

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**METİYONİN BİYOMOLEKÜLÜ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KROMENİLYUM
-SİYANİN FLORESAN PROBUN SENTEZİ, ÇEVREDE VE CANLI
HÜCRELERDE CIVA(II) ANALİZİ UYGULAMALARI**

DOKTORA TEZİ

Yusuf ALÇAY

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

ARALIK 2023

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**METİYONİN BİYOMOLEKÜLÜ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KROMENİLYUM
-SİYANİN FLORESAN PROBUN SENTEZİ, ÇEVREDE VE CANLI
HÜCRELERDE CIVA(II) ANALİZİ UYGULAMALARI**

DOKTORA TEZİ

**Yusuf ALÇAY
(509152018)**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail YILMAZ

ARALIK 2023

ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY ★ GRADUATE SCHOOL

**SYNTHESIS OF A METHIONINE BIOMOLECULE-MODIFIED CHROMENYLIUM-
CYANINE FLUORESCENT PROBE AND ITS APPLICATION OF MERCURY(II) ANALYSIS
IN THE ENVIRONMENT AND LIVING CELLS**

Ph. D. THESIS

**Yusuf ALÇAY
(509152018)**

Department of Chemistry

Chemistry Programme

Thesis Advisor: Prof. Dr. İsmail YILMAZ

DECEMBER 2023

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 509152018 numaralı Doktora Öğrencisi Yusuf ALÇAY, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “METİYONİN BİYOMOLEKÜLÜ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KROMENİLYUM -SİYANİN FLORESAN PROBUN SENTEZİ, ÇEVREDE VE CANLI HÜCRELERDE CIVA(II) ANALİZİ UYGULAMALARI” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. İsmail YILMAZ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Serdar AKTAŞ
Marmara Üniversitesi

Prof. Dr. Nurcan TÜZÜN
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Aydın TAVMAN
İstanbul Üniversitesi

Teslim Tarihi : **10 Kasım 2023**
Savunma Tarihi : **21 Aralık 2023**





Aileme,



ÖNSÖZ

Yüksek lisans ve doktora eğitimim sırasında bilgi, birikim ve desteklerini üzerimizden hiç eksik etmeyen, çalışkanlığı ve etik değerlere sımsıkı bağlı oluşuyla, öğrencilerinin de rotasını belirleyen saygıdeğer hocam, Prof. Dr. İsmail YILMAZ'a;

Bu tez kapsamında birlikte çalışma fırsatı bulduğum, Prof. Dr. Nurcan TÜZÜN, Ayşe Buse ÖZDABAK SERT, Yılmaz ÖZKILIÇ ve yakın zamanda kaybettiğimiz Prof. Dr. Fatma Neşe KÖK'e;

Tez süresince fikir ve önerileriyle, çalışmalarımızı destekleyen ve tez süreci üzerinde büyük katkıları bulunan, sayın tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN ve Prof. Dr. Serdar AKTAŞ'a;

Yaşama sımsıkı tutunmamın sebebi olan, varlıkları huzur ile eşdeğer olan, yüzlerine baktığımda enerjimi yükselten, eşim; Gökçe ALÇAY ve oğlum, Kuzey Ali ALÇAY'a;

Bana güvenlerini hiç eksik etmeyen, her zaman yanımda olan, kendilerinden eksiltip bana bu imkanları sağlayan, annem Hanım ALÇAY ve babam, Alaettin ALÇAY'a;

Bir parçası olmaktan gurur duyduğum ailem olan, ablamlar; Zekiye AKYOL, Nihal ALÇAY, Zuhale ÇELENLİ, eşleri; Ayhan AKYOL, Hasan ÇELENLİ ve yeğenlerim; Fatih Furkan AKYOL, Mine KÖKSAL, Engin KÖKSAL, Beytullah Kerem AKYOL, Sümeyra İlknur ÇELENLİ, Ahmet Sinan AKYOL, Hüseyin Emre ÇELENLİ ve Alperen Akif ÇELENLİ'ye;

Beni kendi çocukları gibi görüp, ailenin bir parçası olarak hayatlarına katan, Sabri YİRMİBEŞ ve Şükran YİRMİBEŞ'e;

Futbol sahasında ayrılmaz bir ikiliden, çalışma arkadaşlığına uzanan yolda sevinç ve üzüntülerimizi birlikte yaşadığımız, tanımakta çok geç kaldığım, güzel insan, ömürlük dost, Özgür YAVUZ'a;

Ekibimizde güzel bir birliktelik oluşturan, varlıklarıyla her türlü sorunun üstesinden gelmemizi sağlayan, çalışmaktan büyük gurur duyduğum ekip arkadaşlarım, Dila ÇETİN, Emre ÖZDEMİR, Hülya ARIBUĞA, Muhammed İkbâl Gündüz, Utku ERTUĞRAL, Bilal YENİDOĞAN, Huriye Özge ÖZ ve Kaan Tarık AKADA'ya;

Bir dönem birlikte çalışmış olduğum ve iş arkadaşlığından çok daha öte, gönül bağlılığımızın olduğu; Kaan KARAOĞLU, Mehmet KAPLAN, Mustafa Semih YILDIRIM, Mustafa SEZEN, Seçil KIRLANGIÇ ATAŞEN, Vuslat BASAN'a;

Bölümümüzde varlıkları sebebiyle mutluluk duyduğum, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım arkadaşlarım Çağatay ALTINKÖK, Hüseyin Cem KILIÇLAR, Kerem KAYA, Mehmet SEVİM, Neslihan TURHAN, Özge ÖZÜKANAR'a;

Yanlarında zamanın su gibi akıp gittiği, her dara düştüğümde yanımda olan, düştüğümde kaldıran, arkadaşlarım, Ahmet ŞİRİN, Çağkan YURTSEVER, Erdem SARI, İsmail İDKİN, Ömer AKKANAT, Güner TEKİN, Yasin TEKİN, Yusuf YİVLİK'e;

Doktora eğitimimi tamamlayarak, oyunculuğa jübile yapıp, taraftarlığa geçiş yaptığım Fen Edebiyat Fakültesi öğrenci futbol takımına;

Fikirleriyle , başardıklarıyla bize her zaman örnek olan, çalışma arzusunu yaşamının son anına kadar sürdüren, tüm bilimsel başarılarının yanında sosyal ve sportif yönleriyle de ön plana çıkan, yakın zamanda kaybettiğimiz büyük değer Prof. Dr. Yusuf YAĞCI'ya;

Kimyayı bana sevdiren, desteklerini her zaman hissettiğim tüm hocalarım ve araştırma görevlilerine;

Doktora öğrenimim boyunca proje kapsamında çalışmalarımı destekleyen TÜBİTAK'a (Proje no: 219Z085) teşekkürü bir borç bilirim.

Aralık 2023

Yusuf ALÇAY
(Yüksek Kimyager)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SEMBOLLER	xv
ÇİZELGE LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxiii
SUMMARY	xxv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Cıva	3
2.2 Rodamin Boyaları	5
2.2.1 Rodamin boyalarının fotofiziksel özellikleri	6
2.2.2 Rodamin boyalarının sentezi	7
2.3 Siyanin Boyaları	10
2.3.1 Siyanin boyalarının fotofiziksel özellikleri	11
2.3.2 Siyanin boyalarının sentezi	12
2.4 Kromenilyum-Siyanin Boyaları	13
2.4.1 Kromenilyum-siyanin boyalarının fotofiziksel özellikleri	14
2.4.2 Kromenilyum-siyanin boyalarının sentezi	16
2.5 Spektral Yöntemlerle Cıva Tayini	17
2.5.1 Rodamin boyası ile yapılmış cıva tayini çalışmaları	17
2.5.2 Siyanin boyası ile yapılmış cıva tayini çalışmaları	21
2.5.3 Kromenilyum-siyanin boyası ile yapılmış cıva tayini çalışmaları	23
3. DENEYSEL KISIM	29
3.1 Kimyasal, Cihaz ve Yöntemler	29
3.2 Sentez Prosedürleri	30
3.2.1 1 Sentezi	30
3.2.2 2 Sentezi	32
3.2.3 CS2 Sentezi	32
3.2.4 CS2H Sentezi	33
3.2.5 CyR Sentezi	34
3.2.6 CSME sentezi	35
3.3 Sensör Çalışmaları	36
3.3.1 Çözeltilerin Hazırlanması	36
3.3.2 Zamana Bağlı Sensör Davranışı	36
3.3.3 Farklı pH Değerlerine Karşı Sensör Davranışı	36
3.3.4 Seçicilik ve Girişim	38
3.3.5 Çalışma Aralığı	40
3.4 Fotofiziksel Çalışmalar	41

3.5 Bağlanma Mekanizmasının Belirlenmesi.....	42
4. DENEYSEL SONUÇLAR.....	49
4.1 Karakterizasyon.....	49
4.1.1 1 numaralı bileşiğin karakterizasyonu.....	49
4.1.2 2 numaralı bileşiğin karakterizasyonu.....	51
4.1.3 CS ₂ karakterizasyonu	53
4.1.4 CS ₂ H bileşiğinin karakterizasyonu	56
4.1.5 CyR bileşiğinin karakterizasyonu	58
4.1.6 CSME bileşiğinin karakterizasyonu	61
4.2 Sensör Çalışmaları.....	63
4.2.1 Seçicilik ve Girişim.....	63
4.2.2 Çalışma Aralığı ve LOD	70
5. GERÇEK ÖRNEK UYGULAMALARI.....	73
5.1 Musluk ve İçme Suyunda Hg ²⁺ Tayini.....	73
5.2 Akıllı Telefon Uygulamasıyla Hg ²⁺ Tayini.....	73
5.3 Hücre İçi Görüntüleme Çalışmaları.....	75
6. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME.....	81
KAYNAKLAR.....	83
EKLER	95
ÖZGEÇMİŞ	101

KISALTMALAR

AcO	: Asetat
BODIPY	: Bor-dipirometen
BOP	: (Benzotriazol-1-iloks)tris(dimetilamino)fosfonyum Hekzaflorofosfat
DCM	: Diklorometan
DFT	: Yoğunluk fonksiyonel teorisi
DMF	: Dimetil Formamid
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EPA	: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
EtOH	: Etanol
FL	: Floresan
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HEPES	: 2-[4-(2-hidroksietil)piperazin-1-il]etansülfonik asit
HRMS	: Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektroskopisi
IUPAC	: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
LOD	: Tespit Limiti
MeOH	: Metanol
NIR	: Yakın Kızılötesi
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
RSD	: Bağlı Standart Sapma
S	: Eğim
SS	: Standart Sapma
THF	: Tetrahidrofuran
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi
UV	: Ultraviyole



SEMBOLLER

M : Molarite

μ : mikro

m : mili

n : nano

L : Litre

g : gram





ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Rodamin boyası ile yapılmış Hg^{2+} sensör çalışmaları.....	20
Çizelge 2.2 : Siyanin boya ile yapılmış Hg^{2+} sensörleri.....	24
Çizelge 2.3 : Kromenilyum-siyanin boya ile yapılmış Hg^{2+} sensör çalışmaları. .	27
Çizelge 3.1 : pH 7.4 ve 8 haricindeki tampon çözeltilerin hazırlanma prosedürü.....	37
Çizelge 3.2 : CSME bileşiğinin asetonitril içerisinde Hg^{2+} varlığındaki fotofiziksel özellikleri.....	42
Çizelge 4.1 : Musluk ve içme sularında Hg^{2+} analizi sonuçları.	74
Çizelge 4.2 : Akıllı telefon ile musluk ve içme sularında yapılan Hg^{2+} analizi.	75
Çizelge A.1 : CSME için elde edilen hesapsal geçişler.	97
Çizelge A.2 : pre-CSME- Hg^{2+} için elde edilen hesapsal geçişler.	98
Çizelge A.3 : CSME- Hg^{2+} için elde edilen hesapsal geçişler.....	98
Çizelge A.4 : Hidroliz ürünü H için elde edilen hesapsal geçişler.....	99



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : a) Kromenilyum-siyanin bileşiği örneği. b) CSME bileşiği.	2
Şekil 2.1 : Cıva metaline ait bilgiler.	4
Şekil 2.2 : Floresin, tetrametilrodamin ve rodamin B boyları.	6
Şekil 2.3 : Rodamin B boyasının, katyonik, zwitteriyonik ve lakton formları.	7
Şekil 2.4 : Rodamin B sentezi.	7
Şekil 2.5 : Floresin üzerinden rodamin türevleri sentezi.	8
Şekil 2.6 : Asimetrik rodamin sentez yöntemi.	8
Şekil 2.7 : Benzaldehit türevi ile 3-süstitüye fenollerin tepkimesiyle rodamin sentezi.	9
Şekil 2.8 : Ftalaldehidik asitlerin 3-süstitüye fenol türevleri ile tepkimesiyle rodamin sentezi.	9
Şekil 2.9 : 4-Bromobenzaldehit ile, 3-süstitüye fenol türevlerinin tepkimesi sonucu rodamin eldesi.	10
Şekil 2.10 : Muska-aurin I ve kinolin mavisi.	11
Şekil 2.11 : Stiril tipi siyanin sentezi.	12
Şekil 2.12 : Halkalı merosiyanin sentezi.	13
Şekil 2.13 : Yuan ve ekibinin sentezlemiş olduğu kromenilyum siyanin yapıları. ...	14
Şekil 2.14 : Kromenilyum-siyanin boylarının a) asit ve b) amit formlarının farklı pH değerlerindeki yapıları, c) asit (siyah) ve amit (kırmızı) yapılarının farklı pH değerlerindeki davranışları.	15
Şekil 2.15 : Yuan ve ekibi tarafından sunulan kromenilyum-siyanin sentezi.	16
Şekil 2.16 : Li ve ekibinin geliştirdiği yöntem ile kromenilyum-siyanin sentezi.	16
Şekil 2.17 : Panja ve ekibinin, RGM isimli probu ile cıva tayin mekanizması.	18
Şekil 2.18 : Wang ve ekibinin, allil fenil eter ile türevlendirilmiş probu ile Hg^{2+} tayini.	18
Şekil 2.19 : De ve arkadaşlarının yapmış olduğu Hg^{2+} tayin çalışması.	19
Şekil 2.20 : Shuai ve arkadaşlarının yaptığı sensör ile Hg^{2+} tayin mekanizması.	19
Şekil 2.21 : Yin ve ekibinin siyanine dayalı prob ile gerçekleştirdiği Hg^{2+} analiz mekanizması.	21
Şekil 2.22 : Zhou ve arkadaşlarının yaptığı Hg^{2+} analiz çalışması.	22
Şekil 2.23 : An ve ekibinin yaptığı Hg^{2+} ile tetiklenen hücre içi görüntülemesi.	22
Şekil 2.24 : Han ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki Hg^{2+} analiz mekanizması. ..	23
Şekil 2.25 : Huang ve ekibinin gerçekleştirdiği Hg^{2+} ve $MeHg^+$ analiz mekanizması.	25
Şekil 2.26 : Fang ve arkadaşlarının, 4-fenil-3-tiyosemikarbazit türevli kromenilyum-siyanin yapısı olan NIR-Hg probu ile, Hg^{2+} iyonunun tayini.	25
Şekil 2.27 : Zeng ve çalışma grubunun Hg^{2+} tayini çalışması.	26

Şekil 3.1 : 3-Dimetilaminofenol ve ftalik anhidritten başlayarak CSME sentezi. a) Toluen b) i. Sikloheksanon, H ₂ SO ₄ ii. HClO ₄ c) Fischer Aldehit, asetik anhidrit d) Hidrazin hidrat, DCM, BOP e) Glioksal, THF f) Metiyonin metil ester, NaHCO ₃ , Ni(NO ₃) ₂ · 6 H ₂ O.	31
Şekil 3.2 : CS2H bileşiğine ait sentez şeması.	33
Şekil 3.3 : CyR bileşiğine ait sentez şeması.	34
Şekil 3.4 : CSME sentez şeması.	35
Şekil 3.5 : 3,0×10 ⁻⁵ M CSME bileşiğinin, 3,0×10 ⁻⁴ M Hg ²⁺ iyonunun zamana karşı a) UV-Gör spektrometrik b) Florometrik davranışı.	36
Şekil 3.6 : 3,0 × 10 ⁻⁵ M CSME bileşiğinin cıva (5 ekivalent) varlığında asetonitril:tampon (5:1) karışımlarında farklı pH değerlerindeki a) UV-Gör spektrometrik b) Florometrik davranışı.	38
Şekil 3.7 : 3,0 × 10 ⁻⁵ M CSME sensörünün asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında farklı metal katyonları (5 ekivalent) varlığındaki a) UV-Gör spektrumları b) Floresan spektrumları.	39
Şekil 3.8 : 3,0 × 10 ⁻⁵ M CSME sensörünün asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında farklı metal anyonları ve Hg ²⁺ (5 ekivalent) varlığındaki a) UV-Gör spektrumları b) Floresan spektrumları.	40
Şekil 3.9 : 3,0×10 ⁻⁵ M CSME bileşiğinin değişen Hg ²⁺ konsantrasyonuna karşı a) Uv-Gör spektral davranışı b) Floresan şiddeti.	41
Şekil 3.10 : CSME probuna Hg ²⁺ eklenmesinden sonraki HRMS spektrumu.	43
Şekil 3.11 : CSME probuna Hg ²⁺ eklenmesinden sonraki FTIR spektrumu.	43
Şekil 3.12 : CSME ile Hg ²⁺ arasında reaksiyonun önerilen mekanizması.	44
Şekil 3.13 : CSME , pre-CSME-Hg²⁺ ve CSME-Hg²⁺ yapılarının modellenen en kararlı geometrileri ve bağıl enerjileri. Yapıların bağıl enerjileri pre-CSME-Hg²⁺ ve CSME-Hg²⁺ yapılarının enerjilerinin 2 ClO ₄ ⁻ anyonu ile toplamından CSME ve Hg(ClO ₄) ₂ in enerjilerinin çıkartılması ile elde edilmiştir. [(E _{kompleks} + 2E(ClO ₄ ⁻) – (E(CSME)+E(Hg(ClO ₄) ₂))] Mesafeler angstrom (Å) birimiyle verilmiştir. Hidrojen atomları netlik için gizlenmiştir.	44
Şekil 3.14 : Hesapsal olarak elde edilen CSME spektrumunda yer alan önemli hudut orbitalleri.	46
Şekil 3.15 : Hesapsal olarak elde edilen pre-CSME-Hg²⁺ spektrumunda yer alan önemli hudut orbitalleri.	47
Şekil 3.16 : Hesapsal olarak elde edilen CSME-Hg²⁺ spektrumunda yer alan önemli hudut orbitalleri.	47
Şekil 3.17 : Hesapsal olarak elde edilen H spektrumunda yer alan önemli hudut orbitalleri.	47
Şekil 4.1 : 1 numaralı bileşiğe ait ¹ H-NMR spektrumu.	49
Şekil 4.2 : 1 numaralı bileşiğe ait ¹³ C-NMR spektrumu.	50
Şekil 4.3 : 1 numaralı bileşiğe ait FTIR spektrumu.	50
Şekil 4.4 : 2 numaralı bileşiğe ait ¹ H-NMR spektrumu.	51
Şekil 4.5 : 2 numaralı bileşiğe ait ¹³ C-NMR spektrumu.	52
Şekil 4.6 : 2 numaralı bileşiğe ait FTIR spektrumu.	52
Şekil 4.7 : CS2 bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	53
Şekil 4.8 : CS2 bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	54
Şekil 4.9 : CS2 bileşiğine ait MALDI-TOF spektrumu.	54
Şekil 4.10 : CS2 bileşiğine ait FTIR spektrumu.	55
Şekil 4.11 : CS2H bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	56
Şekil 4.12 : CS2H bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	56

Şekil 4.13 : CS2H bileşiğine ait MALDI-TOF spektrumu.	57
Şekil 4.14 : CS2H bileşiğine ait FTIR spektrumu.	57
Şekil 4.15 : CyR bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	58
Şekil 4.16 : CyR bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	59
Şekil 4.17 : CyR bileşiğine ait MALDI-TOF spektrumu.	59
Şekil 4.18 : CyR bileşiğine ait FTIR spektrumu.	60
Şekil 4.19 : CSME bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu.	61
Şekil 4.20 : CSME bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu.	61
Şekil 4.21 : CSME bileşiğine ait HRMS spektrumu.	62
Şekil 4.22 : CSME bileşiğine ait FTIR spektrumu.	62
Şekil 4.23 : 3,0 × 10 ⁻⁵ M CSME sensörünün asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında farklı metal katyonları (5 ekivalent) varlığındaki a) 711 nm'deki absorpsiyon değerleri b) 740 nm'deki floresan şiddeti değişimleri c) metal tuzları (Hg ²⁺ (2), Li ⁺ (3), Na ⁺ (4), K ⁺ (5), Cs ⁺ (6), Mg ²⁺ (7), Ca ²⁺ (8), Sr ²⁺ (9), Ba ²⁺ (10), Mn ²⁺ (11), Fe ²⁺ (12), Fe ³⁺ (13), Co ²⁺ (14), Ni ²⁺ (15), Cu ²⁺ (16), Zn ²⁺ (17), Cd ²⁺ (18) ve Pb ²⁺ (19)) varlığında CSME(1) çözeltisinin görsel davranışı.	65
Şekil 4.24 : 3,0 × 10 ⁻⁵ M CSME sensörünün asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında farklı anyonlar (5 ekivalent) varlığındaki a) 711 nm'deki absorpsiyon değerleri b) 740 nm'deki floresan şiddeti değişimleri c) Hg ²⁺ (2) ve anyonlar (SO ₄ ²⁻ (3), CN ⁻ (4), CO ₃ ²⁻ (5), S ²⁻ (6), Cl ⁻ (7), NO ₃ ⁻ (8), Br ⁻ (9), SCN ⁻ (10), EDTA ²⁻ (11), AcO ⁻ (12) ve I ⁻ (13)) varlığında CSME(1) çözeltisinin görsel davranışı.	66
Şekil 4.25 : 3,0 × 10 ⁻⁵ M CSME sensörünün asetonitril:pH 7.4 tamponunda(5:1) farklı metaller varlığındaki (5 ekivalent) Hg ²⁺ iyonuna (5 ekivalent) karşı a) UV-Gör absorbans b) floresan şiddeti değişimleri. Fe ²⁺ , Fe ³⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺ and Pb ²⁺ içeren çözeltelerde 1,5 × 10 ⁻⁴ M 1,10-fenantrolin bulunmaktadır.	68
Şekil 4.26 : 3,0 × 10 ⁻⁵ M CSME sensörünün asetonitril:pH 7.4 tamponunda(5:1) farklı anyonlar varlığındaki (5 ekivalent) Hg ²⁺ iyonuna (5 ekivalent) karşı a) UV-Gör absorbans b) floresan şiddeti değişimleri.	69
Şekil 4.27 : 3,0×10 ⁻⁵ M CSME bileşiğinin değişen Hg ²⁺ konsantrasyonuna karşı a) Uv-Gör spektrometrik yöntemle göre doğrusal çalışma aralığı b) florometrik yöntemle göre doğrusal çalışma aralığı.	70
Şekil 5.1 : G değerine karşılık gelen Hg ²⁺ konsantrasyonu.	74
Şekil 5.2 : a) %5 alkol ortamında b) %10 alkol ortamında 30, 60, 120 ve 240 dakika büyütülen 3T3 hücrelerinin canlılık testi grafikleri.	77
Şekil 5.3 : CSME ile gerçekleştirilen hücre canlılığı testleri.	78
Şekil 5.4 : 3T3 hücreleriyle CSME sensör bileşiği ile gerçekleştirilen görüntüleme çalışmaları, a ₁ -a ₃) 3,0×10 ⁻⁵ M CSME probu ile 30 dakika muamele edilmiş hücreler, b ₁ -b ₃) CSME probu ile 30 dakika inkübe edildikten sonra, 1,0×10 ⁻⁵ M Hg ²⁺ çözeltisi ile 30 dakika işleme tutulmuş hücreler, c ₁ -c ₃) CSME probu ile 30 dakika inkübe edildikten sonra, 1,0×10 ⁻⁴ M Hg ²⁺ çözeltisi ile 30 dakika işleme tutulmuş hücreler.	79
Şekil A.1 : Model yapıların geometrileri iki farklı açıdan sunulmuştur ve netlik için hidrojen atomları gizlenmiştir. Model numaralarının altındaki sayılar, minimum enerji yapısı bağlı serbest enerji (kkal/mol) değerleridir.	96
Şekil A.2 : Uygulanan minimum enerji modeli bağlama modları ile CSME-Hg ²⁺ konformasyonları: Sağdaki konformer, sol taraftakine kıyasla 1,7 kkal/mol	

daha kararlıdır. Bu geometri, **pre-CSME-Hg²⁺** için de en kararlı konformasyondur.....**97**



METİYONİN BİYOMOLEKÜLÜ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KROMENİLYUM -SİYANİN FLORESAN PROBUN SENTEZİ, ÇEVREDE VE CANLI HÜCRELERDE CIVA(II) ANALİZİ UYGULAMALARI

ÖZET

Standart koşullarda sıvı halde bulunan cıva, nanometre, termometreler, barometre, kozmetik ve amalgam yapımı gibi birçok alanda kullanılan bir metaldir. Cıva elementel, inorganik ve organik formlarında bulunmakta olup, her biri farklı özelliklere sahiptir. Elementel hali, sıvı halde ve düşük emilim riskine sahip formudur ancak buhar basıncına sahip olduğundan cıva buharı, akciğerde emilim riski gösterebilir. İnorganik cıva, geçmişte ilaç olarak da kullanılmış, çözünürlükleri ile orantılı olarak zehirli türlerdir. Canlılar için en zehirli formu olan organik cıva türevleri ise, insan vücudunda tümöre sebebiyet verebilir.

Ağır metal türleri arasında canlılığı en çok tehdit eden türlerden bir tanesi olan cıva, biyoparçalanırlığının düşük olması ve besin zincirinde birikiyor olması sebebiyle, canlılar için olumsuz etkiler meydana getirebilmektedir. Cıva birikimi, bağışıklık sistemi bozukluğu, organ iflası, biliş ve hareket kaybı, DNA hasarı, kanser ve sakat doğumlar gibi anomalilere neden olabilir. Dünyanın çeşitli bölgelerinde cıva kaynaklı vakaların ortaya çıkmasıyla birlikte cıvanın sağlığa zararlı bir tür olduğu ortaya konmuş ve bu konuda çalışmalar dünya çapında ilgi görmeye başlamıştır. Günümüzde iş yerlerinin daha sıkı denetlenmesiyle birlikte, insanlara çeşitli cıva formlarının maruziyetinin azaltılması mümkün olmuşsa da, hala cıva zehirlenmesi kaynaklı hastalıklar görüldüğünden, bu tür durumlar için müdahaleler önemli bir yer tutmaktadır.

Düşük konsantrasyon değerlerinde bile zehirli olabilen cıvanın, etkin olarak tayini için günümüzde atomik absorpsiyon spektroskopisi, indüktif eşleşmiş plazma/atomik emisyon spektrometresi gibi cihazların yanı sıra florometrik ve kolorimetrik sensörler de kullanılmaktadır. Cıvanın hassas olarak tayini için, rodamin, siyanin, BODIPY, kromenilyum-siyanin gibi platformlar prob tasarımında kullanılmıştır.

Kromenilyum-siyanin boyları yakın kızılötesi bölgede absorpsiyon ve emisyon yapan, ksanten halkasına sahip bir boya tipidir. Rodamin bileşiklerinde olduğu gibi yüksek kuantum verimi ve molar absorpsiyon katsayısı gibi üstün fotofiziksel özelliklere sahip olmasının yanı sıra, siyanin boylarındaki gibi yakın kızılötesi bölgesinde çalışılabilme imkanı sunmaktadır. Kromenilyum-siyanin boyları rodamin boylarında olduğu gibi uygun analit varlığında spirohalka açma kapama mekanizmasıyla birlikte analiz yapmaya uygundur. Rodamin boylarındaki yakın kızılötesinde çalışılmama problemi ile siyanin boylarındaki düşük kuantum verimi problemleri kromenilyum-siyanin boyları ile önemli ölçüde aşılmıştır.

Kromenilyum-siyanin boyları, karboksilik asit formunda iken, geniş bir pH aralığında yüksek absorpsiyon ve emisyon şiddetine sahipken, yüksek pH değerlerinde (>11) spirilakton oluşumu sebebiyle düşük absorpsiyon ve emisyon şiddetine sahiptir. Amid formu göz önüne alındığında ise, asidik pH değerlerinde spirohalka açık formda ve yüksek emisyonla sahipken, bazik koşullarda ise spirolaktam formunda ve düşük emisyonla sahip bir formda yer almaktadır. Bu yüzden fizyolojik koşullarda halka kapalı-açık geçişleri üzerinden çalışmaya uygun bileşikler olarak görülmektedir.

Kromenilyum-siyanin boyları farklı bileşiklerin bağlanması ile farklı fotofiziksel özelliklere sahip olarak, florofofor dizaynı için kullanıma uygundur.

Bu çalışmada seçici, hassas, hızlı ve geniş bir doğrusal aralıkta Hg^{2+} analizi yapabilmek amacıyla, yeni tip kromenilyum-siyanin tabanlı bir prob olan **CSME** ile çalışılmıştır.

CSME (Metil (2S)-2-(((1Z,2E)-2-(((E)-6'-(dietilamino)-3-okso-4'-(2-((E)-1,3,3-trimetilindolin-2-iliden)etiliden)-1',2',3',4'-tetrahidrospiro[isoindolin-1,9'-ksanten]-2-il)imino)etiliden)amino)-4-(metiltiyo)butanoat) probu 6 kademelik bir reaksiyon üzerinden sentezlenmiştir. 3-Dietilaminofenol ve ftalik anhidritten başlanarak ilk kademede bir benzofenon türevi olan **1** numaralı bileşik toluen varlığında 3-dietilaminofenol ve ftalik anhidritin kaynatılmasıyla sentezlenmiştir. Bir sonraki kademede kromenilyum türevi olan **2**, **1** numaralı bileşiğin sülfürik asit ve sikloheksanon varlığında kaynatılmasının ardından perklorik asit varlığında çöktürülmesiyle elde edilmiştir. **2** numaralı bileşiğin asetik anhidrit içerisinde Fischer aldehit ile tepkimesi sonucunda çalışmadaki ana iskelet yapısı olan **CS2** elde edilmiştir. BOP ve hidrazin hidrat ile tepkimeye sokulan **CS2**, spiroolaktam yapısındaki **CS2H** yapısını meydana getirmiştir. Devamında **CyR** bileşiğini oluşturmak için **CS2H**, THF içerisinde, glioksal ile tepkimeye sokulmuştur. Nihai ürün olan biyokarakter taşıyan **CSME** ise metiyonin metil esterinin nikel(II) nitrat varlığında **CyR** ile tepkimesi sonucunda sentezlenmiştir. Sentezi gerçekleştirilen tüm ürünler, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, kütle spektroskopisi, FTIR gibi çok bilinen spektral yöntemlerle karakterize edilmiştir.

CSME probu çeşitli metal iyonlarının (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} ve Pb^{2+}) ve anyonların (SO_4^{2-} , CN^- , CO_3^{2-} , S^{2-} , Cl^- , NO_3^- , $EDTA^{2-}$, AcO^- , SCN^- , Br^- ve I^-) varlığında yanıt vermezken, Hg^{2+} varlığında sulu asetonitril ortamında UV-görünür bölge spektroskopisinde 711 nm dalga boyunda bir absorpsiyon artışı gözlenirken, floresan spektroskopisinde 740 nm dalga boyunda bir emisyon artışı görülmüştür. Bu değişimlerle birlikte uçuk sarı renkli çözelti, yeşil renge dönüşmüştür. Yakın kızılötesi bölgede UV-görünür bölge spektroskopisinde $6,29 \times 10^{-8} - 1,86 \times 10^{-4}$ M ve floresan spektroskopisinde $9,49 \times 10^{-9} - 1,13 \times 10^{-5}$ M aralıklarında çalışabilen **CSME**, $4,93 \times 10^{-9}$ M (0,99 ng/mL) LOD değerine sahiptir. Hg^{2+} analizini, floresan ve UV-görünür spektroskopilerinin yanında cep telefonu uygulaması yardımı ile içme ve musluk suyu örneklerinde de yüksek geri kazanım değerleriyle birlikte gerçekleştirilmiştir. **CSME** probu ve Hg^{2+} arasındaki etkileşim DFT kullanılarak Gaussian programı vasıtasıyla kuantum mekaniksel olarak incelenmiştir. 3T3 hücrelerinde görüntüleme yapılarak biyolojik uygulamalarda kullanılması mümkün olmuştur.

SYNTHESIS OF A METHIONINE BIOMOLECULE-MODIFIED CHROMENYLIUM-CYANINE FLUORESCENT PROBE AND ITS APPLICATION OF MERCURY(II) ANALYSIS IN THE ENVIRONMENT AND LIVING CELLS

SUMMARY

Mercury, a metal that is liquid under standard circumstances, is utilized in various products, including nanometers, thermometers, barometers, cosmetics, and amalgam manufacturing. There are three different types of mercury: organic, inorganic, and elemental. Although liquid elemental form of mercury that has a minimal absorption risk, due to its vapor pressure, mercury vapor may increase the risk of lung absorption. Inorganic mercury is dangerous in proportion to its solubility and has previously been employed in medicine. The most hazardous type of mercury for living things is organic mercury compounds, which can result in cancers in humans.

Due to its low biodegradability and accumulation in the food chain, mercury, one of the heavy metal species that poses the greatest hazard to life, can have a severe impact on living organisms. The buildup of mercury can result in anomalies such as weakened immunity, organ failure, memory and mobility loss, DNA damage, cancer, and birth deformities. Studies on this topic have started to draw attention from all over the world since incidences of mercury-related illness have been reported in many different places of the world. While it has been able to lower human exposure to different types of mercury through tougher occupational inspections, interventions for such patients are nevertheless crucial because diseases brought on by mercury poisoning still happen.

Mercury, which can be harmful even at low concentrations, can now be determined effectively using tools like atomic absorption spectroscopy, inductively coupled plasma/atomic emission spectrometry, as well as fluorometric and colorimetric sensors. Sensors including rhodamine, cyanine, BODIPY, and chromenylum-cyanine platforms were designed as probes for the sensitive measurement of mercury.

Rhodamine dyes are a fluorophore belonging to the xanthene family of the compounds. Rhodamine dye, is a dye used in areas such as textile paper, plastic, leather and laser dyes. Rhodamine dyes have unique photophysical properties such as high absorption coefficient and high quantum yield. Rhodamines may exhibit different photophysical properties depending on the substituents and counterions they contain. Solutions of rhodamines derivatized from different positions show different absorption and emission, while changes in fluorescence lifetime and quantum yields can be observed. In rhodamine compounds, there is a state of equilibrium between the closed (non-fluorescent) form and the open (fluorescent) form under neutral conditions. Fluorescent active solutions can be obtained in acidic solutions, while fluorescent inactive solutions can be obtained in high pH conditions.

Cyanine dyes are one of the most studied compounds among synthetic dyes. Cyanine dyes are used in lasers and solar cells in photography. Cyanine dyes are formed by conjugating two nitrogen-containing heterocyclic structures. Cyanine dyes are compounds that can absorb and emit in the visible and near infrared regions, used in a very wide wavelength range. Absorption and emission maxima in cyanine dyes vary depending on the length of the polymethine bridge between the heterocyclic structures.

Although cyanine dyes have been studied in the near infrared region, their low quantum yield is a handicap for this dye type.

Chromenylum-cyanine dyes are a type of dye with a xanthene ring that absorbs and emits in the near infrared region. In addition to having superior photophysical properties such as high quantum yield and molar absorption coefficient, as in rhodamine compounds, it offers the opportunity to be studied in the near infrared region, as in cyanine dyes. Chromenylum-cyanine dyes are suitable for analysis with the spiroring opening and closing mechanism in the presence of the appropriate analytes, as in rhodamine dyes. The problem of inability to work in the near infrared in rhodamine dyes and the low quantum yield problems in cyanine dyes have been significantly overcome by chromenylum-cyanine dyes.

Chromenylum-cyanine dyes, when in the carboxylic acid form, have high absorption and emission intensity in a wide pH range, but at high pH values (>11) they have low absorption and emission intensity due to the formation of spirilactone. Considering the amide form, at acidic pH values, chromenylum-cyanine dyes are in the spiroring-open form and have high emission, while in basic conditions, dyes are in closed spirolactam form and with low emission and absorption values. They therefore seem to be appropriate chemicals to research ring-closed-open transitions in physiological pH levels. With derivation with various species, photophysical characteristics of chromenylum-cyanine dyes can alter to create miscellaneous fluorophores.

In this study, **CSME** (methyl (2S)-2-(((1Z,2E)-2-(((E)-6'-(diethylamino)-3-oxo-4'-(2-((E)-1,3,3-trimethylindolin-2-ylidene)ethylidene)-1',2',3',4'-tetrahydrospiro[isindoline-1,9'-xanthen]-2-yl)imino)ethylidene)amino)-4-(methylthio)butanoate) a new type of chromenylum-cyanine-based probe, was used to analyze Hg^{2+} in a selective, sensitive, rapid and wide linear range.

The **CSME** probe was synthesized through a 6-step reaction. Starting from 3-diethylaminophenol and phthalic anhydride, compound number **1**, which is a benzophenone derivative, was synthesized in the first step by boiling 3-diethylaminophenol and phthalic anhydride in the presence of toluene. In the next step, **2**, which is a chromenylum derivative, was obtained by boiling compound **1** in the presence of sulfuric acid and cyclohexanone and then precipitated with perchloric acid. As a result of the reaction of the compound number **2** with Fischer aldehyde in acetic anhydride, **CS2**, the main skeleton structure in the study, was obtained. **CS2** was reacted with BOP and hydrazine hydrate to form the **CS2H** structure in the spirolactam structure. Subsequently, **CS2H** was reacted with glyoxal in THF to form the **CyR** compound. The final product, **CSME**, which carries biocharacter, was synthesized as a result of the reaction of methionine methyl ester with **CyR** in the presence of nickel(II) nitrate. All synthesized products were characterized by well-known spectral methods such as ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, mass spectroscopy and FTIR.

While the **CSME** probe did not respond in the presence of miscellaneous metal cations (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+}) and anions (SO_4^{2-} , CN^- , CO_3^{2-} , S^{2-} , Cl^- , NO_3^- , EDTA^{2-} , AcO^- , SCN^- , Br^- and I^-) an absorption increase was observed at 711 nm in UV-visible spectroscopy in aqueous acetonitrile environment in the presence of Hg^{2+} , while an emission increase was observed at 740 nm in fluorescence spectroscopy. With these changes, the pale yellow solution turned into green. **CSME**, which can operate in the near infrared region between $6.29 \times 10^{-8} - 1.86 \times 10^{-4}$ M in UV-visible spectroscopy and $9.49 \times 10^{-9} - 1.13 \times 10^{-5}$ M in fluorescence spectroscopy. **CSME** has limit of detection

(LOD) value (4.93×10^{-9} M (0.99 ng/mL)) lower than EPA values. In addition to fluorescence and UV-visible spectroscopy, Hg^{2+} analysis was carried out with high recovery values in drinking and tap water samples with the help of a mobile phone application. The interaction between the **CSME** probe and Hg^{2+} was studied quantum mechanically through the Gaussian program using DFT. By imaging 3T3 cells, it has become possible to use them in biological applications.





1. GİRİŞ

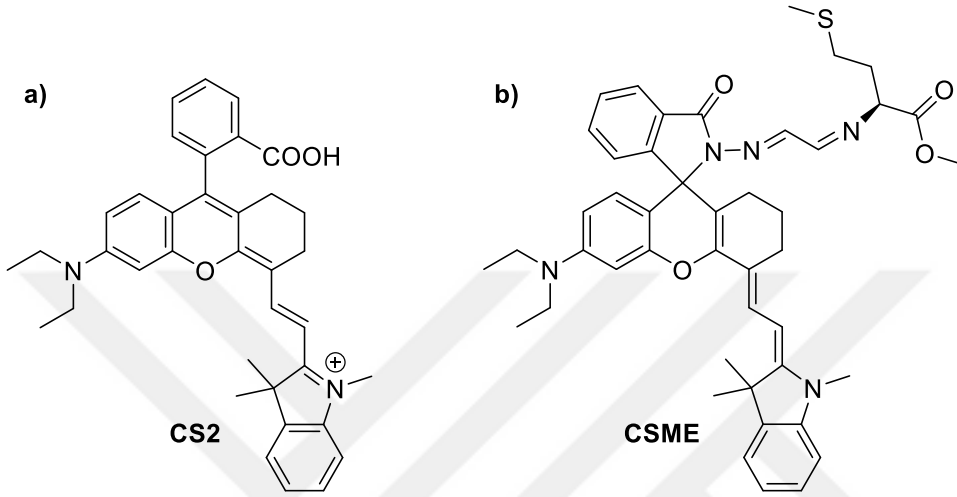
Rodamin boyaları ksanten bileşik ailesine ait bir florofordur. Sentetik boyar maddelerin ilk örneklerinden olan rodamin boyası tekstil, kağıt, plastik, deri, lazer boyaları gibi alanlarda kullanılan bir boyadır. Rodamin boyaları, yüksek absorpsiyon katsayısı ve yüksek kuantum verimi gibi eşsiz fotofiziksel özelliklere sahiptir. Rodaminler içerdiği sübstituentler ve karşıt iyonlara bağlı olarak farklı fotofiziksel özellikler gösterebilir. Farklı konumlardan türevlendirilen rodaminlerin çözeltileri, farklı absorpsiyon ve emisyon gösterirken, floresan ömrü ve kuantum verimlerinde değişiklikler görülebilir. Rodamin bileşiklerinde nötral koşullarda kapalı (floresan olmayan) formu ile açık (floresan) formu arasında bir denge hali söz konusudur. Asidik çözeltilerde floresan aktif çözeltiler elde edilirken, yüksek pH koşullarında floresan inaktif çözeltiler elde edilebilir[1–7].

Siyanin boyaları sentetik boyalar içerisinde en çok çalışılan bileşiklerden bir tanesidir. Siyanin boyaları, fotoğrafçılıkta, lazerlerde, güneş pillerinde kullanılmaktadır. Siyanin boyaları 2 adet azot içeren heterosiklik yapının konjuge bir şekilde birbirine bağlanmasıyla meydana gelmektedir. Siyanin boyaları, çok geniş bir dalga boyu skalasında kullanılan, görünür ve yakın kızılötesi bölgede absorpsiyon ve emisyon yapabilen bileşiklerdir. Siyanin boyalarında absorpsiyon ve emisyon maksimumları, heterosiklik yapıların arasında yer alan polimetin köprü uzunluğuna göre değişiklik gösterir. Siyanin boyaları yakın kızılötesi bölgede çalışılıyor olmasına karşın, düşük kuantum verimleri bu boya tipi için bir handikap oluşturmaktadır[8–10].

Kromenilyum-siyanin boyaları, rodamin boyalarının, halka açma kapama özelliği ve güçlü fotofiziksel özellikleri ile siyanin boyalarının yakın kızılötesi bölgede emisyon ve absorpsiyon yapması özelliklerini bir arada bünyesinde barındırması nedeniyle özel bir yere sahiptir[11].

Bu çalışmada literatürde ilk kez sentezlenen kromenilyum-siyanin tipi bir bileşik olan **CSME**, bir kromenilyum-siyanin bileşiği olan **CS2** bileşiğinden (Şekil 1.1) türetilerek sentezlenmiş ve üzerinden Hg^{2+} tayininin seçici, hassas, hızlı bir şekilde yapılması

planlanmıştır. Uv-görünür bölge ve floresan spektroskopik yöntemlerinin yanı sıra, cep telefonuna yüklenen bir uygulama yardımıyla seçici ve hassas olarak Hg^{2+} tayini musluk ve içme suyu örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak, canlı hücrelerde, **CSME** probu yardımıyla Hg^{2+} analizi başarıyla yapılmıştır.



Şekil 1.1 : a) Kromenilyum-siyanın bileşiği örneği. b) **CSME** bileşiği.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Cıva

Kentsel ve endüstriyel aktiviteler sonucu, su, toprak ve havada meydana gelen ağır metal kirliliği, tüm dünyada büyük bir problem haline gelmiştir. Katyonik haldeki metaller, biyolojik sistemlerin nükleofilik kısımları ile etkileşime girerek, doku ve organlarda zehirli etki göstermektedir. Cıva, kurşun, krom, kadmiyum ve arsenik insan zehirlenmesinde en sık görülen ağır metal türleridir. Bu türler içerisinde cıva, endüstriyel manada hava ve suyu en çok kirleten ağır metaldir[12–14].

Cıva, insanlık tarihinin son 3000 yılında, insanlığın kullanımında yer alan, standart koşullarda sıvı halde bulunan tek metaldir. Cıva, termometre, barometre, manometre, beyazlatıcı kozmetik ve amalgam yapımı gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır[15,16]. Çin kaynaklarında, sinabar madeninin (HgS) ilk olarak kırmızı mürekkep olarak kullanıldığı geçmektedir. Sıvı haldeki metalik formu ise, simyacılar arasında en popüler metallerden birisi olarak kullanılmıştır. Cıva bileşikleri uzun süredir antiseptik ve koruyucu olarak kullanılmaktadır. Cıva, gümüş, bakır ve diğer metallerin bir karışımı, 19. yüzyıldan itibaren diş dolgularının temeli haline gelmiştir(Şekil 2.1).

Cıva ismi “*hydrargyrum*”, yani sıvı gümüşten gelir. Cıva, elementel (Hg^0), inorganik (Hg^+ , Hg^{2+}) ve organik cıva ($R-Hg$, R:metil, etil, fenil vs.) olmak üzere üç kategoride incelenebilir[17]. Sıvı elementel formu, düşük miktarda emildiğinden dolayı sağlık riski düşük seviyededir, fakat uçucu bir yapıda olduğundan, buharı akciğerde absorplanıp, zehirlenme meydana getirebilir. İnorganik cıva, tarihsel olarak frengi ve ishal ilacı olarak kullanılmış, çözünürlükleri nispetinde zehirli olan türlerdir. İnsan vücudunda tümöre sebep veren bir organik cıva türevi olan metil cıva, cıvanın en zehirli formudur. Bir nörotoksin olan metil cıva, enzim bağlanma mekanizmasını bozar ve protein sentezinin bozulmasına neden olur. Ayrıca inorganik cıva ve özellikle çözünür cıva türleri, aerobik koşullar altında mikroorganizmaların etkisiyle metil cıvaya dönüşebilir[18,19].

atom numarası	80	200,592	atom kütlesi
sembolü	Hg		
elektron dağılımı	[Xe]4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ²		

Şekil 2.1 : Cıva meteline ait bilgiler.

En yüksek zehirliliğe sahip ve ağır metallerden biri olan cıva, canlıları tehdit eden en önemli unsurlardan birisidir. Biyoparçalanırlığının düşük olması ve besin zincirinde birikiyor olması nedeniyle insan vücudunda çeşitli olumsuz etkilere sebep olabilir. Cıva birikimi sonucunda, bağışıklık sistemi bozukluğu, beyin ve DNA hasarı, böbrek iflası, biliş ve hareket kaybı, sakat doğumlar ve kanser gibi hastalıklara neden olabilmektedir[20–24].

Mesleki cıva zehirlenmesi, 19. yüzyılda Avrupa'daki şapka imalat işçilerinde sıklıkla görülüyordu. Kore'de, 1980'lerden 2000'lerin başlarına kadar termometre imalatında, floresan lamba imalatında ve atık işleme tesislerinde yüksek konsantrasyona maruz kalma nedeniyle cıva zehirlenmesi kurbanları görüldü. Cıvanın sağlığa zararlı oluşu, 1956'da Japonya'da Minamata hastalığının patlak vermesi nedeniyle iyi bilinir hale geldi ve dünya çapında ilgi gördü. Olayda, bir gübre fabrikasında asetaldehit üretiminin yan ürünü olarak oluşan metilcıva, yakınlardaki kıyıya uzun süre salınarak balık ve kabuklular dahil deniz ekosistemini kirletti. Bölgeden deniz ürünleri yiyen sakinlerin yaklaşık 5000 kadarı öldü veya yaralandı. Daha sonraki süreçte, cıvanın neden olduğu vakalar, Irak, İran ve Tanzanya'da da bildirildi. Minamata Sözleşmesinin sonucunda, çevresel bir toksin olarak cıvanın önemi vurgulanmıştır. 21. yüzyılda, iş yerlerinin daha sıkı çevre yönetimi, iş yerlerinde metal ve inorganik cıvanın solunmasından kaynaklanan cıva zehirlenmesi vakalarını azaltmıştır. Bununla birlikte, birçok işçinin çeşitli mesleklerde cıvaya maruz kaldığı göz önüne alındığında, mesleki maruziyet nedeniyle cıva zehirlenmesi olasılığı hala mevcuttur ve bu tür durumlar için müdahaleler gereklidir[15].

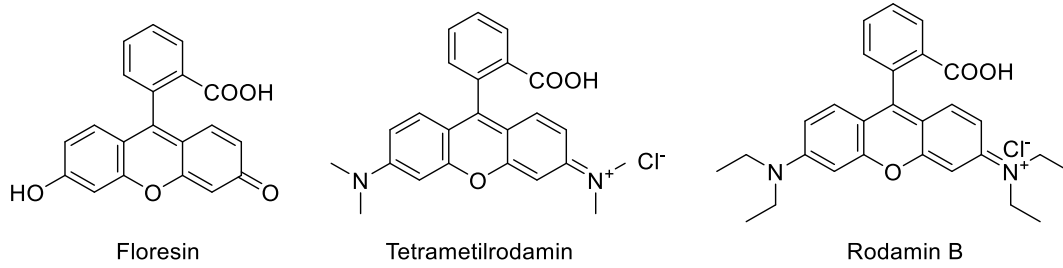
Düşük konsantrasyonlarda bile zehirli olan cıva, insan hayatını olumsuz yönde etkilediğinden, seçici, hassas, yerinde ve hızlı bir şekilde cıva tespiti ve eser miktarda tayini zamanla çok önemli hal almıştır[25]. Bu sebeple, cıvanın tayini için atomik absorpsiyon spektroskopisi[26], indüktif eşleşmiş plazma/atomik emisyon spektrometresi[27], voltametri[28], atomik floresan spektroskopisi[29] gibi yöntemlerin yanı sıra florometrik ve kolorimetrik sensörler de kullanılmaktadır. Cıvanın hassas olarak tayini için, rodamin[30], siyanin[31], BODIPY[32], kumarin[33], piren[34] ve kinon[35] gibi türler kullanılmıştır.

2.2 Rodamin Boyaları

Rodamin boyaları floresin ve eosin boyalarıyla beraber ksanten bileşik ailesine ait bir florofordur[1]. Rodaminlerin ilk olarak eldesi, 1856 yılında gerçekleşen hatalı bir senteze dayanır. William Perkin'in N-allitoluidin üzerinden sıtma ilacı olarak kullanılacak olan kininin sentez denemesinde ilk sentetik boya olan mauvini sentezlemiştir. Perkin'in bu buluşundan önce tüm ticari boyalar, sebzeler, böcekler ve omurgasızlar gibi doğal kaynakların parçalanması ve sıkılması ile elde edilirdi. Bu gelişmeyle birlikte, renkli kimyasalların hazırlanması büyük heyecan yaratmış ve modern kimya endüstrilerinin kurulumuna ön ayak olmuştur. On beş yıl sonra, 1871 yılında, Adolf von Baeyer'in resorsinol ve ftalik anhidritin tepkimesi sonucunda elde ettiği yeşil renkli bileşiğe, alkol ortamındaki yoğun floresan özelliği sebebiyle floresin ismini verdi. 1887 yılında ise, endüstriyel kimyacı Ceresole, 3-aminofenol türevleri üzerinden yaptığı denemeler sonucunda, daha kırmızıya kayan boyalar elde etti. Bu bileşiği, Yunanca gül anlamına gelen *rhodon* kelimesinden esinlenerek rodamin olarak isimlendirdi. Ceresole'nin ilk çalışması 3-dimetilaminofenol ile ftalik anhidritin tepkimesi sonucunda elde ettiği tetrametilrodamin, pembe renkli, yüksek floresan şiddetine sahip bir boyaydı[36,37]. Rodamin B ve birçok rodamin türevi ise Noelting ve Dziewonski tarafından 1905 yılında sentezlendi[38,39]. Şekil 2.2'de floresin, tetrametilrodamin ve rodamin B boya yapıları gösterilmiştir.

Rodamin boya yapıları, tekstil, kağıt, plastik, lazer boyası, floresan kuantum verimi standartı, baskı, biyomedikal ve deri gibi endüstrilerde yaygın olarak kullanılan bir boyadır. Rodamin boya yapıları, biyomedikal araştırmalarda floresan işaretleyici olarak kullanılırken, diğer alanlarda da renklendirici, su işaretleyici veya fotoaktifleyici ajan olarak kullanılabilirler. Ksanten boyalar içinde çevreye en duyarlı olması ve amfoterik

yapısı sayesinde rodamin B, yemek ve kumaş sektöründe boyama ajanı olarak kullanılmıştır. Mol kütlesi 479,02 g/mol olan rodamin B, IUPAC isimlendirmesine göre N-[9-(orto-karboksifenil)-6(dietilamino)-3H-ksanten-3-ili-den] dietil amonyum klorür olarak adlandırılır[2–5].



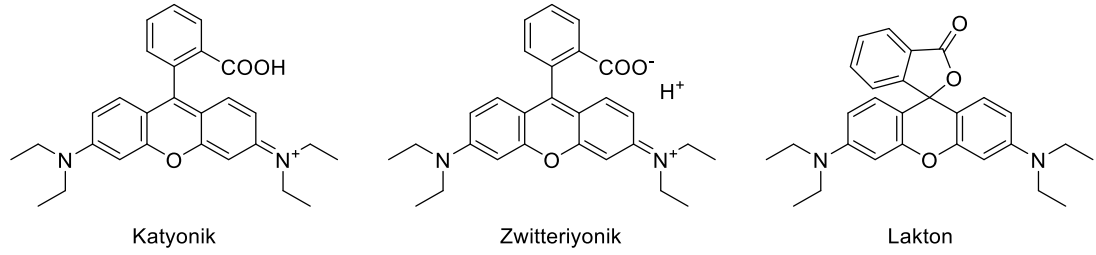
Şekil 2.2 : Floresin, tetrametilrodamin ve rodamin B boyaları.

2.2.1 Rodamin boyalarının fotofiziksel özellikleri

Rodamin, yüksek absorpsiyon katsayısı ve yüksek kuantum verimi gibi eşsiz fotofiziksel özellikleri sahip, yüksek emisyon dalgaboyu değerlerinde çalışan, araştırmacıların sıklıkla kullandığı bir floresan iskelet yapısıdır. Bu üstün ve sabit optik özellikleri rodaminin kısmen rijit yapısından gelmektedir[6].

Rodaminler, içerdiği süstitüentlere ve karşıt iyonlara bağlı olarak farklı fotofiziksel özellikler gösterebilir. Farklı konumlarından türetilen rodaminlerin çözeltileri, farklı absorpsiyon ve emisyon maksimumları gösterirken, floresan ömrü ve kuantum verimlerinde değişiklikler gözlenir.

Çok sık kullanılan iki rodamin türeği olan, rodamin 101 ve rodamin B, pH ve çözücü polaritesi değişikliklerine karşı ilgi çekici davranışlarda bulunurlar. Rodamin bileşiklerinde, nötral koşullarda kapalı/floresan-olmayan formu ile açık/floresan-aktif formu arasında bir denge hali söz konusudur. Asidik çözeltilerde, karboksil grubu protonlanır ve katyonik forma geçer. Bazik çözeltilerde ise, ayrışma gözlemlenir ve zwitteriyonik yapıya bürünür. Katyonik ve zwitteriyonik formları aynı kromofora sahip olmalarına karşın, eksi yük, ksanten halkasının üzerinde yer alan karbon atomunun üzerinde indüktif etki oluşturur ve absorpsiyon ve floresan maksimumlarında değişikliğe ve molar absorpsiyon katsayılarında farklılığa sebep olur[2,7].

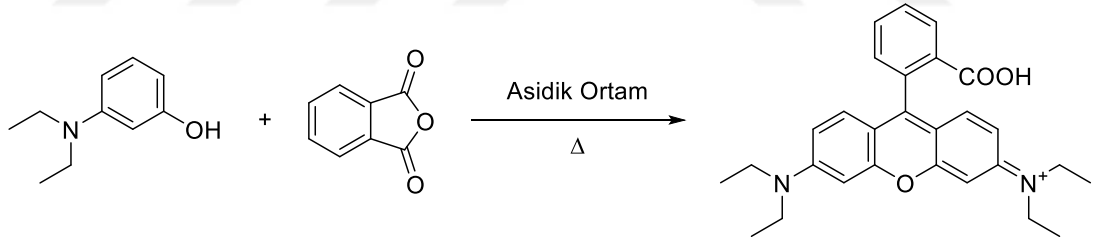


Şekil 2.3 : Rodamin B boyasının, katyonik, zwitteriyonik ve lakton formları.

Rodamin boyalarının katyonik ve zwitteriyonik formları, farklı çözücü ortamlarında kuantum verimi ve floresan ömrü değerleri anlamında da küçük farklılıklara sahiptirler. Düşük polaritedeki organik çözücülerde, zwitteriyonik boya renksiz kuantum verimi ve floresan ömrü çok düşük olan, π -konjugasyonunun kesildiği, lakton (şekil 2.3) formuna dönüşebilir[40].

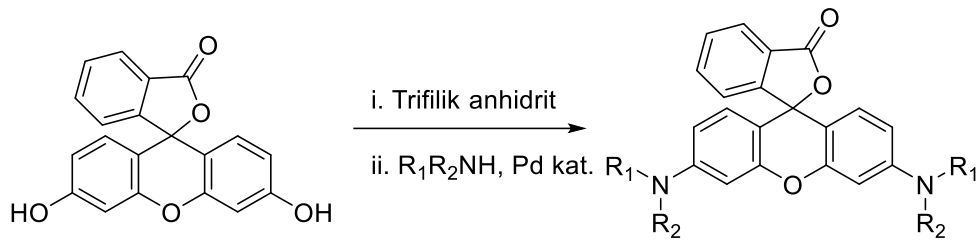
2.2.2 Rodamin boyalarının sentezi

Rodaminler, diğer ksanten boyalarına benzer şekilde hazırlanması mümkündür. Simetrik rodaminler, en bilindik ve kolay yöntem olan 1 ekivalent ftalik anhidrite karşı, 2 ekivalent 3-süstitüye fenollerin H_2SO_4 , $ZnCl_2$ ve $MeSO_3H$ gibi asidik katalizörler eşliğinde kondenzasyon tepkimeleri sonucunda sentezlenirler (şekil 2.4).



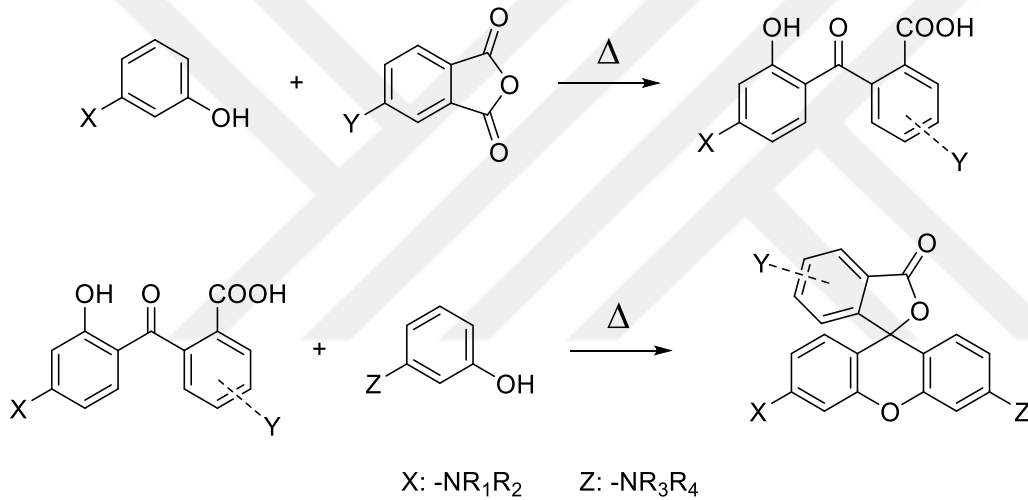
Şekil 2.4 : Rodamin B sentezi.

Rodaminler, floresin üzerinden de sentezlenebilir[41]. Floresin bileşiğinde floresin bistriflat formuna dönüştürüldükten sonra, aminler, üre, amitler ve karbamatlar gibi azot içeren nükleofiller ile Pd katalizörlüğünde tepkimeye sokularak rodamin türevlerine dönüştürülebilirler(şekil 2.5)[38].



Şekil 2.5 : Floresin üzerinden rodamin türevleri sentezi.

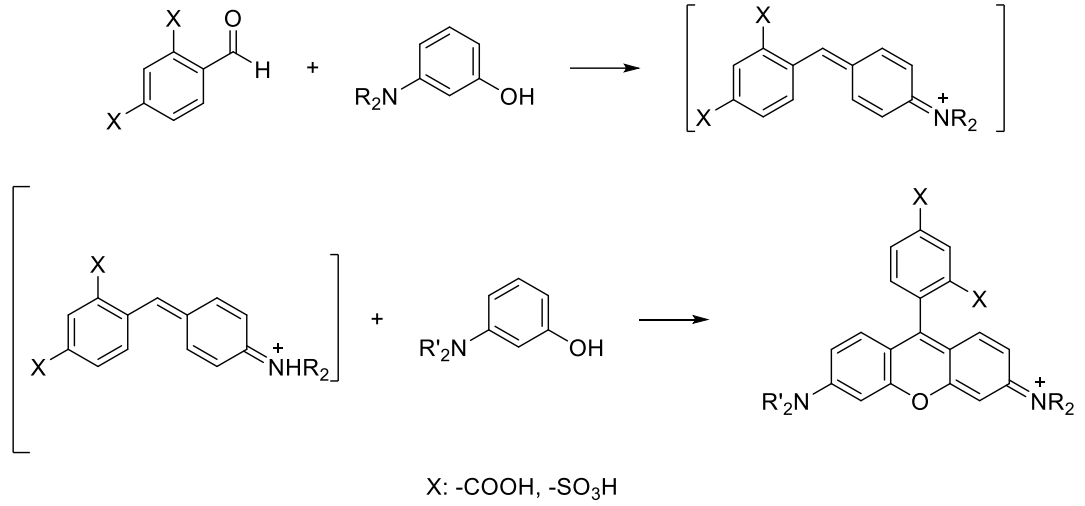
Asimetrik rodaminler, iki kademeli bir sentez yöntemi ile hazırlanabilir. İlk kademede, eşit ekivalent değerlerinde ftalik anhidrite ile 3-sübstitüye fenollerin tepkimesi sonucunda bir ketoasit formu elde edilir. Elde edilen bu keto asit, yine 3-sübstitüye fenol ile H_2SO_4 , $ZnCl_2$ ve $MeSO_3H$ gibi asidik katalizörler eşliğinde tepkimeye sokularak asimetrik rodaminler (şekil 2.6) elde edilebilir[38].



Şekil 2.6 : Asimetrik rodamin sentez yöntemi.

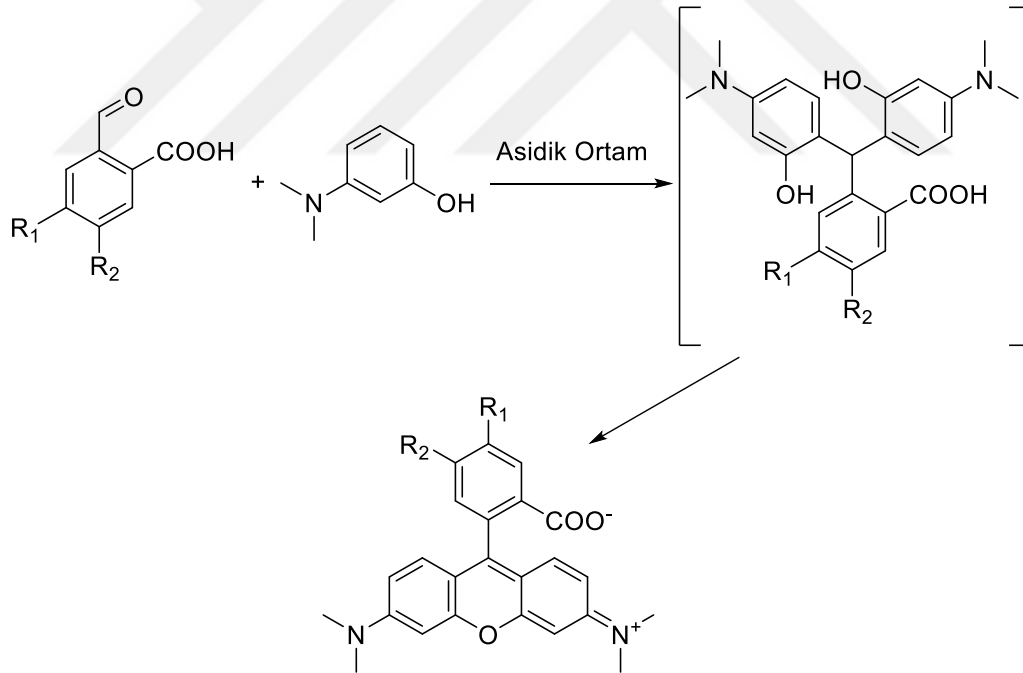
Asitmerik rodaminler için bir başka yöntem, Chevalier ve ekibi tarafından önerilmiştir. Benzaldehit türevi ile 3-sübstitüye fenollerin tepkimesi sonucu, Michael-tipi akseptör elde edilir. Bu yapı ile, 3-sübstitüye fenoller tepkimeye sokularak asimetrik rodaminlerin eldesi mümkündür (şekil 2.7).

Rodaminlerin sentezinde karşılaşılan güçlüklerden bir tanesi, 4-sübstitüye ftalik anhidrit ile 3- sübstitüye fenolün tepkimesi sonucunda, ayırması çok zor olan bir izomer karışımlarının meydana gelmesidir. İzomer karışımlarının ayrılması için, fraksiyonel kristallendirme ve kolon kromatografisi gibi yöntemler önerilse de, bu yöntemlerin de başlı başına güçlükleri bulunmaktadır.



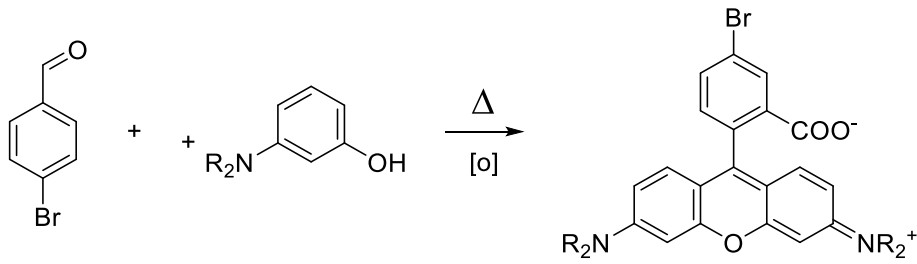
Şekil 2.7 : Benzaldehit türevi ile 3-sübstitye fenollerin tepkimesiyle rodamin sentezi.

Bu güçlükleri aşmak için önerilen yöntemlerden bir tanesi, Auer ve ekibinin önerdiği, ftalaldehidik asitlerin 3-sübstitye fenol türevleri ile asidik koşullar altında tepkimeye sokularak elde (şekil 2.8) edilmesidir[42].



Şekil 2.8 : Ftalaldehidik asitlerin 3-sübstitye fenol türevleri ile tepkimesiyle rodamin sentezi.

Burgess ve ekibinin yaptığı bir diğer çalışmada ise, 4-bromorodamin türevleri, mikrodalga ısıtma yöntemi ile gerçekleştirilmiştir[43]. 4-Bromobenzaldehit ile, 3-sübstitye fenol türevlerinin tepkimesi sonucunda 4- konumunda seçici rodamin türevleri elde edilmiştir (şekil 2.9).



Şekil 2.9 : 4-Bromobenzaldehit ile, 3-sübstitüye fenol türevlerinin tepkimesi sonucu rodamin eldesi.

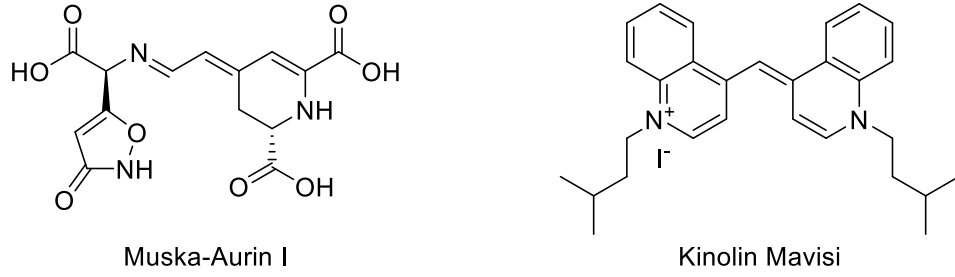
2.3 Siyanin Boyaları

Siyanin boyaları, sentetik pigmentler ailesinin en eski ve en çok çalışılan üyelerinden bir tanesidir. Polimetin siyanin boyaları, fotoğrafçılıkta, lazerlerde, güneş pillerinde, optik sensörler ve hücre boyamalarında kullanılmaktadır. Hücre boyama araştırmalarında kullanımı son yıllarda, bu alanda siyanin boyalarına olan ilgiyi arttırmıştır. İndokarbosiyanin türevleri, fotokararlılığı, geniş absorpsiyon katsayısı, floresan verimi, yaygın lazerler ve tek-foton sayan dedektörlerle uyumu ve ticari olarak bulunabilmesi sebebiyle, protein ve nükleik asit işaretleme alanında kullanılan floroforlar haline gelmişlerdir[8].

Siyanin boyaları kimyası son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Eczacılık, fotoaktifleyiciler, analitik kimyada indikatörler, antitumor veya antikanser ajanı, bakteri veya mantar öldürücü ajan olarak kullanımının yanında biyomolekül işaretleme, lazer teknolojileri, organik güneş hücreleri, optik diskler, tekstil, yazıcı mürekkebi, kozmetik içerik, solvent polaritesi için indikatör, polimer boyası, fotodinamik terapi ajanı olarak kullanılabilir. Siyanin boyalarının sentezi ve çeşitli alanlarındaki kullanımının büyük bir hızla artmaktadır. Aslen siyanin boyaları iki azot içeren heterosiklik yapının konjuge bir şekilde bağlanmasından meydana gelir. Şans eseri keşfedildiğinden beri siyanin boyaları, doğal renklendiriciler grubunda sınıflandırılır. Pancar içeriğinde bulunan ve pancarın kırmızı-mor rengini veren betanin, görünür bölge (537 nm) dalga boyunda absorpsiyon vermektedir. Sinek mantarı içeriğinde bulunan kırmızı-turuncu renkli muska-aurin I (şekil 2.10) bileşeni de yine siyanin boyar madde grubu içerisinde yer alır[44].

Siyanin boyaları, genellikle aktif metil grubu içeren heterosiklik bileşiklerin bazik katalizle alkol içerisinde kondenzasyon reaksiyonları ile hazırlanır. Bilinen ilk siyanin

boyası olan kinolin mavisi (şekil 2.10), 1956 yılında Greville Williams tarafından kinolinin izoamil kuarternler tuzu ve lepidin ile sentezlenmiştir[45].



Şekil 2.10 : Muska-aurin I ve kinolin mavisi.

2.3.1 Siyanin boyalarının fotofiziksel özellikleri

Siyanin boyaları, 380 ile 1100 nm arasında absorpsiyon dalga boylarına sahip, görünür ve yakın kızılötesi bölgelerde absorpsiyon ve emisyon yapabilen boyalardır. Görünür bölgede kuvvetli absorpsiyonu siyanin boyaları, optik cihazlar için potansiyel bir aday olarak görülmektedir. Siyanin boyaları agregasyon sebebiyle, spektral kayma floresan sönemleme gibi spektroskopik değişikliklere sebep olabilmektedir. Agregasyon kaynaklı değişikliklerden yararlanarak, optoelektronik cihaz tasarımları gerçekleştirilmiştir. Absorpsiyon ve emisyon spektroskopileri kullanılarak, sıcaklık, çözücü ortamı gibi parametreler üzerinden siyanin boyalarının agregasyon özellikleri yoğun bir şekilde çalışılmıştır.

Siyanin boyalarında absorpsiyon ve emisyon maksimumları, heterosiklik yapıların arasında yer alan polimetin köprü uzunluğuna göre değişiklik gösterir. Büyük çoğunluğu görünür bölgede yer almasına karşın, yakın IR bölgesinde absorpsiyon yapan birçok siyanin örneği mevcuttur.

Siyanin boyalarının optik özellikleri, çözelti içinde çeşitli karmaşık fizikokimyasal dönüşümlere girebildikleri için ayarlanabilmektedir. Siyanin boyalarının düşük floresan kuantum verimi yarışmacı iç dönüşüm ve fotoizomerleşme prosesleri üzerinden değerlendirilir. Siyanin boyaları güçlü absorpsiyon yapmalarına karşın, kimyasal ve fotokimyasal kararsızlıkları karşılaşılan en büyük problemlerdendir. Dendrimerler, siklodekstrinler veya nanoparçacıklar içerisine kimyasal olarak modifiye edilen siyaninler ile kararlılık ve floresan özelliklerinde gelişme gözlenmiştir.

İndol içeren siyanin bileşiklerinde, anyonların absorpsiyon ve emisyon özelliklerinde önemli bir yeri vardır. Çözelti halindeki siyaninlerin, anyon seçimine bağlı olarak molar absorpsiyon ve Stokes kaymalarında değişiklikler görülmüştür. Karşıt iyonlar, π -sistemleri ile etkileşerek, yeniden düzenlenme enerjilerinde değişikliklere sebep olurlar. Ek olarak, karşıt iyon büyüklüğü de siyanin boyalarının morfolojisini ve katı hal optik özelliklerini etkilemektedir[9,10].

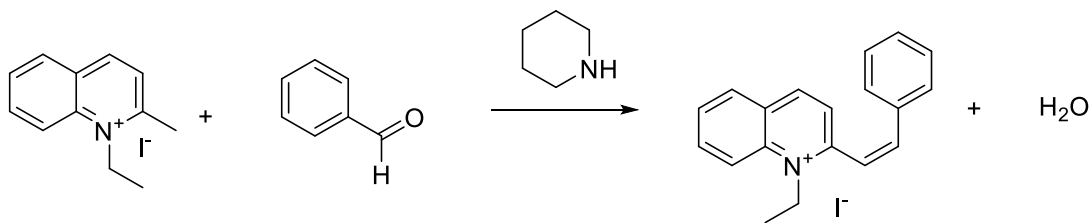
Görünür bölge spektrumunda absorpsiyon delokalize π -elektron sistemi ve polimetin zincirinin uzunluğuyla alakalıdır.

Akışkan çözücüler içerisinde kısa polimetin zincirli siyaninler, polimetin C–C bağının etkin bir şekilde dönmesi sebebiyle, kısa floresan ömrü ve düşük kuantum verimi ile tanımlanmıştır. Yüksek vizkoziteli çözücülerde çözünerek ve biyomoleküllere bağlanarak, bağ dönmesi sterik olarak engellendiğinde floresan etkinliğinde önemli ölçüde artış gözlenmiştir. Floresan ömürleri ise, sıcaklık ve solvent vizkozitesinden doğrudan etkilenmektedir. Daha uzun polimetin zincirine sahip siyaninler için C–C bağlarındaki dönme nedeniyle floresan deaktivasyon olsa da, akışkan çözücülerde daha makul kuantum verimi ve uzun floresan ömrü gözlenmiştir[8].

2.3.2 Siyanin boyalarının sentezi

Siyanin boyalarının sentezi, heterosiklik bileşiklerin uygun aktif gruplar ile kondenzasyon reaksiyonları ile eser miktarda bazik ortamda gerçekleşir[10].

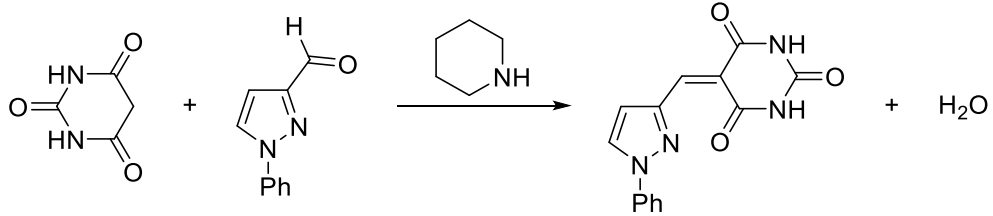
Stiril grupları içeren siyaninler, bir karbanyon oluşumunu takip eden, aldehidik karbonil grubunun eklenmesiyle devam eden bir süreçle oluşur. Anyona proton transferi gerçekleştikten sonra, su çıkışıyla beraber stiril tipi siyaninlerin sentezi (şekil 2.11) gerçekleşir[45].



Şekil 2.11 : Stiril tipi siyanin sentezi.

Aza-siyanin boyalar ise, karbanyona nükleofilik atak sonucunda, su çıkışı ile devam eden sürecin sonunda meydana gelir. Isıtılma sonucu su çıkışı gerçekleştikten sonra aza-siyanin boyaları sentezi gerçekleşmiş olur. Halkalı merosiyanin boyalarında ise

ilk kademede nükleofilik atak sonucunda aktif veya asidik CH₂ grubu karbanyon oluşturur ve piperidin katyonu meydana gelir (şekil 2.12). Ardından, polarize aldehidik gruba gelen nükleofilik atağı takip eden süreçte su çıkışıyla beraber halkalı merosiyanin yapısı meydana gelir[45].



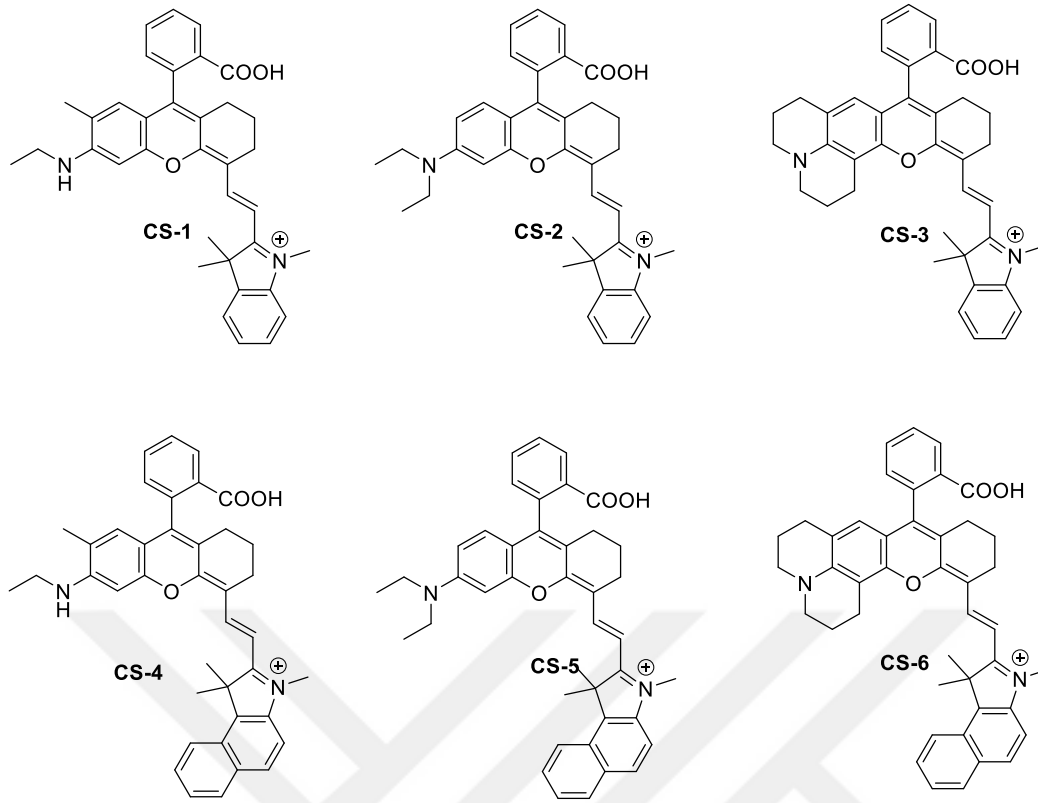
Şekil 2.12 : Halkalı merosiyanin sentezi.

2.4 Kromenilyum-Siyanin Boyaları

Siyanin boyaları yakın kızılötesi bölgede sıklıkla kullanılan floresan sensör bileşiklerinden bir tanesidir. Rodamin boyaları ise, yüksek molar absorpsiyon katsayısı ve kuantum verimlerine sahip, üstün fotofiziksel özelliklere sahiptir. Bunun yanında, karboksilik asit grubuna sahip olması ve molekül içi halkalaşma reaksiyonuna girmesiyle birlikte rodamin boyaları, halka açılma-kapanma mekanizmasıyla analit tanıma anlamında değerlidirler. Siyanin boyalarının yakın kızılötesi bölgede absorpsiyon ve emisyon yapması ile, rodamin boyalarının spirohalkasının açma-kapama özelliğinin bir arada kullanılması fikri ilk olarak Yuan ve ekibi tarafından sentezlenen bileşiklerle ortaya konulmuştur.

Yuan ve ekibi, merosiyanin A bileşiğinden esinlenerek, kromenilyum-siyanin (ilk isimlendirilmesi Changsha boyası) tipi bileşikler, merosiyanin A ile benzoik asit hibriti şeklinde ortaya koymuştur. Kromenilyum-siyanin boyalarında floresan kapalı-açık geçişleri, spirohalka kapanması-açılması mekanizmasıyla beraber görülmektedir. Yakın kızılötesi bölgede absorpsiyon ve emisyonla sahip, floresan kuantum verimleri oldukça iyi olan yeni tip boyar maddeler bu çalışmayla literatüre kazandırılmıştır[11,46]. Bu özellikleri sayesinde kromenilyum-siyanin boyaları, yeni tip sensör platformlarında sıklıkla kullanılan bir yapı haline gelmiştir[47–57].

Şekil 2.13'te Yuan ve ekibinin sentezlemiş olduğu kromenilyum siyanin yapıları yer almaktadır.

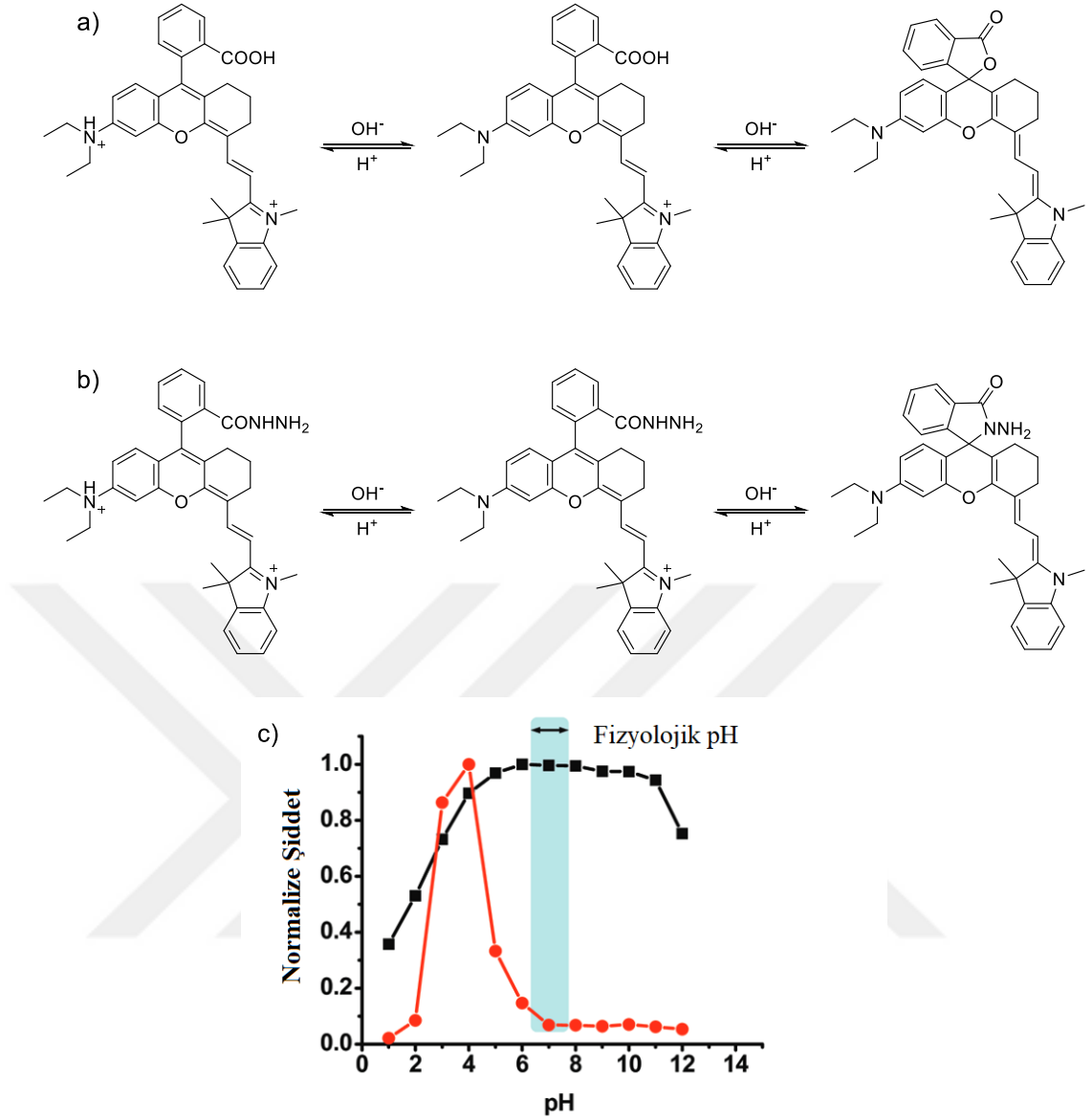


Şekil 2.13 : Yuan ve ekibinin sentezlemiş olduğu kromenilyum siyanin yapıları.

2.4.1 Kromenilyum-siyanin boyalarının fotofiziksel özellikleri

Kromenilyum-siyanin boyaları, yakın kızılötesi bölgesinde absorpsiyon ve emisyon (650-800 nm) gösteren bileşiklerdir. Rodamin boyalarına kıyasla, molar absorpsiyon katsayısı, Stokes kaymaları ve parlaklık değerleri, kromenilyum-siyanin bileşiklerinde daha üstün özellik olarak ön plana çıkmaktadır. Yakın kızılötesi bölgesinde yer alan türlerin de sorunu olarak görülen düşük kuantum verimleri problemi de kromenilyum-siyanin bileşikleriyle aşılmıştır. Bununla beraber, kromenilyum-siyanin boyaları fotokararlılığı ve kimyasal dayanıklılığı da ön plana çıkmaktadır.

Kromenilyum-siyanin bileşikleri, farklı pH (5–11) değerlerinde, yüksek floresan şiddetine sahipken, yüksek pH değerlerinde (>11) halkalaşma gerçekleşmesi nedeniyle floresan şiddetinde düşme gözlemlenir. Amid formunda ise, fizyolojik pH bölgesinde spirohalka kapalı ve floresan şiddeti düşükken, pH değerleri 2–6 aralığında açık formda (yüksek floresan şiddeti) yer almaktadır. Bu da, kromenilyum-siyanin bileşiklerinin, rodamin boyalarında olduğu gibi fizyolojik pH değerlerinde (şekil 2.14) çalışmaya uygun bileşikler olduğunu göstermektedir[11].



Şekil 2.14 : Kromenilyum-siyanin boyalarının a) asit ve b) amit formlarının farklı pH değerlerindeki yapıları, c) asit (siyah) ve amit (kırmızı) yapılarının farklı pH değerlerindeki davranışları.

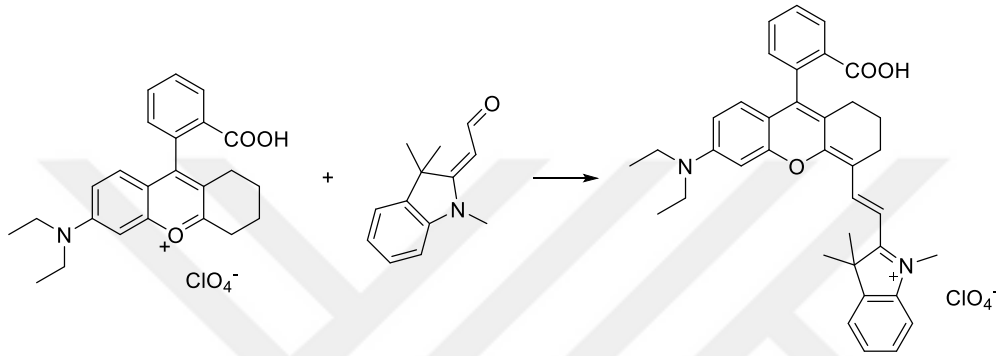
Kromenilyum-siyanin bileşiklerinde, kromenilyum merkezine farklı konjuge grupların bağlanmasıyla farklı fotofiziksel özelliklere sahip bileşikler elde edilebilir. Kromenilyum merkezinde yer alan sübstitüe grupların ve halka büyüklüğünün de kuantum verimi, absorpsiyon ve emisyon dalga boyu maksimumlarını değiştirdiğinde, bu değişiklikler yapılarak uygun florofofor dizaynı yapmak mümkündür.

Kromenilyum-siyanin bileşikleri orantısal çalışmaya da uygun boyar maddelerdir. Uv-Görünür bölge spektroskopik çalışmalarında, halka açılma durumunda 700 nm civarında absorpsiyon artışı gözlemlenirken, 380 nm civarında ise azalma meydana

gelmektedir. Bu iki banddaki değişim ters orantılı olduğundan orantısal çalışmaya uygun bileşiklerdir[46].

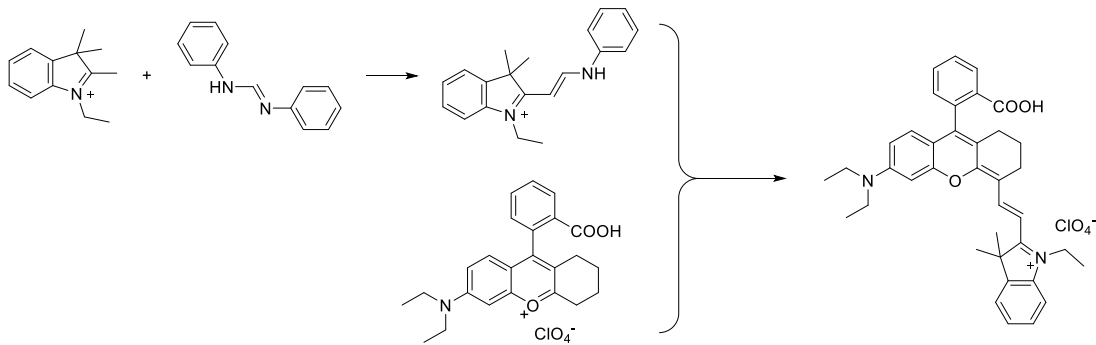
2.4.2 Kromenilyum-siyanin boyalarının sentezi

Kromenilyum-siyanin boyar maddeleri, ilk olarak 2012 yılında Yuan ve ekibi tarafından 9-(2-karboksifenil)-6-(dialkilamino)-1,2,3,4-tetrahidroksantilyum perklorat bileşiği ile Fischer aldehitin asetik anhidrit içerisinde reaksiyona sokulması sonucunda elde edilmiştir[11].



şekil 2.15 : Yuan ve ekibi tarafından sunulan kromenilyum-siyanin sentezi.

Daha sonraki süreçte ise, klasik siyanin sentez yöntemlerini de kullanarak, bu sentez yönteminde geliřtirmelere gidilmiřtir. Li ve ekibi, yine 9-(2-karboksifenil)-6-(dialkilamino)-1,2,3,4-tetrahidroksantilyum perklorat bileşiği ile asimetrik siyanin bileşiği ile potasyum asetat ve asetik anhidrit ile tepkimeye sokarak (şekil 2.16), kromenilyum-siyanin bileřiklerini daha yüksek verimle elde etmişlerdir[58–60].



şekil 2.16 : Li ve ekibinin geliştirdiği yöntem ile kromenilyum-siyanin sentezi.

2.5 Spektral Yöntemlerle Cıva Tayini

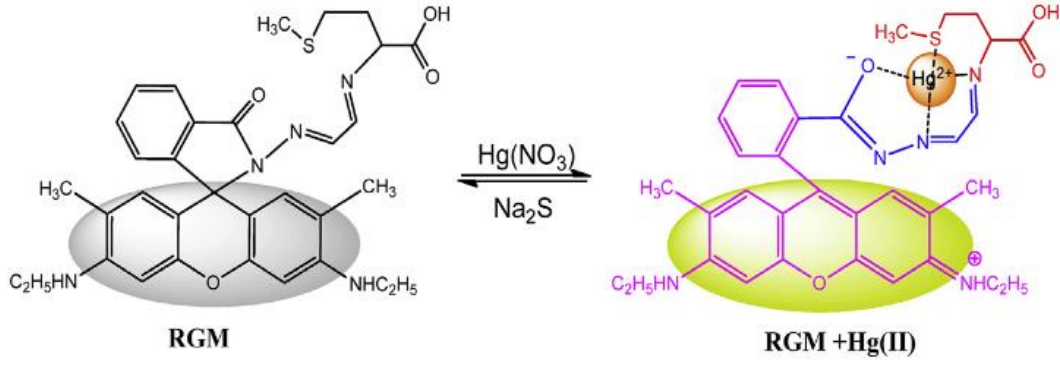
Dünya Sağlık Örgütünün de öncelikli endişe duyulan kimyasallardan biri olarak tanımladığı cıva, doğada yaygın olarak bulunmakta ve besin zincirinde depolanarak insanlara geçebilmektedir. Farklı formlardaki cıva ile etkileşim, çeşitli sağlık problemlerini beraberinde getirmektedir[61].

Düşük konsantrasyonlarda bile zehirli bir metal olan cıvanın tayini için, seçici, hassas, yerinde ve hızlı bir tayin yöntemi geliştirilmesi önemlidir. Cıva tayini için atomik absorpsiyon spektroskopisi, endüktif olarak eşleşmiş plazma-atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES), voltametri gibi yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler, daha düşük tespit limitleri (LOD) aralıkları ile oldukça doğru sonuçlar ve iyi seçicilik sağlasa da, zaman alan katı numune hazırlama prosedürleri, yan maliyetleri olan yüksek fiyatlı cihazlar ve özel teknik destek gerektirir. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için araştırmacılar, biyolojik veya çevresel bir numunedeki analitleri üstün seçicilik ve hassasiyet, anlık yanıt verebilen ve ucuz bir şekilde tayin edebilen florometrik ve kolorimetrik sensörler üzerinde çalışmaktadırlar[25].

2.5.1 Rodamin boyası ile yapılmış cıva tayini çalışmaları

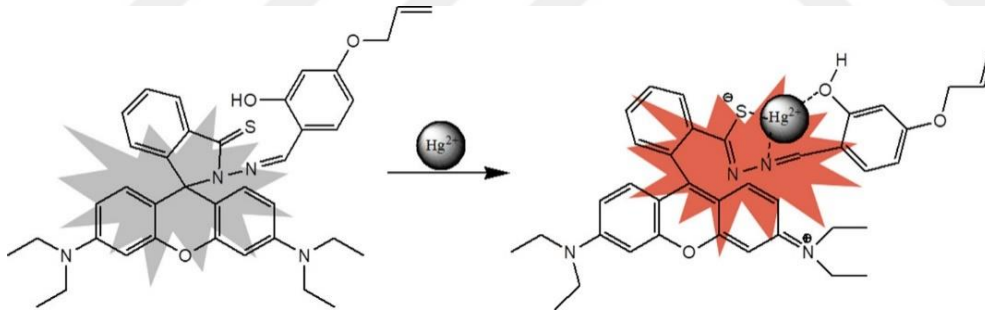
Eski bir boya olan rodaminler, Czanick'in yayınladığı makale sonrasında, kemodosimetre olarak kullanımı, florofor araştırmalarında yeni bir trend oluşturmuştur[62]. Çizelge 2.1'de rodamin tabanlı sensör ve çalışma koşulları yer almaktadır.

Panja ve ekibi, sentezlemiş oldukları, metiyonin ile türevlendirilmiş, Schiff bazı içeren, rodamin 6G türevi **RGM** isimli sensör bileşiği ile Hg^{2+} tayinini geri dönüşümlü olarak gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.17). **RGM** yapısı içerdiği metiyonin parçası sayesinde, Hg^{2+} için tiyofilik karaktere sahip olduğu için seçicilik anlamında önemli bir özelliğe sahiptir. Spirolaktam halkasının Hg^{2+} ile tetiklenerek açılması sonrasında, absorbans 528 nm, floresan şiddeti ise 545 nm dalga boyu değerinde maksimum vermiştir. Tris-HCl tamponu içeren CH_3CN/H_2O (1:1, v/v) çözeltisi içerisinde yaptıkları çalışmada, 0–20 μM arasında doğrusal olarak çalışabilen probun LOD değeri ise $2,63 \times 10^{-8} M$ olarak belirlenmiştir[63].



Şekil 2.17 : Panja ve ekibinin, **RGM** isimli probu ile cıva tayin mekanizması.

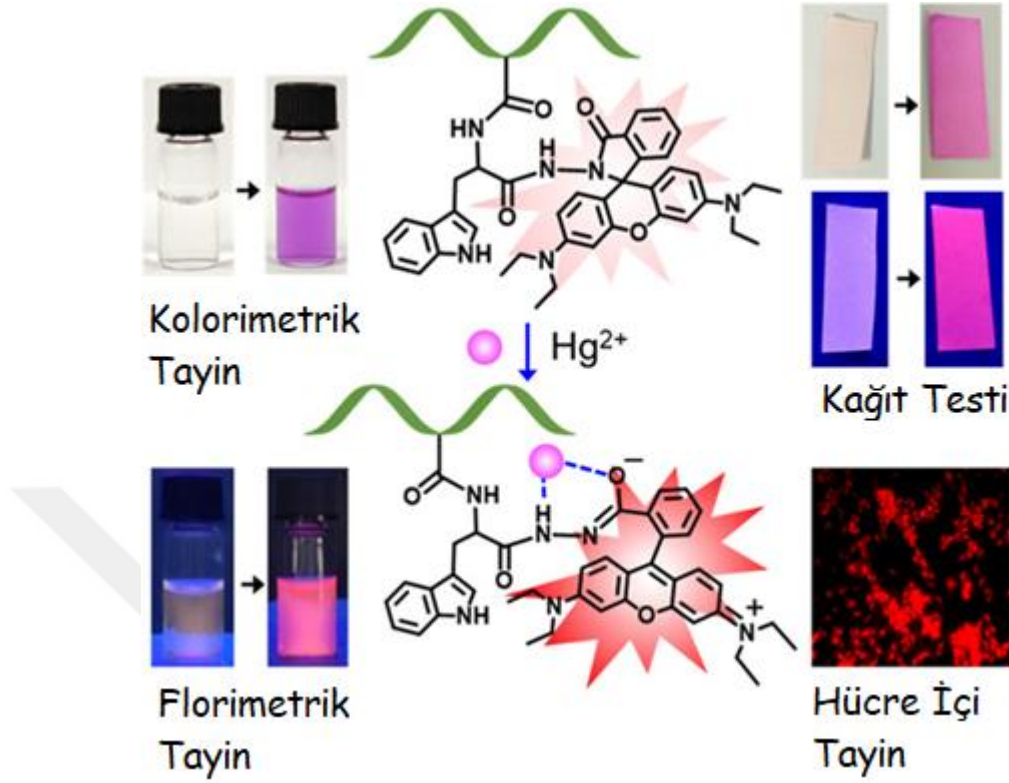
Wang ve çalışma arkadaşları, yaptıkları çalışmada allil fenil eter ile türevlendirilmiş, tiyospirolaktam halkasına sahip, rodamin B tabanlı bir prob kullanarak Hg^{2+} tayinini 50% sulu etanol (pH, 7.24) ortamında gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.18). Bu koşullarda renksiz olan prob, Hg^{2+} eklenmesiyle, pembe renkli floresan aktif bir hal almıştır. Hg^{2+} ile 1:1 kompleks oluşturan prob, 565 nm dalga boyunda absorbans, 586 nm dalga boyunda ise emisyon şiddeti artışı göstermiştir. $8,0 \times 10^{-8}$ ile $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} aralığında doğrusal olarak çalışabilen prob için LOD değeri ise, $3,0 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} olarak tespit edilmiştir[64].



Şekil 2.18 : Wang ve ekibinin, allil fenil eter ile türevlendirilmiş probu ile Hg^{2+} tayini.

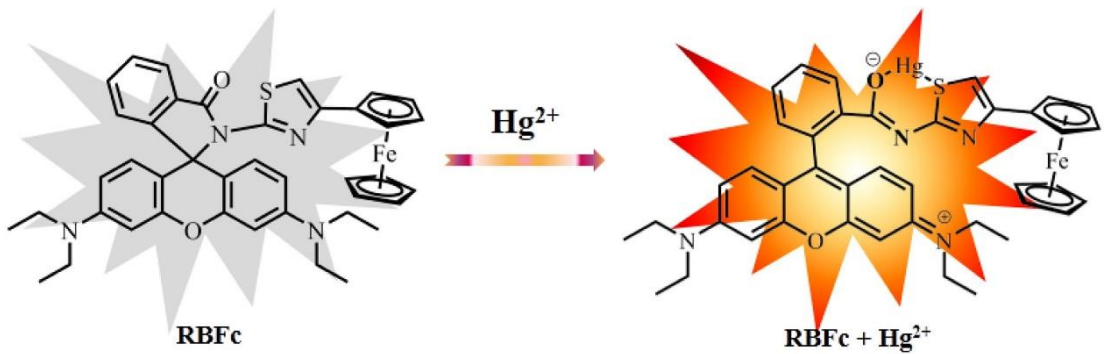
De ve arkadaşları, triptofan metil ester metil metakrilat ve dimetilakrilamid parçaları içeren polimere bağlı rodamin B hidrazit yapısı (**CP2**) üzerinden Hg^{2+} analizi yapmışlardır. Sulu ortamda (pH 7,0) yapılan çalışmalarda, çeşitli katyonlar ortamda bulunduğu da dahi prob, Hg^{2+} iyonuna karşı seçici ve hassas olarak yanıt vermiştir. LOD değeri 10,7 nM olan probun, doğrusal çalışma aralığı 5–50 nM olarak belirlenmiştir. Kolorimetrik ve florimetrik olarak kapalı-açık değişimi gözlenen prob, 560 nm dalga boyunda absorbans, 602 nm dalga boyunda ise emisyon maksimumu

vermektedir. Çalışma ayrıca hücre içinde ve test kağıdı ile Hg^{2+} analizi gibi uygulamalarla (Şekil 2.19) desteklenmiştir[65].



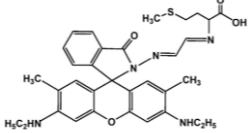
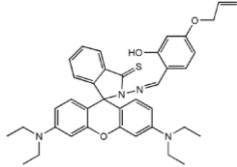
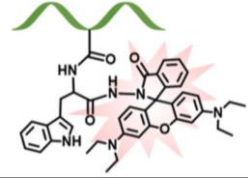
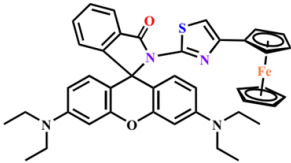
Şekil 2.19 : De ve arkadaşlarının yapmış olduğu Hg^{2+} tayin çalışması.

Shuai ve ekibi, sentezledikleri ferrosenil tiyazol grubu içeren rodamin B türü bileşik (RBFc) ile, Hg^{2+} tayinini sulu asetonitril ortamında gerçekleştirmişlerdir. Hg^{2+} eklenmesiyle birlikte, 560 nm dalga boyunda absorpsiyon, 621 nm dalga boyunda ise emisyon şiddetinde artış gözlenerek, renksiz prob açık pembe renge dönmüştür. Hg^{2+} ile 1:1 sitokiyometride kompleks veren prob, 4–9 μM aralığında ve 0,53 μM LOD değeriyle beraber Hg^{2+} tayinini (Şekil 2.20) gerçekleştirmiştir[66].



Şekil 2.20 : Shuai ve arkadaşlarının yaptığı sensör ile Hg^{2+} tayin mekanizması.

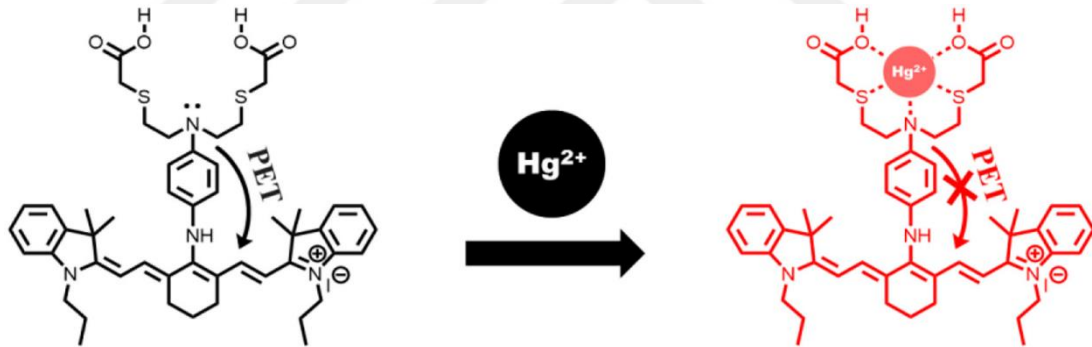
Çizelge 2.1 : Rodamin boyası ile yapılmış Hg^{2+} sensör çalışmaları.

Sensör	Ortam	Çalışma Aralığı	LOD	Absorpsiyon λ_{max} (nm)	Emisyon λ_{max} (nm)	Referans
	Tris-HCl tamponu CH_3CN/H_2O (1:1, v/v)	0–20 μM	$2,63 \times 10^{-8} M$	528	545	[63]
	50% sulu etanol (pH, 7,24)	$8,0 \times 10^{-8} - 1,0 \times 10^{-5} mol L^{-1}$	$3,0 \times 10^{-8} mol L^{-1}$	565	586	[64]
	Sulu ortamda (pH 7,0)	5–50 nM	10,7 nM	560	602	[65]
	Sulu asetonitril	4–9 μM	0,53 μM	560	621	[66]

2.5.2 Siyanin boyası ile yapılmış cıva tayini çalışmaları

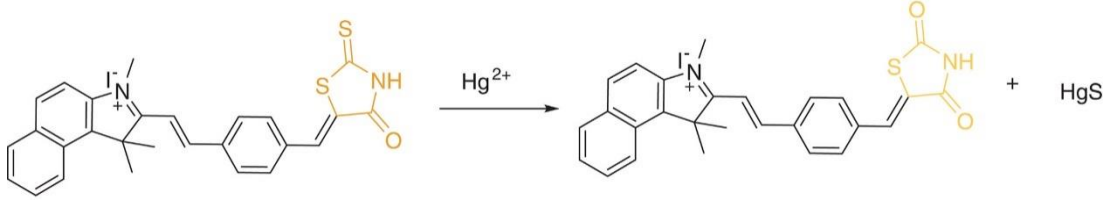
Siyaninlerin önemli bir kısmı, yüksek dalga boylarında yer alan türlerdir. Bu sebeple siyaninler, biyolojik örneklerde sıklıkla kullanılırlar. Biyolojik örneklerde verdiği minimum fotohasarı, otofloresandan kaynaklı düşük girişimin yanı sıra derin doku penetrasyonu gibi özellikleri, siyanin boyalarını floresan prob olarak kullanımını mümkün kılan önemli özelliklerdir[67]. Çizelge 2.2’de siyanin boyaları ile yapılmış sensörler yer almaktadır.

Yin ve ekibi, IR-780 siyanin boyasını tiyoeter-içeren dikarboksilik asit ile türevlendirerek Hg^{2+} için seçici ve girişim yapmayan bir prob (**Cys**) elde etmişlerdir (Şekil 2.21). EtOH/HEPES (v/v = 5/95, pH = 7,4) çözeltisi içerisinde prob, UV-görünür bölge spektroskopisinde, artan Hg^{2+} konsantrasyonu ile birlikte, 686 nm dalga boyunda absorpsiyonda azalma ve 758 nm dalga boyunda yeni bir band oluşumu gözlenmiştir. Floresan emisyonu ise Hg^{2+} eklenmesiyle birlikte, diğer metal iyonlarının aksine 790 nm dalga boyunda şiddetli bir artış göstermiştir. 1,5–7,5 μM aralığında çalışan prob, 7,3 nmol/L tayin limitine sahiptir[68].



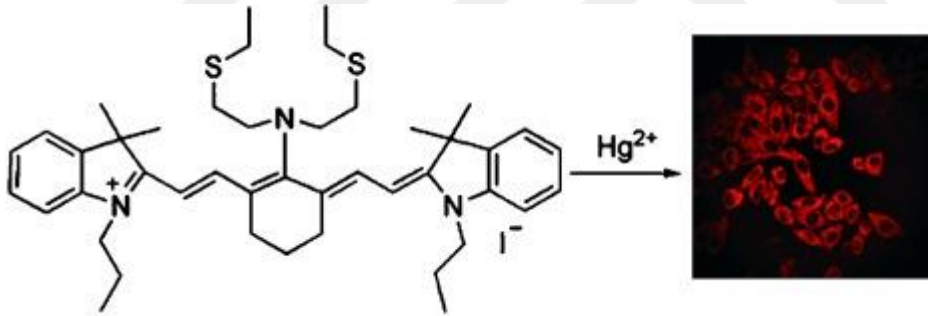
Şekil 2.21 : Yin ve ekibinin siyanine dayalı prob ile gerçekleştirdiği Hg^{2+} analiz mekanizması.

Zhou ve arkadaşları, sentezledikleri rodanin türevi CY probu ile Hg^{2+} analizini DMSO/ H_2O (7:3, v/v) ortamında gerçekleştirmişlerdir. Prob, bu ortamda 475 nm dalga boyunda absorpsiyon maksimumu verirken, Hg^{2+} eklenmesiyle hipsokromik kayma 440 nm civarında absorpsiyon maksimumu verir. Probun floresan emisyon şiddeti ise, Hg^{2+} varlığında 625 nm civarında artış göstererek yanıt verir. Prob, 4–16 μM aralığında ve $1,61 \times 10^{-7}$ M LOD değeriyle beraber çalışabilmektedir (Şekil 2.22)[69].



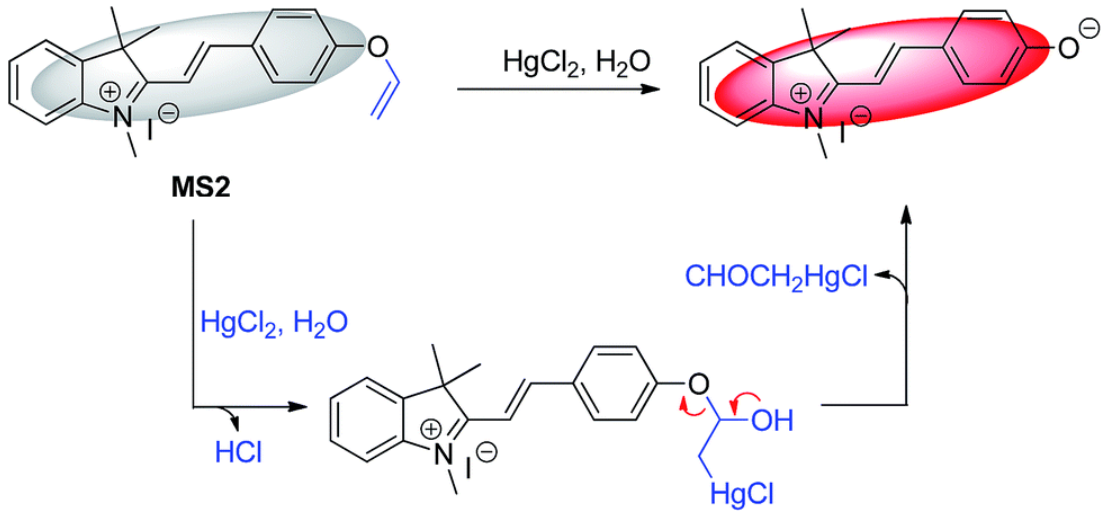
Şekil 2.22 : Zhou ve arkadaşlarının yaptığı Hg^{2+} analiz çalışması.

An ve çalışma arkadaşları, 3,9-ditiya-6-monoazaundekan ile türevlendirilmiş, trikarbosiyanin türevi prob DMA-Cy ile Hg^{2+} analizini %1'lik asetonitrilli sulu çözelti (10 mM PBS, pH 7,4) içerisinde yaptıkları çalışmada gerçekleştirmişlerdir. DMA-Cy probunda fotoindüklenmiş elektron transferi (PET) mekanizmasının sönmüleyici etkisi, Hg^{2+} eklenmesiyle beraber ortadan kalkarak 763 nm dalga boyunda, floresan şiddetinde bir artış gözlenmiştir. Floresan şiddeti Hg^{2+} eklenmesiyle birlikte $1,00 \times 10^{-7} \text{ M}$ ile $2,00 \times 10^{-6} \text{ M}$ aralığında doğrusal olarak artarken, LOD değeri $1,39 \times 10^{-8} \text{ M}$ olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada, HEPG2 hücreleri ve zebra balığında da Hg^{2+} analizi yapılarak (Şekil 2.23), uygulama biyolojik ortamlara taşınmıştır[70].



Şekil 2.23 : An ve ekibinin yaptığı Hg^{2+} ile tetiklenen hücre içi görüntülemesi.

Han ve ekibi, hemisiyanin tipi bir prob olan **MS2** ile Hg^{2+} analizini 1% asetonitril içeren sulu PBS tampon çözeltisi (pH = 7,4) içerisinde gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.24). **MS2**, 400 nm dalga boyunda absorpsiyon verirken, Hg^{2+} eklenmesiyle 400 nm dalga boyundaki bantta hafif azalma görülürken, 520 nm dalga boyunda ise yeni bir bant oluşumu gözlenmiş ve 412 nm dalga boyunda izosbestik nokta gözlenmiştir. Floresan şiddetinde de Hg^{2+} eklenmesiyle birlikte 551 nm dalga boyunda artışa sebep olmuştur. 0–30,0 μM aralığında çalışan **MS2**, HeLa hücrelerinde de görüntüleme yapılarak Hg^{2+} analizi yapılmıştır[71].



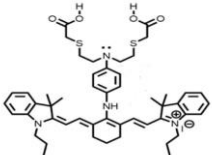
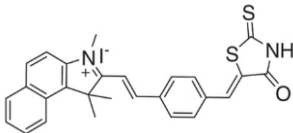
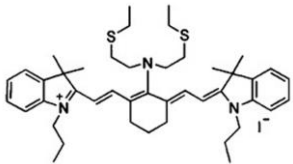
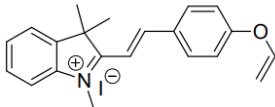
Şekil 2.24 : Han ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki Hg^{2+} analiz mekanizması.

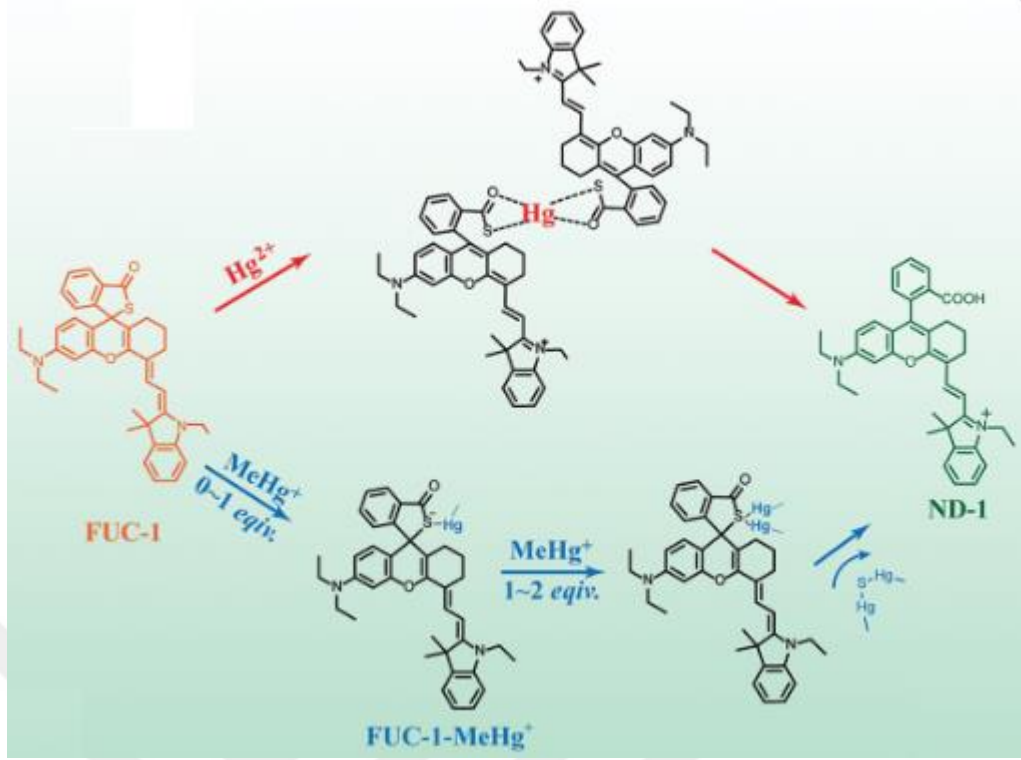
2.5.3 Kromenilyum-siyanin boyası ile yapılmış cıva tayini çalışmaları

Huang ve ekibi, sentezledikleri tiyolakton içeren kromenilyum-siyanin tipi boyar madde FUC-1 ile yakın kızılötesi bölgede, HEPES tamponu/etanol (v:v, 1:1) çözeltisi içerisinde Hg^{2+} ve metil cıva (MeHg^+) analizi (Şekil 2.25) gerçekleştirmişlerdir. Eklenen Hg^{2+} miktarına göre değişen absorbans incelendiğinde, 710 nm dalga boyunda bir artış gözlenmesiyle beraber, renksiz çözelti yeşil renge dönmüştür. Floresan titrasyonu incelendiğinde ise, 745 nm dalga boyundaki emisyon bandında 0–3 μM aralığında Hg^{2+} miktarıyla doğru orantılı olarak değişen bir artış gözlenmiştir. Proba, MeHg^+ eklenmesinde de Hg^{2+} eklenmesine benzer şekilde, 710 nm dalga boyunda absorbans ve 745 nm dalga boyunda emisyon şiddeti artışı gözlenmiştir. Proben, LOD değeri ise 2,78 nM olarak belirlenmiştir[58].

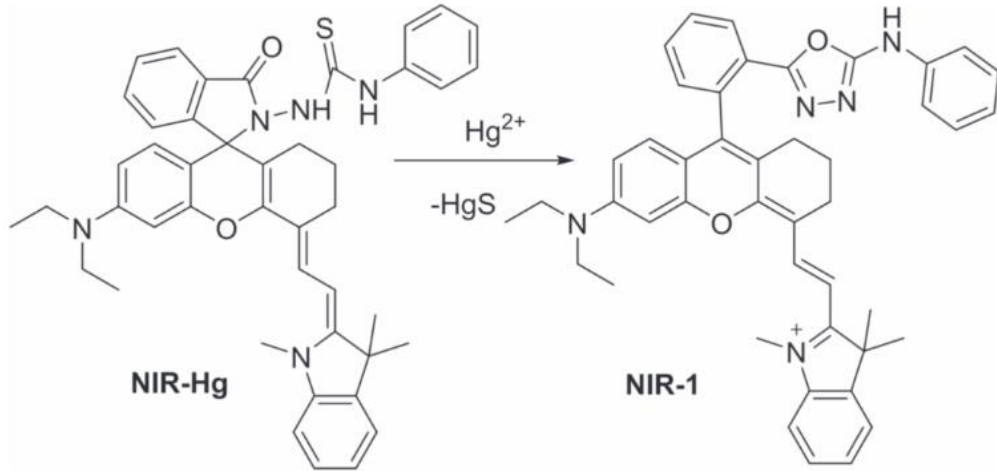
Fang ve arkadaşları, sentezledikleri 4-fenil-3-tiyosemikarbazit türevli kromenilyum-siyanin yapısı olan **NIR-Hg** probu ile, Hg^{2+} iyonunun tayinini %20 etanol içeren fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde gerçekleştirmişlerdir. Prob, sulu ortamda tiyosemikarbazit yapısından, oksazol yapısına dönüşerek Hg^{2+} iyonuna karşı yanıt (Şekil 2.26) vermiştir. Kapalı spirohalka yapısı, Hg^{2+} varlığında açılarak, 726 nm dalga boyunda absorpsiyon ve 746 nm dalga boyunda emisyon bandı meydana getirmiştir. Prob, 5×10^{-7} ile 5×10^{-6} M aralığında ve $5,8 \times 10^{-8}$ M tespit limitiyle çalışmıştır. Çalışma canlı hücreler ve *in vivo* olarak fareler üzerinde çalışılmıştır[72].

Çizelge 2.2 : Siyanin boyaları ile yapılmış Hg²⁺ sensörleri.

Sensör	Ortam	Çalışma Aralığı	LOD	Absorpsiyon λ_{max} (nm)	Emisyon λ_{max} (nm)	Referans
	EtOH/HEPES (v/v = 5/95, pH = 7,4)	1,5–7,5 μM	7,3 nmol/L	758	790	[68]
	DMSO/H ₂ O (7:3, v/v)	4–16 μM	$1,61 \times 10^{-7}$	440	625	[69]
	%1 asetonitril-su karışımı (pH 7,4)	$1,00 \times 10^{-7} \text{ M}$ - $2,00 \times 10^{-6} \text{ M}$	$1,39 \times 10^{-8} \text{ M}$	-	763	[70]
	%1 asetonitril-su karışımı (pH 7,4)	0–30,0 μM	-	520	551	[71]



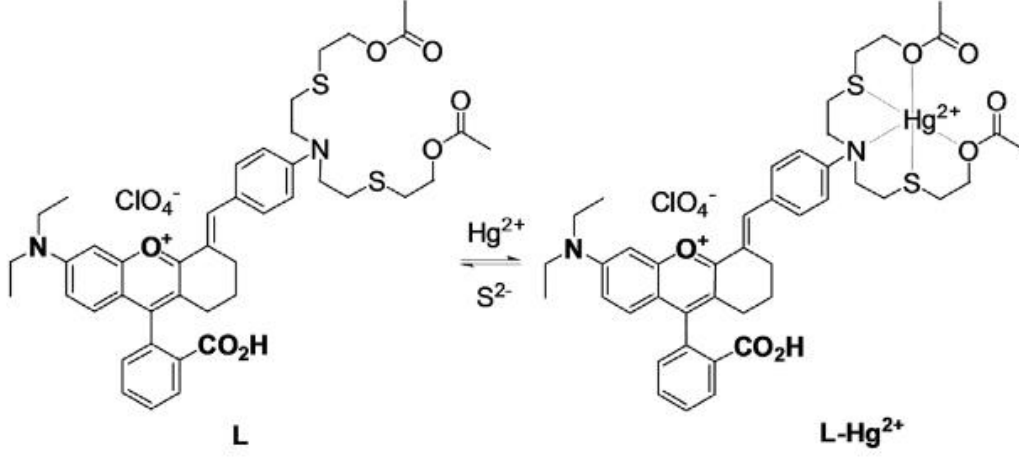
Şekil 2.25 : Huang ve ekibinin gerçekleştirdiği Hg^{2+} ve MeHg^+ analiz mekanizması.



Şekil 2.26 : Fang ve arkadaşlarının, 4-fenil-3-tiyosemikarbazit türevli kromenilyum-siyanın yapısı olan **NIR-Hg** probu ile, Hg^{2+} iyonunun tayini.

Zeng ve çalışma grubu, sentezledikleri NS_2O_2 heretoatomlarını içeren kromenilyum-siyanın tipi **L** probu ile etanol/ H_2O (1/2, v/v) ortamında Hg^{2+} iyonunu tersinir olarak analiz etmişlerdir(Şekil 2.27). 642 nm dalga boyunda absorpsiyon maksimumu veren mavi renkli prob çözeltisi, Hg^{2+} eklenmesiyle beraber mor renge dönüşmüş ve 557 nm dalga boyunda yeni bir pik oluşumu gözlenmiştir. Floresan spektrumunda ise, 728 nm dalga boyunda emisyonu olan prob, Hg^{2+} eklenmesiyle 663 nm dalga boyunda

hipsokromik kayma ile birlikte bir bant oluşumu görülmüştür. Hg^{2+} konsantrasyonu ile floresan emisyon oranı ($F_{663 \text{ nm}} / F_{728 \text{ nm}}$) 0–9 μM aralığında doğrusal olarak belirlenirken, LOD değeri 9.59 nM olarak hesaplanmıştır[56].

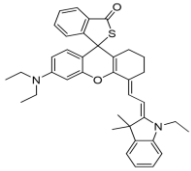
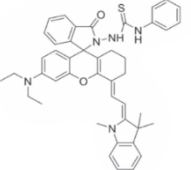
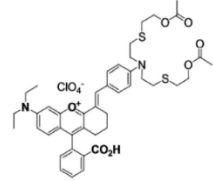
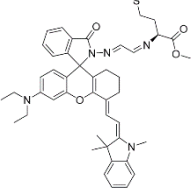


Şekil 2.27 : Zeng ve çalışma grubunun Hg^{2+} tayini çalışması.

Yılmaz ve çalışma grubu tarafından, Schiff bazı ve metiyonin metil esteri ile türevlendirilmiş, kromenilyum-siyanın tabanlı **CSME** probu ile seçici, hassas, hızlı ve geniş aralıklarda çalışabilecek şekilde Hg^{2+} analizi gerçekleştirmiştir. Yakın kızılötesi bölgede UV–görünür bölge spektroskopisinde $6,29 \times 10^{-8} - 1,86 \times 10^{-4} \text{ M}$ ve floresan spektroskopisinde $9,49 \times 10^{-9} - 1,13 \times 10^{-5} \text{ M}$ aralıklarında çalışabilen prob, $4,93 \times 10^{-9} \text{ M}$ (0,99 ng/mL) LOD değerine sahiptir. Hg^{2+} analizi içme ve musluk suyu örneklerinde de yüksek geri kazanım değerleriyle birlikte gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak, 3T3 hücrelerinde görüntüleme yapılarak biyolojik uygulamalara uyumluluğu gösterilen prob, aynı zamanda renk değişimine bağlı olarak akıllı telefon uygulaması üzerinden Hg^{2+} tayinine imkan tanımaktadır[25].

Kromenilyum-siyanın boyaları ile yapılmış Hg^{2+} sensör çalışmaları çizelge 2.3'te yer almaktadır.

Çizelge 2.3 : Kromenilyum-siyanin boyaları ile yapılmış Hg^{2+} sensör çalışmaları.

Sensör	Ortam	Çalışma Aralığı	LOD	Absorpsiyon λ_{max} (nm)	Emisyon λ_{max} (nm)	Referans
	HEPES/etanol (v:v, 1:1)	0–3 μM	2,78 nM	710	745	[58]
	%20 etanol içeren pH 7,4 fosfat tamponu	$5 \times 10^{-7} - 5 \times 10^{-6}$ M	$5,8 \times 10^{-8}$ M	726	746	[72]
	Etanol/su (1/2,v/v)	0–9 μM	9,59 nM	557	663	[56]
	Asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4)	$6,29 \times 10^{-8} - 1,86 \times 10^{-4}$ M (UV) $9,49 \times 10^{-9} - 1,13 \times 10^{-5}$ M (FL)	$5,89 \times 10^{-8}$ M (UV) $4,93 \times 10^{-9}$ M (FL)	711	740	Bu çalışma



3. DENEYSEL KISIM

3.1 Kimyasal, Cihaz ve Yöntemler

Silika jel, 3-dietilaminofenol, ftalik anhidrit, sülfürik asit (%98), hidroklorik asit (%37), sikloheksanon, perklorik asit (%70), Fisher Aldehyde, hidrazin hidrat (%80), BOP reaktanı, 1,10-fenantrolin, glioksal (%40) çözeltisi, metiyonin, glukozamin hidroklorür, sodyum bikarbonat, tiyonil klorür, moleküler elek (3Å), sodyum sülfat, asetik anhidrit, sodyum hidroksit, trietilamin, metanol, etanol, , tetrahidrofuran (THF), diklorometan, hekzan, dimetilformamid (DMF), lityum perklorat, sodyum perklorat, potasyum perklorat, sezyum perklorat, baryum perklorat, kalsiyum perklorat, magnezyum perklorat, kobalt(II)perklorat, civa(II)perklorat, nikel(II)perklorat, çinko(II)klorür, sodyum sülfat, sodyum siyanür, sodyum karbonat, sodyum sülfür, sodyum klorür, sodyum nitrat, disodyum EDTA, potasyum asetat, potasyum tiyosiyanat, potasyum bromür ve potasyum iyodür kimyasalları bu tez kapsamında kullanılmış ve her biri ticari olarak temin edilmiştir.

Kromatografik ayırım işlemleri Merck Silica 60 (200–400 or 70–230 mesh) ile gerçekleştirilmiştir. İnce tabaka kromatografisi Merck TLC Silicagel 60 F254 plakaları kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, gözlemlene olayı UV ışığı altında 254 nm’de gerçekleştirilmiştir.

Tüm NMR spektrumları Agilent VNMRS 500 MHz, ile kaydedilip (25 °C), kimyasal kaymalar iç standarta göre referans alınmıştır. MALDI-TOF-MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization–Time of Flight–Mass Spectrometry) hesaplamaları BRUKER Microflex LT cihazı ile 2,5-dihidroksibenzoik asidin matriks olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. UV-Gör spektrumları Agilent 8453 spectrophotometer cihazı ile 1 cm’lik (küvet içi uzunluk) küvet kullanılarak oda sıcaklığında elde edilmiştir. Floresan spektrumları Varian Cary Eclipse fluorophotometer cihazı kullanılarak, çalışılan sensörün özelliğine bağlı olarak çeşitli dalga boylarında uyarılmaları sonucu elde edilmiştir. IR spektrumları Perkin-Elmer

spektrometresi kullanılarak elde edildi. Yüksek çözünürlüklü kütle spektrumları LC-HRMS Thermo Q Exactive cihazı kullanılarak elde edildi.

Floresan kuantum verimi aşağıda verilen formül (3.1) doğrultusunda karşılaştırmalı metoda göre gerçekleştirildi[73].

$$\Phi_x = \Phi_{ST} \left(\frac{Grad_x}{Grad_{ST}} \right) \left(\frac{n_x^2}{n_{ST}^2} \right) \quad (3.1)$$

Burada ST, standardı temsil ederken, X ise molekülü temsil etmektedir. Φ quantum verimini temsil etmektedir. Bazı moleküllerin quantum veriminin hesaplanmasında standart örnek olarak sübstitüent içermeyen çinko ftalosiyanın (DMF solventi içerisindeki kuantum verimi 0,17) kullanılmıştır[74].

CSME sensörünün Hg^{2+} katyonuna bağlanma özelliklerini anlamak ve gözlenen UV-Gör spektrumlarından sorumlu optik geçişleri vurgulamak için yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) kullanılarak, hesaplamalı bir araştırma yapılmıştır. Geometri optimizasyonları ve frekans analizleri cıva dışındaki tüm atomlar için geçiş metali içeren moleküller için daha iyi sonuçlar verdiği bilinen M06L fonksiyoneli M06L ile 6-311+G(d,p) baz seti ile gerçekleştirilmiştir. Hg için LANL2DZ efektif core potansiyeli (ECP) kullanılmıştır. Tüm bu hesaplamalarda yoğunluğa (SMD) dayalı çözümleme modeli kullanılmış, deney koşullarını yansıtmak için dielektrik sabiti 34 olarak ayarlanmıştır. Tüm hesaplamalar Gaussian 16 Revision A.03 yazılım paketi ile yapılmıştır.

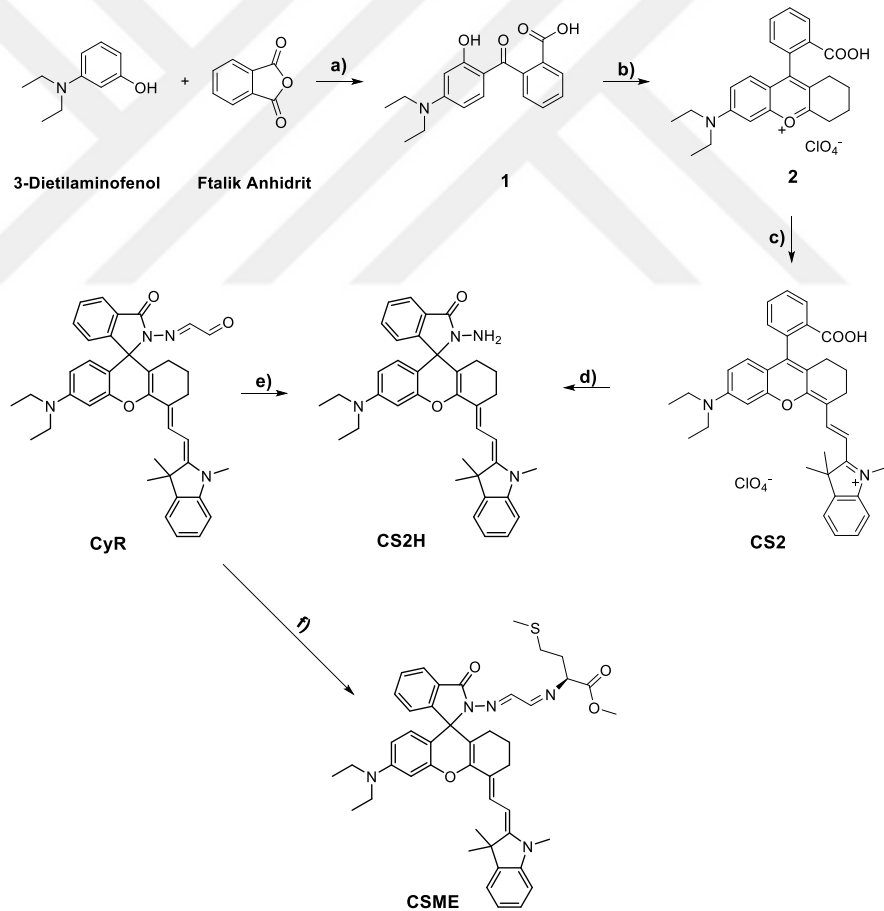
3.2 Sentez Prosedürleri

CSME probu, 3-dietilaminofenol ve ftalik anhidrit bileşiklerinden başlayarak, altı kademedeki (Şekil 3.1) sentezlenmiştir. Sentezlenen tüm bileşikler NMR, FTIR, kütle spektroskopisi (MALDI-TOF ve HRMS) gibi iyi bilinen yöntemlerle karakterize edilmiştir.

3.2.1 1 Sentezi

1 numaralı bileşik literatüre göre sentezlenmiştir[75]. Dibi yuvarlak balona 5,5 g (0,033 mol) *N,N*-dietilaminofenol ve 7,4 g (0,05 mol) ftalik anhidrit koyulup 115 °C sıcaklığa kadar ısıtıldı. Üzerine damla damla 5 mL toluen eklendi ve 115 °C de

karıştırıldı. 4 saat sonunda reaksiyon durdurulup, karışım 60 °C ye soğutulduğunda içerisine NaOH (%36lık) çözeltisi eklenerek pH 12 ye getirildi ve ardından karışım 90 °C de 2 saat karıştırıldı. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra karışımın soğuması beklendi ve içerisine katı materyali çözecek kadar su eklendi. Ekstraksiyon balonuna alınan karışımdan toluen mümkün olduğu kadarıyla çekildi ve sulu faz seyreltik hidroklorik asit ile pH = 4'e getirildi. Süzülen katı metanol ile santrifüj yapıldı. Verim %60 ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12,59 (s, 1H), 7,96 (dd, *J* = 7,8, 1,3 Hz, 1H), 7,66 (td, *J* = 7,5, 1,4 Hz, 1H), 7,59 (td, *J* = 7,6, 1,4 Hz, 1H), 7,35 (dd, *J* = 7,5, 1,3 Hz, 1H), 6,79 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,16 (dd, *J* = 9,2, 2,5 Hz, 1H), 6,06 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 3,36 (q, *J* = 7,0 Hz, 4H), 1,08 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 198,86, 167,46, 165,14, 153,95, 140,49, 134,70, 132,38, 130,33, 130,30, 128,06, 109,75, 104,39, 96,76, 44,48, 12,88.



Şekil 3.1 : 3-Dimetilaminofenol ve ftalik anhidritten başlayarak **CSME** sentezi. a) Toluene b) i. Sikloheksanon, H₂SO₄ ii. HClO₄ c) Fischer Aldehit, asetik anhidrit d) Hidrazin hidrat, DCM, BOP e) Glioksal, THF f) Metiyonin metil ester, NaHCO₃, Ni(NO₃)₂ · 6 H₂O.

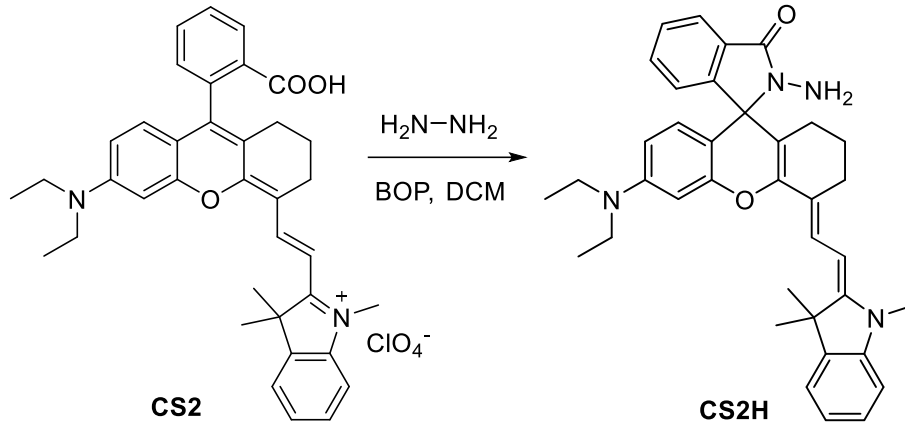
3.2.2 2 Sentezi

2 numaralı bileşik literatüre göre sentezlenmiştir[11]. Sikloheksanon (1,32 mL, 12,7 mmol) konsantre H₂SO₄ (14,0 mL) içerisine damla damla eklendi ve sıcaklık 0 °C ye getirildi. 2-(4-Dietilamino-2-hidroksibenzoil) benzoik asit(1) (2,00 g, 6.4 mmol) şiddetli bir karıştırma ile porsiyonlar halinde eklendi. Karışım 2 saat boyunca 90 °C sıcaklık altında karıştırıldı, soğutuldu ve buz (100,0 g) içerisine döküldü. Periklorik asit (70%, 1,40 mL) eklenerek karıştırıldı, oluşan çökelek süzüldü, 50,0 mL su ile yıkama yapıldı, kırmızı katı olarak elde edildi. Verim: %65, ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,94 (dt, *J* = 7,7, 1,0 Hz, 1H), 7,63 (td, *J* = 7,5, 1,2 Hz, 1H), 7,57 – 7,52 (m, 1H), 7,20 (dt, *J* = 7,6, 0,9 Hz, 1H), 6,48 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,34 (d, *J* = 10,9 Hz, 2H), 3,34 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 2,51 – 2,39 (m, 2H), 1,94 – 1,77 (m, 2H), 1,73 – 1,38 (m, 2H), 1,65 – 1,52 (m, 2H), 1,15 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H), ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 170,04, 152,56, 152,33, 150,48, 149,08, 134,30, 129,08, 129,04, 128,74, 127,75, 126,02, 124,93, 123,51, 108,69, 103,88, 97,15, 77,30, 77,05, 76,80, 44,49, 27,41, 22,31, 22,30, 21,95, 12,50.

3.2.3 CS2 Sentezi

CS2 bileşiği ilgili literatüre göre sentezlenmiştir [11]. 2 (1,58 g, 4,20 mmol) ve Fisher aldehit (0,88 g, 4,40 mmol) asetik anhidrit (25,0 mL) içerisinde çözüldü ve 50 °C de 1,5 saat boyunca karıştırıldı. Sonrasında (25,0 mL) su eklenerek reaksiyon tamamlandı. Solvent uçuruldu ve ürün silika jel üzerinden (CH₂Cl₂/ CH₃CH₂OH = 20:1) saflaştırılarak yeşil ürün elde edildi. Verim: %27, *m/z* hesaplanan 559,73 bulunan [M-ClO₄⁻+H]⁺=560,40 ¹H NMR (500 MHz, aseton-d₆) δ 8,76 (d, *J* = 14,2 Hz, 1H), 8,29 (dd, *J* = 8,0, 1,4 Hz, 1H), 7,87 (td, *J* = 7,5, 1,4 Hz, 1H), 7,75 (td, *J* = 7,7, 1,3 Hz, 1H), 7,65 (dd, *J* = 7,5, 1,3 Hz, 1H), 7,48 (td, *J* = 7,6, 1,2 Hz, 1H), 7,44 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,40 (dd, *J* = 7,6, 1,3 Hz, 1H), 7,33 (td, *J* = 7,4, 1,2 Hz, 1H), 6,89 – 6,81 (m, 2H), 6,77 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,35 (d, *J* = 14,3 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,61 (q, *J* = 7,1 Hz, 4H),), 2,74 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 2,46 – 2,29 (m, 2H), 1,86 (s, 6H), 1,92 – 1,76 (m, 2H), 1,27 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, aseton-d₆) δ 174,21, 166,08, 162,86, 155,76, 151,99, 143,19, 141,18, 136,13, 133,05, 131,13, 129,96, 129,61, 129,36, 128,63, 128,05, 125,18, 122,30, 120,73, 115,08, 113,31, 112,17, 111,05, 99,92, 95,89, 49,31, 44,69, 31,10, 29,43, 29,27, 29,12, 28,96, 28,81, 28,66, 28,50, 27,59, 27,57, 26,57, 23,94, 20,42, 11,85.

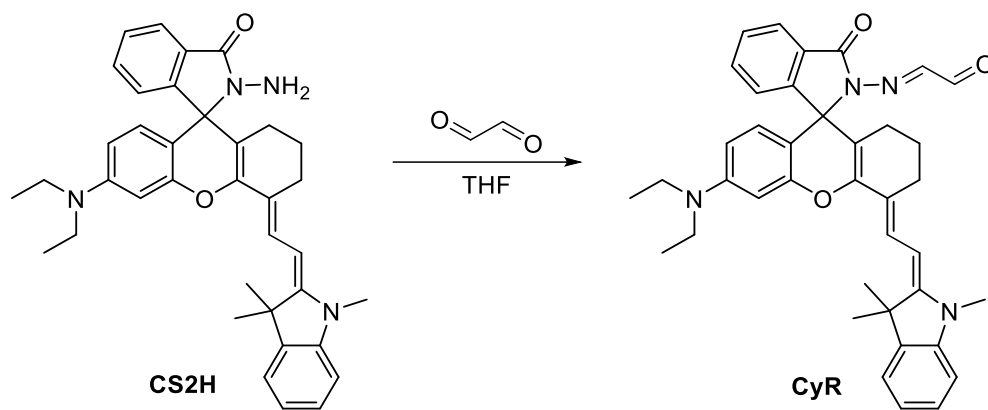
CS2 bileşiğinin sentezi başarıyla gerçekleştirildikten sonra, **CS2H** ve **CyR** numaralı bileşikler için de sentez çalışması yürütülmüştür.



Şekil 3.2 : CS2H bileşiğine ait sentez şeması.

3.2.4 CS2H Sentezi

CS2H bileşiği ilgili prosedüre göre (Şekil 3.2) sentezlenmiştir[76]. **CS2** (0,55 g, 0,76 mmol), ve BOP reaktanı (0,36 g, 0,80 mmol) diklorometan (25.0 mL) içerisinde çözüldü ve içerisinde argon gazı geçirildi. $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.5 mL, 7.6 mmol,) eklendikten sonra karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Solvent uçuruldu ve ürün silika jel üzerinden ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} = 25:1$) saflaştırılarak sarı ürün elde edildi. Verim: %, 62 m/z hesaplanan 572,75 bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+=573,50$, $[\text{M}+3\text{Na}]^+=643,3$, ^1H NMR (500 MHz, aseton- d_6) δ 7,78 (ddt, $J = 7,5, 3,8, 1,0$ Hz, 1H), 7,58 – 7,48 (m, 3H), 7,26 (dt, $J = 7,3, 1,6$ Hz, 1H), 7,21 – 7,14 (m, 2H), 6,83 (tt, $J = 7,4, 1,3$ Hz, 1H), 6,74 (dd, $J = 7,9, 2,1$ Hz, 1H), 6,43 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 6,40 – 6,36 (m, 1H), 6,32 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 5,49 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 3,40 (qd, $J = 7,1, 4,1$ Hz, 4H), 3,20 (s, 3H), 2,82 – 2,30 (m, 2H), 1,92 – 1,62 (m, 1H), 1,72 (t, $J = 3,6$ Hz, 6H), 1,63 – 1,40 (m, 2H), 1,17 (td, $J = 7,0, 1,3$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, aseton- d_6) 171,65, 160,94, 157,26, 152,52, 150,67, 148,51, 147,13, 145,44, 138,63, 132,12, 131,23, 128,24, 128,22, 127,70, 123,40, 122,37, 121,48, 120,33, 119,22, 119,14, 108,00, 106,18, 105,85, 105,17, 97,43, 92,28, 67,49, 45,14, 43,94, 29,42, 29,27, 29,11, 28,96, 28,80, 28,65, 28,50, 28,47, 27,83, 25,14, 23,06, 22,09, 12,00.

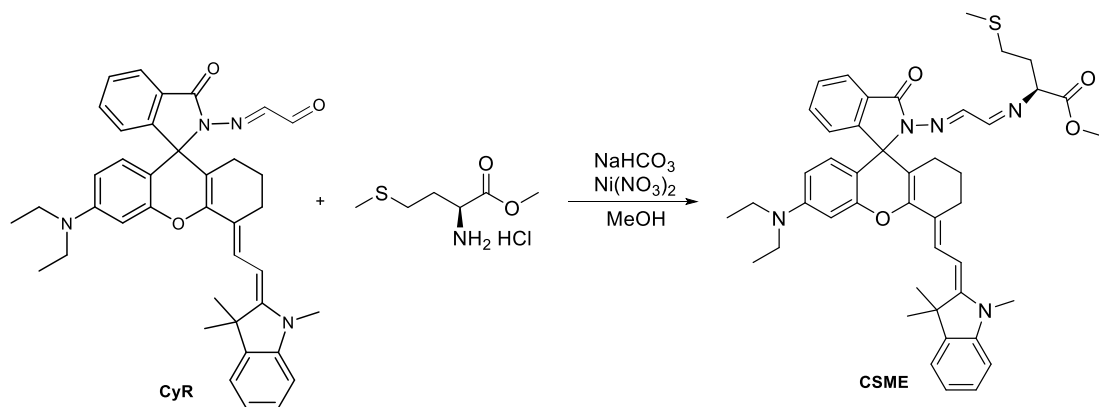


Şekil 3.3 : CyR bileşiğine ait sentez şeması.

3.2.5 CyR Sentezi

CyR bileşiği (Şekil 3.3) literatürden uyarlanarak sentezlenmiştir[77]. Tek boyunlu balona glioksal çözeltisinden (40% w/w, 720 μ L, 6,3 mmol, 20 eq.) eklendi ve sıcaklık 0 °C ye getirildi. **14** (183 mg, 0.32 mmol, 1.0 equiv) THF (4.2 mL) içerisinde çözünüp damla damla eklendi. Buz banyosu kaldırıldı ve reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 2 saat boyunca karıştırıldı. THF vakumda uçurulduktan sonra kalan kısım CH_2Cl_2 ile alınarak su ile yıkama yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 ile kurutuldu ve CH_2Cl_2 ile silika jel üzerinden saflaştırıldı. Verim: %65, m/z hesaplanan 612,77 bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+=613,44$ ^1H NMR (500 MHz, aseton- d_6) δ 9,40 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 8,02 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,96 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,77 (td, $J = 7,5, 1,2$ Hz, 1H), 7,65 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,61 (d, $J = 12,8$ Hz, 1H), 7,34 – 7,20 (m, 2H), 7,17 (td, $J = 7,7, 1,3$ Hz, 1H), 6,85 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 6,77 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,47 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,47 – 6,38 (m, 2H), 5,50 (d, $J = 12,7$ Hz, 1H), 3,41 (q, $J = 7,1$ Hz, 4H), 3,20 (d, $J = 15,6$ Hz, 3H), 2,54 (p, $J = 5,2$ Hz, 2H), 1,73 (s, 6H), 1,62 (p, $J = 6,3$ Hz, 2H), 1,55 – 1,26 (m, 2H), 1,17 (t, $J = 7,0$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, aseton- d_6) δ 191,90, 164,98, 158,15, 152,17, 150,57, 149,16, 147,98, 145,32, 141,84, 138,65, 134,94, 129,15, 128,28, 127,74, 127,47, 123,85, 123,51, 121,52, 120,58, 119,44, 119,21, 108,63, 106,03, 104,16, 102,48, 97,36, 92,07, 68,12, 45,28, 43,94, 29,41, 29,26, 29,11, 28,95, 28,80, 28,64, 28,49, 27,81, 24,86, 23,73, 22,77, 21,92, 11,89.

CyR bileşiğinin sentezinden sonra metiyonin metil ester ile türevlendirilmiş kromenilyum-siyanın bileşiği (**CSME**) sentezlendi(Şekil 3.4).



Şekil 3.4 : CSME sentez şeması.

3.2.6 CSME sentezi

CSME, literatürde yer alan çalışma üzerinde değişiklik yapılarak sentezlenmiştir[63]. L-Metiyonin metil ester hidroklorür (19,5 mg, 0,10 mmol) ve sodyum bikarbonat (10,5 mg, 0,12 mmol) 1 mL kuru metanol içerisinde ultrasonik banyoda tutulduktan sonra 15 dakika kadar manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 15 dakika kadar karıştırıldı. Ardından 1 mL kuru metanoldeki **15** (30 mg, 0,050 mmol) süspansiyonu reaksiyon karışımına damla damla eklendikten sonra nikel(II) nitrat (3 mg) eklenerek reaksiyon gece boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. DCM: hekzan: trietilamin (1,5: 1: 0,3) karışımında silikada yürütülerek saflaştırıldı. Verim : %33, hesaplanan $[M+H]^+$: 758,37 g/mol, bulunan $[M+H]^+$: 758,37335 g/mol 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8,14 (dd, $J = 25,8, 7,8$ Hz, 1H), 8,00 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,58 – 7,47 (m, 2H), 7,44 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,24 – 7,11 (m, 3H), 6,90 – 6,80 (m, 1H), 6,62 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,44 (dd, $J = 8,8, 6,6$ Hz, 1H), 6,39 – 6,36 (m, 1H), 6,30 – 6,22 (m, 1H), 5,36 (d, $J = 12,6$ Hz, 1H), 4,05 (dd, $J = 8,2, 5,2$ Hz, 1H), 3,70 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 3,37 – 3,32 (m, 4H), 3,15 (d, $J = 1,9$ Hz, 3H), 2,63 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,51 – 2,45 (m, 2H), 2,46 – 2,22 (m, 2H), 2,12 – 2,08 (m, 2H), 2,03 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H), 1,78 (d, $J = 4,6$ Hz, 3H), 1,75 (d, $J = 1,5$ Hz, 3H), 1,72 – 1,45 (m, 2H), 1,08 (t, $J = 7,2$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 171,87, 166,00, 165,07, 158,06, 151,89, 151,08, 148,98, 147,59, 147,45, 145,31, 138,94, 134,18, 128,53, 127,67, 126,83, 123,69, 123,38, 121,54, 120,29, 119,88, 119,34, 108,41, 108,01, 105,70, 103,51, 103,25, 98,62, 91,96, 77,34, 77,08, 76,83, 67,95, 52,34, 45,97, 45,52, 44,30, 32,54, 32,50, 30,11, 29,12, 28,40, 24,36, 22,73, 15,27, 12,57, 10,91, FTIR (cm^{-1}): 3052, 3028, 2963, 2969, 2865, 1722, 1694, 1621, 1595, 1490, 1333, 1304, 1193.

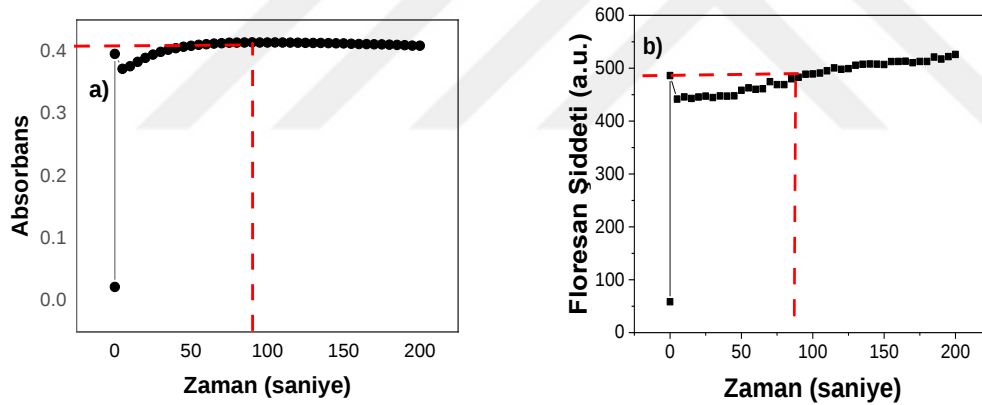
3.3 Sensör Çalışmaları

3.3.1 Çözeltilerin Hazırlanması

Metal tuzlarının perklorat (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} and Hg^{2+}) ve klorür (Zn^{2+}) çözeltileri Hg^{2+} ($9,5 \times 10^{-3} \text{ M}$) hariç $5,0 \times 10^{-2} \text{ M}$ olacak şekilde hazırlandı. Anyon çözeltileri ise, sodyum (SO_4^{2-} , CN^- , CO_3^{2-} , S^{2-} , Cl^- , NO_3^- , EDTA^{2-}) ve potasyum (AcO^- , SCN^- , Br^- , and I^-) tuzlarından $5,0 \times 10^{-2} \text{ M}$ olacak şekilde bidistile su ile hazırlandı. **CSME** çözeltisi, asetonitril içerisinde $3,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ olacak şekilde hazırlandı. Tampon çözeltilerinin hazırlanışı, çizelge 3.1’de verilmiştir.

3.3.2 Zamana Bağlı Sensör Davranışı

$3,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ **CSME** bileşiğinin, asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) içerisine eklenen ($3,0 \times 10^{-4} \text{ M}$) Hg^{2+} iyonunun zamana karşı davranışı incelenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 : $3,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ **CSME** bileşiğinin, $3,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ Hg^{2+} iyonunun zamana karşı a) UV-Gör spektrometrik b) Florometrik davranışı.

Şekil 3.5’e göre Hg^{2+} eklenir eklenmez yanıt vermiş ve tüm süre sonucunda da yanıtında kararlı olarak davranmıştır. Buna göre cevap süresi 90 saniye olarak belirlenmiştir.

3.3.3 Farklı pH Değerlerine Karşı Sensör Davranışı

CSME sensörünün değişen pH değerlerinde ve Hg^{2+} iyonuna karşı davranışı incelendi. Buna göre, 1 ve 10 arasında değişen pH değerlerine sahip bir dizi tampon çözelti

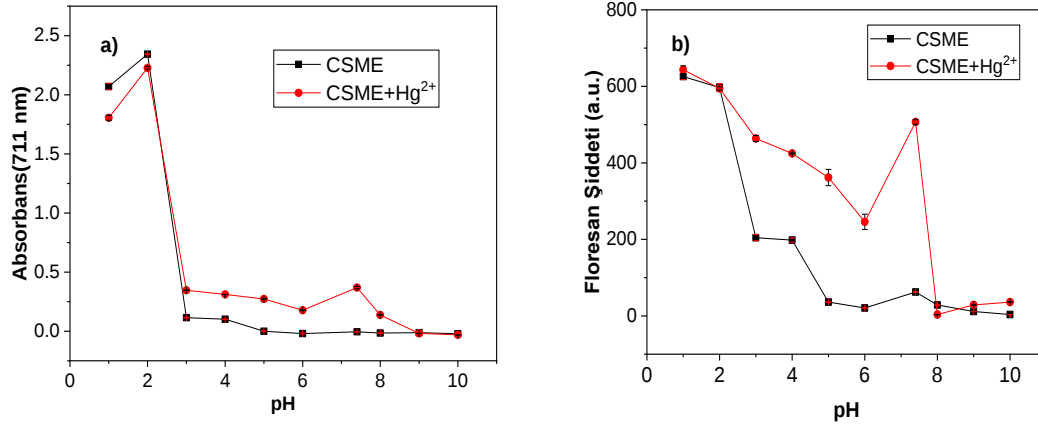
hazırlandı ve $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME bileşiğinin ilgili pH değerindeki davranışı ile $3,0 \times 10^{-4}$ M Hg^{2+} varlığındaki davranışı kıyaslandı(Şekil 3.6).

pH 7,4 ve 8 haricindeki tampon çözeltiler, çizelge 3.1’de yer alan prosedüre göre, I ve II numaralı çözeltilerin karıştırılmasıyla elde edilmiştir. pH 7,4 ve 8 tampon çözeltileri ise, HEPES (5,95 g, 25 mmol) çözeltisinin üzerine, 10 M NaOH ile ilgili pH değerine kadar getirildikten sonra 250 mL balonjojeye tamamlanmasıyla elde edilmiştir.

Çizelge 3.1 : pH 7,4 ve 8 haricindeki tampon çözeltilerin hazırlanma prosedürü.

	Çözelti I	Çözelti II
pH 1	0,2 M KCl (50 mL, 10 mmol)	0,2 M HCl (134 mL, 27 mmol)
pH 2	0,2 M KCl (50 mL, 10 mmol)	0,2 M HCl (13 mL, 2,6 mmol)
pH 3	0,1 M Asetik Asit (98,2 mL, 9,8 mmol)	0,1 M Sodyum Asetat (1,8 mL, 0,18 mmol)
pH 4	0,1 M Asetik Asit (84,7 mL, 8,5 mmol)	0,1 M Sodyum Asetat (15,3 mL, 1,5 mmol)
pH 5	0,1 M Asetik Asit (35,7 mL, 3,6 mmol)	0,1 M Sodyum Asetat (64,3 mL, 6,4 mmol)
pH 6	0,1 M Asetik Asit (5,2 mL, 0,52 mmol)	0,1 M Sodyum Asetat (95,0 mL, 9,5 mmol)
pH 9	0,1 M TRIS (100 mL, 10 mmol)	0,1 M HCl (11,4 mL, 1,1 mmol)
pH 10	0,025 M Boraks (100 mL, 2,5 mmol)	0,1 M NaOH (36,6 mL, 3,7 mmol)

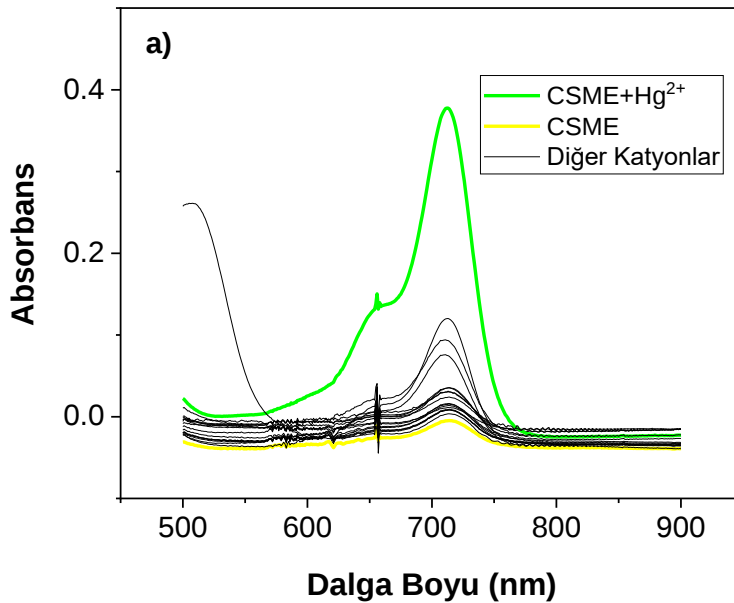
Şekil 3.6’ya göre, asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) içerisindeki $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME bileşiği, 711 nm dalga boyunda hem en düşük düzeyde absorbans hem de 740 nm dalga boyunda en düşük düzeyde floresan şiddeti verirken; Hg^{2+} eklendiğinde ise ciddi miktarda absorbans ve floresan şiddeti artışı gözlenmiştir. Farklı pH değerlerinde de yanıt alınabilirken, fizyolojik pH değeri olan pH 7,4’te en yüksek değişim gözlenmiş, çalışma koşulları asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) olarak tanımlanmıştır.

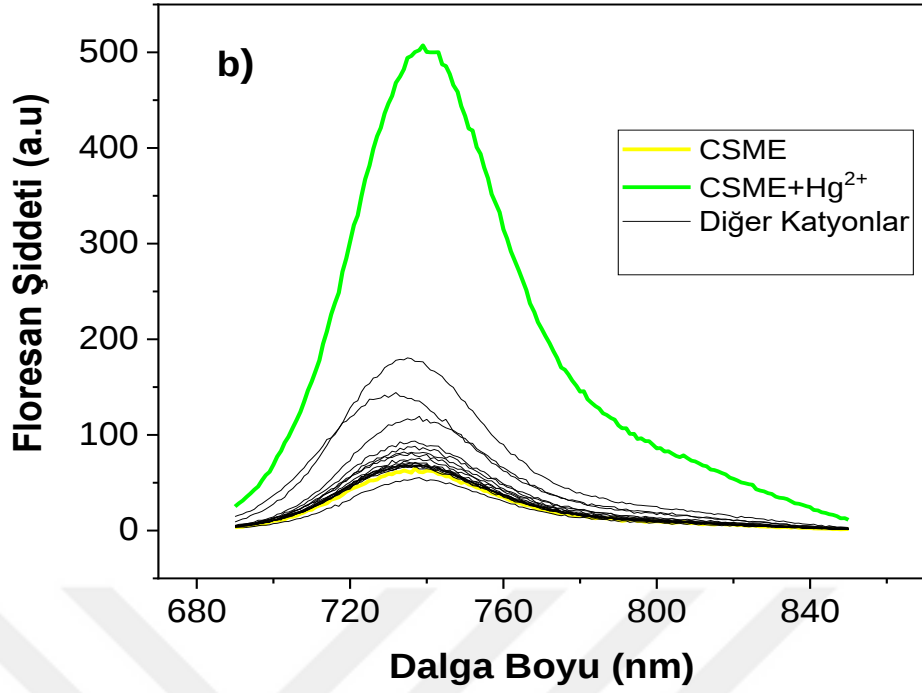


Şekil 3.6 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME bileşiğinin cıva (5 ekivalent) varlığında asetonitril:tampon (5:1) karışımlarında farklı pH değerlerindeki a) UV-Gör spektrometrik b) Florometrik davranışı.

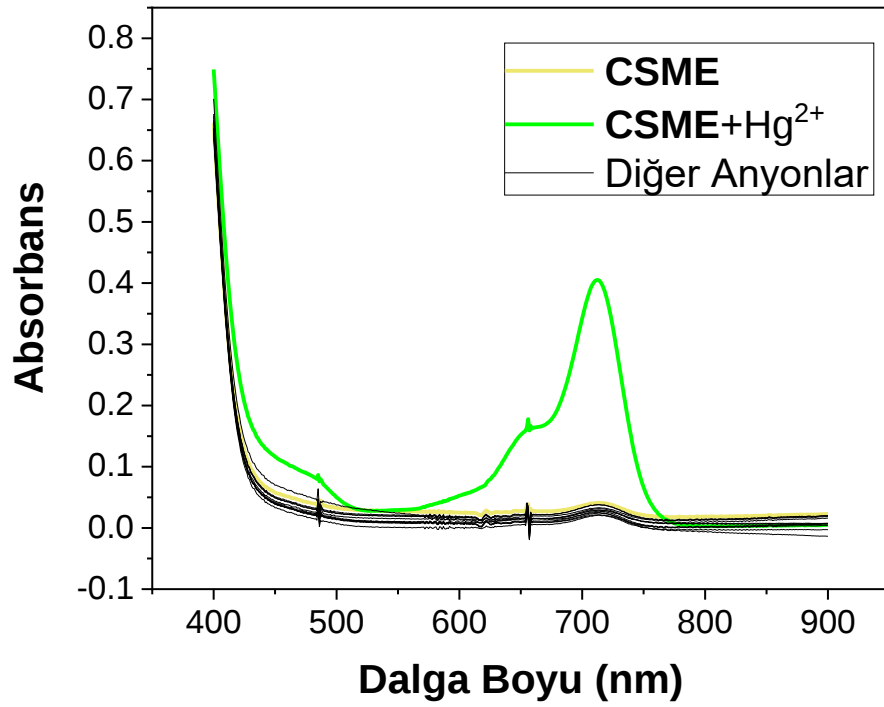
3.3.4 Seçicilik ve Girişim

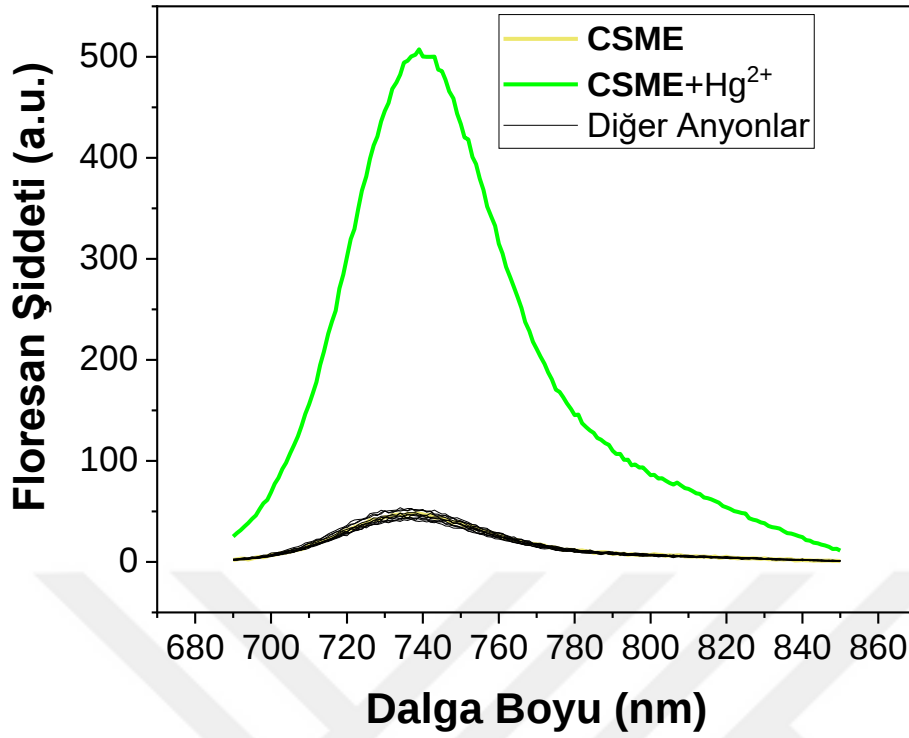
Sensörün Hg²⁺ varlığında çalışabilmesi durumu ve diğer metal iyonlarının analiz sonuçlarına etkisi spektrofotometrik ve florometrik ölçümler ile incelenmiştir. Bunun için $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME bileşiğinin asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında, $3,0 \times 10^{-4}$ M Li⁺, Na⁺, K⁺, Cs⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺ ve Pb²⁺ katyonlarının (Şekil 3.7) ve SO₄²⁻, CN⁻, CO₃²⁻, S²⁻, Cl⁻, NO₃⁻, EDTA²⁻, AcO⁻, SCN⁻, Br⁻ ve I⁻ varlığında ölçümler gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8).





Şekil 3.7 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME sensörünün asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında farklı metal katyonları (5 ekivalent) varlığındaki a) UV-Gör spektrumları b) Floresan spektrumları.



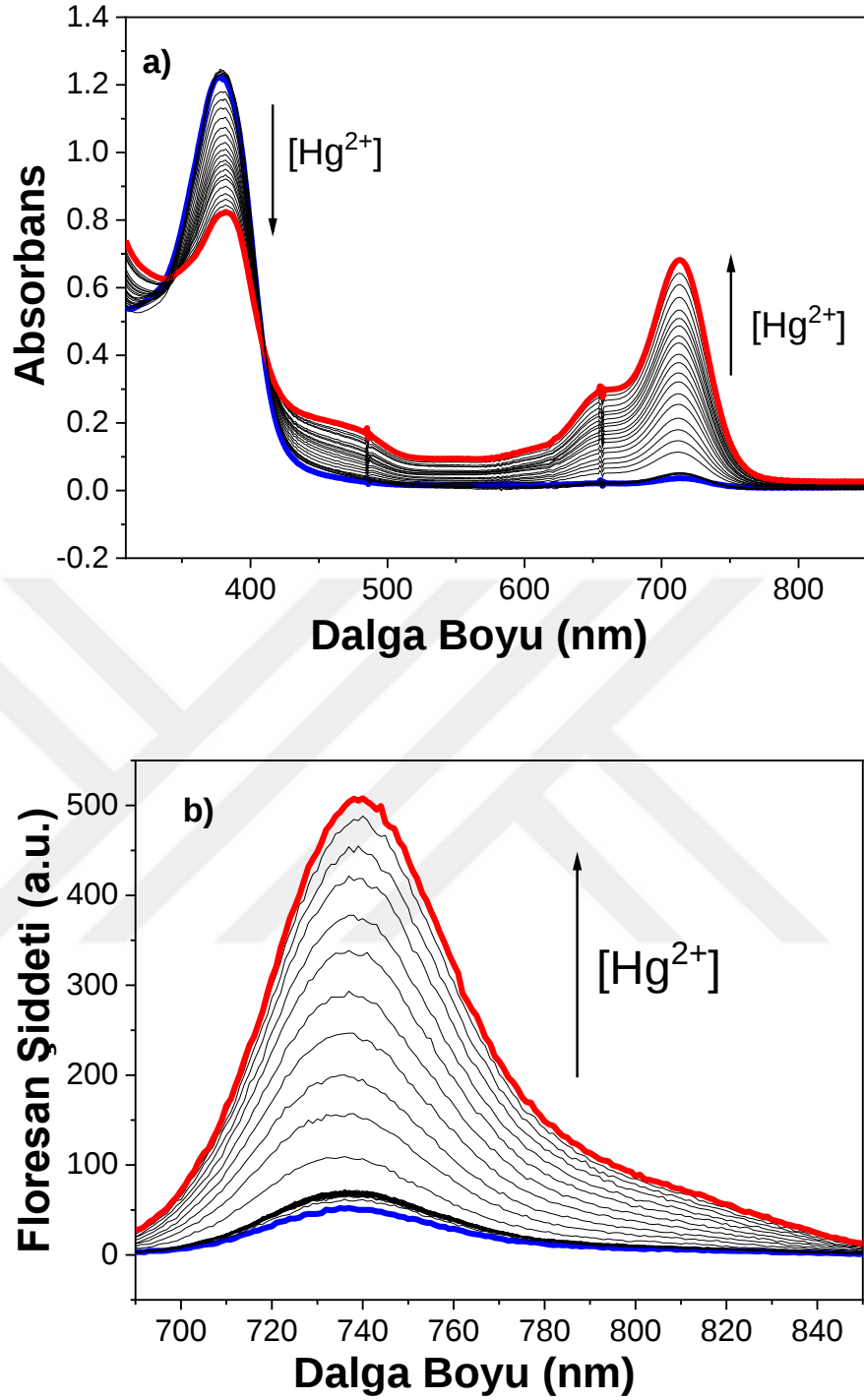


Şekil 3.8 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME sensörünün asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında farklı anyonların ve Hg^{2+} (5 ekivalent) varlığındaki a) UV-Gör spektrumları b) Floresan spektrumları.

CSME bileşiğinin asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında yapılan girişim çalışmasında, Hg^{2+} hariç diğer metal iyonlarının eklenip, ardından Hg^{2+} ilavesiyle 711 nm dalga boyundaki absorbands artışı ve beraber 740 nm dalga boyunda ise emisyon değişimi incelenmiştir.

3.3.5 Çalışma Aralığı

CSME bileşiğinin asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında $3,0 \times 10^{-5}$ M çözeltisi içerisinde yapılan titrasyon çalışmasıyla beraber, farklı konsantrasyonlardaki Hg^{2+} eklenmesiyle CSME sensörünün davranışı UV-Gör spektrometrik ve florometrik olarak incelenmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME bileşiğinin değişen Hg^{2+} konsantrasyonuna karşı a) UV-Gör spektral davranışı b) Floresan şiddeti.

3.4 Fotofiziksel Çalışmalar

Floresan kuantum verimi bir maddenin ışık ile uyarıldığında üst enerji seviyesine çıkmak için absorpladığı fotonların, temel enerji seviyesine dönerken floresan ışınması ile yaydığı fotonların oranına eşittir. Bu bağlamda verimin yüksek olabilmesi için

absorplanan enerjinin iç ya da dış dönüşüm yolu ile titreşim ya da moleküllerin yüksek konsantrasyonlarda kendileri ile çarpışarak enerji transferi ile harcanmadan floresan ışıması ile geri verilmesi gerekmektedir. Verimin hesaplanmasında karşılaştırmalı bir yöntem olan Williams formülü (3.1) kullanılır. Bu yöntemde kuantum verimi bilinen bir referans maddenin bilinmeyen bir madde ile absorbans ve floresan spektrumları mukayese edilecek şekilde ölçülür ve çıkan sonuçlar formülde yerine konulur.

Tez kapsamında sentezlenen, **CSME** bileşiğinin Hg^{2+} varlığındaki kuantum verimleri (3.1) nolu formül kullanılarak hesaplanmıştır. Referans olarak sensörler ile yakın bölgede emisyon ve absorpsiyon bantlarına sahip olmasından dolayı çinko ftalosiyanın tercih edilmiştir. Çinko ftalosiyanın DMF solventinde floresan kuantum verimi 0,17'dir[74]. Floresan spektrumundan gelen integrasyon verileri ile UV spektrumundaki maksimum absorpsiyon noktaları hem referans bileşik için hem de sensör bileşikler için üretilip eğimler elde edilmiştir. Son olarak referansın kuantum verimi formülde yerine konulup sensör bileşiğinin verimleri ölçülmüştür.

CSME bileşiğinin asetonitril içerisinde Hg^{2+} varlığındaki kuantum verimi karşılaştırmalı yöntem kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge 3.2'de **CSME** bileşiğinin asetonitril içerisinde Hg^{2+} varlığındaki fotofiziksel özellikleri verilmiştir.

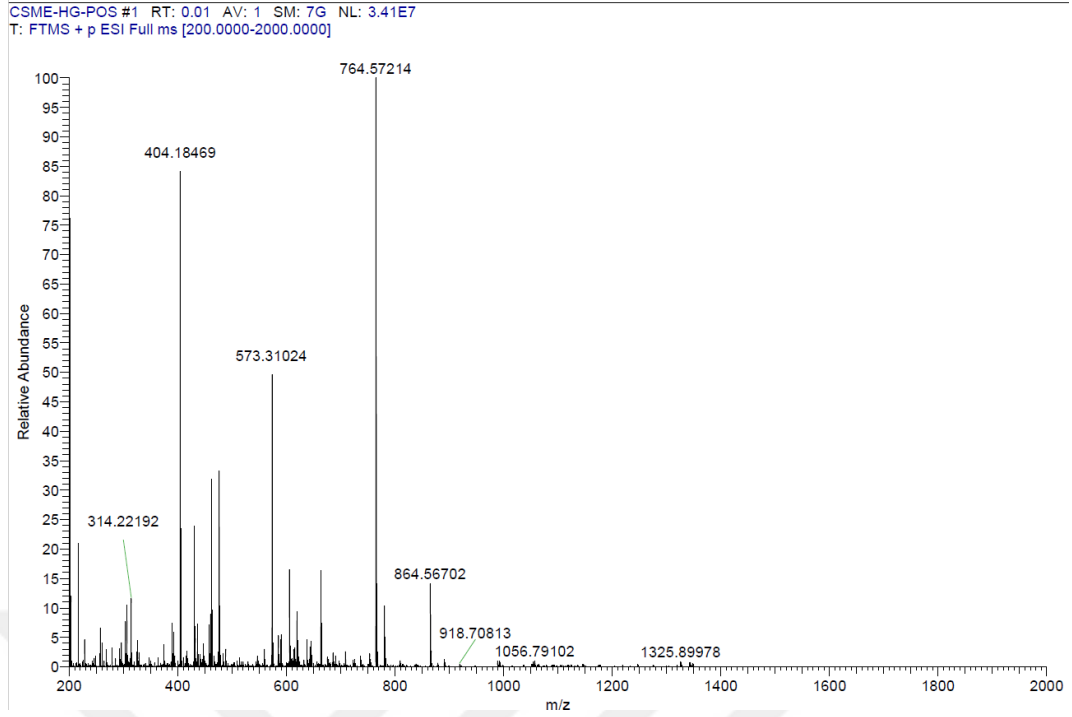
Çizelge 3.2 : CSME bileşiğinin asetonitril içerisinde Hg^{2+} varlığındaki fotofiziksel özellikleri.

	Absorpsiyon λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	Emisyon λ_{max} (nm)	Φ_f	Stokes Kayması(nm)
CSME-Hg^{2+}	711	12533	740	0,19	29

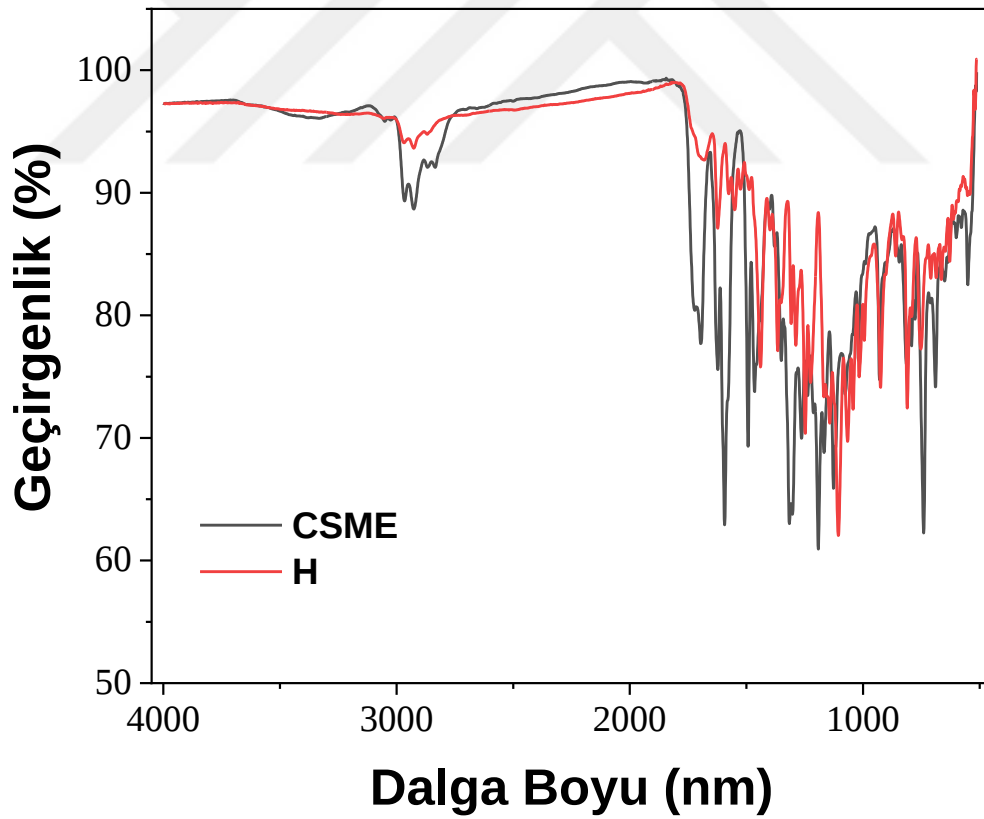
3.5 Bağlanma Mekanizmasının Belirlenmesi

Hg^{2+} varlığında hidroliz ürünlerinin oluşumu bilinen bir süreçtir[78]. **CSME** ve Hg^{2+} arasındaki reaksiyonu karakterize etmek için HRMS titrasyonu ve FTIR titrasyonu çalışmaları yapıldı.

Hg^{2+} ilave edildikten sonra elde edilen spektruma göre **CSME**, ana ürün olarak 573.31024 [m/z] moleküler ağırlığa sahip **CS2H**'nin açık spiroolaktam formuna dönüşmüştür (Şekil 3.10). Ayrıca FTIR titrasyonunda 1595, 1693 ve 1728 cm^{-1} 'de bant kaybı ve 1100 ve 1441 cm^{-1} 'de yeni sinyallerin oluştuğu gözlenmiştir(Şekil 3.11).

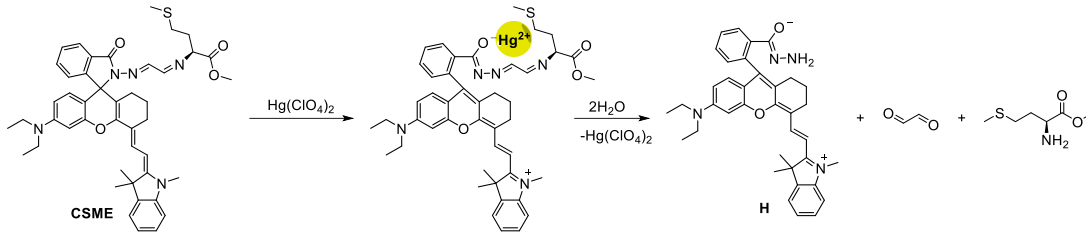


Şekil 3.10 : CSME probuna Hg^{2+} eklenmesinden sonraki HRMS spektrumu.



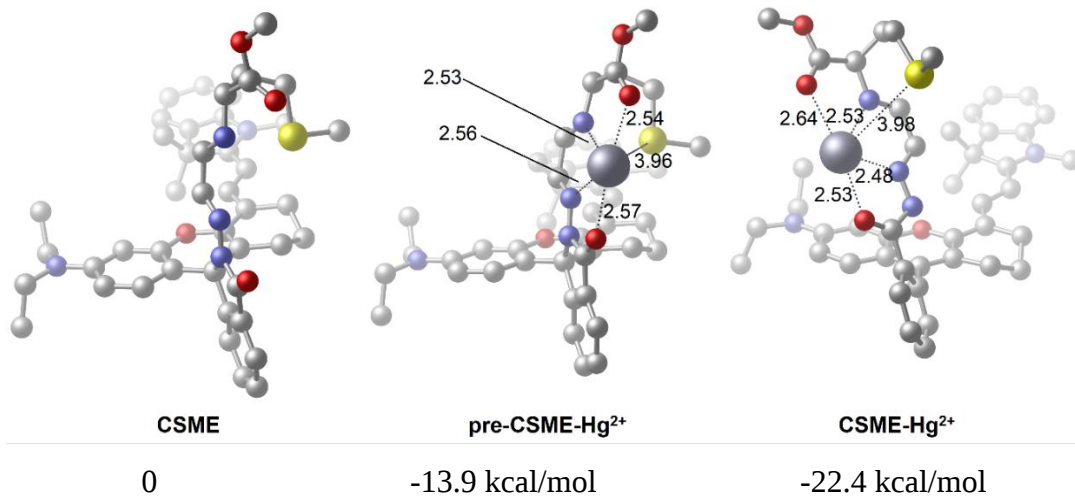
Şekil 3.11 : CSME probuna Hg^{2+} eklenmesinden sonraki FTIR spektrumu.

Buna göre, **CSME**, **CS2H**'nin açık spirolaktam formu olan **H** yapısına dönüşmüştür. Şekil 3.12'de **CSME** ve Hg^{2+} arasındaki reaksiyonun önerilen mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 3.12 : **CSME** ile Hg^{2+} arasında reaksiyonun önerilen mekanizması.

CSME ve Hg^{2+} katyonu arasındaki koordinasyon modlarını araştırmak için DFT hesaplamaları da yapıldı. Hg^{2+} katyonunun liganda nasıl bağlandığını bulmak için, sadece Hg^{2+} katyonunu tutan düzlemsel fragmanı içeren daha küçük bir **CSME** modeli hazırlandı (Şekil A.1). Muhtemel komplekslerden en stabil bağlanma moduna sahip olanı, **CSME** probuna uyarlandı ve bu parçanın olası iki yönelimi de değerlendirilip (Şekil A.2), en kararlı konformasyonlar tartışıldı (Şekil 3.13). Spirolaktam bağının kırıldığı **CSME- Hg^{2+}** kompleksinin oluşumundan önce, mevcut spirolaktam bağının korunduğu olası bir ön kompleks yapısı (**pre-CSME- Hg^{2+}**) göz önüne alındı. Bu yapıların geometrik yapıları Şekil 3.13'te verilmiştir.



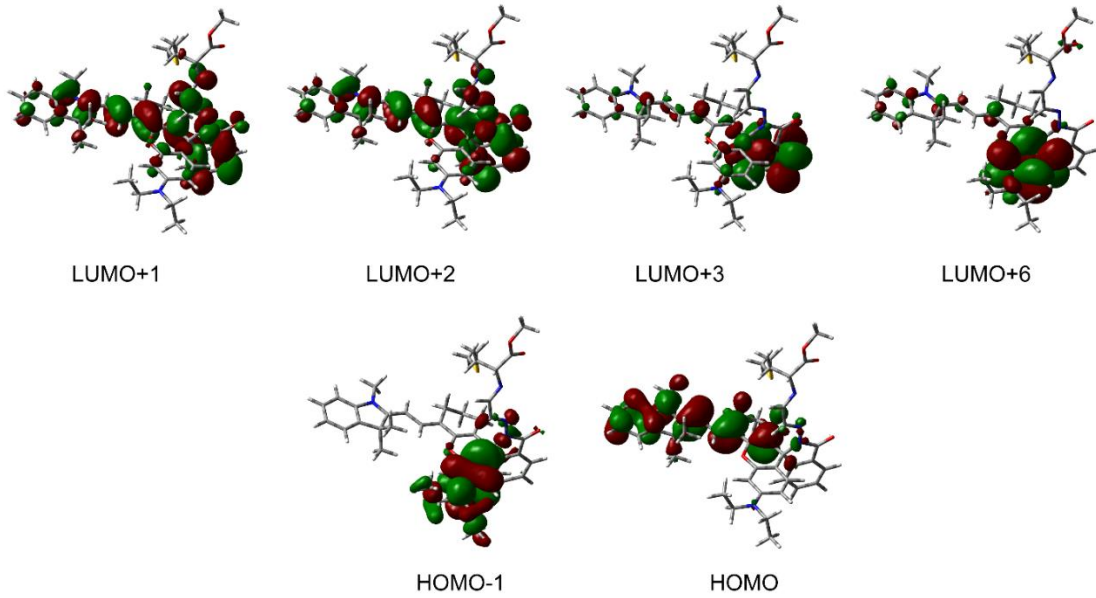
Şekil 3.13 : **CSME**, **pre-CSME- Hg^{2+}** ve **CSME- Hg^{2+}** yapıları için modellenen en kararlı geometriler ve bağ enerjileri. Yapıların bağ enerjileri **pre-CSME- Hg^{2+}** ve **CSME- Hg^{2+}** yapılarına ait enerjilerin 2ClO_4^- anyonu ile toplamından **CSME** ve $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$ in enerjilerinin çıkartılması ile elde edilmiştir. $[(E_{\text{kompleks}} + 2E(\text{ClO}_4^-) - (E(\text{CSME}) + E(\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2))]$ Mesafeler angstrom (Å) birimiyle verilmiştir. Hidrojen atomları netlik için gizlenmiştir.

pre-CSME-Hg²⁺ kompleksinde görülen **CSME** ligandı ve Hg²⁺ arasındaki etkileşim, lokalize elektronik sisteme katılan iki oksijen ve iki azot atomik merkezi aracılığıyla temel olarak düzlemsel bir yapıyı oluşturmuştur. Tek istisnai durum, bağlanmayı nispeten uzak bir konumdan destekleyen kükürt atomudur. **pre-CSME- Hg²⁺** yapısında, Hg²⁺ katyonunun liganda bağlanması üzerine spirolaktamdaki C–N bağ uzunluğu bir miktar (1,53 Å'dan 1,55 Å'ya) değişmiştir, ancak 1,53 Å tek bir C–N bağı için oldukça uzun bir bağ uzunluğudur. Bu mesafe spiro bağının kırılmasını kolaylaştırarak 2.76 Å'luk C–N bağ uzunluğuna sahip **CSME-Hg²⁺** kompleks yapının oluşumuna katkı sağlamaktadır. Bu kompleks yapıda, metal katyonu oksijen ve azot atomlarıyla etkili bir şekilde koordine olmuştur. Bu yapıda Hg²⁺, amit karbonil oksijeni aracılığıyla spiro bağının kırılmasını kolaylaştırdığından, kükürt atomundan çok azot ve oksijene daha yakındır (Şekil 3.13). Hg²⁺-S mesafesi 3,98 Å olmasına rağmen, bu mesafe Hg²⁺ ve S atomlarının van der Waals yarıçapları (Hg²⁺ için 1,70-2,00 Å ve S için 1,60 -2,03 Å) toplamının üst değerinden daha düşük olması nedeniyle, Hg²⁺-S atomları arasında yine de hatırı sayılır bir etkileşim bulunmaktadır[79–82]. Literatürde Hg²⁺'nin tiyofilik karakteri iyi bilinmesine rağmen, metalin tiyoeter kükürt yerine aromatik nitrojene bağlanmayı tercih ettiği Hg²⁺ komplekslerinin örnekleri mevcuttur[79,83,84].

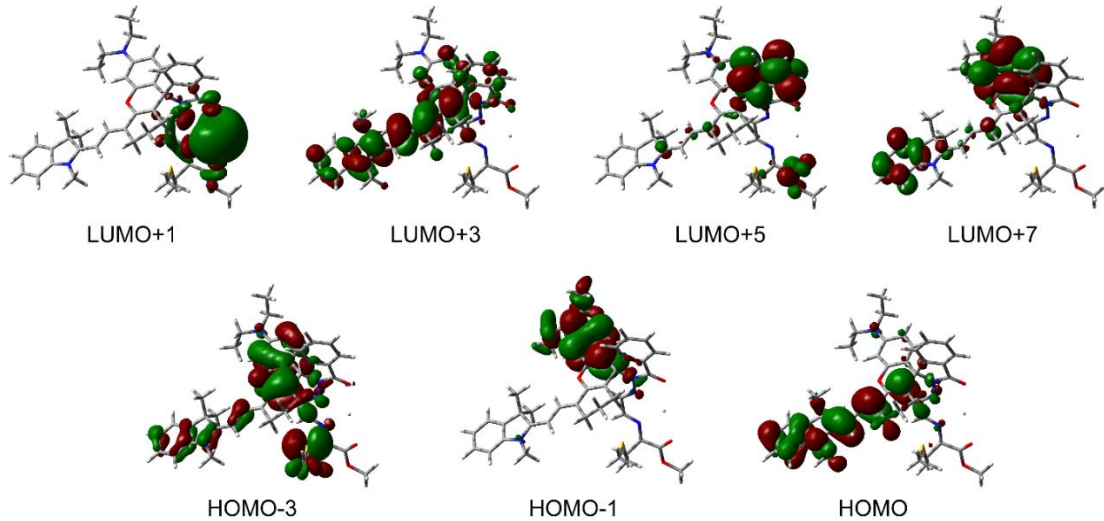
Serbest enerji profilleri incelendiğinde, **pre-CSME-Hg²⁺** durumu (Hg²⁺ katyonunun liganda bağlı olduğu ancak spirolaktam halkasının kapalı olduğu durum) -13,9 kcal/mol iken, **CSME-Hg²⁺** durumunda (Hg²⁺ katyonunun sisteme bağlı olduğu ve spirolaktam halkasının açık olduğu konum) -22,4 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, genel değişimin kendiliğinden oluşumu ve spiro bağı kırılması yoluyla kompleksleşmenin kolaylaştığını açıkça göstermiştir.

TDDFT hesaplamaları deneysel çalışmalarda **CSME** için yaklaşık 400 nm'de görülen bandın enerjisini sırasıyla 436 ve 474 nm'de iki band olarak daha düşük enerjili alanda vermiştir (Şekil 3.14 ve çizelge A.1). Bu bandlar, **pre-CSME-Hg²⁺** kompleksinin hesaplamalı olarak elde edilen spektrumunda sırasıyla 447 ve 484 nm'ye kaymıştır (Şekil 3.15 ve çizelge A.2). Hesaplamalı olarak elde edilen **CSME-Hg²⁺** spektrumunda ise bu geçişler ortadan kalkarak yerine deneysel çalışmalarda 711 nm'de görülen bandın enerjisini daha yüksek tahmin ederek sırasıyla 560 ve 668 nm'de lokalize olan iki yeni absorpsiyon bandı elde edilmiştir (Şekil 3.16, çizelge A.3). Bu bandların yerleri deneysel çalışmalara göre farklılık göstermiş olsa da, spiro bağı

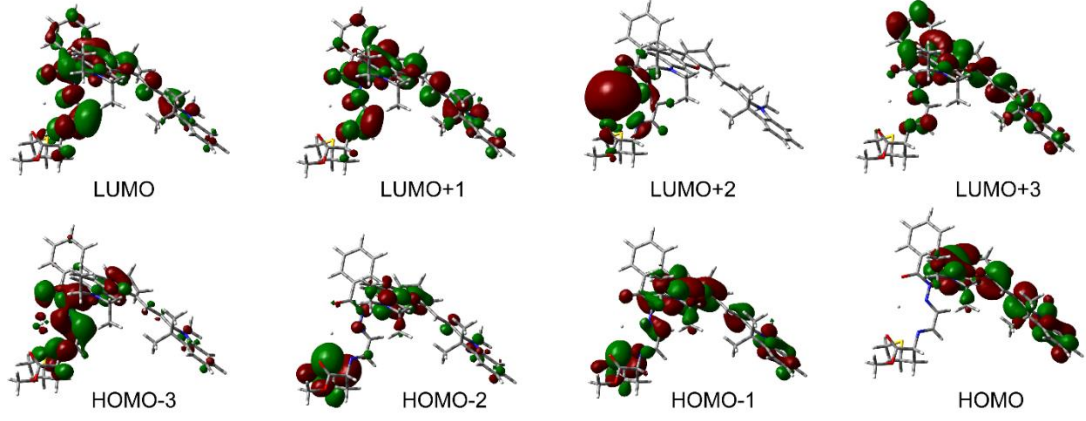
ortadan kaldıran Hg^{2+} katyonunun eklenmesiyle görülen düşük enerji bandının ortaya çıkışını niteliksel olarak doğrulamaktadır. Ayrıca, 668 nm'de lokalize olana (0,79) kıyasla daha düşük bir osilatör gücüne (0,24) sahip olan 560 nm'deki absorpsiyon bandı, deneylerde görülen bandın şeklini daha yüksek bir enerji konumunda görünen bir omuz olarak doğrular. Deneysel çalışmalara göre, bu kompleks sonunda hidroliz nedeniyle parçalanarak katyonu tutan parçanın ana yapıdan ayrıldığı bir ürün verir. Hidroliz sonunda küçük fragmanlar kesin olarak belirlenememiş olsa da, hidroliz ana ürünü (**H**) **CSME- Hg^{2+}** için görülen optik özellikleri koruduğunu doğrulayabiliriz (Şekil 3.17, çizelge A.4).



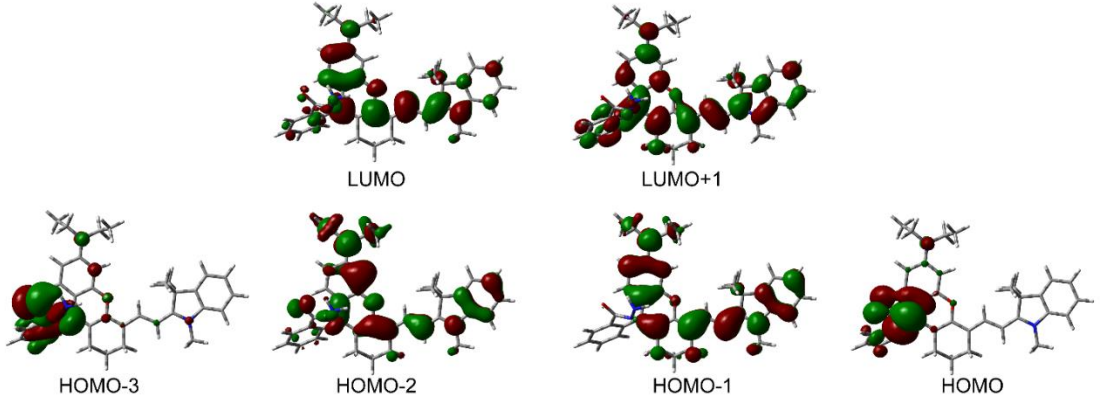
Şekil 3.14 : Hesapsal olarak elde edilen **CSME** spektrumunda yer alan önemli hudut orbitalleri.



Şekil 3.15 : Hesapsal olarak elde edilen **pre-CSME-Hg²⁺** spektrumunda yer alan önemli hudut orbitalleri.



Şekil 3.16 : Hesapsal olarak elde edilen **CSME-Hg²⁺** spektrumunda yer alan önemli hudut orbitalleri.



Şekil 3.17 : Hesapsal olarak elde edilen **H** spektrumunda yer alan önemli hudut orbitalleri.

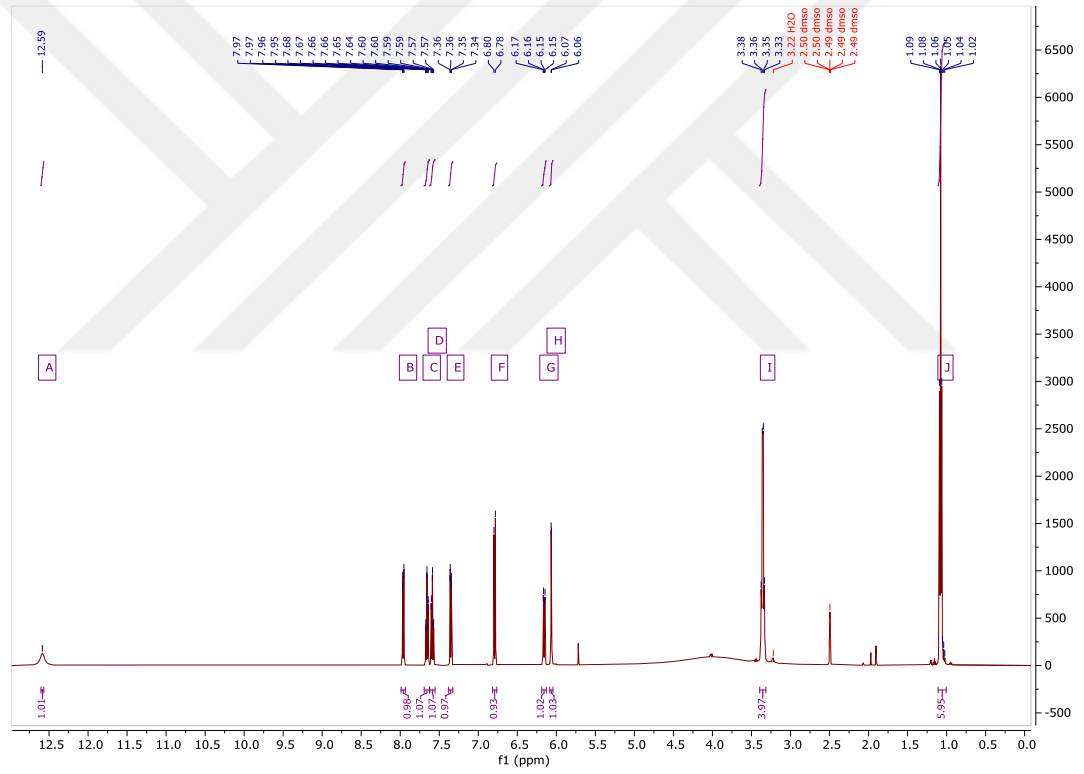


4. DENEYSEL SONUÇLAR

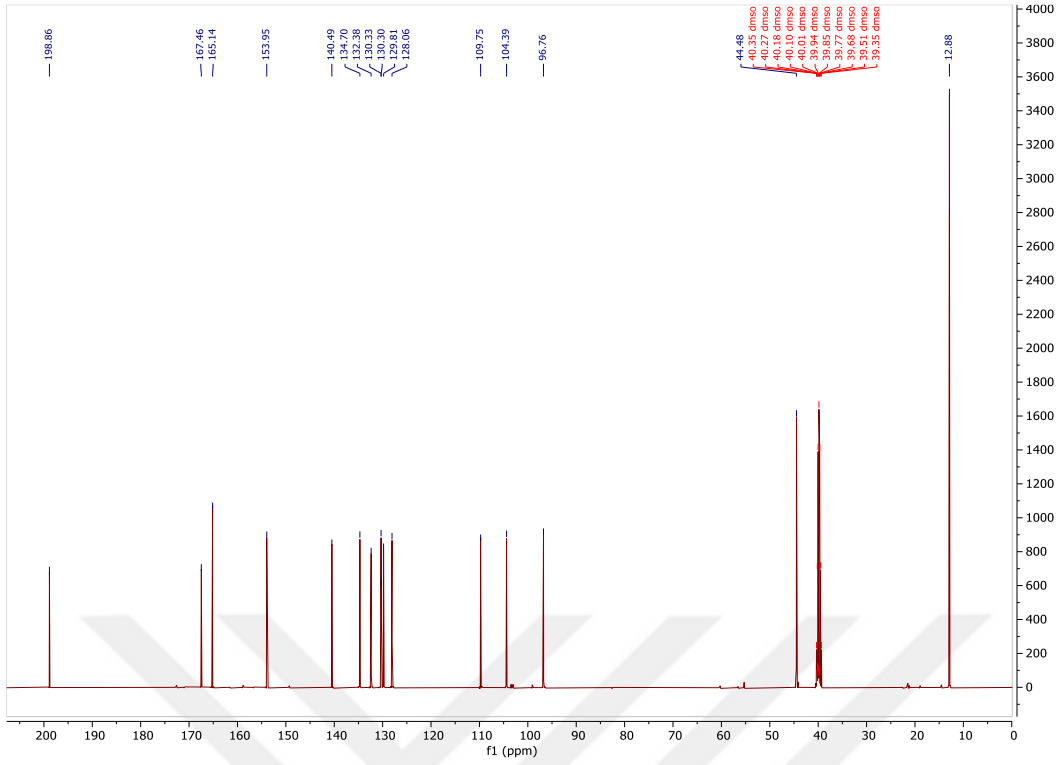
4.1 Karakterizasyon

CSME probuna gelene kadar, 3-dietilaminofenol ve ftalik anhidrit bileşiklerinden başlayarak sentezlenen tüm bileşikler, NMR, FTIR, kütle spektroskopisi (MALDI-TOF ve HRMS) gibi iyi bilinen yöntemlerle karakterize edilmiştir.

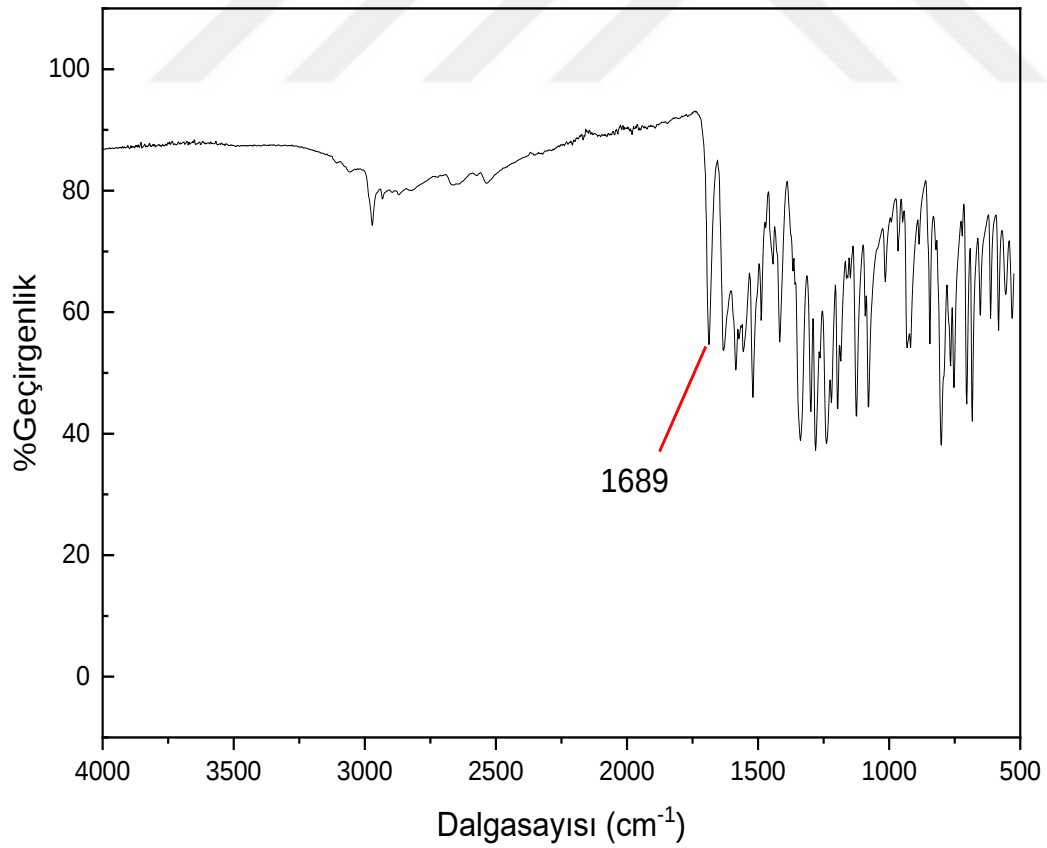
4.1.1 1 numaralı bileşiğin karakterizasyonu



Şekil 4.1 : 1 numaralı bileşiğe ait ¹H-NMR spektrumu.



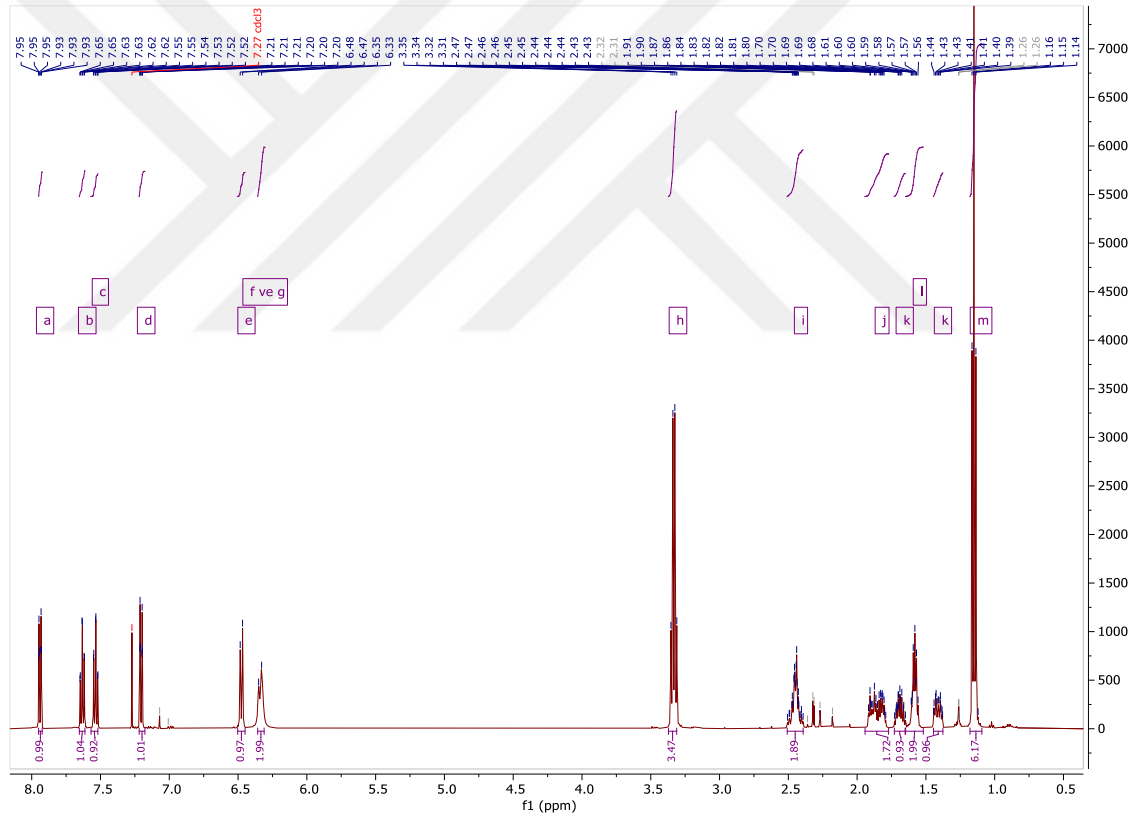
Şekil 4.2 : 1 numaralı bileşiğe ait ^{13}C -NMR spektrumu.



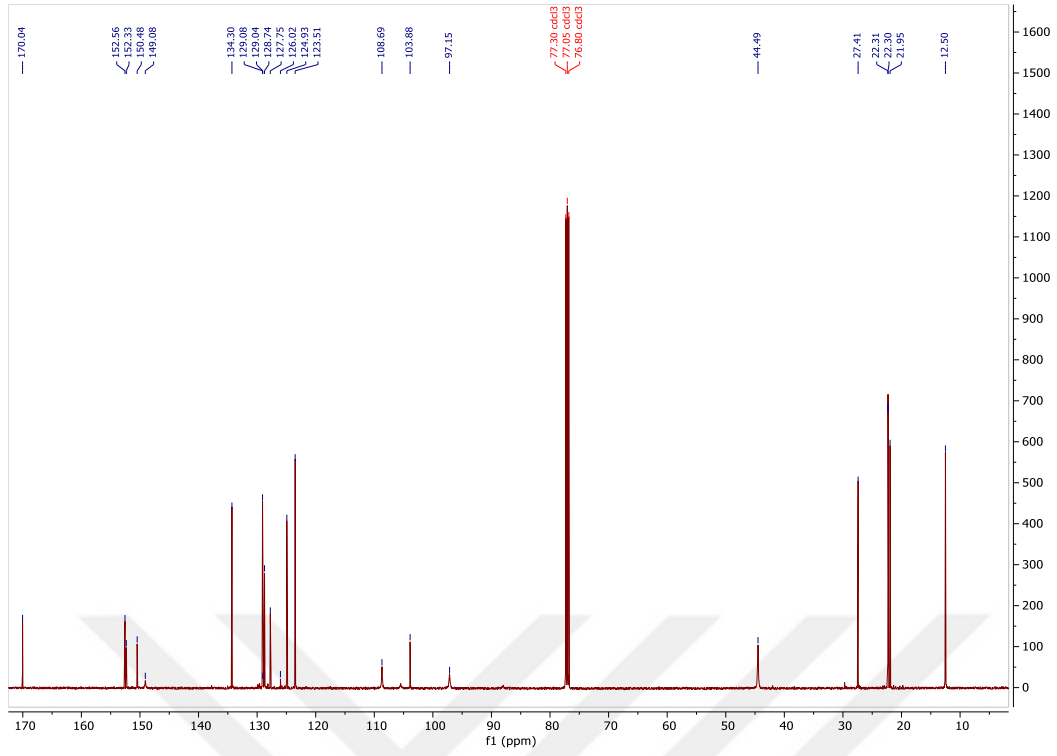
Şekil 4.3 : 1 numaralı bileşiğe ait FTIR spektrumu.

1 numaralı bileşik için ^1H NMR (DMSO-d_6) spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.1); 12,59 ppm kimyasal kayma değerine ait hidroksi grubuna ait proton a, 7,96 – 6,06 aralığında aromatik bölgede yer alan b-h protonları, 3,36 ppm kimyasal kayma gösteren azota komşu karbona bağlı i protonları, 1,08 kimyasal kayma gösteren j protonları yapının oluştuğunu göstermektedir. ^{13}C NMR spektrumunda (Şekil 4.2) ise; 198,86 ppm kimyasal kaymaya sahip keton karbonu, 167,46 ppm kimyasal kayma gözlenen karboksilik asit karbonu, 165,14 – 96,76 ppm arası aromatik karbonlara ait kimyasal kaymalar, 44,48 ve 12,88 ppm kimyasal kayma ise etil grubuna ait karbonlara ait olduğu gözlenmiştir. **1** numaralı bileşik için FTIR spektrumunda (Şekil 4.3) 1689 cm^{-1} değerinde karbonil grubuna ait bant gözlenmiştir.

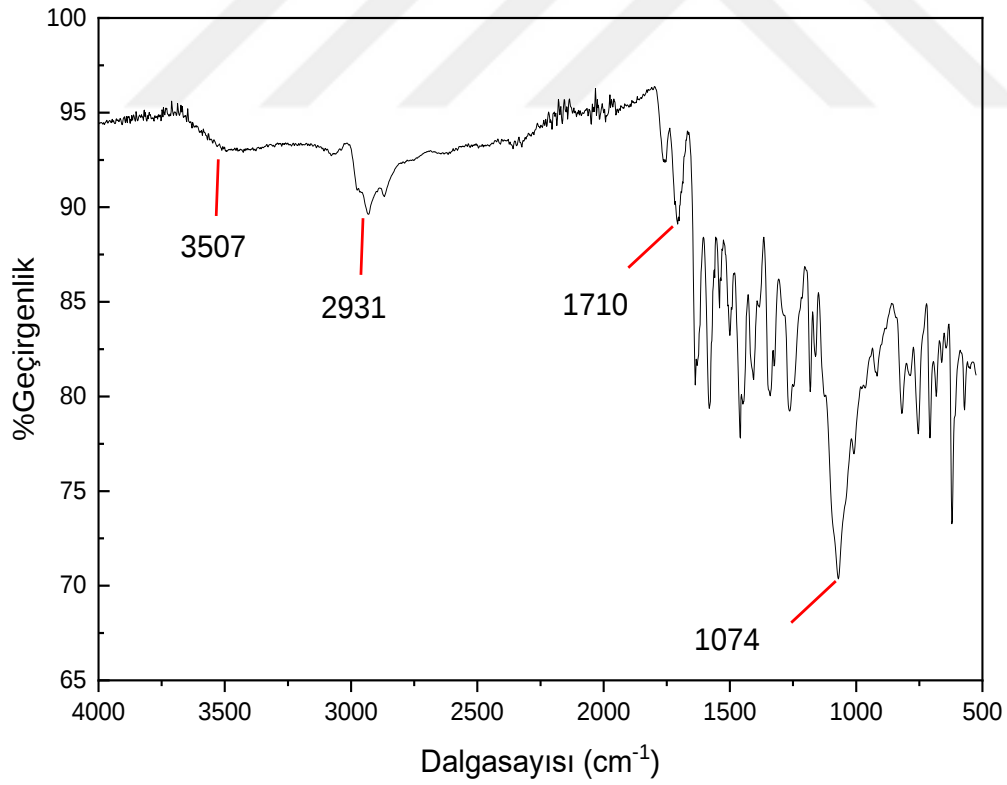
4.1.2 2 numaralı bileşiğin karakterizasyonu



Şekil 4.4 : 2 numaralı bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu.



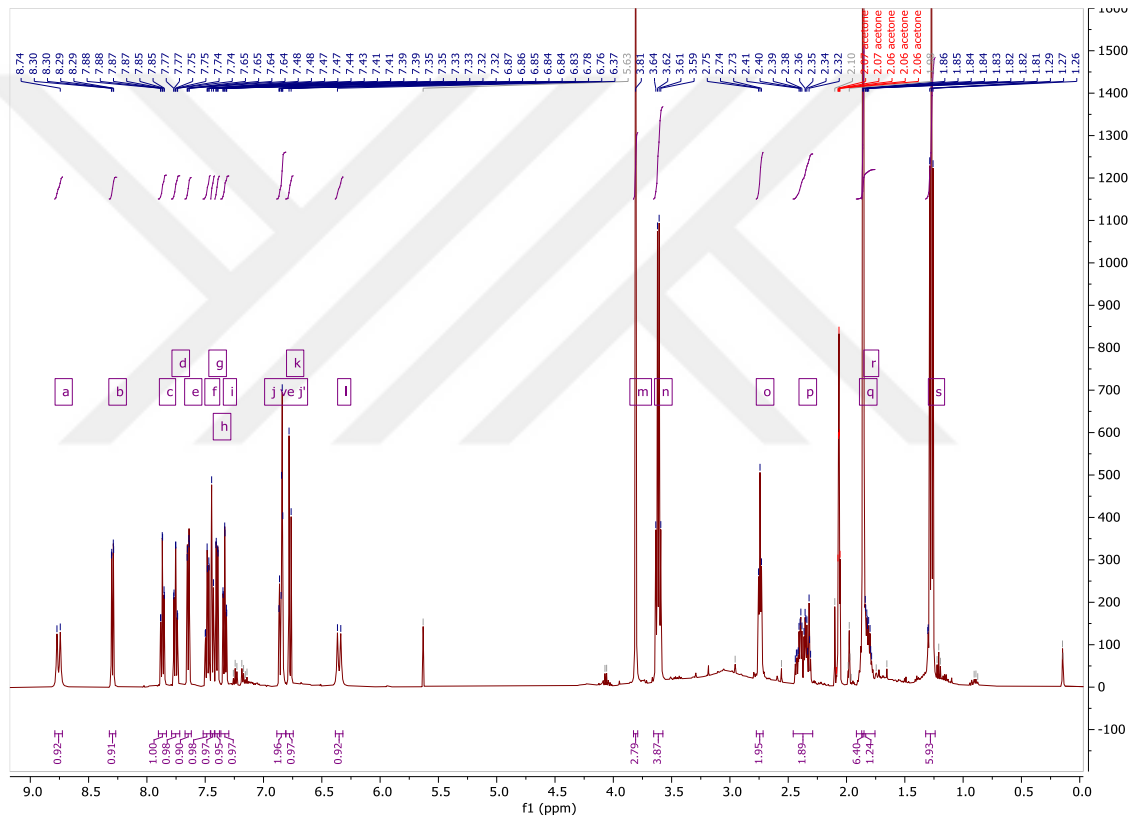
Şekil 4.5 : 2 numaralı bileşiğe ait ^{13}C -NMR spektrumu.



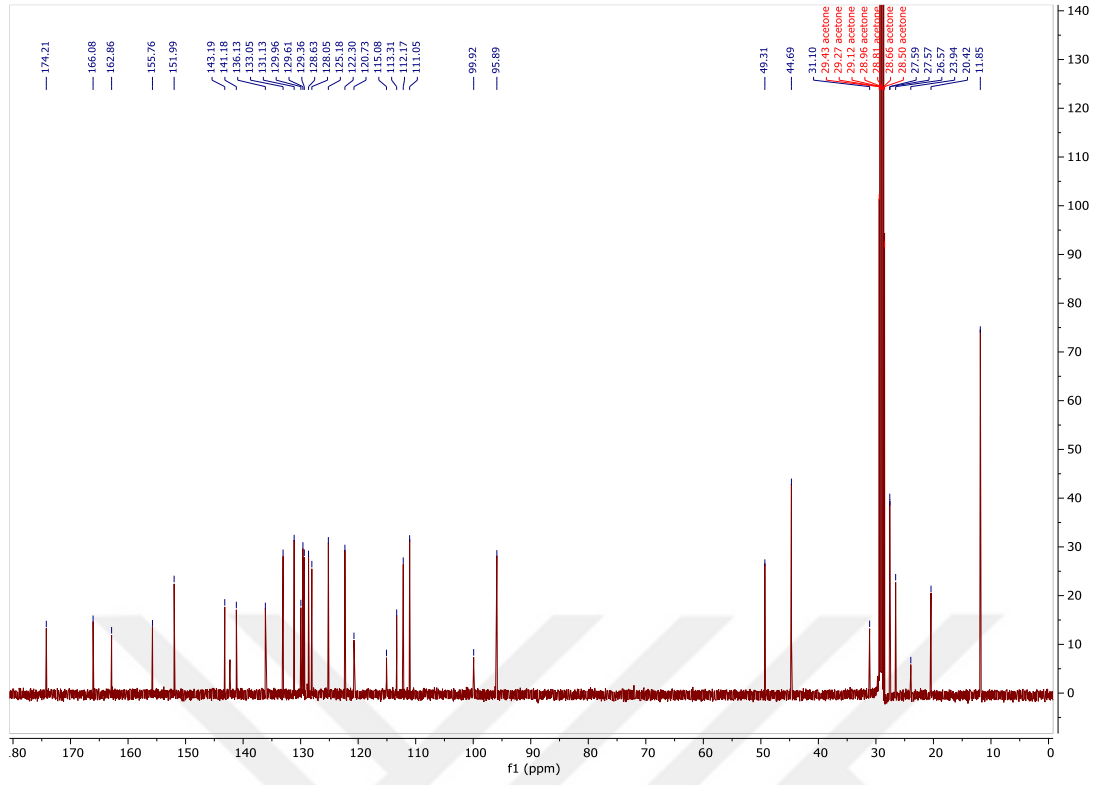
Şekil 4.6 : 2 numaralı bileşiğe ait FTIR spektrumu.

2 numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumu (Şekil 4.4) incelendiğinde; a – g protonlarına ait aromatik bölgede yer alan protonlara ait kimyasal kayma değerleri 7,94 – 6,34 ppm aralığında; h – l protonlarına ait kimyasal kayma değerleri 3,34 – 1,52 ppm aralığında, m protonlarına ait kimyasal kayma değerleri 1,15 ppm değerinde yer almıştır. ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.5) ise, 27,41 – 21,95 ppm aralığındaki pikler ksanten benzeri halkanın oluştuğunu göstermektedir. FTIR spektrumu (Şekil 4.6) incelendiğinde ise, 3507 cm^{-1} değerinde yer alan asit ve 1074 cm^{-1} değerindeki eterik gruplara ait bantlar yapının oluştuğunu göstermektedir.

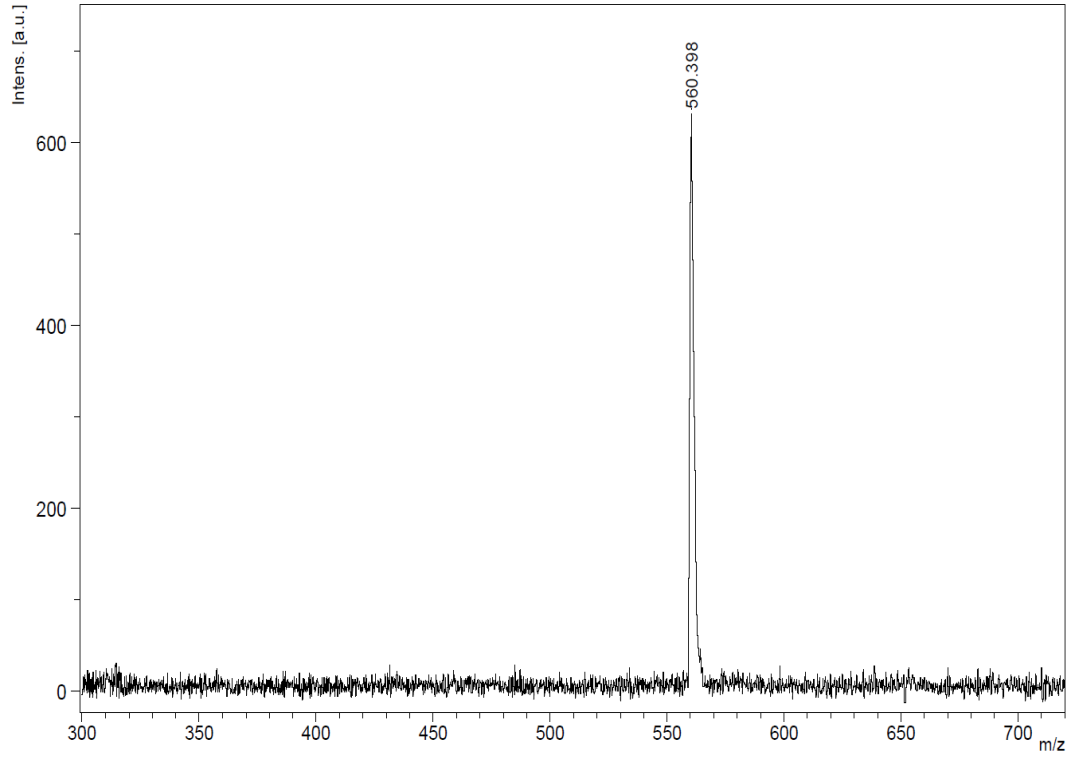
4.1.3 CS₂ karakterizasyonu



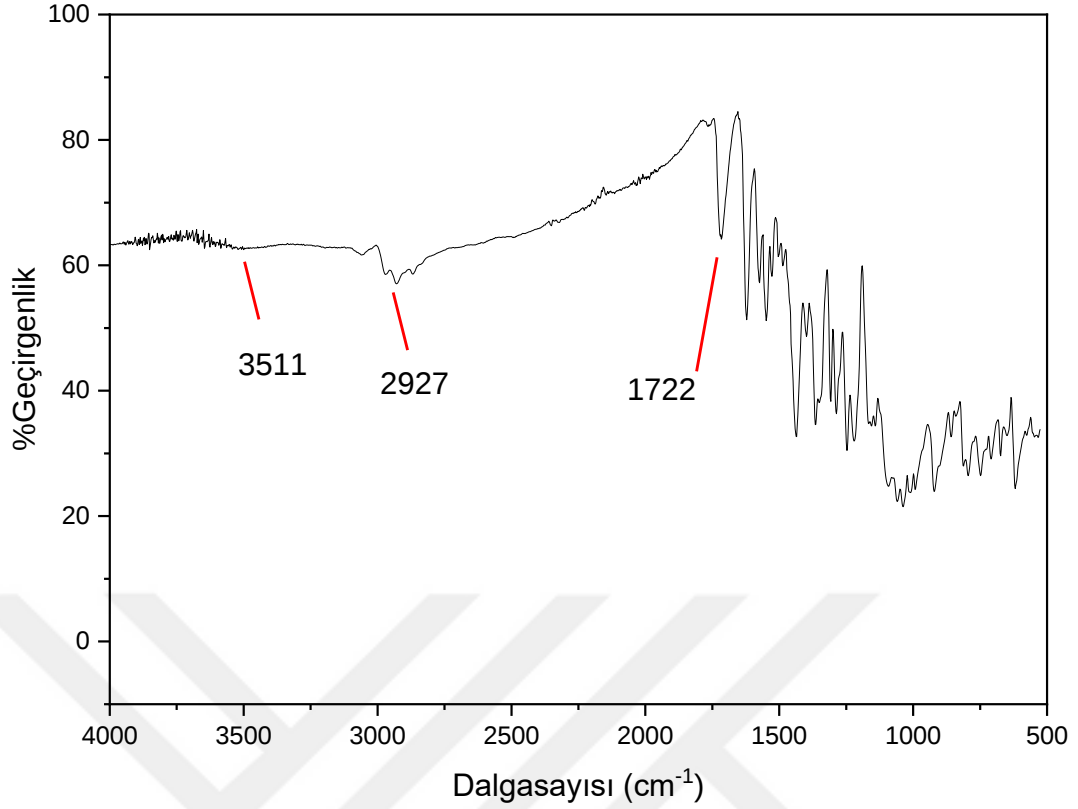
Şekil 4.7 : CS₂ bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.8 : CS2 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu.



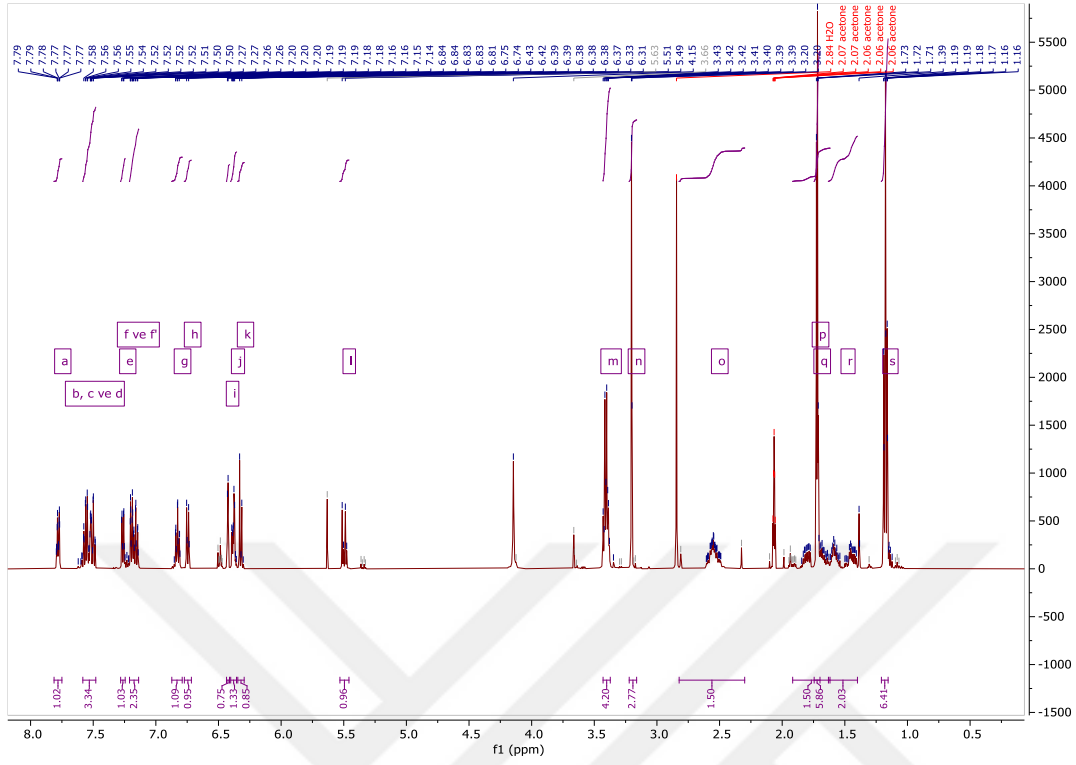
Şekil 4.9 : CS2 bileşiğine ait MALDI-TOF spektrumu.



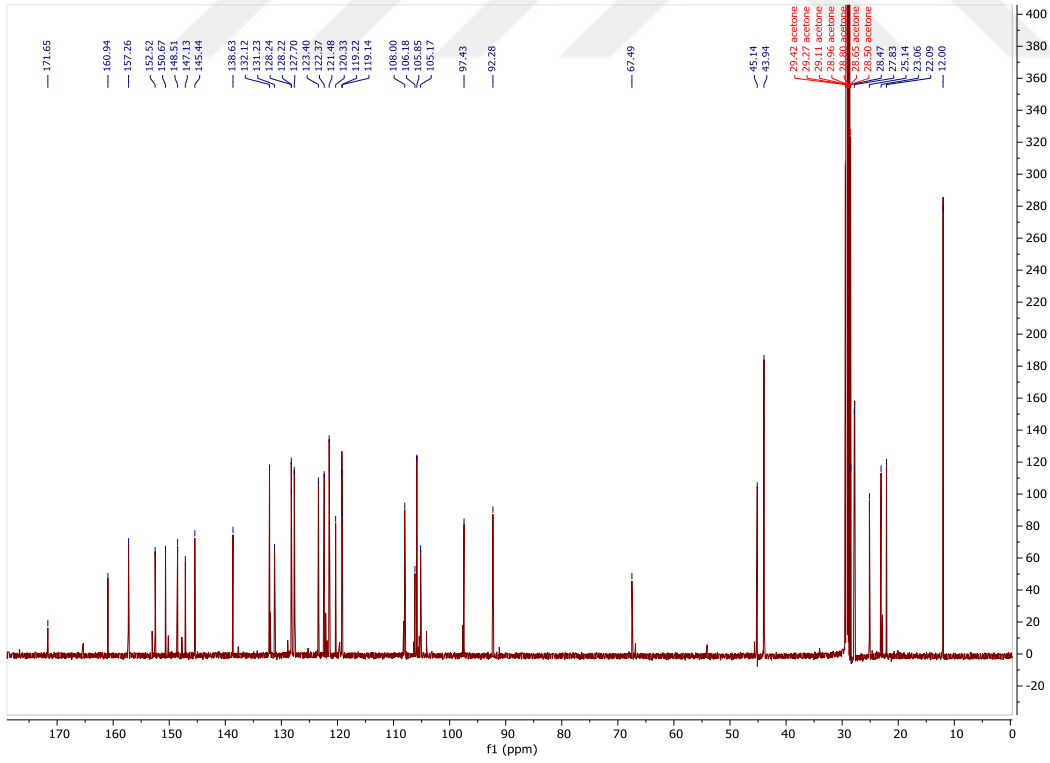
Şekil 4.10 : CS2 bileşiğine ait FTIR spektrumu.

Aseton-d₆ çözücüsü içerisinde ¹H NMR spektrumu (Şekil 4.7) incelenen **CS2** bileşiğine ait protonlar incelendiğinde; δ 8,76 – 6,81 ppm kimyasal kayma değerlerine sahip aromatik a – j' protonlarını, 6.77 ve 6.35 ppm kimyasal kayma değerlerindeki Fisher indol bölgesinde yer alan alkene ait k ve l protonlarını, 3,81 – 3,61 ppm aralığında azota komşu karbonlara bağlı (m ve n) protonlarını, 2,74 – 1,27 ppm aralığında ise o-s protonlarını görmek mümkündür. ¹³C NMR spektrumu (Şekil 4.8) incelendiğinde ise 174,21 ppm kayma değerine sahip Fischer indol bölgesindeki azota komşu karbonu yapının oluştuğuna dair kanıtlar göstermektedir. FTIR (Şekil 4.9) ve MALDI-TOF spektrumları (Şekil 4.10) yapı ile uyumludur. MALDI-TOF: hesaplanan [M+H⁺]= 560,304, bulunan [M+H⁺]= 560,398.

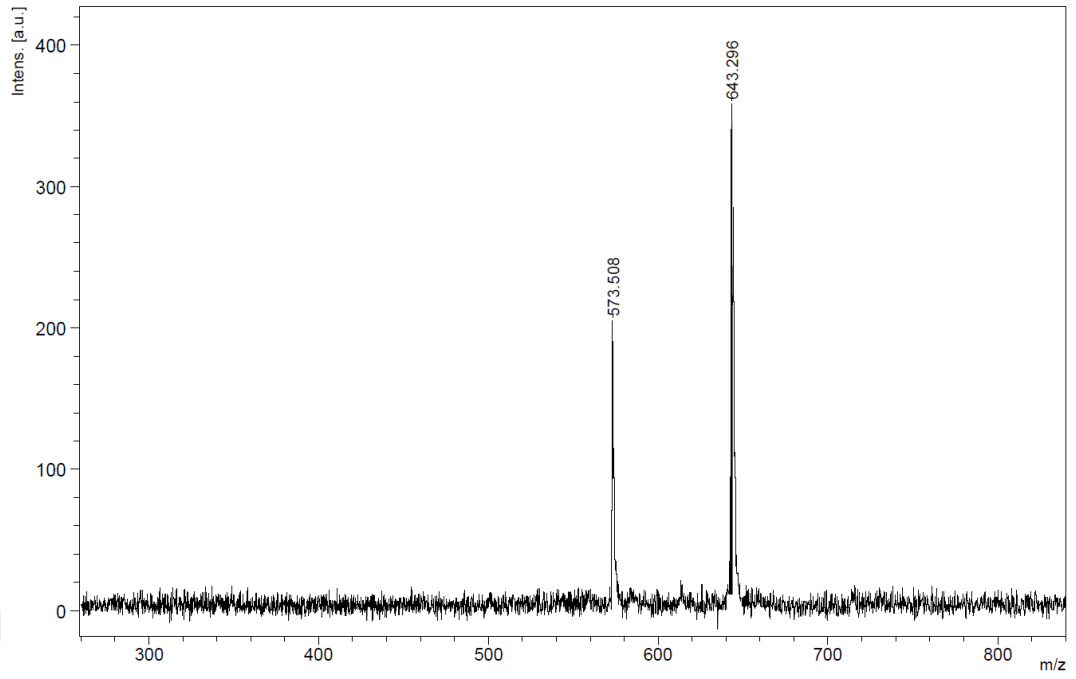
4.1.4 CS₂H bileşiğinin karakterizasyonu



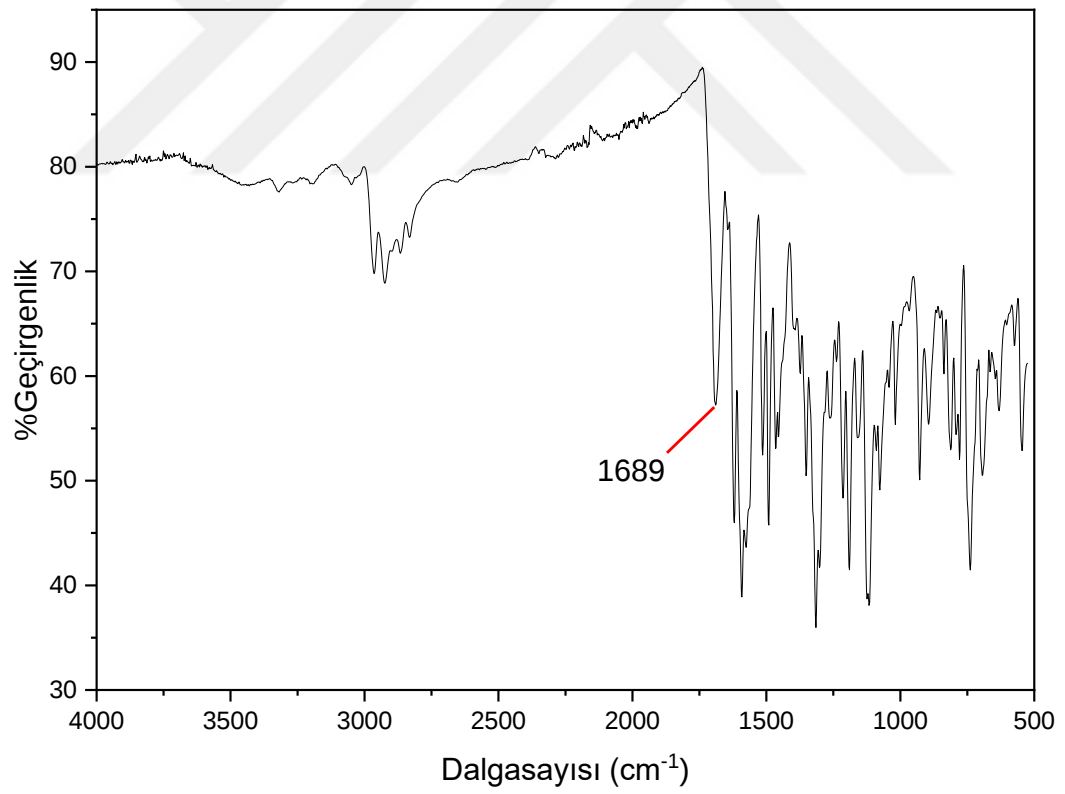
Şekil 4.11 : CS₂H bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 4.12 : CS₂H bileşiğine ait ¹³C-NMR spektrumu.



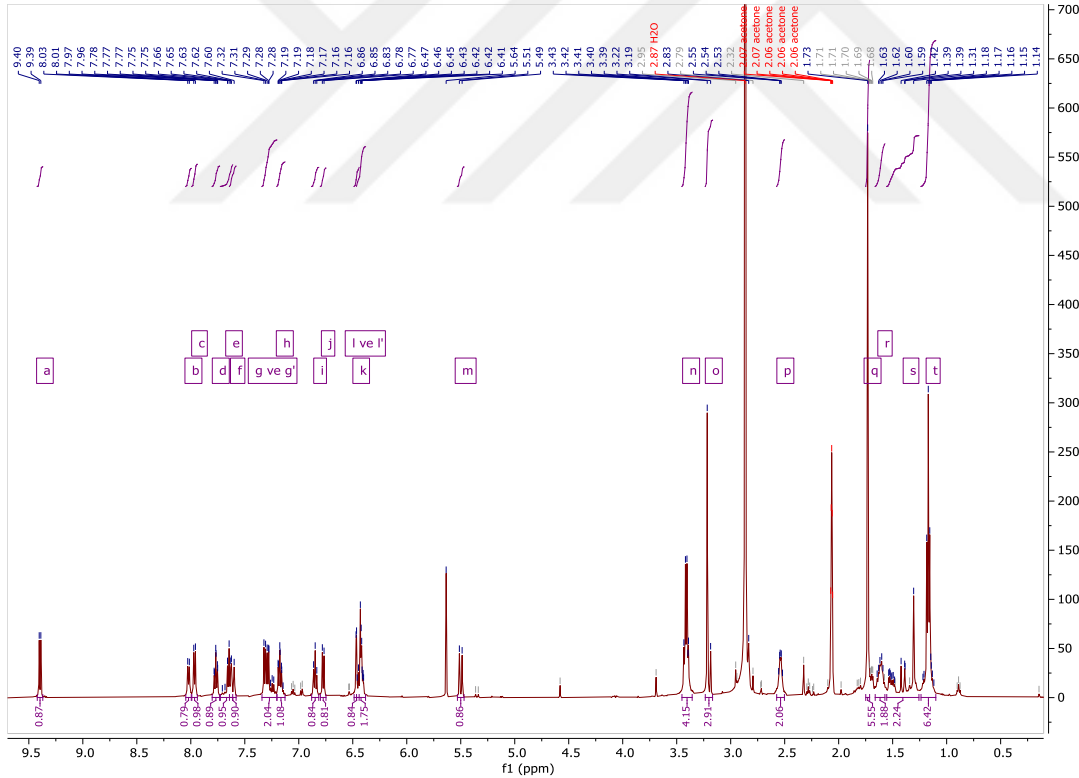
Şekil 4.13 : CS₂H bileşiğine ait MALDI-TOF spektrumu.



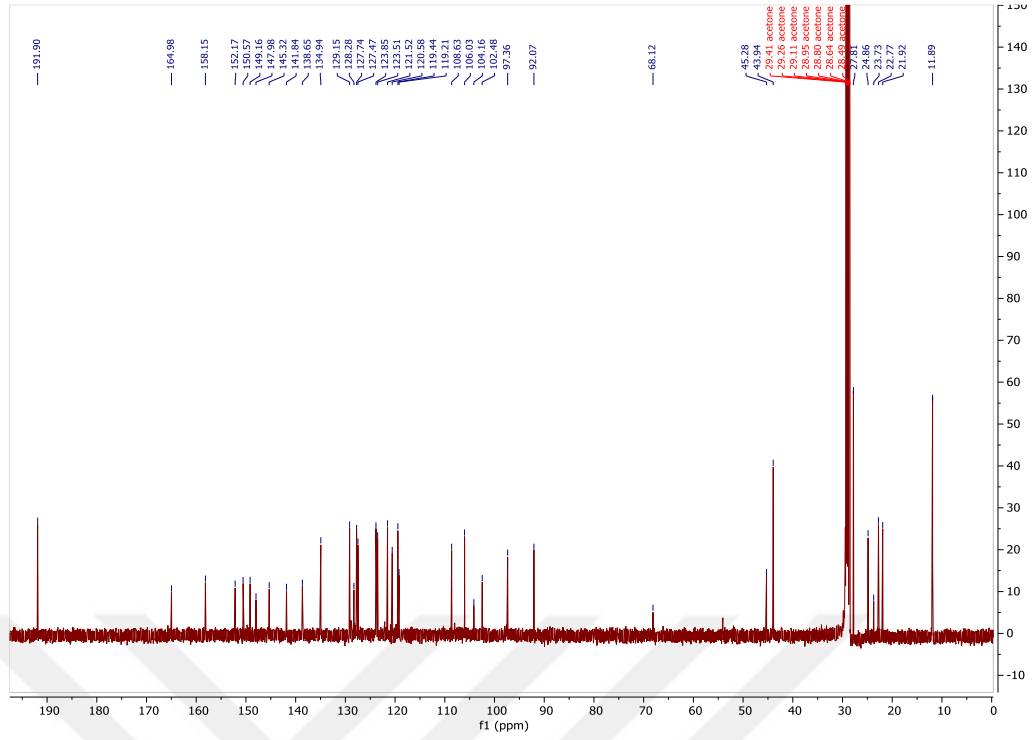
Şekil 4.14 : CS₂H bileşiğine ait FTIR spektrumu.

CS2H bileşiğine ait ^1H NMR (aseton- d_6) spektrumu (Şekil 4.11) incelendiğinde; 7,78 – 6,83 ppm ve 6,15 ppm kimyasal kayma değerlerine sahip aromatik a – h, j ve k protonları, 6,43 ve 5,49 ppm kimyasal kayma değerlerine sahip Fisher indol bölgesinde yer alan alkene ait i ve l protonları, 3,40 ve 3,20 ppm kimyasal kayma değerlerine sahip azota komşu karbona bağlı m – n protonları, 2,82 – 1,17 ppm kimyasal kayma değerlerine sahip o – s protonları yapının oluştuğunu kanıtlamaktadır. ^{13}C NMR spektrumu (Şekil 4.12) incelendiğinde 67,49 ppm kayma değerine sahip spiroolaktam halkasının ve ksanten yapısının ortak karbonuna ait pik gözlenmiştir. Şekil 4.13'e göre hesaplanan $[\text{M}+\text{H}^+] = 573,323$, MALDI-TOF spektrumunda bulunan $[\text{M}+\text{H}^+] = 573,508$. FTIR spekturumuna (Şekil 4.14) göre ise 1689 cm^{-1} değerinde bulunan amit bandı yapının oluştuğunu göstermektedir.

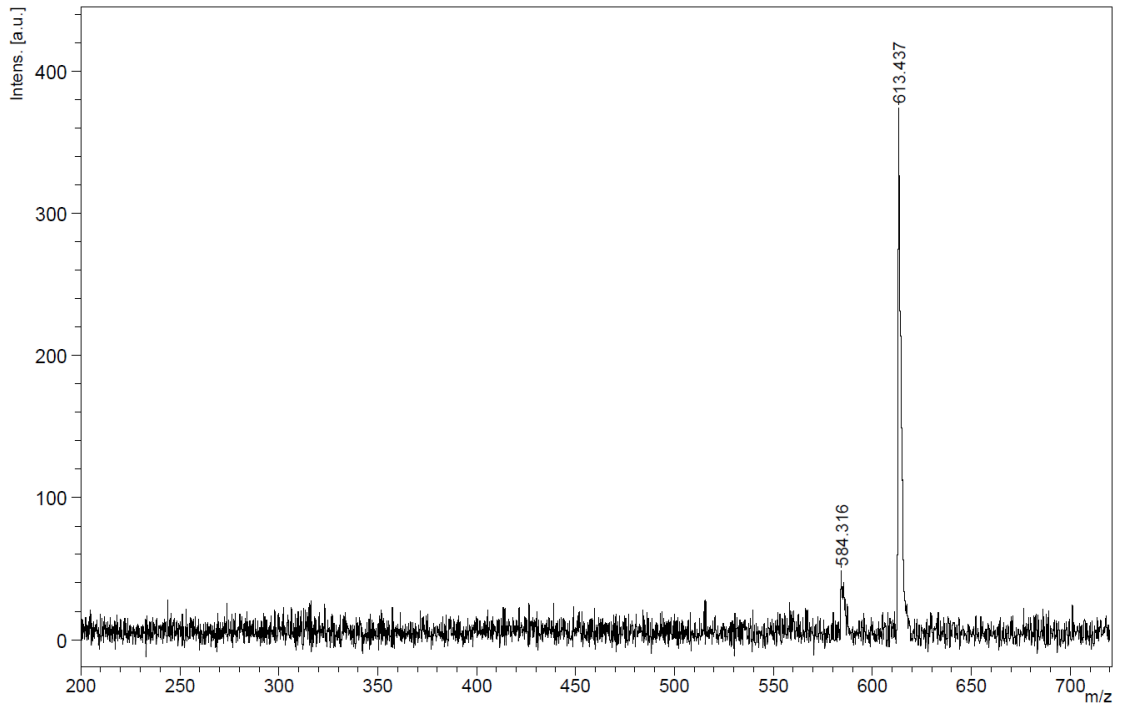
4.1.5 CyR bileşiğinin karakterizasyonu



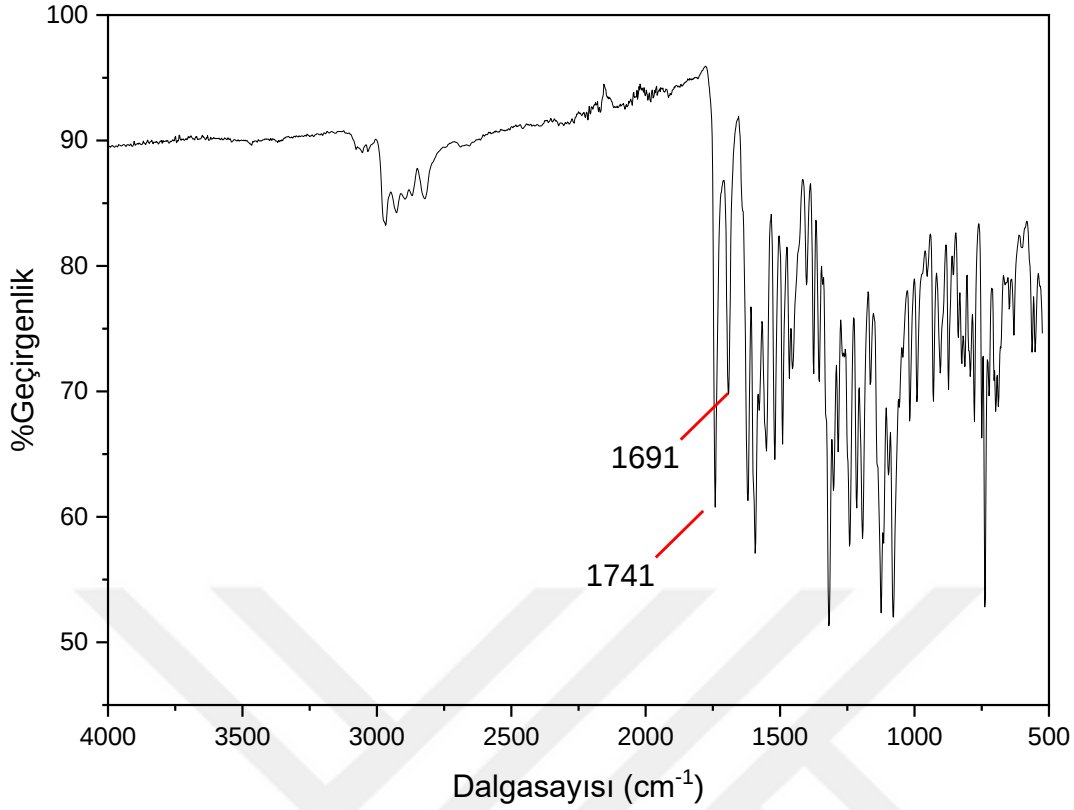
Şekil 4.15 : CyR bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.16 : CyR bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.17 : CyR bileşiğine ait MALDI-TOF spektrumu.

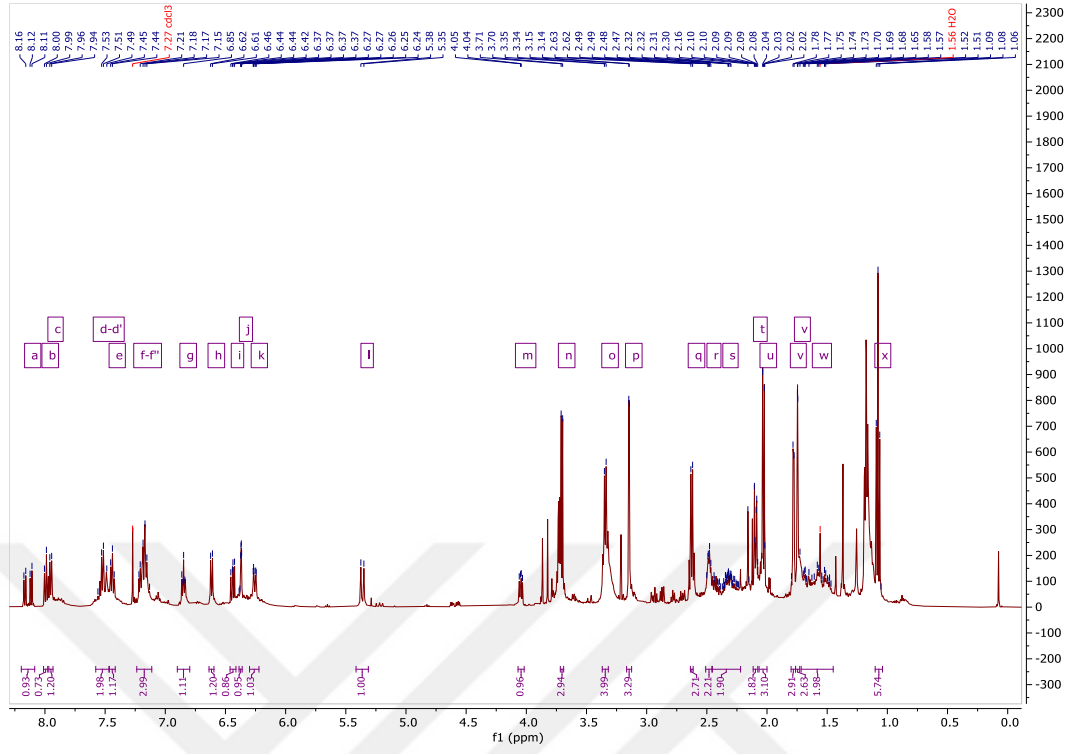


Şekil 4.18 : CyR bileşiğine ait FTIR spektrumu.

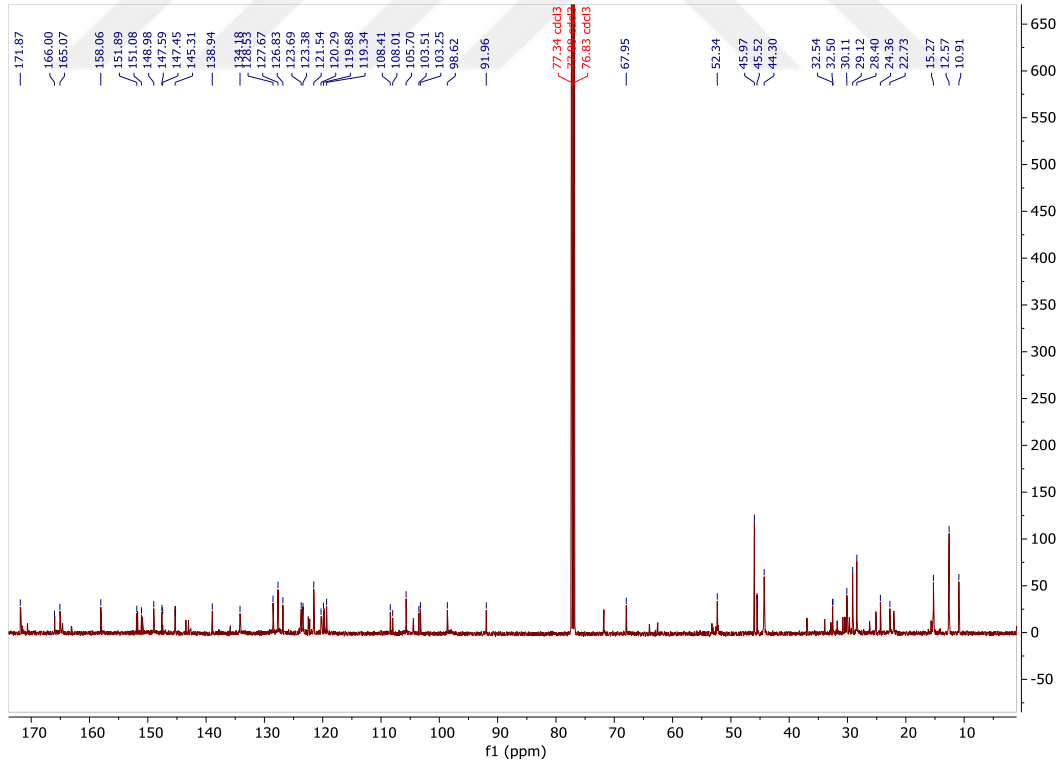
CyR bileşiğine ait ^1H NMR (aseton- d_6) spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.15) **CS₂H** bileşiğinden farklı olarak 9,40 ppm kimyasal kayma değerine sahip dublet yarımla görülmüş olan aldehite ait (a) proton ve 8,02 ppm kimyasal kayma değerine sahip dublet yarımla göstermiş olan imine ait (b) proton yapının sentezlendiğinin kanıtıdır. ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.16) 191,90 ppm kayma değerine sahip aldehit piki yapının oluşumunu göstermiştir.

MALDI-TOF ve FTIR spektrumları ile de yapının varlığı ispatlanmıştır. MALDI-TOF spektrumuna göre (Şekil 4.17) bulunan $[\text{M}+\text{H}^+] = 613,437$ ve hesaplanan $[\text{M}+\text{H}^+] = 613,318$ değerler birbiri ile tutarlıdır. FTIR spektrumuna göre (Şekil 4.18) ise, 1691 cm^{-1} değerinde bulunan amit grubunun yanı sıra 1741 cm^{-1} değerinde bulunan aldehit grubu yapının oluştuğunu göstermektedir.

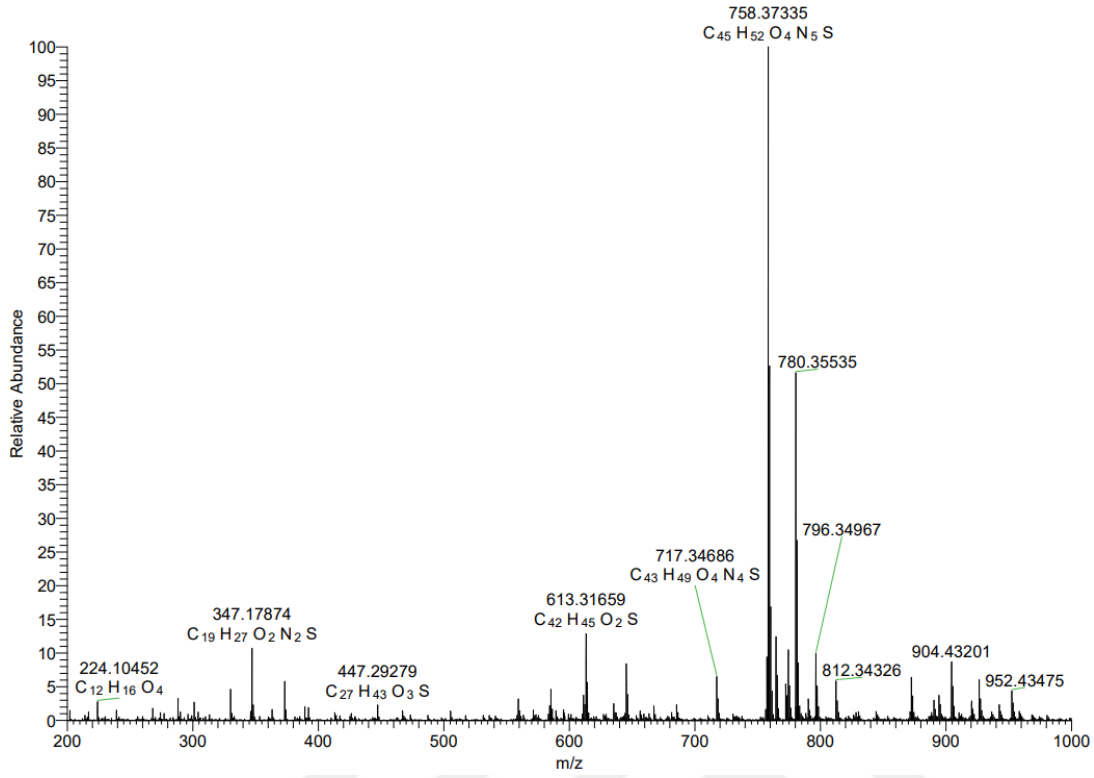
4.1.6 CSME bileşiğinin karakterizasyonu



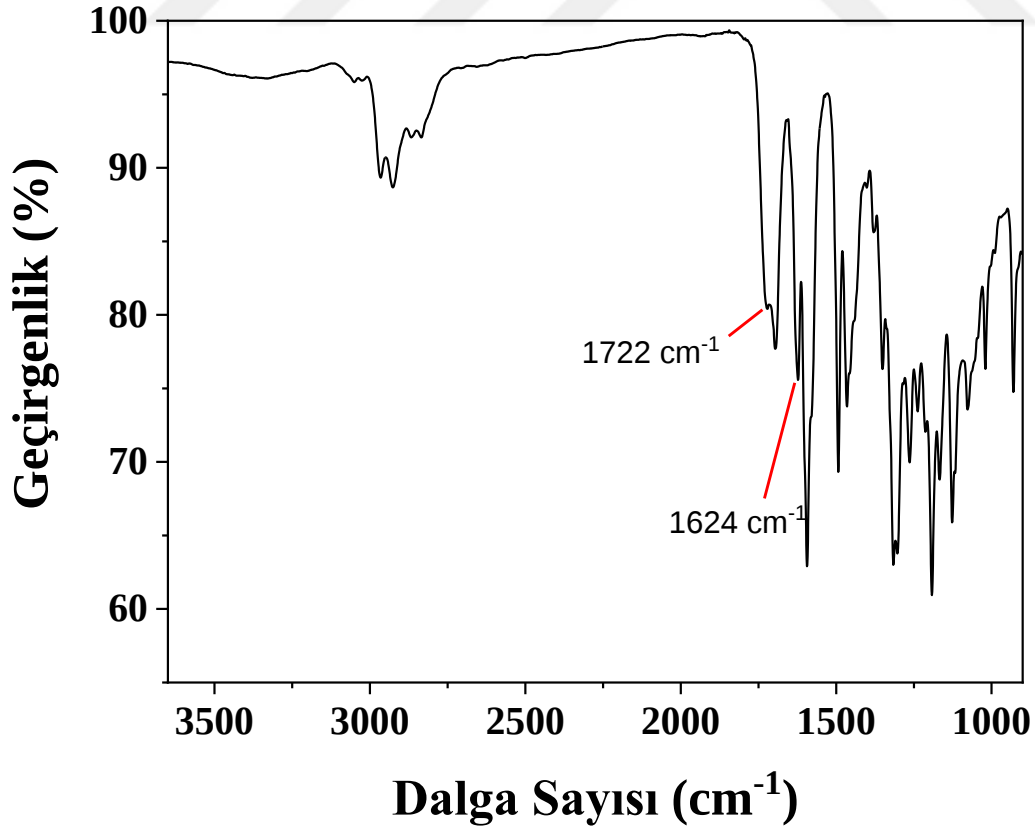
Şekil 4.19 : CSME bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 4.20 : CSME bileşiğine ait ¹³C-NMR spektrumu.



Şekil 4.21 : CSME bileşiğine ait HRMS spektrumu.



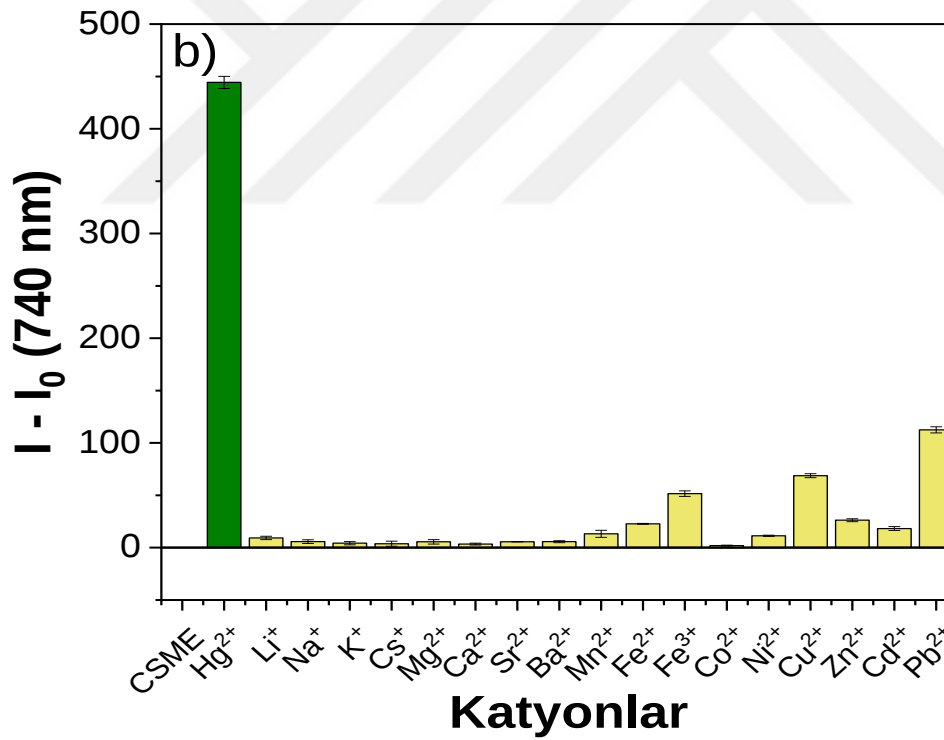
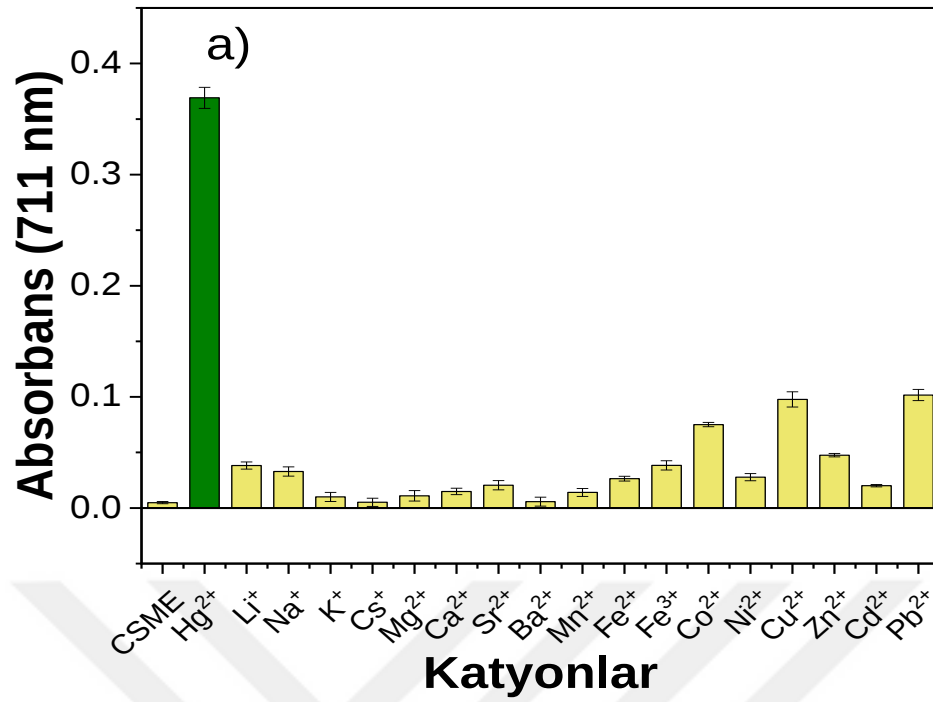
Şekil 4.22 : CSME bileşiğine ait FTIR spektrumu.

CSME bileşiğine ait ^1H NMR (Aseton- d_6) spektrumu (Şekil 4.19) incelendiğinde; 8,10 ve 8,00 ppm kimyasal kayma değerlerindeki Schiff bazına ait a ve b protonları, 7,95 – 6,37 ppm kimyasal kayma değerleri aralığında aromatik c – j protonları, 6,22 ve 5,36 ppm kimyasal kayma değerlerine sahip Fisher indol bölgesinde yer alan alkene ait k ve l protonları, 4,05, 3,70, 2,16 ve 2,03 ppm kayma değerlerindeki metiyonin metil esterine ait pikler, yapının oluştuğunu kanıtlamaktadır. ^{13}C NMR spektrumu (Şekil 4.20) incelendiğinde ise 67,95 ppm kayma değerine sahip spiro-laktam halkasının ve ksanten yapısının ortak karbonuna ait pik gözlenmiştir. Bunun yanı sıra 158,06 ve 148,98 ppm kayma değerlerindeki imin yapısındaki karbonu temsil etmektedir. **CSME** bileşiğinin HRMS spektrumu incelendiğinde hesaplanan $[\text{M}+\text{H}^+]$ = 758,37400 değeri ile bulunan $[\text{M}+\text{H}^+] = 758,37335$ değerleri birbiri ile uyumludur. FTIR spektrumu (Şekil 4.22) incelendiğinde; 1624 cm^{-1} de imine yapısına ait $\text{C}=\text{N}$ gerilmesinin yanı sıra, 1722 cm^{-1} deki titreşimler estere ait pikler yapının oluştuğunu göstermektedir.

4.2 Sensör Çalışmaları

4.2.1 Seçicilik ve Girişim

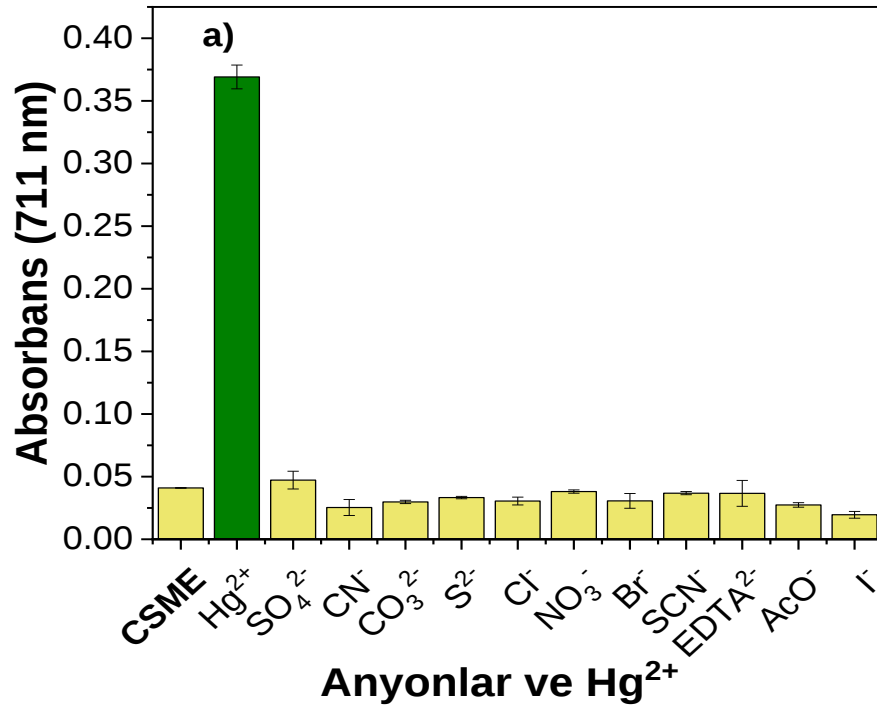
Asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında yapılan seçicilik çalışmasında, $3,0 \times 10^{-5}\text{ M}$ **CSME** bileşiği 600 ile 750 nm dalga boyu aralığında çok zayıf bir absorpsiyon ve emisyon bandı vermektedir. Hg^{2+} iyonlarının eklenmesiyle 711 nm dalga boyunda şiddetli bir absorbans artışı ile beraber 740 nm dalga boyunda ise emisyon artışı gözlenmiştir. Florometrik yöntemle göre 740 nm dalga boyundaki artış değerlendirildiğinde Hg^{2+} hariç herhangi bir metal kayda değer bir yanıt vermeyip Hg^{2+} iyonuna karşı seçici olarak davranmaktadır. UV-Gör spektrometrik yöntemle göre ise yine benzer şekilde 711 nm dalga boyundaki absorbans artışı değerlendirildiğinde (Şekil 4.23) **CSME** sensörü seçiciliği yüksek olarak davranmıştır. Benzer şekilde, çeşitli anyonlar varlığında da seçicilik gözlenmemiş, florometrik yöntemle göre 740 nm dalga boyunda ve UV-Gör spektrometrik yöntemde 711 nm dalga boyunda ciddi bir artış gözlenmemiştir (Şekil 4.24). Buna göre **CSME** probu asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında seçici olarak çalışmaktadır.

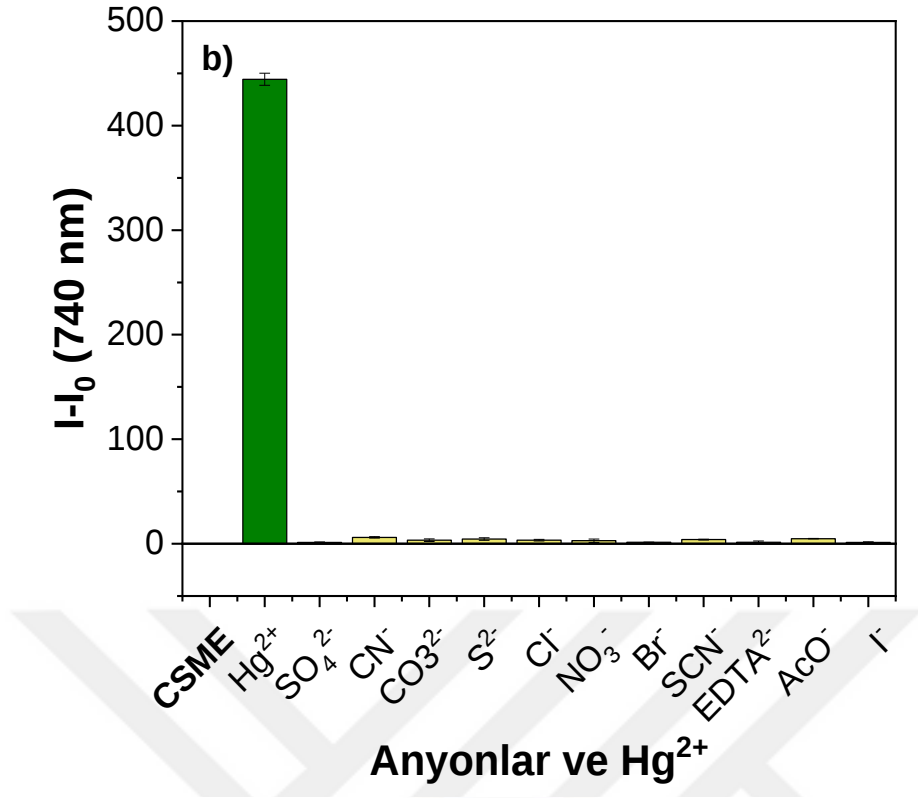


c)



Şekil 4.23 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME sensörünün asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında farklı metal katyonları (5 ekivalent) varlığındaki a) 711 nm'deki absorpsiyon değerleri b) 740 nm'deki floresan şiddeti değişimleri c) metal tuzları (Hg^{2+} (2), Li^+ (3), Na^+ (4), K^+ (5), Cs^+ (6), Mg^{2+} (7), Ca^{2+} (8), Sr^{2+} (9), Ba^{2+} (10), Mn^{2+} (11), Fe^{2+} (12), Fe^{3+} (13), Co^{2+} (14), Ni^{2+} (15), Cu^{2+} (16), Zn^{2+} (17), Cd^{2+} (18) ve Pb^{2+} (19)) varlığında CSME(1) çözeltisinin görsel davranışı.

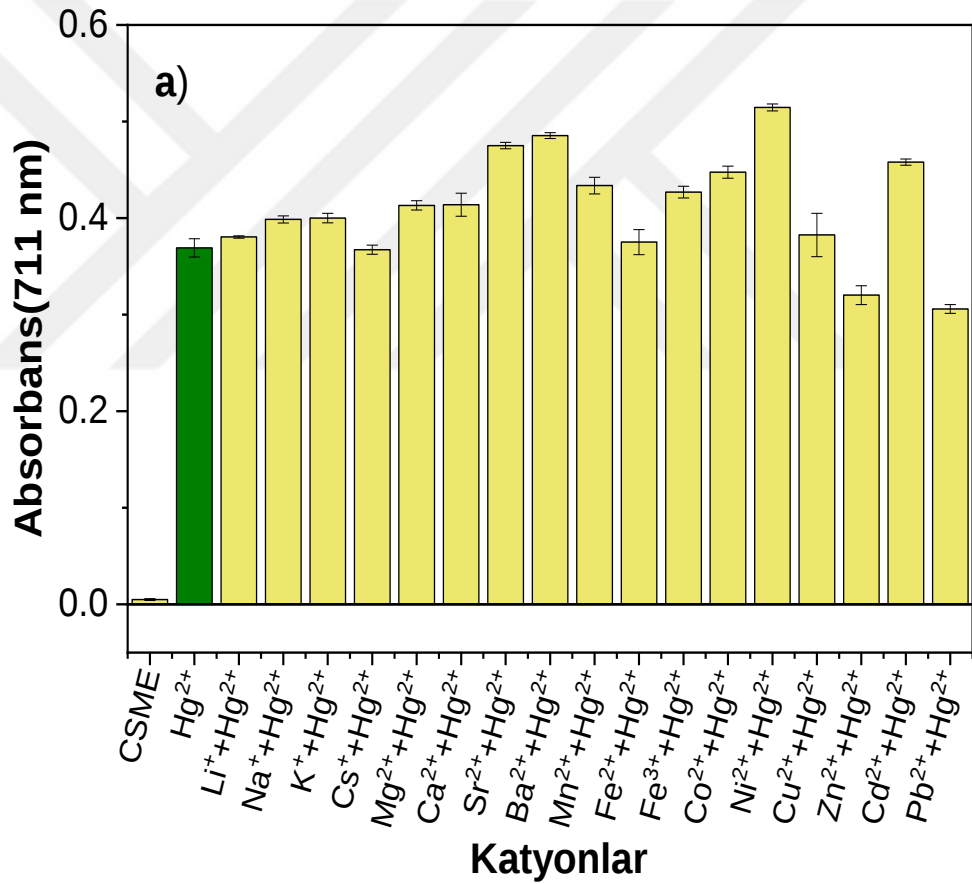


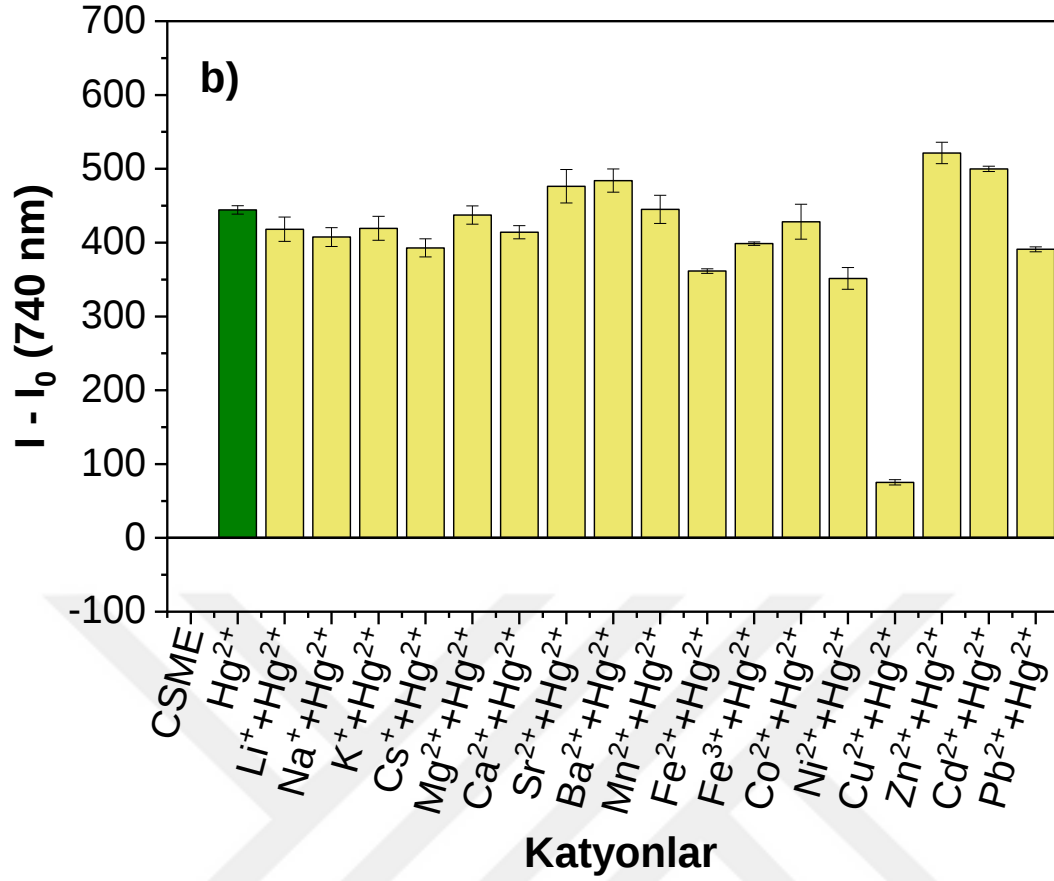


Şekil 4.24 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME sensörünün asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında farklı anyonlar (5 ekivalent) varlığındaki a) 711 nm'deki absorpsiyon değerleri b) 740 nm'deki floresan şiddeti değişimleri c) Hg²⁺(2) ve anyonlar (SO₄²⁻(3), CN⁻ (4), CO₃²⁻(5), S²⁻(6), Cl⁻(7), NO₃⁻(8), Br⁻(9), SCN⁻(10), EDTA²⁻(11), AcO⁻(12) ve I⁻ (13)) varlığında CSME(1) çözeltisinin görsel davranışı.

CSME probunun asetonitril: HEPES tampon çözeltisi (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında yapılan girişim çalışmasında (Şekil 4.31), katyonlar varlığında UV-Gör spektrometrik yöntemle göre 711 nm dalga boyundaki absorbans artışı değerleri incelendiğinde girişim göstermeden Hg^{2+} katyonuna beklenen yanıtı vermiştir.

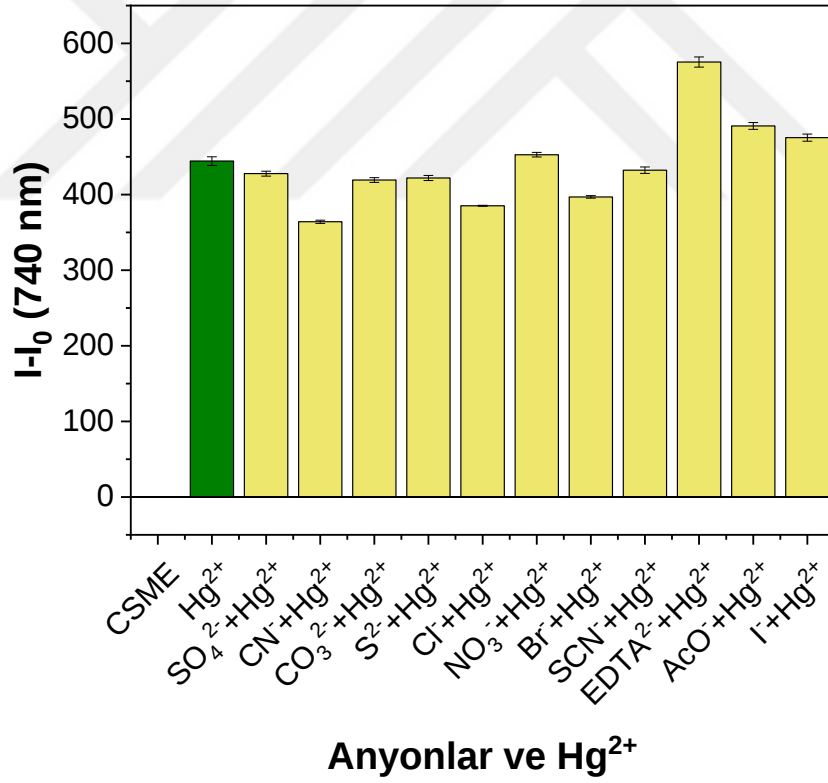
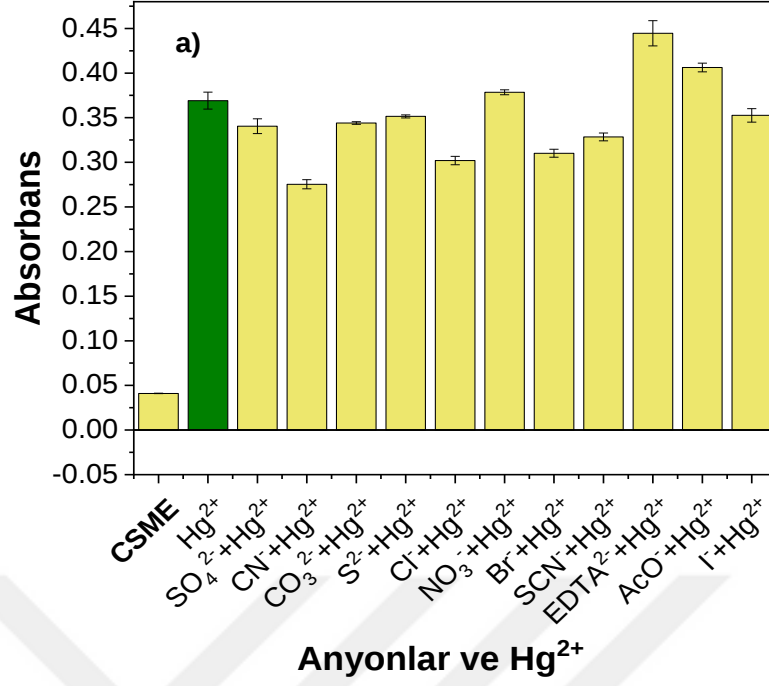
Florometrik yöntemle göre 740 nm dalga boyundaki artış değerlendirildiğinde Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} ve Pb^{2+} içeren çözeltilerde Hg^{2+} içeren çözeltideki CSME sensörünün emisyon şiddeti beklendiğinden daha farklı olmuştur. Bu problemin giderilmesi için ise, çalışma $1,5 \times 10^{-4}$ M 1,10-fenantrolin varlığında ilgili katyonlarla tekrar edilmiş ve Cu^{2+} haricinde tüm katyonlarda girişim engellenmiştir (Şekil 4.25).





Şekil 4.25 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME sensörünün asetonitril:pH 7.4 tamponunda(5:1) farklı metaller varlığındaki (5 ekivalent) Hg^{2+} iyonuna (5 ekivalent) karşı a) UV-Gör absorbans b) floresan şiddeti değişimleri. Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} içeren çözeltilerde $1,5 \times 10^{-4}$ M 1,10-fenantrolin bulunmaktadır.

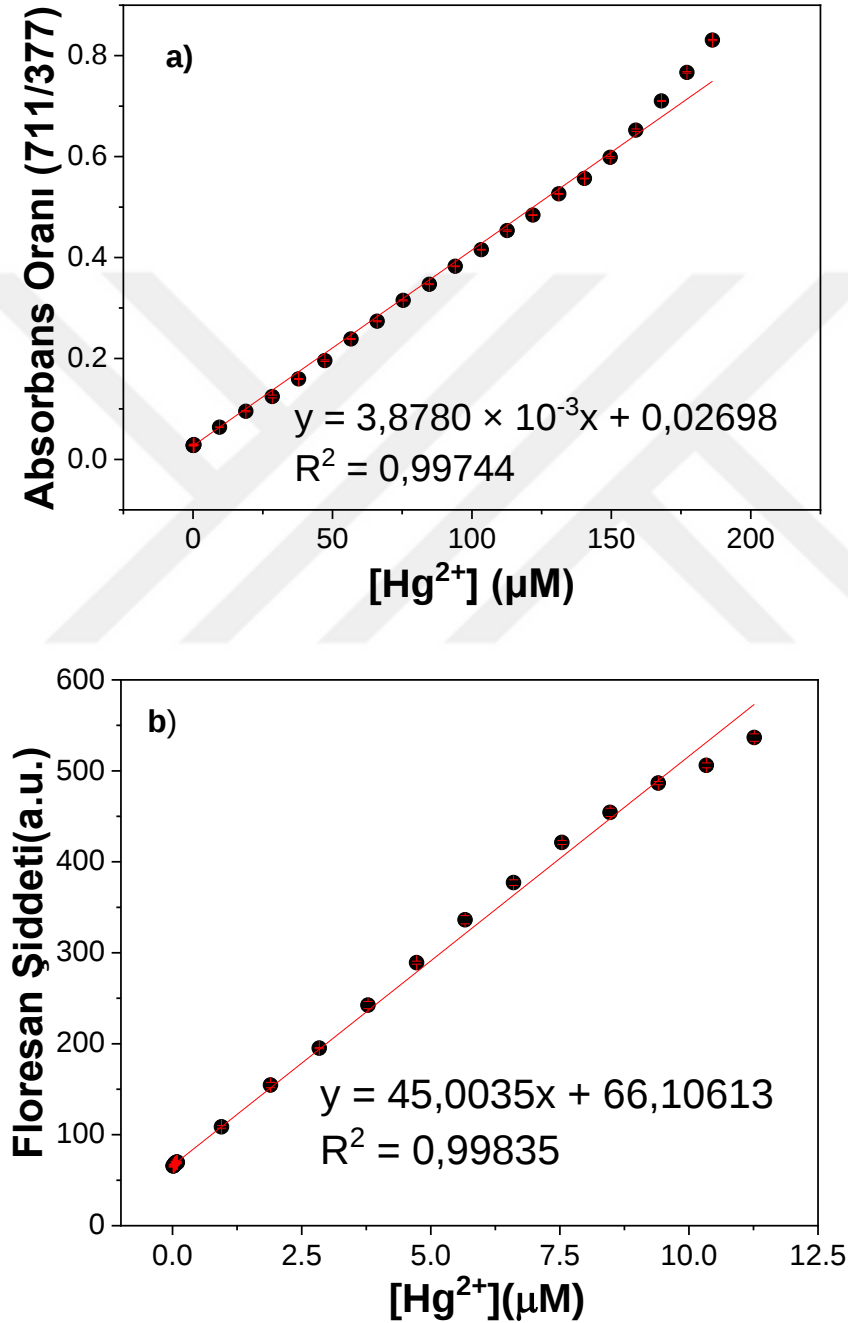
Anyonlar için yapılan çalışmada ise, herhangi bir girişim gözlenmemiş olup, ilgili anyonlar varlığında Hg^{2+} iyonuna karşı CSME probu beklenen yanıtları (Şekil 4.26) vermiştir.



Şekil 4.26 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME sensörünün asetonitril:pH 7.4 tamponunda(5:1) farklı anyonlar varlığındaki (5 ekivalent) Hg²⁺ iyonuna (5 ekivalent) karşı a) UV-Gör absorbans b) floresan şiddeti değişimleri.

4.2.2 Çalışma Aralığı ve LOD

CSME sensörünün titrasyon çalışmalarından elde edilen maksimum absorbens değişiminin gözlemlendiği 711/377 nm dalga boylarındaki absorbens değerlerinin orantısız değeri ve 740 nm dalga boyundaki floresan şiddeti değerleri kullanılarak sensörün Hg^{2+} iyonuna karşı doğrusal çalışma grafikleri oluşturulmuştur.



Şekil 4.27 : $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME bileşiğinin değişen Hg^{2+} konsantrasyonuna karşı a) Uv-Gör spektrometrik yöntemle göre doğrusal çalışma aralığı b) florometrik yöntemle göre doğrusal çalışma aralığı.

Buna göre asetonitril: HEPES tamponu (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında $3,0 \times 10^{-5}$ M **CSME** çözeltisinin, UV-Gör spektrometrik yöntemle $6,29 \times 10^{-8} - 1,86 \times 10^{-4}$ M ($12,6 - 37310$ ng/mL) aralığında, florometrik yöntemle ise $9,49 \times 10^{-9} - 1,13 \times 10^{-5}$ M ($1,9 - 2267$ ng/mL) aralığında çalışabilen bir sensör olduğu belirlenmiştir. Titrasyon çalışmalarında elde edilen veriler yardımı ile sensörlerin Hg^{2+} iyonu için tespit limiti (LOD) değerleri (4.1) numaralı formüle göre hesaplanmıştır. Formülde SS kör ölçümlerin ($n=5$) standart sapması ve S kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir. Buna göre UV-Gör spektrometrik yöntem için LOD değeri $5,89 \times 10^{-8}$ M ($11,8$ ng/mL, florometrik yöntem için LOD değeri ise $4,93 \times 10^{-9}$ M ($0,99$ ng/mL) olarak hesaplanmıştır.

$$LOD = 3 \times SS / S \quad (4.1)$$



5. GERÇEK ÖRNEK UYGULAMALARI

5.1 Musluk ve İçme Suyunda Hg^{2+} Tayini

Hg^{2+} ölçümü için önerilen yöntemin gerçek örneklerde uygulanabilirliği, musluk ve içme suyu numunelerinde de test edilmiştir. Asetonitril: HEPES tamponu (5:1, v/v, pH 7,4) ortamında $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME varlığındaki Hg^{2+} analizi, saf su içeren ortamda başarıyla gerçekleştirilmiştir. Musluk ve içme suyu örneklerinde de çalışabilirliğini test etmek amacıyla, ayrı test tüplerinde musluk ve içme suyuyla Hg^{2+} stok çözeltisi, $4,8 \times 10^{-5}$ M'a seyreltildi. Hazırlanan Hg^{2+} ile kirletilen numune çözeltileri daha sonra küçük parçalar halinde ölçüm için asetonitril: HEPES tamponu (5:1, v/v, pH 7.4) içindeki $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME çözeltisine ilave edildi. Toplanan absorpsiyon ve emisyon verileri, bulunan Hg^{2+} miktarını hesaplamak için kalibrasyon denklemleri kullanıldı. Bu sonuçlar ışığında, çizelge 4.1'de gösterildiği gibi, CSME probunun incelenen su numunelerinde iyi geri kazanım ve düşük bağlı standart sapma (RSD) değerlerine sahip olduğu ve gerçek numunelerde başarıyla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

5.2 Akıllı Telefon Uygulamasıyla Hg^{2+} Tayini

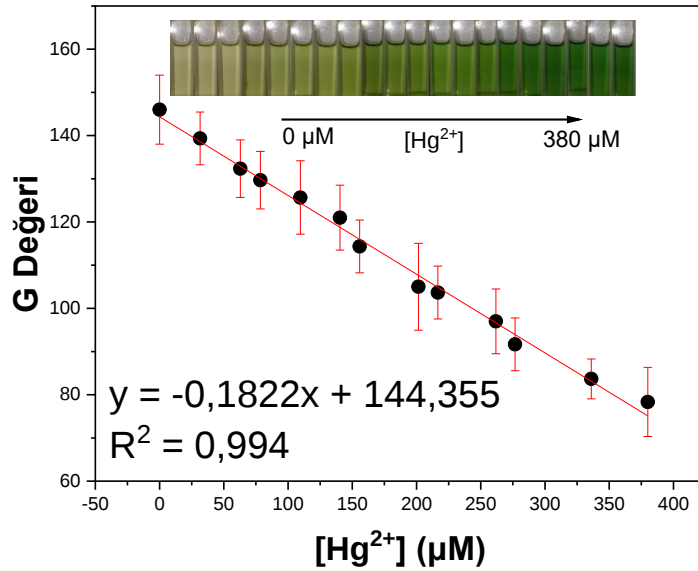
Akıllı telefonlar, günlük hayatta sıklıkla kullanılan cihazlardır. Son zamanlarda gıda kalitesi ve sağlık hizmetleri izleme ve yönetimi ve biyogörüntüleme gibi çeşitli alanlarda akıllı telefon tabanlı uygulamalar kullanılmaktadır. Özellikle akıllı telefonlar, kolorimetrik sensör uygulamalarında gerçek numunelerde belirli analitlerin görsel tespiti için kullanılmaktadır. Bu yeni uygulama ilginç bir çalışma alanı olarak son yıllarda yerinde ve hızlı analizler sağlar. Akıllı telefonlar, yüksek çözünürlüklü kameraları ve yüklü bir üçüncü taraf mobil uygulaması ile kameradan alınan görüntü verilerini kırmızı-yeşil-mavi (RGB) renk skalasında kodlayabilir. Kolorimetrik yöntemine dayalı olarak, bir analit miktarı, karmaşık ekipman ve iyi eğitilmiş analistlere ihtiyaç duymadan, analit konsantrasyonuna bağlı olarak probun görsel değişimi ile belirlenebilir[85–92].

Çizelge 5.1 : Musluk ve içme sularında Hg^{2+} analizi sonuçları.

a) Musluk Suyu			İçme Suyu	
Eklenen [Hg^{2+}] (ng/mL)	Bulunan [Hg^{2+}] (ng/mL)	Geri Kazanım (%) $\pm$ RSD	Bulunan [Hg^{2+}] (ng/mL)	Geri Kazanım (%) $\pm$ RSD
631	602	95,4 $\pm$ 0,1	574	91,0 $\pm$ 0,1
943	888	94,2 $\pm$ 0,2	905	96,0 $\pm$ 1
1253	1132	90,3 $\pm$ 1	1314	104,9 $\pm$ 0,2
1562	1401	89,7 $\pm$ 0,1	1688	108,1 $\pm$ 0,4
1868	1691	90,5 $\pm$ 0,6	1976	105,8 $\pm$ 0,1

b) Musluk Suyu			İçme Suyu	
Eklenen [Hg^{2+}] (ng/mL)	Bulunan [Hg^{2+}] (ng/mL)	Geri Kazanım (%) $\pm$ RSD	Bulunan [Hg^{2+}] (ng/mL)	Geri Kazanım (%) $\pm$ RSD
32	28	87 $\pm$ 2	29	93 $\pm$ 1
63	53	85 $\pm$ 1	57	91 $\pm$ 2
94	80	85 $\pm$ 4	83	88 $\pm$ 3
125	111	88 $\pm$ 1	114	91 $\pm$ 2
156	140	90 $\pm$ 4	146	93 $\pm$ 3
187	161	86 $\pm$ 1	169	90 $\pm$ 1
217	192	88 $\pm$ 2	196	90 $\pm$ 1

İlk olarak, asetonitril: HEPES tamponu (5:1 v/v, pH 7,4) ortamında $3,0 \times 10^{-5}$ M CSME probu çözeltisine değişen miktarlarda Hg^{2+} eklendi ve her biri bir akıllı telefonla (Redmi Note 10S) ayrı ayrı fotoğraflandı. Artan Hg^{2+} konsantrasyonuna göre değişen renk, akıllı telefona yüklenen bir uygulama ile RGB değerleri cinsinden okundu ve Hg^{2+} konsantrasyonuna karşı G değeri olarak çizildi.



Şekil 5.1 : G değerine karşılık gelen Hg^{2+} konsantrasyonu.

Buna göre akıllı telefon tabanlı, herhangi bir karmaşık cihaz gerektirmeyen ve $0 - 3,80 \times 10^{-4}$ M konsantrasyonları arasında çalışabilen yeni bir yöntem geliştirilmiş oldu.

Kalibrasyon eğrisi çizildikten sonra, Hg^{2+} ile kirlenmiş musluk ve içme sularında Hg^{2+} konsantrasyonu akıllı telefon kullanılarak belirlendi. Asetonitril: HEPES tamponu (5:1, v/v, pH 7,4) çözeltisi içerisindeki CSME probuna, değişen miktarlarda Hg^{2+} ile kirlenilmiş su numuneleri eklendi ve her solüsyon aynı akıllı telefon ile fotoğraflandı. Elde edilen fotoğraflardaki çözelti renklerinden G değerleri belirlendi ve toplanan veriler kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırıldı. Çizelge 4.2'de musluk ve içme suyunda değişen Hg^{2+} konsantrasyonu ile geri kazanım ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri gösterilmiştir.

Çizelge 5.2 : Akıllı telefon ile musluk ve içme sularında yapılan Hg^{2+} analizi.

Muskuk Suyu			İçme Suyu	
Eklenen [Hg^{2+}] (ng/mL)	Bulunan [Hg^{2+}] (ng/mL)	Geri Kazanım (%) $\pm$ RSD	Bulunan [Hg^{2+}] (ng/mL)	Geri Kazanım (%) $\pm$ RSD
25	26	104 ± 5	24	97 ± 6
31	31	101 ± 5	30	98 ± 2
37	39	106 ± 4	35	94 ± 5
43	42	98 ± 7	44	102 ± 8

Elde edilen yüksek geri kazanıma göre bu prob, akıllı telefon dışında herhangi bir karmaşık cihaz kullanmadan musluk ve içme suyunda Hg^{2+} analizi için kullanılabilir.

5.3 Hücre İçi Görüntüleme Çalışmaları

Biyolojik görüntüleme (biyogörüntüleme), hücrelerin morfolojik ayrıntılarını görselleştirmek için benzersiz bir yaklaşım sunduğu için günümüzde biyolojik araştırmalarda güçlü bir araç haline gelmiştir. Son 20 yılda nanometre seviyesinde çözünürlük ölçeğine ulaşan teknolojik gelişmelerle birlikte, floresan tabanlı görüntüleme, hassas, seçici, kontrast bakımından zengin ve çok yönlü olduklarından özel ilgi görmektedir. Genleri, proteinleri, hücreleri ve süreçlerini izlemek için doğrudan bir görselleştirme yaklaşımı sağlayan floresan biyogörüntüleme, hücre biyolojisi ve tıp biliminin araştırma alanlarında kritik bir rol oynamıştır.

Floresan görüntüleme, floroforun cinsine göre iki grupta incelenebilir. İlki, dokulardaki NADH veya klorofil gibi doğası gereği floresan türlerken, ikinci tür ise sentetik olarak üretilen floresan probalar ve işaretleyiciler eklenerek floresan hale

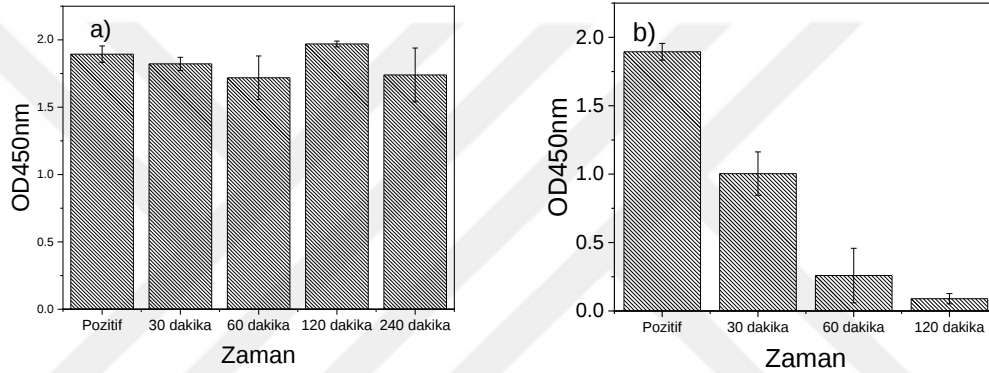
getirilmiş numunelerin veya hücrelerin görüntülenmesi yöntemidir. Bu tür sentetik problemler, doğrudan florometrik görüntülemeye uygun olmayan türleri tespit etmek için önemli araçlardır. Bugüne kadar, yüksek hassasiyet, yüksek seçicilik, güvenilirlik, çeşitlilik ve dokuya duyarlı karakter gibi üstünlükleri nedeniyle biyogörüntülemelerde floresan tabanlı teknikler önemli yer tutmuştur. Tipik olarak, floresan problemleri, hedefi belirli kimyasal yapılarla etiketlemek ve böylece floresan bazlı biyogörüntüleme sırasında floresan sinyalleri üretmek için kullanılır[93–95].

Son yıllarda floresan biyogörüntülemelerde, geleneksel olarak *in vitro* görüntüleme ve analit algılama için kullanılmasına rağmen, tüm vücutta *in vivo* görüntülemelerde kullanımı hala eksiktir. Bunun başlıca nedeni, UV-Gör optik uyarım radyasyonunun düşük doku penetrasyonu, yüksek arka plan floresansı (otofloresan) ve geleneksel olarak kullanılan organik problemlerin fotohasarı bırakmasından kaynaklıdır. Bu etkileri azaltmak adına kullanılan yakın kızılötesi (NIR) floresan problemlerle, hücrelerde ve organizmalarda biyolojik olarak ilgili türlerin takibini yapabilmek adına umut verici bir çalışma alanı olmuştur. NIR problemlerinin kullanımı, dokuda derin foton penetrasyonu sağlarken, biyolojik numunelere verilen foto hasarı en aza indirir ve canlı sistemlerde bulunan biyomoleküllerden düşük arka plan otofloresan yapmasını sağlar. Bu sebeple yeni tip analite duyarlı NIR floresan problemlerinin sayısı, yoğun araştırma çabalarının bir sonucu olarak son yıllarda önemli ölçüde artmıştır[96,97]. Bu çalışmada metiyonin içermesi sebebiyle ile biyoyumlu, yakın kızılötesi bölgede emisyon yapan, **CSME** probu kullanılarak hücre içinde Hg^{2+} analizi gerçekleştirilmiştir.

Sensör bileşiği **CSME**, suda çözünürlüğü sınırlı olduğu için alkol-su karışımında hazırlanmıştır. Bu sebeple toksisite testlerinden önce moleküllerin çözüldüğü alkol içeren ortamın hücrelere olan etkisi incelenmiştir. Burada amaç çözücü etkisinin azaltılarak, **CSME** probunun hücrelerin canlılığına yaptığı etkiyi daha doğru şekilde tespit edebilmektir. Bu amaçla 3T3 Fibroblast hücreleri kullanılmıştır. Bu hücreler sitotoksikite analizlerinde sıkça tercih edilen ve kanser hücresi olmadığından toksik etki olması durumunda tespiti kolaylaştıran hücrelerdir[98–101].

Çözücü etkisinin tespiti için hücreler kuyucuk başına 10.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu plakaya ekilmiş ve yüzeye 24 saat boyunca tutunmaları beklenmiştir. Daha sonra hücrelerin üzerindeki besi yeri uzaklaştırılmış ve içinde son alkol konsantrasyonu %5 ve %10 (v/v) olacak şekilde hazırlanmış besi yerleri eklenmiştir.

Alkol içeren besi yeri ortamında hücreler farklı sürelerde (30, 60, 120 ve 240 dakika) bırakılmış ve bu sürelerin sonunda üzerlerindeki alkol içeren besi yeri uzaklaştırılacak taze besi yeri eklenmiştir. Hücrelere 24 saatin sonunda canlılık testi uygulanmıştır. Bu amaçla Dojindo Cell Counting Kit-8 (CCK-8) kullanım kılavuzunda belirtildiği şekliyle 100 µL besi yerine 10 µL kit olacak şekilde hazırlanmış ve hücrelerin üzerine eklenmiştir. Hücreler 37°C de %5 CO₂ ortamında 2 saat boyunca inkübe edilmiş bu sürenin sonunda üst sıvılar toplanarak yeni bir 96 kuyucuklu plakaya aktarılmış ve renk değişimi 450 nm dalgaboyunda okunmuştur. Alkol içermeyen besi yeri ortamında büyütülmüş hücre canlılığı 100% olarak kabul edilerek çizilen grafik Şekil 5.2’de verilmiştir.

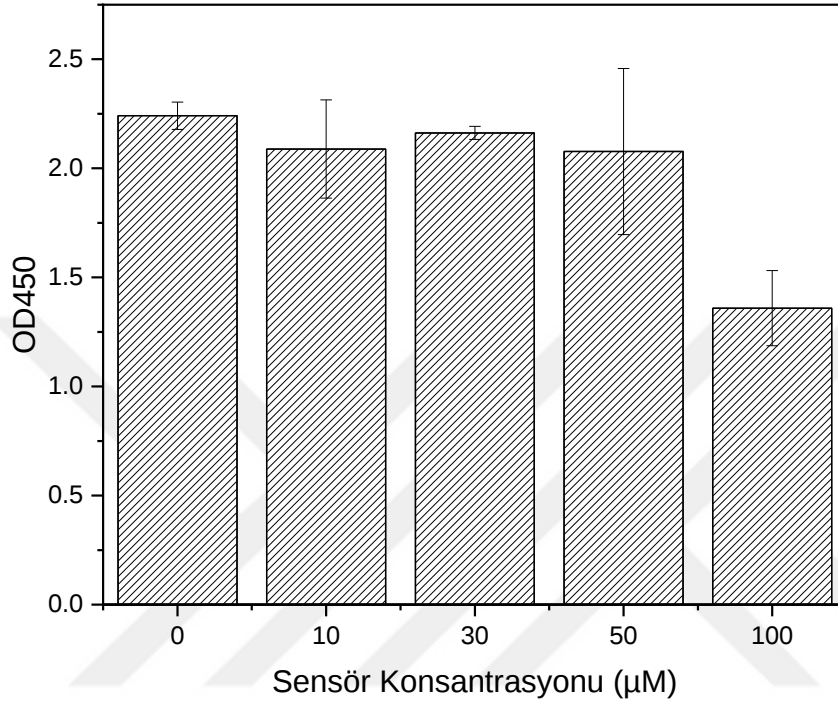


Şekil 5.2 : a) %5 alkol ortamında b) %10 alkol ortamında 30, 60, 120 ve 240 dakika büyütülen 3T3 hücrelerinin canlılık testi grafikleri.

Şekil 5.2 a) incelendiğinde %5 alkolün incelenen hücre canlılığına etkisinin 4 saatlik bekleme süresinde bile alkol içermeyen besi yeri ortamında büyütülmüş (pozitif kontrol) hücrelerle benzer olduğu görülmüştür. Alkol konsantrasyonu %10 olacak şekilde çalışıldığında 30 dakikalık bekleme süresinde bile hücrelerin yarısının canlılığını kaybettiği görülmektedir. Artan bekleme süresi ile hücre canlılığı çok büyük oranda azalmaktadır. Elde edilen bu sonuçlara dayanarak sensör moleküllerinin toksisite çalışmalarında besiyeri ortamındaki son alkol konsantrasyonu %5 olacak şekilde çalışılmıştır.

Toksisite testleri için de hücreler 10.000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilmiş ve 24 saatlik tutunma süresinin ardından **CSME** konsantrasyonları 0, 10, 30, 50, 100 µg/mL olacak şekilde ayrı ayrı besi yeri ortamı ile seyreltilmiş ve hücrelerin üzerine verilmiştir. Hücreler 4 saat boyunca 37°C’de %5 CO₂ ortamında inkübe edilmiş üst sıvılar taze besi yeri ile değiştirildikten sonra 24. saate kadar inkübe edilmiştir. Bu sürenin

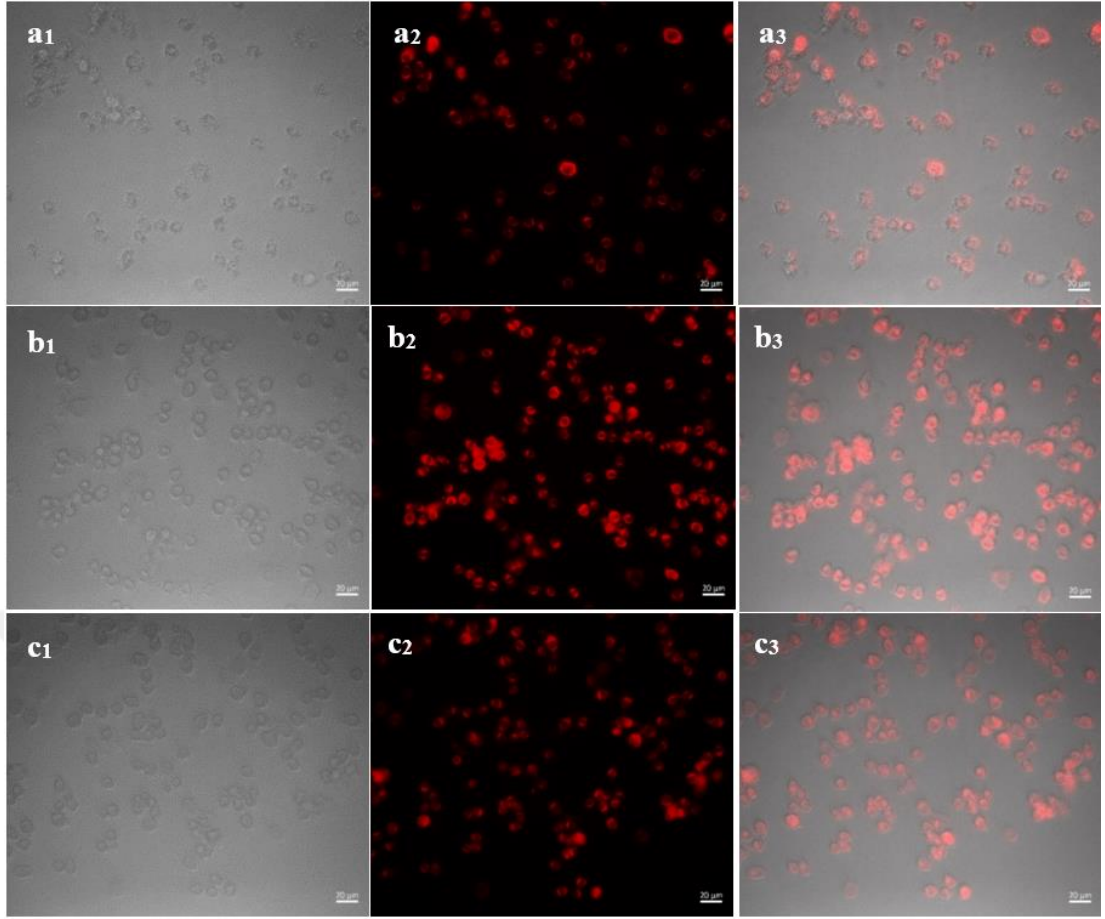
sonunda CCK-8 eklenmiş ve 2 saatlik inkübasyon süresi sonucu 450 nm’de okuma yapılmıştır. **CSME** probunun, farklı konsantrasyonları için (0, 10, 30, 50 ve 100 μM) okunan değerler Şekil 5.3’te verilmiştir.



Şekil 5.3 : CSME ile gerçekleştirilen hücre canlılığı testleri.

CSME sensör bileşiğinin 50 μM konsantrasyon dahil olmak üzere canlılığa bir etkisi olmadığı görülmüştür, ancak konsantrasyon 100 μM düzeyine yükseltildiğinde canlılığı olumsuz etkilemektedir. Görüntüleme çalışmaları için büyütülen hücreler son konsantrasyonu 30 μM olacak şekilde **CSME** ile PBS içinde 2 saat boyunca 37°C de %5 CO_2 ortamında inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda madde uzaklaştırılmış ve 3 kez PBS ile yıkanmıştır. Hücrelerin üzerine $9,5 \times 10^{-4} \text{ M Hg}^{2+}$ çözeltisinden eklenmiş ve 30 dakikanın sonunda hücreler floresan mikroskop (Zeiss Axiovert) ile görüntülenmiştir(Şekil 5.4).

Sadece **CSME** probu ile 30 dakika inkübe edilen hücrelerde(Şekil 5.4 a₂) zayıf bir floresan sinyali gözlenmesine karşın, önce 30 dakika proba ve ardından 30 dakika Hg^{2+} solüsyonu ile inkübe edilen hücrelerde (Şekil 5.4 b₂ ve Şekil 5.4 c₂) sinyal yoğunluğu önemli ölçüde artmıştır. Ancak hücreler $1,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ veya $1,0 \times 10^{-4} \text{ M Hg}^{2+}$ ile inkübe edildiğinde sinyal yoğunluğunda önemli bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 5.4 : 3T3 hücreleriyle **CSME** sensör bileşiği ile gerçekleştirilen görüntüleme çalışmaları, a₁-a₃) $3,0 \times 10^{-5}$ M **CSME** probu ile 30 dakika muamele edilmiş hücreler, b₁-b₃) **CSME** probu ile 30 dakika inkübe edildikten sonra, $1,0 \times 10^{-5}$ M Hg^{2+} çözeltisi ile 30 dakika işleme tutulmuş hücreler, c₁-c₃) **CSME** probu ile 30 dakika inkübe edildikten sonra, $1,0 \times 10^{-4}$ M Hg^{2+} çözeltisi ile 30 dakika işleme tutulmuş hücreler.



6. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

Çeşitli alanlarda kullanımı olan cıva, biyoparçalanırlığının düşük olması ve besin zincirinde birikiyor olması sebebiyle, canlılar için olumsuz etkiler oluşturabilmektedir. Cıva birikimi, biliş ve hareket kaybı, DNA hasarı, bağışıklık sistemi bozukluğu, organ yetmezliği, tümör gibi anomalilere neden olabilir. Günümüzde cıvanın sağlığa etkileri iyi biliniyor olsa da, hala cıva zehirlenmesi kaynaklı hastalıklar görüldüğünden, bu tür durumlar için cıva tayininde anlık çözümler üretmek önemli bir yer tutmaktadır. Eser miktarda bile zehirli olduğu bilinen cıva, tayini için kolorimetrik ve florimetrik yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır.

Yakın kızılötesi bölgede absorpsiyon ve emisyon yapan, ksanten halkasına sahip kromenilyum-siyanin boyaları, yüksek kuantum verimi ve molar absorpsiyon katsayısı gibi üstün fotofiziksel özelliklere sahip olmasının yanı sıra, rodamin boyalarında olduğu gibi uygun analit varlığında spirohalka açma kapama mekanizmasıyla birlikte analiz yapmaya uygundur.

Bu çalışmada seçici, hassas, hızlı ve geniş bir doğrusal aralıkta Hg^{2+} analizi yapabilmek amacıyla, yeni tip kromenilyum-siyanin tabanlı bir prob olan **CSME** ile çalışılmıştır. Kromenilyum-siyanin iskeletine sahip **CS2** üzerinden üç kademelik bir reaksiyonun sonrasında iki adet Schiff bazı yapısına sahip, metiyonin metil esterine parçasına sahip **CSME** probu sentezlenmiştir. Sentezi gerçekleştirilen tüm ürünler, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, kütle spektroskopisi, FTIR gibi çok bilinen spektral yöntemlerle karakterize edilmiştir.

CSME probu çeşitli katyonların (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} ve Pb^{2+}) ve anyonların (SO_4^{2-} , CN^- , CO_3^{2-} , S^{2-} , Cl^- , NO_3^- , EDTA^{2-} , AcO^- , SCN^- , Br^- ve I^-) varlığında yanıt vermezken, Hg^{2+} varlığında sulu asetonitril ortamında UV-Gör bölge spektroskopisinde 711 nm dalga boyunda bir absorpsiyon artışı gözlenirken, floresan spektroskopisinde 740 nm dalga boyunda bir emisyon artışı görülmüştür. Bu değişimlerle birlikte uçuk sarı renkli **CSME** çözeltisi, yeşil renge dönüşmüştür. Bu renk dönüşümü Hg^{2+} 'nın eklendiği anda gerçekleşirken, 90 saniye içerisinde ise spektral olarak kararlı bir yanıt alındığı noktaya ulaşılmıştır.

Fizyolojik pH aralığında olmasının yanı sıra, farklı pH değerlerinde de yanıtlar gözlense de, başlangıç spektral yanıtı ile Hg^{2+} varlığındaki spektral değişim arasındaki fark incelendiğinde çalışma koşulu için pH 7,4 uygun görülmüştür. Girişim çalışmasında ise, Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} ve Pb^{2+} içeren çözeltilerdeki **CSME** sensörünün Hg^{2+} yanıtı beklendiğinden daha farklı olmuştur. Bu problem giderilmesi için ise, 1,10-fenantrolin varlığında ilgili katyonlarla tekrar edilmiş ve Cu^{2+} haricinde tüm katyonlarda girişim engellenmiştir.

Artan Hg^{2+} konsantrasyonuna göre **CSME** probunun verdiği spektral değişimler de incelenmiştir. UV-Gör bölge spektroskopisinde $6,29 \times 10^{-8} - 1,86 \times 10^{-4}$ M ve floresan spektroskopisinde $9,49 \times 10^{-9} - 1,13 \times 10^{-5}$ M aralıklarında çalışabilen **CSME**, $4,93 \times 10^{-9}$ M (0,99 ng/mL) LOD değerine sahiptir. Hg^{2+} analizini, floresan ve UV-görünür spektroskopilerinin yanında cep telefonu uygulaması yardımı ile içme ve musluk suyu örneklerinde de yüksek geri kazanım değerleriyle birlikte gerçekleştirilmiştir. **CSME** probu ve Hg^{2+} arasındaki etkileşim DFT kullanılarak Gaussian programı vasıtasıyla kuantum mekaniksel olarak incelenmiştir. 3T3 hücrelerinde görüntüleme yapılarak biyolojik uygulamalarda kullanılması mümkün olmuştur.

Çevresel ve biyolojik örneklerde kolorimetrik, spektrofotometrik, orantısal çalışmaya uygun, metiyonin metil esteri ile türevlendirilmiş, **CSME** probu, eser miktarda Hg^{2+} tayini için kullanımının yanı sıra, farklı biyoyumlu probalar üzerinden yapılabilecek çalışmalar için de dikkate değer bir temsil oluşturacak bir çalışma olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] **Prabakaran, K., Manivannan, R., Hyeon, O., Son, Y.-A.,** (2022). Effects of Xanthene Fluorophore on Light Physical Properties and their Dyeing Performance on Modacrylic Fabrics, *Journal of Fluorescence*, 32(6),2199–212, doi: 10.1007/s10895-022-03019-9.
- [2] **Lewis Yusuf, T., O. Orimolade, B., Masekela, D., Mamba, B., Mabuba, N.,** (2022). The application of photoelectrocatalysis in the degradation of rhodamine B in aqueous solutions: a review, *RSC Advances*, 12(40),26176–91, doi: 10.1039/D2RA04236C.
- [3] **Al-Buriahi, A.K., Al-Gheethi, A.A., Senthil Kumar, P., Radin Mohamed, R.M.S., Yusof, H., Alshalif, A.F., et al.,** (2022). Elimination of rhodamine B from textile wastewater using nanoparticle photocatalysts: A review for sustainable approaches, *Chemosphere*, 287,132162, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.132162.
- [4] **C. Beaumont, P., G. Johnson, D., J. Parsons, B.,** (1993). Photophysical properties of laser dyes: picosecond laser flash photolysis studies of Rhodamine 6G, Rhodamine B and Rhodamine 101, *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 89(23),4185–91, doi: 10.1039/FT9938904185.
- [5] **Hazra, A., Roy, P.,** (2022). A rhodamine based dye for sensing of Group 13 metal ions, *Analytica Chimica Acta*, 1193,339378, doi: 10.1016/j.aca.2021.339378.
- [6] **Ahn, Y.-H., Lee, J.-S., Chang, Y.-T.,** (2007). Combinatorial Rosamine Library and Application to in Vivo Glutathione Probe, *Journal of the American Chemical Society*, 129(15),4510–1, doi: 10.1021/ja068230m.
- [7] **Beija, M., Afonso, C.A.M., Martinho, J.M.G.,** (2009). Synthesis and applications of Rhodamine derivatives as fluorescent probes, *Chemical Society Reviews*, 38(8),2410–33, doi: 10.1039/B901612K.
- [8] **Levitus, M., Ranjit, S.,** (2011). Cyanine dyes in biophysical research: the photophysics of polymethine fluorescent dyes in biomolecular environments, *Quarterly Reviews of Biophysics*, 44(1),123–51, doi: 10.1017/S0033583510000247.
- [9] **Du, Y., Liu, X., Zhu, S.,** (2021). Near-Infrared-II Cyanine/Polymethine Dyes, Current State and Perspective, *Frontiers in Chemistry*, 9.

- [10] **Gopika, G.S., Prasad, P.M.H., Lekshmi, A.G., Lekshmypriya, S., Sreesaila, S., Arunima, C., et al.**, (2021). Chemistry of cyanine dyes-A review, *Materials Today: Proceedings*, 46,3102–8, doi: 10.1016/j.matpr.2021.02.622.
- [11] **Yuan, L., Lin, W., Yang, Y., Chen, H.**, (2012). A Unique Class of Near-Infrared Functional Fluorescent Dyes with Carboxylic-Acid-Modulated Fluorescence ON/OFF Switching: Rational Design, Synthesis, Optical Properties, Theoretical Calculations, and Applications for Fluorescence Imaging in Living Animals, *Journal of the American Chemical Society*, 134(2),1200–11, doi: 10.1021/ja209292b.
- [12] **Reshmy, R., Philip, E., Madhavan, A., Pugazhendhi, A., Sindhu, R., Sirohi, R., et al.**, (2022). Nanocellulose as green material for remediation of hazardous heavy metal contaminants, *Journal of Hazardous Materials*, 424,127516, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127516.
- [13] **Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M.R., Sadeghi, M.**, (2021). Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic, *Frontiers in Pharmacology*, 12.
- [14] **Balasurya, S., Syed, A., Thomas, A.M., Marraiki, N., Elgorban, A.M., Raju, L.L., et al.**, (2020). Rapid colorimetric detection of mercury using silver nanoparticles in the presence of methionine, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 228,117712, doi: 10.1016/j.saa.2019.117712.
- [15] **Ye, B.-J., Kim, B.-G., Jeon, M.-J., Kim, S.-Y., Kim, H.-C., Jang, T.-W., et al.**, (2016). Evaluation of mercury exposure level, clinical diagnosis and treatment for mercury intoxication, *Annals of Occupational and Environmental Medicine*, 28(1),5, doi: 10.1186/s40557-015-0086-8.
- [16] **Ahmad, J., Ali, A.A., Iqbal, M., Ahmad, A., Qureshi, M.I.**, (2022). Proteomics of mercury-induced responses and resilience in plants: a review, *Environmental Chemistry Letters*, 20(5),3335–55, doi: 10.1007/s10311-022-01388-y.
- [17] **Fernandes Azevedo, B., Barros Furieri, L., Peçanha, F.M., Wiggers, G.A., Frizera Vassallo, P., Ronacher Simões, M., et al.**, (2012). Toxic Effects of Mercury on the Cardiovascular and Central Nervous Systems, *BioMed Research International*, 2012,e949048, doi: 10.1155/2012/949048.
- [18] **Starvin, A.M., Rao, T.P.**, (2004). Removal and recovery of mercury(II) from hazardous wastes using 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol functionalized activated carbon as solid phase extractant, *Journal of Hazardous Materials*, 113(1–3),75–9, doi: 10.1016/j.jhazmat.2004.04.021.
- [19] **Clarkson, T.W., Vyas, J.B., Ballatori, N.**, (2007). Mechanisms of mercury disposition in the body, *American Journal of Industrial Medicine*, 50(10),757–64, doi: 10.1002/ajim.20476.

- [20] **Yari, A., Papi, F.**, (2009). Highly selective sensing of mercury (II) by development and characterization of a PVC-based optical sensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 138(2),467–73, doi: 10.1016/j.snb.2009.02.011.
- [21] **Li, P., Zhang, D., Jiang, C., Zong, X., Cao, Y.**, (2017). Ultra-sensitive suspended atomically thin-layered black phosphorus mercury sensors, *Biosensors and Bioelectronics*, 98,68–75, doi: 10.1016/j.bios.2017.06.027.
- [22] **Busto, Y., M. G. Tack, F., Peralta, L.M., Cabrera, X., Arteaga-Pérez, L.E.**, (2013). An investigation on the modelling of kinetics of thermal decomposition of hazardous mercury wastes, *Journal of Hazardous Materials*, 260,358–67, doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.05.045.
- [23] **Ding, Y., Wang, S., Li, J., Chen, L.**, (2016). Nanomaterial-based optical sensors for mercury ions, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 82,175–90, doi: 10.1016/j.trac.2016.05.015.
- [24] **Chen, G., Guo, Z., Zeng, G., Tang, L.**, (2015). Fluorescent and colorimetric sensors for environmental mercury detection, *Analyst*, 140(16),5400–43, doi: 10.1039/C5AN00389J.
- [25] **Alcay, Y., Ozdemir, E., Yildirim, M.S., Ertugral, U., Yavuz, O., Aribuga, H., et al.**, (2023). A methionine biomolecule-modified chromenylium-cyanine fluorescent probe for the analysis of Hg²⁺ in the environment and living cells, *Talanta*, 259,124471, doi: 10.1016/j.talanta.2023.124471.
- [26] **Panichev, N.A., Panicheva, S.E.**, (2015). Determination of total mercury in fish and sea products by direct thermal decomposition atomic absorption spectrometry, *Food Chemistry*, 166,432–41, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.06.032.
- [27] **Fernández, Z.H., Valcárcel Rojas, L.A., Álvarez, A.M., Estevez Álvarez, J.R., Araújo dos Santos, J., González, I.P., et al.**, (2015). Application of Cold Vapor-Atomic Absorption (CVAAS) Spectrophotometry and Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry methods for cadmium, mercury and lead analyses of fish samples. Validation of the method of CVAAS, *Food Control*, 48,37–42, doi: 10.1016/j.foodcont.2014.05.056.
- [28] **Palanna, M., Aralekallu, S., Keshavananda Prabhu, C., Sajjan, V.A., Mounesh, Sannegowda, L.K.**, (2021). Nanomolar detection of mercury(II) using electropolymerized phthalocyanine film, *Electrochimica Acta*, 367,137519, doi: 10.1016/j.electacta.2020.137519.

- [29] **da Silva, D.G., Portugal, L.A., Serra, A.M., Ferreira, S.L.C., Cerdà, V.,** (2013). Determination of mercury in rice by MSFIA and cold vapour atomic fluorescence spectrometry, *Food Chemistry*, 137(1–4),159–63, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.10.019.
- [30] **Mandal, S., Banerjee, A., Lohar, S., Chattopadhyay, A., Sarkar, B., Mukhopadhyay, S.K., et al.,** (2013). Selective sensing of Hg²⁺ using rhodamine–thiophene conjugate: Red light emission and visual detection of intracellular Hg²⁺ at nanomolar level, *Journal of Hazardous Materials*, 261,198–205, doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.07.026.
- [31] **Liu, L., Shi, L., Liu, J., Yang, D., Fu, Y., Ma, X., et al.,** (2022). A cysteine and Hg²⁺ detection method based on transformation supramolecular assembly of cyanine dye by AGRO100, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 270,120779, doi: 10.1016/j.saa.2021.120779.
- [32] **Zhou, B., Qin, S., Chen, B., Han, Y.,** (2018). A new BODIPY-based fluorescent “turn-on” probe for highly selective and rapid detection of mercury ions, *Tetrahedron Letters*, 59(49),4359–63, doi: 10.1016/j.tetlet.2018.10.068.
- [33] **Voutsadaki, S., Tsikalas, G.K., Klontzas, E., Froudakis, G.E., Katerinopoulos, H.E.,** (2010). A “turn-on” coumarin-based fluorescent sensor with high selectivity for mercury ions in aqueous media, *Chemical Communications*, 46(19),3292, doi: 10.1039/b926384e.
- [34] **Liu, L.-N., Tao, H., Chen, G., Chen, Y., Cao, Q.-Y.,** (2018). An amphiphilic pyrene-based probe for multiple channel sensing of mercury ions, *Journal of Luminescence*, 203,189–94, doi: 10.1016/j.jlumin.2018.06.054.
- [35] **Mermer, Z., Yavuz, O., Atasen, S.K., Alcay, Y., Yilmaz, I.,** (2021). Architecture of multi-channel and easy-to-make sensors for selective and sensitive Hg²⁺ ion recognition through Hg–C and Hg–N bonds of naphthoquinone-aniline/pyrene union, *Journal of Hazardous Materials*, 410,124597, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.124597.
- [36] **Lavis, L.D.,** (2017). Teaching Old Dyes New Tricks: Biological Probes Built from Fluoresceins and Rhodamines, *Annual Review of Biochemistry*, 86(1),825–43, doi: 10.1146/annurev-biochem-061516-044839.
- [37] **Kaufman, T.S., Rúveda, E.A.,** (2005). The Quest for Quinine: Those Who Won the Battles and Those Who Won the War, *Angewandte Chemie International Edition*, 44(6),854–85, doi: 10.1002/anie.200400663.
- [38] **Khan, Z., Sekar, N.,** (2022). Far-red to NIR emitting xanthene-based fluorophores, *Dyes and Pigments*, 208,110735, doi: 10.1016/j.dyepig.2022.110735.

- [39] **Noelting, E., Dziewoński, K.**, (1905). Zur Kenntniss der Rhodamine, *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 38(3),3516–27, doi: 10.1002/cber.190503803186.
- [40] **Drexhage, K.H.**, (1976). Fluorescence Efficiency of Laser Dyes, *Journal of Research of the National Bureau of Standards. Section A, Physics and Chemistry*, 80A(3),421–8, doi: 10.6028/jres.080A.044.
- [41] **Grimm, J.B., Lavis, L.D.**, (2011). Synthesis of Rhodamines from Fluoresceins Using Pd-Catalyzed C–N Cross-Coupling, *Organic Letters*, 13(24),6354–7, doi: 10.1021/ol202618t.
- [42] **Mudd, G., Pi, I.P., Fethers, N., Dodd, P.G., Barbeau, O.R., Auer, M.**, (2015). A general synthetic route to isomerically pure functionalized rhodamine dyes, *Methods and Applications in Fluorescence*, 3(4),045002, doi: 10.1088/2050-6120/3/4/045002.
- [43] **Jiao, G.-S., Castro, J.C., Thoresen, L.H., Burgess, K.**, (2003). Microwave-Assisted Syntheses of Regioisomerically Pure Bromorhodamine Derivatives, *Organic Letters*, 5(20),3675–7, doi: 10.1021/ol035327u.
- [44] **Shindy, H.A.**, (2017). Fundamentals in the chemistry of cyanine dyes: A review, *Dyes and Pigments*, 145,505–13, doi: 10.1016/j.dyepig.2017.06.029.
- [45] **Shindy, H.**, (2012). Basics, Mechanisms and Properties in the Chemistry of Cyanine Dyes: A Review Paper, *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 9(4),352–60, doi: 10.2174/157019312804699528.
- [46] **Wei, Y., Cheng, D., Ren, T., Li, Y., Zeng, Z., Yuan, L.**, (2016). Design of NIR Chromenylum-Cyanine Fluorophore Library for “Switch-ON” and Ratiometric Detection of Bio-Active Species In Vivo, *Analytical Chemistry*, 88(3),1842–9, doi: 10.1021/acs.analchem.5b04169.
- [47] **Jiao, X., Huang, K., He, S., Liu, C., Zhao, L., Zeng, X.**, (2019). A mitochondria-targeted near-infrared fluorescent probe with a large Stokes shift for real-time detection of hypochlorous acid, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 17(1),108–14, doi: 10.1039/C8OB02583E.
- [48] **Karaoglu, K.**, (2020). A new chromenylum-cyanine chemosensor for switch-ON near-infrared copper (II) sensing, *Journal of Molecular Structure*, 1205,127640, doi: 10.1016/j.molstruc.2019.127640.
- [49] **Wu, M.-Y., Wu, J., Wang, Y., Liu, Y.-H., Yu, X.-Q.**, (2018). A Novel Colorimetric Fluorescent Probe for SO₂ and Its Application in Living Cells Imaging, *Molecules*, 23(4),871, doi: 10.3390/molecules23040871.
- [50] **Gu, X., Zhang, X., Liu, Z., Cheng, Y., Ma, F., Dai, Y., et al.**, (2019). A novel near-infrared “turn-on” fluorescent probe for selective detection of Fe³⁺ and its application in vitro imaging, *Journal of Luminescence*, 207,613–9, doi: 10.1016/j.jlumin.2018.12.014.

- [51] **Liu, D., Feng, S., Feng, G.,** (2018). A rapid responsive colorimetric and near-infrared fluorescent turn-on probe for imaging exogenous and endogenous peroxynitrite in living cells, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 269,15–21, doi: 10.1016/j.snb.2018.04.152.
- [52] **Pan, Y., Ren, T.-B., Cheng, D., Zeng, Z.-B., Yuan, L., Zhang, X.-B.,** (2016). A Selective Near-Infrared Fluorescent Probe for In Vivo Imaging of Thiophenols from a Focused Library, *Chemistry – An Asian Journal*, 11(24),3575–82, doi: 10.1002/asia.201601309.
- [53] **Zhu, X., Yuan, L., Hu, X., Zhang, L., Liang, Y., He, S., et al.,** (2018). Construction of a fluorine substituted chromenylum-cyanine near-infrared fluorophore for ratiometric sensing, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 259,219–25, doi: 10.1016/j.snb.2017.12.008.
- [54] **Xiao, J.-W., Zhu, W.-J., Sun, R., Xu, Y.-J., Ge, J.-F.,** (2016). Evaluation of electron or charge transfer processes between chromenylum-based fluorophores and protonated–deprotonated aniline, *RSC Advances*, 6(101),98985–93, doi: 10.1039/C6RA19831G.
- [55] **Palacios-Serrato, E., Araiza-Olivera, D., Jiménez-Sánchez, A.,** (2020). Fluorescent Probe for Transmembrane Dynamics during Osmotic Effects, *Analytical Chemistry*, 92(5),3888–95, doi: 10.1021/acs.analchem.9b05390.
- [56] **Jiao, X., Liu, C., He, S., Zhao, L., Zeng, X.,** (2019). Highly selective and sensitive ratiometric near-infrared fluorescent probe for real-time detection of Hg²⁺ and its bioapplications in live cells, *Dyes and Pigments*, 160,86–92, doi: 10.1016/j.dyepig.2018.07.040.
- [57] **Flores-Cruz, R., López-Arteaga, R., Ramírez-Vidal, L., López-Casillas, F., Jiménez-Sánchez, A.,** (2019). Unravelling the modus-operandi of chromenylum-cyanine fluorescent probes: a case study, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 21(28),15779–86, doi: 10.1039/C9CP03256H.
- [58] **Yang, H., Han, C., Zhu, X., Liu, Y., Zhang, K.Y., Liu, S., et al.,** (2016). Upconversion Luminescent Chemodosimeter Based on NIR Organic Dye for Monitoring Methylmercury In Vivo, *Advanced Functional Materials*, 26(12),1945–53, doi: 10.1002/adfm.201504501.
- [59] **Liu, Y., Su, Q., Chen, M., Dong, Y., Shi, Y., Feng, W., et al.,** (2016). Near-Infrared Upconversion Chemodosimeter for In Vivo Detection of Cu²⁺ in Wilson Disease, *Advanced Materials*, 28(31),6625–30, doi: 10.1002/adma.201601140.
- [60] **Liu, Y., Su, Q., Zou, X., Chen, M., Feng, W., Shi, Y., et al.,** (2016). Near-infrared in vivo bioimaging using a molecular upconversion probe, *Chemical Communications*, 52(47),7466–9, doi: 10.1039/C6CC03401B.

- [61] **Gyamfi, O., Sørensen, P.B., Darko, G., Ansah, E., Vorkamp, K., Bak, J.L.,** (2021). Contamination, exposure and risk assessment of mercury in the soils of an artisanal gold mining community in Ghana, *Chemosphere*, 267,128910, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128910.
- [62] **Dujols, V., Ford, F., Czarnik, A.W.,** (1997). A Long-Wavelength Fluorescent Chemodosimeter Selective for Cu(II) Ion in Water, *Journal of the American Chemical Society*, 119(31),7386–7, doi: 10.1021/ja971221g.
- [63] **Sikdar, A., Roy, S., Dasgupta, S., Mukherjee, S., Panja, S.S.,** (2018). Logic gate-based Rhodamine-methionine conjugate highly sensitive fluorescent probe for Hg²⁺ ion and its application: An experimental and theoretical study, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 263,298–311, doi: 10.1016/j.snb.2018.02.129.
- [64] **Zhu, N., Xu, J., Ma, Q., Geng, Y., Li, L., Liu, S., et al.,** (2022). Rhodamine-Based Fluorescent Probe for Highly Selective Determination of Hg²⁺, *ACS Omega*, 7(33),29236–45, doi: 10.1021/acsomega.2c03336.
- [65] **Choudhury, N., Ruidas, B., Mukhopadhyay, C.D., De, P.,** (2020). Rhodamine-Appended Polymeric Probe: An Efficient Colorimetric and Fluorometric Sensing Platform for Hg²⁺ in Aqueous Medium and Living Cells, *ACS Applied Polymer Materials*, 2(11),5077–85, doi: 10.1021/acsapm.0c00878.
- [66] **Xu, X., Zheng, B., Deng, H., Zhang, X., Shuai, Q.,** (2020). Synthesis and sensing behavior of a new multichannel sensor based on thiazolyl ferrocene-rhodamine for Hg²⁺ detection, *Microchemical Journal*, 158,105257, doi: 10.1016/j.microc.2020.105257.
- [67] **Karton-Lifshin, N., Albertazzi, L., Bendikov, M., Baran, P.S., Shabat, D.,** (2012). “Donor–Two-Acceptor” Dye Design: A Distinct Gateway to NIR Fluorescence, *Journal of the American Chemical Society*, 134(50),20412–20, doi: 10.1021/ja308124q.
- [68] **Li, G., Guan, Y., Ye, F., Liu, S.H., Yin, J.,** (2020). Cyanine-based fluorescent indicator for mercury ion and bioimaging application in living cells, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 239,118465, doi: 10.1016/j.saa.2020.118465.
- [69] **Li, Y., Qi, Y., Xu, Z., Song, Y., Li, H., Zhang, J., et al.,** (2022). A cyanine-based dual-modal probe for fluorimetric detection of mercury ion and colorimetric sensing of pH, *Coloration Technology*, 138(4),427–39, doi: 10.1111/cote.12603.
- [70] **Tang, B., Cui, L.J., Xu, K.H., Tong, L.L., Yang, G.W., An, L.G.,** (2008). A Sensitive and Selective Near-Infrared Fluorescent Probe for Mercuric Ions and Its Biological Imaging Applications, *ChemBioChem*, 9(7),1159–64, doi: 10.1002/cbic.200800001.

- [71] **Chen, Y., Yang, C., Yu, Z., Chen, B., Han, Y.,** (2015). A highly sensitive hemicyanine-based fluorescent chemodosimeter for mercury ions in aqueous solution and living cells, *RSC Advances*, 5(100),82531–4, doi: 10.1039/C5RA13802G.
- [72] **Wang, J., Long, L., Xia, L., Fang, F.,** (2017). A NIR fluorescent probe for the rapid detection of Hg²⁺ in living cells and in vivo mice imaging, *Methods and Applications in Fluorescence*, 5(2),025002, doi: 10.1088/2050-6120/aa6d8d.
- [73] **Durmuş, M., Ahsen, V., Nyokong, T.,** (2007). Photophysical and photochemical studies of long chain-substituted zinc phthalocyanines, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 186(2),323–9, doi: 10.1016/j.jphotochem.2006.08.025.
- [74] **Ogunsipe, A., Maree, D., Nyokong, T.,** (2003). Solvent effects on the photochemical and fluorescence properties of zinc phthalocyanine derivatives, *Journal of Molecular Structure*, 650(1),131–40, doi: 10.1016/S0022-2860(03)00155-8.
- [75] **He, H., Xia, Y., Qi, Y., Wang, H.-Y., Wang, Z., Bao, J., et al.,** (2018). A Water-Soluble, Green-Light Triggered, and Photo-Calibrated Nitric Oxide Donor for Biological Applications, *Bioconjugate Chemistry*, 29(4),1194–8, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.7b00821.
- [76] **Xie, J.-Y., Li, C.-Y., Li, Y.-F., Fei, J., Xu, F., Ou-Yang, J., et al.,** (2016). Near-Infrared Fluorescent Probe with High Quantum Yield and Its Application in the Selective Detection of Glutathione in Living Cells and Tissues, *Analytical Chemistry*, 88(19),9746–52, doi: 10.1021/acs.analchem.6b02646.
- [77] **Denmark, S.E., Chang, W.-T.T., Houk, K.N., Liu, P.,** (2015). Development of Chiral Bis-hydrazone Ligands for the Enantioselective Cross-Coupling Reactions of Aryldimethylsilanolates, *The Journal of Organic Chemistry*, 80(1),313–66, doi: 10.1021/jo502388r.
- [78] **Du, J., Fan, J., Peng, X., Sun, P., Wang, J., Li, H., et al.,** (2010). A New Fluorescent Chemodosimeter for Hg²⁺: Selectivity, Sensitivity, and Resistance to Cys and GSH, *Organic Letters*, 12(3),476–9, doi: 10.1021/ol902590g.
- [79] **Berry, S.M., Bebout, D.C., Butcher, R.J.,** (2005). Solid-State and Solution-State Coordination Chemistry of the Zinc Triad with the Mixed N,S Donor Ligand Bis(2-methylpyridyl) Sulfide, *Inorganic Chemistry*, 44(1),27–39, doi: 10.1021/ic048915s.
- [80] **Canty, A.J., Deacon, G.B.,** (1980). The van der Waals radius of mercury, *Inorganica Chimica Acta*, 45(C),L225–7, doi: 10.1016/S0020-1693(00)80155-3.

- [81] **Nyburg, S.C., Faerman, C.H.**, (1985). A revision of van der Waals atomic radii for molecular crystals: N, O, F, S, Cl, Se, Br and I bonded to carbon, *Urn:Issn:0108-7681*, 41(4),274–9, doi: 10.1107/S0108768185002129.
- [82] **Zhang, X., Huang, X.-J., Zhu, Z.-J.**, (2013). A reversible Hg(ii)-selective fluorescent chemosensor based on a thioether linked bis-rhodamine, *RSC Advances*, 3(47),24891, doi: 10.1039/c3ra43675f.
- [83] **Battaglia, L.P., Corradi, A.B., Cramarossa, M.R., Vezzosi, I.M., Giusti, J.G.**, (1993). Trans-2-styrylbenzothiazole complexes with mercury(II) halides. Synthesis, characterization and X-ray crystal structure of diiodobis(trans-2-styrylbenzothiazole)mercury(II), *Polyhedron*, 12(18),2235–9, doi: 10.1016/S0277-5387(00)88262-5.
- [84] **Fabretti, A.C., Peyronel, G., Franchini, G.C.**, (1979). Zinc(II), cadmium(II) and mercury(II) complexes of 2,5-dimethyl-1,3,4-thiadiazole, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 35(3),229–32, doi: 10.1016/0584-8539(79)80142-7.
- [85] **Upadhyay, Y., Anand, T., Babu, L.T., Paira, P., Kumar SK, A., Kumar, R., et al.**, (2018). Combined use of spectrophotometer and smartphone for the optical detection of Fe 3+ using a vitamin B 6 cofactor conjugated pyrene derivative and its application in live cells imaging, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 361,34–40, doi: 10.1016/j.jphotochem.2018.05.002.
- [86] **Sousa Lima, W., Souto, E., El-Khatib, K., Jalali, R., Gama, J.**, (2019). Human Activity Recognition Using Inertial Sensors in a Smartphone: An Overview, *Sensors*, 19(14),3213, doi: 10.3390/s19143213.
- [87] **Chen, Y., Shen, C.**, (2017). Performance Analysis of Smartphone-Sensor Behavior for Human Activity Recognition, *IEEE Access*, 5,3095–110, doi: 10.1109/ACCESS.2017.2676168.
- [88] **Majumder, S., Deen, M.J.**, (2019). Smartphone Sensors for Health Monitoring and Diagnosis, *Sensors*, 19(9),2164, doi: 10.3390/s19092164.
- [89] **Karuk Elmas, S.N., Dinckan, S., Arslan, F.N., Aydin, D., Savran, T., Yilmaz, I.**, (2021). A rhodamine based nanosensor platform for Hg2+ sensing in near-perfect aqueous medium: Smartphone, test strip and real sample applications, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 421,113521, doi: 10.1016/j.jphotochem.2021.113521.
- [90] **Liu, X., Chen, Z., Gao, R., Kan, C., Xu, J.**, (2021). Portable quantitative detection of Fe3+ by integrating a smartphone with colorimetric responses of a rhodamine-functionalized polyacrylamide hydrogel chemosensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 340,129958, doi: 10.1016/j.snb.2021.129958.

- [91] **Anand, T., Sahoo, S.K.**, (2019). Cost-effective approach to detect Cu(ii) and Hg(ii) by integrating a smartphone with the colorimetric response from a NBD-benzimidazole based dyad, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 21(22),11839–45, doi: 10.1039/C9CP00002J.
- [92] **Kaushik, R., Sakla, R., Kumar, N., Ghosh, A., Ghule, V.D., Jose, D.A.**, (2021). Multianalytes Sensing Probe: Fluorescent Moisture Detection, Smartphone Assisted Colorimetric Phosgene recognition and Colorimetric Discrimination of Cu²⁺ and Fe³⁺ ions, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 328,129026, doi: 10.1016/j.snb.2020.129026.
- [93] **Chen, M., Yin, M.**, (2014). Design and development of fluorescent nanostructures for bioimaging, *Progress in Polymer Science*, 39(2),365–95, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2013.11.001.
- [94] **Pan, L., Sun, S., Zhang, L., Jiang, K., Lin, H.**, (2016). Near-infrared emissive carbon dots for two-photon fluorescence bioimaging, *Nanoscale*, 8(39),17350–6, doi: 10.1039/C6NR05878G.
- [95] **S. Wolfbeis, O.**, (2015). An overview of nanoparticles commonly used in fluorescent bioimaging, *Chemical Society Reviews*, 44(14),4743–68, doi: 10.1039/C4CS00392F.
- [96] **Maestro, L.M., Rodriguez, E.M., Vetrone, F., Naccache, R., Ramirez, H.L., Jaque, D., et al.**, (2010). Nanoparticles for highly efficient multiphoton fluorescence bioimaging, *Optics Express*, 18(23),23544–53, doi: 10.1364/OE.18.023544.
- [97] **Guo, Z., Park, S., Yoon, J., Shin, I.**, (2013). Recent progress in the development of near-infrared fluorescent probes for bioimaging applications, *Chemical Society Reviews*, 43(1),16–29, doi: 10.1039/C3CS60271K.
- [98] **V. H., V., Saxena, M., R., G.B., Latiyan, S., Jain, S.**, (2019). Remarkably selective biocompatible turn-on fluorescent probe for detection of Fe³⁺ in human blood samples and cells, *RSC Advances*, 9(47),27439–48, doi: 10.1039/C9RA05256A.
- [99] **Tan, A., Yang, G., Wan, X.**, (2021). Ultra-high quantum yield nitrogen-doped carbon quantum dots and their versatile application in fluorescence sensing, bioimaging and anti-counterfeiting, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 253,119583, doi: 10.1016/j.saa.2021.119583.
- [100] **Qiu, X., Huang, J., Wang, H., Qi, Y., Cui, J., Hao, J.**, (2021). Multi-functional rhodamine-based chitosan hydrogels as colorimetric Hg²⁺ adsorbents and pH-triggered biosensors, *Journal of Colloid and Interface Science*, 604,469–79, doi: 10.1016/j.jcis.2021.07.029.

- [101] **Li, Y., Yuan, M., Khan, A.J., Wang, L., Zhang, F.,** (2019). Peptide-gold nanocluster synthesis and intracellular Hg²⁺ sensing, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 579,123666, doi: 10.1016/j.colsurfa.2019.123666.



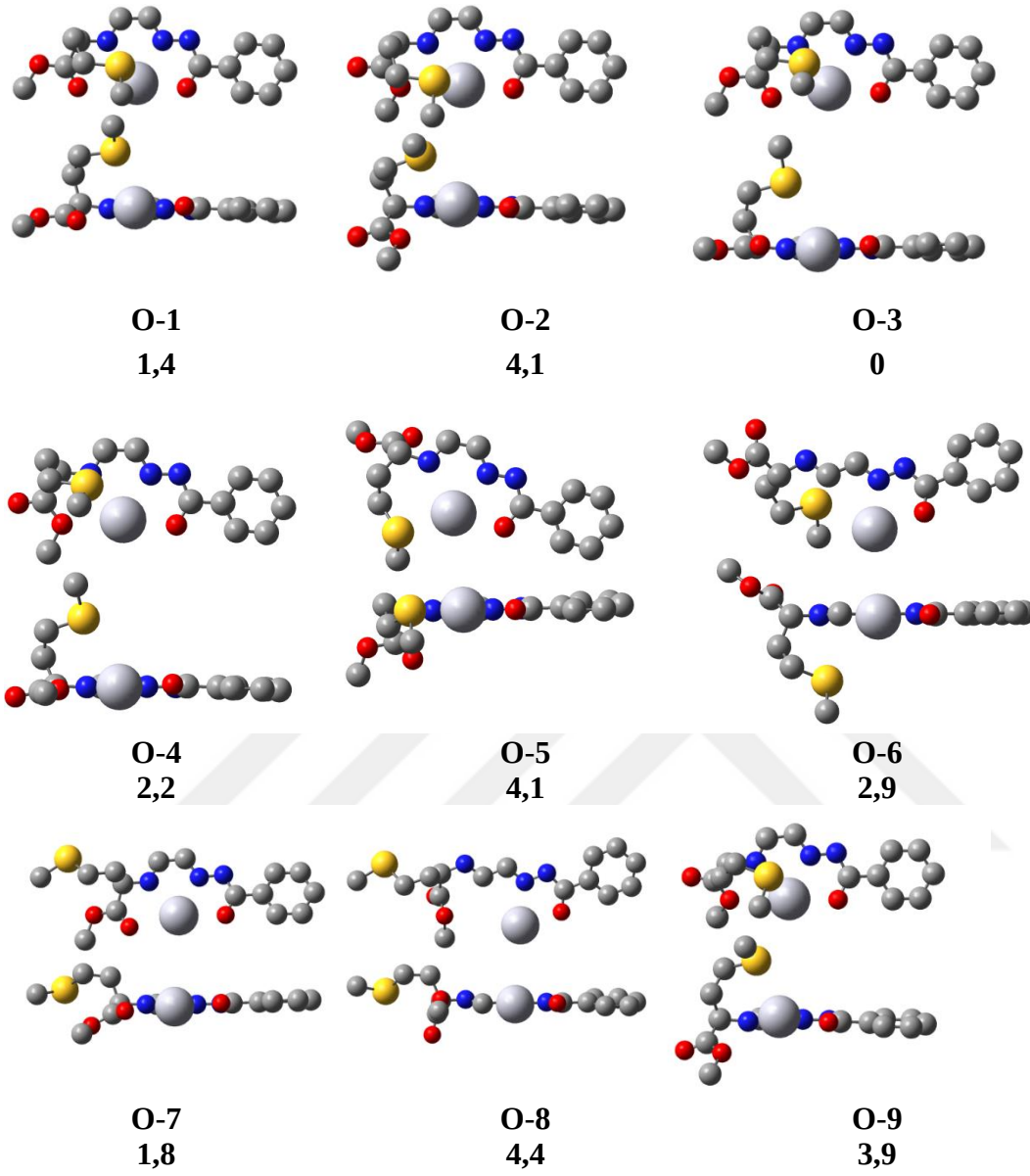


EKLER

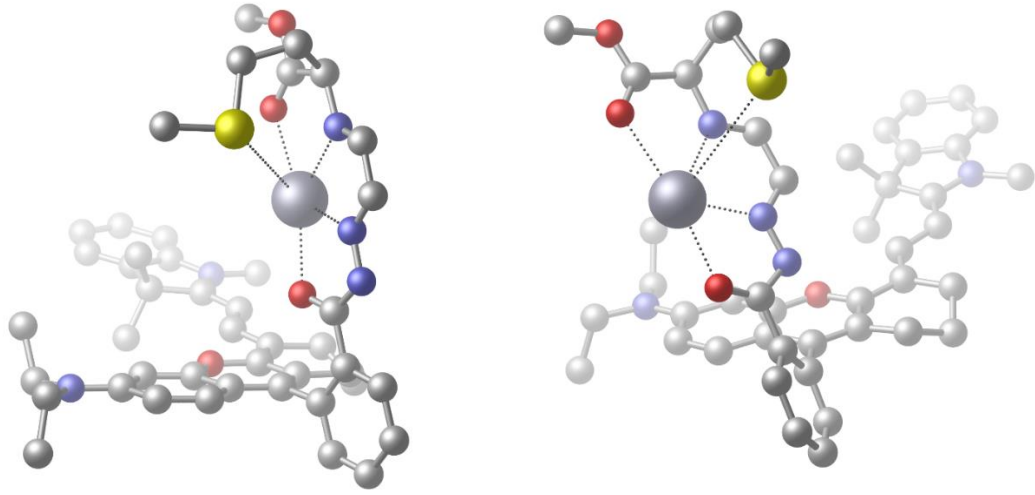
EK A: DFT Çalışmalarına Ait Veriler.



EK A: DFT Çalışmalarına Ait Veriler.



Şekil A.1 : Model yapıların geometrileri iki farklı açıdan sunulmuştur ve netlik için hidrojen atomları gizlenmiştir. Model numaralarının altındaki sayılar, minimum enerji yapısı bağıl serbest enerji (kcal/mol) değerleridir.



Şekil A.2 : Uygulanan minimum enerji modeli bağlama modları ile **CSME-Hg²⁺** konformasyonları: Sağdaki konformer, sol taraftakine kıyasla 1,7 kcal/mol daha karardır. Bu geometri, **pre-CSME-Hg²⁺** için de en kararlı konformasyondur.

Çizelge A.1 : CSME için elde edilen hesapsal geçişler.

Dalgaboyu (nm) / Osilatör Gücü CSME	Donör Orbitali	Alıcı Orbital	Katsayı
436 / 0,50	HOMO	LUMO+1	0,27
436 / 0,50	HOMO	LUMO+2	0,30
436 / 0,50	HOMO	LUMO+3	0,51
436 / 0,50	HOMO	LUMO+6	0,26
474 / 0,34	HOMO-1	LUMO+2	-0,34
474 / 0,34	HOMO	LUMO+1	-0,31
474 / 0,34	HOMO	LUMO+2	-0,35
474 / 0,34	HOMO	LUMO+3	0,39

Çizelge A.2 : pre-CSME-Hg²⁺ için elde edilen hesapsal geçişler.

Dalgaboyu (nm) / Osilatör Gücü pre-CSME-Hg ²⁺	Donör Orbitali	Alıcı Orbital	Katsayı
447 / 0,59	HOMO-1	LUMO+3	-0,15
447 / 0,59	HOMO	LUMO+3	0,44
447 / 0,59	HOMO	LUMO+5	0,45
447 / 0,59	HOMO	LUMO+7	0,21
484 / 0,28	HOMO-3	LUMO+1	0,18
484 / 0,28	HOMO-1	LUMO+3	0,38
484 / 0,28	HOMO	LUMO+3	0,43
484 / 0,28	HOMO	LUMO+5	-0,34

Çizelge A.3 : CSME-Hg²⁺ için elde edilen hesapsal geçişler.

Dalgaboyu (nm) / Osilatör Gücü CSME-Hg ²⁺	Donör Orbitali	Alıcı Orbital	Katsayı
560 / 0,24	HOMO-3	LUMO	-0,26
560 / 0,24	HOMO-3	LUMO+1	-0,17
560 / 0,24	HOMO-2	LUMO	-0,16
560 / 0,24	HOMO-2	LUMO+1	-0,33
560 / 0,24	HOMO-1	LUMO	0,19
560 / 0,24	HOMO-1	LUMO+1	0,43
560 / 0,24	HOMO	LUMO+1	-0,12
560 / 0,24	HOMO	LUMO+3	-0,11
668 / 0,79	HOMO-1	LUMO+1	0,17
668 / 0,79	HOMO	LUMO	0,33
668 / 0,79	HOMO	LUMO+1	0,59
668 / 0,79	HOMO	LUMO+2	0,11

Çizelge A.4 : Hidroliz ürünü **H** için elde edilen hesapsal geçişler.

Dalgaboyu (nm) / Osilatör Gücü H	Donör Orbitali	Alıcı Orbital	Katsayı
539 / 0,26	HOMO-3	LUMO	0,18
539 / 0,26	HOMO-2	LUMO	0,61
539 / 0,26	HOMO-1	LUMO	-0,12
539 / 0,26	HOMO-1	LUMO+1	0,19
539 / 0,26	HOMO	LUMO+1	0,21
665 / 0,88	HOMO-2	LUMO	0,14
665 / 0,88	HOMO-1	LUMO	0,69
665 / 0,88	HOMO-1	LUMO	-0,10



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Yusuf ALÇAY

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2013, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
- **Yüksek Lisans** : 2015, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Kimya Programı

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2013-2023 yılları arasında İstanbul Teknik Üniversitesi, İleri Metal-Organik Malzemeler ve Spektro-Elektrokimya Araştırma Grubu bünyesinde çalıştı.
- 2015 yılı itibarıyla İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Bölümünde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Alcay, Y.**, Ozdemir, E., Yildirim, M.S., Ertugral, U., Yavuz, O., Aribuga, H., Ozkilog, Y., Şenyurt Tuzun, N., Ozdabak Sert, A.B., Kok, F.N., Yilmaz, I. A methionine biomolecule-modified chromenylium-cyanine fluorescent probe for the analysis of Hg²⁺ in the environment and living cells, *Talanta*. 259 (2023) 124471.
- **Alcay, Y.**, Ozdemir, E., Yildirim, M.S., Ertugral, U., Yavuz, O., Aribuga, H., Kaplan M., Yilmaz, I. 2022. Determination of Hg²⁺ with a new type of rhodamine-cyanine compound that absorbs and emits in the near IR. 5th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2022) November 23-25, 2022.

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Kaplan M., Yavuz, O., Çetin D., **Alcay, Y.**, Yildirim, M.S., Aribuga, H., Ozdemir, E., Ertugral, U., Yilmaz, I. 2022. Cu²⁺ İyonunun Sulu Ortamda Seçici ve Hassas Tayini İçin Naftakinon Tabanlı Yeni Bir Kimyasal Proben Geliştirilmesi. 5th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2022) November 23-25, 2022.

- **Alcay, Y.**; Yavuz, O.; Gelir, A.; Atasen, S. K.; Karaoglu, K.; Yucel, B.; Tuzun, N. Ş.; Yilmaz, I. New Ferrocenyl Naphthoquinone Fused Crown Ether Chemosensors: Highly Selective, Kinetically and Regio Controlled Colorimetric, Beryllium Ion Recognition. *Journal of Organometallic Chemistry* 2018, 868, 131–143.
- Atasen, S. K.; **Alcay, Y.**; Yavuz, O.; Yucel, B.; Yilmaz, I. Beryllium Ion Sensing through the Ion Pair Formation between the Electrochemically Reduced Ferrocenyl Naphthoquinone Radicals and Be^{2+} ions. *J Chem Sci* 2019, 131 (5), 41.
- Mermer, Z.; Yavuz, O.; Atasen, S. K.; **Alcay, Y.**; Yilmaz, I. Architecture of Multi-Channel and Easy-to-Make Sensors for Selective and Sensitive Hg^{2+} Ion Recognition through Hg–C and Hg–N Bonds of Naphthoquinone-Aniline/Pyrene Union. *Journal of Hazardous Materials* 2021, 410, 124597.
- Versace, D.-L.; Breloy, L.; Brezova, V.; Yagci, Y.; Yilmaz, I.; Bourgon, J.; Breza, M.; **Alcay, Y.** Dimethyl Amino Phenyl Substituted Silver Phthalocyanine as UV- and Visible-Light Absorbing Photoinitiator: In-Situ Preparation of Silver/Polymer Nanocomposites. *Polymer Chemistry* 2021.
- Yavuz, O.; Sezen, M.; **Alcay, Y.**; Semih Yildirim, M.; Aribuga, H.; Ozdemir, E.; Ertugral, U.; Ozkilic, Y.; Şenyurt Tuzun, N.; Yilmaz, I. A New Highly Selective, Sensitive and NIR Spectrophotometric Probe Based on A_2B_2 -Type of Unsymmetrical Phthalocyanine for Hazardous Be^{2+} Recognition. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2022, 121484.
- Yavuz, O.; Sezen, M.; **Alcay, Y.**; Yildirim, M. S.; Kaya, K.; Ozkilic, Y.; Tuzun, N. Ş.; Yilmaz, I. A New Perspective on the Beryllium Sensor Platform: Low Symmetry Phthalocyanine-Based Molecular Design and Ultra Trace Amount Be^{2+} Ion Recognition in Aqueous Media. *Sensors and Actuators, B: Chemical* 2021, 329, 129002.
- Yildirim, M. S.; **Alcay, Y.**; Yavuz, O.; Atasen, S. K.; Mermer, Z.; Aribuga, H.; Yilmaz, I. Construction of Anthraquinone Functional Zinc Phthalocyanine Sensor Platform for Ultra-Trace Amount of Water Determination in Tetrahydrofuran and N,N-Dimethylformamide. *Analytica Chimica Acta* 2022, 1198, 339531.
- Cetin, D.; Yavuz, O.; **Alcay, Y.**; Semih Yildirim, M.; Kaplan, M.; Aribuga, H.; Ozdemir, E.; Ertugral, U.; Yilmaz, I. Development of a New Near-Infrared, Spectrophotometric, and Colorimetric Probe Based on Phthalocyanine Containing Mercaptoquinoline Unit for Discriminative and Highly Sensitive Detection of Ag^+ , Cu^{2+} , and Hg^{2+} Ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2023, 297, 122725.
- Ozdemir, E., **Alcay, Y.**, Yavuz, O., Yildirim, M. S., Aribuga, H., Ertugral, U., Kaya, K. & Yilmaz, I. Colorimetric and near-infrared spectrophotometric monitoring of bisulfite using glyoxal modified chromenylum-cyanine chemosensor: Smartphone and paper strip applications for on-site food and beverages control. *Talanta*, 261, 124660.