

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİMETRİK OLMAYAN DİSPİROFOSFAZENLERİN SENTEZİ,
YAPILARININ VE BİYOAKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Emine Damla AKKAYA

KİMYA ANABİLİM DALI

ANKARA
2024

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SİMETRİK OLMAYAN DİSPIROFOSFAZENLERİN SENTEZİ, YAPILARININ VE BİYOAKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Emine Damla AKKAYA

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuran GÜRÜN ASMAFİLİZ

Bu çalışmada; N-etil-3-karbazol karboksaldehit ve ferrosenkarboksaldehitin, N-metil-1,2-diaminoetan, N-etil-1,2-diaminoetan ve N-metil-1,3-diaminopropan ile reaksiyonları sonucu oluşan Schiff bazlarının NaBH_4 ile indirgenmesi ile N/N donör atomlu iki dişli ligandlar elde edilmiştir. Bu diamin ligandlarıyla (ferrosenildiaminler ve karbazolildiaminler), heksaklorosiklotrifosfazenin ($\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_6$, HCCP, trimer) reaksiyonları sonucu simetrik olmayan cis- ve trans- dispiro trimerik fosfazen türevleri sentezlenmiştir. Dispiro-fosfazen bileşiklerinin geometrik izomerleri kolon kromatografisi veya preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleriyle ayrılarak saf olarak elde edilmiştir.

Sentezlenen trimerik fosfazen türevlerinin yapısının incelenmesinde tek boyutlu NMR (^1H , ^{13}C , ^{31}P NMR) ve iki boyutlu NMR (HSQC ve HMBC), FTIR, kütle spektrometrisi ve element analizi kullanılmıştır. Uygun kristali elde edilen dört bileşiğin katı hal yapısı, X-ışını kırınım yöntemi ile incelenmiştir. Bileşiklerinin kiralitesinin belirlenmesi için bir kiral çözücü ajan olan (chiral solvating agent, CSA) ve Pirkle'in alkolü olarak da bilinen, [(S)-(+)-1-(9-Antril)-2,2,2-trifloroetanol] ilavesi ile bazı bileşiklerin ^{31}P NMR spektrumları kaydedilmiştir. Bununla birlikte bazı bileşiklerin Dairesel Dikroizm (CD, Circular dichroism) metodu ile spektrumları kaydedilmiştir. Ayrıca, bileşiklerin antioksidan etkileri, bazı bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri, DNA ile etkileşimleri, sitotoksik etkileri incelenmiştir. Dispirofosfazenlerin optik özellikleri UV-Vis/Floresans spektrofotometri yöntemleri ile incelenmiştir.

Şubat 2024, 148 sayfa

Anahtar Sözcükler: Trimer, spirofosfazen, HCCP, ferrosen, karbazol, spektroskopi, antioksidan, kristalografi, kiralite, antimikrobiyal aktivite, plazmid DNA

ABSTRACT

MSc Thesis

SYNTHESES, STRUCTURES AND BIOACTIVITIES OF NON-SYMMETRICAL DISPIROPHOSPHAZENES

Emine Damla AKKAYA

Ankara University
Graduate School of Natural Applied Science
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Nuran GÜRÜN ASMAFİLİZ

In this study, N/N donor atom bidentate diamine ligand groups were synthesized by reduction of Schiff bases which were formed from the reactions of N-ethyl-3-carbazole carboxaldehyde and ferrocenecarboxaldehyde with N-methyl-1,2-diaminoethane, N-ethyl-1,2-diaminoethane and N-methyl-1,3-diaminopropane. Then, dispiro trimeric phosphazene derivatives were obtained from the reactions of diamine ligands (ferrocenyldiamine and carbazolyldiamine) with hexachlorocyclotriphosphazene ($N_3P_3Cl_6$, HCCP, trimer). The synthesized compounds were formed as cis- and trans-isomers which were separated and purified by column chromatography or preparative thin layer chromatography methods and could be obtained in pure form.

One-dimensional NMR (1H -, ^{13}C -, ^{31}P NMR), two-dimensional NMR (HSQC and HMBC) spectroscopy, FTIR, elemental analysis, mass spectrometry were used to investigate the structure of the synthesised phosphazene derivatives. The solid state structure of the compounds, which suitable crystals could be obtained from, were analysed by single crystal X-ray crystallography. The ^{31}P -NMR data acquired with a chiral solvating agent (CSA) addition [(*S*)-(+)-1-(9-Anthryl)-2,2,2-trifluoroethanol] which is also known as Pirkle's alcohol, was used to determine the chiral characteristics. In addition, Circular Dichroism (CD) spectra of some compounds were recorded. Antioxidant potential of the compounds were investigated. Other biological activities of these phosphazene derivatives were evaluated in vitro against a panel of target organisms, including bacteria, fungi, and cancer cell. Their photophysical properties were investigated by UV-Vis and fluorescence spectrophotometry methods.

February 2024, 148 pages

Key Words: Trimer, spirophosphazene, ferrocene, carbazole, spectroscopy, antioxidant, crystallography, chirality, antimicrobial activity, plasmid DNA

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaőan, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyerek her aőamada yönlendiren; her konuda sabırla ve ilgiyle yol gösteren, çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nuran ASMAFİLİZ'e (Ankara Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı),

Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktivite deneylerini gerçekteőtiren Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a (G.Ü.F.F. Biyoloji Bölümü), fotofiziksel çalıőmalarını yapan Sayın Prof. Dr. Bünyemin COŐUT'a (G.T.Ü. Kimya Bölümü) ve bileşiklerin X-ışınları kristallografisi ile ilgili çalışmaları için Sayın Prof. Dr. Tuncer HÖKELEK'e (H.Ü.M.F. Fizik Mühendisliği Bölümü),

Tezimin farklı aőamalarında bana destek olan Dr. Reőit CEMALOğLU'na (A. Ü. Kimya Bölümü) ve aynı laboratuvarıda beraber çalıőmaktan keyif aldığım diğer tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bugüne kadar aldığım tüm kararların arkasında duran sevgili aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma FYL-2023-2774 numaralı Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) ile desteklenmiőtir.

Emine Damla AKKAYA

Ankara, Şubat 2024

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER	9
2.1 Fosfazenler	9
2.1.1 Halkalı trimerik fosfazenlerin tepkimeleri.....	11
2.1.2 Halkalı trimerik fosfazen bileşiklerinin kullanım alanları.....	13
2.2 Ferrosen	20
2.3 Karbazoller	21
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	23
3.1 Materyaller	23
3.1.1 Kimyasal maddeler ve materyaller	23
3.1.2 Cihazlar	24
3.2 Yöntemler	25
3.2.1 N/N donör atomlu Schiff bazları ve diamin bileşiklerinin sentezi	25
3.2.1.1 Ferrosenildiamin bileşiklerinin sentezi	25
3.2.1.2 Karbazolildiamin bileşiklerinin sentezi.....	26
3.2.2 Tetrakloro monoferrosenil spirofosfazen bileşiklerinin sentezi.....	27
3.2.3 Simetrik olmayan cis- ve trans- dispirofosfazenlerin sentezi	28
3.2.4 Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi	33
3.2.5 Bileşik- DNA etkileşiminin belirlenmesi.....	35
3.2.6 Sitotoksik aktivite belirlemeye yönelik çalışmalar	36
3.2.7 Antioksidan özelliklerinin belirlenmesi	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	39

4.1 Bileşiklerin Element Analizi Sonuçları	39
4.2 Bileşiklerin Kütle Spektrometrisi Analizleri	40
4.3 FTIR Analizi Sonuçları	41
4.4 X-Işını Kristallografi ile Yapı Analizi	42
4.5 NMR Spektroskopisi Analiz Sonuçları	51
4.5.1 ³¹ P-NMR analizleri	51
4.5.2 ¹³ C-NMR analizleri	59
4.5.3 ¹ H-NMR analizleri	66
4.5.4 İki boyutlu HSQC ve HMBC NMR analizleri	69
4.6 Bileşiklerin Dairesel Dikroizm (Circular Dichroism, CD) Spektrumları	71
4.7 Bileşiklerin Fotofiziksel Özellikleri	72
4.8 Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerini İncelemek İçin Yapılan Çalışmalar	77
4.8.1 Bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri	77
4.8.2 Bileşiklerin DNA ile etkileşimi	89
4.8.3 Bileşiklerin antioksidan özellikleri	93
4.8.4 Bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri	96
5. SONUÇ	97
KAYNAKLAR	100
EKLER	103
EK 1 FTIR SPEKTRUMLARI	104
EK 2 ³¹ P NMR SPEKTRUMLARI	113
EK 3 KÜTLE SPEKTRUMLARI	122
EK 4 ¹³ C NMR SPEKTRUMLARI	129
EK 5 ¹ H NMR SPEKTRUMLARI	138
EK 6 İKİ BOYUTLU NMR HSQC VE HMBC SPEKTRUMLARI	146
ÖZGEÇMİŞ	148

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

μM	Mikromolar
$(\text{MH})^+$	Protonlanmış Molekül İyonu
$\text{CHCl}_3, \text{CDCl}_3$	Kloroform, Dötorokloroform
CSA	(Chiral Solvating Agent) Kiral Çözücü Ajanı
Cz	Karbazol
DCM	Dikolorometan
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikali
e.n.	Erime Noktası
Et_3N	Trietilamin
$\text{Et}_3\text{N.HCl}$	Trietilamonyum klorür tuzu
EtOH	Etanol
Fc	Ferrosen
FT-IR	Fourier Transform İnfrared (Kızıl ötesi) Spektroskopisi
HCCP	Hekzaklorosiklotrifosfazen (Trimerik Halkalı Fosfazen)
Hz	Hertz
i	İkili (pik)
ii	İkilinin ikilisi (pik)
M^+	Moleküler İyon
mL	Mililitre
mmol	Milimol
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür
NaBH_4	Sodyum borhidrür
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
ns	Nanosaniye
Rf (retention factor)	Sürüklenme derecesi (alınma faktörü)
THF	Tetrahidrofuran
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
ü	Üçlü (pik)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 HCCP (solda) ve siklotrifosfazan bileşikleri açık yapısı	9
Şekil 2.2 Düz zincirli polifosfazenlerin sentezi	10
Şekil 2.3 İki kiral fosfor atomu bulunduran trimerlerin olası konfigürasyonları.....	11
Şekil 2.4 HCCP'ye; O, N, S, C veya P atomları aracılığıyla bağlanabilen bazı süstitüent türleri (Wang vd. 2024).....	12
Şekil 2.5 HCCP'nin farklı nükleofillerle reaksiyonları sonucu oluşabilecek konfigürasyonlar (Nu: nükleofil) (Wang vd. 2024)	13
Şekil 2.6 Alev geciktirici özellikleri olan bazı siklotrifosfazen türevlerinin yapısı.....	15
Şekil 2.7 Lityum pillerde kullanılan Heksaflorosiklotrifosfazen (HFPN), etoksi pentaflorosiklotrifosfazen (PFN veya PFPN) ve fenoksi pentaflorosiklotrifosfazenin sentezi ve açık yapısı	16
Şekil 2.8 Antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip N/N iki dişli ligandlar taşıyan siklotrifosfazenler (Asmafiliz vd. 2019).....	18
Şekil 2.9 Gümüş- HCCP koordinasyon bileşikleri (Gascon vd. 2020).....	19
Şekil 2.10 Doksorubisin, (metoksi-poli(etilen glikol) ve tümöre özgü bir tetrapeptid (Gly-Phe-Leu-GlyO) ayırıcı içeren siklofosfazen türevi (Kim vd. 2005).....	19
Şekil 2.11 Ferrosen bileşiği, a) üstten görünümü b) yandan görünümü (Bhatt 2016)....	20
Şekil 2.12 Karbazolun Açık Yapısı.....	21
Şekil 3.1 Ferrosenildiamin sentezi	25
Şekil 3.2 Sentezlenen karbazolildiamin bileşikleri	26
Şekil 3.3 Sentezlenen monospirosiklotrifosfazen türevleri.....	27
Şekil 3.4 Sentezlenen dispirofosfazen türevleri	29
Şekil 3.5 Mikrodilüsyon yöntemi ile MBK, MFK ve MİK belirlenmesi (biorender).....	34
Şekil 3.6 Bileşiklerin bakteri ve maya petri görüntüleri	35
Şekil 3.7 MTT testi (biorender)	37
Şekil 3.8 DPPH radikalinin antioksidan ile indirgenmesi.....	38
Şekil 4.1 Trans-10 bileşiğinin ORTEP diyagramı	44

Şekil 4.2 Cis-15 bileşiğinin ORTEP diyagramı	44
Şekil 4.3 16 numaralı trans- bileşiğin ORTEP diyagramı	45
Şekil 4.4 Bileşik 18'in (trans-) ORTEP diyagramı	45
Şekil 4.5 Trans-10 bileşiğindeki (a) trimer halkasının ve (b) spiro halkaların konformasyonu	46
Şekil 4.6 Cis-15 bileşiğindeki (a) trimer halkasının ve (b) spiro halkaların konformasyonu	46
Şekil 4.7 Trans-16 bileşiğindeki (a) trimer halkasının ve (b) spiro halkaların konformasyonu	47
Şekil 4.8 Trans-18 bileşiğindeki (a) trimer halkasının ve (b) spiro halkaların konformasyonu	47
Şekil 4.9 Bileşiklerin fosfazen halkalarının torsiyon (burulma) açıları	50
Şekil 4.10 Sentezlenen dispirofosfazenlerin oluşması beklenen optik izomerleri	54
Şekil 4.11 Kullanılan kiral çözücü (CSA), Pirkle alkolü (S)-(+)-1-(9-Antril)-2,2,2-trifloroetanol	54
Şekil 4.12 Bileşik 14'ün CSA eklenmeden önce (a) ve sonra (b) kaydedilen ³¹ P-NMR spektrumları.....	55
Şekil 4.13 Cis-15 bileşiğinin CSA eklenmeden önce (a) ve sonraki (b) ³¹ P-NMR spektrumları.....	56
Şekil 4.14 Trans-16 bileşiğinin CSA ilavesi öncesi ve sonraki ³¹ P-NMR spektrumu	57
Şekil 4.15 Sentezlenen bileşiklerin numaraları ve açık yapıları	61
Şekil 4.16 Bileşik 14'ün yapısı (solda) ve HSQC spektrumunun (sağda) bir kısmı.....	69
Şekil 4.17 Bileşik 14'ün HSQC spektrumunun bir bölümü.....	69
Şekil 4.18 Bileşik 14'ün HMBC spektrumu	70
Şekil 4.19 Bileşik 24'ün HSQC spektrumu	70
Şekil 4.20 Bileşiklerin CD spektrumları	72
Şekil 4.21 Bileşiklerin optik absorpsiyon (A) ve floresan emisyon (B) spektrumları	74
Şekil 4.22 Bileşik 10, 14 ve 15'in DCM'de farklı konsantrasyonlardaki absorbans spektrumları.....	74

Şekil 4.23 16, 18, 20, 22, 24 ve 26 numaralı bileşiklerin DCM içinde farklı konsantrasyonlardaki absorbans spektrumları	75
Şekil 4.24 Dispirofosfazenlerin floresans ışımaya ve bozunma profilleri.....	76
Şekil 4.25 Plasmid DNA'nın üç farklı konformasyonu.....	89
Şekil 4.26 Sentezlenen 10, 11 ve 12 numaralı bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 µM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 µM, hat 2: 1250 µM, hat 3: 650 µM, hat 4: 312.5 µM, hat 5: 156.25 µM).....	90
Şekil 4.27 Bileşiklerden 13, 14 ve 15'in farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 µM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 µM, hat 2: 1250 µM, hat 3: 650 µM, hat 4: 312.5 µM, hat 5: 156.25 µM)	90
Şekil 4.28 16, 17 ve 18 maddelerinin farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 µM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 µM, hat 2: 1250 µM, hat 3: 650 µM, hat 4: 312.5 µM, hat 5: 156.25 µM)	91
Şekil 4.29 20, 22 ve 24 bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 µM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 µM, hat 2: 1250 µM, hat 3: 650 µM, hat 4: 312.5 µM, hat 5: 156.25 µM)	91
Şekil 4.30 25, 26 ve 5 numaralı bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 µM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 µM, hat 2: 1250 µM, hat 3: 650 µM, hat 4: 312.5 µM, hat 5: 156.25 µM)	91
Şekil 4.31 10, 11, 12, 13, 14 ve 15 numaralı bileşiklere ait dispirofosfazen -DNA karışımının <i>Bam</i> HI ve <i>Hind</i> III restriksiyon enzimleri ile etkileştirilmesi sonucunun jel görüntüsü (pBR: pBR322 plasmid, pBR/B: pBR322'nin <i>Bam</i> HI ile restriksiyon enzim kesimi, pBR/H: pBR322'nin <i>Hind</i> III ile restriksiyon enzim kesimi)	92
Şekil 4.32 10, 11, 12, 16, 17 ve 18 numaralı bileşiklere ait dispirofosfazen-DNA karışımının <i>Bam</i> HI ve <i>Hind</i> III restriksiyon enzimleri ile etkileştirilmesi sonucunun jel görüntüsü (pBR: pBR322 plasmid, pBR/B: pBR322'nin <i>Bam</i> HI ile restriksiyon enzim kesimi, pBR/H: pBR322'nin <i>Hind</i> III ile restriksiyon enzim kesimi)	93
Şekil 4.33 20, 22, 24, 25, 26 ve 5 numaralı bileşiklere ait dispirofosfazen -DNA karışımının <i>Bam</i> HI ve <i>Hind</i> III restriksiyon enzimleri ile etkileştirilmesi sonucunun jel görüntüsü (pBR: pBR322 plasmid, pBR/B: pBR322'nin <i>Bam</i> HI ile restriksiyon enzim kesimi, pBR/H: pBR322'nin <i>Hind</i> III ile restriksiyon enzim kesimi)	93

Şekil 4.34 Bileşiklerin antioksidan aktiviteleri (Mavi çubuklar: Bileşiklerin IC₅₀ değerleri; Pozitif Kontrol: BHT; Bileşikler: 10, 14, 15, 16, 18, 22, 24, 26).95

Şekil 4.35 Bileşiklerin ve cis-platinin, Vero ve MDA-MB-231 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etki deneyi sonuçları.....96



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Sentezlenen bileşiklerin açık yapısı	2
Çizelge 3.1 Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan bakteri ve maya suşları	23
Çizelge 4.1 Sentezlenen bileşiklerin element analiz sonuçları	39
Çizelge 4.2 Kütle spektrum verileri	40
Çizelge 4.3 Bileşiklerin FTIR spektrumunda gözlenen titreşim frekansları	42
Çizelge 4.4 Bileşiklerin kristal verileri	43
Çizelge 4.5 Sentezlenen bileşiklerin bağ uzunlukları ve bağ açıları	48
Çizelge 4.6 Bileşiklerdeki fosfor atomlarının kimyasal kayma değerleri (δ), fosforlar arası eşleşme sabitleri ($^2 J_{PP}$) ve spin sistemleri	51
Çizelge 4.7 14, 15 ve 16 numaralı bileşiklerin CSA ilavesinden önce ve sonra kaydedilen ^{31}P NMR spektrum verileri	58
Çizelge 4.8 ^{13}C -NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-karbon atomları arasındaki eşleşme sabitleri J_{PC} (Hz)	61
Çizelge 4.9 ^{13}C NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-karbon atomları arasındaki eşleşme sabitleri J_{PC} (Hz)	64
Çizelge 4.10 1H -NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-hidrojen atomları arasındaki (J_{PH}) ve Hidrojen atomları arasındaki (J_{HH}) eşleşme sabitleri (Hz)	67
Çizelge 4.11 1H -NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-hidrojen atomları arasındaki (J_{PH}) ve Hidrojen atomları arasındaki	68
Çizelge 4.12 Hazırlanan bileşiklerin fotofiziksel özellikleri	77
Çizelge 4.13 Sentezlenen bileşiklerin (10-17) minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (μM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol ..	80
Çizelge 4.14 Sentezlenen 4, 5 ve 6 numaralı (karbazoldiamino grupları) ile 18, 20, 22, 24, 25, 26 numaralı bileşiklerin (dispirofosfazenler) minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (μM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol ..	82
Çizelge 4.15 10-17 bileşiklerinin minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri (μM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol ..	85
Çizelge 4.16 Sentezlenen 4-6 (karbazoldiamino grupları), 18, 20, 22, 24, 25, 26 numaralı dispirofosfazenlerin minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve	

minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri (μM) Amp: Ampisilin,
C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol 87

Çizelge 4.17 Bileşiklerin 2500 μM konsantrasyonda DPPH radikal süpürme aktiviteleri
..... 95



1. GİRİŞ

Fosfazener, tek ve çift bağlarla azot atomlarına bağlanmış fosfor atomlarından oluşan inorganik bir bileşik sınıfıdır. Yüksek termal kararlılıkları, alev geciktiricilikleri ve dielektrik özellikleri onları malzeme bilimi ve elektronik uygulamalarında değerli kılmaktadır.

Ferrosen, iki siklopentadienil halkası arasında merkezi bir demir atomundan oluşan, redoks aktiviteleri ve katalitik etkinlikleri ile bilinen organometalik bir bileşiktir. Ferrosen, kolay elektron transferi sayesinde, enerji depolama, elektrokataliz ve algılama cihazlarındaki uygulamalar için cazip bir bileşen haline gelmektedir. Bir ferrosenildiamin ligandının siklotrifosfazen türevlerine dahil edilmesi ile elde edilecek bileşikler, ilginç elektrokimyasal özellikler gösterebilir (Conway vd. 2002).

Karbazol ise, azot içeren bir pirol halkasına bitişik iki benzen halkasından oluşan trisiklik bir yapı içeren aromatik heterosiklik bileşiktir. Yüksek floresan kuantum verimleri ile optik ve termoelektronik uygulamalarda kullanım potansiyeli içermektedir. Siklotrifosfazen türevlerine süstitüent olarak karbazolildiamin gruplarının eklenmesiyle oluşan bileşikler elektrokimyasal, optik, katalitik ve farmakolojik özellik gösterme potansiyeline sahiptir.

Bu bilgiler ışığında, tez kapsamında trimerik fosfazen halkasında hem ferrosenildiamin hem de karbazolildiamin gruplarının bulunduğu simetrik olmayan dispiro- trimerik fosfazen türevleri sentezlenmiştir ve karakterizasyonları yapılmıştır.

Bunun için öncelikle N-etil-3-karbazol karboksaldehit ve ferrosenkarboksaldahitten yola çıkılarak N/N donör atomlu ligandlar sentezlenmiştir. Ferrosenkarboksaldehitin; N-metil-1,2-diaminoetan, N-etil-1,2-diaminoetan ve N-metil-1,3-diaminopropan ile reaksiyonlarından üç farklı Schiff bazı ve bu Schiff bazlarının NaBH₄ ile indirgenmesinden sonra ferrosenildiamin bileşikleri (**1-3**) elde edilmiştir. Ayrıca, N-etil-3-karbazol karboksaldehitin aynı alifatik aminler (N-metil-1,2-diaminoetan, N-etil-1,2-

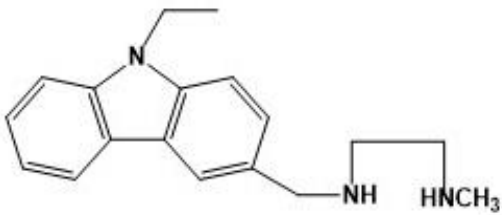
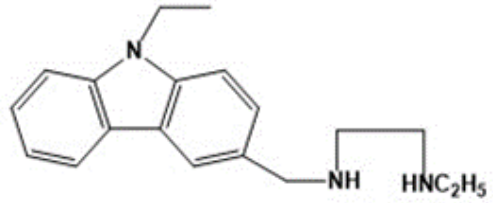
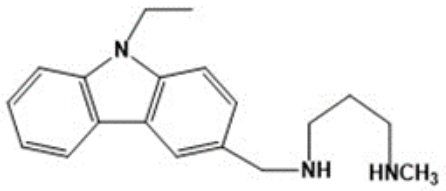


diaminoetan ve N-metil-1,3-diaminopropan) ile etkileşimi sonucu karbazolildiaminler (**4-6**) sentezlenmiştir. N/N donör atomlu ferrosenildiamin ligandları (**1-3**) ile trimerin 1:1 oranında reaksiyonlarından monospirosiklotrifosfazen türevleri (**7-9**) elde edilmiştir. Monospirosiklotrifosfazen türevlerinin (**7-9**), karbazolildiaminlerle (**4-6**) tepkimesinden cis- ve trans- dispiro bileşikler (**10-27**) sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin açık yapıları Çizelge 1.1’de verilmiştir.

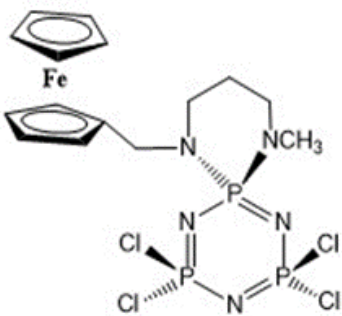
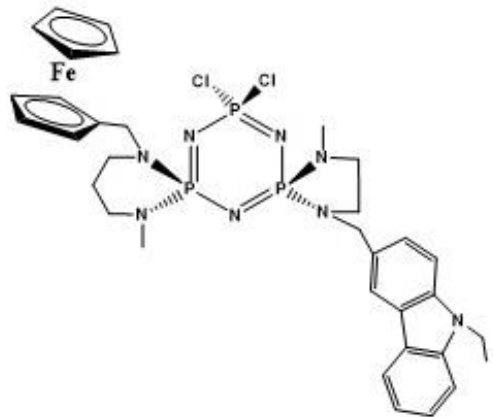
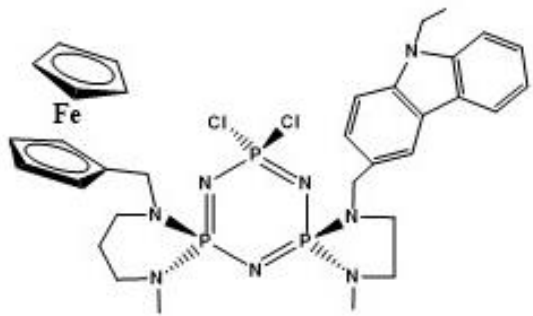
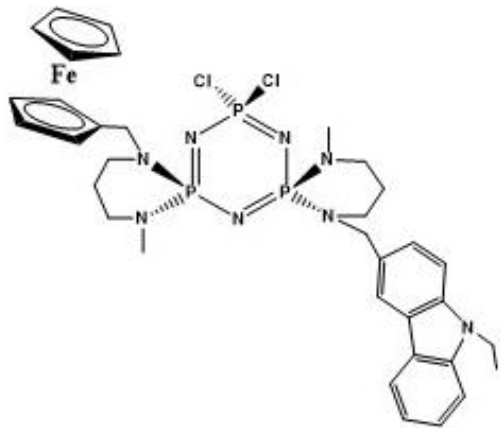
Sentezlenen orijinal dispiro trimerik fosfazen türevlerinin yapıları ^1H , ^{13}C , ^{31}P NMR, HSQC ve HMBC teknikleri kullanılarak belirlenmiştir. Ek olarak, uygun kristali elde edilen **10**, **15**, **16** ve **18** bileşiklerinin kristal yapılarını aydınlatmak için X ışını kırınım metre yöntemi kullanılmıştır.

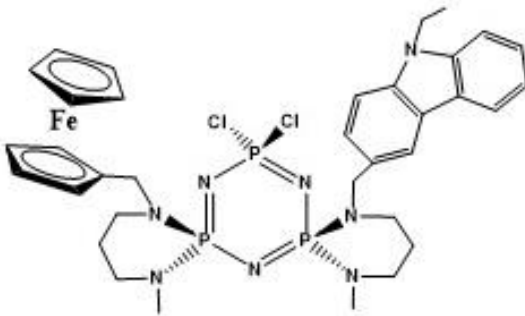
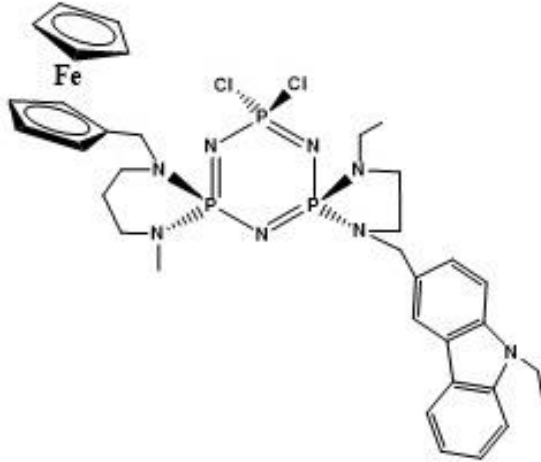
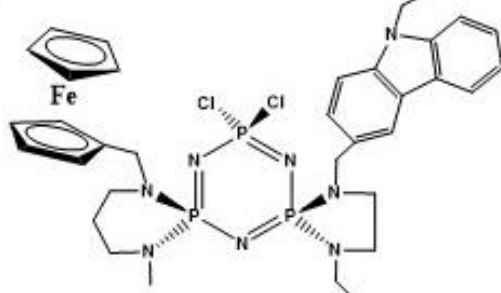
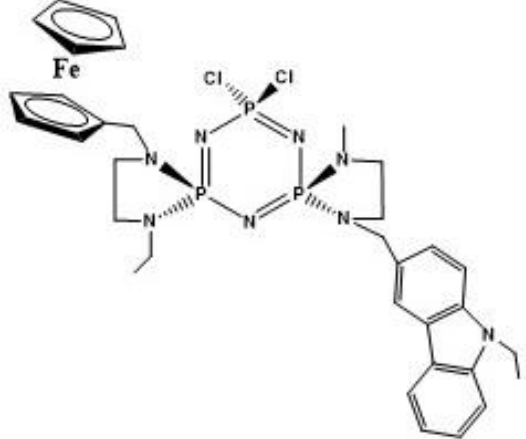
Sentezlenen dispiro- bileşiklerin fotofiziksel özellikleri de incelenmiştir. Ayrıca antioksidan özellikleri, sitotoksiteleri, DNA ile etkileşimi, bazı bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

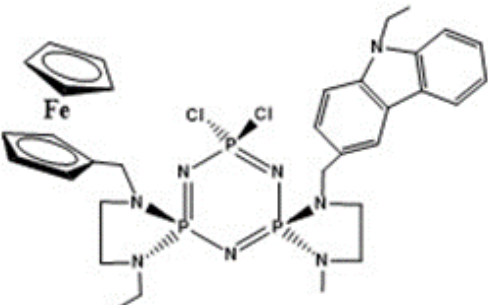
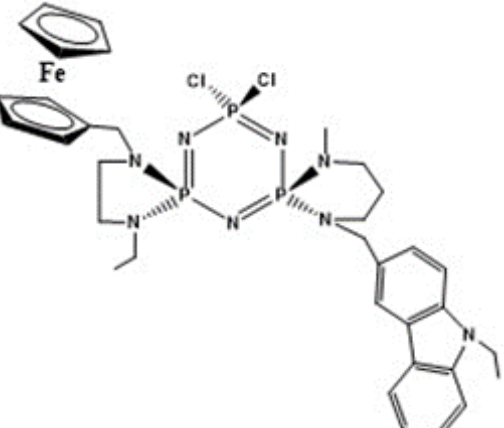
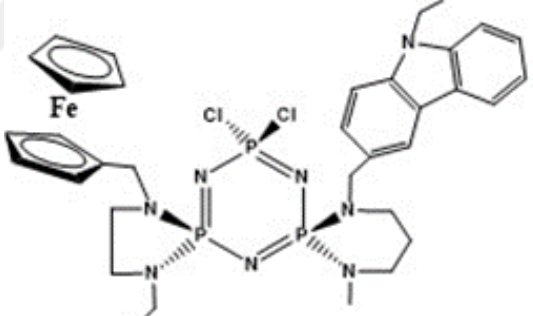
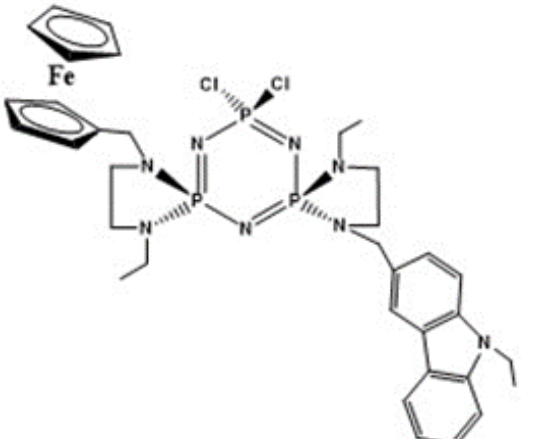
Çizelge 1.1 Sentezlenen bileşiklerin açık yapısı

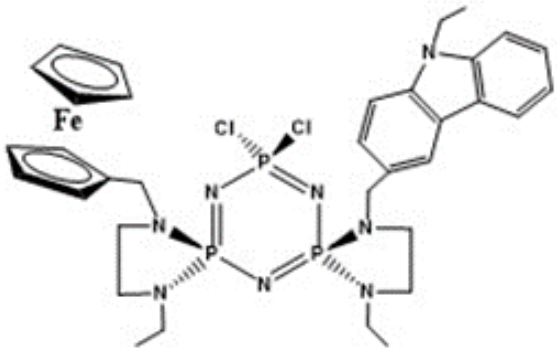
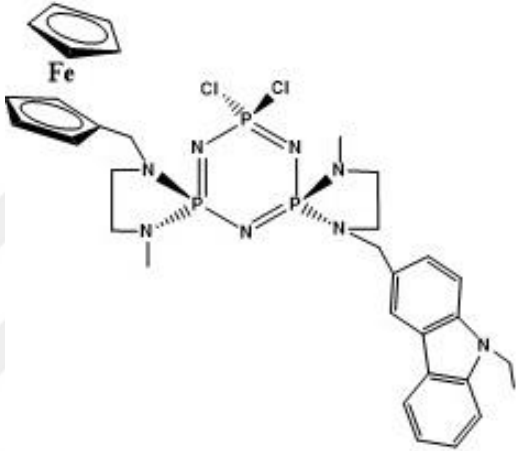
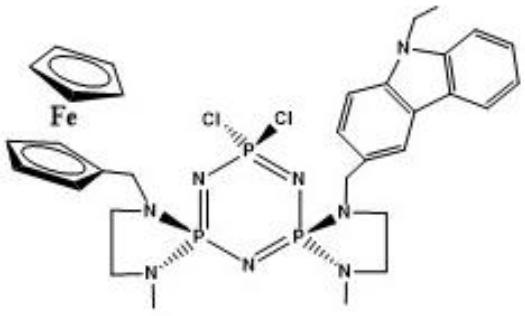
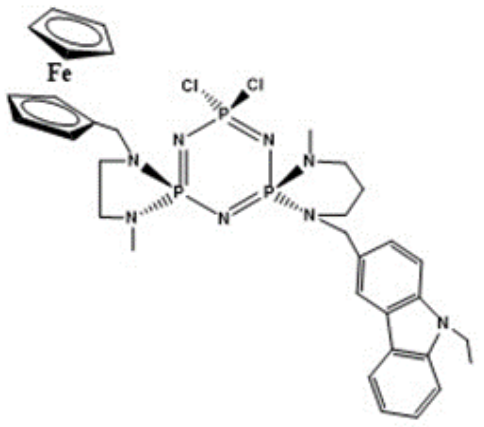
Numara	Açık Yapısı
1	
2	
3	

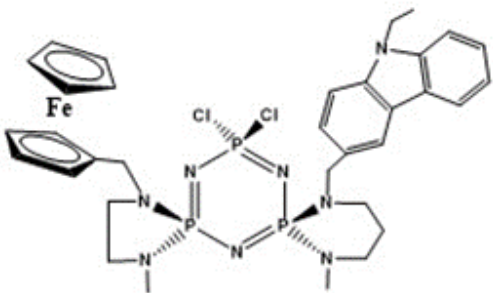
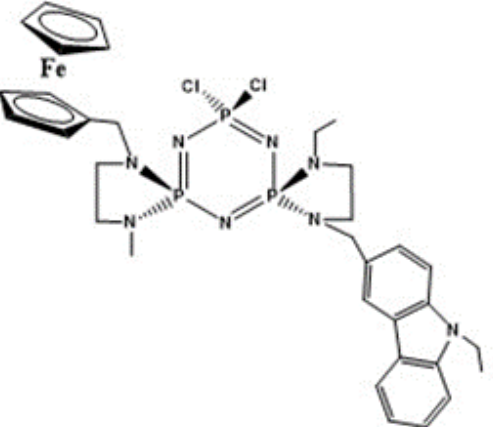
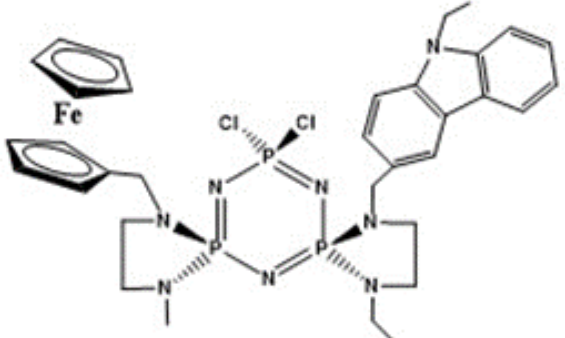
4	
5	
6	
7	
8	

9	
10	
11	
12	

13	
14	
15	
16	

17	
18	
19	
20	

21	
22	
23	
24	

25	
26	
27	

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Fosfazener

Fosfazener $(N=PX_2)_n$, (X= Halojen veya organik grup), yapısında tekrarlayan, çift ve tek bağlı fosfor ve azot atomları içeren bileşiklerdir (Shaw vd. 1962). Düz zincirli, halkalı ve polimerik (siklomatriks, lineer matriks, düz zincirli, halkalı lineer) yapıda bulunabilirler.

Liebig ve Wöhler, fosforpentaklorürün amonyak ile reaksiyonu üzerinde çalışırken reaksiyonun ana ürünü olan fosfanın $(NPNH)_n$ yanında az miktarda başka bir madde daha elde etmişlerdir. Bu madde, sentezlenen ilk fosfazen bileşiği olan heksaklorosiklotrifosfazendir (HCCP, trimer) (Şekil 2.1).

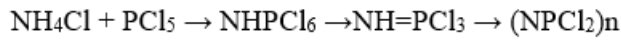


Şekil 2.1 HCCP (solda) ve siklotrifosfazan bileşikleri açık yapısı

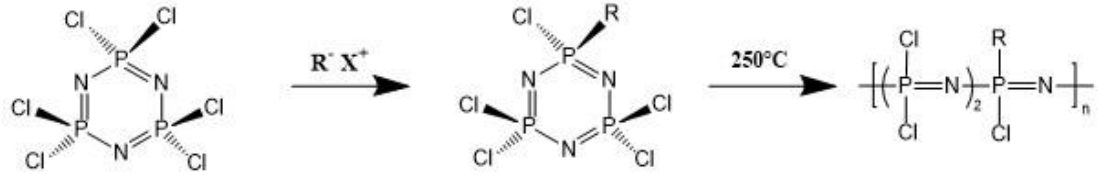
Gerhardt ve Laurent fosfazenerin ampirik formülünü tanımlamıştır, molekül formülü ile kütlesi de Holmes ve Wichelhaus tarafından belirlenmiştir. Stokes, trimerlerin süstitüsyon tepkimeleri üzerinde çalışmıştır, hidrolizleri üzerinde çalışırken siklofosfazanları (Şekil 2.1) elde etmiştir. Stokes, ayrıca trimerik fosfazenin altı üyeli halkalı bir yapı olduğunu öne süren ilk kişidir, daha sonra X-ışını çalışmaları ile fosfazen yapısı aydınlatıldığında bu önerinin doğru olduğu görülmüştür (Stokes 1895, Allcock 1972).

HCCP bileşiminin yüksek verimle elde edilmesini sağlayan ve günümüzde HCCP'nin ticari eldesinde kullanılan yöntemin temelini oluşturan sentez yöntemi Schenck ve Römer tarafında 1924'te geliştirilmiştir (Allcock 1972).

Halkalı fosfazenler $[\text{NPCl}_2]_n$, PCl_5 ve NH_4Cl bileşiklerinin yüksek kaynama noktalı klorlu bir çözücünde (tetrakloroetan, klorbenzen gibi) reaksiyonu ve ardından hızlı damıtılmasıyla hazırlanır.

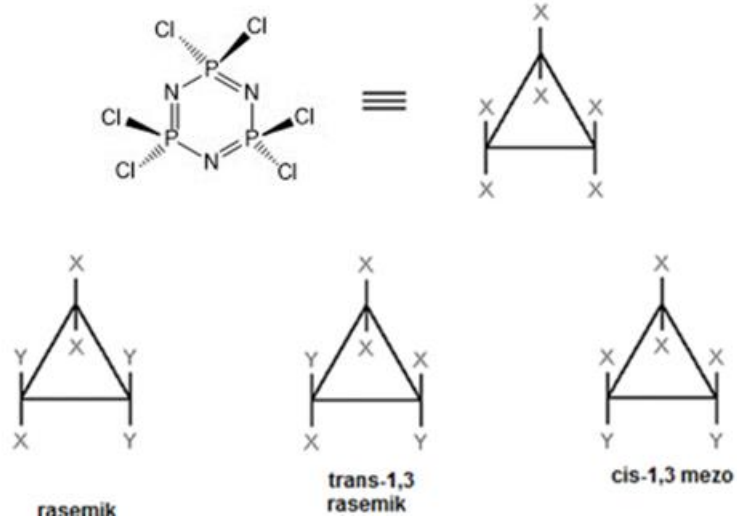


İlk düz zincirli fosfazen polimerleri Allcock ve Kugel tarafından 1965'te elde edilmiştir. Düz zincirli polifosfazenlerin sentezi için kullanılan yöntemlerden biri HCCP'nin halka açılma polimerizasyonu ve nükleofil ile klor atomlarının yer değiştirmesidir. HCCP yaklaşık olarak 250°C 'ye kadar ısıtıldığında veya AlCl_3 gibi Lewis asitleri tarafından katalizlendiğinde halka açılarak polimerizasyon reaksiyonu gerçekleşir.



Şekil 2.2 Düz zincirli polifosfazenlerin sentezi

Fosfazen halkasını oluşturan fosfor atomları dört koordinasyonludur ve fosfora simetrik olmayan süstitüe gruplar bağlanırsa siklotrifosfazen türevlerinde optik izomerizm olabileceği ifade edilmiştir (Shaw vd. 1962). HCCP'nin uygun fonksiyonel ligandlarla yer değiştirme reaksiyonları sonucunda bir, iki ve üç kiral merkez içeren fosfazenler elde edilebilir. İki kiral merkez bulunduran siklotrifosfazen yapılarının genel temsili şekil 2.3'te sunulmuştur.



Şekil 2.3 İki kiral fosfor atomu bulunduran trimerlerin olası konfigürasyonları

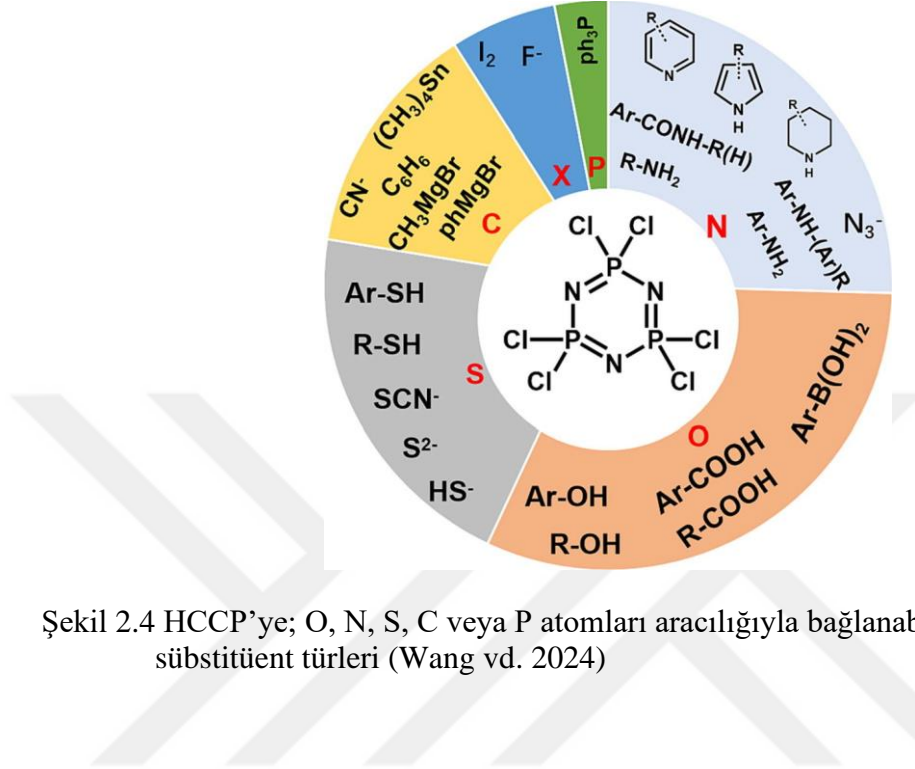
İki kiral merkez içeren trans-1,3-disübstitüe bileşikler, enantiyomerlerin bir karışımı (rasemik karışım) olarak bulunur ve optikçe aktiftir. Benzer şekilde, iki kiral merkez içeren ve cis-1,3-disübstitüe konfigürasyonuna sahip bileşikler, bir simetri düzlemi içerdiklerinden kiral bir merkeze sahip olmalarına rağmen optikçe aktif değildirler.

2.1.1 Halkalı trimerik fosfazenlerin tepkimeleri

HCCP türevlerinin yaygın reaksiyonları nükleofilik sübstitüsyon (trimer halkasındaki fosfor atomuna bağlı klor atomlarının nükleofillerle yer değiştirilmesi) ve elektrofilik katılma (trimer halkasındaki azot atomu üzerinden koordinasyon bağı oluşması) reaksiyonlarıdır (Wang vd. 2024).

HCCP, delokalize bir π -elektron sistemine sahiptir, bu diğer fosfazenlere kıyasla daha yüksek kararlılığa sahip olmalarını sağlamaktadır. Halka dışında bulunan P-Cl bağı ise düşük bir bağ enerjisine sahiptir, fosfor atomları üzerindeki klor atomları çeşitli gruplar ile kolaylıkla nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu verebilir ve bağlanan gruplara göre oluşan fosfazen türevleri çok farklı özellikler kazanabilmektedir. Böylece N_3P_3 halkasının (hidrolitik, elektrokimyasal ve termal olarak kararlılıkları gibi) spesifik özelliklerine ek

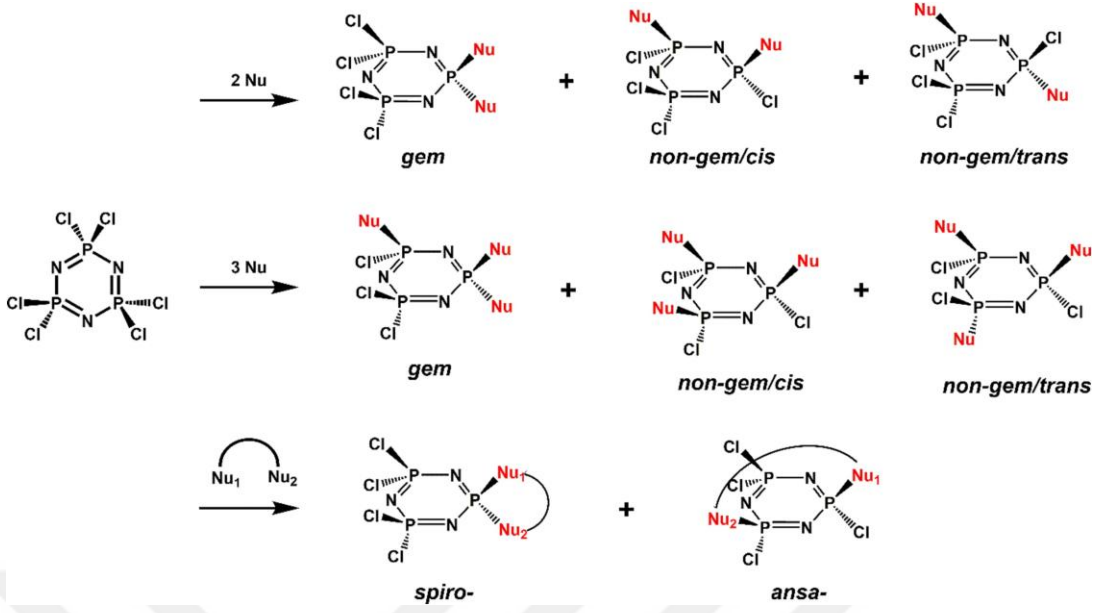
olarak, bağlanan yan grupların doğasına bağlı olarak farklı özelliklere sahip yeni malzemeler tasarlanabilmektedir.



Şekil 2.4 HCCP'ye; O, N, S, C veya P atomları aracılığıyla bağlanabilen bazı süstitüent türleri (Wang vd. 2024)

HCCP'deki altı Cl atomundan ikisi, tek donör atomlu nükleofillerle değiştirildiğinde geminal- ve non- geminal cis/trans izomerleri elde edilir. Eğer nükleofil iki dişli ise; spiro-, ansa- veya bino izomerler oluşabilir.

HCCP'nin diaminler, dioller ve amino alkoller dahil olmak üzere iki dişli ligandlar ile reaksiyonları, her iki nükleofilik merkezin de aynı fosfor atomuna bağlandığı spiro halkalı fosfazenler vermektedir. Süstitüent tarafından uygulanan yer seçimi kontrolü, donör atomun elektron verme doğasına bağlıdır. Aminler gibi π elektronunu kullanan sistemler, yalnızca elektron çiftini vererek, bağlanılan fosfor atomunda elektron yoğunluğu zenginleşmesine ve dolayısıyla diğer süstitüentin uzak (non-geminal) fosfor bölgesini tercih etmesine neden olacaktır.



Şekil 2.5 HCCP'nin farklı nükleofillerle reaksiyonları sonucu oluşabilecek konfigürasyonlar (Nu: nükleofil) (Wang vd. 2024)

HCCP'de elektrofilik katılma reaksiyonları azot atomu üzerinden gerçekleşmektedir. HCCP halkasındaki azot, yalnızca elektron çiftine sahiptir ve bazı özelliktedir. Böylece HCCP ve türevleri zayıf Lewis bazı gibi davranarak AlCl₃ gibi Lewis asitleriyle, azot atomu üzerinden koordinasyon bileşiği oluşturabilir. Ayrıca HCCP, bazı metal iyonlarıyla azot atomu üzerinden koordinasyon bileşikleri oluşturabilir (Wang vd. 2024).

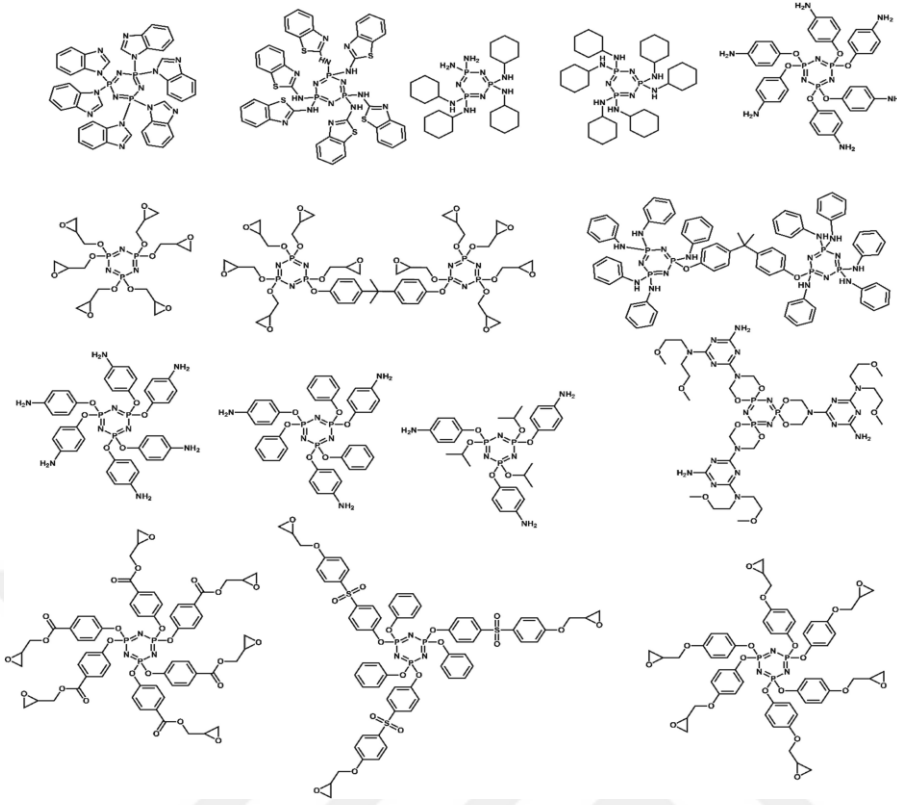
2.1.2 Halkalı trimerik fosfazen bileşiklerinin kullanım alanları

Halkalı fosfazen türevleri üzerine yapılan çalışmalar, termal kararlılık, katalitik aktivite, elektriksel iletkenlik ve biyolojik aktivite gibi farklı fonksiyonlara sahip malzemelerin geliştirilmesine imkân sağlamaktadırlar (Tang vd. 2020, Andrianov ve Langer 2021).

Alev geciktirici polimerler ve alev dayanıklı fiberlerde kullanımları: Alev geciktirici malzemeler; fosfor bazlı, azot bazlı ve şişen alev geciktiriciler olarak sınıflandırılabilir. Fosfor içeren alev geciktiriciler, polimeri dehidre eden ve karbonize eden, yanıcı gazların oluşumunu önleyen fosforik asit ve meta fosforik asit üretir. Oluşan PO gibi serbest radikaller, alevdeki hidrojen içeren radikalleri baskılayarak zincirleme reaksiyonunu önler. Azot bazlı alev geciktiricilerin mekanizması, termal ayrışma sırasında amonyak,

azot ve azot oksitler gibi yanıcı olmayan gazların oluşumunu içermektedir. Bu gazlar ısıyı dağıtır ve polimerin yüzey sıcaklığını azaltır. Ayrıca, oksijeni ve polimerin termal ayrışması sonucu oluşan yanıcı gazları seyrelterek yanma için gerekli olan oksijenin miktarını sınırlandırır. Şişen alev geciktiriciler çevre dostudur; gaz, asit ve karbon kaynağı olarak sırasıyla N, P ve C elementlerini kullanmaktadır. Isıtıldığında, şişen alev geciktiriciler genleşir ve köpüklü bir kömür tabakası oluşturur. Bu katman bir bariyer görevi görerek ısının transferini ve yayılmasını önler. Dolayısıyla, alev geciktirici özellik gösterir.

Siklotrifosfazen malzemeleri yüksek miktarda N ve P içermektedir, bu nedenle hem azot bazlı hem fosfor bazlı alev geciktiricilerin avantajlarına sahiptir, halojen içermez, duman bastırma işlevine sahiptir ve bu alanda büyük ilgi görmektedir. Ticari olarak temin edilebilen bir alev geciktirici olan hekzafenoksifosfazen $[NP(OPh)_2]_3$, ilk kez 1960 yılında sentezlenmiştir. Polietilen, polipropilen, poliüretan, polikarbonat, polifenilen oksit ve naylon gibi çeşitli yanıcı polimerlere eklendiğinde, polimer matrisinin sınırlayıcı oksijen indeksini (LOI) önemli ölçüde artırarak yüksek alev geciktirici özellik gösterir. Hekzafenoksifosfazen özellikle elektronik paketlemede kullanılır.



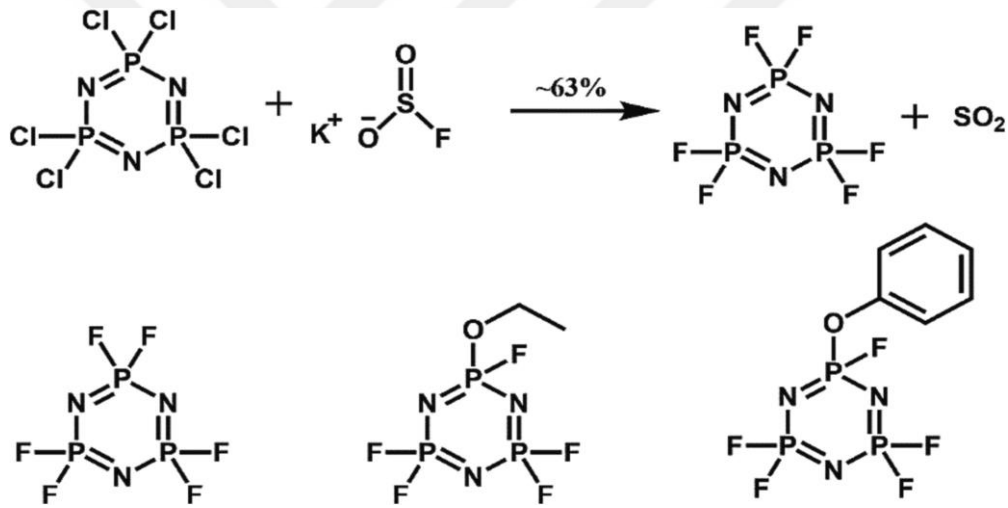
Şekil 2.6 Alev geciktirici özellikleri olan bazı siklotrifosfazen türevlerinin yapısı

Sentezlenen polimerlerin aksine, pamuklu kumaşları önceden alev geciktirici malzemelerle karıştırmak zordur, ancak sonradan alev geciktirici bir bileşenin dahil edilmesi mümkündür. Bunun için alev geciktiricilerin gerekli özelliklerine sahip olmalarının yanı sıra, pamuklu kumaşlara iyi yapışma özelliğine sahip olmaları gerekmektedir. Dutkiewicz ve çalışma arkadaşları, pamuklu kumaşlarda yüzey değiştirici ve alev geciktirici olarak kullanmak üzere heksakis[3-(trietoksisilil)propiloksi] siklotrifosfazen bileşiğini sentezlemiştir. Bu, pamuklu kumaşların LOI'sini %18'den %24,6'ya olacak şekilde önemli ölçüde arttırmıştır (Dutkiewicz vd. 2019).

Trimer türevlerinin şarj edilebilir lityum pillerde kullanımı: Lityum pillerde elektrolit, iyon iletimini sağlar; genellikle lityum tuzlarından ve organik çözücülerden oluşur. Ancak ateşleme kaynakları, aşırı şarj, aşırı ısınma ve delinme gibi bazı faktörler yanmaya ve hatta patlamalara neden olabilir. Bu nedenle elektrolite belirli miktarda alev geciktirici eklenmesi gerekir. Yaygın olarak kullanılan alev geciktiriciler, örneğin fosfat ve fosfit esterleri ile organik halojenürler, etki göstermeleri için fazla miktarda

eklenmektedirler. Bu maddelerin eklenmesi, artan viskozite, kimyasal veya elektrokimyasal kararsızlık ve zayıf iyonik iletkenlik gibi çeşitli faktörler nedeniyle pilin performansını etkileyebilir. Fosfazen bileşikleri (özellikle bazı fosfazen oligomerleri ve küçük molekülü bileşikler), yüksek iyonik iletkenlik gösterirler. Aynı zamanda, uygun termal stabiliteye ve alev geciktirici özelliklere sahip oldukları için, lityum pillerde tek elektrolit olarak kullanılabilirler (Liv d. 2021).

Günümüzde, pillerde ticari olarak temin edilebilen üç siklotrifosfazen türevidir. Bunlar; hekzaflorosiklotrifosfazen ($N_3P_3F_6$, HFPN), etoksi pentaflorosiklotrifosfazen ($N_3P_3F_5OCH_2CH_3$, PFN veya PFPN) ve fenoksi pentaflorosiklotrifosfazen ($N_3P_3F_5Oph$) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Lityum pillerde kullanılan Heksaflorosiklotrifosfazen (HFPN), etoksi pentaflorosiklotrifosfazen (PFN veya PFPN) ve fenoksi pentaflorosiklotrifosfazenin sentezi ve açık yapısı

Biyomedikal Alandaki Uygulamaları: Biyolojik uygulamalarda kullanılacak materyallerin hem kendilerinin hem de bozunma ürünlerinin biyoyumlu olmaları, kanserojen ve toksik etkilerinin olmaması gerekir. Ayrıca, iltihap ya da irritasyona (enflamatuvar); pirojenik veya alerjik tepkiye neden olmamalıdır.

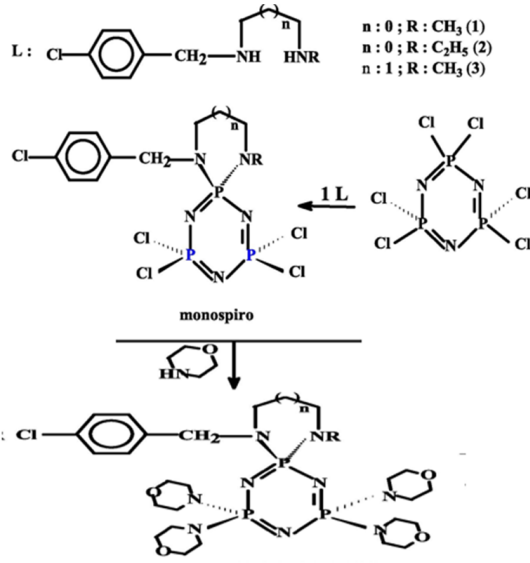
Fosfazenler, biyoyumlu ve biyoaktif potansiyele sahip olmaları nedeniyle; ilaç salınımı, doku ve rejeneratif mühendislik gibi farklı biyomedikal uygulamalarda kullanıma uygundur.

Fosfazenim bozunma ürünleri; toksisitesi düşük amonyum ve fosfattır. Amonyum ve fosfat, bir tamponlama sistemi (amonyum fosfat) oluşturur, böylece polifosfazenin bozunması ortamda nötr bir pH sağlar.

Aminler, amino asitler veya alkoksi süstitüentler gibi ana grupların süstitüsüonu polifosfazenlere biyolojik olarak parçalanabilme özelliği vermektedir. Polifosfazenlerin parçalanması, süstitüe yan grupların kompozisyonlarına göre değişen hidrolitik duyarlılığına bağlıdır. Bu yan grupların ve kompozisyonun uygun seçimi ile polimerin mekanik özelliklerinin yanı sıra uygun parçalanma hızının da ayarlanması sağlanır.

Biyomedikal ve biyokimyasal uygulamalarda fosfazenler, genellikle biyoaktif molekülleri taşıyıcı olarak kullanılmaktadır. Ancak, kendileri de birer biyoaktif madde olarak kullanılabilme potansiyeli olan, antitümör ve antimikrobiyal etki gösteren farklı HCCP türevleri sentezlenmiştir. Bunun için, HCCP'deki fosfor üzerindeki klor atomlarının; N-tek dişli, N/N veya N/O iki dişli ligandlarla yer değiştirme reaksiyonları kullanılarak elde edilen HCCP türevlerinin, bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif patojenik bakterilere ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir, ayrıca DNA etkileşimleri ve antikanser aktiviteleri de incelenmiştir.

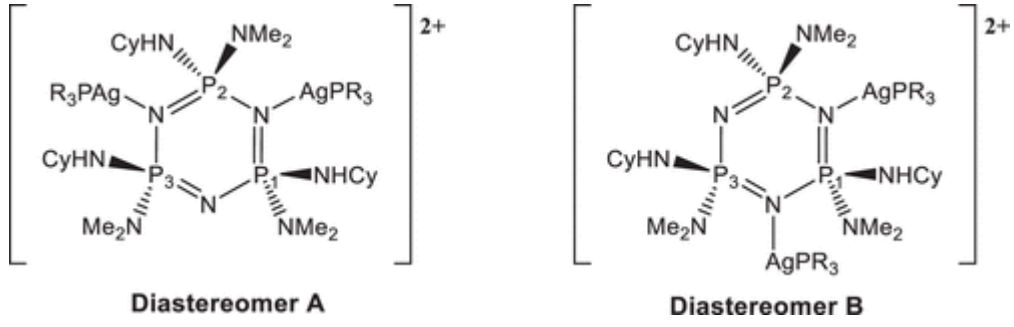
Şekil 2.8'de gösterilen tetra-pirolidino HCCP türevlerinin, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeuroginosa*, *B. cereus* ve *P. vulgaris* bakterilerini kontrol antibiyotikleriyle karşılaştırılabilir ölçüde inhibe ettiği, ayrıca *C. tropicalis* ve *C. albicans'a* karşı Ketokonazolden daha aktif olduğu gözlenmiştir (Asmafiliz vd. 2019).



Şekil 2.8 Antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip N/N iki dişli ligandlar taşıyan siklotrifosfazenler (Asmafiliz vd. 2019)

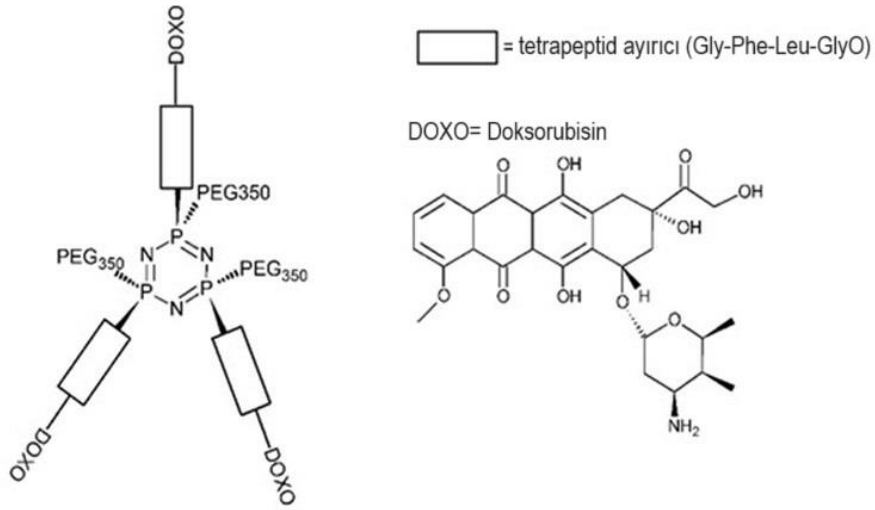
Başka bir çalışmada, Gascón ve çalışma arkadaşları $[\text{N}_3\text{P}_3(\text{NHCy})_6]$ ve $[\text{N}_3\text{P}_3(\text{NHCy})_3(\text{NMe}_2)_3]$ ile katyonik gümüş(I) metallofosfazenleri sentezlemişlerdir. Gümüş kompleksleri, Ag-N koordine bağı ile siklofosfazen halkasındaki azot atomlarına bağlanmıştır.

İnsan kanser hücre hattı olan MCF-7 ile HepG2'ye karşı in vitro sitotoksik aktivitesi değerlendirilmiştir ve cis-platine kıyasla, bu kanser hücre hatlarına karşı önemli ölçüde daha yüksek antitümör aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca bileşiklerin bazı G(+), G(-) bakteri ve mikobakteri suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri de incelenmiştir. Antimikrobiyal aktivite etkisi AgNO_3 ve gümüş sülfadiazinle karşılaştırılmıştır. Beş bakteri türüne karşı $[\text{N}_3\text{P}_3(\text{NHCy})_6]$ ligandının bağlı olduğu türev, diğerlerine kıyasla daha yüksek antimikrobiyal etkinlik göstermiştir, ama bileşiklerin hiçbiri pozitif kontrollerden daha etkili değildir (Gascon vd. 2020).



Şekil 2.9 Gümüş- HCCP koordinasyon bileşikleri (Gascon vd. 2020)

Başka bir çalışmada; Dokсорubisin (DOXO), metoksi-poli(etilen glikol) ve tümöre özgü bir tetrapeptid (Gly-Phe-Leu-Gly) ayırıcı içeren, biyolojik olarak parçalanabilen, suda çözünür bir siklotrifosfazen türevi sentezlenmiştir (Şekil 2.10). Lösemi L12110 hücre hattına karşı sitotoksik potansiyelinde enzimatik kontrollü salınımın etkisi incelenmiştir. Bileşik, serbest dokсорubisininkinden daha düşük bir aktivite göstermiştir ancak cisplatine kıyasla etkili in vitro sitotoksik etki sağladığı bulunmuştur (Kim vd. 2005).



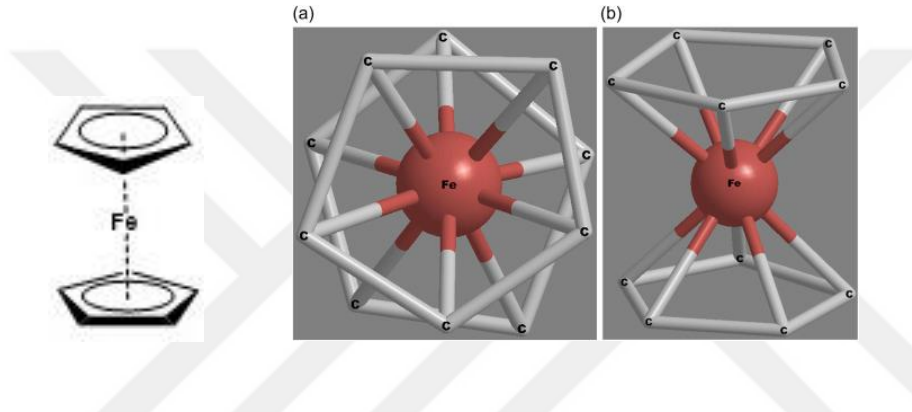
Şekil 2.10 Dokсорubisin, (metoksi-poli(etilen glikol) ve tümöre özgü bir tetrapeptid (Gly-Phe-Leu-GlyO) ayırıcı içeren siklofosfazen türevi (Kim vd. 2005)

Bunların dışında, fosfazen halkasındaki azot atomlarının metallerle koordinasyonu yoluyla sentezlenen HCCP türevleri, faz transfer metal katalizörler için destek yapı

olarak kullanılabilirler. Sıvı kristal malzemeleri ve iyonik sıvı sentezleri için de sıklıkla platform olarak kullanılmaktadır.

2.2 Ferrosen

1951'de keşfedilen ferrosen; iki siklopentadienil (Cp) halkası arasında bir demir atomunun bulunduğu, 18 elektronlu sandviç türünde bir yapıya sahip organometalik bir bileşiktir (Kealy ve Pauson 1951) (Şekil 2.11).



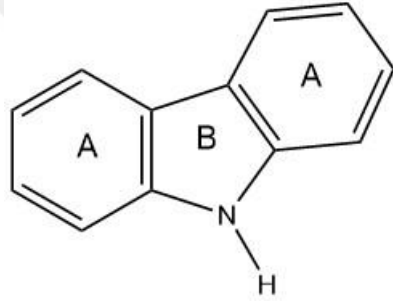
Şekil 2.11 Ferrosen bileşiği, a) üstten görünümü b) yandan görünümü (Bhatt 2016)

Ferrosen (Fc) ve türevleri fotokimya ve modern organometalik kimyada; kimyasal, elektriksel, optik ve manyetik özelliklere sahip yeni malzemelerin üretilmesinde kullanılmaktadırlar (Astruc 2017, Sansook vd. 2020). Yaklaşık 320 ve 440 nm ultraviyole/görünür (UV/Vis) bölgede absorpsiyon yapar ve düşük bir potansiyelde ferrosenyuma oksitlenebilir. Ferrosenil(Fc), $[Fc = (\eta^5-C_5H_5)_2]$ kimyasal ve elektrokimyasal redoks tersinirliği özelliklerinden dolayı genellikle redoks duyarlı bir yapı birimi olarak kullanılır. Turuncu renkli hidrofobik nötr ferrosen formu, elektrokimyasal oksidasyon veya çeşitli kimyasal oksitleyiciler kullanılarak mor renkli 17 elektronlu hidrofilik katyonik ferrosenyuma oksitlenebilir ve elde edilen ferrosenyum katyonu daha sonra elektrokimyasal indirgeme veya indirgeyici ajanlar kullanılarak geri dönüşümlü olarak ilk ferrosen formuna geri döndürülebilir (Liu vd. 2020). Eşsiz optik ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle, ferrosen ve türevleri ilaç taşıyıcı, katalizör ve sensör olarak kullanılmaktadır (Fery-Forgues ve Delavaux-Nicot 2000). Bazı

ferrosenildiaminlerin ve bunların siklofosfazen türevlerinin *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv'ye karşı biyolojik olarak aktif olduğunun bulunması dikkat çekicidir. (Gu vd. 2018, Huang vd. 2021)

2.3 Karbazoller

Karbazoller (Şekil 2.12) merkezi bir pirol halkasının (B halkası) her iki tarafına bitişik iki benzen halkasından (A halkaları) oluşan düzlemsel bir trisiklik iskelete sahip, azot içeren heterosiklik aromatik bir bileşiktir (Georgiades ve Nicolaou 2019).



Şekil 2.12 Karbazolun açık yapısı

Karbazol ilk olarak 1872 yılında kömür katranının antrasen distilatından izole edildikten sonra Graebe ve Glaser tarafından rapor edilmiştir (Graebe ve Glaser, 1872). Karbazol molekülü rijit bir yapıya ve lipofilik bir karaktere sahiptir (Bashir vd. 2015).

Bu bileşik, etkileyici biyolojik aktivite özelliklerine sahiptir. Molekülün farklı pozisyonlarda bulunan sübstitüentler ile fonksiyonlaştırılması sonucunda farmakolojik potansiyeli yüksek başka bileşikler de sentezlenebilmektedir (Schmidt vd. 2012, Scriven ve Ramsden 2019, Wang vd. 2021). Karbazol türevi yapılar antioksidan, analjezik, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antihistaminik, antitümör, antipsikotik, antiepileptik, antidiyareik, nöroprotektif ve antidiyabetik olarak kullanılmaktadır. (Guillonueau vd. 1999, Caruso vd. 2008, Bandgar vd. 2012, Biamonte vd. 2013). Ayrıca, elektron bakımından zengin doğası nedeniyle elektrominesans malzemelerin ve polimerlerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Albrecht ve Yamamoto 2009; Gupta ve

Kesavan 2019). İyi optik özelliklere, düşük redoks potansiyeline ve yüksek kimyasal kararlılığa sahip olması nedeniyle karbazol, organik alan etkili transistörler (OFET'ler) ve organik güneş pilleri (OSC'ler) gibi çeşitli uygulamalara uygun malzemeler olarak kullanılmaktadır (Kato vd. 2014). 2011 yılında, karbazol molekülünün fotofiziksel özelliğinden ve halkalı fosfazen bileşiğinin kolay işlevselleştirilebilmesinden yararlanılarak, yüksek bant boşluğuna, yüksek camsı geçiş sıcaklığına, yüksek çözünürlüğe ve termal açıdan mükemmel özelliklere sahip dendrimerik yapıdaki hibrit fosfazen bileşiği OLED (Organik ışık yayan diyot) materyali olarak geliştirilmiştir (Soh vd. 2011).

Nishimoto ve arkadaşları 2014 yılında, altı karbazol birimi içeren siklotrifosfazen (PzCz) bileşiğini elde etmiş ve bir OLED-TADF (termal olarak aktive edilmiş gecikmeli floresan) malzemesi olarak geliştirmiştir. Karbazol bileşiği, yüksek triplet enerjisi ve mükemmel boşluk taşıma kapasitesi nedeniyle tercih edilmiştir. Bu özelliklere ek olarak, karbazol molekülü kolaylıkla işlevselleştirilebilir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, organik karbazol ünitesi ile inorganik siklofosfazen ünitesinin birleştirilmesi sonucunda, termal olarak kararlı, yüksek triplet enerjili, çok yüksek kuantum aktiviteli ve termal kararlılığa sahip konak malzemeler geliştirilmiştir (Nishimoto, Yasuda, Lee, Kondoa, & Adachi, 2014).

Konjuge karbazol polimerlerinin geçmişi, bu malzemelerin elektronik ve yapısal özelliklerini anlamak için temel oluşturan poli(3,6-karbazol) gibi türevlere dayanmaktadır (Michinobu vd., 2009). Ayrıca, karbazol birimi yüksek bir açık devre voltajına (VOC) katkıda bulunan düşük en yüksek dolu moleküler orbital (HOMO) seviyesi nedeniyle organik fotovoltaiklerde (OPV'ler) elektron verici olarak kullanılmıştır (Zhang vd. 2020).

Karbazolün elektronik yapısı, reaksiyonları ve özellikleri; onu malzeme bilimi ve farmakoloji gibi çeşitli alanlarda uygulamaları olan çok yönlü ve değerli bir bileşik haline getirmektedir (Mathew vd. 2023).

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1 Materyaller

3.1.1 Kimyasal maddeler ve materyaller

Bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan malzemeler: N-metil-1,2-diaminoetan (Thermo Fisher Scientific), N-etil-1,2-diaminoetan, N-metil-1,3-diaminopropan (Acros Organics), HCCP (trimer), N-etil-3-karbazol karboksaldehit, ferrosenkarboksaldehit (TCI Chemicals), sodyum bor hidrür, sodyum sülfat, petrol eteri (Sigma Aldrich); etil alkol (etanol), trietilamin, tetrahidrofuran (THF), toluen, kloroform (Merck) kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografisi (TLC) silika jel 60 F₂₅₄ alüminyum tabakaları (Supelco) ile, hareketli faz olarak farklı oranlarda toluen ve tetrahidrofuran (THF) karışımı kullanılarak reaksiyon ve ürünlerin takibi yapılmıştır. Kolon kromatografisinde Milipore Silika jel 60 [0.040-0.063(230-400) ağ gözü ATSM] kullanılmıştır. Kristallendirme işlemlerinde asetonitril (Merck) kullanılmıştır.

Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi tayininde kullanılan malzemeler: DMSO, bakteri ve maya suşları (çizelge 3.1), 96 kuyucuklu plaka, sıvı besiyeri Sabouraud Dekstroz Besiyeri (SDB), Mueller-Hinton Besiyeri (MHB); agar (katı besiyeri) olarak Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) ve Mueller-Hinton Agar (MHA) kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan bakteri ve maya suşları

Bakteri Suşları	Maya Suşları	
Gram-Pozitif Bakteriler	Gram-Negative Bakteriler	
<i>Bacillus cereus</i> NRL B-3711	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>Candida tropicalis</i> Y-12968
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	

Bileşik-DNA etkileşiminde kullanılan materyaller: DMSO, plazmid (pBR322), mini santrifüj (döndürücü), agaroz, restriksiyon sindirim enzimleri (*BamHI* ve *HindIII*), yükleme boyası, etidyum bromür, tris asetat (TAE) tamponu kullanılmıştır.

3.1.2 Cihazlar

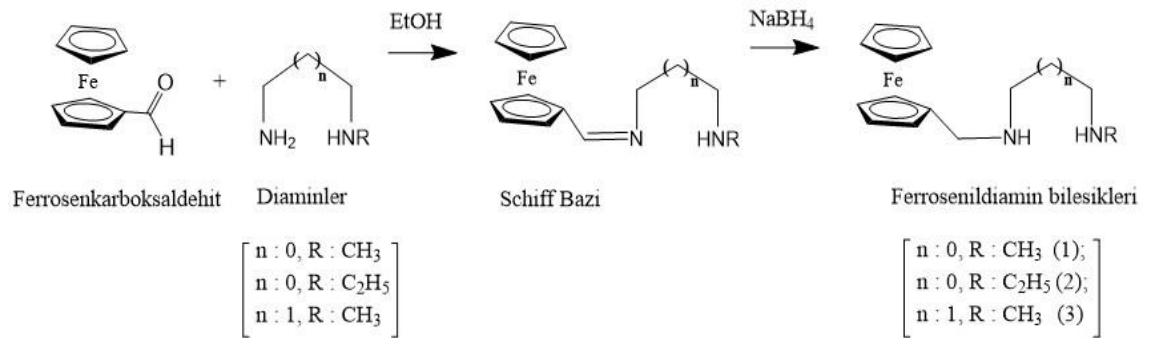
Cihazın adı	Cihazın modeli
³¹ P NMR Spektrofotometresi	Bruker, 600 MHz
¹ H NMR Spektrofotometresi	Agilent Technologies, Varian Mercury-400BB, 400 MHz, SiMe ₄ , iç standart
¹³ C NMR Spektrofotometresi	Agilent Technologies, Varian Mercury-400BB, 100 MHz, SiMe ₄ , iç standart
X-ışınları kristallografi cihazı	Enraf-Nonius CAD4 ve Stoe IPDS II kırınım metre cihazı ile (CAD4 software, version 1.1.1997)
Kütle Spektrometresi	Waters 2695 Alliance Micro Mass ZQ (LC-MS)
Element Analizi Cihazı	LECO CHNS-932
FTIR spektrofotometresi	Bruker Tensor 27 Fourier-transförlü (FTIR) 400 ila 4000 cm ⁻¹ (Opus Software)
Erime Noktası Tayin Cihazı	Gallenkamp
UV/Vis /Floresans Spektrofotometresi	Jasco J720 Spectropolarimeter

3.2 Yöntemler

3.2.1 N/N donör atomlu Schiff bazları ve diamin bileşiklerinin sentezi

3.2.1.1 Ferrosenildiamin bileşiklerinin sentezi

Literatürdeki yöntem kullanılarak, ferrosenkarboksaldehit ile alifatik diaminlerin (N-metil- 1,2-diaminoetan, N-etil-1,2-diaminoetan ve N-metil-1,3-diaminopropan) etanol ortamındaki kondenzasyon reaksiyonu ile üç farklı Schiff bazı, bu Schiff bazlarının NaBH₄ ile indirgenmesiyle de N-alkil-N-monoferrosenildiamin bileşikleri (**1-3**) elde edilmiştir (Şekil 3.1) Bileşikler literatürdeki sentez yöntemine benzer şekilde elde edilmiştir (Neuse vd. 1988, Schuhman vd. 1991, Kim vd. 1997, Asmafiliz vd. 2009).



Şekil 3.1 Ferrosenildiamin sentezi

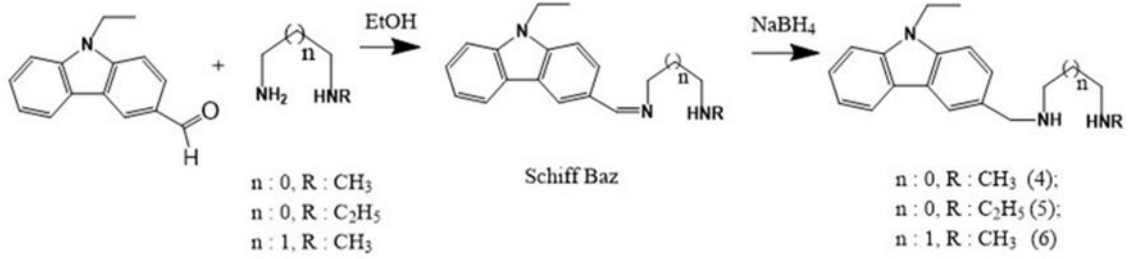
Bileşik 1: İki ağızlı bir balonda, 100 mL etanol içerisinde bulunan N-metil-etilendiamin bileşiğine (1,22 mL; 14,00 mmol), ferrosenkarboksaldehitin (3,00 g; 14,00 mmol) etil alkolde (50 mL) çözülerek hazırlanmış çözeltisi damlatma hunisi ile ilave edilmiştir. Çözelti geri soğutucu altında 15 saat kaynatılmıştır. Kondenzasyon reaksiyonu sonucunda oluşan Schiff bazı, sodyum bor hidrür (NaBH₄) ile diamine indirgenmiştir. Kloroform ve distile su ile yapılan ekstraksiyon işleminden sonra ferrosenildiamin bileşiği elde edilmiştir.

Bileşik 2: Ferrosenkarboksaldehit (3,00 g; 14,00 mmol) ve N-etiletilendiamin (1,47 mL; 14,00 mmol) kullanılarak **bileşik 1**'in sentezinde uygulanan yöntem ile sentezlenmiştir.

Bileşik 3: N-metil-1,3-propandiamin (1,46 mL; 14,00 mmol) ve ferrosenkarboksaldehitin (3,00 g; 14,00 mmol) etkileştirilmesiyle, **bileşik 1** sentezinde kullanılan yöntem uygulanarak elde edilmiştir.

3.2.1.2 Karbazolildiamin bileşiklerinin sentezi

N-etil-3-karbazolkarboksaldehitin aynı diaminler (N-metil- 1,2-diaminoetan, N-etil-1,2-diaminoetan ve N-metil-1,3-diaminopropan) ile tepkimesinden önce Schiff bazları, sonra bu Schiff bazlarının NaBH_4 ile indirgenmesinden ise karbazolildiamin bileşikleri (**4-6**) elde edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Sentezlenen karbazolildiamin bileşikleri

Bileşik 4: Yuvarlak dipli iki ağızlı bir balonda N-metil-etilendiaminin (1,13 mL; 13,00 mmol) etanol (100 mL) içindeki çözeltisine, N-etil-3-karbazolkarboksaldehitin (3,00 g; 13,00 mmol) etanol (50 mL) içindeki çözeltisi damlatma hunisi ile eklenmiştir.

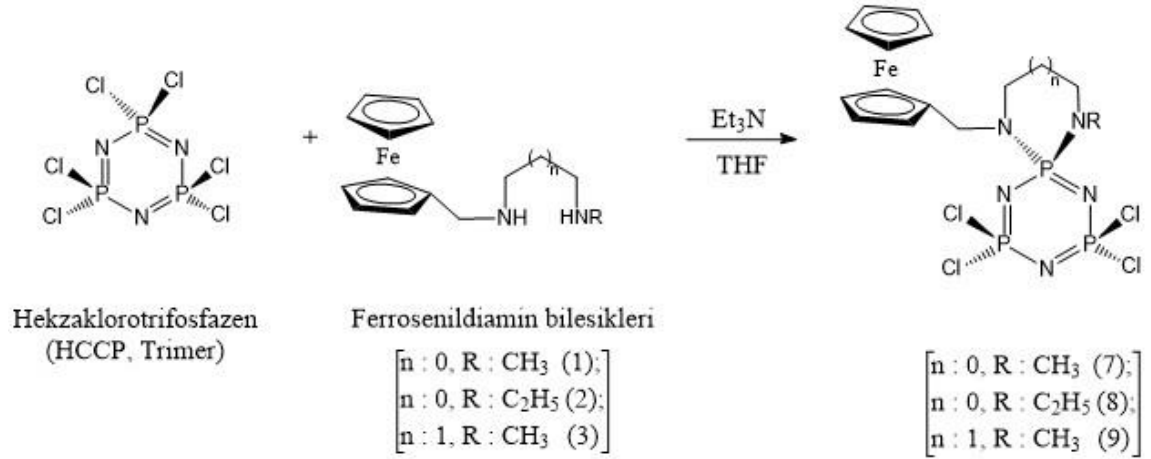
Geri soğutucu ile düzeneği ile 15 saat boyunca karıştırılarak ısıtılmıştır ve Schiff bazı elde edilmiştir. Schiff bazının NaBH_4 ile indirgenmesi ve sonrasında kloroform ile yapılan ekstraksiyon işlemi sonucu diamin elde edilmiştir.

Bileşik 5: N-etil-3-karbazolkarboksaldehit (3,00 g; 13,00 mmol) ve N-etil-etilendiamin (1,37 mL; 13,00 mmol) kullanılarak **bileşik 3** sentezinde kullanılan yöntem ile **bileşik 5** elde edilmiştir.

Bileşik 6: N-metil-1,3-propandiamin bileşiği (1,46 mL; 13,00 mmol) ve N-etil-3-karbazolkarboksaldehitin (3,0 g, 14,00 mmol) kullanılmasıyla **bileşik 3**'teki yöntemle göre sentezlenmiştir.

3.2.2 Tetrakloro monoferrosenil spirofosfazen bileşiklerinin sentezi

Sentezlenen monoferrosenildiaminler (**4-6**) ile HCCP'nin 1:1 stokiometrik oranında, çözücü olarak tetrahidrofuran (THF) kullanılması ve ortama tuz tutucu olarak trietilamin [Et_3N , $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{N}$] eklenmesiyle gerçekleşen nükleofilik süstitüsyon reaksiyonları sonucunda tetrakloro mono-spirofosfazen bileşikleri (**7-9**) sentezlenmiştir (Şekil 3.3) (Asmafiliz vd. 2009). Et_3N güçlü bir bazdır ve reaksiyon sırasında oluşan HCl 'nin $\text{Et}_3\text{N}.\text{HCl}$ tuzu olarak ortamda tutulmasını sağlamaktadır.



Şekil 3.3 Sentezlenen monospirosiklotrifosfazen türevleri

Bileşik 7: Monoferrosenildiaminin (**bileşik 1**) (1,69 g; 6,20 mmol), THF (tetrahidrofuran) (50 mL) içindeki çözeltilisine sırasıyla Et_3N (1,73 mL; 12,40 mmol) ve THF (100 mL) içinde çözülmüş HCCP (2,15 g; 6,20 mmol) eklenmiştir. Karışım, geri soğutucu düzeneği

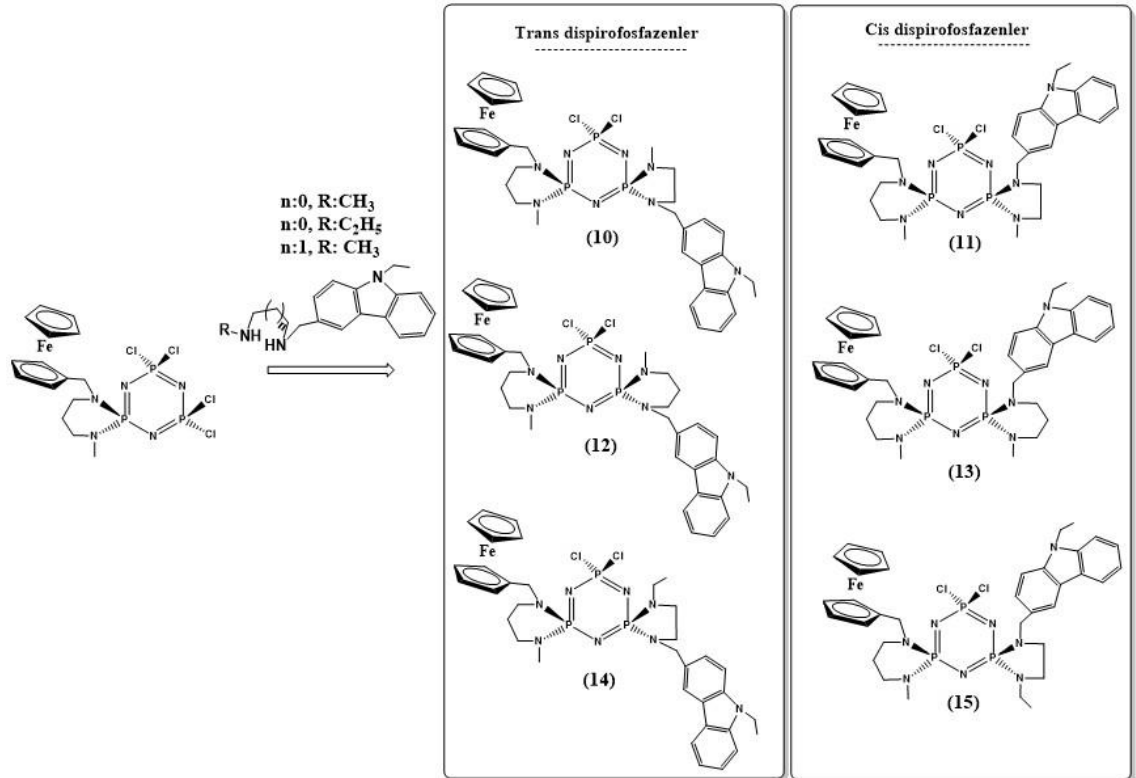
ile 2 gün boyunca ısıtılmıştır. Bileşik toluen ile kolon kromatografisi kullanılarak saf olarak elde edilmiştir.

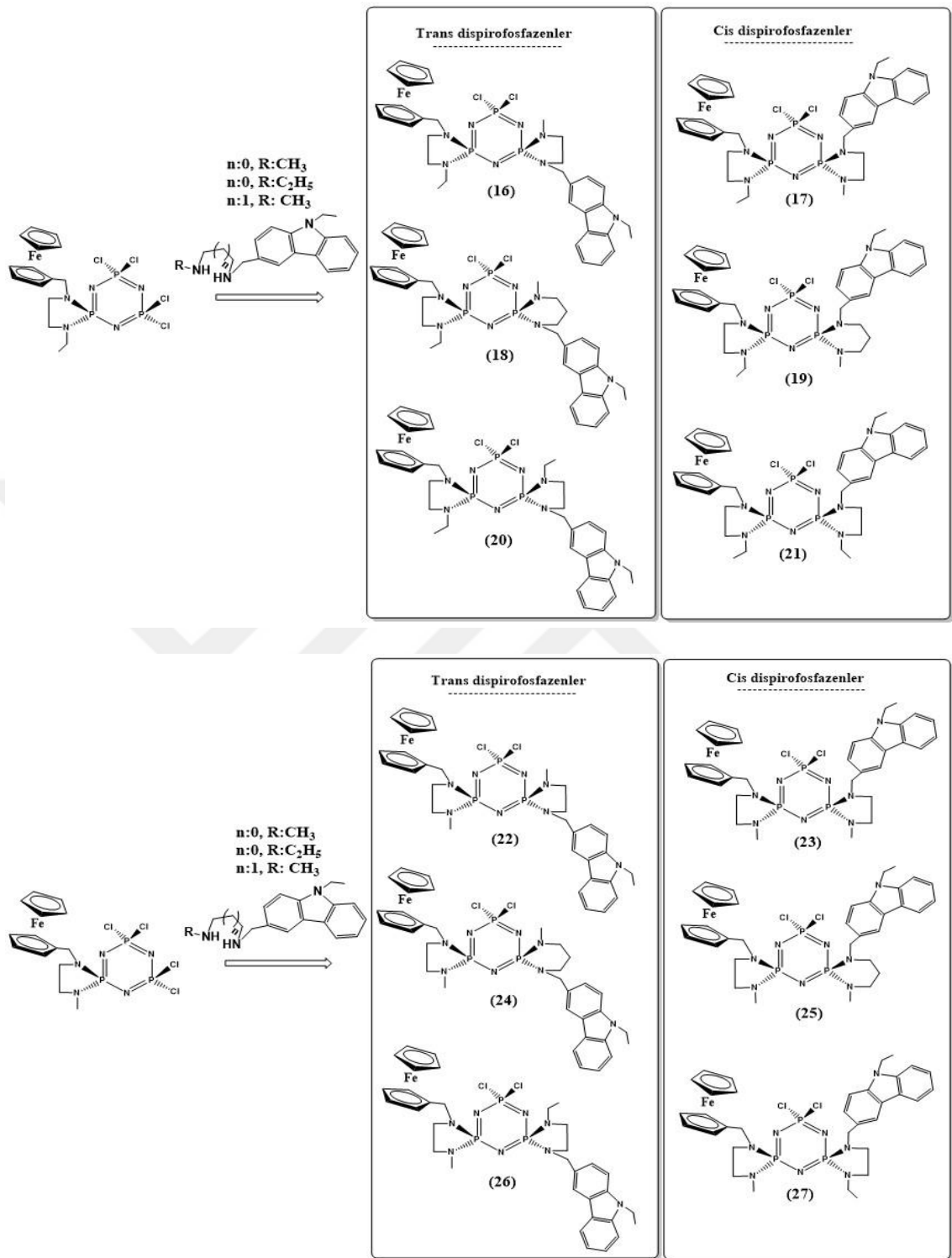
Bileşik 8: Ferrosenildiamin (**bileşik 2**) (2,29 g; 8,00 mmol) ve HCCP (2,78 g; 8,00 mmol) kullanılarak **bileşik 7** sentezinde belirtilen yöntem uygulanarak sentezlenmiştir.

Bileşik 9: Ferrosenildiamin (**bileşik 3**) (2,86 g; 9,90 mmol) ve HCCP'nin (3,44 g, 9,9 mmol) etkileştirilmesiyle, **bileşik 7** için kullanılan yöntem ile sentezlenmiştir.

3.2.3 Simetrik olmayan cis- ve trans- dispirofosfazenlerin sentezi

Ferrosenildiamin grubu içeren monospirofosfazen türevlerinin (7-9) THF çözücüsü kullanılarak ve reaksiyon ortamına Et₃N eklenerek karbazolildiaminlerle (4-6) etkileştirilmesi sonucu cis- ve trans- dispirofosfazen bileşikler (10-27) sentezlenmiştir (Şekil 3.4).





Şekil 3.4 Sentezlenen dispirofosfazen türevleri

Bileşik (10 ve 11): THF (150mL) içinde çözülmüş tetrakloromonofosfenil-spirofosfazen bileşiğine (**9**) (0,56 g; 1,00 mmol) önce trietilamin (0,28 mL; 2,00 mmol) sonra karbazolildiaminin (**bileşik 4**) (0,28 g; 1,00 mmol) THF (50 mL) içindeki çözeltisi oda sıcaklığında ilave edilmiştir. Reaksiyon ortamı 72 saat boyunca geri soğutucu altında karıştırılarak kaynatıldıktan sonra çöken trietilamin hidroklorür (Et₃N.HCl) tuzu süzülmüştür ve çözücü uzaklaştırılmıştır. Birbirinin izomeri olan ve karışım halinde bulunan **10** ve **11** numaralı bileşikler saflaştırmak ve ayrı olarak elde etmek için kolon kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Çözücü olarak toluen-THF karışımı kullanılarak kolon kromatografisi ile üç bileşik elde edilmiştir. Sadece toluenin çözücü olarak kullanılmasıyla, çıkış bileşiği olan monospirofosfazen (**9**) saf olarak ayrılmıştır. Sonra çözücü olarak Toluen/THF karışımı (15:1) ile önce trans- izomer (**10**) sonra cis- izomer (**11**) saf olarak elde edilmiştir. Turuncu renkteki katı bileşiklerden trans-izomeri (**10**), asetonitril çözücüsünde kristallendirilmiştir. İnce tabaka kromatografisi (TLC) yöntemi ile, hareketli faz olarak 5:1 oranında Toluen-THF karışımı kullanılarak bileşiklerin Rf değerleri belirlenmiştir.

Bileşik **9** için; Verim: 0,22 g (%28)

Trans-**10** için; Verim: 0,35 g (% 45); Erime Noktası (e.n.): 176 °C; Rf: 0,45

Cis-**11** için; Verim: 0,16 g (%21); Erime Noktası (e.n.): 66 °C; Rf: 0,34

Bileşik (12 ve 13): Monospirofosfazen (**9**) (0,90 g; 1,60 mmol) ve karbazolildiaminin (**6**) (0,45 g; 1,60 mmol) etkileştirilmesiyle, **10** ve **11** numaralı bileşiklerin sentezinde ve ayrılmasında kullanılan yöntemler uygulanmıştır. **12** ve **13** numaralı izomer bileşikler sentezlenmiştir ve kolon kromatografisi ile birbirinden ayrılarak saf olarak ve yağimsı halde elde edilmiştir.

Bileşik **9** için; Verim: 0,23 g (%19)

Trans-**12** için; Verim: 0,54 g (%43); Erime Noktası:128 °C; Rf: 0,46

Cis-**13** için; Verim: 0,43 g (%34); Erime Noktası: 94 °C; Rf: 0,40

Bileşik (14 ve 15): Monospirofosfazen (**9**) (2,93 g; 5,20 mmol) ve karbazolildiaminin (**5**) (1,55 g; 5,20 mmol) kullanılmasıyla, **10** ve **11** numaralı bileşik sentezi ve ayrılması için uygulanan yöntemler izlenerek **14** ve **15** elde edilmiştir. Maddeler turuncumsu sarı renkte ve katıdır. Cis- izomerinin (**bileşik 15**) kristali, asetonitrilde elde edilmiştir.

Bileşik **9** için; Verim: 0,80 g (%20)

Trans-**14** için; Verim: 1,79 g (%44); Erime Noktası:129 °C; Rf: 0,47

Cis-**15** için; Verim: 1,35 g (%30) Erime Noktası:164 °C; Rf: 0,40

Bileşik (16 ve 17): Monospirofosfazen (**8**) (0,90 g; 1,60 mmol) ve karbazolildiamin (**4**) (0,45 g; 1,60 mmol) kullanılmasıyla, bileşik **10** ve **11** eldesinde uygulanan yöntemler izlenerek sentezlenmiştir. Trans-**16** ve cis-**17** dispirofosfazenler kolon kromatografisi ile ayrı olarak elde edilmiştir. Trans- bileşik **16**, asetonitrilde kristallendirilmiştir.

Bileşik **8** için; Verim: 0,30 g (%24)

Trans-**16** için; Verim: 0,52 g (%42); Erime Noktası: 201 °C; Rf: 0,58

Cis-**17** için; Verim: 0,38 g (%31); Erime Noktası: 176 °C; Rf: 0,47

Bileşik (18 ve 19): Tetrakloromonospirofosfazen (**8**) (0,90 g; 1,60 mmol) ve karbazolildiaminin (**6**) (0,48 g; 1,60 mmol) etkileştirilmesiyle, bileşik **10** ve **11**'in sentezinde kullanılan yönteme göre sentezlenmiştir. Kolon kromatografisi ile 10:1 oranında Toluen:THF çözücü karışımı kullanılarak **18** numaralı trans türevi bileşik ayrılmıştır, izomeri olan cis-**19** bileşiği ise saf olarak elde edilememiştir. Bu nedenle preparatif ince tabaka kromatografisinde 5:1 oranında toluen/etil asetat karışımı hareketli faz olarak kullanılarak cis-izomeri **19** saf olarak ayrılmıştır. **Trans-18** bileşiği, asetonitrilde kristallendirilmiştir

Bileşik **8** için; Verim: 0,40 g (%32)

Trans-**18** için; Verim: 0,54 g (% 43); Erime Noktası: 206 °C; Rf: 0,62

Cis-**19** için; Verim: 0,25 g (%20); Erime Noktası:105°C; Rf: 0,56

Bileşik (20 ve 21): Tetrakloromonospirofosfazen (**8**) (0,90 g; 1,60 mmol) ve karbazolildiamin (**5**) (0,48 g; 1,60 mmol) bileşikleri etkileştirilerek, **10** ve **11** numaralı bileşiklerin sentezinde uygulanan yöntemler kullanılarak elde edilmiştir.

Bileşik **8** için; Verim: 0,38 g (%30)

Trans-**20** için; Verim: 0,56 g (%45); Erime Noktası: 205 °C; Rf: 0,69

Cis-**21** için; Verim: 0,37 g (%21); Erime Noktası: 161 °C; Rf: 0,58

Bileşik (22 ve 23): Tetrakloromonospirofosfazen (**7**) (1,31 g; 2,40 mmol) ve karbazolildiamin (**4**) (0,68 g; 2,4 mmol) kullanılarak, **10** ve **11** numaralı bileşiklerin eldesi için izlenen yöntem ile sentezlenip saf olarak elde edilmiştir.

Bileşik **7** için; Verim: 0,36 g (%28)

Trans-**22** için; Verim: 0,59 g (%46); Erime Noktası: 207 °C; Rf: 0,62

Cis-**23** için; Verim: 0,25 g (%20) Erime Noktası: 193°C; Rf: 0,42

Bileşik (24 ve 25): Tetrakloromonospirofosfazen (**7**) (0,87 g; 1,60 mmol) ve karbazolildiamin (**6**) (0,48 g; 1,60 mmol) kullanılarak, diğer dispiro bileşiklerinin sentezinde kullanılan yöntem ile elde edilmiştir.

Bileşik **7** için; Verim: 0,28 g (%23)

Trans-**24** için; Verim: 0,58 g (%47); Erime Noktası:170 °C; Rf: 0,56

Cis-**25** için; Verim: 0,31 g (%25); Erime Noktası:150 °C; Rf: 0,40

Bileşik (26 ve 27): Tetrakloromonospirofosfazen (**7**) (1,01 g; 1,85 mmol) ile karbazolidiamin (**5**) (0,55 g; 1,85 mmol) etkileştirilerek, diğer dispiro maddelerin eldesinde kullanılan yöntemle göre sentezlenmiş ve ayrılmıştır.

Bileşik **7** için; Verim: 0,94 g (%29)

Trans-**26** için; Verim: 0,67 g (%42); Erime Noktası: 204 °C; Rf: 0,58

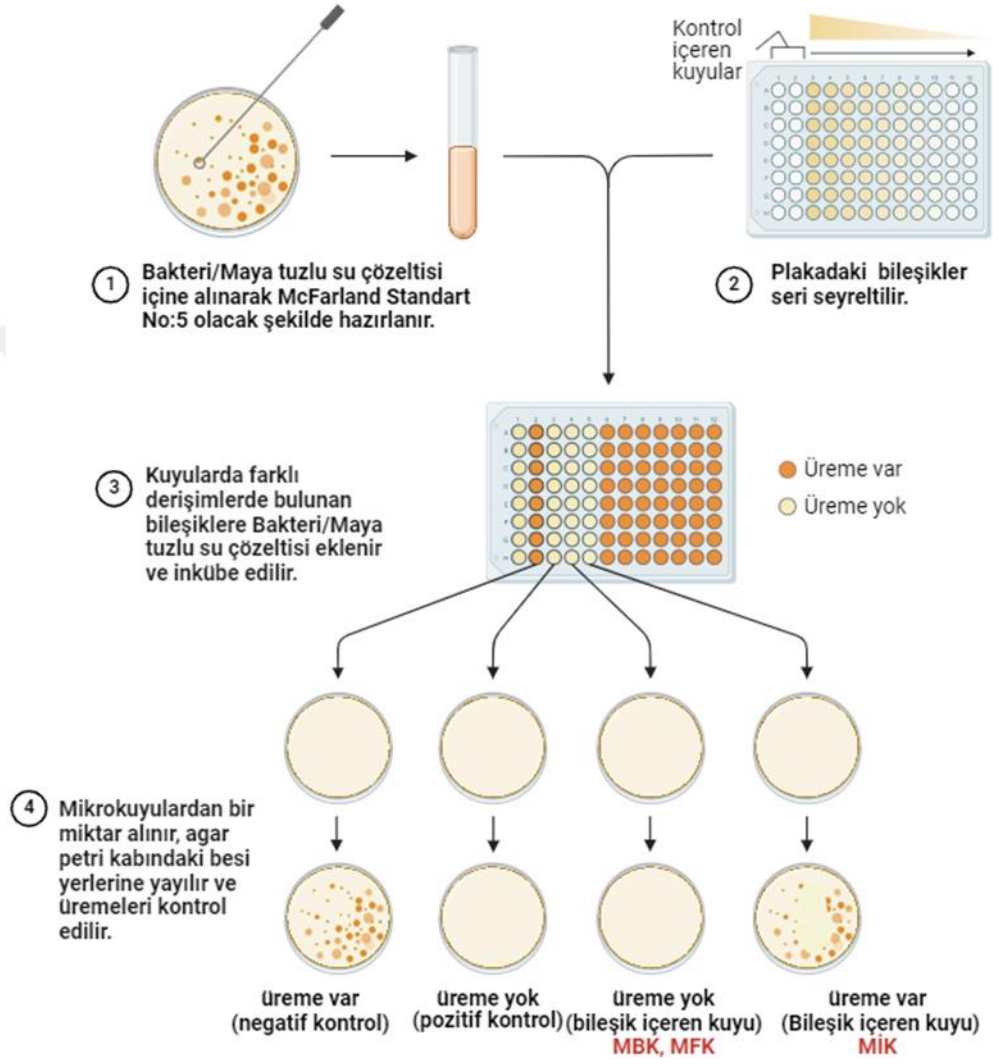
Cis-**27** için; Verim: 0,35 g (%22); Erime Noktası: 206 °C; Rf: 0,51

3.2.4 Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

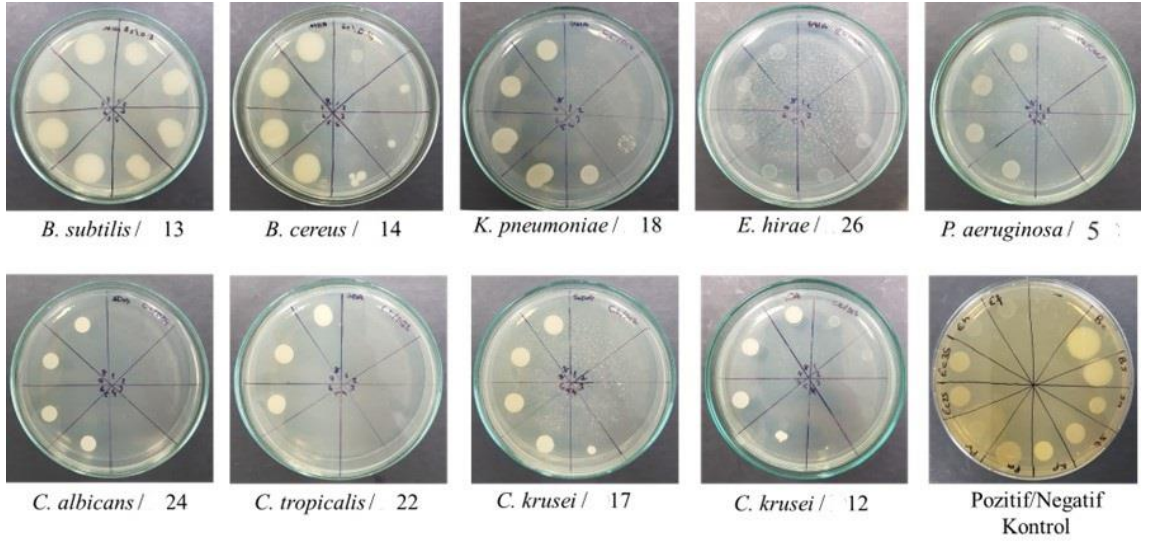
Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde mikrodilüsyon yöntemi (Şekil 3.5) kullanılarak MİK, MBK ve MFK değerleri tespit edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite testi için, bileşiklerin stok çözeltisi DMSO içinde 2500 µM konsantrasyonda hazırlanmıştır. Pozitif kontrol için, Ampisilin ve Kloramfenikol referans antibakteriyel ajanlar olarak; Ketokonazol referans antifungal ajan olarak kullanılmıştır. Hepsi DMSO içinde 2500 µM konsantrasyonunda çözülmüştür. DMSO negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Deneyden önce, tüm bileşikler ve antimikrobiyal ajanlar 0,2 µm gözenek çapına sahip bir şırınga filtresinden geçirilerek sterilize edilmiştir. Sıvı ve agar besiyerleri şişelerindeki talimatlara göre hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerleri sterilizasyon için otoklavlanmıştır. Bakteri ve maya suşları stoktan agar besiyerlerine eklendikten sonra, bakteriler 1 gün 37°C’de, mayalar ise 2 gün 30°C’de inkübasyona bırakılmıştır. McFarland Standardını ayarlamak için bir miktar bakteri/maya bir halka ile tuzlu su çözeltisine alınmıştır. Daha sonra her bakteri/maya çözeltisi 1:10 oranında seyreltilmiştir (100 µL hazırlanan bakteri/maya-tuzlu su çözeltisi, 900 µL tuzlu su çözeltisine eklenmiştir). 200 µL bileşik 96 kuyulu plakanın ilk sırasına konmuştur. Bakteri ve maya için besiyeri ortamları diğer kuyucuklara dağıtılmıştır (her biri için 100 µL). Tüm kolonlar sırasıyla ilk sıradaki kuyudan 100 µL bileşik ile seyreltilmiştir. Tüm kuyucuklara 5 µL seyreltilmiş bakteri/maya-tuzlu su eklenmiştir. Daha sonra 96 kuyucuklu plakalar inkübe edilmiştir (bakteri için 1 gün ve maya için 2 gün beklenmiştir).

İnkübasyondan sonra, her bileşik konsantrasyonu için 10 µL çözelti petri kaplarına (agar ortamı) aktarılmıştır. Bunlar 1-2 gün inkübasyona bırakılmış ve ardından sonuçlar alınmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.5 Mikrodilüsyon yöntemi ile MBK, MFK ve MİK belirlenmesi (biorender)



Şekil 3.6 Bileşiklerin bakteri ve maya petri görüntüleri

3.2.5 Bileşik- DNA etkileşiminin belirlenmesi

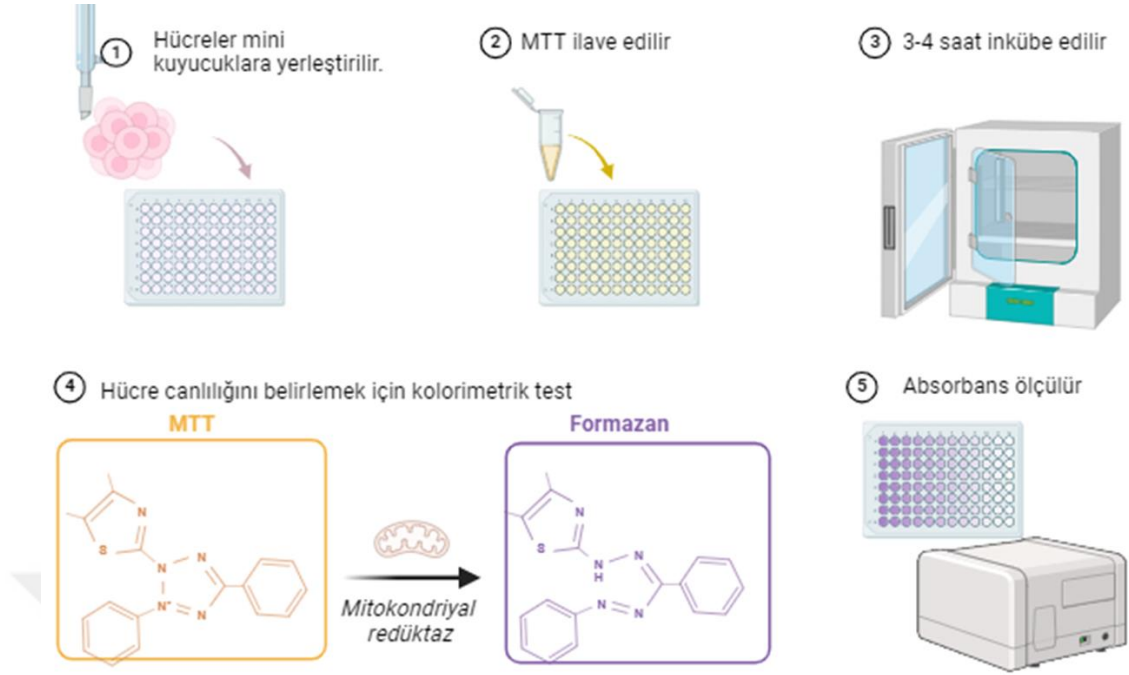
Bileşiklerin plazmit DNA üzerindeki etkisi agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelenmiştir. Bileşikler DMSO içerisinde stok konsantrasyon 2500 μM olacak şekilde hazırlanmıştır. Stok çözeltilerden 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25 μM oranlarında 5 farklı konsantrasyonda hazırlanan bileşikler ve pBR322 plazmit DNA eklenerek 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında bileşik-DNA karışımları %1 agaroz jelde elektroforezde 70 voltta yürütülmüştür ve 90, 120 ve 150. dakikalarda UV jel görüntüleme sisteminde görüntüleri alınmıştır. Görüntüleme öncesi DNA boyanması için etidyum bromür kullanılmıştır.

Restriksiyon enzim kesimi: DNA üzerindeki 5'-G/GATCC-3' bölgesini tanıyan *Bam*HI ve 5'-A/AGCTT-3' bölgesini tanıyan *Hind*III enzimi enzim kesimi çalışması için kullanılmıştır. Bileşiklerin DNA’nın bu bölgeleri üzerine bağlanma durumunu anlamak için bileşik-DNA etkileşiminde hazırlanmış olan karışımlardan alınarak restriksiyon enzimleri ile 1 saat 37 °C’de inkübe edilmiştir. Enzimle muamele edilmiş bileşik-DNA karışımı jel elektroforezde yürütülerek görüntülemesi yapılmıştır.

3.2.6 Sitotoksik aktivite belirlemeye yönelik çalışmalar

Sitotoksik terimi, hücre ölümüne neden olan anlamına gelmektedir. Bileşiklerdeki sitotoksik aktivite potansiyelini değerlendirmek için MTT testi kullanılmıştır (Şekil 3.7). MTT analizi, hücre canlılığı ve sitotoksitesinin bir göstergesi olarak hücrel metabolik aktiviteyi ölçmek için kullanılır. Bu kolorimetrik analiz, sarı tetrazolium tuzunun (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür veya MTT), metabolik olarak aktif canlı hücrelerin mitokondrilerindeki dehidrojenazlar tarafından suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine enzimatik dönüşümü yoluyla hücre canlılığını ölçer. Oluşan formazan miktarı canlı hücre sayısını verir. Formazanın yoğunluğu, hücrelerin metabolik aktivitesini ve dolayısıyla canlılığını yansıtır.

Bu çalışmada MTT testi için iki farklı hücre hattı kullanılmıştır: Bir tanesi meme kanseri hücrelerinden türetilen MDA-MB-231 kanser hücre hattı; diğeri ise Afrika yeşil maymununun böbrek epitel hücrelerinden köken alan ölümsüzleştirilmiş bir hücre dizisi olan Vero sağlıklı hücre hattıdır. İşlem görmemiş hücreler negatif kontrol olarak ve cis-diammineplatinum(II) diklorür ile işlem görmüş hücreler pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin (**14**, **15**, **16**, **17**, **18** ve **22**) pozitif kontrol olan cis-platine karşı sitotoksitesini değerlendirmek için, bileşiklerin farklı derişimleri (15,6 μ M -250 μ M) uygulanmıştır. Hücreler 24 saatlik bir kuluçka süresinden sonra her bir kuyucuğa 5 mg/mL MTT eklenerek 3 saat boyunca inkübe edilmiştir. 100 μ L DMSO eklenerek 570 nm'de mikropilaka okuyucu ile ölçülmüştür.

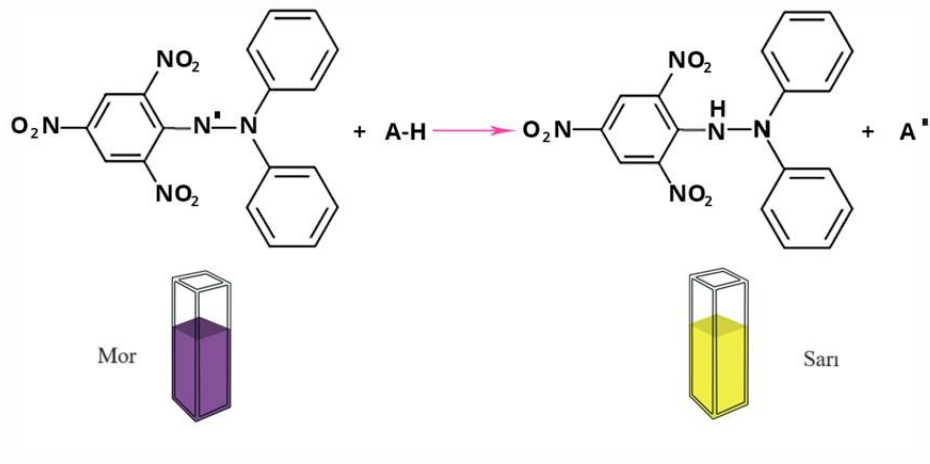


Şekil 3.7 MTT testi (biorender)

3.2.7 Antioksidan özelliklerinin belirlenmesi

Sentezlenen bileşiklerin antioksidan potansiyellerini belirlemek için DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, $C_{18}H_{12}N_5O_6$) radikali süpürme deneyi gerçekleştirilmiştir.

0,002 g DPPH radikali metanol içinde çözülmüştür. Bileşiklerin yedi farklı konsantrasyonu (sırasıyla 2500, 1250, 625, 312.5, 156.3, 78.1 ve 39 μ M) DMSO ile hazırlanmıştır. Bileşik çözeltileri ile taze hazırlanmış DPPH radikalinin etanol içindeki çözeltisinden (0,1 mM), 100 μ L alınarak karıştırılmıştır, oda sıcaklığında 30 dakika beklenmiştir ve absorbans 517 nm'de spektrofotometre (Shimadzu UV-1800) ile boşluğa karşı ölçülmüştür. Butillenmiş hidroksitoluen (BHT) fenolik bir antioksidandır ve bu deneyde pozitif kontrol olarak BHT'nin (2500 μ M) absorbans ölçümleri kullanılmıştır. Negatif kontrol için (3 tekrarlı) 100 μ L DPPH ve DMSO kullanılmıştır.



Şekil 3.8 DPPH radikalinin antioksidan ile indirgenmesi

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Bileşiklerin Element Analizi Sonuçları

Element analiz sonuçları, sentezlenen bileşiklerin teorik değerler ile uyumlu olduğunu göstermiştir ve sentezlenen bileşikler için tahmin edilen yapıları doğrulamıştır. Çizelge 4.1, bileşiklerin teorik element değerlerini ve element analiz sonuçlarını göstermektedir.

Çizelge 4.1 Sentezlenen bileşiklerin element analiz sonuçları

Bileşik	Kapalı Formül	Hesaplanan (Bulunan)		
		C	H	N
10	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	51,51 (51,41)	5,37 (5,27)	14,56 (14,09)
11	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3.C_4H_8O$	52,81 (52,56)	5,87 (5,48)	13,32 (13,11)
12	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	52,13 (52,34)	5,53 (5,70)	14,30 (13,89)
13	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	52,3 (52,25)	5,53 (6,09)	14,30 (13,91)
14	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	52,13 (51,78)	5,53 (5,62)	14,30 (14,28)
15	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	52,13 (52,26)	5,53 (5,48)	14,30 (14,16)
16	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	51,51 (51,68)	5,37 (5,70)	14,56 (14,09)
18	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3.C_4H_8O$	53,35 (53,56)	6,01 (6,34)	13,10(13,72)
19	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3.1,5H_2O$	50,39 (50,88)	5,72 (6,13)	13,83(14,04)
20	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	52,13 (53,58)	5,53 (6,11)	14,30 (13,83)
22	$C_{32}H_{39}Cl_2FeN_8P_3.0,5C_4H_8O$	51,60 (51,79)	5,48 (5,89)	14,16 (14,45)
23	$C_{32}H_{39}Cl_2FeN_8P_3.0,5C_4H_8O$	51,60 (51,82)	5,48 (5,66)	14,16 (14,50)
24	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	51,51 (51,82)	5,37 (5,35)	14,56 (14,25)
25	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	51,51 (51,86)	5,37 (5,29)	14,56 (14,38)
26	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3.C_4H_8O$	52,81 (53,12)	5,87 (5,56)	13,32 (13,86)
27	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3.0,5C_4H_8O$	52,19 (52,25)	5,63 (5,69)	13,91 (14,00)

Element analizi sonuçlarına göre, bileşik **11**, **18** ve **26**'nın yapılarında 1 mol THF; bileşik **22**, **23** ve **27** yapılarında yarım mol THF bulunmaktadır. Sonuçlar, bileşik **19**'un yapısında 1,5 mol su içerdiğini göstermektedir.

4.2 Bileşiklerin Kütle Spektrometrisi Analizleri

Bileşiklerinin kütle spektrumları ESI-MS yöntemi ile elde edilmiştir ve mol kütleleri hesaplanırken ³⁵Cl ve ⁵⁶Fe izotopları esas alınmıştır. Kütle analizleri EK 3'te verilmiştir, sonuçlar Çizelge 4.2'de yer almaktadır.

Çizelge 4.2 Kütle spektrum verileri

Bileşik	Kapalı Formül	Teorik kütle Monoizotopik	Ölçülen Kütle	Moleküler İyon	Bağıl Bolluk
10	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	768,14	769,15	$[MH]^+$	100
11	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	768,14	507,88	$[MH-(C_{15}H_{21}N_2Cl) + 2H]^+$	32
12	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	782,16	783,16	$[MH]^+$	100
13	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	782,16	784,04	$[M+2H]^+$	100
14	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	782,16	783,16	$[MH]^+$	100
15	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	782,16	783,16	$[MH]^+$	100
16	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	768,14	769,15	$[MH]^+$	100
17	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	768,14	769,14	$[MH]^+$	100
18	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	782,16	783,16	$[MH]^+$	100
19	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	782,16	783,16	$[MH]^+$	100
20	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	782,16	783,16	$[MH]^+$	100
21	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	782,16	783,16	$[MH]^+$	100
22	$C_{32}H_{39}Cl_2FeN_8P_3$	754,12	755,13	$[MH]^+$	100
23	$C_{32}H_{39}Cl_2FeN_8P_3$	754,12	755,13	$[MH]^+$	100

Çizelge 4.2 Kütle spektrum verileri (devam)

24	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	768,14	769,16	$[MH]^+$	100
25	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	768,14	770,03	$[M+2H]^+$	100
26	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	768,14	769,14	$[MH]^+$	100
27	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	768,14	769,14	$[MH]^+$	100

Sentezlenen dispirofosfazenlerin kütle spektrumunda bileşiklerin bir proton almış $[MH]^+$ molekül piki veya iki proton almış $[M+2H]^+$ molekül pikleri belirlenmiştir. Bileşik **11**'deki karbazolildiamin grubunun büyük bir kısmının ve bir klor atomunun ayrılması ile oluşan 507,8 kütleli iyon piki $[MH-(C_{15}H_{21}N_2Cl) + 2H]^+$ gözlenmiştir.

4.3 FTIR Analizi Sonuçları

Bileşiklerin IR spektrumları Ek 1'de, spektrumlarda gözlenen pikler çizelge 4.3'te verilmiştir. Dispirofosfazen bileşiklerinin FTIR spektrumlarında, P=N ve P-Cl bağlarına ait karakteristik gerilme titreşimlerinin sırasıyla $1225-1162\text{ cm}^{-1}$ ve $547-503\text{ cm}^{-1}$ olarak bulunması, bileşiklerde HCCP halkasının bulunduğunu doğrulamaktadır. P-Cl bağlarına ait gerilmeler, bileşiklerin kısmen süstitüe olduğunu da göstermektedir. Bunun yanında; aromatik C-H ($3092-3051\text{ cm}^{-1}$ aralığında) ve alifatik C-H ($2976-2824\text{ cm}^{-1}$ aralığında) gerilme titreşimlerinin gözlenmesi, ferrosenildiamin ve karbazolildiamin süstitüentlerinin HCCP halkasına bağlandığını işaret etmektedir. Diamin ligandlarının HCCP'ye azot üzerinden bağlandığını doğrulayan P-N bağına (**P-N-C**) ait gerilme titreşimleri de gözlenmiştir. Tekli P-N bağına ait karakteristik asimetrik gerilme pikleri $1108-1027\text{ cm}^{-1}$ aralığında, simetrik gerilme pikleri $760-687\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenmiştir (Socrates 2001). Bileşik **19**'un spektrumunda su molekülüne ait gerilme titreşiminin (3629 cm^{-1}) gözlenmesi, elementel analiz sonuçları ile uyumu olarak, bileşiğin yapısında su bulunduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.3 Bileşiklerin FTIR spektrumunda gözlenen titreşim frekansları

Bileşik	ν C-H (Aromatik)	ν C-H (Alifatik)	ν P=N	ν P-Cl	ν P-N
10	3045	2929, 2870	1216, 1162	505	1033, 743
11	3023	2892, 2814	1213, 1179	559	1034, 760
12	3052	2929, 2851	1213, 1163	534	1107, 746
13	3052	2976, 2854	1222, 1173	548	1063, 754
14	3052	2930, 2869	1211, 1170	509	1050, 743
15	3054	2930, 2866	1218, 1163	501	1048, 743
16	3099	2929, 2850	1225, 1163	503	1104, 746
17	3087	2920, 2871	1213, 1168	532	1094, 760
18	3099	2929, 2851	1225, 1163	503	1103,746
19	3025	2988, 2896	1193	539	1034, 760
20	3052	2925, 2853	1215, 1166	518	1048, 746
21	3052	2904, 2823	1221	555	1090, 772
22	3081	2920, 2837	1211, 1170	531	1030, 760
23	3051	2930, 2876	1212, 1170	524	1027, 746
24	3091	2932, 2857	1226, 1169	518	1104, 746
25	3097	2932, 2847	1218, 1162	534	1041, 747
26	3079	2970, 2860	1215, 1170	526	1037, 757
27	3077	2923, 2867	1221, 1163	547	1094, 736

4.4 X-Işını Kristallografi ile Yapı Analizi

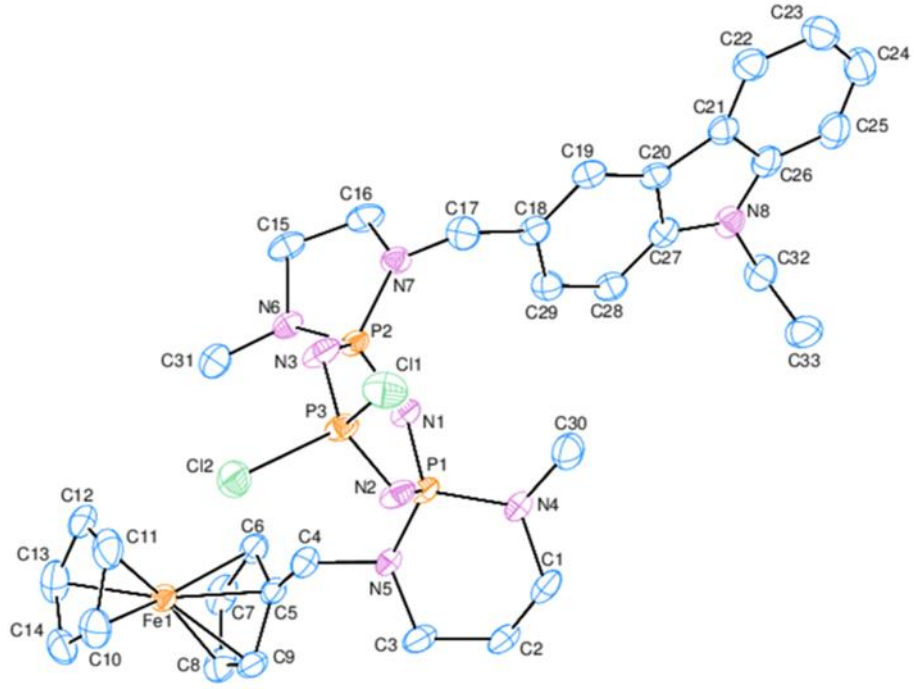
X-ışını kırınım yöntemiyle uygun tek kristali elde edilen dört adet simetrik olmayan dispirofosfazen bileşiğinin (trans-**10**, cis-**15**, trans-**16** ve trans-**18**) molekül ve katı hal

yapıları, bağ açıları, bağ uzunlukları, fosfazen ve spiro halkalarının konformasyonları araştırılmıştır.

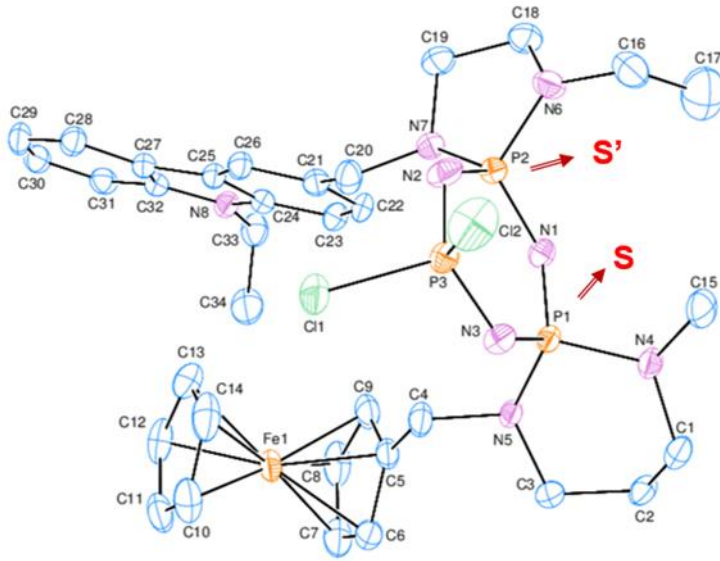
Kristal yapıları belirlenen dispirofosfazen türevlerinin ORTEP diyagramları Şekil 4.1-4.8'de verilmiştir. Ayrıca, bileşiklerin kristal verileri çizelge 4.4'te, atomlar arası bağ uzunlukları ve bağ açıları ise çizelge 4.5'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4 Bileşiklerin kristal verileri

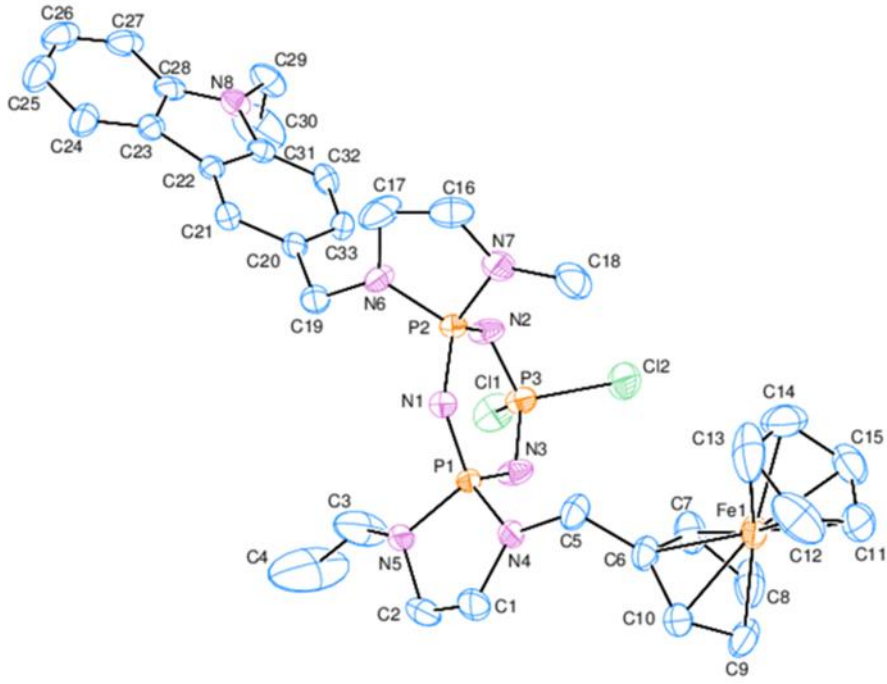
Bileşik	trans-10	cis-15	trans-16	trans-18
Kapalı Formülü	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	$C_{34}H_{43}Cl_2FeN_8P_3$	$C_{33}H_{41}Cl_2FeN_8P_3$	$C_{34}H_{43}Cl_2Fe$
Mol Kütle	769,40	783,42	769,40	783,42
Kristal Sistemi	Monoklinik	Triklinik	Monoklinik	Monoklinik
Uzay Grubu	$P 2_1/c$	$P -1$	$P 2_1/c$	$P 2_1/c$
a (Å)	15,2230(4)	9,2916(3)	25,0035(6)	24,6286(5)
b (Å)	12,7330(3)	13,8147(5)	7,7706(3)	7,8773(3)
c (Å)	18,2847(6)	14,6914(5)	20,2611(5)	20,4516(5)
α (°)	90	92,560(3)	90	90
β (°)	98,391(3)	103,718(4)	113,361(3)	113,988(4)
γ (°)	90	98,6	90	90
Hücre Hacmi V (Å³)	3506,26(17)	1804,62 (11)	3613,9(2)	3625,1 (2)
Birim hücre sayısı (Z)	4	2	4	4
Işıma Türü	MoK α	MoK α	MoK α	MoK α
μ (mm⁻¹)	0,76	0,74	0,74	0,73
ρ Hesaplanan (g cm⁻³)	1,457	1,442	1,414	1,436
Toplam Yansıma Sayısı	35092	21610	37143	35086
Çözüm için gerekli veri sayısı	8041	8229	8275	8326
R_{int}	0,046	0,037	0,082	0,075
$2\theta_{max}$ (°)	54,97	54,97	54,97	55,01
T_{min}/T_{max}	0,842/0,882	0,895/0,928	0,824/0,914	0,825/0,880
Parametre Sayısı	421	436	427	436
R [F²]	0,035	0,040	0,058	0,050
$>2\sigma(F^2)$	0,095	0,106	0,150	0,124
wR	1,02	1,0	1,03	1,0



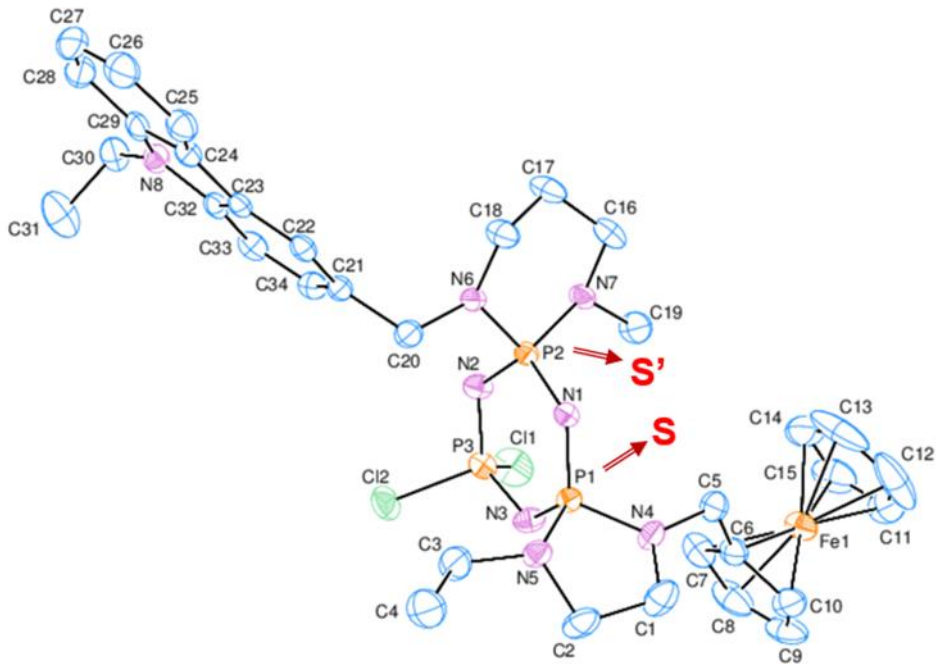
Şekil 4.1 Trans-10 bileşiğinin ORTEP diyagramı



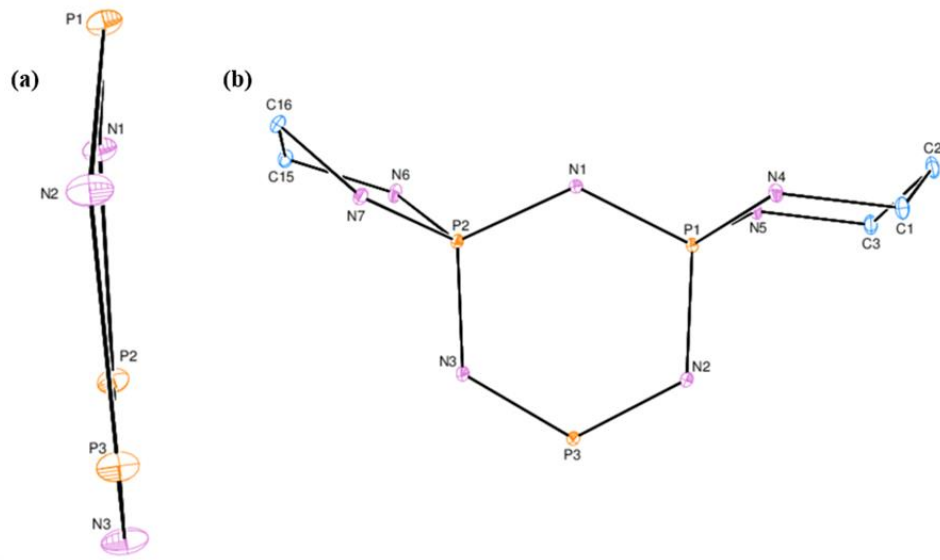
Şekil 4.2 Cis-15 bileşiğinin ORTEP diyagramı



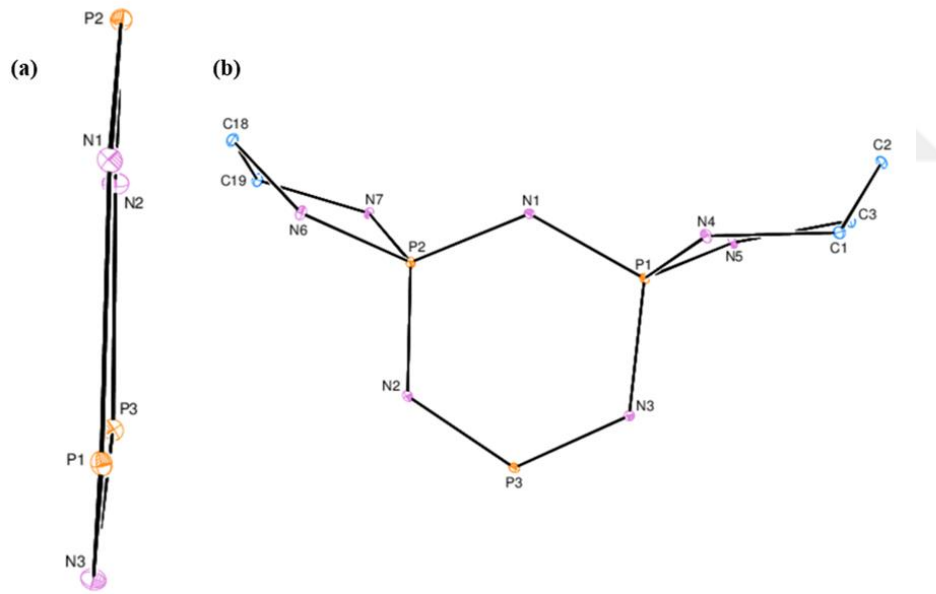
Şekil 4.3 16 numaralı trans- bileşiğin ORTEP diyagramı



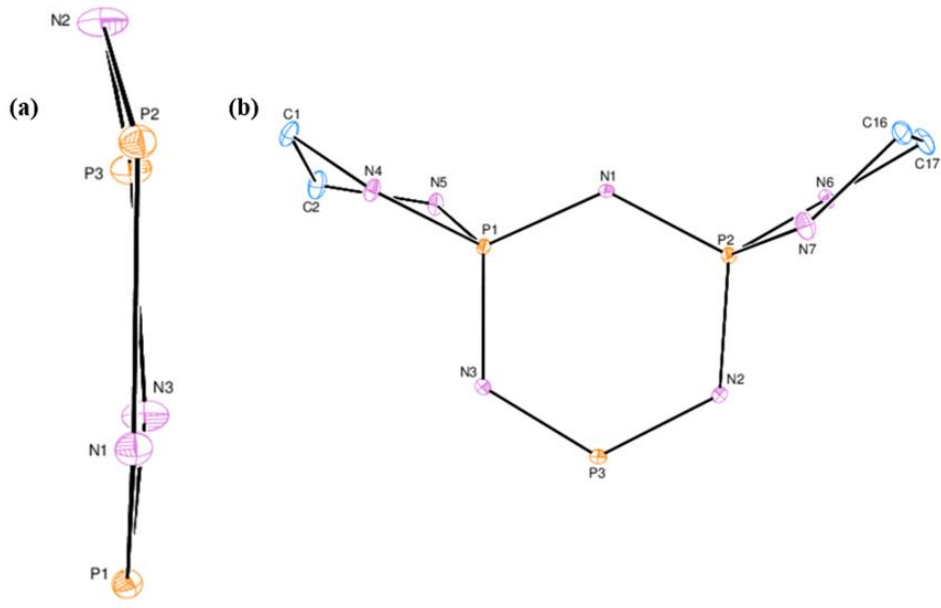
Şekil 4.4 Bileşik 18'in (trans-) ORTEP diyagramı



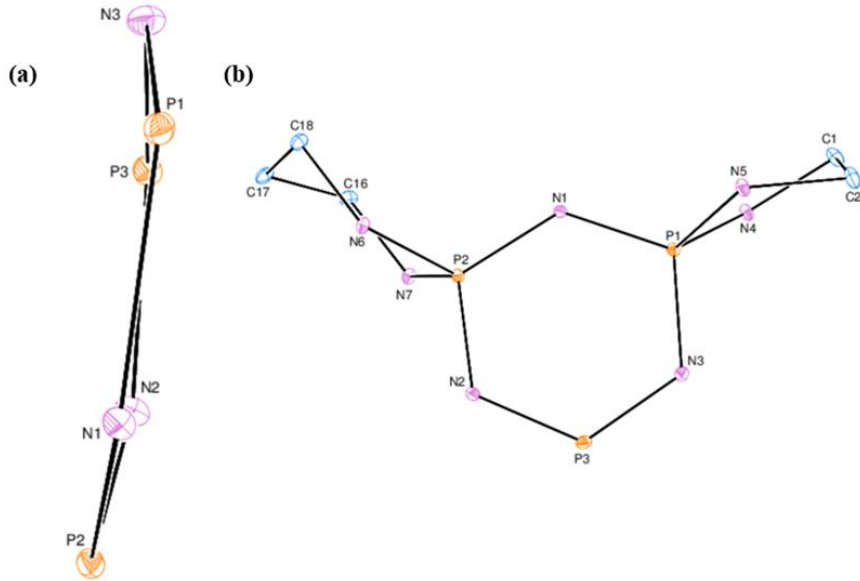
Şekil 4.5 Trans-10 bileşiğindeki (a) trimer halkasının ve (b) spiro halkaların konformasyonu



Şekil 4.6 Cis-15 bileşiğindeki (a) trimer halkasının ve (b) spiro halkaların konformasyonu



Şekil 4.7 Trans-16 bileşiğindeki (a) trimer halkasının ve (b) spiro halkaların konformasyonu



Şekil 4.8 Trans-18 bileşiğindeki (a) trimer halkasının ve (b) spiro halkaların konformasyonu

Çizelge 4.5 Sentezlenen bileşiklerin bağ uzunlukları ve bağ açıları

	10	15	16	18
		Bağ Uzunlukları		
P1– N1	1.5817 (16)	1,5839 (19)	1,583 (3)	1,577 (2)
P1–N2	1.6308 (17)	-	-	-
P1– N3	-	1,6324 (19)	1,618 (3)	1,623 (3)
P1– N5	1.6563 (17)	1,6528 (18)	1,654 (3)	1,669 (2)
P1 – N4	1.6592 (17)	1,6489 (18)	1,629 (3)	1,632 (2)
P2– N1	1.5969 (16)	1,5847 (18)	1,589 (3)	1,594 (2)
P2– N2	-	1,618 (2)	1,618 (3)	1,610 (2)
P2– N3	1.6139 (18)	-	-	-
P2– N6	1.6549 (17)	1,6439 (19)	1,629 (3)	1,643 (2)
P2– N7	1.6379 (17)	1,6584 (19)	1,634 (3)	1,649 (2)
P3– N3	1.5625 (17)	1,5555 (19)	1,554 (3)	1,553 (2)
P3– N2	1.5571 (17)	1,561 (2)	1,566 (3)	1,559 (2)
P3– Cl2	2.0367 (7)	2,0169 (8)	2,0361 (14)	2,0101(11)
P3– Cl1	2.0237 (8)	2,0441 (8)	2,0061 (14)	2,0335 (11)
		Bağ Açıları		
N1—P1—N3 (γ)	-	112,90 (10)	113,15 (15)	112,90 (12)
N1– P1– N2 (γ)	114.15 (9)	-	-	-
N1—P2—N3(γ)	112.45 (8)	-	-	-
N1– P2– N2 (γ)	-	112,91 (10)	112,72 (15)	112,94 (12)
N3– P3– N2 (α)	122.12 (9)	121,98 (10)	122,06 (16)	121,55 (13)
P1– N1– P2 (δ)	128.34 (10)	129,28 (12)	128,71 (17)	128,44 (15)
P3—N2—P2 (β)	-	121,57 (12)	120,48 (18)	121,29 (15)
P3—N2—P1(β)	119.79 (10)	-	-	-
P3—N3—P1 (β)	-	121,03 (12)	120,92 (18)	121,25 (15)
P3—N3—P2(β)	122.35 (11)	-	-	-
N6—P2–N7(γ')	94.23 (9)	94,52 (10)	93,60 (16)	102,31 (12)
N4–P1–N5 (γ')	103.00 (8)	104,67 (9)	93,97 (15)	94,10 (12)
Cl1– P3– Cl2(α')	99.47 (3)	98,43 (4)	99,11 (6)	98,73 (5)

X-ışını kırınım yöntemi ile katı hal yapıları belirlenen dispirofosfazen türevlerindeki alkil ($\text{CH}_3/\text{C}_2\text{H}_5$) gruplarına göre, bileşik **10**, **16** ve **18**'in trans, bileşik **15**'in ise cis konfigürasyonunda olduğu bulunmuştur. N_3P_3 halkasının (P1/N1/P2/N2/P3/N3) konformasyonunun üç adet trans-izomer için düzleşmiş kayık (flattened-boat) [**10** için;

$Q_T = 2.1193(55) \text{ \AA}$, $\theta_2 = 88.86(5)^\circ$ ve $\varphi_2 = 149.8(4)^\circ$, **16** için; $Q_T = 0.1609(26) \text{ \AA}$, $\theta_2 = 79.81(89)^\circ$, $\varphi_2 = 159.3(9)^\circ$ ve **18** için; $Q_T = 0.1485(20) \text{ \AA}$, $\theta_2 = 88.94(77)^\circ$, $\varphi_2 = 142.2(8)^\circ$], cis izomer için düzlemsel (planar) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, trans-**10**, cis-**15** [P1/N4/N5/C1/C2/C3; **10** için $Q_T = 0.5270(21) \text{ \AA}$, $\theta_2 = 8.62(21)^\circ$, $\varphi_2 = 182.3(15)^\circ$, **15** için; $Q_T = 0.4991(25) \text{ \AA}$, $\theta_2 = 32.56(24)^\circ$, $\varphi_2 = 154.8(5)^\circ$] ve trans-**18**'deki [P2/N6/N7/C16---C18], $Q_T = 0.5098(33) \text{ \AA}$, $\theta_2 = 15.41(32)^\circ$, $\varphi_2 = 178.3(13)^\circ$] altı üyeli spiro halkaların sandalye (chair), tüm bileşiklerdeki beş üyeli spiro halkaların ise yarım-sandalye (half-chair) [trans-**10** için; $\varphi_2 = 85.4(3)^\circ$, cis-**15** için; $\varphi_2 = 97.2(3)^\circ$, trans-**16** için; $\varphi_2 = 306.1(10)^\circ$ ve trans-**18** için; $\varphi_2 = 119.9(4)^\circ$] [trans-**16**'daki P1/N4/N5/C1/C2 halkası için zarf; $\varphi_2 = 113.4(6)^\circ$] konformasyonunda olduğu bulunmuştur.

Diğer yandan, üç adet trans-dispirofosfazen $P 2_1/c$, cis izomer ise $P - I$ uzay grubundadır. Bu uzay grupları sentrosimetrik ve "Sohncke" uzay grubu içinde değildir. Bu uzay gruplarına sahip bileşikler, kristal örgülerinin birim hücrelerinde her iki enantiyomeri de içerirler. Ayrıca, halkalı fosfazen bileşiklerindeki stereojenik fosfor atomlarının mutlak konfigürasyonlarının X-ışını yapı analizi ile belirlendiği bilinmektedir. Tez kapsamında katı hal yapısı belirlenen cis-**15** ve trans-**18** dispirofosfazenlerdeki P1 ve P2 atomlarının mutlak konfigürasyonlarının SS' olduğu bulunmuştur. Rasemik oldukları bilinen bu bileşiklerin diğer enantiyomerlerin mutlak konfigürasyonlarının da RR' olduğu ve birim hücrede bulunduğu ifade edilebilir.

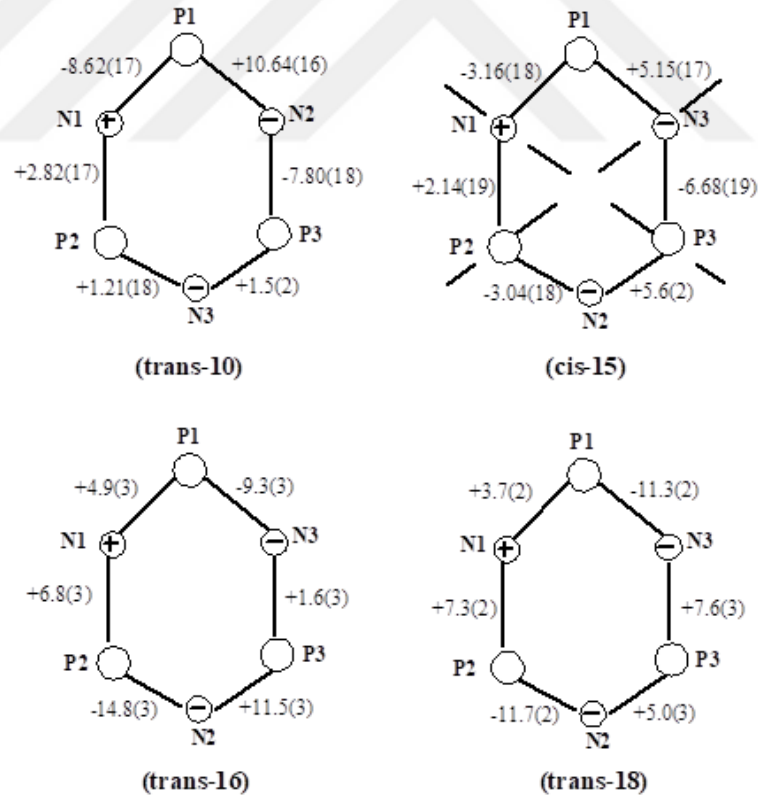
Dispirofosfazen türevlerindeki N_3P_3 halkalarının torsiyon (burulma) açıları dikkate alındığında, sadece cis-**15** bileşiğinin psödo-simetri düzlemine sahip olduğu diğerlerinde psödo-simetri düzleminin bulunmadığı belirlenmiştir.

Dispirofosfazen kristallerindeki halka içi ve halka dışı bağ uzunlukları ve açıları Çizelge 4.4'te sunulmuştur. Bileşiklerdeki halka içi (γ) ve halka dışı (γ') bağ açılarının sırasıyla $112.45(8)^\circ$ - $114,15(9)^\circ$ ve $93,60(16)^\circ$ - $104,67(9)^\circ$ aralığında olduğu belirlenmiştir. Trimerik fosfazen bileşiğinin [$N_3P_3Cl_6$; α , α' , β ve δ : $118.3(2)^\circ$, $101.2(1)^\circ$, $121.4(1)^\circ$ ve $121.4(1)^\circ$] bağ açılarıyla karşılaştırıldığında (Bullen 1971), pendant grupların bulunduğu NPN açıların (γ ve γ') önemli ölçüde daraldığı bulunmuştur. Ayrıca, halka içi PNP bağ açıların (β ve δ) ise $119,79(10)^\circ$ - $129,28(12)^\circ$ aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Diğer

halka içi PNP bağ açılarının (δ) ise sterik etkileşimler nedeniyle önemli ölçüde genişlediği belirlenmiştir.

Cis ve trans-izomerlerin halka içi ve halka dışı P-N bağ uzunluklarının sırasıyla 1.553(2)-1.6324(19) Å ve 1.629(3)-1.669(2) Å arasında değiştiği belirlenmiştir. Beklendiği gibi, halka içi P-N bağ uzunluklarının halka dışı olanlardan önemli ölçüde daha kısadır (Çizelge 4.4). Ayrıca, P3 atomundan başlamak üzere $P3-N2 \approx P3-N3 < P1-N1 \approx P2-N1 < P2-N2 \approx P1-N3$ ($P1-N2 \approx P2-N3$; bileşik **10** için) şeklinde PN bağ uzunluklarında düzenli bir artma olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak, cis- ve trans-dispirofosfazenlerin bağ uzunlukları ve açılarındaki bu değişikliklerin nedeni olarak N_3P_3 ve spiro halkalarının konformasyonlarına, negatif hiperkonjugasyona ve bağlanan grupların türleri verilebilir.



Şekil 4.9 Bileşiklerin fosfazen halkalarının torsiyon (burulma) açıları

4.5 NMR Spektroskopisi Analiz Sonuçları

4.5.1 ³¹P-NMR analizleri

Bileşiklerin protonla eşleşmemiş ³¹P-NMR spektrumları çözücü olarak CDCl₃ kullanılarak alınmıştır. ³¹P-NMR spektrumları Ek 2'de verilmiştir; bu verilerin yorumlanması ile, sentezlenen dispirofosfazen bileşiklerinin yapılarındaki fosfor atomlarının spin sistemleri, kimyasal kayma değerleri (ppm cinsinden) ve eşleşme sabitleri (Hz cinsinden) belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 Bileşiklerdeki fosfor atomlarının kimyasal kayma değerleri (δ), fosforlar arası eşleşme sabitleri ($^2J_{PP}$) ve spin sistemleri

Bileşik	Spin Sistemi	δ (ppm)			$^2J_{PP}$ (Hz)
		PCl ₂	P(Cz)	P(Fc)	
10	AMX	27,95(ii)	23,40(ii)	19,55(ii)	39,1
					46,0
					50,1
11	AMX	28,20(ii)	23,04(ii)	19,41(ii)	38,7
					44,7
					52,6
12	ABX	25,69(ii)	20,30 (ii)	19,84(ii)	35,9
					37,8
					38,9
13	ABX	25,61 (ii)	19,94(ii)	19,74(ii)	36,4
					43,7
					43,7
14	AMX	27,78(ii)	22,10(ii)	19,46(ii)	37,0
					44,9
					54,0
15	AMX	27,88(ii)	22,13(ii)	19,46(ii)	37,6
					44,7
					53,2
16	ABX	28,74(ii)	24,48(ii)	22,79(ii)	43,3
					53,1
					54,3
17	ABX	28,71(ii)	24,93(ii)	22,73(ii)	44,3
					52,8
					53,8

Çizelge 4.6 Bileşiklerdeki fosfor atomlarının kimyasal kayma değerleri (δ), fosforlar arası eşleşme sabitleri ($^2J_{PP}$) ve spin sistemleri (devam)

18	AMX	27,47(ii)	22,16(ii)	20,10(ii)	41,7 47,4 47,4
19	AMX	27,40(ii)	22,03(ii)	19,81 (ii)	43,8 44,0 45,6
20	AMX	27,46 (ii)	22,15 (ii)	20,10(ii)	41,7 45,4 47,2
21	AMX	27,41 (ii)	22,04 (ii)	19,81 (ii)	43,2 44,4 45,5
22	ABX	29,04(ii)	24,49(ii)	23.85(ii)	43,6 53,3 54,2
23	ABX	29,04(ii)	24,53(ii)	23,74(ii)	44,0 53,0 54,1
24	ABX	27,89(ii)	23,28(ii)	20,02(ii)	42,2 46,2 47,2
25	ABX	27,65(ii)	22,92(ii)	19,73(ii)	43,7 46,2 46,2
26	ABX	28,72(ii)	23,82(ii)	23,46(ii)	40,6 43,1 54,0
27	ABX	28,72(ii)	23,72(ii)	23,37(ii)	42,6 44,6 52,9

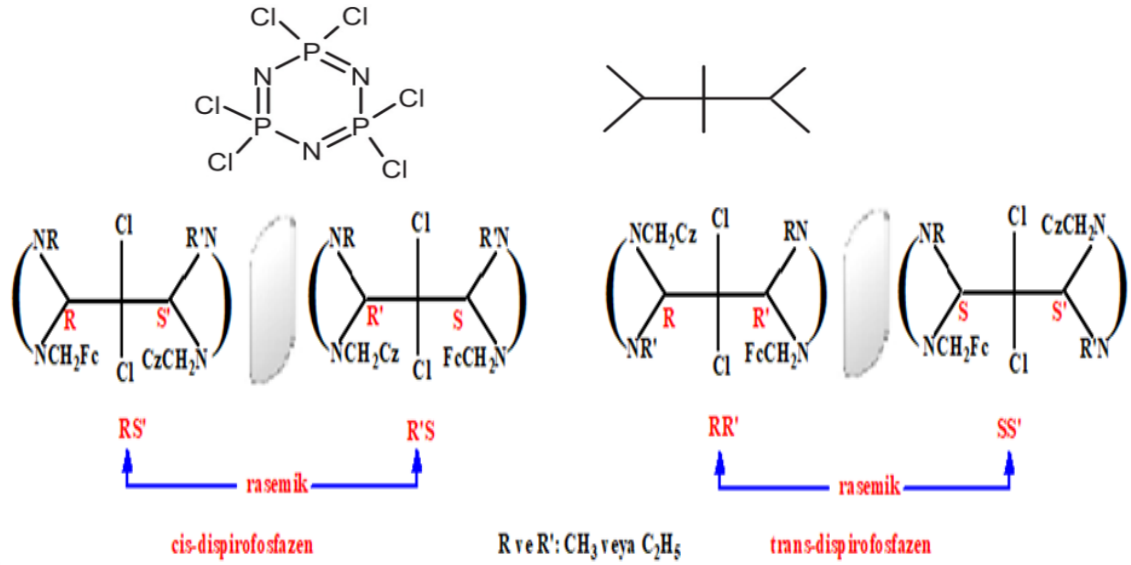
Sentezlenen bileşiklerin ^{31}P -NMR spektrumlarına göre, ferrosenildiamin ve karbazolildiamin ligandları trimer halkasına spiro- olarak bağlanmıştır. Sekiz bileşiğin AMX spin sistemine, on bileşiğin ise ABX spin sistemine sahip olduğu belirlenmiştir. ^{31}P -NMR spektrumu protonla eşleşmemiş olarak kaydedildiği için, oluşan pik yarılmaları sadece fosfor atomları arasındaki etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Sentezlenen dispiro- bileşikler; klorların bağ yaptığı fosfor atomu (PCl_2), ferrosenildiamino-spiro-(N/N) grubunun bağlı olduğu fosfor atomu (PFc) ve karbazolildiamino-spiro-(N/N)

grubunun bağlı olduğu fosfor (PCz) olmak üzere, farklı kimyasal çevreye sahip üç fosfor atomuna sahiptir. Bu nedenle, fosforlar arasındaki etkileşimden kaynaklanan fosfor-fosfor eşleşmesi sonucu bileşiklerin pikleri, ikilinin ikilisi (ii) olarak gözlenmiştir.

Karbazolildiamino-spiro-(N/N) grubunun bağlı olduğu fosfor atomuna ait sinyallerin kimyasal kayma değerleri, ferrosenildiamino-spiro-(N/N) grubunun bağlı olduğu fosfor atomunun sinyallerinden daha yüksek kimyasal kayma değerine sahiptir. Ayrıca, dispirofosfazenlerdeki fosforların kimyasal kayma değerlerinin, başlangıç bileşikleri olan monoferrosenilspirofosfazendeki (**7 ve 9**) fosfor atomlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Asmafiliz 2009).

Altı üyeli spiro halkaya sahip bileşiklerin (**12 ve 13**) fosfor atomlarının kimyasal kayma değerleri, beşli halkaların bağlı olduğu bileşiklerin (**22 ve 23**) değerlerinden çok daha düşüktür. Bileşiklerde fosfor-fosfor eşleşme sabitlerinin 35,9- 54,3 Hz aralığında olduğu belirlenmiştir.

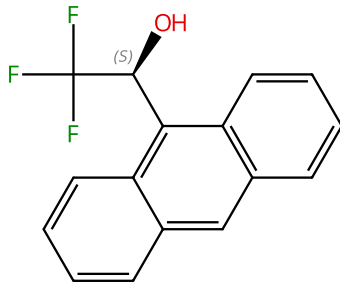
CSA ilaveli ³¹P-NMR analizleri: Sentezlenen dispirofosfazen türevleri iki adet stereojenik fosfor atomuna sahiptir. Bu türevler simetrik olmayan yan gruplar içerdikleri için hem cis- hem de trans- izomerlerinin rasemik olması beklenmektedir (Balzano vd. 2022).



Şekil 4.10 Sentezlenen dispirofosfazenlerin oluşması beklenen optik izomerleri

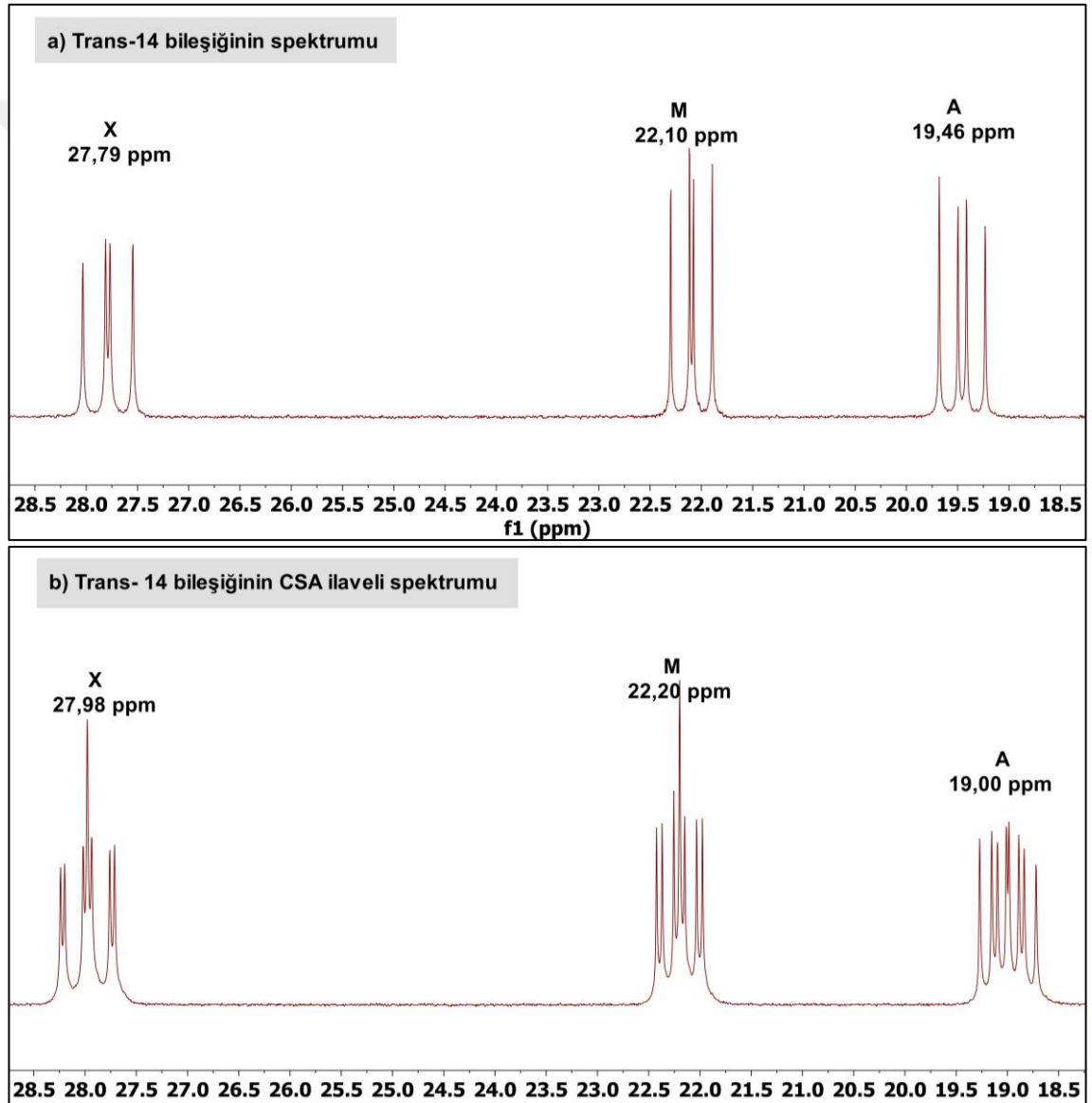
NMR yöntemiyle enantiyomerik izomerleri belirlemek için kiral türevlendirici maddeler (CDA), kiral çözücü maddeler (CSA), kiral lantanit kaydırma reaktifleri (CLSR) veya kiral sıvı kristaller (CLC) kullanılmaktadır.

Bu çalışmada optik izomerlerin belirlenmesi için, bir kiral çözücü (chiral solvating agent, CSA) olan ve Pirkle alkolü olarak da bilinen, (S)-(+)-1-(9-Antril)-2,2,2-trifloroetanol (Şekil 4.11) kullanılmıştır (Pirkle 1977). CSA'lar çözücüye ilave edildiklerinde enantiyotopik atomlar arasındaki farklılığı ortaya çıkarırlar ve enantiyomerler farklı kimyasal kayma değerlerinde gözlenirler (Balzano vd. 2022).

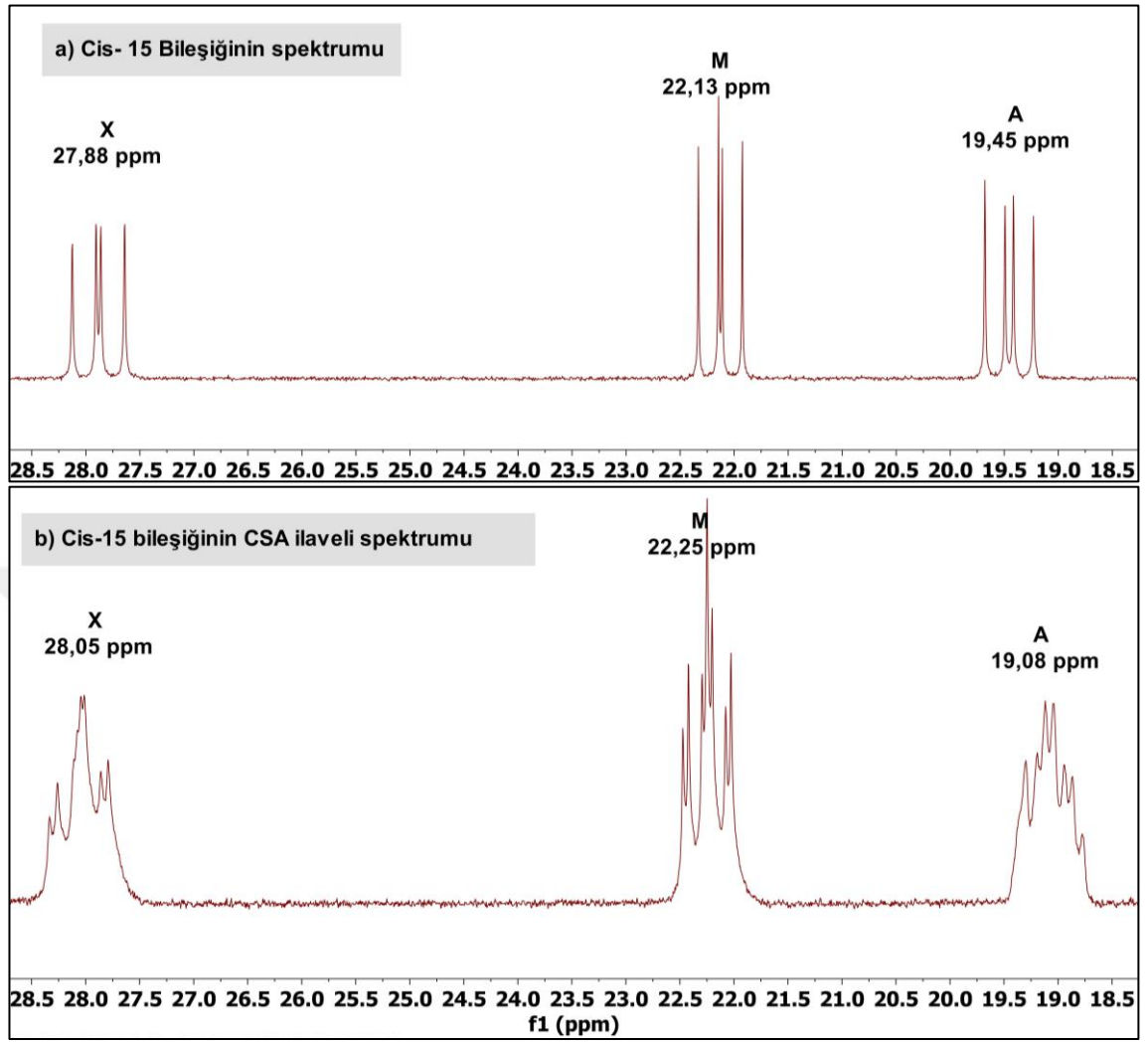


Şekil 4.11 Kullanılan kiral çözücü (CSA), Pirkle alkolü (S)-(+)-1-(9-Antril)-2,2,2-trifloroetanol

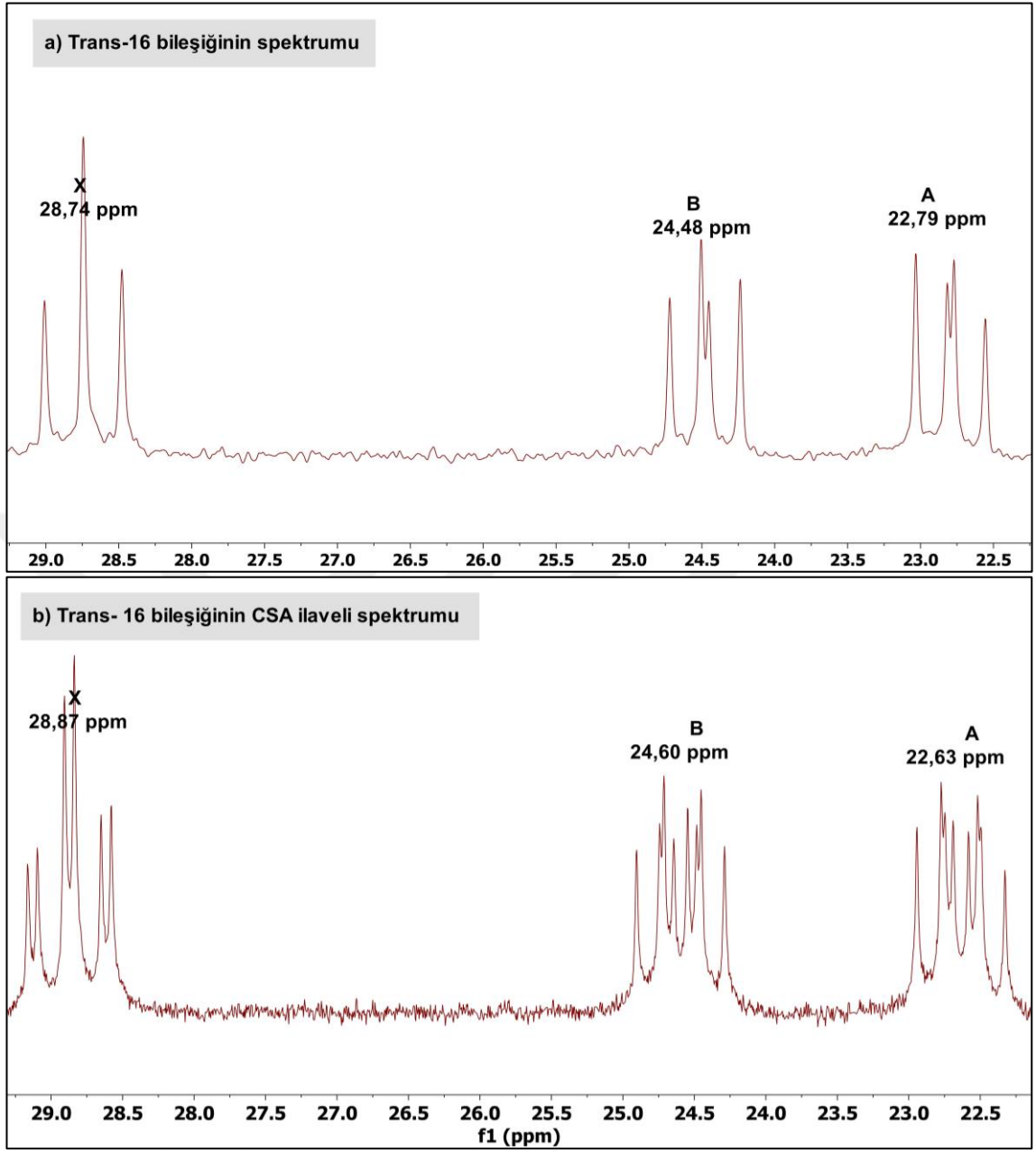
Kiral çözücü ajanın (CSA) 15:1 oranında ilavesi ile kaydedilen ^{31}P NMR spektrum verileri çizelge 4.6’da verilmiştir. Bileşik **14**, **15** ve **16**’nın kiral özellikleri bu spektrumlar aracılığı ile incelenmiştir. CSA eklenmeden önce ikilinin ikisi şeklinde bulunan fosfor piklerinin, CSA ilavesiyle ikiye ayrıldığı gözlenmiştir. Bu durum, iki adet stereojenik fosfor atomu içeren siklotrifosfazen türevlerinin rasemik karışım olarak bulunduğunu göstermektedir.



Şekil 4.12 Bileşik 14’ün CSA eklenmeden önce (a) ve sonra (b) kaydedilen ^{31}P -NMR spektrumları



Şekil 4.13 Cis-15 bileşiminin CSA eklenmeden önce (a) ve sonraki (b) ^{31}P -NMR spektrumları



Şekil 4.14 Trans-16 bileşiminin CSA eklenmeden önce ve sonraki ^{31}P -NMR spektrumu

Çizelge 4.7 14, 15 ve 16 numaralı bileşiklerin CSA ilavesinden önce ve sonra kaydedilen ^{31}P NMR spektrum verileri

a) CSA ilavesinden önce ^{31}P NMR spektrumu verileri				
Bileşik	PCl_2 δ (ppm)	PCz δ (ppm)	PFc δ (ppm)	$^2 J_{\text{PP}}(\text{Hz})$
14	27,79(ii)	22,10(ii)	19,46(ii)	53,6 45,0 36,9
15	27,88(ii)	22,13(ii)	19,45(ii)	53,3 44,6 37,7
16	28,74(ü)	24,48(ii)	22,79(ii)	54,3 53,3 43,5
b) CSA ilavesinden (15:1) sonra ^{31}P NMR spektrumundaki eşleşme sabitleri; kimyasal kayma değerlerinde meydana gelen değişimler (ppb)				
Bileşik	PCl_2 δ farkı (ppb)	PCz δ farkı (ppb)	PFc δ farkı (ppb)	$^2 J_{\text{PP}}(\text{Hz})$
14	188	104	-461	53,7 44,8 34,5
15	170	121	-420	53,0 45,9 35,7
16	130	118	-161	52,4 51,9 39,3
c) CSA ilavesi ile ayrılan enantiyomerik pikler arasındaki fark (ppb)				
Bileşik	PCl_2	PCz	PFc	
14	43	55	117	
15	71	51	102	
16	69	162	167	

4.5.2 ¹³C-NMR analizleri

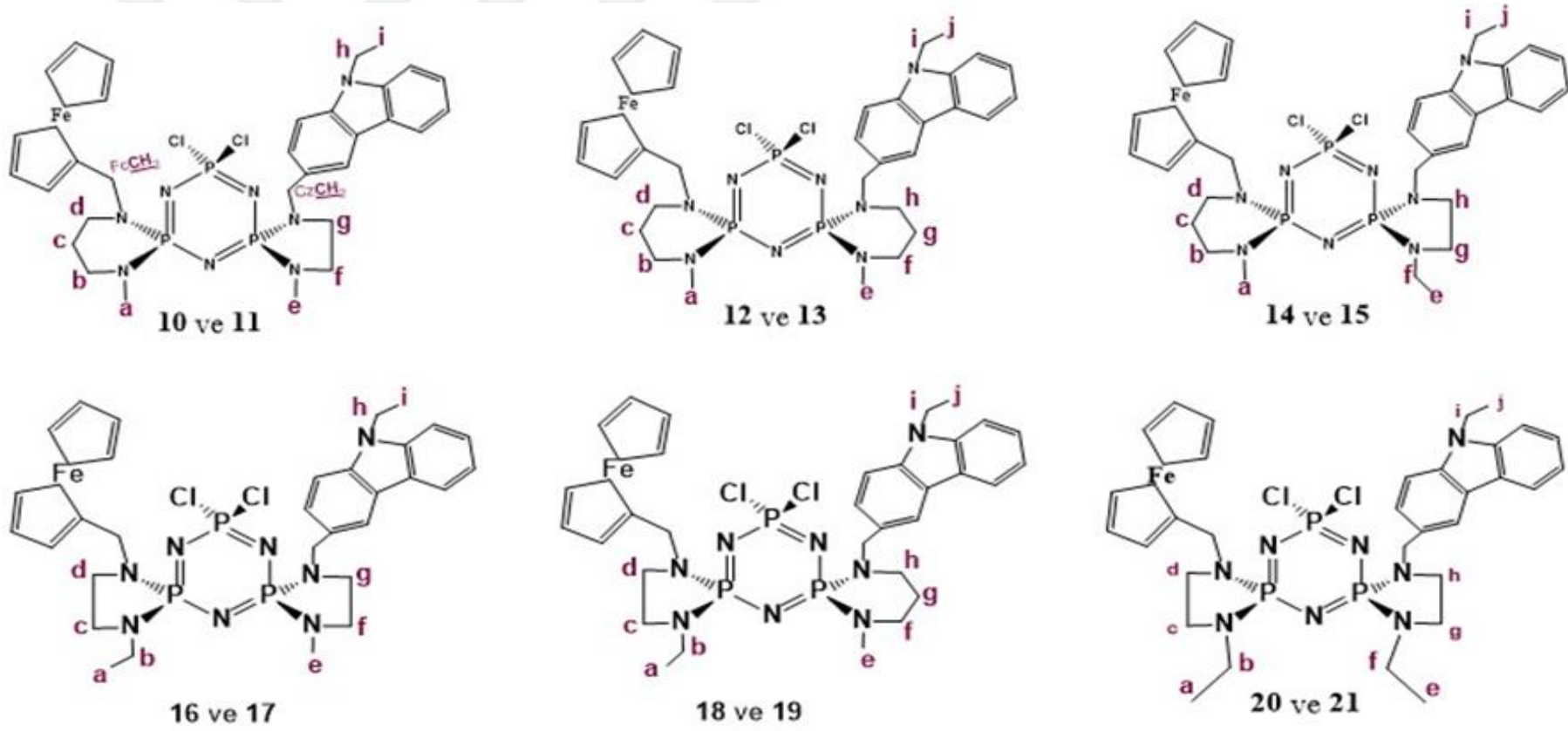
Bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları CDCl₃ çözücüsü kullanılarak ve proton ile eşleşmemiş olarak kaydedilmiştir. Spektrumlar Ek 4'te, spektrumların yorumlanması ile elde edilen veriler Çizelge 4.8'de verilmiştir. Spektrumlarda proton ile eşleşmeler gözlenmeyeceği için, sinyal yarılmalarının hepsi fosfor ve karbon atomları arasındaki etkileşimler nedeniyle oluşmuştur.

Hem ¹³C-NMR spektrumlarının hem de ¹H NMR spektrumlarının analizlerinde, iki boyutlu HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence) ve HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) spektrumlarından yararlanılmıştır. HSQC farklı atomlar arası tekli bağ etkileşimini, HMBC ise farklı atomlar arası çoklu bağ etkileşimini belirlemek için kullanılmaktadır.

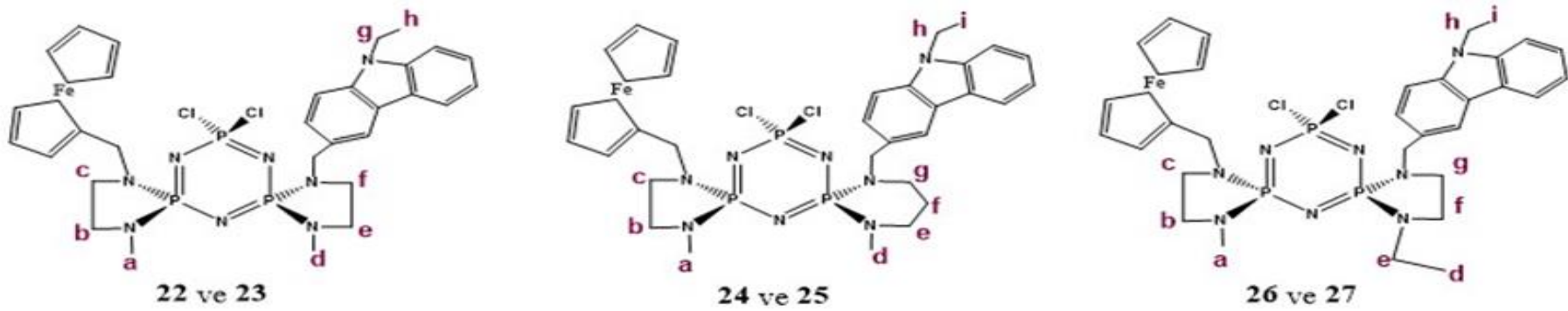
Spektrumdaki sinyaller ve eşleşmeler beklenen kimyasal kayma değerlerinde gözlenmiştir. Bileşiklerin karakteristik ipso-ferrosenil (C₁) ve ipso-karbazolil (C₁') sinyalleri sırasıyla, 83,14 -83,76 ppm ve 127,87 -129,04 ppm aralıklarında gözlenmiştir. Bu karbonların sinyalleri, beklenildiği gibi, fosfor tarafından yarılmıştır ve ikili pik olarak gözlenmektedir. Bileşiklerdeki ipso-ferrosenil (C₁) ve ipso-karbazolil (C₁') ³J_{PC} fosfor-karbon eşleşme sabitlerinin ortalamaları sırasıyla, 8,7 Hz ve 9,0 Hz olarak hesaplanmıştır.

Aromatik karbazol karbonlarının pikleri 108.46-140.25 ppm aralığında gözlenmiştir. Karbazol grubuna bağlı etil karbonları için; N-CH₂-CH₃ karbonu kimyasal kayma değeri 37-59- 37,63 ppm aralığında, N-CH₂-CH₃ karbonu ise 13,83-13,85 ppm aralığında gözlenmektedir.

Literatürle uyumlu olarak, beş üyeli spiro halka içeren dispiro bileşiklerdeki N-CH₂ karbonlarının eşleşme sabitleri değerlerinin, altı üyeli spiro halkasının değerlerinden daha büyük olduğu gözlenmiştir (Akbaş 2020).



Şekil 4.15 Sentezlenen bileşiklerin numaraları ve açık yapıları



Şekil 4.15 (devam)

Çizelge 4.8 ^{13}C -NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-karbon atomları arasındaki eşleşme sabitleri J_{PC} (Hz)

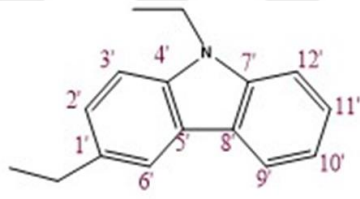
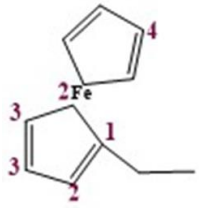
Bileşik	FcCH ₂	CzCH ₂	Ca	Cb	Cc	Cd	Ce	Cf	Cg	Ch	Ci	Cj
10	47,53 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 12,2	49,35(i) $^2J_{\text{PC}}$: 5,5	35,65	50,22	24,66	46,45	32,00 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 4,3	45,06	44,06 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 13,3	37,61	13,85	-
11	47,49 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 12,0	49,32	35,68	50,32	24,73	46,30	31,83	44,95	44,03 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 13,6	37,64	13,85	-
12	46,46	50,29	36,02 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 7,0	50,69	23,56	44,88	37,59	50,89	24,12	45,52	37,59	13,85
13	46,27	50,53	35,88	50,77	23,87	44,40	36,18	50,85	24,69	45,68	37,59	13,86

Çizelge 4.8 ^{13}C -NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-karbon atomları arasındaki eşleşme sabitleri J_{PC} (Hz) (devam)

Bileşik	Fc $\underline{\text{C}}\text{H}_2$	Cz $\underline{\text{C}}\text{H}_2$	Ca	Cb	Cc	Cd	Ce	Cf	Cg	Ch	Ci	Cj
14	46,39	49,31(i) $^2J_{\text{PC}}$: 5,4	35,73	50,18	24,47	44,97	13,93 (i) $^3J_{\text{PC}}$: 5,5	39,44 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 4,8	43,79 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 13,0	44,09 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 13,6	37,61	13,8 5
15	46,35	49,33 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 5,6	35,60	50,27	24,57	44,90	13,79 (i) $^3J_{\text{PC}}$: 5,7	39,45 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 4,7	43,87 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 13,0	44,07 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 13,8	37,61	13,8 4
16	44,22 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 5,5	49,09 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 3,6	13,71 (i) $^3J_{\text{PC}}$: 4,2	39,15	43,94	44,05	31,59 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 4,3	47,43 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 12,6	43,65 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 13,3	37,63	13,85	-
17	44,21 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 5,6	49,29 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 5,9	13,79	39,15 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 5,2	43,76 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 6,7	43,67 $^2J_{\text{PC}}$: 6,6	31,30 $^2J_{\text{PC}}$: 4,5	47,36 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 12,3	44,07 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 13,2	37,59	13,83	-
18	44,60 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 5,6	50,64	13,68 (i) $^3J_{\text{PC}}$: 5,4	39,30 (i) $^2J_{\text{PC}}$: 4,6	43,69 $^2J_{\text{PC}}$: 8,2	43,79 $^2J_{\text{PC}}$: 7,3	35,91	50,80	24,82	45,33	37,61	13,8 5
19	44,34 $^2J_{\text{PC}}$: 5,5	51,12	13,78 $^3J_{\text{PC}}$: 5,9	39,42 $^2J_{\text{PC}}$: 5,2	43,73 $^2J_{\text{PC}}$: 13,2	43,87 $^2J_{\text{PC}}$: 13,3	35,61	50,56	25,01	45,57	37,59	13,8 3
20	44,61 $^2J_{\text{PC}}$: 5,3	50,80	13,70	39,29	43,80 $^2J_{\text{PC}}$: 7,9	43,69 $^2J_{\text{PC}}$: 8,4	13,66	39,32	45,33	50,64	37,61	13,8 5
21	45,47	51,12	13,78	39,43	43,87 $^2J_{\text{PC}}$: 13,2	44,34 $^2J_{\text{PC}}$: 5,7	13,76	39,39	43,73 $^2J_{\text{PC}}$: 13,1	50,26	37,58	13,8 3
22	44,27 $^2J_{\text{PC}}$: 5,6	49,10 $^2J_{\text{PC}}$: 5,5	31,58 4,39	47,23 $^2J_{\text{PC}}$: 12,3	43,58 $^2J_{\text{PC}}$: 12,5	31,41 $^2J_{\text{PC}}$: 4,0	47,43 $^2J_{\text{PC}}$: 9,4	43,94 $^2J_{\text{PC}}$: 13,2	37,61	13,84		
23	44,26	49,19 $^2J_{\text{PC}}$: 5,0	31,37 $^2J_{\text{PC}}$: 3,8	47,18 $^2J_{\text{PC}}$: 13,0	43,71 $^2J_{\text{PC}}$: 13,1	31,31 $^2J_{\text{PC}}$: 3,8	47,34 $^2J_{\text{PC}}$: 11,3	44,02 $^2J_{\text{PC}}$: 13,0	37,61	13,83		

Çizelge 4.8 ¹³C-NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-karbon atomları arasındaki eşleşme sabitleri J_{PC} (Hz) (devam)

	FcCH ₂ N	CzCH ₂ N	Ca	Cb	Cc	Cd	Ce	Cf	Cg	Ch	Ci	Cj
24	44,63 ² J _{PC} :5,5	50,91	31,77 ² J _{PC} :4,3	47,40 ² J _{PC} :12,7	43,73 ² J _{PC} : 12,8	35,84	50,64	25,02	45,46	37,61	13,88	
25	44,38 ² J _{PC} :5,6	51,05 ² J _{PC} :2,6	31,84(d) ² J _{PC} :3,96	47,38 ² J _{PC} :12,4	43,82 ² J _{PC} : 13,4	35,72	50,62	25,10	45,47	37,59	13,84	
26	44,28 ² J _{PC} :5,5	49,08	31,40	47,24 ² J _{PC} :11,0	43,99 ² J _{PC} :12,2	14,80 ³ J _{PC} :5,1	39,44 ² J _{PC} :2,9	43,63 ² J _{PC} :7,7		37,62	13,85	
27	44,32 ² J _{PC} :4,1	49,18 ² J _{PC} :3,9	31,23 ² J _{PC} :3,0HZ	47,20 ² J _{PC} :9,9	44,08 ² J _{PC} :10,2	13,83	39,19 ² J _{PC} :4,2	43,64	43,71 ² J _{PC} :2,3	37,59	13,86	



Çizelge 4.9 ^{13}C NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-karbon atomları arasındaki eşleşme sabitleri J_{PC} (Hz)

	C1	C2	C3	C4	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C6'	C7'	C8'	C9'	C10'	C11'	C12'
10	83,69 (i) $^3J_{\text{PC}}$: 11,2	70,02 70,10	67,96	68,42 68,54	128,03 $^3J_{\text{PC}}$: 7,4	126,17	120,58	139,47	122,97	108,48	140,24	122,76	108,48	118,81	125,68	120,22
11	83,89	70,19	68,01	68,69	128,02 $^3J_{\text{PC}}$: 7,3	126,15	120,61	139,54	123,03	108,49	140,25	122,79	108,57	118,79	125,65	120,10
12	84,10	69,92 70,32	68,17	68,65	128,40 $^3J_{\text{PC}}$: 9,4	126,50	120,51	139,41	122,87	108,28	140,20	122,73	108,44	118,77	125,61	120,49
13	84,10	69,59 69,81	67,94	68,43	128,46 $^3J_{\text{PC}}$: 8,6	126,34	120,57	139,42	122,94	108,30	140,20	122,78	108,43	118,75	125,59	120,30
14	83,76 (i) $^3J_{\text{PC}}$: 11,0	70,04, 70,08	67,91	68,56	128,07 $^3J_{\text{PC}}$: 7,7	126,24	120,58	139,46	122,94	108,45	140,24	122,76	108,48	118,80	125,66	120,25
15	83,48 $^3J_{\text{PC}}$: 11,1	69,86 69,92	67,72	68,30 68,37	128,07 $^3J_{\text{PC}}$: 7,3	126,23	120,60	139,53	123,02	108,48	140,25	122,80	108,54	118,78	125,63	120,15
16	83,39 $^3J_{\text{PC}}$: 9,0	69,89 69,60	68,13	68,50	127,95 $^3J_{\text{PC}}$: 6,9	126,24	120,59	139,49	122,96	108,48	140,25	122,75	108,48	118,81	125,67	120,30
17	83,14 $^3J_{\text{PC}}$: 8,8	69,51 69,62	68,23	68,47	127,87 $^3J_{\text{PC}}$: 7,3	126,03	120,60	139,57	123,10	108,47	140,25	122,77	108,57	118,79	125,66	120,00

Çizelge 4.9 ^{13}C NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-karbon atomları arasındaki eşleşme sabitleri J_{PC} (Hz) (devam)

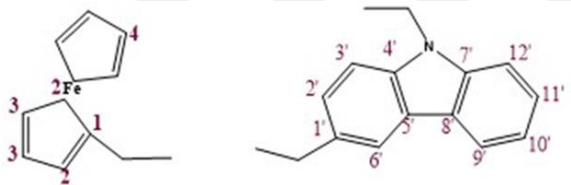
	C1	C2	C3	C4	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C6'	C7'	C8'	C9'	C10'	C11'	C12'
18	83,47 $^3J_{\text{PC}}$: 8,2	69,99 69,51	68,12 68,36	68,52	128,20 $^3J_{\text{PC}}$:10,4	126,38	120,57	139,46	122,90	108,34	140,22	122,74	108,45	118,79	125,63	120,35
19	83,27 $^3J_{\text{PC}}$: 8,9	69,28 69,61	67,84	68,27 68,20	128,11 $^3J_{\text{PC}}$: 9,2	126,37	120,65	139,58	123,09	108,45	140,24	122,76	108,49	118,80	125,64	120,38
20	83,59 $^3J_{\text{PC}}$: 12,5	69,62 70,09	68,65	68,22 68,46	128,20 $^3J_{\text{PC}}$:10,9	126,37	120,57	139,46	122,90	108,34	140,22	122,74	108,45	118,79	125,63	120,35
21	83,27 $^3J_{\text{PC}}$: 8,7	69,28 69,60	67,84 67,98	68,26	128,11 $^3J_{\text{PC}}$:9,2	126,37	120,65	139,58	123,09	108,45	140,24	122,76	108,49	118,79	122,76	120,38
22	83,34 $^3J_{\text{PC}}$:5,5	69,61 69,86	68,50	68,13	127,95	126,22	120,60	139,47	122,94	108,47	140,23	122,74	108,47	118,80	125,66	120,31
23	83,39	69,66	67,98	68,30	128,10	126,02	120,63	139,57	123,11	108,47	140,25	122,77	108,58	118,79	125,67	119,98
24	83,42 $^3J_{\text{PC}}$:8,2	69,49 69,94	68,13	68,40 68,53	128,13 $^3J_{\text{PC}}$:9,9	126,43	120,58	139,48	122,91	108,38	140,22	122,73	108,47	118,82	125,67	120,44
25	83,30 $^3J_{\text{PC}}$:2,5	69,29 69,61	67,88	68,30	128,10 $^3J_{\text{PC}}$:9,3	126,35	120,65	139,58	123,10	108,46	140,25	122,76	108,50	118,81	125,66	120,37
26	83,37 $^3J_{\text{PC}}$:8,1	69,62 69,91	68,11	68,53	127,95 $^3J_{\text{PC}}$:7,2	126,28	120,61	139,48	122,96	108,48	140,24	122,75	108,48	118,81	125,67	120,32
27	83,16 $^3J_{\text{PC}}$:1,9	69,50 69,60	67,89 67,98	68,24	127,88 $^3J_{\text{PC}}$:7,8	126,08	120,66	139,57	123,10	108,46	140,25	122,78	108,58	118,78	125,65	120,01

4.5.3 ¹H-NMR analizleri

Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları Ek 5'te, spektrumların yorumlanması ile elde edilen veriler Çizelge 4.9'de verilmiştir. Spektrumlardaki piklerin integral oranları, bileşiklerde bulunan hidrojen sayısı ile uyum içerisindedir. Bileşiklerin ¹H NMR spektrumlarında, karbazol halkasına ait protonlar 7,25-8,21 ppm, ferrosen halkasına ait protonlar 3,70-4,40 ppm aralığında bulunmaktadır. Simetrik olmayan dispirofosfazenlerde bazı bileşiklerde ferrosene bağlı CH₂ (FcCH₂) grubu hidrojenlerinin her birinin fosfor ve geminal protonlar ile etkileşmesinden dolayı, hidrojenler iki farklı ppm'de ve ikilinin ikilisi şeklinde gözlenmiştir. Bu protonların diastereotopik olduğunu göstermektedir. (FcCH₂) protonlarında ortalama ³J_{PH} değeri 13,3 Hz, ortalama ²J_{HH} değeri 7,8 Hz olarak belirlenmiştir. Bazı bileşiklerdeki karbazole bağlı CzCH₂ protonları sinyallerinde, fosfor atomu etkileşmesinden kaynaklanan yarıma gözlenmesi vicinal ³J_{PH} eşleşmesi olduğunu göstermektedir. Spiro halkadaki protonların sinyalleri genellikle geniş pik ve çoklu pik olarak gözlenmiştir. Dispirofosfazen bileşikleri için diğer karakteristik pikler metil (NCH₃) protonlarına aittir, bu protonların 2,54 ve 2,77 ppm arasında olduğu belirlenmiştir.

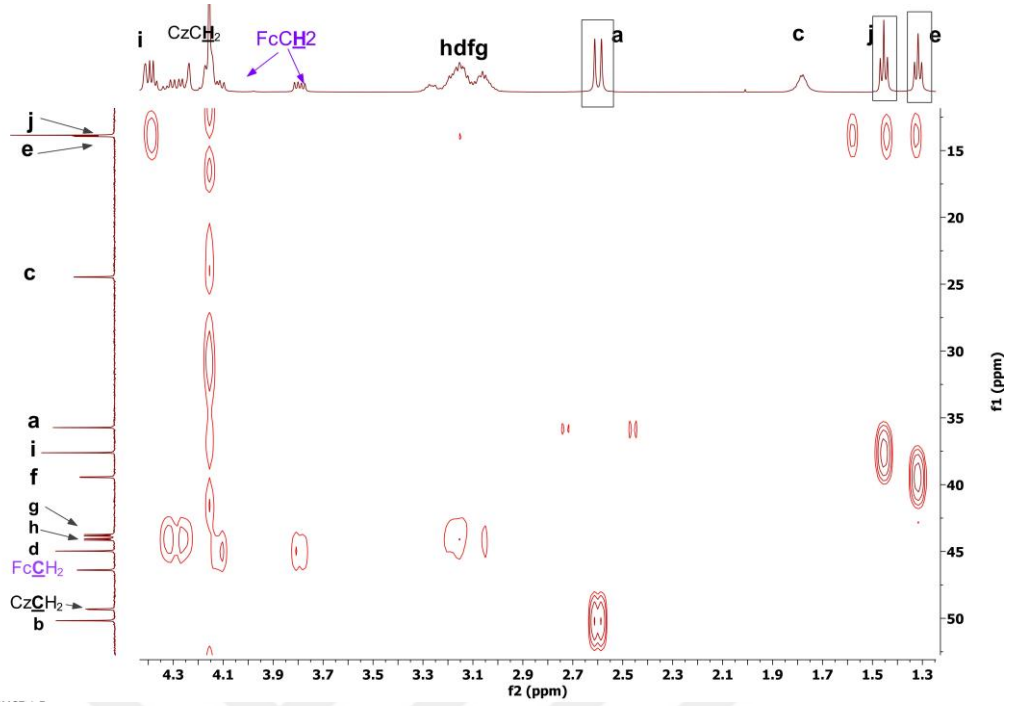
Çizelge 4.10 $^1\text{H-NMR}$ spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppm) ve fosfor-hidrojen atomları arasındaki (J_{PH}) ve Hidrojen atomları arasındaki (J_{HH}) eşleşme sabitleri (Hz)

Bileşik	FcCH ₂	CzCH ₂	Ha	Hb	Hc	Hd	He	Hf	Hg	Hh	Hi	Hj
10	3,85 (ii) H $^3J_{\text{PH}}:7,6$ $^2J_{\text{HH}}:3,8$ 4,08 (ii) H $^3J_{\text{PH}}:13,8$ $^2J_{\text{HH}}:7,9$	4,31(i) 2H $^3J_{\text{PH}}: 6,0$	2,60 (i) 3H $^3J_{\text{PH}}:13,5$	3,04-3,19 2H	1,79(gp) 2H	3,04-3,19 2H	2,78 (i) 3H $^3J_{\text{PH}}:12$	3,16-3,27 2H	3,04-3,19 2H	4,37	1,46(ü) 3H $^2J_{\text{HH}}: 7,2$	
11	3,96 3,65 2H	4,32 (gp) 2H	2,69(i) 3H $^3J_{\text{PH}}:12,8$	3,09-3,17 2H	1,79(gp) 2H	3,09-3,17 2H	2,70	3,09-3,26 2H	3,16-3,26 2H	4,38 gp	1,45 (ü) 3H $^2J_{\text{HH}} 7,2$	-
12	3,90 (ii) $^3J_{\text{PH}}:14,1$ $^2J_{\text{HH}}:5,3$ 4,05 (ii) $^3J_{\text{PH}}:13,9$ $^3J_{\text{HH}} :7,9$	4,32	2,57(i) 3H $^3J_{\text{PH}}:12,6$	3,01-3,21 2H	1,77 (i) $^3J_{\text{PH}}:5,1$	3,01-3,21 2H	2,77(i) 3H $^3J_{\text{PH}}=12,7$	3,01-3,21 2H(gp)	1,84 (i) $^3J_{\text{PH}}:11,7$ $^2J_{\text{HH}} 5,5$	3,01-3,21 2H(gp)	4,25 2H	1,44(ü) 3H $^2J_{\text{HH}}:7,2$
13	3,96 (i) $^3J_{\text{PH}}: 13,3$	4,55 (ii) $^3J_{\text{PH}}: 14,2$ $^2J_{\text{HH}}:9,2$	2,68 (i) 3H $^3J_{\text{PH}}:13,7$	2,92-3,09 2H	1,73 2H	3,04-3,21 2H(gp)	2,73 (i) 3H $^3J_{\text{PH}}:13,1$	3,09-3,21 2H(gp)	1,94 gp	3,04-3,21	4,37 2H $^2J_{\text{HH}}:7,2$	1,44(ü) 3H $^2J_{\text{HH}}:7,2$
14	Biri 3,79 $^3J_{\text{PH}}:13,7$ $^2J_{\text{HH}}:7,2$ 4,12	4,29	2,60 (i) 3H(i) $^3J_{\text{PH}}:13,4$	3,05-3,14 2H	1,77 2H	3,05-3,16 2H	1,32 (ü) 3H $^2J_{\text{PH}}:7,2$	3,11-3,16 2H	3,18-3,26 2H	3,06	4,39 $^2J_{\text{HH}}:7,3$ 2H	1,45(ü) 3H $^2J_{\text{HH}}:7,2$
15	3,69(ii) $^3J_{\text{PH}}:13,7$ $^3J_{\text{HH}}:7,4$ 4,07(ii)	4,28	2,68 3H $^3J_{\text{PH}}:13,4$	3,02-3,17	1,78	3,01-3,17	1,25(ü) 3H $^3J_{\text{HH}}:14,4$	3,09-3,17	3,26-3,17	3,01-3,17	4,39 $^3J_{\text{HH}}:7,2$	1,44 $^3J_{\text{HH}}:7,2$

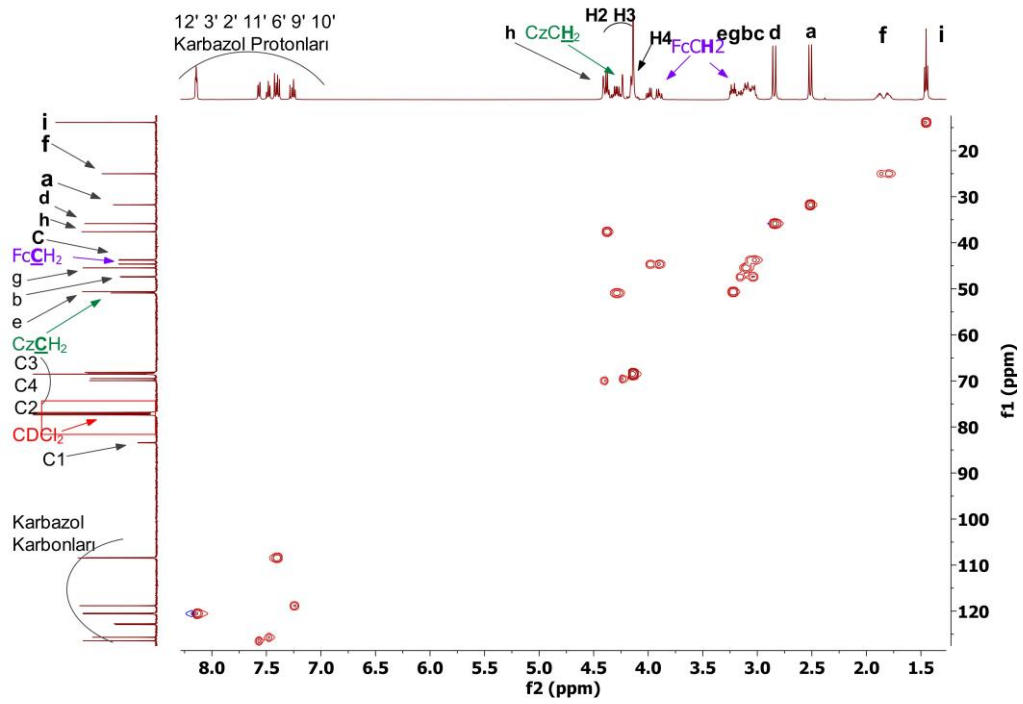


Çizelge 4.11 $^1\text{H-NMR}$ spektrumundaki kimyasal kayma değerleri (ppM) ve fosfor-hidrojen atomları arasındaki (J_{PH}) ve Hidrojen atomları arasındaki (J_{HH}) eşleşme sabitleri (Hz)

	H2	H3	H4	H'2	H'3	H'6	H'9	H'10	H'11	H'12	H'6
10	4,25 1H, gp	4,17 1H, gp	4,14 1H, gp	7,61 1H, gp	8,15 (i) $^3J_{\text{HH}}=7,8$ Hz	7,43 1H, gp	7,42 (i) $^3J_{\text{HH}}=3,2$	7,26 gp 1H, gp	7,48 gp 1H, gp	8,17 (1H, gp)	4,25 1H, gp
11	4,13	4,08 4,13	3,90	3,92	7,52 $^3J_{\text{HH}}=8,3$	8,11	7,37	7,41	7,47	8,15	4,13
12	4,25 4,43	4,16	4,14 5H (gp)	7,53 (i) $^3J_{\text{HH}}=8,5$	8,10(gp)	7,38	7,46 (i) $^3J_{\text{HH}}=7,4$	7,23 (ü) $^3J_{\text{HH}}=7,3$	7,48	8,12	4,25 4,43
13	4,08 4,13	3,90	3,92	7,52 $^3J_{\text{HH}}=8,3$	8,11	7,37	7,41	7,24	7,46	8,14	4,08 4,13
14	4,24 4,40 2H	4,10- 4,13 2H	4,16 5H (gp) 4,14- 4,16	7,60(i) $^3J_{\text{HH}}=8,1$	8,15 $^3J_{\text{HH}}=7,9$	7,42	7,41(i) $^3J_{\text{HH}}=4$	7,25 (ü) $^3J_{\text{HH}}=7,4$	7,48(i) $^3J_{\text{HH}}=7,4$	8,16	4,24 4,40 2H
15	4,37 4,28	3,92 3,97	3,85	7,63(i) $^3J_{\text{HH}}=8,3$	8,16(i) $^3J_{\text{HH}}=7,2$	7,40	7,42(i) $^3J_{\text{HH}}=7,7$	7,25 ü $^3J_{\text{HH}}=7,4$	7,48 (ü) $^3J_{\text{HH}}=7$	8,20 gp	4,37 4,28
16	4,41	4,16	4,14	7,59(d) $^2J_{\text{HH}}=8,3$	8,13	7,43	7,41	7,25	7,49	8,15	4,41
17	4,38	4,11	3,70	7,60	8,12	7,40	7,38	7,23	7,46	8,15	4,38



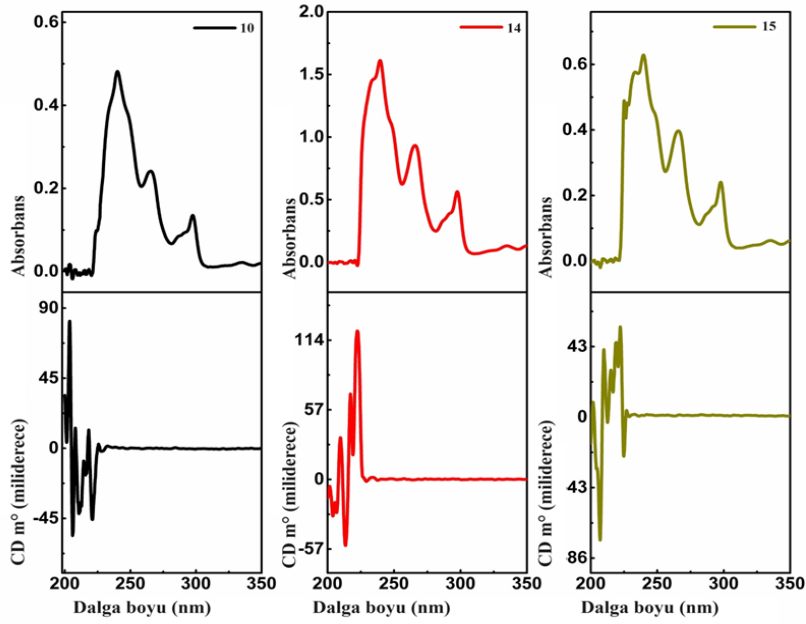
Şekil 4.18 Bileşik 14'ün HMBC spektrumu

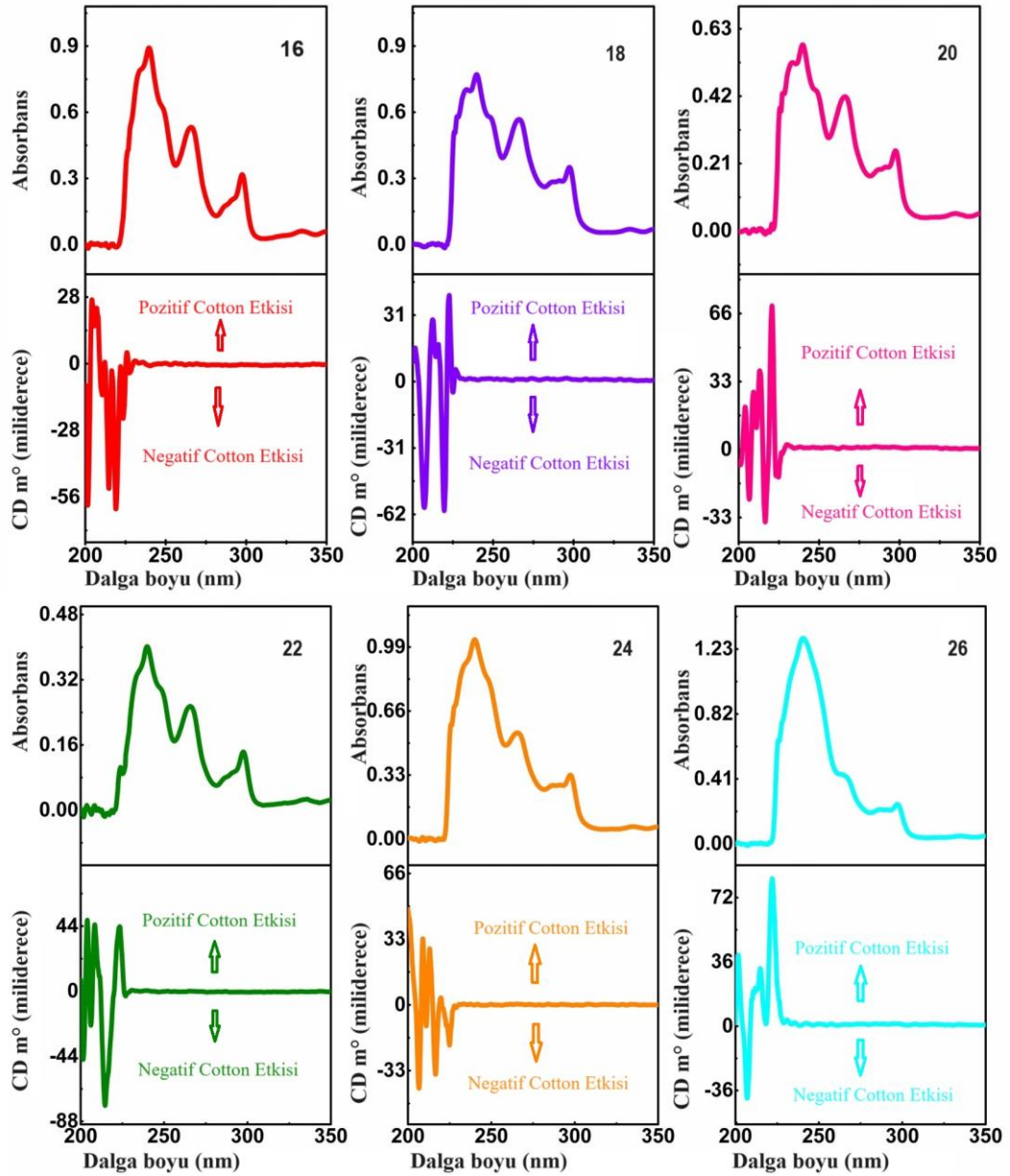


Şekil 4.19 Bileşik 24'ün HSQC spektrumu

4.6 Bileşiklerin Dairesel Dikroizm (Circular Dichroism, CD) Spektrumları

Sentezlenen simetrik olmayan dispirofosfazenlerin kiral özelliklerini değerlendirmek için CD spektrumları kaydedilmiştir (Şekil 4.20). Tüm spektrumlarda hem pozitif hem de negatif Cotton piklerinin mevcut olduğu gözlenmiştir. Bu piklerin eşzamanlı olarak ortaya çıkması, literatürdeki bulgularla uyumlu olarak, cis ve trans bileşiklerinin çözeltide rasemik formda bulunduğunu göstermektedir. Bu bulgular, hem CSA-ilaveli ^{31}P NMR spektrum verileri, hem de X-ışını kristallografi sonuçları ile uyumludur.





Şekil 4.20 Bileşiklerin CD spektrumları

4.7 Bileşiklerin Fotofiziksel Özellikleri

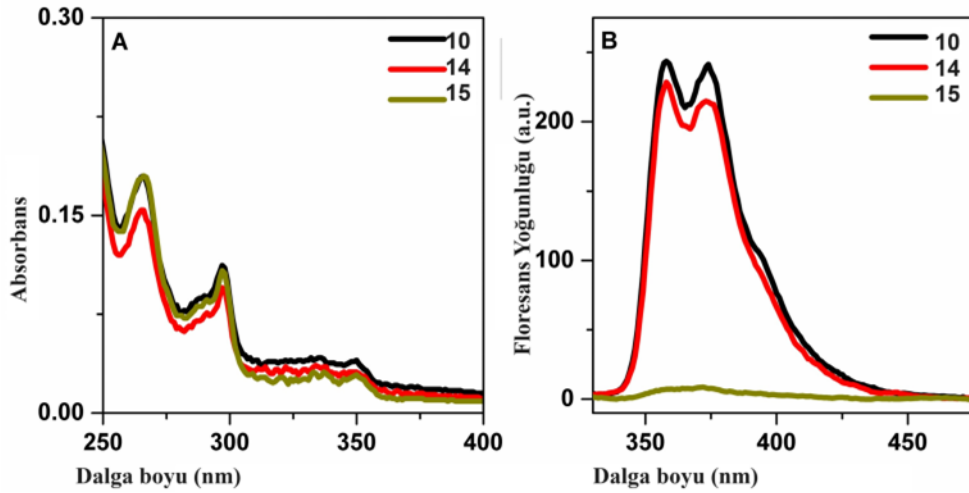
Sentezlenen dispirofosfazen türevlerinin fotofiziksel özelliklerini ortaya çıkarmak için için UV-Vis ve floresans spektrofotometri teknikleri kullanılmıştır. **10, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24** ve **26** numaralı bileşiklerin elektronik absorpsiyon ve floresan emisyon

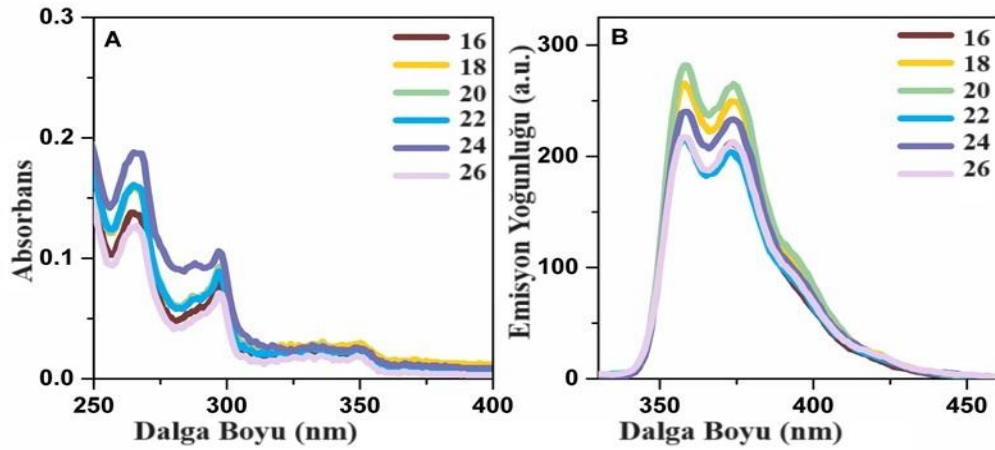
spektrumları diklorometan, aseton, asetonitril, toluen ve etil asetat gibi farklı polaritelere sahip çözücülerde incelenmiştir. Çözünürlük ve fotofiziksel özellik analizlerinde kullanılacak çözücüyü belirlemek üzere yapılan incelemeler sonucu, en uygun çözücünün diklorometan (DCM) olduğu belirlenmiştir.

Bileşiklerin temel absorpsiyon ve floresans özellikleri 5×10^{-6} M konsantrasyonda, uyarıcı olarak 300 nm dalga boyu kullanılarak oda sıcaklığında incelenmiştir. Veriler çizelge 4.12'de özetlenmiştir. Şekil 4.21, bileşiklerin diklorometan (DCM) içindeki absorpsiyon (A) ve emisyon (B) spektrumlarını göstermektedir.

265 nm, 295 nm, 335 nm ve 350 nm dalga boylarında tespit edilen absorpsiyonlar, bileşiklerin yapısında bulunan ve optik olarak aktif karbazol iskeletindeki $\pi-\pi^*$ geçişlerine ve $n-\pi^*$ elektronik geçişlerine atfedilmiştir.

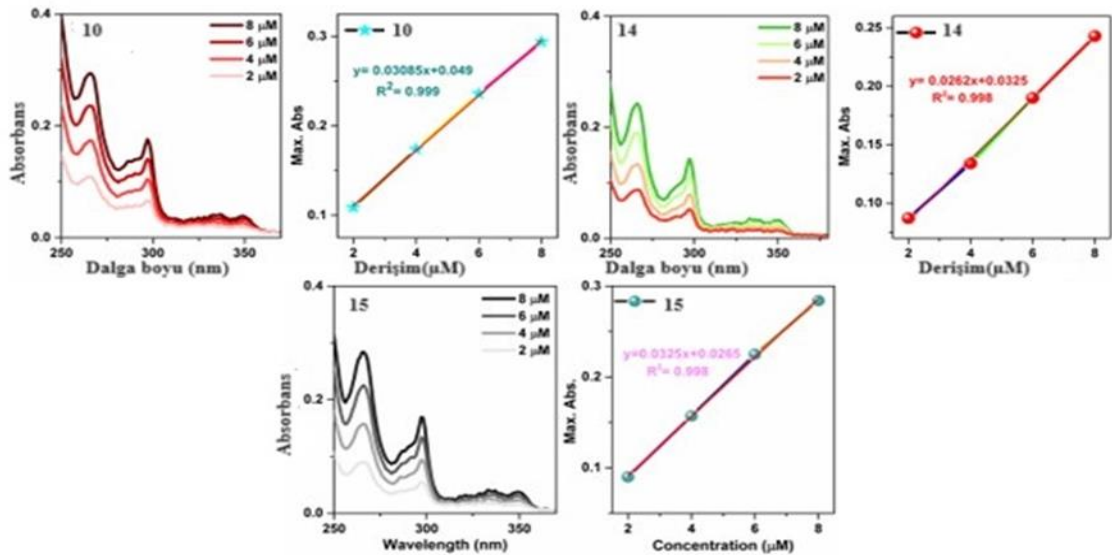
Emisyon spektrumlarına göre, dispirofosfazen bileşikleri 300 nm dalga boyunda uyarılma ile 358 nm ve 374 nm dalga boylarında emisyon sergilemiştir.



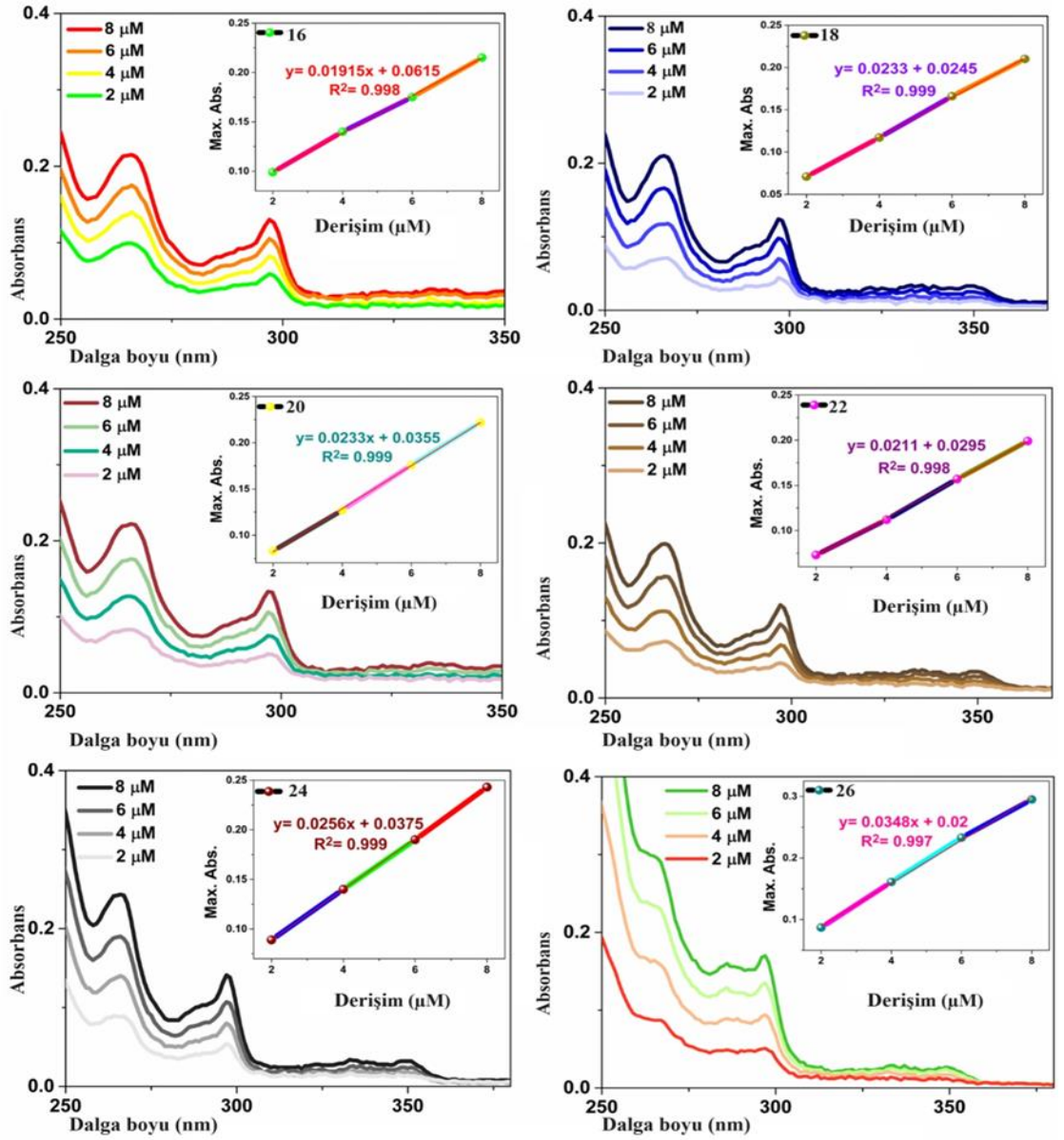


Şekil 4.21 Bileşiklerin optik absorpsiyon (A) ve floresan emisyon (B) spektrumları

Ayrıca, bileşiklerin absorpsiyon katsayısını değerlendirmek için DCM içinde farklı konsantrasyonlarda absorpsiyon spektrumları kaydedilmiştir (Şekil 4.22 ve 4.23). Bileşik 10, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24 ve 26 için hesaplanan sönme katsayıları sırasıyla; $3,08 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $2,62 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $3,25 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $1,91 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $2,33 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $2,33 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $2,11 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $2,56 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ve $3,48 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.22 Bileşik 10, 14 ve 15'in DCM'de farklı konsantrasyonlardaki absorpsiyon spektrumları

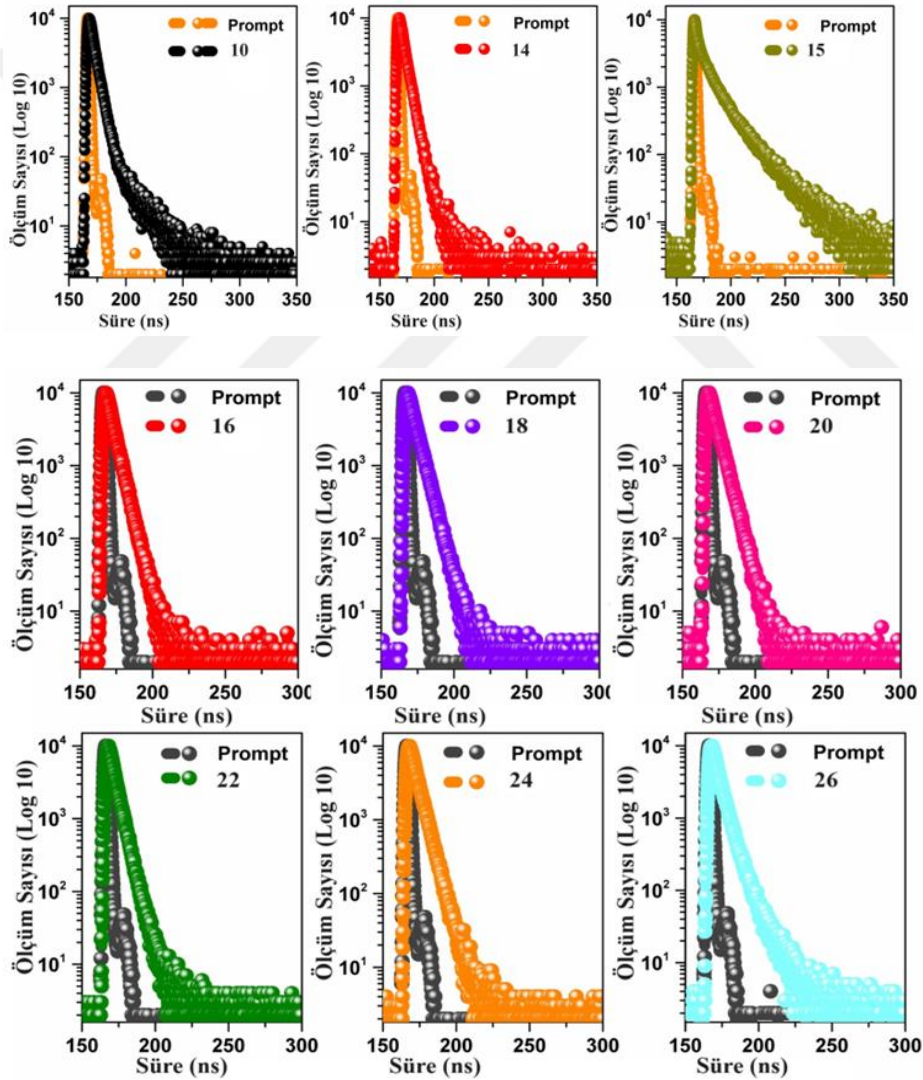


Şekil 4.23 16, 18, 20, 22, 24 ve 26 numaralı bileşiklerin DCM içinde farklı konsantrasyonlardaki absorbans spektrumları

Floresans Ömrü Ölçümleri: Uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında oluşan ışıma floresans denir. Floresans ömrü, floresans özellik gösteren bir maddenin (florofor) uyarılmış halde kalma süresini ifade eder. Bu çalışmada bileşiklerin floresans ömürleri, zamana bağlı tek foton sayımı (time-correlated single photon counting; TCSPC) yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Bu teknik, uyarıcı olarak

olarak 310 nm dalga boyu ve çözücü olarak diklorometan kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.24'te grafiklerde görülebileceği üzere, diklorometan (DCM) içindeki floresans ömür süreleri **10, 14, 16, 18, 20, 22, 24** ve **26** numaralı (trans-izomer olan) bileşikler için sırasıyla 2,04 ns, 2,26 ns, 2,25 ns, 2,57 ns, 2,56 ns, 2,15 ns, 2,51 ns ve 2,11 ns olarak belirlenmiştir. Bir **cis-izomer** olan **bileşik 15** ise DCM'de 9,5 ns'lik floresans ömrü ile diğer bileşiklerden daha uzun süren bir floresans bozunma profiline sahiptir.



Şekil 4.24 Dispirofosfazenlerin floresans ışımaya ve bozunma profilleri

Çizelge 4.12 Hazırlanan bileşiklerin fotofiziksel özellikleri

Bileşik	λ_{ab} (nm)	λ_{em} (nm)	ϵ ($10^4 M^{-1} cm^{-1}$)	$\tau_F(ns)$ -DCM
10	265, 295, 335, 350	358 374	3,08	2,04 CHISQ: 0,8416
14	265, 295, 335, 350	358 374	2,62	2,26 CHISQ: 1,4843
15	265, 295, 335, 350	358 374	3,25	9,5 CHISQ: 1,1202
16	265, 297, 335, 350	358 374	1,91	2,25 CHISQ: 0,8897
18	265, 297, 335, 350	358 374	2,33	2,57 CHISQ: 0,8503
20	265, 297, 335, 350	358 374	2,33	2,56 CHISQ: 0,7870
22	265, 297, 335, 350	358 374	2,11	2,15 CHISQ: 1,1691
24	265, 297, 335, 350	358 374	2,56	2,51 CHISQ: 1,02779
26	265, 297, 335, 350	358 374	3,48	2,11 CHISQ: 0,7947

4.8 Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerini İncelemek İçin Yapılan Çalışmalar

4.8.1 Bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri

Bazı bakteri suşlarının birçok ilaca karşı direnç geliştirmiş (multi-drug resistance) olduğu bilinmektedir (Balachandran vd., Carroll vd. 2021). Bu bakteriler ciddi hastalıklara neden olma potansiyeline sahiptir ve antibiyotik direncinin mevcut tedavi seçeneklerini ciddi şekilde sınırlayacağı düşünülmektedir. İlaça dirençli bakterilerle mücadele etmek için, önemli patojenlerin virülansını (enfeksiyonların başlatılması ve yayılmasına neden olan faktörleri) hedef alan alternatif stratejiler geliştirilmelidir (Kadlec ve Schwarz, 2012). Sağlıklı hücrelere karşı toksisitesi az, daha ekonomik, ilaçlara direnç göstermiş

bakterilere karşı yeni ilaç aktif maddelerin tasarlanmasına her zaman ihtiyaç vardır. Fosfazenler biyoyumludur ve toksik olmayan bozunma ürünleri gibi avantajlara sahiptir, ilaç aktif etken madde olarak kullanılma potansiyeli bulunmaktadır. (Ogueri vd. 2019) Sentezlenen dispirofosfazen bileşiklerinin antimikrobiyal özelliklerini incelemek için mikrodilüsyon yöntemi ile seçilen mikroorganizmalara karşı MİK, MBC ve MFC değerleri belirlenmiştir.

Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri: Sentezlenen dispirofosfazen bileşiklerin (4, 5, 6, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 22, 24, 25 ve 26) ve pozitif kontrollerin (antibakteriyel: ampisilin ve kloramfenikol, antifungal: ketokanozol) minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri, mikroorganizma üremesini durduran en düşük konsantrasyonu belirtmektedir. MİK değerinin pozitif kontrolden daha küçük bir değere sahip olması, sentezlenen bileşiğin pozitif kontrolden daha düşük derişimde etki gösterdiğini, yani daha etkili olduğunu gösterir. Bileşiklerin MİK sonuçları Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14'te belirtilmiştir.

Bacillus cereus NRRL B-3711 bakterisinin sonuçlarına bakıldığında, 16 ve 18 numaralı bileşiklerin pozitif kontroller ile aynı değerde (156,25 µM) olduğu Pozitif kontroller ile karşılaştırıldığında, tüm bileşiklerin *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı etkili olduğu, özellikle 16 ve 25 numaralı bileşiklerin MIC değerlerinin ampisilin ve kloramfenikol değerlerinden çok daha düşük olduğu (156,25 µM) belirlenmiştir. *Escherichia coli* ATCC 35218 bakterisine karşı bileşiklerin MİK değerleri dikkate alındığında hepsinin ampisiline kıyasla daha etkili olduğu; 17, 18, 20 ile 25 bileşiklerinin de pozitif kontrol kloramfenikolden daha düşük MİK değerlerine (312,5 µM) sahip olduğu gözlenmiştir. 10, 13 ve 14 maddeleri dışındaki diğer bütün tüm dispirofosfazenlerin *Enterococcus hirae* ATCC 9790 bakterisine karşı MİK değerlerinin pozitif kontrollerden daha düşük olduğu bulunmuştur. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 bakterisine karşı, 10, 13, 14 ve 15 bileşikleri dışındaki tüm dispirofosfazenlerin (11, 12, 16, 17, 18, 20, 22, 24, 25, ve 26) pozitif kontrol kloramfenikol ile aynı aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 bakterisine karşı sonuçlara bakıldığında; ampisilin ile 13 maddesinin aynı değere (1250 µM) sahip olduğu

ve diğer tüm dspirofosfazenlerin (**13** hariç) ampisilinden daha aktif olduğu, **24** ve **25** numaralı bileşiklerin ise kloramfenikolden daha aktif olduğu belirlenmiştir.

Candida tropicalis ATCC 10231 mayası dikkate alındığında, **16, 17, 18, 22** ve **25** bileşiklerinin ketokonazole göre daha etkili olduğu, diğer tüm dspirofosfazen bileşiklerin ise ketokonazol ile aynı MİK değerine (312,5 µM) sahip olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerin *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı pozitif kontrolden daha yüksek MİK değerine sahip olduğu bulunmuştur.



Çizelge 4.13 Sentezlenen bileşiklerin (10-17) minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (µM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol

Mikroorganizmalar	Bileşikler								Pozitif Kontrol		
	10	11	12	13	14	15	16	17	Amp	C	Keto
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	156,25	312,5	156,25	156,25	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	<19,5	78,1	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	625	625	625	625	625	625	625	312,5	<19,5	156,25	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	625	625	1250	1250	625	625	625	625	<19,5	156,25	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	312,5	312,5	312,5	625	312,5	312,5	156,25	312,5	>2500	>2500	-
<i>Proteus vulgaris</i> RSKK 96029	625	625	625	625	625	625	625	625	19,5	156,25	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	1250	625	625	1250	1250	625	625	312,5	2500	625	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	625	312,5	312,5	625	625	625	312,5	312,5	<19,5	78,1	-
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790	1250	625	625	1250	1250	312,5	312,5	312,5	1250	1250	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1250	312,5	312,5	1250	1250	625	312,5	312,5	<19,5	312,5	-

Çizelge 4.13 Sentezlenen bileşiklerin (10-17) minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (µM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol (devam)

<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	625	625	625	1250	625	625	625	625	1250	625	-
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 10231	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	156,25	156,25	-	-	312,5
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	156,25	156,25	156,25	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	-	-	78,1
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	-	-	<19,5

Çizelge 4.14 Sentezlenen 4, 5 ve 6 numaralı (karbazolildiamino grupları) ile 18, 20, 22, 24, 25, 26 numaralı bileşiklerin (dispirofosfazenler) minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (µM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol

Mikroorganizmalar	Bileşikler									Pozitif Kontrol			
	18	20	22	24	25	26	4	5	6	Amp	C	Keto	
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	156,25	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	156,25	156,25	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	<19,5	78,1	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	625	312,5	312,5	312,5	312,5	<19,5	156,25	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	625	625	625	312,5	625	625	625	625	625	625	<19,5	156,25	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	312,5	312,5	312,5	312,5	156,25	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	>2500	>2500	-
<i>Proteus vulgaris</i> RSKK 96029	625	625	312,5	625	625	625	625	625	625	625	19,5	156,25	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	312,5	312,5	625	625	312,5	625	625	625	625	625	2500	625	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	<19,5	78,1	-
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	1250	1250	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	<19,5	312,5	-

Çizelge 4.14 Sentezlenen 4, 5 ve 6 numaralı (karbazolildiamino grupları) ile 18, 20, 22, 24, 25, 26 numaralı bileşiklerin (dispirofosfazenler) minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (µM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol (devam)

<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	625	625	625	312,5	312,5	625	312,5	312,5	312,5	1250	625	-
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 10231	156,25	312,5	156,25	312,5	156,25	312,5	156,25	156,25	156,25	-	-	312,5
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	312,5	156,25	156,25	312,5	156,25	312,5	156,25	156,25	156,25	-	-	78,1
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	156,25	156,25	156,25	-	-	<19,5

Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri: Sentezlenen bileşiklerin ve pozitif kontrollerin (antibakteriyel: ampisilin ve kloramfenikol, antifungal: ketokanazol) minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. MBK bakterileri öldüren, MFK ise mayaları öldüren minimum konsantrasyon değerini göstermektedir. Bileşiklerin (4, 5, 6, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 22, 24, 25 ve 26) MBK ve MFK sonuçları Çizelge 4.15 ve Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Bacillus cereus NRRL B-3711 bakterisine karşı sonuçlarına bakıldığında; 10, 11, 13, 14 ve 15 dışındaki diğer bütün dispirofosfazen bileşiklerin, ampisilin ve kloramfenikolden daha düşük MBK değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Tüm bileşiklerin; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bakterisine karşı pozitif kontrol kloramfenikolden daha aktif olduğu; *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 bakterisine karşı ise kloramfenikol ile aynı değerlere sahip olduğu bulunmuştur. Bütün bileşiklerin, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı MBK değerlerinin ampisilin ve kloramfenikolün MBK değerlerinden daha düşük MBK değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *Proteus vulgaris* RSKK 96029 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterilerine karşı bileşiklerinin hepsinin kloramfenikolden daha etkin olduğu bulunmuştur. *Escherichia coli* ATCC 35218 ve *Enterococcus hirae* ATCC 9790 bakterilerine karşı, dispirofosfazen bileşiklerin hepsinin pozitif kontrollerden daha aktif olduğu belirlenmiştir. Dispirofosfazenlerin *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 bakterisine karşı kloramfenikolden daha aktif oldukları, ampisilin ile aynı aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Tüm bileşiklerin *Candida tropicalis* ATCC 10231 ve *Candida krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı pozitif kontrol olan ketokonazolden daha aktif oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.15 10-17 bileşiklerinin minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri (μM)
 Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol

Mikroorganizmalar	Bileşikler							Pozitif Kontrol			
	10	11	12	13	14	15	16	17	Amp	C	Keto
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	2500	1250	625	>2500	2500	2500	312.5	312.5	2500	1250	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	2500	2500	2500	>2500	2500	2500	2500	2500	19.5	78.1	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	<19.5	2500	-
<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> ATCC 14028	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	<19.5	1250	-
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 27853	625	625	625	1250	625	625	312.5	625	2500	2500	-
<i>Proteus vulgaris</i> RSKK 96029	625	625	625	625	625	625	1250	625	39.05	2500	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	2500	>2500	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	625	625	625	625	625	625	625	625	<19.5	1250	-
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	>2500	2500	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	312.5	625	-

Çizelge 4.15 10-17 bileşiklerinin minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri (µM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol (devam)

<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	2500	-
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 10231	312.5	625	625	625	625	1250	625	312.5	-	-	1250
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	312.5	312.5	625	312.5	312.5	312.5	312.5	625	-	-	1250
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	312.5	625	625	625	312.5	312.5	312.5	312.5	-	-	156.25

Çizelge 4.16 Sentezlenen 4-6 (karbazoldiamino grupları), 18, 20, 22, 24, 25, 26 numaralı dispirofosfazenlerin minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri (µM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol

Mikroorganizmalar	Bileşikler									Pozitif Kontrol			
	18	20	22	24	25	26	4	5	6	Amp	C	Keto	
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	312,5	625	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	2500	1250	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	2500	2500	2500	2500	2500	2500	>2500	>2500	>2500	19,5	78,1	-	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1250	1250	1250	1250	1250	1250	625	625	625	<19,5	2500	-	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	<19,5	1250	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	312,5	625	625	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	2500	2500	-	
<i>Proteus vulgaris</i> RSKK 96029	1250	625	625	625	625	625	1250	1250	1250	39,05	2500	-	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	2500	>2500	-	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	625	625	625	625	625	625	625	625	625	<19,5	1250	-	
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	>2500	2500	-	

Çizelge 4.16 Sentezlenen 4-6 (karbazoldiamino grupları), 18, 20, 22, 24, 25, 26 numaralı dispirofosfazenlerin minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri (μM) Amp: Ampisilin, C: Kloramfenikol, Keto: Ketokonazol (devam)

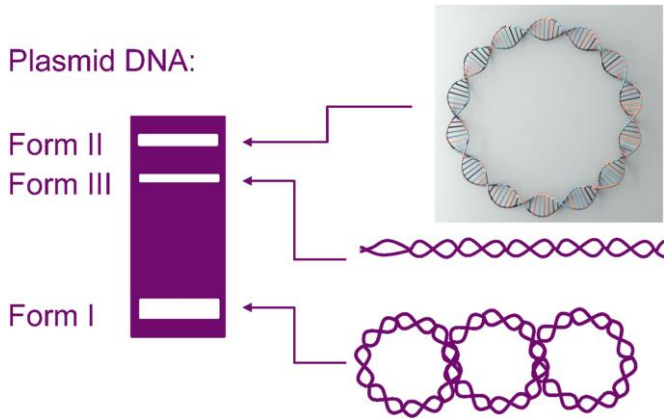
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	312,5	625	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	1250	1250	1250	1250	1250	1250	625	625	625	1250	2500	-	-
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 10231	312,5	312,5	156,25	312,5	312,5	312,5	156,25	156,25	156,25	-	-	1250	-
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	312,5	625	156,25	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	-	-	1250	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	312,5	312,5	625	312,5	312,5	312,5	156,25	156,25	156,25	-	-	156,25	-

8

4.8.2 Bileşiklerin DNA ile etkileşimi

Bileşik – DNA etkileşimlerinin incelenmesi, bileşiklerin DNA üzerinde bağlandığı bölge ve dizi seçimi ile yaşanan konformasyonel değişikliklerin ve buna bağlı olarak gelişen etki mekanizmalarının belirlenmesinde önemli rol oynar.

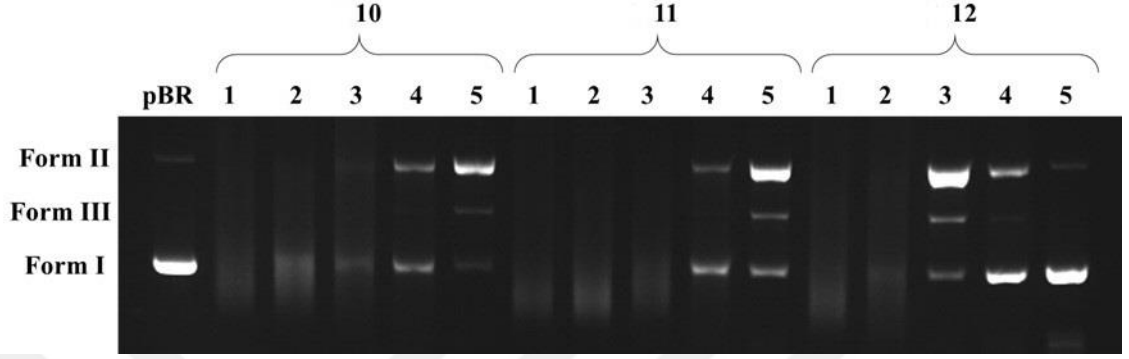
Plasmid DNA üç farklı konformasyonda bulunabilir (Şekil 4.25); bunlar süper sarmal yani sıkıştırılmış bir yapı olarak bükülüp bir araya toplanmış çift sarmallı DNA halkası olan doğal konformasyon olarak bilinen Form I, tek çentikli açık dairesel Form II ve lineer (doğrusal) Form III'tür. Açık dairesel Form II; süper sarmal Form I DNA'nın tek ipliğinde kopma meydana gelmesi ile oluşur. Lineer Form III ise, süper sarmal Form I DNA'nın her iki ipliğinin de aynı yerden kesilmesi ile oluşur. Agaroz jel üzerinde en yavaş yürüyen Form II, en hızlı yürüyen ise Form I'dir. Lineer Form III agaroz jelde genellikle süper sarmal Form I ve açık halkasal Form II arasında hareket eder. Lineer Form III'ün oluşması, bileşiğin DNA'yı kırdığını ve yeni bir form oluşturduğunu sonuç olarak da bileşiğin DNA üzerinde etkisi bulunduğunu gösterir.



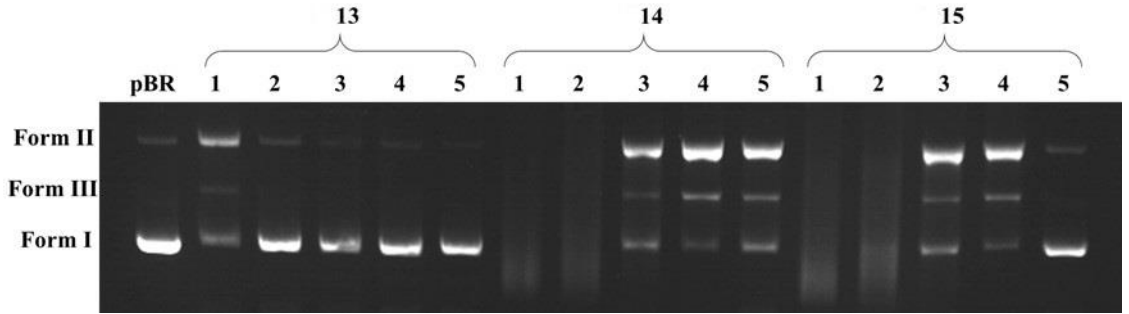
Şekil 4.25 Plasmid DNA'nın üç farklı konformasyonu

Bu deneyde, plasmid DNA ile tüm dispirofosfazenlerin azalan konsantrasyonlarda (156.25-2500 μ M) etkileştirilmiştir. Kontrol plasmid pBR322 yalnızca Form I ve Form II bantlarına sahiptir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, plasmid DNA ile bileşiklerin (24 ve

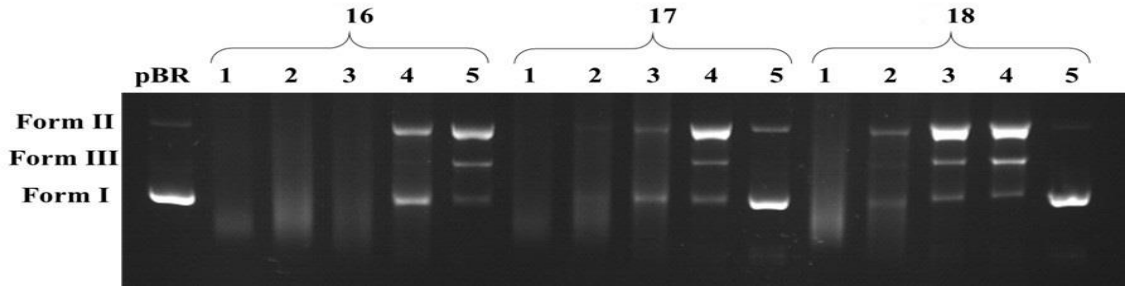
5 hariç hepsinin) etkileştirilmesi sonucunda Form III bandının oluştuğu belirlenmiştir (Şekil 4.26, 4.27, 4.28, 4.29 ve 4.30). Sonuç olarak, bileşiklerin DNA'ya karşı etkili olduğu görülmüştür.



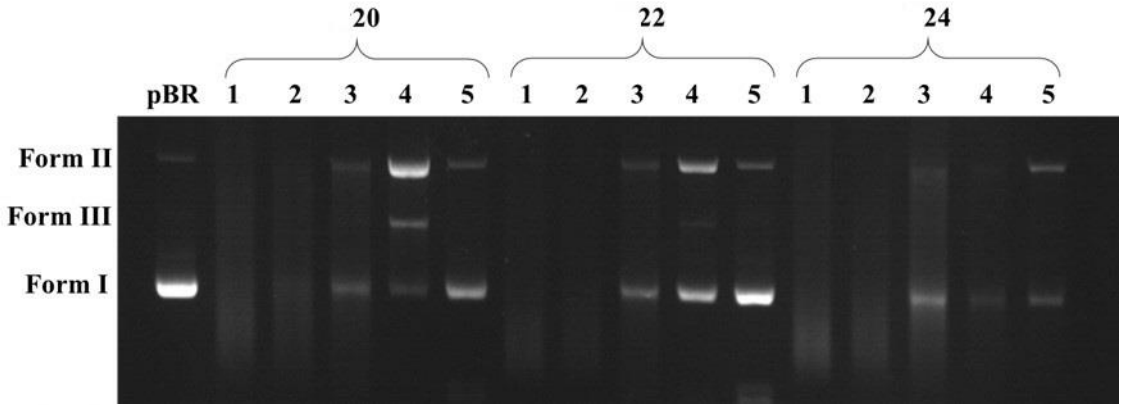
Şekil 4.26 Sentezlenen 10, 11 ve 12 numaralı bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 μM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 μM , hat 2: 1250 μM , hat 3: 650 μM , hat 4: 312.5 μM , hat 5: 156.25 μM)



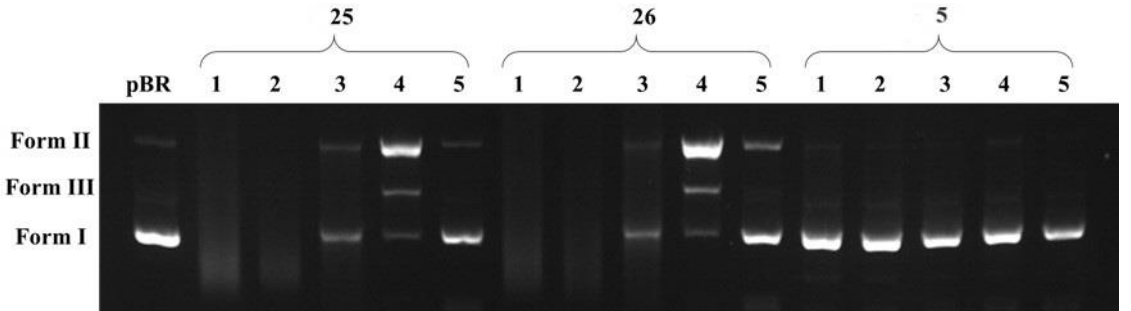
Şekil 4.27 Bileşiklerden 13, 14 ve 15'in farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 μM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 μM , hat 2: 1250 μM , hat 3: 650 μM , hat 4: 312.5 μM , hat 5: 156.25 μM)



Şekil 4.28 16, 17 ve 18 maddelerinin farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 μM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 μM , hat 2: 1250 μM , hat 3: 650 μM , hat 4: 312.5 μM , hat 5: 156.25 μM)



Şekil 4.29 20, 22 ve 24 bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 μM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 μM , hat 2: 1250 μM , hat 3: 650 μM , hat 4: 312.5 μM , hat 5: 156.25 μM)

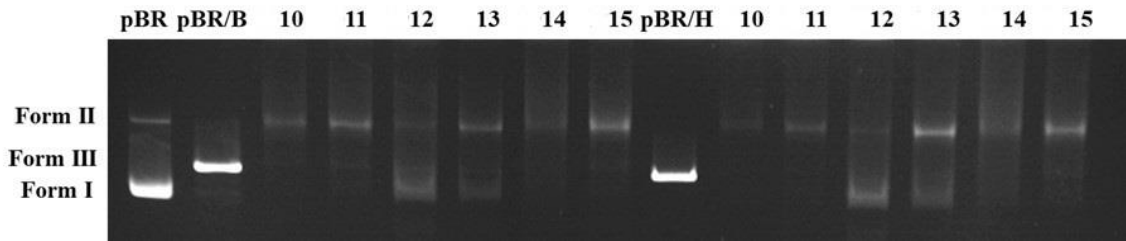


Şekil 4.30 25, 26 ve 5 numaralı bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda (156.25-2500 μM) pBR322 ile inkübasyonunun jel görüntüsü (Madde konsantrasyonları; hat 1: 2500 μM , hat 2: 1250 μM , hat 3: 650 μM , hat 4: 312.5 μM , hat 5: 156.25 μM)

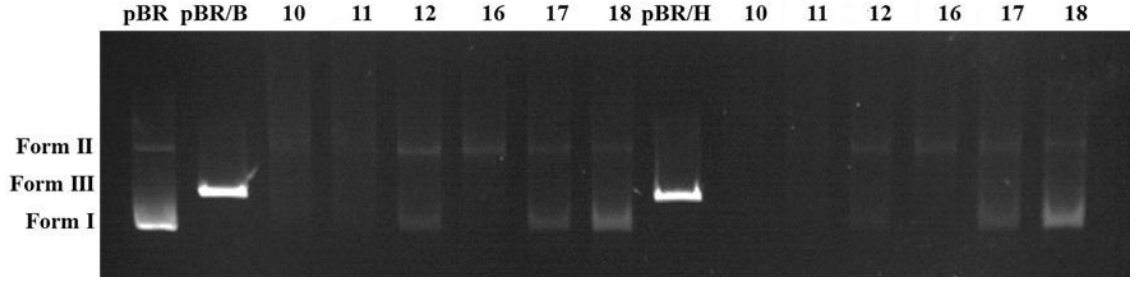
Restriksiyon enzimi deneyi: Bileşik – DNA etkileşiminin ardından, bileşiklerin DNA'nın yapısında meydana getirdiği değişiklikleri ve hangi nükleotidlere bağlandıklarını belirlemek için restriksiyon enzim kesimi gerçekleştirilmiştir. Restriksiyon endonükleazları olarak da bilinen restriksiyon enzimleri, tanıma bölgeleri olarak bilinen belirli DNA dizilerini tanıyabilir ve DNA'yı bu bölgelerde bölebilir.

BamHI enzimi 5'-G/GATCC-3' dizisine bağlanmaktadır. pBR322 plazmid DNA'sı tek bir dizi içerdiğinden, bu diziyi kesmektedir. *BamHI* süper sarmal Form I ve açık dairesel Form II'yi doğrusal DNA formuna (Form III) dönüştürür. *HindIII* 5'-A/AGCTT-3' dizisini tanıyarak ve bu diziyi parçalar. Böylece *HindIII*, *BamHI*'ye benzer şekilde Form I ve Form II'yi Form III'e dönüştürür.

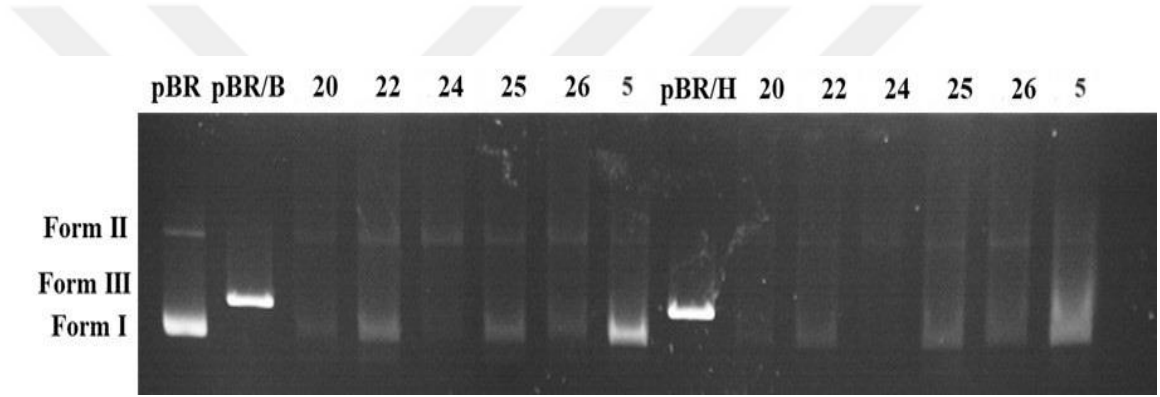
Bileşiklerin DNA ile etkileşiminde gözlenen en etkili konsantrasyonu ile plazmid DNA etkileştirilmiştir ve *BamHI* ve *HindIII* restriksiyon enzimleri ile muamele edilmiştir. Bileşikler ile etkileşime sokulmamış plazmid DNA'ların *BamHI* ve *HindIII* enzimleri ile etkileşimleri kontrol olarak kullanılmıştır. Enzim kesimi sonucunda, sentezlenen bileşikler ile muamele edilmiş DNA'larda lineer Form III bandının oluşmadığı görülmüştür (Şekil 4.31, 4.32 ve 4.33). Dolayısıyla dispirofosfazen türevlerinin DNA'nın A/A ve G/G nükleotidlerine bağlanarak enzim kesiminin gerçekleşmesine engel olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, bileşiklerin DNA enzim kesimi bölgelerine bağlandığı ve DNA bütünlüğünün korunduğu görülmüştür.



Şekil 4.31 10, 11, 12, 13, 14 ve 15 numaralı bileşiklere ait dispirofosfazen -DNA karışımının *BamHI* ve *HindIII* restriksiyon enzimleri ile etkileştirilmesi sonucunun jel görüntüsü (pBR: pBR322 plazmid, pBR/B: pBR322'nin *BamHI* ile restriksiyon enzim kesimi, pBR/H: pBR322'nin *HindIII* ile restriksiyon enzim kesimi)



Şekil 4.32 10, 11, 12, 16, 17 ve 18 numaralı bileşiklere ait dispirofosfazen-DNA karışımının *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile etkileştirilmesi sonucunun jel görüntüsü (pBR: pBR322 plasmid, pBR/B: pBR322'nin *Bam*HI ile restriksiyon enzim kesimi, pBR/H: pBR322'nin *Hind*III ile restriksiyon enzim kesimi)



Şekil 4.33 20, 22, 24, 25, 26 ve 5 numaralı bileşiklere ait dispirofosfazen -DNA karışımının *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile etkileştirilmesi sonucunun jel görüntüsü (pBR: pBR322 plasmid, pBR/B: pBR322'nin *Bam*HI ile restriksiyon enzim kesimi, pBR/H: pBR322'nin *Hind*III ile restriksiyon enzim kesimi)

4.8.3 Bileşiklerin antioksidan özellikleri

Antioksidanlar, hücrelerde toplanabilen ve diğer moleküllere zarar verebilen, çeşitli hastalıklara ve yaşlanma süreçlerine yol açabilen yüksek reaktif moleküller olan serbest radikallerin neden olabileceği oksidatif hasardan hücreleri korumaya yardımcı olan maddelerdir. Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut serbest radikalleri etkisiz hale getirerek oksidasyon sürecini azaltmak veya engellemek için önleyici bir mekanizmaya sahip maddelerdir (Shalaby 2019, Pisoschi vd. 2021).

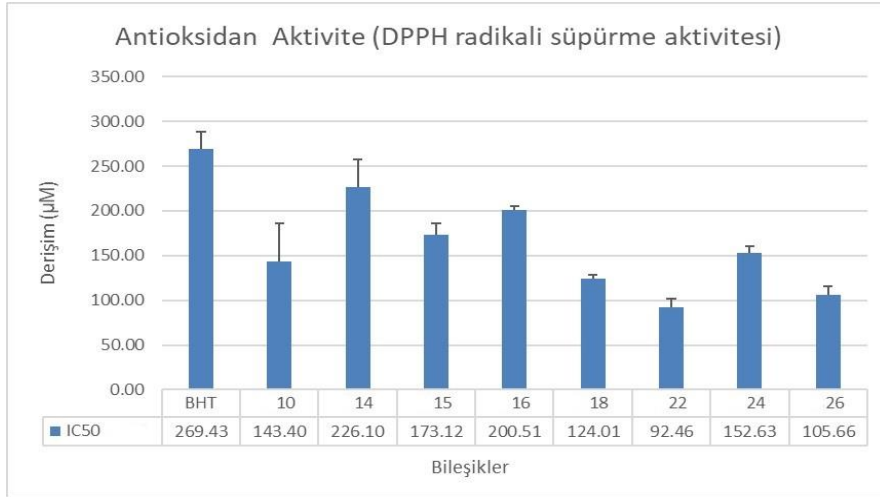
DPPH, maddelerin antioksidan kapasitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan kararlı bir serbest radikal bileşimidir. DPPH oksitlendiğinde koyu mor bir renk olarak görünür ve oluşan bu oksidasyon bir antioksidan tarafından azaltılırsa rengi azalarak açık sarıya döner (absorbans azalır). DPPH radikali süpürme aktivitesi, antioksidanların DPPH radikaline bir elektron verilmesi veya hidrojen atomu aktarılmasıyla reaktivitesini nötralize edebilmesi ve renk değişimine neden olması prensibiyle çalışır. Maddenin DPPH radikalini azaltmadaki etkinliği absorbans ölçülerek belirlenebilir.

Radikal süpürme aktivitesinin inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır;

$$I\% = \frac{(\text{Abs}_{\text{Control}} - \text{Abs}_{\text{Sample}})}{\text{Abs}_{\text{Control}}} \times 100$$

Burada $\text{Abs}_{\text{Control}}$ negatif kontrolün (sadece DPPH ve DMSO içeren kuyucuklar) absorbansını, $\text{Abs}_{\text{Sample}}$ ise bileşiklerin (DPPH, DMSO ve bileşikleri içeren kuyucuklar) absorbansını ifade etmektedir.

İnhibisyon yüzdesi belirlendikten sonra, her bir tekrar için eğimli bir grafik oluşturulmuştur. Eğim denklemi ile tüm tekrarlar için IC_{50} değerleri, IC_{50} değerlerinin ortalaması ve standart sapması hesaplanmıştır. IC_{50} (Half maximal Inhibitory Concentration), başlangıçtaki DPPH radikallerinin %50'sini azaltmak için gereken antioksidan konsantrasyonudur. IC_{50} değeri ne kadar düşük olursa, madde DPPH radikalini temizlemede o kadar güçlü demektir ve bu da daha yüksek bir antioksidan aktivite anlamına gelir. Bu sonuçlarla IC_{50} değerleri baz alınarak antioksidan aktivite için bir çubuk grafik oluşturulmuştur (Şekil 4.34).



Şekil 4.34 Bileşiklerin antioksidan aktiviteleri (Mavi çubuklar: Bileşiklerin IC₅₀ değerleri; Pozitif Kontrol: BHT; Bileşikler: 10, 14, 15, 16, 18, 22, 24, 26)

Bileşiklerin (10, 14, 15, 16, 18, 22, 24 ve 26) sonuçları, pozitif kontrol olarak kullanılan BHT antioksidan ile karşılaştırıldığında, antioksidan aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. Hatta sentezlenen bileşiklerin IC₅₀ değerlerinin, pozitif kontrolün değerinden daha düşük olması sebebiyle, pozitif kontrolden daha etkili bir antioksidan olduğu söylenebilir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17 Bileşiklerin 2500 µM konsantrasyonda DPPH radikal süpürme aktiviteleri

Bileşik Numarası	Radikal Süpürme Aktiviteleri (IC ₅₀ µM ± Std)
10	143.40 ± 42.94
14	226.10 ± 31.89
15	173.12 ± 12.60
16	200.51 ± 5.11
18	124.01 ± 4.84
22	92.46 ± 9.02
24	152.63 ± 8.00
26	105.66 ± 9.89
BHT	269.43 ± 18.85

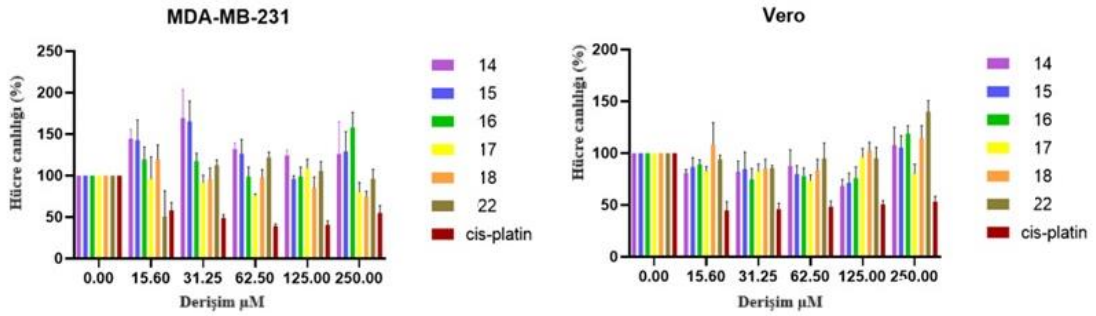
4.8.4 Bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri

Sitotoksik aktiviteyi değerlendirmek için; MDA-MB-231 kanser hücre hattı ve Vero hücre hattına karşı, sentezlenen bileşiklerin (14, 15, 16, 17, 18 ve 22) farklı konsantrasyonları (15,6 M -250 µM) ile MTT testi yapılmıştır. Bileşiklerin hücre canlılığı üzerindeki etkisini kıyaslamak için pozitif kontrol olarak cis-platin seçilmiştir.

Hücre canlılığının yüzdesi şu formül kullanılarak ifade edilmiştir:

% canlılık = tedavi edilen hücrelerin 570 nm dalga boyunda absorpsiyonu/negatif kontrol hücrelerinin 570 nm dalga boyunda absorpsiyonu x % 100.

Bileşiklerin, MDA-MB-231 kanser hücre hattı ve Vero hücre hattı üzerinde önemli bir sitotoksik aktivite göstermediği belirlenmiştir (Şekil 4.35)



Şekil 4.35 Bileşiklerin ve cis-platinin, Vero ve MDA-MB-231 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etki deneyi sonuçları

5. SONUÇ

Tez çalışması kapsamında 18 adet simetrik olmayan cis- ve trans- dispirofosfazen elde edilmiştir. Bunun için, N/N donör atomlu karbazolildiamin (**4-6**) ve ferrosenildiamin (**1-3**) ligandları sentezlenmiştir. Çift dişli ferrosenildiamin ligandları (**1-3**) ile HCCP'nin reaksiyonlarından monoferrosenil spiro siklotrifosfazen türevleri (**7-9**) elde edilmiştir. Monospirosiklotrifosfazen türevlerinin (**7-9**), karbazolildiaminlerle (**4-6**) tepkimesinden ise nihai bileşikler olan cis- ve trans- dispirofosfazenler (**10-27**) sentezlenmiştir. Sentezlenen dispiro türevlerinin (**10-27**) tamamı orijinaldir ve trimerik fosfazen halkasına hem ferrosenildiamin hem de karbazolildiamin gruplarının birlikte bağlı olduğu ilk dispiro trimerik fosfazen türevleridir. Dispirofosfazen türevleri kolon kromatografisi veya preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemi ile saf olarak elde edilmiştir.

HCCP ve ligandlar arasındaki nükleofilik yerdeğiştirme reaksiyonları sonucu gerçekleşmesi olası ansa-, bino- gibi diğer yapılar oluşmamıştır. Tez kapsamında HCCP ve çift dişli diamin ligandları ile gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucunda sadece spiro-yapıları oluşması, bu reaksiyonların regioselektif (yer seçimli) olduğunu göstermektedir (Allcock 1972).

Trans-fosfazenlerin verimlerinin cis-türevlerinden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, sübstitüentlerin hacimli gruplar olması nedeniyle ve cis-izomerdeki sterik engellilikten kaynaklandığı düşünülebilir.

Trans-dispirofosfazenlerin TLC kromatografisinde 5:1 oranında Toluen:Thf karışımında elde edilen R_f değerlerinin, cis-izomerlerin R_f değerlerine kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu, cis- izomerinin, trans- izomerine kıyasla daha polar bir özelliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Sentezlenen bileşiklerde iki adet kiral fosfor atomu bulunmaktadır. Bu fosfor atomlarına bağlanan gruplar simetrik olmadıkları için enantiyomerlerden izomerlerin hem cis- hem-

de trans türevlerinde rasemik yapıda bulunmaları beklenmektedir. Enantiyomer izomerlerin rasemik formda bulduklarını; hem CSA ilavesi ile kaydedilen ³¹P NMR spektrumları, hem de CD spektrumları doğrulamaktadır.

Tek kristali elde edilen dört bileşiğin (**10**, **15**, **16** ve **18**) moleküler ve katı hal yapısı X-ışını kristalografi yöntemi ile aydınlatılmıştır. Bileşik cis-**15** ve trans-**18**'in stereojenik fosfor atomlarının mutlak konfigürasyonları SS' olarak bulunmuştur.

Bileşiklerin test edilen çoğu bakteri ve maya suşuna karşı antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu, hatta bazı bileşiklerin pozitif kontrol olarak kullanılan standart antibiyotik ve antifungal etken maddelerinden daha düşük MİK, MBK ve MFK değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Bu veriler, bileşiklerin pozitif kontrollere kıyasla daha etkili olduklarını göstermektedir.

İncelenen bileşiklerin pozitif kontrol olarak kullanılan antioksidan BHT'ye kıyasla daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip oldukları, dolayısıyla BHT'ye göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

DNA üzerindeki 5'-G/GATCC-3' dizisine bağlanarak kesen *Bam*HI ve 5'-A/AGCTT-3' dizisini kesen *Hind*III restriksiyon enzim kesim çalışmaları sonucu; dispirofosfazen türevlerinin DNA'nın A/A ve G/G nükleotidleri ile DNA enzim kesimi bölgelerine bağlanarak, enzim kesimini engelledikleri belirlenmiştir.

Sentezlenen fosfazen türevlerinin, kanser hücresine karşı sitotoksik aktivitesi incelendiğinde, kanser hücrenin canlılığı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir, yani sitotoksik aktivite göstermemiştir.

Bu çalışmada sentezlenen dispirofosfazen bileşiklerinin etkili antimikrobiyal aktiviteye, yüksek antioksidan özelliğe ve DNA üzerinde etkili olmaları, ilaç aktif madde olarak kullanılma potansiyelleri olduğunu göstermektedir.

Siklotrifosfazen halkası optik olarak inerttir, ama bu çalışmada sentezlenen ve karbazolildiamin grubu içeren dispirofosfazenlerin fotofiziksel özelliklerinin incelenmesi sonucunda elde edilen verilere göre; karbazol katkılı siklotrifosfazen türevlerinin, floresans/elektrokimyasal sensörler gibi optik uygulamalar için uygun sistemlerin tasarlanmasında katkı sağlayabilecekleri düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Allcock, H. 1972. Cyclic, Linear and High Polymeric Systems. Academic Press. 493, New York.
- Allcock, H. R., J. L. Desorcie and G. H. Riding. 1987. The organometallic chemistry of phosphazenes. *Polyhedron*, 6(2), 119-157.
- Allen, C. W. 1994. Linear, cyclic and polymeric phosphazenes. *Coordination Chemistry Reviews*, 130(1), 137-173.
- Astruc, D. 2017. Why is Ferrocene so Exceptional? *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2017(1), 6-29.
- Balzano, F., A. Iuliano, G. Uccello-Barretta ve Zullo V. 2022. Renewable Resources for Enantiodiscrimination: Chiral Solvating Agents for NMR Spectroscopy from Isomannide and Isosorbide. *The Journal of Organic Chemistry*, 87(19), 12698-12709.
- Bhatt, V. 2016. Chapter 7- Basic Organometallic Chemistry. *Essentials of Coordination Chemistry*. Academic Press, 173-190.
- Bullen, G. J. 1971. An improved determination of the crystal structure of hexachlorocyclotriphosphazene (phosphonitrilic chloride). *Journal of the Chemical Society A: Inorganic, Physical, Theoretical*(0), 1450-1453.
- Castro, A. J. ve Elwell W. E. 1950. The Preparation and Polymerization of Diallyl Cyclohexanephosphonate. *Journal of the American Chemical Society*, 72(5), 2275-2276.
- Chaplin, A. B., J. A. Harrison and Dyson P. J. 2005. Revisiting the Electronic Structure of Phosphazenes. *Inorganic Chemistry*, 44(23), 8407-8417.
- Fery-Forgues, S. ve Delavaux-Nicot B. 2000. Ferrocene and ferrocenyl derivatives in luminescent systems. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 132(3), 137-159.
- Georgiades, S. N. ve Nicolaou P. G. 2019. Chapter One- Recent advances in carbazole syntheses. *Advances in Heterocyclic Chemistry*. Academic Press, 129, 1-88.
- Gupta, I. ve Kesavan P. E. 2019. Carbazole Substituted BODIPYs. *Frontiers in Chemistry*.
- Kealy, T. J. ve Pauson P. L. 1951. A New Type of Organo-Iron Compound. *Nature*, 168(4285), 1039-1040.
- Kondo, Y. 2009. Phosphazene: Preparation, Reaction and Catalytic Role. *Superbases for Organic Synthesis*, 145-185.

- Krishnamurthy, S. S. 1994. Phosphazenes and Phosphazanes—The Nature of the P-N Bond. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 87(1-4), 101-111.
- Li, Y., Y. An, Y. Tian, C. Wei, S. Xiong ve J. Feng. 2021. High-Safety and High-Voltage Lithium Metal Batteries Enabled by a Nonflammable Ether-Based Electrolyte with Phosphazene as a Cosolvent. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13(8); 10141-10148.
- Long, D. A. 2004. Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts. *Journal of Raman Spectroscopy*, 35(10); 905-905.
- Maeda, C., T. Todaka, T. Ueda and Ema T. 2016. Color-Tunable Solid-State Fluorescence Emission From Carbazole-Based BODIPYs. *Chemistry- A European Journal*.
- Mathew, D., S. Sasidharan, P. Saudagar, S. Subramanian and Parameswaran P. 2023. meso-Carbazole Decorated BODIPYs – An Electron Donor–acceptor System With Excellent Fluorosolvato/Vapochromic Behavior, Aggregation-Induced Emission, and Antileishmanial Activity. *New Journal of Chemistry*.
- Menendez, J. R., G. A. Carriedo, F. J. Garcia-Alonso, E. Clavijo, M. Nazri and R. Aroca 1999. Vibrational spectra of cyclic phosphazenes. *Journal of Raman Spectroscopy* 30(12); 1121-1125.
- Neuse, E. W., M. G. Meirim and Blom N. F. 1988. Metallocene-containing platinum complexes as potential antitumor agents. 1. Dichloro(1,6-diferrocenyl-2,5-diazahexane) platinum(II) and cis-dichlorobis (1ferrocenylethylamine) platinum(II). *Organometallics* 7(12); 2562-2565.
- Pirkle, W. H., D. L. Sikkenga and Pavlin M. S. 1977. Nuclear magnetic resonance determination of enantiomeric composition and absolute configuration of .gamma.-lactones using chiral 2,2,2-trifluoro-1-(9-anthryl)ethanol. *The Journal of Organic Chemistry* 42(2): 384-387.
- Schuhmann, W., T. J. Ohara, H. L. Schmidt and Heller A. 1991. Electron transfer between glucose oxidase and electrodes via redox mediators bound with flexible chains to the enzyme surface. *Journal of the American Chemical Society* 113(4): 1394-1397.
- Socrates, G. 2002. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts. 3rd ed. 348, UK. *Journal of the American Chemical Society*, 124(8), 1830-1830.
- Venkateswararao, A., K. R. J. Thomas, C. P. Lee, C. T. Li and Ho K.-P. 2014. Organic Dyes Containing Carbazole as Donor and π -Linker: Optical, Electrochemical, and Photovoltaic Properties. *Acs Applied Materials & Interfaces*.

- Wang, D., X. Xu, Y. Qiu, J. Wang and Meng L. 2024. Cyclotriphosphazene based materials: Structure, functionalization and applications. *Progress in Materials Science* 142: 101232.
- Weinhold, T. D., N. A. Reece, K. Ribeiro, M. L. Ocasio, N. Watson, K. Hanson and Longstreet A. R. 2022. Assessing Carbazole Derivatives as Single-Electron Photoreductants. *The Journal of Organic Chemistry*.
- Witt, M. and Roesky H. W. 1994. Transition and Main Group Metals in Cyclic Phosphazanes and Phosphazenes. *Chemical Reviews* 94(5): 1163-1181.



EKLER

EK 1 FTIR SPEKTRUMLARI

EK 2 ³¹P NMR SPEKTRUMLARI

EK 3 KÜTLE SPEKTRUMLARI

EK 4 ¹³C NMR SPEKTRUMLARI

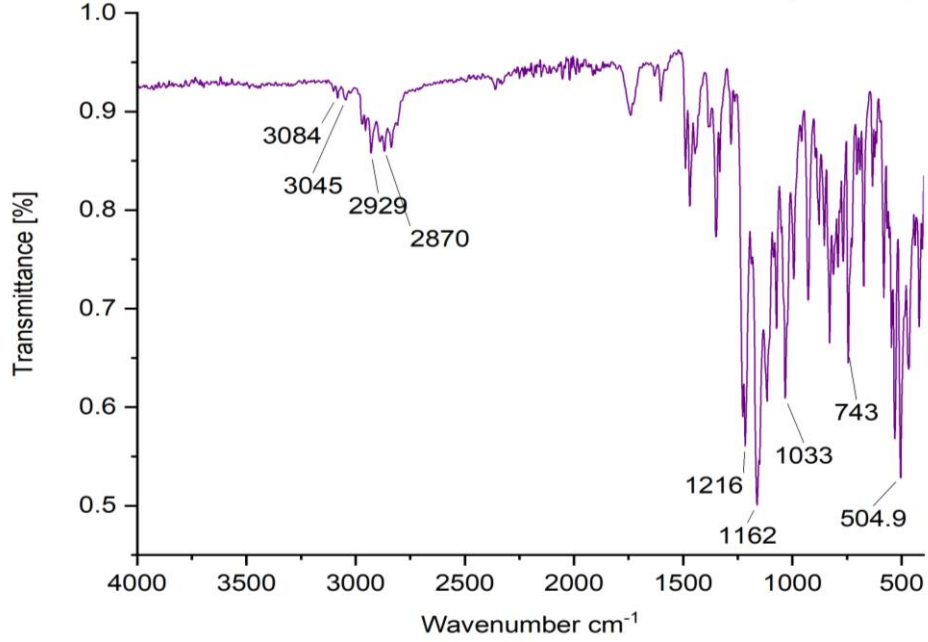
EK 5 ¹H NMR SPEKTRUMLARI

EK 6 İKİ BOYUTLU HSQC VE HMBC SPEKTRUMLARI

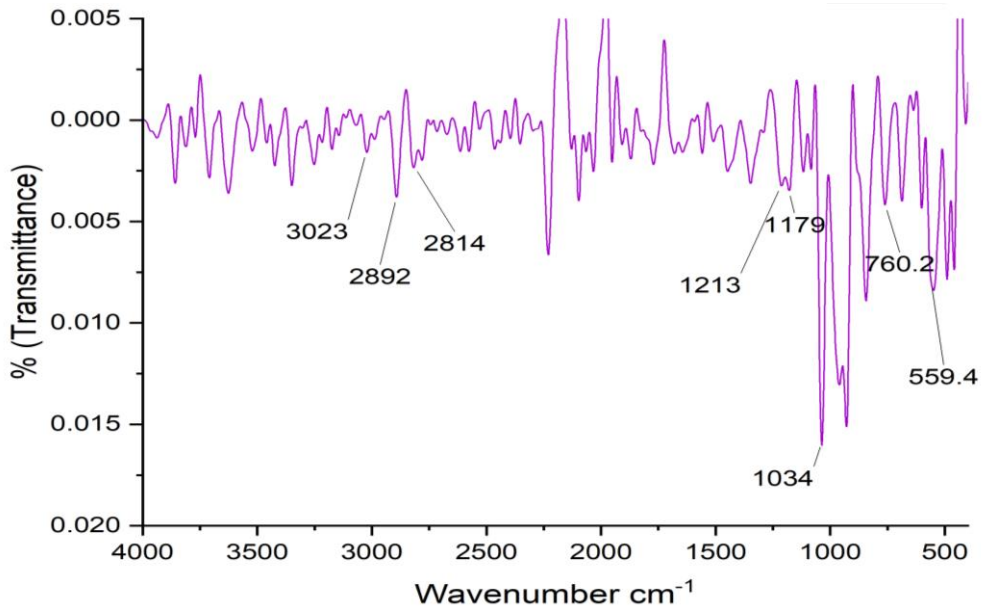


EK 1 FTIR SPEKTRUMLARI

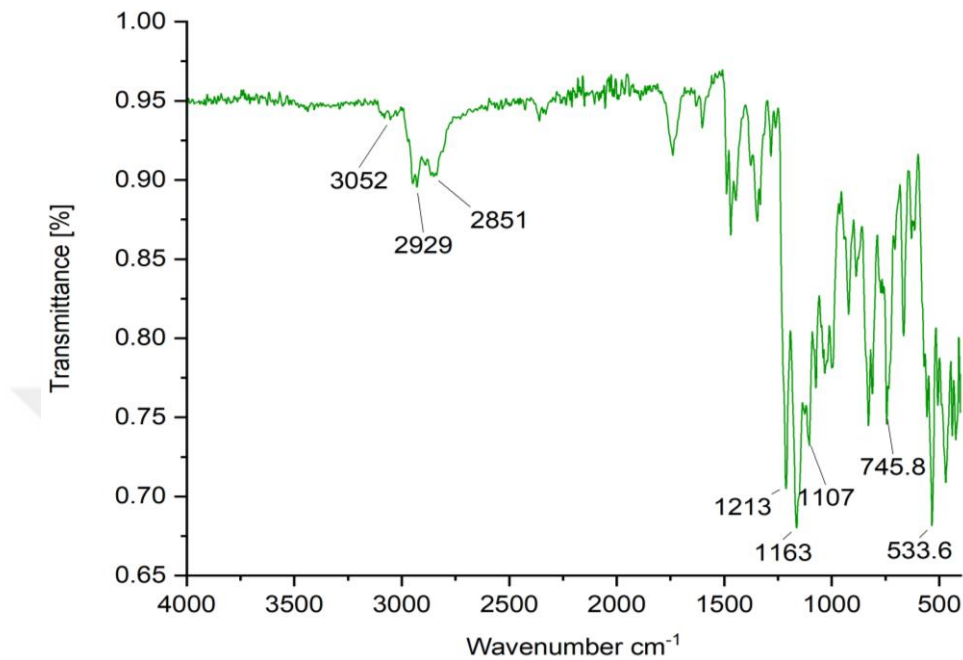
Bileşik 10



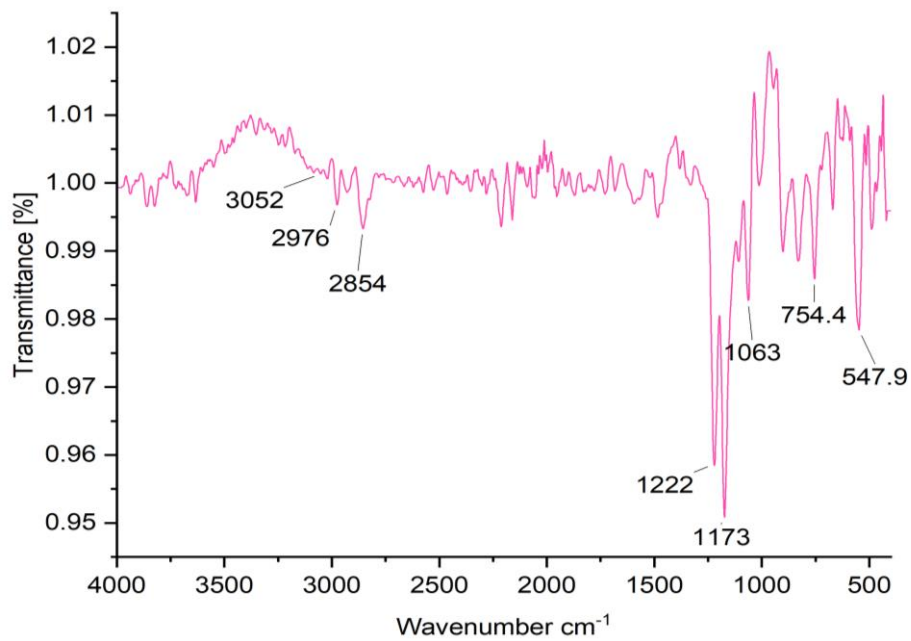
Bileşik 11



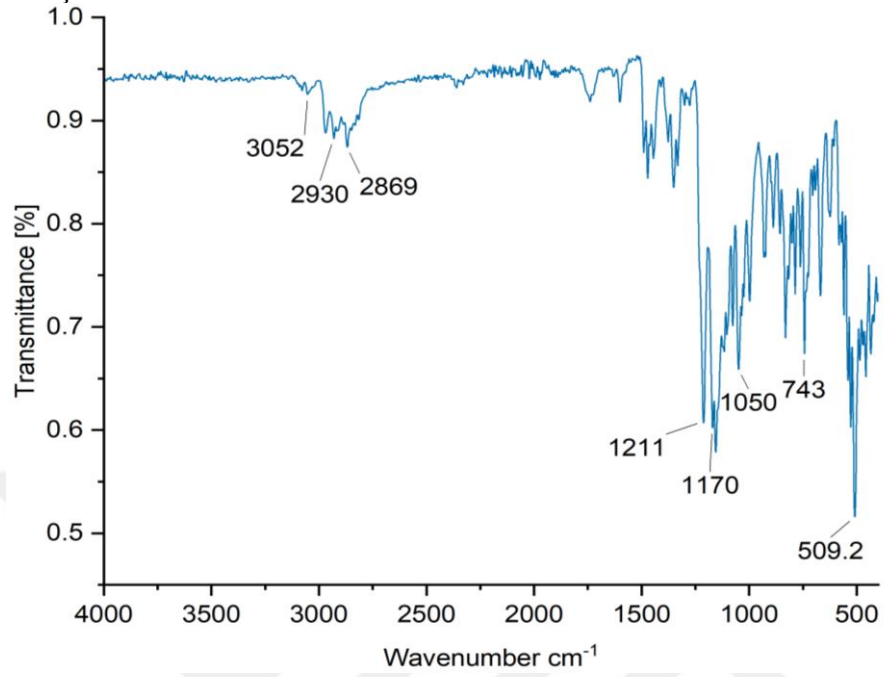
Bileşik 12



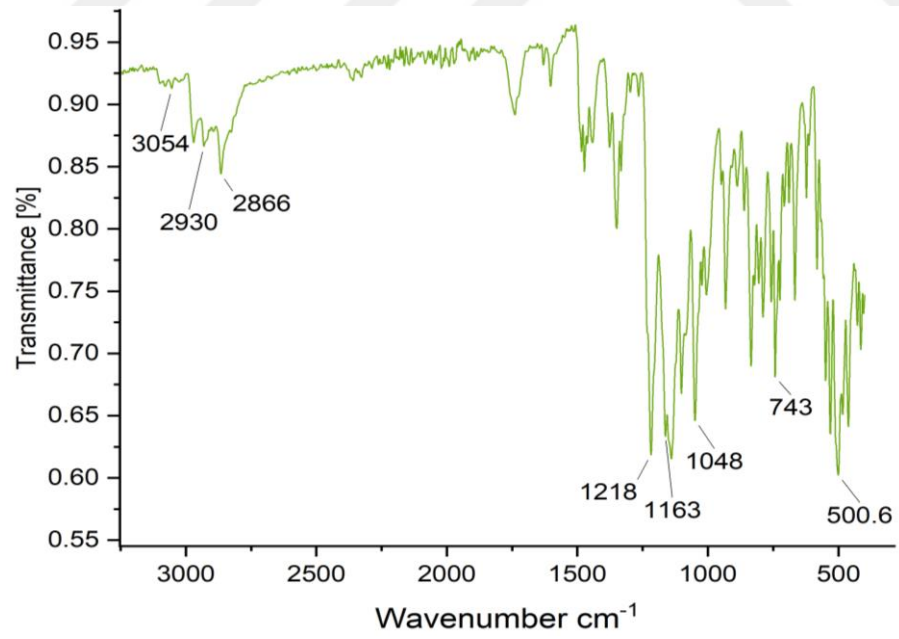
Bileşik 13



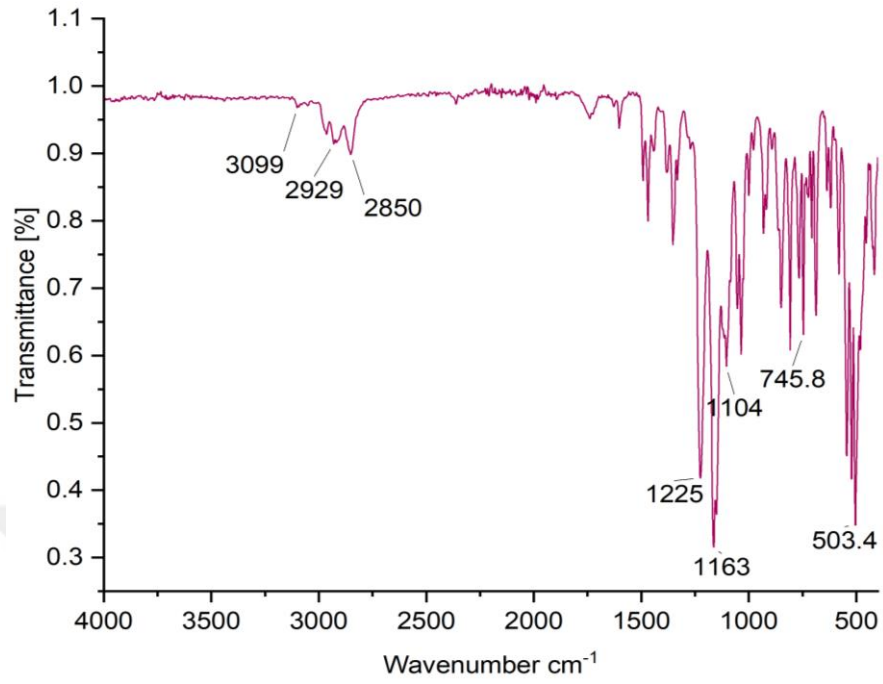
Bileşik 14



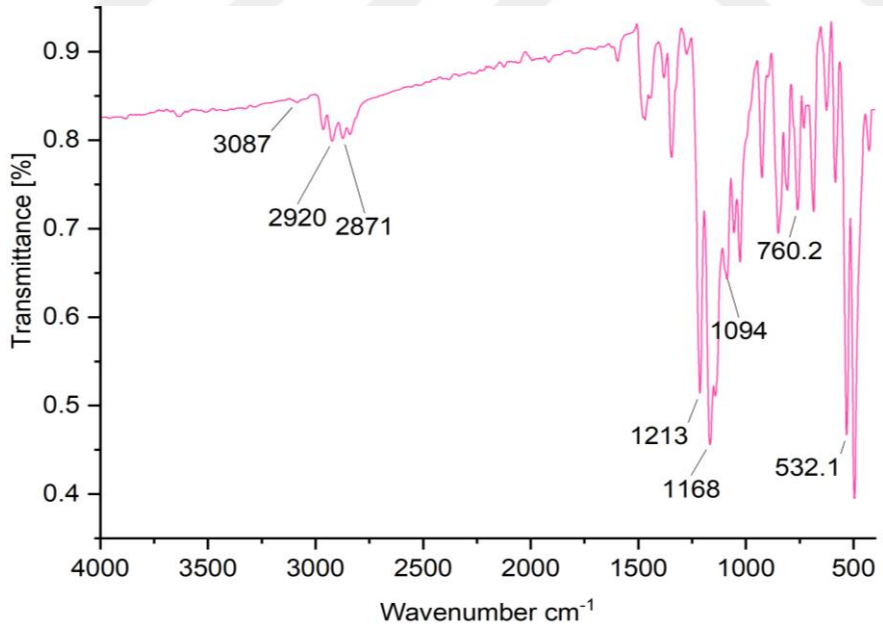
Bileşik 15



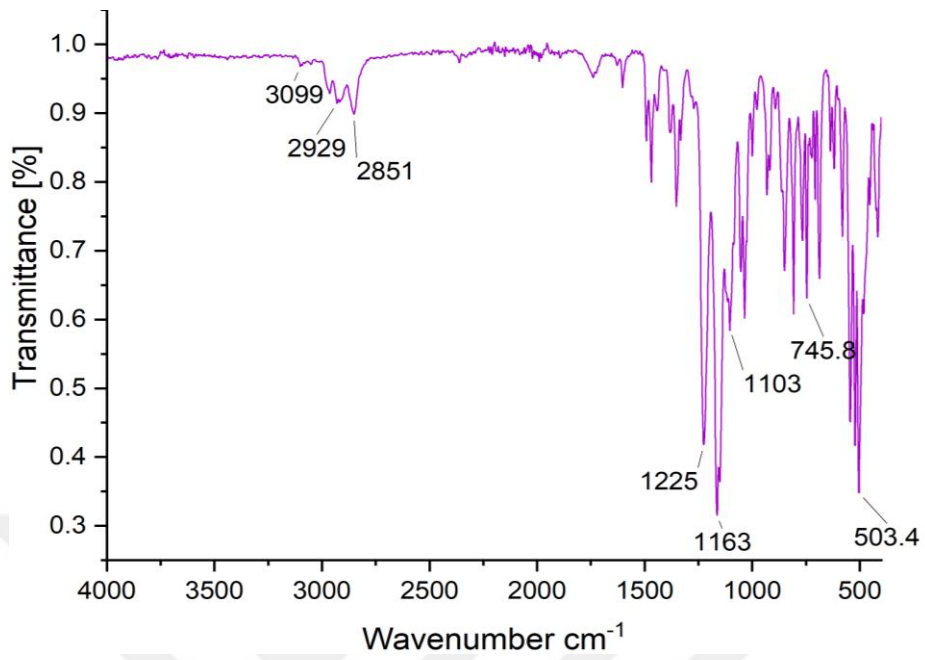
Bileşik 16



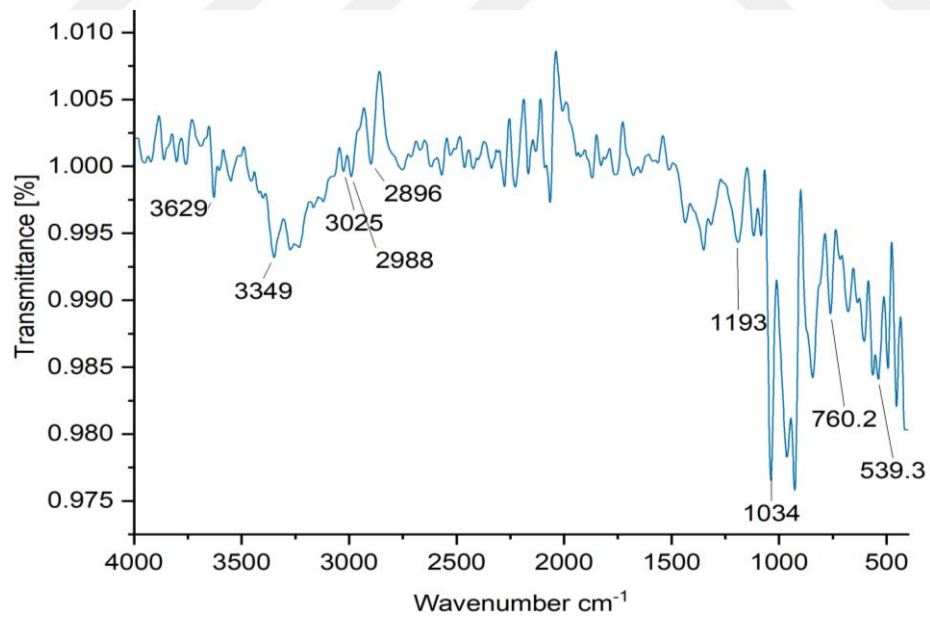
Bileşik 17



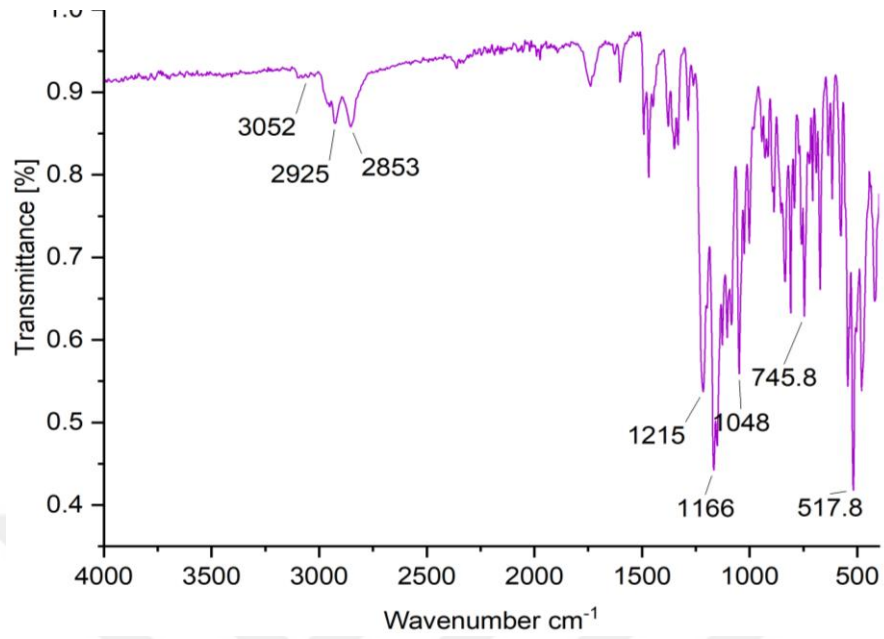
Bileşik 18



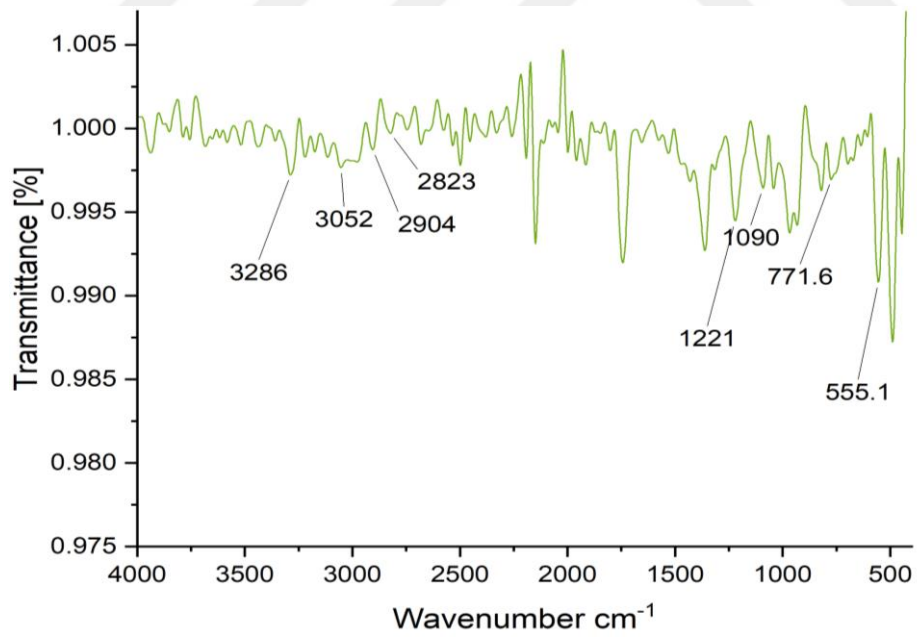
Bileşik 19



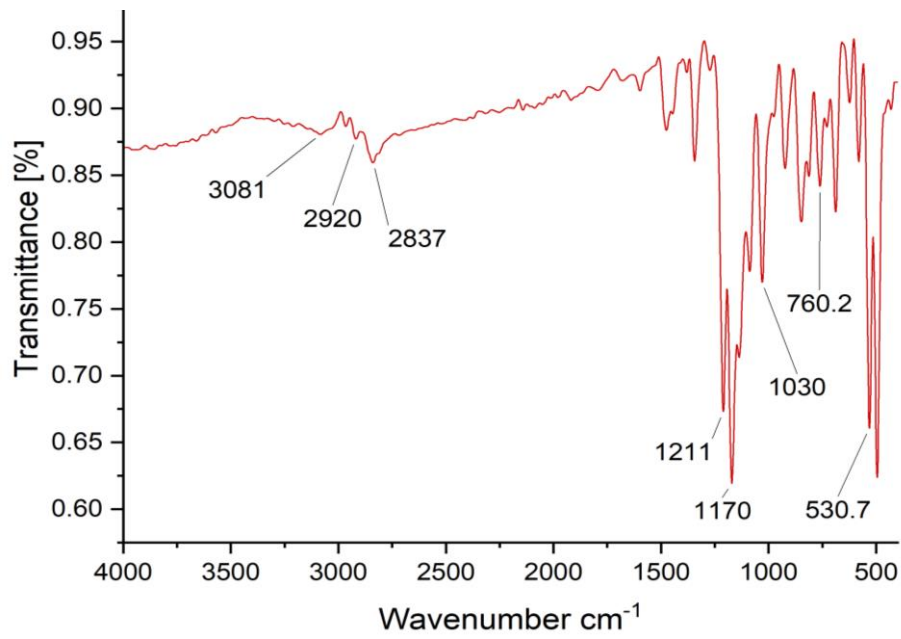
Bileşik 20



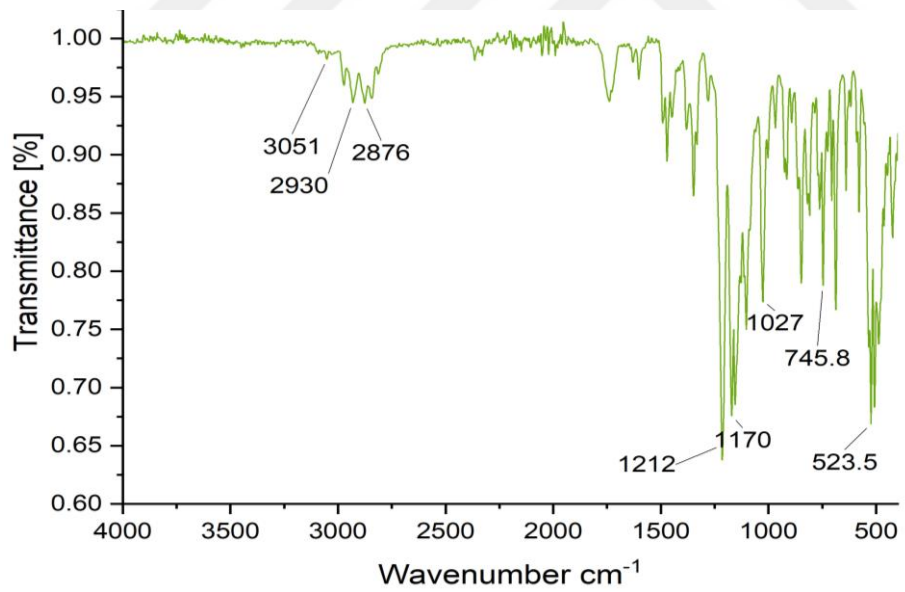
Bileşik 21



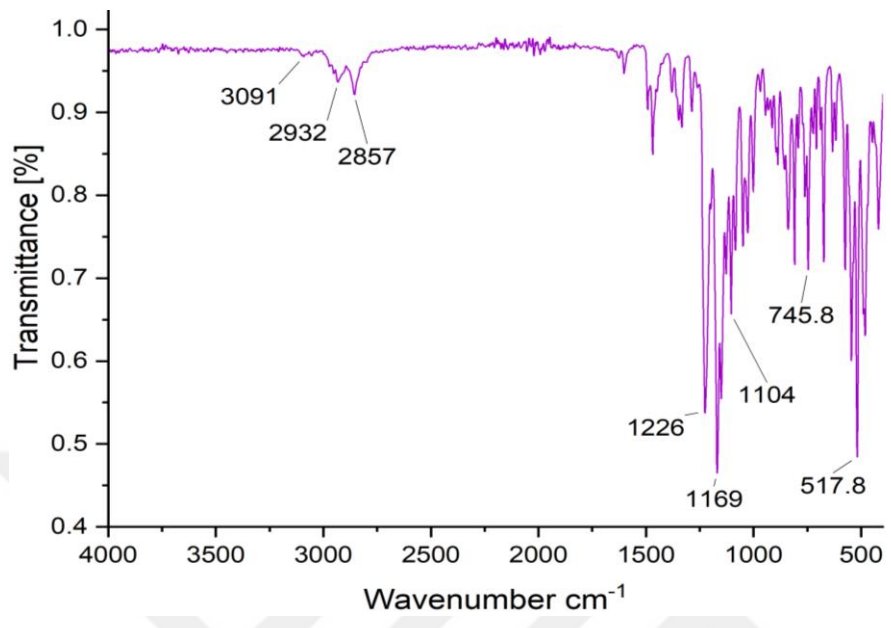
Bileşik 22



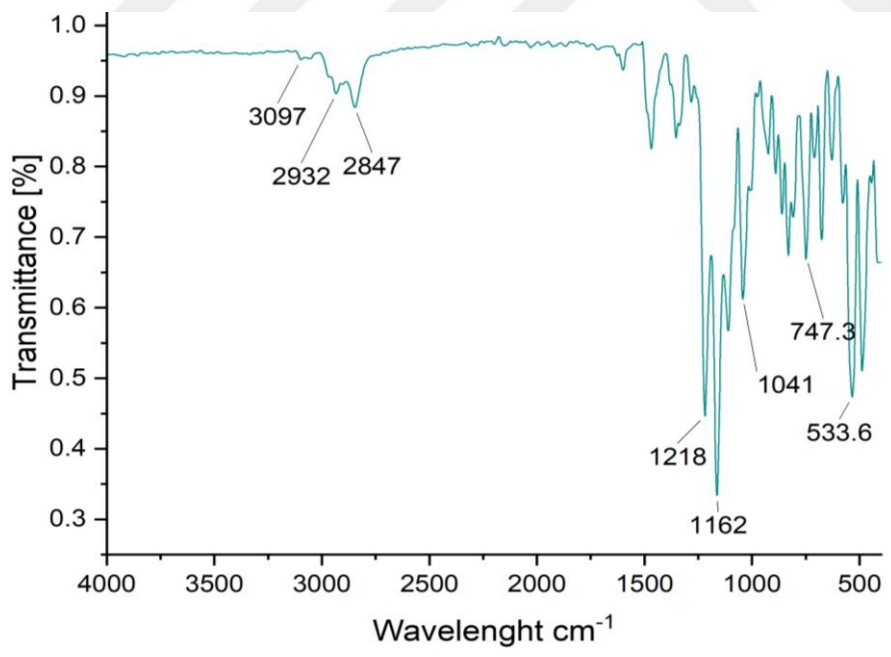
Bileşik 23



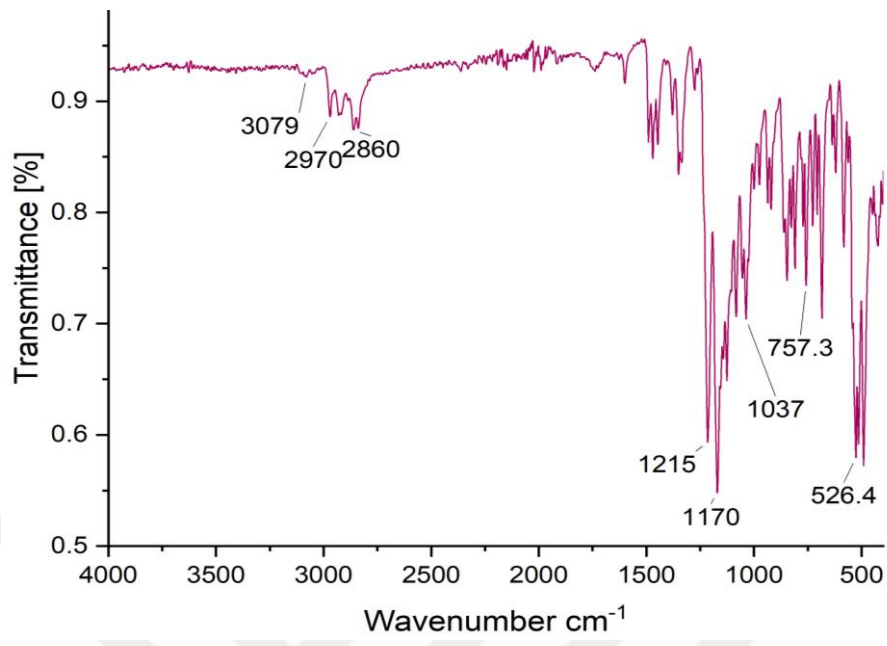
Bileşik 24



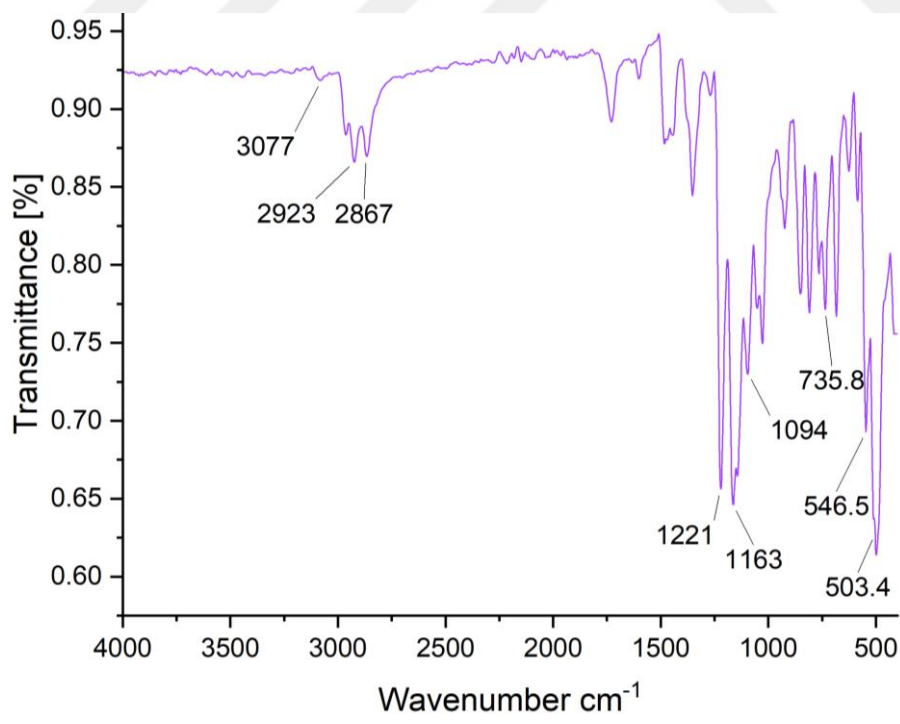
Bileşik 25



Bileşik 26

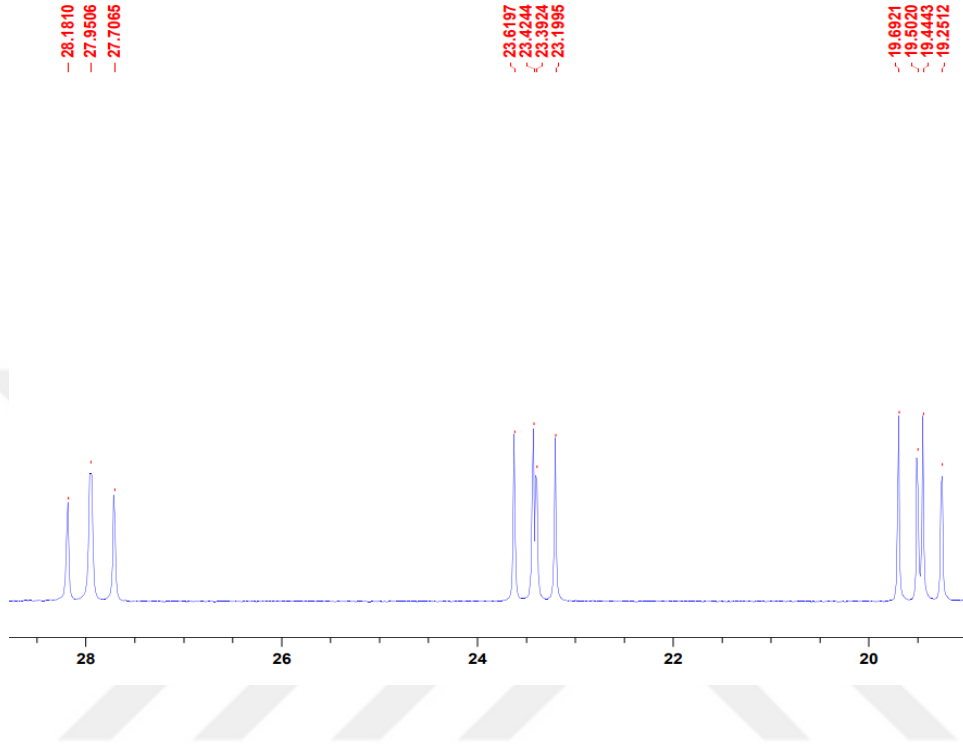


Bileşik 27

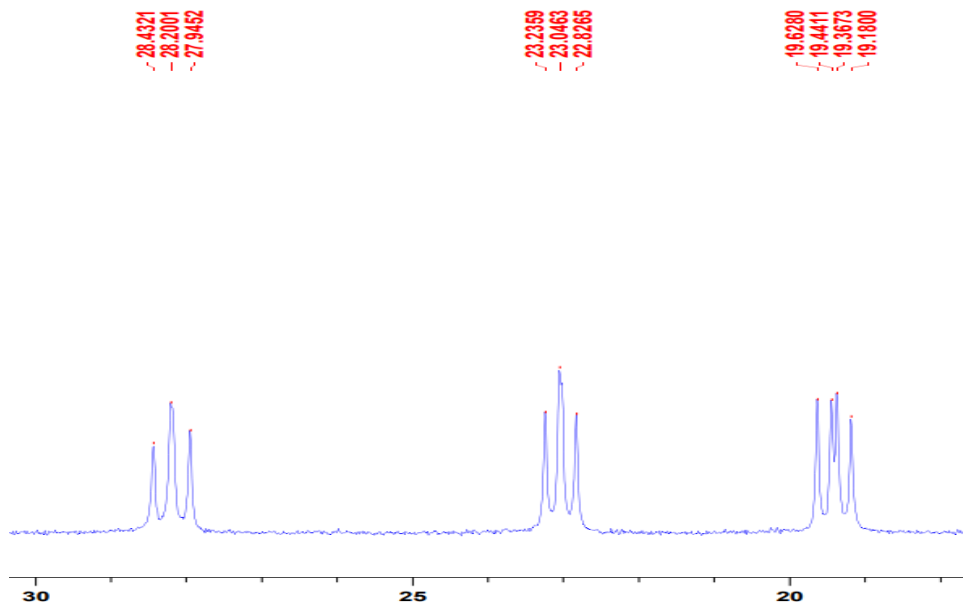


EK 2 ³¹P NMR SPEKTRUMLARI

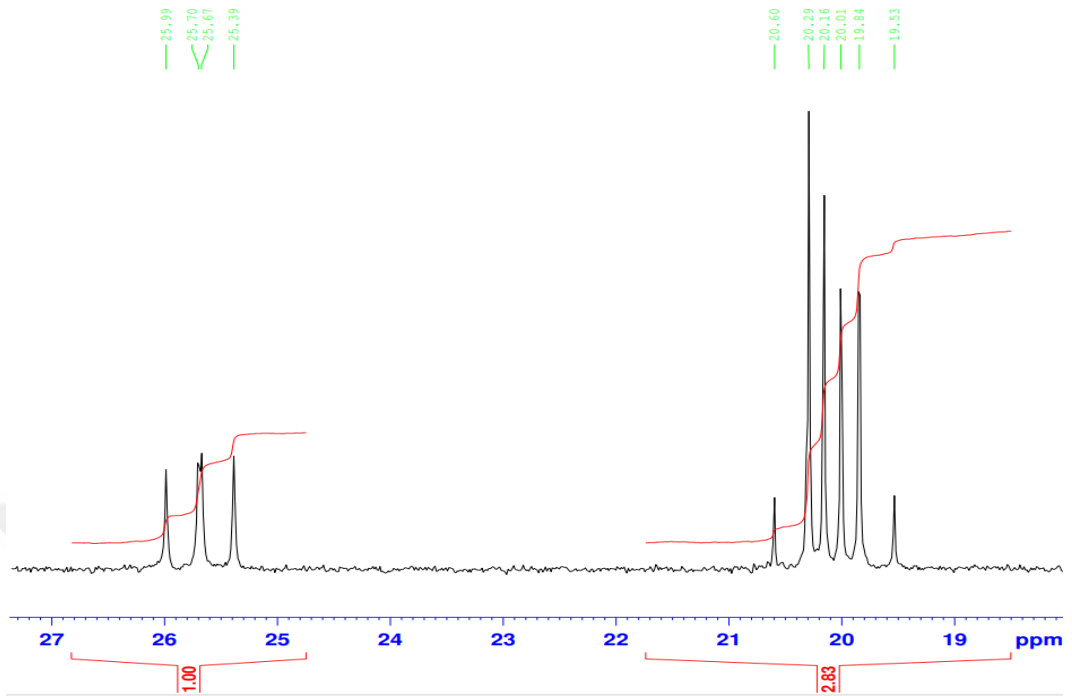
Bileşik 10



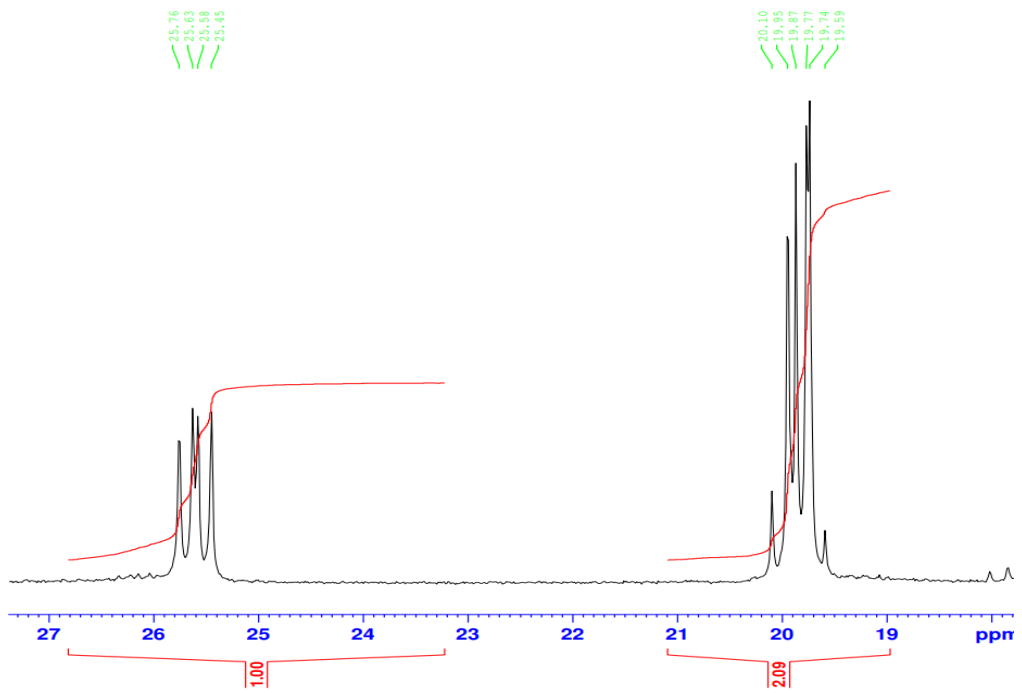
Bileşik 11



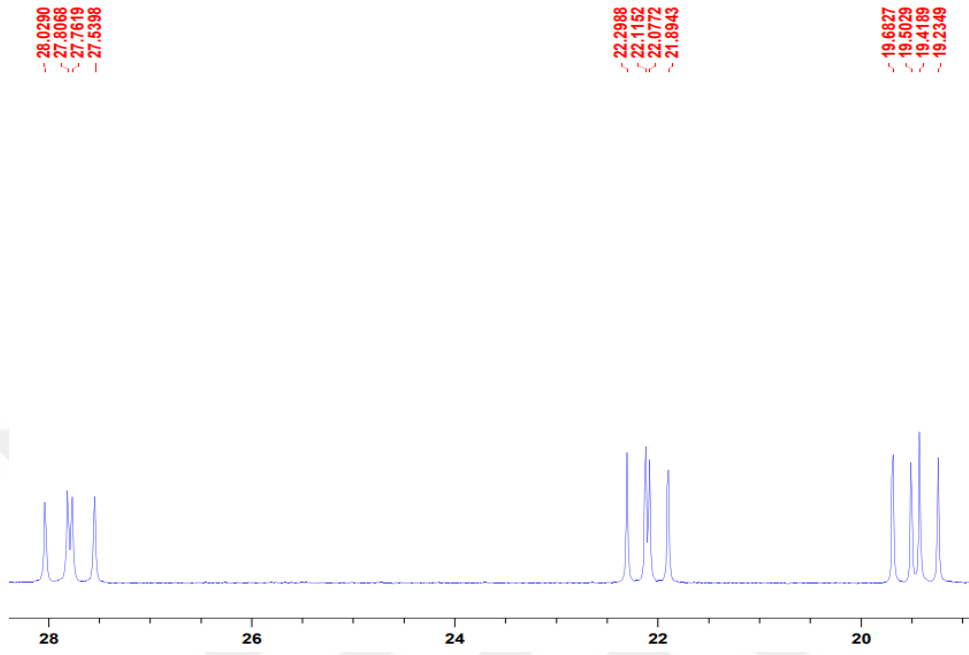
Bileşik 12



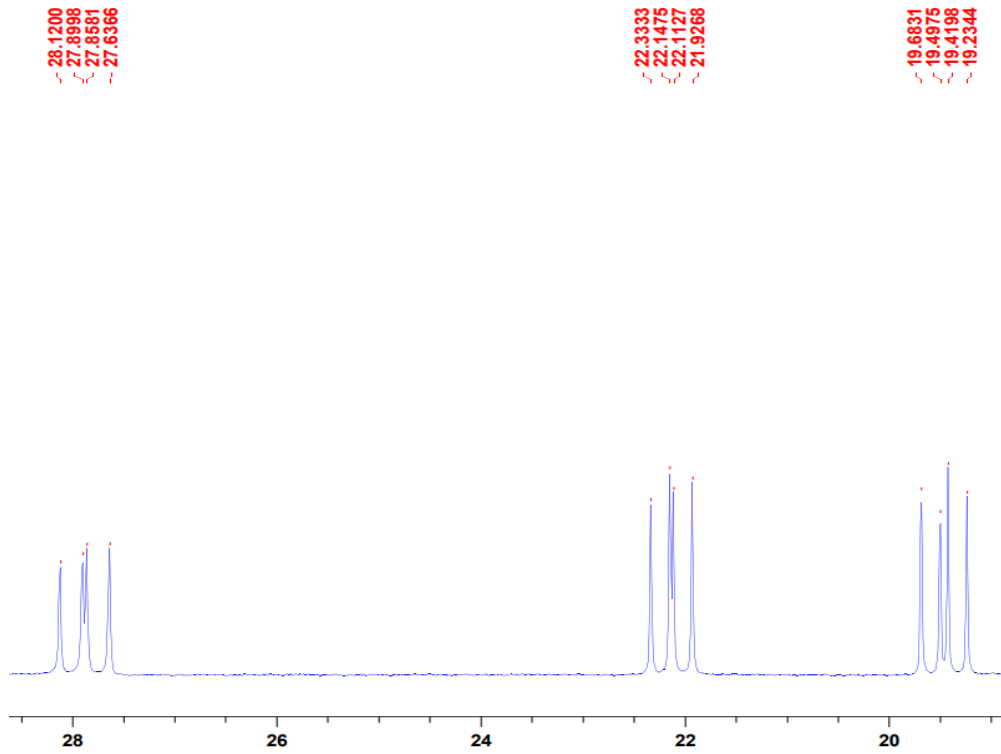
Bileşik 13



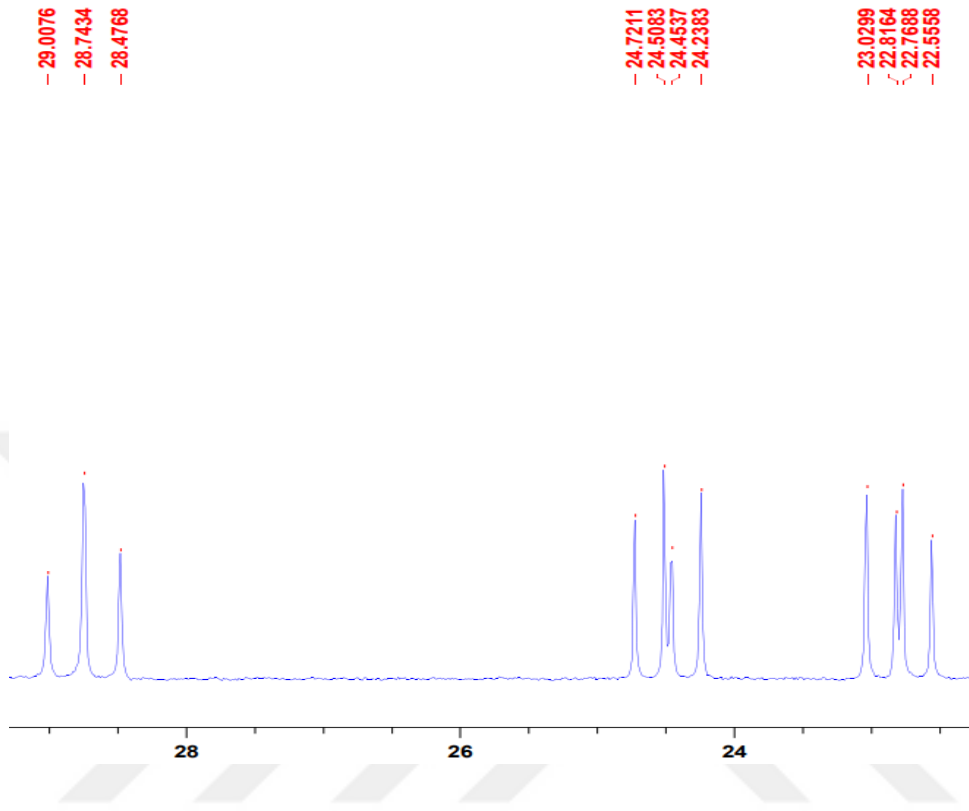
Bileşik 14



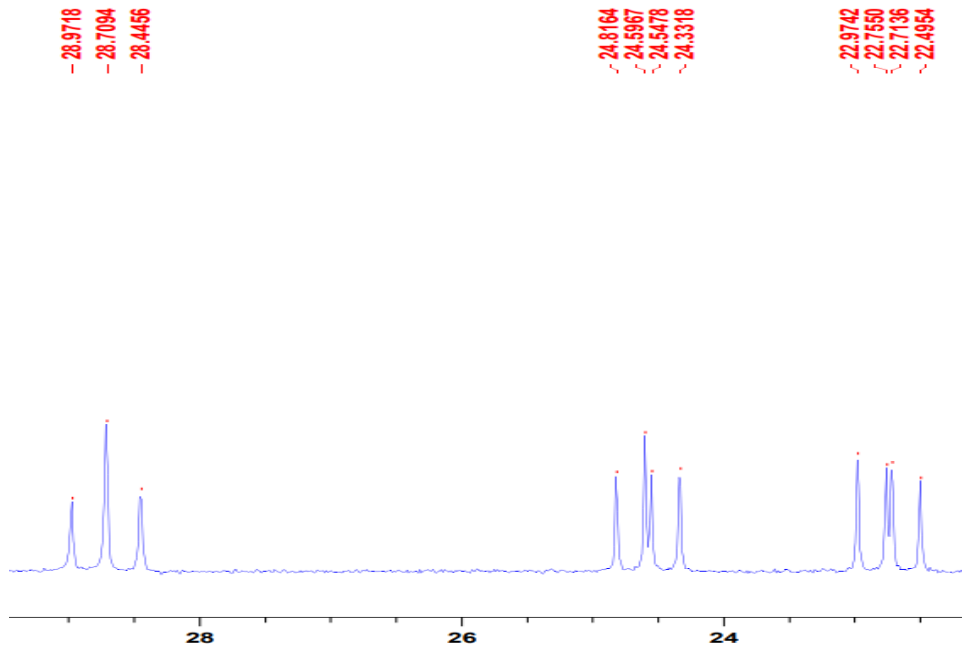
Bileşik 15



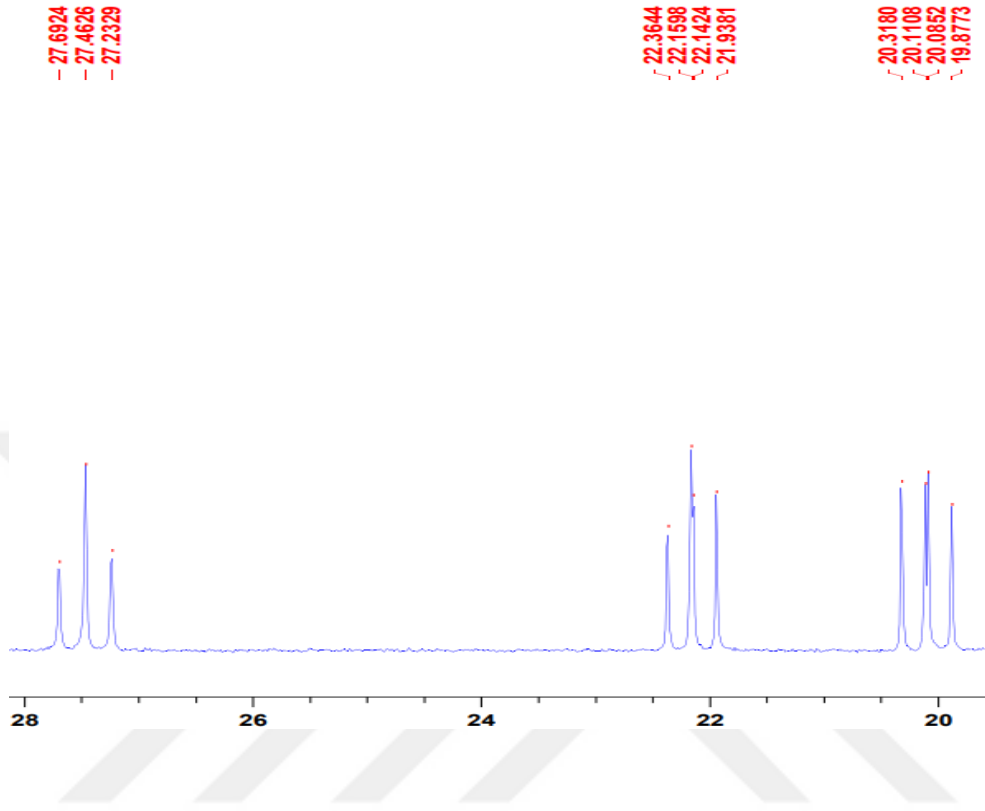
Bileşik 16



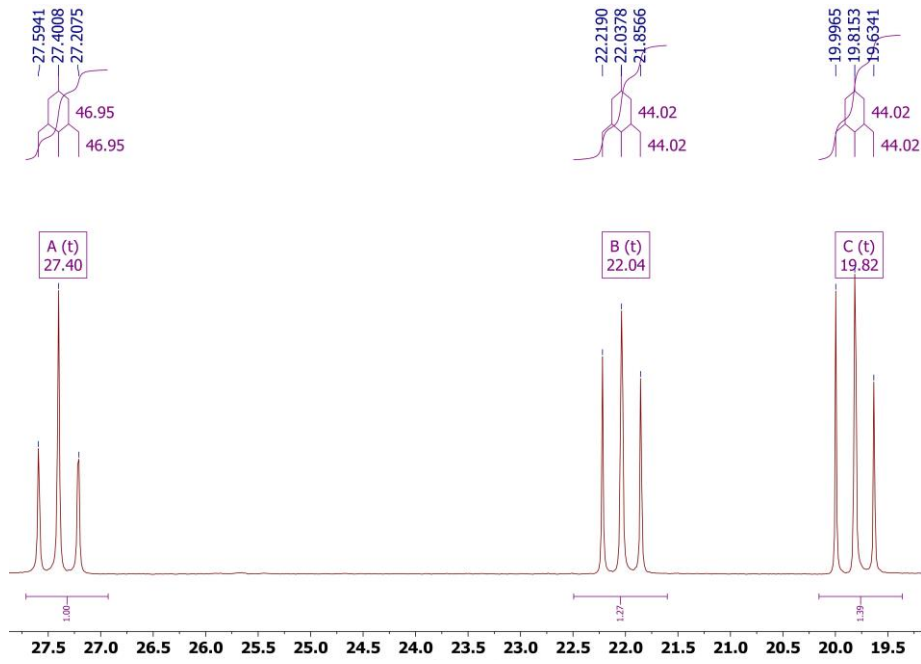
Bileşik 17



Bileşik 18



Bileşik 19

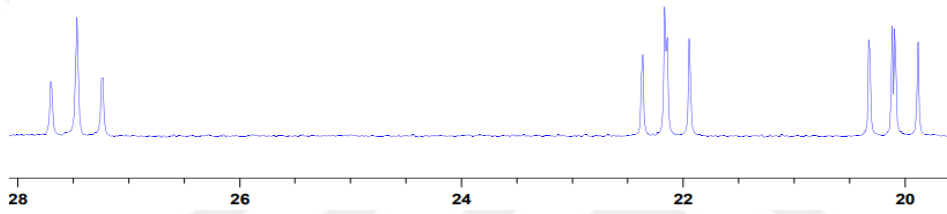


Bileşik 20

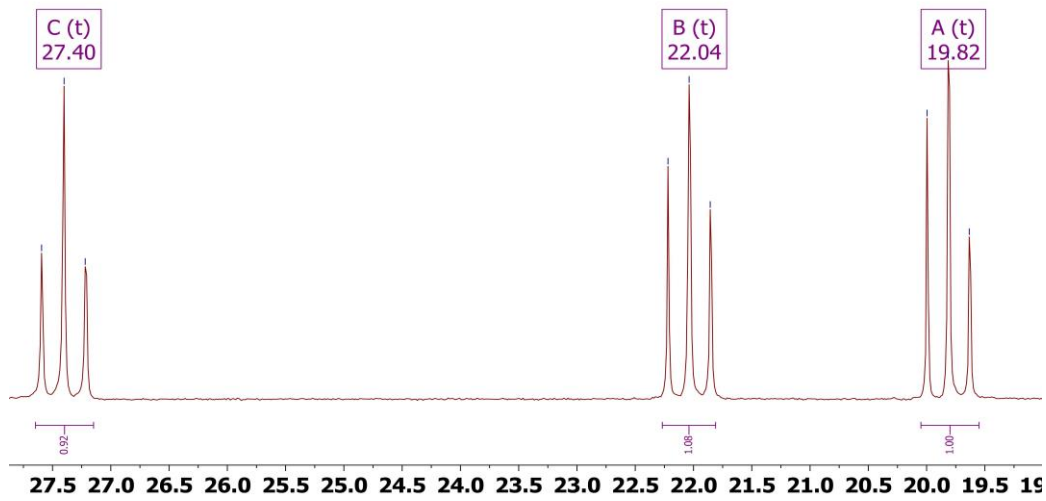
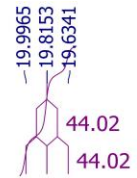
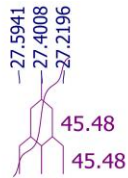
- 27.6933
- 27.4630
- 27.2338

- 22.3629
- 22.1597
- 22.1415
- 21.9375

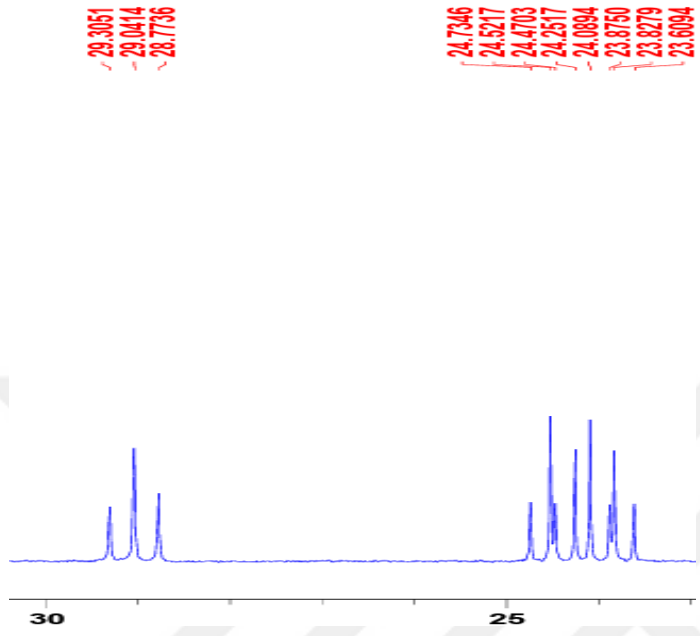
- 20.3166
- 20.1106
- 20.0646
- 19.8770



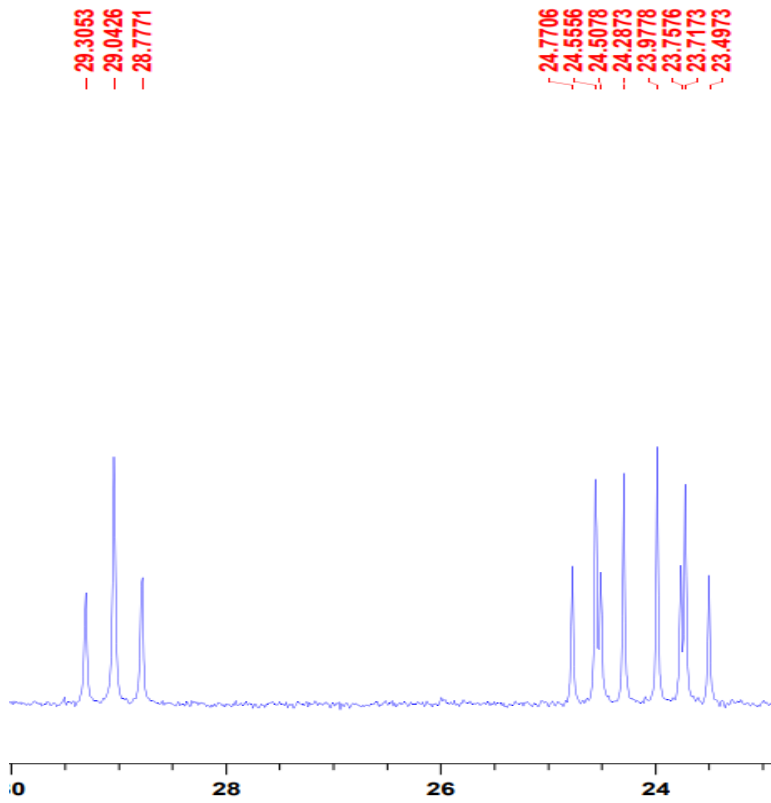
Bileşik 21



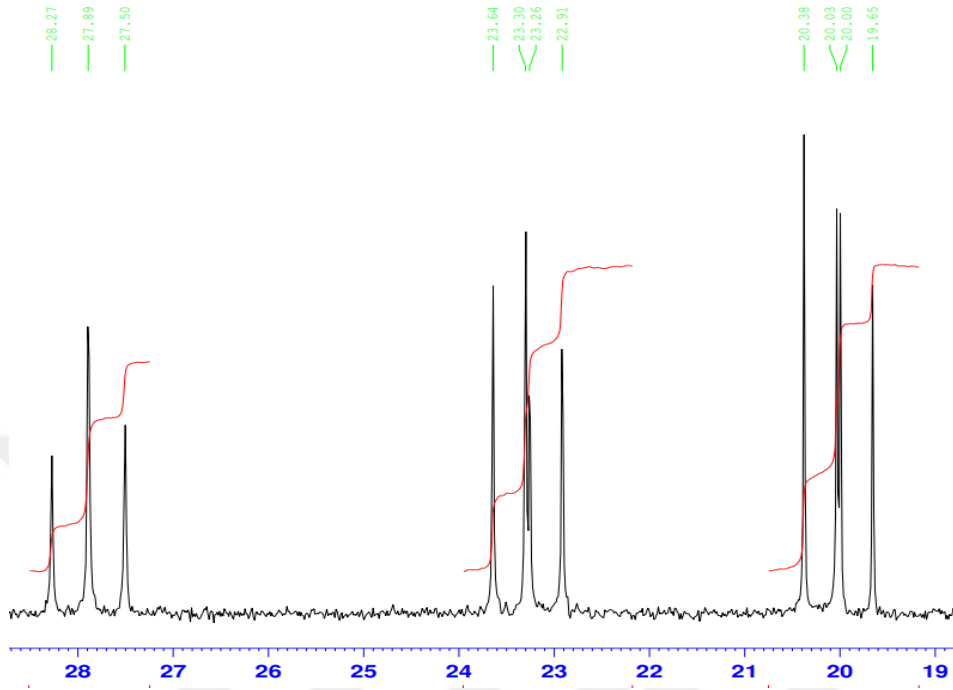
Bileşik 22



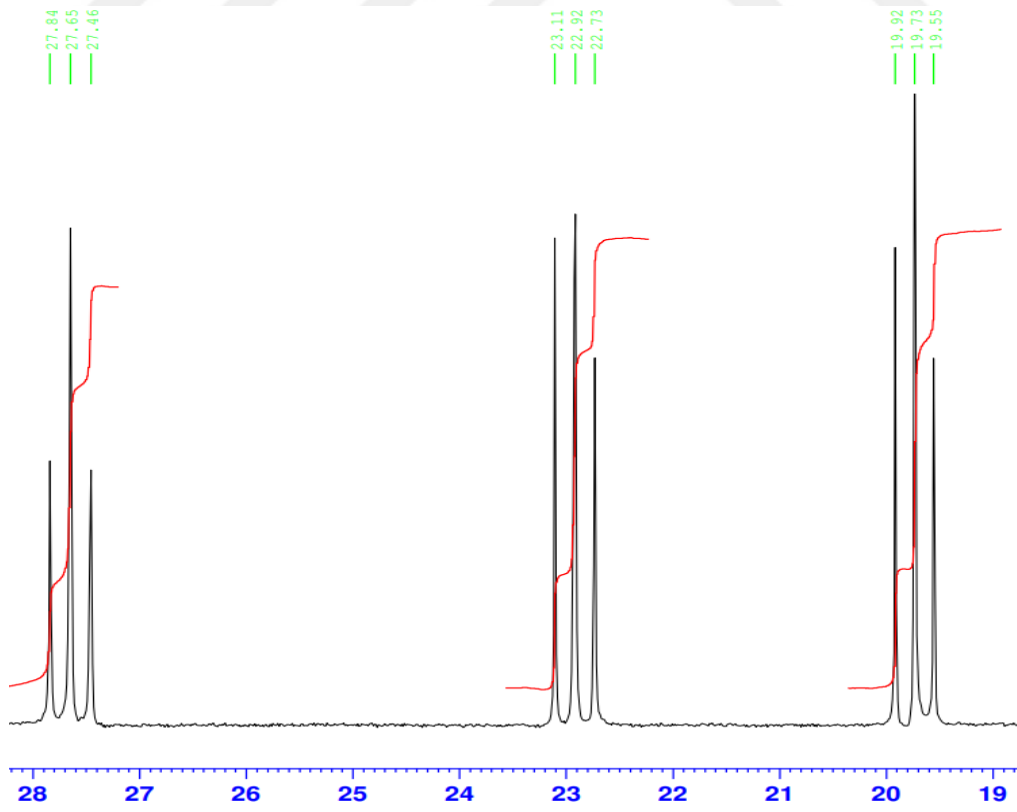
Bileşik 23



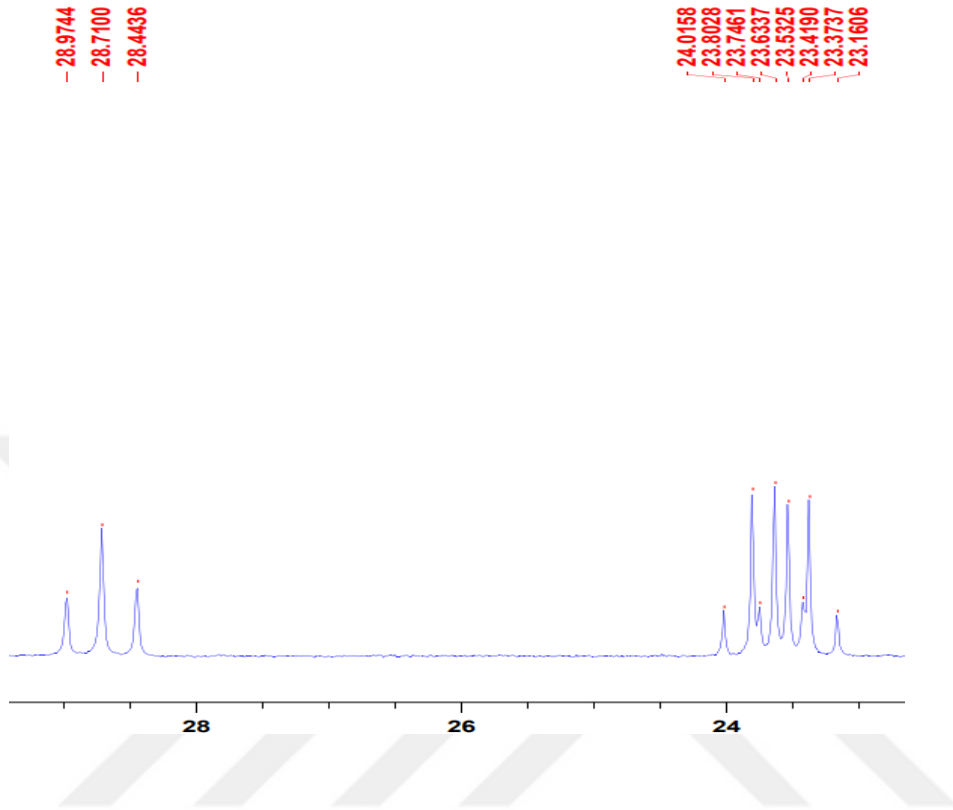
Bileşik 24



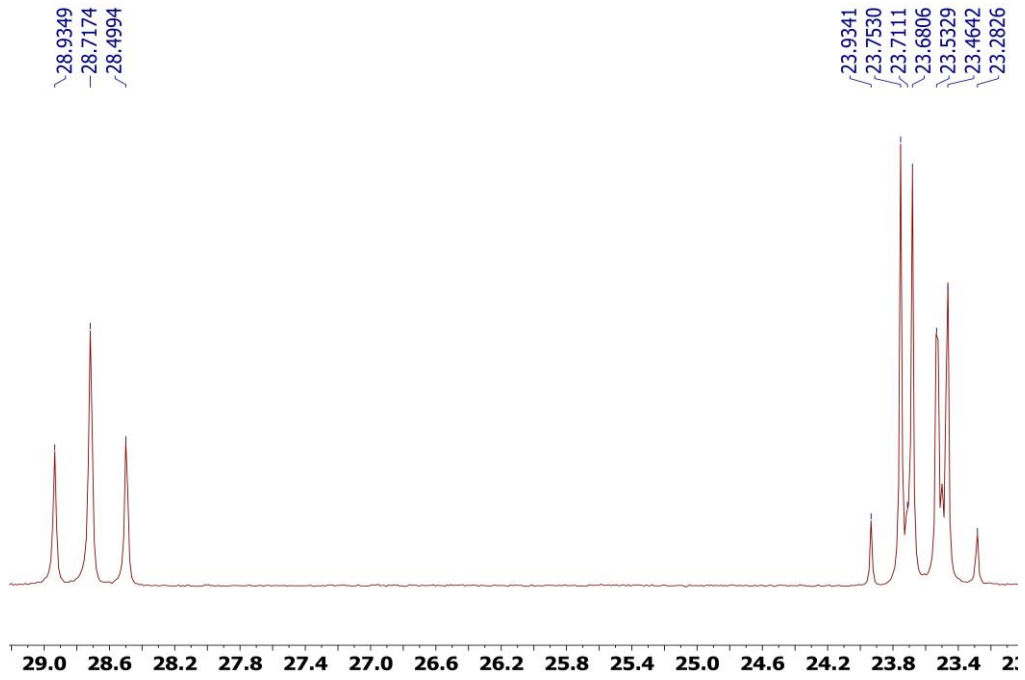
Bileşik 25



Bileşik 26

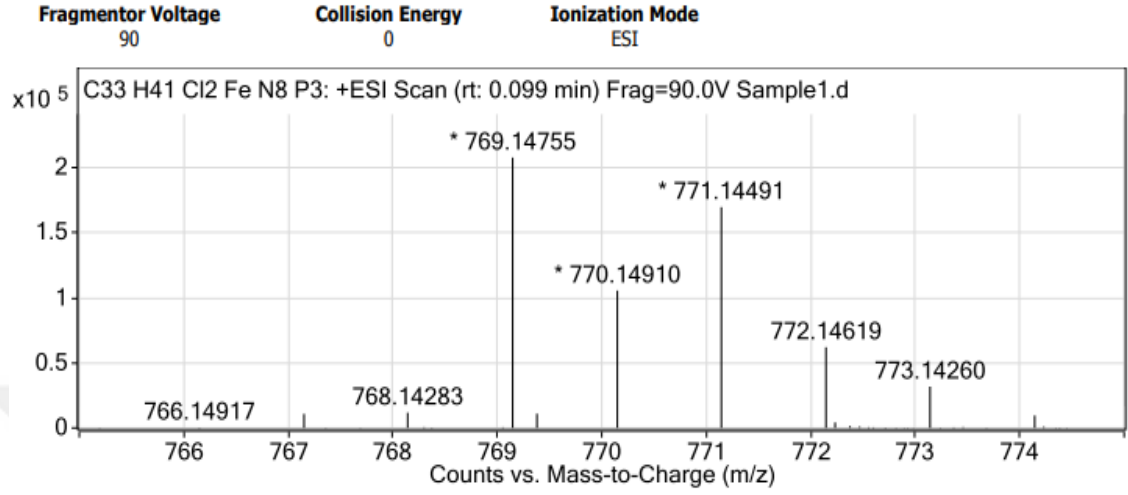


Bileşik 27

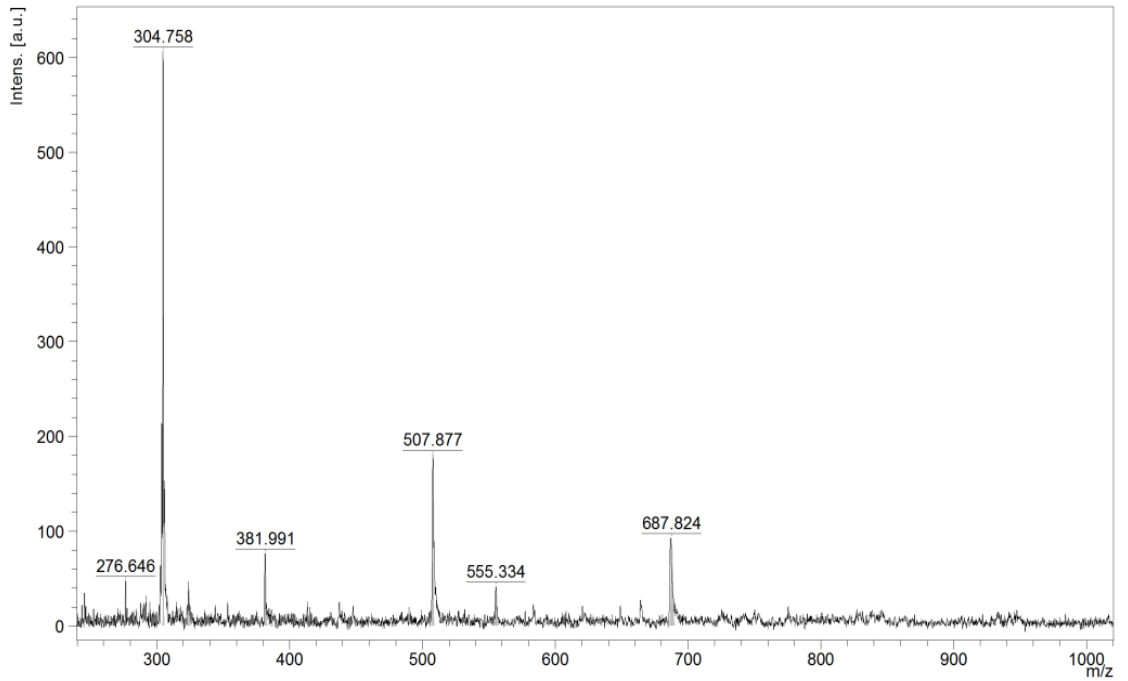


EK 3 KÜTLE SPEKTRUMLARI

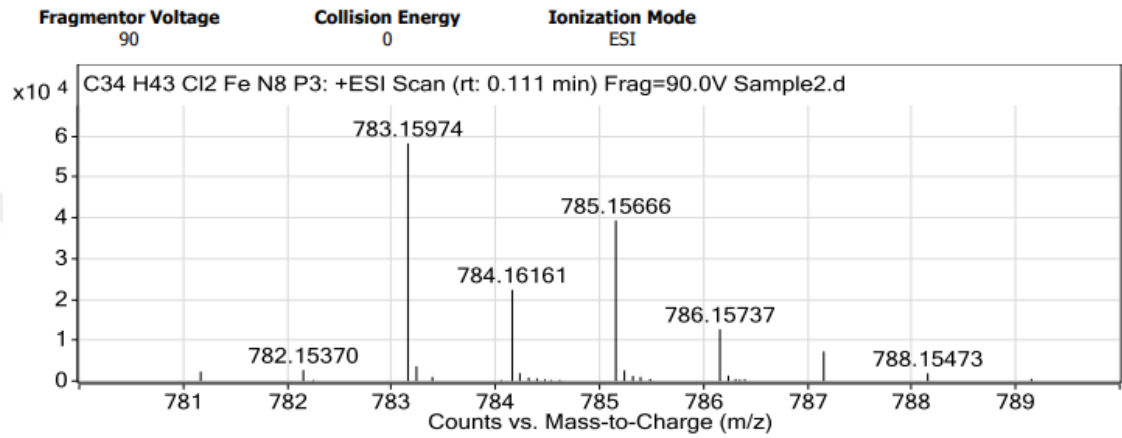
Bileşik 10



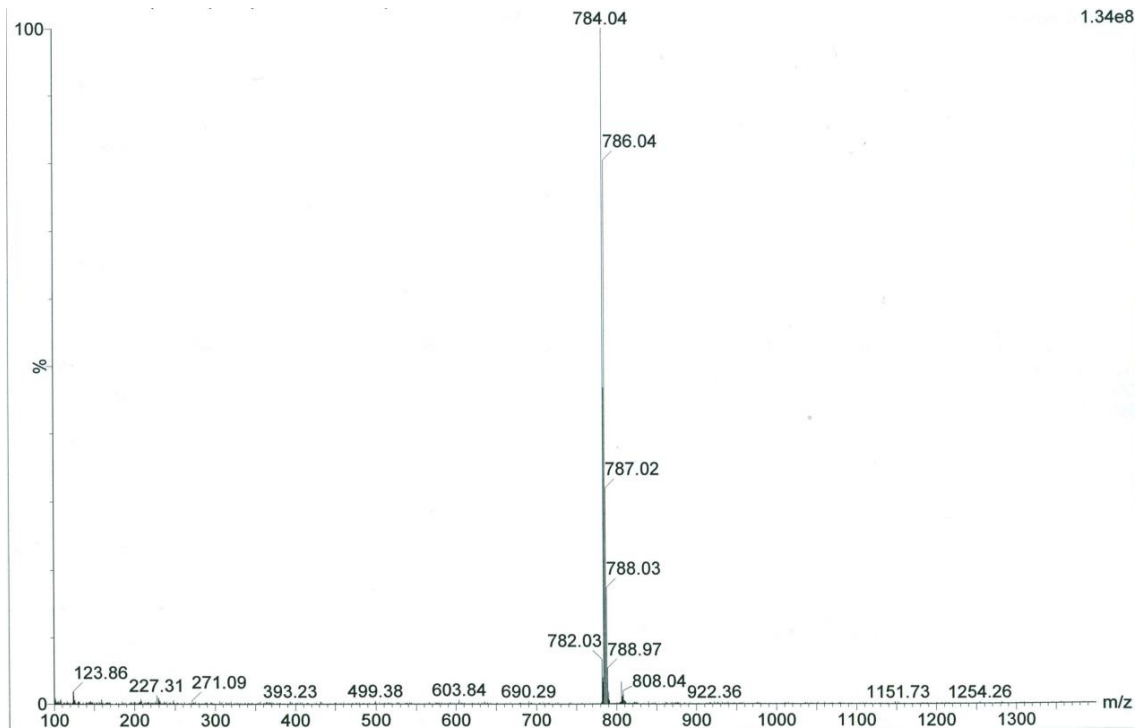
Bileşik 11



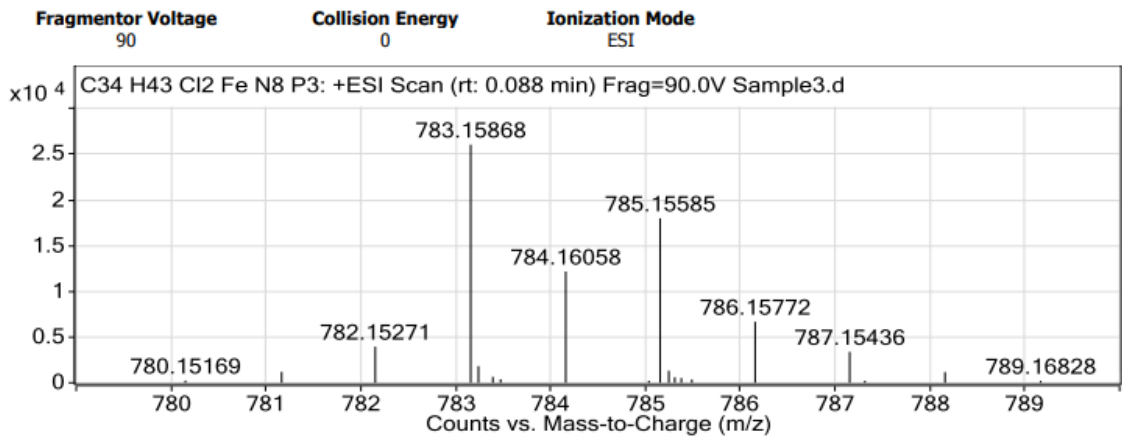
Bileşik 12



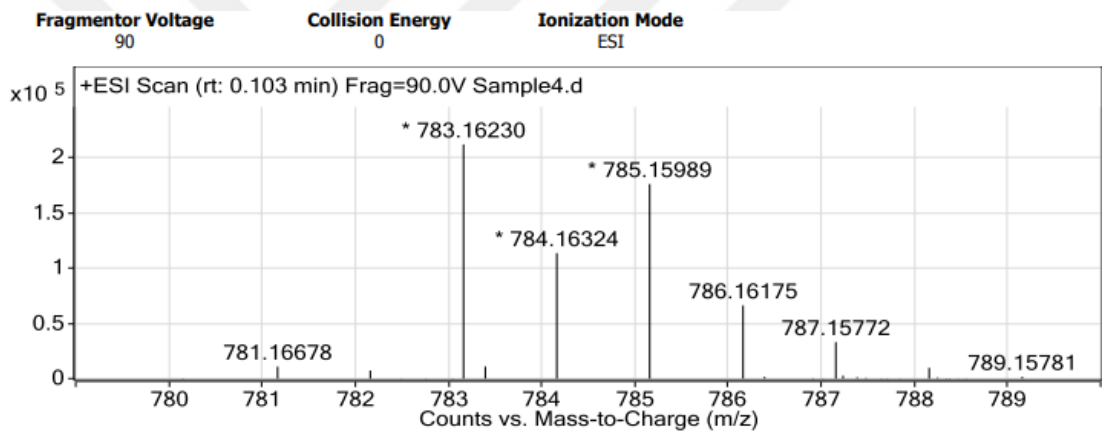
Bileşik13



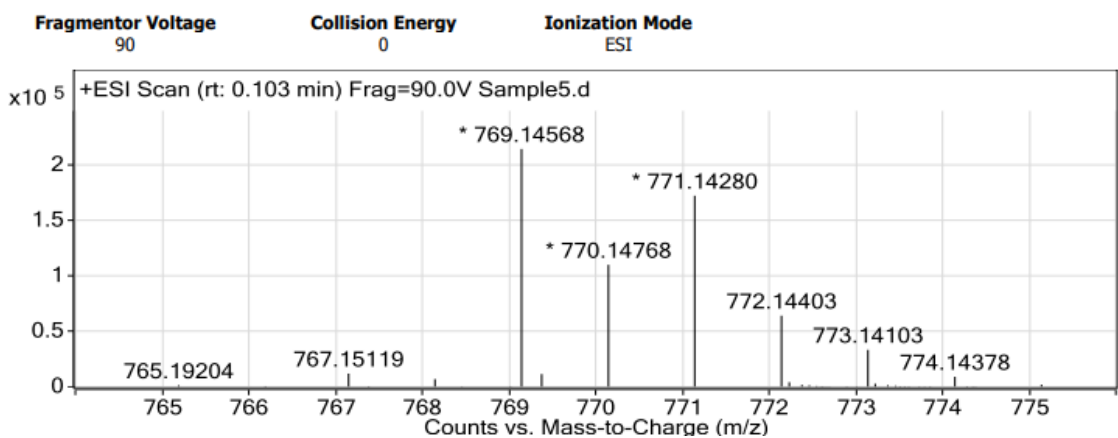
Bileşik 14



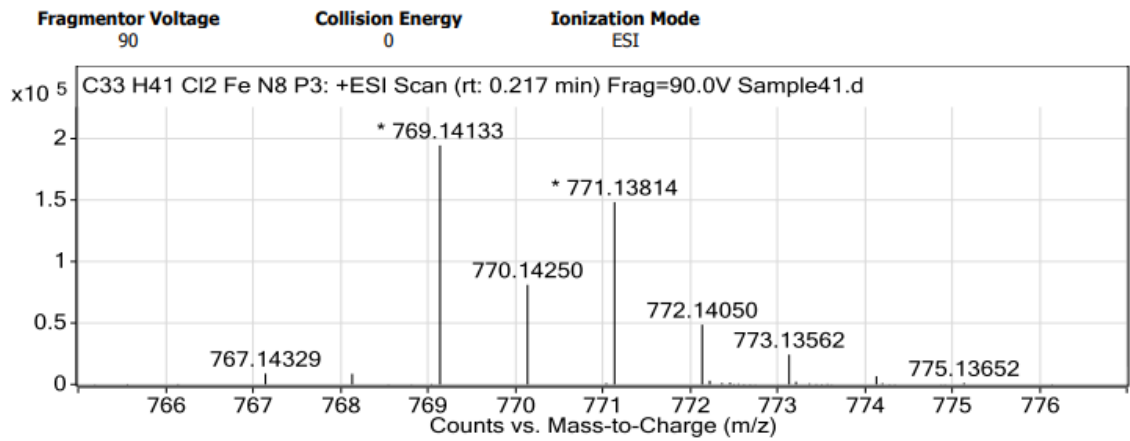
Bileşik15



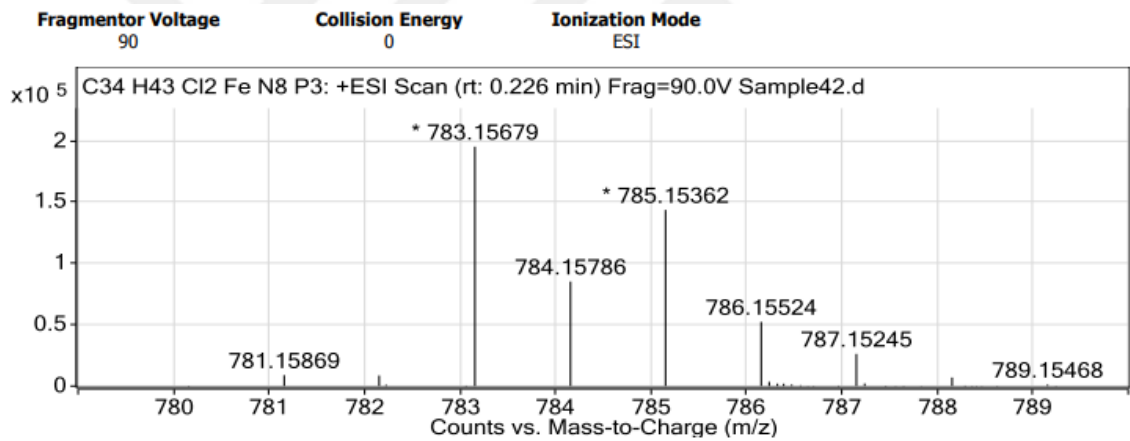
Bileşik 16



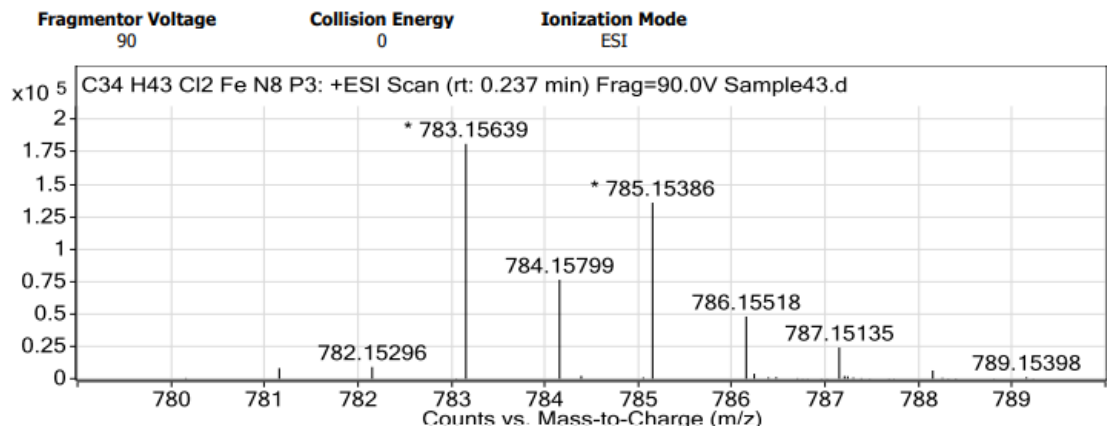
Bileşik 17



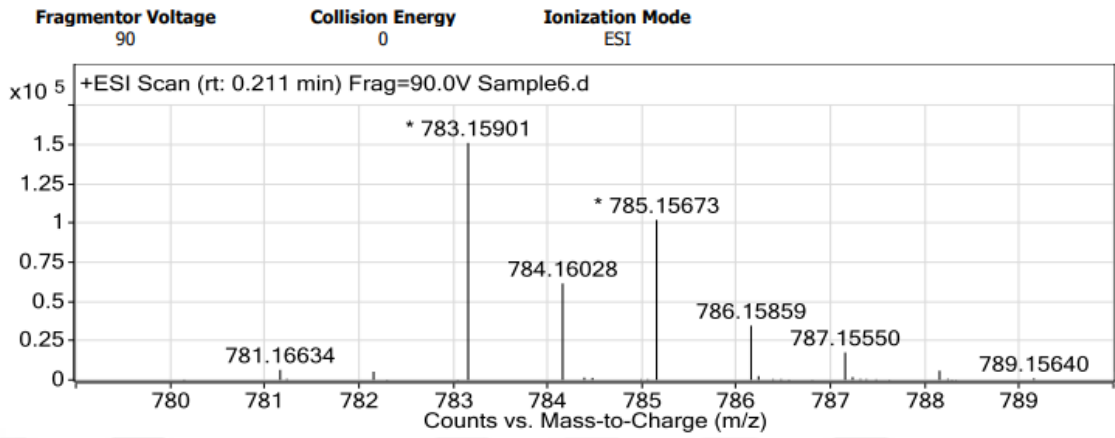
Bileşik 18



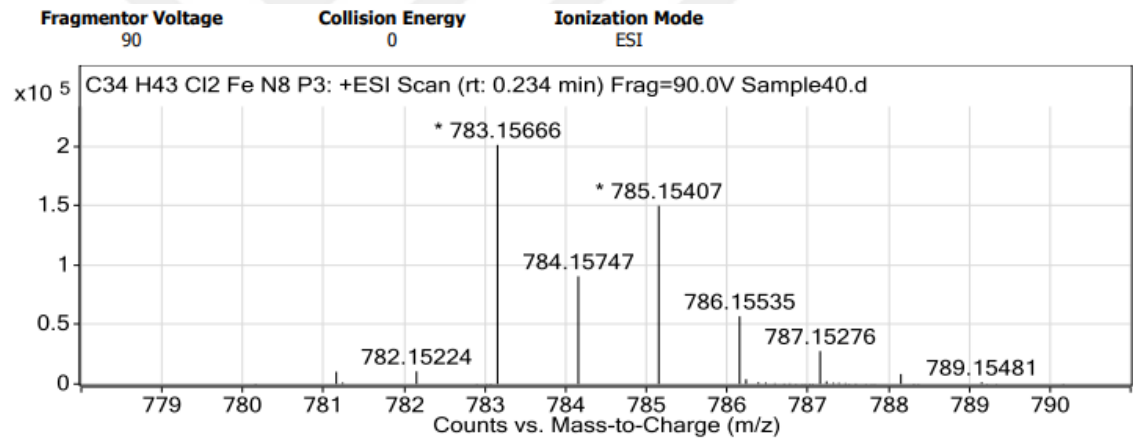
Bileşik 19



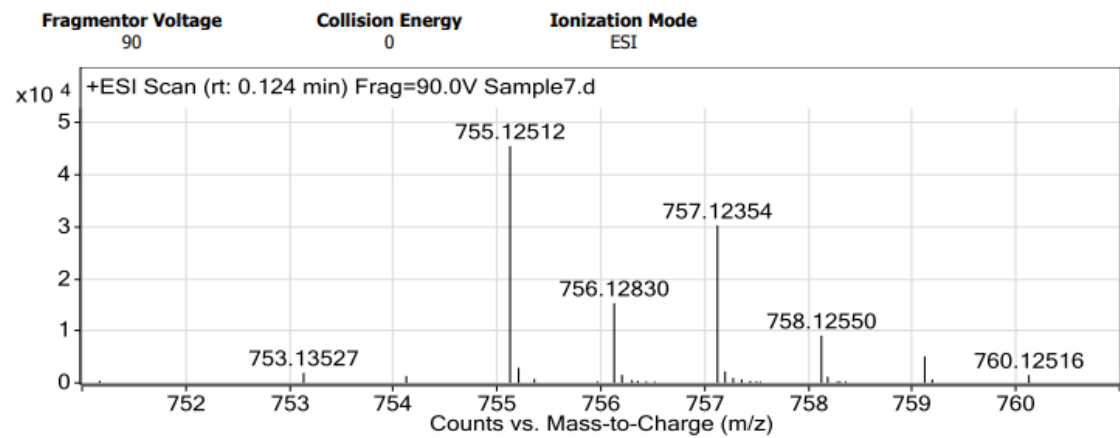
Bileşik 20



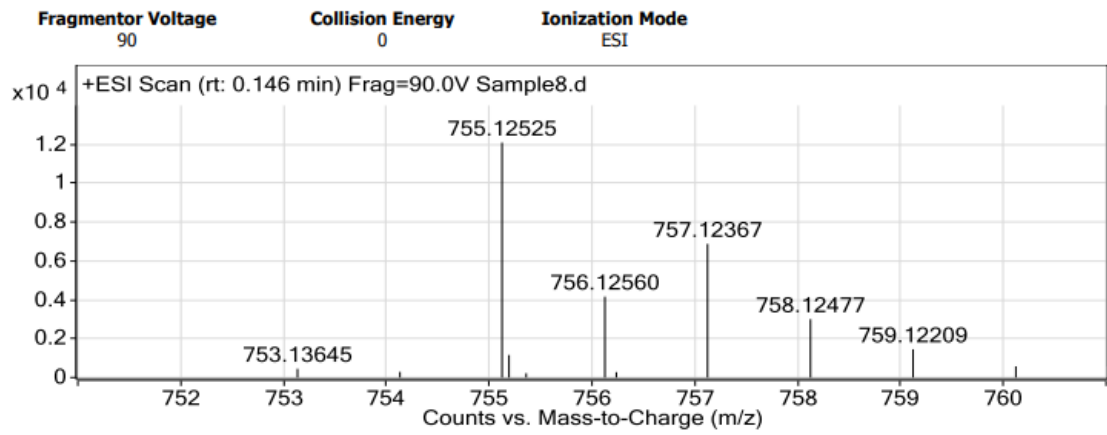
Bileşik 21



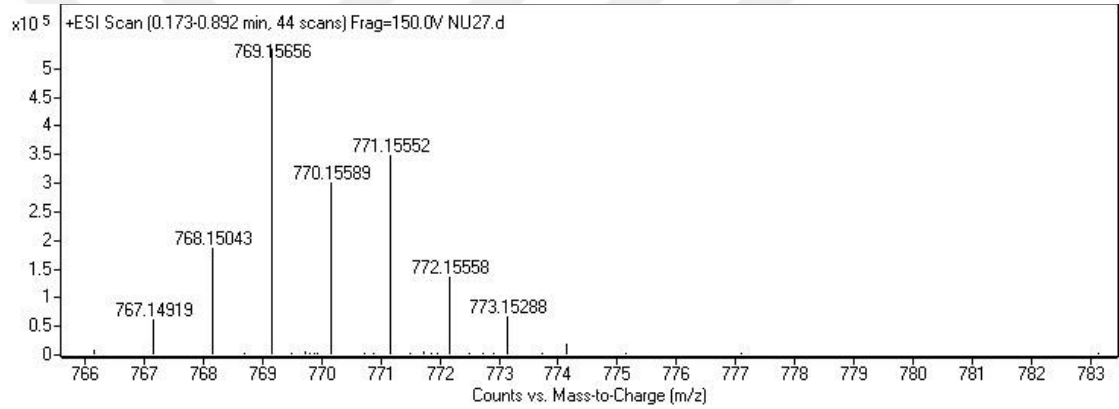
Bileşik 22



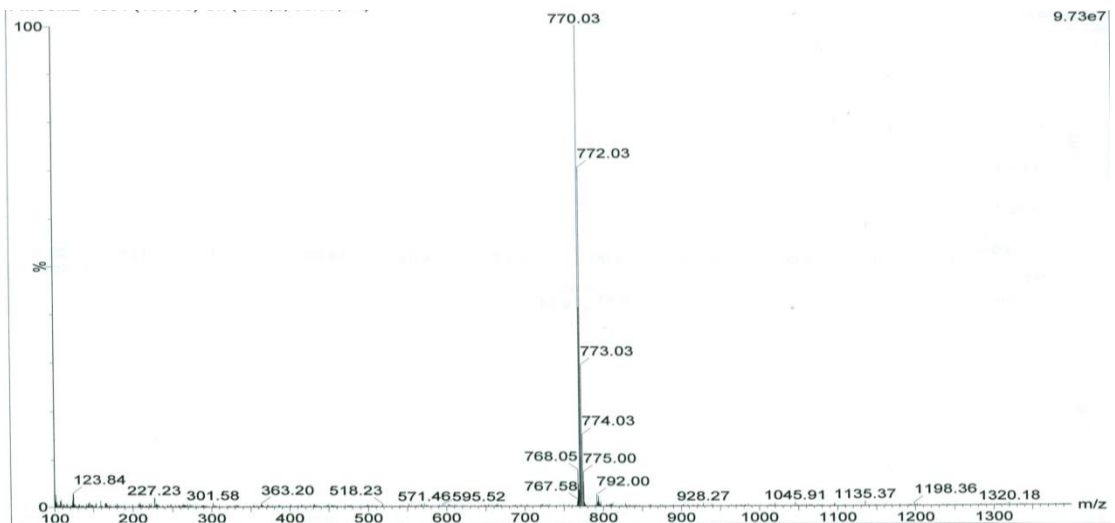
Bileşik 23



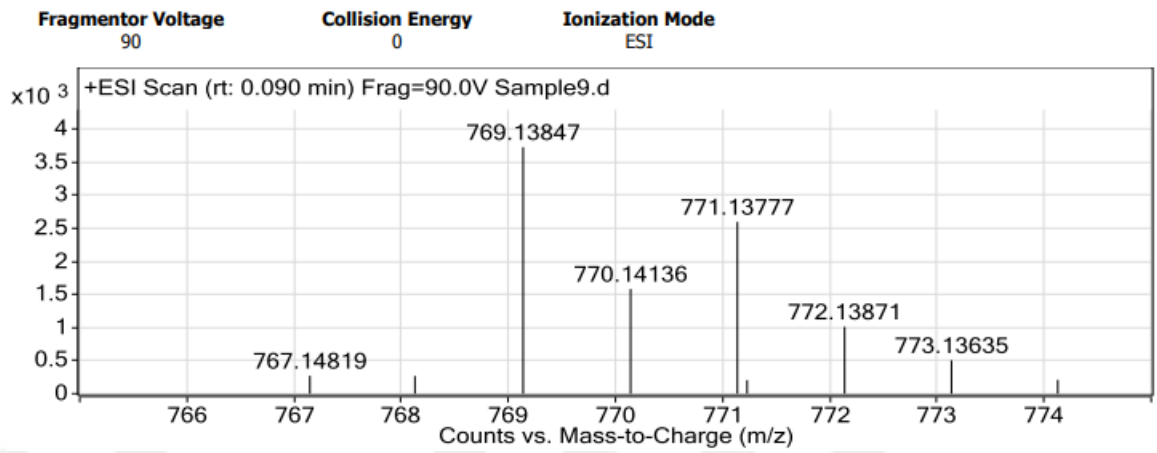
Bileşik 24



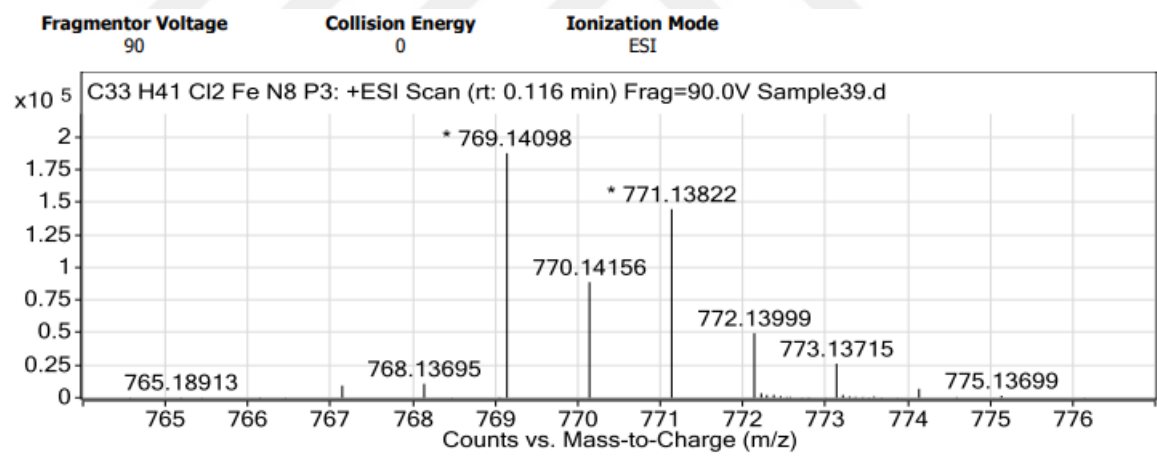
Bileşik 25



Bileşik 26

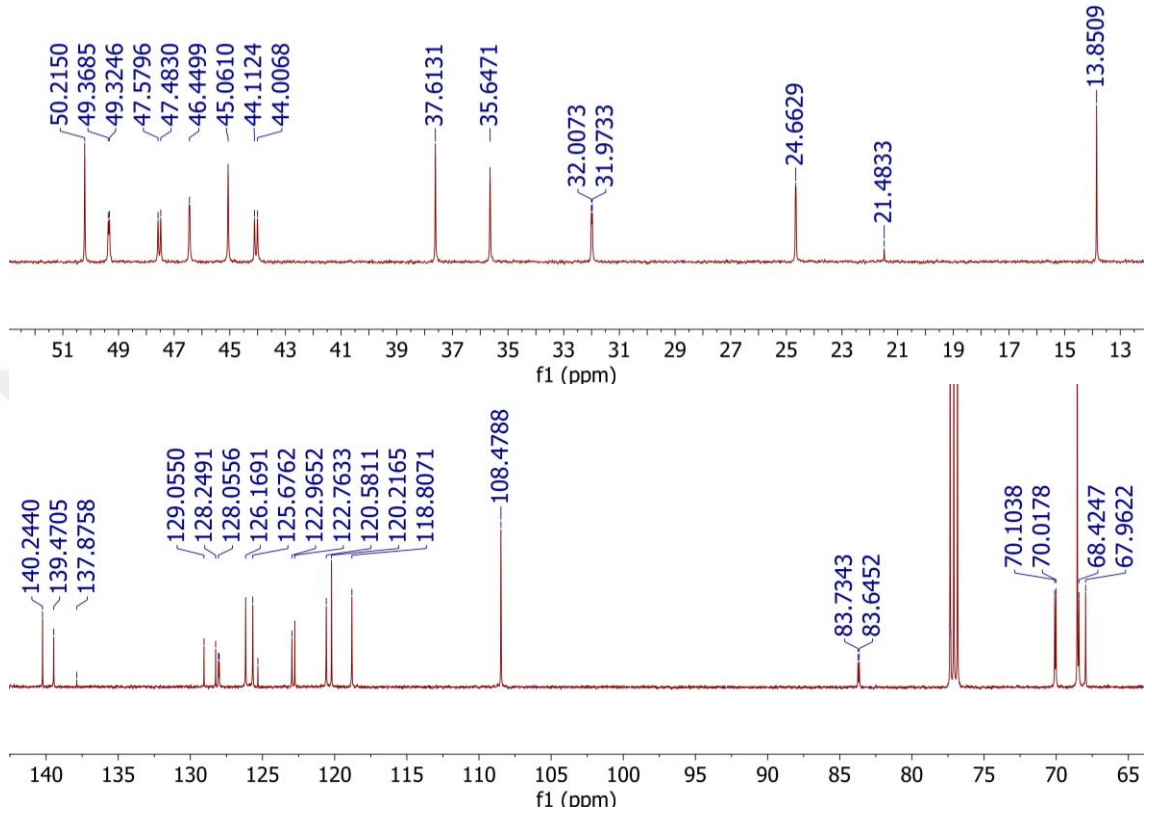


Bileşik 27

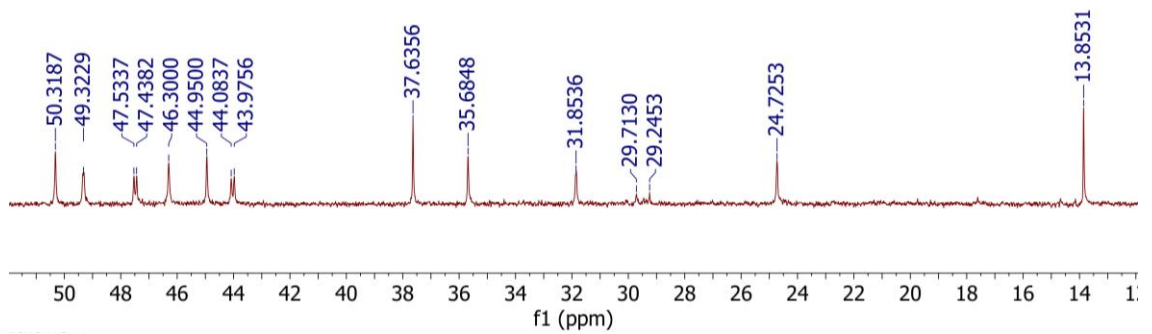


EK 4 ¹³C NMR SPEKTRUMLARI

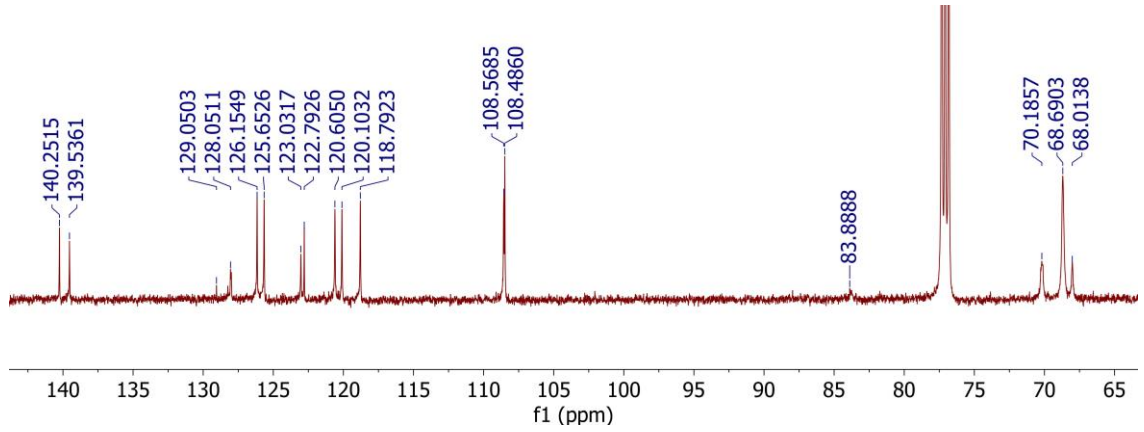
Bileşik 10



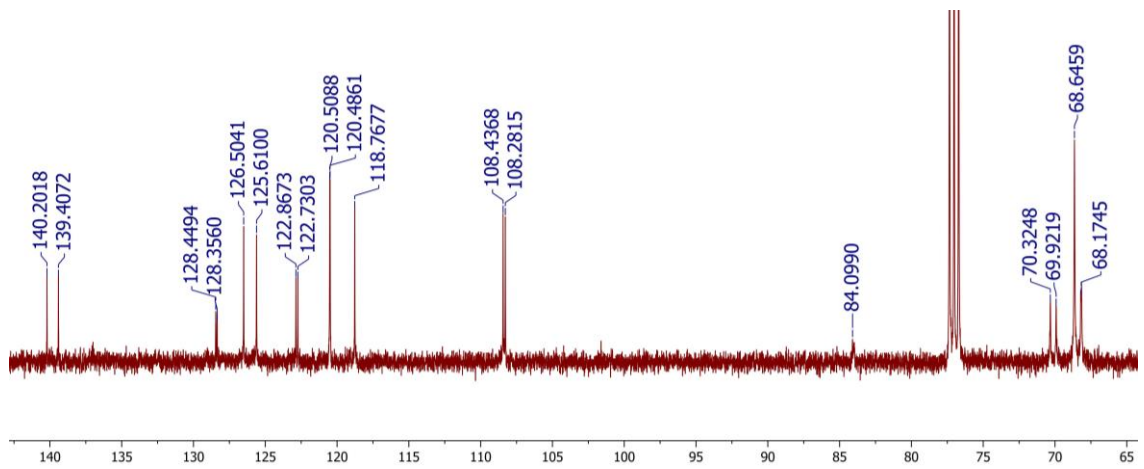
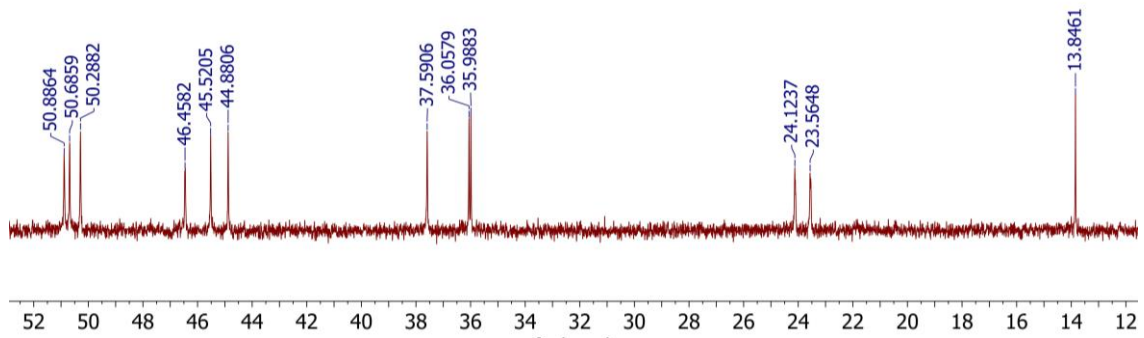
Bileşik 11



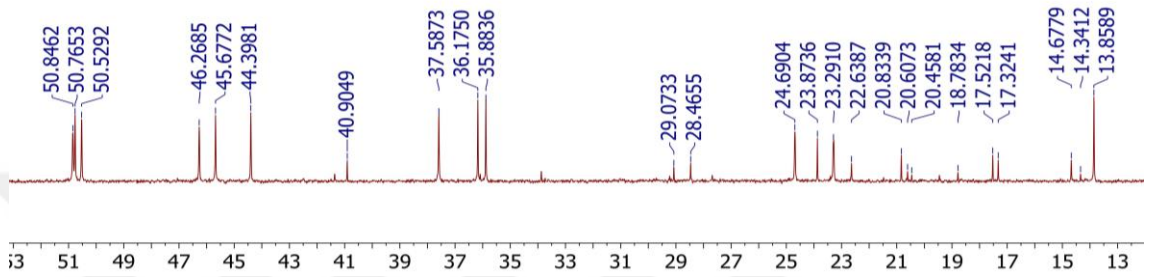
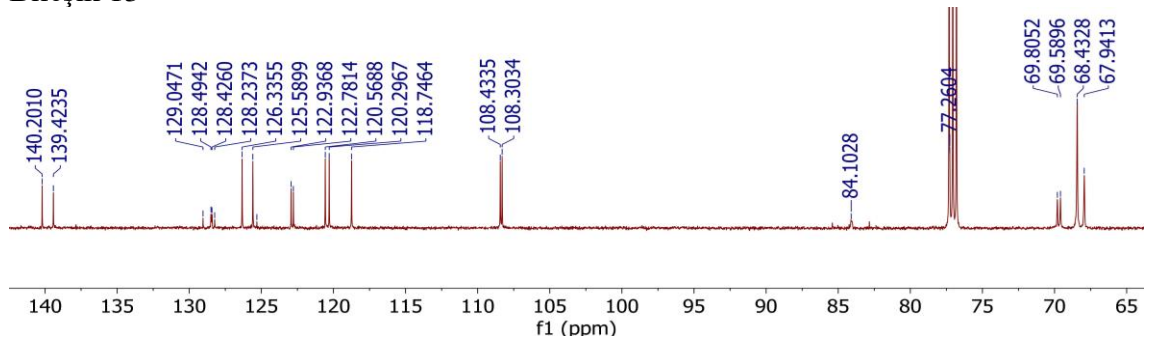
Bileşik 11 (devamı)



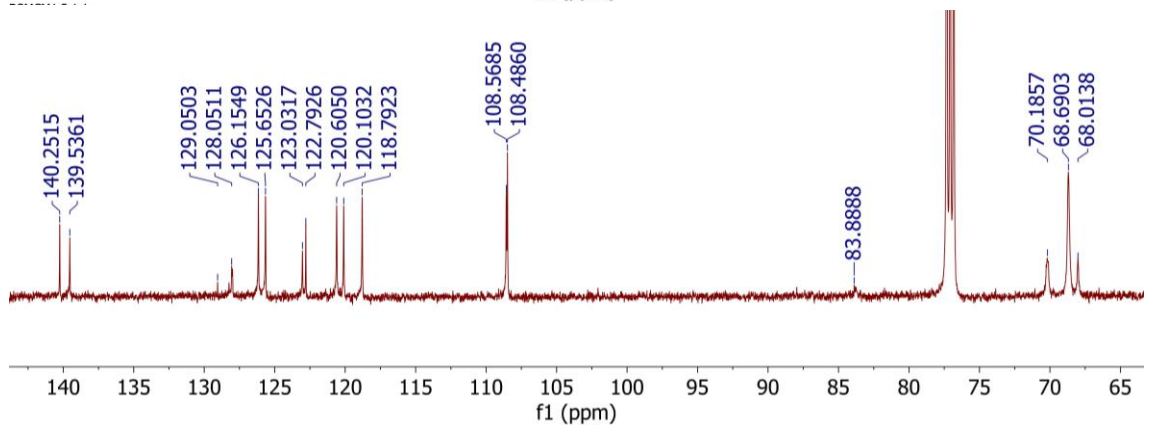
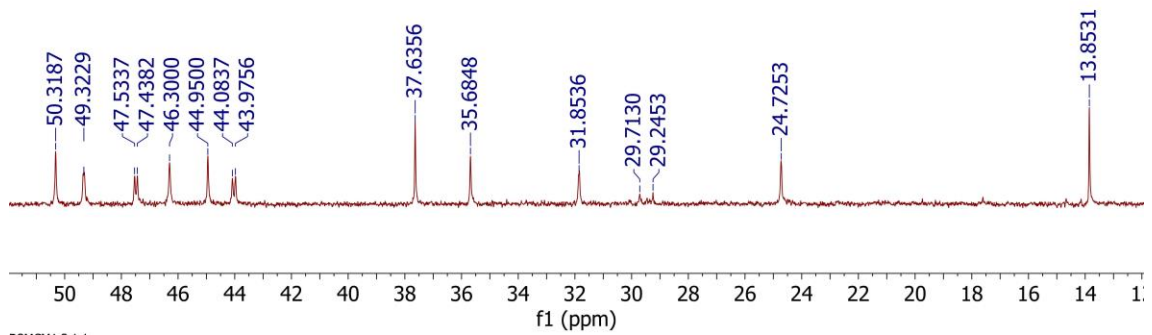
Bileşik 12



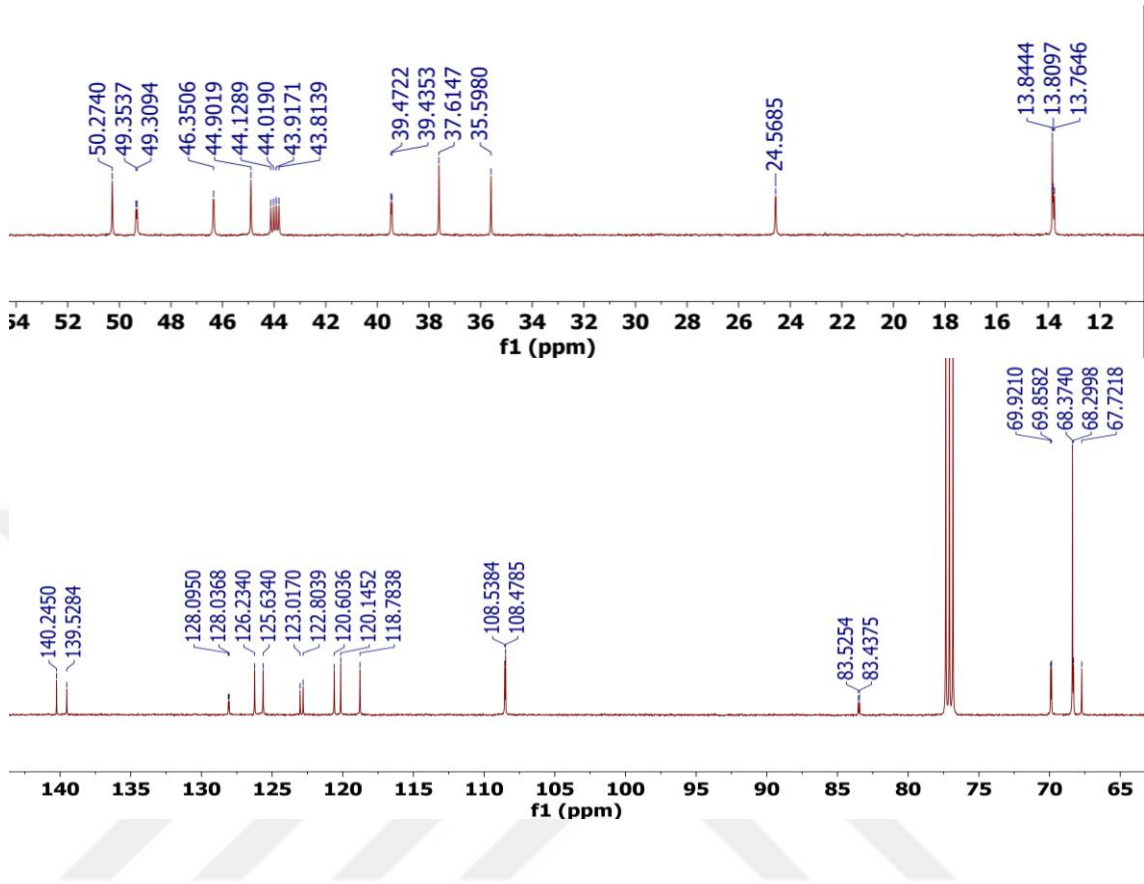
Bileşik 13



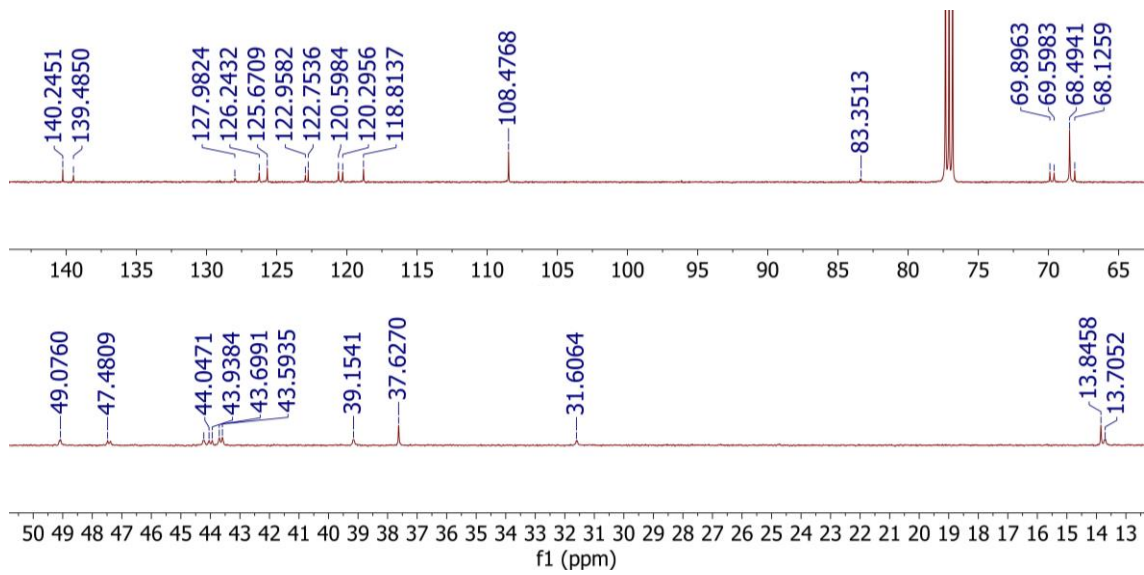
Bileşik 14



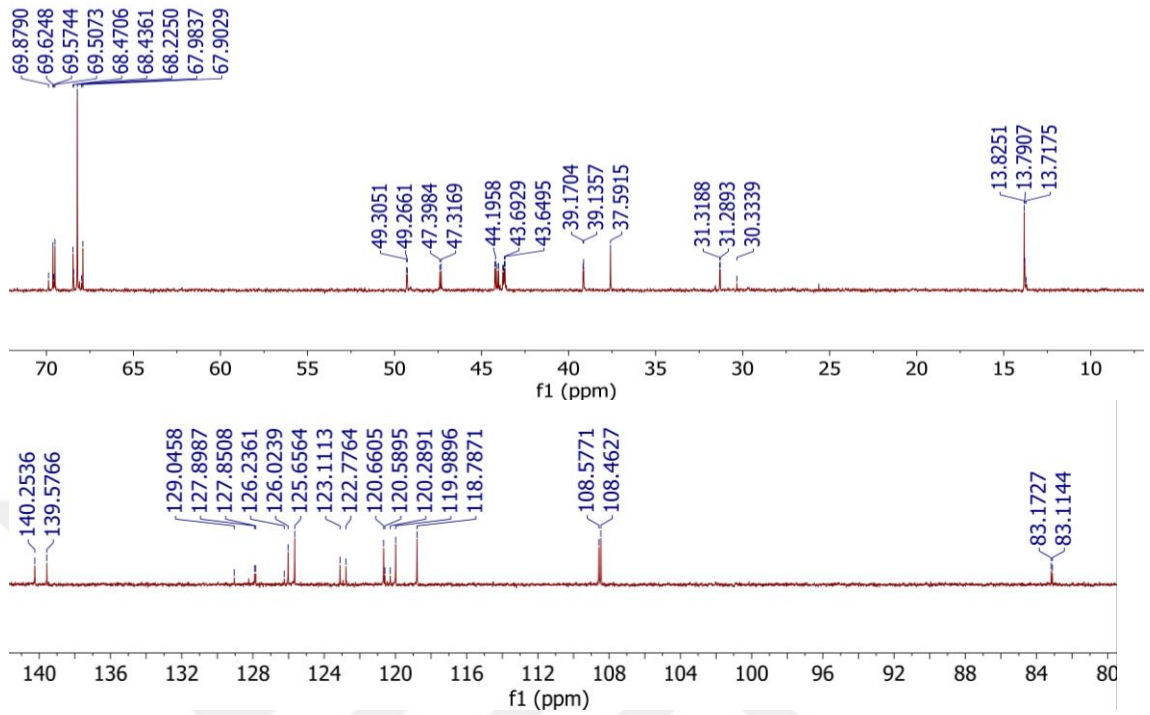
Bileşik 15



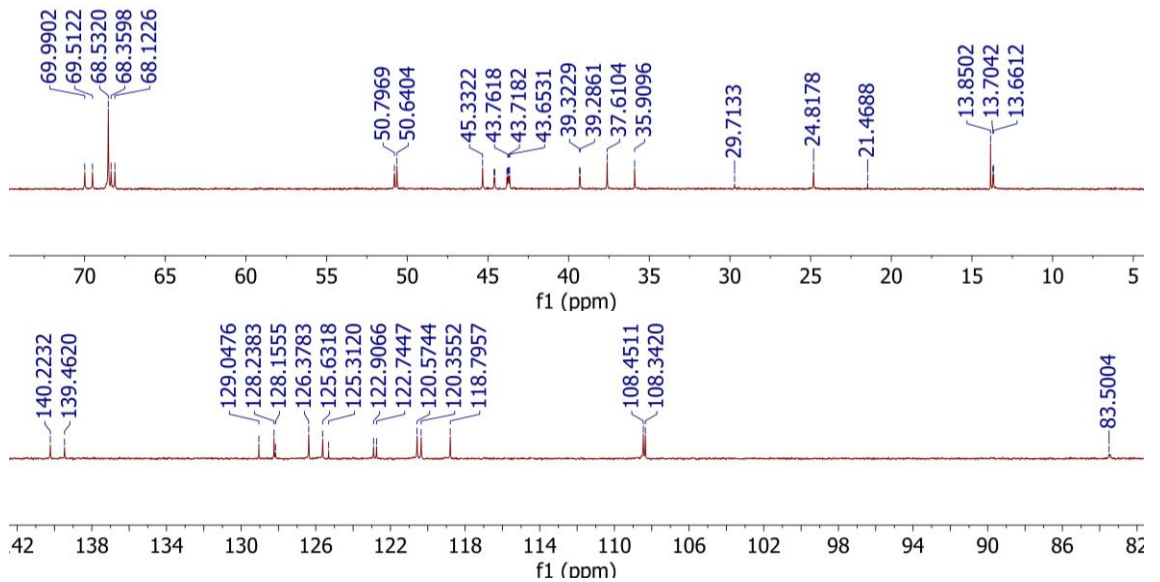
Bileşik 16



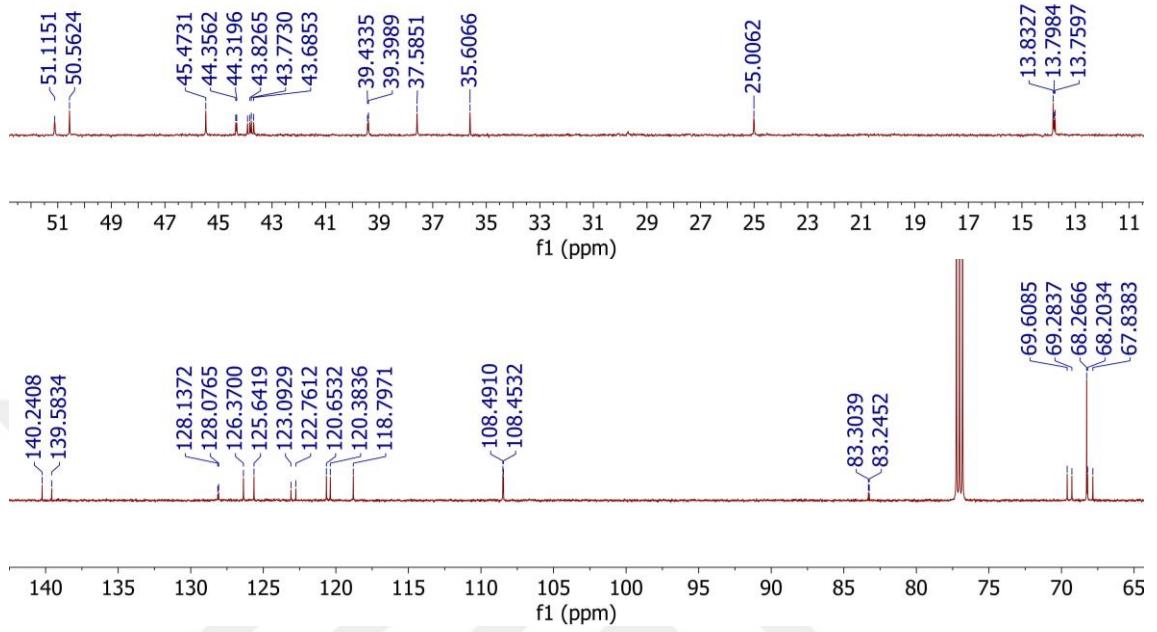
Bileşik 17



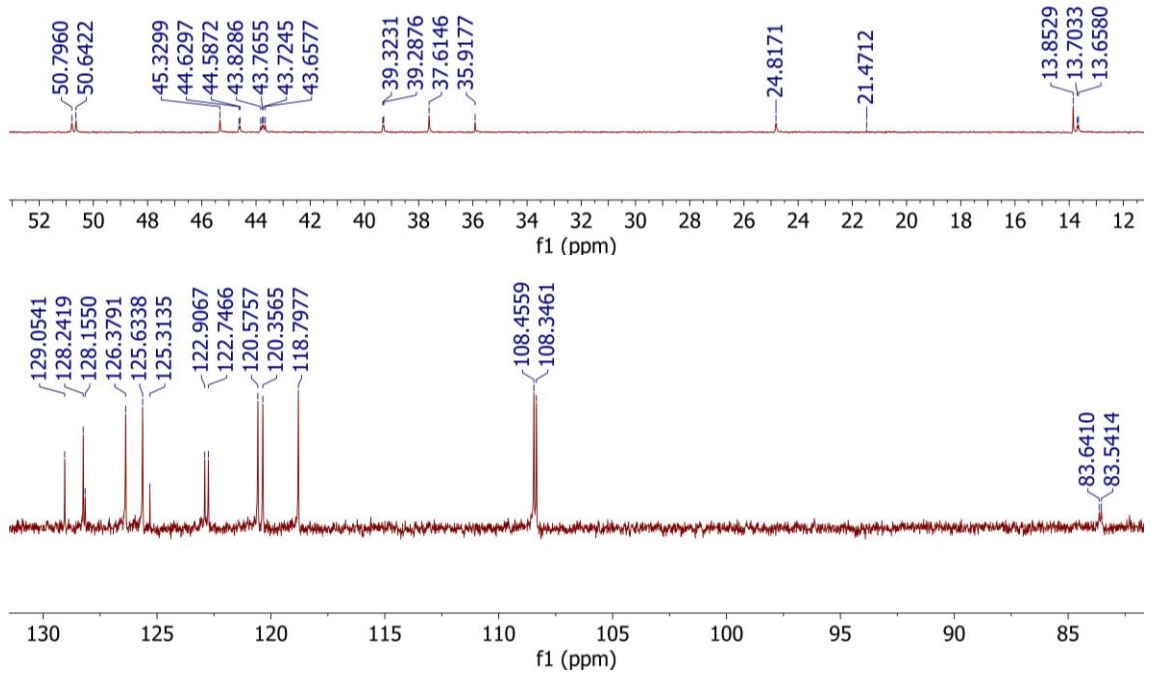
Bileşik 18



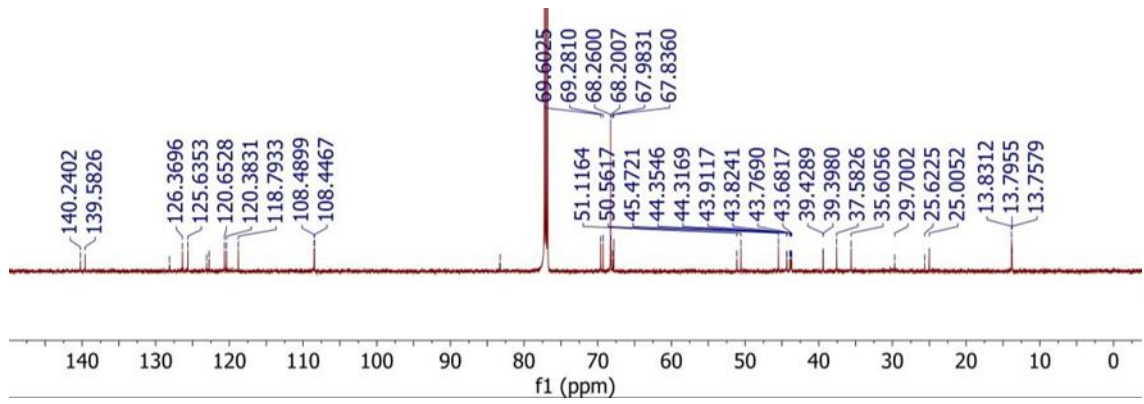
Bileşik 19



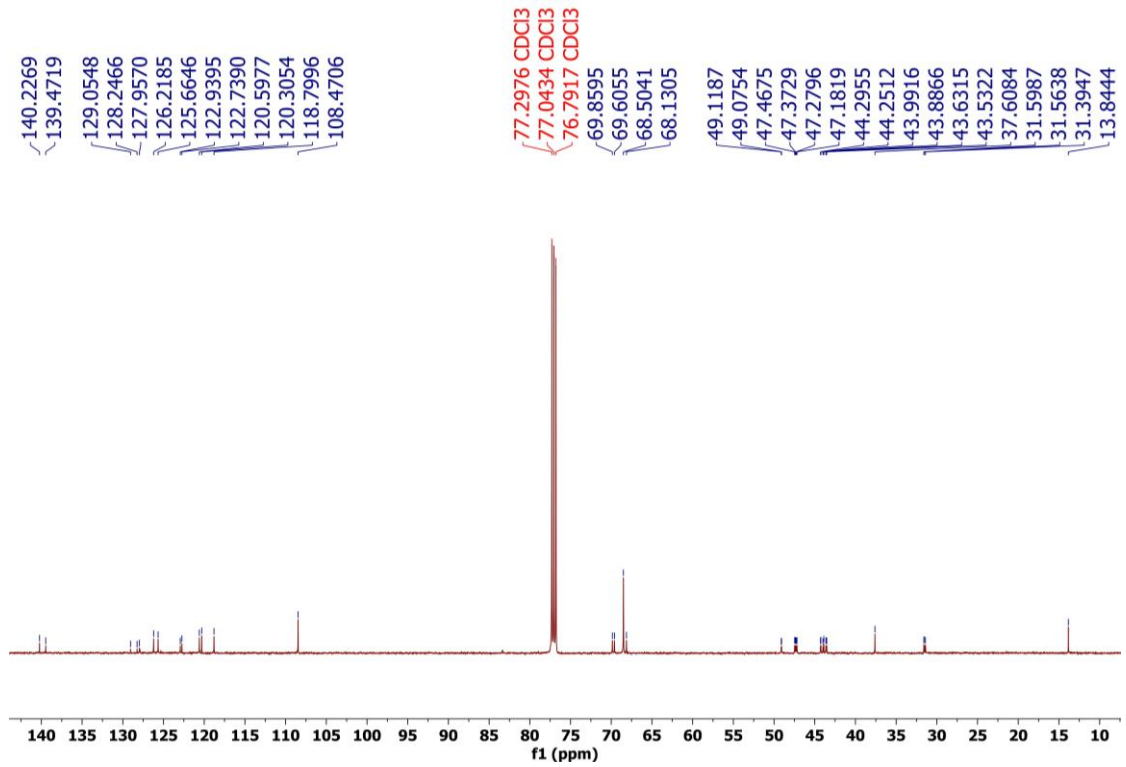
Bileşik 20



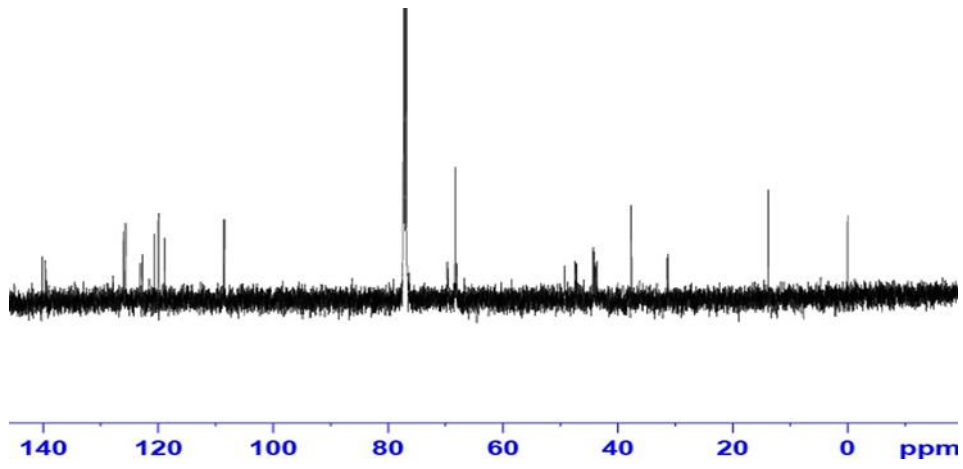
Bileşik 21



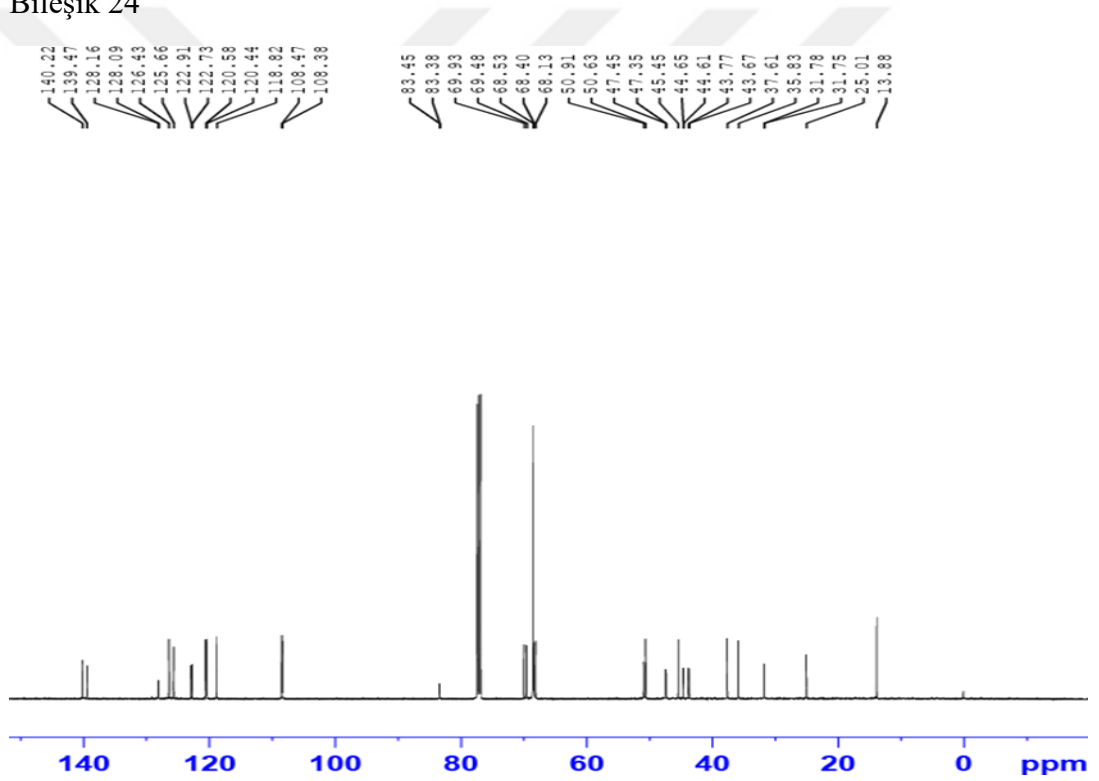
Bileşik 22



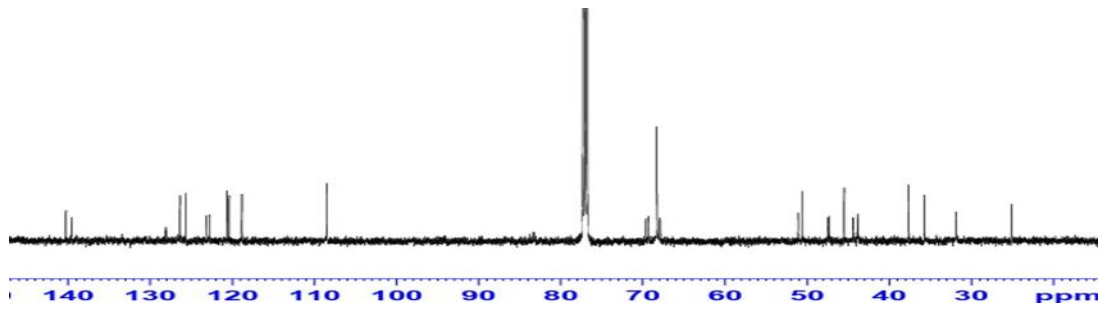
Bileşik 23



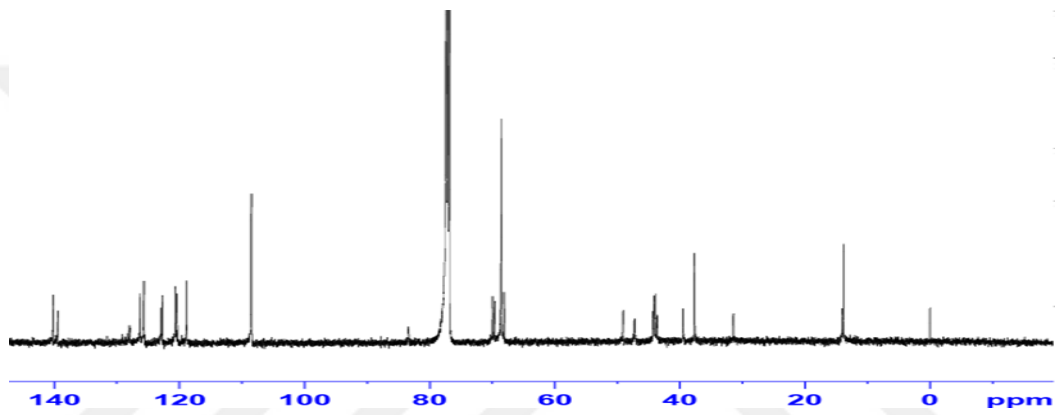
Bileşik 24



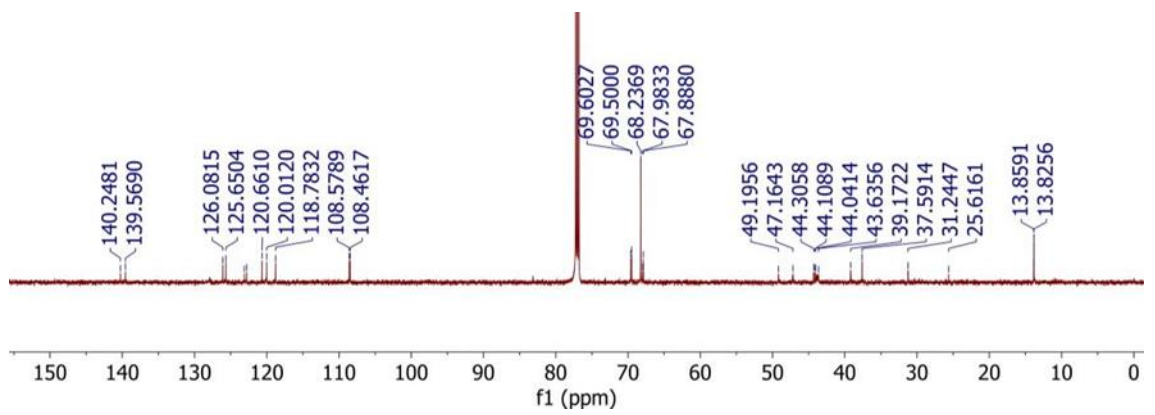
Bileşik 25



Bileşik 26

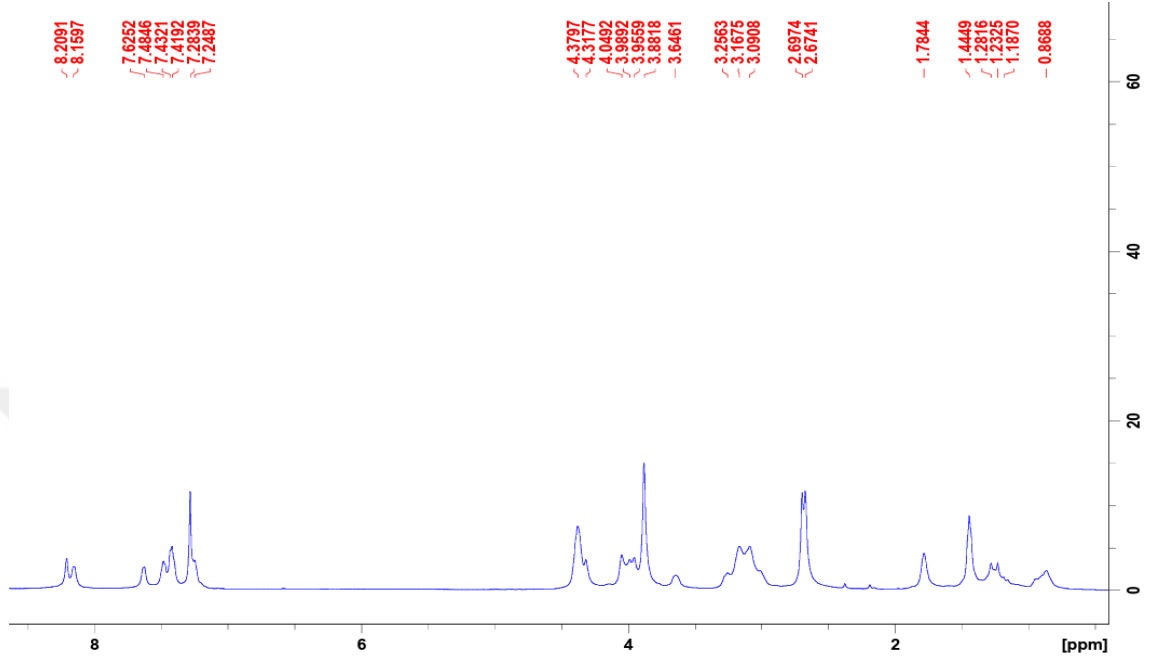


Bileşik 27

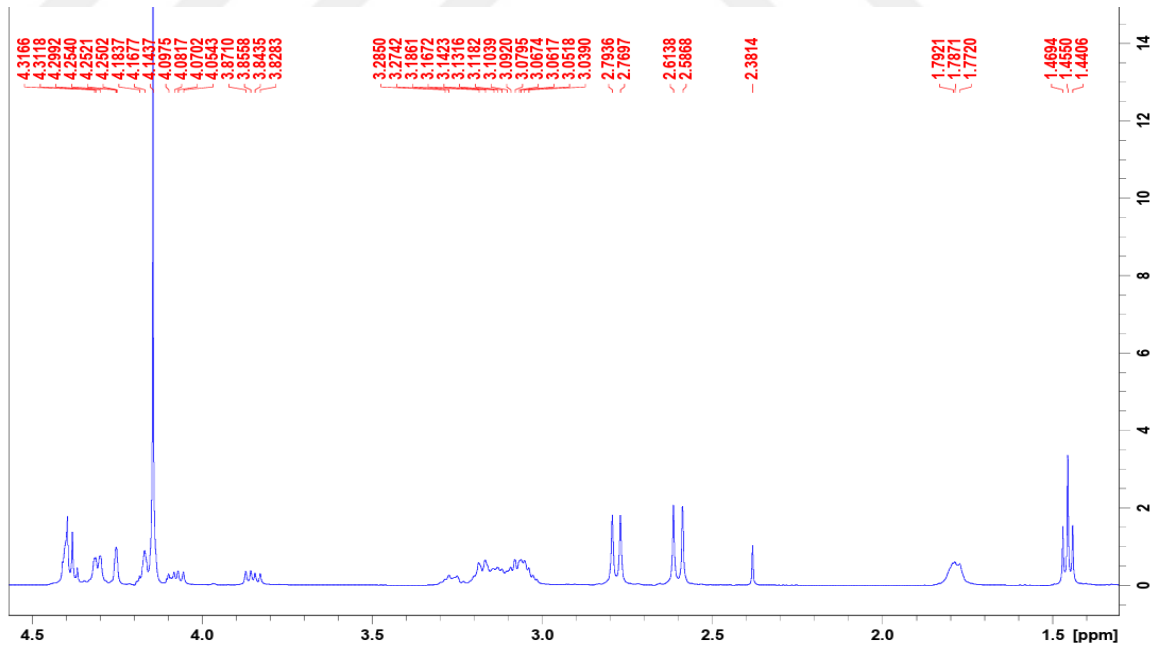


EK 5 ¹H NMR SPEKTRUMLARI

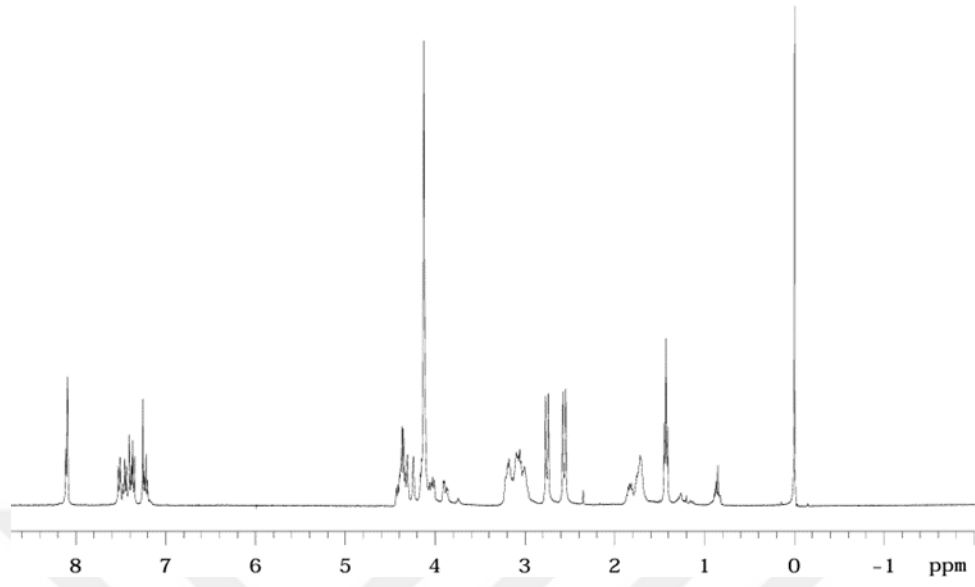
Bileşik 10



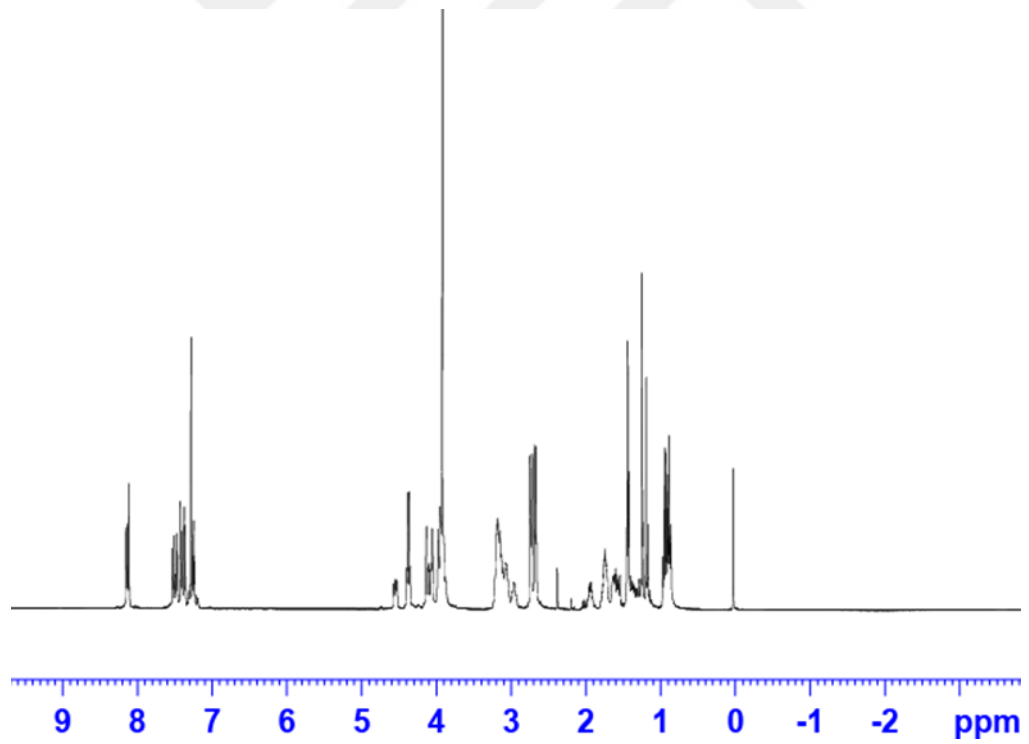
Bileşik 11



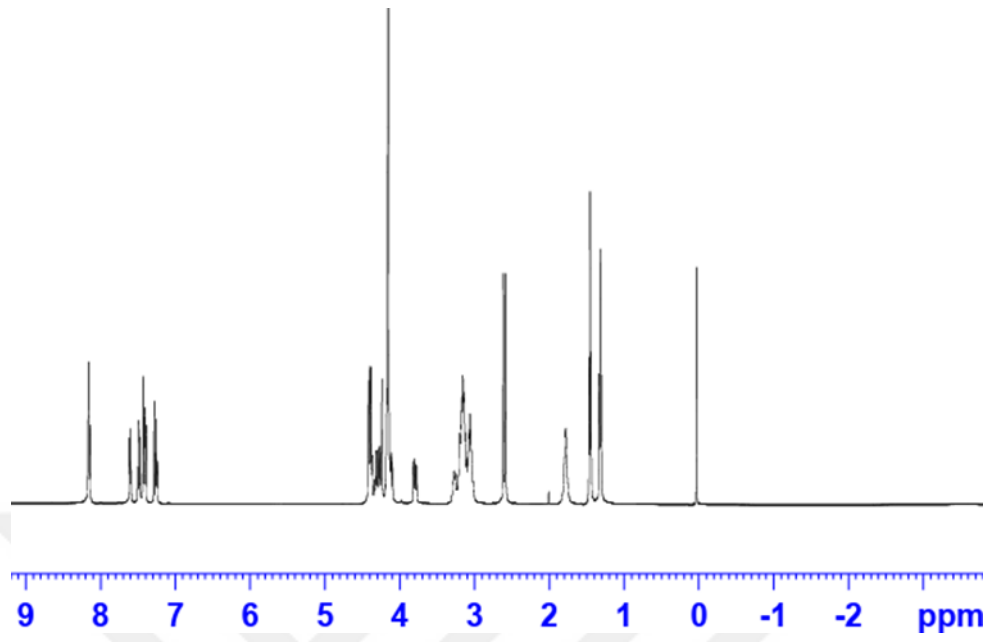
Bileşik 12



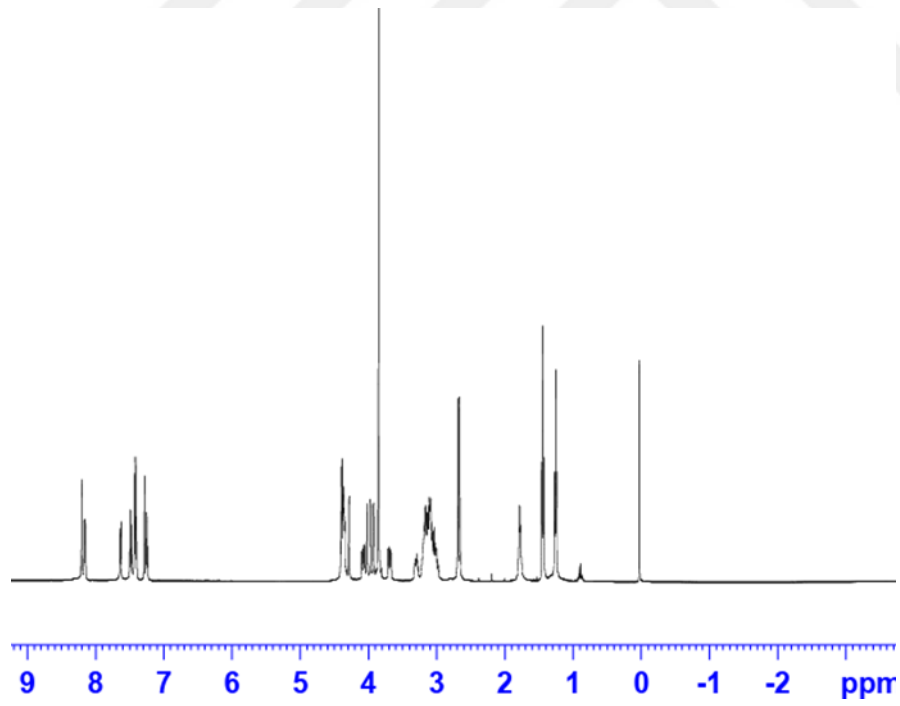
Bileşik 13



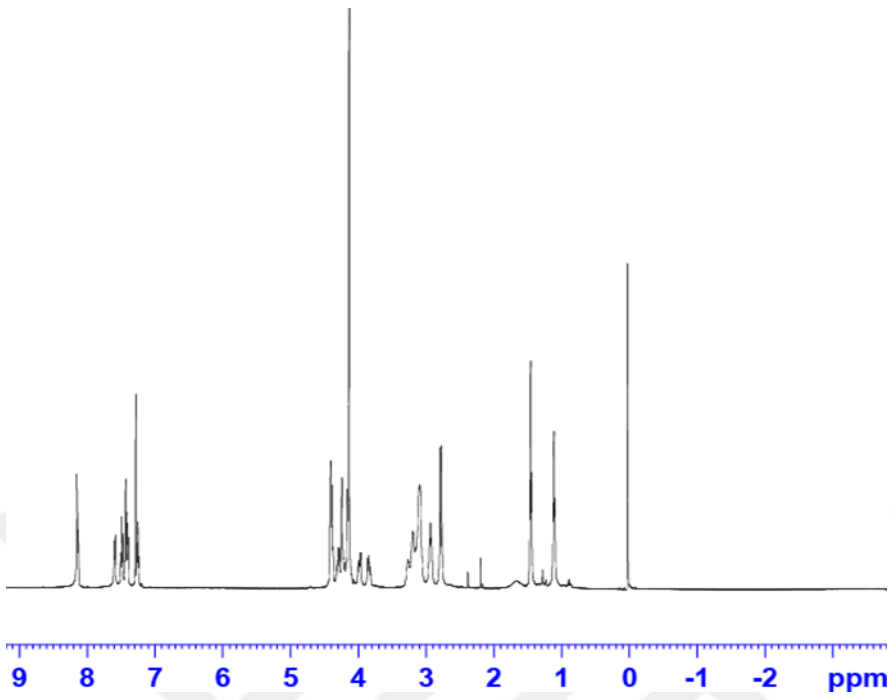
Bileşik 14



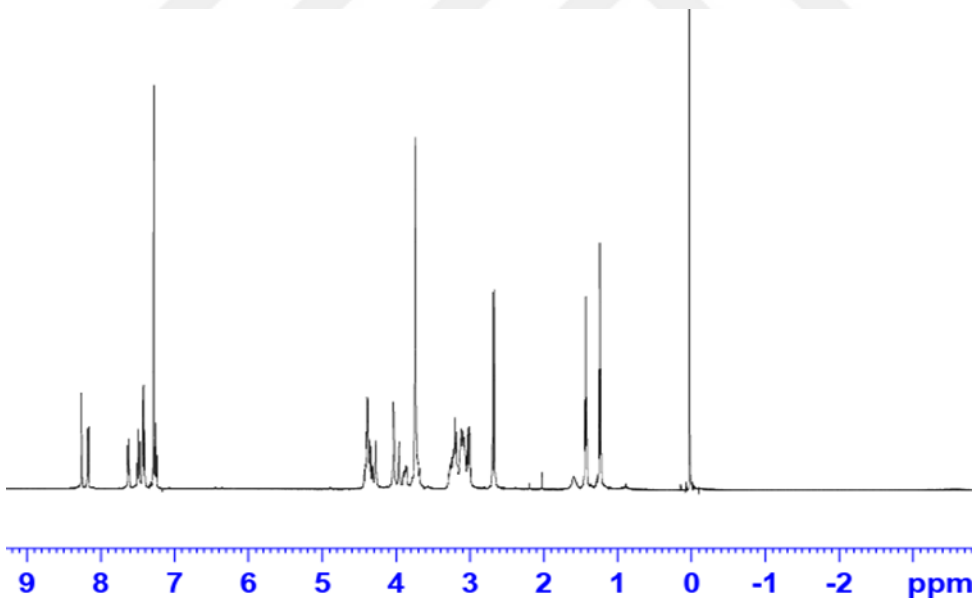
Bileşik 15



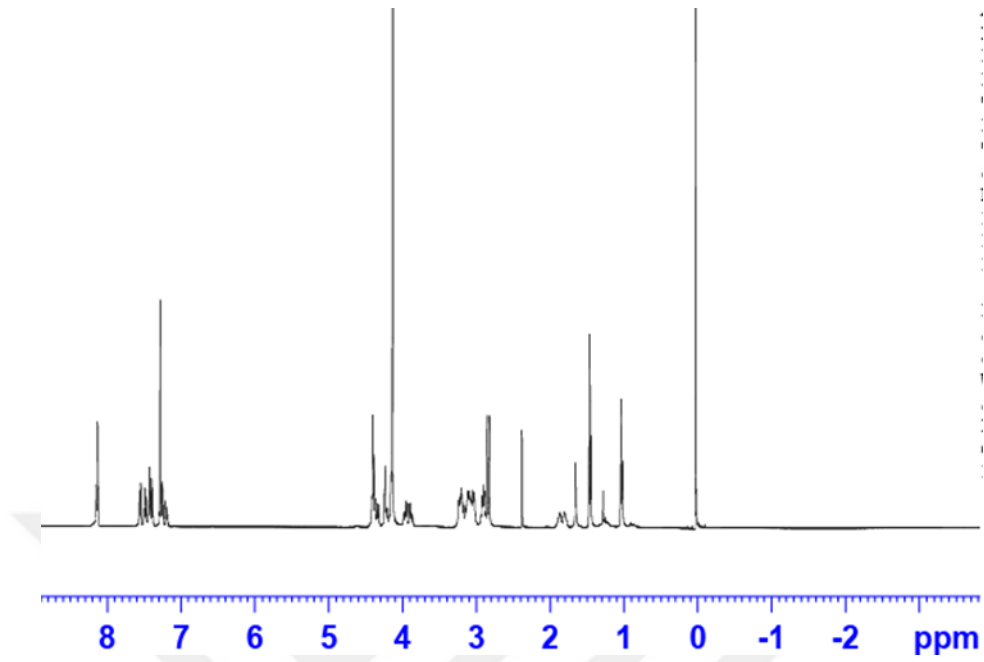
Bileşik 16



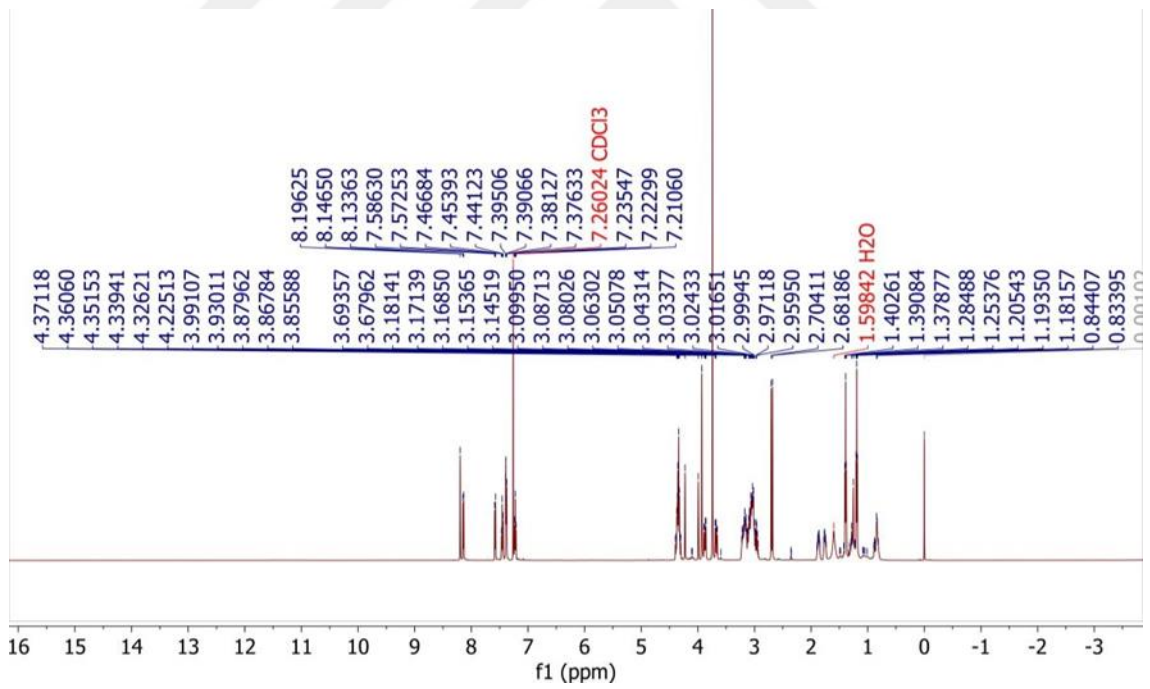
Bileşik 17



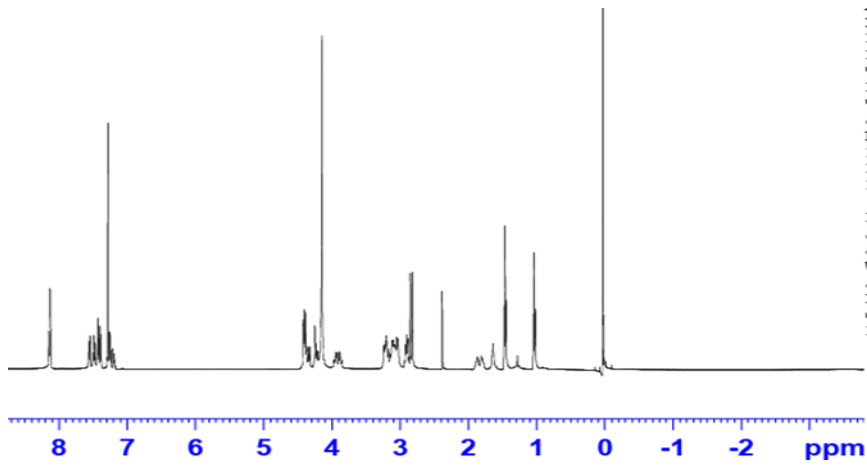
Bileşik 18



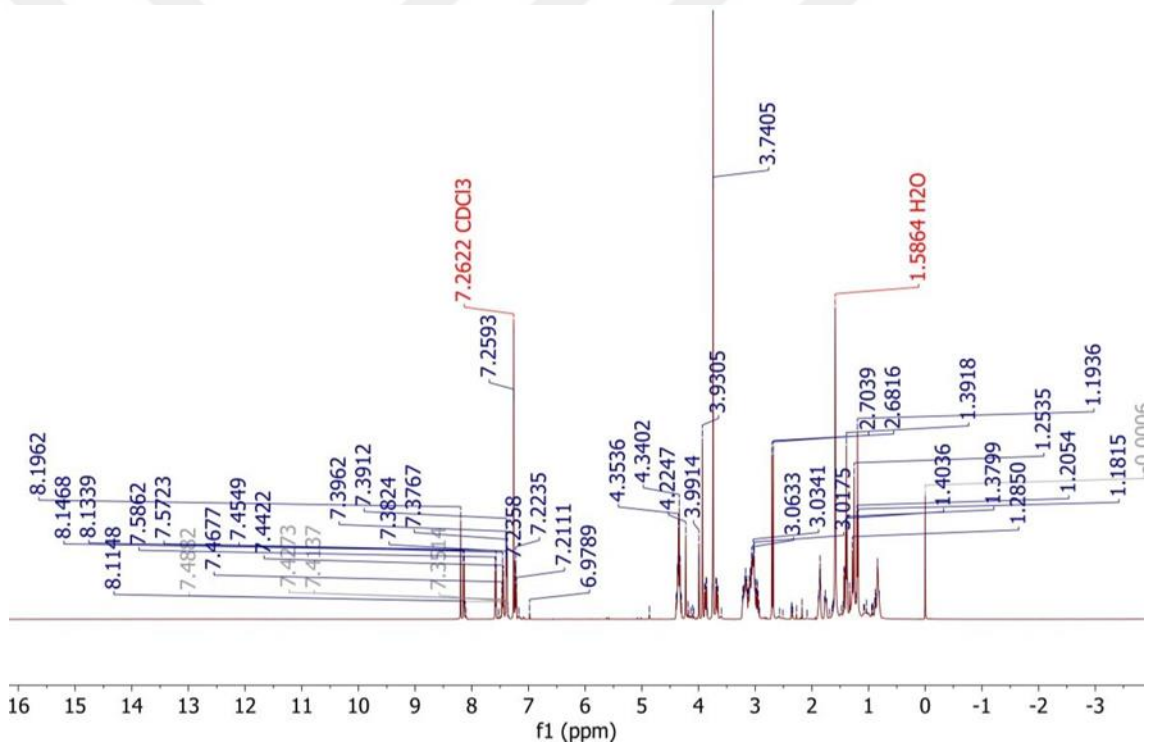
Bileşik 19



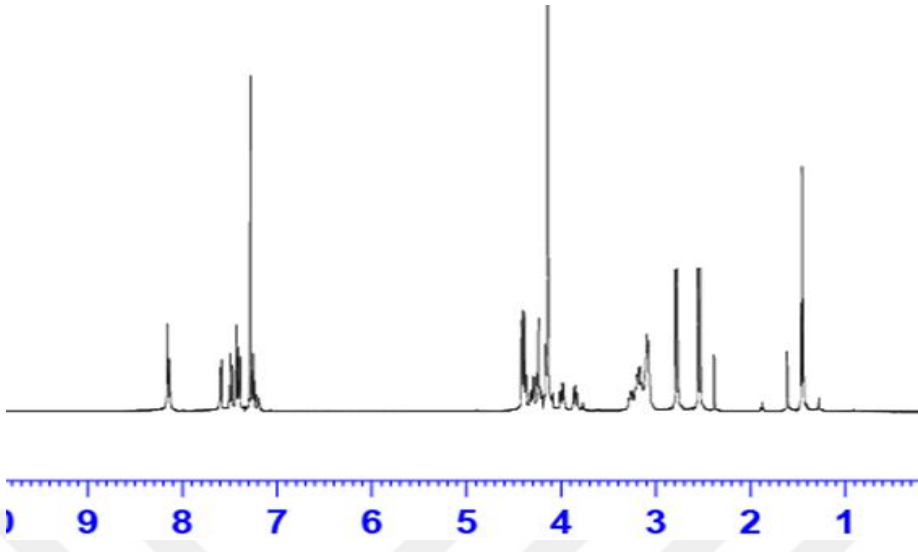
Bileşik 20



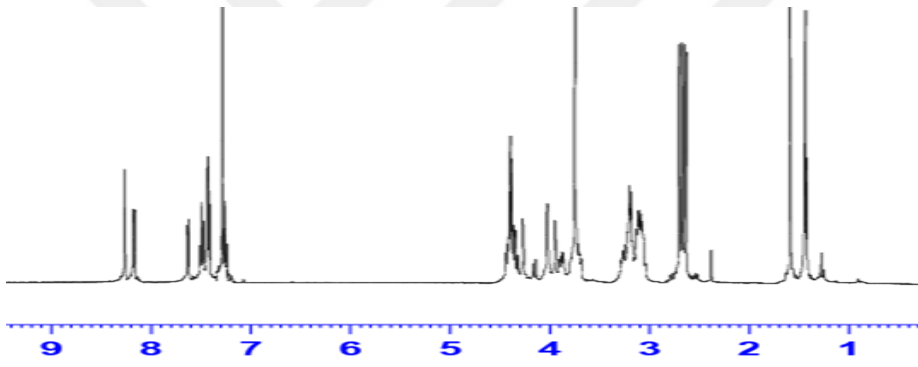
Bileşik 21



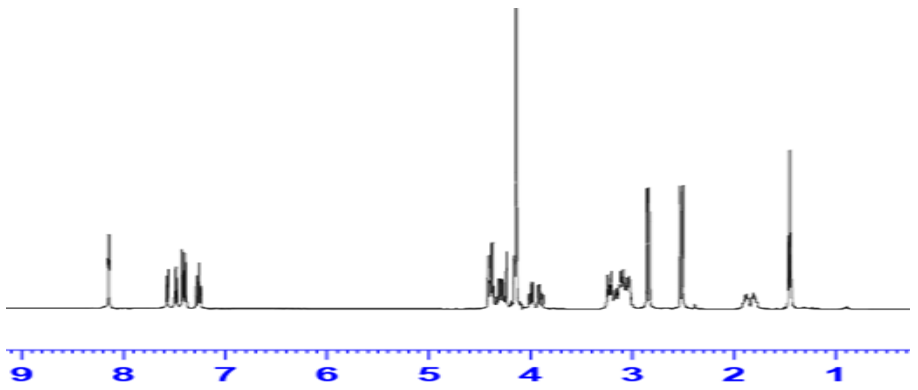
Bileşik 22



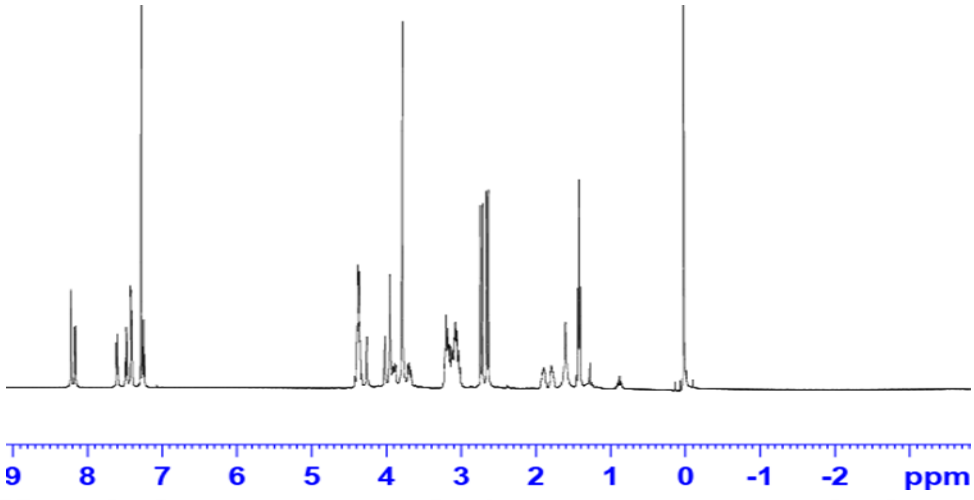
Bileşik 23



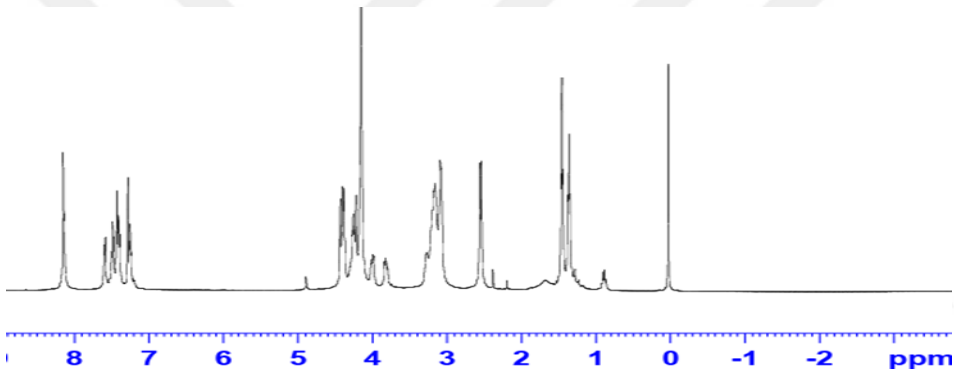
Bileşik 24



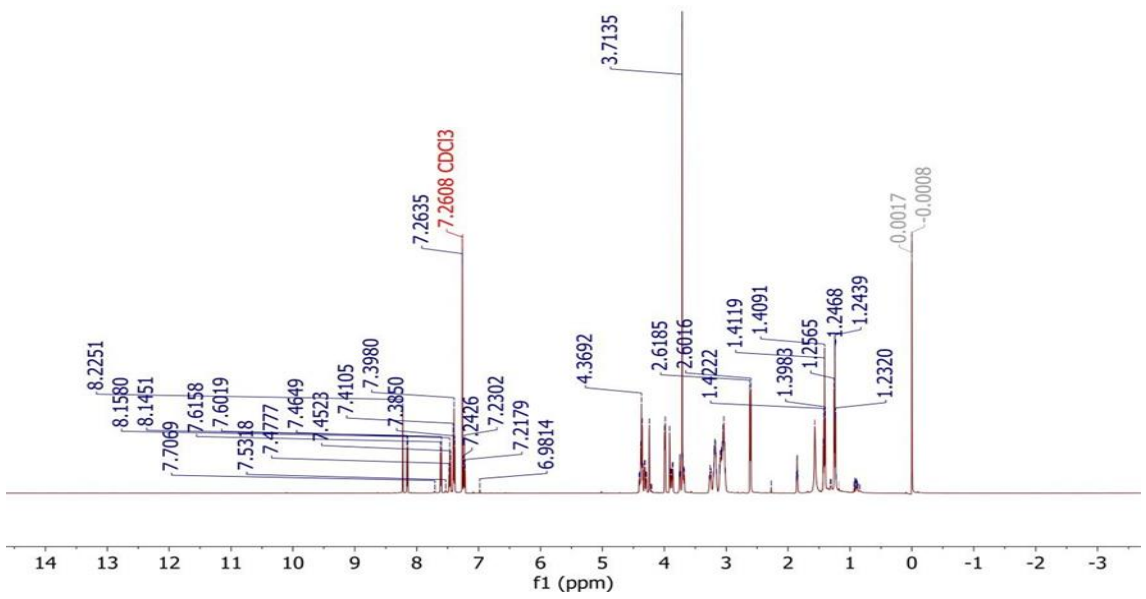
Bileşik 25



Bileşik 26

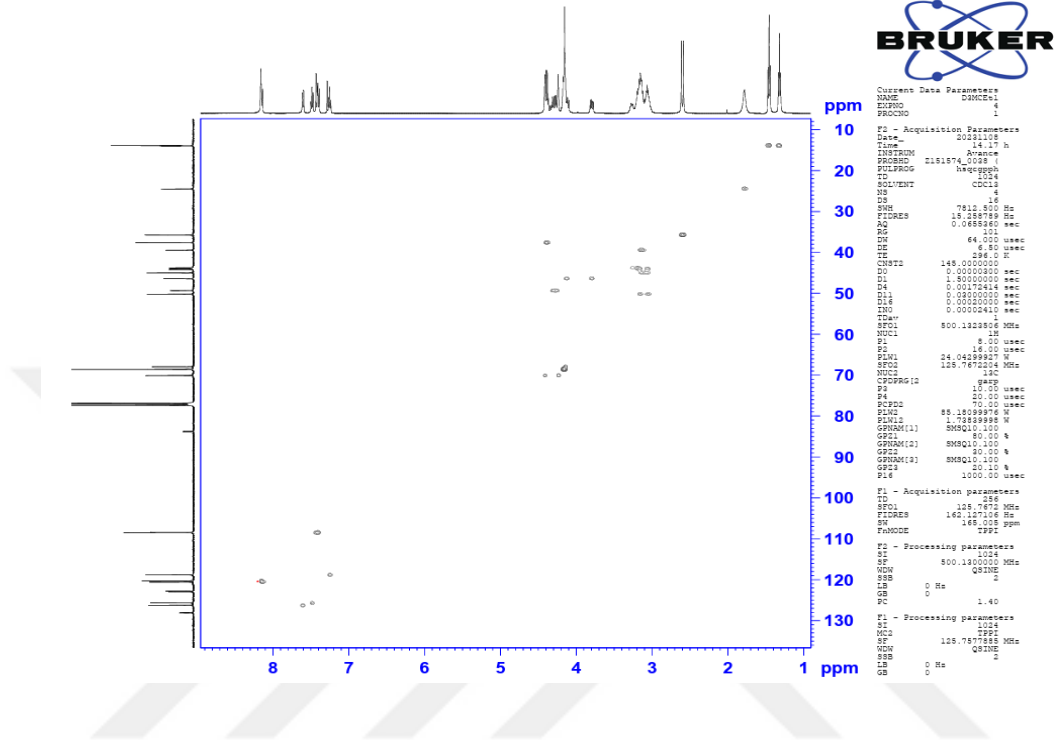


Bileşik 27

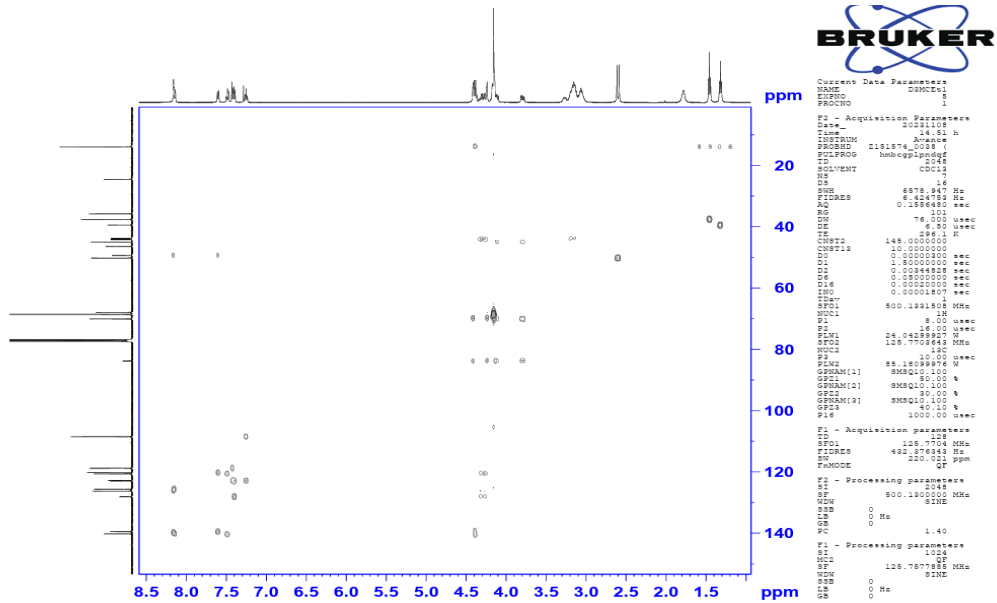


EK 6 İKİ BOYUTLU NMR HSQC VE HMBC SPEKTRUMLARI

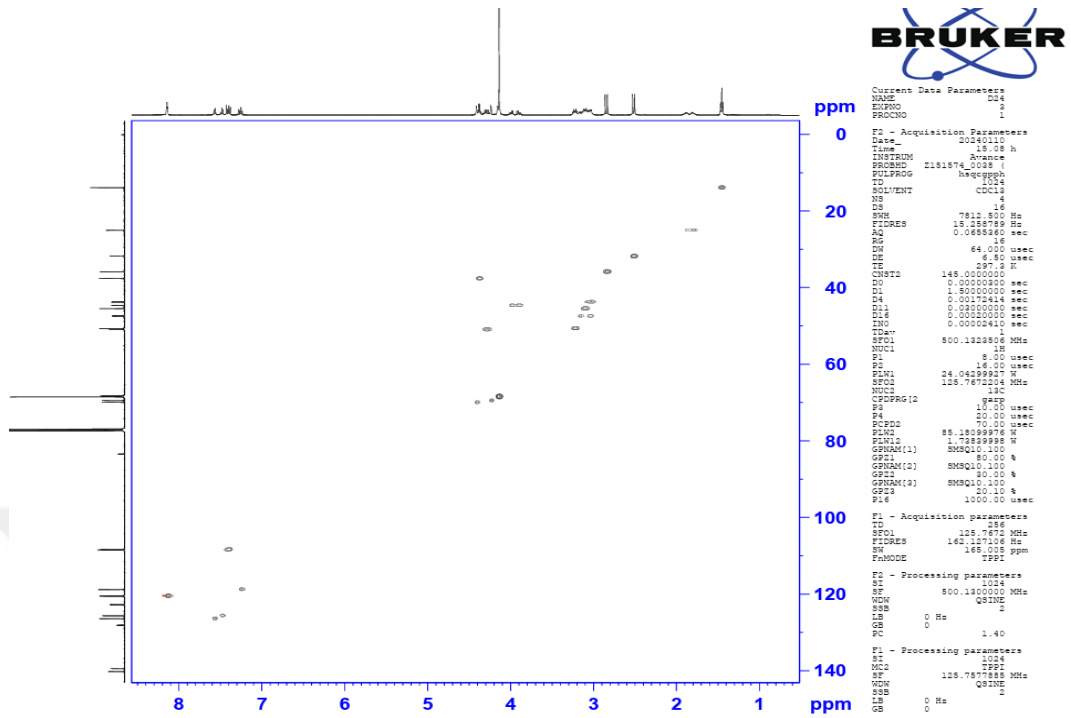
Bileşik 14 (HSQC)



Bileşik 14 (HMBC)



Bileşik 24 (HSQC)



Bileşik 24 (HMBC)

