

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI YENİ FLORESANT İNDİKATÖRLERİN
SENTEZLERİ VE SPEKTROSKOPİK
UYGULAMALARI

Gülsiye ÖZTÜRK

8 Ekim 2008

İZMİR

**BAZI YENİ FLORESANT İNDİKATÖRLERİN
SENTEZLERİ VE SPEKTROSKOPİK
UYGULAMALARI**

Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Doktora Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Gülsiye ÖZTÜRK

8 Ekim 2008

İZMİR

DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

GÜLSİYE ÖZTÜRK, tarafından **Prof. Dr. SERAP ALP** yönetiminde hazırlanan **“BAZI YENİ FLORESANT İNDİKATÖRLERİN SENTEZLERİ VE SPEKTROSKOPİK UYGULAMALARI”** başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Serap ALP

Yönetici

Prof. Dr. Serdar ÖZÇELİK

Tez İzleme Komitesi Üyesi

Yard. Doç. Dr. Muhittin AYGÜN

Tez İzleme Komitesi Üyesi

Jüri Üyesi

Jüri Üyesi

Prof.Dr. Cahit HELVACI

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Danışmanım olarak tez konusunu belirleyen, çalışmalarımın her aşamasında bana rehberlik eden ve her türlü desteği veren değerli hocam, Sayın Prof. Dr. Serap ALP'e sonsuz teőekkürlerimi sunuyorum.

Laboratuvarda gerçekleőtirdiđim sentezler aşamasında bana yardımcı olan ve her türlü bilgisini benimle paylaşan, Sayın hocam, Doç. Dr. Yavuz ERGÜN'e teőekkürlerimi sunuyorum.

Bana, kendi laboratuvarında çalışma olanağı sağlayan ve her türlü bilgisini benimle paylaşan Sayın hocam, Prof. Dr. Serdar ÖZÇELİK'e ve tez izlemelerim süresince beni yönlendiren ve her türlü bilgisini benimle paylaşan Sayın hocam, Yard. Doç. Dr. Muhittin AYGÜN'e teőekkürlerimi sunuyorum.

Teorik hesaplamalardaki katkılarından dolayı Araş. Gör. Hasan Karabıyık'a ve bana destek olan tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde 2005.KB.FEN.015 nolu proje ile destek sağlayan Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma Fonuna teőekkürlerimi sunarım.

Gülsiye ÖZTÜRK

BAZI YENİ FLORESANT İNDİKATÖRLERİN SENTEZLERİ VE SPEKTROSKOPİK UYGULAMALARI

ÖZ

Bu çalışmada, N-açıl aminoasitlerin halkalı anhidritleri olan ve beş üyeli heterohalkalı sistemlerden oluşan oksazol-5-on sınıfı floresant moleküllerin sentezleri, saflaştırılması, fotofiziksel özelliklerinin incelenmesi ve sensör uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Yapısında N-fenil-aza-15-crown-5, antrasen ve karbazol grubu içeren üç farklı sınıf azlakton türevi sentezlenmiştir. N-fenil-aza-15-crown-5 grubu içeren azlakton türevleri olarak 2-fenil-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadekil)benziliden]oksazol-5-on (CPO-1), 2-(3,5-dinitrofenil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadekil)benziliden]oksazol-5-on (CPO-2), 2-(p-nitrofenil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadesil)benziliden]oksazol-5-on (CPO-3) ve 2-(p-tolil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadesil)benziliden]oksazol-5-on (CPO-4) molekülleri sentezlenmiştir. Antrasen yapısı içeren floresant moleküller olarak ise 2-fenil-4-antraliden-5-oksazol-5-on (ANT-I), 2-(4-tolil)-4-antraliden-5-oksazol-5-on (ANT-II) ve 2-(4-nitrofenil)-4-antraliden-5-oksazol-5-on (ANT-III) azlaktonlarının sentezleri gerçekleştirilmiştir. Karbazol grubu içeren azlakton olarak ise 4-[(9-bütül-6-[[2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden]metil]-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on sentezlenmiştir. Sentezlenen oksazol-5-on türevlerinin saflaştırılması kolon kromatografisi ve kristallendirme yöntemleri ile gerçekleştirilerek, yapıları FT-IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik tekniklerle aydınlatılmıştır. Söz konusu türevlerin UV-vis absorpsiyon ve emisyon çalışmaları ile fotofiziksel özellikleri incelenmiştir. CPO sınıfı oksazol-5-on türevleri poliyseter destek materyali üzerinde hazırlanan optikçe geçirgen polivinilklorür matrislere immobilize edilerek asetilkolinklorür, donepezil ve glukoz tayinine yönelik sensör sistemleri geliştirilmiştir. Söz konusu türevlerin ayrıca, biyolojik öneme sahip Ca²⁺, Ba²⁺, K⁺, NH₄⁺ ve Na⁺ katyonlarına karşı yanıtları da incelenmiştir.

Anahtar sözcükler : Oksazol-5-on, Azlakton, Floresans, Polimer film, Sensör

SYNTHESIS OF SOME NEW FLUORESCENT INDICATORS AND SPECTROSCOPIC APPLICATIONS

ABSTRACT

In this study, oxazol-5-one class fluorescent molecules which are the cyclic anhydrides of N-acyl aminoacids and are formed of five membered heterocycle systems have been synthesized, purified, photophysically investigated and their sensor applications were performed. Three different classes of azlactones which have N-phenyl-aza-15-crown-5, anthracene and carbazole groups have been synthesized. As azlactone derivatives which have N-phenyl-aza-15-crown-5 group, 2-phenyl-4-[4-(1,4,7,10-tetraoxa-13-azacyclopentadecyl)benzylidene]oxazol-5-one (CPO-1), 2-(3,5-dinitrophenyl)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoxa-13-azacyclopentadecyl)benzylidene]oxazol-5-one (CPO-2), 2-(p-nitrophenyl)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoxa-13-azacyclopentadecyl)benzylidene]oxazol-5-one (CPO-3) and 2-(p-tolyl)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoxa-13-azacyclopentadecyl)benzylidene]oxazol-5-one (CPO-4) molecules were synthesized. As fluorescent molecules which contain anthracene structure, 2-phenyl-4-antralidene-5-oxazolone (ANT-I), 2-(4-tolyl)-4-antralidene-5-oxazolone (ANT-II) and 2-(4-nitrophenyl)-4-antralidene-5-oxazolone (ANT-III) were synthesized. As azlactone which contains carbazole group, 4-[(9-buthyl-6- {[2-(3,5-dinitrophenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-lydene]methyl}-9H-carbazol-3-yl)methylene]-2-(3,5-dinitrophenyl)-1,3-oxazol-5(4H)-one was synthesized. Synthesized oxazol-5-one derivatives were purified by column chromatography and recrystallization, and their structures were confirmed by FT-IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik teknikler. The photophysical properties of the derivatives synthesized were investigated by UV-vis absorption and emission spectroscopy. By immobilizing, CPO derivatives in optically transparent polyvinyl chloride matrix, sensor systems for detection of acetylcholinechloride, donepezil and glucose were developed. Also, the response of the same derivatives to Ca²⁺, Ba²⁺, K⁺, NH₄⁺ and Na⁺ cations which have biological importance have been investigated.

Keywords : Oxazol-5-one, Azlactone, Fluorescence, Polymer film, Sensor

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZ	iv
ABSTRACT	v
BÖLÜM BİR - GİRİŞ.....	1
1.1 Işık Absorpsiyonu ve Organik Bileşiklerin Renklilikleri.....	2
1.2 Floresans Ve Fosforesans.....	3
1.2.1 Stokes' Kayması	6
1.2.2 Kuantum Verimi	6
1.2.3 Floresans Ömrü (Life Time)	7
1.3 İndikatörler	8
1.4 Floresans-Esaslı Sensörler.....	9
1.4.1 Florofor	9
1.4.2 Floroiyonofor	10
1.4.3 Florofor Moleküllerinin Işık ile Etkileşimi	10
1.4.4 Floroforların Uygulama Alanları ve Literatürdeki Yeri	11
1.5 Azlakton (Oksazol-5-On) Türevleri	12
1.5.1 Oksazol-5-on Monomerleri	12
1.5.2 Azlaktonların Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	15
1.5.3 Azlaktonların Uygulama Alanları	16
1.6 Taç Eterler	18
1.7 Karbazoller	19
1.8 Sensör Uygulamaları	20
1.8.1 Asetilkolin klorür (ACh) ve Donepezil	20
1.8.2 Glukoz	22

BÖLÜM İKİ - MATERYAL VE YÖNTEM 24

2.1. Organik Sentezler	24
2.1.1 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Sentezi	24
2.1.1.1 Vilsmeier-Haake Tepkimesi ile 4-formilbenzo-aza-15-crown-5 sentezi	24
2.1.1.2 Aminoasitlerin Açillendirilmesi.....	25
2.1.1.3 Erlenmeyer yöntemi ile N-fenil-aza-15-crown-5 esaslı azlakton türevlerinin sentezi	26
2.1.2 Antraliden Esaslı Azlakton Türevlerinin Sentezi	28
2.1.2.1 2-fenil-4-antraliden-5-oksazolun (ANO-I)	29
2.1.2.2 2-(4-tolil)-4-antraliden-5-oksazolun (ANO-II)	29
2.1.2.3 2-(4-nitrofenil)-4-ANOraliden-5-oksazolun (ANO-III)	30
2.1.3 Karbazol Esaslı Azlakton Türevinin Sentezi.....	30
2.1.3.1 9-bütül-9H-karbazol sentezi	30
2.1.3.2 9-bütül-9H-karbazol-3,6-dikarbaldehit sentezi.....	31
2.1.3.3 4-[(9-bütül-6- {[2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden]metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO)	32
2.1.4 Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Dimerlerinin Sentezine Yönelik İlk Sentez Rotası	33
2.1.4.1 Polietilen Glikolditosilat Sentezi	33
2.1.4.2 Fenolat oluşumu ve polietilenglikolditosilat ile eterleşme tepkimesi.....	34
2.1.4.3 Alkilbenzenleri yükseltgeme tepkimesi.....	36
2.1.4.4 Aromatik açıl klorür eldesi	37
2.1.4.5 Glisinin N-açılması	38
2.1.4.6 Erlenmeyer Yöntemi ile Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Sentezi.....	39
2.1.5 Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Dimerlerinin Sentezine Yönelik İkinci Sentez Rotası	39
2.1.5.1 Polietilen Glikolditosilat Sentezi	39

2.1.5.2 Fenolat oluşumu ve polietilenglikolditosilat ile eterleşme tepkimesi	40
2.1.5.3 Erlenmeyer Yöntemi ile Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Sentezi	42
2.2 Yapısal ve Spektral Analizler	44
2.3 Polimer Filmin Hazırlanışı	45

BÖLÜM ÜÇ - SONUÇLAR 46

3.1 Sentezlenen Türevlerin Yapısal Analizleri	46
3.1.1 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Yapısal Analizleri	46
3.1.1.1 4-formilbenzo-aza-15-crown-5'in Yapısal Analizi	46
3.1.1.2 4-formilbenzo-aza-15-crown-5'ten Elde Edilen Azlakton Türevlerinin Yapısal Analizleri	50
3.1.2 Antraliden Esaslı Azlakton Türevlerinin Yapısal Analizleri	63
3.1.3 4-[(9-bütül-6-{[2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden]metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) Türevinin Yapısal Analizi	75
3.1.4 Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Dimerlerine Yönelik İlk Sentez Rotasında Elde Edilen Yapısal Analiz Sonuçları	77
3.1.4.1 Tetraetilenglikolditosilatın Yapısal Analizi	77
3.1.4.2 Dietilenglikolditosilatın Yapısal Analizi	80
3.1.4.3 1,11-bis(3-metil-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın Yapısal Analizi	83
3.1.4.4 1,11-bis (3-karboksifenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın Yapısal Analizi	85
3.1.5 İkinci Sentez Rotası ile Elde Edilen Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Dimerlerinin Yapısal Analizleri	88
3.1.5.1 4-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-nitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden]metil}fenoksi)etoksi]etoksi}benzaldehit (DN)	88
3.1.5.2 4-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-	

ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzaldehyde (DT)	90
3.1.5.3 4-(2-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}ethoxy)benzaldehyde (TT)	92
3.2 Sentezlenen Azlakton Türevlerinin UV-vis Absorpsiyon ve Emisyon Çalışmaları.....	95
3.2.1 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin UV-vis ve Emisyon Çalışmaları	95
3.2.2 Antraliden Esaslı Azlakton Türevlerinin UV-vis ve Emisyon Çalışmaları	119
3.2.3. 4-[(9-bütül-6- {[2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-yliden]metil} -9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) Türevinin UV-vis ve Emisyon Çalışmaları.....	122
3.3 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Sensör Uygulamaları.124	
3.3.1 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Asetilkolinliklorür (ACh) ve Donepezil Tayinine Yönelik Sensör Uygulamaları.....	124
3.3.1.1 Biyosensörün Optimizasyonu	124
3.3.1.2 ACh Yanıtı	126
3.3.1.3 Tekrarlanabilirlik ve Tersinirlik.....	128
3.3.1.4 AChE inhibitörü; Donepezil'e Yanıtı	131
3.3.1.5 Sensör Kararlılığı	138
3.3.2 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Glukoz Tayinine Yönelik Sensör Uygulamaları	140
3.3.2.1 Biyosensörün Optimizasyonu	140
3.3.2.2 Glukoza Yanıt	142
3.3.2.3 Tersinirlik ve Tekrarlanabilirlik.....	145
3.3.2.4 Sensör Kararlılığı.....	148
3.3.3 Metal Katyonlarına Yanıt	151
BÖLÜM DÖRT - TARTIŞMA	154
KAYNAKLAR	159

BÖLÜM BİR

GİRİŞ

Kromofor grup bağlanmış organik moleküllere kromojen adı verilmektedir (Zollinger, 2002). Ancak kromojenler boyar madde özelliği göstermemektedirler. Kromojenlerin boyar madde özelliği kazanabilmeleri için oksokrom adı verilen grupların bileşiğe bağlanması gerekmektedir. Birçok durumda oksokrom gruplar sadece renk oluşumunda kromoforu tamamlamakla kalmayıp hidrofilik özelliklerinden dolayı molekülün suda çözünmesini de sağlar.

Boyar maddelerin yapısında $-C=C-C=C-$ birimini içeren olefinik yada aromatik konjuge sistemlerden oluşan ve bu konjuge sistemde nitrozo ($-N=O$), azo ($-N=N-$), okso ($-C=O$), imino ($-C=N-$) grupları da yer alabilen bir kromofor ve kromofor sistemin üzerindeki $-H$ atomlarının yerine geçebilen amino ($-NH_2$), hidroksi ($-OH$), alkoksi ($-OR$), karboksi ($-COOH$), sülfoksi ($-SO_3H$) gibi oksokrom adı verilen elektron verici ve elektron çekici gruplar da bulunmaktadır. Bu sistemde elektronlar sabit olmayıp rezonans sınır formülleri arasında delokalize olurlar. Organik bir bileşiğin renkli olması, içerdiği kromofor ve oksokrom grubun uzunluğuna, sayısına yada türlerine bağlı olarak elektromanyetik spektrumun görünür bölge dalga boylarına denk gelen radyasyon bölgesinde absorpsiyon yapmasından kaynaklanmaktadır. Görünür bölge ışığını absorplayan tüm organik ve inorganik moleküllere genel olarak boyar madde adı verilmektedir. Kromofor veya oksokrom grupların çeşitli tepkimelerle molekülden çıkarılması, değiştirilmesi ya da asidik, bazik ortamlara maruz bırakılması ile konjuge sistemin elektron dağılımında değişimler oluşacağı için boyar maddenin absorpsiyon dalga boyu değişecek, bu da renginin değişmesine veya tamamen kaybolmasına neden olacaktır.

Organik boyar maddelerin seçimli ışık absorpsiyonu ne kadar az madde tarafından ne kadar çok yapıyorsa, renk şiddeti terimi ile, ne kadar uzun dalga boyunda oluyorsa renk derinliği terimleri ile açıklanır. Oksokrom grupların kromofor sisteme bağlanması ile hem renk şiddeti hem de renk derinliği artmaktadır. Oksokrom

grupların renk üzerine etkisi ise cinsine, sayısında ve moleküldeki yerine göre değişmektedir.

1.1 Işık Absorpsiyonu ve Organik Bileşiklerin Renklilikleri

Işık enerjisi ışığın dalga boyu ile ters orantılıdır. Absorplanan enerji ne kadar fazla ise absorplanan ışığın dalga boyu o kadar kısa, enerji ne kadar az ise dalga boyu o kadar uzun olur. Örneğin, kısa dalga boylu UV ışınlarının enerjisi fazla olduğundan herhangi bir maddedeki elektronları uyarabilir, madde tarafından absorbe edilebilir ancak, absorpsiyon görünen spektral bölgede gerçekleşmediğinden renk oluşmaz.

Birbirlerinden sadece süstituentlerin konumuna ve türüne bağlı olarak değişiklik gösteren ve aynı temel yapıya sahip pek çok organik bileşik, endüstriyel olarak sentezlenmektedir. Bu tür yapıların absorpsiyon spektrumları birbirinden farklı olabilmektedir. Absorpsiyon maksimumunun daha uzun dalga boyuna kaymasına batokromik etki, daha kısa dalga boyuna kayması hipsokromik etki, absorpsiyon şiddetinin artmasına hiperkromik etki, azalmasına ise hipokromik etki denir.

Bir molekülde çift bağların sayısı arttıkça, elektronların uyarılması için gerekli olan enerji azalacağından ışık absorpsiyonu gittikçe görünen bölgeye kayar. Konjüge zincirin uzaması, orbitalleri arasındaki enerji aralıklarının azalmasına neden olduğundan, konjüge zincir ne kadar uzunsa elektronların uyarılmış duruma geçirilmesi için o kadar az enerji gerekir ve absorplanan ışığın dalga boyu o kadar uzun olur.

Çifte bağ sayısının artışına dayalı olarak ışık absorpsiyonunun daha uzun dalga boyuna kayması Batokromik etkidir.

Cisimlerin renkli görünebilmesi için, ışık absorpsiyonunun mutlaka görünür bölgede (400-700 nm) olması gerekir ve görünen ışık spektrumu içerisinde, üzerine düşen ışığın bir kısmını absorbe etmesi ve bir kısmını ise yansıtması gerekir.

Cisimler kimyasal yapılarına ve kısmen de fiziksel özelliklerine bağlı olarak belirli dalga boylarındaki ışığı absorbe ederken geri kalan dalga boyunu yansıtır ki gözümüz o cisimi yansıtılan ışığın dalga boyuna eşdeğer olan renkte görür. Bu durum aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 1.1 Işık Absorpsiyonu ve Komplementer Renk

Renk	Bileşiğin rengi (Komplementer renk)	Absorplanan Işık Dalga boyu (nm)
Mor	Sarımsı yeşil	400-435
Mavi (İndigo)	Sarı	435-480
Mavimsi yeşil	Turuncu	480-490
Yeşilimsi mavi	Kırmızı	490-500
Yeşil	Eflatun	500-560
Sarımsı yeşil	Mor	560-580
Sarı	Mavi	580-595
Turuncu	Mavimsi yeşil	595-605
Kırmızı	Yeşilimsi mavi	605-750

1.2 Floresans Ve Fosforesans

Floresans spektroskopisi biyokimya, biyofizik, çevre ile ilgili çalışmalar, klinik kimya, DNA zinciri ile ilgili çalışmalar ve genetik analizler gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Lakowicz, 1999). Bu kadar geniş bir uygulama alanına sahip olma nedeni ise floresans spektroskopisi ile ilgili pek çok bilgiye ulaşılması, güvenilirliği, yüksek duyarlılığı maliyeti ve radyoaktif maddelerin elle tutulmasındaki zorluklardır.

Floresans ve fosforesans spektroskopisinde uyarılma, ışın fotonlarının soğurulması ile olur, bu nedenle floresans ve fosforesans spektroskopilerine fotoluminesans spektroskopisi denir.

Fluoresans, fosforesans ve absorpsiyon süreçleri Jablonski Diyagramı ile açıklanabilir.

Elektronik enerji düzeyleri başlıca temel (S_0) ve uyarılmış (S_1, S_2, \dots) singlet ve uyarılmış triplet (T_1) enerji düzeyleridir. Ayrıca her bir enerji düzeyine ilişkin farklı titreşim enerji düzeyleri vardır.

Fluorofor, ışık tarafından uyarıldığında, ışığın absorpsiyonu ile temel halde bulunan elektron çiftlerinden biri S_1 veya S_2 uyarılmış enerji düzeyindeki herhangi bir titreşim düzeyine uyarılır. Daha sonra bazı moleküller hariç genellikle bu titreşim düzeylerindeki elektronlar hızla dışarı ısı vererek en düşük S_1 titreşim düzeyine geçerler. Bu süreç Internal Conversion olarak adlandırılır. Bu olay yaklaşık 10-12 ns sonra yada daha az sürede gerçekleşir. Buradaki uyarılmış elektronlar daha sonra temel haldeki S_0 titreşim enerji düzeyine geçerken dışarı ışın yayarlar. Bu sürece fluoresans denir. Fluoresans lifetime ise yaklaşık olarak 10^{-6} s'dir. S_1 düzeyinde bulunan uyarılmış elektronlar aynı zamanda spin dönmesi yaparak 1.triplet enerji düzeyi T_1 e geçebilirler. Bu olay ise Intersystem Crossing olarak adlandırılmaktadır. Triplet enerji düzeyindeki elektronların, S_0 temel enerji düzeyine ışın yayarak geçmesi olayına ise fosforesans denir. Temel enerji düzeyinden triplet enerji düzeyine doğrudan geçişler gözlenmez ve bunlara yasaklanmış geçişler denir.

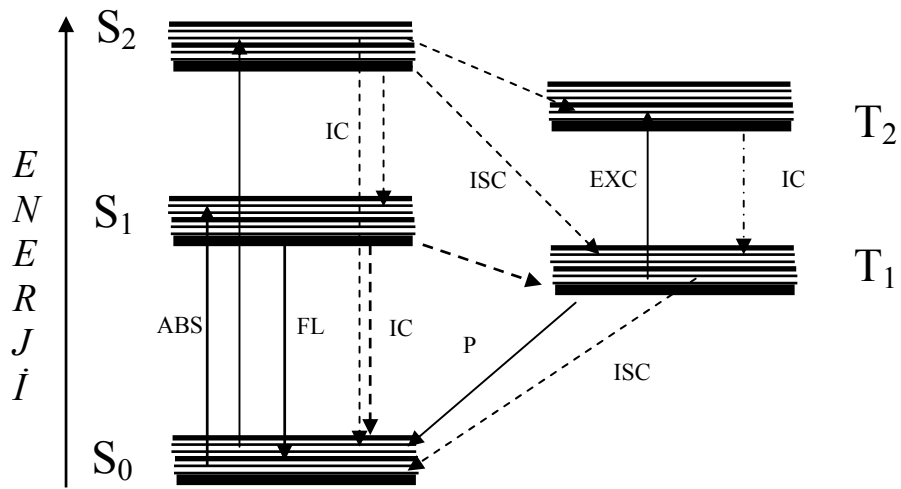
Aynı zamanda S_1 uyarılmış enerji düzeyinden ve T_1 uyarılmış enerji düzeyinden temel haldeki enerji düzeyine ışınmasız geçişler de söz konusudur.

Fluoresans olayı genellikle aromatik moleküllerde meydana gelir. İlk bilinen fluorofor kinin (quinine) dir. Karbonil grupları, konjüge dien yada polien grupları fluoresans göstermektedir. Piridin, furan, tiyofen ve pirol gibi basit heterosiklik halkalar ise fluoresans yapmazlar.

Emisyon spektrumları fluoroforun kimyasal yapısına ve içinde çözüdüğü çözücüye ve pH'a bağlı olarak değişiklik gösterirler.

Uyarılmış haldeki molekül, absorplamış olduğu enerjisini aşağıdaki yollarla yitirebilir:

- içsel dönüşüm veya sistemlerarası geçiş gibi ışısız geçişlerle
- ışımının emisyonu (floresans veya fosforesans)
- fotokimyasal tepkime



Şekil 1.1 Jablonski Diyagramı

Işısız Geçişler

IC	İç dönüşüm (internal conversion)	$S \rightarrow S$ veya $T \rightarrow T$
ISC	Sistemler arası geçiş	$S \rightarrow T$ veya $T \rightarrow S$

Işımali Geçişler

F	Floresans	$S_1 \rightarrow S_0$
P	Fosforesans	$T_1 \rightarrow S_0$

Fluoresans organik moleküllerin pek çoğu, uyarılmış haldeki enerjilerini molekülün titreşimleri ile kaybedilmesini önleyecek stiffness (karalı) yapılara sahiptirler.

Bir floresan karakterize eden büyüklükler:

- $\lambda_{\max}^{\text{abs}}$ ve $\lambda_{\max}^{\text{emis}}$
- Absorpsiyon ve emisyon şiddetleri
- Stokes' Kayması (Stokes' Shift)
- Kuantum Verimi
- Floresans Ömrü (life time)
- Floresans Sönümlenme Hız Sabiti (Kq)

olarak verilir.

1.2.1 Stokes' Kayması

Emisyon enerjisi absorpsiyon enerjisinden daha azdır. Bu yüzden floresans, daha düşük enerjide yada daha yüksek dalga boyunda meydana gelir.

Fluoresans moleküllerin çözeltilerde uyarılma ve emisyon olayları sırasında enerji kaybı meydana gelmektedir. Buna bağlı olarak emisyon spektrumu daha yüksek dalga boyuna kayar. Bu farka Stokes' kayması denir.

1.2.2 Kuantum Verimi

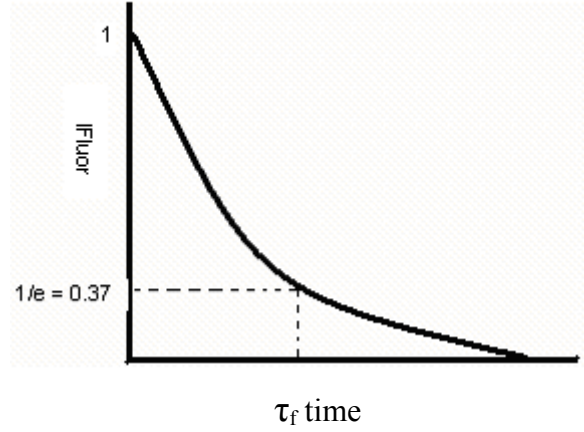
Emisyon yapan foton sayısının absorpsiyon yapan foton sayısına oranıdır.

$$\Phi_F(\text{kuantum verim}) = \frac{\text{Floresan gösteren molekül sayısı}}{\text{Toplam absorblanan foton sayısı}}$$

Molekül floresans göstermezse $\Phi_F = 0$ 'dır. $\Phi_F = 1$ ise absorblanan tüm fotonların floresansla geri verildiğini belirtir. Floresans kuantum verimleri genellikle bilinen ve birçoğu standart olarak kullanılan bileşikler yardımıyla saptanır.

1.2.3 Floresans Ömrü (Life Time)

Lüminesant maddelerin diğer bir önemli özelliği de eksite haldeki ışığın % 66.7'sinin emisyonu gerçekleşinceye kadar geçen zaman aralığı (time interval)'dır. Bu süreye bağlı olarak emisyon türünün floresans mı (10^{-9} - 10^{-7} sn) fosforesans mı (10^{-4} - 10^{-2} sn) olduğunu anlayabiliriz.



Şekil 1.2 Floresans ve fosforesans ömürleri (life time)

τ_f = Floresans	1-100 ns
τ_p = Fosforesans	1 ms – gün

Floresans şiddetinin düşmesine neden olan her etki florofor madde için bir sönmüleyici olarak davranır. Bu olaya sönmülenme (Quenching) denir. Sönmüleyici maddeler ise çözücü, havadaki oksijen ya da organik ve inorganik donör – akseptör molekülleri olabilir.

1.3 İndikatörler

İndikatörler (problar), kimyasal türlerle etkileşim sonucunda renk değiştiren sentetik boyalardır (Wolfbeis, 1991). İndikatörler, doğrudan optik yöntemlerle tayin edilemeyen kimyasal türler için transdüser olarak davranmaktadırlar. Gerçekte, pek çok indikatör, uygun olmayan dalga boyu, zayıf fotokararlılık, düşük molar absorpsiyon, veya tayin için istenilen saflıkta bulunmadıklarından dolayı kullanılamamaktadırlar.

Pek çok indikatörün, boyar madde ile etkileşimi sonucunda renginde veya floresansında değişiklik meydana gelir.

Floresant indikatörler yüksek duyarlılık sağlamaktadırlar.

Aşağıda verilen nedenlerden dolayı uzun dalgaboyunda absorpsiyon yapan indikatör boyalarının kullanımına yönelik bir ilgi vardır:

1. Kısa dalgaboyu emisyonlu ışık kaynaklarının pahalı oluşu ve genellikle yüksek güç istemelerine karşılık, LED ler ve diyot lazerler pahalı değildir, kullanımları kolaydır ve daha düşük güç gerektirirler.
2. PMTs lerden farklı olarak fotodiyotlar, yüksek voltaj gerektirmeyen ve 600-900 nm aralığında en iyi duyarlılık gösteren pahalı olmayan fotodedektörlerdir.
3. Pek çok boyar madde mavi veya UV ışığa maruz bırakıldığında ağarmaya uğrar.
4. Optik ışık kaynakları <450 nm nin altında ölçülebilir absorpsiyon vermektedirler ve bu plastik ışık kaynakları için de böyledir; ayrıca geri zemin lüminesansı artmaktadır.

5. Pek çok biyolojik materyal ışık için sadece >600 nm ve <900 nm dalga boyu aralığında iyi bir geçirgenliğe sahiptir, bu nedenle bu aralık in vivo sensörlerin çalışma aralığıdır.
6. Dalgaboyu artışı ile ışığın saçılması genellikle azalmaktadır.

Günümüzdeki fiber-optik kimyasal sensörler, tercihen LED ışık kaynaklarından, fotodiyot dedektörlerinden, cam dalga boyu seçicilerinden ve 450-800 nm aralığında absorpsiyon yapan indikatör boyalarından oluşmaktadırlar.

1.4 Floresans-Esash Sensörler

Floresans yöntemi, yüksek duyarlılığı nedeniyle optik tayinler için çok uygundur.

Pek çok farklı floresant indikatör bilinmektedir fakat bunların çok azı, pahalı olmayan ışık kaynağı olarak esnek plastik fiber optiklerin ve LED lerin eksitasyon kaynağı olmak için 450 nm nin üzerinde eksitasyon maksimumuna sahiptirler. Bunların yanı sıra büyük Stokes' kayması, büyük molar eksitasyon katsayısı ve yüksek kuantum verimlerine sahip olma gereklilikleri de vardır. Ayrıca fotokararlılıkları iyi olmalı ve toksik özellikte olmamaları gerekir.

Optik-fiber problemlerin tasarımındaki diğer bir ilgi alanı minyatürizasyondur. Floresant optik teknikler minyatürizasyon için de oldukça elverişlidir.

1.4.1 Florofor

Belirli bir dalga boyundaki ışınlarla uyarıldıklarında absorpladıkları ışın miktarının bir kısmını tekrar yayabilen moleküllere florofor denir.

1.4.2 Floroiyonofor

Bir metal iyonu ile etkileştiklerinde kompleksleşme ve enerji-elektron transferi gibi dinamik prosesler nedeniyle yaydıkları ışınım şiddetinde yada dalga boyunda değişimler oluşan florofor maddelere floroiyonofor denir.

Boyaların analitik kimyadaki yeni bir uygulaması yapısında kromoforik veya fluoforik fonksiyonel gruplar içeren taç eterlerin (iyonofor) kullanımınıdır (Zolliger, 2003). Bu tür kromoiyonoforlar, uygun boyutlu mono- veya divalent- metal iyonları, taç eter halkasının boşluklarında kompleksleştiklerinde renk değiştirirler. Pek çok farklı floresans özelliğe sahip birim taç eterlerle kovalent olarak bağlanabilir.

Taç eterler, bir molekülün içerisinde iki tane fonksiyon barındırmaktadırlar: Bunlardan birincisi alkali veya toprak alkali metal iyonlarını bağlayabilen taç eter kısmı, ikincisi ise spesifik renk değişimlerinin oluşmasını sağlayan kromofor kısımdır (Wolfbeis, 1991).

1.4.3 Florofor Moleküllerinin Işık ile Etkileşimi

Florofor ışık ile etkileştiğinde uygun dalga boyundaki ışınları absorplayarak uyarılma (Absorpsiyon) gerçekleşir. Uyarılma, florofor molekülün temel hal enerji düzeyinde bulunan elektronlarının üst enerji düzeylerine geçiş yapabilmesi için gereken enerjiyi ışın kaynağından absorplaması ile oluşur. Florofor özellikte olan moleküller absorpladıkları ışın miktarının bir kısmını tekrar ışınım şeklinde geri vererek (Emisyon) enerjilerini kaybederler.

Bir floroforun floresans şiddeti: maddenin yapısına (yapısında bulunan donör ve akseptör gruplara), yapısal kararlığına, sıcaklık ve çözücü türüne, derişime, pH a, çözülmüş oksijen miktarına bağlıdır.

Floroionoforların sahip olmaları gereken genel özellikler:

- Floroforun kuantum veriminin ve floresans şiddetinin yüksek olması
- Bağlı sinyal değişiminin yüksek olması
- Floroforun fotokararlılığının ve kimyasal kararlılığının yüksek olması
- Mümkün olduğunca uzun dalga boylu görünür bölgede emisyon yapması şeklinde sıralanabilir.

1.4.4 Floroforların Uygulama Alanları ve Literatürdeki Yeri

Sentetik boyar maddelerin önemli uygulama alanlarından bir tanesi de, floresans özellik gösteren türlerinde, bu özelliklerinden yararlanarak çeşitli iyonlara duyarlı yeni optik, pH yada biyo-sensörler geliştirmektir. Fluoriyonoforların uygulama alanlarına yönelik yapılan pek çok çalışma literatürde yer almaktadır (Jiwan, Branger, Soumillion ve Valeur, 1998; Leray, Jiwan, Branger, Soumillion ve Valeur, 2000; Taziaux, Soumillion ve Jiwan, 2004; Warmke, Wiczke ve Ossowski, 2000; Xue ve diğer., 2001; Kim, Cha ve Chang, 2002; Martin, Rothe, Diwu ve Gee, 2004; Takagi ve Ueno, 1984; Mateeva, Deliegeorgiev ve Mitewa, 1992; ANOonov ve diğer., 2001; Schultz, White, Dishong, Arnold ve Gokel, 1985; Bakalova, Vladimirova, Stanoeva, Mitewa ve Kaneti, 2003). Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^{+} , K^{+} gibi iyonların hücre fonksiyonlarında önemli fizyolojik rolleri vardır. Bu iyonların hücre içerisindeki iyon derişimlerinin tayini önemlidir. Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^{+} , K^{+} , ağır metal iyonları ve benzer türdeki diğer iyonlar floresans özelliğe sahip olan organik moleküllerle kompleks yaparak indirek yöntemle tayin edilebilirler. J.L.Habib Jiwan ve arkadaşları tarafından kumarin floroforuna iyonofor olarak bağlanmış monoaza-15-crown-4, monoaza-15-crown-5 yapıları sentezlenmiş ve çeşitli katyonlarla kompleks oluşturma özellikleri incelenmiştir (Jiwan, Branger, Soumillion ve Valeur, 1998; Leray, Jiwan, Branger, Soumillion ve Valeur, 2000; Taziaux, Soumillion ve Jiwan, 2004). Cosnard ve arkadaşları ile Elbert ve arkadaşları tarafından florofor birim olarak 1,8-naftalimid, Kubo ve arkadaşları ise naftil ve ANOrasen kullanılarak yeni floroionofor sistemler oluşturmuştur (Cosnard ve Wintgens, 1998; Kubo, Sakaguchi ve Sakurai, 1999; Kubo, Skurai ve Mori, 1999; Elbert, Paulsen, Robinson,

Elzey ve Klein, 2005). Monoaza, diaza ve diğ er crown eter grupları taşıyan florofor molekuller ile ilgili literatürde oldukça fazla çalışmaya rastlanmaktadır (Warmke, Wiczek ve Ossowski, 2000; Xue ve diğ er., 2001; Kim, Cha ve Chang, 2002; Martin, Rothe, Diwu ve Gee, 2004).

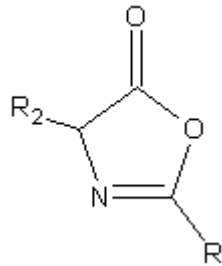
1.5 Azlakton (Oksazol-5-On) Türevleri

1.5.1 Oksazol-5-on Monomerleri

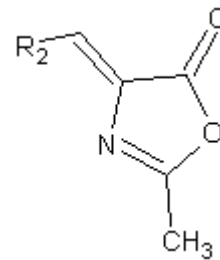
Oksazol-5-on türevleri, N-açıl aminoasitlerin halkalı anhidritleridir. Bazı yüksek homologları bilinmesine rağmen, genellikle α -aminoasitlerden elde edilen beşli heterohalkalı sistemlerdir. Azlaktonlar ile ilgili ilk çalışmalar, α -ketoasitlerin, α -aminoasitlerin ve peptitlerin sentezinde ara basamak olarak kullanılmasıyla başlamıştır (Carter ve Adams,1946).

N-açıl aminoasitlerin anhidritlerden oluşan oksazol-5-on türevleri beşli heterohalkadaki 2 ve 4 konumundaki alkil gruplarına dayalı olarak doymuş ve doymamış azlaktonlar olarak sınıflandırılabilirler.

Doymuş ve doymamış azlaktonların yapıları birbirinden farklı olduğundan fiziksel özellikleri ve verdikleri reaksiyonlar da birbirinden farklıdır.

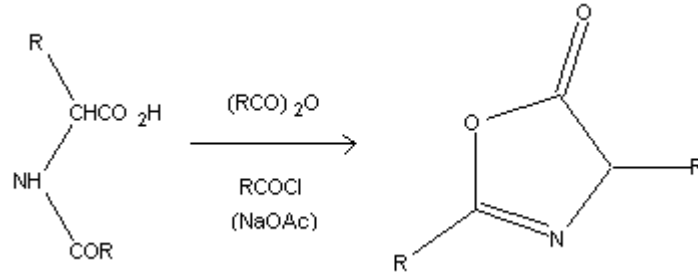


Şekil 1.3 Doymuş azlakton



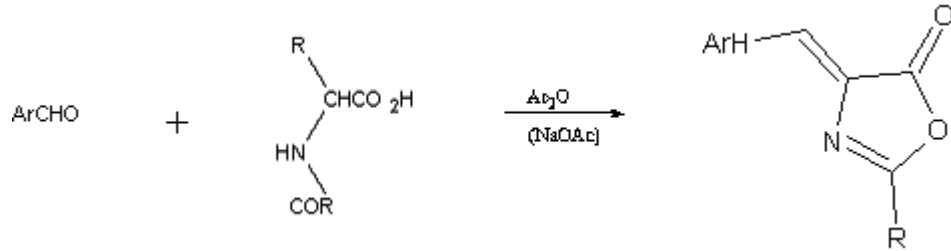
Şekil 1.4 Doymamış azlakton

Doymuş oksazol-5-on türevleri genellikle uygun aminoasitlerle hazırlanmış N-açıl aminoasit türevlerinden sentezlenirler (Carter ve Stevens,1940; Nicolet,1930).



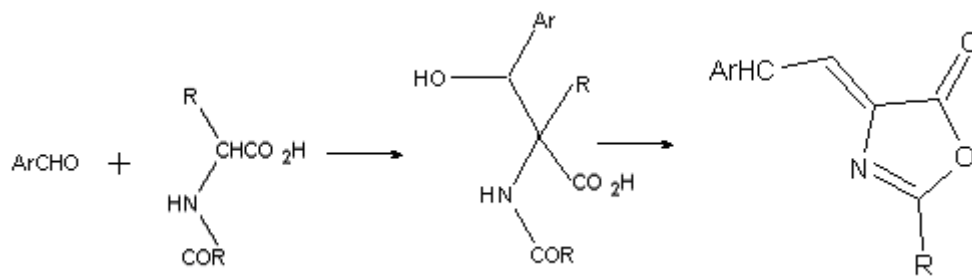
Şekil 1.5 Doymuş oksazol-5-on sentezi.

Doymamış azlaktonlar ise, Erlenmeyer kondenzasyon tepkimesi ile sentezlenirler. Bir aldehitin asetik anhidrit ve sodyum asetat varlığında N-açil aminoasitlerle reaksiyonundan elde edilir (Johnson,1942).



Şekil 1.6 Doymamış azlakton sentezi.

Erlenmeyer azlakton sentez mekanizmasında önce asetik anhidrit varlığında bir aldehit ve N-açil aminoasit arasında bir kondenzasyon oluşur. Daha sonra dehidrasyon ile halka kapanması meydana gelir.



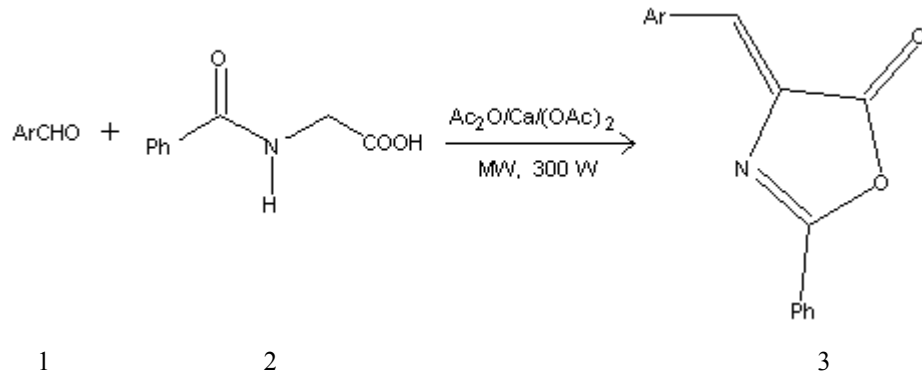
Şekil 1.7 Erlenmeyer azlakton sentez mekanizması.

Tüm azlakton sentezlerinde ilk adım uygun aminoasitlerin N-asetilasyonudur. Genel olarak aminoasit sulu alkali çözeltilerde çözünür ve iki fazlı reaksiyon şartlarında asit klorürleri ile işleme sokulur. Daha sonra N-asetillenmiş aminoasit

asitlendirilerek elde edilir (Iwakura, Toda ve Torii, 1967; Hubner, Kollinsky, Markert ve Pennewis, 1970; Taylor, Kolesinski, Mehta, Locatell ve Larson 1982).

Asetik anhidrit ile yapılan halka kapanması genellikle 100-120 °C de gerçekleştirilir. Bu yöntem 4,4 disubstitüe azlakton monomerleri için uygundur fakat iyi verim elde etmek için reaksiyon şartları dikkatle kontrol edilmelidir, çünkü yan reaksiyon olarak 4 pozisyonundaki hidrojen ile yeni türevler meydana gelebilir.

Benzen, kloroform, asetik anhidrit gibi toksik etki gösteren çözücülerden kaçınmak ve çevreye daha az zarar vermek için son yıllarda bu tür çözücüler yerine susuz ortam çalışmaları yapılmaktadır. S. Paul ve çalışma arkadaşları Erlenmayer oksazol-5-on sentez yöntemini, kalsiyum asetat katalizörlüğünde mikrodalga ile ısıtma altında gerçekleştirerek çeşitli oksazol-5-on türevleri sentezlemişlerdir. Bu şekilde asetik anhidritin toksik etkisinin önüne geçilmesinin yanısıra daha yüksek verimle ve daha kısa sürede sentez gerçekleştirilmiştir. Katalizör olarak kalsiyum asetatın seçilme nedeni ise toksik etkisinin düşük olması ve ucuz olmasının yanısıra, katalizör olarak amonyum asetat ve sodyum asetatın kullanıldığı sentezlere göre verimin daha yüksek olmasıdır (Paul, Nada, Rajive ve Loupy, 2004).



3a Ar = - C₆H₅

3b Ar = - 4-MeOC₆H₄

3c Ar = - 4-MeC₆H₄

3d Ar = - 4-ClC₆H₄

3e Ar = - 2-NO₂C₆H₄

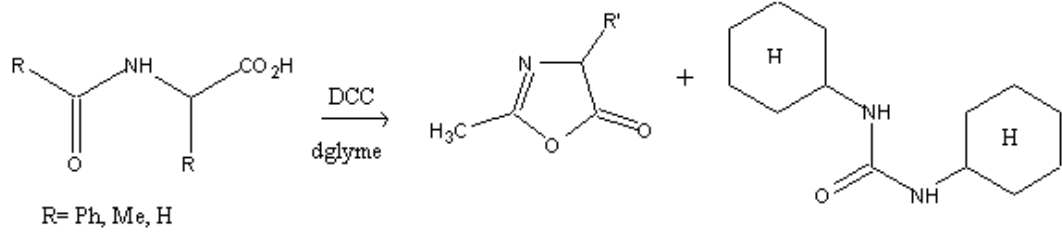
3f Ar = - 3-NO₂C₆H₄

3g Ar = - 3,4-(OMe)₂C₆H₃

3h Ar = -CH=CHC₆H₄

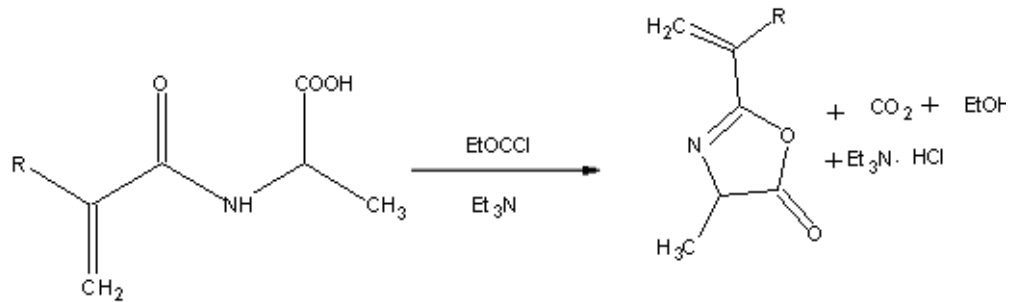
Şekil 1.8 Mikrodalga altında gerçekleştirilen Erlenmayer azlakton kondenzasyonu.

Doymuş azlakton monomerlerinin sentezinde kullanılan diğer bir yöntem yöntemde carbodiimidlerle yapılanıdır. Halka kapanması oda sıcaklığında eterde yada halojenli çözücüler içinde kolaylıkla oluşur. Reaksiyon sonucunda oluşan ürenin çözünürlüğünün az oluşu çalışma kolaylığı sağlar. Ancak bu yöntem ,büyük miktardaki çalışmalarda üre sorun çıkardığından pek kullanılmaz (Hubner, Kllinsky, Markert ve Pennewiss, 1970).



Şekil 1.9 Karbodiimidlerle yapılan azlakton sentezi.

Doymuş azlakton halkasının sentezlenmesinde kullanılan diğer bir yöntem ise tipik reaktifi bir hidrokarbon çözücü ya da aseton içinde, oda sıcaklığı ya da biraz üstünde etil kloroformat ve trietilamin 'in N-açıl amino asitlerle reaksiyonuna dayanır. Ara basamakta karboksilik-karbonik anhidrit karışımı oluşur (Taylor ve Platt, 1969; Taylor, Chiklis ve Platt, 1971).



Şekil 1.10 Karboksilik-karbonik anhidrit karışımının ara basamakta oluştuğu oksazol-5-on sentezi.

1.5.2 Azlaktonların Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Düşük molekül ağırlığına sahip olan doymuş azlaktonlar sıvıdır. Sulu ortamda ve ısıtıldıklarında kararsızdırlar. Ancak fraksiyonlu destilasyonla ayrılabilirler. Bunların bazılarının sentezlerinde kullanılan asetik anhidritle aynı sıcaklıkta kaynadıklarından

dolayı saf olarak elde edilmeleri zordur. Yüksek kaynama noktalı doymuş azlaktonlar ise yüksek verimle elde edilebilirler.

Alkenil azlaktonların büyük çoğunluğu oda sıcaklığında sıvıdırlar. Apolar bileşikler oldukları için hidrokrbonlarda çözünürler, suda ise çözünmezler.

En önemli özellikleri ise pek çok reaktif ile katılma polimerizasyonu oluşturabilmeleridir.

Bisazlakton monomerleri ise kristal yapıdadır ve yüksek erime noktasına sahiptirler çözünürlükleri ise polar organik çözücülerle sınırlıdır.

Azlakton halkaları değişik nükleofillerle, halka açılması reaksiyonu ile katılma ürününü oluştururlar. Bu tepkimeler özellikle primer aminlerle akrilamid monomerlerini, alkollerle akrilamid esterlerini oluştururlar (Taylor ve Cerankowski, 1975).

Alkollerle olan halka açılma reaksiyonu aminlere zıt olarak katalizörsüz ortamda çok yavaştır. Tepkimeler hem asit hem baz katalizörlü yürürler.

Bununla birlikte örneğin vinil azlaktonların alkollerle asit katalizli reaksiyonları oldukça karmaşıktır ve alkolün karbonil ve vinil grubunun her ikisine de saldırmasıyla pek çok ürün oluşur.

Azlaktonlar su ile halka açılması tepkimesine duyarlıdırlar. Bu işlem normalde oldukça yavaştır fakat katalizör varlığında özellikle asitlerle hidroliz oranı artar.

1.5.3 Azlaktonların Uygulama Alanları

Azlakton türevleri ilk olarak 20. yüzyılın ilk yıllarına sentezlenmişlerdir, fakat biyolojik önemleri 80' li yıllarda anlaşılmış ve birçok biyokimyasal çalışma yapılmıştır (İçli, İçil, Alp, Koc and McKillop, 1994; İçli ve diğer., 1999). Herbisit ve

fungusit olarak, biyolojik aktif peptitlerde ara ürün olarak, pestisit ve agrokimyasal intermediatlarda ilaç olarak, ayrıca antihipertensif olarak ve enzimlerin aktif sitelerinin titrasyonlarında azlaktonların kullanımı literatürde geniş olarak yer almaktadır.

Doymamış azlakton türevlerinin sıvı ve katı fazdaki fotofiziksel özelliklerinin incelenmesi sonucunda, sıvı fazda heterohalkanın kararsız olduğu, asidik ve bazik ortamlarda, kimyasal elektron transfer tepkimelerinde ve fotooksidasyonlarda halka açılmasının olduğu ve fluoresans kuantum verimlerinin çok düşük olduğu saptanmıştır (Alp ve İçli, 2001). Kristal fazda ise moleküler yapının fotokararlılığının ve fluoresans emisyonunun arttığı gözlenmiştir. Azlaktonların kristal faz çalışmaları ile Fluoresans kuantum veriminin 10 ile 1000 kat arasında artması katı fazda fotofiziksel ve fotokimyasal özelliklerinin iyileşmesi azlaktonların yarı iletken aygıtlarda, elektrofotografik reseptörlerde ve non-lineer optik materyallerde kullanımlarını sağlamaktadır. Bu ise kristal örgü içerisinde molekül içi hareketlerin ve dönmenin engellenerek 5'li oksazolon halkası ile 2 ve 4 konumunda bulunan aril gruplarının aynı düzlem içerisinde olmasından dolayıdır. Ayrıca molar absorptivite katsayılarının da daha yüksek olması nedeniyle azlakton türevleri polimer film içerisinde çalışılmıştır. İmmobilize faz içerisindeki organik fotosensörlerin lüminesansı biyolojik makromoleküler sistemlerdeki fluoresans ve kimyasal problemlerin, elektronik sistemlerdeki optik sensörlerin, pH ölçümlerindeki yüksek ayırtımlı elektrotların yapımı gibi geniş bir uygulama alanına sahiptir.

Optik olarak aktif ve doğal olmayan α -amino asitlerin önemli olması nedeniyle enantiyometrik olarak saf sentezlenmelerine yönelik pratik yöntemlerin geliştirilmesine yönelim vardır (Xie, Hua, Chan ve Leung, 1999). Optik olarak aktif L- α -amino asitlerin sentezine yönelik olarak ilgi çekici bir yöntem lipaz enzimi katalizli rasemik 5(4H)-oksazolonların alkollerle dinamik kinetik ayırma gücüdür. Fakat enzimatik yöntemin enzimin kararsız oluşu gibi dezavantajlar nedeniyle ve enzimsiz katalizle ürünün istenilen konfigürasyonun ve yüksek enantiyoseçimliliğinin elde edilebilmesi nedeniyle Xie ve çalışma arkadaşlarını enzimsiz bir yöntem geliştirmeye yöneltmiştir. Bu doğrultuda, 2-fenil-4-benzil-

5(4H)-oksazolon türevinin alkolizine yönelik olarak katalizör olarak histidin içeren linner dipeptitleri ve siklo dipeptitleri kullanmışlardır.

Aynı reaktife karşı tepkime koşullarına bağlı olarak farklı reaktivite gösteren 5(4H)-Oksazolonlar, azot içeren pek çok farklı heterohalkaların hazırlanmasında kullanılmaktadırlar (Clerici, Gemli ve Trimarco, 1998). Clerici ve çalışma arkadaşları, oksazolonların vinilfosfonyum tuzları ile nötral ortamdaki $[3+2]\pi$ siklokatalma tepkimeleri sonucunda farklı bir heterohalka elde etmişlerdir.

Alkollerin 2-alkenil-5(4H)-oksazolonlarla tepkimesi polimerlerin modifikasyonlarında kullanılmaktadır (Heilmann ve diğer., 1998).

Claisen çevrilmesi, sentetik olarak yararlı γ,δ -doymamış karbonil bileşiklerinin sentezlenmesi için kolay bir yöntem sağlamaktadır (Park, Oh, Chun ve Lee, 1998). Allil imidat'ların da bazik ortamda bu çevrilmeyi verdikleri saptanmıştır. Bong ve çalışma arkadaşları 2-fenil-4-etiliden-5(4H)-oksazolonların fotokimya çalışmalarında, baz kullanmadan ılımlı koşullarda O-allil-N-benzoilimidatların Claisen çevrilmesini inceleme olanağı sunan, N-benzoilimidatların hazırlanmasına yönelik genel bir yöntem geliştirmişlerdir.

1.6 Taç Eterler

Taç eterler 1,2-etandiolden türeyen, $-OCH_2CH_2-$ birimlerinin tekrarlanmasıyla meydana gelen halkalı yapıdaki eterlerdir. Bu bileşikler x-crown-y olarak adlandırılır (x = halkadaki toplam atom sayısı, y = halkadaki oksijen atomu sayısı) (Gokel, Leevy, ve Weber, 2004). En önemli özellikleri katyonlarla kompleks oluşturabilmeleridir. Yapısal olarak çeşitlilik göstermeleri nedeniyle, taç eter türevleri seçimli kompleks oluşturmak için uygundur (Sulowska, Wicz, Młodzianowski, Przyborska ve Ossowski, 2002). Taç eter halkasına bir kromofor veya bir fluoroforun bağlanmasıyla bu tür yapılar, absorpsiyon ve emisyon spektroskopisinden yararlanılarak, kalitatif ve kantitatif olarak metal iyonlarının tayininde kullanılabilirler. Literatürde, taç eterlerin inorganik iyonların tayinine yönelik

yaygın bir uygulama alanı yer almaktadır (Gokel, Leevy, ve Weber, 2004; Cosnard ve Wintgens, 1998; Martin, Rothe, Diwu ve Gee, 2004; Sulowska, Wicz, Mlodzianowski, Przyborowska ve Ossowski, 2002; Benco, Nienaber ve McGimpsey, 2004; Oguz ve Akkaya, 1997; Schultz, White, Dishong, Arnold ve Gokel, 1985). Cosnard ve Wintgens, 1,8-naftalimid'ten türevlendirdikleri yeni azacrown eter yapısının Ca^{2+} ve Ba^{2+} katyonlara karşı güçlü affinite gösterdiğini yayınlamışlardır (Cosnard ve Wintgens, 1998). Sulowska ve çalışma arkadaşları, çeşitli katyonların, dansil grubuna kovalent olarak bağlı crown eter veya diazacrown eter türevlerinin spektroskopik özellikleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir (Sulowska, Wicz, Mlodzianowski, Przyborowska ve Ossowski, 2002). Benko ve çalışma arkadaşları, N-(9-metilantrasen)-25,27-bis(1-propiloksi)-4-tert-butilkaliks[4]aren-azacrown-3 sentezleyerek seçimli olarak lityum tayininde kullanmışlardır (Benco, Nienaber ve McGimpsey, 2004). Uzun dalga boyunda emisyon yapan skuarin-esaslı türevler sentezlenerek alkali ve toprak-alkali metal katyonlarının tayininde kullanılmışlardır (Oguz ve Akkaya, 1997).

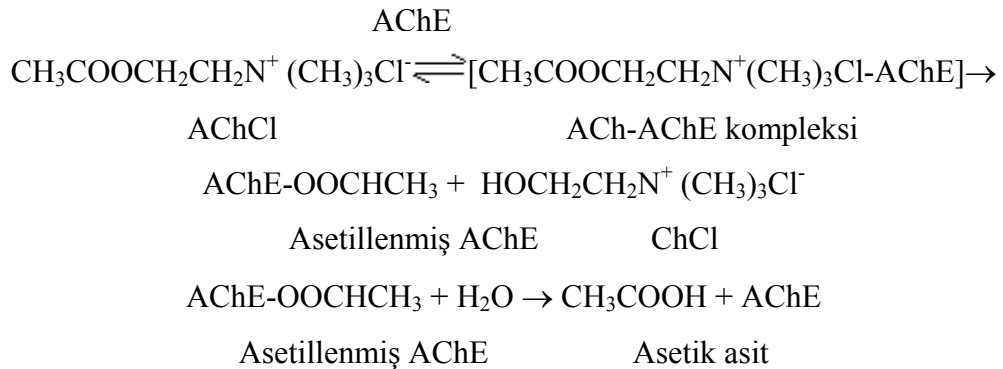
1.7 Karbazoller

Karbazoller konjüge, elektron-donör, düzlemsel ve kararlı yapılarına çözünürlük özelliği kazandıran grupların kolaylıkla bağlanabilen türevler olarak bilinmektedirler (Yoon, Ko, Lee ve Lee, 2007). Elektriksel, fotofiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı optik materyallerde teknolojik önem taşımaktadırlar (Diaz, Villacampa, Lopez-Calahorra ve Velasco, 2002). Bu özelliklerinden dolayı, literatürde, karbazol birimi içeren pek çok farklı türevin sentezleri ve uygulama alanları verilmiştir (Yoon, Ko, Lee ve Lee, 2007; Diaz, Villacampa, Lopez-Calahorra ve Velasco, 2002). Diaz ve çalışma arkadaşları, karbazol –oksazon kromoforları sentezleyerek özelliklerini incelemişlerdir (Diaz, Villacampa, Lopez-Calahorra ve Velasco, 2002).

1.8 Sensör Uygulamaları

1.8.1 Asetilkolin klorür (ACh) ve Donepezil

Kolinesteraz sensörleri, pestisit, ilaç ve nörotransmitter tayini için kullanılmışlardır (Halamek, Teller, Makower, Fournier, ve Schelle, 2006; Dondo ve diğer., 2006; Wong, Ahmad, Heng ve Peng, 2006; Hai ve diğer., 2006; Bucur, Fournier, Danet ve Marty, 2006; Shi, Xu, Zhang, Liu ve Kong, 2006; Waibel, Schulze, Huber ve Bachmann, 2006; Suwanasa-ard ve diğer., 2005; Vamvakaki, Fournier ve Chaniotakis, 2005; Schuvailo ve diğer., 2005; Vakurov, Simpson, Daly, Gibson ve Millner, 2005; Liu ve diğer., 2005; Anitha, Mohan ve Reddy, 2004; Snejdarkova ve diğer., 2004; White, Legako ve Harmon, 2003; Ricci, Amine, Palleschi, ve Moscone, 2003; Schulze, Vorlova, Villatte, Bachmann ve Schmid, 2003; Andreescu, Barthelmebs ve Marty, 2002; Kok, Bozoglu ve Hasirci, 2002; Choi, Kim, Lee, Min ve Lee, 2001; Doong ve Tsai, 2001; Lenigk ve diğer., 2000; Doretti, Ferrara, Lora, Schiavon ve Veronese, 2000; Xavier ve diğer., 2000; Choi, Min, Jung, Rhee ve Lee., 1998; Larsson ve diğer., 1998; Andreas ve Narayanaswamy, 1997; Yadavalli, Koh, Lazur ve Pishko, 2004). AChCl, sinir sisteminde sinir pulslerinin iletiminde önemli bir biyomolekül olduğundan, biyoteknolojik ve klinik uygulamalarda tayini önemlidir. Asetilkolinesteraz enzimi (AChE), AChCl'ü biyokatalitik olarak asetik asite ve koline hidrolizleyebilmektedir. AChCl'ün hidrolizi üç farklı basamakta oluşmaktadır ve aşağıda verilen tepkimelerle ifade edilebilir (Andreas ve Narayanaswamy, 1997);



Şekil 1.12. AChCl'ün biyokatalitik olarak asetik asite hidrolizi.

İlk olarak, enzim ve substrat, enzim-substrat kompleksini oluşturmak için birleşir. Daha sonra, asetil grubu, asetillenmiş enzim ve kolin klorür (ChCl) oluşturmak için esteraz molekülünün aktif bölgesindeki serin grubuna geçer. Üçüncü adım, asetillenmiş enzimin hidrolizlenerek serbest enzim ve asetik asit oluşmasıdır. Asetik asit oluşumu ortam pH'ının düşmesine neden olur. Tepkimenin optik olarak gözlemlenmesi için, enzim aktivite sonucunda oluşan proton ve buna bağlı olarak da pH düşüşü, immobilize pH indikatörü ile optik olarak ölçülebilen sinyale dönüştürülebilir.

Daha önce, farklı matrislerde pek çok farklı ChE biyosensörü, pestisit, ilaç veya nörotransmitter tayini için geliştirilmiştir. Wong ve çalışma arkadaşları, sol-jel filmlere doplanmış lipofilik kromiyonofora dayalı optik biyosensör tasarımı yayınlamışlardır (Wong ve diğer., 2006). Hai ve çalışma arkadaşları, anyona duyarlı alan-etkili transistör (ISFET)'ün yüzeyine AChE enziminin immobilize ederek, ACh tayinine yönelik biyoelektronik bir hibrit sistemi geliştirmişlerdir (Hai ve diğer., 2006). Karbamat pestisitlerinin tayinine yönelik olarak, yüzey-baskılı elektrot üzerinde optimize sol-jel matrisle hapsederek immobilize edilmiş AChE enziminin inhibisyonuna dayalı amperometrik biyosensör, Bucur ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Bucur ve diğer., 2006). Ayrıca, Lenigk ve çalışma arkadaşları, anti-Alzheimer medication'ın araştırılmasına yönelik olarak AChE inhibisyonuna dayalı, elektrokimyasal bir yöntem geliştirmişlerdir (Lenigk ve diğer., 2000).

Lipozom-esaslı biyosensörler, AChE enziminin L-fosfatidilkolin lipozomlarına enkapsülasyonu ile hazırlanmıştır ve sonuç olarak spherical optik biyosensörler elde edilmiştir. Lipozomun içerisindeki enzim aktivitesi, fluorescent pH indikatörü olan pıranin kullanılarak incelenmiştir (Vamvakaki ve diğer., 2005). Schuvailo ve çalışma arkadaşları, in vivo nörotransmitter ölçümlerine yönelik karbon fiber esaslı ACh mikro-biyosensör geliştirmişlerdir (Schuvailo ve diğer., 2005). Plazma-polimerleştirilmiş etilendiamin filmlerle pH-duyarlı PVC matris membranına dayalı potansiyometrik AChE biyosensörü Liu ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Liu ve diğer., 2005). Choi ve çalışma arkadaşları, atık sulardaki

organofosfat bileşiklerini tayin etmek için AChE-immobilize Langmuir-Blodgett filminden oluşan fiber-optik biyosensör geliştirdiler (Choi ve diğer., 2001). Ayrıca, hem nörotransmitter hem de insektisit tayini için, sol-jel esaslı fiber-optik biyosensörlerin hazırlanmasına yönelik yöntemler, Doong (2001) ve Xavier (2000) tarafından geliştirilmiştir.

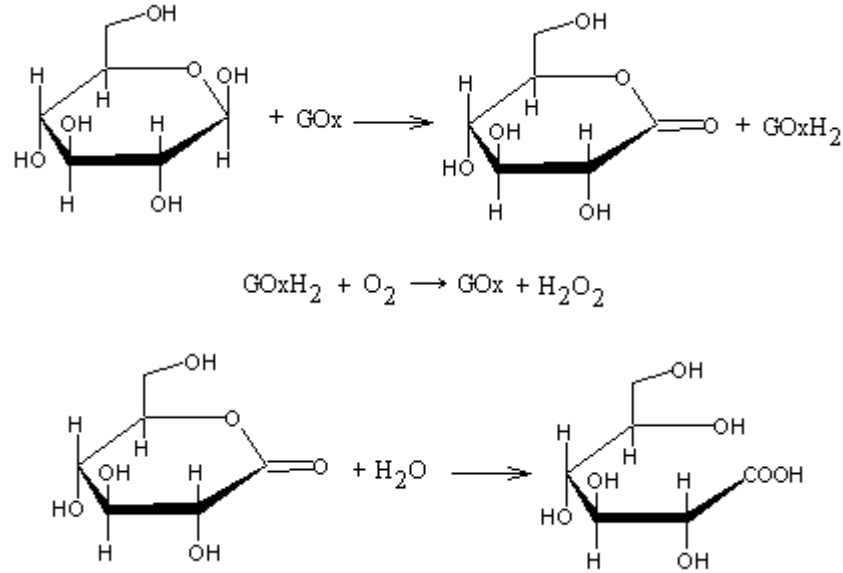
Donepezil hidroklorür ((±)-2-[(1-benzil-piperidin-4-il)etil]-5,6-dimetoksilindan-1-on hidroklorür), etkili, seçimli ve tersinir AChE inhibitörüdür ve Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (Nakashima, Itoh, Kono, Nakashima ve Wada, 2006; Radwan, Abdine, Al-Quadeb, Abboul-Enein ve Nakashima, 2006). Ayrıca, Down sendromu için de potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Bu anlamda, biyolojik sıvılarda donepezil tayini önemli hale gelmiştir ve bu nedenle de donepezil tayini için basit ve duyarlı yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir. İlaçlarda ve plazmada donepezil tayini için genellikle HPLC yöntemleri yayınlanmıştır (Nakashima ve diğer., 2006; Radwan ve diğer., 2006; Beglinger ve diğer., 2005; Pappa, Farru, Vilanova, Palacios ve Pizzorno, 2002; Andrisano, Bartolini, Gotti, Cavrini ve Felix, 2001). Gotti ve çalışma arkadaşları, donepezil tayini için, asidik koşullar altında elde edilen analitin hızlı göçüne dayalı kapiler elektroforetik yöntem geliştirmişlerdir (Gotti, Cavrini, Pomponio ve Andrisano 2001).

1.8.2 Glukoz

Diyabet hastalarının sayısı hızla arttığından biyolojik teknolojide olduğu kadar klinik uygulamalarda da glukoz tayini önemlidir (Kudo ve diğer., 2006; Liao, Chou, Sun, Hsiung ve Hsien, 2006). Glukozoksidaz enzimi (GOx) en yaygın olarak çalışılan enzimlerden biridir ve D-glukozun moleküler oksijene ve D-glukonik asite oksidasyonunu katalizler (Şekil 1.13).

Enzimatik tepkime ikiye ayrılabilir. İndirgeyici yarı tepkimede, β-D-glukozdan enzime iki proton ve elektron aktarılarak D-glukonolakton oluşturulmaktadır. Yükseltgeyici yarı tepkimede enzim, moleküler oksijen tarafından oksitlendirilerek,

hidrojen peroksit oluşumuna yol açar. Son olarak, D-glukonolakton enzimsiz olarak glukonik asite hidrolizlenebilir (Combs, Carper ve Stewart, 1992).



Şekil 1.13 D-glukozun moleküler oksijene ve D-glukonik asite oksidasyonu.

Tepkime, spektroskopik yöntemlerle proton derişiminin veya oksijen tüketiminin ölçülmesi ile tayin edilebilir (Trettnak, Leiner ve Wolfbeis 1988; Moreno-Bondi, Wolfbeis, Leiner ve Schaffar, 1990; Neubauer, Pum, Sleytr, KlimANO ve Wolfbeis 1996). Chu ve çalışma arkadaşları, glukoz tayini için, GOx ın altın ve platin nanoparçacık-modifiye karbon elektrotlarda absorplanmasına dayalı amperometrik sensör geliştirmişlerdir (Chu, Duan, Shen ve Yu, 2006). Glukoz biyotayini için platin elektrot düzeneği, Yang tarafından yayınlanmıştır (Yang ve diğer., 2006). Chen, polipirol film elektrot içeren dört-elektrotlu hücreye sahip polipirol glukoz biyosensörü geliştirmiştir (Chen, Jiang ve Kan, 2006). Bean, glukozun amperometrik tayinine yönelik olarak poli(2-hidroksietilmetakrilat)a dayalı ferrosen içeren fotopolimetrik filmler hazırladı (Bean, Heng, Yamin ve Ahmad, 2005).

BÖLÜM İKİ

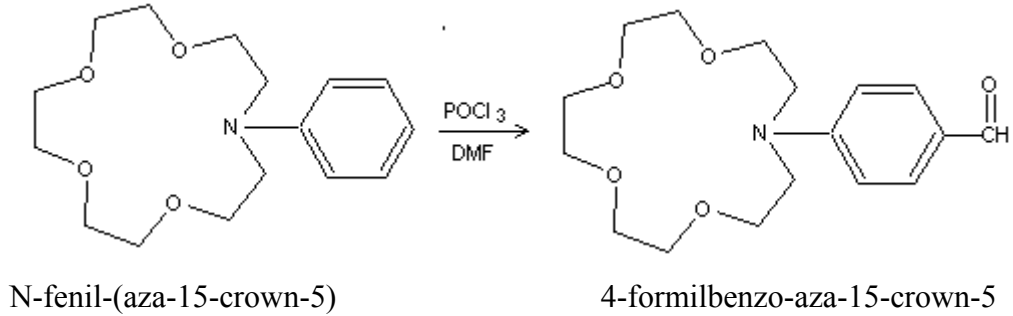
MATERYAL VE YÖNTEM

Bu bölümde bir dizi tepkimeler sonucu organik sentezleri gerçekleştirilen Azlakton türevlerinin genel sentez yöntemleri, saflaştırılmaları ve spektroskopik karakterizasyonlarında ve sensör uygulamalarında kullanılan cihazlar ve materyaller verilmektedir.

2.1. Organik Sentezler

2.1.1 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Sentezi

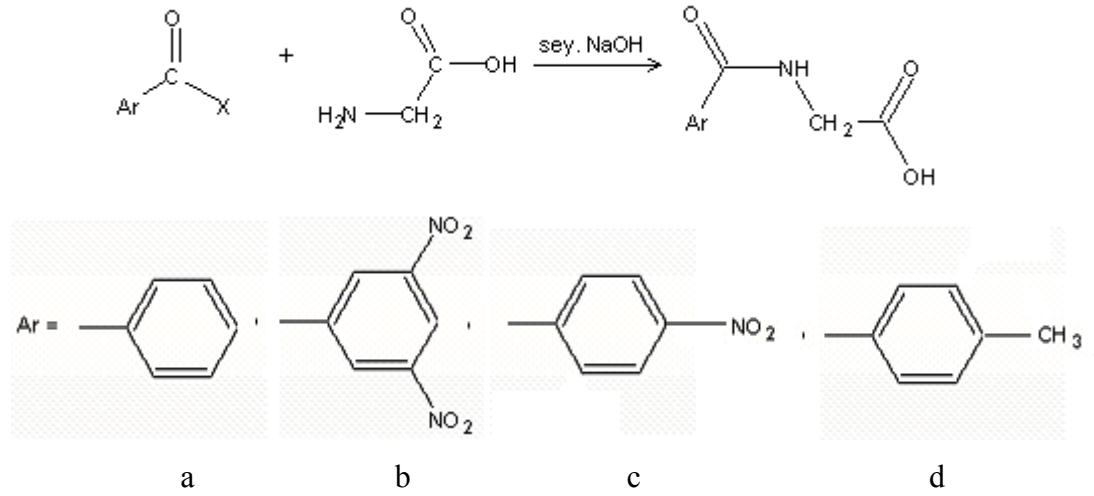
2.1.1.1 Vilsmeier-Haake Tepkimesi ile 4-formilbenzo-aza-15-crown-5 sentezi



Şekil 2.1 Vilsmeier-Haake Tepkimesi ile 4-formilbenzo-aza-15-crown-5 sentezi

1 g (3,4 mmol) N-fenil-(aza-15-crown-5) 3 mL (40 mmol) DMF te çözülür. -10⁰C ye kadar soğutulur. 0.31 mL (3,4 mmol) POCl₃ damla damla eklenir. Karışım 10 dakika süre ile -10⁰C de, daha sonra da oda sıcaklığında 1 saat karıştırılır. Son olarak da 4 saat boyunca 100⁰C de karıştırılır. Daha sonra tepkime karışımı soğutularak buzun üzerine dökülür ve % 5 lik NaOH ile pH si 7 ye ayarlanır. Ekstraksiyonla etil asetat fazına alınarak etil asetat fazının aşırısı uçurulur. Elde edilen ürün kromatografik olarak saflaştırılır (Mateeva, Deligeorgiev ve Mitewa, 1992; Murakami ve Yokoyama, Okuyama, 1983).

2.1.1.2 Aminoasitlerin Açillendirilmesi



a) benzoil glisin

b) 3,5-dinitrobenzoilglisin

c) p-nitrobenzoil glisin

d) p-toluil glisin

Şekil 2.2 Aminoasitlerin Açillendirilmesi

50 mL şilifli erlenmayer içerisinde glisin %10 luk NaOH çözeltisinde çözüldü. Bu karışıma benzoilklorür kısımlar halinde katılır. Her katımda erlenmayerin kapağı sıkıca kapatılarak benzoil klorür tepkimeye girinceye kadar çalkalandı. Karışım bir beherin içerisinde aktarılarak içerisinde birkaç gram buz bulunan derişik hidroklorik asit çözeltisi katılır. benzoilglisin kristalleri vakumda süzülerek soğuk su ile yıkanır ve kurutulur. 3-4 mL CCl₄ ile yıkandıktan sonra yaklaşık 100 mL kaynayan sudan tekrara kristallendirilir.

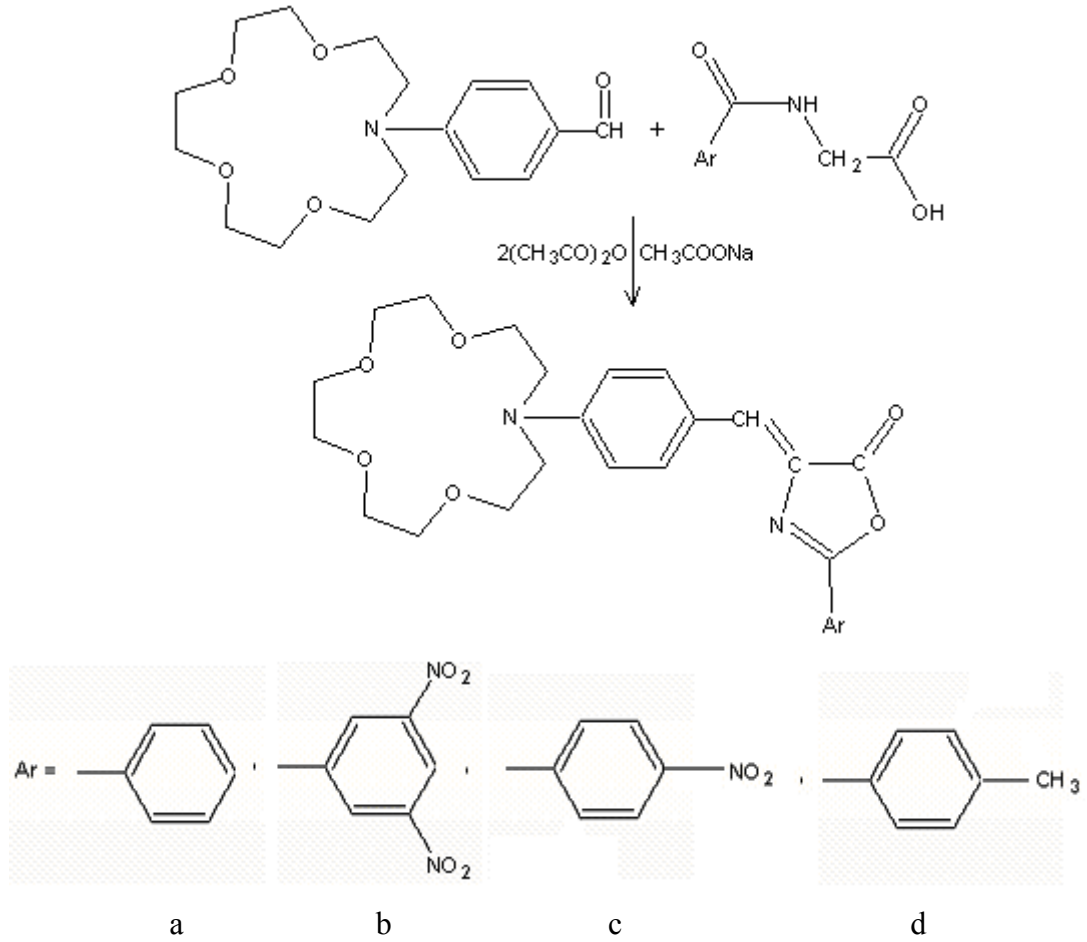
2.1.1.2.1 Benzoil glisin. Ticari Merck marka benzoil glisin kullanılmıştır.

2.1.1.2.2 3,5-dinitrobenzoilglisin. 0,8 g glisin, 10 mL %10 luk NaOH çözeltisi, 2,3 g 3,5-dinitrobenzoilklorür.

2.1.1.2.3 *p*-nitrobenzoil glisin. 0,8 g glisin, 10 mL %10 luk NaOH çözeltisi, 2,0 g *p*-nitrobenzoilchlorür

2.1.1.2.4 *p*-toluil glisin. 2,35 g glisin, 20 mL %10 luk NaOH çözeltisi, 4 mL *p*-toluilklorür

2.1.1.3 Erlenmeyer yöntemi ile *N*-fenil-aza-15-crown-5 esaslı azlakton türevlerinin sentezi



Şekil 2.3 Erlenmeyer yöntemi ile *N*-fenil-aza-15-crown-5 esaslı azlakton türevlerinin sentezi.

a) 2-fenil-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadekil)benziliden]oksazol-5-on (**CPO-1**),

b) 2-(3,5-dinitrofenil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadekil)benziliden] oksazol-5-on (**CPO-2**)

c) 2,2-(p-nitrofenil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadesil)benziliden] oksazol-5-on (CPO-3)

d) 2-(p-tolil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadesil)benziliden] oksazol-5-on (CPO-4)

Düz dipli 50 mL'lik bir balonda eşit mol oranlarında 4-formilbenzo-aza-15-crown-5, toz haline getirilmiş kuru açillendirilmiş amino asit, sodyum asetat ve yüksek dereceli asetik anhidrit karışımı bir elektrikli ısıtıcıda ısıtılır. Karışım önce katılaştır, sonra yavaş yavaş sıcaklık yükselirken sıvı hale gelir. Tamamen sıvılaştınca bir balona aktarılarak bir buhar banyosunda 2 saat ısıtılır. Bu zaman boyunca ürün kristal halinde ayrılır. Isıtmanın sonunda 20 mL redestile etanol yavaşça balona katılır. Katım boyunca reaksiyon şiddetini ılımlı hale getirmek için yavaşça soğutulur. Tepkime karışımı bir gece bekletildikten sonra ürün kristal halinde süzülür. Soğuk alkol ile ve ardından kaynar su ile yıkanarak sıcak etanol yada kloroform-etanol karışımından tekrar kristallendirilir.

2.1.1.3.1 2-fenil-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadekil)benziliden] oksazol-5-on (CPO-1). 0,55g ‘‘0,0017 mol’’ 4-formilbenzo-aza-15-crown-5, 0,31 g’’0,0017 mol’’ hüppirik asit, 0,23 g ‘‘ ’0,0017 mol’’ sodyum asetat.

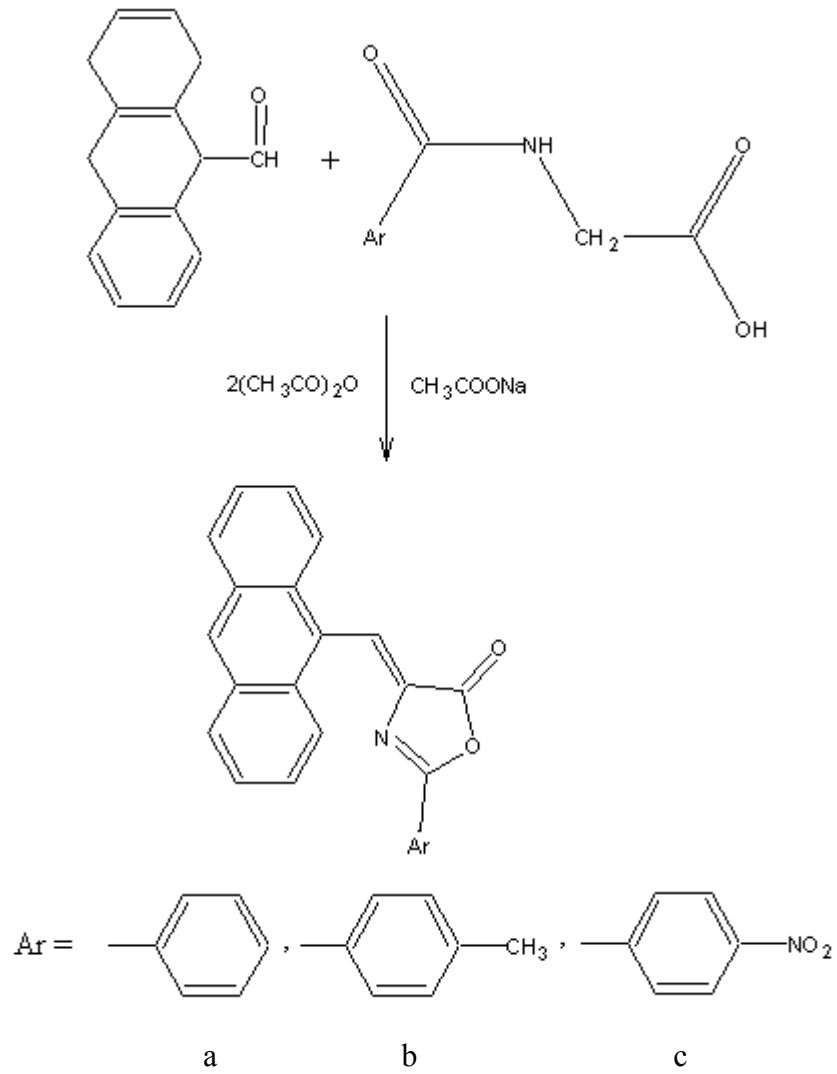
2.1.1.3.2 2-(3,5-dinitrofenil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadekil)benziliden] oksazol-5-on (CPO-2). 0,5g ‘‘0,0015 mol’’ 4-formilbenzo-aza-15-crown-5, 0,4 g’’0,0015 mol’’ 3,5-dinitrobenzoilglisin, 0,2 g ‘‘ ’0,0015 mol’’ sodyum asetat.

2.1.1.3.3 2-(p-nitrofenil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopentadesil)benziliden] oksazol-5-on (CPO-3). 0,5g ‘‘0,0015 mol’’ 4-formilbenzo-aza-15-crown-5, 0,34 g’’0,0015 mol’’ p-nitrobenzoilglisin, 0,2 g ‘‘ ’0,0015 mol’’ sodyum asetat.

2.1.1.3.4 *2-(p-tolil)-4-[4-(1,4,7,10-tetraoksa-13-azasiklopenta desil)benziliden]oksazol-5-on (CPO-4)*. 0,5g ‘’0,0015 mol’’ 4-formilbenzo-aza-15-crown-5, 0,3 g’’0,0015 mol’’p-tolilglisin, 0,2 g ‘‘ ’0,0015 mol’’ sodyum asetat.

2.1.2 Antraliden Esaslı Azlakton Türevlerinin Sentezi

Düz dipli 50 mL’lik bir balonda eşit mol oranlarında Antraldehit, toz haline getirilmiş kuru açillendirilmiş amino asit, sodyum asetat ve yüksek dereceli asetik anhidrit karışımı ısıtma yapmadan birkaç dakika karıştırıldıktan sonra karışım önce katılaştır, kondenzasyon tepkimesi sona erdikten sonra karışım ısıtılır. Sıcaklık yükselirken karışım, sıvı hale gelir. Tamamen sıvılaştıktan sonra 2 saat süre ile ısıtılır. Bu zaman boyunca ürün kristal halinde ayrılır. Isıtmanın sonunda 20 mL redestile etanol yavaşça balona katılır. Tepkime karışımı bir gece bekletildikten sonra ürün kristal halinde süzülür. Soğuk alkol ile ve ardından kaynar su ile yıkanarak sıcak etanol-kloroform karışımından tekrar kristallendirilir.



a) 2-fenil-4-antraliden-5-oksazon (ANO-I)

b) 2-(4-tolil)-4-antraliden-5-oksazon (ANO-II)

c) 2-(4-nitrofenil)-4-antraliden-5-oksazon (ANO-III)

Şekil 2.4 Erlenmeyer yöntemi ile ANOraliden Esaslı Azlakton Türevlerinin Sentezi.

2.1.2.1 2-fenil-4-antraliden-5-oksazon (ANO-I). 1,0 g “0,0048 mol” antraldehit, 0,86 g “0,0048 mol” hüppirik asit, 0,66 g “0,0048 mol” sodyum asetat.

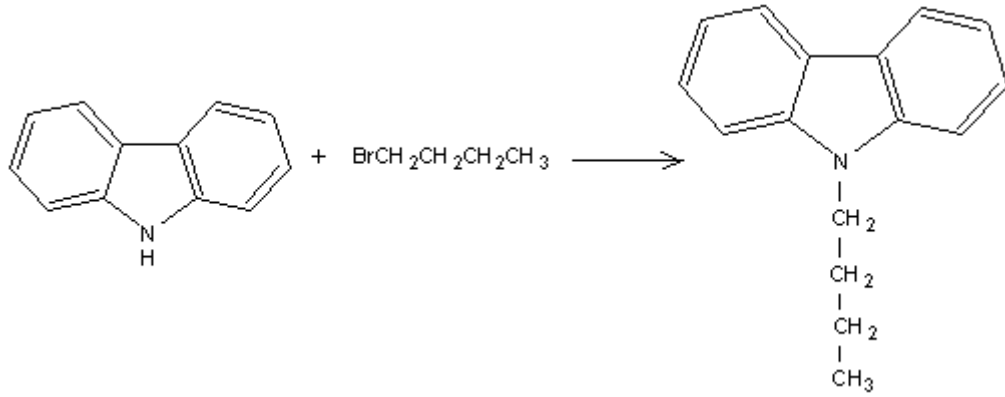
2.1.2.2 2-(4-tolil)-4-antraliden-5-oksazon (ANO-II). 1,0 g “0,0048 mol” antraldehit, 0,93 g “0,0048 mol” p-tolilglisin, 0,66 g “0,0048 mol” sodyum asetat.

2.1.2.3 2-(4-nitrofenil)-4-ANOraliden-5-oksazolun (ANO-III)

1,0 g ‘‘0,0048 mol’’ antraldehit, 1,1 g ‘‘0,0048 mol’’ p-nitrobenzoilglisin, 0,66 g ‘‘0,0048 mol’’ sodyum asetat.

2.1.3 Karbazol Esaslı Azlakton Türevinin Sentezi

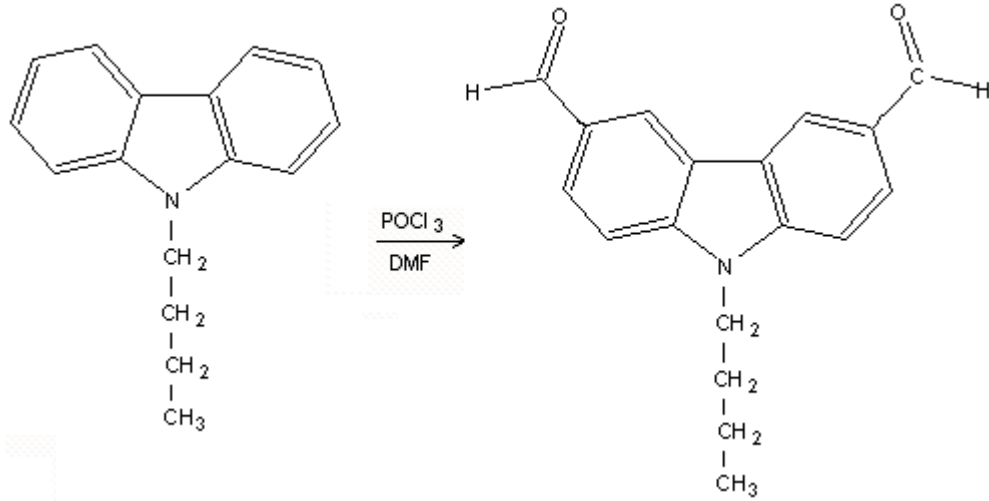
2.1.3.1 9-bütül-9H-karbazol sentezi



Şekil 2.5 1 9-bütül-9H-karbazol sentezi

5 g karbazol ‘‘0,0598 mol’’, 100 mL asetonun içerisinde çözülerek üzerine 4.87 g ‘‘0.0865 mol’’ KOH ve 8 mL ‘‘0.0718 mol’’ eklenir ve 2 saat süre ile karıştırılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra 100 mL su eklenir ve sey HCl ile ortam asitlendirilir. Etil asetat fazına ekstrakte edilerek metanol ile çöktürülür.

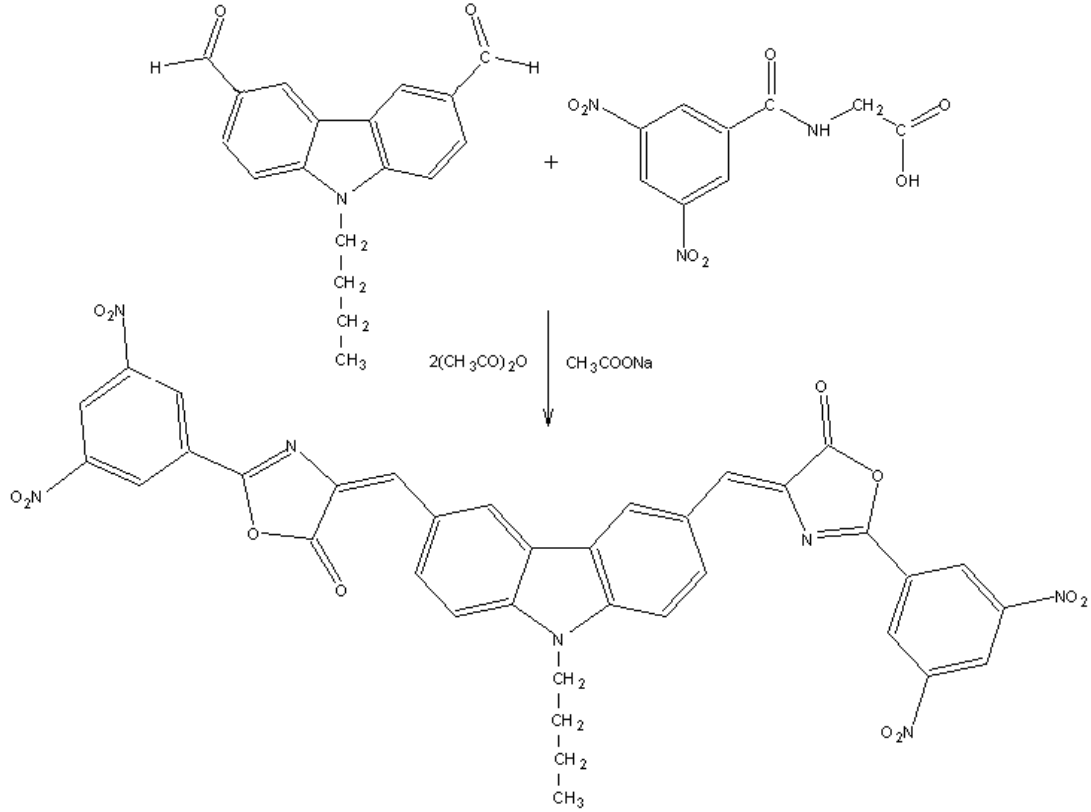
2.1.3.2 9-bütül-9H-karbazol-3,6-dikarbaldehit sentezi



Şekil 2.6 9-bütül-9H-karbazol-3,6-dikarbaldehit sentezi.

İki boyunlu bir balona 43 mL (0,57 mol) DMF ve 25 mL CH₂Cl₂ eklenerek 0⁰C ye kadar soğutulur. 0.31 mL (3,4 mmol) POCl₃ damla damla eklenir ve oda sıcaklığında 1 saat karıştırılır. Karışım daha sonra 0⁰C'ye soğutulur ve 3.6 g (0,016 mol) 9-bütül-9H-karbazol eklenir. Son olarak da 20 saat boyunca 80⁰C de karıştırılır. Daha sonra tepkime karışımı soğutularak buzun üzerine dökülür. Ekstraksiyonla kloroform fazına alınarak kloroform fazının aşırısı uçurulur. Elde edilen ürün kromatografik olarak saflaştırılır

2.1.3.3 4-[(9-bütül-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO)

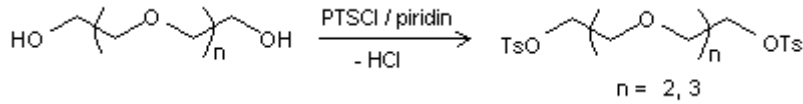


Şekil 2.7 4-[(9-bütül-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) sentezi

Düz dipli 50 mL'lik bir balonda 1 g (0,0036 mol) 9-bütül-9H-karbazol-3,6-dikarbaldehit, 1,94 g (0,0072 mol) 3,5-dinitrobenzoilglisin, 0,98 g (0,0072 mol) sodyum asetat ve yüksek dereceli asetik anhidrit karışımı ısıtma yapmadan birkaç dakika karıştırıldıktan sonra karışım önce katılaştır, kondenzasyon tepkimesi sona erdikten sonra karışım ısıtılır. Sıcaklık yükselirken karışım, sıvı hale gelir. Tamamen sıvılaştıktan sonra 2 saat süre ile ısıtılır. Bu zaman boyunca ürün kristal halinde ayrılır. Isıtmanın sonunda 20 mL redestile etanol yavaşça balona katılır. Tepkime karışımı bir gece bekletildikten sonra ürün kristal halinde süzülür. Soğuk alkol ile ve ardından kaynar su ile yıkanarak sıcak etanol-kloroform karışımından tekrar kristallendirilir.

2.1.4 Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Dimerlerinin Sentezine Yönelik İlk Sentez Rotası

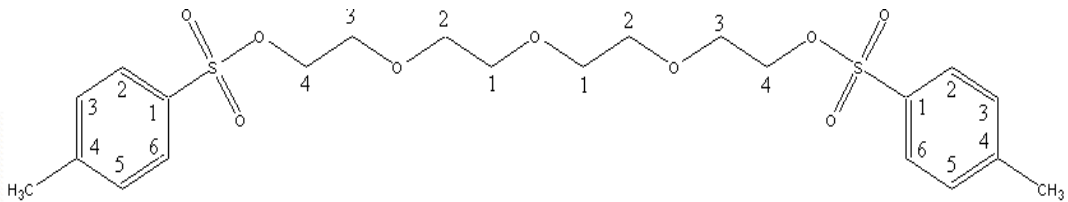
2.1.4.1 Polietilen Glikolditosilat Sentezi



Şekil 2.8 Polietilen glikolditosilatın sentezi

Polietilenglikol bir erlenin içerisinde piridinde çözüldü ve üzerine p-toluensülfoniklorür kısımlar halinde eklenerek 1 saat karıştırılır. Daha sonra karışıma saf su ve ortam asidik oluncaya kadar % 5 HCl katıldı. Ürün kloroform fazına alınır. % 5 lik NaOH ile ekstrakte edilir. Kloroform fazı kurutulularak uzaklaştırılır.

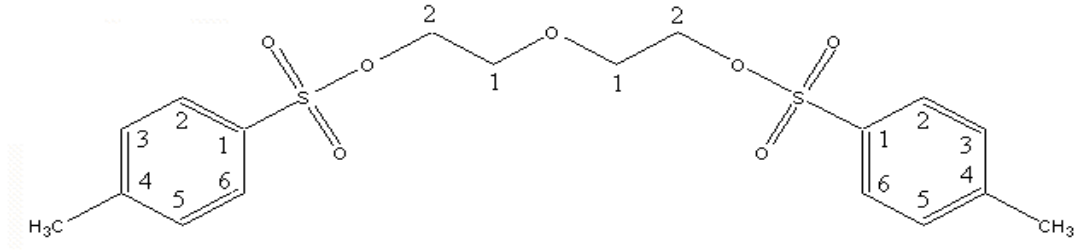
2.1.4.1.1 Tetraetilenglikolditosilat



Şekil 2.9 Tetraetilenglikolditosilat

5 mL “0,028 mol” tetraetilenglikol, 10,65 g “0,056 mol” p-toluensülfoniklorür,
20 mL piridin

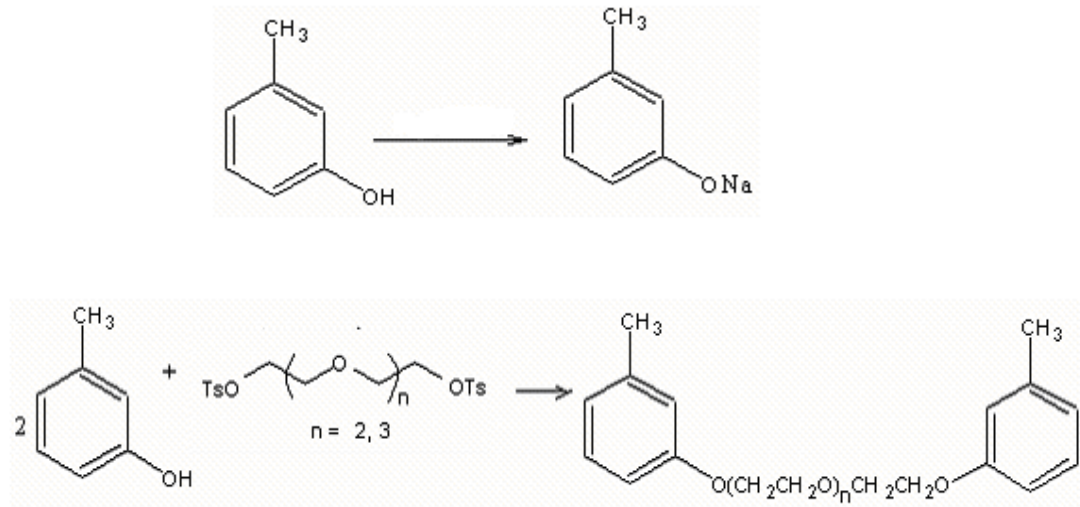
2.1.4.1.2 Dietilenglikolditosilat



Şekil 2.10 Dietilenglikolditosilat

5 mL ‘‘0,052 mol’’ dietilenglikol, 19,59 g ‘‘0,103 mol’’ p-toluensülfonilklorür, 20 mL piridin

2.1.4.2 Fenolat oluşumu ve polietilenglikolditosilat ile eterleşme tepkimesi



Şekil 2.11 Fenolat oluşumu ve polietilenglikolditosilat ile eterleşme tepkimesi

Bu basamağın sentez aşamasında dört farklı yöntem denendi:

1.yöntem: m-cresol, % 10 luk NaOH çözeltisinin içerisinde çözülür. Tetraetilenglikolditosilat eklenerek 12 saat karıştırılır. Oluşan ürün kloroform fazına ekstrakte edilir. Kloroform fazı kurutularak kloroform uçurulur.

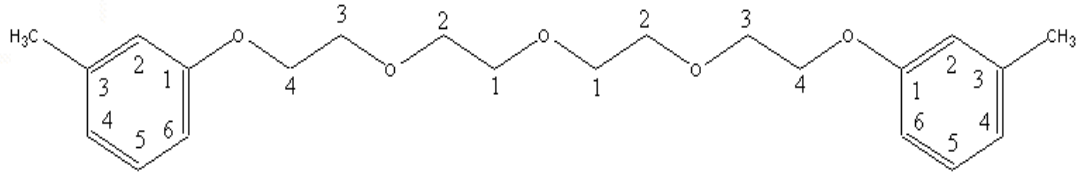
2.yöntem: Tetraetilenglikolditosliat, m-kresol ve alkalimetal karbonat (Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 veya K_2CO_3) asetonitrilin içerisinde çözülerek karışım azot atmosferi altında 35-40 saat ısıtılır. Çözücü uzaklaştırılarak ürün kloroform fazına ekstrakte edilir, su ile yıkanarak kurutulur ve çözücü uzaklaştırılır (Abdurrahmanoğlu, Gündüz, Çakır, Çiçek ve Bulut, 2005; Gündüz, ve diğer., 2006).

3.yöntem: Tetraetilenglikolditosliat, m-kresol ve alkalimetal karbonat (Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 veya K_2CO_3) DMF içerisinde çözülerek karışım azot atmosferi altında oda sıcaklığında 10 dakika daha sonra 5 gün süreyle 50°C de karıştırılır. Çözücü fazı uzaklaştırılarak ürün buzlu suyun içerisine alınır ve daha sonra etil asetat fazına alınır. Etil asetat fazı kurutularak çözücü uzaklaştırılır (Samu, Huszthy, Somogyi ve Hollosi, 1999; Biron ve diğer., 2004; Tuncer ve Erk, 2000).

4.yöntem: NaH, THF in içerisinde azot atmosferi altında çözülerek geri soğutma altında ısıtılır. THF içerisinde çözülmüş m-krezol tepkime ortamına damla damla eklenir. Daha sonra THF içerisinde çözülmüş tetraetilenglikolditosliat tepkime ortamına damla damla eklenir. Tepkime karışımı 24 saat süre ile geri soğutucu altında ısıtılır. Karışım soğutularak içerisine dikkatli bir şekilde su eklenir. THF uzaklaştırılarak geride kalan kısma su eklenir ve ürün diklorometan fazına alınır. Diklorometan fazı kurutularak uzaklaştırılır ve ürün kromatografik olarak saflandırılır (Favre-Reguillon, Dumont, Dunjic ve Lemaire, 1997; Schultz, White, Dishong, Arnold ve Gokel, 1985; Yamato, Fernandez, Vogel, Bartsch ve Dietz, 2002).

En uygun yöntemin dörüncü yöntem olduğuna karar verildi. Bu yöntem ile diğerlerine kıyasla, tepkime daha kısa sürede gerçekleşmektedir ve elde edilen verim daha yüksektir.

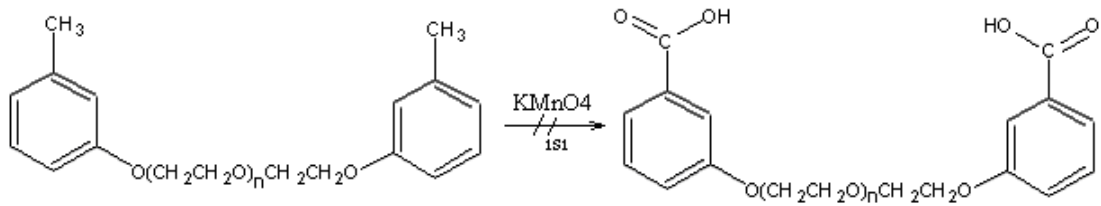
2.1.4.2.1 1,11-bis(3-metil-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekan



Şekil 2.12 1,11-bis(3-metil-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekan

4 g ‘‘0,1 mol’’ NaH, 5,3 g ‘‘0,05 mol’’ m-kresol, 10,7 g ‘‘0,025 mol’’ tetraetilenglikolditosilat

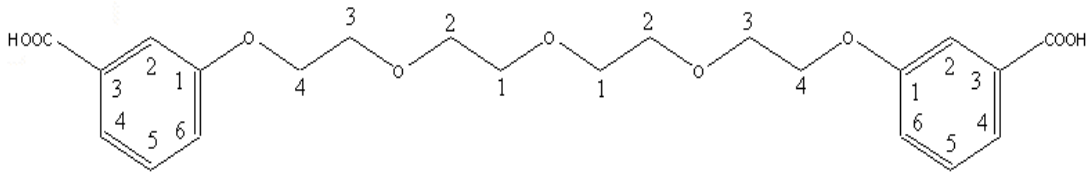
2.1.4.3 Alkilbenzenleri yükseltgeme tepkimesi



Şekil 2.13 Alkilbenzenleri yükseltgeme tepkimesi

Bir balonda Na_2CO_3 , KMnO_4 ve bis(-metil-fenoksi)-oksaalkan suyun içerisinde çözülerek geri soğutma altında reflux edilir. Karışım soğutularak HCl ile asitlendirilir ve % 20 lik Na_2SO_3 çözeltisi katılır. Elde edilen ürün trompta süzülür, soğuk su ile yıkanarak, sıcak suda kristallendirilir.

2.1.4.3.1 1,11-bis (3-karboksifenoksi)-3,6,9-trioksaundekan

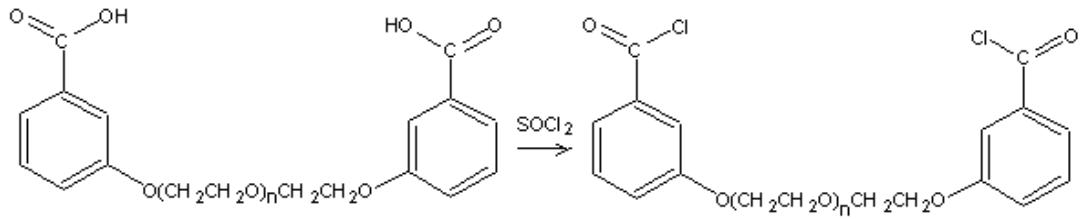


Şekil 2.14 1,11-bis (3-karboksifenoksi)-3,6,9-trioksaundekan

4,5 g ‘‘0,012 mol’’ 1,11-bis(3-metil-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekan, 2,55 g ‘‘0,024 mol’’ Na_2CO_3 , 3,7 g ‘‘0,024 mol’’ KMnO_4

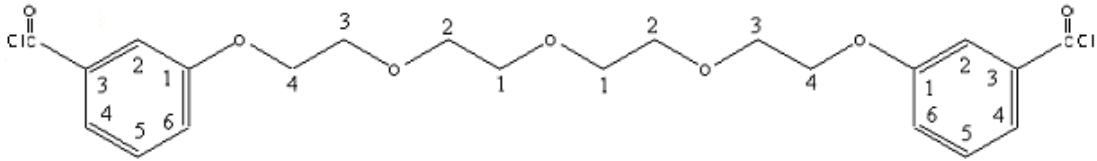
Yükseltgeme basamağında başarı sağlanamadı, o nedenle sentez planının devamında aşağıda verilen basamaklara devam edilmedi:

2.1.4.4 Aromatik açil klorür eldesi



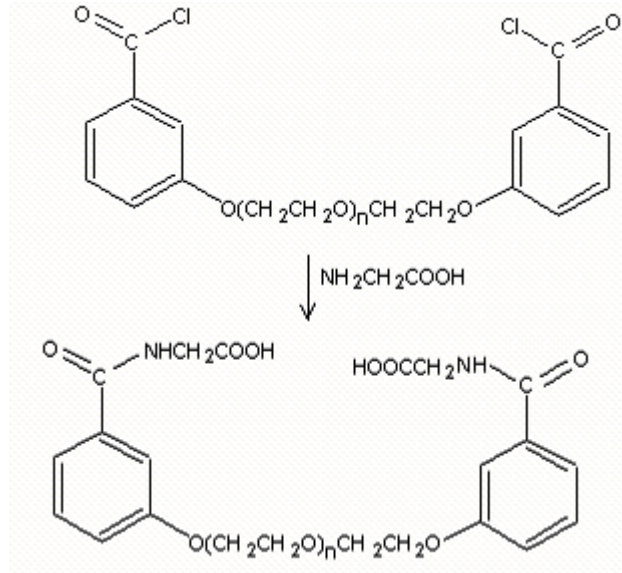
Şekil 2.15 Aromatik açil klorür eldesi

2.1.4.4.1 1,11-bis (3-açilklorofenoksi)- 3,6,9-trioksaundekan



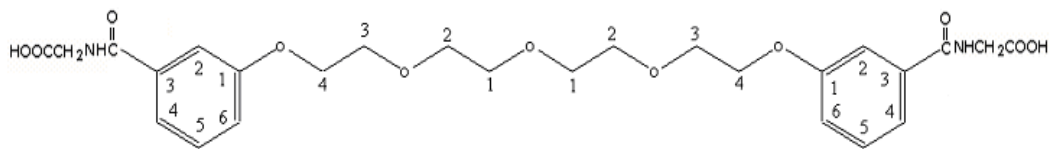
Şekil 2.16 1,11-bis (3-açilklorofenoksi)- 3,6,9-trioksaundekan

2.1.4.5 Glisinin N-açılması



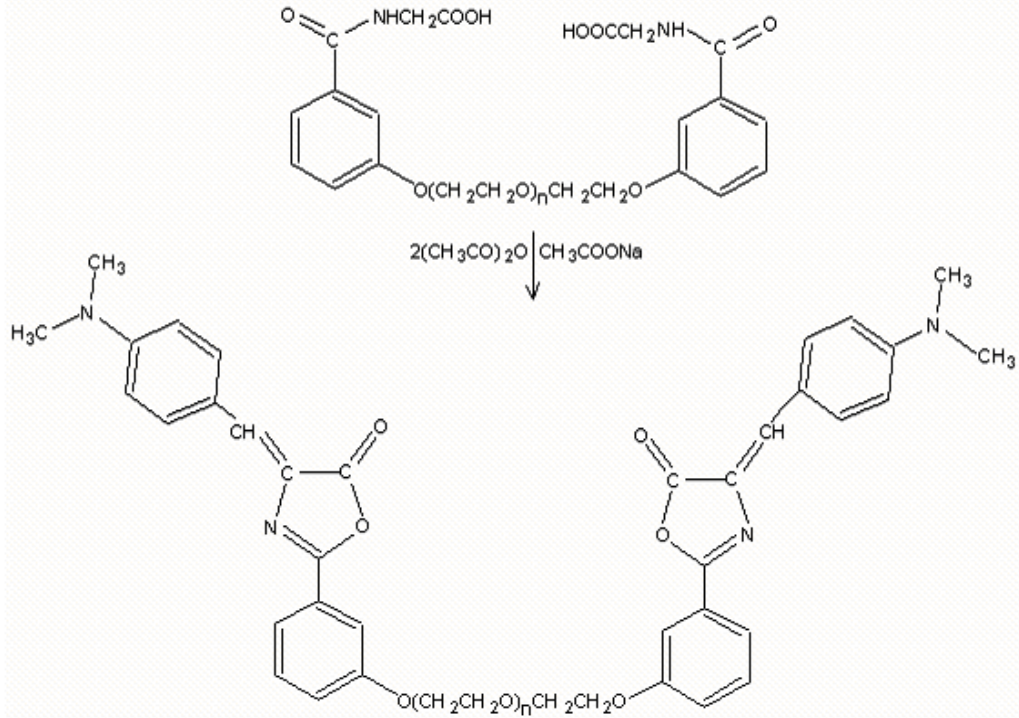
Şekil 2.17 Glisinin N-açılması

2.1.4.5.1 1,11-bis (3-açıl-N-metilkarboksi-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekan



Şekil 2.18 1,11-bis (3-açıl-N-metilkarboksi-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekan

2.1.4.6 Erlenmeyer Yöntemi ile Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Sentezi

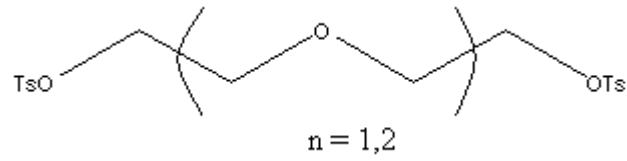


Şekil 2.19 Erlenmeyer Yöntemi ile Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Sentezi.

İlk sentez rotası ile başarı sağlanamadığından dolayı aşağıda verilen ikinci bir sentez rotası uygulandı.

2.1.5 Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Dimerlerinin Sentezine Yönelik İkinci Sentez Rotası

2.1.5.1 Polietilen Glikolditosilat Sentezi. Birinci sentez rotasında Bölüm 2.1.4.1'de verilen yöntemin aynısı uygulanarak dietilenglikolditosilat ve trietilenglikolditosilat sentezlenmiştir.



$n = 1$ dietilenglikolditosilat

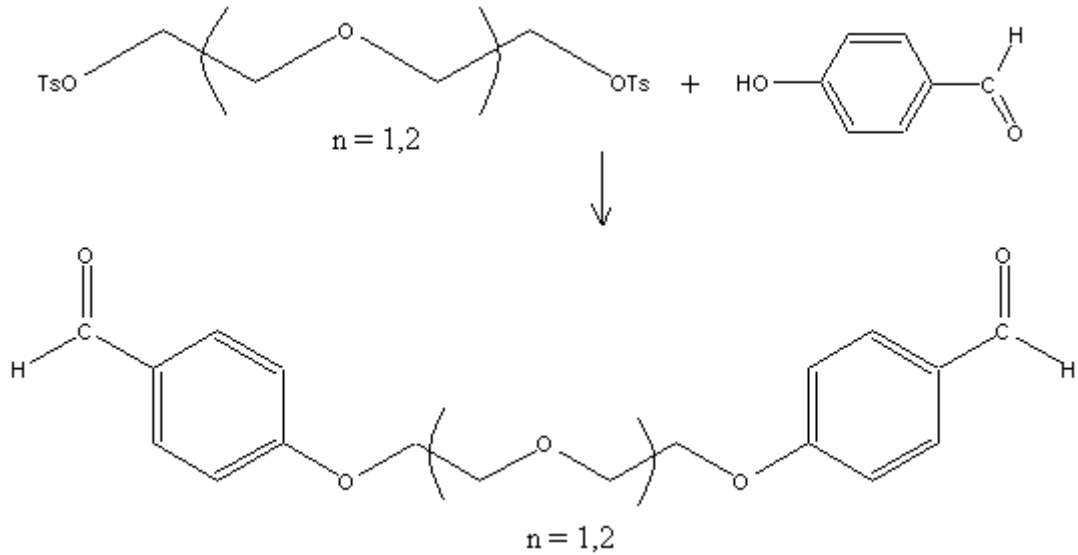
$n = 2$ trietilenglikolditosilat

Şekil 2.20 Dietilenglikolditosilat ve trietilenglikolditosilat

2.1.5.1.1 Dietilenglikolditosilat. 5 mL ‘‘0,052 mol’’ dietilenglikol, 19,59 g ‘‘0,103 mol’’ p-toluensülfonilklorür, 20 mL piridin

2.1.5.1.1 Trietilenglikolditosilat. 5 mL ‘‘0,036 mol’’ trietilenglikol, 13,69 g ‘‘0,072 mol’’ p-toluensülfonilklorür, 20 mL piridin

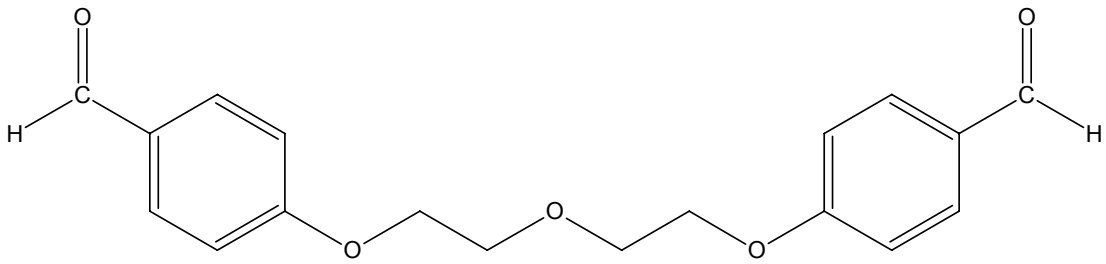
2.1.5.2 Fenolat oluşumu ve polietilenglikolditosilat ile eterleşme tepkimesi. Bu aşamada, ilk sentez rotasından farklı olarak, başlangıç maddesi olarak m-kresol yerine, 4-hidroksibenzaldehit kullanılmıştır.



Şekil 2.21 Fenolat oluşumu ve polietilenglikolditosilat ile eterleşme tepkimesi

Polietilenglikolditosilat, 4-hidroksibenzaldehit ve K_2CO_3 DMF içerisinde çözülerek karışım azot atmosferi altında oda sıcaklığında 10 dakika daha sonra 5 gün süreyle 50^0C de karıştırılır. Çözücü fazı uzaklaştırılarak ürün buzlu suyun içerisine alınır ve daha sonra etil asetat fazına alınır. Etil asetat fazı kurutularak çözücü uzaklaştırılır (Samu, Huszthy, Somogyi ve Hollosi, 1999; Biron ve diğer., 2004; Tuncer ve Erk, 2000).

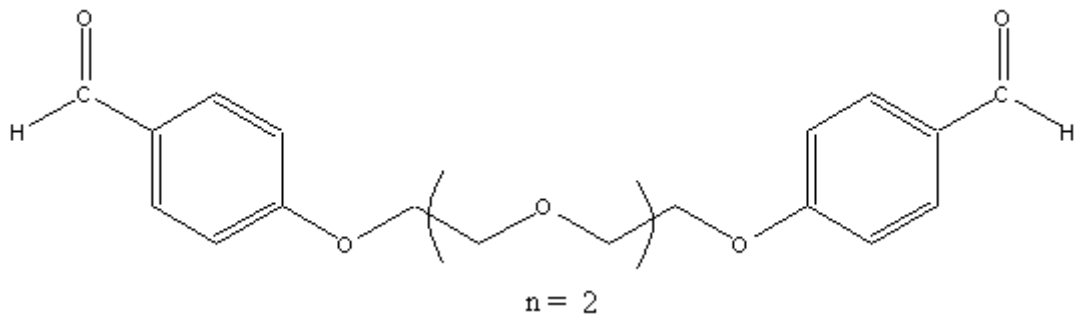
2.1.5.2.1 4,4'-[oksibis(etan-2,1-dioksi)]dibenzaldehit



Şekil 2.22 4,4'-[oksibis(etan-2,1-diloksi)]dibenzaldehit

7 g ‘‘0,018 mol’’ dietilenglikolditosilat, 4,4 g ‘‘0,036 mol’’ 4-hidroksibenzaldehit, 7,5 g ‘‘0,054 mol’’ K_2CO_3 .

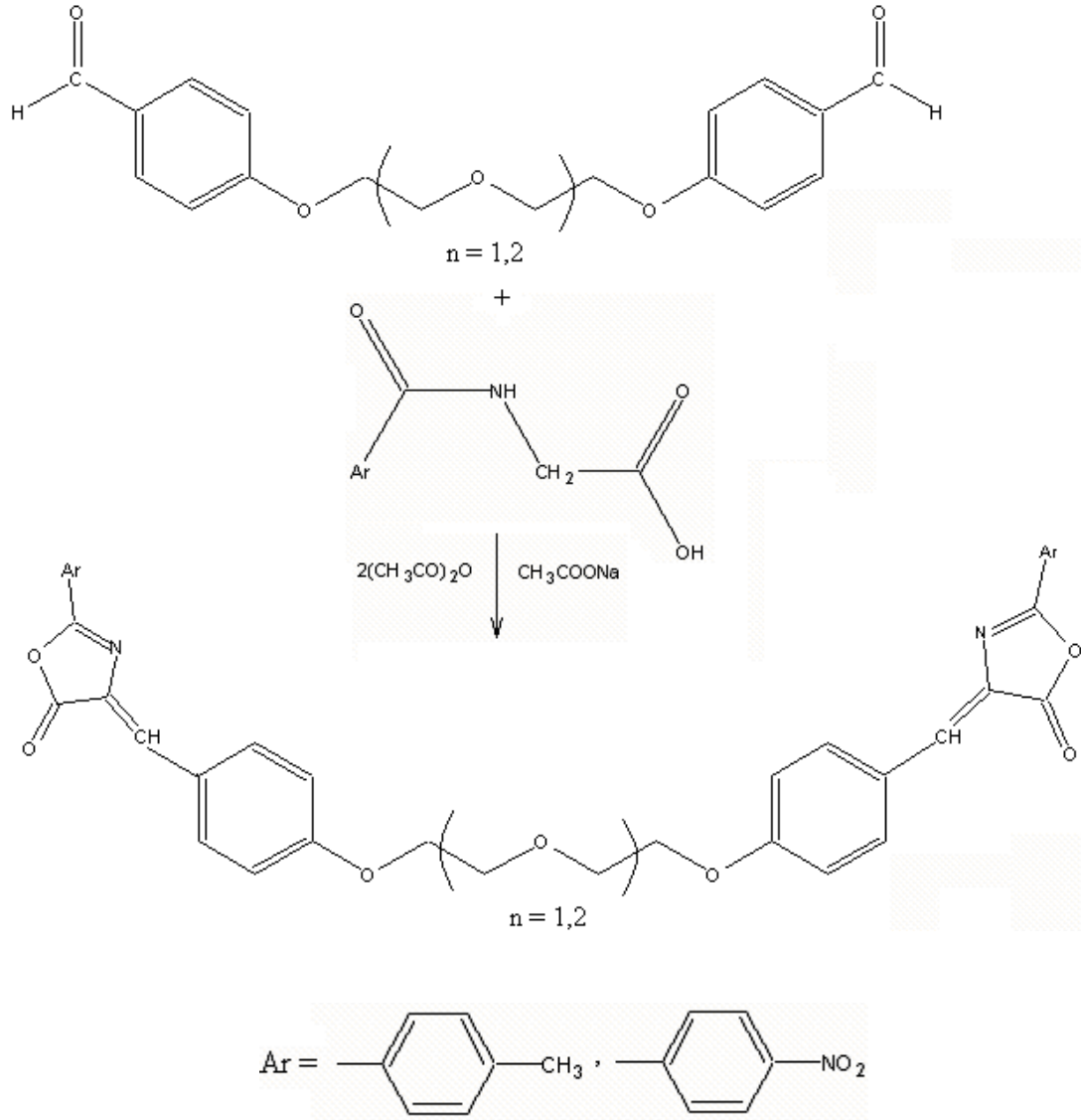
2.1.5.2.2 4,4'-[etan-1,2-dibis(oksietan-2,1-dioksi)]dibenzaldehit



Şekil 2.23 4,4'-[etan-1,2-dilbis(oksietan-2,1-diloksi)]dibenzaldehit

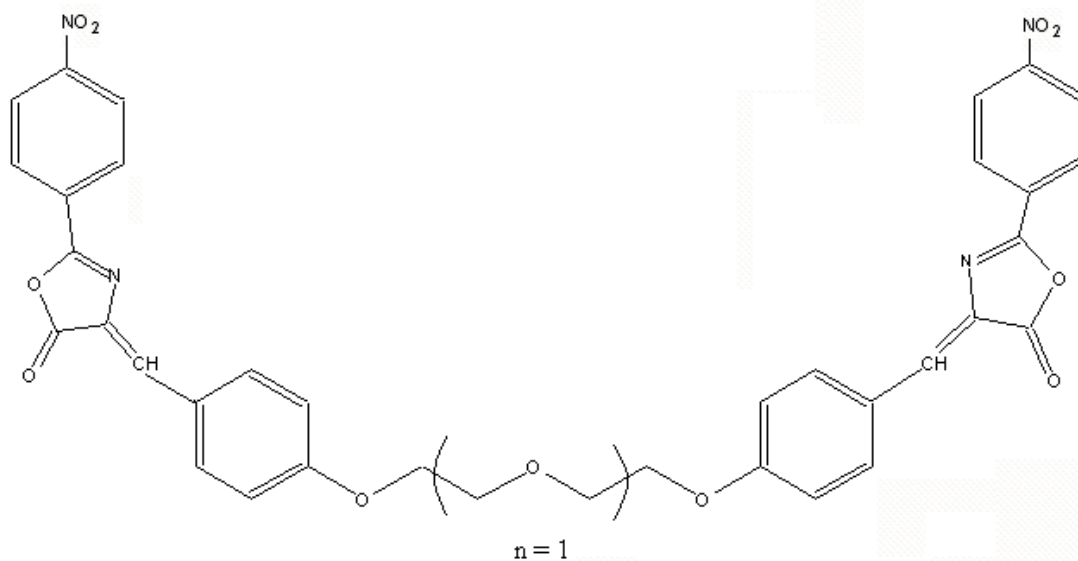
10 g ‘‘0,023 mol’’ trietilenglikolditosilat, 5,6 g ‘‘0,047 mol’’ 4-hidroksibenzaldehit, 9,7 g ‘‘0,069 mol’’ K_2CO_3 .

2.1.5.3 Erlenmeyer Yöntemi ile Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Sentezi. Daha önce verilen erlenmeyer azlakton sentez yöntemi kullanılmıştır.



Şekil 2.24 Erlenmeyer Yöntemi ile Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Sentezi

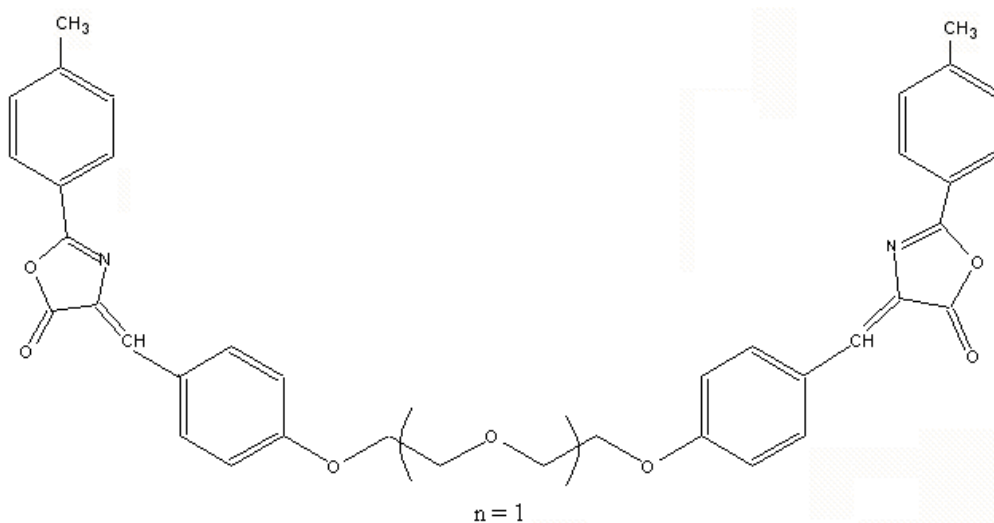
2.1.5.3.1 (4Z)-2-(4-nitrophenyl)-4-(4-{2-[2-(4-{(E)-[2-(4-nitrophenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzylidene)-1,3-oxazol-5(4H)-one



Şekil 2.25 (4Z)-2-(4-nitrophenyl)-4-(4-{2-[2-(4-{(E)-[2-(4-nitrophenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzylidene)-1,3-oxazol-5(4H)-one

1 g ‘‘0,0032 mol’’ 4,4’-[oksibis(etan-2,1-diloksi)]dibenzaldehit, 1,43 g ‘‘0,0064 mol’’ p-nitrobenzoilglisin, 0,86 g ‘‘0,0064 mol’’ sodyum asetat.

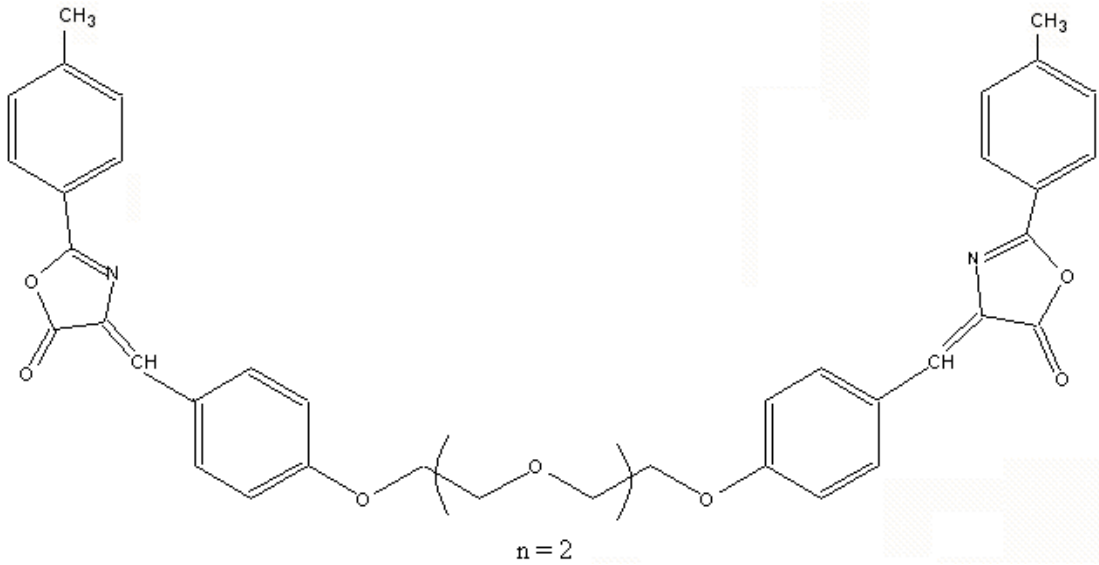
2.1.5.3.2 (4Z)-2-(4-methylphenyl)-4-(4-{2-[2-(4-{(E)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzylidene)-1,3-oxazol-5(4H)-one



Şekil 2.26 (4Z)-2-(4-methylphenyl)-4-(4-{2-[2-(4-{(E)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzylidene)-1,3-oxazol-5(4H)-one

1 g ‘‘0,0032 mol’’ 4,4'-[oksibis(etan-2,1-diloksi)]dibenzaldehit, 1,23 g ‘‘0,0064 mol’’ p-nitrobenzoilglisin, 0,86 g ‘‘0,0064 mol’’ sodyum asetat.

2.1.5.3.3 (4Z)-2-(4-methylphenyl)-4-[4-(2-{2-[2-(4-{(E)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}ethoxy)benzylidene]-1,3-oxazol-5(4H)-one



Şekil 2.27 (4Z)-2-(4-methylphenyl)-4-[4-(2-{2-[2-(4-{(E)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}ethoxy)benzylidene]-1,3-oxazol-5(4H)-one

2 g ‘‘0,0056 mol’’ 4,4'-[etan-1,2-dilbis(oksietan-2,1-diloksi)]dibenzaldehit, 2,16 g ‘‘0,0112 mol’’ p-nitrobenzoilglisin, 1,52 g ‘‘0,0112 mol’’ sodyum asetat.

2.2 Yapısal ve Spektral Analizler

Absorpsiyon spektrumları, Shimadzu UV-1601 spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Tüm floresans ölçümleri, Varian-Cary Eclipse spektrofluorimetresi ile yapılmıştır. IR spektrumları, Perkin Elmer Spectrum BX FTIR spektrometresi ile KBr peletleri olarak alınmıştır. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları Varian Mercury AS 400 NMR spektrometresi ile 400 MHz de kaydedilmiştir. Sensör çalışmalarında

tampon çözeltilerin pH değerleri, Merck pH 7.00 (titrisol) ve pH 4.01 standartları ile kalibre edilmiş WTW pH-metre ile ayarlanmıştır

2.3 Polimer Filmin Hazırlanışı

Polimer filmler, 120 mg PVC, 240 mg plastikleştirici, CPO ile eşit mol oranında PTCPB (2×10^{-6} mol CPO / kg PVC) ve 1.5 mL THF karışımından elde edilmiştir. AChE ile yapılan sensör çalışmalarında kokteylin içerisine AChE (10 μ L of destile suda 100 unit AChE), GOx ile yapılan sensör çalışmalarında ise kokteyle GOx (10 μ L destile suda 100 unit GOx) eklenerek karıştırıldı ve elde edilen karışım 125 μ m polyester desteğin (Mylar type) üzerine yayılır. PVC filmler 4°C de buzdolabında saklandı.

BÖLÜM ÜÇ

SONUÇLAR

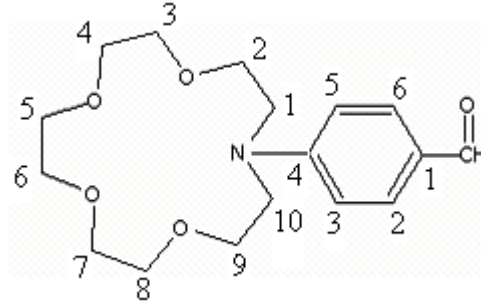
Bu bölümde, sentezleri gerçekleştirilen oksazol-5-on türevlerinin yapılarının aydınlatılması için kullanılan FT-IR, ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları, bu spektrumlardan elde edilen veriler yer almaktadır.

Ayrıca, UV-Vis absorpsiyon ve floresans ölçümleri sonucunda elde edilen spektrumlar, fotofiziksel/fotokimyasal parametreler, seçilen metal katyonlarına karşı spektral yanıtlardan ve asetilkolin klorür ile glukoz tayinine yönelik biyosensör uygulamalarından elde edilen sonuçlar da verilmiştir

3.1 Sentezlenen Türevlerin Yapısal Analizleri

3.1.1 *N*-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Yapısal Analizleri

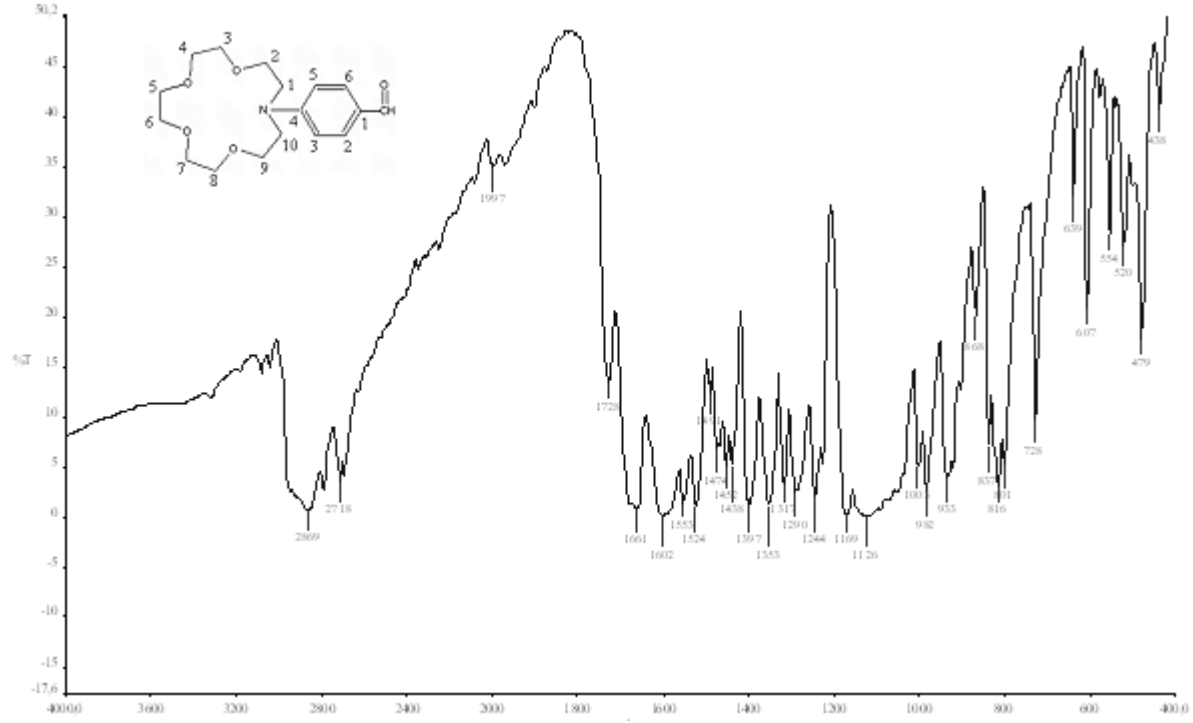
3.1.1.1 4-formilbenzo-aza-15-crown-5'in Yapısal Analizi



Şekil 3.1 4-formilbenzo-aza-15-crown-5'in yapısı.

Tablo 3.1 4-formilbenzo-aza-15-crown-5 in FT-IR spektrum analiz verileri

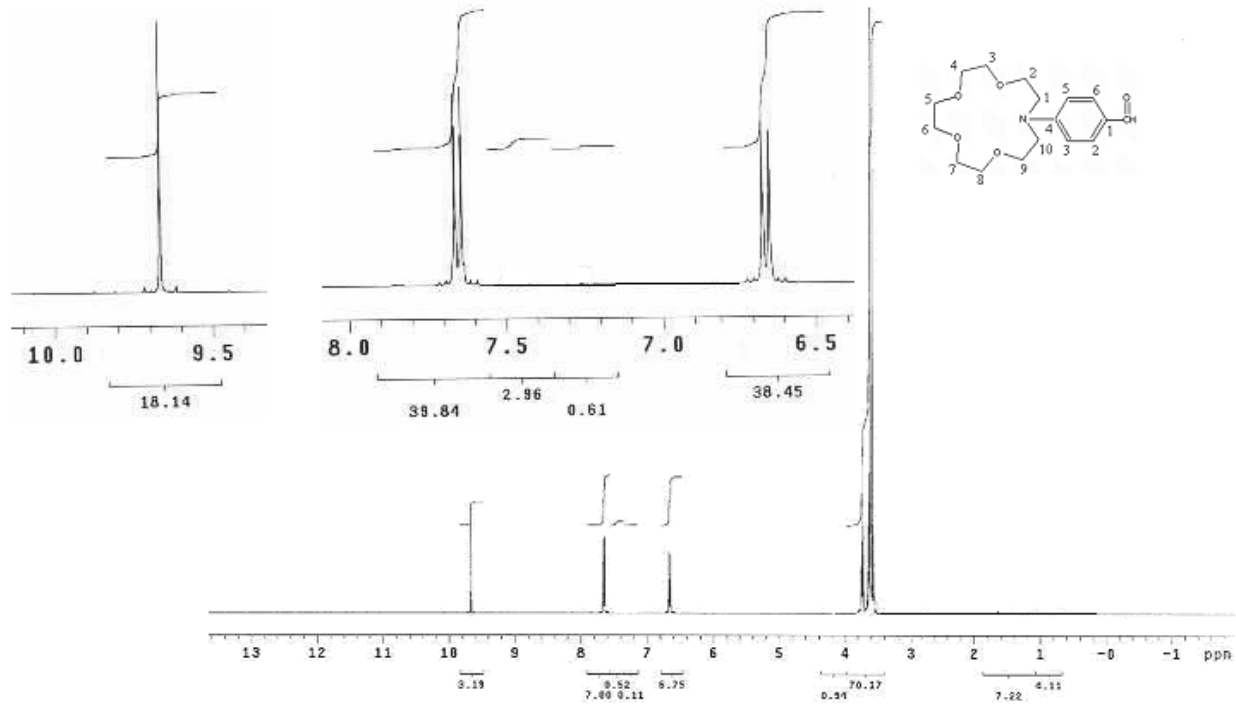
$\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{ger}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{ger}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu(\text{O}=\text{C}-\text{H})_{\text{ger}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu(=\text{C}-\text{N})_{\text{ger}} (\text{cm}^{-1})$
1661	1126	2718	1602



Şekil 3.2 4-formilbenzo-aza-15-crown-5 in KBr de çekilen FT-IR spektrumu.

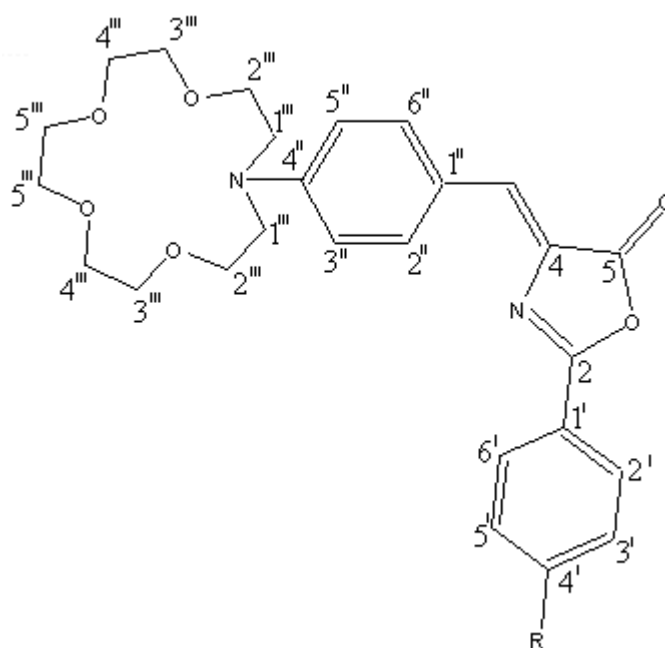
Tablo 3.2 4-formilbenzo-aza-15-crown-5 in ^1H NMR spektrum analiz verileri

Aldehit protonu	Fenil halkası üzerindeki protonlar	Taç eter halkasındaki protonlar
9.65 (s.1H)	(7.62-7.68, d.2H) [H_6, H_2] (6.62-6.68, d. 2H) [H_3, H_5]	(3.6-3.65, m.4H) [H_2, H_9] (3.71-3.76, m.4H) [$\text{H}_1, \text{H}_{10}$] (3.6-3.62, s.8H) [$\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_7, \text{H}_8$] (3.56-3.59, s.4H) [H_5, H_6]



Şekil 3.3 4-formilbenzo-aza-15-crown-5 in CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.

3.1.1.2 4-formilbenzo-aza-15-crown-5'ten Elde Edilen Azlakton Türevlerinin Yapısal Analizleri



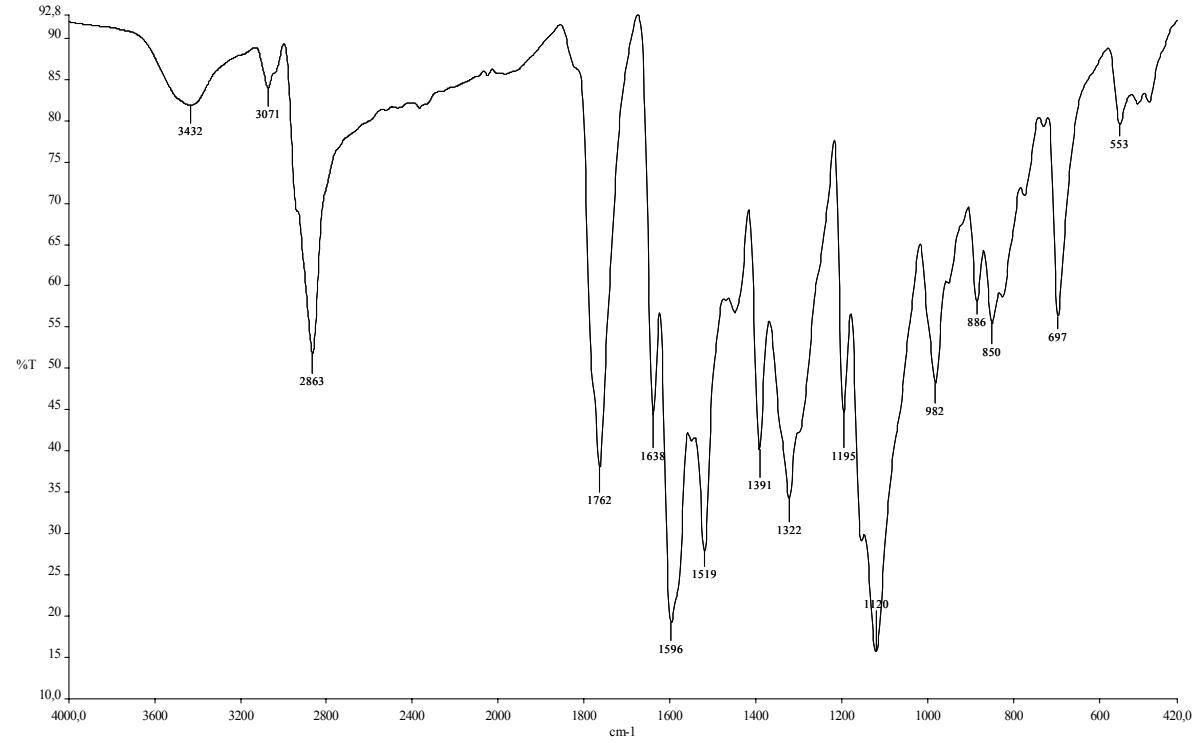
Şekil 3.4 4-formilbenzo-aza-15-crown-5'ten elde edilen azlakton türevlerinin yapısı.

Tablo 3.3 CPO-1, CPO-2, CPO-3 ve CPO-4 türevlerinin molekül ağırlığı (M.A.), renk, erime noktası (E.N.) ve yüzde verimi.

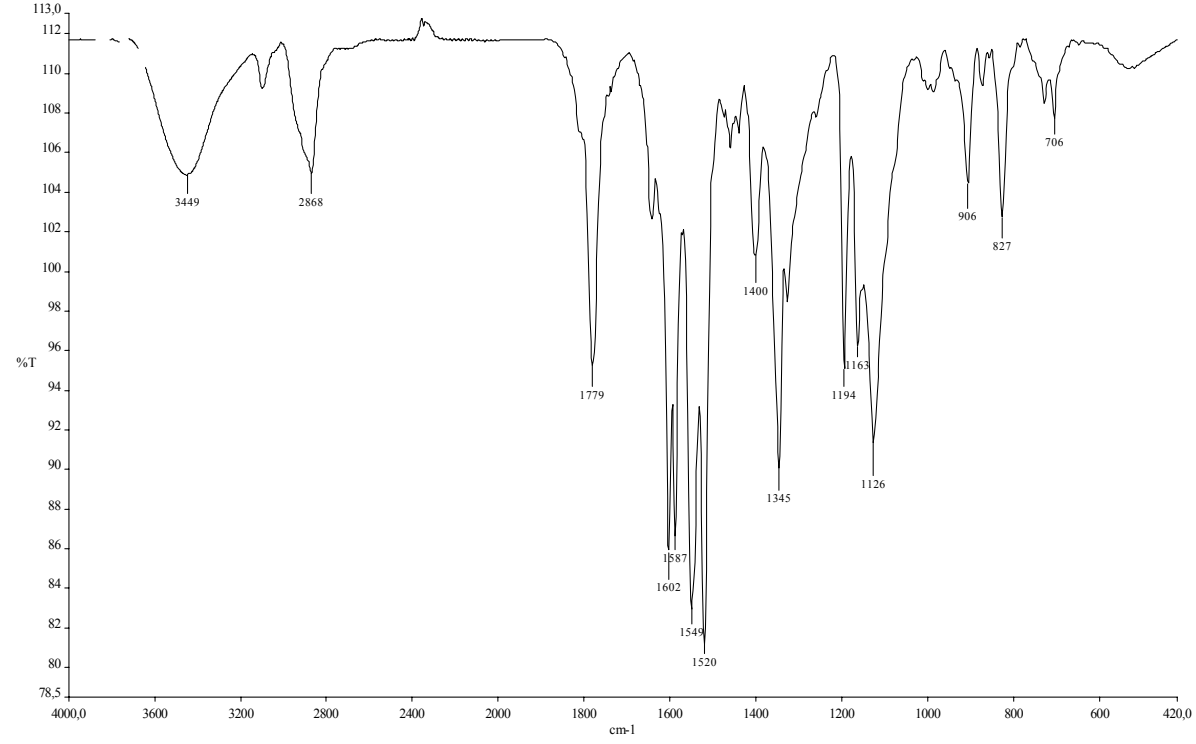
Bileşik	M.A. (g/mol)	Renk	E.N. (°C)	Verim (%)
CPO-1	466.53	turuncu	159	21
CPO-2	556.53	bordo	179	53
CPO-3	511.52	mor	177	46
CPO-4	480.56	sarı	157	27

Tablo 3.4 CPO-1, CPO-2, CPO-3 ve CPO-4 türevlerinin FT-IR spektrum analiz verileri

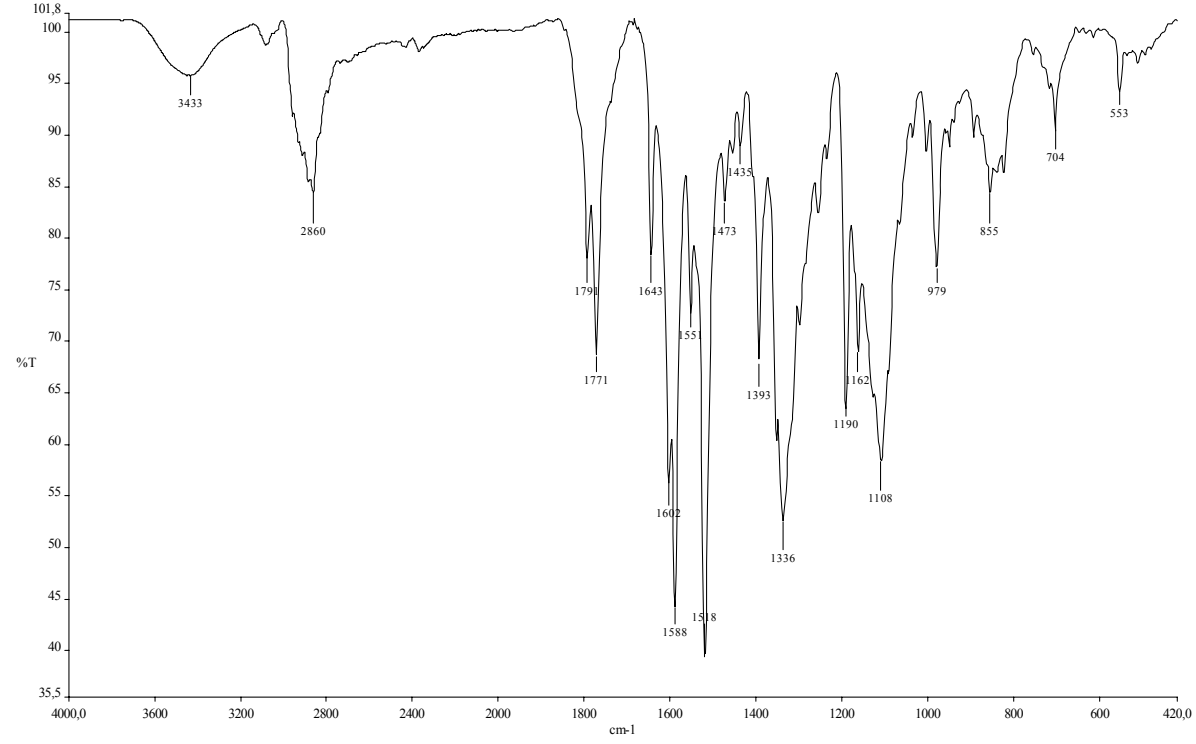
Bileşik	ν (cm ⁻¹)					
	(-O-C=O)	(O-C=O)	(CH ₂ -CH ₂ -O-)	(-C=N-)	(-C-N)	(-NO ₂)
CPO-1	1762	1160	1120	1638	1604	
CPO-2	1779	1163	1126	1643	1602	1345-1520
CPO-3	1771	1162	1108	1643	1602	1336-1518
CPO-4	1763	1166	1130	1643	1601	



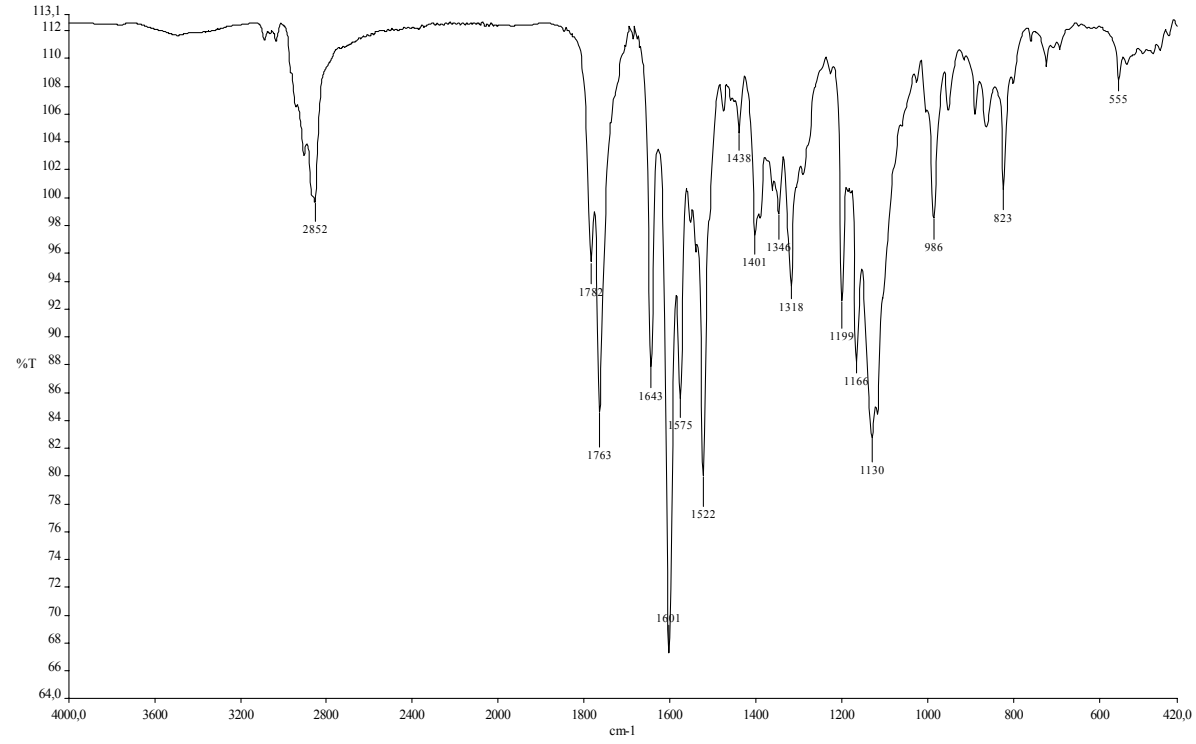
Şekil 3.5 CPO-1 türevinin KBr de çekilen FT-IR spektrumu.



Şekil 3.6 CPO-2 türevinin KBr de çekilen FT-IR spektrumu.



Şekil 3.7 CPO-3 türevinin KBr de çekilen FT-IR spektrumu.



Şekil 3.8 CPO-4 türevinin KBr de çekilen FT-IR spektrumu.

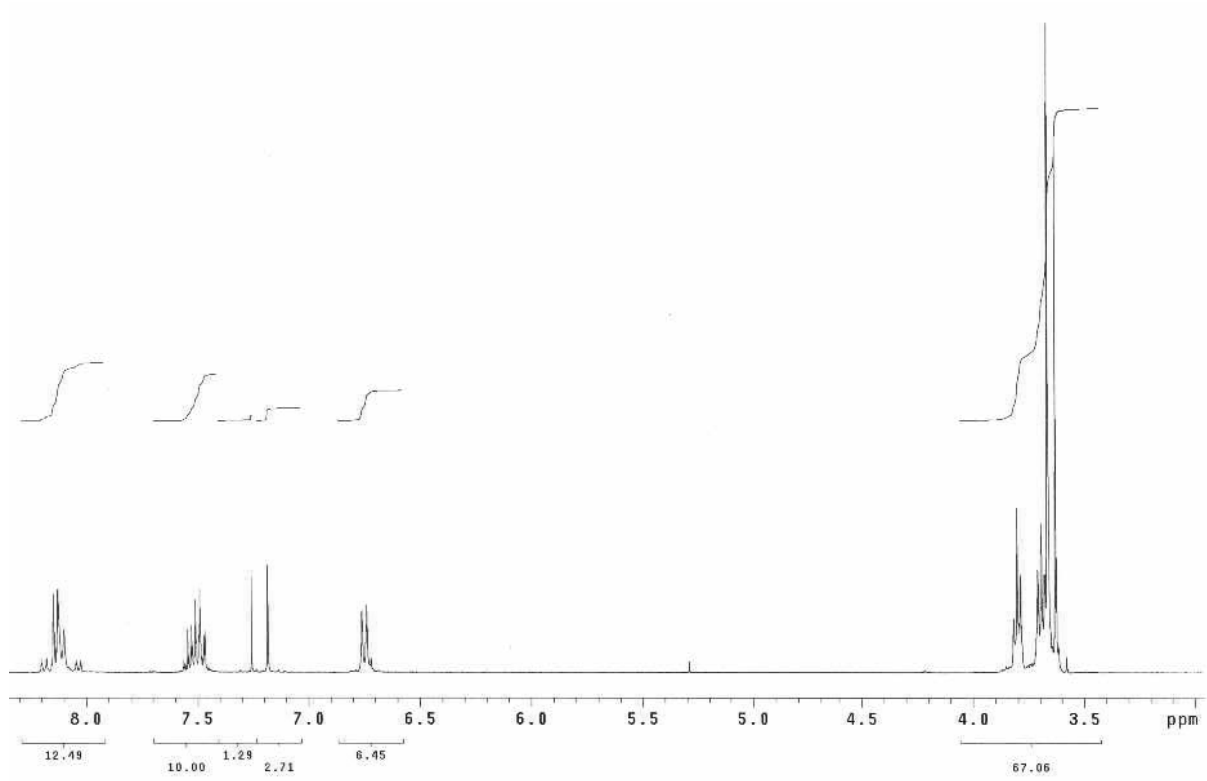
CPO-1, CPO-2, CPO-3 ve CPO-4 türevlerinin $^1\text{HNMR}$ verileri:

CPO-1 (CDCl_3 , 400 MHz, δ (ppm)): 3.82-3.58 (m, 20 H, H_1'''' , H_2'''' , H_3'''' , H_4'''' , H_5''''); 7.19 (s, 1H, =CH-Ar); 8.20-8.10 (m, 2 H, H_2'' , H_6''); 8.05-8.02 (m, 2 H, H_2' , H_6'); 7.56-7.47 (m, 3H, H_3' , H_4' , H_5'); 6.76-6.72 (d, 2H, H_3'' , H_5'')

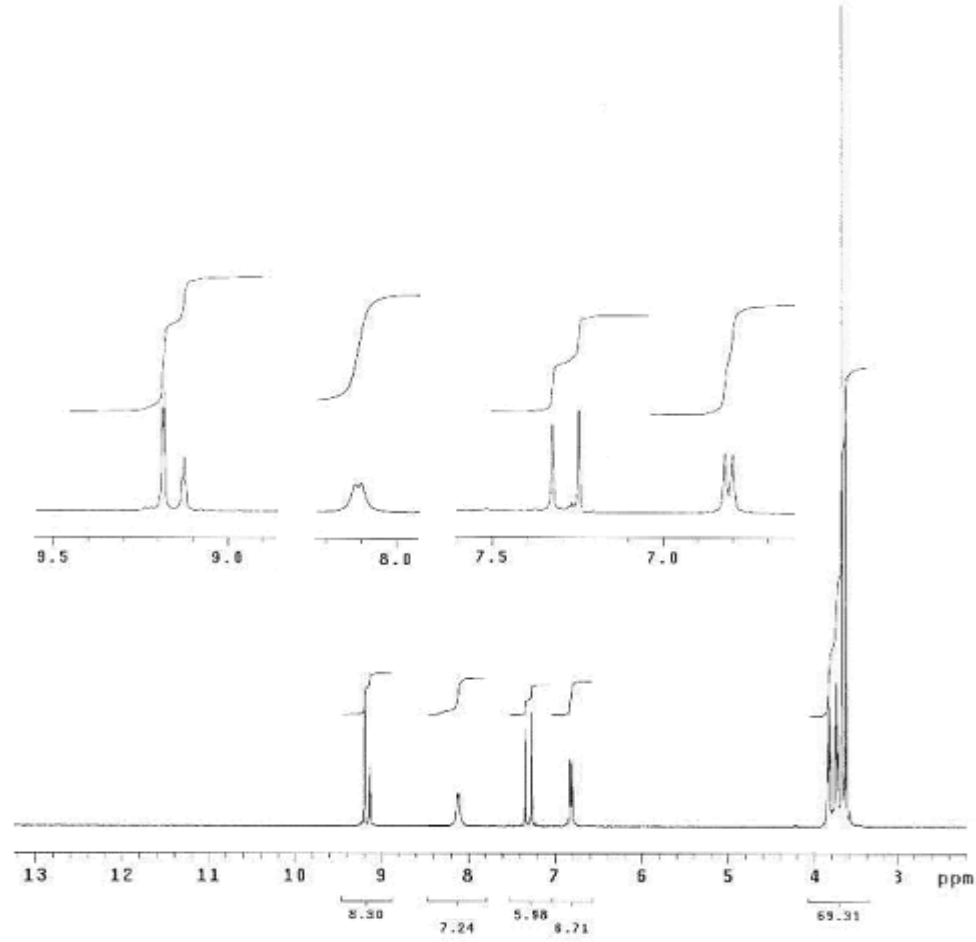
CPO-2 (CDCl_3 , 400 MHz, δ (ppm)): 3.85-3.59 (m, 20 H, H_1'''' , H_2'''' , H_3'''' , H_4'''' , H_5''''); 7.33 (s, 1H, =CH-Ar); 9.19 (d, 2H, H_2' , H_6'); 9.14-9.13 (s, 1 H, H_4'); 8.12-8.10 (d, 2H, H_2'' , H_6''); 6.82-6.80 (d, 2H, H_3'' , H_5'')

CPO-3 (CDCl_3 , 400 MHz, δ (ppm)): 3.83-3.62 (m, 20 H, H_1'''' , H_2'''' , H_3'''' , H_4'''' , H_5''''); 7.26 (s, 1H, =CH-Ar); 8.35-8.33 (d, 2 H, H_2' , H_6'), 8.29-8.27 (d, 2H, H_3' , H_5'); 8.13-8.11 (d, 2H, H_2'' , H_6''); 7.26 (s, 1H, -CH=C-(C=O)-); 6.83-6.81 (d, 2H, H_3'' , H_5'')

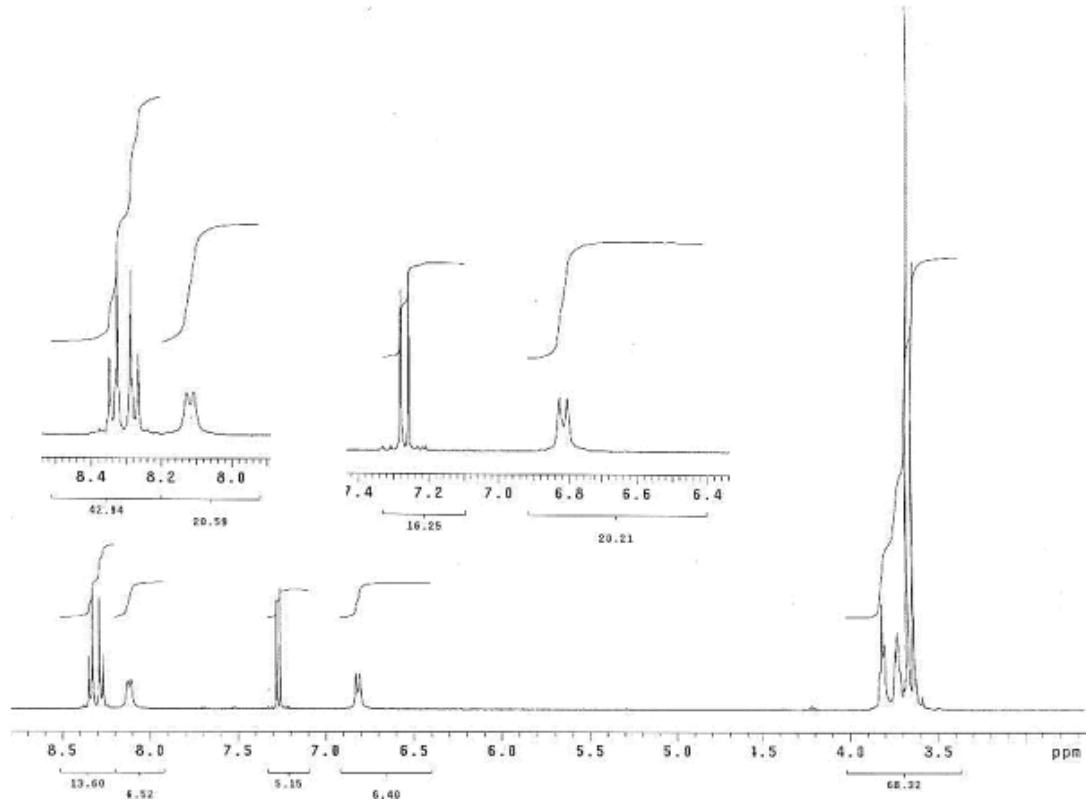
CPO-4 (CDCl_3 , 400 MHz, δ (ppm)): 2.44 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 3.82-3.63 (m, 20 H, H_1'''' , H_2'''' , H_3'''' , H_4'''' , H_5''''); 7.16 (s, 1H, =CH-Ar); 8.12-8.10 (d, 2H, H_2' , H_6'); 8.04-8.02 (d, 2 H, H_2'' , H_6''); 7.31-7.29 (d, 2H, H_3' , H_5'); 6.76-6.74 (d, 2H, H_3'' , H_5'')



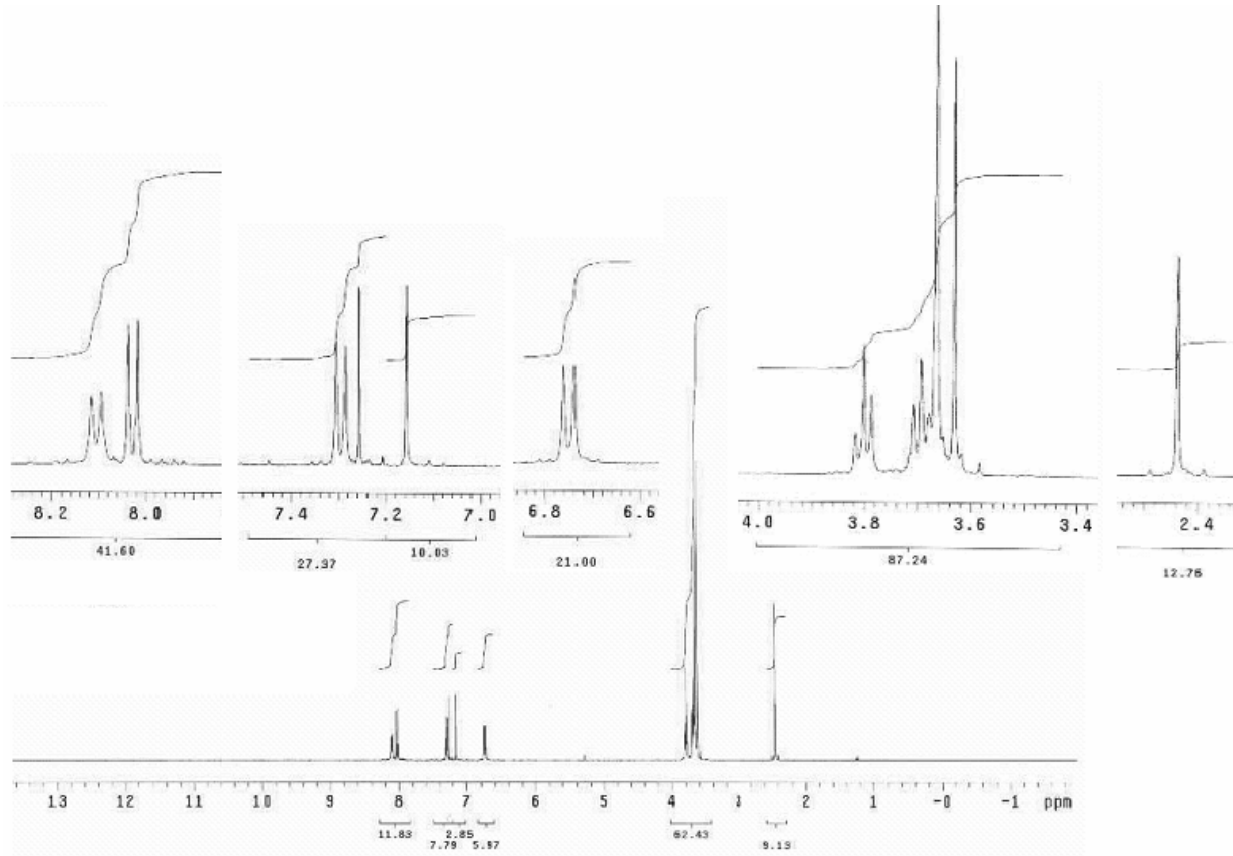
Şekil 3.9 CPO-1 türevinin CDCl_3 de alınmış ^1H NMR spektrumu.



Şekil 3.10 CPO-2 türevinin CDCl_3 de alınmış ^1H NMR spektrumu.



Şekil 3.11 CPO-3 türevinin CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.



Şekil 3.12 CPO-4 türevinin CDCl_3 de alınmış ^1H NMR spektrumu.

CPO türevlerinin ^{13}C -NMR verileri:

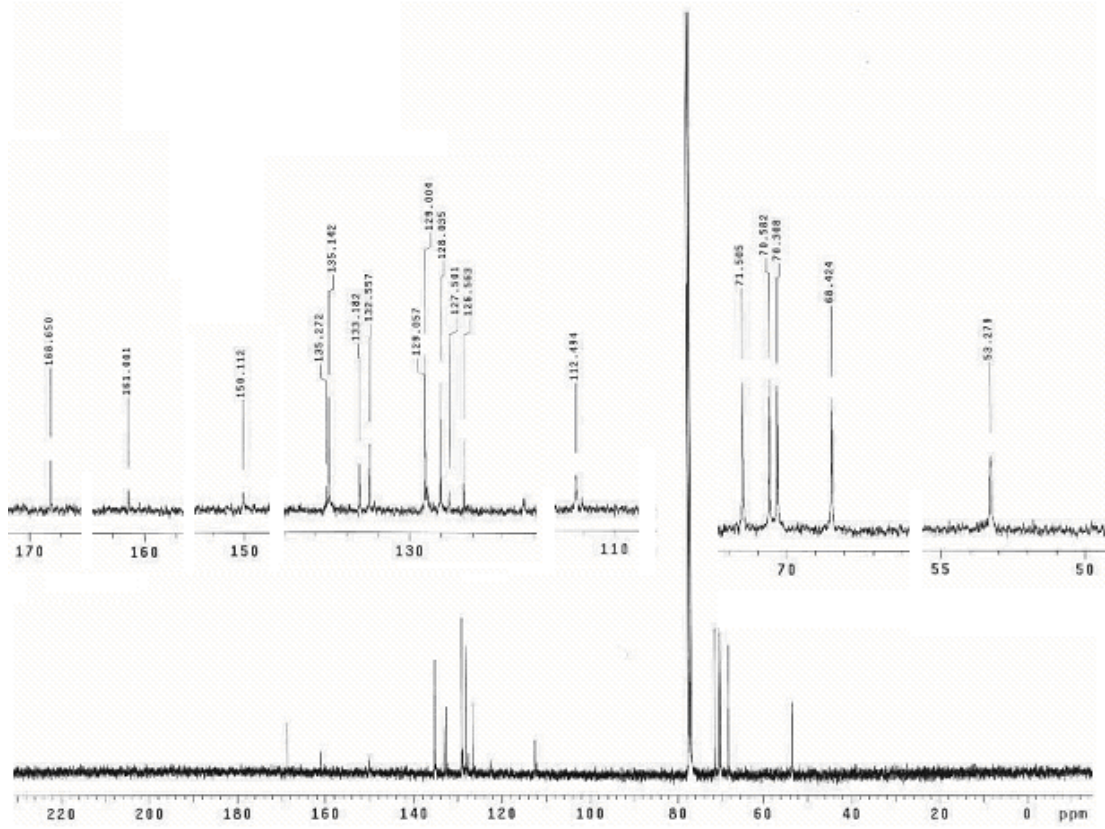
Tablo 3.3 CPO türevlerinin CDCl_3 de alınmış ^{13}C NMR spektrum analiz verileri.

Türev	=CH-Ar	C ₂	C ₄	C ₅
CPO-1	133.2	161.0	135.3	168.7
CPO-2	130.5	156.2	137.3	167.2
CPO-3	132.2	158.5	135.8	167.8
CPO-4	132.5	161.3	135.0	168.8

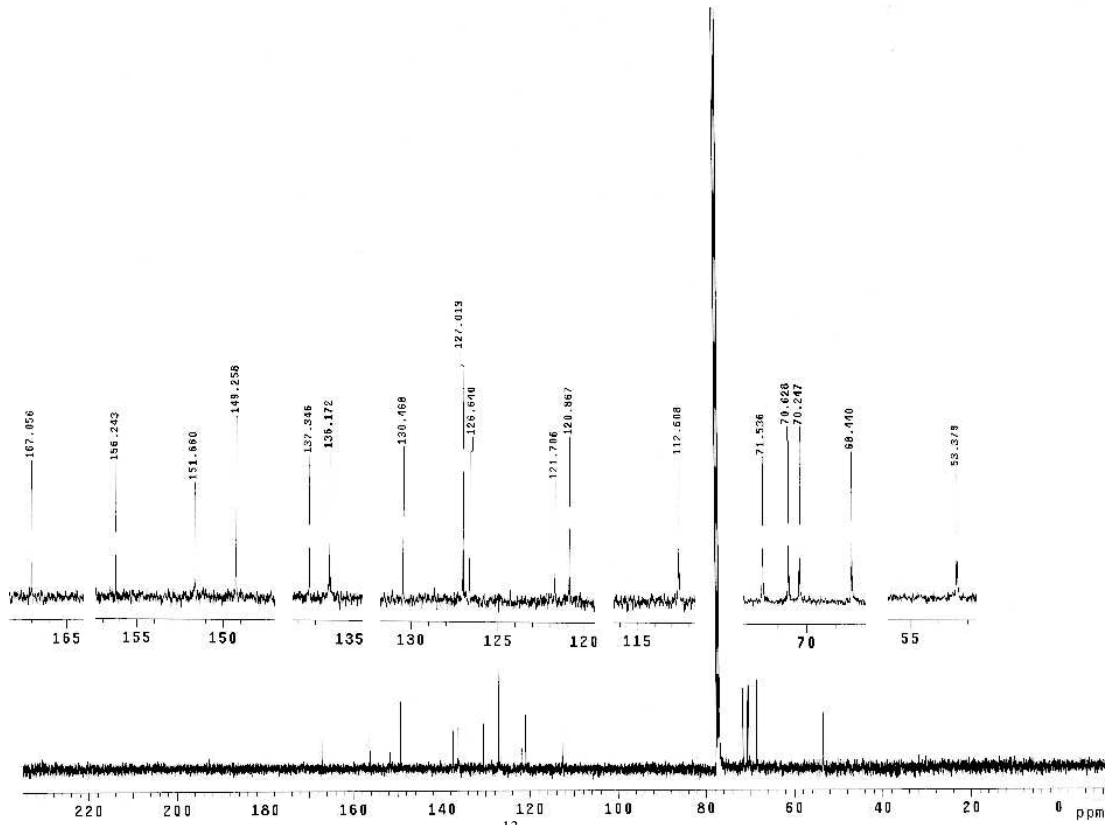
Türev	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
CPO-1	126.6	128.0	129.0	127.5	129.0	128.0
CPO-2	121.7	120.9	127.0	151.7	127.0	120.9
CPO-3	122.2	124.2	128.6	150.9	128.6	124.2
CPO-4	123.8	128.1	129.8	129.1	129.8	128.1

Türev	C ₁ ^{''}	C ₂ ^{''}	C ₃ ^{''}	C ₄ ^{''}	C ₅ ^{''}	C ₆ ^{''}
CPO-1	132.6	135.1	112.5	150.1	112.5	135.1
CPO-2	126.6	136.2	112.6	149.3	112.6	136.2
CPO-3	127.9	135.8	112.6	149.9	112.6	135.8
CPO-4	129.8	135.0	112.5	149.9	112.5	135.0

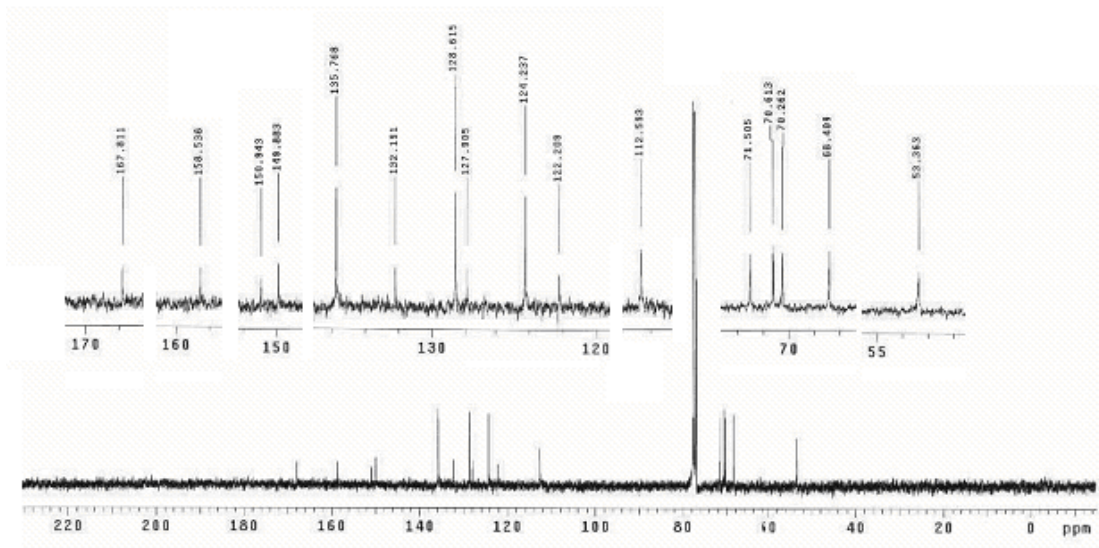
Türev	C ₁ ^{'''}	C ₂ ^{'''}	C ₃ ^{'''}	C ₄ ^{'''}	C ₅ ^{'''}	-CH ₃
CPO-1	53.3	68.4	71.5	70.3	70.6	
CPO-2	53.4	68.4	71.5	70.3	70.6	
CPO-3	53.4	68.4	71.5	70.3	70.6	
CPO-4	53.3	68.4	71.5	70.3	70.6	22.0



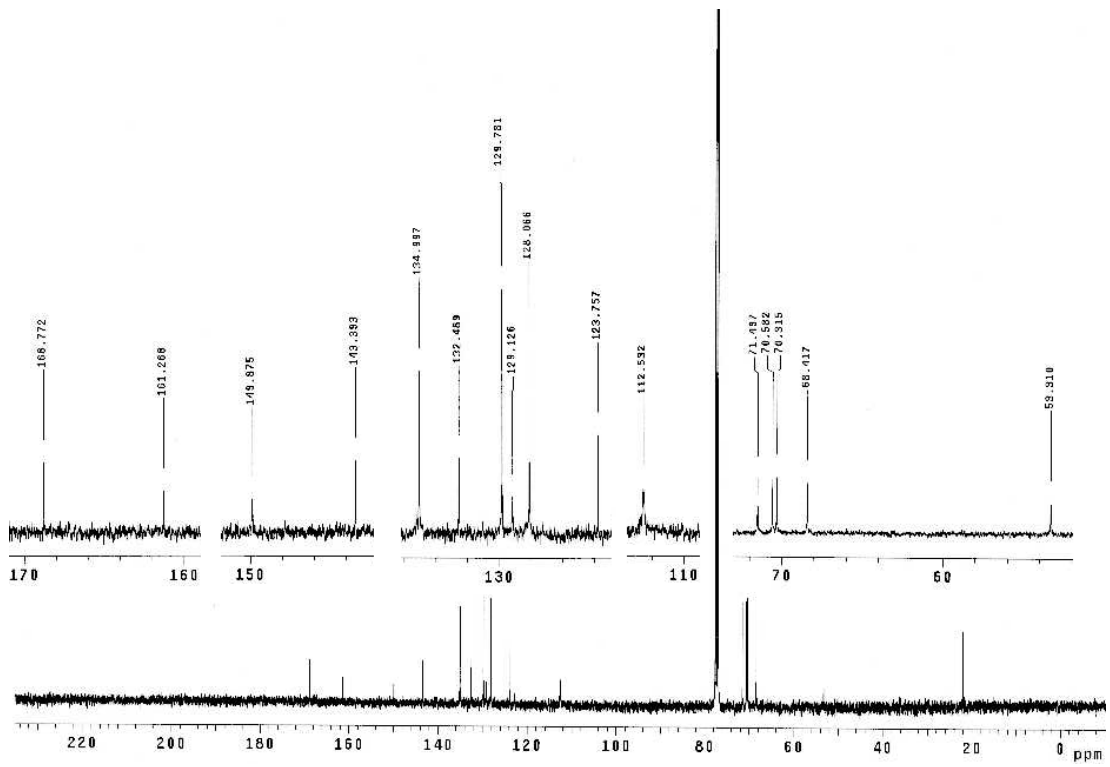
Şekil 3.13 CPO-1 türevinin CDCl_3 de alınmış ^{13}C NMR spektrumu



Şekil 3.14 CPO-2 türevinin CDCl_3 de alınmış ^{13}C NMR spektrumu

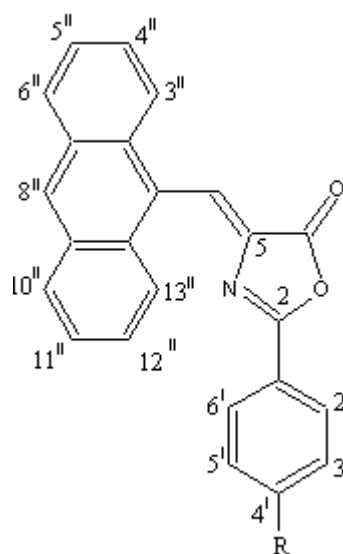


Şekil 3.15 CPO-3 türevinin CDCl_3 de alınmış ^{13}C NMR spektrumu.



Şekil 3.16 CPO-4 türevinin CDCl_3 de alınmış ^{13}C NMR spektrumu.

3.1.2 Antraliden Esaslı Azlakton Türevlerinin Yapısal Analizleri



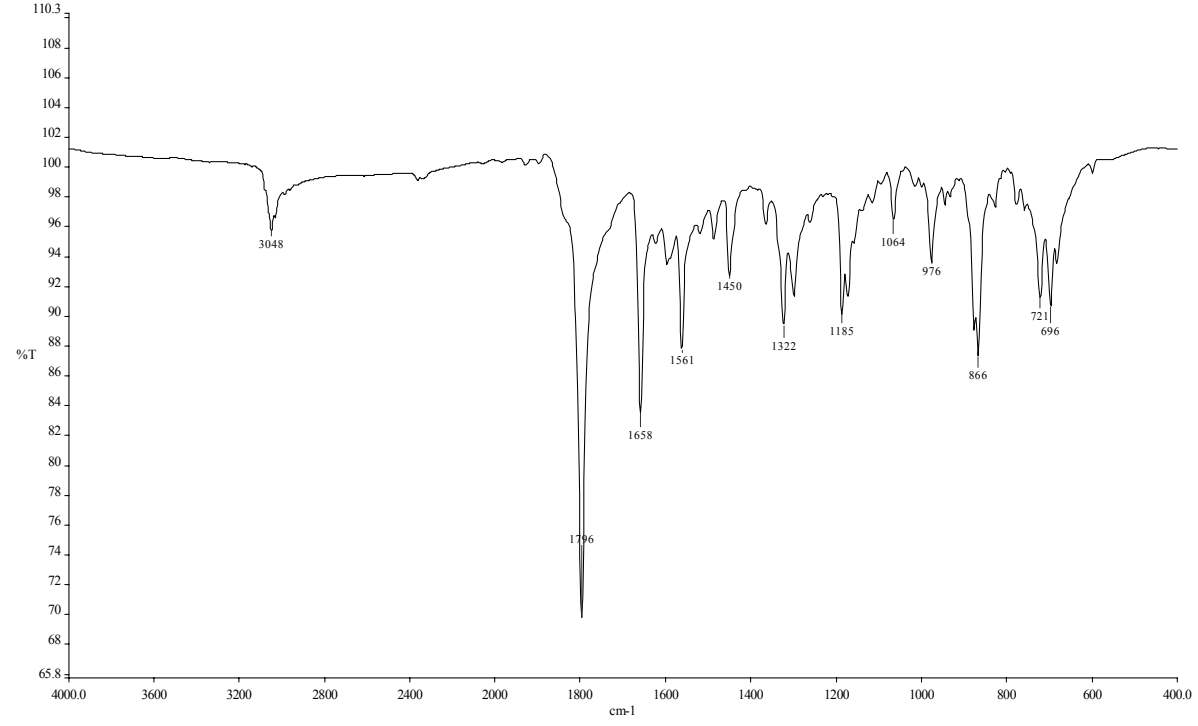
Şekil 3.17 Antraliden esaslı azlakton türevlerinin yapısı.

Tablo 3.4 ANO-I, ANO-II ve ANO-III türevlerinin molekül ağırlığı (M.A.), renk, erime noktası (E.N.) ve yüzde verimi.

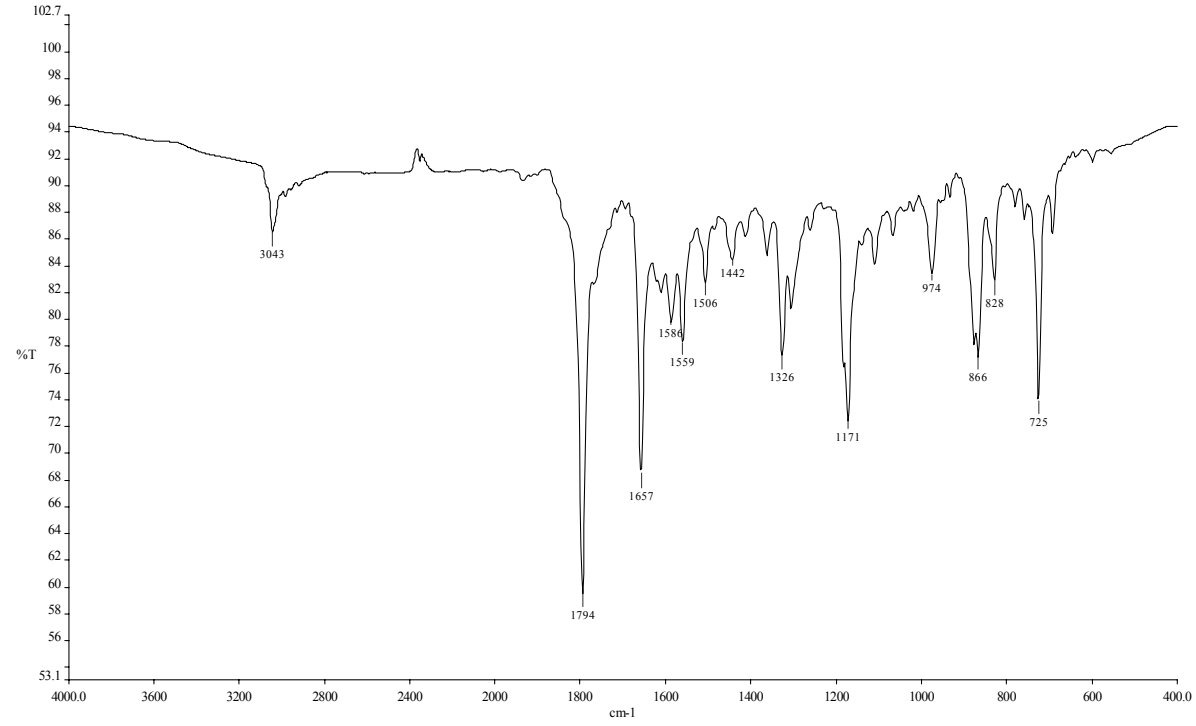
Bileşik	M.A. (g/mol)	Renk	E.N. (°C)	Verim (%)
ANO-1	349.38	sarı	242	14
ANO-2	363.41	sarı	251	11
ANO-3	394.38	bordo	294	9

Tablo 3.5 ANO-1, ANO-2 ve ANO-3 türevlerinin FT-IR spektrum analiz verileri.

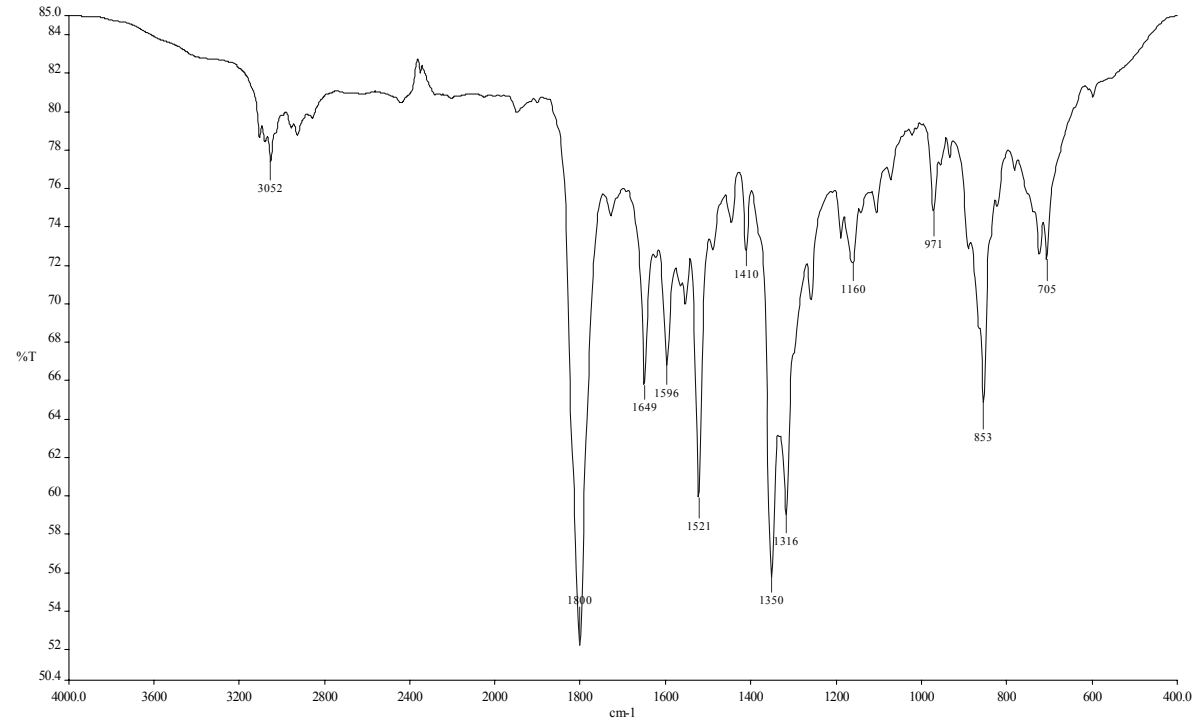
Bileşik	ν (cm ⁻¹)				
	(-O-C=O)	(O-C=O)	(-C=N-)	(-C-N)	(-NO ₂)
ANO-1	1796	1185	1658	1322	
ANO-2	1794	1171	1657	1326	
ANO-3	1800	1160	1649	1316	1350



Şekil 3.18 ANO-1 türevinin KBr de çekilen FT-IR spektrumu.



Şekil 3.19 ANO-2 türevinin KBr de çekilen FT-IR spektrumu.



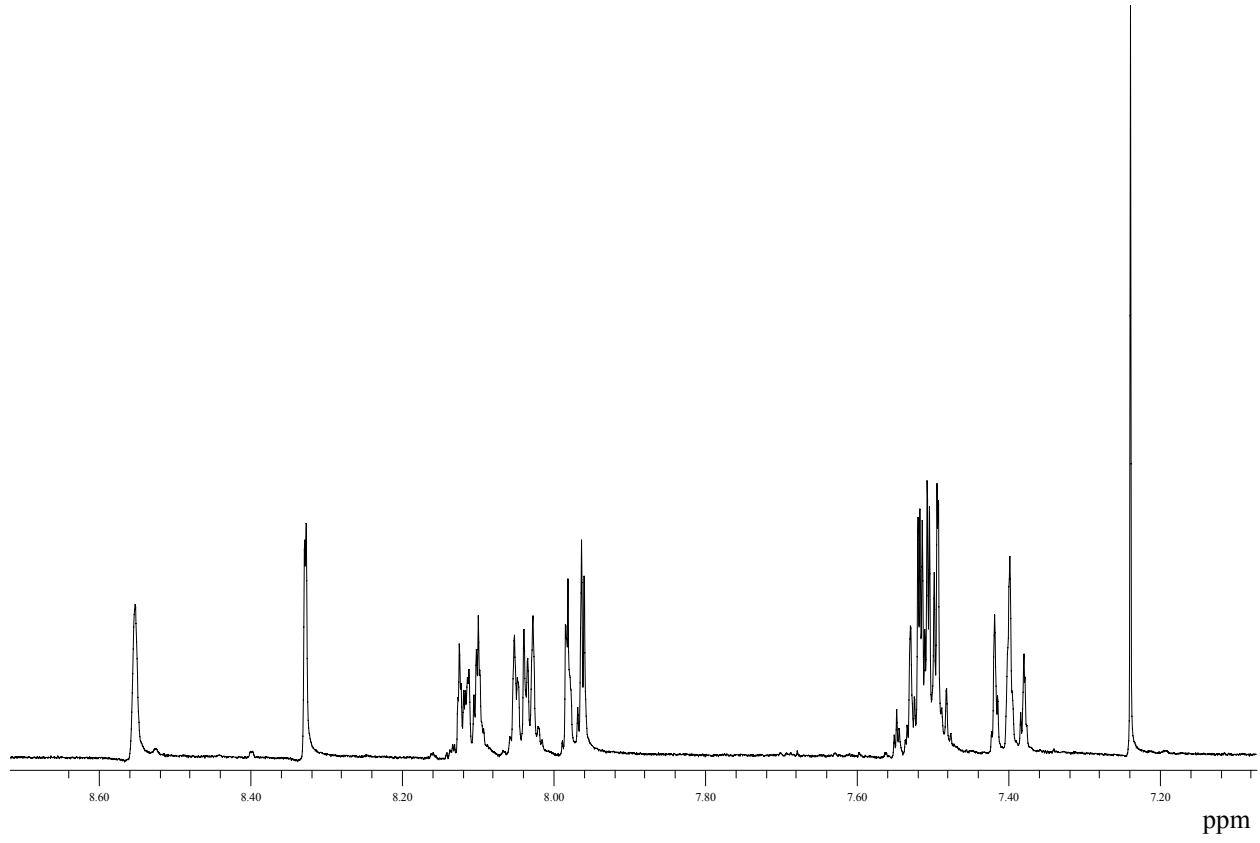
Şekil 3.20 ANO-3 türevinin KBr de çekilen FT-IR spektrumu.

ANO-1, ANO-2 ve ANO-3 türevlerinin ¹HNMR verileri:

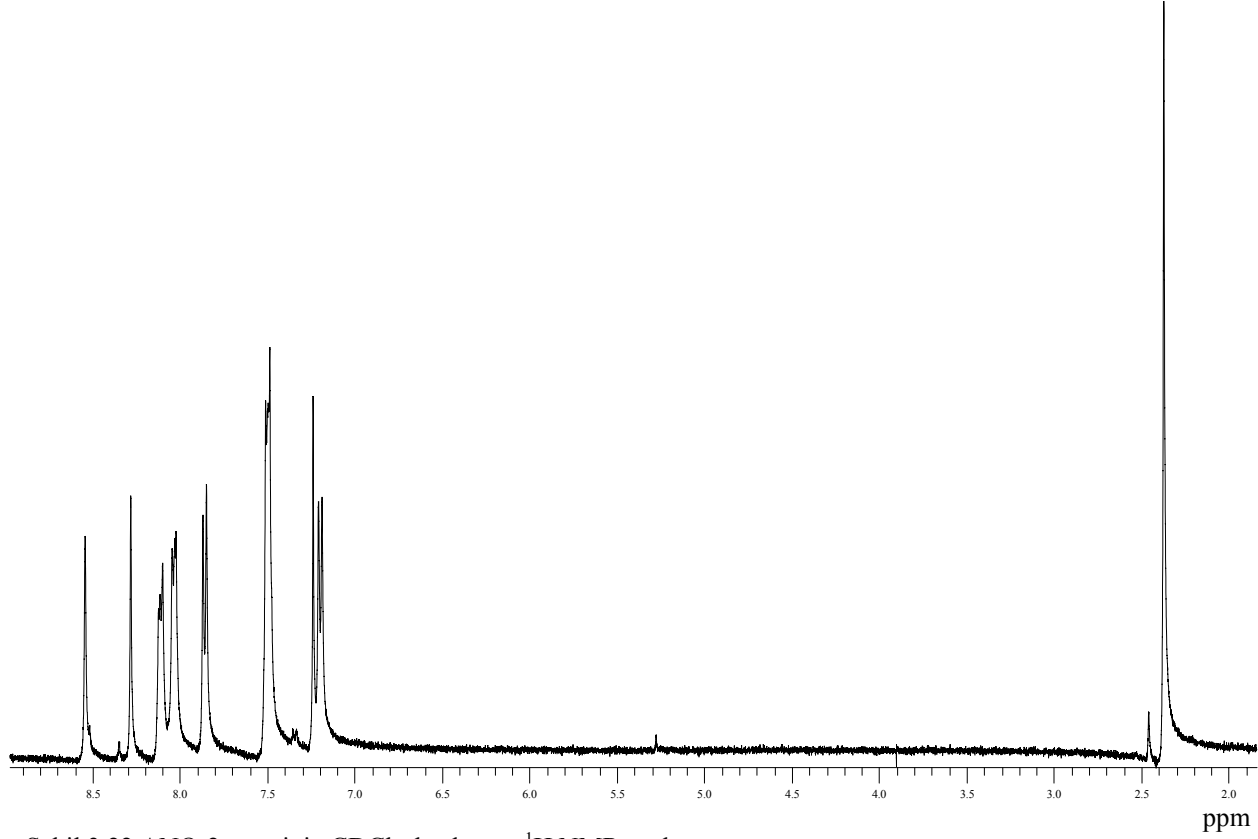
ANO-I: (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)): 8.55 (s, 1H, H₈''); 8.33 (s, 1H, =CH-); 8.12-8.10 (m, 2H, H₃'', H₁₃''); 8.05-8.03 (m, 2H, H₅'', H₁₁''); 7.98-7.96 (m, 2H, H₆', H₂'); 7.54-7.48 (m, 5H, H₄', H₄'', H₁₂'', H₆'', H₁₀''); 7.42-7.38 (t, 2H, H₃', H₅').

ANO-II: (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)): 8.54 (s, 1H, H₈''); 8.28 (s, 1H, =CH-); 8.12-8.10 (m, 2H, H₃'', H₁₃''); 8.05-8.03 (m, 2H, H₅'', H₁₁''); 7.87-7.85 (m, 2H, H₆', H₂'); 7.51-7.49 (m, 4H, H₄'', H₁₂'', H₆'', H₁₀''); 7.21-7.19 (d, 2H, H₃', H₅'); 2.38 (s, 3H, -CH₃).

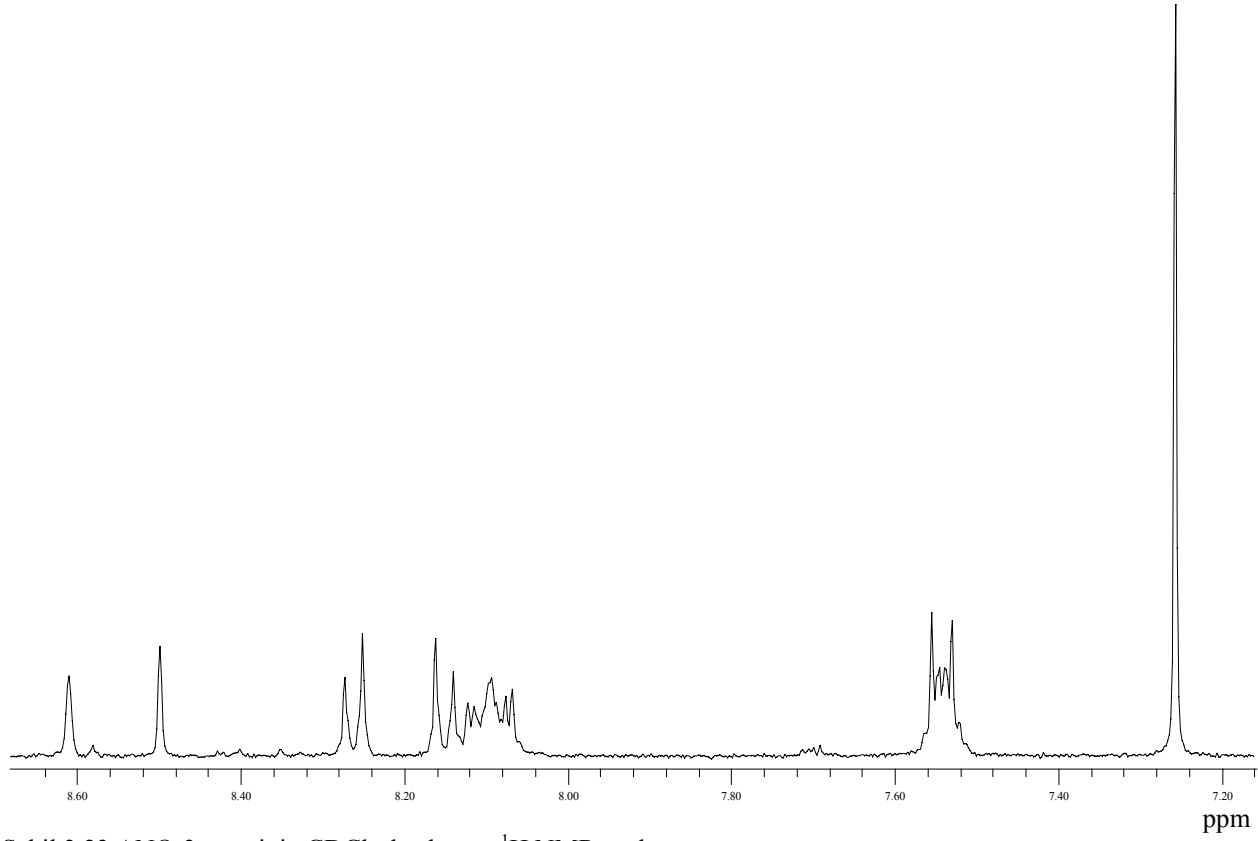
ANO-III: (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)): 8.60 (s, 1H, H₈''); 8.57 (s, 1H, =CH-); 8.26-8.24 (d, 2H, H₃', H₅'); 8.15-8.05 (m, 6H, H₃'', H₁₃'', H₆', H₂', H₅'', H₁₁''); 7.54-7.51 (m, 4H, H₄'', H₁₂'', H₆'', H₁₀'').



Şekil 3.21 ANO-1 türevinin CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.



Şekil 3.22 ANO-2 türevinin CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.



Şekil 3.23 ANO-3 türevinin CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.

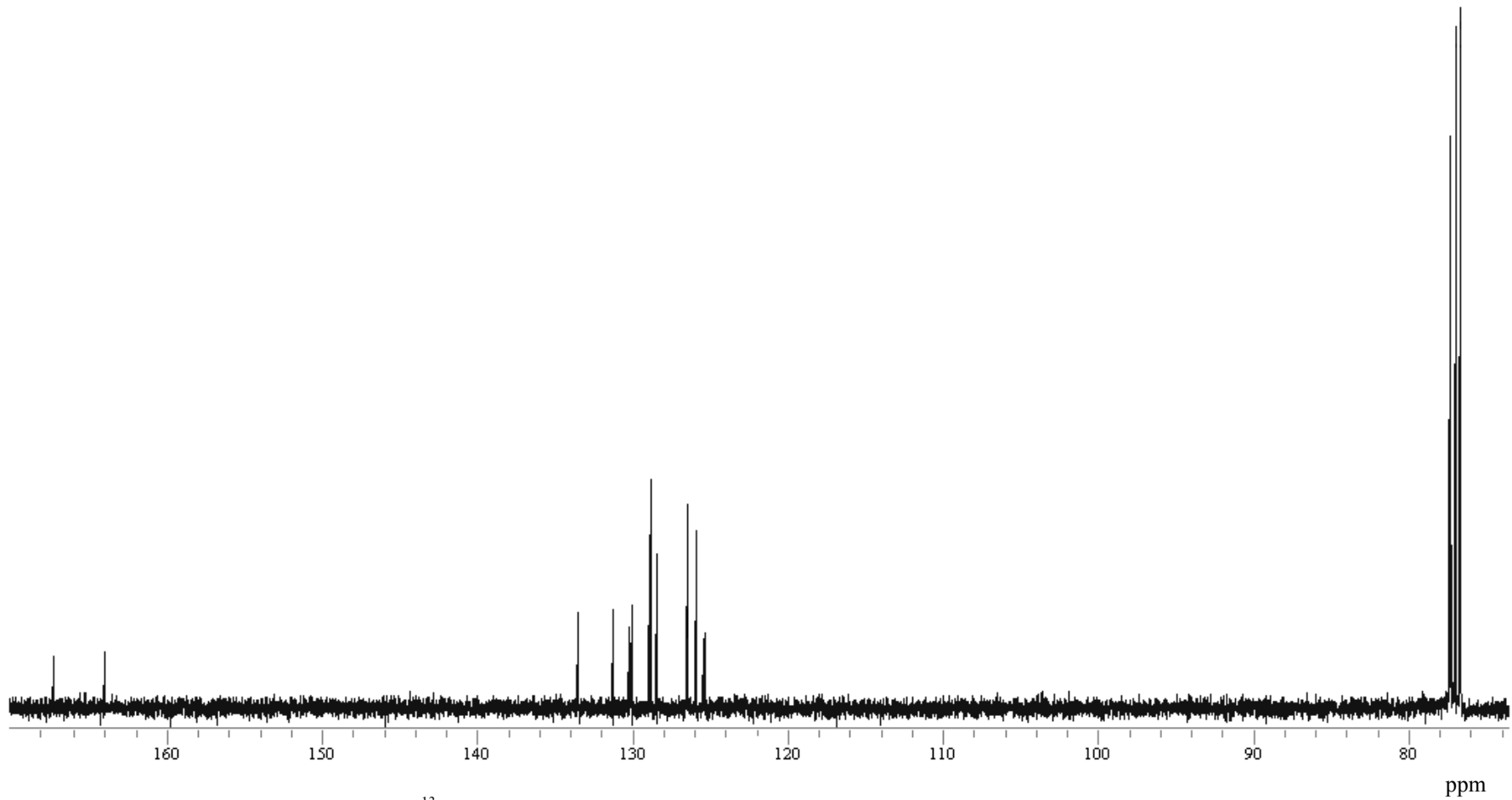
Tablo 3.6 ANO türevlerinin CDCl₃ de alınmış ¹³C NMR spektrum analiz verileri.

Türev	=CH-Ar	C ₂	C ₄	C ₅
ANO-1	130.2	164.1	131.3	166.6
ANO-2	130.0	164.3	137.1	166.8
ANO-3	130.3	164.4	131.6	166.9

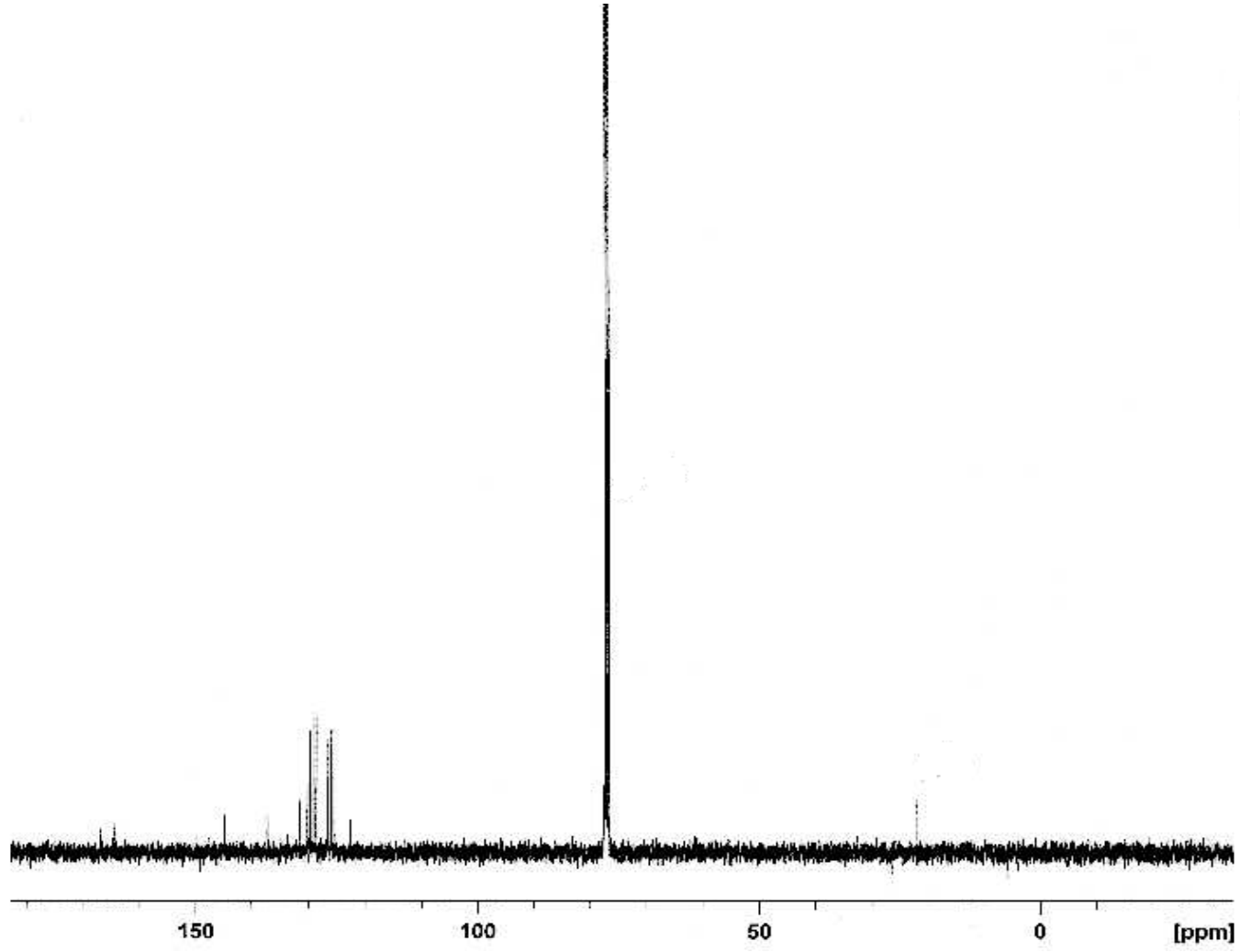
Türev	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
ANO-1	125.5	128.5	125.9	130.1	125.9	128.5
ANO-2	130.1	126.0	127.7	144.6	127.7	126.0
ANO-3	130.2	129.1	126.2	144.8	126.2	129.1

Türev	C ₁ '	C ₂ '	C ₃ '	C ₄ '	C ₅ '	C ₆ '	C ₇ '
ANO-1	126.5	130.3	128.9	126.5	128.8	128.8	125.4
ANO-2	131.3	133.5	126.5	125.5	128.5	128.5	122.6
ANO-3	129.6	129.8	128.7	126.7	125.7	125.7	122.8

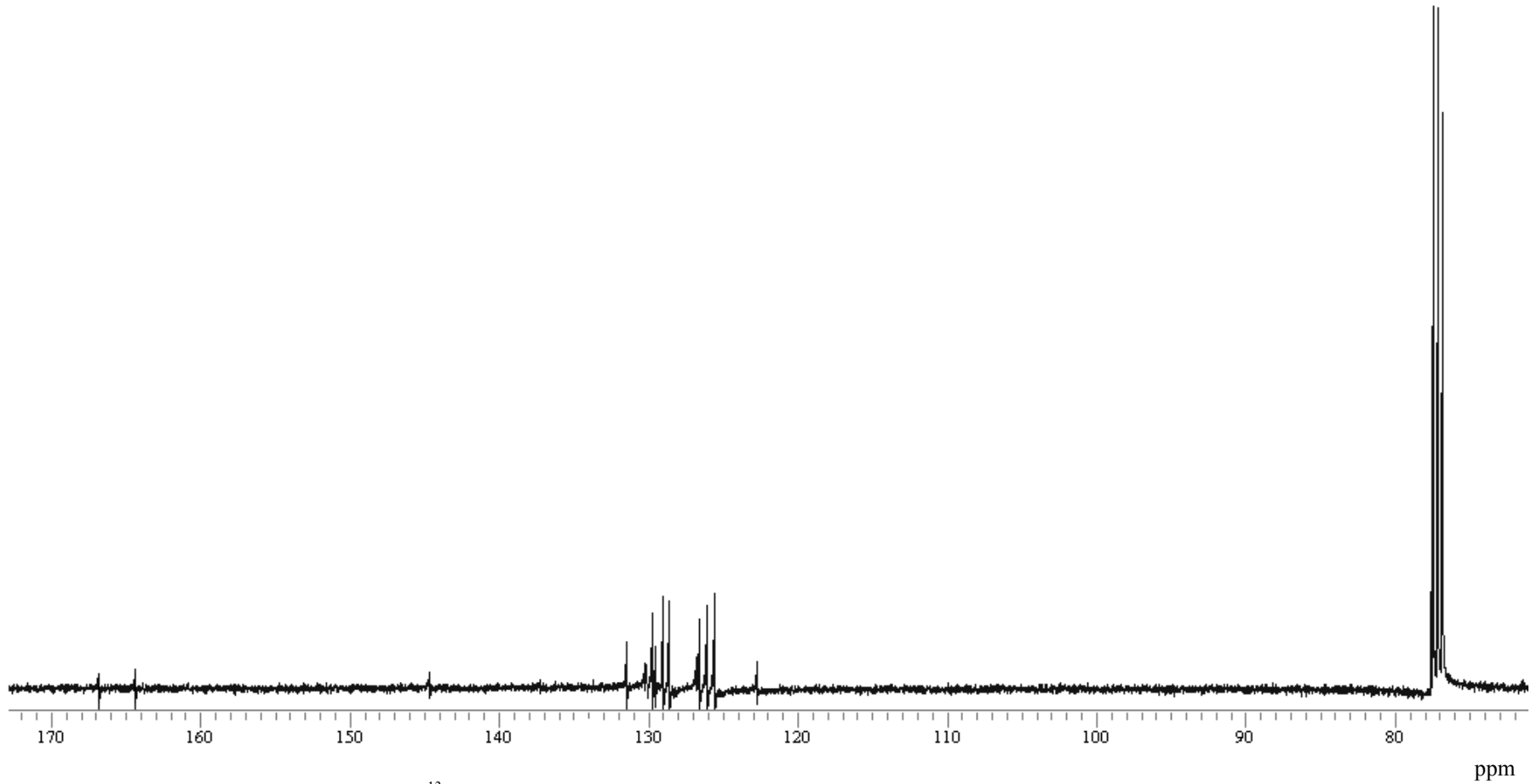
Türev	C ₈ '	C ₉ '	C ₁₀ '	C ₁₁ '	C ₁₂ '	C ₁₃ '	C ₁₄ '	-CH ₃
ANO-1	128.8	125.4	128.8	128.8	126.5	128.9	130.3	
ANO-2	128.9	122.6	128.5	128.5	125.5	126.5	133.5	22.0
ANO-3	126.8	122.8	125.7	125.7	126.7	128.7	129.8	



Şekil 3.24 ANO-1 türevinin CDCl_3 de alınmış ^{13}C NMR spektrumu.

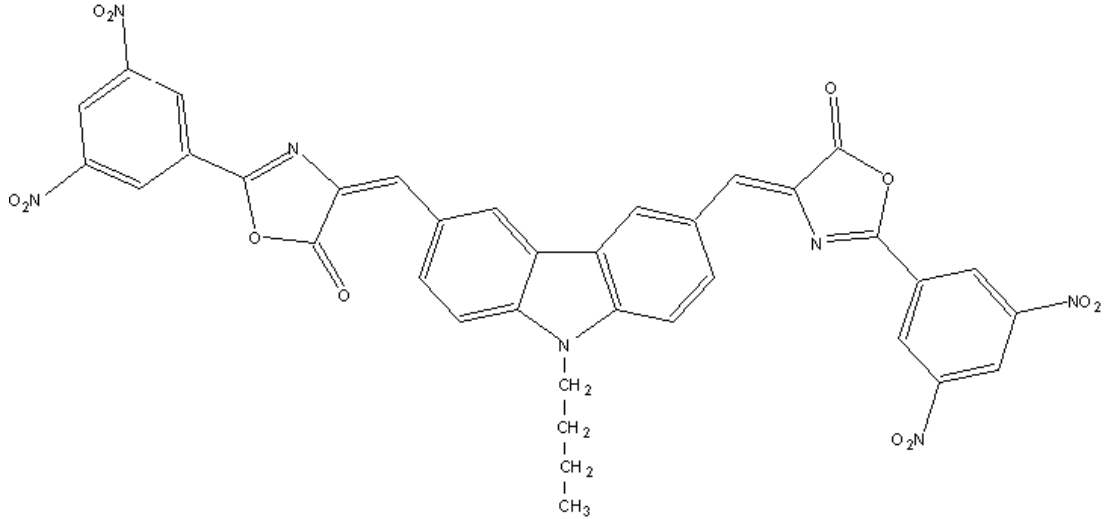


Şekil 3.25 ANO-2 türevinin CDCl_3 de alınmış ^{13}C NMR spektrumu.



Şekil 3.26 ANO-3 türevinin CDCl₃ de alınmış ¹³C NMR spektrumu.

3.1.3 4-[(9-bütül-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil};-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) Türevinin Yapısal Analizi



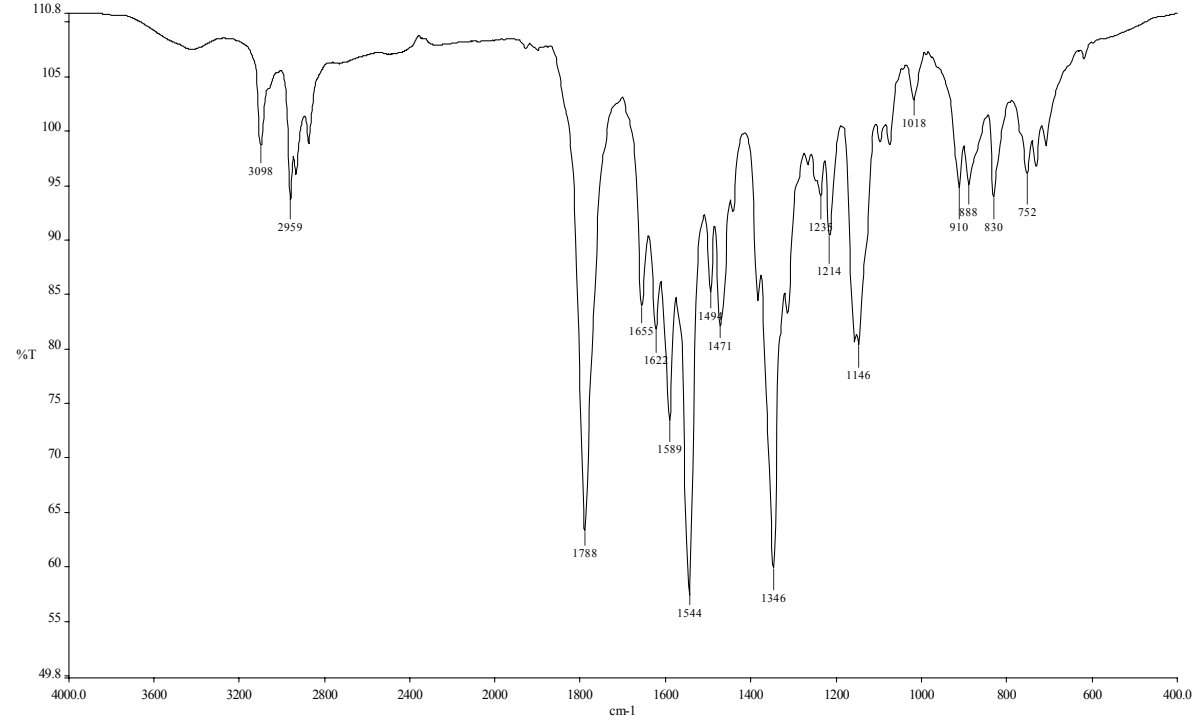
Şekil 3.27 4-[(9-bütül-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil};-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) türevi.

Tablo 3.7 4-[(9-bütül-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil};-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) türevinin molekül ağırlığı (M.A.), renk, erime noktası (E.N.) ve yüzde verimi.

M.A. (g/mol)	Renk	E.N. (°C)	Verim (%)
745,6078	turuncu	316	16

Tablo 3.8 4-[(9-bütül-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil};-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) türevinin FT-IR spektrum analiz verileri.

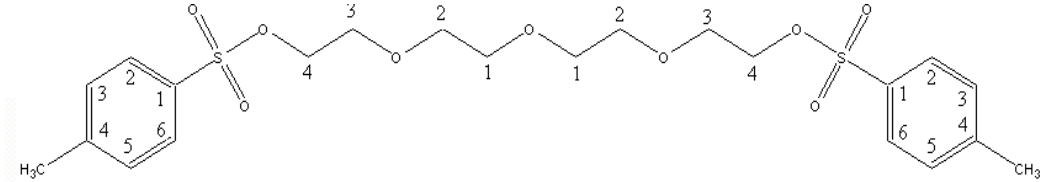
ν (cm ⁻¹)				
(-O-C=O)	(O-C=O)	(-C=N-)	(-C-N)	(-NO ₂)
1788	1146	1655	1235-1215	1346



Şekil 3.28 4-[(9-bütül-6-{[2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden]metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) türevinin KBr de çekilen FT-IR spektrumu.

3.1.4 Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Dimerlerine Yönelik İlk Sentez Rotasında Elde Edilen Yapısal Analiz Sonuçları

3.1.4.1 Tetraetilenglikolditosilatın Yapısal Analizi



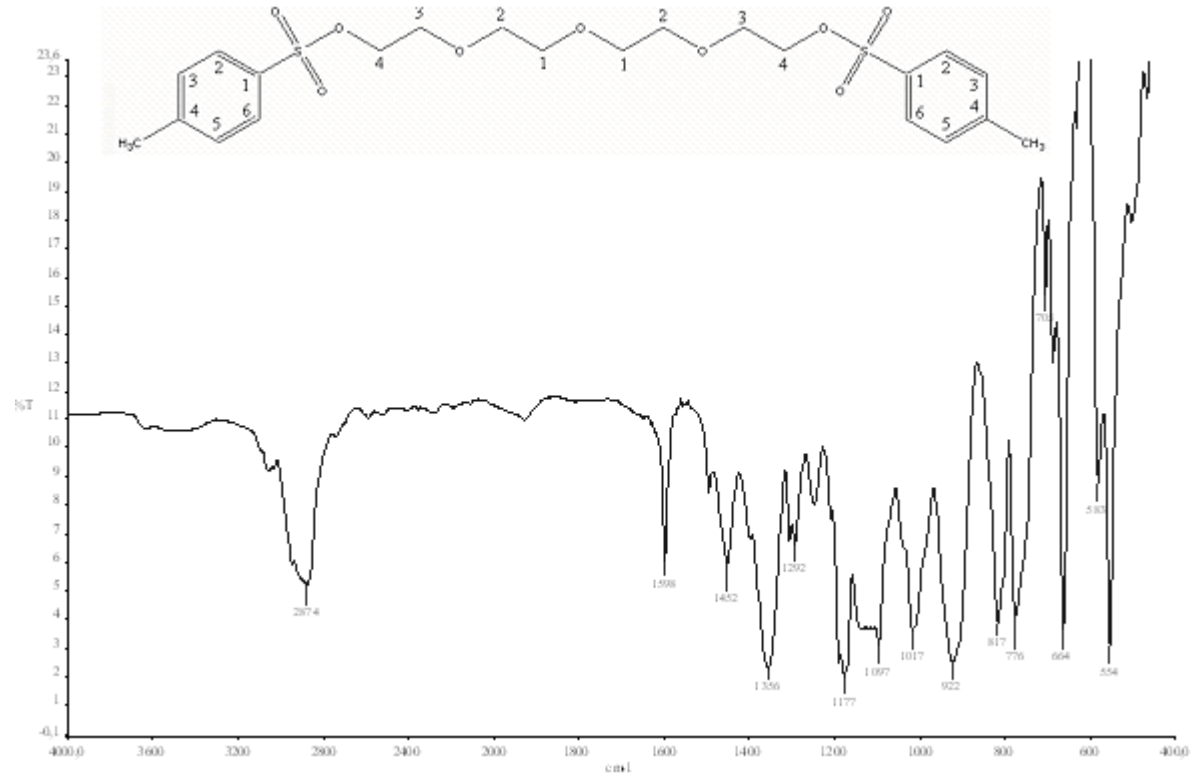
Şekil 3.29 Tetraetilenglikolditosilatın yapısı

Tablo 3.9 Tetraetilenglikolditosilatın FT-IR spektrum analiz verileri.

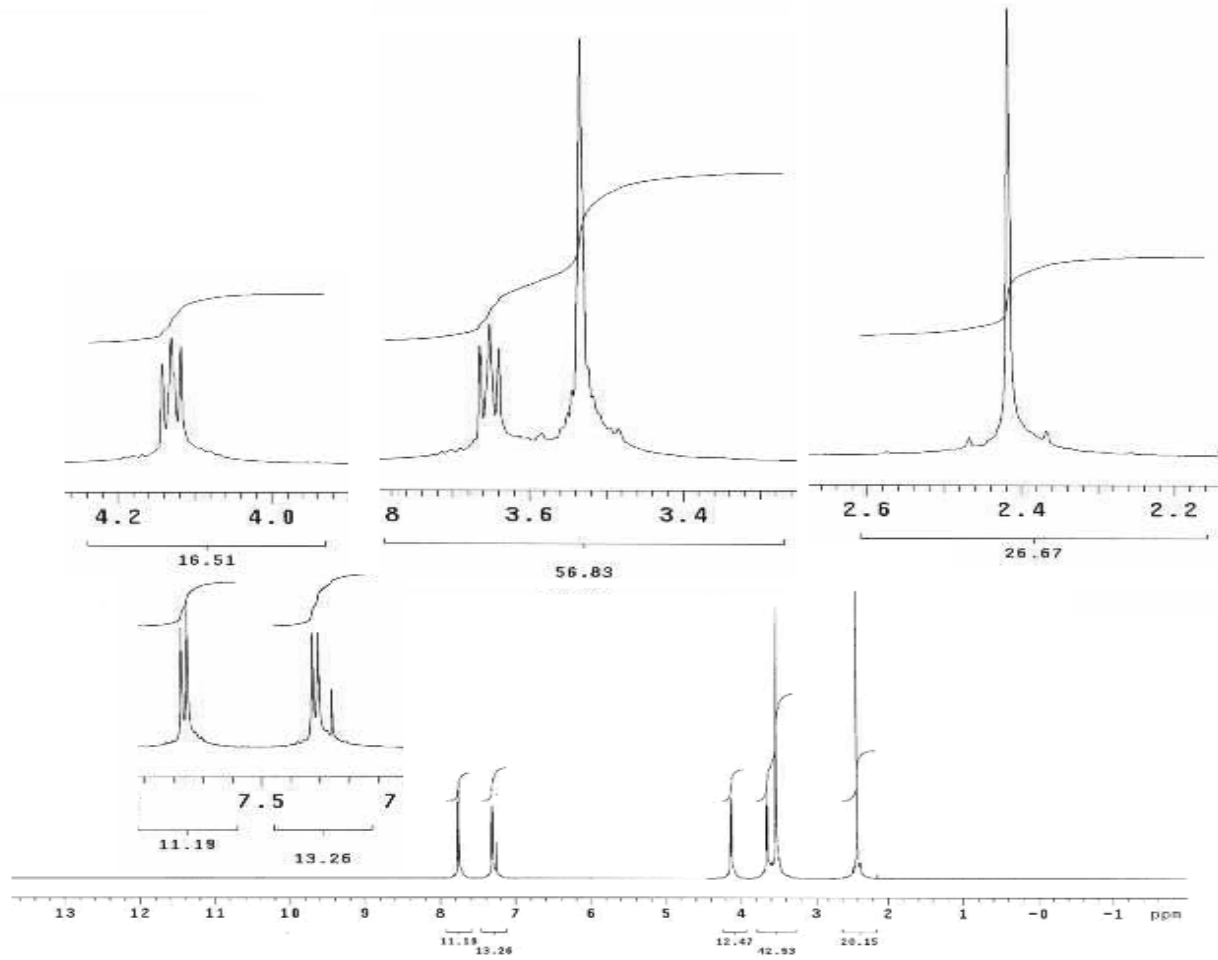
$\nu(-\text{SO}_2)_{\text{ger}}$ (cm^{-1})	$\nu(=\text{S}=\text{O})_{\text{ger}}$ (cm^{-1})	$\nu(-\text{C}-\text{O})_{\text{ger}}$ (cm^{-1})	$\nu(-\text{C}-\text{S})_{\text{ger}}$ (cm^{-1})
1356	1097	1292	583

Tablo 3.10 Tetraetilenglikolditosilatın ^1H NMR spektrum analiz verileri.

$-\text{CH}_3$	Fenil protonları	Etilen protonları
2.36-2.44, s.6H	(7.7-7.8, m.4H) [H ₂ , H ₆]	(3.4-3.6, s.8H) [H ₁ , H ₂]
	(7.25-7.35, m.4H) [H ₃ , H ₅]	(3.6-3.7, t.4H) [H ₃]
		(4.05-4.15, t.4H) [H ₄]

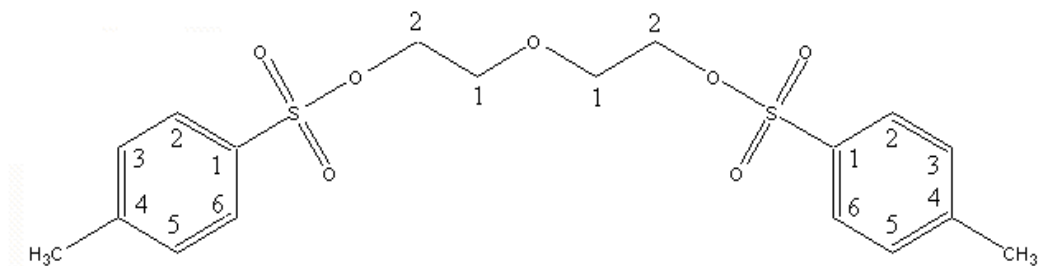


Şekil 3.30 Tetraetilenglikolditosilatın FT-IR spektrumu.



Şekil 3. 31 Tetraetilenglikolditosilatın CDCl_3 de alınmış ^1H NMR spektrumu.

3.1.4.2 Dietilenglikolditosilatın Yapısal Analizi



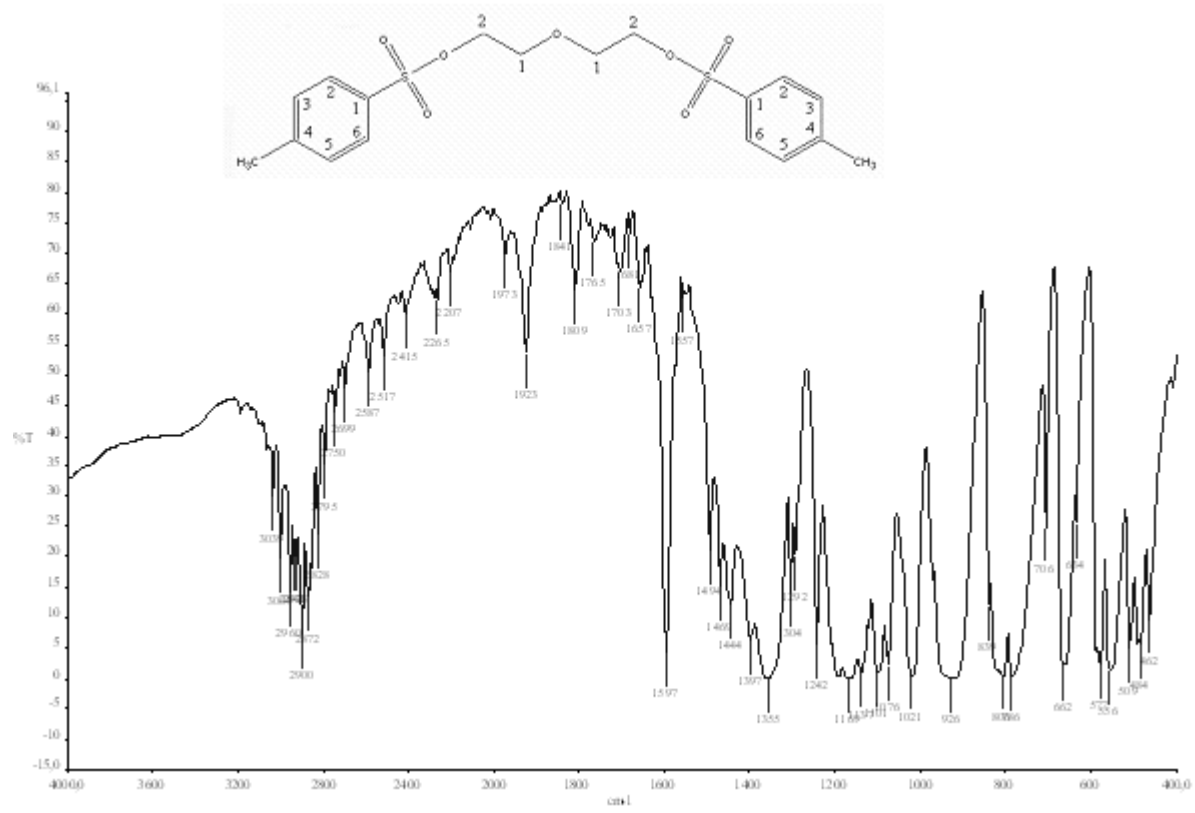
Şekil 3.32 Dietilenglikolditosilatın yapısı.

Tablo 3.11 Dietilenglikolditosilatın FT-IR spektrum analiz verileri.

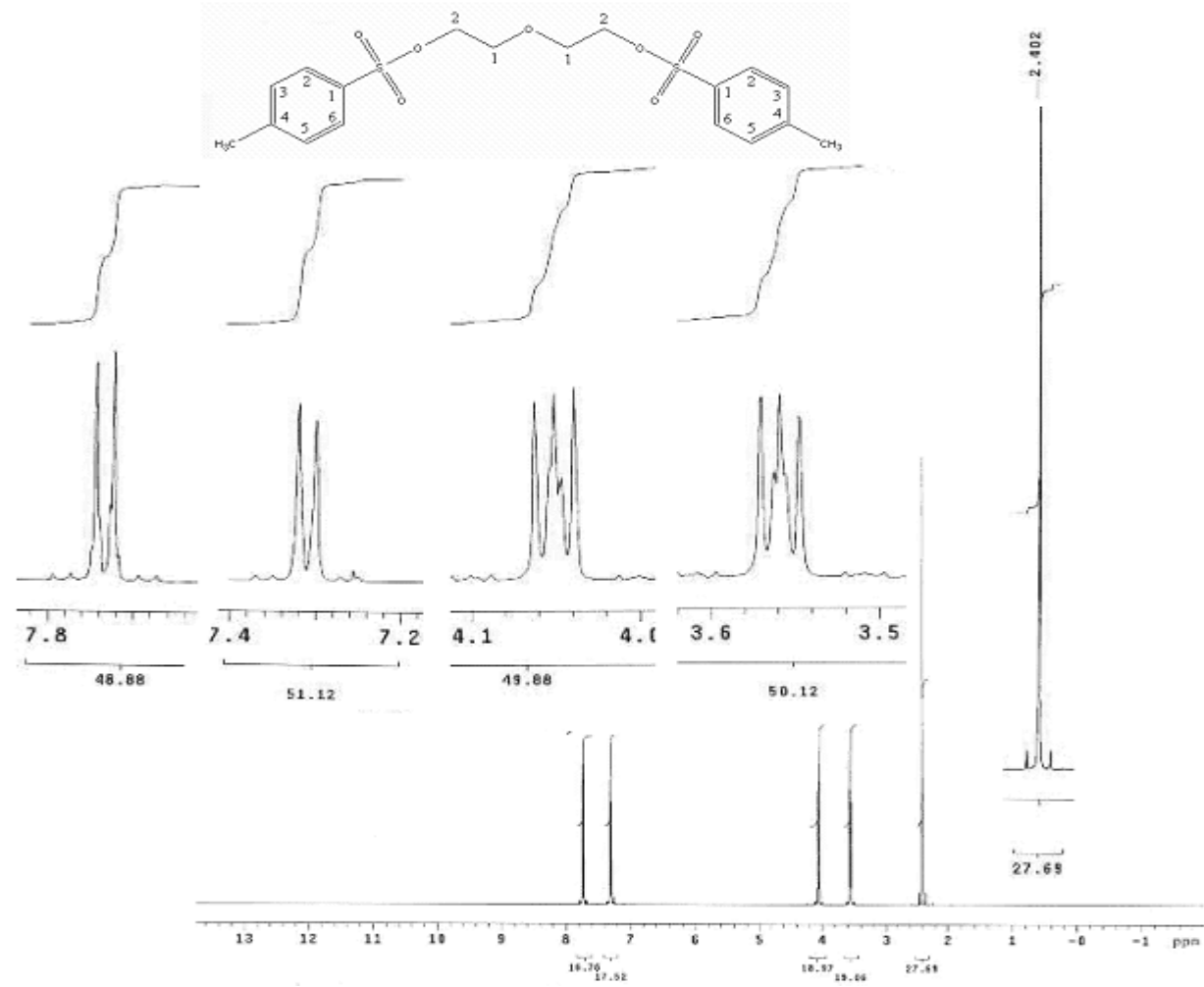
$\nu(-\text{SO}_2)_{\text{ger}}$ (cm^{-1})	$\nu(=\text{S}=\text{O})_{\text{ger}}$ (cm^{-1})	$\nu(\text{C}-\text{O})_{\text{ger}}$ (cm^{-1})	$\nu(-\text{C}-\text{S})_{\text{ger}}$ (cm^{-1})
1355	1076	1292	577

Tablo 3.12 Dietilenglikolditosilatın ^1H NMR spektrum analiz verileri

$-\text{CH}_3$	Fenil protonları	Etilen protonları
2.39-2.42, s.6H	(7.71-7.76, d.4H) [H_2, H_6] (7.29-7.34, d.4H) [H_3, H_5]	(3.54-3.58, t.4H) [H_1] (4.3-4.7, t.4H) [H_2]

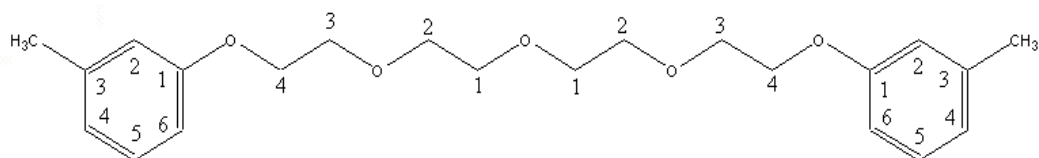


Şekil 3.33 Dietilenglikolditosilatın KBr de çekilen IR spektrumu.



Şekil 3.34 Dietilenglikolditosilatın CDCl_3 de alınmış ^1H NMR spektrumu.

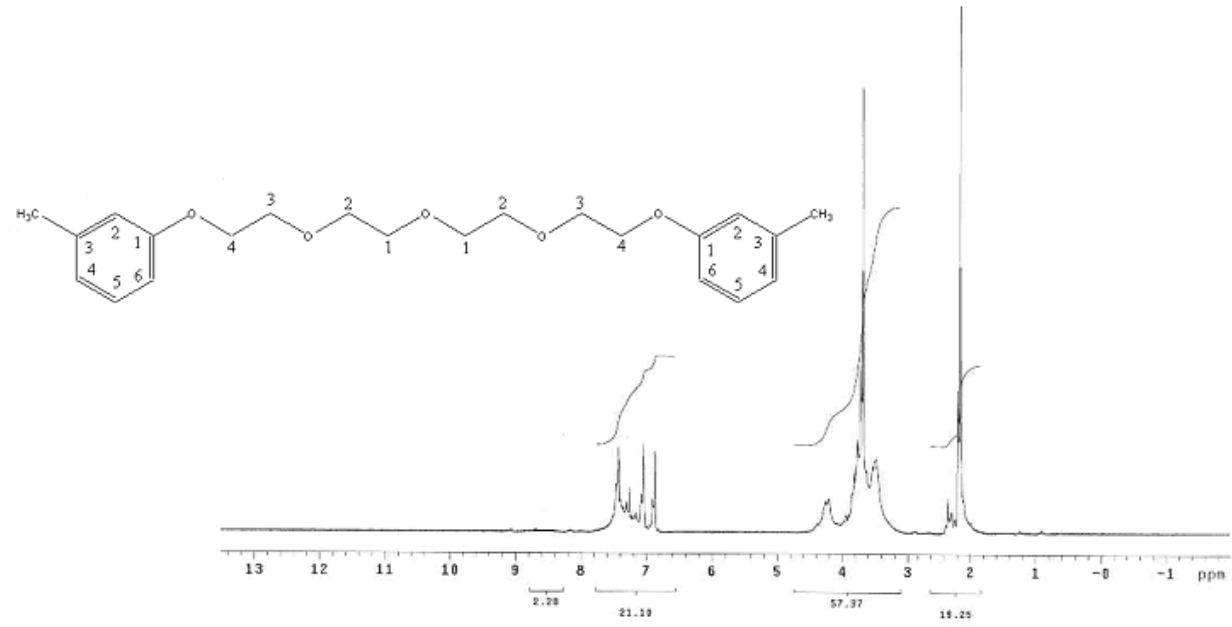
3.1.4.3 1,11-bis(3-metil-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın Yapısal Analizi



Şekil 3.35 1,11-bis(3-metil-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın yapısı.

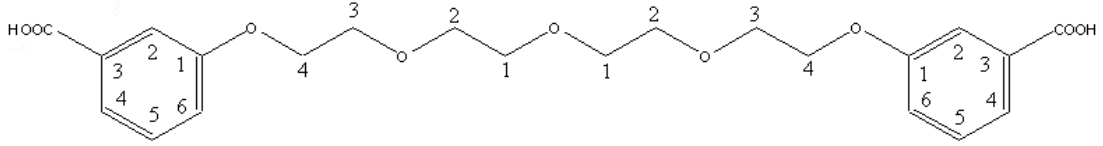
Tablo 3.13 1,11-bis(3-metil-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekan ^1H NMR spektrum analiz verileri

-CH ₃	Fenil protonları	etilen protonları		
2.1-2.2, s.6H	(6.85-7.5, m.8H) [H ₂ , H ₄ , H ₅ , H ₆]	(3.65-3.7, s.8H) [H ₁ , H ₂]	(3.7-3.85, t.4H) [H ₃]	(4.15-4.4, t.4H) [H ₄]



Şekil 3.36 1,11-bis(3-metil-fenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.

3.1.4.4 1,11-bis (3-karboksifenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın Yapısal Analizi

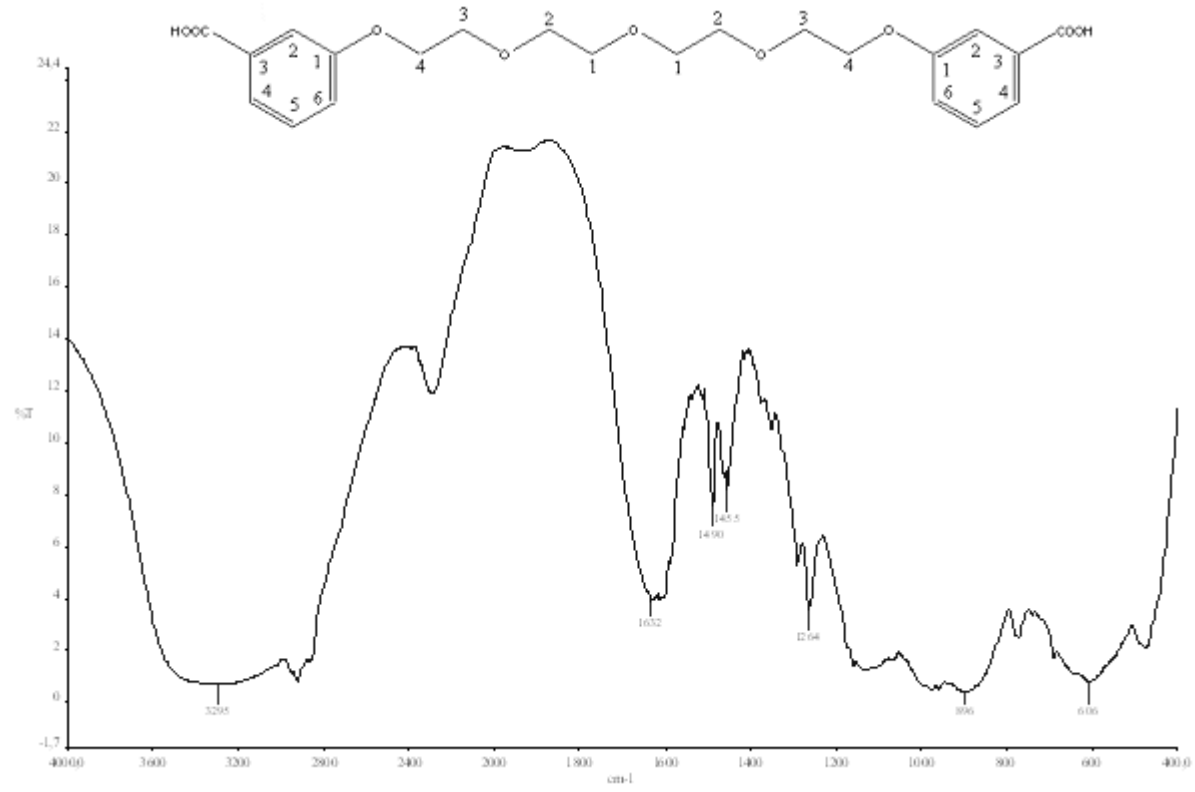


Şekil 3.37 1,11-bis (3-karboksifenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın yapısı.

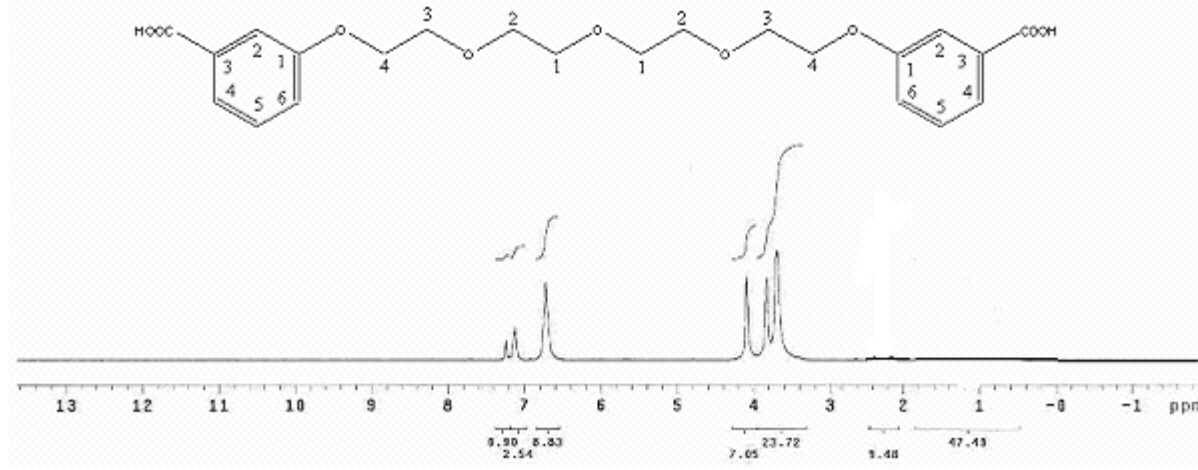
Söz konusu türevin yapısal analizi yapıldığında FTIR sonucu yapıyı desteklemesine rağmen, ^1H NMR sonucu, istenilen ürünün oluşmadığını göstermiştir. Bu nedenle ikinci bölümde verilen sentez planı, bu aşamada denemesine son verilerek, ikinci sentez rotası uygulanmıştır.

Tablo 3.14 1,11-bis (3-karboksifenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın FT-IR spektrum analiz verileri.

$\nu(\text{O-H})_{\text{ger}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu(\text{C=O})_{\text{ger}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu(\text{C-O})_{\text{ger}} (\text{cm}^{-1})$
3295	1632	1264



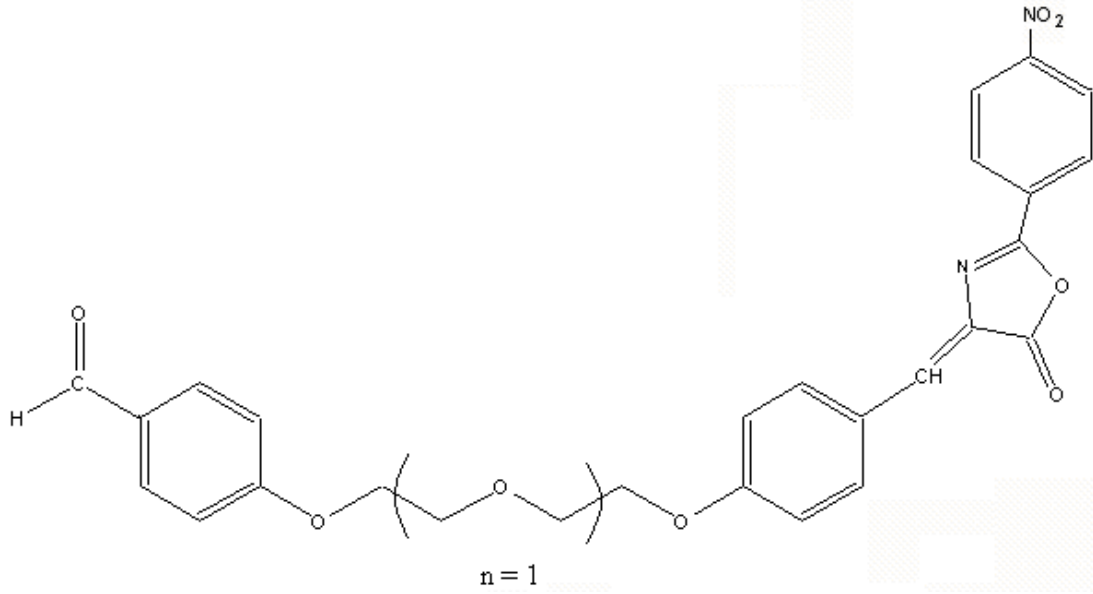
Şekil 3.38 1,11-bis (3-karoksifenoksi)-3,6,9-trioksaundekanın KBr de çekilen IR spektrumu.



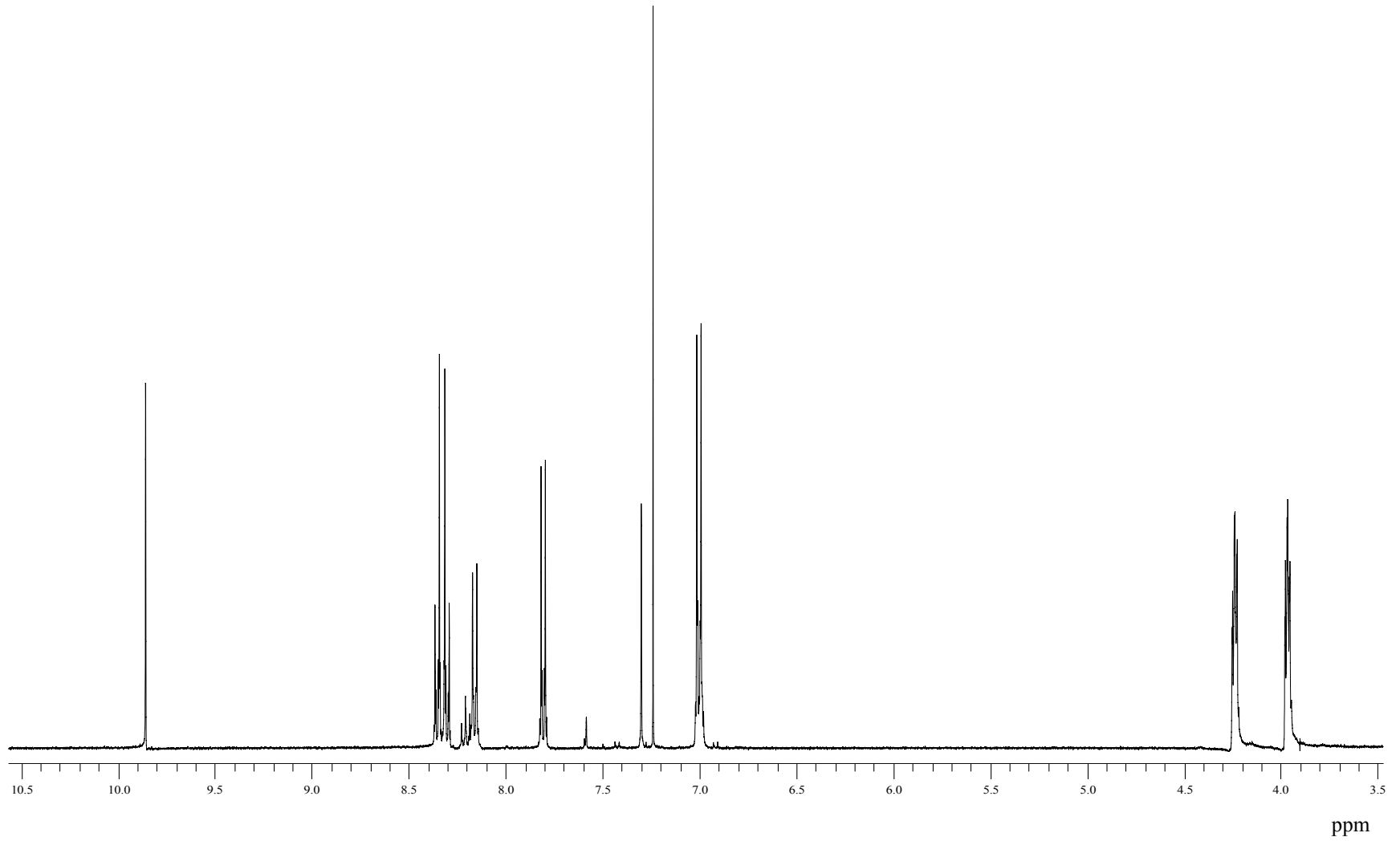
Şekil 3.39 1,11-bis (3-karboksifenoksi)-3,6,9-trioksaundekannın CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.

3.1.5 İkinci Sentez Rotası ile Elde Edilen Polietilen Glikol Köprülü Azlakton Dimerlerinin Yapısal Analizleri

3.1.5.1 4-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-nitrophenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzaldehyde (DN)

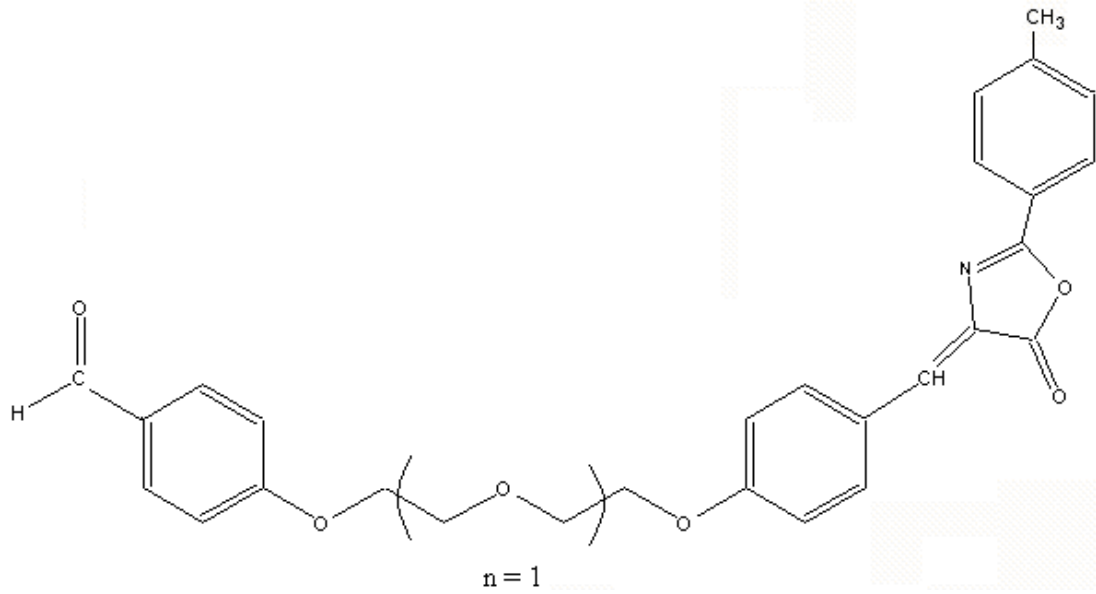


Şekil 3.40 4-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-nitrophenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzaldehyde (DN) yapısı.

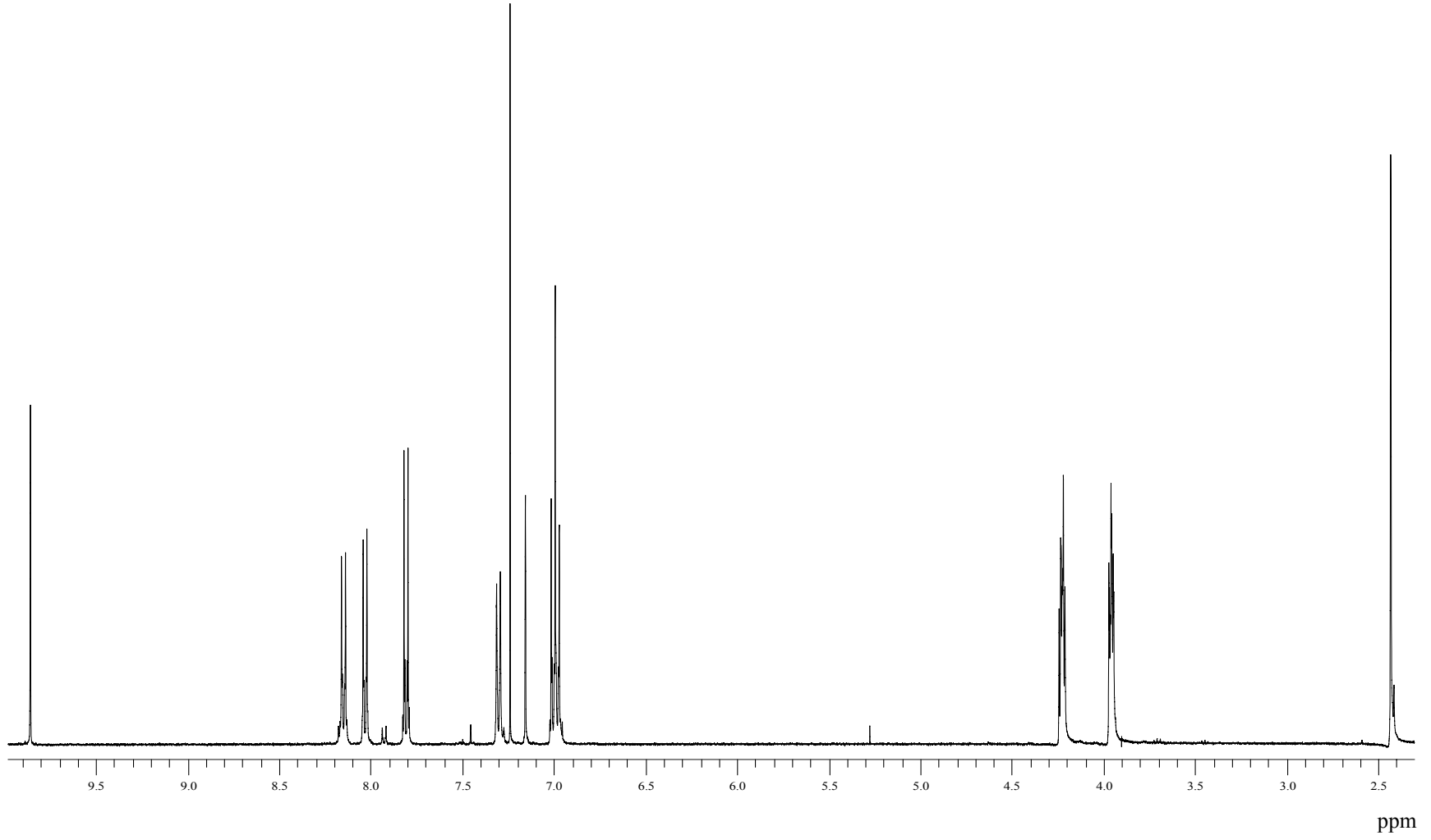


Şekil 3.41 DN türevinin CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.

3.1.5.2 4-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzaldehyde (DT)

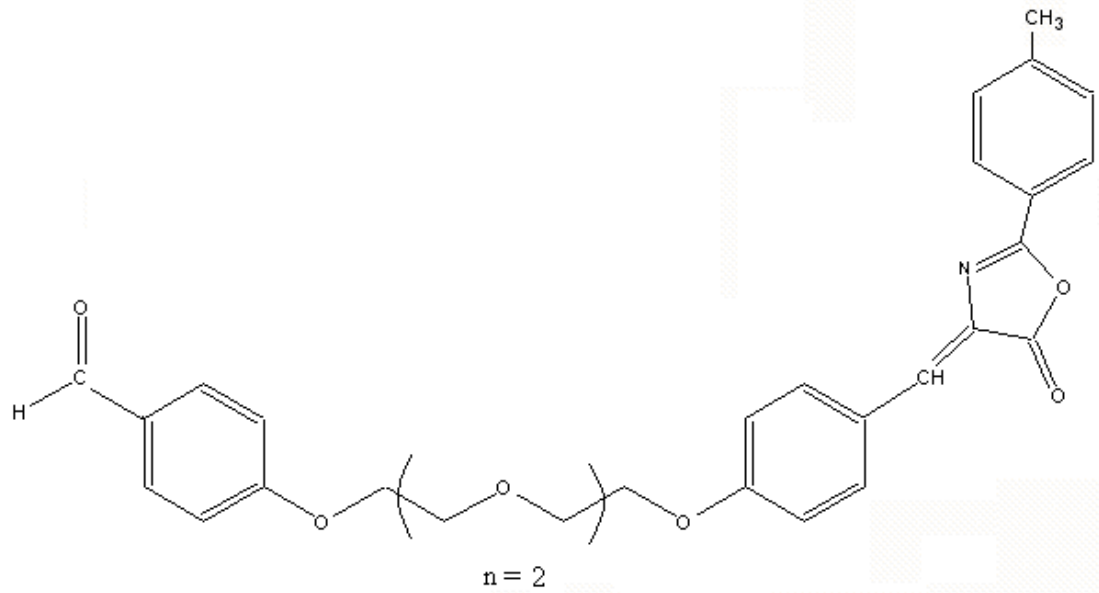


Şekil 3.42 4-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}benzaldehyde (DT) yapısı.

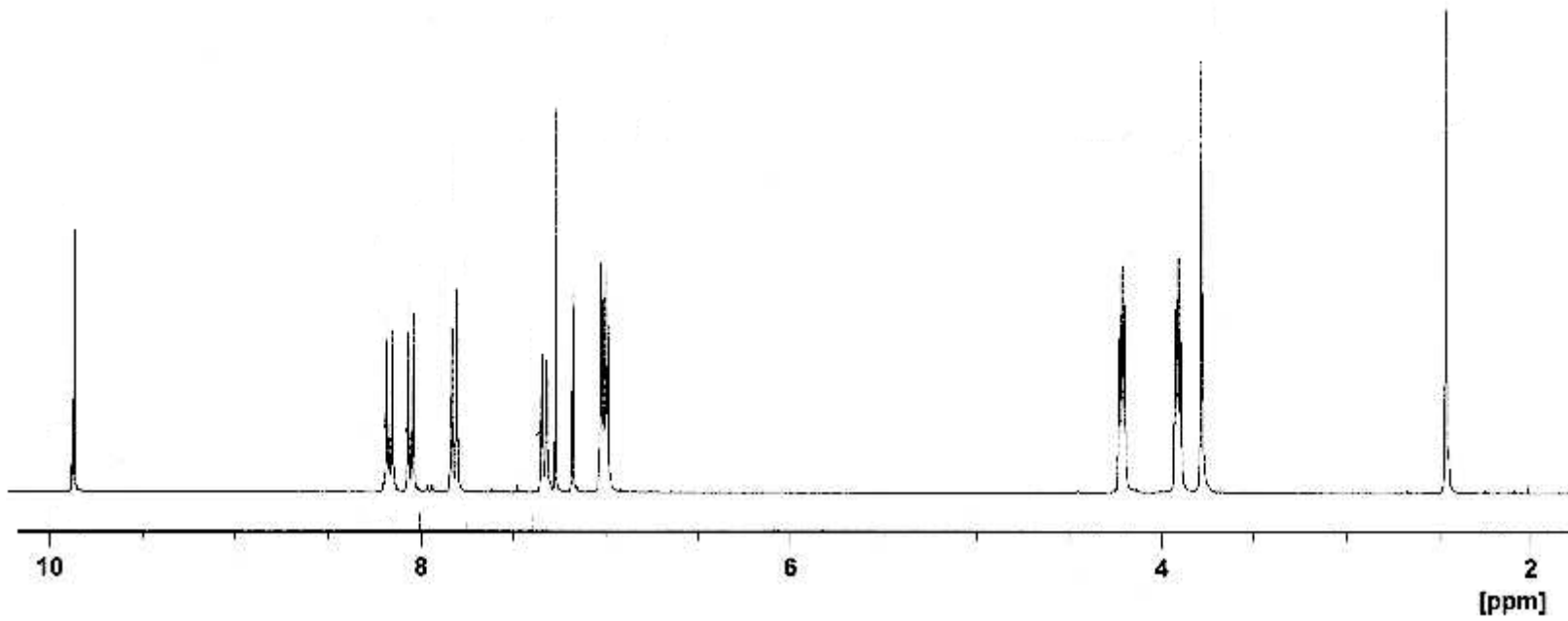


Şekil 3.43 DT türevinin CDCl_3 de alınmış ^1H NMR spektrumu.

3.1.5.3 4-(2-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}ethoxy)benzaldehyde (TT)



Şekil 3.44 4-(2-{2-[2-(4-{(Z)-[2-(4-methylphenyl)-5-oxo-1,3-oxazol-4(5H)-ylidene]methyl}phenoxy)ethoxy]ethoxy}ethoxy)benzaldehyde (TT) yapısı.



Şekil 3.45 TT türevinin CDCl₃ de alınmış ¹H NMR spektrumu.

D türevlerinin ¹H-NMR verileri:

DN (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)): 3.98-3.95 (m, 4 H, H₁^{IV}) 4.25-4.23 (m, 4H, H₂^{IV}); 7.01-6.99 (d, 4H, H₂^{II}, H₂^{III}); 7.30 (s, 1 H, =CH); 7.82-7.79 (d, 2H, H₃^{III}); 8.17-8.15 (d, 2H, H₃^{II}); 8.31-8.29 (d, 2H, H₂^I); 8.36-8.34 (d, 2H, H₃^I); 9.86 (s, 1 H, O=CH).

DT (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)): 2.43 (s, 1 H, -CH₃); 3.97-3.94 (m, 4 H, H₁^{IV}) 4.24-4.21 (m, 4H, H₂^{IV}); 7.02-6.97 (m, 4H, H₂^{II}, H₂^{III}); 7.16 (s, 1 H, =CH); 7.31-7.29 (d, 2H, H₃^{III}); 7.82-7.80 (d, 2H, H₃^{II}); 8.04-8.02 (d, 2H, H₂^I); 8.16-8.14 (d, 2H, H₃^I); 9.86 (s, 1 H, O=CH).

T türevlerinin ¹H-NMR verileri:

TT (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)): 2.47 (s, 1 H, -CH₃); 3.79 (s, 1 H, H₁^{IV}); 3.94-3.90 (m, 4 H, H₂^{IV}) 4.24-4.21 (m, 4H, H₃^{IV}); 7.04-7.00 (m, 4H, H₂^{II}, H₂^{III}); 7.19 (s, 1 H, =CH); 7.36-7.32 (d, 2H, H₃^{III}); 7.85-7.82 (d, 2H, H₃^{II}); 8.08-8.05 (d, 2H, H₂^I); 8.20-8.17 (d, 2H, H₃^I); 9.88 (s, 1 H, O=CH).

3.2 Sentezlenen Azlakton Türevlerinin UV-vis Absorpsiyon ve Emisyon Çalışmaları

3.2.1 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin UV-vis ve Emisyon Çalışmaları

Tablo 3.15 CPO-1 türevinin farklı çözücü ortamlarında ve PVC katı matriksinde UV-vis spektroskopik verileri (λ : nm, and ϵ : $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), Stokes' kaymaları ($\nu\Delta$: cm^{-1}), fluoresans kuantum verimleri, ϕ_f , radiatif yarıömürleri, τ_0 (ns), fluoresans hız sabitleri, k_r (10^9 s^{-1}), ve singlet enerjileri, E_s (kcal/mol).

		$\lambda_{\max}^{\text{abs}}$	ϵ_{\max}	$\lambda_{\max}^{\text{emis}}$	ϕ_f	$\Delta\nu$	τ_0	k_r	k_{nr}	E_s
CPO-1	Ksilen	473	63000	502		1221	0.071			56.8
	Toluen	473	60000	507	0.0037	1418	0.078	0.047	12.77	56.3
	Kloroform	475	60000	517	0.0028	1710	0.082	0.034	12.16	55.2
	Etilasetat	469	58000	517	0.0043	1979	0.083	0.054	12.00	55.2
	Dimetilformamid	478	56000	541	0.0056	2436	0.098	0.057	10.15	52.7
	Diklorometan	472	76000	524	0.0011	2103	0.037	0.030	27.00	54.4
	Asetonitril	469	88000	536	0.0039	2665	0.031	0.126	32.13	53.2
	Tetrahidrofur	472	127000	516	0.0048	1807	0.060	0.080	16.59	55.3
	Dimetilsülfoksit	483	121800	548	0.0064	2455	0.037	0.173	26.85	52.1
	PVC	446	125000	535	0.2643	3790	0.042	6.29	17.52	53.3

Tablo 3.16 CPO-2 türevinin farklı çözücü ortamlarında ve PVC katı matriksinde UV-vis spektroskopik verileri (λ : nm, and ϵ : $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), Stokes' kaymaları ($\nu\Delta$: cm^{-1}), fluoresans kuantum verimleri, ϕ_f , radiatif yarıömürleri, τ_0 (ns), fluoresans hız sabitleri, k_r (10^9 s^{-1}), ve singlet enerjileri, E_s (kcal/mol).

		$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}}$	ϵ_{max}	$\lambda_{\text{max}}^{\text{emis}}$	ϕ_f	$\Delta\nu$	τ_0	k_r	k_{nr}	E_s
CPO-2	Ksilen	517	60000	580		2101	0.109			49.4
	Toluen	518	64000	584	0.0129	2182	0.106	0.122	9.31	48.9
	Kloroform	524	70000	580	-	1842	0.106	-		49.2
	Etilasetat	506	63000	653	0.0006	3770	0.426	0.001	2.35	43.7
	Dimetilformamid	512	52000	560	-	1674	0.146	-		51.0
	Diklorometan	517	520000	570	-	1799	0.016	-		50.1
	Asetonitril	504	557000	554	-	1791	0.012	-		51.5
	Tetrahidrofur	509	571000	558	0.0002	1725	0.012	0.017	83.32	51.1
	Dimetilsülfoksit	516	161600	615	-	3119	0.035	-		46.4
	PVC	488	570000	590	0.2083	3542	0.028	7.44	28.28	48.4

Tablo 3.17 CPO-3 türevinin farklı çözücü ortamlarında ve PVC katı matriksinde UV-vis spektroskopik verileri (λ : nm, and ϵ : $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), Stokes' kaymaları ($\nu\Delta$: cm^{-1}), fluoresans kuantum verimleri, ϕ_f , radiatif yarıömürleri, τ_0 (ns), fluoresans hız sabitleri, k_r (10^9 s^{-1}), ve singlet enerjileri, E_s (kcal/mol).

		$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}}$	ϵ_{max}	$\lambda_{\text{max}}^{\text{emis}}$	ϕ_f	$\Delta\nu$	τ_0	k_r	k_{nr}	E_s
CPO-3	Ksilen	508	96000	600		3019	0.076			47.6
	Toluen	508	56000	603	0.1155	3102	0.133	0.868	6.65	47.3
	Kloroform	516	49000	654	-	4089	0.171	-		43.6
	Etilasetat	505	52000	689	0.0207	5288	0.137	0.151	7.15	41.4
	Dimetilformamid	515	44000	572	-	1935	0.199	-		49.6
	Diklorometan	515	463000	669	-	4470	0.018	-		42.7
	Asetonitril	505	478000	675	-	4987	0.017	-		42.4
	Tetrahidrofuran	510	403000	663	0.0064	4525	0.021	0.305	47.31	43.0
	Dimetilsülfoksit	522	126400	728	-	5421	0.055	-		39.2
	PVC	509	422000	625	0.2924	3646	0.023	12.71	30.77	45.7

Tablo 3.18 CPO-4 türevinin farklı çözücü ortamlarında ve PVC katı matriksinde UV-vis spektroskopik verileri (λ : nm, and ϵ : $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), Stokes' kaymaları ($\nu\Delta$: cm^{-1}), fluoresans kuantum verimleri, ϕ_f , radiatif yarıömürleri, τ_0 (ns), fluoresans hız sabitleri, k_r (10^9 s^{-1}), ve singlet enerjileri, E_s (kcal/mol).

		$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}}$	ϵ_{max}	$\lambda_{\text{max}}^{\text{emis}}$	ϕ_f	$\Delta\nu$	τ_0	k_r	k_{nr}	E_s
CPO-4	Ksilen	472	96000	496		1025	0.046			57.5
	Toluen	471	66000	498	0.0037	1151	0.071	0.052	14.03	57.3
	Kloroform	473	91000	513	0.0028	1648	0.059	0.047	16.90	55.6
	Etilasetat	467	94000	515	0.0036	1996	0.051	0.071	19.54	55.4
	Dimetilformamid	476	89000	537	0.0056	2366	0.059	0.095	16.85	53.1
	Diklorometan	474	754000	523	0.0011	1977	0.007	0.157	142.7	54.6
	Asetonitril	468	687000	533	0.0035	2606	0.007	0.500	142.4	53.5
	Tetrahidrofuran	472	724000	520	0.0044	1956	0.007	0.629	142.2	54.9
	Dimetilsülfoksit	482	139200	544	0.0065	2364	0.032	0.203	31.05	52.4
	PVC	458	698000	539	0.2242	3282	0.009	24.91	86.2	52.9

Bir fluoroforun quantum verimini belirlemenin en kolay yolu quantum verimi bilinen bir standart ile karşılaştırmadır (Lakowicz, 1999).

Kuantum verimini belirlemek için kullanılan formül aşağıdaki gibidir:

$$\Phi_f = \Phi_{st} \frac{I}{I_{st}} \cdot \frac{A_{st} \cdot n^2}{A \cdot n_{st}^2}$$

Φ_f : Örnek molekülün kuantum verimi

Φ_{st} : Standartın kuantum verimi

I_{st} : Standartın integre emisyonu

I : Örnek molekülün integre emisyonu

A_{st} : Standartın absorpsiyonu

A : Örnek molekülün absorpsiyonu

n : Örnek molekülün kırınma indisi

n_{st} : Standartın kırınma indisi

Fluoresans quantum verimleri Rodamin 101 standardı kullanılarak belirlenmiştir. Rodamin 101 standardı 560 nm de eksitasyon ve 589 nm de emisyon vermektedir ve quantum verimi 0,98 dir.

Radiativ ömürleri (radiative life time), τ_0 , aşağıda verilen formülden yararlanılarak hesaplanmıştır:

$$\tau_0 = 3,5 \cdot 10^8 / (v_{max}^2 \cdot \epsilon_{max} \cdot \Delta v_{1/2})$$

v_{max} : $1/\lambda_{max}^{abs}$ (cm^{-1})

ϵ_{max} : Molar absorptivite katsayısı ($l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

$\Delta v_{1/2}$: Absorbans pikinin yarı genişliği (cm^{-1})

Fluoresans ömürleri (fluorescence life time), τ_f , aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$\tau_f = \tau_0 \cdot \Phi_f$$

Radiatif (radiative) ve non-radiatif (non-radiative) hız sabitleri ise aşağıda verilen eşitlikler kullanılarak belirlenmiştir:

$$k_r = \Phi_f / \tau_0$$

$$k_{nr} = (1 - \Phi_f) / \tau_0$$

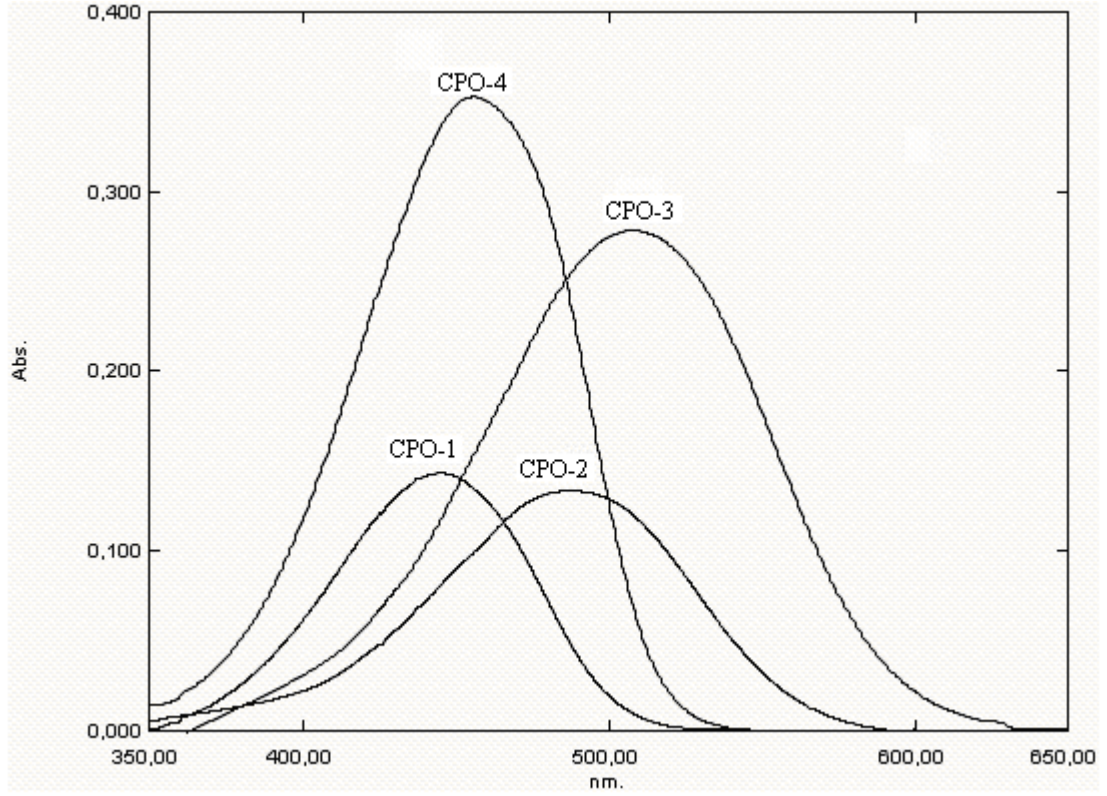
Singlet enerjileri, E_s , aşağıda verilen eşitlikten yararlanarak hesaplanmıştır:

$$E_s = h \cdot (c / \lambda_{\max}^{\text{emis}})$$

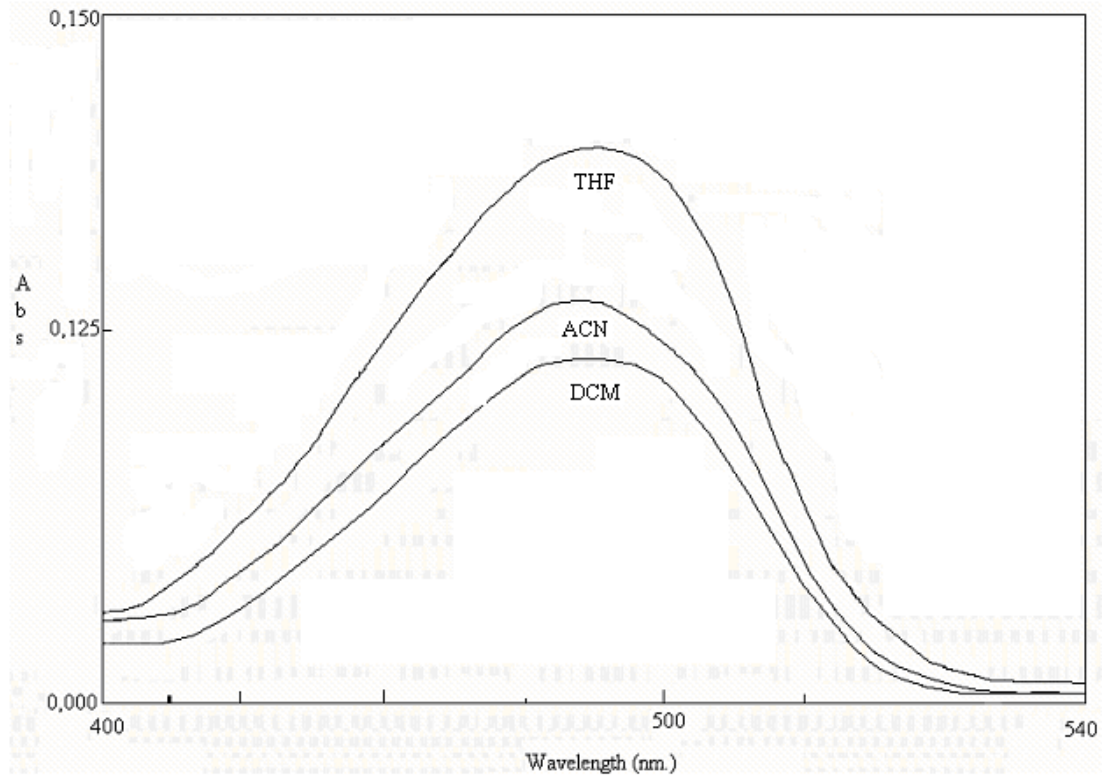
h : Planck sabiti (cal/s)

c : Işık hızı (cm/s)

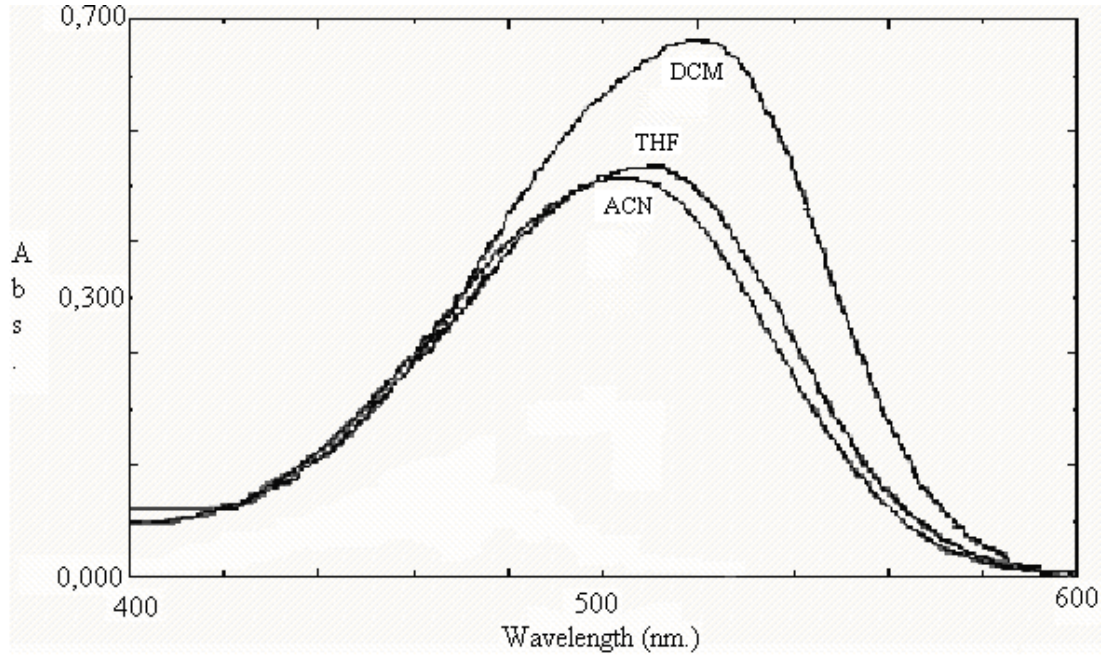
$\lambda_{\max}^{\text{emis}}$: Maksimum emisyon dalga boyu (cm)



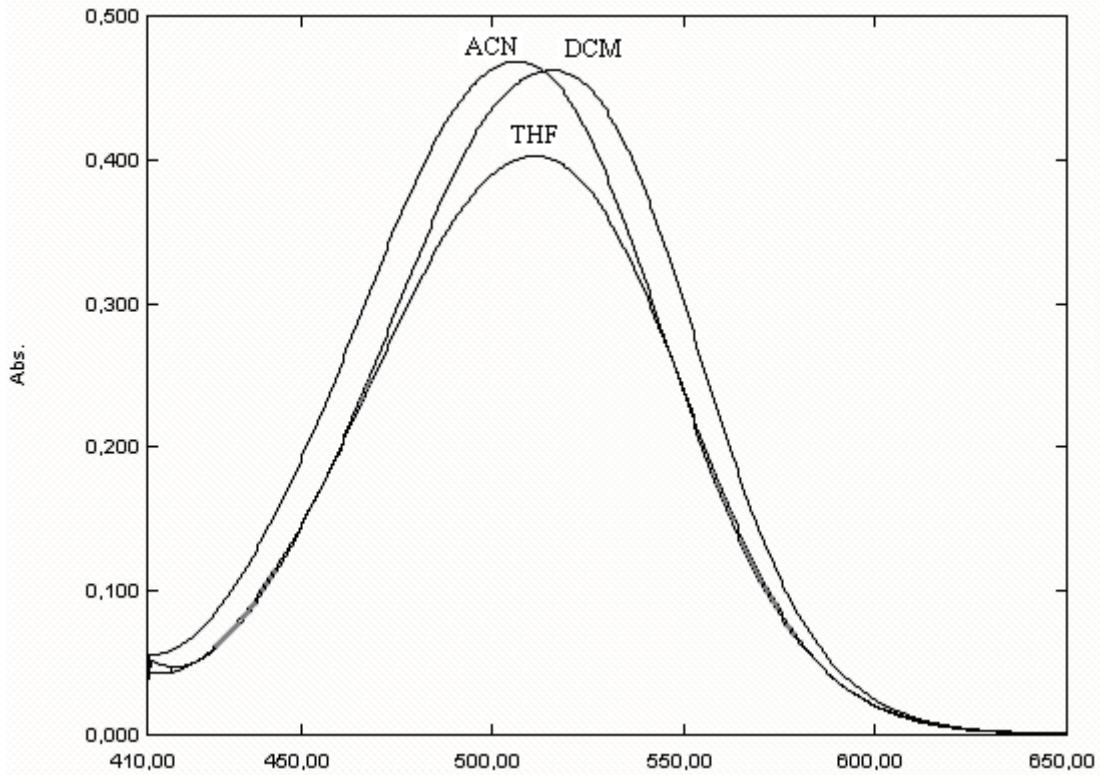
Şekil 3.46 CPO türevlerinin PVC matrisindeki absorpsiyon spektrumları.



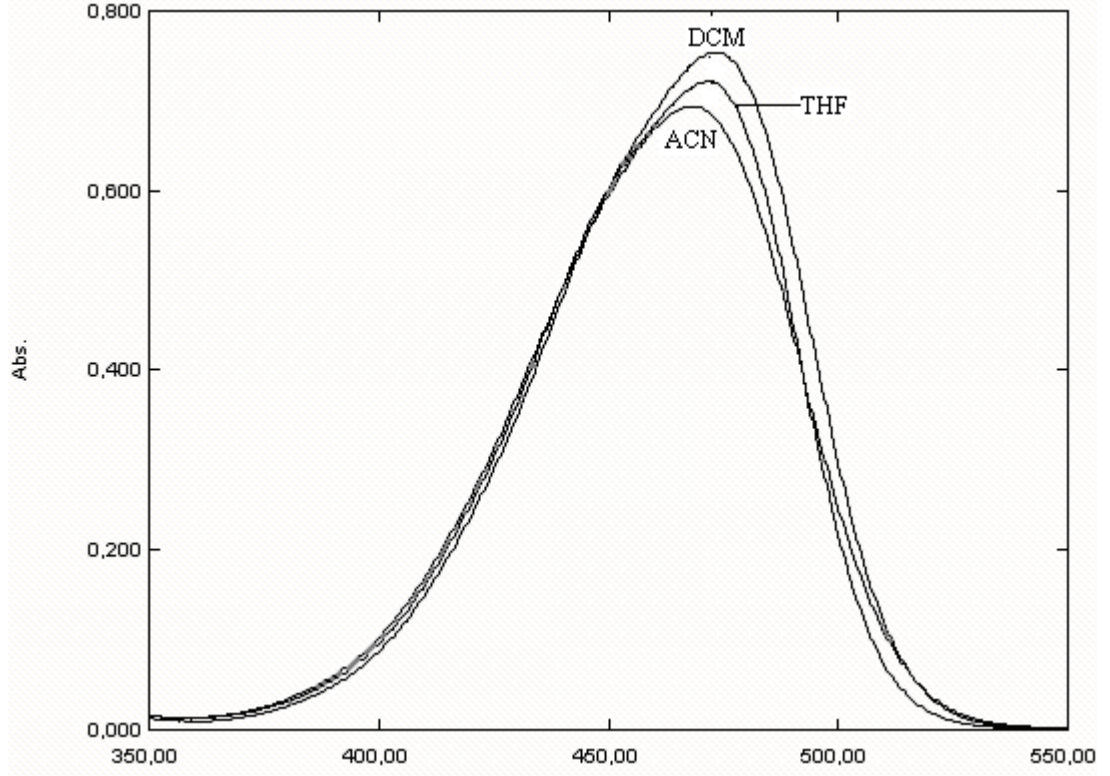
Şekil 3.47 CPO-1 türevinin THF, ACN ve DCM çözücü ortamlarındaki absorpsiyon spektrumları



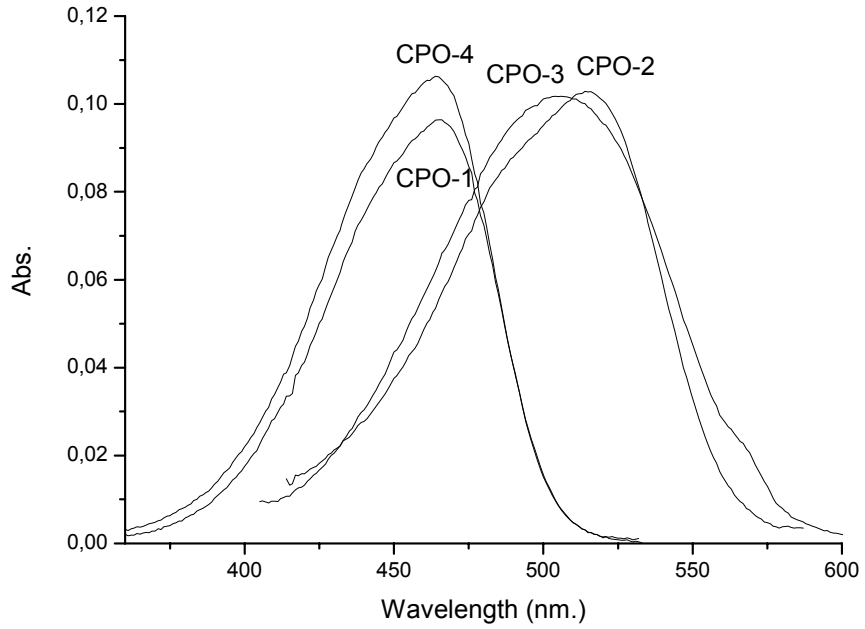
Şekil 3.48 CPO-2 türevinin THF, ACN ve DCM çözücü ortamlarındaki absorpsiyon spektrumları.



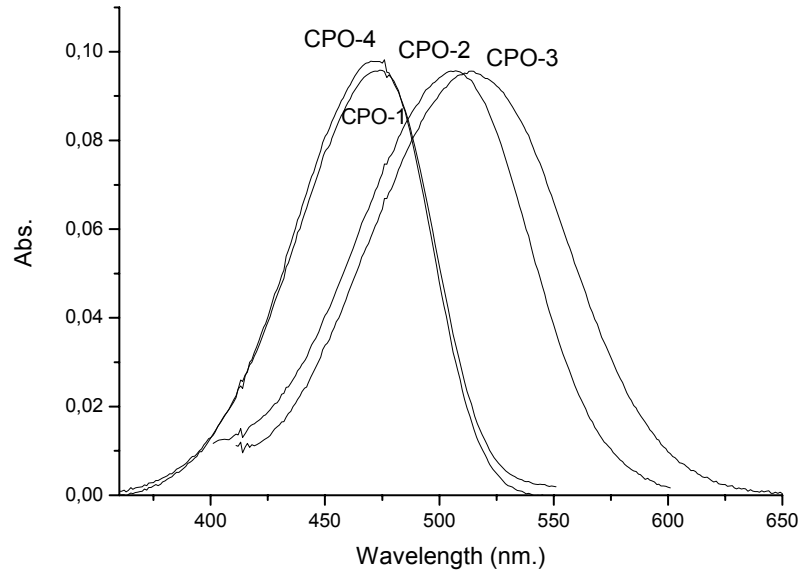
Şekil 3.49 CPO-3 türevinin THF, ACN ve DCM çözücü ortamlarındaki absorpsiyon spektrumları.



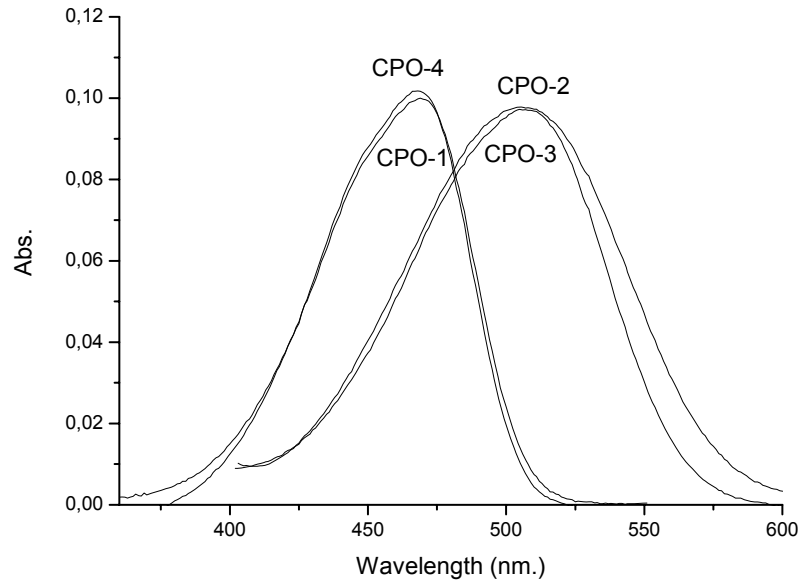
Şekil 3.50 CPO-4 türevinin THF, ACN ve DCM çözücü ortamlarındaki absorpsiyon spektrumları.



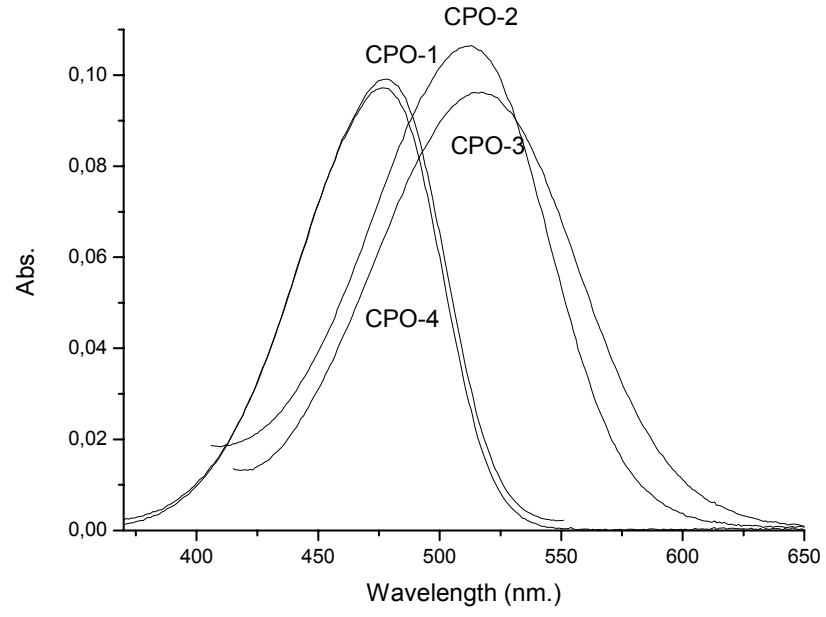
Şekil 3.51 CPO türevlerinin kloroform çözücü ortamındaki absorpsiyon spektrumları.



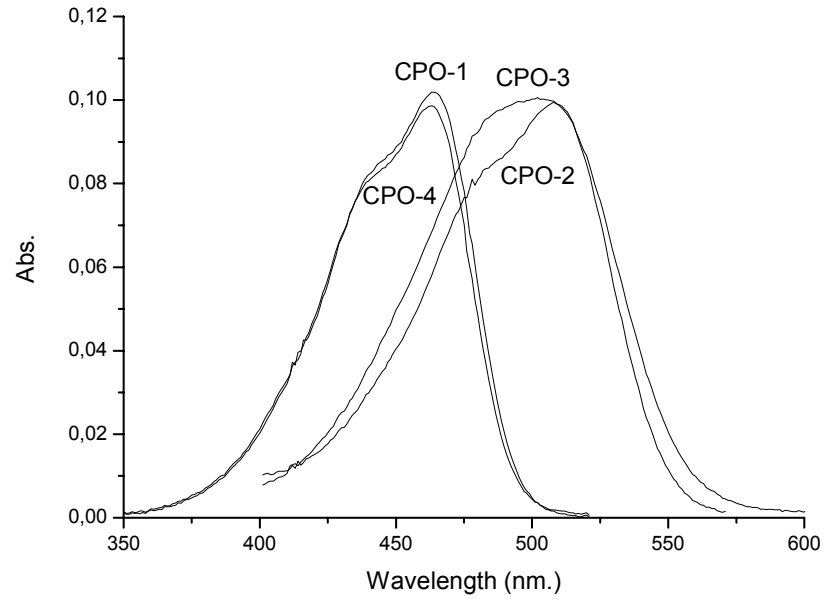
Şekil 3.52 CPO türevlerinin dimetilsülfoksit çözücü ortamındaki absorpsiyon spektrumları.



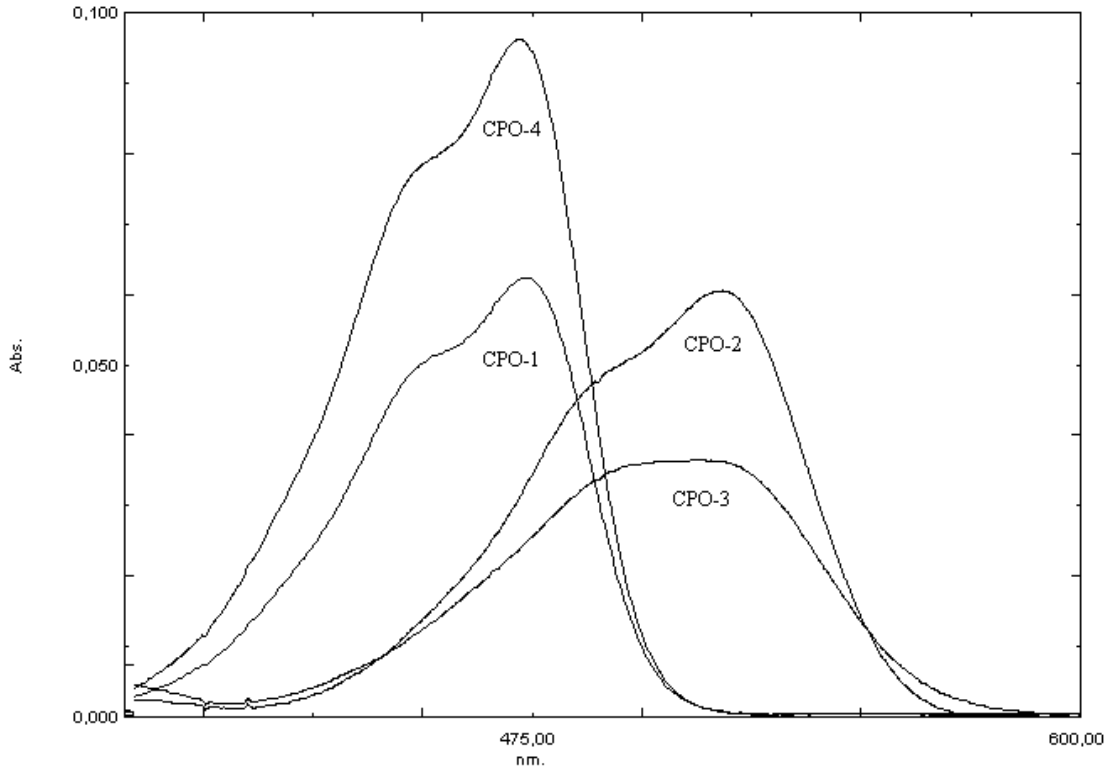
Şekil 3.53 CPO türevlerinin etil asetat çözücü ortamındaki absorpsiyon spektrumları.



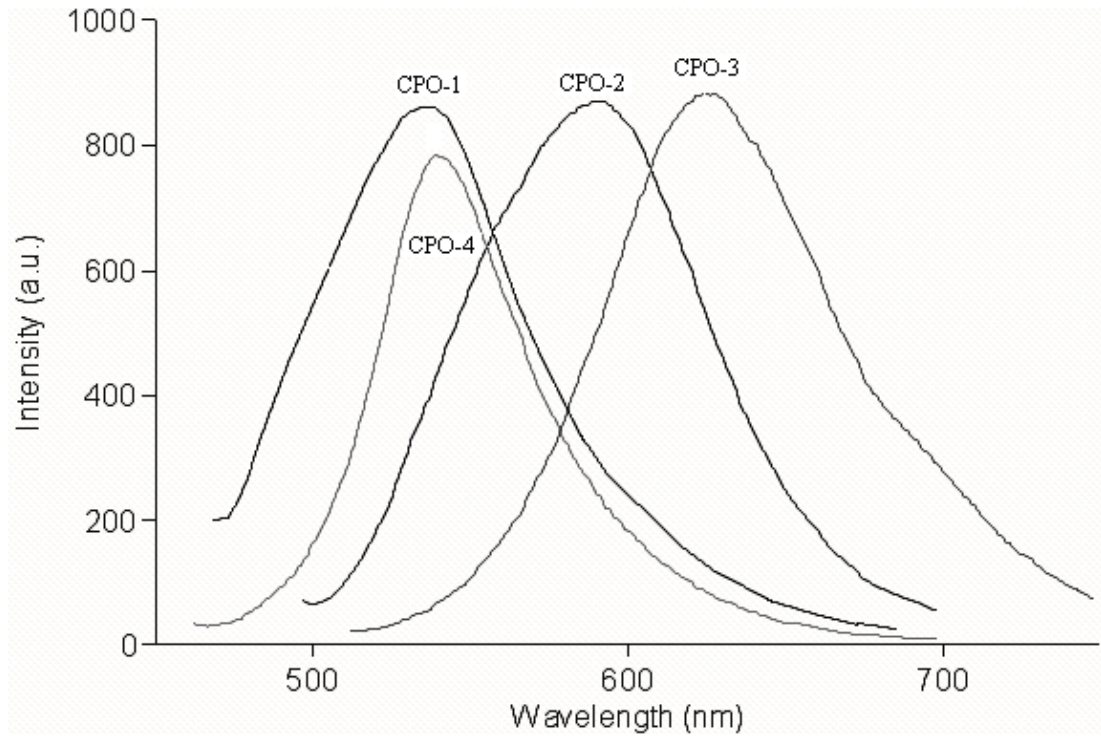
Şekil 3.54 CPO türevlerinin dimetilformamid çözücü ortamındaki absorpsiyon spektrumları.



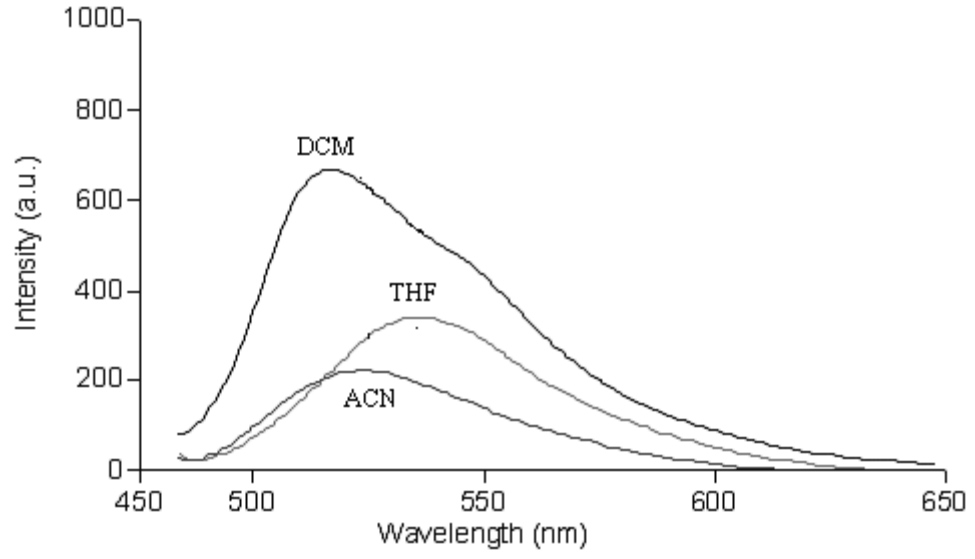
Şekil 3.55 CPO türevlerinin toluen çözücü ortamındaki absorpsiyon spektrumları.



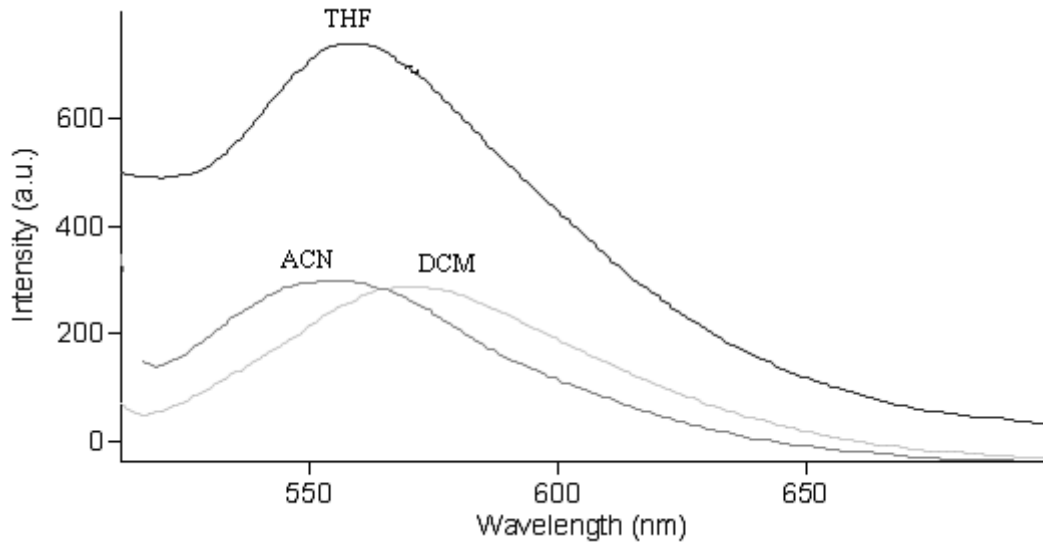
Şekil 3.56 CPO türevlerinin ksilen çözücü ortamındaki absorpsiyon spektrumları.



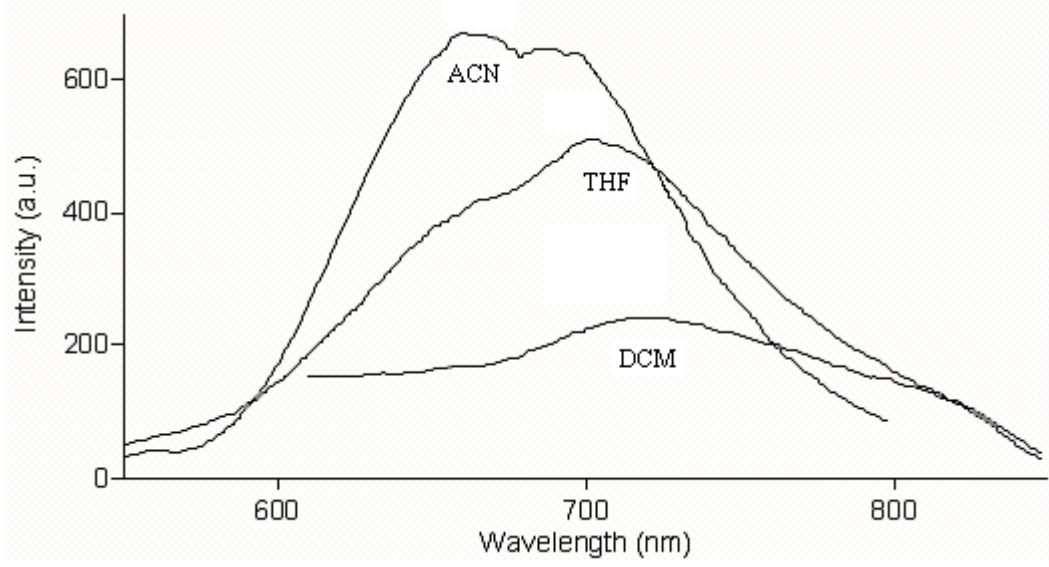
Şekil 3.57 CPO türevlerinin PVC matrisindeki emisyon spektrumları.



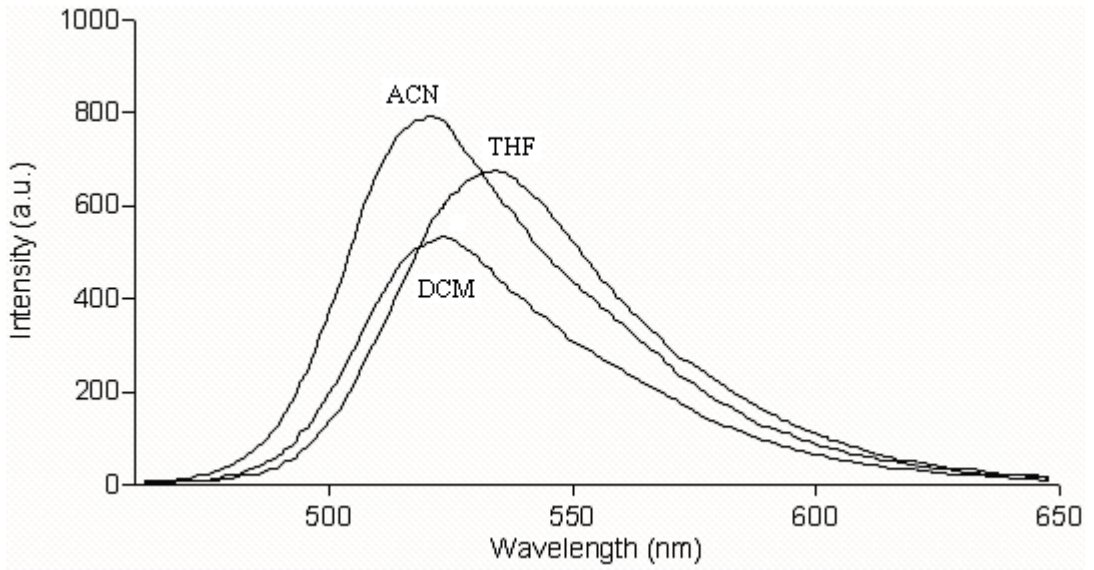
Şekil 3.58 CPO-1 türevinin THF, ACN ve DCM çözücü ortamlarındaki emisyon spektrumları.



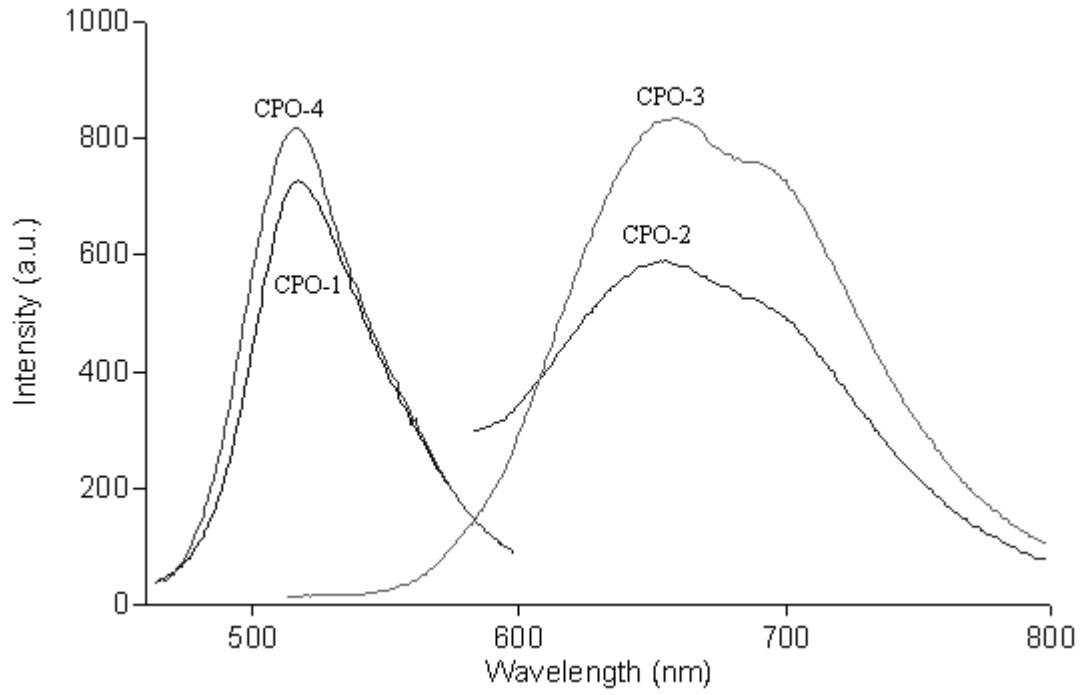
Şekil 3.59 CPO-2 türevinin THF, ACN ve DCM çözücü ortamlarındaki emisyon spektrumları.



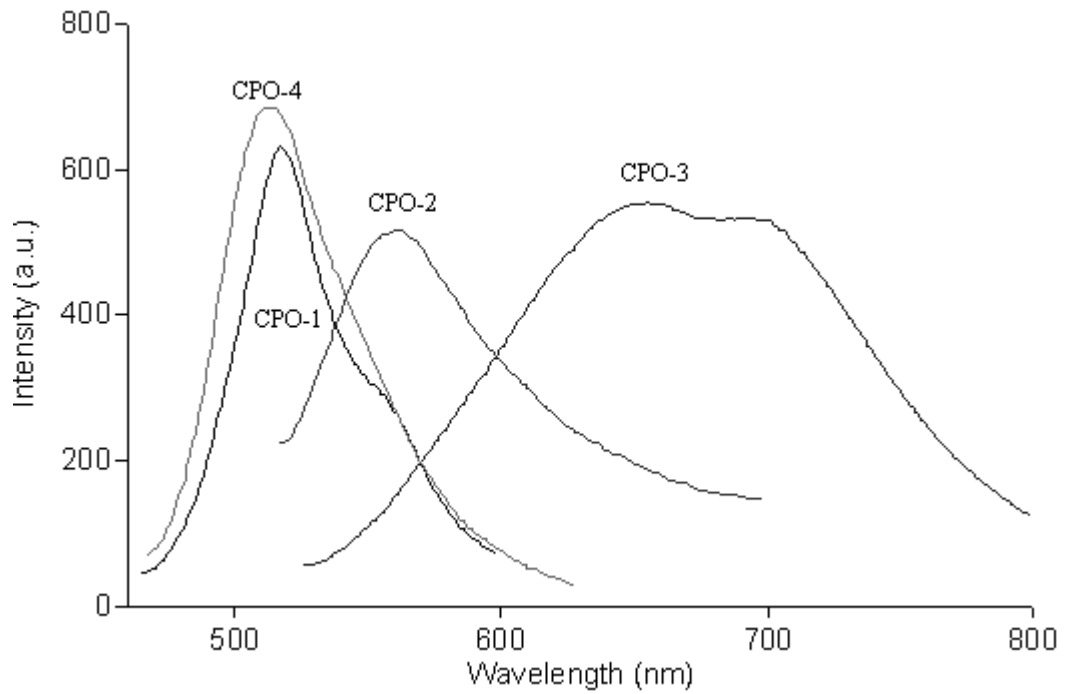
Şekil 3.60 CPO-3 türevinin THF, ACN ve DCM çözücü ortamlarındaki emisyon spektrumları



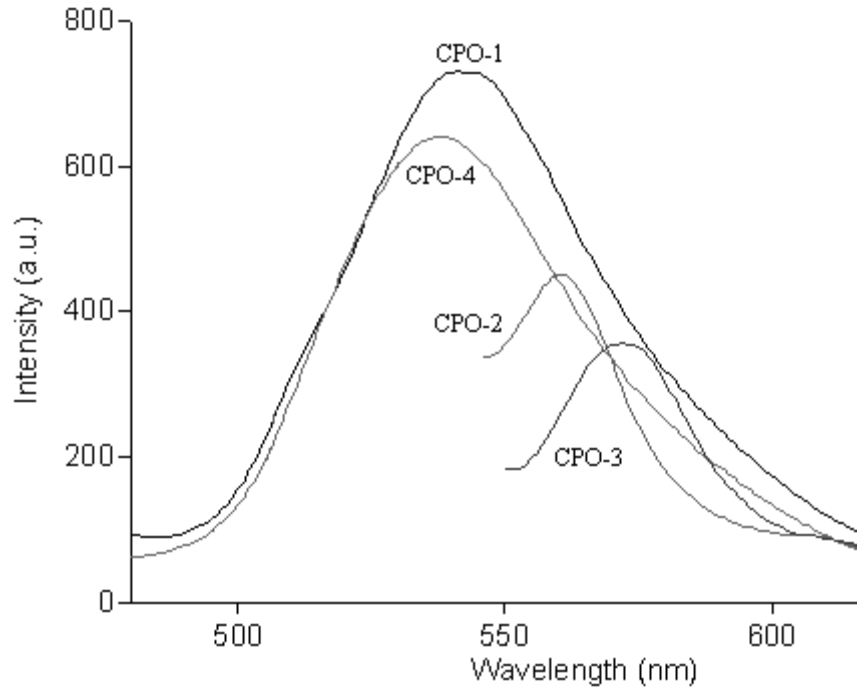
Şekil 3.61 CPO-4 türevinin THF, ACN ve DCM çözücü ortamlarındaki emisyon spektrumları



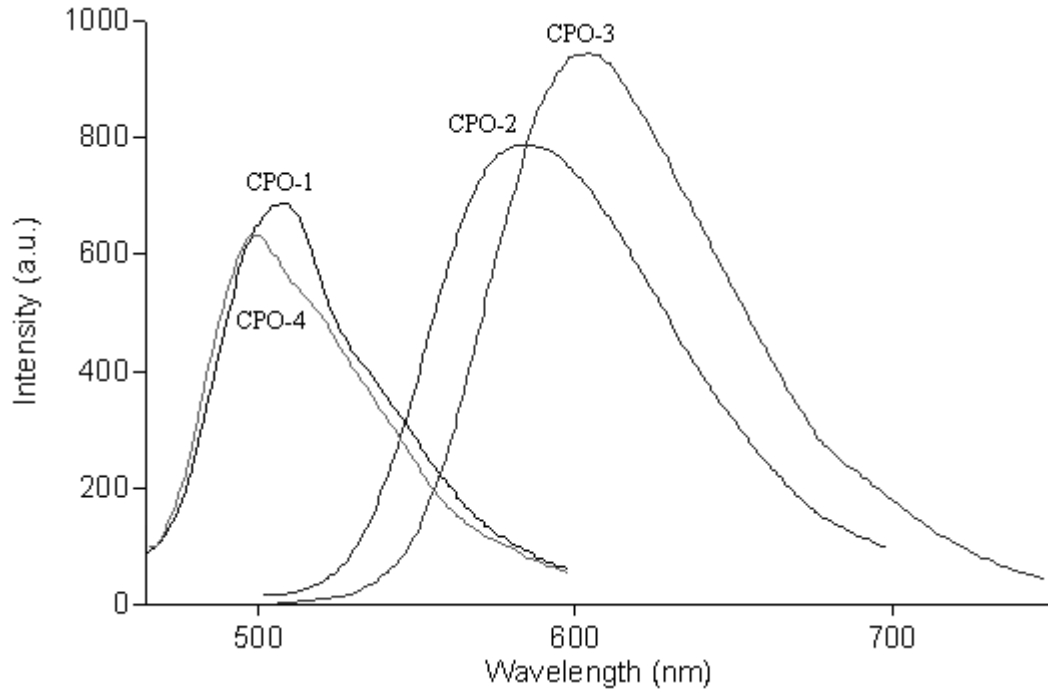
Şekil 3.62 CPO türevlerinin etil asetat çözücü ortamındaki emisyon spektrumları.



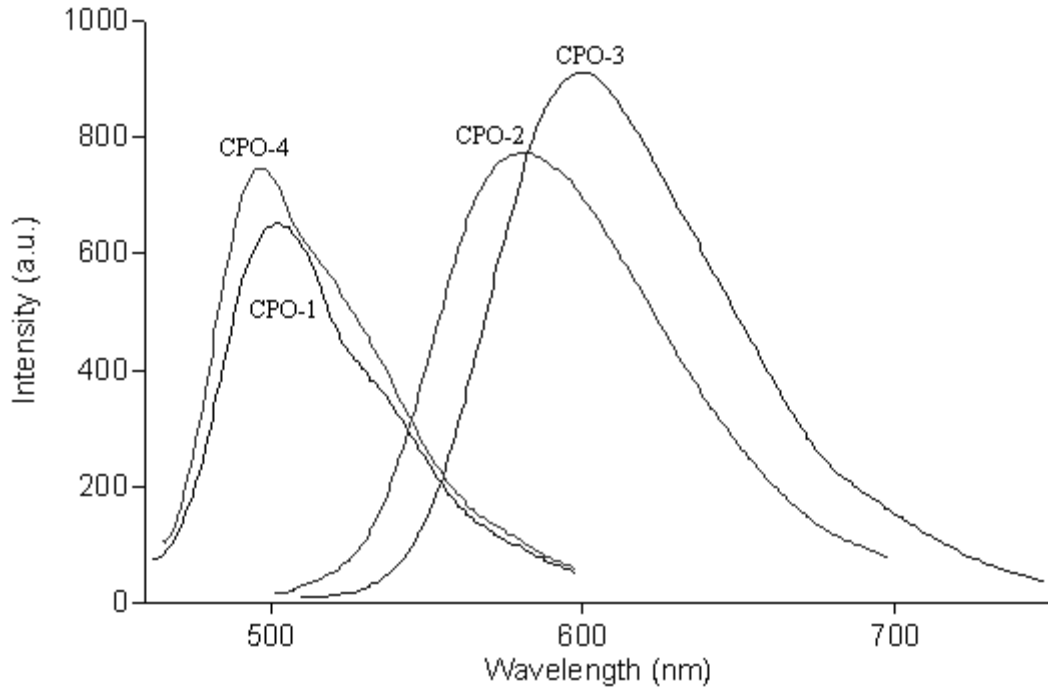
Şekil 3.63 CPO türevlerinin kloroform çözücü ortamındaki emisyon spektrumları.



Şekil 3.64 CPO türevlerinin dimetilformamid çözücü ortamındaki emisyon spektrumları.



Şekil 3.65 CPO türevlerinin toluen çözücü ortamındaki emisyon spektrumları.



Şekil 3.66 CPO türevlerinin ksilen çözücü ortamındaki emisyon spektrumları.

Çözücünün polaritesi, polar fluoroforların emisyon spektrumlarını etkilemektedir (Lakowicz, 1999). Çözücü etkilerini incelemek amacıyla her bir türeve ilişkin Stokes shift değerlerine karşı solvent orientation polarizability şekilleri oluşturulmuştur. Bu amaçla, CPO türevlerinin dimetilsülfoksit, tetrahidrofuran, toluen, kloroform, diklorometan ve asetonitril çözücü ortamlarındaki absorpsiyon ve emisyon spektrumları alındı. Solvatokromik etkilerin açıklanmasına yönelik olarak farklı teoriler geliştirilmiştir: Lippert-Mataga (Lippert, 1955; Mataga, Kaifu ve Koizumi, 1955), McRae (McRae, 1957; Liptay, 1965), Bilot-Kawski (Bilot ve Kawski, 1962; Bilot ve Kawski, 1963) ve Bakhshiev (Bakhshiev, 1964). Stokes' shift değerlerinin, $\Delta\nu$ ($\nu_{abs}-\nu_{em}$), çözücü orientational polarizabilite fonksiyonlarına, $\Delta f(\epsilon, n)$ karşı değişim grafikleri, uyarılmış ve temel haldeki dipol moment değerleri arasındaki farkı, $\Delta\mu_{ge} = (\mu_e - \mu_g)$, belirlememizi sağlamaktadır:

$$\Delta\nu = \nu_{abs} - \nu_{em} = \frac{2}{hca_0^3} (\mu_e - \mu_g)^2 \Delta f(\epsilon, n) + const.$$

$$\Delta f_{LM}(\varepsilon, n) = \frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad \text{Lippert-Mataga teorisinde,}$$

$$\Delta f_{MR}(\varepsilon, n) = \frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + 2} - \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \quad \text{McRea teorisinde,}$$

$$\Delta f_{BK}(\varepsilon, n) = \left(\frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + 2} - \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \times \frac{2n^2 + 1}{n^2 + 2} \quad \text{Bilot-Kawski teorisinde ve}$$

$$\Delta f_B(\varepsilon, n) = \left(\frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + 2} - \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \times \frac{2n^2 + 1}{n^2 + 2} + \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \quad \text{in Bakhshiev teorisinde}$$

Bu eşitliklerde yer alan :

n – çözücülerin kırınma indisini

ε - seçilen çözücülerin dielektrik sabitini

a_0 – çözücü moleküllerini çevreleyen spherical Onsager kavitesinin yarıçapını ifade etmektedir.

Elde edilen eğrilerin eğimleri (m), aşağıda verilen eşitliğe göre, uyarılmış haldeki dipol moment değeri ile ilişkilidir:

$$m = \frac{2(\mu_e - \mu_g)^2}{hca_0^3}$$

Bu nedenle, aşağıda verildiği gibi, uyarılmış ve temel hal arasındaki dipol moment değerleri hesaplanabilir:

$$\mu_e - \mu_g = 0.01\sqrt{ma_0^3},$$

Buradaki a_0 , m ve dipol moment değerleri sırasıyla; Å, cm⁻¹ ve debye ile ifade edilmektedir.

Yukarıda verilen eşitlikten de görüldüğü gibi, dipol momentte meydana gelen değişimler en çok Onsager yarıçapına bağlıdır.

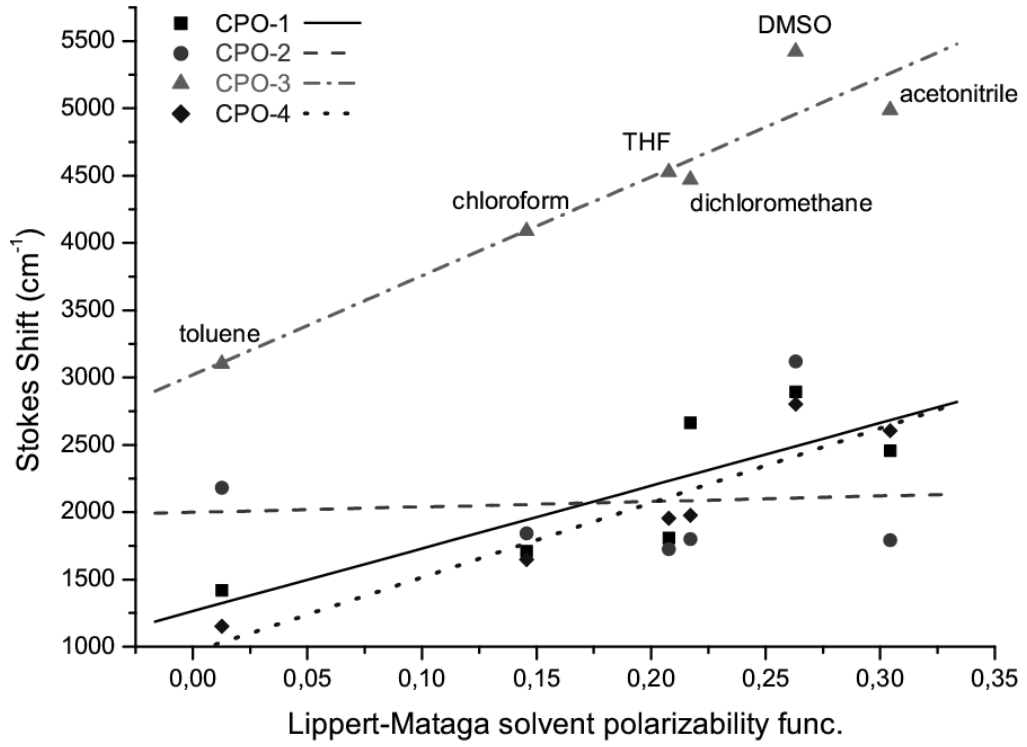
CPO türevleri ellipsoidal geometriye sahip olduklarından dolayı ve en iyi korelasyon katsayısı değerleri Bakshiev terorisine göre oluşturan eğrilerden elde edildiğinden CPO türevlerinin dipol moment değerlerinin hesaplanması için en uygun teorinin Bakshiev teorisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Tablo 3.19 CPO türevlerine ilişkin solvatokromik eğrilerin korelasyon katsayıları.

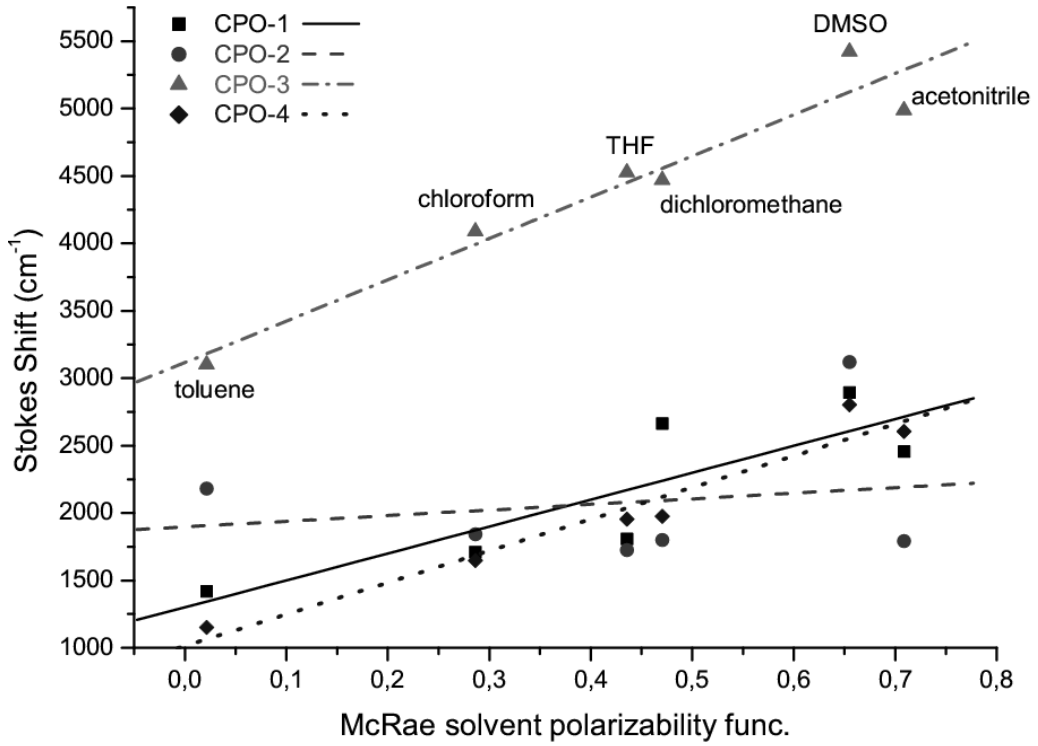
	Lippert-Mataga	McRea	Bilot-Kawski	Bakhshiev
CPO-1	0.80821	0.84798	0.86232	0.88415
CPO-2	0.07807	0.19618	0.23306	0.30414
CPO-3	0.94954	0.96681	0.97743	0.98741
CPO-4	0.93372	0.97154	0.97790	0.98697

Tablo 3.20 CPO türevlerinin farklı çözücüler içerisinde hesaplanmış Onsager yarıçapları ve temel hal ile uyarılmış hal dipol momentleri.

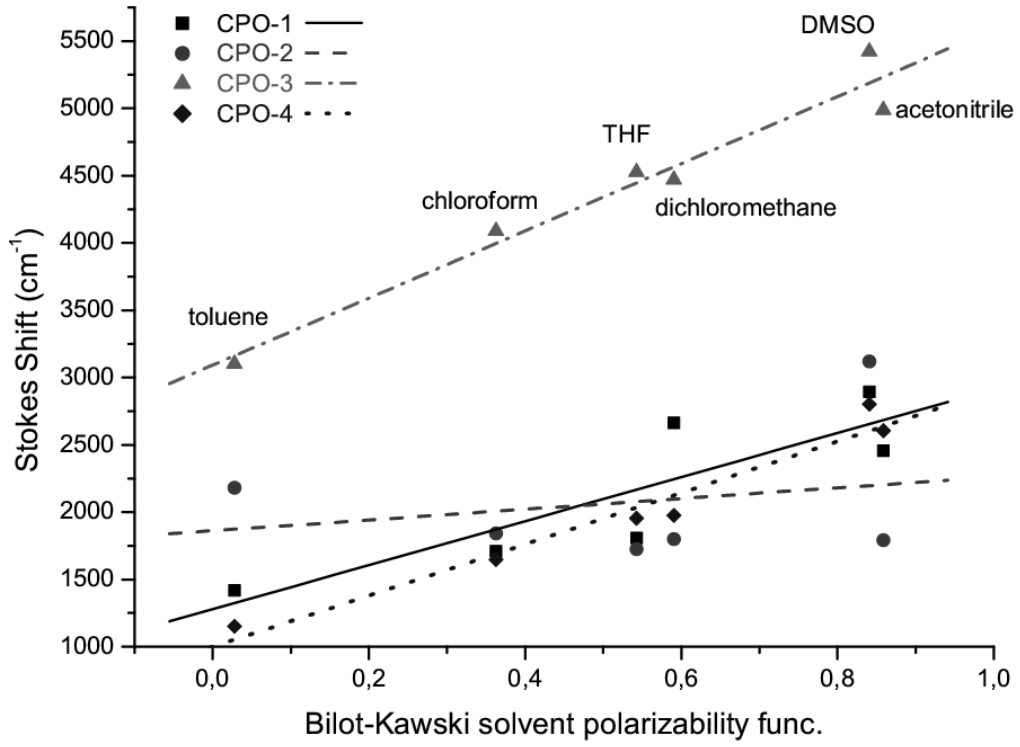
SOLVENT	CPO-1	CPO-2	CPO-3	CPO-4
Onsager Yarıçapları a (Å)				
Toluen	6.17	5.85	5.80	5.90
Kloroform	5.86	5.90	6.10	5.92
THF	6.12	5.90	6.16	6.01
Diklorometan	5.98	5.67	5.80	5.79
Asetonitril	6.03	6.02	5.67	6.20
DMSO	5.71	6.12	6.18	6.13
Temel Hal Dipol Moment Değerleri μ_g (debye)				
Toluen	4.864	7.799	7.257	4.694
Kloroform	5.165	8.065	7.574	4.981
THF	5.277	8.156	7.714	5.089
Diklorometan	5.319	8.176	7.760	5.132
Asetonitril	5.486	8.308	7.934	5.289
DMSO	5.485	8.319	7.924	5.286
$\Delta\mu = \mu_e - \mu_g$ (Bakhshiev polarizability fonksiyonuna göre)				
Toluen	6.443	3.317	7.200	6.455
Kloroform	5.964	3.359	7.766	6.488
THF	6.365	3.359	7.881	6.636
Diklorometan	6.148	3.165	7.200	6.275
Asetonitril	6.225	3.462	6.959	6.954
DMSO	5.736	3.549	7.919	6.836
Uyarılmış Hal Dipol Moment Değerleri μ_e (debye)				
Toluen	11.307	11.116	14.457	11.149
Kloroform	11.129	11.425	15.340	11.469
THF	11.642	11.516	15.595	11.725
Diklorometan	11.468	11.341	14.959	11.408
Asetonitril	11.712	11.771	14.893	12.243
DMSO	11.222	11.868	15.842	12.122



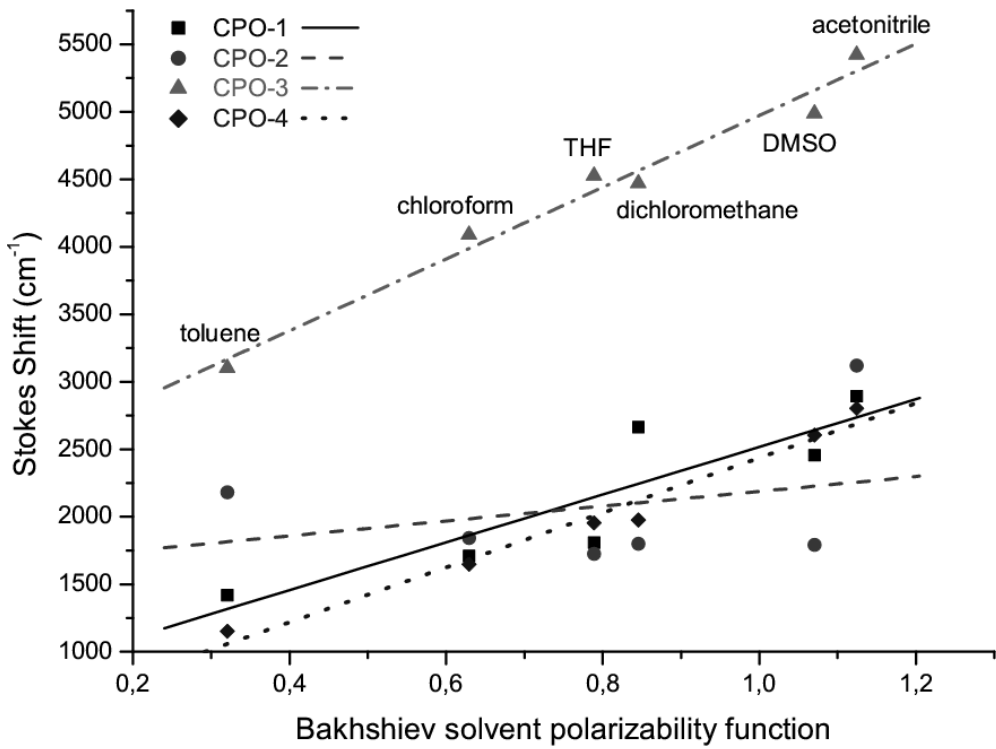
Şekil 3.67 CPO türevlerinin farklı çözücüler içerisindeki Stokes shift değerlerine karşı Lippert-Mataga orientational polarizabilite fonksiyonları.



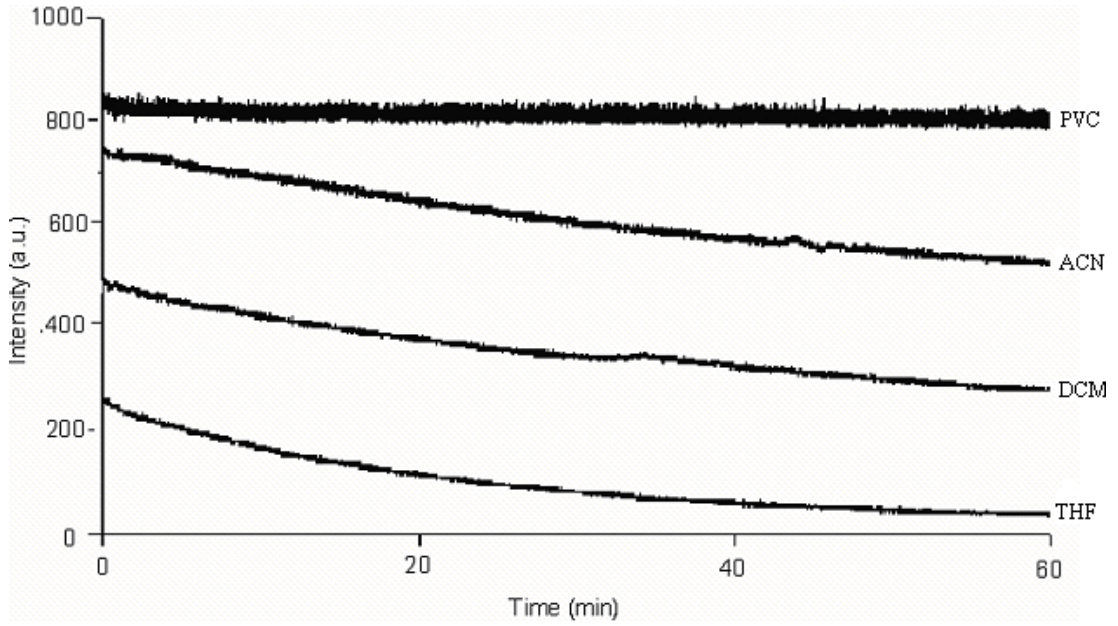
Şekil 3.68 CPO türevlerinin farklı çözücüler içerisindeki Stokes shift değerlerine karşı McRae orientational polarizabilite fonksiyonları.



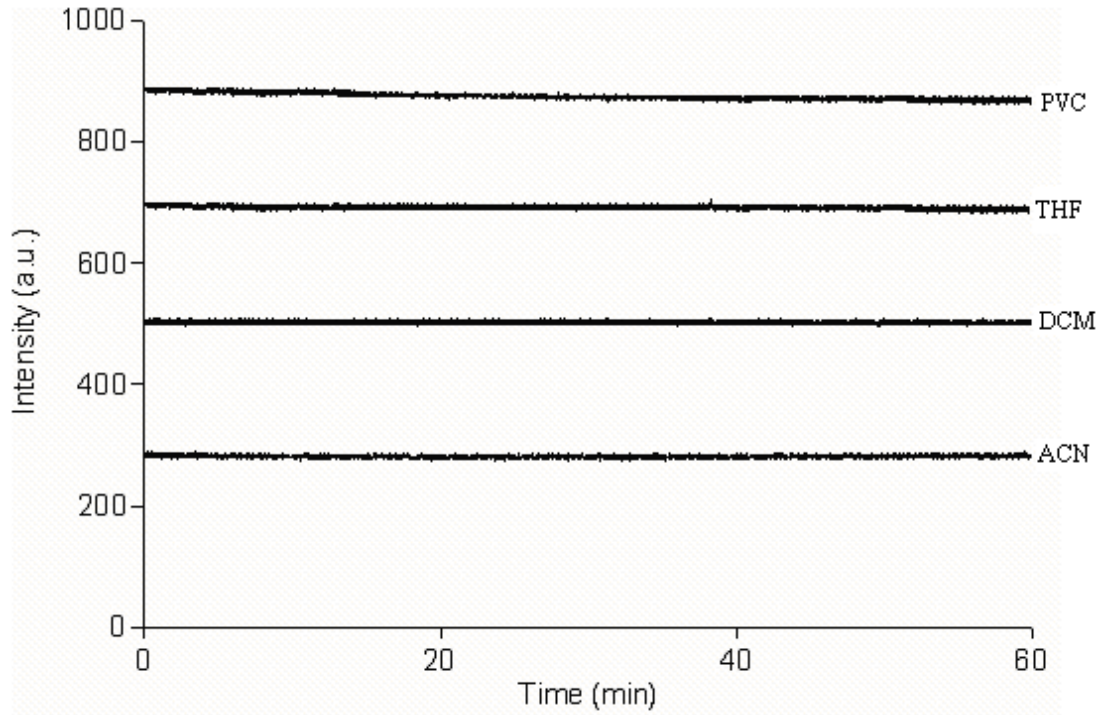
Şekil 3.69 CPO türevlerinin farklı çözücüler içerisindeki Stokes shift değerlerine karşı Bilot-Kawski orientational polarizabilite fonksiyonları.



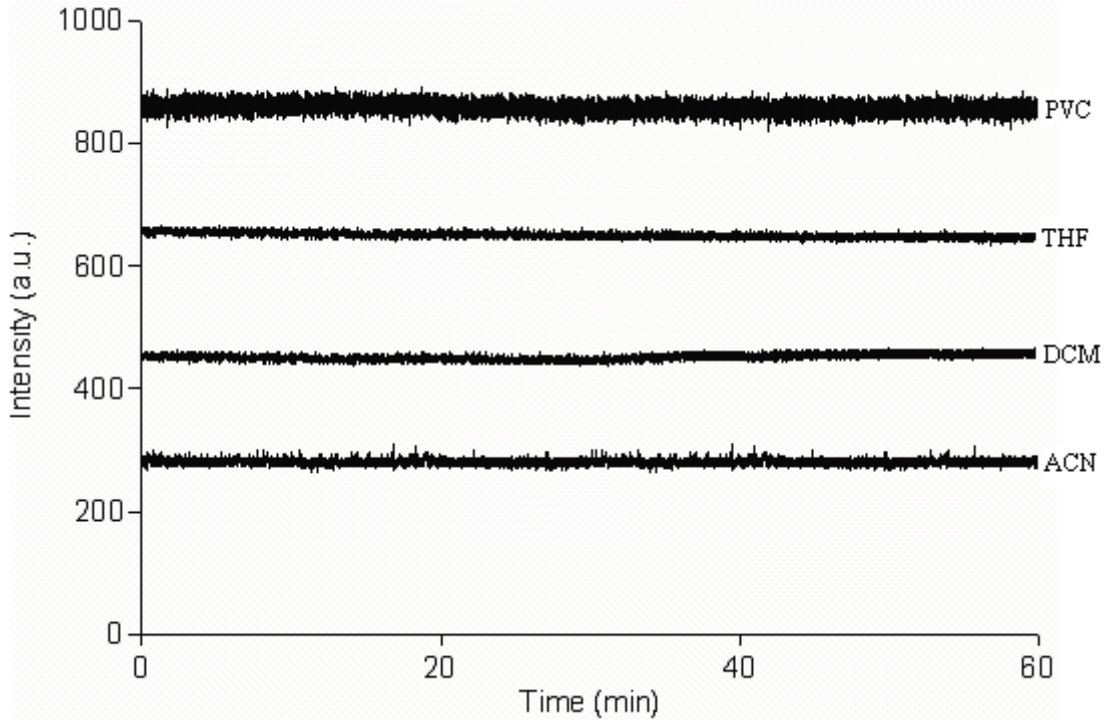
Şekil 3.70 CPO türevlerinin farklı çözücüler içerisindeki Stokes shift değerlerine karşı Bakshiev orientational polarizabilite fonksiyonları.



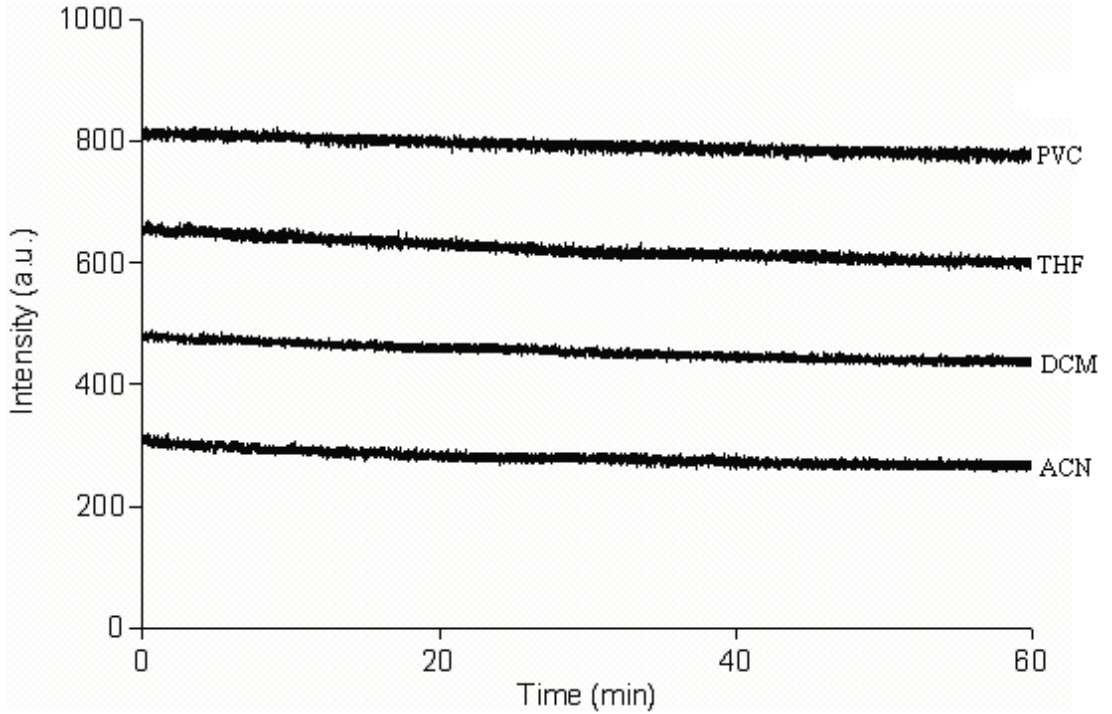
Şekil 3.71 CPO-1 türevinin PVC, THF, DCM ve ACN ortamlarında 1 saatlik ışılama sonucunda elde edilen fotokararlılığı.



Şekil 3.72 CPO-2 türevinin a) PVC, b) THF, c) DCM ve d) ACN ortamlarında 1 saatlik ışılama sonucunda elde edilen fotokararlılığı



Şekil 3.73 CPO-3 türevinin a) PVC, b) THF, c) DCM ve d) ACN ortamlarında 1 saatlik ışınlama sonucunda elde edilen fotokararlılığı.

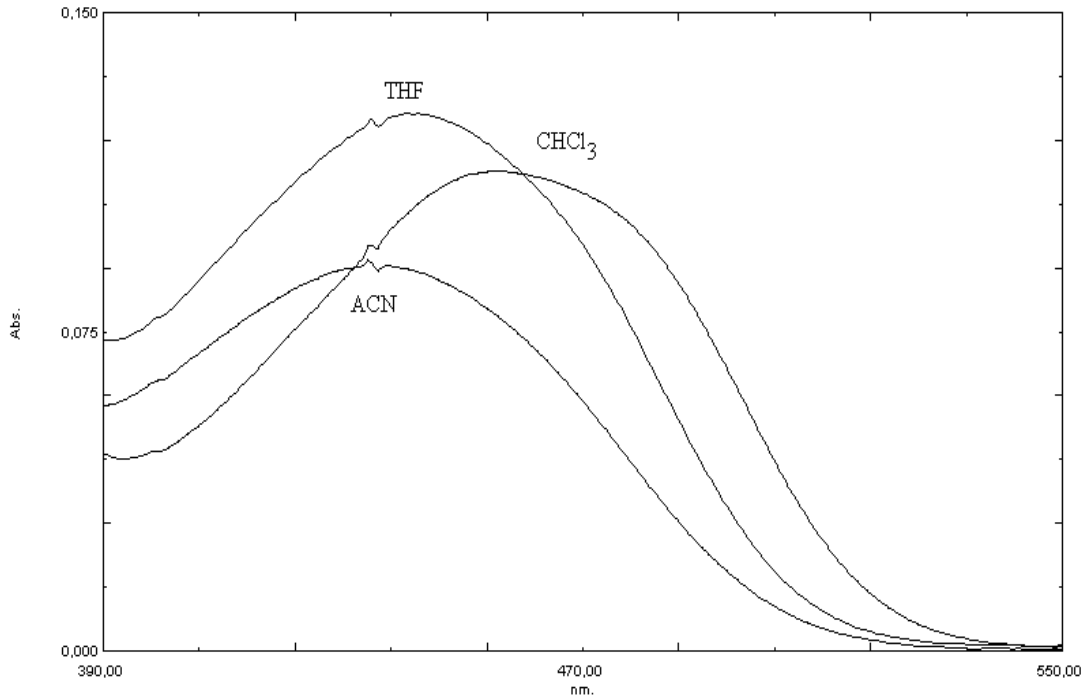


Şekil 3.74 CPO-4 türevinin a) PVC, b) THF, c) DCM ve d) ACN ortamlarında 1 saatlik ışınlama sonucunda elde edilen fotokararlılığı.

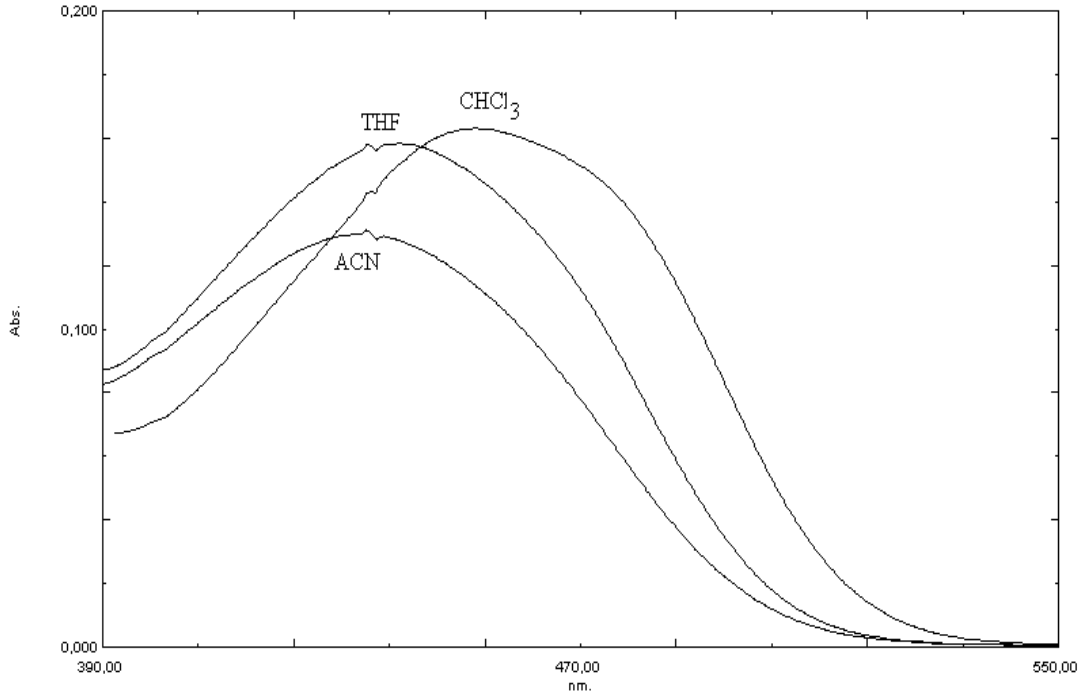
3.2.2 Antraliden Esaslı Azlaktan Türevlerinin UV-vis ve Emisyon Çalışmaları

Tablo 3.21 ANO-1, ANO-2 ve ANO-3 türevlerinin UV-vis ve emisyon değerleri

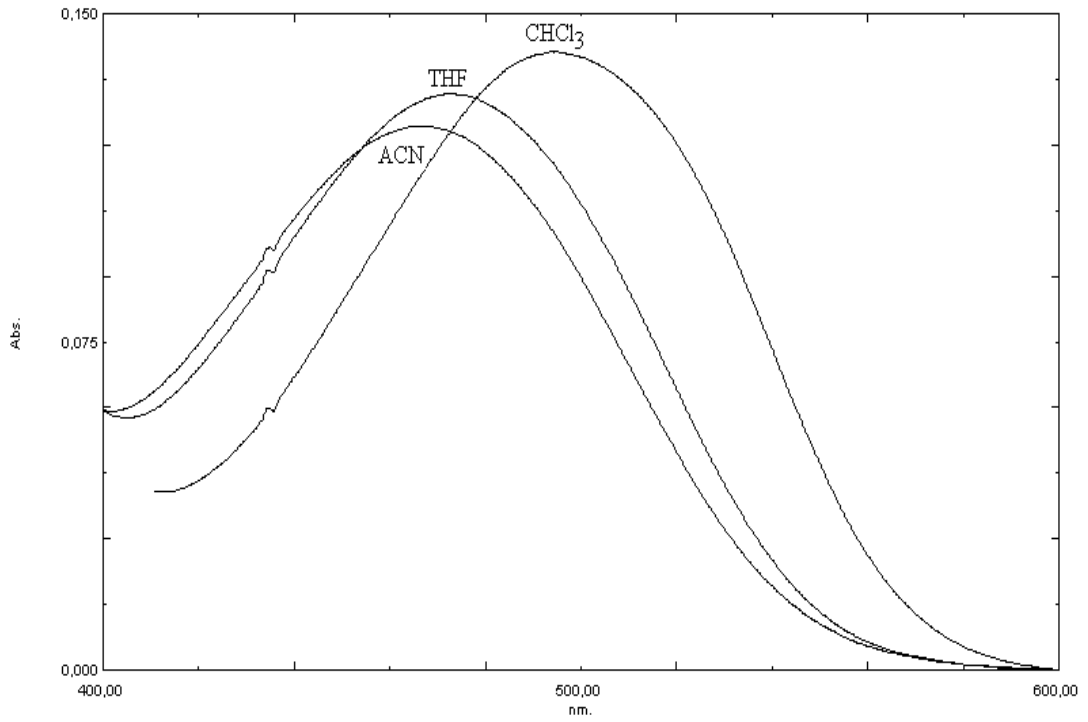
		$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$	$\lambda_{\text{emis}}^{\text{max}}$	$\Delta\lambda$	ϵ
ANO-1	ACN	436	540	104	13788
	THF	442	517	75	16212
	CHCl ₃	456	518	62	16970
ANO-2	ACN	433	540	107	11818
	THF	440	515	75	14364
	CHCl ₃	453	521	68	14818
ANO-3	ACN	467	547	80	8158
	THF	474	620	146	8618
	CHCl ₃	495	614	119	9276



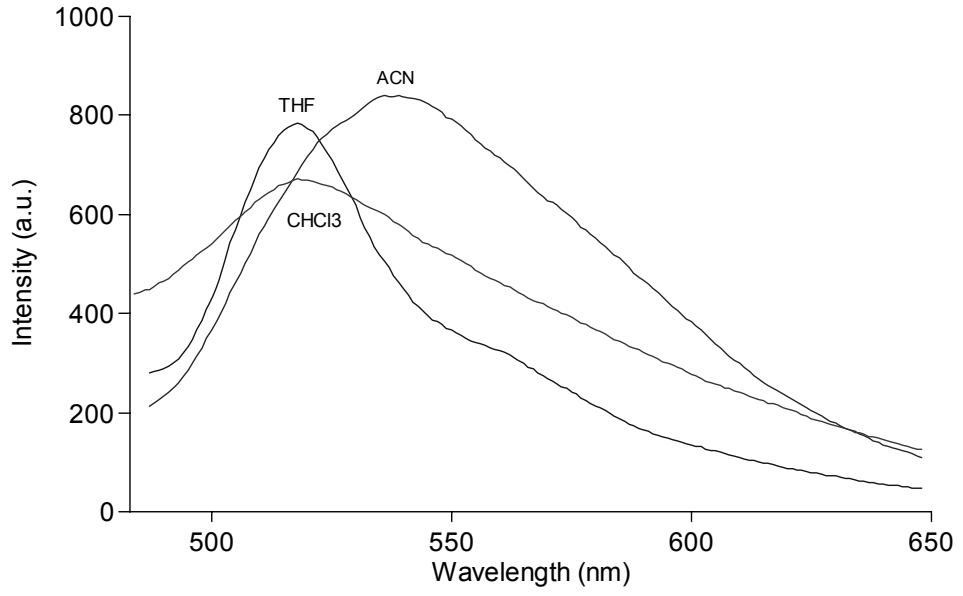
Şekil 3.75 ANO-1 türevinin THF, ACN ve CHCl₃ çözücü ortamlarındaki absorpsiyon spektrumları.



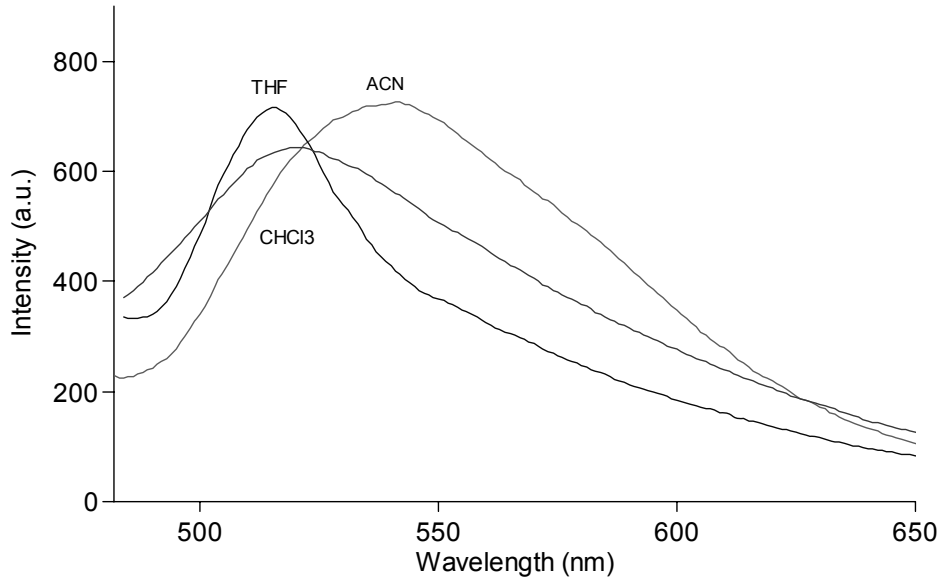
Şekil 3.76 ANO-2 türevinin THF, ACN ve CHCl₃ çözücü ortamlarındaki absorpsiyon spektrumları.



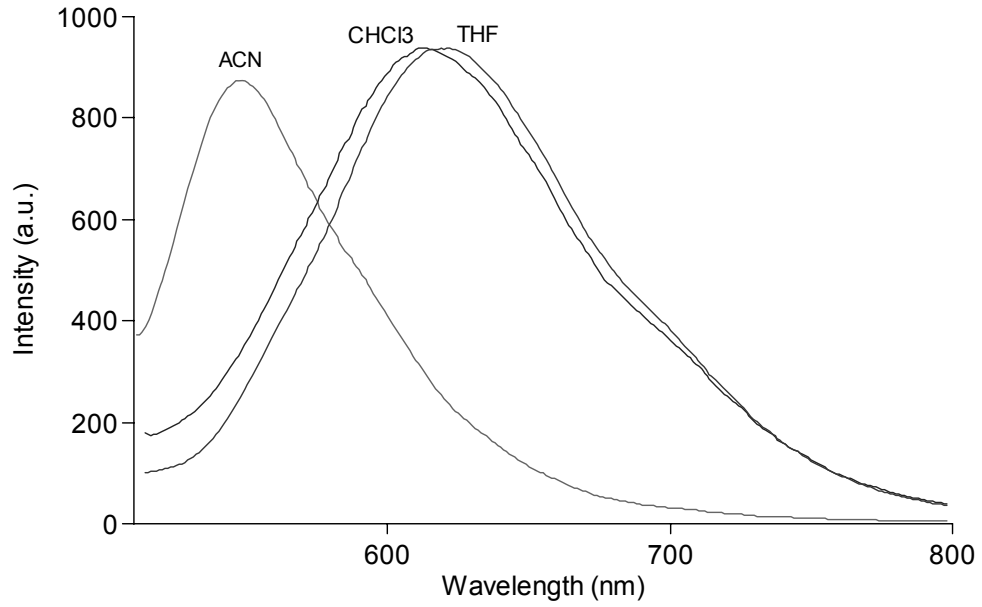
Şekil 3.77 ANO-3 türevinin THF, ACN ve CHCl₃ çözücü ortamlarındaki absorpsiyon spektrumları.



Şekil 3.78 ANO-1 türevinin THF, ACN ve CHCl₃ çözücü ortamlarındaki emisyon spektrumları.



Şekil 3.79 ANO-2 türevinin THF, ACN ve CHCl₃ çözücü ortamlarındaki emisyon spektrumları.

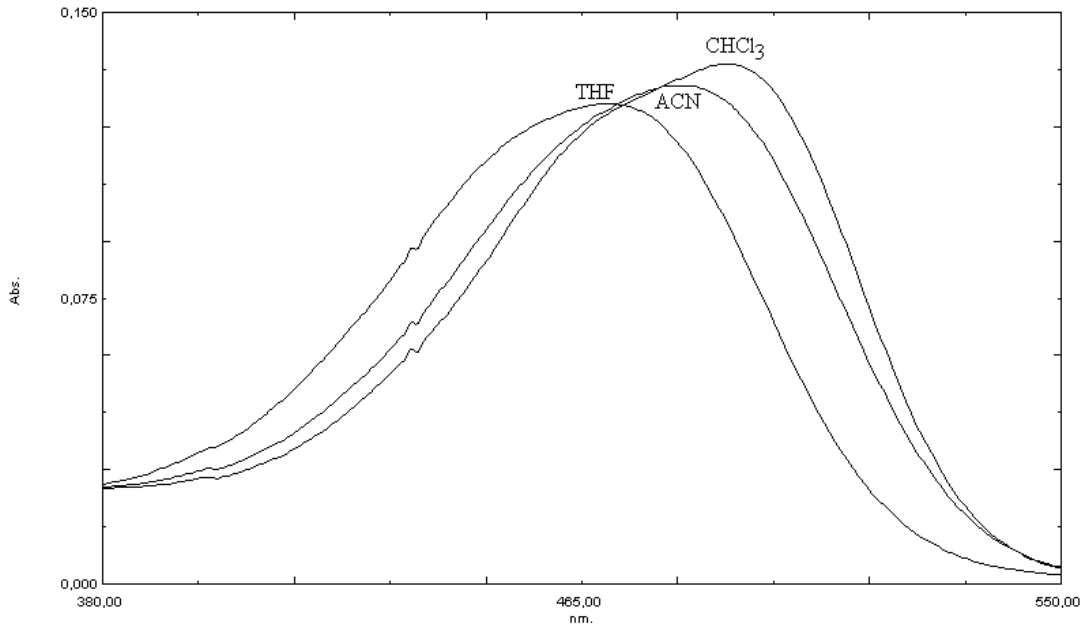


Şekil 3.80 ANO-3 türevinin THF, ACN ve CHCl_3 çözücü ortamlarındaki emisyon spektrumları.

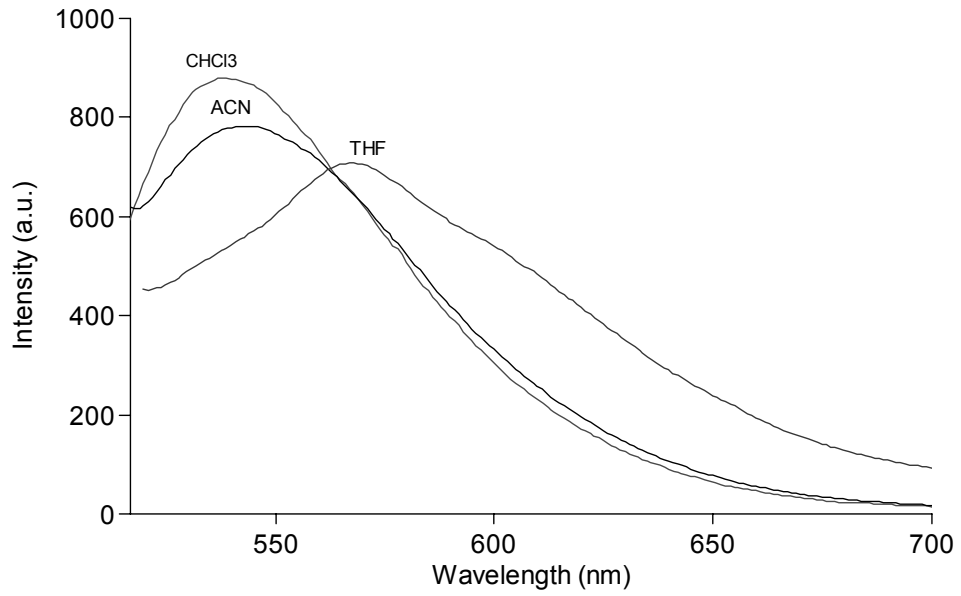
3.2.3. 4-[(9-bütil-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) Türevinin UV-vis ve Emisyon Çalışmaları

Tablo 3.22 4-[(9-bütil-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) türevinin UV-vis ve emisyon değerleri.

	λ_{abs}	λ_{emis}	$\Delta\lambda$	ϵ
ACN	483	543	60	65500
THF	469	568	99	63000
CHCl_3	491	538	47	68500



Şekil 3.81 4-[(9-bütül-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) türevinin THF, ACN ve CHCl₃ çözücü ortamlarındaki absorpsiyon spektrumları.



Şekil 3.82 4-[(9-bütül-6-{{2-(3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,3-oksazol-4(5H)-liden}metil}-9H-karbazol-3-il)metilen]-2-(3,5-dinitrofenil)-1,3-oksazol-5(4H)-on (CRO) türevinin THF, ACN ve CHCl₃ çözücü ortamlarındaki emisyon spektrumları.

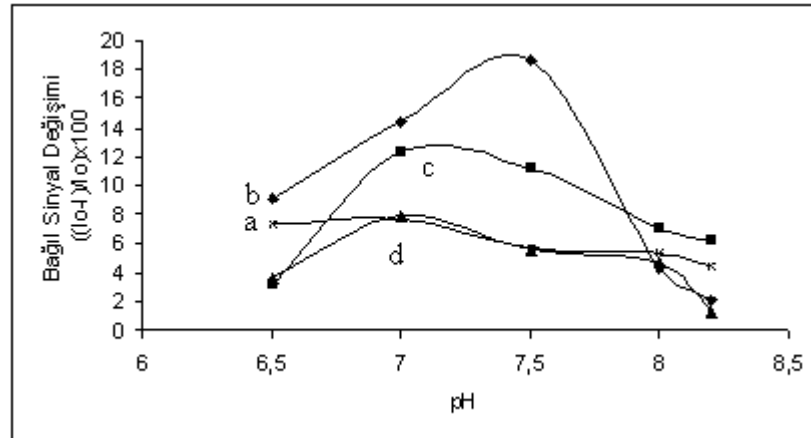
3.3 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Sensör Uygulamaları

3.3.1 N-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Asetilkolin klorür (ACh) ve Donepezil Tayinine Yönelik Sensör Uygulamaları

3.3.1.1 Biyosensörün Optimizasyonu

3.3.1.1.1 pH etkisi

Tampon çözeltisinin pH ının sensör sistemlerinin yanıtı üzerindeki etkileri pH 6.5 - 8.2 aralığında 2.5 mM fosfat tamponlarında (pH 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.2) ve CPO-1 için 13.32×10^{-5} M, CPO-3 için 66.23×10^{-5} M ACh varlığında ve CPO-2 ve CPO-4 için ise 8.33×10^{-5} M ACh substratı içeren tamponlarda incelenmiştir.

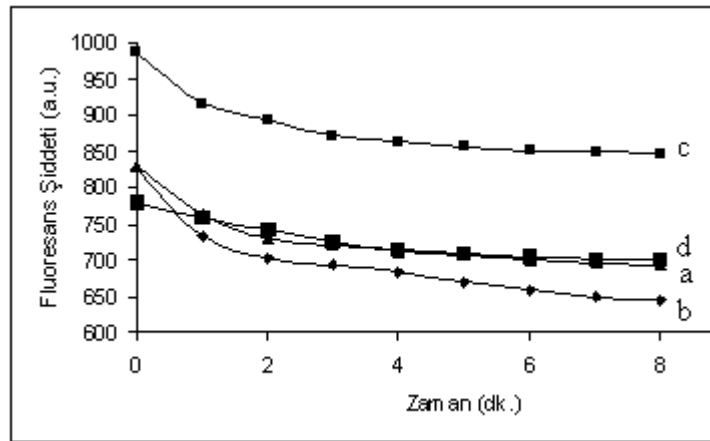


Şekil 3.83 a) CPO-1, b) CPO-2, c) CPO-3 ve d) CPO-4 türevlerinin PVCde (2×10^{-6} mol CPO / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 2.5 mM fosfat tamponu, pH 6.5 - 8.2 aralığında floresans şiddetlerinin pH a bağlılığı; I_0 değeri 2.5 mM fosfat tamponu (pH 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.2) varlığında ölçülen floresans şiddeti ve I değeri de CPO-1 için 13.32×10^{-5} M, CPO-3 için 66.23×10^{-5} M ACh varlığında ve CPO-2 ve CPO-4 için ise 8.33×10^{-5} M ACh içeren tamponlar varlığında ölçülen floresans şiddetlerine karşılık gelmektedir.

Her bir pH değerindeki sinyal değişimi, $((I_0 - I) / I_0) \times 100$ ifadesi kullanılarak değerlendirilmiştir; I_0 değeri 2.5 mM fosfat tamponu (pH 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.2) varlığında ölçülen fluoresans şiddeti ve I değeri de ACh içeren tamponlar varlığında ölçülen fluoresans şiddetlerine karşılık gelmektedir (Şekil 3.87). Elde edilen sonuçlara göre CPO-1, CPO-3 ve CPO-4 için pH 7.0 ve CPO-2 için pH 7.5 seçilmiştir. pH değişiminden kaynaklanan sinyal salınımlarını önlemek için tüm spektroskopik veriler tamponlanmış ortamlarda alınmıştır.

3.3.1.1.2 Yanıt Süresi

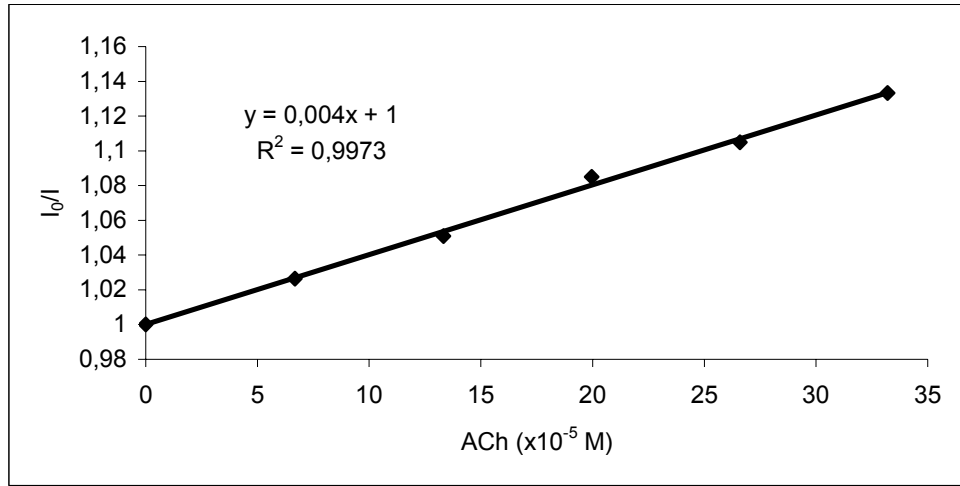
Sensör membranlarının yanıt süresi, CPO-1, CPO-3 ve CPO-4 için 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponlarında, ve CPO-2 için 2.5 mM, pH 7.5 fosfat tamponunda CPO-1 için 13.32×10^{-5} M, CPO-3 için 66.23×10^{-5} M ACh eklendikten sonra ve CPO-2 ve CPO-4 için ise 8.33×10^{-5} M ACh eklendikten sonra incelenmiştir (Şekil 3.88). Tüm CPO türevleri için de fluoresans şiddetinde substratın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan maksimum değişim 4 dakika sonucunda elde edildiğinden sensör sistemlerine ilişkin optimum yanıt süresi 4 dakika olarak seçilmiştir.



Şekil 3.84 a) CPO-1, b) CPO-2, c) CPO-3 ve d) CPO-4 türevlerinin PVC matrisinde (2×10^{-6} mol CPO / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) CPO-1, CPO-3 ve CPO-4 için 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponlarında, ve CPO-2 için 2.5 mM, pH 7.5 fosfat tamponunda, CPO-1 için 13.32×10^{-5} M, CPO-3 için 66.23×10^{-5} M ACh ekledikten sonra ve CPO-2 ve CPO-4 için ise 8.33×10^{-5} M ACh ekledikten sonra fluoresans şiddetinde oluşan azalma.

3.3.1.2 ACh Yanıtı

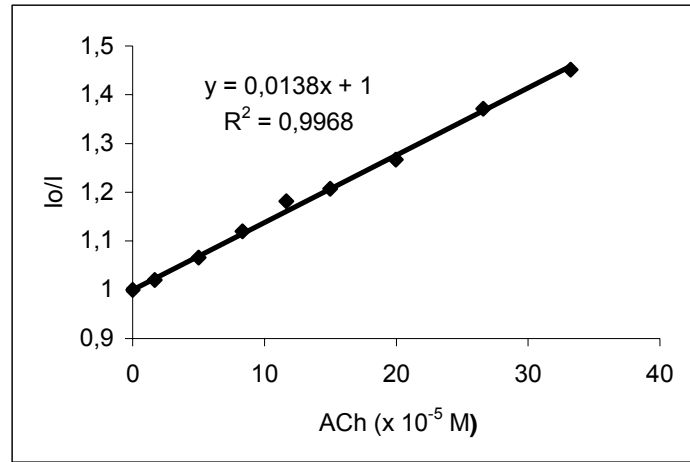
CPO-1 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi)'de 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda, $6.67 - 33.2 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında ACh'e yanıtı Şekil 3.89 de verilmiştir.



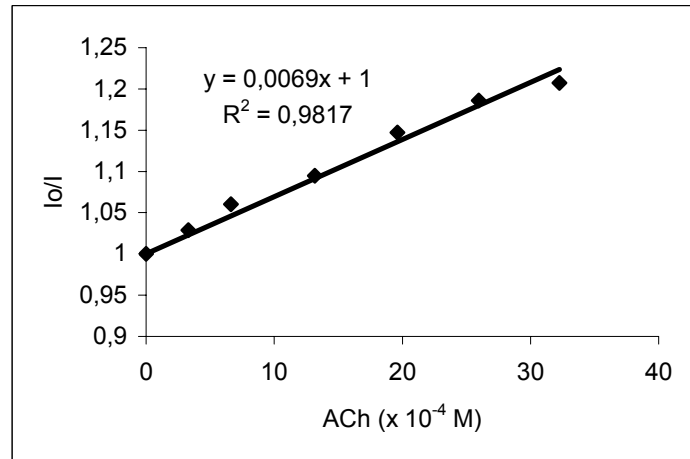
Şekil 3.85 CPO-1 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) de 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda $6.67 - 33.2 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında ACh'e yanıtı.

$1.67 - 33.22 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında CPO-2 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) ortamında 2.5 mM pH 7.5 fosfat tamponundaki yanıtı Şekil 3.90 de verilmiştir.

CPO-3 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-3 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) de 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda ACh için doğrusal yanıt aralığı $3.30 - 32.26 \times 10^{-4}$ M dır (Şekil 3.91).

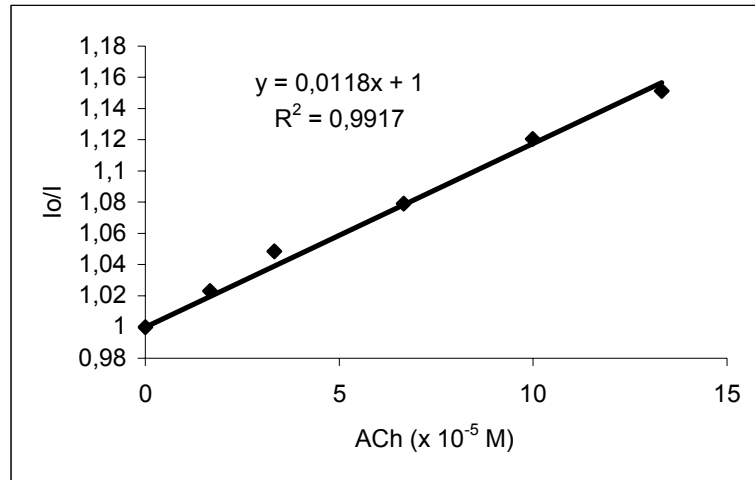


Şekil 3.86 CPO-2 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-2 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) de 2.5 mM pH 7.5 fosfat tamponunda $6.67 - 33.2 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında ACh'e yanıtı.



Şekil 3.87 CPO-3 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-3 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) de 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda $3.30 - 32.26 \times 10^{-4}$ M derişim aralığında ACh'e yanıtı.

CPO-4 türevi, PVC de(2×10^{-6} mol CPO-4 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda ACh için $1.67 - 13.32 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında doğrusal yanıt vermiştir (Şekil 3.92).



Şekil 3.88 CPO-4 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-4/ kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) de 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda 1.67 – 13.32 10^{-5} M derişim aralığında ACh'e yanıtı.

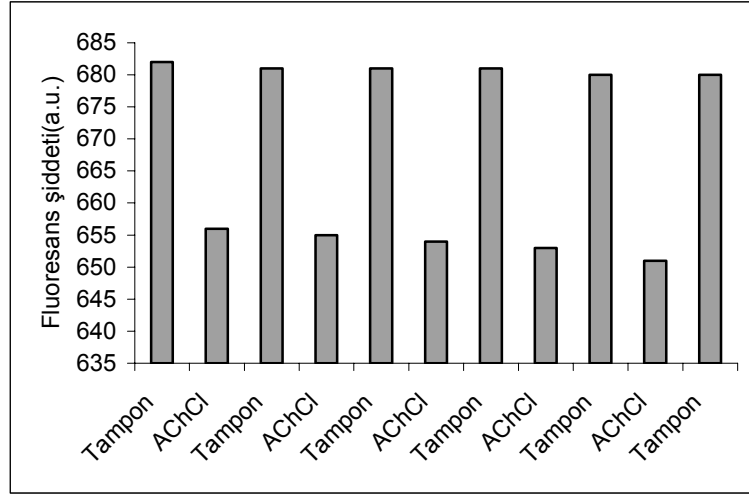
ACh için belirtme alt sınırı, kör sinyalin ortalaması ± 3 standart sapmaya eşit olduğu sinyale karşılık gelen derişim olarak tanımlanmıştır (n=5). Belirtme alt sınırı, CPO-1 için 4.3×10^{-5} M, CPO-2 için 1.01×10^{-5} M, CPO-3 için 1.91×10^{-4} M ve CPO-4 için 1.23×10^{-5} M olarak hesaplanmıştır.

3.3.1.3 Tekrarlanabilirlik ve Tersinirlik

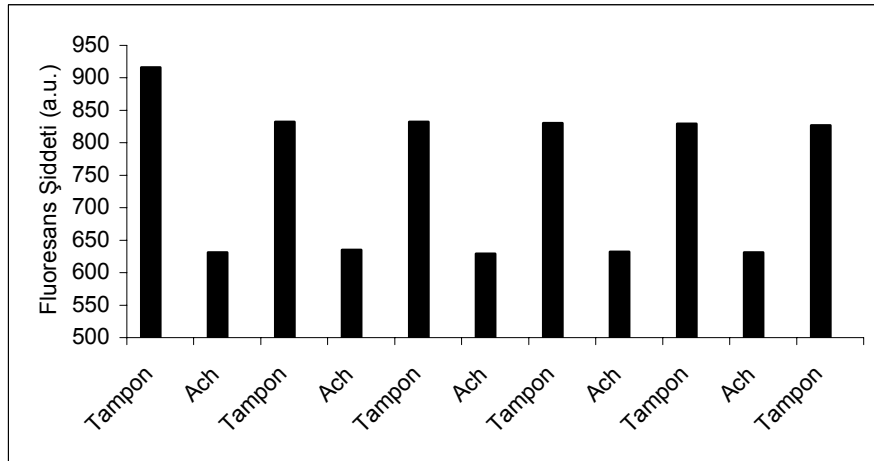
Her bir sensöre ilişkin tersinirlik ve tekrarlanabilirlik, PVC filmlerinin CPO-1 için 33.2×10^{-5} M, CPO-2 için 33.22×10^{-5} M, CPO-3 için 32.26×10^{-4} M ve CPO-4 için 13.32×10^{-5} M ACh derişimlerine maruz bırakılması ile belirlenmiştir. Her ölçümden sonra sensör filmleri, 2.5 mM fosfat tamponu ile rejenere edilmişlerdir.

CPO-1 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinden, % 0.15 lik düşüş elde edilmiştir (Şekil 3.93). Sonraki ikinci ve üçüncü döngülerde daha fazla düşüşlerle karşılaşmamıştır. Dördüncü döngüden sonra ise boyar maddenin fluoresans şiddetinin yaklaşık olarak % 0.29 düştüğü gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar sensör filmlerinin tersinirliğinin yeterli olduğunu göstermektedir. İlk ve beşinci

döngüler arasındaki tekrarlanabilirlik değeri % 0.3 bağıl standart sapma olarak hesaplanmıştır.



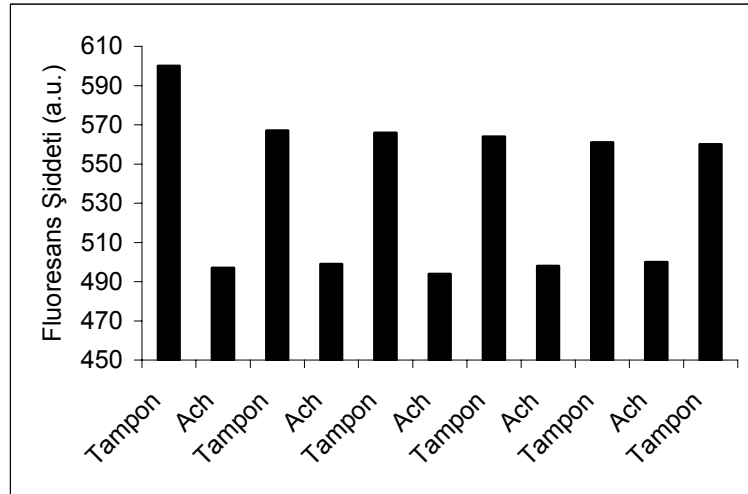
Şekil 3.89 CPO-1 türevinin 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda PVC de (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) 33.2×10^{-5} M ACh için tekrarlanabilirliği (n=5)



Şekil 3.90 CPO-2 türevinin 2.5 mM pH 7.5 fosfat tamponunda PVC de (2×10^{-6} mol CPO-2 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) 33.22×10^{-5} M ACh için tekrarlanabilirliği (n=5).

CPO-2 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinden, % 9.2 lik düşüş elde edilmiştir (Şekil 3.94). Sonraki ikinci ve üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde sırayla % 9.4, % 9.5, % 9.7 ve % 9.8 düşüşlerle karşılaşılmamıştır. Elde edilen bu sonuçlar sensör filmlerinin tersinirliğinin yeterli olduğunu göstermektedir. İlk ve beşinci döngüler arasındaki tekrarlanabilirlik değeri % 0.4 bağıl standart sapma olarak hesaplanmıştır.

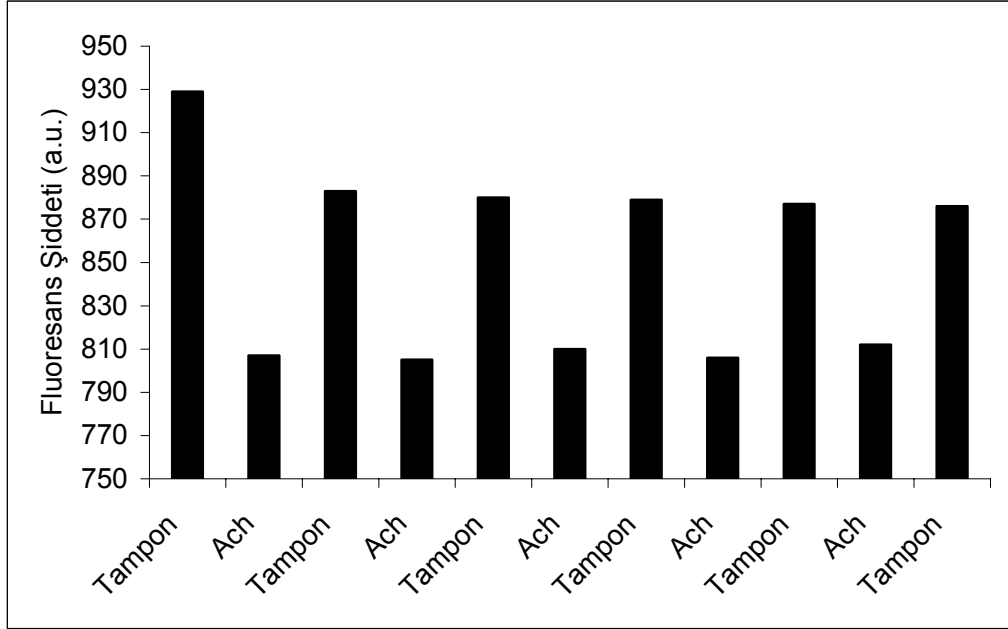
CPO-3 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinden, % 5.5 lik düşüş elde edilmiştir (Şekil 3.95). Sonraki ikinci ve üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde sırayla % 5.7, % 6.0, % 6.5 ve % 6.7 düşüşlerle karşılaşılmamıştır. Elde edilen bu sonuçlar sensör filmlerinin tersinirliğinin yeterli olduğunu göstermektedir. İlk ve beşinci döngüler arasındaki tekrarlanabilirlik değeri % 0.4 bağıl standart sapma olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.91 CPO-3 türevinin 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda PVC de (2×10^{-6} mol CPO-3 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) 32.26×10^{-4} M ACh için tekrarlanabilirliği (n=5).

CPO-4 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinden, % 4.9 luk düşüş elde edilmiştir (Şekil 3.96). Sonraki ikinci ve üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde sırayla % 5.3, % 5.4, % 5.6 ve % 5.7 düşüşlerle karşılaşılmamıştır. Elde edilen bu

sonuçlar sensör filmlerinin tersinirliğinin yeterli olduğunu göstermektedir. İlk ve beşinci döngüler arasındaki tekrarlanabilirlik değeri % 0.4 bağıl standart sapma olarak hesaplanmıştır.

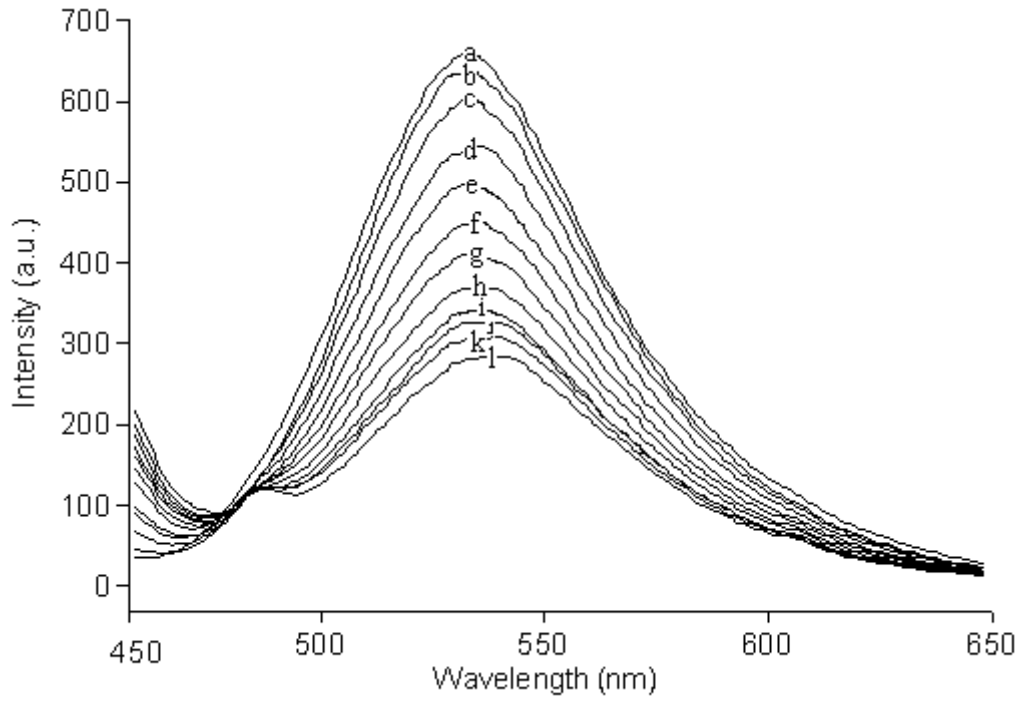


Şekil 3.92 CPO-4 türevinin 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda PVC de (2×10^{-6} mol CPO-4 / kg PVC, 4 birim AChE aktivitesi) 13.32×10^{-5} M ACh için tekrarlanabilirliği ($n=5$).

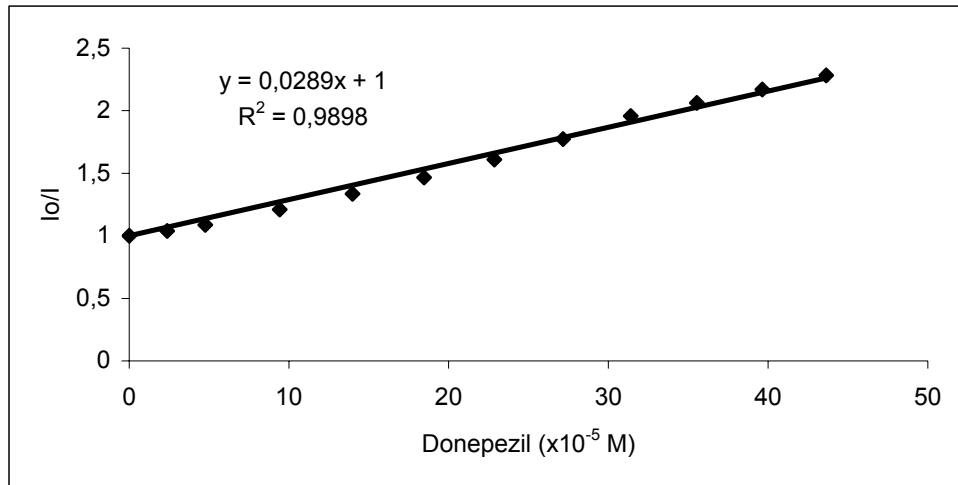
3.3.1.4 AChE inhibitörü; Donepezil'e Yanıtı

Donepezil, enzim aktivitesinin inhibisyonuna yol atığından, fluoresans şiddetinde azalma gözlenmiştir. İnhibisyon düzeylerinin donepezil derişimleri ile doğrusal oldukları gözlenmiştir.

Şekil 3.97 de CPO-1' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi), 33.2×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında 2.35×10^{-5} – 43.63×10^{-5} M donepezil derişim aralığındaki emisyon spektrumu verilmektedir. Ayrıca, CPO-1 in fluoresans şiddeti esaslı yanıt eğrisi Şekil 3.98 de verilmiştir.



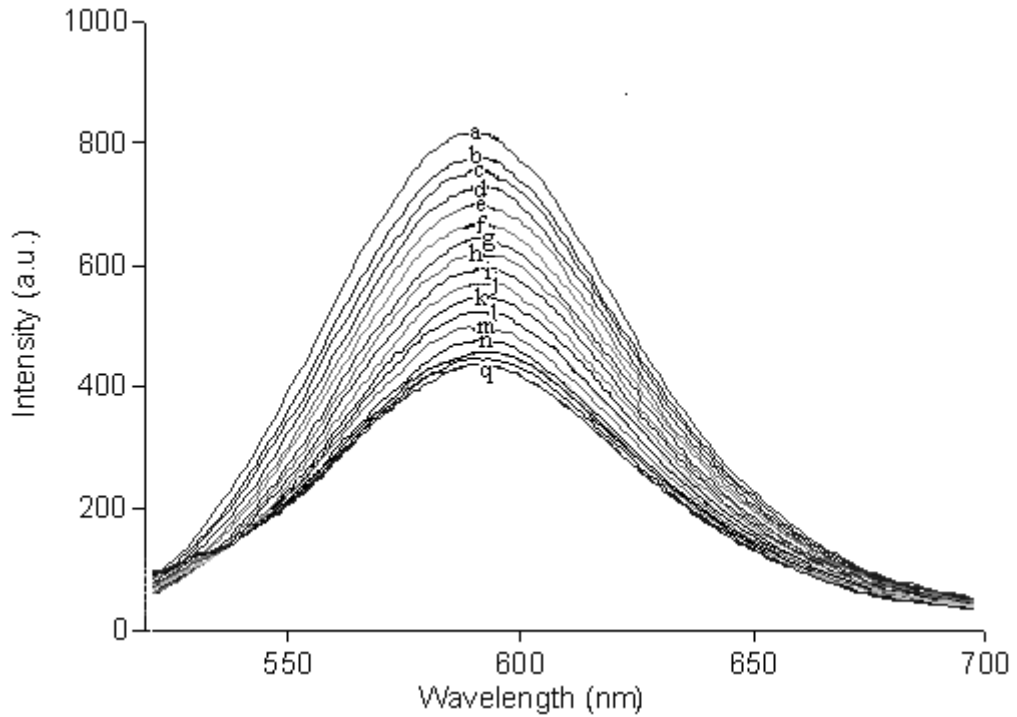
Şekil 3.93 CPO-1' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 33.2×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında (a) 0, (b) 2.38, (c) 4.75, (d)9.41, (e) 13.98, (f) 18.46 (g) 22.85, (h) 27.16, (i) 31.40, (j) 35.55, (k) 39.63, (l) 43.63 $\times 10^{-5}$ M donepezil derişimlerdeki emisyon spektrumu.



Şekil 3.94 CPO-1' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 33.2×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında 2.35×10^{-5} – 43.63×10^{-5} M donepezil derişim aralğı için fluoresans şiddeti esaslı yanıt eğrisi.

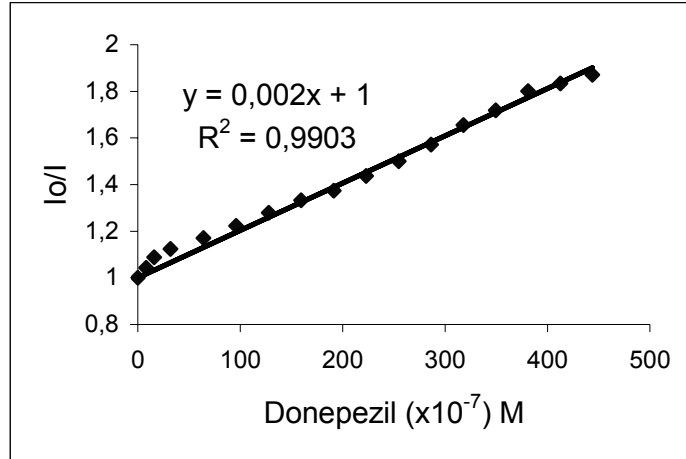
CPO-1 türevinin donepezile yanıtına ilişkin tekrarlanabilirlik ve tersinirlik denemeleri PVC (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi), 33.2×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında 9.41×10^{-5} M donepezil derişiminde yapılmıştır. CPO-1 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinin, % 1.3 lik düşüş elde edilmiştir. Sonraki ikinci ve üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde sırayla % 4.2, % 4.9, % 5.7 ve % 6.1 düşüşlerle karşılaşılmaştır. Her ölçümden sonra sensör filmleri 2.5 mM at pH 7.0 fosfat tamponu ile rejenere edilmişlerdir. Bağıl standart sapma değeri beş ölçüm için % 1.5 olarak hesaplanmıştır.

Şekil 3.99 de CPO-2 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-2 / kg PVC, 4 unit AChE activity), 33.2×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.5 tamponu ortamında $7.99 - 443.86 \times 10^{-7}$ M donepezil derişim aralığındaki emisyon spektrumu verilmektedir.



Şekil 3.95 CPO-2' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-2/ kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 33.2×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.5 tamponu ortamında (a) 0, (b) 7.99, (c) 15.99, (d) 31.98, (e) 63.91, (f) 95.81 (g) 127.66, (h) 159.47, (i) 191.24, (j) 222.96, (k) 254.64, (l) 286.28, (m) 317.88, (n) 349.44, (o) 380.95, (p) 412.41 ve (q) 443.86×10^{-7} M donepezil derişimlerindeki emisyon spektrumu.

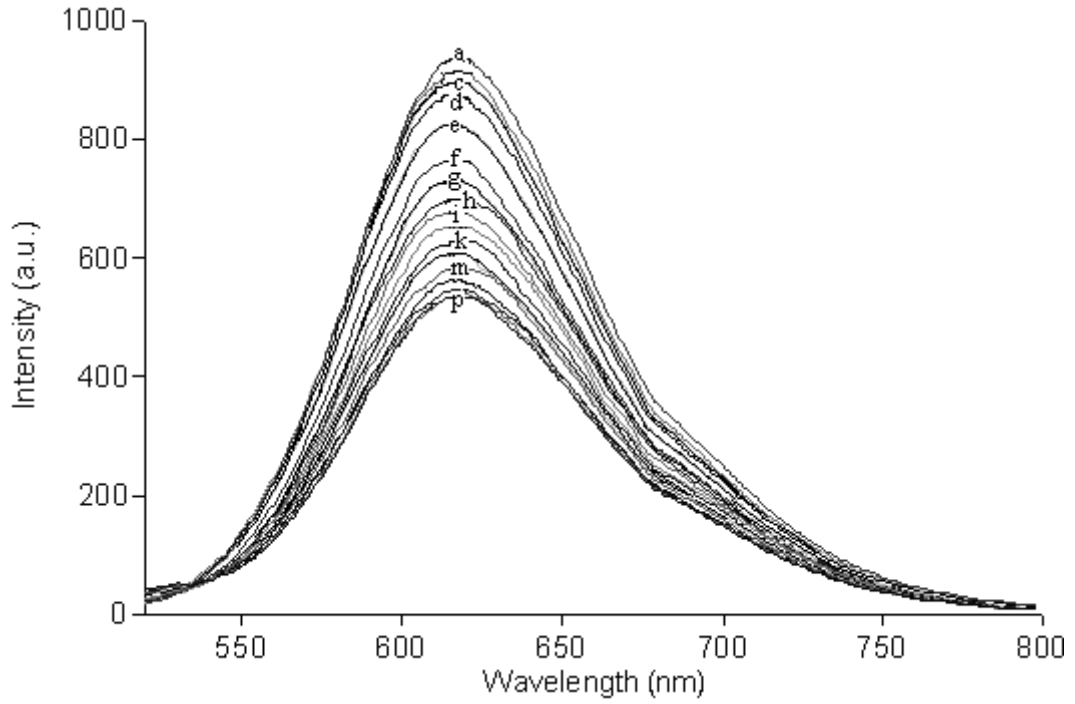
CPO-2 in fluoresans şiddeti esaslı yanıt eğrisi Şekil 3.100 de verilmiştir.



Şekil 3.96 CPO-2' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-2 / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 33.2×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.5 tamponu ortamında $7.99 - 443.86 \times 10^{-7}$ M donepezil derişim aralığı için fluoresans şiddeti esaslı yanıt eğrisi.

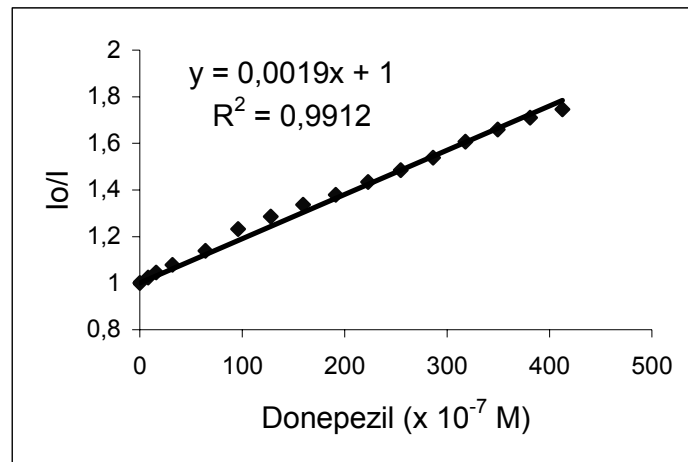
CPO-2 türevinin donepezile yanıtına ilişkin tekrarlanabilirlik ve tersinirlik denemeleri PVC (2×10^{-6} mol CPO-2 / kg PVC, 4 unit AChE activity), 33.2×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.5 tamponu ortamında 443.86×10^{-7} M donepezil derişiminde yapılmıştır. CPO-2 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinin, % 4.9 lik düşüş elde edilmiştir. Sonraki ikinci ve üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde sırayla % 5.1, % 5.4, % 5.6 ve % 5.7 düşüşlerle karşılaşılmanmıştır. Her ölçümden sonra sensör filmleri 2.5 mM at pH 7.5 fosfat tamponu ile rejenere edilmişlerdir. Bağıl standart sapma değeri beş ölçüm için % 0.6 olarak hesaplanmıştır.

Şekil 3.101 de CPO-3 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-3 / kg PVC, 4 unit AChE activity), 32.26×10^{-4} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında $7.99 - 412.43 \times 10^{-7}$ M donepezil derişim aralığındaki emisyon spektrumu verilmektedir.



Şekil 3.97 CPO-3' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-3/ kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 32.26×10^{-4} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında (a) 0, (b) 7.99, (c) 15.99, (d) 31.98, (e) 63.91, (f) 95.81 (g) 127.66, (h) 159.47, (i) 191.24, (j) 222.96, (k) 254.64, (l) 286.28, (m) 317.88, (n) 349.44, (o) 380.95 and (p) 412.41×10^{-7} M donepezil derişimlerindeki emisyon spektrumu.

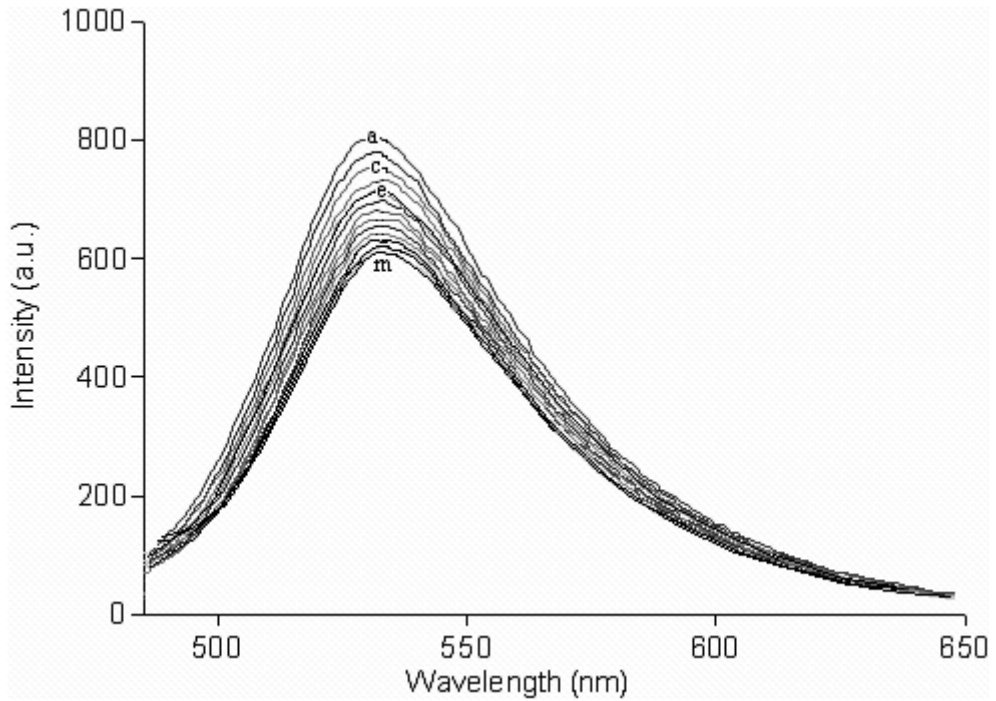
CPO-3 in fluoresans şiddeti esaslı yanıt eğrisi Şekil 3.102 de verilmiştir.



Şekil 3.98 CPO-3' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-3 / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 32.26×10^{-4} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında $7.99 - 412.43 \times 10^{-7}$ M donepezil derişim aralığı için fluoresans şiddeti esaslı yanıt eğrisi.

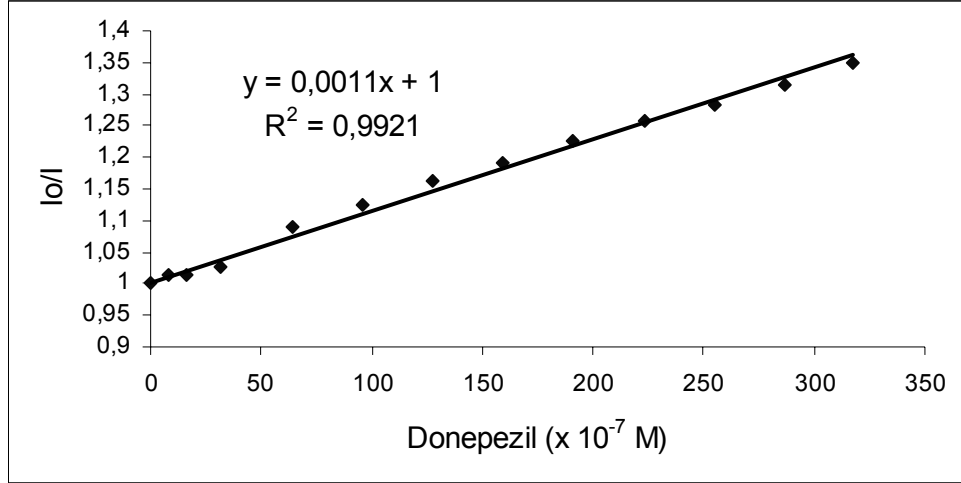
CPO-3 türevinin donepezile yanıtına ilişkin tekrarlanabilirlik ve tersinirlik denemeleri PVC (2×10^{-6} mol CPO-3 / kg PVC, 4 unit AChE activity), 32.26×10^{-4} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında 412.43×10^{-7} M donepezil derişiminde yapılmıştır. CPO-3 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinin, % 4.1 lik düşüş elde edilmiştir. Sonraki ikinci ve üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde sırayla % 4.3, % 4.3, % 4.4 ve % 4.7 düşüşlerle karşılaşılınmamıştır. Her ölçümden sonra sensör filmleri 2.5 mM at pH 7.5 fosfat tamponu ile rejenere edilmişlerdir. Bağlı standart sapma değeri beş ölçüm için % 0.4 olarak hesaplanmıştır.

Şekil 3.103 de CPO-4 türevinin PVC (2×10^{-6} mol CPO-4 / kg PVC, 4 unit AChE activity), 13.32×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında $7.99 - 317.88 \times 10^{-7}$ M donepezil derişim aralığındaki emisyon spektrumu verilmektedir.



Şekil 3.99 CPO-4' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-4/ kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 13.32×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında (a) 0, (b) 7.99, (c) 15.99, (d) 31.98, (e) 63.91, (f) 95.81 (g) 127.66, (h) 159.47, (i) 191.24, (j) 222.96, (k) 254.64, (l) 286.28, (m) 317.88×10^{-7} M donepezil derişimindeki emisyon spektrumu.

CPO-4 in fluoresans şiddeti esaslı yanıt eğrisi Şekil 3.104 da verilmiştir.



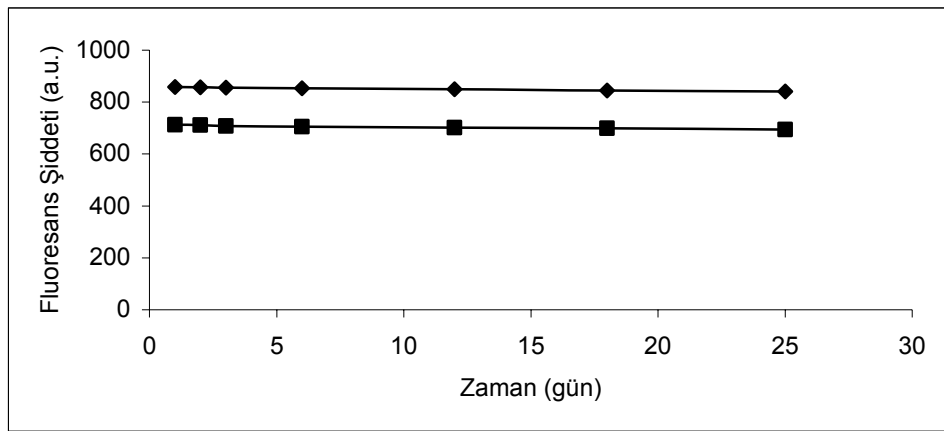
Şekil 3.100 CPO-4' in PVC (2×10^{-6} mol CPO-4 / kg PVC, 4 unit AChE aktivitesi) 13.32×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında $7.99 - 317.88 \times 10^{-7}$ M donepezil derişim aralığı için fluoresans şiddeti esaslı yanıt eğrisi.

CPO-4 türevinin donepezile yanıtına ilişkin tekrarlanabilirlik ve tersinirlik denemeleri PVC (2×10^{-6} mol CPO-4 / kg PVC, 4 unit AChE activity), 13.32×10^{-5} M ACh içeren 2.5 mM pH 7.0 tamponu ortamında 317.88×10^{-7} M donepezil derişiminde yapılmıştır. CPO-4 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinden, % 6.6 lik düşüş elde edilmiştir. Sonraki ikinci ve üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde sırayla % 7.1, % 7.1, % 7.1 ve % 7.3 düşüşlerle karşılaşılmanmıştır. Her ölçümden sonra sensör filmleri 2.5 mM at pH 7.5 fosfat tamponu ile rejenere edilmişlerdir. Bağıl standart sapma değeri beş ölçüm için % 0.8 olarak hesaplanmıştır.

Donepezil tayininde belirtme alt sınırı CPO-1 için 1.01×10^{-5} M, CPO-2 için 3.48×10^{-7} M, CPO-3 için 5.02×10^{-7} M ve CPO-4 için 5.92×10^{-7} M olarak hesaplanmıştır (n=5).

3.3.1.5 Sensör Kararlılığı

CPO-1 için sensör kararlılığı, 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve 33.2×10^{-5} M ACh içeren tampon çözelti ortamlarında denendi ve yeterli olduğu belirlendi. Şekil 3.105, 25 gün süreyle CPO-1 türevine ilişkin zamana karşı floresans şiddetinde meydana gelen değişimi göstermektedir. Sensör filmleri buzdolabında 4°C de saklanmıştır.

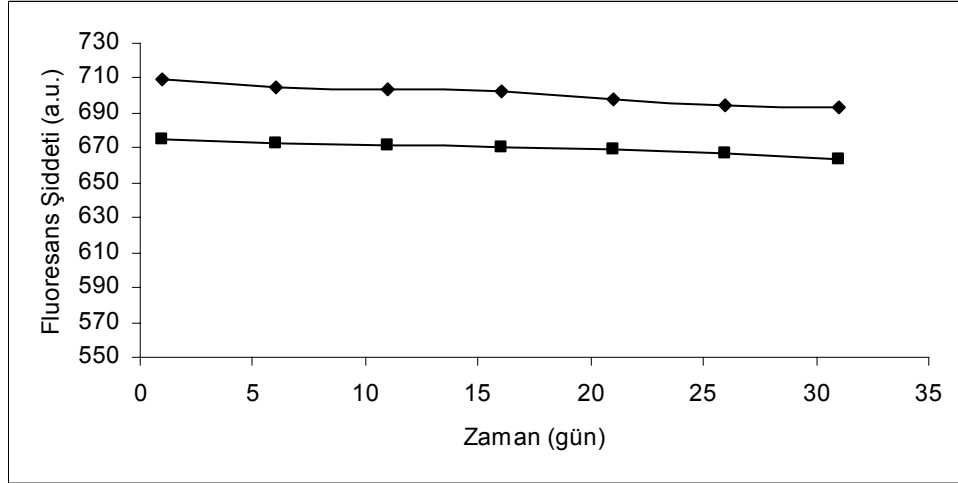


Şekil 3.101 CPO-1 türevi için 25 gün boyunca zamana karşı floresans şiddetinde meydana gelen değişim (◆ sadece 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve ■ 13.32×10^{-5} M ACh içeren tampon).

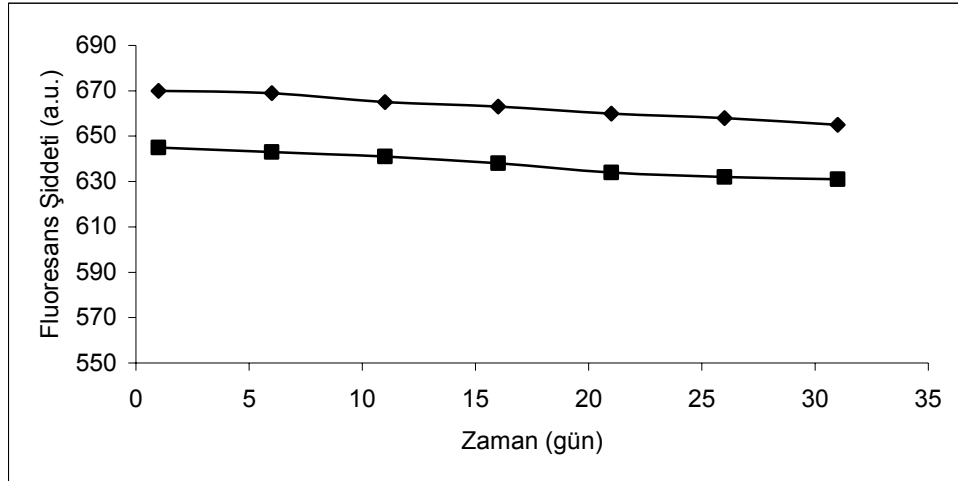
CPO-2 için sensör kararlılığı, 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.5) ve 8.33×10^{-5} M ACh içeren tampon çözelti ortamlarında denendi ve yeterli olduğu belirlendi. Şekil 3.106, 31 gün süreyle CPO-2 türevine ilişkin zamana karşı floresans şiddetinde meydana gelen değişimi göstermektedir. Sensör filmleri buzdolabında 4°C de saklanmıştır.

CPO-3 için sensör kararlılığı, 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve 13.16×10^{-4} M ACh içeren tampon çözelti ortamlarında denendi ve yeterli olduğu belirlendi. Şekil 3.107, 31 gün süreyle CPO-3 türevine ilişkin zamana karşı floresans şiddetinde

meydana gelen değişimi göstermektedir. Sensör filmleri buzdolabında 4°C de saklanmıştır.

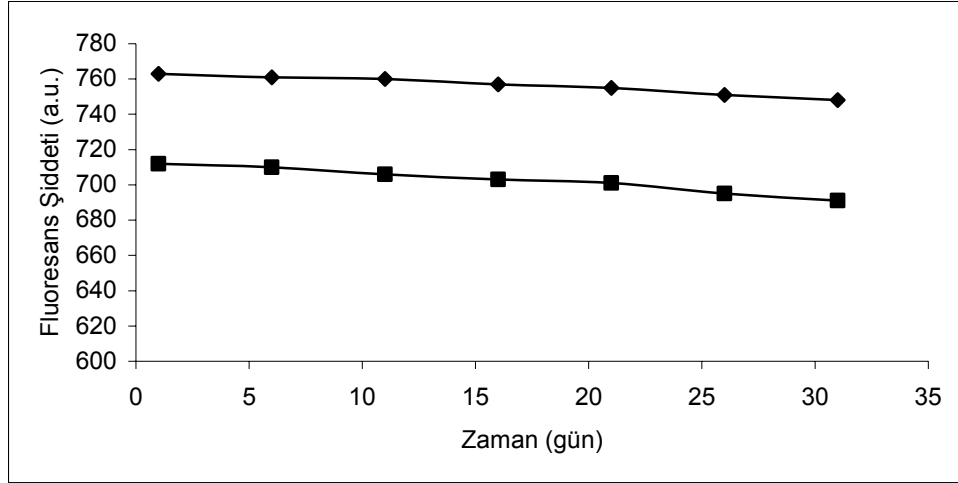


Şekil 3.102 CPO-2 türevi için 31 gün boyunca zamana karşı fluoresans şiddetinde meydana gelen değişim (◆ sadece 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.5) ve ■ 8.33×10^{-5} M ACh içeren tampon).



Şekil 3.103 CPO-3 türevi için 31 gün boyunca zamana karşı fluoresans şiddetinde meydana gelen değişim (◆ sadece 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve ■ 13.16×10^{-4} M ACh içeren tampon).

CPO-4 için sensör kararlılığı, 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve 8.33×10^{-5} M ACh içeren tampon çözelti ortamlarında denendi ve yeterli olduğu belirlendi. Şekil 3.108, 31 gün süreyle CPO-4 türevine ilişkin zamana karşı floresans şiddetinde meydana gelen değişimi göstermektedir. Sensör filmleri buzdolabında 4°C de saklanmıştır.



Şekil 3.104 CPO-3 türevi için 25 gün boyunca zamana karşı floresans şiddetinde meydana gelen değişim (◆ sadece 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve ■ 8.33×10^{-5} M ACh içeren tampon).

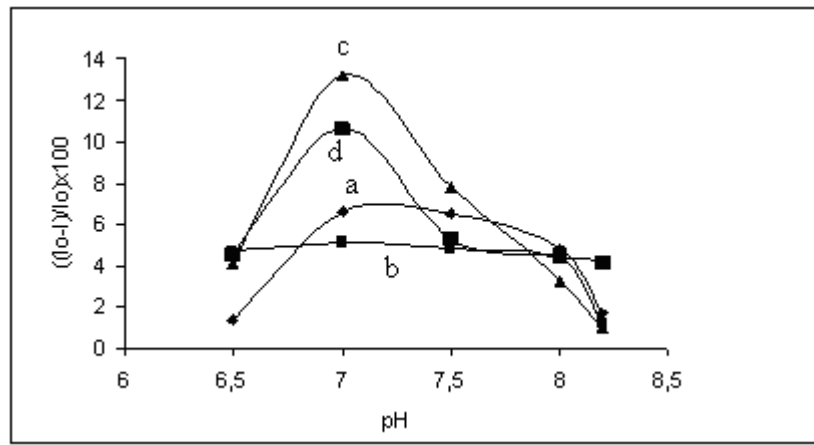
3.3.2 *N*-fenil-aza-15-crown-5 Esaslı Azlakton Türevlerinin Glukoz Tayinine Yönelik Sensör Uygulamaları

3.3.2.1 Biyosensörün Optimizasyonu

3.3.2.1.1 pH Etkisi

Tampon çözeltisinin pH'ının sensör sistemlerinin yanıtı üzerindeki etkileri pH 6.5 - 8.2 aralığında 2.5 mM fosfat tamponlarında (pH 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.2) ve 8.33×10^{-5} M ACh substratı içeren tamponlarda incelenmiştir. Her bir pH değerindeki

sinyal değişimi, $((I_0 - I) / I_0) \times 100$ ifadesi kullanılarak değerlendirilmiştir. I_0 değeri 2.5 mM fosfat tamponu (pH 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.2) varlığında ölçülen fluoresans şiddeti ve I değeri de CPO-1, CPO-2 ve CPO-3 için 8.33×10^{-5} M ve CPO-4 için ise 0.67×10^{-5} M glukoz içeren tamponlar varlığında ölçülen fluoresans şiddetlerine karşılık gelmektedir (şekil 3.109). Elde edilen sonuçlara göre tüm CPO türevleri için pH 7.0 seçilmiştir. pH değişiminden kaynaklanan sinyal salınımlarını önlemek için tüm ölçümler tamponlanmış ortamlarda alınmıştır.

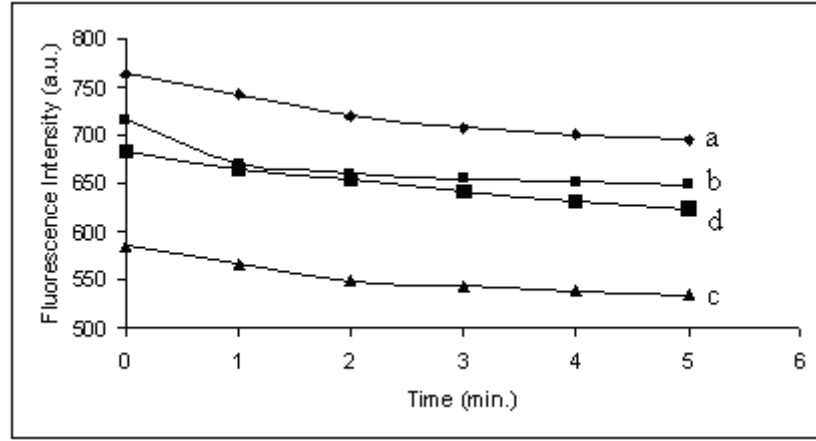


şekil 3.105 a) CPO-1, b) CPO-2, c) CPO-3 ve d) CPO-4 türevlerinin PVCde (2×10^{-6} mol CPO / kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM fosfat tamponu, pH 6.5 - 8.2 aralığında fluoresans şiddetlerinin pH a bağlılığı; I_0 değeri 2.5 mM fosfat tamponu (pH 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.2) varlığında ölçülen fluoresans şiddeti ve I değeri ise CPO-1, CPO-2 ve CPO-3 için 8.33×10^{-5} M ve CPO-4 için ise 0.67×10^{-5} M içeren tamponlar varlığında ölçülen fluoresans şiddetlerine karşılık gelmektedir.

3.3.2.1.2 Yanıt Süresi

Sensör membranlarının yanıt süresi 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponlarında CPO-1, CPO-2 ve CPO-3 için 8.33×10^{-5} M ve CPO-4 için ise 0.67×10^{-5} M glukoz eklendikten sonra incelenmiştir (şekil 3.110). Tüm CPO türevleri için de fluoresans şiddetinde substratın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan maksimum değişim 4 dakika

sonucunda elde edildiğinden sensör sistemlerine ilişkin optimum yanıt süresi 4 dakika olarak seçilmiştir.

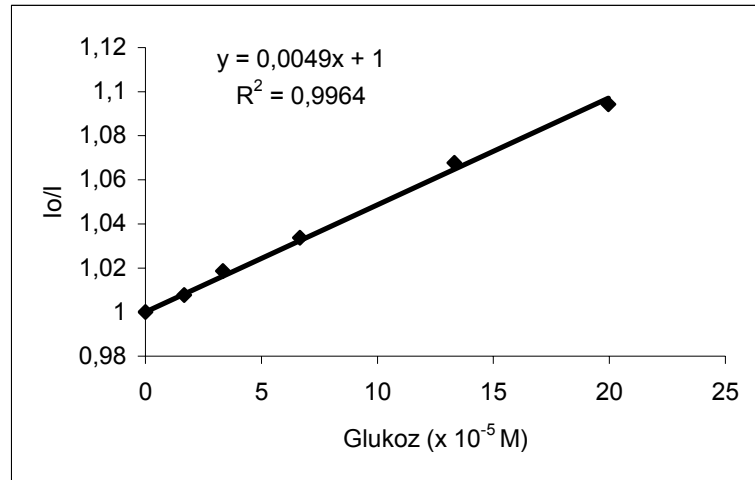


Şekil 3.106 a) CPO-1, b) CPO-2, c) CPO-3 ve d) CPO-4 türevlerinin PVC matriksinde (2×10^{-6} mol CPO / kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponlarında CPO-1, CPO-2 ve CPO-3 için 8.33×10^{-5} M ve CPO-4 için ise 0.67×10^{-5} M glukoz ekledikten sonra fluoresans şiddetinde oluşan azalma.

3.3.2.2 Glukoza Yanıt

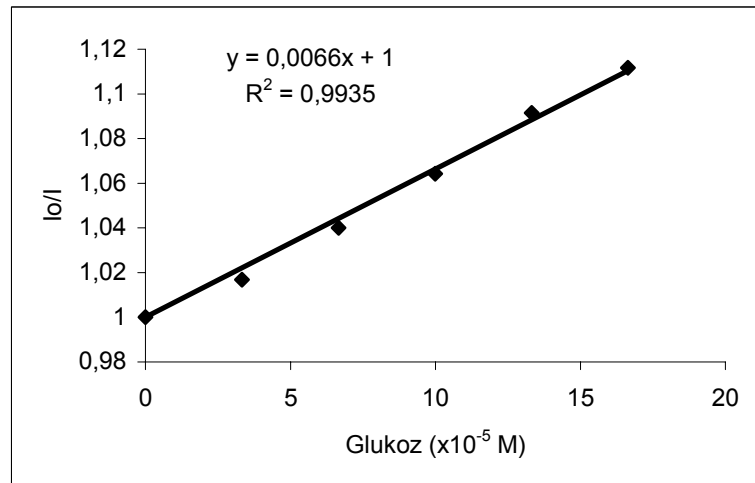
Sensör membranları, enzimatik tepkimenin sonucunda oluşan protona yanıt vermektedirler. Proton derişiminin artması, ortam pH ının azalmasına neden olur. Bu azalış, immobilize edilen CPO türevi tarafından optik olarak ölçülebilen sinyal haline dönüştürülmektedir. Analitik sinyal, fluoresans şiddetinde meydana gelen azalmaya karşılık gelmektedir.

CPO-1, PVC matriksinde (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ortamında glukoz $1.67 - 19.96 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında doğrusal yanıt vermiştir (Şekil 3.111).



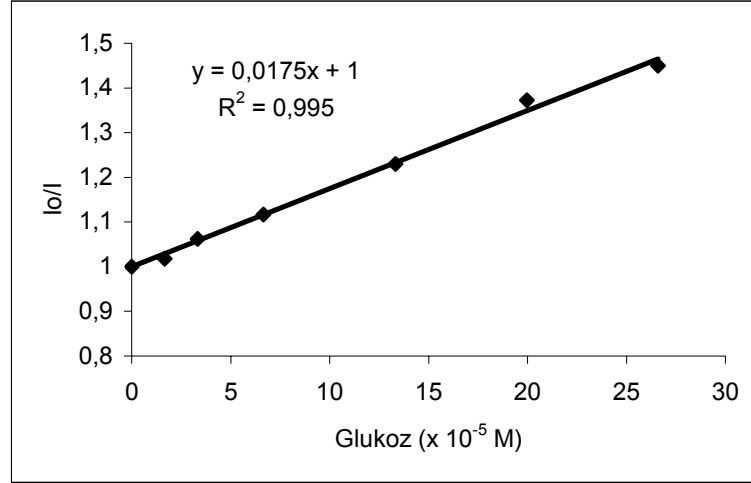
Şekil 3.107 CPO-1' in PVC matrisinde (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ortamında glukozla $1.67 - 19.96 \times 10^{-5}$ M derişim aralığındaki floresans şiddeti esaslı doğrusal yanıt eğrisi.

CPO-2, PVC matrisinde (2×10^{-6} mol CPO-2 / kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ortamında glukozla $3.33 - 16.64 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında doğrusal yanıt vermiştir (Şekil 3.112).



Şekil 3.108 CPO-2' in PVC matrisinde (2×10^{-6} mol CPO-2 / kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ortamında glukozla $3.33 - 16.64 \times 10^{-5}$ M derişim aralığındaki floresans şiddeti esaslı doğrusal yanıt eğrisi.

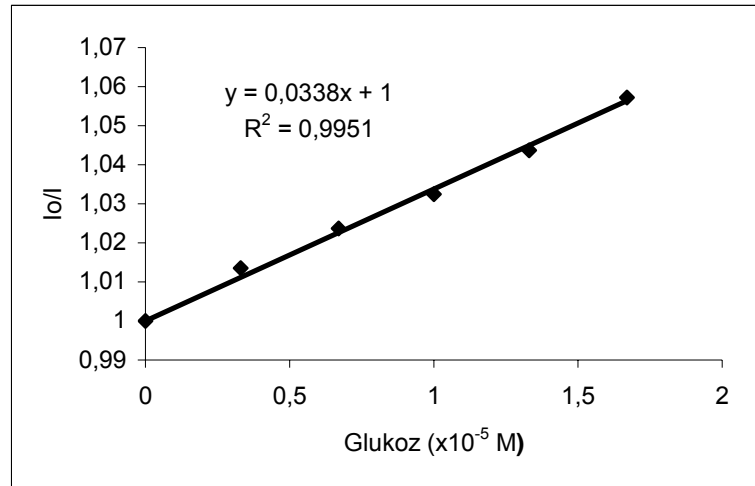
CPO-3, PVC matriksinde (2×10^{-6} mol CPO-3/ kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ortamında glukozu $1.67 - 26.59 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında doğrusal yanıt vermiştir (Şekil 3.113).



Şekil 3.109 CPO-3'ün PVC matriksinde (2×10^{-6} mol CPO-3 / kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ortamında glukozu $1.67 - 26.59 \times 10^{-5}$ M derişim aralığındaki floresans şiddeti esaslı doğrusal yanıt eğrisi.

CPO-4, PVC matriksinde (2×10^{-6} mol CPO-4/ kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ortamında glukozu $0.33 - 1.67 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında doğrusal yanıt vermiştir (Şekil 3.114).

Glukoz için belirtme alt sınırı, kör sinyalin ortalaması ± 3 standart sapmaya eşit olduğu sinyale karşılık gelen derişim olarak tanımlanmıştır (n=5). Belirtme alt sınırı, CPO-1 için 1.47×10^{-5} M, CPO-2 için 2.01×10^{-5} M, CPO-3 için 0.89×10^{-5} M ve CPO-4 için 0.12×10^{-5} M olarak hesaplanmıştır.

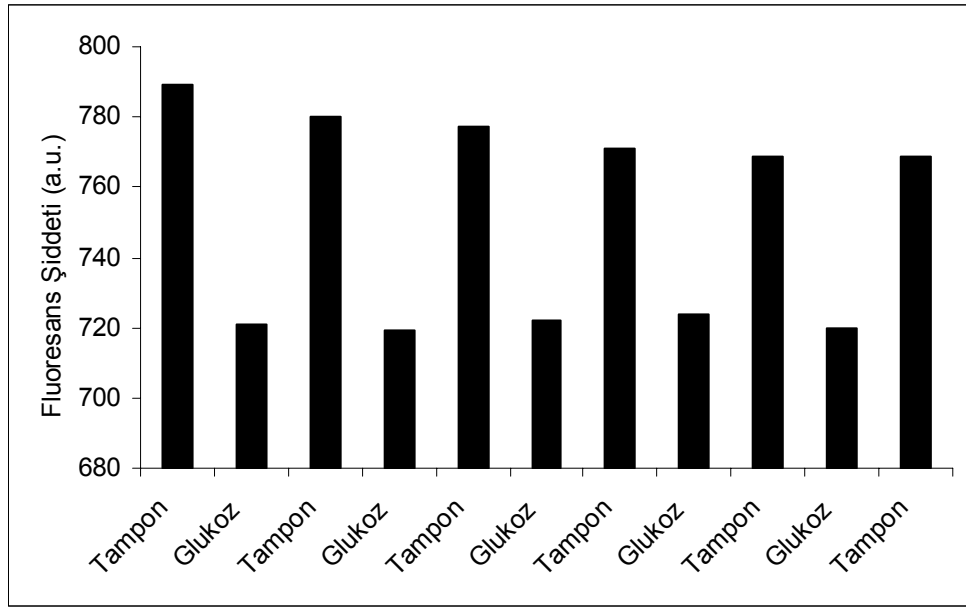


Şekil 3.110 CPO-4' in PVC matriksinde (2×10^{-6} mol CPO-4 / kg PVC, 3 unit GOx aktivitesi) 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ortamında glukoza $0.33 - 1.67 \times 10^{-5}$ M derişim aralığındaki fluoresans şiddeti esaslı doğrusal yanıt eğrisi.

3.3.2.3 Tersinirlik ve Tekrarlanabilirlik

Her bir sensöre ilişkin tersinirlik ve tekrarlanabilirlik, PVC filmlerinin CPO-1 için 19.96×10^{-5} M, CPO-2 için 16.64×10^{-5} M, CPO-3 için 26.59×10^{-5} M ve CPO-4 için 1.67×10^{-5} M glukoza maruz bırakılması ile belirlenmiştir. Her ölçümden sonra sensör filmleri, 2.5 mM, pH 7.0 fosfat tamponu ile rejenere edilmişlerdir.

CPO-1 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinin, % 1.1 lik düşüş elde edilmiştir. Sonraki ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde ise sırayla % 1.5, 2.3, 2.5 ve 2.5 lik düşüşler gözlenmiştir (Şekil 3.115). Elde edilen bu sonuçlar sensör filmlerinin tersinirliğinin yeterli olduğunu göstermektedir. İlk ve beşinci döngüler arasındaki tekrarlanabilirlik değeri % 0.2 bağıl standart sapma olarak hesaplanmıştır.



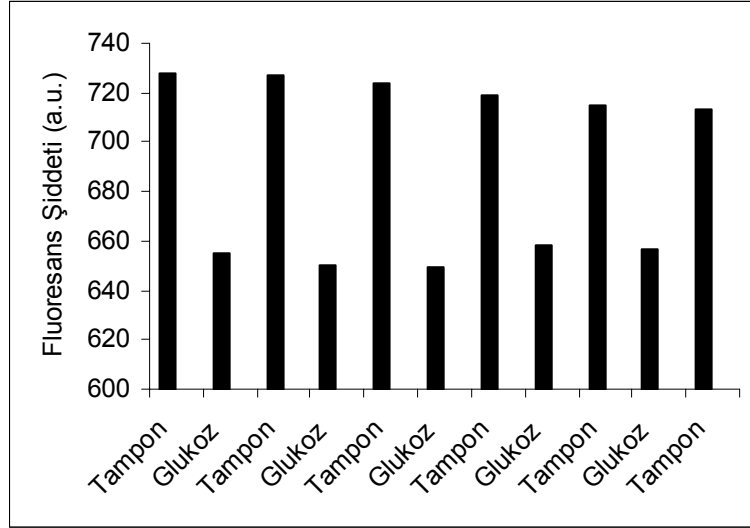
Şekil 3.111 CPO-1 türevinin 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda PVC de (2×10^{-6} mol CPO-1 / kg PVC, 3 birim GOx aktivitesi) 19.96×10^{-5} M glukoz için tekrarlanabilirliği ve rejenerasyonu (n=5).

CPO-2 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinden, % 0.1 lik düşüş elde edilmiştir. Sonraki ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde ise sırayla % 0.6, 1.2, 1.8 ve 2.1 lik düşüşler gözlenmiştir (Şekil 3.116). Elde edilen bu sonuçlar sensör filmlerinin tersinirliğinin yeterli olduğunu göstermektedir. İlk ve beşinci döngüler arasındaki tekrarlanabilirlik değeri % 0.5 bağıl standart sapma olarak hesaplanmıştır.

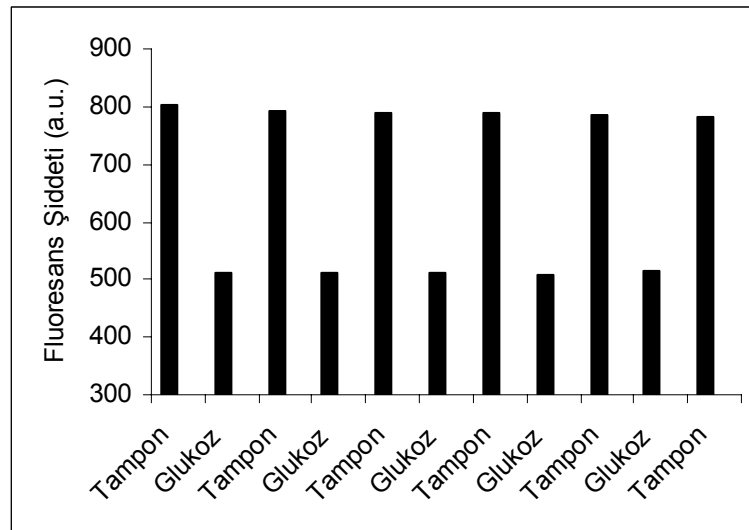
CPO-3 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinden, % 1.1 lik düşüş elde edilmiştir. Sonraki ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde ise sırayla % 1.6, 1.9, 2.2 ve 2.5 lik düşüşler gözlenmiştir (Şekil 3.117). Elde edilen bu sonuçlar sensör filmlerinin tersinirliğinin yeterli olduğunu göstermektedir. İlk ve beşinci döngüler arasındaki tekrarlanabilirlik değeri % 0.6 bağıl standart sapma olarak hesaplanmıştır.

CPO-4 için ilk döngüden sonra başlangıç sinyalinden, % 3.8 lik düşüş elde edilmiştir. Sonraki ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci döngülerde ise sırayla % 4.2, 4.5, 4.5 ve 4.7 lik düşüşler gözlenmiştir (Şekil 3.118). Elde edilen bu sonuçlar sensör

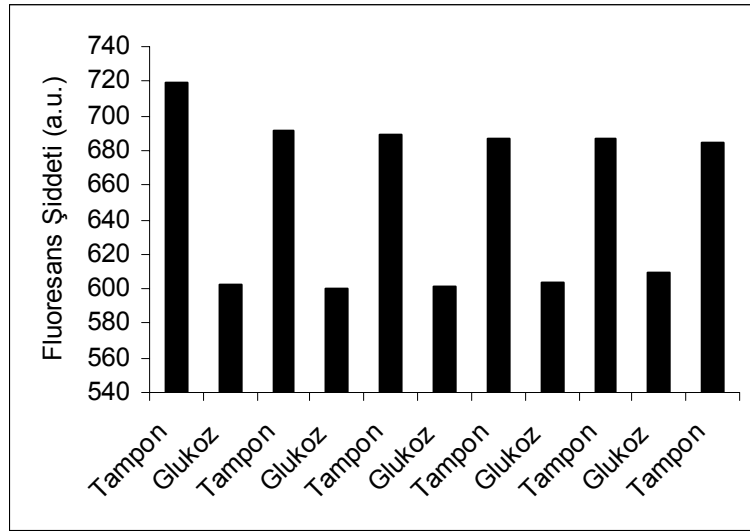
filmlerinin tersinirliğinin yeterli olduğunu göstermektedir. İlk ve beşinci döngüler arasındaki tekrarlanabilirlik değeri % 0.5 bağıl standart sapma olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.112 CPO-2 türevinin 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda PVC de (2×10^{-6} mol CPO-2 / kg PVC, 3 birim GOx aktivitesi) 16.64×10^{-5} M glukoz için tekrarlanabilirliği ve rejenerasyonu (n=5).



Şekil 3.113 CPO-3 türevinin 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda PVC de (2×10^{-6} mol CPO-3 / kg PVC, 3 birim GOx aktivitesi) 26.59×10^{-5} M glukoz için tekrarlanabilirliği ve rejenerasyonu (n=5).

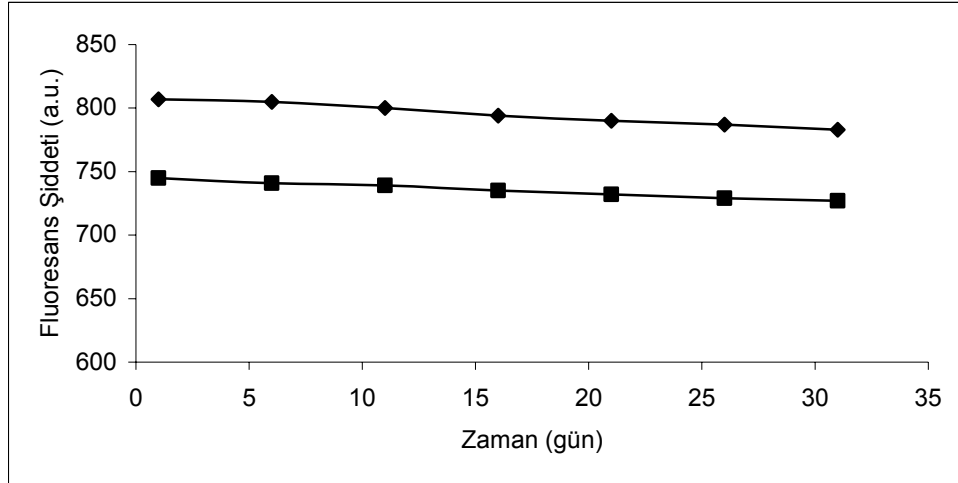


Şekil 3.114 CPO-4 türevinin 2.5 mM pH 7.0 fosfat tamponunda PVC de (2×10^{-6} mol CPO-4 / kg PVC, 3 birim GOx aktivitesi) 1.67×10^{-5} M glukoz için tekrarlanabilirliği ve rejenerasyonu (n=5).

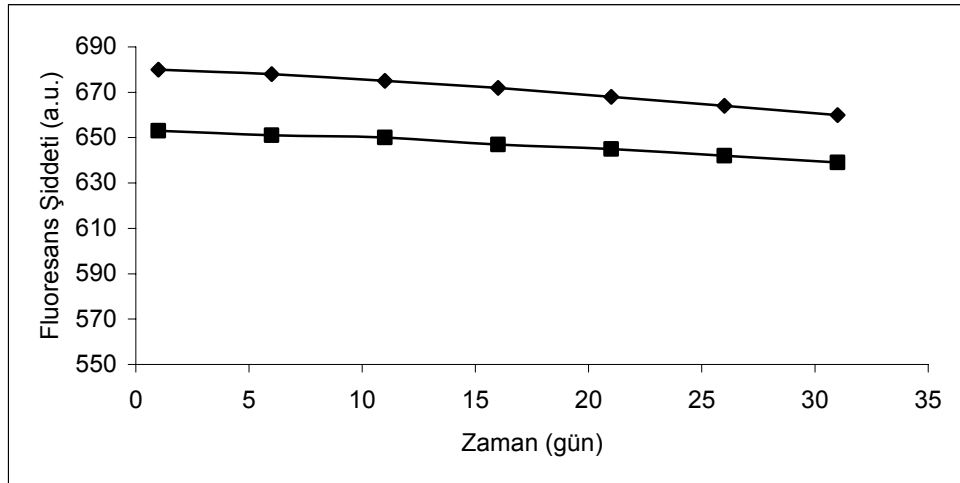
3.3.2.4 Sensör Kararlılığı

CPO-1 için sensör kararlılığı, 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve 8.33×10^{-5} M glukoz içeren tampon çözelti ortamlarında denendi ve yeterli olduğu belirlendi. Şekil 3.119, 31 gün süreyle CPO-1 türevine ilişkin zamana karşı fluoresans şiddetinde meydana gelen değişimi göstermektedir. Sensör filmleri buzdolabında 4°C de saklanmıştır.

CPO-2 için sensör kararlılığı, 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve 8.33×10^{-5} M glukoz içeren tampon çözelti ortamlarında denendi ve yeterli olduğu belirlendi. Şekil 3.120, 31 gün süreyle CPO-2 türevine ilişkin zamana karşı fluoresans şiddetinde meydana gelen değişimi göstermektedir. Sensör filmleri buzdolabında 4°C de saklanmıştır.



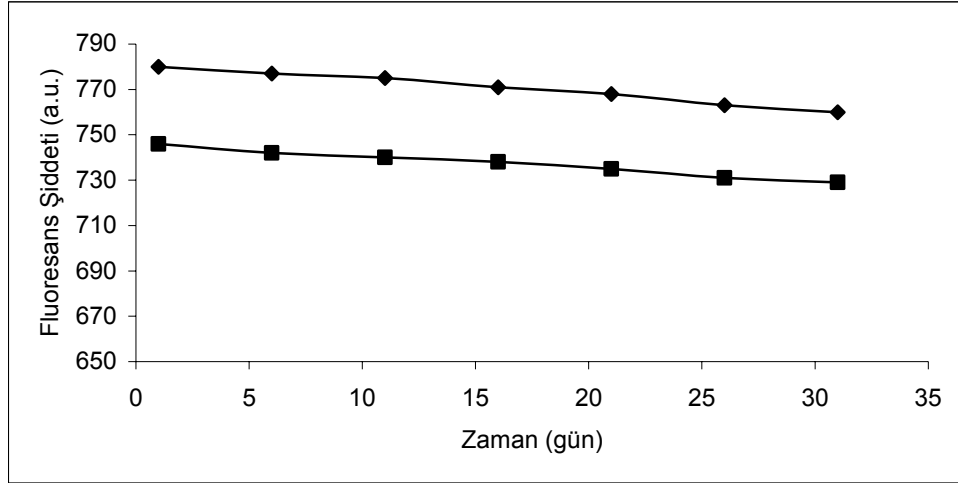
Şekil 3.115 CPO-1 türevi için 31 gün boyunca zamana karşı fluoresans şiddetinde meydana gelen değişim (♦ sadece 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve ■ 8.33×10^{-5} M glukoz içeren tampon).



Şekil 3.116 CPO-2 türevi için 31 gün boyunca zamana karşı fluoresans şiddetinde meydana gelen değişim (♦ sadece 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve ■ 8.33×10^{-5} M glukoz içeren tampon).

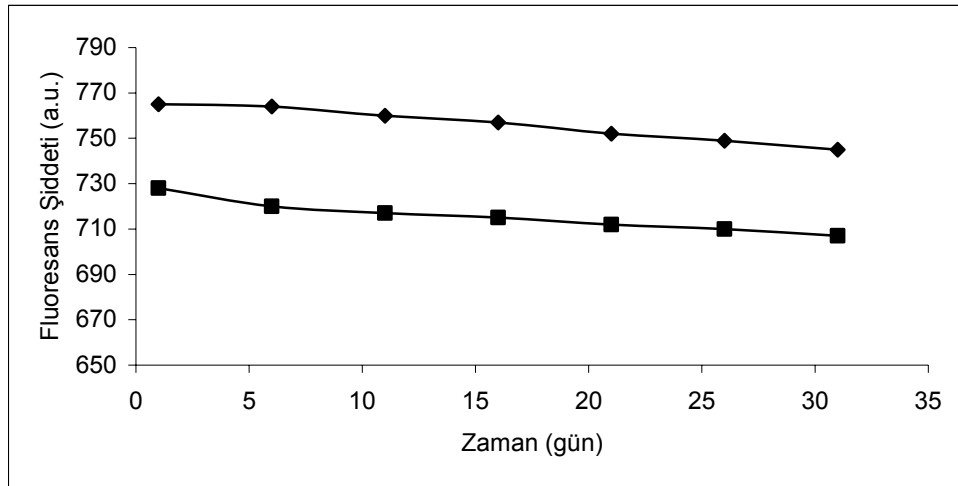
CPO-3 için sensör kararlılığı, 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve 8.33×10^{-5} M glukoz içeren tampon çözelti ortamlarında denendi ve yeterli olduğu belirlendi. Şekil 3.121, 31 gün süreyle CPO-3 türevine ilişkin zamana karşı fluoresans

şiddetinde meydana gelen değişimi göstermektedir. Sensör filmleri buzdolabında 4°C de saklanmıştır.



Şekil 3.117 CPO-3 türevi için 31 gün boyunca zamana karşı floresans şiddetinde meydana gelen değişim (◆ sadece 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve ■ 8.33×10^{-5} M glukoz içeren tampon).

CPO-4 için sensör kararlılığı, 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve 0.67×10^{-5} M glukoz içeren tampon çözelti ortamlarında denendi ve yeterli olduğu belirlendi. Şekil 3.122, 31 gün süreyle CPO-4 türevine ilişkin zamana karşı floresans şiddetinde meydana gelen değişimi göstermektedir. Sensör filmleri buzdolabında 4°C de saklanmıştır.



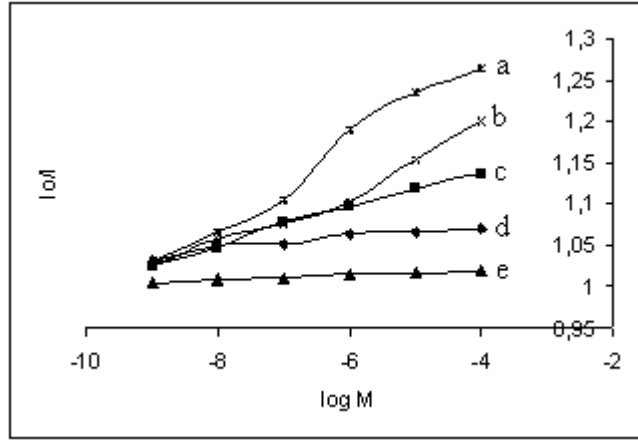
Şekil 3.118 CPO-4 türevi için 31 gün boyunca zamana karşı fluoresans şiddetinde meydana gelen değişim (◆ sadece 2.5 mM fosfat tamponu (pH 7.0) ve ■ 0.67 x 10⁻⁵ M glukoz içeren tampon).

3.3.3 Metal Katyonlarına Yanıt

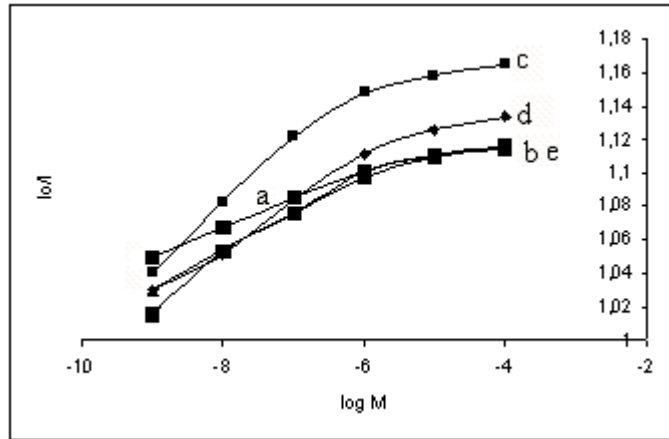
N-fenil-aza-crown eter türevleri, fluoroionoforların sentezindeki yararlarından dolayı ilgi çekmektedirler (Urgaonkar, 2004).

CPO türevlerinin PVC ortamında quantum verimlerinin çözücü ortamına kıyasla daha yüksek olması nedeniyle, bu ortamda Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Ba²⁺ ve NH₄⁺ katyonlarına karşı yanıtları incelenmiştir (Şekil 3.123, 3.124 ve 3.125). Metal iyonu derişiminin artması, PVC fazına immobilize edilen CPO türevlerinin, fluoresans şiddetinde azalmaya yol açmıştır.

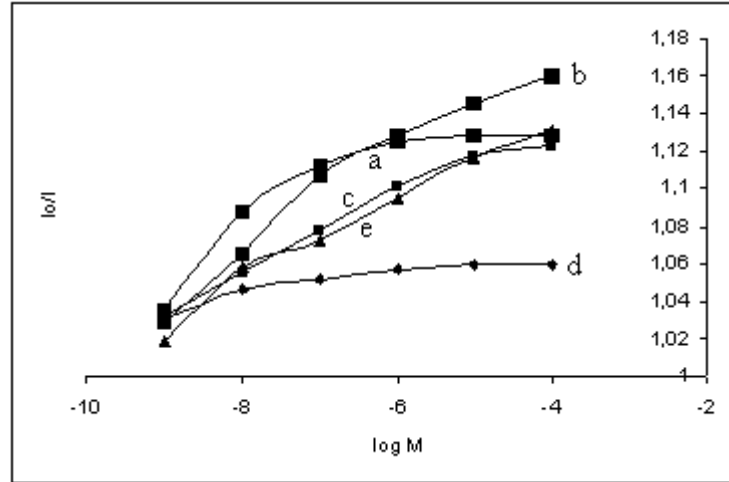
Dört türevin de 10⁻⁹ – 10⁻⁴ M derişim aralığında Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Ba²⁺ ve NH₄⁺ katyonlarına karşı yanıtları incelendiğinde CPO-1 türevinin Ca²⁺ katyonuna, CPO-2 türevinin K⁺ katyonuna, CPO-3 türevinin Ca²⁺ ve Ba²⁺, CPO-4 türevinin ise NH₄⁺ katyonlarına karşı en duyarlı yanıt verdikleri belirlenmiştir. Söz konusu türevlerin rejenerasyonlarının % 90-96 aralığında olduğu saptanmıştır.



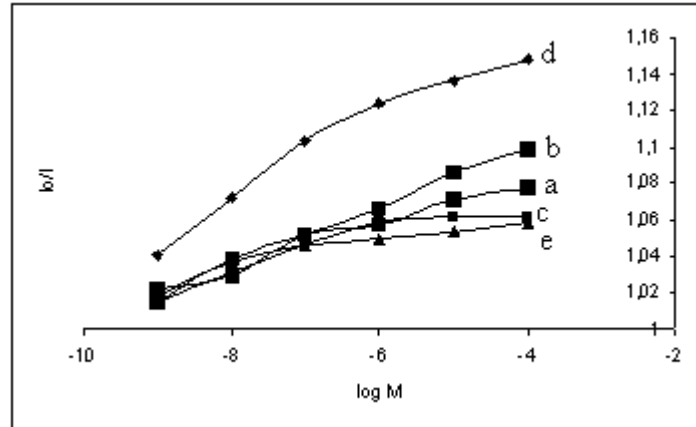
Şekil 3.119 CPO-1 türevinin PVC ortamında (a) Ca²⁺ (b) Ba²⁺, (c) K⁺, (d) NH₄⁺ ve (e) Na⁺ katyonlarına karşı yanıtı.



Şekil 3.120 CPO-2 türevinin PVC ortamında (a) Ca²⁺ (b) Ba²⁺, (c) K⁺, (d) NH₄⁺ ve (e) Na⁺ katyonlarına karşı yanıtı.



Şekil 3.121 CPO-3 türevinin PVC ortamında (a) Ca²⁺ (b) Ba²⁺, (c) K⁺, (d) NH₄⁺ ve (e) Na⁺ katyonlarına karşı yanıtı.



Şekil 3.122 CPO-4 türevinin PVC ortamında (a) Ca²⁺ (b) Ba²⁺, (c) K⁺, (d) NH₄⁺ ve (e) Na⁺ katyonlarına karşı yanıtı.

BÖLÜM DÖRT

TARTIŞMA

Bu çalışmada, optik ve biyokimyasal önemleri nedeniyle literatürde doymamış azlakton sınıfı olarak bilinen 4-ariliden-2-ariloksazol-5-on türevleri sentezlenmiştir. Çıkış maddeleri olarak bir amino asit olan glisin'in N-benzoil türevleri hazırlanmış ve deneysel kısımda anlatıldığı gibi sentezlenen 4-formilbenzo-aza-15-crown-5, karbazol aldehiti ve Antraldehit ile sodyum asetat ve asetik anhidrit varlığında kondenzasyon tepkimesi ve ardından su eliminasyonu gerçekleşerek beşli heterohalka sistemlerinden oksazol-5-on türevleri elde edilmiştir. Karbazol yapısı içeren bileşikler, fotoiletkenlik ve optik özelliklerinden dolayı yüksek teknolojik ilgiye sahiptirler. Aza-15-crown-5 yapısı içeren azlakton türevleri ise biyolojik öneme sahip katyonların tayininde kullanılmaktadırlar. Sentezleri gerçekleştirilen azlakton türevleri, hem aza-15-crown-5 yapısının ve hem de oksazol-5-on yapısının üstünlüklerine sahip, literatüre katılan yeni bileşiklerdir.

Elde edilen ürünler, yeniden kristallendirme ve kromatografik yöntemler kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırma işlemlerinden sonra elde edilen CPO türevlerinin erime noktaları 157-179⁰C aralığında, ANO türevlerinin ise 242-294⁰C aralığında, CRO (karbazol azlaktonunun) ise 316⁰C olduğu belirlenmiştir. Sentezlenen tüm azlakton türevlerinden beşli heterohalkanın 2 konumunda bulunan fenil halkasında nitro grubu içeren türevlerin, diğerlerine göre daha yüksek erime noktalarına sahip oldukları gözlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin yapı tayinleri ve karakterizasyonları, FT-IR ve ¹H-NMR spektroskopisi teknikleri ile aydınlatılarak elde edilen veriler tablolarda verilmiştir.

FT-IR sonuçlarına baktığımızda CPO türevlerine ilişkin C=N grubu 1639-1643 cm⁻¹ aralığında karakteristik bandlar göstermişlerdir. Karbonil grubuna ait gerilme titreşimleri ise 4-formilbenzo-aza-5-crown-5 için 1661 cm⁻¹ de gözlenirken, CPO-1 için 1764 cm⁻¹, CPO-2 için 1781 cm⁻¹, CPO-3 için 1771 cm⁻¹ ve CPO-4 için ise 1763 cm⁻¹ de görülmektedir. ANO türevlerine ait karbonil gerilme titreşimleri ise ANO-1

için 1796 cm^{-1} , ANO-2 için 1796 ve ANO-3 için 1800 cm^{-1} de gözlenmiştir. ANO türevlerine ilişkin $\text{C}=\text{N}$ gerilme titreşimleri ise $1649\text{-}1658\text{ cm}^{-1}$ aralığında ortaya çıkmıştır. Karbazol azlaktonuna ilişkin karbonil gerilme titreşimi 1788 cm^{-1} ve $\text{C}=\text{N}$ gerilme titreşimi de 1655 cm^{-1} olarak kaydedilmiştir.

$^1\text{H-NMR}$ spektroskopisi ile elde edilen veriler tablolarda verilmiştir. 4-formilbenzo-aza-15-crown-5 aldehitine ilişkin aldehit protonu 9.65 ppm de tekli (singlet) pik olarak belirlenirken, $=\text{CH-Ar}$ protonu ise CPO-1 için 7.19 , CPO-2 için 7.33 , CPO-3 için 7.26 ve CPO-4 için 7.16 ppm 'de görülmektedir. CPO türevlerinde, 2 numaralı karbon atomuna bağlı fenil halkasının üzerindeki protonların kimyasal kayma değerleri, süstitüent gruba ve konumuna bağlı olarak 7.29 ile 9.19 ppm aralığında çıkmıştır. Taç eter halkasına bağlı fenil halkasına ait protonların kimyasal kayma değerleri ise 6.72 ile 8.20 ppm aralığında yer almaktadır. Taç eter halkası üzerinde yer alan protonların kimyasal kayma değerleri ise 3.58 ile 3.88 ppm aralığında değişmektedir. CPO-4 türevine ilişkin $-\text{CH}_3$ protonları 2.44 ppm de singlet pik olarak belirlenmiştir. ANO türevlerine ilişkin $=\text{CH-Ar}$ protonları ANO-I için 8.33 ppm , ANO-II için 8.28 ve ANO-III için 8.58 ppm 'de görülmektedir. ANO türevlerinde, 2 numaralı karbon atomuna bağlı fenil halkasının üzerindeki protonların kimyasal kayma değerleri, süstitüent gruba bağlı olarak 7.19 ile 8.26 ppm aralığında gözlenmiştir. Antril üzerinde yer alan protonların kimyasal kayma değerleri ise 7.48 ile 8.15 ppm aralığında belirlenmiştir. ANO-II türevine ait $-\text{CH}_3$ protonları ise 2.38 ppm de singlet pik olarak belirlenmiştir.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları da sentezlenen yapılardan beklenen kimyasal kayma değerlerini desteklemektedir. CPO türevleri için beşli halkadaki C_2 karbonu $156.2\text{-}161.3\text{ ppm}$ civarında, C_4 karbonu $135.0\text{-}137.3\text{ ppm}$ civarında, C_5 ester karbonil karbonu $167.2\text{-}168.8\text{ ppm}$ civarında ve $=\text{CH-Ar}$ karbonu $130.5\text{-}133.2\text{ ppm}$ değişiklik gösteren kimyasal kayma değerlerinde karakteristik olarak saptanmıştır. ANO türevleri için beşli halkadaki C_2 karbonu $164.1\text{-}164.4\text{ ppm}$ civarında, C_4 karbonu $131.1\text{-}131.3\text{ ppm}$ civarında, C_5 ester karbonil karbonu $166.6\text{-}166.9\text{ ppm}$ civarında ve $=\text{CH-Ar}$ karbonu $130.0\text{-}131.3\text{ ppm}$ değişiklik gösteren kimyasal kayma değerlerinde belirlenmiştir. CPO türevlerinde taç eter halkasındaki karbon atomlarının kimyasal

kayma değerleri 53.3-70.3 ppm aralığında gözlenmiştir. Fenil halkalarında yer alan karbonlar da saptanarak tüm değerler tablo halinde verilmiştir.

Polietilenglikol köprülü azlakton dimerlerinin ¹H-NMR spektrumları incelendiğinde, =CH-Ar protonları 7.16-7.30 ppm civarında, aldehit protonları ise 9.86-9.88 ppm civarında singlet pikler olarak görölmektedirler. Bu değerler, söz konusu türevlerin sadece bir tarafının azlakton halkasına dönüştüğü, diğer tarafının ise aldehit olarak kaldığını göstermektedir. Sadece tek taraflı kondenzasyonun nedeninin sterik engel olabileceği sonucuna varılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin UV-vis absorpsiyon ve emisyon spektroskopik yöntemleri ile çeşitli çözücülerde ve katı PVC matrikste fotofiziksel parametreleri belirlenmiştir.

Çözücü polaritesinin, CPO türevlerinin absorpsiyon ve emisyon spektrumları üzerideki etkileri incelenerek, maksimum absorpsiyon dalga boyları, maksimum emisyon dalga boyları, Stokes' kayma değerleri, absorpsiyon ve emisyon spektrumlarından yararlanılarak teorik olarak hesaplanan fluoresans ömürleri ve singlet enerji düzeyleri ile kuantum verimleri saptanarak sonuçlar kısmında tablolarda verilmiştir. CPO türevlerinin UV-vis absorpsiyon ve emisyon spektrumları karşılaştırıldığında, aril grubunda yer alan sübstitüentlerin absorpsiyon ve emisyon spektrumlarında değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. CPO-2 ve CPO-3 türevlerinin yapılarına bakıldığında; p-nitrofenil ve 3,5-dinitrofenil gruplarının oksazol-5-on halkasından elektron çekici etki göstermesi nedeniyle kromofor sistemi oldukça etkilemekte ve moleküllerin maksimum absorpsiyon ve emisyon dalga boylarında, diğer iki türeve kıyasla kırmızıya kaymaları arttırdığı gözlenmiştir. CPO-1 ve CPO-4 türevlerine ilişkin maksimum emisyon dalga boyları 502-548 nm'de ortaya çıkarken, azlakton heterohalkasının 2 konumuna bağlı fenil grubunda sübstitüent olarak nitro grubu içeren CPO-2 ve CPO-3 türevlerinin maksimum emisyon dalga boyları 580-728 nm aralığına kaymıştır. Her bir türeve ilişkin farklı çözücülerde alınan absorpsiyon spektrumlarında çok büyük kaymalar gözlenmezken, emisyon spektrumlarının özellikle polar çözücüler içerisinde kırmızı bölgeye kaydığı

gözlenmiştir. Dört CPO türevi de dimetilsülfoksit çözücü ortamında en uzun dalga boyunda emisyon yapmıştır. CPO-3 türevi için farklı çözücülerdeki emisyon dalga boyu 572-728 nm aralığında değişim göstermekte ve dört CPO türevinin arasında en uzun dalga boyunda emisyon gösteren türevdir. Nitro grubu içeren CPO türevlerinin emisyon maksimumlarında diğer iki türeve kıyasla daha büyük kaymalar gözlenmiştir. Bu sonuç, polaritesi daha yüksek olan moleküllerin fotofiziksel özelliklerinin çözücü polaritesinden daha fazla etkilendiğini göstermektedir. Ayrıca Stokes' kaymalarının da polar çözücüler içerisinde arttığı belirlenmiştir. Söz konusu türevlerin çözelti fazının yanı sıra, moleküler hareketlerin kısıtlandığı polivinilklorür katı matriksi içerisinde immobilize edilerek film fazında, absorpsiyon ve emisyon spektrumları alınarak fotofiziksel özellikleri belirlenmiştir. CPO türevlerinin quantum verimleri çözücü ortamındaki değerlerle kıyaslandığında, dört türevin de kuantum veriminin PVC katı matriksinde arttığı gözlenmiştir.

ANO türevlerinin maksimum absorpsiyon dalga boyları 433 ile 495 nm aralığında, maksimum emisyon dalga boyları ise 515 ile 620 nm aralığında gözlenmiştir. Alışılan bu üç türevin arasından, 2 konumuna bağlı fenil grubunda süstitüent olarak nitro grubu içeren ANO-III türevi, fenil grubu ve o-tolil grubu içeren diğer iki türevle karşılaştırıldığında daha uzun dalga boyunda absorpsiyon ve emisyon göstermektedir. Karbazol azlaktonunun maksimum absorpsiyon piki 469-491 nm aralığında gözlenirken, maksimum emisyon piki 538-568 nm aralığında gözlenmiştir.

Elde edilen fotofiziksel parametreler doğrultusunda, floresans özellik gösteren bu türevlerin yapısal özellikleri de dikkate alınarak bir optik sensör (prob) olarak kullanılacakları sonucuna varılmıştır. PVC katı matriks ortamında CPO türevlerinin quantum verimlerinin çözelti fazına kıyasla artması ve sulu ortamda ölçüm yapma olanağı sağlaması nedeniyle sözkonusu türevlerin sensör uygulamaları PVC katı matriksinde immobilize edilerek yapılmıştır. Söz konusu türevlerin asetikolinklorür, donepezil ve glukoz tayinine yönelik biyosensör uygulamalarının yanı sıra, yapılarında taç eter grubu bulundurması nedeniyle, biyolojik öneme sahip Ca^{2+} , Ba^{2+} , K^+ , NH_4^+ ve Na^+ katyonlarına karşı yanıtları da incelenmiştir.

CPO-1 türevi PVC matriksine asetilkolinesteraz enzimi ile birlikte immobilize edildiğinde, söz konusu enzimin çözeltide verdiği yanıtı kıyasla biyosensör yanıtında yaklaşık olarak üç katlık bir artış gözlemlenmiştir. Bu nedenle asetilkolinesteraz ve donepezil tayinine yönelik sensör uygulamaları CPO türevlerinin asetilkolinesteraz enzimi ile birlikte PVC ortamına immobilize edilmesi ile yürütülmüştür. Geliştirilen biyosensör sistemlerinin asetilkolinesteraz ve donepezile karşı tamamen tersinir ve tekrarlanabilir yanıtlar vermeleri nedeniyle, sentezlenen yeni floresant CPO türevlerinin enzimatik olarak asetilkolinesteraz ve donepezil tayininde, alternatif indikatörler olabilecekleri sonucuna varılmıştır.

CPO türevleri, glukozoksidaz enzimi ile birlikte PVC matrikse immobilize edilerek geliştirilen sensör filmleri glukozu tekrarlanabilir yanıtlar vermişler ve tamamen rejenere olabilmektedirler. İncelenen dört türevin arasından CPO-4 türevinin $0,12 \times 10^{-5}$ M olarak saptanan belirtme alt sınırı ile glukozu en duyarlı türev olduğu gözlemlenmiştir.

KAYNAKLAR

Abdurrahmanoğlu, S., Gündüz, C., Çakır, Ü., Çiçek, B., Bulut, M. (2005). The synthesis and complexation study of some coumestan analog derivatives of crown ethers using conductometry. *Dyes and Pigments*, 65, 197-204.

Alp, S., ve İçli, S., (2001). Azlakton fotosensörlerinin polimer filmler içinde fluoresans emisyonları ve fotoenerji transfer çalışmaları, VI. Türk-Alman Enerji Sempozyumu, 21-24 Haziran 2001, Yenilenebilir Enerji Kaynakları ve Çevre Korunumu.

Andreas, R. T., Narayanaswamy, R. (1997). Fibre-optic pesticide biosensor based on covalently immobilized acetylcholinesterase and thymol blue. *Talanta*, 44, 1335-1352.

Andreescu, S., Barthelmebs, L., Marty, J. – L. (2002). Immobilization of acetylcholinesterase on screen-printed electrodes: comparative study between three immobilization methods and applications to the detection of organophosphorus insecticides. *Analytica Chimica Acta*, 464, 171-180.

Andrisano, V., Bartolini, M., Gotti, R., Cavrini, V., Felix, G. (2001). Determination of inhibitors' potency (IC50) by a direct high-performance liquid chromatographic method on an immobilized acetylcholinesterase column. *Journal of Chromatography B*, 753, 375-383.

Anitha, K., Mohan, S. V., Reddy, S. J. (2004). Development of acetylcholinesterase silica solegel immobilized biosensor e an application towards oxydemeton methyl detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 848-856.

ANOonov, L., Vladimirova, M., Stanoeva, E., Fabian, W. M. F., Ballester, L. Ve Mitewa M. (2001). Complexation properties of schiff bases containing the N-phenylaza-15-crown-5 moiety. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 40, 23-28.

Bakalova, S. M., Vladimirova, M. P., Stanoeva, E., Mitewa, M. Ve Kaneti, J. (2003). Synthesis, electronic spectra and conformational properties of some N-substituted aza-crown ethers. *Bulgarian Chemical Communications*, 35 (4), 245-51.

Bakhshiev N. G. (1964) *Opt. Spectrosk.*, 16, 821.

Bean, L.S., Heng, L.Y., Yamin, B.M., Ahmad, M. (2005). Photocurable ferrocenecontaining poly(2-hydroxyl ethyl methacrylate) films for mediated amperometric glucose biosensor. *Thin Solid Films*, 477, 104-110.

Beglinger, L. J., Gaydos, B., Tangphao-Daniels, O., Duff, K., Kareken, D. A., Crawford, J., Fastenau, P. S., Siemers, E. R. (2005). Practice effects and the use of alternate forms in serial neuropsychological testing. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 20, 517-529.

Benco, J. S., Nienaber, H. A., McGimpsey, W. G. (2004). A highly selective fluoroionophore for the detection of lithium ions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162, 289-296.

Bilot, L. ve Kawski, A. (1962) *Z. Naturforsch.*, 17a, 621.

Bilot, L. ve Kawski, A. (1963) *Z. Naturforsch.*, 18a, 10.

Bilot, L. ve Kawski, A. (1963) *Z. Naturforsch.*, 18a, 256.

Biron, E., Otis, F., Meillon, J.-C., Robitaille, M., Lamothe, J., Hove, P. V., Cormier, M.-E., Voyer, N. (2004). Design, synthesis and characterization of peptide nanostructures having ion channel activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 12, 1279-1290.

Bucur, B., Fournier, D., Danet, A., Marty, J.-L. (2006). Biosensors based on highly sensitive acetylcholinesterases for enhanced carbamate insecticides detection. *Analytica Chimica Acta*, 562, 115-121.

Carter, H. E. ve Adams, R., (1946), *Organic Reactions* (Vol.III). New York: John Wiley and Sons, Inc.

Carter, H. E., ve Stevens, C.M., (1940). Azlactones. I. Azlactone Formation In Glacial And In Aqueous Acetic Acid And Preparation Of Benzoyl- α -Aminocrotonic Acid Azlactone II. *J. Biol. Chem*, 133, 117-128.

Chen, C., Jiang, Y., Kan, J. (2006). A noninterference polypyrrole glucose biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 639-643.

Choi, J. - W., Kim, Y. - K., Lee, I. - H., Min, J., Lee, W. H. (2001). Optical organophosphorus biosensor consisting of acetylcholinesterase/viologen hetero Langmuire Blodgett film. *Biosensors and Bioelectronics*, 16, 937-943.

Choi, J.-W., Min, J., Jung, J. - W., Rhee, H. - W., Lee, W. H. (1998). Fiber-optic biosensor for the detection of organophosphorus compounds using AChE-immobilized viologen LB films. *Thin Solid Films*, 327-329, 676-680.

- Chu, X., Duan, D., Shen, G., Yu, R. (2006). Amperometric glucose biosensor based on electrodeposition of platinum nanoparticles onto covalently immobilized carbon nanotube electrode. *Talanta*, 71 (5), 2040–2047.
- Clerici, F., Gemli, M. L. ve Trimarco, P., (1998). 5(4H)-Oxazolones. Part XI. Cycloaddition Reaction of Oxazolones and Münchnones to Triphenylvinylphosphonium salts as synthetic equivalents of alkynes. *Tetrahedron*, 54, 5763-5774.
- Combs, B.S., Carper, W.R., Stewart, J.P. (1992). The hydrolysis of 1,5-gluconolactone—Semiempirical methods and C-13 NMR confirmation. *Theochem-Journal of Molecular Structure*, 90 (3–4), 235–241.
- Cosnard, F., Wintgens, V. (1998). A new fluoroionophore derived from 4-amino-N-methyl-1,8-naphthalimide. *Tetrahedron Letters*, 39, 2751-2754.
- Diaz, J. L., Villacampa, B., Lopez-Calahorra F. ve Velasco, D. (2002). Experimental and Theoretical Study of a New Class of Acceptor Group in Chromophores for Nonlinear Optics:2-Substituted 4-Methylene-4H-oxazol-5-ones, *Chem. Mater.* 14, 2240-2251.
- Diaz, J. L., Villacampa, B., Lopez-Calahorra F. ve Velasco, D. (2002). Synthesis of polyconjugated carbazolyl–oxazolones by a tandem hydrozirconation–Erlenmeyer reaction. Study of their hyperpolarizability values. *Tetrahedron Letters*, 43, 4333–4337.

- Dondo, M. P., Bucur, B., Danet, A. F., Toader, C. N., Barthelmebs, L. ve Marty, J.-L. (2006). Organophosphorus insecticides extraction and heterogenous oxidation on column for analysis with an acetylcholinesterase (AChE) biosensor. *Analytica Chimica Acta*, 578, 162-168.
- Doong, R.-A. ve Tsai, H.-C. (2001). Immobilization and characterization of solgelencapsulated acetylcholinesterase fiber-optic biosensor. *Analytica Chimica Acta*, 434, 239-246.
- Doretti, L., Ferrara, D., Lora, S., Schiavon, F., Veronese, F. M. (2000). Acetylcholine biosensor involving entrapment of acetylcholinesterase and poly(ethylene glycol)-modified choline oxidase in a poly(vinyl alcohol)cryogel membrane. *Enzyme and Microbial Technology*, 27, 279-285.
- Elbert, J.E., Paulsen, S., Robinson, L., Elzey, S., Klein, K. (2005). A study of – (alkylamino)amino substituted 1,8-naphthalimide fluoroionophores. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 169, 9-19.
- Favre-Reguillon, A., Dumont, N., Dunjic, B., Lemaire. (1997). Polymetric and immobilized crown compounds, materials for ion separation. *Tetrahedron*, 53 (4), 1343-1360.
- Gokel, G. W., Leevy, W. M. ve Weber, M. E. (2004). Crown Ethers: Sensors for Ions and Molecular Scaffolds for Materials and Biological Models. *Chem. Rev.*, 104, 2723-2750.
- Gotti, R., Cavrini, V., Pomponio, R., Andrisano, V. (2001). Analysis and enANOioresolution of donepezil by capillary electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 24, 863-870.

- Gündüz, C., Salan, Ü., Özkul, N., Başaran, İ., Çakır, Ü., Bulut, M. (2006). The synthesis and complexation study of some novel 3-methoxyphenyl chromenone crown ethers using conductometry. *Dyes and Pigments*, 71, 161-167.
- Hai, A., Ben-Haim, D., Korbakov, N., Cohen, A., Shappir, J., Oren, R., Spira, M. E., Yitzchaik, S. (2006). Acetylcholinesterase-ISFET based system for the detection of acetylcholine and acetylcholinesterase inhibitors. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 605-612.
- Halamek, J., Teller, C., Makower, A., Fournier, D., Scheller, F. W. (2006). EQCN based cholinesterase biosensors. *Electrochimica Acta*, 51, 5174-5181.
- Heilmann, S. M., Moren, D. M., Krepski, L. R., Pathre, S. V., Rasmussen, J. K. ve Stevens, J., (1998). The chemistry of of 2-alkenyl-5(4H)-oxazolones.VIII acid – catalyzed reaction with alcohols. *Tetrahedron*, 54, 12151-12160.
- Hubner, K., Kollinsky, F., Markert, G. ve Pennewis, H., (1970). Synthesis and reactions from 2-alkenyloxazolones. *Angew. Macromol. Chem.* 11, 109-124.
- İçli, S., Doroshenko, A.O., Alp, S., Abnamova, N.A., Egorova, S.I., Astley, A.S. (1999). Structure and Luminescent Properties of the Derivatives of 4-arylidene-2-aryl-5-oxazolone in Solutions and in the Crystalline State. *Spectroscopy Letters*, 32 (4), 553-569.
- Içli, S., Içil, H., Alp, S., Koc, H. and McKillop, A., (1994). Nmr, absorption and fluorescence parameters of azlactones. *Spectroscopy Letters*, 27(9),1115-1128.

Iwakura, Y., Toda, F., Torii, Y., (1967). A novel preparation of pseudoxazolones. *Tetrahedron*, 23 (8), 3363-3373.

Jiwan, J.L.H., Branger, C., Soumillion, J.Ph., Valeur, B. (1998). Ion-responsive fluorescent compounds V. Photophysical and complexing properties of coumarin 343 linked to monoaza-15-crown-5. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 116, 127-133.

Johnson, J.R., (1942). Perkin reaction and related reactions. *Org. Reactions*, 1, 231.

Kim, Y.H., Cha, N.R., Chang, S. (2002). A new fluorogenic benzothiazolyl ionophore based upon calix[4]arene-crown-5 ether for calcium determination in aqueous media. *Tetrahedron Letters*, 43, 3883-3886.

Kok, F. N., Bozoglu, F., Hasirci, V. (2002). Construction of an acetylcholinesterase - choline oxidase biosensor for aldicarb determination. *Biosensors and Bioelectronics*, 17, 531-539.

Kubo, K., Sakaguchi, S., Sakurai, T. (1999). Synthesis, complexation and fluorescence behavior of armed crown ethers carrying naphthyl group. *Talanta*, 49, 735-744.

Kubo, K., Sakurai, T., Mori, A. (1999). Complexation and fluorescence behavior of 9.10-bis[bis(2-hydroxyethyl)aminomethyl]anthracene. *Talanta*, 50, 73-77.

Kudo, H., Sawada, T., Kazawa, E., Yoshida, H., Iwasaki, Y., Mitsubayashi, K. (2006). A flexible and wearable glucose sensor based on functional polymers with Soft-MEMS techniques. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 558-562.

- Lakowicz, J. R. (1999). *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (2nd ed.). New York: Kluwe Academic / Plenum Publishers.
- Larsson, N., Ruzgas, T., Gorton, L., Kokaia, M., Kissinger, P., Csöregi, E. (1998). Design and development of an amperometric biosensor for acetylcholine determination in brain microdialysates. *Electrochimica Acta*, 43, 3541-3554.
- Lenigk, R., Lam, E., Lai, A., Wang, H., Han, Y., Carlier, P., Renneberg, R. (2000). Enzyme biosensor for studying therapeutics of Alzheimer's disease. *Biosensors and Bioelectronics*, 15, 541-547.
- Leray, I., Jiwan, J.L.H., Branger, C., Soumillion, J.Ph., Valeur, B., (2000). Ion-responsive fluorescent compounds VI. Coumarin 153 linked to rigid crowns for improvement of selectivity. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 135, 163-169.
- Liao, C.-W., Chou, J.-C., Sun, T.-P., Hsiung, S.-K., Hsien, J.-H. (2006). Preliminary investigations on a glucose biosensor based on the potentiometric principle. *Sensors and Actuators*, 123 (2), 720–726.
- Lippert, E. (1955) *Z. Naturforsch.*, 10a, 541.
- Liptay, W. (1965). *Z. Naturforsch.*, 20a, 1441.
- Liu, B., Yang, Y. – H., Wu, Z. – Y., Wang, H., Shen, G. – L., Yu, R. – Q. (2005). A potentiometric acetylcholinesterase biosensor based on plasma-polymerized film. *Sensors and Actuators B*, 104, 186-190.

- Mataga, N., Kaifu, Y., Koizumi, M. (1955). *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 28, 690-691
- Martin, V.V., Rothe, A., Diwu, Z., Gee, K.R. (2004). Fluorescent sodium ion indicators based on the 1,7-diaza-15-crown-5 system. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters* 14, 5313-5316.
- Mateeva, N., Deligeorgiev, T. Ve Mitewa M. (1992). Styryl dyes containing an aza-15-crown-5 macroheterocycle moiety. *Dyes and Pigments*, 20, 271-278.
- McRae, E.G., (1957) *J. Phys. Chem.*, 61, 562.
- Moreno-Bondi, M.C., Wolfbeis, O.S. Leiner, M.J.P., Schaffar, B.P.H. (1990). Oxygen optrode for use in a fiberoptic glucose biosensor. *Anal Chem*, 62 (21), 2377-2380.
- Murakami, Y., Yokoyama, Y., Okuyama, N. (1983). The Vilsmeier-Haack Reaction of N-alkyl-1,2,3,4-tetrahydrocarbazoles and the synthetic application to olivacine and ellipticine. *Tetrahedron Letters*, 24 (21), 2189-2192.
- Nakashima, K., Itoh, K., Kono, M., Nakashima, M. N., Wada, M. (2006). Determination of donepezil hydrochloride in human and rat plasma, blood and brain microdialysates by HPLC with a short C30 column. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 201-206.
- Neubauer, A., Pum, D., Sleytr, U.B., KlimANO, I., Wolfbeis, O.S. (1996). Fibre-optic glucose biosensor using enzyme membranes with 2-D crystalline structure. *Biosens. Bioelecron.*, 11(3), 317-325.

- Nicolet, B.H., (1930). Interpretation of the dehydration of acetylglutamic acid by means of glutamylthiohydantoin derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, 52, 1192-1195.
- Pappa, H., Farru, R., Vilanova, P. O., Palacios, M., Pizzorno, M. T. (2002). A new HPLC method to determine Donepezil hydrochloride in tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 27, 177-182.
- Oguz, U. ve Akkaya, E. U. (1997). One-pot synthesis of a red-fluorescent chemosensor from an azacrown, phloroglucinol and squaric acid: A simple in-solution construction of a functional molecular device. *Tetrahedron Letters*, 38, 4509-5412.
- Park, B. S., Oh, C. M., Chun, K. H. and Lee, J. K., (1998). Photoinduced one pot transformation of 2-phenyl-4-ethylidene-5(4H)-oxazolone and allylic alcohols to γ , δ -unsaturated N-benzoyl amides. *Tetrahedron Letters*, 39, 9711-9714.
- Paul, S., Nada, P., Rajive, G. ve Loupy, A., (2004). Calcium acetate catalyzed synthesis of 4-arylidene-2-phenyl-5(4H)-oxazolones under solvent-free conditions. *Tetrahedron Letters*, 45, 425-427
- Radwan, M. A., Abdine, H. H., Al-Quadeb, B. T., Abboul-Enein, H. Y., Nakashima, K. (2006). Stereoselective HPLC assay of donepezil enantiomers with UV detection and its application to pharmacokinetics in rats. *Journal of Chromatography B*, 830, 114-119.
- Ricci, F., Amine, A., Palleschi, G., Moscone, D. (2003). Prussian Blue screen printed biosensors with improved characteristics of long-term lifetime and pH stability. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 165-174.

- Samu, E., Huszthy, P., Somogyi, L., Hollosi, M. (1999). Enantioselectively pure chiral phenazino-crown ethers: synthesis, preliminary circular dichroism spectroscopic studies and complexes with the enantiomers of 1-arethyl ammonium salts. *Tetrahedron Asymmetry*, 10, 2775-2795.
- Schultz, R. A., White, B. D., Dishong, D. M., Arnold, K. A. Ve Gokel, G. W. (1985). 12-, 15- and 18-membered ring nitrogen-pivot lariat ethers: syntheses, properties and sodium and ammonium cation binding properties. *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 6659-6668.
- Schulze, H., Vorlova, S., Villatte, F., Bachmann, T. T., Schmid, R. D. (2003). Design of acetylcholinesterase for biosensor applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 201-209.
- Schuvailo, O. N., Dzyadevych, S. V., El'skaya, A. V., Gautier-Sauvigne, S., Csöregi, E., Cespuglio, R., Soldatkin, A. P. (2005). Carbon fibre-based microbiosensors for in vivo measurements of acetylcholine and choline. *Biosensors and Bioelectronics*, 21, 87-94.
- Shi, M., Xu, J., Zhang, S., Liu, B., Kong, J. (2006). A mediator-free screen-printed amperometric biosensor for screening of organophosphorus pesticides with flow-injection analysis (FIA) system. *Talanta*, 68, 1089-1095.
- Snejdarkova, M., Svobodova, L., Evtugyn, G., Budnikov, H., Karyakin, A., Nikolelis, D. P., Hianik, E. (2004). Acetylcholinesterase sensors based on gold electrodes modified with dendrimer and polyaniline A comparative study. *Analytica Chimica Acta*, 514, 79-88.

- Sulowska, H., Wiczak, W., Młodzianowski, J., Przyborowska, M. ve Ossowski, T. (2002). Synthesis and fluorescence behaviour of crown and azacrown ethers carrying the dansyl fluorophore as a pendants in acetonitrile solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 150, 249-255.
- Suwanasard, S., Kanatharana, P., Asawatreratanakul, P., Limsakul, C., Wongkittisuksa, B., Thavarungkul, P. (2005). Semi disposable reactor biosensor for detecting carbamate pesticides in water. *Biosensors and Bioelectronics*, 21, 445-454.
- Takagi, M. ve Ueno K. (1984). Crown compounds as alkali and alkaline earth metal ion selective chromogenic reagents. *Topics Curr. Chem.*, 121, 39.
- Taylor, L. D., Chiklis, C. K. ve Platt, T. E., (1971), *J. Polym. Science Polym. Let.* Ed. 9, 187.
- Taylor, L. D. ve Cerankowski, L. D., (1975). *J. Polym. Sci. Polym. Chem.* Ed. 13, 2551.
- Taylor, L. D., Kolesinski, H. S., Mehta, A. C., Locatelli, L. ve Larson, P. S., (1982). *Macromol. Chem. Rapid Commun.* 3, 779.
- Taylor, L. D. ve Platt, T. E., (1969). *J. Polym. Science Polym. Letter ed.* 7, 597.
- Taziaux, D., Soumillion, J.-Ph., Jiwan, J.-L. H. (2004). Photophysical and complexing properties of new fluoroionophores based on coumarin 343 linked to rigidified crown-ethers. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 162, 599-607.

- Trettnak, W., Leiner, M.J.P., Wolfbeis, O.S. (1988). Optical sensors. 34. Fiber optic glucose biosensor with an oxygen optrode as the transducer. *Analyst*, 113 (10), 1519-1523.
- Trettnak, W., Leiner, M.J.P., Wolfbeis, O.S. (1989). Fibre-optic glucose sensor with a pH optrode as the transducer. *Biosensors*, 4, 15-26.
- Tuncer, H. ve Erk, Ç. (2000). Synthesis and fluorescence spectroscopy of bis(ortho- and para-carbonyl)phenyl glycols. *Dyes and Pigments*, 44, 81-86.
- Urgaonkar, S., Verkade, J. G. (2004). Synthesis of N-aryl-aza-crown ethers via Pd-catalyzed amination reactions of aryl chlorides with aza-crown ethers. *Tetrahedron*, 60, 11837-11842.
- Vakurov, A., Simpson, C. E., Daly, C. L., Gibson, T. D., Millner, P. A. (2005). Acetylcholinesterase- based biosensor electrodes for organophosphate pesticide detection. II. Immobilization and stabilization of acetylcholinesterase. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 2324-2329.
- Vamvakaki, V., Fournier, D., Chaniotakis, N. A. (2005). Fluorescence detection of enzymatic activity within a liposome based nano-biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 21, 384-388.
- Waibel, M., Schulze, H., Huber, N., Bachmann, T. (2006). Screen-printed bienzymatic sensor based on solgel immobilized *Nippostrongylus brasiliensis* acetylcholinesterase and a cytochrome P450 BM-3 (CYP102-A1) mutant. *Biosensors and Bioelectronics*, 21, 1132-1140.

- Warmke, H., Wiczek, W., Ossowski, T. (2000). Interactions of metal ions with monoaza crown ethers A15C5 and A18C6 carrying dansyl fluorophore as pendANO in acetonitrile solution. *Talanta*, 52, 449-456.
- White, B. J., Legako, J. A., Harmon, H. J. (2003). Spectrophotometric detection of cholinesterase inhibitors with an integrated acetyl-/butyrylcholinesterase surface. *Sensors and Actuators B*, 89, 107-111.
- Wolfbies, O. (1991). *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors* (Vol. I), Boca Raton Boston: CRC Press.
- Wong, F. C. M., Ahmad, M., Heng, L.Y., Peng, L. B. (2006). An optical biosensor for dichlorvos using stacked sol-gel films containing acetylcholinesterase and a lipophilic chromoionophore. *Talanta*, 69, 888-893.
- Xavier, M. P., Vallejo, B., Marazuela, M. D., Moreno – Bondi, M. C., Baldini, F., Falai, A. (2000). Fiber optic monitoring of carbamate pesticides using porous glass with covalently bound chlorophenol red. *Biosensors and Bioelectronics*, 14, 895-905.
- Xie, L., Hua, W., Chan, A. S. C. and Leung, Y.-C., (1999). Asymmetric alcoholysis of 2-phenyl-5-(4H)-oxazolones by the catalytic mixture of cyclo [(S)-His-(S)-Phe] with chiral auxiliaries. *Tetrahedron: Asymmetry*, 10, 4715-4728.
- Xue, G., Bradshaw, J.S., Song, H., Bronson, R.T., Savage, P.B., Krakowiak, K.E., Izatt, R.M., Prodi, L., Montalti, M., Zaccheroni, N. (2001). A convenient synthesis and preliminary photophysical study of novel fluorophores: macrocyclic polyamines containing two dansylamidoethyl side arms, *Tetrahedron*, 57, 87-91.

- Yadavalli, V. K., Koh, W. – G., Lazur, G. J., Pishko, M. V. (2004). Microfabricated proteincontaining poly(ethylene glycol) hydrogel arrays for biosensing. *Sensors and Actuators B*, 97, 290-297.
- Yamato, K., Fernandez, F. A., Vogel, H. F., Bartsch, R. A., Dietz, M. L. (2002). Stereospecific synthesis of cis-trans-dicyclohexano-18-crown-6 and K^+ complexation by the five dicyclohexano-18-crown-6 isomers. *Tetrahedron Letters*, 43, 5229-5232.
- Yang, M., Qu, F., Lu, Y., He, Y., Shen, G., Yu, R. (2006). Platinum nanowire nanoelectrode array for the fabrication of biosensors. *Biomaterials*, 27, 5944-5950.
- Yoon, K. R., Ko S.-O., Lee, S. M., Lee H. (2007). Synthesis and characterization of carbazole derived nonlinear optical dyes. *Dyes and Pigments*, 75, 567-573.
- Zollinger, H. (2003). Color Chemistry, Syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments (3th ed). John Wiley and Sons.