

**T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİKLOTRİFOSFAZENLERİN ANTRAKİNONLAR İLE
REAKSİYONLARI VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

**GİZEM DEMİR DEMİREL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**GEBZE
2021**

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİKLOTRİFOSFAZENLERİN
ANTRAKİNONLAR İLE REAKSİYONLARI
VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ

GİZEM DEMİR DEMİREL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. GÖNÜL YENİLMEZ ÇİFTÇİ

GEBZE
2021

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**INVESTIGATION OF THE REACTIONS
AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF
CYCLOTRIPHOSPHAZENES WITH
ANTHRAQUIONES**

GİZEM DEMİR DEMİREL

**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

**THESIS SUPERVISOR
PROF. DR. GÖNÜL YENİLMEZ ÇİFTÇİ**

**GEBZE
2021**



YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 17/06/2021 tarih ve 2021/27 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 01/07/2021 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Gizem DEMİR DEMİREL'in tez çalışması Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI)

: Prof. Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ

ÜYE

: Prof. Dr. Fatma YÜKSEL

ÜYE

: Prof. Dr. Tuba YILDIRIM

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Dünya genelinde kalp ve damar rahatsızlıklarından sonra en çok ölüme sebep olan hastalıkların başında kanser gelmektedir. Bilim insanları, sitotoksik etkisi olan kanser önleyici ajanları sentezlemeye ve özelliklerini incelemeye devam etmektedir.

Fosfazenler $-[N=PR_2]-$ (R=halojenler, farklı inorganik, organometalik veya organik nükleofiller vb.), düz zincir, halkalı ya da yüksek molekül ağırlıklı polimerik yapıda bulunabilirler. Bu grubun iyi bilinen hetero halkalı üyelerinden birisi olan heksaklorosiklotrifosfazen ($N_3P_3Cl_6$), çok fonksiyonlu moleküler düzenlemeler için sağlam inorganik platformuyla bilinir. Fosfazenler, farklı özelliklere sahip reaktiflerle kolayca yerdeğiştirme reaksiyonları gerçekleştirir. Reaktiflere göre farklı fiziksel, kimyasal özellik gösterebilme kabiliyeti araştırmacıların bu bileşiği ana iskelet olarak seçmelerine sebep olmuştur. Kinon ailesinin önemli bir üyesi olan antrakinin ve türevleri geniş farmakolojik özelliklere sahip olmasının yanı sıra seçici sitotoksik etkiler gösterebilme kabiliyetine sahiptir.

Tez çalışmasında, heksaklorosiklotrifosfazenin 2,2-dimetil-1,3-propandiol ile reaksiyonları incelendi ve monospiro-, monoansa-, dispiro- ve monoansa-monospiro-bağlı bileşikler elde edildi. Elde edilen bileşiklerin sırasıyla 2-aminoantrakinin, 2-hidroksiantrakinin ve 2-hidroksimetilantrakinin ile reaksiyonları gerçekleştirildi ve nihai ürün olan 5-9 bileşikler elde edildi. Ayrıca heksaklorosiklotrifosfazen ile de 2-aminoantrakinin reaksiyonları gerçekleştirilerek, 10-11 bileşikler elde edildi. Sentezlenen bileşikler uygun yöntemlerle saflaştırıldı ve yapıları kütle (MALDI-TOF) spektrometrisi, 1H , ^{31}P , fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopi yöntemleri ile aydınlatıldı. Tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin (1-3, 5, 8, 9) MCF-7, MCF-12A, DLD-1 ve CCD-18Co hücre hatlarına karşı biyolojik aktivite çalışması yapılarak, DNA'ya etkileri Agaroz-Jel elektroforez yöntemi incelendi.

Anahtar Kelimeler: Heksaklorosiklotrifosfazen, antrakinin, biyolojik aktivite, kanser, agaroz jel elektroforez.

SUMMARY

Cancer is the leading cause of death after cardiovascular diseases worldwide. Scientists continue to synthesize anti-cancer agents with cytotoxic effects and study their properties.

Phosphazenes $-\text{[N=PR}_2\text{]}-$ (R=halogens, different inorganic, organometallic or organic nucleophiles etc.), can be found in straight chain, cyclic or high molecular weight polymeric structures. Hexachlorocyclotriphosphazene ($\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_6$), one of the well-known heterocyclic members of this group, is known for its robust inorganic platform for multifunctional molecular arrangements. Phosphazenes easily perform substitution reactions with reagents with different properties. The ability to show different physical and chemical properties according to the reagents caused the researchers to choose this compound as the main skeleton. Anthraquinone and its derivatives, an important member of the quinone family, have broad pharmacological properties as well as the ability to show selective cytotoxic effects.

In the thesis study, the reactions of hexachlorocyclotriphosphazene with 2,2-dimethyl-1,3-propanediol were investigated and monospiro-, monoansa-, dispiro- and monoansa-monospiro- linked compounds were obtained. Reactions of the obtained compounds were carried out with 2-aminoanthraquinone, 2-hydroxyanthraquinone and 2-hydroxymethylanthraquinone, respectively, and the final product 5-9 compounds were obtained. In addition, by performing 2-aminoanthraquinone reactions with hexachlorocyclotriphosphazene, compounds 10-11 were obtained. The synthesized compounds were purified by appropriate methods and their structures were elucidated by mass (MALDI-TOF) spectrometry, ^1H , ^{31}P , fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy methods. Within the scope of the thesis study, biological activity studies of the synthesized compounds (1-3, 5, 8, 9) against MCF-7, MCF-12A, DLD-1 and CCD-18Co cell lines were conducted and their effects on DNA were investigated by Agarose-Gel electrophoresis method.

Keywords: Hexachlorocyclotriphosphazene, anthraquinone, biological activity, cancer, agarose gel electrophoresis.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin başından sonuna kadar her türlü bilgi, emek ve sabrını benden esirgemeyen her zaman destek olup güler yüzü ile beni cesaretlendirip yol gösteren çok değerli hocam Prof. Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ'ye sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca bütün bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, ne zaman ihtiyacım olsa bana kapılarının her zaman açık olduğunu hissettiren kıymetli Prof. Dr. Esra TANRIVERDİ EÇİK ve Doç. Dr. Elif ŞENKUTU hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

GTÜ Kimya Bölümü öğretim üyelerine ve elemanlarına, araştırma görevlisi değerli arkadaşlarıma teşekkür ederim. Aynı projeyi paylaştığım ilk günden tez dönemime kadar bana destek olan ve her zaman yanımda hissettiğim değerli arkadaşım proje asistanı Nagihan BAYIK'a, GTÜ'nün bana kazandırdığı dostluğunu her daim hissettiğim araştırma görevlisi Perihan KIZILKAYA'ya, yardımını asla unutmayacağım gönlümde her zaman bir yere sahip olacak değerli arkadaşım araştırma görevlisi Gülseren TURHAL'a teşekkür ederim.

Biyolojik aktivite çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen, Amasya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Tuba YILDIRIM ve AUMAULAB laboratuvar ekibine, Gebze Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Asuman DEMİROĞLU ZERGEROĞLU ve laboratuvarına teşekkür ederim.

Hayatım boyunca ne zaman arkama baksam elleri hep omzumda olan, maddi, manevi desteğini benden esirgemeyen her zaman güvenen başarılarımın çoğunu kendilerine borçlu olduğum canım annem Azime DEMİR ve canım babam Nusrat DEMİR'e sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Değerli yol arkadaşım Olcay DEMİREL'e sonsuz sabrı, sevgisi ve desteği için teşekkür ederim.

117Z163 No'lu proje ile sağlamış olduğu maddi destek nedeniyle TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

BAP-2020-A-101-02 nolu projeye sağladığı maddi destek için GTÜ'ye ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
TABLOLAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Fosfazenler	3
2.1.1. Tarihsel Geçmişi	3
2.1.2. Fosfazenlerin Sınıflandırılması	4
2.1.2.1. Lineer (Düz) Zincirli Fosfazenler	4
2.1.2.2. Halkalı (Siklo) Fosfazenler	5
2.1.2.3. Polimerik Fosfazenler	6
2.1.3. Hezaklorosiklotrifosfazenin Yapısı ve Özellikleri	6
2.1.4. Hezaklorosiklotrifosfazenin Mono-difonksiyonlu Nükleofiller ile Reaksiyon Mekanizmaları	8
2.1.4.1. Monofonksiyonlu Nükleofiller ile Reaksiyon Mekanizmaları	8
2.1.4.2. Difonksiyonlu Nükleofiller ile Reaksiyon Mekanizmaları	10
2.1.5. Siklotrifosfazen Bileşiklerinin Reaksiyonları	11
2.1.5.1. Siklotrifosfazen Bileşiklerinin Aminoliz Reaksiyonları	11
2.1.5.2. Siklotrifosfazen Bileşiklerinin Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonları	12
2.1.6. Hezaklorosiklotrifosfazen'in Reaksiyonlarına Etki Eden Faktörler	13
2.1.6.1. Sübstituent Etkisi	13
2.1.6.2. Çözücü Etkisi	14

2.1.6.3. Baz Etkisi	14
2.1.7. Siklotrifosfazenin Uygulama Alanları	14
2.2. 9,10-Antrakininon	15
2.2.1. 9,10-Antrakininonun Yapısı ve Özellikleri	15
2.2.2. 9,10-Antrakininon Eldesinde Kullanılan Yöntemler	17
2.2.2.1. Antrasenin Yükseltgenmesi ile Antrakininon Elde Edilmesi	17
2.2.2.2. “Friedel Crafts” Reaksiyonu ile Antrakininon Elde Edilmesi	17
2.2.2.3. “Diels-Alder” Reaksiyonu ile Antrakininon Elde Edilmesi	18
2.2.2.4. “Stiren” Reaksiyonu ile Antrakininon Elde Edilmesi	18
2.2.3. 9,10-Antrakininon Türevleri	19
2.2.3.1. Doğal Antrakininon Türevleri	19
2.2.3.2. Sentetik Antrakininon Türevleri	21
2.2.3.3. Yarı Sentetik Antrakininon Türevleri	23
2.2.4. 9,10-Antrakininon Türevlerinin Uygulama Alanları	24
3. KONUSYLA İLGİLİ YÜRÜTÜLEN ÇALIŞMALAR	26
3.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol’ün Reaksiyonları	26
3.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen ve Türevleri ile 9,10-Antrakininon Türevlerinin Reaksiyonları	26
4. MATERYAL VE YÖNTEM	28
4.1. Çalışma Süresince Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler	28
4.2. Çalışma Süresince Kullanılan Cihazlar	30
5. DENEYLERLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	32
5.1. Uygulanan Genel İşlemler	32
5.1.1. Hekzaklorosiklotrifosfazenin Saflaştırılması	32
5.1.2. Ninhidrin Çözeltisinin Hazırlanışı	32
5.2. Deneyler	33
5.2.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol’ün (1:2) Reaksiyonu (Bileşik 1)	33

5.2.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün (1:2) Reaksiyonu (Bileşik 2)	34
5.2.3. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün (1:4) Reaksiyonu (Bileşik 3)	35
5.2.4. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün (1:4) Reaksiyonu (Bileşik 4)	36
5.2.5. 1 Bileşiğinin 2-Hidroksi-9,10-Antrakinin ile Reaksiyonu (Bileşik 5)	37
5.2.6. 1 Bileşiğinin 2-Amino-9,10-Antrakinin ile Reaksiyonu (Bileşik 6)	38
5.2.7. 1 Bileşiğinin 2-Hidroksimetil-9,10-Antrakinin ile Reaksiyonu (Bileşik 7)	39
5.2.8. 2 Bileşiğinin 2-Hidroksi-9,10-Antrakinin ile Reaksiyonu (Bileşik 8)	40
5.2.9. 3 Bileşiğinin 2-Hidroksi-9,10-Antrakinin ile Reaksiyonu (Bileşik 9)	41
5.2.10. Hekzaklorosiklotrifosfazen'in 2-Hidroksi-9,10-Antrakinin (1:6) ile Reaksiyonu (Bileşik 10, 11)	42
6. BİLEŞİKLERİN YAPI KARAKTERİZASYONLARI	43
6.1. Bileşik 1'in Yapı Karakterizasyonu	43
6.2. Bileşik 2'nin Yapı Karakterizasyonu	47
6.3. Bileşik 3'ün Yapı Karakterizasyonu	50
6.4. Bileşik 4'ün Yapı Karakterizasyonu	54
6.5. Bileşik 5'in Yapı Karakterizasyonu	58
6.6. Bileşik 6'nın Yapı Karakterizasyonu	62
6.7. Bileşik 7'nin Yapı Karakterizasyonu	66
6.8. Bileşik 8'in Yapı Karakterizasyonu	70
6.9. Bileşik 9'un Yapı Karakterizasyonu	74
6.10. Bileşik 10'un Yapı Karakterizasyonu	78
6.11. Bileşik 11'in Yapı Karakterizasyonu	82
7. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI	86

7.1. Bileşiklerin Analiz İçin Hazırlanması	86
7.2. Hücre Kültürü	86
7.3. MTT Analizi	87
7.4. MTT Yöntemi	87
7.4.1. Bileşiklerin MTT Analiz Sonuçları	89
7.5. Elektroforez	97
7.5.1. Jel Elektroforezi	98
7.5.1.1. Agaroz Jel Elektroforezi	98
7.6. Agaroz-jel Elektroforez Yöntemi ile DNA'ya Etkilerin İncelenmesi	99
7.6.1. Çözeltilerin Hazırlanması	99
7.6.1.1. Tris EDTA (TE) Tampon Çözeltilisinin Hazırlanması	99
7.6.1.2. 10X Tris Borik Asit- EDTA (TBE) Tampon Çözeltilisinin Hazırlanması	99
7.6.1.3. Agaroz Jel Hazırlanışı	99
7.6.2. Bileşik 9'un Agaroz-jel Elektroforez Yöntemi ile DNA Etkileşiminin İncelenmesi	100
7.6.2.1. Bileşik 9'un Plazmid DNA ile Etkileşiminin Belirlenmesi	100
7.6.2.2. Bileşik 9'un Plazmid DNA ile Etkileşimi Sonrası Kesim Enzimleri ile Reaksiyonun İncelenmesi	101
7.6.3. Agaroz-jel Elektroforez Yöntemi	101
7.6.3.1. Bileşik 9'un Agaroz-jel Elektroforez Yöntemi ile DNA Etkileşiminin İncelenmesi	102
8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	104
KAYNAKLAR	114
ÖZGEÇMİŞ	125
EKLER	126

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
^1H	: Hidrojen atomunun kütle numarası 1 olan izotopu.
^{31}P	: Fosfor atomunun kütle numarası 31 olan izotopu.
^{13}C	: Karbon atomunun kütle numarası 13 olan izotopu.
CDCl_3	: Döterokloroform.
D_2O	: Ağır Su.
CHCl_3	: Kloroform.
DCM	: Diklorometan.
Na_2SO_4	: Sodyum Sülfat.
NaH	: Sodyum Hidrür.
Et_3N	: Trietilamin.
Cs_2CO_3	: Sezyum Karbonat.
MALDI-TOF	: Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi.
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans.
THF	: Tetrahidrofuran.
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi.
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy).
Rf	: Alıkonma Faktörü.
E. N	: Erime noktası.
K	: Kelvin (sıcaklık birimi).
DMSO	: Dimetilsülfoksit.
MTT	: 3-4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromit.
MCF-7	: İnsan Meme Adenokarsinoma.
MCF12A	: İnsan Meme Epiteli.
DLD-1	: Dukes' Type C, Kolorektal Adenokarsinoma.
CCD-18Co	: İnsan Normal Kolon Epiteli
EMEM	: Eagle's Minimum Essential Medium.
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium.

RPMI1640	:	Roswell Park Memorial Institute.
FBS	:	Fetal Sığır Serumu.
PBS	:	Fosfatla Tamponlanmış Tuz Çözeltisi.
IC ₅₀	:	Hücre Canlılığını %50 Baskılayıcı Konsantrasyon.
EDTA	:	Etilendiamin Tetraasetik asit
TBE	:	Tris-Borik Asit-EDTA
TE	:	Tris-EDTA



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Halka Yapılı Fosfazenlerin Sentezi.	3
2.2: a) Lineer (düz) Zincirli; b), c) Halkalı (siklo) ve d) Polimerik Fosfazen bileşikleri.	4
2.3: Lineer (Düz Zincirli) Fosfazen Bileşiği.	4
2.4: Halkalı (Siklo) Fosfazen Bileşikleri.	5
2.5: Polimerik Fosfazen Bileşiği.	6
2.6: Hekzaklorosiklotrifosfazen'in Yapısı.	6
2.7: Hekzaklorosiklotrifosfazen'in Yapısı.	8
2.8: Hekzaklorosiklotrifosfazen'in Geminal Yer Değiştirmesi.	9
2.9: Hekzaklorosiklotrifosfazen'in Geminal Olmayan Yer Değiştirmesi.	9
2.10: (A) Monospiro, (B) Ansa, (C) Köprülü-(Bino) Ve (D) Açık Zincirli (X=Y veya X≠Y, X Ve Y: -O, -NH Gibi Gruplar).	10
2.11: Hekzaklorosiklotrifosfazenin Aminoliz Reaksiyonu.	11
2.12: S _N ¹ (P) Reaksiyon Mekanizması ile Siklotrifosfazenlerin Aminoliz Reaksiyonu.	12
2.13: S _N ² (P) Reaksiyon Mekanizması ile Siklotrifosfazenlerin Aminoliz Reaksiyonu.	12
2.14: Siklofosfazenlerin Alkoller Ve Sodyum Alkolatlar İle Reaksiyonları; i) Alkoller ii) Alkolatlar.	13
2.15: 9,10-Antrakininon'un Yapısı.	16
2.16: Antrasenin Yükseltgenmesi ile Antrakininon Sentezi.	17
2.17: Friedel-Crafts Reaksiyonu ile Antrakininon Sentezi.	17
2.18: Diels-Alder Reaksiyonu ile Antrakininon Sentezi.	18
2.19: Stiren Reaksiyonu ile Antrakininon Sentezi.	18
2.20: Kinizarin (1,4 Dihidroksiantrakininon) Bileşiğinin Yapısı.	22
2.21: 1-Hidroksi-3-[3-(Dimetilamino)-Propoksi]-9,10-Antrakininon Bileşiğinin Yapısı.	22
2.22: Mitoksantron Dihidroklorür Bileşiğinin Yapısı.	23
2.23: Bazı Antrakininon Türevi Boyar Maddeler.	24
2.24: Hidrojen Peroksit Üretiminde Antrakininon Prosesi.	25
5.1: 1 Bileşiğinin Sentezi.	33

5.2: 2 Bileşiminin Sentezi.	34
5.4: 4 Bileşiminin Sentezi.	36
5.5: 5 Bileşiminin Sentezi.	37
5.7: 7 Bileşiminin Sentezi.	39
5.8: 8 Bileşiminin Sentezi.	40
5.9: 9 Bileşiminin Sentezi.	41
5.10: 10 ve 11 Bileşiklerinin Sentezi.	42
6.1: 1 Bileşiminin Yapısı.	43
6.2: 1 Bileşiminin Kütle Spektrumu.	43
6.3: Bileşik 1'e Ait Proton ile Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	44
6.4: Bileşik 1'e Ait Proton ile Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	45
6.5: Bileşik 1'e Ait ¹ H NMR Spektrumu.	45
6.6: Bileşik 1'e Ait FT-IR Spektrumu.	46
6.7: 2 Bileşiminin Yapısı.	47
6.8: 2 Bileşiminin Kütle Spektrumu.	47
6.9: Bileşik 2'ye Ait Proton ile Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	48
6.10: Bileşik 2'ye Ait Proton ile Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	48
6.11: Bileşik 2'ye Ait ¹ H NMR Spektrumu.	49
6.12: Bileşik 2'ye Ait FT-IR Spektrumu.	49
6.13: 3 Bileşiminin Yapısı.	50
6.14: 3 Bileşiminin Kütle Spektrumu.	50
6.15: Bileşik 3'e Ait Proton ile Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	51
6.16: Bileşik 3'e Ait Proton ile Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	51
6.17: Bileşik 3'e Ait ¹ H NMR Spektrumu.	52
6.18: Bileşik 3'e Ait FT-IR Spektrumu.	53
6.19: 4 Bileşiminin Yapısı.	54
6.20: 4 Bileşiminin Kütle Spektrumu.	54
6.21: Bileşik 4'e Ait Proton ile Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	55
6.22: Bileşik 4'e Ait Proton ile Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	55
6.23: Bileşik 4'e Ait ¹ H NMR Spektrumu.	56
6.24: Bileşik 4'e Ait FT-IR Spektrumu.	57
6.25: 5 Bileşiminin Yapısı.	58
6.26: 5 Bileşiminin Kütle Spektrumu.	58
6.27: Bileşik 5'e Ait Proton ile Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	59

6.28: Bileşik 5'e Ait Proton ile Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	59
6.29: Bileşik 5'e Ait ¹ H NMR Spektrumu.	60
6.30: Bileşik 5'e Ait FT-IR Spektrumu.	61
6.31: 6 Bileşiğinin Yapısı.	62
6.32: 6 Bileşiğinin Kütle Spektrumu.	62
6.33: Bileşik 6'ya Ait Proton İle Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	63
6.34: Bileşik 6'ya Ait Proton İle Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	64
6.35: Bileşik 6'ya Ait ¹ H NMR Spektrumu.	65
6.36: Bileşik 6'ya Ait FT-IR Spektrumu.	65
6.37: 7 Bileşiğinin Yapısı.	66
6.38: 7 Bileşiğinin Kütle Spektrumu.	66
6.39: Bileşik 7'ye Ait Proton İle Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	67
6.40: Bileşik 7'ye Ait Proton İle Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	68
6.41: Bileşik 7'ye Ait ¹ H NMR Spektrumu.	69
6.42: Bileşik 7'nin Ait FT-IR Spektrumu.	69
6.43: 8 Bileşiğinin Yapısı.	70
6.44: 8 Bileşiğinin Kütle Spektrumu.	70
6.45: Bileşik 8'e Ait Proton İle Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	71
6.46: Bileşik 8'e Ait Proton İle Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	71
6.47: Bileşik 8'e Ait ¹ h Nmr Spektrumu.	72
6.48: Bileşik 8'e Ait FT-IR Spektrumu.	73
6.49: 9 Bileşiğinin Yapısı.	74
6.50: 9 Bileşiğinin Kütle Spektrumu.	74
6.51: Bileşik 9'a Ait Proton İle Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	75
6.52: Bileşik 9'a Ait Proton İle Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	75
6.53: Bileşik 9'a Ait ¹ H NMR Spektrumu.	76
6.54: Bileşik 9'a Ait FT-IR Spektrumu.	77
6.55: 10 Bileşiğinin Yapısı.	78
6.56: 10 Bileşiğinin Kütle Spektrumu.	78
6.57: Bileşik 10'a Ait Proton İle Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	79
6.58: Bileşik 10'a Ait Proton İle Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	79
6.59: Bileşik 10'a Ait ¹ H NMR Spektrumu.	80
6.60: Bileşik 10'a Ait FT-IR Spektrumu.	81
6.61: 11 Bileşiğinin Yapısı.	82

6.62: 11 Bileşğinin Kütleye Spektrumu.	82
6.63: Bileşik 11'e ait Proton İle Eşleşmemiş ³¹ P NMR Spektrumu.	83
6.64: Bileşik 11'e ait Proton İle Eşleşmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	83
6.65: Bileşik 11'e ait ¹ H NMR Spektrumu.	84
6.66: Bileşik 11'e ait FT-IR Spektrumu.	85
7.1: a) Trimer, b) 2,2-Dimetil,1,3-Propandiol, c) 2-Hidroksiantrakınon, d) Bileşik 1, e) Bileşik 2, f) Bileşik 3, g) Bileşik 4, h) Bileşik 5, i) Bileşik 8, j) Bileşik 9'un MCF-7 Hücre Hattındaki MTT Analiz Grafikleri.	89
7.2: a) Trimer, b) 2,2-Dimetil,1,3-Propandiol, c) 2-Hidroksiantrakınon, d) Bileşik 1, e) Bileşik 2, f) Bileşik 3, g) Bileşik 4, h) Bileşik 5, i) Bileşik 8, j) Bileşik 9'un MCF-12A Hücre Hattındaki MTT Analiz Grafikleri.	91
7.3: a) Trimer, b) 2,2-Dimetil,1,3-Propandiol, c) 2-Hidroksiantrakınon, d) Bileşik 1, e) Bileşik 2, f) Bileşik 3, g) Bileşik 4, h) Bileşik 5, i) Bileşik 8, j) Bileşik 9'un DLD-1 Hücre Hattındaki MTT Analiz Grafikleri.	93
7.4: a) Trimer, b) 2,2-Dimetil,1,3-Propandiol, c) 2-Hidroksiantrakınon, d) Bileşik 1, e) Bileşik 2, f) Bileşik 3, g) Bileşik 4, h) Bileşik 5, i) Bileşik 8, j) Bileşik 9'un CCD-18Co Hücre Hattındaki MTT Analiz Grafikleri.	95
7.5: Elektroferez Çeşitleri.	97
7.6: Bileşik 9'un agoroz jel elektroferezi.	101

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Hekzaklorosiklotrifosfazen'e Ait Fiziksel Özellikler.	7
2.2: Reaksiyon Şartlarına Bağlı Aminoliz Mekanizmaları.	11
2.3: Bazı Antrakinin Türevlerinin Antioksidan Oranları.	20
4.1: Tez Kapsamındaki DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.	28
4.2: Hücre Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar.	29
4.3: Agaroz Jel Elektroferezinde Kullanılan Kimyasallar.	30
4.4: Bileşiklerin Sentez Ve Karakterizasyonunda Kullanılan Cihazlar.	30
4.5: Hücre Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar.	31
7.5: Agaroz Jel Elektroferezinde Kuyulara Örnek Yükleme Sırası.	103
8.1: Kütle Spektrum Sonuçları, Molekül Ağırlığı.	105
8.2: Sentezlenen Bileşiklerin (1-11) ³¹ p Nmr Spektrum Sonuçları.	106
8.3: Bileşiklerin (Hekzaklorosiklotrifosfazen, 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol, 2-Hidroksiantrakinin, Bileşik 1-5, 8, 9) Hücre Hatlarına Karşı Ic ₅₀ Değerleri.	107
8.4: Tez Kapsamında Sentezlenen Bileşikler.	112

1. GİRİŞ

Kanser, dünya genelinde en ciddi rahatsızlıkların arasında yer almaktadır. Hücrelerin kontrolsüz bölünmesiyle, bölünen hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile ortaya çıkan genetik ve çevresel koşulların da etkisi altında olan kompleks bir hastalıktır. Bilinen 100'den fazla kanser türü olması farklı tedavi yöntemlerini ortaya çıkarmıştır. Kemoterapi bazlı tedavilerde, kanser hücrelerinde etkin ajanlar var olmasına rağmen tedavi kapsamında kullanılmakta olan ilaçlar kanserli hücrelerle birlikte sağlıklı hücrelerin de zarar görmesine neden olmaktadır [1]. Bu nedenle yeni tedavi yaklaşımları ve yeni ajanların araştırılıp geliştirilmesi gereklidir.

İnorganik bileşiklerin önemli bir üyesi olan siklofosfazenler (NPX₂)_n, fosfor atomuna bağlı klorların, alifatik veya aromatik reaktiflerle ile yer değiştirmeleri sonucu, reaktiflerin özelliklerine ve reaksiyon şartlarına bağlı olarak farklı özelliklere sahip ürünler vermektedir [2-6]. Siklofosfazen halkasının farklı reaktiflerle kolay substitüe olabilmeleri sonucu oluşan yeni bileşiklerin kararlılık, çözünebilirlik gibi özellikleri ve çeşitli aktiviteleri nedeniyle bu halka sistemi ana iskelet olarak sıklıkla tercih edilmektedir.

Kinon grubunun en büyük üyesi olan 9,10-antrakınonlar, doğada kimyasal çeşitliliğe sahip bileşikler arasındadır. Çeşitli bitkilerde doğal oluşuma sahiptir. Özellikle doğal yollarla oluşan 9,10-antrakınon türevleri geniş yelpazeli uygulama alanına sahip olup biyoaktif özellik göstermesinden dolayı araştırmacıların ilgisini çekmektedir [7]. Antrakınon türevlerinin çeşitli kanser hücrelerinde hücre proliferasyonunu baskıladığı, hücre döngüsünü durdurduğu ve apoptoza yol açtığıyla ilgili veriler bulunmaktadır [8].

Bu araştırmalar doğrultusunda; tez çalışmasında, yeni nesil antrakınon yapıları siklotrifosfazen türevi bileşiklerinin hazırlanması ve potansiyel antikansorejen etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Tez çalışması kapsamında heksaklorosiklotrifosfazenin 2,2-dimetil-1,3-propandiol ile reaksiyonları incelendi ve monospiro-, monoansa-, dispiro- ve monoansa-monospiro- bağlı bileşikler elde edildi. Elde edilen bileşiklerin sırasıyla 2-aminoantrakınon, 2-hidroksiantrakınon ve 2-hidroksimetilantrakınon ile reaksiyonları gerçekleştirilerek nihai ürün olan 5-9 bileşikleri elde edildi. Ayrıca heksaklorosiklotrifosfazenin 2-aminoantrakınon ile de reaksiyonları gerçekleştirilerek 10 ve 11 bileşikleri elde edildi. Sentezi gerçekleştirilen tüm

bileşikler uygun yöntemlerle saflaştırıldı ve yapıları kütle (MALDI-TOF) spektrometrisi, ^1H , ^{31}P , fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopi yöntemleri ile aydınlatıldı. Tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin (1-3,5,8,9) MCF-7 (meme kanseri), MCF-12A (insan normal meme epiteli), DLD-1 (insan kolon kanseri) ve CCD-18Co (insan normal kolon epiteli) hücre hatlarına karşı biyolojik aktivite çalışması yapılarak, elde edilen sonuçlardan en anlamlı çıkan bileşik 9'un DNA'ya etkileri Agaroz-Jel elektroforez yöntemi ile incelendi.

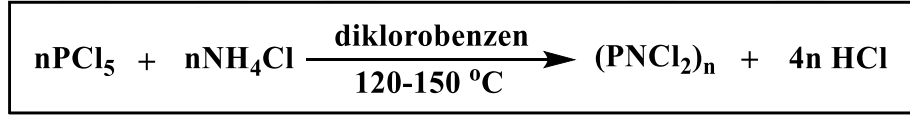


2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Fosfazenler

2.1.1. Tarihsel Geçmişi

İlk fosfazen bileşiği 1834 yılında fosforpentaklorürün amonyak ile reaksiyonu sonucunda Liebig ve Wöhler tarafından sentezlenmiştir [9]. Sentezi gerçekleştirilen ürünün doğru basit formülü o yıllarda belirlenememiştir. Yaklaşık 10 sene sonra Gerhardt ve Laurent bu ürünün basit formülünün NPCl_2 olduğunu açıkladılar [10]. Gladstone, Holmes ve Wichelhaus tarafından molekül formülünün $(\text{NPCl}_2)_3$ olduğunu buhar yoğunluğu ölçümleri kullanılarak kanıtlanmıştır [11,12]. 19. yüzyılda N. Stokes, ilk kez $(\text{NPCl}_2)_3$ 'ün yapısının halkalı yapı olduğunu öne sürüp, $(\text{NPCl}_2)_n$ yapısına sahip bileşikler de ($n = 4, 5, 6$ ve 7) açıklamıştır [13]. Klorofosfazenlerin sentezi için gerekli birçok yöntem önerilmiş olmakla birlikte, Schenck ve Römer tarafından geliştirilen yöntemle klorofosfazenler daha yüksek verimle elde edilebilmektedir [14].

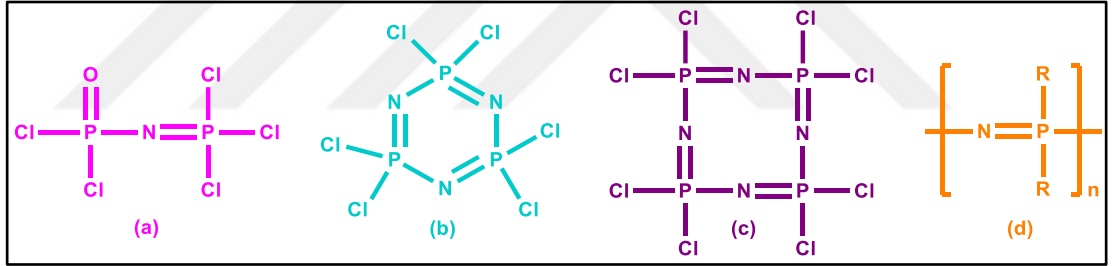


Şekil 2.1: Halka yapılı fosfazenlerin sentezi.

Yaklaşık 1960'lı yılların başında, siklofosfazen ile organik sübstitüentlerin tepkimesinden oluşan organofosfazenlerin yapısı üzerine, infrared (kızılötesi ışınımı), X-ışını kırınımı ve NMR (nükleer manyetik rezonans) gibi spektroskopik teknikler kullanılarak detaylı araştırmalar yapılmıştır. İlk polifosfazen Allcock ve Kugel tarafından 1965'te sentezlenmiştir [15]. Yapılan bu çalışmalar doğrultusunda 19. yüzyılda klorofosfazenlerin büyümesi başlamış ve günümüze kadar birçok farklı reaksiyon türü, çalışma alanı (hidroliz, yerdeğiştirme, polimerleşme gibi) ile literatüre kazandırılıp gelecek çalışmalara ışık tutmuştur.

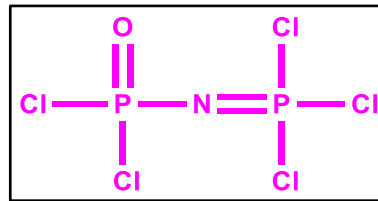
2.1.2. Fosfazenlerin Sınıflandırılması

1800'lü yılların başına kadar uzanan fosfazen kimyası inorganik ve organik kimya arasında önemli ve köklü bir arayüzdür. Her bir fosfor için iki süstitüentin bağlı olduğu halka sistemleri ve lineer tür sınıfı geliştirilmiştir. Fosfazene bağlı yan gruplar çok çeşitli halojenler, organometalik, organik ve inorganik birimler olabilmekle birlikte bağlanan grubun fiziksel ve kimyasal özelliklerini taşıyabilirler. Fosfazen bileşiklerinin en önemli özelliklerinden biri yapılarında $-P=N-$ grubu bulundurması sebebiyle inorganik karakter taşıırken, organik bileşiklerde çözündüğü için organik bir karakter taşımalarıdır. Fosfazen bileşiklerinin çoğu beyaz, kristal katı maddelerdir [10]. Fosfazener genellikle üç ana kategoride sınıflandırılabilir. Bunlar; Lineer (düz zincirli), halkalı (siklo) ve polimerik fosfazenerdir. Elastomerik ya da termoplastik karaktere sahip düz zincirli polimerik fosfazen türevleri atmosferik nem ve oksijene karşı kararlı yapıdadır [16]. Halkalı (siklo) fosfazener ve polimerik fosfazener, en iyi bilinen ve üzerinde en çok çalışma yapılan fosfor-azot türevleridir.



Şekil 2.2: a) Lineer (düz) zincirli; b), c) halkalı (siklo) ve d) polimerik fosfazen bileşikleri.

2.1.2.1. Lineer (Düz) Zincirli Fosfazener

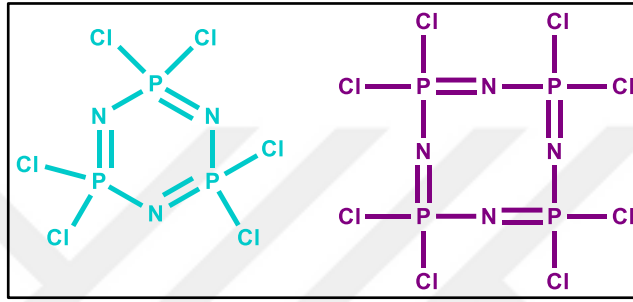


Şekil 2.3: Lineer (düz zincirli) fosfazen bileşiği.

Fosfiniminler ve fosfoanilinler olarak da adlandırılan lineer fosfazener; asiklik, kısa zincirli doğrusal fosfazener olarak bilinir. Lineer (düz zincirli) fosfazen

bileşikleri $X_2P(Y)N=PX_3$ veya $(R)HN=PX_3$ (X: alkoksi, amino, halojen, vb. ; Y=O, S; R: alkil) kapalı formülleriyle gösterilebilen P=N çift bağına sahip bileşikleridir [17]. Bu kategorideki en iyi bilinen örnek, amonyum sülfat ve fosfor pentaklorürden sentezlenen p-trikloro-N-diklorofosforilmonofosfattır [18]. Sentez ve saflaştırma zorluğu olan lineer zincirli fosfazenler açık ortamda hemen bozulurlar, bu nedenle daha az çalışmaya konu olmuşlardır [19].

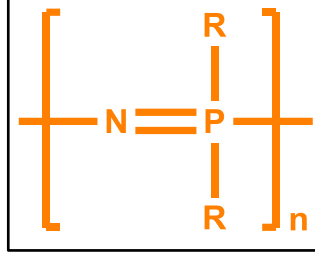
2.1.2.2.Halkalı (Siklo) Fosfazenler



Şekil 2.4: Halkalı (siklo) fosfazen bileşikleri.

Halkalı (siklo) fosfazenlerin genel formül gösterimi $(NPX_2)_n$ ($n= 3-12$; X= F, Cl, Br) dir. Halkalı fosfazenler, üç veya daha fazla -P=N- biriminin tekrar etmesiyle oluşan, kısmen delokalize olan halka yapısına sahip sağlam heterosiklik bir yapıdır [20]. Rezonans sonucunda oluşan elektron delokalizasyonu nedeniyle lineer fosfazenlere oranla daha kararlı yapıdadırlar [21, 22]. Halkalı fosfazenlerin en yaygın olanları heksaklorosiklotrifosfazen (Trimer) ve oktaklorosiklotetrafosfazendir (Tetramer) [23]. -P=N- biriminin beş, altı, yedi kere tekrar ettiği siklo yapılar da bilinmektedir ancak trimer ve tetramerden daha az yaygındır [13]. Formül içerisindeki 'X' halkalı fosfazenler için en yaygın kullanımı olan klordur. Isıya ve ışığa son derece dirençli olan halkalı fosfazenler, farklı reaksiyon koşullarına olanak sağlamasından dolayı yeni moleküllerin tasarımı için sıklıkla tercih edilmektedir. Ayrıca aynı iskelet üzerinde birden fazla ve farklı özellikleri barındıran grupları birleştirme yeteğine sahip olması onu diğer halkalı sistemlerden üstün kılmaktadır.

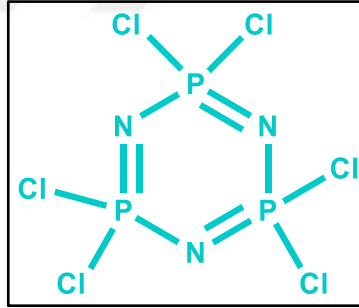
2.1.2.3. Polimerik Fosfazenler



Şekil 2.5: Polimerik fosfazen bileşiği.

Polimerik fosfazen molekülü, bir dizi fosfor ve azot atomundan oluşur ve her fosfor atomuna iki süstitüent bağlanabilir. Polimerik fosfazen moleküllerinin moleküler ağırlığı genellikle çok yüksek olmakla beraber çoğu örnek 15.000 ($n = 15.000$) ya da daha fazla tekrar eden birime sahiptir [10]. Ana zincir üzerine bağlanabilen süstitüentler organik, inorganik ve organometalik yapılar olabilir [24].

2.1.3. Hekzaklorosiklotrifosfazenin Yapısı ve Özellikleri



Şekil 2.6: Hekzaklorosiklotrifosfazen'in yapısı.

Genel formül gösterimi $(NPX_2)_n$ olan halkalı fosfazenler arasında en bilinen yapılardan biri olan hekzaklorosiklotrifosfazen, beyaz renkli kristal yapısı olan bir bileşiktir [10].

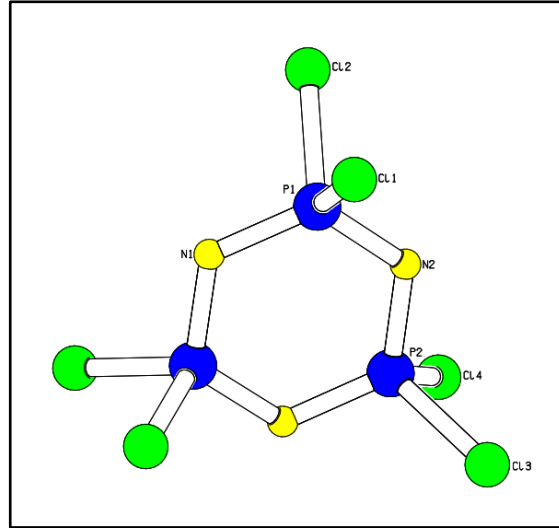
Hekzaklorosiklotrifosfazenin bazı genel fiziksel özellikleri aşağıdaki Tablo 2.1'de paylaşılmıştır.

Tablo 2.1: Hekzaklorosiklotrifosfazen'e ait fiziksel özellikler.

Erime Noktası (°C)	114,6 °C
Kaynama Noktası (°C)	256 °C
Yoğunluk (g/cm³)	1,98 g/cm³
Kristal Yapısı	Rombik
Görünüşü	Beyaz, Katı

Ek olarak, hekzaklorosiklotrifosfazen hekzan ve petrol eteri çözücülerinde kristallendirilebilmektedir. Belli basınç ve sıcaklık altında (0,1 mmHg, 55°C) süblimleşebilmektedir. Nem olmayan havada kararlı olup, çözelti içinde olmadığı sürece hidrolize olmamaktadır.

N. Stokes, ilk kez hekzaklorosiklotrifosfazenin altı üyeli halka yapılı olduğunu önermiştir [13]. Halkalı fosfazenin yapısı X-ışını kırınımı yöntemiyle yapı incelesi 1936 yılında Meyer, Lotmar ve Pankow'un çalışmalarıyla yapılmıştır [25]. Yapılan çalışmaların ardından 1943'lü yıllarda hekzaklorosiklotrifosfazenin yapısı Brockway ve Bright tarafından yeniden incelenmiştir. Yapılan inceleme sonuçlarına dayanarak hekzaklorosiklotrifosfazen halkasındaki fosfor atmlarının düzgün dörtyüzlü geometriye sahip olduğu belirlenmiştir. Altı üyeye sahip halkalı fosfazenin fosfor (P) ve azot (N) bağlarının ardışık olarak bağlandığını ve yapıdaki fosfor atomlarına iki klor atomunun bağlı olduğu bulunmuştur [26]. Yapı aşağıdaki Şekil 2.7'de paylaşılmıştır.



Şekil 2.7: Hekzaklorosiklotrifosfazen'in yapısı.

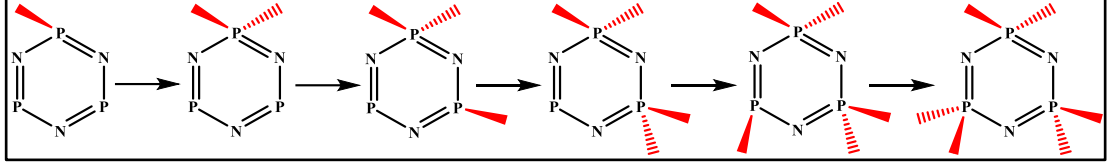
Hekzaklorosiklotrifosfazen bileşiğinin nokta grubu D_{3h} olup, düzlemi σ_h ayna düzlemi olarak alınır [27]. Hekzaklorosiklotrifosfazen halkasındaki tüm fosfor (P), azot (N) atomları arası bağ 1.581 Å olup birbirine eşittir. Halkadaki bağ açıları sırasıyla N-P-N, P-N-P, Cl-P-Cl; 118.4°, 121.4°, 101.4°'dir. Ayrıca heksakorosiklotrifosfazen halkasına farklı gruplar veya atomlar bağlanırsa, fosfor-azot bağ uzunlukları değişkenlik gösterir ve düzlemsellikten uzaklaşan halka yapısı gözlemlenir. Bağlanan grubun elektronegatifliği ile bağ uzunluğu ters orantılıdır [28].

2.1.4. Hekzaklorosiklotrifosfazenin Mono-difonksiyonlu Nükleofiller ile Reaksiyon Mekanizmaları

2.1.4.1. Monofonksiyonlu Nükleofiller ile Reaksiyon Mekanizmaları

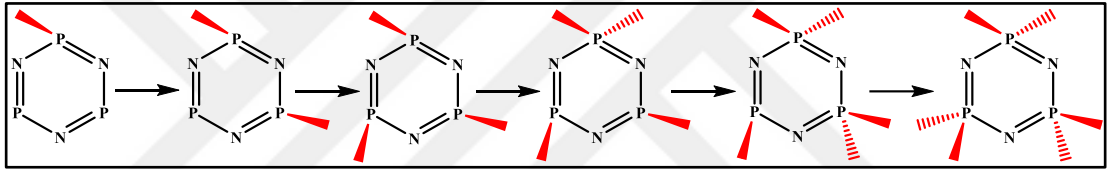
Hekzaklorosiklotrifosfazen, farklı yapılarla sahip bileşikler ile nükleofilik yer değiştirme reaksiyonları gerçekleştirir. Çoğu heksakorosiklotrifosfazen reaksiyonunda, halojen atomları kısmen veya tamamen diğer atomlar ve gruplar ile yer değiştirebilir. Hekzaklorosiklotrifosfazene ait altı klor atomunun pozisyonları aynı olmasına rağmen, monosüstitüe olmuş pentaklorosiklotrifosfazenin geri kalan beş pozisyonu birbiriyle aynı değildir. Bu bilgiler doğrultusunda monofonksiyonlu nükleofiller ile diğer klor atomlarının, kısmi yer değiştirmeleri durumunda 'geminal' ve 'geminal olmayan' mekanizmalar ile izomerler oluşmaktadır [17, 21].

Hekzaklorosiklotrifosfazen'e ait klorlar aynı fosfor atomu üzerinden yer değiştirme reaksiyonuna katılıyorsa, bu reaksiyon geminal yer değiştirme mekanizması ile gerçekleşmektedir (Şekil 2.8) [17].



Şekil 2.8: Hekzaklorosiklotrifosfazen'in geminal yer değiştirmesi.

Geminal olmayan yer değiştirme mekanizmasında ise hekzaklorosiklotrifosfazen'e ait klorlar yer değiştirme reaksiyonuna farklı fosfor atomları üzerinden katılarak reaksiyon vermektedir (Şekil 2.9) [21].

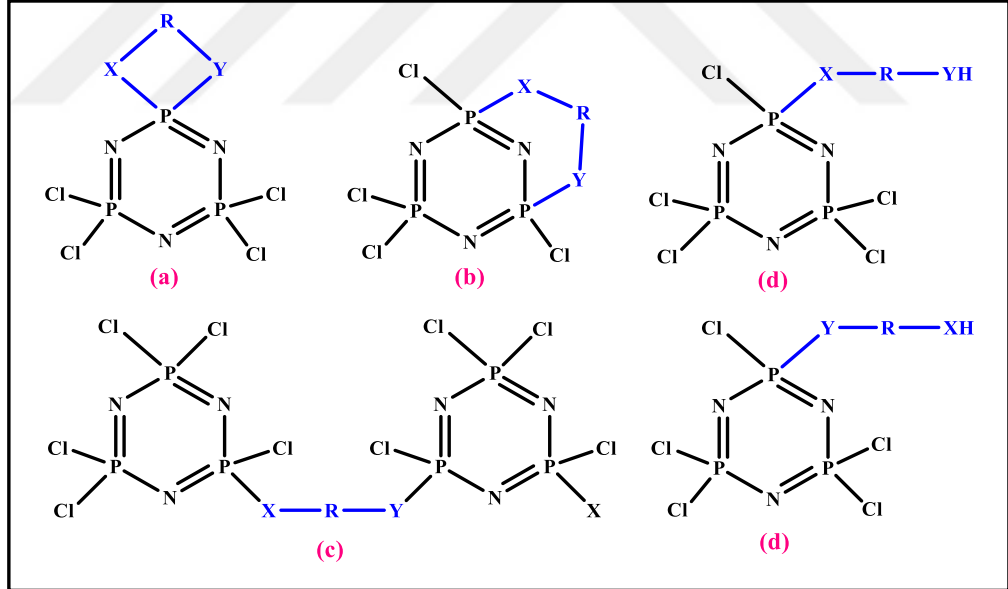


Şekil 2.9: Hekzaklorosiklotrifosfazen'in geminal olmayan yer değiştirmesi.

Hekzaklorosiklotrifosfazen'in yer değiştirme reaksiyonları, polariteye ve sterik etkiye bağlı olarak, iki yer değiştirme mekanizması üzerinden de ilerleyebilmektedir. Ancak geminal yer değiştirme mekanizması geminal olmayan yer değiştirme mekanizmasına göre daha çok görülmektedir. Geminal yer değiştirme, klor atomundan daha küçük bağlanan bir grup olduğunda meydana gelirken, geminal olmayan yer değiştirmede ise, bağlanan grup genellikle klor atomundan daha büyüktür. Bağlanan grupların büyüklükleri klor atomu ile benzer boyuta sahip olduğu durumlarda, bağlı oldukları fosfor atomuna yüksek bir elektron yoğunluğu sağlayacağından bu fosfor atomunda nükleofilik saldırı olmayacak bu yüzden yer değiştirme reaksiyonu geminal olmayan yer değiştirme mekanizmasını tercih edecektir. Fosfor atomunun elektron yoğunluğu bağlanan gruplar tarafından azaltılırsa, fosfor atomunda geminal yerdeğiştirme gözlemlenecektir [29].

2.1.4.2. Difonksiyonlu Nükleofiller ile Reaksiyon Mekanizmaları

Hekzaklorosiklotrifosfazen'in difonksiyonlu nükleofiller ile reaksiyonu sonucu birden fazla ürün elde edilebilir. Bu ürünlerin çeşitliliği nükleofilin fosfor atomuna bağlanmasına göre değişkenlik göstermektedir. Difonksiyonlu nükleofillerin iki ucu aynı fosfor atomu üzerinden (geminal) yer değiştirme reaksiyonuna katılırsa spiro yapıları oluşurken, farklı fosfor atomu üzerinden (geminal olmayan) yer değiştirme reaksiyonuna katılımı ansa yapıları oluşmaktadır. Nükleofilin iki ucundan biri bir siklofosfazen bileşiğindeki fosfor atomuna, diğer uç ise diğer siklofosfazen bileşiğindeki fosfor atomuna bağlanarak iki fosfazen halkası arasında köprü oluştuğunda ise köprülü (bino) yapıları oluşmaktadır. Son ürün çeşidi olarak, difonksiyonlu nükleofilin bir ucu fosfor atomuna bağlanırken diğer ucunun açık kaldığı, açık uçlu zincir yapıları oluşmaktadır. Çeşitli ürünlerin oluşumu; fosfazen halkasının boyutuna, reaksiyon ortamının sıcaklığına, kullanılan baz ve çözücü gibi birçok etkene bağlıdır [30].

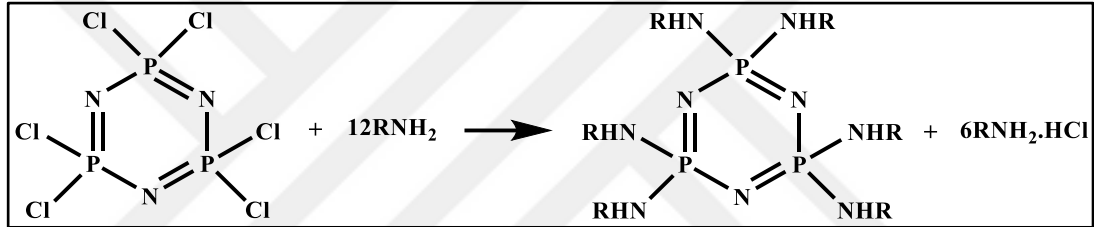


Şekil 2.10: (a) monospiro, (b) ansa, (c) köprülü-(bino) ve (d) açık zincirli ($X=Y$ veya $X \neq Y$, X ve Y: -O, -NH gibi gruplar).

2.1.5. Siklotrifosfazen Bileşiklerinin Reaksiyonları

2.1.5.1. Siklotrifosfazen Bileşiklerinin Aminoliz Reaksiyonları

Siklotrifosfazen bileşiğindeki halojen atomların primer ve sekonder aminler ile yerdeğiştirme reaksiyonu ‘aminoliz’ olarak adlandırılır. Siklotrifosfazenin bu reaksiyonu sonucunda HX açığa çıkar. Hekzaklorosiklotrifosfazen’in aminoliz reaksiyonlarında bir klor atomu ile yerdeğiştirmenin gerçekleşmesi için amin bileşiğinin iki mol olması gerekir. Buradaki aminin fazlası, oluşacak olan hidroklorik asiti (HCl) tutmak için kullanılmaktadır. Ayrıca oluşan hidroklorik asiti tutmak için aminin fazlası yerine tersiyer amin olan trietilamin ve piridin gibi bazları kullanmak da mümkündür.



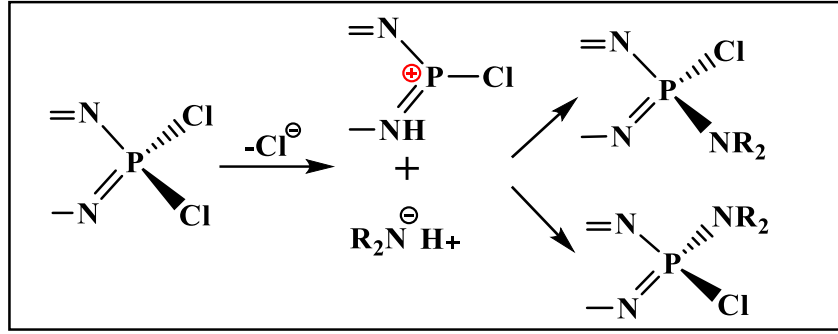
Şekil 2.11: Hekzaklorosiklotrifosfazenin aminoliz reaksiyonu.

Aminoliz reaksiyonları $S_N^1(P)$ ve $S_N^2(P)$ mekanizmaları üzerinden ilerleyebilir. Reaksiyonun hangi mekanizma üzerinden yürüyeceği genellikle aminin elektron verme kuvvetine ve kullanılan çözücünün polarlığına göre değişmektedir [31]. Bu durum genel olarak Tablo 2.2’de özetlenmiştir.

Tablo 2.2: Reaksiyon şartlarına bağlı aminoliz mekanizmaları.

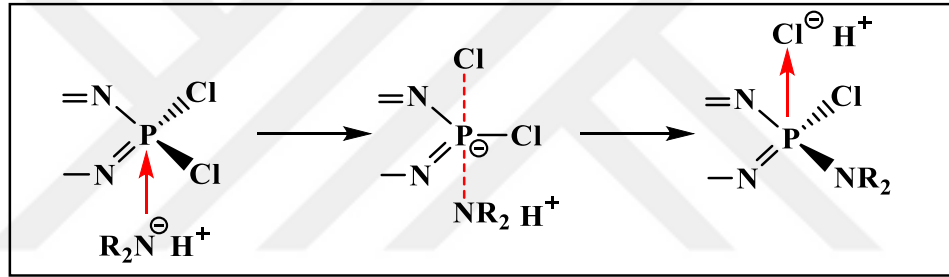
Çözücü Polarlığı	Amin Elektron Verme Gücü	Mekanizma
Yüksek	Düşük	$S_N^1(P)$
Düşük	Yüksek	$S_N^2(P)$

$S_N^1(P)$ reaksiyon mekanizmasında, amin saldırısı olmadan önce klor atomunun kopması gerçekleşir.



Şekil 2.12: $S_N1(P)$ reaksiyon mekanizması ile siklotrifosfazenlerin aminoliz reaksiyonu.

$S_N2(P)$ reaksiyon mekanizmasında ise üçgen bipiramit geçiş durumu meydana gelir ve klorun fosfor atomundan ayrılması ile aminin fosfor atomuna bağlanması eşzamanlı olarak gerçekleşir.

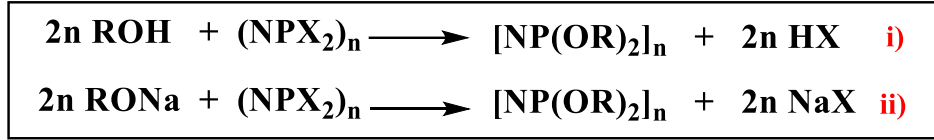


Şekil 2.13: $S_N2(P)$ reaksiyon mekanizması ile siklotrifosfazenlerin aminoliz reaksiyonu.

2.1.5.2. Siklotrifosfazen Bileşiklerinin Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonları

Siklotrifosfazen bileşiklerinin alkol ve alkolatlar ile verdiği reaksiyonlar 'alkoliz', fenoller ile verdiği reaksiyonlar 'fenoliz' olarak adlandırılır. Hidroksil gruplarına sahip alkol, fenol gibi nükleofiller siklofosfazenler ile reaksiyona girdiklerinde ana ürün oluşumu, ara ürün oluşumundan daha baskındır. Reaksiyon sonucunda oluşan ürünlerin saflaştırılması ve karakterizasyonunun yapılması kolay olduğundan hidroksil gruplarına sahip nükleofiller, siklotrifosfazenlerin reaksiyonlarında sıklıkla tercih edilir. Alkoksitürevi siklotrifosfazen bileşikleri; heksaklorosiklotrifosfazen bileşiğinin bir organik çözücü içerisinde alkol veya alkolatlar ile trietilamin, sodyum hidrür, piridin gibi bazların varlığında, uygun sıcaklıktaki reaksiyonu ile oluşur. Fenoller ve alkol ile yer değiştirme

reaksiyonlarında genellikle geminal olmayan bağlanma görülürken, tiyoller ile geminal bağlanma görülür [32]. Alkoliz ve fenoliz reaksiyonları $S_N^1(P)$ ya da $S_N^2(P)$ mekanizmaları üzerinden ilerlemektedir. Alkoksitler ve fenoksitlerin kuvvetli nükleofil olmalarından dolayı $S_N^1(P)$ mekanizması üzerinden reaksiyonun ilerlemesi daha düşüktür [10].



Şekil 2.14: Siklofosfazenlerin alkoller ve sodyum alkolatlar ile reaksiyonları; i) alkoller ii) alkolatlar.

2.1.6. Hekzaklorosiklotrifosfazen'in Reaksiyonlarına Etki Eden Faktörler

2.1.6.1. Sübstitüent Etkisi

Yerdeğiştirme reaksiyonunları ile reaksiyona katılacak olan nükleofilin özellikleri, siklotrifosfazen'in reaksiyonu üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir. Bağlanmayı gerçekleştirecek nükleofildeki dallanma ve büyüklük sterik etkiye neden olur. Sterik etkinin olması siklotrifosfazen'in yerdeğiştirme reaksiyon hızını ve derecesini etkiler. Bu sebeple dallanma olmayan hacmi küçük nükleofillerin, dallanma yapmış nükleofillere göre yerdeğiştirme reaksiyonları daha kolay olmaktadır.

Siklotrifosfazen halkası üzerine bağlanacak olan grubun türü ve sayısı reaksiyon gidişatı için önemli rol oynamaktadır. Bir araştırmada, $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_6$, $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_4\text{Ph}_2$, $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_2\text{Ph}_4$ bileşiklerinin alkoliz reaksiyonları ile fosfazen halkası üzerindeki sübstitüent etkisi incelenmiştir. Bu çalışma doğrultusunda bileşiklerin bağlanma hızı ve kolaylığı sırasıyla; $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_6 > \text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_4\text{Ph}_2 > \text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_2\text{Ph}_4$ şeklinde olup bağlı olan fenil gruplarının sayısındaki artışın, bir sonraki sübstitüe grubun bağlanması ve hızı üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir [33].

2.1.6.2. Çözücü Etkisi

Diğer bir faktör de çözücünün etkisidir. Siklotrifosfazen bileşiklerinin reaksiyonlarında özellikle su içermeyen çözümler tercih edilir. Sulu çözümlerin kullanımında heksaklorosiklotrifosfazen hidrolize olmaktadır. Bu sebeple, benzen, toluen, dietileter, ksilen gibi çözümler direk kullanılabilir fakat tetrahidrofur, dioksan, dimetilformamit gibi çözümlerin kuru olması gerekmektedir.

Bir diğer önemli çözümler etkisi de polarlıktır. Çözümlerinin reaksiyon ortamında oluşan tuzları çözmemesi istenir bu sebeple çözümler polaritesi önem taşımaktadır [34].

2.1.6.3. Baz Etkisi

Hekzaklorosiklotrifosfazenin nükleofilik reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için fosfazen halkasına bağlı klor atomlarının bir baz yardımı ile tuz oluşumu sağlanır ve bu durum klorların reaksiyondan hızlı ve kolay bir şekilde uzaklaşmasına kolaylık sağlar [34].

2.1.7. Siklotrifosfazenin Uygulama Alanları

Hekzaklorosiklotrifosfazen'de fosfor atomuna bağlı olan klorların alifatik ya da aromatik bileşikler ile yer değiştirme reaksiyonları sonucunda reaktiflerin sahip olduğu özelliklere ve reaksiyon şartlarına bağlı olarak farklı özelliklere sahip ürünler elde edilebilir [16]. Çeşitli reaksiyonlar ile elde edilen siklotrifosfazen türevlerinin spesifik fiziksel ve kimyasal özellik göstermeleri farklı uygulama alanlarını karşımıza çıkarmaktadır. Bu türevlerin; antikanser [35-38], antitümör [39,40], antibakteriyel [41], antimikrobiyal [42-44], antifungal [45], sıvı kristal [46-48], alev geciktirici [49-51] OLED (organik ışık yayıcı diyot) [52], floresans ve kemosensör [53-55], gibi geniş yelpazede uygulama alanları bulunmaktadır.

Siklotrifosfazenlerin biyolojik aktivite çalışmalarına birkaç örnek verilecek olursa; 2001 yılı içerisinde, K. Brandt ve araştırma ekibi tarafından sentezi gerçekleştirilen yeni bir siklotrifosfazen türevinin ARL (AIDS ile ilişkili lenfoma) çalışmasında, AIDS hastası olan kişilerden alınan hücreler üzerinde sentezlenen türevin önemli bir iyileştirici etkisi olduğu bildirilmiştir [56]. 2003 yılında Song ve

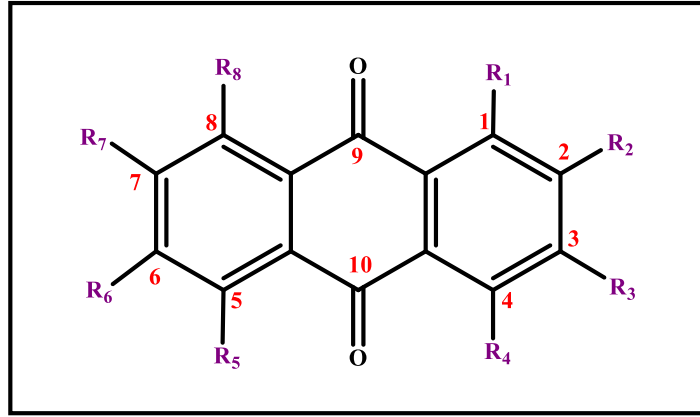
arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada, $N_3P_3(APEG)_3(AAPt \text{ (diamin)})_3$ bileşiği sentezlenmiş ve L1210'a (fare lenfositik lösemi hücre hattı) karşı in vitro ve in vivo çalışmaları yapılmış ve bileşiğin anti- karsinojenik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir [57]. Işıklan ve araştırma ekibi, spirosiklik fosfazen türevlerinin pirolidin ile reaksiyonunu gerçekleştirerek, elde ettikleri yeni bileşiklerin antibakteriyel çalışmalarının yanı sıra MIC ve DNA bağlanma çalışmalarını da yapmış, bazı türevlerin DNA üzerindeki önemli etkilerinden bahsetmişlerdir [58]. Yenilmez Çiftçi ve araştırma ekibi tarafından yapılan bir çalışmada, bir dizi spermin köprülü siklotrifosfazen türevleri hazırlanarak bileşiklerin in vitro sitotoksik etkileri (MTT) incelenmiş ve bileşiklerin bazılarında HT-29 (kolon kanseri) ve Hep-2 (Gırtlak kanseri) hücre hatlarına karşı anlamlı etkiler tespit edilmiştir [59].

2.2. 9,10-Antrakinin

$C_{14}H_8O_2$ Kapalı formülüne sahip 9,10 antrakininler, kinon aile grubunun geniş ve önemli bir alt grubunu oluşturur [60]. Antrakininler, 9,10-dihidro-9,10-dioksoantrasen, 9,10-dihidro-9,10-diketoantrasen ve 9,10-antrasendion adlarıyla da karşımıza çıkmaktadır [61]. Antrakininler, çeşitli bitkiler tarafından üretilen ve çok çeşitli uygulamalarda, örneğin gıda ve tekstil endüstrilerinde renklendirici ajanlar olarak kullanılmaktadır [62]. Doğal maddelerde bol miktarda bulunurlar. Yaklaşık 700 farklı antrakinin türevi bilinmekte ve bunlardan 200'ü bitkilerde bulunmaktadır. Bu bitkiler; sinameki, aloe vera, ışgın otu, barut ağacı, kökboya bitkisi ve yüksük otu gibi bilindik bitkilerdir [7,63,64]. Doğada bulunmalarına rağmen, Laurent tarafından antrasenin nitrik asit ile yükseltgenmesi sonucu elde edilene kadar fark edememişlerdir [65].

2.2.1. 9,10-Antrakininin Yapısı ve Özellikleri

Antrakininler temel çekirdeğinde yapısal olarak 9, 10 pozisyonlarında bir keto grubuna sahip üç halkalı aromatik yapıya antrasen halkasından inşa edilir. Antrakinin bileşiğinin yapısında konumlandırılabilir 8 farklı konum olmakla birlikte, 1, 4, 5, 8 konumları ' α ' olarak bilinirken, 2, 3, 6, 7 konumları ' β ' olarak bilinmektedir (Şekil 2.15). -OH, -CH₃, -OCH₃, -CH₂OH, -CHO, -COOH, -NH₂ gibi farklı fonksiyonel gruplar çeşitli pozisyonlara ikame edebilir (Şekil 2.15) [65, 66].



Şekil 2.15: 9,10-Antrakininon'un yapısı.

Antrakininon $C_{14}H_8O_2$ kapalı formülüne sahip, açık sarı ile soluk sarı renkli iğne şeklinde kristal yapıya sahip bir katı görünümündedir. Molar kütlesi 208,22 g/mol'dür. Erime noktası 286 °C ve kaynama noktası 379-381 °C arasındadır. 20 °C'deki yoğunluğu 1.44 g/cm³'dür. Kristal sınıfı monoklinikdir [67, 68].

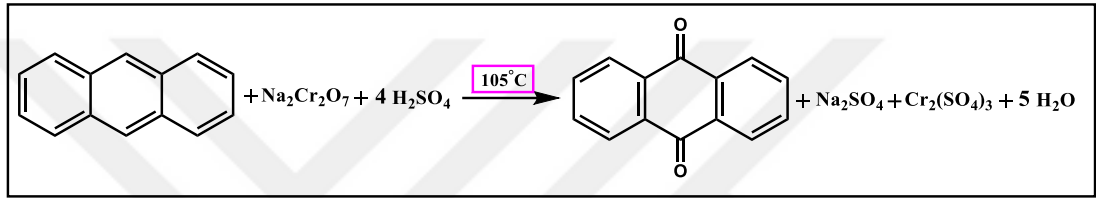
Ultraviyole (UV) absorpsiyon spektrumunda, her biri farklı bir titreşim modeline sahip olan dört band gözlemlenmektedir. Metanol içerisindeki antrakininonun absorpsiyon yaptığı dalga boyları; 251 nm (ϵ_{max} 54000), 279 nm (ϵ_{max} 17600), 321 nm (ϵ_{max} 4800) ve 377 nm (ϵ_{max} 110) dir. Kızıl ötesi spekturumu (IR) incelendiğinde karakteristik keto-karbonil titreşimleri $\nu=1681\text{ cm}^{-1}$ 'de ve aromatik çift bağların gerilmeleri $\nu=1600\text{ cm}^{-1}$ ve $\nu=1587\text{ cm}^{-1}$ 'de görülmektedir [68].

Antrakininonlar, sahip oldukları kaynama noktasının çok daha üzerinde bozunmaya başlarlar. Yükseltgenmeye karşı oldukça dirençli olan antrakininonlar, kolay bir şekilde indirgenerek çeşitli ürünlerin elde edilmesinde elverişlidir. Suda çözünürlüğü neredeyse hiç olmayan antrakininonlar, oda sıcaklığındaki organik çözücülerde (etanol, toluen vb.) nispeten çözünme göstermektedir ancak çözücü sıcaklığı arttırıldığında çözünme doğru orantılı bir şekilde artış gösterir. Bu sebeple antrakininon genellikle yüksek kaynama noktasına ve polarlığa sahip olan piridin, anilin, nitrobenzen, formamit ve dimetilformamit gibi çözücülerde yeniden kristallendirilebilir. Konsantre sülfirik asitte (H_2SO_4) oldukça yüksek çözünürlüğe sahiptir [61, 68].

2.2.2. 9,10-Antrakinon Eldesinde Kullanılan Yöntemler

2.2.2.1. Antrasenin Yükseltgenmesi ile Antrakinon Elde Edilmesi

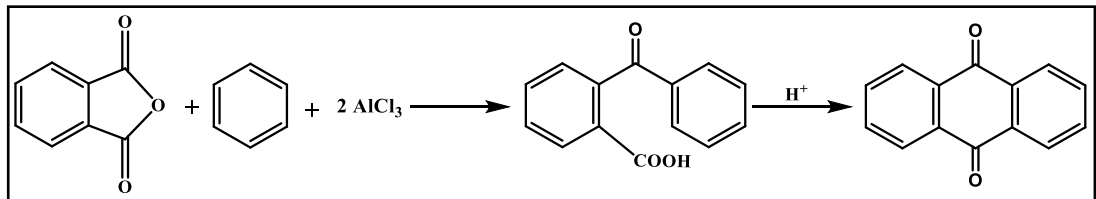
Antrakinonları elde etmek için endüstride en yaygın kullanılan sentez yöntemi antrasenin yükseltgenmesidir. Yükseltgenme yapılırken genellikle kullanılan yükseltgenler nitrik asit, dikromat, moleküler oksijen ve ozon olmakla birlikte endüstride daha çok dikromat prosesi tercih edilmektedir. Elde edilen antrakinonun verimi %95'tir (Şekil 2.16) [68].



Şekil 2.16: Antrasenin yükseltgenmesi ile antrakinon sentezi.

2.2.2.2. “Friedel Crafts” Reaksiyonu ile Antrakinon Elde Edilmesi

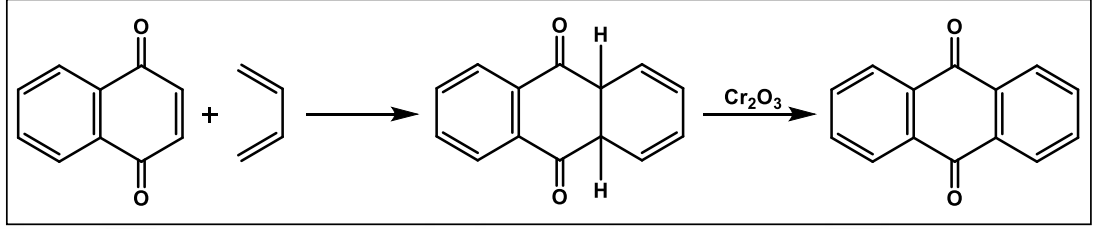
Antrakinon üretimi için bir başka tercih edilen reaksiyon yöntemi de Friedel-Crafts açılasyonudur. Bu yöntemde ftalik anhidrit, benzen ile susuz alüminyum klorür varlığında reaksiyona girer ve reaksiyon sonucunda o-benzilbenzoik asit elde edilir. Ardından bu ürün bir asit katalizör olan sülfirik asit (H_2SO_4) varlığında halkanın kapanmasına uğrar. Reaksiyon sonunda yüksek verim ve yüksek saflıkta antrakinon elde edilir. Bu reaksiyonlarda, 1 mol ftalik anhidrit başına 2 mol susuz alüminyum klorürün kullanılması, reaksiyonu yüksek verim ile sonuçlandırır. Boya endüstrisinde antrakinon ve türevlerinin çoğu bu yöntem ile sentezlenir (Şekil 2.17) [65, 69].



Şekil 2.17: Friedel-Crafts reaksiyonu ile antrakinon sentezi.

2.2.2.3. “Diels-Alder” Reaksiyonu ile Antrakinon Elde Edilmesi

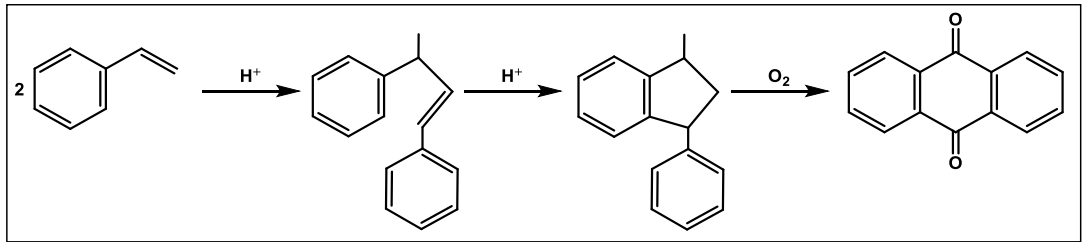
100-110 °C'de az miktarda 1,3-bütadien içinde 1,4-naftokinon'un aktive edilmesiyle tetrahidroantrakinon oluşmaktadır. Daha sonra tetrahidroantrakinon, bir baz varlığında hava ile oksitlenerek saf antrakinon elde edilebilir (Şekil 2.18) [65, 70].



Şekil 2.18: Diels-Alder reaksiyonu ile antrakinon sentezi.

2.2.2.4. “Stiren” Reaksiyonu ile Antrakinon Elde Edilmesi

Bir diğer elde etme yöntemi ise stiren prosesidir ve bu yöntem BASF tarafından geliştirilmiştir. Stiren bir asit katalizör varlığında (sülfürik asit, borik asit, fosforik asit vb.) dimerleşerek 1,3-difenil-2-büten'e dönüşür. Ardından yine aynı asit katalizör varlığında %85-90 verimle 1-metil-3-fenil-indana'a dönüşüp havadaki oksijen ile yükseltgenerek antrakinon elde edilir. Son basamak antrakinon eldesi takriben %77 verimle gerçekleşir (Şekil 2.19) [68].



Şekil 2.19: Stiren reaksiyonu ile antrakinon sentezi.

2.2.3. 9,10-Antrakininon Türevleri

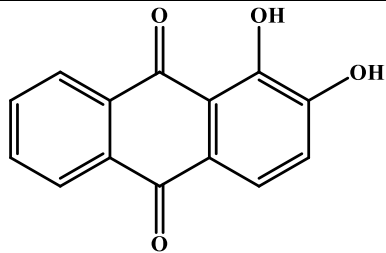
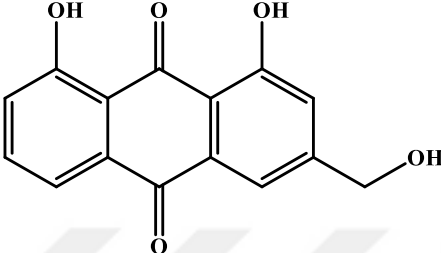
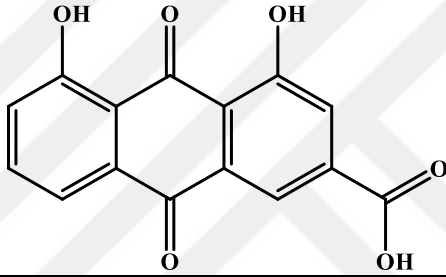
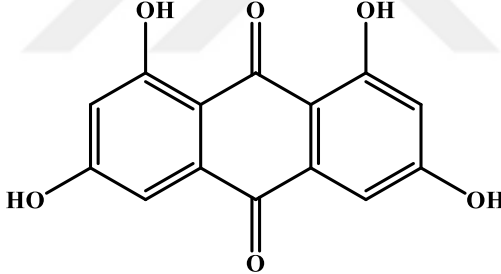
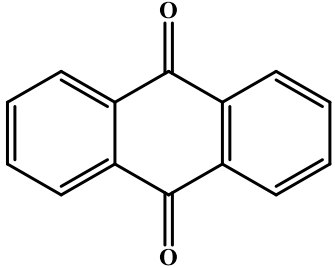
Antrakininon ve türevleri, birçok dikkata değer özelliğe ve kullanıma sahip olan çeşitli alanlarda kapsamlı olarak çalışılmış bileşiklerdir. Antrakininonları oluşum yapılarına göre sınıflandırmak mümkündür. Birçok antrakininon türevi doğal olarak oluşurken sentetik ve yarı sentetik antrakininonlar olarakta karşımıza çıkmaktadır [71].

2.2.3.1. Doğal Antrakininon Türevleri

Doğal olarak oluşan 9,10 antrakininon türevleri daha çok likenler, mantarlar ve bitkilerden izole edilir. Doğada 79 tane doğal antrakininon türevinin bulunduğu bilinmektedir [72]. Polygonaceae (kuzukulağıgiller), Rhamnaceae (çehrigiller), Liliaceae (zambakgiller), Rubiaceae (kökboyasıgiller), Rumex (labada), baklagiller, aloe gibi türlerde bulunmaktadır [73]. Bitkilerde aglikon olarak serbest formda bulunmalarına ek olarak, birçok antrakininon şeker kalıntılarına bağlıdır [60].

Literatür araştırmaları sonucunda doğal antrakininonların; anti-kanser [74, 75], antitümör [76], antiinflamatuvar [77], diüretik [72] antiartritik [78], antifungal [79], antibakteriyel [80], antimalarial [81] ve antioksidan aktiviteler [82, 83] gibi geniş bir aralıkta biyolojik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Tablo 2.3'te antioksidan özellik gösteren bazı antrakininon türevleri örnek olarak verilmiştir.

Tablo 2.3: Bazı antrakinon türevlerinin antioksidan oranları.

Bileşğin İsmi	Bileşğin Şekli	% Antioksidan
Alizarin		%93
Aloe-Emodin		%78
Rhein		%71
Emodin		%36
Antrakinon		%8

Ek olarak, antrakinonların bağırsak fonksiyonlarını düzenleme etkisi vardır ve bunlar esas olarak Fizikon, Krizofanol, Aloe-Emodin ve Rhein'de bulunur. Fizikon, en önemli temsilcilerden biridir. Bu özellik, antrakinon halkasının C-1 ve C-8 pozisyonlarında hidroksillerin varlığına atfedilir [60].

Rhein gibi antrakinon türevleri, geleneksel Çin bitki raventinin ana aktif bileşenleri olmakla birlikte anti-inflamatuar ve immünosupresif gibi birçok biyolojik

aktif özellik göstermektedir [7]. Son zamanlarda popüler olan aloe-vera (Sarısabır) bitkisinin ekstresinin üç aktif ana bileşeni antrakinin türevleridir. Bunlar; Aloe-emodin, rhein ve barbolindir. Çeşitli tedavilerde potansiyel farmasötik kullanıma sahiptir [84]. Aloe-emodin; anti-kanser ve anti-inflamatuar etki göstermektedir [85, 86].

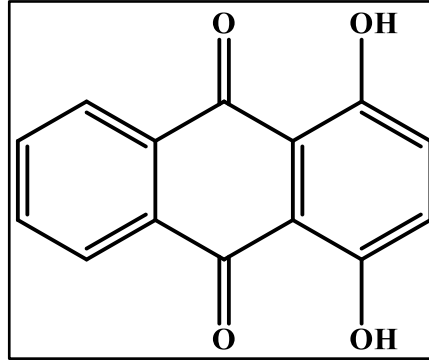
Antrakininlerin bir diğer önemli özelliği ise bitkilerin biyolojik süreçlerini devam ettirebilmesi için elektron taşıma zincirinde önemli bir role sahip olmasıdır [7].

2.2.3.2.Sentetik Antrakinin Türevleri

9,10 Antrakinin, 1840 yılında Laurent tarafından, antrasenin nitrik asitle oksitlenmesi ve ardından antrasenin Fritzsche tarafından kromik asit ile oksitlenmesi yoluyla hazırlanmasına rağmen, Graebe ve Liebermann çığır açan keşiflerini duyurana kadar, bu bileşiğe çok az ilgi gösterildi. Antrakinin ilk olarak o-benzoil-benzoik asitten sentetik olarak Behr ve Van Dorp tarafından hazırlandı. Bir mol o-benzoil-benzoik asidin iki mol P_2O_5 ile $200^{\circ}C$ 'de ısıtılmasıyla deneme reaksiyonu gerçekleştirildi. Birkaç saat süren reaksiyon sonucunda, bu araştırmacılar %26 verimle antrakinin elde etmeyi başardılar. Liebermann, bu yöntem üzerinde çalışmalar yaparak iyileştirme ön gördü ve P_2O_5 yerine dumanlı sülfirik asit kullanarak son ürün olan alizarine dönüştürülebilen antrakinin sülfonik asiti sentezlemeyi başardı [65]. Ardından Graebe ve Liebermann'ın 1868 yılında yaptıkları çalışmada antrasenden alizarin sentezlediler [87]. Bunun sonucunda oluşan alizarin, antrasen ve antrakinin bileşiklerinin arasındaki jenerik ilişkinin incelenip aydınlatılmasıyla sentetik antrakinin türevleri sentezlenmeye başlamıştır. Sentetik alizarinin elde edilmesinden kısa bir süre sonra, teknik olarak üretim gerçekleştirilmesi ile 'antrakinin kimyası' başlamış oldu [88].

Sentetik antrakinin türevleri farklı yöntemler ile elde edilebilir. Bunlardan ilki benzoik asitten antrakinin eldesi olup; benzoik asit, uygun bir dehidrasyon ajanıyla (fosfor pentoksit gibi) ısıtıldığında, antrakinin elde edilebilir. İkincisi ise ftalik anhidritten antrakinin türevi eldesi: bu yöntem özellikle hidroksi antrakinin türevlerinin elde edilmesinde yararlı bir yöntemdir. Doğrudan antrakinin sentezi bu yöntem ile gerçekleşmez. Ftalik anhidrit ve fenol ya da konsantre sülfirik asit ve borik asidin bir fenol türevi ile ısıtılmasıyla antrakinin türevi elde edilmektedir. Bu

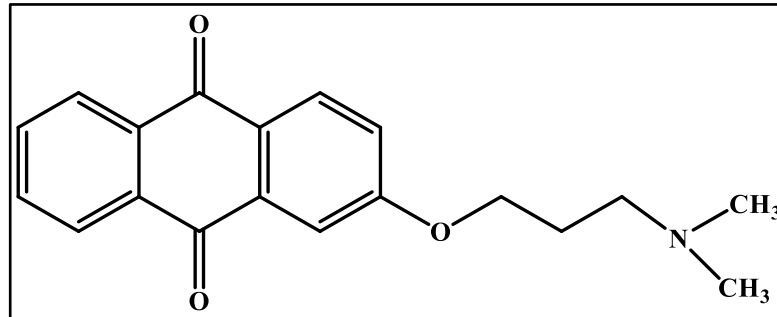
sentez doğrultusunda; p-klorofenol ve ftalik anhidrit, antrakinon türevi olan Kinizarin (1,4 dihidroksiantrakinon) elde edilmesinde kullanılır (Şekil 2.21).



Şekil 2.20: Kinizarin (1,4 dihidroksiantrakinon) bileşiğinin yapısı.

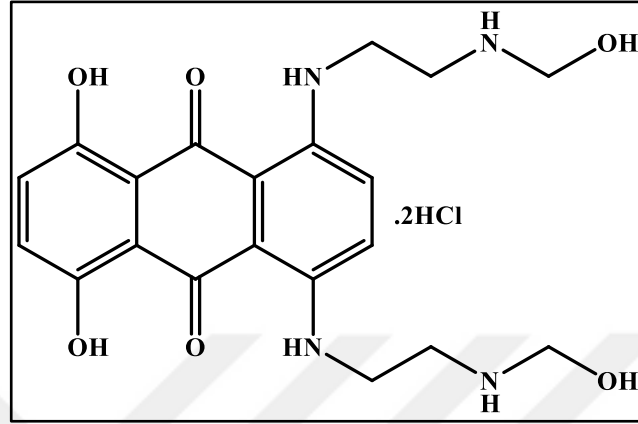
Üçüncü yöntem ise ftalik anhidrit, benzen ve susuz alüminyum klorürden eldesi: Sentetik antrakinonları hazırlamak için teknik olarak kullanılan tek yöntem budur. Ftalik anhidrit ilk olarak benzen ve susuz alüminyum klorür ile yoğunlaştırılır daha sonra sülfirik asit ile ısıtılma işlemi yapılır ve antrakinona dönüştürülen benzil-2-benzoik asit eldesi gerçekleşir [65].

Sentetik bir antrakinon türevi olan 1-hidroksi-3-[3-(dimetilamino)-propoksi]-9,10-antrakinon'un in vitro çalışmalarında apoptoz yoluyla birkaç farklı kanser hattı üzerinde etkili bir sitotoksosite göstermiştir (Şekil 2.22) [89]. Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptoz, onarılması imkânsız hale gelen hücrelerin, hasarı en aza indirgeyerek ortadan kaldırılmasıdır. Bu nedenle apoptoz, onkolojide ilgi odağı haline gelmiştir [90].



Şekil 2.21:1-hidroksi-3-[3-(dimetilamino)-propoksi]-9,10-antrakinon bileşiğinin yapısı.

Mitoksantron dihidroklorür, klinikte antikanser ajan olarak kullanılan önemli bir antrakinon türevidir (Şekil 2.23). Diğer tedavilerle de (lösemi, lenfoma, ilerlemiş meme ve yumurtalık kanseri) kombinasyon halinde kullanılmaktadır [60, 91].



Şekil 2.22: Mitoksantron dihidroklorür bileşiğinin yapısı.

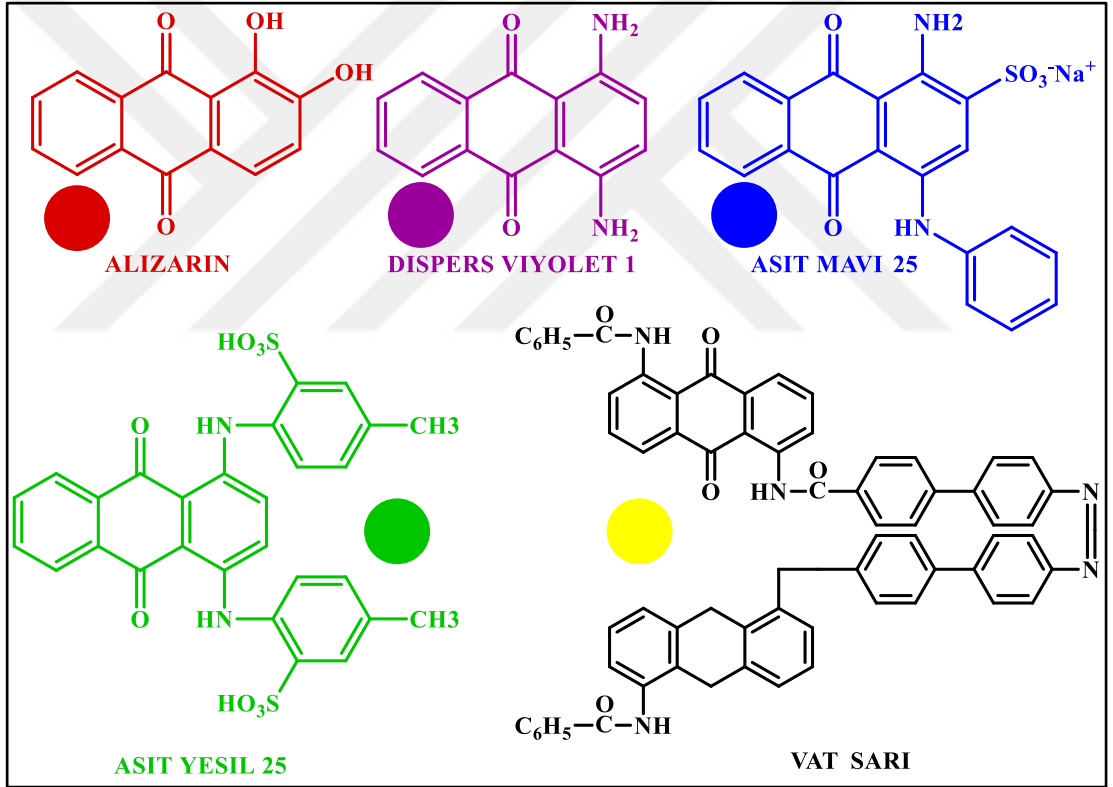
2.2.3.3. Yarı Sentetik Antrakinon Türevleri

Ham ravenol özünden izole edilen Emodin ve Krisoptanol başlangıç malzemeleri olarak kullanılan doğal antrakinonlardır. Yapısal aromatik özellikleri incelendiğinde bahsi geçen bileşiklerin ve C-metil-modifiyeli yeni türevlerinin (özellikle pozitif yük içeren) çift DNA sarmalına girebileceği görülmüştür. Bu bileşiklerin insan lösemi HL-60 ve fare lösemi L1210 hücre hatlarına karşı antikanser aktivitesinin yapı-aktivite ilişkileri incelenmiştir. Ayrıca yapısında bir amino grubu taşıyan antrakinon bileşiklerinin DNA üzerinde etkisi olduğu ifade edilmiştir. Bileşiklerin DNA-afinite sonuçları ile sitotoksik etki sonuçları spektrofotometrik olarak incelenmiş ve aralarında doğrudan bir ilişkinin olmadığı açıklanmıştır. Sentezi gerçekleştirilmiş antrakinonun sitotoksik etkisi zamana bağlı olmakla birlikte DNA replikasyonunun ilk inhibisyonuna doğrudan bir etkisinin olmadığı açıklanmıştır [92].

2.2.4. 9,10-Antrakinon Türevlerinin Uygulama Alanları

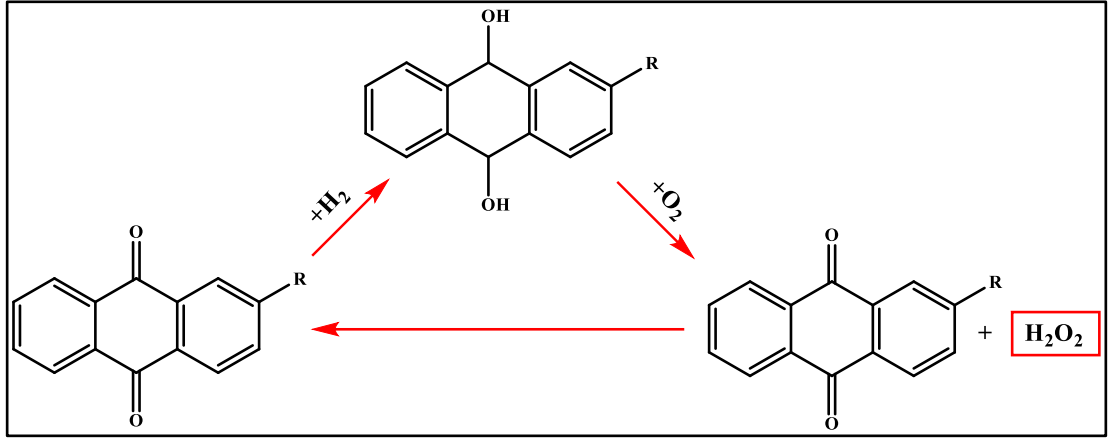
9,10-Antrakinon ve türevleri çok çeşitli uygulama alanına sahip doğal ve sentetik bileşikler sınıfını oluşturmaktadır. Türevlendirilebilecek sekiz farklı pozisyonu olması, farklı uygulama alanlarını ortaya çıkarmaktadır [93, 94]. Bunlar;

Boyarmadde olarak; Antrakinon serisi dispers boyalar, asit boyaları, kazan boyaları, reaktif boyalar, tekne boyaları gibi iyi kromatografik özellik ve iyi performansa sahip boyalar elde etmek için geliştirilmiştir. Sentetik boyalar alanında önemli bir role sahip 400'den fazla antrakinon boyası türü vardır. Doğada da antrakinon boyarmaddelerine çok fazla örnek bulunmaktadır [95]. Şekil 2.24 'de bazı antrakinon içeren boyarmaddeleri paylaşılmıştır.



Şekil 2.23: Bazı antrakinon türevi boyarmaddeler.

Hidrojen peroksit üretiminde; Endüstride 1939 yıllarında patenti alınmasıyla birlikte o yıllardan günümüze kadar hidrojen peroksit üretimi neredeyse yalnızca antrakinon prosesi kullanılarak yapılmaktadır (Şekil 2.25) [96].



Şekil 2.24: Hidrojen peroksit üretiminde antrakinon prosesi.

Biyolojik bir pestisit olarak; antrakinon ve türevleri, mahsulleri korumak için etkili standartları karşılamaktadır. Bu sebeple böcek ilacı ve beslenme engelleyici ajan olarak kullanılmaktadır [97].

Kimyasal kâğıt hamuru üretim yöntemlerinden biri olan kraft yönteminde; kraft pişirme çözeltilinde antrakinon ilave edilmesi hamur veriminin artmasını sağlamış ve endüstriyel kâğıt hamuru üretimde yerini almıştır [98].

İlaçlarda; antrikonon türevi olan doksorubisin ve mitoksantron kanser tedavisinde kullanılan ilaçlardır [99].

Aynı zamanda bağırsak fonksiyonlarını düzenlemek için kullanılan ve Senna (Sinameki) bitkisinden elde edilen sennazoit A ve B antrakinon türevleridir [100].

3. KONUYLA İLGİLİ YÜRÜTÜLEN ÇALIŞMALAR

3.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün Reaksiyonları

Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-dimetil-1,3-propandiol'ün reaksiyon çalışmaları ilk olarak 1990 yıllarında Al-Madfa ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada difonksiyonlu 2,2-dimetil-1,3-propandiol'ün reaksiyon şartları, hekzaklorosiklotrifosfazen'e bağlanma çeşitliliği [spiro, ansa, spiro-ansa, köprülü (bino)] ve sonucunda oluşan ürünler incelenerek yapıları ^1H , ^{31}P NMR spektroskopi yöntemleri ile aydınlatılmıştır [101].

Uslu ve arkadaşları tarafından 2010 yılında yapılan bir başka çalışma ise 1,3-propandioksi türevlerinin hekzaklorosiklotrifosfazene spiro ve ansa bağlanmalarındaki bazın etkisi araştırılmıştır [102].

Yenilmez Çiftçi ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmada ise hekzaklorosiklotrifosfazen 2,2-dimetil-1,3-propandiol ve N,N'-dimetil-1,3-propan-diamin ile monospiro ve dispiro olacak şekilde türevlendirilmiştir. Elde edilen bileşiklerin spermin ile reaksiyoları gerçekleştirilerek ilk kez sentezlenen bileşiklerin insan kolon kanseri (HT-29) ve insan epidermoid larenks karsinomu (Hep-2) hücre hatlarında MTT analizleri yapılarak anti tümör özellikleri araştırılmıştır. Araştırmalar sonucunda hekzaklorosiklotrifosfazenin 2,2-dimetil-1,3-propandiol ile reaksiyonu sonucu oluşan dispiro fosfazen türevinin hem HT-29 hem de Hep-2 hücre hatları üzerinde sitotoksik etkisi olduğu bulunmuştur [59].

3.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen ve Türevleri ile 9,10-Antrakinin Türevlerinin Reaksiyonları

Porwolik-Czomperlik ve araştırma grubu tarafından 2004 yılında yapılan bir çalışmada aziridinil (etilen imin) birimleri ve ayrıca 2-naftil veya antrakinin grupları taşıyan bir seri siklofosfazen taç eter türevi sentezlenerek bileşiklerin, in vitro alanında sekiz kanser hücre hattına karşı sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Siklofosfazen türevleri bağlanan gruplara (aziridinil, naftil, antrakinin) göre DNA'ya karşı farklı aktivite sergilemiştir. Sentezlenen bileşiklerin bir kısmının HL60, L1210

ve P388 lösemi hücrelerinin artışı baskıladığı ve antrakininon gruplarına sahip bileşiklerin kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkiyi arttırdığı bulunmuştur [103].

Siwy ve araştırma grubu tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada 2-kloroetilamin, 2-hidroksibenzaldehit (salisilaldehit) veya Schiff bazı (2-kloroetilamin ile yoğunlaşmadan sonra) gruplarını içeren ve aynı zamanda 2-naftil veya antrakininon gruplarına sahip bir dizi yeni siklotrifosfazen türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin dört kanser hücre hattı üzerinde in vitro sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Bileşiklerin çoğu, seçilen testlerde; MOLT4, L1210, HL-60 ve P388 hücre hatlarına karşı sentetik ajanlar için uluslararası kriter aralığında (4 µg/mL) antiproliferatif aktivite sergilemiştir [104].

Siwy ve araştırma grubu tarafından 2007 yılında yapılan bir başka çalışma ise aziridin veya 2-hidroksibenzaldehit (salisilaldehit) içeren yeni bir 1,3-(oksitetraetilenoksi)-siklotrifosfazen türevleri serisi ve eş ikame ediciler olarak 2-kloroetilamin ve antrakininon grupları ile yoğunlaştırıldıktan sonra Schiff baz birimleri sentezlendi. A549, HL-60 ve HCV29T kanser hücre hatlarına karşı in vitro sitostatik aktiviteleri incelenmiştir. Bazı bileşikler, test edilen hücre hatlarına karşı sentetik maddeler için uluslararası kriterler (4 µg/mL) aralığında antiproliferatif aktivite sergilemiştir [105].

Literatürler incelendiğinde; antrakininon ve fosfazenlerin aynı platformda bir araya getirildiği çok az sayıda çalışmaya rastlanmaktadır. Özellikle, spiro yapılı propan türevi siklotrifosfazenler ile olan çalışmalarına hiç rastlanmamıştır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Çalışma Süresince Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler

Tablo 4.1: Tez kapsamındaki Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.

Adı	Üretici Firma	Katalog No	Özellik (Saflık%)
Fosfonitrilik klorür(trimer)	Sigma-Aldrich	230286	Sentez için, 98.0
2,2-dimetil-1,3-propandiol	Sigma-Aldrich	126-30-7	Sentez için, 99.0
2-Hidroksiantrakınon	TCI	605-32-3	Sentez için,> 97.0
2-Aminoantrakınon	Sigma-Aldrich	165549	Teknik derece
2-(Hidroksimetil) Antrakınon	Sigma-Aldrich	226521	Sentez için, 97.0
Sodyum hidrür	Merck Ltd.	814552	Sentez için, 60.0
Sezyum karbonat	Sigma-Aldrich	202126	Sentez için, 99.9
Ninhidrin	Fluka Ltd.	33437	Analiz için, 99.0
Asetik asit	Merck Ltd.	100056	Ekstra saf, 100
2-Propanol	Merck	101040	HPLC, ≥99.9
Dötero kloroform	Merck Ltd.	134200	NMR analizi, 99.0
Tetrahidrofuran	Sigma-Aldrich	87368	Sentez için, ≥99.9
Trietilamin	Merck	121-44-8	Sentez için, ≥99.0
Piridin	Sigma-Aldrich	110-86-1	Ekstra saf, ≥ 99.0
Aseton	Sigma-Aldrich	32201	Sentez için, ≥99.5
Diklorometan	Merck	106049	Ekstra saf, ≥ 99.0
Kloroform	Merck	102445	Sentez için, ≥99.9
<i>n</i> -Hekzan	Merck	104368	Ekstra saf, ≥ 95.0
Metanol	ISOLAB	67-56-1	Sentez için, 99.8
Sodyum Sülfat	Merck	106643	Ekstra saf,> 99.0
Silikajel	Merck	109385	0.040-0.063 mm

Tablo 4.2: Hücre çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar.

Adı	Üretici Firma	Katalog No
MCF-7	ATCC®	HTB22™
MCF-12A	ATCC®	CRL-10782™
DLD-1	ATCC®	CCL-221™
CCD-18Co	ATCC®	CRL-1459
Na ₂ CO ₃	Sigma Aldrich	S8875
FBS	Sigma Aldrich	10270106
Horse serum	Sigma	H1270
İnsülin	Sigma	I0516
EGF	Sigma	62253638
L-glutamin	Thermo SCIENTIFIC	25030081
Penisilin/Streptomisin	Thermo SCIENTIFIC	15140122
RPMI-1640 (+L-glutamine)	Gibco	21875034
PBS	Thermo SCIENTIFIC	14190250
1X Tripsin-EDTA	Thermo SCIENTIFIC	25300054
DMEM F-12	Sigma Aldrich	D8900
EMEM	Sigma Aldrich	M4655
Sodyum Pirüvat	Sigma Aldrich	P2256
MTT	Sigma Aldrich	M2128
DMSO	Sigma Aldrich	D2650

Tablo 4.3: Agaroz Jel Elektroferezinde Kullanılan Kimyasallar.

Adı	Üretici Firma	Katalog No
Trizma base	Sigma	77-86-1
Borik asit	Sigma	10043-35-3
EDTA	Sigma	60-00-4
RedSafe™	Intron	21141
BamHI	Thermo Scientific™	ER0051
EcoRI	Thermo Scientific™	ER0271
HindIII	Thermo Scientific™	ER0501
pUC18 Plasmid DNA	Thermo Scientific™	SD0051

4.2. Çalışma Süresince Kullanılan Cihazlar

Tablo 4.4: Bileşiklerin sentez ve karakterizasyonunda kullanılan cihazlar.

Adı	Modeli	Bulunduğu Yer
NMR Spektrometresi	Varian 500 MHz	GTÜ
Kütle Spektrometresi	Bruker Microflex LT MALDI-TOF MS	GTÜ
İnfrared Spektrofotometresi	Bio-Rad FTS 175C	GTÜ
TLC UV Lamba	UVP UVGL-58	GTÜ
Döner buharlaştırıcı	Heidolph	GTÜ
Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı	Heidolph MR Hei- Standart	GTÜ

Tablo 4.5: Hücre çalışmalarında kullanılan cihazlar.

Adı	Firma ve Modeli	Bulunduğu Yer
Mikroplaka okuyucu Spektrofotometre	Thermo, Multiskan GO	Amasya Üniversitesi
İnkübatör	Memmert, INC-153med	Amasya Üniversitesi
Santrifüj	Hermle Labortechnik, Z216 MK	Amasya Üniversitesi
Mini spin	IKA mini G	Amasya Üniversitesi
Vorteks	IKA, vorteks 4 basic	Amasya Üniversitesi
Manyetik Karıştırıcı	IKA, c-mag HS7	Amasya Üniversitesi
pH metre	Thermo, Orion star A211	Amasya Üniversitesi
İnverted Mikroskop	Leica, DM IL LED fluo	Amasya Üniversitesi
Işık mikroskop	OLYMPUS, CX21	Amasya Üniversitesi
-80 dondurucu	Thermo, 88400 V 63	Amasya Üniversitesi
Otoklav	Hirayama, HV-110L	Amasya Üniversitesi
UV kabin	UVP, UV2 PCR cabinet	Amasya Üniversitesi
Thermal cycle block	Thermo, 5020	Amasya Üniversitesi

5. DENEYLERLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

5.1. Uygulanan Genel İşlemler

Reaksiyon ortamında kullanılan kimyasal maddeleri havadaki çeşitli istenmeyen maddelerden (oksijen, nem vb.) uzaklaştırmak için tez kapsamında gerçekleştirilen bütün reaksiyonlar kuru argon gazı ile inert bir atmosferde yapılmıştır.

Reaksiyon gidişatı ve sonlandırma işlemleri ince tabaka kromatografisi (TLC) ile takip edilmiştir.

Reaksiyon bitiminde saflaştırma işlemleri kolon kromatografisi, preparatif ince tabaka kromatografisi ve ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Saflaştırma yöntemlerinden biri olan ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildikten sonra elde edilen bileşikler, sodyum sülfat (Na_2SO_4) ile kurutulmuştur.

Sentezi gerçekleştirilen her bileşiğin ^{31}P , ^1H NMR analizlerinde döterokloroform (CDCl_3) çözücüsü kullanılmıştır.

5.1.1. Hekzaklorosiklotrifosfazenin Saflaştırılması

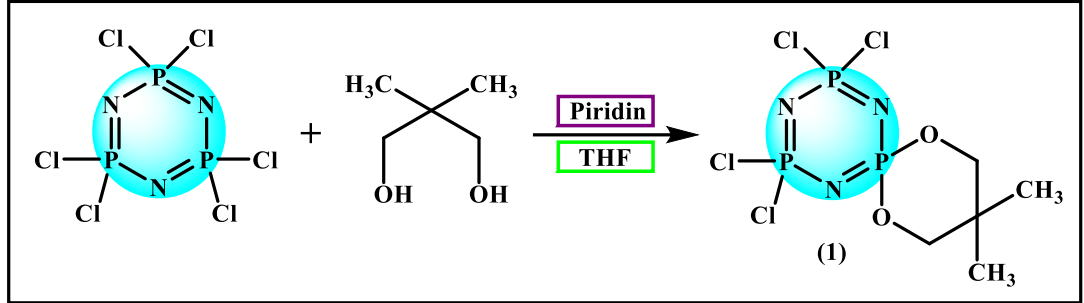
Hekzaklorosiklotrifosfazen, *n*-hezan çözücüsü içerisinde fraksiyonlu kristallendirme işlemi ile saflaştırılarak reaksiyonlarda kullanılmıştır.

5.1.2. Ninhidrin Çözeltisinin Hazırlanışı

190 mL 2-propanol ve 10 mL asetik asit karışımına 0.6 g ninhidrin eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında parlak sarı renkli bir çözelti karışımı elde edilene kadar karıştırılarak hazırlanır. Bu çözelti ince tabaka kromatografisi (TLC) analizlerinde kullanılmıştır.

5.2. Deneyler

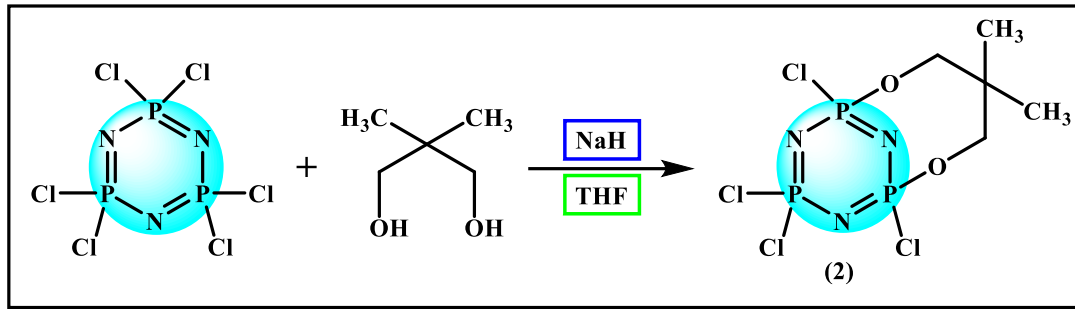
5.2.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün (1:2) Reaksiyonu (Bileşik 1)



Şekil 5.1: 1 Bileşiğinin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna, argon atmosferi altında 50 mL kuru tetrahidrofuran (THF) içinde çözülen heksaklorosiklotrifosfazen (trimer) (2.00 g, 5.75 mmol) ve piridin (0.92 mL, 11.50 mmol) eklendi. Damlatma hunisi yardımıyla 40 mL içinde çözülen 2,2-dimetil-1,3-propandiol (0.60 g, 5.75 mmol) çözeltisi damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 21 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. İnce tabaka kromatografisi (TLC) kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzüntünün çözücüsü (THF) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Daha sonra, geriye kalan reaksiyon karışımından, silikajel (200-400 mesh, 110 g.) dolgululu kolonda (3.0, 75 cm), DCM (diklorometan): *n*-hekzan (2:1) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, %76,30 verimle, beyaz renkli bileşik 1 (1.53 g, e.n: 160°C, Rf=0.56) katı madde olarak izole edildi. DCM: *n*-hekzan (2:1) çözücü sisteminde bileşik 1 kristallendirildi. Bileşiğinin sentezinde literatürden yararlanıldı [100].

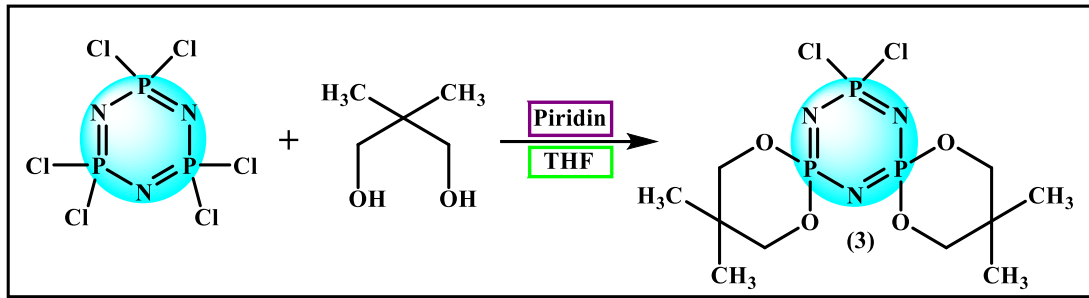
5.2.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün (1:2) Reaksiyonu (Bileşik 2)



Şekil 5.2: 2 Bileşiminin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna, argon atmosferi altında 20 mL kuru THF içinde çözülen 2,2-dimetil-1,3-propandiol (0.59 g, 5.70 mmol) eklendi. Buz banyosu ile reaksiyon ortamı -5°C 'ye kadar soğutulduktan sonra 20 mL THF içindeki sodyum hidrür (NaH) (0.23 g, 11.50 mmol) ilave edildi. Hekzaklorosiklotrifosfazen'in (1.00 g, 2.60 mmol) 20 mL THF içindeki çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla, damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 1 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. İnce tabaka kromatografisi (TLC) kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzüntünün çözücüsü (THF) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Daha sonra geriye kalan reaksiyon karışımından, silikajel (200-400 mesh, 110 g.) dolgululu kolonda (3.5, 90 cm), THF: *n*-hekzan (1:3) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla %58 verimle, beyaz renkli bileşik 2 (0.58 g, $R_f=0.56$) katı madde olarak izole edildi. Bileşiminin sentezinde literatürden yararlanıldı [100].

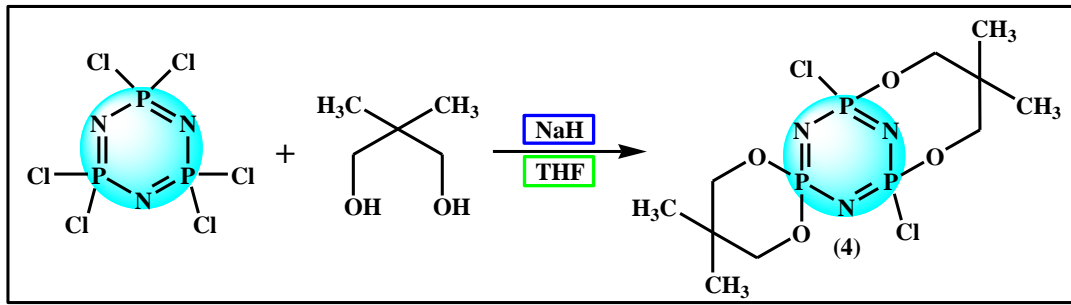
5.2.3. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün (1:4) Reaksiyonu (Bileşik 3)



Şekil 5.3: 3 Bileşiğinin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna, argon atmosferi altında 40 mL kuru THF içinde çözülen heksaklorosiklotrifosfazen (6.00 g, 17.30 mmol) ve piridin (6.96 mL, 83.60 mmol) eklendi. 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün (5.39 g, 51.80 mmol) 50 mL THF içindeki çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla, damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 2 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. İnce tabaka kromatografisi (TLC) kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzüntünün çözücüsü (THF) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Daha sonra geriye kalan reaksiyon karışımından, silikajel (200-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.0, 75 cm), DCM: *n*-hekzan (1:3) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla %47 verimle beyaz renkli bileşik 3 (2.82 g, e.n: 214°C, R_f=0.53) katı olarak izole edildi. DCM: *n*-hekzan (1:3) çözücü sisteminde bileşik 3 kristallendirildi. Bileşiğinin sentezinde literatürden yararlanıldı [59,100].

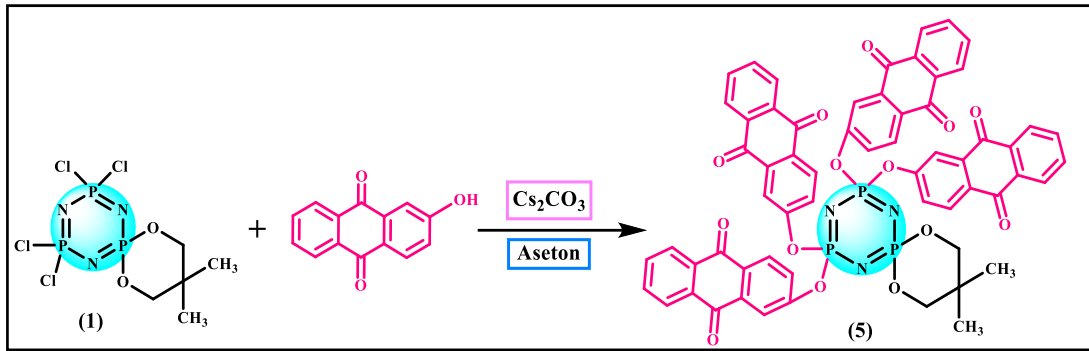
5.2.4. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol'ün (1:4) Reaksiyonu (Bileşik 4)



Şekil 5.4: 4 Bileşğinin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna argon atmosferi altında 20 mL kuru THF içinde çözülen 2,2-dimetil-1,3-propandiol (3.77 g, 36.00 mmol) eklendi. Buz banyosu ile reaksiyon ortamı -5°C 'ye kadar soğutulduktan sonra 20 mL THF içindeki sodyum hidrür (1.44 g, 36.00 mmol) ilave edildi. Hekzaklorosiklotrifosfazen'in (3.00 g, 8.60 mmol) 20 mL THF içindeki çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 1 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzöldü. Süzöntünün çözücüsü (THF) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Daha sonra geriye kalan reaksiyon karışımından, silikajel (200-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.5, 90 cm), THF: *n*-hekzan (1:3) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla %54 verimle beyaz renkli bileşik 4 (1.62 g, $R_f=0.4$) katı madde olarak izole edildi. Bileşğinin sentezinde literatürden yararlandı [100].

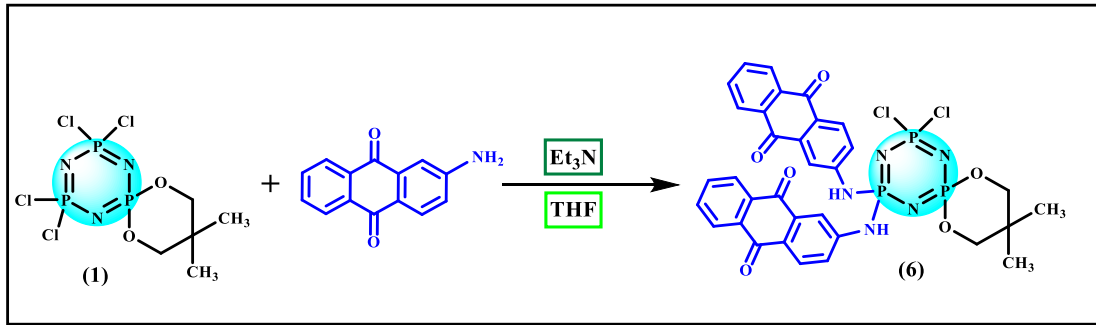
5.2.5. 1 Bileşiminin 2-Hidroksi-9,10-Antrakinon ile Reaksiyonu (Bileşik 5)



Şekil 5.5: 5 Bileşiminin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna argon atmosferi altında 10 mL kuru aseton içinde çözülen 2-Hidroksi-9,10-Antrakinon (0.53 g, 2.40 mmol) ve ardından sezyum karbonat (0.80g, 2.40 mmol) eklendi. Reaksiyon balonuna 15 mL kuru aseton içinde çözülen bileşik 1 (0.20 g, 0.53 mmol) yavaş bir şekilde ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 8 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. İnce tabaka kromatografisi (TLC) kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzüntünün çözücüsü (aseton) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldıktan sonra G4 filtre üzerinde kalan reaksiyon tuzuna ve süzüntüsüne TLC bakıldı. Ürünün süzüntüde değil tuzlarında kaldığı gözlemlendi. Su-diklorometan çözücü sisteminde G4 filtresinde kalan mor renkli tuz-madde karışımına ekstraksiyon işlemi uygulandı. Ekstraksiyonun ardından diklorometan fazında kalan ürünün çözücüsü döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. %32 verimle yeşil renkli bileşik 5 ($R_f=0.45$, 0.06 g) yağimsı olarak izole edildi.

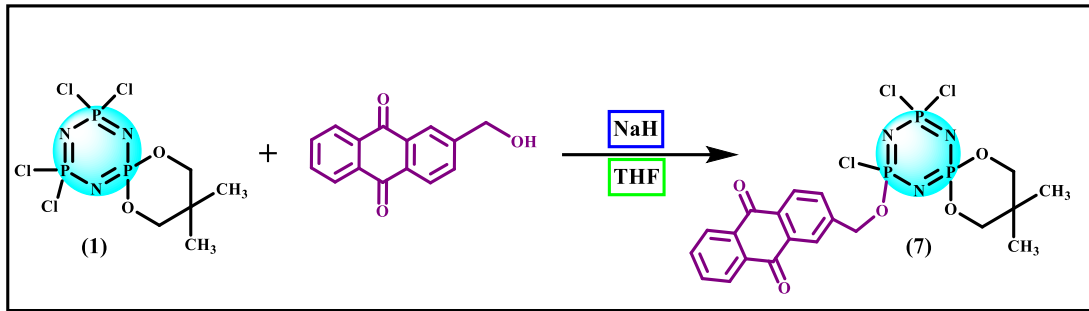
5.2.6. 1 Bileşiminin 2-Amino-9,10-Antrakinon ile Reaksiyonu (Bileşik 6)



Şekil 5.6: 6 Bileşiminin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna, argon atmosferi altında 15 mL kuru THF içinde çözülen bileşik 1 (0.20 g, 0.50 mmol) ile 2-amino-9,10-antrakinon (0.47 g, 2.10 mmol) eklendi. Reaksiyon balonuna trietilamin (Et₃N) (0.30 mL, 2.10 mmol) ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 3 gün boyunca oda sıcaklığında, 8 gün boyunca geri soğutucu altında çözücünün (THF) kaynama noktasında ısıtılarak manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. TLC yöntemi kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzüntünün çözücüsü (THF) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. THF: *n*-hekzan (1:2) çözücü sisteminde saflaştırma işlemi preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanılarak yapıldı. %62,50 verimle kahverengi renkli bileşik 6 (R_f=0.56, 0.125g, e.n:184.3°C) yağimsı olarak izole edildi.

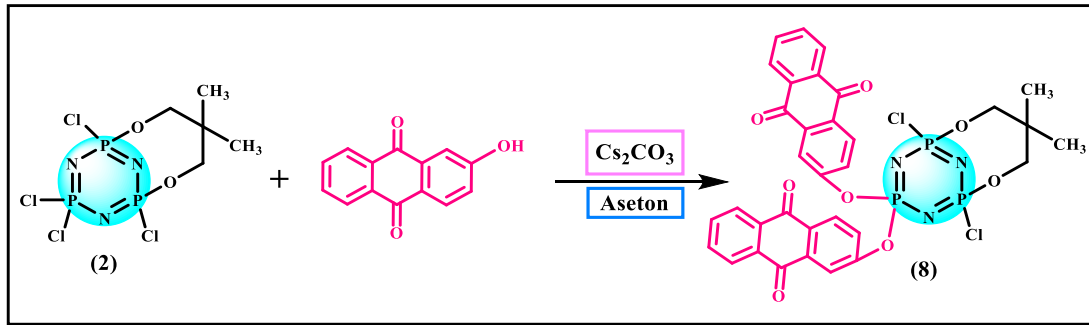
5.2.7. 1 Bileşiminin 2-Hidroksimetil-9,10-Antrakinon ile Reaksiyonu (Bileşik 7)



Şekil 5.7: 7 Bileşiminin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna, argon atmosferi altında 10 mL kuru THF içinde çözülen 2-hidroksimetil-9,10-antrakinon (0.63 g, 2.60 mmol) eklendi. Buz banyosu ile reaksiyon ortamı -5°C 'ye kadar soğutulduktan sonra 10 mL THF içindeki sodyum hidrür (0.13 g, 2.60 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 1 gün boyunca geri soğutucu altında manyetik karıştırıcı yardımıyla çözücünün (THF) kaynama noktasında ısıtılarak karıştırıldıktan sonra reaksiyon ortamına 10 mL kuru THF içindeki bileşik 1 (0.20 g, 0.50 mmol) ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 5 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzüntünün çözücüsü (THF) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Daha sonra geriye kalan reaksiyon karışımından, silikajel (200-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.5, 75 cm), THF çözücüsünün yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, %58 verimle sarı renkli bileşik 7 ($R_f=0.36$, 0.116 g, e.n: 131.3°C) yağimsı olarak izole edildi.

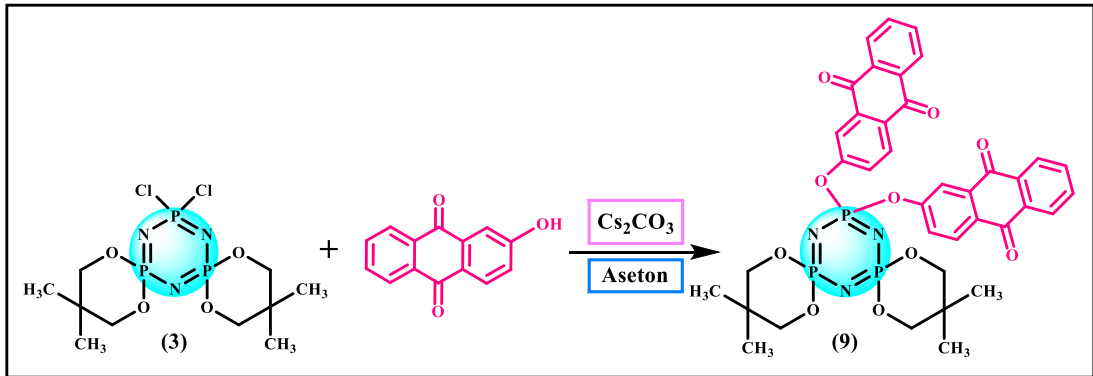
5.2.8. 2 Bileşiminin 2-Hidroksi-9,10-Antrakinon ile Reaksiyonu (Bileşik 8)



Şekil 5.8: 8 Bileşiminin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna, argon atmosferi altında 10 mL kuru aseton içinde çözülen 2-hidroksi-9,10-antrakinon (0.53 g, 2.30 mmol) ve sezyum karbonat (0.70 g, 2.30 mmol) eklendi. Reaksiyon balonuna 20 mL kuru aseton içinde çözülen bileşik 2 (0.2g, 0.26 mmol) yavaş bir şekilde ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 3 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. İnce tabaka kromatografisi (TLC) kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzüntünün çözücüsü (Aseton) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Daha sonra geriye kalan reaksiyon karışımından, silikajel (200-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.5, 75 cm), THF: *n*-hekzan çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla %67,5 verimle yeşil renkli bileşik 8 ($R_f=0.41$, 1.35 g, e.n:155.7°C) yağimsı olarak izole edildi.

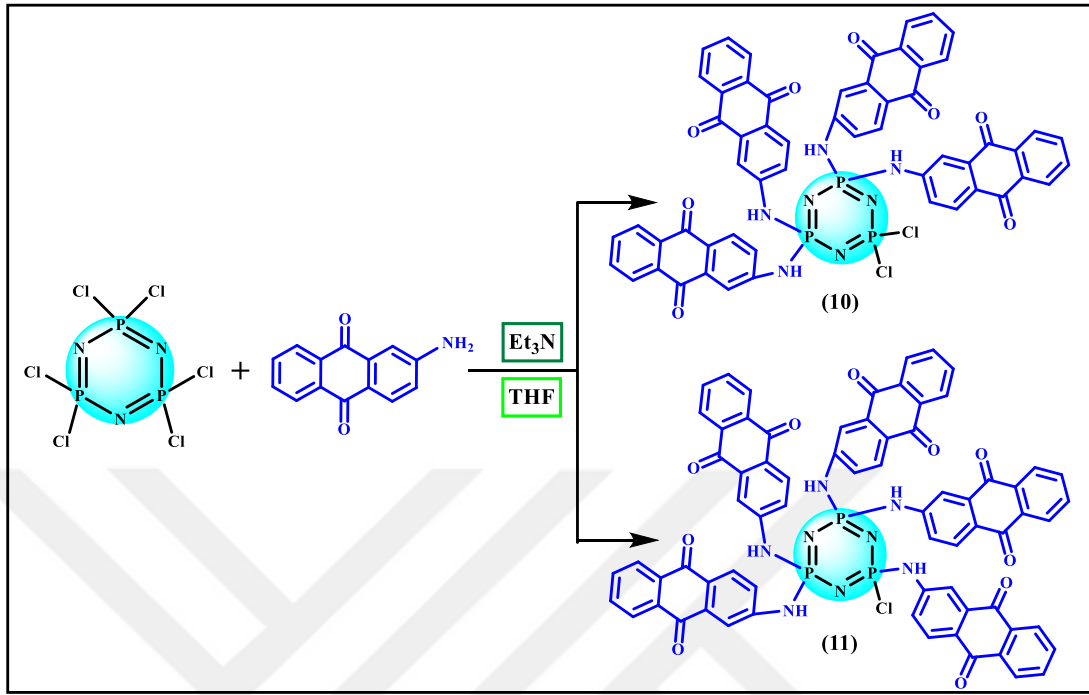
5.2.9. 3 Bileşiminin 2-Hidroksi-9,10-Antrakinon ile Reaksiyonu (Bileşik 9)



Şekil 5.9: 9 Bileşiminin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna argon atmosferi altında 10 mL kuru aseton içinde çözülen 2-hidroksi-9,10-antrakinon (0.14 g, 0.60 mmol) ve ardından sezyum karbonat (0.20 g, 0.60 mmol) eklendi. Reaksiyon balonuna 20 mL kuru aseton içinde çözülen bileşik 3 (0.10 g, 0.24 mmol) damlatılarak ilave edildi. Reaksiyon, manyetik karıştırıcı ile yaklaşık 10 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC kullanılarak reaksiyon karışımı kontrol edilip sonlandırıldı. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzüntünün çözücüsü (Aseton) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. %39,7 verimle mor renkli bileşik 9 ($R_f=0.63$, 0.08 g) yağimsı olarak izole edildi.

5.2.10. Hekzaklorosiklotrifosfazen'in 2-Hidroksi-9,10-Antrakinon (1:6) ile Reaksiyonu (Bileşik 10, 11)

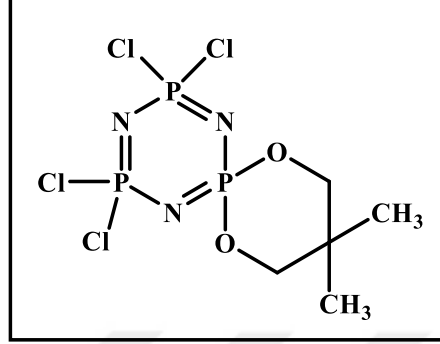


Şekil 5.10: 10 ve 11 Bileşiklerinin sentezi.

Üç boyunlu reaksiyon balonuna, argon atmosferi altında 25 mL kuru THF içinde çözülen heksaklorosiklotrifosfazen (0.30 g, 0.90 mmol) ve 2-amino-9,10-antrakinon (1.17 g, 5.30 mmol) eklendi. Reaksiyon balonuna Et₃N (0.73 mL, 5.30 mmol) ilave edildi. Reaksiyon, 6 gün boyunca geri soğutucu altında çözücünün (THF) kaynama noktasında ısıtılarak manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. TLC yöntemi kullanılarak reaksiyon ilerleyişi kontrol edilip sonlandırıldı. Yapılan TLC çalışmalarında iki spot gözlemlendi. Tuzlarından ayırmak için reaksiyon karışımı sinterli filtreden (G4) süzüldü. Süzütünün çözücüsü (THF) döner buharlaştırıcı ile kısmen vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. THF: *n*-hekzan (1:2) çözücü sisteminde saflaştırma işlemi preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanılarak yapıldı. %7,30 verimle sarı renkli bileşik 10 (R_f=0.5, 0.022 g) ve %26,60 verimle turuncu renkli bileşik 11 (R_f=0.3, 0.13g) yağimsı olarak izole edildi.

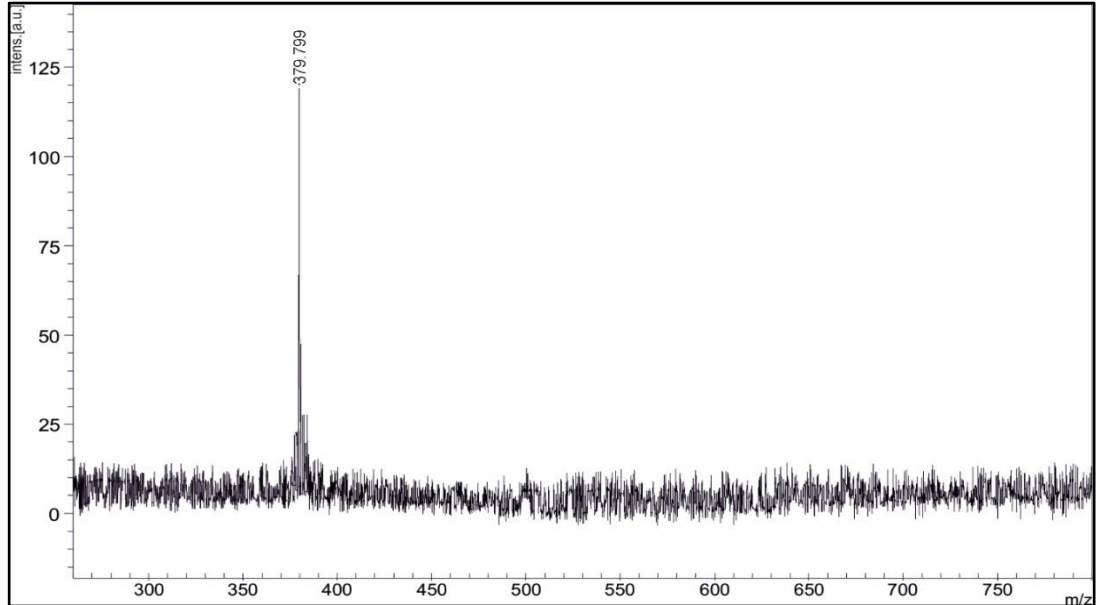
6. BİLEŞİKLERİN YAPI KARAKTERİZASYONLARI

6.1. Bileşik 1'in Yapı Karakterizasyonu



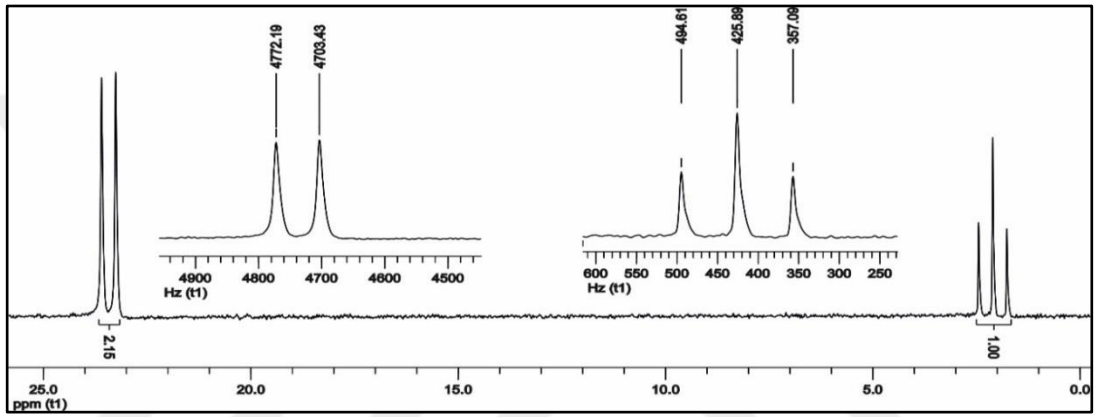
Şekil 6.1: 1 Bileşiğinin yapısı.

Bileşik 1'in kütle analizi MALDİ-TOF (Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma) tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M+H]^+$ 379.799 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (378.880 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



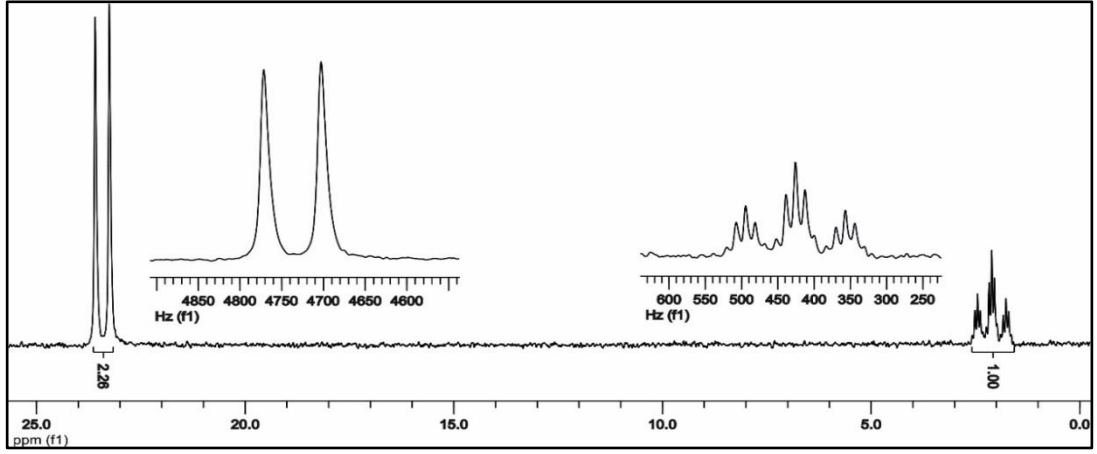
Şekil 6.2: 1 Bileşiğinin kütle spektrumu.

Bileşik 1'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, A_2X spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[\text{PCl}_2]$ gruplarındaki fosfor atomlarına ait ikili pik $\delta=23.40$ ppm'de rezonansa gelmiş olup $[\text{PO}(\text{spiro})]$ grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye ($^2J_{\text{AX}}=68.76$ Hz) yarılmıştır. $[\text{PO}(\text{spiro})]$ grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik $\delta=2.10$ ppm'de rezonansa gelmiş olup $[\text{PCl}_2]$ gruplarında bulunan fosfor atomları tarafından üçe ($^2J_{\text{XA}}=68.76$ Hz) yarılmıştır. Şekildeki spektruma ilişkin integral değerleri sırasıyla 1.00:2.15 olup 1:2 fosfora denk gelmektedir.



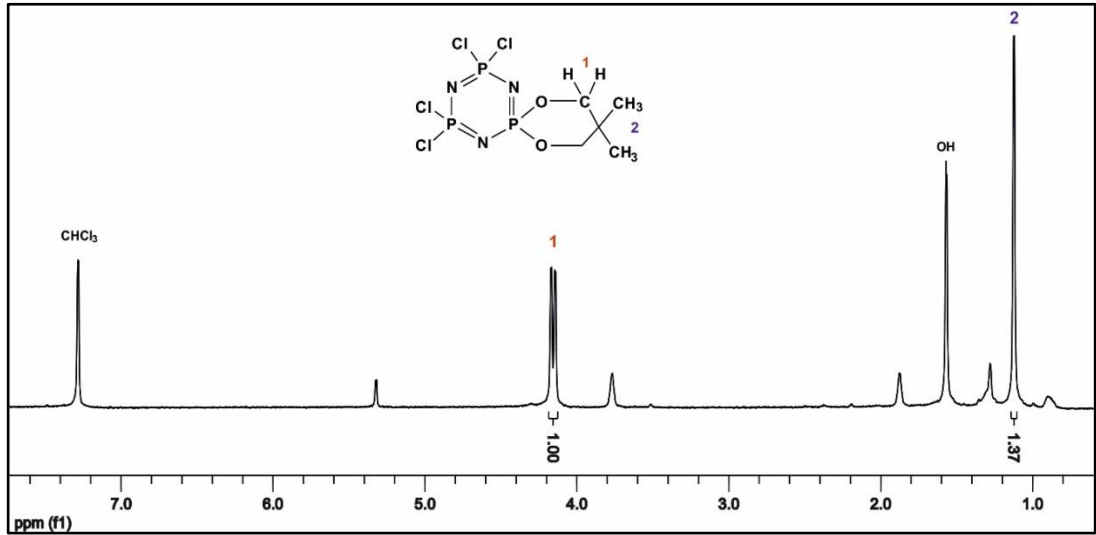
Şekil 6.3: Bileşik 1'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 1'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, A_2X spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[\text{PCl}_2]$ gruplarındaki fosfor atomlarına ait ikili pik $\delta=23.40$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, eşleşebileceği bir proton atomu olmaması sebebiyle değişmemiştir. $[\text{PO}(\text{spiro})]$ grubundaki fosfor atomuna ait çoklu pik $\delta=2.10$ ppm'de rezonansa gelmiş olup üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır.



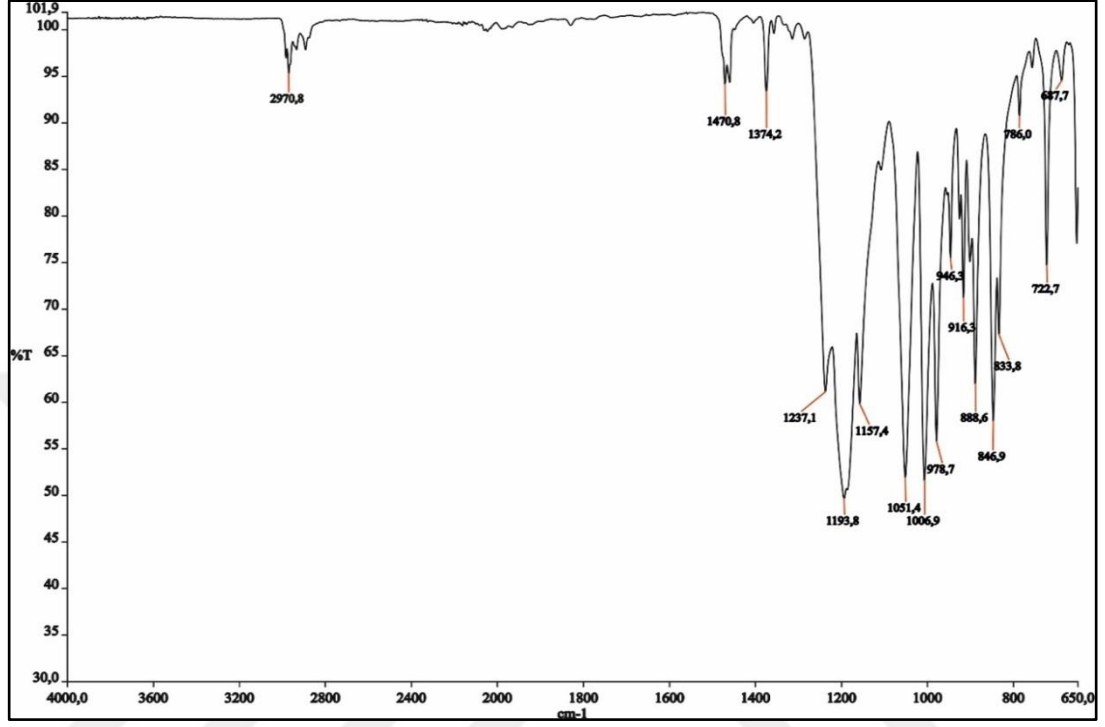
Şekil 6.4: Bileşik 1'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 1'e ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=1.12$ ppm'deki tekli pik 2 numaralı $-\text{CH}_3$ protonlarına ait olup komşu karbonda proton bulunmadığı için tekli pik olarak görülmektedir. $\delta=4.17$ ppm'deki tekli pik 1 numaralı $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup bulunduğu kimyasal çevreden dolayı farklıdır. İntegral değerleri sırasıyla 1.37:1.00 olup 6:4 protona denk gelmektedir. Spektrumdaki $\delta=7.21$ ppm'de görülen tek pik, CDCl_3 içinde döteryumlanmadan kalan CHCl_3 protonudur ve $\delta=1.50$ ppm'de görülen tek pik ise CDCl_3 içinde kalan suya ait $-\text{OH}$ pikidir.



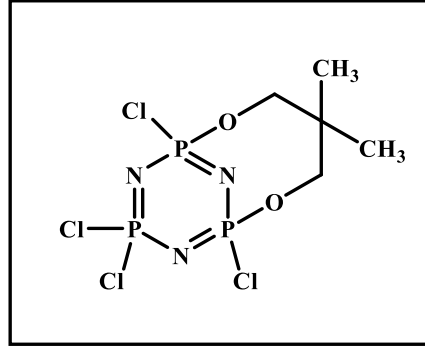
Şekil 6.5: Bileşik 1'e ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 1'e ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 2970.8 alifatik C-H gerilmesi; 1470.8, 1374.2 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1237.1, 1193.8, 1157.4 P=N gerilmeleri; 978, 916.3 P-O-C gerilmesi.



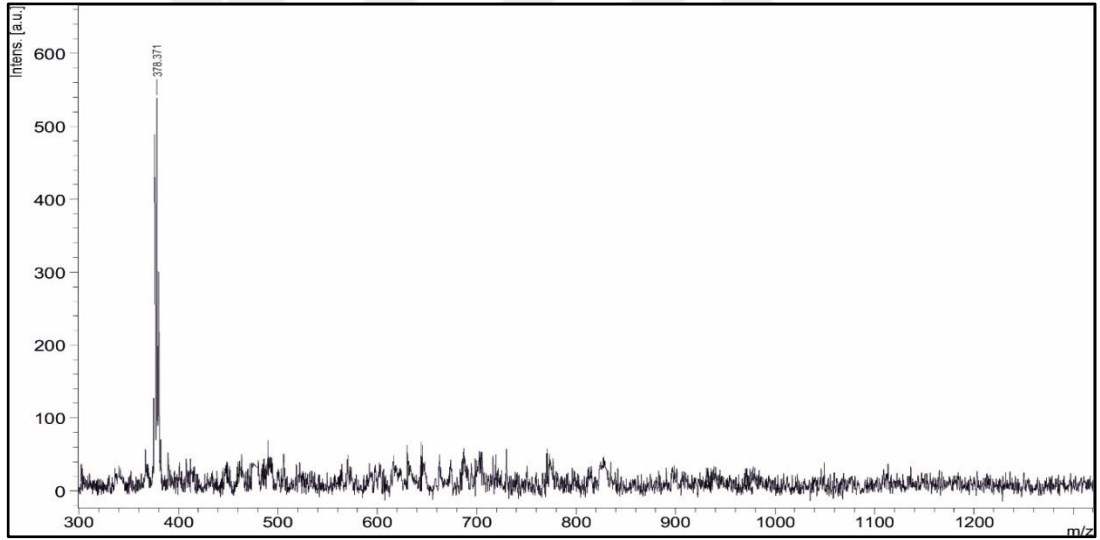
Şekil 6.6: Bileşik 1'e ait FT-IR spektrumu.

6.2. Bileşik 2'nin Yapı Karakterizasyonu



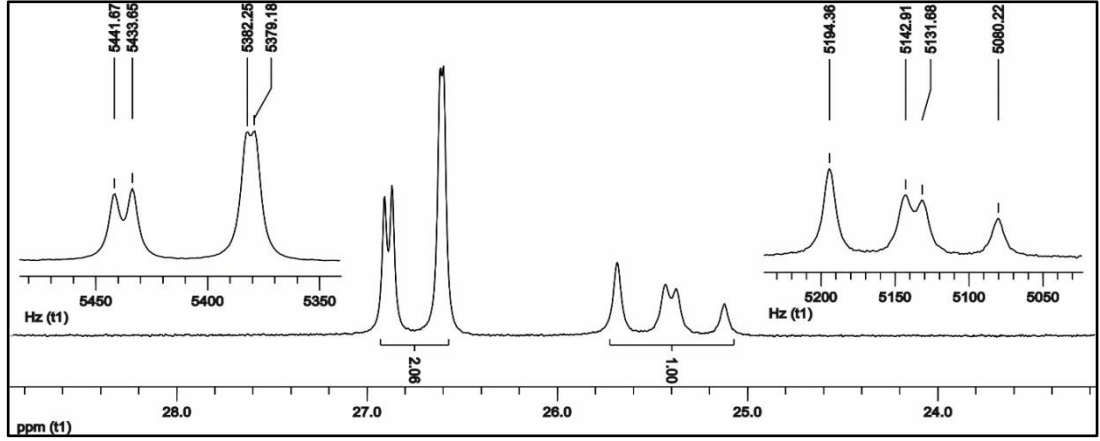
Şekil 6.7: 2 Bileşiğinin yapısı.

Bileşik 2'nin kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M]^+$ 378.371 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (378.880 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



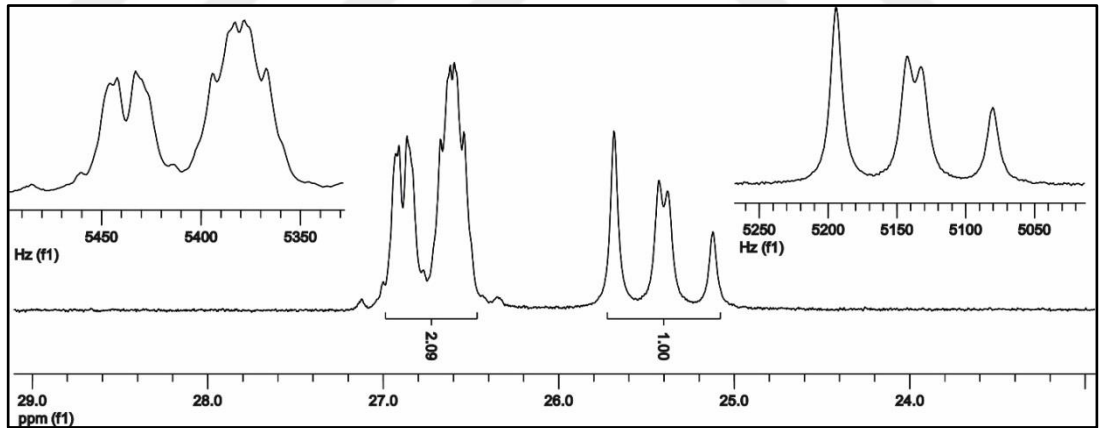
Şekil 6.8: 2 Bileşiğinin kütle spektrumu.

Bileşik 2'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde A_2B spin sistemine sahip ikinci derece bir spektrum olduğu görülmektedir. Yapıda farklı kimyasal çevreye sahip iki fosfor atomu bulunmaktadır. $\delta=26.76$ ppm ve $\delta=25.45$ ppm'de sırasıyla $[\text{PO}(\text{ansa})]$ ve $[\text{PCl}_2]$ gruplarındaki fosfor atomları rezonansa gelmiştir ($^2J_{AB}=57.85$ Hz).



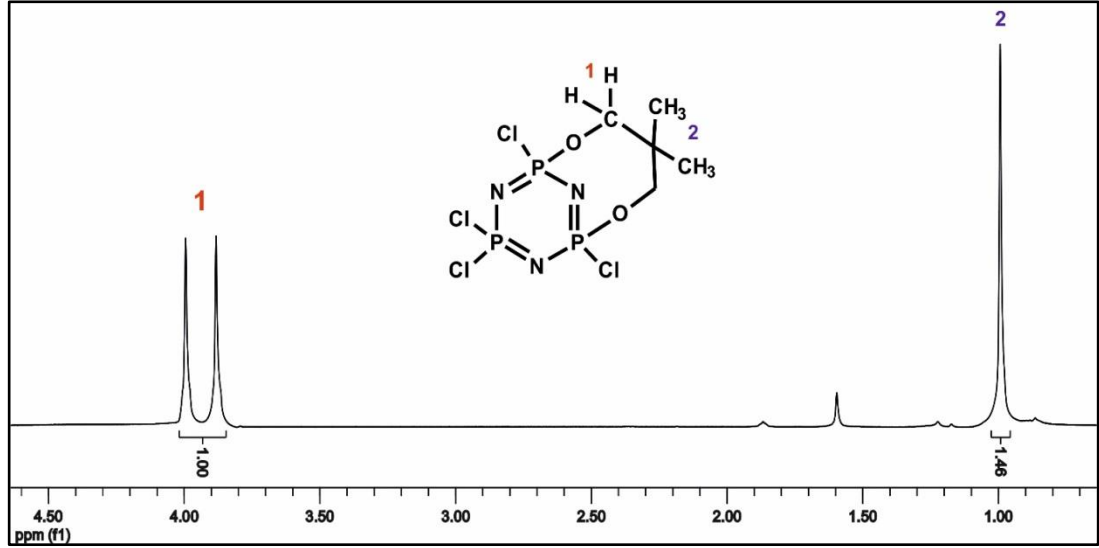
Şekil 6.9: Bileşik 2'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 2'ye ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde A_2B spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[\text{PO}(\text{ansa})]$ gruplarındaki fosfor atomlarına ait çoklu pik $\delta=26.76$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır. $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait pik $\delta=25.45$ ppm'de rezonansa gelmiş olup eşleşebileceği bir proton atomu olmaması sebebiyle değişmemiştir.



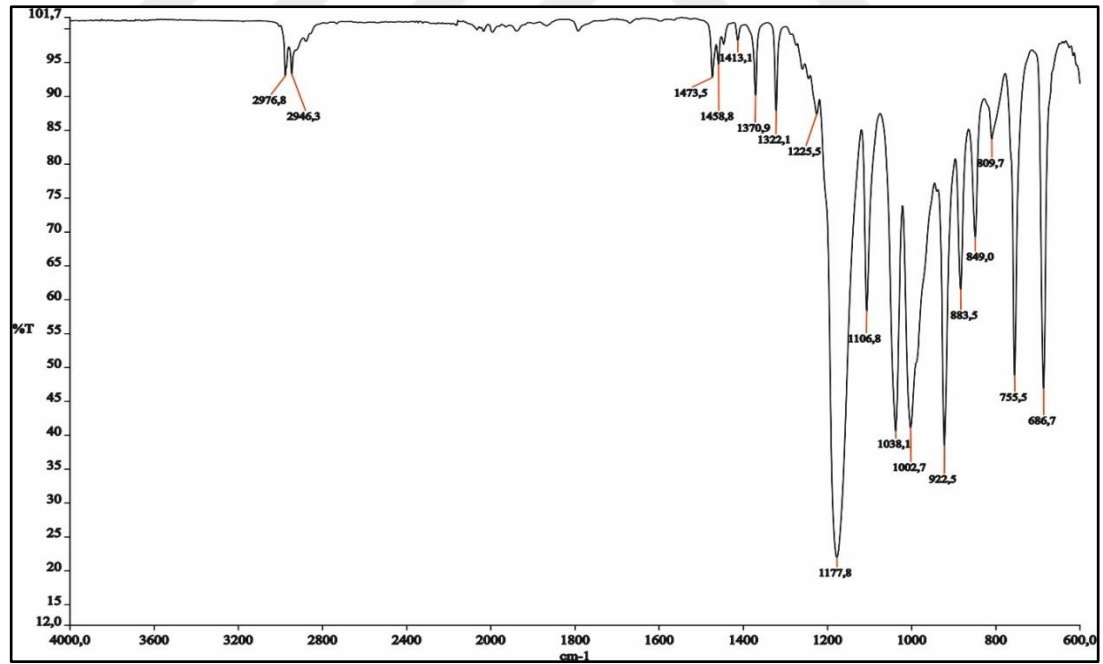
Şekil 6.10: Bileşik 2'ye ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 2'ye ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=0.99$ ppm'deki tekli pik 2 numaralı $-\text{CH}_3$ protonlarına ait olup komşu karbonda eşleşebileceği proton bulunmadığı için tekli pik olarak görülmektedir. $\delta=3.88$ ppm'deki $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup kimyasal çevresinden dolayı farklıdır. İntegral değerleri sırasıyla 1.46:1.00 olup 6:4 protona denk gelmektedir.



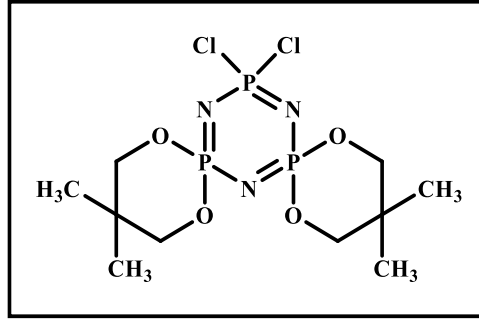
Şekil 6.11: Bileşik 2'ye ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 2'ye ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 2976.8, 2946.3 alifatik C-H gerilmesi; 1473.5, 1370.9 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1225.5, 1177.8 P=N gerilmeleri; 1002.7, 922.5 P-O-C gerilmesi.



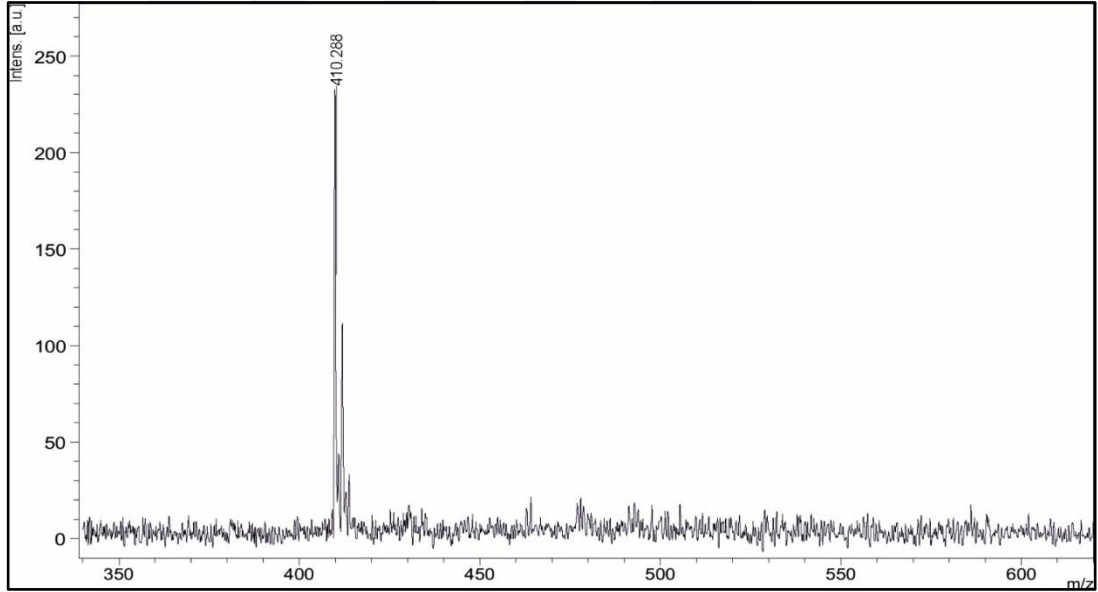
Şekil 6.12: Bileşik 2'ye ait FT-IR spektrumu.

6.3. Bileşik 3'ün Yapı Karakterizasyonu



Şekil 6.13: 3 Bileşiğinin yapısı.

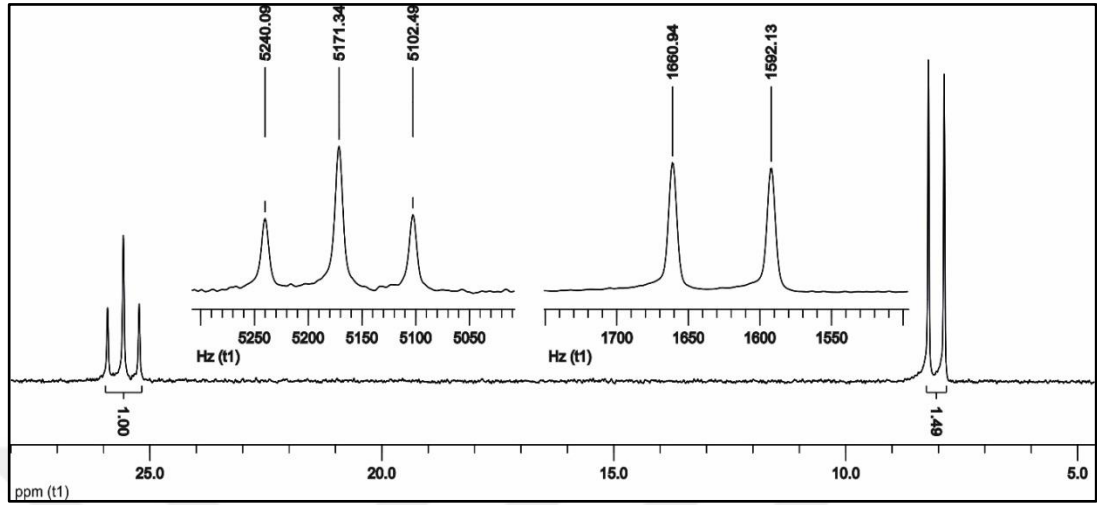
Bileşik 3'ün kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M]^+$ 410.288 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (410.110 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



Şekil 6.14: 3 Bileşiğinin kütle spektrumu.

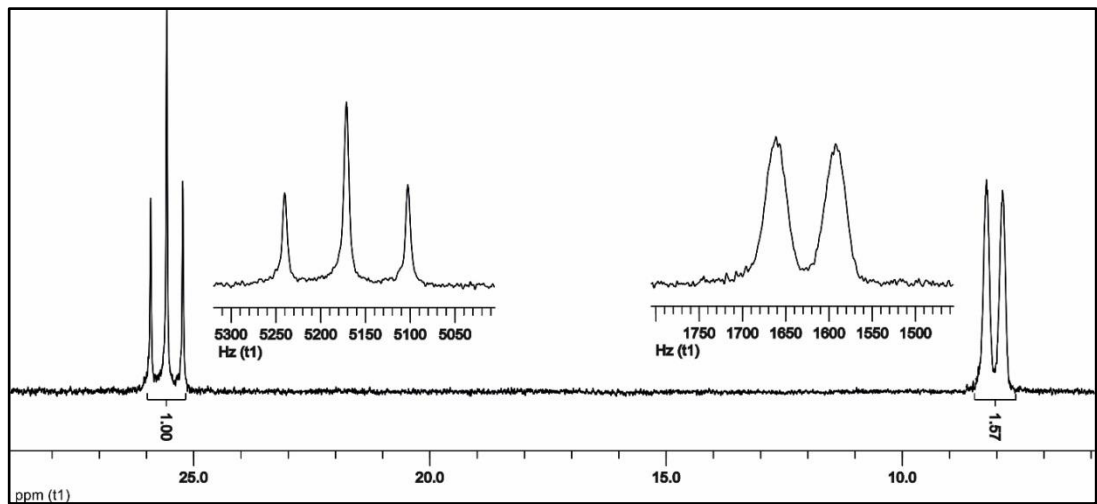
Bileşik 3'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, AX_2 spin sistemine sahip olduğu görülmektedir. $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik $\delta=25.57$ ppm'de rezonansa gelmiş olup $[\text{PO}(\text{spiro})]$ grubundaki fosfor atomları tarafından üçe ($^2J_{\text{AX}}=68.76$ Hz) yarılmıştır. $[\text{PO}(\text{spiro})]$ grubundaki fosfor atomuna ait ikili pik $\delta=8.04$ ppm'de rezonansa gelmiş olup $[\text{PCl}_2]$ gruplarında bulunan fosfor atomları tarafından ikiye ($^2J_{\text{XA}}=68.81$ Hz)

yarılmıştır. Şekildeki spektruma ilişkin integral değerleri sırasıyla 1.00:1.49 olup 1:2 fosfora denk gelmektedir.



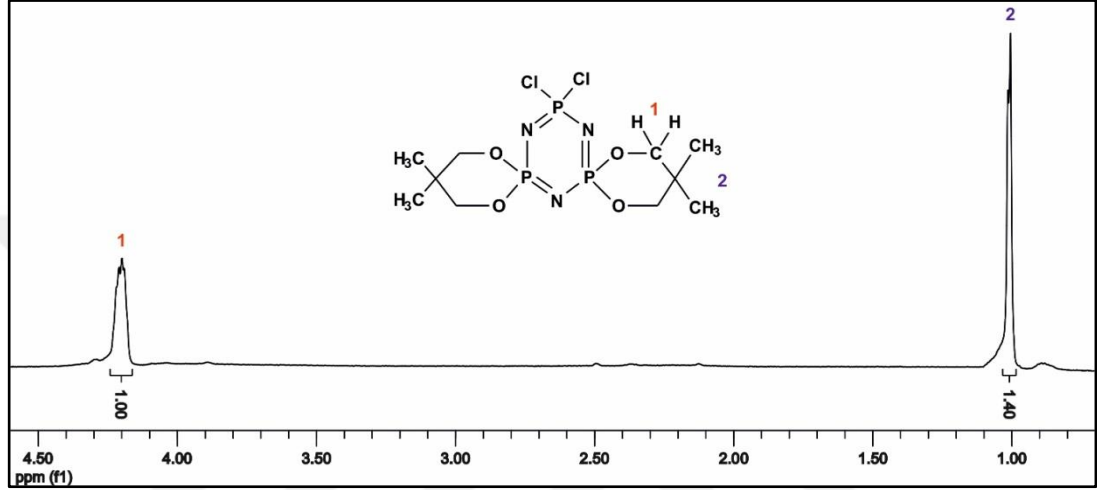
Şekil 6.15: Bileşik 3'e ait proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu.

Bileşik 3'e ait proton ile eşleşmiş ³¹P NMR (500 MHz, CDCl₃) (298 K) spektrumu incelendiğinde, AX₂ spin sisteminde olduğu görülmektedir. [PCl₂] gruplarındaki fosfor atomuna ait pik $\delta=25.57$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, eşleşebileceği bir proton atomu olmaması sebebiyle değişmemiştir. [PO(spiro)] grubundaki fosfor atomlarına ait çoklu pik $\delta=8.04$ ppm'de rezonansa gelmiş olup üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır.



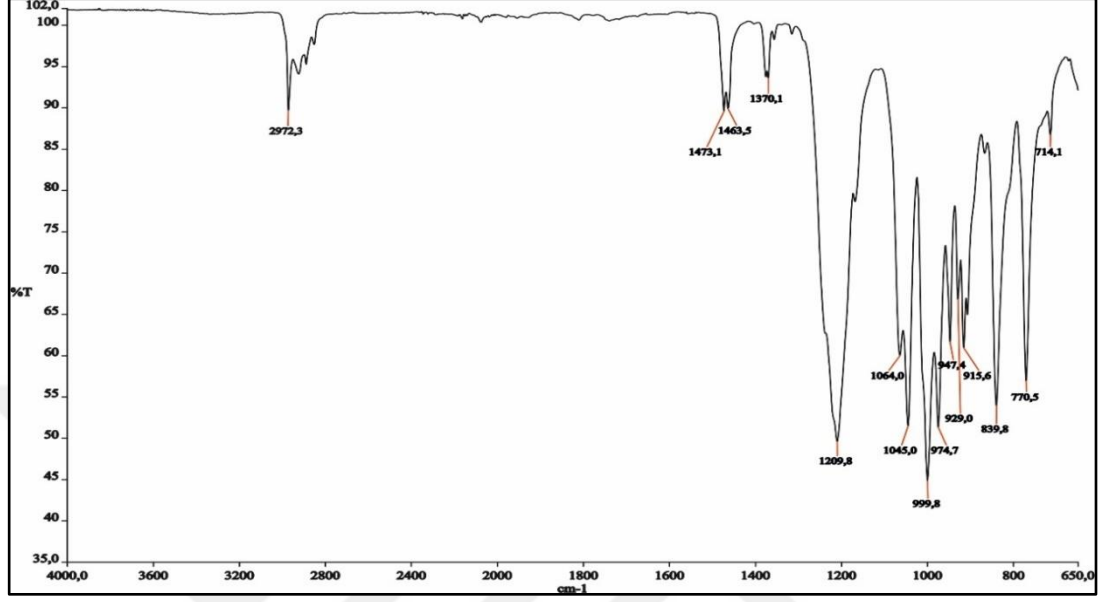
Şekil 6.16: Bileşik 3'e ait proton ile eşleşmiş ³¹P NMR spektrumu.

Bileşik 3'e ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=4.19$ - 4.21 ppm aralığındaki çoklu pikler 1 No'lu $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup kimyasal çevresinden dolayı farklıdır. $\delta= 1.01$ ppm'deki tekli pik 2 No'lu $-\text{CH}_3$ protonlarına ait olup komşu karbon atomunda proton bulunmamasından dolayı tekli pik olarak görülmüştür. İntegral değerleri sırasıyla 1.40:1.00 olup 3:2 protona denk gelmektedir.



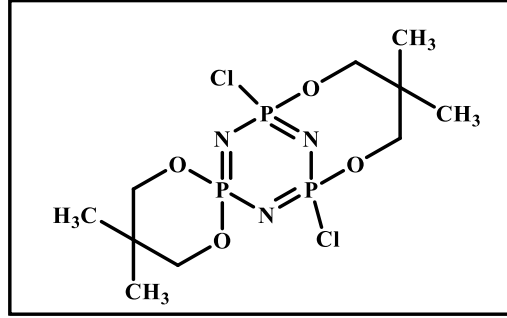
Şekil 6.17: Bileşik 3'e ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 3'e ait FT-IR spektrumunda (ν : cm^{-1}): 2972.3 alifatik C-H gerilmesi; 1473.1, 1463.5, 1370.1 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1209.8 P=N gerilmeleri; 947.4, 929.0, 915.6 P-O-C gerilmesi.



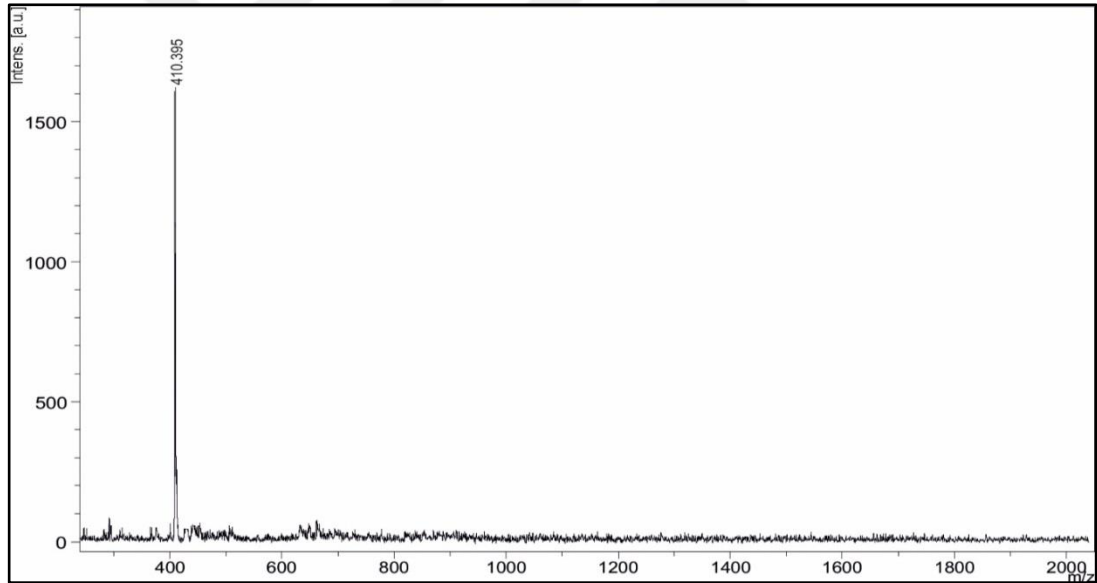
Şekil 6.18: Bileşik 3'e ait FT-IR spektrumu.

6.4. Bileşik 4'ün Yapı Karakterizasyonu



Şekil 6.19: 4 Bileşiğinin yapısı.

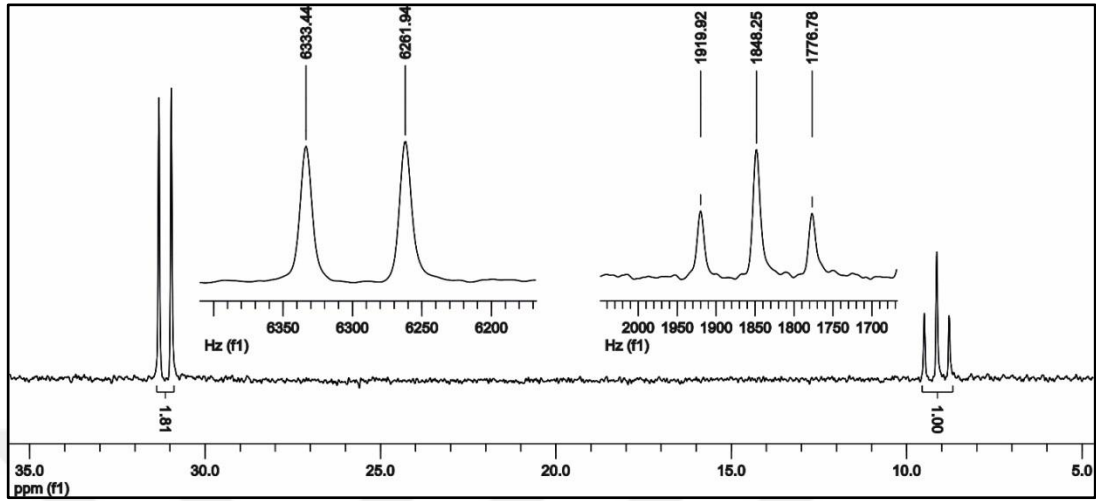
Bileşik 4'ün kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M]^+$ 410.395 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (410.110 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



Şekil 6.20: 4 Bileşiğinin kütle spektrumu.

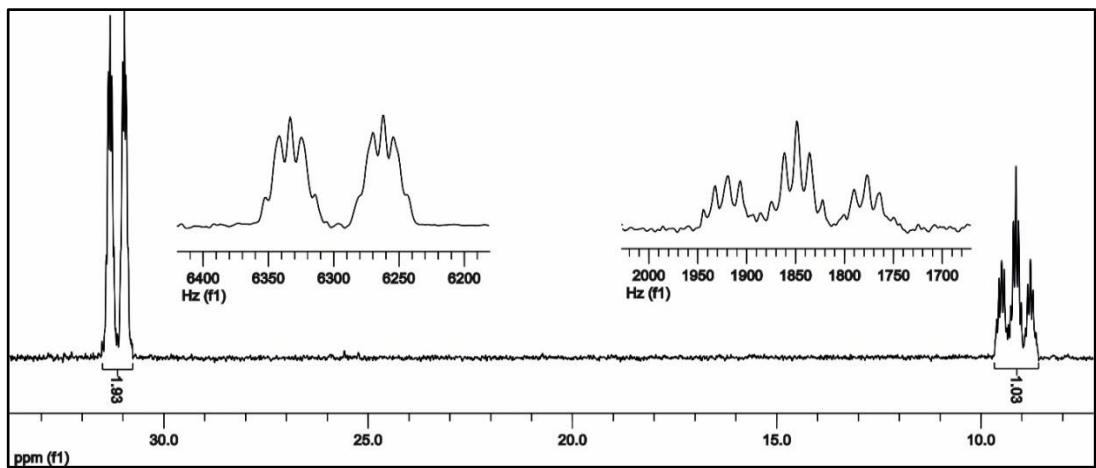
Bileşik 4'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, A_2X spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[\text{PO}(\text{ansa})]$ grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik $\delta=31.17$ ppm'de rezonansa gelmiş olup $[\text{PO}(\text{spiro})]$ grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye ($^2J_{\text{AX}}=71.50$ Hz) yarılmıştır. $[\text{PO}(\text{spiro})]$ grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik $\delta=9.15$ ppm'de rezonansa gelmiş olup $[\text{PO}(\text{ansa})]$ gruplarında bulunan fosfor atomları tarafından üçe ($^2J_{\text{XA}}=71.27$ Hz)

yarılmıştır. Şekildeki spektruma ilişkin integral değerleri sırasıyla 1.81:1.00 olup 1:2 fosfora denk gelmektedir.



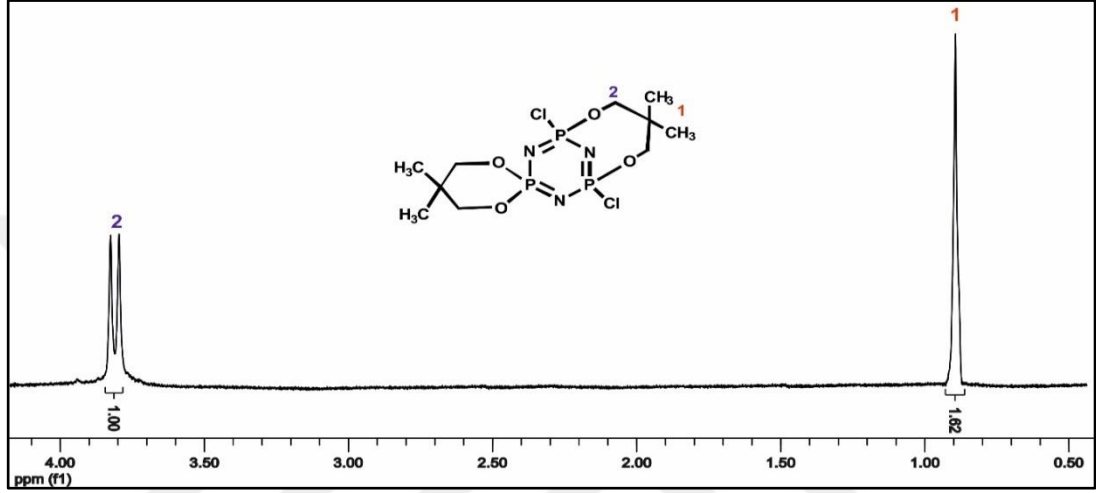
Şekil 6.21: Bileşik 4'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 4'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, A_2X spin sisteminde olduğu görülmektedir. [PO(ansa)] grubundaki fosfor atomlarına ait çoklu pik $\delta=31.17$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır. [PO(spiro)] grubundaki fosfor atomuna ait çoklu pik $\delta=9.15$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır.



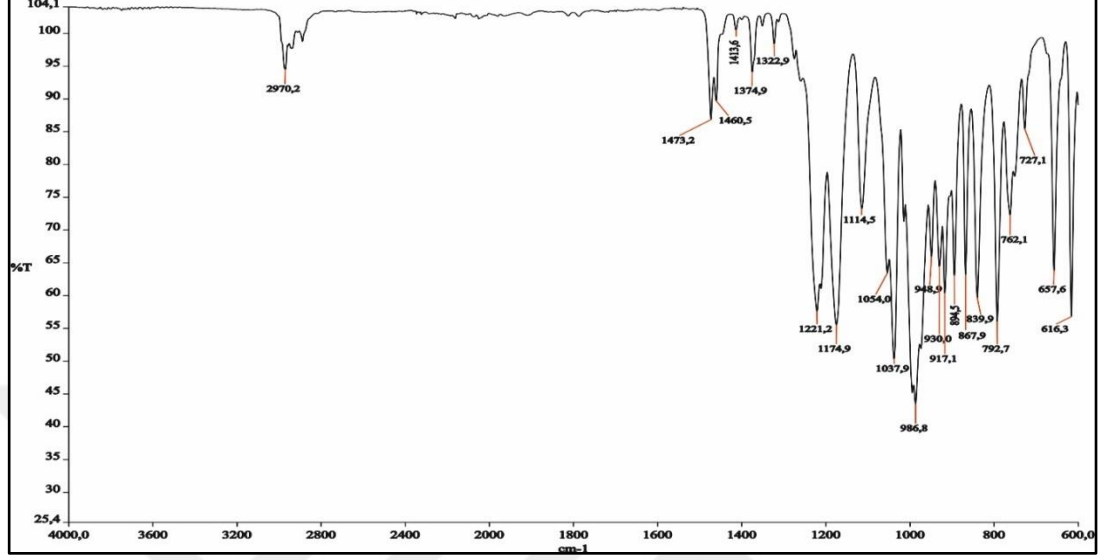
Şekil 6.22: Bileşik 4'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 4'e ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=2.71\text{-}2.69$ ppm aralığındaki pik 2 No'lu $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup kimyasal çevresinden dolayı farklıdır. $\delta= 1.43$ ppm'deki tekli pik 1 No'lu $-\text{CH}_3$ protonlarına ait olup komşu karbondan eşleşebileceği proton bulunmadığı için tekli pik olarak görülmektedir. İntegral değerleri sırasıyla 1.00:1.62 olup 8:12 protona denk gelmektedir.



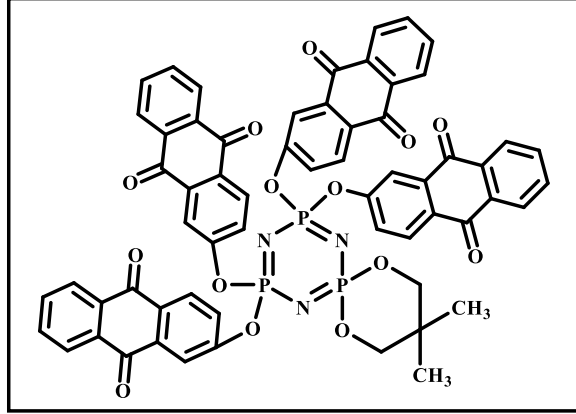
Şekil 6.23: Bileşik 4'e ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 4'e ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 2970.2 alifatik C-H gerilmesi; 1473.2, 1374.9 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1221.2, 1174.9 P=N gerilmeleri; 986.8, 917.1 P-O-C gerilmesi.



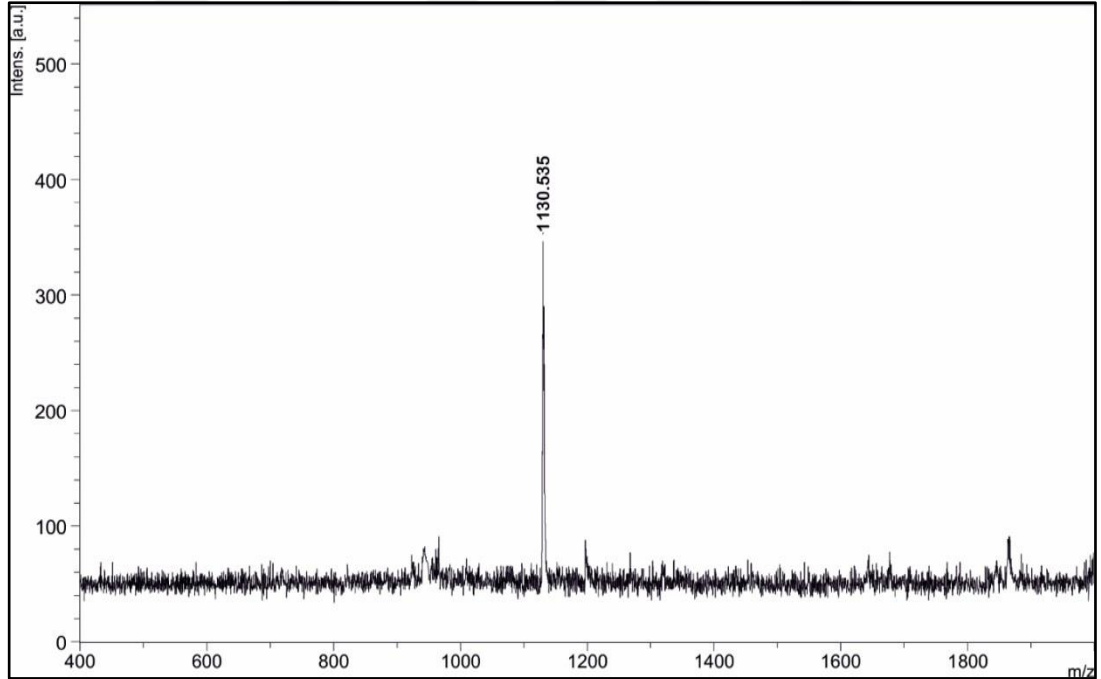
Şekil 6.24: Bileşik 4'e ait FT-IR spektrumu.

6.5. Bileşik 5'in Yapı Karakterizasyonu



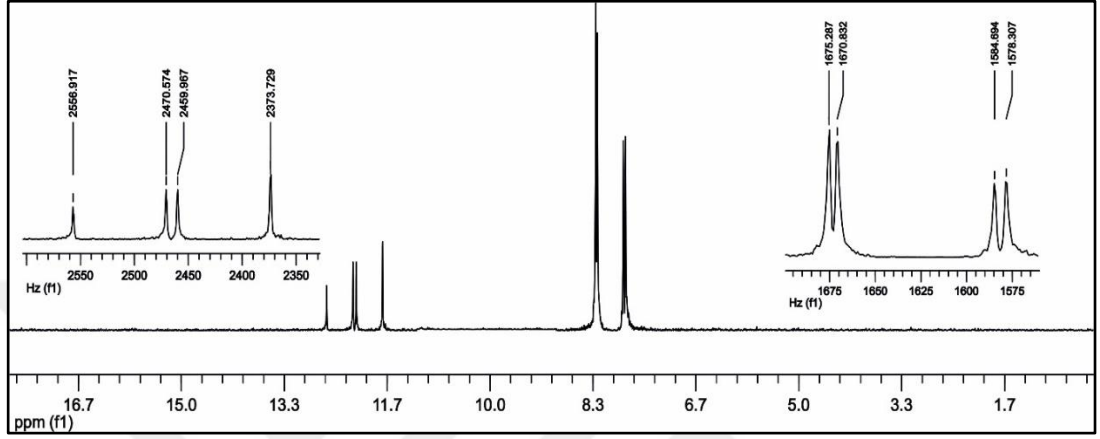
Şekil 6.25: 5 Bileşiğinin yapısı.

Bileşik 5'in kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M+H]^+$ 1130.535 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (1129.900 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



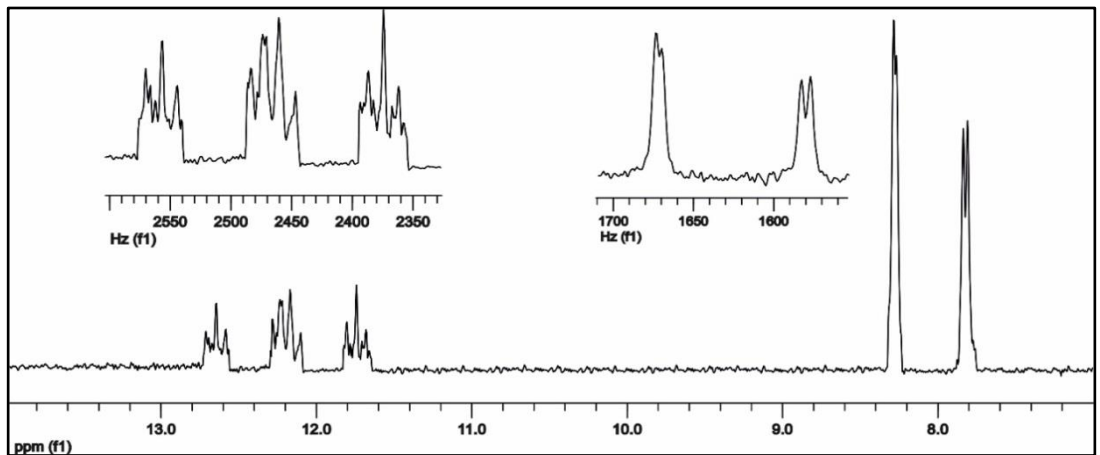
Şekil 6.26: 5 Bileşiğinin kütle spektrumu.

Bileşik 5'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, AB_2 spin sistemine sahip ikinci derece bir spektrum olduğu görülmektedir. Yapıda farklı kimyasal çevreye sahip iki fosfor atomu bulunmaktadır. $\delta=11.99$ ppm ve $\delta=8.27$ ppm'de sırasıyla [PO(spiro)] ve [PR] gruplarındaki fosfor atomları rezonansa gelmiştir ($^2J_{\text{AB}}=64.63$ Hz).



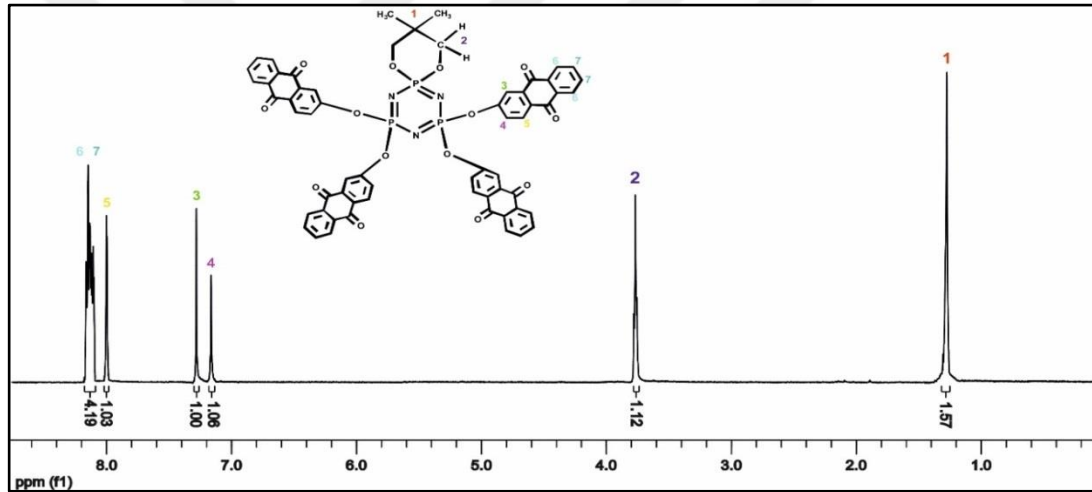
Şekil 6.27: Bileşik 5'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 5'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde AB_2 spin sisteminde olduğu görülmektedir. [PO(spiro)] grubundaki fosfor atomuna ait çoklu pik $\delta=11.99$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu bağlar şeklinde yarılmıştır. [PR] gruplarındaki fosfor atomlarına ait pik $\delta=8.27$ ppm'de rezonansa gelmiş olup eşleşebileceği bir proton atomu olmaması sebebiyle değişmemiştir.



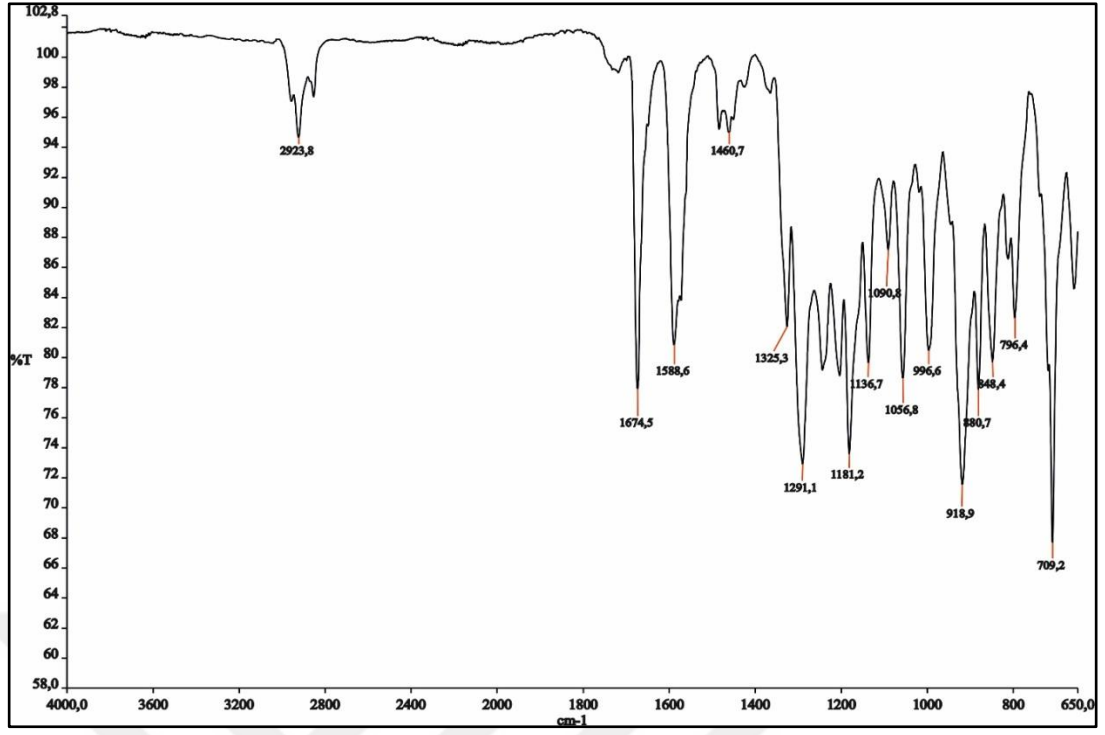
Şekil 6.28: Bileşik 5'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 5'e ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta = 8.25$ - 8.05 ppm aralığındaki pikler 6-7 no'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup birbirlerine komşu olan karbon atomlarının sahip olduğu protonlar tarafından yarılp çoklu pikler olarak görülmüştür. $\delta = 8.00$ ppm'deki pik 5 no'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup komşu karbon atomundaki proton tarafından yarılp ikili pik olarak görülmüştür. $\delta = 7.28$ ppm'deki pik 3 no'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup tekli pik olarak görülmüştür. $\delta = 7.15$ ppm'deki pik 4 no'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup çevrelerindeki etkiden dolayı tekli pik olarak görülmüştür. $\delta = 3.77$ ppm'deki pik 2 no'lu $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup tekli pik olarak görülmüştür. $\delta = 1.28$ ppm'deki pik 1 no'lu $-\text{CH}_3$ protonlarına ait olup tekli pik olarak görülmüştür. İntegral değerleri sırasıyla 4.19:1.03:1.00:1.06:1.12:1.57 olup 16:4:4:4:6 protona denk gelmektedir.



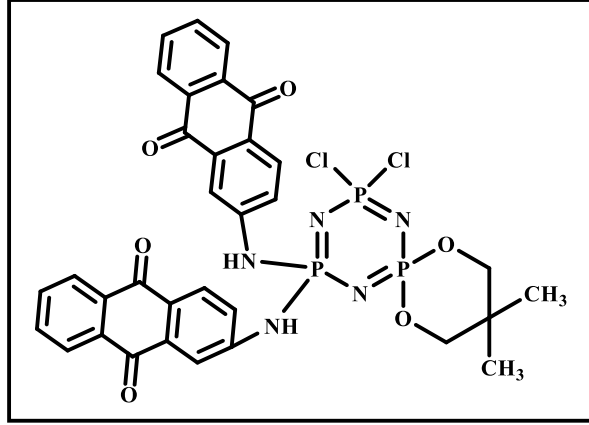
Şekil 6.29: Bileşik 5'e ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 5'e ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 2923.8 alifatik C-H gerilmesi; 1674.5 C=O gerilmesi; 1588.6, 1460.7 aromatik C=C gerilmesi; 1325.3 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1291.1 1 aromatik C-O gerilmesi; 1181.2, 1136.7, 1056.8 P=N gerilmesi; 996.6, 918.9 P-O-C gerilmesi; 709.2 aromatik C-H gerilmesi.



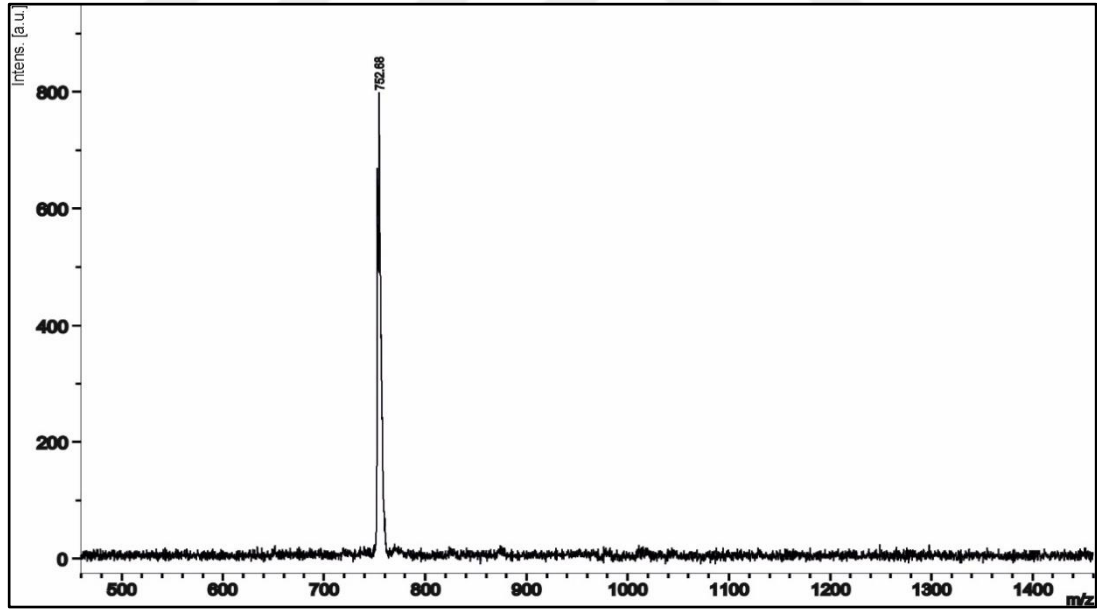
Şekil 6.30: Bileşik 5'e ait FT-IR spektrumu.

6.6. Bileşik 6'nın Yapı Karakterizasyonu



Şekil 6.31: 6 Bileşiğinin yapısı.

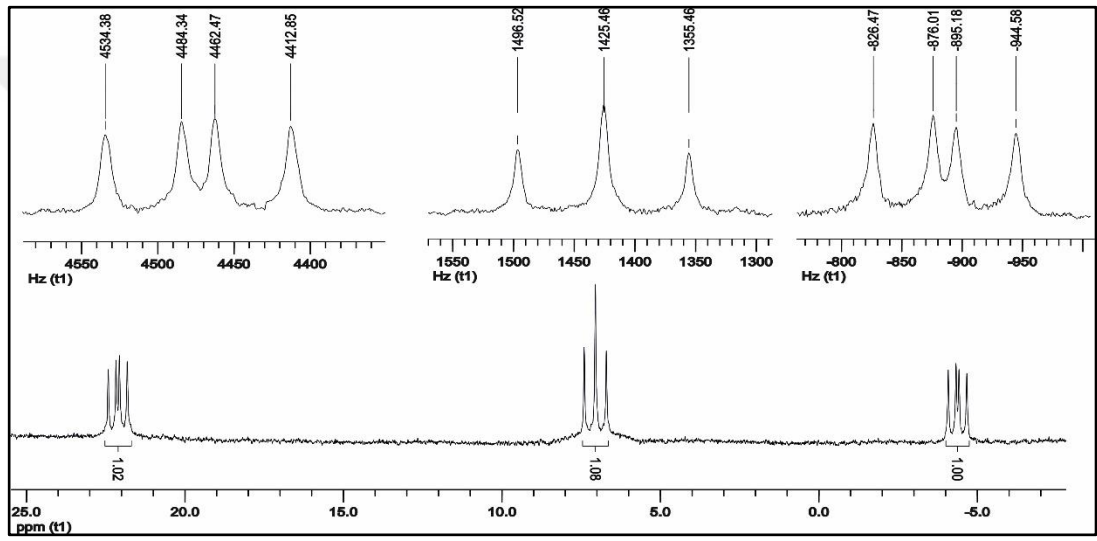
Bileşik 6'nın kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M]^+$ 752.680 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (752.420 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



Şekil 6.32: 6 Bileşiğinin kütle spektrumu.

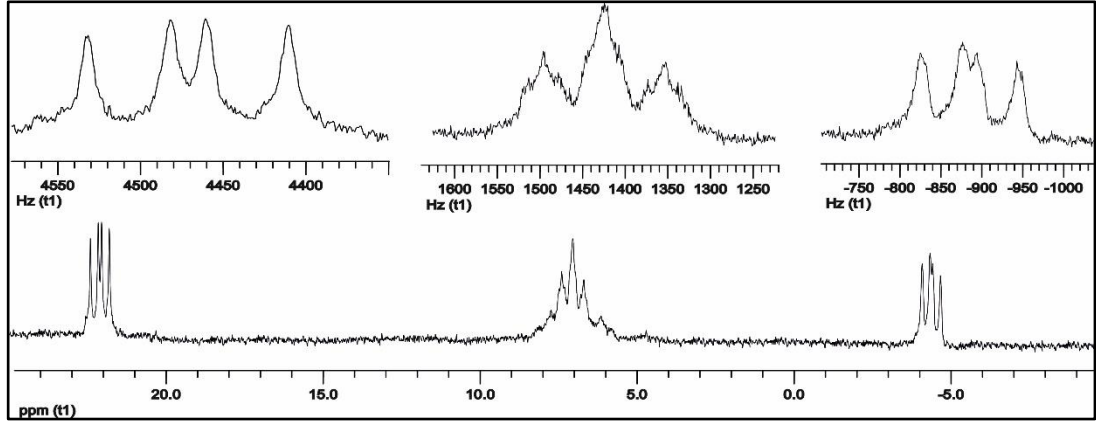
Bileşik 6'ya ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde AMX spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomlarına ait dörtlü pik $\delta=22.1$ ppm' de rezonansa gelmiş olup $[\text{PR}_2]$ grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye ($^2J_{\text{AM}}=71.24$ Hz), $[\text{PO}(\text{spiro})]$

grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye (${}^2J_{AX}=49.87$ Hz) yarılp dörtlü pik olarak görülmüştür. [PO(ansa)] grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik $\delta=7.1$ ppm' de rezonansa gelmiş olup [PCl₂] ve [PR₂] gruplarında bulunan fosfor atomları tarafından üçe (${}^2J_{MA}=71.24$ Hz) (${}^2J_{MX}=69.39$ Hz) yarılmıştır. [PR₂] grubundaki fosfor atomlarına ait dörtlü pik $\delta=-4.37$ ppm' de rezonansa gelmiş olup [PCl₂] grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye (${}^2J_{XA}=49.82$ Hz), [PO(ansa)] grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye (${}^2J_{XM}=69.39$ Hz) yarılp dörtlü pik olarak görülmüştür. Şekildeki spektruma ilişkin integral değerleri sırasıyla 1:1.08:1.02 olup 1:1:1 fosfora denk gelmektedir.



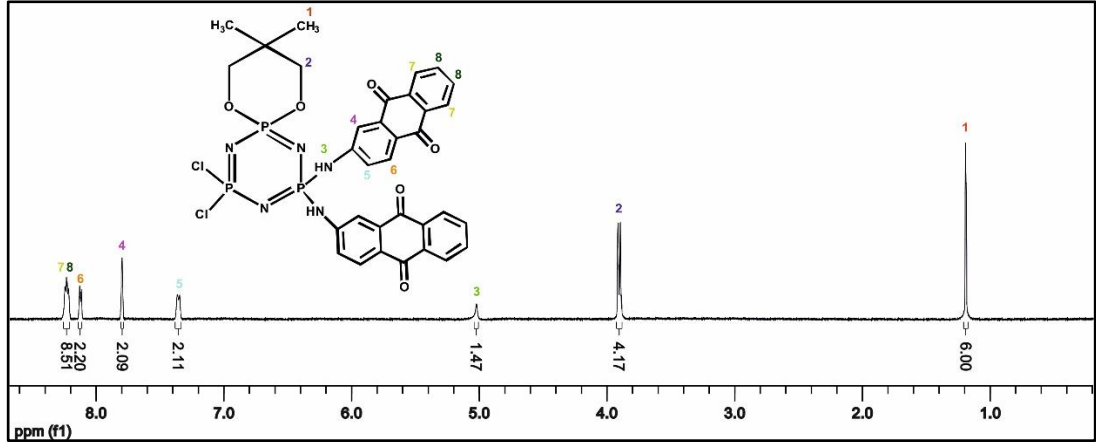
Şekil 6.33: Bileşik 6'ya ait proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu.

Bileşik 6'ya ait proton ile eşleşmiş ³¹P NMR (500 MHz, CDCl₃) (298 K) spektrumu incelendiğinde AMX spin sisteminde olduğu görülmektedir. [PCl₂] grubundaki fosfor atomuna pik $\delta=22.1$ ppm' de rezonansa gelmiş olup, eşleşebileceği bir proton atomu olmaması sebebiyle değişmemiştir. [PO(ansa)] grubundaki fosfor atomuna pik $\delta=7.1$ ppm' de rezonansa gelmiş olup üç bağ ötesindeki protonlardan dolayı yarılmıştır. [PR₂] grubundaki fosfor atomuna ait pik $\delta=-4.37$ ppm' de rezonansa gelmiş olup iki bağ ötesindeki protonlardan dolayı yarılmıştır.



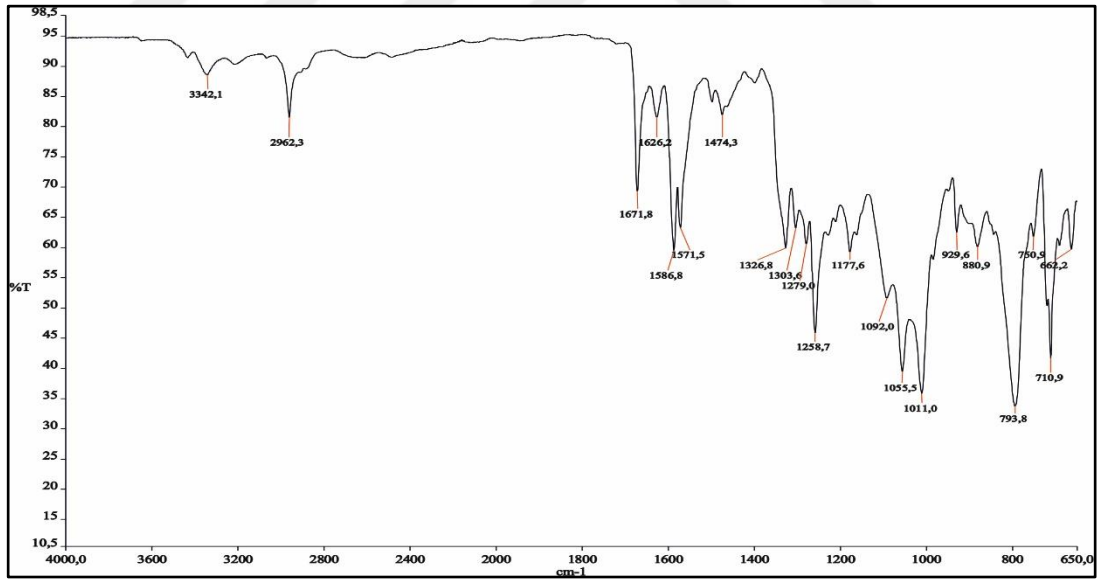
Şekil 6.34: Bileşik 6'ya ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 6'ya ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=8.20-8.26$ ppm aralığındaki çoklu pik 7 ve 8 No'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup birbirlerine komşu karbonların protonlarından dolayı çoklu pikler olarak görülmektedir. $\delta=8.11-8.14$ ppm aralığındaki ikili pikler 6 numaralı $-\text{CH}$ protonuna ait olup komşu karbon atomunun protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=7.78$ ppm'deki tekli pik 4 No'lu $-\text{CH}$ protonuna ait olup komşu karbonda proton bulunmadığı için tekli pik olarak görülmektedir. $\delta=7.34-7.37$ ppm aralığındaki ikili pik 5 numaralı $-\text{CH}$ protonlarına ait olup komşu karbon atomunun protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=5.01-5.03$ ppm aralığındaki pik 3 numaralı $-\text{NH}$ protonuna aittir. $\delta=3.88-3.91$ ppm aralığındaki tekli pik 2 numaralı $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup kimyasal çevresinden dolayı farklıdır. $\delta=1.19$ ppm'deki tekli pik 1 No'lu $-\text{CH}_3$ protonlarına olup komşu karbonda proton bulunmadığı için tekli pik olarak görülmektedir. İntegral değerleri sırasıyla 6:4.17:1.47:2.11:2.09:2.20:8.51 olup 6:4:2:2:2:2:8 protona denk gelmektedir.



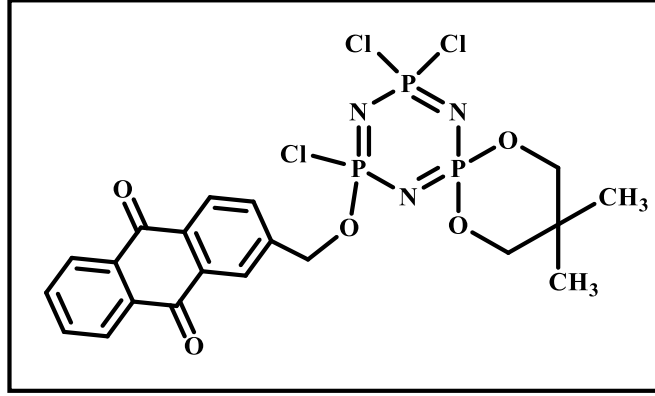
Şekil 6.35: Bileşik 6'ya ait ¹H NMR spektrumu.

Bileşik 6'ya ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 3342.1 -NH gerilmesi; 2962.3 alifatik C-H gerilmesi; 1671.8 C=O gerilmesi; 1586.8, 1571.5 aromatik C=C gerilmesi; 1326.8 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1279.0, 1258.7 aromatik C-O gerilmesi; 1177.6, 1092.0, 1055.5, 1011.0 P=N gerilmesi; 929.6, 880.9 P-O-C gerilmesi; 710.9 Aromatik C-H gerilmesi.



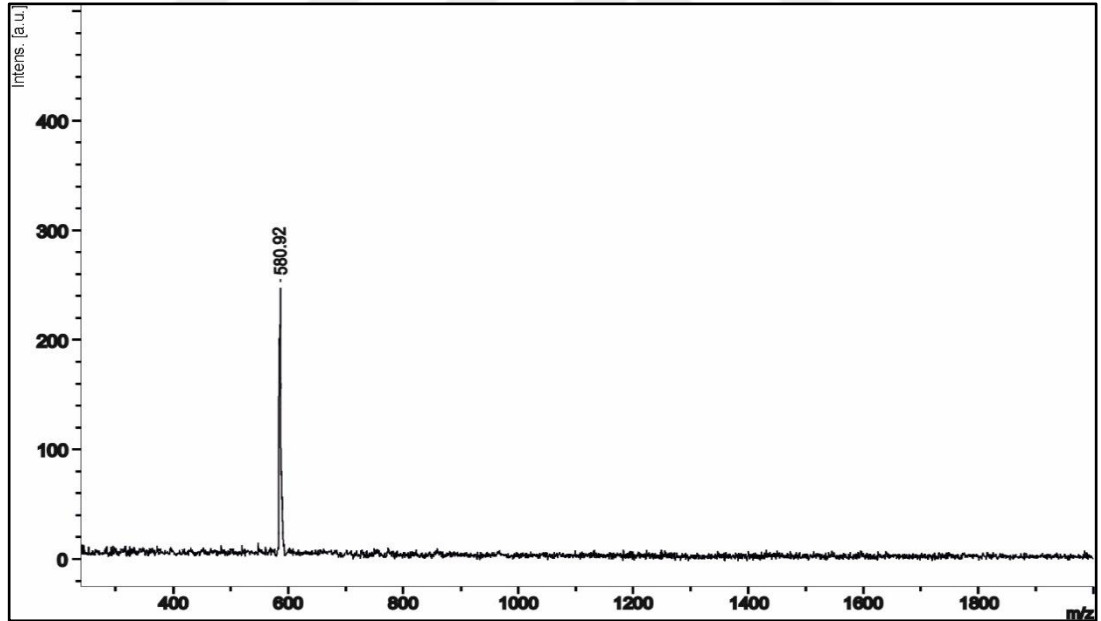
Şekil 6.36: Bileşik 6'ya ait FT-IR spektrumu.

6.7. Bileşik 7'nin Yapı Karakterizasyonu



Şekil 6.37: 7 Bileşiğinin yapısı.

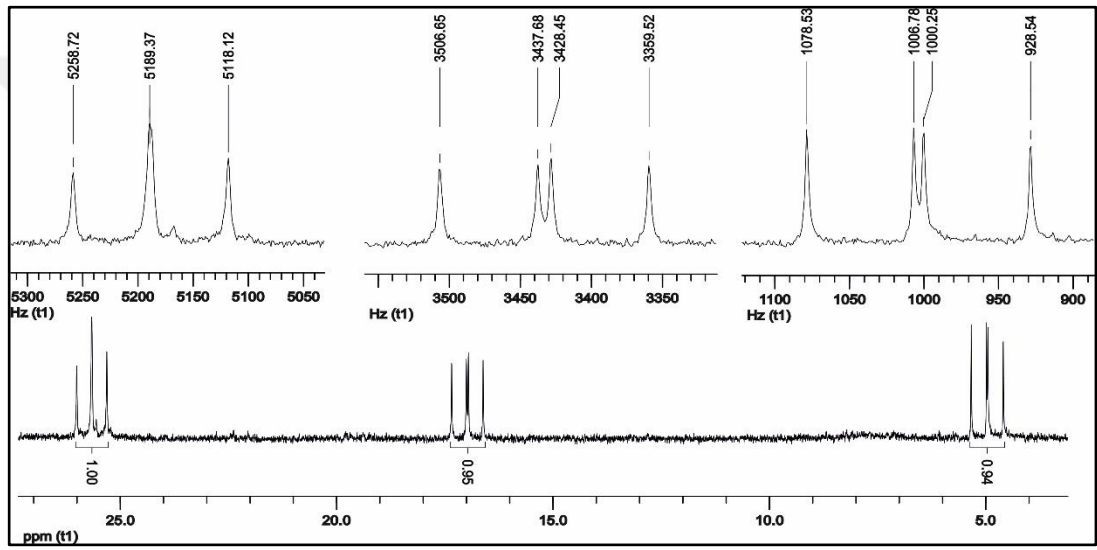
Bileşik 7'nin kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M]^+$ 580.920 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (580.660 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



Şekil 6.38: 7 Bileşiğinin kütle spektrumu.

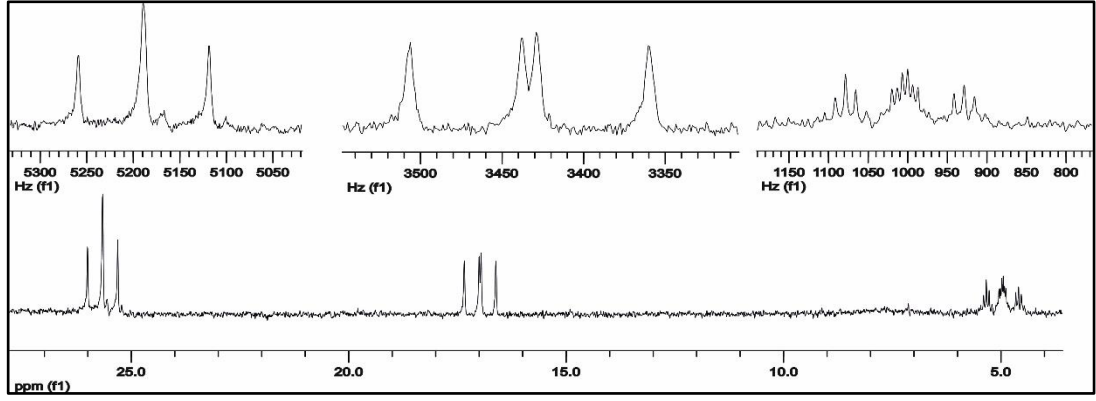
Bileşik 7'ya ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde AMX spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik $\delta=25.6$ ppm'de rezonansa gelmiş olup $[\text{PRCl}]$ ve $[\text{PO}(\text{Spiro})]$ gruplarında bulunan fosfor atomları tarafından üçe ($^2J_{\text{AM}}$

=69.15 Hz) ($^2J_{AX} = 71.49$ Hz) yarılmıştır. [PRCl] grubundaki fosfor atomlarına ait dörtlü pik $\delta = 16.9$ ppm'de rezonansa gelmiş olup [PCl₂] grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye ($^2J_{MA} = 69.15$ Hz), [PO (spiro)] grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye ($^2J_{MX} = 78.22$ Hz) yarılp dörtlü pik olarak görülmüştür. [PO (spiro)] grubundaki fosfor atomlarına ait dörtlü pik $\delta = 4.96$ ppm'de rezonansa gelmiş olup [PCl₂] grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye ($^2J_{XA} = 71.49$ Hz), [PRCl] grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye ($^2J_{XM} = 78.22$ Hz) yarılp dörtlü pik olarak görülmüştür. Şekildeki spektruma ilişkin integral değerleri sırasıyla 0.94:0.95:1 olup 1:1:1 fosfora denk gelmektedir.



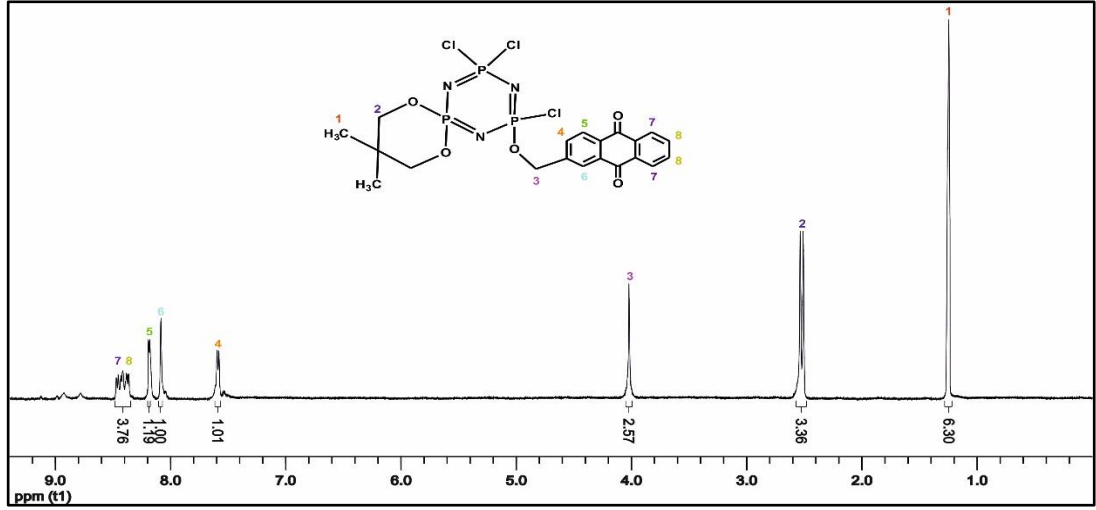
Şekil 6.39: Bileşik 7'ye ait proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu.

Bileşik 7'ye ait proton ile eşleşmiş ³¹P NMR (500 MHz, CDCl₃) (298 K) spektrumu incelendiğinde AMX spin sisteminde olduğu görülmektedir. [PCl₂] grubundaki fosfor atomuna pik $\delta = 25.6$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, eşleşebileceği bir proton atomu olmaması sebebiyle değişmemiştir. [PRCl] grubundaki fosfor atomuna pik $\delta = 16.98$ ppm'de rezonansa gelmiş olup üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır. [PO(spiro)] grubundaki fosfor atomuna ait çoklu pik $\delta = 4.96$ ppm'de rezonansa gelmiş olup üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır.



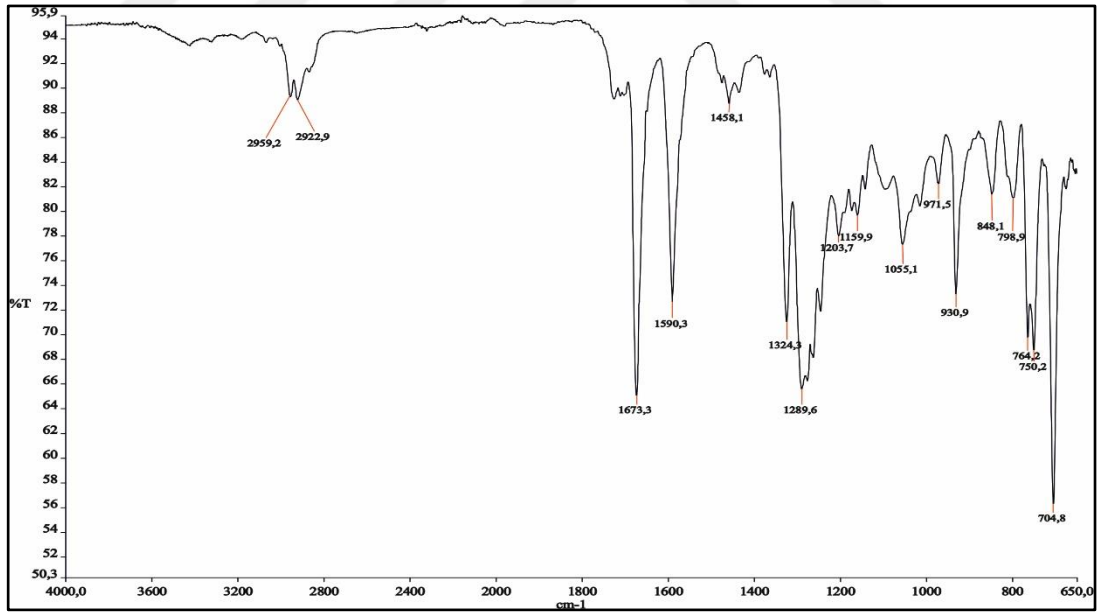
Şekil 6.40: Bileşik 7'ye ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 7'ye ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=8.36\text{-}8.47$ ppm aralığındaki çoklu pik 7 ve 8 No'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup birbirlerine komşu karbonların protonlarından dolayı çoklu pikler olarak görülmektedir. $\delta=8.18\text{-}8.19$ ppm aralığındaki ikili pik 5 No'lu $-\text{CH}$ protonuna ait olup komşu atomun protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=8.08$ ppm'deki tekli pik 6 No'lu $-\text{CH}$ protonuna ait olup komşu karbondaki proton olmadığından tekli pik olarak görülmektedir. $\delta=7.50\text{-}7.60$ ppm aralığındaki ikili pik 4 No'lu $-\text{CH}$ protonuna ait olup komşu karbon atomunun protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=4.02$ ppm'deki tekli pik 3 No'lu $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup komşu karbondaki proton olmadığından tekli pik olarak görülmektedir. $\delta=2.51\text{-}2.53$ ppm aralığındaki tekli pik 2 No'lu $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup kimyasal çevrelerinden dolayı farklıdır. $\delta=1.25$ ppm'deki tekli pik 1 No'lu $-\text{CH}_3$ protonlarına ait olup tekli pik olarak görülmektedir. İntegral değerleri sırasıyla 6.30:3.36:2.57:1.01:1.19:3.76 olup 6:4:2:1.1:1:4 protona denk gelmektedir.



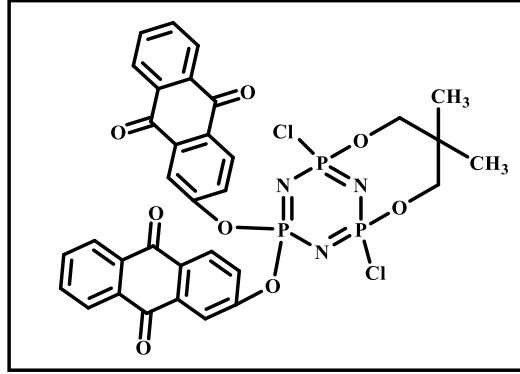
Şekil 6.41: Bileşik 7'ye ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 7'ye ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 2959.2, 2922.9 alifatik C-H gerilmesi; 1673.3 C=O gerilmesi; 1590.3, 1458.1 aromatik C=C gerilmesi; 1324.3 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1289.6 aromatik C-O gerilmesi; 1203.7, 1159.9, 1055.1 P=N gerilmesi; 930.9 P-O-C gerilmesi; 704.8 aromatik C-H gerilmesi.



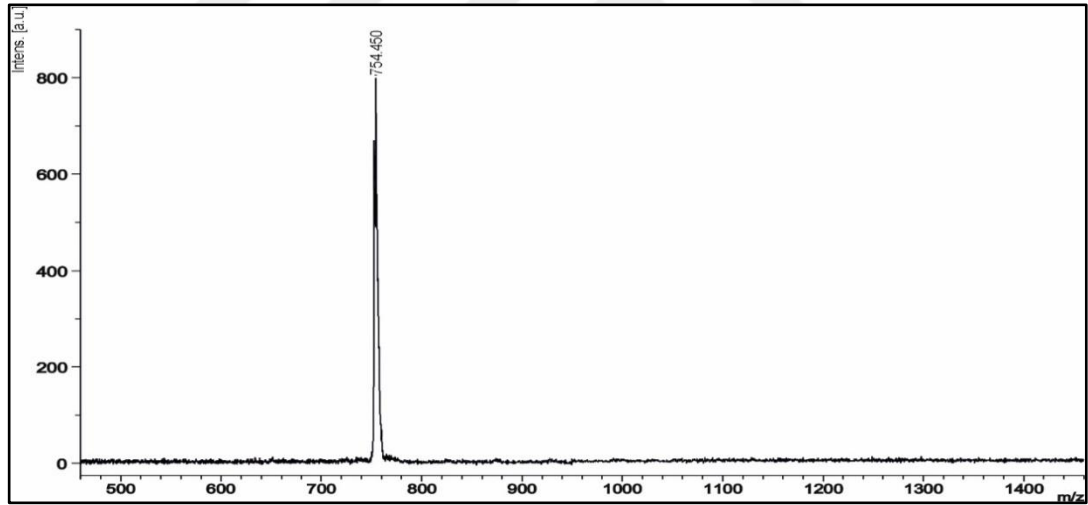
Şekil 6.42: Bileşik 7'nin ait FT-IR spektrumu.

6.8. Bileşik 8'in Yapı Karakterizasyonu



Şekil 6.43: 8 Bileşiğinin yapısı.

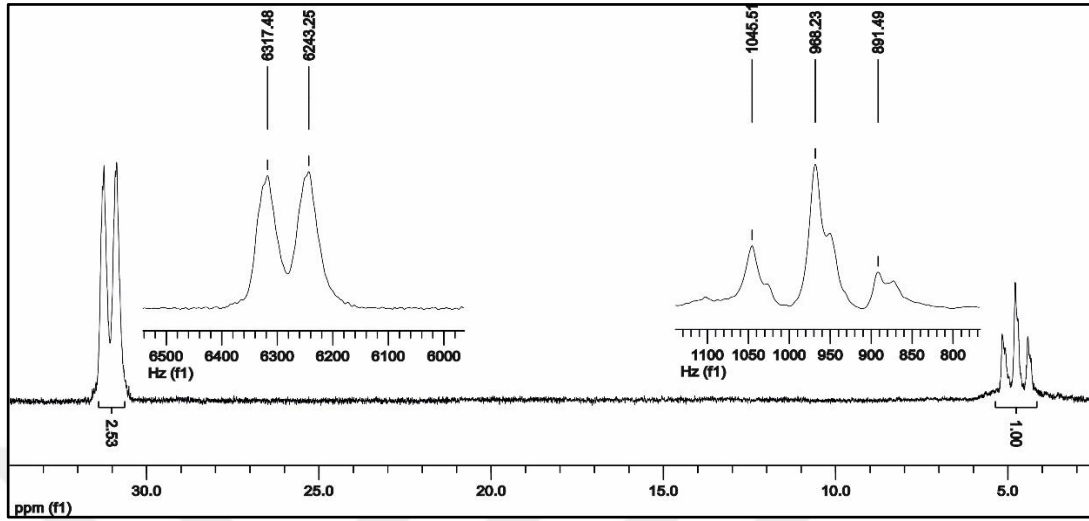
Bileşik 8'in kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M]^+$ 754.450 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (754.390 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



Şekil 6.44: 8 Bileşiğinin kütle spektrumu.

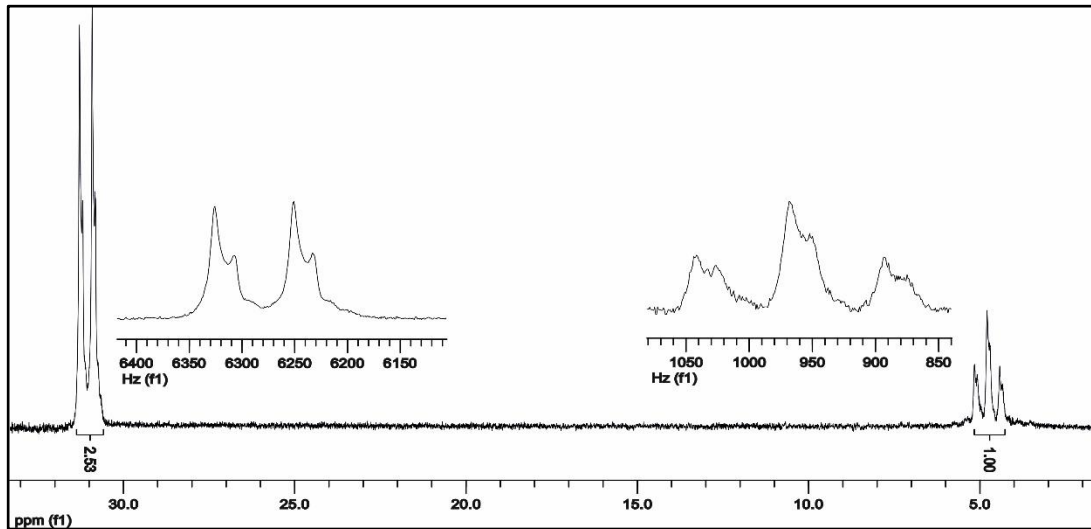
Bileşik 8'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde A_2X spin sisteminde olduğu görülmektedir. [PO (ansa)] grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik $\delta=31.05$ ppm'de rezonansa gelmiş olup [PR₂] grubundaki fosfor atomu tarafından ikiye ($^2J_{AX}=74.67$ Hz) yarılmıştır. [PR₂] grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik $\delta=4.79$ ppm'de rezonansa gelmiş olup [PO (ansa)] gruplarında bulunan fosfor atomları tarafından üçe ($^2J_{XA}=75.00$ Hz)

yarılmıştır. Şekildeki spektruma ilişkin integral değerleri sırasıyla 2.53:1.00 olup 2:1 fosfora denk gelmektedir.



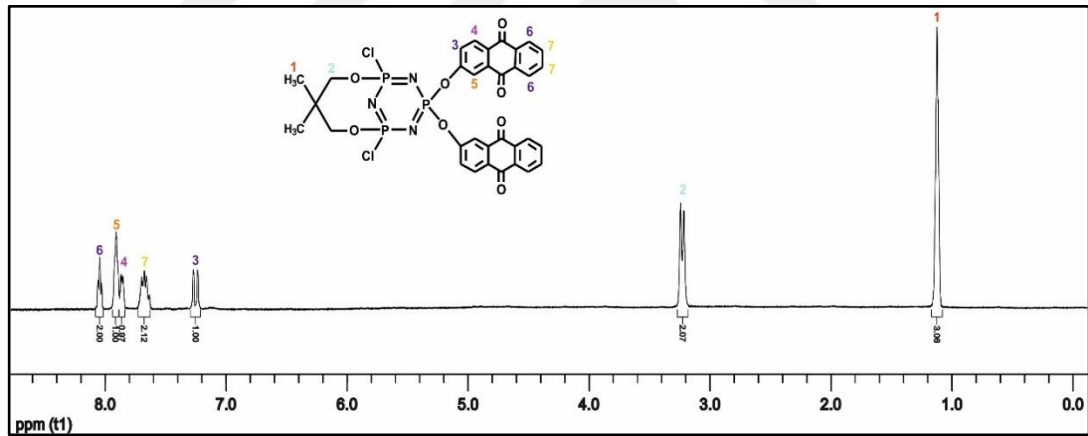
Şekil 6.45: Bileşik 8'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 8'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, A_2X spin sisteminde olduğu görülmektedir. [PO(ansa)] grubundaki fosfor atomlarına ait pik $\delta=31.05$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır. [PO(spiro)] grubundaki fosfor atomuna ait çoklu pik $\delta=9.15$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, kimyasal çevresinden dolayı farklıdır.



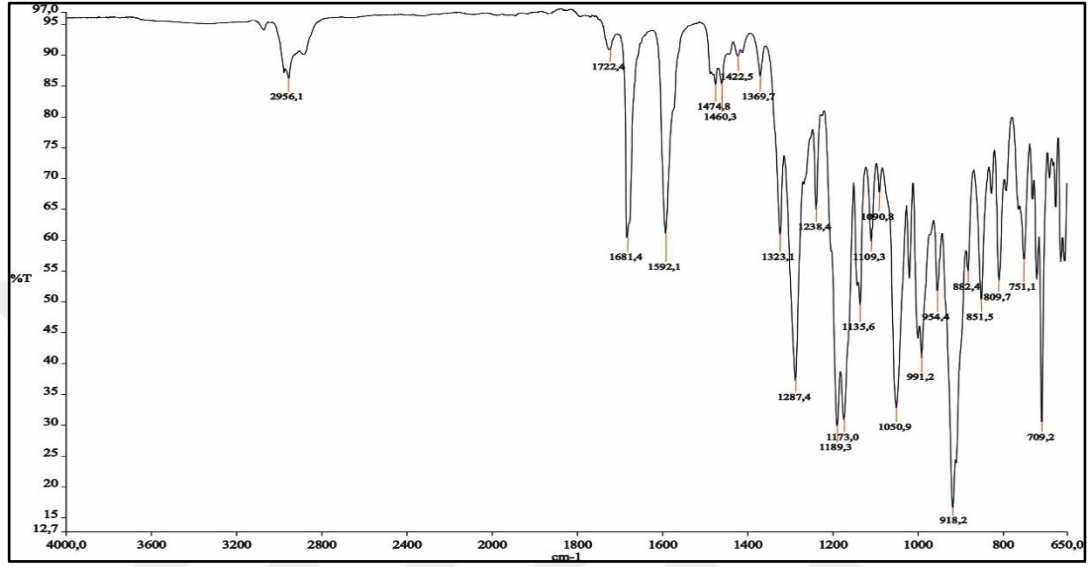
Şekil 6.46: Bileşik 8'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 8'e ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=8.07$ ppm'deki üçlü pik 6 No'lu -CH protonuna ait olup komşu karbondaki bulunan protonlardan dolayı yarılmış ve kimyasal çevreden dolayı farklıdır. $\delta=7.91$ ppm'deki tekli pik 5 No'lu -CH protonuna ait olup komşu karbonlarda proton olmadığı için tekli pik olarak görülmektedir. $\delta=7.87$ ppm'deki ikili pik 4 No'lu -CH protonuna ait olup komşu karbondaki bulunan protonlardan dolayı yarılmış ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=7.74-7.65$ aralığındaki çoklu pik 7 No'lu -CH protonlarına ait olup komşu karbondaki bulunan protonlardan dolayı çoklu pik olarak görülmektedir. $\delta=7.28$ ppm'deki ikili pik 3 No'lu -CH protonuna ait olup komşu karbondaki bulunan protonlardan dolayı yarılmış ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=3.21$ ppm'deki tekli pik 2 No'lu -CH₂ protonlarına ait olup kimyasal çevrelerinden dolayı farklıdır. $\delta=1.09$ ppm'deki tekli pik 1 No'lu -CH₃ protonlarına ait olup komşu karbondaki proton olmadığı için tekli pik olarak görülmektedir. İntegral değerleri sırasıyla 3.06:2.07:1:2.1:0.97:1:2 olup 6:4:2:4:2:2:4 protona denk gelmektedir.



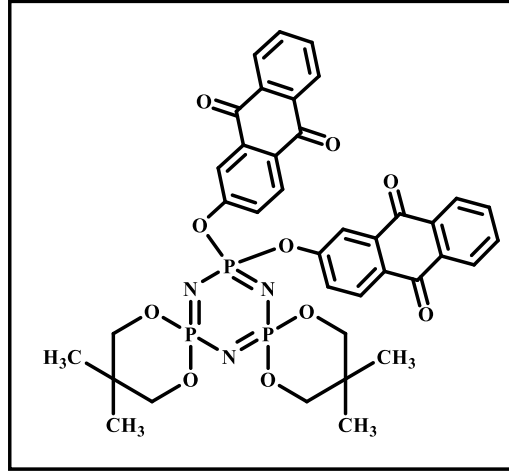
Şekil 6.47: Bileşik 8'e ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 8'e ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 2956.1 alifatik C-H Gerilmesi; 1681.4 C=O gerilmesi; 1592.1, 1474.8, 1460.3, 1422.5 aromatik C=C gerilmesi; 1323.1 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1287.4 aromatik C-O gerilmesi; 1189.3, 1173.0, 1050.9 P=N gerilmesi; 991.2, 918.2 P-O-C gerilmesi; 709.2 aromatik C-H gerilmesi.



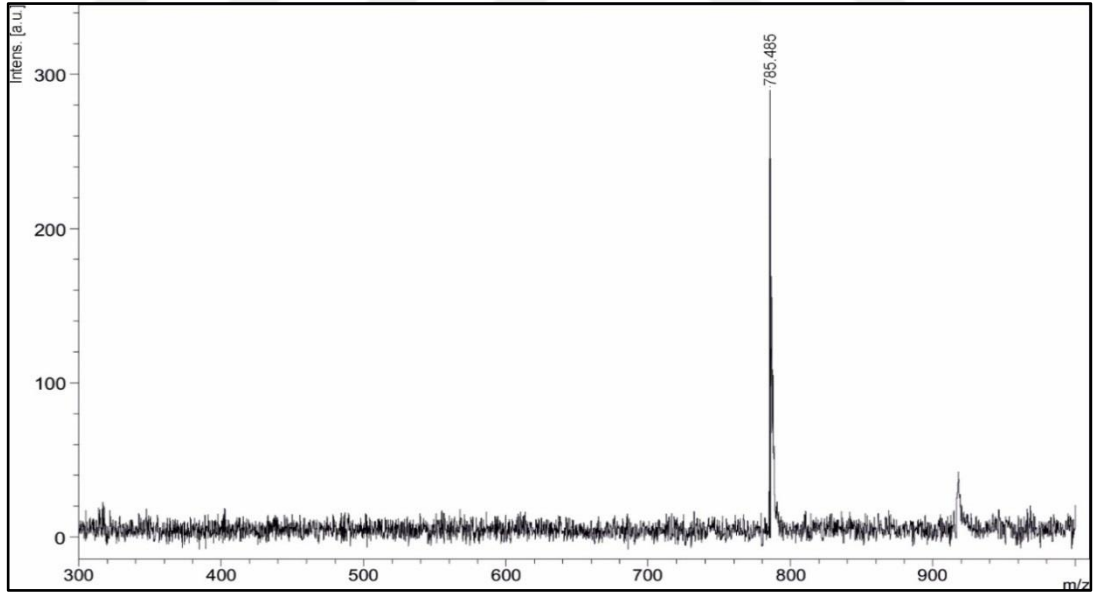
Şekil 6.48: Bileşik 8'e ait FT-IR spektrumu.

6.9. Bileşik 9'un Yapı Karakterizasyonu



Şekil 6.49: 9 Bileşiğinin yapısı.

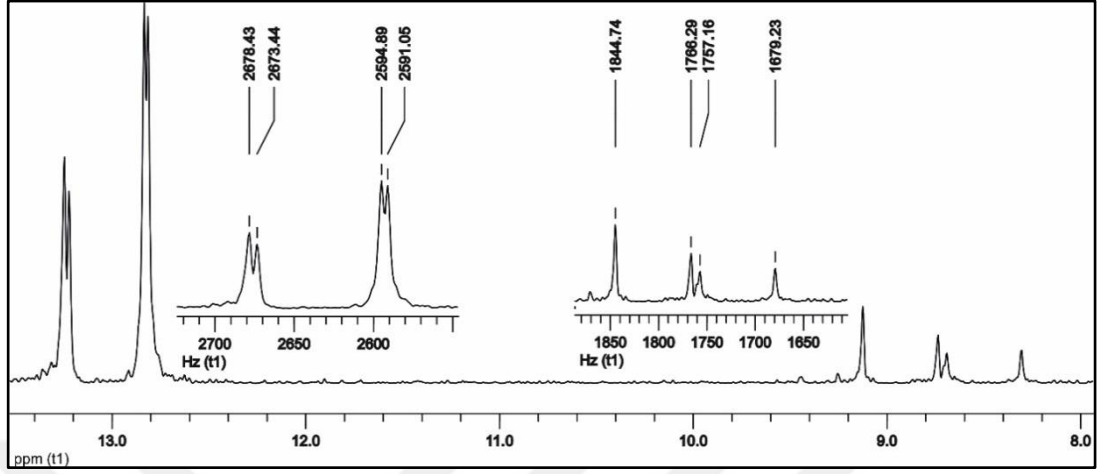
Bileşik 9'un kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M-2CH_3+2H]^+$ 785.485 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (817.710 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



Şekil 6.50: 9 Bileşiğinin kütle spektrumu.

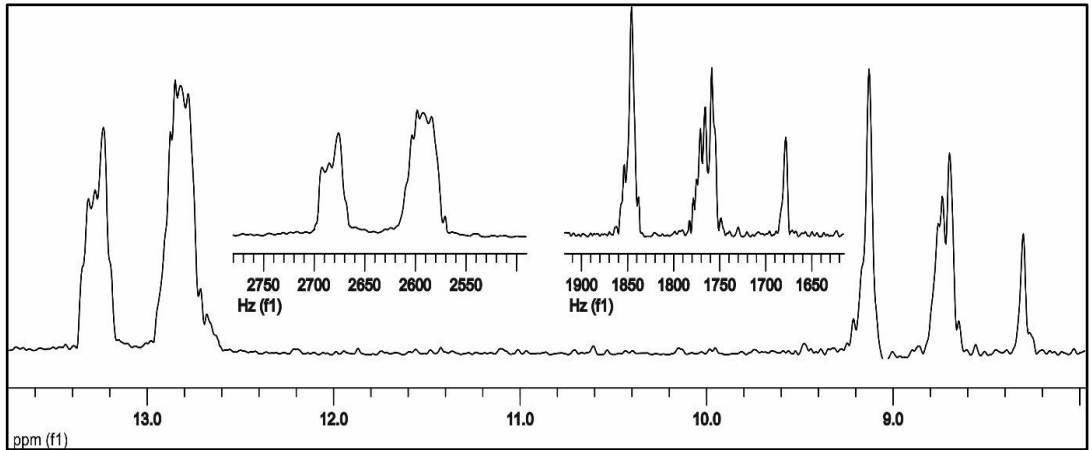
Bileşik 9'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, $CDCl_3$) (298 K) spektrumu incelendiğinde, A_2B spin sistemine sahip ikinci derece bir spektrum olduğu görülmektedir. Yapıda farklı kimyasal çevreye sahip iki fosfor atomu

bulunmaktadır. $\delta=13.09$ ppm ve $\delta=8.71$ ppm'de sırasıyla [PO(spiro)] ve [PR₂] gruplarındaki fosfor atomları rezonansa gelmiştir ($^2J_{AB}=64.63$ Hz).



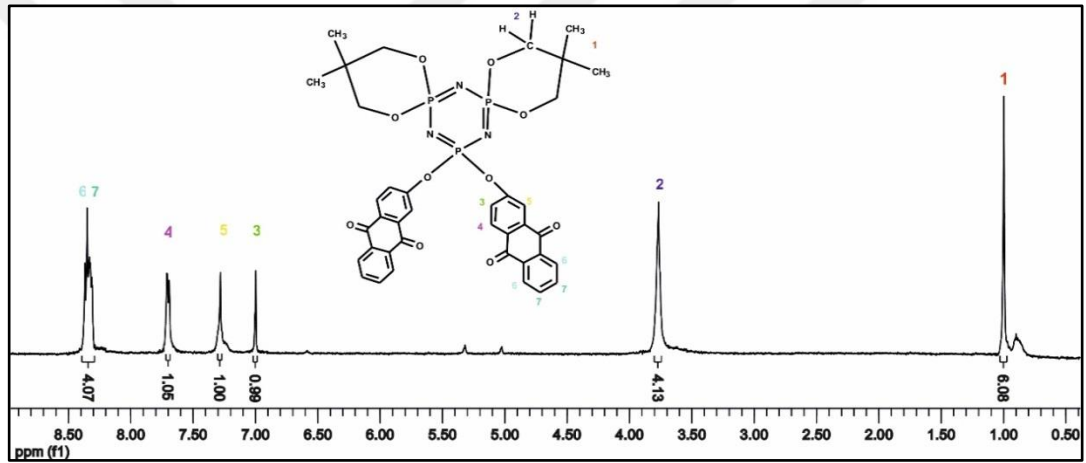
Şekil 6.51: Bileşik 9'a ait proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu.

Bileşik 9'a ait proton ile eşleşmiş ³¹P NMR (500 MHz, CDCl₃) (298 K) spektrumu incelendiğinde A₂B spin sisteminde olduğu görülmektedir. [PO(spiro)] grubundaki fosfor atomuna ait çoklu pik $\delta=13.09$ ppm'de rezonansa gelmiş olup, üç bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır. [PR₂] gruplarındaki fosfor atomlarına ait pik $\delta=8.71$ ppm'de rezonansa gelmiş olup eşleşebileceği bir proton atomu olmaması sebebiyle değişmemiştir.



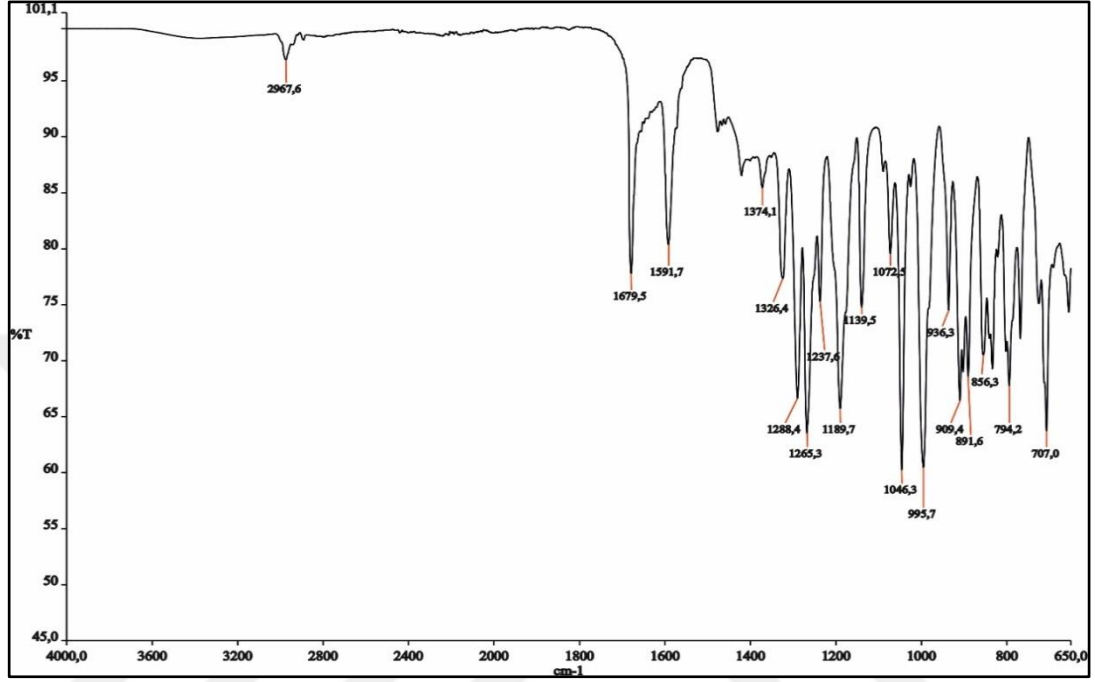
Şekil 6.52: Bileşik 9'a ait proton ile eşleşmiş ³¹P NMR spektrumu.

Bileşik 9'a ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta = 8.37$ - 8.31 ppm aralığındaki pikler 6-7 no'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup birbirlerine komşu olan karbon atomlarının protonlarından dolayı çoklu pikler olarak görülmüştür. $\delta = 7.83$ ppm'deki pik 4 no'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup komşu karbon atomundaki protondan dolayı ikili pik olarak görülmüştür. $\delta = 7.28$ ppm'deki pik 5 no'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup tekli pik olarak görülmüştür. $\delta = 7.00$ ppm'deki pik 3 no'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup tekli pik olarak görülmüştür. $\delta = 3.77$ ppm'deki pik, 2 no'lu $-\text{CH}_2$ protonlarına ait olup tekli pik olarak görülmüştür. $\delta = 0.99$ ppm'deki pik 1 no'lu $-\text{CH}_3$ protonlarına ait olup tekli pik olarak görülmüştür. İntegral değerleri sırasıyla 4.00:1.05:1.00:0.99:4.13:6.06 olup 8:2:2:2:8:12 protona denk gelmektedir.



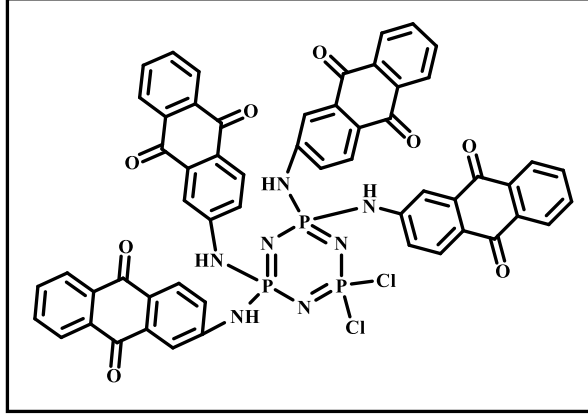
Şekil 6.53: Bileşik 9'a ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 9'a ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 2967.6 alifatik C-H gerilmesi, 1679.5 C=O gerilmesi, 1591.7 aromatik C=C gerilmesi, 1374.1, 1326.4 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi, 1288.4 aromatik C-O gerilmesi, 1189.7, 1139.5, 1072.5, 1046.3 P=N gerilmesi, 936.3 P-O-C gerilmesi, 707.0 aromatik C-H gerilmesi.



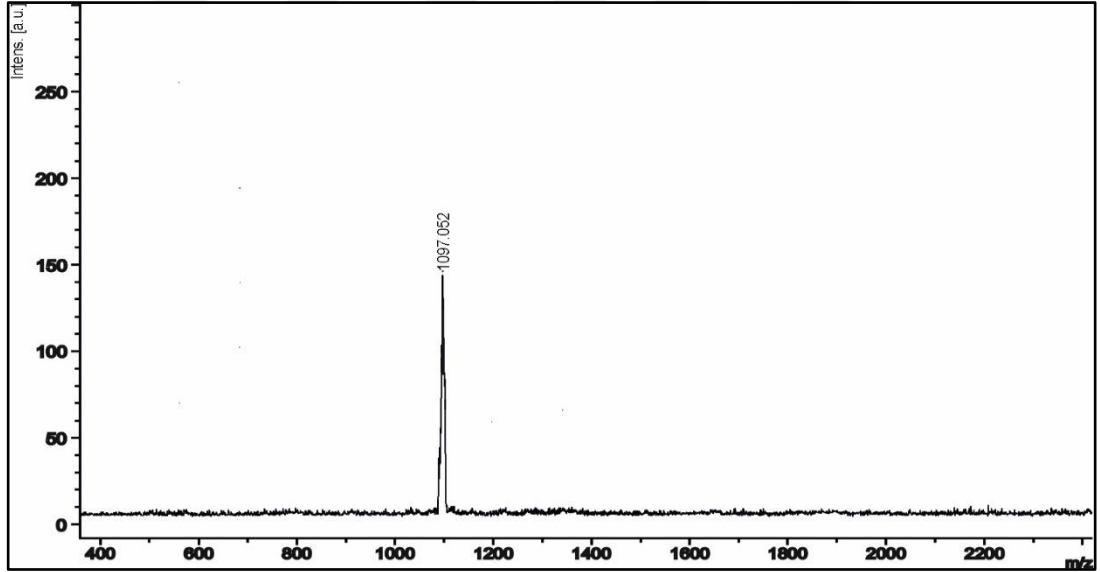
Şekil 6.54: Bileşik 9'a ait FT-IR spektrumu.

6.10. Bileşik 10'un Yapı Karakterizasyonu



Şekil 6.55: 10 Bileşiğinin yapısı.

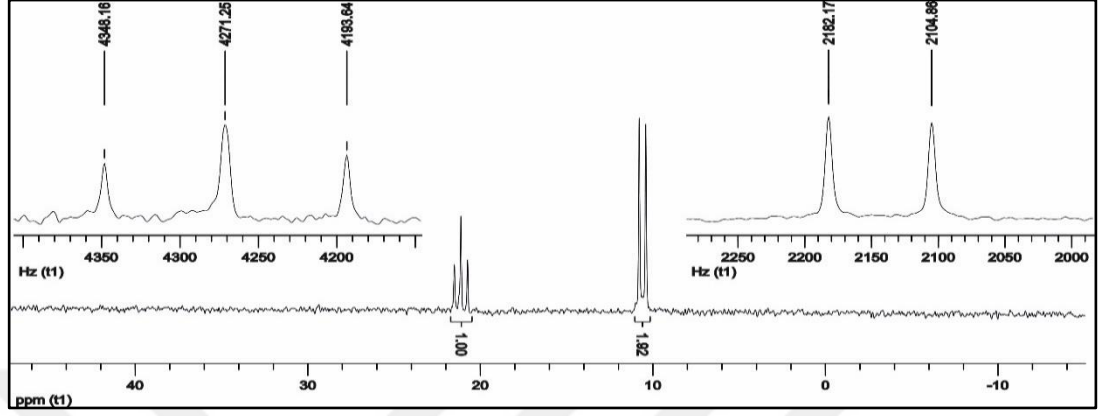
Bileşik 10'un kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M+3H]^+$ 1097.052 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (1094.730 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



Şekil 6.56: 10 Bileşiğinin kütle spektrumu.

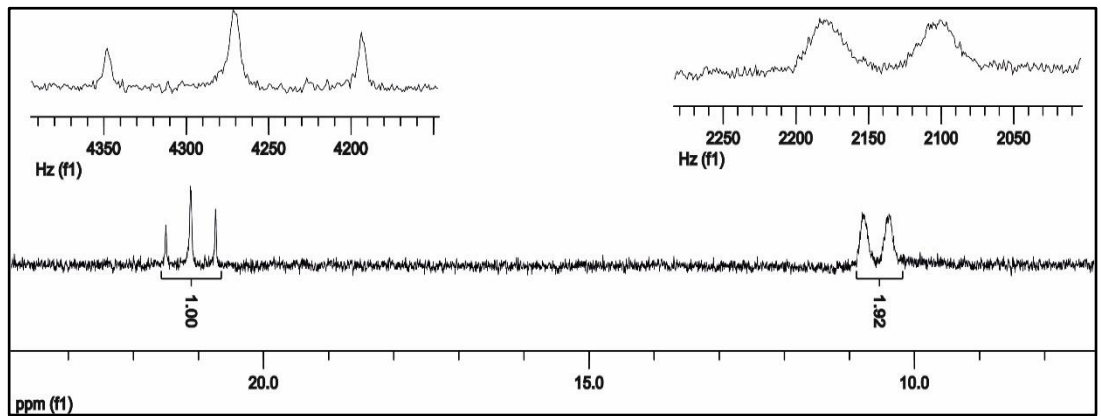
Bileşik 10'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, AX_2 spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomlarına ait üçlü pik $\delta=21.05$ ppm'de rezonansa gelmiş olup $[\text{PR}_2]$ gruplarındaki fosfor atomları tarafından üçe ($^2J_{\text{AX}} = 77.76$ Hz) yarılmıştır. $[\text{PR}_2]$ grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik $\delta=10.60$ ppm'de rezonansa gelmiş

olup $[PCl_2]$ grubunda bulunan fosfor atomları tarafından ikiye (${}^2J_{XA}=77.26$ Hz) yarılmıştır. Şekildeki spektruma ilişkin integral değerleri sırasıyla 1.92:1.00 olup 2:1 fosfora denk gelmektedir.



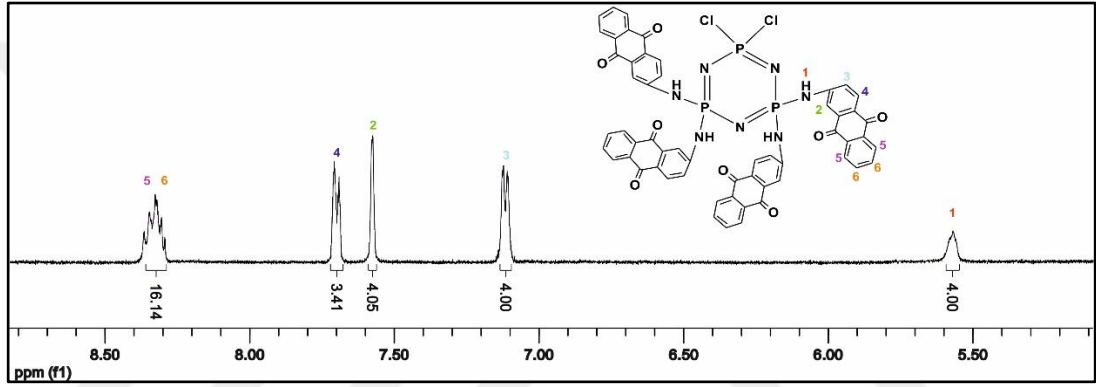
Şekil 6.57: Bileşik 10'a ait proton ile eşleşmemiş ${}^{31}P$ NMR spektrumu.

Bileşik 10'a ait proton ile eşleşmiş ${}^{31}P$ NMR (500 MHz, $CDCl_3$) (298 K) spektrumu incelendiğinde AX_2 spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[PCl_2]$ grubundaki fosfor atomlarına ait pik $\delta=21.05$ ppm'de rezonansa gelmiş olup eşleşebileceği bir proton atomu olmaması sebebiyle değişmemiştir. $[PR_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait çoklu pik $\delta=10.60$ ppm' de rezonansa gelmiş olup, iki bağ ötesindeki protonlar ile eşleşerek çoklu pikler şeklinde yarılmıştır.



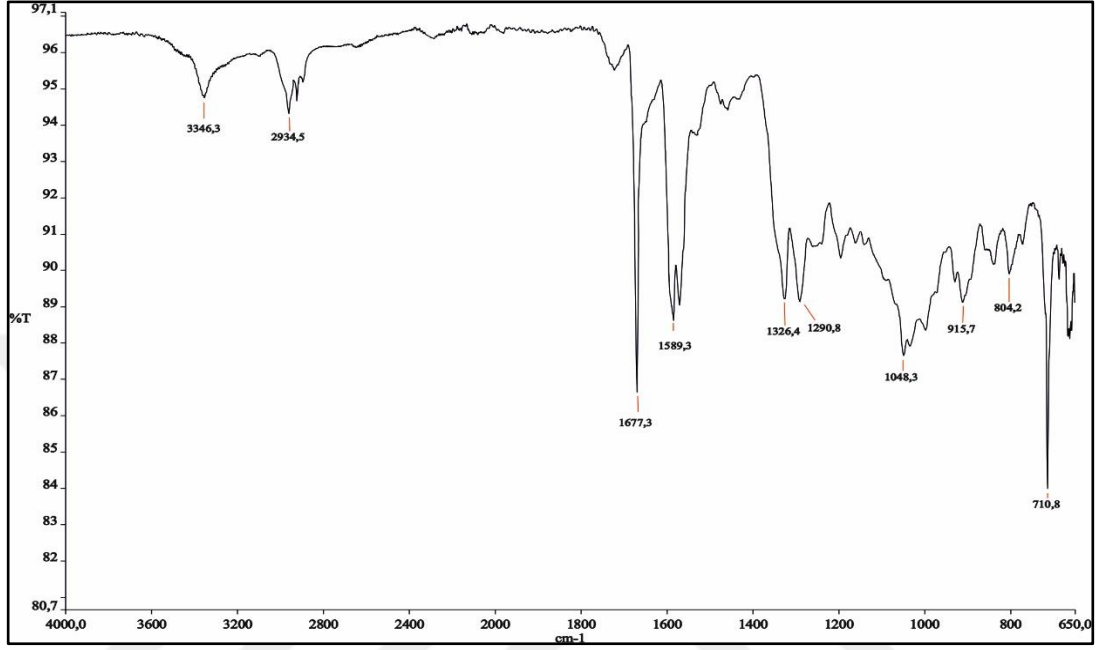
Şekil 6.58: Bileşik 10'a ait proton ile eşleşmiş ${}^{31}P$ NMR spektrumu.

Bileşik 10'a ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=8.24-8.35$ ppm'deki çoklu pik 5 ve 6 No'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup birbirlerine komşu karbonların protonlarından dolayı çoklu pikler olarak görülmektedir. $\delta=7.83-7.80$ ppm aralığındaki ikili pik 4 numaralı $-\text{CH}$ protonlarına ait olup komşu karbon atomunun protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=7.57$ ppm'deki tekli pik 2 numaralı $-\text{CH}$ protonuna ait olup komşu karbondaki proton olmadığından tekli pik olarak görülmektedir. $\delta=7.13-7.09$ ppm aralığındaki ikili pik 3 numaralı $-\text{CH}$ protonlarına ait olup komşu karbon atomunun protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=5.57$ ppm'deki pik 1 No'lu $-\text{NH}$ protonlarına aittir.



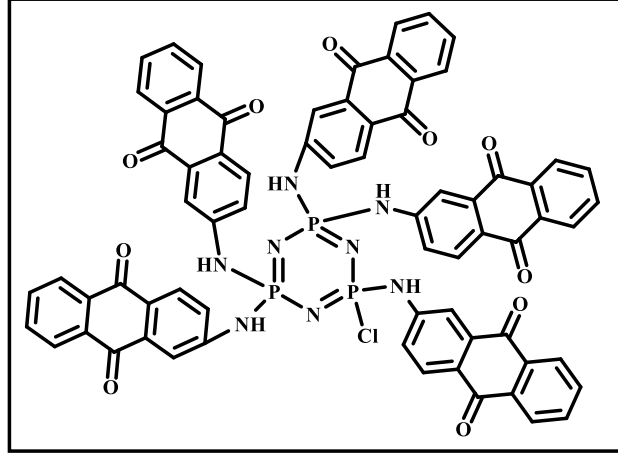
Şekil 6.59: Bileşik 10'a ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 10'a ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 3346.3 -NH gerilmesi; 2934.5 alifatik C-H gerilmesi; 1677.3 C=O gerilmesi; 1589.3 aromatik C=C gerilmesi; 1326.4 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1290.8 aromatik C-O gerilmesi; 1048.3 P=N gerilmesi; 710.8 aromatik C-H gerilmesi.



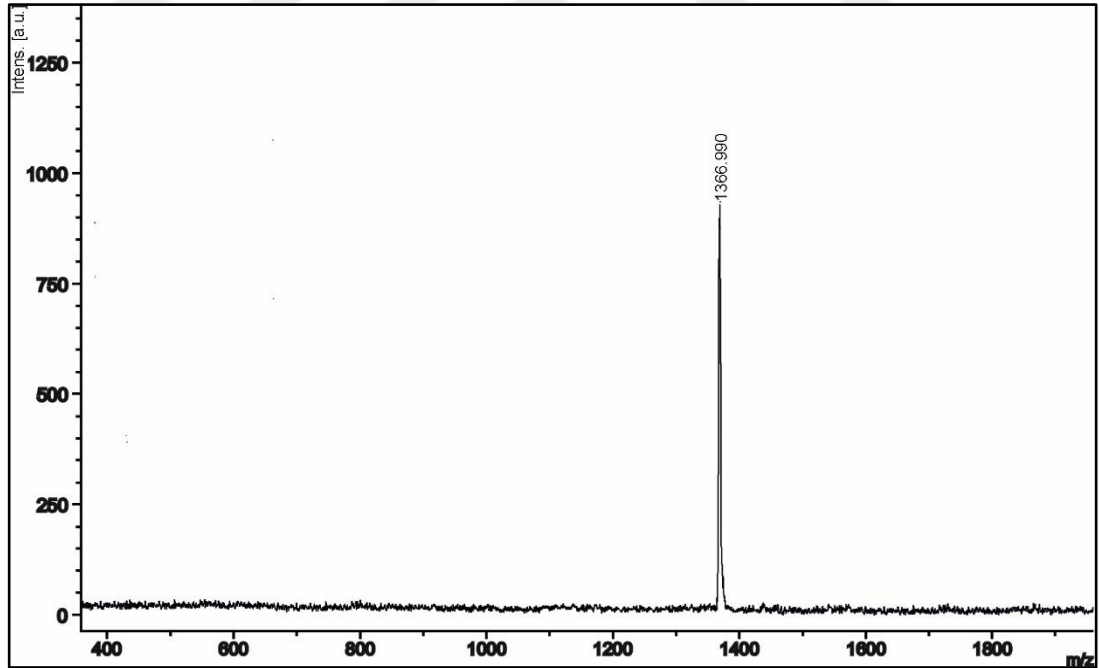
Şekil 6.60: Bileşik 10'a ait FT-IR spektrumu.

6.11. Bileşik 11'in Yapı Karakterizasyonu



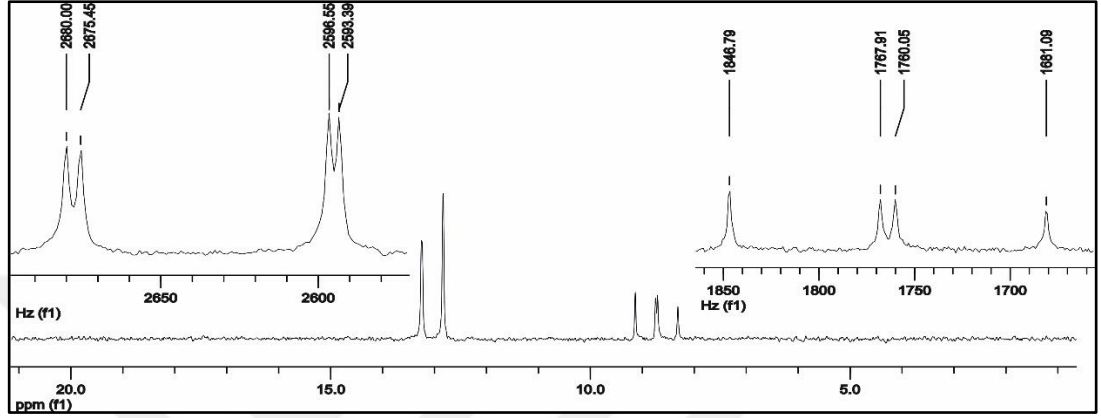
Şekil 6.61: 11 Bileşiğinin yapısı.

Bileşik 11'in kütle analizi MALDI-TOF tekniği kullanılarak tayin edildi. Moleküler iyon piki, $[M+2Na+K]^+$ 1366.990 m/z olarak gözlemlendi. Hesaplanan değerle (1281.510 m/z), beklenen değer uyum gösterdi.



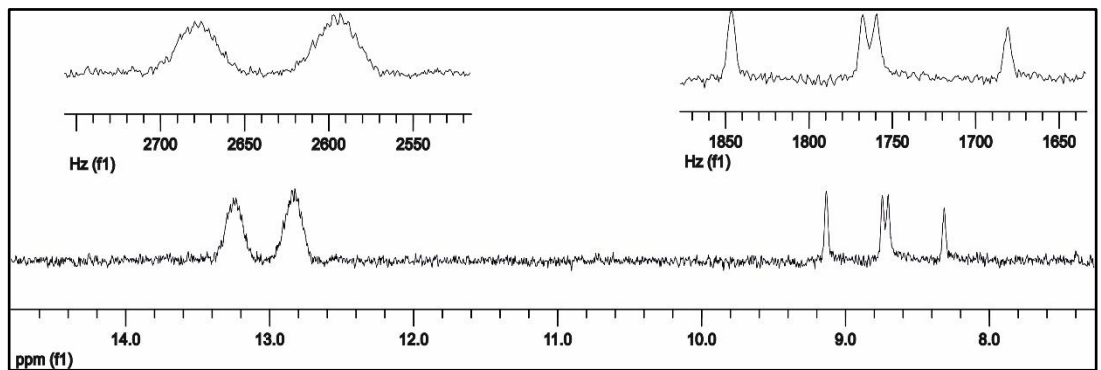
Şekil 6.62: 11 Bileşiğinin kütle spektrumu.

Bileşik 11'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde, A_2B spin sistemine sahip ikinci derece bir spektrum olduğu görülmektedir. Yapıda farklı kimyasal çevreye sahip iki fosfor atomu bulunmaktadır. $\delta=13.04$ ppm ve $\delta=8.75$ ppm'de sırasıyla $[\text{PR}_2]$ ve $[\text{PRCl}]$ gruplarındaki fosfor atomları rezonansa gelmiştir ($^2J_{\text{AB}}=83.05$ Hz).



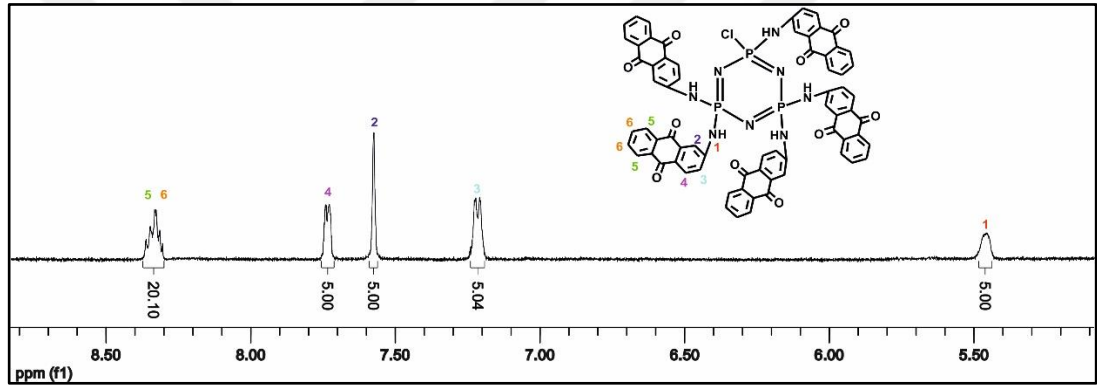
Şekil 6.63: Bileşik 11'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 11'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR (500 MHz, CDCl_3) (298 K) spektrumu incelendiğinde AB_2 spin sisteminde olduğu görülmektedir. $[\text{PR}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait ikili pik $\delta=13.04$ ppm' de rezonansa gelmiş olup, iki bağ ötesindeki protonlardan dolayı yarılmıştır. $[\text{PRCl}]$ gruplarındaki fosfor atomlarına ait pik $\delta=8.75$ ppm' de rezonansa gelmiş olup iki bağ ötesindeki protonlardan dolayı küçük eşleşme ile yarılmıştır.



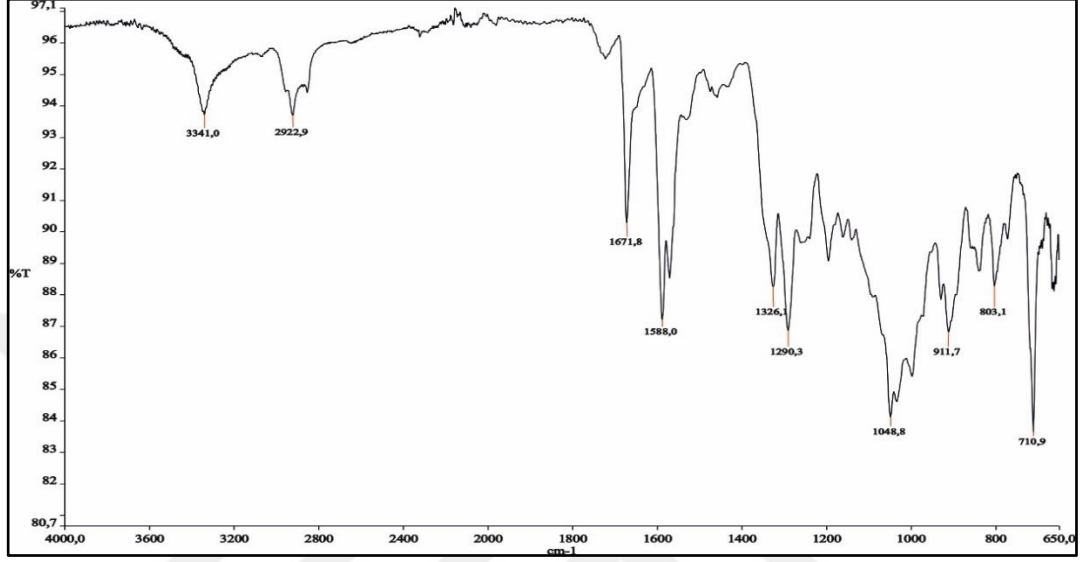
Şekil 6.64: Bileşik 11'e ait proton ile eşleşmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik 11'e ait ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) spektrumu incelendiğinde, $\delta=8.29-8.38$ ppm aralığındaki çoklu pik 5 ve 6 No'lu $-\text{CH}$ protonlarına ait olup birbirlerine komşu karbonların protonlarından dolayı çoklu pikler olarak görülmektedir. $\delta=7.64-7.61$ ppm aralığındaki ikili pik 4 numaralı $-\text{CH}$ protonlarına ait olup komşu karbon atomunun protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=7.59$ ppm'deki tekli pik 2 numaralı $-\text{CH}$ protonuna ait olup komşu karbonda proton olmadığından tekli pik olarak görülmektedir. $\delta=7.20-7.15$ ppm aralığındaki ikili pik 3 numaralı $-\text{CH}$ protonlarına ait olup komşu karbon atomunun protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir. $\delta=5.46$ ppm'deki pik 1 No'lu $-\text{NH}$ protonlarına aittir. İntegral değerleri sırasıyla 5:5.04:5:5:20.10 olup 5:5:5:5:20 protona denk gelmektedir.



Şekil 6.65: Bileşik 11'e ait ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 11'e ait FT-IR spektrumu (ν : cm^{-1}): 3341.0 -NH gerilmesi; 2922.9 alifatik C-H gerilmesi; 1671.8 C=O gerilmesi; 1588.0 aromatik C=C gerilmesi; 1326.1 alifatik C-H düzlem içi eğilmesi; 1290.3 aromatik C-O gerilmesi; 1048.8 P=N gerilmesi; 710.9 aromatik C-H gerilmesi.



Şekil 6.66: Bileşik 11'e ait FT-IR spektrumu.

7. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

7.1. Bileşiklerin Analiz İçin Hazırlanması

Stok çözelti hazırlamak için bileşikler dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözüldü. Hazırlanan stok çözelti daha küçük hacimsel parçalara ayrılarak 4°C'de karanlıkta saklandı. Bileşikler farklı dozlarda (2,5 µM, 5 µM, 10 µM, 20 µM, 40 µM) hazırlanarak çalışmada kullanıldı. Hücrelere uygulanan tüm dozların sahip olduğu DMSO oranının %0.1'in altında olmasına özen gösterildi. 25 ve 75 cm²'lik flasklar içerisinde büyüyen hücreler, tripsin/EDTA ile flask yüzeyinden %80'lik yoğunluğa ulaştığında kaldırılıp tripan mavisi ile boyandı. Optimizasyon çalışmaları yapılarak MTT testinde kullanılacak hücre sayısı belirlendi. 96 tane kuyuya sahip hücre kültür plakasının her bir kuyucuk başına 100 µL'de 1x10⁴, 1x10⁵, 5x10⁴ ve 5x10³ hücre olacak şekilde ekim işlemi yapıldı. Yapılan optimizasyon çalışması doğrultusunda hücre sayısının 1x10⁴ olmasına karar verildi. Kolon kanseri (DLD-1), insan normal kolon epiteli (CCD-18Co), meme kanseri (MCF-7) ve insan normal meme epiteli (MCF-12A) hücre hatlarına karşı bileşiklerin sitotoksik etki dozu (2.5-40 µM) ile IC₅₀ değeri MTT analiz yöntemiyle belirlendi.

7.2. Hücre Kültürü

DLD-1(ATCC® CCL-221) (Dukes' Type C, kolorektal adenokarsinoma), RPMI1640 (Roswell Park Memorial Institute); MCF-7 (ATCC® HTB-22) (insan meme adenokarsinoma); CCD-18Co (ATCC® CRL-1459) (insan normal kolon hücreleri), EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium) ve MCF12A (ATCC® CRL-10782) (insan meme epiteli) için DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 0.2 g/100 mL sodyum bikarbonat, %1 sodyum pirüvat, %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin içeren besiyeri kullanılıp 25 cm² ya da 75 cm²'lik flasklarda, %5 CO₂ ve 37°C sıcaklıktaki etüv içerisinde yirmi dört saat inkübasyona bırakılıp üretilmiştir. Hücreler %80 doygunluğa ulaşmaya kadar büyütülüp sonra fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi (PBS) ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Hücrelerin pasajlanma işleminde 1X Tripsin-EDTA kullanılmıştır [106,107].

7.3. MTT Analizi

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid) ilk olarak Mosmann tarafından uygulanan ve sonrasında Alley ile arkadaşları tarafından geliştirilen kalorimetrik bir methoddur. Bu yöntem hücre canlılığının belirlenmesinde sıklıkla kullanılan pratik bir analiz yöntemidir. Heterosiklik organik yapıya sahip olan tetrazolyum tuzları elektron alarak indirgenir ve indirgenmiş formunda formazan oluşumu gözlemlenir. Formazana dönüşen tetrazolyum tuzları renk değişimini oluşturur. Renk değişimi aktif mitokondriler (canlı hücreler) tarafından tetrazolyum halkasının kırılmasıyla gerçekleştirilirken, ölü hücreler tetrazolyum tuzunda renk değişimi gösteremezler. Bu sebeple renk değişimi sadece canlı hücreler tarafından gerçekleştirilir. Canlı hücrelerin tetrazolyum tuzlarını indirgeme özelliği hücre canlılığının ölçütü olarak alınır ve MTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile korelasyon gösterir [108].

Bu tezde, hücre canlılığı ve biyolojik aktivite çalışmalarını yaparken MTT analiz yöntemi kullanıldı.

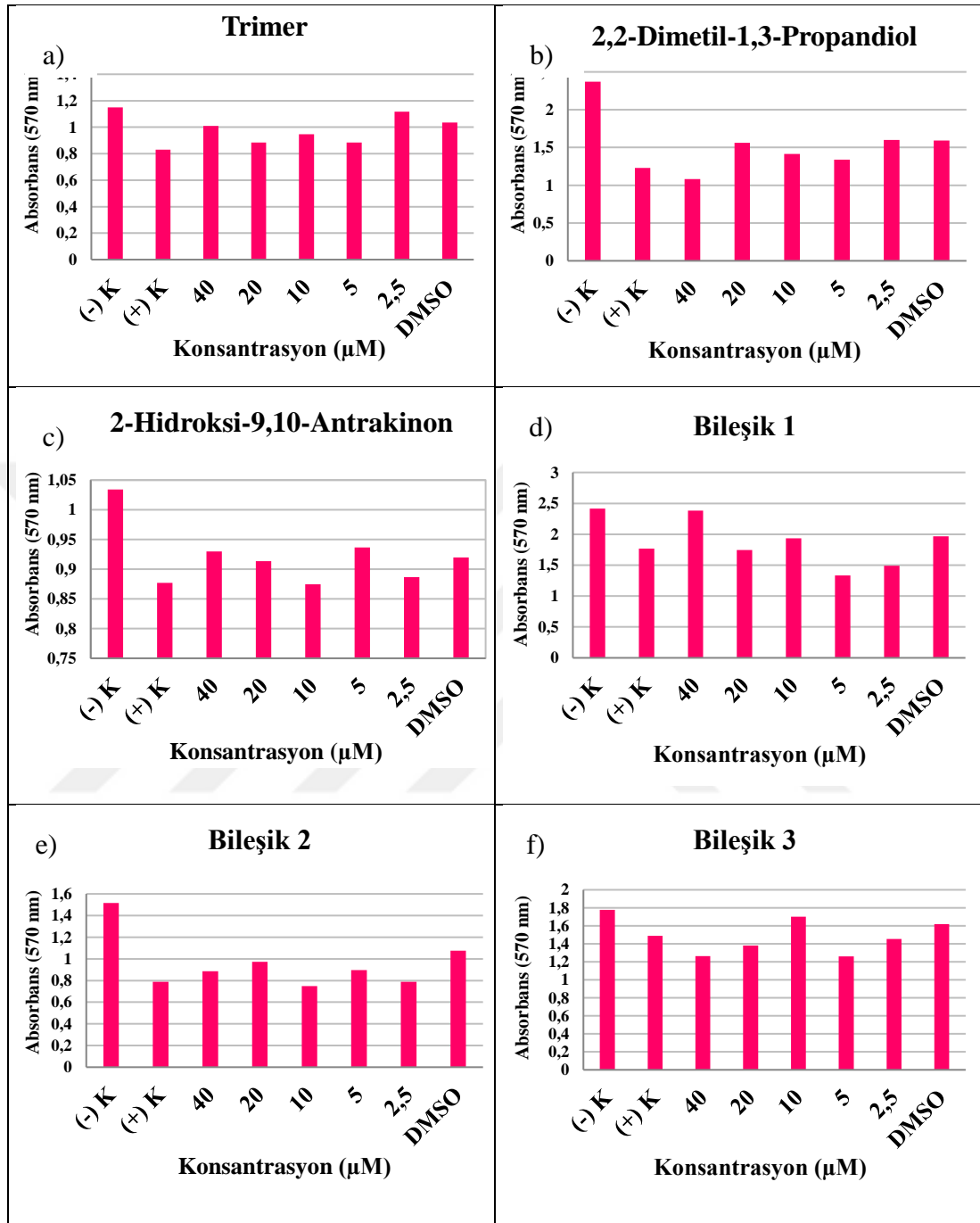
7.4. MTT Yöntemi

Bileşiklerin, DLD-1, CCD-18Co, MCF-7 ve MCF-12A hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi MTT kiti ile üretici firmanın kullanım talimatına göre uygulanmıştır. MTT yönteminin uygulamasından bir gün önce 96'lık plaka içerisine (1×10^4 /kuyu olacak şekilde) sayımı yapılan hücre ile 100 μ L RPMI1640, EMEM ve DMEM medyum hazırlandıktan sonra kuyulara ekimi yapılmıştır. Mikroplaka, 24 saat 37°C ve %5 CO₂ ayarlı inkübatörde bekletilerek hücrelerin yüzeye yapışmaları sağlanmıştır. 24 saatlik inkübasyondan sonra seri dilüsyonlar halinde (2.5-40 μ M) hazırlanan bileşikler kuyulara ilave edilmiştir. İnkübasyon sonrası hücrelere 100 μ L MTT (5 mg/mL) çözeltisi eklenerek 2 saat bekletilmiş ve daha sonra kuyulara 100 μ L DMSO (dimetil sülfoksit) eklenerek reaksiyon sonlandırılmıştır. İnkübasyonu yapılan hücreler, mikroplaka okuyucu spektrofotometre ile 570 nm absorbans değerinde ölçümleri üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Microsoft Excel programı yardımı ile uygulanan doz ve % hücre canlılığı eğrisi belirlenerek %50 baskılayıcı konsantrasyon (IC₅₀) değeri logaritmik eğim grafiği ile hesaplanmıştır (Sitetoksite=test absorbans değeri/kontrol absorbans değer ortalaması x 100).

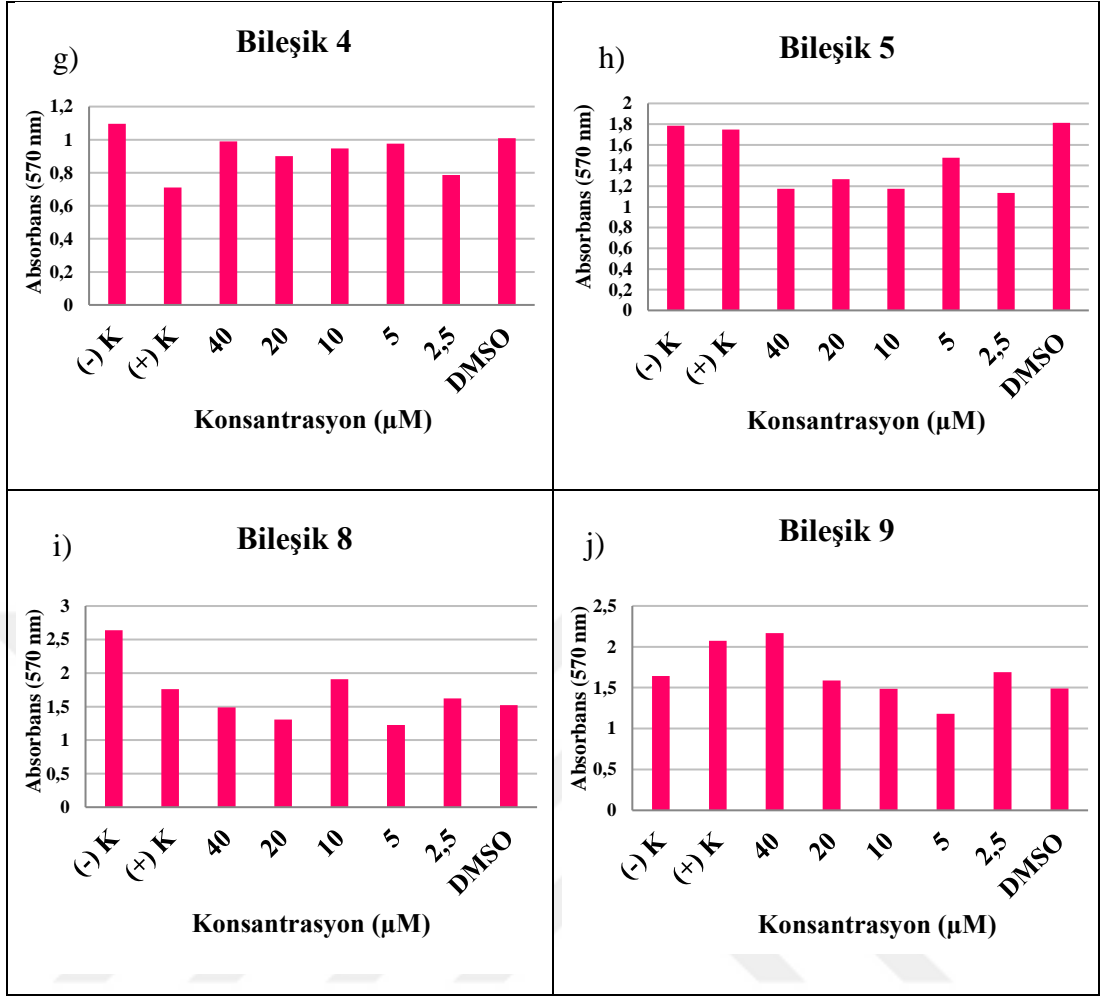
Deneyler her bir bileşik derişimi ve çözüldüğü solusyon için üçer kez tekrarlanmıştır. Bu sonuçlara göre, bileşiklerin hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri değerlendirilmiş ve doz-cevap ilişkisi tanımlanmıştır.



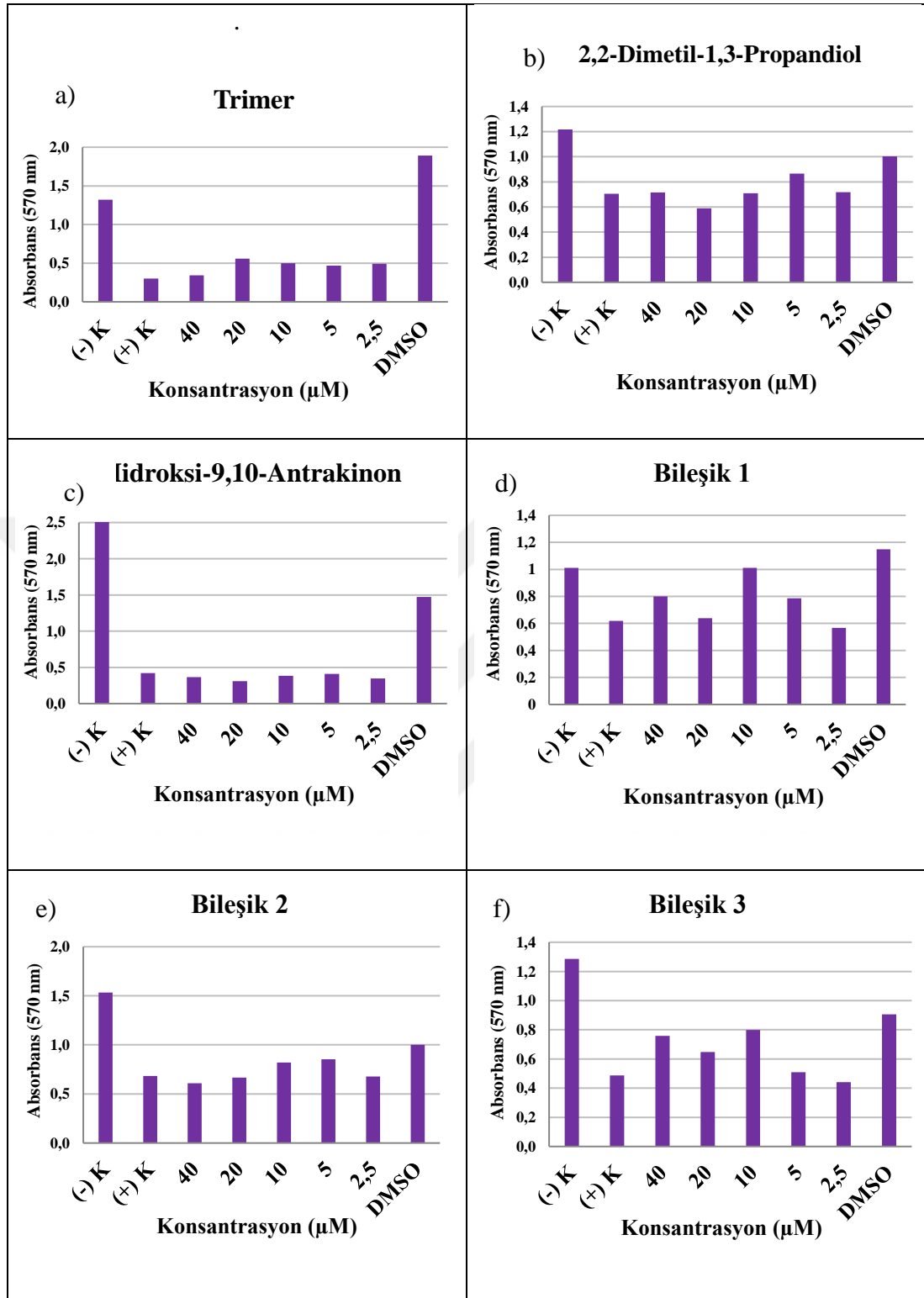
7.4.1. Bileşiklerin MTT Analiz Sonuçları



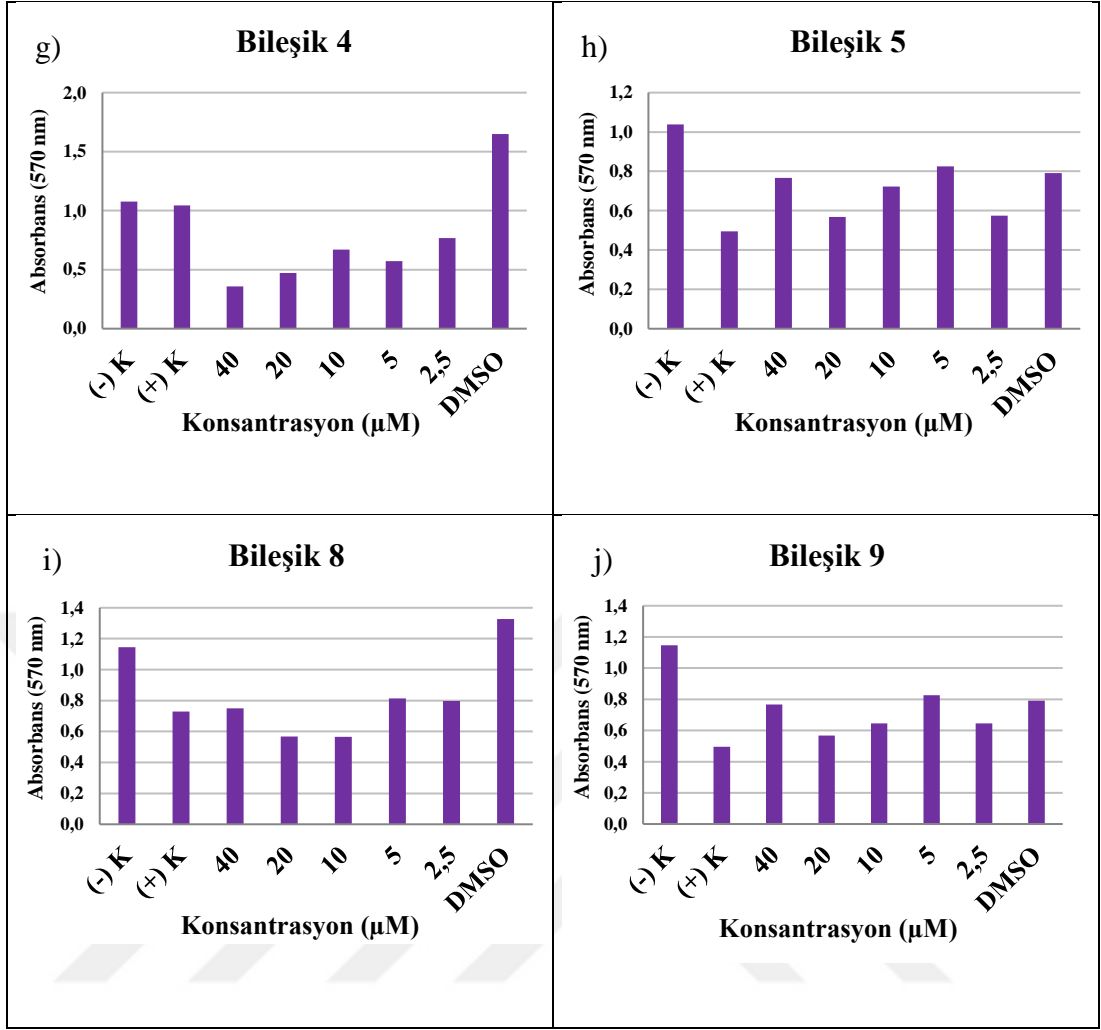
Şekil 7.1: a) Trimer, b) 2,2-Dimetil,1,3-propandiol, c) 2-Hidroksiantrakinon, d) Bileşik 1, e) Bileşik 2, f) Bileşik 3, g) Bileşik 4, h) Bileşik 5, i) Bileşik 8, j) Bileşik 9'un MCF-7 hücre hattındaki MTT analiz grafikleri.



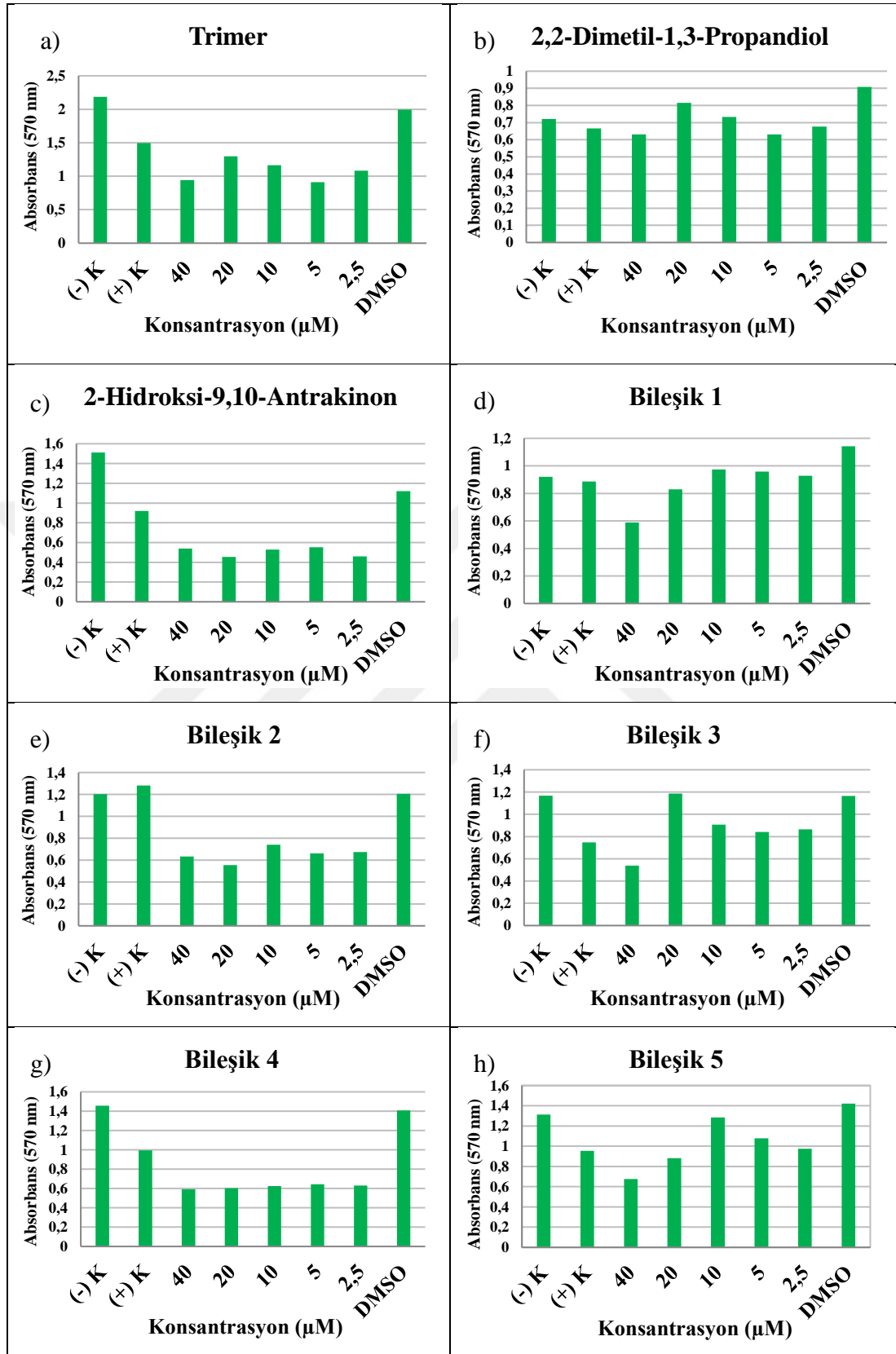
Şekil 7.1: Devam.



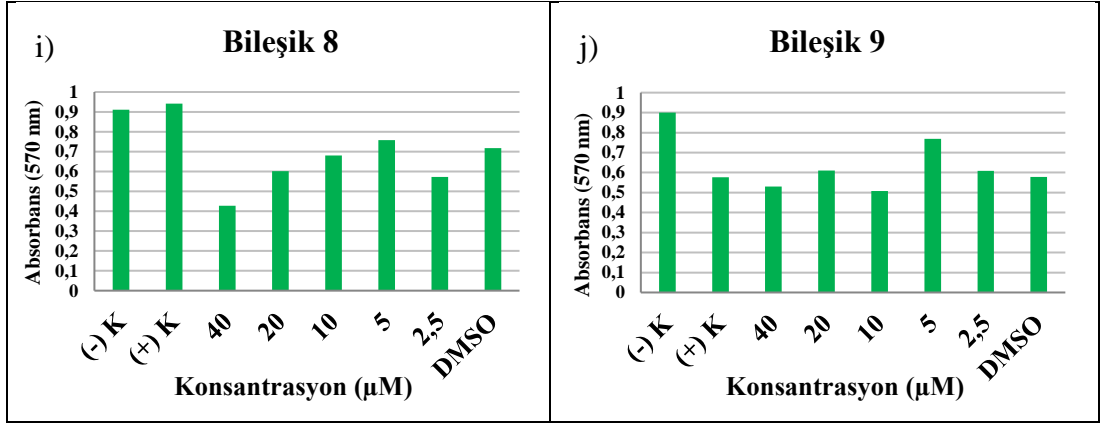
Şekil 7.2: a) Trimer, b) 2,2-Dimetil,1,3-propandiol, c) 2-Hidroksiantrakınon, d) Bileşik 1, e) Bileşik 2, f) Bileşik 3, g) Bileşik 4, h) Bileşik 5, i) Bileşik 8, j) Bileşik 9'un MCF-12A hücre hattındaki MTT analiz grafikleri.



Şekil 7.2: Devam.

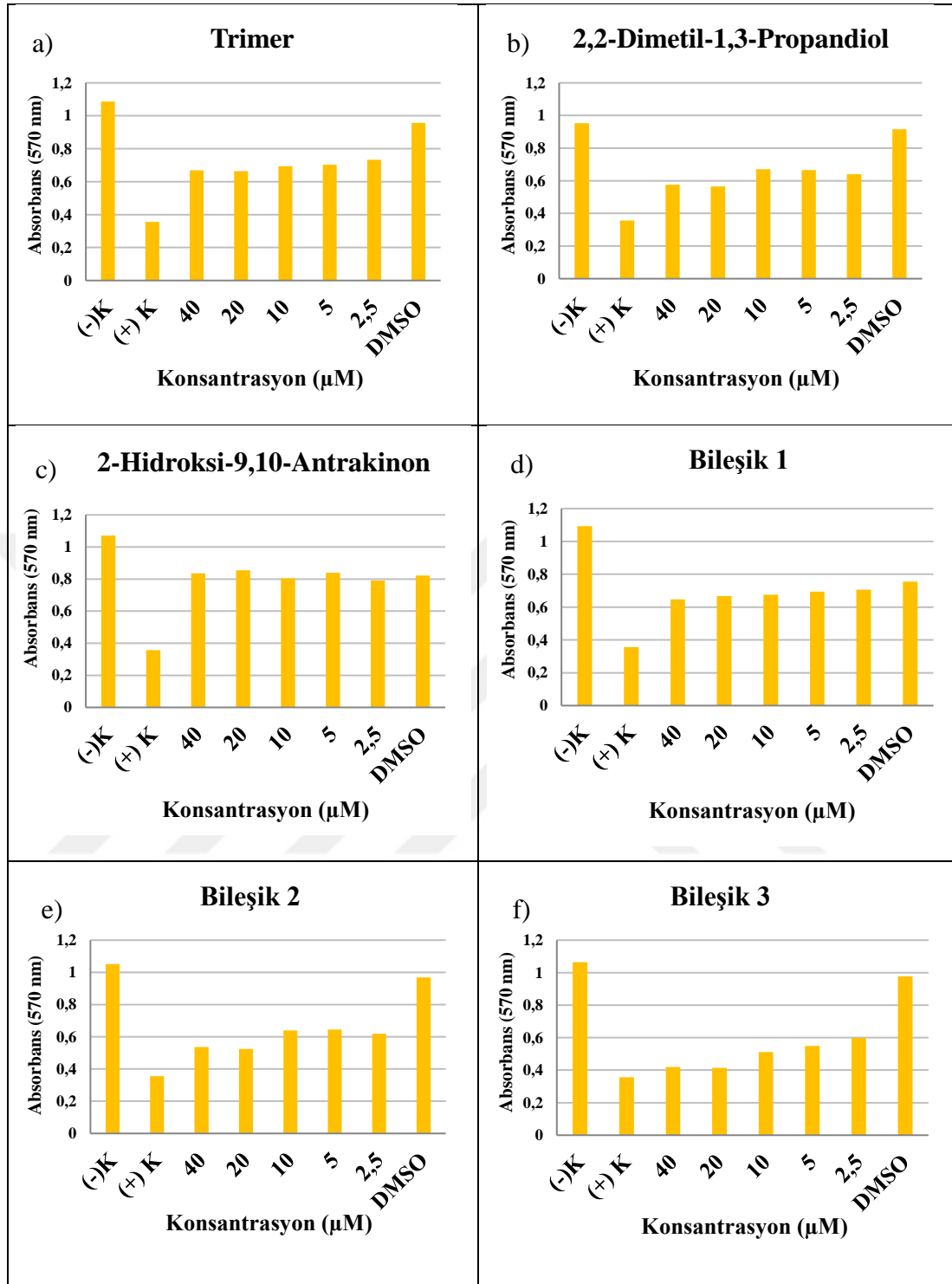


Şekil 7.3: a) Trimer, b) 2,2-Dimetil,1,3-propandiol, c) 2-Hidroksiantrakininon, d) Bileşik 1, e) Bileşik 2, f) Bileşik 3, g) Bileşik 4, h) Bileşik 5, i) Bileşik 8, j) Bileşik 9'un DLD-1 hücre hattındaki MTT analiz grafikleri.

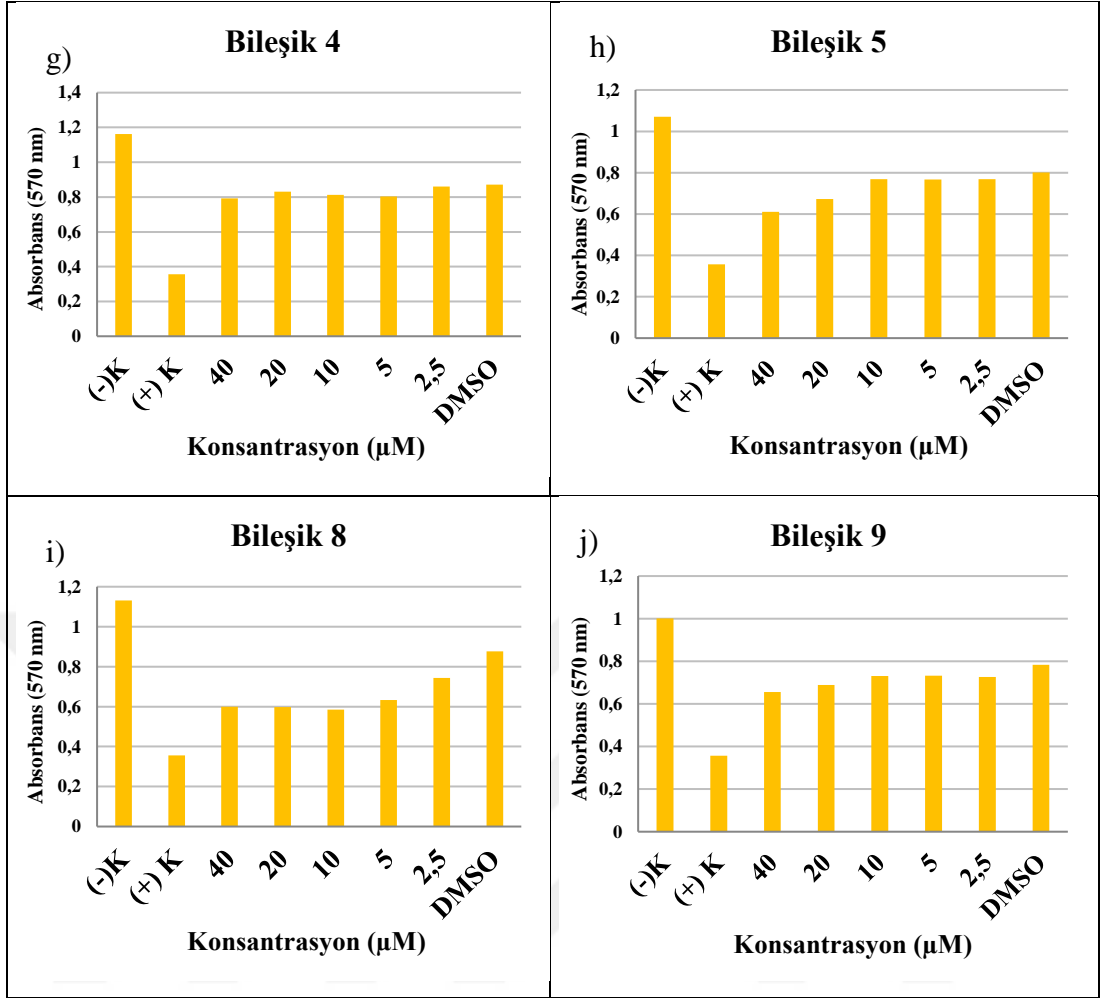


Şekil 7.3: Devam.





Şekil 7.4: a) Trimer, b) 2,2-Dimetil,1,3-propandiol, c) 2-Hidroksiantrakinon, d) Bileşik 1, e) Bileşik 2, f) Bileşik 3, g) Bileşik 4, h) Bileşik 5, i) Bileşik 8, j) Bileşik 9'un CCD-18Co hücre hattındaki MTT analiz grafikleri.

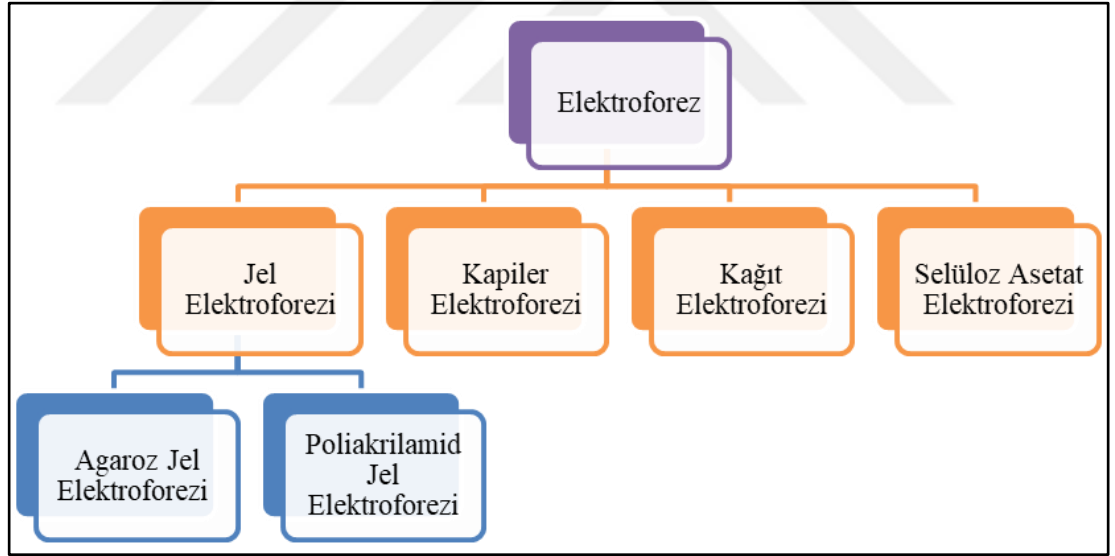


Şekil 7.4: Devam.

7.5. Elektroforez

Elektroforez, dış elektrik alanının etkisi altında bir çözültideki yüklü parçacıkların yönlendirilmesini içeren bir analiz yöntemidir. Kısaca yüklü moleküllerin elektriksel alandaki hareketlerinin izlendiği bir tekniktir. Moleküllerin elektrik yüklerinin kütlelerine oranıyla belirlenen hızlarda elektriksel alanda hareket etmesi prensibine dayanır. Elektroforez için gerekli güç, jelin iki ucunda bulunan elektrotlara uygulanan voltajdır. Ayrımı yapılacak moleküllerin hareketi, moleküllerin yüküne, boyutuna, biçimine ve kimyasal içeriğine uygulanan elektriksel alana bağlıdır [109].

1937 yılında ilk kez Arne Tiselius tarafından geliştirilmiş olan elektroforezden, özellikle tıpta ve biyokimyada, kandaki çeşitli protein ve lipidlerin ayrılması, tanınması ve miktarının ölçülmesinde yararlanır [110]. Ayrıca elektroforezden sanayide yaygın biçimde yararlanılmaktadır. Çeşitli elektroforez yöntemleri mevcuttur [111]. Bunlar şekil 7.1’de özetlenmiştir.



Şekil 7.5: Elektroforez çeşitleri.

7.5.1. Jel Elektroforezi

Jel elektroforezi, makromolekülleri büyüklük, elektrik yükü ve diğer fiziksel özellikler temelinde ayıran bir yöntemdir. Saflaştırılmış nükleik asit ve proteinlerin molekül ağırlığı, miktarı ve alt tiplerinin saptanmasında yaygın olarak kullanılan moleküler bir inceleme yöntemidir. DNA negatif yüklü bir moleküldür, agaroz ya da poliakrilamid matriksinden geçirilen bir elektrik akımıyla hareket ettirilir. Jel elektroforezi makromolekülleri (proteinler veya nükleik asitler) moleküler büyüklüklerine, elektrik yüklerine ve diğer fiziksel özelliklerine bağlı olarak birbirinden ayırır [112, 113].

Yöntemin avantajı; basit ve hızlı olmasının yanında diğer yöntemlerle yeterli düzeyde ayıramayan nükleik asit parçacıklarının ayrılmasını sağlamasıdır.

En çok kullanılan jel elektroforezi yöntemleri

- Agaroz jel elektroforezi (nükleik asitler için).
- Poliakrilamid jel elektroforezidir (proteinler için).

7.5.1.1. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz; Deniz yosunundan elde edilen bir polisakkarittir. Büyük por çapına sahiptir ve 20 kDa'dan daha büyük moleküllerin ayrılmasında kullanılır.

Agaroz jel elektroforezi DNA moleküllerinin ayrımı, tanımlanması ve saflaştırılması için kullanılan standart bir yöntemdir. Teknik; basit, hızlı ve diğer prosedürlerle ayrıştırılmayan DNA fragmanlarını çözebilme yeteneğindedir. Agaroz jel elektroforez yöntemiyle makromoleküllerin ayrılması iki değişkene bağlıdır; yük ve kütle. DNA bir tampon çözeltiye karıştırılıp jele uygulandığı zaman bu iki değişken birlikte rol oynar. Bir elektrottan gelen elektrik akımı, molekülleri iterken aynı anda diğer elektrot molekülleri kendine doğru çeker. Jeldeki sürtünme kaynaklı ayırım gücü molekülleri büyüklüklerine göre ayırarak 'moleküler elek' görevi yapar [114, 115].

7.6. Agaroz-jel Elektroforez Yöntemi ile DNA'ya Etkilerin İncelenmesi

7.6.1. Çözeltilerin Hazırlanması

7.6.1.1. Tris EDTA (TE) Tampon Çözeltisinin Hazırlanması

- 1M Tris istenen pH: 1mL
- 0,5M EDTA pH 8: 200 µL
- Deiyonize su: 98,8 mL
- Verilen miktarlar karıştırılarak 7.4–8 aralığında istenen pH'a ayarlandı ve kullanıldı.

7.6.1.2. 10X Tris Borik Asit- EDTA (TBE) Tampon Çözeltisinin Hazırlanması

- Tris: 54 g
- Borik asit: 27,5 g
- EDTA (disodium tuzu): 7,5 g
- Deiyonize su: 500 mL
- Tris, EDTA ve Borik asit 400 mL suda çözüldü. pH kontrol edildiğinde yaklaşık 8.3 görüldü (değilse HCl ile ayarlanır). 500 mL' ye tamamlandı.
- Kullanılırken 1X' e seyreltildi. (50 mL TBE 10X' den alınıp, 450 mL deiyonize su eklendi.)

7.6.1.3. Agaroz Jel Hazırlanışı

1 gram agaroz tartılır. 250 mL Erlen içerisinde 100 mL 1X TBE tamponunda mikrodalga fırında ısıtılarak çözülür. 10-20 saniye boyunca ısıtılıp kontrol edilerek tamamen çözünmesi sağlanır. El bileğini yakmayacak kadar soğduğunda RedSafe' den 5µL eklenir ve Agaroz Jel kabına tarak yerleştirilerek dökülür. Donması yaklaşık 15-20 dakika süre alır.

7.6.2. Bileşik 9'un Agaroz-jel Elektroforez Yöntemi ile DNA Etkileşiminin İncelenmesi

DNA ve sentezlenen bileşikler arasındaki etkileşimin agaroz jel elektroforez yöntemiyle belirlenebilmesi amacıyla, pUC18 plazmid DNA'sına (0.5 µg/µL, ThermoScientific #SD0051) bileşik 9 ayrı ayrı 5 µM, 10 µM derişimlerde muamele edilerek DNA etkileşimleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelendi.

Bileşik 9 agaroz jel elektroforez yöntemi ile DNA etkileşimlerini belirleme çalışmasında kullanılmak üzere THF çözeltisi içerisinde çözüldü. THF gibi çözücüler saf haldeyken hücrelerle muamele edildiğinde son derece toksik etkilidir, hücrelerin nekroz yoluyla ölmesine ve DNA'nın gelişigüzel kırılmasına sebep olmaktadır. Ancak %0,1 oranında seyreltildiğinde toksik etki gözlenmemektedir. Bu sebeple, söz konusu çözücüler içinde hazırlanmış test bileşenlerinin biyolojik aktiviteleri (mikrobiyal aktivite, hayvansal kültür hücrelerinde sitotoksik ve apoptotik aktivite, DNA'ya bağlanma aktivitesi vb.) araştırılırken çözücünün final derişimi mutlaka %0,1 oranında olmalıdır. THF içerisinde çözülen bileşik 9 farklı dozlarının hazırlanabilmesi ve çözücünün final derişiminin %0,1 oranında olabilmesi için TE (Tris-EDTA) tampon içinde seyreltilerek hazırlandı ve hiç bekletmeden plazmid DNA'sı (0.04µg/µL) ile toplam 50 µL içinde karıştırıldı.

7.6.2.1. Bileşik 9'un Plazmid DNA ile Etkileşiminin Belirlenmesi

Plazmid DNA'sı ile karıştırılan bileşik 9 37 °C' de 24 saat inkübe edildi. Sürenin sonunda örneklerin bir kısmı kesim enzimleri ile reaksiyon için ayrılırken diğer kısmı agaroz jele yüklemek için hazırlandı. 6X yükleme tamponu (%0,1 brom fenol mavisi, %0,1 ksilensiyanol) eklenen örnekler, %1 Agaroz jel de 1X TBE (Tris-Borik asit-EDTA) tamponuyla 2 saat süreyle 80 V'da yürütüldü. Elektroforez işleminin sonunda jel etidyum bromür yerine kullanılabilen RedSafe™ Nükleik asit boyama solüsyonu (İntron, RedSafe™ #21141) ile 30 dakika boyandı ve UV ışığında jel görüntülenerek fotoğraflandı.

7.6.2.2. Bileşik 9'un Plazmid DNA ile Etkileşimi Sonrası Kesim Enzimleri ile Reaksiyonun İncelenmesi

24 saatlik reaksiyon sonunda kesim enzimleri ile reaksiyon için ayrılan örneklerden 10' ar μL alınarak BamHI, EcoRI, HindIII kesim enzimleri ve tampon çözeltileri eklenerek yaklaşık 3 saat boyunca 37 °C' de kesim reaksiyonları gerçekleştirildi (Thermo Scientific™, #ER0051, #ER0271, #ER0501). Reaksiyon sonrası agaroz jele yüklemek için gerekli işlemler izlenerek, 6X yükleme tamponu (%0,1 brom fenol mavisi, %0,1 ksilensiyanol) eklenen örnekler %1 Agaroz jel de 1X TBE (Tris-Borikasit-EDTA) tamponuyla 2 saat süreyle 80 V'da yürütüldü. Elektroforez işleminin sonunda jel etidyum bromür yerine kullanılabilen RedSafe™ Nükleik asit boyama solüsyonu (İntron, RedSafe™ #21141) ile 30 dakika boyandı ve UV ışığında jel görüntülenerek fotoğraflandı.

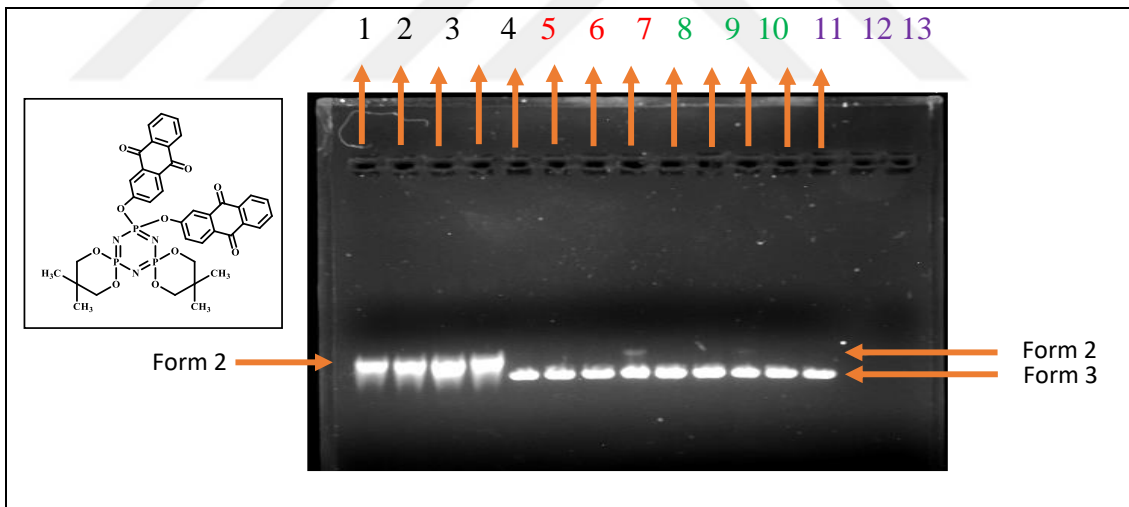
7.6.3. Agaroz-jel Elektroforez Yöntemi

Bileşik 9'un agaroz-jel elektroforez yönteminde pUC18 Plazmid DNA etkileşimi sırasıyla anlatılmıştır.

Jel görüntüsünde sırası ile 1. ve 2. kuyucukta işlem görmemiş ve %0.1 THF içerisinde yer alan plazmid DNA jel üzerinde benzer görüntü verdiği için %0.1 THF'in DNA'ya herhangi bir zarar vermediği belirlenmiştir. 3. ve 4. kuyucuklarda sırası ile 5 μM ve 10 μM bileşik ve plazmid DNA bulunmaktadır. Her iki derişimde de Form II DNA (açık halkasal) açık şekilde görülmektedir. Ancak hiçbir kuyucukta Form III DNA (doğrusal) görülmemiştir. Bu derişimlerde 24 saatlik reaksiyon sonunda bantlarda bir değişiklik görülmemiştir. 5., 6. ve 7. kuyucuklarda kontrol olarak %0,1 THF içinde sırasıyla EcoRI, HindIII ve BamHI enzimi ile muamele edilmiş pUC18 plazmid DNA'yı göstermektedir. 8-13. kuyucuklarda pUC18 DNA ile bileşiğin iki farklı konsantrasyonda 24 saat reaksiyonu sonrasında kesim enzimi ile muamele edilmesi sonrası incelenen örneklerdir 8., 9. ve 10. kuyucuklar bileşik 9'un 5 μM derişiminin sırasıyla EcoRI, HindIII ve BamHI enzimleri ile muamele edilmiş pUC18 plazmid DNA'yı göstermektedir. 11., 12. ve 13. kuyucuklar bileşik 9'un 10 μM derişiminin sırasıyla EcoRI, HindIII ve BamHI enzimleri ile muamele edilmiş pUC18 plazmid DNA'yı göstermektedir.

7.6.3.1. Bileşik 9'un Agaroz-jel Elektroferez Yöntemi ile DNA Etkileşiminin İncelenmesi

Yapılan çalışma sonucunda, bileşik 9 ile muamele edilmiş pUC18 DNA'nın 5 µM derişiminde EcoRI, HindIII ve BamHI kesim enzimleri ile reaksiyon sonucu plasmid DNA'nın HindIII ve BamHI kesim bölgelerinden kesilip, Form III yani doğrusal DNA haline dönüştüğü dolayısıyla bileşik 9'un 5 µM derişiminde DNA ile etkileşiminin bu kesim bölgelerinde olmadığı görülmektedir. Ancak EcoRI kesim enzimi ile reaksiyonunda 5 µM derişiminde bileşik 9'un pUC18 DNA üzerine gözle görülür bir etkisi mevcuttur. 10 µM derişimde plasmid DNA'nın HindIII ve BamHI kesim bölgelerinden kesilip, Form III yani doğrusal DNA haline dönüştüğü dolayısıyla bileşik 9'un 10 µM derişiminde DNA ile etkileşiminin bu kesim bölgelerinde olmadığı görülmektedir. Ancak EcoRI kesim enzimi ile reaksiyonunda 10 µM derişiminde bileşik 9'un pUC18 DNA üzerine gözle görülür bir etkisi mevcuttur. Bu bilgiler ışığında, bileşik 9'un plazmid DNA üzerinde her üç kesim bölgesinin yakınında bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılabilir.



Şekil 7.6: Bileşik 9'un agaroz jel elektroforezi.

Tablo 7.1: Agaroz Jel elektroforezinde kuyulara örnek yükleme sırası.

Kuyu No	Örnek
1	pUC18
2	pUC18 + THF
3	pUC18 + 5 μ M bileşik 9
4	pUC18 + 10 μ M bileşik 9
5	pUC18 + EcoRI
6	pUC18 + HındIII
7	pUC18 + BamHI
8	pUC18 + EcoRI + 5 μ M bileşik 9
9	pUC18 + HındIII + 5 μ M bileşik 9
10	pUC18 + BamHI + 5 μ M bileşik 9
11	pUC18 + EcoRI + 10 μ M bileşik 9
12	pUC18 + HındIII + 10 μ M bileşik 9
13	pUC18 + BamHI + 10 μ M bileşik 9

8. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Siklotrifosfazenler; halkasının sahip olduğu klor atomlarının nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu sonucunda bağlanan grupların karakteristik özelliğinde nihai ürün oluşumu için iyi bir temel teşkil etmektedir. Fosfazen kimyasında biyolojik aktif moleküller olduğu düşünülen siklofosfazen türevleri sentezlenerek anti-tümör, antimikrobiyal gibi değişik biyolojik aktivite özellikleri incelenmiş ve olumlu sonuçlar alınmıştır [59, 116]. Kinon grubunun en büyük üyesi olan antrakinonlar ve türevlerinin kanser hücre hatlarına karşı anti-karsinojenik etkilerinin incelenmesi ilgili yoğun in vitro çalışmalar yapılmıştır [117-120]. Tıbbi uygulamalarda potansiyeli yüksek olan yeni biyolojik aktif molekülleri geliştirmek için ilgilenilen önemli bileşikler arasındadır.

Hekzaklorosiklotrifosfazen ve türevleri ile antrakinon türevlerinin reaksiyonu sonucunda oluşan yeni nesil antrakinon sübstitüe hekzaklorosiklotrifosfazen bileşikleri sentezlenip DNA'ya etkileri ve antikansorejen etkileri incelenmiştir.

Tez çalışması kapsamında; hekzaklorosiklotrifosfazen ile difonksiyonlu 2,2-dimetil-1,3-propandiol'ün reaksiyonu sonucu monospiro (1), monoansa (2), dispiro (3) ve monoansa-monospiro (4) bileşikler sentezlendi. Monospiro (1) ile sırasıyla 2-hidroksiantrakinon, 2-aminoantrakinon ve 2-hidroksimetilantrakinon'un reaksiyonlarından bileşik 5, 6 ve 7 elde edildi. Monoansa bileşiği (2) ile 2-hidroksiantrakinon'un reaksiyonundan bileşik 8 elde edildi. Dispiro bileşiği (3) ile 2-hidroksiantrakinon'un reaksiyonundan bileşik 9 elde edildi. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2-aminoantrakinon bileşiğinin reaksiyonundan sırasıyla bileşik 10 ve bileşik 11 elde edildi. Sentezi gerçekleştirilen bileşikler (1-11) uygun şartlarda saflaştırılıp, karakterterizasyonu; kütle (MALDİ-TOF) spektrometrisi, ^1H ve ^{31}P NMR, fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopi yöntemleri ile yapıldı.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin (1-11) kütle (MALDİ-TOF) spektrumları incelendiğinde her bir bileşiğin kütle önerilen yapıları ile uyum göstermektedir.

Tablo 8.1: Kütle spektrum sonuçları, Molekül ağırlığı.

Bileşik No	Kütle Spektrum Sonuçları		Molekül ağırlığı
1	379.799	[M+H] ⁺	378.880
2	378.370	[M] ⁺	378.880
3	410.280	[M] ⁺	410.110
4	410.395	[M] ⁺	410.110
5	1130.395	[M] ⁺	1129.900
6	752.680	[M] ⁺	752.420
7	580.920	[M] ⁺	580.660
8	754.450	[M] ⁺	754.390
9	785.485	[M-2CH ₃ +2H] ⁺	817.710
10	1097.052	[M+3H] ⁺	1094.730
11	1366.990	[M+2Na+K] ⁺	1281.510

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin (1-11) ³¹P proton ile eşleşmemiş ve ³¹P proton ile eşleşmiş NMR spektrumları incelendiğinde, önerilen bileşik yapıları ile uyum gösterdikleri görüldü.

Tablo 8.2: Sentezlenen bileşiklerin (1-11) ³¹P NMR spektrum sonuçları.

Bileşik No	Spin Sistemi	δ (ppm)					² J _(PNP) [Hz]
		PO (spiro)	PO (ansa)	PCl ₂	PR ₂	PRCl	
1	A ₂ X	2.10	-	23.40	-	-	68.76
2	A ₂ B	-	25.45	26.76	-	-	57.85
3	AX ₂	8.04	-	25.57	-	-	68.80
4	A ₂ X	9.15	31.17	-	-	-	71.38
5	AB ₂	11.99	-	-	8.27	-	64.63
6	AMX	-4.37	-	22.10	7.10	-	63.50
7	AMX	4.96	-	25.60	-	16.9	72.95
8	A ₂ X	-	31.05	-	4.79	-	74.84
9	A ₂ B	13.09	-	-	8.71	-	64.63
10	AX ₂	-	-	21.05	10.60	-	77.51
11	AB ₂	-	-	-	13.04	8.75	83.05

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin (1-11) ¹H NMR spektrumları incelendiğinde, önerilen bileşiklerin sahip olduğu alifatik ve aromatik gruplarda bulunan protonların rezonansa geldiği kimyasal kayma değerlerinin ve eşleşmelerinin yapılar ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin (1-11) FT-IR spektrumları incelendiğinde önerilen önerilen bileşik yapıları ile uyum göstermektedir.

Hekzaklorosiklotrifosfazen, 2,2-dimetil-1,3-propandiol, 2-hidroksiantrakinon ve sentezi gerçekleştiren bileşiklerden 1-5,8,9 MCF-7 (insan meme adenokarsinoma), MCF-12A (insan normal meme epiteli), DLD-1 (Dukes' Type C, kolorektal adenokarsinoma) ve CCD-18Co (insan normal kolon epiteli) hücre

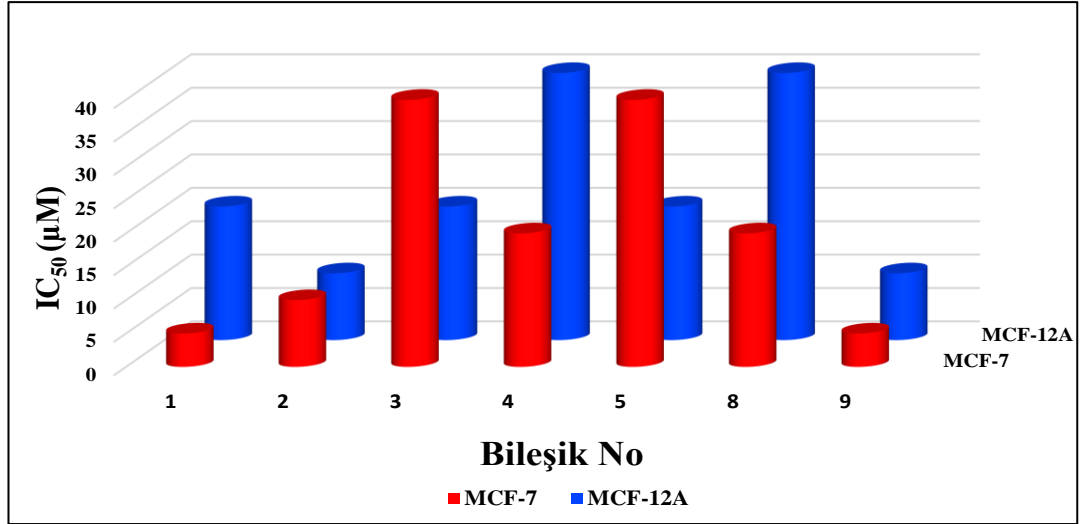
hatlarına karşı sitotoksik etkisi MTT (hücre canlılık) methodu ile araştırılıp yorumlandı.

6, 7, 10 ve 11 Bileşiklerinin biyolojik aktivite çalışmaları devam etmektedir.

Tablo 8.3: Bileşiklerin (Hekzaklorosiklotrifosfazen, 2,2-dimetil-1,3-propandiol, 2-hidroksiantrakinon, bileşik 1-5, 8, 9) Hücre hatlarına karşı IC₅₀ değerleri.

Bileşik No/İsmi	Hücre hatları IC ₅₀ değerleri (µM)			
	MCF-7	MCF-12A	DLD-1	CCD-18Co
Hekzaklorosiklotrifosfazen	20	20	40	20
2,2-Dimetil-1,3-propandiol	40	5	40	20
2-Hidroksiantrakinon	10	5	40	2.5
1	5	20	40	40
2	10	10	2.5	20
3	40	20	40	20
4	20	40	40	40
5	40	20	40	40
8	20	40	40	10
9	5	10	40	40

1, 2, 3 ve 4 numaralı bileşikler literatürde daha önce sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmış olmasına rağmen bileşiklerin MCF-7, MCF-12A, DLD-1 ve CCD-18Co hücre hattına karşı etkileri ilk kez incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bileşiklerin MCF-7 ve MCF-12A hücre hatlarında karşılaştırmaları;



Şekil 8.1: Bileşik 1-5, 8, 9'un MCF-7 ve MCF-12A hücre hattındaki IC₅₀ değerlerine ait grafik.

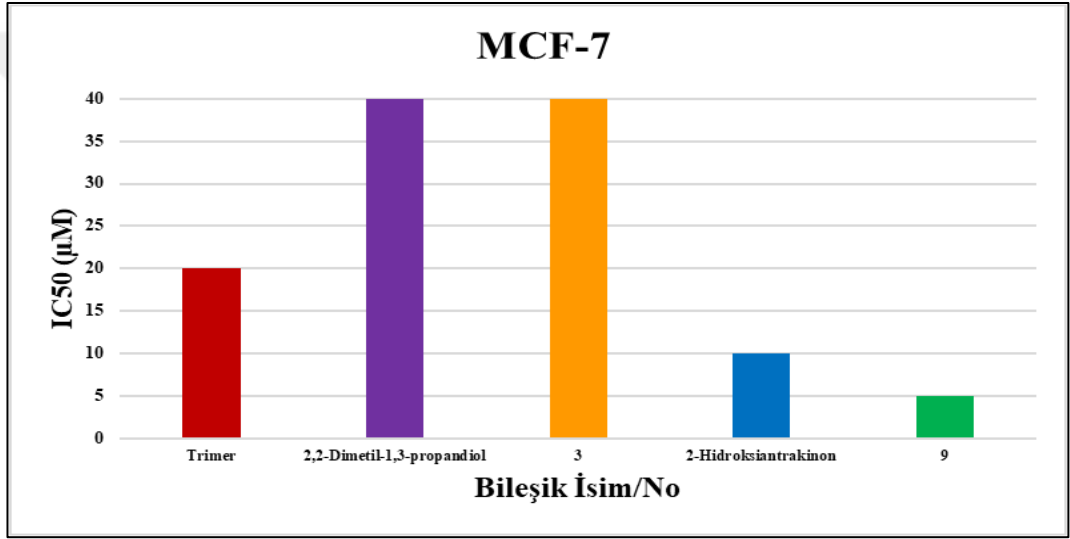
- ✓ 1 numaralı bileşiğin MCF-7 hücresine sitotoksik etkinin minimum konsantrasyonu 5 µM iken, MCF-12A hücresi için 20 µM'lık konsantrasyonda etkili olduğu görülmüştür.
- ✓ 2 numaralı bileşik için MCF-7 ve MCF-12A hücre hattına sitotoksik etkinin minimum konsantrasyonu 10 µM olduğu görülmüştür.
- ✓ 3 numaralı bileşik için MCF-7 hücre hattına sitotoksik etkisinin minimum konsantrasyonu 40 µM iken, MCF-12A hücresi için 20 µM'lık konsantrasyonda etkili olduğu görülmüştür.
- ✓ 4 numaralı bileşik için MCF-7 hücre hattına sitotoksik etkisinin minimum konsantrasyonu 20 µM iken, MCF-12A hücresi için 40 µM'lık konsantrasyonda etkili olduğu görülmüştür.

5, 8 ve 9 numaralı bileşikler bu çalışmada ilk kez sentezlenmiş, yapıları aydınlatılarak MCF-7 ve MCF-12A hücre hattına karşı sitotoksik etkileri incelenmiştir.

- ✓ 5 nolu bileşik için MCF-7 hücre hattına sitotoksik etkisinin minimum konsantrasyonu 40 µM iken, MCF-12A hücresi için 20 µM'lık konsantrasyonda etkili olduğu görülmüştür.
- ✓ 8 numaralı bileşik, MCF-7 hücresinde daha düşük bir doz olan 20 µM'lık konsantrasyonda etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca MCF-12A hücre hattında

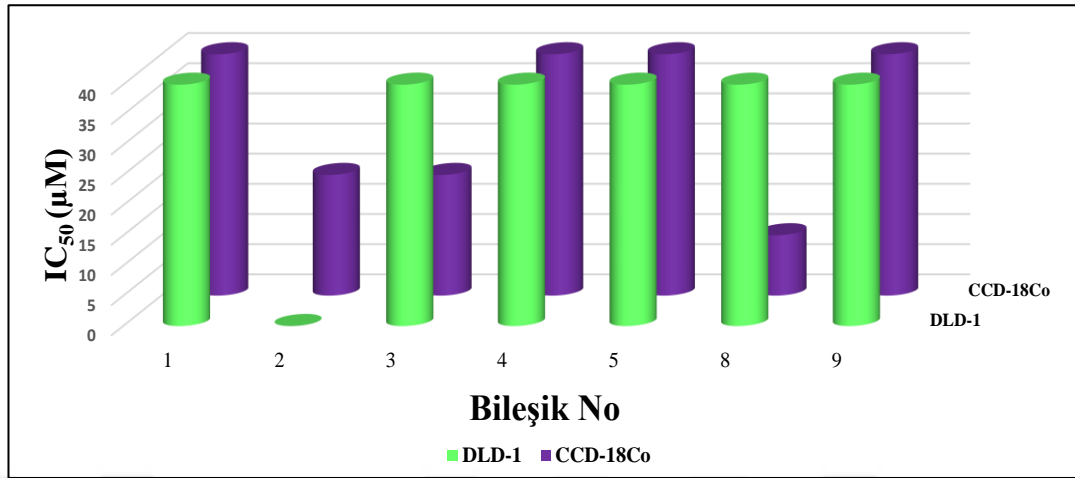
bileşik 8'in daha yüksek konsantrasyon olan 40 μM 'lık konsantrasyonda etkili olduğu görülmüştür.

- ✓ 9 nolu bileşik için MCF-7 hücre hattına 5 μM 'lık konsantrasyonda sitotoksik etki gösterirken, MCF-12A hücre hattına 10 μM 'lık konsantrasyonda sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca MCF-7 hücre hattına trimer 20 μM , 2,2-dimetil-1,3-propandiol 40 μM , 3 numaralı bileşik 40 μM ve 2-hidroksiantrakinon 10 μM 'lık konsantrasyonlarda etki ederken, bu bileşiklerden elde edilen 9 numaralı bileşiğin ise 5 μM 'lık konsantrasyonda etki ettiği görülmüştür.



Şekil 8.2: Trimer, 2,2-Dimetil-1,3-propandiol, bileşik 3, 2-Hidroksiantrakinon ve bileşik 9'un MCF-7 hücre hattındaki IC₅₀ değerlerine ait grafik.

Elde edilen sonuçlara göre bileşiklerin DLD-1 ve CCD-18Co hücre hatlarında karşılaştırmaları;



Şekil 8.3: Bileşik 1-5, 8, 9'un DLD-1 ve CCD18-Co hücre hattındaki IC₅₀ değerlerine ait grafik.

- ✓ 1 numaralı bileşiğin DLD-1 ve CCD-18Co hücrelerine sitotoksik etkinin minimum konsantrasyonu 40 µM olduğu görülmüştür.
- ✓ 2 numaralı bileşik için DLD-1 düşük bir doz olan 2,5 µM'lık konsantrasyonda etkili olduğu görülürken, CCD-18Co hücre hattına sitotoksik etkinin minimum konsantrasyonu 20 µM olduğu görülmüştür.
- ✓ 3 numaralı bileşik için DLD-1 hücre hattına sitotoksik etkisinin minimum konsantrasyonu 40 µM iken, CCD-18Co hücresi için 20 µM olduğu görülmüştür.
- ✓ 4 numaralı bileşik için DLD-1 ve CCD-18Co hücre hatlarına sitotoksik etkisinin minimum konsantrasyonunun 40 µM olduğu görülmüştür.

5, 8 ve 9 numaralı bileşikler bu çalışmada ilk kez sentezlenmiş, yapıları aydınlatılarak DLD-1 ve CCD-18Co hücre hattına karşı sitotoksik etkileri incelenmiştir.

- ✓ 5 numaralı bileşik için DLD-1 ve CCD-18Co hücre hatlarına sitotoksik etkisinin minimum konsantrasyonunun 40 µM olduğu görülmüştür.
- ✓ 8 numaralı bileşik, DLD-1 hücre hattına sitotoksik etkisinin minimum konsantrasyonu 40 µM iken, CCD-18Co hücresi için 10 µM olduğu görülmüştür.

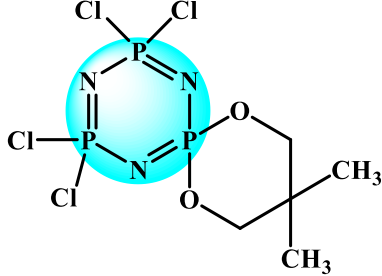
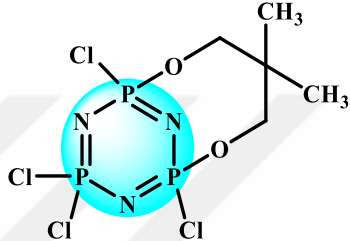
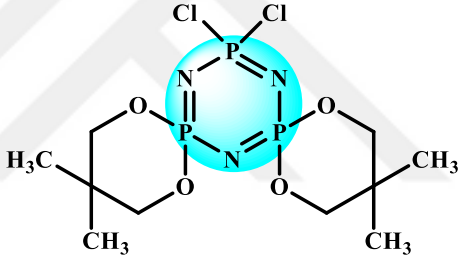
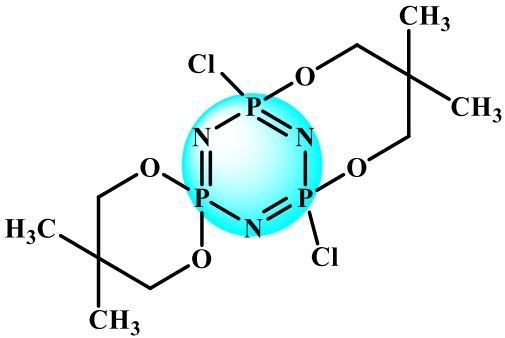
- ✓ 9 numaralı bileşik için DLD-1 ve CCD-18Co hücre hatlarına sitotoksik etkisinin minimum konsantrasyonunun 40 µM olduğu görülmüştür.

Kanser hücre hatları için IC₅₀ değeri en düşükken, kanserli olmayan hücre hatları için IC₅₀ değerlerinin önemli ölçüde yüksek olduğu MTT analizi sonuçlarında bulunmuştur. Ayrıca, test edilen bileşikler arasında bazı siklotrifosfazen türevleri, kolon kanseri hücrelerinde (DLD-1) (özellikle bileşik 2) meme kanseri hücrelerine (MCF-7) (özellikle bileşikler 1 ve 9) göre en yüksek seçicilik indekslerini sergilemiştir. Amerikan Ulusal Merkez Enstitüsüne göre, kanser hücrelerine karşı IC₅₀ değerleri 30 µM'ın altında olan antrakinin türevleri, ilaç geliştirme için cesaret verici antikanser ajanları oluşturmaktadır [121]. Bu sonuçlar, özellikle kolon kanseri için bileşik 2'nin, meme kanseri için bileşik 1 ve 9'un antikanser ilaçların geliştirilmesi için umut verici olabileceğini göstermiştir. Antrakinin türevi siklotrifosfazenler, çeşitli kanser hücre dizilerine karşı sitotoksik aktivite ile onaylandığı üzere kayda değer antikanser potansiyeli sergilemiştir.

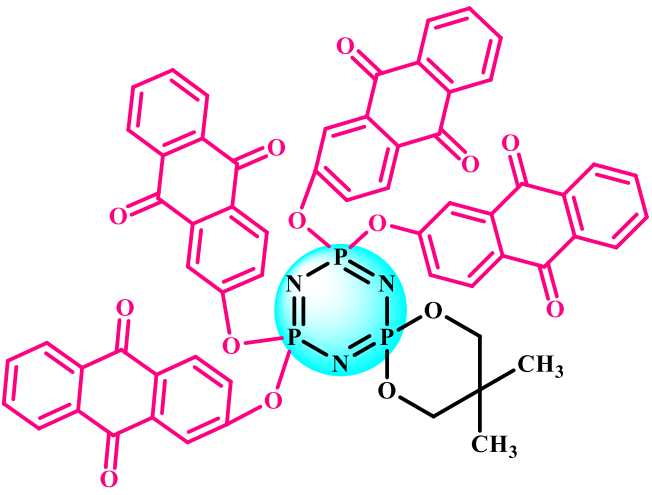
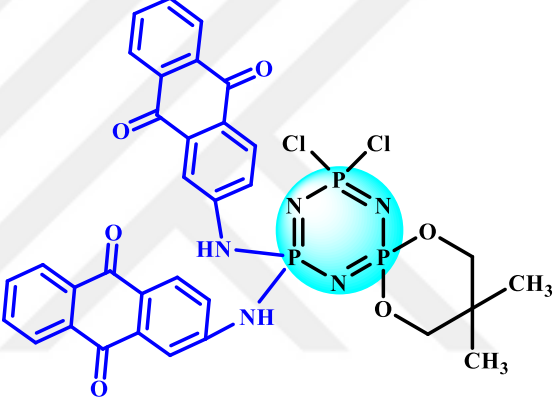
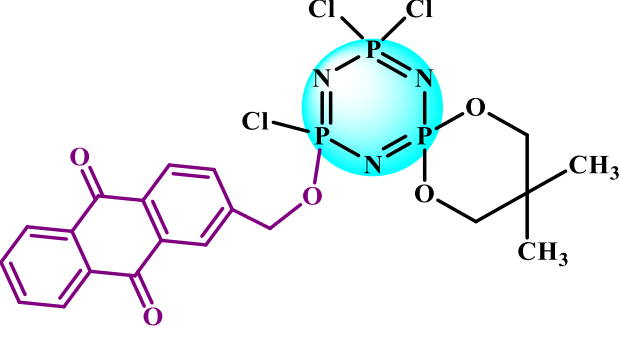
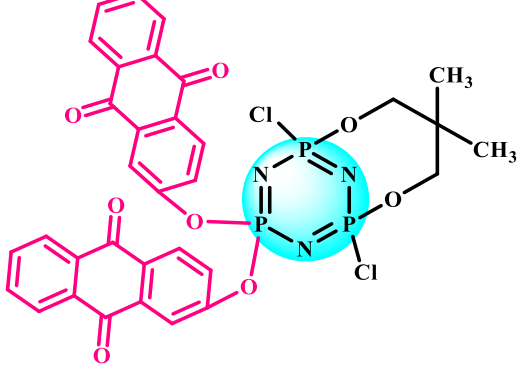
Özetle; Sentezlenen tüm bileşikler için hücre hatları üzerinde yapılan araştırmalar göz önüne alındığında, bileşiklerin hepsinin sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca bileşiklerin (1, 2, 8, 9) düşük konsantrasyonlarda bile çok etkili olduğu bulunmuştur. İn vitro çalışmalarının bulguları, özellikle meme kanseri için bileşik 1 ve 9 sitotoksik etki gösterirken, normal hücre hatlarına karşı sitotoksikite göstermemiştir. Bileşik 2 düşük konsantrasyonlarda (2.5 µM) kolon kanseri hücre hattında yüksek seçici sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

MTT sonucu temel alınarak yapılan agaroz jel elektroforezi ile bileşik 9'un DNA ile etkileşimi incelenmiş olup 5 ve 10 µM konsantrasyonda bileşiğin EcoRI kesim bölgeleri yakınında bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

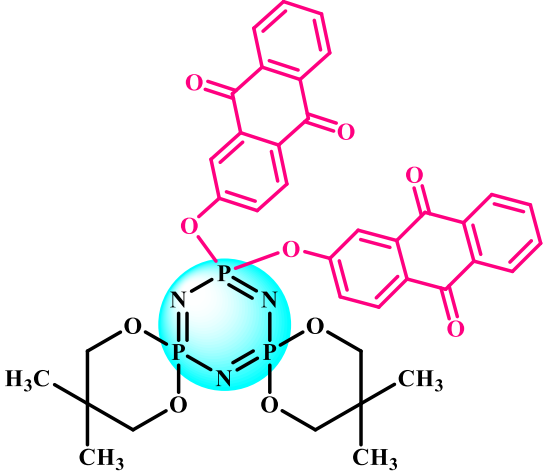
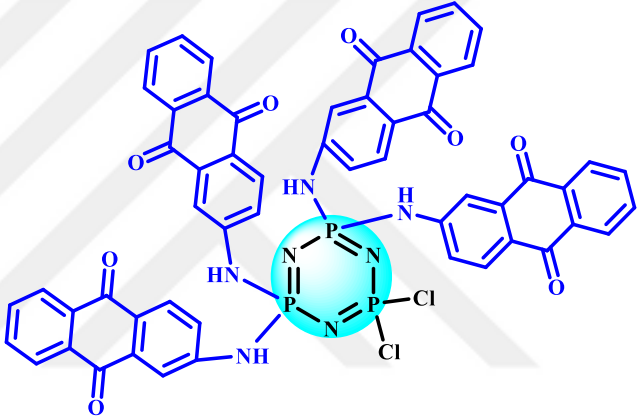
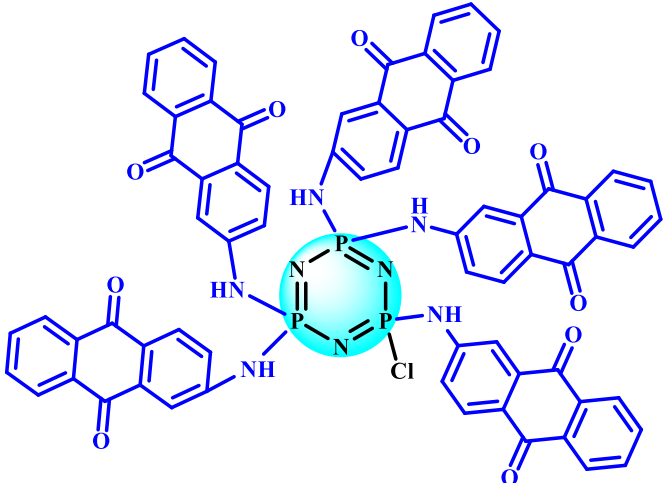
Tablo 8.4: Tez kapsamında sentezlenen bileşikler.

BİLEŞİK NUMARASI	BİLEŞİK ŞEKLİ
1	
2	
3	
4	

Tablo 8.4: Devam.

<p>5</p>	
<p>6</p>	
<p>7</p>	
<p>8</p>	

Tablo 8.4: Devam.

<p>9</p>	
<p>10</p>	
<p>11</p>	

KAYNAKLAR

- [1] Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 5(3), 154-165.
- [2] Yıldırım, T., Bilgin, K., Çiftçi, G. Yenilmez, Eçik, E. T., Şenkuytu, E., Uludağ, Y., Kılıç, A., (2012), “Synthesis, cytotoxicity and apoptosis of cyclotriphosphazene compounds as anti-cancer agents”, European Journal of Medicinal Chemistry, 52, 213-220.
- [3] Rao, M. R., Bolligarla, R., Butcher, R. J., Ravikanth, M., (2010), “Hexa boron-dipyrromethene cyclotriphosphazenes: synthesis, crystal structure, and photophysical properties”, Inorganic Chemistry, 49(22), 10606-10616.
- [4] Çiftçi, G. Yenilmez, Şenkuytu, E., Durmuş, M., Yuksel, F., Kılıç, A., (2013), “Fluorenylidene bridged cyclotriphosphazenes: ‘turn-off’ fluorescence probe for Cu 2⁺ and Fe 3⁺ ions”, Dalton Transactions, 42(41), 14916-14926.
- [5] Eçik, E. T., Şenkuytu, E., Cebesoy, Z., Çiftçi, G. Yenilmez, (2016), “BODIPY decorated dendrimeric cyclotriphosphazene photosensitizers: synthesis and efficient singlet oxygen generators”, RSC Advances, 6(53), 47600-47606.
- [6] Huang, W. K., Yeh, J. T., Chen, K. J., Chen, K. N., (2001). “Flame retardation improvement of aqueous-based polyurethane with aziridinyl phosphazene curing system. Journal of applied polymer science”, 79(4), 662-673.
- [7] Duval, J., Pecher, V., Poujol, M., Lesellier, E. (2016), “Research advances for the extraction, analysis and uses of anthraquinones: A review”, Industrial Crops and Products, 94, 812-833.
- [8] Hacıosmanoğlu E., Ozkok F., Onsu A.K., Bektas M., Varol B., Pehlivan S., (2018), “Synthesis of New Anthraquinone Derivatives and Anticancer Effects on Breast Cancer Cell Lines”, The Eurasia Proceedings of Science, Technology, Engineering & Mathematics, 4, 271-276.
- [9] Liebig J., (1834), “Nachtrag der Redaction”, Liebigs Annalen, 11, 139-150.
- [10] Allcock, H. R. (1972), “Recent advances in phosphazene (phosponitrilic) chemistry”, Chemical Reviews, 72(4), 315-356.
- [11] Gladstone J. H., Holmes J. D., (1864), “XXVII. On chlorophosphuret of nitrogen, and its products of decomposition”, Journal of the Chemical Society, 17, 225-237.
- [12] Wichelhaus H., (1870), “Ueber Chlorphosphorstickstoff”, Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 3, 163-166.
- [13] Stokes, H. N., (1985), “On the chloronitrides of phosphorus”, Amer. Chem., 17, 275-291.

- [14] Schenck R., Römer G., (1924), "Über die Phosphornitrilchloride und ihre Umsetzungen (I.)", *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, 57, 1343-1355.
- [15] Allcock H. R., and Kugel R. L., (1965) "Synthesis of polymeric alkoxy and aryloxy phosphonitriles", *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 4216-4217.
- [16] Gleria M., De Jaeger R., (2001), "Aspects Of Phosphazene Research", *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers*, 11, 1-45.
- [17] Allen, C. W., (1994), "Linear, cyclic and polymeric phosphazenes", *Coordination Chemistry Reviews*, 130(1-2), 137-173.
- [18] Emsley, J., Moore, J., Udy, P. B., (1971), "A new and simple method of preparing dichlorophosphinylphosphorimidic trichloride", *Journal of the Chemical Society A: Inorganic, Physical, Theoretical*, 2863-2864.
- [19] Cil, E., Arslan, M., Aslan, F., Öztürk, A. I., (2003), "The synthesis and characterization of aryloxy-linear phosphazenes", *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 178(5), 1037-1046.
- [20] Naik, K. P. K., Sreeramulu, V., Ramya, E., Muralidharan, K., Rao, D. N., (2016), "Design and synthesis of hyperstructured molecules based on cyclophosphazene core for multiphoton absorption", *Materials Chemistry and Physics*, 180, 38-45.
- [21] W. A.C., (1991), "Regio and Stereochemical Control in Substitution Reactions of Cyclophosphazenes", *Chem. Rev.*, 119-135.
- [22] Dewar M.J.S., L.E.A.C.v.W., M.A., (1960), "The Structure of Phosphonitrilic Halides", *J. Am. Chem. Soc.*, 2423-2429.
- [23] De Jaeger, R., & Gleria, M., (1998), "Poly (organophosphazene) s and related compounds: synthesis, properties and applications", *Progress in Polymer Science*, 23(2), 179-276.
- [24] Mark J. E., Allcock H. R., West R., (1998), "Inorganic Polymers", 2st Edition, Prentice-Hall, Engle-wood Cliffs.
- [25] Meyer K.H., Lotmar W., Pankow G., (1936), "Sur le chlorure de polyphosphornitrile, caoutchouc inorganique", *Helvetica Chimica Acta*, 19, 930-948.
- [26] Brockway L., Bright W.M., (1943), "The Structure of the Trimer of Phosphonitrile Chloride, $P_3N_3Cl_6$ ", *Journal of the American Chemical Society*, 65, 1551-1554.
- [27] Breza M., (2000), "The Electronic Structure Of Planar Phosphazene Rings", *Polyhedron*, 19, 389-397.

- [28] Allcock H. R., Arcus R. A., Stroh E. G., (1979), "X-ray Diffraction Analysis of The Structure of Poly(dichlorophosphazene)", *Macromolecules*, 13, 919-928.
- [29] Shaw, R. A., Fitzsimmons, B. W., Smith, B. C., (1962), "The Phosphazenes (Phosphonitrilic Compounds)". *Chemical Reviews*, 62(3), 247-281.
- [30] S. Beşli, C. Mutlu Balcı, D. Palabıyık, (2020), "The Reactions of Cyclophosphazenes with Diols" *Diols: Synthesis and Reactions*, Estelle Ballard (Editor), NovaScience, ISBN:978-1-53617-226-3.
- [31] Allen C.W., (1991), "Regio And Stereochemical Control İn Substitution Reactions of Cyclophosphazenes", *Chemical Reviews*, 91, 119-135.
- [32] Fitzsimmons B. W., Shaw R. A., (1964), "Phosphorus-Nitrogen Compounds. Part VII.1 Allcoxyand Arilyloxy- cyclophosphaxenes.", *Journal of the Chemical Society*, 1, 1735-1741.
- [33] Shaw R. A., (1976), "The Reactions of Halogenocyclophosphazenes with Nitrogenous Bases", Birkbeck College, University Of London.
- [34] Uslu A., Coles S. J., Davies D. B., Esen M., Hursthouse M. B., Kılıç A., (2010), "Effect of gem 2,20-disubstitution and base in the formation of spiro- and ansa-1,3-propandioxy derivatives of cyclotriphosphazenes", *Inorganica Chimica Acta*, 363, 3506–3515.
- [35] Chelike D.K., Alagumalai A., Acharya J., Kumar P., Sarkar K., Thangavelu S.A.G., Chandrasekhar V., (2020), "Functionalized iron oxide nanoparticles conjugate of multi-anchored Schiff's base inorganic heterocyclic pendant groups: Cytotoxicity studies", *Applied Surface Science*, 501, 143963.
- [36] Yıldırım T., Bilgin K., Çiftçi G. Yenilmez, Eçik E.T., Şenkuytu E., Uludağ Y., Tomak L., Kılıç A., (2012), "Synthesis, cytotoxicity and apoptosis of cyclotriphosphazene compounds as anti-cancer agents", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 52, 213-220.
- [37] Akbaş H., Okumuş A., Kılıç Z., Hökelek T., Süzen Y., Koç Y., Açık L., Çelik Z. B., (2013), "Phosphorus–nitrogen compounds part 27. Syntheses, structural characterizations, antimicrobial and cytotoxic activities, and DNA interactions of new phosphazenes bearing secondary amino and pendant (4- fluorobenzyl) spiro groups", *Eur. J. Med. Chem.*, 70: 294- 307.
- [38] Çiftçi, G. Yenilmez, Bayık, N., Eçik, E. T., Şenkuytu, E., Akşahin, M., Yıldırım, T., (2020), "Synthesis of the first 2-hydroxyanthraquinone substituted cyclotriphosphazenes and their cytotoxic properties", *New Journal of Chemistry*, 44(39), 16733-16740.
- [39] Suhaeri, M., Kim, Y. M., Yunarti, R. T., Song, S. C., (2020), "Thermoresponsive and Suspension Forming Cyclotriphosphazene Conjugate for Delivery Vehicle of Antitumor Drug Camptothecin", *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 102049.

- [40] Song, S. C., Lee, S. B., Lee, B. H., Ha, H. W., Lee, K. T., Sohn, Y. S., (2003), "Synthesis and antitumor activity of novel thermosensitive platinum (II)-cyclotriphosphazene conjugates", *Journal of Controlled Release*, 90(3), 303-311.
- [41] Yıldırım T., Şenkuytu E., Ergene E., Bilgin K., Uludağ Y., Çiftçi G. Yenilmez, (2018), "Biological Activity of New Cyclophosphazene Derivatives Including Fluorenylidene-Bridged Cyclophosphazenes", *Chemistry Select*, 3, 9933-9939.
- [42] İbişoğlu, H., Erdemir, E., Atilla, D., Ün, Ş. Ş., Topçu, S., Şeker, M. G., (2020), "Synthesis, characterization and antimicrobial properties of cyclotriphosphazenes bearing benzimidazolyl rings", *Inorganica Chimica Acta*, 509, 119679.
- [43] Elmas G., Okumuş A., Kılıç Z., Gönder L.Y., Açık L., Hökelek T., (2016), "The syntheses and structural characterizations, antimicrobial activity and in vitro DNA binding of 4-fluorobenzylspiro (N/O) cyclotriphosphazenes and their phosphazanium salts", *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 3, 25-46.
- [44] Tümer Y., Koç L.Y., Asmafiliz N., Kılıç Z., Hökelek T., Soltanzade H., Açık L., Yola M.L., Solak A.O., (2015), "Phosphorus-nitrogen compounds: part 30. syntheses and structural investigations, antimicrobial and cytotoxic activities and DNA interactions of vanillinato-substituted NN or NO spirocyclic monoferrocenyl cyclotriphosphazenes", *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 20, 165-178.
- [45] Koran K., Ozkaya A., Ozen F., Cil E., Arslan M., (2013), "Synthesis, characterization, and biological evaluation of new oxime-phosphazenes", *Research on Chemical Intermediates*, 39, 1109-1124.
- [46] Jiménez J., Laguna A., Gascón E., Sanz J.A., Serrano J.L., Barberá J., Oriol L., (2012), "New liquid crystalline materials based on two generations of dendronised cyclophosphazenes", *Chemistry-A European Journal*, 18, 16801-16814.
- [47] Davarcı D., Beşli S., Demirbas E., (2013), "Synthesis of a series of triplebridged cyclotriphosphazene hexa-alkoxy derivatives and investigation of their structural and mesomorphic properties", *Liquid Crystals*, 40 (5), 624- 631.
- [48] Jamain Z., Khairuddean M., Guan-Seng T., (2020), "Liquid-Crystal and Fire Retardant Properties of New Hexasubstituted Cyclotriphosphazene Compounds with Two Schiff Base Linking Units", *Molecules*, 25, 2122- 2168.
- [49] Li, Y., Wang, B., Sui, X., Xie, R., Xu, H., Zhang, L., Mao, Z., (2018), "Durable flame retardant and antibacterial finishing on cotton fabrics with cyclotriphosphazene/polydopamine/silver nanoparticles hybrid coatings", *Applied Surface Science*, 435, 1337-1343.

- [50] Cheng J., Wang J., Yang S., Zhang Q., Hu Y., Ding G., Huo S., (2020), “Aminobenzothiazole-substituted cyclotriphosphazene derivative as reactive flame retardant for epoxy resin”, *Reactive and Functional Polymers*, 146.
- [51] Wang D., Feng X., Zhang L., Li M., Liu M., Tian A., Fu S., (2019), “Cyclotriphosphazene-bridged periodic mesoporous organosilica-integrated cellulose nanofiber anisotropic foam with highly flame-retardant and thermally insulating properties”, *Chemical Engineering Journal*, 375, 121933-121943.
- [52] Soh M.S., Santamaria S.A.G., Williams E.L., Pérez-Morales M., Bolink H.J., Sellinger A., (2011), “Solution processable high band gap hosts based on carbazole functionalized cyclic phosphazene cores for application in organic light-emitting diodes”, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 49, 531- 539.
- [53] Şenkuytu E., (2018), “A high selective “Turn-Off” aminopyrene based cyclotriphosphazene fluorescent chemosensors for Fe³⁺/Cu²⁺ ions”, *Inorganica Chimica Acta*, 479, 58-65.
- [54] Tümay, S. O., Sarıkaya, S. Y., & Yeşilot, S., (2018), Novel iron (III) selective fluorescent probe based on synergistic effect of pyrene-triazole units on a cyclotriphosphazene scaffold and its utility in real samples, *Journal of Luminescence*, 196, 126-135.
- [55] Çetindere, S., Tümay, S. O., Kılıç, A., Durmuş, M., & Yeşilot, S., (2016), “Hexa-BODIPY Linked-Triazole Based on a Cyclotriphosphazene Core as a Highly Selective and Sensitive Fluorescent Sensor for Fe²⁺ Ions”, *Journal of fluorescence*, 26(4), 1173-1181.
- [56] Brandt, K., Kruszynski, R., Bartczak, T.J., Czomperlik, I.P., 2001, “AIDS-related lymphoma screen results and molecular structure determination of a new crown ether bearing aziridinylcyclophosphazene, potentially capable of ion-regulated DNA cleavage action”, *Inorg. Chim Acta*, 322, 138-144.
- [57] Song, S.C., Lee, S.B., Lee, B.H., Ha, H.W., Lee, K.T., Sohn, Y.S., 2003, “Synthesis and antitumor activity of novel thermosensitive platinum (II)-cyclotriphosphazene conjugates”, *Journal of Controlled Release*, 90, 303-311
- [58] Isıklan, M., Asmafiliz, N., Özalp, E.E., Ilter, E.E., Kılıc, Z., Cosut, B., Yesilot, S., Kılıc, A., Öztürk, A., Hökelek, T., Bilir, Y.K., Acık, L., Akyuz, E., 2010, “Phosphorus-Nitrogen Compounds. 21. Syntheses, Structural Investigations, Biological Activities, and DNA Interactions of New N/O Spirocyclic Phosphazene Derivatives. The NMR Behaviors of Chiral Phosphazenes with Stereogenic Centers upon the Addition of Chiral Solvating Agents”, *Inorg.Chem.*, 49, 15, 7057-7071.
- [59] Çiftçi, G. Yenilmez, Eçik, E. T., Yıldırım, T., Bilgin, K., Şenkuytu, E., Yuksel, F., Kılıç, A., (2013), “Synthesis and characterization of new cyclotriphosphazene compounds”, *Tetrahedron*, 69(5), 1454-1461.

- [60] Diaz-Munoz, G., Miranda, I. L., Sartori, S. K., de Rezende, D. C., Diaz, M. A., (2018), "Anthraquinones: An Overview. In Studies in natural products chemistry", Elsevier, 58, pp. 313-338.
- [61] Cofrancesco A.J., (2000), "Anthraquinone", Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons Inc., New York, pp 1-13.
- [62] Deveoğlu, O., & Karadağ, R., (2011), "Genel bir bakış: doğal boyarmaddeler. Marmara Fen Bilimleri Dergisi", 23(1), 21-32.
- [63] Chan K., Lin T., (2009), "Treatments used in complementary and alternative medicine", Side Effects of Drugs Annual, Elsevier, 745-756.
- [64] Sharma, R., Tiku, A. B., Giri, A., (2017), "Pharmacological properties of emodin—anthraquinone derivatives", J Nat Prod Resour, 3(1), 97-101.
- [65] Phillips M., (1929), "The Chemistry of Anthraquinone", Chemical Reviews, 6, 157-174.
- [66] Fouillaud, M., Caro, Y., Venkatachalam, M., Grondin, I., & Dufossé, L. (2018), Anthraquinones.
- [67] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, (2013), "ANTHRAQUINONE. In Some Chemicals Present in Industrial and Consumer Products, Food and Drinking-Water", International Agency for Research on Cancer.
- [68] Vogel, A., (2000), "Anthraquinone", Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.
- [69] Klipstein, K. H., (1926), "The Development of Synthetic Anthraquinone. Industrial & Engineering Chemistry", 18(12), 1327-1329.
- [70] Diels O., Alder K., (1928), "Synthesen in der hydroaromatischen Reihe", Justus Liebigs Annalen der Chemie, 460, 98-122.
- [71] Pillay A., (2008), "Synthesis and Biological Activity of Aloin Derivatives", Master's Thesis, University of KwaZulu-Natal.
- [72] Chien, S. C., Wu, Y. C., Chen, Z. W., Yang, W. C., (2015), "Naturally occurring anthraquinones: chemistry and therapeutic potential in autoimmune diabetes", Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015.
- [73] Seigler D.S., (2012), "Plant Secondary Metabolism" Springer Science & Business Media, New York.
- [74] Kang, J., Zhang, P., Gao, Z., Zhang, J., Yan, Z., Wang, H., Chen, R., (2016), "Naphthohydroquinones, naphthoquinones, anthraquinones, and a naphthohydroquinone dimer isolated from the aerial parts of *Morinda parvifolia* and their cytotoxic effects through up-regulation of p53", Phytochemistry, 130, 144-151.

- [75] Huang, Q., Lu, G., Shen, H. M., Chung, M. C., Ong, C. N., (2007), "Anti-cancer properties of anthraquinones from rhubarb", *Medicinal research reviews*, 27(5), 609-630.
- [76] Tikhomirov, A. S., Litvinova, V. A., Andreeva, D. V., Tsvetkov, V. B., Dezhenkova, L. G., Volodina, Y. L., Shchekotikhin, A. E., (2020), "Amides of pyrrole-and thiophene-fused anthraquinone derivatives: A role of the heterocyclic core in antitumor properties", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 199, 112294.
- [77] Luo, H., Wang, Y., Qin, Q., Wang, Y., Xu, J., He, X., (2021), "Anti-inflammatory naphthoates and anthraquinones from the roots of *Morinda officinalis*", *Bioorganic Chemistry*, 110, 104800.
- [78] Hu, Y., Luo, Y., Xiang, L., Wu, J., Zhang, Y., Zeng, Y., Wang, P., (2021), "Assessment of the anti-inflammatory effects of three rhubarb anthraquinones in LPS-Stimulated RAW264. 7 macrophages using a pharmacodynamic model and evaluation of the structure-activity relationships", *Journal of Ethnopharmacology*, 273, 114027.
- [79] Shang, X. F., Zhao, Z. M., Li, J. C., Yang, G. Z., Liu, Y. Q., Dai, L. X., Zhang, J. Y., (2019), "Insecticidal and antifungal activities of *Rheum palmatum* L. anthraquinones and structurally related compounds", *Industrial Crops and Products*, 137, 508-520.
- [80] Zhang, L., Chen, P., Xu, Y., Nie, W., Zhou, Y., (2020), "Enhanced photo-induced antibacterial application of graphene oxide modified by sodium anthraquinone-2-sulfonate under visible light", *Applied Catalysis B: Environmental*, 265, 118572.
- [81] Jarrahpour, A., Ebrahimi, E., Khalifeh, R., Sharghi, H., Sahraei, M., Sinou, V., Brunel, J. M., (2012), "Synthesis of novel β -lactams bearing an anthraquinone moiety, and evaluation of their antimalarial activities", *Tetrahedron*, 68(24), 4740-4744.
- [82] Zarren, G., Shafiq, N., Arshad, U., Rafiq, N., Parveen, S., & Ahmad, Z., (2021), "Copper-catalyzed one-pot relay synthesis of anthraquinone based pyrimidine derivative as a probe for antioxidant and antidiabetic activity", *Journal of Molecular Structure*, 1227, 129668.
- [83] Lakshman, S., Murthy, Y. L. N., Rao, K. R. M., (2021), "Studies on synthesis and antioxidant property of anthraquinone analogues", *Materials Today: Proceedings*, 40, S75-S78.
- [84] Borges-Argáez, R., Chan-Balan, R., Cetina-Montejo, L., Ayora-Talavera, G., Sansores-Peraza, P., Gómez-Carballo, J., Cáceres-Farfán, M., (2019), "In vitro evaluation of anthraquinones from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) roots and several derivatives against strains of influenza virus", *Industrial Crops and Products*, 132, 468-475.

- [85] Tabolacci, C., Cordella, M., Turcano, L., Rossi, S., Lentini, A., Mariotti, S., Beninati, S., (2015), "Aloe-emodin exerts a potent anticancer and immunomodulatory activity on BRAF-mutated human melanoma cells", *European Journal of Pharmacology*, 762, 283-292.
- [86] Liu, J., Wu, F., Chen, C., (2015), "Design and synthesis of aloe-emodin derivatives as potent anti-tyrosinase, antibacterial and anti-inflammatory agents", *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 25(22), 5142-5146.
- [87] Graebe C., Liebermann C., (1868), "Ueber alizarin und anthracen", *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 1, 49-51.
- [88] Graebe C., Liebermann C., (1869), "Ueber künstliches Alizarin", *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 2, 332-334.
- [89] Wei B.-L., Wu S.-H., Chung M.-I., Won S.-J., Lin C.-N., (2000), "Synthesis and cytotoxic effect of 1, 3-dihydroxy-9, 10-anthraquinone derivatives", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 35, 1089-1098.
- [90] Önal, B., (1996), "Apoptozis-Kavram, Mekanizmalar, Onkolojik Önemi", *İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi*, 6(1), 20-34.
- [91] Krapcho, A. P., Getahun, Z., Avery Jr, K. L., Vargas, K. J., Hacker, M. P., Spinelli, S., Manzotti, C., (1991), "Synthesis and antitumor evaluations of symmetrically and unsymmetrically substituted 1, 4-bis [(aminoalkyl) amino] anthracene-9, 10-diones and 1, 4-bis [(aminoalkyl) amino]-5, 8-dihydroxyanthracene-9, 10-diones", *Journal of Medicinal Chemistry*, 34(8), 2373-2380.
- [92] Koyama M., Takahashi K., Chou T.C., Darzynkiewicz Z., Kapuscinski J., Kelly T.R., atanabeK.A. W, (1989), "Intercalating agents with covalent bond forming capability. A novel type of potential anticancer agents. 2. Derivatives of chrysophanol and emodin", *Journal of medicinal chemistry*, 32, 1594-1599.
- [93] Malik, E. M., & Müller, C. E., (2016), "Anthraquinones as pharmacological tools and drugs", *Medicinal research reviews*, 36(4), 705-748.
- [94] Nowik, W., De Bellaistre, M. B. C., Tchaplá, A., Héron, S., (2011), "Separation of 9, 10-anthraquinone derivatives: Evaluation of functionalised stationary phases in reversed phase mode", *Journal of Chromatography A*, 1218(23), 3636-3647.
- [95] Bien, H. S., Stawitz, J., & Wunderlich, K., (2000), "Anthraquinone dyes and intermediates", *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.
- [96] Goor G., Glenneberg J., Jacobi S., (2000), "Hydrogen peroxide", *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.

- [97] DeLiberto, S. T., Werner, S. J., (2016), "Review of anthraquinone applications for pest management and agricultural crop protection", *Pest Management Science*, 72(10), 1813-1825.
- [98] GÜLSOY, S. K., (2012), "Kraft hamurunun verimini etkileyen faktörler", *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 12(1), 144-156.
- [99] Neidhart, J. A., Gochnour, D., Roach, R., Hoth, D., Young, D., (1986), "A comparison of mitoxantrone and doxorubicin in breast cancer", *Journal of Clinical Oncology*, 4(5), 672-677.
- [100] Kara H., (2015), "Laksatif ve Pürgatifler", *Güncel gastroenteroloji* (19/1), (30-33)
- [101] Al-Madfa, H. A., Shaw, R. A., & Ture, S., (1990), "Phosphorus-Nitrogen Compounds. Part 64.1 The Reactions Of Hexachlorocyclotriphosphazatriene With 2, 2-Dimethylpropane-1, 3-Diol. Nuclear Magnetic Resonance Studies Of The Products", *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and The Related Elements*, 53(1-4), 333-338.
- [102] Uslu, A., Coles, S. J., Davies, D. B., Esen, M., Hursthouse, M. B., Kılıç, A., (2010), "Effect of gem 2, 2'-disubstitution and base in the formation of spiro- and ansa-1, 3-propandioxy derivatives of cyclotriphosphazenes", *Inorganica Chimica Acta*, 363(13), 3506-3515.
- [103] Porwolik-Czomperlik I., Siwy M., Sęk D., Kaczmarczyk B., Nasulewicz A., Jaroszewicz I., Pelczyńska M., Opolski A., (2004), "Synthesis and in vitro cytostatic activity of some new 1, 3-(oxytetraethylenoxy)-cyclotriphosphazatriene derivatives", *Acta Pol. Pharm. –Drug Res*, 61, 267-227.
- [104] Siwy, M., Sęk, D., Kaczmarczyk, B., Jaroszewicz, I., Nasulewicz, A., Pelczyńska, M., Opolski, A., (2006), "Synthesis and in vitro antileukemic activity of some new 1, 3-(oxytetraethylenoxy) cyclotriphosphazene derivatives", *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(2), 806-810.
- [105] Siwy, M., Sek, D., Kaczmarczyk, B., Wietrzyk, J., Nasulewicz, A., Opolski, A., (2007), "Synthesis and in vitro antiproliferative activity of new 1, 3-(oxytetraethylenoxy)-cyclotriphosphazene derivatives", *Anticancer research*, 27(3B), 1553-1558.
- [106] Demiroglu-Zergeroglu, A., Ergene, E., Ayvali, N., Kuete, V., Sivas, H., (2016), "Quercetin and Cisplatin combined treatment altered cell cycle and mitogen activated protein kinase expressions in malignant mesotelioma cells", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1-6.
- [107] Freshney R. I., (1994), "Culture of Animal Cells, A Manual of Basic Technique" (3. Edition). Alan, R. Liss, Inc. New York.

- [108] Mosmann T., (1983), “Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays”. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63.
- [109] Reuss F. F., (1809), “Sur un nouvel effet de l'électricité galvanique”, *Mémoires de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou*, 2, 37–327.
- [110] Tiselius A., (1937), “A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures”, *Transactions of the Faraday Society*, 33, 524–531.
- [111] Vesterberg O., (1989), “History of electrophoretic methods”, *Journal of Chromatography A*, 480, 3-19.
- [112] Kryndushkin D. S., Ter-Avanesyan M. D., Kushnirov V. V., (2003), “Yeast [PSI+] prion aggregates are formed by small Sup35 polymers fragmented by Hsp104”, *Journal of Biological Chemistry*, 278 (49), 49636–43.
- [113] Smisek D. L., Hoagland D. A., (1989), “Agarose gel electrophoresis of high molecular weight, synthetic polyelectrolytes”, *Macromolecules*, 22 (5), 2270-2277.
- [114] Johansson, B. G., (1972), “Agarose gel electrophoresis”, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 29(sup124), 7-19.
- [115] Voytas, D., (2000), “Agarose gel electrophoresis”, *Current Protocols in Molecular Biology*, 51(1), 2-5.
- [116] Asmafiliz, N., Kılıc, Z., Öztürk, A., Hökelek, T., Koç, L. Y., Açık, L., Solak, A. O., (2009), “Phosphorus– Nitrogen Compounds. 18. Syntheses, Stereogenic Properties, Structural and Electrochemical Investigations, Biological Activities, and DNA Interactions of New Spirocyclic Mono- and Bisferrocenylphosphazene Derivatives”, *Inorganic chemistry*, 48(21), 10102-10116.
- [117] Balachandran, C., Emi, N., Arun, Y., Yamamoto, N., Duraipandiyan, V., Inaguma, Y., Perumal, P. T., (2016), “In vitro antiproliferative activity of 2, 3-dihydroxy-9, 10-anthraquinone induced apoptosis against COLO320 cells through cytochrome c release caspase mediated pathway with PI3K/AKT and COX-2 inhibition”, *Chemico-Biological Interactions*, 249, 23-35.
- [118] Wang, J., Kou, J., Hou, X., Zhao, Z., Chao, H., (2017), “A ruthenium (II) anthraquinone complex as the theranostic agent combining hypoxia imaging and HIF-1 α inhibition”, *Inorganica Chimica Acta*, 454, 176-183.
- [119] Hsin, L. W., Wang, H. P., Kao, P. H., Lee, O., Chen, W. R., Chen, H. W., Lee, C. H., (2008), “Synthesis, DNA binding, and cytotoxicity of 1, 4-bis (2-aminoethylamino) anthraquinone–amino acid conjugates”, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 16(2), 1006-1014.

- [120] Choi, H. K., Ryu, H., Son, A. R., Seo, B., Hwang, S. G., Song, J. Y., Ahn, J., (2016), "The novel anthraquinone derivative IMP1338 induces death of human cancer cells by p53-independent S and G2/M cell cycle arrest", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 79, 308-314.
- [121] Badisa, R. B., Darling-Reed, S. F., Joseph, P., Cooperwood, J. S., Latinwo, L. M., Goodman, C. B., (2009), "Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells", *Anticancer research*, 29(8), 2993-2996.



ÖZGEÇMİŞ

Gizem DEMİR DEMİREL 2011 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 2017 yılında başarıyla tamamladı. 2018 Yılında Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Prof. Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ danışmanlığında Yüksek Lisans eğitime başladı. Yüksek Lisans eğitimi boyunca TÜBİTAK 117Z163 Numaralı 1001 Projesi'nde, proje asistanı olarak çalıştı.



EKLER

Ek A: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Yayınlar

Çiftçi, G. Y., Demir, G., Şenkuytu, E., Eçik, E. T., Aksahin, M., & Yıldırım, T. (2021). 2-Hydroxyanthraquinone substituted cyclotriphosphazenes: Synthesis and cytotoxic activities in cancer cell lines. *Inorganica Chimica Acta*, 514, 120005.

Ek B: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Bildiriler

Demir G., Yenilmez Çiftçi G., Yıldırım T., (2019) ‘2-Hidroksiantrakinon Sübstitüe Siklotrifosfazen Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri’, 31.Ulusal Kimya Kongresi, 10-13 Eylül, İstanbul, Türkiye.

Demir G., Yenilmez Çiftçi G., (2019) ‘2-Aminoantrakinon Sübstitüe Siklotrifosfazen Türevlerinin Sentez ve Karakterizasyonu’, VII. Ulusal Anorganik Kimya Kongresi, 19-22 Haziran, Çorum, Türkiye.

Demir G., Yenilmez Çiftçi G., (2019) ‘Antrakinon Sübstitüe Monoansa Siklotrifosfazen Türevinin Sentez ve Karakterizasyonu’, 3. İnovatif Kimya Bilim Öğrenci Kongresi, 4 Mayıs, Kocaeli, Türkiye.

Demir G., Şenkuytu E., Tanrıverdi Eçik E., D. Zergeloğlu A., Yenilmez Çiftçi G., (2019) ‘Synthesis, Characterization and Biological Activities Of Anthraquinone Substituted Monospiro/Dispiro Cyclotriphosphazenes’, 21st Jcf Spring Symposium And 2nd European Young Chemists Meeting’, 20-23 Mart Bremen, Almanya.

Demir G., Şenkuytu E., Yenilmez Çiftçi G., (2018) ‘Anthraquinone Substituted Cyclotriphosphazene Compound: Synthesis and Characterization’, 4.Organic Chemistry Congress, 4-7 Ekim, Antalya, Türkiye.

Demir G., Şenkuytu E., Tanrıverdi Eçik E., Yenilmez Çiftçi G., (2018) ‘Spiro 2,2-Dimetil-1,3-Propandiol Siklotrifosfazen Sentezi ve Karakterizasyonu, Gtü Kimya Bilim Topluluğu, Gebze, Kocaeli, Türkiye.