



T.C.
KONYA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**KALİKS[4]AREN AMİT VE SCHIFF BAZI
TÜREVLERİ KULLANILARAK SULU
ORTAMDA BAZI FARMASÖTİK
BİLEŞİKLERİN KALİTATİF VE
KANTİTATİF OLARAK ALGILANMASI**

Egemen ÖZÇELİK

DOKTORA TEZİ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Ocak-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Egemen ÖZÇELİK tarafından hazırlanan “Kaliks[4]aren Amit ve Schiff Bazı Türevleri Kullanılarak Sulu Ortamda Bazı Farmasötik Bileşiklerin Kalitatif ve Kantitatif Olarak Algılanması” adlı tez çalışması 05/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Konya Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Ahmet OKUDAN

.....

Danışman

Prof. Dr. Mustafa TABAKCI

.....

Üye

Prof. Dr. Hüseyin DEVECİ

.....

Üye

Prof. Dr. Serkan ERDEMİR

.....

Üye

Doç. Dr. Farabi TEMEL

.....

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Saadettin Erhan KESEN
Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması Konya Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü tarafından 191116040 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Egemen ÖZÇELİK

Tarih:

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KALİKS[4]AREN AMİT VE SCHIFF BAZI TÜREVLERİ KULLANILARAK SULU ORTAMDA BAZI FARMASÖTİK BİLEŞİKLERİN KALİTATİF VE KANTİTATİF OLARAK ALGILANMASI

Egemen ÖZÇELİK

Konya Teknik Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa TABAKCI

Yıl, 111 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Mustafa TABAKCI
Prof. Dr. Ahmet OKUDAN
Prof. Dr. Hüseyin DEVECİ
Prof. Dr. Serkan ERDEMİR
Doç. Dr. Farabi TEMEL

Bu çalışmada, son yıllarda kullanımı artan ilaçların etken maddesi olan farmasötik bileşiklerin sulu ortamda kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilmesi amaçlandı. Bunun için, farklı fonksiyonel gruplar içeren kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri kullanılarak spektroskopik ve QCM sensör çalışmaları gerçekleştirildi. Rodamin B ve floresein yapıları kullanılarak sırasıyla kaliks[4]aren **K-Rh** ve **K-FI** türevleri, 8-hidroksikinolin, 5-fenilazo-8-hidroksikinolin, benzotiazol ve semikarbazit yapıları kullanılarak ise sırasıyla kaliks[4]aren **K-8HQ**, **K-8HA**, **K-Ben** ve **K-SK** türevleri sentezlendi ve tüm bileşiklerin yapıları ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı. Bu bileşiklerin daha sonra seçilmiş bazı farmasötik bileşikler (askorbik asit (AA), difenhidramin (DIF), 4-dimetilaminoantipirin (DMAP), trimetoprim (TRI), sülfametoksazol (SUL), atenolol (ATE), naproksen (NAP), fenitoin (FEN), ibuprofen (IBU) ve parasetamol (PAR)) için sensör özellikleri öncelikle spektroskopik olarak incelendi. QCM sensör çalışmaları ise spektroskopik sensör özelliği olan bileşikler için gerçekleştirildi.

K-Rh türevinin etanol-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde AA'ya karşı florimetrik olarak seçimli ve hassas bir sensör olduğu görüldü. Burada **K-Rh** türevinin sensör özelliğinin ortaya çıkmasında yapı üzerinde halka açılma reaksiyonunun gerçekleşmesiyle 585 nm'de şiddetli bir emisyonun gözlenmesinin etkili olduğu şeklinde değerlendirildi. **K-Rh:AA** kompleksleşmesinin 1:1 oranında gerçekleştiği ve sensörün LOD değerinin 2,59 µM olduğu belirlendi. **K-Rh** türevinin AA için QCM çalışmaları da gerçekleştirildi. Fonksiyonel grubun etkisini görmek amacıyla aldehit grubu taşıyan kaliks[4]aren **K-4** türevi ile karşılaştırıldığında AA algılanmasında rodamin gruplarının etkili olduğu görüldü. Stokiyometrik oran değerlerinden algılamada **K-Rh** ve AA arasında 1:1 oranında etkileşim olduğu belirlendi. Bu da hem spektroskopik yöntemin hem de QCM yönteminin bu noktada birbirini doğruladığını gösterdi.

K-FI türevinin asetonitril-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde kayda değer bir sonuç gözlenmedi. Bunun üzerine ikinci bir yöntem olarak **K-FI** türevinin aynı koşullarda farklı kationlara karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde Cu²⁺ iyonuna karşı kolorimetrik olarak seçimli ve hassas bir sensör olduğu görüldü. Burada **K-FI** türevinin sensör özelliğinin ortaya çıkmasında yapı üzerindeki floresein gruplarına bağlı olarak 535 nm'de şiddetli absorpsiyon maksimumu vermesinin etkili olduğu şeklinde değerlendirildi. **K-FI:Cu²⁺** kompleksleşmesinin 1:2 oranında gerçekleştiği ve sensörün LOD değerinin 5,3 µM olduğu belirlendi. Yöntemin devamında **K-FI:Cu²⁺** kompleksinin üzerine farklı farmasötik bileşikler ilave edildiğinde kolorimetrik olarak FEN için

652 nm’de yeni bir absorpsiyon maksimumunun olduğu görüldü. Aynı zamanda florimetrik olarak da FEN ilavesinde çözelti renginin değiştiği ve oluşan kompleksin floresein halkasını açmaya zorlayarak 518 nm’de şiddetli bir emisyon gerçekleştiği görüldü. Ayrıca **K-FI** türevinin etanol-su ortamında farklı farmasötiklere karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde ATE, NAP, FEN ve IBU için floresans spektrumlarında değişimler gözlemlendi. Ancak burada ilgili farmasötik bileşiklerin bazik karakterli olmasından dolayı halkanın kompleksleşme nedeniyle değil de ortamın pH’sının değişmesinden dolayı açıldığı belirlendi. Bunun üzerine bu kez **K-FI** türevinin etanol-su ortamında farklı katyonlara karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde ise Hg^{2+} iyonu için floresein halkasının açılmasından dolayı 518 nm’de şiddetli bir emisyon gözlemlendi. **K-FI:Hg²⁺** kompleksleşmesinin 1:2 oranında gerçekleştiği ve sensörün LOD değerinin 0,15 μM olduğu belirlendi. **K-FI:Hg²⁺** kompleksinin üzerine farklı farmasötik bileşikler ilave edildiğinde ise kayda değer bir değişim gözlemlenmedi.

K-8HA türevinin asetonitril-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde kayda değer bir sonuç gözlemlenmedi. İkinci bir yöntem olarak aynı şartlarda **K-8HA** türevinin farklı katyonlara karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde de kayda değer bir değişim olmadı. Bunun üzerine benzer yapıda ancak azo grubu içermeyen 8-hidroksikinolin ile fonksiyonlandırılmış **K-8HQ** türevinin asetonitril-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde ise yine kayda değer bir değişim gözlemlenmedi. Ancak ikinci bir yöntem olarak **K-8HQ** türevinin aynı koşullarda farklı katyonlara karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde Cu^{2+} iyonuna karşı kolorimetrik olarak seçimli ve hassas bir sensör olduğu görüldü. Burada **K-8HQ** türevinin sensör özelliğinin ortaya çıkmasında yapı üzerindeki 8-hidroksikinolin gruplarına bağlı olarak 490 nm’de şiddetli bir absorpsiyon maksimumu vermesinin etkili olduğu şeklinde değerlendirildi. **K-8HQ:Cu²⁺** kompleksleşmesinin 1:1 oranında gerçekleştiği ve sensörün LOD değerinin 3 μM olduğu belirlendi. Yöntemin devamında ise **K-8HQ:Cu²⁺** kompleksinin üzerine farklı farmasötik bileşikler ilave edildiğinde florimetrik olarak herhangi bir değişim gözlemlenmezken kolorimetrik olarak sadece DMAP için renk değişiminin gözlemlendiği ancak oluşan **K-8HQ:DMAP** kompleksinin kararlılığının zayıf olduğu görüldü.

K-Ben türevinin DMSO-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde kayda değer bir sonuç gözlemlenmedi. Bunun üzerine ikinci bir yöntem olarak **K-Ben** türevinin aynı koşullarda farklı katyonlara karşı spektroskopik sensör özellikleri incelendiğinde Zn^{2+} iyonuna karşı florimetrik olarak seçimli ve hassas bir sensör olduğu görüldü. Burada **K-Ben** türevinin sensör özelliğinin ortaya çıkmasında yapı üzerindeki benzotiyazol gruplarına bağlı olarak 480 nm’de şiddetli bir emisyon vermesinin etkili olduğu şeklinde değerlendirildi. **K-Ben:Zn²⁺** kompleksleşmesinin 1:1 oranında gerçekleştiği ve sensörün LOD değerinin 2,6 μM olduğu belirlendi. **K-Ben:Zn²⁺** kompleksinin üzerine farklı farmasötik bileşikler ilave edildiğinde ise DIF durumunda kompleksin bozulduğu ve 480 nm’deki emisyonun sönümlendiği görüldü. **K-Ben** türevinin DIF için QCM çalışmaları da gerçekleştirildi. Elde edilen frekans değişimleri incelendiğinde konsantrasyon değeri arttıkça, frekans değişiminin arttığı, ancak artış hızının giderek azaldığı görüldü. Stokiyometrik oran değerlerinden algılamada **K-Ben** ve DIF arasında 1:1 oranında etkileşim olduğu belirlendi. Bu da hem spektroskopik yöntemin hem de QCM yönteminin bu noktada birbirini doğruladığını gösterdi.

K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötik bileşiklerin sulu ortamda algılama çalışmaları gerçekleştirildiğinde NAP ve IBU için en yüksek frekans değişimlerinin meydana geldiği, en düşük frekans değişiminin de AA için elde edildiği görüldü.

Yapılan tüm QCM çalışmalarında kaplama kalınlığının etkisi incelendi ve kaplama kalınlığı arttıkça stokiyometrik oran değerlerinde azalma olduğu görüldü. Bunun başlıca sebebinin, yüzeyde bulunan algılayıcı madde miktarının fazla olması dolayısıyla kaplama sürecinde moleküllerin üst üste gelerek çoklu tabaka oluşturması nedeniyle algılayıcı bölgelerin kapanması olarak değerlendirildi. Her ne kadar düşük kaplama değerlerinde stokiyometrik olarak yüksek algılama gerçekleşse de algılama kapasitesi düşük oldu. QCM çalışmalarında etkileşimlerin adsorpsiyon prosesi üzerinden yürümesi nedeniyle Langmuir, Freundlich ve Scatchard izotermi çizilerek adsorpsiyon parametreleri belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Farmasötik kirletici, sensör, kaliksaren, floresans, QCM

ABSTRACT

PhD THESIS

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE SENSING OF SOME PHARMACEUTICAL COMPOUNDS BY CALIX[4]ARENE AMIDE AND SCHIFF BASE DERIVATIVES IN AQUEOUS MEDIA

Egemen ÖZÇELİK

Konya Technical University
Institute of Graduate Studies
Department of Chemical Engineering

Advisor: Prof. Dr. Mustafa TABAKCI

Year, 111 Pages

Jury

Prof. Dr. Mustafa TABAKCI
Prof. Dr. Ahmet OKUDAN
Prof. Dr. Hüseyin DEVECİ
Prof. Dr. Serkan ERDEMİR
Asst. Prof. Dr. Farabi TEMEL

In this study, it was aimed to qualitatively and quantitatively determine the pharmaceutical compounds, which are the active ingredients of drugs, the use of which has increased in recent years, in aqueous media. For this, spectroscopic and QCM sensor studies were performed using calix[4]arene Schiff base and amide derivatives containing different functional groups. Using the Rhodamine B and fluorescein structures, calix[4]arene **K-Rh** and **K-FI** derivatives, 8-hydroxyquinoline, 5-phenylazo-8-hydroxyquinoline, benzathiazole and semicarbazide structures, respectively, were used as calix[4]arene **K-8HQ**, **K-8HA**, **K-Ben** and **K-SK** derivatives were synthesized, and the structures of all compounds were confirmed by ¹H-NMR spectroscopy. Some of these compounds were later selected pharmaceutical compounds (ascorbic acid (AA), diphenhydramine (DIF), 4-dimethylaminoantipyrine (DMAP), trimethoprim (TRI), sulfamethoxazole (SUL), atenolol (ATE), naproxen (NAP), phenytoin (FEN), ibuprofen (IBU) and paracetamol (PAR)) were first examined spectroscopically. QCM sensor studies were carried out for compounds with spectroscopic sensor properties.

When the spectroscopic sensor properties of the **K-Rh** derivative against different pharmaceutical compounds in ethanol-water environment were examined, it was seen that it was a fluorimetrically selective and sensitive sensor against AA. Here, it was evaluated that the observation of a severe emission at 585 nm with the ring opening reaction on the structure was effective in the emergence of the sensor feature of the **K-Rh** derivative. It was determined that **K-Rh:AA** complexation occurred at a ratio of 1:1 and the LOD value of the sensor was 2.59 µM. QCM studies for AA of the **K-Rh** derivative were also performed. In order to see the effect of the functional group, rhodamine groups were found to be effective in the detection of AA when compared with the calix[4]arene **K-4** derivative carrying the aldehyde group. It was determined that there was a 1:1 interaction between **K-Rh** and AA in detection from stoichiometric ratio values. This showed that both the spectroscopic method and the QCM method confirmed each other at this point.

When the spectroscopic sensor properties of the **K-FI** derivative against different pharmaceutical compounds in acetonitrile-water medium were examined, no significant results were observed. Then, as a second method, when the spectroscopic sensor properties of the **K-FI** derivative against different cations were examined under the same conditions, it was seen that it was a colorimetrically selective and sensitive sensor against Cu²⁺ ion. Here, it was evaluated that the strong absorption maximum at 535 nm, depending on the fluorescein groups on the structure, was effective in the emergence of the sensor feature of the **K-FI** derivative. It was determined that **K-FI:Cu²⁺** complexation occurred at a ratio of 1:2 and the LOD value of

the sensor was 5.3 μM . In the continuation of the method, when different pharmaceutical compounds were added to the **K-F1:Cu²⁺** complex, it was observed that a new absorption maximum was formed for FEN colorimetrically at 652 nm. At the same time, fluorimetrically, it was observed that the color of the solution changed with the addition of FEN and a severe emission occurred at 518 nm, forcing the fluorescein ring of the formed complex to open. In addition, when the spectroscopic sensor properties of the **K-F1** derivative against different pharmaceuticals in ethanol-water environment were examined, changes in the fluorescence spectra were observed for ATE, NAP, FEN and IBU. However, due to the basic character of the relevant pharmaceutical compounds, it was determined that the ring was opened not because of complexation, but because of the change in the pH of the environment. Then, when the spectroscopic sensor properties of the **K-F1** derivative against different cations in the ethanol-water environment were examined, a severe emission was observed at 518 nm due to the opening of the fluorescein ring for the Hg^{2+} ion. It was determined that **K-F1:Hg²⁺** complexation occurred at a ratio of 1:2 and the LOD value of the sensor was 0.15 μM . No significant change was observed when different pharmaceutical compounds were added to the **K-F1:Hg²⁺** complex.

When the spectroscopic sensor properties of the **K-8HA** derivative against different pharmaceutical compounds in acetonitrile-water medium were examined, no significant results were observed. As a second method, when the spectroscopic sensor properties of the **K-8HA** derivative against different cations were examined under the same conditions, there was no significant change. On top of that, when the spectroscopic sensor properties of the 8-hydroxyquinoline-functionalized **K-8HQ** derivative, which has a similar structure but does not contain azo group, against different pharmaceutical compounds in acetonitrile-water medium, no significant change was observed. However, as a second method, when the spectroscopic sensor properties of the **K-8HQ** derivative against different cations were examined under the same conditions, it was seen that it was a colorimetrically selective and sensitive sensor against Cu^{2+} ion. Here, it was evaluated that the **K-8HQ** derivative gave a strong absorption maximum at 490 nm depending on the 8-hydroxyquinoline groups on the structure. It was determined that **K-8HQ:Cu²⁺** complexation occurred at a ratio of 1:1 of the and the LOD value of the sensor was 3 μM . In the continuation of the method, when different pharmaceutical compounds were added to the **K-8HQ:Cu²⁺** complex, no fluorimetric change was observed, while colorimetrically only color change was observed for DMAP, but the stability of the formed **K-8HQ:DMAP** complex was weak.

When the spectroscopic sensor properties of the **K-Ben** derivative against different pharmaceutical compounds in DMSO-water medium were examined, no significant results were observed. Then, as a second method, when the spectroscopic sensor properties of the **K-Ben** derivative against different cations were examined under the same conditions, it was seen that it was a fluorimetrically selective and sensitive sensor against Zn^{2+} ion. Here, it was evaluated that the **K-Ben** derivative's intense emission at 480 nm, depending on the benzothiazole groups on the structure, was effective in the emergence of the sensor feature. It was determined that **K-Ben:Zn²⁺** complexation occurred at a ratio of 1:1 and the LOD value of the sensor was 2.6 μM . When different pharmaceutical compounds were added to the **K-Ben:Zn²⁺** complex, it was observed that the complex was disrupted in the case of DIF and the emission at 480 nm was quenched. QCM studies for DIF of the **K-Ben** derivative were also performed. When the frequency changes obtained were examined, it was observed that as the concentration value increased, the frequency change increased, but the rate of increase gradually decreased. It was determined that there was a 1:1 interaction between **K-Ben** and DIF in detection from stoichiometric ratio values. This showed that both the spectroscopic method and the QCM method confirmed each other at this point.

When the detection studies of different pharmaceutical compounds in aqueous medium of the **K-SK** derivative coated QCM sensor were performed, it was observed that the highest frequency changes occurred for NAP and IBU, and the lowest frequency change was obtained for AA.

In all QCM studies, the effect of the coating thickness was examined and it was observed that the stoichiometric ratio values decreased as the coating thickness increased. The main reason for this was considered to be the closure of the sensing areas due to the large amount of sensing substance on the surface and the formation of multiple layers by overlapping the molecules during the coating process. Although stoichiometric high detection was achieved at low coating values, the detection capacity was low. In QCM studies, the adsorption parameters were determined by drawing the Langmuir, Freundlich and Scatchard isotherms, since the interactions are based on the adsorption process.

Keywords: Pharmaceutical pollutant, sensor, calixarene, fluorescence, QCM



ÖNSÖZ

Konya Teknik Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Mustafa TABAKCI'nın danışmanlığında hazırlanarak Konya Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'ne doktora tezi olarak sunulmuştur.

Çalışmalarında bilgi ve birikimini benden esirgemeyen, her türlü desteği sağlayan saygı değer hocam, danışmanım Prof. Dr. Mustafa TABAKCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmayı 191116040 nolu proje ile destekleyen Konya Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarımı gerçekleştirmem için bana laboratuvar imkanı sağlayan Konya Teknik Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na ve Kimya Mühendisliği Bölümünde görev yapan hocalarıma teşekkür ederim.

Doktora sürecimde 2017 yılında başladığım Yüksek Öğretim Kurulu Başkanlığı'na hazırlanan 100/2000 YÖK Doktora Burs Programı kapsamında Mikro ve Nanoteknoloji Öncelikli Alan konusunda bursiyer olarak maddi destekte bulunan Yüksek Öğretim Kurulu'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Begüm TABAKCI ve Prof. Dr. Serkan ERDEMİR'e, desteklerinin yanında benim için bir ağabey olan Doç. Dr. Farabi TEMEL'e teşekkürlerimi sunarım. Gerçekleştirdiğim deneysel çalışmalarda bana destek olan Zehra TOSUN ve Kaan KARAKAYA'ya, hep yanımda olan Ahmet ÖZDEMİR'e teşekkür ederim. Lisansüstü eğitimim boyunca tanıdığım tüm lisans ve yüksek lisans öğrencilerine teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim boyunca geçen yoğun süreçte, bana desteklerini hep yüreğimde hissettiğim ve yakın zamanda kaybettiğim kıymetli dedem Gazi ÖZÇELİK ve babaannem Hava ÖZÇELİK'e, hep yanımda olan, maddi ve manevi olarak desteklerini benden esirgemeyen, sevgili ailem; ananem Sevim AKGÜNGÖR'e, babam Cafer ÖZÇELİK'e, annem Bahar ÖZÇELİK'e, kardeşim Elif Aybüke ÖZÇELİK'e ve arkadaşım Gamze GÜRSOY'a çok teşekkür ederim.

Mustafa Kemal ATATÜRK'ün “Benim manevî mirasım, bilim ve akıldır. Benden sonrakiler, bizim aşmak zorunda olduğumuz çetin ve köklü güçlükler önünde, belki amaçlara tamamen eremediğimizi, fakat asla ödün vermediğimizi, akıl ve bilimi rehber edindiğimizi onaylayacaklardır. Zaman hızla dönüyor, milletlerin, toplumların, bireylerin mutluluk ve mutsuzluk anlayışları bile değişiyor. Böyle bir dünyada, asla değişmeyecek hükümler getirdiğini iddia etmek, aklın ve bilimin gelişimini inkâr etmek olur. Benim, Türk milleti için yapmak istediklerim ve başarmaya çalıştıklarım ortadadır. Benden sonra, beni benimsemek isteyenler, bu temel eksen üzerinde akıl ve bilimin rehberliğini kabul ederlerse, manevî mirasçılarım olurlar.” Sözlerini benimseyerek, açtığı yolda ve gösterdiği hedefe, durmadan ilerleyeceğim.

Egemen ÖZÇELİK
KONYA-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ	ix
İÇİNDEKİLER	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. Farmasötik Kirleticiler	2
1.2. Floresans Sensörler	4
1.2.1. Jablonski Diyagramı	5
1.2.2. Işıma dayalı elektron transferi (Photoinduced Electron Transfer, PET).....	6
1.2.3. Molekül içi yük transferi (Intramolecular Charge Transfer, ICT).....	7
1.2.4. Floresans rezonans enerji aktarımı (Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET).....	7
1.3. Kuartz Kristal Mikrobalans (Quartz Crystal Microbalance, QCM).....	7
1.4. Kaliksarenler	8
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar.....	20
3.2. Kaliks[4]aren Türevlerinin Sentezi	20
3.2.1. 5,11,17,23-Tetra- <i>ter</i> -bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (K-1)	22
3.2.2. 5,11,17,23-Tetra- <i>ter</i> -bütil-25,27-bis(3-bromopropoksi)-26,28-dihidroksi kaliks[4]aren (K-2)	23
3.2.3. 5,11,17,23-Tetra- <i>ter</i> -bütil-25,27-bis(3-disülfıitpropoksi)-26,28-dihidroksika-lik[4]aren (K-3)	23
3.2.4. 5,17-Diformil-5,23-di- <i>ter</i> -bütil-25,27-bis(3-disülfıitpropoksi)-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (K-4)	24
3.2.5. Rodamin B'nin –NH ₂ fonksiyonlandırılması (Rh-NH ₂).....	24
3.2.6. Floreseinin –NH ₂ fonksiyonlandırılması (Fl-NH ₂).....	25
3.2.7. 5-Fenilazo-8-hidroksikinolin sentezi (8-HA-OH)	25
3.2.8. Metil-2-(5-fenilazo-8-hidroksikinolin)asetat sentezi (8-HA-E)	26
3.2.9. 2-(5-Fenilazo-8-hidroksikinolin)asetohidrazit sentezi (8-HA-NH ₂)	27
3.2.10. 8-Hidroksikinolin asetat (8-HQ-E)	27
3.2.11. 8-Hidroksikinolin asetohidrazit (8-HQ-NH ₂)	28
3.2.12. 4-(2-Benzatıyazolil)-fenol sentezi (Ben-OH)	28
3.2.13. Metil-2-(4-(2-benzatıyazolil)fenoksi asetat sentezi (Ben-E)	29

3.2.14.	2-(4-(2-benzotiazolil)fenoksi asetohidrazit sentezi (Ben-NH ₂)	30
3.2.15.	Kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevlerinin sentezi.....	30
3.3.	Farmasötik Bileşiklerin Tespiti için Spektroskopik Ölçümler.....	33
3.4.	Farmasötik Bileşiklerin Tespiti için QCM Algılama Çalışmaları.....	34
4.	ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	36
4.1.	Kaliks[4]aren Schiff Bazı ve Amit Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	36
4.2.	Farmasötik Bileşiklerin Kalitatif ve Kantitatif Olarak Tespit Edilmesi.....	48
4.2.1.	K-Rh türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi.....	48
4.2.1.1.	Spektroskopik ölçümler	48
4.2.1.2.	QCM algılama çalışmaları.....	53
4.2.1.3.	Spektroskopik yöntemler ile QCM yönteminin karşılaştırılması.....	58
4.2.2.	K-Fl türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi	58
4.2.2.1.	Spektroskopik ölçümler	58
4.2.3.	K-8HA türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi.....	73
4.2.3.1.	Spektroskopik ölçümler	73
4.2.4.	K-8HQ türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi.....	76
4.2.4.1.	Spektroskopik ölçümler	76
4.2.5.	K-Ben türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi.....	83
4.2.5.1.	Spektroskopik ölçümler	83
4.2.5.2.	QCM algılama çalışmaları	92
4.2.6.	K-SK türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi	95
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	101
5.1.	Sonuçlar.....	101
5.2.	Öneriler	103
KAYNAKLAR	105	

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Jabloski Diyagramı	5
Şekil 1.2. PET mekanizmasının şematik gösterimi	6
Şekil 1.3. ICT mekanizmasının şematik gösterimi	6
Şekil 1.4. FRET Mekanizması gösterimi.....	7
Şekil 1.5. Temel <i>p-ter</i> -bütilkaliks[4]aren yapısı ve alt ve üst kısmının gösterimi.....	8
Şekil 1.6. Temel <i>p-ter</i> -bütilkaliks[4]aren farklı konformasyon yapısının gösterimi.....	9
Şekil 1.7. Temel <i>p-ter</i> -bütilkaliks[4]aren yapısının farklı sentez yöntemleri ile türevlendirilmesi	10
Şekil 2.1. Şimşir ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada metronidazol ile floresans emisyonunun sönmelenmesinin şematik gösterimi	11
Şekil 2.2. Akceylan ve ark. yaptıkları çalışmanın gösterimi	12
Şekil 2.3. Abd El-Rahman ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada kullanılan kaliks[4]aren türevi ve kolin klorür yapısının gösterimi.....	13
Şekil 2.4. Wang ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada kullandıkları tetrasiklin.HCl ve klortetrasiklin.HCl bileşiklerinin gösterimi	13
Şekil 2.5. Abd El-Rahman ve ark. (2021) yaptıkları çalışmanın gösterimi.....	14
Şekil 2.6. Aydın ve Talinli (2013) yaptıkları çalışmada farklı dönemlerde tespit edilen farklı farmasötiklerin konsantrasyonu verilerinin gösterimi	15
Şekil 2.7. Yan ve ark (2022) tarafından yapılan çalışmanın gösterimi.....	17
Şekil 2.8. Chen ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmanın gösterimi.....	17
Şekil 2.9. Wu ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmanın gösterimi	18
Şekil 2.10. Jiang ve ark (2022) tarafından yapılan çalışmanın gösterimi.....	18
Şekil 3.1. Kaliks[4]aren türevlerinin sentez şeması.....	21
Şekil 3.2. Schiff bazı türevlerin sentezinde kullanılacak olan amino grubu taşıyan türevlerin sentez şeması	21
Şekil 3.3. Amit grubu içeren türevlerin sentezinde kullanılacak olan asetohidrazit grubu taşıyan türevlerin sentez şeması.....	22
Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan farmasötik kirleticiler.....	33
Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan QCM sensör sistemi.....	35
Şekil 4.1. K-2 türevinin ¹ H-NMR spektrumu	37
Şekil 4.2. K-3 türevinin ¹ H-NMR spektrumu	37
Şekil 4.3. K-4 türevinin ¹ H-NMR spektrumu	38

Şekil 4.4. Rh-NH ₂ bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	39
Şekil 4.5. Fl-NH ₂ bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	39
Şekil 4.6. 8-HA-OH bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	40
Şekil 4.7. 8-HA-E bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	40
Şekil 4.8. 8-HA-NH ₂ bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	41
Şekil 4.9. 8-HQ-E bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	41
Şekil 4.10. 8-HQ-NH ₂ bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	42
Şekil 4.11. Ben-OH bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	42
Şekil 4.12. Ben-E bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	43
Şekil 4.13. Ben-NH ₂ bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	43
Şekil 4.14. K-Rh türevinin ¹ H-NMR spektrumu	44
Şekil 4.15. K-Rh türevinin ¹ H-NMR spektrumu	45
Şekil 4.16. K-8-HA türevinin ¹ H-NMR spektrumu.....	45
Şekil 4.17. K-8-HQ türevinin ¹ H-NMR spektrumu.....	46
Şekil 4.18. K-Ben türevinin ¹ H-NMR spektrumu.....	47
Şekil 4.19. K-SK türevinin ¹ H-NMR spektrumu.....	47
Şekil 4.20. K-Rh türevinin etanol-su (1/2, v/v) ortamında farklı farmasötik bileşikler ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 360$ nm, [K-Rh]= 10 μ M, [Farmasötik]= 100 μ M)	49
Şekil 4.21. K-Rh türevi ile AA arasındaki potansiyel kompleksleşme mekanizmasının gösterimi	49
Şekil 4.22. K-Rh türevinin etanol-su (1/2, v/v) ortamında 0-50 eşmolar arasındaki AA ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 360$ nm, [K-Rh]= 10 μ M)	50
Şekil 4.23. K-Rh türevinin etanol-su (1/2, v/v) ortamında 0-50 eşmolar arasındaki AA ilavesi sonucunda elde edilen Job grafiği	51
Şekil 4.24. K-Rh:AA kompleksi için etanol-su (1/2, v/v) ortamında 0-50 eşmolar arasındaki AA ilavesi sonucunda elde edilen Benesi-Hildebrand grafiği	51
Şekil 4.25. K-Rh türevinin etanol-su (1/2, v/v) ortamında farklı konsantrasyonlardaki AA ilavesi sonucunda elde edilen floresans şiddeti değişimi ($\lambda = 360$ nm, [K-Rh]= 10 μ M)	52
Şekil 4.26. (A) Düşük kaplama kalınlığına sahip ve (B) yüksek kaplama kalınlığına sahip kaliks[4]aren K-4 ve K-Rh türevlerinin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki frekans değişimi grafiği	54

Şekil 4.27. (A) Düşük kaplama kalınlığına sahip ve (B) yüksek kaplama kalınlığına sahip kaliks[4]aren K-4 ve K-Rh türevlerinin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki SO değerleri grafiği	55
Şekil 4.28. K-4 ve K-Rh türevleri kaplı QCM sensörlerin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki (A) Langmuir ve (B) Freundlich adsorpsiyon izotermi.....	55
Şekil 4.29. K-4 ve K-Rh türevi kaplı QCM sensörlerin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki Scatchard denge izotermi	57
Şekil 4.30. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında farklı farmasötik bileşikler ile etkileşimi sonucunda elde edilen UV spektrumları ([K-FI]= 10 µM, [Farmasötik]= 20 µM)	59
Şekil 4.31. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında farklı katyonlar ile etkileşimi sonucunda elde edilen UV spektrumları	59
Şekil 4.32. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar Cu ²⁺ ilavesi sonucunda elde edilen UV spektrumları ([K-FI]= 10 µM).....	60
Şekil 4.33. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar arasındaki Cu ²⁺ ilavesi sonucunda elde edilen (A) Job grafiği, (B) 1:2 kompleksleşme durumunda elde edilen Benesi Hildebrand grafiği, (C) 1:3 kompleksleşme durumunda elde edilen Benesi Hildebrand grafiği ve (D) 1:4 kompleksleşme durumunda elde edilen Benesi Hildebrand grafiği.....	61
Şekil 4.34. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında Cu ²⁺ ilavesi sonucunda elde edilen olası kompleksleşme mekanizması	62
Şekil 4.35. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar arasındaki Cu ²⁺ ilavesi sonucunda elde edilen konsantrasyona karşı absorban grafiği.....	62
Şekil 4.36. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 3 eşmolar Cu ²⁺ ilavesi ve 6 eşmolar farklı farmasötik bileşik ilavesi sonucunda elde edilen (a) UV-GB spektrumları (b) absorban değişim grafiği	63
Şekil 4.37. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 3 eşmolar Cu ²⁺ ilavesi sonrasında 0-20 eşmolar FEN ilavesi sonucunda elde edilen UV-GB titrasyon spektrumları	63
Şekil 4.38. K-FI türevinin Asetonitril-Su (9/1, v/v) ortamında 3 eşmolar Cu ²⁺ ilavesi sonrasında 0-20 eşmolar FEN ilavesi sonucunda elde edilen 534 nm ve 652 nm'deki absorban değişim grafiği	64

Şekil 4.39. K-Fl türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 3 eşmolar Cu^{2+} ilavesi sonrasında 0-20 eşmolar FEN ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda=450$ nm, $[\text{K-Fl}]=10$ μM).....	65
Şekil 4.40. K-Fl türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında Cu^{2+} kompleksinin üzerine FEN ilavesi sonucunda elde edilen olası kompleksleşme mekanizması	66
Şekil 4.41. K-Fl türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 10 kat farklı farmasötik bileşiklerin ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda=450$ nm, $[\text{K-Fl}]=5$ μM)	67
Şekil 4.42. Farklı pH durumlarında floresein yapısındaki değişim	67
Şekil 4.43. K-Fl türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 2 eşmolar katyonların ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda=450$ nm, $[\text{K-Fl}]=1$ μM).....	67
Şekil 4.47. K-Fl türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında Hg^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen olası kompleksleşme mekanizması	70
Şekil 4.48. K-Fl türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar arasındaki Hg^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen Benesi-Hildebrand grafiği.....	71
Şekil 4.49. K-Fl türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar arasındaki Hg^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen konsantrasyona karşı absorban grafiği	71
Şekil 4.53. K-8HA türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 2 eşmolar farklı katyonların ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda=370$ nm, $[\text{K-8HA}]=10$ μM)	74
Şekil 4.55. Chawla ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada kullandıkları kaliks[4]aren türevleri.....	75
Şekil 4.56. K-8HQ türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında farklı farmasötik bileşikler ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans spektrumları.....	77
Şekil 4.57. K-8HQ türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında farklı katyonlar ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($[\text{K-8HQ}]=10$ μM).....	77
Şekil 4.58. K-8HQ türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında Cu^{2+} iyonu ile etkileşimi sonucunda oluşan olası kompleksleşme mekanizması.....	78
Şekil 4.61. K-8HQ türevinin asetonitril-Su (95/5, v/v) ortamında 0-10 eşmolar arasındaki Cu^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen Benesi-Hildebrand grafiği.....	80
Şekil 4.66. K-Ben türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında farklı farmasötik bileşikler ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans şiddet değişimi ($\lambda=390$ nm, $[\text{K-Rh}]=10$ μM , $[\text{Farmasötik}]=10$ μM)	84

Şekil 4.68. K-Ben türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında Zn^{2+} iyonu ile olası kompleksleşme mekanizması	85
Şekil 4.71. K-Ben türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 0-3 eşmolar arasındaki Zn^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen Benesi Hildebrand grafiği	87
Şekil 4.74. K-Ben türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 1 eşmolar Zn^{2+} ilavesi sonrasında 0-50 eşmolar DIF ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları	89
Şekil 4.78. K-Ben kaplı QCM sensörün farklı DIF konsantrasyon değerlerindeki Scatchard denge izotermi	94
Şekil 4.80. K-SK türevinin farklı farmasötik bileşiklere karşı olası kompleksleşme mekanizması	96
Şekil 4.81. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı konsantrasyonlardaki farmasötik bileşiklere karşı frekans değişim grafiği	97
Şekil 4.82. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı konsantrasyonlardaki farmasötik bileşiklerin SO grafiği	98
Şekil 4.83. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötik bileşiklere karşı Langmuir adsorpsiyon izotermi	98
Şekil 4.84. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötik bileşiklere karşı Freundlich adsorpsiyon izotermi	99
Şekil 4.85. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı konsantrasyonlardaki farmasötik bileşiklere karşı Scatchard denge izotermi	100

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 4.1. Literatürdeki AA için florimetrik yöntemler ile yapılan algılama çalışmaları	52
Çizelge 4.2. K-Rh türevi ile kaplı QCM sensörün AA algılama prosesi için Langmuir ve Freundlich izotermi parametreleri	56
Çizelge 4.3. K-Rh türevi ile kaplı QCM sensörün AA algılama prosesi için Scatchard denge izotermi parametreleri	57
Çizelge 4.4. K-Ben kaplı QCM sensörün DIF algılama prosesi için Langmuir ve Freundlich izotermi parametreleri	94
Çizelge 4.5. K-Ben kaplı QCM sensörün DIF algılama prosesi için Scatchard denge izotermi parametreleri	95
Çizelge 4.6 K-SK türevi kaplı QCM sensörün sensör parametreleri.....	97
Çizelge 4.7 K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötik bileşikler algılama prosesi için Langmuir ve Freundlich izotermi parametreleri.....	99
Çizelge 4.8. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötikleri algılama prosesi için Scatchard denge izotermi parametreleri	100

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Derece celsius
g	: Gram
mg	: Miligram
M	: Molarite (mol/L)
mM	: Milimolar (mmol/L)
µM	: Mikromolar (µmol/L)
nM	: Nanomolar (nmol/L)
L	: Litre
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre

Kısaltmalar

İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
UNEP	: Birleşmiş Milletler Çevre Programı
HOMO	: Highest Occupied Molecular Orbital - en yüksek dolu moleküler orbital
LUMO	: Lowest Unoccupied Molecular Orbital - en düşük dolu olmayan moleküler orbital
QCM	: Quartz Crystal Microbalance, Kuartz Kristal Mikrobalans
PET	: Photoinduced Electron Transfer, Fotoindüklenmiş Elektron Transferi
ICT	: Intramolecular Charge Transfer, Molekül için Yük Transferi
FRET	: Fluorescence Resonance Energy Transfer, Floresans Rezonans Enerji Transferi
LOD	: Limit of Detection, Limit algılama değeri
LOQ	: Limit of Quantitation, Limit tayin sınırı
PPCP	: Pharmaceutical and Personal Care Product, Farmasötik ve Kişisel bakım ürünü
BCF	: Biological concentration factor, biyolojik konsantrasyon faktörü
SPE	: Solid-phase extraction, katı-hal ekstraksiyon
MOF	: Metal-organic Framework, metal-organik kafes yapısı
MIP	: Molecular Imprinted Polymer, Moleküler Baskılanmış Polimer
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
AA	: Askorbik Asit
DIF	: Difenhidramin
DMAP	: 4-Dimetilaminoantipirin, aminofenazon
TRI	: Trimetoprim
SUL	: Sülfametoksazol
ATE	: Atenolol
NAP	: Naproksen
FEN	: Fenitoin
IBU	: İbuprofen
PAR	: Parasetamol

1. GİRİŞ

Farmasötik bileşikler, canlı vücudunda tedavi edici etkilerinin olmasının yanı sıra, vücuttan atıldıktan sonra farklı yollar ile toprak ve sulara karışabilen ve kirliliğe neden olabilen moleküllerdir. 1940'lı yıllarda farmasötik ürünlerin yaygın olarak bulunmasından sonra, insan sağlığı ve çevre sağlığı ile ilgili endişeler ortaya çıktı. 1963 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yapılan toplantıda, ilaç şirketlerine, ilaç geliştirme sırasında ve piyasaya girdikten sonra ilaçların ciddi yan etkileri hakkında sistematik olarak veri toplanması hakkında bir karar alındı (World Health, 1963). İlaçların insanlarla ilgili kullanım sırasında ortaya çıkan yan etkilerin, farmakovijilans, belirlenmesi ve bunlar için resmi olarak çerçeve programları geliştirilirken, 1990'larda farmasötik bileşiklerin çevrede de var olduğu ve onlara maruz kalan organizmalar üzerinde zararlı etkilere neden olduğu belirlendi (Islas-Flores ve ark., 2019). İlaç amaçlı kullanılan farmasötik bileşiklerin çevreye ulaşması üç yolla gerçekleşebilir, (i) üretim tesislerinden deşarj edilen atıksu, (ii) normal tüketici veya hayvan kullanımı ve (iii) kullanılmamış veya son kullanma tarihi geçmiş ilaçların uygun olmayan şekilde imha edilmesi. Aktif farmasötik bileşikler içeren ilaçlar, kararlı olacak şekilde tasarlanmıştır ve bu nedenle çevrede bozunmaz ya da çok az miktarda bozunur. Doğal süreçler sonucunda dönüştürülebilen ya da giderilebilen ilaçlar için bile, çevrede bulunmaya devam edebilir (Miettinen ve Khan, 2022).

Literatürde farmasötik bileşiklerin tespiti ve miktarının belirlenmesi için birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, gerçek su numuneleri, belli bir bölgedeki farklı istasyonlardan belli zamanlarda alınarak, katı-faz ekstraksiyon yöntemi ile elde edildikten sonra HPLC, UHPLC, LC-MS/MS gibi farklı kromatografik yöntemlerle analizleri gerçekleştirilmektedir. Bahsedilen yöntemlerin doğruluğu yüksek olmasına rağmen pahalı ve uzun süreç gerektirmesinden dolayı araştırmacılar farklı yöntemlerin geliştirilmesi konusunda son yıllarda çalışmalar gerçekleştirmektedirler. Bu yöntemlerden özellikle kısa sürede yanıt alınabilen spektroskopik yöntemler sulu ortamda farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için kullanılabilir. Bu spektroskopik yöntemler içerisinde optik yöntemler ile florimetrik ve/veya kolorimetrik gibi kolay kullanımı olan, kısa sürede yanıt alınabilen sistemler geliştirilerek farklı türdeki farmasötik bileşikler için araştırmalar gerçekleştirilmiştir.

Farklı sıvı ya da gaz haldeki analitlerin tespiti için sıvı kromatografi veya gaz kromatografisi yöntemi kullanılabilir. Ancak kullanımın zor olması nedeniyle,

araştırmacılar daha kolay olan sensör sistemlerini tercih etmektedirler. Bu sensör sistemleri arasında ise kuartz kristal mikrobals (Quartz Crystal Microbalance, QCM) yöntemi, elektrot yüzeyinde meydana gelen değişimleri nanogram seviyesinde algılayabilen bir sensör sistemidir. QCM sisteminin altın elektrodu üzerine farklı algılayıcı özelliklere sahip polimerik ya da sentetik moleküller kullanılarak sıvı ya da gaz haldeki analitlerin algılama özellikleri incelenebilmektedir.

Bahsedilen sensörler için, farklı yapılarıdaki metal-organik kafes yapıları (metal-organic framework, MOF), kuantum noktalar, sentetik moleküller ve bazı supramoleküller yapıları araştırmacılar tarafından kullanılmıştır. Bu supramoleküller arasında, kaliksarenler, *p-ter*-bütilfenolün bazik ortamdaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda elde edilen makrosiklik bileşiklerdir. Sınırsız türevlendirilebilme yeteneğinden dolayı, farklı kullanım alanlarına sahip olan kaliksarenler son yıllarda araştırmacıların dikkatini çekmektedir.

Bu tez çalışmasında, farklı yapılarıdaki farmasötik bileşiklerin sulu ortamda farklı kaliks[4]aren türevleri ile kalitatif ve/veya kantitatif olarak tespit edilmesi çalışmaları gerçekleştirildi. Bu amaçla, farklı farmasötik bileşikleri algılayabilecek optik özelliklere sahip fonksiyonel yapılar sentezlendi ve karakterizasyonları gerçekleştirildi. Elde edilen fonksiyonel yapıların uygun sentetik metotlarla kaliks[4]aren moleküller iskeletine bağlanması sonucunda hazırlanan farklı kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri kullanılarak sulu ortamda farklı farmasötiklerin tespiti için kullanıldı.

1.1. Farmasötik Kirleticiler

Farmasötik bileşikler, hastalıkları teşhis etmek, tedavi etmek, değiştirmek ve önlemek için kullanılan kimyasallardır. Antibiyotikler, sentetik hormonlar, antiinflamatuvarlar, sitotoksinler gibi birçok ilaç üretilmekte ve tüketilmektedir. Farmasötikler, aşağıdaki özelliklerinden dolayı diğer kimyasal atıklardan farklıdır.

- Moleküller yapısı bakımından işlevsellik ve biçim bakımından farklılık gösterebilen sayısız karmaşık moleküller tarafından oluşturulabilirler.
- Beklenen tedavi edici etkiye ulaşmadan inaktif edilmedikleri durumda, hücre zarından geçebilme yeteneğine sahip oldukları için kalıcı olabilirler.
- Birden fazla iyonlaşabilen gruba sahip, ortam pH'sına göre iyonlaşabilen polar moleküllerdir.
- Eritromisin, naproksen, sülfametoksazol gibi ilaçlar çevrede bir yıldan fazla kalabilir. Birikim nedeniyle de biyolojik olarak aktif hale gelebilirler.

- Tedavi amaçlı kullanılan farmasötik bileşikler, insan vücudunda emilir, dağıtılır ve kimyasal yapılarını değiştirebilen metabolik reaksiyonlara uğrayabilirler (Quesada ve ark., 2019).

Farmasötik bileşikler ve kişisel bakım ürünlerinin kullanımı sonucunda ortaya çıkan farmakolojik olarak aktif kirleticiler, buldukları sulu ortamda kalıcıdır ve bozunmaya karşı direnç gösterirler. Farmasötik kirleticiler, özellikle bir salgın ya da pandemi zamanlarında kullanımlarının artması ile atık olarak farmasötik kirleticilerin miktarının artmasına neden olmaktadır. Farmasötik kirleticiler, tüm canlı organizmalar içinde etkinlik gösterebilme nedeniyle ekosistem için potansiyel bir tehlike haline gelmiştir. Hastane atıkları, endüstriyel atıklar, tarım atıkları, insan ve hayvan dışkısı gibi yollarla ekosisteme karışabilir. Karıştıkları ortamda bulunabilen tehlikeli kimyasallar, solventler, aktif ilaçlar, metabolitler, dezenfektanlar ve ağır metaller gibi kirleticiler sayesinde çevrede uzun süre kalabilen, sıvı fazla yüksek hareketliliğe sahip olan kirleticilerdir (Samal ve ark., 2022).

Atık suda yüksek konsantrasyonlarda bulunan farmasötikler arasında non-steroidal antiinflatuar ilaçlar (NSAID'ler), β -blokerler ve psikoaktif bileşikler, analjezikler, antibiyotikler, endokrin bozucular, antiretroviral ilaçlar ve kanser tedavisi için ilaçlar yer alır (Ortúzar ve ark., 2022). Steroid olmayan anti-enflatuar ilaçlar ve analjezikler, çeşitli kimyasal yapılara ve benzer terapötik etkilere sahip, tahmini yıllık birkaç yüz ton üretime sahip, dünya çapında en önemli farmasötik ürün gruplarından bazılarıdır. İnsan bakımında büyük miktarlarda anti-enflatuar ilaçlar reçete edilir, ancak bunlar genellikle reçetesiz çok daha yüksek miktarlarda satılır. NSAID'ler ve analjezikler, veteriner hekimlikte ağrı, iltihaplanma, ateş, osteoartrit ve artrit gibi sorunlar ve stresi azaltmak için sıklıkla antibiyotiklerle birleştirilir (Bártíková ve ark., 2016). Bununla birlikte, bu iki farmasötik türü insanlarda gastrointestinal rahatsızlıklar, ülserasyon, ameliyat sonrası kanama riskinin artmasıyla böbrek yetmezliği, astım ve nadir alerjik reaksiyonlar dahil olmak üzere çok sayıda yan etkiye sahiptir (Bártíková ve ark., 2016; Ben Maamar ve ark., 2017; Hurtado-Gonzalez ve ark., 2018; Morelli ve ark., 2018; Ortúzar ve ark., 2022).

Atık suda bulunan farmasötik bileşikler arasında antibiyotikler, kalıcı yapıları, kısmi metabolizmaları ve ekosistemler boyunca kolay hareket etmeleri nedeniyle en büyük endişe kaynağıdır (Mukhtar ve ark., 2020). Atık sularda en yaygın olarak bulunan antibiyotikler sülfamitler, kinolonlar, tetrasiklinler, florokinolonlar ve nitroimidazollerdir (Ortúzar ve ark., 2022). Antibiyotiklerin toplam konsantrasyonları su kütesine göre

değişir. Mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı antibiyotik direnci zamanla daha da güçlenmekte ve yaygınlaşmaktadır ve yakın gelecekte insan ölüm oranlarını büyük ölçüde artırması beklenmektedir (Bondarczuk ve Piotrowska-Seget, 2019; Ortúzar ve ark., 2022).

Endokrin bozucular, 2002 yılında Birleşmiş Milletler Çevre Programı'nın (UNEP) Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından "organların fonksiyon(lar)ını değiştiren ekzojen bir madde veya karışım" olarak tanımlanmıştır (Ortúzar ve ark., 2022). Bunlar, endokrin sistemin bozulması gibi, sonuç olarak bozulmamış bir organizma veya popülasyonda olumsuz sağlık etkilerine neden olur. En yaygın endokrin bozucular arasında pestisitler, bisfenoller ve doğal hormonlar yer almaktadır (Gore ve ark., 2014). Bu maddeler, geleneksel arıtma işlemleriyle sudan uzaklaştırılmaz ve atık su kütlelerinde litre başına nanogram ile mikrogram sırasına göre bulunur (Ortúzar ve ark., 2022)

Önümüzdeki on yıllarda, yıllık kanser vakalarının 20 milyonun üzerine çıkması bekleniyor, bu da antikanser ilaçlarda katlanarak bir artış ve ardından bunların atık suya salınması anlamına geliyor (Ferlay ve ark., 2013). Bu bileşiklerin çoğu insan vücudu tarafından tam olarak özümsemmez ve metabolize edilir, bu nedenle dışkı ve idrarla atılır. En yaygın olarak uygulanan antikanser ilaçları, diğerleri arasında siklofosfamid, tamoksifen, ifosfamid ve metotreksatı içerir. Bu ilaçlar yüzey sularında, atıksu arıtma tesislerindeki atık ve girişlerinde ve hastane atıklarında tespit edilmiştir. Tespit edilen siklofosfamid konsantrasyonları 0,05 ila 22.100 ng/L, ifosfamid 0,14–86.200 ng/L, metotreksat 1,6–4.756 ng/L ve tamoksifen 0,01–740 ng/L aralığındadır (Nassour ve ark., 2020). Çeşitli araştırmalarda su kütlelerinde bu ilaçları saptanmış ve mevcut su arıtma sistemlerinin onları parçalayamadığı doğrulanmıştır (Verlicchi ve ark., 2010). Farklı uluslararası kuruluşlar, çevre üzerindeki zararlı etkilerini azaltmak için ilaçların işlenmesi ve depolanması için protokoller geliştirmiştir (Ortúzar ve ark., 2022).

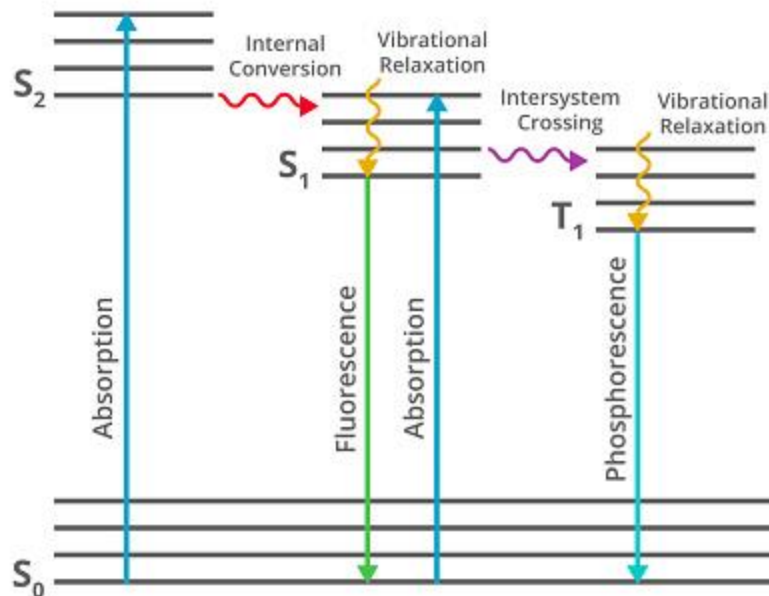
1.2. Floresans Sensörler

Spektrofotometrik analiz, düşük konsantrasyon değerlerinde tespit gerçekleştirilebilen etkili sensörleri oluşturmak için önemli, ucuz yöntemler arasında yer almaktadır. Tespit edilmesi istenen moleküllerin yerinde ve anında belirlenmesi için etkili ve güçlü yöntemler arasında yer almaktadır. Floresan, soğuk bir cisimdeki moleküllerden gelen radyasyonu emerek ve daha uzun dalga boyuna sahip başka bir radyasyon yayarak meydana gelen bir süreçtir. Bir elektron ışını bir molekül tarafından emildiğinde,

elektronlar temel halden daha yüksek enerjili bir yörüngeye geçer ve molekül uyarılır. Uyarılmış haldeki durum kararsızdır ve elektron enerjisini temel hal yörüngesine geri döndürür. Floresan radyasyonun dalga boyu her zaman absorpsiyon dalga boyundan daha uzundur, yani enerji olarak daha düşüktür. Molekülleri uyarın ışın kesilir kesilmez, geri dönen radyasyon hemen durur (Özdemir, 2021).

1.2.1. Jablonski Diyagramı

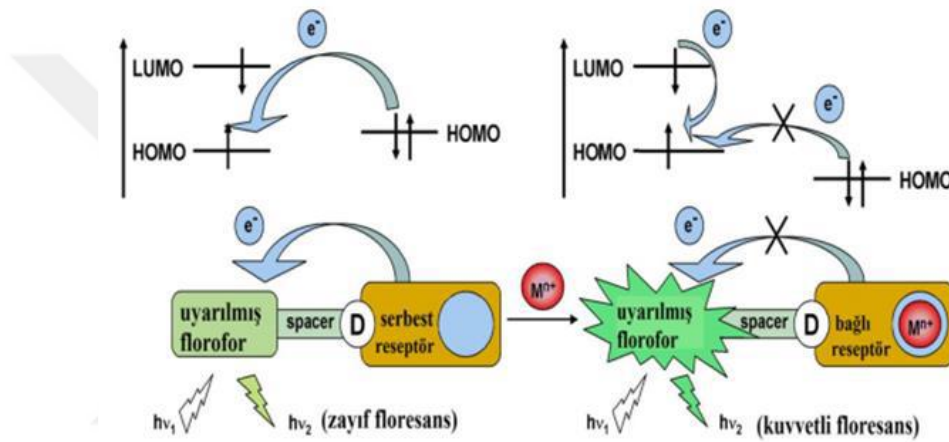
Stokes kayması, elektronik geçişin, absorpsiyon ile emisyon eğrilerinin azami değerleri arasındaki fark olarak isimlendirilir. Moleküller, gönderilen ışını soğurduğunda sisteme enerji vererek temel halden uyarılmış hale geçerler. Uyarılmış halden kararlı temel hale dönüşte ise enerjiyi dışarıya verir. Bu verilen fotonun enerjisi, absorblanan fotonun enerjisinden daha düşüktür (Özdemir, 2021). Şekil 1.1’de verilen Jablonski Diyagramı’na göre, S_0 , S_1 ve S_2 sırasıyla temel hal, birinci ve ikinci uyarılmış elektron seviyeleri, T_1 ise birinci elektronik triplet enerji seviyesini göstermektedir. Floresans özellik gösteren florofor malzemeler, uyarıldığında dik olarak üst enerji seviyelerinden birisine geçebilir. Bu geçiş 10^{-15} saniyede Franck-Condon yasasına göre gerçekleşir. Franck-Condon’a göre molekül uyarılmış hale geçtiği kısa sürede çekirdeğin koordinat yapısının değişmediğini ifade eder (Yüksekoğul, 2017).



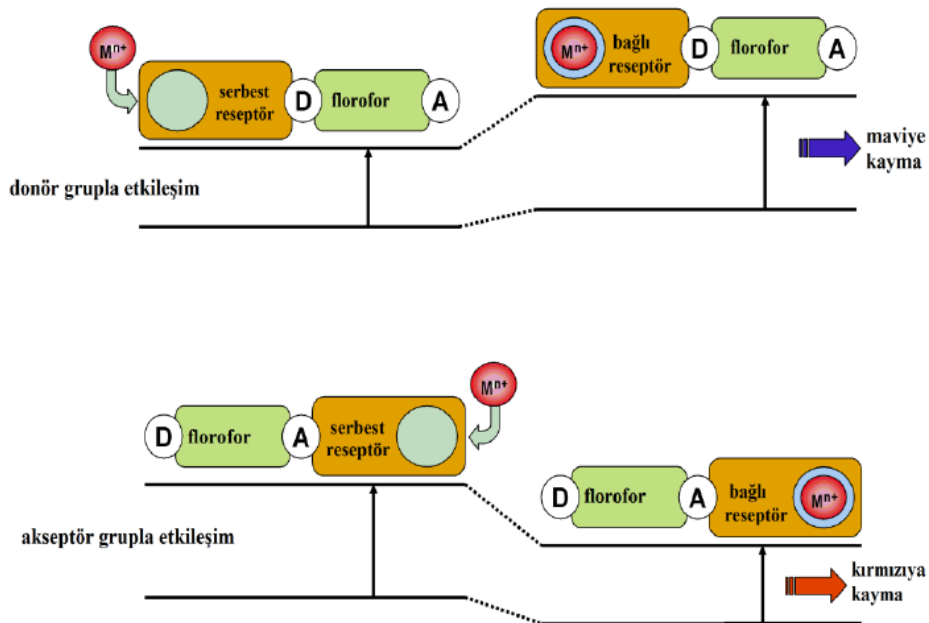
Şekil 1.1. Jablonski Diyagramı

1.2.2. Işına dayalı eletron transferi (Photoinduced Electron Transfer, PET)

Hazırlanan ligand yapılarının en yüksek dolu orbitaline HOMO, donör orbitali olarak isimlendirilir. Floresans gerçekleşirken ligand uyarılması sonucunda HOMO'dan LUMO'ya uyarılır. Florofor ligand yapısında bir çift elektron bulunduğunda orbital enerjisi HOMO ve LUMO'nun enerji seviyeleri arasında yer alır. Uyarıldığı ışığın absorbe edilmesi sonucunda HOMO seviyesinde oluşan boşluğa elektron transferi gerçekleşir. Eğer elektron çift bağ yaparsa, PET'in sonucunda kaybolan floresans yeniden gerçekleşebilir ve enerji seviyesi düşer. Düşen enerji seviyesinden iyonların bağlanması ile elektron transferi gerçekleşir (Şekil 1.2) (Yüksekoğul, 2017).



Şekil 1.2. PET mekanizmasının şematik gösterimi



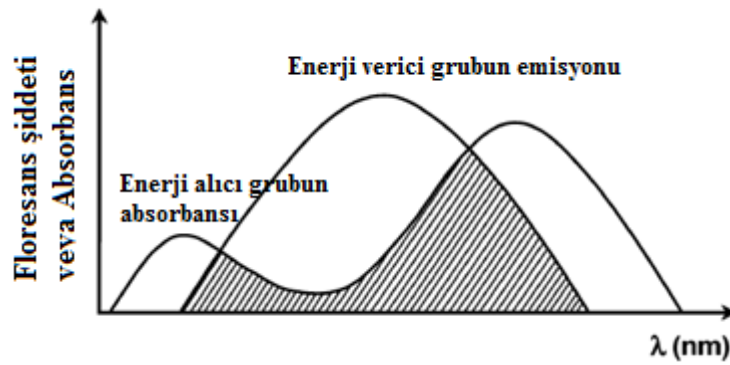
Şekil 1.3. ICT mekanizmasının şematik gösterimi

1.2.3. Molekül içi yük transferi (Intramolecular Charge Transfer, ICT)

Elektron çekici bir grup ile konjuge durumdaki elektron verici bir grup arasında kalan florofor yapısının uyarılması ile donör durumundaki molekülden alıcı olan moleküle yük transferi olur. Bunun sonucunda dipol momentinde değişiklik meydana gelir ve Stokes kayması oluşur. Florofordaki elektron veren grupların iyonlar ile etkileşimi sonucunda elektron veren grubun özelliği azalır ve spektrumda maviye kayma gözlemlenir. Fakat elektron çeken gruba iyonların bağlanması gerçekleşirse, absorblama katsayısı artar ve buna bağlı olarak elektron çekme özelliği de artar. Bu durumda da spektrumda kırmızıya kayma gözlemlenir (Şekil 1.3) (Yüksekoğul, 2017).

1.2.4. Floresans rezonans enerji aktarımı (Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET)

Enerji transferi farklı floroforların aralarındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. FRET gerçekleştiren emisyon spektrumu ile FRET absorpsiyon spektrumunun birleştirilmesi durumunda veren grubun uyarılma enerjisi emisyon gerçekleşmeksizin alıcı gruba aktarılır (Şekil 1.4) (Yüksekoğul, 2017).



Şekil 1.4. FRET Mekanizması gösterimi

1.3. Kuartz Kristal Mikrobaleans (Quartz Crystal Microbalance, QCM)

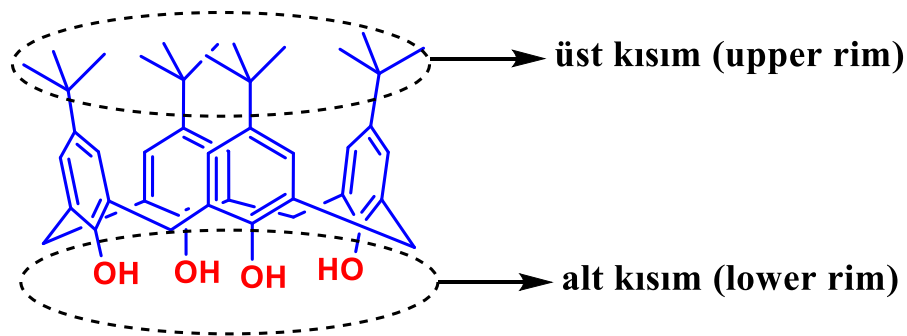
1880 yılında Curie kardeşler tarafından kuartz kristal üzerindeki piezoelektriğe bağlı sinyal değişimi keşfedildi (Curie ve Curie, 1880). 1959 yılında ise Günter Hans Sauerbrey tarafından kuartz kristal mikrobaleans (Quartz Crystal Microbalance, QCM) sisteminin sensör özelliği kullanılarak metal film kaplaması üzerinde kullanılmış, üzerindeki kütle değişimini veren Sauerbrey eşitliğini geliştirmiştir (Sauerbrey, 1959). QCM sistemi, üzerinde nanogram seviyesindeki kütle değişimini algılayabilen piezoelektrik temeline dayanan sensör sistemleridir. Sıvı ya da gaz ortamındaki farklı analitlerin algılanması için kullanılabilen QCM sensörlerin altın elektrotları üzerine,

farklı özelliklere sahip algılayıcı moleküllerin ince filmi oluşturularak, sıvı temaslı sistemde ya da gaz ortamındaki ölçümleri ile algılama özellikleri incelenebilmektedir.

1.4. Kaliksarenler

1872 yılında von Baeyer tarafından, *p-ter*-bütilfenol ile formaldehit reaksiyonu sonucunda reçine elde etmişlerdir. Sonrasında 1909 yılında ise Leo Bakeland tarafından, bu fenol-formaldehit reçineleri ticari olarak “bakalit” adı altında patenti alınmıştır. Bu noktadan sonra araştırmacılar, elde edilen reçinelerin yapısını gelişen teknoloji ile birlikte aydınlatmak için çalışmışlardır. 1940-1950 arasında Zinke ve Ziegler tarafından alkilfenol ile formaldehitlerin bazik koşullardaki reaksiyonu ile halkalaşmış tetramer yapılarının olduğunu belirlemişlerdir. 1970'lere gelindiğinde ise Gutsche ve diğer araştırmacılar, Zinke ve Ziegler'in gerçekleştirdiği sentezleri izole ederek, halkalı yapıdaki tetramer, heksamer ve oktomer yapıdaki bileşikleri aydınlatmışlardır (Temel, 2018).

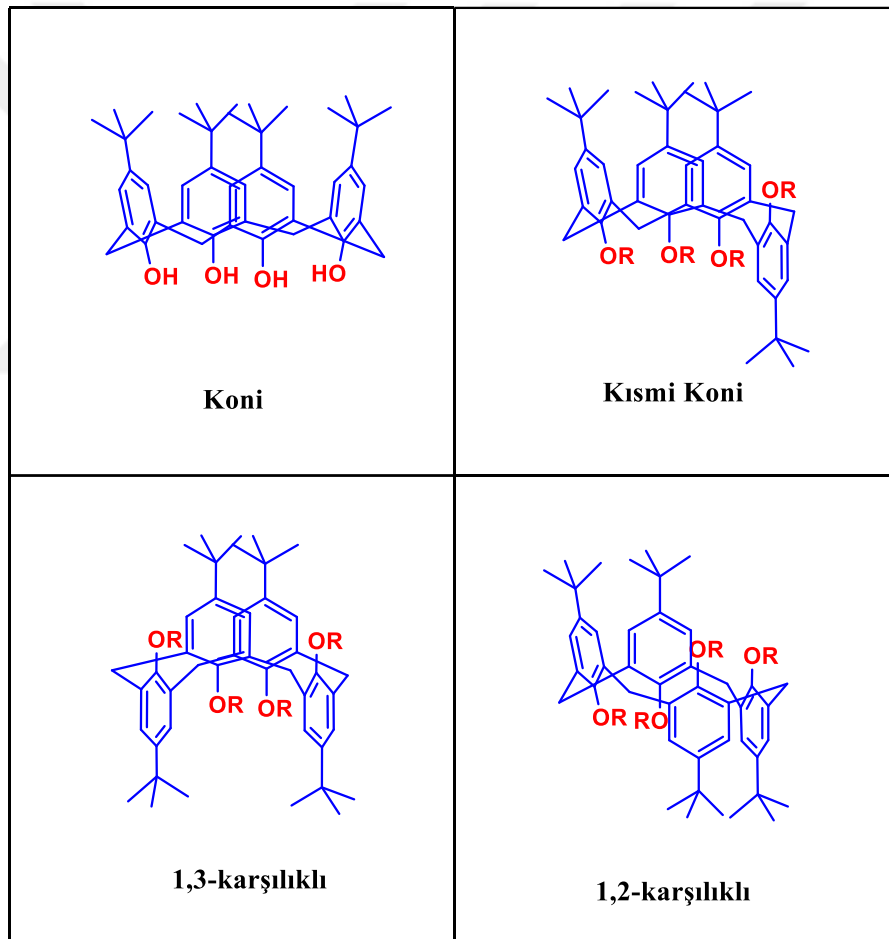
Supramoleküler kimyanın bir üyesi olan kaliksarenler, fenol bazlı makrosiklik yapılardan birisidir. Diğer makromoleküller ile karşılaştırıldığında, hedefe yönelik olarak tasarlanabilen, iyonik ya da nötral bileşikler ile etkileşebilecek bölgelere sahip olacak şekilde konformasyona sahip olan moleküllerdir. Kompleksleşme, hidrofobik etki, katyon- π etkileşimleri, π - π etkileşimleri ve hidrojen bağları gibi farklı şekilde geliştirilebilir. Üç boyutlu yapısı ve farklı konformasyonlarının bulunması ile farklı kullanım alanlarına sahip olacak şekilde geliştirilebilirler (Kumar ve ark., 2019). Şekil 1.5'te verilen gösterimde, *para* köşesinden (üst kısım), fenolik hidroksi bölgesinden (alt kısım) ve hidrofobik boşluktan oluşmaktadır.



Şekil 1.5. Temel *p-ter*-bütilkaliks[4]aren yapısı ve alt ve üst kısmının gösterimi

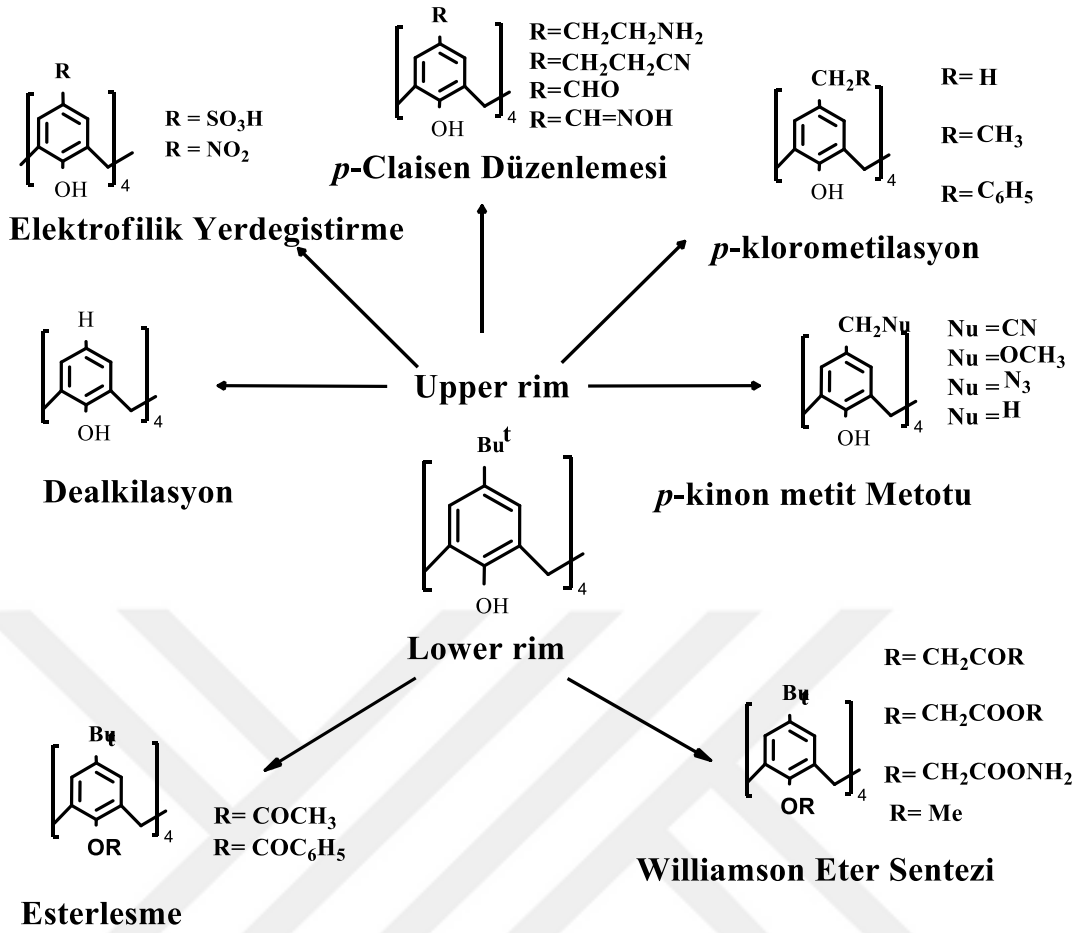
Aromatik birimleri birbirine bağlayan metilen köprüsü bağları üzerinden dört farklı konformasyonu bulunmaktadır ve bu konformasyon yapıları Şekil 1.6'da verildi.

Koni konformasyonu, kaliks[4]aren yapısında bulunan dört aril grubunun da aynı yöne bakması sonucunda elde edilen konformasyon yapısıdır. Kısmi koni konformasyonunda, kaliks[4]aren yapısında bulunan bir aril grubunun diğer üç aril grubuna göre farklı yöne bakması sonucunda elde edilen konformasyon yapısıdır. 1,2-karşılıklı konformasyonunda, yan yana bulunan iki aril grubunun, diğer iki aril grubundan farklı yöne bakması sonucunda oluşan konformasyon yapısıdır. 1,3-karşılıklı konformasyonunda, bir aril grubu atlanması sonucunda işaretlenen iki aril grubunun ters yöne bakması sonucunda elde edilen konformasyon yapısıdır. Koni konformasyonu, molekül içi hidrojen bağı yüzünden fenolik birimlerin dönmesini engellediği için termodinamik açıdan en kararlı konformasyon olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1.6. Temel *p-ter*-bütilkaliks[4]aren farklı konformasyon yapısının gösterimi

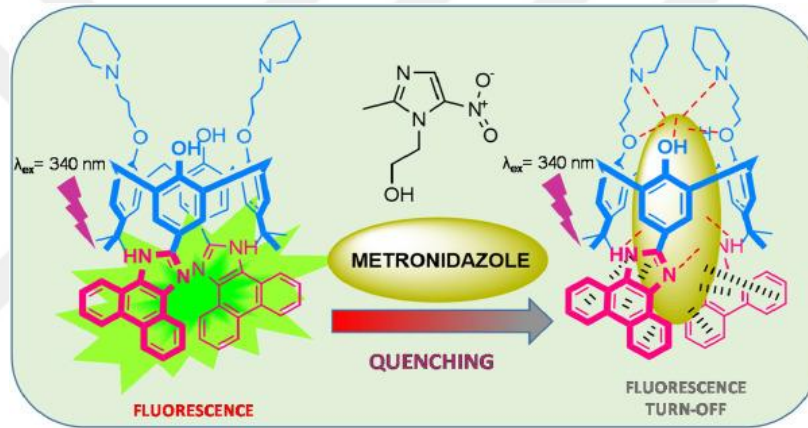
Üç boyutlu yapısı incelendiğinde *para* pozisyonundan elektrofilik yerdeğiştirme, *p*-Claisen düzenlemesi, *p*-klormetilasyon, *p*-kinonmetit ve dealkilasyon; fenolik hidroksi pozisyonu olan alt kısımdan esterleşme ve Williamson eter sentez metodu kullanılarak sınırsız şekilde türevlendirilebilir (Şekil 1.7) (Temel, 2018).



Şekil 1.7. Temel *p-ter*-bütilkaliks[4]aren yapısının farklı sentez yöntemleri ile türevlendirilmesi

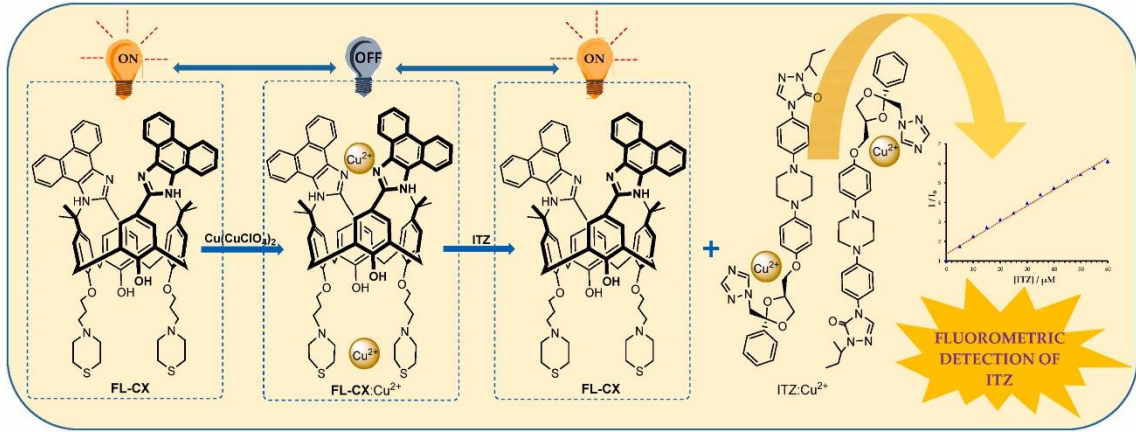
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Literatürde farklı farmasötik bileşiklerin farklı moleküller ile tespit edilmesi ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Şimşir ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada, metronidazol için nanoseviyede seçimli ve hassas kaliks[4]aren optik sensörü geliştirmiş ve çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Şekil 2.1’de gösterilen hazırladıkları 9,10-fenantrakinon yapısı ile fonksiyonlandırılmış kaliks[4]aren türevinin difenhidramin, diklofenak, atenolol, mikonazol, itrokonazol, flukonazol ve metronidazol yapılarına karşı asetonitril-su ortamında gerçekleştirdikleri floresans sensör çalışmalarında 2,44 nM seviyesinde tespit sınırı (Limit of Detection, LOD) değerini elde etmişlerdir. Elde ettikleri kaliks[4]aren türevinin 340 nm’de uyarıldığı durumda emisyon yaptığını, metronidazol ilavesinde ise bu emisyonun sönümlendiğini belirlemişlerdir (Simsir ve ark., 2021).



Şekil 2.1. Şimşir ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada metronidazol ile floresans emisyonunun sönümlenmesinin şematik gösterimi

Akceylan ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada, sulu ortamda ve insan serumunda seçimli olarak bir ilaç etken maddesi olan itrakonazolün belirlenmesi için kaliks[4]aren-Cu(II) kompleks sistemi geliştirmişlerdir. Şekil 2.2’de gösterilen tasarladıkları 9,10-fenantrakinon ile fonksiyonlandırılmış kaliks[4]aren türevinin temel halde emisyonuna sahipken Cu^{2+} iyonu ilavesinde bu emisyonun sönümlendiğini belirlemişlerdir. Farklı farmasötik bileşikler arasından sönümlenmiş olan kaliks[4]aren- Cu^{2+} kompleksinin üzerine itrakonazol ilavesiyle tekrar emisyon gözlemlenmiştir. Böylece geliştirilen sensör sistemi ile itrakonazolün hem sulu ortamda hem de insan serumunda tespit edilmesini başarmışlardır (Akceylan ve ark., 2022).



Şekil 2.2. Akceylan ve ark. yaptıkları çalışmanın gösterimi

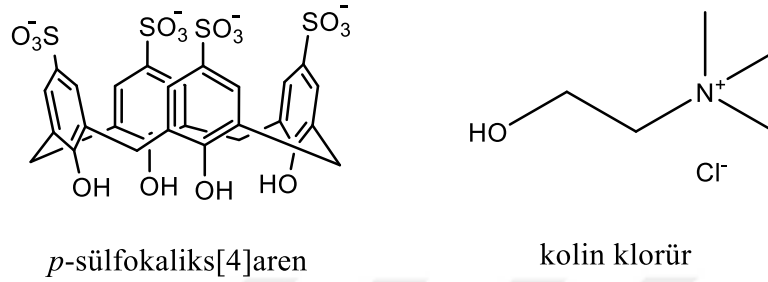
Demir (2020), yaptığı yüksek lisans çalışmasında, hazırlanan amit grubu içeren kaliks[4]aren amit türevlerinin sulu ortamda bazı ilaç etken maddelerinin QCM sensörü sisteminde algılama özellikleri incelenmiştir. Suda çözünebilen ibuprofen, difenilhidramin, aminofenazon, naproksen, atenolol, parasetamol, florourasil ve askorbik asit gibi ilaç etken malzemelerine karşı algılama özellikleri sıvı temaslı sistemde gerçekleştirilmiştir (Demir, 2020).

Xu ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada β-siklodekstrin ile türevlendirilmiş manyetik nanopartiküller hazırlayarak içme sularında bulunan farmasötik kalıntıların giderilmesi için çalışma gerçekleştirmiş, içme su içerisine anestezi bir ilaç olan prokain ilave ettikten sonra adsorpsiyon işlemi gerçekleştirilerek gidermeye çalışmışlardır (Xu ve ark., 2022).

Korkmaz ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada, Marmara Deniz’indeki bulunan farmasötik bileşiklerin tespiti ve çevre risk değerlendirmesini gerçekleştirmişlerdir. Marmara Denizi çevresinde kurdukları farklı istasyonlardan aldıkları numuneleri katı-sıvı ekstraksiyon ve sıvı sıvı ekstraksiyon metodu ile elde ettikten sonra HPLC metoduyla da analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları değerlendirmelere göre, naproksen, diklofenak, klorfibrinik asit, gemfirozil, estradiol ve etinilestradiol bileşiklerinin Marmara Denizi’nde bulunduğunu belirlemişlerdir (Korkmaz ve ark., 2022).

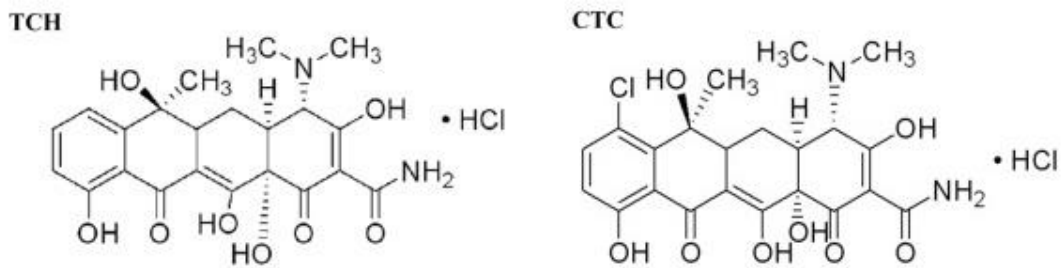
El-Rahman ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, besin takviyesi olarak kullanılan kuarterner amonyum bileşiği olan kolinin spektroskopik olarak tespit edilmesi için *p*-sülfokaliks[4]aren türevini kullanılarak gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.3). Doğrulanmış ölçüm metotları ile farmasötik kolin formülasyonu için UV-GB spektroskopisi, ¹H-NMR

spektroskopisi ve DFT hesaplamaları kullanılarak incelemişlerdir. Gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda kolin ile *p*-sülfokaliks[4]aren türevi arasındaki kompleksleşmenin, trimetilamonyum kolik grubunun kaliks[4]aren yapısının hidrofobik boşluğunda tutulduğunu göstermişlerdir. Kolin için LOD değerini $7,2 \times 10^{-6}$ M olarak hesaplamışlardır (Abd El-Rahman ve ark., 2019).



Şekil 2.3. Abd El-Rahman ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada kullanılan kaliks[4]aren türevi ve kolin klorür yapısının gösterimi

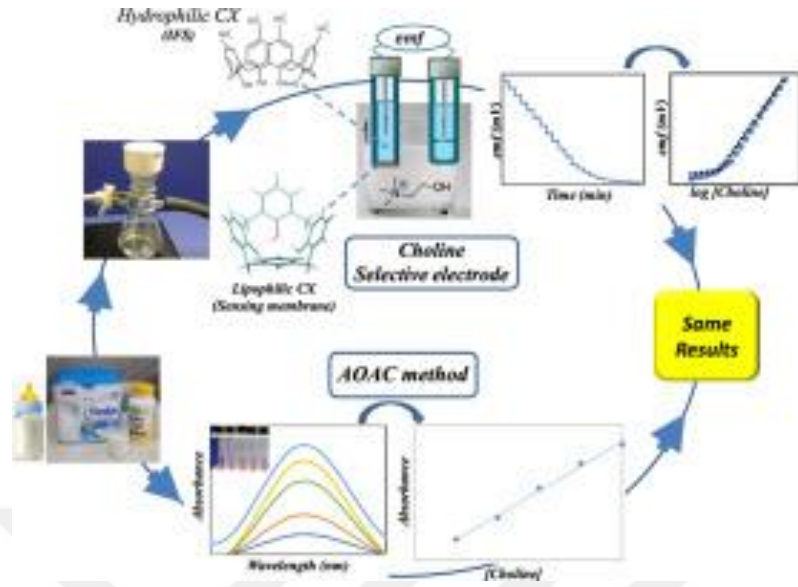
Wang ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, hazırladıkları gümüş nanopartikülleri (AgNP) kullanarak sulu ortamda tetrasiklin türevlerinin florimetrik olarak tespitini gerçekleştirmişlerdir. Geniş spektrumlu antibiyotik olan tetrasiklin.HCl (TCH) ve klortetrasiklin.HCl (CTC) farmasötik bileşiklerinin (Şekil 2.4) metal içerikli AgNP ile florimetrik olarak tespiti çalışmasını gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen LOD değerlerini sırasıyla $0,63 \mu\text{g/L}$ ve $0,19 \mu\text{g/L}$ olarak hesaplamışlardır (Wang ve ark., 2016).



Şekil 2.4. Wang ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada kullandıkları tetrasiklin.HCl ve klortetrasiklin.HCl bileşiklerinin gösterimi

Abd El-Rahman ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, besin takviyesi olarak kullanılan kuarterner amonyum bileşiği olan kolin için süt tozları ve bebek mamalarında seçici elektrokimyasal membran sensörü geliştirmişlerdir. Hidrofilik yapıda olan *p*-

sülfokaliks[4]aren yapısı kullanılarak elde ettikleri sonuçlara göre sadece kolin için seçimli bir iyon sensörü geliştirmişlerdir (Şekil 2.5) (Abd El-Rahman ve ark., 2021).



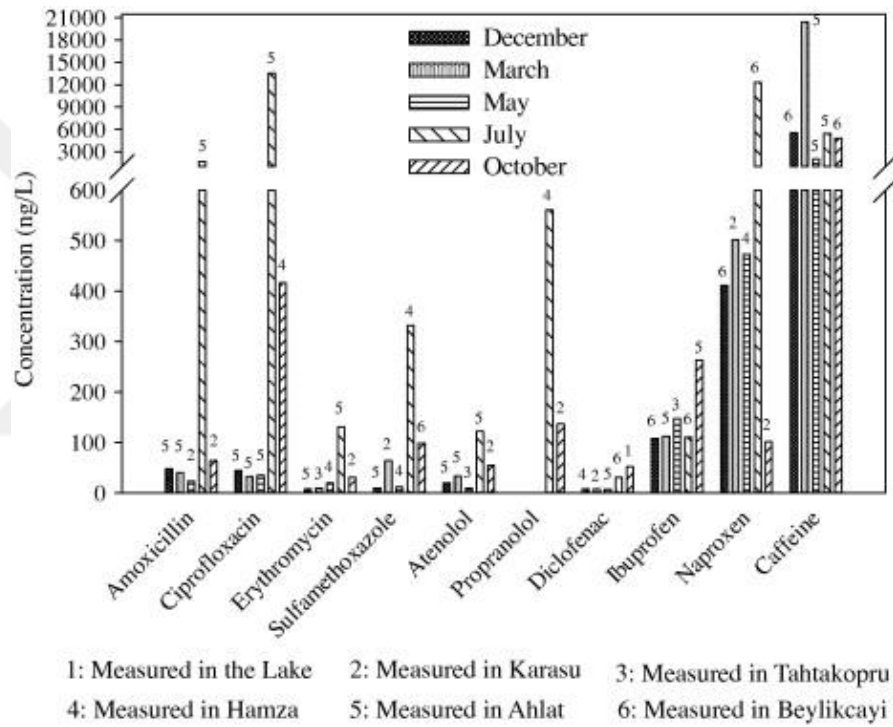
Şekil 2.5. Abd El-Rahman ve ark. (2021) yaptıkları çalışmanın gösterimi

Khaled ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, farklı yapılardaki supramolekül içeren karbon nanotüp yapısı ile hazırlanmış potansiyometrik sensörlerde, farmasötik preparatlar ve katkılanmış yüzey su numunelerinde bir antibiyotik olan gentamisin sülfat bileşiğinin tespitini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada, farklı yapılardaki α -, γ - ve β -siklodekstrin, heptakis (2,6-di-o-metil)- β -siklodekstrin, heptakis (2,3, 6-tri-o-metil)- β -siklodekstrin, 12-taç-4 eter, 15-taç-5 eter, 21-taç-7 eter, 24-taç-8 ve 30-taç-10 eter, kaliks[4]aren ve kaliks[8]aren yapılarını algılayıcı molekül olarak denemişlerdir. Tüm bu supramoleküller arasından en iyi sensörü kaliks[4]aren olarak belirlemişlerdir. Hızlı ve seçimli bir şekilde, $7,5 \times 10^{-8}$ M LOD değerine sahip olduğu belirlemişlerdir (Khaled ve ark., 2017).

Yalçın ve ark. (2020), yaptıkları çalışmada, Şanlıurfa bölgesinde anne sütlerini inceleyerek ilaç kalıntılarını özel RANDOX infiniplex kitini yaklaşık 132 farklı farmasötik ilaç için incelemiştir. Yaptıkları çalışmada doğumdan 5-14 gün sonra 90 anne-bebek çiftini kaydetmiş ve 4-8 hafta sonrasında kontrol muayenesini yapmışlardır. Annelerin yarısından fazlasında alınan numunelerde en az bir antiinflamatuvar kalıntısı (tolfenamik asit, meloksikam, metamizol) kaldığını belirlemişlerdir (Yalçın ve ark., 2020).

Aydın ve Talınlı (2013) yaptıkları çalışmada, İstanbul Büyükçekmece havzasında, Türkiye’de yaygın olarak kullanılan antibiyotikler, β -blokerler, non-steroidal

antiinflatuar ilaçlar ve uyarıcı olarak 14 farklı farmasötik ve hormonların varlığını incelemiştir. Bu amaçla yılda beş kez örnek alarak, hem farmasötiklerin hem de hormonların miktarının belirlenmesi için katı faz ekstraksiyonu ve üçlü dört kutuplu tandem kütle spektrometresi ile birleştirilmiş ve ultra performanslı sıvı kromatografisi UHPLC ile analizleri gerçekleştirilmiştir. Bazı ilaçların nehirlerde litre başına birkaç mikrograma kadar çıktığı tespit edildi. En sık saptanan bileşikler kafein ve amoksisilin, siprofloksasin, eritromisin ve sülfametoksazol antibiyotikleri olarak belirlemiştir. Şekil 2.6'da verilen grafikte yılın farklı dönemlerinde alınan numunelerin analizleri sonucunda ortaya çıkan konsantrasyon verilerini göstermektedir (Aydın ve Talinli, 2013).



Şekil 2.6. Aydın ve Talinli (2013) yaptıkları çalışmada farklı dönemlerde tespit edilen farklı farmasötiklerin konsantrasyonu verilerinin gösterimi

Üstün-Odabaşı ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, Samsun bölgesindeki içme suyu ve atıksu arıtma tesislerinden aldıkları numunelerin mevsimsel değişimlerini incelemiştir. Beş farmasötik ve kişisel bakım ürününün (Pharmaceutical, Personal Care Product, PPCP) oluşumu ve giderimi araştırılmıştır. Karbamazepin, diklofenak, ibuprofen, parasetamol ve triklosan olmak üzere beş ilacın konsantrasyonları, 2016 sonbaharından 2017 yazına kadar farklı mevsimlerde rapor edilmiştir. Hedeflenen PPCP'ler, sıvı kromatografi tandem kütle spektrometresi (Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy, LCMS-MS) kullanılarak analiz edilmiştir. Atıksu arıtma tesisinin

girişinden alınan örneklerin analizinin sonuçları, farklı mevsimlerde ortalama karbamazepin, ibuprofen ve triklosan konsantrasyonlarının sırasıyla 0,385 µg/L, 0,038 µg/L ve 0,342 µg/L olduğunu göstermektedir (Üstün-Odabaşı ve ark., 2020).

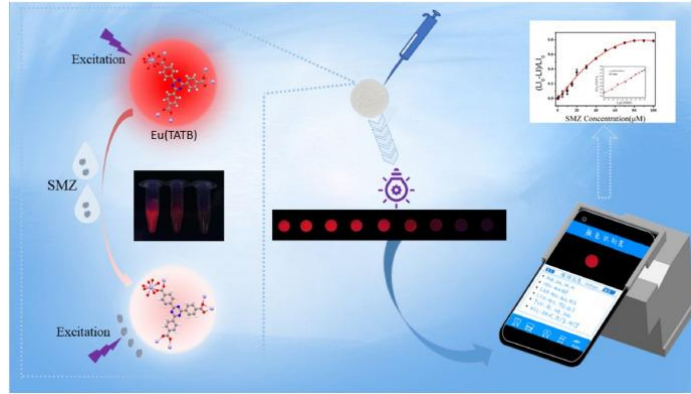
Oğuz ve Mihçioğur (2014) yaptıkları çalışmada, biyolojik atıksu arıtma tesislerin biyolojik olarak parçalanamayan siprofloksasin, klaritromisin, sefuroksim aksetil, antibiyotikler, benzalkoniuman antiseptik, analjezik parasetamol ve antiinflamatuvar naproksen Türkiye'deki kullanım oranlarının yüksek olması nedeniyle seçerek çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Benzalkonyum, parasetamol ve klaritromisin çevresel tehlikelere neden olma potansiyeline sahiptir. Benzalkonyum ve klaritromisinin biyolojik konsantrasyon faktörünü (Biological Concentration Factor, BCF') sırasıyla 70.790 L/kg ve 56.490 L/kg olarak belirlemişlerdir (Oguz ve Mihciokur, 2014).

Yılmaz ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, İstanbul ili içerisindeki Tıp Fakültesi Hastanesi ve Eğitim ve Araştırma Hastanesi atıksu numunesi olarak atık sularında ilaçlar ve metabolitleri, pestisitler ve korozyon inhibitörleri dahil olmak üzere 55 maddenin analizini LC-MS/MS ile gerçekleştirmişlerdir. Tehlike katsayıları (HQ'lar) ve toksik birimler (TU'lar), çevresel risk değerlendirmesinin temeli olarak hesaplamışlardır. Hastane atık suyundaki 14 farmasötik, HQ > 10 ile "yüksek riskli" olarak sınıflandırılmıştır. Ofloksasin, klaritromisin, siprofloksasin, sülfapiridin, trimetoprim ve diklofenak olmak üzere beş antibiyotik ve bir analjezik için 100'den yüksek HQHWW değerleri belirlenmiş. HQHWW değeri 9090 olan ofloksasinin en tehlikeli bileşik olduğu gözlemlenmiştir (Yılmaz ve ark., 2017).

Guzel ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada Adana ili içerisinde Ceyhan nehrinde ağrı kesiciler, antimikrobialer, kardiyovasküler ilaçlar, hipolipidemik ilaçlar, merkezi sinir sistemi ilaçları ve uyarıcılar dahil olmak üzere çeşitli ilaç gruplarından 91 farmasötik olarak aktif bileşiğin varlığı araştırmışlardır. Farmasötik aktif bileşik analizi için katı faz ekstraksiyon yöntemi kullanılmış ve sıvı kromatografi tandem kütle spektrometresi kullanılarak ölçümleri yapmışlardır. Farklı değerlerde kafein, diazepam, gabapentin, lidokain, etodolak, metoprolol, karbamazepin, diklofenak ve flukonazol tespit ettiklerini, ancak risk değerlendirmesi sonucunda değerin düşük çıktığı için çevresel risk oluşturmadığını belirlemişlerdir (Guzel ve ark., 2019).

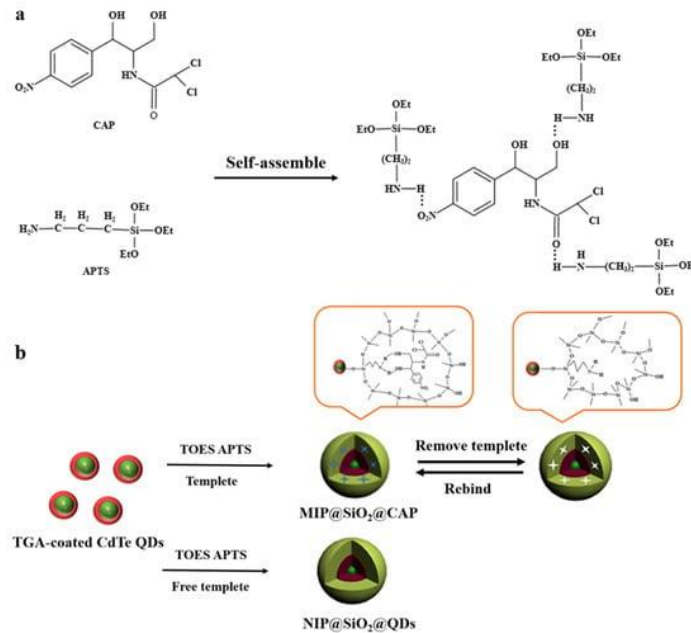
Yan ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada, lantanit içeren MOF ile sülfonamidin tespiti için kağıt bir tabanlı sensör çalışması gerçekleştirmişlerdir. Hazırladıkları lantanit içeren MOF yapısının vermiş olduğu kırmızı emisyonun sülfametazin ilavesi sonunda gerçekleştirdiği değişimi incelemişlerdir (Şekil 2.7). Yaptıkları çalışma sonucunda LOD

değerini $0,67 \mu\text{M}$ olarak hesaplamışlardır. Hem kolorimetrik hem de florimetrik olarak sülfametazin için yerinde ve hızlı şekilde tespit edilmesi için bir sensör geliştirmişlerdir (Yan ve ark., 2022).



Şekil 2.7. Yan ve ark (2022) tarafından yapılan çalışmanın gösterimi

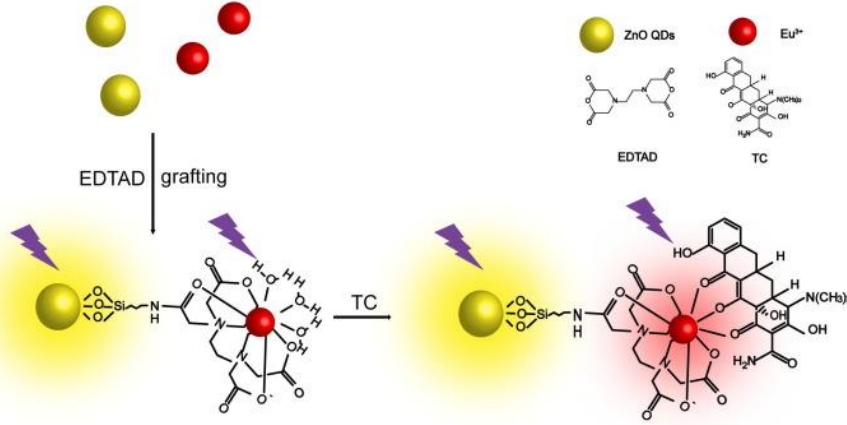
Chen ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada, kloramfenikolün florimetrik olarak tayini için moleküler baskılanmış silika kaplı CdTe kuantum noktaları hazırlamışlardır. Kloramfenikolün saptanması için kuantum noktalarının floresansını söndürdüğü ve moleküler baskılı polimerin (MIP) spesifik tanınmasına sahip olan bu ligand sayesinde $0,35 \mu\text{M}$ LOD değerine sahip olan hassas bir sensör geliştirmişlerdir (Şekil 2.8) (Chen ve ark., 2021).



Şekil 2.8. Chen ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmanın gösterimi

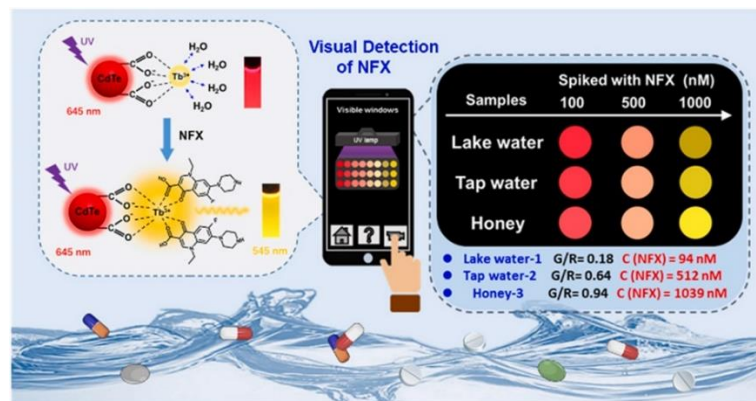
Wu ve ark. (2021), yaptıkları çalışmada evropiyum içeren ZnO kuantum noktaları hazırlamışlardır ve tetrasiklin için florimetrik bir sensör geliştirmişlerdir. Evropiyum içeren ZnO kuantum noktalarının 530 nm 'de yaptığı emisyonun, üzerine tetrasiklin ilave

ettikçe kırmızıya kayması ve 616 nm’de şiddetli bir emisyon yapması ile seçimli ve hassas bir florimetrik sensör geliştirmişlerdir. LOD değerini bu çalışma için 4 nM olarak hesaplamışlardır (Şekil 2.9) (Wu ve ark., 2021).



Şekil 2.9. Wu ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmanın gösterimi

Jiang ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada, antibiyotik kalıntılarının tespiti için floresans tabanlı bir sensör geliştirmişlerdir. CdTe kuantum noktalarının üzerine terbiyum iyonlarının (Tb^{3+}) yüzeye şelatlanmasından sonra 645 nm’de kırmızı bir emisyonla sahip olduğunu belirlemişlerdir. Üzerine ilave edilen norfloksasin antibiyotiği ile 645 nm’deki kırmızı emisyonundan 545 nm’deki sarı emisyonla kaydığını gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri sensörün LOD değerini 6,03 nM olarak hesaplamışlardır (Şekil 2.10) (Jiang ve ark., 2022).



Şekil 2.10. Jiang ve ark (2022) tarafından yapılan çalışmanın gösterimi

Farmasötik bileşiklerin sulu ortamlarda tespiti için birçok kromatografik ve spektroskopik yöntem kullanılmaktadır. Özellikle Türkiye’de farklı zaman ve bölgelerde yapılan çalışmalarda sonuçlara göre, bazı farmasötik bileşiklerin sucul ortamda bulunduğu tespit edilmiştir. Atıksu arıtım tesislerinde gerçekleşen fiziksel, kimyasal ve

biyolojik arıtma sonucunda giderilemeyen ya da bozulamayan farmasötik bileşiklerin bulunmasının çevre ve insan sağlığı açısından önemli bir risk oluşturduğu görülmektedir. Örneğin Şanlıurfa bölgesinde yapılan anne sütündeki farmasötik bileşik kalıntılarının tespit edilmesi, ilaçların vücutta kalabildiğini göstermektedir (Yalcin ve ark., 2020). Literatürdeki kromatografik çalışmaların ortak özelliği, uzun süre çalışma ve cihaz gerektiren metotlar olmasıdır. Ancak spektroskopik yöntemler ile bu sürenin kısılması, cihaza gerek olmadan tespit edilmesi gibi kullanım özelliklerinden dolayı sensör ve algılama çalışmalarında özellikle tercih edilmektedir. Bu tez çalışmasında ise farklı yapılardaki farmasötik bileşiklerin sulu ortamda farklı kaliks[4]aren türevlerinin algılayıcı malzeme olarak kullanıldığı floresans spektroskopisi, UV-GB spektroskopisi ve Kuartz Kristal Mikrobalans (Quartz Crystal Microbalance, QCM) yöntemleri ile algılama çalışmaları gerçekleştirildi. Bu amaçla, farklı farmasötik bileşikleri algılayabilecek olan optik özelliklere sahip fonksiyonel yapılar sentezlendi ve yapıları aydınlatıldı. Daha sonra elde edilen Schiff bazı ve amit fonksiyonel grupları içeren kaliks[4]aren türevleri kullanılarak sulu ortamda farklı farmasötiklerin tespiti için spektroskopi ve QCM çalışmaları gerçekleştirildi.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

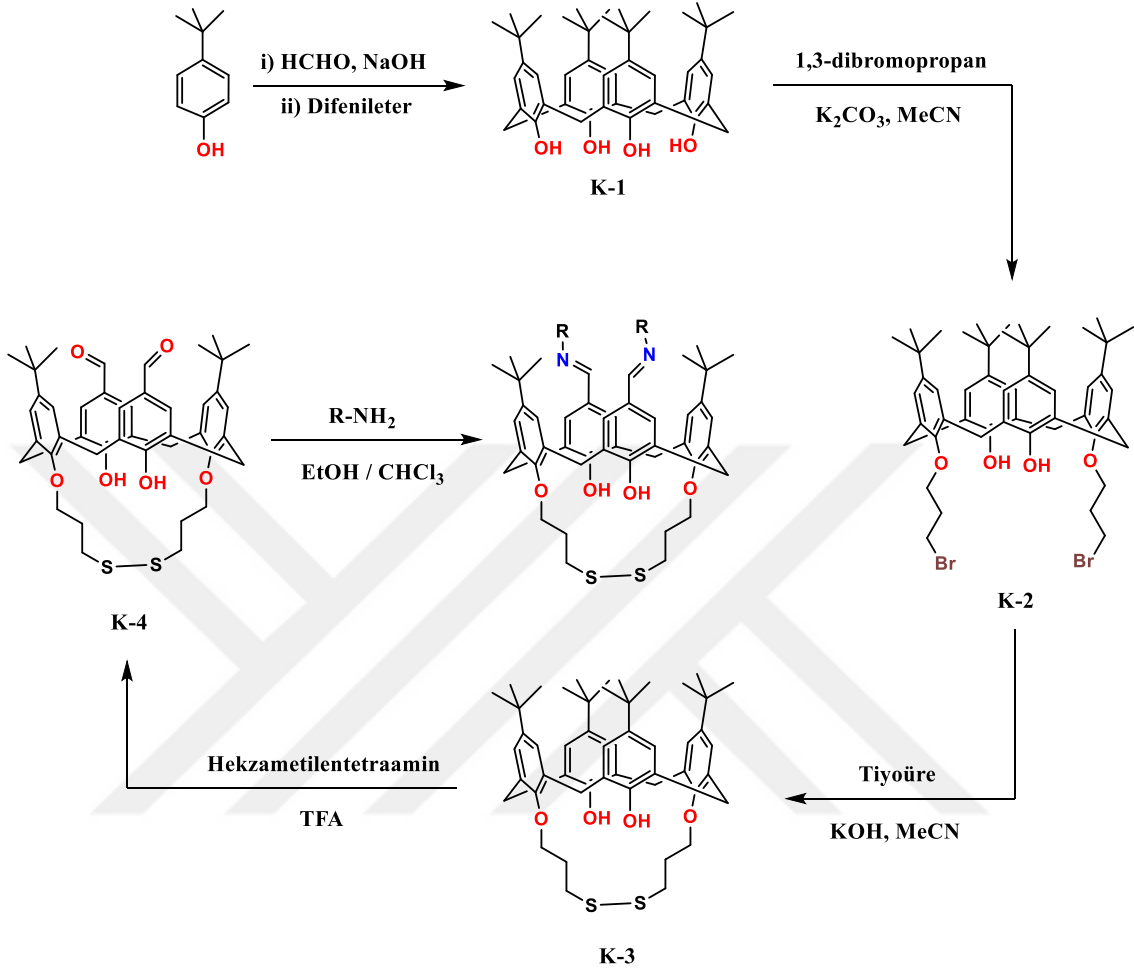
Farmasötik kirleticilerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi çalışmalarında, farklı fonksiyonel gruplara sahip kaliks[4]aren türevlerinin optik sensör özelliklerinin incelenmesi için PerkinElmer marka LS55 modeli floresans spektrofotometresi, UV-GB çalışmaları için PG Instrument marka T80 modeli UV-GB spektrofotometresi, kütle hassasiyetli sensör çalışmalarında ise Stanford Research System marka QCM200 modeli QCM cihazı kullanıldı.

Sentezlenen bileşiklerin karakterizasyonu amacıyla ¹H-NMR analizleri için Varian marka 400 MHz'lik NMR spektrometresi, FT-IR analizleri için PerkinElmer marka FT-IR 100 spektrofotometresi, erime noktası tayinleri için Gallenkamp marka erime noktası tayin cihazı kullanıldı. Sentez çalışmalarında reaksiyondaki değişimler Merck marka silika jel kaplı alüminyum plakalar (SiO₂, Merck 60 F₂₅₄) ile ince tabaka kromatografisi (İTK) kullanılarak takip edildi. Sentez ve analiz işlemlerinde kullanılan tüm kimyasallar için Sigma-Aldrich, Merck, Fluka, ISOLAB ve Acros Organics gibi markalar tercih edilerek temin edildi ve saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.

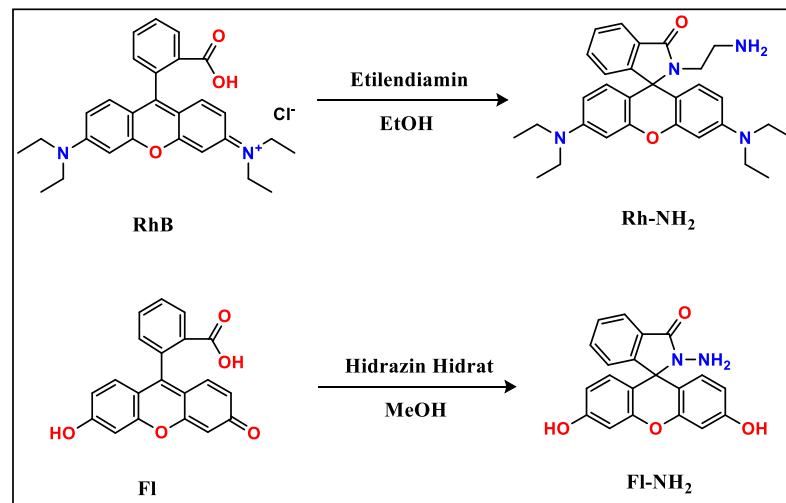
3.2. Kaliks[4]aren Türevlerinin Sentezi

Farmasötik kirleticilerin tespit edilmesi için kullanılacak olan kaliks[4]aren türevlerinin sentezi, Şekil 3.1'de verilen şemaya göre sentezlendi. Kaliks[4]arenlerin üç boyutlu yapıları düşünülerek *p*-pozisyonu (üst kısım) ve fenolik-OH (alt kısım) üzerinden hedef ürünlerin tasarımı gerçekleştirildi. Farmasötik kirleticilerin tespit edilmesi için farklı yapılarda fonksiyonel gruplar kullanılarak kaliks[4]aren iskeletinin Schiff bazı ve amit türevleri elde edilecek şekilde fonksiyonlandırılması amaçlandı. Schiff bazı türevlerinin elde edilmesi için öncelikle Şekil 3.2'de verilen Rodamin B ve Floresein bileşiklerinin türevlendirilmesi sonucunda amino grubu taşıyan türevleri elde edildi. Amit türevlerinin elde edilmesi için ise öncelikle Şekil 3.3'te verilen farklı yapılarda OH grubu içeren bileşiklerin metil bromoasetat ile reaksiyonu sonucunda ester grubu içeren bileşikler elde edildi. Daha sonra bu bileşiklerin de hidrazin hidrat ile reaksiyonları sonucunda asetohidrazit grubuna sahip türevleri elde edildi. Böylece sentezlenen bu yeni fonksiyonel bileşikler, **K-4** türevinin aldehit grubu ile etkileşebilecek uygun reaksiyonlar sonucunda hedef ürünler elde edilerek seçilen bazı farmasötik kirleticilerin kalitatif ve

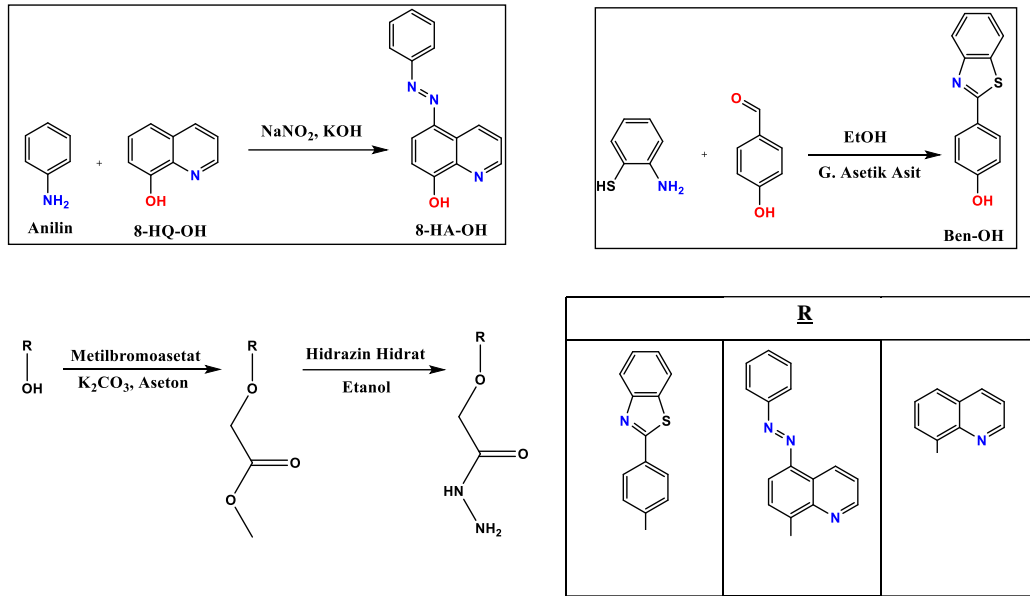
kantitatif olarak tespit edilmesi amacıyla spektroskopik ve/veya QCM çalışmaları algılayıcı malzemeler olarak kullanıldı.



Şekil 3.1. Kaliks[4]aren türevlerinin sentez şeması



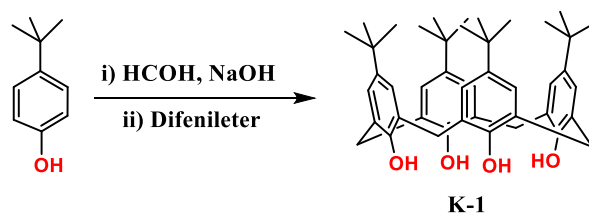
Şekil 3.2. Schiff bazı türevlerinin sentezinde kullanılacak olan amino grubu taşıyan türevlerin sentez şeması



Şekil 3.3. Amit grubu içeren türevlerin sentezinde kullanılacak olan asetohidrazit grubu taşıyan türevlerin sentez şeması

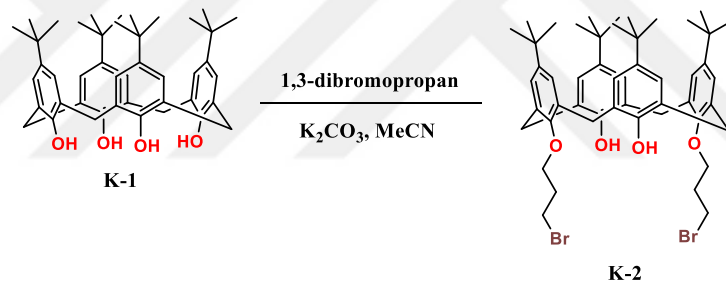
3.2.1. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (K-1)

p-tert-Bütilfenol (50 g), formaldehit (31,25 mL) ve NaOH (0,6 g) bir Dean-Stark aparatı bağlı olan balon içerisine alınır ve 110°C'ye kadar N₂ gazı kullanılarak kondenzasyon reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan tüm su (22-23 mL) toplanana kadar devam edilir. Sarı katı oluştuğundan sonra oda sıcaklığında difenileter (425 mL) ilave edilerek kaynatılır. Sıcaklığı yavaş şekilde arttırılarak hala Dean-Stark aparatı bağlı sistemde kalan su bitene kadar devam edilir. Tamamen uzaklaşan suyun ardından Dean-Stark aparatı ve N₂ çıkarılarak, en az 2 saat geri soğutucu altında kaynatılır ve renginin koyulaşması beklenir. Elde edilen karışım oda sıcaklığına kadar soğutulur, etil asetat (500 mL) eklenerek çöktürme gerçekleştirilir. Oluşan katılar, vakum altında süzülür ve sırasıyla etil asetat, asetik asit ve saf su ile yıkanır. Elde edilen katı toluen içerisinde kristallendirilerek beyaz kristal olarak **K-1** temel bileşiği elde edilir (Gutsche ve ark., 1986). EN: 343°C (Lit: 344-346°C). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1,20 (s, 36H, *ter*-bütil), 3,45 (d, 4H, ArCH₂Ar), 4,25 (d, 4H, ArCH₂Ar), 7,05 (s, 8H, ArH), 10,35 (s, 4H, OH).



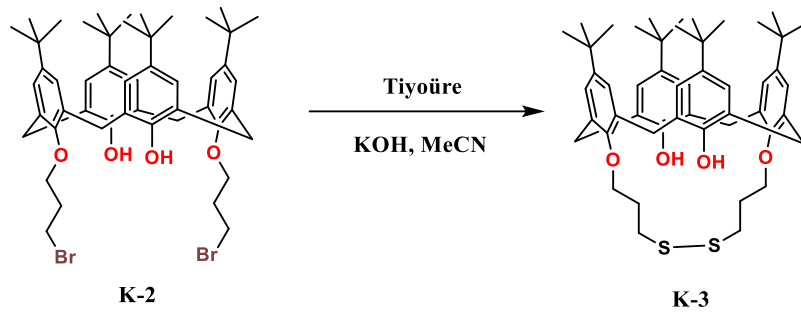
3.2.2. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis(3-bromopropoksi)-26,28-dihidroksi kaliks[4]aren (K-2)

K-1 bileşiği (2 g; 3,08 mmol), potasyum karbonat (1,06 g; 7,7 mmol), 1,3-dibromopropan (3,12 mL; 30,8 mmol), 100 mL asetonitril içerisinde 24 saat boyunca kaynatılır. Süresi tamamlandıktan sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Kalan katı 1 M asit ile yıkanır ve kloroform ile kalan katılar çözülerek ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilir. Organik faz, MgSO₄ ile kurutulur ve çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Elde edilen katı metanol ile yıkanarak reaksiyona girmeyen 1,3-dibromopropan giderilir, oda sıcaklığında kurutulur ve **K-2** türevi elde edilir (Li ve ark., 1999). EN: 290°C (Lit: 288-290°C). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,71 (s, 2H, OH), 7,03 (s, 4H, ArH), 6,87 (s, 4H, ArH), 4,25 (d, 4H, *J*= 13,1 Hz, ArCH₂Ar), 4,10 (t, 4H, OCH₂), 4,01 (t, 4H, CH₂Br), 3,33 (d, 4H, *J*= 13,1 Hz, ArCH₂Ar), 2,51 (p, 4H, OCH₂CH₂CH₂), 1,26 (s, 18H, *ter*-bütil), 1,01 (s, 18H, *ter*-bütil).



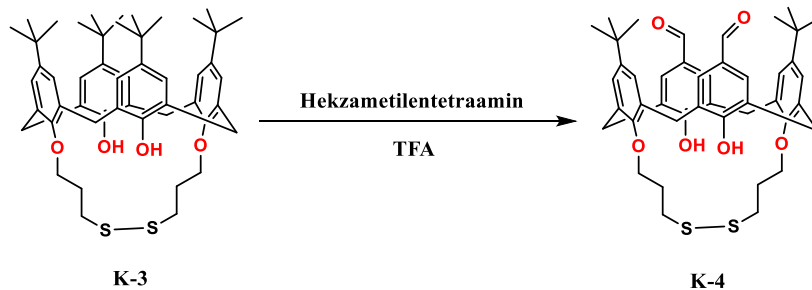
3.2.3. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis(3-disülfidpropoksi)-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (K-3)

Fazlaca asetonitril ortamında **K-2** (1 mmol) ve tiyoüre (10 mmol) 24 saat boyunca kaynatılır. Süresi tamamlanan reaksiyon içerisine KOH (20 mmol) çözeltisi 20 mL içerisinde çözülerek ilave edilir ve yüksek sıcaklıkta kaynatılmaya devam edilir. İki saat sonunda, çözücü vakum altında uzaklaştırılır ve kalan katı 1 M HCl ile yıkanır. Karışım diklorometan ile ekstrakte edilir. Organik faz, öncelikle kurutulur, daha sonrasında çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Beyaz renkli katı **K-3** türevi saf olarak elde edilir (Ozcelik ve ark., 2019). Verim: %80, EN: 190°C. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,45 (s, 2H), 7,05 (s, 4H, ArH), 7,03 (s, 4H, ArH), 4,25 (d, 4H, *J*= 13,1 Hz, ArCH₂Ar), 4,11 (t, 4H, OCH₂), 3,45 (m, 4H, CH₂S), 3,39 (d, 4H, *J*= 13,1 Hz, ArCH₂Ar), 2,40 (brs, 4H, OCH₂CH₂CH₂), 1,26 (s, 18H, *ter*-bütil), 1,15 (s, 18H, *ter*-bütil).



3.2.4. 5,17-Diformil-5,23-di-*ter*-bütil-25,27-bis(3-disülfidpropoksi)-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (K-4)

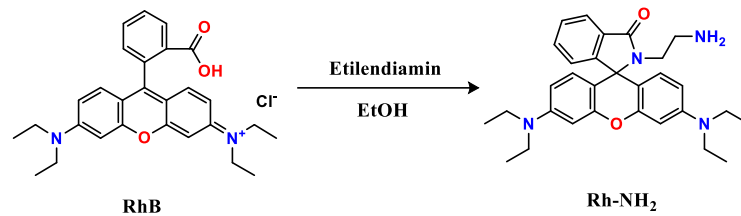
Elde edilen **K-3** (1 mmol), heksametilentetramin (HMTA) (40 mmol) ile 20 mL trifloroasetik asit içerisinde 40 saat boyunca kaynatılır. Süre sonunda oda sıcaklığına soğutulur ve 1 M HCl çözeltisi içerisinde dökülerek ve maddenin çökmesi sağlanır. Yarım saat boyunca su içerisinde karıştırıldıktan sonra, süzülür ve asitliği giderilene kadar saf su ile yıkanır. Elde edilen katı açık havada kurumaya bırakılarak açık sarı renkli katı **K-4** türevi elde edilir (Ozcelik ve ark., 2019). Verim: %70, EN: 182°C. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 9,77 (s, 2H), 9,47(s, 2H), 7,63 (s, 4H, ArH), 7,04 (s, 4H, ArH), 4,22 (d, 4H, *J*=13,1 Hz, ArCH₂Ar), 4,14 (t, 4H, OCH₂), 3,53 (d, 4H, *J*=13,1 Hz, ArCH₂Ar), 3,41 (t, 4H, CH₂S), 2,42 (brs, 4H, OCH₂CH₂CH₂), 1,11 (s, 18H, *ter*-bütil).



3.2.5. Rodamin B'nin -NH₂ fonksiyonlandırılması (Rh-NH₂)

10 mmol Rodamin B (RhB), 30 mL etanol içerisinde çözüldükten sonra üzerine 5 mL etilendiamin damla damla ilave edilir ve bir gece boyunca geri soğutucu altında kırmızı çözelti rengi kaybolana kadar geri soğutucu altında kaynatılır. Süresi tamamlandıktan sonra çözücüsü uçurulur. Kalan katı 20 mL saf su ve 2x20 mL

diklorometan ile ekstrakte edilir. Organik faz kurutulur, çözücüsü vakum altında uzaklaştırılır ve **Rh-NH₂** pembe renkli katı olarak elde edilir (Zhang ve ark., 2007). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.83-7.70 (m, 1H), 7.54-7.39 (m, 2H), 7.04-6.92 (m, 1H), 6.34 (dd, *J* = 15.2, 9.3 Hz, 6H), 3.31 (t, *J* = 7.2 Hz, 9H), 2.97 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.20 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.08 (t, *J* = 7.0 Hz, 13H).



3.2.6. Floreseinin –NH₂ fonksiyonlandırılması (F1-NH₂)

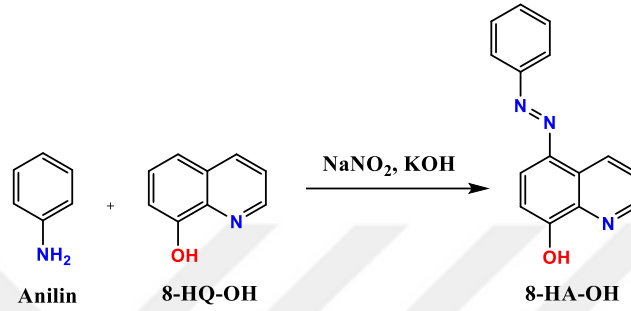
3 g Floresein 50 mL metanol içerisinde çözüldükten sonra içerisinde 12 mL hidrazin hidrat (%80) ilave edilerek 8 saat boyunca berrak bir çözelti elde edene kadar kaynatılmaya devam edilir. Elde edilen çözelti oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra 400 mL saf su içerisine ilave edilir ve 2 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen katı süzülür ve renkli çözelti gelmeyene kadar saf su ile yıkamaya devam edilir. Elde edilen katı etanol içerisinde yeniden kristallendirilerek **F1-NH₂** krem renkli katı olarak elde edilir (Li ve ark., 2011). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.79 (s, 2H), 7.86 – 7.71 (m, 1H), 7.47 (dtd, *J* = 14.2, 7.8, 4.6 Hz, 2H), 7.06 – 6.93 (m, 1H), 6.66 – 6.54 (m, 2H), 6.50 – 6.34 (m, 4H), 4.40 (d, *J* = 14.9 Hz, 2H).



3.2.7. 5-Fenilazo-8-hidroksikinolin sentezi (8-HA-OH)

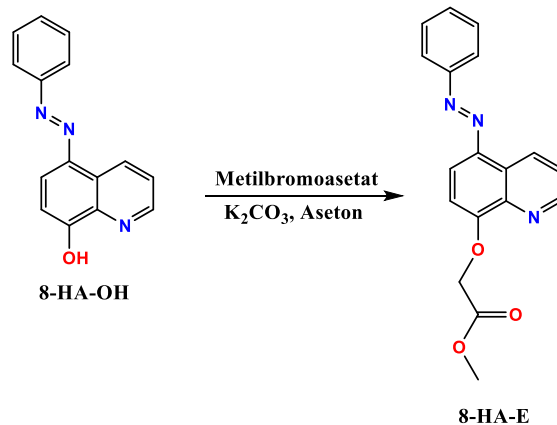
Anilin (0,979 mL, 10,73 mmol) 25 mL asitli su (HCl, 12M, 2,68 mL, 32,19 mmol) içerisinde 0°C'da hazırlanır. İçerisinde NaNO₂ (0,74 g) 20 mL sulu çözeltisi içerisinde damla damla ilave edilir. Hazırlanan diazonyum tuzunun üzerine 8-hidroksikinolin

(1,557 g, 10,73 mmol) ve KOH (0,602 g, 10,73 mmol) içeren çözelti ilave edilir. Eklendiği anda oluşan turuncu katılar süzülür, rengi giderilene kadar su ile yıkanır ve kalan katı kurutulur. Sıcak etanol içerisinde kristallendirilmesi gerçekleştirilerek %70 verimle turuncu katı **8-HA-OH** elde edilir. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.37-9.25 (d, $J= 8.9$ Hz, 1H, OH), 9.03-8.91 (d, $J= 4.4$ Hz, 1H, ArH), 8.05-7.92 (d, $J= 8.3$ Hz, 3H, ArH), 7.80-7.72 (dd, $J= 8.7, 4.3$ Hz, 1H, ArH), 7.66-7.56 (m, 3H, ArH), 7.56-7.48 (d, $J= 7.3$ Hz, 1H, ArH), 7.27-7.17 (d, $J= 8.6$ Hz, 1H, ArH).



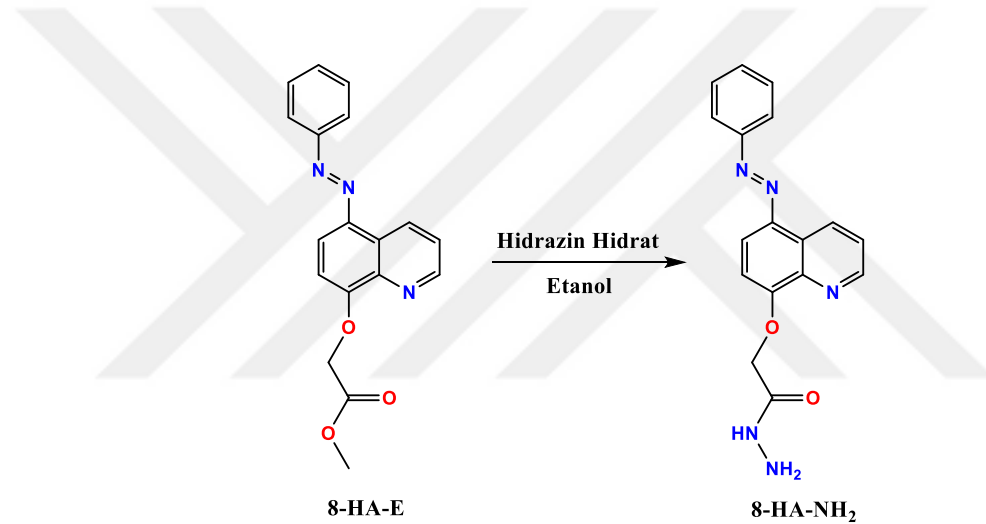
3.2.8. Metil-2-(5-fenilazo-8-hidroksikinolin)asetat sentezi (8-HA-E)

50 mL'lik balonun içerisine 0,3 g **8-HA-OH** ve 0,2 g K_2CO_3 alınır ve 30 mL asetonitril ile çözülür. Üzerine 120 μL metil bromoasetat ilave edilerek geri soğutucu altında 24 saat boyunca kaynatılır. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra, çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Kalan katı, diklorometan ile ekstrakte edilir. Organik faz kurutulur, çözücüsü uçurulur ve katı **8-HA-E** maddesi elde edilir. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.39-9.20 (d, $J= 8.9$ Hz, 1H, ArH), 9.14-8.89 (d, $J= 4.0$ Hz, 1H, ArH), 8.07-7.96 (d, $J= 7.8$ Hz, 2H, ArH), 7.96-7.87 (d, $J= 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.81-7.71 (m, 1H, ArH), 7.66-7.52 (dt, $J= 12.8, 6.8$ Hz, 3H, ArH), 7.35-7.25 (d, $J= 8.7$ Hz, 1H, ArH), 5.22-5.12 (s, 2H OCH_2), 3.80-3.65 (m, 3H OCH_3).



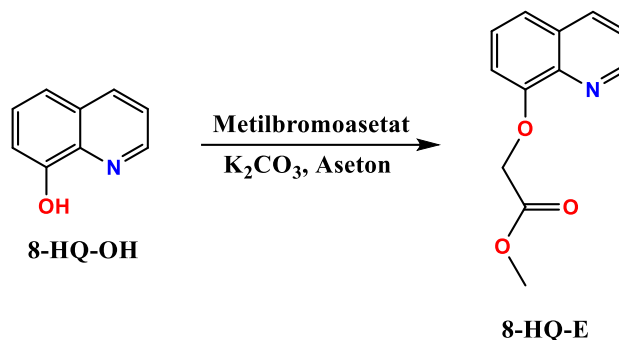
3.2.9. 2-(5-Fenilazo-8-hidroksikinolin)asetohidrazit sentezi (8-HA-NH₂)

0,1 g **8-HA-E** 30 mL etanol içerisinde çözülür ve 151 µL hidrazin hidrat ilave edilerek geri soğutucu altında bir gece boyunca kaynatılır. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra, çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Kalan katı diklorometan ile ekstrakte edilir. Organik faz kurutulur, uzaklaştırılır ve katı **8-HA-NH₂** elde edilir. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.48-9.39 (s, 1H, NH), 9.34-9.25 (dd, *J*= 8.8, 1.8 Hz, 1H, ArH), 9.09-8.96 (dd, *J*= 4.3, 1.7 Hz, 1H, ArH), 8.07-7.99 (m, 2H, ArH), 7.99-7.91 (d, *J*= 8.7 Hz, 1H, ArH), 7.82-7.73 (dd, *J*= 8.6, 4.1 Hz, 1H, ArH), 7.69-7.53 (dt, *J*= 13.7, 6.5 Hz, 4H, ArH), 7.42-7.30 (d, *J*= 8.6 Hz, 1H, ArH), 4.92-4.78 (s, 2H, OCH₂), 4.54-4.31 (s, 2H, NH₂).



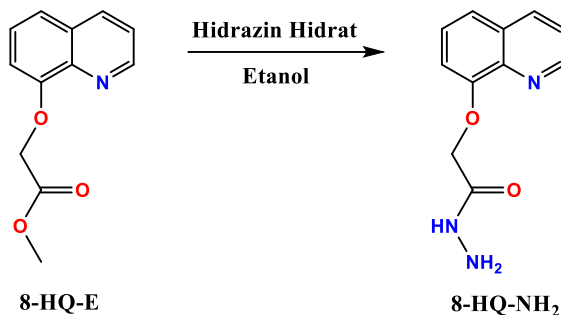
3.2.10. 8-Hidroksikinolin asetat (8-HQ-E)

1 g 8-hidroksikinolin ve 1,1425 g K₂CO₃ bir balon içerisinde 50 mL'lik aseton içerisinde çözüldükten sonra 0,685 mL metil bromoasetat çözeltisi ilave edilip 24 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılır. Süre sonunda çözücü vakum altında uzaklaştırılır, kalan katı diklorometan ile ekstrakte edilir. Organik faz ayrıldıktan sonra MgSO₄ ile kurutulur. Organik çözücü uçurulur, beyaz renkte **8-HQ-E** elde edilir (Boukabcha ve ark., 2019). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.98-8.89 (dd, *J*= 4.2, 1.7 Hz, 1H, ArH), 8.17-8.07 (dd, *J*= 8.3, 1.7 Hz, 1H, ArH), 7.48-7.37 (m, 3H, ArH), 6.99-6.90 (dd, *J*= 6.6, 2.3 Hz, 1H, ArH), 5.00-4.91 (s, 2H, OCH₂), 3.84-3.73 (s, 3H, OCH₃).



3.2.11. 8-Hidroksikinolin asetohidrazit (8-HQ-NH₂)

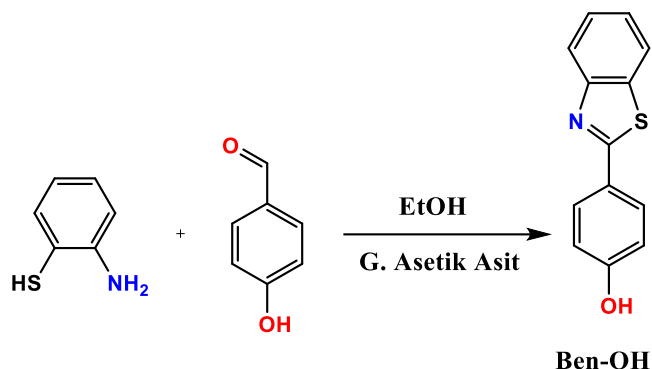
0,3 g **8-HQ-E** türevi ve 0,712 mL hidrazin hidrat karışımı 30 mL etanol içerisinde 24 saat boyunca kaynatılır. Süre sonunda çözücü vakum altında uzaklaştırılır, kalan katı diklorometan ile ekstrakte edilir. Organik faz ayrıldıktan sonra MgSO₄ ile kurutulur. Organik çözücü uçurular, sarı renkte **8-HQ-NH₂** elde edilir (Boukabcha ve ark., 2019). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.54-9.43 (s, 1H, NH), 8.92-8.84 (ddd, *J*= 4.2, 2.5, 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.38-8.30 (ddd, *J*= 8.3, 2.6, 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.59-7.45 (m, 3H, ArH), 7.25-7.19 (dq, *J*= 7.6, 1.3 Hz, 1H, ArH), 4.80-4.66 (d, *J*= 2.0 Hz, 2H, OCH₂), 4.48-4.32 (m, 2H, NH₂).



3.2.12. 4-(2-Benzotiyazolil)-fenol sentezi (Ben-OH)

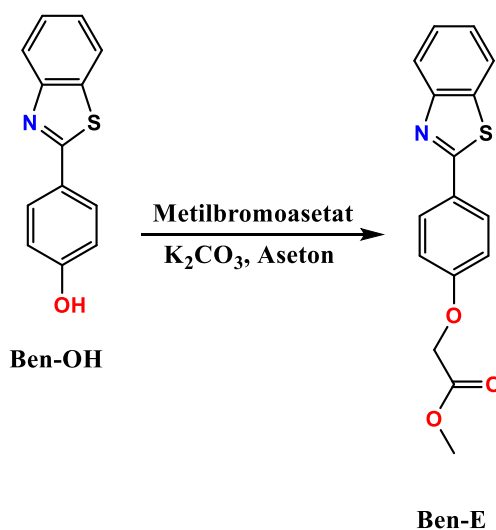
100 mL'lik balonda 1 g 4-hidroksibenzaldehit, 30 mL etanol ve 5 mL glasiyel asetik asit içerisinde çözüldükten sonra 920 µL 2-aminotiyofenol ilave edilerek 6 saat boyunca kaynatılır. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra, çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Kalan katı, asitliği giderilene kadar saf su ile yıkanır, süzülür ve sarı renkte **Ben-OH** katı olarak elde edilir. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.29-10.19 (s, 1H, OH), 8.07-8.02 (dt, *J*= 7.9, 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.98-7.94 (dd, *J*= 8.2, 2.7 Hz, 1H, ArH),

7.94-7.89 (m, 2H, ArH), 7.50-7.44 (tdd, $J= 8.3, 3.9, 1.4$ Hz, 1H, ArH), 7.40-7.34 (ddt, $J= 7.6, 6.3, 1.9$ Hz, 1H, ArH), 6.94-6.90 (m, 2H, ArH).



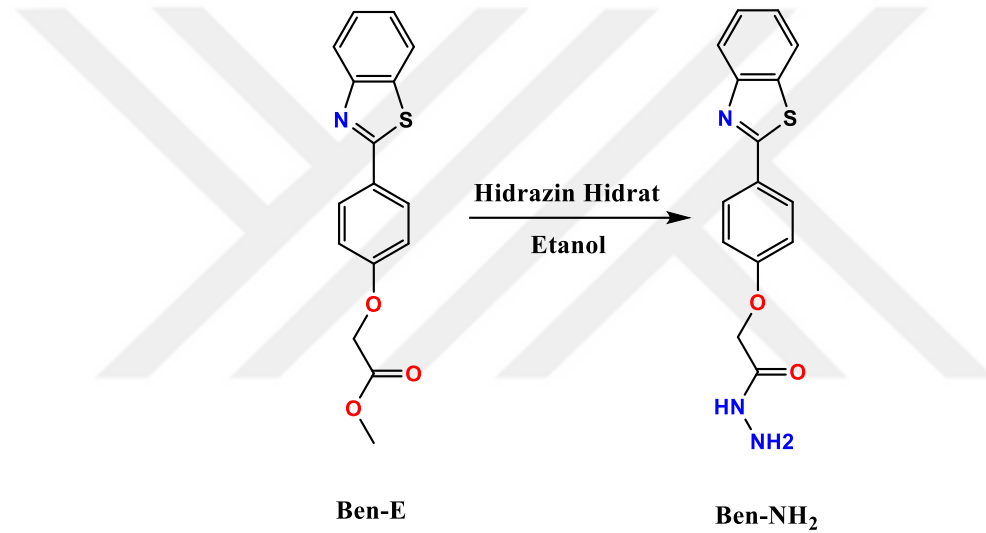
3.2.13. Metil-2-(4-(2-benzotiyazolil)fenoksi asetat sentezi (Ben-E)

50 mL'lik balonun içerisine 0,5 g **Ben-OH** ve 0,3649 g K_2CO_3 alınır ve 30 mL asetonitril ile çözülür. Üzerine 250 μ L metil bromoasetat ilave edilerek geri soğutucu altında 24 saat boyunca kaynatılır. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra, çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Kalan katı, diklorometan ile ekstrakte edilir. Organik faz kurutulur, çözücüsü uçurulur ve sarı renkli katı **Ben-E** elde edilir. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.11-8.06 (dt, $J= 8.0, 2.2$ Hz, 1H, ArH), 8.04-7.98 (m, 3H, ArH), 7.54-7.47 (m, 1H, ArH), 7.45-7.37 (dddd, $J= 8.0, 5.9, 3.1, 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.14-7.08 (ddd, $J= 8.9, 4.9, 2.5$ Hz, 2H, ArH), 4.93-4.90 (d, $J= 4.1$ Hz, 2H, OCH_2), 3.72-3.69 (m, 3H, OCH_3).



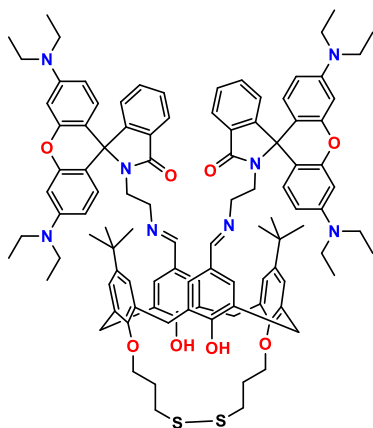
3.2.14. 2-(4-(2-benzotiyazolil)fenoksi asetohidrazit sentezi (Ben-NH₂)

0,2 g **Ben-E** 30 mL etanol içerisinde çözülür ve 160 µL hidrazin hidrat ilave edilerek geri soğutucu altında bir gece boyunca kaynatılır. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra, çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Kalan katı ürün, diklorometan ile ekstrakte edilir. Organik faz kurutulur, uzaklaştırılır ve sarı renkli katı **Ben-NH₂** elde edilir. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.55-9.40 (s, 1H, NH), 8.11-8.05 (d, *J*= 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.03-7.96 (t, *J*= 8.3 Hz, 2H, ArH), 7.56-7.46 (m, 1H, ArH), 7.46-7.37 (m, 1H, ArH), 7.20-7.08 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H, ArH), 4.67-4.56 (s, 2H, OCH₂), 4.46-4.29 (s, 2H, NH₂).



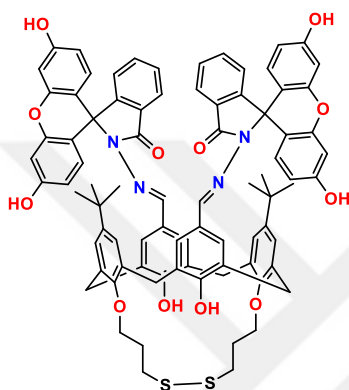
3.2.15. Kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevlerinin sentezi

Kaliks[4]aren aldehit türevi **K-4** (1 mmol) ile amin türevleri (**RhB-NH₂**, **Fl-NH₂**, **8-HA-NH₂**, **8-HQ-NH₂**, **Ben-NH₂** ve Semikarbazit.HCl (**SK**)) (5 mmol) etanol-kloroform çözücü sisteminde geri soğutucu altında kaynatılır. Reaksiyon İTK ile kontrol edilerek reaktantların tükenmesinden sonra çözücüsü vakum altında giderilir. Kalan katı malzeme, kloroform/*n*-hekzan sisteminde kristallendirilir, süzülür ve kurutulur ve katı malzeme olarak elde edilir.



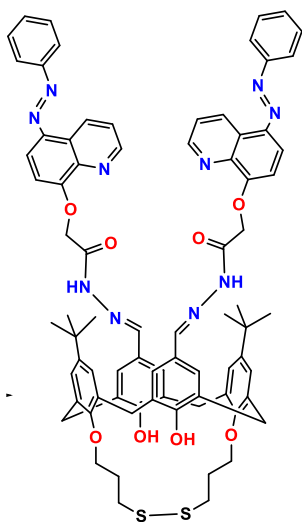
K-Rh

K-Rh. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.94 – 7.85 (m, 2H), 7.53 – 7.26 (m, 8H), 7.16 – 6.98 (m, 4H), 6.84 (s, 2H), 6.53 – 6.21 (m, 16H), 5.12 (s, 2H), 4.36 – 3.92 (m, 6H), 3.60 – 3.09 (m, 37H), 2.79 – 2.65 (m, 3H), 2.37 (s, 3H), 1.15 (p, $J = 8.7, 6.9$ Hz, 42H).



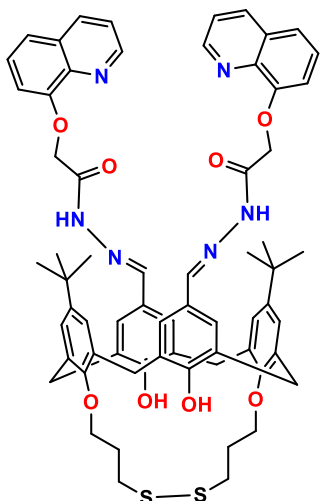
K-Fl

K-Fl. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.80 (d, $J = 7.6$ Hz, 4H), 9.20 (s, 1H), 8.93 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 7.91 – 7.82 (m, 1H), 7.78 – 7.74 (m, 1H), 7.64 – 7.52 (m, 3H), 7.50 – 7.44 (m, 2H), 7.21 (d, $J = 12.4$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.00 – 6.87 (m, 3H), 6.63 (dd, $J = 3.9, 2.2$ Hz, 3H), 6.58 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 6.51 – 6.29 (m, 10H), 4.36 (s, 1H), 4.16 – 3.85 (m, 6H), 3.40 (d, $J = 11.8$ Hz, 16H), 2.43 (s, 6H), 2.24 (s, 2H), 1.18 – 0.79 (m, 18H, *ter*-bütill).



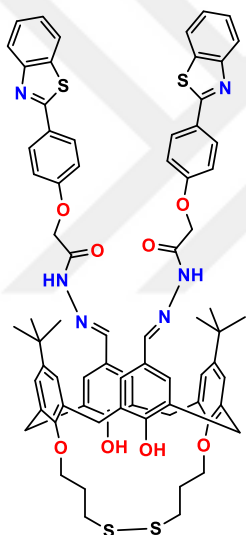
K-8HA

K-8HA: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.77 – 11.33 (m, 2H), 10.51 (d, $J = 21.7$ Hz, 1H), 9.86 – 9.60 (m, 2H), 9.37 – 9.12 (m, 4H), 9.03 (d, $J = 19.3$ Hz, 4H), 8.02 – 7.93 (m, 6H), 7.76 (q, $J = 4.5$ Hz, 2H), 7.63 – 7.52 (m, 10H), 7.40 (t, $J = 9.6$ Hz, 2H), 7.25 – 7.15 (m, 5H), 5.57 – 5.29 (m, 4H), 5.00 (s, 2H), 4.08 (d, $J = 14.7$ Hz, 4H), 2.39 – 2.20 (m, 4H), 1.96 (d, $J = 3.5$ Hz, 4H), 1.09 (q, $J = 8.3, 7.9$ Hz, 18H, *ter*-bütill).



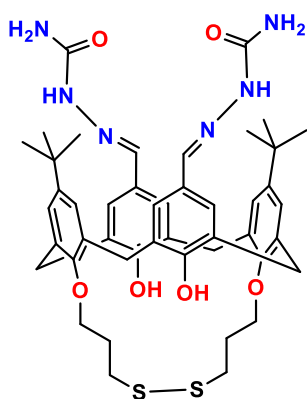
K-8HQ

K-8HQ. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.87 – 11.44 (m, 2H), 9.30 (dd, $J = 47.1, 11.6$ Hz, 1H), 8.96 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 8.92 – 8.82 (m, 3H), 8.39 – 8.27 (m, 3H), 8.19 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 7.92 – 7.84 (m, 1H), 7.55 (dddd, $J = 24.0, 11.9, 7.8, 3.2$ Hz, 12H), 7.48 – 7.41 (m, 2H), 7.34 – 7.15 (m, 6H), 7.06 (dt, $J = 11.8, 5.9$ Hz, 2H), 5.43 – 5.32 (m, 2H), 4.90 (t, $J = 4.5$ Hz, 2H), 4.77 (s, 2H), 4.20 – 4.04 (m, 5H), 3.60 (dt, $J = 13.5, 7.8$ Hz, 5H), 2.36 (d, $J = 31.9$ Hz, 3H), 1.07 (dd, $J = 12.7, 7.7$ Hz, 18H, *ter*-bütill).



K-Ben

K-Ben. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.47 (d, $J = 29.9$ Hz, 2H), 9.49 (s, 2H), 8.08 (d, $J = 8.0$ Hz, 3H), 8.04 – 7.97 (m, 9H), 7.55 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.48 (q, $J = 8.7, 8.1$ Hz, 4H), 7.40 (t, $J = 7.7$ Hz, 4H), 7.22 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 5H), 5.22 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 4.60 (s, 4H), 4.19 (s, 2H), 4.07 (d, $J = 28.4$ Hz, 5H), 3.56 (s, 3H), 3.08 (s, 2H), 1.30 – 0.80 (m, 18H, *ter*-bütill).

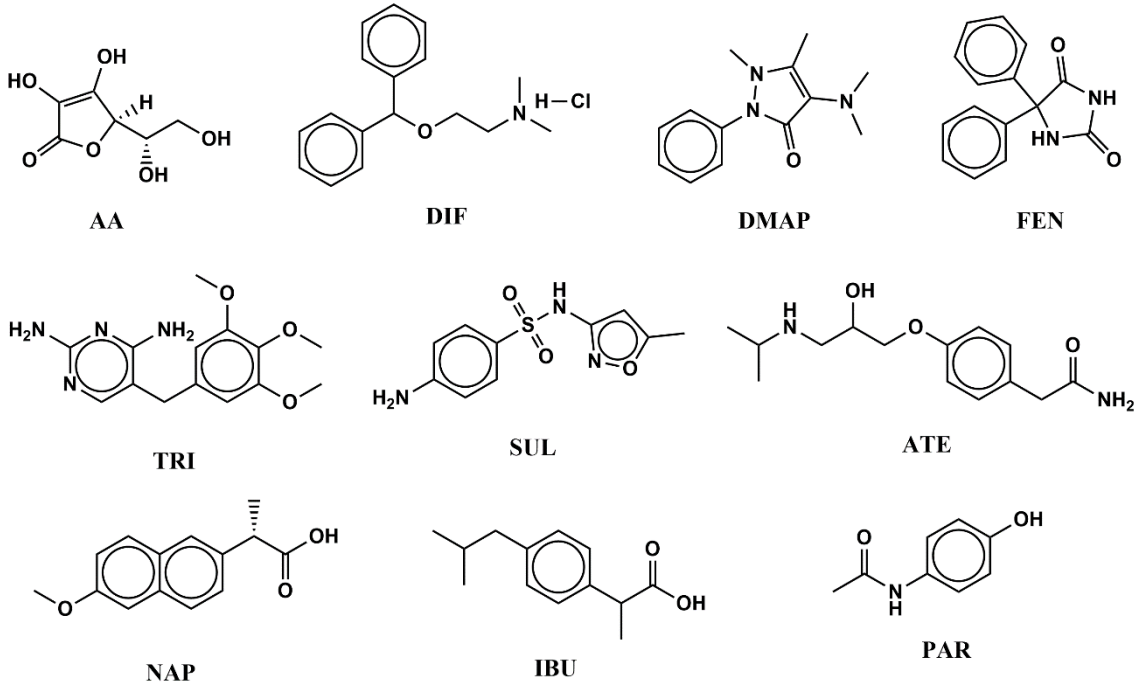


K-SK

K-SK. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10.06 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H, NH), 9.23 – 9.05 (m, 1H, CHN), 7.64 (d, $J = 4.7$ Hz, 2H, OH), 7.63 – 7.52 (m, 4H, ArH), 7.36 – 7.13 (m, 4H, ArH), 6.49 (s, 4H, NH₂), 6.20 (s, 1H, CHN), 4.10 (d, $J = 3.8$ Hz, 4H, ArCH₂Ar), 4.07 (s, 4H, ArCH₂Ar), 3.52 (d, $J = 12.6$ Hz, 4H, CH₂CH₂CH₂), 3.19 – 2.99 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂), 2.49 (dq, $J = 3.7, 2.1$ Hz, 2H, CH₂CH₂CH₂), 2.29 (s, 2H, CH₂CH₂CH₂), 1.13 (dd, $J = 12.2, 5.2$ Hz, 18H, *ter*-bütill).

3.3. Farmasötik Bileşiklerin Tespiti için Spektroskopik Ölçümler

Hazırlanan kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri kullanılarak UV-GB ve floresans spektroskopisi kullanılarak farklı farmasötik kirleticilere karşı optik özellikleri incelendi. Bunun için hazırlanan kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevlerinin DMSO içerisinde 10^{-2} M konsantrasyon değerinde, farmasötik kirletici olarak seçilen ilaçlar (Şekil 3.4) (askorbik asit (AA), difenhidramin (DIF), 4-dimetilaminoantipirin (DMAP), trimetoprim (TRI), sülfametoksazol (SUL), atenolol (ATE), naproksen (NAP), fenitoin (FEN), ibuprofen (IBU) ve parasetamol (PAR)) ise metanol içerisinde 10^{-2} M konsantrasyon değerinde olacak şekilde çözeltileri hazırlandı.



Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan farmasötik kirleticiler

İlaç türevleri için doğrudan optik özellikleri istenilen seviyede elde edilemeyen kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri için ikinci bir yol olarak öncelikle metal iyonlarına karşı optik özellikleri incelenmek suretiyle seçimli olduğu metal kompleksi belirlendi ve sonrasında bu kompleksin üzerine ilaç çözeltisi ilave edilerek optik özellikleri incelendi. Bunun için farklı metal perklorat tuzların (Li^+ , Na^+ , Cs^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} ve Al^{3+}) asetonitril içerisinde 10^{-2} M konsantrasyon değerinde olacak şekilde çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri için uygun dalgaboylarında, uygun

konsantrasyon ve çözücü sistemlerinde titrasyon çalışmaları gerçekleştirildi. Job ve Benesi Hildebrand grafikleri üzerinden LOD, bağlanma sabiti değerleri hesaplandı.

Bağlanma katsayısının belirlenmesi için titrasyon çalışması sonucunda elde edilen değerleri kullanılarak Benesi-Hildebrand denklemi ile bağlanma katsayısı (K) hesaplandı.

$$\frac{1}{I - I_0} = \frac{1}{K(I_{\max} - I)[Analit]^n} + \frac{1}{I_{\max} - I} \quad (\text{Denklem 3.1})$$

$$\frac{1}{A - A_0} = \frac{1}{K(A_{\max} - A)[Analit]^n} + \frac{1}{A_{\max} - A} \quad (\text{Denklem 3.2})$$

Spektroskopik çalışmalarda florimetrik değişiklik görüldüğünde Denklem 3.1 kullanıldı. Denklemde I_0 , elde edilen ligandın floresans spektrumu incelendiğinde elde edilen ilk floresans şiddetini, I analit ilave edildikten sonra elde edilen floresans şiddeti, I_{\max} maksimum floresans şiddeti, n kompleks miktarını ve K ($1/M$) bağlanma katsayısını ifade etmektedir.

Spektroskopik çalışmalarda kolorimetrik değişiklik görüldüğünde Denklem 3.2 kullanıldı. Denklemde A_0 , ligandın UV-GB spektrumu incelendiğinde elde edilen ilk absorbans değerini, A analit ilave edildikten sonra elde edilen absorbans değerini, A_{\max} maksimum absorbans değerini, n kompleks miktarını ve K ($1/M$) bağlanma katsayısını ifade etmektedir.

Çalışmalarda elde edilen limit algılama değerleri (Limit of Detection, LOD) hesaplanması için,

$$LOD = 3 \times \frac{\sigma}{m} \quad (\text{Denklem 3.3})$$

kullanılarak hesaplandı. Denklemde σ , konsantrasyon grafiğinin standart sapmasını ve m ise konsantrasyon grafiğinin eğimini ifade etmektedir.

3.4. Farmasötik Bileşiklerin Tespiti için QCM Algılama Çalışmaları

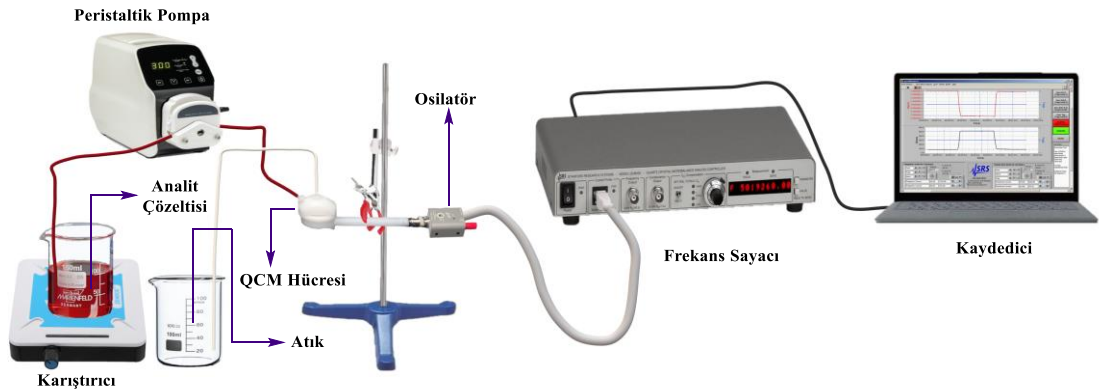
Hazırlanan kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri ile spektroskopik ölçümler gerçekleştirilerek seçimli olduğu kaliks[4]aren türevi–farmasötik bileşik çifti belirlenerek sulu ortamda sıvı temaslı QCM sisteminde algılama çalışmaları gerçekleştirildi. Bunun için daha önceki çalışmalarda kullanılan QCM sistemi (Ozcelik ve ark., 2019; Temel ve ark., 2019a) kullanıldı (Şekil 3.5). Farklı konsantrasyon değerlerinde hazırlanan

farmasötik bileşiklerin hazırlanan kaliks[4]aren türevleri ile kaplı QCM sensöründe bir akış hücresi yardımıyla algılanması çalışmaları gerçekleştirildi. Gözlenen frekans değişimi Sauerbrey denklemini kullanılarak kütle değişimine dönüştürüldü (Sauerbrey, 1959).

$$\Delta m = -\frac{A\sqrt{\rho_q\mu_q}}{2f_0^2}\Delta F \quad (\text{Denklem 3.4})$$

Sauerbrey denkleminde Δm (g) QCM elektrot yüzeyindeki kütle değişimini, A (cm²) QCM elektrot yüzeyinin alanını, ρ_q (2,648 g/cm³) QCM elektrot kristalinin yoğunluğunu, μ_q (2,947x10¹¹ dyne.cm⁻²) QCM elektrot kristalinin yüzey gerilimini, ΔF (Hz) QCM elektrot yüzeyinde meydana gelen kütle değişiminin frekans cinsinden ifadesini ve f_0 (Hz) QCM elektrodunun temel frekans değerini ifade etmektedir.

Hazırlanan kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri kullanılarak gerçekleştirilen spektroskopik çalışmalarda seçimliliği belirlenen kaliks[4]aren türevi–farmasötik bileşik çiftinin QCM sensör sisteminde algılama çalışmaları yapıldı. Elde edilen frekans değişim değerleri kütle değişimine çevrilerek stokiyometrik oran (S.O.), dağılım katsayısı (D.K.), LOD değeri, adsorpsiyon izotermi, Scatchard denge izotermi ve tekrar edilebilirlik gibi sensör parametreleri karşılaştırmalı olarak detaylı bir şekilde incelendi.



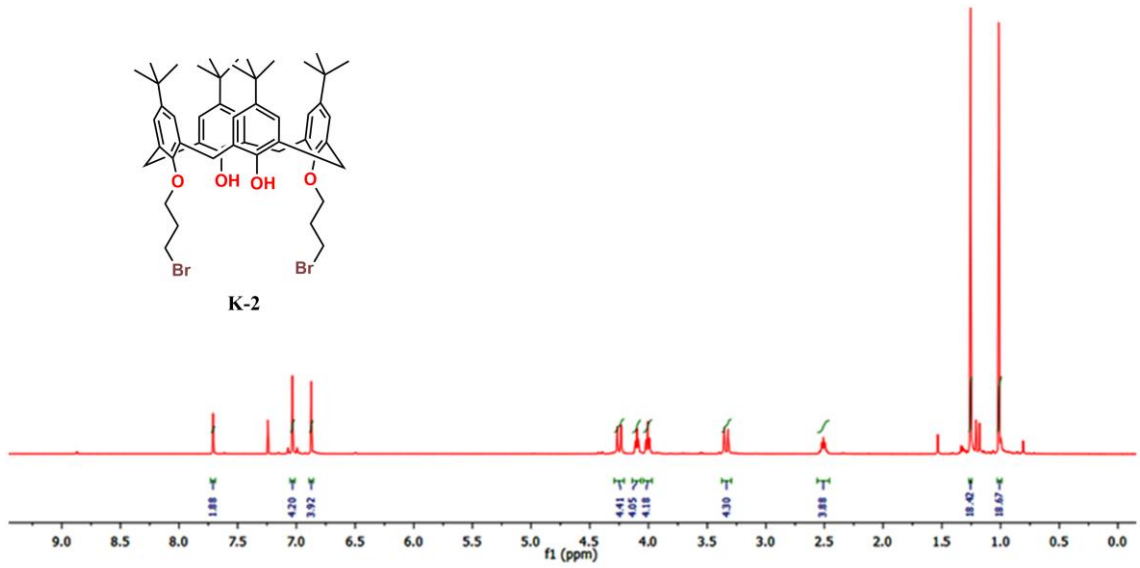
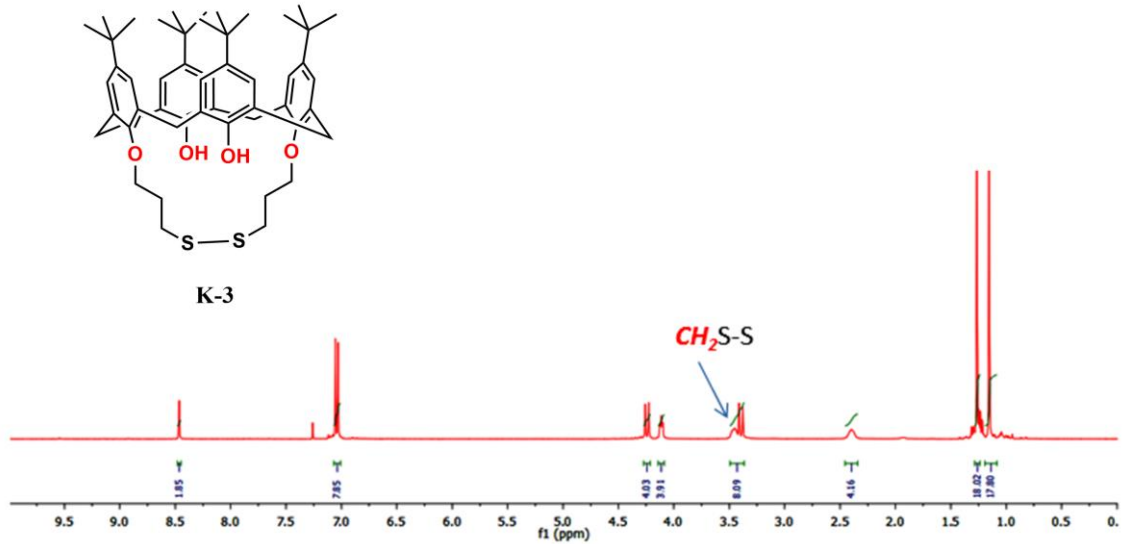
Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan QCM sensör sistemi

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Kaliks[4]aren Schiff Bazı ve Amit Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Kaliksarenler, iyonik veya nötral yapıdaki farklı analitler ile kompleks yapabilme yeteneğine sahip sensör çalışmalarında algılayıcı madde olarak kullanılabilen makrosiklik yapıdaki bileşiklerdir. Üç boyutlu yapısı, alt ve üst kısımlarından kullanım amacına göre türevlendirilebilme yeteneği ile birlikte birçok kullanım alanına sahip olmaktadır. Bu çalışmada, kirletici olarak seçilen bazı farmasötik bileşiklerin sulu ortamda farklı kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri ile kalitatif ve kantitatif olarak algılanması hedeflendi. Bu amaçla, farklı florofor gruplar ile türevlendirilerek üst kısımdan kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri sentezlendi. Florofor gruplar sayesinde, optik olarak farmasötik bileşiklerin doğrudan ya da dolaylı şekilde tespiti için kullanılması ve bu yöntemle de kalitatif analizin gerçekleştirilmesi hedeflendi. Kantitatif analiz için ise QCM yöntemi tercih edildi. QCM elektrotları üzerinde bulunan altın yüzeyine düzenli ve iyi bir immobilizasyon için kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevlerinin yapılarında kaliksaren yapısının alt kısmından disülfid grubu olacak şekilde moleküller tasarlandı ve sentezlendi. Elde edilen kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri farklı farmasötik bileşiklerin sulu ortamda tespiti için kullanıldı.

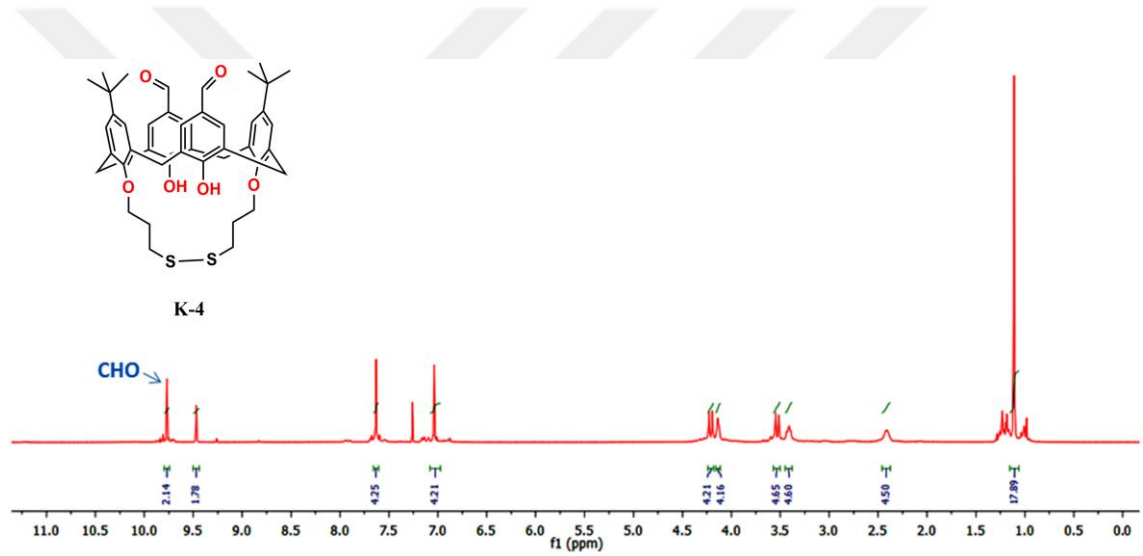
Farmasötik bileşiklerin tespiti çalışmalarında algılayıcı moleküller olarak kullanılacak kaliks[4]aren türevlerinin sentez şeması Şekil 3.1’de, algılayıcı olarak kaliks[4]aren platformunun üst kısmından türevlendirilecek olan fonksiyonel bileşikler ise Şekil 3.2 ve Şekil 3.3’te verildi. Öncelikle *p-ter*-bütilfenol ile formaldehitin bazik ortamdaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda temel *p-ter*-bütilkaliks[4]aren **K-1** bileşiği literatürdeki gibi sentezlendi (Gutsche ve ark., 1986). Sentezlenen temel bileşiğin 1,3-dibromopropan ile asetonitril ortamındaki reaksiyonu sonucunda bromopropoksi fonksiyonlu kaliks[4]aren **K-2** türevi literatürdeki gibi sentezlendi (Li ve ark., 1999) ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.1). 1,3-Fonksiyonlu olacak şekilde fonksiyonlandırılan kaliks[4]aren **K-2** türevinin yapısındaki *ter*-bütil gruplarının 1 ppm ve 1,2 ppm’de 18H büyüklüğünde iki ayrı pik vermesi ve bağlandığı hidroksi gruplarının büyüklüğünün ise 2H olarak hesaplanması ile yapı doğrulandı.

Şekil 4.1. K-2 türevinin ¹H-NMR spektrumuŞekil 4.2. K-3 türevinin ¹H-NMR spektrumu

QCM sensörlerinde kullanılan kuartz kristallerdeki altın yüzeyi üzerine düzgün ve iyi bir dağılım gerçekleştirmek için kükürt atomu içeren gruplar etkili bir tutunma göstermektedir (Ozcelik ve ark., 2019; Temel ve ark., 2019a). Bu nedenle kaliks[4]aren türevleri QCM altın elektrotu üzerinde düzgün bir film tabakası elde edilmesi için kükürt içerecek şekilde tasarlandı. Literatürde tiyol gruplarının elde edilmesi için kullanılan yöntemlerden birisi halojenlerin tiyoüre ile olan reaksiyonları sonucunda elde edilmesidir (Ozcelik ve ark., 2019). Literatürdeki yöntemlerle bromopropoksi fonksiyonlu kaliks[4]aren **K-2** türevinin asetonitril ortamında tiyoüre ile reaksiyonu, ardından KOH ile oda sıcaklığında ve açık havadaki hidroliz reaksiyonu sonucunda disülfid köprüsü içeren kaliks[4]aren **K-3** türevi sentezlendi ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile

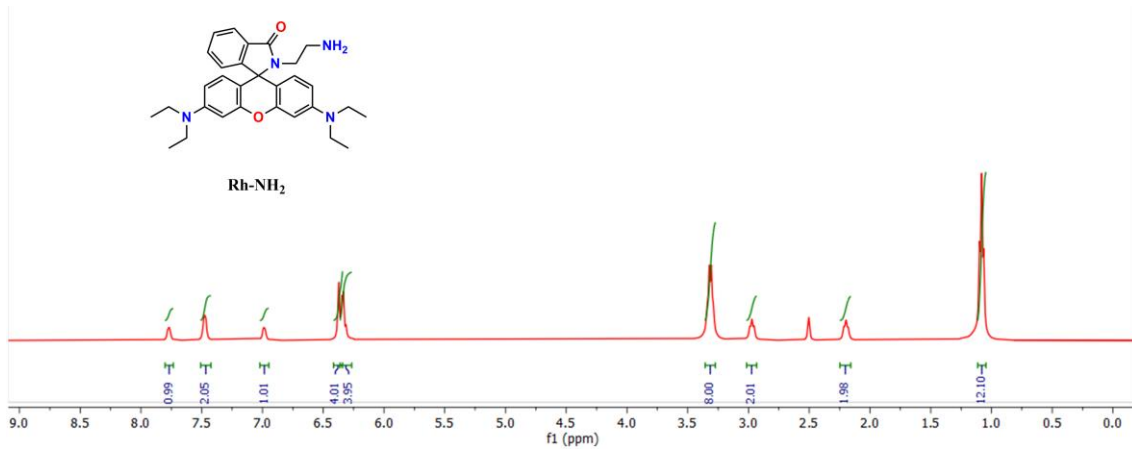
doğrulandı (Şekil 4.2). Disülfit ($-S-S-$) yapısında hidrojen piki yoktur. Bu nedenle yakınında bulunan $-CH_2-S$ pikinin, **K-2** türevinin ^1H-NMR spektrumundaki $-CH_2-Br$ ile karşılaştırıldığında kaymaların olması ve birbirine yakın olan CH_2 piklerinin birbirinden ayrıldığı görüldüğü yapıyı doğrulamıştır.

Farklı fonksiyonel grupların kaliks[4]aren platformunun üst kısmından bağlanması için aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi, **K-3** türevinin TFA ortamında HMTA ile reaksiyonu sonucunda elde edildi ve yapısı ^1H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.3) (Chawla ve ark., 2006; Ozcelik ve ark., 2019; Temel ve ark., 2019a). Reaksiyon sonucunda 1,2 ppm'deki 18H büyüklüğündeki *ter*-bütil pikinin kaybolması ve 9,77 ppm'deki aldehit pikine ait 2H büyüklüğünde yeni bir pik oluşması ile kaliks[4]aren **K-4** yapısı doğrulandı.



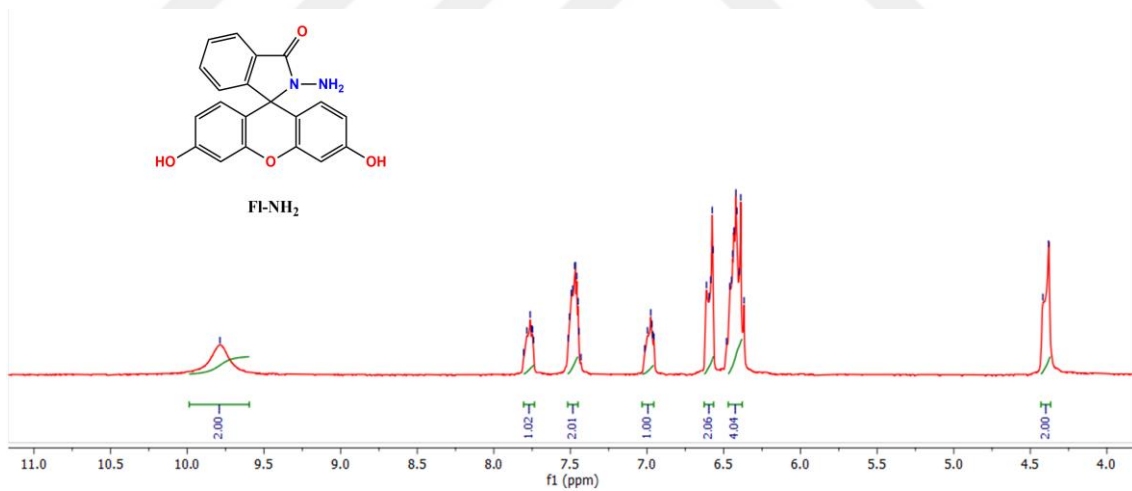
Şekil 4.3. **K-4** türevinin ^1H-NMR spektrumu

Farmasötik bileşikler için kullanılacak olan fonksiyonel yapıların sentezi Şekil 3.2 ve 3.3'te verildi. Hazırlanan bu fonksiyonel yapıların aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi ile reaksiyonu sonucunda hedef kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri sentezlenerek sulu ortamda farmasötik bileşiklerin tespiti için kullanıldı. Bunun için öncelikle **Rodamin B** bileşiğinin etanol ortamında etilendiamin ile reaksiyonu sonucunda spiro laktam halkasının kapanması ile $-NH_2$ grubuna sahip **Rh-NH₂** bileşiği literatürdeki gibi elde edildi (Zhang ve ark., 2007) ve yapısı ^1H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.4). Spiro halkasının kapanmasından sonra oluşan aminoetil yapısına ait piklerin ortaya çıktığı görüldü. $-N-CH_2-$ ve $-CH_2-CH_2-$ gruplarına ait sırasıyla 2,2 ppm ve 3 ppm'deki 2H büyüklüğündeki pikler ve 7,5 ppm'deki 2H büyüklüğündeki $-NH_2$ grubuna ait pikin ortaya çıkması ile yapı doğrulandı.



Şekil 4.4. Rh-NH₂ bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

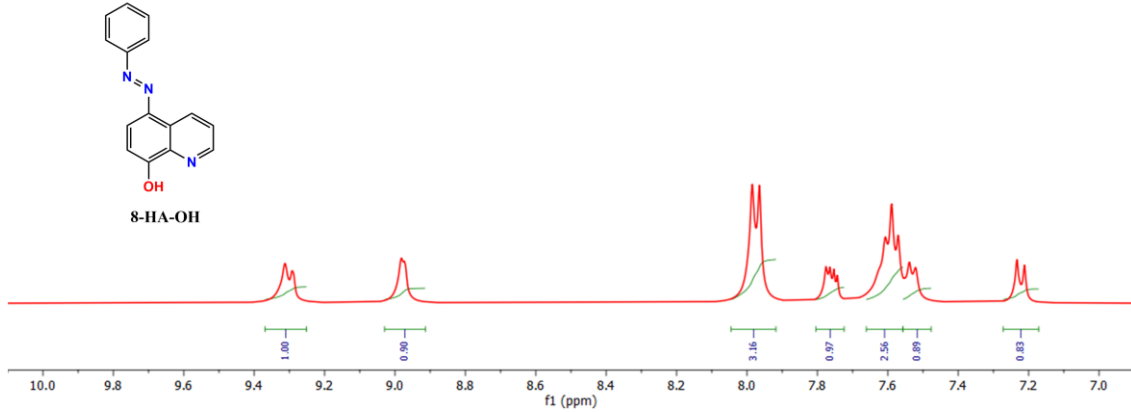
Floresein bileşiğinin metanol ortamında hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucunda spiro laktam halkasının kapanması ile NH₂ grubuna sahip **FI-NH₂** bileşiği literatürdeki gibi elde edildi (Li ve ark., 2011) ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.5). Spiro halkasının kapanmasından sonra oluşan hidrazon yapısına ait piklerin ortaya çıktığı görülmektedir. Yeni oluşan -N-NH₂ grubuna ait 4,4 ppm'deki 2H büyüklüğündeki pikin varlığı ile yapı doğrulandı.



Şekil 4.5. FI-NH₂ bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

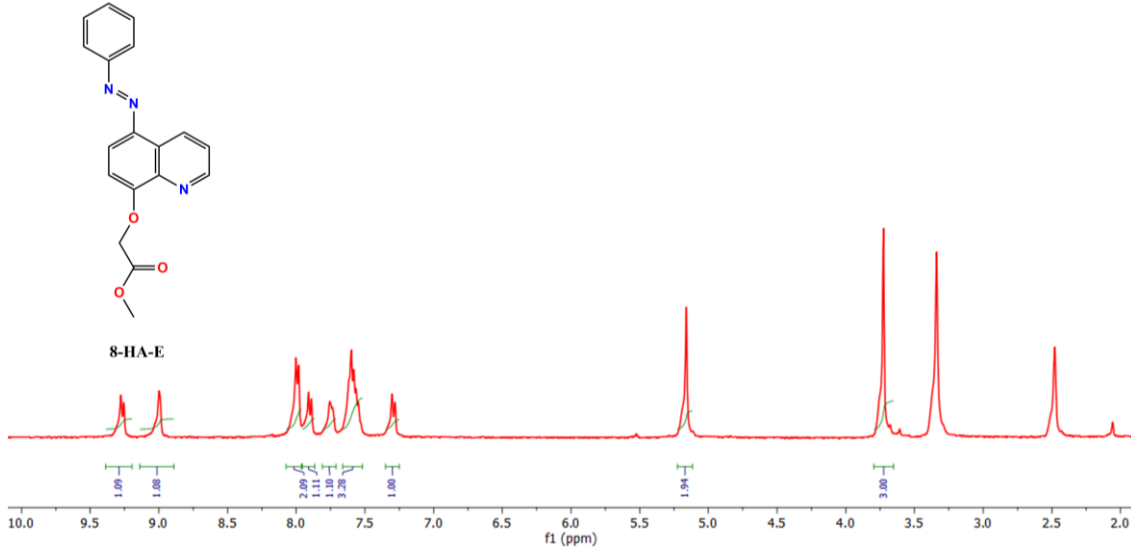
Amit grubu içeren kaliks[4]aren türevlerinin sentezlenmesinden önce, amit grubu içeren fonksiyonel grupların hazırlanması gerekmektedir. Şekil 3.2'de verilen sentez şemasındaki yapıların öncelikle metil bromoasetat ile Williamson eter reaksiyonu sonucunda ester grubu içeren türevleri sentezlendi. Ardından etanol ortamında hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucunda da amidoamin yapıları elde edildi. Anilin ve 8-hidroksikinolin bileşiklerinden yola çıkılarak 8-hidroksikinolin yapısının *para*

pozisyonundan elde edilen fenilazo yapısı içeren **8-HA-OH** bileşiği literatürdeki yöntemle göre sentezlendi ve yapısı $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.6).



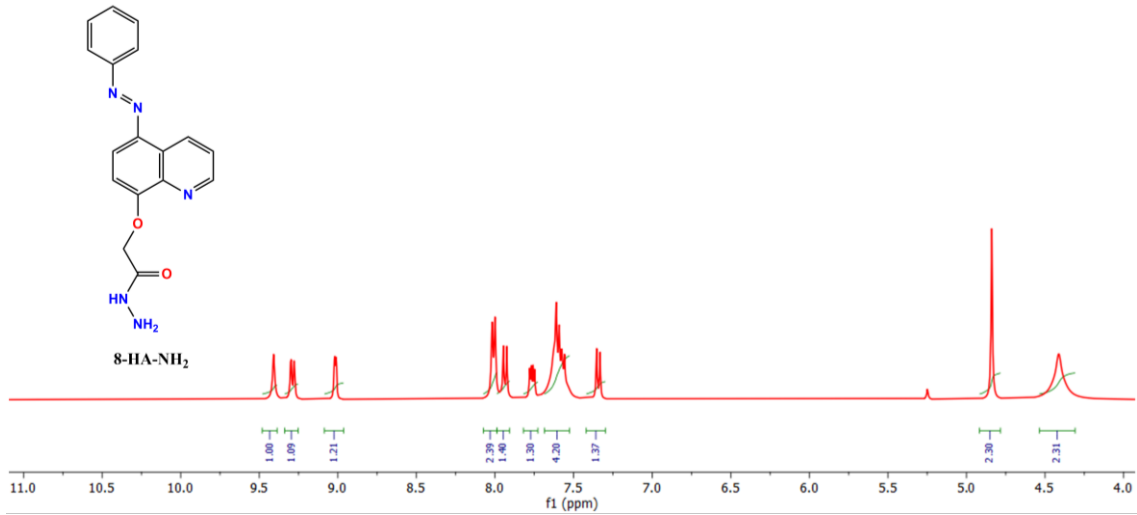
Şekil 4.6. **8-HA-OH** bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrogramu

Elde edilen **8-HA-OH** bileşiğinin metil bromoasetat ile Williamson Eter reaksiyonu sonucunda ester grubu içeren **8-HA-E** bileşiği elde edildi ve yapısı $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.7). Ester grubu bağlandıktan sonra ortaya çıkan, -O-CH₂ grubuna ait pikin 5,22 ppm'de 2H'de ve -O-CH₃ grubuna ait pikin 3,80 ppm'de 3H büyüklüğünde olması ile yapı doğrulandı.



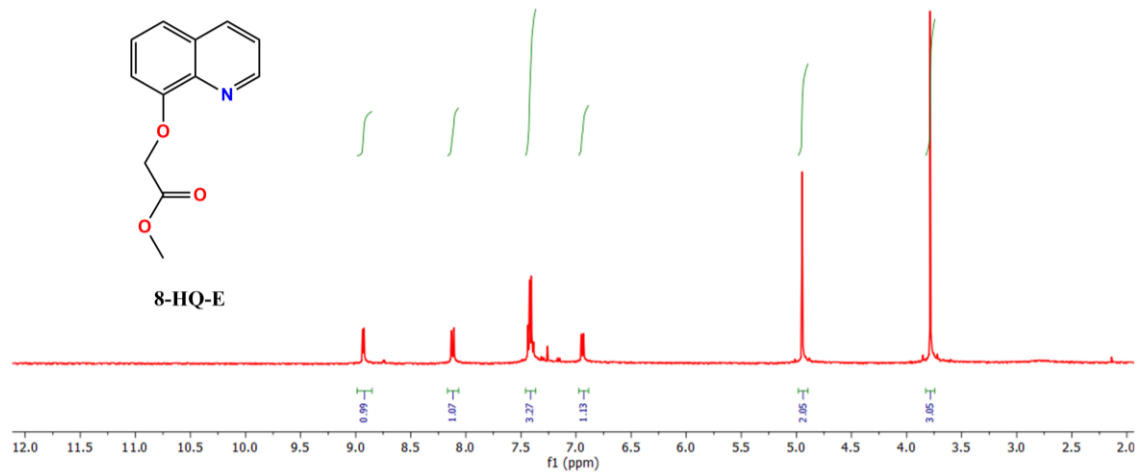
Şekil 4.7. **8-HA-E** bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrogramu

Sentezlenen **8-HA-E** türevi daha sonra amit grubunun oluşturulması için etanol ortamında hidrazin hidrat ile etkileştirilmesi sonucunda **8-HA-NH₂** bileşiği elde edildi ve yapısı $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.8). **8-HA-E** bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda 3,80 ppm'deki -O-CH₃ grubun kaybolması, yerine 9,48 ppm'de oluşan amit -NH piki ve 4,54 ppm'de -NH₂ piklerinin oluşması ile yapı doğrulandı.



Şekil 4.8. 8-HA-NH₂ bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

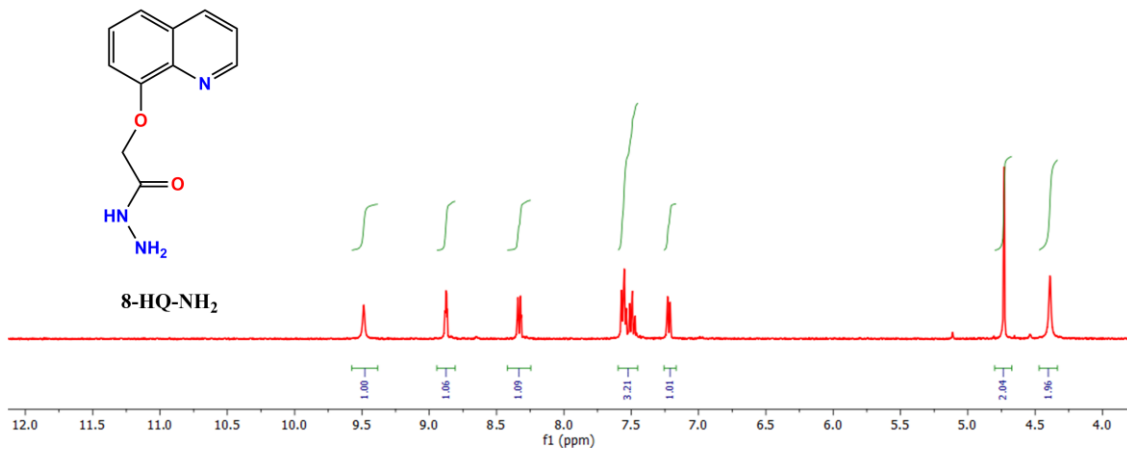
Elde edilen **8-HA-NH₂** bileşiğindeki fenilazo grubunun etkisini incelemek için fenilazo reaksiyonu olmadan sadece 8-hidroksikinolin yapısı da aynı sentez şemasına göre sentezlendi. Bu amaçla, 8-hidroksikinolin yapısının metil bromoasetat ile Williamson eter reaksiyonu sonucunda ester grubu içeren **8-HQ-E** bileşiği elde edildi (Boukabcha ve ark., 2019) ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.9). Spektrumda ester grubu bağlandıktan sonra ortaya çıkan, -O-CH₂ grubuna ait pikin 4,9 ppm'de 2H büyüklüğünde ve -O-CH₃ grubuna ait pikin 3,8 ppm'de 3H büyüklüğünde olması ile yapı doğrulandı.



Şekil 4.9. 8-HQ-E bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

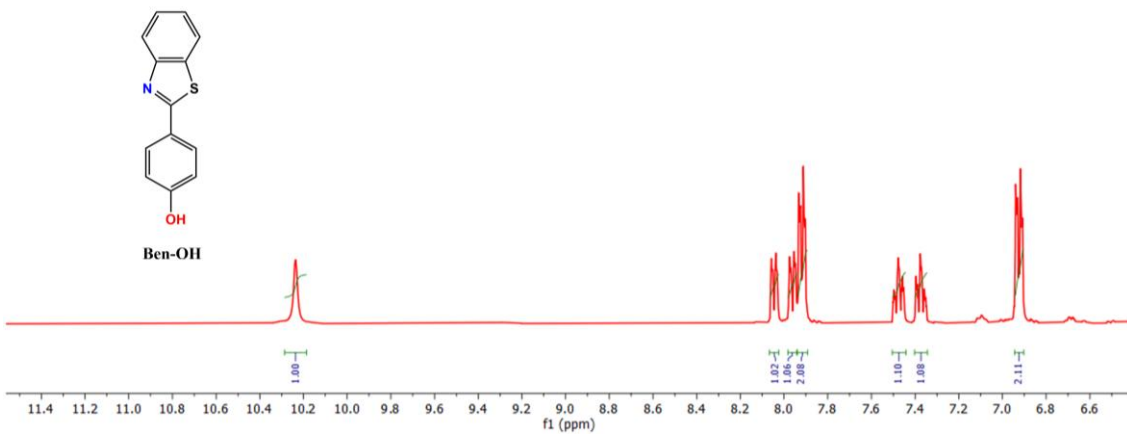
Sentezlenen **8-HQ-E** türevinin ayrıca amit grubunun oluşturulması için etanol ortamında hidrazin hidrat ile etkileştirilmesi sonucunda **8-HQ-NH₂** türevi elde edildi ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.10). **8HQ-E** türevine ait 3,80

ppm'deki -O-CH₃ grubuna ait pikin kaybolması, yerine 9,5 ppm'de oluşan amit -NH piki ve 4,4 ppm'de -NH₂ piklerinin oluşması ile yapı doğrulandı.



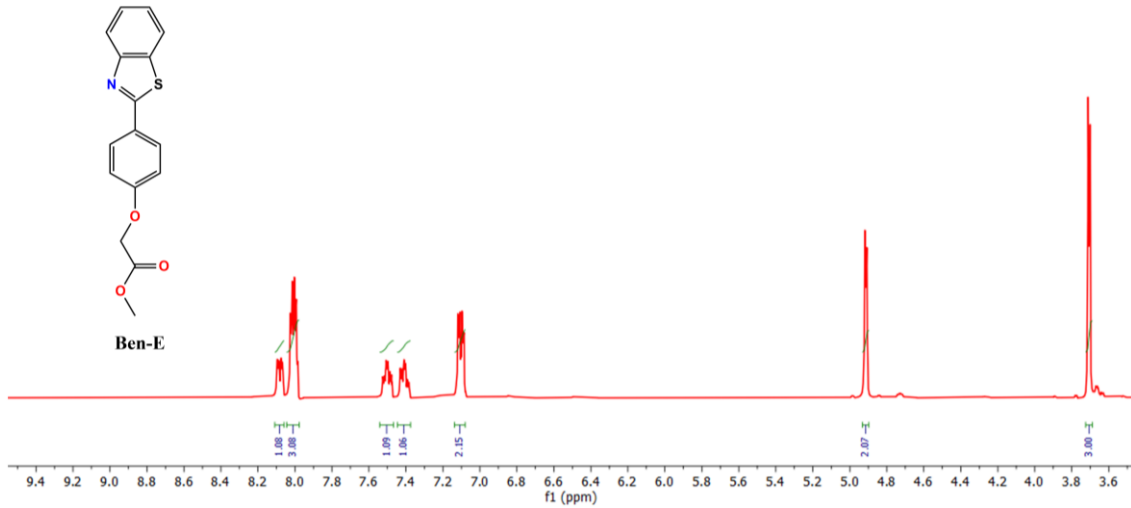
Şekil 4.10. 8-HQ-NH₂ bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

Benzotiyazol grubu içeren yapının sentezlenmesi için 2-aminotiyofenol ve 4-hidroksibenzaldehit bileşiklerinden yola çıkılarak aldehit grubu üzerinden halka kapanması sonucunda **Ben-OH** bileşiği sentezlendi ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.11). Reaksiyon sonucunda -NH₂ ve -SH gruplarına ait piklerin ve aldehit grubuna ait pikin kaybolması ve aromatik bölgedeki pik sayılarının artması ile yapı doğrulandı.



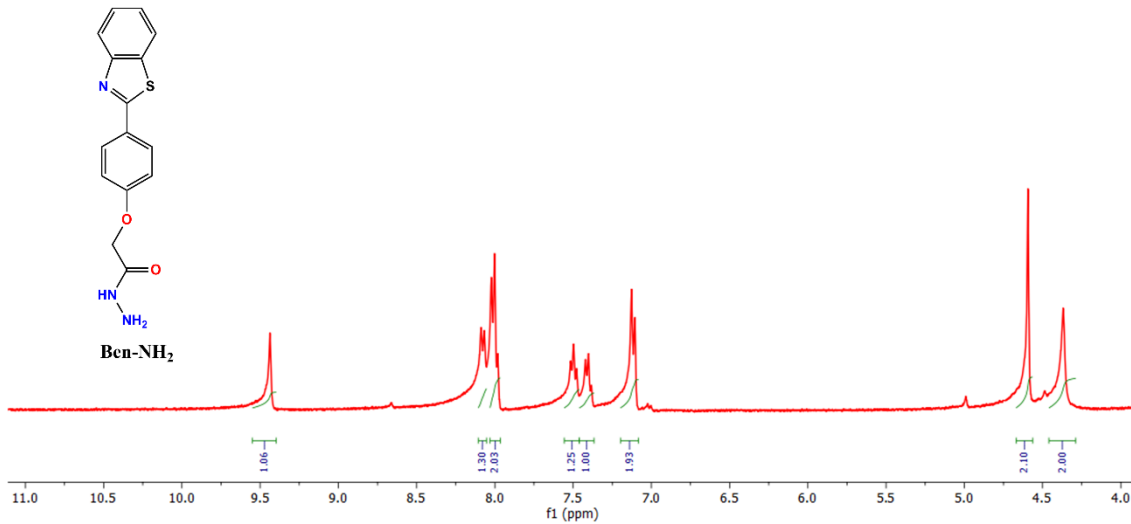
Şekil 4.11. Ben-OH bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

Ben-OH bileşiğinin daha sonra metil bromoasetat ile reaksiyonu sonucunda **Ben-E** bileşiği elde edildi ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.12). Fenol grubuna ait 10,29 ppm'deki -OH pikinin kaybolması, ester grubu bağlandıktan sonra ortaya çıkan, -O-CH₂ grubuna ait pikin 4,93 ppm'de 2H büyüklüğünde ve -O-CH₃ grubuna ait pikin 3,72 ppm'de 3H büyüklüğünde olması ile yapı doğrulandı.



Şekil 4.12. Ben-E bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

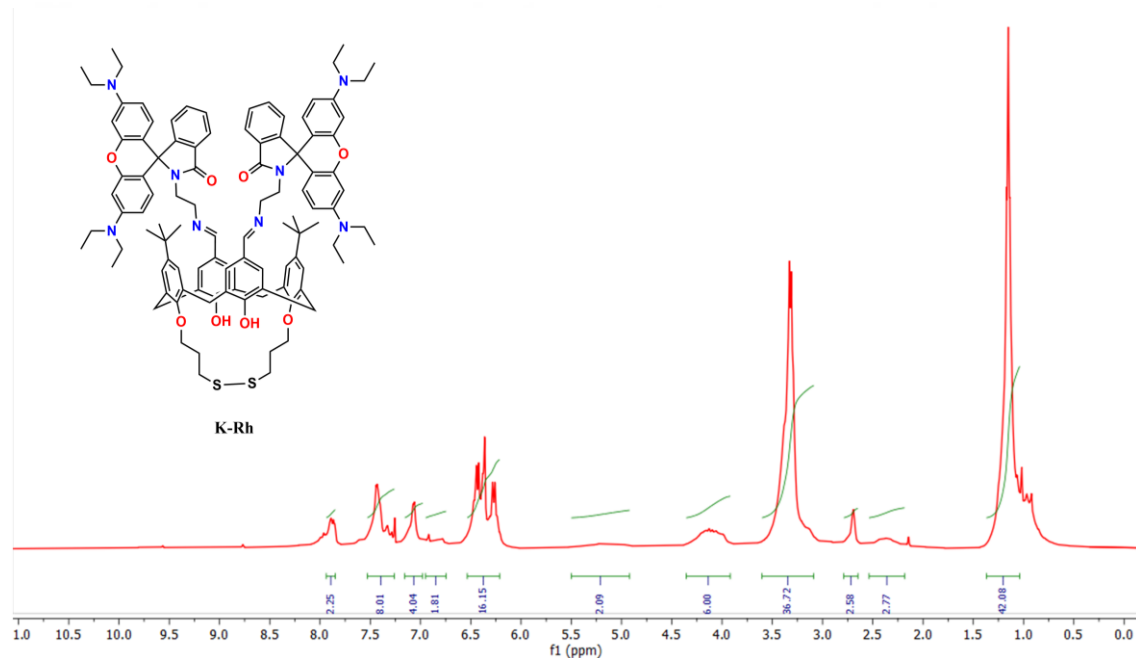
Sentezlenen **Ben-E** bileşiği daha sonra, amit grubunun oluşturulması için etanol ortamında hidrazin hidrat ile etkileştirilerek **Ben-NH₂** bileşiği elde edildi ve yapısı $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.13). **Ben-E** bileşiğine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumundaki 3,72 ppm'deki -O-CH₃ grubun kaybolması, yerine 9,55 ppm'de oluşan amit -NH piki ve 4,46 ppm'de oluşan -NH₂ piklerinin oluşması ile yapı doğrulandı.



Şekil 4.13. Ben-NH₂ bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

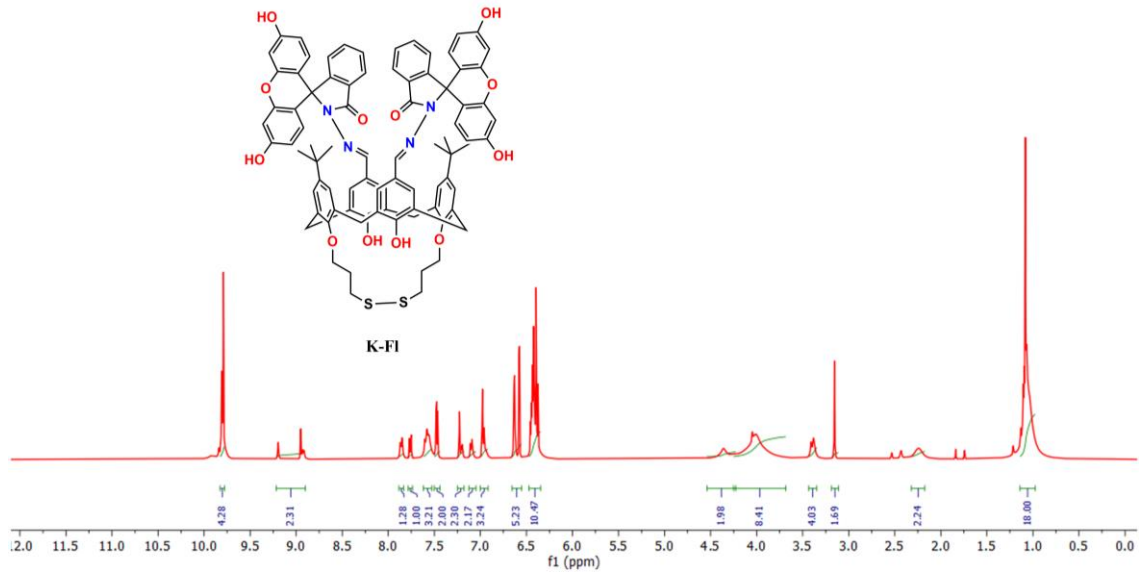
Hazırlanan **Rh-NH₂**, **Fl-NH₂**, **8-HA-NH₂**, **8-HQ-NH₂**, **Ben-NH₂** ve **SK.HCl** bileşiklerinin aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi ile etanol-kloroform ortamındaki kondenzasyon reaksiyonu gerçekleştirilerek farmasötik bileşiklerin tespiti için kullanılacak olan kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri elde edildi. Bu amaçla öncelikle aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi ile **Rh-NH₂** bileşiğinin etanol-

kloroform ortamındaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda Schiff bazı türevi olan kaliks[4]aren **K-Rh** türevi elde edildi ve yapısı $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.14). Sentezlenen yapıda molekül içi etkileşimlerin fazla olmasından dolayı piklerin iç içe çıktığı ya da genişlediği görüldü. Rodamin yapısında bulunan 24H büyüklüğündeki $-\text{CH}_3$ pikleri ve kaliks[4]aren **K-4** yapısındaki 18H büyüklüğündeki *ter*-bütil piklerinin iç içe geçerek 1,2 ppm'de toplam 42H büyüklüğünde yayvan bir pik oluşturması, **Rh-NH₂** bileşiğine ait $-\text{NH}_2$ grubu ile kaliks[4]aren **K-4** yapısındaki aldehit grubu ile Schiff bazı reaksiyonu sonucunda oluşan imin grubu $-\text{CHN}$ pikinin 7,9 ppm civarında 2H büyüklüğünde oluştuğu görüldü. Bahsedilen bu piklerin varlığı ve toplam hesaplanan H sayısı ile teorik olarak beklenen H sayısının birbirini sağlaması ile yapı doğrulandı.

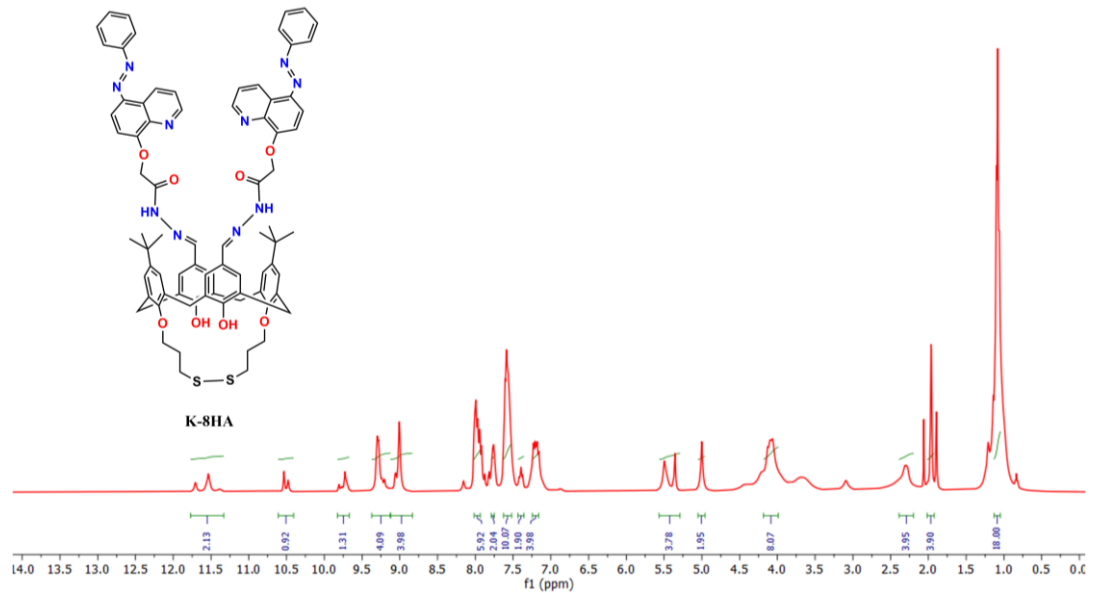


Şekil 4.14. **K-Rh** türevinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

Aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi ile **Fl-NH₂** bileşiğinin etanol-kloroform ortamındaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda Schiff bazı türevi olan kaliks[4]aren **K-Fl** türevi elde edildi ve yapısı $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.15). Floresein bileşiğine ait $-\text{OH}$ pikleri iki floresein grubunun bağlanmasından sonra 4H büyüklüğünde 9,8 ppm'de piki oluşmaktadır. **Fl-NH₂** yapısına ait $-\text{NH}_2$ grubu ile kaliks[4]aren **K-4** yapısındaki aldehit grubu ile Schiff bazı reaksiyonu sonucunda oluşan imin grubu $-\text{CHN}$ piki 9,2-8,9 ppm aralığında iki ayrı pikin toplam 2H büyüklüğünde oluştuğu görüldü. Bahsedilen bu piklerin varlığı ve toplam hesaplanan H sayısı ile teorik olarak beklenen H sayısının birbirini sağlaması ile yapı doğrulandı.



Şekil 4.15. K-Rh türevinin ¹H-NMR spektrumu

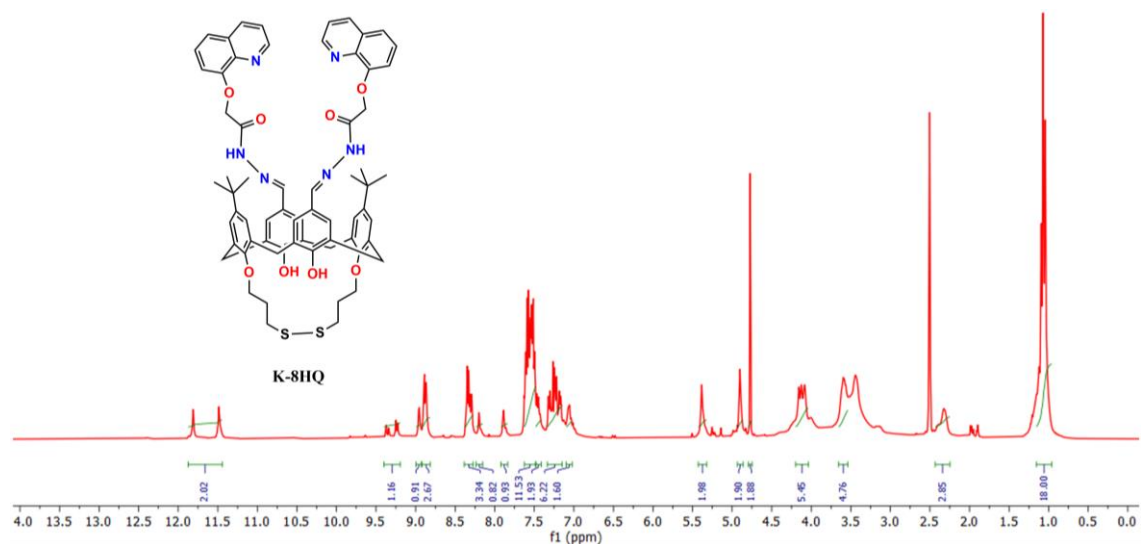


Şekil 4.16. K-8-HA türevinin ¹H-NMR spektrumu

Aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi ile **8-HA-NH₂** bileşiğinin MgSO₄ varlığında kloroform ortamındaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda amit grubu içeren kaliks[4]aren **K-8-HA** türevi elde edildi ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.16). **8-HA-NH₂** bileşiğine ait NH₂ grubu ile kaliks[4]aren **K-4** yapısındaki aldehit grubu ile Schiff bazı reaksiyonu sonucunda oluşan imin grubu CHN piki 10,5 ve 9,75 ppm civarında iki ayrı pikin toplam 2H büyüklüğünde oluştuğu görüldü. Amit grubuna ait -NH pikinin 11,5 ppm civarındaki 2H büyüklüğündeki pikin varlığı da yapıda amit grubu olduğunu kanıtladı. Bahsedilen bu piklerin varlığı ve toplam hesaplanan H sayısı ile teorik olarak beklenen H sayısının birbirini sağlaması ile yapı doğrulandı.

Aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi ile **8-HQ-NH₂** bileşiğinin etanol-kloroform ortamındaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda amit grubu içeren kaliks[4]aren **K-8-HQ** türevi elde edildi ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.17). **8-HQ-NH₂** bileşiğine ait -NH₂ grubu ile kaliks[4]aren **K-4** yapısındaki aldehit grubu ile Schiff bazı reaksiyonu sonucunda oluşan imin grubu -CHN piki 9,0 ve 9,4 ppm civarında iki ayrı pikin toplam 2H büyüklüğünde olduğu görülmektedir. Amit grubuna ait -NH pikinin 11,5-12 ppm aralığında toplam 2H büyüklüğündeki iki pikin varlığı da yapıda amit grubu olduğunu kanıtladı. Bahsedilen bu piklerin varlığı ve toplam hesaplanan H sayısı ile teorik olarak beklenen H sayısının birbirini sağlaması ile yapı doğrulandı.

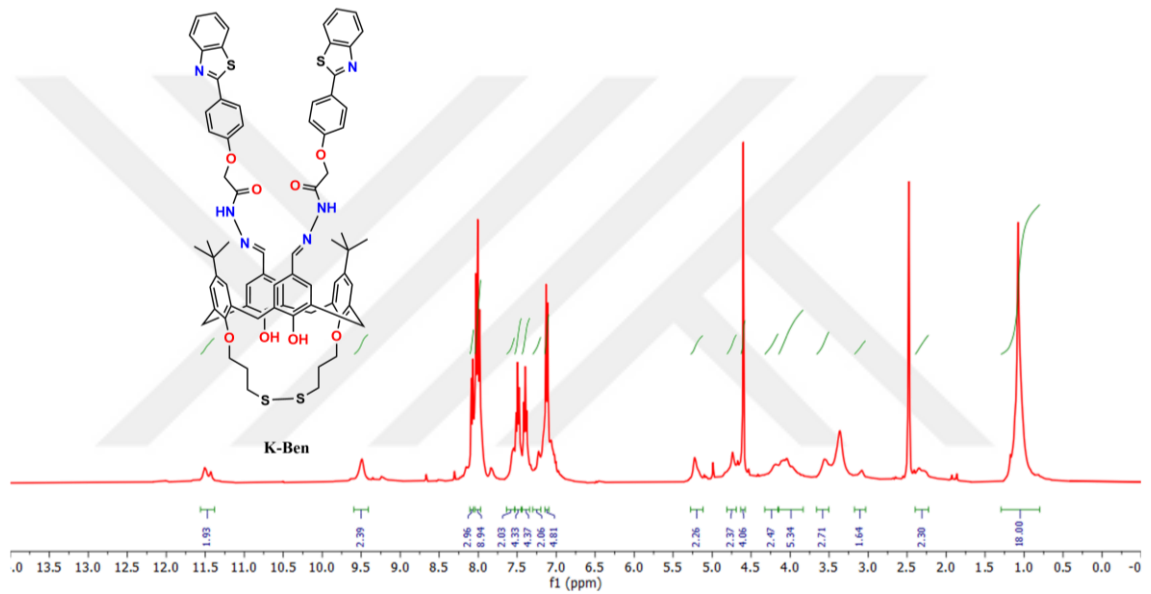
Aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi ile **Ben-NH₂** bileşiğinin etanol-kloroform ortamındaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda amit grubu içeren kaliks[4]aren **K-Ben** türevi elde edildi ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.18). **Ben-NH₂** bileşiğine ait -NH₂ grubu ile kaliks[4]aren **K-4** yapısındaki aldehit grubu ile Schiff bazı reaksiyonu sonucunda oluşan imin grubu -CHN piki 9,5 ppm civarında 2H büyüklüğünde olduğu görülmektedir. 11,5 ppm civarındaki 2H büyüklüğündeki amit grubuna ait -NH pikinin varlığı da yapıda amit grubu olduğunu kanıtladı. Bahsedilen bu piklerin varlığı ve toplam hesaplanan H sayısı ile teorik olarak beklenen H sayısının birbirini sağlaması ile yapı doğrulandı.



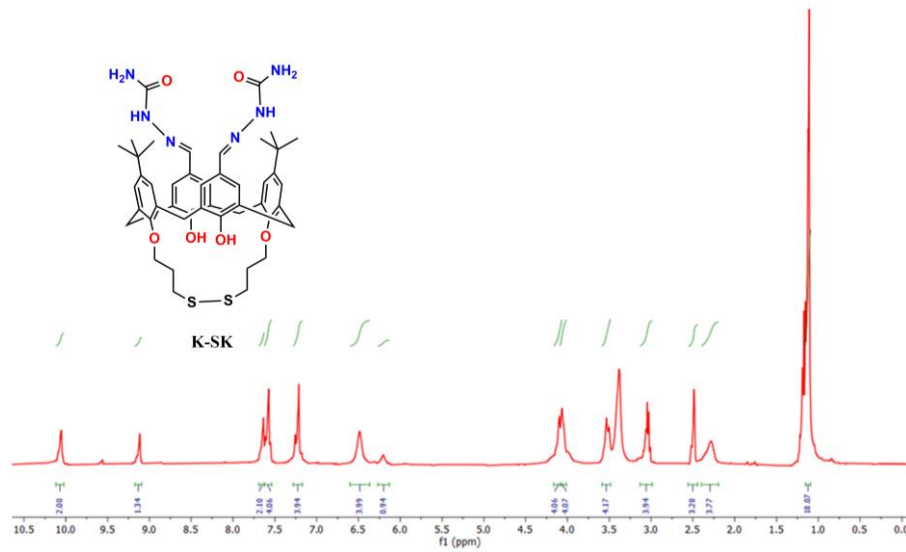
Şekil 4.17. **K-8-HQ** türevinin ¹H-NMR spektrogramu

Aldehit grubu içeren kaliks[4]aren **K-4** türevi ile **SK.HCl** bileşiğinin trietilamin varlığında etanol-kloroform ortamındaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda amit

grubu içeren kaliks[4]aren **K-SK** türevi elde edildi ve yapısı $^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile doğrulandı (Şekil 4.19). Semikarbazit yapısına ait NH_2 grubu ile kaliks[4]aren **K-4** yapısındaki aldehit grubu ile Schiff bazı reaksiyonu sonucunda oluşan imin grubu $-\text{CHN}$ piki 9,2 ve 6,7 ppm'deki iki ayrı pikin toplam 2H büyüklüğünde olduğu görülmektedir. Karbonil grubu içeren yapılarıdaki $-\text{CHN}$ piklerinin genelde molekül içi etkileşimden etkilendiği ve iki ayrı pik olarak çıktığı görüldü. Amit grubuna ait $-\text{NH}$ pikinin 10,1 ppm civarındaki 2H büyüklüğündeki pikin varlığı da yapıda amit grubu olduğunu kanıtladı. Bahsedilen bu piklerin varlığı ve toplam hesaplanan H sayısı ile teorik olarak beklenen H sayısının birbirini sağlaması ile birlikte yapı doğrulandı.



Şekil 4.18. K-Ben türevinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



Şekil 4.19. K-SK türevinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

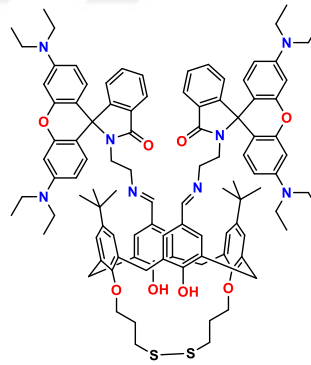
4.2. Farmasötik Bileşiklerin Kalitatif ve Kantitatif Olarak Tespit Edilmesi

Hazırlanan kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevlerinin sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirildikten sonra sulu ortamda farmasötik kirleticilerin kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilmesi için spektroskopik ve QCM çalışmalarına geçildi. Bu amaçla hazırlanan kaliks[4]aren **K-Rh**, **K-Fl**, **K-8-HA**, **K-8-HQ**, **K-Ben** ve **K-SK** türevleri kullanılarak öncelikle spektroskopik olarak optik özellikleri floresans ve UV-GB spektroskopisi yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. Sonrasında ise seçimlilik tespit edilen kaliks[4]aren türevi-farmasötik ilaç çifti kullanılarak sulu ortamda QCM sensörü sisteminde algılama çalışmaları gerçekleştirildi.

4.2.1. K-Rh türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespiti

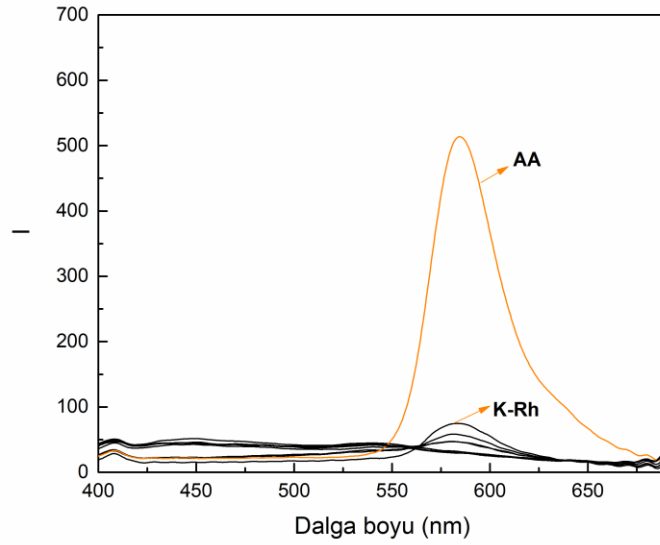
4.2.1.1. Spektroskopik ölçümler

Bu aşamada rodamin grubu içeren kaliks[4]aren **K-Rh** türevi kullanılarak farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için detayları aşağıda verilen spektroskopik çalışmalar gerçekleştirildi.



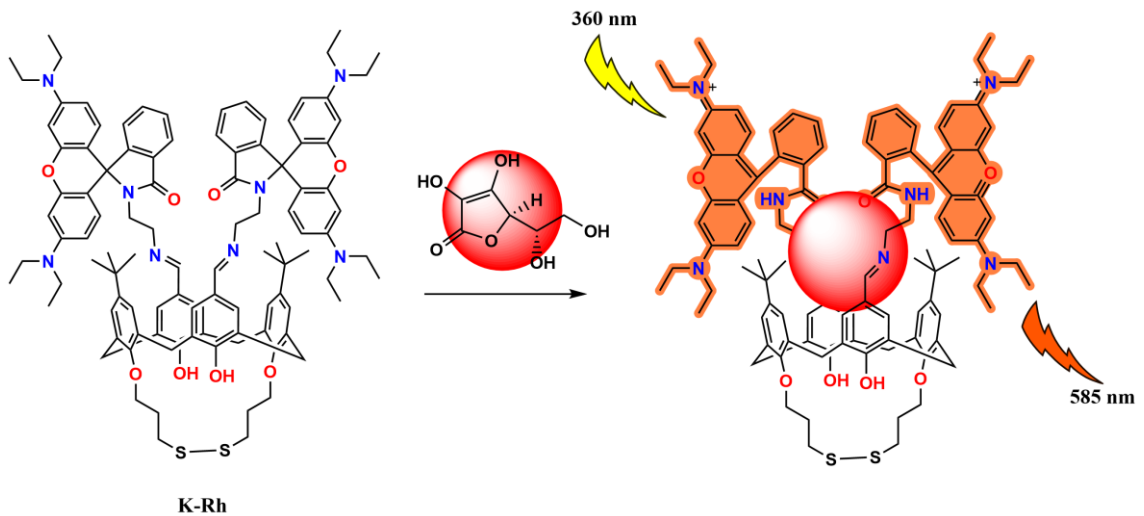
K-Rh

Etanol-su (1:2) ortamında 10 μM kaliks[4]aren **K-Rh** konsantrasyonunda farklı farmasötiklerin 10 eşmolar ilave edilmesi ile 360 nm'de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.20'de verildi. Spektrumlar incelendiğinde 360 nm'de uyarılan **K-Rh**:farmasötik bileşik kompleksleri arasından Askorbik Asit (AA) durumunda **K-Rh** yapısındaki rodamin grubuna bağlı olarak 585 nm'de şiddetli bir floresans yaptığı görüldü.



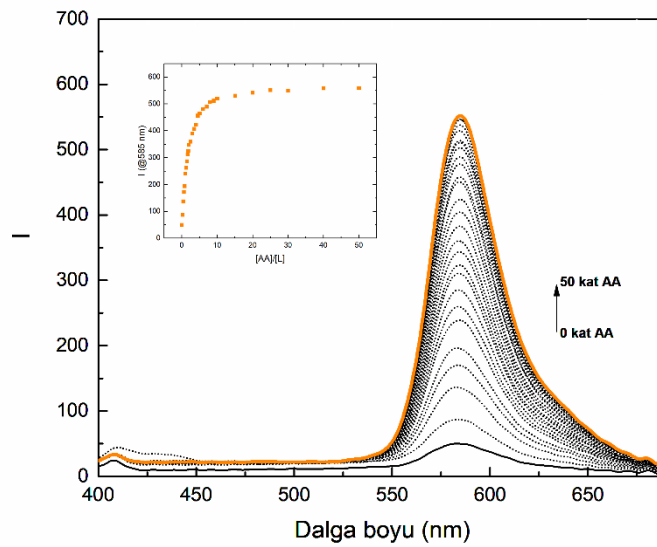
Şekil 4.20. **K-Rh** türevinin etanol-su (1/2, v/v) ortamında farklı farmasötik bileşikler ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 360$ nm, $[\mathbf{K-Rh}] = 10$ μM , $[\text{Farmasötik}] = 100$ μM)

Farklı farmasötik bileşikler arasından seçimli bir şekilde AA için emisyon özelliği gösteren kaliks[4]aren **K-Rh** türevinin AA ile kompleksleşme mekanizması reaksiyon tabanlı halka açılımı ile açıklanabilir. Spirolaktam halkasının kapalı formda olması durumunda rodamin grubunun karakteristik olan emisyonunu engellemektedir. Ancak AA ilavesinden sonra gerçekleşen etkileşimler sonucunda oluşan reaksiyonlar sonucunda halka açılımı gerçekleşmekte ve spirolaktam halkasının açılması sonucunda da yapıdaki rodamin grubunun karakteristik 585 nm'deki güçlü emisyonu ile sonuçlanmaktadır (Erdemir, 2019). Elde edilen sonuçlara göre olası kompleksleşme mekanizması Şekil 4.21'de verildi.



Şekil 4.21. **K-Rh** türevi ile AA arasındaki potansiyel kompleksleşme mekanizmasının gösterimi

Farklı farmasötik bileşikler arasından **K-Rh** türevinin seçimli ve hassas bir şekilde AA'nın tespit edilmesi üzerine ilgili parametre çalışmaları gerçekleştirildi. Öncelikle kompleksleşme oranının belirlenmesi için **K-Rh** türevinin AA titrasyon çalışması gerçekleştirildi. Etanol-su (1:2) ortamında 10 μM **K-Rh** konsantrasyonunda AA bileşiğinin 0-50 eşmolar ilave edilmesi sonucunda 360 nm'de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.22'de verildi.

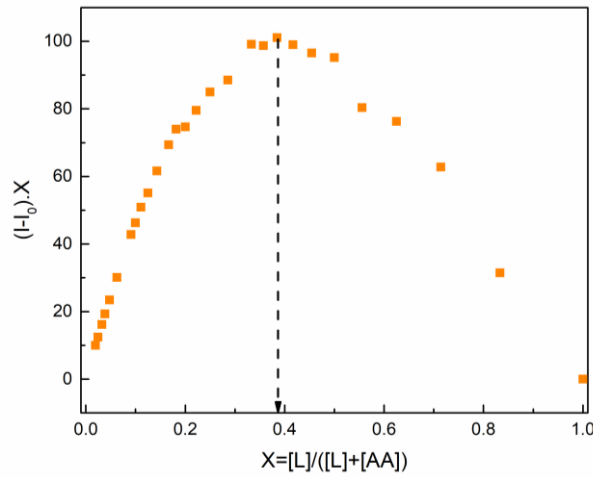


Şekil 4.22. **K-Rh** türevinin etanol-su (1/2, v/v) ortamında 0-50 eşmolar arasındaki AA ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 360$ nm, $[\text{K-Rh}] = 10$ μM)

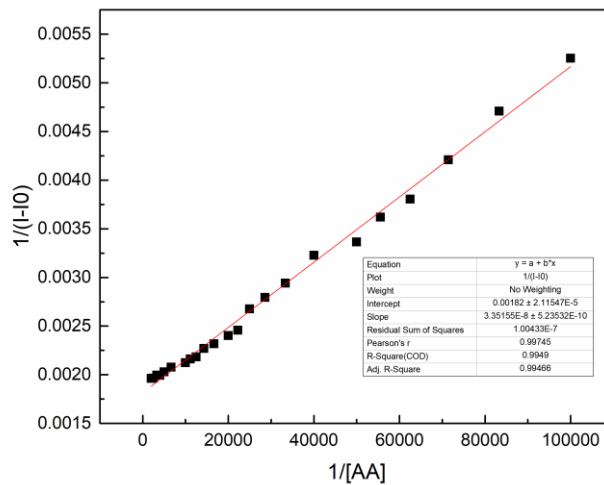
Spektrumlar incelendiğinde 10 μM **K-Rh** türevinin üzerine AA çözeltisi ilave edildikçe rodamin grubuna ait olan karakteristik 585 nm'deki pikin yükselmesi ile AA ile etkileşimi sonucunda spiro-halkasının açıldığını ve güçlü bir emisyon gerçekleştirildiğini göstermektedir. Rodamin yapısı, spiro-laktam halkasının açık ya da kapalı olmasına bağlı olarak gerçekleştirdiği emisyonu bağlıdır. Rodamin grubundaki spiro-laktam yapısı, ortamın pH değerine karşı duyarlıdır. Nötrül ya da bazik koşullar altında bu halka kapalı kalmaktadır ve rodamin yapısı emisyon özelliği göstermemektedir. Asidik koşullarda ise, ortamın asitliği arttıkça spiro-laktam halkası açılmaya başlar ve Rodamin yapısına ait karakteristik emisyon özelliği göstermesine neden olur (Lv ve ark., 2013). Şekil 4.22'de verilen titrasyon grafiğinde de ortama ilave edilen AA sayesinde, ortamın pH'sı asidik olmasından dolayı rodamin grubunun spiro-laktam halkası açılmaya başladığı ve emisyon şiddetinin arttığı görülmektedir. Çalışmada kullanılan farmasötik bileşikler incelendiğinde, AA yapısı bir birincil asittir ($pK_{a1}=4,2$; $pK_{a2}=11,6$) ve böylece çözelti

halindeyken ortamın pH'sını asidik olarak değiştirmektedir (Li ve ark., 2022). Diğer farmasötik bileşiklere göre ortamı daha çok asidik hale getirdiği için Rodamin halkasının pH duyarlı olması nedeniyle daha iyi bir etkileşim gerçekleştirdiği ve seçimli bir şekilde spektroskopik olarak tespit edildiği yorumuna varıldı.

Elde edilen titrasyon verileri kullanılarak kompleksleşme değerinin bulunması için **K-Rh** türevi üzerine AA ilavesi sonucunda 585 nm'de oluşan pikin floresans şiddet değerleri kullanılarak Job grafiği çizildi ve Şekil 4.23'te verildi. Grafiğin tepe noktasının 0,5'e yakın olması, kompleksleşmenin 1:1 oranında gerçekleştiğini göstermektedir. Bu durumda **K-Rh** Schiff bazı yapısında bulunan iki rodamin grubu ile bir AA molekülünün etkileşimi ile kompleksleşmenin gerçekleştiği sonucuna varıldı.



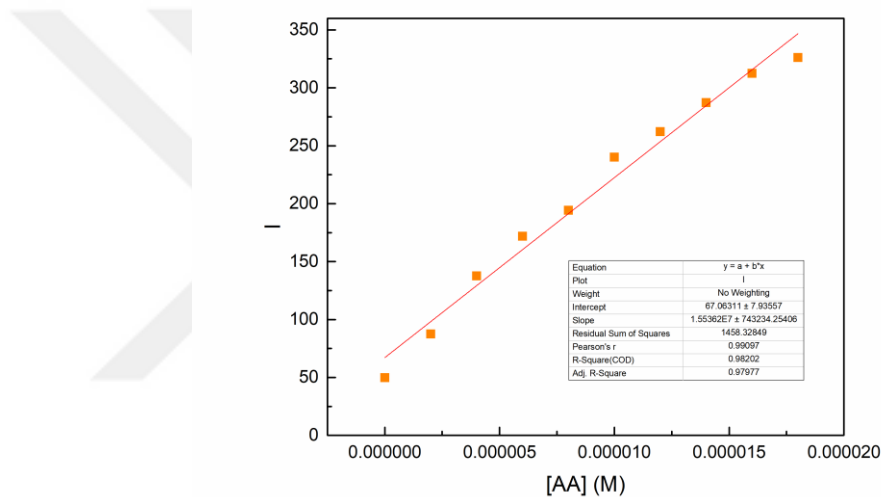
Şekil 4.23. **K-Rh** türevinin etanol-su (1/2, v/v) ortamında 0-50 eşmolar arasındaki AA ilavesi sonucunda elde edilen Job grafiği



Şekil 4.24. **K-Rh:AA** kompleksi için etanol-su (1/2, v/v) ortamında 0-50 eşmolar arasındaki AA ilavesi sonucunda elde edilen Benesi-Hildebrand grafiği

Bağlanma katsayısının belirlenmesi için **K-Rh** türevi ile AA titrasyon çalışması sonucunda elde edilen floresans şiddeti değerleri kullanılarak Benesi-Hildebrand denklemi ile bağlanma katsayısı (K) hesaplandı. Benesi-Hildebrand denklemine göre elde edilen $1/[AA]$ değerine karşılık gelen $1/(I-I_0)$ değerlerini gösteren grafik Şekil 4.24'te verildi. Bağlanma sabiti, grafiğin eğimi olarak 54160 M^{-1} ($\log K = 4,73$) olarak hesaplandı.

K-Rh türevi ile AA titrasyon çalışması sonucunda elde edilen floresans şiddeti değerleri kullanılarak LOD değeri hesaplandı. Bu amaçla ilave edilen AA sonucunda elde edilen konsantrasyon değerlerine karşı 585 nm 'de elde edilen floresans şiddeti değerleri grafiğinin lineer kısmı kullanılarak konsantrasyon grafiği çizildi ve Şekil 4.25'te verildi. Elde edilen veriler kullanılarak LOD değeri $2,59 \mu\text{M}$ olarak hesaplandı.



Şekil 4.25. **K-Rh** türevinin etanol-su (1/2, v/v) ortamında farklı konsantrasyonlardaki AA ilavesi sonucunda elde edilen floresans şiddeti değişimi ($\lambda = 360 \text{ nm}$, $[K-Rh] = 10 \mu\text{M}$)

Çizelge 4.1. Literatürdeki AA için florimetrik yöntemler ile yapılan algılama çalışmaları

Materyal	LOD	Kaynak
Azot katkılı karbon noktalar	2,6 nM	Huang ve ark.
Ni-MOF fonksiyonlu karbon noktalar	0.09 $\mu\text{g/mL}$	(Xu ve ark., 2022)
CdS kuantum noktalar	1.16 μM	(Li ve ark., 2022)
Kobalt oksohidroksit modifiyeli aminoperilendiimit	17 nM	Zhang ve ark. 2022
Azot-kükürt katkılı karbon noktalar	0.103 μM	(Meng ve ark., 2022)
Naphthalimide temelli ligand	10.3 nM	(He ve ark., 2021)
Rodamin B-PEG ₄ -N ₃ -AuNP	0.13 mM	(Lin ve ark., 2021)
3,3',5,5'-tetrametilbenzidin	0.58 μM	(Mu ve ark., 2018)
K-Rh türevi	2.59 μM	Bu çalışma

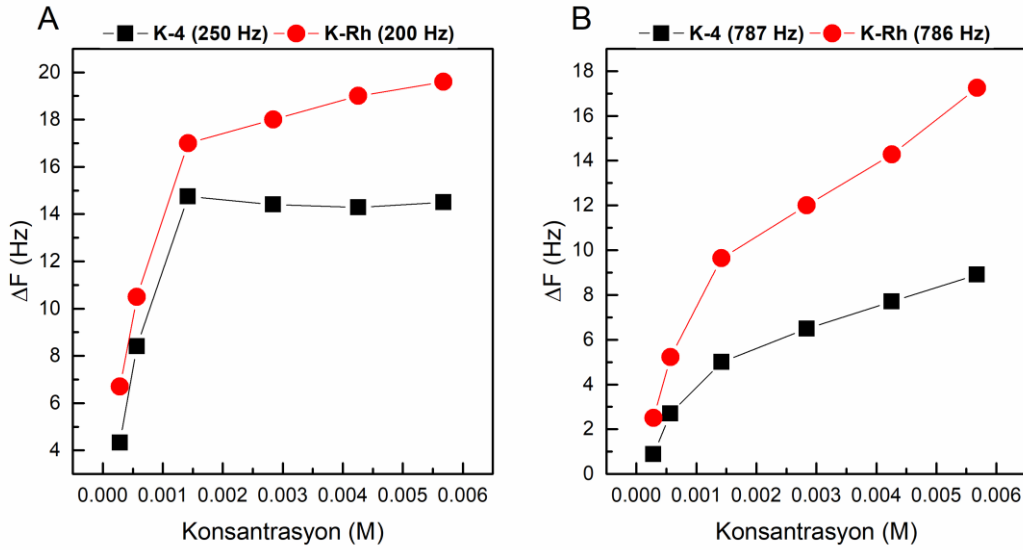
Literatürde AA tespiti için birçok yöntem ve malzeme kullanılmaktadır ve bu çalışmalardan bazıları Çizelge 4.1’de verildi. Literatür incelendiğinde, AA’nın spektroskopik olarak tespiti için genelde karbon nokta temelli ya da metal organik kafes (Metal Organic Framework, MOF) sensörler ile çalışmalar gerçekleştirildiği, organik yapıların daha az kullanıldığı görülmektedir. Söz konusu çalışmalarda LOD değerlerinin çok daha küçük olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında, hazırlanan **K-Rh** türevinin LOD değerinin 2,59 μM seviyesinde olması çalışmanın literatüre yenilikler katabileceğini göstermektedir.

4.2.1.2. QCM algılama çalışmaları

Bu çalışmada, hazırlanan rodamin grubu içeren **K-Rh** türevinin spektroskopik olarak farklı farmasötik bileşikler arasından AA’ya karşı seçimli ve hassas sensör özelliği göstermesi üzerine QCM sensör sistemi kullanılarak sulu ortamda algılama özellikleri de incelendi. Bunun için öncelikle QCM elektrodu üzerine çözeltide bekletme yöntemi ile aldehit grubu içeren **K-4** türevi ve rodamin grubu içeren **K-Rh** türevi ile ince filmleri benzer frekans değişimi değerine (film kalınlığı) sahip olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan ince film QCM elektrotları, sıvı temaslı sensör sisteminde sulu ortamda 50-1000 ppm konsantrasyon aralığındaki AA çözeltilerinin **K-Rh** kaplı QCM sisteminde adsorpsiyon ve desorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilerek algılama özellikleri belirlendi.

Hem fonksiyonel grubun etkisini görmek, hem de kaplama kalınlığının etkisini görmek amacıyla **K-4** ve **K-Rh** türevlerinin çözeltide bekletme yöntemi ile QCM elektrotları üzerinde sırasıyla 200 Hz ve 780 Hz civarındaki ince film tabakaları oluşturuldu ve sulu ortamda farklı konsantrasyonlardaki AA çözeltilerine karşı algılama özellikleri incelendi. Hazırlanan **K-4** ve **K-Rh** kaplı QCM sensörlerin farklı konsantrasyon değerlerindeki AA çözeltilerine karşı elde edilen frekans değişimi grafiği Şekil 4.26’da verildi. Elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında; rodamin grubu içeren **K-Rh** türevinin, aldehit grubu içeren **K-4** türevine göre daha iyi algılama özelliği gösterdiği, her iki kaplama kalınlığında da belirgin bir şekilde görüldü. Bu sonuç, AA algılama özelliklerinin artmasının fonksiyonel grup sayesinde gerçekleştiğine işaret etmektedir. Spektroskopik ölçümlerde görüldüğü gibi **K-Rh** türevinin seçimli bir şekilde AA ile kompleks oluşturması da QCM sonuçlarını doğrulamaktadır. Kaliks[4]aren türevlerinin farklı kaplama kalınlıkları açısından incelendiğinde, Şekil 4.26A’da verilen düşük kaplama kalınlığındaki kaliks[4]aren türevlerinin, Şekil 4.26B’de verilen yüksek kaplama

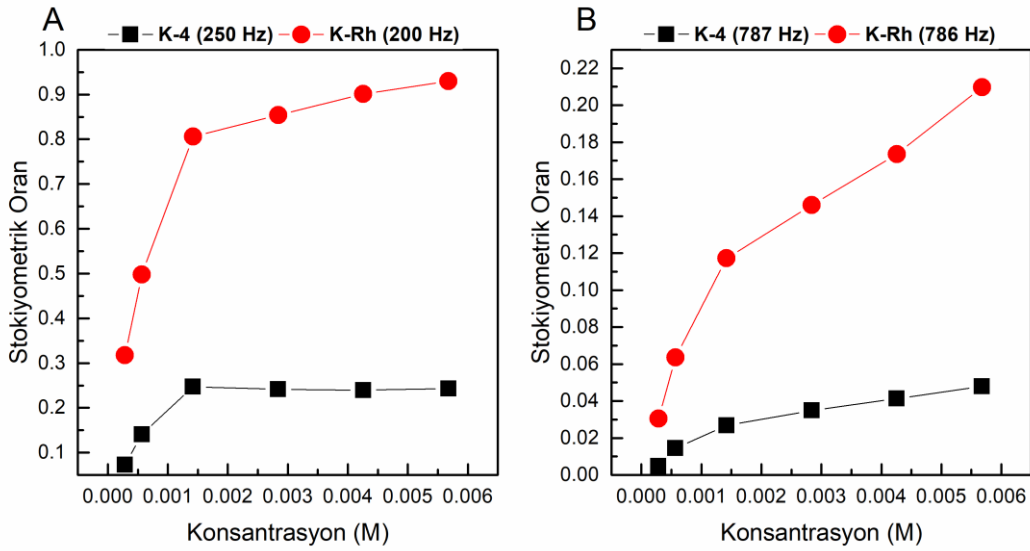
kalınlığındaki kaliks[4]aren türevleri ile karşılaştırıldığında frekans değişimlerinin daha yüksek elde edildiği, ancak konsantrasyon açısından incelendiğinde ise lineerliğin azaldığı ve dengenin daha düşük konsantrasyon değerinde gerçekleştiği görülmektedir.



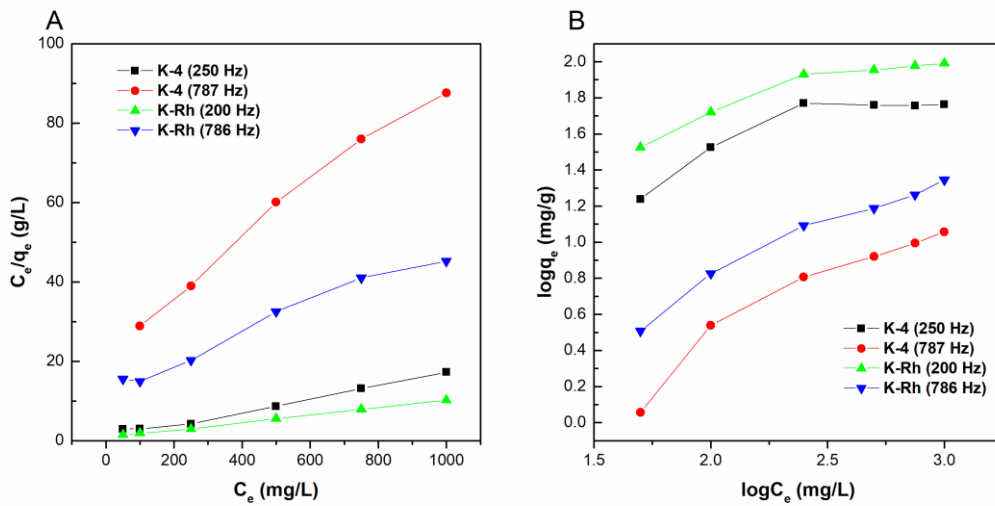
Şekil 4.26. (A) Düşük kaplama kalınlığına sahip ve (B) yüksek kaplama kalınlığına sahip kaliks[4]aren **K-4** ve **K-Rh** türevlerinin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki frekans değişimi grafiği

K-4 ve **K-Rh** türevleri kullanılarak ile hazırlanan QCM sensörlerin farklı konsantrasyon değerlerinde elde edilen frekans değişimleri sonuçlarını daha iyi değerlendirebilmek için frekans değişimleri birimsiz bir ifade olan Stokiyometrik Oran (SO) değerlerine dönüştürüldü. SO, bir mol algılayıcı malzemenin, kaç mol analiti tuttuğunu gösteren birimsiz bir ifadedir. Farklı kaplama kalınlıklarının olması durumunda, SO değerleri kullanılarak sonuçlar daha iyi değerlendirilebilmektedir. Hazırlanan **K-4** ve **K-Rh** kaplı QCM sensörlerin farklı konsantrasyon değerlerindeki AA çözeltilerine karşı elde edilen stokiyometrik oran değerleri grafiği Şekil 4.27’de verildi. Elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında; rodamin grubu içeren **K-Rh** türevinin, aldehit grubu içeren **K-4** türevine göre daha iyi SO değerlerine sahip olduğu, her iki kaplama kalınlığında da belirgin bir şekilde görülmektedir. Bu sonuç, AA algılama özelliklerinin artmasının fonksiyonel grup sayesinde olduğunu doğrulamaktadır. Spektroskopik ölçümlerde görüldüğü gibi **K-Rh** türevinin seçimli bir şekilde AA ile 1:1 kompleks oluşturması ile 200 Hz kaplama kalınlığına sahip **K-Rh** türevi kaplı QCM sensörün yüksek konsantrasyon değerlerindeki SO değerlerinin neredeyse 1’e yakın olması, QCM ortamında da kompleksleşmenin 1:1 olduğuna işaret etmektedir. Hem spektroskopik yöntemin hem de QCM yönteminin bu noktada birbirini doğruladığı görülmektedir. Ancak, kaplama kalınlığının artmasından dolayı **K-Rh** türevinin SO değeri de giderek

düşmektedir. Bunun başlıca sebebinin, yüzeyde bulunan **K-Rh** türevi miktarının fazla olması ve kaplama gerçekleşirken **K-Rh** moleküllerinin üst üste gelerek çoklu tabaka oluşturması nedeniyle algılayıcı bölgelerin kapanması olarak değerlendirildi. İki farklı kaplama kalınlığı karşılaştırıldığında, düşük kaplama kalınlığına sahip olan ince film tabakasındaki algılayıcı bölgenin, yüksek kaplama kalınlığına sahip olan ince film tabakasına göre daha fazla olması nedeniyle algılaması da oldukça yüksektir. Ancak, kaplama miktarının az olması durumu da sensörün daha hızlı bir şekilde sabitlemesine sebep olmaktadır. Başka bir deyişle algılama kapasitesi sınırlı kalmaktadır.



Şekil 4.27. (A) Düşük kaplama kalınlığına sahip ve (B) yüksek kaplama kalınlığına sahip kaliks[4]aren **K-4** ve **K-Rh** türevlerinin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki SO değerleri grafiği



Şekil 4.28. **K-4** ve **K-Rh** türevleri kaplı QCM sensörlerin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki (A) Langmuir ve (B) Freundlich adsorpsiyon izotermeleri

QCM sisteminin temeli, analitin algılayıcı malzeme tarafından tutulması sonucundaki kütle değişimi temeline dayanmaktadır. Buradaki algılayıcı malzemenin analiti tutma süreci ise adsorpsiyon temelli olmaktadır. Bu nedenle, QCM sensöründeki algılama özellikleri incelenirken adsorpsiyonun nasıl gerçekleştiğini adsorpsiyon izotermi ile açıklanabilir. QCM sistemindeki Langmuir ve Freundlich izotermi literatürdeki (Temel ve ark., 2019b) hesaplama yöntemleri kullanılarak hesaplandı. Kaliks[4]aren türevleri ile kaplı QCM sensörün farklı konsantrasyon değerlerindeki AA çözeltilisine karşı elde edilen frekans değişimi değerleri kullanılarak Langmuir ve Freundlich izotermi değerleri hesaplandı, ilgili izotermi Şekil 4.28’de ve adsorpsiyon izotermi parametreleri Çizelge 4.2’de verildi.

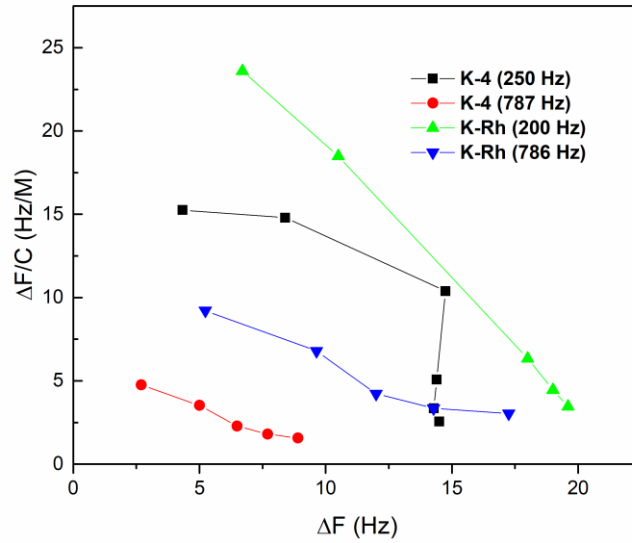
Hazırlanan tüm kaliks[4]aren **K-4** ve **K-Rh** türevleri ile kaplı QCM sensörlerin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki adsorpsiyon izotermi incelendiğinde, adsorpsiyon izotermi açısından Langmuir izotermine daha uygun olduğu görülmektedir. Algılama mekanizması, tüm adsorpsiyon sürecinin kuvvetli kimyasal etkileşimler sonucunda düzgün bir yüzeyde tek tabakada oluştuğunu göstermektedir. Adsorpsiyon kapasitesi açısından incelendiğinde ise düşük kaplama kalınlığına sahip kaliks[4]aren türevleri ile kaplı QCM sensörlerin daha iyi kapasiteye sahip olduğu görülmektedir. Kaliks[4]aren türevleri açısından incelendiğinde ise, rodamin grubu içeren kaliks[4]aren **K-Rh** türevi ile kaplı QCM sensörün **K-4**’e göre adsorpsiyon kapasitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. **K-Rh** türevi ile kaplı QCM sensörün AA algılama prosesi için Langmuir ve Freundlich izotermi parametreleri

		K-4 (250 Hz)	K-4 (787Hz)	K-Rh (200 Hz)	K-Rh (786 Hz)
Langmuir	R²	0,989	0,898	0,998	0,977
	q₀ (mg/g)	63,90	23,51	107,73	24,28
	R_L	0,075	0,319	0,088	0,240
	b (L/mmol)	2,153	0,501	1,819	0,558
Freundlich	R²	0,789	0,923	0,901	0,963
	K_F (mg/g)	5,23	0,10	10,10	0,37
	n	3,897	1,418	2,881	1,660

Denge durumundaki bağlanma sabitinin hesaplanması için hazırlanan kaliks[4]aren türevleri ile kaplı QCM sensörün farklı AA konsantrasyonunda elde edilen frekans değişimi verilerinden Scatchard denge izotermi çizildi (Ozcelik ve ark., 2019).

Elde edilen Scatchard denge izoterm Şekil 4.29’da ve izoterm parametreleri Çizelge 4.3’te verildi.



Şekil 4.29. K-4 ve K-Rh türevi kaplı QCM sensörlerin farklı AA konsantrasyon değerlerindeki Scatchard denge izotermi

Çizelge 4.3. K-Rh türevi ile kaplı QCM sensörün AA algılama prosesi için Scatchard denge izotermi parametreleri

	K-4 (250 Hz)	K-4 (787Hz)	K-Rh (200 Hz)	K-Rh (786 Hz)
R^2	0.692	0.970	0.999	0.928
ΔF_{max} (Hz)	19.7	11.3	21.9	21.3
K_D (mM)	0.926	1.838	0.634	1.807
K_A (1/mM)	1.08	0.544	1.576	0.553

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde K-4 türevinin 250 Hz’lik kaplama kalınlığına sahip olan QCM sensörün lineerliğinin kötü olduğu, ancak diğerlerinin çok daha lineerliğe sahip olduğu görülmektedir. Maksimum frekans değişimi değerleri incelendiğinde ise rodamin grubu içeren K-Rh türevi ile kaplı QCM sensörlerin daha yüksek frekans değişime sahip olabileceği görülmektedir. Deneysel frekans değişimi değerleri ile karşılaştırıldığında ise, teorik olarak hesaplanan maksimum frekans değişimi değerlerine yaklaştığını, böylece de adsorpsiyon kapasitesinin de tamamlandığı düşünülmektedir. Bağlanma sabiti açısından incelendiğinde, en yüksek bağlanma sabitine sahip olan QCM sensörlerinin düşük kaplama kalınlığına sahip olanlar olduğu görülmektedir. Bu da daha öncesinde Langmuir izotermi ile karşılaştırıldığında sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Kaliks[4]aren türevleri açısından

incelendiğinde, en yüksek bağlanma sabitine sahip olan türevin rodamin grubu içeren **K-Rh** türevi olduğu görülmektedir.

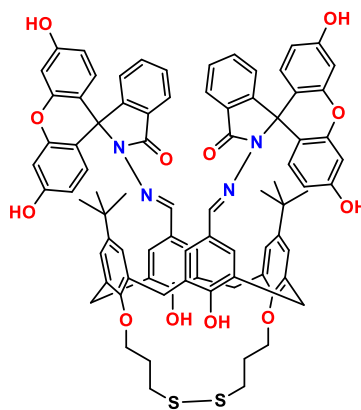
4.2.1.3. Spektroskopik yöntemler ile QCM yönteminin karşılaştırılması

Hazırlanan rodamin grubu içeren **K-Rh** türevi ile AA bileşiğine karşı gerçekleştirilen spektroskopik ve QCM yöntemleri karşılaştırıldığında, elde edilen sonuçların birbirini destekler durumda olduğu görülmektedir. İki metodun karşılaştırılması yapıldığında ise spektroskopik yöntemler ile μM seviyesindeki konsantrasyon değerlerinde çalışılabilirken, QCM yönteminde ise çalışma aralığı mM seviyesinde gerçekleşmektedir. Ancak elde edilen sonuçlara göre kompleksleşme değeri ve mekanizmalarının aynı olması nedeniyle floresans yöntemi ve QCM yöntemi birbirini doğrular seviyede sonuç vermektedir.

4.2.2. K-FI türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi

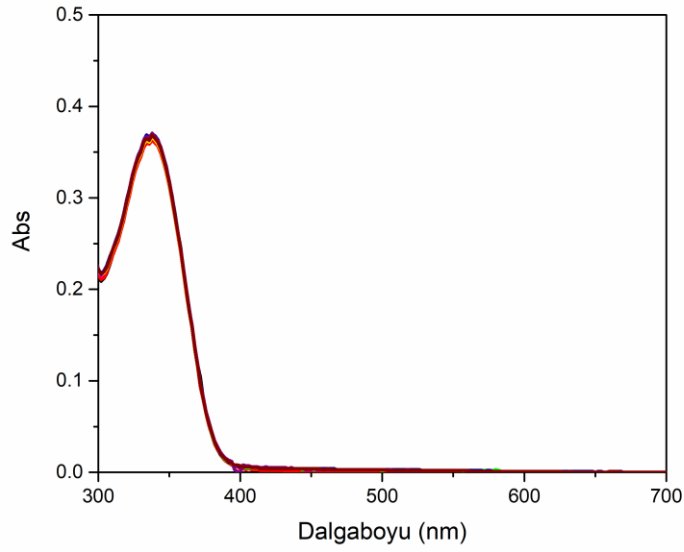
4.2.2.1. Spektroskopik ölçümler

Bu aşamada Floresein grubu içeren kaliks[4]aren **K-FI** türevi kullanılarak farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için detayları aşağıda verilen spektroskopik çalışmalar gerçekleştirildi.

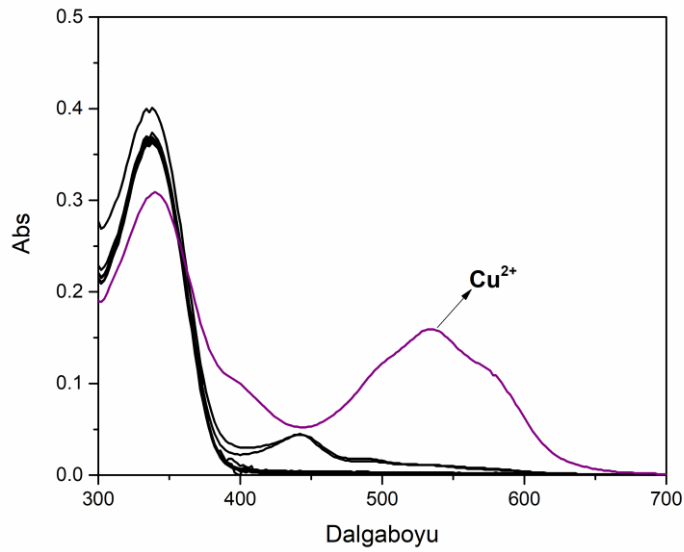


K-FI

Asetonitril-su (9:1) ortamında $10 \mu\text{M}$ kaliks[4]aren **K-FI** konsantrasyonunda farklı farmasötiklerin 2 eşmolar olacak şekilde ilavesi sonucunda elde edilen UV-GB spektrumları Şekil 4.30'da verildi.



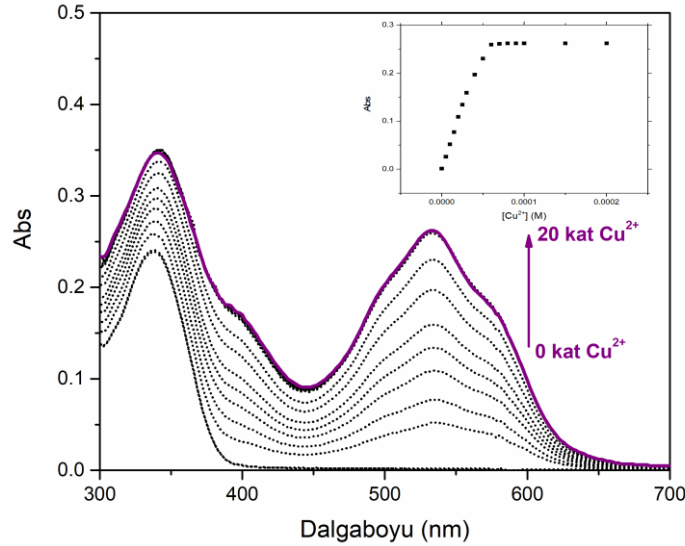
Şekil 4.30. **K-FI** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında farklı farmasötik bileşikler ile etkileşimi sonucunda elde edilen UV spektrumları ($[K-FI] = 10 \mu M$, $[Farmasötik] = 20 \mu M$)



Şekil 4.31. **K-FI** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında farklı katyonlar ile etkileşimi sonucunda elde edilen UV spektrumları

Spektrumlara bakıldığında **K-FI** türevinin çalışılan farmasötiklere karşı doğrudan kayda değer bir etkisinin olmadığı görüldü. İkinci bir yöntem olarak **K-FI** türevinin farklı katyonlara karşı spektroskopik ölçümleri UV-GB ve floresans spektrofotometreleri ile gerçekleştirildi. Floresans ölçümleri asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında $10 \mu M$ **K-FI** konsantrasyonunda farklı katyonların 2 eşmolar ilave edilmesi ile gerçekleştirildi ve floresans şiddeti değerlerinde kayda değer bir değişim olmadığı görüldü. Bu kez aynı şartlarda çözeltilerin kolorimetrik olarak değişimleri de incelendi ve elde edilen UV-GB

spektrumları Şekil 4.31’de verildi. Buna göre, diğerlerinden farklı olarak **K-FI** türevi üzerine 2 eşmolar Cu^{2+} iyonu ilavesi durumunda seçimli ve spesifik olarak 535 nm’de şiddetli bir absorpsiyon maksimumunun olduğu görüldü.

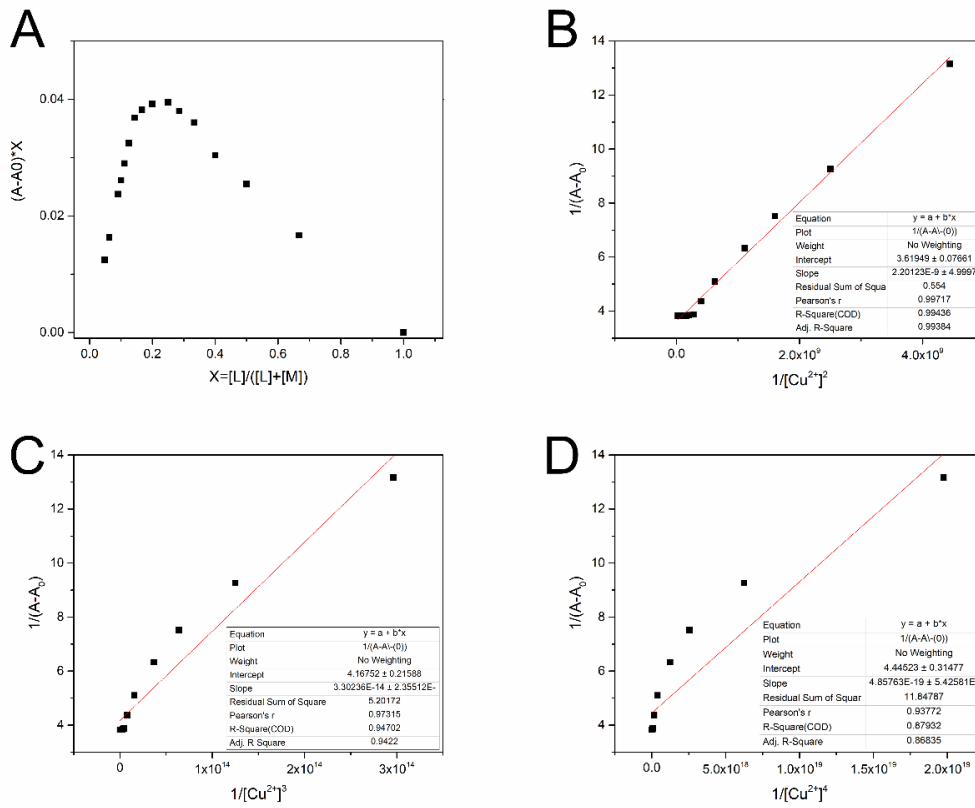


Şekil 4.32. **K-FI** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar Cu^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen UV spektrumları ($[\text{K-FI}] = 10 \mu\text{M}$)

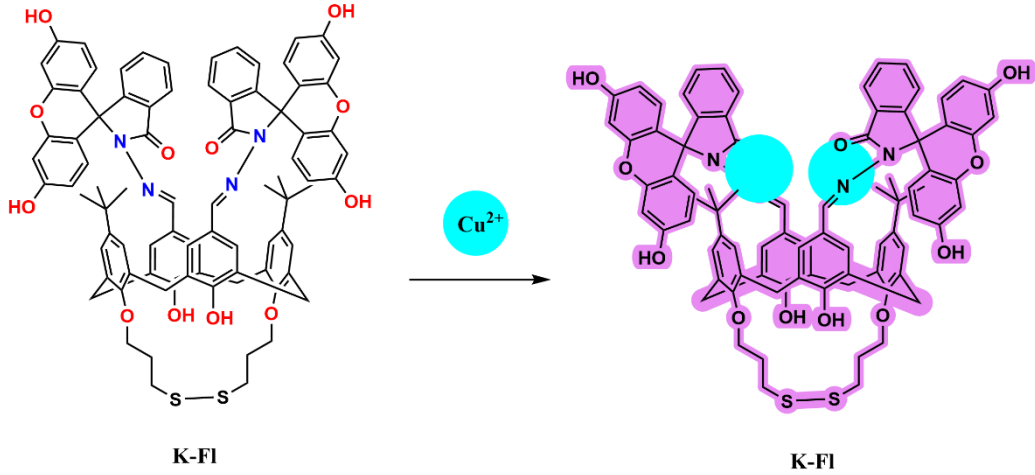
Floresin grubu içeren floresans sensörlerin renksiz, floresans özellik göstermeden spirohalkalı formda olduğu bilinmektedir. Belirli bir katyon ilave edildiğinde, floresin grubu içeren floresans sensörlerin, katyon ile kompleksleşmesi sonucunda spiroolaktam halkasının açılması sonucunda, kolorimetrik ya da florimetrik olarak sensör özelliği gösterdiği bilinmektedir (Erdemir ve Tabakci, 2017). Ancak literatürde, az da olsa spiroolaktam halkasının açılmadan da kompleks yapabildiğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin, Zhang ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, floresin tabanlı bir ligand hazırlamışlar ve farklı katyonlara karşı spektroskopik özelliklerini incelemişlerdir. Elde ettikleri veriler sonucunda floresans özellik göstermeden ve spiroolaktam halkasının açılmadan üzerinde bulunan karbonil ve hidrazin yapısının Cu^{2+} iyonu ile etkileşimi sonucunda benzer sonuçlar elde ettiklerini çalışmalarında belirtmişlerdir (Zhang ve Zhang, 2014). Dolayısıyla aynı mekanizmanın, bu çalışmada da geçerli olduğu düşünülmektedir. Bu düşüncüyü desteklemek amacıyla floresans özellik göstermeyen, ancak kolorimetrik olarak değişim gösteren bu çalışmayı daha da detaylı incelemek için Cu^{2+} titrasyonu çalışması gerçekleştirildi ve sonuçlar Şekil 4.32’de verildi. Elde edilen sonuçlara göre 20 eşmolara kadar Cu^{2+} iyonu ilave

edildiğinde, 4 eşmolar ilaveden sonra absorbans değerinde kayda değer bir değişiklik olmadıği görüldü.

Hazırlanan **K-Fl** türevinin Cu^{2+} iyonu ile kolorimetrik olarak titrasyon çalışması sonuçları üzerinden Job grafiği (Şekil 4.33A) çizilerek kompleksleşme değerleri belirlenmeye çalışıldı. Ancak elde edilen grafiğin tepe noktasının 0,2-0,25 civarlarında olması, **K-Fl** türevinin tam olarak kompleksleşme oranı hakkında net bir bilgi vermedi. Bu nedenle Benesi Hildebrand denklemi kullanılarak farklı kompleks değerlerindeki grafikler çizilerek lineerlik değerleri kontrol edildi ve bu grafikler Şekil 4.33B, Şekil 4.33C ve Şekil 4.33D'de verildi. Tepe noktasının birbirine çok yakın olması nedeniyle, kompleksleşme oranının 1:2, 1:3 ya da 1:4 olması durumunu daha iyi anlayabilmek için farklı kompleksleşme değerlerinde Benesi Hildebrand grafikleri çizildi. Elde edilen regresyon grafikleri incelendiğinde en iyi değer (R²= 0,994) 1:2 kompleksleşme durumunda elde edildiği görüldü. Buna göre potansiyel kompleksleşme mekanizmasının Şekil 4.34'te verildiği gibi olduğu şeklinde değerlendirildi. Genel olarak değerlendirildiğinde ise, **K-Fl** türevinin Cu^{2+} iyonu ile yaptığı kompleksin kararlılığının zayıf olduğu yorumuna varıldı.

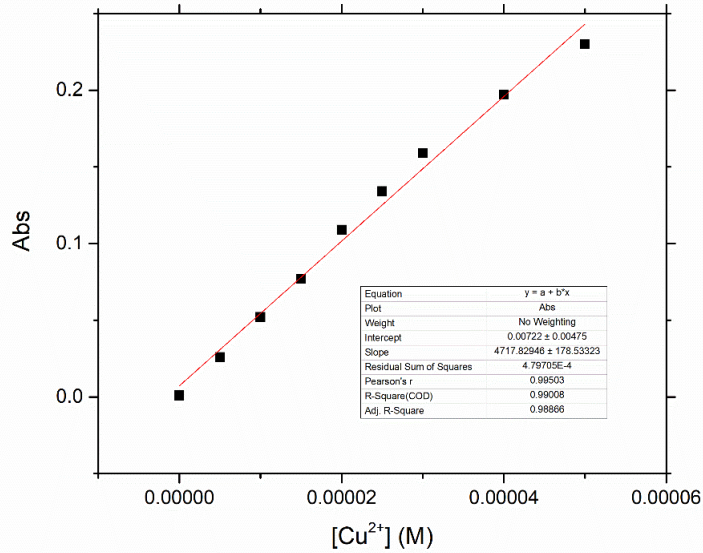


Şekil 4.33. **K-Fl** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar arasındaki Cu^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen (A) Job grafiği, (B) 1:2 kompleksleşme durumunda elde edilen Benesi Hildebrand grafiği, (C) 1:3 kompleksleşme durumunda elde edilen Benesi Hildebrand grafiği ve (D) 1:4 kompleksleşme durumunda elde edilen Benesi Hildebrand grafiği



Şekil 4.34. **K-FI** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında Cu^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen olası kompleksleşme mekanizması

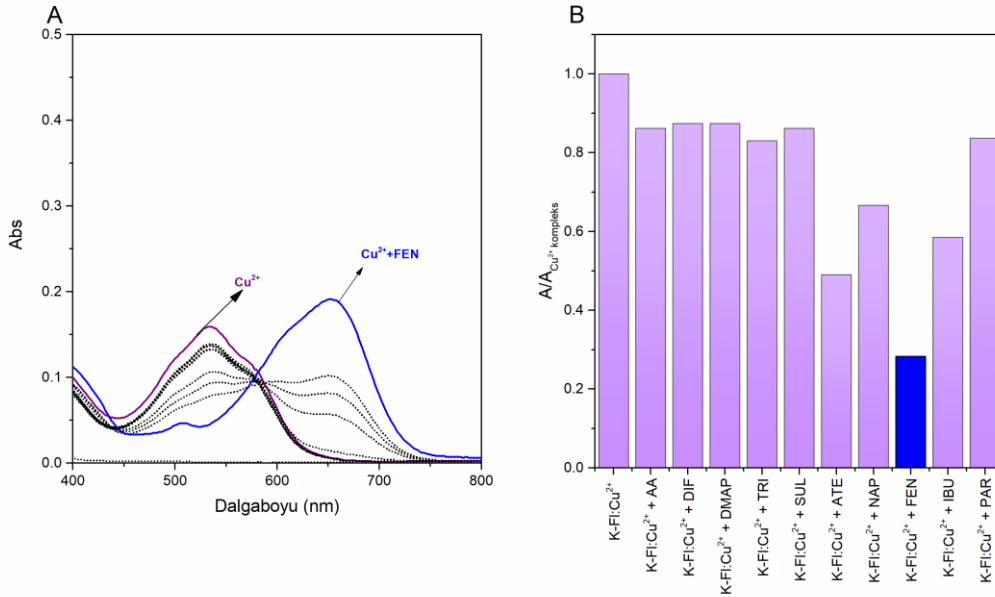
K-FI türevinin ile Cu^{2+} titrasyon çalışması sonucunda elde edilen floresans şiddeti değerleri kullanılarak LOD değeri hesaplandı. Cu^{2+} konsantrasyon değerlerine karşı 535 nm’de elde edilen absorban değerlerinin grafiğinin lineer kısmı kullanılarak çizilen grafik Şekil 4.36’da verildi. Elde edilen veriler kullanılarak LOD değeri 5,2 μM olarak hesaplandı.



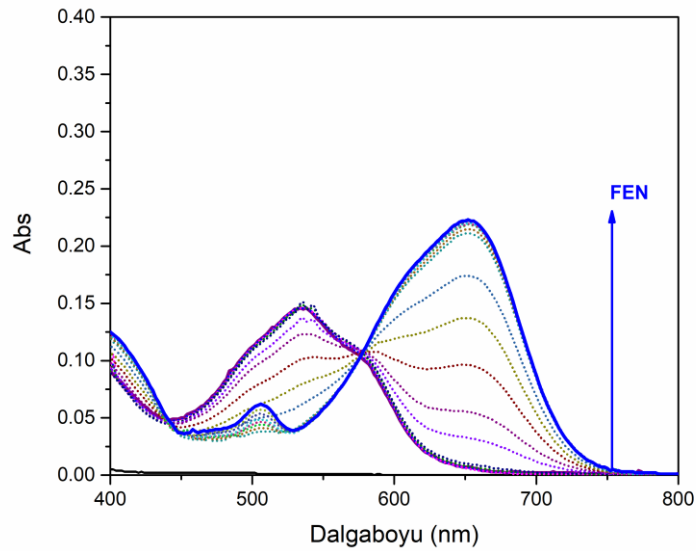
Şekil 4.35. **K-FI** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar arasındaki Cu^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen konsantrasyona karşı absorban grafiği

Hazırlanan **K-FI** türevinin farklı katyonlar arasından Cu^{2+} için seçimli ve hassas sensör olduğu belirlendikten sonra parametre çalışmaları gerçekleştirildi. Farklı farmasötiğe karşı olan spektroskopik özelliklerinin incelenmesi için **K-FI** türevinin

Cu^{2+} iyonu ile kompleksinin üzerine 2 eşmolar olacak şekilde farklı farmasötik bileşikler ilave edildi ve elde edilen UV-GB spektrumları Şekil 4.37A'da verildi.



Şekil 4.36. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 3 eşmolar Cu^{2+} ilavesi ve 6 eşmolar farklı farmasötik bileşik ilavesi sonucunda elde edilen (a) UV-GB spektrumları (b) absorbans değişim grafiği

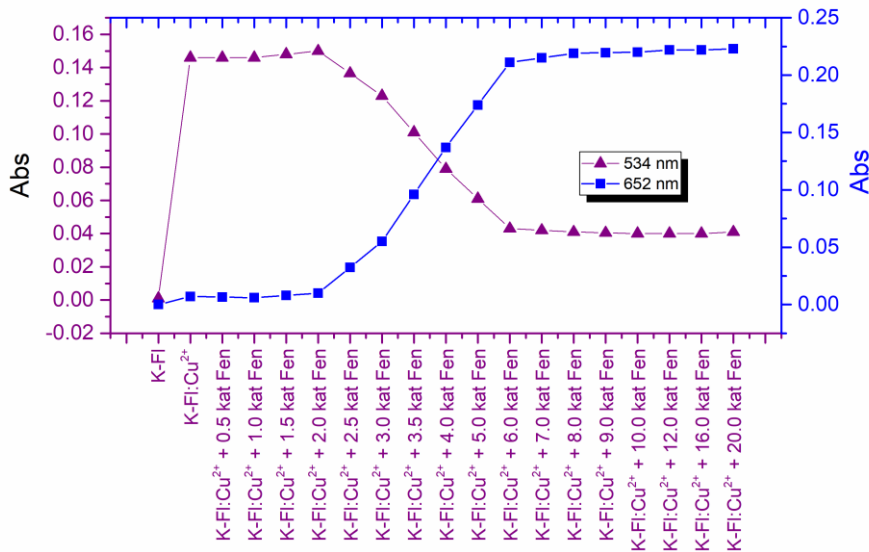


Şekil 4.37. K-FI türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 3 eşmolar Cu^{2+} ilavesi sonrasında 0-20 eşmolar FEN ilavesi sonucunda elde edilen UV-GB titrasyon spektrumları

Farklı farmasötik bileşiklerin **K-FI:Cu²⁺** kompleksi üzerine ilavesi sonucunda elde edilen UV-GB spektrumları incelendiğinde farmasötiklerin ilavesi sonrasındaki absorbans değerlerindeki değişim grafiği Şekil 4.37.B'de verildi. Değişimler

incelendiğinde ilaçların ilavesi ile oluşan **K-FI:Cu²⁺** kompleksin spektrumunun 652 nm’de yeni bir absorpsiyon maksimumu oluşturacak şekilde kolorimetrik olarak değişim gösterdiği görüldü. Tüm farmasötik bileşiklerin komplekse göre absorbans oranları olan A/A_{kompleks} değerleri karşılaştırıldığında en büyük absorbans değişiminin FEN bileşiği için elde edildiği görüldü. Bunun üzerine daha detaylı bilgi edinmek için **K-FI:Cu²⁺** kompleksi üzerine FEN ilave edilerek titrasyon çalışmaları gerçekleştirildi. Elde edilen UV-GB titrasyon spektrumları Şekil 4.38’de verildi.

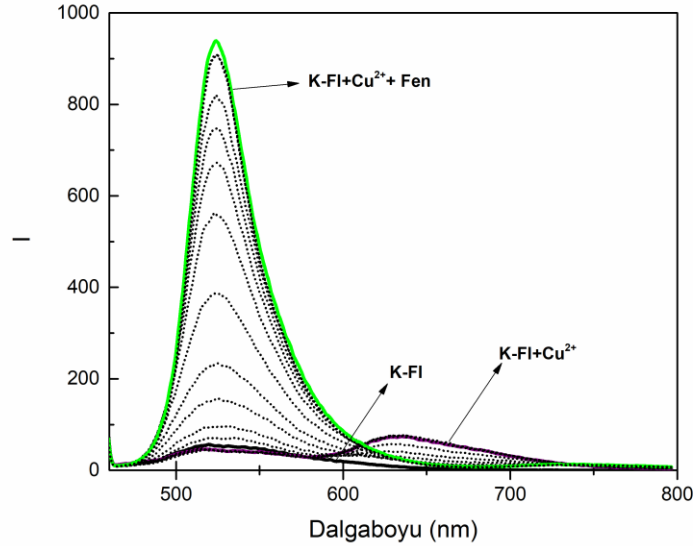
Hazırlanan **K-FI:Cu²⁺** kompleksinin üzerine 0-20 eşmolar aralığında FEN ilave edildikten sonra elde edilen UV-GB spektrumundaki absorbans değişimi incelendiğinde, Cu²⁺ kompleksleşmesi sonucunda 534 nm’de oluşan maksimum absorpsiyon pikinin FEN ilave edildikçe zamanla kaybolduğu ve 652 nm’de yeni bir maksimum absorpsiyon pikinin oluştuğu görüldü. UV-GB spektrumundaki 534 nm ve 652 nm’deki absorbans değişimleri Şekil 4.39’da verildi.



Şekil 4.38. K-FI türevinin Asetonitril-Su (9/1, v/v) ortamında 3 eşmolar Cu²⁺ ilavesi sonrasında 0-20 eşmolar FEN ilavesi sonucunda elde edilen 534 nm ve 652 nm’deki absorbans değişim grafiği

Absorbans değerleri incelendiğinde 3 eşmolar Cu²⁺ ilave edildikten sonra üzerine yaklaşık 4 eşmolar FEN ilavesinde absorbans değerlerinin eşitlendiği, 6 eşmolar FEN ilave edildiğindeki absorpsiyon farkının maksimuma ulaştığı görülmektedir. Şekil 4.37’de verilen UV-GB spektrumları yeniden incelendiğinde, 6-20 eşmolar aralığında FEN ilavesi gerçekleştirildiğinde 510 nm’de yeni bir maksimum absorpsiyon pikinin oluştuğu görüldü. Bu durum FEN ilavesi sonucunda kolorimetrik olarak bir değişiklik

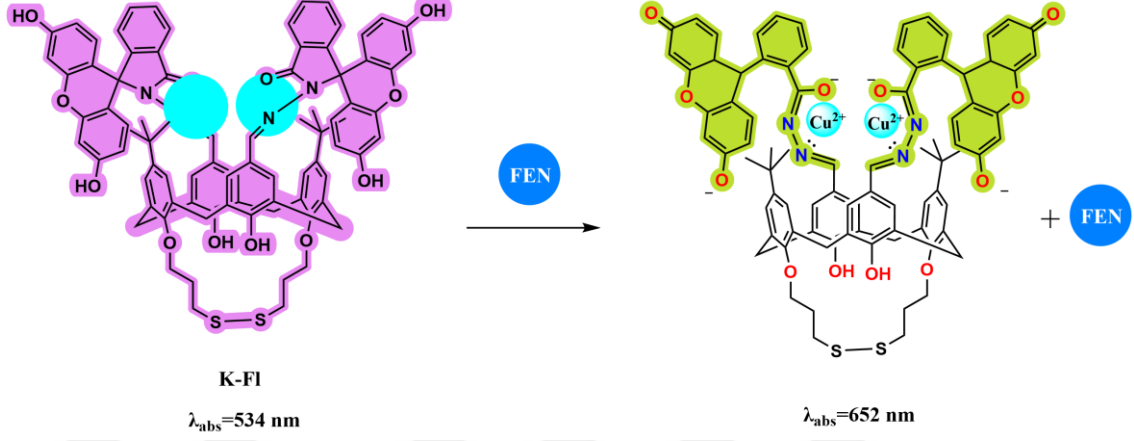
oluşturmamasına rağmen florimetrik olarak bir değişiklik oluşturabileceği şeklinde yorumlandı ve **K-FI:Cu²⁺** kompleksi üzerine 0-20 eşmolar FEN ilavesi ile floresans spektrumundaki değişimler incelendi. Elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.40'ta verildi.



Şekil 4.39. **K-FI** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 3 eşmolar Cu^{2+} ilavesi sonrasında 0-20 eşmolar FEN ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 450 \text{ nm}$, $[\text{K-FI}] = 10 \mu\text{M}$)

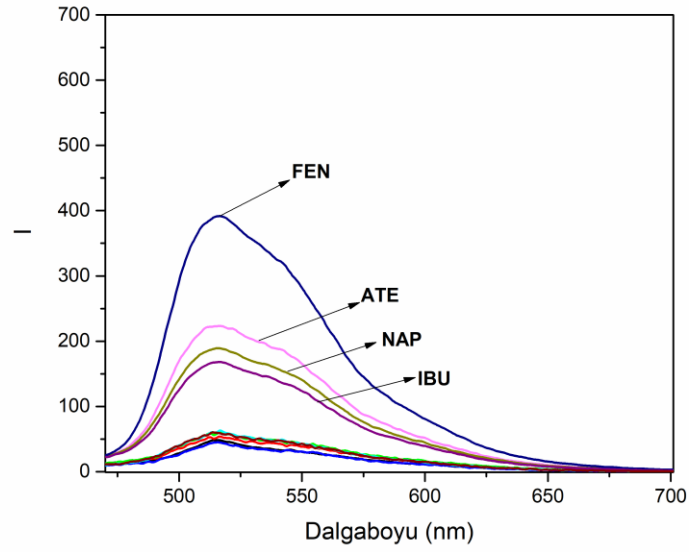
Elde edilen floresans spektrumları incelendiğinde **K-FI** türevinin 450 nm'de uyarıldığında emisyon yapmadığı görülmektedir. **K-FI** türevinin üzerine 3 eşmolar Cu^{2+} iyonu ilave edildikten sonra floresans spektrumunda önemli bir değişimin gerçekleşmediği görülmektedir. **K-FI:Cu²⁺** kompleksi üzerine FEN ilave edildiğinde yaklaşık 3 eşmolar FEN ilavesine kadar kayda değer bir değişikliğin gerçekleşmediği, ancak bu noktadan sonra 520 nm'de emisyon yapmaya başladığı ilave edildikçe şiddetin arttığı görülmektedir. Şekil 4.37'deki UV-GB spektrumları incelendiğinde, 6 kattan sonra 520 nm'de absorpsiyonda bir artış görüldükten sonra, burada da floresein yapısına ait karakteristik 520 nm'deki absorpsiyon pikindeki artış, son haldeki kompleksin floresein yapısındaki spiroolaktam halkasının açıldığına işaret etmektedir. Ancak bu artışın çok fazla devam etmemesi ve yüksek konsantrasyonda sabitlemesi oluşan kompleksin kararlılığının zayıf olduğunu göstermektedir. Bu durumda **K-FI** türevinin Cu^{2+} iyonu ile yapmış olduğu kompleks sonucunda kolorimetrik değişime neden olduğu düşünülmektedir. Kompleksin üzerine farmasötik bileşikler arasından FEN ilave edildiğinde ise komplekste bulunan Cu^{2+} ile FEN arasında yeni bir etkileşim olduğu düşünülmektedir. Oluşan etkileşimin sonucunda FEN moleküllerinin floresein halkası

üzerindeki elektronları üzerine çekerek spirolaktam halkasının açılmasını sağladığı düşünülmektedir. Buna göre muhtemel kompleksleşme mekanizması ise Şekil 4.41’de verildi.

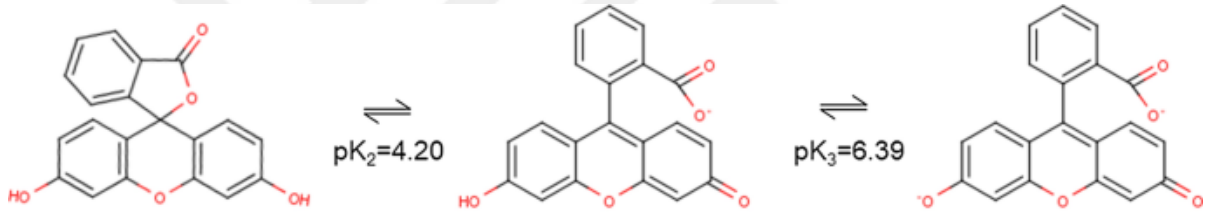


Şekil 4.40. **K-FI** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında Cu²⁺ kompleksinin üzerine FEN ilavesi sonucunda elde edilen olası kompleksleşme mekanizması

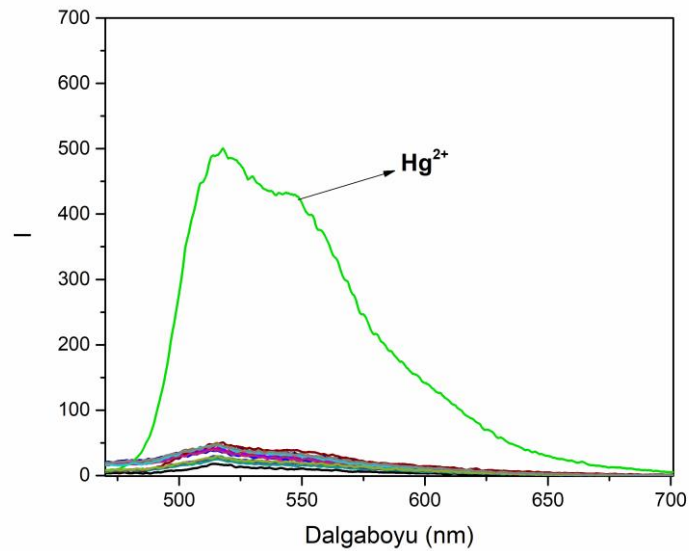
Hazırlanan **K-FI** türevi kullanılarak farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için asetonitril-su ortamında gerçekleştirilen çalışmalara ilaveten çalışmalar etanol-su ortamında da gerçekleştirildi. Etanol-su (9:1) ortamında 1 μM **K-FI** konsantrasyonunda farklı farmasötiklerin 10 eşmolar olacak şekilde ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumu Şekil 4.41’de verildi. Floresans spektrumları incelendiğinde floresein grubu içeren **K-FI** türevinin literatürde belirtilen uyarım dalgaboyu olan 450 nm’deki uyarımı sonrasındaki emisyon şiddetindeki değişim sonrasında ATE, NAP, FEN ve IBU için floresein grubuna ait karakteristik pik olan 518 nm’de emisyon yaptığı görülmektedir. Floresein, pH değerlerine göre farklı yapılara dönüşebildiği için (Şekil 4.42) floresans emisyonu değişebilen bir florofor bileşiktir (Hwang ve ark., 2018) ve farklı pH değerlerinde pH değeri azaldıkça daha şiddetli emisyon yapabildiği bilinmektedir (Nishikiori ve ark., 2022). Buna göre farklı farmasötik bileşikler arasında emisyon yapan farmasötik bileşikler incelendiğinde, NAP, FEN ve IBU yapıları anyonik halde ve ATE yapısında pKa değerinin 9,3 olması nedeniyle bazik halde bulunmaktadır. Dolayısıyla farmasötik bileşiklerin fazla ilavesi durumunda ise ortam pH değerinin artmasıyla ortamın bazik hale gelmesi nedeniyle floresein grubunun emisyon yaptığı düşünülmektedir.



Şekil 4.41. K-FI türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 10 kat farklı farmasötik bileşiklerin ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 450$ nm, $[K-FI] = 5 \mu M$)



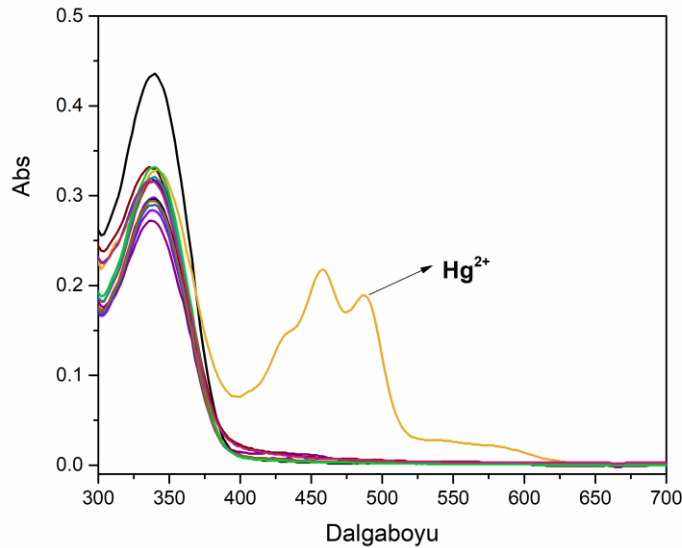
Şekil 4.42. Farklı pH durumlarında floresein yapısındaki değişim



Şekil 4.43. K-FI türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 2 eşmolar katyonların ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 450$ nm, $[K-FI] = 1 \mu M$)

Bu durumda daha iyi sonuç alabilmesi için hazırlanan **K-FI** türevinin farklı katyonlara karşı spektroskopik ölçümleri gerçekleştirildi. Etanol-su (9:1) ortamında 1 μM **K-FI** konsantrasyonunda farklı katyonların 2 eşmolar ilave edilmesi sonucunda 450 nm’de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.43’te verildi. Spektrumlar incelendiğinde 450 nm’de uyarılan **K-FI** türevinin çalışılan katyonlar içerisinde Hg^{2+} iyonu ile seçimlilik gösterdiği ve böylece Hg^{2+} iyonu için bir floresans sensör olabileceği görüldü.

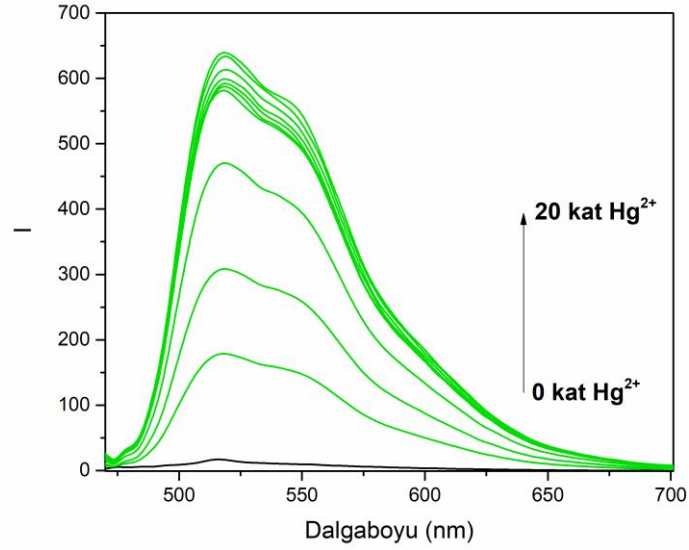
Aynı ortamda bulunan çözeltilerin kolorimetrik olarak değişimleri de incelendi ve elde edilen UV-GB spektrumları Şekil 4.45’te verildi. Elde edilen UV-GB spektrumları incelendiğinde, hazırlanan **K-FI** türevi üzerine 2 eşmolar Hg^{2+} iyonu ilavesi sonucunda seçimli ve spesifik olarak 456 nm ve 485 nm’de absorpsiyon maksimumlarının oluştuğu ve çözelti renginin ise sarıya döndüğü görüldü.



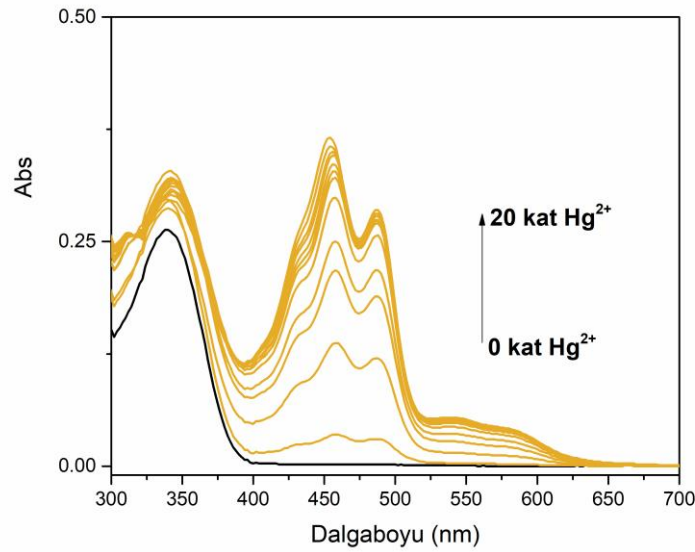
Şekil 4.45. **K-FI** türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 2 eşmolar katyonların ilavesi sonucunda elde edilen UV spektrumları (**[K-FI]**= 10 μM)

Daha önce de belirtildiği gibi belirli bir katyon ilavesiyle, floresein grubu içeren floresans sensörlerin, katyon ile kompleksleşmesi sonucunda spirolaktam halkasının açılması sonucunda, kolorimetrik ya da florimetrik olarak sensör özelliği gösterdiği bilinmektedir (Erdemir ve Tabakci, 2017). Bu çalışmada, Hg^{2+} katyonu ilavesi ile florimetrik olarak 518 nm’de pik veren bir çözelti elde edildi. Rodamin ve floresein temelli sensörler genelde katyon ilavesi sonucunda spirolaktam halkasında meydana gelen halka açılması gibi değişimler sonucunda sensör özellikleri göstermektedir. Hem florimetrik hem de kolorimetrik olarak değişim gösteren bu çalışmayı daha da detaylı

olarak incelemek için Hg^{2+} titrasyonu çalışması gerçekleştirildi ve elde edilen floresans ve UV-GB spektrumları sırasıyla Şekil 4.46 ve Şekil 4.47’de verildi.

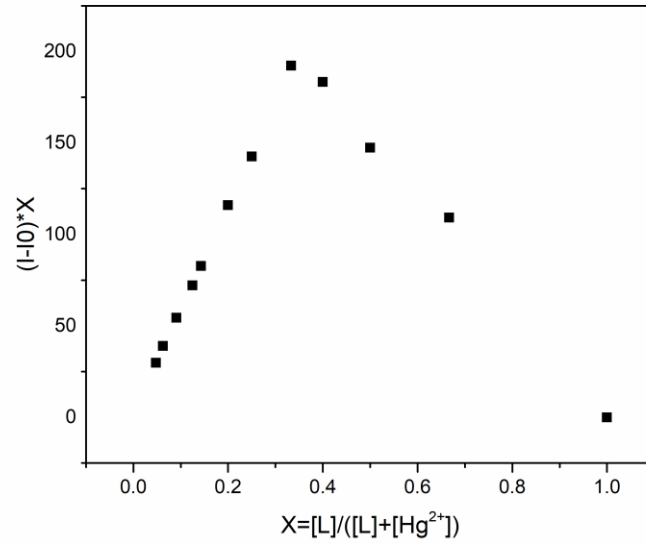


Şekil 4.44. **K-FI** türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar Hg^{2+} kationun ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 450 \text{ nm}$, $[\text{K-FI}] = 1 \mu\text{M}$)

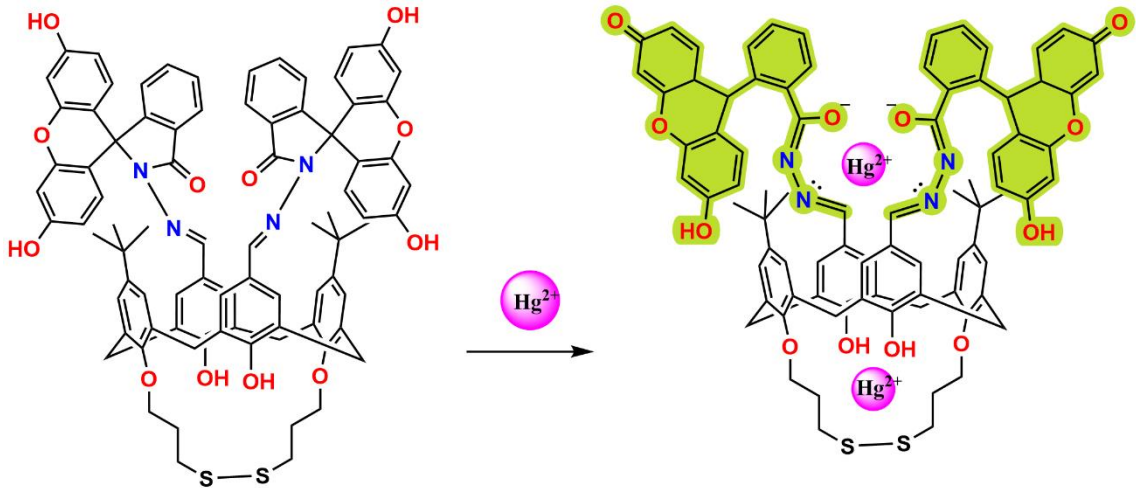


Şekil 4.45. **K-FI** türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar Hg^{2+} kationun ilavesi sonucunda elde edilen UV spektrumları ($[\text{K-FI}] = 10 \mu\text{M}$)

Hazırlanan **K-FI** türevinin Hg^{2+} iyonu ile florimetrik olarak titrasyon çalışması sonuçlarından Job grafiği çizilerek kompleksleşme değerleri belirlendi ve Job grafiği Şekil 4.48’te verildi. Elde edilen grafiğin tepe noktasının 0,33 değerinde olması, **K-FI** türevinin 1:2 oranında kompleksleşme yaptığına işaret etmiştir.



Şekil 4.46. **K-FI** türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar Hg^{2+} katyonun ilavesi sonucunda elde edilen Job grafiği ($[\mathbf{K-FI}] = 1 \mu\text{M}$)

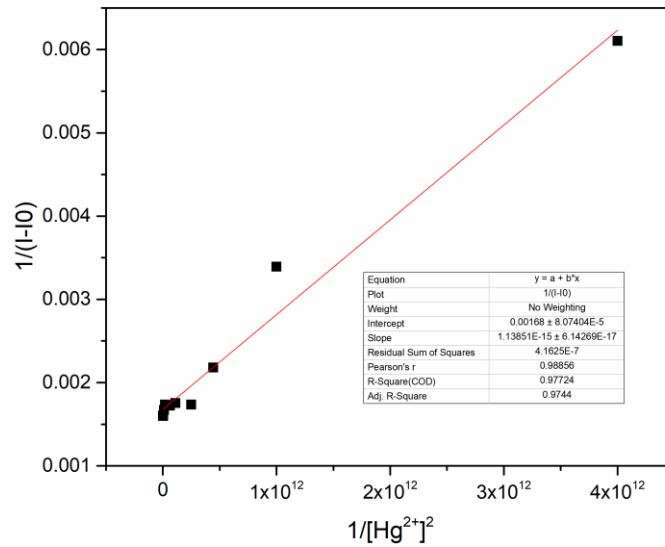


Şekil 4.47. **K-FI** türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında Hg^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen olası kompleksleşme mekanizması

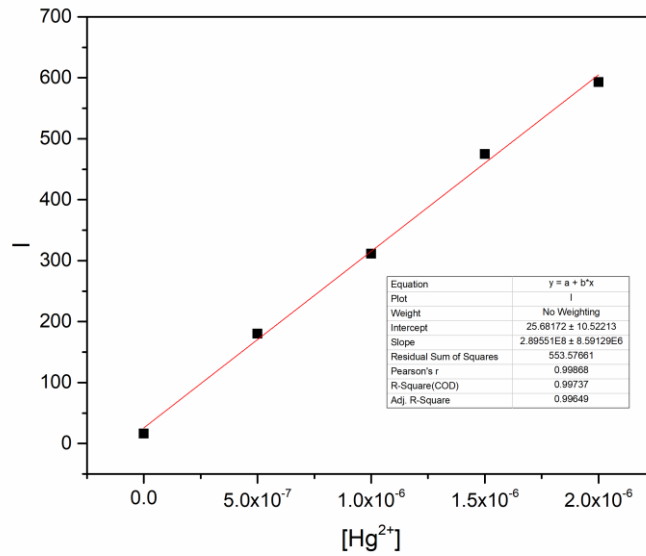
K-FI türevinin Hg^{2+} titrasyon çalışması sonucunda elde edilen Job grafiği verilerine göre bir ligandın iki Hg^{2+} iyonu ile kompleks yaptığı düşünülmektedir. İki floresein grubu içeren **K-FI** türevinin üst kısmındaki floresein grupları üzerinden Hg^{2+} iyonu ile etkileştiği söylenebilir. İlave edilen Hg^{2+} iyonları sayesinde floresein grubu içeren **K-FI** türevinde bulunan floresein grubundaki halka açılma reaksiyonu sonucunda floresans spektrumunda karakteristik olarak 518 nm’de emisyon, UV-GB spektrumunda ise floresein grubuna ait karakteristik olarak 456 nm ve 485 nm’de absorpsiyon maksimumlarının oluştuğu görüldü. Diğer taraftan bu grupların yanı sıra, kükürt içeren gruplarında Hg^{2+} iyonu ile iyi etkileşim gösterdiği bilindiğinden, **K-FI** yapısının bu

bölgesinden de etkileşim yapabileceği şeklinde değerlendirildi. Buna göre muhtemel kompleksleşme mekanizması Şekil 4.49'da verildi.

Bağlanma katsayısının belirlenmesi için **K-FI** türevi ile Cu^{2+} iyonu titrasyon çalışması sonucunda elde edilen absorbans değerlerinden Benesi-Hildebrand denklemi kullanılarak bağlanma katsayısı (K) hesaplandı. $1/[\text{Hg}^{2+}]^2$ değerine karşılık gelen $1/(I-I_0)$ değerlerini gösteren grafik Şekil 4.50'de verildi. Bağlanma sabiti, grafiğin eğimi olarak $1,54 \times 10^{12} \text{ M}^{-2}$ ($\log K = 12,19$) olarak hesaplandı.



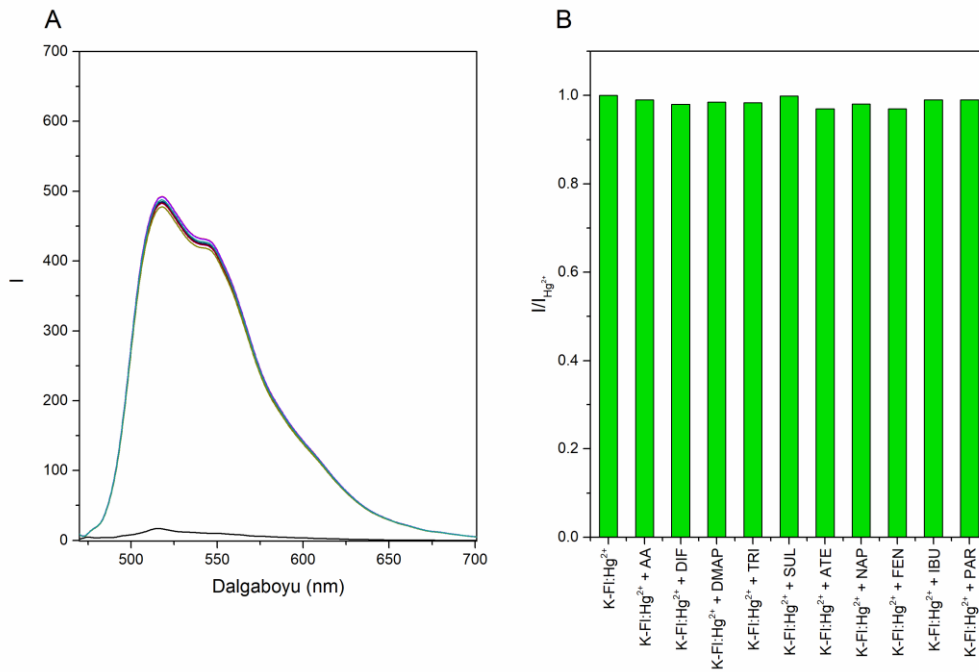
Şekil 4.48. **K-FI** türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar arasındaki Hg^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen Benesi-Hildebrand grafiği



Şekil 4.49. **K-FI** türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 0-20 eşmolar arasındaki Hg^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen konsantrasyona karşı absorbans grafiği

K-FI türevi ile Hg^{2+} titrasyon çalışması sonucunda elde edilen floresans şiddeti değerleri kullanılarak Hg^{2+} konsantrasyon değerlerine karşı 518 nm’de elde edilen floresans şiddeti değerleri grafiğinin lineer kısmı kullanılarak çizilen grafik Şekil 4.51’de verildi. Elde edilen veriler kullanılarak LOD değeri 0,15 μM olarak hesaplandı.

Hazırlanan **K-FI** türevinin farklı katyonlar arasından Hg^{2+} için seçimli ve hassas bir sensör olduğu belirlendikten sonra parametre çalışmaları gerçekleştirildi. Farklı farmasötiklere karşı olan spektroskopik özelliklerinin incelenmesi için **K-FI** türevinin Hg^{2+} iyonu ile kompleksinin üzerine 4 eşmolar olacak şekilde farklı farmasötik bileşikler ilave edildi ve floresans spektrumları incelendi. Elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.52A’da verildi.



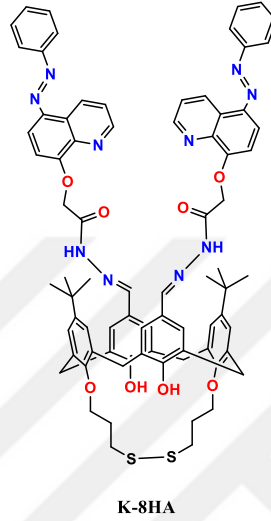
Şekil 4.50. **K-FI** türevinin etanol-su (9/1, v/v) ortamında 2 eşmolar Hg^{2+} ilavesi ve sonrasında 4 eşmolar farmasötik bileşiğin ilavesi sonucunda elde edilen (A) floresans spektrumları ve (B) $I/I_{\text{Hg}^{2+}}$ değişim grafiği

Farklı farmasötik bileşiklerin **K-FI:Hg²⁺** kompleksi üzerine ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları incelendiğinde farmasötiklerin ilavesi sonrasında floresans şiddeti değerindeki değişim grafiği Şekil 4.52.B’de verildi. Değişimler incelendiğinde farklı farmasötiklerin ilavesi sonucunda floresans şiddetinde kayda değer bir değişim gerçekleşmediği görüldü. Elde edilen **K-FI:Hg²⁺** kompleksinin üzerine ilave edilen farmasötik bileşiklerin bu kompleksi bozabilecek yönde bir etkisinin olmadığı görüldü.

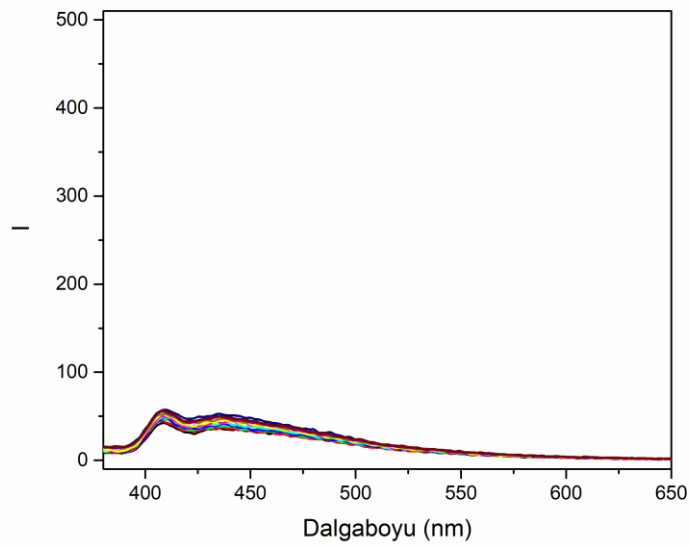
4.2.3. K-8HA türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi

4.2.3.1. Spektroskopik ölçümler

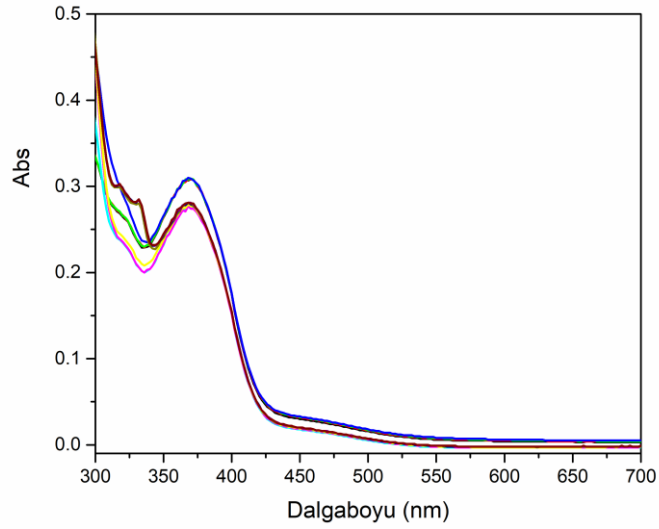
Bu aşamada 5-fenilazo-8-hidroksikinolin grubu içeren **K-8HA** türevi kullanılarak farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için detayları aşağıda verilen spektroskopik çalışmalar gerçekleştirildi.



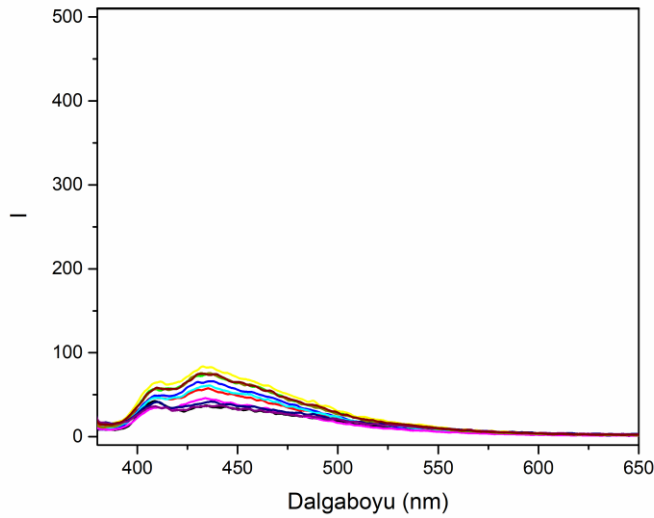
Asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 10 μM kaliks[4]aren **K-8HA** konsantrasyonunda farklı farmasötiklerin 1 eşmolar ilave edilmesi sonucunda 365 nm’de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.53’te ve UV-GB spektrumları da Şekil 4.54’te verildi.



Şekil 4.51. **K-8HA** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 2 kat farklı farmasötik bileşiklerin ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 370 \text{ nm}$, $[\text{K-8HA}] = 10 \mu\text{M}$)

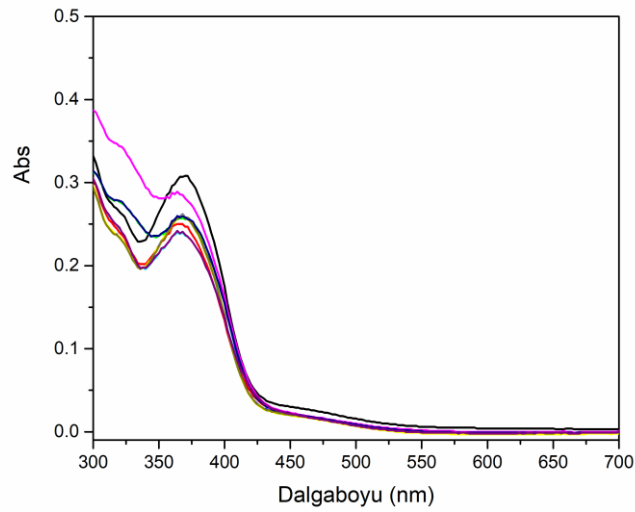


Şekil 4.52. **K-8HA** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 2 eşmolar farklı farmasötik bileşiklerin ilavesi sonucunda elde edilen UV spektrumları ($[K-8HA]= 10 \mu M$)

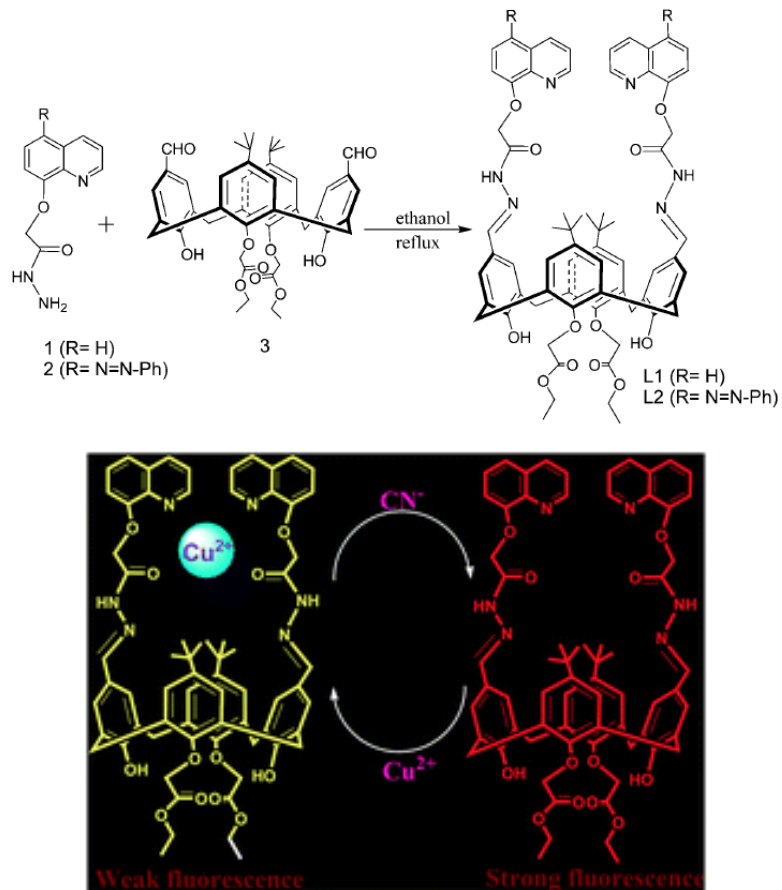


Şekil 4.53. **K-8HA** türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 2 eşmolar farklı katyonların ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda= 370 \text{ nm}$, $[K-8HA]= 10 \mu M$)

Spektrumlara bakıldığında **K-8HA** türevinin çalışılan farmasötiklere karşı doğrudan kayda değer bir etkisinin olmadığı görüldü. İkinci bir yöntem olarak **K-8HA** türevinin farklı katyonlara karşı spektroskopik ölçümleri UV-GB ve floresans spektrofotometreleri ile gerçekleştirildi. Ölçümler asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında $10 \mu M$ **K-8HA** konsantrasyonunda farklı katyonların 1 eşmolar ilave edilmesi ile 365 nm 'de gerçekleştirildi ve elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.55'te ve UV-GB spektrumları da Şekil 4.56'da verildi. Spektrumlar incelendiğinde, farklı farmasötik bileşiklere karşı kayda değer bir spektroskopik değişimin olmadığı gözlemlendi.



Şekil 4.54. K-8HA türevinin asetonitril-su (9/1, v/v) ortamında 2 eşmolar farklı kationların ilavesi sonucunda elde edilen UV spektrumları ([K-8HA]= 10 μ M)



Şekil 4.55. Chawla ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada kullandıkları kaliks[4]aren türevleri

Chawla ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, benzer şekilde 8-hidroksikinolin ve 5-fenilazo-8-hidroksikinolin grupları taşıyan kaliks[4]aren amit türevlerinin farklı iyonlara karşı spektroskopik özelliklerini incelemiştir (Şekil 4.57) (Chawla ve ark.,

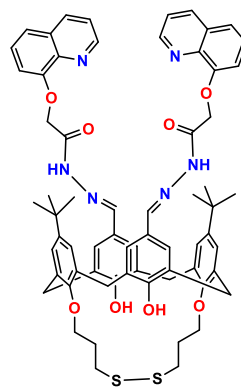
2014). Hazırladıkları 8-hidroksikinolin grubu içeren kaliks[4]aren türevinin asetonitril-su (7/3, v/v) ortamında 310 nm'deki uyarılması sonucunda 400 nm'de şiddetli bir emisyon yaptığını ve Cu^{2+} ilavesi sonucunda da sönmüldüğünü belirlemişlerdir. Aynı şekilde hazırladıkları 5-fenilazo-8-hidroksikinolin grubu içeren kaliks[4]aren yapısını denediklerinde ise 370 nm'de uyarıldığında 480 nm'de şiddetli bir emisyon olduğunu ancak Cu^{2+} katyonu ilavesinde ise çok az düşüş gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar bu durumun yapıdaki azo grubunun üzerine elektron çekmesi ile ilgili olduğunu ve dolayısıyla Cu^{2+} iyonu ile etkileşimi azalttığını ifade etmişlerdir (Chawla ve ark., 2014).

Bunun üzerine bu çalışmada da literatürdeki yapılan çalışmadan farklı olarak **K-8HA** türevi kullanılarak benzer şartlarda yapılan çalışmada, ne farmasötik bileşiklere karşı ne de katyonlara karşı spektroskopik olarak kayda değer bir sonuç elde edilmedi. Bu nedenle **K-8HA** türevi ile ilgili olarak parametre çalışmaları gerçekleştirilmedi. Bunun yerine literatürdeki çalışmaya benzer şekilde azo grubu içermeyen 8-hidroksikinolin ile fonksiyonlandırılmış **K-8HQ** türevi ile farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik çalışmalar gerçekleştirildi.

4.2.4. K-8HQ türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi

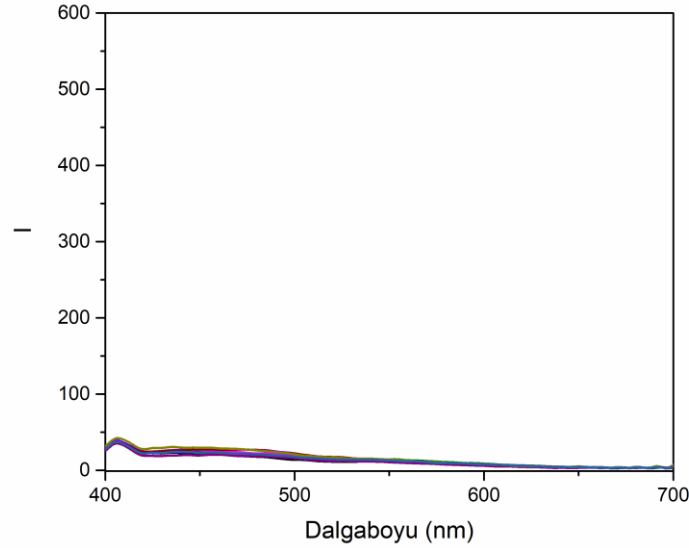
4.2.4.1. Spektroskopik ölçümler

Bu aşamada 8-hidroksikinolin grubu içeren kaliks[4]aren **K-8HQ** türevi kullanılarak farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için detayları aşağıda verilen spektroskopik çalışmalar gerçekleştirildi.

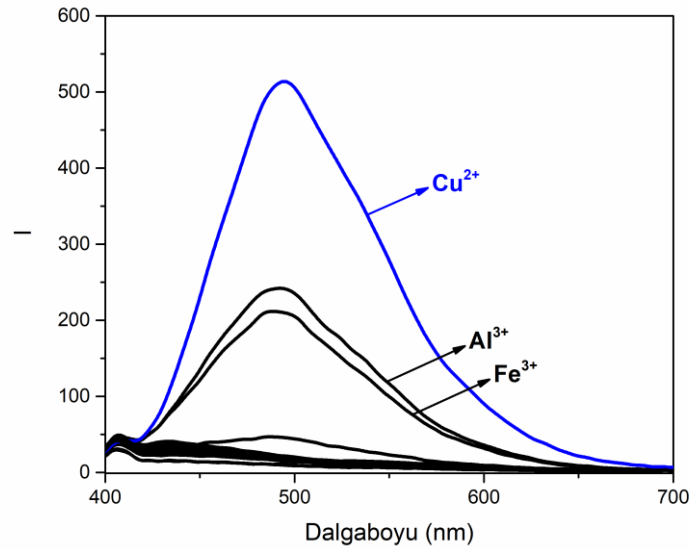


K-8HQ

Asetonitril-su (95:5) ortamında $10 \mu\text{M}$ kaliks[4]aren **K-Ben** konsantrasyonunda farklı farmasötiklerin $1 \mu\text{mol}$ ilave edilmesi sonucunda 365 nm 'de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.58'de verildi.



Şekil 4.56. **K-8HQ** türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında farklı farmasötik bileşikler ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans spektrumları

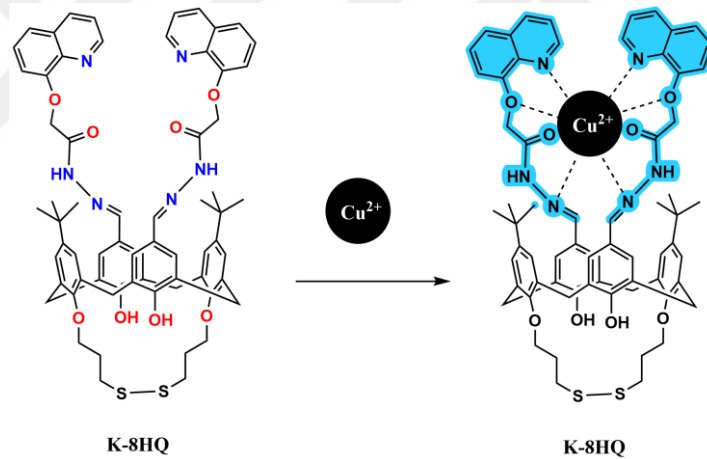


Şekil 4.57. **K-8HQ** türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında farklı katyonlar ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($[\text{K-8HQ}] = 10 \mu\text{M}$)

Floresans spektrumlarına bakıldığında **K-8HQ** türevinin farklı farmasötikler ile kayda değer bir spektroskopik değişim göstermediği görüldü. İkinci bir yöntem olarak **K-FI** türevinin farklı katyonlara karşı spektroskopik ölçümleri UV-GB ve floresans spektrofotometreleri ile gerçekleştirildi. Floresans ölçümleri asetonitril-su (95/5, v/v)

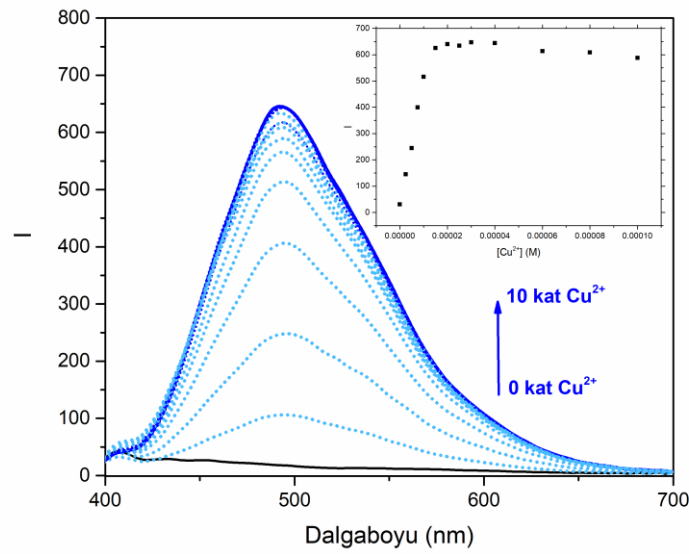
ortamında 10 μM **K-8HQ** konsantrasyonunda farklı katyonların 2 eşmolar ilave edilmesi ile gerçekleştirildi ve elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.59’da verildi. Spektrumlardan 390 nm’de uyarılan **K-8HQ** türevi ile Cu^{2+} iyonu etkileşimi sonucunda 490 nm’de şiddetli bir emisyon gerçekleştiği görüldü.

K-8HQ türevinin Cu^{2+} iyonuna karşı seçimli bir emisyon gerçekleştirdiği görüldü. **K-8HQ** türevi MeCN-su (95/5, v/v) ortamında 365 nm’de uyarıldığında herhangi bir emisyon göstermemektedir. **K-8HQ** türevinin yapısı incelendiğinde, amit grubu üzerinden hidrosikinolin grubu üzerine giden bir PET mekanizmasının söz konusu olduğu görülmektedir. Dolayısıyla **K-8HQ** türevi, üzerine Cu^{2+} iyonu ilavesi ile PET mekanizmasının engellenmesi (Erdemir ve Tabakci, 2018) nedeniyle Cu^{2+} katyonu varlığında 490 nm’de yüksek emisyonla sahip olmakta ve sonrasında da bu bölgede ICT mekanizmasının ortaya çıkması ile daha da şiddetli bir emisyonun meydana geldiği düşünülmektedir. Buna göre olası kompleksleşme mekanizması Şekil 4.60’da verildi.



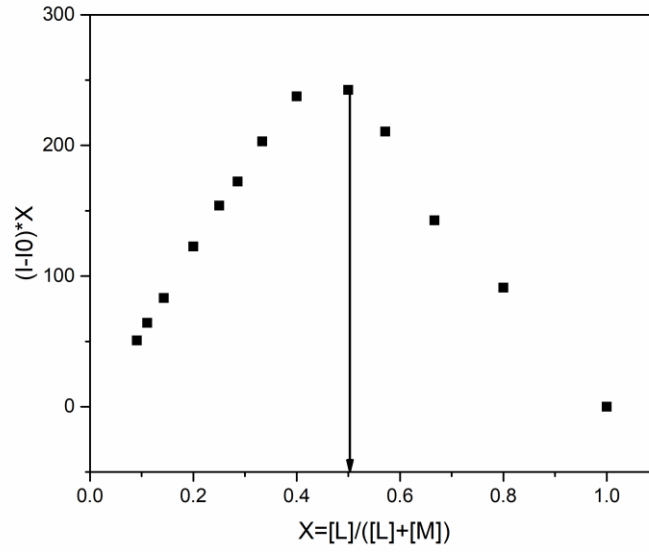
Şekil 4.58. **K-8HQ** türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında Cu^{2+} iyonu ile etkileşimi sonucunda oluşan olası kompleksleşme mekanizması

K-8HQ türevinin Cu^{2+} iyonu için seçimli ve hassas bir sensör olması nedeniyle parametre çalışmaları gerçekleştirildi. Öncelikle kompleksleşme oranının belirlenmesi için **K-8HQ** türevinin Cu^{2+} titrasyon çalışması gerçekleştirildi. MeCN-su (95/5, v/v) ortamında 10 μM **K-8HQ** konsantrasyonunda Cu^{2+} iyonunun 0-10 eşmolar ilave edilmesi sonucunda 365 nm’de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.61’de verildi.



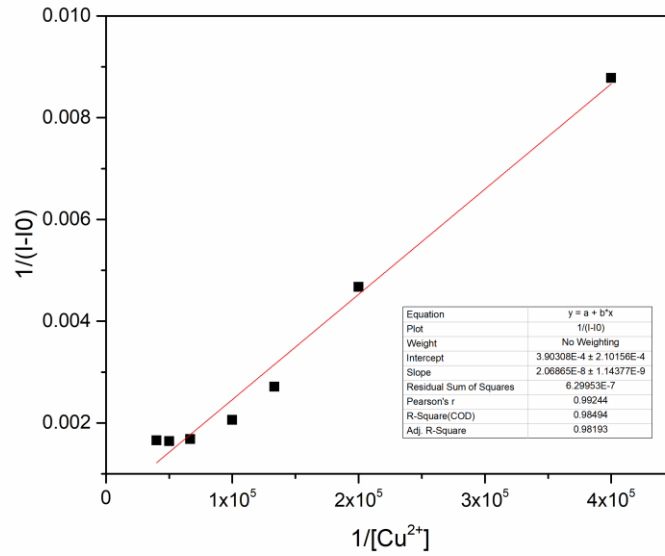
Şekil 4.59. **K-8HQ** türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında 0-10 eşmolar Cu^{2+} iyonu ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 365 \text{ nm}$, $[\text{K-8HQ}] = 10 \mu\text{M}$)

Spektrumlar incelendiğinde $10 \mu\text{M}$ **K-8HQ** türevinin üzerine Cu^{2+} iyonu ilave edildikçe, C=O, C=N, amit NH ve kinolin grubuna ait azot gruplarının Cu^{2+} ile yapmış olduğu etkileşim sonucunda PET mekanizmasının engellenmesi ve böylece 490 nm 'deki floresans şiddetinin arttığı görülmektedir. Literatürdeki birçok çalışmada, 8-hidroksikinolin grubu içeren yapıların Cu^{2+} iyonu ile yaptıkları komplekslerde ICT mekanizmasının önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Şekil 4.61'de verilen kaliks[4]aren **K-8HQ** amit türevinin 0-10 eşmolar aralığında Cu^{2+} iyonu ile kompleksleşmesi sonucunda elde edilen titrasyon verileri kullanılarak kompleksleşme oranının bulunması için Job grafiği çizildi ve Şekil 4.62'de verildi. Grafiğin tepe noktasının 0,5 civarında olması, kompleksleşmenin 1:1 oranında gerçekleştiğini göstermektedir. Literatürde benzer şekilde hazırlanan 8-hidroksikinolin grubu içeren kaliks[4]aren türevinin de Cu^{2+} iyonu için benzer şekilde 1:1 kompleks yapması, çalışma sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğuna işaret etmektedir.



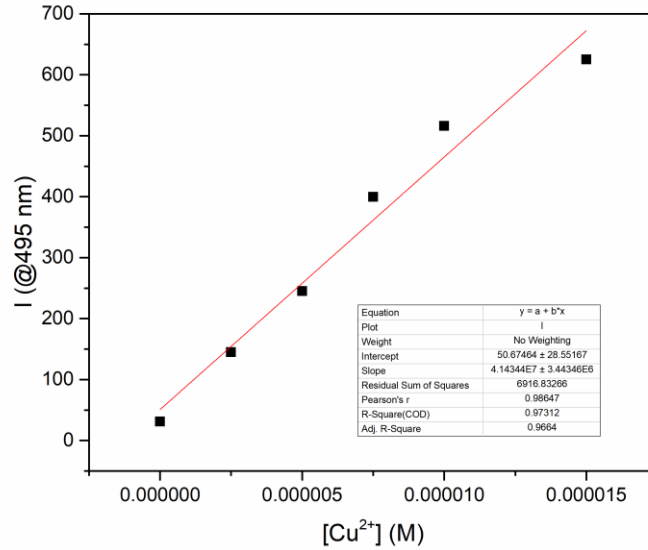
Şekil 4.60. K-8HQ türevinin Asetonitril-Su (95/5, v/v) ortamında 0-10 eşmolar Cu^{2+} katyonu ile etkileşimi sonucunda elde edilen Job grafiği

Bağlanma katsayısının belirlenmesi için K-8HQ amit türevi ile Cu^{2+} titrasyon çalışması sonucunda elde edilen floresans şiddeti değerleri kullanılarak Benesi-Hildebrand denklemi ile bağlanma katsayısı (K) hesaplandı. Benesi-Hildebrand denkleminde göre elde edilen $1/[\text{Cu}^{2+}]$ değerine karşılık gelen $1/(I-I_0)$ değerlerini gösteren grafik Şekil 4.63'te verildi. Bağlanma sabiti, grafiğin eğimi olarak 47249 M^{-1} ($\log K = 4,67$) olarak hesaplandı.



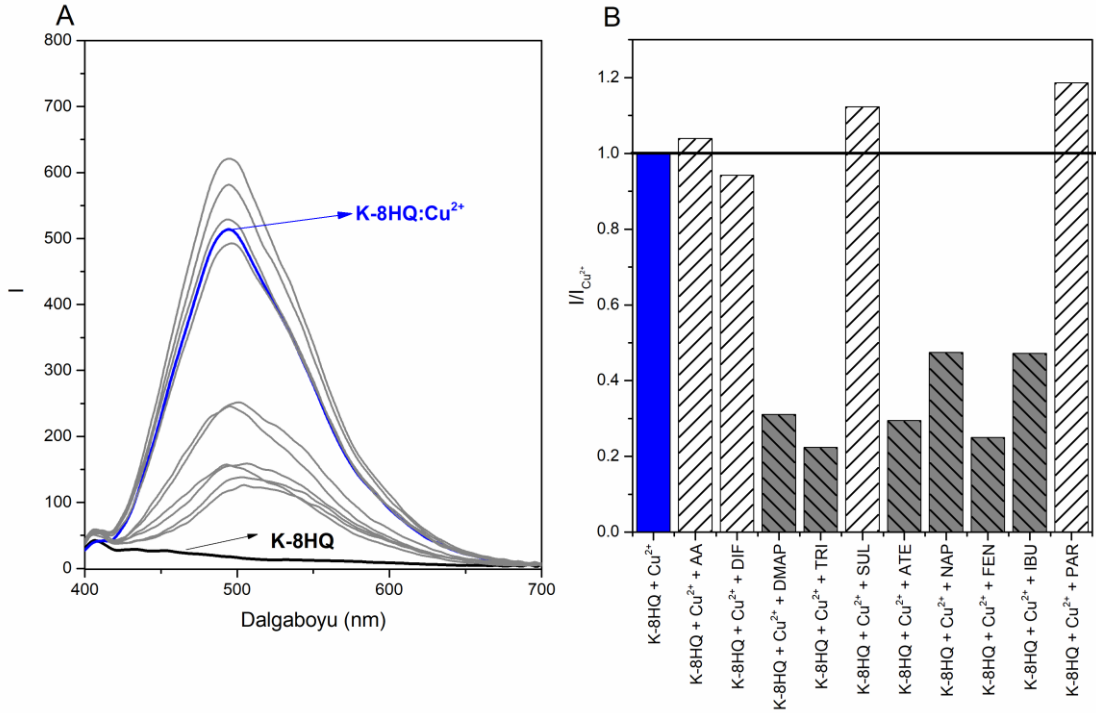
Şekil 4.61. K-8HQ türevinin asetonitril-Su (95/5, v/v) ortamında 0-10 eşmolar arasındaki Cu^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen Benesi-Hildebrand grafiği

K-8HQ türevi ile Cu^{2+} iyonu titrasyon çalışması sonucunda elde edilen floresans şiddeti değerleri kullanılarak LOD değeri hesaplandı. Bu amaçla Cu^{2+} konsantrasyon değerlerine karşı 490 nm’de elde edilen floresans şiddeti değerlerinin grafiğinin lineer kısmı kullanılarak konsantrasyon grafiği çizildi ve Şekil 4.64’te verildi. Elde edilen veriler kullanılarak LOD değeri $3 \mu\text{M}$ olarak hesaplandı.



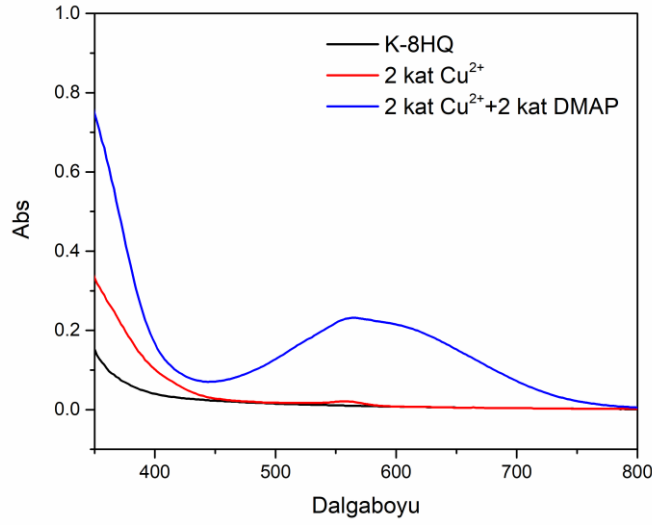
Şekil 4.62. **K-8HQ** türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında 0-10 eşmolar arasındaki Cu^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen floresans şiddeti değişimi ($\lambda = 365 \text{ nm}$, $[\text{K-8HQ}] = 10 \mu\text{M}$)

K-8HQ türevinin farklı katyonlar arasından Cu^{2+} için seçimli ve hassas sensör olduğu belirlendikten sonra parametre çalışmaları gerçekleştirildi. Farklı farmasötiklere karşı olan spektroskopik özelliklerinin incelenmesi için **K-8HQ:Cu²⁺** kompleksinin üzerine 2 eşmolar olacak şekilde farklı farmasötik bileşikler ilave edildi ve elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.65A’da verildi. Elde edilen floresans spektrumları incelendiğinde çalışılan farmasötikler içerisinde DMAP, TRI, ATE, NAP, FEN ve IBU için floresans şiddetlerinin azaldığı diğerleri için kayda değer bir değişim olmadığı görüldü. Floresans şiddetini azaltan farmasötik bileşiklerin yapıları incelendiğinde Cu^{2+} iyonu ile etkileşim yapabilecek gruplara sahip olmaları nedeniyle **K-8HQ** türevi yerine farmasötik bileşiği tercih etmesi sonucu kompleksin floresans şiddetinde azalma görüldüğü şeklinde değerlendirildi.

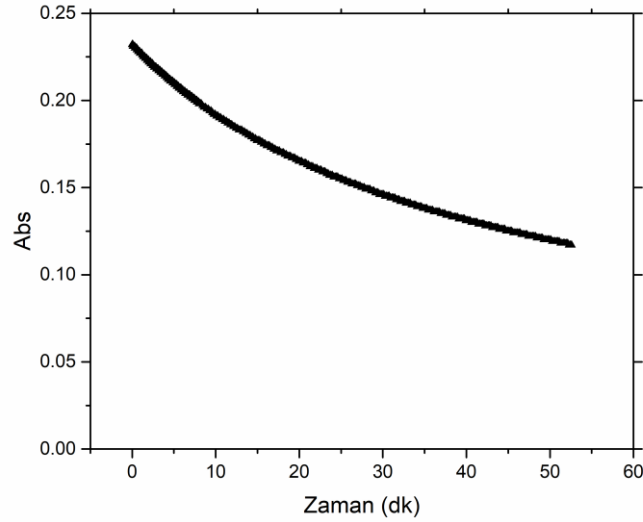


Şekil 4.63. K-8HQ türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında 1 eşmolar Cu²⁺ ilavesi sonrasında 1 eşmolar farklı farmasötik bileşik ilavesi sonucunda elde edilen (a) UV spektrumları (b) floresans şiddeti değişim grafiği

Diğer taraftan floresans şiddetinin azalmasına neden olan farmasötik bileşiklerin arasından sadece DMAP ilave edildiğinde kolorimetrik olarak çözelti renginin maviye döndüğü görüldü. Bu nedenle elde edilen 50 μ M K-8HQ:Cu²⁺ kompleksinin üzerine bu kez 2 eşmolar olacak şekilde DMAP ilave edilerek UV-GB spektrumları alındı ve Şekil 4.66'da verildi. Sonuç olarak farklı farmasötik bileşiklerin ilavesi sonucunda sadece DMAP ilavesinde 586 nm'de yeni bir absorpsiyon maksimumunun oluştuğu, Cu²⁺ iyonu ve DMAP etkileşimi sonucunda çözeltinin renginin maviye dönüştüğü dolayısıyla Cu²⁺:DMAP kompleksinin oluştuğu, bunun da kolorimetrik olarak tespit edildiği görüldü. Böylece diğer farmasötik bileşiklerin ilave edilmesi sonucunda ise çözelti renginin değişmediği, sadece DMAP ilavesinde çözelti renginin değiştiği görüldü ve kolorimetrik olarak seçimli olduğu belirlendi. Ancak yeni oluşan maksimum absorpsiyon değerinin sabit kalmadığı ve zamanla bu şiddetin azaldığı görüldü. Zamanla bu şiddetin azaldığı olarak 586 nm'deki absorpsiyon değerinin değişim grafiği Şekil 4.67'de verildi. Dolayısıyla grafikten elde edilen kompleksin düşük kararlılığa sahip olduğu ve zamanla bu kompleksin bozulduğu şeklinde değerlendirildi.



Şekil 4.64. K-8HQ türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında 2 eşmolar Cu^{2+} ilavesi sonrasında 2 eşmolar DMAP ilavesi sonucunda elde edilen UV spektrumları

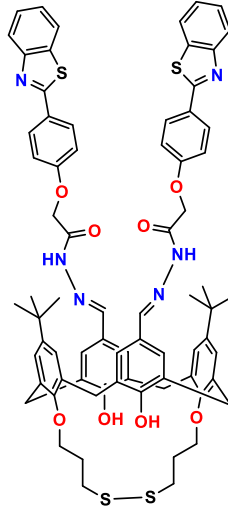


Şekil 4.65. K-8HQ türevinin asetonitril-su (95/5, v/v) ortamında 1 eşmolar Cu^{2+} ilavesi sonrasında 1 eşmolar farklı farmasötik bileşik ilavesi sonucunda elde edilen kompleksin 586 nm'deki absorbans değerlerinin zamanla değişimi

4.2.5. K-Ben türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi

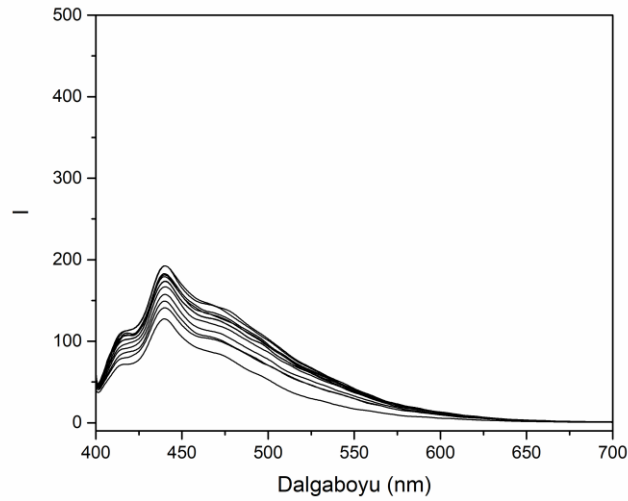
4.2.5.1. Spektroskopik ölçümler

Bu aşamada benzotiyazol grubu içeren **K-Ben** türevi kullanılarak farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için detayları aşağıda verilen spektroskopik çalışmalar gerçekleştirildi.



K-Ben

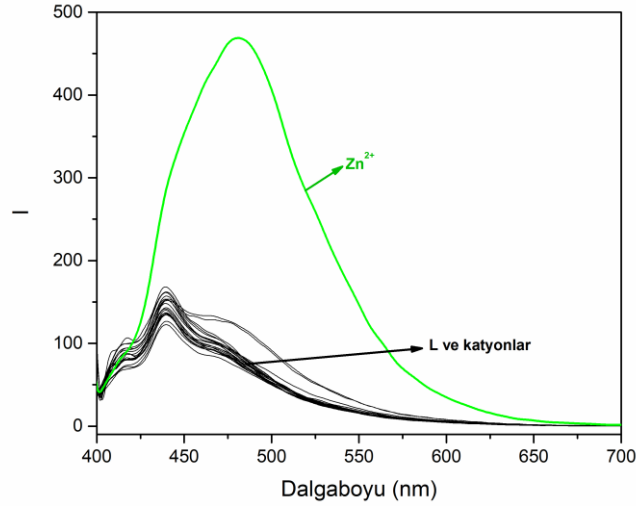
DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 10 μM **K-Ben** konsantrasyonunda farklı farmasötiklerin 1 eşmolar ilave edilmesi sonucunda 390 nm’de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.68’de verildi. Spektrumlar incelendiğinde 390 nm’de uyarılan **K-Ben**:farmasötik bileşik komplekslerinin floresans şiddetinde belirgin bir şekilde değişiklik olmadığı ve genel olarak sadece 440 nm’de zayıf bir artış olduğu görüldü.



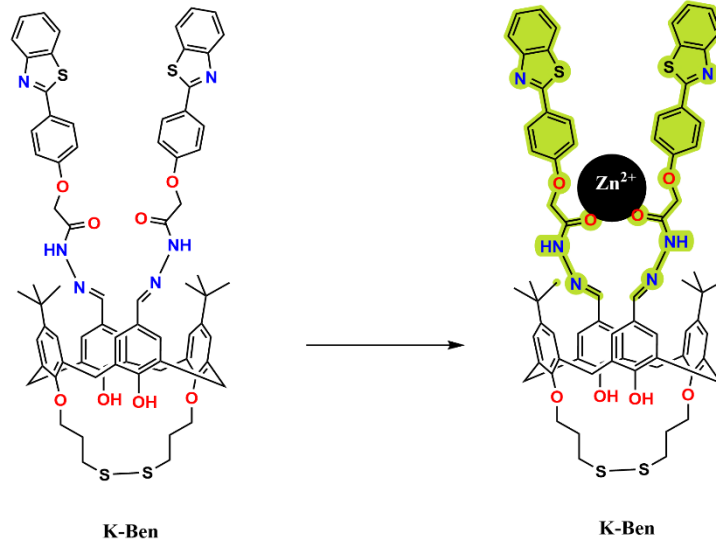
Şekil 4.66. **K-Ben** türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında farklı farmasötik bileşikler ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans şiddet değişimi ($\lambda=390$ nm, $[\text{K-Rh}]=10$ μM , $[\text{Farmasötik}]=10$ μM)

Spektrumlara bakıldığında **K-Ben** türevinin çalışılan farmasötiklere karşı doğrudan kayda değer bir etkisinin olmadığı görüldü. İkinci bir yöntem olarak **K-Ben** türevinin farklı katyonlara karşı spektroskopik ölçümleri gerçekleştirildi. DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 10 μM **K-Ben** konsantrasyonunda farklı katyonların 1 eşmolar ilave

edilmesi sonucunda 390 nm’de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.69’da verildi. Spektrumlara bakıldığında 390 nm’de uyarılma durumunda **K-Ben** türevi ile çalışılan katyonlar içerisinde Zn^{2+} iyonu ilavesi durumunda 480 nm’de şiddetli bir emisyon gerçekleştiği görüldü.



Şekil 4.67. **K-Ben** türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında farklı katyonlar ile etkileşimi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda=390$ nm, [**K-Ben**]= 10 μ M, [Katyon]= 10 μ M)

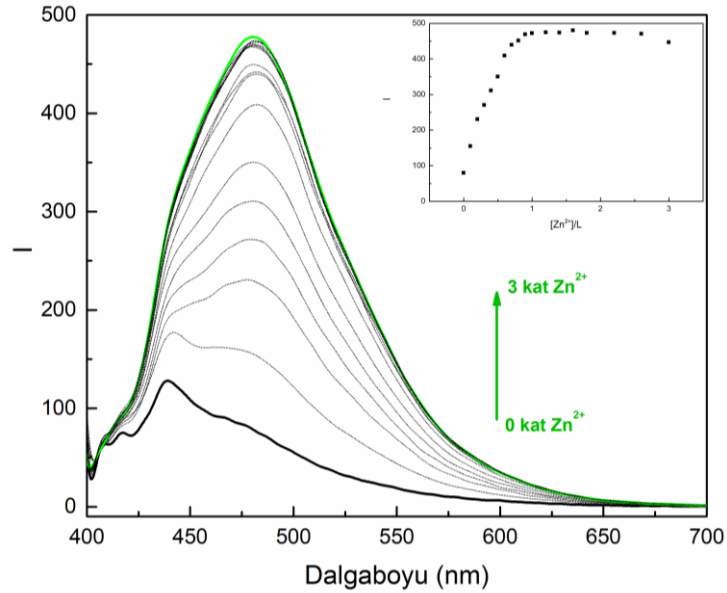


Şekil 4.68. **K-Ben** türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında Zn^{2+} iyonu ile olası kompleksleşme mekanizması

Spektrumlardan **K-Ben** türevinin Zn^{2+} iyonuna karşı seçimli bir emisyon gerçekleştirdiği görülmektedir. **K-Ben** türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 390 nm’de uyarılması sonucunda 440 nm’de ICT mekanizması sonucunda zayıf bir emisyonla sahiptir. Üzerine eklenen Zn^{2+} iyonunun ilavesi ICT artması sonucunda 480 nm’de

şiddetli bir emisyon gerçekleştirmektedir. Şelatlama grupları olan C=N ve C=O gruplarının geçiş metallerine karşı yüksek affiniteye sahip olduğu bilinmektedir (Erdemir ve Tabakci, 2018). Dolayısıyla bu çalışmada da **K-Ben** türevi yapısındaki C=N grubundaki azot donörünün Zn^{2+} iyonu etkileşimi ile meydana gelen kompleksleşme sonucu ICT mekanizması ile bir şiddetli emisyon gerçekleştiği sonucuna varıldı. Elde edilen sonuçlara göre olası kompleksleşme mekanizması Şekil 4.70’te verildi.

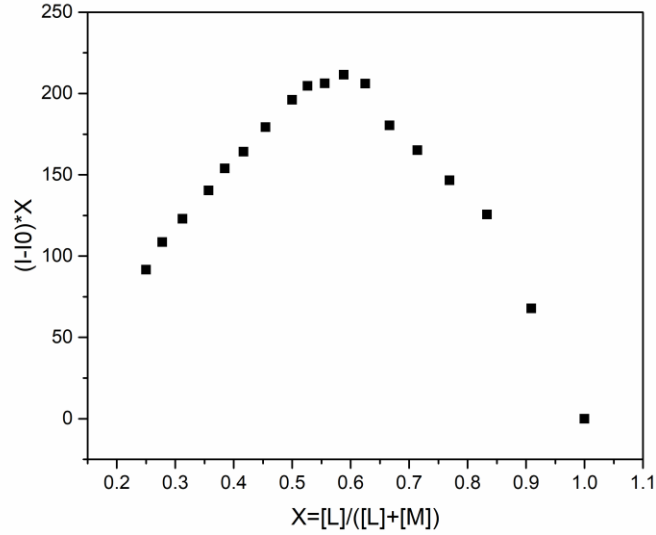
K-Ben türevinin Zn^{2+} iyonu için seçimli ve hassas bir şekilde sensör olması nedeniyle parametre çalışmaları gerçekleştirildi. Kompleksleşme oranının belirlenmesi için **K-Ben** türevinin Zn^{2+} iyonu titrasyon çalışması gerçekleştirildi. DMSO-su (9/1, v/v) ortamında $10 \mu M$ **K-Ben** konsantrasyonunda Zn^{2+} iyonunun 3 eşmolar ilave edilmesi sonucunda 390 nm ’de uyarıldığında elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.71’de verildi.



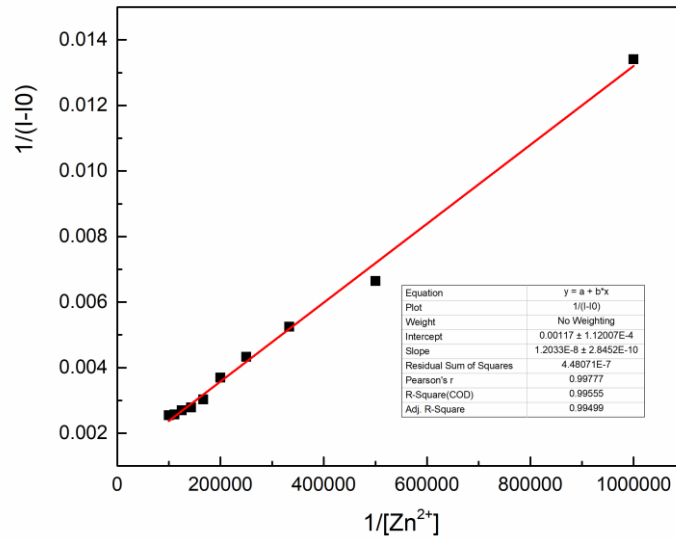
Şekil 4.69. **K-Ben** türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 0-3 eşmolar arasındaki Zn^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları ($\lambda = 360 \text{ nm}$, $[K-Ben] = 10 \mu M$)

Floresans spektrumları incelendiğinde $10 \mu M$ **K-Ben** türevi üzerine Zn^{2+} iyonu ilave edildikçe C=O, C=N, amit NH ve benzotiyazol grubuna ait azot gruplarının Zn^{2+} ile yapmış olduğu etkileşim sonucunda izomerizasyon ve ICT mekanizmasının engellenmesi sonucunda 490 nm ’deki floresans şiddetinin arttığı görülmektedir. Literatürde birçok çalışmada, benzotiyazol grubu içeren yapıların Zn^{2+} iyonu ile yaptıkları komplekslerde ICT mekanizmasının önemli rol oynadığı bilinmektedir. Şekil 4.72’de verilen **K-Ben** türevinin 1-3 eşmolar aralığında Zn^{2+} iyonu ile kompleksleşmesi sonucunda elde edilen titrasyon grafiğinin verileri kullanılarak kompleksleşme oranının bulunması için Job

grafığı çizildi. Elde edilen grafığın tepe noktasının 0,5 civarında olması, kompleksleşmenin 1:1 oranında gerçekleştiği görülmektedir. Burada **K-Ben** türevinin iki benzotiazol grubu ve amit yapısı sayesinde Zn^{2+} iyonu ile kompleks yapması sonucunda güçlü bir emisyon yaptığı sonucuna varıldı.



Şekil 4.70. **K-Ben** türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 0-3 eşmolar arasındaki Zn^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen Job grafığı

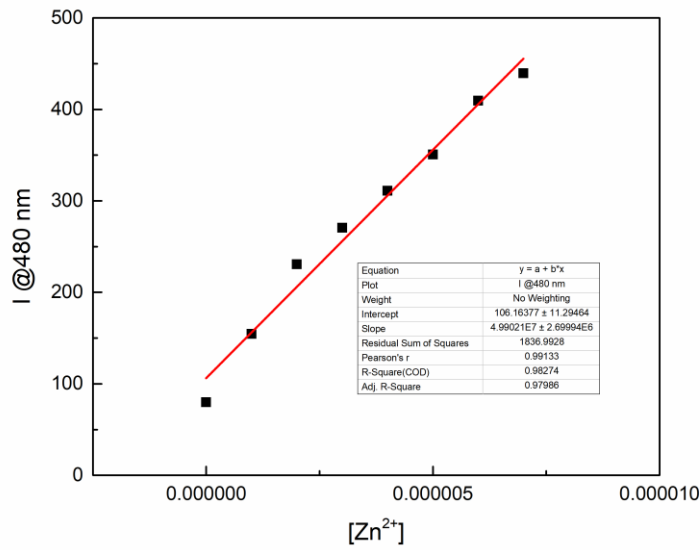


Şekil 4.71. **K-Ben** türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 0-3 eşmolar arasındaki Zn^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen Benesi Hildebrand grafığı

Bağlanma katsayısının belirlenmesi için **K-Ben** türevi ile Zn^{2+} iyonu titrasyon çalışması sonucunda elde edilen floresans şiddeti değerlerinden Benesi-Hildebrand

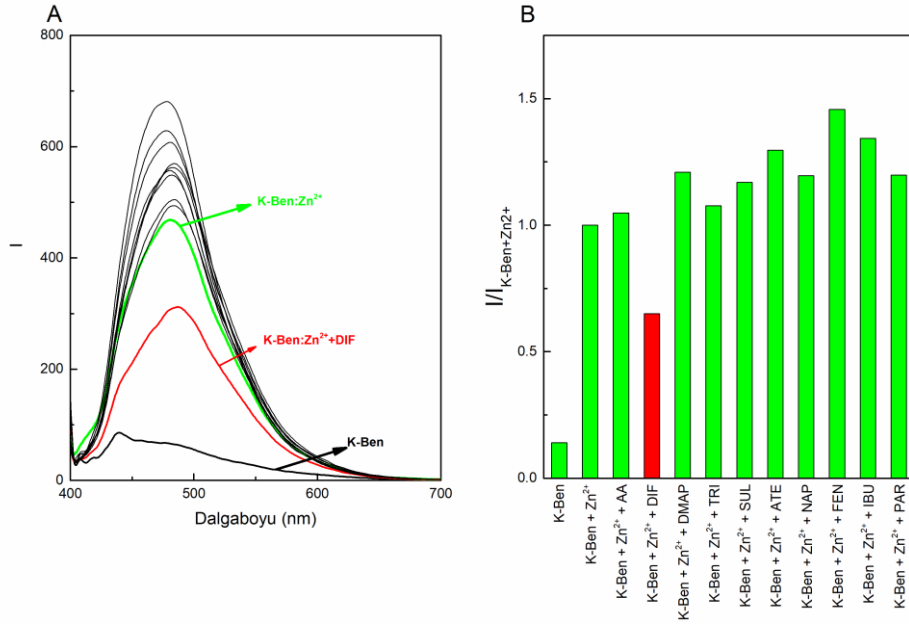
denklemleri kullanılarak bağlanma katsayısı (K) hesaplandı. Benesi-Hildebrand denklemine göre elde edilen $1/[Zn^{2+}]$ değerine karşılık gelen $1/(I-I_0)$ değerlerini gösteren grafik Şekil 4.73'te verildi. Bağlanma sabiti, grafiğin eğimi olarak $97246 M^{-1}$ ($\log K = 4,99$) olarak hesaplandı.

K-8HQ türevi ile Zn^{2+} titrasyon çalışması sonucunda elde edilen floresans şiddeti değerleri kullanılarak Zn^{2+} konsantrasyon değerlerine karşı $490 nm$ 'de elde edilen floresans şiddeti değerlerinin grafiğinin lineer kısmı kullanılarak çizilen grafik Şekil 4.74'te verildi. Elde edilen veriler kullanılarak LOD değeri $2,6 \mu M$ olarak hesaplandı.

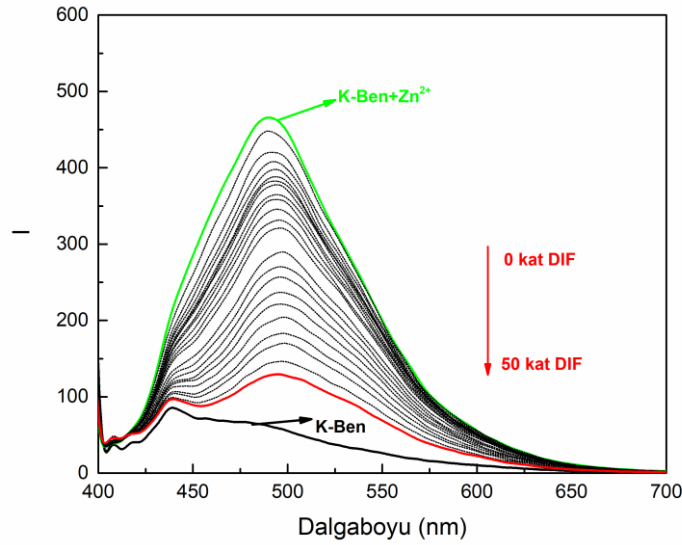


Şekil 4.72. **K-Ben** türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 0-3 eşmolar arasındaki Zn^{2+} ilavesi sonucunda elde edilen konsantrasyona karşı absorbans grafiği

K-Ben türevinin farklı katyonlar arasından Zn^{2+} için seçimli ve hassas sensör olduğu belirlendikten sonra parametre çalışmaları gerçekleştirildi. Farklı farmasötiklere karşı olan spektroskopik özelliklerinin incelenmesi için **K-Ben** türevinin Zn^{2+} ile kompleksinin üzerine 1 eşmolar olacak şekilde farklı farmasötik bileşikler ilave edildi ve floresans spektrumları alındı. Elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.75A'da verildi. Spektrumlar incelendiğinde, DIF bileşiği ilave edilmesi durumunda floresans şiddetinde azalma olduğu, ancak diğer bileşiklerin ilavesinde şiddetin azalmak yerine daha da arttığı görüldü. Yüzdeler olarak floresans şiddetindeki değişimi görmek için $I/I_{K-Ben+Zn^{2+}}$ değerlerinin farklı farmasötik bileşiklerin ilavesi sonucunda **K-Ben:Zn²⁺** kompleksine göre oranlanarak bağlı floresans şiddetleri hesaplandı ve değerler Şekil 4.75B'de sütun grafiği olarak verildi.



Şekil 4.73. K-Ben türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 1 eşmolar Zn²⁺ ilavesi sonrasında 1 eşmolar farklı farmasötik bileşik ilavesi sonucunda elde edilen (a) UV spektrumları (b) floresans şiddeti değişim grafiği



Şekil 4.74. K-Ben türevinin DMSO-su (9/1, v/v) ortamında 1 eşmolar Zn²⁺ ilavesi sonrasında 0-50 eşmolar DIF ilavesi sonucunda elde edilen floresans spektrumları

Elde edilen sonuçlara göre **K-Ben:Zn²⁺** kompleksinin üzerine sadece DIF bileşiğinin eklenmesi durumunda kompleksin bozulduğu ve emisyonun sönümlendiği görülmektedir. Ticari olarak bulunan ve DIF.HCl-Çinko asetat kompleksi olan topikal analjezik, antihistamin, deri koruyucu ilacın varlığı, DIF ile Zn²⁺ kompleksleşmeyi

doğrulamaktadır. Detaylı parametre çalışmaları, **K-Ben:Zn²⁺** kompleksi üzerine DIF bileşiği ilavesi ile gerçekleştirildi ve elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.76'da verildi. Kompleks üzerine 0-50 eşmolar aralığında DIF bileşiği ilavesi ile kompleksin var olan 490 nm'deki emisyonunun kaybolduğu, dolayısıyla DIF bileşiği eklendikçe **K-Ben:Zn²⁺** kompleksinin bozulduğuna işaret etmektedir. Bunun da ortamdaki Zn²⁺ iyonlarının DIF ile daha kararlı bir kompleks oluşturmasından kaynaklandığı şeklinde değerlendirildi.

Bağlanma sabitinin ve kompleksleşme stokiyometrisinin belirlenmesi gibi parametreler, **K-Ben:Zn²⁺** kompleksi üzerine DIF bileşiğinin ilavesiyle titrasyon çalışmasından elde edilen sonuçların incelenmesi ile yapıldı. Bir sönümleme olayında floresans molekül ile sönümleyici molekül arasında;



gerçekleşen reaksiyonda, sönümleme durumunda bağlanma katsayısı (K);

$$K = \frac{[Q_nH]}{[Q]^n [H]} \quad (\text{Denklem 4.2})$$

Burada, Q sönümleyici analitin, H ise floresans molekülü, Q_nH ise floresans molekül ile sönümleyici molekül kompleksini ifade etmektedir. Toplam floresans molekül konsantrasyonu H_0 ;

$$[Q_nH] = [H_0] - [H] \quad (\text{Denklem 4.3})$$

$$K = [H_0] - \frac{[H]}{[Q]^n [H]} \quad (\text{Denklem 4.4})$$

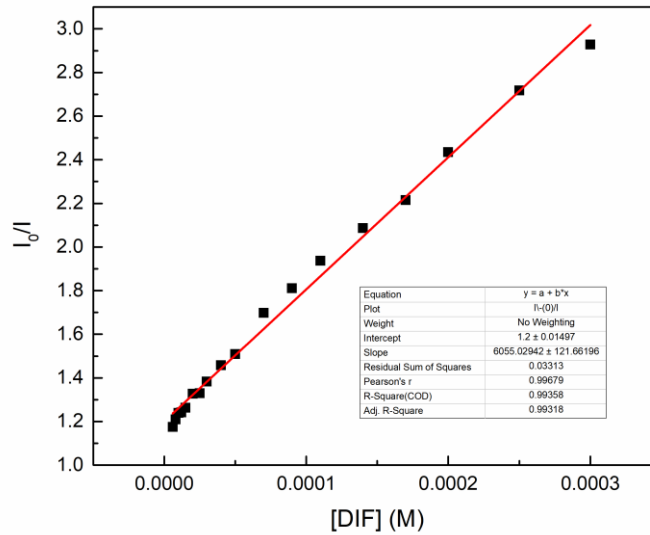
Floresans şiddeti, floresans molekül konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğuna göre,

$$\frac{[H]}{[H_0]} \propto \frac{I}{I_0} \quad (\text{Denklem 4.5})$$

denklemini yazılabilir. Bu formüllere göre, **K-Ben:Zn²⁺** kompleksinin üzerine DIF eklenmesi ile birlikte emisyonun sönümlemesi durumu, Stern-Volmer (SV) denklemini ile kantitatif olarak belirlenebilmektedir (REF).

$$\frac{I}{I_0} = 1 + K_{SV} [A] \quad (\text{Denklem 4.6})$$

burada, K_{SV} değeri söndürme katsayısını (M^{-1}), $[A]$ ilaç konsantrasyonunu, I_0 ve I değerleri başlangıçtaki ve analitlerin eklendikten sonraki floresans şiddetlerini göstermektedir (Simsir ve ark., 2021). Stern-Volmer denkleminde göre farklı DIF konsantrasyonlarına göre elde edilen floresans şiddeti değerleri kullanılarak I_0/I değerlerinin grafiğinin çizilmesi sonucunda Şekil 4.77’de verildi. Hazırlanan **K-Ben:Zn²⁺** kompleksinin üzerine 50 eşmolar kadar DIF ilave edilmesi sonucunda elde edilen sonuçlar ile çizilen lineer ($R^2= 0,996$) bir grafik üzerinden K_{SV} değeri $6055 M^{-1}$ olarak hesaplandı.

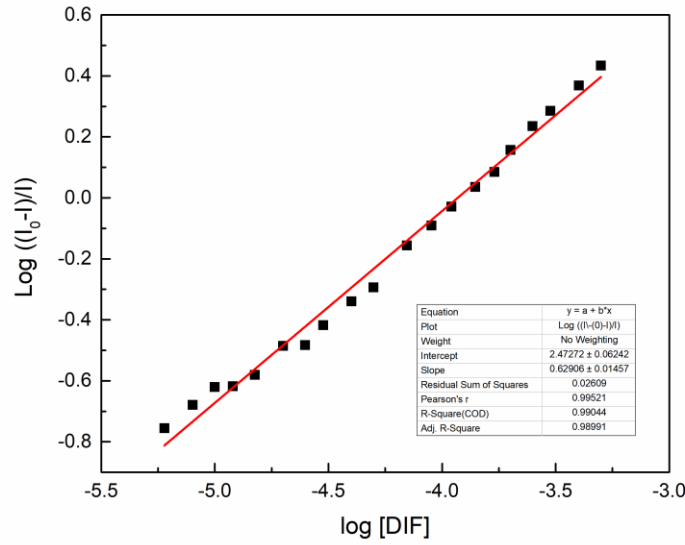


Şekil 4.75. **K-Ben+Zn²⁺** kompleksi üzerine DIF ilave edilerek elde edilen Stern-Volmer grafiği

Kompleks durumundaki **K-Ben:Zn²⁺** emisyonunun DIF ilavesi sonucunda oluşan stokiometrik oranın belirlenmesi için;

$$\log \left[\frac{I_0 - I}{I} \right] = \log K_q + n \log [A] \quad (\text{Denklem 4.7})$$

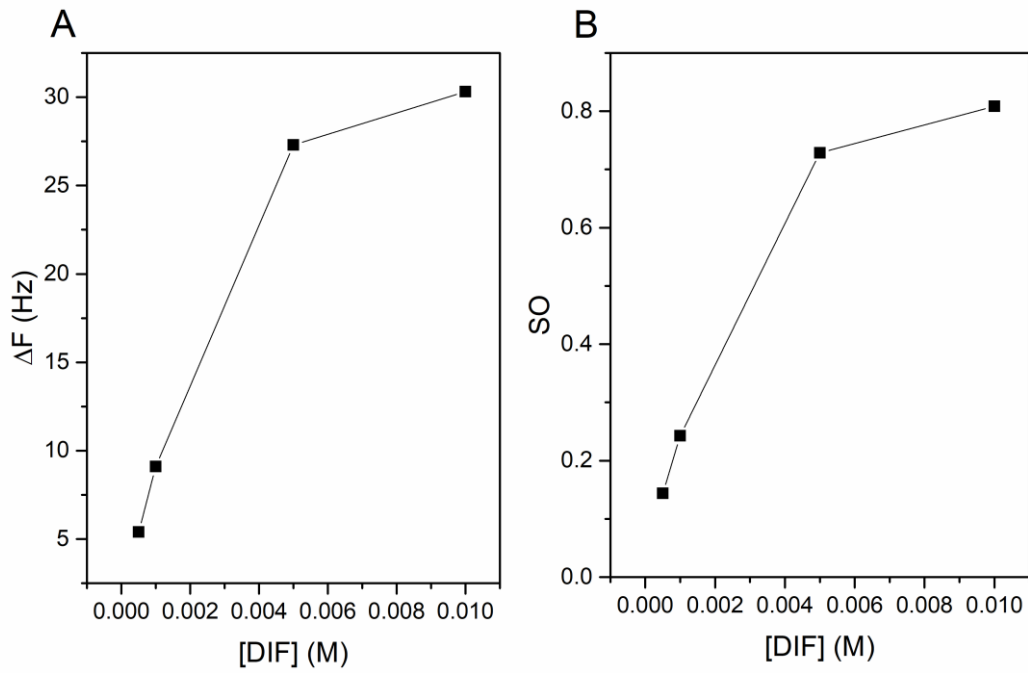
formülü kullanıldı. Burada n stokiometrik oranı, K_q değeri ise floresans söndürme değerini göstermektedir. Farklı konsantrasyonlardaki DIF bileşiğinin $\log((I_0-I)/I)$ değerine göre lineer grafiği çizildi ve Şekil 4.78’de verildi. Lineer grafiğin eğimi olan n değeri 0,629 olarak bulundu.



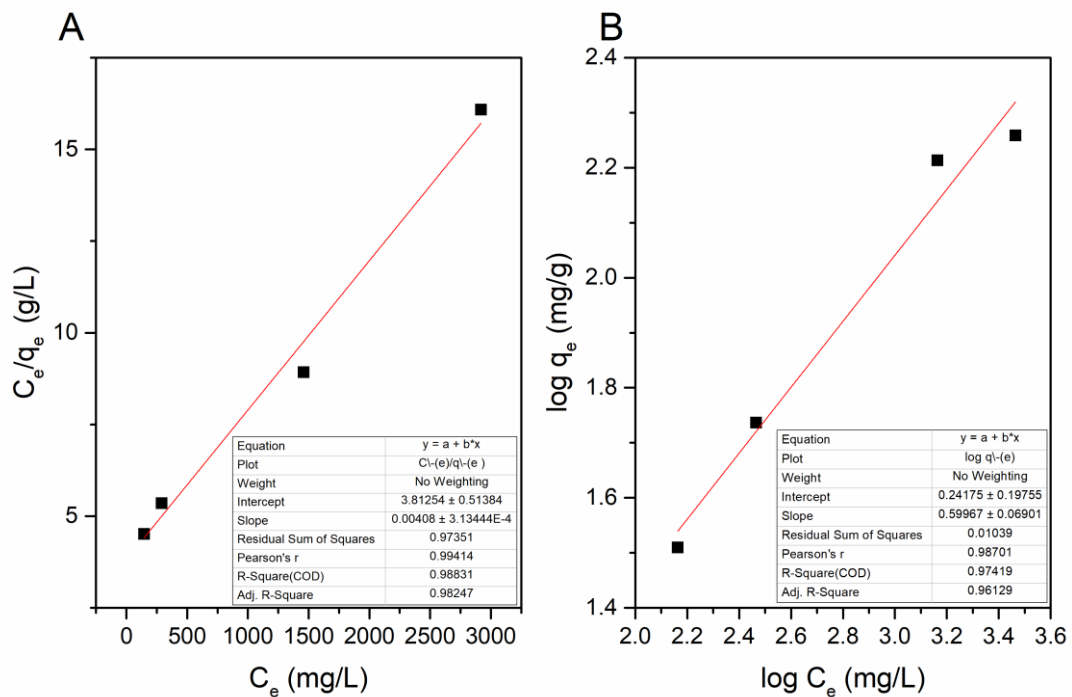
Şekil 4.76. **K-Ben:Zn²⁺** kompleksi üzerine DIF ilave edilerek elde edilen kompleksleşme grafiği

4.2.5.2. QCM algılma çalışmaları

Bu çalışmada, hazırlanan benzotriazol grubu içeren **K-Ben** türevinin spektroskopik olarak farklı katyonlar arasından Zn^{2+} iyonuna karşı seçimli olduğu, oluşan **K-Ben:Zn²⁺** kompleksinin ise DIF'e karşı da sönümlenme ile seçimlilik göstermesi üzerine sulu ortamda QCM sensör sistemi kullanılarak sulu ortamda algılama özellikleri de incelendi. Bunun için öncelikle QCM elektrodu üzerine çözeltide bekletme yöntemi ile **K-Ben** türevi ile 200 Hz kalınlığında ince film tabakası hazırlandı ve sulu ortamda farklı konsantrasyon aralığında DIF çözeltisinin QCM sisteminde adsorpsiyon ve desorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilerek algılama özellikleri belirlendi. Farklı konsantrasyon değerlerinde elde edilen frekans değişimi grafiği Şekil 4.79A'da verildi. Elde edilen frekans değişimleri incelendiğinde konsantrasyon değeri arttıkça, frekans değişiminin arttığı, ancak artış hızının giderek azaldığı görüldü. Elde edilen frekans değişimi değerleri sonuçlarını daha iyi değerlendirebilmek için farklı DIF konsantrasyonlarındaki çalışmalardan SO değerleri hesaplandı ve Şekil 4.79B'de verildi. Elde edilen değişim değerlerine göre en yüksek SO değeri 0,8 olarak hesaplandı. Bu değer spektroskopik ölçümler ile karşılaştırıldığında, spektroskopik ölçümlerde elde edilen 1:1 kompleksleşme oranına yakın şekilde sonuçlar elde edilmesi, spektroskopik yöntem ile QCM yönteminin birbirini doğruladığına işaret etmektedir.



Şekil 4.77. K-Ben kaplı QCM sensörün farklı DIF konsantrasyonundaki (A) frekans değişimi grafiği ve (B) stokiyometrik oran grafiği



Şekil 4.80. K-Ben kaplı QCM sensörün farklı DIF konsantrasyonundaki (A) Langmuir ve (B) Freundlich adsorpsiyon izotermi

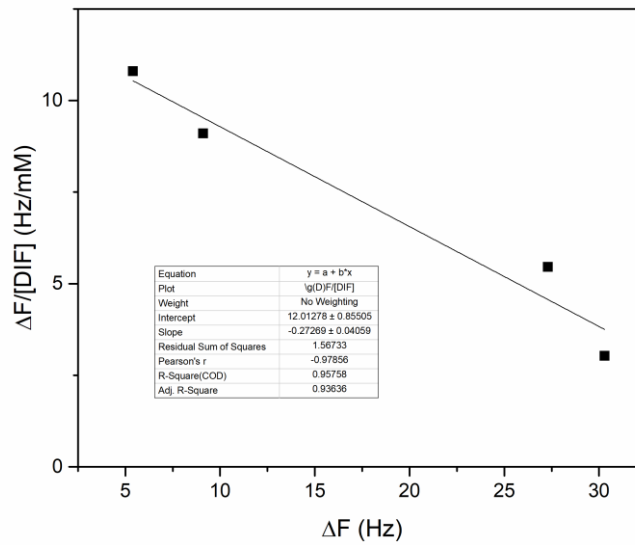
QCM sensöründe farklı analitlerin algılanması, analitlerin, QCM sensörü üzerinde kaplanan algılayıcı moleküller arasındaki adsorpsiyon prosesine dayanmaktadır. Dolayısıyla hazırlanan **K-Ben** türevi ile kaplı QCM sensörlerin DIF için Langmuir ve

Freundlich izotermi incelendi (Temel ve ark., 2019b) ve izoterm Şekil 4.80’de verildi. Elde edilen ve hesaplanan adsorpsiyon izoterm verileri Çizelge 4.4’te verildi.

Langmuir ve Freundlich izotermilerinin lineerliği incelendiğinde, Langmuir izotermine daha yüksek R^2 değerine sahip olması nedeniyle, hazırlanan **K-Ben** türevinin sulu ortamda DIF algılanmasında Langmuir izotermine daha uyumlu olduğu görüldü.

Çizelge 4.4. **K-Ben** kaplı QCM sensörün DIF algılama prosesi için Langmuir ve Freundlich izotermi parametreleri

Langmuir	R^2	0,988
	q_0 (mg/g)	245,3
	R_L	0,243
	b (L/mmol)	0,312
Freundlich	R^2	0,974
	K_F (mg/g)	1,745
	n	1,668



Şekil 4.78. **K-Ben** kaplı QCM sensörün farklı DIF konsantrasyon değerlerindeki Scatchard denge izotermi

Denge durumundaki bağlanma sabitinin belirlenmesi için **K-Ben** türevi kaplı QCM sensörün farklı DIF konsantrasyon değerlerine karşı elde edilen frekans değişimi değerlerinden Scatchard denge izotermi çizildi (Ozcelik ve ark., 2019). Elde edilen izoterm Şekil 4.81’de ve izoterm parametreleri Çizelge 4.5’te verildi. Bağlanma katsayısı, K_A 0,273 L/mmol olarak hesaplandı. Elde edilen teorik ΔF_{max} değerinin 44,1 Hz olarak hesaplanması ve çalışılan en yüksek DIF konsantrasyon değerinde 30,3 Hz değerinin elde edilmesi, henüz algılama kapasitesinin dolmadığını gösterdi. Elde edilen sonuçlar

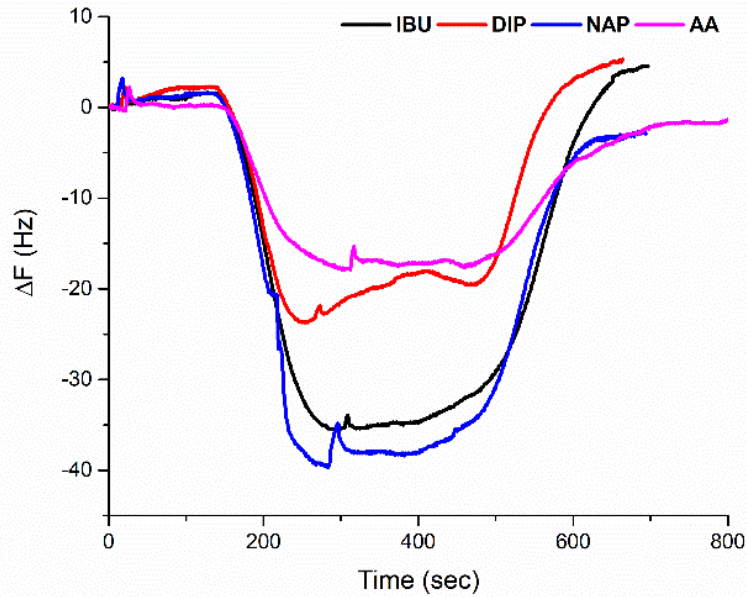
incelendiğinde spektroskopik yöntemle elde edilen sonuçlar ile QCM yöntem ile elde edilen sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu görüldü.

Çizelge 4.5. K-Ben kaplı QCM sensörün DIF algılama prosesi için Scatchard denge izotermi parametreleri

R^2	ΔF_{\max} (Hz)	K_D (mM)	K_A (1/mM)
0,958	44,1	3,667	0,273

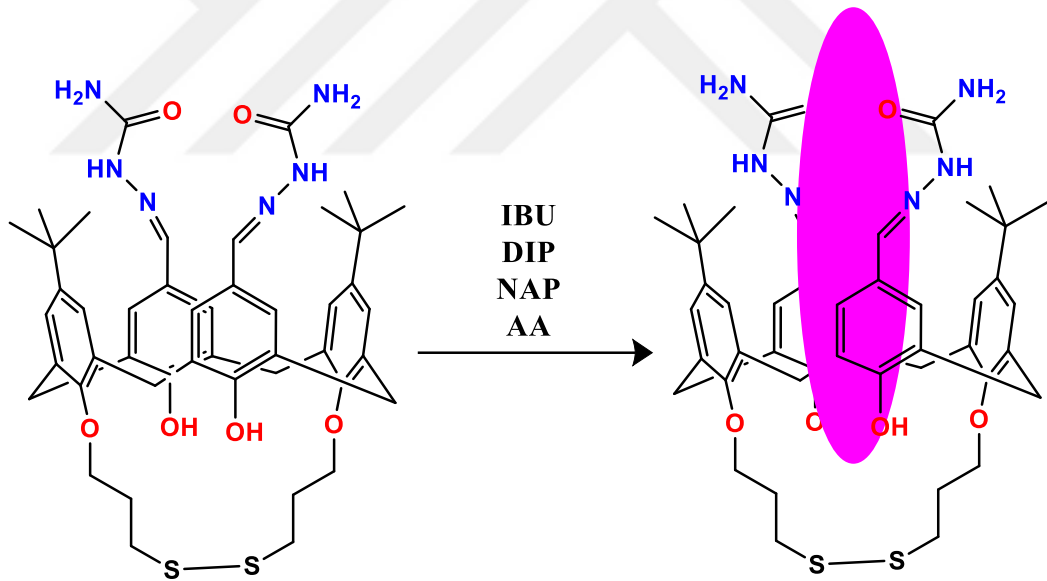
4.2.6. K-SK türevi kullanılarak farmasötik bileşiklerin tespit edilmesi

Bu çalışmada, ayrıca semikarbazit grubu içeren **K-SK** türevi kullanılarak farklı farmasötik bileşiklerin QCM sisteminde sulu ortamda tespiti çalışmaları gerçekleştirildi. **K-SK** türevinin kloroform içerisinde 10^{-3} M olacak şekilde stok çözeltisi hazırlandı. Farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için Şekil 3.4’te verilen farmasötik bileşiklerden AA, DIF, NAP ve IBU için sulu çözeltileri 5×10^{-4} - 1×10^{-2} M konsantrasyon aralığında olacak şekilde hazırlandı. QCM kristalleri üzerinde çözeltide bekletme yöntemiyle ince filmi oluşturulduktan sonra literatürde belirtilen sıvı temaslı QCM sisteminde belirtilen farmasötik bileşiklerin algılama çalışmaları gerçekleştirildi. Hazırlanan **K-SK** türevi kaplı QCM sensörün 10^{-2} M konsantrasyondaki AA, DIF, NAP ve IBU için elde edilen frekans değişimi grafikleri Şekil 4.82’de verildi.



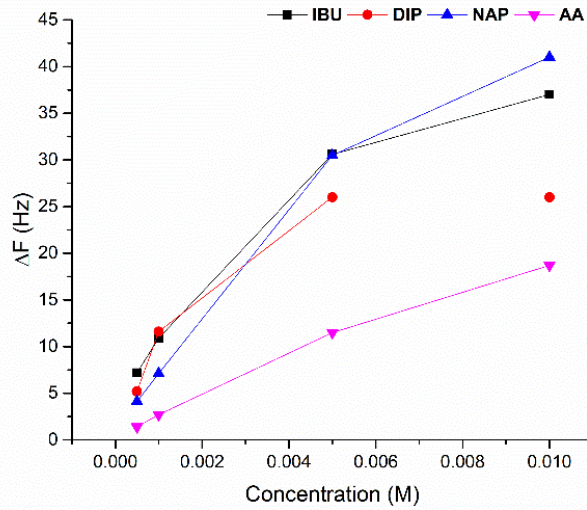
Şekil 4.79. K-SK türevi kaplı QCM sensörün 10^{-2} M konsantrasyondaki zamana bağlı frekans değişimi grafiği

Sonuçlara göre en yüksek frekans değişiminin NAP ve IBU bileşikleri için elde edildiği görüldü. **K-SK** türevinin hidrofobik boşluğundaki π - π etkileşimlerinin ve hidrojen bağının farmasötiklerin algılanmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. (Erdemir, 2012). Dolayısıyla, **K-SK** türevi ve farmasötik bileşiklerin yapıları incelendiğinde, karşılıklı çoklu hidrojen bağı etkileşimlerinin yanı sıra π - π etkileşimleri potansiyelinin de oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu etkileşimler için, **K-SK** türevi yapısında semirkarbazidil, IBU ve NAP bileşiklerinde karboksil grupları, DIF yapısında azot ve oksijen atomları ve AA yapısında ise hidroksil ve asetil grupları bulundurmaktadır. Bunlara ek olarak, farmasötik bileşiklerin sulu ortamda hidrojen bağlama yetenekleri sebebiyle, suyu daha çok tercih eden bir farmasötik bileşiğin, kaliks[4]aren **K-SK** türevi ile daha zayıf bir etkileşim gösterdiği ve daha düşük algılama gösterdiği şeklinde değerlendirildi. Elde edilen farmasötik bileşiklere karşı olası algılama mekanizması Şekil 4.82’de verildi.



Şekil 4.80. **K-SK** türevinin farklı farmasötik bileşiklere karşı olası kompleksleşme mekanizması

Hazırlanan **K-SK** türevi kaplı QCM sensörün farmasötik bileşiklerine karşı algılama özelliklerinin daha iyi incelemek için farmasötik bileşiklerin 5×10^{-4} - 1×10^{-2} M konsantrasyon aralığındaki çözeltileri sırasıyla QCM sisteminde sıvı temaslı sistemde okutuldu. Böylece farklı konsantrasyon değerlerinde elde edilen frekans değişimi değerleri Şekil 4.83’de verildi.



Şekil 4.81. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı konsantrasyonlardaki farmasötik bileşiklere karşı frekans değişim grafiği

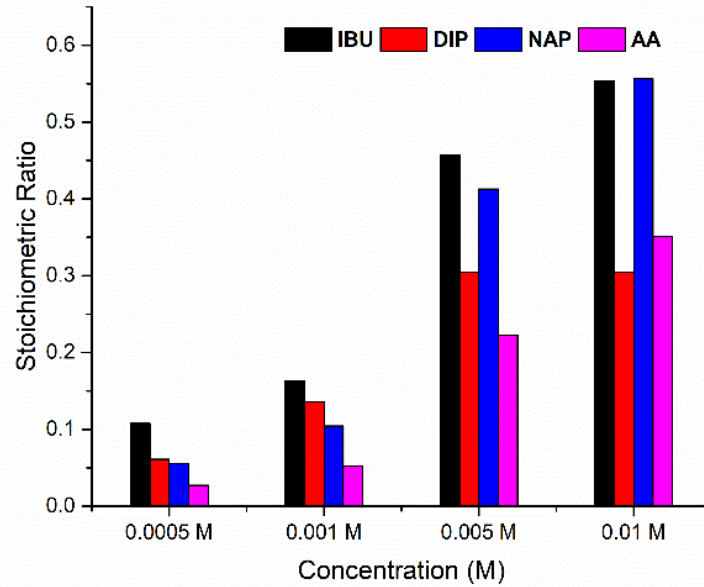
Grafiklere bakıldığında en yüksek frekans değişiminin IBU ve NAP için elde edildiği, konsantrasyon arttıkça frekans değişiminin de arttığı görülmektedir. DIP için farklı konsantrasyonlardaki frekans değişimi incelendiğinde, son iki konsantrasyon değerinde aynı frekans değişimi değerinin elde edilmesi, DIP algılama kapasitesinin dolduğuna işaret etmektedir. AA için frekans değişimi incelendiğinde ise diğerlerine göre daha düşük frekans değişimine sahip olduğu ancak artan konsantrasyonla arttığı görülmektedir. Konsantrasyon çalışması sonucunda elde edilen regresyon ve hassasiyet değerleri Çizelge 4.6'da verildi. Buna göre K-SK kaplı QCM sensörün hassasiyeti en yüksek olduğu farmasötik bileşiklerin IBU ve NAP bileşikler olduğu belirlenmiştir. Konsantrasyona göre elde edilen frekans değişim LOD ve LOQ değerleri hesaplandı. Elde edilen LOD ve LOQ değerleri Çizelge 4.6'da verildi.

Çizelge 4.6 K-SK türevi kaplı QCM sensörün sensör parametreleri

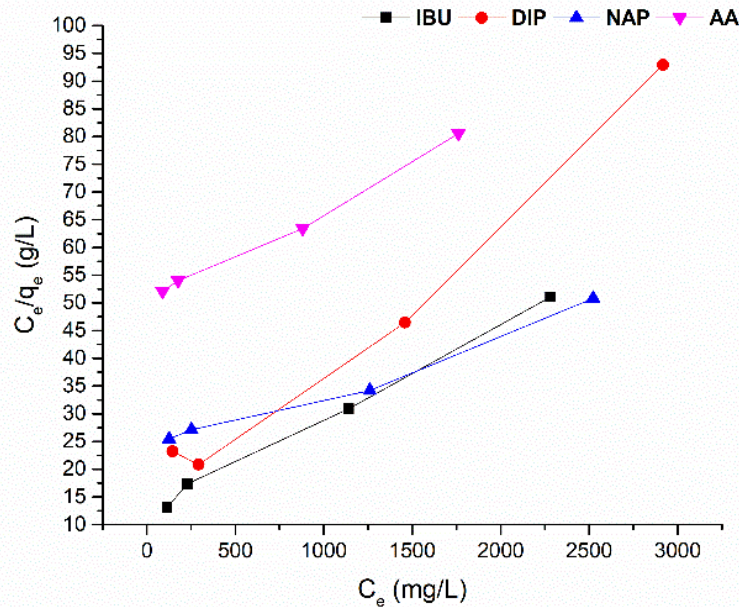
Farmasötik	R ²	Hassasiyet	LOD (M)	LOQ (M)
IBU	0.909	3161.98	1.16x10 ⁻⁴	3.87x10 ⁻⁴
DIP	0.754	2069.17	1.78x10 ⁻⁴	5.92x10 ⁻⁴
NAP	0.944	3939.42	1.24x10 ⁻⁴	4.15x10 ⁻⁴
AA	0.982	1768.21	1.39x10 ⁻⁴	4.62x10 ⁻⁴

K-SK türevi kullanılarak hazırlanan QCM sensörlerinin farklı konsantrasyon değerlerinde elde edilen frekans değişimleri sonuçlarını daha iyi değerlendirebilmek için SO değerleri hesaplandı. Farklı kaplama kalınlıklarının olması durumunda, SO değerleri kullanılarak sonuçlar daha iyi değerlendirilebilmektedir. Hazırlanan K-SK kaplı QCM

sensörlerinin farklı konsantrasyon değerlerindeki farmasötik bileşiklerin sulu çözeltilerine karşı elde edilen SO değerleri grafiği Şekil 4.84'te verildi. Elde edilen sonuçlara göre, frekans değişimi en yüksek olan IBU ve NAP bileşikleri için en yüksek SO değeri 0,55 olarak hesaplandı.

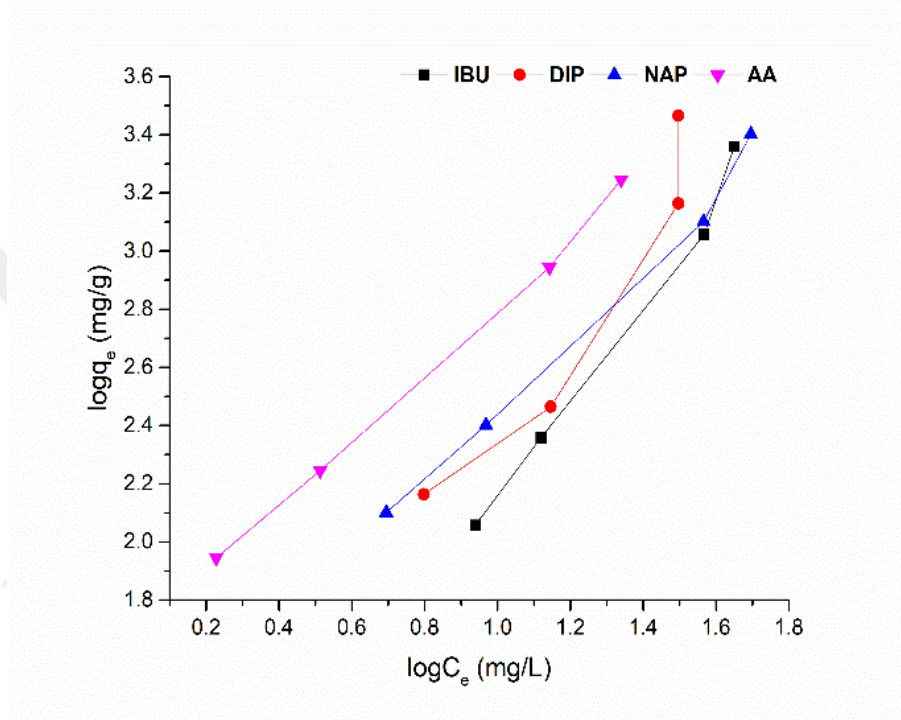


Şekil 4.82. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı konsantrasyonlardaki farmasötik bileşiklerin SO grafiği



Şekil 4.83. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötik bileşiklere karşı Langmuir adsorpsiyon izotermeleri

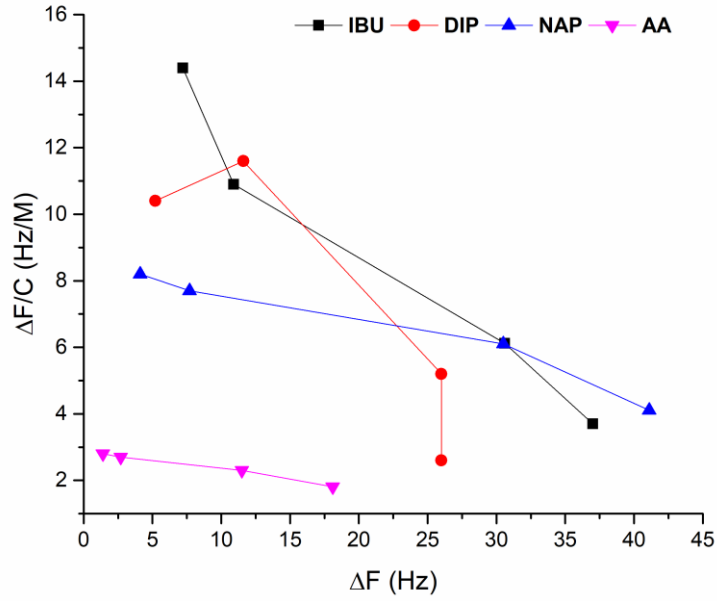
Diğer taraftan analitlerin QCM sensörü üzerinde kaplanan algılayıcı moleküller ile adsorpsiyon prosesine ait Langmuir ve Freundlich izotermeleri de incelendi (Temel ve ark., 2019b). Elde edilen Langmuir ve Freundlich izotermelerine ait grafikler Şekil 4.85 ve Şekil 4.86'da, adsorpsiyon izotermeleri ise Çizelge 4.7'de verildi. Sonuçlara göre en yüksek frekans değişimine sahip olan IBU ve NAP için hem Langmuir hem de Freundlich izotermelerine uyumlu olduğu görüldü.



Şekil 4.84. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötik bileşiklere karşı Freundlich adsorpsiyon izotermeleri

Çizelge 4.7 K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötik bileşikleri algılama prosesi için Langmuir ve Freundlich izotermi parametreleri

		IBU	DIF	NAP	AA
Langmuir	R^2	0,996	0,980	0,980	0,992
	q_0 (mg/g)	58,93	38,82	96,92	59,84
	R_L	0,238	0,165	0,476	0,631
	b (L/mmol)	0,320	0,506	0,110	0,058
Freundlich	R^2	0,998	0,910	0,990	0,997
	K_F (mg/g)	0,6058	0,5562	0,1153	0,0374
	n	1,762	1,890	1,268	1,157



Şekil 4.85. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı konsantrasyonlardaki farmasötik bileşiklere karşı Scatchard denge izotermi

Çizelge 4.8. K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötikleri algılama prosesi için Scatchard denge izotermi parametreleri

Farmasötik	R ²	ΔF _{max} (Hz)	K _D (mM)	K _A (1/mM)
IBU	0.96	48.7	3.11	0.322
DIP	0.815	37.5	2.727	0.815
NAP	0.954	85.6	9.912	0.101
AA	0.987	50.6	17.56	0.057

Denge durumundaki bağlanma katsayısının belirlenmesi için K-SK türevi kaplı QCM sensörün farklı konsantrasyon değerlerindeki farmasötik bileşiklere karşı elde edilen frekans değişimi değerlerinin Scatchard denge izotermi kullanılarak hesaplandı (Ozcelik ve ark., 2019) ve elde edilen grafikler Şekil 4.87’de ve izoterm parametreleri Çizelge 4.8’de verildi. Elde edilen sonuçlara göre DIF için kapasitenin dolması nedeniyle sapmaların oluştuğu görülmektedir. İBU, NAP ve AA için ise sensör kapasitesinin henüz bitmediği söylenebilir. Sensörün kapasitesinin maksimum seviyede kullanan DIF’in en yüksek bağlanma katsayısına sahip olduğu görüldü.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, öncelikle sulu ortamda farmasötik kirleticileri algılayabilecek Schiff bazı ve amit fonksiyonel grupları taşıyan kaliks[4]aren türevleri sentezlendi ve yapıları aydınlatıldı. Sentezlenen kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevlerinin öncelikle spektroskopik olarak sensör özellikleri, seçilen farmasötik bileşiklere (AA, DIF, DMAP, TRI, SUL, ATE, NAP, FEN, IBU ve PAR) karşı UV-GB ve floresans spektroskopisi ile incelendi. QCM çalışmaları ise spektroskopik sensör özelliği ortaya çıkan kaliks[4]aren türevleri ile gerçekleştirildi. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

5.1. Sonuçlar

1. Sentezlenen **K-Rh** türevinin etanol-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik sensör özellikleri floresans spektroskopisi ile incelendiğinde, **K-Rh** türevinin etanol-su ortamında AA için seçimli ve hassas bir sensör olduğu görüldü.
2. Sentezlenen **K-FI** türevinin asetonitril-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik özellikleri UV-GB ve floresans spektroskopisi ile incelendiğinde kayda değer bir şekilde florimetrik ya da kolorimetrik olarak bir değişim gerçekleşmediği görüldü.
3. **K-FI** türevinin farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik olarak kayda değer bir etkisinin olmaması üzerine, farklı katyonlara karşı spektroskopik özellikleri incelendi. **K-FI** türevinin çalışılan katyonlar içerisinde Cu^{2+} iyonu için seçimli ve hassas bir kolorimetrik sensör olduğu görüldü.
4. **K-FI** türevinin Cu^{2+} sensör özelliği dolayısıyla **K-FI:Cu²⁺** kompleksinin üzerine farklı farmasötik bileşikler ilave edildi ve spektroskopik özellikleri incelendi. Sonuçlar, oluşan kompleksin FEN bileşiği ilavesi sonucu ortamın pH değerinin değişmesi ile kolorimetrik ve florimetrik olarak değişiklikler gözlemlendi.
5. **K-8HQ** türevinin asetonitril-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik özellikleri UV-GB ve floresans spektroskopisi ile incelendiğinde kayda değer bir şekilde florimetrik ya da kolorimetrik olarak bir değişim gerçekleşmediği görüldü.

6. **K-8HQ** türevinin farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik olarak kayda değer bir etkisinin olmaması üzerine, farklı katyonlara karşı spektroskopik özellikleri incelendi. **K-8HQ** türevinin çalışılan katyonlar içerisinde Cu^{2+} için seçimli ve hassas bir florimetrik sensör olduğu görüldü.
7. **K-8HQ** türevi Cu^{2+} ile florimetrik sensör özelliği dolayısıyla **K-8HQ:Cu²⁺** kompleksinin üzerine farklı farmasötik bileşikler ilave edildi ve spektroskopik özellikleri incelendi. Sonuçlardan ilave edilen tüm farmasötik bileşiklerin seçimlilik göstermeksizin, mevcut kompleksin bozulmasına neden olduğu anlaşıldı.
8. **K-Ben** türevinin DMSO-su ortamında farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik özellikleri UV-GB ve floresans spektroskopisi ile incelendiğinde kayda değer bir şekilde florimetrik ya da kolorimetrik olarak bir değişim gerçekleşmediği görüldü.
9. **K-Ben** türevinin farklı farmasötik bileşiklere karşı spektroskopik olarak kayda değer bir etkileşimin üzerine, farklı katyonlara karşı spektroskopik özellikleri incelendi. **K-Ben** türevi çalışılan katyonlar içerisinde, Zn^{2+} için seçimli ve hassas bir florimetrik sensör olduğu görüldü.
10. **K-Ben** türevi Zn^{2+} ile florimetrik sensör özelliği dolayısıyla elde edilen **K-Ben:Zn²⁺** kompleksinin üzerine farklı farmasötik bileşikler ilave edildi ve spektroskopik özellikleri incelendi. Elde edilen yeni komplekslerde sadece DIF bileşiğinin ilavesinde floresans şiddetinin azaldığı, diğer farmasötik bileşiklerin ilavesinde ise floresans şiddetinin arttığı görüldü.
11. **K-Rh** türevinin AA için QCM çalışmaları da gerçekleştirildi. Fonksiyonel grubun etkisini görmek amacıyla aldehit grubu taşıyan kaliks[4]aren **K-4** türevi ile karşılaştırıldığında AA algılanmasında rodamin gruplarının etkili olduğu görüldü. Stokiyometrik oran değerlerinden algılamada **K-Rh** ve AA arasında 1:1 oranında etkileşim olduğu belirlendi. Bu da hem spektroskopik yöntemin hem de QCM yönteminin bu noktada birbirini doğruladığını gösterdi.
12. **K-Ben** türevinin DIF için QCM çalışmaları da gerçekleştirildi. Elde edilen frekans değişimleri incelendiğinde konsantrasyon değeri arttıkça, frekans değişiminin arttığı, ancak artış hızının giderek azaldığı görüldü. Stokiyometrik oran değerlerinden algılamada **K-Ben** ve DIF arasında 1:1 oranında etkileşim olduğu belirlendi. Bu da hem spektroskopik yöntemin hem de QCM yönteminin bu noktada birbirini doğruladığını gösterdi.

13. **K-SK** türevi kaplı QCM sensörün farklı farmasötik bileşiklerin sulu ortamda algılama çalışmaları gerçekleştirildiğinde NAP ve IBU için en yüksek frekans değişimlerinin meydana geldiği, en düşük frekans değişiminin de AA için elde edildiği görüldü.

14. Yapılan tüm QCM çalışmalarında kaplama kalınlığının etkisi incelendi ve kaplama kalınlığı arttıkça stokiyometrik oran değerlerinde azalma olduğu görüldü. Bunun başlıca sebebinin, yüzeyde bulunan algılayıcı madde miktarının fazla olması dolayısıyla kaplama sürecinde moleküllerin üst üste gelerek çoklu tabaka oluşturması nedeniyle algılayıcı bölgelerin kapanması olarak şeklinde değerlendirildi. Her ne kadar düşük kaplama değerlerinde stokiyometrik olarak yüksek algılama gerçekleşse de algılama kapasitesi düşük oldu. QCM çalışmalarında etkileşimlerin adsorpsiyon prosesi üzerinden yürümesi nedeniyle Langmuir, Freundlich ve Scatchard izotermi çizilerek adsorpsiyon parametreleri belirlendi.

Sonuç olarak; bu çalışma ile kaliks[4]aren Schiff bazı ve amit türevleri kullanılarak sulu ortamda bazı farmasötik bileşikler kalitatif ve kantitatif olarak algılayabilecek yeni kaliks[4]aren tabanlı QCM sensörler geliştirilmiş oldu.

5.2. Öneriler

Bu tez çalışmasında farklı yapılarda hazırlanan Schiff bazı ve amit yapısı içeren kaliks[4]aren türevlerinin sulu ortamda farklı farmasötik bileşiklerin tespiti çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen tez çalışmaları ve literatürde gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde, farklı farmasötik bileşiklerin tespiti için spektroskopik yöntemler kullanılırken, doğrudan florimetrik ya da kolorimetrik olarak tespitinin olmadığı, ancak bir emisyonla sahip olduğunda farklı farmasötik bileşiklerin ilavesi durumunda bu emisyonun değişimi üzerinden çalışmaların gerçekleştirilebileceği ortaya çıkmıştır. Floresans özelliği gösteren rodamin ve floresein grubu, halka açılma reaksiyonu gerçekleştiğinde oldukça şiddetli emisyon yapabilmektedir. Ancak bu yapılar aynı zamanda pH duyarlı oldukları için, buldukları ortama göre kendiliğinden de emisyon gerçekleştirebilmektedirler. Öyle ki rodamin yapısı asit ortamında halka açılma reaksiyonu ile birlikte emisyon özelliği göstermektedir. Farmasötik bileşikler arasında bulunan askorbik asidin asidik özelliği, uygun konsantrasyon ve miktardayken halkanın

açılmasını sağlamaktadır. Rodamin B, yapısının aksine bazik ortamda emisyon yapabilen floresein halkası da anyonik yapıdaki atenolol, naproksen, fenitoin ve ibuprofen için yüksek konsantrasyon değerlerinde emisyon gerçekleştirdiği görülmektedir. Bu nedenle, çalışmalar gerçekleştirilirken hazırlanan kaliks[4]aren türevlerinin öncelikle emisyon yapabilmesi önemli bir konu haline gelmiştir. Dolayısıyla sonraki çalışmalarda farmasötik bileşiklerin spektroskopik olarak tespit edilmesi için algılayıcı malzemeler tasarlanırken bu konunun dikkate alınması önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Abd El-Rahman, M. K., Mazzone, G., Mahmoud, A. M., Sicilia, E. ve Shoeib, T., 2019, Spectrophotometric determination of choline in pharmaceutical formulations via host-guest complexation with a biomimetic calixarene receptor, *Microchemical Journal*, 146, 735-741.
- Abd El-Rahman, M. K., Mazzone, G., Mahmoud, A. M., Sicilia, E. ve Shoeib, T., 2021, Novel choline selective electrochemical membrane sensor with application in milk powders and infant formulas, *Talanta*, 221, 121409.
- Akceylan, E., Erdemir, S., Tabakci, M., Sivrikaya, A. ve Tabakci, B., 2022, Fluorescence switchable sensor enabled by a calix[4]arene-Cu(II) complex system for selective determination of itraconazole in human serum and aqueous solution, *Talanta*, 250, 123742.
- Aydin, E. ve Talinli, I., 2013, Analysis, occurrence and fate of commonly used pharmaceuticals and hormones in the Buyukcekmece Watershed, Turkey, *Chemosphere*, 90 (6), 2004-2012.
- Bártíková, H., Podlipná, R. ve Skálová, L., 2016, Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants, *Chemosphere*, 144, 2290-2301.
- Ben Maamar, M., Lesné, L., Hennig, K., Desdoits-Lethimonier, C., Kilcoyne, K. R., Coiffec, I., Rolland, A. D., Chevrier, C., Kristensen, D. M. ve Lavoué, V., 2017, Ibuprofen results in alterations of human fetal testis development, *Scientific reports*, 7 (1), 1-15.
- Bondarczuk, K. ve Piotrowska-Seget, Z., 2019, Microbial diversity and antibiotic resistance in a final effluent-receiving lake, *Science of The Total Environment*, 650, 2951-2961.
- Boukabcha, N., Djafri, A., Megrouss, Y., Tamer, Ö., Avcı, D., Tuna, M., Dege, N., Chouaih, A., Atalay, Y., Djafri, A. ve Hamzaoui, F., 2019, Synthesis, crystal structure, spectroscopic characterization and nonlinear optical properties of (Z)-N'-(2,4-dinitrobenzylidene)-2-(quinolin-8-yloxy) acetohydrazide, *Journal of Molecular Structure*, 1194, 112-123.
- Chawla, H., Pant, N., Srivastava, B. ve Upreti, S., 2006, Convenient Direct Synthesis of Bisformylated Calix [4] arenes via I pso Substitution, *Organic Letters*, 8 (11), 2237-2240.

- Chawla, H. M., Shukla, R. ve Goel, P., 2014, Sensitive recognition of cyanide through supramolecularly complexed new calix[4]arenes, *New Journal of Chemistry*, 38 (11), 5264-5267.
- Chen, X., Liu, Y., Li, P., Xing, Y. ve Huang, C., 2021, Molecularly Imprinted Silica-Coated CdTe Quantum Dots for Fluorometric Determination of Trace Chloramphenicol, *Molecules*, 26 (19), 5965.
- Curie, J. ve Curie, P., 1880, Développement, par pression, de l'électricité polaire dans les cristaux hémihédres à faces inclinées. 91: 294–295, 1880, *Cited on*, 23, 294-295.
- Demir, Y., 2020, Kükürt Atomu İçeren Farklı Kaliks[4]aren Amit Türevlerinin Hazırlanması ve Belirli İlaç Etken Maddelerini Algılama Özelliklerinin Kuartz Kristal Mikrobalsan Sisteminde İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Konya Teknik Üniversitesi*, Konya, 122.
- Erdemir, S., 2012, Synthesis of novel chiral Schiff base and amino alcohol derivatives of calix [4] arene and chiral recognition properties, *Journal of Molecular Structure*, 1007, 235-241.
- Erdemir, S. ve Tabakci, B., 2017, Selective and sensitive fluorescein-benzothiazole based fluorescent sensor for Zn²⁺ ion in aqueous media, *Journal of Fluorescence*, 27 (6), 2145-2152.
- Erdemir, S. ve Tabakci, B., 2018, Highly sensitive fluorometric detection of Zn²⁺ ion by calix [4] arene derivative appended 4-biphenylcarbonitrile, *Dyes and Pigments*, 151, 116-122.
- Erdemir, S., 2019, Fluorometric dual sensing of Hg²⁺ and Al³⁺ by novel triphenylamine appended rhodamine derivative in aqueous media, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 290, 558-564.
- Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, J.-W. W., Comber, H., Forman, D. ve Bray, F., 2013, Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012, *European journal of cancer*, 49 (6), 1374-1403.
- Gore, A., Crews, D., Doan, L., La Merrill, M., Patisaul, H. ve Zota, A., 2014, Introduction to endocrine disrupting chemicals (EDC). A guide for public interest organizations and policy-makers. The Endocrine Society and IPEN.
- Gutsche, C. D., Iqbal, M. ve Stewart, D., 1986, Calixarenes. 19. Syntheses procedures for p-tert-butylcalix [4] arene, *The Journal of Organic Chemistry*, 51 (5), 742-745.

- Guzel, E. Y., Cevik, F. ve Daglioglu, N., 2019, Determination of pharmaceutical active compounds in Ceyhan River, Turkey: Seasonal, spatial variations and environmental risk assessment, *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 25 (8), 1980-1995.
- He, M., Sun, H., Wei, J., Zhang, R., Han, X. ve Ni, Z., 2021, A highly sensitive, fast responsive and reversible naphthalimide-based fluorescent probe for hypochlorous acid and ascorbic acid in aqueous solution and living cells, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 247, 119138.
- Hurtado-Gonzalez, P., Anderson, R. A., Macdonald, J., van den Driesche, S., Kilcoyne, K., Jørgensen, A., McKinnell, C., Macpherson, S., Sharpe, R. M. ve Mitchell, R. T., 2018, Effects of exposure to acetaminophen and ibuprofen on fetal germ cell development in both sexes in rodent and human using multiple experimental systems, *Environmental Health Perspectives*, 126 (4), 047006.
- Hwang, J. Y., Shim, S. ve Hwang, G. T., 2018, 4',5'-Bis(dimethylamino)fluorescein Exhibits pH-Dependent Emission Behavior Distinct From That of Fluorescein, *Asian Journal of Organic Chemistry*, 7 (1), 150-154.
- Islas-Flores, H., Gómez-Oliván, L. M., SanJuan-Reyes, N., Elizalde-Velázquez, A., Dublán-García, O., Galar-Martínez, M., García-Medina, S. ve Hernández-Navarro, M. D., 2019, Background to the Emergence of Ecopharmacovigilance, In: *Ecopharmacovigilance: Multidisciplinary Approaches to Environmental Safety of Medicines*, Eds: Gómez-Oliván, L. M., Cham: Springer International Publishing, p. 13-20.
- Jiang, R., Lin, D., Zhang, Q., Li, L. ve Yang, L., 2022, Multiplex chroma-response based fluorescent smartphone sensing platform for rapid and visual quantitative determination of antibiotic residues, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 350, 130902.
- Khaled, E., Khalil, M. M. ve Abed el Aziz, G. M., 2017, Calixarene/carbon nanotubes based screen printed sensors for potentiometric determination of gentamicin sulphate in pharmaceutical preparations and spiked surface water samples, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 244, 876-884.
- Korkmaz, N. E., Savun-Hekimoglu, B., Aksu, A., Burak, S. ve Caglar, N. B., 2022, Occurrence, sources and environmental risk assessment of pharmaceuticals in the Sea of Marmara, Turkey, *Sci Total Environ*, 819, 152996.

- Kumar, R., Sharma, A., Singh, H., Suating, P., Kim, H. S., Sunwoo, K., Shim, I., Gibb, B. C. ve Kim, J. S., 2019, Revisiting Fluorescent Calixarenes: From Molecular Sensors to Smart Materials, *Chemical Reviews*, 119 (16), 9657-9721.
- Li, H., Zhou, Y. ve Du, J., 2022, Ascorbic acid as an alternative coreactant for luminol reaction and sensitive chemiluminescence determination of ascorbic acid in soft drinks, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 429, 113945.
- Li, T., Yang, Z., Li, Y., Liu, Z., Qi, G. ve Wang, B., 2011, A novel fluorescein derivative as a colorimetric chemosensor for detecting copper(II) ion, *Dyes and Pigments*, 88 (1), 103-108.
- Li, Z.-T., Ji, G.-Z., Zhao, C.-X., Yuan, S.-D., Ding, H., Huang, C., Du, A.-L. ve Wei, M., 1999, Self-assembling calix [4] arene [2] catenanes. Preorganization, conformation, selectivity, and efficiency, *The Journal of Organic Chemistry*, 64 (10), 3572-3584.
- Lin, S., Liu, S., Dai, G., Zhang, X., Xia, F. ve Dai, Y., 2021, A click-induced fluorescence-quenching sensor based on gold nanoparticles for detection of copper(II) ion and ascorbic acid, *Dyes and Pigments*, 195.
- Lv, H.-S., Huang, S.-Y., Zhao, B.-X. ve Miao, J.-Y., 2013, A new rhodamine B-based lysosomal pH fluorescent indicator, *Analytica Chimica Acta*, 788, 177-182.
- Meng, F., Xu, H., Wang, S., Wei, J., Zhou, W., Wang, Q., Li, P., Kong, F. ve Zhang, Y., 2022, One-step high-yield preparation of nitrogen- and sulfur-codoped carbon dots with applications in chromium(vi) and ascorbic acid detection, *RSC Adv*, 12 (30), 19686-19694.
- Miettinen, M. ve Khan, S. A., 2022, Pharmaceutical pollution: A weakly regulated global environmental risk, *Review of European, Comparative & International Environmental Law*, 31 (1), 75-88.
- Morelli, K. M., Brown, L. B. ve Warren, G. L., 2018, Effect of NSAIDs on recovery from acute skeletal muscle injury: a systematic review and meta-analysis, *The American journal of sports medicine*, 46 (1), 224-233.
- Mu, C., Lu, H., Bao, J. ve Zhang, Q., 2018, Visual colorimetric 'turn-off' biosensor for ascorbic acid detection based on hypochlorite-3,3',5,5',-Tetramethylbenzidine system, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 201, 61-66.
- Mukhtar, A., Manzoor, M., Gul, I., Zafar, R., Jamil, H. I., Niazi, A. K., Ali, M. A., Park, T. J. ve Arshad, M., 2020, Phytotoxicity of different antibiotics to rice and stress alleviation upon application of organic amendments, *Chemosphere*, 258, 127353.

- Nassour, C., Barton, S. J., Nabhani-Gebara, S., Saab, Y. ve Barker, J., 2020, Occurrence of anticancer drugs in the aquatic environment: a systematic review, *Environmental Science and Pollution Research*, 27 (2), 1339-1347.
- Nishikiori, K., Tanaka, K. ve Uesawa, Y., 2022, Construction of a prediction model for drug removal rate in hemodialysis based on chemical structures, *Molecular Diversity*, 26 (5), 2647-2657.
- Oguz, M. ve Mihciokur, H., 2014, Environmental risk assessment of selected pharmaceuticals in Turkey, *Environ Toxicol Pharmacol*, 38 (1), 79-83.
- Ortúzar, M., Esterhuizen, M., Olicón-Hernández, D. R., González-López, J. ve Aranda, E., 2022, Pharmaceutical Pollution in Aquatic Environments: A Concise Review of Environmental Impacts and Bioremediation Systems, *Frontiers in Microbiology*, 13.
- Ozcelik, E., Temel, F., Erdemir, S., Tabakci, B. ve Tabakci, M., 2019, QCM sensors coated with calix [4] arenes bearing sensitive chiral moieties for chiral discrimination of 1-phenylethylamine enantiomers, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 95 (1), 35-48.
- Özdemir, A., 2021, Siyanür Algılayıcı Yeni π -Konjuge Floresans Sensörlerin Tasarımı ve Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi*, Konya.
- Quesada, H. B., Baptista, A. T. A., Cusioli, L. F., Seibert, D., de Oliveira Bezerra, C. ve Bergamasco, R., 2019, Surface water pollution by pharmaceuticals and an alternative of removal by low-cost adsorbents: A review, *Chemosphere*, 222, 766-780.
- Samal, K., Mahapatra, S. ve Hibzur Ali, M., 2022, Pharmaceutical wastewater as Emerging Contaminants (EC): Treatment technologies, impact on environment and human health, *Energy Nexus*, 6, 100076.
- Sauerbrey, G., 1959, Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung, *Zeitschrift für Physik*, 155 (2), 206-222.
- Simsir, E. A., Erdemir, S., Tabakci, M. ve Tabakci, B., 2021, Nano-scale selective and sensitive optical sensor for metronidazole based on fluorescence quenching: 1H-Phenanthro[9,10-d]imidazolyl-calix[4]arene fluorescent probe, *Analytica Chimica Acta*, 1162, 338494.
- Temel, F., 2018, Kaliksaren Türevli QCM Biyosensörlerin Hazırlanması ve Aminoasitler için Algılama Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi*, Konya.

- Temel, F., Erdemir, S., Ozcelik, E., Tabakci, B. ve Tabakci, M., 2019a, Rapid and real-time detection of arginine enantiomers by QCM sensor having a Calix[4]arene receptor bearing asymmetric centers, *Talanta*, 204, 172-181.
- Temel, F., Erdemir, S., Tabakci, B., Akpınar, M. ve Tabakci, M., 2019b, Selective chiral recognition of alanine enantiomers by chiral calix [4] arene coated quartz crystal microbalance sensors, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 411 (12), 2675-2685.
- Üstün-Odabaşı, S., Maryam, B., Özdemir, N. ve Büyükgüngör, H., 2020, Occurrence and seasonal variations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and wastewater treatment plants in Samsun, Turkey, *Environmental Earth Sciences*, 79 (12).
- Verlicchi, P., Galletti, A., Petrovic, M. ve Barceló, D., 2010, Hospital effluents as a source of emerging pollutants: an overview of micropollutants and sustainable treatment options, *Journal of hydrology*, 389 (3-4), 416-428.
- Wang, P., Wu, T. H. ve Zhang, Y., 2016, Novel silver nanoparticle-enhanced fluorometric determination of trace tetracyclines in aqueous solutions, *Talanta*, 146, 175-180.
- World Health Organization, 1963. Sixteenth World Health Assembly, Geneva, 7-23 May 1963: part I: resolutions and decisions: annexes. Geneva p.
- Wu, W.-J., Zhao, Q., Zhou, R., Liang, Y.-C., Zhao, W.-B. ve Shan, C.-X., 2021, Ratiometric fluorescence sensor based on europium-grafted ZnO quantum dots for visual and colorimetric detection of tetracycline, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 259, 119901.
- Xu, J., Tian, Y., Li, Z., Tan, B. H., Tang, K. Y. ve Tam, K. C., 2022, β -Cyclodextrin functionalized magnetic nanoparticles for the removal of pharmaceutical residues in drinking water, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 109, 461-474.
- Yalcin, S. S., Gunes, B. ve Yalcin, S., 2020, Incredible pharmaceutical residues in human milk in a cohort study from Sanliurfa in Turkey, *Environ Toxicol Pharmacol*, 80, 103502.
- Yan, J., Zhang, J., Zhang, M. ve Shi, G., 2022, Lanthanide metal-organic framework as a paper strip sensor for visual detection of sulfonamide with smartphone-based point-of-care platform, *Talanta*, 237, 122920.

- Yilmaz, G., Kaya, Y., Vergili, I., Beril Gonder, Z., Ozhan, G., Ozbek Celik, B., Altinkum, S. M., Bagdatli, Y., Boergers, A. ve Tuerk, J., 2017, Characterization and toxicity of hospital wastewaters in Turkey, *Environ Monit Assess*, 189 (2), 55.
- Yüksekoğul, M., 2017, Rodamin Bazlı Yeni Schiff Bazı Türevlerinin Sentezi ve Metal İyonlarına Karşı Florometrik ve Kolorimetrik Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi*, Konya, 51.
- Zhang, L. ve Zhang, X., 2014, A selectively fluorescein-based colorimetric probe for detecting copper(II) ion, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 133, 54-59.
- Zhang, X., Shiraishi, Y. ve Hirai, T., 2007, Cu(II)-Selective Green Fluorescence of a Rhodamine–Diacetic Acid Conjugate, *Organic Letters*, 9 (24), 5039-5042.

