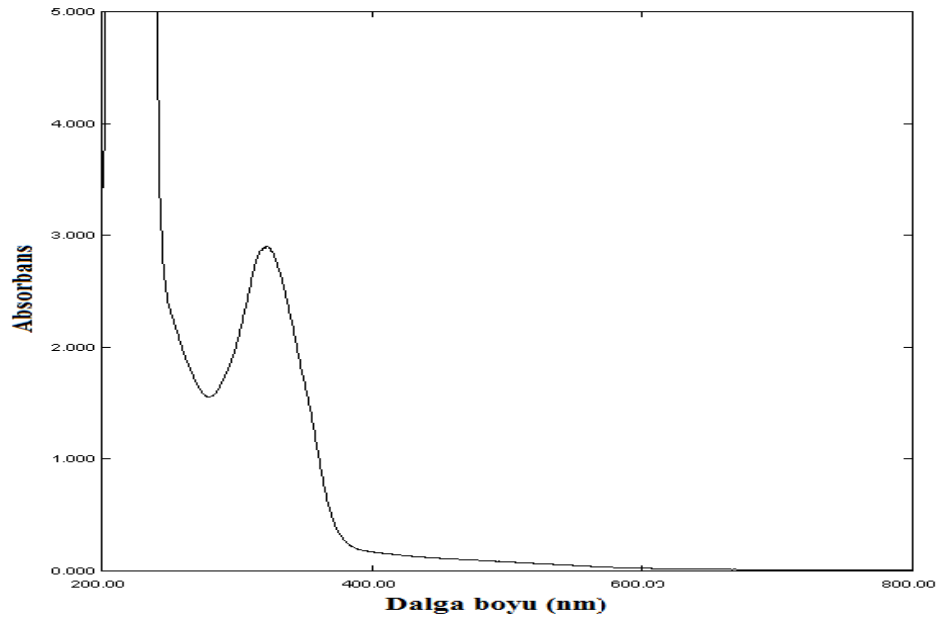
Şekil 4.13. H₂ODİT ligantının 10⁻⁴ M sulu çözeltisinin UV-Gör. spektrumu.

H₂ODİT bileşiğinin UV-Gör. spektrumu 10⁻⁴ M etanol çözeltisinde incelendi ve 329 nm ($\epsilon = 38660 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) civarında bir omuz gözlenmiştir. Bu yüksek ϵ değerinin $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Şekil 4.13).

H₂CODİT bileşiğinin UV-Gör. spektrumu 10⁻⁴ M etanol çözeltisinde incelendi ve 325 nm ($\epsilon = 33850 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) de $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ kaynaklı bir bant gözlendi (Şekil 4.14).

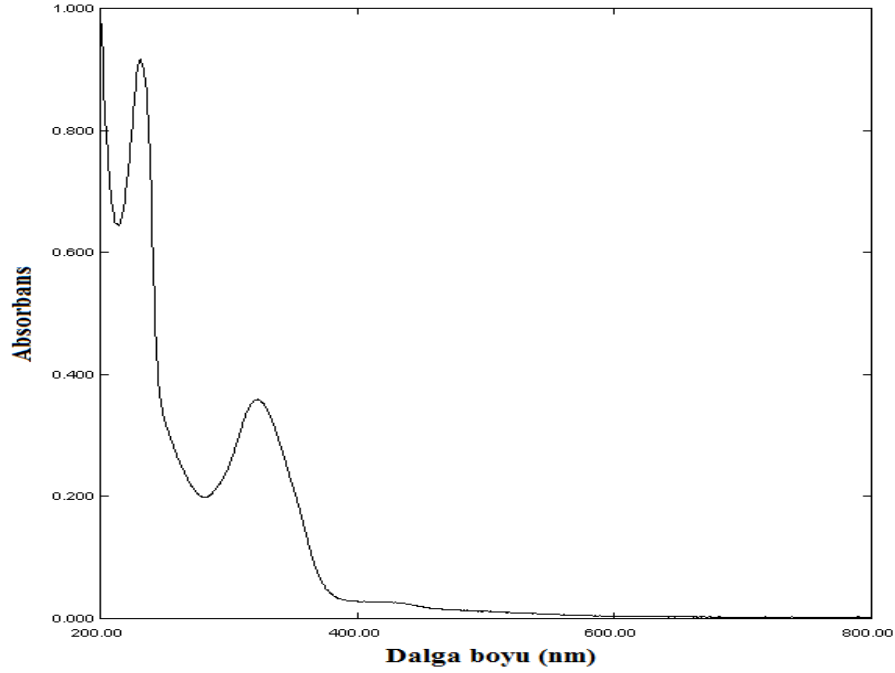


Şekil 4.14. H₂CODİT ligantının 10⁻⁴ M sulu çözeltisinin UV-Gör. spektrumu.



Şekil 4.15. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin 10⁻⁴ M sulu çözeltisinin UV-Gör. spektrumu.

Kompleksin 10⁻⁴ M etanol çözeltisinde UV-Gör. spektrumuna bakıldığında 321,5 nm'de ϵ değeri oldukça yüksek ($\epsilon = 28980 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) bir elektronik geçiş gözlenmiştir. Çok yüksek ihtimalle bu geçiş te liganttan metale bir yük aktarım geçişine aittir (Şekil 4.15).

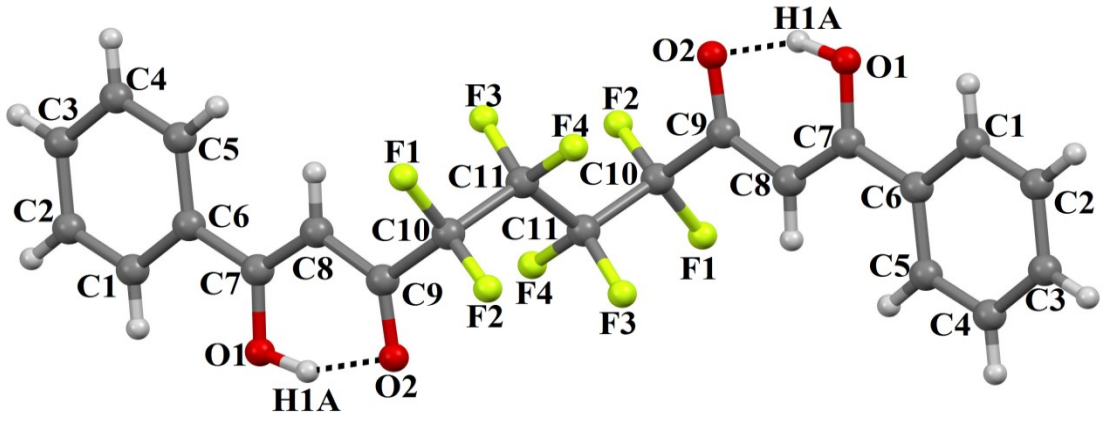


Şekil 4.16. [Eu(HCODiT)(CODiT)] kompleksinin 10^{-5} M sulu çözeltisinin UV-Gör. spektrumu.

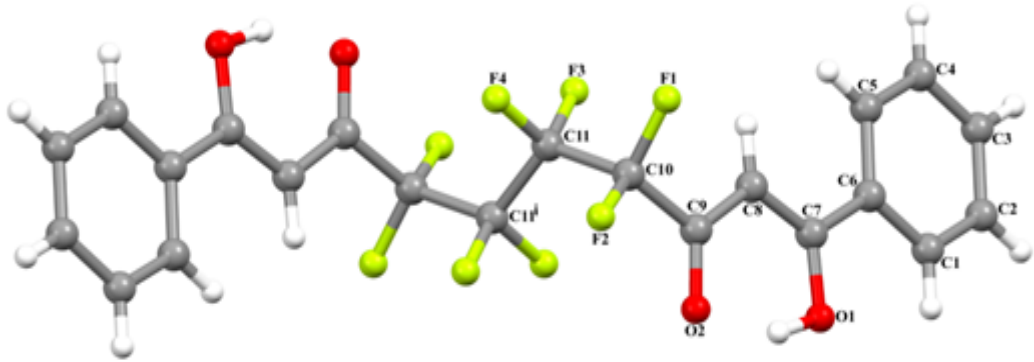
Kompleksin 10^{-5} M etanol çözeltisinde UV-Gör. spektrumuna bakıldığında 231 nm'de ϵ değeri ($\epsilon = 91600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) bir elektronik geçiş gözlenmiştir. Çok yüksek ihtimalle bu geçiş ligantta ki ligant içi $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Şekil 4.16).

4.5. X-ışınları Tek Kristal Çalışmaları

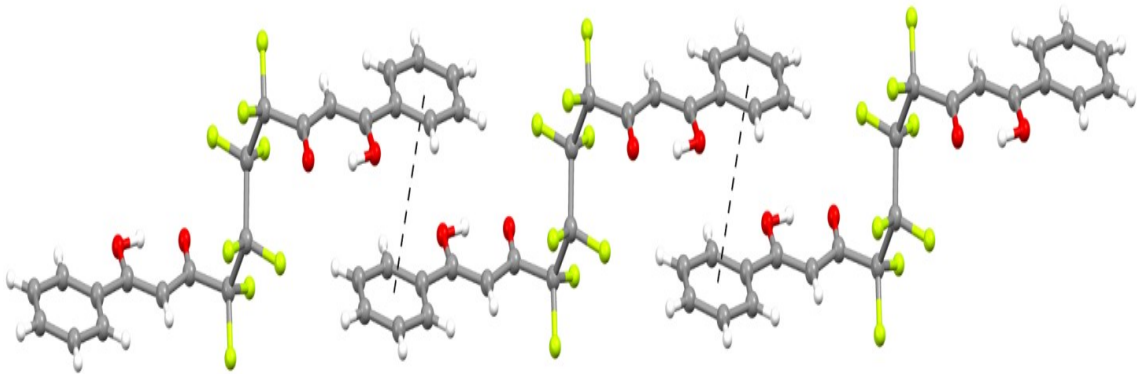
H_2ODiT ligantının yapısı X-ışınları tek kristal çalışması ile aydınlatıldı. H_2ODiT ligantının kristal yapısı Şekil 4.18'de, bağ uzunlukları (Å), bağ açıları ($^\circ$) ve hidrojen bağ geometrileri Çizelge 4.2'de verilmiştir. H_2ODiT ligantı, $P2_1/c$ uzay grubunda monoklinik sistemde kristallenmiştir. Şekil 4.19'da da görüldüğü gibi asimetrik birimde (1/2, 1/2, 0) konumlu simetri merkezi bulunmaktadır. Bu simetri merkezi molekülün diğer yarısının oluşmasını sağlamaktadır. Molekül içi O-H \cdots O hidrojen bağı S(6) halkası oluşturmaktadır. Moleküller arası paketlenme ise benzen halkaları arasındaki $\pi \cdots \pi$ etkileşimleri ile sağlanmaktadır. Şekil 4.20'de görüldüğü gibi $\pi \cdots \pi$ etkileşimleri [111] doğrultusu boyunca paketlenmeyi sağlamaktadır. Benzen halkaları arasındaki mesafe 3.992 (3) Å dur.



Şekil 4.17. H₂ODİT'in molekül yapısı



Şekil 4.18. Ligantın moleküler yapısı (i) -x+1, -y+1, -z



Şekil 4.19. $\pi \cdots \pi$ etkileşimleri sonucu molekülün görünümü.

Çizelge 4.2. H₂ODİT ligantının bağ uzunlukları (Å), bağ açıları (°).

Bağ uzunlukları (Å)				
C10-F1	1,3596 (19)	C10-F2	1.3478 (18)	
C11-F3	1,3475 (18)	C11-F4	1,3519 (18)	
C9-O2	1,245 (2)	C7-O1	1,314 (2)	
Bağ açıları (°)				
C7—O1—H1A	105.0 (19)	O2—C9—C8	125.77 (15)	
O1—C7—C8	120.67 (15)	O1—C7—C6	115.02 (14)	
F2—C10—F1	107.33 (13)	F3—C11—F4	107.70 (13)	
H bağlarının uzunlukları				
D—H···A	D—H	H···A	D···A	D—H···A
O1—H1A···O2	0.95 (3)	1.67 (3)	2.552 (2)	153 (3)

Çizelge 4.3. H₂ODİT ligantının kristal verileri.

Formülü	C ₂₂ H ₁₄ F ₈ O ₄
M _A (g mol ⁻¹)	494.33
Difraktometre	D8-QUEST
Rad. /λ (Å)	MoK _α / 0,71073
Sıcaklık (K)	296
Kristal sistemi	monoklinik
Uzay grubu	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>
a (Å)	8.168 (5)
b (Å)	11.385 (5)
c (Å)	11.425 (5)
β (°)	104.042 (5)
V (Å ³)	1030.7 (9)
Z	2
d (g cm ⁻³)	1.593
θ _{maks} (°)	28.4
R _{int}	0.027
R[F ² > 2σ(F ²)]	0.043
wR(F ²)	0.114
S	1.06
Δρ _{max} /Δρ _{min} (eÅ ⁻³)	0.28/-0.18

4.6. Kompleksin Fotolüminesans Çalışması

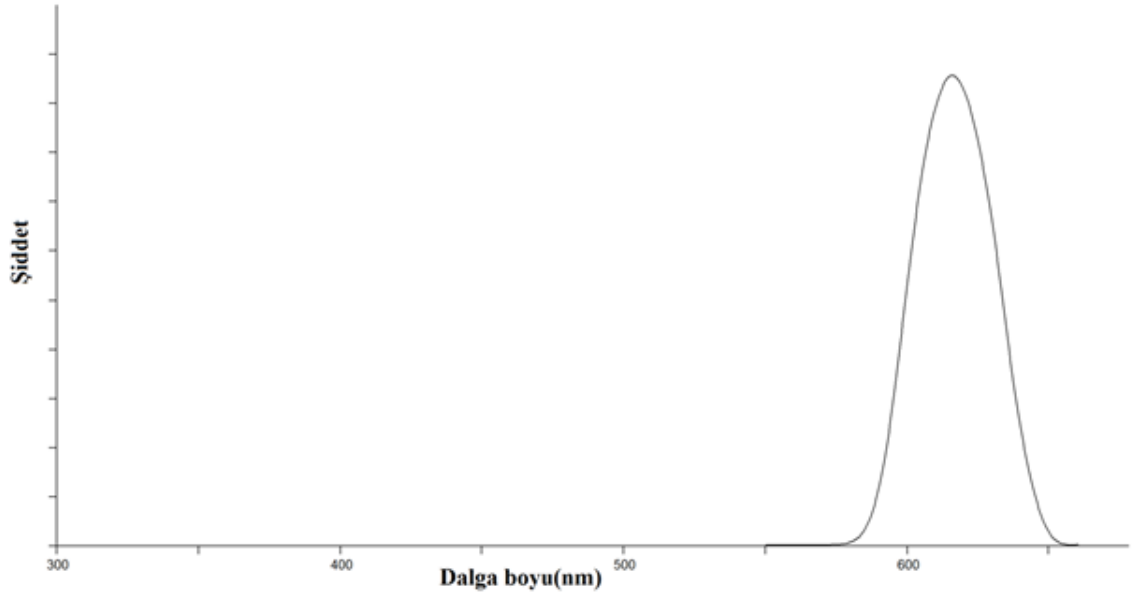
Modern fotolüminesans spektrometrelerinde lüminesans, fosforesans, biyolüminesans modları için uyarma ve ışıma spektrumları kaydedilebilmektedir. Yine bu cihazlar kullanılarak luminesans sönüm süreleri (lüminesans lifetime) tespit edilebilmektedir. Uyarma spektrumu alınırken, belirli bir ışıma dalgaboyu sabit tutularak uyarma kromatörü tarama yapar. Işıma spektrumunun ölçülmesi esnasında ise uyarma dalga boyu sabit tutularak ışıma monokromatörü taratılır. Fotolüminesans tekniği absorpsiyon spektrometresine göre daha duyarlıdır. Uyarma spektrumu enerji transferi gibi süreçler hakkında değerlendirilebilir bilgi verir.

Eu(III)'ün genellikle kırmızı spektral bölgedeki çizgilerden oluşan bir ışıması vardır. Bu iyon $4f^6$ konfigürasyonunun uyarılmış 5D_0 seviyesinden 7F_j ($j = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$) seviyesine geçişlere karşılık gelmektedir. 5D_0 seviyesi kristal alan tarafından yarılmayacağı için ($J=0$ olduğundan), yayımlama geçişlerinin yarılmaması 7F_j seviyelerinin kristal alan yarılmamasına sebep olmaktadır. Bu yayımlama çizgilerine ek olarak daha yüksek 5D seviyelerinden yani 5D_1 , 5D_2 ve hatta 5D_3 seviyelerinden de yayımlama gözlemlenir. En güçlü kırmızı yayımlama çizgisi $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ geçişleri manyetik dipol geçişinden ileri gelmekte olup 610 nm ile 630 nm dalga boyu aralığı arasında değişmektedir.

Nadir toprakların keskin spektral özelliklerinin geçiş olasılıklarını incelemek için $^5D_0 \rightarrow ^7F_j$ yayını çok uygundur. Eğer ters simetrik bir merkez kristal örgüde nadir toprak iyonu bulunursa, $4f^n$ konfigürasyonunun seviyeleri arasındaki optik geçişler kesinlikle elektrik-dipol geçiş (parite seçim kuralı) olarak yasaklanmıştır. Bu çizgiler sadece $\Delta J=0, \pm 1$ ($J=0$ dan $J=0$ geçiş yasaklıdır) seçim kuralına uyan manyetik-dipol geçişler veya titreşimli elektrik-dipol geçişleri şeklinde oluşabilirler.

f-f geçişlerinin yasaklı olmasında dolayı lantanit (III) iyonlarının absorpsiyonu çok zayıftır. Ln^{3+} iyonları bir çok durumda organik ligantlarla duyarlaştırılır ve kompleks oluşturulduktan sonra daha düşük enerjili ışınlarla lüminesans özellik gösterirler (Thompson, vd., 2004; Klink, vd., 2000).

Kompleksin uyarma ve emisyon spektrumları katı halde oda sıcaklığında kaydedilmiştir (tarama aralığı, $\lambda_{uy}:15 \text{ nm}/\lambda_{em}:15.0 \text{ nm}$). [Eu(HCODİT) (CODİT)] kompleksi 306 nm'de UV ışığı ile uyarılmıştır. 615 nm'de gözlenen emisyon bandı $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ elektrik dipol geçişine karşılık gelmektedir (Şekil 4.20).



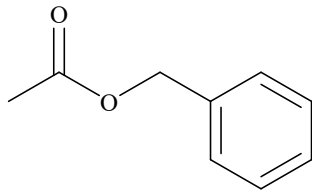
Şekil 4.20. [Eu(HCODİT)(CODİT)] kompleksinin emisyon spektrumu.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

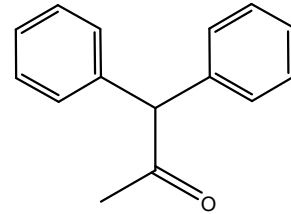
5.1. Sonuçlar

1. Bu tez çalışmasında tıbbi tanı kitlerinde biyoetiket olarak kullanılabilen yeni beta diketonat esaslı ligant ve onun Eu(III) kompleksi sentezlendi. H₂ODİT ve H₂CODİT ligantları ¹³C-NMR ve ¹H-NMR, kütle ve IR spektroskopisi teknikleri ile aydınlatıldı. Ayrıca H₂ODİT ligantının tek kristali elde edilerek X-ışınları analizi de yapıldı ve ligantın keto-enol tautomerisi gösterdiği anlaşıldı. H₂CODİT ligantının EuCl₃ ile kompleksi sentezlendi ve biyoetiket olarak kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla lüminesans analizi yapıldı.

2. Başlangıç maddesi olarak AF'den önce keton karboniline göre alfa konumunda metil grubu içeren 2 farklı organik molekül seçilmiş ve literatür ışığında deneyleri yapılmıştır. Bu ligantlar 1,1-difenilaseton ve benzil asetatır (Şekil 5.1).



Benzil asetat (BA)

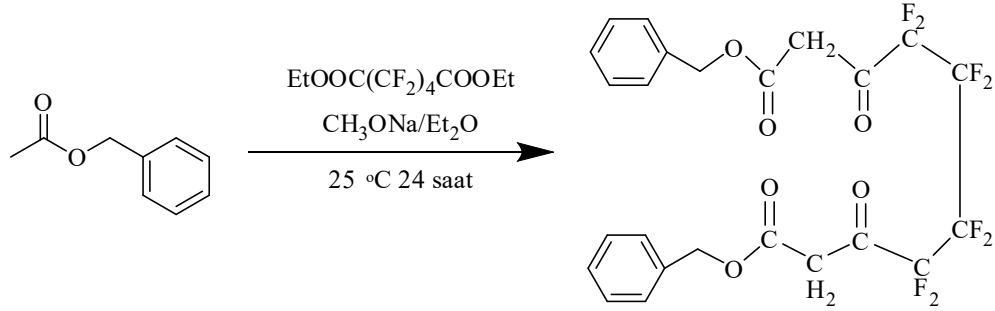


1,1-difenilaseton (DFA)

Şekil 5.1. Kullanılan organik moleküllerin kimyasal yapıları.

3. Literatürde yapılan deneylerle uyumlu olarak bu iki molekül DEOFA ile 2:1 oranında reaksiyona sokulmuştur. İlk denemeler BA ile yapılmış olup çözücü olarak dietil eter ve baz olarak NaOCH₃ kullanılmıştır. İlk aşama olan ligant sentezinde BA, DEOFA ve NaOCH₃ katmada hiçbir sıra gözetmeksizin tüm maddeler karıştırılarak oda sıcaklığında reaksiyon başlatılmıştır (Yuan ve Matsumoto, 1997; Yuan ve Matsumoto, 1996; Wang vd., 2001; Wu vd., 2002; Yuan ve Matsumoto, 1998; Lin, vd., 2012). Karıştırma 24 saat boyunca sürdürülmüştür. Daha sonra çözücüsü çeker ocakta uçurulmaya çalışılmış ancak kalıntının kuruması süreci de çok uzun sürmüştür. Kuru bir şekilde elde edilen siyah kalıntının üzerine %15'lik 100 mL H₂SO₄ eklenmiş ve yaklaşık yarım saat karıştırılmıştır. Siyah kalıntı beyaz yapışkan bir hal almıştır. Bu madde suyla yıkanıp kurutulmuştur. Daha sonra sıcak etanol-1,4-dioksan

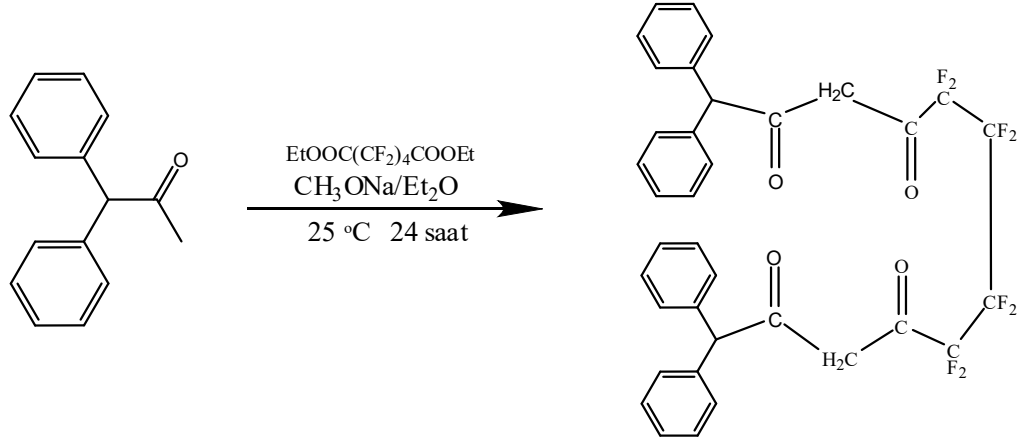
karışımında çözülmüş, daha madde süzülürken çökmeye başladığı gözlemlenmiştir. Maddenin çözücüsü uçurulmuş, kurutulmuş ve analizleri yapılmıştır.



Şekil 5.2. BOFA liganının sentezi.

BOFA liganının sentezi 2 ester molekülünün keto-ester vermek için birleştiği Claisen kondensasyonuna örnektir (Şekil 5.2). Bu reaksiyonda başlangıç maddesi olarak kullanılan BA ester olduğundan keton olan AF ile karşılaştırıldığında AF'nin α - hidrojeni BA dan daha asidik olacaktır bu yüzden AF'deki hidrojen daha kolay uzaklaştırılmıştır. Bu gerekçeyle reaksiyon gerçekleşmemiş olabilir. BA ile yapılan deneylerde yukarıdaki proseten farklı olarak reaksiyon süreleri değiştirilmiştir. BA başlangıç maddesiyle deney koşulları (deney süresi, sıcaklık vb.) değiştirilerek 4 deney yapılmış, ancak bir sonuç alınamamıştır.

4. DFA başlangıç maddesiyle toplam 4 deney yapılmıştır. Deneyler DFA-1, DFA-2, DFA-3 ve DFA-4 olarak adlandırılmıştır. DFA ve DEOFA 2:1 oranında tartılmış ve yine sitokiyometrik oranda NaOCH_3 kullanarak dietiler çözücüsünde reaksiyona konulmuştur. DFA ile yapılan ilk iki deneyde bütün maddeler balona aynı anda konuldu. Fakat üçüncü deneyde (DFA-3) NaOCH_3 üzerine dietil eterde çözülen DFA damlatma hunisinden balona damla damla eklenmiştir. Bu şekilde reaksiyon yaklaşık 1 saat karıştırılmış daha sonra DEOFA da yine aynı şekilde damlatma hunisinden yaklaşık yarım saatlik periyotta eklenmiş ve renk değişimi olmuştur. Bu kimyasal reaksiyonun olduğunun en bariz göstergesidir. Deney esnasında İTK yapılmış ve reaksiyonun sona erip ermediği bu şekilde kontrol edilmiştir. Yine İTK verilerine dayanarak DEOFA nın reaksiyon ortamında bittiği saptanıp DEOFA eklemesi yapıldı. 5 günün sonunda çözeltinin çözücüsü uçurulmaya başlandı. Sarı renkteki kalıntının üzerine damla damla % 30'luk H_2SO_4 eklendi ancak sarı çökelek çözünmedi bu şekilde yapılan pH kontrolü de pek sağlıklı olmadı. Bu deneyden yaptığımız çıkarım ise çözücüsü uçurulan kalıntının uygun başka bir çözücüde çözüldükten sonra pH'nın ayarlanması gerektiği oldu.



Şekil 5.3. DFA-1 ligantının sentezi.

5. DFA ile yapılan 4. deneyde baz olarak sitokiyometrik oranda NaOCH₃ yerine daha kuvvetli baz olan NaNH₂ kullanılmıştır. Yine bu deneyde diğer deneylerden farklı olarak dietil eterden ve reaksiyon sonucu oluşan metanolden kaynaklanabilecek nemi ve suyu tutması amacıyla molekuler sieve (kurutucu) konulmuştur.

6. Farklı metodlarla ve maddelerle yapılan deneyler neticesinde edindiğimiz bilgiler ile yeni başlangıç maddesi olarak en basit halkalı keton olan AF seçilmiştir. Literatürde nötralizasyon aşamasında 100 mL %15'lik H₂SO₄'ün çözücüsü uçurulan kalıntıya hiçbir pH kontrolü yapılmadan döküldüğü görülmektedir (Yuan ve Matsumoto, 1997; Yuan ve Matsumoto,1996; Wang vd., 2001; Wu vd., 2002; Yuan ve Matsumoto, 1998; Lin, vd., 2012). H₂ODİT ligantının eldesinde nötralizasyon aşamasında çözücüsü uçurulan kalıntının bol suda çözüldükten sonra asitlendirilmesi gerektiği ve asitlendirmenin kontrollü yapılması gerektiği edinilen deneyimler sonucu uygulanmıştır. H₂CODİT ligandının eldesinde ise fazlası alınan HSO₃Cl'ye azar azar eklenen H₂ODİT ligantı literatürdeki gibi 0°C'ta 4 saat karıştırıldı (Yuan ve Matsumoto, 1997; Yuan ve Matsumoto,1996). Fakat bu metotla elde edilen çözelti buzlu suya eklenirken bir çökme gözlenmedi. Buda reaksiyonun daha bitmediğini gösterir. Daha sonra 0°C'ta 4 saatte yapılan deneyde reaksiyon süresince renk sarı→turuncu şeklinde değişmişken reaksiyon koşulları oda sıcaklığı ve 5 gün karıştırma olarak uygulanınca renk sarı→turuncu →açık yeşil→koyu yeşil şeklinde değişim gösterdi.

7. DEOFA ile yapılan çalışmalarda bir diğer eksiklik ise sentezlenen ligantların yapılarının aydınlatılmasında sadece $^1\text{H-NMR}$ analizinden yararlanmaları flora bağlı karbonları, $^{13}\text{C-NMR}$ ile gösterememeleridir.

8. $\text{H}_2\text{CODİT}$ ligantının yapısı NMR, kütle ve IR spektroskopisi teknikleri ile aydınlatılmış. Yapıdaki klor iyonunun varlığını kanıtlamak için nitrik asitle parçalanmış ve AgNO_3 'ün sulu çözeltisi eklendiğinde beyaz çökelek olarak çöken AgCl gözlenmiştir.

Literatürden farklı olarak izlediğimiz yollar Çizelge 5.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 5.1. Deney süresince uygulanan yöntemler.

	Literatürdeki yöntem	Tez kapsamında uygulanan yöntem
Maddelerin ilave sırası	Literatürde bütün maddeler aynı anda konulup karıştırılıyor.	Başlangıç maddeleri azar azar eterde çözünen NaOCH_3 'in üzerine önce AF daha sonra yine azar azar DEOFA eklendi.
ODİT ligantının eldesinde deney süresi	25 °C'de 24 saat	Oda koşullarında 5 gün
Nötralizasyon aşaması	%15'lik H_2SO_4 kalıntının üzerine katılmış ve karıştırılmıştır.	% 15'lik H_2SO_4 pH kontrolü yaparak eklenmiştir.
CODİT ligantının eldesinde HSO_3Cl eklenmesi	0 °C'de 4 saat	Oda koşullarında 5 gün
NMR analizi	Literatürde sadece $^1\text{H-NMR}$ spektrumu alınmış $-\text{CF}_2$ karbonları $^{13}\text{C-NMR}$ ile gösterilmemiştir.	$\text{H}_2\text{CODİT}$ ligantının $^{13}\text{C-NMR}$ alınmış ve $-\text{CF}_2$ karbonları açıklanmıştır.

5.2. Öneriler

1. Keton grubuna göre α -hidrojeni içermeyen ligantlarla yapılacak sentezler büyük ihtimalle başarıya ulaşmayacaktır. Bunun nedeni Claisen kondensasyonunun mekanizmasından kaynaklanmaktadır. BA ve DFA maddelerinden yola çıkılarak istediğimiz ligantı elde edemeyişimiz de bu durumun ispatıdır.
2. Bu tez çalışmasında literatüre uygun olarak NaOCH₃ kullanılmıştır. Ancak literatür bilgisinin bu noktada yetersiz olduğu deneysel çalışmalar sırasında gözlenmiş olup daha kuvvetli bazların kullanılması daha yüksek verimlere yol açacaktır.
3. DEOFA on derece pahalı bir malzeme olup ülkemizde organik kimyacılar tarafından sentezlenmesi mali açıdan daha uygun olacaktır.
4. Tez çalışması boyunca DEFOA bileşiği ve buna benzer florlu adipat türevi bileşiklerin nasıl sentezlediklerine dair literatüre ulaşamamıştır. Bu yüzden ileride yapılacak benzer çalışmalarda bir organik kimya araştırmacısı ile ortak çalışmalar yapmak daha faydalı olacaktır.
5. AF tek halkalı bir yapı olup, bundan sonraki çalışmalarda daha fazla araomatik halka içeren gruplar kullanılabilir böylece daha düşük enerjili UV ışığı ile ışık toplamak mümkün hale gelebilir.
6. Bu tip deneylerde verilmemesine rağmen tez kapsamında kurutucular (molecular sieve) kullanılması tepkimenin sağa doğru gitmesine yardımcı olacaktır.
7. Tez kapsamında kullanılan tüm kimyasallar havaya karşı duyarlı olduklarından inert bir gaz atmosferinde çalışmakta daha uygun olacaktır.
8. Tezde lantanitler grubundan Eu elementi kullanılmıştır. Diğer elementler ile de kompleks oluşturulup analizleri yapılabilir.
9. Sentezlenen ligantlar özgün olduğundan geçiş elementleriyle de kompleks oluşturulabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Alpha B, Lehn JM, Mathis G., (1987), Energy transfer luminescence of europium(III) and terbium(III) cryptates of macrobicyclic poly-pyridine ligands, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 26, s. 266–267.

Andres Julien ve Chauvin Anne-Sophie, (2012), *The Rare Earth Elements*, John Wiley & Sons.

Armelaio L., Quici S., Barigelletti F., Accorsi G.,Bottoro G., Cavazzini M.,ve Tondello E., (2010), Design of luminescent lanthanide complexes: From molecules to highly efficient photo-emitting materials, *Coordination Chemistry Reviews*, 254, s. 487-505.

Bernard Valeur, Mário Nuno Berberan-Santos, (2012), Molecular Fluorescence: Principles and Applications.

Berry MT, May PS, Xu H., (1996), Temperature dependence of the $\text{Eu}^{3+} \ ^5\text{D}_0$ lifetime in europium Tris(2,2,6,6-tetramethyl-3,5-heptanedi-nato), *J. Phys. Chem.*, 2, s. 9216–1922.

Binnemans Koen, (2005), Rare-Earth Beta-Diketonates, *Handbook on the Pysics and Chemistry of Rare Earths*, 35, s. 107-272

Braslavsky , S. ve ark., (2007), Glossary of terms used in photochemistry , *Pure Appl. Chem.*, 79, s. 293 – 465 .

Buntinx G, Naskrecki R, Poizat O., (1996), Subpicosecond transient absorption analysis of the photophysics of 2,2-Bipyridine and 4,4-Bipyridine in Solution, *J. Phys. Chem*, 100, s. 19380–19388.

Darwish I.A., (2006), Immunoassay Methods and their Applications in Pharmaceutical Analysis: Basic Methodology and Recent Advances, *International Journal of Biomedical Science*, 2 (3), s. 217-235.

Dickson E. F. G.,Pollak A., ve Diamandis E.P., (1995a), Ultrasensitive Bioanalytical assays using Time-Resolved Fluorescence Detection, *Pharmac. Ther.* 66, s. 207-235.

Dickson E.G.,Pollak A.,ve Diamandis E.P., (1995b), Time-resolved detection of lanthanide luminescence ultrasensitive bioanalytical assays, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.*, 27, s. 3-19.

Erdik Ender, (2008), Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, Gazi Kitabevi.

Eva F. Gudgin Dickson, Alfred Pollak ve Eleftherios P. Diamandis, (1995), Time-resolved detection of lanthanide luminescence for ultrasensitive bioanalytical assays, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 27, s. 3-19.

Feng-Bo Wua,ve Chao Zhang, (2002), A new europium b-diketone chelate for ultrasensitive time-resolved fluorescence immunoassays, *Analytical Biochemistry* 311, s. 57–67.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Feng-Bo Wu, Shi-Quan Han, Chao Zhang, ve You-Feng He, (2002), Synthesis of a Highly Fluorescent β -Diketone-Europium Chelate and Its Utility in Time-Resolved Fluoroimmunoassay of Serum Total Thyroxine, *Anal. Chem.*, 74, s. 5882-5889.

Fessenden, R.J. ve Fessenden, J.S., *Organik Kimya*, Güneş Kitabevi Ltd.Şti., Ankara.

Goldberg, M. C. ve E. R. Weiner, (1989), *The Science of Luminescence*, 383, s. 1-22.

Guilan Wang, Jingli Yuan, Kazuko Matsumoto, ve Zhide Hu, (2001), Homogeneous Time-Resolved Fluorescence DNA Hybridization Assay by DNA-Mediated Formation of an EDTA-Eu(III)- β -Diketonate Ternary Complex, *Analytical Biochemistry*, 299, s. 169-172.

Gregory R. Choppin, Dean R. Peterman, (1998), Applications of lanthanide luminescence spectroscopy to solution studies of coordination chemistry, *Coordination Chemistry Reviews* 174, s. 283-299.

Hagan A. K. ve T. Zuchner, (2011), Lanthanide-based time-resolved luminescence immunoassays, *Anal Bioanal Chem*, 400(9), s. 2847-2864.

Hemilia I., ve Laitala V., (2005), Progress in Lanthanides as Luminescent Probes, *Journal of Fluorescence*, 15, s. 529-41.

Hemilia I., (1985), Fluoroimmunoassays and Immunofluorometric Assays, *Clinical Chemistry*, 31/3, s. 359-70.

Haddock Steven H.D., Mark A. Moline, and James F. Case, (2010), Bioluminescence in the Sea, *Annual Review of Marine Science*, 2, s. 443-493.

Jingli Yuan ve Kazuko Matsumoto, Hiroko Kimura, (1998), A New Tetradentate β -Diketonate-Europium Chelate That Can Be Covalently Bound to Proteins for Time-Resolved Fluoroimmunoassay, *Anal. Chem.*, 70, s. 596-601.

Jingli Yuan, ve Guilan Wang, (2005), Lanthanide Complex-Based Fluorescence Label for Time-Resolved Fluorescence Bioassay, *Journal of Fluorescence*, 15, s. 559-568.

J. Thompson, R.I.R. Blyth, G. Gigli, R. Cingolani, (2004), Obtaining characteristic 4f-4f luminescence from rare earth organic chelates, *Adv. Funct. Mater.* 14, s. 979-984.

Lin Z. , (2004), Time-Resolved Fluorescence-Based Europium-Derived Probes for Peroxidase Bioassays, Citrate Cycle Imaging and Chirality Sensing , Universität Regensburg, der Fakultät Chemie und Pharmazie.

Maria E. de Mesquita , Gilberto F. de Sa , Oscar L. Malta, (1997), Spectroscopic studies of the Eu(III) and Gd(III) tris(3-aminopyridine-2- carboxylic acid) complexes, *Journal of Alloys and Compounds*, 250, s. 417-421.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Melby, L. R., Rose, N. J., Abramson, E., and Caris, J. C., (1964), *Journal of the American Chemical Society*, 86, s. 5117.

Meskers SCJ, Riehl JP, Dekkers HPJM, (1993), Linearly polarized luminescence spectra of $\text{Eu}(\text{2,6-pyridine-dicarboxylate})_3^{3-}$ in hydroxylic solution, *Chem. Phys. Lett.*, 216, s. 241–245.

Mukkala VM, Kankare J., (1992), New 2,2'-bipyridine derivatives and their luminescence properties with europium(III) and terbium(III) ions, *Helv. Chim. Acta*, 75, s. 1578–1592.

Mukkala VM, Helenius M, Hemmila I, Kankare J, Takalo H, (1993), Development of luminescent europium(III) and terbium(III) chelates of 2,2':6',2'-terpyridine derivatives for protein labelling, *Helv. Chim. Acta*, 76, s. 1361–1378.

Mukkala VM, Sund C, Kwiatkowski M, Pasanen P, Hogberg M, Kankare J., (1992), New heteroatomic complexing agents and luminescence of their europium(III) and terbium(III) chelates, *Helv. Chim. Acta*, 75, s. 1621–1632.

Mukkala VM, Liitti P, Hemmila I, Takalo H, Matachescu C, Kankare J., (1996), Novel thiazole-containing complexing agents and luminescence of their europium(III) and terbium(III) chelates, *Helv. Chim. Acta*, 79, s. 295–306.

N. Sabbatini, M. Guardigli ve J.-M. Lehn, (1993), *Coord Chem Rev.*, 123, s. 201.

N. Sabbatini, M. Guardigli, I. Manet, R. Ungaro, A. Casti, R. Ziessel, G. Ulrich, Z. Asfari and J.-M. Lehn, (1995), *Pure Appl Chem.*, 67, s. 135.

Räsänen Markus, (2014), *Journal of Luminescence*, 146, s. 211–217.

Pikramenou Z, Nocera DG., (1992), Luminescent supramolecular architectures: a cyclodextrin modified with a europium(III) crownswing, *Inorg. Chem.*, 31, s. 532–536.

Richardson F.S. (1982), Terbium(III) and Europium(III) Ions as Luminescent Probes and Stains for Biomolecular Systems, *Chem. Rev.* 82, s. 541–52.

Sabbatini N, Dellonte S, Blasse G., (1986), The luminescence of the rare earth cryptates $[\text{Tb}2.2.1]^{3+}$ and $[\text{Sm}2.2.1]^{3+}$ *Chem. Phys. Lett.*, 129, s. 541–545.

Sabbatini N, Blasse G, Dirksen GJ, Perathoner S, Lehn JM, Alpha B., (1998), Luminescence properties in $[\text{Tb} \text{bpy} \cdot \text{bpy} \cdot \text{bpy}]_3$ cryptate: a low-temperature solid-state study, *J. Phys. Chem.*, 92, s. 2419–2422.

Saha AK, Kross K, Kloszewski ED, Upson DA, Toner JL, Snow RA, Black CDV, Desai VC., (1993), Time-resolved fluorescence of a new europium chelate complex; demonstration of highly sensitive detection of protein and DNA samples, *J. Am. Chem. Soc.*, 115, s. 11032–11033.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Sato S, Wada M., (1970), Relations between intramolecular energy transferefficiencies and triplet state energies in rare earth beta-diketonechelates, Bull. Chem. Soc. Jpn.,43, s. 1955–1962.

Sato N, Shinkai S. (1993), Energy-transfer luminescence of lanthanidemions encapsulated in sensitizer-modified calix[4] arenas. J. Chem. Soc. Perkin Trans., 2, s. 621–624.

Siitari H, Hemmilä I, Soini E, Lövgren T, Koistinen V., (1983), Detection of hepatitis B surface antigen using time-resolved fluoroimmunoassay,Nature, 301(5897), s. 258-60.

Siitari, H., Hemmila., I., Soini, E. Lo'vgren, T. Koistinen, (1983), V. Nature, 301, s. 258–260.

Sinha S.P., (1967), Europium, Springer.

Skoog D.A., D.M. West, (1998), Principles of Instrumental Analysis.

Stemers FJ, Verboom W, Reinhoudt DN, van der Tol EB, Verhoeven JW., (1995), New sensitizer-modified calix[4] arenas enabling near-UV excitation of complexed luminescent lanthanide ions, J.Am. Chem. Soc., 117, s. 9408–9414.

Soini E, Hemmilä I, (1979),Fluoroimmunoassay: present status and key problems,Clin Chem., 25(3), s. 353-61.

S.I. Klink, L. Grave, D.N. Reinhoudt, F.C.J.M. van Veggel, M.H.V. Werts, F.A.J. Geurts, J.W. Hofstraat, (2000), A systematic study of the photophysical processes in polydentate triphenylene-functionalized Eu^{3+} , Tb^{3+} , Yb^{3+} , and Er^{3+} complexes, J. Phys. Chem. A, 104, s. 5457–5468.

Takalo H, Mukkala VM., (1991), PCT Appl.

Takalo H, Hanninen E, Kankare J.,1993, Luminescence of europium(III) chelates with 4-(arylethynyl)pyridines as ligands, Helv. Chim. Acta, 76, s. 877–883.

T. Moeller Jr., (1975) , The chemistry of the lanthanides, Comprehensive Inorganic Chemistry.

Valeur Bernard, (2001), Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Wiley-VCH.

Weissan S I., (1942), Intramolecular energy transfer-the fluorescence of complexes of europium. J. Chem. Phys., ,10, s. 214.

Wieder I., (1978), Background rejection in fluorescence immunoassay, Proc VIth International Conference on Immunofluorescence and Related Staining Techniques, Vienna, s. 67–80.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Yuan J. ve Matsumoto Kazuko, (1996), Synthesis of a New Tetradentate β -Diketonate-EuropiumChelate That Can Be Covalently Bound to Proteins in Time-Resolved Fluorometry, *Analytical Sciences*, 12, s. 695-699.

Yuan J. ve Matsumoto Kazuko, (1997), Synthesis of a new tetradentate fl-diketonate-europium chelate and its application for time-resolved fluorimetry of albumin, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 15, s. 1397- 1403.

Zhang Lin, Yanjiao Wang, Zhiqiang Ye, Dayong Jin, ve Jingli Yuan, (2012), New Class of Tetradentate β -Diketonate-Europium Complexes That Can Be Covalently Bound to Proteins for Time-Gated Fluorometric Application, *Bioconjugate Chem.*, 23, s. 1244–1251.

ÖZGEÇMİŞ

Semanur ŞEN 1990 yılında Samsun'da doğdu; ilk ve orta öğretimini Bursa'da tamamladı; Bursa Atatürk Lisesi'nden mezun olduktan sonra 2009 yılında Dumlupınar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ne girdi; 2013 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Anorganik Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans programında eğitime başladı ve halen sürdürmektedir. Yabancı dili İngilizcedir.